

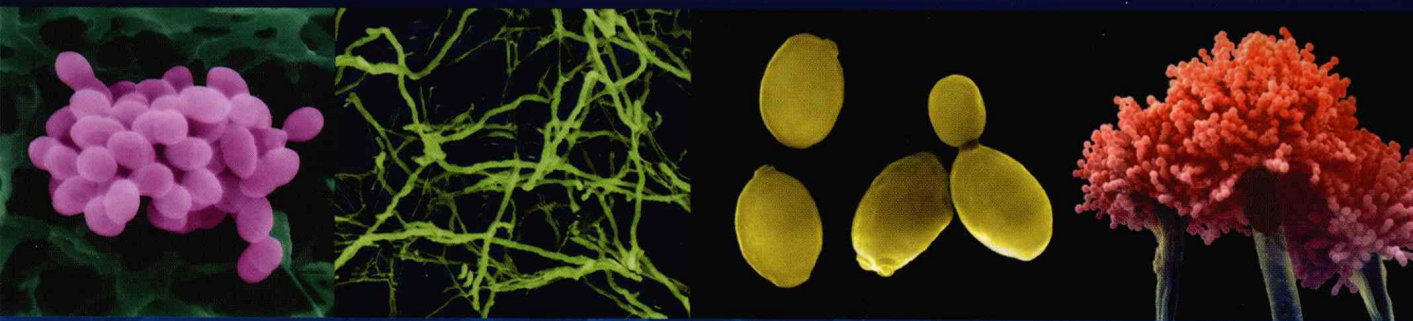


生命科学实验指南系列

现代工业微生物学 实验技术

杨汝德 主 编

吴 虹 林晓珊 副主编



科学出版社

www.sciencep.com

生命科学实验指南系列

现代工业微生物学实验技术

主 编 杨汝德

副主编 吴 虹 林晓珊

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

本书的第一章介绍了工业微生物学实验常用玻璃器皿和常用仪器设备的用途、结构、性能和使用方法,并附有大量图片。第二章至第八章为本书的主要内容,涵盖了工业微生物学七大实验技术:工业微生物的显微技术,工业微生物的形态观察、制片及染色技术,工业微生物的纯培养技术,工业微生物的检测技术,工业微生物生理与发酵试验技术,工业微生物育种技术,工业微生物基因工程实验技术。本书共设置了44个实验,主要为工业微生物学基本技能训练实验,还有部分为大型综合性实验和研究性实验。

本书可作为高等教育出版社于2006年1月出版的《现代工业微生物学教程》(杨汝德主编)的配套实验用书,颇具理工科特色,适合于理工科大学的生物工程、生物技术、生物制药工程、食品科学与工程、食品质量与安全、环境工程等专业的大学生使用,也适合于高等职业技术学院相关专业的专科生使用。

图书在版编目(CIP)数据

现代工业微生物学实验技术/杨汝德主编. —北京:科学出版社,2009
(生命科学实验指南系列)

ISBN 978-7-03-022865-9

I. 现… II. 杨… III. 工业微生物学-实验-指南 IV. Q939.97-62

中国版本图书馆CIP数据核字(2008)第133202号

责任编辑:罗 静 王 静 李晶晶/责任校对:陈玉凤

责任印制:钱玉芬/封面设计:耕者设计工作室

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

骏杰印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2009年1月第 一 版 开本:787×1092 1/16
2009年1月第一次印刷 印张:16 3/4
印数:1—3 000 字数:383 000

定价:42.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈环伟〉)

前 言

21 世纪初,国内外正在兴起的工业生物技术,被称为继医药生物技术和农业生物技术后的第三次生物技术革命浪潮。工业生物技术是生物学、化学和工程学的交叉技术,其核心是大规模利用微生物细胞和酶作为催化剂催化物质转化。我国政府已将工业生物技术列为国家中长期科学和技术发展规划的重点发展领域,已在“十一五”规划中给予重点支持。

为迎接我国工业生物技术革命高潮的到来,为更好地跟上 21 世纪工业微生物学迅速发展的步伐,我们对原有使用了多年的《工业微生物学实验》讲义作了大幅度的更新、扩充和提高,重新编写成《现代工业微生物学实验技术》一书。

《现代工业微生物学实验技术》的第一章介绍了工业微生物学实验常用玻璃器皿和常用仪器设备的用途、结构、性能和使用方法,并附有大量图片。第二章至第八章为主要内容,涵盖了工业微生物学七大实验技术,共设置了 44 个实验,主要为工业微生物学基本技能训练实验,还有部分为大型综合性实验和研究性实验。每个实验的编写内容均包括:目的要求、基本原理、实验器材、实验内容及操作步骤、实验注意事项、实验报告及思考题等。第九章则增设了工业微生物学实验的三个附录。

现代工业微生物学是一门实践性很强的应用生物科学。掌握工业微生物学实验技术对于每一位学生来说,其重要性绝不亚于理论课程。因此,在学习理论课的同时,务必注重工业微生物学实验操作技能的训练和提高。

本书可作为高等教育出版社于 2006 年 1 月出版的《现代工业微生物学教程》(杨汝德主编,已列入“十一五”国家级规划教材)的配套实验用书,颇具理工科特色,适合于理工科大学的生物工程、生物技术、生物制药工程、食品科学与工程、食品质量与安全、环境工程等专业的本科生作为实验技术用书,也适合于高等职业技术学院相关专业的专科生使用。

另外,本书的篇幅和内容,已大大超出工业微生物学实验课程规定的教学时数。各有关专业教师在使用时,可根据实际情况加以取舍或精简,有些综合性实验和研究性实验内容,可作为学生课外科技活动或毕业实践时参考使用。

《现代工业微生物学实验技术》由杨汝德主编。全书共分九章,其中第一章、第二章和第九章由林晓珊负责编写;第三章至第六章由杨汝德负责编写;第七章和第八章由吴虹负责编写。本书在编写过程中得到郭勇、许喜林、罗立新、潘力等多位教授的指导,特表示衷心谢意。由于编者的学识和水平有限,书中不当甚至错误之处在所难免,我们殷切希望广大学子、读者和同行给予批评指正。

编 者

2008 年 8 月

目 录

前言

工业微生物学实验规则与安全	1
第一章 工业微生物学实验常用器皿和仪器设备	4
第一节 工业微生物学实验常用的玻璃器皿	4
第二节 工业微生物学实验常用的仪器设备	13
第二章 工业微生物的显微技术	24
第一节 普通光学显微镜使用的操作技术	24
实验一 使用普通光学显微镜观察各种微生物标本片	27
第二节 暗视野显微镜使用的操作技术	30
实验二 使用暗视野显微镜观察活菌体	31
第三节 相差显微镜使用的操作技术	34
实验三 使用相差显微镜观察啤酒酵母细胞内部结构	36
第四节 荧光显微镜使用的操作技术	38
实验四 使用荧光显微镜观察酵母和细菌的形态结构	39
第五节 电子显微镜使用的操作技术	41
实验五 透射电子显微镜微生物样品的制备与观察	42
实验六 扫描电子显微镜微生物样品的制备与观察	47
第三章 工业微生物的形态观察、制片及染色技术	50
第一节 酵母菌和霉菌的形态观察及制片技术	51
实验七 酵母菌和霉菌的制片、染色技术及形态观察	55
第二节 细菌和放线菌的形态观察及制片技术	60
实验八 细菌和放线菌的制片、染色技术及形态观察	67
实验九 细菌特殊结构的制片、染色技术及形态观察	73
第四章 工业微生物的纯培养技术	79
第一节 培养基的配制与灭菌技术	79
实验十 培养基的配制和灭菌	81
第二节 无菌操作技术	87
实验十一 无菌操作和微生物菌种的移接	89
第三节 工业微生物分离与纯化技术	93
实验十二 微生物菌种的分离和纯化	94
实验十三 碱性纤维素酶产生菌的分离纯化	99
实验十四 噬菌体的分离与纯化	103
第四节 厌氧微生物纯培养技术	108
实验十五 厌氧微生物的纯培养	109

第五节 工业微生物菌种保藏技术	115
实验十六 工业微生物菌种的保藏	117
第五章 工业微生物的检测技术	123
第一节 微生物生长繁殖的测定	123
实验十七 酵母菌细胞数、出芽率及死亡率测定	126
实验十八 微生物细胞大小的测定	130
实验十九 光电比浊计数法测定细菌生长曲线	134
第二节 食品卫生微生物学检测	137
实验二十 水和食品中细菌菌落总数的测定	138
实验二十一 水和食品中大肠菌群数的测定	143
第三节 噬菌体的检测技术	152
实验二十二 噬菌体的检查及其效价测定	153
第六章 工业微生物生理与发酵试验技术	159
第一节 工业微生物生理生化试验技术	159
实验二十三 微生物对碳源的利用试验	161
实验二十四 微生物对氮源的利用试验	164
实验二十五 环境因素对微生物生长的影响试验	169
第二节 工业微生物发酵试验技术	173
实验二十六 酵母菌的乙醇发酵试验	174
实验二十七 短杆菌的谷氨酸发酵试验	177
实验二十八 枯草芽孢杆菌的 α -淀粉酶发酵试验	180
实验二十九 乳酸细菌的乳酸发酵试验	182
实验三十 固定化酵母细胞发酵生产啤酒	189
实验三十一 新型固定化酵母细胞发酵生产乙醇	193
实验三十二 正交试验法优化双歧杆菌发酵培养基	197
第七章 工业微生物育种技术	205
第一节 工业微生物诱变育种技术	205
实验三十三 应用物理因素诱变选育抗药性的淀粉酶高产菌株	205
实验三十四 应用化学因素诱变选育腺嘌呤营养缺陷型菌株	209
第二节 工业微生物原生质体育种技术	212
实验三十五 酵母菌原生质体诱变育种	213
实验三十六 酵母菌原生质体融合育种	217
第八章 工业微生物基因工程实验技术	220
实验三十七 细菌质粒 DNA 的小量制备	221
实验三十八 细菌总 DNA 的提取	224
实验三十九 PCR 扩增目的基因	226
实验四十 质粒 DNA 的酶切及从凝胶中回收 DNA	227
实验四十一 感受态细胞的制备及转化	229
实验四十二 DNA 体外重组	231

实验四十三 葡聚糖内切酶基因的克隆及在大肠杆菌中的表达	233
实验四十四 纳豆激酶基因的克隆及在酵母菌中的表达	240
第九章 工业微生物学实验附录	247
附录一 常用染色液的配制	247
附录二 常用试剂和溶液的配制	250
附录三 常用培养基的配方	254
参考文献	259

工业微生物学实验规则与安全

一、工业微生物学实验目的和要求

1. 工业微生物学实验目的

微生物学是生物学中第一个建立起一套自己特有实验技术的学科，而工业微生物学更是一门实践性很强的应用学科。微生物学实验通过训练学生掌握微生物学最基本的操作技能，牢固地建立无菌概念，更好地了解微生物学的基本知识，加深理解某些微生物学的理论。学生不仅要有扎实的基础知识，更要有熟练的实验操作技能，才能真正掌握好这门应用科学。通过实验课，可以培养学生观察、思考、分析问题和解决问题的综合能力；树立严谨、求实的科学态度，以及敢于创新的开拓精神；养成勤俭节约、爱护公物、相互协作的优良作风。

2. 工业微生物学实验要求

为了上好工业微生物学实验课，确保实验顺利进行，保证实验安全，特别对工业微生物学实验课提出下列几点要求：

(1) 每次实验前必须对实验内容进行充分预习，以了解实验目的、原理、方法以及实验步骤。操作时能达到心中有数，思路清楚，胆大心细，有条不紊，不易出现出乎意料的实验结果。

(2) 上课时非必要的物品和书包请勿带入室内，勿随便走动和高声谈话，保持室内安静；关好门窗，以免扰动空气，造成污染。

(3) 实验操作前须认真听老师讲解和演示，实验操作时须认真、细心、谨慎。对每次实验的现象和结果要仔细观察，对于当前不能得到结果而需要连续观察的实验，则须及时记录每次观察的现象，以便分析和作出正确的报告。

(4) 实验中需要进行培养的材料，一律要求注明班级、组别和日期，有的还应注明实验项目的名称和菌种的名称，并放于教师指定的地点进行培养。

(5) 实验微生物培养物均轻取轻放，小心、严格按操作规程进行，以免发生意外致容器破损，造成污染。若万一微生物培养物污染桌面、地面、用具、衣服或皮肤，甚至菌液误入口中，应立即报告指导老师，及时处理，切勿隐瞒。

(6) 使用显微镜或其他贵重仪器时，要求细心操作，特别爱护。进行高压蒸汽灭菌时，严格遵守操作规程。负责灭菌的同学在灭菌过程中不准离开实验室，并随时观察灭菌锅工作情况，以免发生意外。

(7) 每次实验完毕，必须将实验器材洗净放妥，整理台面，将实验室收拾整洁，养成良好的实验习惯。凡带菌的器材须经浸泡消毒或高温灭菌后才能清洗。严禁将实验的菌种及器材随意携出室外。

(8) 每次实验结果，应以实事求是的科学态度认真作出实验报告，对异常或不理想的结果需加以讨论，对实验现象作出合理的解释，下次实验时交给指导教师批阅。

二、微生物学实验室的规章制度和安全守则

微生物实验室存在有毒、易燃、易爆、腐蚀和致癌等化学物的危害，有时还要面临高压、紫外线和其他辐射的危害。此外，实验室工作者还会受到来自微生物菌株的危害，因此，处理菌株、玻片和所有装过或接触过活菌株的容器时要加倍小心。菌株主要通过消化道、呼吸道、伤口皮肤和眼部等途径造成人体的感染（眼睛是感染源进入却不发生局部病理反应的大门），一些微生物菌株甚至可以通过皮肤进入体内。

1. 微生物学实验室的规章制度

(1) 正在进行实验时，由实验室主管限制人员进入。一律穿工作服进入实验室，以防衣服被菌污染或被染液弄脏，离开实验室时脱下，并应经常清洗。留长发者应戴帽或将长发束扎于脑后，以免着火或被污染。

(2) 非实验所需物品不得置于实验台上。未经教师许可，不得将实验室内物品带出。

(3) 实验室应保持安静、不得高声谈笑，无事不得到处走动。不得在实验室内进食、喝水、抽烟、处理隐形眼镜、使用化妆品。食物应储存于工作区外的专用橱柜或冰箱内。

(4) 禁止使用口吸移液技术，应使用机械移液装置。制定安全使用和处理锐利器具如注射器针头、手术刀片等的方案。

(5) 仔细进行每一步操作，以减少飞溅物或气溶胶的产生。工作台面在每天工作结束前至少应消毒一次，发生生物活性物质泼洒时应及时消毒。所用培养物、储存物及其他废物在排放前，应先经过可行的消毒方法如高压灭菌法处理。

(6) 实验后的废物和用过的化学药品分别倾入污物桶或瓷缸内，不得丢入水槽以免堵塞下水道或腐蚀水管。

(7) 需在实验室外临近处进行消毒处理的物品，必须存放在耐用、防扩散的密闭容器中，且必须依据当地及国家的相关规定进行包装后才能从实验室移出。

(8) 实验完毕后，对所用的仪器、工具、标本等，要认真进行清点和擦洗，如有短缺、损坏需填写赔偿报告单。值日生离室前必须将实验室打扫干净，用消毒液擦抹桌面，并检查水、电、窗是否关好。

2. 微生物学实验室的安全守则

(1) 对贵重的精密仪器，必须先详细阅读仪器说明书后方可使用。实验中所用的试剂，应先了解其性质以后再使用。如果试剂瓶的标签上字迹不清或标签脱落时，则必须经过检验，否则不得使用。

(2) 在使用有毒物品或易挥发的有毒液体（氰化钾、氢氟酸、二硫化碳等），以及易挥发的强酸、氨或易发生恶臭的物质（硫化铵、硫化氢等）时，必须在排气良好的地方或通风橱中进行；在使用易爆品、浓酸和浓碱，以及其他一些有强烈反应性能的物质时，应戴护目镜和橡皮手套。

(3) 吸取有毒液体及浓酸、浓碱时，都不得用移液管以口吸的方式吸取，必须用上端带有橡皮球的移液管或注射器吸取，或用量筒、量杯量取。强酸的浓溶液（盐酸、硝

酸、硫酸)或 25%的氨水,均应储存在磨口瓶中。

(4) 对易爆物品不得轻易加热,必须经测试其中无过氧化物后方可操作。对盛有易燃、易爆液体(乙醚、苯、二硫化碳等)的瓶子和安瓿瓶,不得放在使用煤气或有电热器的实验室内加热,应放在无火源的通风处使用。离开实验台时要熄火。

(5) 使用具有爆炸性的试剂时(如苦味酸和多硝基化合物)应特别小心。严防火源、火花,避免猛力冲击和振荡。

(6) 危险试剂必须由专人保管和储存。有毒或易爆物品应封闭在铁箱或铁柜中,由专人保管账册和钥匙。

(7) 易吸水的试剂(氯化钙、氢氧化钠、氢氧化钾等)必须密封在有盖的玻璃瓶中,用后宜用石蜡封好;见光即发生变化的试剂(硝酸银、磺胺剂、四氯化碳等)应保存在棕色玻璃瓶中,放在阴凉的柜、橱中,避免日光直射;在空气中可以自燃的金属,如钾、黄磷等,应保存在相应的盛有适应液体的密闭容器中,如金属钾应保存在煤油中,黄磷要放在水中保存。

(8) 凡进行易燃、易爆性实验时,所需仪器设备必须符合要求,不得马虎敷衍,以免发生危险。

(9) 必须保证实验室的安全,防护器材经常处于完善待用状态。

(10) 其他特殊药品、仪器的安全操作规程,应由教师及有关人员予以补充指导。

第一章 工业微生物学实验常用器皿和仪器设备

本章的内容包括两部分：①工业微生物学实验常用的玻璃器皿（常用玻璃器皿简介，常用玻璃器皿的洗涤方法，常用玻璃器皿的包扎与灭菌）；②工业微生物学实验常用的仪器设备（常用的各种显微镜，常用的各种仪器设备）。

第一节 工业微生物学实验常用的玻璃器皿

玻璃器皿是微生物学实验的重要实验用具，而如果没有严格无菌操作的概念，微生物学实验就显得毫无意义。为了保证实验顺利进行，必须把实验用器皿清洗干净；而为保持灭菌后的无菌状态，需要对培养皿、吸管、三角瓶等精心妥善包扎。这些工作看来很普通简单，如操作不当或不按规定要求去做，就会导致实验的失败，因此应看做是微生物实验的基本操作。本节将对主要的玻璃器皿做详细的介绍，同时也对玻璃器皿的清洗、包扎及灭菌的方法作出相关的陈述。

一、常用玻璃器皿简介

微生物学实验室所用的玻璃器皿，一般要求硬质玻璃材质，才能承受高温灭菌和短暂烧灼而不致破损。

1. 试管

微生物学实验用的玻璃试管（图 1-1），其管壁必须比化学实验室用的要厚实，这样在做试管塞（棉花塞或硅胶塞）时才不易破损。

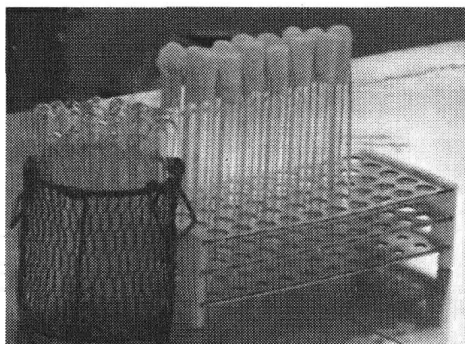


图 1-1 空试管与带塞试管

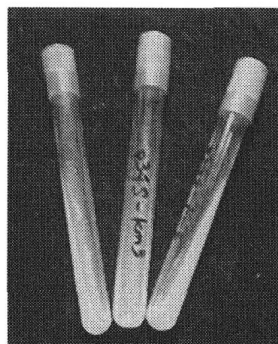


图 1-2 斜面试管（带帽盖）

普通试管的规格以外径（mm）×长度（mm）表示，离心试管以容量毫升数表示。微生物学实验室常用的试管一般是下面三个规格：大试管 18 mm×180 mm、中试管 15 mm×150 mm、小试管 12 mm×100 mm，分别用于不同的用途：大试管可盛装制倾

注平板用的琼脂培养基，也可以作为制备琼脂斜面用，以及用于装液体培养基作微生物的振荡培养；中试管，常用于盛液体培养基培养细菌用或作琼脂斜面用（图 1-2），也可用于稀释分离试验；小试管一般用于糖发酵或其他需要节省材料的试验。使用时需注意：

(1) 盛取液体时容积不超过其容积的 $\frac{1}{3}$ ，盛装液态琼脂培养基时容积不超过其容积的 $\frac{1}{5}$ 。

(2) 试管是可以直接加热的，受热要均匀以免暴沸或试管炸裂，加热后不能骤冷，防止破裂。

2. 杜氏小管（杜氏发酵管）

规格约 $6\text{ mm} \times 36\text{ mm}$ ，一般放置在装有发酵培养基的试管内，倒置，可以观察发酵培养基内产气情况。

3. 吸管（移液管）

微生物学实验室一般要准备 1 mL 和 10 mL 的刻度玻璃吸管。玻璃吸管一般有两种类型，一种称为血清学吸管（图 1-3），用于微生物学和血清学中的移液工作，特别的顶部设计可放入棉花塞，吸管上刻度指示的容量包括管尖的液体体积，使用时要将所吸液体吹尽；另一种称为测量吸管（图 1-4），用于化学分析中的移液工作，吸管刻度指示的容量不包括管尖的液体体积，使用时不能将所吸液体吹尽，而是到达所设计的刻度为止。

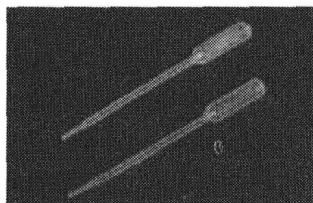


图 1-3 血清学吸管

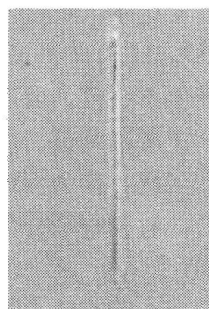


图 1-4 测量吸管

4. 培养皿

一套培养皿由皿底和皿盖两部分组成（图 1-5），有玻璃制作的，也有晶体聚苯乙烯制作的。实验室常用的玻璃培养皿，规格为直径 9 cm ，是指皿底直径为 9 cm ，皿底高 1.5 cm 。培养皿（图 1-6）用于固体培养基和液体培养基的微生物培养，主要用在菌种的分离、纯化、鉴定，活菌菌落计数，抗生素测定以及噬菌体的效价等。



图 1-5 培养皿由皿底和皿盖组成

5. 三角瓶（锥形瓶）

三角瓶（图 1-7）有 100 mL、250 mL、500 mL、1000 mL 等不同的大小，常用来盛无菌水、培养基和摇瓶发酵。要求三角瓶的瓶壁要厚实，机械强度要高。常用的有窄口三角瓶、广口三角瓶、振荡培养三角瓶、磨砂口三角瓶（带瓶塞）等。振荡培养三角瓶有特殊的内陷阻板设计，可增加混合效果。

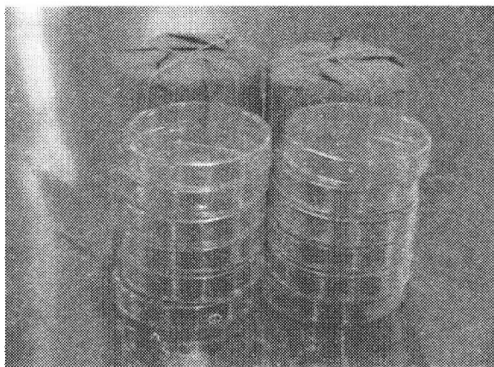


图 1-6 已包扎与未包扎的培养皿



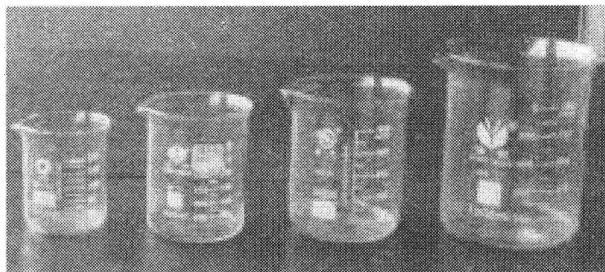
图 1-7 已包扎与未包扎的三角瓶

6. 烧杯

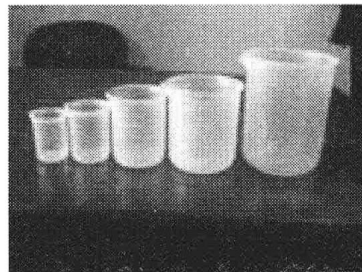
烧杯是用来装盛反应物的反应器，盛取、溶解结晶物，蒸发浓缩或加热溶液。而在微生物学实验中，常用于溶解药品试剂、配制培养基。常用的烧杯规格有 50 mL、100 mL、250 mL、500 mL、1000 mL 等（图 1-8）。

烧杯因其口径上下一致，取用液体非常方便。烧杯外壁的刻度，只是估计其内的溶液体积，而不能用于准确测量。烧杯外壁一般会有一小块白色磨砂区，在此区上可以用铅笔描述所盛物的名称，作为标识之用。反应物需要搅拌时，通常以玻璃棒搅拌。当所盛溶液需要转移时，可以将烧杯口朝向有突出缺口的一侧倾斜，并用玻璃棒导流，即可顺利地将溶液倒出。

使用烧杯时，注入的液体不超过其容积的 $\frac{2}{3}$ ；加热时使用石棉网，烧杯外部必须擦干（图 1-8A 所示为玻璃烧杯，B 所示为塑料烧杯）。



A



B

图 1-8 各种规格的烧杯

7. 容量瓶

容量瓶是一种细颈梨形平底容器，带有磨口玻塞，颈上有标线，表示在所指温度

下液体充满到标线时，溶液体积恰好与瓶上所注明的容积相等。容量瓶是为配制准确的一定物质的量浓度的溶液用的精确仪器，常和移液管配合使用，以把某种物质分为若干等份。通常有 25 mL、50 mL、100 mL、250 mL、500 mL、1000 mL 等数种规格（图 1-9），实验中常用的是 100 mL 和 250 mL 的容量瓶。容量瓶上标有温度、容量、刻度线。容量瓶不能久储溶液，尤其是碱性溶液会侵蚀瓶壁，并使瓶塞粘住，无法打开。容量瓶不能加热。

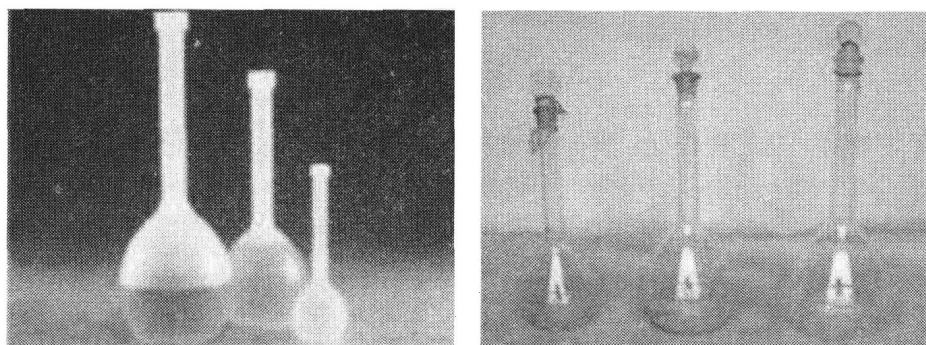


图 1-9 各种规格的容量瓶

8. 试剂瓶

一般用于盛装化学溶液、生化溶液或药品。微生物学实验中用来盛装培养基、培养液、染色液、缓冲液、指示剂、消毒剂等。常用的规格（图 1-10）有 100 mL、500 mL、1000 mL（细口、广口），有白色瓶和棕色瓶两种，需避光保存时使用棕色瓶。



图 1-10 各种规格的试剂瓶

9. 量筒

量筒是量度液体体积的仪器。规格以所能量度的最大容量（mL）表示，常用的有 10 mL、25 mL、50 mL、100 mL、250 mL、500 mL、1000 mL 等（图 1-11）。外壁刻度都是以毫升（mL）为单位，10 mL 量筒每小格表示 0.2 mL，而 50 mL 量筒每小格表示 1 mL。可见量筒越大，管径越粗，其精确度越小，由视线的偏差所造成的读数误差也越大。所以，实验中应根据所取溶液的体积，尽量选用能一次量取的最小规格的量筒。分次量取也能引起误差。例如，量取 70 mL 液体，应选用 100 mL 量筒。

10. 载玻片与盖玻片

载玻片（图 1-12）是在实验时用来放置实验材料的玻璃片，呈长方形，较厚，透光性较好；盖玻片（图 1-13）是盖在材料上，避免液体和物镜相接触，以免污染物镜，

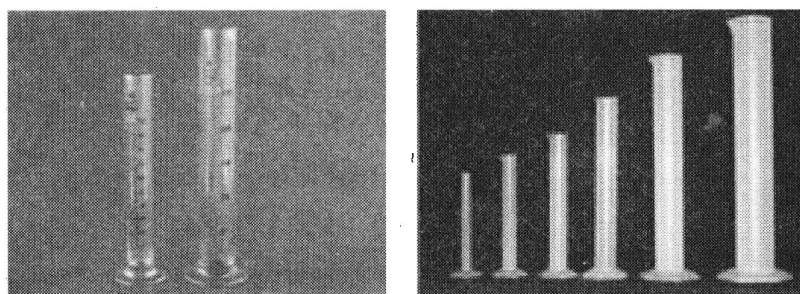


图 1-11 各种规格的量筒

呈正方形，较薄，透光性较好。普通载玻片大小为 75 mm×25 mm，盖玻片为 18 mm×18 mm。用于微生物涂片、染色，作形态观察等。

凹玻片是在一块厚玻片的当中有一圆形凹窝，作悬滴观察活细菌以及微室培养用。

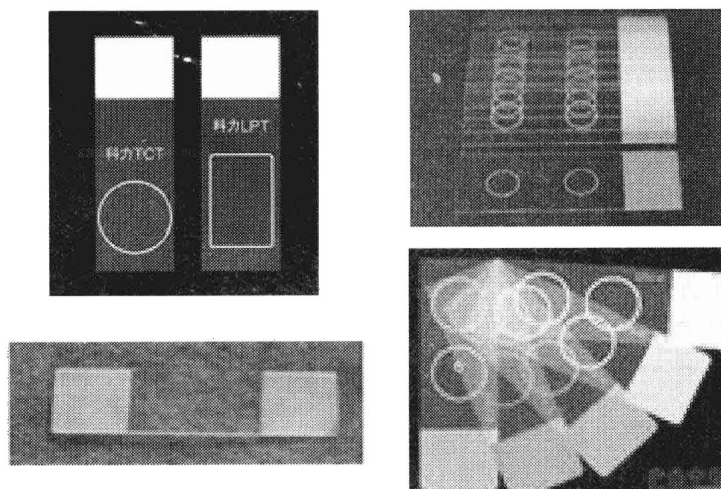


图 1-12 各种载玻片

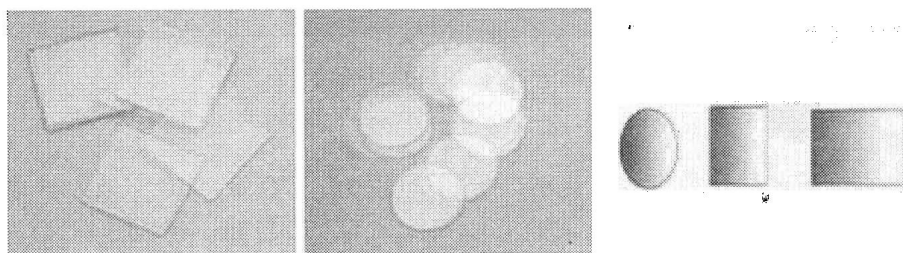


图 1-13 各种盖玻片

11. 滴瓶

用来盛装染色液、试剂的小容量玻璃瓶，方便溶液取用。常用的规格有 30 mL、60 mL，一般分白色瓶和棕色瓶两种（图 1-14）。

12. 注射器

一般有 1 mL、2 mL、5 mL、20 mL、25 mL 不同容量的注射器（图 1-15）。注射

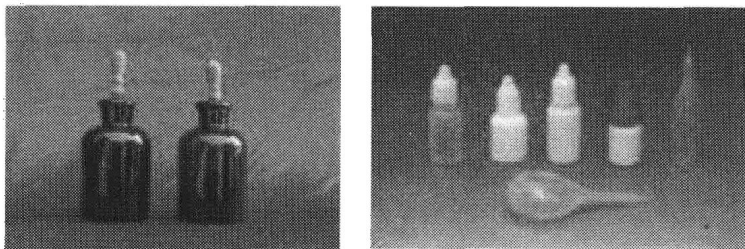


图 1-14 各种规格的小滴瓶

抗原于动物体内可根据需要使用 1 mL、2 mL 和 5 mL 规格；抽取动物心脏血或绵羊静脉血可采用 10 mL、20 mL、50 mL 规格。

微量注射器有 10 μ L、20 μ L、50 μ L、100 μ L 等不同的型号。一般在免疫学或纸层析、电泳等实验中滴加微量样品时应用。玻璃注射器，透明度好，可以看到注射药物的情况。还有玻璃金属并用制成的注射器，可用煮沸法消毒，针头也可以磨尖再用和消毒。现在用的注射器用塑料制造，用一次即扔掉，大大减少了注射时发生感染的危险性。为了保证卫生，防止交叉感染，现代的注射器多采用塑料质地。

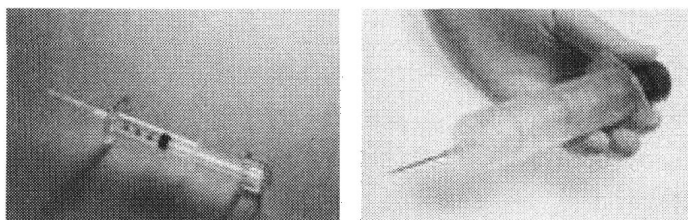


图 1-15 注射器

二、常用玻璃器皿的洗涤方法

微生物学实验中需使用大量的玻璃器皿，在实验前均需洗涤清洁，晾干备用。洁净的玻璃器皿是保证得到正确实验结果的首要条件，因此，玻璃器皿的洗涤清洁工作显得非常重要。洗涤方法应对玻璃器皿没有损伤，所以不能用有腐蚀性的化学药剂，也不能用比玻璃硬度大的物品进行擦洗。洗涤洁净的器皿应达到玻璃壁能被水均匀湿润而无条纹和水珠，否则表示尚未洗干净，应再按洗涤方法重新洗涤。

（一）各种玻璃器皿的洗涤

1. 新购置的玻璃器皿的处理

新购置的玻璃器皿含有游离碱，一般器皿用 2% 盐酸或重铬酸钾洗涤液浸泡数小时后再用清水洗净。

新购置的载玻片或盖玻片，先浸在肥皂水中，再用自来水冲洗，最后用蒸馏水冲洗，晾干。或以软布擦干后浸于含 2% 盐酸的 95% 乙醇中，保存备用。用时在火焰上烧去乙醇即可。

2. 带油污玻璃器皿的处理

凡带有凡士林或石蜡油的玻璃器皿，在未洗刷前，需尽量除去油腻，可先放在 5% 的苏打液内煮两次，再用肥皂和热水洗净。

3. 带菌玻璃器的处理

(1) 带菌盖玻片及载玻片的处理。已用过的带有活菌的载玻片或盖玻片可先浸在 5% 石炭酸或 1:50 新洁尔灭溶液中消毒，然后用夹子取出，按上述新购置载玻片或盖玻片的处理方法冲洗干净，再用软布擦干后备用。

(2) 带菌移液管及滴管的处理。带菌的移液管或滴管，应立即投入 5% 的石炭酸溶液或 0.25% 新洁尔灭溶液中浸泡数小时或过夜，经高压蒸汽灭菌后，再用自来水冲洗及蒸馏水冲净。

(3) 其他带菌玻璃器皿的处理。染菌或盛过微生物的其他玻璃器皿，应先经高压蒸汽灭菌 (121℃, 20~30 min)，趁热倒出容器内的培养物，再用热水和肥皂洗净，用自来水冲洗，以水在内壁均匀分布一薄层而不出现水珠时，为油垢除尽的标准。

经过以上处理的器皿，可盛一般实验用的培养基和无菌水等。少数实验要求高的器皿，如要盛纯的化学药品或做精确的实验时，可先在洗涤液中浸泡数十分钟，再用自来水冲洗，最后用蒸馏水淋洗 2 或 3 次，烘干备用。

4. 其他

鞭毛染色所用载玻片的处理。选择光滑无伤痕的玻片，先用洗衣粉煮沸。洗衣粉最好在洗玻片前加蒸馏水煮沸，用滤纸过滤去渣。为了避免玻片彼此磨损，最好把载玻片放在特制的架上煮。煮后稍冷却后取出，用清水洗净，再放入浓洗液中浸泡 24 h 左右，取出，用清水冲洗残酸，最后用蒸馏水洗净，沥干水并放于 95% 乙醇中脱水。取出玻片，用火焰烧去乙醇，立即使用。如不立刻使用，可存放于干净盒子或 50% 乙醇中短期存放。清洁的玻片上滴上水滴后能均匀散开。

5. 洗涤需遵循的原则

(1) 用过的器皿应随即洗涤，放置太久会增加洗涤的困难，随时洗涤还可以提高器皿的使用率。

(2) 含有病原菌或者是属于植物检疫范围内的微生物的试管、培养皿及其他容器，应先浸在 5% 石炭酸溶液内或蒸煮灭菌后再进行洗涤。

(3) 盛过有毒物品的器皿要分别处理，不能与一般器皿混杂洗涤。

(4) 难洗涤的器皿不要与易洗涤的器皿放在一起，有油的器皿不要与无油的器皿放在一起，否则使本来无油的器皿沾上油污，增加洗涤的麻烦。

(5) 强酸、强碱及其他氧化物和有挥发性的有毒物品，都不能倒在洗涤槽内，必须倒在废水缸中。

(6) 用过的升汞溶液，切勿装在铝锅等金属器皿中，以免腐蚀金属器皿。

(7) 任何洗涤法，都不应对玻璃器皿有所损伤。所以不能使用对玻璃器皿有腐蚀作用的化学试剂，也不能使用比玻璃硬度大的制品来擦拭玻璃器皿。

(二) 重铬酸钾洗涤液的配制

通常用的重铬酸钾（或重铬酸钠）的硫酸溶液，其成分和配方如下。