SIBANI MANDAL MAHAVIDYALAYA

Village + P.O. Namkhana

Dist. South 24 Parganas

West Bengal

IDC – Zoology

Unit 5: Laboratory techniques and Instrumentation

1. Basics of Light Microscopy
2. Principles and Application of Colorimetry
3. Principles and application of Ultracentrifugation

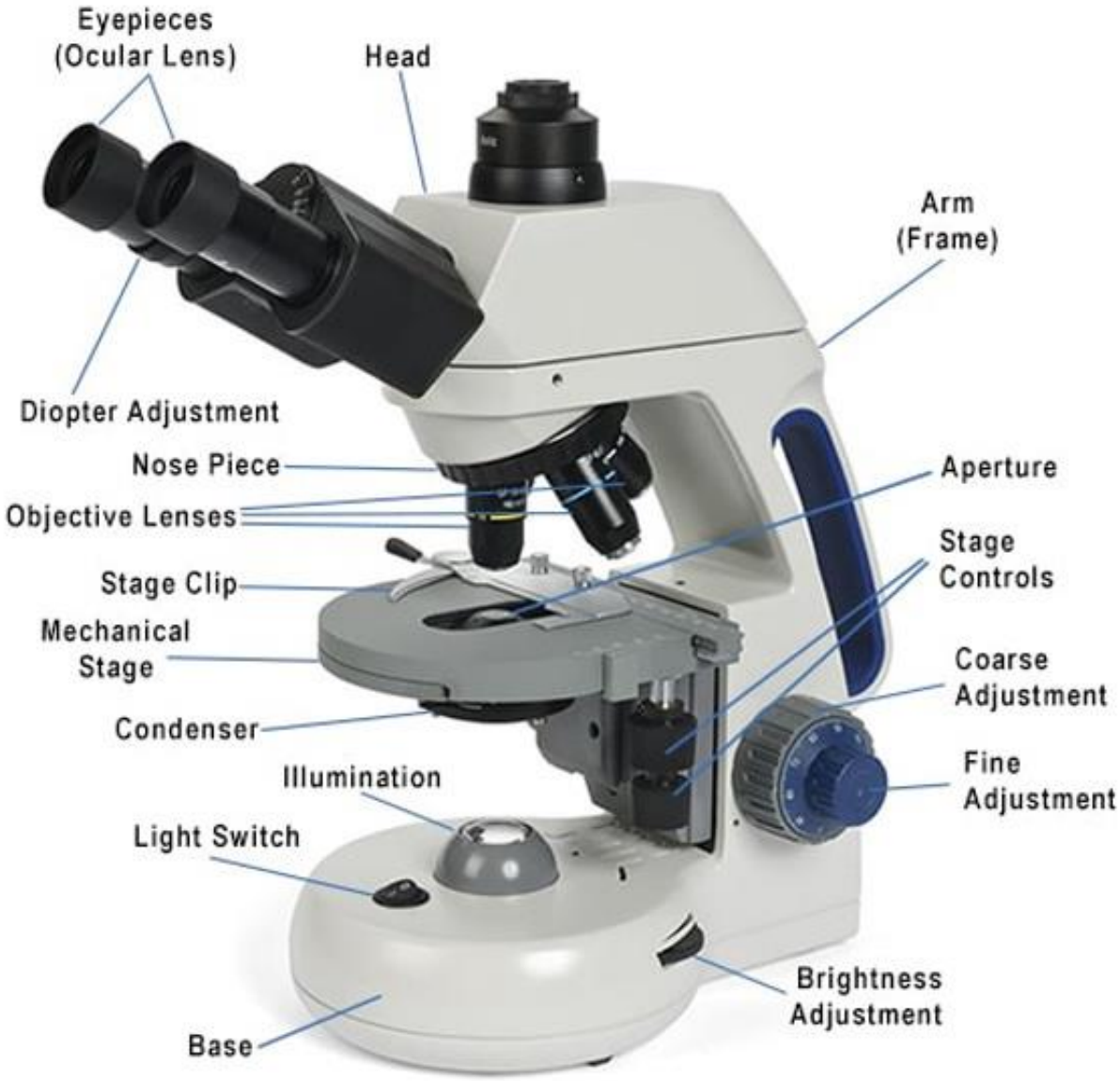
ল্যাবরেটরি যন্ত্রপাতি ও বিশ্লেষণ পদ্ধতি

— Light Microscopy, Colorimetry ও Ultracentrifugation

---

1 Basics of Light Microscopy

(আলোক অণুবীক্ষণ যন্ত্রের মৌলিক ধারণা)



□ Light Microscope কী?

Light microscope এমন একটি অণুবীক্ষণ যন্ত্র যেখানে
দৃশ্যমান আলো (visible light) ব্যবহার করে নমুনার বিবর্ধিত (magnified) প্রতিচ্ছবি তৈরি করা হয়।

□ মূল অংশসমূহ

- **Light source / Mirror** – আলো সরবরাহ করে
- **Condenser** – আলোকে কেন্দ্রীভূত করে
- **Objective lens** – প্রধান বিবর্ধন প্রদান করে
- **Eyepiece (ocular)** – চূড়ান্ত বিবর্ধন
- **Stage** – স্লাইড রাখার স্থান

□ Principle of Light Microscopy

- আলো নমুনার মধ্য দিয়ে প্রবেশ করে
- বিভিন্ন অংশে আলো ভিন্নভাবে প্রতিসৃত হয়
- লেন্স সিস্টেম সেই আলোর প্রতিচ্ছবি **বিবর্ধিত করে**

বিবর্ধন (Magnification) হলো কোনো বস্তু মাইক্রোস্কোপ বা লেন্সের সাহায্যে দেখলে তার **চিত্রের আকার বাস্তব আকারের তুলনায় কত গুণ বড় দেখা যায়**, তার পরিমাপ।

অর্থাৎ,
বিবর্ধন = চিত্রের আকার ÷ বাস্তব বস্তুর আকার

সহজ ভাষায় বলা যায়, বিবর্ধন আমাদের জানায় কোনো বস্তু আসলে যতটা বড়, তাকে দেখার সময় আমরা সেটাকে **কত গুণ বড় করে দেখছি**।

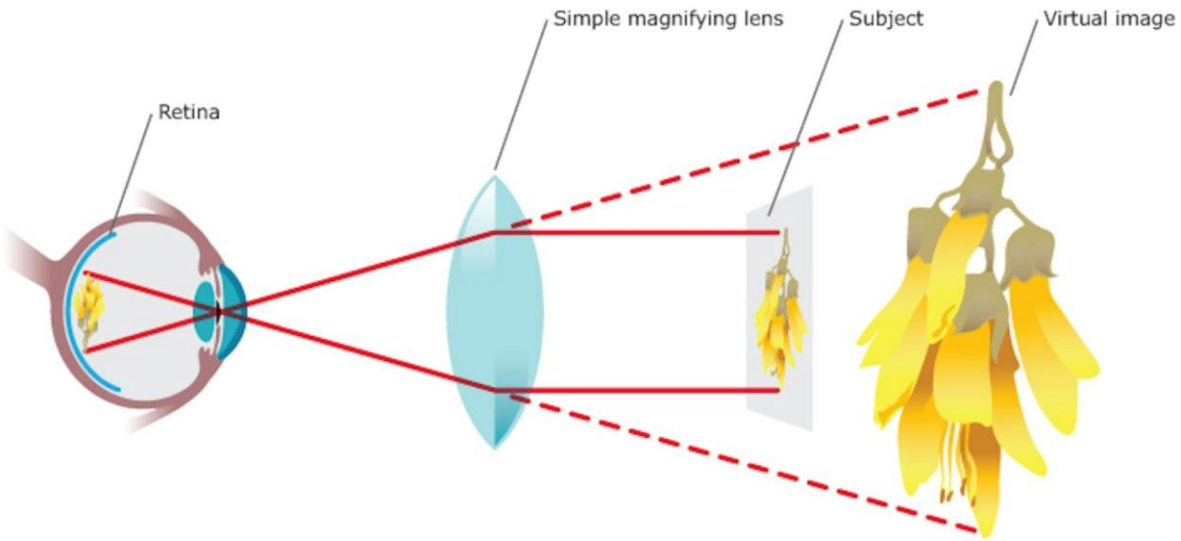
উদাহরণ:

- বস্তুর উচ্চতা = 1 একক
- ছবির উচ্চতা = 5 একক

👉 ম্যাগনিফিকেশন = 5×

পরীক্ষার জন্য এক লাইনের সংজ্ঞা

> **ম্যাগনিফিকেশন হলো এমন একটি প্রক্রিয়া যার মাধ্যমে কোনো বস্তুর ছবি বস্তুর তুলনায় বড় করে দেখা যায়।**



□ মোট বিবর্ধন:

লাইট মাইক্রোস্কোপের **বিবর্ধন (Magnification)**–এর সূত্র হলো—

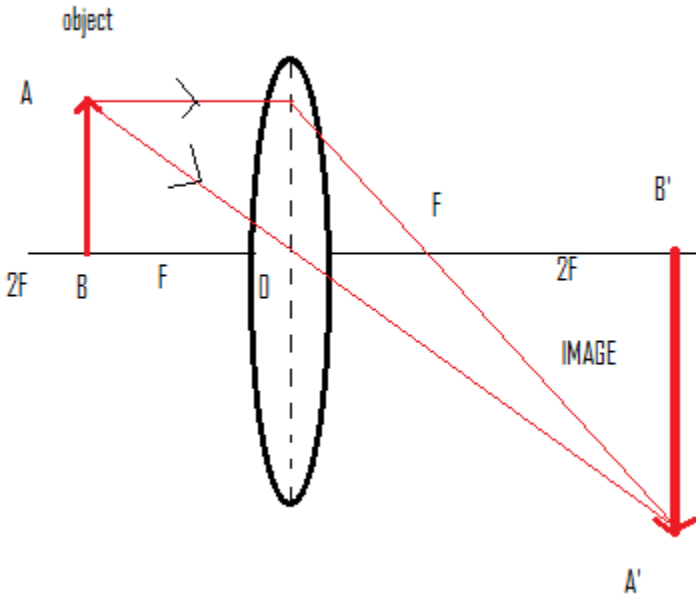
মোট বিবর্ধন = অবজেক্টিভ লেন্সের বিবর্ধন × আইপিস লেন্সের বিবর্ধন

গাণিতিকভাবে,
Magnification (M) = $M_o \times M_e$

যেখানে,

- **M_o** = অবজেক্টিভ লেন্সের বিবর্ধন

- $\mathbf{M_e}$ = আইপিস লেন্সের বিবর্ধন



□ Applications

- কোষ ও টিস্যু পর্যবেক্ষণ
- ব্যাকটেরিয়া ও প্রোটোজোয়া দেখা
- শিক্ষা ও গবেষণাগারে ব্যবহার

2 Principles and Application of Colorimetry

(কোলারিমেট্রির নীতি ও প্রয়োগ)

কালোরিমেট্রি (Colorimetry) হলো এমন একটি বৈজ্ঞানিক পদ্ধতি, যার মাধ্যমে **কোনো দ্রবণে উপস্থিত পদার্থের ঘনত্ব (concentration)** নির্ণয় করা হয় **রঙের তীব্রতা** মাপার সাহায্যে।

সহজভাবে বললে—

দ্রবণের রং যত গাঢ় হবে, তাতে থাকা পদার্থের পরিমাণ তত বেশি হবে।

কালোরিমেট্রির মূল নীতি

এটি **Beer–Lambert-এর সূত্রের** উপর ভিত্তি করে কাজ করে, যেখানে বলা হয়—
দ্রবণের দ্বারা শোষিত আলোর পরিমাণ দ্রবণে উপস্থিত পদার্থের ঘনত্বের সঙ্গে সমানুপাতিক।

ব্যবহার

কালোরিমেট্রি ব্যবহৃত হয়—

- রক্ত ও প্রস্রাব পরীক্ষায়
- জৈব রসায়ন ও জীববিজ্ঞানের পরীক্ষাগারে
- জলে বিভিন্ন রাসায়নিক পদার্থের পরিমাণ নির্ণয়ে
- প্রোটিন, শর্করা, DNA নির্ণয়
- রক্তে হিমোগ্লোবিন পরিমাপ
- জল ও খাদ্য বিশ্লেষণ
- ক্লিনিক্যাল ডায়াগনস্টিক

জলে কালোরিমেট্রির ব্যবহার

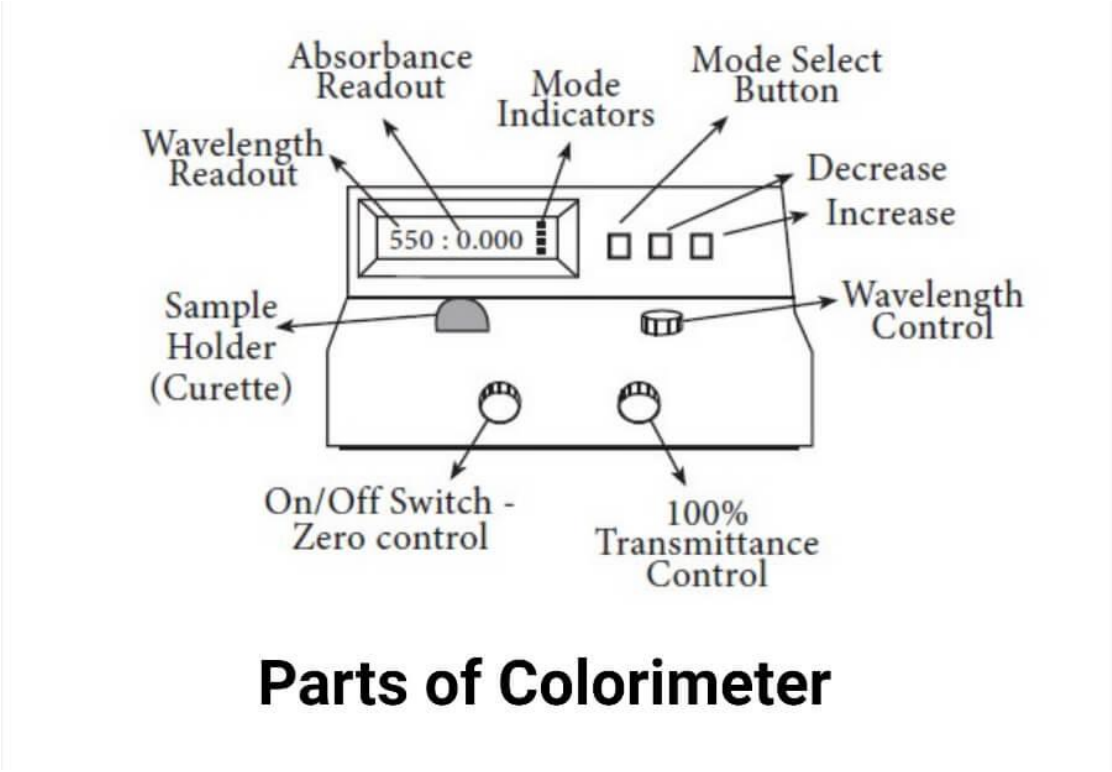
কালোরিমেট্রি জলে ব্যবহার করা হয়—

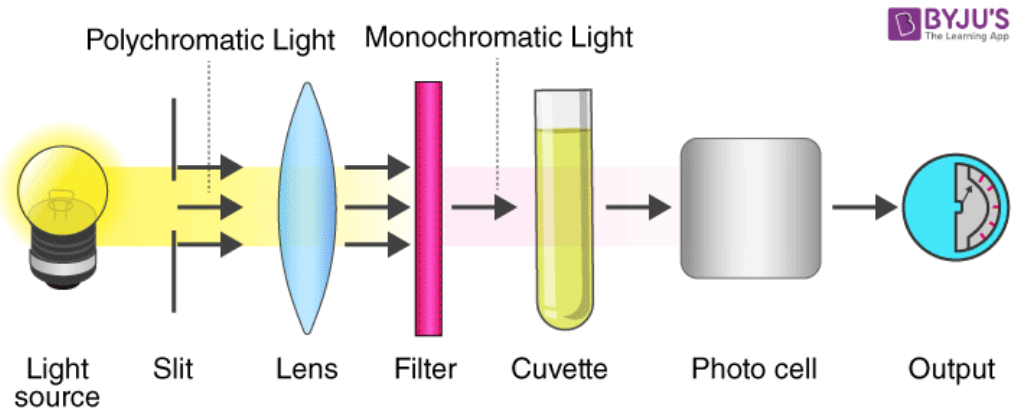
- জলে **নাইট্রেট, ফসফেট, লোহা, ক্লোরিন** ইত্যাদির পরিমাণ নির্ণয়ে
- **পানীয় জলের মান (water quality)** পরীক্ষা করতে
- দূষিত জল বিশ্লেষণে
- ল্যাবরেটরিতে পরিবেশগত গবেষণায়

যন্ত্র

কালোরিমেট্রিতে ব্যবহৃত প্রধান যন্ত্র হলো **কালোরিমিটার (Colorimeter)**।

সংক্ষেপে, **রঙের মাধ্যমে পরিমাণ নির্ণয় করার বিজ্ঞানই হলো কালোরিমেট্রি**।





🔬 Colorimetry কী?

Colorimetry হলো এমন একটি বিশ্লেষণ পদ্ধতি যেখানে
রঙিন দ্রবণ কতটা আলো শোষণ করছে (absorbance) তা মেপে
দ্রবণে উপস্থিত পদার্থের **ঘনত্ব নির্ণয়** করা হয়।

🧪 Principle of Colorimetry

বিয়ার–লাম্বার্টের সূত্র (Beer–Lambert Law) অনুযায়ী—

কোনো দ্রবণের দ্বারা শোষিত আলোর পরিমাণ **দ্রবণে উপস্থিত পদার্থের ঘনত্ব** এবং **আলোর পথের দৈর্ঘ্যের** সঙ্গে সমানুপাতিক।

$$A = \varepsilon c l$$

যেখানে—

- A = শোষণমাত্রা (Absorbance)
- ε = মোলার শোষণ সহগ (Molar absorptivity)
- c = দ্রবণের ঘনত্ব (Concentration)
- l = আলোর পথের দৈর্ঘ্য (Path length)

সহজ ভাষায়

দ্রবণ যত ঘন হবে, তত বেশি আলো শোষণ করবে।

মোলার শোষণ ক্ষমতা (Molar Absorptivity) বা **মোলার এক্সটিংশন কো-এফিসিয়েন্ট** হলো এমন একটি ধ্রুবক, যা বলে দেয় কোনো পদার্থ **নির্দিষ্ট তরঙ্গদৈর্ঘ্যের আলো কতটা শক্তভাবে শোষণ করে**।

সংজ্ঞা

মোলার শোষণ ক্ষমতা (ε) হলো—
একক পথদৈর্ঘ্য (১ সেমি) এবং একক ঘনত্ব (১ মোলার) বিশিষ্ট দ্রবণের শোষণমাত্রা।

একক (Unit)

$$\mathrm{L\ mol^{-1}\ cm^{-1}}$$

সহজভাবে

ε যত বেশি হবে, পদার্থটি আলো **তত বেশি শোষণ করবে**।

সংক্ষেপে, **মোলার শোষণ ক্ষমতা কোনো পদার্থের আলোক শোষণের ক্ষমতার পরিমাপ**।

আলোর শোষণ দিয়ে দ্রবণের ঘনত্ব নির্ণয়ের সূত্রই হলো বিয়ার–লাম্বার্টের সূত্র।

শোষণমাত্রা ∝ ঘনত্ব

অর্থাৎ,
কোনো দ্রবণের **শোষণমাত্রা** (Absorbance) দ্রবণে উপস্থিত পদার্থের **ঘনত্বের** (Concentration) সঙ্গে সমানুপাতিক।

গাণিতিকভাবে লেখা যায়—

$$A \propto c$$

এবং Beer–Lambert সূত্র অনুযায়ী—

$$A = \varepsilon c l$$

যেখানে ε ও l ধ্রুবক হলে,
ঘনত্ব বাড়লে শোষণমাত্রাও বাড়ে।

□ Colorimeter-এর প্রধান অংশ

- Light source
- Filter (নির্দিষ্ট তরঙ্গদৈর্ঘ্য নির্বাচন)
- Sample cuvette
- Detector
- Display unit

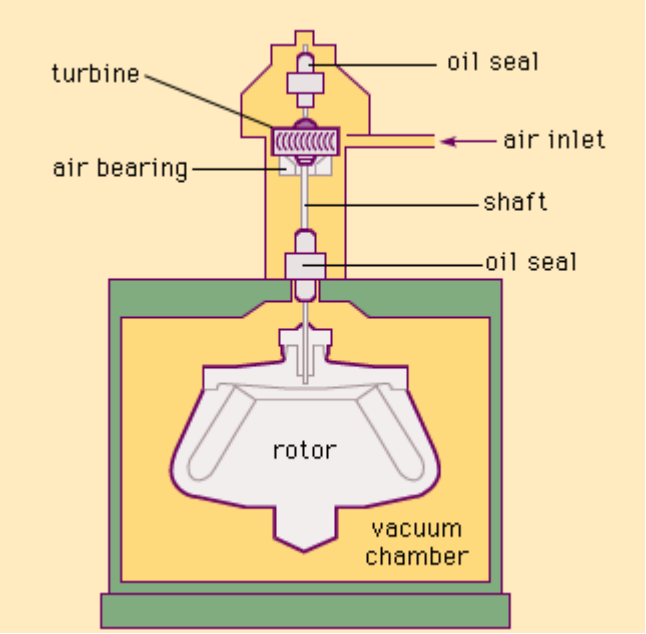
□ Applications

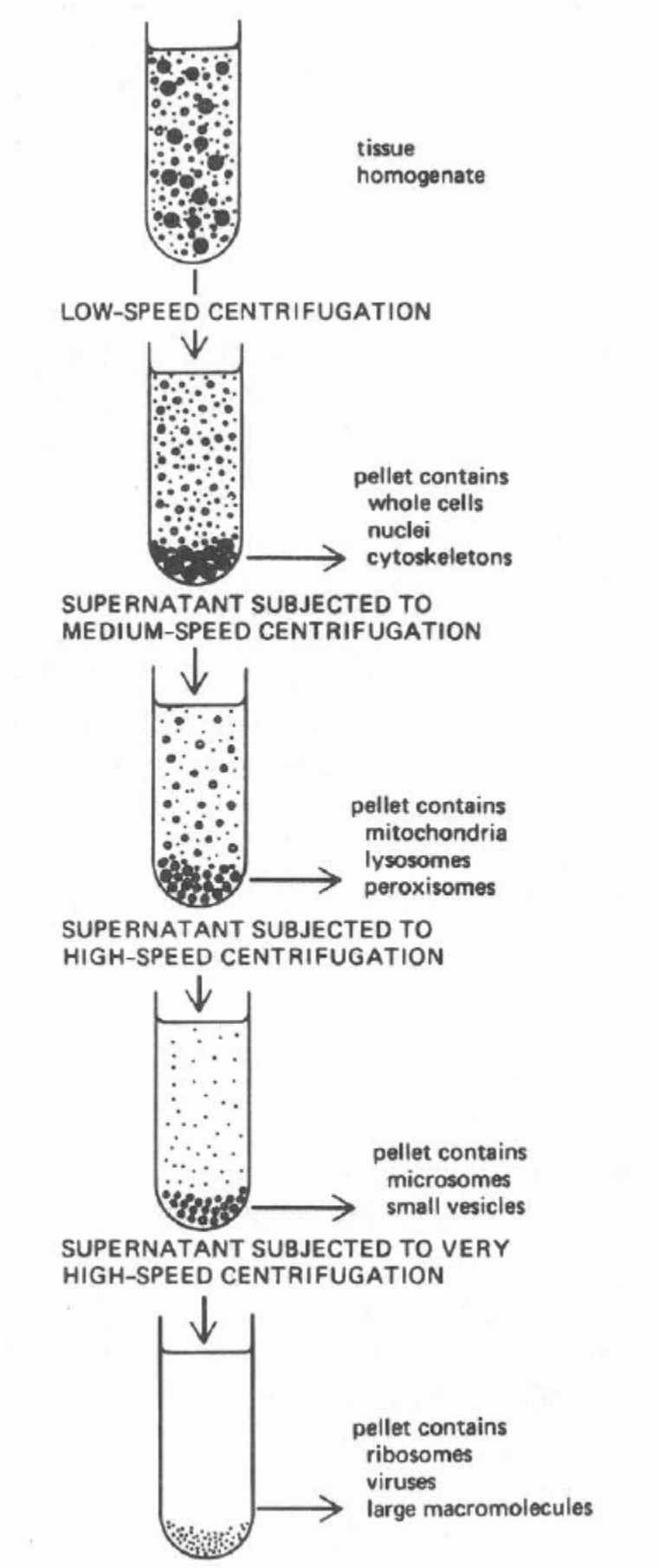
- প্রোটিন, শর্করা, DNA নির্ণয়
- রক্তে হিমোগ্লোবিন পরিমাপ
- জল ও খাদ্য বিশ্লেষণ
- ক্লিনিক্যাল ডায়াগনস্টিক

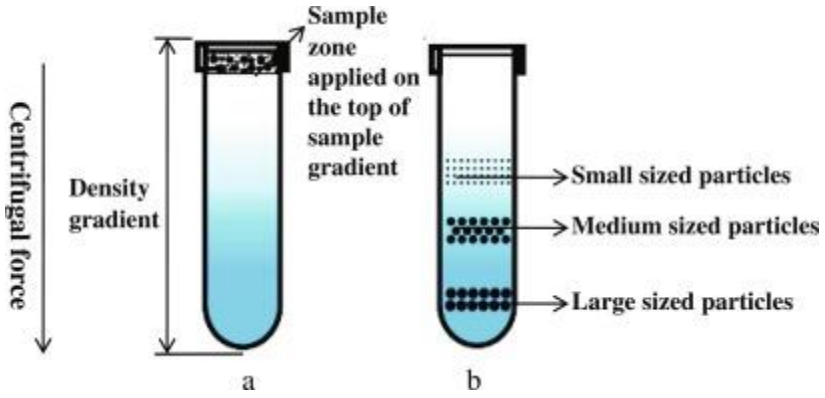
---

3 Principles and Application of Ultracentrifugation

(আল্‌ট্রাসেন্ট্রিফিউগেশনের নীতি ও প্রয়োগ)




tissue
homogenate
LOW-SPEED CENTRIFUGATION
pellet contains
whole cells
nuclei
cytoskeletons
SUPERNATANT SUBJECTED TO
MEDIUM-SPEED CENTRIFUGATION
pellet contains
mitochondria
lysosomes
peroxisomes
SUPERNATANT SUBJECTED TO
HIGH-SPEED CENTRIFUGATION
pellet contains
microsomes
small vesicles
SUPERNATANT SUBJECTED TO VERY
HIGH-SPEED CENTRIFUGATION
pellet contains
ribosomes
viruses
large macromolecules



□ Ultracentrifugation কী?

Ultracentrifugation হলো এমন একটি পদ্ধতি যেখানে
অত্যন্ত উচ্চ গতিতে (≈ 50,000–100,000 rpm) ঘূর্ণনের মাধ্যমে
কণাগুলিকে তাদের **ভর, আকার ও ঘনত্বের ভিত্তিতে পৃথক** করা হয়।

□ Principle of Ultracentrifugation

- উচ্চ কৌণিক বেগে ঘূর্ণনের ফলে
- কণার উপর **centrifugal force** কাজ করে
- ভারী/ঘন কণা দ্রুত তলানিতে জমা হয়

□ প্রকারভেদ

(i) Differential Ultracentrifugation

- ভর ও আকারের ভিত্তিতে পৃথককরণ
- উদাহরণ: nucleus, mitochondria পৃথক করা

(ii) Density Gradient Ultracentrifugation

- ঘনত্বের ভিত্তিতে পৃথককরণ
- উদাহরণ: DNA, RNA, ভাইরাস

□ Applications

- কোষ অঙ্গাণু পৃথককরণ
- ভাইরাস ও রাইবোজোম বিশ্লেষণ
- প্রোটিন ও নিউক্লিক অ্যাসিড গবেষণা
- Molecular biology ও biochemistry

□ উপসংহার

Light Microscopy, Colorimetry ও Ultracentrifugation—
এই তিনটি কৌশল আধুনিক জীববিজ্ঞান ও রসায়নের
পর্যবেক্ষণ, পরিমাপ ও পৃথককরণের মৌলিক ভিত্তি গঠন করে।
ধারণাগত বোঝাপড়া ও ব্যবহারিক জ্ঞান—উভয় ক্ষেত্রেই এগুলি অপরিহার্য।

২ নম্বরের সংক্ষিপ্ত প্রশ্নাবলি

(i) Light Microscope

1. লাইট মাইক্রোস্কোপ কী?
2. লাইট মাইক্রোস্কোপের দুটি প্রধান অংশের নাম লেখো।
3. লাইট মাইক্রোস্কোপে অবজেক্টিভ লেন্সের কাজ কী?
4. বিবর্ধন (Magnification) বলতে কী বোঝো?
5. লাইট মাইক্রোস্কোপে আইপিস লেন্সের ভূমিকা কী?

(ii) Colorimetry

1. কালোরিমেট্রি কী?
2. কালোরিমেট্রির মূল নীতি কী?
3. কালোরিমেট্রিতে কোন সূত্র ব্যবহৃত হয়?
4. Absorbance ও Concentration-এর মধ্যে সম্পর্ক লেখো।
5. কালোরিমিটারে ফিল্টারের কাজ কী?

(iii) Ultracentrifuge

1. আল্ট্রাসেন্ট্রিফিউজ কী?
2. আল্ট্রাসেন্ট্রিফিউজে উচ্চগতির প্রয়োজন কেন?
3. আল্ট্রাসেন্ট্রিফিউজের একটি ব্যবহার লেখো।
4. Ultracentrifuge ও সাধারণ সেন্ট্রিফিউজের একটি পার্থক্য লেখো।
5. আল্ট্রাসেন্ট্রিফিউজে কোন নীতির উপর কাজ করে?

নিচে আগের দেওয়া **২ নম্বরের সংক্ষিপ্ত প্রশ্নগুলোর উত্তর** বিষয়ভিত্তিকভাবে দেওয়া হলো—

(i) Light Microscope

১. লাইট মাইক্রোস্কোপ কী?
লাইট মাইক্রোস্কোপ হলো এমন একটি যন্ত্র, যেখানে দৃশ্যমান আলোর সাহায্যে ক্ষুদ্র বস্তুকে বড় করে দেখা হয়।

২. লাইট মাইক্রোস্কোপের দুটি প্রধান অংশের নাম লেখো।
অবজেক্টিভ লেন্স এবং আইপিস লেন্স।

৩. লাইট মাইক্রোস্কোপে অবজেক্টিভ লেন্সের কাজ কী?
অবজেক্টিভ লেন্স বস্তুটির একটি বর্ধিত ও বাস্তব চিত্র তৈরি করে।

৪. বিবর্ধন (Magnification) বলতে কী বোঝো?
বিবর্ধন হলো চিত্রের আকার বাস্তব বস্তুর আকারের তুলনায় কত গুণ বড়, তার পরিমাপ।

৫. লাইট মাইক্রোস্কোপে আইপিস লেন্সের ভূমিকা কী?
আইপিস লেন্স অবজেক্টিভ দ্বারা গঠিত চিত্রকে আরও বড় করে দেখায়।

(ii) Colorimetry

১. কালোরিমেট্রি কী?
কালোরিমেট্রি হলো রঙের তীব্রতা মেপে দ্রবণে উপস্থিত পদার্থের ঘনত্ব নির্ণয়ের পদ্ধতি।

২. কালোরিমেট্রির মূল নীতি কী?
Beer–Lambert সূত্র অনুযায়ী শোষিত আলোর পরিমাণ দ্রবণের ঘনত্বের সমানুপাতিক।

৩. কালোরিমেট্রিতে কোন সূত্র ব্যবহৃত হয়?
Beer–Lambert সূত্র।

৪. Absorbance ও Concentration-এর মধ্যে সম্পর্ক লেখো।
Absorbance ঘনত্বের সমানুপাতিক ($A \propto c$)।

৫. কালোরিমিটারে ফিল্টারের কাজ কী?
নির্দিষ্ট তরঙ্গদৈর্ঘ্যের আলো নির্বাচন করা।

(iii) Ultracentrifuge

১. আল্ট্রাসেন্ট্রিফিউজ কী?
আল্ট্রাসেন্ট্রিফিউজ হলো অত্যন্ত উচ্চ গতিতে ঘূর্ণায়মান যন্ত্র, যা অতি সূক্ষ্ম কণাকে পৃথক করতে ব্যবহৃত হয়।

২. আল্ট্রাসেন্ট্রিফিউজে উচ্চগতির প্রয়োজন কেন?
খুব ছোট ও হালকা কণাকে পৃথক করার জন্য উচ্চ কেন্দ্রাতিগ বল দরকার হয়।

৩. আল্ট্রাসেন্ট্রিফিউজের একটি ব্যবহার লেখো।
প্রোটিন বা নিউক্লিক অ্যাসিড পৃথক করতে ব্যবহৃত হয়।

৪. Ultracentrifuge ও সাধারণ সেন্ট্রিফিউজের একটি পার্থক্য লেখো।
আল্ট্রাসেন্ট্রিফিউজের গতি অনেক বেশি, সাধারণ সেন্ট্রিফিউজের গতি কম।

৫. আল্ট্রাসেন্ট্রিফিউজে কোন নীতির উপর কাজ করে?
কেন্দ্রাতিগ বলের নীতির উপর কাজ করে।