

Y

INGYONGXINGBENKESHIYANJAOXUEXILIEJIAOCAI

应用型本科实验教学系列教材

# 微生物学实验指导



● 主编 尹军霞



南京大学出版社

应用型本科实验教学系列教材

# 微生物学实验指导



南京大学出版社

## 图书在版编目(CIP)数据

微生物学实验指导 / 尹军霞主编. —南京:南京  
大学出版社, 2015. 7

ISBN 978 - 7 - 305 - 15611 - 3

I. ①微… II. ①尹… III. ①微生物学—实验—高等  
学校—教材 IV. ①Q93 - 33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2015)第 179288 号

出版发行 南京大学出版社

社址 南京市汉口路 22 号 邮编 210093

出版人 金鑫荣

书名 微生物学实验指导

主编 尹军霞

责任编辑 张伟 吴汀 编辑热线 025 - 83686531

照排 南京理工大学资产经营有限公司

印刷 盐城市华光印刷厂

开本 787×960 1/16 印张 12.75 字数 245 千

版次 2015 年 7 月第 1 版 2015 年 7 月第 1 次印刷

ISBN 978 - 7 - 305 - 15611 - 3

定 价 29.00 元

网 址: <http://www.njupco.com>

官方微博: <http://weibo.com/njupco>

官方微信: njupress

销售咨询热线: (025)83594756

\* 版权所有, 侵权必究

\* 凡购买南大版图书, 如有印装质量问题, 请与所购  
图书销售部门联系调换

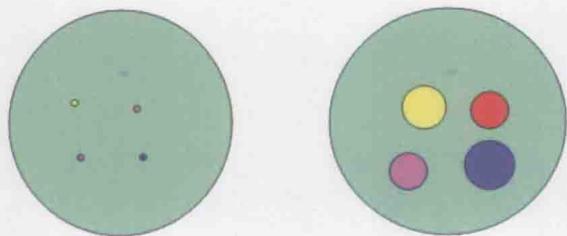


图1 菌落计数(分离纯化)原理  
(左边表示接种上的菌, 右边表示长成的菌落)

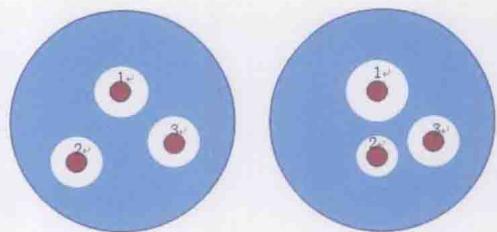


图2 诱变效应的观察  
(左边表示诱变前的对照菌落,  
右边表示诱变后可能出现的菌落)

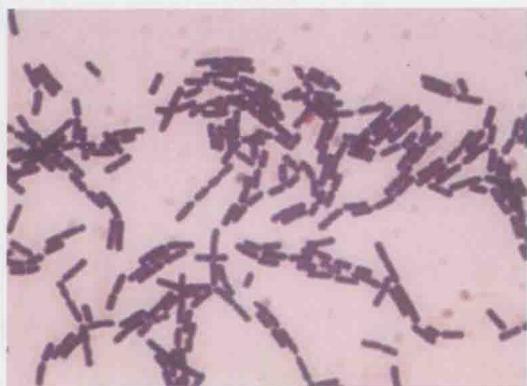


图3 革兰氏阳性杆菌染色效果  
(枯草杆菌 *Bacillus subtilis*)

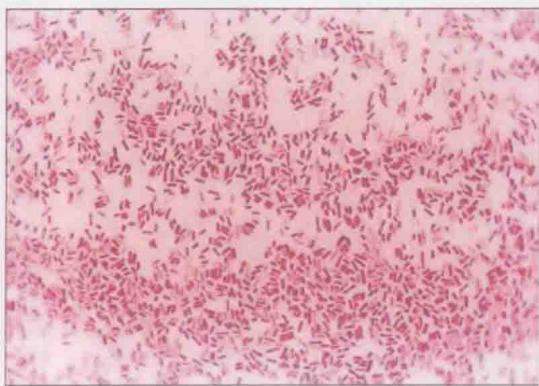


图4 革兰氏阴性杆菌染色效果  
(大肠杆菌 *Escherichia coli*)

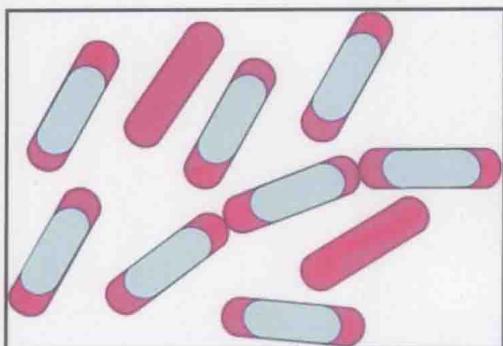


图5 芽孢染色效果  
(绿色为芽孢, 红色为菌体)

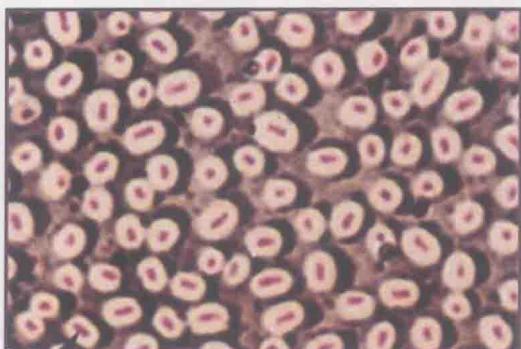


图6 莢膜染色效果  
(紫色即菌体, 无色即荚膜, 褐色为背景)

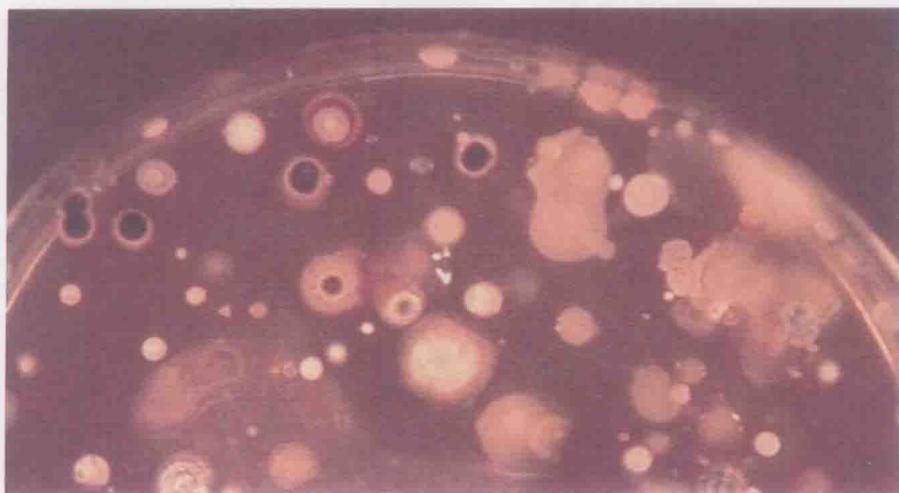


图7 有大量分支营养菌丝和气生菌丝的菌种所形成的菌落



图8 不产生大量菌丝体的种类所形成的菌落及病斑  
(左为菌落, 右为病斑)

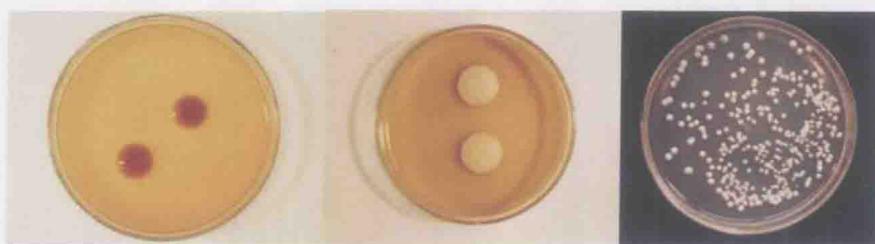


图9 酵母菌菌落  
(左为红酵母 *Rhodotorula* )  
(中为酿酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae* )  
(右为酿酒酵母涂布平板效果)

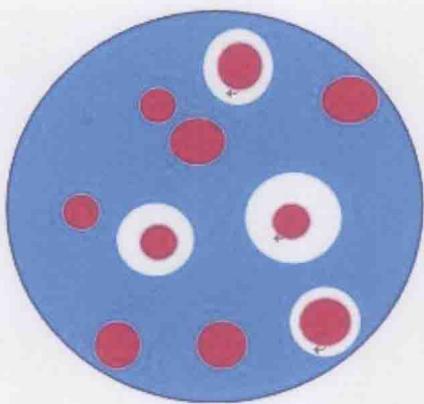


图10 平板上的产淀粉酶菌落  
(红色表示菌落, 无色表示淀粉水解圈, 蓝色表示培养基)

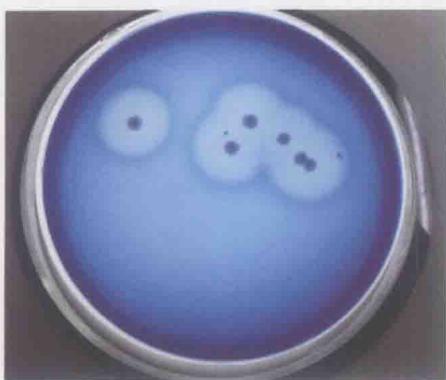


图11 曲利苯蓝与淀粉鉴定培养基



图12 点种效果

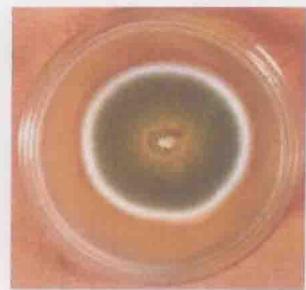
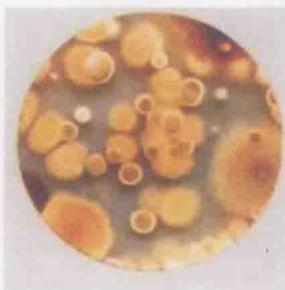


图13 不同霉菌的菌落  
(左、中为涂布平板效果, 右为点种效果)

## 前 言

研究性教学是世界教学发展的大趋势。2005 年教育部《关于进一步加强高等学校本科教学工作的若干意见》明确指出,高校要“积极推动研究性教学,提高大学生创新能力”。2012 年 7 月,教育部高等教育司在浙江万里学院举行了“研究性教学方法改革骨干教师高级研修班”。研究性教学成为高校教学改革的潮流。但地方院校学生缺乏研究性教学所需的科研素养与知识储备,直接开展研究性实验教学存在一定的难度。

编者根据多年的探索与实践,对微生物学实验的教学采取了渐进式研究性教学模式,该模式首先将微生物实验内容分为 3 个层次(阶段):基础实验、综合提高实验和研究创新实验。基础实验侧重微生物的基本操作技术,采用传统的教学模式和研究性教学相结合的方式实施教学;综合提高实验强调操作技能的综合应用,采取模拟科学的研究的教学方式;研究创新实验注重学生创新能力和综合能力的培养,采取放手让学生独立探究的研究性教学模式。

本教材是与渐进式研究性教学相匹配的教材,是编者吸取了国内外优秀微生物学和微生物学实验教材精华,在多年实验讲义和课件的基础上改编而成,包括基础性实验 17 个,综合提高实验 11 个和研究创新实验示例 1 个。

基础实验通过以研究性课题(“某某土壤四大类微生物计数、分离纯化与鉴定”的形式安排实验内容和顺序,使所有的实验连贯成科学探究。普通微生物实验以细菌的研究为主,所以放线菌、酵母菌和霉菌的鉴定以形态观察为主,细菌的鉴定包括形态、生长特性(控制)、生理生化和 16S rDNA 鉴定。具体实验内容和顺序设计思路为:培养基的配置、灭菌、土壤四大类微生物的培养计数、分离纯化,分离细菌、放线菌、酵母菌和霉菌的形态鉴定,分离细菌的生长曲线、生长控制、生理生化鉴定、16S rDNA 鉴定一直到分离菌的菌种保藏,所有实验环环相扣,全部可由学生以科研小组为单位完成。教师可根据不同的专业,不同的课时选做菌种分离纯化后的实验内容。常规教材中,形态或生理生化特征典型的菌种由教师提供,本教材实验体系中,教师仍然提供这些典型菌,作为鉴定学生科研组分离菌的标准菌或者对照菌,这样一方面,便于学生掌握不同微生物的形态和生理生化特征的多样性,也便于科研小组的成员任务分配(一般 3 人一组,1 人负责操作典型菌 A,1 人负责操作典型菌 B,1 人负责科研组分离菌),保证基

本的微生物实验操作技术,每个组员都能独立操作。“某某土壤”可以是与本地区农业密切相关且富含四大类微生物的各种土壤,如“诸暨黑李”穿孔病果园土壤,Cd 污染油菜土壤,花卉基地土壤,蔬菜基地土壤等等。

基础实验阶段,为了便于教师讲解和示范,每个实验的时间统一安排,每次实验按照传统的“讲解,示范,学生操作,完成报告”教学模式进行。

综合提高实验,实际是一些分别与环境、食品、医学相关的小型研究性课题,可供不同的专业教学选择。如供生物科学、科学教育专业选择的有——“紫外线对枯草芽孢杆菌产生淀粉酶的诱变效应”,“产淀粉酶菌株的筛选与鉴定”,“产碱性蛋白酶菌株的筛选”,“链霉素抗性突变菌的分离筛选”;供环境科学专业选择的有——“苯酚生物降解菌的筛选”,“水中细菌总数的测定”,“多管发酵法测定水中大肠菌群”;酿酒工程专业选择的有——“产淀粉酶菌株的筛选及发酵条件的优化”,“风味酸乳的制作及乳酸菌的分离纯化”,“酒精发酵及糯米甜酒的酿制”。这些课题涉及的操作基本上包含了基础实验中所有的操作技术,教学的组织可以比基础实验阶段更倾向于研究性模式,教师可要求全体学生在 1 周内预习,撰写个人预习报告,练习实验要求的各项操作技术,以班级为单位,于统一的时间正式操作。至于科研小组成员之间的分工,教师也提出一些具体的要求,比如“产淀粉酶菌株的筛选与鉴定”,教师要求各组的每个成员至少进行一个土壤浓度的稀释和涂布,至少选一个单菌落进行平板划线纯化 1 次后斜面划线保存,科研小组最后确定的目的菌株,每个成员都要进行革兰氏染色、镜检,而且每次的操作结果既要表明科研小组的编号,也要写明个人的名字,学生操作期间,教师全程指导,提醒学生注意安全,纠正学生错误的操作,回答学生提问,审查学生的实验结果和原始记录,并对学生的操作表现打分。学生操作结束后,科研小组以论文的形式上交报告。综合提高实验,既是对微生物基本操作技术的回顾、复习和检验,还是学生正式参加科研创新前的一次仿真演练。

研究创新阶段,教师根据科研项目或者学生感兴趣的微生物学问题,选取 5~10 个开放创新项目,供学生选择。如:“酸菜中降胆固醇乳酸菌的分离鉴定”,“乳酸菌对鲫鱼肠道菌群的影响”,“万古霉素废水高效降解菌的分离以及处理万古霉素废水的研究”,“产胶原蛋白酶菌株的筛选及酶活特性研究”,“多环芳烃降解菌的筛选及性能研究”,“复合菌株协同发酵羽毛条件的研究”,“绍兴黄酒麦曲中主要真菌的分离及鉴定”,“传统绍兴黄酒发酵醪中酵母菌的分离鉴定及发酵特性研究”等。学生根据个人的兴趣组成科研小组。每组同学自己查阅文献,再在整理文献的基础上设计讨论并优化实验方案,经过教师的可行性评估、指导和完善后,学生在一段时间内自由、自主地完成实验。最后,以论文的格式提交书面实验报告。学生操作实施期间,微生物实验室全方位开放。教师及实验员在

此过程中主要起协调作用,如实验室基本仪器设备的协调和维护、日常卫生及实验室安全性的检查等。当学生遇到困难时,教师给予及时指导和帮助,更多的是鼓励学生自己去查阅文献资料,解决遇到的问题。

本教材以必需、够用、适度挑战性为度,删去常规教材中由于课时限制、材料、难度等原因地方院校甚至是所有高校本科生,都不可能开设、无法开设或者无法完整开设的实验内容,如厌氧培养,免疫学技术等与后续课程分子生物学实验,基因工程实验等课程重复度较高的部分也删去了。对必修的部分,适度地增加点难度和挑战性,这样集中力量培养学生扎实的基础知识和基本的操作技能,同时还培养学生综合分析问题、解决问题的能力和拓展知识、研究创新的能力。

本教材坚持简单明了、直观实用的原则。总体编写思想:弱化实验前的原理和背景知识介绍,强化学生创新探究能力培养。教材使用大量插图(包括实物照片、示意图、模式图、描述操作方法和过程的说明图、流程图、框架图)来直观地说明概念和过程。实验前的原理和背景知识介绍,不影响研究课题或实验理解和实施的背景知识能不讲就不讲,必须讲的,尽量讲要点,尽量做到简洁明快,一目了然,希望学生能花较少的时间在教材的理解和掌握上,而把更多的时间用在实践操作和课后思考上。

本教材的很多实验内容和实验环节为作者原创或改进,可操作性很强,适合作为地方院校微生物学实验课教材,也可作为从事微生物工作的有关教师及科研人员的实验参考用书。

本教材编写过程中,参考了大量国内外优秀微生物学和微生物学实验教材和互联网资料,绍兴文理学院的沈国娟老师参与了教材的校对工作,在此一并致以诚挚的谢意!

由于作者能力和水平有限,书中难免不当之处,敬请广大师生、专家、同仁和读者批评指正。谢谢!

尹军霞

2015年6月

本教材是微生物学基础课的实验教材，供微生物学专业及生物工程、生物技术、生物医学等专业的学生使用。全书共分十章，每章由实验目的、实验原理、实验材料与方法、实验步骤、注意事项五部分组成。

## 实验须知

为了上好微生物学实验课，并保证安全，特提出如下注意事项：

1. 每次实验前必须对实验内容进行充分预习，以了解实验的目的、原理和方法，做到心中有数，思路清楚。
2. 认真及时做好实验记录，对于当时不能得到结果而需要连续观察的实验，则需记下每次观察的现象和结果，以便分析。
3. 实验室内应保持整洁，不准在实验室吃食和会客。保持室内安静，有问题时举手提问，严禁彼此谈笑喧哗和随便走动。
4. 实验时小心仔细，全部操作应严格按操作规程进行，万一遇有盛菌试管或瓶不慎打破、皮肤破伤或菌液吸入口中等意外情况发生时，应立即报告指导教师，及时处理，切勿隐瞒。
5. 实验过程中，切勿使酒精、乙醚、丙酮等易燃药品接近火焰。如遇火险，应先关掉火源，再用湿布或沙土掩盖灭火。必要时用灭火器。
6. 使用显微镜或其他贵重仪器时，要求细心操作，特别爱护。
7. 对消耗材料和药品等要力求节约，用毕后仍放回原处。
8. 每次实验完毕后，必须把所用仪器洗净放妥，将实验室收拾整齐。擦净桌面，如有菌液污染桌面或其他地方时，可用3%来苏尔液或5%石炭酸液覆盖其上半小时后擦去。如系芽孢杆菌，应适当延长消毒时间；凡带菌的工具（如吸管、玻璃刮棒等）在洗涤前须浸泡在3%来苏尔液中进行消毒。
9. 每次实验需进行培养的材料，应标明自己的组别及处理方法，放于教师指定的地点进行培养；实验室中的菌种和物品等，未经教师许可，不得携出室外，离开实验室前应将手洗净。
10. 每次实验的结果，应以实事求是的科学态度填入报告表格中，力求简明准确。
11. 值日生要负责清扫地面，收拾实验用品，处理垃圾，关好水、电、门窗等后再离开。

# 目 录

101	培养基的制备与灭菌方法	一十二章
881	培养基的制备及灭菌方法	一十二章
181	土壤中细菌计数法	三十二章
681	土壤中霉菌计数法	三十二章
081	细菌形态观察方法	五十二章
281	细菌染色法	六十二章
<b>第一部分 基础性实验</b>		<b>1</b>
881	实验一 培养基的配置	1
181	实验二 灭菌物品的准备及灭菌	11
681	实验三 土壤中细菌、放线菌及霉菌计数、分离与纯化	26
081	实验四 细菌的简单染色及形态观察	41
281	实验五 细菌的革兰氏染色	46
881	实验六 细菌的芽孢、荚膜、鞭毛染色及运动性观察	52
181	实验七 微生物细胞大小的测定	61
681	实验八 放线菌的形态结构观察	65
081	实验九 酵母菌的形态观察及死活细胞的鉴别	70
281	实验十 微生物的显微镜直接计数法	73
881	实验十一 霉菌的形态结构观察	77
181	实验十二 细菌生长曲线的测定	81
681	实验十三 药物和生物因素对细菌生长的影响	84
081	实验十四 常见的生理生化试验Ⅰ	88
281	实验十五 常见的生理生化试验Ⅱ	93
881	实验十六 用 16S rDNA 方法鉴定细菌种属	98
181	实验十七 微生物菌种保藏	103
<b>第二部分 综合性实验</b>		<b>110</b>
681	实验十八 紫外线对枯草芽孢杆菌产生淀粉酶的诱变效应	110
081	实验十九 产淀粉酶菌株的筛选与鉴定	114
281	实验二十 产淀粉酶菌株的筛选及发酵条件的优化	119

实验二十一 产碱性蛋白酶菌株的筛选	124
实验二十二 链霉素抗性突变菌的分离筛选	128
实验二十三 苯酚生物降解菌的筛选	131
实验二十四 水中细菌总数的测定	135
实验二十五 多管发酵法测定水中大肠菌群	139
实验二十六 噬菌体的分离和纯化	145
实验二十七 乳酸发酵与乳酸菌饮料	149
实验二十八 酒精发酵及糯米甜酒的酿制	153
<b>第三部分 研究创新实验示例</b>	156
<b>产胶原蛋白酶菌株的筛选及酶活特性研究</b>	156
<b>附 录</b>	178
<b>附录一 常用培养基配制</b>	178
<b>附录二 玻璃器皿及玻片洗涤法</b>	183
<b>附录三 实验室意外事故的处理</b>	185
<b>附录四 实验用染色液及试剂的配制</b>	186
<b>附录五 酸碱指示剂的配制</b>	190
<b>附录六 微生物学实验中一些常用数据表</b>	191
<b>附录七 实验常用中英名词对照表</b>	193
<b>附录八 各国主要菌种保藏机构</b>	196
<b>参考文献</b>	197

## 第一部分 基础性实验

### 实验一 培养基的配置

#### 一、目的要求

- (1) 了解培养基的配置原理;
- (2) 了解培养基配置的常规程序;
- (3) 学习和掌握几种培养基的配制方法。

#### 二、实验原理

培养基是按照微生物生长发育的需要,用不同组分的营养物质调制而成的营养基质。人工制备培养基的目的,在于给微生物创造一个良好的营养条件。把一定的培养基放入一定的器皿中,就提供了人工繁殖微生物的环境和场所。自然界中,微生物种类繁多,由于微生物具有不同的营养类型,对营养物质的要求也各不相同,加之实验和研究上的目的不同,所以培养基在组成原料上也各有差异。但是,不同种类和不同组成的培养基中,均应含有满足微生物生长发育的水分、碳源、氮源、无机盐和生长素以及某些特需的微量元素等。此外,培养基还应具有适宜的酸碱度(pH)和一定缓冲能力及一定的氧化还原电位和合适的渗透压。

##### 培养基种类:

- (1) 按成分的不同分:天然培养基、合成培养基、半合成培养基。
- (2) 按培养基的物理状态分:固体培养基、液体培养基、半固体培养基。
- (3) 按培养基用途:基础培养基、选择培养基、加富培养基、鉴别培养基、孢子培养基、种子培养基、发酵培养基。

固体培养基是在液体培养基中添加凝固剂制成的,常用的凝固剂有琼脂、明胶和硅酸钠,其中以琼脂最为常用,其主要成分为多糖类物质,性质较稳定,一般微生物不能分解,故用凝固剂而不致引起化学成分变化。琼脂在95℃的热水中才开始融化,融化后的琼脂冷却到45℃才重新凝固。因此用琼脂制成的固体培养基在一般微生物的培养温度范围内(25℃~37℃)不会融化而保持固体状态。

### 三、实验材料

#### 1. 药品

牛肉膏,蛋白胨,NaCl,琼脂,可溶性淀粉,K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>,MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O,KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>,FeSO<sub>4</sub>,葡萄糖,2%去氧胆酸钠链霉素(10 000单位/mL),KNO<sub>3</sub>,0.1%孟加拉红1 mol/L,NaOH。

#### 2. 其他物品

无菌培养皿(80),无菌玻璃涂棒,称量纸,试管架,药勺,10%酚溶液,石棉网,棉塞,高压蒸汽灭菌锅。

### 四、实验内容

#### (一) 牛肉膏蛋白胨培养基的制备

##### 1. 实验原理

牛肉膏蛋白胨培养基是细菌学研究最常用的天然培养基。其中的牛肉膏为微生物提供碳源、磷酸盐和维生素,蛋白胨主要提供氮源和维生素,而NaCl提供无机盐。在配方中不加琼脂时称之为肉汤培养基。加入琼脂配制的固体培养基一般用于细菌的分离、培养和计数等。

##### 2. 配方

牛肉膏	5 g	蛋白胨	10 g
NaCl	5 g	琼脂	20.0 g
蒸馏水	1 000 mL	pH	7.0

##### 3. 操作步骤



##### (1) 称量

按培养基配方比例依次准确地称取各药品放入烧杯中。牛肉膏常用玻棒挑取,放在小烧杯或表面皿中称量,用热水溶化后倒入烧杯。也可放在称量纸上,称量后直接放入水中,这时如稍微加热,牛肉膏便会与称量纸分离,然后立即取出纸片。蛋白胨很易吸潮,在称取时动作要迅速。另外,称药品时严防药品混杂,一把牛角匙用于一种药品,或称取一种药品后,洗净、擦干,再称取另一药品,瓶盖也不要盖错。

### (2) 溶化或溶解

在上述烧杯中可先加入少于所需要的水量,用玻棒搅匀,然后,在石棉网上加热使其溶化或溶解。在琼脂溶化的过程中,需不断搅拌,以防琼脂糊底使烧杯破裂,遇水沸腾导致即将漫出烧杯时,及时添加少许冷水。待琼脂完全溶化后,补充水分到所需的总体积。

### (3) 调 pH

在未调 pH 前,先用精密 pH 试纸测量培养基的原始 pH,如果 pH 偏酸,用滴管向培养基中逐滴加入 1 mol/L NaOH,边加边搅拌,并随时用玻棒沾少许液体,用 pH 试纸测其 pH,直至 pH 达 7.0。反之,则用 1 mol/L HCl 进行调节。注意 pH 值不要调过头,以避免回调,否则,将会影响培养基内各离子的浓度。

### (4) 分装

将培养基分装于 15 个试管,其余分装于三角瓶中。

### (5) 加塞

培养基分装完毕后,在试管口或三角烧瓶口上塞上棉塞,以阻止外界微生物进入培养基内而造成污染,并保证有良好的通气性能(棉塞制作方法见本实验后面)。

### (6) 包扎

试管加塞后,一般多个一起,再在棉塞外包一层牛皮纸(或报纸),以防止灭菌时冷凝水润湿棉塞,用一道麻绳将几根试管一起扎好(方便起见,可用橡皮筋代替)。三角瓶加塞后,外包牛皮纸(或报纸),用麻绳以活结形式扎好(方便起见,可用橡皮筋代替)。注明培养基名称、组别、日期。

## (二) 高氏一号合成培养基的制备

### 1. 实验原理

高氏一号培养基是一个合成培养基,常用于分离和培养放线菌。

### 2. 配方

可溶性淀粉	20 g	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.5 g
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.5 g	FeSO <sub>4</sub>	0.01 g
NaCl	0.5 g	琼脂	20.0 g
KNO <sub>3</sub>	1 g	蒸馏水	1 000 mL
K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> (0.5%)	10 mL (临用前加入)		
pH	7.2~7.4		

### 3. 操作步骤

量取所需水量,少量置于一小烧杯中,剩余置大烧杯中。将大烧杯在电炉上加热至沸腾。称量可溶性淀粉,置于小烧杯中,用少量冷水将淀粉调成糊状后加入到沸水中,搅匀,其它药品依次加入,定容,调 pH。分装于三角瓶中,加塞,包扎。

## (三) 马丁氏培养基的制备

### 1. 实验原理

马丁氏培养基是一种用来分离真菌的选择性培养基。此培养基是由葡萄糖、蛋白胨、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、孟加拉红(玫瑰红, Rose Bengal)和链霉素等组成。其中葡萄糖主要作为碳源,蛋白胨主要作为氮源,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  和  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  作为无机盐,为微生物提供钾、磷和镁离子。而孟加拉红和链霉素主要是细菌和放线菌的抑制剂,对真菌无抑制作用,因而真菌在这种培养基上可以得到优势生长,从而达到分离真菌的目的。需要计数时,通常加入去氧胆酸钠,它是一种表面活性剂,不仅防止霉菌菌丝蔓延,还可抑制  $\text{G}^+$  细菌生长。

### 2. 配方

$\text{KH}_2\text{PO}_4$	1.0 g	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.5 g
蛋白胨	5.0 g	葡萄糖	10.0 g
孟加拉红(1%)	3.3 mL	琼脂	20.0 g
蒸馏水	1 000 mL		
1%链霉素	3.3 mL(临用前加入)		
2%去氧胆酸钠	20 mL(临用前加入)		
自然 pH			

### 3. 操作步骤

此培养基在之后的实验中,不需要分装斜面,只要求分装于三角瓶中,将来倒平板用,所以直接将该配方中除链霉素和去氧胆酸钠以外的各成分,加入三角瓶,加塞,包扎后灭菌。

临用前将培养基加热融化,冷至 60°C 左右,无菌操作加入 2% 去氧胆酸钠和 1% 链霉素,迅速混匀。(下次实验)

## (四) 酵母膏胨葡萄糖培养基(YPD)的制备

### 1. 实验原理

蛋白胨提供碳源和氮源;酵母膏粉提供 B 族维生素能促进生长;葡萄糖提供能源。

## 2. 配方

酵母膏	10 g	蛋白胨	20 g
葡萄糖	20 g	琼脂	20 g
1% 链霉素	3. 3 mL (临用前加入)		
蒸馏水	1 000 mL		
自然 pH			

(1) 称量: 按培养基配方比例依次准确地称取各药品放入烧杯中。

(2) 溶化: 在上述烧杯中可先加入少于所需要的水量, 用玻棒搅匀, 然后在石棉网上加热使其溶化或溶解。在琼脂溶化的过程中, 需不断搅拌, 以防琼脂糊底使烧杯破裂, 遇水沸腾导致即将漫出烧杯时, 及时添加少许冷水。待琼脂完全溶化后, 补充水分到所需的总体积。

(3) 分装: 将培养基分装于 10 个试管, 其余分装于三角瓶中, 加塞, 包扎。

## (五) 蛋白胨水培养基的制备

## 1. 实验原理

蛋白胨提供碳氮源、维生素和生长因子; 氯化钠维持均衡的渗透压; 含有色氨酸酶的细菌, 能分解蛋白胨中的色氨酸, 形成吲哚。吲哚无色, 当加入对氨基苯甲酸试剂后, 形成可见的红紫色醌式化合物, 即玫瑰吲哚。

## 2. 配方

蛋白胨	10 g	NaCl	5 g
蒸馏水	1 000 mL		
pH 7.6			

## 3. 操作步骤

直接将配方中的各成分加入到烧杯中, 用玻棒搅匀, 也可在石棉网上略微加热加速溶解, 调 pH。分装于 25 支试管中, 加塞, 包扎。

## (六) 葡萄糖蛋白胨水培养基的制备

## 1. 实验原理

蛋白胨提供碳氮源、维生素和生长因子; 葡萄糖提供碳源和能源; 氯化钠维持均衡的渗透压。肠杆菌科各菌属发酵葡萄糖, 在分解葡萄糖过程中产生丙酮酸, 进一步分解中, 由于糖代谢的途径不同, 可产生乳酸、琥珀酸、醋酸和甲酸等大量酸性产物, 可使培养基 pH 下降至 pH 4.5 以下, 此 pH 使甲基红由黄变红, 如加入甲基红试剂培养基中变红, 则甲基红试验呈阳性。某些细菌在葡萄糖蛋白胨水培养基中能分解葡萄糖产生丙酮酸, 经过丙酮酸缩合, 脱羧