

舍英 伊力奇 呼和巴特尔 编著

现 代 光 学 显 微 镜



科学出版社

现代光学显微镜

舍英 伊力奇 呼和巴特尔 编著

科学出版社

1997

内 容 简 介

本书介绍了本世纪 70 年代以来各种类型光学显微镜的发展趋势和安装调试使用方法。全书共 15 章。前 6 章为光学显微镜的成像光学原理、各部件的技术性能等的基本知识。后 9 章分别描述落射光、暗视野、倒置、相差、偏振光、微分干涉、荧光、照像等显微镜和显微分光光度计。同时还介绍了一些具体应用技术。如利用这些类型显微镜进行单一细胞的重量测定、细胞内的 pH 值、各种化学成分的分析、微细结构的厚度测定等,并在章末附有一些主要的参考文献。本书可供医学、生物学、兽医学等多种领域的研究人员和大专院校师生以及医生、检验师、采购人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

现代光学显微镜/舍英等编著. —北京:科学出版社,
1996
ISBN 7-03-005092-4

I. 现… II. 舍… III. 光学显微镜 IV. TH742

中国版本图书馆 CIP 数据核字(95)第 18533 号

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1997 年 1 月第一版 开本: 787×1092 1/16
1997 年 1 月第一次印刷 印张: 13 1/4
印数: 1—900 字数: 303 000

定价: 32.00 元

前 言

电子显微镜的巨大分辨本领无疑把生物学、医学、兽医学等等学科的研究引进到更深一层的微观世界中,但是光学显微镜仍然是这些领域的最基本观察工具。遇到研究活细胞的生命活动时,电子显微镜是无法替代某些种类光学显微镜的功能。因此,光学显微镜技术的研究和改进虽然经历了三百年历程,但直至今今天仍在迅猛发展。

目前世界各工业化国家的大型显微镜制造厂家不断推出新型的多功能光学显微镜。大型研究用显微镜的机械结构愈来愈趋向积木化、集成化的方向发展。这种趋势是顺应显微记录设备的进展、形成多层次光路转换、多窗孔安装各种暗箱、电视记录仪器、光电转换系统的要求而发展的。

光学系统方面,在变换光学领域和信息变换领域里日新月异地发展着高性能综合技术,例如相差荧光技术、微分相差干涉技术、偏振相差技术、荧光干涉技术、光密度扫描和波长扫描技术、图像分析技术等。甚至开始出现声学显微镜技术(acoustic microscopy)。

在我国随着现代化建设浪潮的掀起,从国外不断引进大量新型研究用的多功能显微镜。这就要求我们的仪器订货者、安装调试者、操作使用者,以及专业研究工作者要具备显微镜机械结构方面的知识;具备一定程度的几何光学、物理光学、信息变换和自动控制方面的基本知识;具备各种光具系统的配套、零部件性能、滤光片性能、电子设备性能的知识。

据我们的调查,许多基层单位进口了不少高档显微镜,但由于缺乏基本知识,零部件不配套,安装调试不合标准,维修保养不得当,以致高档设备低效使用,甚至人为破损的事例并不鲜见。还有不少高级专业研究和教学机构引进高档多功能显微镜充当低档单功能使用者也并不是奇闻。有些人在采购显微镜时出资甚高,购进了落射荧光装置,但只是少买了色光分离镜片而使整套设备无法使用。如此这般情况极为多见。

为了帮助我国的广大医学、生物学、畜牧兽医学的工作者,以及显微镜操作者和采购人员,我们撰写了这本反映现代各国大型显微镜生产厂家出售的各类型显微镜的机械原理、光学原理、安装调试方法、操作使用方法和维修保养方法的书藉。

现代各国显微镜厂家都在设计生产各自系统的多功能主机。用户根据各自的需要选购专用部件(attachments),就可用作特殊功能的单用或多用(通常所谓万能)显微镜,以避免推销厂家争相推出用户不必要的部件而耗费资金。

我们把各类光学显微镜根据其成像原理分为三大类型:①把生物显微镜、落射光显微镜、倒置显微镜、金相显微镜、暗视野显微镜称为几何光学显微镜。②把相差显微镜、偏振光显微镜、干涉显微镜、相差偏振光显微镜、相差干涉显微镜、相差荧光显微镜称之为物理光学显微镜。③把荧光显微镜、显微分光光度计、图像分析显微镜、声学显微镜、照像显微镜、电视显微镜称之为信息转换显微镜。之所以这样分类是为了使广大读者在使用不同类型显微镜时深入了解各类型显微镜的光学成像原理。

从机械结构来讲,倒置显微镜和落射光显微镜既可归入几何光学显微镜类,也可算作

物理光学显微镜或信息变换显微镜类。这取决于配备何种类型的附件。

我们发现有些显微镜厂家的推销员在“万能显微镜”的名称下尽可能推销出自己的所有零配件。而我们的采购员拘泥于“万能”之称呼而把资金浪费在不需要的附件上。甚至我们的外贸采购者不懂得半波长宽度极小的高性能的、昂贵的滤光片和广频谱的廉价滤光玻片的差别,而浪费资金。

当前我国虽然经济增长率高,但是科研和教学经费短缺的情况下避免浪费已成为当务之急。为此,我们仅以浅薄的知识写成此书,向有关的同行提供参考。

由于本书篇幅所限,很难满足高层次研究工作者的要求,因此在本书的章末附上一些主要的参考文献,以供参考。我们的知识有限难免有差错,望读者批评指正。

本书于1986年完稿。1989年原西德Opton公司的专家沈彬源先生来我研究室参观之际,取走原稿准备在国外出版,后因情况有变未能如愿以偿。但是对于沈彬源先生的好意在此表示我们的谢意。

正当困扰于出版资金之际,我(舍英スীগрупп)的50年前的大学同学(同窗生)清水博雅先生主持的日本扶輪社(Rotar club)和清水博雅本人,佐佐木嘉郎、渋谷良夫、野沢道敏、金子九团治、金井淳、渡辺昭一郎、堀井清明、岡本一彦、高橋宏等诸君的善意资助下,我们的拙著才得以问世,谨此表示由衷的感谢。

舍英

(内蒙古医学院)

伊力奇

(内蒙古地方病研究所)

呼和巴特尔

(内蒙古农牧学院)

1995年5月

目 录

前 言

第一章 显微镜的发展简史	1
一、简史	1
二、显微镜构造的发展	3
三、光学具组的发展	3
四、显微镜技术的发展	5
五、记录技术的发展	6
第二章 现代显微镜的光学部件	7
一、目镜	7
二、物镜.....	11
三、聚光镜.....	14
四、光栏.....	16
第三章 现代显微镜的机械部件	19
一、镜体.....	19
二、载物台.....	25
三、照明装置及滤光片.....	28
四、光路转换机构.....	30
第四章 显微镜的性能	32
一、显微镜的成像原理.....	32
二、镜口率.....	33
三、分辨率.....	34
四、放大率.....	36
五、清晰度.....	37
六、焦点深度.....	38
七、视野.....	39
八、物镜质量的检查方法.....	40
第五章 显微镜的安装和调试	41
一、显微镜的工作环境.....	41
二、安装.....	42
三、合轴调整.....	44
四、维修与保养.....	46
第六章 显微镜的使用	49
一、光源的使用.....	49
二、聚光镜的使用.....	52
三、载物台的使用.....	53

四、测量·····	55
参考文献(第一至第六章)·····	59
第七章 落射光显微镜 ·····	61
一、显微镜主机的基本特征·····	61
二、落射光集光器·····	66
三、物镜·····	69
四、应用范围·····	70
五、使用方法·····	70
第八章 暗视野显微镜 ·····	71
一、部件·····	71
二、暗视野显微镜的使用方法·····	73
参考文献·····	74
第九章 倒置显微镜 ·····	75
一、部件·····	75
二、调试·····	77
三、使用方法·····	79
四、故障和排除方法·····	81
第十章 相差显微镜 ·····	82
一、光的干涉和衍射·····	82
二、相差显微镜的部件·····	86
三、相差显微镜的成像原理·····	90
四、相差显微镜的使用方法·····	93
五、相差显微镜的应用·····	95
参考文献·····	96
第十一章 偏振光显微镜 ·····	99
一、光的偏振现象·····	99
二、透光物体的光学特性·····	103
三、显微镜的部件·····	108
四、使用方法·····	115
五、偏振光相差技术·····	118
参考文献·····	119
第十二章 微分干涉显微镜 ·····	121
一、显微镜的构造·····	121
二、干涉显微镜的技术原理·····	126
三、干涉显微镜的使用方法·····	127
四、干涉显微镜的应用·····	133
参考文献·····	133
第十三章 荧光显微镜 ·····	135
一、荧光·····	135

二、荧光显微镜	137
三、荧光光源	142
四、光的吸收和滤光片	143
五、滤光片的性能	146
六、滤光片的使用方法	150
七、荧光色素	152
八、荧光显微镜的应用	158
九、荧光细胞化学	160
参考文献.....	161
第十四章 显微分光光度计.....	164
一、光的吸收和色散	164
二、显微分光光度计的诸元部件	166
三、光源	168
四、单色仪及其驱动装置	169
五、显微镜主机	172
六、光度系统	173
七、接收器	175
八、记录系统	175
九、标本	178
十、波长扫描和光密度扫描	179
参考文献.....	182
第十五章 照像显微镜.....	185
一、照像显微镜	185
二、光和色	193
三、感光机理	196
四、感光材料	198
五、彩色加工方法	200
参考文献.....	202

第一章 显微镜的发展简史

一、简 史

约在四百年前眼镜片工匠们开始创制放大镜。当时的放大镜的放大倍数只有 3—5 倍。但是这种原始的尝试已将人类的视力引向了微观世界的广阔领域。由此人们开始探索物质世界的微细构造。在这种欲望下,人类从简单的单透镜学会组装透镜具组,甚至学会透镜具组、棱镜具组和反射镜具组的综合使用。就这样最原初的显微镜创造出来了(图 1-1)。这类工具促进了几何光学、波动光学、变换光学和光谱学的理论知识的进展。在实践中,R. 霍克(Hoock)、列文虎克(Leauwenhoeck)、M. 马尔辟基(Malpighi)、R. 格拉夫(Graaf)已用放大数百倍的显微镜发现了植物细胞、动物的精子,红细胞,胃、肺的组织结构,以及卵泡的发育过程。

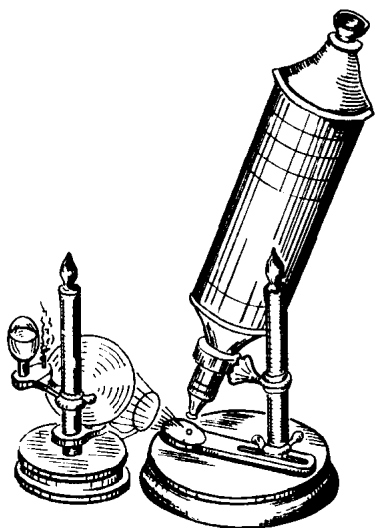


图 1-1 1665 年 R. 霍克用以发现“细胞”的显微镜

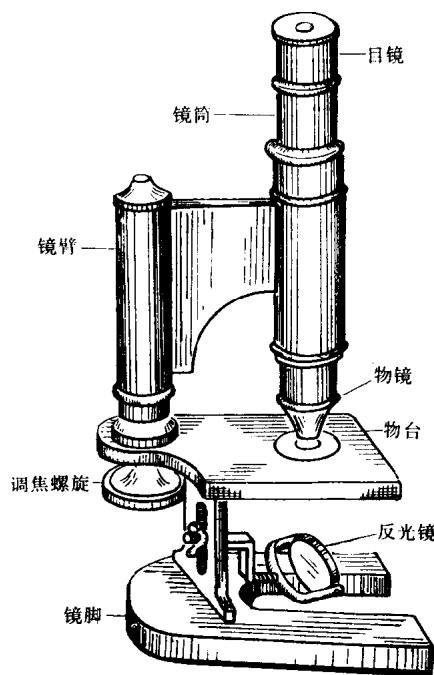


图 1-2 1848 年的显微镜。19 世纪伟大三大发现之一细胞学说就是用此类显微镜完成的

17 世纪末叶到 18 世纪初叶荷兰物理学家惠更斯(Huygens)为显微镜的发展作出了杰出的贡献。目前市场出售的惠更斯目镜就是现代多种目镜的原型。这时的光学显微镜已初具现代显微镜的基本结构(图 1-2)。

19 世纪末德国学者 E. 阿贝(Abbe)奠定了光学显微镜的成像原理。从此能够制造和

使用油浸系物镜使光学显微镜的分辨本领已达到了最高极限。

由于观察手段的进步,在动物组织、植物组织和细菌学等领域里出现了许多重大的发现。最终导致被恩格斯誉为 19 世纪最伟大的三大发现之一的细胞学说被德国学者 T. 施旺(Schwan)和 M. 施莱登(Schleiden)所奠定。这就是说,促使医学、生物学进入新的细胞水平的基础学科-细胞学的最基本手段就是这种光学显微镜。

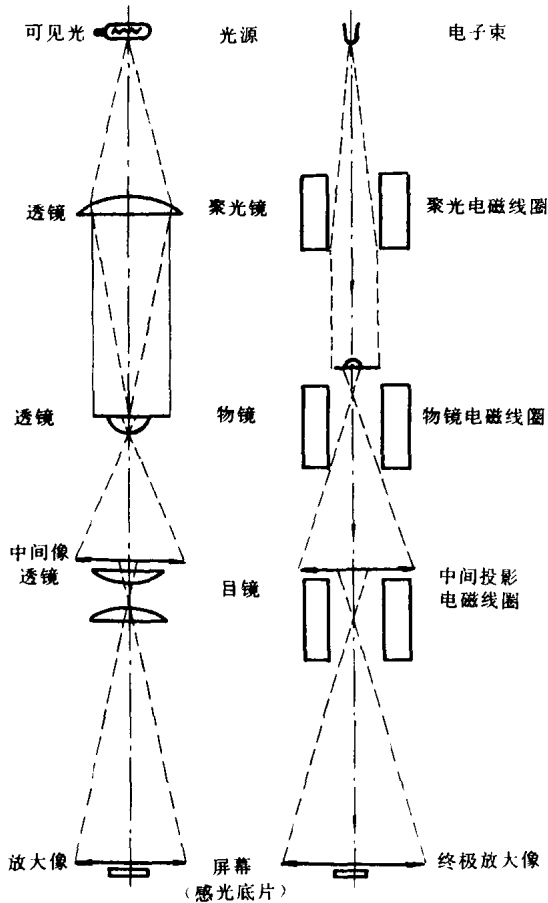


图 1-3 光学显微镜与电子显微镜的
物像放大原理和对比示意图

20 世纪中叶制造的以短波长、高能量的光线作光源的荧光显微镜和紫外光显微镜的基本结构仍是传统显微镜。只是由于光源的波长的缩短而提高了显微镜的分辨本领。沿着这个方向的革命性进展应算电子显微镜的出现。其实电子显微镜的基本结构原理仍与光学显微镜相同。只是它的光源是高能电子束,从而聚光镜和透镜是强大的电磁感应圈(图 1-3)。

从前人类的视力借助于光学显微镜能分辨相距万分之三毫米(3×10^{-4} mm)的两个质点的话,那末应用电子显微镜已能分辨出相距一千万分之一毫米(1×10^{-7} mm)的两个质点。如果说 19 世纪 20 年代人们已清楚地观察过动植物细胞的微细结构,已确认细胞里面的核、核仁、线粒体、高尔基器、中心体、吞噬泡等细胞小器官和细胞里的各种包涵体、色素颗粒及寄生物的话,那末 20 世纪 50 年代已经能辨认组成这些小器官的各类膜系统,甚至能辨认组成膜系统的分子层次及酶蛋白质亚基结构了。总之能辨认亚细

胞结构甚至可以说超微结构。

显微镜结构的发展同日益进展的处理细胞结构的固定剂、染色技术相互补充着,给予现代医学、生物学开拓着日益广阔的发展前景。尤其核酸和蛋白质的化学分析技术的进展配合显微镜技术的发展,将人类视力已引向分子生物学、分子细胞学、分子免疫学和分子遗传学的领域里了。

电子显微镜已被分子生物学家当作一种强有力的研究手段而广泛应用。但是电子显微镜只适用于细胞死后的形态学观察。活细胞的增殖、分化、细胞的能量代谢、细胞游走运动、吞噬活动等动态观察,仍需先进的染色技术和光学显微镜技术。

二、显微镜构造的发展

显微镜的基本构造由两部分组成：机械部分和光学部分。

机械部分的功能是将光学具组各部件固定在保证成像光路的最精确位置上，并且可以调节聚焦提供物像的最清晰度。光学显微镜的机械部件的基本构型已在 19 世纪 80 年代完成定型(图 1-4)。目前出售的小型生物研究显微镜几乎保持着 19 世纪 80 年代 Zeiss 显微镜的原型。

这类显微镜由镜筒、物镜转换器、镜臂、镜脚、载物台、粗动调焦螺旋、微动调焦螺旋、聚光镜支架、聚光镜调节螺旋、孔径光阑等所组成(图 1-4)。其镜筒、目镜、物镜转换器、载物台、聚光镜系统全部悬挂在镜臂上。因此，调焦螺旋、聚光器调节螺旋等所有光路调节系统只与镜臂相关联。镜脚只有一项单一功能即用以使显微镜稳定地站立在实验台上。镜臂与镜脚之间连以倾斜关节，以此迎合光源(包括自然光或灯光)射来的方向。

这类显微镜的调焦方式是靠调焦螺旋提升或下降镜筒以改变物镜与固定不动的载物台之间的距离来实现。

现代光学显微镜的机械部件和机械布局有了很大变化。各个生产显微镜的大厂家正在使自己的各种类型的光学显微镜系列化，正在生产适用于各种显微镜的标准化主机。这种主机上可以根据用户的使用目的选定相应部件加以安装。这类主机与传统显微镜迥然不同。首先其镜脚已改为巨型镜座。镜座由单一支架功能演变为多功能的机台。光源系统、滤光系统、调焦系统以及聚光系统，甚至一些光路转换装置，光阑系统均被安装在镜座上。镜臂与镜座之间已变为一体机件，调焦动作已不能靠镜臂的升降来实现，而是靠载物台的升降。这种镜体的功能也愈来愈复杂，功能也愈来愈多。镜体上安装复杂的镜筒头(heat tube)、各类照像机、摄像机、电视发生器、光电倍增器以及落射光系统的联接口(图 1-5)。这类显微镜的调焦螺旋和载物台移动螺旋分别实现了同轴化。所有这些变化顺应着光学显微镜发展的一种总的趋势即积木化和集成化的趋势。

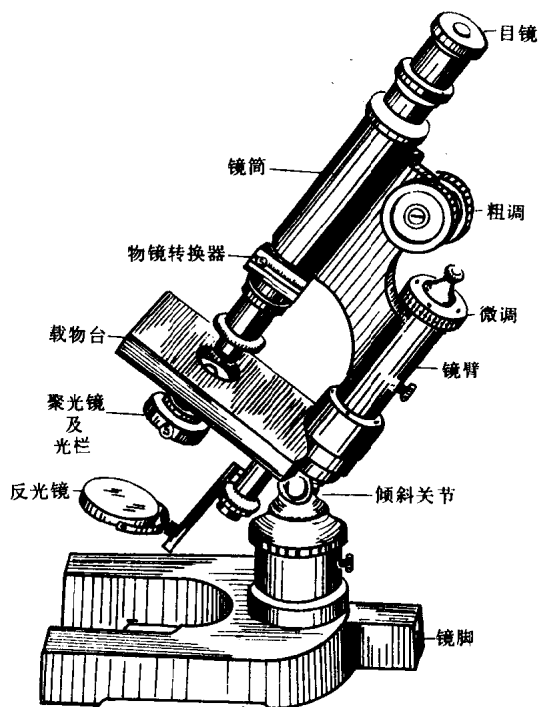


图 1-4 19 世纪 80 年代的 Zeiss 显微镜

三、光学具组的发展

显微镜的光学部件伴随着科学工作的深入发展也有了巨大的进步。原初传统显微镜

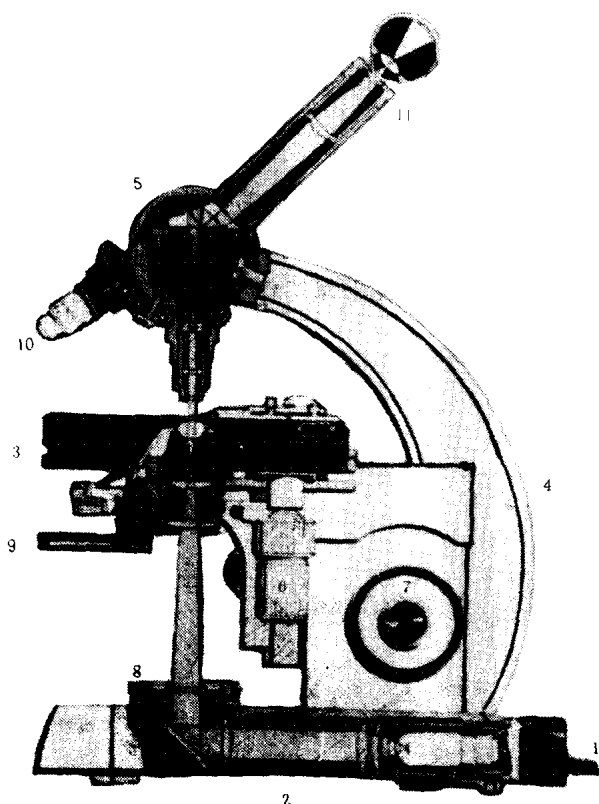


图 1-5 现代显微镜的基本结构

1. 光源; 2. 镜座; 3. 载物台; 4. 镜臂; 5. 镜筒头; 6. 载物体移动螺旋(x,y 同轴化); 7. 调焦螺旋(粗微同轴化); 8. 孔径光栏; 9. 滤光片架; 10. 物镜; 11. 目镜。

显微镜的一些重要光学部件的种类和用途。

(一) 目镜

目镜(eyepiece)的功能只在于放大由物镜所完成的物像。最普通的目镜就是惠更斯目镜。为了弥补物镜在成像过程中所造成的像差,可以使用补偿目镜。补偿目镜的镜筒上刻有英文“C”,俄文“K”字母。这是补偿一词 compensation 或 Компенсация 的字头。为了观察者的视觉愉快使视野广阔,各大厂家出售着广视野高接点目镜。这种目镜的视场数值已达 25mm,并且带眼镜者不必摘眼镜就可以观察。这种目镜的外壳上刻有眼镜框像。用于显微照像的专用长焦距目镜上刻有英文 photo eyepiece 或俄文 ФОТО 字样。使相差显微镜的位相板和环状光栏的调焦中可用调焦望远目镜。这种目镜是两层镜筒相套,可伸可缩的目镜。偏振光显微镜上最好选配测角目镜。测角目镜的里面装有十字划线,镜筒外侧刻有 360°刻度的转盘与载物台的 360°刻度相配用。组织学教学工作上使用示教目镜很方便。这是一个镜筒上方用棱镜分光而由两个或更多数目的接目透镜两人或多人同时观察一个目标的目镜。在目镜内部还装有指示针。所谓的测微目镜实际上在任一种类的目镜中安装目镜测微尺的目镜。

的简易透镜组组成的光路系统在质料的质量和光具组的组合上都在日新月异地改进着。目前显微镜的光学透镜、棱镜已用熔融水晶、萤石等优等质料制作,可以透过紫外光。尤其透镜组的组合方式的变化可以消除显微镜像的球面差、色差或彗差。这类消像差(色差、球差、彗差……)的用冕玻璃凸透镜和与之相同曲率半径的火石玻璃凹透镜用加拿大树胶粘合而成的消色差透镜组。

现代光学显微镜的光路系统中装置的目镜、物镜、聚光镜、光栏、光栅、照明装置、分光装置、接收装置、记录装置、光路转换装置、光波转换装置、信息转换装置、变焦装置以及电子调控装置等部件的种类、性能、用途愈来愈复杂。这就在使用者面前出现了采购订货时选择所需部件,鉴别其性能,懂得选配诸件等诸多问题。在投入使用、保养、维修中会遇到安装、拆卸、调试、定标等复杂问题。在本章中先讲述现代光学

(二)物镜

物镜(objective)对于传统显微镜来说应算最贵重的部件。一只高性能物镜的价格占这类显微镜本身的1/3—1/2。因为显微镜的最基本性能——成像和分辨本领决定于物镜。为了消除成像过程中的球面差和色差、物镜的透镜组由单透镜发展为许多层次的复合透镜组。由3—4透镜已增加到7—9片透镜或透镜复合体。物镜的镜体上都刻有物镜的性能,物镜的镜口率、放大倍数以及特殊物镜的标记字样。

消色差物镜的外壳上刻有英文,德文,法文Achromat字样或俄文AXP字样。这种物镜能够消除光谱中的红光和青光所造成的色差而不能消除其他色光形成的色差。

复消色差物镜是性能最好,价格最贵的物镜。其外壳上刻有英、德、法文Apochromat(简字Apo)字样或俄文АПЧ字样。其透镜质料好,透镜组层次最多,组合得精确能够消除红光、黄光、蓝光造成的色差。这种物镜配用补偿目镜时能够发挥光学显微镜的最高性能。

荧光物镜外壳刻有英、德、法文Fluormat(或Flur)字样。这是能透过紫外光的专用于荧光显微镜的物镜。如果当普通物镜使用,则分辨率太低。

平像场系列物镜刻有Planochromat字样。Opton公司出售的有平像场荧光消色差物镜(Plan-Neofluor),平像场复消色差物镜(Plan-Achromat),平像场荧光消色差偏光物镜(Plan-Neofluor pol)等。

相差显微镜必须配备相差物镜。这种物镜刻有英、德、法文Pha或俄文Φ字样。

单色物镜(monochromat)是全部透镜用熔融水晶制成的贵重物镜。这种物镜是透过紫外线的专用于紫外光干涉显微镜或用于紫外光显微分光光度计上。如果这种物镜不能到手时,可用复消色差物镜代替。

带有可变光栏的物镜的镜体上装有螺纹转动圈。转动圈的标号可移动在0.5—1.0之间。这种物镜是适用于暗视野显微镜。倒置显微镜的物镜是长焦距物镜。其他种类的物镜焦距短。要求盖玻片的厚度不能过大($\approx 17\mu\text{m}$)。倒置显微镜的物镜可以观察培养瓶壁上的贴壁生长细胞。

四、显微镜技术的发展

显微镜技术沿着两个方向发展的。一是显微镜的结构与种类,另一是生物标本的染色技术。

光学显微镜由原初的传统生物显微镜演变出诸多种类的专用显微镜及其应用技术如相差显微镜、暗视野显微镜、荧光显微镜、偏振光显微镜、干涉显微镜、缝隙显微镜、紫外光显微镜、照像显微镜、倒置显微镜、落射光显微镜、显微分光光度计、显微操纵仪以及熔点显微镜、矿石显微镜、手术显微镜、立体显微镜以及声学显微镜等等。与此同时,世界各国的厂家将各自的专用显微镜形成系列化产品,将其主机的规格定型化。为这类主机制作各类专用部件。也就是说,同一个主机上配备某一套专用部件就将成为专用显微镜。拆下这些专用部件而改换另一套专用部件时又变成另一种专用显微镜。由此必然出现一种显微镜结构向集成化和积木化(用形像语言说的叠罗汉式)发展的趋势。这种趋势的最典型例子是Opton公司的Axiomat I DC。这种显微镜就像儿童玩具积木相似。改变堆积方式可以改变其用途。其他显微镜公司的大型显微镜也沿此趋势在发展。在主机上堆积各种

照像装置、录相装置、电子装置和分光装置发挥更为广泛的作用和用途。这称集成化趋势。

现代显微镜技术除了几种生活细胞的观察技术如相差技术、紫外光干涉技术、偏振光技术、暗视野技术之外,更多的显微镜技术是依靠染色技术观察生物细胞的各种生物化学成分。

组织细胞的固定染色技术是从本世纪初叶随着纤维纺织工业的染料化学的进步而发展起来的。在这领域里 A. Fischer, G. Giemsa, M. Heidenhain, L. Lison, A. Максимов, W. Von Möllendorff, A. Pappenheim 和 B. Romeis 以及其他许多学者作出了贡献。有关染色技术和固定技术的问题不在此讨论,可参阅本章的参考文献。

五、记录技术的发展

原初显微镜观察结果的记录技术开始于绘制图像和绘图部件的发展。本世纪初才应用黑白底片进行摄影的显微摄影技术。50 年代染色标本的彩色显微摄影技术已被广泛采用。相继出现了大量黑白、彩色组织学、细胞学图谱。细胞的生长繁殖、游走与吞噬等生理活动用电影记录方法被记录下来。由于现代信息技术发展渗透到显微镜记录技术中,使微观生物世界方面的知识普及和科学研究有了极其众多的先进手段。

(一)绘图记录方法

最早单眼目视标本、另一眼目视纸面进行绘图记录。这种方法对于老练的显微镜工作者来说是一种很有价值的记录方法。后来出现了许多利用反射光进行绘图的方法和装置。例如较为实用的、描绘大型教学挂图的反射投影镜头种类很多。但基本原则就是用反光镜或棱镜将目镜射出的物像投影到银幕上加以描绘。这种装置在基层医疗机构中用普通的小块面镜即可自制。

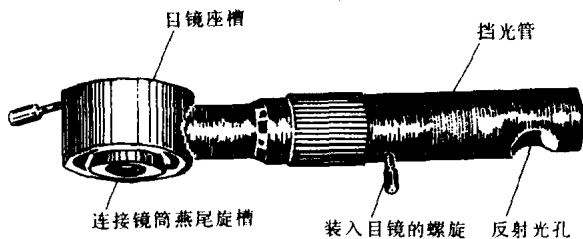


图 1-6 Olympus 厂出产显微镜绘图装置(BH2-DA 型)

图 1-6 展示着日本 Olympus 光学公司出产的 BH-2-DA 型反光式绘图装置。这种装置安装在 Olympus 系列显微镜的镜筒中间,经过反光棱镜将成像光束的主要光能投向反射光孔。在这装置的光路中间插入所需倍率的目镜,将物镜造成的物像放大之后投向纸面。

显微镜记录方法由描绘方法已经进入到采用现代摄影技术、录像技术、光密度扫描技术以及其他更为先进的信息频谱转换技术的阶段,如图像分析技术。形态学研究中彩色显微摄影技术具有巨大实用价值。在显微镜设计中不断创造着保证物像的清晰度和彩色精确的自动曝光设备。显微电影摄制方法对生活细胞的运动方式、运动速度、增殖分裂周期中染色体以及其他细胞小器官的动态观察不可能用其他方法代替。显微分光记录技术和图像分析技术是定量观察细胞代谢的先进记录方法。由于显微分光技术和图像分析技术的价钱昂贵,还未得到更广泛的使用。

第二章 现代显微镜的光学部件

前一章中介绍过光学显微镜及其部件的发展历史和发展趋势。在本章中着重介绍现代光学显微镜的各种部件种类、结构和性能。

一、目 镜

目镜(eyepiece)是显微镜里物镜成像光具组所造成的物像的放大镜。现代光学仪器厂家日新月异生产着种类繁多、用途广泛的各種显微镜目镜。但是从基本结构分析的话,目镜可分为两大类。各种特殊目镜是在这两类目镜类型中附加一些光具而已。

最早出现的而且目前仍为常用的目镜叫惠更斯(Huygens)目镜。另一种目镜叫冉斯登(Ramsden)目镜。

(一)惠更斯目镜

惠更斯目镜由两块同类光学玻璃研制成的单面凸透镜片组成。接近眼球的透镜叫接目透镜。其平面向外,凸面向物镜方向。第二片透镜称会聚透镜,也称场镜。其凸面也是向着物镜方向装置的。二者中间装有一个金属环。这既是视场光栏,也是消杂光光栏。与此同时在这个金属环上可以放置十字划线玻片,血细胞计数玻片,目镜测微尺。甚至可以粘贴一根毛发充作指示针。这金属环可以上下推动,将指针、划线调到目镜焦距上。会聚透镜的焦距等于接目透镜焦距的三倍。两透镜之间的间隔距离为接目透镜焦距的两倍。关于惠更斯目镜的成像原理在这里没有必要赘述。惠更斯目镜是现代目镜的代表型或基础型目镜。所以我们用图 2-1 的成像原理说明目镜的放大功能。图中 $\overline{MM'}$ 为显微镜的光轴。 $\overline{PQ}$ 是在显微镜下所观察的实物。 O_1 为物镜, O_2 为目镜, O' 为屏幕(视网膜)。 F_1 和 F'_1 是物镜前后焦平面。 F_2 是目镜的前焦平面。图中 $\overline{PQ}$ 发出的三条成像光束在目镜物焦平面内成像。经过目镜的放大作用将 $\overline{P'Q'}$ 实像变成了 $\overline{P''Q''}$ 虚像。这虚像也就是放大的物像会聚到目镜像平面上成像于视网膜上。

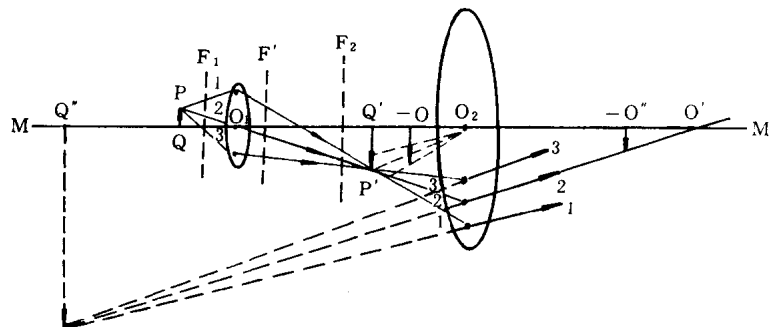


图 2-1 接目镜的放大功能

$\overline{PQ}$ = 实物, $\overline{P'Q'}$ = 物镜后的实像, $\overline{P''Q''}$ = 虚像

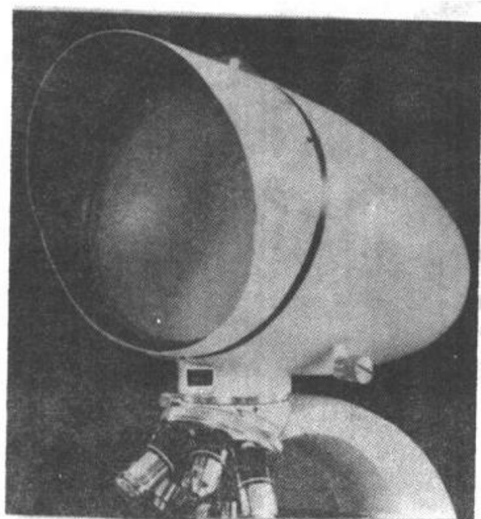


图 2-7 体视影屏

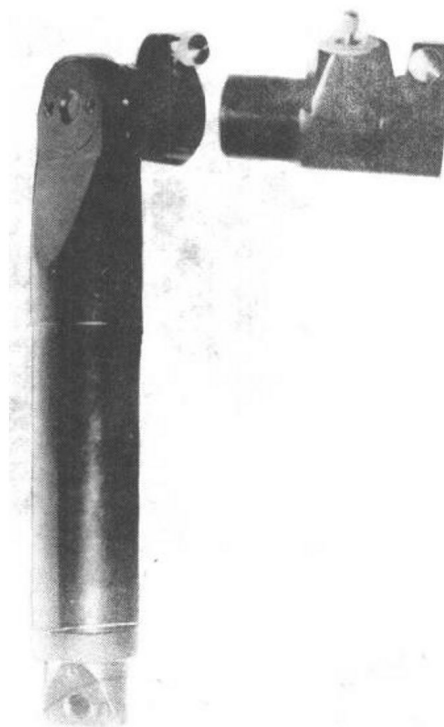


图 2-8 示教目镜

(八)示教目镜

在高等医学、兽医学和生物学院中作为组织胚胎学、病理组织学、寄生虫学和微生物学教师指导学生认准标本细节是一项很费力的工作。尽管助视设备的种类越来越多,越来越先进,但是无论哪种助视仪器设备如电视、幻灯等都不如直接在显微镜视野中帮助学生认准标本细节的实际效果好。为此目的,过去在目镜筒内粘贴毛发为指针,而后出售过专门的指示目镜。30年代开始出现指导教师和学生两人同时观察的示教目镜(图2-8)。最近日本 Olympus 公司出售着同时有6人观察一个目标的示教目镜。其样式基本和图2-8所示的示教目镜相似。只是把它延伸很长,而且加进6孔接目透镜而已。

(九)照像目镜

照像目镜(photo)的主要特点是接目透镜侧的像平面较远,能把成像光束投到照像暗箱底片平面上去。其外壳上刻有放大倍数和 photo(俄文 ФОТО)一词。

(十)照像系统的对焦目镜

在显微照像的显微镜中接目镜和照像暗箱之间衔接的变焦目镜叫对焦目镜(focusing eyepiece)(图2-9)。当把标本放在载物台上对好物镜焦距时在对焦目镜中物像清晰。如果对焦目镜中物像不清晰,就要进行调焦。同时在调焦目镜视野中可以看到不同大小的取景框域。大框为拍摄 $24\text{mm} \times 36\text{mm}$ 胶片,还有 $4'' \times 5''$ 和 $9\text{cm} \times 12\text{cm}$ 框域。大的圆圈是平均测光范围,小圆圈是点测光范围。小圆圈四边的十字划线是标明对焦标准线。在视野中只出现单条十字线,说明对焦不准确,说明拍不上清晰照片。调焦看到双线十字才算对



图 2-4 高接目点广视野目镜(外壳上标明眼镜架)

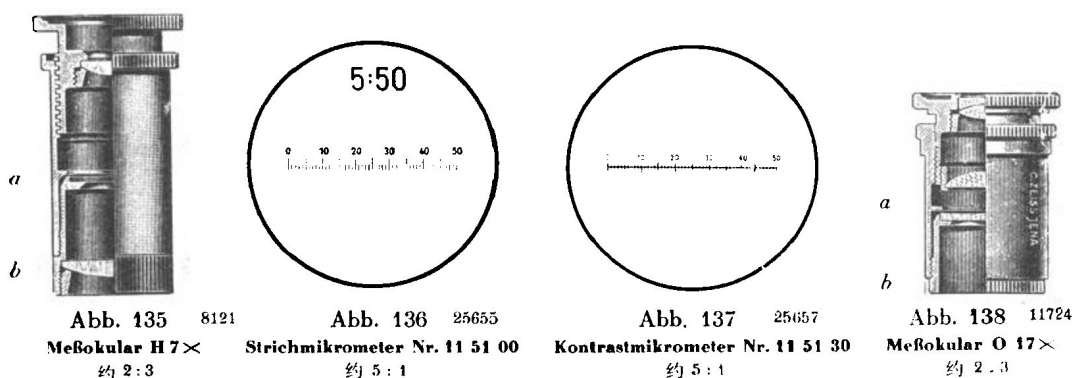


图 2-5 测微目镜

的圆盘的目镜(图 2-6)。当使用时外壳固定不动。先记录十字划线出处的角度。再旋转内壳使十字划线对准所要测定的标本的角边。读出所旋转的数值即得待测角。这是较粗糙的测角法,就像测微尺所得粗糙的长度一样。更为精确的测角、测长请参阅本书第十二章。

(七)投影目镜

投影目镜(projection eyepiece)也有几种型式。一种投影目镜与普通目镜相似,只是刻有“proj”字样。这种目镜用于显微分光光度计的分光器内部。旧式投影目镜的接目透镜上方装有折射棱镜或小反射镜。目镜上方出射的物像反射到屏幕上便于讲课、示教和绘图。近年来出厂的投影目镜的折射棱镜上方装有体视影屏(图 2-7)或电视发生装置。这就更加便于众人观察。



图 2-6 测角目镜