

普通高等院校环境科学与工程类系列规划教材

环境工程实验 指导教程

主 编 廖润华 朱兆连
刘 媚
副主编 王 奇 唐燕超
刘 欣

中国建材工业出版社

普通高等院校环境科学与工程类系列规划教材

环境工程实验指导教程

主 编 廖润华 朱兆连 刘 媚
副主编 王 奇 唐燕超 刘 欣

中国建材工业出版社

图书在版编目(CIP)数据

环境工程实验指导教程/廖润华, 朱兆连, 刘媚主
编. --北京: 中国建材工业出版社, 2017.9

普通高等院校环境科学与工程类系列规划教材

ISBN 978-7-5160-1992-4

I. ①环… II. ①廖… ②朱… ③刘… III. ①环境工
程—实验—高等学校—教学参考资料 IV. ①X5-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2017) 第 210199 号

内 容 简 介

本书将环境工程专业核心课程所有实验综合起来, 单独成立一门实验课程。为了避免相关课程之间的重复, 该实验教程主要包括环境微生物学实验、环境监测实验、水污染控制工程实验、大气污染控制工程实验、固体废物处理实验、物理污染控制实验、仪器分析实验等。在每个课程实验中, 都可以找到对应的相关验证性实验、综合设计性实验、演示性实验、开放性实验等层次的实验。

本书内容以环境工程专业相关课程实验为基础, 根据产业的需求和技术的发展, 着力体现理论体系的完整性、实际需要的现实性、科学技术发展的动态性。在编排上根据专业开课顺序进行排序, 由浅入深, 实验项目具有科学性、准确性和实用性。本书可作为高等学校环境工程专业的本科教材使用, 同时可供相关专业的研究生和工程技术人员参考。

环境工程实验指导教程

主 编 廖润华 朱兆连 刘 媚

副主编 王 奇 唐燕超 刘 欣

出版发行: 中国建材工业出版社

地 址: 北京市海淀区三里河路 1 号

邮 编: 100044

经 销: 全国各地新华书店

印 刷: 北京雁林吉兆印刷有限公司

开 本: 787mm×1092mm 1/16

印 张: 5.5

字 数: 130 千字

版 次: 2017 年 9 月第 1 版

印 次: 2017 年 9 月第 1 次

定 价: 28.00 元

本社网址: www.jcbs.com 微信公众号: zgjcgycbs

本书如出现印装质量问题, 由我社市场营销部负责调换。联系电话: (010) 88386906

前言

当今的自然科学,除数学外,几乎都可以说是实验科学,因此离不开实验技术。实验是检验理论正确与否的重要标准,任何一个科学理论都是从大量的科学实验数据中总结出来的普遍性规律。这个规律正确与否,又必须接受生产实践的检验,因此轻视实验技术是错误的。

环境工程是一门实践性很强的学科,因而实验技术显得尤为重要。不仅一些现象、规律,就是目前工程设计、运转管理中的很多参数,也都离不开实验。因此环境工程实验是科研与工程技术人员解决各种问题的一个重要手段,也是工科大学教学的一个重要环节。对于每一个从事环境工程的技术人员,必须有意识地加强实验技能的学习,注意培养自己独立解决工程实践中一些实验技术问题的能力,以便在今后走上工作岗位时能更好地适应,并有所创新、有所突破。

环境工程实验技术这门课程的任务是:

- (1) 加深学生对专业理论课中一些基本概念和原理的理解,并通过实验得出某些处理构筑物及处理设备的设计参数或运行参数;
- (2) 通过观察实验记录,分析整理实验结果,培养学生提出问题、分析问题、解决问题的能力;
- (3) 初步掌握基本的实验操作技能和测试技术。

本实验课应与理论教学、生产实习等有机地结合起来,互为补充,互为渗透,以便进一步提高教学质量。

全书分为两大章:第一章为环境工程专业实验必须掌握与了解的数据处理与质量控制知识;第二章涵盖了环境工程专业主要课程(环境微生物、环境监测技术、水污染控制工程、大气污染控制工程、固体废物处理与处置、环境噪声污染控制和仪器分析等)的实验内容。第一章、实验五~实验八与实验三十由景德镇陶瓷大学廖润华老师编写;实验一~实验四由温州大学王奇老师编写;实验九、实验十与实验三十一由景德镇陶瓷大学刘媚老师编写;实验二十、实验二十一、实验二十三与实验二十五由景德镇陶瓷大学刘欣老师编写;实验十三~实验十六、实验二十八与实验二十九由南京工业大学朱兆连老师编写;实验十一、实验十二、实验十七~实验十九由景德镇陶瓷大学唐燕超老师编写;实验二十二由景德镇陶瓷大学夏光华老师编写;实验二十四、实验二十六与实验二十七由景德镇陶瓷大学成岳老师编写。全书由景德镇陶瓷大学廖润华老师统稿。

实验要求

1. 课前预习

为完成好每个实验，学生在课前必须认真阅读实验教材，清楚地了解实验项目的目的和要求、实验原理和实验内容，写出简明预习提纲。预习提纲包括：

- (1) 实验目的和主要内容；
- (2) 需测试项目的测试方法；
- (3) 实验中注意事项；
- (4) 准备好实验记录表格。

2. 实验操作

学生实验前应仔细检查实验仪器、仪表是否完整齐全。实验时应严格按照操作规程认真操作，仔细观察实验现象，精心测定实验数据，并详细填写实验记录。实验结束后，要将实验设备和仪器仪表恢复原状，并将周围环境整理干净。学生应注意培养自己严谨的科学态度，养成良好的工作习惯。

3. 实验数据处理

通过实验取得大量数据以后，必须对数据作科学的整理分析，去伪存真，去粗取精，以得到正确可靠的结论。

4. 编写实验报告

实验报告包括下述内容：

- (1) 实验目的；
- (2) 实验原理；
- (3) 实验仪器和方法；
- (4) 实验步骤；
- (5) 实验数据和数据整理结果；
- (6) 实验结果与讨论。

重点应放在数据处理和实验结果讨论上。

目 录

第一章 数据处理与质量控制	1
第一节 名词术语	1
第二节 数据处理	3
第三节 质量控制	4
第二章 实验部分	7
实验一 光学显微镜的操作与微生物个体形态的观察	7
实验二 微生物大小与数量的测定	10
实验三 微生物的染色	13
实验四 培养基的制备、纯菌种的分离、培养和接种技术	15
实验五 天然水硬度的测定	18
实验六 水中溶解氧 (DO) 的测定	20
实验七 氨氮的测定	24
实验八 化学需氧量 (COD) 的测定	26
实验九 大气中二氧化氮的测定	29
实验十 窑炉烟气分析	31
实验十一 地表水质监测	34
实验十二 校园空气质量监测	36
实验十三 颗粒自由沉淀实验	38
实验十四 曝气设备充氧能力的测定	40
实验十五 活性污泥性能的测定	42
实验十六 混凝实验	44
实验十七 活性炭吸附实验	47
实验十八 离子交换	49
实验十九 污水综合处理	51
实验二十 旋风除尘实验	52
实验二十一 大气中可吸入颗粒物的测定	54
实验二十二 固体废物资源化利用	55
实验二十三 噪声控制	58
实验二十四 分子筛的制备及其应用	59
实验二十五 光催化剂的制备及表征	64
实验二十六 火焰原子吸收仪原理与使用	66

实验二十七	气相色谱仪原理与使用	68
实验二十八	高效液相色谱仪原理与使用	71
实验二十九	电感耦合等离子体发射光谱仪使用	73
实验三十	总有机碳仪的原理与使用	77
实验三十一	红外光谱法分析苯甲酸	79

参考文献	81
------------	----

第一章 数据处理与质量控制

第一节 名词术语

一、分析化学中的误差

任何分析都包含误差，后面要阐述的分析质量控制，实质上是对分析误差的控制。分析误差可分为过失误差、抽样误差、系统误差和随机误差。

由于不遵循操作规程所造成的误差称为过失误差。这往往是由于工作粗枝大叶所造成的，比如测错、读错、记错数据等。过失误差是可以避免的。在判别测定值的离群值时，首先要考虑是否存在过失误差。

系统误差又称偏倚 (bias)，属于可测误差，其数值的大小和符号可通过试验来确定。系统误差由分析过程中的固定原因引起，如方法的缺陷、仪器标定不正确、试剂不纯和分析人员的恒定个人误差等。因此，只要分析条件不变，它就会在每次分析中再现，符号和大小都不变。

随机误差又称偶然误差，由分析过程中的各种随机因素引起，如环境气温、气压的波动、电源电压的波动、仪器噪声和分析人员判断力的波动等。随机误差只服从一定的统计规律，其大小和符号的变化是随机的。当对一个量进行大量观测时，正、负偏差出现的次数大致相同，小偏差出现的次数多，大偏差出现的次数少，因此，一般按正态分布处理随机误差。也就是说，在相同条件下对一个量进行重复测定的测定值可视为一个随机变量，记为 x ，这个随机变量的概率密度函数为：

$$f(x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma} \exp\left[-\frac{1}{2}\left(\frac{x-\mu}{\sigma}\right)^2\right] \quad (-\infty < x < +\infty) \quad (1-1)$$

式中 μ 、 σ ——分别为正态总体的均值和标准偏差。

测定值落在均值 μ 两侧的概率是相同的，单个测定落入区间 $\mu+1\sigma$ 、 $\mu+2\sigma$ 和 $\mu+3\sigma$ 的概率分别为 68.27%、95.45% 和 99.70%。

二、精密度

精密度是指在规定条件下，用同一方法对一均匀试样进行重复分析时，所得分析结果之间的一致性程度。它由分析的随机误差决定，分析的随机误差越小则分析的精密度越高。精密度用标准偏差或相对标准偏差（又叫变异系数）表示，通常与被测物的含量水平有关。如果对一个量重复测定 n 次，测定值分别为 x_1 、 x_2 、 x_3 ... x_i ... x_n ，标准偏差的计算公式为：

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n x_i^2 - \frac{(\sum_{i=1}^n x_i)^2}{n}}{n-1}} \quad (1-2)$$

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad (1-3)$$

相对标准偏差的计算公式为：

$$\text{相对标准偏差} = \frac{s}{\bar{x}} \times 100\% \quad (1-4)$$

重复性精密度——国际标准 ISO 定义的重复性精密度，是指在重复性条件下（同一工作人员用同一方法和同种仪器，在同一实验室中），按规定的操作规程连续测定同一样品所得测试结果之间的离散程度，用 S_r 表示，和国内习惯上用的室内标准偏差 S_w 相同。

再现性精密度——国际标准 ISO 定义的再现性精密度是指在再现条件下，用同一方法（在不同的实验室、用不同的仪器、不同的操作者以不同的时间间隔）测试同一样品的离散程度，用 S_R 表示，与国内室内精密度 S_r 相同。

三、准确度

准确度是指在规定的条件下，试样的测定值（单次测定值或重复测定的均值）与真值（假定公认的）之间的符合程度，由分析的系统误差和随机误差决定，且用加标回收率在一定程度能反映测定结果的准确度。它们的计算公式分别为：

$$\text{误差} = \text{测定值} - \text{真值} \quad (1-5)$$

$$\text{相对误差} = \frac{\text{测定值} - \text{真值}}{\text{真值}} \times 100\% \quad (1-6)$$

$$\text{加标回收率} = \frac{\text{加标试样测定值} - \text{试样测定值}}{\text{加标量}} \times 100\% \quad (1-7)$$

四、检出限和定量下限

目前对分析化学中的检出限和定量下限还没有非常一致的定义。一般认为检出限是定性的，主要回答试样中有没有被测物；定量下限是定量的，主要回答试样中有多少被测物。

检出限的定义，是能够检测出欲测物质的最低浓度 c_L 或最小量 q_L 。在规定的分析方法中，检出限是由能够以必要的置信度测得的信号的最小值 x_L 决定的。

$$x_L = \bar{x}_b + K s_b \quad (1-8)$$

式中 $\bar{x}_b$ ——全程序空白值 x_b 的平均值；

s_b —— x_b 的标准偏差；

K ——根据对 x_L 置信度的要求所选择的相应常数，一般 K 取 3。

一个分析方法的检出限（注意不是仪器的检出限）

$$c_L = \frac{x_L - \bar{x}_b}{S} = \frac{K s_b}{S} \quad (1-9)$$

或

$$q_L = \frac{x_L - \bar{x}_b}{S} \quad (1-10)$$

式中 S ——标准曲线斜率（即方法的灵敏度）；

$\bar{x}_b$ 和 s_b 通常必须通过空白实验求出，测定次数必须足够多，一般最好能测定 20 次。

若 $s_b = 0$ ，这并不意味着 $c_L = 0$ ，或检出限无限小。这时需配制一个浓度略大于零浓度的试样系列（能产生一个可测信号值）代替全程序空白实验，求出其标准偏差，用来代替 s_b ，即可按式（1-9）或式（1-10）求出检出限。此外，有时为了工作方便和便于比较，也规定一

个大家能接受的信号值作为检出限,例如在分光光度法中,规定吸光度为 0.010 所对应的浓度即为 c_L 。

定量下限或测定下限是根据所要求的分析精密度决定的,因而不能像对待检出限那样给定量下限下一个笼统的定义。同一个分析方法,要求的精密度不同,定量下限的数值也有很大差异。一般说来,取 $K=3$ 时所得检出限的 3.3 倍所对应的浓度,作为定量下限是常为人们所采用的,其测定值的相对标准偏差大体为 10%。

第二节 数据处理

一、原始数据的记录

一个分析结果的有效数字的位数是否正确,主要取决于原始数据的正确记录和数的正确计算。在记录数据时,要同时考虑到计量器具的精密度和准确度以及分析人员的读数误差。常见的事例有:

(1) 用合格的万分之一天平称量时,有效数据可以记录到万分位。

(2) 用合格的量器量取溶液时,量取的体积的有效位数取决于量器的允许误差和读数误差。例如 5mL 的无分度移液管 20℃ 时的允许误差, A 级为 $\pm 0.015\text{mL}$, 准确体积记为 5.00mL; 100mL 容量瓶 20℃ 时的允许误差, A 级为 $\pm 0.10\text{mL}$, 准确体积记为 100.0mL。其他详情参见有关实验室手册。

(3) 在光度法中,吸光度一般可以记到小数点后面三位。

(4) 经典滴定法中,消耗滴定剂几十毫升时,准确度可到千分之几,可以保留四位有效数字。

(5) 稀释的中间标准溶液和标准系列,浓度的有效数字的位数必须根据计算公式并按规则通过计算确定。

二、有效数字及其计算规则

有效数字就是在测量中所能得到的,有实际意义的数字。它是通过计算而得到的,而且根据计量器具的精密程度来确定。

(1) 记录一个测量所得数据时,其末尾保留一位不确定数字,即有效数字是包括可靠以及一位不确定数字在内的有意义的数字。

(2) 在运算中弃去多余数字时,一律以“四舍六入五单双”为原则,或者说“四要舍,六要入;五前单数要进一,五前双数全舍光”,而不是“四舍五入”。

(3) 几个数相加减时,得数经修约后,保留有效数字的位数,取决于绝对值误差最大的一个数据。

(4) 几个数相乘除时,得数经修约后,则以有效数字位数最少的为依据,即以相对误差最大的为准,弃去过多的位数。

(5) 在计算中,常数 π 、 e 的数值以及 $\sqrt{2}$ 、 $1/2$ 等系数的有效数字位数,可以认为是无限制的,即在计算中,需要几位就写几位。

(6) 在对数计算中,所取对数应与真数的有效数字位数相等。对数的有效数字位数,只计小数点以后的数字的位数,不计对数的整数部分。

第三节 质量控制

一、全程序空白实验值控制

1. 意义

水质分析中的全程序空白实验值是以水代替实际样品,并完全按照实际试样原分析程序同样操作后,所测得的浓度值。

全程序空白实验值的大小及其分散程度,对分析结果的精密度和分析方法的检出限都有很大的影响,并在一定程度上反映了一个环境监测实验室及其分析人员的水平。

2. 控制方法

(1) 在常规分析中,每次测定两份全程序空白实验平行样,其相对偏差一般不大于50%,取其平均值作为同批试样测量结果的空白校正值。用于标准系列的空白实验,应按照国家系列分析程序相同操作,以获得标准系列的空白实验值。

(2) 绘制和使用空白实验值控制图。

二、标准曲线

1. 意义

应用标准曲线的分析方法,都是在样品测得信号值后,从标准曲线上查得其含量(或浓度)。因此,绘制准确的标准曲线,直接影响到样品分析结果的准确与否。此外,标准曲线也确定了方法的测量范围。

2. 标准曲线的绘制

(1) 对标准曲线,溶液以纯溶剂为参比进行测量后,应先作空白校正,然后绘制标准曲线。

(2) 标准溶液一般可直接测定,但如试样的前处理较复杂,致使污染或损失不可忽略时,应和试样同样处理后测定。

(3) 标准曲线的斜率常随环境温度、试剂批号和贮存时间等实验条件的改变而变动。因此,在测定试样的同时,绘制标准曲线最为理想,否则应在测定试样的同时,平行测定零浓度和中等浓度标准溶液各两份,取均值相减后与原标准曲线上的相应点核对,其相对差值根据方法精密度不应大于5%~10%,超出应重新绘制标准曲线。

3. 标准曲线的检验

(1) 线性检验:即检验标准曲线的精密度。对于以4~6个浓度单位所获得的测量信号值绘制的标准曲线,一般要求其相关系数 $|R| \geq 0.9990$,否则应找出原因并加以纠正,重新绘制出合格的标准曲线。

(2) 截距检验:即检验标准曲线的准确度。在线性检验合格的基础上对其进行线性回归,回归时要包括零浓度及其校正信号值,得出回归方程 $y=a+bx$ 。然后将所得截距 a 与零分别作 t 检验,当取95%置信水平,经检验无显著差异时, a 可作零处理,方程简化为 $y=bx$ 。在线性范围内,可代替查阅标准曲线,直接将样品测量信号值经空白校正后,计算出试样浓度。

当 a 与零有显著差异时,即表示标准曲线的回归方程的计算结果准确度不高,应找出原因并予以纠正后,重新绘制标准曲线并经线性检验合格,再计算回归方程,经截距检验合格

后投入使用。

回归方程如不经上述检验和处理，即直接投入使用，必将给测定结果引入差值相当于截距 a 值的系统误差。

截距检验见相关实验手册。

(3) 斜率检验：即检验分析方法的灵敏度。方法灵敏度是随实验条件的变化而改变的。在完全相同的分析条件下，仅仅由于操作中的随机误差所导致的斜率变化，不应超出一定的允许范围，此范围内因分析方法的精度不同而异，一般而言，分子吸收分光光度法则要求其相对差值小于 10% 等。

三、平行双样

1. 意义

进行平行双样测定，有助于减小随机误差。根据试样单次分析结果，无法判断其离散程度。对试样作平行双样测定，是对测定进行最低限度的精密度检查。一批试样中部分平行双样的测定结果有助于估计同批测定的精密度。

2. 测定率

原则上试样都应作平行双样测定。当一批试样数量较多时，可随机抽取 10%~20% 的试样进行平行双样测定；当同批试样数较少时，应适当增大测定率，每批（5 个以上）中平行双样以不少于 5 个为宜。

3. 控制方法

在分取样品进行测定时，对同一样品同时分取两份。平行双样测定结果的相对偏差不应大于标准方法或统一方法所列相对标准偏差的 2.83 倍。各分析方法的相对标准偏差可见有关规定。对未列相对标准偏差的方法，样品均匀性和稳定性较好，可参阅下表规定：

表 1-1 平行双样相对偏差表

分析结果所在数量级 (g/mL)	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}	10^{-10}
相对偏差最大容许值 (%)	1	2.5	5	10	20	30	50

四、加标回收

1. 意义

用加标回收率在一定程度上能反映测定结果的准确度，但有局限性。这是因为样品中某些干扰因素对测定结果具有恒定的正偏差或负偏差，并均已在样品测定中得到反映，而对加标结果就不再显示其偏差，也就是说，加标回收可能是良好的。此外，加入的标准与样品中等测物在价态或形态上的差异，回标量的多少和样品中原有浓度的大小等，均影响加标回收效果。因此，当加标回收率满意时，不能肯定测定准确度无问题；但当超出所要求的范围时，则肯定准确度有问题。

2. 测定率

在一批试样中，随机抽取 10%~20% 的试样进行回标回收测定；当同批试样较少时，应适当加大测定率，每批同类型试样中，回标试样不应少于 2 个。

3. 控制方法

分析人员在分取样品的同时，另分取一份，并加入适量的标样。加标量不能过大，一般为试样含量的 0.5~2 倍，且加标后的总含量不应超过测定上限；加标物的浓度不宜过高，体

积应很小，一般以不超过原始试样体积的 1% 为好，以简化计算。

对每一个测得的回收率分别进行检查，对均匀性较好的样品，不应超出标准方法或统一方法所列回收率范围。未列回收率范围的，可计算出 95%~105% 置信区间，作为正常允许范围。

第二章 实验部分

实验一 光学显微镜的操作与微生物个体形态的观察

一、实验目的

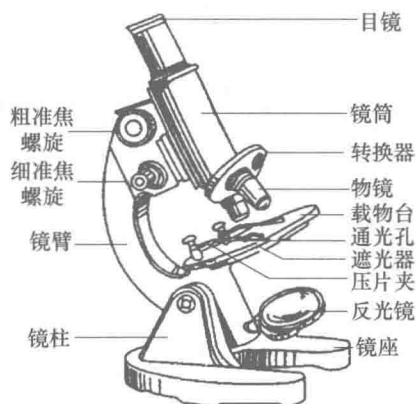
- (1) 了解普通光学显微镜的基本构造和工作原理。
- (2) 学习并掌握普通光学显微镜的操作及维护知识。
- (3) 观察原生动物及微型后生动物标本。

二、实验仪器

光学显微镜、原生动物及微型后生动物标本。

三、实验内容

1. 光学显微镜的结构



光学显微镜分机械装置和光学系统两部分：

(1) 机械装置

镜筒：镜筒上端装目镜，下端接转换器。

转换器：转换器装在镜筒的下方，上面有几个孔，不同规格的物镜分别安装在各孔上。

载物台：载物台为方形的平台，中央有一个光孔，孔的两端各装 1 个夹片，载物台上还有移动器，可以纵向和横向移动，移动器的作用是夹住和移动标本。

镜臂：镜臂用以支撑镜筒、载物台、聚光器和调节器。

镜座：镜座为马蹄形，支撑整台显微镜，其上有反光镜。

调节器：调节器包括大、小螺旋调节器（调焦器）各一个。可调节物镜和所需观察的物体之间的距离。

(2) 光学系统

光学系统包括目镜、物镜、聚光器、反光镜、滤光片。

目镜：它的功能是把物镜放大的物像再次放大。目镜一般由两块透镜组成。上面一块称接目透镜，下面一块称为场镜。在两块透镜之间或在场镜下方有一光阑。由于光阑的大小决定着视野的大小，故又称它为视野阑。进行显微测量时，目测微尺被安装在视野阑上。目镜上标用 $10\times$ 、 $40\times$ 等放大倍数。

物镜：它的功能是把标本放大，产生物像。物镜可分为低倍镜 ($4\times$ 或 $10\times$)、中倍镜 ($20\times$)、高倍镜 ($40\times\sim 60\times$) 和油镜 ($100\times$)。一般油镜上刻有“OI” (Oil Immersion) 或“HI” (Homogeneous Immersion) 字样。物镜上通常标有放大倍数、数值孔径、工作距离及盖玻片厚度等参数。以油镜为例， $100/1.25$ 表示放大倍数为 100 倍，NA (数值孔径) 为 1.25； $160/0.17$ 表示镜筒长度为 160mm，盖玻片厚度等于或小于 0.17mm。

聚光器：安装在载物台的下面，反光镜反射来的光线通过聚光器被聚集成光锥照射到标本上，可增强照明度，提高物镜的分辨率。聚光器的中间装有光圈，可调节光亮度。需要强光时光圈调大，需要弱光时光圈调小。

反光镜：反光镜装在镜座上，有平、凹两面。光源为自然光时用平面镜，光源为灯光时用凹面镜。它可自由转动方向。反光镜可反射光线到聚光器上。

2. 光学显微镜的性能

(1) 数值孔径

数值孔径简称为 NA，是物镜和聚光器的主要技术参数，是判断两者 (尤其对物镜而言) 性能高低的重要标志。其数值的大小，分别标刻在物镜和聚光器的外壳上，是物体与物镜间媒质的折射率 (n) 和物镜孔径角 (u) 半数的正弦之乘积。用公式表示如下：

$$NA = n \sin u / 2 \quad (1-1)$$

它与分辨率成正比，与放大率成正比，与焦深成反比，NA 值增大，视场宽度与工作距离都会相应地变小。

(2) 分辨率

显微镜的分辨率是指能被显微镜清晰区分的两个物点的最小间距，又称“鉴别率”。其计算公式如下：

$$\sigma = \lambda / NA \quad (1-2)$$

式中 σ ——最小分辨距离；

λ ——光线的波长。

可见物镜的分辨率是由物镜的 NA 值与照明光源的波长两个因素决定的。根据公式可知，在物镜数值孔径不变的条件下，要提高物镜的分辨率，可通过两条途径：①采用短波光源；②加大物镜数值孔径。

(3) 放大率

普通光学显微镜利用物镜和目镜来放大图像，采用普通光学显微镜观察标本时，标本先被物镜第一次放大，再被目镜第二次放大。所谓放大率就是物镜放大倍数与目镜放大倍数的乘积。

(4) 焦深

焦深为焦点深度的简称，即在使用显微镜时，当焦点对准某一物体时，不仅位于该点平

面上的各点都可以看清楚，而且在此平面的上面一定厚度内，也能看得清楚，这个清楚部分的厚度就是焦深。焦深大，可以看到被检物体的全层，而焦深小，则只能看到被检物体的一薄层。

3. 光学显微镜的操作

低倍镜的操作：

- (1) 置显微镜于固定的桌上，窗外不宜有障碍视线之物。
- (2) 旋动转换器，将低倍物镜移到镜筒正下方，和镜筒对直。
- (3) 转动反光镜向着光源处，同时用眼对准目镜（选用适当放大倍数的目镜）仔细观察，使视野亮度均匀。
- (4) 将标本片放在载物台上，使观察的目的物置于圆孔的正中央。
- (5) 将粗调节器向下旋转，眼睛注视物镜，以防物镜和载玻片相碰。当物镜的尖端距载玻片约 0.5cm 处时停止旋转。
- (6) 左眼向目镜里观察，将粗调节器向上旋转，如果见到目的物，但不十分清楚，可用细调节器调节，至目的物清晰为止。
- (7) 如果粗调节器旋得太快，使超过焦点，必须从第五步重调，不应在正视目镜情况下调粗调节器，以防没把握的旋转使物镜与载玻片相碰撞坏。

高倍镜的操作：

- (1) 使用高倍镜前，先用低倍镜观察，发现目的物后将它移至视野正中央。
- (2) 旋动转换器换高倍镜，如果高倍镜触及载玻片应立即停止旋动，说明原来低倍镜就没有调准焦距，目的物并没有找到，要用低倍镜重调。如果调对了，换高倍镜时基本可以看到目的物。若有点模糊，用细调节器调就会清晰可见。

四、实验结果

绘制所观察的微生物标本图。

实验二 微生物大小与数量的测定

一、实验目的

- (1) 学会测微尺的使用和微生物大小的测量方法。
- (2) 学会血球计数板的使用和微生物数量的测定方法。

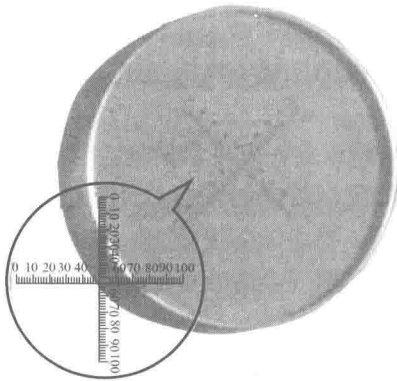
二、实验仪器

光学显微镜、物镜测微尺、目镜测微尺、血球计数板、生物标本、大肠杆菌等。

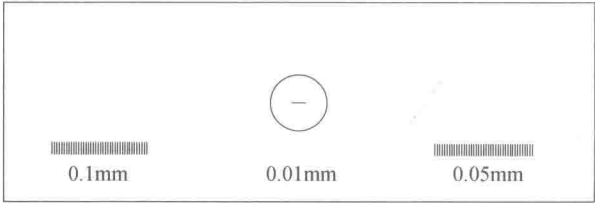
三、实验步骤

1. 微生物大小的测量

目镜测微尺：是一块圆形玻片，其中央刻有精确的刻度，通常是将 5mm 划分为 50 格，实际每格等于 $100\mu\text{m}$ 。刻度的大小随着使用的目镜和物镜的放大倍数而改变，用前必须用物镜测微尺来标定。



物镜测微尺：为一块特制的载玻片，其中央有一小圆圈。圆圈内刻有分度，将长 1mm 的直线等分为 100 小格，每小格等于 $10\mu\text{m}$ 。



测定方法：

- (1) 目镜测微尺的标定：将物镜测微尺置于显微镜的载物台上，使有刻度的一面朝上，同观察标本一样，使具有刻度的小圆圈位于视野中央。先用低倍镜观察，对准焦距，待看清物镜测微尺的刻度后，转动目镜，使目镜测微尺的刻度与物镜测微尺的刻度相平行，并使两尺的左边第一条线相重合，再向右寻找两尺的另外一条重合线。记录两条重合线间的目镜测