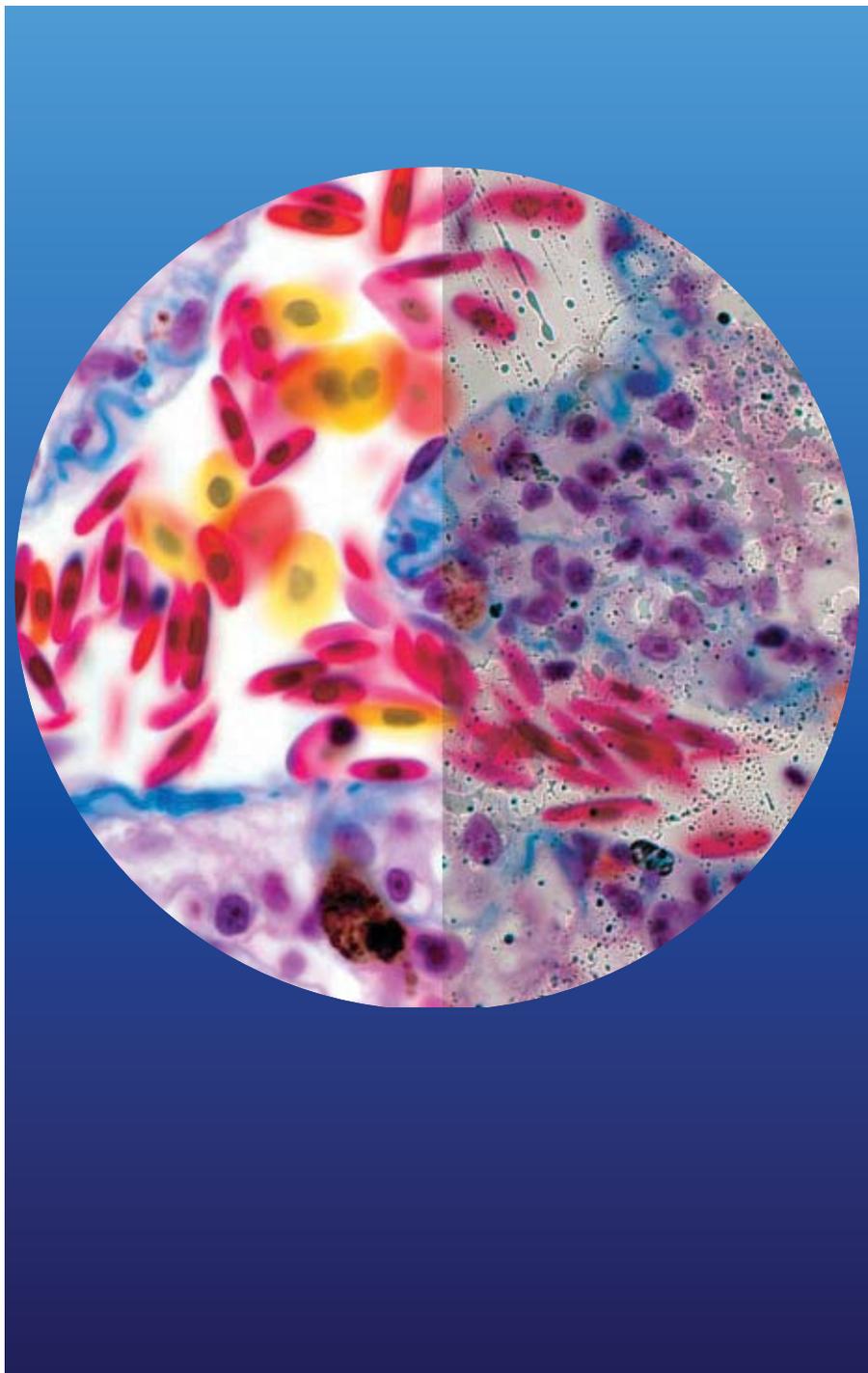


清洁的显微镜



污渍的识别
以及正确清洗



we make it visible

清洁的显微镜是获取高质量显微图像的前提。

多年来，尽管关于显微镜清洁有过许多方法，但许多用户对于哪种方法更好却感到困惑。

选择一种最佳的清洗方法取决于光学部件表面以及待清除掉的污渍的属性。

translated by protoplast
2010-6-16

污渍对成像的影响

当污渍越靠近物镜或成像感光部件时，它对最终的成像效果影响越严重。主要的污染平面包括：

1. 物镜前透镜的外表面
2. 相机感光部件的表面以及它的保护玻璃
3. 盖玻片的两面
4. 载玻片
5. 相机的转接镜头
6. 聚光镜的上表面
7. 目镜透镜的内外表面，以及计数板的上表面
8. 光源出口处的保护玻璃的外表面
9. 光路中的其他表面，如汞灯或高压灯的灯泡表面，荧光滤镜及分光镜，光源汇聚镜，反差滤镜，消热滤镜

有一些光学部件表面更容易被污染。物镜前透镜的外表面极易污染并对成像带来极大的影响，所以我们对此做详细的讨论。

对于干物镜而言，工作距离越小，物镜前凹透镜的面积就越小；它们因被包埋剂，浸液或灰尘弄脏而带来的问题就越大。

这些干物镜包括 EC Plan-Neofluar 40x/0.75, EC Plan-Neofluar 63x/0.95 Korr, Achroplan 63x/0.80, 63x/0.95 o.D., Fluor 20x/0.75, Planapo 20x/0.80, Planapo 40x/0.95 Korr, 所有 Epiplan and EC Epiplan-Neofluar 型号的干物镜，以及放大倍数为 20x, 50x and 100x 的 EC Epiplan-Apo-Objectives 物镜。

当用倒置显微镜时，物镜的前透镜比正置显微镜更容易沾上灰尘。所有的 LD 干镜头（32 倍，40 倍 63 倍）要经常检查是否存在污渍。

对于浸没物镜，每一次用完后以及加上新的浸没液之前都要清洗。不同性质的浸没液（甚至同产品的镜头油 IMMERSOL F™ 的不同批次）之间的混杂均有可能模糊成像。

对于成像的相机，要尤其注意。尽力保护避免沾上污渍。

在每次重要观察实验之前，请检查物镜的前镜头污染情况

如何识别污渍

如果使用者在使用特定显微技术之前对理想结果有一定预期，他心里就能够明白污渍可能带来多大的影响。当他将实际看到的图像效果与预期进行比较，一眼就能看出是否存在污渍。

如果图像不够锐利或反差不理想，很有可能显微镜光学部件被弄脏了。

为了判定污渍所在的部位，请按如下步骤寻找：

小心的将物镜和相机在它们安装螺纹范围内（即不要拧出来）旋转一个小的角度。

检查载片和盖玻片。移动样品，先后聚焦在样品的上下表面。

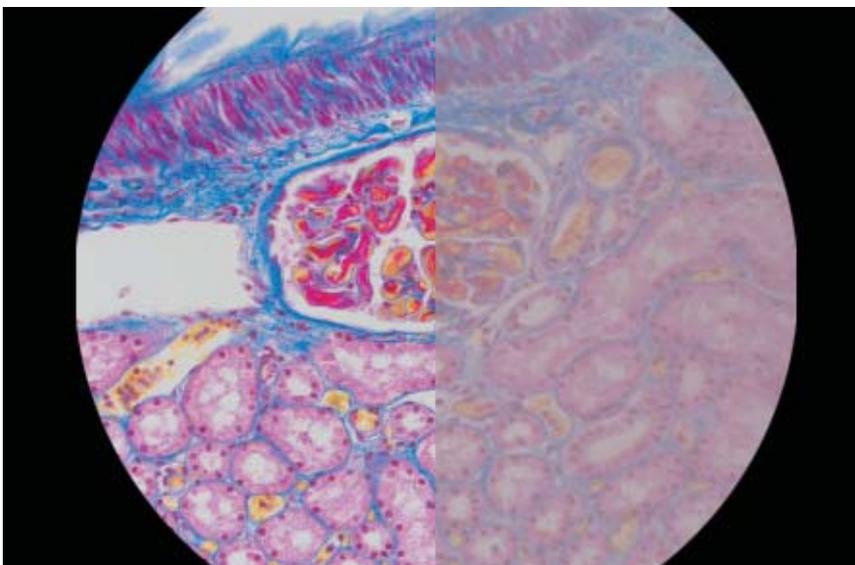
检查聚光镜。上下移动聚光镜，如果可以的话，略微转动前镜头。

如果当移动某一部件时，污渍像的位置发生改变，说明污渍就在那个移动平面上。唯一例外的情况是，如果污渍在相机上。此时移动相机，污渍的像并不会移动！

对于光学表面上大的灰尘或划痕可以用 3-6 倍的放大镜（或目镜反置充当放大镜使用）进行检查。

浸没镜头的前透镜是否有污渍比较容易判断。将其反向对准一个均匀照亮的平面，由于物镜的内部透镜可以充当放大镜，所以前透镜外表面上细微的污渍也能被放大。

最好，必须验证清除污渍后是否的确带来成像质量的提升。



清洁的（左）和有油污渍（右）的物镜前透镜。
蟾蜍肾，三色染色法。
Planapo 20/0.80. 明场

不同类型的污渍

区分灰尘与污渍是很重要的，前者包括载片上的灰尘，使用者身上脱落的皮屑，衣服上带来的纤毛，春天或夏天空气中的花粉等；后者包括液体、包埋剂或浸没液干后留下的痕迹、培养液，还有不恰当清洗留下的残迹、指纹或分泌的油脂。

灰尘颗粒在光学表面或松散或黏着；其他的污渍或者可以用水溶，或者用有机溶剂方可清洗掉。

模糊的图像

未必是由于污渍

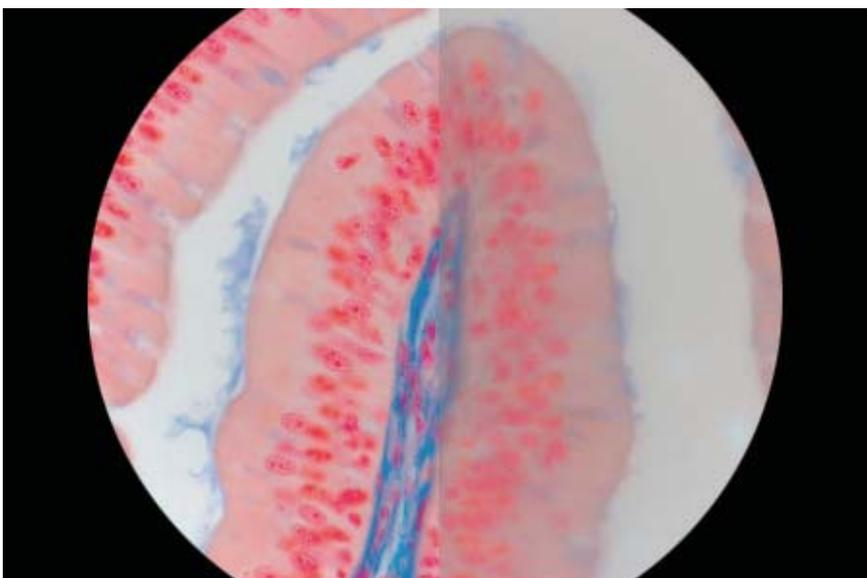
当使用数值孔径较大的物镜时，如果使用了不匹配的盖片往往会导致图像的模糊（即引起球差）。

此类的干物镜往往具有一个校正项圈，可以用来补偿球差：

旋转校正项圈，直到最佳的反差及锐度，然后再进行调焦。

许多非矫正浸没物镜要想获得清晰的图像，必须严格匹配 0.17mm 的盖玻片。在使用浸没镜头时必须保证合适的浸没介质以及避免其中形成气泡。油镜必须匹配蔡司的 IMMERSOL™，对于水镜 C-APOCHROMAT，最好使用蒸馏水或者 IMMERSOL W™。

在某些特定情况下，当使用的茴香醚（anisole）作为浸没介质，会导致锐度和反差的损失。茴香醚还可能会破坏前镜头中的粘合剂，尤其是一些老镜头。



球差引起的图像模糊：合适调整 planapo 40/0.95 物镜的校正项圈（左），调整不合适（右）。Azan 染色法显示青蛙小肠。

不同的光学部件表面

有必要将凹透镜或凸透镜（比如干物镜前透镜和聚光镜，一些目镜的近眼透镜）和表面平坦的部件（比如绝大部分浸没镜头的前透镜和聚光镜，滤镜、相机感光部件的保护玻璃、光路出口的玻璃）进行区分。凹透镜或凸透镜表面需要使用棉签或者聚酯纤维棒清洗（如第 6 页）。

针对比较容易接触到的平坦表面可以用以上工具或用柔软的一次性纤维拭纸进行清洗

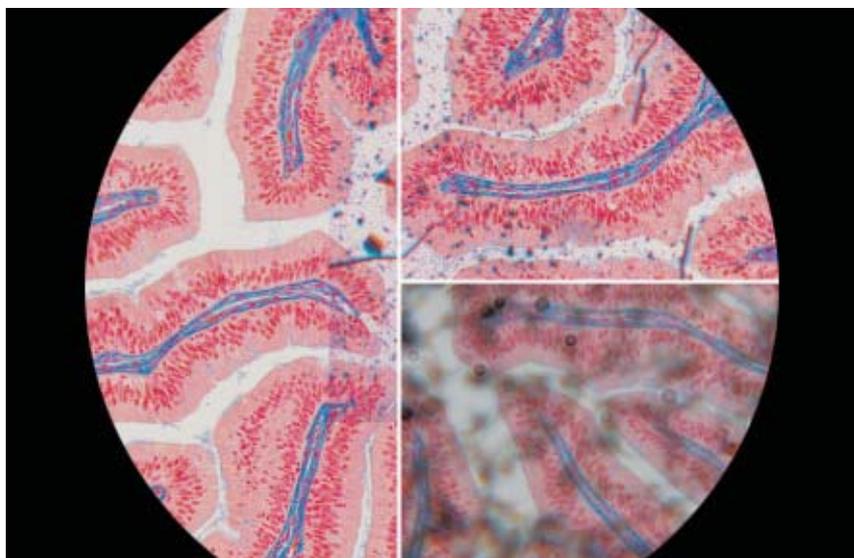
显微镜光学部件的材质可能为光学玻璃或者石英或者聚合物。这些部件的向上的面通常具有镀膜以减少光的损失。有些防反射镀膜是可以擦拭的（比如目镜的近眼透镜），有些是不可以擦拭的。因为这些镀膜很容易被破坏。通常而言，防反射的镀膜主要含氟化镁，清洗时要避免使用酸和碱溶液。可以偶尔使用家庭用的玻璃清洗剂如 SIDOLIN, SPARKLE, Blue WINDEX。但这些清洗剂含有稀释的

碱，最好不要经常使用。

有些光学部件有黑色的防反射镀膜。这样的镀膜对有机溶剂比较敏感。此外，目镜周边的塑料或橡胶也容易被有机溶剂（比如丙酮、氯仿）腐蚀。

在老款的显微镜上，透镜间的粘合剂容易被酒精溶解（如加拿大树胶）。现在，透镜粘合剂通常采用聚丙烯合成树脂，这就没有这样的危险。

对于显微镜内部的部件，我们不建议用户拆开清洗。这些部件应由有经验的厂家的客服人员来负责清洗。用户可以自行清洗物镜前透镜的外表面、聚光镜前透镜、目镜，以及颜色转换玻璃滤镜，光出口的保护玻璃的外表面。



光出口处玻璃上的灰尘（右上），极其脏的相机（右下）以及清洁的显微镜（左）
Azan 染色显示青蛙小肠。Planapo 10/0.45. 明场

清洗剂 and 清洗流程

清洗的目的是要把灰尘和污渍清除并且不留下任何痕迹，更不能破坏光学表面。

需要如下设备

- ✓ 细长的小木棒，最好是竹棒（可以找中国餐馆提供商），或者找到类似的替代品（材质不要过于柔软）
- ✓ 高纯棉（比如德国 KERMA 生产的用于眼科的棉花）或者 WHATMAN 生产的镜头拭纸 (lens cleaning tissue 105)
- ✓ 用于清洗镜头的吸水性聚酯纤维签。如 ITW Texwipe CleanTipsR swab(TexWipe), 这是很好的棉签替代品，并且可以重复利用。
- ✓ 柔软的化妆用纤维纸（比如 KIM Wipes soft, KLEENEX）
- ✓ 洗耳球
- ✓ 蒸馏水
- ✓ 洗涤剂：用前在 10ml 蒸馏水中加入 5-10 滴洗涤剂（如 Fairy Ultra, Fit）
- ✓ 用于清洗油脂的溶剂，如光学清洗液 L (Optical Cleaning Solution 蔡司), 分析纯的石油醚（沸点小于 44°C ），以及仅用于清洗盖片的纯丙酮。

在清洗一些比较容易清洗的平坦表面时（如清洗盖玻片上的浸没介质，浸没物镜前透镜等），可以使用蘸有洗涤液的柔软拭纸（如 Kleenex）。

注意：实验室常见的无毛镜头纸（所谓的约瑟夫纸 Joseph paper）不是用于清洗透镜的，而是用于无尘保护光学部件的。这些纸由于太硬而不适合用于清洗透镜，而且它们吸附污渍的效率不高。但 WHATMAN 的镜头清洗试纸是个例外。

对于清洗其他光学表面，需要使用新做的棉签或聚酯纤维签，或者是 ITW Texwipe Clean TipsR。



准备棉签

- 洗手（不应带有粉乳胶手套）

- 将小木棒蘸一下清洗液（水相或有机溶剂），这样保证棉花纤维可以更好的与小棒粘在一起。



- 为了避免把棉签头弄脏，可以把棉签保存在一个聚乙烯袋子中。在保存时不要用带汗或油脂的手接触。



- 用小棒从棉花团中挑起小许棉花。在此过程中不要压棉花团，以免造成棉花纤维不易分离。

- 每次使用后，可将小棒顶部的棉签头丢弃，并制作新的棉签。

- 缓慢均匀的旋转小棒，这样在小棒头部就可以形成一个椭圆形的棉纤维团。

- 小棒可以重复使用很长时间。但最好将用于水相清洗和有机相清洗的小棒分开。



- 如果是使用 WHATMAN Len Cleaning Tissue 105，可以将试纸包裹在小棒顶端，并形成一个小尖端。做好后不要用手接触，用后丢弃，每次使用一新的试纸。

- 聚酯纤维材质的清洗棒如 ITW Texwipe CleanTipsR 可以使用多次，直到效果不佳。

清洗流程

1. 用洗耳球吹走表面松散的尘埃
2. 用蒸馏水清洗掉表面水溶性的污渍。如果效果不佳，可以反复用稀释的洗涤液清洗。然后用干的棉签擦拭掉残留的痕迹。在用干棉签擦拭前，先要在表面哈口气，形成一层水汽膜。但要避免唾液溅到表面。
3. 如果用稀释的洗涤液清除油性污渍效果不佳。可以重复使用如下溶剂 (Optical Cleaning Solution L, 或石油醚)。
4. 脂类污渍的清洗必须使用溶剂。清洗后，对照前文“如何识别污渍”部分检查被清洗的表面。



将物镜，目镜以及相机放在一个无尘的平面上，（如新的铝箔）。保证所有其他待清洗的光学部件尽可能放在跟前。

将棉签蘸清洗液，并甩掉多余的液体。多余的液体可能会流至镜头的边缘，从而损坏镜头间的粘合剂。清洗液应当尽可能多的带走污渍。为了增加挥发性有机溶剂在棉签上停留的时间，有些使用者会将溶剂预冷（在 -10 度至 -20 度）。但这样做会带来一个问题，低温会导致在镜头表面形成冷凝水，由此造成残留痕迹。一个替代方案是，在有机溶剂中加入异丙醇从而减缓挥发。



清洗时，可以采用螺旋清洗的方式，**从中心逐步到边缘**。一定不要用“之”字形的方式清洗，因为这样反而会将污渍范围扩大。

对于大一些的光学面（如，镜筒镜头）可以先将清洗周边，然后再从中心螺旋式清洗至边缘。

一般推荐多做几次这样的螺旋式清洗。

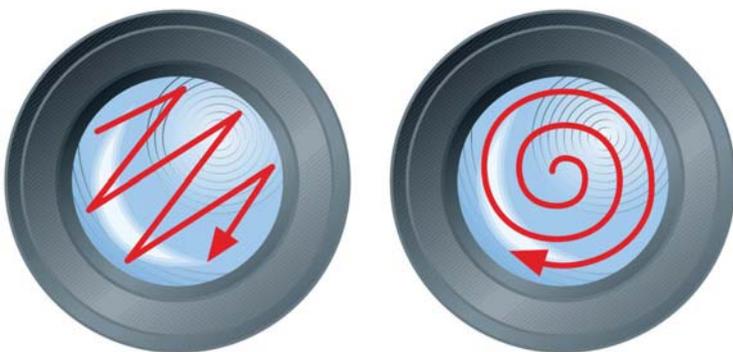
我们推荐使用纯的，具有挥发性的石油醚或者购自蔡司的 Optical Cleaning Solution L.

并不是所有的溶液均可用于显微镜清洗。有些溶液虽然清洗很有效，但对人体有害（如氯仿，丙酮）或者不环保（如氟利昂，tetrahydrochloride），还有一些会在表面留下痕迹（如二甲苯，甲苯、二乙醚）。

当使用二甲苯和无水乙醇时，很容易形成残留痕迹，尤其是当表面存在水溶性污渍时。

如果是清除盖玻片表面的油脂时，可以使用丙酮。丙酮由于会腐蚀塑料以及橡胶等材质，所以在清洗目镜时会有问题。如果经常使用丙酮，也可能会破坏光学组件间的粘合剂（如物镜、TV 转接镜头，目镜等）。

丙酮也会破坏某些特殊的有机镀膜。



用螺旋式清洗，而不要用“之”字形清洗方式

如何避免污渍？

双目镜筒开口总是用目镜或防尘罩封住。如果没有厂家提供的防尘罩，可以用铝箔替代。最好是先用来两个塑料袋罩住两个目镜筒，然后再罩上厂家提供的防尘罩。

在热带地区，不推荐以上方法，因为这样很容易长霉。防止长霉的最好办法是用空调除湿，或者在显微镜上方安装红外灯管（大约距离显微镜上方 150cm 或 5 英尺）一旦长霉，几乎无法清除。

显微镜不要安置在容易接触到酸或碱性气体的地方，如潮湿的化学摄影实验室。

清洗显微镜外部附件

蔡司的 AXIO 系列显微镜外表均有粉末涂层，并且十分耐用。这些外表面可以用稍湿润的纤维布清洗擦拭。那些落在表面上的灰尘等污渍可以用专用的软毛刷去除。

总而言之，显微镜光学部件的清洁度以及好的样品制备决定了显微成像的结果：

例如，组织切片的厚度，染色强度，包埋剂和物镜浸没介质的折光系数及分散程度。还有当使用高分辨率显微镜时，活细胞距离盖片的距离都会影响到成像的质量。

一张水生原生动物的制片，该制片薄且干净。材料为
Dimorpha mutant
Planapo 63/1.4
相差效果



清理显微镜光学 部件时的注意点



1. 养成使用洗耳球的习惯，除非存在液体时（如浸没介质）。
2. 不要使用干的棉签或试纸擦拭镜头，以免造成划痕（可以哈口气）。
3. 不要使用某些制造商推荐的具磨损作用的材质来擦拭，如皮质的擦巾，干的亚麻类或聚苯乙烯棒。
4. 除了清洗脂类污渍情况外，要首先使用蒸馏水后再使用其他溶剂。（蒸馏水可以哈气的方式在镜头上形成）
5. 不用使用酒精或丙酮清洗老款显微镜（如蔡司的STANDARD系列）
6. 不要使用一次性棉签（如Q-Tip[®]），而要使用指定的棉签或ITW Texwipe CleanTips[®]产品，这是因为前者本身含有污染物。
7. 建议初学者不要使用带金属的清洗棒，而应使用木质或竹质的清洗棒，以免无意中划伤镜头。
8. 不要使用光学清洗喷雾罐，其中包含一定压力的液化气。喷出的液化气常常带有少量难以清除的残渣。
9. 禁止使用酸或碱性清洗液清洗物镜前端透镜。
10. 不要试图清洗内部光学部件、相机或转接镜头等。

供应商和配方

KERMA cotton N 1. DAB 6.

这种用于眼科手术的棉花是 100% 纯棉。(DIN61 640-A, Ph. Eur., DAB). 它绝对纯, 高吸附力并且柔软。掉落在表面的纤维可以被吹掉。

www.sbh-hainichen.de/kerma/prod/spez2.htm

WHATMAN Lens Cleaning Tissue 105

每张镜头纸 10cm x 15cm 大小, 共 25 叠, 每叠 25 张, Order Nr. 2105 841.

这是蔡司唯一推荐的拭纸。化学纯度高, 不含硅以及添加剂。其他公司如 KODAK 也代理该产品

www.whatman.plc.uk

Absorbent polyester swabs for cleaning optical components ITW Texwipe CleanTips ☒

(Alpha-, Clean Foam- or Absorbond series.)

从 TEXWIPE TX743B 名下的 Basan under 可获得具有不同大小规格和吸附性能的产品 company

www.texwipe.com www.basan.com

蔡司公司 Optical Cleaning Solution L 的配方

85% 石油醚, 15% 异丙醇相混 (该蔡司不销售该溶液)

石油醚 (也称 benzine or rubbing alcohol) 必须是分析纯, 并且沸点 $\leq 44^{\circ}\text{C}$). 更重的组分不适合, 因为容易在清洗表面留下不溶的残渍)。用于清洗盖片的丙酮也应当是分析纯。

安全建议:

When working with chemicals, solvents and other possible hazards, please be sure to follow the current, country-specific, safety regulations.

Carl Zeiss
Light Microscopy

Post Box 4041
37030 Göttingen
Phone: 0551-5060 660
Fax: 0551-5060 464
E-Mail: micro@zeiss.de
www.zeiss.de/courses