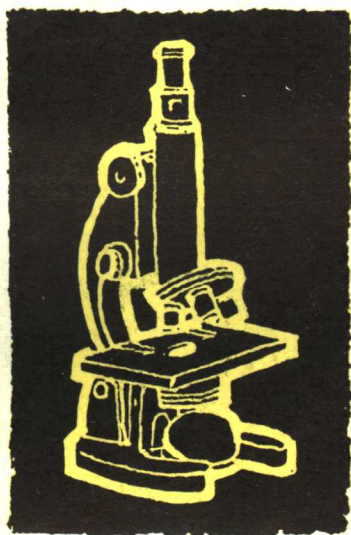




普通光学显微镜 的使用和维修

浙江科学技术出版社

普通光学显微镜的使用和维修

吴友吕 编写

浙江科学技术出版社

责任编辑：李卓凡

封面设计：朱仰慈

普通光学显微镜的使用和维修

吴友吕 编写

*

浙江科学技术出版社出版

浙江新华印刷厂印刷

浙江省新华书店发行

开本787×1092 1/32 印张2.125 字数46,000

1984年12月第一版

1984年12月第一次印刷

印数：1—4,000

统一书号：15221·71

定 价： 0.30 元

前 言

普通光学显微镜被广泛应用于医学病理切片的观察, 血液化验, 细菌和寄生虫等病原体的检验, 动、植物组织结构和生长发育的观察, 工业微型电子元件装配的检验以及地质矿物、孢粉、古微化石的观察等, 已成为学校、医院、生产部门和科研单位不可缺少的工具。当前, 我国自制的各类优质光学显微镜的结构和性能在不断提高和完善, 产量不断增长, 应用日益普遍, 使用人员大量增多。为了帮助初学者能正确而迅速地掌握使用普通光学显微镜这一科学实验的重要光学仪器, 作者结合多年的工作经验, 编写了这本《普通光学显微镜的使用和维修》小册子。

本书共分五章, 主要介绍了光学显微镜的基本原理、分类和构造、使用、保养, 以及常见故障的维修方法等方面的知识。内容通俗易懂, 方法简便实用。它可供医院、工矿化验员, 食品卫生、畜牧兽医检疫防疫人员, 农村植保员及有关科技工作者学习使用, 也可作为培训教材和供大专院校生物、医学、农业专业的师生, 中等学校生物教师和学生教学参考。

该书在编写过程中, 曾得到蔡继炯工程师的帮助; 上海、广州等光学仪器厂和中国仪器仪表学会为本书提供了宝贵资料, 在此一并致谢。

由于编者水平所限, 书中缺点和错误一定不少, 恳请读者批评指正。

编 者

1984年5月

目 录

前言

第一章 光学显微镜的基本原理	(1)
一、透镜及其成象	(1)
二、透镜的球面象差和色散差	(4)
三、人眼和视觉	(6)
四、显微镜的成象原理	(7)
五、显微镜的主要性能	(9)
第二章 光学显微镜的分类和构造	(15)
一、光学显微镜的分类	(15)
二、光学显微镜的构造	(15)
第三章 普通光学显微镜的使用	(32)
一、显微镜的质量检查	(32)
二、显微镜的搬动和运输	(33)
三、显微镜的使用	(34)
四、显微镜使用中的问题和解决途径	(46)
第四章 显微镜的保养	(49)
一、显微镜的清洁工作	(49)
二、显微镜的保管	(52)
第五章 显微镜常见故障的维修	(54)
一、显微镜发生故障的主要原因	(54)
二、维修显微镜的常用工具和材料	(55)
三、维修工作中的注意事项	(56)
四、常见故障的判断和对策	(57)
五、几种常见故障的维修方法	(60)

第一章 光学显微镜的基本原理

一、透镜及其成象

最简单的透镜是我们平时用的可以放大物体的放大镜。放大镜一般由一个凸透镜组成（图1，a）。如果一个透明体的两个侧面都是球面的一部分，或者其中一个侧面凸出呈球面，另一个侧面为平面，这种透明体就称为透镜。透镜一般用光学性质均匀的玻璃磨制而成。根据透镜的不同球面性质，可以把它分成两大类：

（1）凸透镜。又称正透镜，有双凸、平凸和凸月三种（图1，a、b、c）。它们的共同特点是透镜中心比边缘要厚一些。

（2）凹透镜。又称负透镜，有双凹、平凹和凹月三种（图1，d、e、f）。它们的共同特点是透镜中心比边缘薄。

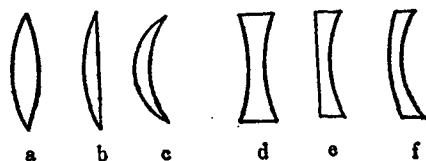


图1 各式透镜的截面图

- | | |
|---------|---------|
| a. 双凸透镜 | d. 双凹透镜 |
| b. 平凸透镜 | e. 平凹透镜 |
| c. 凸月透镜 | f. 凹月透镜 |

透镜的表面是球面，穿过透镜中心，连接透镜两个球面曲率中心的直线叫做透镜的光轴（图2）。光轴是非常重要的，安装显微镜时组成物镜的多片透镜的光轴必须严格地保持在同一

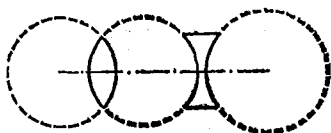


图2 透镜的光轴

条直线上。透镜的光学中心叫光心，常用 $\bigcirc$ 表示，它必定在光轴上，光经过光心时不发生折射。

透镜的主要作用是可以改变光线进行的方向(即折射)。

凸透镜对于通过它的光线起会聚作用，所以又叫做会聚透镜(图3)；凹透镜对于通过它的光线有发散作用，所以又叫做发散透镜(图4)。

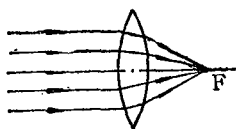


图3 凸透镜的折射
F.凸透镜的焦点

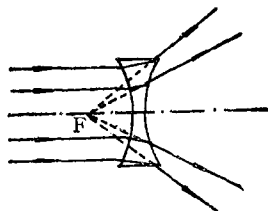


图4 凹透镜的折射
F.凹透镜的负焦点

平行于光轴的光线(如太阳光)通过凸透镜(放大镜)后，会在透镜的另一面的光轴上会聚成最亮点，这个点就是该透镜的焦点，常用 F 表示(图3)。由焦点至透镜光心的距离为焦距，常用 f 表示。每个透镜都有两个焦点，位于透镜的两侧，分别叫做前焦点和后焦点(图5)。如在后焦点处放一块毛玻璃或白纸作为屏幕，在前焦点处放一物体，那么在屏幕上即可以见到物体的倒立放大的实象。

对于凹透镜所成的象为正立缩小的象，它看起来好象在透镜左边的 F 处(图4)，实际上那里并没有物体的象，所以这个象是不能映在焦点处屏幕上的虚象。凡是凹透镜所成的象都是

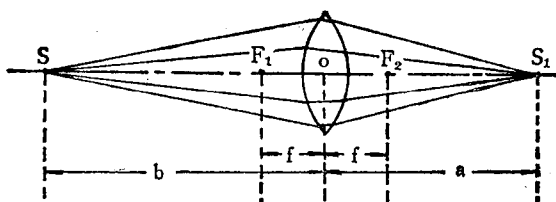


图5 透镜成像状况

S. 点光源 S_1 . 点光源的象 F_1 和 F_2 . 透镜的前、后焦点
O. 光心 f . 焦距 b . 物距 a . 象距

虚象。凸透镜所成的象则不一定，随物距（物体与透镜之间的距离，用 b 表示）而变，经常是实象，但物距太小时也会生成虚象，如果把物体放在凸透镜的焦点之内，将得到一个放大的正立虚象；如果改变物体和透镜之间的物距，则象距（象和透镜之间的距离，用 a 表示）、象的大小、虚实、正倒也会随着变化。象距 a ，物距 b 和透镜焦距 f 三者的关系如下：

$$\frac{1}{a} - \frac{1}{b} = \frac{1}{f} \quad (1.1)$$

式 (1.1) 中 a 、 b 和 f 三个数值的正负决定于它与光线进行方向的关系，习惯上规定光线方向从左至右，以透镜的中心（光心）为原点，当象距、物距、透镜焦距位于原点之右时为正号，反之在原点之左为负号。因此凸透镜的焦距都为正值，凹透镜的焦距都为负值。

透镜焦距 f 的长度可按下式计算得到：

$$\frac{1}{f} = (n-1) \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right) \quad (1.2)$$

式中 n —— 透镜材料的折射率（玻璃的折射率为 1.525）
 R_1 —— 透镜第一个侧面的曲率半径
 R_2 —— 透镜第二个侧面的曲率半径

透镜的放大倍数可由下式决定：

$$K = \frac{a}{b} \quad (1.3)$$

式中 k ——放大倍数（又叫放大率）

a ——象距（象到透镜的距离）

b ——物距（物到透镜的距离）

透镜的放大倍数也可由象的大小与实物大小之比值计算得到。

二、透镜的球面象差和色散差

平行的太阳光线通过凸透镜后，在屏幕上会聚成一个明亮的光点，实际上，它并不会聚成一个点，而是光点的中心最为明亮，周围渐渐变暗，会聚成一个模糊的圆形斑点，叫做弥散圆。所以，一个物体通过透镜不可能形成一个与原物体完全相同的象，这个象已经变了形。任何透镜在成像时，由于透镜本身物理条件的缺陷而使物象引起变形，这叫做透镜的象差。透镜的象差有球面象差、彗星差、象散、象场弯曲、畸变和色散差等，其中与显微镜关系较大的有球面象差和色散差。

1. 透镜的球面象差

球面象差简称球差，自无限远处射来的平行光束通过凸透镜后，理论上应聚焦于焦点一个点。事实上，由于透镜的表面

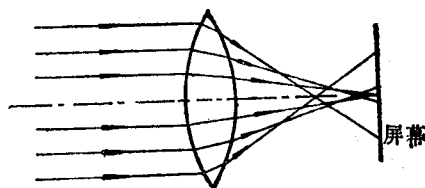


图6 透镜的球面象差

是球面，极远处射来的平行光线不能聚焦在一点，而是聚焦在多个点上，越近光轴的光线折射越小，其焦点离透镜就远；越靠近透镜边缘的光线折射越

强烈，其焦点离透镜就近，这种现象叫做球面象差（图6）。由于存在象差，使象的边缘变得模糊不清，物体上的细节无法看清，严重时成象失真。对于显微镜的光学系统，球面象差必须消除。由于凸透镜和凹透镜所产生的球差方向相反，因此可以利用凹、凸透镜组合的方法来消除或减少复合透镜球差，从而得到清晰的物象

2. 透镜的色散差

太阳光（白光）是由红、橙、黄、绿、青、蓝、紫七种颜色光组成的，不同颜色光的波长是不同的（表1）。其中红光波长最长，紫光波长最短。波长的单位一般以毫微米（ $m\mu$ ）表示，也可用埃（ $\text{\AA}$ ）表示。其换算关系为

$$\begin{aligned} 1 \text{ 毫米 (mm)} &= 1000 \text{ 微米 } (\mu\text{m}) \\ &= 1000000 \text{ 毫微米 } (m\mu) \\ &= 10000000 \text{ 埃 } (\text{\AA}) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 1 \text{ 微米 } (\mu\text{m}) &= 1000 \text{ 毫微米 } (m\mu) \\ &= 10000 \text{ 埃 } (\text{\AA}) \end{aligned}$$

$$1 \text{ 毫微米 } (m\mu) = 10 \text{ 埃 } (\text{\AA})$$

$$1 \text{ 埃 } (\text{\AA}) = 0.0000001 \text{ 毫米 (mm)}$$

由于玻璃透镜对不同波长色光有不同的折射率，因此太阳光通过透镜后不能聚焦在一点上，这就产生了色散差，又叫色差。图7表示纵向色差，是显微镜中最有害的象差，它使物象产生虹状的彩色边缘。由于色差的大小与组成透镜的玻璃种类有关，且凸透镜产生的色差与凹透镜产生的色差方向相反，这就提供了消除色差的办法。制成凹凸组合透镜就可以同时纠正大部分球差和纵向色差，这种组合的透镜叫做消色差透镜，显微镜的镜头就是利用这个原理经过光学计算后精密加工装配而成的复合透镜。

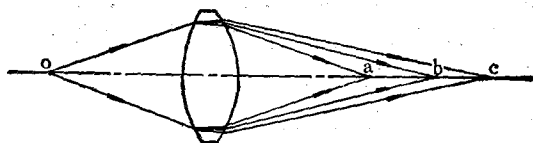


图7 透镜的纵向色差

- a. 蓝光焦点 o. 可见光光源
b. 绿光焦点 c. 红光焦点

表1 各种色光的波长范围

紫	蓝	青	绿	黄	橙	红
380	430	490	510	570	600	620
						750波长(mμ)

三、人眼和视觉

人眼的晶状体无色透明，形状相当于一个双凸透镜，由物体发出（或反射）的光线经过晶状体折射后形成一个缩小的倒立实象（图8、9），如果这个象正好形成在视网膜上，人们就能清楚地看见物体。由于人们日常生活的经验将这种倒立象在脑中作了校正，因此我们所看见的图象和所接触物体的方向是一致的。眼睛为什么能够看清楚不同距离的物体？是靠什么来调控焦距的呢？它是靠眼球的调节作用。看近 距离 的物体时，由于眼肌肉的收缩作用，使晶状体表面的曲率增加，即焦距调小，使位于较近的物体成象在视网膜上，从而人们可以清楚地看到物体。当眼肌肉松弛后，晶状体前表面曲率变小，焦距变长，人们就能看见较远的物体。但晶状体曲率调节范围是有限度的，人眼调焦时能清楚看到的最远处叫远点，最近处叫近点。远点和近点随人的年龄而变的。因而眼睛只能看清楚一

定距离内的物体，这个范围称为眼的调节范围。通常在良好的照明条件下，人的正常眼睛习惯于观看距离25厘米处的物体，这时，在视网膜上成象最清晰，久看也不容易感到疲劳。这25厘米的距离就是人眼的明视距离。为什么我们不能看清楚月球上的细节，也不能看清楚眼皮下的物体呢？这与眼睛的视角和物距有关。所谓视角就是眼睛晶状体的光心向物体两端所引的两条直线之间的夹角 α （图9）。同一个物体离眼近时，其视角就大，在视网膜上所成的象也大；反之，物体离眼远，其视角就小，在视网膜上所成的象也小。在白天照明较好的情况下，当1厘米高的物体距眼34米远时，视角大约是1分，这时看起来物体只成了一个点。

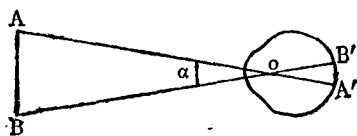


图8 人眼睛的视角

o. 眼睛晶状体的光心

α . 视角

AB. 外界被观察的物体

A'B'. 在视网膜上所成的象

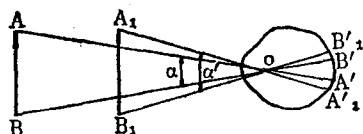


图9 视角与物距的关系

o. 眼睛晶状体的光心

AB 和 A_1B_1 . 外界被观察的物体

A'B' 和 $A_1'B_1'$. 在视网膜上所形成的象

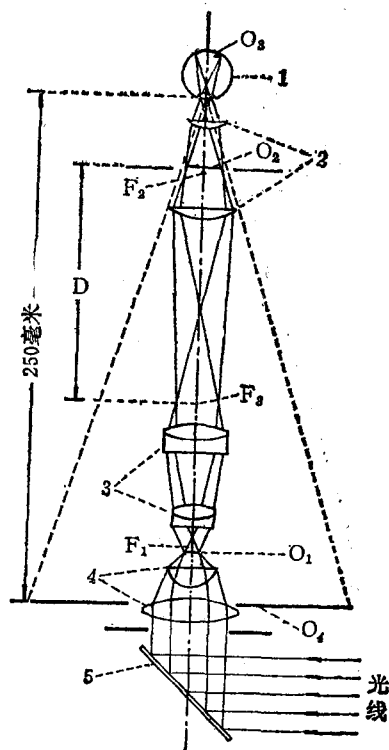
α 和 α' . 视角

当物体在25厘米距离的明视处，正常人眼尚能分辨出相距0.073毫米的两个小点，这是人眼的分辨率。正常人眼的极限分辨角平均为1分，如果视角为3分时，人眼就能很轻松地分辨25厘米处相距约0.25毫米的两个点。

四、显微镜的成象原理

光学显微镜是用以观察微小物体的光学仪器，它的成象原

理和透镜的成象原理相似,如图10所示。平行的照明光线由反光镜向上反射,经聚光器会聚后照明了被观察的小物体 O_1 , 光线穿过透明的小物体射入物镜。由于物体与物镜的距离略大于物镜焦距, 故在物镜的上方形成一个放大而倒立的实象, 这是第一次放大的倒象也称中间象。由于成象光线还未到达应该形成实象的位置, 就遇到目镜中下面的一个透镜 (叫做会聚透镜或场透镜), 被场透镜折射在 O_2 处形成实象。这个实象与目镜中



1. 人眼
2. 目镜
3. 物镜
4. 聚光器
5. 反光镜
- F_1 . 物镜前焦点
- F_2 . 目镜焦点
- F_3 . 物镜后焦点
- D. 光学筒长 (即物镜上焦点平面到目镜下焦点平面的距离, 常以机械筒长来代替)。
- O_1 . 被观察的小物体
- O_2 . 物镜形成的 O_1 实象
- O_3 . 人眼视网膜上 O_1 的实象
- O_4 . O_1 的高倍放大虚象

图10 光学显微镜的成象原理

上面的一个透镜（叫做接目透镜）的距离略小于接目透镜的焦距，接目透镜相当于一个放大镜，于是在 O_4 处视野中形成一个比 O_2 处实象大得多的倒立的放大虚象。所以，小物体被显微镜的光学系统作了两次放大。通过显微镜的调焦装置，成象光线经过接目透镜射入人眼中，被晶状体聚焦在视网膜上形成了物体的直立实象 O_3 ，这样，眼球就成为显微镜系统的一个组成部分，这个象看起来位置好象在 O_4 处，但 O_4 处实际上并没有物体的象，所以叫做虚象。放大的虚象和正常人眼间的距离约25厘米，是观察显微镜中物象的最适距离，叫明视距离。

五、显微镜的主要性能

1. 数值孔径 数值孔径又叫做镜口率，简称为 N.A.，在物镜、聚光器上都标有数值孔径。数值孔径是物镜和聚光器的重要参数，和显微镜的各性能（如分辨率、焦点深度、镜象亮度）有密切关系。数值孔径可用下式表示：

$$N.A. = n \cdot \sin \frac{\alpha}{2} \quad (1.4)$$

式中 n —— 物镜与标本之间介质的折射率，（空气 $n=1$ ，水 $n=1.33$ ，香柏油 $n=1.515$ ）

α —— 物镜的镜口角

镜口角是指从物镜光轴上的物点发出的光线与物镜前透镜有效直径的边缘所成的夹角（图11），镜口角 α 总是小

于 180° ，所以 $\sin \frac{\alpha}{2}$ 的最大值小于 1。

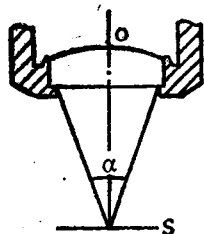


图11 物镜的镜口角
O. 物镜 S. 标本面
 α . 镜口角

从式(1·4)可知,增大物镜与标本之间介质的折射率 n 或增大镜口率均可提高数值孔径。当镜口角 α 相同的情况下,物镜与标本之间以香柏油为介质时,可使数值孔径提高到1.25~1.4。

2. 放大倍数 放大倍数又叫放大率,用象的大小与对应标本大小的比值表示。显微镜的物镜和目镜分别都有不同的放大倍数,显微镜的总放大倍数=物镜倍数 $\times$ 目镜倍数。

表2为上海光学仪器厂2 $\times$ A型生物显微镜的放大倍数,倍率范围20~1600倍。光学显微镜的有效总放大率最高在1250~1400倍之间。

表2 2 $\times$ A型光学显微镜的放大倍数

目镜倍数 总放大倍数 物镜倍数	4 $\times$	10 $\times$	40 $\times$	100 $\times$ (油浸物镜)
5 $\times$	20 $\times$	50 $\times$	200 $\times$	500 $\times$
10 $\times$	40 $\times$	100 $\times$	400 $\times$	1000 $\times$
16 $\times$	64 $\times$	160 $\times$	640 $\times$	1600 $\times$

3. 分辨率 分辨率又叫分辨本领、鉴别率或分辨力,是指能够区分两个物点之间的最小距离的本领,如正常人的眼睛在25厘米明视距离,其最高分辨率为0.073毫米(一般为0.25毫米),显微镜的分辨率越高表明它的性能越好。如果仅有很高的放大倍数,而没有相应高的分辨率不能说明显微镜的性能好,因为如果显微镜的分辨率差,高倍放大的象只是模糊的图象,物体的细微结构无法分辨清楚。

物镜的分辨率就是显微镜的分辨率,目镜只起放大镜的作

用，与显微镜分辨率无关。

显微镜的分辨率可用下式表示：

$$R = \frac{0.61\lambda}{N.A.} \quad (1.5)$$

式中 R ——物镜的分辨率，单位为毫微米 ($m\mu$)

λ ——照明光线的波长(可用可见光的平均波长550毫微米)

$N.A.$ ——物镜的数值孔径(油浸物镜的数值孔径 $N.A.$ 为 1.25)

所以，普通光学显微镜的分辨率

$$R = \frac{0.61 \times 550}{1.25} = 270 \text{ 毫微米 (即 } 0.27 \text{ 微米)}, \text{ 这}$$

个数值约等于照明的可见光波长的一半。

从上式可以看出，物镜的数值孔径越大，则分辨力越大；照明光线的波长越短，分辨力也越大。因此，欲提高显微镜的分辨率有两个途径：一是提高物镜的数值孔径，但这个数值的提高是有限的。另一个途径是使用波长较短的照明光线，如紫外光显微镜的照明光源采用波长为270毫微米的紫外光，由于波长(λ)减少了约一半，其分辨率则可以提高一倍。但任何一种采用光线照明的显微镜的极限分辨率都不可能超过0.2微米。

4. 焦点深度 用不同倍数的物镜观察物体时，所能看清物体的深度范围是不同的，例如用10倍物镜观察一个植物细胞时，能看清楚细胞的上壁而看不到细胞的下壁，反之，当调焦到看得到细胞的下壁，就看不见上壁，这种在视野中的垂直范围内所能够清晰观察到的深度叫做焦点深度，又叫焦深(也称视野深度)。

物镜的焦深可以通过不同的途径得到不同的计算公式，现

以如下公式表示:

$$d = \frac{K \cdot n}{M \times N.A.} \quad (1.6)$$

式中 d —— 焦深

K —— 为常数, 约等于0.24毫米 (即240微米)

n —— 被观察标本周围介质的折射率

M —— 显微镜的总放大倍数

$N.A.$ —— 物镜的数值孔径

从式 (1.6) 可见焦点深度 d 值随 $N.A.$ 值及 M 值的增大而减小。高倍物镜不仅倍数大, $N.A.$ 值也大, 所以焦深都很小。现举两例计算如下:

例1 设物镜放大倍数为 $40\times$, $N.A.$ 为 0.65, 目镜放大倍数为 $12.5\times$, 显微镜的总放大倍数 $M = 40 \times 12.5 = 500\times$, 空气折射率 n 为 1。按公式 (1.6) 计算得:

$$\text{焦深}(d) = \frac{240 \times 1}{500 \times 0.65} = \frac{240}{325} = 0.738(\text{微米})$$

例2 设油浸物镜放大倍数为 $100\times$, $N.A.$ 为 1.25, 目镜放大倍数为 $12.5\times$, 显微镜总放大倍数 $M = 100 \times 12.5 = 1250\times$, 香柏油的折射率 n 为 1.515。按公式 (1.6) 计算得:

$$\begin{aligned} \text{焦深}(d) &= \frac{240 \times 1.515}{1250 \times 1.25} \\ &= \frac{363.6}{1562.5} = 0.232(\text{微米}) \end{aligned}$$

5. 镜象亮度 镜象亮度是指显微镜中所看到的物象的亮暗程度。要看清楚物体的细节, 必须要求一定的亮度, 也就是镜象亮度, 它和数值孔径的平方成正比, 和显微镜的总放大倍数的平方成反比。在物镜相同的情况下, 使用 $5\times$ 的目镜比使用