



现代化知识文库

电子显微术

153

知 识 出 版 社



现代化知识文库

倪海曙 主编

电子显微术

管汀鹭 编著

知识出版社

1982.11.上海

装帧设计 张苏予

现代化知识文库
电 子 显 微 术
Dianzi Xianweishu

管汀鹭 编著

知 识 出 版 社 出 版
(上海古北路650号)

新华书店上海发行所发行 上海海峰印刷厂印刷

开本 850×1092 毫米 1/32 印张 5.75 字数 179,000

1982年12月第1版 1982年12月第1次印刷

印数: 1-6,000

书号: 17214·1004 定价: 0.68 元

内 容 提 要

电子显微术在我国生物学、物理学、医学、考古学、地质学以及化工、冶金、电子等工业和其他各方面,得到愈来愈广泛的应用。本书系统地介绍近年来电子显微术的发展、原理和各种新型的电子显微镜,以及样品制备,图像分析处理等新技术。作者以通俗易懂的语言,多举实例,生动地介绍电子显微术与各科学领域的关系,并配有插图 100 多幅。本书可供科技、医务、地质、考古工作者,工程技术人员作为业务上的参考,也是高中以上学生和广大科学爱好者学习现代电子光学知识的一本入门向导书。

总 序

社会主义现代化建设需要知识，需要在不断更新中的现代化知识。

人类的知识是不断发展、不断更新的。现代的社会，文化科学突飞猛进，人类知识的更新速度空前加快；假定19世纪的知识更新周期是80~90年，现在已缩短为15年，而某些领先学科更缩短为5~10年。知识体系不断更新，人的知识结构也必须不断更新，进学校求得适用一辈子的知识的“一次教育”已经成为陈旧的观点。这样，不断地进行更新知识的再学习，也就成为现代人生活和工作的需要。“活到老，学到老”这句格言有了新的含义。现在，好些国家已经在研究和推行“终身教育”，又称为“知识更新教育”，它的主要方法是提供对最新知识的深入浅出的介绍，以便自学。现代化的人才要由实行全面的终身教育来造就。

人类认识日新月异，各门科学的新分支层出不穷，边缘性、交叉性学科随着发展，形成了人类知识结构的综合化和整体化的新趋向。因此，现代化社会不仅需要“专才”，而更需要“通才”，也就是具有新的知识结构的科学人才。现在许多成就卓著的科学家，极少是只限于一门专业的，他们往往在边缘性、交叉性学科领域中以博识多才取胜。当然，一个人不可能通晓一切知识的细节；但是，如果知识深广，视野开

阔，就可以具有融会贯通、触类旁通的创造能力。我国的现代化事业正需要成千上万这样的通才。

《现代化知识文库》就是为了提供知识更新的学习材料而出版的。它将系统地、全面地、通俗地介绍从自然科学到社会科学各个部门的最新成就，特别是边缘性、交叉性学科的新进展以及它的难题和解决的方向。《文库》的有些内容在国内还是第一次作系统介绍，希望它的出版对正在探索科学文化新境界的读者有所帮助。

这套文库将不断补充新的选题，分辑出版，每辑10本。编著者大多是中年科研人员，由老一辈的著名科学家担任编审。从内容到文体都将按照客观情况的发展不断更新。

知识就是力量，我们的工作希望得到大家的支持和帮助。

《现代化知识文库》编辑部

1982年5月

目 录

第一章 电子显微镜的诞生 1

1. 光学显微镜的极限(2)
2. 两个发现(4)
3. Ruska (鲁斯卡)的早期工作(5)
4. 二级电子成像(6)
5. Mar-
ton(马顿)等人的工作(8)
6. 第一台实用电子显微镜(9)
7. 电子显微镜科学的出现(10)

第二章 电子显微镜的原理和构造13

1. 电子流的性质(13)
2. 电子透镜(15)
3. 电子束
的成像原理(16)
4. 电子显微镜与光学显微镜的比较(17)
5. 电子显微镜的三大部件(19)
6. 电子显微镜的几种工
作方式 (21)
7. 照明系统的改进(23)
8. 成像和观
察系统的改进(24)
9. 操作性能方面的改进(25)
10.
电子显微镜的多用途性(26)

第三章 几种不同类型的电子显微镜28

1. 扫描电子显微镜的原理和构造(28)
2. 扫描电子显微
镜的特点和应用(30)
3. 高压电子显微镜的发展和特点
(33)
4. 环境样品室和它的应用(34)
5. 分析电子显
微镜的原理和方法(35)
6. 分析电子显微镜的特点和应
用(38)
7. 扫描透射电子显微镜的原理和种类(39)
8. 扫描透射电子显微镜的优点及应用(41)
9. 光学电子
显微镜 (43)
10. 其它一些专用的电子显微镜(44)

第四章 样品制备技术47

1. 什么是样品制备技术(47)
2. 支持膜的制作(48)
3. 金属投影技术(50)
4. 复型技术(51)
5. 超薄切
片技术:固定、包埋(53)
6. 超薄切片技术:切片、染色(55)
7. 负染技术(57)
8. 冷冻切片技术(58)
9. 冷冻断

- 裂-冷冻刻蚀技术(63) 10. 放射自显影技术(66) 11.
细胞化学技术(68)

第五章 电子显微图像分析和处理技术71

1. 电子显微照片的缺陷(71) 2. 旋转积分与线性积分
(73) 3. 光学衍射技术(76) 4. 光学滤波技术(79)
5. 电子显微图像的计算机处理过程(81) 6. 二维图像的
计算机处理(84) 7. 计算机进行图像的三维重构(85)
8. 图像识别技术(87) 9. 计算机的图像处理语言(89)
10. 全息电子显微术(91)

第六章 细胞生物学的电子显微术93

1. 细胞生物学(93) 2. 电子显微镜下的细胞(94) 3.
细胞膜(96) 4. 线粒体和高尔基复合体(99) 5. 内质
网、中心粒和溶酶体(100) 6. 微粒体、微管微丝及其它
(102) 7. 细胞核(104) 8. 有收缩作用的细胞特征
(107) 9. 有通讯联络作用的细胞特征(111) 10. 分
泌细胞的结构特征(113) 11. 进行光合作用的细胞结构
特征(114)

第七章 分子生物学的电子显微术 117

1. 蛋白质的成分与结构(117) 2. 蛋白质的电子显微术
(119) 3. 酶蛋白质分子(121) 4. 肌肉蛋白质分子
(123) 5. 紫膜蛋白质分子(126) 6. 核酸分子的结构
(127) 7. 核酸的电子显微术(131) 8. “看见”基因
(134) 9. 病毒的种类与结构(137) 10. 病毒的电子
显微术(139) 11. 噬菌体(141) 12. 植物病毒和动物
病毒(143)

第八章 电子显微镜在材料学、地质学以及考古学中 的应用 146

1. 材料微观结构的研究(146) 2. 材料的成分和结构分
析(148) 3. 在半导体中的应用(150) 4. 在化学工业
中的应用(153) 5. 在地质矿物学中的应用(154) 6.

在古生物学方面的应用(156) 7. 在考古学方面的应用
(157)

主要参考书	161
外国人名索引	164
专门名词索引	165

第一章 电子显微镜的诞生

人类认识自然的过程总是由浅入深,由一个方面到多个方面;人类观察物体的历史也不例外。图 1-1 所表示的是从(一)肉眼到(二)光学显微镜再到(三)电子显微镜这三个逐步深入的观察水平;也就是说,从宏观水平到显微水平再到亚显微水平。

从人眼的观察到电子显微镜的诞生并不是一帆风顺的,中间经过了漫长而又曲折的道路。

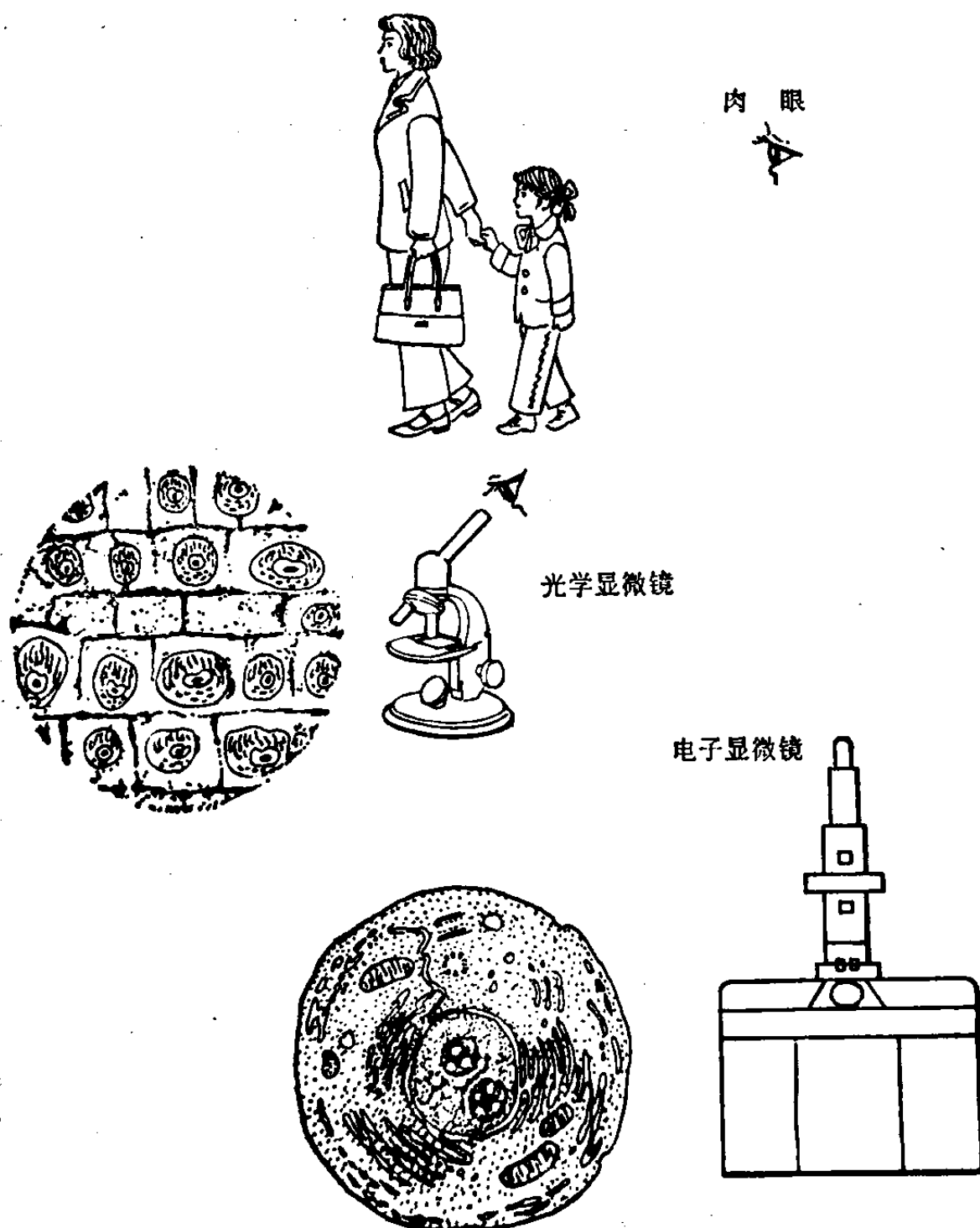


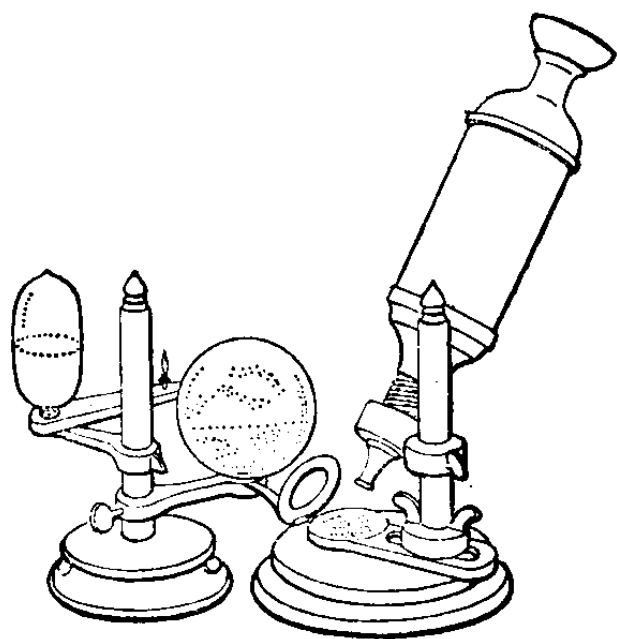
图 1-1 观察水平的逐步深入:从肉眼到光学显微镜再到电子显微镜

1. 光学显微镜的极限

人类最初只是用肉眼直接观察周围世界。例如,从图 1-1 里面,我们可以看到一个母亲正在一手牵着她的孩子,一手拎着一个皮包向前走着,身上穿着一件大衣等等。这些都可以用肉眼区别出来。然而,母亲手中的皮包以及身上的大衣等等,又是由什么成分组成的呢?这些成分之间有什么区别?母亲自身的手和脚又是怎样的构造?这一切,人眼就显得无能为力了。可见,人眼观察物体的能力是有限的。一般的情况下,在 25cm 的明视距离内,人眼只能分辨相距 $0.1\sim 0.2\text{mm}$ 的两个物体。也就是说,当两个物体相距不到 0.1mm 的时候,人眼就会把它们看成是一个物体了。这个极限便称为人眼的分辨本领。由此可知,人眼对于小到一定程度的物体,象普通的细菌,或者构成机体的小单位——细胞,都是“视而不见”。

后来,人们学会了使用放大镜,可以把物体放大来进行观察。到 17 世纪中期,发明了光学显微镜,人类使用它观察肉眼所看不见的世界,从此便进入了光学显微镜的时代。

在光学显微镜的帮助下,人们发现了各种机体原来都是由许多单个的细胞构成的(见图 1-1),这样便诞生了组织细胞学。显然,光学显微镜的发明是生物学史上一个重要的事件,它大大推进了生物学的发展,由宏观进入微观。图 1-2 就是最早观察到细胞的简单光学显微镜的外形。



光学显微镜的设计原理是:两块以上的透镜组合在一起就可以提高物体像的放大倍数。透镜通常用玻璃磨成。在光学显微镜中,用第一块透镜(常称为物镜)产生物体的放大像,再用第二块透镜(称为目镜)来观察这个放大的像。

但是,光学显微镜能起的作用也是有限的,它能观察的物体也是有一定范围的,因为光学显微镜有许多不足之处。

图 1-2 最早观察到细胞的光学显微镜

首先,光学显微镜的放大

倍数并不能通过增加透镜的数目来无止境的提高，因为光学透镜本身存在着难以克服的缺陷。譬如说有一个小点，在经过光学透镜成像以后，得到的并不是一个真正的、放大的点，而是扩展成为一圈圈的光环，或者表现为一个光斑，也就是物体的像因为发生了变形和弯曲而被模糊了。光学透镜的这类缺陷称为像差。因此，如果用许多块透镜把这种变形的像再不断放大，结果，每放大一次就增加一次变形，那么，最后得到的显然是更加模糊的像。所以这种放大实际上是无用的放大。

另一方面，由于存在这种使像模糊的衍射圆盘效应，所以当两个点相距很近的时候，它们各自的圆盘便会逐渐接近甚至重叠。图 1-3 表示的就是两点衍射圆盘相互接近的例子。当两点的衍射圆盘接近得变成一个盘的时候，两个物体也就成了一个物体而分辨不出来。如果用 δ 表示两个圆盘刚要重叠的距离（通常把这个距离称为分辨本领）那么可以用公式表示为：

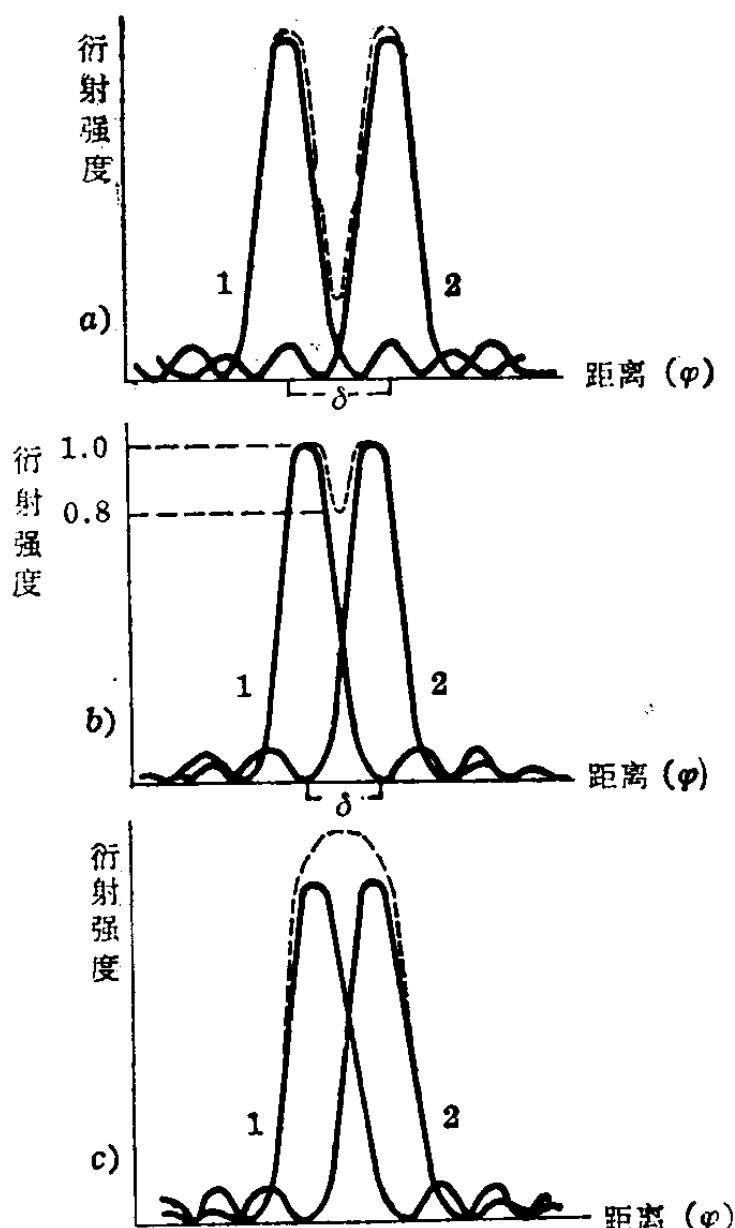


图 1-3 分辨两个相互接近的物体的条件

$$\delta = \frac{0.61\lambda}{n \sin \theta} \quad (1)$$

这里， λ 是使用光线的波长；

n 是玻璃透镜(或其它介质)的折射率；

θ 是光线与透镜轴的夹角。

在光学显微镜的情况下， $n \sin \theta$ 最大可以是 1.5，把它代入(1)式，得到：

$$\delta \doteq \frac{\lambda}{2} \quad (2)$$

如果用语言来叙述(2)式,就是:光学显微镜的极限分辨本领大约是使用光线的波长的一半,约为 $0.2\mu\text{m}$ (微米)($1\mu\text{m}=10^{-4}\text{cm}$),可见光波长为 $3,900\sim 7,600\text{Å}$ (埃)($1\text{Å}=10^{-8}\text{cm}$)。实际上,这一点早在一百年前就由德国著名的光学家 Abbe(阿贝)从理论上加以证明了。后来的实验也证实了 Abbe 这个论断是完全正确的:因为在光学显微镜出现后的将近三个世纪内,不管光学透镜加工得如何精巧完善,光学显微镜的有效放大率始终不能突破一个恒定的极限——2,000 倍。

2. 两个发现

人们根据 Abbe 的理论,自然会推想:既然光线的波长是影响分辨本领的决定性因子,那么如果使用短波长的光线来作光源,是否能把显微镜的分辨本领提高到一个新的水平呢?

当时已经知道自然界存在一些波长比可见光波长还要短的电磁波,如紫外线($3900\text{—}130\text{Å}$),X射线($100\text{—}0.5\text{Å}$), γ 射线($1\text{—}0.05\text{Å}$),因而便想到利用它们去构造各种显微镜。经过许多年的努力,在 20 世纪初出现了紫外光显微镜,后来又出现了 X 射线显微镜,它们的分辨本领都比光学显微镜有不同程度的提高,而且具有一些特殊的优点,在生物学的研究中起了积极的作用。然而遗憾的是,当时并没有人马上就联想到要制造电子显微镜。

1924 年,法国科学家 De Broglie(德·布罗利)证明了任何一种粒子,当它们在快速运动的时候,必定都伴有电磁辐射,辐射波的波长与粒子的质量及粒子运动的速度成反比。他并且计算了几种高速运动粒子的辐射波波长,其中算出电子的波长约为 0.05Å ,这比前面介绍的 X 射线的波长($100\text{—}0.5\text{Å}$)还要短许多倍,比可见光的绿光波长短十万倍。由此可以想到,如果能够利用高速运动的电子来作光源而构造出一台电子显微镜的话,那该是多么振奋人心啊!

电子显微镜不仅在分辨能力上要比光学显微镜高出许多倍,而且放大倍数也是光学显微镜无法比喻的。可惜 De Broglie 的证明并没有得到当时科学技术界的重视。

那个时候,许多科学工作者根据实际的需要,正在从事高压阴极射线示波器的研究。尽管当时已经知道用一个长的螺线管能够把电子束会聚成一个很小的细点,然而大家并不了解这个现象的意义,而只是看

到这种现象对于实际的运用是有妨碍的，特别是利用高压阴极射线示波器来检测辉光放电，或者检测在高压传输线中的电子波动的时候更加不利。1924年，Gabor (加博尔) 在柏林进行这项研究的过程中，无意制造出了一种短焦距的、有会聚能力的线圈，为了便于测量，他在线圈外面加上了一个铁的屏蔽罩来减少杂散磁场的干扰。然而，Gabor 不能解释为什么这种线圈具有会聚作用，而且也不知道这样的线圈有什么用。

两年之后，1926年，德国又一个科学家 Busch (布施) 发现：Gabor 制造的线圈对电子能起透镜的作用，换句话说，他发现高速运动的电子在电场或磁场的作用下会发生折射，并且能被聚焦，就如同普通的可见光通过光学透镜被折射聚焦一样。然而这个重要的发现同样没有及时应用到制造电子显微镜方面来，而只是更增添了大家对高压阴极射线示波器研究的兴趣。实际上，就是 Busch 本人也没有把自己的这个发现与 De Broglie 的证明联系起来，否则他一定会首先明确地提出设计和建造一台电子显微镜。

3. Ruska(鲁斯卡)的早期工作

Busch 的发现引起了许多人的兴趣，为了更彻底的研究高压阴极射线示波器的性能，柏林技术大学于 1928 年成立了一个专门的研究小组，由一些大学生与研究生组成，为首的是 Knoll (克诺尔)。研究小组把有关电子光学部分的工作交给年轻的 Ruska 来完成。

Ruska 当时刚从大学毕业不久，才 24 岁。他的第一件工作就是系统地研究单个磁场(由于磁场能够聚焦电子束，后来便把磁场称为磁透镜)的光学行为。

图 1-4 所表示的就是 Ruska 当年进行研究的电子光学器具。仪器的上部是冷阴极放电光源，工作电压为 70 kV(千伏)。从光源发射出来的电子束照在下面的物体，例如光阑小孔或者金属网丝上，然后电子束被单个透镜聚焦到荧光屏上。Ruska 还在透镜与荧光屏之间加了一个滑动活塞，使得透镜与样品以及荧光屏之间的距离可以任意改变，因此可以测量透镜的聚焦特性与放大能力。

经过仔细地测量磁透镜的聚焦特性之后，说明 Busch 的计算本质上是正确无误的。例如 Ruska 发现：在经过电子光学放大 12 倍后得到的钨格的像与用玻璃透镜得到的同样放大倍数的像没有什么区别。这个结果使年轻的 Ruska 感到十分兴奋，他决心把工作深入下去，并且作

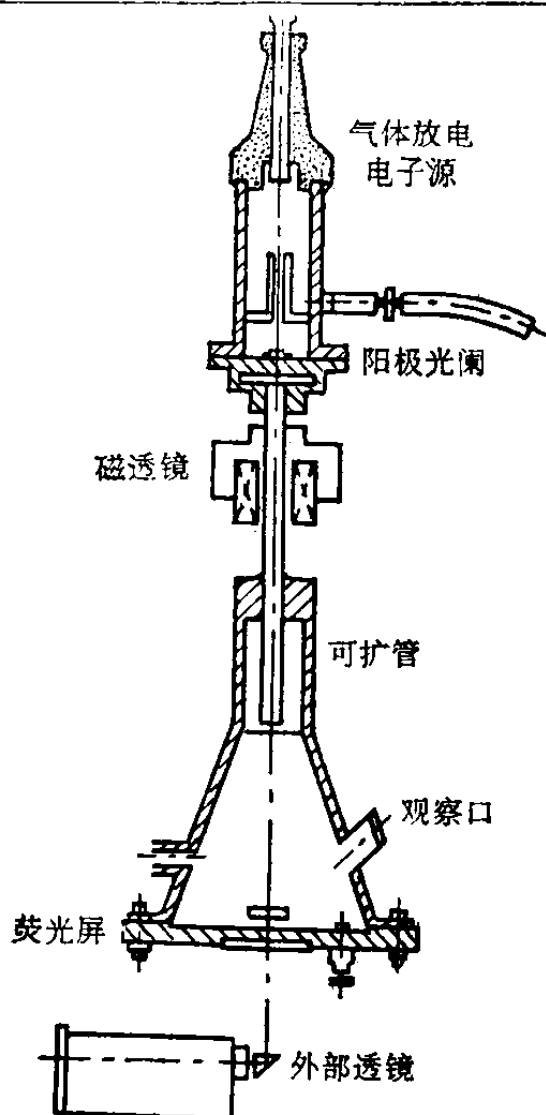


图 1-4 Ruska 1929 年研究单个磁透镜性能的电子光学器具

为计划报告提给技术大学的学部，从而奠定了把磁透镜进一步发展为电子显微镜的基础。

为了集中精力研究磁透镜的电子光学特性，Ruska 与 Knoll 经过再三商议，于 1930 年决定不再研究静电透镜的特性。

就在 Ruska 和 Knoll 放弃静电透镜研究的同时，1930 年 11 月在柏林的另一个 AEG 实验室 Brüche(布吕歇)开始系统地研究静电透镜的电子光学特性，为后来由 Mahl(马尔)制成一台静电式电子显微镜提供理论基础。

尽管这两个小组在当时都没有清楚地预见到未来的前景，他们都只是直觉地感到研究电子光学的重要性，所以在这两个小组之间很快就展开了互不相让的竞争。

4. 二级电子成像

Ruska 紧接着的下一步工作是：研究由一个磁透镜形成的电子像，有没有可能被第二个磁透镜再进一步的放大。这项工作是 Busch 当时没有注意到的。

Ruska 在 1931 年 4 月 7 日(星期二)利用由两个磁透镜组成的电子光学光具座，成功地得到了一个简单的物体——铂金网格的二级放大像，放大倍数为 17 倍。这一步的成功说明了磁透镜确实和光学透镜相似，不仅对光束有折射聚焦作用，而且它们经过组合有放大作用。这也就是说，利用多个磁透镜可以得到逐级放大的电子像，因而实际上证明了制成电子显微镜的现实性与可能性。从这个时候起，Ruska 便献身于电子显微镜的研制工作。

图 1-5 表示的是 Ruska 和 Knoll 在 1933 年设计成功的电子光学装置，工作电压是 50~75 kV。虽然利用这台仪器得到了放大的电子光学像，但是它缺少放样品的装置，因而算不上是一台真正的电子显微

镜；但是它在电子显微镜的诞生史上是一个重要的里程碑。

Ruska 的成功仅仅是初步的，还存在很多困难。例如，一个急待解

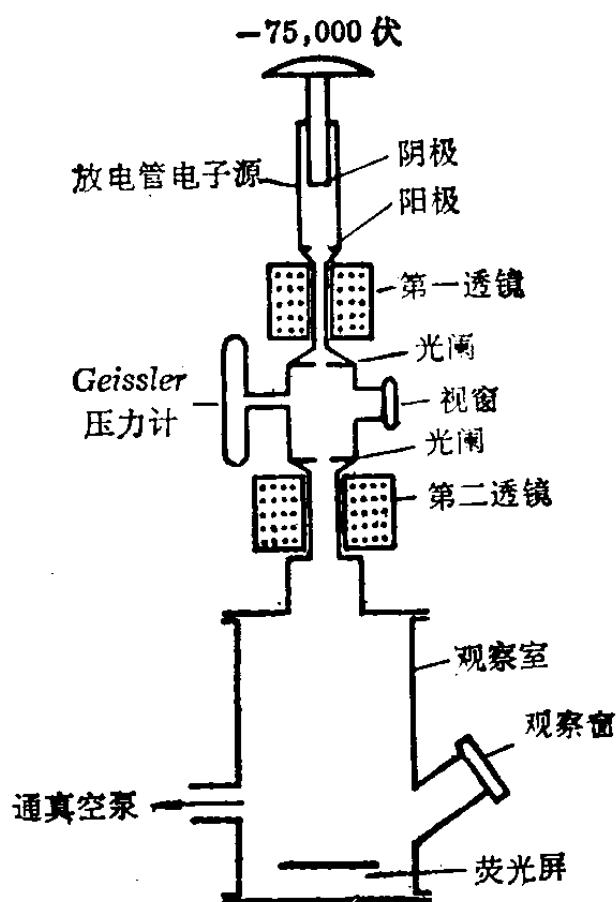


图 1-5 1933 年构成的电子显微镜前身的简图

决的问题就是样品损伤。在加速电压很高的情况下，样品（尤其是生物样品）一放入镜体之内，就会受到高强度的电子束照射，因而造成严重的辐射损伤，这就使得图像很难被真实地记录下来。

在当时的情况下，要克服这个困难，就必须经过大量的实验来改进并且完善仪器本身的性能。而能这样做是需要雄厚的资助的。然而，支持开创性的工作多少总带有一点风险，特别是辐射损伤问题在那个时候看来几乎是没有什么希望解决的，因此谁能有把握地说 Ruska 他们就一定会成功呢？

在缺少资金的情况下，Knoll 首先离开了这个领域，转去从事研究电视；Ruska 仍然坚持着，他把所有的时间和精力都贡献给电子显微镜的研制工作，到 1933 年底，他终于建成了一台真正的电子显微镜。这台电子显微镜的分辨本领与最好的光学显微镜的分辨本领相当，而最高的放大倍数（约 $12,000\times$ ）却是光学显微镜（ $2,000\times$ ）的 6 倍。同时，Ruska 为了克服样品在电子束照射下会迅速受到严重辐射损伤的问题，他在镜体内装进了一个旋转机械台，一次可以装入好几个样品。这样，当一个样品被电子束毁坏的时候，另一个样品就能够很快地取代它，而不必改变仪器的工作性能。

尽管仪器有所改进，样品辐射损伤的问题依然存在。甚至许多科学家都认为电子显微镜仅仅是在理论上具有优越性，而实际上没有什么应用价值。Ruska 费尽心血，却得不到各方面的支持，不得已也忍痛离开了这个领域，转而和他的老同事 Knoll 一起研制电视去了。

5. Marton(马顿)等人的工作

就在 Knoll 和 Ruska 先后都转到电视研究,而使电子显微镜研制工作一时濒于中断的时候, Marton 在布鲁塞尔开展了积极的工作,挽救了这种令人丧气的局面。

1933 年底以前, Marton 构造成功了一台磁式电子显微镜,他吸取了 Ruska 和 Knoll 的经验,把镜体由直立式改为水平式,并且采用热灯丝作电子光源。Marton 还对生物样品中电子可能发生的多次作用进行了计算,结果他认为:如果在电子显微镜中具有适当的工作条件,是完全有可能减少辐射损伤,同时能较好地观察生物样品。接着他真实地观察了一些生物样品,并且在这台仪器上首次拍摄到某种植物根的厚切片的电子图像。这在当时来说,真是一个很大的成就。

Marton 从实验中发现:大多数的样品在电子束的作用下确实都被烧坏了,然而在 $1\mu\text{m}$ 的水平上还能保存下来相当多的细微结构,以供研究。这个发现使得 Marton 信心倍增,他在第一台仪器的基础上,又成功地制造了第二台电子显微镜。改进后的电子显微镜工作电压为 80kV ,最大的特点是他第一次加用了一种样品气锁装置,可以在不破坏真空的状态下在镜体内部拍照。

Marton 用这台新仪器观察了各种各样的生物材料,得到的分辨率都比光学显微镜的要好。Marton 的实验结果证明了:辐射损伤的确并不是如人们想像的那么严重和不可克服,电子显微镜是可能具有实用价值的。

另一方面,就是在柏林,也有一些人没有泄气,仍然在积极探索着电子显微镜的研制工作。例如 Driest (德里斯特)和 Müller (米勒)在 1935 年对 Ruska 1933 年的仪器进行了某些改进之后,发现也能用来观察生物样品,并且得到了没有经过染色处理的苍蝇翅膀和腿的电子显微照片,分辨率从原来的 500Å 提高到 400Å ,大大超过了光学显微镜的分辨极限。这些工作同样有力地说明了电子显微镜的性能是可以改进的,而且它在实用上完全是可能的。

实际上,Knoll 在这段时间里也并没有停止电子显微镜的研制工作,他从另外一个角度对电子显微镜的研制作出了贡献。Knoll 在研究电视的基础上,于 1935 年设计出了一台仪器,这台仪器和他早先与 Ruska 设计的仪器不同,是利用样品表面在受到电子轰击的时候,所发射出来的电子(称为二次电子)产生的样品表面扫描像。图像用标准电