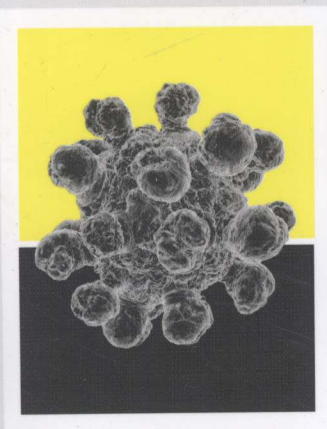


高等学校规划教材

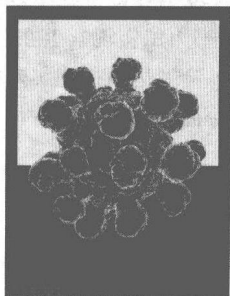


环境工程 微生物学实验

代群威 李琼芳 杨丽君 等编

LABORATORY EXERCISES IN
ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY

化学工业出版社



高等学校规划教材

环境工程 微生物学实验

代群威 李琼芳 杨丽君 张伟 编



化学工业出版社

·北京·

本书主要包括三个方面内容：环境工程微生物学实验基础知识、环境工程微生物学基础实验操作、环境工程微生物学综合实验。结合环境工程专业自身特点，本书力图实现学生在了解、掌握部分常用微生物实验基本操作的基础上，重点通过相关综合设计实验来达到提高实际操作能力的目的。同时，书中补充了大量实际操作图例，使得相关内容更易被理解、消化掌握，增加了本书的可读性和实用性。

本书可作为高等院校环境专业的教材，也可供环境专业、生物专业研究人员参考使用。

图书在版编目 (CIP) 数据

环境工程微生物学实验/代群威等编. —北京：化学工业出版社，2009.12
高等学校规划教材
ISBN 978-7-122-06264-2

I. 环… II. 代… III. 环境生物学：微生物学-实验 IV. X172-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2009) 第 195095 号

责任编辑：满悦芝 马燕珠
责任校对：洪雅姝

文字编辑：郑 直
装帧设计：尹琳琳

出版发行：化学工业出版社（北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011）
印 刷：北京市振南印刷有限责任公司
装 订：三河市宇新装订厂
787mm×1092mm 1/16 印张 8¼ 字数 156 千字 2010 年 1 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询：010-64518888（传真：010-64519686） 售后服务：010-64518899
网 址：<http://www.cip.com.cn>
凡购买本书，如有缺损质量问题，本社销售中心负责调换。

定 价：19.80 元

版权所有 违者必究

前 言

环境工程微生物学作为一门边缘学科，是运用环境工程的手段和方法来加速和强化自然界中污染物的循环、转化和降解，以充分发挥微生物降解、转化污染物的巨大潜力，实现环境工程的高效、稳定和资源的再生利用，消除人类活动对环境所造成污染的一门学科。它在改善人类的生存环境和消除环境污染中起到重要的作用。该课程要求学生要将理论与工程实践紧密结合，是一门实践性很强的课程。因此，大量的课程实验成为巩固和加深学生对基本知识和基本技能掌握与理解的必然要求。

环境工程微生物学实验是环境工程、环境科学、环境监测等专业本科生的专业基础实验课。掌握必要的环境工程微生物学实验技能对于理解和认识环境工程微生物学的相关理论，从事环境工程的研究工作具有重要的意义。

鉴于目前有关环境工程微生物学课程的专用实验教材较少，而微生物技术在环境工程领域的地位又日益突出，编者在环境工程微生物日常本科实验教学及总结前人经验基础上完成了对本教材的编写。本教材主要分为环境工程微生物学实验基础知识、基础操作实验和综合实验三个部分，其中基础操作实验与综合实验为实验部分，共包括 26 个实验。

由于编者理论与实践水平有限，本教材不妥之处在所难免，热忱希望读者批评指正。

编者

2009 年 11 月

目 录

第一章 环境工程微生物学基础实验知识	1
第一节 常用玻璃器皿的清洗与包扎.....	2
第二节 常用仪器设备.....	5
一、高压蒸汽灭菌消毒锅	5
二、电热恒温干燥箱.....	6
三、恒温培养箱	7
四、冰箱	8
五、无菌操作间	8
六、超净工作台	9
七、光学显微镜	10
第三节 实验物品灭菌	11
一、高压蒸汽灭菌技术	11
二、干热灭菌技术	12
三、紫外线灭菌技术	12
第四节 培养基配制	13
一、培养基的主要成分	14
二、培养基的类别	15
三、配制培养基的基本过程.....	17
四、培养基配制方法	17
第五节 菌种保藏	20
一、现有的保藏方法	20
二、菌种保藏操作步骤	22
第二章 环境工程微生物学基础操作实验	27
I 微生物分纯培养及计数	28
实验 1 微生物接种技术	28
实验 2 厌氧微生物的培养方法	32
实验 3 微生物分离与纯化	35
实验 4 微生物的平板菌落计数	38

实验 5 微生物菌落形态观察	39
实验 6 分光光度法测细菌生长曲线	43
II 微生物染色	46
实验 1 细菌的简单染色和革兰染色	46
实验 2 细菌芽孢和荚膜的染色	49
实验 3 细菌的鞭毛染色	53
III 微生物观察	55
实验 1 细菌菌体形态观察	55
实验 2 放线菌的形态观察	57
实验 3 酵母菌的形态观察	60
实验 4 霉菌的形态观察	62
实验 5 微生物细胞大小测定	64
实验 6 微生物数量测定——显微镜直接计数法	67
实验 7 细菌运动性观察	71
第三章 环境工程微生物学综合实验	75
实验 1 水体中细菌总数检测实验	76
实验 2 水体中粪便污染指示菌的检测——多管发酵法	78
实验 3 污水生物处理过程中微生物的简单分析	82
实验 4 活性污泥微生物的镜检分析	85
实验 5 空气、土壤中微生物的检测	88
实验 6 富营养化水体中藻类的测定(叶绿素 a 法和显微镜直接计数法)	91
实验 7 环境因素对细菌生长过程的影响	94
实验 8 微生物沼气发酵	98
实验 9 光合细菌的分离纯化及对有机废水的处理	100
实验 10 酚降解菌的分离及其性能的测定	103
附录	107
附录 I 微生物学实验室规则	107
附录 II 实验室意外事故的处理	107
附录 III 染色液的配制	108
附录 IV 培养基的配制	111
附录 V 常见微生物名称索引	119
参考文献	124

第一章

环境工程微生物学基础实验知识

纲要：本章主要介绍环境工程微生物学实验常用玻璃器皿、实验设备的基本情况及清洗、包扎、消毒、菌藏的基本操作方法。

第一节 常用玻璃器皿的清洗与包扎

微生物学实验室所使用的玻璃器皿主要用于微生物的培养（培养皿、锥形瓶）、微生物的保存（试管）、吸取菌液（移液管、加样器）、制片（载玻片、盖玻片）等，这些玻璃器皿使用前都必须进行洗涤清洁处理，至少无灰尘、油垢、无机盐等杂质后，才能保证获得正确的实验结果。此外，有些玻璃器皿在洗涤后，还需包装，然后进行灭菌后方能使用。

1. 玻璃器皿的清洗

① 一般的器皿可以用去污粉、肥皂或洗洁精清洗。沾有煤膏、焦油及树脂一类物质的器皿，可用浓硫酸、40%氢氧化钠或用洗液浸泡；沾有蜡或油漆等物的，可加热使之熔融后揩去，或用有机溶剂（苯、二甲苯、汽油、丙酮等）揩去。新的玻璃器皿用2%的盐酸溶液浸泡数小时，然后用水充分洗干净。不能用有腐蚀性的化学试剂和比玻璃硬度大的物品来擦拭玻璃器皿。

② 用过的器皿应立即洗涤。

③ 强酸、强碱、琼脂等能腐蚀、阻塞管道的物质不能直接倒在洗涤槽内，必须倒在废液缸内。

④ 含有琼脂培养基的器皿可先将培养基刮去，或用水蒸煮，至培养基融化后倒出，然后再用洗洁精清洗。凡遇有传染性材料的器皿，应经高压蒸汽灭菌后再进行清洗。

⑤ 载玻片或盖玻片，应先擦去油垢再清洗干净，然后在稀的洗液里浸泡2 h，用清水冲净，最后用蒸馏水冲洗，干后浸于95%酒精中保存备用。

⑥ 洗涤后的器皿应达到玻璃壁能被水均匀润湿而无条纹和水珠。

2. 常用玻璃器皿使用及包扎

(1) 培养皿 (Petri dish) 常用培养皿皿底直径90mm，高15mm，皿底、皿盖常为玻璃或塑料制成。也可使用陶器皿盖，它能吸收水分，使培养基表面干燥。

在培养皿内倒入适量固体培养基制成平板，可用于分离、纯化、鉴定菌种，或细胞计数以及测定抗生素、噬菌体的效价。

进行包扎时，可将洗净烘干的培养皿每10套（或根据需要而定）叠在一起，用报纸包裹卷成一筒，或直接装入特制的不锈钢套筒中（注意应使套筒气孔敞开），然后进行灭菌，如图1-1所示。

(2) 移液管 (glass pipette) 微生物学实验室常用的带刻度玻璃移液管有0.1mL、1mL、2mL、5mL和10mL等规格，用于吸取溶液和菌悬液。此外，吸取不计量的液体时，如染色液，离心上清液，无菌水，少量抗原、抗体、酸、碱溶液

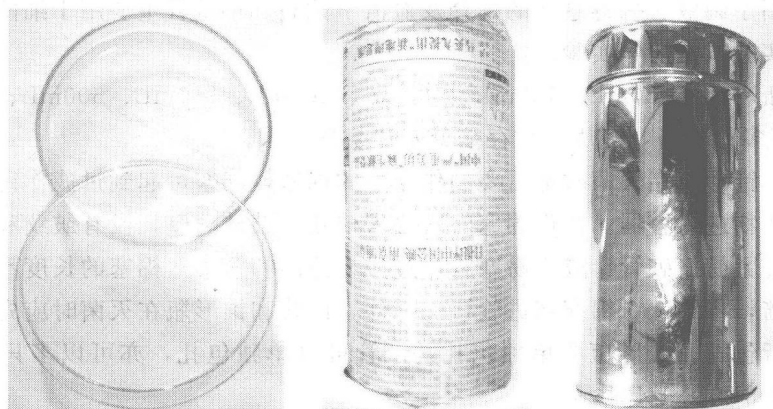


图 1-1 培养皿及其包扎

等，可用具乳胶头的毛细吸管。

将洗净烘干的移液管，在吸口的一头塞入适量脱脂棉，以防在使用时造成污染。每支移液管用一条宽 4~5cm 的纸条，以 30° ~ 50° 的角度呈螺旋形卷起来，移液管的尖端在头部，另一端用剩下的纸条打成一结，以防散开，标上容量，若干支包扎成一束进行灭菌，如图 1-2 所示。使用时，从移液管中间拧断纸条，抽出移液管。

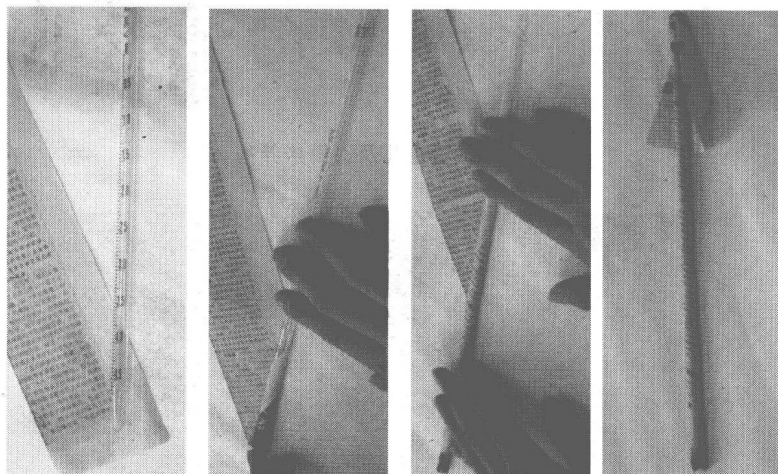


图 1-2 移液管包扎过程

(3) 试管 (test tube) 和锥形瓶 (erlenmeyer flash) 根据尺寸不同，试管可以分为大试管 (约 $18\text{mm} \times 180\text{mm}$)、中试管 [约 $(13 \sim 15)\text{mm} \times (100 \sim 150)\text{mm}$] 和小试管 [约 $(10 \sim 12)\text{mm} \times 100\text{mm}$]。大试管主要用于制备固体培养基琼脂斜面、盛装液体培养基进行微生物的振荡培养等。中试管主要用于制备琼脂斜面、盛装液体培

4 | 环境工程微生物学实验

培养基，或用于菌液、病毒悬液的稀释及血清学试验。小试管主要用于细菌或酵母菌的糖发酵实验或血清学实验。

锥形瓶一般有 50mL、100mL、150mL、200mL、250mL、500mL、1000mL、2000mL 等多种规格，多用于贮存培养基和生理盐水。

试管和锥形瓶在灭菌时都需要制作合适的棉塞，棉塞可起到过滤作用，避免空气中的微生物进入容器。制作棉塞时，要求棉花紧贴玻璃壁，没有皱纹和缝隙，松紧适宜。过紧易挤破管口或不易塞入，过松易掉落和污染。棉塞的长度不小于管口直径的 2 倍，将约 2/3 棉塞塞进管口。另外，试管和锥形瓶在灭菌时应先用牛皮纸或报纸进行包扎。锥形瓶要单独包扎，试管可以单独包扎，亦可以多只包扎在一起，如图 1-3 和图 1-4 所示。

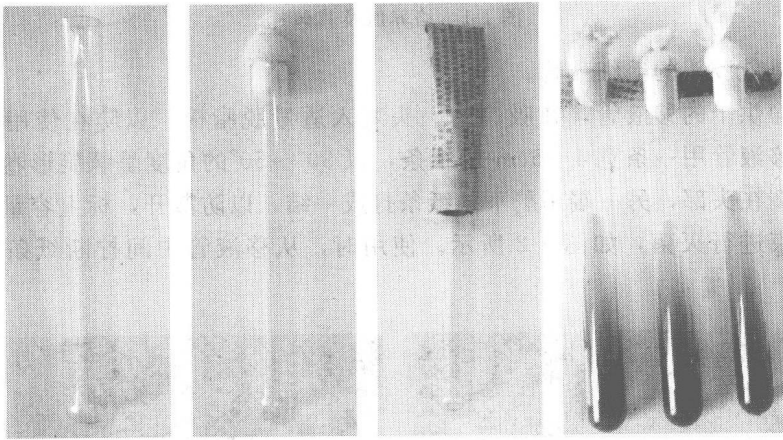


图 1-3 试管包扎及斜面培养基

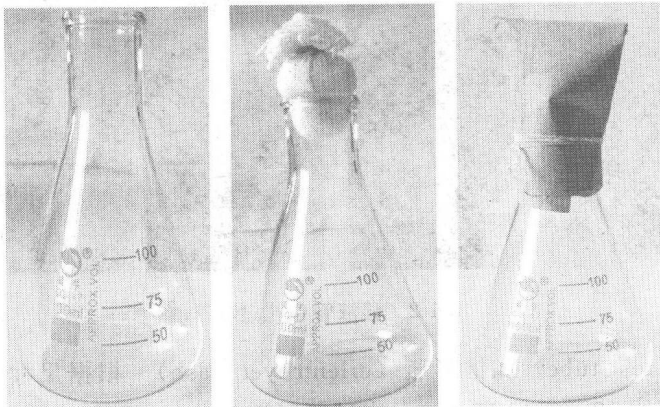


图 1-4 锥形瓶及其包扎

第二节 常用仪器设备

一、高压蒸汽灭菌消毒锅

1. 用途

高压蒸汽灭菌消毒锅常用于微生物实验中玻璃器皿、溶液培养基等的灭菌处理，是迅速、可靠的消毒灭菌设备，外形结构见图 1-5。其原理主要是利用饱和蒸汽压力对物品进行灭菌，不同蒸汽压力所能达到的温度见表 1-1。

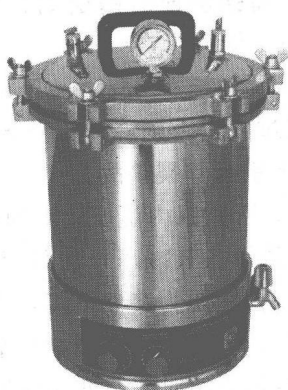


图 1-5 手提式高压蒸汽灭菌消毒锅

表 1-1 不同蒸汽压力所能达到的温度

蒸汽压力			温度/°C
lbf/cm ²	kgf/cm ²	kPa	
5	0.35	33.78	108.8
8	0.57	54.04	113.0
10	0.70	67.55	115.6
15	1.0	101.33	121.3
20	1.46	135.10	126.2
25	1.77	168.88	130.4
30	2.10	202.66	134.6

2. 使用方法

① 首先将内层锅取出，再向外层锅内加入适量的水，使水面与三角搁架相平为宜。

② 放回内层锅，并装入待灭菌物品。注意不要装得太挤，以免妨碍蒸汽流通

而影响灭菌效果。锥形瓶与试管口端均不要与锅壁接触，以免冷凝水淋湿包口的纸而透入棉塞。

③ 加盖，并将盖上的排气软管插入内层锅的排气槽内。再以两两对称的方式同时旋紧相对的两个螺栓，使螺栓松紧一致，勿使漏气。

④ 用电炉或煤气加热，并同时打开排气阀，使水沸腾以排除锅内的冷空气。待冷空气完全排尽后，关上排气阀，让锅内的温度随蒸汽压力增加而逐渐上升。当锅内压力升到所需压力时，控制热源，维持压力至所需时间。

⑤ 灭菌所需时间到后，切断电源或关闭煤气，让灭菌锅内温度自然下降，当压力表的压力降至“0”时，打开排气阀，旋松螺栓，打开盖子，取出灭菌物品。

⑥ 将取出的灭菌培养基，需摆斜面的则摆成斜面，然后放入 37℃ 温箱培养 24h，经检查若无杂菌生长，即可待用。

3. 注意事项

① 待灭菌的物品放置不宜过紧，否则降低灭菌效果。切勿忘记加水，同时水量不可过少，以防灭菌锅烧干而引起炸裂事故。

② 必须将冷空气充分排出，否则锅内温度达不到规定温度，影响灭菌效果。

③ 高压灭菌完毕后，不可强行放气减压，须待灭菌器内压力自然降至与大气压相等后才可开盖，否则就会因锅内压力突然下降，使容器内的培养基由于内外压力不平衡而冲出烧瓶口或试管口，造成棉塞沾染培养基而发生污染，甚至灼伤操作者。另外，瓶装液体进行高压蒸汽灭菌时，瓶塞应插通气针头，以平衡气压，否则瓶内液体会剧烈沸腾，冲掉瓶塞而外溢甚至导致容器爆裂。

④ 为防冷凝水进入试管或试剂瓶，应在装培养基的试管或试剂瓶的棉塞上包上油纸或牛皮纸。

⑤ 为了确保灭菌可靠，应定期检查灭菌效果。常用的检测方法是将硫黄粉末（熔点为 121℃）或安息香酸（熔点为 120℃）置于试管内，然后进行灭菌实验。如上述物质熔化，则说明高压蒸汽灭菌锅内的温度已达要求，灭菌的效果是可靠的。也可将检测灭菌锅效果的专用胶纸（其上有温度敏感指示剂）贴于待灭菌的物品外包装上，如胶纸上指示剂变色，亦说明灭菌效果可靠。

二、电热恒温干燥箱

1. 用途

电热恒温干燥箱（图 1-6）俗称烘箱，或烤箱，主要用于玻璃器皿、金属器械等耐高温物品的灭菌处理，或者实验器皿清洗后的干燥。

2. 使用方法

(1) 装入待灭菌物品 将包好的待灭菌物品（培养皿、试管、吸管等）放入电烘箱内，关好箱门。

(2) 升温 接通电源，拨动开关，打开电烘箱排气孔，旋动恒温调节器至绿灯

亮，让温度逐渐上升。当温度升至 100°C 时，关闭排气孔。在升温过程中，如果红灯熄灭，绿灯亮，表示箱内停止加温。

(3) 恒温 当温度升达到 $160\sim 170^{\circ}\text{C}$ 时，恒温调节器会自动控制调节温度，保持此温度 2h。

(4) 降温 切断电源、自然降温。

(5) 开箱取物 待电烘箱内温度降到 70°C 以下后，打开箱门，取出灭菌物品。电烘箱内温度未降到 70°C 以下，切勿自行打开箱门以免骤然降温导致玻璃器皿炸裂。

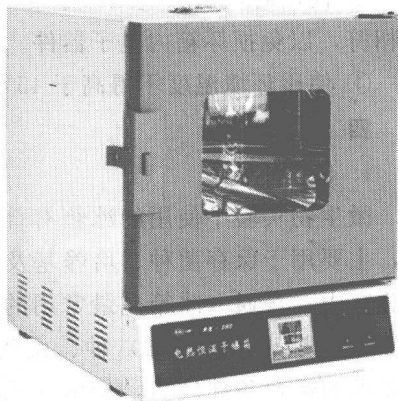


图 1-6 电热恒温干燥箱

3. 注意事项

① 待灭菌的玻璃器皿必须先充分干燥，否则灭菌时间长，耗电过多，且玻璃器皿有炸裂的危险。

② 灭菌温度不要超过 180°C ，否则棉花及纸等易燃品将被烧焦甚至出现安全事故。

③ 灭菌后应等干燥箱内温度下降至与外界温度相差不多时，方可打开箱门，否则冷空气突然进入，有可能导致玻璃器皿炸裂。另外，有引起易燃品起火的危险，且箱内的热空气快速溢出，易导致操作者皮肤灼伤。

④ 箱内放置物品不宜过多过紧，否则灭菌效果将明显下降。灭菌物品不要接触电烘箱内壁的铁板，以防包装纸烤焦起火。

⑤ 严防恒温调节的自动控制失灵而造成安全事故。

三、恒温培养箱

1. 用途

恒温培养箱（图 1-7）主要用于实验室微生物培养及一些恒温实验，其结构因种类不同而异，有用热空气加温的，也有用水浴加温的。

2. 使用方法

① 当实验物品放入培养箱后，将玻璃门与外门关上，并将箱顶上风顶活门适当旋开。

② 在未通电加热前，必须先加水，加至水位高度至溢水口下方 2cm 为止。

③ 接通电源，开启电源开关。

④ 旋转设定旋钮，设定所需温度值。

3. 注意事项

① 切勿把培养箱放在含酸、碱的腐蚀性环境中，以免损坏电子部件。

② 腐蚀性及易燃性物品禁止放入箱内干燥，以免爆炸。

③ 使用时，供电电压一定要与培养箱额定工作电压相符，以免损坏箱内电子器件。

④ 使用环境温度不得高于 45℃。

四、冰箱

1. 用途

微生物实验中使用的冰箱有普通冰箱和超低温冰箱，主要用于保存菌种、培养基及试剂。在微生物学实验室中，普通电冰箱是最常用的制冷设备，用于短时保存培养基、菌（毒）种、血清以及检验标本等。当要求的保存条件较高，如菌株或细胞的保存，或各种标本的长时间保存，普通家用冰箱不能满足要求时，则需要配备制冷温度更低的保存设备，即超低温冰箱。

2. 注意事项

冰箱的使用方法同家用冰箱，在使用时需注意以下几点：

① 使用前查看冰箱所需电压与供应电压是否一致，尤其是超低温冰箱，必要时配置变压器。

② 冰箱应放置在干燥阴凉处，四周要与墙壁保持适当距离，远离热源。

③ 普通冰箱冷藏室温度不宜过低，一般设置 4℃ 左右，以免试剂及培养基结冰。

④ 短期样品、菌株或细胞等的保存可放在冷藏室内。

⑤ 冰箱开启时应尽量短暂，温度过高的物品不能放入冰箱中，从超低温冰箱中取物品时必须戴厚手套。

⑥ 冰箱内应保持清洁干燥，需定时除霜清洁，如有霉菌生长，需用福尔马林熏蒸。

五、无菌操作间

1. 用途

无菌操作间（图 1-8）是一间光照度良好，无直接空气对流，并与外界隔离的小室。其外有一缓冲过道，在内室门中开一小活动窗，以便室内外物品的传递。室内有紫外灯，其多少取决于无菌室空间的大小。

2. 使用方法

① 无菌操作间应经常保持清洁，工作前应将室内抹净，地上用拖把拖净，然后将需用的器材全部放入室内，关好门后，开启紫外灯照射 1h。

② 工作者进入无菌室时应穿戴无菌衣、帽及口罩，并换上无菌室专用的清洁胶底鞋。进入前关闭紫外灯，在工作未完成前，不应随便开门出入。

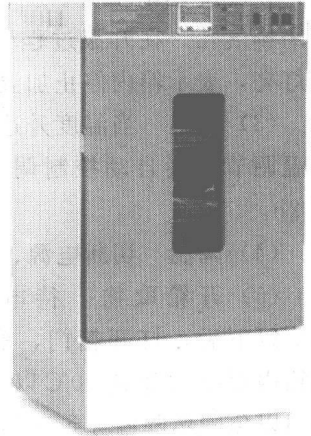


图 1-7 恒温培养箱

③ 工作完毕，补充常用物品，如乙醇灯中之乙醇、火柴、标记笔等，并将室内打扫干净，地面及桌面以消毒液抹拭后方可离开。

六、超净工作台

1. 用途

超净工作台 (clean bench) 是为了适应现代化工业、生物制药以及科研实验等领域对局部工作区域高洁净度的需求而设计的。其工作原理为：通过风机将空气吸入预过滤器，经由静压箱进入高效过滤器过滤，将过滤后的空气以垂直或水平气流的状态送出，使操作区域达到百级洁净度，保证生产或实验操作对环境洁净度的要求。

超净工作台根据气流的方向分为垂直流超净工作台 (vertical flow clean bench) 和水平流超净工作台 (horizontal flow clean bench)；根据操作结构分为单边操作及双边操作两种形式；按其用途又可分为普通超净工作台和生物 (医药) 超净工作台 (图 1-9)。其构造主要由电器部分、送风机、三级过滤器 (初、中、高) 及紫外灯等组成。

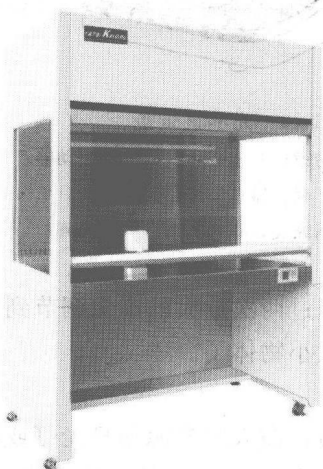


图 1-9 超净工作台

② 久未使用的工作台，在使用前应进行彻底清洗、消毒灭菌。用 1:1000 的来苏尔或 75% 的酒精擦洗台面，过滤器的灰尘可用真空吸尘器清除。停止使用时用防尘布或塑料布套好，避免灰尘积聚。

③ 净化工作台内不应放置与细胞培养无关的其他物品，更不能用作储存室。每次使用前先开紫外灯灭菌，再关紫外灯启动送风机，然后进行操作。

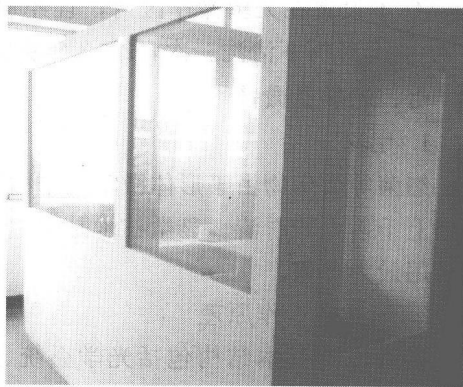


图 1-8 无菌操作间

2. 使用方法

使用前先打开紫外灯，处理净化工作区空气及表面积聚的微生物。30min 后，关闭紫外灯，并启动送风机，清除尘粒。10~20min 后即可于工作区进行操作。工作完毕，停止送风机运行，整理清洁台面卫生，并放下防尘帘。

3. 注意事项

超净工作台作为一种设备，也需要维护和保养，才能延长其使用寿命。一般应注意以下几点：

① 超净工作台宜安装在避免日光直射、清洁无尘的房间内，若能放在无菌操作区内则更佳，不仅效果好，而且滤器 (料) 的使用寿命长。

② 久未使用的工作台，在使用前应进行彻底清

④ 不设置在无菌操作区内，且经常使用的净化台，要注意过滤器的效果。一般3~6个月拆下清洗一次，2~3年更换一次，以保持过滤器的净化效果。

七、光学显微镜

1. 用途

细菌等微生物由于形体微小、结构简单、肉眼不能察见，需以显微镜放大几百甚至上千倍方能看清。显微技术是微生物学中经典且常用的技术，其中以光学显微镜使用最为普遍。

2. 显微镜工作原理

显微镜的基本结构包括光学系统、机械部件和附加装置三大部分。光学系统包括不同倍数物镜、目镜以及由聚光镜和反光镜组成的照明装置。机械部件主要包括调焦系统、载物台和物镜转换器等运动部件，以及底座、镜臂、镜筒等支撑部件，具体见图1-10。

从物理原理来看，显微镜就是由两组汇聚透镜组成的光学折射成像系统。为了尽量提高系统成像的放大倍数，选用一组焦距很短、尺寸较小的透镜组先对微小的观察对象作第一次成像，由于把观察物置于透镜组主焦点附近稍靠物的一侧，因而可以获得一个有最大放大效果的倒立实像。所得实像再经一组尺寸较长的透镜组作第二次成像，条件是使实像处于该透镜组前焦点附近稍靠镜头一侧的地方，从而获得一个最大放大效果的虚像。经过两次放大的虚像调节到观察者的明视距离，就能清楚看到直接用肉眼看不到的微小物体了。

3. 使用方法

(1) 对光 于自然光线下观察时，应用平面反光镜；在人工光源如日光灯或弱光处则应用凹面反光镜。检查不染色标本宜用弱光，即将聚光器降低或缩小光圈；检查染色标本时光线宜强，应将光圈完全打开并升高聚光器。

(2) 观察 将载玻片放在载物台上，用夹片器固定，先用低倍镜找到标本所在处，再换高倍镜或油镜观察。使用油镜时，须在载玻片的标本部位滴香柏油一滴，从旁观察并扭动粗调螺旋使载物台上升，将油镜头浸入油内接近标本表面，但不要碰到玻片，再反向转动粗调螺旋使载物台徐徐下降，至视野中看到标本轮廓，然后

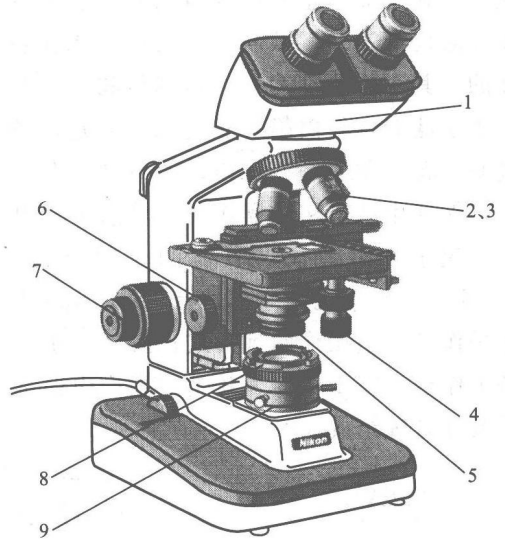


图 1-10 光学显微镜

- 1—目镜；2—物镜；3—油镜；4—镜台驱动器；
5—镜台下聚光器；6—聚光器旋钮；
7—粗、细调螺旋；8—光源；9—场光阑

转动细调螺旋至清晰。细调螺旋是显微镜机械装置中较精细又容易损坏的元件，拧到了限位以后，就拧不动了，此时绝不能强拧，否则必然损坏。调焦时，如果遇到这种情况，应将细调螺旋退回3~5圈，先用粗调螺旋调焦，待初见物像后，再改用细调螺旋。可以事先将细调螺旋调至中间位置，使正反两个方向都有大体相等的调节余地。

4. 注意事项

① 物镜及目镜须经常保持清洁，特别是油镜，使用完毕后，应立即用擦镜纸滴加少许二甲苯将镜头上的香柏油擦掉，再用干的擦镜纸擦干（注意：擦的时候，只能沿镜头直径朝一个方向擦）。

② 显微镜使用完毕应将物镜转成“八”字形，使之不正对光线，降下聚光器，避免物镜与聚光器相撞，损坏透镜，登记使用情况后送入镜箱。

第三节 实验物品灭菌

灭菌 (sterilization) 是用物理、化学方法杀死全部微生物的营养细胞及它们的芽孢或孢子。消毒 (disinfection) 和灭菌两者不同，它是指用物理、化学方法杀死致病微生物或杀死全部微生物的营养细胞及部分芽孢。在微生物实验中，需要进行纯培养，不能有任何杂菌污染，因此对所用器材、培养基和工作场所都要进行严格的消毒和灭菌。

灭菌和消毒的方法很多，有加热灭菌、过滤除菌、照射灭菌和使用化学药品消毒和灭菌等方法，其中，加热灭菌最为常用。加热灭菌法又可分为干热灭菌和湿热灭菌两类，干热灭菌有火焰烧灼和热空气灭菌两种；湿热灭菌中包括高压蒸汽灭菌、常压蒸汽灭菌法、煮沸消毒法和超高温杀菌。

一、高压蒸汽灭菌技术

高压蒸汽灭菌是将待灭菌的物品放在一个密闭的加压灭菌锅内，通过加热，使灭菌锅隔套间的水沸腾而产生蒸汽。待水蒸气急剧地将锅内的冷空气从排气阀中驱尽，然后关闭排气阀，继续加热。此时，由于蒸汽不能溢出，增加了灭菌锅内的压力，使沸点增高，得到高于100℃的温度，导致菌体蛋白质凝固变性，从而达到灭菌的目的。在同一温度下，湿热的杀菌效力比干热大。其原因有三：一是湿热中细菌菌体吸收水分，蛋白质含水量增加，所需凝固温度降低；二是湿热的穿透力比干热大；三是湿热的蒸汽有潜热存在，1.0g水在100℃时，由气态变为液态时可放出2.26kJ的热量。这种潜热释放，能迅速提高被灭菌物体的温度，从而增加灭菌效力。

在使用高压蒸汽灭菌锅灭菌时，灭菌锅内冷空气的排除是否完全极为重