

(Phase Contrast Microscope)

நெதர்லாந்து பேராசிரியர் பிரிட்ஷெர்னிக் இந்நுண்ணோக்கியைக் கண்டுபிடித்தமையால் 1953ல் இயற்பியற் துறைக்கான நோபிள் பரிசு இவருக்கு வழங்கப்பட்டது.

நெறிமுறை: செல் அங்கங்கள் மூலம் கட்புலப்படா சிறு ஒளிக்கலை மாற்றங்களை கட்புல ஒளி-அடர்வு மாற்றங்களாக்க வாழும் செல்களை மாற்றுவது பற்றிய பயில்விற்கு இந்நுண்ணோக்கி உதவுகிறது.

ஒளிக்கலை மாற்றத்தின் நிகழ்வினை அறிவதற்கு நாம் அறிய வேண்டியது யாதெனில், ஒளி ஊடுறவும் ஈர்ப்பி அல்லது ஈர்ப்பியற்ற, தடித்த பொருள் வழியே ஒளியைக் கடத்தும் பொழுது அந்த ஒளிக்கதிர் அதன் ஒளிக்கலையின் மாற்றத்தால் அவதியுறுகிறது. இம்மாற்றம் ஒளிக்கலைமாற்றம் (Phase change) அல்லது ஒளிக்கதிர்சிதைவு (Retardation) என அழைக்கப்படுகிறது.

கட்டமைப்பு (Structure):

ஒளிக்கலை வேறுபடுத்தும் நுண்ணோக்கி என்பது வளையப் படலம் (Annular diaphragm) மற்றும் வளைய ஒளிக்கலைத் தட்டு (annular phase plate) பொருத்தப்பட்டு சிறப்பு வகையாக வடிவமைக்கப்பட்ட ஒளி நுண்ணோக்கி.

1. வளையப் படலம் குவிமுக வில்லைக்கு அடியே பொருத்தப்பட்டுள்ளது. இதில் வட்டமான வளையப் பள்ளத்துடன் கூடிய வட்ட வடிவ வட்டு உள்ளது. இதன் வழியே ஒளிக்கதிர்கள் கடவ அனுமதிக்கப்படுகின்றன.

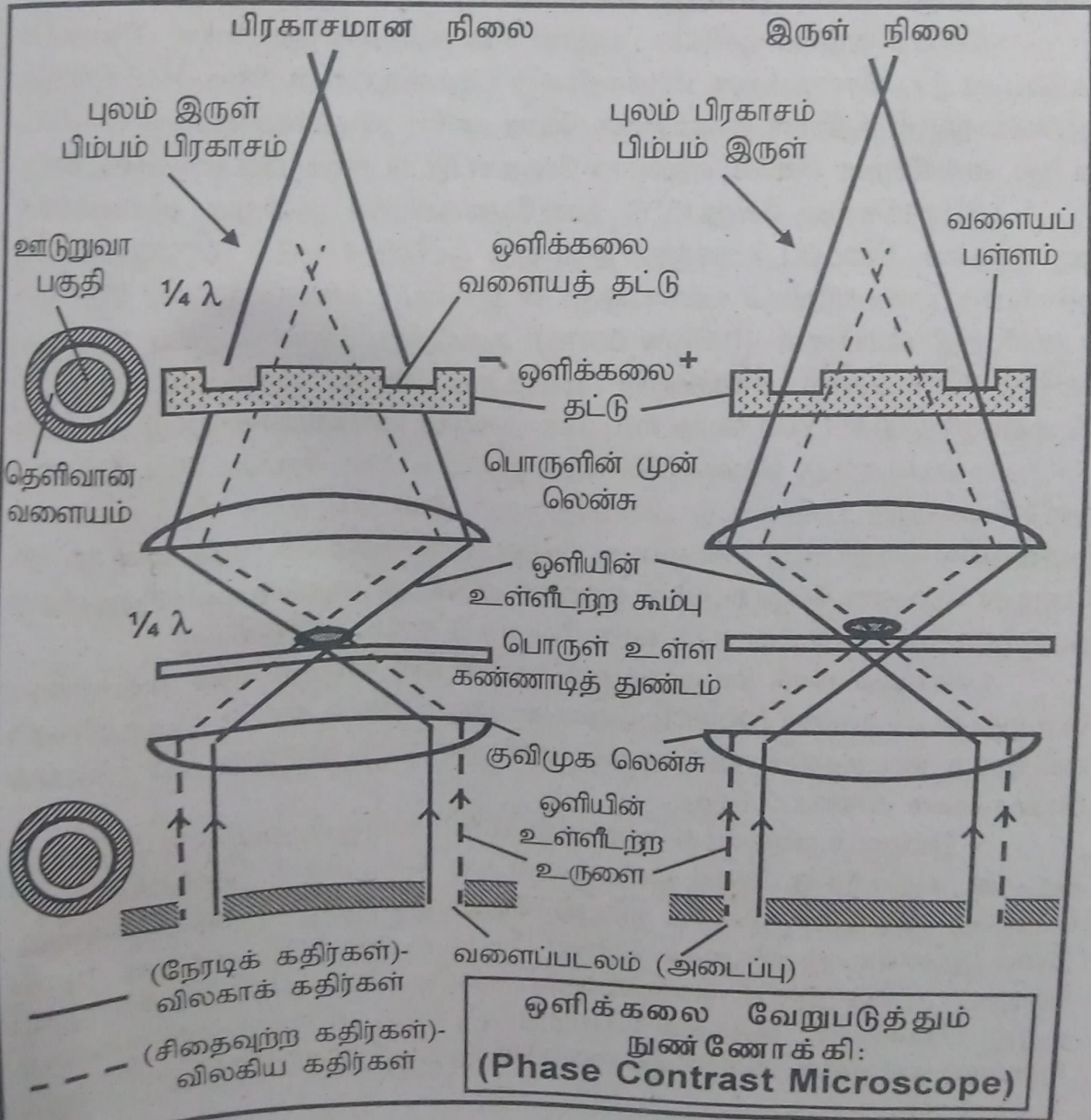
2. குவிமுக வில்லை (condenser) வளையப் பள்ளம் வழியே கடந்த ஒளியினை இந்த குவிமுக வில்லை பொருளின் மீது குவியச் செய்கிறது.

3. பொருளருகு லென்சு (ஆடி) (Objective lens):

வளையப் பள்ளம் மற்றும் குவிமுக வில்லை வழியே வந்த ஒளிக்கதிர் பொருளின் மீது விழுகிறது. சில கதிர்கள் திருத்தியமைக்க படுவதில்லை (unaltered). ஆனால் சில கதிர்கள் ஒதுக்கப்பட்டுவிடுகின்றன (rejected) அல்லது ஒளிக்கதிர் சிதைவடைகின்றன (diffracted). இவ்விரு வகைக்கதிர்களும் பொருளருகு லென்சு மீது விழுவதுடன் பொருளின் எதிர்ப்பக்கத்திலும் விழுகின்றன. பொருளருகு லென்சு அதன் குவி மட்டத்தில் இக்கதிர்களைக் குவித்து பொருளின் பிம்பத்தை உருவாக்குகிறது.

4. வளைய ஒளிக்கலைத் தட்டு (Annular Phase Plate):

பொருளருகு லென்சின் குவி மட்டத்தில் எங்கு பிம்பம் தோன்றுகிறதோ அவ்விலக்கில் வளைய ஒளிக்கலைத் தட்டு உள்ளது. வளையப் பள்ளத்துடன் தொடர்புடைய உயர்வுற்ற (தடித்த) வட்டப் பகுதியுடன் எதிர்மின் ஒளிக்கலைத் தட்டுவாகவோ அல்லது வளையப் பள்ளத்துடன் தொடர்புடைய வட்ட வடிவ



தடிப்பற்ற பள்ளத்துடன் கூடிய நேர்மின் ஒளிக்கலைத் தட்டுவாகவோ இந்த ஒளிக்கலைத் தட்டு இருக்கலாம். வளைய ஒளிக்கலைத் தட்டத்தில் இருக்கும் தடிப்பும், தடிப்பற்ற பகுதியும் சேர்த்து ஈரிணைவுப் பகுதி (conjugate area) என அழைக்கப்படுகிறது. ஒளிக்கலைத் தட்டு என்பது ஒளி ஊடுறும் ஒரு வட்டு (disc) ஆகும். இதில் வளையப் பள்ளம் உள்ளது. வளையப் படல துளைவின் பிம்பத்துடன் இப்பள்ளம் பொருந்துமாறு வைக்கப்படுகிறது. இப்பள்ளம் வழியே நேரடியாக ஒளிக்கதிர்கள் கடந்து செல்கின்றன. ஆனால் சிதைவுற்ற அல்லது ஒளி விலகிய (refracted) கதிர்கள் பள்ளத்தின் வெளிப்பக்கப் பகுதி வழியே கடந்து செல்கின்றன.

5. கண்ணருகு லென்சு (Ocular lens):

நேரடிக்கதிர்களும் ஒளி விலகிய அல்லது ஒளி சிதைவுற்ற கதிர்களான இவ்விரு ஒளிக்குவைப்புகளை (sets) ஒன்றாக கொண்டு வரும் பொழுது இக்கதிர்கள் கண்ணருகு லென்சு அடங்கிய பகுதியில் மாதிரிக்கூறின் பிம்பத்தை உருவாக்குகின்றன. இப்பிம்பம் ஒளிக்கலையில் வெளிச்சமாகவும் ஒளிக்கலையற்ற பகுதியில் கருமையாகவும் தோன்றுகூடும்.

பிம்பம் உருவாக்கம் (Image formation):

1. லென்சு வழியே ஒளிக்கடப்பதால் சில கதிர்கள் நேரடியான பாதையின் வழியே கடந்து செல்கின்றன. பிறக்கதிர்கள் பக்கவாட்டாகச் சிதைவடைகின்றன. ஒளிச்சிதைவுற்ற கதிர்கள் இவ்விதமாக நேரடி ஒளியுடன் ஒளிக்கலைக்கு வெளியே கடந்து செல்கின்றன. எனவே, வலுவான வேறுபாட்டுடன் கூடிய பிம்பம் தோன்றுகிறது.

2. ஒளிக்கலை வேறுபாட்டு நுண்ணோக்கியின் குவிமுக வில்லையில் ஒரு வளைய அடைப்பு உள்ளது. இது ஒரு ஒளிவிடா வட்டு (opaque disc). ஒல்லியான ஒளிஊடுறும் வளையத்துடன் இவ்வட்டு காணப்படுகிறது. இது ஒரு உள்ளீடற்ற கூம்பினை (hollow cone) தருகிறது. செல் வழியே இக்கூம்பு கடந்து செல்வதால் சிதைவுற்ற ஒளிக்கும் நேரடி ஒளிக்கும் இடையே $\frac{1}{4}$ அலைநீளத்தின் ($\frac{1}{4}\lambda$) வேறுபாட்டினை வளைய ஒளிக்கலைத் தட்டு தருகிறது.

3. பொருளருகு லென்சுவின் மையத்தில் உள்ள நேரடிப் பிம்பத்துக்கும் ஒளிச்சிதைவுற்ற பக்கவாட்டு பிம்பத்துக்கும் இடையே தலையீட்டு முடிவாக ஒளிக்கலை வேறுபாட்டு விளைவு உள்ளது. ஒளிச்சிதைவுக் கதிரினை கூட்டும் பொழுது நேர்மறை வேறுபாட்டுக்கு ஏதுவாகி விடுகிறது. ஆனால் ஒளிச்சிதைவினை தடங்கலாக்கும் பொழுது எதிர்மறை வேறுபாடு ஏற்பட்டு விடுகிறது.

4. பொருளினைக் காட்டிலும் ஊடகத்தின் ஒளி விலகல் எண் அதிகரிக்கும் பொழுது பொருளானது (object) இருளாக/கருமையாக உள்ளது. பொருளினைக் காட்டிலும் ஊடகத்தின் ஒளிவிலகல் எண் குறையும் பொழுது பொருளானது பிரகாசமாகக் காணப்படுகிறது.

5. இம்மாதிரி ஒளிக்கலை வளையம் கட்டுமானமாகியிருந்தால் $\frac{1}{4}\lambda$ மூலமாக இதனை அதிகரித்து நேரடி ஒளியை கடவச் செய்யலாம். ஒளிக்கலையின் வெளியே $\frac{1}{2}\lambda$ நீளம் விலகிய மற்றும் நேரடி அலைகள் கொண்டிருக்கலாம். இவை இரண்டையும் ஒன்றாகச் சேர்த்து பிம்பம் உருவாக்கும் பொழுது, அவை ஒன்றுக்கு ஒன்று நீக்கிக் கொள்கின்றன. எனவே, நேரடி ஒளியில் தோன்றிய சூழல் பிரகாசமாக இருக்கும் பொழுது நிறமேறா பொருள் கருமையாகத் தோன்றுவதை நன்கு விளங்கிக்கொள்ளமுடிகிறது. இதனை இருள் ஒளிக்கலை

வேறுபாட்டு நுண்ணோக்கியியல் அல்லது வேறுபாட்டு பிம்பம் என அழைப்பர். இதற்குக் காரணம் ஒளிக்கதிர்களின் அடிக்கட்டுமான மேற்கிடை (Substructive superposition) ஆகும்.

6. எதிர்மறை வேறுபாட்டால் பிம்பம் உருவாகும் பொழுது தடித்த ஈரிணைப் பகுதியுடன் கூடிய எதிர்மறை ஒளிக்கலைத் தட்டு பயன்படுத்தப்படுகிறது. மைய மற்றும் ஒளிச்சிதைவுக் கதிர்களின் மேற்கிடையால் பிம்பம் தோன்றுகிறது. கதிர்களின் இருகுவைகள் சேர்க்கப்படுவதால் பிம்ப உருவாக்கம் ஒளி அலைகளின் சேர்க்கை மேற்கிடை (additive superposition) என அழைக்கப்படுகிறது. கருமையான சுற்றுப்புறப்பகுதியுடன் கூடிய பிம்பம் பிரகாசமாகத் தோன்றுகிறது. இத்தகு பிம்பம் உருவாக்கும் முறையினை எதிர்மறை அல்லது பிரகாச வேறுபாடு என அழைப்பர்.

பிரயோகிப்பு (Applications):

1. முன்சிகிச்சை, நிலைப்படுத்துதல், கறையேற்றம் ஆகியன ஒளிக்கலை வேறுபாட்டு நுண்ணோக்கிக்குத் தேவைப்படுவதில்லை. அதனால், இயல்பான நிலைமையிலேயே செல்கள் தோன்றுகின்றன.

2. மைட்டாசிஸ் மற்றும் மியாஸிஸின் உண்மையான நிலைகள் அறியப்படுகின்றன.

3. வாழும் புரோட்டோசோவான்கள் மற்றும் பாக்டீரியங்களின் நடத்தையும், இவற்றின் மீது ஏற்படும் வேதி செயல்பாட்டு விளைவுகளும் பார்க்க முடியும்.

4. பேகோசைட்டோசிஸ், பைனொசைட்டோசிஸ் போன்றவற்றை வாழும் செல்களிலேயே காண முடியும்.

5. நுண்ணுயிர் இயக்கம், வடிவமைப்பு, எண்டோஸ்போர் போன்றவற்றை கண்டறிய முடியும். பாலி-மெட்டா பாஸ்பேட், சல்பர் மற்றும் பிற பொருட்கள் அடங்கிய உட்கூறுகளை காண முடியும்.