

环境微生物学 技术手册

邱文芳 主 编



HUANJIINGWEISHENGWUXUEJISHUSHOUCE

學苑出版社

环境微生物学技术手册

邱文芳 罗志腾 杜仰民 编著
徐亚同 曹郁生

学苑出版社

罗志腾 杜仰民
环境微生物学技术手册 邱文芳 徐亚同 曹郁生 编著

学苑出版社出版 社址: 北京西四颁赏胡同 4 号

人民交通出版社印刷厂印刷

新华书店总店北京发行所发行

开本 787×1092 1/16 印张: 21.5 字数: 544 千字 印数 00001—1500 册

1990 年 2 月第 1 版 1990 年 2 月第 1 次印刷

ISBN 7-80060-404-7/Q·1

定价 8.50 元

前 言

近二十年来,我国在环境微生物学方面取得了很大进步,对于治理环境污染起了很大作用。但是,关于环境微生物学方面的专著却很少,为便于有关院校、有关专业的师生及工作在生产第一线的技术员、工程师学习参考。华东交通大学、天津城市建设学院、华东师范大学、西北纺织学院等四所高等院校教学第一线的教师及江西省科学院微生物研究所的研究人员。通过多年的辛勤劳动,在实践的基础上,编写了这本手册。

本《手册》根据国外先进技术并结合编者几十年的科研、生产、教学工作实践及经验编撰而成的。《手册》简明扼要,综合性实用性较强。

本《手册》可供大专院校环境工程、卫生工程、建筑工程、环境卫生、环境保护和环境管理等专业的师生以及科研人员,农牧业、渔业、生物、医学、卫生保健与环境科学技术工作者参考使用,亦可供自来水厂、污水处理厂、生物制药厂、生物制品厂、酒厂、味精厂、食品厂等实验室技术人员参考使用。

本《手册》力求内容全面、方法新颖、技术具体,但由于编者业务水平有限,缺点错误在所难免,请读者批评指正。

本《手册》编写得到编者院校领导的关怀和支持,在此表示感谢。

编者

1989年3月

目 录

第一章 实验仪器及设备

第一节. 显微镜.....	(1)
一. 光学显微镜	(1)
二. 电子显微镜	(6)
三. 显微摄影	(7)
第二节. 常用分析仪器	(9)
一. 光电比色计与分光光度计	(9)
二. 酸度计与离子计	(12)
三. 测微尺与计数器	(16)
四. 其它测定仪器	(19)
五. 天平	(20)
第三节. 灭菌与灭菌器	(23)
第四节. 温度调节与测温器	(24)
第五节. 实验室建设	(27)

第二章 化学试剂与玻璃仪器

第一节. 化学试剂	(31)
第二节. 染色剂与指示剂	(40)
第三节. 滤纸与试纸	(56)
第四节. 常用玻璃仪器	(59)

第三章 微生物制片及染色技术

第一节. 微生物的制片方法	(69)
第二节. 微生物染色技术及形态观察	(77)

第四章 采样及培养

第一节. 采样	(90)
第二节. 培养	(104)
一. 培养基制备的原则和方法	(104)
二. 常用的微生物培养基	(108)
三. 种龄、接种量和培养时间	(118)
四. 培养方法	(118)

第五章 无菌操作及诱变技术

第一节. 无菌操作及纯种分离	(126)
----------------------	---------

一. 接种工具的类型及选用	(126)
二. 灭菌与消毒	(126)
三. 微生物的分离、纯化	(137)
第二节. 菌种的诱变方法	(147)
一. 诱变方法分类及其一般原理	(147)
二. 诱变方法	(149)
第三节. 菌种保藏	(154)

第六章 常用微生物的生理生化试验

第一节. 微生物生长的测定	(158)
实验 6-1 平板菌落计数法	(158)
实验 6-2 细菌生长曲线的测定	(159)
实验 6-3 膜过滤法	(159)
第二节. 生理特征测定方法	(160)
实验 6-4 微生物需氧性的测定	(160)
实验 6-5 生长温度的测定	(160)
实验 6-6 生长 pH 值范围的测定	(161)
实验 6-7 是否形成芽孢	(161)
实验 6-8 唯一碳源试验	(162)
实验 6-9 唯一氮源试验	(163)
实验 6-10 柠檬酸盐利用试验	(163)
实验 6-11 丙二酸盐利用试验	(164)
实验 6-12 固氮能力的检查	(164)
第三节. 生理生化试验	(165)
实验 6-13 糖类发酵试验	(165)
实验 6-14 葡萄糖代谢类型测定	(166)
实验 6-15 甲基红试验 (M、R 试验)	(167)
实验 6-16 VP 试验	(168)
实验 6-17 淀粉水解试验	(168)
实验 6-18 纤维素水解试验	(169)
实验 6-19 果胶水解试验	(170)
实验 6-20 3-酮基乳糖的产生	(171)
实验 6-21 果聚糖的产生	(172)
实验 6-22 吡嗪试验	(172)
实验 6-23 尿素酶测定试验	(172)
实验 6-24 硫化氢试验	(173)
实验 6-25 氨基酸脱羧酶测定	(174)
实验 6-26 苯丙氨酸脱氨酶试验	(174)
实验 6-27 精氨酸双水解酶测定	(175)
实验 6-28 石蕊牛奶试验	(176)

实验 6-29 硝酸盐还原试验	(177)
实验 6-30 厌氧硝酸盐还原产气	(179)
实验 6-31 鉴定中常用的几种酶类试验方法——氧化酶试验	(179)
实验 6-32 过氧化氢酶试验	(180)
实验 6-33 卵磷脂酶测定	(180)
实验 6-34 α 淀粉酶活力的测定方法	(181)
实验 6-35 蛋白酶活力的测定方法	(182)

第七章 环境因素对微生物生长与死亡的影响

第一节. 营养和氧气对微生物生长发育的影响	(184)
实验 7-1 营养元素对微生物生长的影响	(184)
实验 7-2 氧和 CO_2 浓度对微生物生长的影响	(186)
第二节. 物理和化学因素对微生物生长发育的影响	(189)
实验 7-3 温度对微生物生长的影响	(189)
实验 7-4 渗透压对微生物生长的影响	(191)
实验 7-5 氢离子浓度对微生物生长的影响	(193)
实验 7-6 紫外线对微生物生长的影响	(194)
实验 7-7 化学药剂对微生物生长的影响	(194)
实验 7-8 微生物与其生存环境之间的关系	(196)
实验 7-9 环境中微生物之间的相互关系	(199)

第八章 环境中微生物的检测

第一节. 水中微生物的检测	(202)
实验 8-1 水中细菌总数的检测	(202)
实验 8-2 水中大肠菌群 (Coliform group) 细菌的检测	(204)
实验 8-3 水中粪链球菌 (Fecal streptococcus) 的检测	(208)
实验 8-4 水中病毒的监测	(210)
第二节. 土壤中微生物的检测	(212)
实验 8-5 土壤中微生物的检测	(212)
实验 8-6 微生物在自然界氮素循环中的作用	(212)
第三节. 食品中微生物的检测	(215)
实验 8-7 食品中病原菌的检测	(215)
实验 8-8 牛奶中微生物的检测	(219)
第四节. 空气中微生物的检测	(222)
实验 8-9 空气中微生物的检测	(222)

第九章 环境污染控制微生物学

第一节. 废水生物处理微生物学	(224)
实验 9-1 废水生物处理的模型试验	(224)
实验 9-2 球衣菌的分离及培养	(226)

实验 9-3	光合细菌的培养及其对高浓度有机废水的净化作用	(228)
实验 9-4	能形成菌胶团的酚分解微生物的分离和解酚能力的测定	(230)
实验 9-5	活性污泥微生物的显微镜观察及微型动物的计数	(232)
实验 9-6	活性污泥中丝状微生物的鉴别	(235)
实验 9-7	活性污泥耗氧速率、废水可生化性及毒性的测定	(239)
实验 9-8	活性污泥脱氢酶活性的测定	(242)
实验 9-9	污水生物处理中营养的需求	(244)
实验 9-10	微生物细胞的固定化及其在废水生物处理中的应用	(246)
第二节	环境污染控制微生物学	(248)
实验 9-11	有机物分子结构和生物可降解性	(248)
实验 9-12	表面活性剂分解菌的分离	(250)
实验 9-13	甲烷发酵	(252)
实验 9-14	利用石油微生物的分离与计数	(253)
实验 9-15	垃圾堆肥中纤维素分解菌的计数和分离	(255)
实验 9-16	利用发光细菌监测环境中有毒污染物	(257)
实验 9-17	用 Ames 法检测环境中致癌物	(261)

第十章 环境工程细菌鉴定

第一节	革兰氏阴性好氧杆菌和球菌	(266)
第二节	革兰氏阴性兼性厌氧菌	(282)
第三节	革兰氏阴性厌氧细菌	(297)
第四节	革兰氏阴性球菌和球杆菌	(306)
第五节	革兰氏阴性厌氧球菌	(309)
第六节	革兰氏阴性元机化能营养细菌	(310)
第七节	产甲烷的细菌	(317)

附 录

一.	微生物常用染色液的配制	(320)
二.	微生物常用缓冲液	(323)
三.	常用试剂的配制	(327)
四.	公制度量衡表	(331)

主要参考文献

第一章 实验仪器及设备

“工欲善其事，必先利其器”，意思是说，要做成一件事情，必须要有好的器具。犹如人类要登上月球，没有宇宙飞船是实现不了的。自从17世纪荷兰人列文虎克发明了显微镜后，人类才第一次看见了细菌。本世纪30年代，电子显微镜的问世，人类才真正地揭开了微观世界的奥秘，不但看到了细胞的亚显微结构，而且也弄清了超微生物——病毒的真正面目。40年代层析技术和电泳技术的出现和兴起，大大地推动了分子生物学的研究，诸如核酸、酶、蛋白质分子的分离、分析和分子结构的测定。近30年来，红外光谱、紫外光谱和质谱、核磁共振波谱等技术的应用和发展，弄清了许多有机分子的结构。我们相信，随着激光、超导等技术的不断涌现，以及电脑技术的推广，将把微生物学实验技术推向一个崭新的水平。所有这些，都充分证明了实验技术和仪器设备的重要性。

第一节 显微镜

人眼观察物体的能力是有限的。一般情况下，在25cm的明视距离内，人眼只能分辨相距0.1~0.2mm的两个物体。也就是说，当两个物体相距不到0.1mm时，人眼也就把它们看成是一个物体了。这个极限称为人眼的分辨力。由此可知，人眼对小到一定程度的物体，如普通的细菌，就只能是“视而不见”。自从显微镜发明后，便产生了微生物学，它大大地推动了生物科学的发展，使人类从宏观世界走向微观世界。

一、光学显微镜

在显微镜的家族中，数光学显微镜的种类和型号最多。但不论它的种类如何多，按其光学结构特点来讲，可分为单式和复式两种。

(一) 单式显微镜

最简单的单式显微镜，就是我们经常用的扩大镜。它由一个凸透镜所组成，其放大倍数很小，通常只有5~10倍。

单式显微镜的特点是结构简单、价格低廉，且携带和使用都很方便。不足之处是放大倍数太小。

结构较为复杂的单式显微镜，就是我们实验室中经常使用的体视显微镜，其放大倍数在200倍以下。它由两组透镜所组成，对着物体的一组透镜称为物镜，对着观察者眼睛的一组透镜称为目镜。体视显微镜的特点是操作简单方便，成像清晰，立体感强。

(二) 复式显微镜

复式显微镜是微生物实验室中最常见的显微镜，结构较为复杂。其光路由两组以上的透镜所组成，因而放大倍数大。复式显微镜虽然品种型号繁多，但组成光学系统的主要部件——

目镜、物镜、聚光器等都是一样的。复式显微镜的种类很多，它们有普通光学（即明视野）显微镜、暗视野显微镜、相差显微镜、偏光显微镜、紫外光显微镜和荧光显微镜等。

1. 普通光学显微镜

普通光学显微镜由机械部分和光学系统两大部分所组成。机构部分包括：镜座、镜臂、镜筒、物镜转换器、载物台等；光学部分包括：目镜、物镜、聚光器、反光镜和光源等。其结构外形如图 1-1 所示：

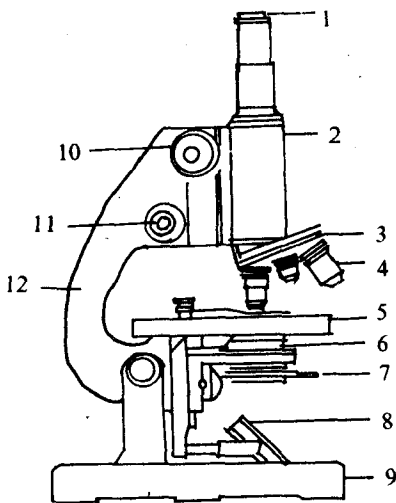


图 1-1 光学显微镜的构造

- 1、目镜；2、镜筒；3、物镜转换器；4、物镜；5、镜台；
6、聚光器；7、可变光阑；8、反光镜；9、镜座；
10、粗调节螺旋；11、细调节螺旋；12、镜臂

普通光学显微镜的特点是：结构简单、操作方便、成像清晰、价格低廉、种类繁多、型号齐全、用途十分广泛。现将目前国内主要生产厂家生产的该类显微镜的型号规格、技术参数、用途和参考价格列于表 1-1 中：

国产普通光学显微镜型号及其主要技术参数

表 1-1

产 品 型 号 及 名 称	主 要 技 术 参 数				主 要 用 途	生 产 厂 家	‘参考价 (元/台)	备 注
	目 镜 放大倍数	物 镜		总放大倍数				
		放大倍数	类 型					
XSP-2 型 生物显微镜	6.3× 10× 16×	4× 10× 40×		25.2×-640×	教学、生产 医疗	重庆光学 仪器厂	550	
XSP-8 型 生物显微镜	6 × 10× 16×	4× 10× 40×		24×-640×	同上	同上		
XSP-6 型 生物显微镜	大视野目镜 10×	4× 10× 40×		40×-400×	同上	同上		
XSP-9 型 生物显微镜	大视野目镜 10×	4× 10× 40×		40×-400×	同上	同上		
XSP-9 型 生物显微镜	7× 10× 16×	PC10× PC40× PC100×(油)	平场消色差	70×-1600×	教学、科研 生产、医疗	江南光学 仪器厂		

续表 1-1

产 品 型 号 及 名 称	主 要 技 术 参 数				主 要 用 途	生 产 厂 家	参考价 (元 / 台)	备 注
	目 镜 放大倍数	物 镜		总放大倍数				
		放大倍数	类 型					
XSP-10 型 双目生物显微镜	7× 10× 15×	PC10× PC40× PC100×(油)	平场消色差	70×-1500×	同上	同上		
XSP-12 型 生物显微镜	5× 10× 12.5×	10× 40×		50×-500×	教学、工厂 医疗	同上		
XSP-13A 型 生物显微镜	5× 10× 12.5×	10× 40× 100×(油)		50×-1250×	同上	同上		
XSP-15 型 生物显微镜	5× 10× 16×	10× 40×		50×-640×	教学 医疗	同上		
XSP-15B 型 生物显微镜	5× 10× 16×	10× 40×		50×-640×	同上	同上		
XSP-16A 型 生物显微镜	5× 10× 16×	10× 40× 100×(油)		50×-1600×	教学、科研 工厂、医疗	同上		
XSP-16B 型 生物显微镜	5× 10× 16×	10× 40× 100×(油)		50×-1600×	同上	同上		
XSP-18 型 生物显微镜	5× 10× 12.5×	10× 40× 100×(油)		50×-1250×	同上	同上		
XSP-18A 型 生物显微镜	5× 10× 12.5×	10× 40× 100×(油)	消色差	50×-1250×	同上	同上	约 800	
XSP-18B 型 双目生物显微镜	8× 10× 16×	10× 40× 100×(油)	平场消色差 消色差	120× 1600×	同上	同上	1400 1800	
XSZ-2C 型 高倍生物显微镜	P10× P16×	10× / 0.25 SP40× / 0.65 100X / 1.25 油	消色差	100× -1600×	同上	重庆光学 仪器厂	946	
XSZ-3C 型 双目生物显微镜	P10× P16×	10× 40× 100×(油)	半平场 消色差	100× -1600×	教学 科研	同上	1617	暗场 投影 摄影
XSZ-2E 型 生物显微镜	P10× P16×	4× 10× 40× 100×(油)		40×-1600×	教学、工厂 医疗	同上		
XSZ-3E 型	大视野 10×	4× 10× 40× 100×(油)		40×-1600×	教学 生产	同上	1485	
XSZ-2G 型 生物显微镜	大视野 P10×	4× 10× 40× 100×(油)	消色差	40×-100×	生产、学校 医院	同上		
XSZ-3G 型 双目生物显微镜	大视野 P10×	4× 10× 40× 100×(油)	半平场 消色差	40×-1000×	教学 科研	同上		暗视野 摄影、投影

续表 1-1

产 品 型 号 及 名 称	主 要 技 术 参 数				主 要 用 途	生 产 厂 家	参考价 (元/台)	备 注
	目 镜 放大倍数	物 镜		总放大倍数				
		放大倍数	类 型					
X5-B1 型实验室 生物显微镜	8× 10× 16×	4× 10× 40× 100×(油)	平场 消色差		教学 科研	南京光学 仪器厂	2800	
XSS-1 型 摄影生物显微镜	7× 10× 16×	PC 4× PC10× PC40× PC100×(油)	平场 消色差	28×-1600×	教学 科研	同上	2500	
XSS-2 型 摄影生物显微镜	8× 10× 16×	10× 40× 100×(油)		80×-1600×	同上	同上	2500	
XSZ-5C 型 摄影生物显微镜	S4× P10× P16×	10× 100×(油)	半平场 消色差	100× -1600×	同上	重庆光学 仪器厂	2805	
XSZ-5CA 摄影生物显微镜	S4× P10× P16×	10× SP40× 100×(油)	消色差	100× -1600×	同上	同上	3454	
XSJ-1 型双目研 究生物显微镜		PC4× PC10× PC25× PC40× 100×(油)	平场消色差 消色差	40×-1600×	研究	同上	3800	暗场、相衬 电视
XSJ-2 型双目实 验生物显微镜	同上	同上	同上	同上	实验 研究	同上	5060	荧光、摄影 描绘
ZXC-II 型 生物显微镜	10× 12.5×	4× 10× 40× 100×	消色差	50×-1600×	教学 临床	上海光学 仪器厂	1500	
L-101 型 生物显微镜	6× 10×(惠) 15×	5× 10× 45×	消色差	30×-670×	学生用	广州光学 仪器厂		
L-201 型 生物显微镜	6× 10×(惠) 15×	5× 10× 63×	同上	30×-945×	生物、化学 医学	同上		
L-301 型 生物显微镜	6× 10×(惠) 15×	5× 10× 45× 100×(油)	同上	30×-1500×	教学 医学	同上		
L-1000A 型 生物显微镜	5×(惠) 10×(平场) 16×(平场)	4× 10× 40× 100×(油)	同上	20×-1600×	教学、科研 工厂	同上		
L-1100A 型 单目显微镜 (HMG)	同上	同上	同上	同上	同上	同上		
L-1100B 型 双目显微镜 (HMG)	同上	同上	同上	同上	教学、科研 医疗	同上		

续表 1-1

产品型号 及名称	主要技术参数				主要用途	生产厂家	参考价 (元/台)	备注
	目镜 放大倍数	物镜		总放大倍数				
		放大倍数	类型					
L-1100C型 宽视野显微镜 (HBBG)	同上	同上	同上	同上	科研	同上		
L-2000A型 实验室显微镜 (HPTGA)	10×(平场) 16×(平场)	4× 10× 40× 25×100×(油)	平场消色差	40×-1600X 摄影 25× -630×	同上	同上		
L-2000B型 实验室显微镜 (HPTGB)	同上	同上	同上	同上	同上	同上		

2、暗视野显微镜

若将普通光学显微镜的聚光器换成暗视野聚光器，就可变为一架暗视野显微镜。从暗视野显微镜目镜中观察，视野全是黑暗的，只有被检物体（细菌）才是明亮的。由于所见到的菌体仅仅是个轮廓，而看不清其内部结构，故只能在观察菌体时使用。

国内常见的暗视野显微镜有：XSA-1 型暗视野生物显微镜（江南光学仪器厂），其主要技术参数如下：

总放大倍数 28×~1008×

物镜 4×、10×、100×

目镜 7×、10×、16×

暗视野聚光器

N、A=0.77~0.91 干暗视场聚光器

N、A=1.2~1.4 油视场聚光器

3、荧光显微镜

荧光显微镜与暗视野显微镜的结构是相同的，只是把普通光源换成一个激发荧光的紫外光光源，紫外光光源通常采用高压汞灯。荧光显微镜主要用于科研、教学、医药和微生物等研究工作中。目前国内生产的有：

XSY-04 型荧光显微镜（南京江南光学仪器厂产品），主要技术参数：

总放大倍数 50×~500×

物镜为 10×、50×

目镜为 5×、10×

L-2000C 型荧光显微镜（广州光学仪器厂产品），主要技术参数：

总放大倍数 25×~630×

平场消色差物镜 4×、10×、25×、40×、100×（油）

平场目镜 10×、16×

4、相差显微镜

如果要观察透明的活体微生物，由于光线通过它时光的波长和振幅不发生变化，所以整个视野的亮度是均匀的，因而一般的显微镜不能分辨出微生物细胞的细微结构。若采用相差

显微镜即可弥补上述不足。

相差显微镜的结构除了与普通显微镜一样外，所不同的是在聚光器下方插入了一个环状光栏，另有几个安装相板的相差物镜及合轴调整望远镜三个特殊部分。国内常用的有：

XSX-1 型与 XSX-2 型相差显微镜（南京江南光学仪器厂产品），主要技术参数：

总放大倍数 $50\times\sim1600\times$

相差平场消色差物镜 $10\times$ 、 $40\times$ 、 $100\times$ （油）

目镜 $5\times$ 、 $10\times$ 、 $16\times$ 、相差目镜

相差显微镜主要用于科研、教学、医疗等部门作细菌学、病理学的研究观察。

5、偏光显微镜

在生物体中，某些组织成分由于光学性质不同，可不经染色，利用偏光来加以区别。偏光显微镜就是利用它的特殊装置——偏光器、检偏器和补偿器等，使在镜检时产生偏光以鉴别细微结构，同时还可以辨别组织中的化学成分，因此可用于组织化学的研究中。

6、紫外光显微镜

该镜是以紫外光为光源。由于被检物体各种组分对紫外光吸收能力不同，因此，在以紫外光显微镜镜检时，可使未染色的标本容易辨别。同时，又因紫外光的波长比可见光要短一半，从而使它的分辨力增加了两倍，所以能看到用染色方法所看不到的结构。该镜对核酸的研究尤为重要。

（三）显微镜的保管与维护

显微镜是一种结构精密的光学仪器，如果保管和维护不当，易损坏，影响使用和降低成像质量，甚至不能使用。因此，必须妥善保管，小心使用，切忌粗心。

1、显微镜不用时，应用塑料袋套罩好，放在显微镜箱中，并放些硅胶干燥剂，然后将箱锁好，在室温 25°C 下保存。

2、显微镜在使用或保管期间，应避免在阳光下曝晒或靠近电炉、烘箱等高温设备，以免透镜粘胶剂膨胀或溶化而使透镜脱落或破裂。

3、保管或使用，应避开腐蚀性气体和液体，以免造成镜体上油漆的脱落和腐蚀透镜。

4、切忌用湿布和手指擦拭镜头，夏季以防止汗水沾污镜头。冬季要防止水汽的凝结。因为有机物和水分是镜头长霉的主要原因。

5、使用时应防止灰尘落入镜头，每次使用完毕，应用擦镜纸擦净镜头，用绸绢擦净镜体上的灰尘和水汽。油镜头使用后则应用擦镜纸蘸二甲苯擦拭干净。切忌用绸绢擦镜头，以免磨损。

6、应防止振动和粗暴搬动，以免造成光学系统光轴的歪斜，使物像看不清，影响观察。

7、粗细调节螺旋必须经常保持转动顺利灵活，应无停滞和滑动现象，如果发现调准焦点后不久，物像又变模糊不清，说明下滑。应立即检修。

8、不要把目镜轻易从镜筒中取出，以免灰尘落入，不易清除。如果需要更换目镜时，应立即用绸绢将它盖好。

9、如果长时间不用显微镜时，应将光学部件，特别是镜头擦净放在干燥器中保存，以免镜头长霉污染。

二、电子显微镜

电子显微镜的一切性能都是光学显微镜不能比拟的。光学显微镜的放大倍数只有两千倍，而电子显微镜的放大倍数则为一百多万倍。

电子显微镜不但放大能力强，而且分辨率高。光学显微镜的分辨率为 $0.2\mu\text{m}$ ($1\mu\text{m} = 10^{-3}\text{mm}$)，而电子显微镜的分辨率已达到 0.3nm ($1\text{nm} = 10^{-3}\mu\text{m}$)，即 $3\text{\AA}$ ($1\text{\AA} = \frac{1}{10}\text{nm}$)。一般原子的间距大约为 $1\text{\AA}$ 左右，因此电子显微镜可以观察到原子世界。这个分辨率比光学显微镜提高了 3,000 多倍。

电子显微镜主要由电子发射源（又称电子枪）、会聚透镜、接物透镜、投射透镜（又称放大镜）、记录系统、高压电源与低压电源、真空系统等七大部分组成。

自从 1933 年第一台透射电子显微镜问世以来，初期发展缓慢，近 20 多年的发展相当惊人，不但性能日臻完善，而且种类明显增多。用电子显微镜不但能观察物体的二维平面结构，而且可以得到三维的空间信息；不但能看到物体的形态结构，而且还能分析样品的化学组分。目前，除了常用的透射电子显微镜以外，其它诸如扫描电子显微镜、扫描透视电子显微镜、高压电子显微镜、分析电子显微镜、光学电子显微镜等相继问世，并且得到了应用。

（一）扫描电子显微镜

扫描电子显微镜又称为反射电子显微镜，它的特点是分辨率高，但只能观察物体的二维平面结构；放大倍数大，且可在 10 倍至几十万倍之间连续可调；景深视野大；图像清晰富有立体感，它主要用于观察物体表面结构，对样品厚度没有限制，焦距不变，景深基本不减少，因此观察和拍照都非常方便，可用于医学、生物、冶金、化学、电子学、半导体等科研、教学及生产部门。

若在扫描电子显微镜上再配一些附件，如 X 光微区分析器、半导体附件等，就可以在观察样品形貌的同时，进行样品组分分析或样品电、磁、发光性能的分析。

属于本类型的有江南光学仪器厂生产的 DXS-2 型扫描电子显微镜与北京中国科学院仪器厂生产的 DX-3A 型扫描电子显微镜。

（二）扫描透射电子显微镜

扫描电子显微镜采用场发射光源，照射面小，亮度极高，因而大大地减少了热损伤和辐射伤，同时可得到三维信息，且图像清晰，更重要的是成像的反差非常高，可以判断出元素之间原子序数的差别，这一特点是其它任何电镜都无法做到的。

扫描电子显微镜目前使用的有三种类型：具超高真空的场发射式电子显微镜；带有透射样品台的扫描电子显微镜和带有探测器的透射电子显微镜。

（三）光学电子显微镜

光学电子显微镜是把光学显微镜与电子显微镜两者结合起来，相互取长补短。它既克服了光学显微镜放大倍数低的弊端，又弥补了电子显微镜观察范围小的缺陷。使用时先以光学显微镜定位好所要研究的部位，然后再由电子显微镜进行放大观察，既省力、又方便。如果把它与电脑配合起来，那就更省时、准确。日本已把该类电子显微镜投入生产和应用。

三、显微摄影

要拍一张高质量的微生物照片，必须具备图像清晰、分辨率高的显微镜和优良的摄像机，这两者是最为重要的，然后配合以适当的照明和熟练的操作技巧，就可以拍到一张满意的显微照片。

（一）摄影显微镜

任何一种显微镜都可以用于显微摄影，不属哪一种适用、哪一种不适用的问题，但常用

的还是普通的明视野（明视场）显微镜。如果要拍到一张高质量的显微照片，最好使用高分辨率的显微镜。目前国内所生产的摄影显微镜质量都很好，完全可以满足要求，如江南光学仪器厂的 XSS-1 型、XSS-2 型摄影显微镜，广州光学仪器厂的 L-2000C 型摄影显微镜以及重庆光学仪器厂的 XSJ-1 型研究用生物显微镜等，都是较为理想的摄影显微镜。其它型号的显微镜在摄影时，可将观察目镜及其镜筒卸下来，换上配套的取景连接器和相机，即可供作显微摄影。

（二）照相机

上面介绍的几种摄影显微镜所用的相机，都采用国产单镜头反光照相机，如海欧 DF-1 型和珠江 S201 型 135 相机。它们的性能非常好，都备有 1~1/1000 秒快门及 B 门，并有自动计数、自拍延时、防重拍以及 X、XP 两种闪光装置，因此，使用选择余地较大。

（三）滤光片的选择

滤光片在显微摄影中可以控制并能增加反差，但又不致降低分辨率。各种不同颜色的标本所要增加的反差及其对滤光片颜色之间的相互配合见表 1-2:

标本与滤光片颜色的配合

表 1-2

标 本 颜 色	反差滤光片颜色	标 本 颜 色	反差滤光片颜色
蓝	红	褐	蓝
蓝 绿	红	紫红	绿
绿	绿	品红 (蓝红)	绿
红	绿	紫	黄
黄	蓝		

选用滤光片时最好在显微镜下进行，检视目的物，以得到最大的反差，使清晰度最好为准。

（四）曝光时间的掌握

曝光时间的长短，应以胶片的感光速度为主要依据，对于感光慢的胶片，曝光时间要长，则反差强、清晰。感光快的胶片曝光时间宜短，但反差较弱。所以显微摄影宜选中速或慢速胶片。

为了保证感光质量，对于不同感光速度的胶片，应在设定最佳时间的同时，还应取最佳时间的二倍和最佳时间的一半进行试摄，以最终确定其准确的曝光时间。

除此之外，曝光时间的快慢还与物镜的数值孔径有关，在同一放大倍数下，孔径大的，曝光时间要短。使用 135 相机时，物镜、滤光片等与曝光时间的配合如表 1-3 所示:

135 照相机与物镜、目镜、滤光片配合时的曝光时间

表 1-3

物 镜	目 镜	灯 光 栏	聚光器光栏	标本颜色	滤 光 片	曝光时间 (21° 定)
8×	6.3×	1/4	0.02	品红	绿黄	1/2"
20×	6.3×	1/4	0.04	品红	绿黄	1"
40×	6.3×	1/2	0.065	品红	绿黄	2"
90×	6.3×	1	1.25	品红	绿黄	4 ¹ / ₂ "

第二节 常用分析仪器

一、光电比色计与分光光度计

光是波长范围非常宽阔的一种电磁波。自然界中普通的白光，通过三棱镜色散后，可得到由红到紫七种颜色组成的可见光谱（400~700nm）外，以及看不见的红外线、紫外线和 X 射线等，它们共同组成了一个光谱图（表 1-4）。目前，它们都被应用于各种光学仪器中。

光谱图（电磁波谱）

表 1-4

光谱区域	波 长	范 围	原子或分子 的跃迁能级
	米	常用单位	
γ 射线	$10^{-12} \sim 10^{-10}$	$10^{-12} \sim 1.0 \text{ \AA}$	核
χ 射线	$10^{-10} \sim 10^{-8}$	$1.0 \sim 100 \text{ \AA}$	内层电子
紫外线 $\begin{cases} \text{远紫外} \\ \text{紫 外} \end{cases}$	$10^{-8} \sim 10^{-7}$ $2 \times 10^{-7} \sim 4 \times 10^{-7}$	$10 \sim 200 \text{ \AA}$ $200 \sim 400 \text{ nm}$ ($2000 \sim 4000 \text{ \AA}$)	中层电子 外层(价)电子
可见光(μm) $\begin{cases} \text{紫} & 0.39 \sim 0.43 \\ \text{蓝} & 0.43 \sim 0.48 \\ \text{青} & 0.48 \sim 0.51 \\ \text{绿} & 0.51 \sim 0.56 \\ \text{黄} & 0.56 \sim 0.58 \\ \text{橙} & 0.58 \sim 0.60 \\ \text{红} & 0.60 \sim 0.70 \end{cases}$	$4 \times 10^{-7} \sim 7.6 \times 10^{-7}$	$400 \sim 760 \text{ nm}$ ($4000 \sim 7600 \text{ \AA}$)	外层(价)电子
红外 $\begin{cases} \text{近红外} \\ \text{中红外} \\ \text{远红外} \end{cases}$	$7.6 \times 10^{-7} \sim 5 \times 10^{-3}$ $5 \times 10^{-5} \sim 10^{-3}$	$0.76 \sim 50 \mu\text{m}$ $50 \sim 1000 \mu\text{m}$	分子振动与转动
微 波	$10^{-3} \sim 1$	$0.1 \sim 100 \text{ cm}$	分子转动
无 线 电 波	$1 \sim 10^3$	$1 \sim 1000 \text{ m}$	核磁共振

(注) 波长单位

$$1 \text{ 毫米} = 1 \text{ nm} = 1 \mu\text{m} = 10^{-7} \text{ cm} = 10^{-9} \text{ m}$$

$$1 \text{ 微米} = 1 \mu\text{m} = 10^{-6} \text{ cm} = 10^{-6} \text{ m}$$

$$1 \text{ 埃} = 1 \text{ \AA} = 10^{-1} \text{ nm} = 10^{-10} \text{ m}$$

(一) 光电比色计

比色分析法是通过比较样品溶液颜色的深浅来测定溶液浓度的一种方法。许多物质的溶液本身具有特定的颜色，颜色的深浅与浓度具有一定的线性关系。然而大多数物质本身是无