

能力培养型生物学基础课系列实验教材

微生物学实验教程



杨 革 主编

WEISHENGWUXUE
SHIYAN
JIAOCHENG



科学出版社

www.sciencep.com

能力培养型生物学基础课系列实验教材

微生物学实验教程

杨 革 主编

科学出版社

北京

内 容 提 要

本书内容着重在如何反映专业课实验教材的先进性、启发性和创新性等方面作了初步的改革尝试,加强了综合性、研究性实验,适当增加了部分新技术,充实了新内容,其显著特色是将实验教材由知识技能型转变为能力培养型。全书共分基础性实验、综合性实验和研究性实验三大部分,共50个实验,其中包括微生物的纯培养技术、微生物形态结构、微生物的生化反应、微生物生长、病毒、遗传与育种、菌种保藏、微生物分类、免疫技术、微生物发酵等。此外,为了扩大学生的适应面,还增加了青霉素效价的生物测定、小型自控发酵罐的使用和主要生化指标检测等。为了启发学生的创新和开拓精神,本书特别加强了研究性实验的设计。

本书可作为高等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。

图书在版编目(CIP)数据

微生物学实验教程/杨革主编. —北京:科学出版社,2004

能力培养型生物学基础课系列实验教材

ISBN 7-03-014205-5

I. 微... II. 杨... 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(2004)第 084862 号

责任编辑:陈 露 张 臻 / 责任校对:连乘亮
责任印制:刘 学 / 封面设计:一 明

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>

南京展望文化发展有限公司排版

江苏省句容市排印厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2004年9月第 一 版 开本:B5(720×1000)

2005年10月第三次印刷 印张:13

印数:6 501—10 000 字数:248 000

定价:21.00 元

能力培养型生物学基础课系列实验教材编委会

主任委员：安利国（山东师范大学）

副主任委员：刘家尧（曲阜师范大学）

孙虎山（烟台师范学院）

郭善利（聊城大学）

委 员：（按姓氏笔画为序）

付荣恕（山东师范大学）

艾洪滨（山东师范大学）

刘 箭（山东师范大学）

刘林德（烟台师范学院）

刘家尧（曲阜师范大学）

孙虎山（烟台师范学院）

安利国（山东师范大学）

杨 革（曲阜师范大学）

侯福林（山东师范大学）

赵遵田（山东师范大学）

郭善利（聊城大学）

《微生物学实验教程》编写人员

主 编：杨 革

副主编：陈 营

编 者：(按姓氏笔画为序)

王淑芳 朱兰英 刘 艳

刘明河 李世国 杨 革

陈 营 姚淑敏

出版说明

生物科学是一门实验性学科,实验教学在其专业课学习中占有十分重要的地位,动手能力、综合分析能力和创新能力的培养主要依靠实验教学来完成。

受传统教育思想的影响,几十年来我国高等师范院校生物科学专业的实验教以学科知识为体系,从属于理论教学,以验证理论知识和学习实验技术为主要目的,忽视了能力的培养,扼杀了学生的创新欲望。实验内容繁琐,存在大量低水平的重复,远远不能适应创新型人才培养的要求。

近年来,随着创新人才教育的开展,能力培养已引起国家和学校的普遍重视。高教部下发的《关于加强高等学校本科教学工作,提高教学质量的若干意见》中特别强调“进一步加强实践教学,注重学生创新精神和实践能力的培养”,其中指出:“实践教学对于提高学生的综合素质、培养学生的创新精神与实践能力具有特殊作用。高等学校要重视本科教学的实验环节,保证实验课的开出率达到本科教学合格评估标准,并开出一批综合性、设计性实验。”但是,与此相适应的教材却很少,尤其是针对生物科学基础实验的系列教材未见出版。本套能力培养型实验教材就是适应我国高等教育创新性人才培养的需要而编写的。

本套教材将实验分为基础性实验、综合性实验和研究性实验三种类型。

基础性实验是经过精选的最基本的、最代表学科特点的实验方法和技术,通过学习使学生掌握相应学科的基本知识与基本技能,为综合性实验奠定基础。

综合性实验由多种实验手段与技术 and 多层次的实验内容所组成,要求学生独立完成预习报告、试剂配制、仪器安装与调试、实验记录、数据处理和总结报告。综合性实验主要训练学生对所学知识和实验技术的综合运用能力、对实验的独立工作能力、对实验结果的综合分析能力,为研究性实验的顺利开展做好准备。

研究性实验是在完成基础性实验和综合性实验的基础上,以相应学科的研究为主结合其他学科的知识与技术,由学生自己设计实验方案,开展科学研究,撰写课程研究论文,使学生得到科学研究的初步训练,为毕业论文研究工作的开展打下基础。部分优秀课程研究论文可进一步深化、充实,作为毕业论文参加答辩。

三种类型实验所占比例根据不同年级、不同课程而确定。低年级课程以基础性实验为主,基础性、综合性 and 研究性实验的比例为 7 : 2 : 1。随年级升高,逐渐增加综合性和研究性实验的比例,基础性、综合性和研究性实验的比例达到 5 :

3:2。

本套教材试图从下述几个方面有所突破和创新:

1. 以能力培养为核心,通过综合性实验和研究性实验的开设,启发学生思维,引导学生创新。

2. 本套教材是我国高校第一套生物科学基础实验课系列性教材,在编委会的统一领导下完成,避免了低层次重复,体现了实验内容的系统性。

3. 本套教材特别强调实用性和可操作性,实验内容在编写单位已经经过了2~3遍的试用。

4. 本套教材充分体现先进性,尽可能反映生命科学的最新进展。

5. 每本教材都附有实验报告和研究论文范文,为学生提供了实验报告的规范性样板,对培养学生严谨、仔细的学风具有一定的指导作用。

6. 本套教材已着手制作电子光盘版,使之成为立体化教材。多数实验将配有录像和多媒体课件,用于实验之前播放,指导学生的实验操作。

尽管各位主编和编委已经尽了最大努力,但是,由于编者水平所限,肯定会有不少的错误,恳请各位同仁不吝赐教,以便再版时减少谬误。

本套教材得到国家教育部《面向二十一世纪,我国生物教育专业的培养目标、培养方案和课程体系的研究》和山东省高校生物科学(师范类)改革试点专业专项经费的资助,承蒙山东师范大学和科学出版社的领导与老师的大力支持,在此一并感谢。

安利国

2004年8月

前 言

当今,随着科学技术的迅速发展已使得微生物学的研究领域大大扩展。根据不同研究领域提出的问题,将微生物分成细菌、原生动物、藻类、真菌和病毒等类群,对它们分门别类地进行研究便构成了微生物学中的一些相应独立学科。甚至一些不仅仅以微生物为研究对象,如研究人体对微生物反应的免疫学也成了独立的分支学科。随着对极端环境微生物——古生菌(Archaea)研究所取得的进展,微生物学家认为微生物不仅是地球上最早的生命形式,而且也可能是地球以外生物存在的生命形式,从而人类以研究和寻找从月球、火星以及其他星球采回的岩石样品中的微生物为研究对象,探讨地球以外生命的外空生物学(exobiology)也应运而生。从而不难看出,当今微生物学各个研究领域之间的延伸和相互交叉,微生物学与其他学科间的相互交叉,是构成现代微生物学的显著特点。微生物科学是一门实验性很强的学科,实验教学在其专业学习中有十分重要的地位,动手能力、综合分析能力和创新能力的培养主要依靠实验教学来完成。近年来,随着创新人才教育的开展,能力培养已引起国家和学校的普遍重视。“九五”期间,国家教委组织实施了“高等师范教育面向 21 世纪教学内容和课程体系改革计划”,逐渐使实验教学以原来的学科知识为体系,以验证理论知识和学习实验技术为主要目的旧模式转向注重培养学生综合素质、创新精神与实践能力的新模式。

我们着手编写的能力培养型生物学基础课实验教程,总结了我国长期微生物学实验课和科学研究中的部分工作经验,参考了国内兄弟院校编写的有关教材以及国外的有关资料,适当增加了部分新技术,充实了新内容,其显著特色是将实验教材由知识技能型转变为能力培养型。能力培养型实验教学体系中的实验教学处于主体中心地位,其目标不仅是验证知识和掌握技能,更重要的是培养学生的综合分析能力和创新能力,可为进一步学习和实践现代微生物学及相关领域的研究奠定现代理论和技术基础,对促进我国微生物科学专业的实验教学改革具有一定的推动意义。概括起来本实验教材内容分为基础性实验、综合性实验和研究性实验三部分。

基础性实验包括了微生物学实验的基本操作和技能训练,是微生物学这门课程中最基本的、最代表学科特点的实验方法和技术,通过本部分实验使学生掌握微生物学科的基本知识与基本技能,为综合性实验奠定基础。综合性实验部分由多

种实验手段与技术 and 多层次的实验内容所组成,要求学生独立完成预习报告、试剂配制、仪器安装与调试、实验记录、数据处理和总结报告。综合性实验主要训练学生对所学知识和实验技术的综合运用能力、对实验和独立工作能力、对实验结果的综合分析能力,为研究性实验的顺利开展做好准备。研究性实验部分是在完成基础性和综合性实验的基础上,以微生物学的研究为主结合其他学科的知识与技术,由学生自己设计实验方案,开展科学研究,撰写课程研究论文,使学生得到科学研究的初步训练,为毕业论文研究工作的开展打下基础。部分优秀研究性实验报告可进一步深化、充实,作为毕业论文参加答辩。

全书共 50 个实验,三种类型实验所占比例应根据课程的特点和所开年级而确定。低年级课程以基础性实验为主,基础性、综合性和研究性实验的比例为 7 : 2 : 1。随年级升高,逐渐增加综合性和研究性实验的比例,基础性、综合性和研究性实验的比例达到 5 : 3 : 2。教师可根据本校的具体情况选做部分实验内容,每个实验所列出的需用菌种、仪器、试剂的种类和数量可根据具体情况而组织教学。

本书由杨革担任主编,陈营副主编,刘艳、王淑芳、朱兰英、李世国、刘明河、姚淑敏老师任编委。李桂芝老师参与了大部分稿件的校对工作,最后由杨革、陈营和刘艳统稿。

本书的出版工作得到安利国教授、刘家尧教授始终如一的关心与指导,并得到科学出版社的大力支持。在此,谨向他们致以诚挚的谢意。

真诚希望老师和同学们在使用本书时,对存在的问题进行批评指正。

编者

2004 年 5 月

目 录

出版说明
前言

第一部分 基础性实验

第一章 微生物的纯培养技术·····	(1)
实验 1 常用培养基的配制·····	(1)
实验 2 常用的灭菌方法·····	(5)
实验 3 无菌操作和微生物接种技术·····	(12)
实验 4 微生物的培养特征·····	(16)
第二章 原核微生物的形态和结构·····	(19)
实验 5 细菌的染色技术·····	(19)
实验 6 放线菌的形态和结构·····	(26)
实验 7 放线菌的印片染色法·····	(28)
第三章 真核微生物的形态和结构·····	(29)
实验 8 酵母菌的形态观察及死活细胞的鉴别·····	(29)
实验 9 酵母菌子囊孢子的培养与观察·····	(30)
实验 10 霉菌标本片的制备与观察·····	(31)
实验 11 根霉接合孢子的培养与观察·····	(33)
第四章 病毒·····	(36)
实验 12 噬菌体的分离与纯化·····	(36)
实验 13 噬菌体效价的测定·····	(38)
实验 14 溶源性细菌的检查和鉴定·····	(40)
第五章 微生物生长的测定·····	(43)
实验 15 微生物大小的测定·····	(43)
实验 16 显微镜直接计数法·····	(45)
实验 17 平板菌落计数法·····	(48)
实验 18 用干重比色法测定微生物的生长量·····	(50)
第六章 微生物的生化反应·····	(53)

实验 19 糖发酵试验 (53)

实验 20 IMVIC 与硫化氢试验 (54)

第七章 菌种保藏技术..... (57)

实验 21 常用简便保藏法 (57)

实验 22 冷冻干燥保藏法 (60)

实验 23 液氮超低温保藏法 (62)

第二部分 综合性实验

实验 24 化能异养微生物的分离与纯化 (65)

实验 25 芽孢杆菌属种的鉴定 (73)

实验 26 理化因素的诱变效应 (76)

实验 27 抗药性突变株的分离 (80)

实验 28 酵母菌营养缺陷型的筛选 (82)

实验 29 产氨基酸抗反馈调节突变株的选育 (88)

实验 30 抗噬菌体菌株的选育 (91)

实验 31 用 Ames 实验检测诱变剂和致癌剂 (93)

实验 32 细菌生长曲线的测定 (99)

实验 33 环境因素对微生物生长的影响 (100)

实验 34 用生长谱法测定微生物的营养要求 (106)

实验 35 固定化活细胞的制备及其发酵实验 (107)

实验 36 乳酸发酵与乳酸菌饮料的制备 (110)

实验 37 青霉素效价的生物测定 (114)

实验 38 小型自控发酵罐的使用和主要生化指标检测 (119)

实验 39 免疫血清的制备 (123)

实验 40 凝集反应 (125)

实验 41 沉淀反应(琼脂双向扩散试验) (127)

第三部分 研究性实验

实验 42 检测发酵和食品工业用水微生物的数量 (129)

实验 43 微生物技术在食品保鲜中的应用 (130)

实验 44 检测几种常见消毒剂的杀菌效果 (131)

实验 45 研究牛乳在酸败过程中细菌的生态学演变 (132)

实验 46 微生物之间相互作用的研究 (132)

-
- 实验 47 从土壤中分离和纯化产脂肪酶的菌株并选育高产株 (133)
- 实验 48 微生物酶制剂的合成受多水平调控 (134)
- 实验 49 研究青霉素发酵过程中糖的变化 (135)
- 实验 50 统计超市内的微生物发酵食品种类并研制其中的一种 (136)

附录

- 附录 1 玻璃器皿的洗涤及各种洗液的配制 (137)
- 附录 2 培养基的配制 (139)
- 附录 3 试剂和溶液的配制 (152)
- 附录 4 芽孢杆菌属典型菌株检索表 (158)
- 附录 5 细菌分类鉴定中的一些重要生理生化试验 (159)
- 附录 6 染色液的配制 (184)
- 附录 7 实验报告范文 (188)

第一部分

基础性实验

第一章 微生物的纯培养技术

自然界中各种微生物是混杂在一起的,即使取很少量的样品也是许多微生物共存的群体。要研究某种微生物的特性,首先应使该种微生物处于纯培养状态。纯培养是指培养物中的所有细胞和孢子只是某一个种或株微生物,他们有着共同的来源,是同一细胞的后代。在通常情况下纯培养物能较好地被研究、利用和重复结果。微生物的纯培养技术包括培养基的配制、灭菌消毒、无菌操作、微生物接种、纯种分离、微生物培养等。

实验 1 常用培养基的配制

【目的要求】

1. 了解培养基的概念、种类及用途。
2. 了解培养基的配制原理及其常规配制程序。
3. 学习和掌握细菌、放线菌、霉菌、酵母菌常用培养基的配制方法。

【基本原理】

培养基(culture medium)是指利用人工方法将适合微生物生长繁殖或积累代谢产物的各种营养物质混合配制而成的营养基质,主要用于微生物的分离、培养、鉴定、菌种保藏或积累代谢产物等方面。自然界中微生物的种类繁多,营养类型多样,加之实验和研究的目的不同,所以培养基的种类很多。不同种类的培养基一般都应含有微生物生长繁殖所需要的碳源、氮源、能源、无机盐、生长因子和水等营养成分。此外,为了满足微生物生长繁殖或积累代谢产物的要求,还必须控制培养基的 pH 值。细菌、放线菌一般适于生长在中性或微碱性的(嗜碱细菌和嗜酸细菌例外)环境中,而酵母菌和霉菌则适于生长在偏酸性的环境中。因此,在配制培养基时,须将培养基调节在一定 pH 范围内。

培养基按成分可分为天然培养基、合成培养基和半合成培养基。天然培养基是指利用动物、植物、微生物或其他天然有机成分配制而成的培养基,如实验室常用的牛肉汁或麦芽汁培养基。其优点是营养丰富、价格便宜,缺点是成分不能准确确定且不稳定。合成培养基是指完全利用已知种类和成分的化学试剂配制而成的培养基,如实验室常用的高氏一号培养基。优点是各成分均为已知且含量稳定,缺

点是价格较贵。半合成培养基是指由天然有机成分和已知化学试剂混合组成的培养基,如实验室常用的马铃薯葡萄糖培养基。

培养基按物理状态可分为固体培养基、半固体培养基和液体培养基。固体培养基是指在液体培养基中加入一定量的凝固剂(常加 1.5%~2.0%的琼脂)经融化冷凝而成。半固体培养基是指在液体培养基中加入 0.8%~1.0%左右的琼脂,经融化冷凝而成。液体培养基是指培养基中不加凝固剂琼脂,培养基呈液体状。

正确掌握培养基的配制方法是从事微生物学实验工作的重要基础。由于微生物种类及代谢类型的多样性,因而用于培养微生物的培养基的种类也很多,它们的配方及配制方法虽各有差异。但一般培养基的配制程序却大致相同。

肉膏蛋白胨培养基是一种广泛用于培养细菌的培养基,属半合成培养基。高氏合成一号培养基是一种用于培养放线菌的合成培养基。麦芽汁培养基和马铃薯葡萄糖培养基被广泛用于培养酵母菌和霉菌。马铃薯葡萄糖培养基有时也可用于培养放线菌和细菌。豆芽汁葡萄糖培养基也是培养酵母菌及霉菌的一种优良培养基。察氏培养基主要用于培养霉菌观察形态用。麦芽汁培养基为天然培养基,马铃薯葡萄糖培养基和豆芽汁葡萄糖培养基两者均为半合成培养基,而察氏培养基则为合成培养基。

【材料与用品】

1. 材料与试剂

牛肉膏、蛋白胨、葡萄糖、蔗糖、可溶性淀粉、琼脂、新鲜麦芽汁、黄豆芽、马铃薯、NaCl、KNO₃、KCl、NaNO₃、K₂HPO₄、MgSO₄·7H₂O、FeSO₄·7H₂O。

2. 仪器与用品

天平、高压蒸气灭菌锅、微波炉、移液管、试管、烧杯、量筒、锥形瓶、培养皿、玻璃漏斗、药匙、pH 试纸、称量纸、记号笔、棉花、纱布、线绳、塑料试管盖、牛皮纸、报纸等。

【实验步骤】

1. 肉膏蛋白胨培养基的配制

(1) 培养基成分(见附录 2)

(2) 配制

1) 称量及溶化 分别称取所需的蛋白胨和 NaCl,置于烧杯中,加入所需水量的 2/3 左右的蒸馏水。用玻棒挑取牛肉膏置于另一小烧杯中,进行称量。然后加入少量蒸馏水于小烧杯中,加热融化后加入上述烧杯中。将烧杯置于石棉网上加热,用玻棒搅拌或放在微波炉中加热,使药品全部溶化。

2) 加琼脂 加入所需的琼脂,加热溶化。

3) 定容 将溶液倒入量筒中,补充水量至所需体积。

4) 调 pH 待溶液冷至室温时,用 1 mol/L NaOH 溶液调 pH 至 7.2。

5) 分装、加塞、包扎

6) 高压蒸气灭菌 0.1 MPa 灭菌 20 min。

2. 高氏合成一号培养基的配制

(1) 培养基成分(见附录 2)

(2) 配制

1) 称量及溶化 量取所需水量的 2/3 左右加入到烧杯中,置于石棉网上加热至沸。称量可溶性淀粉,置于另一小烧杯中,加入少量冷水,将淀粉调成糊状,然后倒入上述装沸水的烧杯中,继续加热,使淀粉完全融化。分别称量 KNO_3 、 NaCl 、 $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$,依次逐一加入水中溶解,按每 100 ml 培养基加入 0.1% FeSO_4 溶液 1.0 ml。

2) 定容 将溶液倒入量筒中,加水至所需体积。

3) 调 pH 用 1 mol/L NaOH 溶液调 pH 至 7.4。

4) 加琼脂 加入所需的琼脂,加热溶化,补充失水。

5) 分装、加塞、包扎

6) 高压蒸气灭菌 0.1 MPa 灭菌 20 min。

3. 麦芽汁培养基的配制

(1) 培养基成分

新鲜麦芽汁一般为 10~15 波美度。

(2) 配制

1) 用水将大麦或小麦洗净,用水浸泡 6~12 h,置于 15℃ 阴凉处发芽。上盖纱布,每日早、中、晚浇水一次。待麦芽伸长至麦粒的 2 倍时,让其停止发芽,晒干或烘干,研磨成麦芽粉,贮存备用。

2) 取 1 份麦芽粉加 4 份水,在 65℃ 水浴锅中保温 3~4 h,使其自行糖化,直至糖化完全。检查方法是取 0.5 ml 的糖化液,加 2 滴碘液,如无蓝色出现即表示糖化完全。

3) 糖化液用 4~6 层纱布过滤,滤液如仍混浊,可用鸡蛋清澄清。即用一个鸡蛋清加水 20 ml,调匀至生泡沫,倒入糖化液中,搅拌煮沸,再过滤。

4) 用波美比重计检测糖化液中糖浓度,将滤液用水稀释到 10~15 波美度,调 pH 至 6.4。如当地有啤酒厂,可用未经发酵、未加酒花的新鲜麦芽汁,加水稀释到 10~15 波美度后使用。

5) 如配固体麦芽汁培养基时,加入 2% 琼脂,加热融化,补充失水。

6) 分装、加塞、包扎。

7) 0.1 MPa 高压蒸气灭菌 20 min。

4. 马铃薯葡萄糖培养基的配制

(1) 培养基成分(见附录 2)

(2) 配制方法

1) 称取所需去皮马铃薯(出芽的马铃薯不能用),切成小块,加水煮沸 20 min 或在 80℃ 的热水中浸泡 1 h,用 4~6 层纱布过滤,配制成 20% 马铃薯浸汁。

2) 加入所需的葡萄糖,加热煮沸后再加入 2 g 琼脂,继续加热溶化并补足失水。

3) 分装、加塞、包扎。

4) 0.1 MPa 高压蒸气灭菌 20 min。

5. 豆芽汁葡萄糖培养基的配制

(1) 培养基成分(见附录 2)

(2) 配制

1) 称取新鲜黄豆芽 10 g,置于烧杯中,再加入 100 ml 水,小火煮沸 30 min,用纱布过滤,补足失水,即制成 10% 豆芽汁。

2) 按每 100 ml 10% 豆芽汁加入 5 g 葡萄糖,煮沸后加入 2 g 琼脂,继续加热溶化,补足失水。

3) 分装、加塞、包扎。

4) 0.1 MPa 高压蒸气灭菌 20 min。

6. 察氏培养基的配制

(1) 培养基成分(见附录 2)

(2) 配制

1) 称量及溶化 量取所需水量约 2/3 左右加入到烧杯中,分别称取蔗糖、 NaNO_3 、 K_2HPO_4 、 KCl 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 。依次逐一加入水中溶解。按每 100 ml 培养基加入 1 ml 0.1% 的 FeSO_4 溶液。

2) 定容 待药品全部溶解后,将溶液倒入量筒中,加水至所需体积。

3) 加琼脂 加入所需琼脂,加热融化,补足失水。

4) 分装、加塞、包扎。

5) 高压蒸气灭菌 0.1 MPa 灭菌 20 min。

【实验报告】

1. 记录你所配制培养基的名称及成分。

2. 分析你所配制培养基的碳源、氮源、能源、无机盐及维生素的来源。

【思考题】

1. 培养细菌一般常用什么培养基? 培养放线菌常用什么培养基?

2. 麦芽汁培养基、马铃薯葡萄糖培养基、豆芽汁葡萄糖培养基、察氏培养基各常用于培养哪类微生物?

3. 何谓半合成培养基? 何谓合成培养基?

4. 牛肉膏应置于何种容器中称量为宜?
5. 配制高氏合成一号培养基时,可溶性淀粉需经怎样处理后才能倒入到沸水中?
6. 在配制麦芽汁培养基时,如何检查麦芽粉水溶液糖化是否完全?
7. 何谓培养基的自然 pH?

实验 2 常用的灭菌方法

灭菌与消毒、显微镜技术、纯种分离技术、微生物培养技术构成微生物学的 4 项基本技术。它们不仅促进了微生物学的建立和发展,而且对生物学科许多领域的发展发挥了巨大的作用。

众所周知,杀死无芽孢病原菌而不损害饮料营养价值和风味的“巴斯德消毒法”,用石炭酸消毒手术器械、喷洒手术室的“李斯特外科消毒法”,都曾经创造了巨额财富,拯救了亿万人的生命,并沿用至今。现代物理和化学灭菌技术就是在人们对有害微生物的控制活动中建立和发展起来的,有许多过去使用的方法现在仍是无菌技术的重要组成部分。

微生物在自然界中分布广泛,为了保证生产和科学实验中的所需菌株不受其他杂菌干扰,灭菌和消毒技术是至关重要的。灭菌与消毒两者概念不同,灭菌是指杀死或消灭环境中的所有微生物(包括芽孢与孢子);消毒是指消灭病原菌和有害微生物营养体。但对于同一种方法来说,不同的作用强度和作用时间也可达到灭菌或消毒不同目的。

灭菌与消毒方法有多种,可分为物理法和化学法两大类。物理法包括加热灭菌(干热灭菌和湿热灭菌)、过滤除菌、紫外线辐射灭菌等。化学法主要是利用无机或有机化学药剂进行消毒与杀菌。人们可根据微生物的特点、待灭菌材料与实验目的和要求选用灭菌和消毒方法。

1. 加热灭菌

加热灭菌主要利用高温使菌体蛋白质变性或凝固、酶失活而达到杀菌的目的。根据加热方式不同,又分干热灭菌和湿热灭菌两类。干热灭菌主要指(火焰灼烧法和干热空气灭菌法)。湿热灭菌包括高压蒸气灭菌法、间歇灭菌法、煮沸法和巴斯德消毒法等。湿热灭菌时,蒸气穿透力大,蒸气与较低温的物体表面接触凝结为水时可放出潜热,吸收蒸气水分的菌体蛋白质易凝固,所以在同一温度下湿热灭菌比干热灭菌效果好。菌体蛋白质的凝固温度与含水量密切相关,蛋白质含水量多者凝固温度低,如细菌、酵母菌及霉菌的营养细胞,含水量 $>50\%$, $50\sim 60^{\circ}\text{C}$ 、10 min 即可使蛋白质凝固而达杀菌目的;蛋白质含水量较少者需较高温度方可使蛋白质凝固变性,如含水较少的放线菌及霉菌孢子,蛋白质凝固温度为 $80\sim 90^{\circ}\text{C}$,故 $80\sim 90^{\circ}\text{C}$ 加热 30 min 可杀死;