



食品微生物学实验

南京农业大学食品科技学院



实验一 显微镜油镜的使用和 细菌形态的观察

- 目的要求
- 显微镜油镜使用的原理
- 实验材料
- 实验程序
- 思考题

目的要求

- 学习并掌握显微镜油镜的使用技术及维护的基本知识
- 使用油镜观察细菌的几种基本形态
- 用悬滴法在高倍镜或油镜下观察细菌的运动

显微镜油镜使用的原理

- 普通光学显微镜
- 欧林巴斯（OLYMPUS）生物显微镜
- 欧林巴斯（OLYMPUS）相差显微镜

普通光学显微镜

显微镜的构造

1. 光学部分: 接目镜、接物镜、照明装置(聚光镜、虹彩光圈、反光镜等)。它使检视物放大, 造成物象。

2. 机械部分: 镜座、镜臂、镜筒、物镜转换器、载物台、载物台转移器、粗调节器、细调节器等部件。它起着支持 调节 固定等作用。

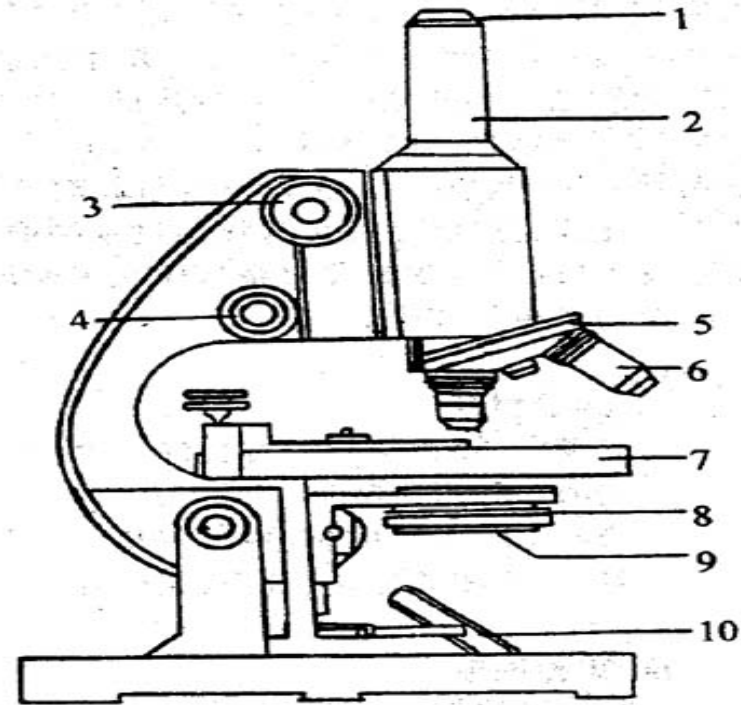


图 1—1 普通光学显微镜结构

1. 接目镜 2. 镜筒 3. 粗调节器 4. 细调节器 5. 转换器
6. 接物镜 7. 载物台 8. 光圈 9. 聚光器 10. 反光镜

普通光学显微镜

显微镜的放大倍数和分辨率

1. 放大倍数 = 接物镜放大倍数 × 接目镜放大倍数

2. 显微镜的分辨率 是表示显微镜辨析物体（两端）两点之间距离的能力，可用公式表示为：

$$D = \lambda / 2n \sin(\alpha / 2)$$

式中D：物镜分辨出物体两点间的最短距离。

λ：可见光的波长（平均0.55mm）

n：物镜和被检标本间介质的折射率。

α：镜口角（即入射角）。

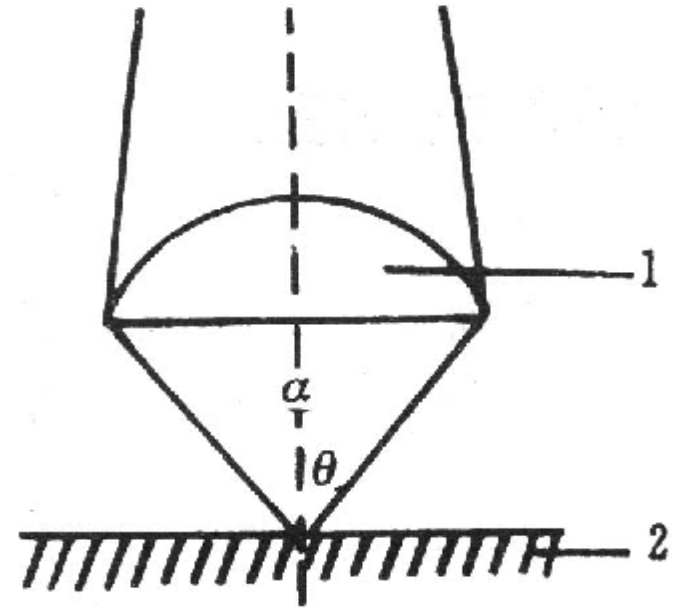
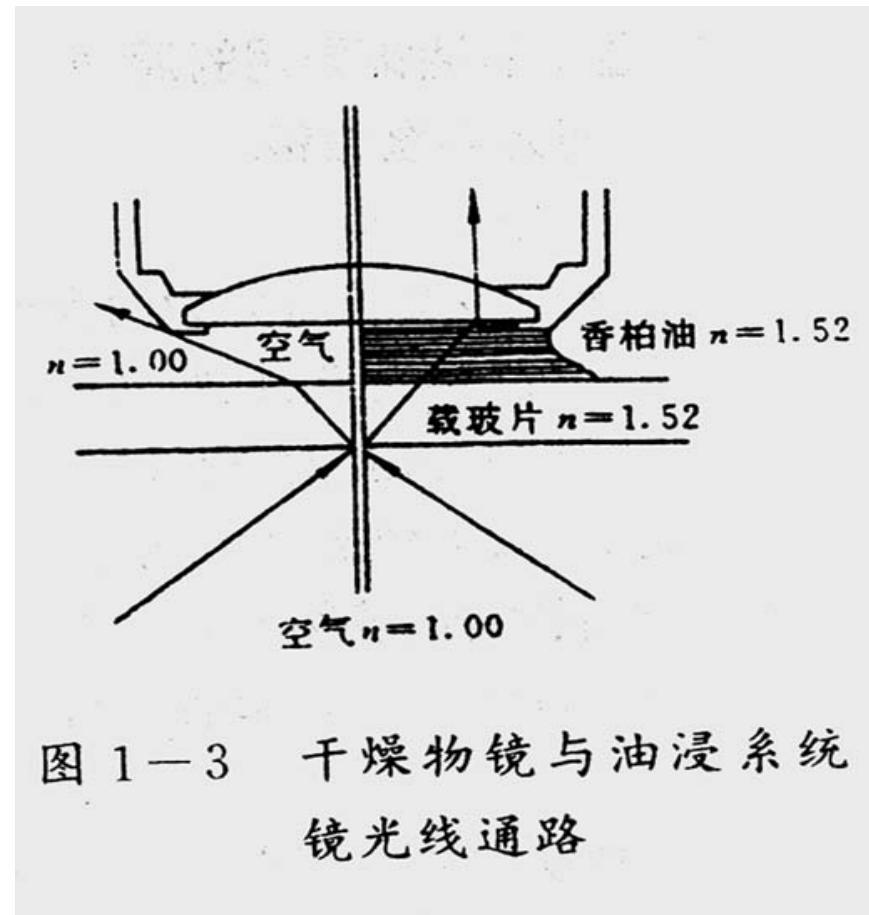


图 1—2 物镜的光线入射角

普通光学显微镜

油镜使用的原理:

油镜，即油浸接物镜。当光线由反光镜通过玻片与镜头之间的空气时，由于空气与玻片的密度不同，使光线受到曲折，发生散射，降低了视野的照明度。若中间的介质是一层油（其折射率与玻片的相近），则几乎不发生折射，增加了视野的进光量，从而使物象更加清晰。



实验材料

- 显微镜（显微镜灯）、香柏油、二甲苯、擦镜纸、吸水纸等。
- 细菌三种形态的染色标本。
- 培养**12—18h**的枯草杆菌（*B. subtilis*）
- 盖玻片、凹玻片、接种环、酒精灯。

实验程序：显微镜的使用

主要是油镜的使用

- 1.用前检查：零件是否齐全，镜头是否清洁。
- 2.调节光亮度
- 3.低倍镜观察：粗调、细调
- 4.依次再进行中倍、高倍观察
- 5.油镜观察：高倍镜下找到清晰的物象后，提升聚光镜，在标本中央滴一滴香柏油，使油镜镜头浸入香柏油中，细调至看清物象为止。
- 6.换片：另换新片，必须从第三条开始操作。
- 7.用后复原：观察完毕，上悬镜筒，先用擦镜纸擦去镜头上的油，然后再用擦镜纸沾取少量二甲苯擦去残留的油，最后用擦镜纸擦去残留的二甲苯，后将镜体全部复原。

实验程序：显微镜的使用

显微镜保养和使用中的注意事项：

- 1.不准擅自拆卸显微镜的任何部件，以免损坏。
- 2.镜面只能用擦镜纸擦，不能用手指或粗布，以保证光洁度
- 3.观察标本时，必须依次用低、中、高倍镜，最后用油镜。当目视接目镜时，特别在使用油镜时，切不可使用粗调节器，以免压碎玻片或损伤镜面。
- 4.观察时，两眼睁开，养成两眼能够轮换观察的习惯，以免眼睛疲劳，并且能够在左眼观察时，右眼注视绘图。
- 5.拿显微镜时，一定要右手拿镜臂，左手托镜座，不可单手拿，更不可倾斜拿。
- 6.显微镜应存放在阴凉干燥处，以免镜片滋生霉菌而腐蚀镜片。

实验程序：

细菌三种基本形态的观察

菌落形态观察和个体形态观察，这里主要指个体形态的观察。

1. 结合油镜的使用，观察三张细菌染色片（球状菌、杆状菌、和螺旋状菌），边观察边绘图。
2. 看示范镜：观察双球菌、四联球菌，并绘图。

实验程序: 细菌运动性的观察

一般采用水浸片法、悬滴法、
固体培养法，常用水浸法和悬滴法来观察细菌的运动性。

1. 水浸片法

2. 悬滴法

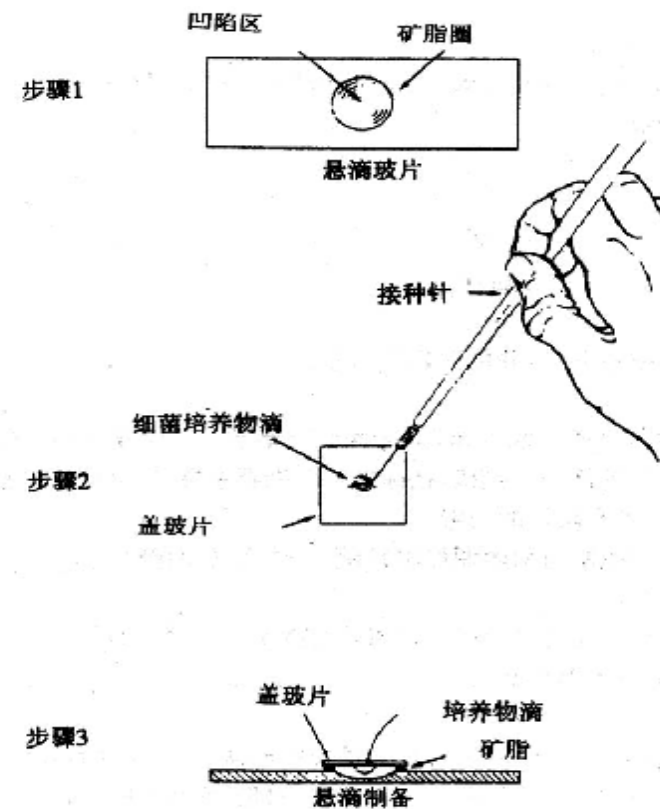


图 1-6 悬滴法观察细菌运动性

1. 载玻片 2. 凹窝 3. 盖玻片 4. 悬滴 5. 凡士林(或浆糊)

欧林巴斯（OLYMPUS）生物显微镜 （显微镜的使用方法）

1. 接通电源。
2. 打开主开关。
3. 移动电压调整旋，使亮度适中。
4. 把标本固定在再物台上。
5. 放松粗调锁挡。
6. 用低倍物镜，旋转粗调和微控制钮来进行对焦。
7. 调节双目镜筒间距和视度差。
8. 再适当调节照明度。
9. 使焦点正确地对准标本。
10. 锁紧粗调锁挡。
11. 调节孔径光栏。
12. 依次用低、中、高倍镜观察。
13. 油镜观察：与普通光学显微镜方法一致。
14. 观察完毕，复原：先将电压调节旋钮复原，关闭主开关，切断电源，放开粗调锁挡。油镜的处理与普通光学显微镜方法一致。
15. 放入保存箱中。

欧林巴斯（OLYMPUS）相差显微镜

相差显微镜的工作原理

相差显微镜具有一个特殊的由环状光圈与聚光镜组合的转盘聚光镜，通过这个特殊的装置，就可把光波的相位差异变为振幅差异，从而使人们肉眼即能观察到活细胞的细微结构，并有立体感。常用来观察活细胞结构，鞭毛的运动等。

相差显微镜的装置

1. 环状光圈
2. 相差物镜（具有环状相板）
3. 定中心望远镜（亦称辅助目镜）
4. 辅助固定扳手
5. 绿色滤光片

欧林巴斯（OLYMPUS）相差显微镜的使用方法

1. 相差装置的安装：转盘聚光镜 绿色滤光片
2. 相差物镜的安装
3. 安放标本
4. 对光
5. 调焦：用粗调控制钮和微调控制钮调节焦，看清物象时为止
6. 旋转相差转盘
7. 中心调节
8. 相差观察

思考题

- 油镜与普通物镜在使用方法上有何不同？应特别注意些什么？
- 使用油镜时，为什么必须用镜头油？
- 镜检标本时，为什么先用低倍镜观察，而不是直接用高倍镜或油镜观察？