

[英] G. A. 米克 著

生物学工作者 实用电子显微术

科学出版社

内 容 简 介

本书是为生物学工作者编写的一本关于电子显微术的书。书中简单地说明了光学的基本原理和电子显微镜成像的原理，扼要地叙述了电子显微镜的构造、发展、分类及现有的一些型号的电子显微镜的特点。

书中还较详细地介绍了电子显微镜的使用、维护及未来发展趋势；同时还介绍了生物样品的制备方法和鉴别电子显微照片的标准。

本书对于电子显微镜工作者，特别是生物学工作者以及高等学校生物系师生均有一定的参考价值。

Geoffrey A. Meek

PRACTICAL ELECTRON MICROSCOPY

FOR BIOLOGISTS

Wiley-interscience, 1972

生物学工作者实用电子显微术

〔英〕G. A. 米克 著

中国科学院生物物理研究所电镜组部分同志译

姚 骏 恩 校

*

科学出版社出版

北京朝阳门内大街137号

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

*

1976年11月第一版 开本：787×1092 1/32

1976年11月第一次印刷 印张：14 7/8

印数：0001—5,350 字数：336,000

统一书号：13031·513

本社书号：755·13—10

定 价 1.50 元

译 者 的 话

伟大领袖毛主席的教导“任何知识的来源,在于人的肉体感官对客观外界的感觉,……”“无数客观外界的现象通过人的眼、耳、鼻、舌、身这五个官能反映到自己的头脑中来,……”正确阐明了在人类认识世界的过程中,包括视觉在内的感觉的作用。然而人的视力是有限的,而显微镜则延伸了人的观察力,人们借助显微镜,可以直观地看到人的肉眼看不见的超微结构世界。十六世纪光学显微镜的出现,使人们能看到细胞和细菌,本世纪人们用电子显微镜能看到细胞内的结构。随着电子显微镜的发展和制样技术的不断改进,已能观察大分子并显示原子了。电子显微镜已成为生物学和其他许多学科研究中不可缺少的工具之一。可以肯定,电子显微镜技术不断发展,定会为探索微观世界的奥秘作出新的贡献。

在无产阶级文化大革命推动下,在党的基本路线的光辉照耀下,我国电子显微镜的应用日益广泛深入,为了适应形势的发展和需要,我们翻译了《生物学工作者实用电子显微术》一书。

书中对电子显微镜(主要是透射式电镜)的基本原理、使用、维护和样品制备都作了比较详细的阐述,我们认为本书不论是对初学者或是对具有一定经验的电镜工作者都有一定参考价值,并可供从事非生物学科研究的电镜工作者参考。

在翻译过程中，我们除对某些不适当或不适于我国情况的地方作了删节外，基本按原意译出，希望读者阅读本书时，遵照毛主席的教导，**批判地吸收**。限于我们的水平，定会有不少不妥之处，欢迎大家批评指正。

译 者

1975.3.

目 录

第一部分 电子显微镜

第一章 光学的基本原理	1
1.1. 引言	1
1.2. 放大倍数、分辨率和反差	2
1.3. 显微术中的长度单位	4
1.4. 几何光学	5
1.5. 玻璃透镜和电子透镜	6
1.6. 射线图	9
1.7. 实像	9
1.8. 虚像	11
1.9. 孔径角	12
1.10. 显微镜的功能	12
1.11. 简单显微镜	13
1.12. 复式显微镜	14
1.13. 物理光学	18
1.14. 干涉	19
1.15. 衍射	20
1.16. 费涅尔条纹	25
1.17. 电子费涅尔条纹	27
1.18. Airy 盘	32
1.19. 分辨本领	35
第二章 电子显微镜的发展和分类	37
2.1. 电磁辐射	37

2.2. X射线显微镜.....	39
2.3. 电子波.....	41
2.4. 电子显微镜的起因.....	42
2.5. 磁透镜的发展.....	43
2.6. 电子显微镜的发展.....	45
2.7. 电子显微镜的分类.....	51
第三章 磁电子透镜的一些特性	62
3.1. 引言.....	62
3.2. 磁透镜.....	62
3.3. 磁滞现象.....	64
3.4. 极靴透镜.....	65
3.5. 透镜像差.....	66
3.6. 球差.....	67
3.7. 畸变.....	69
3.8. 像旋转.....	70
3.9. 像散.....	71
3.10. 色差	71
3.11. 倍率色差	72
3.12. 场深和焦深	73
第四章 反差和成像	77
4.1. 引言.....	77
4.2. 样品.....	78
4.3. 成像过程.....	78
4.4. 散射.....	79
4.5. 质量厚度.....	80
4.6. 吸收.....	80
4.7. 成像.....	81
4.8. 物镜光阑.....	81
4.9. 离焦反差.....	82
4.10. 位相反差	83

4.11. 电子噪声	84
4.12. 生物样品中的反差	84
4.13. 样品厚度和加速电压	84
第五章 现代透射式电子显微镜	86
5.1. 引言	86
5.2. 透镜结构	86
5.3. 透镜的实际光阑	87
5.4. 双透镜	88
5.5. 镜筒	89
5.6. 照明系统	93
5.7. 物镜	103
5.8. 成像系统	107
5.9. 合轴和消像散	112
第六章 真空系统	117
6.1. 引言	117
6.2. 单位和术语	117
6.3. 真空要求	118
6.4. 高真空的获得	119
6.5. 扩散泵	119
6.6. 机械泵	121
6.7. 可凝蒸气	123
6.8. 低真空贮气罐	124
6.9. 干燥器	124
6.10. 三级系统	125
6.11. 抽气速度	126
6.12. 真空指示器	127
6.13. 皮喇尼真空规	127
6.14. 潘宁冷规或菲利浦真空计	128
6.15. 抽气系统的设计	129
6.16. 抽气系统的操作	131

6.17. 阀门	133
6.18. 真空自动装置	133
6.19. 安全系统和警报器	134
6.20. 污染	136
6.21. 防污染器	139
6.22. 低温泵	140
6.23. 真空密封	141
第七章 电子学系统	143
7.1. 引言.....	143
7.2. 稳定度的要求.....	143
7.3. 对电源的要求.....	145
7.4. 稳定器.....	149
7.5. 电子管.....	152
7.6. 电子管稳定器.....	155
7.7. 稳定系数.....	156
7.8. 实际的稳定器线路.....	156
7.9. 高压稳压器.....	158
7.10. 灯丝电压电源	160
7.11. 电子枪栅极电压	160
第八章 电子显微镜的选择	164
8.1. 引言.....	164
8.2. 简易型仪器.....	165
8.3. 中等性能仪器.....	166
8.4. 高性能仪器.....	167
8.5. 旧仪器.....	173
8.6. 商品电子显微镜的技术指标.....	173
第九章 安装	214
9.1. 概述.....	214
9.2. 震动.....	215
9.3. 外磁场.....	215

9.4. 水源·····	216
9.5. 电源·····	219
9.6. 辐射危害·····	219
9.7. 显微镜房间·····	220

第二部分 电子显微镜的使用

第十章 基本操作步骤·····	222
10.1. 引言·····	222
10.2. 显微镜控制器·····	222
10.3. 控制器的分组·····	226
10.4. 启动·····	227
10.5. 电子束的获得和对中·····	229
10.6. 电子枪控制器·····	230
10.7. 对中和使电子枪饱和·····	232
10.8. 调节像的亮度·····	234
10.9. 调节照明系统·····	235
10.10. 装入样品和获得像·····	237
10.11. 低倍下的样品普查·····	238
10.12. 插入并对中物镜光阑·····	239
10.13. 改变放大倍数·····	240
10.14. 电子光学放大倍数的选择·····	240
10.15. 低倍下的聚焦·····	241
10.16. 聚焦方法·····	243
10.17. 低倍像的缺陷·····	244
10.18. 摄取显微照片·····	246
10.19. 曝光过程·····	246
10.20. 停机·····	247
10.21. 镜筒的合轴·····	248
10.22. 照明系统的合轴(单聚光镜操作)·····	254
10.23. 照明系统的合轴(双聚光镜操作)·····	255

10.24. 成像系统的合轴.....	258
10.25. 快速合轴检查.....	261
10.26. 要求的精确度.....	261
10.27. 其他操作方法.....	262
第十一章 高分辨率操作	273
11.1. 引言	273
11.2. 实际的高分辨率	275
11.3. 电子学稳定度的检验	279
11.4. 像散	281
11.5. 消像散器	282
11.6. 物镜消像散	283
11.7. 聚光镜的消像散	289
11.8. 像散的原因	292
11.9. 高分辨率的聚焦	292
11.10. 最大反差聚焦.....	294
11.11. 费涅尔条纹聚焦.....	298
11.12. 高分辨率操作.....	299
第十二章 性能的测量	300
12.1. 引言	300
12.2. 载网	301
12.3. 带膜的载网	304
12.4. 检验物体	304
12.5. 分辨本领的测量	311
12.6. 放大倍数的校准	316
12.7. 校正放大倍数的误差	319
12.8. 畸变的测量	320
12.9. 污染速度的测量	220
第十三章 照相技术	324
13.1. 引言	324
13.2. 干板乳剂	324

13.3. 基底	326
13.4. 曝光时间	327
13.5. 曝光量的测量	328
13.6. 显影	330
13.7. 定影	332
13.8. 放大机	333
13.9. 放大倍数	335
13.10. 印相	335
13.11. 自动冲洗器	338
13.12. 暗室	339
13.13. 理想的负片	339
第十四章 维护和故障检查	343
14.1. 引言	343
14.2. 坚持记录	345
14.3. 灯丝寿命	345
14.4. 更换灯丝	346
14.5. 灯丝的“预热”	348
14.6. 点状灯丝	349
14.7. 镜筒的清洗	350
14.8. 绝缘子	351
14.9. 透镜光阑	352
14.10. 透镜极靴	353
14.11. 观察屏	353
14.12. 照相装置	354
14.13. 真空系统	355
14.14. 漏气	355
14.15. 泵的清洗	356
14.16. 水冷回路	358
14.17. 电子学系统	359
14.18. 故障的检查	360

14.19. 故障的分类	360
14.20. 备品	363
第十五章 生物电子显微术的未来趋势	365
15.1. 引言	365
15.2. 超高分辨本领	365
15.3. 超高压	369
15.4. 超高真空	372
15.5. 压力样品室	374
15.6. 样品倾斜台	375
15.7. X射线微区分析电子显微镜	377
15.8. 像增强器和电视显示系统	381
15.9. 光学转换	383

第三部分 样品制备

第十六章 电子显微镜组织学	386
16.1. 引言	386
16.2. 电子组织学	387
16.3. 固定	388
16.4. 固定液	391
16.5. 缓冲液和附加剂	392
16.6. 固定技术	394
16.7. 脱水	396
16.8. 块染	397
16.9. 渗透	398
16.10. 包埋介质	398
16.11. 环氧树脂	399
16.12. 其它的包埋介质	401
16.13. 块的硬度	402
16.14. 包埋过程	402
16.15. 环氧树脂的致皮肤因素	404

16.16. 超薄切片术·····	405
16.17. 修块·····	405
16.18. 修块机·····	406
16.19. 各种切片机·····	407
16.20. 代表性的商品切片机·····	410
16.21. 切片厚度·····	415
16.22. 切片厚度的测量·····	416
16.23. 切片机刀·····	418
16.24. 玻璃刀的估价·····	424
16.25. 制刀机·····	424
16.26. 刀槽·····	425
16.27. 钻石刀·····	426
16.28. 切片术·····	427
16.29. 安放·····	435
16.30. 展平切片·····	435
16.31. 切片染色·····	436
16.32. 切片中的缺陷·····	438
16.33. “保存好”的标准·····	441
第十七章 颗粒状材料 ·····	444
17.1. 引言 ·····	444
17.2. 样品支持膜 ·····	448
17.3. 真空蒸发 ·····	452
17.4. 金属蒸发 ·····	454
17.5. 碳蒸发 ·····	457
17.6. 颗粒状样品的制备 ·····	457
17.7. 表面复型 ·····	459
17.8. 冰冻刻蚀术 ·····	459
补遗: 透射式扫描电镜 ·····	461

第一部分 电子显微镜

第一章 光学的基本原理

1.1. 引言

对人们来说,非常小的物体总具有很大的魅力,特别是那些可以看得见的小东西.这就立刻引起了一些问题.能看见的最小的东西究竟是多小?若能看见它,究竟能看清些什么?自从人类发现了如何帮助眼睛看到越来越小的东西以来,这些问题就开始使显微镜工作者感到兴奋.观察很小物体的技术和科学是显微术的定义.设计更好的仪器来观察更小的东西是显微镜工作者所首先关心的问题.为了这个目的人类发明了简单的光学显微镜,而后发明了复式显微镜.后一种显微镜可能已经改进到这样完善的程度,以致很少其它科学仪器能与它媲美.那么,为什么我们还需要非常复杂、昂贵和不方便的仪器——电子显微镜呢?

电子显微镜的一个基本优点是不论如何完善的光学显微镜都无法比拟的,它可以得到比光学显微镜所能分辨的还要小 1000 倍的物体的清晰的像,这就是电子显微镜与光学显微镜相比唯一的优点.而在差不多其它的一切方面——例如,简单、价格、试样制备方便程度、观察活细胞的能力、维护,光学显微镜都比电子显微镜要优越得多.可是这个巨大的优点,就是能分辨小到有机大分子那样小的物体,为生物学工作者开拓了一个新世界.虽然它有许多缺点,但电子显微镜却是这个“超微结构”世界的唯一钥匙.

1.2. 放大倍数、分辨率和反差

每个人都知道要更多地看出物体细微结构的最简单方法就是将它“放大”，然后用眼观察放大的像，因而眼睛能觉察出更多的细节。这样我们说，我们能“分辨”出较多的物体细节，和说放大像使我们改进了肉眼的“分辨率”。“分辨本领”或“分辨率”，即是能区别细节的本领，显然与放大倍数有关。放大倍数又是物体离开眼睛距离的函数。物体越远，就显得越小。这影响分辨本领；我们不能用肉眼分辨出一里远的网球，可是如果它与其背景对比很清晰，那么我们就可以在离开200码的地方分辨它。这就引入了另一个在显微术中很重要的概念，即“反差”的概念。若背景是黑色的，在100码的距离晴天时可以很容易看见白色的网球，我们说它具有高“反差”，能从其背景中清楚地显示出来。反之，在阴天，在100码处将白色网球放在白幕前就不可见。这并不是由于眼睛不能分辨它，而是由于眼睛不能把它从其背景中区别出来而已。显然，如果不能察觉要分辨的物体，那么世界上最好的分辨本领也是无济于事的。

当物体逐渐靠近眼睛时，其表面上能分辨的细节也逐渐增多。理由是在人眼视网膜上的物像逐渐变大，我们就获得了放大的像，后者使眼睛有较高的分辨率。因此，只要把物体移近眼睛就可得到放大。将物体移近眼睛的程度是否有极限呢？根据经验，每个人都知道它是有限度的，约10厘米。物体这样近对眼睛的肌肉来说是很费力的，所以眼睛的正常最近工作距离，称为“近点”，一般公认为25厘米，在这距离上我们可以用简单的方法测定眼睛的分辨本领或“视力”。在最好的条件下，在25厘米时眼睛可以分辨出约0.075毫米的距离，这距离约相当于一弧分，这个角度也相当于位于一哩远处的1.5

呎距离,或者 100 码处的略大于 1 吋的距离。在近点时,如果刻线间距为 0.075 毫米,在理想情况下,眼睛能分开细刻度的线条。由于视网膜的颗粒结构,眼睛不能分辨更小的细节,视网膜是由具有一定宽度的细胞所构成。因为这个分辨本领需使眼睛的功能达到了极限,而要达到它,需要理想的反差条件,因此,平常采用较低和较合适的 25 厘米处的 0.25 毫米作为正常条件下的合理数值。

现在的问题是怎样来帮助眼睛分开两条比这个最低值更近的细线? 答案是将这些线条放大,使落在眼睛视网膜上的线条的像变大一些。为了要获得放大,我们把一仪器放在物体和眼睛之间,这仪器就是显微镜。它可以是一个简单的显微镜或电子显微镜。光学显微镜能在视网膜上直接形成一个放大的物像;而电子显微镜则需要它在和眼睛之间再有一个“像转换系统”,眼睛才能理解它所产生的像。光学显微镜可以使光线弯曲或折射,好象把物体移近眼睛一样。在简单显微镜的情形下实际上就是这样;而在复式显微镜中,从效果上来说也是如此。那么为什么我们不能就用光学显微镜来连续放大,因而能分辨更多更多的细节呢? 回答是在于光的物理性质,即光是一种电磁波,而且光波有一定的长度。所用光的波长决定了任何光学仪器的最终分辨本领。

在这一章后面,我们将会知道为什么没有一种显微镜,无论是光学的或电子的,能够分辨出比用来成像的光波波长的一半还要近的两点。比显微镜的分辨本领更近的两点在成像时合为一点。半波长是两类显微镜的极限分辨本领。约在 1890 年,光学显微镜就已经达到了其分辨本领极限。对电子显微镜来说,目前尚未达到它的理论极限,还差 100 倍左右。光学透镜的发展花费了三个多世纪的时间,而电子透镜的发展仅不过四十年左右。后者显然还处在 17 世纪光学透镜设计的比

较粗糙的阶段。这并不是对电子透镜设计者的不尊敬，只是强调说明他们的任务更为困难而已。

究竟需要多大的放大倍数呢？这很容易算出，很简单，它就是眼睛的分辨本领和显微镜的分辨本领之比。它把最小可分辨的细节放大到使眼睛容易区别的程度，在光学显微镜的情况下，分辨本领是光的半个波长，约等于 2.5×10^{-4} 毫米。我们已经提到肉眼能分辨 0.25 毫米。最大的放大倍数就是显微镜的分辨本领除以眼睛的分辨本领，是 1000 倍。比这更大的放大倍数并不能给出更多的信息，它仅仅把一个模糊斑点再放大而已。多余的放大倍数称为“空放大”。

电子显微镜的分辨本领比光学显微镜约好 1000 倍，后者能看到小于 1000 倍的物体。因此，最大的放大倍数要比光学显微镜大 1000 倍，也就是一百万倍。比这更大的倍数也是空放大。

1.3. 显微术中的长度单位

我们曾谈及光学显微镜的分辨本领约为光波波长的一半。这实际上代表多大的物体呢？绿光（眼睛对此最灵敏）的波长是 0.0005^* 毫米。因此在理想的条件下光学显微镜可以分辨 0.00025^* 毫米的距离。而电子显微镜，因为它用的是波长远短于光的电磁辐射，可以分辨 0.00000025 毫米的距离。显然需要一个小于毫米的单位。

在光学显微术中用的单位是“微米”，符号为“ μm ”，这是一米标准长度的百万分之一。这单位通常称为“微米”。因此一微米是一毫米的千分之一； $1000 \text{ 微米}(\mu\text{m}) = 1 \text{ 毫米}(\text{mm})$ 。这个单位对电子显微术来说还太大，因此又将它分成 1000 分，

* 原文误为 0.005 及 0.0025。——校者注。