

# 電子顯微鏡與醫學

楊永盛  
吳秋娥

## 一、緒言

醫學之主旨在於“活人”，醫學之研究，則不外乎“治療疾病”及“保持健康”兩大範疇。前者治標，後者治本。治標在求沉疴迭起，治本在使長樂永康。凡此皆有賴正確之診斷，及詳盡之檢查，否則難以爲功。然人體之組成細胞何止億萬個，其微細實逾於秋毫，其形態之變化，又豈是人類肉眼所能窺悉。惟有借助儀器，方能明瞭一二。光學顯微鏡自其問世（17世紀）以來，一直爲個中寵兒，然而隨著人類知識的累積，其有限的放大倍率實不能滿足人類求知的慾望和研究的需求。於是，科學家們遂尋求其它更精良的儀器，電子顯微鏡即應運而生。

電子顯微鏡自1931年問世以來，迄今40載餘。其用之於醫學上，則屬二次世界大戰之後。然其對醫學上的研究和診斷，影響卻至深且巨。以往許多不能用光學顯微鏡觀察病理形態改變的疾病，現在都可以用電子顯微鏡得到合理滿意的解釋。同時，對於微小病毒、癌症、生化遺傳，以及自體免疫疾病等生命科學重要難題的研究，電子顯微鏡更提供了莫大的貢獻。不僅如此，電子顯微鏡在目前工業上、冶金學上、生物學上，以及一般的自然科學研究上，都扮演了一個非常重要的角色。

國內自民國47年（1958年），第一部電子顯微鏡正式啓用之後，十餘年來，已陸續有十九部電子顯微鏡加入國內科學研究的行列，分別在各大學、研究所或研究機構裏擔任著各種不同的研究任務，使我科學研究工作呈展一片新的景象，這是個非常可喜的現象。本文特將此研究工具及其在生物組織以及醫學研究上的應用，作一系統性的介紹。

## 二、電子顯微鏡發展史

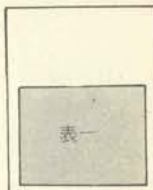
電子顯微鏡的理論基礎，應溯及1920年代。在1924年德人 de Broglie 首先發表了電子光學波動說<sup>(2)</sup>，認爲電子束與光線相似，是作波形運動的，但其波長則遠較光波爲短。在1926～1927年間，Hans Busch 進一步的以實驗證明了電子束通過磁場時有一定的焦距<sup>(3)</sup>，這是電子磁透鏡（electron magnetic lens）的首次問世，也因此奠定了電子顯微鏡的結構基礎。

1931年德國人 Max Knoll 與 Ervst Ruska 製成了第一部電子顯微鏡<sup>(1)</sup>（註一）（見圖1）。同一時期，H. Mahl 也製出了第一部靜電型電子顯微鏡<sup>(4)</sup>（electrostatic microscope）。此後電子顯微鏡的研究、設計與製造，即風起雲湧，非常盛行。在1930年代末期至1940年代初期，如德國的 Simens、英國的 Metropolitan、荷蘭的 Philips，以及美國的 RCA 等公司，均陸續地推出各型電子顯微鏡，這一時期的電子顯微鏡，則以穿透型（transmission type）者爲主。

在此時期之同時，一種稱之爲掃描型（Scanning type）的電子顯微鏡亦在研究發展中。其原理亦爲德人 Max Knoll 於1935年最先發表<sup>(5)</sup>。1938～1942年間，Ardenne 和 Zworykin 最早試製<sup>(6)</sup><sup>(7)</sup>。直到1965年末，英國及日本始分別製造成爲商品，最近才漸受重視。

此外，爲特殊用途，在1960年代末期更發展設計出另一種超高壓型（300KV以上）電子顯微鏡，可用以直接觀察細胞的生活情形。

綜觀電子顯微鏡從理論的萌芽到目前的實用，僅短短50年的歷史，但其成就卻甚爲驚人。同時對於試樣（Specimen）的製備方面，也有很



大的改進。茲將電子顯微鏡及其試樣製備法的發展經過情形，歸納如表 1，以供參考。

### 三、電子顯微鏡的基本結構與作用原理

#### 1. 電子的產生—電子槍

電子槍 (electron gun) 為產生電子束 (electron beam) 以作為電子顯微鏡光源的裝置，其主要構造如圖 2 所示。當加速電壓 (accelerating potential) 作用於燈絲 F 和陽極 A 時，陰極受熱之燈絲即放出熱電

子而射向陽極。此時由於燈絲 F 受環繞之 Wahnnet cup 柵極 G 之柵子作用，發生電位降 (voltage drop) 而在柵極 G 和陽極 A 之間產生了等電位面 (equipotential surface)，有透鏡作用之特性。當電子穿經其間，即被集束而成一微點 a，此即為電子顯微鏡實際上之光源<sup>(9)(10)</sup>。電子槍發射的電子束，其發射量及強度完全由兩極間的電位差及燈絲的溫度而定，同時此等作用係在 10<sup>-6</sup> torr 之高度真空內完成。

#### 2. 電子的波性質

—運動中的電子 e，若其速度為 v，質量為 m，則可由 de Broglie 波長定律<sup>(2)</sup> 得波長 λ 為

$$\lambda = \frac{h}{mv} \quad (1)$$

h 為 plank 常數，等於 6.624 × 10<sup>-34</sup> joule · sec。

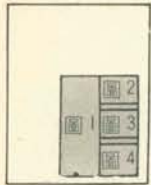
若在加速電壓為 V 時，則電子速度 v 為

$$v = \sqrt{\frac{2eV}{m}} \quad (2)$$

式中 e 為電子所負荷之電量。

表 1 電子顯微鏡及其試樣製備法之演進狀況

年 代	電 子 顯 微 鏡	試 樣 之 支 接 觀 察	複 製 法	超 薄 切 片 法
1920	1924 電子波動說			
1930	1931 電子顯微鏡開始試製。			
	1939 穿透型電子顯微鏡成為商品，開始出售。			
1940		1941 試樣支持膜之使用 (supporting film method)	1943 真空蒸着法之應用 (evaporation technique)	
		1944 投影法之使用 (shadow-casting)	1947 複印法之應用 (replica method)	1949 methacrate 樹脂包埋法
1950				1950 玻璃刀切片法
				1952 OsO <sub>4</sub> 固定劑之使用
			1954 碳蒸着法 (carbon evaporation)	1952 超微切片機問世 (ultramicrotome)
		1959 負染色法之使用 (negative staining)	1959 碳—鉑蒸着法 (c-pt evaporation)	1956 epoxy 樹脂包埋法
1960	1965 掃描型電子顯微鏡開始出售	1962 核酸之觀察	1962 冷凍蝕刻法 (freeze etching)	1966 鑽石刀切片法
	1969 超高壓型電子顯微鏡問世	1962 高熔點金屬投影法		
1970	1970 全自動型電子顯微鏡問世			



上式在加速電壓  $V$  超過  $50KV$  時，必須用相對論加以修正，即

$$m = \frac{m_0}{\sqrt{1 - \frac{v^2}{c^2}}} \quad (3)$$

式中  $m$  為運動中電子的質量， $m_0$  為靜止時電子的質量， $c$  為光速。

經修正後，並將各常數代入化簡，得適用於高加速電壓  $V$  的電子波長  $\lambda$  為

$$\lambda = \sqrt{\frac{150}{V(1 + 10^{-5}V)}} \quad (4)$$

### 3. 電磁場的透鏡作用

電子穿經不同電位區時，一如光穿過不同折射率物質，會發生折射現象<sup>(8)</sup>。現設有一電場，如圖3，係由許多不同曲率的等電位面所構成，電子穿經其間，即受到吸引與排斥的作用而發生折射。此具有不同曲率但為對稱等電位面所構成的電場，其對運動電子的作用，如圖4所示，凡是經物端焦點  $F_0$  穿過電場之所有電子，必與軸相平行；而平行於軸入射於電場之電子，必通過像端焦點  $F_1$ ，故其成像與放大原理與玻璃透鏡相似。

假設運動電子在一均勻磁場  $H$  內，如圖5所示，電子若與磁力線成一斜角  $\alpha$  入射其中，則其平行磁力線方向的分速  $v_x$  不受磁力之作用，但其垂直於磁力線方向的分速  $v_y$  將受磁場作用而偏向，形成一螺旋形運動軌迹<sup>(8)</sup>。螺旋半徑為

$$r = \frac{mv_y}{eH} = \frac{mv}{eH} \sin \alpha \quad (5)$$

繞軌道一周所需要時間為

$$t = \frac{2\pi r}{v_y} = \frac{2\pi m}{e} \cdot \frac{1}{H} \\ = 3.67 \times 10^{-11} \cdot \frac{1}{H} \quad (6)$$

是故，當磁場  $H$  固定，則所有自中心軸上  $P$  點射出之電子，在經過運動一週期後，必均聚焦於中心軸上  $P'$ 、 $P''$  等點，如圖6，此即類似於凸透鏡聚焦作用之原理。

### 4. 電磁透鏡的構造與作用

圖7為一種實際的電磁透鏡之構造<sup>(9)</sup>，主要由線圈 (coil)、骨架 (yoke) 和極片 (pole piece) 所組成。當電流加到線圈上，骨架即被磁化，而沿軸心產生一對稱之磁場。有時亦可用永久磁石代替此線圈。極

片是以高純度之純鐵製成，可用以選擇磁通量 (magnetic fluxes) 而產生一非常強的磁場。

當運動電子穿過此電磁透鏡的磁場時，由於此磁場在垂直於軸心方向產生一向心力，故受此力作用而被集聚。同時，電子亦作螺旋線形運動，繞著軸心而旋轉。如圖8所示，說明了電子穿透電磁透鏡後影像形成的情形<sup>(11)</sup>。圖中電磁透鏡之兩極片分別以  $x-y$  和  $x'-y'$  座標表示，其軸心以  $z$  表示，物面與軸心正交，當電子束從物體上 (即物面上) 一點  $P$  (設在  $Y$  軸上)，平行於中心軸  $z$  而入

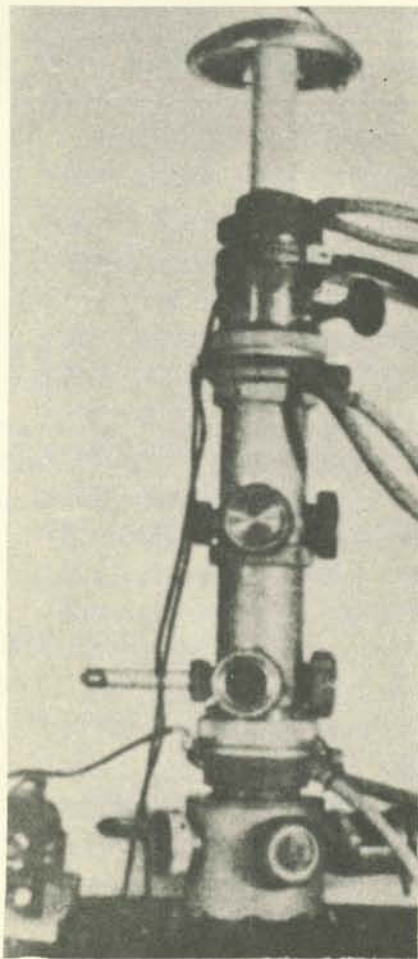


圖1 第一部穿透型電子顯微鏡 (德人 Max Knoll 及 Ernst Ruska 所製成發表於1934年)

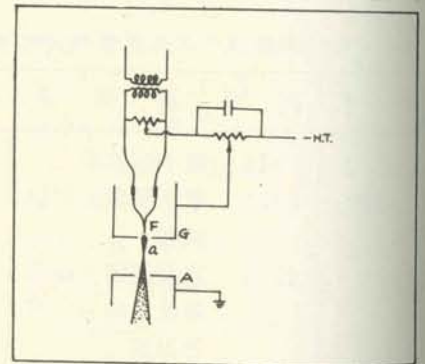


圖2 電子槍之構造

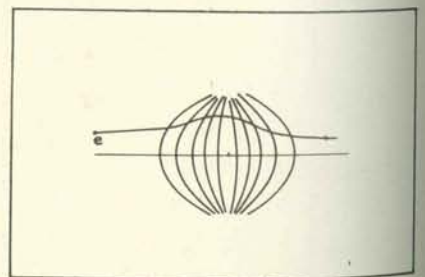


圖3 電場對電子之效應

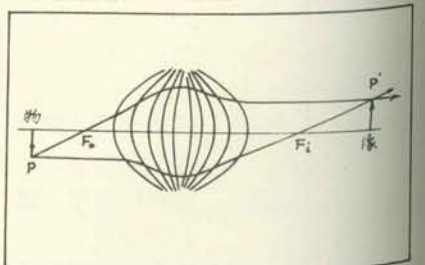


圖4 電場之透鏡效應

圖 5	圖 8
圖 6	圖 9
圖 7	

射， $P_0$  即為電子經電磁透鏡後，在像面上所得的像點。在光學凸透鏡條件下，若為實像  $P$  點的影像位置，對  $z$  軸而言應在與  $P$  點角度差為  $180^\circ$  的  $P_0$  點。然而使用電磁透鏡時，則像點  $P_0$  與  $P$  之角度差變為  $180^\circ + \theta_i$ 。

### 四、穿透型電子顯微鏡

穿透型電子顯微鏡 (transmission electron microscope) 簡稱為 TEM，是最早發展成功的電子顯微鏡。早在 1931 年即出現了第一部，往後經過不斷的研究、革新，目前的

操作已進入自動化時代，成為一件強有力的研究工具。

### 1) 結構與成像原理

TEM 的構造<sup>(10)</sup>，大致可分為顯微鏡鏡體 (column)、真空系統 (vacuum system) 及電源供應系統 (power supply system) 三大部分。

#### A. 鏡體部分

TEM 鏡體是以電磁透鏡系統為中心，包括電子槍、照射系統 (illu-

mination system，包括兩個由電磁透鏡組成的聚光鏡)，試樣室，透鏡成像系統 (lens system，包括物鏡、中間鏡及目鏡三者，均由電磁透鏡組成)，觀察室和攝像裝置等，以及控制上述諸裝置的操作鈕鍵所構成，如圖 9 所示。

#### B. 真空系統

TEM 鏡體內，從電子槍到攝像裝置的整個鏡體部分，在操作時，都必須保持在  $10^{-6}$  torr 之高真空狀態中。為獲得此高度真空，一般設計之

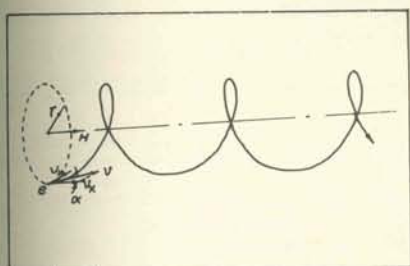


圖 5 電子在均勻磁場內之運動

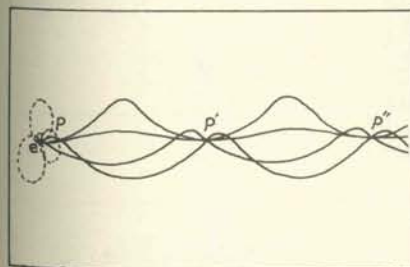


圖 6 均勻磁場內電子束之特性

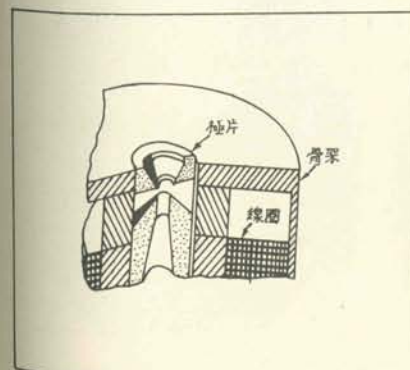


圖 7 電子透鏡之構造

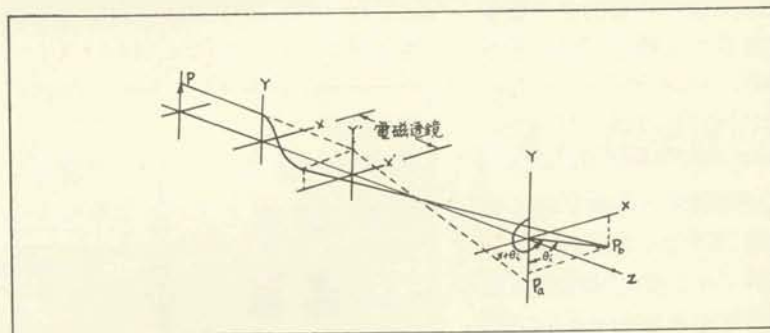


圖 8 電子穿經電磁透鏡後之成像

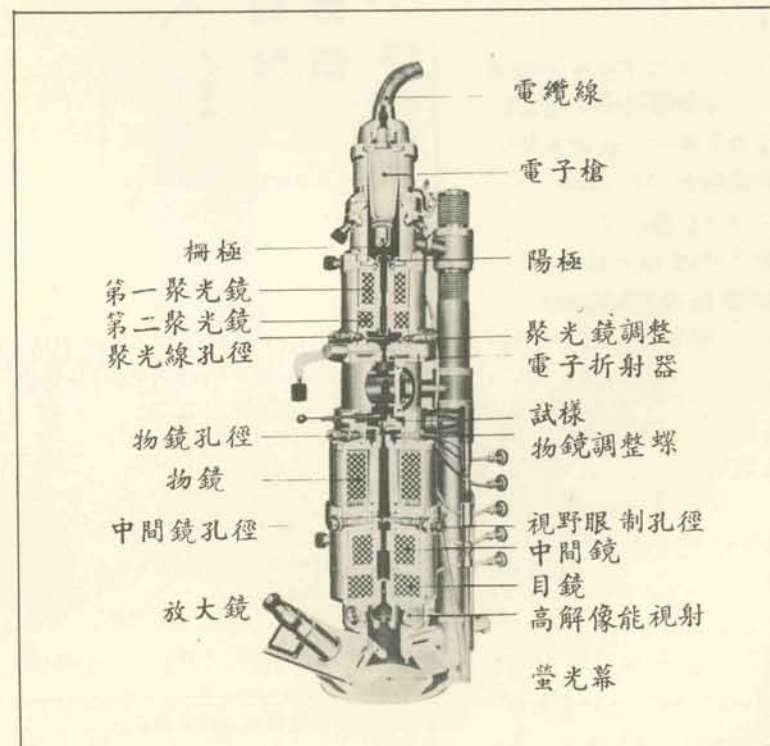


圖 9 電子顯微鏡結構剖面圖



真空系統是由兩個油迴轉式幫浦和兩個油擴散式幫浦所組成。

### C. 電源供應系統

電源供應系統係供應 TEM 鏡體內各部分所需之電源，其略圖如圖10。

雖然 TEM 的構造可分為三大部分，但實際的成像作用則完全由其鏡體內的透鏡系而決定。組成 TEM 的電磁透鏡，以其功能可大致分為聚光鏡 (condenser lens)、物鏡 (objective lens)、中間鏡 (intermediate lens) 以及目鏡 (projective lens) 四種，但其構造及原理是相似的。其成像的原理與一般的光學顯微鏡相同，各種成像的情形<sup>(9)</sup>，如圖11所示。

表2 TEM與光學顯微鏡之比較

項目	光學顯微鏡	穿透型電子顯微鏡
光源	可見光 (陽光或燈光)	電子束 (高壓放出之熱電子)
介質	空氣和玻璃	高度真空 ( $10^{-6}$ torr)
透鏡	玻璃透鏡	電磁透鏡
放大作用	玻璃透鏡作用	電磁場之透鏡效應
加強放大系統	目鏡	中間鏡
影像放大	物鏡與目鏡之配合	物鏡、目鏡固定、中間鏡之調整
試樣	厚度數 $\mu$ 、至數 Cm 均可	厚度須小於 $1,000 \text{ \AA}$ ( $10^{-5} \text{ cm}$ )
影像觀察	眼睛直接於目鏡上觀察	投射於螢光幕上再觀察
焦點調整	上下調整物鏡	調整物鏡之磁場強度
直接放大率	極限值為 2,500 倍	目前已放大至 50 萬倍
解像能	約 $2,000 \text{ \AA}$ (極限值)	已達 $2 \text{ \AA}$

### 2) 與光學顯微鏡的比較

光學顯微鏡的放大倍率，因受到可見光的波長，透鏡玻璃的折射率，以及透鏡焦距、焦點深度等等的影響，放大倍率僅能在 2,000 倍之內，超越此倍率之微小物質或結構，即無法觀察研究；然 TEM 則以高壓放出的熱電子作為光源，在真空中穿透電磁透鏡的磁場，而使影像放大。由於沒有以上種種影響倍率的因素存在，所以打破了光學顯微鏡倍率上的限制 (2,000 倍)，而往前邁進了一大步 (直接放大倍率為 500,000 倍)。其詳細之比較，如圖 12 及表 2 所示。

### 3) 分類

TEM 以其使用之加速電壓及其價格可分成三類<sup>(13)(14)</sup>：

A. 普及型：最高加速電壓在 60KV 左右，放大倍率約達 10 萬倍，解像能 (resolving power) 在  $10 \text{ \AA}$  左右。特點是操作簡便，用途僅限於對微粒體形態、物質表面構造、以及組織切片等的觀察，圖 13 為此型 TEM 之一例

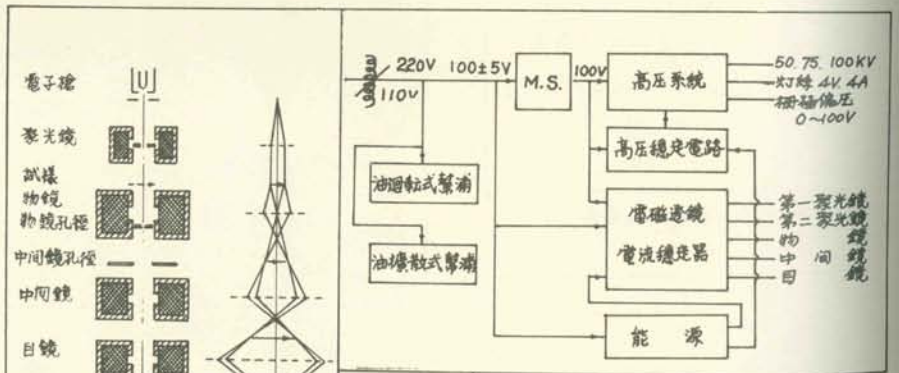


圖10 電源供應系統略圖

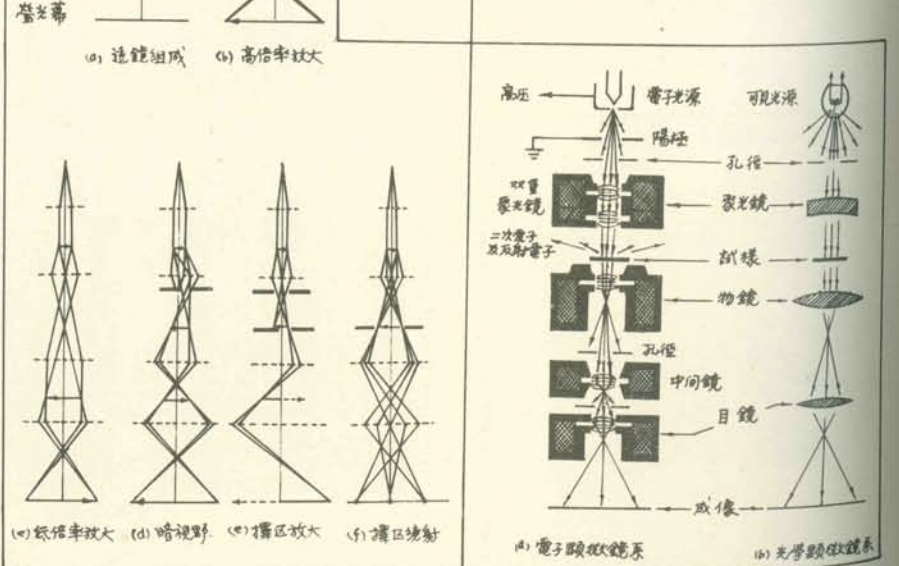


圖11 電子顯微鏡之各種成像

圖12 TEM 與光學顯微鏡之比較



- B. 高性能型：又名萬能型，其所使用的加速電壓範圍較大，自20KV至125KV不等，放大倍率可達50萬倍，解像能達 $2\text{ \AA}$ ，可對所有試樣作精細之研究，並可利用各種特殊裝置在試樣上給予種種外在條件（如高、低溫、傾斜、迴轉等）而進行觀察。為目前應用最為普遍者。圖14為其一例。
- C. 超高壓型：此專為特殊用途而設計，一般加速電壓在300KV以上者稱之，目前最大者3000KV。此型TEM原為生物學上之要求而設計，後來因其超高壓加速的電子穿透力及繞射能力良好，反在其他科學研究方面（如金屬冶金學、結晶學等）應用較廣。不過，目前由於已有把活試樣直接觀察之可能，此型TEM復在生物界引起廣泛的注意。圖15

所示者為此型TEM之外型。

#### 4) 生物學及醫學上之應用

TEM發展的初期，因為放大倍率不甚高，又因組織（tissue）切片的困難，故其主要用途多為金屬方面的研究。直到二次世界大戰後，在生物學及醫學上的應用才日漸發達，切片（sectioning）、包埋（embedding）和染色（staining）等技術的革新，才使TEM在這方面的貢獻日益明顯。

使用TEM觀察的試樣，由於其必須能被電子所穿透，故其厚度受到一定的限制，必須小於 $1000\text{ \AA}$ （ $1\text{ \AA} = 10^{-8}\text{ cm}$ ），因此TEM試樣之製作技術也就成了一門專門的學問。以組織的觀察而言，要將大塊的組織製成適合於TEM觀察研究的試片，必需經過取樣、固定（fixation）、脫水（dehydration）、包埋（embed-

ding）等過程，最後以超微切片機（ultramicrotome）作超薄切片（ultrathin section），切成厚度為 $500\sim 1000\text{ \AA}$ （即 $1/20\sim 1/10\mu$ ）的試片<sup>(15)(16)</sup>，而供TEM觀察。圖16即為組織試片的製作程序圖解<sup>(17)</sup>。以下就上述幾個步驟簡略說明之：

##### a. 固定(Fixation)

細胞在移開其正常的生存環境後，很快就會發生退化（cytolytic），自溶（autolysis）及各種死後變化（postmortem changes）。這些在微視（microscope）觀點而言，尤其在TEM觀察下，對於組織的結構和形態，將會有巨大的影響，是故在組織取樣之後必須以最快的速度施以固定<sup>(16)</sup>。良好的固定劑（fixative）是能供給被觀察之組織部分予最好的保護者。普通光學顯微鏡所用的固定劑，如甲醛、酒精、丙酮等，均不能用於TEM組織試片之固定。通常與Veronal-acetate緩衝劑（buffer）配成的 $\text{OsO}_4$ （有劇毒）固定劑，較其他固定劑被廣泛而普遍的採用<sup>(15)(16)</sup>。此外，尚有多種的冰凍固定法<sup>(15)</sup>被採用。

一般而言，“固定”必須在接近 $0^\circ\text{C}$ 的低溫下實施，同時固定時間長短的調整，也是不可忽略的，通常係視組織塊的大小及其密度而定，約為30分鐘到2小時。

##### b. 脫水(Dehydration) 與包埋(embedding)

脫水，是使固定後之組織標本經過一連串不同濃度的酒精（其濃度由25%漸增至100%無水酒精）中，將組織標本內的水分脫去<sup>(15)</sup>。至於包埋，則是使用一種物質（如樹脂）滲入組織內，使之凝固而造成堅韌的支架，以便於切片。常被使用的包埋

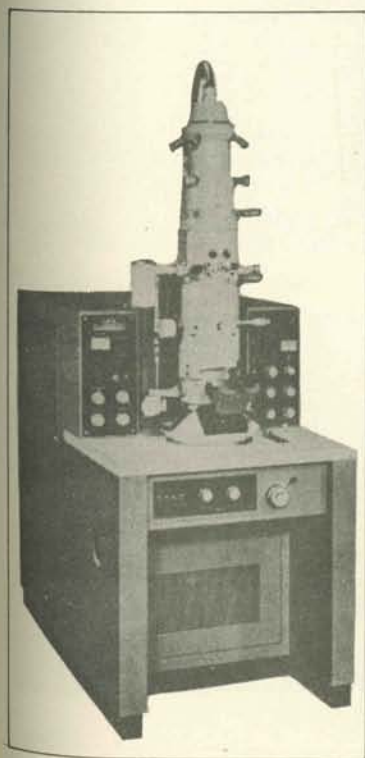


圖13 普及型 TEM 之一例  
(JOEL JEM-T8)

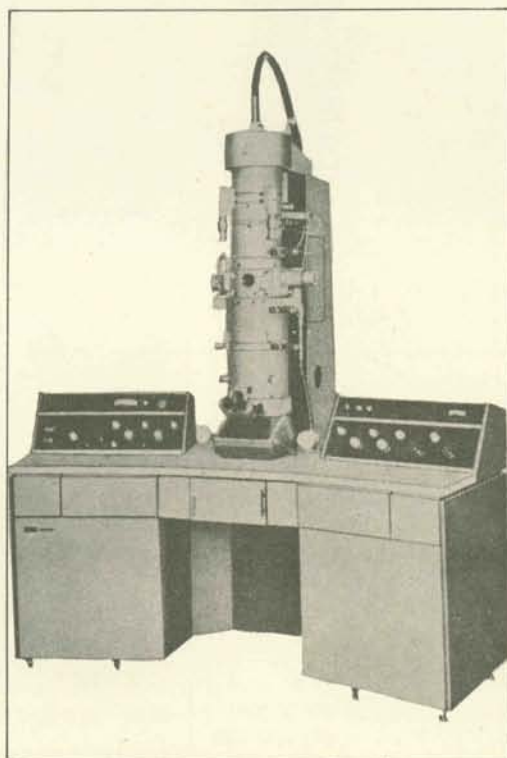
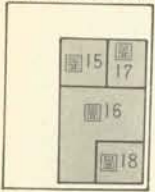


圖14 高性能型 TEM 之一例  
(JOEL JEM-10B)



法有Methacrylate及Epoxy樹脂二法<sup>(15)</sup>。二者各有其利弊，前者在聚合過程中會有收縮現象 (shrinking) 而易於破壞一些微細組織結構，但對組織之滲透性 (infiltration) 良好，且易於切片；後者則雖收縮較少可保護微細組織的完整，但對某些組織滲透性甚差，且難於切片<sup>(15)</sup>。此外，尚有多種方法，如Gelatin包埋法等<sup>(15)(16)</sup>。

c. 切片 (Sectioning)

切片，可以說是TEM技術中最重要、最困難、也是最具有藝術性的一項工作。使用普通光學顯微鏡時，切片的厚度約為6~8 $\mu$ ，但是TEM用之切片則要薄至500~1000 $\text{\AA}$ 。為得此厚度之薄片，一般所使用的切片機是無法達成目的的，必須使用一種稱為超微切片機 (ultramicrotome) 者<sup>(15)</sup>。目前此類切片機之產商有美、德、英、日、瑞典等多家，其中性能較優而為大多數實驗室所採用者，以美Porter-Blum所出品的MT-Z型超微切片機 (見圖17) 為最多。

d 染色 (Staining)

TEM螢光幕上所顯出的像，乃是電子穿透試樣後，部分被吸收或散射，最後所透過電子數的多寡分佈情形而已，組織試樣本身的各種顏色是無法顯示出來的。由於生物組織本身，大部分是由低價原子所構成，且其分佈之密度頗為均勻，因此在TEM觀察下，對比較為不明顯。為了增強影像對比，通常係使用一些高價重金屬鹽類的溶液在切片上施以染色，使這些易於吸收電子的重金屬離子附着在某些特別的超微結構上，而加強影像的明暗對比，使觀察更為清晰<sup>(16)</sup>。此過程並非必要，因為有些固定劑本身就是染色劑，如OsO<sub>4</sub>就是一種重金屬鹽，就已具有染色的功能。

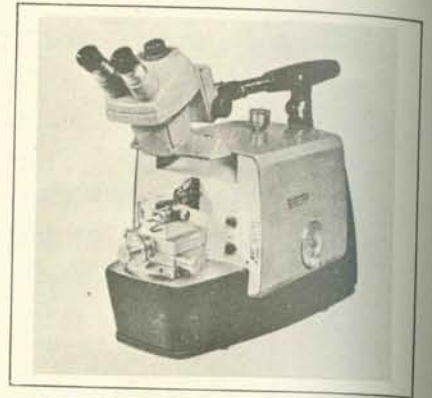
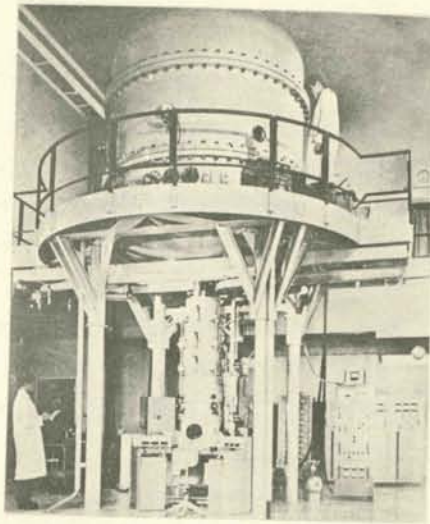


圖17 超微切片機 (Porter-Blum MT-2型)

圖15 超高壓型TEM之一例 (JOEL 1000KV型)

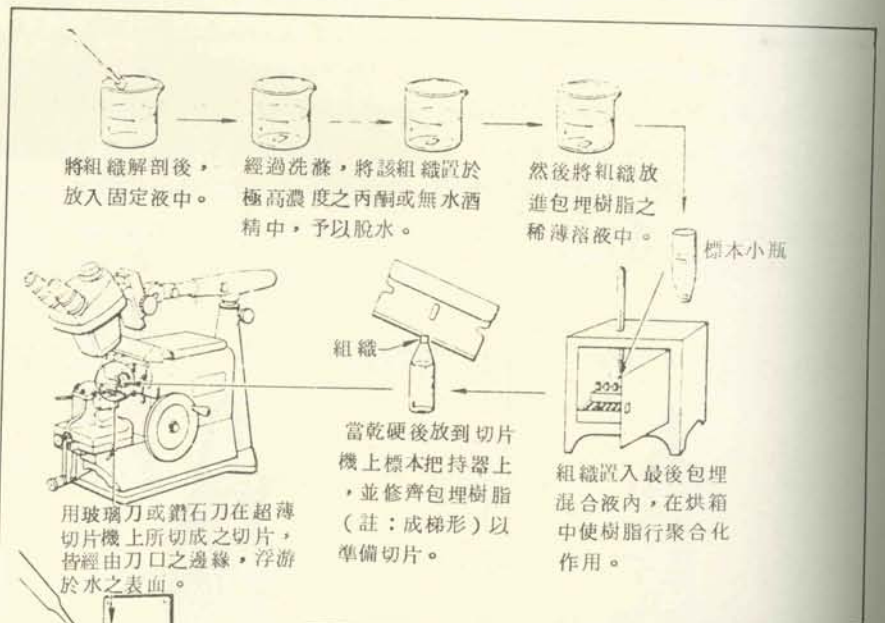


圖18 表皮膚之電子顯微鏡

圖16 電子顯微鏡組織試樣之固定、包埋、切片之程序圖解

圖19	圖20	圖21
圖22	圖23	
圖24	圖25	



圖19 蛇之心肌細胞(Cardiac muscle cell)

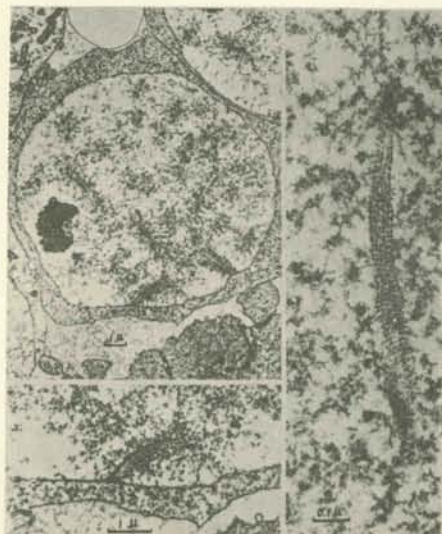


圖20 蠶蛹(Pupa)之精巢細胞



圖21 支氣管粘膜炎之纖毛狀上皮細胞(ciliated epithelial cell)

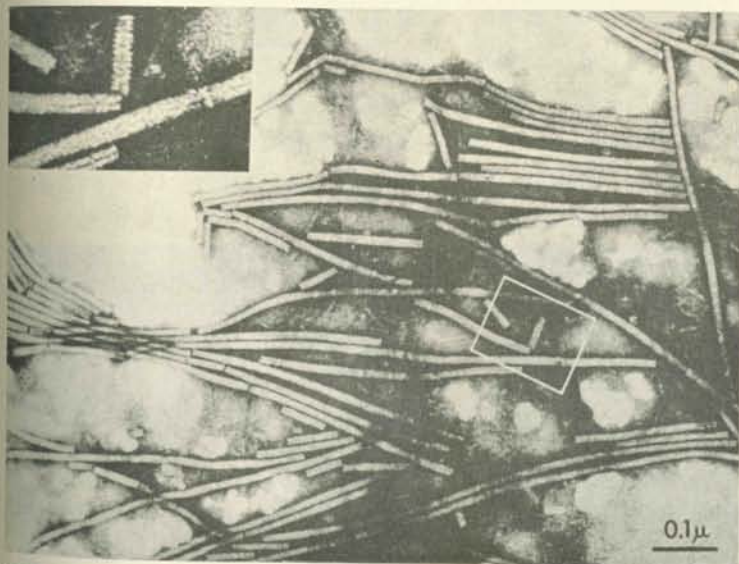


圖22 菸草鑲嵌病毒(Tobacco Mosaic Virus), 以負染色法使病毒顯出, 左上角所示者為圖中方格部份之放大

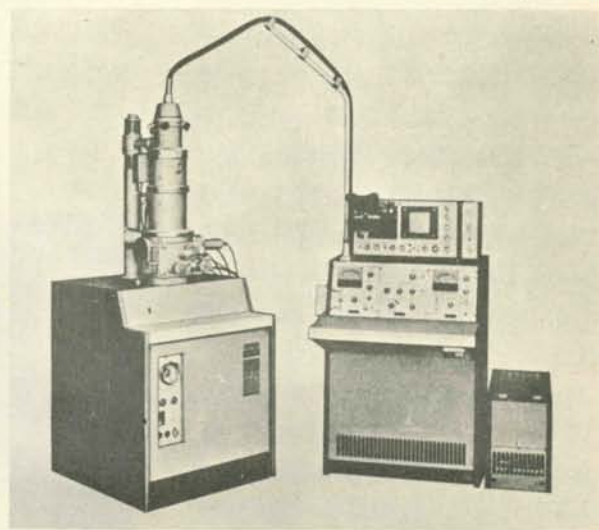


圖23 掃描型電子顯微鏡(JOEL JSM-U3型)

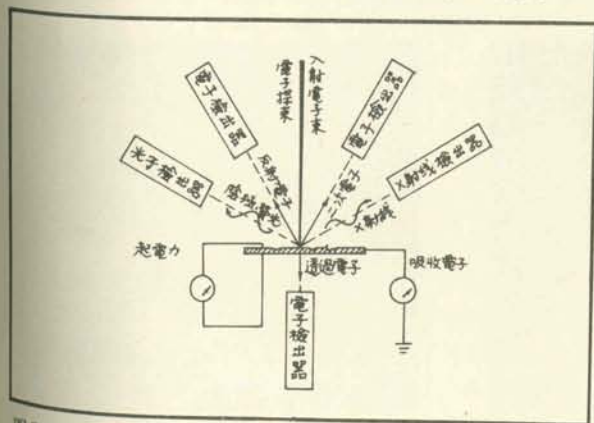


圖24 電子束照射於試樣上所發生各種量子之情形

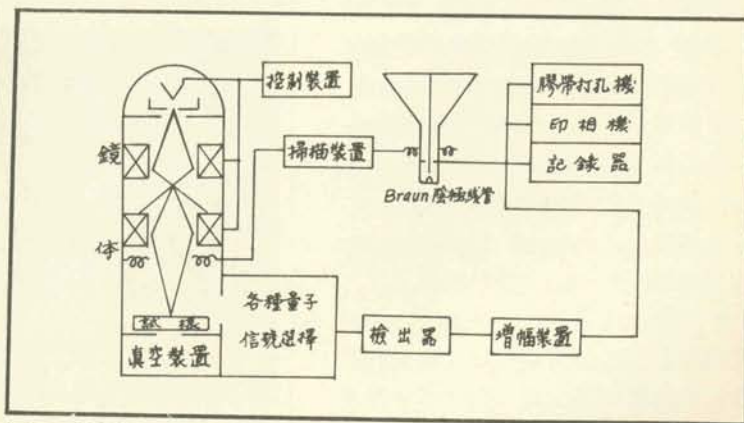
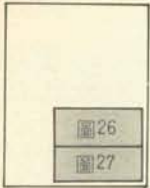


圖25 SEM 之結構原理





經過以上取樣、固定、脫水、包埋、切片及染色等一連串之處理步驟後，製作成功的 TEM 試片，係置於一金屬製成之網目上（稱之試樣支持網，一般是用銅箔製成外徑約為 3mm，網目大小為 100 ~ 300 mesh），再置入試樣支持器內，放入 TEM 中觀察。圖 18, 19, 20, 21, 22 等即為一些組織切片的 TEM 照像圖例。

## 五、掃描型電子顯微鏡

掃描型電子顯微鏡 (scanning electron microscope) 簡稱 SEM，其原理為德人 Max Knoll 於 1935 年最先發表<sup>(5)</sup>。之後經 Ardenne、Zworykin、Smith、Oatlely 等多人試製、研究改進並大力發展之，但一直到 1965 年末始有商品出現，目前極受重視。圖 23 為 SEM 外形之照像圖。SEM 可對於物體表面迅速作定性與定量上之分析，同時，SEM 也被廣泛地應用於生物學及醫學上之研究工作，且有逐漸取代 TEM 的趨勢。

### 1) 原理與構造

SEM 的原理與電視或電傳照相頗為類似<sup>(18)</sup>。當試樣受一極細的電子探束 (electron probe, 相當於 TEM 的電子槍與照射系統的組合) 所掃描時，試樣物質即與電子相作用，如圖 24 所示，自試樣表面將發生二次電子 (secondary electrons)、反射電子 (reflected electrons)、透過電子 (transmitted electrons)、吸收電子 (absorbed electrons)、陰極螢光 (cathode luminescence) 及 X 射線 (X-ray) 等各種量子<sup>(12)</sup><sup>(18)</sup><sup>(19)</sup>。此等量子之發生率，因試樣被照射點的幾何學形狀、構成物質及其他物理性質而異。因之電子探束照射點在試樣面上移動時，若試樣表

面形狀等情況有所變化，則自試樣發出之量子發生量亦隨之變化。同時，其發出之信號經檢出器 (detector) 檢出，增幅器 (amplifier) 放大後，將此量子發生量的變化情形表現在陰極線管面上而得試樣表面之各種量子像。圖 25 所示為此裝置之結構原理簡圖<sup>(20)</sup>。

### 2) 特點

一般言之，SEM 具備有以下諸特點<sup>(21)</sup>：

#### A. 焦點深度大

由於電子探束極細 (約 100 Å)，故可得較大的焦點深度，且影像亦較能表現立體感。如圖 26 為三個重疊的試樣支持銅網 (厚度約 90 μ)，在光學顯微鏡照相圖中，只能見到最上一層之表面，而以 SEM 觀察則可清晰地見到三層重疊的情形及各層

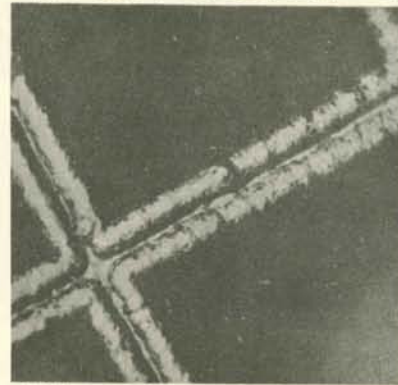


圖 26 三層重疊之試樣支持銅網 (a) 光學顯微鏡放大像 (200 X)  
(b) SEM 二次電子像 (160 X)

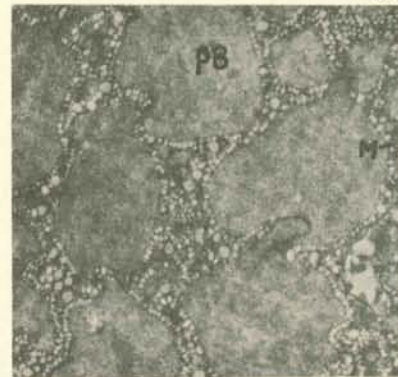
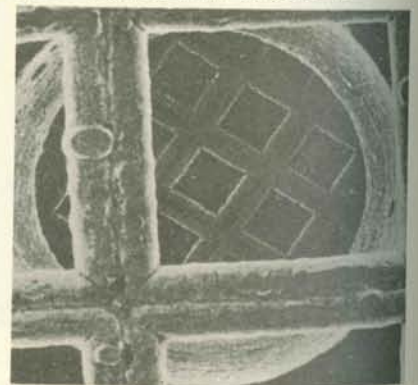
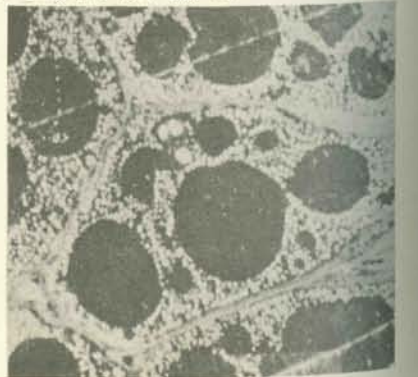


圖 27 大豆之子葉細胞 (a) TEM 透過電子像 (2500 X)  
(b) SEM 透過電子像 (1500 X)



網目的大小。由此可知 SEM 的焦點深度遠大於一般的光學顯微鏡。

#### B. 試樣製作簡易

一般 TEM 的試樣製作，必須用超微切片機切片或用間接的複印法<sup>(10)</sup> (replica method) 製成薄膜試樣，才能觀察物質表面組織與結構情形。這些均需要熟悉巧練的技術，且甚費時。但 SEM 係直接觀察試樣的實體 (block)，故其試樣之製作非常容易。

#### C. 解像能高

目前一般的 SEM，其解像能約為 100 Å (預料將可再增高)，雖不及 TEM (2 Å)，然較之光學顯微鏡已高出甚多，且其倍率之調整容易，試樣之取換方便。通常 SEM 之放大倍率範圍自 5 倍至 14 萬倍左右，對於一般研究工作已足數應用。

圖28  
表三

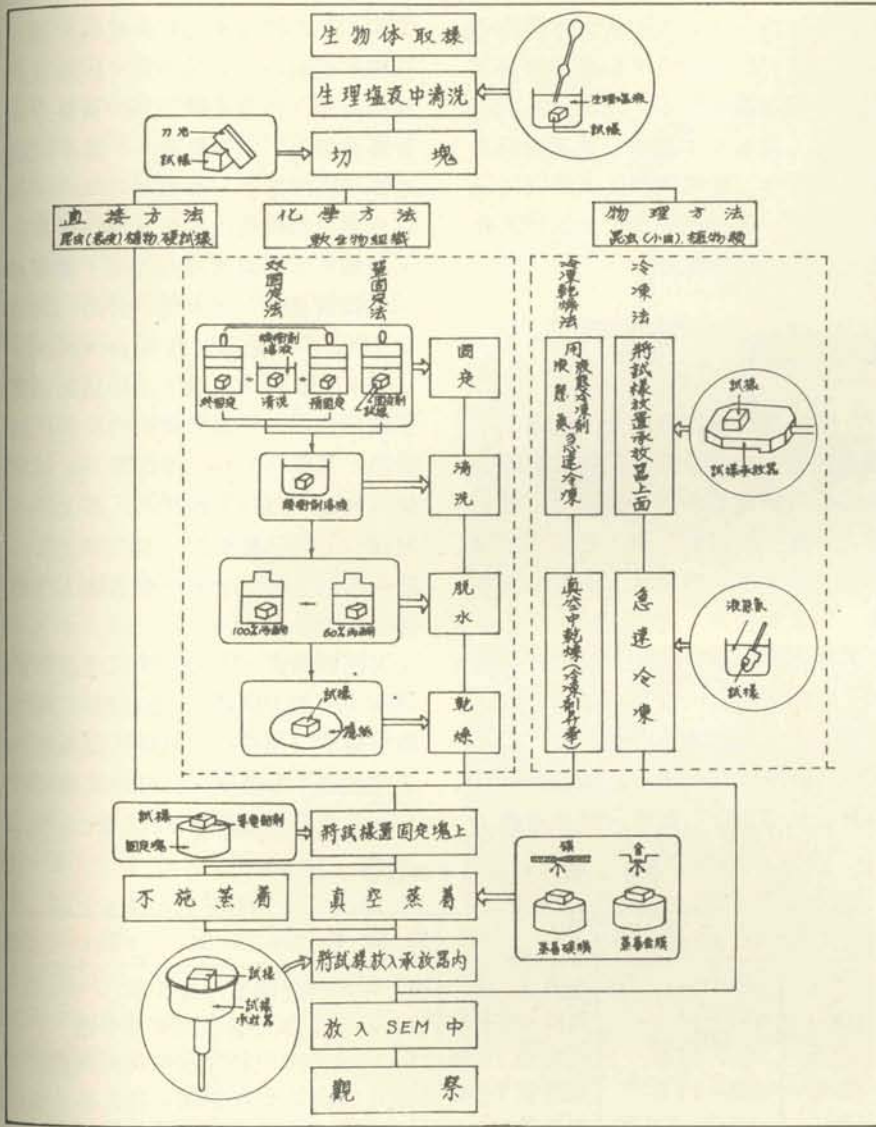


圖28 SEM組織試樣製作程序圖

表3 SEM各種電子之特性與應用

電子像種類	解像能	特性及應用
二次電子像	100 ~ 250 Å	適合試樣表面之實體觀察。
反射電子像	~ 2,000 Å	可由試樣之成份差異而得對比，可適合於觀察表面成份的分佈狀況。
透過電子像	50 ~ 100 Å	本質上與穿透型電子顯微鏡相同，但SEM對較厚之試樣，亦能得理想的影像對比。
吸收電子像	3,000 ~ 5,000 Å	可得原子序數差異的分佈情形。
陰極螢光像	~ 2,000 Å	可檢出試樣物質中所含有的螢光物質，做為物性研究之用。
X射線像	數μ	由試樣之原子序決定X射線之波長，可對試樣作定性及定量分析之研究。

D. 影像對比好

SEM像的明暗度變化，係由電源系統之調整而獲得。因此，容易調定最好的影像對比 (image contrast)。圖27為SEM與TEM對同一生物組織切片的透過電子像，就可見到SEM者對比較好。

E. 用途極廣泛

由於SEM試樣製作簡易，並且可將掃描器 (scanning) 與電視 (television) 組合使用 (簡稱 television)。故可應用於各種工業上的品控，以及金屬表面、結晶構造、或生物組織形態等等的觀察研究。

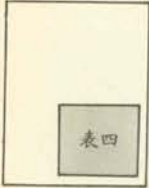
以上SEM諸特點實為他類顯微鏡所不及，故SEM不僅僅在一般科技及生物形態學上的研究很適用，在醫學及生物學上如有關微小病毒、蛋白質分子、以及染色體等構造的觀察研究，更是件不可少的研究利器。

3) 各種電子像及其特性

如前所述，當SEM之電子探束射出的電子束照射到試樣面上，必會產生二次電子、反射電子、透過電子、吸收電子、陰極螢光、以及X射線等各種量子，所以只要使用各種檢出器將之分別檢出，再經增幅器放大，即可獲得各種電子像<sup>(12)</sup>。如由二次電子產生之二次電子像，反射電子產生之反射電子像等等。表3所列者分別為各種電子像，並說明其像之解像能與特性<sup>(21)</sup>。

綜觀上述各種電子像，其特性互異，使用時應依觀察目的之不同而選擇最適者，又併同其他模像 (mode image) 的觀察，可收集更多的知識情報，增加研判結果的正確性與利用價值。

4) 生物學及醫學上之應用



由於 SEM 視野的焦點深度極大，可以讓我們觀察昆蟲、花粉、皮層、膜層、齒、黴菌、微生物、生物組織以及許許多多其他物質在以前所觀察不到或看不清楚的微細結構。同時，我們還可在高真空中以短時間的曝光照射，觀察活的昆蟲。且由於照射能量不高，尚可使昆蟲在照射觀察之後恢復其生命<sup>(19)</sup>。

SEM 在生物學或醫學上還可用來觀察染色體 (chromosome) 的構造，由此，我們更能深入地去研究遺傳基因的奧秘<sup>(19)</sup>。凡此種種，僅為其功用之一二，但已足以顯示出 SEM 將帶給生物學及醫學研究上之快速蓬勃發展，乃無庸置疑。

圖 28 所示為 SEM 生物試樣製作的程序圖<sup>(22)</sup>，可作參考。圖 29，30, 31, 32, 33, 34 等，分別為一些使用 SEM 觀察的實例。除了 SEM 外，實再找不出其他任何儀器能獲得如此精細顯微的構造了。

## 六、電子顯微鏡之現況

目前電子顯微鏡已遍及全球，迄至 1970 年的統計，已有六千部各型電子顯微鏡在不同的機構中使用著<sup>(13)</sup>。

以國內電子顯微鏡的使用情況而言，該追溯至民國 47 年 (1958)，當時臺灣省刑警大隊自日本購入了國內的第一部電子顯微鏡，用以協助犯罪證物之查證，而在國內電子顯微鏡之使用上，展開了新的一頁。然該電子顯微鏡僅屬普及穿透型者，性能無法與今日之高性能者相比。其後二年，民國 49 年 (1960)，第一部高性能型 TEM 才正式在國內露面，加入醫學研究之行列。

此後十餘年間，電子顯微鏡在國內有如雨後春筍般的在各研究機構內被使用者，到今日為止，已有 19 部各型電子顯微鏡在不同的部門裏擔任

著重要的角色。表 4 中所列者為迄今國內已裝置的各型電子顯微鏡情形，其中可發現最近裝置之三部均為 SEM。此外，尚有不少大學，研究機構正計劃裝設中，如經濟部工業研究所已開始安裝一部 SEM 了，而清華大學也在籌裝一部 TEM。

## 七、結論

電子顯微鏡因有優異的解像能、極高的放大倍率及非常廣的倍率範圍，而成為研究工作上一件探測超微世界之珍貴不可缺的工具。然而目前國內有設置者僅限於幾所大學及研究機構，而未能普及。究其原因，不外乎設備維護費用昂貴，技術工作人員難求；而最主要原因還是電子顯微鏡在實際使用上有許多的困難，如 TEM 試樣的製作技術，就非普通工作者所能勝任。SEM 的問世，雖然解決了

TEM 試樣製作上的許多難題，但其價格卻遠較 TEM 為昂貴。因此我們當可推知今後電子顯微鏡的發展方向勢將基於以下兩個原則：一為不計成本製造高解像能，高放大倍率的成品；二為設法降低成本製成操作簡單化、自動化，而能大衆化的電子顯微鏡。

對於後者，日本電子公司 (JEOL) 自 1963 年開始出廠的 superscope (30KV 或 60KV 級)，即為針對電子顯微鏡與光學顯微鏡間的世界而設計的，其價格低廉，操作簡易，雖解像能稍遜，但對於教學及工業上的一般品質管制已敷應用，生物學上的一般研究以及醫學上的一般檢驗工作也均足當大任了。

至於前者，由於近世真空技術的進步，再加上精密工業的發達，電子槍燈絲改以極為尖銳的針狀電極取代了一般的 V 形燈絲，已可造成直徑在 5 Å 以下的微細電子束。因此，電子

表 4 國內裝設電子顯微鏡之現況

年次	儀器型號	型式	製造廠	製設場所
1958	SMD-4	普及 TEM	為津	臺灣省刑警大隊
1960	HU-11	高性能 TEM	日立	台大醫學院解剖學系
1965	HU-11B	高性能 TEM	日立	中央研究院植物研究所
1965	HU-11B	高性能 TEM	日立	太平洋電纜公司
1966	JEM-SS30	普及 TEM	日本電子	公賣局菸酒綜合研究所 (裝於中研院化學研究所)
1967	HU-11C	高性能 TEM	日立	中正理工學院機械系
1967	JEM-7	普及 TEM	日本電子	農業中心 (裝於中興大學植病系)
1968	JEM-T7	普及 TEM	日本電子	中央大學地球物理研究所
1969	JEM-7A	普及 TEM	日本電子	司法調查局第六處
1970	JEM-100U	高性能 TEM	日本電子	金屬工業研究所
1970	JEM-100B	高性能 TEM	日本電子	國防醫學院生物形態系
1970	HU-11E	高性能 TEM	日立	榮民總醫院
1970	HU-11E	高性能 TEM	日立	台大醫學院病理系
1971	HU-12	高性能 TEM	日立	台大農化系
1971	JEM-100U	高性能 TEM	日本電子	台大機械系
1973	JSM-U3	大型 SEM	日本電子	清大工程材料科學系
1973	S4-10	大型 SEM	英國劍橋	中山科學研究院
1973	JEM-200A	高性能 TEM	日本電子	台灣鋁業公司
1974	JSM-15	中型 SEM	日本電子	輔仁大學生物學系

圖29	圖30
圖31	圖32
圖33	

束的強度較昔日的電子槍所產生的熱電子強 1000 倍左右。芝加哥大學教授 A. V. Crewe 即曾利用此種新電子槍裝置，發展出一種穿透型掃描電子顯微鏡，而觀察了鈾 (U)、釷 (Th) 的單原子影像<sup>(23)</sup>。相信在不久的將來，必可實現人類直接觀察分子、原子動態的理想，而與今日太空的成就就相輝映媲美。

註一：

1931 年，M Knoll 與 E Ruska 在柏林工業學院 (Technische Hochschule) 作了其自 1914 年以來，使用之 30 ~ 75 KV 高加速電壓示波器的副產品——第一部電子顯微鏡的講演及實物操作示範，次年 (1932) 才第一次將此由示波器發展成電子顯微鏡的經過正式發表於 Z Physik 上，到 1934 年，E Ruska 才正式發表了電子顯微鏡的結構。圖一所示，即其於 1934 Z Physik, (87, 580) 所發表者。至於電子顯微鏡製造之專利，則為 K. Rudenberg 於 1931 年所獲得，成為專利法上的第一個發明者，事實上，其對於第一部電子顯微鏡的出現毫無貢獻。

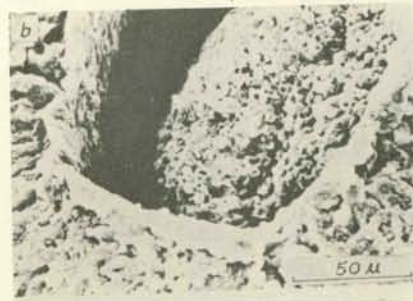


圖31 子宮內之輸卵管 (fallopian) 壁



圖30 健康之腸壁

圖29 家兔之肝臟  
(照片中所見者為肝臟小葉中，S 靜脈周邊之肝細胞索及靜脈血管內之紅血球)

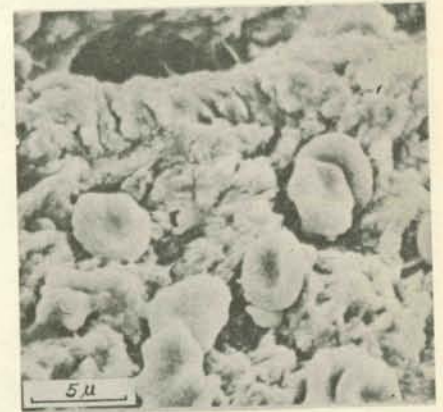


圖32 骨折斷面，可見到有一腔隙 (lacuna) 及一些紅血球 (red blood cells)

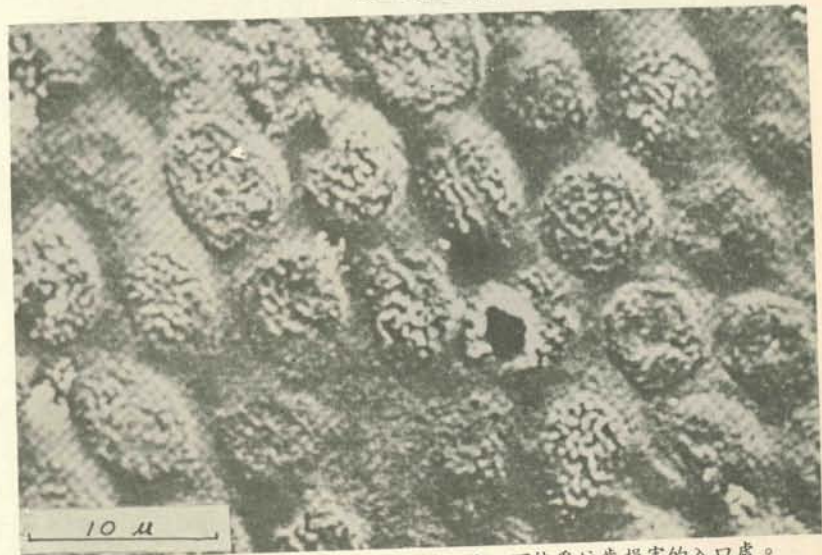
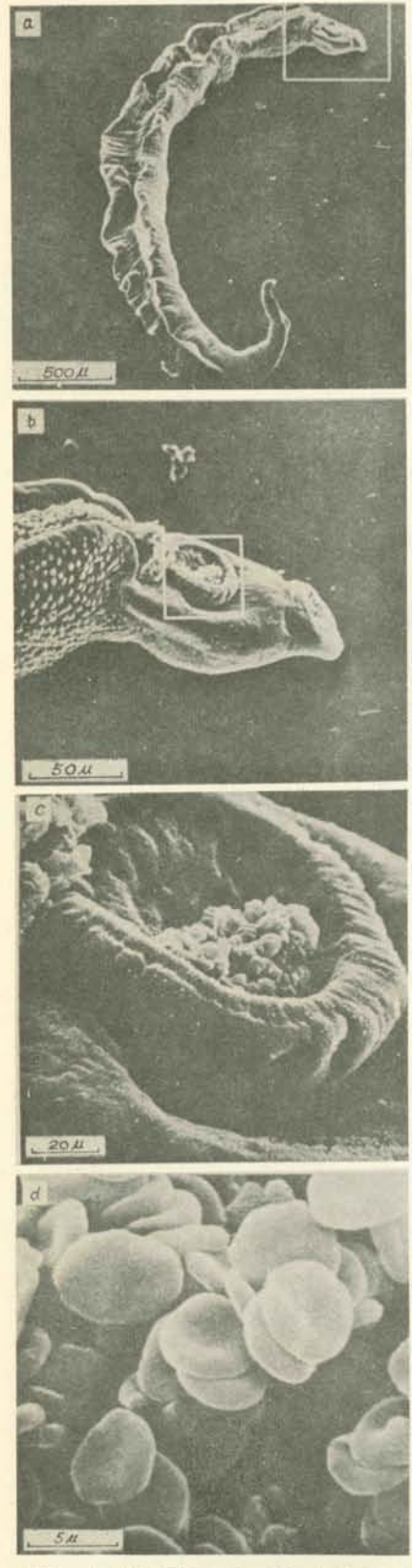
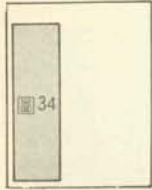


圖33 牙齒之法瑯質表面，可見到一微孔，可能為蛀齒損害的入口處。



參考資料

(1) E. Ruska and M. Knoll, Z. Tech. Phys. 12: 389 (1931); Z. Phys. 78: 318 (1932).

(2) L. de Broglie, Phil. Mag. 47: 446 (1924); Ann. Phys. Paris 3: 22 (1925).

(3) H. Busch, Ann. Phys. 81: 974 (1926); Arch. Elektrotech 18, 583 (1927).

(4) H. Mahl, Z. Tech. Phys. 20: 316 (1939).

(5) M. Knoll, Z. Tech. Phys. 16: 767 (1935).

(6) M. V. Ardenne, Z. Phys. 109: 553 (1938).

(7) V. K. Zworykin, ASTM Bull 117: 15 (1942).

(8) V. K. Zworykin G. A. Morton etc. "Electron optics and the electron microscopy" New York (1948).

(9) 日本電子顯微鏡學會 "電子顯微鏡の理論と應用" I, 凡善 (1959).

(10) 楊永盛 "穿透型電子顯微鏡原理及其在材料學上之應用" 新文豐 (1974).

(11) C. E. Hall, "Introduction to electron microscope" McGraw Hill (1966).

(12) L. E. Murr, "Electron optical application in material science" New York (1970).

(13) 赤堀宏原著, 林良平譯 "電子顯微鏡之現況" 中國農業化學會 (1971)

(14) 林良平 "電子顯微鏡之現況" (1971)

(15) Ivan Sorvall Inc. "Thin sectioning and associated technics for electron microscopy." (1967).

(16) 周湘濤 "電子顯微鏡的應用原理與技術" 國防醫學院 柯柏醫學科學研究館 (1970).

(17) 陳國成 "細胞之顯微構造" 2 大中國 (1971).

(18) 材料科學季刊 3 No. 4. 286 (1971).

(19) S. Kimoto and J. C. Russ, Am. Sci. 57 No. 1: 112 (1969).

(20) S. Kimoto, JEOL news 10e. No. 2.: 2 (1972).

(21) 赤堀宏原著; 林良平譯 "掃描電子顯微鏡之簡介" 中國農業化學學會 (1971).

(22) JEOL LTD., "JEOL news" 10e. No. 2: 42 (1972).

(23) A. V. Crewe, J. Appl. Phys. 39. No. 13: 5861 (1968).

(a) 全景  
 (b) (a) 圖中方格內部份之放大  
 (c) (b) 圖中方格內部份之放大  
 (d) 紅血球

圖34 血吸蟲 (Biharzia blood fluke)