

WILLIAM

医用电子显微镜与超微结构



医用电子显微镜与超微结构

主 编	查世钦	许露玫
副主编	刘静敏	戈士文
	孟林敏	许 平
	张 阳	郭金玲

河南医科大学出版社
• 郑 州 •

(豫)新登字第 11 号

医用电子显微镜与超微结构

主 编 查世钦 许露玫

责任编辑 李喜婷

责任监制 张 超

河南医科大学出版社出版发行

(郑州市大学路 40 号 邮编 450052 电话 0371-6988300)

河南省水利厅印刷厂印刷

787×1092 毫米 16 开 8 印张 187 千字

1996 年 8 月第 1 版 1996 年 8 月第 1 次印刷

印数: 1-2 000 册

ISBN 7-81048-102-9/R·100

定价: 12.50 元

前 言

电子显微镜的诞生为人类探索微观世界的奥秘创造了条件，对推动医学各门学科的发展，产生了十分深远的影响。随着电镜制样技术的不断更新，电子显微镜在医学科研、教学、临床应用等方面得到了更为广泛的应用，尤其是近年来，电镜的应用从理论性研究逐渐深入到临床医学各学科的实际应用方面，对疾病的病因、病程的了解，肿瘤的鉴别诊断等都取得了显著成效。

目前，国内许多高等院校的教学内容涉及到电镜方面的知识。我们自 1981 年开设此门课程以来，该教材经多年应用，进行了多次修改和充实，供医学本科生、研究生教学及有关人员参考使用，深受师生好评。在本教材编写过程中，我们参考了国内权威版本的有关内容，如重庆出版社出版，杭振镛、蔡文琴主编的《电子显微镜技术在临床医学的应用》，香港出版社出版的《电镜技术与细胞超微结构》，科学出版社出版的洪涛主编《生物医学超微结构与电子显微镜》及张朝佑主编的《器官内微血管铸型扫描电镜图谱》等，不再一一列出，在此一并致谢。

本教材共分六个章节，介绍了电镜原理、各种电镜技术、细胞超微结构、肿瘤、细菌及病毒超微结构。

由于时间仓促，水平有限，本教材编写过程中疏漏不妥之处在所难免，望广大读者不吝指教。

编 者

1996 年 6 月

目 录

第一章 电子显微镜的基本原理与构造	(1)
第一节 电子显微镜的类型	(1)
一、透射电子显微镜	(1)
二、扫描电子显微镜	(1)
三、超高压电子显微镜	(1)
四、电子探针	(1)
五、分析电子显微镜	(2)
第二节 透射电镜的基本原理与构造	(2)
一、基本概念	(2)
二、基本原理与构造	(4)
(一) 照明系统	(4)
(二) 成像系统	(6)
(三) 观察记录系统	(6)
(四) 真空系统	(6)
(五) 供电系统	(6)
第三节 扫描电镜的基本原理与构造	(7)
第四节 透射电镜、扫描电镜与光镜的比较	(8)
第二章 医学电镜样品的的基本制备技术	(10)
第一节 超薄切片技术	(10)
一、取材	(10)
(一) 取材前的准备	(10)
(二) 取材方法	(10)
二、固定	(12)
(一) 目的	(12)
(二) 理想固定剂的要求	(12)
(三) 选择固定液时需注意的因素	(12)
(四) 常用的缓冲液及其配方	(13)
(五) 几种常用的固定液	(14)
(六) 固定方法	(17)
三、脱水	(18)
四、浸透与包埋	(19)
(一) 几种常用的包埋剂	(19)
(二) 浸透与包埋的方法	(20)

(三) 包埋块制备过程中的注意事项	(23)
五、超薄切片技术	(23)
(一) 超薄切片的原理	(24)
(二) 修整包埋块	(25)
(三) 半薄切片	(25)
(四) 选择载网	(25)
(五) 制备支持膜	(26)
(六) 切片刀	(26)
(七) 超薄切片	(27)
(八) 影响切片质量的有关因素	(29)
六、电子染色	(29)
(一) 目的	(29)
(二) 原理	(29)
(三) 常用的电子染色剂	(30)
(四) 影响反差的几种常见因素	(32)
(五) 电子染色方法	(32)
(六) 半薄切片的染色方法	(33)
第二节 负染色技术	(34)
一、染液的配制	(35)
二、样品的制备	(35)
三、染色方法	(36)
四、负染效果的影响因素	(36)
第三节 扫描电镜样品的制备技术	(37)
一、扫描电镜的特点	(37)
二、样品制备的基本要求	(38)
三、样品制备的基本程序	(39)
(一) 常规扫描电镜样品的制备	(39)
(二) 冷冻样品直接扫描电镜观察法	(47)
(三) 血管铸型扫描电镜样品的制备	(47)
第三章 医学电镜样品的其他制备技术	(49)
第一节 冷冻蚀刻技术	(49)
一、冷冻蚀刻装置	(49)
二、冷冻蚀刻样品制作程序	(50)
(一) 取材、固定	(51)
(二) 防冰冻保护处理	(51)
(三) 冷冻	(51)
(四) 断裂	(51)
(五) 蚀刻	(51)

(六) 喷镀复型	(52)
(七) 腐蚀清洗	(52)
三、冷冻蚀刻复型的解释	(52)
第二节 冷冻超薄切片技术	(53)
一、样品取材与预处理	(53)
二、快速冷冻	(54)
三、切片	(55)
第三节 放射自显影技术	(55)
一、原理及操作	(55)
(一) 样品的标记	(55)
(二) 样品的制备	(57)
(三) 敷乳胶的方法	(57)
(四) 曝光	(57)
(五) 电子染色	(57)
二、放射自显影的特点	(57)
第四节 电镜细胞化学技术	(57)
一、电镜细胞化学的基本原理	(57)
二、电镜细胞化学技术的操作程序	(59)
三、几种常见的细胞化学方法	(60)
四、电镜细胞化学的意义	(62)
(一) 细胞膜	(62)
(二) 细胞核	(62)
(三) 细胞质	(62)
第五节 电镜免疫细胞化学技术	(63)
一、抗原—抗体免疫反应电镜观察	(63)
二、电镜免疫酶细胞化学技术	(63)
(一) 基本原理	(63)
(二) 操作方法	(64)
三、免疫电镜胶体金标记技术	(64)
四、免疫电镜铁蛋白技术	(65)
(一) 基本原理	(65)
(二) 操作方法	(65)
五、电镜免疫细胞化学的应用	(66)
第六节 X 射线显微分析技术	(67)
一、基本原理	(67)
(一) 特征 X 射线的产生和定性 X 射线显微分析	(67)
(二) 定量 X 射线显微分析	(67)
(三) X 射线的收集与检测	(67)

二、样品制备	(68)
三、X 射线显微分析技术的应用	(69)
第七节 超微结构的形态测量	(69)
一、二维结构图像的分析	(69)
二、立体定量分析	(70)
(一) 手工操作法	(71)
(二) 计算机定量分析技术	(73)
第四章 细胞超微结构	(74)
第一节 细胞膜	(74)
一、细胞膜的超微结构及功能	(74)
(一) 细胞膜的超微结构	(74)
(二) 细胞膜的功能	(75)
(三) 细胞表面的特殊结构及功能	(76)
(四) 细胞间的连接装置及功能	(77)
二、细胞膜的超微病理	(80)
(一) 细胞膜	(80)
(二) 细胞表面的特殊结构	(80)
(三) 细胞间的连接装置	(81)
第二节 细胞核	(81)
一、细胞核的超微结构和功能	(81)
(一) 核膜	(81)
(二) 核质	(83)
(三) 核仁	(83)
二、细胞核的超微病理	(84)
(一) 核体积与外形	(84)
(二) 核膜	(84)
(三) 核质	(84)
(四) 核仁	(85)
(五) 核内包涵体	(85)
第三节 细胞质	(85)
一、线粒体	(85)
(一) 超微结构及功能	(85)
(二) 超微病理	(86)
二、内质网及核糖体	(87)
(一) 超微结构及功能	(87)
(二) 超微病理	(88)
三、高尔基复合体	(89)
(一) 超微结构及功能	(89)

(二) 超微病理	(89)
四、溶酶体	(89)
(一) 超微结构及功能	(89)
(二) 超微病理	(91)
五、微体	(92)
六、中心粒	(92)
七、微丝与微管	(92)
(一) 微丝	(92)
(二) 微管	(93)
八、细胞质内包涵物	(93)
第五章 肿瘤超微病理	(94)
第一节 肿瘤细胞的一般超微结构	(94)
一、肿瘤细胞的特点	(94)
二、肿瘤细胞的超微结构	(94)
(一) 细胞膜及其表面结构	(94)
(二) 细胞质	(95)
(三) 细胞核	(97)
(四) 间质	(98)
第二节 常见恶性肿瘤的一般超微结构	(98)
一、上皮组织肿瘤	(98)
(一) 鳞状细胞癌	(98)
(二) 腺癌	(99)
(三) 移行细胞癌	(99)
二、间叶组织肿瘤	(99)
(一) 纤维肉瘤	(99)
(二) 平滑肌肉瘤	(100)
(三) 横纹肌肉瘤	(100)
(四) 脂肪肉瘤	(100)
(五) 血管肉瘤	(100)
(六) 间皮瘤	(100)
(七) 恶性纤维组织细胞瘤	(101)
三、骨和软骨肿瘤	(101)
(一) 骨肉瘤	(101)
(二) 软骨肉瘤	(102)
(三) 尤文瘤	(102)
四、其他恶性肿瘤	(102)
(一) 黑色素瘤	(102)
(二) 滑膜肉瘤	(103)

第三节 神经组织肿瘤.....	(103)
一、神经细胞及胶质细胞的超微结构.....	(103)
(一) 神经细胞	(103)
(二) 胶质细胞	(104)
二、胶质瘤.....	(104)
(一) 星形细胞瘤	(104)
(二) 少突胶质细胞瘤	(104)
(三) 髓母细胞瘤	(104)
三、神经元肿瘤.....	(105)
四、神经纤维瘤.....	(105)
五、脑膜瘤.....	(105)
第六章 细菌及病毒的超微结构.....	(106)
第一节 细菌的超微结构.....	(106)
一、细胞壁.....	(106)
二、细胞膜.....	(106)
三、细胞核.....	(107)
四、核糖体.....	(107)
五、细菌的内部结构.....	(107)
(一) 质周体	(107)
(二) 中膜体	(107)
(三) 芽胞	(107)
六、细菌的外部结构及附属物.....	(107)
(一) 鞭毛	(107)
(二) 菌毛	(107)
(三) 点阵颗粒	(108)
(四) 荚膜	(108)
第二节 病毒的超微结构.....	(108)
一、立体对称型.....	(108)
二、螺旋对称型.....	(111)
三、复合对称型.....	(111)
电镜技术及超微结构常用词汇.....	(113)

第一章 电子显微镜的基本原理与构造

第一节 电子显微镜的类型

电子显微镜(简称电镜)的发明,为人类探索微观世界的奥秘开辟了广阔的前景。世间万物除了我们日常所观察到的物体外,还有肉眼不能看到的微观、超微观世界,17世纪中期(1665年)Robert Hooke 发明了第一台光学显微镜,从此揭开了细胞学发展的序幕。20世纪30年代(1932年)Max Knoll 和 Ernst Ruska 在电子光学发展基础上发明了电子显微镜,电子显微镜是本世纪30年代最突出、最伟大的科学成就之一。电镜的应用范围愈来愈广泛,涉及自然科学的各个领域,尤其是生物医学。近年来,电镜从医学理论性的研究逐渐发展到临床医学的实际应用方面。随着电镜应用范围的不断扩大,为了满足各方面的需要,相继出现了各种不同性能的电镜。

一、透射电子显微镜

透射电子显微镜(Transmission Electron Microscope, TEM)简称透射电镜,是应用最为广泛的一种电镜,也是最早应用于医学领域的一种电镜,它的特点是电子束穿透样品,利用穿透过标本的那部分电子经多级电子放大后成像,由于电子束的穿透能力一般很弱,所观察的样品必须很薄,通常可用来观察组织、细胞的超薄切片、复型膜和负染标本等。

二、扫描电子显微镜

扫描电子显微镜(Scanning Electron Microscope, SEM)简称扫描电镜,用于观察物体表面的立体细微结构。它的特点是利用从标本表面反射回来的二次电子成像,标本可以较厚。扫描电镜在医学领域主要用于观察组织细胞表面及断面结构,如血细胞、体外培养的游离细胞、寄生虫等,其成像富有立体感。

三、超高压电子显微镜

简称超高压电镜,主要用于材料科学的研究,在生物学中,用于细胞骨架等方面的研究,由于超高压电镜电子枪的加速电压是普通电镜的10~30倍,电子束穿透能力很强,可以观察厚切片。如果将活细菌或活细胞保存在一个含水及适当气体的小室内,就能直接观察细胞器的运动过程。超高压电镜已显示出很大的优越性,但其体积庞大、结构复杂、价格昂贵。

四、电子探针

扫描电镜上可装置很多附件,最常用的是X射线微区成分分析附件。用于探测微小区域内的元素成分。电子束照射在样品表面,能激发出X射线。采用晶体分光光谱法测

定 X 射线的波长和强度来分析样品成分的仪器称为 X 射线分光光谱仪。用锂漂移硅探头测定 X 射线的强度和能量的仪器称为 X 射线能谱仪。

电子探针是由光谱分析、能谱分析和扫描观察组成的复合装置。

五、分析电子显微镜

简称分析电镜，是在透射电镜上加上 X 射线能谱仪及扫描附件所构成的电镜，它既能观察组织的形态，又能同时分析各种元素成分。但由于标本必须放在空间极小的物镜极靴中，在观察实体方面受到限制。

第二节 透射电镜的基本原理与构造

一、基本概念

1. 分辨本领与放大倍数 分辨本领是指能够分辨物体上两点之间的最小距离。在光学显微镜中，由于光线的衍射作用，当光线从一点出发透过显微镜时，所成的像不再是一点而是周围带有阴影的光斑。如果物体上两点靠得很近，所成的像就可能分辨不清。显微镜的分辨本领从理论上推得可用下式表示：

$$d = \frac{0.612\lambda}{n \sin\alpha}$$

式中 d 为分辨本领， λ 为照明源波长， n 为物体与物镜间介质的折射率， α 为物体上的点与物镜所成夹角的一半。显微镜所能分辨的两点之间的距离越小，其分辨本领也就越高。要提高分辨本领，必须采用波长短的照明源。电子显微镜的照明源为电子束，波长约为 $0.05 \text{ \AA}$ ，目前最好的电镜分辨本领已达 $1.4 \text{ \AA}$ ，比光学显微镜提高了 1 000 多倍。

放大倍数是指物体经过仪器放大后的像与物的大小之比。放大了的像还可多次放大，但到一定限度后继续放大时便不能增加细节，这是分辨本领的限制所致。不能增加图像细节的放大倍数称为空放大，而与分辨本领相应的最高放大倍数称为有效放大倍数，它是人眼的分辨本领与仪器的分辨本领之比。目前商品电镜的分辨本领可达到 $2 \text{ \AA}$ ，其有效放大倍数为

$$My = \frac{0.2\text{mm}}{2 \times 10^{-7}\text{mm}} = 10^6 \text{ (倍)}$$

即 100 万倍。这个倍数可以从电镜上直接得到，也可在摄制 20 万倍的底片后再以光学放大 5 倍来获得。因此，标示电镜性能的主要指标是分辨本领而不是放大倍数。

2. 反差与成像 反差就是像与背景在亮度上的差别。如果反差太小，图像结构就看不清楚。因此当样品的反差不够时，即便使用最好的电镜也观察不清它的细节，这说明反差是成像的必备条件。

在电镜中，当电子束中的电子碰到样品中的原子核时，电子轨道将偏斜一个角度，这种相互作用的过程称为弹性散射。弹性散射的强度与样品元素的原子序数成正比，原子序数愈高，对入射电子的散射能力就愈大。在物镜的后焦面上装一接地的光阑，散射角度大的电子被光阑截获而除去，仅让透射电子和散射角度小的电子穿过光阑孔参与成像，从而形成反差。光阑孔越小（通常为 $20 \sim 30 \mu\text{m}$ ），被截除的散射电子便越多，像的反差

也就越好。

生物组织样品主要由原子序数较低的碳、氢、氧、氮等元素组成，在电镜中不能直接形成反差，因而不能成像。为了获得生物样品的反差，必须对样品进行电子染色，即在样品制备过程中使组织块或超薄切片与重金属盐类（如钨、铀、铅）相作用，使组织中的某些结构结合（化合、吸附）重金属元素，从而增加这些结构对电子的散射能力以获得反差，使样品显示出清晰的结构来。

3. 球差 从一点发出的射线通过透镜后不能汇聚在一点上，而是近轴的射线比通过透镜边缘的射线汇聚得远些，因此，在像平面上所成的象不是清晰的一个点，而是一个模糊的圆斑，此圆斑的直径 D_s 即为球差。可用下式表示：

$$D_s = \frac{1}{2} C_s d^3$$

式中 C_s 是球差系数， d 为透镜的孔径角。

在玻璃透镜中，球差可用不同折射率的透镜组加以消除，但在电子光学系统中只能通过减小透镜的孔径角以降低球差，但是如果孔径角太小，又会增加由衍射引起的像差，因此，这里需要采用使球差与衍射像差均较小的孔径角，以得到磁透镜理论极限分辨本领。

4. 像散 是由于透镜磁场不呈轴对称，因而在两个垂直方向上具有不同的焦距，其结果是物点的像将形成两条焦线，在这两条焦线之间的中心处为一最小弥散圆，两条焦线之间的距离 Z_a 即为透镜的像散。设计安装电镜时应使磁透镜磁场完全轴对称，但事实上由于材料的不均匀性和机械加工精度装配的误差，总会存在一定的像散，这种仪器本身的像散叫固定像散。物镜像散可以外加一个具有相反磁场的消像散器加以纠正，使其减至最小。

5. 场深和景深 如果一个透镜只能把点状物体在像平面上汇聚成一个点状像，那么聚焦就会遇到很大困难，因为只要物体位置或像屏位置稍移动一下，像就会看不清楚。事实上，由于衍射作用，点状物体所成的像是一个圆盘，因此物平面和像平面的位置允许有一个小的变动范围，在此范围内仍可被认为能够获得清晰的象，这种可变的距离分别称为场深和景深。

6. 色差 与玻璃透镜的色差相似。当不同波长（即不同颜色）的光线通过玻璃透镜时，将在不同的距离上聚焦，因而物点所成的像是一个多色的圆斑，不同能量（即不同速度）的电子射线通过磁透镜时也将发生类似的色差现象，由此得知磁透镜的焦距为：

$$f = K \frac{V}{(NI)^2}$$

当加速电压 V 和透镜电流 I 波动时均将引起透镜焦距的改变而影响电镜的分辨本领。对于一台分辨本领为 $3 \text{ \AA}$ 的电镜，要求加速电压和物镜的电流稳定度为百万分之几，才能减小色差。

7. 像的畸变 同物镜球差一样，当物镜所成的像再通过投影镜放大时，边缘部分的聚焦能力强，焦距短，近轴部分聚焦能力弱，焦距长，因而像的放大倍数随着离轴的远近而改变，图像就发生弯曲，假如原物是一个正方形网络，由于畸变，放大以后每边可能向内弯曲成枕形或向外弯曲成桶形，像的畸变在低倍放大时更为明显。由于找不到比

电磁透镜更为合适的发散透镜，因此只能用选择透镜极靴的形状及激励强度等方法来减小像差。

二、基本原理与构造

电子显微镜成像的基本原理与光学显微镜是相同的，所不同的是采用的照明源及透镜不同，电镜采用的照明源是电子束，透镜是轴对称的电场或磁场。

透射电子显微镜由三部分组成：电子光学系统（简称镜筒）、真空系统和供电系统。

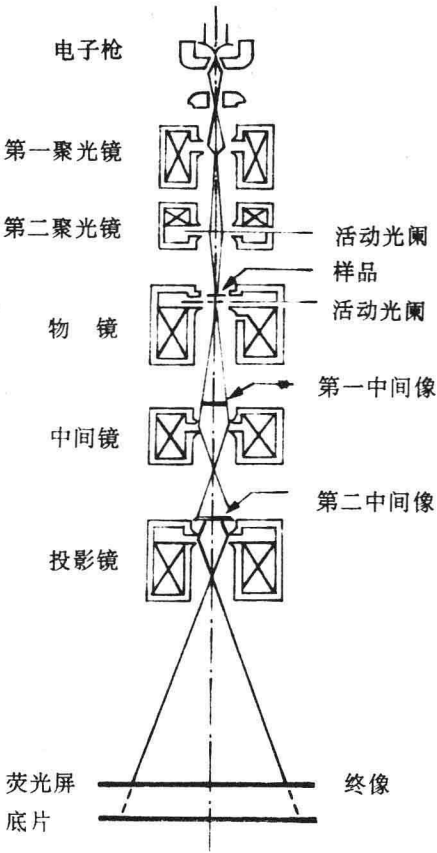
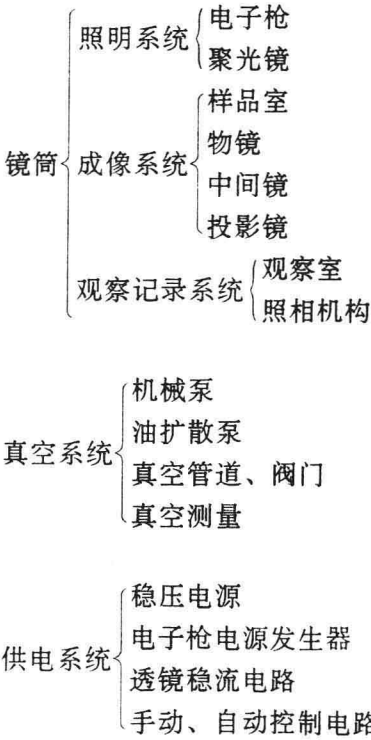


图 1-1 透射电镜原理示意图

(一) 照明系统

照明系统由电子枪和聚光镜组成。

1. 电子枪 电子显微镜的照明源为电子束。电子是带负电荷的粒子，在电场内受到力的作用，当受加速电压作用时，在真空中以直线前进。电子束照在样品上，能产生透射电子、二次电子、反射电子、吸收电子以及特征 X 射线等。照射于荧光体上还能激发出可见光。目前，大多数电镜的电子束都是由电子枪产生的，电子枪的结构分为阴极（灯丝）、阳极（加速极）、控制极（栅极）。阴极通常用钨丝制成，通电加热后钨丝内的自由电子热运动增加并逸出表面，在加速电压及阳极的作用下，高速飞向阳极，中心部

分的电子因惯性而穿过阳极孔成为照明电子束。调节电子束的强弱，依靠阴极表面附近的控制极，控制极相对阴极为数百伏的负电位，通过调节电位的高低可控制阴极发射电子的数目，即控制电子束的强弱（图 1-2）。

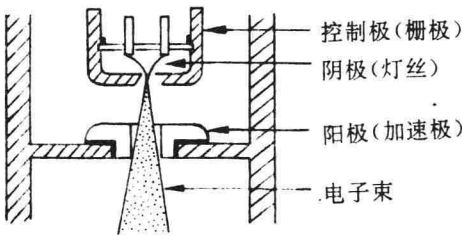


图 1-2 电子枪示意图

2. 聚光镜 使电子束聚集到样品上，运行中的电子束只有在通过电场或磁场时才能改变其运动轨迹。轴对称的电场或磁场可以使电子束聚焦，故称为电子透镜，前者叫静电透镜，后者叫磁透镜。由于静电透镜的像差大，现代电镜中应用得很少。

最简单的磁透镜是用线圈通电来产生磁场的。当电流通过线圈时，产生了轴上磁场，对电子束而言，这是折射介质。实用的磁透镜是在线圈外面套上铁壳作磁路，并在铁壳中心置极靴，使线圈通电后产生的磁场高度集中而又均匀地分布在极靴中心。

磁透镜的焦距决定于磁场强度，磁场强度决定于通过线圈的电流强度。因此，可以通过调节激励电流来改变磁场强度，从而达到改变放大倍数和进行图像调焦的目的。（图 1-3）

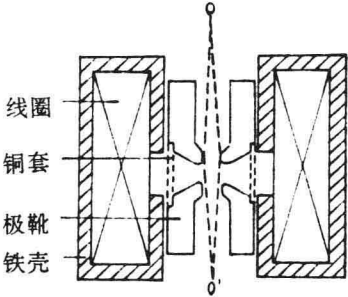


图 1-3 聚光镜示意图

为了缩小照明范围并作适当调节，镜筒一般采用两级聚光镜：第一聚光镜是固定或半固定的强磁透镜，第二聚光镜是激励电流连续可调的弱磁透镜，用来改变照明斑的直径和亮度。此外，在第二聚光镜的中心装有可切换孔径的活动光阑，通常光阑孔直径为 100, 200, 300 μm ，改变孔径可调节照明孔径角和亮度。

(二) 成像系统

1. 样品室 包括机械手、样品台、样品杯和样品移动控制杆等部件。样品台承载样品并能在垂直于光轴的两个相互垂直的平面方向上作横向移动,以便选择视野,其可动间距为 $\pm 1\text{mm}$ 。此外,样品室还有一个过渡小室,更换样品时,经此过渡后就不会破坏整个镜筒的真空。

2. 物镜 是电镜中最关键的部件。物镜的焦距短,放大率达 $100\sim 300$ 倍。这个透镜的任何缺陷都会被成像系统中的其他透镜放大。因此,对物镜极靴的材料纯度、结构形状、加工精度、光洁度和清洁程度的要求极高,才能保证磁场的轴对称和稳定性。尽管如此,物镜上仍需安装结构复杂的消像散装置,以减小物镜磁场的不对称性。

为了减小球面像差和提高像的反差,在物镜后焦面上装有物镜活动光阑。光阑用铂或钼片制成,片上有一排小孔,孔径分别为 $20, 30, 50$ 和 $70\mu\text{m}$,换用不同的孔径可改变物镜成像的孔径角及反差强弱。

3. 中间镜 中间镜是将物镜放大的像进一步放大。和物镜相比较,它是可变倍率的弱透镜,用于控制总放大率,可以很方便地在较大范围内分档或连续地改变放大率。

一些高性能电镜通常还有第二、第三中间镜用以提高总放大率。

4. 投影镜 投影镜的作用是将中间镜放大的像进一步放大并成像于荧光屏上,以供观察分析。

(三) 观察记录系统

观察室有一个大的观察荧光屏和一个小的调焦荧光屏。透过玻璃观察窗可看到荧光屏上的图像,室外还有一架 10 倍光学放大镜,它能帮助在小荧光屏上观察和调整焦点。

记录以照相为主,照相机构在观察室的下方,有手动或自动进片机构和自动曝光装置等。照相时,荧光屏就是一个快门。为了在更换底片时不破坏整个镜筒的真空,通常在照相机构的上部装有空气隔离阀。

(四) 真空系统

电子束只能在高真空条件下产生和运动,一般要求镜筒内残余气体的压强低于 10^{-2}Pa 。真空度不够时,会产生电离放电而不能成像。

真空系统由机械泵、油扩散泵(或涡轮分子泵、离子泵等)、阀门、真空管道和真空测量仪表等组成。

机械泵所能达到的极限真空度较低,一般仅为 1Pa ,抽速 $90\sim 240\text{L/min}$,它的用途是作扩散泵的前置真空以及镜筒、样品过渡室、照相室的预抽真空。

扩散泵必须由机械泵对之连续抽气才能工作,它的负荷(镜筒)也必须经过预抽后方能转接过来。但扩散泵的抽速极高,一般大于 300L/s ,所能达到的极限真空度也很高,通常优于 10^{-3}Pa 。某些高性能电镜常用两极扩散泵串联的方法来进一步提高镜筒的真空度。

(五) 供电系统

如果电子束的加速电压不稳或各透镜的激励电流有波动,电子束的波长和各透镜的焦距就会随之发生变化,荧光屏或底片上的图像都将是不清晰的。因此在电镜中对电源的稳定度要求极高。现代电镜除进一步提高加速电压和透镜电流的稳定性外,主要是操作自动化和自动显示。如真空系统的操作较为复杂,新型电镜都采用全自动真空系统。一些高性能电镜已采用微机处理进行自动控制、辅助操作并自动显示各种数据,甚至能进

行故障自检。

第三节 扫描电镜的基本原理与构造

扫描电子显微镜的特点为电子束在样品表面动态地扫描。当入射电子束在扫描线圈作用下沿标本表面逐点进行扫描时，由于显像管的偏转线圈电流与扫描线圈中的电流同步，因此在显像管荧光屏上任一点的亮度便与标本表面上相应点发出的二次电子数一一对应。也就是说，扫描电镜主要为二次电子成像。

扫描电镜的放大倍数决定于电子束在样品上的扫描面积。例如扫描面积为 $1\text{mm} \times 1\text{mm}$ ，若此范围内的图象全部显示于 $100\text{mm} \times 100\text{mm}$ 的屏幕上，其放大倍率为 100 倍，如扫描面积为 $10\mu\text{m} \times 10\mu\text{m}$ ，若此范围内的图象也全部显示于 $100\text{mm} \times 100\text{mm}$ 的屏幕上，则其放大倍率为 10^4 倍。也就是扫描面积越小，放大倍率越高。

在实际应用中，用热电子枪扫描电镜获得高分辨的高倍图像是困难的。扫描电镜的放大倍数由下式决定： $d \leq r_e/M$ ， d 为热电子枪扫描电子束口径， r_e 是肉眼的分辨力（ 0.2mm 左右）， M 是放大倍数。要提高放大倍率，电子束口径就要缩小。若放大到 3.5×10^4 倍，电子束口径就要缩小到 6nm 以下，这对热电子枪来说是困难的。

扫描电镜的反差与透射电镜不同，它是由于样品表面各部位起伏凸凹和倾斜度不同以及二次电子的发生量不同而引起的。电子束垂直照射于样品表面时，二次电子的发生量最小。而样品倾斜时二次电子的发生量相对增大。但若样品的倾斜方向面对检测器，二次电子被收集得多，若背对检测器方向，二次电子被收集得少。由于样品表面凸凹不同，有些面垂直于电子束，有些面倾斜面对检测器，有些背对检测器，这样由于检测器收集的二次电子量的差异，随着样品表面倾斜度的不同，样品表面结构的信息在显像管上表现出不同的反差。样品发生的二次电子，直接作为信号，其绝对量是不够的，必须经过放大器将图象信号放大，才能获得反差良好的扫描图像。

扫描电镜由三部分组成：电子光学系统、真空系统、供电系统。后两系统与透射电镜相同、电子光学系统由镜体、样品室、检测系统和显示系统组成。（图 1-4）

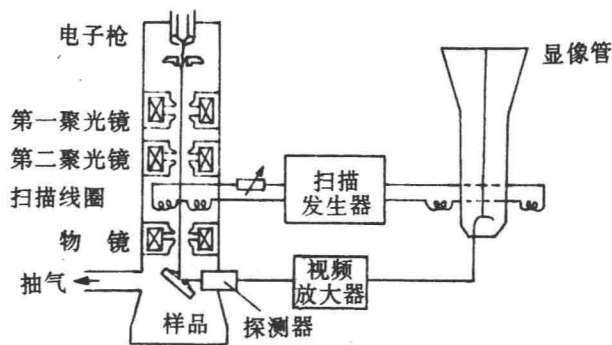


图 1-4 扫描电镜原理示意图