

淺談顯微鏡的 性能、選購與教學

魏金財

一、前言

自古祖先就告誡我們：「工欲善其事，必先利其器」，此話不僅人人耳熟同時也深知其義。因此人們在從事一件工作或解決所面臨的問題時，即循著確定工作的性質或問題的所在，再正確的選擇適當的工具、方法去處理。由於文明的進步和工業的發達，對現代人而言，選擇一種或數種工具去處理問題並不困難，但對工具本身的性質，可能就因忙碌的生活步調，緊湊的生活節拍而無暇去瞭解它了。故而呈現出，大部份的人都會使用工具，但卻無法對工具本身的性質做深入瞭解的現象。顯微鏡的使用可以說就是其中的一個例子。

綜觀古今中外研究生命科學的領域不外是：生命的本質、生命的維持、生命的歧異、生命的延續、生命與環境等五大領域。探討此五大領域所須借助的工具有多種，而顯微鏡可說是一種最基本最迫切不可或缺的重要工具之一。再則工具不但可以幫助我們彌補「巨視」(Macroscopic)上的不足，而且也可以幫助我們

蒐集到更多的資料，使我們得到更有利的證據來解釋一更接近事實的現象與性質。因此若對使用工具的性能有再深入的瞭解，必可使蒐集到的資料精確而完備，同時也促使研究的過程有得心應手、稱心如意的效。

本文鑑於目前國民小學自然科學教材上安排有使用顯微鏡的單元及前述之言，就個人之經驗，將有關顯微鏡的性能、操作技術和教學提出心得，供同仁在教學上的參考，俾以協助教師在教學上能圓滿的達成教學目標。

二、顯微鏡的種類

顯微鏡通常依使用光源、使用者的需求、目的與處理材料上的不同，而分為三類：

第一類是普通光學顯微鏡 (Light Microscope)。

第二類是特殊用途顯微鏡：如相位差顯微鏡 (Phasecontrast microscope)、螢光顯微鏡 (Fluorescence microscope)、偏光顯微鏡 (Polarizing microscope)……等等。

第三類是電子顯微鏡 (Electron microscope)。

本文針對目前國中、小學所使用的種類(第一類)而談，其餘種類則省略不提。

三、顯微鏡的構造

一般使用的普通光學顯微鏡 (Light microscope) 其型式雖各有異，但主要構造都是由三大部份組成：一是機械部份，一是光學部份，另一是校光部份。機械部份包括鏡筒、鏡臂、鏡柱、旋轉盤、載物台；光學部份包括接目鏡、接物鏡，校光部份包括調節輪、集光器、光圈、照光器 (或反射鏡)。

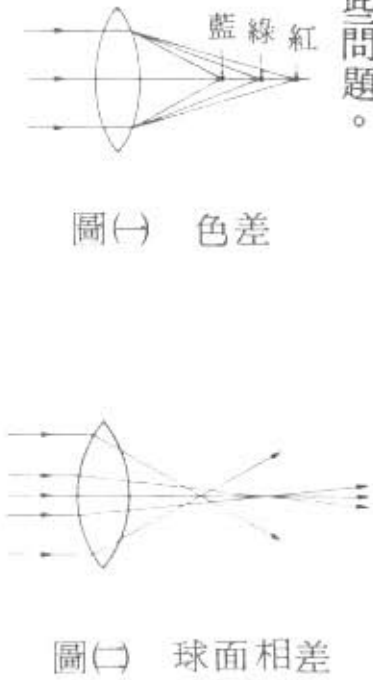
四、顯微鏡的特性

在一部顯微鏡中，透鏡 (Lens) 無疑的最重要的部份，不管是

接目鏡或接物鏡都是由一些透鏡所組成，所不同的只是透鏡的數目罷了。透鏡的品質直接的影響成像的效果，也是一部顯微鏡良窳的關鍵所在。

透鏡是由玻璃或其他透光物質所製成，它能使光產生折射現象。一片透鏡的功能由折射率、放大倍率及曲面三個因子來決定。折射率 (refractive index) 通常以 n 為代表， n 的大小決定於透鏡物質的密度；放大率 (magnification) 來自球面透鏡的球半徑，球半徑愈小，放大倍率則愈大；透鏡曲面的精確與否則影響光路徑甚大。

光通過透鏡後因透鏡的性質而有偏差 (Aberration) 現象，偏差有二種：一是色差 (Chromatic)，另一是球面相差 (Spherical)。色差是因光的各色光波波不同而造成，當白光通過透鏡後，各色光的波長不同折射率就有差異，因此形成焦距不集中而產生多種顏色在不同焦點上的現象，如圖(一)；球面相差則是透鏡外緣光線的焦距離鏡面較近之故所造成，如圖(二)，色差的現象可以藉多個不同色差的透鏡加以組合而消除之；球面相差則可藉精確的計算曲面而消除之。在早期的顯微鏡由於未能克服這兩種偏差，因而顯微鏡的功能未能充分的發揮，此情形直到一八八六年亞伯 (Ernst abbe) 及蔡斯 (Carl Zeiss) 在德國製造出一種消除偏差的透鏡才解決了這些問題。



五、顯微鏡的放大率 (Magnification):

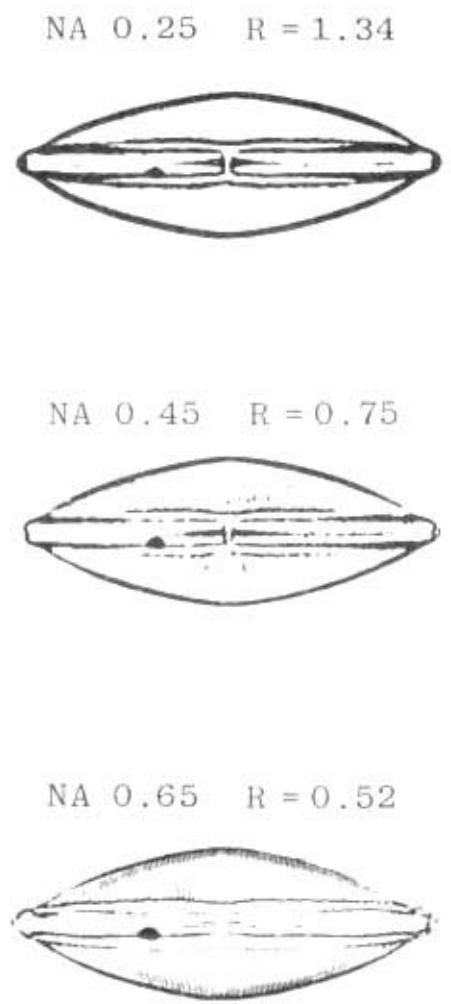
顯微鏡的放大率決定於目鏡、物鏡和管鏡系統的各個放大率，故將三者的放大率相乘起來即可得之。

六、顯微鏡的解像力 (Resolution):

顯微鏡中物鏡、目鏡及管鏡系統的放大率、解像力、視野及像的性質全是成像系統中重要的因素，一般人使用顯微鏡常只注意到放大倍率的問題上而忽略了解像力的問題，事實上解像力和放大倍率兩者之間有很大的差別。

解像力 (Resolution) 其定義為：「分辨相近兩點距離的能力」。通常我們認為兩點或兩顆粒之間除了接觸、重疊外，其間一定距離，因此兩點或兩顆粒之間到底是接觸？重疊？還是有距離？此須視觀察者以如何的解像力去觀察而定了，一般而言，人的肉眼能辨別兩點最近的距離是 150μ (即 1.5 微米，等於 1.5×10^{-7} mm)。此相當於在一公厘內能分辨出 70 條條紋的能力，因此我們就說人的肉眼解像力為 0.15 mm ，若兩點間的距離小於 0.15 mm 時肉眼就不易分辨出兩點了，那時所看到的可能只是一點，或什麼都看不清。肉眼的解像力既然有最大的極限，所以就必須借助具有更大解像力的工具以滿足人類對於「微觀 (Microscopic) 世界」的好奇與探索之心，顯微鏡的誕生也就應此而出。一般光學顯微鏡的解像力最大可接近於 0.2μ (一個 μ 等於 10^{-6} mm)，遠比人的肉眼要強多了，但當兩點的距離小於 0.2μ 時，光學顯微鏡也同樣無法再分辨出來了，因此電子顯微鏡也就被開發出來，電子顯微鏡的解像力大約可達 5 \AA (一個 \AA 等於 10^{-8} cm)。有了這些高解像力的工具後，許多使人們感到疑惑的問題因此被解決，一些令人感到神秘的事件也被揭發出來了。

關於在不同解像力的情況下觀察同一物體的結果情形可由圖(三)說明之：圖(三)顯示在相同放大倍率下，分別以解像力為 1.34μ 、 0.9μ 、 0.5μ 下觀察同一個矽藻 (Diatom) 的結果，在解像力 (以 R 為代表，以下同) 為 1.34μ 時我們只能看出矽藻上下二片半殼相嵌合的情形；在 $R = 0.9 \mu$ 的情況下，除了可看出矽藻上下二片半殼相嵌合的情形外，尚可隱約的看到在兩半殼上有線紋；在 $R = 0.5 \mu$ 時



圖(三)：在相同倍率下以不同的解像力觀察同一個矽藻的結果

合的情形外，尚可隱約的看到在兩半殼上有線紋；在 $R = 0.52$ 時，除了可看到上述的情形外，更可明顯的看出在殼上的橫紋了。經由圖(三)的圖示或許可幫助各位對解像力有更深一層的瞭解，同時也可以看出解像力是決定顯微鏡功能大小最重要的因素了。

七、決定顯微鏡解像力 (Resolution) 的因素：

決定一部顯微鏡解像力的大小，實際上物鏡扮演著極重要的角色，而目鏡對解像力可以說是完全沒有幫助的，關於這一點是所有使用顯微鏡的人所必須瞭解和認識的。

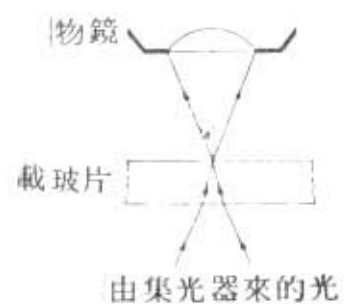
顯微鏡的解像力可由亞伯公式 (Abbe's formula) 求出，亞伯公式為：

$$d = \frac{k \lambda}{n \sin \theta}$$

此式中， d 是兩點間的距離， k 為一常數，其值為 0.61 。 λ 為使用於顯微鏡的光波長，一般光學顯微鏡使用的光波波長以 0.55μ 計算之。 n 為介質的折射率，此處的介質指在物體與物鏡透鏡之間的介質。 θ 為物鏡視角的半角，如圖(四)，表示可進入物鏡光量的多少。

在使用時我們則以 R (Resolution) 代替亞伯公式中的 d ，同時也把亞伯公式的 $n \sin \theta$ 以 NA 代替之，因此一般常見的顯微鏡解像力的通式為：

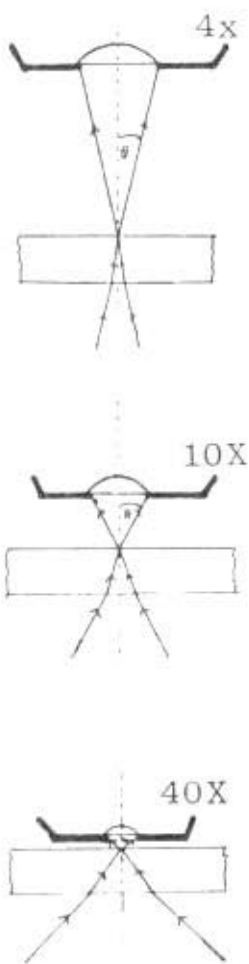
$$R = \frac{k \lambda}{NA}$$



圖(四)：亞伯公式中的 θ 角圖示

$n \sin \theta$ 因又稱為孔徑數 (numerical aperture) 故簡稱 NA 。 NA 值在較高級的顯微鏡中都會在物鏡上標示出來 (通常標示於物鏡倍數後斜線的右方，或物鏡倍數的下方，如 $\times 10/0.25$, $\times 40/0.65$ 或 $\times 10 \times 40$ 。如未標示於物鏡上者則會載示於產品說明書上。(一般光學顯微鏡物鏡， NA 最大值約在 1.4 左右。)

由上可知決定光學顯微鏡解像力的因素，主要的是使用光源波長的種類和物鏡 NA 值的大小兩項，但事實上還有一個干擾解像力的因素常被忽略掉，這個因素其實並非顯微鏡本身的內在因素 (指顯微鏡的結構)，而是由於使用者的不慎所造成。請您回憶一下剛才所提到的 NA 值， NA 值是由 n 和 $\sin \theta$ 的乘積而來，故 n 和 θ 不受人為因素的影響。但使用高倍的物鏡時，如光圈太小，可能會造成光的繞射及光度小造成反差過低的現象，而使解像力降低。光圈口徑與物鏡的關係我們可以由圖(五)的圖顯示出來：在圖(五)的三個圖中，分別表示 4 倍、 10 倍、 40 倍的物鏡與光圈口徑大小的關係



圖(五)：三種物鏡與其光圈口徑的關係

係。在此圖中可以看出使用低倍的物鏡時所須的光圈口徑較小，而使用較高倍的物鏡時則所須的光圈口徑要增大。因此在使用高倍的物鏡時，如仍用低倍時的光圈口徑，則解像力就會受到干擾，由此知如何決定使用每個物鏡時光圈口徑的大小以保持最佳的解像力，乃是操作顯微鏡所必須牢記的。

尋找一個適度的光圈級數以配合所使用物鏡種類的調整方法可由圖(六)來說明：圖(六)有三個圖，(1)圖是光圈過小。(2)圖是光圈適合



圖(六)：各種物鏡下適度光圈的調整法

。(3)圖是光圈過大。調整出適度的光圈口徑之方法是把目鏡從鏡筒上拿出，然後從鏡筒中往內看，此時把光圈調到最小，即可看到(1)圖的情形，接著把光圈放大，放大到使光射入的口徑等於由鏡筒內所看到的光亮口徑時，再把光圈轉小一級回來，即是一個適度的光圈，此時看到的情形就如(2)圖，若上述情形的光圈未轉回一級或轉的更大，則如(3)圖，此時由於光的亮度太亮反而使得反差的現象降低，此情形也會使解像力降低。上述調整光圈的步驟必須對每個物鏡皆使用之，在每個物鏡下所調整的光圈數可寫於貼紙上黏附於顯微鏡的鏡柱或鏡座上，下次操作時即可依此記錄調整光圈數。如此之下即可保持每次的顯微觀察都在最佳的解像力狀況上，而發揮顯微鏡的最大功效。

八、顯微鏡的選購要訣

擔任過自然科學的同仁多少都會有在學校選購顯微鏡時被徵詢的經驗，或許在當時您只是憑著直覺去選購，或許您也試著去調調轉轉的才去選購；不管如何，如果您細心和耐心的看了前段的介紹，相信對您選購顯微鏡必有或多或少的幫助，爲了能更有效的幫助您選購一部實用而完美的顯微鏡，筆者再提供一些經驗以供您的參

考：

(一)解像力的大小——看 λ 值，以前述的公式代入計算之，若物鏡未標示之 λ 值，說明書上也沒記載，勸您勿買爲妙！若您願意去買，惟一的方法就是以矽藻永久包埋玻片用已知解像力的顯微鏡對照之，或以本文圖(三)的圖片對照之。

(二)檢查側色差——側色差有別於色差和球面相差，色差和球面相差以肉眼不易精確辨別出，但側色差可以用肉眼辨認出。側色差的現象是視野的中心清晰，但視野周圍模糊不清者。

(三)檢查調節輪——轉轉看調節輪靈敏度如何？會不會有滑落現象。

(四)檢查同焦性——由低倍至高倍逐個檢查每個物鏡的同焦效果，同焦性是低倍調整出來的焦距，至高倍時也是同一焦距。

以上四項是品質的檢查，下面的五項則是給您的建議：

(五)最好選購扇頁式的光圈，扇頁式的光圈在使用上優於轉盤式的光圈，其優點是扇頁式光圈的使用彈性範圍較廣，易於配合光度、解像力、反差和景深。

(六)最好選購自備光源的，自備光源可免於反射鏡使用上的一些困擾和麻煩。如果您有興趣於顯微照像則自備光源會帶給您極大的方便。

(七)最好買屈鏡臂的，屈鏡臂的大部份鏡筒可以旋轉，兩人以上觀察時既方便於第一人，不須移動位置，又方便於第二者就最適位置觀察，再則坐姿也較舒服。

(八)最好選購以轉動載物台調焦距的，此種型式可使操作者的坐姿固定，頭部不須上下移動，可減低頸部酸痛。

(九)最好選購有載玻片驅動器(attachable mechanical stage)此型式方便於找尋觀察目標，操作也簡便。

除了以上四項的品質檢查和五項選購的建議外，您千萬別在放大倍率上受到推銷者的矇騙，這是因爲許多推銷者往往以高倍率來渲染誇大其高功能，但事實上許多高倍率顯微鏡其解像力的功能只

與一些低倍率的解像力相仿而已，這點只要您能把握住之，值就可瞭解了。再則一般顯微鏡亦可藉增長鏡筒的方式來達到其放大倍率的增加，因此您不要固執於放大率而忽略了解像力。

九、教學與操作技巧：

筆者在前言中提過，使用工具的目的在提高蒐集資料的能力，但有了工具如果不能有效而精確的去操作就無法保證一定可以獲得有利的資料，因此除了瞭解工具的性能外更應配合操作的技巧，方可發揮工具的最大效果。尤其在教學上，我們希望透過工具或儀器的使用以輔助學習活動達成教學的目標，然而往往因操作處理過程的疏忽不但無法達成預期目標，反而造成反效果及一些困擾，此種情形實應極力避免。

目前於國民小學自然科學課程裏，在五上第四單元、五下第六單元及六上第三單元等三個單元中安排有顯微鏡的觀察，從這三個單元所使用的材料，許多老師的反應及實際參觀教師的教學活動，筆者綜納一些常使教師困擾的地方及排除困擾的方法簡述如下：

(一)對於全不透光或透光性不良的材料（指無法製成切片者）處理方法：

從顯微鏡的構造中可以看出顯微鏡光源的設計是從下方穿透被觀察物體，再進入物鏡、目鏡，而達人的眼睛，因此觀察的材料必須保持良好的透光性，才会有清楚的成像，否則成像效果不佳，縱使讓學生看了半天也是白費工夫，因此遇上透光不良或全不透光的材料（如：粉末、頭髮、無機物顆粒等）時必須改善光源的角度，以滿足觀察時的需要。一般而言，處理透光不良或全不透光的材料時通常是關閉穿透光源，改以在載物台斜上方處設置光源，以斜上方往觀察物體上投射的方式必可清晰的窺得物體全貌。

(二)對於透光性太大或幾近透明無色材料處理方法：

這一類的材料通常要靠染色的方式處理，染色時所須的染料常因觀察的目的與材料的性質而有所不同，但此嚴謹的要求通常在專

業工作上需要，以目前國小階段而言尚不須如此要求，因此只要達到增加明視度即可，所以在指引上也只列了一些常用的色劑，如墨水、碘酒那一類的東西，除此之外，若您想把材料以最佳的染料來染色時，以國小所採用的材料分列如下：

1. 氣孔、洋葱表皮細胞可用番紅 (Safranin O)

2. 口腔皮膜細胞可用甲基藍 (Methylblue)

3. 酵母菌亦可用甲基藍。

(三)以反射鏡收集光源的顯微鏡不易收集到光的處理方式：

用反射鏡收集光源的顯微鏡，因受光源的位置、方向、角度的影響常須移動整台顯微鏡以找到最佳的光源位置，因此常使教師和學生感到困擾，目前大部份使用此類顯微鏡者，在找光源時都以眼望著目鏡，以手搬動反光鏡的方式，對於操作顯微鏡尚不熟稔者可能就爲了找適當的光源而被折騰了老半天，鑑於此，筆者提供一種便捷而又有效的辦法做爲您的參考：

(1)首先要放棄以眼望目鏡的方式，改以離開目鏡，兩眼注視於載物台光孔處。

(2)將一片有色的玻璃紙置於載物台上，然後搬動反光鏡，當光徑反射對準了載物台的光孔，玻璃色紙上就可看到一明亮的光團，此時便是調對了反光鏡。此法若已熟練時亦可直接用一片載玻片代替有色的玻璃紙。

此種實用的方法熟練後亦可幫助您檢視兒童操作反光鏡的正確與否，此時您只要在旁走過時瞄一眼其光孔處不明亮就知學生調正確了沒有，從此您再也不須一個個低著頭去檢示兒童操作調節的正確與否了。

(四)不易找到指引所列的材料時，替代品的選擇：

各校因環境的不同，往往指引所列的材料不易取得，此時替代品的出現乃是教學時所最迫切的需要，因此如何取得廣泛的替代品，以滿足教學上的需要，此乃是身爲一位教師所必須具備的共識，在此筆者以自己的經驗提供如下：

1. 觀察植物細胞的替代品：

水蘊草的替代品——舉凡具有葉片的沈水植物皆可，如馬藻 (Potamogeton crispus) L.)、水王孫 (Hydrilla verticillata L. f. Royle)、台灣簕藻 (Blyxa echinosperma (C. B. Clarke) Hook. f.)、大苦草 (Vallisneria spiralis L.) 等等。如無具葉片的沈水植物，則可用葉片較薄的浮水植物，如眼子菜科 (Potamogetonaceae) 之各種植物。

2. 觀察氣孔及表皮細胞的替代品：

洋葱的替代品——鴨跖草科 (Commelinaceae) 的植物皆適合，如吊竹草 (Zebrina pendula Schnizl.)、蚌蘭 (Rhoeo spathacea (Sw.) Tearn)。百合科 (Liliaceae) 的萬年青屬 (Rondeletia) 或石蒜科 (Amaryllidaceae) 的文珠蘭 (Crinum asiaticum L.)、孤挺花 (Hippeastrum equestre (Ait.) Herb)……等等。依筆者經驗，凡單子葉植物且葉質(革質或肉質)稍厚者直接撕裂出來的表皮細胞、氣孔的效果皆不錯。

3. 觀察氣孔時以直接撕裂法不易取得的其他方法：

氣孔的取得除直接撕裂法外，尚可用樹脂或指甲油薄塗於植物下表皮上，待乾後(約20~30分鐘)以攝子撕下樹脂或指甲油之印模法其效果亦佳。有些植物其氣孔常下陷於表皮組織之水平面以下，故用印模法往往不能得到清晰的效果，此時可用化學藥品處理法，將葉片切成小方塊(約5~10mm²)，置於30%硝酸並加入少量 potassium chlorate 溶液中，於小燒杯內煮沸數分鐘，則可見上下表皮組織分成二片。取之在清水中沖洗乾淨即可於顯微鏡下觀察。

十、結語

顯微鏡觀察的學習活動，對國小兒童而言，提供了微視 (Microscopic) 世界的初次經驗，使兒童探索到大自然裏另一個奇妙的世界，這種經驗或許驅動他強烈的學習動機，或許改變了他學習

的興趣，或許牽引他將來走上生物科學的研究領域中，因此如何提供一個適當的學習環境，供應兒童在學習環境中一切良好而精確的工具，使兒童在學習中透過科學方法的訓練達成概念的學習，造就成具有正確的科學態度、完整的科學概念和精熟的科學方法之國民，能適時、適地、適事、適物的解決問題；同時使所有兒童於每個日子裏，都在滿懷著快樂、喜悅、滿足、豐收中成長，此乃教師們責無旁貸的任務，故本文之提出旨在提供更多的教學背景資料供教師教學與兒童學習活動之參考，俾使科學教育能深深的落實於國民小學上，而加惠於未來的小小主人翁。

參考書目：

- 1、王長君 顯微鏡底下的生物 台北：科學月刊社 民國66年。
 - 2、徐君憲譯 實用顯微鏡學 台北：徐氏基金會 民國60年
 - 3、溫永福等 生物學實驗 台北：南宏書局 民國70年。
 - 4、師大生物系 植物生理學實驗指引 台北：師大出版組 民國67年。
 - 5、台灣植物誌編輯委員會 Flora of Taiwan Volume V 台北：現代關係出版社 民國67年。
 - 6、Johansen D.A. Plant Microtechnique 台北：歐亞 民國62年。
- (魏金財：國立師範大學理學士，桃園縣中平國小教師，現應邀於本會參與自然科學課程研究發展工作)