भौतिकी पाठमाला

इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी

लेखक:
डॉ0 एम0 आर0 सुशीला
एवं
डॉ0 डी0 के0 उप्रेती

वैज्ञानिक तथा तकनीकी शब्दावली आयोग
मानव संसाधन विकास मंत्रालय (माध्यमिक एवं उच्चतर शिक्षा विभाग)
भारत सरकार

© भारत सरकार, 2004
© Government of India. 2004

प्रथम संस्करण : 2004

मूल्य : अन्तर्देशीय : रु. 90.00
विदेश में : $ 1.88
£ 1.18

प्रकाशक :

वैज्ञानिक तथा तकनीकी शब्दावली आयोग
पश्चिमी खंड 7, रामकृष्णपुरम,
नई दिल्ली-110 066

बिक्री का पता :

1. बिक्री अनुभाग,
   वैज्ञानिक तथा तकनीकी शब्दावली आयोग,
   पश्चिमी खंड 7, रामकृष्णपुरम,
   नई दिल्ली-110 066
2. प्रकाशन नियंत्रक, भारत सरकार
   सिविल लाइन्स,
   दिल्ली - 110054

भौतिकी पाठमाला

इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी

लेखक

डॉ० एम० आर० सुशीला
(राष्ट्रीय वनस्पति अनुसंधान संस्थान, लखनऊ)
एवं
डॉ० डी० के० उप्रेती
(राष्ट्रीय वनस्पति अनुसंधान संस्थान, लखनऊ)

सत्यमेव जयते

वैज्ञानिक तथा तकनीकी शब्दावली आयोग
मानव संसाधन विकास मंत्रालय (माध्यमिक एवं उच्चतर शिक्षा विभाग)
भारत सरकार

Commission for Scientific and Technical Terminology
Ministry of Human Resource Development
(Department of Secondary and Higher Education)
Government of India

2004

आयोग के अध्यक्ष

1. डॉ0 दौलत सिंह कोठारी, (1961-1965)
2. डॉ0 निहालकरण सेठी, (1965-1966)
3. डॉ0 विश्वनाथ प्रसाद, (1966-67)
4. डॉ0 एस. बालसुब्रह्मण्यम्, (1967-68)
5. डॉ. बाबूराम सक्सेना, (1968-70)
6. श्री कृष्ण दयाल भार्गव, (1970)
7. श्री गंटि जोगि सोमयाजी, (1970-1971)
8. डॉ0 पी. गोपाल शर्मा, (1971-75)
9. प्रो0 हरबंशलाल शर्मा, (1975-80)
10. प्रो0 मलिक मोहम्मद, (1983-1987)
11. प्रो0 सूरजभान सिंह, (1988-1994)
12. प्रो0 प्रेम स्वरूप सकलानी, (1994-1998)
13. डॉ0 हरीश कुमार (1998)
14. डॉ0 राय अवधेश कुमार श्रीवास्तव (1998-2001)
15. डॉ0 हरीश कुमार (2001-2003)

समन्वय तथा संपादन

प्रमुख संपादक
डॉ0 पुष्पलता तनेजा
अध्यक्ष

संपादक
दुर्गा प्रसाद मिश्र
वैज्ञानिक अधिकारी

पुनरीक्षक
डॉ0 एन0 के0 सैनी
प्रधान वैज्ञानिक अधिकारी

प्रकाशन
श्री राम बहादुर
उप निदेशक
डॉ0 पी0 एन0 शुक्ल
वैज्ञानिक अधिकारी
श्री आलोक वाही
कलाकार

आमुख

भारत सरकार ने विश्वविद्यालय स्तर पर शिक्षा माध्यम के रूप में हिन्दी तथा अन्य भारतीय भाषाओं के विकास के लिए तत्कालीन शिक्षा मंत्रालय (अब मानव संसाधन मंत्रालय) के अधीन सन 1961 में वैज्ञानिक तथा तकनीकी शब्दावली आयोग की स्थापना की थी। इस लक्ष्य की प्राप्ति के लिए आयोग ने अनेक शब्द-संग्रहों, परिभाषा-कोशों, चयनिकाओं, पत्रिकाओं, पाठमालाओं तथा विश्वविद्यालय स्तरीय हिन्दी पुस्तकों का निर्माण एवं प्रकाशन किया है।

पाठमालाओं के निर्माण में इस बात का ध्यान रखा गया है कि उसकी विषय-सामग्री अद्यतन तथा उपयोगी हो और भाषा सरल, बोधगम्य एवं आकर्षक हो ताकि अध्यापक भी हिन्दी माध्यम से अपने-अपने विषय को पढ़ाने में सक्षम हो सकें।

प्रस्तुत पाठमाला 'इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी' लखनऊ स्थित राष्ट्रीय वनस्पति अनुसंधान संस्थान में कार्यरत वरिष्ठ वैज्ञानिक डॉ. एम. आर. सुशीला और इस संस्थान के डॉ. डी. के उप्रेती द्वारा लिखी गई है जो 5 अध्यायों में विन्यस्त है। इसका पुनरीक्षण वडिया हिमालय भूविज्ञान संस्थान के वैज्ञानिक डॉ. एन. के. सैनी ने किया है। वस्तुतः लेखकों के अथक प्रयास से ही यह कार्य संपन्न हुआ है जिसके लिए वे बधाई पात्र हैं।

पाठमाला की भाषा सरल, बोधगम्य और प्रभावपूर्ण है। लेखकों ने इसमें हिंदी की मानक शब्दावली का प्रयोग करने का पूरा प्रयास किया है और पुस्तक के अंत में तकनीकी शब्दों की सूचियाँ, संदर्भ आदि तथा आयोग द्वारा स्वीकृत शब्दावली निर्माण के सिद्धांत और आयोग के प्रकाशनों की सूचियाँ दी गई हैं।

मुझे विश्वास है कि भौतिकी पाठमाला की यह पुस्तक स्नातक और स्नातकोत्तर स्तर के विद्यार्थियों के लिए बहुत उपयोगी सिद्ध होगी।

दिसम्बर, 2003

(डॉ0 पुष्पलता तनेजा)
अध्यक्ष

आभार

हम भारत सरकार, वैज्ञानिक तथा तकनीकी शब्दावली आयोग, मानव संसाधन विकास मंत्रालय (माध्यमिक एवं उच्चतर शिक्षा विभाग) नई दिल्ली के ऋणी हैं जिसने हमारे इस पुस्तक को लिखने के आवेदन को स्वीकार किया।

लेखक राष्ट्रीय वनस्पति अनुसंधान संस्थान, लखनऊ के निदेशक, डॉ० पी० पुष्पागंदन के कृतज्ञ हैं जिनके सहयोग से यह कार्य पूर्ण हो सका। श्रीमती (डॉ०) कमला कुलश्रेष्ठ के सुझावों ने इस कार्य को क्रियान्वित करने की प्रेरणा दी। पुस्तक का प्रारूप तैयार करने में प्रयुक्त होने वाले वैज्ञानिक एवं तकनीकी शब्दों का अनुवाद तथा अन्य विषयों से सम्बन्धित जानकारियों के लिए डॉ० रश्मि तिवारी का विशेष सराहनीय योगदान रहा। पुस्तक में चित्रों को बनाने एवं व्यवस्थित करने में श्री संज़ीव नायक का सहयोग प्रशंसनीय है। प्रयोगशाला के सहयोगियों संजय द्विवेदी, किरण टोप्पो, रिमझिम खरे, ओम प्रकाश व राज निषाद के द्वारा समय-समय पर प्राप्त सहयोग के लिए हम उनका आभार व्यक्त करते हैं।

डॉ० एम० आर० सशीला
एवं
डॉ० दलीप कुमार उप्रेती

लेखकीय

वैज्ञानिक और औद्योगिक प्रगति के विगत चार दशकों में इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी के विकास ने प्रगति के अनेक नए द्वार खोल दिए हैं। आज के "बहुजन हितायः, बहुजन सुखायः" की अवधारणा को चरितार्थ करता हुआ, इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी वैज्ञानिकों, इन्जीनियरों, शोधकर्ताओं, अध्यापकों एवं छात्रों को ही नहीं, वरन्, सामान्य शिक्षित जनों के लिए भी जिज्ञासा का विषय बन गया है। इसके द्वारा जैव-विज्ञान की विभिन्न गुत्थियों को सुलझाया गया तथा कठिन, असाध्य रोगों के विषय में जानकारी एकत्र करके उन्हें जड़ से हटाने के विषय में सोचा गया। आज चिकित्सा एवं अपराध शास्त्र के क्षेत्र में यह महत्वपूर्ण शस्त्र बन गया है। अतः सूक्ष्मदर्शी जैसे बहुआयामी, रोचक एवं उपयोगी संसाधन (संयंत्र) की सर्वसुलभ जानकारी जनभाषा हिंदी में उपलब्ध कराना आज की अनिवार्य आवश्यकता बन गई है।

इन्हीं विचारों से प्रभावित होकर प्रस्तुत पुस्तक को लिखने का प्रयास किया गया है, जिसे हम अपने उन जिज्ञासु पाठकों के हाथों में सौंपना चाहते हैं जो विज्ञानेतर विषयों के अध्ययन-अध्यापन में कार्यरत रहते हुए विभिन्न प्रकार के सूक्ष्मदर्शिकी के प्रति गहरी रुचि रखते हैं। इस पुस्तक के अधिकांश प्रकरणों को सामान्य सुशिक्षित व्यक्ति भी रुचिपूर्वक पढ़ सकते हैं और विभिन्न प्रकार के सूक्ष्मदर्शी के उपयोगों की जानकारी प्राप्त कर सकते हैं। पुस्तक को पांच अध्यायों में विभाजित किया गया है।

प्रथम अध्याय में मानव नेत्र, लेन्स, सूक्ष्मदर्शी और उनके महत्व से संबंधित विषय की विस्तृत जानकारी दी गई है।

द्वितीय अध्याय में सूक्ष्मदर्शी का निर्माण तथा उसके महत्वपूर्ण उपयोगों के विषय को स्पष्ट किया गया है। इसके अतिरिक्त सूक्ष्मदर्शी द्वारा किसी जैव वस्तु का अवलोकन करते समय विशेष ध्यान देने योग्य बातों से संबंधित जानकारी प्रस्तुत की गई है।

तृतीय एवं चतुर्थ अध्याय क्रमशः क्रमवीक्षण एवं पारगत इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी के निर्माण एवं मूल सिद्धांत का विस्तृत विवरण देते हुए इन यंत्रों द्वारा वस्तु के अवलोकन की विधि पर भी प्रकाश डालते हैं।

पंचम अध्याय में इलेक्ट्रॉन अन्वेषी सूक्ष्म विश्लेषण एवं विपर्यास क्रिया-विधि को उदाहरणों के साथ स्पष्ट किया गया है। इलेक्ट्रॉन नमूना पारस्परिक अभिक्रिया के विभिन्न चरणों को चित्रों की सहायता से समझाया है। कोशिकाविज्ञान में हो रहे विकास का वर्णन करते हुए डी० एन० ए० एवं आर० एन० ए० प्रोटीन-न्यूक्लिक एसिड चित्रण को संक्षिप्त में प्रस्तुत किया गया है। वर्तमान में पाए जाने वाले परमाणु बल सूक्ष्मदर्शी एवं निष्कासन प्रणाली सूक्ष्मदर्शी का विस्तृत विवरण देते हुए इन यंत्रों द्वारा वस्तु के अवलोकन की विधि को समझाया गया है।

पुस्तक में प्रयुक्त पारिभाषिक शब्दों को वैज्ञानिक तथा तकनीकी शब्दावली आयोग द्वारा प्रकाशित वृहत् पारिभाषिक शब्द-संग्रह विज्ञान से लिया गया है।

इस छोटी-सी पुस्तक में सूक्ष्मदर्शी का सम्पूर्ण विवरण-विवेचन सम्भव नहीं है, फिर भी उनके विभिन्न प्रकारों एवं उपयोगों के विषय में अधिकाधिक जानकारी प्रस्तुत करने का प्रयास किया गया है। प्रबुद्ध पाठकों की प्रतिक्रियाएं ही पुस्तक की उपयोगिता को सिद्ध कर पाएंगी।

अनुक्रम

पृष्ठ संख्या

1. प्रथम अध्याय

प्रस्तावना 1
मानव नेत्र 3
लेन्स 5
आवर्धक लेन्स 7

2. द्वितीय अध्याय - सूक्ष्मदर्शी

(क) पूर्ण विवरण 9
(ख) निर्माण 10
(ग) मूल सिद्धांत 14
(घ) तरह-तरह के सूक्ष्मदर्शी तथा उनके महत्वपूर्ण उपयोग 18
(च) जैव वस्तु की तैयारी तथा अवलोकन 21
(छ) सूक्ष्मदर्शी की प्रायोगिक अवस्थिति 23

3. तृतीय अध्याय - क्रमवीक्षण इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी

(क) परिचय 25
(ख) निर्माण विवरण 27
(ग) मूल सिद्धांत 28
(घ) अवलोकन हेतु जैव वस्तु की तैयारी 30

4. चतुर्थ अध्याय - पारगत इलेक्ट्रान सूक्ष्मदर्शी

(क) परिचय 40
(ख) निर्माण विवरण 40

(ग) मूल सिद्धांत 43
(घ) अवलोकन हेतु जैव वस्तु की तैयारी 44

5. पंचम अध्याय - इलेक्ट्रॉन अन्वेषी सूक्ष्म विश्लेषण

(क) परिचय 59
(ख) इतिहास 59
(ग) क्रमवीक्षण इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी द्वारा जैविक नमूने का उच्च विभेदन विश्लेषण 66
(घ) न्यूक्लिक एसिड चित्रण 68
(च) निष्कासन प्रणाली सूक्ष्मदर्शी 69
(छ) कोशिका विज्ञान 70
(ज) परमाणु बल सूक्ष्मदर्शी का प्रयोग एवं भविष्य 71

परिशिष्ट

1. शब्दावली-सूची 72
2. संदर्भ 78
3. सार्वत्रिक नियतांक 79
4. आयोग द्वारा स्वीकृत शब्दावली निर्माण के सिद्धांत 80
5. आयोग के प्रकाशन 84

अध्याय - 1

प्रस्तावना

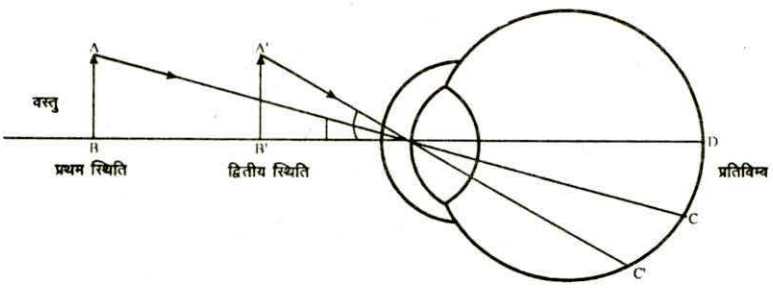
मानव की पांचों संवेदनाओं में दृष्टि सर्वाधिक महत्वपूर्ण है। नेत्र प्रकृति की वह अनुपम कृति है, जिसकी सहायता से किसी सजीव व निर्जीव वस्तु के स्वरूप, आकार एवं रंग को देखा जाता है। प्रकाश की तीव्रता एवं तरंग दैर्ध्य में होने वाले परिवर्तन को सूचित करते हुए नेत्र, वस्तु का त्रिआभासी प्रतिबिम्ब प्रस्तुत करता है।

नेत्र लैंस मांसपेशियों की सहायता से एक स्थान पर टिका रहता है तथा मांसपेशियां ही लैंस को आगे पीछे कर लैंस को अपनी फोकस दूरी बदलने की क्षमता प्रदान करती है। फोकस दूरी में होने वाले परिवर्तन से ही आँख समीप तथा दूर की दोनों ही वस्तुओं को स्पष्ट देख सकती है। किसी वस्तु का स्पष्ट आकार एवं स्वरूप का बोध तब होता है जब आँख पर पड़ने वाली समानांतर किरणें आँख के उत्तल लैंस की सहायता से रेटिना पर फोकस होती हैं और रेटिना की तंत्रिकाएं सक्रिय होकर उस वस्तु का प्रतिबिम्ब मस्तिष्क तक पहुंचाती हैं जिससे हमें वस्तु स्पष्ट दिखाई देती है। दूर की वस्तु देखते समय आँख की मांसपेशियां शिथिल अवस्था में होती है, उन पर कोई दबाव व तनाव नहीं होता है, अतः लैंस की फोकस दूरी सबसे अधिक होती है। इसके विपरीत निकट की वस्तु को देखते समय मांसपेशियां संकुचित हो आँख को तनाव की स्थिति में कर देती हैं। इस समय आँख के लैंस की वक्रता त्रिज्या को बढ़ाकर उसकी फोकस दूरी को कम कर देती है। अतः इस दशा में पुनः वस्तु का स्पष्ट प्रतिबिम्ब रेटिना पर बन जाता है। इस प्रकार आँख की फोकस दूरी बदलने की क्षमता 'समंजन क्षमता' कहलाती है।

वस्तु की निकटता बढ़ाने के साथ 'समंजन क्षमता' भी बढ़ती है, परन्तु समंजन क्षमता की एक निश्चित सीमा होती है। वह न्यूनतम दूरी जहां तक आँख अधिकतम समंजन क्षमता लगाकर स्पष्ट देख सकती है "स्पष्ट दूरी की न्यूनतम दूरी" (least distance of distinct vision) कहलाती है। सामान्य आँख के लिए न्यूनतम दूरी 25 सेमी० होती है। 25 सेमी० से कम दूरी पर रखी वस्तु स्पष्ट नहीं दिखाई देती।

वस्तु का दिखाई देने वाला आकार उसके दर्शन कोण पर निर्भर करता है। किसी वस्तु के आधार और शीर्ष से बनने वाले कोण को दर्शन कोण (Visual angle) कहते हैं। यह कोण यदि बड़ा होगा तो वस्तु बड़ी दिखाई देगी, यदि छोटा होगा तो वस्तु भी छोटी दिखाई देगी। दर्शन कोण के आकार में परिवर्तन होने से वस्तु के आकार में भी परिवर्तन आता है। (चित्र - 1) में वस्तु अ, ब, आँख पर दर्शन कोण α बनाती है जब वही वस्तु आँख के निकट अ' ब' पर लाई जाती है तब आँख पर पहले से बड़ा β कोण बनाती है और रेटिना पर पहले से बड़ी दिखाई देती है। इससे यह स्पष्ट होता है कि किसी वस्तु को बड़ा देखने के लिए दर्शन कोण को भी बढ़ाना आवश्यक है। दूरदर्शी एवं सूक्ष्मदर्शी में दर्शन कोण में परिवर्तन करके ही वस्तु का आभासी प्रतिबिम्ब प्राप्त किया जाता है।

आँख की देखने की एक सीमा होती है, जहां तक वह निकट या दूर की वस्तु को स्पष्ट रूप से देख सकती है। इसके बाद उसे सूक्ष्मदर्शी का उपयोग करना ही पड़ता है। इसमें मुख्यतया दो प्रकार के लेन्स का प्रयोग होता है।

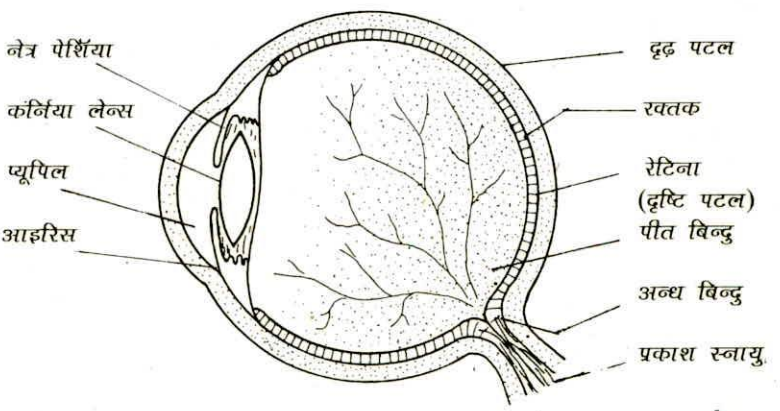


चित्र - 1 : आँख पर किसी वस्तु के प्रतिबिम्ब बनने की प्रक्रिया

मानव नेत्र

मानव नेत्र एक प्राकृति प्रकाशिक यंत्र है जिसके द्वारा हम बाह्य जगत को प्रकाश की उपस्थिति में देख सकते हैं। निम्नतम वर्गों के प्राणियों के नेत्र वस्तुतः अनेक रंजित कोशिकाओं के समूहों द्वारा निर्मित होते हैं और यही कारण है कि निम्न स्तर के प्राणी केवल प्रकाश और अन्धकार में ही विभेद कर पाते हैं। परन्तु उच्च स्तर के प्राणियों के नेत्र अत्यधिक विकसित होते हैं, जिसके द्वारा वे केवल वस्तु के आकार एवं स्थिति ही नहीं उसके वास्तविक रंगों को भी देख सकती है। जहां तक मानव नेत्र का सवाल है, वह तो सर्वाधिक विकसित होता है।

मानव नेत्र (चित्र - 2) लगभग गोलाकार होता है जो खोपड़ी की हड्डियों से बने नेत्र के कोटर में स्थित होता है जिसे मांसेपेशियों की सहायता से इधर उधर घुमाया जा सकता है। मानव नेत्र की कार्यविधि समझने के लिए इसके प्रमुख अंगों की रचना पर ध्यान देना आवश्यक है।



चित्र - 2 : मानव नेत्र

(i) दृढ़ पटल

आँख के गोले के ऊपरी मोटे आवरण को श्वेत पटल या दृढ़ पटल कहते हैं। यह तंतुमय संयोजी ऊतकों का बना होता है।

(ii) कॉर्निया

नेत्र का यह बाहरी भाग कॉनिया कहलाता है। प्रकाश की किरणें इसी भाग से होकर आँख के अन्दर जाती है।

(iii) रक्तक

दृढ़ पटल से चिपके हुए गहरे भूरे रंग की झिल्ली रक्तक पटल कहलाती है। रक्त के अपने गहरे रंग के कारण यह आँख के प्रकाश को अवशोषित कर लेती है। इसके द्वारा किसी प्रकार का आंतरिक परावर्तन सम्भव नहीं होता है।

कॉर्निया के पीछे एक पर्दा दिखाई पड़ता है जिसे परितारिका या आइरिस कहते हैं। आइरिस एक अपारदर्शी डायफ्राम का कार्य करती है जिसके अभिमुख को तारा या पुतली कहा जाता है। आइरिस में लगी विभिन्न पेशियों के सिकुड़ने व फैलने से पुतली घट-बढ़ जाती है। इस प्रकार प्रकाश की निश्चित मात्रा ही गोलक में प्रवेश करती है।

(iv) दृष्टि पटल

नेत्र गोलक का भीतरी स्तर रेटिना कहलाता है। यह भाग अद्र्धपारदर्शी परन्तु अत्यधिक सुग्राही होता है तथा स्नायु रेशों और रक्त कोशिकाओं का बना होता है। रेटिना में दृष्टि शंकु (Cones) व छड़ें (Rods) पाए जाते हैं। शंकुओं द्वारा वस्तुओं में रंगों का भेद जाना जाता है तथा छड़ें प्रकाश की तेजी अर्थात् अंधेरे और उजाले में अन्तर बताते हैं। रेटिना की भीतरी सतह पर एक गोल पीला धब्बा होता है जिसे पीत बिन्दु कहते हैं। इसके केन्द्र में मध्य-गर्त (Fovea Centralis) नामक एक छोटा गढ्डा होता है। ये रेटिना का सबसे अधिक सूक्ष्मग्राही भाग होता है। रेटिना में जिस स्थान पर प्रकाश तंत्रिका (Optic nerves) प्रवेश करती है, वह स्थान अन्ध बिन्दु कहलाता है। इस भाग पर पड़ने वाला प्रकाश किसी प्रकार का

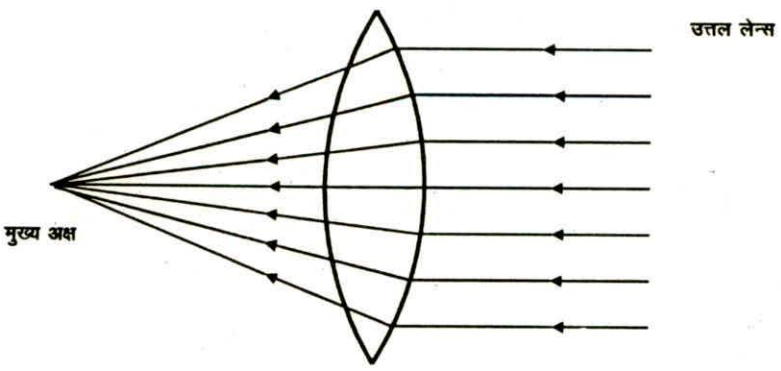
उद्दीपन उत्पन्न नहीं कर पाता है, परिणामस्वरूप यहां पर किसी वस्तु का अभिज्ञान नहीं हो पाता इसलिए इसे अन्ध बिन्दु कहते हैं।

(v) नेत्र लेंस

नेत्र का लेंस उत्तल लेंस है, जिसका बाहर वाला तल अधिक वक्रता त्रिज्या तथा अंदर वाला तल कम वक्रता त्रिज्या वाला होता है। मांसपेशियों की सहायता से नेत्र को थोड़ा-सा मोटा या पतला करके नेत्र लेंस की फोकस दूरी में अल्प परिवर्तन किया जा सकता है। नेत्र के इसी प्राकृतिक लेंस को आधार मानकर वैज्ञानिकों ने विभिन्न प्रकार के लेंसों एवं सूक्ष्मदर्शियों का निर्माण किया।

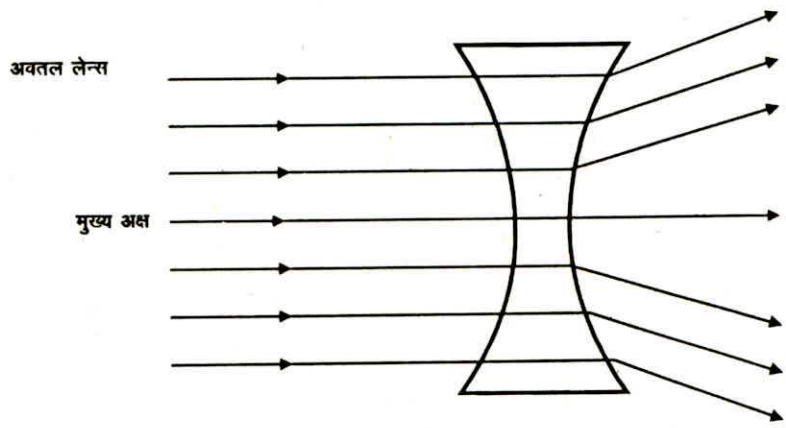
लेंस

लेंस (Lens) एक ऐसा समांग पारदर्शी माध्यम होता है, जो दो वक्र पृष्ठों से घिरा होता है। वक्र पृष्ठ गोलीय (Spherical), बेलनाकार (cylindrical) और परवलयाकार (Paraboloidal) हो सकते हैं। लेंस मुख्यतः दो प्रकार के होते हैं (चित्र - 3) जो लेंस बीच में मोटे तथा किनारों पर पतले होते हैं उन्हें उत्तल लेंस (Convex Lens) कहते हैं। इसके विपरीत जो लेंस बीच में पतले तथा किनारे पर मोटे होते हैं वे अवतल लेंस (Concave Lens) कहलाते हैं।



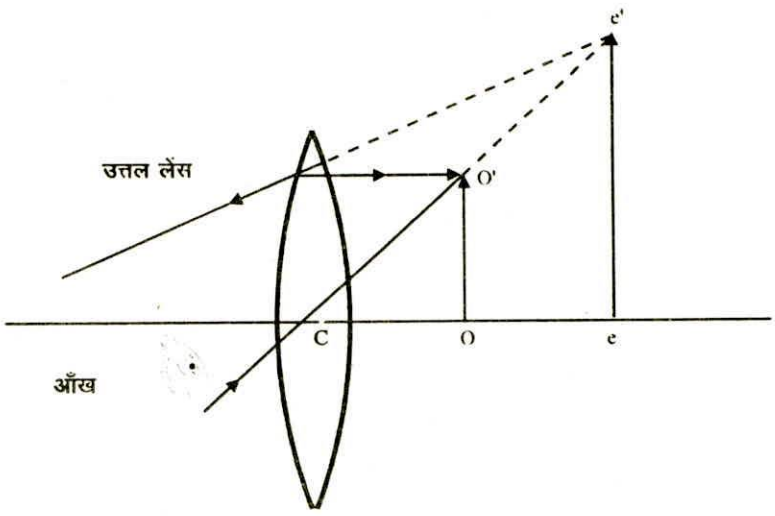
चित्र - 3 : अभिसारी प्रक्रिया

लेंस की विस्तृत संरचना इस प्रकार समझी जा सकती है। लेंस कांच के अनेक छोटे-छोटे प्रिज्मों से मिलकर बना होता है जो एक-दूसरे पर रक्खे होते हैं। उत्तल लेंस में इन प्रिज्मों के आधार मुख्य अक्ष से बाहर की ओर होते हैं, तथा अवतल लेंस में अन्दर की ओर। कोई भी प्रकाश किरण प्रिज्म से टकराने के बाद, दोनों पृष्ठों से अपवर्तित होकर लेंस के मुख्य अक्ष की ओर मुड़ जाती है। प्रकाश कोण का यह विचलन प्रिज्म का कोण बढ़ाने पर बढ़ता है। अतः उत्तल लेंस पर गिरने वाली किरणें प्रिज्मों के दोनों पृष्ठों से अपवर्तित होकर लेंस के मुख्य अक्ष की ओर मुड़ जाती हैं। मुख्य अक्ष से दूरी पर स्थित प्रिज्म का कोण बड़ा होता है तथा प्रकाश का विचलन भी अधिक होता है। अन्त में प्रकाश किरणें विभिन्न कोणों से मुड़कर एक बिन्दु पर एकत्रित हो जाती हैं। इस तरह उत्तल लेंस प्रकाश किरणों को एक बिन्दु पर एकत्रित करता है। इसीलिए उत्तल लेंस को अभिसारी लेंस (चित्र-3) (Converging Lens) (चित्र-4) कहते हैं। इसके विपरीत अवतल लेंस पर गिरने वाली किरणें लेंस के दोनों पृष्ठों से अपवर्तित होकर मुख्य अक्ष से बाहर की ओर विभिन्न कोणों पर मुड़ जाती हैं और फैलकर बहुत दूरी तक चली जाती हैं। अवतल लेंस प्रकाश किरणों को फैला देता है। इसलिए इसे अपसारी लेंस (Diverging Lens) कहते हैं।



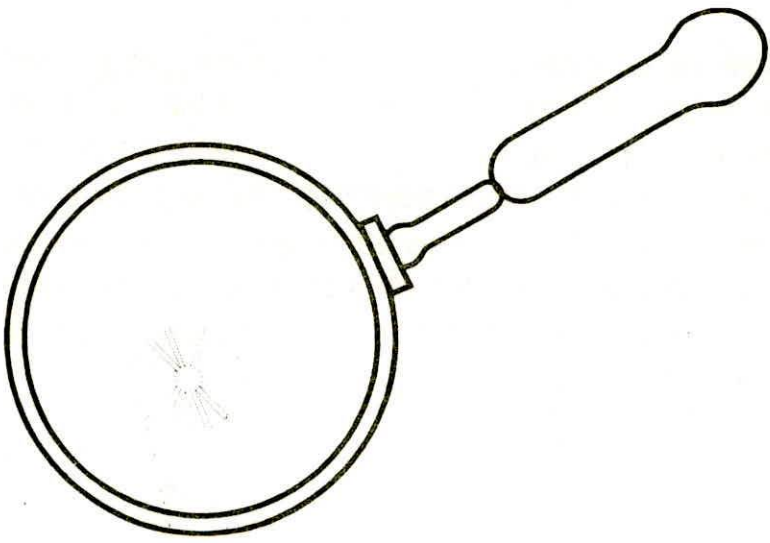
चित्र - 4 : अपसारी अभिक्रिया

आवर्धक लेंस (चित्र - 5, 6) एक अति सरल सूक्ष्मदर्शी है, जिसमें किसी वस्तु का आवर्धन लगभग 10x कर दिया जाता है। 10x का तात्पर्य है, कि वस्तु की लम्बाई एवं चौड़ाई को दस गुना बढ़ा देना। इसकी सहायता से किसी वस्तु की बाह्य संरचना का अध्ययन किया जाता है। पृथ्वी पर असंख्य सूक्ष्म जीव एवं वनस्पतियां हैं जिन्हें खाली आँख से नहीं देखा जा सकता है। इनका अध्ययन केवल सूक्ष्मदर्शी से ही सम्भव है। इसी आवश्यकता के परिणामस्वरूप सूक्ष्मदर्शी का आविष्कार हुआ। इसकी सहायता से सूक्ष्म से सूक्ष्म वस्तुओं को उनके आवर्धित आकार में देखा जा सकता है।



चित्र - 5 : आवर्धक लेंस की कार्यविधि

2600HRD/03-2



चित्र - 6 : आवर्धक लेंस

अध्याय - 2

सूक्ष्मदर्शी

सूक्ष्मदर्शी के आविष्कार की कहानी बड़ी रुचिकर है। कमजोर दृष्टि के लोग आज से लगभग 2000 वर्ष पूर्व पहली शताब्दी में, पढ़ने के लिए गोल, पारदर्शी वस्तु में पानी भर कर लेंस के रूप में प्रयुक्त करते थे। जैकेरियस जैनसन ने 1590 में सूक्ष्मदर्शी का उपयोग आरम्भ किया और इन्होंने ही पहला सूक्ष्मदर्शी बनाया। गैलेलियो ने 1632 के लगभग पता लगाया कि लेंसों को विभिन्न दूरियों में व्यवस्थित करके एक अच्छा सूक्ष्मदर्शी बनाया जा सकता है। लीवेनहॉक ने 1674 में लेंसों को रगड़ कर और चमकाकर उनकी आवर्धन क्षमता बढ़ाई। 1710 में विलसन ने एक प्रकाशीय सूक्ष्मदर्शी बनाया। शीघ्र ही सूक्ष्मदर्शी का विज्ञान के क्षेत्र में महत्वपूर्ण स्थान बन गया। किन्तु अभी तक सूक्ष्मदर्शी की सहायता से जो प्रतिबिम्ब बनते थे वे अवर्णक नहीं थे, उनमें रंग एवं कोनों पर धुंधलापन दिखाई देता था। जे० जे० लिस्टर और लिओनार्ड इयुलर ने उन्हें अवर्णक बनाने में महत्वपूर्ण कार्य किए।

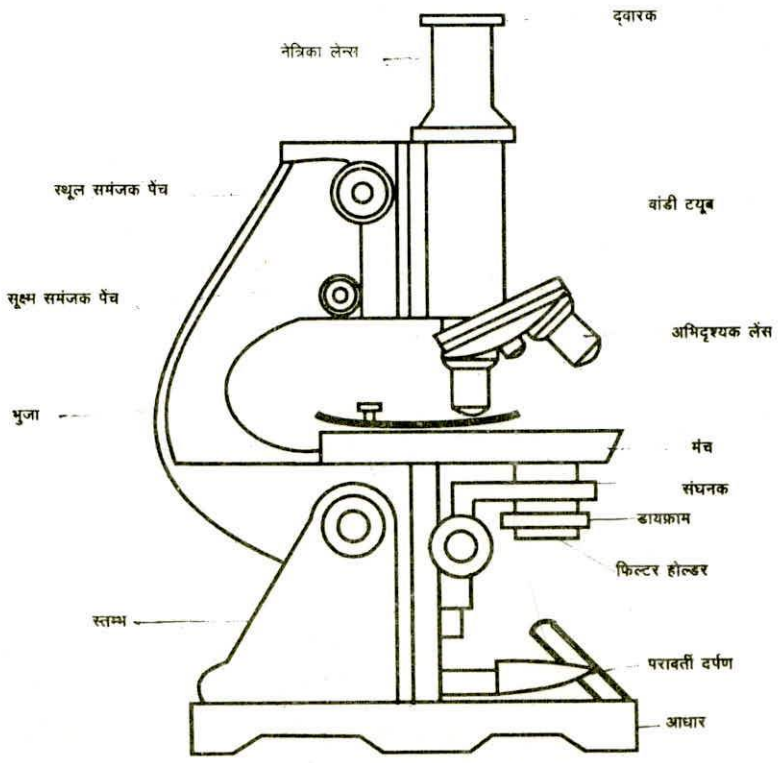
(क) पूर्ण विवरण

पर्याप्त मात्रा में प्रकाश देने पर, बिना किसी अन्य सहायता के मानव नेत्र 0.2 मि०मी० दूरी पर स्थित अलग-अलग बिन्दुओं को विभेदित कर सकता है। इसे आँख की विभेदन क्षमता कहते हैं। यदि ये बिन्दु 0.2 मि०मी० से अधिक निकट है तो एक ही बिन्दु दिखाई पड़ता है। इन बिन्दुओं को स्पष्ट रूप से अलग-अलग देखने के लिए लेंसों को जोड़कर एक यंत्र बनाया गया, जिसे सूक्ष्मदर्शी कहते हैं। प्रकाशीय सूक्ष्मदर्शी में वस्तु या प्रतिदर्श के लिए प्रकाश किरणों को दर्पण से परावर्तित करके वस्तु के पृष्ठ भाग में डाला जाता है, जिसे लेंस या लेंस युग्मों द्वारा देखा जाता है। यह प्रतिबिम्ब वास्तविक होता है, क्योंकि इसमें दृश्य (विभिन्न रंगों के) प्रकाश का प्रयोग किया जाता है। दृश्य प्रकाश का गुण तरंगों-

जैसा होता है, और उसकी तरंग दैर्ध्य (λ) 400 — 800 नेनौमीटर होती है। प्रकाशीय सूक्ष्मदर्शी से 200 नेनौमीटर विभेदन प्राप्त किया जा सकता है। यह आवर्धन आँख से 1000 गुना अधिक होता है। {नेनौमीटर (nm) दूरी की इकाई है : 1nm = 10^{-3} nm (माइक्रोमीटर) = 10^{-6} mm (मिलीमीटर)}।

(ख) निर्माण विवरण

सामान्यतः सभी सूक्ष्मदर्शी (चित्र - 7), आधार, स्तम्भ तथा नतिसन्धि युक्त होते हैं। आधार भारी लौह धातु से बना 'U' आकार की संरचना होती है, जो सम्पूर्ण यंत्र को स्थिरता प्रदान करती है। सूक्ष्मदर्शी को मुख्यतः दो निकायों में बांटा जा सकता है — पहला यांत्रिक निकाय (तंत्र) और दूसरा प्रकाशीय निकाय (तंत्र)।



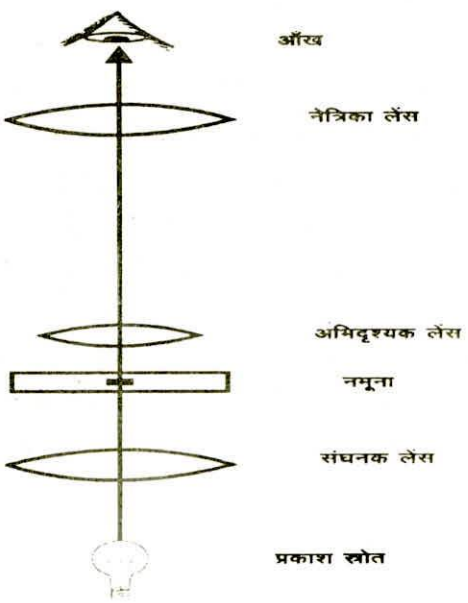
चित्र - 7 : संयुक्त सूक्ष्मदर्शी की संरचना

यांत्रिक निकाय मे अवतल दर्पण (concave mirror) प्रमुख हैं। डायफ्राम के नीचे तथा भुजा के निचले भाग में एक अवतल दर्पण जुड़ा होता है जिसे इच्छानुसार घुमाया जा सकता है। यह प्रकाश को परावर्तित करके वस्तु पर डालता है। सूक्ष्मदर्शी यंत्रों में पाई जाने वाली छोटी गोल डिब्बी के समान रचना को डायफ्राम कहते हैं, जिसमें धातु की कई छोटी-छोटी पत्तियां लगी होती हैं। इसे आगे-पीछे हटाकर छेद को छोटा या बड़ा किया जा सकता है। इस प्रकार के डायफ्राम को संग्राहक डायफ्राम कहते हैं। इसकी सहायता से प्रकाश को नियंत्रित किया जाता है, अतः यह प्रकाश नियंत्रक का कार्य करता है। बाडी ट्यूब भुजा के ऊपरी भाग में जुड़ी हुई चौड़ी नलिका होती है जिसमें नोज पीस तथा आकुलर व्यवस्थित रहते हैं।

समंजक या समायोजन पेंच (Adjustment screw) दो प्रकार के होते हैं। बड़ा पेंच (स्थूल समंजक पेंच) — यह बड़े आकार का होता है। इसकी सहायता से बाडी ट्यूब को ऊपर-नीचे किया जाता है। छोटा पेंच (सूक्ष्म समंजक पेंच) आकार में छोटा होता है तथा कुछ नीचे की ओर लगा होता है। इसकी सहायता से बॉडी ट्यूब को कम ऊपर नीचे किया जा सकता है अर्थात् वस्तु को अधिक स्पष्ट देखने के लिए इसका प्रयोग किया जाता है। बॉडी ट्यूब के निचले सिरे पर धातु की बनी एक गोल प्लेट जुड़ी होती है जिसे नोज पीस कहते हैं। इसके निचले तल पर अभिदृश्य लेंस (Objective Lens) जोड़ने के लिए तीन चूड़ीदार छिद्र होते हैं। नोज पीस को इच्छानुसार सामर्थ्य वाले अभिदृश्यक लेंस को वस्तु के सामने लाने के लिए घुमाया जा सकता है।

(ii) प्रकाश निकाय में अभिदृश्यक लेंस (चित्र - 8) प्रमुख हैं। यह बाड़ी ट्यूब के निचले सिरे से जुड़ी नोज पीस में लगे होते हैं। साधारणतया सूक्ष्मदर्शी यंत्र में दो अभिदृश्यक लेंस होते हैं। इसमें एक लेंस कम शक्ति का और दूसरा अधिक शक्ति का होता है। इन पर क्रमशः 10x और 40x अंकित होता है। इसी की सहायता से वस्तु का निरीक्षण किया जाता है। पहले कम शक्ति वाले अभिदृश्यक लेंस का उपयोग करते हैं। फिर वस्तु

को बड़े आकार में देखने के लिए अधिक शक्ति वाले लेंस का प्रयोग किया जाता है।



चित्र - 8 : संयुक्त सूक्ष्मदर्शी (रेखाचित्र)

बॉडी ट्यूब के ऊपरी सिरे से कम व्यास वाली एक नली लगी होती है जिसे आकुलर कहते हैं। इस नली को बॉडी ट्यूब के साथ ही ऊपर-नीचे किया जा सकता है। इसमें नेत्रिका लेंस लगा होता है। नेत्रिका लेंस (Eye piece), आकुलर के अन्दर खोखली नलिका में लगा एक उभयोत्तल लेंस (Biconvex Lens) होता है। नलिका की सहायता से नेत्रिका को आकुलर से अलग भी किया जा सकता है। नेत्रिका की सहायता से ही वस्तु को बड़े आकार में देखा जाता है। यह भी भिन्न-भिन्न सामर्थ्य वाले (8x या 10x) होते हैं। इसके फोकस पर क्रॉस तार (Cross Wire) लगे रहते हैं। पूरी नली को आगे-पीछे खिसकाने के लिए दन्तुर-दण्ड चक्र व्यवस्था

(Rack-Pinion arrangement) होती है। अच्छे सूक्ष्मदर्शी में लेंस अभिदृश्यक लेंस तथा नेत्रिका लेंस कई उत्तल लेंसों के संयोग से बनाये जाते हैं जिससे आवर्धित प्रतिबिम्ब में गोलीय विपथन तथा वर्ण-विपथन में दोष न रहे।

द्वारक (aperture)

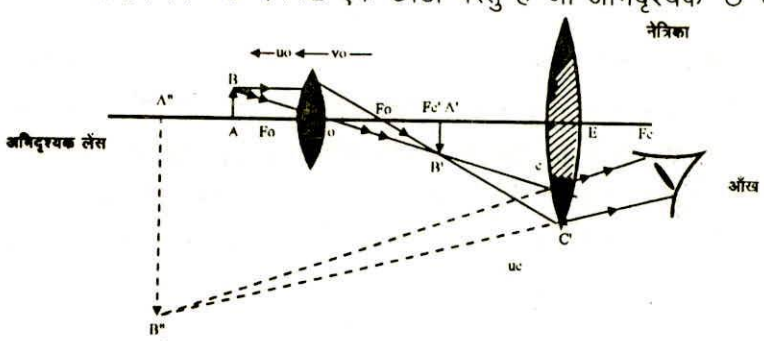
सूक्ष्मदर्शी समीप की सूक्ष्म वस्तु देखने के काम आता है, अतः यदि अभिदृश्यक का द्वारक बड़ा होगा तो वस्तु से आने वाला प्रकाश बड़े द्वारक में फैलेगा और वस्तु कम चमकीली दिखाई देगी। इसके विपरीत द्वारक छोटा होने पर वस्तु से आने वाला प्रकाश छोटे द्वारक में फैलेगा और वस्तु अधिक चमकीली दिखाई देगी।

समायोजन

पहले नेत्रिका को आगे-पीछे खिसका कर ऐसी स्थिति में रखते हैं कि उसमें देखने पर क्रॉस तार (Cross Wire) स्पष्ट दिखाई पड़े फिर वस्तु को अभिदृश्यक लेंस के ठीक नीचे रख देते हैं तथा दन्तुर दन्ड चक्र व्यवस्था द्वारा पूरी नली को इतना खिसकाते हैं कि वस्तु का प्रतिबिम्ब क्रॉस तार पर बने प्रतिबिम्ब और क्रॉस तार में लम्बन न रहे। इस स्थिति में वस्तु का प्रतिबिम्ब स्पष्ट दिखाई देता है।

प्रतिबिम्ब का बनाना

माना चित्र - 9 में A B एक छोटी वस्तु है जो अभिदृश्यक 'O' के



चित्र - 9 : संयुक्त सूक्ष्मदर्शी की कार्यविधि

प्रथम फोकस Fo' से कुछ बाहर रखी है। A' B' का O द्वारा वास्तविक, उल्टा तथा बड़ा प्रतिबिम्ब A' B' बनता है। यह प्रतिबिम्ब नेत्रिका E व उसके प्रथम फोकस Fe' के बीच में स्थित है तथा नेत्रिका के लिए वस्तु का कार्य करता है। नेत्रिका A' B' का आभासी, सीधा तथा बहुत बड़ा A" B" प्रतिबिम्ब बनाती है। B" की स्थिति ज्ञात करने के लिए B से दो विभिन्न किरणें (BC तथा BC') ली गई है। इनमें से मुख्य अक्ष के समानान्तर चलने वाली किरण E से निकलने पर उसके द्वितीय फोकस Fe से होकर जाती है। दूसरी किरण जो E के प्रकाशिक केन्द्र से गुजरती है सीधी चली जाती है। वे किरणें पीछे बढ़ाने पर B" पर मिलती हैं। प्रतिबिम्ब A" B" प्रायः स्पष्ट दृष्टि की न्यूनतम दूरी पर बनता है। यद्यपि इसे इस स्थिति तथा अनन्तता के बीच कहीं भी बनाया जा सकता है।

इस सूक्ष्मदर्शी का उपयोग मुख्य रूप से प्रयोगशालाओं में होता है। इसमें अधिकतम 1500 गुना आवर्धन प्राप्त हो सकता है। यदि अभिदृश्यक और प्रतिदर्शी के मध्य तेल भरकर प्रयोग किया जाए, तो सम्भवतः 2000 गुना आवर्धन प्राप्त हो सकता है। इसकी सहायता से जीव-जन्तु, सूक्ष्म वनस्पतियों, जीवाणुओं की कोशिकीय रचना, ऊतक और धातुओं की ऊपरी सतह आदि का अध्ययन किया जाता है।

(ग) मूल सिद्धांत

प्रकाशीय सूक्ष्मदर्शी में प्रकाश का मुख्य स्रोत दृश्य प्रकाश किरणें होती हैं। इन प्रकाश किरणों का स्वभाव तरंग-जैसा होता है तथा इनकी तरंग दैर्ध्य 400-800 नेनौमीटर होती है। जिस माध्यम में वस्तु को रखकर देखा जाता है वहां वायु होती है। इसमें प्रयुक्त होने वाले लेंस कांच के बने होते हैं। वस्तु का यांत्रिक रूप से फोकस किया जाता है। प्रतिबिम्ब सीधा दिखाई देता है, जिसका आवर्धन 5-1000x तक हो सकता है। प्रकाशीय सूक्ष्मदर्शी की विभेदन क्षमता 200 Mm तक होती है। इस सूक्ष्मदर्शी यंत्र की सहायता से किसी भी वस्तु के आन्तरिक ऊतकों, विभिन्न प्रकार की कोशिकाओं एवं जीवाणु कोशिका की संरचना के

विषय में अध्ययन किया जाता है, जिनका आकार 0.1 mm (मिमी०) से 10mm (माइक्रोमीटर) होता है। मूलरूप से इसी सिद्धांत पर सभी प्रकार के सूक्ष्मदर्शी कार्य करते हैं।

दूरदर्शी और सूक्ष्मदर्शी में यह समानता है कि दोनों ही दर्शन कोण बढ़ाते हैं, अतः इन यंत्रों की क्षमता इनके द्वारा दर्शन कोण बढ़ाने की क्षमता से नापी जाती है। इसे यंत्र की आवर्धन क्षमता यंत्र से बने प्रतिबिम्ब द्वारा, आँख पर बनने वाले दर्शन कोण तथा बिना यंत्र के, केवल आँख से देखने पर वस्तु द्वारा बने दर्शन कोण के अनुपात के बराबर होती है।

आवर्धन क्षमता

सूक्ष्मदर्शी की आवर्धन क्षमता, अन्तिम, प्रतिबिम्ब द्वारा आँख पर बनने वाला दर्शन कोण तथा वस्तु द्वारा आँख पर बने दर्शन कोण (जबकि वस्तु स्पष्ट दृष्टि की न्यूनतम दूरी पर हो तथा सीधे देखी जा रही है) के ज्ञात होने पर ज्ञात हो सकती है।

चित्र सं० - 9 में अन्तिम प्रतिबिम्ब A"B" द्वारा आँख पर बनने वाला कोण यदि β हो तथा वस्तु आँख से स्पष्ट दृष्टि की न्यूनतम दूरी 'D' पर हो तथा α कोण बनाती हो तो सूक्ष्मदर्शी कोणीय आवर्धन म = β / α होगा।

चूंकि वस्तु छोटी है अतः α व β भी छोटे होंगे तब

$$\beta = \frac{\text{अ}'\ \text{ब}'}{\text{इ}\ \text{अ}'}$$

$$\lambda = \text{स्पज्या}\ \alpha = \frac{\text{अ}'\text{ब}'}{\text{द}}$$

$$\therefore \text{म} = \frac{\beta}{\alpha} = \frac{\text{अ}'\text{ब}' / \text{इ}\ \text{अ}'}{\text{अ ब} / \text{द}}$$

यदि वस्तु अ' ब' तथा प्रतिबिम्ब अ' ब' की अभिदृश्यक 'ओ' से दूरियां 'यू ओ' व 'वी ओ' हों तो (उचित चिन्ह देने पर) —

$$\text{आवर्धन का सूत्र} = \frac{\text{अ}'\text{ब}'}{\text{अ ब}} — \frac{+\text{वी ओ}}{-\text{यू ओ}}$$

इसी प्रकार यदि नेत्रिका से अ'ब' की दूरी 'यू इ' हो तो ई अ = - यू इ

अतः उपरोक्त समीकरण से आवर्धन क्षमता

$$\text{म} = \left(\frac{\text{वीओ}}{\text{यूओ}}\ \frac{-\text{द}}{-\text{यूइ}}\right) = \frac{-\text{वीओ}}{\text{यूओ}} \left(\frac{\text{द}}{\text{यू इ}}\right)$$

प्रकाशिक यंत्रों की विभेदन क्षमता (Resolving Power of Optical Instrument)

विभेदन क्षमता की अवधारणा :जब किसी बिन्दु से चलने वाला प्रकाश किसी प्रकाशिक यंत्र से गुजरता है तो एक धब्बा-सा प्राप्त होता है जिसे विवर्तन चित्र (Diffraction pattern) कहते हैं। ऐसा इसलिए होता है क्योंकि प्रकाश तरंग गति में चलता है। यदि विवर्तन चित्रों में थोड़ा ही व्यापन हो, तो प्रकाश यंत्र से देखने पर वस्तुएं अलग-अलग दिखाई देती हैं। इस स्थिति में प्रकाश यंत्र दो बिन्दुओं में विभेदन के लिए सक्षम होता है। यदि विवर्तन चित्रों में व्यापन अधिक होता है तो दोनों वस्तुएं अलग-अलग न दिखाई देकर केवल एक ही दिखाई देती है, इस समय प्रकाश यंत्र विभेदन नहीं कर पाता। अतः किसी प्रकाशित यंत्र द्वारा दो निकटतम बिन्दुओं के प्रतिबिम्बों को अलग-अलग करने की क्षमता को "विभेदन क्षमता" कहते हैं।

आँख भी प्रकाशिक यंत्र की तरह व्यवहार करती है। यही कारण है कि यदि आँख के सामने दो छोटी वस्तुएं अति निकट रक्खी गई हों तो हम उन्हें सदैव अलग-अलग स्पष्ट देख सकें यह आवश्यक नहीं है। इसे एक प्रयोग द्वारा स्पष्ट समझा सकते हैं। माना कि हमारी आँख के सामने दीवार पर पेन्सिल से 2.2 मि०मी० के अन्तर पर कोई समान्तर रेखाएं

खींची गई हैं। अगर हम दीवार के निकट जाते हैं तो सभी रेखाएं स्पष्ट दिखाई देती हैं। परन्तु धीरे-धीरे दीवार से दूर हटने पर ये रेखाएं एक साथ जुड़ जाती हैं। इसका कारण यह है कि दीवार से दूर हटने पर किन्हीं दो रेखाओं द्वारा आँख पर बनने वाला कोण घटने लगता है। इससे स्पष्ट होता है कि वस्तु का अलग-अलग दिखाई देना, उनके द्वारा आँख पर बने कोण पर निर्भर करता है। प्रयोग द्वारा देखा गया कि यदि यह कोण 1 मिनट $(1/60)^0$ छोटा है तो रेखाएं स्पष्ट और अलग-अलग नहीं दिखाई देंगी। इस कोण को आँख की विभेदन सीमा कहेंगे। पास रक्खी वस्तुओं के अलग-अलग प्रतिबिम्ब बनाने की भी एक सीमा होती है। दो वस्तुओं के बीच की वह न्यूनतम दूरी जबकि वस्तुएं यंत्र द्वारा अलग-अलग दिखाई दे सकें, उस प्रकाशिक यंत्र की विभेदन सीमा (Limit of Resolution) कहलाती है। इन यंत्रों की क्षमता अधिक तब मानी जाती है जब उनकी विभेदन सीमा कम हो।

$$\text{सूक्ष्मदर्शी की विभेदन सीमा} \quad \alpha \quad \frac{\lambda}{\text{शंकु कोण}}$$

यदि सूक्ष्मदर्शी के अभिदृश्यक द्वारा वस्तु पर बना शंकु कोण 2 α हो तो सूक्ष्मदर्शी की विभेदन सीमा

$$\alpha \quad \frac{\lambda}{2\alpha} \quad = \quad \frac{1.22\lambda}{2\,\text{Sin}\alpha}$$

यदि वस्तु व अभिदृश्यक के बीच वायु न होकर, n अपवर्तनांक का द्रव हो, तो सूक्ष्मदर्शी की विभेदन सीमा

$$= \quad \frac{1.22\lambda}{2n\text{Sin}\alpha}$$

(घ) तरह-तरह के सूक्ष्मदर्शी एवं उनका महत्वपूर्ण उपयोग

(i) **प्रकाशीय सूक्ष्मदर्शी**

इस सूक्ष्मदर्शी में वस्तु या प्रतिदर्श के लिए प्रकाश किरणों को दर्पण से परावर्तित करके वस्तु के पृष्ठ भाग पर डाला जाता है, जिसे लेंस या लेंस युग्मों द्वारा देखा जाता है। ये निम्नलिखित प्रकार के होते हैं :

(अ) **सरल विच्छेदन सूक्ष्मदर्शी** (Simple Dissecting Microscope) : प्रयोगशाला में सूक्ष्म जीवों एवं वनस्पतियों के अध्ययन तथा उनके अंगों के विच्छेदन के लिए इस प्रकार के सूक्ष्मदर्शी का प्रयोग करते हैं। इस सूक्ष्मदर्शी की सहायता से किसी जन्तु उसके अंगों या पादप रचना को उसकी वास्तविक आकृति से 4 से 40 गुना बड़े आवर्धित रूप में देखा जा सकता है।

सरल विच्छेदन सूक्ष्मदर्शी के उपयोग की विधि : जब किसी सूक्ष्म प्राणी अथवा वनस्पतियों का विच्छेदन करना हो तो उसे एक मोम से भरी पैट्रीडिश के मध्य मोम की सहायता से स्थिर करके पेट्रीडिश को मंच पर रख देते हैं। चल भुजा से लगी नेत्रक वाली भुजा को आवश्यकतानुसार ठीक करके वस्तु के ऊपर नेत्रक को लाते हैं और समंजक पेंच (Adjustment Screw) द्वारा नेत्रक को ऊपर-नीचे करके फोकस करते हैं ताकि वस्तु का साफ आवर्धित और स्पष्ट प्रतिबिम्ब प्राप्त हो सके। जब किसी स्लाइड का अध्ययन करना हो तो स्लाइड को मंच क्लिप (Stage Clip) की सहायता से चल भुजा से लगी नेत्रक वाली भुजा को आवश्यकतानुसार ठीक करके नेत्रक को वस्तु के ऊपर लाते हैं और समंजक पेंच द्वारा नेत्र को फोकस करके वस्तु का साफ, स्पष्ट और आवर्धित प्रतिबिम्ब प्राप्त करते हैं।

(ब) **यौगिक या संयुक्त सूक्ष्मदर्शी** (Compound Microcope) : संयुक्त सूक्ष्मदर्शी वह प्रकाशिक यंत्र है जो समीप की सूक्ष्म वस्तुओं का बड़ा प्रतिबिम्ब बनाता है।

इस सूक्ष्मदर्शी का उपयोग मुख्य रूप से प्रयोगशालाओं में होता है। इसमें अधिकतम 1500 गुना आवर्धन प्राप्त हो सकता है। यदि अभिदृश्यक और प्रतिदर्शी के मध्य तेल भरकर प्रयोग किया जाए, तो सम्भवतः 1000 गुना आवर्धन प्राप्त हो सकता है। इसकी सहायता से जीव-जन्तु, सूक्ष्म वनस्पतियों, जीवाणुओं की कोशिकीय रचना ऊतक और धातुओं की ऊपरी सतह आदि का अध्ययन किया जाता है।

(स) **द्विनेत्री सूक्ष्मदर्शी :** यह संयुक्त सूक्ष्मदर्शी के समान ही होता है, परन्तु इसमें दो अभिदृश्यक लेंस इस प्रकार व्यवस्थित होते हैं कि दोनों आँखों से वस्तु दिखाई दे। प्रत्येक अभिदृश्यक और अभिनेत्रक लेंसों के साथ प्रिज्म इस तरह व्यवस्थित होते हैं कि वस्तु का सीधा आवर्धित प्रतिबिम्ब दिखाई पड़े। इसके द्वारा सूक्ष्म वनस्पतियों, पराग कण, बीजाणु, पर्णरन्ध्र तथा सूक्ष्म जीवों का अध्ययन करते हैं।

(ii) **एक्स किरण सूक्ष्मदर्शी**

इसमें एक्स किरणें तथा विद्युत चुम्बकीय लेंसों या गोलीय दर्पण का उपयोग होता है। फिल्म पर प्रतिबिम्ब बनते हैं। इसकी सहायता से डी० एन० ए०, हीमोग्लोबीन और प्रोटीन आदि की आणविक संरचना ज्ञात की जा सकती है।

(iii) **(अल्ट्रा) अति सूक्ष्मदर्शी**

जिगमॉण्डी ने 1900 में संयुक्त सूक्ष्मदर्शी को सुधारकर इसका आविष्कार किया। इसमें सशक्त प्रकाश किरणों को मंच के समानान्तर अर्थात् दृष्टि की दिशा में लम्बवत् भेजा जाता है। सूक्ष्म जीवों एवं वनस्पतियों के अध्ययन में इसका प्रयोग किया जाता है।

(iv) **पराबैंगनी सूक्ष्मदर्शी**

इसमें कम तरंग दैर्ध्य वाली प्रकाश किरणों का तथा क्वार्ट्ज या लिथियम फ्लोराइड के लेंसों का उपयोग होता है। इन किरणों के अदृश्य होने के कारण प्रतिबिम्ब को सीधा नहीं देखा जा सकता वरन् उनकी चित्र लिया जाता है, या टेलीविजन कैमरे से सम्बन्धित करके पर्दे पर प्रतिदर्श

को जीवित रूप में देखा जा सकता है। इसकी आवर्धन क्षमता 6000 गुना है। कोशिका के विभिन्न भागों, विशेषकर न्यूक्लिक एसिड के गुणात्मक विश्लेषण में इसका उपयोग किया जाता है।

(v) **कला-विपर्यासी सूक्ष्मदर्शी**

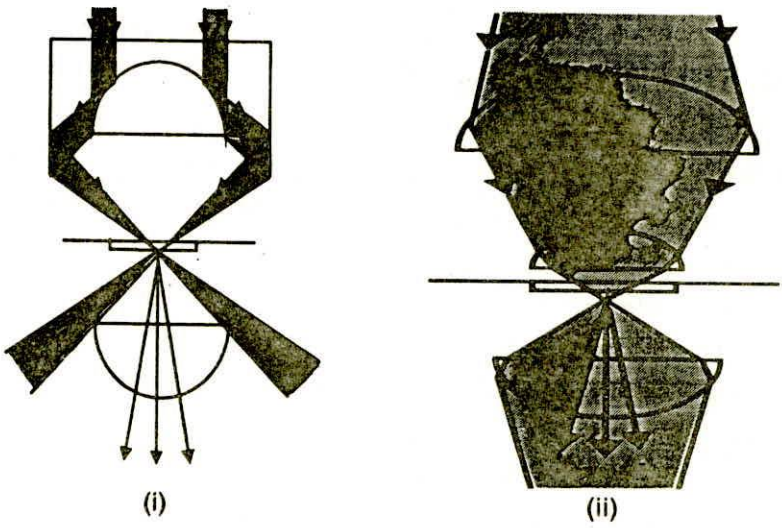
इस सूक्ष्मदर्शी में प्रकाश को एक वस्तु से दूसरी वस्तु की ओर भेजा जाता है। ये वस्तुएं अलग-अलग मोटाई की होती हैं। अतः इनका परावर्तन सूचकांक भी भिन्न-भिन्न होता है। परावर्तन सूचकांक के भिन्न होने से प्रकाश की कला परिवर्तित होती है और कहीं अधिक चमकदार तथा कहीं कम चमकदार दिखाई पड़ती है। सामान्य संयुक्त सूक्ष्मदर्शी में कला-विपर्यासी अभिनेत्रक या लेंस लगाकर उसे कला-विपर्यासी सूक्ष्मदर्शी बनाया जा सकता है। इस सूक्ष्मदर्शी का प्रयोग कोशिका के अध्ययन में विशेष रूप से किया जाता है।

(vi) **अप्रकाशीय सूक्ष्मदर्शी (डार्कफील्ड सूक्ष्मदर्शी)**

यह विशिष्ट संग्राही से बना एक साधारण सूक्ष्मदर्शी है, (चित्र - 10) जिसके संग्राही के मध्य में एक 'अन्ध बिन्दु' होता है। इस सूक्ष्मदर्शी द्वारा वस्तु केवल तिरछी पड़ने वाली प्रकाश किरणों में ही देखी जा सकती हैं। अप्रकाशीय सूक्ष्मदर्शी की सहायता से कोशिका के विभिन्न अंगों को स्पष्ट रूप से देखा जा सकता है।

(vii) **प्रतिदीप्ति सूक्ष्मदर्शी**

यह पराबैंगनी सूक्ष्मदर्शी (चित्र-11) के समान ही है। इसमें पराबैंगनी किरणों (उच्च तरंग दैर्ध्य 3500 से 4000 A^0 (एंगस्ट्राम) का प्रयोग होता है। कुछ रासायनिक यौगिक पराबैंगनी किरणों से उत्तेजित होकर दृश्य प्रकाश का उत्सर्जन करते हैं। यह क्रिया प्रतिदीप्ति कहलाती है। प्रतिदर्श के रासायनिक यौगिक पराबैंगनी किरणों से उत्तेजित होकर विभिन्न प्रकार की प्रतिदीप्ति उत्पन्न करते हैं। यह प्रतिदीप्ति सामने लगे टेलीविजन कैमरे द्वारा देखी जा सकती है। यह सूक्ष्मदर्शी ऊतकों के रासायनिक अध्ययन (हिस्टोकेमेस्ट्री), जीवाणु के कोशिकीय अध्ययन में प्रयुक्त होता है।



(i) (ii)

चित्र - 10 : प्रकाश किरण मार्ग का प्रदर्शन (i) चमकदार क्षेत्र संघनक (ii) अप्रकाशीय सूक्ष्मदर्शी

अवलोकन हेतु जैव वस्तु की तैयारी

पौधों या सूक्ष्म जीवों के विभिन्न भागों की आन्तरिक संरचना का अध्ययन करने के लिए अभिरंजित अस्थाई स्लाइड तैयार की जाती है। अभिरंजित अस्थाई स्लाइड को ग्लिसरीन आरोपण भी कहा जाता है। यह निम्नलिखित चरणों में तैयार की जाती है :

(1) ऊतक का अभिरंजन

(2) अभिरंजित ऊतक का ग्लिसरीन आरोपण

(3) लेबिल लगाना

(1) **अभिरंजन** (Staining)

ऊतकों को विभिन्न रंगों में अभिरंजित करने के लिए निम्नलिखित अभिरंजकों का प्रयोग किया जाता है :

(i) सेफ्रानिन (Safranine) — यह लिग्निनयुक्त कोशिका भित्ति, केन्द्रक आदि को रंगने के लिए प्रयोग में लाई जाती है।

(ii) आयोडीन (Iodine) — मण्ड कणों (Starch grains) को रंगने के लिए आयोडीन का प्रयोग किया जाता है।

(iii) फास्टग्रीन — यह लिग्निनयुक्त कोशिका भित्ति, केन्द्रक, ऊतकों आदि को रंगने के लिए प्रयुक्त होती है।

(iv) कॉटन ब्ल्यू यह अधिकांशतः फफूंद एवं शैवाल की कोशिकाओं तथा बीजाणु आदि के अभिरंजन में प्रयुक्त होता है।

(अ) अभिरंजन या रंगना (Staining) — जैव वस्तु के किसी भाग के ऊतक के लिए उचित अभिरंजक के जलीय विलयन को वाच ग्लास या पेट्रीडिश में लिया जाता है और इसमें जैव वस्तु के ऊतक का छोटा-सा स्वच्छ भाग काट कर डाल दिया जाता है। 2 से 4 मिनट में जब ऊतक में रंग आ जाता है तो उसमें थोड़ा-सा पानी मिलाकर कुछ देर हिलाते हुए उस जल एवं अभिरंजक को बाहर गिरा देते हैं।

(ब) अभिरंजित ऊतक को धोना (Washing) — एक वाच ग्लास में स्वच्छ जल लेकर ब्रश की सहायता से अभिरंजित ऊतक को उसमें डाला जाता है, जिससे ऊतक से अभिरंजक धुल जाए। यह क्रिया दो-तीन बार दोहराई जाती है। यदि ऊतक अधिक गहरे रंग गए हों तो अम्लीय जल में उसे सावधानी से साफ किया जाता है। अब इसी ऊतक को साधारण जल में धोकर ग्लिसरीन आरोपण के लिए तैयार करते हैं।

(2) **ग्लिसरीन आरोपण** (Glycerine Mounting)

(i) अभिरंजित ऊतक के आरोपण हेतु एक स्वच्छ एवं साफ स्लाइड लेकर, स्लाइड को स्वच्छ महीन कपड़े से दोनों ओर साफ कर लेते हैं, जिससे स्लाइड पर कोई धब्बा या धूल का कण लगा न रह जाए।

(ii) आरोपण सदैव स्लाइड के मध्य भाग में होना चाहिए। आरोपण से पहले एक सादे सफेद कागज पर स्लाइड का आकार बनाकर उसके दोनों विकर्णों के संधि स्थल पर आरोपण करने से वस्तु की स्लाइड मध्य में रहती है।

(iii) स्लाइड के मध्य बिन्दु पर दो-तीन बूंद ग्लिसरीन ड्रापर से रखी जाती है।

(iv) अभिरंजित ऊतक को ब्रश की सहायता से सावधानी पूर्वक वाच ग्लास से उठाकर स्लाइड पर रखी ग्लिसरीन पर आरोपित कर कवर स्लिप से ढक दिया जाता है। इस प्रकार जैव वस्तु सूक्ष्मदर्शी में अध्ययन के लिए तैयार हो जाती है।

(3) **लेबिल लगाना**

स्लाइड में जैव वस्तु का नाम लिखकर चिपका दिया जाता है, जिससे सूक्ष्मदर्शी से देखने के समय वस्तु का नाम ज्ञात रहता है।

(छ) सूक्ष्मदर्शी की प्रयोग विधि

सूक्ष्मदर्शी का उपयोग उन वस्तुओं को देखने के लिए किया जाता है, जिन्हें हम नग्न आँखों से स्पष्ट रूप से नहीं देख सकते। इस यंत्र की सहायता से सूक्ष्म से सूक्ष्मतर वस्तु को बड़े आकार में देख सकते हैं। इसलिए इस यंत्र का उपयोग बड़ी सावधानी से करना चाहिए। सूक्ष्मदर्शी का प्रयोग निम्नलिखित ढंग से करते हैं :

- सूक्ष्मदर्शी के विभिन्न भागों को (विशेषकर नेत्रिका लेंस, अभिदृश्यक लेंस तथा अवतल दर्पण) स्वच्छ महीन कपड़े से साफ कर लेना चाहिए।
- नेत्रिका में देखते हुए दर्पण को इस प्रकार घुमाकर समायोजित किया जाए, जिससे परावर्तित प्रकाश डायफ्राम के छेद से होकर मंच के छेद से निकले।
- स्लाइड को मंच में इस प्रकार रखा जाए कि स्लाइड पर रखी वस्तु मंच के छिद्र के ठीक सामने हो।
- स्लाइड को मंच क्लिपों की सहायता से दबा कर स्थिर अवस्था में रखना चाहिए।
- स्लाइड का अध्ययन करने से पहले प्रकाश को परख लेना चाहिए। तेज धूप में देखने से आँख और स्लाइड दोनों को हानि पहुंचती है।
- नोज पीस को घुमाकर आवश्यक अभिदृश्य लेंस को वस्तु के ऊपर लाना चाहिए

26004RD/03-3

- डायफ्राम के छिद्रों की सहायता से प्रकाश की मात्रा को नियंत्रित करना चाहिए।
- दाहिनी आँख को नेत्रिका लेंस पर रखकर वस्तु को पूर्ण रूप से फोकस कर लेना चाहिए।
- स्थूल समंजक पेंच को घुमाते हुए बॉडी ट्यूब को ऊपर-नीचे खिसकाकर व्यवस्थित कर लेना चाहिए, जिससे वस्तु स्पष्ट दिखाई दें।
- यदि वस्तु की संरचना अधिक स्पष्ट न दिखाई दे तो सूक्ष्म समंजक पेंच को धीरे-धीरे घुमाकर वस्तु की स्पष्ट संरचना देखने का प्रयास करना चाहिए।
- अधिक बड़े आकार या वस्तु के किसी भाग को बड़े आकार में देखने के लिए अधिक सामर्थ्य (high power) वाले अभिदृश्यक लेंस को, नोज पीस घुमाते हुए वस्तु के सामने लाकर और पेंचों की सहायता से वस्तु के ऊपर व्यवस्थित करना चाहिए।

(ज) विज्ञान में प्रकाशीय सूक्ष्मदर्शी की प्रायोगिक अवस्थिति

प्रकाशीय सूक्ष्मदर्शी की सहायता से जैव वस्तु जैसे शैक, शैवाल, कवक आदि के साथ ही साथ जीवाणु को भी सरलतापूर्वक उसके वास्तविक स्वरूप से 1000 गुना आवर्धित रूप में देखा जा सकता है। जीवाणु, कवक तथा सूक्ष्म शैवालों की सम्पूर्ण रचना जैसे हरोद्धभिद शैक, बड़े आकार के शैवालों एवं उच्च वर्ग के पौधों की आन्तरिक संरचना के अध्ययन के लिए यह सूक्ष्मदर्शी एक अच्छा यंत्र है। कुछ बड़े आकार के पौधों (जैविक नमूनों) में लगी छोटी-छोटी संरचनाओं जैसे पत्तियों के पर्णरन्ध्र, मूल रोम, पराग कण तथा पुष्प की विभिन्न संरचनाओं को भी इस यंत्र की सहायता से देखा जा सकता है।

अध्याय - 3

क्रमवीक्षण इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी

(क) परिचय

1870 के लगभग प्रकाशीय सूक्ष्मदर्शी से 200 गुना तक आवर्धन प्राप्त किया जा सकता था अतः अति सूक्ष्म जैविक नमूनों के अध्ययन में अनेकानेक परेशानियों का सामना करना पड़ता था। इसी समय वैज्ञानिक कुछ इस तरह के यंत्र का निर्माण करना चाहते थे जिसकी सहायता से जैव वस्तु का आणविक स्तर तक अध्ययन किया जा सके। 30 अप्रैल 1897 में कैम्ब्रिज विश्वविद्यालय में कर्यरत प्रायोगिक भौतिक विज्ञान के प्रोफेसर सर जे० जे० थॉमसन ने कैथोड किरणों पर एक वार्ता प्रस्तुत कर, यह निष्कर्ष निकाला कि कैथोड किरणें ऋणात्मक आवेश वाले कण है, न कि डोलायमान इथर, जैसा कि अनेकों वैज्ञानिकों का विचार था। यह विचार ही भविष्य में इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी के निर्माण में सहायक सिद्ध हुआ।

बहुत समय तक कोई यह नहीं जानता था कि इलेक्ट्रॉन प्रकाश के नियमों का पालन करते हैं। 1923 में डि ब्रोग्ले (de broglie) ने बताया कि इलेक्ट्रॉन का व्यवहार आवेशित कण और तरंग दोनों की तरह होता है। इसी तथ्य के आधार पर जी० पी० थॉमसन (G. P. Thompson) ने इलेक्ट्रॉन का वितरण प्रारूप (diffraction patterns) समझाया, जिस शोध के लिए उन्हें 1937 का नोबेल पुरस्कार दिया गया। 1927 में हैन्स बुश्च (Hans Busch) ने गोल कुण्डली के ऊपर इलेक्ट्रॉन पुंज को डाला और देखा कि यह वैसा ही व्यवहार कर रहा है जैसा लेंस के ऊपर प्रकाश की किरणों का होता है, परन्तु इनके द्वारा प्रतिबिम्ब नहीं प्राप्त किया जा

सकता है। इसके बाद मैक्स नॉल (Max Knoll) और अर्न्स्ट रूस्का (Ernst Ruska) ने पहला चुम्बकीय लेंस बनाकर उनका परीक्षण किया। इसी लेंस का उपयोग पहले इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी को बनाने में किया गया जिसकी आवर्धन क्षमता 2×10^5 गुना थी। लगभग इसी समय ब्रूश्च (Bruche) और जोहेनसन (Johannsen) ने एक दूसरी किस्म का सूक्ष्मदर्शी बनाया, जिसमें उन्होंने विद्युत स्थैतिक (Electrostâtic) लेंसों का प्रयोग किया। 1938/39 से 1944 तक सीमेन्स, (Siemens) द्वारा प्रथम चरण के व्यावसायिक इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी बनाए गए।

इसके तुरन्त बाद ए० ई० जी० (A E G) प्रयोगशाला ने विसर्जन सूक्ष्मदर्शी और वैद्युत स्थैतिक लेंस के साथ-साथ गोलीय एवं वर्णीय विपथन जैसी समस्याओं को दूर कर इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी के विकास में सहयोग दिया। स्यरजर (Scherzer) ने कुछ अनिवार्य शर्तों को कम करके गोलीय एवं वर्णीय विपथन को सही करने की अनेकों विधियों का विवरण प्रस्तुत किया। 1930 में मैनफ्रेड वॉन आरडन (Manfred Von Ardenne) ने इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी के परिवार में पारगत इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी और पारगत क्रमवीक्षण इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी को जोड़ा। उनकी प्रयोगशाला में 1944 में बमबारी हुई और फिर कभी वे इन योजनाओं को क्रियान्वित न कर सके। लेकिन चार्ल्स ओटले (Charles Oatley) ही वे व्यक्ति थे, जिन्होंने आज पाई जाने वाली इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी की प्रजाति को बनाये रखा।

मेट्रोपॉलिटन विकर्स कम्पनी द्वारा इम्पीरियल कॉलेज लंदन की मार्टिन प्रयोगशाला को पहला व्यावसायिक सूक्ष्मदर्शी उपलब्ध कराया गया। ब्रसेल्स शहर में एल० मार्टन ने अपने घर में एक इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी बनाया तथा जैविक नमूने के प्रतिबिम्ब को ऑसमियम स्थिरक (Osmium fixative) द्वारा मुद्रित किया। ड्यूरस्ट, मिलर और क्रॉयस (Duerst, Miller and Kraise) ने रूस्का (Ruska) के सूक्ष्मदर्शी की मदद से अन्य जैविक नमूनों के प्रतिबिम्बों को उपलब्ध कराया। अगले वर्षों में विभेदन क्षमता एवं आवर्धन क्षमता को बेहतर बनाने के तरीके अपनाये

गये। भेद-प्रक्रिया को भली प्रकार समझा गया, और प्रतिबिम्ब को बेहतर बनाने में इसका उपयोग किया गया। इसके पश्चात् अमेरिका में 1937 में एन्डरसन और फिट्ज सीमोन्स (Anderson and Fitz Simmons) ने सूक्ष्मदर्शी बनाये। 1944 में रूस्का और वॉन बोरिस (Ruska & Von-Borries) द्वारा प्रतिबिम्ब का त्रिचरणीय निस्तारण किया गया। इसी समय कुछ ऐसे प्रयोग किये गये, जिससे ज्ञात हुआ कि मध्यवर्ती लेंसों का उपयोग करके वस्तु (नमूने) के प्रतिबिम्ब को अधिक स्पष्ट ढंग से प्राप्त किया गया। 1953 में पोर्टर और ब्लम (Porter and Blum) ने अल्ट्राटोम (Ultratome) की संरचना प्रस्तुत की, जिसमें काँच के चाकू की सहायता से पानी में तैरते हुए नमूने को काटा जा सकता था, और इस प्रकार अल्ट्राटोम का आविष्कार क्रमवीक्षण सूक्ष्मदर्शी के विकास में तीसरा मुख्य चरण था।

(ख) निर्माण विवरण

इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी का आविष्कार 1931 में हुआ। प्रथम औद्योगिक सूक्ष्मदर्शी 1939 में बनाया गया। इसमें इलेक्ट्रॉन पुंज तथा क्वार्टज विद्युत चुम्बकीय लेंस का उपयोग किया जाता है। इलेक्ट्रॉ। पुंज उच्च निर्वात में प्रकाश पुंज के समान ही व्यवहार करते हैं। इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी में प्रतिदर्श की जीवित अवस्था में अध्ययन नहीं किया जा सकता। इसमें इलेक्ट्रॉन विद्युत चुम्बकीय लेंसों से गुजरकर साथ लगे टेलीविजन कैमरे में आवर्धित प्रतिबिम्ब बनाते हैं।

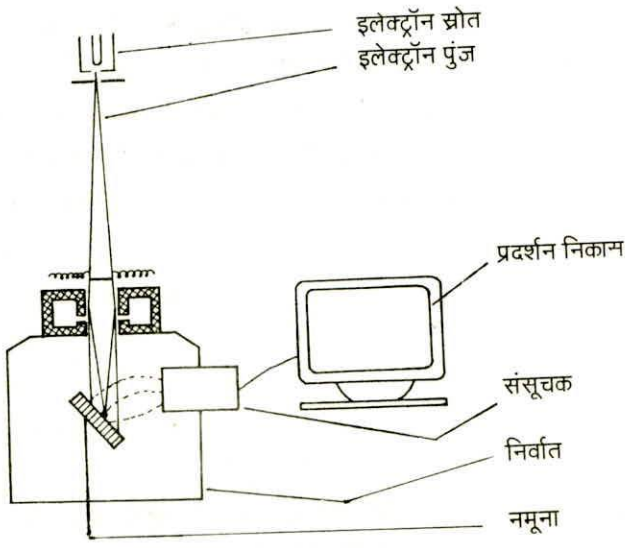
1960 के दशक में एक सशक्त इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी बनाया गया, जिसकी आवर्धन क्षमता 2×10^5 गुना थी। जी० बी० एमिस ने सूक्ष्मदर्शी में अवर्णक लेंसों का उपयोग किया। जॉन डालैन्ड ने तेलमग्न लेंसों का उपयोग आरम्भ किया। इसमें लेंस और स्लाइड के बीच में देवदार के तेल को भरा जाता है। इस विधि द्वारा शीघ्रता से अधिक प्रतिबिम्ब प्राप्त होते हैं।

क्रमवीक्षण इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी (चित्र-12) मुख्य रूप से किसी वस्तु की बाह्य सतह के अध्ययन के लिए प्रयोग में लाया जाता है। नमूने का प्रतिबिम्ब प्राप्त करने के लिए उस पर सकरा इलेक्ट्रॉन पुंज डाला जाता है। इलेक्ट्रॉन पुंज के वस्तु पर गिरने से कुछ संकेत प्राप्त होते हैं,

जिन्हें एकत्र करके, विस्तृत रूप में कैथोड किरण नलिका की सहायता से प्रदर्शित किया जाता है। क्रमवीक्षण इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी को मुख्य रूप से दो भागों में बांटा जाता है।

(1) परीक्षण निकाय (Probing System) इसमें एक इलेक्ट्रॉनिक गन लगी होती है, जिस पर क्लिप या बाल में लगाई जाने वाली पिन की तरह का टंगस्टन का तन्तु लगा होता है। इसी तन्तु को गर्म करने में इलेक्ट्रॉन पुंज उत्पन्न होता है, जिसे ऐनोड के द्वारा विसर्जित करके नमूने के बाह्य आवरण का परीक्षण किया जाता है।

गतिज वोल्टेज को बढ़ाने से (30 कि० वोल्ट तक) सूक्ष्मदर्शी की विभेदन क्षमता को बढ़ाया जा सकता है। उच्च वोल्टेज प्रतिबिम्ब के गुण पर प्रभाव डालता है तथा बड़े आकार के बिन्दु होने पर विभेदन कम होता है। नमूने पर पड़ने वाले इलेक्ट्रॉन पुंज के व्यास को बिन्दु आकार कहते हैं और बिन्दु आकार घटाने के लिए विद्युत चुम्बकीय लेंस का प्रयोग किया जाता है।



चित्र - 12 : क्रमवीक्षण इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी

(2) प्रदर्शन निकाय (Display System) इलेक्ट्रॉन पुंज जैसे ही नमूने (वस्तु) से टकराता है, अनेक संकेत उत्सर्जित होते हैं जैसे कि द्वितीयक इलेक्ट्रॉन, एक्स किरणें, पृष्ठ वितरित इलेक्ट्रॉन, आगर (Auger) इलेक्ट्रॉन आदि। विभिन्न प्रकार के संकेतक नमूने के विषय में अलग-अलग सूचनायें देते हैं।

द्वितीयक इलेक्ट्रॉन बाह्य आकारिकी के विषय में सूचनाएं देते हैं तथा एक्स किरणों द्वारा नमूने के मूल तत्वों का मात्रात्मक विश्लेषण किया जाता है। पृष्ठ वितरित इलेक्ट्रॉन नमूने की स्थलाकृति कुछ ऊँचे-नीचे स्थान के विषय में बताते हैं। इस प्रकार अलग-अलग संसूचक भिन्न-भिन्न संकेतों को एकत्र करते हैं।

(ग) मूल सिद्धांत

1920 में वैज्ञानिकों द्वारा यह ज्ञात किया गया, कि घूमते हुए इलेक्ट्रॉन (जो परमाणु के अविभाज्य अंग हैं) निर्वात में प्रकाश कण की तरह व्यवहार करते हैं। वे एक सीधी रेखा में चलते हैं। प्रकाश से उनकी तरंग दैर्ध्य लगभग 100,000 गुना कम होती है। आगे यह भी देखा गया, कि कांच के लेंस तथा दर्पण जिस तरह का व्यवहार दृश्य प्रकाश में करते हैं वैसा ही व्यवहार इलेक्ट्रॉन, विद्युत एवं चुम्बकीय क्षेत्र (विद्युत चुम्बकीय लेंस) में करते हैं।

क्रमवीक्षण इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी की विभेदन क्षमता 0.1 ηm (माइक्रोमीटर) से nm (नैनोमीटर) तक होती है। पारगत इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी में प्रकाश के स्रोत के रूप में इलेक्ट्रॉनों का प्रयोग किया जाता है, जिनकी तरंग दैर्ध्य 0.0037 nm नेनौमीटर (100 के० वी० पर) होती है। इस सूक्ष्मदर्शी में माध्यम निर्वात होता है तथा विद्युत चुम्बकीय लेंसों का प्रयोग किया जाता है, विद्युत धारा के प्रवाह से फोकस करके प्रदीप्त पर्दे पर प्रतिबिम्ब प्राप्त करते हैं। वस्तु को 500,000 या और अधिक आवर्धित प्रतिरूप में देखा जा सकता है। इस सूक्ष्मदर्शी की विभेदन क्षमता 0.2 नैनोमीटर तक होती है।

द्वितीयक इलेक्ट्रॉन संसूचक पर लगी प्लेट धनावेश के कारण अपनी सकारात्मक शक्ति से नमूने से निकले द्वितीयक इलेक्ट्रॉनों को अपनी ओर आकर्षित करती है। इस ओर से आने वाले सभी इलेक्ट्रॉनों को संसूचक एकत्र कर लेता है। उच्च धनात्मक वोल्टेज (10-12.5 किलो वोल्ट) प्रयुक्त करने से ये इलेक्ट्रॉन गतिमान होकर स्फुरणदर्शी (Scientillation) की ओर जाते है। जब इलेक्ट्रॉन स्फुरणदर्शी (Scientillation) से टकराते हैं, वे प्रकाशीय कण (Photon) उत्पन्न करते हैं। जो प्रकाशीय नली (Light Tube) से होते हुए प्रकाश गुणक तक जाते हैं। जहां पर विद्युत इलेक्ट्रॉन (Photo Electron) बनते हैं, यही विद्युत इलेक्ट्रॉन विस्तारित होकर कैथोड किरण नलिका (Display Screen) पर प्रदर्शित हो जाते हैं। इस तरह नमूना और प्रतिबिम्ब एक-दूसरे के अनुरूप बनते हैं। कैथोड किरण नलिका के इलेक्ट्रॉन पुंज की तीव्रता को अनुकूल बनाकर के द्वितीयक इलेक्ट्रॉन प्राप्त किए जाते हैं, जो प्रतिबिम्ब बनाने में सहायक होते हैं।

क्रमवीक्षण इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी में दो विभिन्न प्रकार की कैथोड किरण नलिका पाई जाती है- एक नमूने को सजीव देखने के लिए और दूसरी उनके छाया चित्रों को खींचने के लिए। नमूने के बाह्य आवरण की जांच रेखाओं द्वारा होती है। बहुत सारी रेखाएं मिलकर प्रतिबिम्ब बनाती हैं। इन रेखाओं की संख्या 100 से 2000 तक होती है, जो अलग-अलग विभेदन क्षमता (Resolving Power) प्रदान करती है। अच्छे छायाचित्रों (Photographs) को प्राप्त करने के लिए क्रमवीक्षण जांच की गति को कम कर देते हैं, और इसके लिए परीक्षण मंच (Probe) को एक स्थान पर अधिक समय के लिए स्थिर कर देते हैं। इस तरह उत्सर्जित द्वितीयक इलेक्ट्रॉनों की संख्या बढ़ जाती है। देखने के लिए तीव्र क्रमवीक्षण दूरदर्शी का उपयोग करते हैं। जिस तरह से परीक्षण मंच और नमूने के तल का कोण बदलता रहता है, संकेतक की क्षमता और भेद प्रक्रिया (Contrast) भी बदल जाती है। संसूचक को नमूने के एक तरफ रखा जाता है, ताकि

भेद (Contrast) को बढ़ाया जा सके, और अन्य स्थानों के संकेतों के संसूचक तक पहुंचने से रोका जा सके।

(घ) अवलोकन हेतु जैविक वस्तु की प्रक्रियात्मक तैयारी

(i) **प्राथमिक स्थिरीकरण**

2.5 प्रतिशत ग्लूटेराल्डिहाइड और कार्नोवॉस्की स्थिरांक (Glutaraldehyde or Karnovasky's Fixative)

धोना

0.1 एस फास्फेट प्रतिरोधक (Phosphate Buffer) से 15 मिनट में तीन बार बदल-बदल कर धोते हैं। यह प्रक्रिया 4^0 से० पर करते हैं।

(ii) पश्च स्थिरीकरण (ऐच्छिक)

1 प्रतिशत OsO_4 (ऑसमियम टेट्राक्साइड) से 4^0 से० पर दो घंटे के लिए।

धोना

0.1 एम० फॉस्फेट बफर में तीन बार 15-15 मिनट के लिए 4^0 से० ताप पर धोते हैं।

(ii) **धुलाई और निर्जलीकरण**

जिस स्थिरांक में प्रतिरोधक बनाया था, उसी का प्रयोग करके अक्रिय स्थिरांक को नमूने से अलग करते हैं, विशेष रूप से तब जब द्वितीय स्थिरीकरण ऑसमियम टेट्राक्साइड (OsO_4) से किया गया हो। ऑसमियम टेट्राक्साइड (OsO_4) उन कारकों द्वारा कम किया जा सकता है जो निर्जलीकरण की प्रक्रिया में प्रयोग होते हैं और धनीभूत होकर नमूने की बाह्य संरचना को छिपा देते हैं।

सुखाने से पहले रासायनिक रूप से स्थिर वस्तु का निर्जलीकरण कर लिया जाता है। निर्जलीकरण का उद्देश्य नमूने से जल की मात्रा को हटाने का होता है। अधिकांशतः प्रयोग में लाये जाने वाले निर्जलीकारक इथेनॉल तथा एसिटोन (Ethanol, Acetone) हैं। वस्तु के प्रारम्भिक परासरणी

क्षति को रोकने के लिए एसिटोन या इथेनॉल का तनु विलयन (30 प्रतिशत और कम मात्रा) का प्रयोग किया जाता है। निर्जलीकरण की सान्द्रता बढ़ाते हुए वस्तु को धीरे-धीरे निर्जल करते हैं। सभी चरणों को 4^0 से० ताप पर करते हैं।

30 प्रतिशत एसिटोन	—	15 मिनट
50 प्रतिशत एसिटोन	—	15 मिनट
70 प्रतिशत एसिटोन	—	15 मिनट
80 प्रतिशत एसिटोन	—	15 मिनट
90 प्रतिशत एसिटोन	—	15 मिनट
95 प्रतिशत एसिटोन	—	15 मिनट
100 प्रतिशत एसिटोन (सूखा एसिटोन)	—	15 मिनट x 2

(iii) **सुखाना**

निर्जलीकरण के पश्चात् नमूने को निम्न तीन प्रकार से सुखाया जाता है —

(अ) वायु द्वारा सुखाना।

(ब) क्रान्तिक बिन्दु पर सुखाना।

(स) जमाव बिन्दु पर सुखाना।

(अ) वायु द्वारा सुखाना

यह सुखाने की सबसे सरल विधि है, परन्तु नमूने को विकृत कर देती है। तरल गैस के पृष्ठ-तनाव द्वारा लगने वाले व्यापक बल के कारण यह नमूने को चपटा कर देती है।

(ब) क्रान्तिक बिन्दु पर सुखाना

जैविक वस्तु को सुखाने का यह अधिकांशतः प्रयुक्त होने वाला सबसे सरल एवं अच्छा तरीका है। नमूने को एसिटोन (निर्जलीकारक माध्यम) से निकाल कर सूखे निर्जल माध्यम, तरल कार्बन डाइ-ऑक्साइड या फेरान

13 में रखते हैं जो ठन्डा होता है। यह दबाव में रखा होता है। जब निर्जलीकारक एसिटोन पूरी तरह से निकल जाता है, और तरल कार्बन डाइ-ऑक्साइड के साथ मिलकर कक्ष को उस बिन्दु (क्रान्तिक बिन्दु), जहां पर सूखे माध्यम का घनत्व दोनों तरल तथा गैसीय अवस्था में एक-सा रहता है, यहां पर अवस्था-सीमा समाप्त हो जाती है। धनीभूतीकरण को रोकने के लिए कार्बन डाइ-ऑक्साइड धीरे-धीरे बाहर निकल जाती है। इस स्थिति में नमूना सूख जाता है। यह बिन्दु क्रान्तिक बिन्दु कहलाता है।

सर्वाधिक प्रयुक्त होने वाले माध्यम का क्रान्तिक बिन्दु

कार्बन डाइ-ऑक्साइड — (CO_2) 1100 (PSI) दाब पर क्रान्तिक बिन्दु 31.5^0 से०

फेरान 13 (Feron 13) - 560 PSI दाब पर क्रान्तिक बिन्दु 28.8^0 से०

नमूने को एक माध्यम से दूसरे माध्यम में स्थानान्तरित करते हुए यह सावधानी रखी जाए, कि नमूना हवा में खुला नहीं छोड़ें, क्योंकि उससे नमूना विकृत हो जाता है। सूखाने के बाद नमूने को सापेक्ष आर्द्रता के अधिक उतार-चढ़ाव से बचाना चाहिए। नमूनों को धूल से मुक्त सूखे वातावरण में रखना चाहिए। अन्त में सूखे या निर्जल नमूने को शोषित्र (Desiccator) में रखना चाहिए।

(स) जमाव बिन्दु पर सुखाना

जिस नमूने को रासायनिक रूप से स्थिर नहीं किया जा सकता तथा वह नमूना जो स्थिर न हो सके, उसे जमाव बिन्दु पर सुखाया जाता है। इस प्रक्रिया के अन्तर्गत बर्फ का प्रयोग होता है। ठण्डे निर्वात कक्ष में जमे हुए नमूने को होल्डर पर कस कर रखा जाता है। इस प्रक्रिया को

100^0 से० से प्रारम्भ करके 70^0 से० और 60^0 से० तक ले जाते हैं। इस स्थिति में कोशिका को जमाव बिन्दु पर 72 घंटे तक सुखाते हैं।

(iv) नमूने को चिपकाना या प्रतिस्थापित करना

सुखाने के बाद नमूने को जल्दी-जल्दी प्रतिस्थापित करते हैं। नमूने को एल्यूमीनियम पर्तपर्ण पर चालक पेन्ट या चिपकाने वाले टेप की सहायता से चिपका देते हैं। नमूने को चिपकाते समय निम्नलिखित बातों का ध्यान रखना चाहिए —

चालक पेन्ट (Conductive Paint) को संभालकर लगाना चाहिए, जिससे वह क्रमवीक्षण जांच करने वाली सतह पर न आए। अच्छे पेन्ट का प्रयोग करें, जो चिपकाने वाले गुण को समाप्त न करें, और वस्तु को यथास्थान चिपकाए रखें। पेन्ट इस प्रकार का हो, जो वस्तु एवं प्रतिपर्ण के मध्य अच्छा विद्युत चालन बनाए रखें। चांदी एवं तांबे के चालक पेन्ट की सहायता से बड़े नमूने सीधे-सीधे पर्तपर्ण पर लगा दिए जाते हैं। छोटे नमूनों के लिए पर्तपर्ण के द्वारा नमूने का हिस्सा दोनों तरफ से चिपकाने वाले टेप से चिपकाकर आवर्धन या द्विनेत्री सूक्ष्मदर्शी की सहायता से देखते हैं। नमूने को इस तरह रखते हैं कि जिससे देखने वाला हिस्सा अनुकूलतम रूप में प्रस्तुत हो सकें।

(v) लेप लगाकर चालकता को बढ़ाना

जैविक नमूने कमजोर विद्युत चालक होते हैं। जब उन्हें उच्च ऊर्जा इलेक्ट्रॉन पुंज से देखा जाता है, तो वे विद्युत आवेशित हो जाते हैं। यह युक्ति आवेश द्वारा प्रतिबिम्ब को विकृत कर देती है। यदि नमूने के ऊपर धातु-चालक की पतली पर्त (30-40nm) चढ़ा दी जाए तो उसकी चालकता बढ़ जाती है।

धातु की पर्त चढ़ाने से कुछ और भी गुण बढ़ जाते हैं। दुर्बल जैविक नमूने को यांत्रिक बल (शक्ति) मिलता है। नमूने की सतह से निकलने वाले द्वितीयक इलेक्ट्रॉनों की संख्या बढ़ जाती है, जिससे प्रतिबिम्ब

अधिक बेहतर और स्पष्ट बनता है। पर्त चढ़ाने में ये धातुएं अधिकतम प्रयुक्त होती है— चांदी, सोना, सोना-पैलेडियम, प्लेटिनम आदि।

पर्त मुख्यतः दो विधियों द्वारा चढ़ाई जाती है :

(i) तापीय वाष्पोत्सर्जन

(ii) स्फुरण द्वारा लेपन (Sputter/Coating)

(i) तापीय वाष्पोत्सर्जन

बहुत सारी धातुएं निर्वात में गर्म करने पर लगातार एक आणुविक स्थिति में वाष्प के रूप में उत्सर्जित होती हैं। धातु के वाष्पोत्सर्जन के लिए अधिक तापमान की आवश्यकता होती है, जिसे धीरे-धीरे ताप द्वारा प्राप्त किया जाता है।

नमूने में एक समान लेपन के लिए, उसे गोल-गोल घूमते हुए मंच में लगा देते हैं। टंगस्टन तन्तु के चारों ओर लपेटा हुआ धातु का पतला तार वाष्पोर्जित हो जाता है। कक्ष में निर्वात उत्पन्न कर देते हैं। विद्युत् धारा द्वारा टंग्स्टन के तन्तु को गर्म करते हैं। इसके बाद धातु के तन्तु के वाष्पोत्सर्जन से उसकी पतली पर्त घूमते हुए नमूने के चारों ओर एकत्र होना प्रारम्भ हो जाती है।

इस प्रक्रिया में किसी-किसी स्थान पर अधिक आवेशित कणों के एकत्र हो जाने से एक समान लेपन नहीं हो पाता, अतः तापीय वाष्पोत्सर्जन लेपन प्रक्रिया का प्रयोग कम होता है। इसकी तुलना में स्फुरण लेपन का प्रयोग अधिक किया जाता है।

(ii) स्फुरण लेपन

यह सबसे सामान्य एवं अधिक प्रयुक्त होने वाली लेपन विधि है, जो नमूने पर एक समान लेपन करती है। नमूने का वह भाग जो वाष्पोत्सर्जन की दिशा में सीधा है, और जो सीधा नहीं है, दोनों ओर समान लेपन होता है। अत;

यह विधि अधिक मान्य है। लेपन निम्नलिखित चरणों में सम्पादित होता है।

ऐनोड की तरह कार्य करने वाली, शीत आधार वाली प्लेट पर नमूने को रखते है। कैथोड से जो धातु उत्सर्जित होती है, उसको नमूने के ऊपर रखते हैं (धातु उदाहरण सोना)। उस कक्ष को निर्वातित (evacuated) कर देते हैं, जिसमें ऐनोड और कैथोड रहते हैं। अक्रिय गैस (जैसे-आर्गन) को कक्ष में प्रवाहित कर देते हैं, जिससे कक्ष निर्वातित (evacuated) हो जाता है। उच्च ऋणात्मक वोल्टेज कैथोड पर प्रवाहित करते हैं जिससे निकलने वाले चमकते हुए कण आर्गन गैस के अणुओं को आयनीकृत कर देते हैं। धन आवेशित (धनात्मक) आयन कैथोड की ओर जाते हैं, और उनसे टकराने के बाद सोने के परमाणुओं को विसर्जित करते हैं। अनेकों बार गैस के अणुओं के टकराने के कारण धातु के परमाणु अपने स्थान से हट जाते है, और अपने स्थान से हटने के बाद नमूने से विभिन्न कोणों पर टकराते हैं, जिसके कारण एक समान पतली पर्त नमूने पर लग जाती है। 35 nm (नैनोमीटर) की पतली सोने या चांदी की फिल्म को लेपन के लिए प्रयुक्त करते हैं।

लेपन की मोटाई निम्नलिखित बातों पर निर्भर करती है

- विद्युत् धारा की मात्रा
- ऐनोड और कैथोड के बीच की दूरी
- स्फुरण का समय

ब्लेजर एस सी डी ओ 20 (Blazers S C D O 20)

स्फुटर नृत्य के साथ, कैथोड पर सोने का प्रयोग करते हुए 35 nm (नैनोमीटर) की मोटी पर्त के लेपन के लिए निम्नलिखित परिस्थितियां आवश्यक हैं :

धारा	—	21.5 मि० एम्पियर
दाब	—	0.05 मिली बार (m bar)
गैस	—	आर्गन
कैथोड से ऐनोड की दूरी	—	30 मिमी०
स्फुरण का समय	—	1 मिनट

नमूने पर धातु का लेपन हो जाने के बाद वह क्रमवीक्षण जांच के लिए तैयार हो जाता है।

अभिकर्मक तैयार करना

(अ) **2.5 प्रतिशत ग्लूटेराल्डीहाइड (1000 मिली० बनाने के लिए)**

2.5 प्रतिशत ग्लूटेराल्डीहाइड, 1000 मिली० बनाने के लिए, 2.5 प्रतिशत ग्लूटेराल्डीहाइड की 100 मिली० मात्रा, 400 मिली० शुद्ध जल तथ 0.2 एम० फास्फेट बफर मिलाकर तैयारी की जाती है।

(ब) **परिष्कृत कार्नोवास्की स्थिरांक (डेविड एवं अन्य 1973) 1000 मिली०**

परिष्कृत कार्नोवास्की स्थिरांक बनाने के लिए, 0.2 एम० फास्फेट बफर या कैकोडिलेट बफर 500 मिली० तथा 1000 मिली० पैराफार्मल्डिहाइड की 40 ग्राम मात्रा को मिलाया। इसको 60° से० ताप पर घुलाते हैं और तब तक हिलाते रहते हैं जब तक पारदर्शी न हो जाए। कमरे के तापमान पर ठन्डा करते हैं। दुगुना शुद्ध जल मिलाकर उसका आयतन 960 मिली० तक कर लेते हैं। ठंडा करके 40 मिली० का 25 प्रतिशत ग्लूटेराल्डिहाइड विलयन मिलाते हैं और 4° से० पर संग्रहित करते हैं।

(स) **2 प्रतिशत ऑसमियम टेट्राऑक्साइड** (भण्डारण के लिए 4° से० पर एकत्र करते हैं)

इस अभिकर्मक की 1 ग्राम (एम्पुल) तुम्बिका में वितरण करने के लिए

1 ग्राम OsO_4 को 50 मिली० के लिए दुगुने शुद्ध जल में घोलते हैं। इसे घुलने के लिए रात भर रखते हैं। भण्डारण करने के लिए भूरे रंग की अच्छी तरह से बन्द हो जाने वाली बोतल को लेते हैं। 1 प्रतिशत OsO_4 को प्रयोग में लाते हैं। इसे बनाने के लिए बराबर आयतन का 0.2 एम फॉस्फेट बफर या काकोल्डिहाइड और 2 प्रतिशत OsO_4 (ऑसमियम टेट्राऑक्साइड) मिलाया जाता है।

(द) **0.2 एम० फॉस्फेट बफर (भण्डारण के लिए विलयन)**

यह सभी स्थिरांकों के लिए उपयोगी होता है, पर जिसमें यूरेनियम और कैल्शियम के आयन पाये जाते हैं, उनके लिए नहीं। निम्न दो 'अ' और 'ब' विलयनों को मिलाकर 0.2 एम० फास्फेट बफर बनाते हैं जिसका पी० एच० 7.2 होता है।

विलयन — 'अ' को बनाने के लिए 560 मिली० दोहरे शुद्ध जल में 17.47 ग्राम सोडियम डाइ-हाइड्रोजन आर्थोफास्फेट घोला जाता है।

विलयन — 'ब' को बनाने के लिए 1440 मिली० शुद्ध जल में 51.3 ग्राम सोडियम फास्फेट डाइबेस मिलाते हैं। अब विलयन 'अ' और विलयन 'ब' को मिलाकर 2000 मिली० 0.2 एम फास्फेट बफर बनाते हैं। इस विलयन का भण्डारण लम्बे समय के लिए कर सकते हैं। प्रयुक्त होने वाले विलयन 0.1 एम फास्फेट बफर को तैयार करने के लिए समान आयतन के 0.2 एम फास्फेट बफर और शुद्ध जल मिलाया जाता है।

(य) **0.2 एम कैकोडिलेट बफर**

यह हर प्रकार के स्थिरांकों के लिए उपयुक्त तथा सामान्य उपयोग के लिए भी बहुत अच्छा स्थिरांक माना जाता है। इसको बनाने के लिए निम्न विलयनों (अ एवं ब) को दी गई मात्रा में मिलाते हैं —

विलयन — अ = 0.4 एम० सोडियम कैकाल्डिहाइड 85.6 ग्राम प्रति लीटर पानी में $[Na_2(CH_3)_2 ASO_2 3H_20]$

विलयन — ब = 0.4 एम० (हाइड्रोक्लोरिक अम्ल) 33.2 मिली० सान्द्र (प्रतिशत) हाइड्रोक्लोरिक अम्ल प्रति लीटर पानी में

0.2 एम० कैकोडिलेट प्राप्त करने के लिए 416 मिली० पानी में 500 मिली० विलयन अ और 84 मिली० विलयन ब मिलाते हैं। इस प्रकार प्रयोग में लाया जाने वाला विलयन 0.1 एम० कैकोडिलेट बफर को 0.2 एम० कैकोडिलेट बफर में बराबर आयतन का शुद्ध जल मिलाकर बनाते हैं।

(च) विज्ञान शास्त्र में क्रमवीक्षण इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी की प्रायोगिक अवस्थिति

क्रमवीक्षण इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी की सहायता से सूक्ष्म से सूक्ष्मतर बाह्य आकृतियों का अध्ययन किया जा सकता है, जैसे — कोशिका, कोशिका के आन्तरिक भाग, जीवाणु, सूक्ष्म अणु आदि। चिकित्सा शास्त्र के लिए यह अत्यन्त महत्वपूर्ण यंत्र है क्योंकि इसकी सहायता से अणुओं का मात्रात्मक विश्लेषण सम्भव है।

अध्याय - 4

पारगत इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी

(क) परिचय

बर्लिन विश्वविद्यालय के डॉ० ई० रूस्का ने 1931 में पहला पारगत इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी बनाया। उस समय यह ज्ञात नहीं था कि यह यंत्र किस प्रकार कोशिका के अध्ययन में उपयोगी होगा? इस सूक्ष्मदर्शी की आवर्धन क्षमता प्रकाशिक सूक्ष्मदर्शी से कई हजार गुना अधिक थी। पारगत सूक्ष्मदर्शी का प्रयोग द्वितीय विश्वयुद्ध के कारण बहुत पिछड़ गया। 1945 में सूक्ष्मदर्शी के साथ अनेकों प्रयोग किए गए, जिससे उनके विकास को एक नई दिशा मिली। सूक्ष्मदर्शियों के विकास से कोशिका एवं जीवद्रव्य (साइटोप्लाज्म) के अध्ययन में एक नया अध्याय जुड़ा। सूक्ष्मदर्शी के विकास की कहानी को ई० बी० विल्सन (E. B. Wilon) ने अपनी पुस्तक "द सेल इन डेवलपमेन्ट एण्ड हेरिडिटी" (The Cell in development and heridity) में संकलित किया।

(ख) निर्माण विवरण

पारगत इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी (चित्र - 13) में मुख्यतः सूक्ष्मदर्शीय स्तम्भ, निर्वात संकाय और नियंत्रण स्तम्भ पाये जाते हैं। विद्युत वितरण इकाई विभिन्न भागों में विद्युत प्रवाहित करती है, जैसे- मुख्य इकाई के साथ-साथ इलेक्ट्रॉन गन को भी। विद्युत चुम्बकीय लेंस तथा तापक ऊष्मा प्रदान करते हैं। इसे शीतक द्वारा अति ठंडे पानी, 20 डिग्री से० पर ठंडा किया जाता है। स्तम्भ में विभिन्न बिन्दुओं पर लगे वाल्व के खुलने और बन्द होने की प्रक्रिया वायु सम्पीड़क द्वारा संचालित होती है।

प्रदीप्त निकाय (इलेक्ट्रॉन गन, संघनन लेंस), प्रतिबिम्ब निकाय (अभिदृश्यक लेंस, प्रक्षेपित लेंस) और प्रतिबिम्ब रूपान्तरण निकाय (प्रतिदीप्ति पर्दा, छायाचित्र ध्वन्यालेखन) सूक्ष्मदर्शी स्तम्भ के महत्वपूर्ण भाग हैं। इन निकायों का विवरण निम्नलिखित हैं —

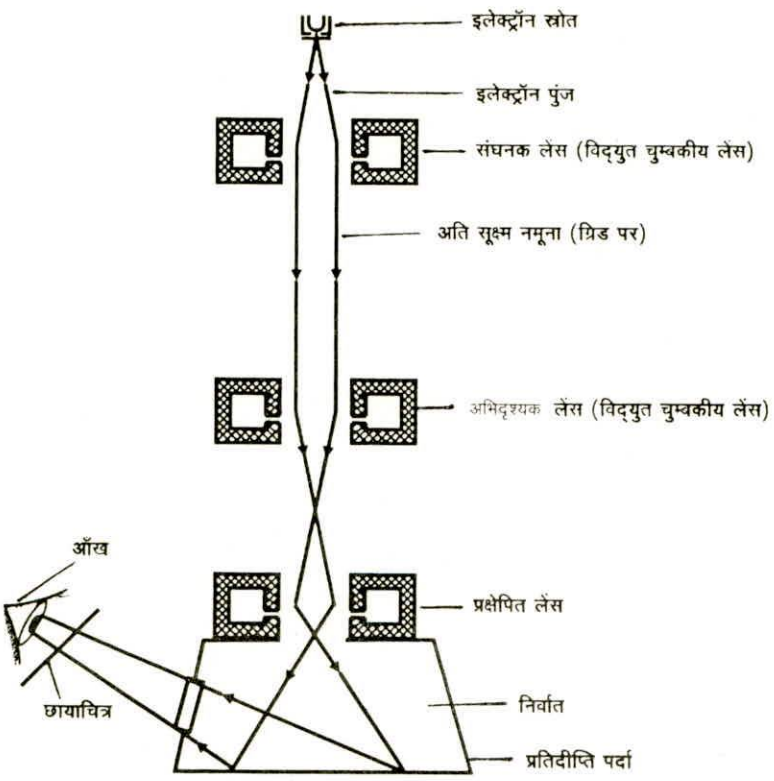
(अ) **प्रदीप्त निकाय**

यह निकाय इलेक्ट्रॉन गन तथा संघनन से मिलकर बनता है। इलेक्ट्रॉन गन इलेक्ट्रॉनों का स्रोत है जबकि संघनन इलेक्ट्रॉन पुंज की गति की तीव्रता को नियंत्रित करके नमूने की ओर संचालित करता है।

इलेक्ट्रॉन गन मुख्य रूप से व्लेहनेल्ट एसेम्बली के तन्तु कैथोड तथा एनोड से मिलकर बनी होती हैं। कैथोड तन्तु सीधा सा 'V' आकार का शुद्ध टंगस्टन का तार होता है। जब इसमें उच्च विद्युत धारा प्रवाहित करते हैं, तब तन्तु गर्म होकर इलेक्ट्रॉन उत्सर्जित करना प्रारम्भ करता है। उत्सर्जित इलेक्ट्रॉन, तन्तु के सिरे पर बादल की तरह एकत्र हो जाते हैं, जो स्तम्भ में नीचे की ओर जाते हैं। एनोड तथा कैथोड के मध्य में उच्च विद्युत धारा (40-120 किलो वोल्ट) के होने से इलेक्ट्रॉनों की गति बढ़ जाती है। संघनन लेंस के द्वारा अनुकूलतम प्रदीप्ति के साथ इलेक्ट्रॉन पुंज इलेक्ट्रॉन गन से निकल कर नमूने पर केन्द्रीभूत होता है। संघनन लेंस की नाभिकीय दूरी (फोकस लैन्थ) प्रदीप्ति की तीव्रता को घटाकर या बढ़ाकर व्यवस्थित की जाती है। छिद्र के आकार को व्यवस्थित करके यह और अधिक स्पष्ट एवं दृढ़ की जा सकती हैं। छिद्र (Aperture) को बड़ा कर देने से अधिक इलेक्ट्रॉन संघनन द्वारा निकल जाते हैं और प्रदीप्ति की तीव्रता भी अधिक हो जाती है।

(ब) **प्रतिबिम्ब निकाय**

इस निकाय में अभिदृश्यक लेंस नमूने के प्रदीप्ति भाग के प्रतिबिम्ब को प्रारम्भ से ही बड़ा कर देता है जो प्रक्षेपित लेंस (Projector Lens) के द्वारा पुनः बढ़ाया जा सकता है। अभिदृश्यक के ऊपर विभिन्न मात्रा में विद्युत धारा को प्रवाहित करके नमूने के प्रतिबिम्ब को केन्द्रीभूत (Focus)



चित्र - 13 : पारगत इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी

करते हैं। प्रक्षेपण लेंस अन्तिम प्रतिबिम्ब को पर्दे पर प्रस्तुत करता है। विभिन्न मात्रा में विद्युत धारा को प्रक्षेपित लेंस में प्रवाहित करने से प्रस्तुत प्रतिबिम्ब के आकार में आवर्धन भी भिन्न-भिन्न होता है।

(स) **प्रतिबिम्ब रूपान्तरण निकाय**

इस क्षेत्र के इलेक्ट्रॉनों की गति परिवर्तन द्वारा, हमें जो सूचना पारगत इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी द्वारा मिलती है वह अन्तिम प्रतिबिम्ब का स्वरूप होता है। पारगत इलेक्ट्रॉन दृश्य प्रकाश में रूपान्तरित होकर सूचना उपलब्ध कराते हैं। इसके लिए प्रतिदीप्ति पर्दे का प्रयोग करते हैं।

प्रतिदीप्ति पर्दे में जब इलेक्ट्रॉन टकराते हैं, तो वे दृश्य प्रकाश के प्रकाशीय कण उत्सर्जित करते हैं जो सरलता से आँखों द्वारा दिखाई दे जाते हैं। अतः अन्तिम प्रतिबिम्ब को स्थाई रूप में (छायाचित्रण) फोटोग्राफिक फिल्म पर अंकित कर लिया जाता है। इस फिल्म पर प्रकाश के प्रति संवेदनशील सिल्वर हेलाइड की पर्त चढ़ी होती है। स्वतंत्र सिल्वर हेलाइड के कणों से इलेक्ट्रॉन पुंज स्वतंत्र चांदी उत्सर्जित करते हैं। इन्हीं कणों के द्वारा नेगेटिव तैयार होता है। यह नेगेटिव आगे अभिक्रिया करके फोटोग्राफिक कागज पर पोजेटिव चित्र बनाते हैं। इस तरह से प्रतिबिम्ब के अभिलेखन को इलेक्ट्रॉन माइक्रोग्राफ कहते हैं। इलेक्ट्रॉन माइक्रोग्राफ का अध्ययन करके वस्तु की आन्तरिक संरचना के बारे में जानकारी प्राप्त की जाती है।

(ग) मूल सिद्धांत

पारगत इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी (चित्र - 13) की सहायता से किसी भी नमूने की आणुविक स्तर तक जांच की जाती है। इसकी विभेदन क्षमता $10A^0$ से $1A^0$ तक हो सकती है। नमूने का परीक्षण सीधे-सीधे सामान्य इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी के प्रयोग द्वारा किया जाता है। प्रकाशीय स्रोत के स्थान पर इलेक्ट्रॉन पुंज का प्रयोग करते हैं। यह पुंज संघनन लेंस पर धनीभूत होता है, जो विद्युत चुम्बकीय स्वभाव के होते हैं। इसके आगे ग्रिड पर बारीक नमूना रखा होता है, जिसके एकदम नीचे अभिदृश्यक लेंस लगा होता है। ग्रिड पर रखी वस्तु पर जब इलेक्ट्रॉन पुंज डाला जाता है तब वस्तु प्रक्षेपित लेंस (Projector Lens) पर प्रतिबिम्बित होती हुई, प्रतिदीप्ति पर्दे पर दिखाई देती है जिसे हम अपनी आंखों से देख सकते हैं।

गतिमान इलेक्ट्रॉन अनुकूलतम प्रकाशीय स्रोत होते हैं, जिनकी तरंग दैर्ध्य निश्चित होती है। डी ब्रोग्ली (De Broglie) ने इसे निम्नलिखित सूत्र द्वारा समझाया —

$$\lambda = \frac{h}{mV}$$

λ = कण की तरंग दैर्ध्य (Wave length of particles)

h = प्लांक नियतांक (Planck's Constant)

m = कण (इलेक्ट्रॉन) का द्रव्यमान (Mass of Particle)

V = वेग (कण का) (Velocity of the particles)

यदि एनोड पर प्रयुक्त आवेश (V) बढ़ता है तो कण की तरंग दैर्ध्य λ घट जाती है।

ज्ञात मान को रखने पर

$$\lambda = \frac{12.3A^0}{V}$$

उक्त सूत्र के सभी मूल्यों को रख कर कण (इलेक्ट्रॉन पुंज) की तरंग दैर्ध्य को ज्ञात किया जा सकता है। यह सिद्धांत पारगत तथा क्रमवीक्षण इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी दोनों के लिए ही प्रयुक्त होता है।

(घ) अवलोकन हेतु जैव वस्तु की प्रक्रियात्मक तैयारी

स्थिरीकरण

पहले चरण में सूक्ष्मदर्शीय विश्लेषण के लिए जैविक नमूने का स्थिरीकरण (चित्र - 14) कुछ रासायनिक पदार्थों (तत्वों) जिन्हें स्थिरीकारक कहते हैं, के द्वारा किया जाता है। इस प्रक्रिया द्वारा कोशिका की तात्कालिक मृत्यु हो जाती है। इस प्रक्रिया में कोशिका की स्वतः मृत्यु नहीं होती है अतः उनके स्वरूप, आयतन एवं कोशिका में जैविक रासायनिक पदार्थ सुरक्षित रह जाते हैं।

स्थिरीकरण का उद्देश्य

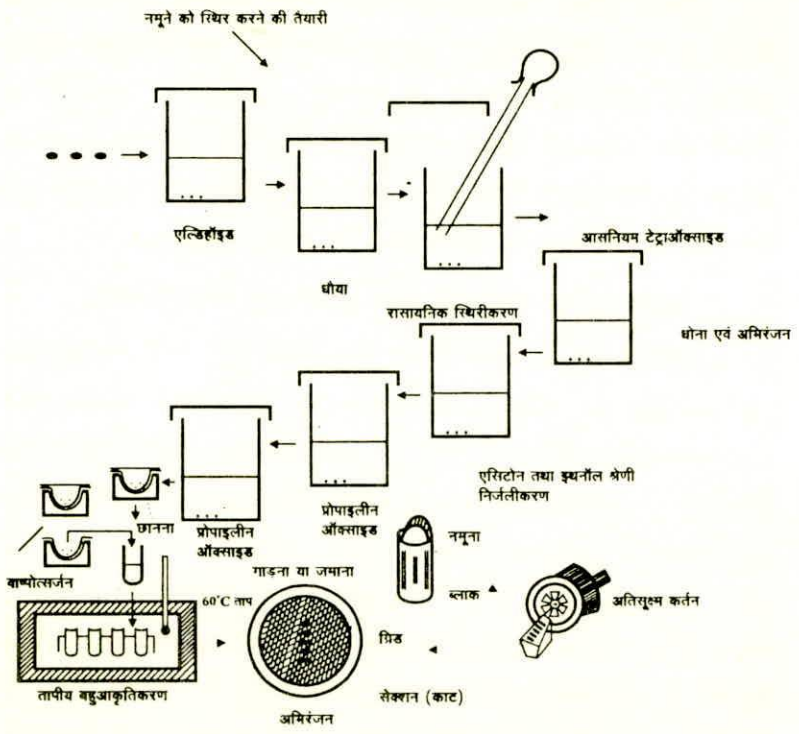
किसी जैविक नमूने का स्थिरीकरण इस उद्देश्य से किया जाता है कि कोशिका और ऊतक के स्वरूप को सुरक्षित रखा जाये या जीवित अवस्था में थोड़ा-सा परिवर्तन हो। इसके अतिरिक्त यह कोशिका को काटने और जमाने की प्रक्रिया के समय होने वाले परिवर्तन से बचाता है। अगली अभिक्रियाओं के लिए जैसे-अभिरंजन (स्टेनिंग) और इलेक्ट्रॉन पुंज के समक्ष प्रस्तुत करने के लिए नमूने को तैयार रखता है।

सामान्यतया प्रयोग में लाए जाने वाले स्थिरीकारक

प्रमुख रूप से स्थिरीकरण में प्रयुक्त होने वाले स्थिरीकारक ग्लूटेराल्डिहॉइड (Glutaraldehyde) ($C_5H_8O_2$), पैराफार्माल्डिहॉइड (Paraformaldehyde) (CH_2O), एक्रोलिन (Acrolein) (C_3H_5O) तथा कार्नोवॉस्की स्थिरांक — (ग्लूटेराल्डिहॉइड + पैराफार्माल्डिहॉइड) तथा ऑसमियम टेट्राऑक्साइड (Osmium tetraxoide) (OsO_4) हैं।

ग्लूटेराल्डिहॉइड और पैराफार्माल्डिहॉइड सामान्यतयाः सर्वाधिक प्रयुक्त होने वाले स्थिरीकारक हैं। इसके बाद द्वितीयक स्थिरीकारक के रूप में ऑसमियम टेट्राऑक्साइड का प्रयोग होता है। विभिन्न प्रकार के स्थिरीकारक कोशिका के विभिन्न रासायनिक घटकों से क्रिया करके एक पूर्ण चित्र प्रस्तुत करते हैं। प्राथमिक स्थिरीकारक, एल्डिहॉइड, ऑसमियम टेट्राऑक्साइड (OsO_4) और पोटेशियम परमैंगनेट ($KMnO_4$) के अलावा कुछ अन्य रासायनिक पदार्थ है जो कोशिका के घटकों को रंग कर स्थिर करने की पूर्ण या आंशिक क्षमता रखते हैं। उनमें से कुछ हैं क्रोमियम लवण, यूरेनियम लवण, लेड यौगिक और फास्फोटंगस्टिक एसिड (PTA)।

निम्नलिखित सारणी - 1 में विभिन्न स्थिरीकारक / अभिरंजकों की कोशिका के घटकों के साथ अभिक्रिया को प्रस्तुत किया गया है :



चित्र - 14 : नमूने की तैयारी, दोहरा रासायनिक स्थिरीकरण, क्रमिक एल्कोहॉल एवं एसिटोन श्रेणी द्वारा निर्जलीकरण, छानना, इपाक्सी रेजिन में गाड़ना, अति सूक्ष्म कर्तन आदि का चित्र द्वारा प्रदर्शन

सारणी - 1 : स्थिरीकारकों/अभिरंजकों की अभिक्रियाएं

स्थिरीकारक	कोशिकीय घटक				
	प्रोटीन	नाभिकीय अम्ल (न्यूक्लिक एसिड)	वसा (लिपिड)	पॉली-सैकराइड	फास्फो-लिपिड
1. एल्डिहाइड	++	-	-	-	-
2. आसमियम टेट्राक्साइड OsO_4	+*	-	++*	-	++
3. पोटेशियम परमैंगनेट $KMnO_4$	++	नष्ट	+ (ग्लाइ-कोजन)	+	++
अभिरंजन					
1. क्रोमियम लवण	+ +	-	-	-	-
2. यूरेनिल एसिटेट	++	++	-	-	-
3. लेड यौगिक	++	++	+	+ (ग्लाइ-कोजन)	++
4. फास्फो-टंगस्टिक एसिड (PTA)	++	-	-	-	-

++ शक्तिशाली क्रिया
\+ सामान्य क्रिया
\- कमजोर क्रिया या अभिक्रिया नहीं होती।
* स्थिरीकरण की अभिक्रिया में अधिक समय लगता है और प्रोटीन घुलकर बह जाती है। इसे विक्षालन कहते हैं।

स्थिरीकरण प्रक्रिया

(i) प्राथमिक स्थिरीकारक

अधिकांशतः प्रयुक्त होने वाला स्थिरीकारक 2.5 प्रतिशत ग्लूटेराल्डिहॉइड को 0.1 M सोडियम फॉस्फेट बफर (pH 7.4) में बनाते हैं। कुछ ऊतकों के लिए पैराफार्माल्डिहाइड (4 प्रतिशत) को 1 प्रतिशत ग्लूटेराल्डिहॉइड (कार्नोवास्की विलयन) के साथ प्रयुक्त करते हैं।

(अ) प्रवाह या डुबोकर स्थिर करना

सम्पूर्ण वस्तु या कुछ भाग को सीधे-सीधे स्थिरीकारक में रख देते हैं। जब स्थिरीकारक की ऊतक या कोशिका में अन्दर जाने की शक्ति कम होती है और ऊतक का आकार बहुत छोटा (1-2 मिमी०) हो जाता है तब ऊतक को स्थिरीकारक द्वारा सरलता से वेधने के लिए, एल्डिहॉइड जैसे- एक्रोलिन (अन्तिम सान्द्रता 0.1 प्रतिशत) को प्राथमिक स्थिरीकारक में मिला देते हैं। स्थिरीकरण में 4° से० तापमान में रखने पर 2–24 घंटे लगते हैं।

(ब) **छिड़काव या आप्लावन द्वारा स्थिर करना**

जब कोई अंग बहुत बड़ा होता है और उसकी काट सम्भव नहीं होती, तब उस सम्पूर्ण जीव को स्थिर कर लेते हैं। यह प्रक्रिया अन्तःहृदयी है और उस अंग को अच्छी सुरक्षा प्रदान करती है। एक वयस्क चूहे के लिए 300 से 400 मिली० स्थिरीकारक की आवश्यकता होती है। इस प्रक्रिया के मुख्य चरण निम्नलिखित हैं :

जीव को नेम्बुटॉल (Nembutal) (सोडियम पेन्टोवार्बीटोन 30 मिग्रा० / किग्रा० शारीरिक भार के अनुपात में) से बेहोश करते हैं। हृदय को खोलते हैं। ऊपर जाने वाली महाधमनी में 1 मिमी० चौड़ाई की नाल बाएँ निलय में चीरा लगाकर डालते हैं। दाहिने अलिन्द में छिद्र करके उस स्थिरीकारक को बाहर निकालते हैं। लगभग एक मिनट तक स्थिरीकारक को तीव्र गति से अन्दर जाने देते हैं, फिर 6 मिली० प्रति मिनट की गति से प्रवाह को कम कर देते हैं। सही ढंग से स्थिरीकरण तभी होता है, जब गति कम्पित न हो और अंग कठोर तथा अवयव (फलक) सख्त न हो। अप्लावन के बाद अंग को काटकर, ऊतक को छोटे-छोटे टुकड़ों में काटते हैं (1-2 मिमी०) और पुनः उसी स्थिरीकारक से लगभग 2–4 घंटे के लिए 4° से० पर स्थिर करते हैं।

(ii) **धोना**

स्थिरीकरण के बाद अच्छी तरह से धोकर स्थिरीकारक की अधिक मात्रा को हटा देते हैं। यदि कुछ मात्रा में भी प्राथमिक स्थिरीकारक नमूने में बच जाता है तो वह द्वितीय स्थिरीकारक (ऑसमियम टेट्राक्साइड) के साथ अभिक्रिया करके अवक्षेप (अपचायक ऑसमियम) बनाता है, और वह नमूने पर लगा रहता है।

(iii) **पश्च (द्वितीयक) स्थिरीकरण**

(OsO_4) ऑसमियम टेट्राऑक्साइड (1 प्रतिशत विलयन) अधिकतर द्वितीयक स्थिरीकारक के रूप में प्रयुक्त होता है। यह

ग्लूटेराल्डिहॉइड स्थिरीकरण के पश्चात् प्रयोग में लाया जाता है और यह मुख्य रूप से लिपिड (वसा) से अभिक्रिया करता है। ऑसमियम टेट्राऑक्साइड (OsO_4) घन इलेक्ट्रॉन अभिकर्मक की तरह कार्य करता है।

(iv) **धोना**

इसके पश्चात् नमूने को पुनः बफर के साथ धोते हैं, जिससे उसमें जो अधिक मात्रा में स्थिरीकरण है वह निकल जाए (बफर-वह तरल है, जो स्थिरीकारक के बनाने में प्रयुक्त होता है)।

(v) **निर्जलीकरण**

ऊतकों में लगभग 75 प्रतिशत पानी रहता है, जिसे छानने से पहले उपयुक्त कार्बनिक विलायक द्वारा हटाया जाता है। निर्जलीकरण की प्रक्रिया में पानी को पूर्णतया हटाना आवश्यक है। ऊतक से पानी को हटाने के लिए उसको क्रमशः बढ़ती हुई सान्द्रता वाले निर्जलीकारक से गुजारते हैं। इथनॉल एसिटोन का प्रयोग निर्जलीकारक के रूप में होता है। एसिटोन के साथ एक अच्छाई यह है कि यह सफाई करने वाले कारकों से बड़ी सरलता से मिल जाता है, जैसे- जायलीन और टॉल्यून। निर्जल एसिटोन बनाने के लिए निर्जल कॉपर सल्फेट को शुद्ध एसिटोन में मिलाते हैं, और अच्छी तरह से हिलाकर छोड़ देते हैं। प्रयोग करने से पहले छान लेते हैं।

(vi) **सफाई**

एसिटोन बड़ी आसानी से राल में मिल जाता है। जायलीन, टॉल्यून और इपोक्सी प्रोपेन अच्छे सफाई कारक हैं तथा ये शुद्ध अवस्था में रहते हैं। इपोक्सी प्रोपेन इन सब में सबसे अच्छा निर्जलीकारक है जो बचे हुये पानी के अवशेष को पूरी तरह से हटा देता है।

(vii) **छानना**

बहुत कम ऊतक ऐसे कठोर होते हैं जो बिना किसी मदद (आरोपण) के अच्छे पतले काटे जा सकते हैं। अतः ऊतकों को उन ब्लाक में लगाना आवश्यक है, जो कठोर हो, और उन्हें काटते समय आसानी से पकड़ा जा सके। यह तभी सम्भव हो सकता है जब रेजिन को ऊतक पर छानकर उसे कठोर करें। इस तरह से ब्लाक का निर्माण होता है जिनमें ऊतक लगे होते हैं। छानने की प्रक्रिया में क्रमशः घटते क्रम वाली सान्द्रता के सफाई कारकों को प्रयुक्त करते हैं और डुबोने वाले माध्यम की मात्रा बढ़ाते है।

(viii) **ब्लाक बनाना**

कठोर ऊतकों के सन्दर्भ में धीमा परासरण, डुबाने की प्रक्रिया में एक समस्या है। इसको समाप्त करने के लिए इस प्रक्रिया के विभिन्न चरणों को निर्वात में निष्पादित करते हैं। पादप ऊतकों को निर्वात में ही अभिक्रमित किया जाता है। यह प्रक्रिया हवा के बुलबुलों को हटा देती है जो ऊतक के चारों ओर लग जाते हैं। जैविक नमूने के ब्लाक विभिन्न प्रकार के रेजिन में तैयार किये जाते हैं। इसे आवश्यकतानुसार ही प्रयोग में लाना चाहिए।

रेजिन (राल) के प्रकार

(अ) पानी में न मिल जाने वाला रेजिन : (अमिश्रणीय राल)

- एराल्डाइट CY 212 (Araldite)
- इपॉन 812 (Epon)
- मेथाक्रायलेट (Methacrylate)
- माराग्लास (Maraglas)
- इ० आर० एल० (E R L 4206)

(ब) पानी में घुल जाने वाले (मिश्रणीय) रेजिन :

- डुरकापेन (Durcapan)
- ग्लाइकोल मेथाक्रायलेट (GMA) Glycol Methacrylate

- हाइड्रॉक्सीप्रोपाइल मेथाक्रायलेट (HPMA)
- एल०आर० सोना और एल०आर० सफेद (LR Gold and LR White)

रेजिन त्वचा के लिए विषैले तथा एलर्जीकारक होते हैं इसलिए प्लाप्टिक या रबर के दस्तानों का प्रयोग करना चाहिए। सभी तरह के आपरेशन कप बोर्ड की लौ में ही करने चाहिए।

(ix) **जमाना** (Embedding)

जमाने (गाड़ने) के लिए जेलेटिन और बीम कैप्सूल का प्रयोग करना चाहिए। कैप्सूल में गाड़ने वाला पदार्थ भर लेने के बाद ऊतक को उसके अग्र भाग में स्थिर करके रखते हैं और यदि आवश्यकता होती है तो जमाने वाले माध्यम को भर देते हैं। कैप्सूल के एक तरफ कागज पर पेन्सिल से नाम लिख कर लगा देते हैं। जब किसी विशेष आकृति की आवश्यकता होती है तब सीधे जमाने वाले ढांचे का प्रयोग करते हैं।

(x) **बहुआकृतिकी** (Polymerization)

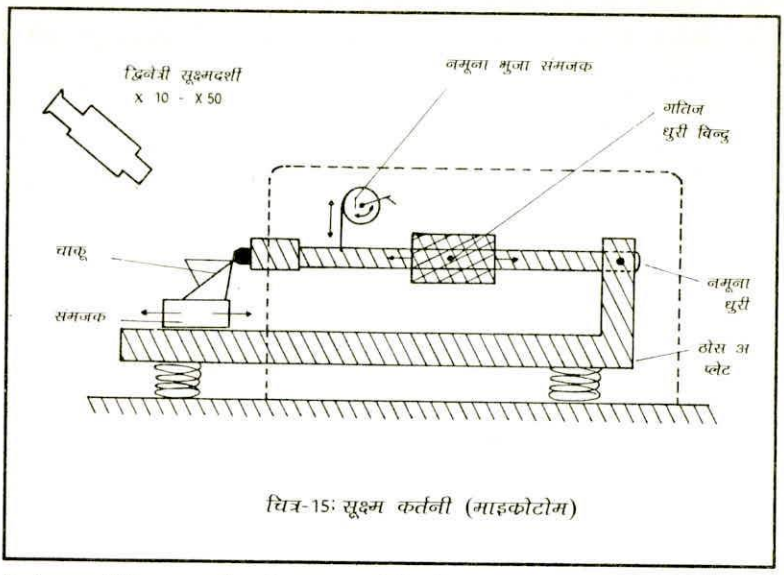
इस प्रक्रिया में तरल रेजिन कठोर हो जाता है, यह अभिक्रिया ऊष्मा की उपस्थिति में की जाती है। इस चरण में वस्तु के (बहुआकृतिक) विभिन्न आकार बन जाते हैं। 40° से० से 50° से० पर जमाने वाला माध्यम कुछ अर्द्धतरल-सा हो जाता है जो अधिकाधिक अन्दर तक ऊतक में चला जाता है। इसलिए यह निर्देश दिया जाता है कि नमूने को 40-50° से० पर रात भर रख देना चाहिए। फिर 60° से० तक तापमान बढ़ाते हैं जिससे रेजिन कड़ा हो जाता है। ब्लाक को कठोर होने के लिए 24 से 48 घंटे लगते हैं। इसके लिए एक अच्छे इनकुवेटर को प्रयोग में लाते हैं जिसमें अच्छा ताप नियंत्रित किया जा सके।

ब्लॉक को सांचे से हटाना (Removing the blocks from the mould)

बहुआकृतिकी (Polymerization) के ब्लाक को निम्न तरीके से अलग करते हैं :

जिलेटिन कैप्सूल को 70° से० पर धोते हैं। बीम कैप्सूल को ब्लेड से आसानी से काट सकते हैं।

सीधा (समतल) जमाने का सांचा : सांचे को हल्का-सा झुका कर ब्लाक आसानी से निकाला जा सकता है।



चित्र-15: सूक्ष्म कर्तनी (माइक्रोटोम)

(स) · **जैविक नमूने को सूक्ष्मकर्तनी से काटना**

नमूने को तैयार करने की कुछ महत्वपूर्ण विधियां हैं, जो सूक्ष्मतक्षण (Microtomy) कहलाती हैं वे इस प्रकार हैं —

(i) अति सूक्ष्म काट तैयार करना

(ii) आर्द्र नमूना तैयार करना

(iii) नूमने को रंगना

(i) अति सूक्ष्म काट तैयार करना (Microtomy)

इस तरीके में नमूने के ऊपरी सतह के नीचे की संरचना को देखा जाता है। उसको किनारों से पतला काटते हैं और पारगत इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी की सहायता से देखते है। यह काट 100 नेनौमीटर या उससे भी अधिक पतली होती है। यह तैयारी तभी भली प्रकार हो

पाएगी जब यंत्र और काटने का ढंग परिशुद्ध हो।

(a) **अति सूक्ष्म काटना** (Ultra Microtomy)

यह एक ऐसा यंत्र है (चित्र - 14) जिसकी सहायता से नमूने के ब्लाक को सुविधाजनक आकारों में काटा जाता है। ब्लाक को स्थिर करके कांच या हीरे के चाकू से काटते हैं। ब्लाक को धीरे-धीरे खिसकाते जाते हैं और उनके बीच की दूरी बहुत कम रखते हैं। दूरी को नियंत्रित रखते हुए काटने की प्रक्रिया को दोहराते रहते हैं। इस प्रकार एकसमान पतले काटों (Section) की श्रृंखला प्राप्त होती है। 5 से 100 नेनौमीटर तक की नाप में इन ब्लाकों को काटा जाता है। जिस मोटाई की काट तैयार करनी होती है वह दे दी जाती है परन्तु अधिकांशतः यह मोटाई 5 से 100 नेनौमीटर तक होती है। कठोर रेजिन के कैप्सूलनुमा लम्बे ब्लाक में नमूना लगा दिया जाता है, जिसे प्लास्टिक के पंजे से कस देते है। यह संरचना माइक्रोटोम (Microtomy) की एक बाहु की ओर लगा होता है। ब्लाक को सर्वप्रथम चारों ओर से पिरामिड की आकृति में काट लेते हैं, जिसे समलम्बाकार (ट्रैपिजियम) ब्लाक कहते हैं। इसके बाद काटे जाने वाली काट की परिमाप 0.5 से 1 मिमी० (mm²) होती है।

(b) **हिमांक बिन्दु पर नमूने को जमाना** (Cryo Microtomy)

इस विधि को वास्तव में प्लास्टिक या इलास्टिक के ब्लाक को काटने के लिए प्रयोग में लाया जाता है। जैविक नमूने और चाकू को ऋणात्मक तापमान में जमाते हैं। जब कोमल नमूना कठोर हो जाता है तब उसकी काटे (Section) काटते हैं। इन काटों को सूक्ष्मदर्शी से देखने के लिए विभिन्न अभिरंजकों द्वारा रंगा जाता है, जिससे उसके आन्तरिक ऊतकों में विभेद पैदा हो सके।

(c) **अभिरंजन** (Staining)

अति पतली काटों के अभिरंजन के लिए उन्हें बड़ी सरलता से एक बूंद अभिरंजक में उचित समय के लिए डुबो देते हैं। अभिरंजक

जैविक नूमने की कटी हुई सतह को रंग देता है पर रेजिन पर उसका कोई प्रभाव नहीं पड़ता। सामान्यतया प्रयोग में आने वाले अभिरंजक हैं— ऑसमियम टेट्राक्साइड (OsO_4), यूरेनिल एसीटेट (Uranyl Acetate), लेड (Pb), फास्फो टंगस्टिक एसिड (PTA)। सभी अभिरंजक एक प्रतिशत सांद्रता और उचित हाइड्रोजन आयन सान्द्रता के साथ प्रयोग में लाये जाते हैं।

जैविक नमूने और सूक्ष्म अणुओं की बाह्य संरचना के अध्ययन के लिए ऋणात्मक अभिरंजन एक अच्छा तरीका है। अधिकांशतः फास्फो टंगस्टेट एसिड, सिलिको टंगस्टेट, यूरेनिल एसीटेट और अमोनियम मॉलिबडटेट को कुछ प्रतिशत सांद्रता के साथ प्रयोंग में लाते हैं।

पारगत इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी से देखने वाले नमूने की आवश्यक शर्तें निम्नलिखित प्रकार हैं -

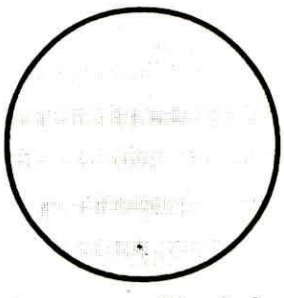
(i) नमूना कम ऊर्जा क्षति के साथ अधिकाधिक इलेक्ट्रॉन उत्सर्जित कर सके जिससे प्रतिबिम्ब अच्छा बने।

(ii) नमूना उच्च निर्वात में इलेक्ट्रॉन की बमबारी के बीच स्थिर रह सके।

(iii) नमूने की काट अनुकूलतम आकार की होनी चाहिए, जिससे सूक्ष्मदर्शी के नमूना होल्डर में आसानी से व्यवस्थित हो सके।

नमूना सहायक ग्रिड / नमूना होल्डर

पारगत इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी में नमूने को व्यवस्थित करके देख पाना एक कठिन कार्य है। सामान्यतया 10 से 100 नेनौमीटर मोटे और अति कोमल नमूनों को इसके द्वारा देखा जा सकता है। नमूने को सूक्ष्मदर्शी में रखने के लिए एक ग्रिड होती है (चित्र - 16), जिसकी मोटाई 15 माइक्रोमीटर तथा परिमाप 3 मिमी० होती है। यह बाहर से देखने में धातु की गोल जालीनुमा आकार की होती है। ग्रिड चालक धातु-जैसे तांबे की बनी होती है परन्तु



चित्र - 16 : ताँबे की ग्रिड

कभी-कभी अन्य धातुओं, जैसे— निकिल, सोना, पैलेडियम और कार्बन लेपित नायलॉन की बनी होती है। नमूने सहायक ग्रिड विभिन्न डिजाइनों के साथ-साथ विभिन्न आकारों एवं स्वरूप के भी होते हैं तथा इनमें छेदों का क्रम भी भिन्न-भिन्न होता है।

सूक्ष्म ग्राफ (Micrograph)

जब नमूने को तैयार करके सूक्ष्मदर्शी में रखते हैं और उस पर इलेक्ट्रॉन पुंज डालते हैं, हमें एक प्रतिबिम्बि प्राप्त होता है, जिसे प्रतिदीप्त पर्दे अथवा फोटोग्राफिक फिल्म पर फोकस करते हैं। फोटोग्राफिक फिल्म पर बने प्रतिबिम्ब को प्रतिदीप्त पर्दे की अपेक्षा अधिक सरलता से परखा जा सकता है। इलेक्ट्रॉन पुंज डालने पर नमूने की अनुपस्थिति में प्रतिबिम्ब गोलाकार एवं समान रूप से चमकदार दिखाई देगा, जबकि नमूने को रखने पर यह काला हो जाता है क्योंकि प्रकाश पुंज जब परमाणु के निकट से गुजरता है तब वह इलेक्ट्रॉनों को बिखरा देता है। प्रतिदीप्त प्रतिबिम्ब में वह स्थान सबसे अधिक चमकता है जहां इलेक्ट्रॉनों का बिखराव कम होता है। फोटोग्राफिक फिल्म या प्लेट पर बना रजत प्रतिबिम्ब ही सही मायनों में माइक्रोग्राफ (Micrograph) होता है।

अगफा (301) स्थिरांक (एसिड फिक्सिंग बाथ)

पारगत सूक्ष्मदर्शी द्वारा प्राप्त फोटोग्राफिक फिल्म को निम्न स्थिरांक से स्थित किया जा सकता है :

1. Sodium thiosulphate
   सोडियम थायोसल्फेट — 250 ग्राम
2. Sodium Metabisulphite
   सोडियम मेटाबाइसल्फाइट — 13 ग्राम

को 1000 मिली० पानी में घोलकर संग्रह कर लेते हैं।

(1) **फोटोग्राफिक कागज** (Photographic Paper)

फोटोग्राफिक कागज को (प्रिन्ट अगफा 100 स्तरीय फोटोग्राफिक पेपर) 20–24° से० पर दो मिनट के लिए स्थिर करते हैं। अगफा - 301 स्थिरांक में 30 मिनट के लिए पुनः स्थिर कर बहते पानी में सफाई से धोया जाता है तथा ग्लेजर में सुखा लेते हैं।

(2) **फिल्म बनाने और स्थिर करने की प्रक्रिया** (Procedure for developing & fixing)

* 35 मिमी० की फिल्म पारगत इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी (TEM) के लिए फिल्म को 6 मिनट के लिए उच्च क्रान्ट्रास्ट ऋणात्मक डेवलपर पर डी-19 में डालते हैं। दो बार नल के पानी से धो कर स्थिर करते हैं। अगफा 301 स्थिरांक में (20° से० से 24° से०) पर 30 मिनट के लिए और तरल कारक (अगफा ए-913) को साफ करके सुखाते हैं।

* प्लेट (कट) फिल्म पारगत इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी के लिए फिल्म 3.5 मिनट तक उच्च क्रान्ट्रास्ट ऋणात्मक डेवलपर पर डी-19 में 18° से० पर बनाते हैं। नल के पानी से दो बार धोते हैं। अगफा 301 से 20° से० से 24° से० पर स्थिर करते हैं। तरल कारक (अगफा ए-913) से साफ करके सुखा लिया जाता है।

* क्रमवीक्षण इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी के लिए फिल्म (Film for SEM) फिल्म को 9 मिनट तक डी-76 (फाइन ग्रेन) डेपलपर को 18° से० पर बनाते हैं। नल के पानी में दो बार धोकर 15 मिनट के लिए अगफा फिक्सर से (20° से० से 24° से० पर) स्थिर करके बहते

पानी में धोकर और साफ करके तरल कारक के साथ (अगफा ए-913) सुखा लिया जाता है।

(3) **छायाचित्रों को बनाना**

उपरोक्त विधि से पारगत इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी द्वारा किसी जैविक नमूने के प्रतिबिम्बों का छाया चित्र प्राप्त किया जा सकता है, और इन्हीं छाया चित्रों की सहायता से उस वस्तु, नमूने या ऊतक की आन्तरिक संरचना का विस्तृत अध्ययन किया जा सकता है।

(च) विज्ञान शास्त्र में पारगत इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी की प्रायोगिक अवस्थिति

पारगत इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी की सहायता से कोशिकाओं का आणुविक स्तर तक अध्ययन किया जा सकता है। राइबोसोम, माइट्रोक्रोन्डिया, एण्डोप्लाज्मिक रेटिकुलम आदि के आकार एवं संरचना को स्पष्ट रूप से देखा जा सकता है। इसके द्वारा विषाणुओं और जीवाणुओं की आन्तरिक संरचना का अध्ययन बड़ी सरलता से करते हैं। पादप रोग विज्ञान एवं मानव रोग विज्ञान के लिए पारगत इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी एक महत्वपूर्ण यंत्र है। इसके द्वारा ही औषधि निर्माण के श्रोत को एक नई दिशा मिली। अपराध शास्त्र की अनेक उलझनों को इस सूक्ष्मदर्शी की सहायता से सुलझाया जा चुका है।

■

अध्याय - 5

इलेक्ट्रॉन अन्वेषी सूक्ष्म विश्लेषण

(क) परिचय

शाब्दिक रूप में सूक्ष्म विश्लेषण किसी अल्प नमूने (वस्तु) की अति सूक्ष्म जांच की प्रक्रिया को कहते हैं। जब अनुकूलतम ऊर्जा के इलेक्ट्रॉन नमूने से टकराते हैं, वे एक्स-किरणों को उत्सर्जित करते हैं, जिनकी ऊर्जा एवं तुलनात्मक प्रचुरता नमूने की यौगिकीय संरचना पर निर्भर करती है। इस प्रकार सूक्ष्म विश्लेषण सरल शब्दों में नमूने के तत्वों के सूक्ष्म आयतनों की विश्लेषणात्मक जांच (सामान्यतया एक से कई सौ माइक्रोमीटर) है। अत्यन्त संक्षिप्त रूप में ऊर्जा विक्षेपण ही प्रमुख रूप से प्रस्तुत प्रक्रिया में कार्य करती है।

(ख) इतिहास

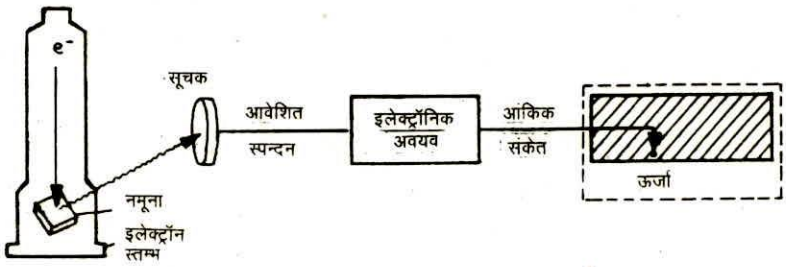
सूक्ष्म विश्लेषण एक प्रवाही प्रक्रिया है जो सूक्ष्म नमूनों को विश्लेषित करने की सबसे सरलतम विधि है। इसके अन्य लाभ यह हैं कि इसमें न्यूनतम मात्रा ज्ञात करने की सीमा 0.1 प्रतिशत से कम सान्द्रण तक होती है। यह प्रायोगिक रूप में भी विनाशकारी प्रक्रिया नहीं है तथा इस विधि में जैव वस्तु की तैयारी बहुत कम समय में पूरी की जा सकती है।

इस सम्पूर्ण प्रक्रिया में हम अपने नियत कार्य को तीन प्रमुख भागों में विभाजित करते हैं– पहला–नमूने को इलेक्ट्रॉन पुंज से उत्सर्जित करना, फिर दूसरी– वह प्रक्रिया जिसके द्वारा एक्स-किरणें उत्सर्जित होती हैं उनका अलग-अलग एकत्रण करके आकलन किया जाता है। एक्स-किरणों का उत्सर्जित होना तथा अन्य ऐसी क्रियाएं जो हम इस पूरी

प्रक्रिया में देखते हैं, सभी क्रियाएं पारस्परिक होती हैं तथा एक-दूसरे को प्रभावित करती हैं। अन्तिम चरण में हम यह जानना चाहते हैं कि इलेक्ट्रॉन पुंज की ऊर्जा के उत्सर्जन के द्वारा नमूने की जांच किस तरह की जाती है?

उदाहरणस्वरूप यदि हम इस प्रक्रिया को क्रमवीक्षण इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी की सहायता से जानना चाहें तो हम देखते हैं कि सर्वप्रथम, क्रमवीक्षण इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी के इलेक्ट्रॉन पुंज द्वारा नमूने के परमाणु की आन्तरिक कक्षा से एक इलेक्ट्रॉन उत्सर्जित होता है। उच्च ऊर्जा कक्षा के निम्न ऊर्जा स्तर पर आ जाने से परमाणु की परिणामात्मक रिक्तता पुनः भर जाती है। ऊर्जा स्तर के नीचे गिरने से रिक्त स्थान को भरने वाला इलेक्ट्रॉन कुछ ऊर्जा अवश्य देता है, जो विद्युत चुम्बकीय विकिरण के रूप में दिखाई देती है। यह विकिरित ऊर्जा उस ऊर्जा के बराबर होती है जो दो ऊर्जा स्तरों के मध्य ऊर्जा के अन्तर के बराबर होती है। यह ऊर्जा अन्तर वास्तव में एक्स-किरणों के रूप में विकिरित होता है। प्रत्येक परमाणु में अनेक ऊर्जा स्तर होते हैं और उन स्तरों में जो रिक्तता (ऊर्जा अन्तर) आती है उनको भरने की प्रक्रियाएं चलती रहती है, उदाहरणार्थ– लोहे के नमूने से विभिन्न ऊर्जाओं की एक्स-किरणें उत्सर्जित होती हैं। जब नमूने के किसी भी तत्व को इलेक्ट्रॉन द्वारा अनुकूलतम ऊर्जा देकर उत्तेजित करते हैं, तब नमूने में उपस्थित प्रत्येक तत्व अपने एक विशेष ढंग से एक्स-किरणें उत्सर्जित करता है। इसके अतिरिक्त विश्लेषणात्मक परिस्थितियों के मध्य तत्व से उत्सर्जित एक्स-किरणों की संख्या तत्व की सान्द्रता पर निर्भर करती है।

एक्स-किरणों में विकिरण की विश्लेषणात्मक आंकड़ों में परिवर्तन इलेक्ट्रॉनिक घटकों की एक व्यस्त और सीधी प्रक्रिया है जिसके अन्त में उत्सर्जित विकिरणों का आंकिक वर्णक्रम प्राप्त होता है। सबसे पहले एक्स किरणों के प्रकाश कण अर्धचालक संसूचक पर एक आवेशित स्पन्दन उत्पन्न करते हैं। (चित्र - 17)। आवेशित स्पन्दन पुनः विद्युत धारा स्पन्दन में बदल जाता है और उसका विस्तारण परावर्तित होकर



चित्र-17 : ऊर्जा विश्लेषण (एक्स-किरण वर्णक्रममापी द्वारा)

ज्ञात एक्स-किरण की ऊर्जा के विषय में बताता है। अन्त में यह धारा स्पन्दन आंकिक वर्णक्रम में बदल जाता है। वह एक गणक के रूप में विश्लेषण प्रणाली से जुड़ जाता है। यह सभी गणक (अंकों) नमूने की एक्स-किरण वर्णक्रम से उत्पन्न होते हैं और कुछ समय के अन्तराल में संचित गणक से जुड़ते जाते हैं।

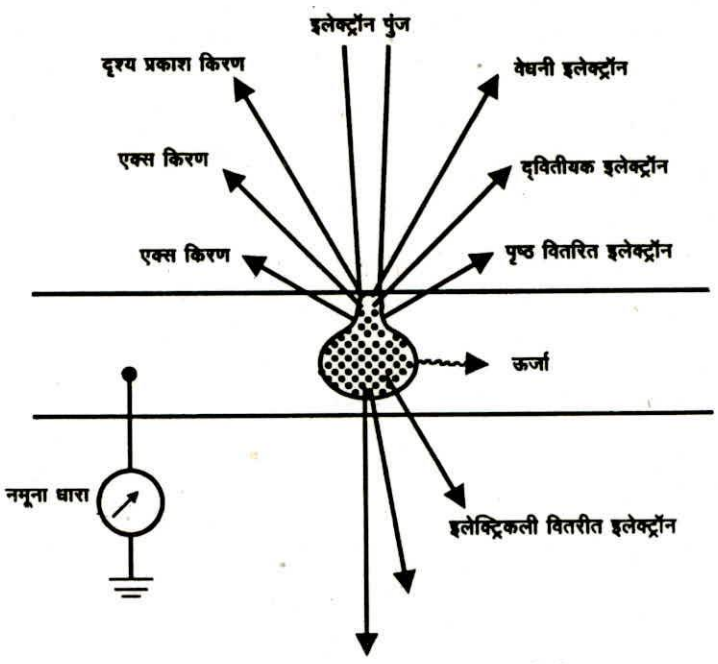
जब किसी नमूने के ऊपर इलेक्ट्रॉन पुंज डाला जाता है (चित्र - 18) तब सबसे पहले एक्स किरणों का विसर्जन प्रारम्भ हो जाता है तथा कुछ अन्य पारस्परिक अभिक्रियाएं भी दिखाई देती हैं। इस पारस्परिक अभिक्रिया का सरलतापूर्वक अध्ययन करने के लिए पूरी प्रक्रिया को दो भागों में बांट दिया गया है —

(1) इलेक्ट्रॉन नमूना पारस्परिक अभिक्रिया

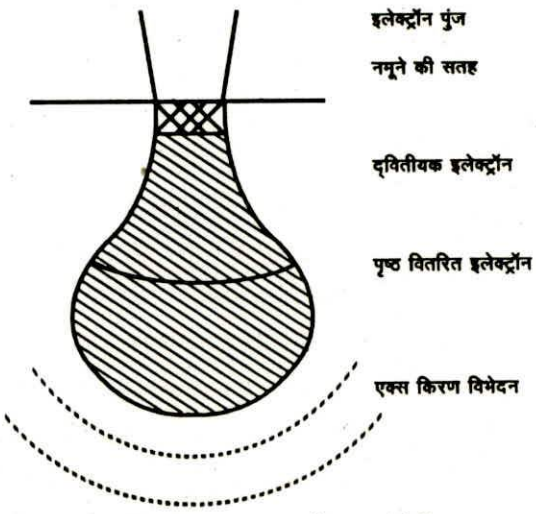
(2) फोटॉन (प्रकाश कण) नमूना पारस्परिक अभिक्रिया

(1) **इलेक्ट्रॉन नमूना अभिक्रिया (चित्र - 18, 19)**

किसी भी इलेक्ट्रॉन स्तम्भ में इलेक्ट्रॉन वैद्युत क्षेत्र के कारण गतिशील रहते हैं। इसलिए गतिज ऊर्जा उत्पन्न होती है। यही ऊर्जा नमूने के ऊपर एकत्र होकर अनेकानेक संकेत प्रदान करती है। इस प्रक्रिया को भलीभांति समझाने के लिए परमाणु का 'बोर मॉडल' (Bohr Model) के विषय में जानना आवश्यक है। परमाणु के



चित्र - 18 : इलेक्ट्रॉन-नमूना पारस्परिक अभिक्रिया



चित्र - 19 : इलेक्ट्रॉन-नमूना पारस्परिक अभिक्रिया

केन्द्र में धनात्मक आवेश का नाभिक होता है जो ऋणात्मक आवेश वाले इलेक्टॉनों से घिरा रहता है, उसका एक स्पष्ट ऊर्जा स्तर होता है।

प्रथम उत्तेजित इलेक्ट्रॉन नमूने के इलेक्ट्रॉन से टकराता है और कुछ मात्रा में गतिज ऊर्जा का निष्कासन करता है। यदि निकलने वाला इलेक्ट्रॉन कमजोर बन्ध से जुड़ा होता है तब केवल कुछ ऊर्जा स्तरों को ही दर्शाता है, उसे द्वितीयक इलेक्ट्रॉन कहते हैं (कोई भी इलेक्ट्रॉन जो नमूने के परमाणु से निष्कासित होता है, द्वितीयक इलेक्ट्रॉन कहलाता है। परन्तु इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शिकी से सम्बन्धित वैज्ञानिक उन्हें द्वितीयक इलेक्ट्रॉन मानते हैं, जिनकी ऊर्जा 50 (eV) इलेक्ट्रॉन वोल्ट से कम होती है)। जब द्वितीयक इलेक्ट्रॉनों में कम ऊर्जा होती है, तब वे नमूने के बाह्य स्तर से सरलता से निकल जाते हैं। यही कारण है कि वे नमूने के बाह्य आवरण में पाए जाने वाले उभारों एवं गहरे गड्ढों के लिए संवेदनशील होते हैं। जो द्वितीयक इलेक्ट्रॉन नमूने की सतह के उभरे हुए भागों से उत्पन्न होते हैं वे अतिशीघ्र भाग निकलते हैं, उन द्वितीयक इलेक्ट्रॉनों की तुलना में जो नमूने की सतह से गहरे गड्ढों से उत्पन्न होते हैं।

एक्स किरण वर्णक्रम से अतिरिक्त (विशिष्ट) विश्लेषणात्मक सूचना प्राप्त करना बड़ा कठिन होता है। विभिन्न एक्स-किरणें अलग-अलग विश्लेषणात्मक सूचनाएं देती हैं। इस पूरी प्रक्रिया में एक-दूसरे को पारस्परिक रूप में प्रभावित करती हुई अनेक अभिक्रियाएं चलती रहती हैं। गणक के ऊपर अप्रामाणिक एवं प्रामाणिक वर्णक्रमीय शीर्षों की उत्पत्ति होती है। कुछ शीर्ष तो एक-दूसरे के साथ इस तरह घुल मिल जाते हैं कि उनका विभेदन अत्यन्त कठिन हो जाता है। किसी भी वर्णक्रम के मात्रात्मक विश्लेषण के लिए क़म से कम पांच चरणों की आवश्यकता होती है, जो निम्नलिखित है :

(1) अप्रामाणिक शीर्षों की गणना।
(2) उन तत्वों को पहचानना, जिससे उस वर्णक्रम की उत्पत्ति हुई है।
(3) पृष्ठभूमि को हटाना।
(4) प्रामाणिक शीर्षों का विभेदन करना।
(5) तत्व की सांद्रता का परिकलन (संगणना)।

(ब) **मात्रात्मक विश्लेषण :** (Elemental Analysis)

जब आपतित इलेक्ट्रॉन पुंज नमूने के परमाणुओं से टकराता है, तब उसमें से कुछ विशेष एक्स किरणें निकलती हैं, जो विशिष्ट परमाणुओं में ही पाई जाती हैं। उच्च वर्ग के आपतित इलेक्ट्रॉन पुंज के कारण बाह्य कक्ष में पाये जाने वाले इलेक्ट्रॉनों से निम्नतम ऊर्जा निष्कासित होती है। यह रिक्त स्थान उच्च ऊर्जा कक्ष से एक इलेक्ट्रॉन के आ जाने से भर जाता है, अतः ऊर्जा शिथिलन ही ऊर्जा का पारगमन है। यह ऊर्जा एक्स-किरणों के रूप में निकलती है। एक विशेष संसूचक जो क्रमवीक्षण इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी में लगा होता है, उसमें एक्स-किरणें एकत्रित हो जाती हैं।

भिन्न-भिन्न ऊर्जा स्तर के इलेक्ट्रॉन प्रत्येक तत्व की बाह्य कक्षा में पाये जाते हैं। जो एक्स किरणें संसूचक के द्वारा एकत्र होती हैं उनकी ऊर्जाओं को विश्लेषित करके यह ज्ञात करते हैं कि यह ऊर्जा स्तर किस तत्व के ऊर्जा स्तर के अनुरूप हैं, और इस प्रकार उस तत्व की पहचान कर ली जाती है। इसमें इलेक्ट्रानों की मुख्य भूमिका होती है। इलेक्ट्रॉन पुंज से निकली एक्स-किरणें वर्णक्रम ऊर्जा निष्कासित करती है। एक्स-किरणों के वर्णक्रम को विश्लेषित करके, इस प्रक्रिया द्वारा तत्व के प्रकार, उनकी सान्द्रता, उनके वितरण के विषय में सूचनाएँ प्राप्त की जाती हैं। यह वर्णक्रम या तो तरंग दैर्ध्य वितरण वर्णक्रममापी (Wave length dispersive spectrometer) से, या फिर ऊर्जा वितरण वर्णक्रममापी (Energy dispersive spectrometer) से प्राप्त करते हैं।

संक्षिप्त इतिहास

1895 में एक्स-किरणों की खोज के बाद यह ज्ञात हुआ कि एक्स-किरणों की ऊर्जा उस तत्व की परमाणुवीय संरचना से बहुत निकट से सम्बन्धित होती है, जो उन्हें उत्सर्जित करता है और जैसा कि हर तत्व की परमाणुवीय संरचना भिन्न-भिन्न होती है, अतः उनमें से उत्सर्जित एक्स-किरणों का प्रतिरूप भी भिन्न-भिन्न होता है। 1920 तक अधिकांश तत्वों के एक्स-किरणों के प्रतिरूप ज्ञात कर लिए गए थे। जबकि 1940 के अन्त तक तत्वों का मात्रात्मक विश्लेषण एक्स-किरण उत्सर्जन द्वारा ज्ञात करना ही वैज्ञानिकों का कार्यक्षेत्र रहा।

फिर 1948 में पहली व्यावसायिक एक्स-किरण वर्णक्रममापी बनाई गई। इस यंत्र के विभिन्न प्रकार आज भी प्रयुक्त हो रहे हैं। इन यंत्रों की सहायता से तत्वों के अज्ञात घटकों को एक्स-किरण पुंज द्वारा उत्तेजित करते हैं। जब उत्तेजित परमाणु अपने स्थाई स्तर पर विश्राम करता है, वह एक्स किरणों को एक विशेष प्रतिरूप में उत्सर्जित करता है। ये एक्स-किरणें विवर्तन क्रिस्टल की सहायता से तत्वों की तरंग दैर्ध्य द्वारा अलग कर ली जाती हैं। विभिन्न तरंग दैर्ध्य वाली एक्स-किरणों का विभेदन क्रिस्टल द्वारा ही होता है। अतः क्रिस्टल ही इस विभेदन का आधार है, इस यंत्र को तरंग दैर्ध्य विभेदन वर्णक्रममापी कहते हैं।

इसके पश्चात् आने वाले वर्षों में इलेक्ट्रॉन परीक्षणदर्शी बना। उपरोक्त यंत्र और इस यंत्र में सिद्धांत एक-सा ही है, परन्तु यहां उत्तेजन का स्रोत एक्स-किरण के स्थान पर इलेक्ट्रान का पुंज था। एक्स-किरणों पर आधारित यंत्रों में वस्तु के अत्याधिक सूक्ष्म जैसे— क्यूबिक माइक्रोमीटर तक के आयतन को ज्ञात किया जाता था। पुनः साठवें दशक के मध्य में लारेन्स बर्कले (Lawrence Berkley) की प्रयोगशाला में अर्धचालक विकिरण संसूचक बनाया गया। यह पहला ऊर्जा वितरण एक्स-किरण वर्णक्रममापी था जो आज भी प्रयोगशालाओं में प्रयुक्त हो रहा है। इसे एक्स-किरणों वर्णक्रमसमिति (XES) भी कहते हैं। इसके साथ पर्याप्त इलेक्ट्रॉनिक विस्तारक एवं संसूचक लगे होते हैं। इसमें ऊर्जा

वितरण निकाय उत्सर्जित एक्स-किरणों को जो विभिन्न तरंग दैर्ध्यों की होती हैं एकत्र करके इलेक्ट्रॉनिक ढंग से विभक्त करता है। इस तरह से सभी विद्युत चुम्बकीय विकिरण उनकी तरंग दैर्ध्य के अनुसार वर्गीकृत किए जाते हैं। उसी समय ऊर्जा वितरण प्रक्रिया द्वारा ऊर्जा के पैकेट्स फोटॉन की सहायता से तरंग दैर्ध्य ज्ञात करते हैं, जो प्लांक्स नियतांक के बराबर होता है।

$$\lambda = \frac{hC}{E}$$

λ = Wave length of radiation
(तरंग दैर्ध्य का विकिरण)

C = Speed of Light
(प्रकाश की गति)

h = Plank's Constant
(प्लांक्स नियतांक)

E = Energy of radiation
विकिरण ऊर्जा

सूत्र में ज्ञात आकंड़ों को रखने पर —

$$E = \frac{12.4}{\lambda} \quad \text{Kev.}$$

जहाँ पर ऊर्जा को किलो इलेक्ट्रॉन में तथा तरंग दैर्ध्य को आंगस्ट्रॉम में मापते हैं।

क्रमवीक्षण इलेक्ट्रॉनसूक्ष्मदर्शी द्वारा जैविक नमूने का उच्च विभेदन विश्लेषण

क्रमवीक्षण परीक्षण सूक्ष्मदर्शी नई श्रेणी का यंत्र है, जो अणुओं की संरचना को नेनौमीटर विभेदन तक त्रिआयामी रूपरेखा में प्रस्तुत करने

की क्षमता रखता है। यह शक्तिशाली तकनीक किसी भी अणु की संरचना को निकट से अत्यन्त स्पष्ट रूप में दिखाती है। क्रमवीक्षण परीक्षण सूक्ष्मदर्शिकी से इस तरह के आंकड़े सरलता से प्राप्त किए जाते हैं। स्वस्थान और आस-पास की परिस्थितियों में क्रमवीक्षण परीक्षण सूक्ष्मदर्शी विभिन्न प्रकार के नमूनों को, जैसे– छोटी बहुलक जंजीर अभिक्रिया (Polymerase Chain Reaction) से लेकर बड़े सजीव पदार्थ जो सजीव कोशिका के अन्दर पाए जाते हैं उन्हें बड़ी सरलता से स्पष्ट रूप से प्रस्तुत करता है। इस विकास से पारस्परिक सूक्ष्मदर्शिकी में आने वाली परेशानियां समाप्त हो गईं, और विश्लेषणात्मक पद्धति को नई दिशा मिली। यह शस्त्र अत्यन्त शक्तिशाली है जिसने तलीय विज्ञान (Surface Science) में भी क्रान्ति ला दी है। आणुविक एवं कोशिकी संरचनात्मक सूचनाओं और विश्लेषणात्मक प्रश्नों का उत्तर देकर जैव वैज्ञानिकों की समस्याओं का निदान कर दिया है। इस विकास ने निम्नलिखित अत्यन्त सूक्ष्म संरचनाओं को आणुविक स्तर तक देखने में सक्षम एवं अद्वितीय बनाया है।

डी० एन० ए० और आर० एन० ए० के अणु के विश्लेषण में।
प्रोटीन-न्यूक्लिक एसिड यौगिक विश्लेषण में।
गुणसूत्र विश्लेषण में।
कोशिका झिल्ली विश्लेषण में।
प्रोटीन और पेप्टाइड विश्लेषण में।
आणुविक-क्रिस्टल विश्लेषण में।
बहुलक एवं जैव पदार्थों के विश्लेषण में।
लिगैन्ड रिसेप्टर बन्ध (Ligand-receptor binding)

क्रमवीक्षण परीक्षण सूक्ष्मदर्शी की सहायता से सुन्दर चित्रण, अच्छा परीक्षण और उच्च विभेदन क्षमता द्वारा जैव वस्तु का सही विश्लेषण किया जा सकता है।

न्यूक्लिक एसिड चित्रण (Nucleic acid imaging)

क्रमवीक्षण इलेक्ट्रॉन, सूक्ष्मदर्शी की सहायता से न्यूक्लिक एसिड के चित्रण में विशेष उन्नति हुई। इसके द्वारा जैविक कोशिका में पाये जाने वाले न्यूक्लिक एसिड का नेनौमीटर विभेदन तक का अपरिवर्तित चित्रण किया जा सकता है।

यह गुणसूत्रों के नक्शे बनाना (chromosome mapping), प्रतिलेखन Transcription), अनुवाद (Translation) और डी० एन० ए० के अणु की पारस्परिक क्रियाओं, जैसे- अन्तर्वेशीय उत्परिवर्तनशील (Interacalating mutagens) आदि क्षेत्रों में सहायता करता है।

प्रारम्भिक विकास में अनेक प्रकार के क्रमवीक्षण इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी बनाए गए- सुरंगी क्रमवीक्षण सूक्ष्मदर्शी उनमें से प्रमुख है। विकास की इस प्रक्रिया में फिर (Atomic Force Microscope) परमाणु बल सूक्ष्मदर्शी बनाया गया। 1991 तथा 1992 में परमाणु बल सूक्ष्मदर्शी की सहायता से डी० एन० ए० का चित्रण किया गया था। कुछ समय बाद विभेदन को बढ़ाकर निम्न चार मुख्य चरणों में न्यूक्लिक एसिड के चित्रण को समर्थ एवं योग्य बनाया गया।

स्थानीय चित्रण के वातावरण को नियंत्रित करना।
क्रमवीक्षण निष्कासन प्रणाली को विकसित करना।
(Tapping mode Scanning Techniques)
परमाणु बल सूक्ष्मदर्शी को बेहतर बनाना।
संवेदनशील आधार प्रदान करना।

नमूने की पारस्परिक क्रियाओं को सतही जलयोजन द्वारा दिखाते हैं। इस विधि में चित्रण के समय कोशिका नली बल नहीं जुड़ता है। सापेक्ष आर्द्रता को एल्कोहल में स्थिर करके घटा दिया जाता है और फिर डी० एन० ए० अणु का विभेदन नेनौमीटर में प्राप्त करते हैं। डी० एन० ए० अणु को एल्कोहॉल से धोकर माइका पर चिपकाने के बाद जलीयकरण द्वारा जलीय वातावरण में पुनः चित्रित किया जाता है।

निष्कासन प्रणाली सूक्ष्मदर्शी

निष्कासन प्रणाली सूक्ष्मदर्शी अत्यन्त सफलतम उच्च विभेदन क्षमता वाला यंत्र है जो भंगुर जैविक नमूनों को बिना नुकसान पहुंचाए जलीय विलयन तथा वायु दोनों में विश्लेषित कर सकता है। परमाणु बल सूक्ष्मदर्शी की सहायता से जलीय माध्यम में डी० एन० ए० को उच्च विभेदन पर बड़े स्पष्ट और बेहतर ढ़ंग से देखने के पश्चात् ही अन्य कोमल जैव-अणुओं (ऑलिगोन्यूक्लियोटाइड डी० एन० ए० परीक्षण 500 पी० पी० एम० से कम आकार वाले) के अधिक स्पष्ट चित्रण की आशा जागृत हुई है तथा ये सूक्ष्म अणु इसमें बड़ी सरलता से चित्रित हो जाते हैं। निष्कासन प्रणाली द्वारा तरल में भी सरलतापूर्वक जैविक नमूनों की छवि अंकित होती है। यह छवि जैव रासायनिक प्रक्रिया द्वारा बनती है। सूक्ष्मदर्शी द्वारा दो प्रकार के बल अनुकूलतम परिस्थितियों के साथ वस्तु पर लगते हैं।

पिछले कुछ वर्षों में स्तरीय सिलिकॉन नाइट्राइट के स्थान पर इलेक्ट्रॉन पुंज धनीभूतीकरण का उपयोग ऑक्साइड तीव्र नेनौपरीक्षण ने डी० एन० ए० की अपरिवर्तित छवि को माइका में चिपका कर सफलतापूर्वक प्रस्तुत किया गया है। स्वतंत्र डी० एन० ए० की छवि को प्रस्तुत करने के लिए, माइका एक स्वतः समतल, सस्ता आधार देता है। उच्च आदेशित पायरोलिटिक, ग्रेफाइट से डी० एन० ए० के अनुकरण (नकल) को प्राप्त किया जाता है। एक सामान्य चित्रण के लिए 50 mg/ ml-5m के डी० एन० ए० विलयन की आवश्यकता होती है। डी० एन० ए० अणु के सफलतापूर्वक स्थिरीकरण के लिए सिलेनाइज्ड माइका और डी० एन० ए० को प्रोटीन मोनोलेयर बन्ध से कार्बन लगे माइका पर एक रूपान्तरित आधार पर स्थिर करते हैं। इस तरह की विधि द्वारा डी० एन० ए० और आर० एन० ए० के (बहुलक यौगिक), क्लोनो तन्तु, डी० एन० ए० कॉम्पलेक्स तथा सूक्ष्म जैविकी कण पी० सी० आर० तन्तु आदि का अधिक विस्तृत विश्लेषण किया जा सकता है।

बड़ी न्यूक्लिक एसिड संरचनाओं जैसे- न्यूक्लियोसोम्स और क्रोमोसोम का भी पारगत परीक्षण सूक्ष्मदर्शी की सहायता से अध्ययन किया जा

सकता है। यह शाखा आगे आने वाले प्रयोगों में इनसीटू (in situ), गुणसूत्रीय संकरण, डी० एन० ए० आधारित प्रोटीन बन्ध, न्यूक्लियोसोम के अध्ययन में तथा न्यूक्लिक एसिडों के उच्च विभेदन चित्रण की सम्भावनाओं में सरलता को दर्शाती है।

कोशिका विज्ञान

जैव वैज्ञानिकों ने परमाणु बल सूक्ष्मदर्शी के गतिज व्यवहार और विशेष सामर्थ्य का उपयोग करके- कोशिका, रक्त कणों, प्लेटलेट्स, हृदय पेशी, जीवित वृक्कीय बाह्यत्वचीय कोशिकाएं एवं अनेक जीवाणुओं का चित्रण किया। कुछ कोशिकीय विश्लेषण परमाणु बल सूक्ष्मदर्शी की सहायता से अत्यन्त स्पष्ट रूप से देखे जा सकते हैं जैसे— जैविक झिल्ली में स्थानान्तरित बाह्यत्वचीय कोशिकाओं का चित्रण, कैल्शियम अपचय द्वारा नेनौमीटर वसा छिद्रों का चित्रण।

परमाणु बल सूक्ष्मदर्शी को प्रयुक्त करने का दूसरा उदाहरण कोशिका सतह चित्रण है, जिसमें वृक्कीय बाह्यत्वचीय कोशिकाओं के जैव कंकाल गड्ढे, जैविक झिल्ली से जुड़े तन्तुओं को 50 नेनौमीटर (कांच की कवर स्लिप से पॉलीलायसिन स्थिरीकारक द्वारा अनुकूलतम आधार पर) तक के आकार में देखा जा सकता है। इस विधि में नमूने को कोशिकीय चित्रण के लिए विशिष्ट रूप से सरल वातावरण प्राप्त होता है क्योंकि यह स्वतंत्र धब्बों और स्थिरीकारकों से मुक्त है। यह अध्ययन लाभप्रद इसलिए भी है क्योंकि यह नमूने को प्रतिरक्षित रखता है।

सूक्ष्म अणुओं का सफलतम चित्रण

सूक्ष्म अणुओं, जैसे— प्रोटीन, कठोर तन्तु जैसे कैलोजन बड़ी आसानी से परमाणु बल सूक्ष्मदर्शी द्वारा चित्रित किये जाते हैं। इसके द्वारा 30 नेनौमीटर से 70 नेनौमीटर तक वक्रीय प्रतिरूपों का स्पष्ट विभेदन होता है। परमाणु बल सूक्ष्मदर्शी द्वारा अति सूक्ष्म अणु जो अलग-अलग होते हैं तथा किसी आधार से जुड़ नहीं पाते उन्हें विशेष रूप से जोड़कर चित्रित किया जाता है। इसी प्रकार एण्टीबॉडी (IgG) को भी

चित्रित किया जाता है। कुछ नमूने जो उच्च विभेदन के योग्य नहीं होते उन्हें इसके योग्य बनाया जाता है। बैक्टिरियोफेज कांच की कवर स्लिप से अच्छी तरह से नहीं चिपकता है उसे प्रकाश अभिक्रिया द्वारा विभेदित करके देखते हैं।

परमाणु बल सूक्ष्मदर्शी के प्रयोग

सरलता एवं लचीलापन : छोटे नमूनों की जैविक तैयारी करके इस विधि से देखते हैं। इस सरलतम विधि द्वारा चार गुना अधिक शीघ्रता से विश्लेषण किया जाता है। परमाणु बल सूक्ष्मदर्शिकी में इतना अधिक लचीलापन है कि स्पर्श मात्र से नमूने का चित्रण हो जाता है। तरल वातावरण में भी बिना किसी जैविक क्षति के कोशिका स्पष्ट दिखाई देती है। भविष्य में उच्च विभेदन क्षमता वाले परमाणु बल सूक्ष्मदर्शी के साथ आंकिक संयंत्रों को जोड़कर इस विकास को और आगे बढ़ाया जा सकता है। अभिनेत्रक सूक्ष्मदर्शी ने परमाणु बल सूक्ष्मदर्शी के साथ जुड़कर नमूने के आकर्षक चित्रण के लिए चमकदार क्षेत्र, प्रतिदीप्ति आदि को संयोजित करके सुन्दर एवं उच्च विभेदित छवियों को प्रदान किया है।

भविष्य : वैज्ञानिकों ने अपनी खोज जारी रखते हुए क्रमवीक्षण परीक्षण सूक्ष्मदर्शी और परमाणु बल सूक्ष्मदर्शी का विकास किया। परमाणु बल सूक्ष्मदर्शी द्वारा नेनौन्यूट्रॉन सीमा तक पारस्परिक अणु बन्ध की भी गणना की गई तथा बॉयोटिन, डिस्थायोबॉयोटिन और इमिनोबॉयोटिन को विभेदित किया गया। यह आणविक जैवविज्ञान की बहुत बड़ी उपलब्धि है। विभेदन की इस उच्च सीमा तक अन्य कोई भी यंत्र नहीं पहुंचा, जहां तक क्रमवीक्षण परीक्षण सूक्ष्मदर्शी की पहुंच है। और इस प्रकार आणुविक जैव विज्ञान के क्षेत्र में नेनौरस्कोप क्रमवीक्षण परीक्षण सूक्ष्मदर्शिकी ने महत्वपूर्ण योगदान दिया है।

■

परिशिष्ट – I

शब्द-सूची (हिंदी-अंग्रेजी)

शब्द	अर्थ
अणु	Atom
अनावरण	Exposure
अनुक्रम	Sequence
अनुक्रमानुपाती	Proportionate
अपकेन्द्रीकरण	Centrifugation
अपसारी लेन्स	Diverging lens
अभिरंजन	Staining
अभिदृश्यक लेन्स	Objective lens
अभिसारी लेन्स	Converging lens
अभिव्यक्त करना	Express
अलिन्द	Auricle
अवतल दर्पण	Concave mirror
अवतल लेन्स	Concave lens
अवयव	Component

अवक्षेप	Precipitates
अवशेष	Traces
आंकिक	Digital
आकारिकी	Morphology
आधार	Foundation, base
अतिव्यापन	Overlapping
आवर्धक	Magnifier
आरोपण	Mounting
ऑसमियम स्थिरक	Osmium fixative
इलेक्ट्रॉन	Electron
इलेक्ट्रॉन पुंज	Electron beam
ऊर्जा विक्षेपक	Energy dispersive
उत्पादकीय, पुनरुत्पादक	Reproductive
उत्तल लेन्स	Convex lens
उत्परिवर्तन	Mutation
उत्प्रेरक	Catalyst
उत्तेजन, उद्दीपन	Excitation
उभयोत्तल लेन्स	Biconvex lens
एकत्र होना	Deposition

एकालाप	Monolyser
अंग, अवयव, घटक	Component
कृत्रिम, अमौलिक	Dervatization
कारक	Agent
कॉटन ब्ल्यू (अभिरंजक)	Cotton Blue
केन्द्रीभूत, फोकस	Focus
क्रमशः	Simultaneously
क्रमवीक्षण इलेक्ट्रॉन सूक्ष्मदर्शी	Scanning Electron Microscope
कवर स्लिप	Cover slip
गाड़ना, जमाना	Embedding
गतिज	Dynamic
घनीकरण, सघनन	Condenser
चालकता, चालन	Conductive
जोड़ा, युग्म	Yoke
क्रॉस तार	Cross Wire
कक्ष	Shell
कक्षीय	Orbital
तत्व	Element
दन्तुर दण्ड व्यवस्था	Rack-Pinion Arrangement

द्वारक	Aperture
निर्जलीकरण	Dehydration
निरपेक्ष	Absolute
नाल, शलाका	Catheter
निष्कासन	Ejected
नेत्रिका लेन्स	Eye piece
प्रकाशीय कण (फोटान)	Photon
प्रकाश गुणक	Photo multiplier
प्रकाश तंत्रिका	Optic nerves
प्रतिपर्ण	Stub
प्रतिदर्श	Specimen, Object
प्रतिमान	Pattern
प्रतिरोधक	Buffer
प्रदीप्ति	Illumination
परमाणु बल सूक्ष्मदर्शी	Atomic force microscope
परवलयाकार	Paraboloidal
परासरण	Osmosis
परासरणी	Osmotic
पारगमन	Transition
परितारिका	Iris

परावर्तित	Reflected
प्रक्षेपण	Projection
पृथक करना	Discrete
पृष्ठ वितरित	Back scattered
त्रिचरणीय	Three step, stage of progress
बढ़ाना	Amplified
बेलनाकार	Cylindrical
बहुआकृतिकी	Polymerization
बहुफलकीय	Polyorheads
भंगुर, दुर्बल, कमजोर	Fragile
भेद क्रिया	Contrast
फॉविया सेन्ट्रेलिस	Fovea Centralis
मूल तत्वों का विश्लेषण	Elemental analysis
निर्वातित	Evacuated
विकृत आकार	Distortion
वेग	Velocity
वर्णक्रम, स्पेक्ट्रम	Spectrum
वितरण प्रारूप	Diffraction patterns
वेधना	Penetration

विद्युत चुम्बकीय विकिरण	Electromagnetic radiation
विद्युत स्थैतिक	Electrostatic
विभेदन क्षमता	Resolution
व्लेहनेल्ट एसेम्बली	Wehnelt assembly
विवर्तन	Diffraction
विक्षालन	Leaches
शोषित	Desiccator
संकरण	Hybridization
संग्राही	Conductor
स्तम्भ	Column
स्थलाकृति	Topography
स्वस्थाने	In situ
सह-संयोजकता	Covalent
स्फुरण	Sputter
स्फुरणदर्शी	Scientillator
सम्पीड़क	Compressor
समय मिलाना	Synchronize
समंजन क्षमता	Power of Accommodation
समंजक या समायोजन पेंच	Adjustment screw
संसूचक	Detector

परिशिष्ट – II

संदर्भ

(1) नूतन माध्यमिक भौतिकी, कुमार एवं मित्तल (1998)

(2) अंग्रेजी-हिन्दी कोश-फादर कॉमिल वुल्के (1988) एस० चन्द एण्ड कम्पनी (प्रा०) लि० रामनगर, नई दिल्ली।

(3) द कॉनसाइज आक्सफोर्ड डिक्सनरी (नवां संस्करण)
(The concise Oxford Dictionary of Current english Ninth edition, edited by - della Thompson)

(4) वृहद पारिभाषिक शब्द : संग्रह, विज्ञान खण्ड : 1-2 वैज्ञानिक तथा तकनीकी शब्दावाली आयोग।

(5) प्रिंसपल ऐन्ड टेक्निक ऑफ इलेक्ट्रॉन माइक्रोस्कोपी बायलोजिकल एप्लीकेशन - एम० ए० हयाट (1975)

(6) द प्रिंसपल ऐन्ड प्रैक्टिस ऑफ इलेक्ट्रॉन माइक्रोस्कोपी, इयान एम० वाट (1985)।

परिशिष्ट – III

सार्वत्रिक नियतांक

प्रकाश का वेग	$C = 3.00 \times 10^{10}$ सेमी०/सेकेण्ड
प्लैक्स नियतांक	$h = 6.63 \times 10^{-27}$ अर्ग/सेकेण्ड
इलेक्ट्रॉन का आवेश	$e = 4.8 \times 10^{-10}$ e.s
इलेक्ट्रॉन का द्रव्यमान	$me = 9.11 \times 10^{-28}$ ग्राम
प्रोटान का द्रव्यमान	$mp = 1.67 \times 10^{-24}$ ग्राम या 1.007825 amu.

परिशिष्ट – IV

वैज्ञानिक तथा तकनीकी शब्दावली आयोग द्वारा स्वीकृत शब्दावली-निर्माण के सिद्धांत

1. अंतर्राष्ट्रीय शब्दों को यथासंभव उनके प्रचलित अंग्रेज़ी रूपों में ही अपनाना चाहिए और हिंदी व अन्य भारतीय भाषाओं की प्रकृति के अनुसार ही उनका लिप्यंतरण करना चाहिए। अंतर्राष्ट्रीय शब्दावली के अंतर्गत निम्नलिखित उदाहरण दिए जा सकते हैं :—

(क) तत्वों और यौगिकों के नाम जैसे हाइड्रोजन, कार्बन डाइ-ऑक्साइड आदि;

(ख) तौल और माप की इकाइयाँ और भौतिक परिमाण की इकाइयाँ जैसे डाइन, कैलॉरी, ऐम्पियर आदि;

(ग) ऐसे शब्द जो व्यक्तियों के नाम पर बनाए गए हैं, जैसे-मार्क्सवाद (कार्ल मार्क्स), ब्रेल (ब्रेल), बॉयकाट (कैप्टेन बॉयकाट), गिलोटिन (डॉ० गिलोटिन), गेरीमैंडर (मि० गेरी), एम्पियर (मि० एम्पियर), फ़ारेनहाइट तापमान (मि० फ़ारेनहाइट) आदि;

(घ) वनस्पतिविज्ञान, प्राणिविज्ञान, भूविज्ञान आदि की द्विपदी नामावली ;

(ङ) स्थिरांक जैसे π, g, आदि;

(च) ऐसे अन्य शब्द जिनका आमतौर पर सारे संसार में व्यवहार हो रहा है जैसे रेडियो, पेट्रोल, रेडार, इलेक्ट्रॉन, प्रोटॉन, न्यूट्रॉन आदि;

(छ) गणित और विज्ञान की अन्य शाखाओं के संख्यांक, प्रतीक, चिह्न और सूत्र, जैसे साइन, कोसाइन, टेन्जेन्ट, लॉग आदि (गणितीय संक्रियाओं में प्रयुक्त अक्षर रोमन या ग्रीक वर्णमाला के होने चाहिए)।

2. प्रतीक, रोमन लिपि में अंतर्राष्ट्रीय रूप में ही रखे जाएँगे परंतु संक्षिप्त रूप नागरी और मानक रूपों में भी, विशेषतः साधारण तौल और माप में लिखे जा सकते हैं, सेन्टीमीटर का प्रतीक जैसे cm. हिंदी में भी ऐसे ही प्रयुक्त होगा परंतु नागरी संक्षिप्त रूप से० मी० हो सकता है। यह सिद्धांत बाल-साहित्य और लोकप्रिय पुस्तकों में अपनाया जाएगा, परंतु विज्ञान और प्रौद्योगिकी की मानक पुस्तकों में केवल अंतर्राष्ट्रीय प्रतीक, जैसे cm. ही प्रयुक्त करना चाहिए।

3. ज्यामितीय आकृतियों में भारतीय लिपियों के अक्षर प्रयुक्त किए जा सकते हैं जैसे : क, ख, ग या ब, स परंतु त्रिकोणमितीय संबंधों में केवल रोमन अथवा ग्रीक अक्षर ही प्रयुक्त करने चाहिए, जैसे साइन A, कॉस B आदि।

4. संकल्पनाओं को व्यक्त करने वाले शब्दों का सामान्यतः अनुवाद किया जाना चाहिए।

5. हिंदी पर्यायों का चुनाव करते समय सरलता, अर्थ की परिशुद्धता और सुबोधता का विशेष ध्यान रखना चाहिए। सुधार-विरोधी प्रवृत्तियों से बचना चाहिए।

6. सभी भारतीय भाषाओं के शब्दों में यथासंभव अधिकाधिक एकरूपता लाना ही इसका उद्देश्य होना चाहिए और इसके लिए ऐसे शब्द अपनाने चाहिए जो :—

(क) अधिक से अधिक प्रादेशिक भाषाओं में प्रयुक्त होते हों, और

(ख) संस्कृत धातुओं पर आधारित हों।

7. ऐसे देशी शब्द जो सामान्य प्रयोग के पारिभाषिक शब्दों के स्थान पर हमारी भाषाओं में प्रचलित हो गए हैं जैसे telegraph/telegram के लिए तार, continent के लिए महाद्वीप, post के लिए डाक आदि, इसी रूप में व्यवहार में लाए जाने चाहिए।

8. अंग्रेज़ी, पुर्तगाली, फ़्रांसीसी आदि भाषाओं के ऐसे विदेशी शब्द जो भारतीय भाषाओं में प्रचलित हो गए हैं, जैसे टिकट, सिगनल, पेंशन पुलिस, ब्यूरो, रेस्तरां, डीलक्स आदि, इसी रूप में अपनाए जाने चाहिए।

9. **अंतर्राष्ट्रीय शब्दों का देवनागरी लिपि में लिप्यंतरण** : अंग्रेज़ी शब्दों का लिप्यंतरण इतना जटिल नहीं होना चाहिए कि उसके कारण वर्तमान देवनागरी वर्णों में नए चिह्न व प्रतीक शामिल करने की आवश्यकता पड़े। शब्दों का देवनागरी लिपि में लिप्यंतरण अंग्रेजी उच्चारण के अधिकाधिक अनुरूप होना चाहिए और उनमें ऐसे परिवर्तन किए जाएँ जो भारत के शिक्षित वर्ग में प्रचलित हों।

10. **लिंग** : हिंदी में अपनाए गए अंतर्राष्ट्रीय शब्दों को, अन्यथा कारण न होने पर, पुल्लिंग रूप में ही प्रयुक्त करना चाहिए।

11. **संकर शब्द** : पारिभाषिक शब्दावली में संकर शब्द, जैसे guaranteed के लिए 'गारंटित', classical के लिए 'क्लासिकी', codifier के लिए 'कोडकार' आदि, के रूप सामान्य और प्राकृतिक भाषाशास्त्रीय प्रक्रिया के अनुसार बनाए गए हैं और ऐसे शब्दरूपों को पारिभाषिक शब्दावली की आवश्यकताओं, यथा- सुबोधता, उपयोगिता और संक्षिप्तता का ध्यान रखते हुए व्यवहार में लाना चाहिए।

12. **पारिभाषिक शब्दों में संधि और समास** : कठिन संधियों का यथासंभव कम से कम प्रयोग करना चाहिए और संयुक्त शब्दों के लिए दो शब्दों के बीच हाइफ़न लगा देना चाहिए। इससे नई शब्द-रचनाओं को सरलता और शीघ्रता से समझने में सहायता मिलेगी। जहाँ तक संस्कृत पर आधारित 'आदिवृद्धि' का संबंध है, 'व्यावहारिक', 'लाक्षणिक' आदि

प्रचलित संस्कृत तत्सम शब्दों में आदिवृद्धि का प्रयोग ही अपेक्षित है परंतु नवनिर्मित शब्दों में इससे बचा जा सकता है।

13. **हलंत** : नए अपनाए हुए शब्दों में आवश्यकतानुसार हलंत का प्रयोग करके उन्हें सही रूप में लिखना चाहिए।

14. **पंचम वर्ण का प्रयोग** : पंचम वर्ण के स्थान पर अनुस्वार का प्रयोग करना चाहिए परंतु lens, patent आदि शब्दों का लिप्यंतरण लेंस, पेटेंट या पेटेण्ट न करके लेन्स, पेटेन्ट ही करना चाहिए।

परिशिष्ट – V

आयोग द्वारा प्रकाशित शब्द-संग्रहों की सूची

क्र०सं०	शब्द-संग्रह	मूल्य
1.	बृहत् पारिभाषिक शब्द-संग्रह : विज्ञान, खंड-1, 2 (पृ० 2058)	174.00
2.	बृहत् पारिभाषिक शब्द-संग्रह : विज्ञान (हिंदी-अंग्रेजी) (पृ० 819)	38.50
3.	बृहत् पारिभाषिक शब्द-संग्रह : मानविकी और सामाजिक विज्ञान, खंड-1, 2 (पृ० 1297)	292.00
4.	बृहत् पारिभाषिक शब्द-संग्रह : मानविकी और सामाजिक विज्ञान (हिंदी-अंग्रेजीं) (पृ० 700)	132.00
5.	बृहत् पारिभाषिक शब्द-संग्रह : कृषि विज्ञान (पृ० 223)	278.00
6.	बृहत् पारिभाषिक शब्द-संग्रह : आयुर्विज्ञान, भेषजविज्ञान, नृविज्ञान	239.00
7.	बृहत् पारिभाषिक शब्द-संग्रह : आयुर्विज्ञान, कृषि एवं इंजीनियरी (हिंदी-अंग्रेजी) (पृ० 240)	48.50
8.	बृहत् पारिभाषिक शब्द-संग्रह : मुद्रण इंजीनियरी (पृ० 104)	48.00
9.	बृहत् पारिभाषिक शब्द-संग्रह : इंजीनियरी (सिविल, विद्युत, यांत्रिक) (पृ० 253)	57.00
10.	बृहत् पारिभाषिक शब्द-संग्रह : इंजीनियरी-2 (पृ० 186)	34.00

विषयवार शब्दावलियाँ

1.	मानविकी शब्दावली-(नृविज्ञान) (पृ० 179)	10.00
2.	कंप्यूटर विज्ञान शब्दावली (पृ० 337)	87.00
3.	इस्पात एवं अलोह धातुकर्म शब्दावली (पृ० 378)	55.00
4.	वणिज्य शब्दावली (पृ० 172)	259.00
5.	समेकित रक्षा शब्दावली	284.00
6.	अंतरिक्ष विज्ञान शब्दावली	30.00
7.	भाषाविज्ञान शब्दावली (अग्रेजी-हिंदी तथा हिंदी-अंग्रेजी) (पृ० 249)	113.00
8.	बृहत प्रशासन शब्दावली (अंग्रेजी-हिंदी)	निःशुल्क
9.	बृहत् प्रशासन शब्दावली (हिंदी-अंग्रेजी)	निःशुल्क
10.	पशुचिकित्सा विज्ञान शब्दावली (पृ० 174)	82.00
11.	लोक-प्रशासन शब्दावली (पृ० 98)	52.00
12.	अर्थशास्त्र शब्दावली (मानविकी शब्दावली-9) (पृ० 96)	4.40
13.	नृविज्ञान शब्दावली (पृ० 198)	10.00
14.	वानिकी शब्दावली (पृ० 62)	6.50

15.	खेलकूद शब्दावली (पृ० 103)	10.25
16.	डाकतार शब्दावली (पृ० 126)	11.60
17.	रेलवे शब्दावली (पृ० 56)	2.00
18.	गुणता नियंत्रण शब्दावली (पृ० 67)	38.00
19.	रेशम विज्ञान शब्दावली (पृ० 85)	50.00
20.	गणित की मूलभूत शब्दावली (पृ० 135)	निःशुल्क
21.	कंप्यूटर विज्ञान की मूलभूत शब्दावली (पृ० 115)	निःशुल्क
22.	भूगोल की मूलभूत शब्दावली (पृ० 156)	निःशुल्क
23.	भूविज्ञान की मूलभूत शब्दावली (पृ० 141)	निःशुल्क

शब्द-संग्रह

1.	कोशिका-जैविकी शब्द-संग्रह (पृ० 197)	62.00
2.	गणित शब्द-संग्रह (पृ० 357)	143.00
3.	भौतिकी शब्द-संग्रह (पृ० 536)	119.00
4.	गृहविज्ञान शब्द-संग्रह (पृ० 144)	60.00
5.	रासायनिक इंजीनियरी शब्द-संग्रह (पृ० 167)	-
6.	भूगोल शब्द-संग्रह (पृ० 369)	200.00
7.	खनन एवं भूविज्ञान शब्द-संग्रह	-
8.	भूविज्ञान शब्द-संग्रह (पृ० 328)	88.00
9.	संरचनात्मक भूविज्ञान एवं विवर्तनिकी शब्द-संग्रह (पृ० 48)	15.00
10.	पत्रकारिता एवं मुद्रण शब्दावली (पृ० 184)	12.25

आयोग द्वारा प्रकशित पाठमालाएँ/ मोनोग्राफ

क्र०सं०	शब्द-संग्रह	मूल्य
1.	ऐतिहासिक नगर	195.00
2.	प्राकृतिक व सांस्कृतिक नगर	109.00
3.	समुद्री यात्राएँ	79.00
4.	विश्व दर्शन	53.00
5.	अपशिष्ट प्रबंधन	17.00
6.	कोयला : एक परिचय	294.00
7.	वाहित मल एवं आपंक : उपयोग एवं प्रबंधन	40.00
8.	पर्यावरणी प्रदूषण : नियंत्रण तथा प्रबंधन	23.50
9.	रत्न विज्ञान	115.00
10.	2-दूरीक एवं 2-मानकित समष्टियों में संपात एवं स्थिर बिंदु समीकरणों के साधन	68.00
11.	पराज्यामितीय फलन	90.00
12.	ऊर्जाः संसाधन और संरक्षण	105.00

MG/PRRND-2600/HRD/03-600.

PED.854 (हिन्दी)
600—2003 (DSK–II)

Printed by the Manager, Govt. of India Press, Ring Road, Mayapuri, New Delhi-110064
and Published by the Controller of Publications, Delhi-110054 — 2004