

实验1 无菌材料准备和环境微生物的检测

- 进入实验室，必须穿白大褂
- 两个同学一组，选择座位，收好第一个抽屉钥匙和柜子钥匙
- 录像1 消毒和灭菌
- 录像2 无菌操作倒平板

配制培养基

1、高氏1号培养基，液体培养基由教师配好，每组取一个250 ml三角瓶中加入2.6克琼脂，再加160 ml液体培养基，包扎，做好标记（XX组）。

2、斜面培养基，教师准备高氏1号培养基，每组拿试管4支，每支分装培养基4 ml，加帽。

121°C 20分灭菌

斜面培养基待试管冷却至70°C后，垫适当厚度木板等来搁置斜面，使斜面前沿在试管正中间，自然冷却过程中不得移动，待彻底冷凝后收入柜子中。

高氏一号培养基取出后趁热混匀沉底的琼脂，做好标记（X月X日，高氏一号）后收入柜子中

1、课程介绍

- 人员
- 教材
- 内容
- 评分



王英明



刘明秋



生物科学国家级实验教学示范中心（复旦大学）

首页

中心介绍

实验教学

教学改革

学生科创



新闻公告

更多 >>



2017年我院13级本科生在第二届全... 2017-08-19

课程列表



2、安全教育

- 煤气
- 着装
- 微生物安全
- 学习后签字

3、培养基

- 固体/液体/半固体培养基/ (脱水培养基)
- 天然/合成培养基
- 通用/选择/鉴别培养基

- 碳源/氮源/能源/水/无机盐/生长因子

肉汤培养基 1 L——天然培养基，成分不明确

牛肉膏粉3g，蛋白胨 10g，NaCl 5 g，pH7.4，琼脂 16g。

高氏一号固体培养基 1 L——合成培养基, 成分明确

可溶性淀粉20g, KNO_3 1g, K_2HPO_4 0.5g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5g,
NaCl 0.5g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.01g, 琼脂 16g, pH=7.4;

氧化硫硫杆菌培养基 1 L

NH_4Cl	0.52 g	N source
KH_2PO_4	28 g	
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.25 g	
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.07 g	
硫粉	1.56 g	Energy source
	pH 3.0	

高氏一号固体培养基 1 L——合成培养基, 成分明确

可溶性淀粉20g, KNO_3 1g, K_2HPO_4 0.5g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5g,
NaCl 0.5g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.01g, 琼脂 16g, pH=7.4;

氧化硫硫杆菌培养基1 L

NH_4Cl	0.52g	N source
KH_2PO_4	28 g	
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.25 g	
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.07 g	
硫粉	1.56 g	Energy source
	pH 3.0	

在5% CO_2 中培养基

灭菌相关概念

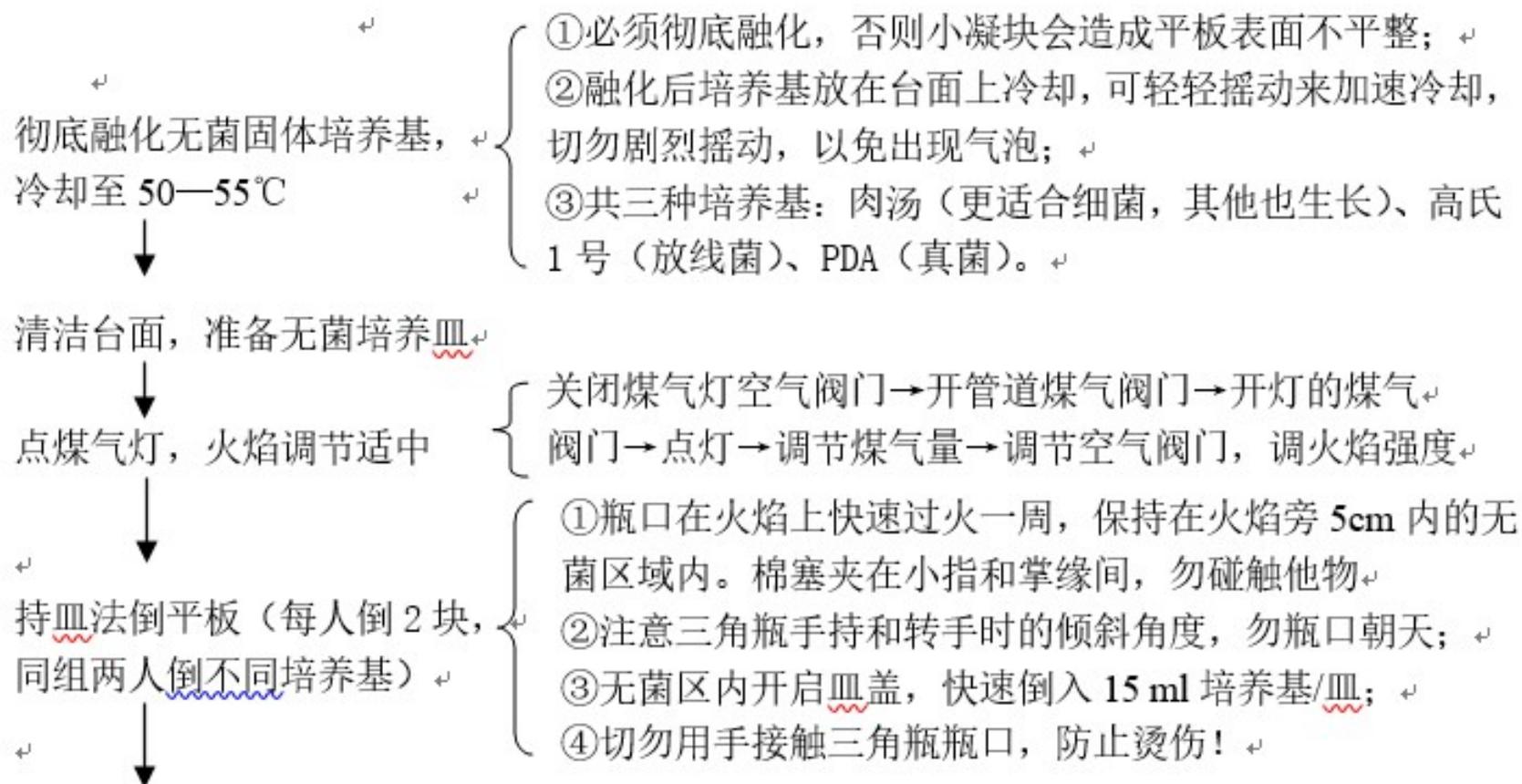
- **消毒**：杀死有害微生物，酒精擦拭，食品消毒（牛奶的巴氏消毒等）。
- **灭菌**：杀死所有微生物,就是常规方法检测不到样品中有活的微生物。
- **抑菌**：抑制微生物生长，比如低PH，低温，高渗透压（盐，糖等），干燥等。
- **化疗**：用药物选择性抑制寄主体内的病原微生物（包括肿瘤），比如各种抗生素，磺胺等
- **防腐**：抑制微生物的生长，进行食品保鲜。

常用方法

- 干热灭菌：靠高温杀死微生物，160-180度，2小时。灼烧：火焰上烧红。
- 湿热灭菌：高温水蒸气杀灭微生物。如灭菌锅121度20分，根据样品特点，调整温度和时间。
- 化学药剂，消毒：新洁尔灭，0.2%，30min。
- 辐照：紫外线消毒
- 过滤除菌：无菌滤器，孔径0.22微米，样品经过滤除去细菌等微生物，滤过性微生物不能除去。

无菌操作倒平板

1、倒平板（示范→模拟→正式接种）



无菌操作倒平板

▼
平放于台面，冷凝彻底

- ①放在木台上有利于减少上盖的冷凝水，要平放；+
- ②可 2—3 块摞一起，利于减少下边平板的冷凝水。+

↓
检测环境中微生物，做好记录

- ①和其他组换一块第三种培养基的培养皿；+
- ②检测空气、头发、咳嗽、手指、桌面、土壤等；+

↓
28℃培养 7 天，观察并记录结果。+

后处理

- 水电煤，安全检查
- 台面清洁，物品收好
- 高氏1号培养基三角瓶，斜面