

环境科学与 工程专业实验

郭立新 巴琦 主编

兵器工业出版社

责任编辑：范小伊

封面设计：李晖

ISBN 978-7-80248-229-6



9 787802 482296 >

定价：33.00元

环境科学与工程 专业实验

郭立新 巴 琦 主编

兵器工业出版社

内 容 简 介

本书涵盖了环境科学和环境工程专业所涉及的环境生物学实验、水污染控制工程实验、大气污染控制工程实验、环境监测实验、环境化学实验和噪声污染控制实验，共 76 个实验，内容力求体现实验科学的实用性、知识性和先进性，使学生对环境科学和环境工程领域的实验研究有一个全面认识，并综合运用所学到的知识与实验技能，提高分析问题和解决问题的能力。本书的附录部分还为读者提供了实验室基本知识、实验室玻璃器皿的洗涤、化学试剂及实验室安全知识等内容。

本书可作为环境科学专业、环境工程专业的本、专科学生和教师的实验教学用书，也可作为从事相关专业教学、科研人员的参考书。

图书在版编目 (CIP) 数据

环境科学与工程专业实验/郭立新，巴琦主编. —北京：兵器工业出版社，2008. 11

ISBN 978 - 7 - 80248 - 229 - 6

I. 环… II. ①郭… ②巴… III. 环境科学—实验 IV. X - 33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2008) 第 155271 号

出版发行：兵器工业出版社

责任编辑：范小伊

发行电话：010 - 68962596, 68962591

封面设计：李 晖

邮 编：100089

责任校对：郭 芳

社 址：北京市海淀区车道沟 10 号

责任印制：赵春云

经 销：各地新华书店

开 本：787 × 1092 1/16

印 刷：北京市登峰印刷厂

印 张：16.5

版 次：2008 年 11 月第 1 版第 1 次印刷

字 数：404 千字

定 价：33.00 元

(版权所有 翻印必究 印装有误 负责调换)

编 委 会

主编：郭立新 巴 琦

编委：赵瑞雪 张晓霞 徐 蕾 李燕乔

前　　言

为适应环境科学和环境工程专业教学的需要，我们结合多年的经验，在参考了各高校相关实验教材的基础上，编写了《环境科学与工程专业实验》教材。本实验教材内容丰富，包括了环境生物学实验、水污染控制工程实验、大气污染控制工程实验、环境监测实验、环境化学实验、噪声污染控制实验及附录等内容，共计 76 个实验，每个实验题目包括实验目的、实验原理、实验内容、实验步骤和实验报告整理等内容，在环境生物学、水污染控制工程、环境监测和环境化学的实验内容中设置了设计性和综合型实验，以提高学生的创新能力，希望学生在有限的时间内能对环境科学和环境工程领域的实验研究有一个全面认识，并综合运用所学到的知识与实验技能，提高分析问题和解决问题的能力。本实验教材可满足环境科学专业和环境工程专业所修专业课实验教学需求，对于环境科学专业和环境工程专业实验教学以及学生实践能力的培养具有积极的推动作用，主要读者对象为高校环境科学专业、环境工程专业的本科学生和教师，也可作为从事相关专业教学、科研人员的实验参考书。

本书环境生物学实验部分由长春理工大学赵瑞雪编写，水污染控制工程实验部分由长春理工大学郭立新编写，大气污染控制工程实验部分由吉林建筑工程学院巴琦编写，环境监测实验、环境化学实验部分由长春理工大学张晓霞编写，噪声污染控制实验部分由长春理工大学徐蕾编写，附录部分由长春理工大学硕士研究生李燕乔同学编写，全书由郭立新、巴琦统稿定稿。

在本书编写过程中，得到许多单位和同行的大力帮助，在此我们表示衷心的感谢！

由于编者水平有限，书中不妥之处在所难免，敬请读者批评指正。

编　者

2008 年 9 月

目 录

第一部分 环境生物学实验	(1)
实验 1 显微镜操作及菌体个体形态观察	(1)
实验 2 微生物细胞显微直接计数法	(5)
实验 3 微生物细胞大小测定	(7)
实验 4 微生物的染色	(10)
实验 5 细菌纯种分离、培养、接种、观察	(13)
实验 6 噬菌体分离与纯化	(20)
实验 7 噬菌体效价的测定	(22)
实验 8 水污染细菌学监测	(24)
实验 9 空气微生物检测	(28)
实验 10 土壤细菌分离技术	(30)
实验 11 细菌生长温度实验	(32)
实验 12 紫外辐射诱变效应实验	(35)
实验 13 石油烃类的微生物降解	(37)
实验 14 原生动物——微尺度群落及毒性试验	(38)
实验 15 叶绿素法测定藻含量	(40)
实验 16 藻类——生长抑制试验	(42)
实验 17 鱼类急性毒性试验	(44)
实验 18 藻类毒性试验	(48)
实验 19 Ames 氏致突变性试验	(51)
实验 20 微生物吸附法去除重金属 (综合性实验)	(54)
第二部分 水污染控制工程实验	(56)
实验 1 废水自由沉淀实验	(56)
实验 2 酸性废水过滤中和实验	(60)
实验 3 废水处理过程中生物相观察实验	(62)
实验 4 废水可生化性测定实验	(64)
实验 5 生物膜接触氧化法处理废水实验	(69)
实验 6 活性污泥表面曝气法处理废水实验	(72)
实验 7 活性炭吸附实验	(76)
实验 8 混凝实验	(78)
实验 9 离子交换法处理废水实验	(81)
实验 10 电渗析实验	(84)
实验 11 臭氧/紫外光化学氧化法处理废水实验	(87)

实验 12	SBR 处理废水实验	(90)
实验 13	气浮实验	(93)
实验 14	UASB 厌氧消化法处理废水实验	(97)
实验 15	膜—生物反应器处理废水实验	(102)
实验 16	反渗透实验	(105)
实验 17	卡路塞尓式氧化沟处理废水实验	(107)
实验 18	超滤实验	(110)
实验 19	活性污泥的培养和质量测定	(111)
实验 20	污水处理 (设计性实验)	(113)
第三部分	大气污染控制工程实验	(115)
实验 1	大气中总悬浮颗粒物测定	(115)
实验 2	大气中二氧化硫测定	(117)
实验 3	大气中氮氧化物测定	(122)
实验 4	大气气溶胶中正构烷烃测定	(125)
实验 5	大气中苯系化合物测定	(129)
实验 6	空气中多环芳烃测定	(131)
第四部分	环境监测实验	(134)
实验 1	废水悬浮固体和浊度的测定	(134)
实验 2	色度的测定	(137)
实验 3	碘量法测定水中溶解氧	(139)
实验 4	水中氟化物测定——离子选择电极法	(141)
实验 5	氨氮的测定	(143)
实验 6	水中磷的测定	(146)
实验 7	化学需氧量的测定——重铬酸钾法	(150)
实验 8	水中挥发酚类的测定	(153)
实验 9	污水中油的测定	(157)
实验 10	气相色谱法基础实验	(160)
实验 11	废水中苯系化合物测定——气相色谱法	(162)
实验 12	土壤中镉的测定——原子吸收分光光度法	(164)
实验 13	头发中含汞量的测定	(166)
实验 14	乙酰丙酮分光光度法测定空气中甲醛	(168)
实验 15	工业废渣渗沥模型试验	(171)
实验 16	地表水监测 (设计性实验)	(172)
第五部分	环境化学实验	(173)
实验 1	空气中 NO ₂ 无动力采样、检测及其时空分布规律研究	(173)
实验 2	水中铬形态的测定——分光光度法	(176)
实验 3	水中亚硝酸盐氮的测定	(179)
实验 4	水样中镉含量测定——电感耦合等离子体发射光谱法	(181)
实验 5	原子吸收法测定头发中的钙、锌	(184)

实验 6 土壤对铜的吸附实验	(186)
实验 7 阳极溶出法分析空气中四乙基铅	(189)
实验 8 腐殖酸对汞(Ⅱ)的配合作用	(192)
实验 9 气相色谱法测定土壤中有机氯农药	(195)
实验 10 红外光谱定性分析实验	(198)
实验 11 水中氧传递速率系数测定实验	(200)
实验 12 重金属在土壤—植物体系的迁移转化(综合性实验)	(203)
第六部分 噪声污染控制实验	(205)
实验 1 声学现象观测与声级计使用	(205)
实验 2 城市道路交通噪声测量	(208)
附录 1 实验室基本知识	(210)
附录 2 实验室玻璃器皿的洗涤	(214)
附录 3 化学试剂	(216)
附录 4 实验室安全知识	(219)
附录 5 环境样品的采集	(222)

第一部分 环境生物学实验

实验 1 显微镜操作及菌体个体形态观察

一、实验目的

1. 掌握光学显微镜的结构、原理。
2. 学习显微镜的操作方法和保养。
3. 观察细菌、放线菌和蓝细菌的个体形态，学会生物图的绘制。

二、结构、原理及其操作方法

(一) 显微镜的结构和光学原理

显微镜分为机械装置和光学系统两部分。

1. 机械装置

(1) 镜筒：镜筒上端装目镜，下端接转换器。镜筒有单筒和双筒两种。单筒有直立式（长度为 160mm）和后倾斜式（倾斜 45°）。双筒全是倾斜式的，其中一个筒有屈光度调节装置，以备两眼视力不同者调节使用，两筒之间距离可调，以适应两眼宽度不同者调节使用。

(2) 转换器：转换器装在镜筒的下方，其上有 3 个孔，有的有 4 个或 5 个孔。不同规格的物镜分别安装在各孔上。

(3) 载物台：载物台多数为方形和圆形的平台，中央有一光孔，孔的两侧各装 1 个夹片，载物台上还有移动器（其上有刻度标尺），可纵向和横向移动，移动器的作用是夹住和移动标本。

(4) 镜臂：镜臂支撑镜筒、载物台、聚光器和调节器，镜臂有固定式和活动式（可改变倾斜度）两种。

(5) 镜座：镜座为马蹄形，支撑整台显微镜，其上有反光镜。

(6) 调节器：调节器包括大、小螺旋调节器（调焦距）各一个。可调节物镜和所需观察的物体之间的距离。调节器分装在镜臂上方或下方两种，装在镜臂上方的是通过升降镜臂来调焦距，装在镜臂下方的是通过升降载物台来调焦距，新式显微镜调节器多半装在镜臂的下方。

2. 光学系统及其光学原理

(1) 目镜：每台显微镜备有 3 个不同规格的目镜，例如，5 倍 ($5 \times$)、10 倍 ($10 \times$) 和 15 倍 ($15 \times$)，高级显微镜除上述三种外，还有 20 倍 ($20 \times$) 的。

(2) 物镜：物镜装在转换器的孔上，物镜有低倍（ $8\times$ 、 $10\times$ 、 $20\times$ 三种）、高倍（ $40\times$ 或 $45\times$ ）及油镜（ $100\times$ ）。物镜的性能由数值孔径（NA）决定，数值孔径 = $n \cdot \sin(\alpha/2)$ ，其意为数值孔径是玻片和物镜之间的折射率乘以光线投射到物镜上的最大夹角的一半的正弦。光线投射到物镜的角度越大，显微镜的效能越大，该角度的大小决定于物镜的直径和焦距。 n 是影响数值孔径的因素，空气的折射率 $n=1$ ，水的折射率 $n=1.33$ ，香柏油的折射率 $n=1.52$ ，用油镜时光线入射 $\alpha/2$ 为 60° ，则 $\sin 60^\circ = 0.87$ 。可知：

以空气为介质时： $NA = 1 \times 0.87 = 0.87$

以水为介质时： $NA = 1.33 \times 0.87 = 1.16$

以香柏油为介质时： $NA = 1.52 \times 0.87 = 1.32$

显微镜的性能还依赖于物镜的分辨率，分辨率即能分辨两点之间的最小距离的能力。分辨率用 δ 表示， $\delta = 0.61 \times \lambda / NA$ （ λ 为波长），分辨率与数值孔径成正比，与波长成反比。增大数值孔径，缩短波长可提高显微镜的分辨率，使目的物的细微结构更清晰可见。事实上可见光的波长（ $0.38 \sim 0.7\mu m$ ）是不可能缩短的，只有靠增大数值孔径来提高分辨率。

物镜上标有： $NA1.25$ 、 $100\times$ 、“OI”、 $160/0.17$ 、 0.16 等字样，其中 $NA1.25$ 为数值孔径， $100\times$ 为放大倍数，“ $160/0.17$ ”中 160 表示镜筒长， 0.17 表示要求盖玻片的厚度。“OI”表示油镜，（即 Oil Immersion）， 0.16 为工作距离。

显微镜的总放大倍数为物镜放大倍数和目镜放大倍数的乘积。

(3) 聚光器：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。聚光器可上、下调节，中间装有光圈可调节光亮度，在看高倍镜和油镜时需调节聚光器，合理调节聚光器的高度和光圈的大小，可得到适当的光照和清晰的图像。

(4) 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。

(5) 滤光片：自然光由各种波长的光组成，如只需某一波长的光线，可选用合适的滤光片，以提高分辨率，增加反差和清晰度。滤光片有紫、青、蓝、绿、黄、橙、红等颜色。根据标本颜色，在聚光器下加相应的滤光片。

(二) 显微镜的操作方法

1. 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，将低倍镜移到镜筒正下方，与镜筒对直。

(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（或载物台向上旋转），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，超过焦点，必须从第(5)步重调，不应正视目镜情况下调粗调节器，以防过度旋转使物镜与载玻片相碰撞坏。

(8) 观察时两眼同时睁开。单筒显微镜应习惯用左眼观察，以便于绘图。

2. 高倍镜的操作

(1) 使用高倍镜前，先用低倍镜观察，发现目的物后将其移至视野正中处。

(2) 旋转转换器换高倍镜，如果高倍镜触及载玻片立即停止旋转，说明原来低倍镜就没有调准焦距，如果目的物没有找到，就要用低倍镜重调。如果调整正确，换高倍镜时基本可以看到目的物。若有点模糊，用细调节器调就清晰可见。

3. 油镜的操作

(1) 如果用高倍镜目的物未能看清，可用油镜。先用低倍镜和高倍镜检查标本片，将目的物移到视野正中。

(2) 在载玻片上滴一滴香柏油（或液体石蜡），将油镜移至正中使油镜头浸没在油中，刚好贴近载玻片。用细调节器微微向上调（切记不用粗调节器）即可。

(3) 油镜观察完毕，用擦镜纸将镜头上的油揩净，另用擦镜纸蘸少许二甲苯揩拭镜头，再用擦镜纸揩干。

三、细菌、放线菌及蓝细菌的个体形态观察

(一) 仪器和材料

(1) 显微镜、擦镜纸、香柏油或液体石蜡、二甲苯。

(2) 示范片：大肠杆菌（杆状）、小球菌（球形）、硫酸盐还原菌（弧形）、浮游球衣菌（丝状）、枯草芽孢杆菌、细菌鞭毛及细菌荚膜。放线菌、颤藻、鱼腥藻或念珠藻。

(二) 实验内容和操作方法

(1) 严格按光学显微镜的操作方法，依低倍、高倍及油镜的次序逐个观察杆状、球状、弧状及丝状的细菌示范片，用铅笔分别绘出各种细菌的形态图。

(2) 同法逐个观察放线菌的示范片，绘出其形态图。

(3) 同法逐个观察颤藻、鱼腥藻或念珠藻，绘出其形态图。

四、思考题

使用油镜为什么要先用低倍和高倍镜检查？

显微镜的保养

显微镜的光学系统是显微镜的主要部分，尤其是物镜和目镜，一架显微镜的机械装置虽好，但光学系统不好，这架显微镜也是不会起好作用的。因此，对显微镜要妥善保管。

(1) 避免直接在阳光下曝晒，因为透镜与透镜之间，透镜与金属之间都是用树脂或亚麻油黏合起来的。金属与透镜膨胀系数不同，受高热因膨胀不均，透镜可能脱落或破裂，树脂受高热熔化，透镜也会脱落。

(2) 避免和挥发性药品或腐蚀性酸类一起存放，碘片、酒精、醋酸、盐酸和硫酸等对显微镜金属质机械装置和光学系统都是有害的。

(3) 透镜要用擦镜纸擦拭，若用擦镜纸擦不净，可用擦镜纸蘸二甲苯拭擦，但用量不宜过多，拭擦时间也不宜过长，以免黏合透镜的树脂被溶化，而使透镜脱落。

(4) 不能随意拆卸显微镜，尤其是物镜、目镜、镜筒不能随意拆卸，因为拆卸后空气中的灰尘落入里面易引起生霉。机械装置需经常加润滑油，以减少因摩擦而受损。

(5) 避免用手指沾抹镜面，否则会影响观察，沾有有机物的镜片，时间长了会生霉，因此，每使用一次，所有的目镜和物镜都要用擦镜纸擦净。

(6) 显微镜放在干燥处，镜箱内要放硅胶吸收潮气。目镜、物镜须放在盒内并存于干燥器中，以免受潮生霉。

显微镜的保养与维修：显微镜在使用过程中，由于操作不当或使用环境不洁，常常会损坏显微镜，如：目镜、物镜、玻片台、载物台、镜筒等，损坏后应及时维修，以免影响观察效果。

显微镜的维修：显微镜的维修工作，应由专业人员进行，维修时，应先将显微镜拆开，然后根据损坏情况，逐项修理，修理时，应注意以下几点：

1. 修理前，应仔细检查损坏部位，弄清损坏原因，以便有针对性地修理。

2. 修理时，应按原样装复，不能装复的，应尽量恢复原状，以免影响显微镜的正常工作。

3. 修理后，应进行调试，使显微镜恢复正常工作状态，以免影响观察效果。

显微镜的保养：显微镜的保养，应做到以下几点：

1. 保持显微镜的清洁，定期用擦镜纸擦净目镜、物镜、玻片台、载物台等。

2. 保持显微镜的干燥，避免受潮，以免生霉。

3. 保持显微镜的温度，避免过热或过冷，以免影响显微镜的正常工作。

4. 保持显微镜的通风，避免灰尘进入显微镜内部，以免影响显微镜的正常工作。

5. 保持显微镜的卫生，避免细菌、病毒等微生物进入显微镜内部，以免影响显微镜的正常工作。

6. 保持显微镜的干燥，避免受潮，以免生霉。

7. 保持显微镜的温度，避免过热或过冷，以免影响显微镜的正常工作。

8. 保持显微镜的通风，避免灰尘进入显微镜内部，以免影响显微镜的正常工作。

9. 保持显微镜的卫生，避免细菌、病毒等微生物进入显微镜内部，以免影响显微镜的正常工作。

10. 保持显微镜的干燥，避免受潮，以免生霉。

11. 保持显微镜的温度，避免过热或过冷，以免影响显微镜的正常工作。

12. 保持显微镜的通风，避免灰尘进入显微镜内部，以免影响显微镜的正常工作。

13. 保持显微镜的卫生，避免细菌、病毒等微生物进入显微镜内部，以免影响显微镜的正常工作。

14. 保持显微镜的干燥，避免受潮，以免生霉。

15. 保持显微镜的温度，避免过热或过冷，以免影响显微镜的正常工作。

16. 保持显微镜的通风，避免灰尘进入显微镜内部，以免影响显微镜的正常工作。

17. 保持显微镜的卫生，避免细菌、病毒等微生物进入显微镜内部，以免影响显微镜的正常工作。

实验2 微生物细胞显微直接计数法

一、实验目的

1. 了解血球计数板的构造、计数原理和计数方法。
2. 用显微镜直接测定微生物总细胞数。

二、实验原理

测定微生物细胞数量的方法很多，通常采用的有显微直接计数法和稀释平板计数法。

直接计数法适用于各种单细胞菌体的纯培养悬浮液，如有杂菌或杂质，则难以直接测定。菌体较大的酵母菌或霉菌孢子可采用血球计数板，一般细菌则采用彼得罗夫·霍泽（Petrof Hausser）细菌计数板。两种计数板的原理和部件相同，只是细菌计数板较薄，可以使用油镜观察。而血球计数板较厚，不能使用油镜，计数板下部的细菌难以区分。

血球计数板是一块特制的厚型载玻片，载玻片上有4条槽所构成的3个平台。中间的平台较宽，其中间又被一短横槽分隔成两半，每个半边上面各有一个计数区，计数区的刻度应有两种：一种是计数区分为16个大方格（大方格用三线隔开），而每个大方格又分成25个小方格；另一种是一个计数区分成25个大方格（大方格之间用双线分开），而每个大方格又分成16个小方格。但是不管计数区是哪一种构造，它们都有一个共同特点，即计数区都由400个小方格组成。

计数区边长为1mm，则计数区的面积为 1mm^2 ，盖上盖玻片后，计数区的高度为0.1mm，所以计数区的体积为 0.1mm^3 ，乘以 10^4 ，则为1ml的体积。

计数一个样品要从两个计数室中计得的平均数值来计算样品的含菌量。

16×25型血细胞计数板的计算公式：

$$\text{酵母菌细胞数/ml} = \frac{100 \text{ 个小格内酵母细胞数}}{100} \times 400 \times 10000 \times \text{菌液稀释倍数}$$

25×16型血细胞计数板的计算公式：

$$\text{酵母菌细胞数/ml} = \frac{80 \text{ 个小格内酵母细胞数}}{80} \times 400 \times 10000 \times \text{菌液稀释倍数}$$

三、实验器材

- (1) 活材料：酿酒酵母斜面菌种或培养液。
- (2) 器材：显微镜、血球计数板、盖玻片(22mm×22mm)、吸水纸、计数器、滴管、擦镜纸。

四、实验方法

- (1) 视待测菌悬液浓度，加无菌水适量稀释（一般稀释到 10^{-2} ），以每小格的菌数可数

为度。

(2) 取洁净的血球计数板一块，在计数区上盖上一块盖玻片。

(3) 将酵母菌悬液摇匀，用滴管吸取少许，从计数板中间平台两侧的沟槽内沿盖玻片的下边缘滴入一小滴（不宜过多），让菌悬液利用液体的表面张力充满计数区，勿使气泡产生，并用吸水纸吸去沟槽中流出的多余菌悬液。也可以将菌悬液直接滴加在计数区上，注意不要使计数区两边平台沾上菌悬液，以免加盖盖玻片后，造成计数区深度的升高。然后加盖盖玻片（勿使产生气泡）。

(4) 静置片刻，将血球计数板置载物台上夹稳，先在低倍镜下观察到计数区后，再转换高倍镜观察并计数。由于活细胞的折光率和水的折光率相近，观察时应适当关小孔径光阑并减弱光照的强度。

(5) 计数时若计数区是由 16 个大方格组成，按对角线方位，数左上、左下、右上、右下的 4 个大方格（即 100 小格）的菌数。如果是 25 个大方格组成的计数区，除需数上述 4 个大方格外，还需数中央 1 个大方格的菌数（即 80 个小格）。如菌体位于大方格的双线上，计数时则数上线不数下线，数左线不数右线，以减少误差。

(6) 对于出芽的酵母菌，芽体达到母细胞大小一半时，即可作为两个菌体计算。每个样品重复计数 2~3 次（每次数值不应相差过大，否则应重新操作）。

(7) 测数完毕，取下盖玻片，用水将血球计数板冲洗干净，切勿用硬物洗刷或抹擦，以免损坏网格刻度。洗净后自行晾干或用吹风机吹干，镜检，观察每小格内是否残留菌体或其他沉淀物。若不干净，则必须重复洗涤至干净为止。放入盒内保存。

五、实验报告

酵母菌细胞数的测定可按下表填写。

酵母菌细胞数测定结果

	各中格中菌数					中格中 总菌数	稀释 倍数	二室 平均数	菌数/ml
	1	2	3	4	5				
第一室									
第二室									

六、思考题

1. 当用两种不同规格的计数板测同一样品时，其结果是否相同？
2. 根据你的体会，说明用血细胞计数板计数的误差主要来自哪些方面？应如何尽量减少误差、力求准确？

实验3 微生物细胞大小测定

一、实验目的

1. 了解目镜测微尺和镜台测微尺的构造和使用原理。
2. 掌握微生物细胞大小的测定方法。

二、实验原理

微生物细胞的大小是微生物重要的形态特征之一，也是分类鉴定的依据之一。由于菌体很小，只能在显微镜下来测量。用于测量微生物细胞大小的工具有目镜测微尺和镜台测微尺。

目镜测微尺是一块圆形玻片，在玻片中央把5mm长度刻成50等份，或把10mm长度刻成100等份。测量时，将其放在接目镜中的隔板上（此处正好与物镜放大的中间像重叠）来测量经显微镜放大后的细胞物像。由于不同目镜、物镜组合的放大倍数不相同，目镜测微尺每格实际表示的长度也不一样，因此目镜测微尺测量微生物大小时须先用置于镜台上的镜台测微尺校正，以求出在一定放大倍数下，目镜测微尺每小格所代表的相对长度。

镜台测微尺是中央部分刻有精确等分线的载玻片，一般将1mm等分为100格，每格长 $10\mu\text{m}$ ，是专门用来校正目镜测微尺的。校正时，将镜台测微尺放在载物台上，由于镜台测微尺与细胞标本是处于同一位置，都要经过物镜和目镜的两次放大成像进入视野，即镜台测微尺随着显微镜总放大倍数的放大而放大，因此从镜台测微尺上得到的读数就是细胞的真实大小，所以用镜台测微尺的已知长度在一定放大倍数下校正目镜测微尺，即可求出目镜测微尺每格所代表的长度。移去镜台测微尺，换上待测标本片，用校正好的目镜测微尺在同样放大倍数下测量微生物大小。

三、实验器材

- (1) 活材料：酿酒酵母斜面菌种、枯草杆菌染色标本片。
- (2) 器材：显微镜、目镜测微尺、镜台测微尺、盖玻片、载玻片、滴管、擦镜纸。

四、实验方法

1. 目镜测微尺的校正

把目镜的上透镜旋下，将目镜测微尺的刻度朝下轻轻地装入目镜的隔板上，把镜台测微尺置于载物台上，刻度朝上。先用低倍镜观察，对准焦距，视野中看清镜台测微尺的刻度后，转动目镜，使目镜测微尺与镜台测微尺的刻度平行，移动推动器，使两尺重叠，再使两尺的“0”刻度完全重合，定位后仔细寻找两尺第二个完全重合的刻度，计数两重合刻度之间目镜测微尺的格数和镜台测微尺的格数。因为镜台测微尺的刻度每格长 $10\mu\text{m}$ ，所以可以算出目镜测微尺每格所代表的长度。