

高等学校试用教材

环境微生物学实验



■ 高等教育出版社

■ 王家玲 主编

内 容 简 介

本书是配合《环境微生物学》(王家玲主编, 高等教育出版社出版)编写的实验指导书。

全书分七个部分: 一、微生物学基础技术; 二、环境中的微生物类群; 三、微生物对污染物的降解与转化; 四、废水生物处理及其综合利用; 五、微生物对环境的污染; 六、环境监测中的微生物学方法; 七、其他技术与方法。

本书有52个实验, 可供高等院校环境保护、微生物学等专业教学使用; 也可供从事环境保护及环境监测工作人员在科研及实际工作中参考与应用。

高等学校试用教材

环境微生物学实验

王家玲 主编

高等教育出版社出版

新华书店北京发行所发行

北京印刷三厂印装

开本850×1168 1/32 印张7 字数180 000

1988年3月第1版 1988年3月第1次印刷

印数 0001—4,320

ISBN7-04-000869-3/Q·57

定价 1.55 元

前 言

本书是配合《环境微生物学》教材（王家玲主编，高等教育出版社出版）而编写的实验指导书。其主要内容和重点与《环境微生物学》相同；既介绍微生物转化降解污染物并应用于三废治理、对环境有利作用中的技术与方法；也涉及微生物代谢物及病原菌对环境污染的有害作用；此外还集中介绍在环境监测工作中的微生物学手段和方法。

全书分七个部分，有52个实验，包括印证知识与理论的实验及学习方法与技术的实验。考虑到有些读者因专业不同，可能对微生物学基础不尽熟悉，第一部分设置“微生物学基础技术”；书中还适当介绍了有关的新技术与新方法，如电子计算机、生物传感器等的使用原理与方法。

本文所有实验均请有实践经验的同志进行编写，计有：中国科学院微生物研究所杨惠芳，中国科学院武汉病毒研究所王志通、王可方、张先恩，中国科学院水生生物研究所邓家齐、顾曼如、谭渝云、沈国华，中国科学院南京土壤研究所顾宗濂，广东省微生物研究所臧向莹，武汉大学李嶠，武汉同济医科大学王家玲、殷斌志、关碧玮、郑红俭、朱良金、何滨、刘实等同志。

本书承同济医科大学蔡宏道教授、中国科学院水生生物研究所王德铭研究员、华中农业大学陈华癸、李卓棣、胡正嘉等教授审阅编写提纲并提出宝贵意见，谨致谢意。

环境微生物学是一门新兴的边缘学科，限于编者水平，书中错误与缺点在所难免，请读者批评指正。

王家玲

1986.2.于武汉

目 录

一、微生物学基础技术	1
实验 1 培养基的配制.....	1
实验 2 灭菌与消毒.....	6
实验 3 微生物的接种与培养.....	13
实验 4 显微镜的使用.....	18
实验 5 常用细菌染色法.....	23
实验 6 微生物大小的测定.....	28
实验 7 微生物直接测数法.....	30
实验 8 菌种保藏.....	34
二、环境中的微生物类群	40
实验 9 土壤中主要异养菌的分离与计数（平板涂布法）.....	40
实验 10 酵母菌的加富培养与分离.....	45
实验 11 光合异养菌的分离培养.....	46
实验 12 化能自养菌的培养及观察.....	48
实验 13 水环境中原生动物及藻类的观察.....	53
实验 14 污水中大肠杆菌噬菌体的分离与纯化.....	57
三、微生物对污染物的降解与转化	60
实验 15 菌种的驯化.....	60
实验 16 污染物的化学结构与可生物降解性.....	62
实验 17 纤维素的分解.....	65
实验 18 石油烃类的降解.....	67
实验 19 有机磷农药的降解.....	69
实验 20 有机氯农药降解菌的筛选.....	72
实验 21 表面活性剂的降解.....	74
实验 22 汞的微生物还原作用.....	77
四、废水生物处理及其综合利用	81
实验 23 生物污泥的活性测定.....	81
实验 24 活性污泥中菌胶团及生物相的观察.....	85

实验25	利用酒精废液制取单细胞蛋白	88
实验26	沼气发酵	91
实验27	光合细菌处理高浓度有机废水	94
五、	微生物对环境的污染	97
实验28	污水中肠道致病菌的检验	97
实验29	水中病毒的检测	105
实验30	富营养化湖中藻量的测定(叶绿素a法)	113
实验31	黄曲霉菌群的分离及产毒菌株的初步鉴别	116
实验32	金属的微生物腐蚀(最可能数法)	119
实验33	汞的微生物甲基化作用	125
六、	环境监测中的微生物学方法	129
实验34	空气中微生物的计数	129
实验35	水中细菌总数的测定(平板混匀法)	131
实验36	水中总大肠菌群的检测	134
实验37	水中粪大肠菌群的检测	140
实验38	水中粪链球菌的检测(滤膜法)	142
实验39	浮游植物初级生产力测定(黑白瓶测氧法)	145
实验40	原生动物浓集、观察与计数	150
实验41	Ames氏致突变试验	154
实验42	枯草杆菌重组修复试验	164
实验43	发光菌毒性试验	170
实验44	藻类毒性试验	173
七、	其他技术与方法	178
实验45	水中溶解氧的测定	178
实验46	生化需氧量的测定	180
实验47	化学需氧量的测定(重铬酸钾法)	183
实验48	瓦勃氏呼吸器的应用	185
实验49	气相色谱分析法	190
实验50	微生物传感器(测BOD)	203
实验51	微机技术的应用(计算最可能数)	205
实验52	微生物诱变育种	213

一、微生物学基础技术

实验 1 培养基的配制

培养基是人工配制的适于微生物生长、繁殖或保存的营养基质。培养基的种类繁多，但一般应具备以下几个条件：1.含有适宜的碳源、氮源、无机盐类、生长因素等营养成分；2.含有适量的水分；3.适宜的酸碱度。

根据培养基的成分来源不同可分为合成培养基、天然培养基和半合成培养基。环境微生物学中，常用废水或废水补加少量氮、磷等无机盐来培养微生物，可认为是天然培养基或半合成培养基。

根据培养基的物理性状可分为液体、固体和半固体培养基。液体培养基中加一定量的凝固剂（常加琼脂1.5—2%），溶化冷凝后即成固体培养基。半固体培养基含琼脂0.2—0.5%。某些工农业生产废渣及生活废渣可视为天然的固体培养基。

根据培养基的特殊用途可分为选择培养基、鉴别培养基等。选择培养基在环境微生物学中应用较广，它是根据待培养微生物的特殊营养要求或生理特性而设计的培养基，利用这种培养基可将所需要的微生物从环境混杂的微生物群中分离出来。如以石油作碳源的培养基可以分离到降解石油的微生物；以纤维素为唯一碳源的培养基可以分离到纤维素分解菌。

本实验介绍培养基配制的一般原则和方法步骤。

一、方法和步骤

1. 称量：先按配方计算培养基各成分的需要量，称量时一

般用 1/100 粗天平即可。在烧杯或搪瓷杯中先放少量水，依次加入培养基各组分，溶解后补足至所需的总水量。对于肉膏之类粘、胶状物，可盛在小烧杯或表面皿内称量，以使用水移入培养基中。蛋白胨等极易吸潮物质，在称取时应动作迅速。某些无机盐类如磷酸盐和镁盐相混合时易产生沉淀，必要时应分别灭菌后再混合。此外，生长因素及微量元素等成分因用量极少，可预先配成较浓的贮备液，使用时按要求取一定量加入培养液中即可。

2. 溶化：各成分必须溶解在培养液中。最好溶解一种组分后，再加第二种，有时需加热使其溶解。如果配方中有淀粉，则应先将其用少量冷水调成糊状，再兑入其他已溶解的成分中，边加热边搅拌，至完全溶化即溶液由混浊转为清亮后，补水至所需总量。

溶化琼脂时，应注意控制火力使不至溢出或烧焦，并要不断搅拌。因加热过程中水分损耗较多，最后应补足至原体积。

根据需要，有时需将溶化后的培养基用脱脂棉或纱布过滤，以使培养基清亮透明。

3. 调 pH 值：以 10% HCl 或 10% NaOH 调节培养基至所需 pH 值。一般用广泛 pH 试纸矫正，必要时亦可用酸度计。调时需注意逐步滴加，勿使过酸或过碱而破坏培养基中某些组分。

4. 分装：将矫正 pH 后的培养基按需要趁热分装于三角瓶或试管内，以免琼脂冷凝。分装时应注意勿使培养基粘附于管口与瓶口部位，以免沾染棉塞而滋生杂菌或影响接种操作。可以通过下边套有橡皮管及管夹的普通漏斗进行分装。

分装量视需要而定。一般分装入三角瓶时以不超过其容积的一半为宜。分装试管时，斜面培养基以试管高度的 1/5 左右为宜，半固体培养基以试管高度的 1/3 左右为宜。

5. 加棉塞：试管和三角瓶口需用棉花堵塞，主要目的是过滤除菌，避免污染。做棉塞所用的棉花应是普通长纤维棉花，不

要用脱脂棉，因为脱脂棉易吸水变湿而滋长杂菌。棉塞制作方法有多种，主要的要求是不宜过松或过紧，应以塞拔方便而又不易脱落为准。正确的棉塞其头部应较大，约有1/3在试管外，2/3在试管内（图1-1，A），试管以内部分不应有缝隙。

6. 灭菌：在装培养基的三角瓶或试管的棉塞外面包一层牛皮纸，即可灭菌。应用铅笔注明培养基名称、配制日期等。

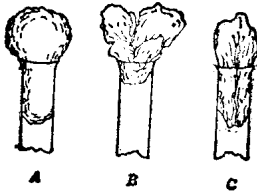


图1-1 棉塞

A、正确；B、C、不正确

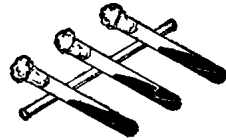


图1-2 制作斜面培养基的方法

如制斜面培养基时，灭菌后趁热将试管斜放（图1-2），注意勿使培养基沾染棉塞。

如制平板培养基时，灭菌后待培养基温度降至50℃左右时以无菌操作（参阅实验3）将培养基倒入无菌培养皿内，每皿约15—20ml，平放冷凝即成平板培养基，简称平板。

若制半固体深层培养基，灭菌后垂直放置，冷凝即成。

7. 无菌检查：灭菌后的培养基，尤其是存放一段时间后所用的培养基，在应用之前应置37℃温箱内1至2天，确定无菌后才可使用。

二、几种常用培养基配方及制作法

1. 肉膏蛋白胨培养基

牛肉膏	3 g
蛋白胨	10 g
NaCl	5 g
蒸馏水	1000ml

pH7.2—7.4, 121°C高压蒸汽灭菌20分钟。

2. 高氏一号培养基

可溶性淀粉	20 g
KNO ₃	1 g
NaCl	0.5 g
K ₂ HPO ₄	0.5 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5 g
FeSO ₄	0.01 g
琼脂	15—20 g
蒸馏水	1 000ml

pH7.2—7.4, 121°C高压蒸汽灭菌20分钟。

3. 查氏培养基

NaNO ₃	2 g
K ₂ HPO ₄	1 g
KCl	0.5 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5 g
FeSO ₄	0.01 g
蔗糖	30 g
琼脂	15—20 g
蒸馏水	1 000ml

自然 pH, 121°C高压蒸汽灭菌20分钟。

4. 马丁氏培养基

葡萄糖	10 g
蛋白胨	5 g
KH ₂ PO ₄	1 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5 g
琼脂	15—20 g
蒸馏水	1 000ml

自然 pH, 115°C高压蒸汽灭菌20分钟。

5. 麦芽汁培养基

(1) 大麦或小麦若干，用水洗净，浸泡过夜，置15°C使之发芽，至麦根长为麦粒的2倍时，即可摊开晒干或烘干，研磨成麦芽粉，保存备用。

(2) 干麦芽粉一份，加水3—4份，60—65°C水浴糖化3至4小时，取糖化液少许，加碘液1—2滴，如无蓝色，说明已糖化完毕。

(3) 将糖化液用四层纱布过滤，如未澄清，可用生鸡蛋清一个，加水20ml，打至起沫，倒入糖化液中搅拌煮沸，再过滤，即可得到澄清的麦芽汁。

(4) 用波美比重计检测糖化液中糖浓度，加水稀释至波美度10，调pH5—6，用于培养酵母菌；稀释至波美度5—6，调pH至7.2，可用于培养细菌。121°C高压蒸汽灭菌20分钟。

6. 马铃薯培养基

马铃薯	200 g
蔗糖或葡萄糖	20 g
琼脂	15—20 g
蒸馏水	1 000ml

新鲜马铃薯去皮，切成薄片，称200 g，加蒸馏水1 000ml；煮沸半小时，用纱布过滤，补足因蒸发而减少的水量，即制成20%马铃薯汁。

在马铃薯汁中加入琼脂，煮沸溶化，加糖搅匀，补足水分，115°C高压蒸汽灭菌20分钟。

自然pH，加入蔗糖，用于培养霉菌；加入葡萄糖，用于培养酵母菌。

将pH调至7.2—7.4，加入葡萄糖，用于培养放线菌及芽孢杆菌。

7. 豆芽汁培养基

黄豆芽	100 g
-----	-------

蔗糖或葡萄糖	20 g
琼脂	15—20 g
蒸馏水	1 000ml

将黄豆芽洗净，加水煮沸半小时，过滤，加琼脂溶化，加糖搅匀，补足水分，调 pH，115℃高压蒸汽灭菌20分钟。

自然 pH，用于培养霉菌和酵母菌。

调 pH7.2—7.4，用于培养细菌或放线菌。

三、实验报告和思考题

1. 试述琼脂的化学本性，溶化温度、凝固温度、制固体培养基时的常用浓度。

2. 将琼脂培养基分装试管时应如何操作及其注意事项。

(郑红俭)

实验 2 灭菌与消毒

灭菌指杀死或消灭所有微生物体。消毒则是指破坏或消灭病原微生物，只能杀死微生物的营养细胞，而不能杀死全部芽孢。

灭菌与消毒的方法很多，可概分为物理的和化学的两类。实验室常用的方法介绍于下。

一、高压蒸汽灭菌

高压蒸汽灭菌是一种湿热灭菌法。在湿热情况下，菌体吸收水分，使蛋白质易于凝固；同时，湿热的穿透力强，而且当蒸汽与被灭菌物体接触冷凝成水时，又可放出热量，使温度迅速升高，从而增加灭菌效力；另一方面，随着压力增高，达到饱和蒸汽时所具有的温度也高。这样，高压蒸汽灭菌时微生物体受热、湿及压力的作用而被杀死。

由于高压蒸汽灭菌具有灭菌效果好，适用面广的特点，因此，是实验室最常用的消毒灭菌方法。培养基、药物、实验器械、玻

高压蒸汽灭菌时压力与温度的关系

压 力	kg/cm ²	0	0.25	0.50	0.75	1.00	1.50	2.00
	lb/in ²	0	3.75	7.50	11.25	15.00	22.50	30.00
温 度	°C	100	107.0	112.0	115.5	121.0	128.0	134.5

1kg/cm²=98 066.5Pa; 1lb/in²=6 894.76Pa

璃器皿和衣物等均可用此法灭菌。

高压蒸汽灭菌器具有多种不同结构和规格，有自动控制的，也有人工控制的，但其基本工作原理都是利用饱和蒸汽灭菌。

图2-1为高压蒸汽灭菌器，其操作步骤如下：

1. 从水碗加水至水位，注水时总阀应旋至消毒位置。同时

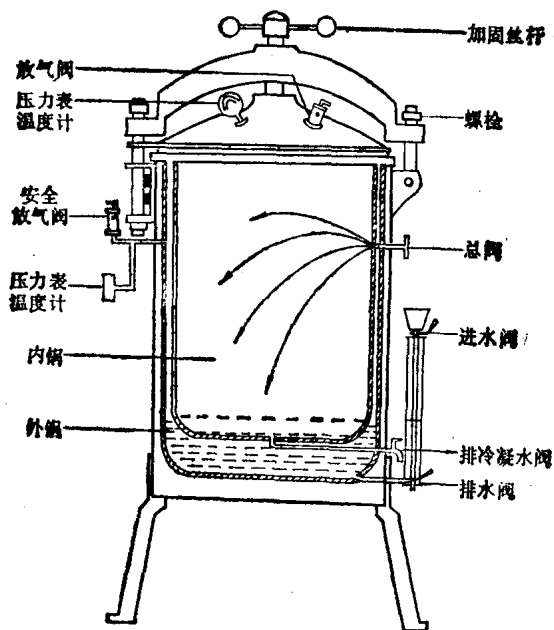


图2-1 高压蒸汽灭菌器

应排尽内锅冷凝水。

2. 置入待灭菌物，其上最好覆以耐水纸以防冷凝水沾湿棉塞，注意不要放得太挤，以免影响蒸汽流通。然后关闭灭菌器盖，务使盖子密闭不得漏气。

3. 打开放气阀，通电或直接蒸汽以及其他方式加热。至水沸腾后，蒸汽会将锅内冷空气由放气阀排出，约经数分钟后空气排尽，关闭放气阀，继续加热至所需灭菌温度，控制热源使温度维持至所需时间，一般培养基或器皿灭菌采用 121°C 经 20 分钟，即可停止加热。

4. 停止加热后，压力将逐渐下降，待压力降至零时，方可开盖取出已灭菌物。

5. 如需干燥，可在压力表指针降至 $1\text{lb}/\text{in}^2$ (约 6.9kPa) 时将总阀旋向干燥，打开盖上的放气阀。干燥一定时间后拨开外锅安全放气阀，至压力表面至零时开盖取出已灭菌物。

高压蒸汽灭菌的关键在于使锅内充满饱和蒸汽，冷空气一定要排尽。判断锅内空气是否排尽，可用一根长橡皮管，将一头接在排气阀上，另一头插到水盆里。水煮开时，蒸汽从排气阀排出，并将锅内空气一起带出。蒸汽可在水中凝结，而空气则成为气泡上升到水的表面，当锅内空气全部排完时，水盆里的橡皮管头就不冒气泡了。

二、间歇灭菌

间歇灭菌也是一种湿热灭菌法。此法将待灭菌物经三次灭菌，每次灭菌条件为 100°C ，30 分钟，每次灭菌后取出灭菌物一般置 $28-30^{\circ}\text{C}$ 温箱中培养 24 小时。这样，前次灭菌未杀死的芽孢经培养萌发为营养体而被再次灭菌时杀死。此法对某些不耐高温的物品和培养基的灭菌特别适用。所用器械为阿诺氏 (Arnold) 流动蒸汽灭菌器或普通蒸笼，不需加压。

三、煮沸消毒

水的沸点是 100°C ，在此温度下将待灭菌物品煮沸 5 分钟，

可杀死一切细菌的繁殖体。虽然许多芽胞经煮沸数小时也不一定死亡，但由于形成芽胞的病原菌不多，故此法对于灭菌要求不高的培养基与物品可以适用。如果在水中加入 1—2% 碳酸氢钠，可将溶液的沸点提高到 105℃，这样既可促进芽胞的杀灭，又可防止金属器皿生锈。

四、干热灭菌

最简单的干热灭菌是火烧法，可用于接种环、接种针、试管口等的灭菌以及废弃物的焚化。微生物实验室中常用干热灭菌是指干热空气灭菌，它适宜玻璃器皿、金属用具等的灭菌，但不能用于培养基等含水分物品。

干热灭菌使用的器械为恒温干燥箱（烤箱），操作步骤如下：

1. 将包扎好的待灭菌物置入箱内，注意不要放得太挤，以利空气流通。

2. 关门，接通电源，拨动开关，旋动恒温调节器至指定温度。通常用 160—170℃，超过 180℃ 后易使包扎用纸炭化。

3. 温度上升至指定温度后维持 2 小时。

4. 灭菌完毕后中断电源，待温度降至 70℃ 以下时，方可开箱取物。

五、过滤除菌

过滤除菌适用于不能用热力灭菌的培养基或其他溶液，如抗菌素、血清、疫苗等。常用的滤器有蔡氏滤器和玻璃滤器。玻璃滤器滤板是由玻璃粉热压而成，具有微孔。过滤除菌常用的玻璃

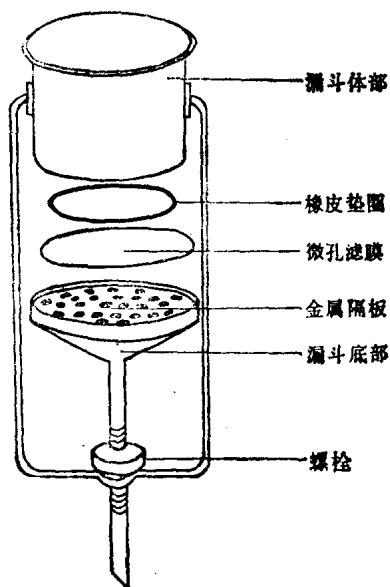


图2-2 蔡氏滤器结构示意图

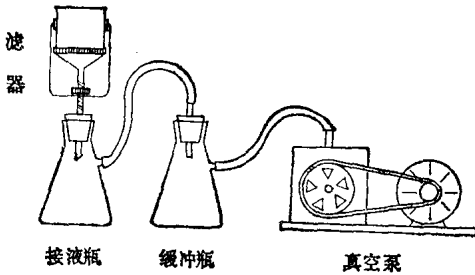


图2-3 过滤装置安装示意图

滤器型号为G5和G6。蔡氏滤器使用混合纤维素酯微孔滤膜，孔径有 $0.2\mu\text{m}$ 、 $0.45\mu\text{m}$ 等不同规格。一般认为 $0.2\mu\text{m}$ 孔径滤膜可阻留去除大部分细菌，如果灭菌要求不高， $0.45\mu\text{m}$ 的滤膜也可将细菌计数减少至零个/ml或 ≤ 10 个/ml。

滤膜法过滤除菌时操作步骤如下：

1. 将滤器、接液瓶和垫圈分别用纸包好，滤膜可放在平皿内用纸包好。在使用前先经 121°C 高压蒸汽灭菌30分钟。
2. 以无菌操作把滤器装置依照图2-3装好。
3. 用灭菌无齿镊子将滤膜安放于隔板上，滤膜粗糙面向上。
4. 将待除菌液体注入滤器内，开动真空泵即可除菌。
5. 滤液经培养证明无菌生长后可保存备用。

六、紫外线灭菌

紫外线灭菌是用紫外线灯管进行的。波长在 $220-300\text{nm}$ 的紫外线被称为紫外线的“杀生命区”，其中以 260nm 的紫外线杀菌力最强。该紫外线作用于细胞DNA，使DNA链上相邻的嘧啶碱形成嘧啶二聚体（主要是胸腺嘧啶二聚体），从而抑制DNA复制。另外，空气在紫外线照射下可产生臭氧，臭氧也有一定的杀菌作用。紫外线透过物质的能力很差，所以只适用于空气及物体表面的灭菌。它与被照物的距离以不超过 1.2m 为宜。照射时间应视紫外灯管的功率大小，被照空间及面积大小，根据灭菌效果测定结果而定。紫外线对人体有伤害作用，不要在开灯时工作。

七、化学灭菌与消毒

表2-1列出了实验室常用的化学灭菌药剂及使用方法。

表2-1 常用化学消毒灭菌药剂

类别	名称	作用机理	主要性状	用法	用途
重金属盐类	升汞	与带阴电的细菌蛋白质结合,使之变性或发生沉淀,并能使酶蛋白的巯基失活	杀菌作用强,腐蚀金属	0.05—0.1%	非金属器皿消毒
	红汞		抑菌力强,无刺激性	2%水溶液	皮肤粘膜、小创伤消毒
氧化剂	高锰酸钾	使菌体酶蛋白中的巯基氧化为二巯基而失去酶活性	强氧化剂,稳定	0.1%	皮肤消毒,蔬菜、水果消毒
	过氧乙酸		20%市售品无爆炸危险,性质不稳定,原液对皮肤、金属有强烈腐蚀性	0.2—0.5%	塑料、玻璃、人造纤维消毒,皮肤消毒
卤素及卤代物	漂白粉	氯与蛋白质中的氨基结合,使菌体蛋白质氯化,代谢机能发生障碍	白色粉末,有效氯易挥发,有臭味,腐蚀金属、棉织品,刺激皮肤,易潮解	乳状液: 10—20% 澄清液: 乳状液放24小时后上清液	乳状液: 地面、厕所、排泄物消毒; 澄清液: 空气、物品表面喷雾(0.5—1%)
	碘酒		刺激皮肤,不能与红汞同时用	2.5%	皮肤消毒
醇类	乙醇	使菌体蛋白质变性	消毒力不强,对芽胞无效	70—75%	皮肤、物品表面消毒
醛类	甲醛	使菌体蛋白质变性	挥发慢,刺激性强	10%	浸泡,物品表面消毒; 熏蒸: 2—6ml/m ³ 直接加热*或氧化**, 密闭房间6—24小时
	戊二醛		挥发慢,刺激性小,碱性溶液杀菌作用强	以0.3% NaHCO ₃ 调pH至7.5—8.5, 2%水溶液	消毒不能用热力灭菌的物品,如精密仪器

续表2-1

类别	名称	作用机理	主要性状	用法	用途
酚类	石炭酸	低浓度破坏细胞膜, 使胞浆内容物漏出; 高浓度使蛋白质凝固。此外, 也有抑制细菌某些酶系统的作用	杀菌力强, 有特殊气味	3—5%	3—5%地面、家俱、器皿表面消毒, 1—2%皮肤消毒
	来苏尔			1—2%	
表面活性剂	新洁灭	吸附于细菌表面, 改变胞壁通透性, 使菌体内的酶、辅酶和代谢中间产物逸出	易溶于水, 刺激性小, 稳定, 对芽孢无效	0.05—0.1%	洗手及皮肤粘膜消毒, 浸泡器械
烷化物	环氧乙烷	环氧乙烷的乙氧基取代许多反应基团中的氢原子而使代谢反应关键基团受损	常温下为无色气体, 沸点104°C, 易燃, 易爆, 有毒	50mg/1000ml 密闭塑料袋	手术器械、敷料、滤膜等消毒灭菌
染料	结晶紫		溶于酒精, 有抑菌作用	2—4%水溶液	浅表创伤消毒

• 加热熏蒸: 按熏蒸空间计算, 量取甲醛溶液, 盛在小铁筒内, 用铁架支好。将室内各种物品准备妥当后, 点燃置于铁架下的酒精灯, 关闭房门, 任甲醛溶液煮沸挥发。酒精灯最好能在甲醛蒸完后自行熄灭。

•• 氧化熏蒸: 按甲醛液用量一半称取高锰酸钾于一瓷碗或玻璃容器内, 再量取所需的甲醛溶液, 室内准备妥当后, 把甲醛倒在盛有高锰酸钾的器皿内, 立即关门。几秒钟后, 甲醛溶液即沸腾而挥发。高锰酸钾是一种强氧化剂, 当它与一部分甲醛液作用时, 由氧化作用产生的热即可使其余的甲醛液挥发为气体。

甲醛液熏蒸应在使用前至少24小时进行, 熏蒸后密闭维持12小时以上, 再行处理使用。熏蒸完后量取与甲醛液等量的氨水, 迅速放入室内, 可减弱甲醛液熏蒸对入眼、鼻的强烈刺激作用。

八、实验报告和思考题

1. 消毒灭菌可采用哪些方法? 各适用于何种情况?