

21世纪生物学

基础课系列实验教材

刘国生 主编

微生物学实验技术



科学出版社

www.sciencep.com

21 世纪生物学基础课系列实验教材

微生物学实验技术

刘国生 主编

图书在版编目(CIP)数据

微生物学实验技术 / 刘国生主编. — 北京: 科学出版社, 2007

(SI 微生物学基础课系列实验教材)

ISBN 978-7-03-020589-2

I. 微… II. 刘… III. 微生物学-实验-高等学校-教材

IV. Q93-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2007)第122307号

责任编辑: 刘国生
封面设计: 刘国生
责任印制: 刘国生

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码: 100013

<http://www.science.cn>

江苏省句容市排印厂印刷

南京理工大学出版社发行

科学出版社发行

科学出版社

北京

定价: 28.00元

林楚舒 内容简介 王世 15

针对当前实验学科教学改革发展的需求,加强学生动手能力、自主分析问题与解决问题的能力,本书从实验内容的更新,实验安排的系统性及与理论课教学的同步性等方面进行了安排。全书共分四部分:第一部分,微生物学实验注意事项以及微生物学实验室常用实验设备、仪器及物品。第二部分,基础性验证实验。第三部分,综合性实验。第四部分,设计创新性实验。

本书内容全面、系统,图文并茂,兼顾理论性、科学性、系统性和实用性。书后附有教学常用菌种,染色液、培养基、消毒液、缓冲液、试剂、指示剂等配制方法及主要参考书目。可供大专院校生物系、微生物学系、医学专业、环保专业等《微生物学》实验课教材,也可作为从事各行业微生物科研、生产等专业技术人员的参考书和工具书。

图书在版编目(CIP)数据

微生物学实验技术/刘国生主编. —北京:科学出版社, 2007

(21世纪生物学基础课系列实验教材)

ISBN 978-7-03-020289-5

I. 微… II. 刘… III. 微生物学-实验-高等学校-教材
IV. Q93-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2007)第 155307 号

责任编辑:陈 露 谭宏宇/责任校对:连秉亮

责任印制:刘 学 /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>

江苏省句容市排印厂印刷

南京理工出版信息技术有限公司照排

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2007 年 10 月第 一 版 开本:B5(720×1000)

2007 年 10 月第一次印刷 印张:17 1/2

印数:1—3 200 字数:338 000

定价:28.00 元

《微生物学实验技术》编写人员

主 编 刘国生

副主编 李学梅 王振宇

编 者 (以作者姓氏笔画为序)

王红星 王海磊 王振宇 刘国生

李学梅 陈建军 张 昊 张建新

赵更峰 褚学英

前 言

微生物学实验是微生物学教学的重要环节。实验课质量的好坏,直接关系到学生的学习质量和兴趣。学习和掌握微生物学实验的基本方法和研究技术,必将加深学生对微生物学基本理论的理解,并促进微生物学在工业、农业和医药卫生等方面的应用研究。为了配合微生物学教学,按照《微生物学教学大纲》,并根据多年来从事微生物学教学和科研的实践经验,编写了这本《微生物学实验技术》。

按照微生物学实验技术的知识结构层次,考虑到学生实验操作的阶段性与递进性,突出学生自主思考与动手能力的培养,全书共安排四个部分的实验内容:第一部分简要介绍了微生物学实验注意事项以及微生物学实验室常用实验设备、仪器及物品。第二部分是基础性实验,包括显微镜技术,微生物染色与形态结构观察,培养基的配制、灭菌与除菌,微生物接种与培养,微生物的分离与纯化,微生物数量的测定,环境因素对微生物的影响,微生物的生理生化反应,微生物的遗传与育种,微生物菌种保藏,免疫学技术及环境微生物的检测等内容。第三部分是综合性实验,这部分内容是在验证性实验开设的基础上,学生具备了微生物学实验的基本操作技能,有选择地开设有一定难度的综合性实验,以培养学生利用不同章节甚至不同学科的理论知识,综合训练学生多种实验的操作技能,本部分共有 10 个实验。第四部分是设计创新性实验,选择一些与研究、生产、生活密切相关的实验内容,重点培养学生在实验设计、实验准备、独立操作、相互协作及分析和解决问题的能力。

此外,在第四部分之后的附录部分,包括教学常用菌种以及染色液、培养基、消毒液和缓冲液等的配制方法,可作为实验教学过程的重要参考资料。

《微生物学实验技术》着重于微生物学的基本操作和技能训练。本书所列的实验内容绝大部分都是作者在长期从事微生物学教学和科研中应用过的,方法较为准确。为了方便教学,每一个实验一般都按实验目的、实验原理、实验器材、实验步骤、注意事项、实验记录和思考题七个部分编写。实验记录尽量采用图表形式,便于学生填写实验结果。

本书在编写过程中,全体编写人员反复讨论,多次修改。其中,第一部分由张昊编写,第二部分由刘国生、王振宇、王海磊、陈建军、赵更峰编写,第三、四部分及附录部分由褚学英、王红星编写,书中插图由刘国生、张建新绘制;此外,冉治霖、刘娜娜、王艳芬、赵婷参与了文稿的校对工作;最后由刘国生、李学梅、王振宇统稿。本书的出版承蒙各方面的大力支持,在此,谨向关心、支持本书编写工作的专家同行,向编写过程中所选用资料的原作(著)者,表示诚挚的谢意!

由于编者水平所限,加上编写时间仓促,书中错误和不足之处在所难免,诚恳希望读者批评指正。

目 录

Contents

前言

第一部分 微生物学实验注意事项及实验室的设备 1

- 一、微生物学实验注意事项 1
- 二、实验室的设置和主要设备 2
- 三、实验室常用的器皿及清洗方法 7

第二部分 基础性实验 14

- 第一章 显微镜技术 14
 - 实验一 普通光学显微镜 14
 - 实验二 暗视野显微镜 22
 - 实验三 相差显微镜 24
 - 实验四 荧光显微镜 27
 - 实验五 电子显微镜 29
- 第二章 微生物的染色与形态结构观察 36
 - 实验六 细菌运动性的观察 41
 - 实验七 细菌的单染色法 43
 - 实验八 细菌的革兰氏染色法 44
 - 实验九 细菌的芽孢染色法 47
 - 实验十 细菌的荚膜染色法 48
 - 实验十一 细菌的鞭毛染色法 50
 - 实验十二 细菌的抗酸性染色法 52
 - 实验十三 细菌的荧光染色法 53
 - 实验十四 细胞核的染色 54
 - 实验十五 放线菌的形态观察 56
 - 实验十六 酵母菌水浸片的制备及死、活细胞鉴别 57



实验十七 霉菌的形态观察	58
实验十八 微生物大小的测定	60
第三章 培养基的配制	64
实验十九 牛肉膏蛋白胨培养基的制备	72
实验二十 马铃薯培养基的制备	74
实验二十一 高氏 1 号培养基的制备	75
实验二十二 伊红美蓝培养基的制备	76
第四章 灭菌与除菌	77
实验二十三 干热灭菌	82
实验二十四 高压蒸汽灭菌	84
实验二十五 紫外线灭菌	87
实验二十六 过滤除菌	89
第五章 微生物接种与培养	90
实验二十七 酵母菌子囊孢子的生成及观察	101
实验二十八 根霉接合孢子的形成与观察	103
实验二十九 厌氧微生物的培养	105
第六章 微生物的分离与纯化	107
实验三十 从土壤中分离纯化固氮菌	113
实验三十一 从土壤中分离纯化放线菌	114
实验三十二 根瘤菌的分离	116
实验三十三 乳酸菌的分离	118
实验三十四 噬菌体的分离与纯化	119
第七章 微生物数量的测定	121
实验三十五 显微镜直接计数法	122
实验三十六 平板菌落计数法	125
实验三十七 噬菌体效价的测定	127
实验三十八 细菌生长曲线的测定	130
第八章 环境因素对微生物的影响	132
实验三十九 物理因素对微生物的影响	132
实验四十 化学因素对微生物的影响	135
实验四十一 生物因素对微生物的影响	139
第九章 微生物的生理生化	141
实验四十二 大分子物质的水解实验	141

实验四十三	糖发酵实验	144
实验四十四	IMViC 和硫化氢实验	146
实验四十五	抗生素效价的生物测定	150
实验四十六	动力实验	153
实验四十七	细菌酶活性测定实验	155
第十章	微生物遗传与育种	157
实验四十八	理化因素的诱变效应	157
实验四十九	营养缺陷型突变株的筛选	162
实验五十	细菌的转化实验	166
实验五十一	细菌的接合作用	169
实验五十二	细菌的原生质体融合	172
第十一章	微生物菌种保藏	176
实验五十三	简易常用微生物菌种保藏方法	176
实验五十四	冷冻真空干燥保藏法	179
实验五十五	液氮冷冻保藏法	183
第十二章	免疫学实验技术	185
实验五十六	抗原和免疫血清的制备	185
实验五十七	凝集反应和沉淀反应	188
实验五十八	双向琼脂扩散实验	192
实验五十九	琼脂免疫电泳	194
第三部分	综合性实验	198
实验六十	霉菌和放线菌的接种、培养及形态观察	198
实验六十一	用生长谱法测定微生物的营养要求	201
实验六十二	微生物细胞的固定化	203
实验六十三	食用菌母种、原种、栽培种的制备	204
实验六十四	平菇的代料栽培	206
实验六十五	小型发酵罐的使用与发酵过程中主要 生化指标测定	208
实验六十六	水的细菌学检测	211
实验六十七	空气中微生物的检测	216
实验六十八	四大类微生物菌落特征的比较与识别	218
实验六十九	SBR 活性污泥法处理啤酒废水	222

第四部分 设计性实验

226

实验七十 城市空气中微生物调查	226
实验七十一 肌苷发酵过程中还原糖的测定	228
实验七十二 枯草芽孢杆菌腺嘌呤缺陷型的筛选	231
实验七十三 食用菌生长势和生理指标的测定	233
实验七十四 食用菌病毒的检测	235
实验七十五 青霉素发酵液效价的测定	238
实验七十六 四种微生物的鉴别	240
实验七十七 从发酵乳制品中分离乳酸菌并测定其发酵活力	242

附 录

245

附录一 教学常用菌种	245
附录二 染色液的配制	246
附录三 常用培养基配方	249
附录四 消毒液的配制	259
附录五 缓冲液的配制	260
附录六 常用溶液的配制	263
附录七 常用指示剂及试剂的配制	264
附录八 洗液的配制	266
附录九 常用元素相对原子质量表	266

参考文献

268

第一部分 微生物学实验注意事项 及实验室的设备

一、微生物学实验注意事项

微生物学实验是微生物学教学的重要组成部分。目的在于使学生掌握微生物学技术方面最基本的操作技能;验证和补充课堂讲授中的某些问题,加深对课堂知识的理解;同时培养学生观察、分析和解决问题的能力,使学生养成实事求是、严肃认真的科学态度以及勤俭节约、爱护公物的良好习惯。

为保证微生物实验课的顺利进行,并得到理想的实验结果,特提出以下注意事项。

1) 每次实验前,必须阅读《普通微生物学实验》的有关章节,了解实验目的、原理和实验内容。实验课开始,要认真听取指导教师的讲解,明确实验的操作步骤和具体要求。

2) 在实验室内,不要高声谈话和随意走动,保持实验室安静。不准携带食物和饮料进入实验室。个人的衣物、书包不要放在实验台上,以免影响操作。

3) 实验要认真仔细,严格操作规程,防止杂菌污染。为此要求做到:

a) 养成勤剪指甲和实验前洗手的良好习惯。

b) 实验中使用或使用后的接种工具,要在酒精灯火焰上充分灼烧,带菌用具(如移液管、涂布棒、载玻片等)先放于3%来苏尔溶液或5%石炭酸溶液中浸泡,然后清洗。带有培养物的器皿(如试管、三角瓶、培养皿等)要先加压灭菌或经煮沸后再清洗。

c) 用过的培养基、培养物及污染材料都要放入指定的污物桶内,不得随意丢弃。

d) 操作时小心仔细。出现意外事故,如打破盛菌器皿、破伤皮肤、菌液吸入口中等,要立即报告指导教师,及时处理,切勿隐瞒。

4) 实验操作中所用器皿,按指导教师要求标明班次、组别、姓名、项目、日期。若需要培养,按指定地方放置,以免放乱弄错。

5) 实验结束后,应将台面擦拭干净,废纸、废物投入垃圾桶内。清理所用物品,摆放整齐,如有损坏或丢失,及时报告指导教师,填写登记表。

6) 每次实验都要及时、实事求是地做好记录或绘制草图,认真完成作业。实验报告力求简明、准确、字体工整。

7) 对显微镜及其他贵重仪器应特别爱护,不得随意拆卸和玩弄。使用前后都要仔细检查。实验室中的菌种和物品,不经教师同意不得随意带出实验室。

8) 实验过程中,要始终注意安全,使用易燃物品(如酒精、乙醚等)要特别小心,切勿接近火焰。出现火险,要保持冷静,先关闭火源、电源,再用湿布或沙土灭火。必要时使用灭火器。

9) 离开实验室前,要用肥皂洗手。值日人员负责做好实验室内台面和地板的清洁工作,关好水、电、门、窗。

二、实验室的设置和主要设备

(一) 实验室的设置

微生物学实验室通常包括实验室、实验准备室、灭菌室、无菌操作室(无菌室)、培养室、洗涤室等。这样划分并不是绝对的,可根据工作需要和具体条件加以合并或划分得更细。

对微生物学实验室的具体要求是,为方便教学和科研工作,设置必须合理,环境必须清洁卫生,特别是无菌室要尽可能地保持环境无菌。为了这个目的,实验室房屋的墙壁和地板、使用的家具和器材都要便于进行清洗。

1. 实验室(laboratory)

实验室是学生进行微生物学实验的场所,大小可根据学生人数而定。实验室中的家具主要有讲台、实验台、凳子、柜子和架子。实验台最好设置有抽屉和小柜子,便于存放学生用器材;台面要求平整、光滑。室内家具的布置应本着充分利用空间、避免学生相互干扰并便于教师指导学生实验的原则。实验室不可缺少的设备是水源和电源。水龙头可安装在实验台的一端或两端并有水槽便于洗涤。电源插座安装在实验台上或旁边,要求每组学生都有电源插座使用。室内的照明灯不必多,因为学生在使用显微镜时有显微镜灯。

2. 实验准备室(Preparing room)

为了提高学生实验室的利用率和使用效果,应设立实验准备室。学生实验所需要的大量器材可以存放在实验准备室。培养基、染色液和试剂的配制、预备实验及不同班次所需要器材的准备都可在实验准备室进行。实验准备室最好与实验室相联,但应有单独的门出入,以免上课时干扰学生实验。实验准备室应有药品柜、器材柜和实验台,便于教师和辅助人员进行实验准备工作。

3. 灭菌室(sterilization room)

灭菌室是对配制的培养基及培养微生物所用的各种培养器皿进行灭菌的场

所。灭菌室的主要设备是高压蒸汽灭菌锅和干热灭菌箱。根据不同灭菌器的特点,在灭菌室内还应安装电源插座和配备电炉等。

4. 无菌室(clean room)

无菌室又称接种室,是进行微生物接种或其他无菌操作的专用房间。工作时要求无菌室内没有杂菌。为了便于清洁和消毒,房间不宜太大和太高。一般以面积 $4\sim 6\text{ m}^2$ 、高 $2\sim 2.5\text{ m}$ 为宜。室内天花板、地面和墙壁要求平整光滑,不应有积存灰尘的缝隙,以利清洗和消毒,门窗关闭后能和外界空气隔绝。为了减少外界空气的侵入,无菌室要连接 $1\sim 2$ 个套间(缓冲间),避免无菌室与走廊或其他房间直接相通。缓冲间和无菌室的门一般用推拉门,而且两个室的门要相互错开,不要在同一条直线上,以减少空气直接流动。

无菌室内布置尽量简单。最好能安装空气调节装置,以通入无菌空气并调节室内温湿度。无菌室一般都用紫外线灯灭菌。紫外线灯的反光罩要使紫外线照射到室内各个角落。工作台的表面要求水平光滑,以便经常擦洗消毒。台面上放置常用的接种器具,如酒精灯、火柴、70%酒精、酒精棉球、剪刀、镊子、不锈钢刀、记号笔、接种针(环)、接种钩、接种铲等。缓冲间也要装上紫外线灯,放置小台柜,以备放置喷雾器、酒精灯、消毒药剂等。工作服和帽也应放在缓冲间内。

有条件的,无菌室内可配备净化工作台。

每次使用无菌室,都应先将室内擦洗干净,再将所需的用品及培养基等放入室内。用消毒剂(如2%~5%来苏尔或3%~5%石炭酸溶液)喷雾,并打开紫外线灯密闭消毒 $20\sim 30\text{ min}$ 。接种或其他无菌操作,可以一人或两人配合进行,动作要迅速,严格无菌操作。工作完毕,立即进行清洁,擦洗台面、地面,拿走非室内存放物品。此外,无菌室要定期进行大清理,可采用甲醛熏蒸、硫磺熏蒸和乳酸熏蒸,具体操作见“微生物学实验室的设备”部分无菌室的灭菌与消毒。无菌室内工作服、帽、鞋也要经常清洗和消毒。

5. 培养室(culture room)

培养室是定温培养微生物的房间,其大小可根据需要而定,室内要求地平墙光,便于擦拭和消毒。为了保温,墙壁应用隔热材料。室内可用电炉或电热板加热,并连接温度控制器,可以自动调节室内温度。为了便于夏季使用,室内还应安装降温冷却装置。为了便于通风,培养室墙壁上部或顶板可设能开闭的通风窗,或用风扇使空气均匀分布,保持室内温度均匀。

培养室内配置木架或铁架,以放置培养物品。并应安放干湿球温度计,用于测定培养室内的温度和湿度。培养室要定期清扫消毒,培养好的材料必须及时拿走。

6. 洗涤室(washing room)

器皿的清洁是保证工作质量的重要条件,在有可能的条件下,应尽量设置单独的洗涤室。洗涤室的主要设备是洗涤槽和洗涤柜。洗涤柜用于放置清洗后的器

皿,柜子的搁板应是空心格子,便于淋水。洗涤室内还应配备各种毛刷、肥皂、去污粉、洗涤液等。

(二) 实验室的主要设备

1. 接种箱(clean box)

接种箱又称无菌箱,分固体菌种接种箱和液体菌种接种箱两种。固体菌种接种箱是一个用木料和玻璃制成的密闭小箱。又分双人和单人操作箱。箱体可大可小,一般箱体长约 143 cm、宽 86 cm、总高 164 cm、低脚 76 cm。箱的上部左右两侧各装有两扇能启闭的玻璃推拉门,方便菌种进出。窗的下部分别设有两个直径约 13 cm 的圆洞,两洞间的中心距离为 52 cm,洞口装有带松紧带的袖套,以防双手在箱内操作时,外界空气进入箱内造成污染。操作时两人相对而坐,双手通过袖套伸入箱内。箱两侧最好也装上玻璃,箱顶部为木板或玻璃。箱内顶部装有紫外线杀菌灯和照明用日光灯各一支。箱体安装木板或玻璃均可,但要注意密封(图 1.1)。

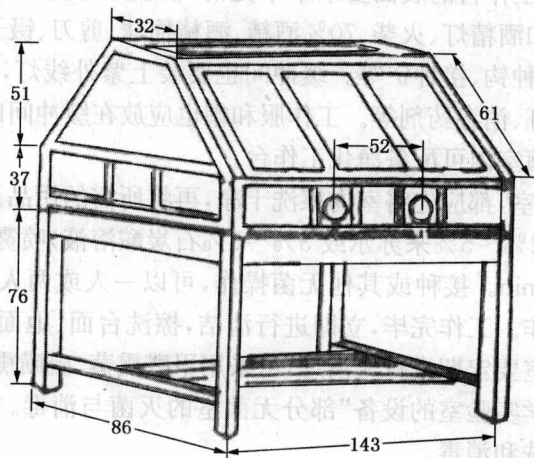


图 1.1 木质接种箱

液体菌种接种箱是专为移接液体菌种而设计的。比固体菌种接种箱窄长,单侧两人操作。内设轨道和紫外线灯,箱两端开有高 25 cm、宽 10 cm 的长方形出口,方便菌种进出,洞口设小推门。进出口下处设蒸汽源,接种时用蒸汽封住进出口,以防杂菌进入箱内。箱背面设有液体菌种移接管能进入的小孔。

接种箱灭菌时,用紫外线灯照射 30 min。如果没有紫外线灯,可用甲醛和高锰酸钾(甲醛 10 ml+高锰酸钾 5 g/m³ 空间)氧化熏蒸 30 min。使用时,先将所需物品和工具放入接种箱内,然后进行药剂和紫外线灭菌,再按无菌操作接种。

接种箱的结构简单,造价低廉,易消毒灭菌,操作方便,而且人在箱外操作,气温较高时也能作业。

2. 培养箱(culture box)

微生物实验室如无培养室,可用培养箱培养微生物。培养箱是培养微生物的专用设备。制热升温式培养箱是由电炉丝和水银接触温度计组合成的固定体积的恒温培养装置,大小规格不一。微生物学实验室常用的培养箱工作室容积有 $450 \times 450 \times 350 \text{ mm}^3$ 或 $650 \times 500 \times 500 \text{ mm}^3$ 。适用于室温至 60°C 之间的各类微生物培养。目前,随着科学水平的发展,培养箱设备的完善程度和价格有很大差别。有各种结构合理、功能齐全的培养箱,如恒温培养箱、恒温恒湿培养箱、低温培养箱、微生物多用培养箱和二氧化碳培养箱等。有的用计算机控制,可选择多条时间线变换温差,从而克服了环境温度的影响,一年四季均能达到培养要求的温度。

微生物多用培养箱是集加热、制冷和振荡于一体的微生物液体发酵装置。工作室的温度在 $15\sim 50^\circ\text{C}$ 范围内任意选定,选定后经温控仪自动控制,保持工作室恒温。同时设有可控硅调速系统,振荡机构转速可在 $1\sim 220 \text{ r/min}$ 范围内任意调控。

3. 干燥箱(drying box)

干燥箱是用于除去潮湿物料内及器皿内外水分或其他挥发性溶液的设备。类型很多,有厢式、滚筒式、套间式、回转式等。微生物学实验室多用厢式干燥箱,大小规格不一。工作室配有可活动的钢丝网板,便于放置被干燥的物品。制热升温式干燥箱也是由电炉丝和水银接触温度计组合而成。可调节温度从室温至 300°C 任意选择。有的干燥箱采用导电温度计为感温元件,配合晶体管和继电器组成自动控制系统,克服了用金属管型热膨胀控制的缺点。

此外,还有真空干燥箱(配有真空泵和气压表),可在常压或减压下操作。

4. 高压蒸汽灭菌锅(high-pressure steam sterilization pot)

高压蒸汽灭菌锅是一个密闭的、可以耐受压力的双层金属锅。锅底或夹层盛水,当水在锅内沸腾时蒸汽不能逸出,使锅内压力升高,水的沸点和温度可随之升高。从而达到高温灭菌的目的。一般在 0.100 MPa (兆帕, 1.0 kg/cm^2) 的压力下, 121°C 处理 $20\sim 30 \text{ min}$,包括芽孢在内的所有微生物均可被杀死。如果灭菌物品体积大,蒸汽穿透困难,可适当提高蒸汽压力或延长灭菌时间。

高压灭菌锅有卧式、立式、手提式等多种类型,在微生物学实验室,最为常用的是手提式和立式高压蒸汽灭菌锅。和常压灭菌锅相比,它们的共同特点是灭菌所需的时间短、节约燃料、灭菌彻底。

5. 摇瓶机(shaking bed)

摇瓶机也称摇床,是培养好气性微生物的小型实验设备或作为种子扩大培养之用,常用的摇瓶机有往复式和旋转式两种。往复式摇瓶机的往复频率一般在 $80\sim 140 \text{ 次/min}$,冲程一般为 $5\sim 14 \text{ cm}$,如频率过快、冲程过大或瓶内液体装量过多,在摇动时液体会溅到包瓶口的纱布上易引起染菌,特别是启动时更易发生这种情况。

旋转式摇瓶机的偏心距一般在 3~6 cm 之间,旋转次数为 60~300 r/min。

放在摇瓶机上培养瓶(一般为三角瓶)中的发酵液所需要的氧是由室内空气经瓶口包扎的纱布(一般是八层)或棉塞通入的,所以氧的传递与瓶口的大小、瓶口的几何形状、棉塞或纱布层的厚度和密度有关。在通常情况下,摇瓶的氧吸收系数取决于摇瓶机的特性和三角瓶的装样量。

往复式摇瓶机是利用曲柄原理带动摇床作往复运动,机身由铁制或木制的长方形框子,有一层至三层托盘,托盘上开有圆孔备放培养瓶,孔中凸出一三角形橡皮,用以固定培养瓶并减少瓶的振动,传动机构一般采用二级皮带轮减速,调换调速皮带轮可改变往复频率。偏心轮上开有不同的偏心孔,以便调节偏心距。往复式摇瓶机的频率和偏心距的大小对氧的吸收有明显的影

响。旋转式摇瓶机是利用旋转的偏心轴使托盘摆动,托盘有一层或两层,可用不锈钢板、铝板或木板制造。托盘由三根呈等边三角形分布的偏心轴支撑,也有用滚动轴承作支撑的。在三个偏心轴上装有螺栓可调节上下,使托盘保持水平。这种摇瓶机结构复杂,造价也高。其优点是氧的传递较好、功率消耗小、培养基不会溅到瓶口的纱布上。

6. 净化工作台(clean bench)

净化工作台是一种局部层流装置,能在局部造成高洁度的工作环境。它由工作台、过滤器、风机、静压箱和支撑体等组成。采用过滤空气使工作台操作区达到净化除菌的目的。室内空气经预过滤器和高效过滤器除尘洁净后以垂直或水平层流状态通过工作台的操作区。由于空气没有涡流,所以,任何一点灰尘或附着在灰尘上的细菌都能被排除,不易向别处扩散和转移。因此,可使操作区保持无尘无菌

状态。与无菌室和接种箱比较,使用净化工作台具有工作条件好、操作方便、无菌效果可靠、无消毒剂对人体危害、占用面积小且可移动的优点。

如果放在无菌室内使用,无菌效果更好。其缺点是价值昂贵,预过滤器和高效过滤器还需要定期清洗和更换。

有条件的实验室可购置商品化的超净工作台,商品化的超净工作台有不同型号与规格,可根据需要选择,微生物学实验可选择垂直送风的单人双面、双人单面和双人双面的超净工作台。

如图 1.2 是国内生产的单人双面垂直送风的超净工作台。

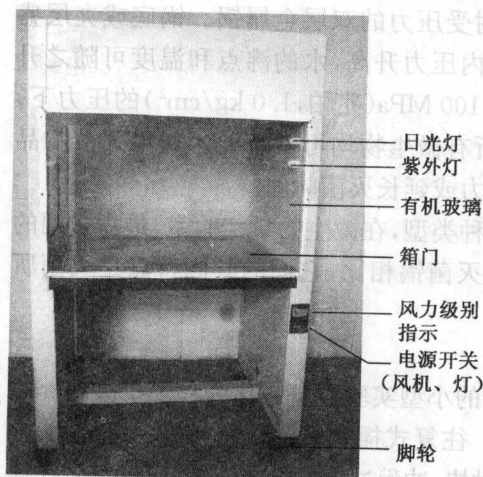


图 1.2 超净工作台

三、实验室常用的器皿及清洗方法

微生物学实验室所用的玻璃器皿,大多是培养微生物或接种微生物用的,为了排除自然界中微生物的干扰,事先要进行消毒和灭菌。为此,对玻璃器皿的质量和洗涤方法都有一定的要求。首先,微生物学实验室所用的玻璃器皿应采用钾玻璃(又名硬质玻璃、中性玻璃),其优点是硬度高,膨胀系数小,能耐热。普通钠玻璃不能耐热耐压,与水接触后易放出碱性物质,故除载玻片外,一般不采用。其次要采用合适的洗涤剂 and 正确的洗涤方法,否则也会影响实验结果的正确性。

(一) 常用玻璃器皿的种类

微生物学实验室中常用的玻璃器皿是试管、培养皿、三角瓶、移液管、发酵管、注射器、载玻片和盖玻片等。

1. 试管(test tube)

试管是微生物学实验室必备的玻璃器皿。常用的试管规格有三种:

大试管 $18\text{ mm} \times 180\text{ mm}$,多用于盛倒培养皿用培养基和稀释用无菌水;需要大量菌体时,亦可制备琼脂斜面培养基。

中试管 $(13\sim 15)\text{ mm} \times (100\sim 150)\text{ mm}$,盛液体培养基或制备琼脂斜面,亦可用于病毒等的稀释和血清学实验。

小试管 $(10\sim 12)\text{ mm} \times 100\text{ mm}$,一般用于微生物的生理生化实验。

不同规格试管的用途,没有严格的划分,以方便工作、节省材料为原则。

微生物学实验室所用的玻璃试管,管壁应比化学实验室所用的试管壁厚,这样在塞棉塞时管口才不易破损,而且要求管口没有翻边。否则,自然界的微生物容易从棉塞与管口的缝隙间进入试管而造成污染。另外,现在有的试管不用棉塞塞口,而用铝质或塑料制的试管帽,若用翻口试管也不便于加盖试管帽。有的实验要求尽量减少试管中水分的蒸发,则需要使用螺口试管,盖以螺口胶木或塑料帽。

(9) 不同规格试管如图 1.3。

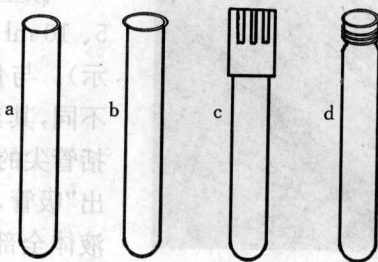


图 1.3 各种试管与试管帽

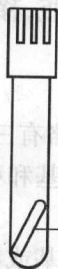
a. 无翻口试管; b. 翻口试管; c. 上有试管帽; d. 螺口试管

2. 杜汉氏管(Durham tube)

进行细菌的糖发酵实验、观察培养基内产气情况时,一般在发酵试管内再放置一倒置的小试管(约 6 mm×36 mm,如图 1.4 示)。此小试管即为杜汉氏管,又称发酵小套管。

3. 培养皿(petri dish)

培养皿是 Petri 创造的一种分离微生物的玻璃器皿。常用培养皿的皿底直径 90 mm,皿盖高 15 mm(图 1.5 示)。除此之外,还有 60 mm×10 mm 和 120 mm×20 mm 等规格。培养皿一般为玻璃器皿,但因特殊需要,例如测定抗生素生物效价时,培养皿不能倒置培养,则使用陶质皿盖,陶质皿盖能吸收水分,容易使培养基表面干燥。



杜汉氏管

图 1.4 杜汉氏管

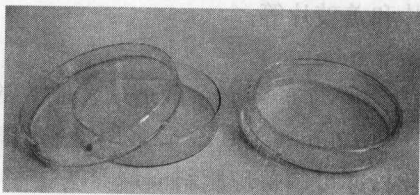


图 1.5 培养皿

4. 三角瓶(erlenmeyer flask)与烧杯(beaker)

微生物学实验室常用的三角瓶有 100、250、300、500、2 000 ml 等不同规格,主要用于盛无菌水、培养基及摇瓶发酵液等。

常用玻璃烧杯有 20、50、100、250、500、1 000 ml 等不同规格,也有具有刻度的搪瓷烧杯。烧杯主要用于称量药品和配制培养基。

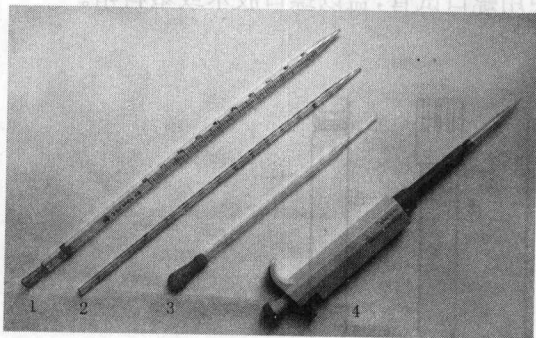


图 1.6 玻璃吸管

1、2. 刻度吸管;3. 毛细吸管;4. 可调移液器

5. 移液管(又称吸管, pipette)

(1) 玻璃吸管(glass pipette)

微生物学实验室常用 1、2、5、10 ml 刻度的玻璃吸管(图 1.6 示)。与化学实验室所用的吸管不同,其刻度指示的容量往往包括管尖的液体体积,有时也称“吹出”吸管,使用时要将吸管内所吸液体全部吹尽,吸取的容量才算准确。

除有刻度的吸管外还常用不