

# 普通光学显微镜的构造 及其操作规范

- 掌握显微镜的构造及功能，熟练使用光学显微镜。
- 了解显微镜使用的基本要求、注意事项及一般维护方法（列入实验习惯成绩测评）

# 显微镜的基本结构

光学放大系统

目镜

物镜

载物台  
玻片夹

聚光器

聚光照明系统

光源



物镜转换器

机械系统

粗细准焦螺旋

■ 目镜放大倍数：10 ×

■ 物镜放大倍数：

4 × 低倍观察（红色）

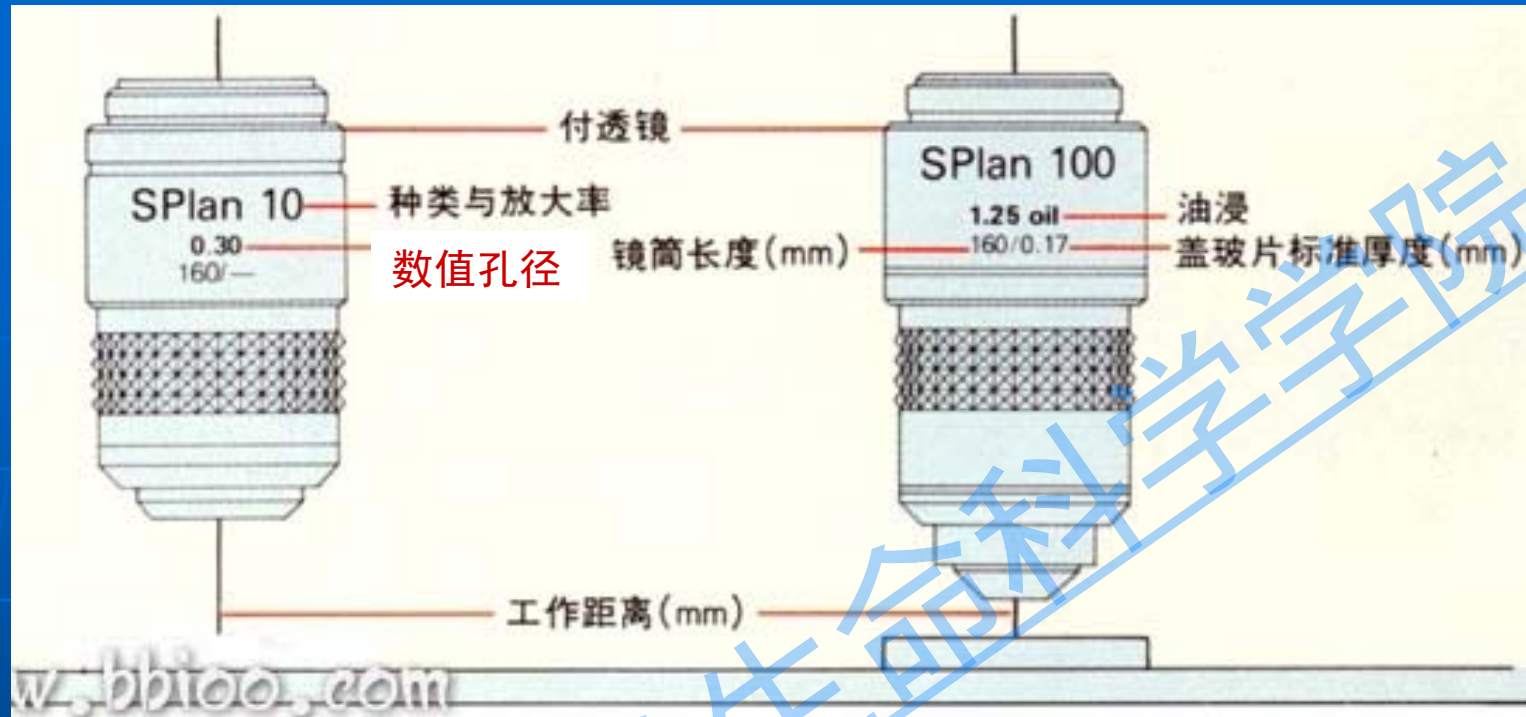
10 × 低倍观察（黄色）

20 × 高倍观察（绿色）

40 × 高倍观察（蓝色）

100 × 油镜观察（白色）





在物镜上有 (N. A.) 数值孔径的标志, 它反应应该镜头分辨力的大小, 其数字越大, 表示分辨率越高。

最大分辨率: 肉眼 0.2 mm; 光镜 0.2  $\mu\text{m}$ ; 电镜 0.2 nm

- 显微镜的总**放大倍率**就是物镜放大倍率和目镜放大倍率的乘积。放大倍率是指**直线尺寸的放大比**，而不是面积比。
- 因此普通光学显微镜的最大有效倍数为**10X100**



# 聚光镜

聚光镜  
升降旋  
钮



孔径光阑

视场光阑



孔径光阑的作用是使图像的分辨率、反差和焦深处在最佳状况。通常是用物镜的数值孔径来调节聚光镜的孔径光阑。

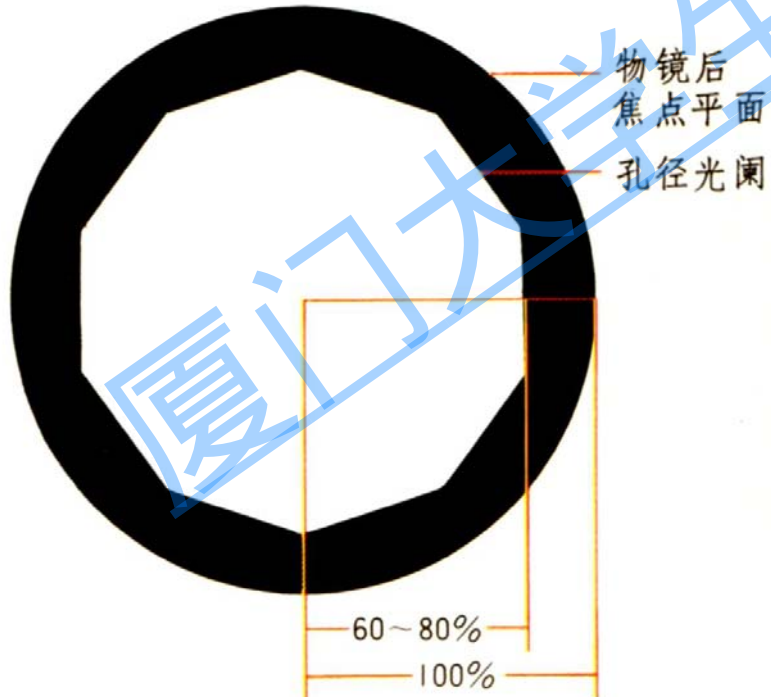
视场光阑是根据物镜的倍率给予不同直径的光束面积，在显微摄影时，起着增减影像反差的作用。



# 孔径光阑调节

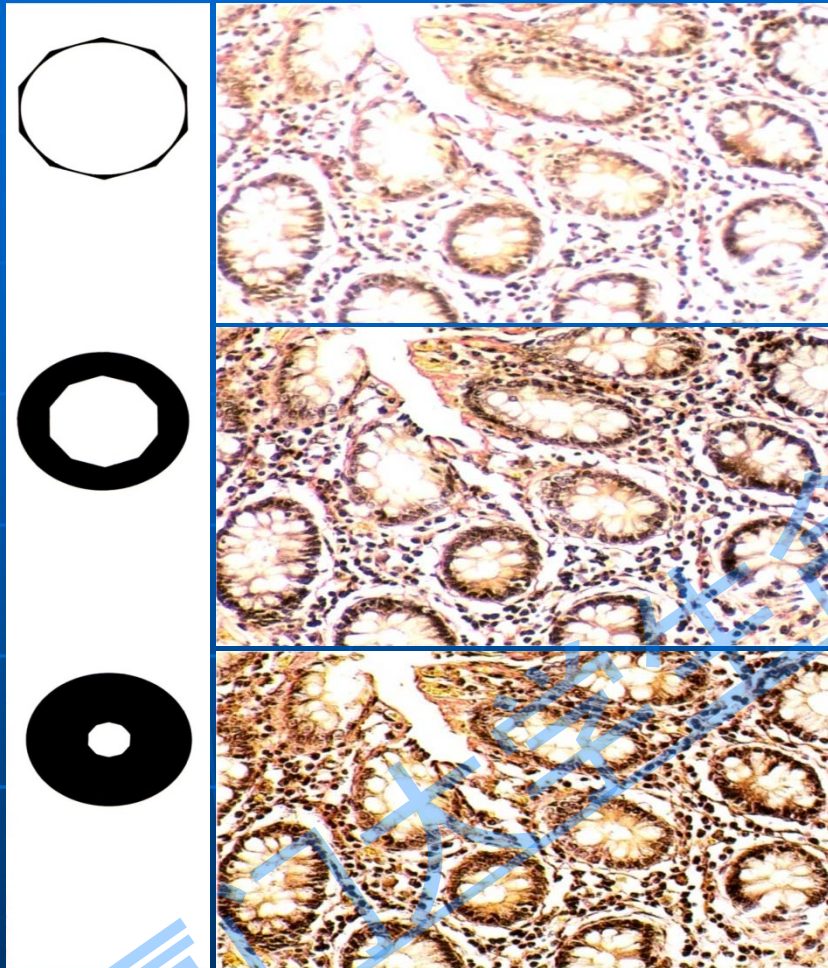
$$N.A_{\text{聚}} = (0.6 - 0.8) N.A_{\text{物}}$$

孔径光阑的位置是在物镜数值孔径的  
**60%-80%**之间。





# 孔径光阑与显微镜分辨率



视野很亮，杂散光和炫光很多，对比度差，一些细节丢失

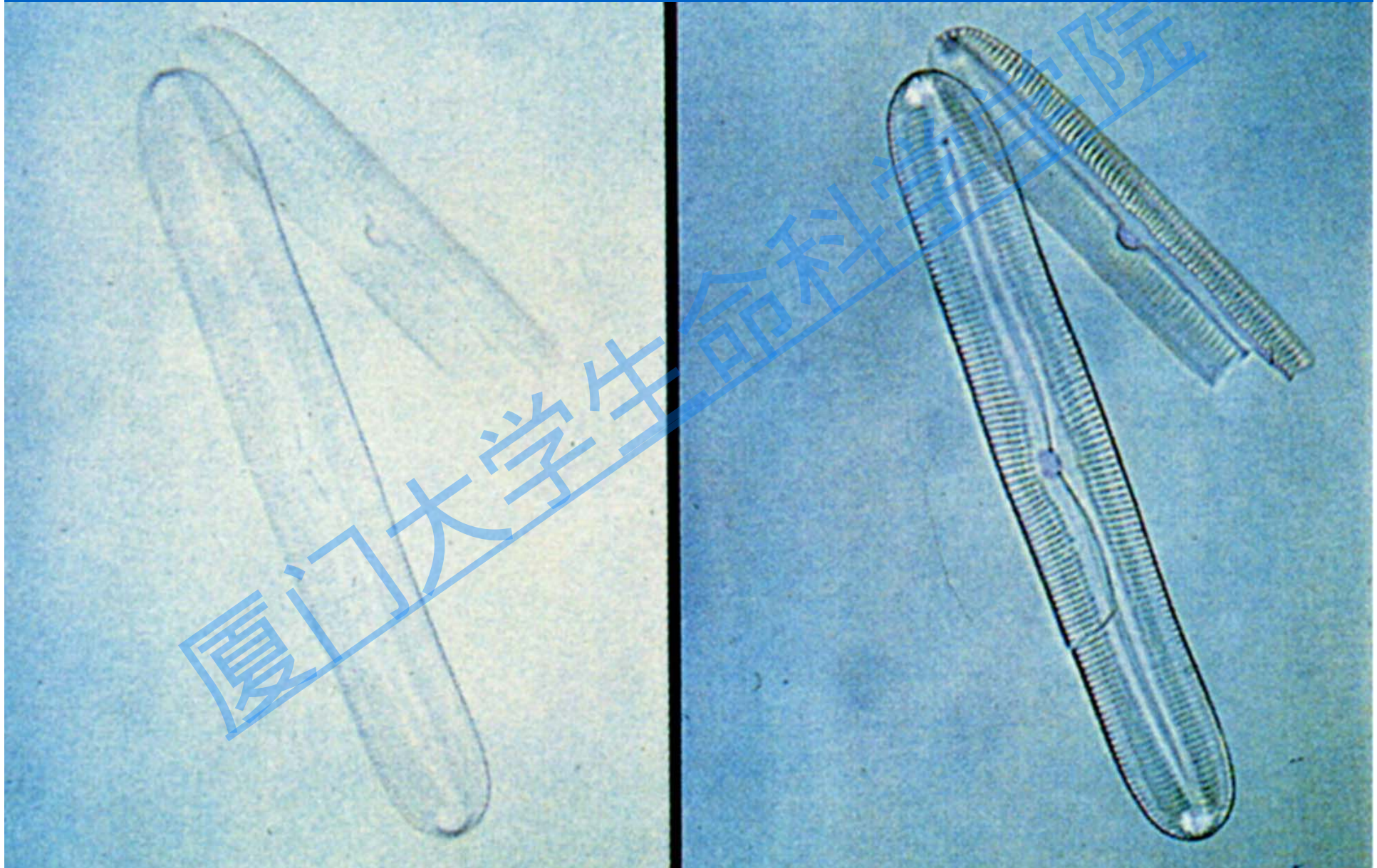
调到物镜数值孔径的 $2/3$ 至 $4/5$ 时，显微镜的分辨率和反差获得最佳的配合，对比度好细节较丰富

远小于物镜数值孔径时，视野暗，成像细节不清晰。

对染色浅、对比度低的标本进行观察和显微照相时，最好把孔径光阑关得再小一些；而对于那些染色深、对比度高的标本进行观察和显微照相时，则将孔径光阑开得再大一些为好。



# 孔径光栏的运用



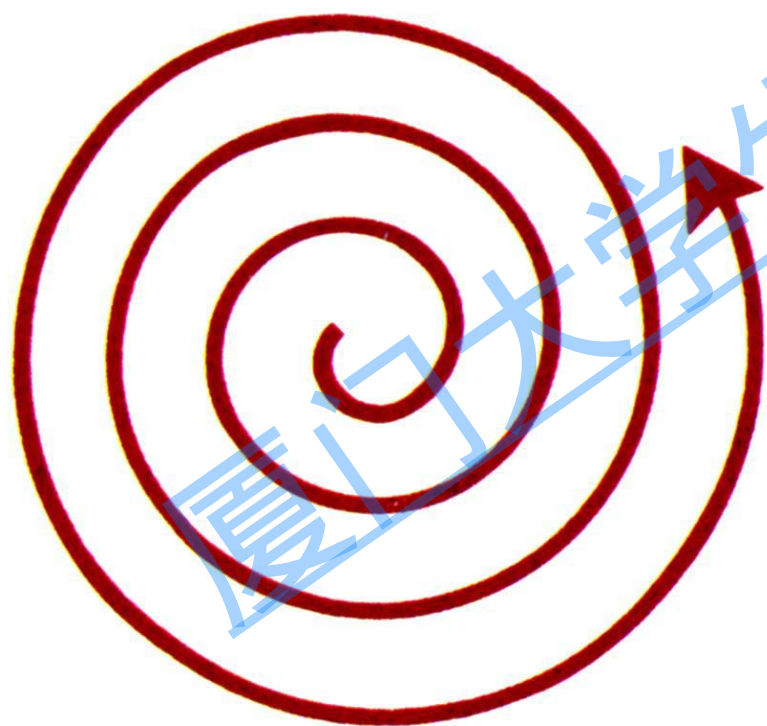
# 显微镜的使用

## 1. 观察前的准备工作

显微镜在使用之前应检查一下它的各个部件是否完整和正常,并对载物台、目镜、物镜以及聚光器透镜进行必要的清洁工作。然后进行显微镜调节。

# 擦拭方向和部位

擦拭方向



擦拭部位

- 目镜表面
- 物镜表面
- 聚光镜表面
- 底座光源出口

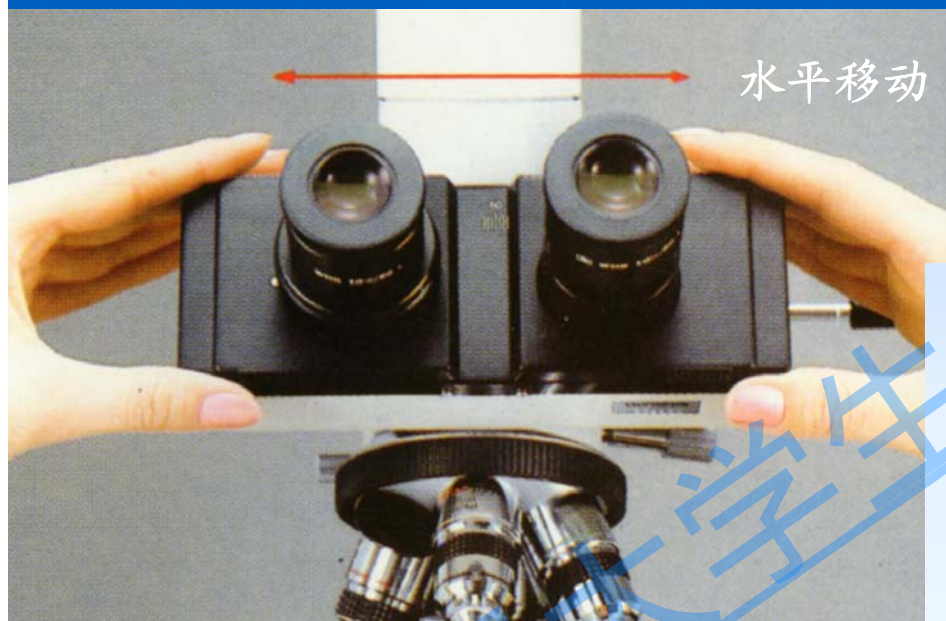


# 警 示 ！

- 塑料表面勿用清洗液清洁
- 镜片表面禁用干镜头纸擦拭
- 物镜不可随意拆卸且防震防摔

## 2. 显微镜的调节

### (1) 瞳距调节

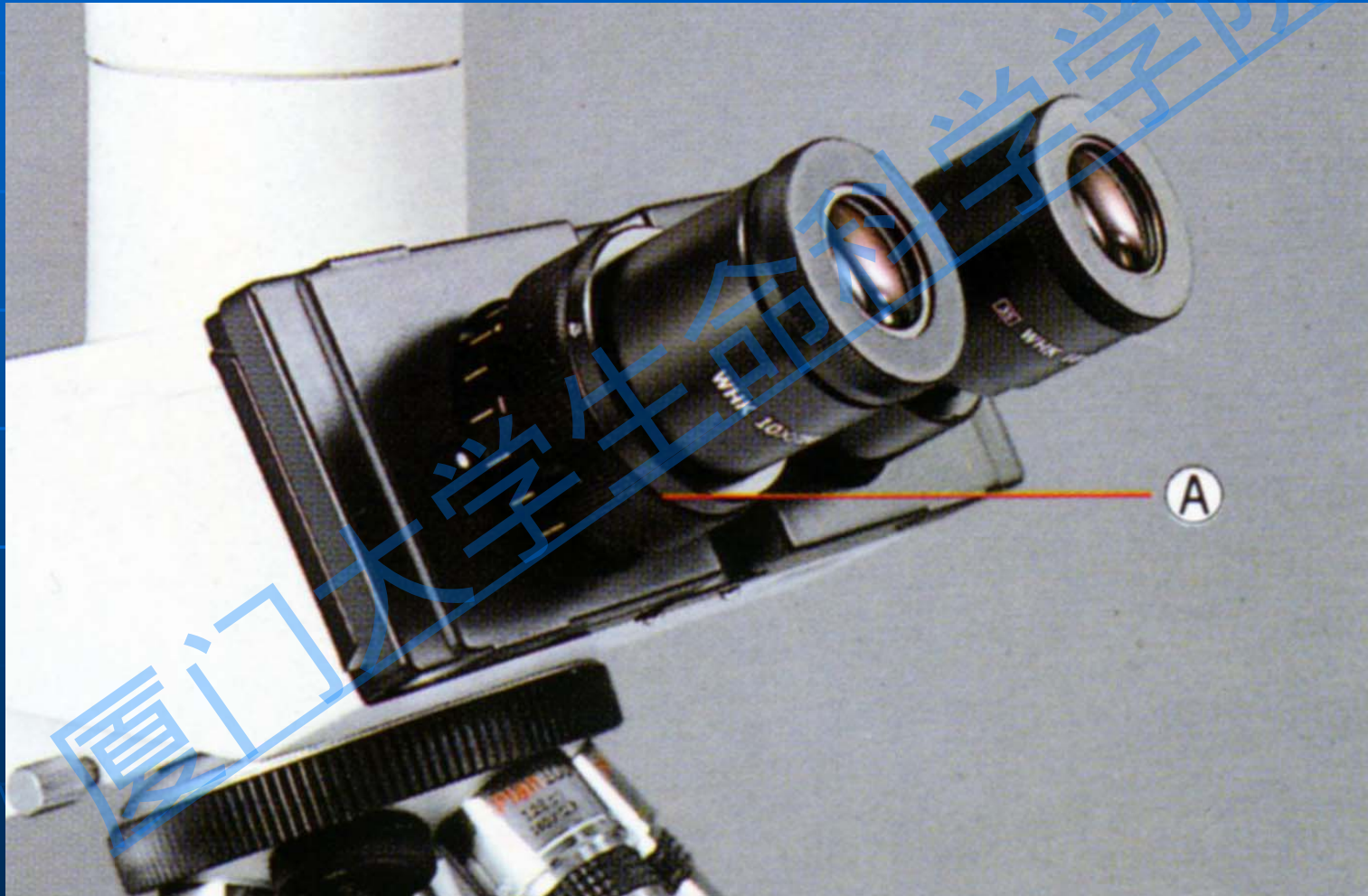


观察时双眼要同时睁开，使双眼看到的图像重合为一个图像。

旋转移动



## (2) 屈光度调节



### 3. 观察操作步骤:

#### 1) 放置标本

降低载物台，把所要观察的标本放到载物台上，用玻片夹固定平稳。

旋转载物台右侧下方的旋杆，左右，前后平移，将要观察的样品移至光路中，使标本正对通光孔。

**注意事项：**装入玻片时，要将玻片平行推入载物台样品夹，勿将玻片塞在样品夹下。



## 2) 焦点调节

- 升高聚光镜至合适的位置。（注意：不要顶到玻片）
- 旋转物镜转换器，将10倍物镜旋至光路中。
- 调节粗准焦螺旋，将载物台升至最高，缓缓下降进行调焦，直到看清物像为止。
- 再调节细准焦螺旋，将物像调制清晰。
- 调节聚光镜上的数值孔径光栏，增加反差，使图像更清晰。

### 3) 使用高倍镜观察

- 将需要**观察的部分**移到**视野的中央**，顺时针转换成高倍物镜。眼睛向目镜内观察，同时微微上下转动细调节钮，直至视野内看到清晰的物像为止。

## 4) 使用油镜观察

将观察对象移到视野中央，移开40倍物镜，将镜油滴在标本的盖玻片上，直接换入油镜，使镜头沁入油中。转动细准焦螺旋，调整焦点，使物像清晰。

**注意事项：**使用油镜后，用清洗液清洁镜头。严禁用擦镜纸干擦，以免损伤镜头。

## 4. 使用后清理工作:

- 使用完毕,取走样品放回原处,低倍镜对准光路,将**载物台调至最低处,并将光源亮度调到最小**,再关闭显微镜电源。
- 盖上防尘罩,在使用记录本上认真**填写使用记录**,待老师检查签字后,方可离开。



## 使用显微镜过程中常见的一些问题

常见问题	故障原因	解决办法
视野不完整	光路偏移, 或有物体遮住光路通道	检查物镜和聚光镜是否对轴, 目镜旁的光路拉杆是否完全拉开
视野模糊, 无法调节清楚	物镜或目镜被污染	擦镜纸沾取清洗液擦拭镜头
视野中有污点	载玻片不干净或聚光镜有灰尘	清洗液擦拭
样品反差太小, 细节不容易看清楚	亮度太强	关小孔径光栏, 增加反差
亮度不够	亮度不够	升高聚光镜或打开孔径光栏调整亮度

# 实验室常用显微镜

## OLYMPUS明视场观察显微镜



# MOTIC明视场数码互动显微镜





光标摇杆（样品的指示作用）

光路拉杆

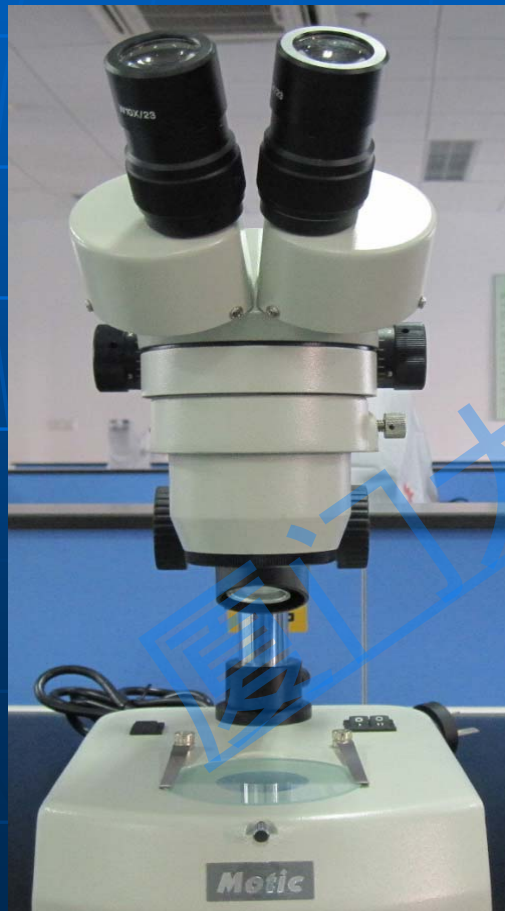
（显微观察时，将光路拉杆拉开，图像就会传到多媒体电脑中，投影在屏幕上，便于教师观察讲解）



白平衡调节键



## 体式显微镜（解剖镜）





→ 调节放大倍数

→ 调节焦距

→ 操作台

底灯和射灯

电源开关

调节光强



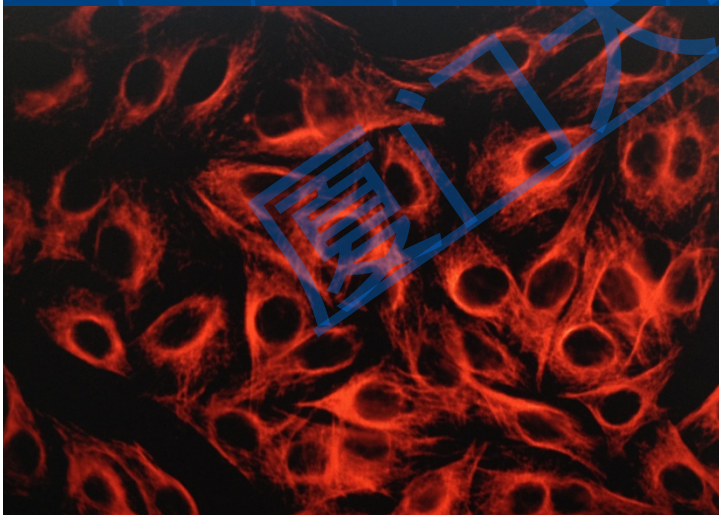
## ■ 荧光显微镜

1. 照明系统： 高压汞灯

2. 滤片系统：

■ 激发滤光片

■ 吸收滤光片



高压汞灯

荧光通道

荧光激发光源





# 显微镜实验室的要求

- 操作符合规范，不能违规操作。
  - 不能用手转动物镜镜头更换倍数
  - 不能高倍镜下取下或装上样品
  - 油镜后要及时清洗镜头
- 使用完成后要登记使用记录。
- 值日生工作认真负责。

## 显微镜实验室值日内容



序号	区域	清洁内容	工具
1	显微镜	镜体表面, 载物台清洁, 摆放整齐	白色方巾
2	实验台面	实验桌、显微镜后面、下面	蓝色抹布打湿拧干
3	中央台	台面清洁, 清洁耗材摆放整齐	归位
4	地面	杂物清扫并吸尘或拖地	吸尘器, 旋风拖把
5	座椅	座椅归位, 置于桌面下整齐摆放	归位
6	卫生区	水池台面擦干净, 抹布、拖把清洗晾晒, 吸尘器归位	更换垃圾袋

值日生完成值日工作后需请管理教师检查并在值日生登记簿上登记后方可离开



廈門大學生命科學學院

廈門大學生命科學學院