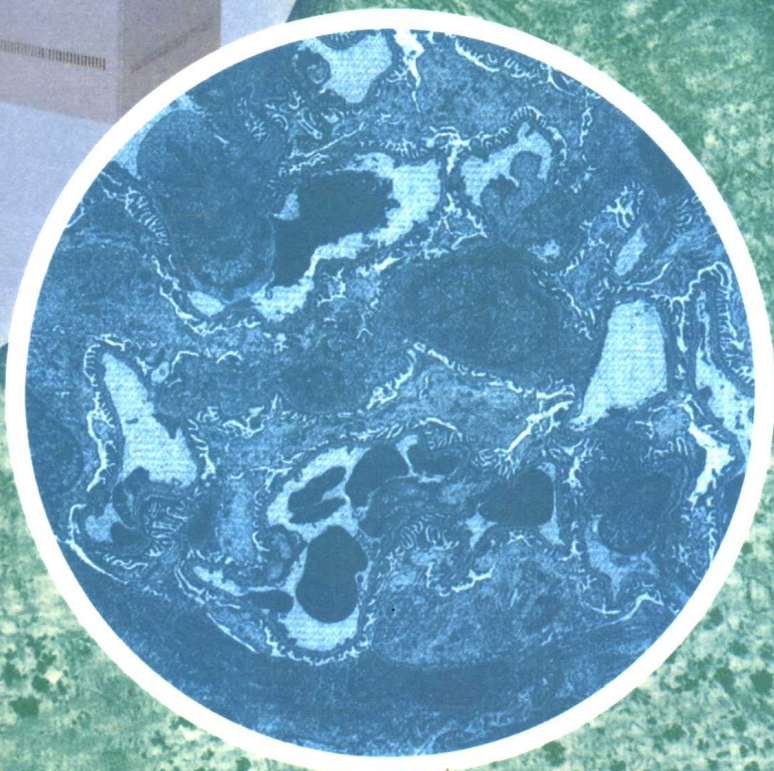
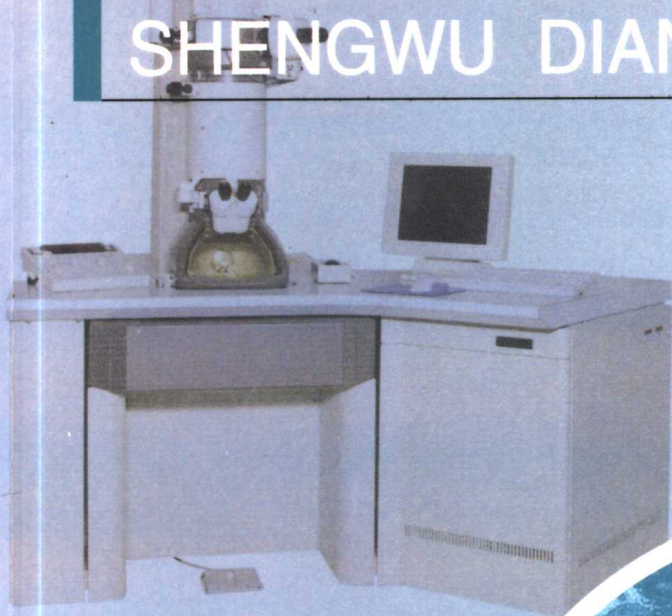


生物电子显微技术

SHENGWU DIANZI XIANWEI JISHU

康莲娣 编著



中国科学技术大学出版社

生物电子显微技术

康莲娣 编著

中国科学技术大学出版社

2003. 3

内 容 简 介

本书介绍生物电子显微技术的主要内容。包括透射电子显微镜和扫描电子显微镜的原理和结构,透射和扫描电子显微镜生物样品的各种制备技术和方法,生物电子显微技术的最新进展,以及超薄切片实验。

本书可以作为综合性大学生物学、医学、农林学等专业的教学用书,也可以作为从事生物电子显微学工作人员的研究参考书。

图书在版编目(CIP)数据

生物电子显微技术/康莲娣编著. —合肥:中国科学技术大学出版社,2003.3
ISBN 7-312-01536-0

I. 生… II. 康… III. 生物学—电子显微术 IV. Q-336

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2002)第 105368 号

中国科学技术大学出版社出版发行

(安徽省合肥市金寨路 96 号,邮编:230026)

合肥学苑印刷厂印刷

全国新华书店经销

开本:787mm×1092mm/16 印张:13.5 字数:337 千

2003 年 3 月第 1 版 2003 年 3 月第 1 次印刷

印数:1—1000 册

ISBN 7-312-01536-0/Q·37 定价:18.00 元

目 录

绪论	(1)
第一章 透射电子显微镜的原理和结构	(4)
第一节 光学显微镜的分辨本领	(4)
第二节 电子波长	(5)
第三节 电子透镜	(6)
第四节 电子显微镜发展简史和分类	(17)
第五节 透射电子显微镜的结构	(21)
第六节 透射电子显微镜成像原理	(31)
第二章 扫描电子显微镜的原理和结构	(36)
第一节 扫描电子显微镜工作原理和主要结构	(36)
第二节 扫描电子显微镜成像原理	(39)
第三节 透射电子显微镜和扫描电子显微镜的比较	(44)
第三章 透射电子显微镜生物样品的制备	(47)
第一节 概述	(47)
第二节 超薄切片法	(48)
第三节 取材和固定	(48)
第四节 脱水	(63)
第五节 块染	(64)
第六节 渗透和包埋	(64)
第七节 切片	(78)
第八节 电子染色	(95)
第九节 微波辐射技术在电镜生物样品制备中的运用	(100)
第十节 负染法	(102)
第十一节 金属投影法	(104)
第十二节 复型技术	(107)
第十三节 冷冻超薄切片技术	(109)
第十四节 冷冻蚀刻技术	(113)
第十五节 电镜放射自显影技术	(117)
第十六节 电镜细胞化学	(124)
第十七节 免疫电子显微镜技术	(134)
第十八节 生物大分子的电子显微镜样品制备方法	(145)
第四章 扫描电子显微镜生物样品的制备	(151)
第一节 概述	(151)
第二节 取材、清洗和固定	(151)

第三节	脱水和干燥·····	(153)
第四节	冷冻干燥法·····	(154)
第五节	临界点干燥法·····	(157)
第六节	观察面的剖出——冷冻割断法·····	(160)
第七节	样品导电处理·····	(165)
第八节	免疫扫描电子显微镜方法·····	(170)
第九节	环氧树脂包埋的样品用于扫描电镜研究·····	(172)
第五章	生物电子显微学的现状和展望·····	(173)
第一节	在电子显微镜下看到生物大分子的原子像·····	(173)
第二节	观察活体生物样品·····	(181)
第三节	对样品进行综合分析——电子显微分析技术·····	(185)
第六章	超薄切片实验·····	(189)
实验一	制作包埋块的准备·····	(189)
实验二	包埋块的制作·····	(190)
实验三	切片的准备·····	(195)
实验四	切片和染色·····	(201)
实验五	电子显微镜观察·····	(204)
实验六	微波辐射在制备包埋块中的应用·····	(207)
参考文献 ·····		(210)

绪 论

电子显微镜(Electron Microscope, EM)简称电镜,是一种科学研究仪器,1932年由德国鲁斯卡(Ernst Ruska)创制。经过半个多世纪的发展,电镜已成为现代科学技术中不可缺少的重要工具。由于它的发明和运用,至今已获得了两次诺贝尔奖。1982年英国医学研究委员会分子生物实验室(Medical Research Council Laboratory of Molecular Biology)的克卢格(A. Klug)博士,获得诺贝尔化学奖,以表彰他在发展晶体电子显微学及核酸-蛋白质复合体的晶体结构研究方面所做出的卓越贡献。Klug和他的合作者从事病毒、染色质等的电子显微镜研究。根据显微镜成像的傅里叶变换关系,他们发展了一整套图像处理方法,不仅改善了生物样品电子显微镜像的清晰度,而且提高了它的分辨率,从而为用电子显微镜研究生物大分子的晶格结构开辟了一条新途径,开创了晶体电子显微学(Crystallographic Electron Microscopy),不但对研究生物大分子结构有重要意义,对其它固体的晶体结构研究也有着普遍的意义。

1986年德国电子光学和电子显微镜学教授,电镜创始人鲁斯卡和扫描隧道显微镜的发明者宾尼格(Gerd Binnig)、罗赫尔(Heinrich Rohrer)共同获得了诺贝尔物理奖。奖励鲁斯卡1931~1932年在德国柏林工科大学 Max Knoll 教授实验室里建成了第一台透射式电子显微镜,他在电子光学和设计第一台透射式电子显微镜方面的开拓性工作,被誉为“20世纪最重要的发明之一”。在瑞士苏黎世的国际商用机器公司(IBM)研究实验室工作的宾尼格和罗赫尔共同创造的扫描隧道显微镜(Scanning Tunneling Microscope, STM)被认为是鲁斯卡首创的电子显微镜技术的最重要的发展。

电子显微镜是一种什么仪器呢?从本质上讲,电镜是一种助视仪器。百闻不如一见,人类认识自然界大部分信息来自眼睛。用眼睛在宏观水平上研究观察世界,但是正常人眼在明视距离 25cm 时,只能将相距 0.1mm 的两个物体分辨,也就是说,小于 0.1mm 距离的两个物体,人眼分不清,小于 0.1mm 的物体结构细节人眼分辨不清。为了能看到生物结构更小的细节,科学家发明了各种助视仪器,不断提高人眼的分辨率,这些助视仪器有放大镜、望远镜、显微镜等等。

1665年 Robert Hooke 发明了第一台光学显微镜。经过 300 年的不断地发展,已制造出许多种类的光学显微镜,如紫外显微镜、红外显微镜、相差显微镜、偏光显微镜、荧光显微镜及暗视野显微镜等等。借助于这些显微镜,人眼看到了细胞和细菌,从而出现了细胞学、微生物学、遗传学、血液学和病理学等等重要学科。这些光学显微镜所用的光源,基本上是在可见光范围之内,它们能够分辨大于 $0.2\mu\text{m}$ 的物体细节,优于人眼 500 倍。但是,小于 $0.2\mu\text{m}$ 的细小结构就分不清了。

1932年,德国柏林工科大学高压试验室的 Ernst Ruska 在 Max Knoll 领导下,首先制成了世界上第一台电子显微镜。经过半个多世纪的发展,透射电子显微镜的分辨本领,目前已达到 $1.4\text{\AA}$ ^① 这意味着,用这“超微世界的眼睛”,把人观察研究物体细节的本领,比光学显微镜提

① $\text{\AA}$ 是非国际单位制单位,因该书用的较多,将其换算关系列出,不再改动。 $1\text{\AA}=10^{-10}\text{m}=0.1\text{nm}$ 。

高了 1000 倍。在电子显微镜下,不但可以看到细胞的细胞器,病毒,甚至可以看到核酸和蛋白质等生物大分子以及组成物体的基本单位——分子和原子了。

如果说 17 世纪光学显微镜的发明,开辟了细胞和细菌的时代,那么,20 世纪电子显微镜的发明和应用,则开辟了病毒和细胞分子结构的新时代。图 1 表示光学显微镜和电子显微镜能观察到的物体大小和范围。

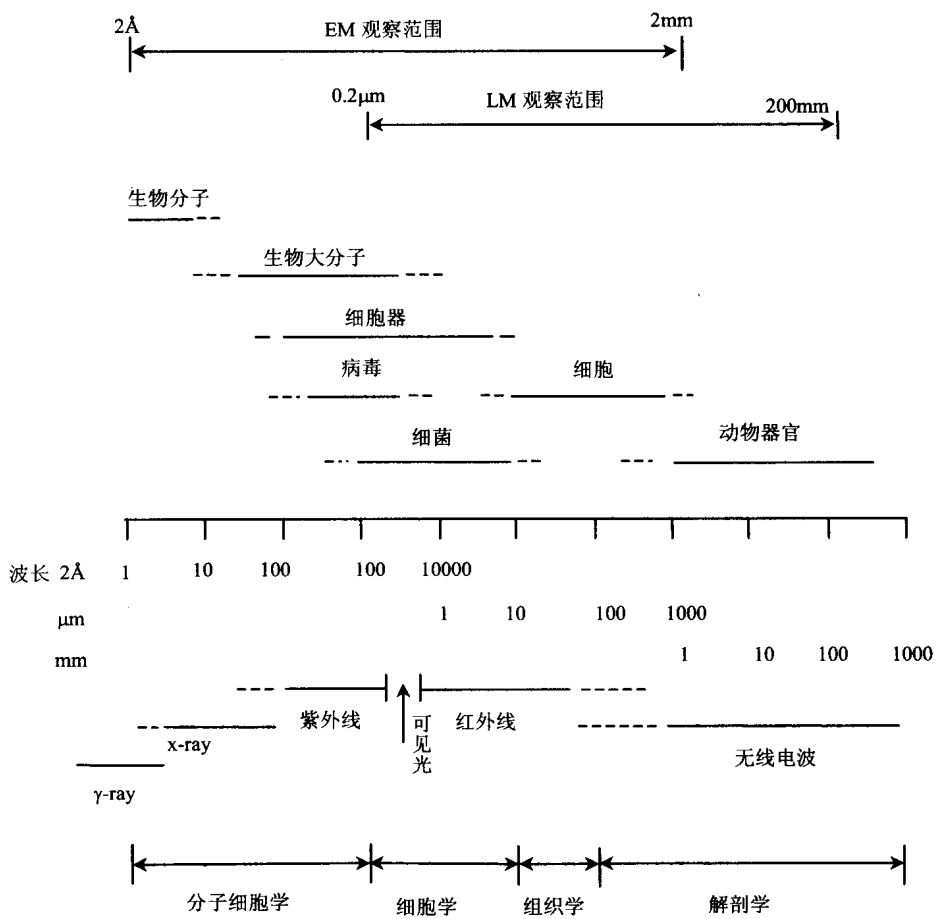


图 1 LM 和 EM 可以观察到的物体大小和范围

自 1965 年第一台扫描电子显微镜商品出现以来,迅速应用于各个领域,为研究结构提供了另一有力工具。

从电子显微镜发明至今半个多世纪以来,电子显微镜技术的发展和运用,对自然科学,特别是对生物学的发展,起着极其重大的推动作用。可以说,在生命科学领域中,没有一个分科不需要电子显微镜的配合。20 世纪 60 年代前后出现的细胞生物学、分子生物学、分子遗传学、分子病理学、分子药理学、病毒学和电镜诊断学等新学科,都是以电子显微镜技术为基础和前提而发展起来的。而且,利用电子显微镜,人们已开始对细胞亚显微结构进行定性和定量分析,以及立体结构研究。

电子显微镜技术和 X 射线分析技术、电泳、超速离心、色层分析、光谱技术、同位素技术等现代生物学研究手段的应用,才使生命科学研究工作进入了分子领域。

电子显微镜在 20 世纪 30 年代就出现了,但是 50 年代之前,在生物学上的运用只是停留在病毒等样品的外部形态的观察上,甚至有人对电子显微镜在生物学和医学研究方面的作用前景表示怀疑。这主要是生物样品的制备技术跟不上电子显微镜技术的发展。直到 1953 年瑞典 Sjostrand 制成一台较完善的超薄切片机,才使超薄切片技术达到较理想的程度。随着各种样品制备技术的发展和改进,电子显微镜在生物学中得到了广泛地应用。

在电子显微镜技术中,有两种分辨本领,一是电子显微镜本身所能达到的分辨本领,一是样品制备上的分辨本领。超薄切片技术使样品分辨本领达到了 $25\text{\AA}$ 左右。但是这个数值距离电子显微镜分辨本领的 $1.4\text{\AA}$ 还有相当大的差距。在这段距离中,还有很多人们所不了解的物质结构的奥秘。这些奥秘的揭示,有赖于样品制备技术的提高。可以说电子显微镜的应用为我们开辟了一个超微结构和功能研究的新领域,克服样品制备技术中的种种困难,是进入这个新领域的必由之路。

电子显微镜不但广泛地应用于生物科学的各个领域,而且也广泛地应用于物理学、化学、半导体、材料科学、考古学以及破案工作中。

从第一台电子显微镜诞生到今天电子显微术有了很大的发展,现在已经发展成为电子显微镜科学。这门科学主要包括三个方面的内容:①各种电子显微镜的设计与制造;②电子显微镜样品制备以及有关的各种设备;③电子显微镜图像的分析、解释和处理。在生物电子显微技术中,同样是研究和解决电子显微镜应用于生物学时这三方面的内容。本课程将简述电子显微镜的原理和结构,以及图像处理方法,并详细地介绍常用的各种生物样品制备技术。至于电子显微镜在各具体学科的应用,将不专门介绍。

第一章 透射电子显微镜的原理和结构

第一节 光学显微镜的分辨本领

由于光的衍射,一个理想的点光源(O),经透镜 L ,在透镜的像平面上成像 I , I 不是一个完好的点像,而是一个直径有限的模糊亮盘,并为明暗交替的环所包围。如果光阑 MN 是圆形,那么这个盘也是圆的,称为 Airy 盘。如图 1-1 的(a,b)所示。(c)为用测微光度计测 Airy 盘所得到的曲线,中央亮斑称中央极大,占有全部光能量的 84%,其中心是几何光学的像点。相邻的亮环称为第一、第二和第三级次极大,暗环称为第一、第二和第三级极小。Airy 盘的半径通常以第一级暗环的半径 r 表示。可由下列公式给出:

$$r = \frac{0.612\lambda}{n \sin \alpha} \quad (1-1)$$

式中, λ 是光在真空中的波长; α 是入射孔径角的一半; n 是透镜和物体之间介质的折射系数。

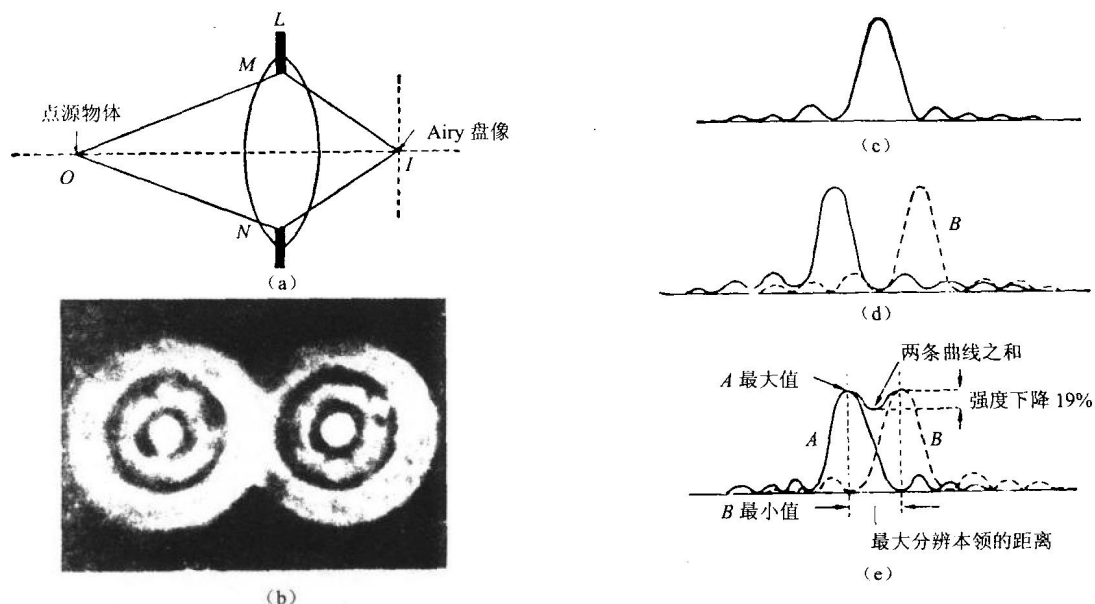


图 1-1 示显微镜分辨本领

当有两个互相靠近的理想点光源 A 和 B ,它们的 Airy 盘会互相交错,强度叠加,如图 1-1 (b,d)。开始可以分清两点的像,但它们重叠到一定程度就分不清了。当一个点光源像的第一级极小值落在另一点光源像的中央极大值中心处时,两个 Airy 盘曲线叠加,在两个中央极大之间强度下降约 19%,根据瑞利判据,为人眼能分辨出的最小强度变化,如图 1-1(e)。这两个盘的距离为刚好分辨开这两个点的最小距离。

分辨本领,是表示一个光学系统能够分辨两个物体的能力。它是刚能清楚地分开,而不致

混在一起的两个物体之间的最短距离,用 δ 表示。分辨本领等于 Airy 盘的半径 r ,即:

$$\delta = \frac{0.612\lambda}{n \sin \alpha} \quad (1-2)$$

公式(1-2)表示,光学系统的分辨本领 δ 和入射波长 λ 、折射系数 n 、入射孔径角 α 有关。

又可以用数值孔径 $N \cdot A$ 表示, $N \cdot A = n \sin \alpha$,那么

$$\delta = \frac{0.612\lambda}{N \cdot A} \quad (1-3)$$

式(1-3)为 Abbe 公式。

由公式(1-2),要提高分辨本领有两种方法,一是增大数值孔径,一是减小波长。

因折射系数 n 比香柏油($n=1.51$)更高的介质目前还没找到,入射孔径角最大值为 180° 。对于光学系统 $n \sin \alpha$ 值为 1.5 左右,代入(1-2)式:

$$\delta = \frac{0.612\lambda}{n \sin \alpha} \approx \frac{0.612\lambda}{1.5} \approx \frac{1}{2}\lambda \quad (1-4)$$

即分辨本领为光源波长的一半。光学显微镜的照明光源波长在可见光($0.39 \sim 0.76 \mu\text{m}$)范围,用波长 $0.5 \mu\text{m}$ 的绿光代入式(1-4),得到

$$\delta = 0.2(\mu\text{m})$$

光学显微镜的极限分辨本领(受波长的限制)不能小于 $0.2 \mu\text{m}$ 。同样,光学显微镜的极限放大倍数是 2000 倍。

要提高光学系统的分辨本领只能用另一种方法——减小波长。这种方法只得用电子显微镜来实现了。

附 分辨本领和分辨率:分辨本领是指一个显微镜(光学系统)能分辨的最小微体,是从理论上而言,指能力。由于各种原因,在一给定的像中所再现的最小细微部分,可能大于或小于仪器的分辨本领,叫做像的分辨率,指效果而言。有时两者混用。

第二节 电子波长

电子和光一样,具有波动和粒子两重性。根据 L. de Broglie 假设,任何一个快速运动的粒子,必定有一种电磁辐射和它结合在一起,其波长由 de Broglie 公式决定:

$$\lambda = \frac{h}{mv} \quad (1-5)$$

式中,对于电子波, h ——普朗克常数; m ——电子质量; v ——电子速度。

电子在加速电压 V 的作用下,在真空中运动。取电子速度为零处的电位为零,在 V 的加速下,达到速度 v ,根据能量守恒定律,可以得到:

$$\frac{1}{2}mv^2 = eV \quad (1-6)$$

式中, e ——电子电荷。

化公式(1-6)为:

$$v = \sqrt{\frac{2eV}{m}} \quad (1-7)$$

将公式(1-7)代入公式(1-5),得到:

$$\lambda = \frac{h}{\sqrt{2emV}} \quad (1-8)$$

把各数据代入公式(1-8)式:

$$\begin{aligned} h &= 6.62 \times 10^{-27} \text{ erg}^{\text{①}} \cdot \text{s}; \\ e &= 4.8 \times 10^{-10} \text{ 绝对静电单位电量}; \\ m &= 9.1 \times 10^{-28} \text{ g}; \\ V &= \text{伏特数}. \\ \lambda &= \frac{6.62 \times 10^{-27}}{\sqrt{2 \times 4.8 \times 10^{-10} \times 9.1 \times 10^{-28} \times \frac{V}{300}}} \\ &= \sqrt{\frac{1.5 \times 10^{-14}}{V}} \text{ (cm)} \\ &= \sqrt{\frac{150}{V}} \times 10^{-8} \text{ (cm)} \\ &= \frac{12.25}{\sqrt{V}} (\text{\AA}) \end{aligned} \quad (1-9)$$

考虑相对论修正,电子电压 V_r 和加速电压 V 的关系,

$$\begin{aligned} V_r &= V \left(1 + \frac{eV}{2mc^2} \right) \\ &= V(1 + 0.978 \times 10^{-6} V) \\ \lambda &= \frac{12.25}{V^{\frac{1}{2}}} (1 + 0.978 \times 10^{-6} V)^{\frac{1}{2}} (\text{\AA}) \end{aligned} \quad (1-10)$$

即电子波长 λ 由加速电压 V 决定。表 1-1 给出了一些加速电压下的电子波长数据。

表 1-1 加速电压和电子波长的关系

加速电压(kV)	电子波长(Å)	加速电压(kV)	电子波长(Å)
1.0	0.3873	100.0	0.0387
5.0	0.1732	300.0	0.0224
10.0	0.1225	500.0	0.0173
25.0	0.0775	1000.0	0.0122
50.0	0.0548	3000.0	0.0071
75.0	0.0447		

常用的加速电压 $V=50\text{kV}$ 时, $\lambda=0.0548\text{\AA}$; $V=100\text{kV}$ 时, $\lambda=0.0387\text{\AA}$ 。可见,电子波的波长比可见光的波长短得多,约小 10^5 倍。这就是电子显微镜比光学显微镜分辨本领高得多的根本原因。对电子显微镜来说,限制分辨本领的不是波长,而是透镜的像差。现在透射电子显微镜的极限分辨本领是晶格分辨本领 $1.4\text{\AA}$,点分辨本领 $3\text{\AA}$ 。

第三节 电子透镜

光学显微镜中,利用玻璃制成的透镜对可见光有折射本能。适当选择透镜的外形,使透镜

① erg(尔格):能量单位,非国际单位制单位。 $1\text{erg} = 10^{-7}\text{J}$, J 为焦[耳]。

具有不同的聚焦特性,从而可以使从一物点发出的不同角度的光线最终会聚成一个像点,即对物成像。要想对电子成像,也需对电子聚焦的透镜,能使电子流成像的透镜叫做电子透镜。

由电磁学知道,带电粒子在电场或磁场的作用下会发生偏转。利用这个原理,沿一光轴呈旋转对称的电磁场,可以使从轴上一点发出的电子,重新会聚在中心轴的另一点上。该电磁场对电子显示出透镜的作用,所以称为电子透镜。电子透镜分为静电透镜和磁透镜两种。静电透镜像差大,电压高,易击穿,现代电子显微镜中只用于电子枪,所以本节只讨论磁透镜。

一、 电子在均匀磁场中的运动轨迹

为了了解电子在磁场中的运动特性,简单起见,先讨论电子在均匀磁场中运动的情况。直螺旋管中通以电流所产生的磁场为均匀磁场。

有一均匀磁场,磁场强度为 H ,质量为 m 的电子以初速度 v_0 进入磁场运动(图 1-2)。运动电子在磁场中受到洛伦兹力 F 的作用。

$$F = -ev_0H \quad (1-11)$$

式中 e ——电子电荷。

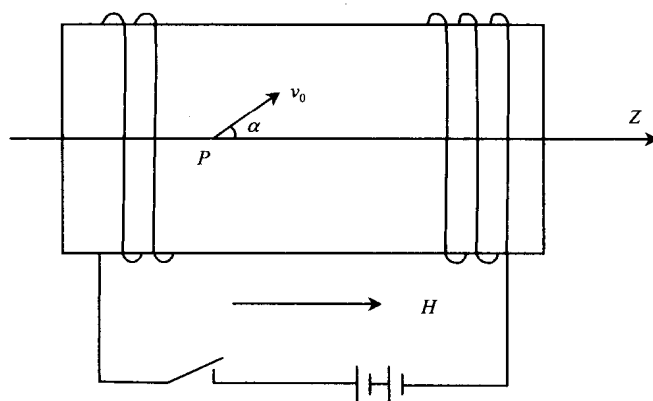


图 1-2 电子在均匀磁场中的运动

下面我们讨论几种情况。

(1) 如果 v_0 与 H 同向时,那 v_0 和 H 的夹角 α 为零,那力 F 为:

$$|F| = ev_0H\sin\alpha = 0$$

作用于电子的洛伦兹力为零,则电子在磁场中仍以 v_0 作匀速直线运动,电子不受磁场影响。

(2) 如果 v_0 与 H 垂直,如图 1-3 所示(图中“ $\times$ ”表示磁场方向,垂直于纸面向内),电子受到洛伦兹力作用,其值为:

$$|F| = ev_0H$$

方向垂直于 H 和 v_0 。这时电子的速度值不变,而方向改变。电子做匀速圆周运动,顺着磁场方向观察时,电子运动轨迹是顺时针方向。洛伦兹力起向心力作用。

由于向心力=离心力

$$ev_0H = \frac{mv_0^2}{R} \quad (1-12)$$

故

$$R = \frac{mv_0}{eH}$$

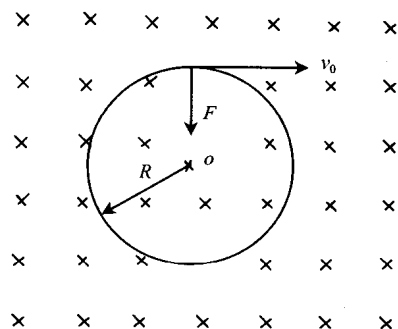


图1-3 电子在均匀磁场中的运动($v_0 \perp H$)

即电子轨道半径 R 与电子运动速度成正比,与磁场强度成反比。

电子绕轨道一周所需的时间,即周期 T 为:

$$T = \frac{2\pi R}{v_0} = \frac{2\pi m}{eH} \quad (1-13)$$

则周期 T 与电子速度无关,也就是说,从某一点发出的初速度不同的电子,有相同的周期。

(3) 电子速度 v_0 和 H 有一夹角 α ,我们可以把 v_0 分解成两个分量:

$$v_r = v_0 \sin\alpha$$

$$v_z = v_0 \cos\alpha$$

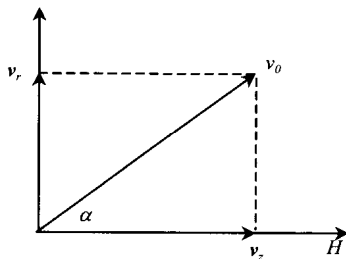


图 1-4 将 v_0 分成 v_z 和 v_r 两个分量

分别与 H 垂直和平行(图 1-4)。根据上述讨论,在磁场作用下,平行于 H 的分量 v_z 使电子在 H 方向上作匀速直线运动;而垂直于 H 的分量 v_r 使电子在垂直于磁场的平面上作匀速圆周运动。电子运动为这两种运动之和,则电子在均匀磁场中作螺旋运动,运动轨迹为一螺旋线。螺旋线的半径 R 为:

$$R = \frac{mv_0 \sin\alpha}{eH} \quad (1-14)$$

周期 T 为:

$$T = \frac{2\pi R}{v_r} = \frac{2\pi m}{eH} \quad (1-15)$$

螺距 h 为:

$$h = T \cdot v_z = \frac{2\pi m v_0 \cos\alpha}{eH} \quad (1-16)$$

二、电子束在磁场中的会聚特性

上面讨论的是单个电子在均匀磁场中的运动轨迹。而在电子显微镜中,实际的光束是由

一束电子所组成。为了得到理想的像,要求电子显微镜的电子光学系统满足下列旁轴条件:

- (1) 电子离光轴距离很小;
- (2) 电子束轨迹斜率很小。

由 P_a 点发出的一束电子,满足旁轴条件,运动方向各不相同,即与光轴的夹角 α 不同。在磁场强度 $\mathbf{H}$ 和光轴 Z 同方向时(图 1-5),每个电子都在均匀磁场作用下,做螺旋运动。经过一个周期 T 后,在轴向(即 $\mathbf{H}$ 的方向)上,各电子前进一段距离 h :

$$h = T \cdot v = T v_0 \cos \alpha \quad (1-17)$$

由式(1-15)可以知道,各个电子绕螺旋线一匝所需的时间 T 一样,与运动速度和初始角 α 无关。又在电子显微镜中,为得到理想图像,要求电子束的速度 v_0 是相等的,并且在满足旁轴条件时, α 值很小,那么 $\cos \alpha \approx 1$ 。可以近似地认为:

$$v = v_0 \cos \alpha \approx v_0 \quad (1-18)$$

那么,

$$h = T \cdot v_0 \cos \alpha \approx T v_0 = \frac{2\pi m v_0}{eH} \quad (1-19)$$

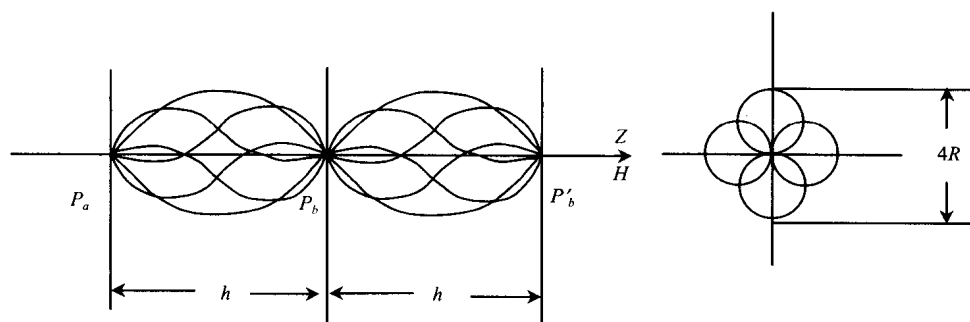


图 1-5 电子在均匀磁场中的运动轨迹

这束电子在经过时间 T 以后,都会聚于一点 P_b , P_b 是 P_a 的像点。所以, P_a 点所发出的满足旁轴条件的电子束,在均匀磁场作用下,尽管初始角 α 不同,但经过时间 T 后,都会聚于相距为 h 的轴上 $P_b, P'_b, \dots$ 。这说明均匀磁场与光学透镜一样,对于电子束具有会聚特性,一般称之为长磁透镜。

三、短磁透镜

均匀磁场一般是由长螺旋管线圈通电流而产生的,其所有磁力线是相互平行的。在长磁透镜中,每一点的像都是在物点本身所在的那条磁力线上。所以,物和像的大小是一样的,放大倍数 $M=1$ 。在电子显微镜中,分辨本领可达 $2\text{\AA}$,而人眼的分辨本领不能小于 0.1mm ,所以电子显微镜的透镜必须有足够高的放大能力,才能使其高分辨的性能发挥出来。 $0.1\text{mm}/2\text{\AA} = 5 \times 10^5$,即要有 50 万倍以上的放大倍数才行。

为了得到高放大倍数,在电子显微镜中一般采用短磁透镜。当透镜磁场的作用局限于一个小范围内,物和像都在磁场外,此透镜可认为是短磁透镜。短磁透镜的会聚作用与长磁透镜不同。在短磁透镜中,物和像都位于磁场外面,电子射线的偏转,是由于磁场的径向分量的作用。

在短磁透镜中,只有在线圈中心的有限部分,磁场才近似于均匀。在中心区域的两侧,磁力线迅速地离开轴线,因此出现了很强的径向分量。故磁场可分成轴向分量 H_z 和径向分量

H_r (图 1-6)。

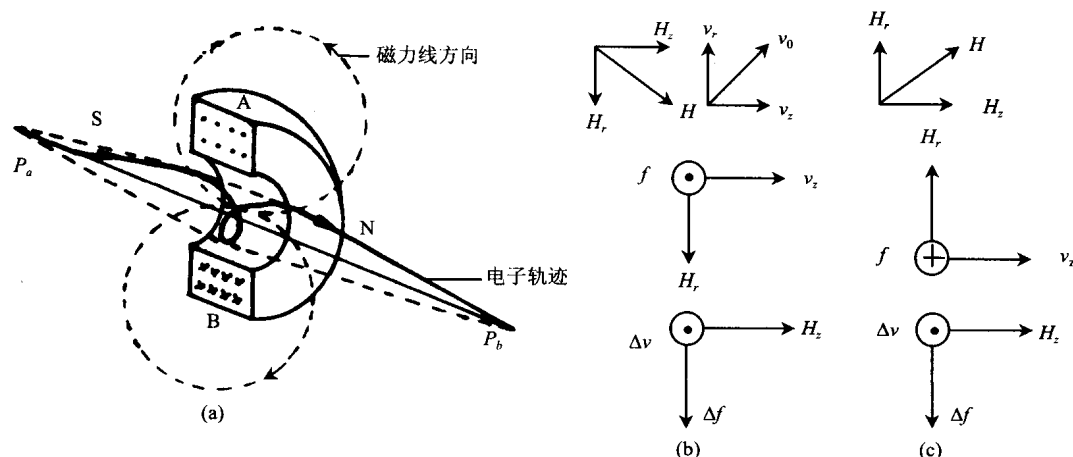


图 1-6 短磁透镜中电子运动

如果电子从位于轴上的 P_a 点射出,与轴的夹角为 α ,未进入透镜前,将沿直线运动。进入磁场,电子速度也可以分成径向速度 v_r 和轴向速度 v_z 。在旁轴条件下,电子进入磁场时的径向速度 $v_r = v_0 \cos \alpha$ 很小。而经过透镜后,由于获得向轴的速度, v_r 还将进一步减小。因此, v_r 与磁场的轴向分量 H_z 所产生的作用力很弱,可以忽略不计。

我们来研究磁场对电子轴向分量 v_z 的作用。在透镜的前半部分,磁场的径向分量 H_r 指向轴,与 v_z 垂直。根据左手法则,电子射线受到一个从图的平面向外偏转的力 f (图 1-6(b)),使电子作绕轴旋转运动,速度 Δv 。这个绕轴的旋转运动与磁场的轴向分量 H_z 相互作用的结果,又使电子受到了向轴的作用力 Δf ,愈靠近透镜中心,由于 H_z 和电子旋转速度增大,向轴的作用力 Δf 也就愈大。在它的作用下,电子向轴偏转。当电子经过中心区域 AB 而进入透镜后半部分时,磁场径向分量 H_r 改变了方向, H_r 和电子轴向速度分量 v_z 作用,产生向图内偏转的力 f (图 1-6(c))。但因为此时电子已经获得向图外旋转的速度 Δv ,结果只能使向图外旋转的运动速度降低,而不致改变其运动方向。径向力 Δf 仍是向心的,电子仍向轴偏转。但轨迹向轴弯曲程度逐渐减少。在离开透镜后,电子做直线运动,与轴交于 P_b 点。 P_b 即为的像点。同时磁透镜所获得的像,对物的相对位置来说,已旋转了一个角度,这个角度通常小于 90° 。其轨迹见(图 1-6)所示。在图 1-7 中(a)为电子在圆锥表面上的轨迹;(b)为电子在通过光轴并和电子一起旋转的子午面上的轨迹。如果电子以平行轴的方向射入透镜,受到透镜的偏转作用而与轴相交,这个交点就是短磁透镜的焦点。短磁透镜对电子束也有会聚特性。

如果把电子轨迹看成是电子射线,在旁轴条件下,可以用几何光学的方法处理之,这就是电子光学。所谓电子光学是指研究和利用电子流的聚焦、偏转及成像规律的一门科学。同样可以引入焦点和焦距等概念来表示电子透镜对电子射线的聚焦成像作用。短磁透镜的基本成像公式为:

$$\frac{1}{u} + \frac{1}{v} = \frac{1}{f}$$

式中: u ——物距, v ——像距, f ——透镜焦距。

可以证明:

$$\frac{1}{f} = \frac{e}{8mV} \int_{-\infty}^{+\infty} H^2(z) dz = \frac{0.022}{V} \int_{-\infty}^{+\infty} H^2(z) dz (\text{cm})^{-1} \quad (1-20)$$

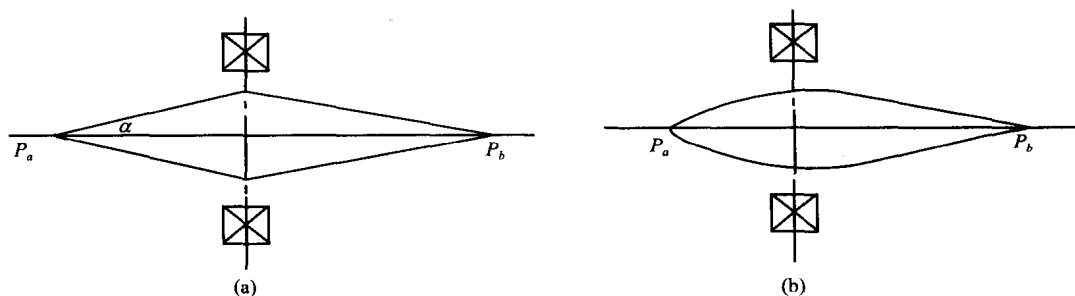


图 1-7 短磁透镜中的电子轨迹

也可以用经验公式表示 f :

$$\frac{1}{f} = K \frac{(NI)^2}{V} \quad (1-21)$$

式中: I ——通过透镜线圈的激磁电流(安培);

N ——线圈匝数;

NI ——安匝数;

K ——常数,与透镜的几何形状和结构有关;

V ——加速电压(伏特)。

由公式(1-20)可以知道,焦距 f 与 $H^2(z)$ 成反比,那磁透镜永远会聚,没有发散磁透镜。磁场越强则焦距越短,透镜的放大倍数越高。由公式(1-21),只要改变线圈中激磁电流 I 的大小,就可以改变磁场强度,以达到改变焦距,得到不同放大倍数的目的。

由公式(1-20)和(1-21)可以知道,外加电源加速电压和激磁电流的变化,都会引起电子速度和透镜焦距的变化,使图像失真。所以为了获得高质量的图像,应该采用高稳定度的稳压和稳流装置。

对于短磁透镜,像的旋转角可以用下式表达:

$$\varphi = \int_{-\infty}^{+\infty} \frac{d\varphi}{dz} dz = \frac{1}{2} \sqrt{\frac{e}{2m}} \int_{-\infty}^{+\infty} \frac{H(z)}{\sqrt{V}} dz = \frac{0.148}{\sqrt{V}} \int_{-\infty}^{+\infty} H(z) dz \quad (\text{弧度})$$

此式表示,像转角和电子速度(v)有关,电子速度越大,像转角越小。像转角随 H 的方向而变, $H(z)$ 为正值, φ 为正值,反之, φ 为负值。如果采用两个适当的线圈,反向串联,可以使像转角相互抵消,从而得到没有像转角的图像。

短磁透镜既对电子有会聚特性,又有放大作用,是电子显微镜中实际采用的磁透镜。是一个放大倍数较小的弱透镜。

四、磁浸没透镜

为了获得有很高放大倍数的磁透镜,应该使强大的磁场集中在轴上的一小部分区域,从而使透镜具有大的焦度($1/f$)。并将物体放在接近焦点的地方,也就是放在透镜的磁场里面,这种磁透镜叫做磁浸没透镜,是一种强磁透镜,为电子显微镜所采用。

由旋转轴对称磁场构成的电子透镜有三类：长磁透镜、短磁透镜和磁浸没透镜。

五、磁透镜的种类

电子显微镜中实际采用的磁透镜，根据轴上磁场分布的延伸大小不同（也就是焦距长短不同），在构造上可分成三类。

1. 开启式磁透镜

这种透镜是由无铁壳的薄线圈通以电流而构成，即是一短而薄螺旋管线圈（图 1-8）。其对电子束的作用和一薄玻璃透镜相似。它的磁场不集中，损失许多磁力线。仅在早期用过，现在不用了。

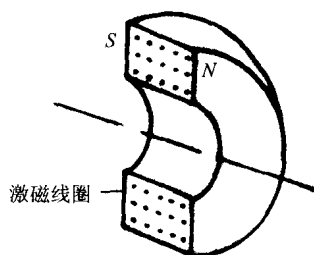


图 1-8 开启式磁透镜

2. 屏蔽式磁透镜

在激磁线圈外面加上铁壳，内边留有空隙，就制成屏蔽式磁透镜（图 1-9）。铁壳一般用软铁等导磁材料制成。这种磁透镜用铁壳屏蔽后，磁力线容易穿入铁壳，并在空隙处形成集中的轴对称场，作为透镜的磁场，从而增强了透镜的聚焦能力。

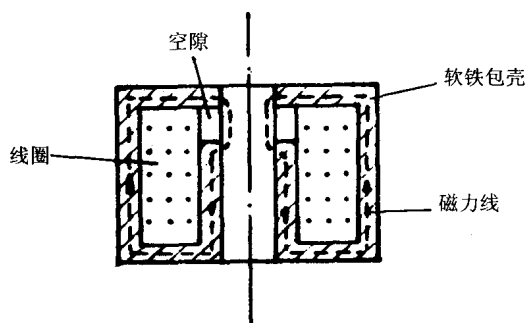


图 1-9 屏蔽式磁透镜

这种透镜一般作为电镜中的弱透镜。

3. 带极靴的强磁透镜

在屏蔽式磁透镜的空隙处加入极靴，可以使磁场更集中，焦距只几毫米，成为一强磁透镜（图 1-10(a)）。这类型透镜是最常用的磁浸没磁透镜。极靴是用高导磁材料做成，一般采用纯铁或铁钴合金（钴的含量为 50%~40%）。其可以做得十分精确，从而得到高度轴对称的磁场，以改善成像的质量。极靴有上、下两个（图 1-10(b)），可以做的不一样，以得到不对称磁场，以适应不同的使用条件。