

主编 吕春梅

环境污染微生物学 实验指导

哈尔滨工业大学出版社

市政与环境工程系列丛书

2
5+2

市政与环境工程系列丛书

环境污染微生物学实验指导

主 编 吕春梅

副主编 齐 虹 郑焕海

哈尔滨工业大学出版社

内 容 提 要

在高等学校环境科学、环境工程、市政工程等专业的教学中,微生物学实验占有十分重要的地位,学生的动手能力、综合分析能力及创新能力的培养,主要依靠教学实践(教学实验)来完成。本书是《污染控制微生物学》的实验教学配套教材,其主要内容包括:微生物学实验仪器、微生物基础实验、空气微生物检测实验、水污染微生物实验、土壤微生物实验、环境因子对微生物的作用等内容。

本书可作为高等学校的环境科学、环境工程、市政工程及相关专业的本科生实验教材,也可供从事环境保护、生态保护等科学研究的工作人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

环境污染微生物学实验指导/吕春梅主编. —哈尔滨:哈尔滨工业大学出版社,2006.1

(市政与环境工程系列丛书)

ISBN 7-5603-2207-7

I.环… II.吕… III.环境污染-微生物学-实验 IV.X172-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2005)第 087505 号

出版发行 哈尔滨工业大学出版社
社 址 哈尔滨市南岗区复华四道街 10 号 邮编 150006
传 真 0451-86414749
网 址 <http://hutpress.hut.edu.cn>
印 刷 哈尔滨工业大学印刷厂
开 本 787×960 1/16 印张 10.5 字数 250 千字
版 次 2006 年 1 月第 1 版 2006 年 1 月第 1 次印刷
书 号 ISBN 7-5603-2207-7/X·22
印 数 1~3 000
定 价 16.00 元

(如因印装质量问题影响阅读,我社负责调换)

前 言

微生物学是一门综合性课程,其实验教学在专业课学习中占有重要地位,为了使學生尽快掌握微生物学理论知识和现代化的生物技术手段,提高學生动手能力、综合能力及科技创新能力,必须加强实验教学,开好微生物学实验课。

本书是《污染控制微生物学》(哈尔滨工业大学出版社出版)的实验教学配套教材。环境污染微生物学实验所涉及的内容广泛,本书着重从环境污染物生物学着手,从微生物学实验所涉及的仪器使用、灭菌消毒、培养基配置、细菌计数及接种等基本知识和基础实验讲起,重点讲述空气微生物、水污染微生物学、土壤微生物学及环境因子对微生物的作用等方面的实验内容。全书是在参阅了大量的国内外实验技术与方法的基础上,并结合作者多年的教学实践经验,本着突出专业特点、培养创新性人才的要求而编写的。

在本书的编写过程中,得到了哈尔滨工业大学市政环境工程学院任南琪、袁一星、赵庆良等领导的支持,同时也得到刘冬梅、杨基先等同事的大力帮助。

参加本书编写的人员有:吕春梅、齐虹、郑焕海、余敏、张振宇、王琨、孙丽欣、施雪华、贾学斌。具体分工如下:由施雪华、余敏编写第一章;吕春梅、郑焕海编写第二章;吕春梅、王琨编写第三章;吕春梅、张振宇、贾学斌编写第四章;吕春梅、齐虹编写第五章;郑焕海、孙丽欣编写第六章。最后由吕春梅、贾学斌审校定稿。

由于编者水平有限,书中疏漏及不妥之处在所难免,敬请读者批评指正。

编 者

2005年6月

目 录

第一章 微生物实验仪器	(1)
第一节 普通光学显微镜的使用.....	(1)
第二节 生物显微镜的使用.....	(5)
第三节 原子力显微镜的使用	(10)
第四节 高压蒸汽灭菌器	(11)
第五节 净化工作台的使用	(13)
第六节 恒温生化培养箱的使用	(14)
第七节 冰箱的使用	(16)
第八节 超低温冰箱的使用	(18)
第九节 离心机的使用	(22)
第二章 微生物基础实验	(27)
第一节 微生物的灭菌与消毒	(27)
实验一 高压蒸汽灭菌实验	(27)
实验二 干热灭菌实验	(29)
实验三 间歇式灭菌实验	(30)
实验四 过滤除菌	(31)
实验五 化学灭菌与消毒实验	(32)
实验六 紫外线灭菌实验	(35)
第二节 培养基的配制	(36)
实验一 普通培养基的配制	(36)
实验二 选择性培养基的配制	(39)
实验三 鉴别性培养基的配制	(41)
实验四 干燥培养基的配制	(42)
第三节 细菌的基本检验技术	(44)
实验一 细菌的直接计数法	(44)
实验二 细菌大小的直接测定	(46)
实验三 细菌的运动性实验	(48)

实验四 细菌菌落的形态特征实验	(50)
实验五 细菌的单染色	(52)
实验六 细菌的复染色(革兰氏染色)	(53)
实验七 细菌的鞭毛染色	(55)
实验八 细菌的芽孢染色	(57)
实验九 细菌荚膜染色	(58)
第四节 微生物的接种技术	(60)
实验一 细菌的平板稀释分离法	(60)
实验二 细菌的平板划线法	(62)
实验三 细菌的试管斜面接种	(64)
实验四 厌氧菌的接种技术	(66)
第三章 空气微生物检测实验	(70)
第一节 空气卫生细菌实验	(70)
实验一 撞击法检测空气中的细菌总数	(70)
实验二 沉降法检测空气中的细菌	(72)
实验三 滤膜法检测空气细菌	(74)
实验四 血球计数板计数空气中的绿色链球菌	(75)
第二节 空气中微生物实验技术	(77)
实验一 放线菌的检测与形态观察	(77)
实验二 常见霉菌的检测与形态观察	(80)
实验三 尘螨的检测	(82)
实验四 重量法检测空气中颗粒物	(84)
第四章 水污染微生物实验	(86)
第一节 水卫生细菌的检验实验	(86)
实验一 水中细菌总数的测定(CFU)	(86)
实验二 多管发酵法测定水中大肠菌群数	(89)
实验三 滤膜法测定水中大肠菌群数	(91)
实验四 分离纯化大肠杆菌噬菌体实验	(93)
第二节 水环境中微生物实验	(96)
实验一 活性污泥中菌胶团的观察	(96)
实验二 原生动物及后生动物的观察	(97)
实验三 水中浮游生物的测定	(99)
实验四 水处理系统中常见的微型动物	(104)

第三节 水中藻类实验	(117)
实验一 藻圈的培养	(117)
实验二 氧化塘中藻类实验	(119)
实验三 $HgCl_2$ 对藻类的毒理实验	(121)
实验四 噬藻蛭弧菌对藻类的寄生实验	(124)
实验五 叶绿素法测定藻含量	(126)
第五章 土壤微生物实验	(129)
第一节 土壤中细菌的分离实验	(129)
实验一 土壤中细菌的分离技术	(129)
实验二 土壤中光合异养菌的分离培养	(131)
实验三 土壤化能自养菌的分离培养	(134)
第二节 土壤中动物实验	(137)
实 验 土壤动物群落的检测	(137)
第六章 环境因子对微生物的作用	(141)
第一节 环境因子对微生物的影响	(141)
实验一 细菌生长温度实验	(141)
实验二 pH 对微生物的作用	(145)
实验三 氧对微生物的作用	(147)
实验四 渗透压对微生物的作用	(150)
第二节 微生物对自然物质的生理生化实验	(152)
实验一 微生物对柠檬酸盐的利用实验	(153)
实验二 微生物对气态氮的固定能力实验	(154)
实验三 微生物的氧化酶及过氧化氢酶实验	(155)
参考文献	(158)

第一章 微生物实验仪器

在微生物学实验中,实验仪器是必不可少的。微生物个体小,不借助仪器是无法观察、无法培养的。在微生物学实验中,认识和了解微生物实验仪器设备是十分重要的。

第一节 普通光学显微镜的使用

在微生物学实验中,必不可少的工具就是显微镜,用以观察微生物的形态、大小等。显微镜的种类很多,有普通的光学显微镜,还有较高级的相差显微镜、荧光显微镜、暗视野显微镜,以及高级的电子显微镜和原子力显微镜。但是,无论是普通的,还是高级的显微镜,其基本原理是相同的,只要清楚普通光学显微镜的结构、原理,熟练掌握其操作方法,在使用较复杂的显微镜时,自然就不会感到困难。一般实验室所用的均是普通光学显微镜,故在此加以概述。

一、显微镜的结构

图 1.1 为单筒显微镜,图 1.2 为双筒显微镜。二者的构造基本相同。显微镜由机械装置和光学系统两大部分组成。

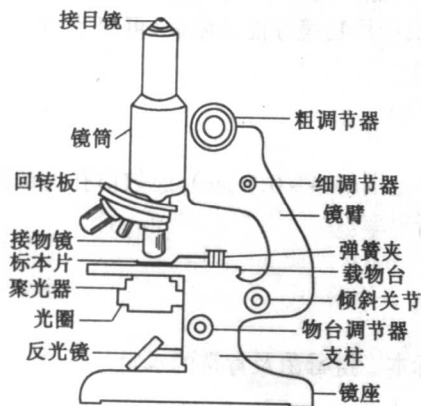


图 1.1 单筒显微镜的结构

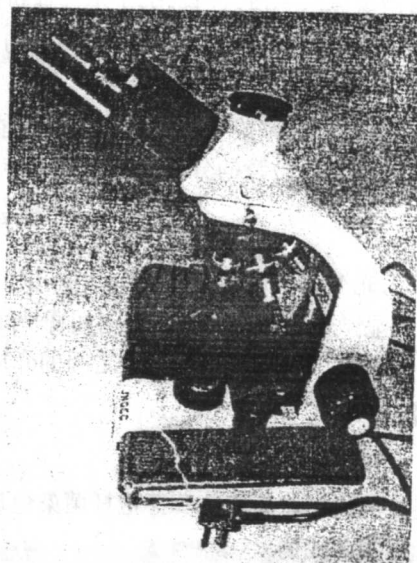


图 1.2 双筒显微镜的结构

机械装置的主要作用是使整个光学系统坚固在一个光轴直线上,而且可精确地调节各光学部件之间的距离,使显微镜能产生清晰的物像。其组成包括:① 镜座和镜臂;② 镜筒;③ 物镜转换器;④ 载物台;⑤ 调焦装置的粗调节器和细调节器。

光学系统是显微镜最主要的部分,起分辨和放大目的物的作用。其组成包括:① 接目镜;② 接物镜;③ 聚光器;④ 反光镜;⑤ 光源。

二、普通光学显微镜的使用

显微镜的使用原则是先低倍后高倍,镜检细菌需用油浸接物镜。使用这种物镜时,需有较强的光。

三、显微镜的基本结构及油镜的工作原理

现代普通光学显微镜利用目镜和物镜两组透镜系统来放大成像,故又常被称为复式显微镜。它们由机械装置和光学系统两大部分组成(图 1.1)。在显微镜的光学系统中,物镜的性能最为关键,它直接影响着显微镜的分辨率。而普通光学显微镜通常配置的放大倍数较大的几种油镜,对微生物学研究最为重要。与其他物镜相比,油镜使用比较特殊,需在载玻片与镜头之间加滴镜油,这主要有如下两方面的原因。

1. 增加照明亮度

油镜放大倍数可达 $100\times$,放大倍数这样大的镜头,焦距很短,直径很小,所需要的光照强度却很大。从承载标本的玻片透过来的光线,因介质密度不同(从玻片进入空气,再进入镜头),有些光线会因折射或全反射,不能进入镜头,致使在使用油镜时会因射入的光线较少,物像显示不清。所以为了不使通过的光线有所损失,在使用油镜时应在油镜与玻片之间加入与玻璃的折射率($n = 1.55$)相仿的镜油(通常用香柏油,其折射率 $n = 1.52$)。

2. 增加显微镜的分辨率

显微镜的分辨率或分辨力是指显微镜能分辨两点之间的最小距离的能力。从物理学的角度看,光学显微镜的分辨率受光的干涉现象及所用物镜性能的限制,可表示为

$$\text{分辨率} = \frac{\lambda}{2\gamma_{NA}}$$

式中, λ 为光波波长; γ_{NA} 为物镜的数值孔径值。

光学显微镜的光源不可能超过可见光的波长范围($0.4 \sim 0.7 \mu\text{m}$),而数值孔径值则取决于物镜的镜口角及玻片和镜头之间的介质和折射率。

四、器材

1. 菌种

金黄色葡萄球菌及枯草芽孢杆菌染色玻片标本。链霉菌及青霉的水封片。

2. 溶液或试剂

香柏油、二甲苯。

3. 仪器或其他用具

显微镜、擦镜纸、载玻片、盖玻片、纱布等。

五、操作步骤

1. 观察前的准备

(1) 显微镜的安置 置显微镜于平整的实验台上,镜座距实验台边缘约 3~4 cm。镜检时姿势要端正。

取、放显微镜时应一手握住镜臂,一手托住底座,使显微镜保持直立、平稳。切忌用单手提拎;且不论使用单筒显微镜或双筒显微镜均应双眼同时睁开观察,以减少眼睛疲劳,也便于边观察边绘图或记录。

(2) 光源调节 安装在镜座内的光源灯可通过调节电压以获得适当的照明亮度,而使用反光镜采集自然光源或灯光作为照明光源时,应根据光源的强度及使用物镜的放大倍数选用凹面或凸面反光镜并调节其角度,使视野内的光线均匀、亮度适宜。

(3) 目镜间距调节 根据使用者的个人情况,调节双筒显微镜的目镜,双筒显微镜的目镜间距可以适当调节,而左目镜上一般还配有曲光度调节环,可以适应眼距不同或两眼视力有差异的不同观察者。

(4) 聚光器数值孔径的调节 调节聚光器虹彩光圈与物镜的数值孔径值相符或略低。有些显微镜的聚光器只标有最大数值孔径值,而没有具体的光圈数刻度。使用这种显微镜时可在样品聚焦后取下一目镜,从镜筒中一边看着视野,一边缩放光圈,调整光圈的边缘与物镜边缘相切或略小于其边缘。因为各物镜的数值孔径值不同,所以每转换一次物镜都应该进行这种调节。

在聚光器的数值孔径值确定后,若需改变光照强度,可通过升降聚光器或改变光源的亮度来实现,原则上不应再通过虹彩光圈的调节。当然,有虹彩光圈聚光器高度及照明光圈强度的使用原则也不是固定不变的,只要能获得良好的观察效果,有时也可以根据不同的具体情况灵活运用,不一定拘泥不变。

2. 显微观察

在目镜保持不变的情况下,使用不同放大倍数的物镜所能达到的分辨率及放大率都是不同的。一般情况下,特别是初学者,进行显微观察时应遵循从低倍到高倍再到油镜的观察程序,因为低倍数物镜视野相对大,易发现目标及确定检查的位置。

(1) 低倍镜观察 将金黄色葡萄球菌染色标本玻片置于载物台上,用标本夹夹住,移动推进器使观察对象处在物镜正下方。向下移动 10 倍物镜,使其接近标本,用粗调节器慢慢升起镜筒,使标本在视野中初步聚焦,再使用细调节器调节到图像清晰。通过玻片夹推进器慢慢移动玻片,认真观察标本各部分,找到合适的目的物,仔细观察并记录所观察到的结果。

在任何时候使用粗调节器聚焦物像时,必须养成先从侧面注视小心调节物镜靠近标本,然后用目镜观察,慢慢调节物镜离开标本进行准焦的习惯,以免因一时的误操作而损坏镜头及玻片。

(2) 高倍镜观察 在低倍镜下找到合适的观察目标并将其移至视野中心后,轻轻转动物镜转换器将高倍镜移至工作位置。对聚光器光圈及视野亮度进行适当调节后微调细调节器使物像清晰,利用推进器移动标本仔细观察并记录观察到的结果。

在一般情况下,当物像在一种物镜中已清晰聚焦后,转动物镜转换器将其他物镜转到工作位置进行观察时,物像将保持基本准焦的状态,这种现象称为物镜的同焦。利用这种同焦现象,可以保证在使用高倍镜或油镜等放大倍数高、工作距离短的物镜时仅用细调节器即可对物像清晰聚焦,从而避免由于使用粗调节器时可能的误操作而损坏镜头及玻片。

(3) 油镜观察 在高倍镜或低倍镜下找到要观察的样品区域后,用粗调节器将镜筒升高,然后将油镜转到工作位置。在待观察的样品区域加滴香柏油,从侧面注视,用粗调节器小心地将镜筒降下,使油镜浸在镜油中并几乎与标本相接。将聚光器升至最高位置并开足光圈,若使用聚光器的数值孔径值超过1.0,还应在聚光器与载玻片之间加滴香柏油,保证其达到最大的效能。调节照明使视野的亮度合适,用粗调节器将镜筒徐徐上升,直至视野中出现物像并用细调节器使其清晰准焦为止。

有时按上述操作还找不到目的物,则可能是由于镜头下降还未到位,或因油镜上升太快,以致眼睛捕捉不到一闪即过的物像。遇此情况,应重新操作。另外,应特别注意不要因在下降镜头时用力过猛,或调焦时误将粗调节器向反方向转动而损坏镜头及载玻片。

3. 显微镜用毕后的处理

(1) 上升镜筒,取下载玻片。

(2) 用擦镜纸拭去镜头上的镜油,然后用擦镜纸蘸少许二甲苯(香柏油溶于二甲苯)擦去镜头上残留的油迹,最后再用干净的擦镜纸擦去残留的二甲苯。

切忌用手或其他纸擦镜头,以免使镜头沾上污渍或产生划痕,影响观察。

(3) 用擦镜纸清洁其他物镜及目镜,用绸布清洁显微镜的金属部件。

(4) 将各部分还原,反光镜垂直于镜座,将物镜转成“八”字形,再向下旋。同时把聚光镜降下,以免接物镜与聚光镜发生碰撞。

六、实验报告

1. 结果

分别给出在低倍镜、高倍镜和油镜观察到的金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、链霉菌及青霉的形态,包括在三种情况下视野的变化,同时注明物镜放大倍数和总放大率。

2. 思考题

(1) 用油镜观察时应该注意哪些问题? 在载玻片和镜头之间加滴什么油? 起什么作用?

(2) 试列表比较低倍镜、高倍镜和油镜各方面的差异。为什么在使用高倍镜及油镜

时应特别注意避免粗调节器的误操作？

(3) 什么是物镜的同焦现象？它在显微镜观察中有什么意义？

(4) 影响显微镜分辨率的因素有哪些？

(5) 根据你的实验体会，谈谈应如何根据所观察显微镜的大小，选择不同的物镜进行有效的观察。

第二节 生物显微镜的使用

生物显微镜是一种精密仪器，是供显微观察所用。

一、显微镜各部分名称

生物显微镜各部分名称如图 1.3 所示。

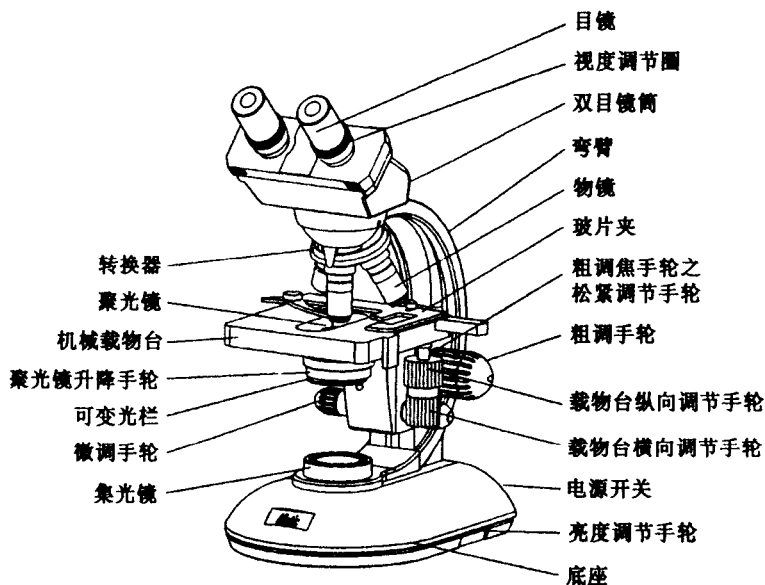


图 1.3 生物显微镜

二、显微镜的性能参数

- (1) 总放大倍率: 40 ~ 1 000 (选购 20 ~ 1 600);
- (2) 机械筒长: 160 mm;
- (3) 目镜筒: 单目 45°, 双目 45°, 360° 旋转。又目瞳距: 55 ~ 75 mm 可调节;
- (4) 转换器: 四孔转换器 (三孔转换器选购);

(5) 调焦机构:分离式粗微调焦装置(或同轴粗微调焦装置),具有调焦限位装置;带张力调节装置(仅限于分离式粗调焦装置);

(6) 工作台:机械载物台,面积:135 mm × 135 mm;移动范围:X向75 mm,Y向30 mm;
* SFC-180AGQ、SFC-182AGQ 只配备普通载物平台(带弹性压片);

(7) 移动尺:用于 SFC-180AGQ、SFC-182AGQ;

(8) 反光镜:显微镜自带;

(9) 聚光镜:阿贝聚光镜,数值孔径 1.25,可调式薄片孔径光栏,可装 $\Phi 32$ 滤色片;

(10) 物镜:4 × 0.1, 160/0.17; 10 × 0.25, 160/0.17; 40 × 0.65, 160/0.17(弹簧);
100 × 1.25, 160/0.17(弹簧、油);

(11) 目镜:WF10 × /18, WF16 × /12(选购), H5 × ;

(12) 滤色片:蓝色, $\Phi 32$;

(13) 防霉装置:SFC-182、SFC-282 可选购防霉装置;

(14) 光源:内置式,卤素灯,亮度可调光源;灯泡:标准配备 12 V/10 W, 选购 12 V/20 W, 6 V/10 W, 6 V/20 W, 获 CE 认证。

三、显微镜检查技术

显微镜检查技术见图 1.4~1.13。

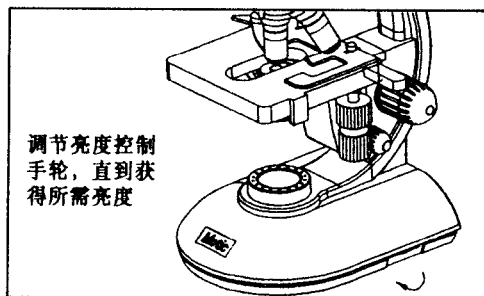


图 1.4 灯光照明

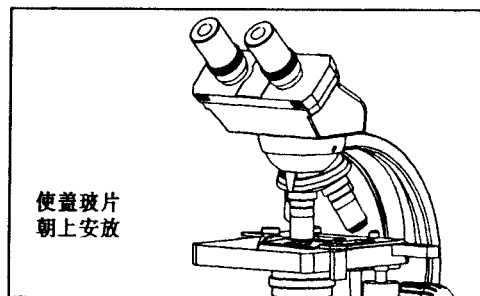


图 1.5 标本的安放

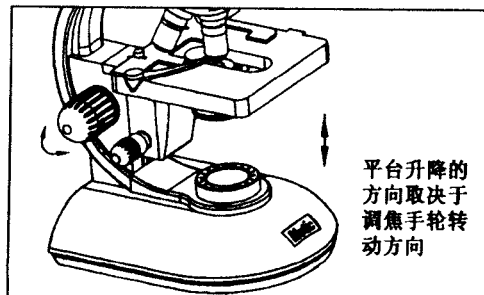


图 1.6 用 10 × 物镜对焦

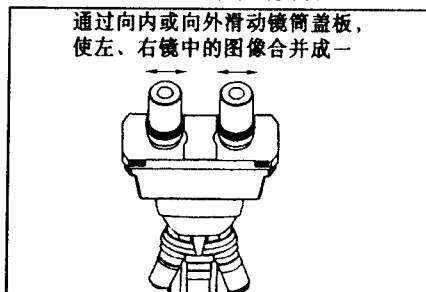


图 1.7 瞳距的调节

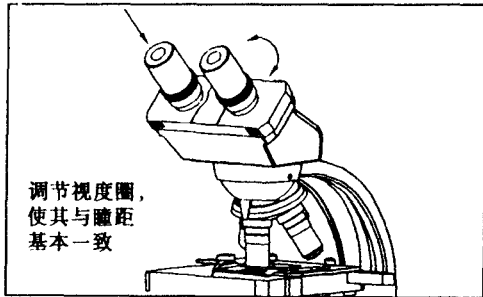


图 1.8 筒长和视度调节

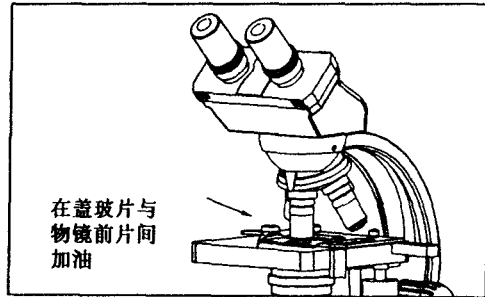


图 1.9 浸油时的观察

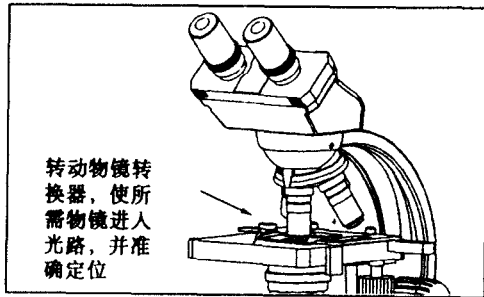


图 1.10 物镜选择

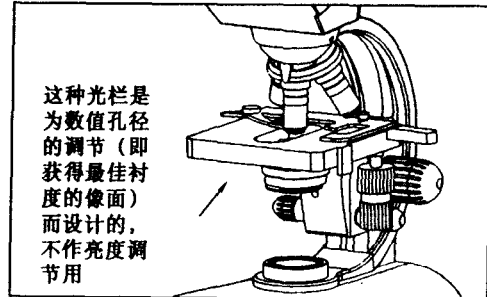


图 1.11 孔径光阑的调节

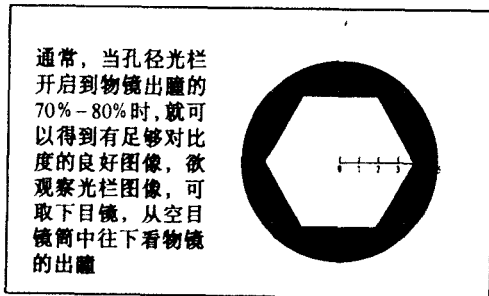


图 1.12 物镜的出瞳

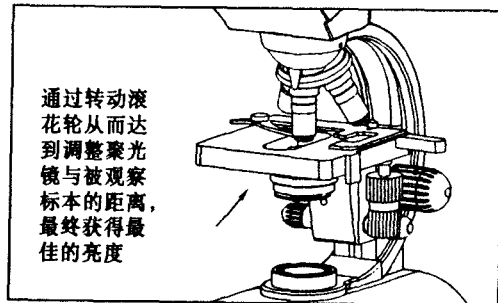


图 1.13 聚光镜的调节

四、显微镜的光学特性

1. 由 10 倍目镜与物镜配合使用时,各性能参数见下表。

物 镜	总倍率	数值孔径 γ_{NA}	物方视场		分辨率	工作距离	
			视场数 18	视场数 20		消色差 物镜	平场 物镜
4×	40×	0.1	4.5 mm	5 mm	2.8 μm	27 mm	17.9 mm
10×	100×	0.25	1.8 mm	2 mm	1.1 μm	6.6 mm	2.2 mm
40×	400×	0.65	0.45 mm	0.5 mm	0.42 μm	0.6 mm	0.65 mm
100×(油)	1000×	1.25	0.18 mm	0.2 mm	0.22 μm	0.14 mm	0.14 mm

2. 显微镜术语

(1) 总放大倍率

显微镜的总放大倍率 = 单个物镜的放大倍率 × 目镜的放大倍率

(2) 数值孔径 γ_{NA}

数值孔径是决定物镜和聚光镜性能的一个重要参数,它可表示为

$$\gamma_{NA} = n \sin \alpha$$

式中, n 是在物镜或聚光镜与标本之间的一种介质(空气、浸油等)的折射率,而 α 则是孔径角的一半。数值孔径越大,图像就越明亮,分辨率越高。

(3) 分辨率

衡量光学系统分辨相隔微小距离的两个点的能力的指标,称之为光学系统的分辨率。一个光学系统所能分辨的两点之间的距离越小,分辨率也就越高,它与数值孔径的关系为:分辨率 = $\lambda / (2 \times \gamma_{NA})$ 。这里 λ 为所用光线的波长(上表中的分辨率,是由 $\lambda = 0.55 \mu\text{m}$ 求得的)。

(4) 机械筒长

机械筒长是指从转换器上的物镜安装端面到插入目镜处的镜筒顶端的长度,本系列生物显微镜的机械筒长均为 160 mm。

(5) 工作距离(W.D.)

工作距离指当一个标本图像被清晰聚焦时,从物镜的前端到盖玻片的上表面的距离。通常,物镜的放大倍率越高,其工作距离便越短。

(6) 视场数

视场数指透过目镜可观察到的视场的直径(mm),在目镜的顶端标明的 $10 \times / 18$,表示目镜的放大倍率为 10 倍,视场数为 18。

(7) 物方视场

物方视场是指标本在显微镜下实际能被观察到的圆形区域的直径。

$$\text{物方视场} = \text{视场数} / \text{物镜的放大倍数}$$

五、显微镜使用方法

1. 电源

在将电源插头插入插座前,请确认供电电压与显微镜的额定电压一致,否则,将严重损坏仪器。

2. 反光镜

通过反光镜,可将外部光源采集成为显微镜的照明光源。调节反光镜的方向,可调节照明亮度。

3. 均匀照明

调节聚光镜的位置会改变照明的均匀性,也会变相改变视场的亮度。

4. 对比度

调节聚光镜上的孔径光栏,可改变被观察标本的对比度。

5. 观察

瞳距调节与光学筒长的补偿。双目观察时,拖动双目镜筒上的镜筒盖板,直到双目看到的两个光环完全重合为止。此时,查看盖板上的瞳距,并旋转目镜筒,使镜筒刻度与瞳距一致,使光学筒长得到补偿。

每个人的瞳距各不一样,因此,在使用显微镜前必须重新调节瞳距并补偿光学筒长。单目显微镜无须调节。

6. 标本安放

安放标本时,应将盖玻片的一面朝上旋转,并用片夹夹紧,注意标本要安放平整。

7. 用 10 倍物镜对焦

由于 10 倍物镜焦深较长,且视场较大,故用 10 倍物镜观察时,较易找到像面。

本系列显微镜经过严格齐焦调整,10 倍调焦清晰后,改用其他倍率观察时应基本清晰。如不清晰,请用微动调焦旋钮适当调节,直到清晰为止。

8. 变换物镜

转动物镜转换器,使不同物镜准确定位并完全进入光路,即可改变放大倍率。切勿直接扳动物镜来变换倍率,否则将影响显微镜的光学性能。

9. 油镜使用

Motic 100 倍物镜在不使用浸油的情况下,可以看到像,但要发挥 100 倍物镜的效力,应在标本与物镜前片间加非树脂合成浸油。

在用 40 倍物镜调焦清晰后,移开 40 倍物镜,在标本上光斑位置滴一滴浸油,再让 100 倍物镜准确进入光路。此时,应轻微转动转换器(或轻微转动工作台 X、Y 向手轮),同时轻微调节微调手轮,驱除浸油中的气泡,以免影响观察效果。

使用浸油(如非树脂合成浸油等)观察后,应即刻用镜头纸、软棉布或纱布,蘸上工业纯酒精与乙醚的混合液(混合比 3:7)或丙酮擦拭干净。

10. 注意事项

正常情况下,使用完毕,应将亮度旋钮关到最小,关断电源开关,并拔下电源插头。取下切片,如使用过浸油,请严格清理物镜及切片上的浸油。将 4 倍或 10 倍物镜(一般为最低倍率物镜)推入光路,以保护其他物镜不受到意外损伤。用防尘罩将显微镜严密罩盖,以防止灰尘等进入。

11. 镜头保护

长期不用显微镜时,应将目镜、物镜取下,放入干燥的容器内,并放入干燥剂。注意,由于每台显微镜的目镜、物镜都经过严格调校,因此,多台显微镜的目镜和物镜应加以标识,避免混放。显微镜去掉目镜和物镜后,应用目镜塞及物镜盖盖严,并用防尘罩严密罩盖。

第三节 原子力显微镜的使用

在原子力显微镜(Atomic Force Microscopy, AFM)的系统中,可分成三个部分:力检测部分、位置检测部分、反馈系统。

1. 反馈系统

在系统检测成像全过程中,探针和被测样品间的距离始终保持在纳米(10^{-9} m)量级,距离太大不能获得样品表面的信息,距离太小会损伤探针和被测样品,反馈回路(Feedback loop)的作用就是在工作过程中,由探针得到探针-样品相互作用的强度,来改变加在样品扫描器垂直方向的电压,从而使样品伸缩,调节探针和被测样品间的距离,反过来控制探针-样品相互作用的强度,实现反馈控制。因此,反馈控制是本系统的核心工作机制。

2. 扫描检测

二极管激光器(Laser Diode)发出的激光束经过光学系统聚焦在微悬臂(Cantilever)背面,并从微悬臂背面反射到由光电二极管构成的光斑位置检测器(Detector)。在样品扫描时,由于样品表面的原子与微悬臂探针尖端的原子间的相互作用力,微悬臂将随样品表面形貌而弯曲起伏,反射光束也将随之偏移,因而,通过光电二极管检测光斑位置的变化,就能获得被测样品表面形貌的信息。