

# 实验一 普通光学显微镜的结构及使用



# 一、目的要求

- 熟悉普通光学显微镜的构造和性能
- 掌握显微镜的使用方法
- 了解光学显微镜的维护方法



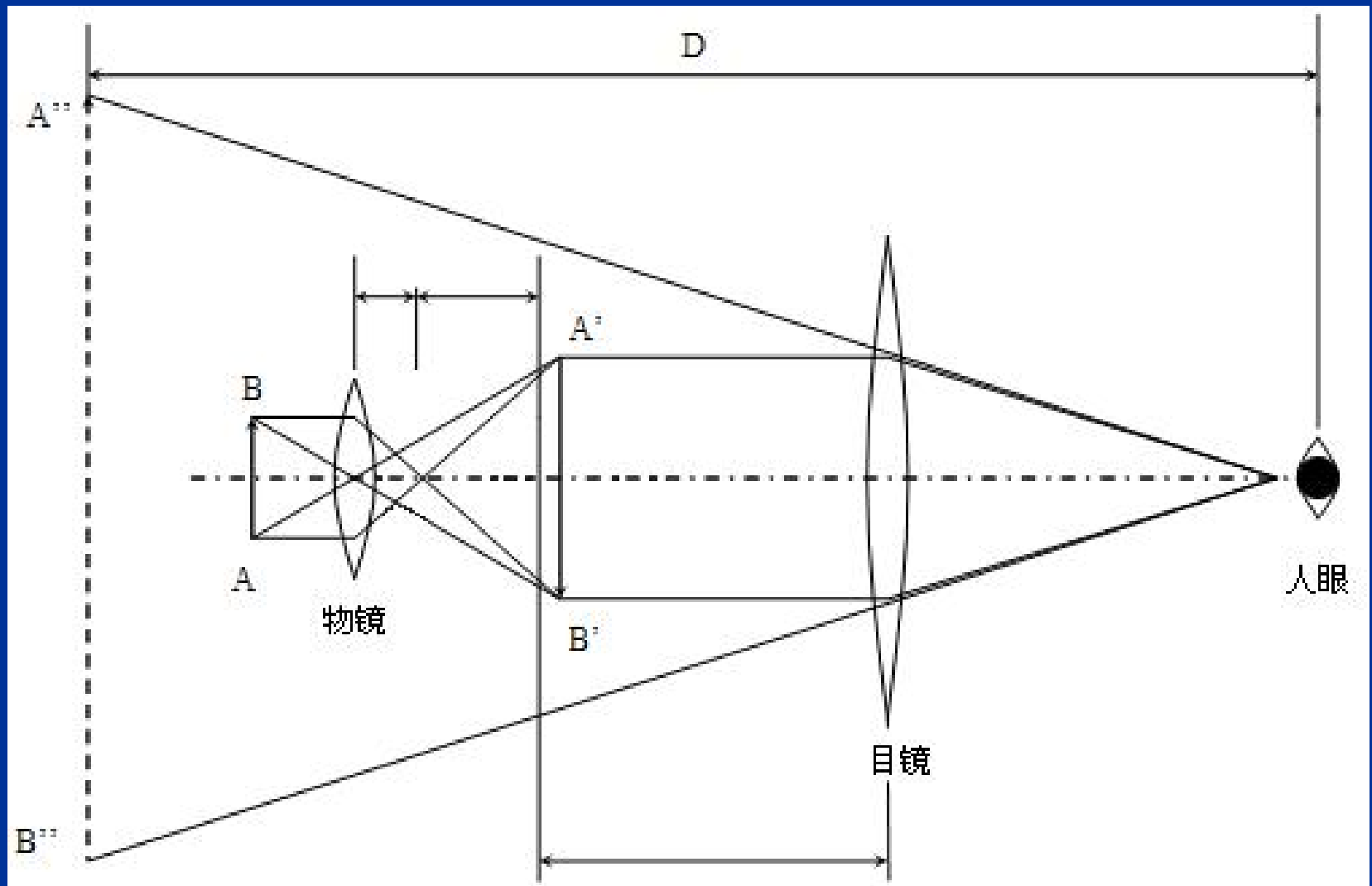
## 二、实验原理

- 显微镜可将微小物体放大
- 物镜和目镜的作用相当于一个凸透镜

标本放在物镜下方1~2倍焦距之间，在明视距离为25cm，见到放大的清晰物象



# 光学显微镜的成像原理



# 显微镜的重要光学技术参数

- 分辨率、放大率、镜口率、焦点深度和视场宽度等反映了显微镜的性能和质量

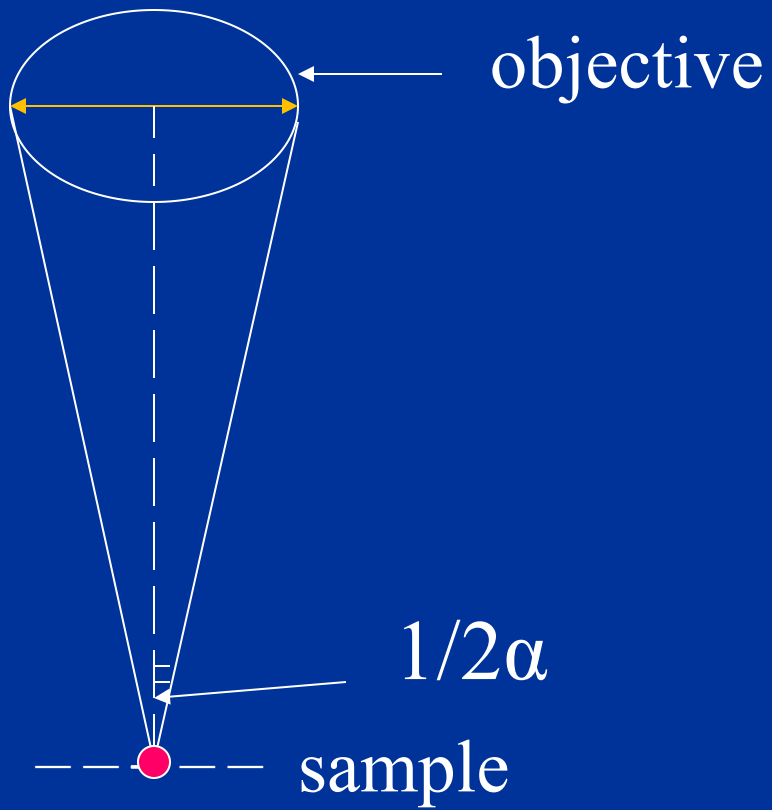
生物显微镜的结构



# 数值孔径（镜口率）

## numerical aperture, N.A

- N.A是物镜前透镜与被检物体之间介质的折射率（ $n$ ）和镜口角（ $\alpha$ ）半数的正弦之乘积，即 $N.A = n \cdot \sin \alpha/2$
- 镜口角 $\alpha$ 是物镜光轴上的物体点与物镜前透镜的有效直径所形成的角度。
- 镜口角越大，进入物镜的光通亮就越大，它与物镜的有效直径成正比，与焦点的距离成反比



## 间质折射率 (n)

- 空气为 1
- 水为 1.33
- 油为 1.5

## 物镜N.A值

- 空气为0.05~0.95
- 水为0.1~1.20
- 油为0.83~1.40



# 分辨率 (R)

- 显微镜或人眼在25cm的明视距离处，能清楚地分辨被检物体细微结构最小间隔的能力
- 人眼分辨率约为100um，光镜为0.2um
- 计算公式

$$R = \frac{0.61\lambda}{N.A} = \frac{0.61\lambda}{N \cdot \sin\alpha/2} = \frac{0.61 \times 0.5}{1.50 \times 1.0} = 0.2\mu\text{m} \quad (\text{光镜最大分辨率})$$

注：

$\lambda$ ——光波波长（白光为0.5）

$N$ ——介质折射率

$\alpha$ ——镜口角

## 放大率（放大倍数）

- 放大倍数 = 目镜放大倍数  $\times$  物镜放大倍数
- 最小倍数 =  $5 \times 4 = 20$
- 最大倍数  $15 \times 100 = 1500$
  
- 放大倍数的表示用  $\times$ ，如  $10 \times$ ,  $100 \times$  , ...

## 焦点深度（焦深）

- 在使用显微镜时，当焦点对准某一物体时，不仅位于该点平面上的各点都可以看清楚，而且在此平面的上下一定厚度内，也能看得清楚，这个清楚部分的厚度就是焦深。
- 焦深大，可以看到被检物体的全层，而焦深小，则只能看到被检物体的一薄层
- 在数值孔径0.95时约为非常浅的 $0.2\mu$

# 视场宽度

- 在显微镜下看到的圆形视场内所能容纳被检物体的实际范围。视场宽度愈大，愈便于观察。
- 视场的大小，是由目镜里的视场光阑决定的。
- 视场宽度与物镜的放大倍数成反比  
因此，低倍镜看整体，高倍镜看局部

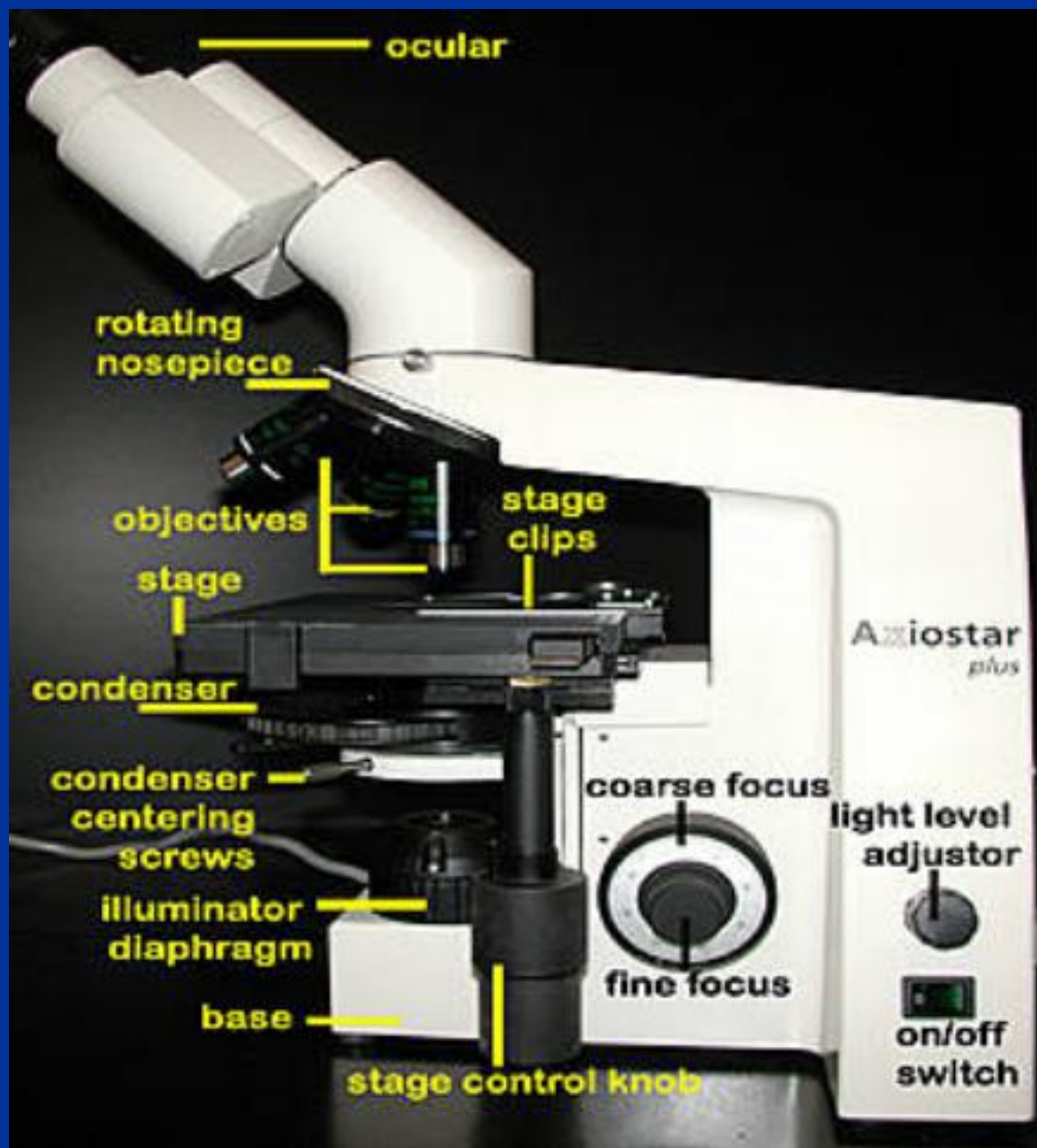
# 三、内容与方法

## (一) 显微镜的构造及功能

### 1. 机械部分

- 镜筒 (tube)
- 物镜转换器 (revolving nose-piece)
- 镜臂 (arm)
- 调焦器 (focusing adjustment)  
coarse focus and fine focus
- 载物台 (stage)
- 镜柱 (post)
- 镜座 (base)









## 2. 光学系统部分

- 目镜 (ocular)  $5\times$ ,  $10\times$ ,  $15\times$
- 物镜 (objective)  $4\times$ ,  $10\times$ ,  $40\times$ ,  $100\times$
- 聚光器 (condenser)
- 光源及光阑

# 标准物镜的性质

---

放大倍数	数值孔径	工作距离* (mm)
10×	0.20	6.5
20×	0.50	2.0
40×	0.65	0.6
100×	1.25	0.2

---

\*工作距离：物镜最下端与盖玻片上表面之间的距离。

## （二）显微镜的使用方法

### 1.低倍镜的使用

- 调光

先检查光强度开关的位置，放到最小，再通电，亮度适中，物镜对准通光孔，光阑，光栅，聚光器等

- 放片

标本朝上，勿放反了

- 调焦

先粗调，后细调；调过头了，反方向调回来；记住方向，慢调！

## 2.高倍镜的使用

- 先在低倍镜下找到标本，并将要观察的部位移至视野中央
- 转换高倍镜头
- 慢慢调节细调，同时观察，调到最清晰为止
- 油镜使用是在高倍镜的基础上进行的，转开高倍镜，滴上香柏油后，转换油镜头
- 使用油镜后要用清洁剂清洗镜头和标本

### 3.油镜的使用

- 油镜使用是在高倍镜的基础上进行的，转动目镜转换器，至高倍镜与油镜头之间
- 滴上香柏油后，转换油镜头
- 慢慢调节细调，调到所观察的标本为最清晰为止
- 注意事项：增强光线；在高倍镜下把要观察的部分移到视野中央；镜头用油浸泡；  
用完用清洁剂清洗干净镜头和标本。

## （三）标本观察

- ①头发丝交叉
- ②文字
- ③蛙血涂片

## 四、作业

- 记录实验一结果，完成作业一
- 记录高倍镜下视野中央的头发交叉点转换成低倍镜后所在的位置

# 绘图要求和方法

- 绘图前仔细观察，正确理解，做到真实准确的描绘
- 用尖锐的铅笔绘图，以点和线表示，明暗之处用点的疏密表示，勿涂阴影
- 版面整洁，图形大小适宜，各部分比例适当
- 于图上右侧横写注字，水平引出注字引线，不交叉，图下方写图的标题，注明放大倍数