



高等职业教育“十二五”规划教材



微生物实验技术

黄亚东 时小艳 主编



中国轻工业出版社

全国百佳图书出版单位

高等职业教育“十二五”规划教材

微生物实验技术

黄亚东 时小艳 主 编



中国轻工业出版社

图书在版编目(CIP)数据

微生物实验技术/黄亚东,时小艳主编. —北京:中国轻工业出版社,
2013.1

高等职业教育“十二五”规划教材

ISBN 978-7-5019-8996-6

I. ①微… II. ①黄… ②时… III. ①微生物学—实验—高等职业教
育—教材 IV. ①Q93-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2012)第221237号

责任编辑:朱 恺 江 娟

策划编辑:江 娟 责任终审:劳国强 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:2013年1月第1版第1次印刷

开 本:720×1000 1/16 印张:19.75

字 数:398千字

书 号:ISBN 978-7-5019-8996-6 定价:36.00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

120625J2X101ZBW

前 言

随着现代生物技术的迅猛发展,生物技术已成为当今科技发展的主要推动力,生物产业对解决人类面临的健康、粮食、能源、环境等主要问题具有重大的战略意义。国家《促进生物产业加快发展的若干政策》把生物技术作为当前科技发展的重点,把生物技术产业作为新兴产业培育的重点,把生物经济作为引领新经济发展的重点。《国家中长期科学和技术发展规划纲要(2006—2020)》已将生物技术作为科技发展的五个战略重点之一。随着生物技术产业结构调整及产品升级速度的加快,微生物已被广泛应用于食品、发酵、环境、化工、医药等领域,同时现代化实验手段在微生物实验中也得到了广泛应用。因此,掌握微生物实验技术不仅对人类开发利用有益微生物资源,而且对推动生物技术的发展具有十分重大的意义。微生物技术应用领域范围广、产品种类多、技术更新快,关键技术岗位从业人员的知识、技能要求高,剪性强,迫切需要大批从事微生物培养、生产操作、分析检验、生产管理、质量控制、产品开发等工作的高端技能型人才,许多高职高专院校应运开设了生物技术类专业。

《微生物实验技术》是高职高专院校生物技术类专业开设的一门重要的专业基础(平台)课程,具有很强的职业性和实践性。通过本课程的学习与技能训练,可使学生了解微生物实验的基本概念及基本原理,掌握典型设备的结构、工作原理、性能特点、操作要点、选用及保养方法,并能灵活运用所学知识和技能分析、解决微生物应用领域一般性技术问题,同时培养学生的工程意识、职业意识和责任意识。

本书内容主要包括显微镜的使用技术,微生物形态结构的观察,细菌染色技术,培养基的制备及灭菌技术,微生物接种及厌氧培养技术,微生物生长规律,微生物生理生化反应,菌种保藏等。在教学过程中可根据培养目标及实验、实训条件有针对性地进行教学。本书既可作为高职高专院校生物技术类专业教材,也可供生物技术应用领域工程技术人员参考。

在编写过程中,注意由浅入深、注重应用、突出实践、循序渐进地安排单项技能实验、综合性实验及设计性实验,并将《微生物培菌工》职业标准融入教学内容。为了便于教学,按“重点掌握”、“一般掌握”和“了解”三个层次对每个实验项目提出教学要求,并安排一定数量的习题,以强化学生对实验原理、操作要点、注意事项的理解和掌握。通过理论与实践、知识与技能、校内学习与企业锻炼交互进行,促进学生的素质与能力不断提升。

本教材项目一、项目二、项目八、项目十由江苏食品职业技术学院黄亚东、时小

艳和解放军第八二医院赵亚萍,中国科学院动物研究所马雪山合作编写;项目三、项目四、项目五、项目六、项目十一由江苏食品职业技术学院黄亚东,淮安市产品质量研究所陈长毅,金陵科技学院潘丽红合作编写;项目七、项目九、项目十由江苏食品职业技术学院时小艳,江苏省农科院于建宁,中国科学院动物研究所马雪山,江苏今世缘酒业股份有限公司王家玉合作编写;项目十二、项目十三由江苏食品职业技术学院黄亚东、时小艳和淮安市产品质量研究所陈长毅合作编写。全书由江苏今世缘酒业股份有限公司高级工程师吴建峰统稿。

本教材引用和借鉴了一些已发表的文献资料,在此向相关作者和提供过帮助的同志们表示感谢。

由于我们水平有限,书中不妥之处在所难免,敬请广大读者批评指正。

编者

2012年5月

目 录

项目一 微生物实验室建设与管理	1
任务一 微生物实验守则	1
任务二 微生物实验室的基本建设设施	4
项目二 显微技术	12
任务一 普通光学显微镜的使用	13
任务二 暗视野光学显微镜的使用	20
任务三 相差显微镜的使用	22
任务四 电子显微镜的使用	30
项目三 微生物形态特征观察	39
任务一 细菌的形态观察	39
任务二 放线菌的形态观察	42
任务三 霉菌的形态观察	46
任务四 酵母菌的形态观察	52
任务五 酵母菌子囊孢子的观察	56
任务六 微生物菌落特征的观察	58
任务七 微生物大小的测定	60
项目四 细菌染色技术	67
任务一 细菌的革兰染色	67
任务二 细菌芽孢染色	71
任务三 细菌的荚膜染色	74
任务四 细菌鞭毛染色及运动性观察	76
任务五 细菌细胞壁及细胞质膜的染色	80
项目五 培养基的制备	85
任务一 常用玻璃器皿的清洗包扎	86
任务二 牛肉膏蛋白胨培养基的配制	90
任务三 马铃薯葡萄糖培养基的配制	93
任务四 高氏 1 号培养基的配制	94

任务五 马丁培养基的配制	96
任务六 伊红美蓝培养基的配制	97
任务七 血液琼脂培养基的配制	98
任务八 明胶琼脂培养基的配制	99
任务九 石蕊牛奶培养基的配制	101
任务十 麦芽汁培养基的配制	102
项目六 灭菌技术	107
任务一 干热灭菌技术	107
任务二 高压蒸汽灭菌技术	109
任务三 常压蒸汽灭菌技术	115
任务四 紫外线灭菌技术	117
任务五 过滤除菌技术	119
任务六 其他消毒灭菌方法	122
项目七 微生物接种及培养技术	128
任务一 划线接种技术	133
任务二 涂布接种技术	140
任务三 浇混接种技术	143
任务四 穿刺接种技术	145
任务五 液体接种技术	147
任务六 点接种技术	149
任务七 厌氧微生物的培养技术	152
项目八 微生物生长繁殖测定技术	160
任务一 微生物直接计数法——显微直接计数法	161
任务二 微生物间接计数法——平板菌落计数法	164
任务三 细菌生长曲线的测定——比浊法	169
任务四 霉菌生长曲线的测定	171
任务五 噬菌体效价的测定	173
项目九 环境因素对微生物生长发育的影响	178
任务一 氧对微生物生长的影响	178
任务二 温度对微生物的影响	180
任务三 渗透压对微生物的影响	182
任务四 pH 对微生物生长的影响	183

任务五 化学因素对微生物的影响	185
任务六 营养因素对微生物生长的影响	188
任务七 抗生素对微生物生长的影响	190
项目十 微生物生理生化反应	198
任务一 糖发酵实验	198
任务二 甲基红试验及乙醚甲基甲醇试验反应	200
任务三 微生物对淀粉的水解	203
任务四 微生物对明胶的液化	205
任务五 微生物的石蕊牛奶反应	207
任务六 硝酸盐还原实验	209
任务七 产生吡啶实验	212
任务八 硫化氢产生实验	213
任务九 柠檬酸盐的利用	214
任务十 油脂水解实验	216
项目十一 菌种保藏技术	220
任务一 斜面菌种保藏技术	221
任务二 冷冻干燥保藏技术	223
任务三 液体石蜡覆盖保藏技术	233
任务四 滤纸法菌种保藏技术	234
任务五 沙土保藏技术	236
任务六 食用菌菌种的提纯复壮	238
任务七 其他菌种保藏法	241
项目十二 微生物综合性实验	245
任务一 细菌总数的测定	245
任务二 多管发酵法测水中大肠菌群	248
任务三 微生物液体深层培养——发酵罐的使用	253
任务四 苯酚生物降解菌的筛选	256
任务五 乳酸发酵和乳酸菌饮料的制作	259
任务六 柠檬酸液体深层发酵和提取	263
任务七 甜酒酿的制作和酒药中糖化菌的分离	268
任务八 细菌型豆豉的制作	271
任务九 牛乳中细菌的检查	273
任务十 土壤中纤维素分解菌的分离	276

任务十一 从葡萄中分离纯化酵母菌	278
任务十二 诱变育种	281
项目十三 综合性设计性实验	289
任务一 产酶微生物的分离和筛选	289
任务二 抗菌塑料抗菌性能实验方法	292
附录	298
附录 I 微生物学实验室常用的器皿	298
附录 II 试剂与指示剂的配制	303
附录 III 常用消毒剂的配制	304
附录 IV 常用染色液的配制	304
参考文献	307

项目一 微生物实验室建设与管理

教学目标

【重点掌握】微生物实验的进行程序及相关要求;微生物实验规则及注意事项。

【一般掌握】微生物废弃物的处理及意外事故的处置。

【了解】微生物实验室的基本建设设施。

微生物实验主要是对个体微小,肉眼看不见的微生物进行操作和培养等。实验操作人员接触的微生物或未经妥善处理的微生物对人体存在潜在的危害。因此,实验中要尽量确保在无菌及整洁环境下操作。微生物实验室合理布置建设,了解并严格遵守微生物实验守则和实验室的各项规章制度,对于确保实验人员人身安全及顺利进行实验显得尤为重要。

任务一 微生物实验守则

在微生物实验室内做实验时,人身安全是十分重要的。部分微生物实验是使用具有潜在致病性或致病性的微生物作为实验目标菌或操作用菌,为了保证实验者和实验室的安全,学生进入实验室之前必须认真阅读并熟知以下实验守则。

一、实验程序和要求

(1)预习 学生在课前应认真预习实验指导书或教材有关内容,必须对所做实验的目的、要求、实验内容、基本原理和操作方法有一定的了解。

(2)讲解 教师对所做实验内容的安排及注意事项进行讲解,让学生有充分的时间按实验指导的要求进行独立操作与观察。

(3)独立操作与观察 除个别实验分组进行外,一般由学生个人独立进行操作和观察。在实验过程中,要按实验要求认真操作,仔细观察实验现象,及时完整地记录原始实验数据、结果。

(4)示教 每次实验都应备有示教内容,帮助学生了解某些实验中的难点,在有限时间内获得更多知识。

(5)作业 实验报告内容主要包括实验目的和原理、实验步骤、实验结果和分析与讨论等。撰写实验报告必须强调科学性,应实事求是地记录、分析、综合,并在实验结束后及时呈交。学生应认真阅读教师批改后的实验报告,了解自己在实验过程中存在的问题,进一步提高分析、综合能力。

(6)小结 实验结束后,由师生共同总结所做实验的主要收获及应注意的问题。

二、实验规则和注意事项

(1)每次上课前必须充分预习实验指导书,明确所做实验的目的与要求、实验原理和注意事项,熟悉实验内容、方法和步骤,对整个实验的安排做到先后有序、有条不紊,避免出现差错。

(2)上实验课时,必须穿上干净的白色工作服,扣好衣扣。非必需的物品不要带进实验室,必须带进的物品(包括帽子、围巾等)应放在不影响实验操作的地方。

(3)每次上课应携带实验指导书、实验报告纸及绘图文具等,按学号入座。

(4)实验前,要认真检查所用药品是否齐备,仪器使用记录是否正常,如有缺损应及时向指导教师报告,不得擅自随意调换标本、仪器等。未经指导教师允许,不能动用实验室其他非本次实验所用的仪器设备和药品。用湿布擦净台面,必要时可用0.1%的新洁尔灭溶液擦拭。实验前要洗手,以减少染菌的概率。

(5)遵守实验课堂纪律。有问题时举手提问,严禁彼此谈笑喧哗。

(6)遵守实验操作规程,严格按照指导教师的安排和实验指导书的要求进行。使用显微镜检查非永久装片时,要特别小心。防止染料或试剂沾污镜头和镜台,不要用高级显微镜观察非永久装片。操作要规范,观察要认真仔细,及时完成实验报告。

(7)酒精灯使用结束后应立即将其熄灭,不要让其一直燃烧。

(8)微生物实验中最重要的一环,就是要严格地进行无菌操作,防止杂菌污染。为此,在实验过程中,应严格做到以下几点:

①操作时要预防空气对流:在进行微生物实验操作时,要关闭门窗,以防空气对流。

②接种时不要走动和讲话:以免因尘埃飞扬和唾沫四溅而导致杂菌污染。

③含菌器具要消毒后清洗:凡用过的带菌移液管、滴管或涂布棒等,在实验后应立即投入5%石炭酸或其他消毒液中浸泡20min,然后再取出清洗,以免污染环境。

④含培养物的器皿要杀菌后清洗:在清洗带菌的培养皿、三角瓶或试管等之前,应先煮沸10min或进行加压蒸汽灭菌。

(9)凡须进行培养的材料,都应注明菌名、接种日期及操作者姓名(或组别),放在指定的温箱中进行培养,按时观察并如实地记录实验结果,按时交实验报告。

(10)实验室内严禁吸烟,不准吃东西,切忌用舌舔标签、笔尖或手指等物,以免感染。

(11)若实验过程中出现任何意外或事故,应及时向实验指导教师或实验室技术人员报告。

(12) 实验过程中应爱护仪器、标本和器材设备,注意节约实验材料、药品和水电。如有损坏器材应立即报告,应做好详细记录,并向实验指导老师或实验室技术人员说明情况。

(13) 凡是自配的试剂和溶液,必须贴上标签,注明名称、成分、浓度、配制日期及配制人。

(14) 实验结束后,使用过的显微镜要如实填写使用情况,按原样放置清理。桌面清理时,用过的物品放回原处。离开实验室之前要用肥皂洗手。

(15) 值日生要负责清扫地面,收拾实验用品,处理垃圾,关好水、电、门窗后再离开。

三、废弃物的处理

(1) 为了防止泄漏和扩散,所有包含微生物及病毒的培养基必须放在生物医疗废物盒内,经过去污染、灭菌后才能丢弃。

(2) 所有污染的非可燃的废物(玻璃或者锐利器具)在丢弃前必须放在生物医疗废物盒内。

(3) 所有的液体废物在排入下水道前必须经过消毒处理。

(4) 碎玻璃在放入生物医疗废物盒之前,必须放在纸板容器或其他防止穿透的容器内。

(5) 针头等锐利器具要放在抗穿透的容器内丢弃,针头不能折弯、摘下或者打碎,锐利器具的容器应放在生物医疗废物盒中。

(6) 每次实验结束后必须将实验室内所有垃圾清理干净。

四、意外事故的处置及控制

(1) 处理意外事故的方案 操作及保存二类、三类、四类危害的实验室,应制定详细的处理意外事故的方案。紧急情况下,与所有的人员保证信息畅通。实验室管理层、上一级安全管理层、安全护卫部门、医院及救护电话都应张贴在所有的电话附近。应配备医疗箱、担架及灭火器。

(2) 生物安全柜内的溢出事件 若在生物安全柜内发生溢出事件,为了防止微生物外溢,应立即启动去污染程序:

① 用有效的消毒剂擦洗墙壁、工作台面及设备。

② 用消毒剂充满工作台面、排水盘,并停留 20min。

③ 用海绵将多余的消毒剂擦去。

(3) 打碎玻璃器皿 如遇因打碎玻璃器皿而把菌液洒到桌面或地上时,应立即以 5% 石炭酸液或 0.1% 新洁尔灭溶液覆盖,30min 后擦净。若遇皮肤破伤,可先去除玻璃碎片,再用蒸馏水洗净后,涂上碘酒。

(4) 菌液污染手部皮肤 先用 70% 酒精棉球拭净,再用肥皂水洗净。如污染

了致病菌,应将手浸于2%~3%来苏尔或0.1%新洁尔灭溶液中,经10~20min后洗净。

(5)菌液吸入口中 应立即吐出,并用大量自来水漱口多次,再根据该菌的致病程度做进一步处理:

①非致病菌:用0.1%高锰酸钾溶液漱口。

②一般致病菌(葡萄球菌、肺炎链球菌等):用3% H_2O_2 、0.1%高锰酸钾溶液或0.02%米他芬溶液漱口。

③致病菌:如吸入白喉棒杆菌,在用②法处理后,再注射1000U白喉抗毒素做紧急预防;若吸入伤寒沙门菌、痢疾志贺菌或霍乱弧菌等肠道致病菌,在经②法处理后,可注射抗生素预防发病。

(6)衣服或易燃品着火 应先断绝火源或电源,搬走易燃物品(乙醚、汽油等),再用湿布掩盖灭火,或将身体靠墙或着地滚动灭火,必要时可用灭火器。

(7)皮肤烫伤 可用5%鞣酸、2%苦味酸或2%龙胆紫液涂抹伤口。

(8)化学药品灼伤

①强酸、溴、氯、磷等酸性药剂:先用大量清水洗涤,再用5% NaHCO_3 或5% NaOH 中和。

② NaOH 、金属钠(钾)、强碱性药剂:先用大量清水洗涤,再用5%硼酸或5%乙酸中和。

③石炭酸:用95%酒精洗涤。

④如遇眼睛灼伤:则应先用大量清水冲洗,再根据化学品的性质分别处理,例如,遇碱灼伤可用5%硼酸冲洗,遇酸灼伤可用5% NaHCO_3 冲洗,在此基础上再滴入1~2滴橄榄油或液体石蜡加以润湿即可。

任务二 微生物实验室的基本建设设施

微生物实验室的设计要求应当尽量满足微生物生长、发育的需要,能保证实施菌种分离和扩大培养的无菌操作规程,使接种的菌种能有一个洁净、恒温 and 空气清新的培养环境,以提高微生物的成活率和纯培养质量。所以,微生物实验室应选择在水电齐全、环境洁净、空气清新的地方,尽量避免与畜禽圈舍、饲料仓库及排放“三废”的工厂相邻。尤其夏季,更应注意实验室周围的环境卫生。房间要求既能密封,又能通风、保温,并且光线充足。实验室的墙壁、天花板应光滑、耐腐蚀,防水、防霉,易于清洗,地面用水泥抹平,各个房间要求水电配套,利于控温控湿。

一、微生物实验室的布局

在条件允许的情况下,实验室应按照配制培养基→蒸汽灭菌→分离或接种→培养→检验→保存或处理的顺序进行平面布局,相应安排洗涤室、培养基配

制室、灭菌室、接种室、培养室、检查室及冷藏保存或处理室,使其形成一条操作流水线。

二、洗涤室及其设备

洗涤室是洗刷培养微生物用的试管、培养皿、三角烧瓶等用品用具的场所。由于使用过的器皿已被微生物污染,有时还会存在病原微生物。因此,室内为水泥或瓷砖地面,墙角及拐弯处应设计为弧形,四壁由地面起1.5m高为瓷砖墙面,以便于清洗。室内应具有下列设施。

1. 水池

陶瓷或不锈钢水池均可。池底有放水塞,池内有水龙头。

2. 干燥架

干燥架设于水池的两侧或一侧,板上钉有大小不同的斜木钉,以倒挂清洗过的玻璃仪器,或木台上开有口径不同的半圆孔洞,用来悬挂有肩的玻璃瓶。木盘上钻有大小不同的圆孔用来插置吸管,以便控干水分。

3. 工作台

台上放电炉、铝锅及其他。

4. 干燥箱

室内放1只干燥箱,以供干燥器皿、试管及吸管等。

5. 辅助用具

洗刷器皿用的盆、桶等,各种毛刷、去污粉、肥皂、洗衣粉等。

三、培养基配制室及其设备

培养基配制室是供调配各种培养基、培养料的场所。室内要求清洁、宽敞、无杂物。其主要设备有以下几类。

1. 衡量器具

一般应有粗天平、量杯、量筒等,用于称取或量取药品及拌料用水。

2. 药品柜、壁橱、工作台等

用来放置培养基的原料、药品、天平、漏斗、煮锅、烧杯、电炉、铁架台、试管架、试管夹、试管、棉花、纸、刀、剪等。

3. 拌料用具

拌料时必备的用具有小铁铲、铝锅、塑料桶、玻璃棒等。必要时还应配置一些机械设备,如切片机、粉碎机、榨汁机等。

4. 装料用具

三角烧瓶、培养皿、试管等。

四、灭菌室及其设备

灭菌室是对配制好的培养基、培养料及器具设备进行灭菌的场所,灭菌室内应

有通风设备。常用的灭菌设备有高压蒸汽灭菌锅、干燥灭菌器等。

1. 高压蒸汽灭菌锅

高压蒸汽灭菌锅用途广泛,效率最高。它是一个密闭系统并具有夹层,能承受一定的压力,在锅底或夹层中盛水,锅内的水经过加热后煮沸产生蒸汽,由于蒸汽不能向外扩散,迫使锅内的压力升高,从而使水的沸点也随之升高,因此可获得高于 100°C 的蒸汽温度,从而达到快速彻底灭菌的目的。

2. 干燥灭菌器

干燥灭菌器又称干热灭菌箱或干燥器。培养皿、试管、吸管等玻璃器皿,棉塞、滤纸以及不能与蒸汽充分接触的液体(石蜡)等,都可用干燥器灭菌。

五、接种室及其设备

接种室又称无菌室。一般有里外两间,里间是接种间,外间为缓冲间。接种设备是指分离和扩大培养菌种的专用设备,如超净工作台、接种箱及各种接种工具。

1. 接种室

接种室的构造及设备如图 1-1 和图 1-2 所示。

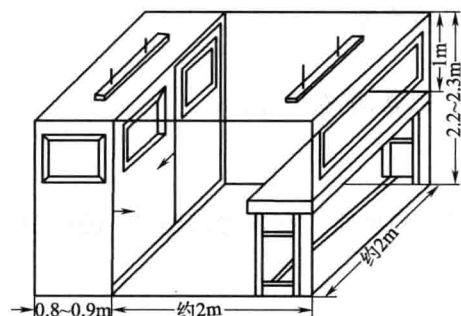
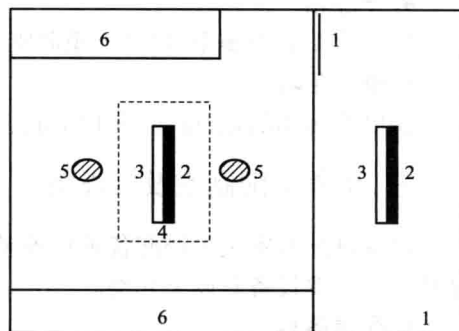


图 1-1 无菌室构造

→表示门窗的推拉方向



(1)接种室

(2)缓冲室

图 1-2 接种室的平面布置

1—移门 2—紫外线灭菌灯 3—日光灯

4—工作台 5—椅子 6—菌种架

(1)接种间 接种间的面积不宜过大,一般为 $2\text{m} \times 2.5\text{m}$,高度不超过 2.5m 。室内地面、墙面均应光滑整洁,房顶铺设天花板,以减少空气流动,门要设在离工作台最远的地方,最好用拉门。为提高无菌室的密闭性能,室内应全部采用双层结构的玻璃窗。通气窗应开在接种间门上方的天花板上,窗口用数层纱布和棉花遮好,有条件的可安装空气过滤器。

接种间的中部设有工作台,台面要平整光滑,台上置有酒精灯、接种工具、75%酒精、火柴、玻璃棒、脱脂棉、胶布等。工作台的上方,应安装紫外线灭菌灯及照明

的日光灯各 1 支,灯的高度以距地面 2m 为宜。

接种间容积小而严密,使用一段时间后,室内温度很高,故应设置通气窗。通气窗应设在进门处的顶棚上(即离工作台最远的位置),最好为双层结构,外层为百叶窗,内层可用抽板式窗扇。通气窗可在接种间使用后、灭菌前开启,以流通空气。有条件可安装恒温恒湿机。

(2)缓冲间 在接种间外要有一个缓冲间,供工作人员换衣帽、鞋等准备工作之用,缓冲间的门要与接种间的门错开,并避免同时开门,以防止外界空气直接进入接种间。一般缓冲间内设有衣帽柜。房间中央离地面 2m 高处,应装灭菌灯和照明用日光灯各 1 支。

(3)在分隔接种间与缓冲间的墙壁或“隔扇”上,应开一个小窗,作为接种过程中必要的内外传递物品的通道,以减少人员进出接种间的次数,降低污染程度。小窗宽 60cm、高 40cm、厚 30cm,内外都挂对拉的窗扇。

2. 接种箱

接种箱是供菌种分离、移接的专用设备。接种箱要求封闭严密,操作方便,使之能成为无菌环境,以便进行无菌操作。常用的接种箱有单人操作式和双人操作式两种,如图 1-3 所示。一般采用长 143cm、宽 86cm、高 159cm 的双人操作箱。箱的上层两侧框架中安装玻璃,能灵活开闭,便于接种时观察和操作。箱腰部两侧各留有 2 个直径 15cm 的洞口,洞口上装有 40cm 的布袖套,双手从此袖套内伸入箱内操作,布套的松紧带口能紧套在手腕处,可以防止外界空气中的杂菌进入。箱两侧最好也装上玻璃,箱顶部为木板或玻璃。箱内安装紫外线灭菌灯及日光灯各 1 支。箱体安装木板或玻璃均可,但要注意密封。

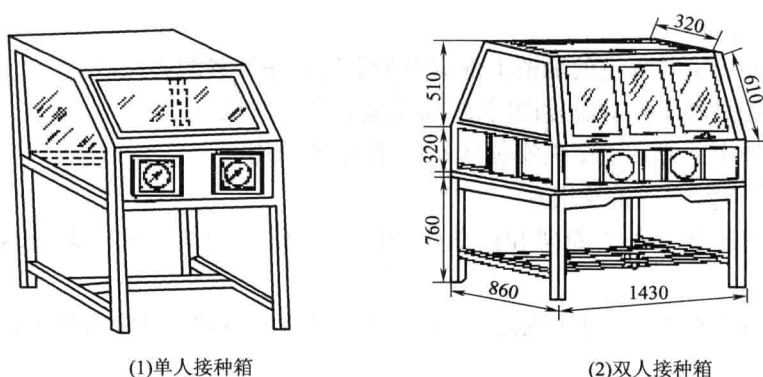


图 1-3 接种箱(单位:mm)

由于接种箱的构造简单,制作容易,移动方便,灭菌效果好,气温高时人在外面操作不会感到闷热,故接种量不大时多采用它。

放置接种箱的房间距离灭菌室要近些,房间要宽敞明亮,经常保持清洁,最好

不要和其他操作间混用。

3. 超净工作台

超净工作台是没有建设无菌室的微生物实验室的必备设备,也可用于有更严格无菌要求或其他小环境条件要求的微生物接种、分离和鉴定等操作。超净工作台能在局部形成高洁净度的工作环境。其工作原理是室内新风经预过滤器送入风机,由风机加压进入净压箱,再经过高效过滤器除尘,洁净后通过均匀层,以层流状态均匀垂直向下进入操作区,或以水平层流状态通过操作区,同时上部狭缝中喷送出高速空气流,形成操作区不受外界干扰的空气,从而可在操作时获得洁净的空气环境。由于洁净气流是匀速平行地向一个方向流动,空气没有涡流,故任何一点灰尘或附着在灰尘上的杂菌都很难向别处扩散转移,而只能就地排除掉。因此,洁净气流可以造就无菌环境。

与无菌室和接种箱比较,使用超净工作台具有工作条件好、操作方便、无菌效果可靠、无消毒药剂对人体危害、占用面积小且可移动等优点。如果放在无菌室内使用,无菌效果更好。其缺点是价格昂贵,预过滤器和高效过滤器还需要定期清洗和更换过滤介质。

六、培养室及其设备

1. 培养室

(1) 培养室的设置

①培养室应有内、外两间,内室是培养室,外室是缓冲室。房间容积不宜大,以利于空气灭菌,内室面积在 14m^2 左右,外室面积在 6m^2 左右,高以 2.5m 左右为宜,应有天花板。

②分隔内室与外室的墙壁上部应设带空气过滤装置的通风口。

③为满足微生物对温度的需要,需安装恒温恒湿机。

④内外室都应在室中央安装紫外灯,以供灭菌用。

(2) 培养室内设备及用具

①内室通常配备培养架和摇瓶机(摇床)。常用的摇瓶机有旋转式、往复式两种。

②外室应有专用的工作服、鞋、帽、口罩、手持喷雾器和 5% 石炭酸溶液、70% 酒精棉球等。

小规模培养可不启用恒温培养室,而在恒温培养箱中进行。

2. 恒温培养箱

恒温培养箱可分为两大类,即直热式恒温培养箱和隔水式恒温培养箱。

(1)直热式恒温培养箱 为直接加热空气方式的培养箱,采用“继电器控温电加热空气”技术,结构为:保温板材箱内装继电器控温电加热器。这种培养箱造价