



普通高等教育“十三五”规划教材
普通高等教育“十一五”国家级规划教材
《现代食品微生物学》配套教材

食品科学与工程专业主干课程



现代食品微生物学 实验技术 (第二版)

主编 刘 慧

MODERN EXPERIMENT TECHNOLOGY
OF FOOD MICROBIOLOGY
(SECOND EDITION)



中国轻工业出版社 | 全国百佳图书出版单位

普通高等教育“十三五”规划教材
中华农业科教基金教材
普通高等教育“十一五”国家级规划教材《现代食品微生物学》配套教材

现代食品微生物学实验技术

(第二版)

刘慧 主编
张红星 高秀芝 副主编

 中国轻工业出版社

图书在版编目(CIP)数据

现代食品微生物学实验技术/刘慧主编.—2版.—北京:中国轻工业出版社,2017.2

普通高等教育“十三五”规划教材

ISBN 978-7-5019-8191-5

I. ①现… II. ①刘… III. ①食品微生物—微生物学—实验—高等学校—教材 IV. ①TS201.3-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2016)第303304号

责任编辑:伊双双 钟雨

策划编辑:伊双双 责任终审:唐是雯 封面设计:锋尚设计

版式设计:宋振全 责任校对:吴大鹏 责任监印:张可

出版发行:中国轻工业出版社(北京东长安街6号,邮编:100740)

印刷:北京君升印刷有限公司

经销:各地新华书店

版次:2017年2月第2版第1次印刷

开本:787×1092 1/16 印张:22.75

字数:510千字 插页:1

书号:ISBN 978-7-5019-8191-5 定价:50.00元

邮购电话:010-65241695 传真:65128352

发行电话:010-85119835 85119793 传真:85113293

网址:<http://www.chlip.com.cn>

Email:club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请直接与我社邮购联系调换

111161J1X201ZBW

《现代食品微生物学实验技术》(第二版)编写人员

主 编 刘 慧

副主编 张红星 高秀芝

参 编(按姓氏笔画为序)

刘 慧 张红星 易欣欣 金君华

高秀芝 谢远红 熊利霞

《现代食品微生物学实验技术》(第一版)编写人员

主 编 刘 慧

副主编 张红星

参 编(按姓氏笔画为序)

刘 慧 张红星 张海予 易欣欣

高秀芝 熊利霞

第二版前言

《现代食品微生物学实验技术》(第一版)自2006年7月问世以来,作为我国高等院校食品科学与工程类专业基础课实验教材被我国50余所高校广泛使用,深受广大师生的一致好评。2008年该教材荣获北京农学院高等教育教学成果奖,2012年11月被遴选为中华农业科教基金教材建设研究项目(NKJ201203013),并于2015年11月顺利通过验收鉴定。为了满足新形势下教学、科研和生产实践发展的需要,更好地配合《食品微生物学》的教学改革和课程建设,有必要编写《现代食品微生物学实验技术》(第二版)。这部教材是编者根据自己30年讲授《食品微生物学》课程的经验与科研实践,在2006年主编出版的《现代食品微生物学实验技术》(第一版)及2011年主编出版的《现代食品微生物学》(第二版)(普通高等教育“十一五”国家级规划教材)基础上,借鉴了近年来国内外同类实验教材的优点,参考大量较先进的微生物学实验技术,以及目前现行有效的GB/T 4789系列食品安全国家标准、GB/T 4789系列食品卫生微生物学检验标准编撰的配套教材。新版编写的指导思想及创新特点(即在编排形式上力求创新、在内容上有所更新、在文字表达上把好质量关)与第一版一致,以“基本”和“新”为原则,将近几年有关食品微生物学方面的新理论、新技术、新成果、新发展动态以及科研实践经验不断充实到教材的实验中,使本书第二版内容日臻完善。

本教材将《普通微生物学》和《食品微生物学》两门课的教学内容有机结合起来,组成紧密关联的基础实验和应用实验两大部分,使前后内容融会贯通,编排形式紧凑、突出重点,删除陈旧重复的内容。同时将普通微生物的基本实验技术和食品微生物的应用实验技术有机结合,既重视基本实验技能的训练,又注重食品安全相关的微生物检测技术、发酵食品的制备技术、食品加工保鲜技术等食品微生物应用技术。第二版教材突出的特色是,对每个实验的写作都非常认真,理论与实践应用的结合更加紧密,基本原理阐述更明确,实验流程更清晰,实验注意事项更详尽,实验的可操作性、重现性和实用性较强,并配合大量的微生物形态图、平板菌落特征图,以便初学者容易识别、记忆和掌握。此外,在一些重要的实验中都设有相应的探究式思考题,让学生举一反三地学会设计实验方案,培养学生充分发挥发散性思维的能力,加深学生对实验的理解和实际问题的思考,有利于激发学生的学习兴趣和培养多种能力。根据第二版编写的宗旨和指导思想,除上述的总体变化外,每个实验都进行了逐句校正、修订和增减,主要修改内容如下。

第一篇现代食品微生物学基础实验,由第一版的24项实验增至26项实验,即增加了实验2 荧光显微镜样品的制备及观察、实验3 电子显微镜样品的制备及观察、实验18 免疫胶体金标记技术、实验25 霉菌原生质体融合技术4个实验项目,删减第一版实验8 酵母菌子囊孢子和霉菌接合孢子的培养与观察、实验12 实验室环境中微生物的检测2个实验项目。根据编者近几年的科研实践经验及科技成果,增加了“免疫胶体金标记技术、细菌素抑菌效价的测定、管碟法测定枯草菌素的抑菌效果、采用Biolog GEN III 鉴定板鉴定芽孢杆菌的方法、乳酸菌甘油保藏方法”等实验内容,并修改补充了“细菌的简单染色和革兰氏染色及其形

态观察、培养基的制备与灭菌方法、霉菌的显微镜直接计数法、微生物鉴定用常规生化反应试验、酶联免疫吸附实验(ELISA)”等实验内容。

第二篇现代食品微生物学应用实验,由第一版的30项实验增至32项实验,即增加了实验30食品中粪大肠菌群计数、实验35食品中大肠埃希氏菌O157:H7/NM的检验、实验38食品中产气荚膜梭菌的检验、实验39食品中阪崎肠杆菌的检验、实验52食品中乳酸菌的检验、实验58乳酸菌的微胶囊化技术6个实验项目,删减了实验30食品中致病性大肠埃希氏菌的检验、实验39噬菌体的检测及其效价测定、实验41饮用水的微生物学检验、实验42空气中微生物的检验和数量测定4个实验项目。其中增加的5项检验实验均按照现行有效的2012年、2013年和2016年发布的GB 4789系列食品安全国家标准进行编写,同时根据编者近期取得的科研试验成果,增加了较为实用的“分散法包被乳酸菌的微胶囊化技术”内容。将第一版实验25食品中微生物菌落总数的测定,拆分成新版的“实验27食品中细菌的菌落总数测定”和“实验28食品中酵母菌和霉菌的菌落总数测定”两个实验项目,并删减第一版实验43中“啤酒酵母细胞的固定化”内容。此外,根据现行有效的2012年、2013年和2016年发布的GB 4789系列食品安全国家标准修改了“食品中细菌的菌落总数测定、酵母菌和霉菌的菌落总数测定、食品中大肠菌群计数、食品中沙门氏菌的检验、食品中志贺氏菌的检验、食品中金黄色葡萄球菌的检验与计数、食品中黄曲霉毒素 B_1 的检测、食品中副溶血性弧菌的PCR检测、食品中单核细胞增生李斯特氏菌的PCR检测、食品中乳酸菌的检验”等全部实验内容,又根据《食品卫生微生物学检验标准 鲜乳中抗生素残留检验》(GB/T 4789.27—2008),修改了“还原试验法对鲜乳中抗生素残留的检验”内容。同时还修订补充了“嗜冷菌数量的检测、Ames法对化学诱变剂与致癌剂的检测、双歧杆菌等厌氧菌的分离培养及其活菌计数,以及蛋白质、脂肪、纤维素分解菌和淀粉水解菌的检验”等部分实验内容。

本教材由刘慧任主编,张红星、高秀芝任副主编。参编人员具体分工如下:实验1、实验4、实验5、实验6、实验7、实验8、实验9、实验11、实验12、实验13、实验14、实验19、实验20、实验22、实验23、实验24、实验26、实验31、实验32、实验43、实验44、实验46、实验47、实验48、实验49、实验50、实验51、实验53、实验54、实验55、实验56和实验58由刘慧编写;实验10和实验21由易欣欣、刘慧编写;实验2、实验3和实验25由高秀芝编写;实验15、实验16和实验17由高秀芝、刘慧编写;实验18由张红星编写;实验27、实验28、实验29和实验45由熊利霞、刘慧编写;实验30、实验35、实验38和实验39由熊利霞编写;实验33、实验34、实验36和实验40由张红星、金君华编写;实验41、实验42由谢远红编写;实验37由张红星、刘慧编写;实验52和实验57由刘慧、金君华编写;附录I、附录III、附录IV、附录V、附录VI、附录VII由刘慧编写;附录II由刘慧、高秀芝编写。本书由刘慧统稿和校对。

本教材修订工作历经三年多的时间,倾注了编者的心血和智慧,以达精益求精、突出教材特色之目的。在这里对编者所在校院领导和中国轻工业出版社的大力支持深表感谢。本书引用了一些教材作者的插图,在此一并感谢。

由于作者水平和能力有限,书中仍有许多不当或错漏之处,恳请广大读者和同行指正。

刘慧
2016年10月

第一版前言

理论来源于实践,又应用到实践中去。为了加强理论在实践中的应用,验证、巩固和加深理解专业理论课的知识,熟悉和掌握实验和操作技能,培养学生理论联系实际,独立分析问题和解决问题的能力,进一步启发和提高学生的创新意识和创新能力,尤其为了满足教学、科研和生产实践的需要,更好地配合《食品微生物学》实验教学的改革和课程建设,我们编写了这本《现代食品微生物学实验技术》教材。这部教材是编著者根据自己20年讲授《食品微生物学》课程的经验与科研实践,在2000年编著的《食品微生物学实验指导》及2004年主编出版的《现代食品微生物学》(2004年12月被评为北京市高等教育精品教材)基础上,借鉴了近年来国内外同类实验教材的优点,参考大量较先进的微生物学实验技术,编撰的配套教材。本书可作为高等院校食品科学与工程专业的教科书,也可作为其他相关专业如食品质量与安全、制药工程、制剂专业的教科书和发酵工程、生物化工本科生的参考书,以及食品相关企业、食品卫生检验部门的参考书。同时也可作为从事食品微生物和发酵工作者的必备资料。本教材在编撰过程中突出以下特点:

1. 在编排形式上力求创新。本教材从总体上分为两篇。第一篇“现代食品微生物学基础实验”介绍《普通微生物学》课程的基本实验技术,第二篇“现代食品微生物学应用实验”介绍《食品微生物学》课程的应用实验技术。以上内容共编写54个实验,每个实验相对独立,可供全国各大院校相关专业酌情选做。该教材将两门课程的实验教学内容有机结合起来,使前后内容融会贯通,目的是使学生更清晰地掌握食品微生物的基础理论和基本实践技能。并使编排形式紧凑、简练,写作思路统一,书写格式一致,编写成系统、连贯、实践性强、教学效果较好的实验系列。同时在内容取舍和编排上突出重点,尽量删除陈旧的内容。

2. 在内容上有所更新。在整个编撰过程中,以“基本”和“新”为原则,力图使本书既具有较系统的食品微生物学基础实验内容,注重基本实验技能的训练,又具有较新的食品微生物学检测技术、食品微生物的分离纯化和鉴定技术、发酵食品的制备技术、食品加工与保鲜技术、现代分子微生物学实验方法等。并将有关食品微生物学方面的最新理论、新技术、新成果、发展新动态融入教材的每一实验中,使学生便于了解本学科的前沿发展,并尽力做到理论与生产实践相结合,验证性实验与综合性、设计性实验相结合,体现课程改革的精神。目的是培养和造就一批“厚基础、强能力、高素质、广适应”的生产型创新人才。此外,该部教材有关微生物的学名不仅得到了前后统一,而且根据近年来采用了16S rRNA序列分析鉴定新技术成果,在教学常用微生物的学名附录中修正和引入了新的微生物学名,尽量避免目前微生物学名存在同物异名或同名异物的混乱现象。

3. 在文字表达上把好质量关。本教材编撰力求语言简练,内容精练,层次分明,表达严谨,图文并茂。避免概念表达不清、内容庞杂、不易被学生掌握记忆等缺点。并注意前后实验相关内容的衔接,尽量避免重复。

本教材由北京农学院刘慧任主编,张红星任副主编,参编人员还有易欣欣、熊利霞、张海予、高秀芝。具体撰写分工为:实验1、实验2、实验3、实验4、实验5、实验6、实验7、实验8、

实验 10、实验 11、实验 13、实验 18、实验 19、实验 21、实验 22、实验 23、实验 24、实验 27、实验 28、实验 37、实验 38、实验 41、实验 42、实验 43、实验 44、实验 45、实验 46、实验 47、实验 48、实验 49、实验 50、实验 51、实验 52、实验 53、实验 54 由刘慧编写;实验 9、实验 12、实验 20 由易欣欣编写;实验 15、实验 16、实验 17 由高秀芝、刘慧编写;实验 14、实验 25、实验 26 由熊利霞、刘慧编写;实验 29、实验 30、实验 31、实验 32、实验 33、实验 34、实验 35 由张红星编写;实验 36 由张海予编写;实验 39、实验 40 由熊利霞编写;附录 I、附录 II 由刘慧、张红星编写与整理,附录 III、附录 IV、附录 V、附录 VI 由刘慧编写。本书初稿完成后,由刘慧改写和重写了部分实验,并负责完成了对全书多次的校阅修改、仔细统稿、插图编排和文字排版工作。易欣欣参与了第一篇的大量具体的校阅修改工作。张红星对图 26-1、图 28-1 进行了重新绘制。钟德寿、李树臣完成了对实验 7、实验 48 的微生物平板菌落数码照相工作。对插图的收集、绘制工作主要由各实验编写者负责完成。

本教材编写倾注了编者的智慧和精力,历经了两年时间终于出版了。在这里我要非常感谢所有参编者的家人给予编者在时间、精神、物质方面的大力支持和帮助,同时也要对北京农学院教务处董跃娴老师、编者所在校系领导和中国轻工业出版社的大力支持深表诚挚的谢意!本书引用了一些作者的插图,在此一并致谢。

由于编者水平有限,缺点和错误之处在所难免,恳请广大读者和同行专家提出宝贵意见。

刘慧

目 录

食品微生物学实验室守则	1
-------------------	---

第一篇 现代食品微生物学基础实验

实验 1 普通光学显微镜的构造与使用	5
实验 2 荧光显微镜样品的制备及观察	10
实验 3 电子显微镜样品的制备及观察	14
实验 4 细菌的简单染色和革兰氏染色及其形态观察	22
实验 5 细菌的芽孢、荚膜和鞭毛染色法	28
实验 6 培养基的制备与灭菌方法	35
实验 7 微生物的分离与纯化技术	46
实验 8 细菌、酵母菌、霉菌和放线菌的接种与培养技术	52
实验 9 细菌、酵母菌、霉菌和放线菌的形态与菌落特征观察	58
实验 10 微生物细胞大小的测定	72
实验 11 细菌、酵母菌和霉菌的显微镜直接计数法	75
实验 12 用比浊法测定细菌、酵母菌的数量及其生长曲线	81
实验 13 微生物鉴定用常规生化反应试验	85
实验 14 微生物鉴定用微量生化反应试验	96
实验 15 常规的抗原与抗体反应试验	104
实验 16 荧光抗体鉴定技术	113
实验 17 酶联免疫吸附实验 (ELISA)	115
实验 18 免疫胶体金标记技术	118
实验 19 环境因素对微生物生长的影响	122
实验 20 食品防腐剂抑菌效果的测定	135
实验 21 营养元素对微生物生长的影响	140
实验 22 微生物的人工诱变育种技术	142
实验 23 营养缺陷型突变株的筛选与鉴定	147
实验 24 酵母菌原生质体融合技术	151
实验 25 霉菌原生质体融合技术	155
实验 26 微生物的菌种保藏技术	158

第二篇 现代食品微生物学应用实验

实验 27 食品中细菌的菌落总数测定	167
实验 28 食品中酵母菌和霉菌的菌落总数测定	172
实验 29 食品中大肠菌群计数	175

实验 30	食品中粪大肠菌群计数	179
实验 31	还原试验法对鲜牛乳中细菌总数的测定	182
实验 32	还原试验法对鲜乳中抗生素残留的检验	185
实验 33	食品中沙门氏菌的检验	188
实验 34	食品中志贺氏菌的检验	194
实验 35	食品中大肠埃希氏菌 O157:H7/NM 的检验	199
实验 36	食品中金黄色葡萄球菌的检验与计数	202
实验 37	食品中肉毒梭菌及肉毒毒素的检验	207
实验 38	食品中产气荚膜梭菌的检验	211
实验 39	食品中阪崎肠杆菌的检验	215
实验 40	食品中黄曲霉毒素 B ₁ 的检测	218
实验 41	食品中副溶血性弧菌的 PCR 检测	221
实验 42	食品中单核细胞增生李斯特氏菌的 PCR 检测	224
实验 43	食品中耐热菌和嗜冷菌数量的检测	227
实验 44	蛋白质、脂肪、纤维素分解菌和淀粉水解菌的检验	232
实验 45	Ames 法对化学诱变剂与致癌剂的检测	237
实验 46	啤酒酵母的酒精发酵试验	242
实验 47	甜酒曲中根霉的分离与甜酒酿的制作	246
实验 48	毛霉的分离与豆腐乳的制作	250
实验 49	固体糖化曲的制备及其酶活力的测定	253
实验 50	酱油种曲中米曲霉孢子数及发芽率的测定	256
实验 51	发酵乳品中常用乳酸菌的培养与性状观察	260
实验 52	食品中乳酸菌的检验	264
实验 53	发酵乳制品生产菌种的复壮技术与菌种活力的测定	268
实验 54	乳酸菌的菌种保藏、活化及其乳品发酵剂的制作	273
实验 55	发酵乳制品及泡菜中乳酸菌的分离与鉴定	278
实验 56	发酵风干香肠中葡萄球菌和微球菌的分离计数与鉴定	282
实验 57	双歧杆菌等厌氧菌的分离、培养及其活菌计数	285
实验 58	乳酸菌的微胶囊化技术	288
附录		291
附录 I	微生物常用玻璃器皿清洁法	291
附录 II	常用培养基配方	294
附录 III	常用染色液的配制	317
附录 IV	常用试剂和指示剂的配制	320
附录 V	常用消毒剂和杀菌剂的配制	328
附录 VI	常用微生物的拉丁学名对照表	329
主要参考书目		351

食品微生物学实验室守则

食品微生物学实验的目的是加深与巩固食品微生物学的理论知识,掌握食品微生物学与食品卫生检验的基本操作技能,为今后分析、研究食品原料、加工过程和成品中产生的有关微生物问题奠定基础。培养实事求是、严肃认真的科学态度,以及勤俭节约,爱护公物的良好作风。为了上好实验课,提高实验课堂效果,要求学生应特别注意遵守以下微生物学实验室守则。

(1) 进入实验室必须按相关规定穿戴实验服,不准在实验室内进行与实验无关的活动。

(2) 实验室内应保持清洁安静,勿高声谈话和随便走动,以免造成污染。

(3) 使用显微镜及其他贵重仪器时,要按规范认真操作,特别爱护,并登记使用情况。

(4) 严格按规程进行操作,慎防染菌。一旦出现吸菌液入口,划破皮肤,盛菌试管或三角瓶不慎打破污染实验台和衣物时,应及时报告指导教师,及时处理,切勿隐瞒。

(5) 酒精灯及其他明火应远离易燃物,用后立即熄灭,注意防火。如遇火险,应先关掉火源,再用湿布或沙土掩盖灭火,必要时用灭火器。

(6) 接种工具(如接种环、接种针等)使用前后必须用火焰烧灼灭菌。

(7) 进行高压蒸汽灭菌时,严格遵守操作规程。灭菌负责人在灭菌过程中不准离开灭菌室。

(8) 实验所用废物、废液及废纸等物,不准随便乱丢,应放在指定地点。

(9) 对实验仪器、设备、用品应倍加爱护,损坏时必须向指导教师报告,在损物簿上登记。对易损坏的玻璃器皿要小心使用和洗涤。对易耗材料和药品等力求节约,用后放回原处。

(10) 实验室内的菌种和物品等未经教师许可,不得携出室外。

(11) 实验室内应保持整洁,实验完毕应将桌面整理清洁,用过的物品放回原处,并按组轮流打扫卫生(包括整理和擦净桌面、洗涤玻璃器皿、拖地、擦黑板等)。

(12) 离开实验室前将手洗净(先用消毒水清洗,再用肥皂清洗,最后清水冲洗),并注意关闭火、门、窗、水、电、灯等。

此外,为了配合实验教学改革,促进学生能力的全面提高,还要求学生完成以下实验环节。

(13) 在教师指导下,由学生自己认真准备实验用品,以增加学生动手操作的机会,加强基本技能训练。准备实验包括棉塞的制作,玻璃器皿(包括试管、吸管、平皿、三角瓶等)的清洗、包扎和灭菌,培养基的制备,微生物的接种操作、化学试剂的配制,以及仪器设备的安装使用。

(14) 充分预习实验内容,明确本次实验的目的要求、原理、方法和注意事项,做到心中有数。

(15) 实验操作要细心谨慎,认真进行观察和及时做好实验记录,以便在报告中分析讨论。

(16) 每次实验应以实事求是的态度按格式要求填写实验结果与报告内容,并进行讨论和误差分析,观察微生物个体形态要用铅笔按比例绘图,及时交指导教师批阅。

第一篇 现代食品微生物学基础实验

实验 1 普通光学显微镜的构造与使用

1 目的和要求

- (1) 了解普通光学显微镜的构造,各部分的功能和使用方法。
- (2) 学习并掌握油镜的原理和使用方法,熟悉几种常见微生物的基本形态。

2 普通光学显微镜的构造与油镜的工作原理

2.1 普通光学显微镜的构造 显微镜的构造分为机械装置和光学系统两大部分。机械装置包括镜座、镜筒、镜臂、物镜转换器、载物台、推进器、粗调螺旋、微调螺旋、光圈等部件;光学系统由接目镜、接物镜、聚光器、反光镜等组成(图 1.1)。

2.1.1 镜座 镜座是显微镜底座,用以支撑全镜,呈长方形。其上装有电源开关、照明光源、保险丝、光源滑动变阻器等。

2.1.2 镜筒 镜筒上连接目镜、下连接转换器,光线从筒中通过。安装目镜的镜筒分为可调式的单筒和固定式的双筒两种。从镜筒上缘到物镜转换器螺旋口之间的距离称为筒长。国际上将显微镜的标准筒长定为 160mm,此数字标在物镜的外壳上。

2.1.3 镜臂 连接镜筒和镜座。有的镜臂是固定的,有的可向后倾斜,其作用是支撑镜筒、载物台、聚光器和调焦装置等。

2.1.4 物镜转换器 转换器上可安装 3~5 个物镜,一般是 3 个物镜(低倍镜、高倍镜、油镜)。转动转换器时,可以按需要调换各种物镜,将之推到使用位置上。

2.1.5 载物台 载物台呈长方形,中央有一孔,为光线通路。在台上装有弹簧标本夹和推进器。

2.1.6 推进器 推进器由一横一纵两个推进齿轴和齿条构成,转动其上螺旋,可使标本片向前、后、左、右移动。研究型显微镜的纵横架杆上刻有刻度标尺,构成精密的平面坐标系。如需要重复观察已检查标本的某一物像时,可在第一次检查时记下纵横标尺的数值,下次按数值移动推进器,就可以找到原来标本的位置。

2.1.7 粗调螺旋 粗调螺旋用于粗放调节物镜和标本的距离。老式单目镜显微镜的

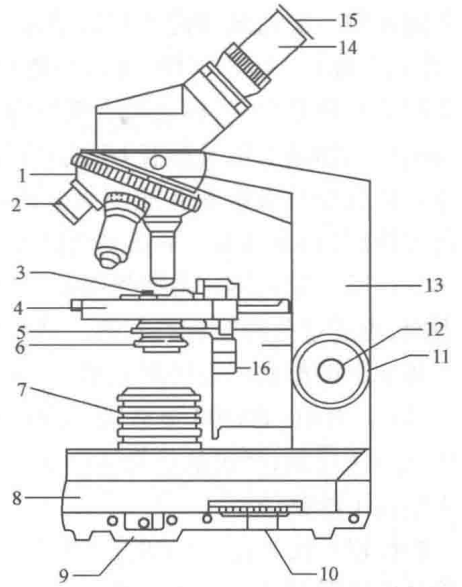


图 1.1 光学显微镜构造示意图

- 1—物镜转换器 2—物镜 3—游标卡尺 4—载物台
- 5—聚光器 6—虹彩光圈 7—光源 8—镜座
- 9—电源开关 10—光源滑动变阻器
- 11—粗调螺旋 12—微调螺旋 13—镜臂
- 14—镜筒 15—目镜 16—标本移动螺旋

粗调螺旋向前扭动,镜头下降接近标本。新式双目显微镜(如 Motic 显微镜)镜检时,双手向后扭动使载物台上升,让标本接近物镜,反之则下降,标本远离物镜。使用显微镜观察标本时,主要使用粗调螺旋调节。

2.1.8 微调螺旋 用粗调螺旋只能粗放地调节焦距,难于观察到清晰的物像,因而需要用微调螺旋做进一步调节。其每转一周,镜筒移动 0.1mm。新式研究型显微镜粗、微螺旋为共轴式。原则上,微调螺旋每次旋转不超过一周。

2.1.9 光圈 在聚光器下方,可任意开闭,用来调节射入聚光器光线的强弱。

2.1.10 接目镜 目镜作用是将物镜放大的实像进行第二次放大,形成虚像并映入眼帘。不同的目镜上刻有 $5\times$ 、 $10\times$ 、 $15\times$ 等字样,以表示该目镜的放大倍数。普通光学显微镜常用的目镜主要是惠更斯目镜。研究型显微镜配有性能更好的目镜,如补偿目镜(K)、平场目镜(P)和广视场目镜(WF)等。照相时选用照相目镜(NFK)。

2.1.11 接物镜 物镜安装于转换器上,入射光线通过物镜时使被检物像形成第一次放大的实像。普通显微镜装有低倍镜($10\times$)、高倍镜($40\times$)和油镜($100\times$)三种消色差物镜,外壳上标有“Ach”字样,通常与惠更斯目镜配合使用。使用低倍镜和高倍镜时,物镜与标本间的介质是空气,称之为干燥系物镜;而使用油镜时,物镜与标本间的介质是香柏油,称之为油浸系物镜。油镜标有 HI 或 Oil 字样及镜头下缘刻有白环或红环。检查细菌标本要用油镜。研究型显微镜配有性能更好的物镜,如复消色差物镜(Apo)、平场物镜(Plan)、平场消色差物镜(Plan Ach)、平场复消色差物镜(Plan Apo)等。

2.1.12 聚光器 由聚光透镜、升降螺旋和能调节开孔大小的虹彩光圈组成,装在载物台下面,可通过升降螺旋而起落。其作用是将光线聚光于标本之上,增强照明度。普通光学显微镜配置的都是明视场聚光器,分为阿贝聚光器、齐明聚光器和摇出聚光器三种。研究型显微镜(如 Motic BA400 显微镜)配有性能更好的消色差摇出式聚光器,能将聚光器上的透镜从光路中摇出,满足低倍物镜($4\times$)大视场照明的需要。齐明聚光器虽质量最好,但不适于 4 倍以下的物镜。

2.1.13 反光镜 早期普通光学显微镜常用自然光检视标本,在镜座上装有反光镜,由平凹两面镜子组成。光线较强时用平面镜,光弱时用凹面镜,可自由旋转方向,以将最佳光线反射入聚光器。新式研究型显微镜镜座上装有光源,并由电流调节螺旋来调节光照强度。

2.2 油镜使用的工作原理 在显微镜的光学系统中,物镜的性能直接影响显微镜的分辨率。与其他物镜相比,油镜的放大倍数最大,使用也比较特殊,需在载玻片与镜头之间滴加香柏油,这主要有以下两方面的原因。

2.2.1 增加照明亮度 油镜的放大倍数虽然可达 $100\times$,但因焦距很短,镜头直径很小,进入镜头中的光线也较少,故所需要的光照强度最大(图 1.2)。当油镜头和标本玻片之间的介质为空气时,因空气折射率($n = 1.00$)与玻璃的折射率($n = 1.55$)不同,会有一部分光线被折射而不能进入镜头内,使视野更暗,物像显现不清。若在镜头与标本玻片之间滴上与玻璃的折射率相仿的油类,如香柏油($n = 1.52$)等,则光线不发生折射,从而增加了视野的照明亮度(图 1.3)。

2.2.2 增加显微镜的分辨力 显微镜的分辨力或分辨率是指显微镜能够辨别两点之间最小距离的能力。它与物镜的数值口径成正比,与光波长度成反比。因此,当光波波长一定时,物镜的数值口径越大,则显微镜的分辨力越大,被检物体的细微结构也越清晰地区别

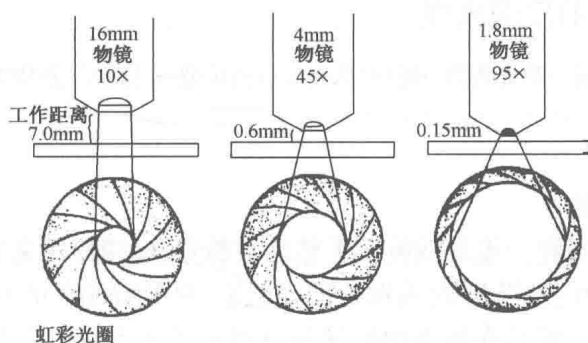


图 1.2 物镜的焦距、工作距离和虹彩光圈的关系

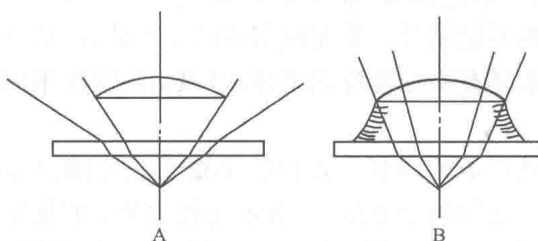


图 1.3 干燥系物镜 A 与油浸系物镜 B 的光线路路

出来。分辨力可由下列公式表示：

$$\text{分辨力(最大可分辨距离)} = \lambda/2NA$$

式中 λ 为光波波长(0.4 ~ 0.7 μm)； NA 为物镜的数值口径值。它是光线投射到物镜上的最大角度(称为镜口角)的一半正弦,与介质的折射率之乘积,即 $NA = n \cdot \sin\alpha$ 。式中 α 为光线最大入射角的半数,它取决于物镜的直径和焦距。在实际应用中光线入射角最大只能达到 120° ,其半数的正弦为 $\sin 60^\circ = 0.87$ 。以空气为介质时, $NA = 1 \times 0.87 = 0.87$ ；而以香柏油为介质时, $NA = 1.52 \times 0.87 = 1.32$,故以香柏油为介质的油镜要比用空气为介质的高倍镜分辨力高,因而细菌用油镜才可观察到。

然而,显微镜的放大倍数越高,并不等于其分辨力越高。假如采用放大率为 $40\times$ 的高倍镜($NA = 0.65$)和放大率为 $24\times$ 的目镜,虽然总放大率为 $960\times$,但其分辨力只有 $0.42\mu\text{m}$ ；若采用放大率为 $90\times$ 的油镜($NA = 1.25$)和放大率为 $9\times$ 的目镜,虽然总放大率为 $810\times$,但却能分辨出 $0.22\mu\text{m}$ 之间的距离,因而并不是显微镜的总放大倍数越高其分辨力越高。

3 实验材料

3.1 菌种 枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、藤黄微球菌(*Micrococcus luteus*)或金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)等染色玻片标本。啤酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、链霉菌(*Streptomyces sp.*)及青霉(*Penicillium sp.*)等水封片标本。

3.2 试剂 香柏油、二甲苯或乙醚-乙醇混合液(乙醚占70%；无水乙醇占30%)。

3.3 仪器与其他用具 显微镜、擦镜纸等。