

613212

3354
2223

显微镜

使用与维护



江苏科学技术出版社

显微镜使用与维护

任 秉 潮

江苏科学技术出版社

显微镜使用与维护

任秉潮 编

出版：江苏科学技术出版社

发行：江苏省新华书店

印刷：高淳印刷厂

开本787×1092毫米 1/32 印张 3.875 字数 79000

1980年11月第1版 1980年11月第1次印刷

印数1—3,000册

书号15196·044

定价0.34元

责任编辑 孙广能

编 者 的 话

显微镜是科研、医院、学校和工矿企业等部门不可缺少的精密光学仪器，随着科学技术事业不断地发展，显微镜的品种和数量也不断增加。

为了便于显微镜的使用单位或使用人员更多地了解各种显微镜的特点、原理、结构和主要技术参数，从而能做到正确地选购，合理地使用，妥善地维护，使其充分发挥显微镜的作用和延长显微镜的使用寿命。为此，我利用在江南光学仪器厂工作的有利条件，搜集与参阅了有关显微镜的书籍和资料，请教具有丰富经验的工程师、技术人员和工人老师傅，再结合本人在工作中的一些体会，编写了这本书。书中主要介绍了显微镜的发展概况，显微镜的分类、原理、结构、应用特点、主要技术参数和使用方法，以及显微镜的维护和保养等。对常用的生物显微镜，书中作了较详细的阐述。本书可供科研、医院、学校、工厂、农村等有关单位学习参考。

在编写过程中、承蒙厂总工程师冯延昌同志、技术副厂长顾克美同志、工程师沈延年、邓鹤鸣、韦锦钧同志以及技术员阮兆岭、马冠黎等同志分别进行审阅，并提出许多宝贵的修改意见或建议，在此表示衷心的感谢。

由于水平有限，在编写的内容上必然会有缺点和错误，恳请读者批评指正。

任秉潮

1980年6月

目 录

第一章 显微镜的发展概况	1
第二章 显微镜的分类和应用	4
§ 2—1 显微镜的分类	4
§ 2—2 常见显微镜的应用和主要技术参数	6
一、生物显微镜	6
二、偏光显微镜	30
三、体视显微镜	36
四、金相显微镜	40
五、荧光显微镜	56
六、相衬显微镜	70
七、研究用生物显微镜	78
八、超声波显微镜	81
九、电子显微镜	83
十、扫描电子显微镜	88
十一、电子探针X射线显微分析仪	95
第三章 显微镜的维护保养	99
§ 3—1 机械装置的维护保养	99
§ 3—2 光学镜头的维护保养	107
一、光学仪器的防霉防雾	107
二、光学零件的清擦与胶合	114

第一章 显微镜的发展概况

显微镜是认识物质微观世界的重要工具，是现代科学研究工作不可缺少的仪器之一。随着现代科学技术不断发展，显微镜的品种也不断增加，并广泛地应用在农业、工矿企业、冶金、地质、医疗、学校以及科研单位等部门中。

显微镜自从1666年问世以来已有300多年的历史了，在这漫长的岁月里，显微镜的结构和性能都逐步地得到完善和提高。具体地说：显微镜最早发明于1591—1608年之间，但具有实用价值的显微镜直到1666年才问世，由此才奠定了光学显微镜的基础，但是它的完整成象理论直至1873年才由阿贝(Abbe)所完成。从光学显微镜的发展史来说，大致可分为三个阶段：

第一阶段是在十七世纪到十八世纪之间。这一阶段主要工作是将显微镜光学系统的理论系统化，同时努力提高显微镜的放大倍率。

第二阶段是二十世纪的上半期。这一阶段的主要工作在于利用光的某些物理现象，如干涉、光致、相衬等来提高观察的效果。另外，由于光学显微镜的放大能力和鉴别率均受到光的波长限制，因此科学家们又致力于电子显微镜的研究工作。因为电子的波长约为光波长的十万分之一。在加速电压为5万伏时，它的波长约为0.054埃($1\text{A}=10^{-8}\text{cm}$)。因此，可以获得很高的放大能力和鉴别率。据有关资料介绍：美国

已研制成功直接放大100万倍的电子显微镜，其鉴别率能达到2A。目前我国也已生产了80万倍，线分辨率能达到1.44 A的电子显微镜。

第三阶段是从1950年直至现在。这一阶段的工作主要有以下几个方面：

1. 从反射式到折反射混合式

在十八世纪中叶由于牛顿提出了色差无法消除的论点，反射物镜在当时曾成为全消色差的一种有效方法。但自1870年发明全消色差折射物镜后，反射物镜已失去其原有的作用。近年来由于紫外光的应用，以及加大工作距离的要求，反射物镜又得到了重视，但它的设计方法已改变了过去的纯反射而改为折反射混合式。在高倍放大率下，达到了极小的色差和球差，工作距离也比同样的折射物镜要大些。这种物镜已成为紫外光和电视显微镜必须配备的附件。

2. 从可见光到红外光

一切显微镜所用成象的波长愈短，它的鉴别率就愈高。因为鉴别率是波长和数值孔径的函数，因此紫外光显微镜可以获得比用可见光显微镜较大的鉴别率。同时，对不同组织的物质有选择性的吸收。而红外光对这种选择性的吸收更为显著，因此，红外光显微镜在这方面的应用更为广泛。现在除了可见光的电视显微镜外，还有紫外和红外光电视显微镜。并且采用数字显示技术，朝着自动定量分析方向发展。

3. 从死标本到活标本

我们都知道，凡是无色透明的生物标本，必须染色后放在光学显微镜下观察才能看清和区别组织，因此只能观察死的标本。而相衬显微镜则利用标本与标本所在周围物质不同的折射率，产生光程差而发生干涉，可以不经过染色就能观察活标本。此外，近年来又出现超声波显微镜。

它是利用超声波来观察微观世界的一种崭新技术，用它可以获得集成电路和生物组织细胞的细微构造。

4. 从平面象到立体象

利用体视原理来显示立体感的显微镜，早在1850年就已研制成功，但它的放大倍率较低，一般最大放大倍率只不过200多倍，这样远不能满足科研工作的需要。近年来，英国和匈牙利相继发明了用眼睛融象原理的立体象，而使光学显微镜可以同时看到薄标本全部厚度范围内的象。

5. 从专一性能到多用性能

随着科学技术事业不断发展，显微镜的应用范围亦日益广泛，特别是科研单位需要多性能和多用途的显微镜。为了满足科研工作的需要，相继制造出多性能和多用途的综合显微镜，研究用显微镜和万能研究用显微镜等。

以上仅仅是当前显微镜发展的概况，随着现代科技事业的飞跃发展，显微镜的性能将会更加完善，使用范围亦会更加广泛。

第二章 显微镜的分类和应用

§2—1 显微镜的分类

显微镜的种类很多，它可以根据不同的用途，仪器的结构形式，放大手段及光对标本的关系不同来进行分类。通常可分为光学显微镜和非光学显微镜(电子显微镜)两大类。而光学显微镜又根据结构的简繁分为简式显微镜(初级的)和复式显微镜(中级及高级的)。简式显微镜可由一块或几块透镜所组成，结构简单，放大倍率不高，而复式显微镜则由目镜、物镜和聚光镜等所组成，其结构较为复杂，放大倍率较高。在研究工作部门中，常用这种复式显微镜。复式显微镜又可根据不同的用途，结构形式和光对标本的关系进行分类：

1. 按不同用途进行分类

由于显微镜应用广泛，分类的名目亦较繁多，一般分为研究用显微镜、实验用显微镜、教学用显微镜、旅行用显微镜和示教用显微镜等。此外，还有原理和用途完全不同的各种特式显微镜。如检查金属或其他不透明物体用的金相显微镜；地质部门检查矿石成分时则使用偏光显微镜，有时需要利用紫外光来观察荧光现象，则使用荧光显微镜；有时观察极微小物体时，需使用超声波显微镜；有时作相衬观察，

需使用相衬显微镜；有时需要比较两个标本的异同，则使用比较显微镜。

2. 按结构形式分类

按显微镜的结构形式可分为单筒式、双筒式、体视式、弯臂式、直筒式、组合式和整体式等等。各种结构形式都有各自的特点，都是根据应用需要决定的。

3. 按光对标本的关系分类

根据光对标本的关系可分为透射法、折射法、反射法、干涉法、光致法、偏光法等等。

上述各种显微镜均属于光学显微镜，至于非光学显微镜，即是指以电子波代替光波的电子显微镜。近年来电子显微镜发展很快，应用范围极为广泛，能观察分子的结构、合金内部分子的结晶及极微小的滤过性病毒等等。从而使我们能够发掘出宇宙间更多的秘密。

近年来美国已研制成功一种放大率达100万倍的直接放大电子显微镜。利用这种显微镜可以在荧光屏上观察小至八十亿分之一英寸（约 $2\text{\AA}$ ）的细节。而一般的电子显微镜的放大倍数仅为10万倍至60万倍。它所以放大倍率比较高，是将EM300型透射电子显微镜加以改进而实现的。

这种电子显微镜是采取三个方面的措施而使 $2\text{\AA}$ 的线间距显示在它的荧光屏上。一、显微镜最后的磁透镜经过特殊改装而使放大率提高一倍。二、所要研究试样的照明通过提高强度和把电子束集中在极小的试样范围内加以改进。三、通过仔细调节和减小振动来提高电子显微镜的分辨率。

通过以上方面的改进，于是在电子显微镜的荧光屏上可以看到非常清晰的象。能够看到金属晶体的晶格中的细小缺陷，同时还可以拍摄成照片和进一步放大。

过去大家认为，电子显微镜的能力很强，但由于产生的物象不是可见的电磁振荡，而是电子频谱。因此只能产生黑白物象，不能形成彩色象。近年来，荷兰“飞利浦公司”研制了彩色电子显微镜，科学家们根据原来的电子显微镜，同时处理物象本身和绕射干涉两种信息，这些信息借助特殊转换器而产生彩色物象。

另外，电子探针是在电子显微镜的基础上发展起来的电子光学仪器，是用极细的电子来作为探测针，以激发X射线，并对X射线进行光谱分析。由于每种元素的原子结构不同，因此每种元素受外来电子轰击后所发射出的X射线都具有其特定的波长，所以电子探针能对各种物质作定性和定量的成分分析。现在我国已试制了XW—01型电子探针，获得有关科研单位的好评。

§2—2 常见显微镜的应用和主要技术参数

一、生物显微镜

生物显微镜是观察和研究生物及微生物的显微镜。广泛应用于医疗卫生机构、化验室、研究所以及高等学校等部门作常规化验，一般生物学、细菌学研究、临床试验及教学中作示范之用。生物显微镜是利用透射方式照明物体的。根据使用对象，它分有初级（学生用）、中级和高級的（研究用）。

生物显微镜上可以配备许多附件，如投影装置、摄影装置、暗视场聚光镜、工业电视装置等，另外还包括荧光显微镜，相衬显微镜，紫外显微镜等。其最大放大倍率可达1600倍左右，视工作需要而选用。现以XSB—03型生物显微镜（图2—1）为例加以叙述于下：

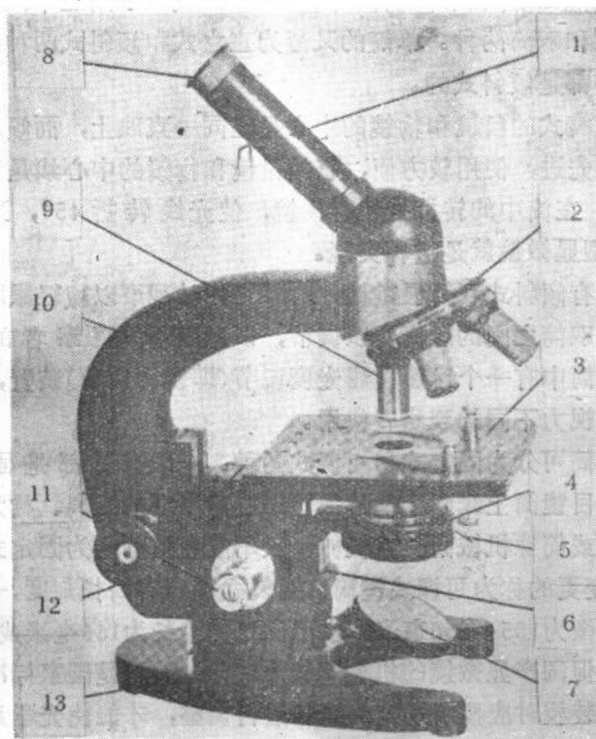


图2—1 XSB—03型生物显微镜

1. 倾斜目镜筒 2. 物镜转换器 3. 工作台 4. 聚光镜 5. 可变光圈
6. 聚光镜调焦机构 7. 反光镜 8. 目镜 9. 物镜 10. 镜筒支架
11. 微动调焦机构 12. 粗动调焦机构 13. 底座

1. 倾斜目镜筒

它是由金属制成的圆筒，上端放置目镜，下端用螺纹与球形罩连接。镜筒的内壁，为了防止光线的漫反射，因此喷上无光黑漆或发黑。各种类型的显微镜由于用途不同可分为单筒和双筒两种。单筒的又分为直立式和倾斜式两种，而双筒的都是倾斜式的。

直筒式的目镜和物镜的中心是在同一直线上，而倾斜式的较为先进，使用较方便，它的目镜和物镜的中心线是互成 45° 角，在筒中的转折处装有棱镜，使光线转折 45° ，XSB—03型显微镜就是这种类型。

带有倾斜式双筒显微镜，两眼可同时观察以减轻眼睛的疲劳。双筒之间的距离可以调节，以适应不同观察者的眼距。双筒中有一个目镜有屈光度调节（即视力调节）装置，便于两眼视力不同的观察者使用。

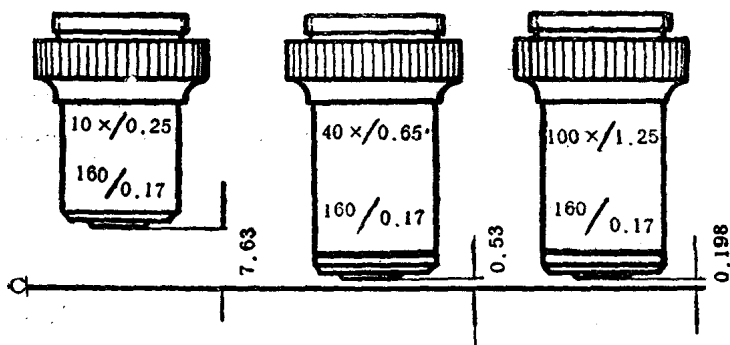
镜筒可分为固定式和可调式两种。一般来说都是固定式，从目镜筒上缘到物镜转换器螺旋口下端的距离、称为镜筒长度或简称机械筒长。机械筒长不能变更的称为固定式镜筒；能变更的称为可调式镜筒。可调式镜筒有筒长刻度，一般可调范围为155~250毫米，常用的机械筒长为160毫米或170毫米。但国产显微镜的机械筒长为160毫米，这是国家标准规定的。装校时应按所规定的筒长进行调整，才能使光学系统发挥最高效能，否则光学系统的象差和色差增大，使成象质量变坏，尤其是使用高倍物镜时更为显著。另外，如果筒长不合规定，进行等高调焦时容易碰坏物镜或标本，因此在使用可调式镜筒时，应先检查筒长是否符合标准。

2. 物镜转换器

我们在工作中常常根据标本的大小和观察的要求，需要更换目镜和物镜。更换目镜只需从镜筒上端抽出不需要的目镜，插入另一个需要的目镜就行了。但更换物镜则是利用物镜转换器的转动而达到更换目的。每转一档都有定位。

物镜转换器是固定在镜筒的下端，在物镜转换器上有3~4个物镜螺孔（WJ4/5"×1/36"）它是国际统一标准，物镜以放大倍率高低顺序排列旋紧在转换器上，使用时只需转动转动板即行，由于转换器上的侧面有簧片或弹子的定位，因此物镜可以一个换一个地被推到正确的使用位置上，使每个物镜的光轴与目镜的光轴同心。

每台显微镜还根据物镜的工作距离来确定物镜的高度，通过齐焦，使物镜转换器上的各种不同倍率的物镜，基本上都处于同一个焦面上。这就是说：当用低倍物镜观察，调节



C 线为盖玻片的上平面

图2—2 各倍率物镜工作距离图

到看到最清晰的物象后，转换另一个物镜，仍然能看到物象。稍为微调就能看清楚，因此由于高倍物镜镜身较长，所以工作距离较短，而低倍物镜则相反(如图2—2)。

使用物镜转换器，更换迅速，操作方便。旋转物镜转换器时，请别用手指推动物镜，以免使光轴歪斜，使成象质量变坏。因此，使用时应用手指捏住转动板转动才好。

3. 工作台

工作台也可以称为载物台，它的作用是安放载玻片(标本切片)、台面与光学系统的光轴互相垂直。有倾斜关节的显微镜其工作台能与镜臂一起倾斜。

工作台的中心有一通光孔，在通光孔后方左右侧各装有切片压片，用以夹持固定标本切片。工作台有固定的和活动的两种，用固定式平台观察时，则必须用手来移动标本切片，或者装上一只载玻片的移动装置，亦称移动尺，用来作纵向和横向的移动标本切片。如用活动平台观察时，由于这种平台是由上下两片组成的，上下二片通过旋扭转动使其作左右前后移动。工作台上装有纵横座标的游标尺，一般读数为0.1毫米，用来测定标本的大小，或对被查部分作标记。

4. 聚光镜

聚光镜有的亦称为聚光器，顾名思义是起聚光作用，一般低倍显微镜是没有聚光镜的，它是依靠标本本身的反射光来进行观察的。

当显微镜放大倍数增大时，则物镜的透镜数目就增多，

这样光线被透镜所吸收的必然就多，而使视场变暗，这就是说：视场的亮度与放大倍数的平方成反比。为使视场能得到足够的亮度，则必须在显微镜的平台下面安装聚光镜，以使照明光线能集中地射到要观察的标本上。聚光镜主要由聚光透镜和可变光阑所组成。

聚光镜又可分为明视场聚光镜和暗视场聚光镜。一般生物显微镜配置的是明视场聚光镜，它的构造如图2—3

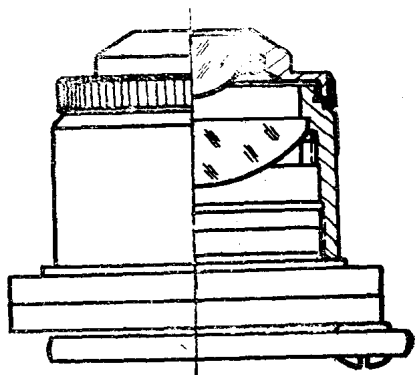


图2—3 聚光镜构造图

数值孔径(N、A)是聚光镜的主要参数，它有一定的可变范围，通常刻在上方透镜边框上的数字是代表它最大的数值孔径，通过调节它下部的可变光阑的开放程度，可以得到此数字以下的各种不同数值孔径，以适应不同物镜的需要。聚光镜由一片或数片透镜所组成，其作用相当于凸透镜，起会聚光线作用，这样就能增强标本的照明，同时能使光线射入整个物镜镜口角，考虑到载玻片厚度（标准厚度是 1.1 ± 0.04 毫米）所占去的空间，因此一般把聚光镜的聚光焦点设计在它上端透镜平面上方约1.25毫米处（当用平行的入射光照明时）。

有的聚光镜是由几组透镜组成，最上面的一组透镜可以

卸掉或移出光路，使聚光镜的数值孔径变小，以适应低倍物镜观察时的照明。

为了充分发挥显微镜的性能，在使用时聚光镜和物镜的数值孔径应相一致。

聚光镜也有象差，通常有消色差聚光镜和消球差聚光镜。物镜的性能要与聚光镜相配合，如果所用不是消色差聚光镜，则选用最好的物镜，所成的象仍有色差，因此如用消色差物镜，则必须配以消色差聚光镜才行。

暗视场聚光镜是不使照明光线直接进入物镜，只允许被标本反射和衍射的光线进入物镜，因此所见到的是在黑暗视场背景中明亮的标本。

暗视场所能见到的颗粒可比明视场所能见到的小约100倍。这种照明方法虽然看不清标本的构造，但能看到这种微小颗粒的存在和运动。

其暗视场照明光路如图2—4所示。由图可见照明光线（图中画有斜线之部分）透过标本后不进入物镜。

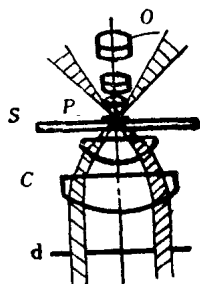


图2—4 暗视场照明光路图

O—物镜 P—标本 S—载物台
C—聚光镜 d—中央挡光板

5. 可变光阑

可变光阑又叫光圈，它位于聚光镜的下方，由十几张金属薄片和定位钉组合而成，中心部分形成圆孔。推动可变光阑的手柄，可以随意调节圆孔的大小，有的可变光阑的边框