

## 产品使用说明书 Product Manual

### S 培养基（含维生素）

|                                                                                           |                                          |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|
| 品牌                                                                                        | Chinook 钦诺克                              |
| 货号                                                                                        | CN261097                                 |
| 中文名称                                                                                      | S 培养基（含维生素）                              |
| 英文名称                                                                                      | S Medium                                 |
| 产品别名                                                                                      | S 培养基、S 培养基（配方 II）                       |
| 用途                                                                                        | 用于弗兰克菌的培养                                |
| 配方出处                                                                                      | 李志真 2006.福建弗兰克氏菌（Frankia）研究.北京：中国环境科学出版社 |
| 培养基基础成分（mg/L）：                                                                            |                                          |
| 磷酸氢二钾 K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>                                                     | 500.0                                    |
| 七水硫酸镁 MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O                                                | 200.0                                    |
| 氯化钙 CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O                                                  | 100.0                                    |
| 酶解酪蛋白 Casein Enzymatic Hydrolysate                                                        | 4000.0                                   |
| 柠檬酸铁 Ferric Citrate Pentahydrate                                                          | 10.0                                     |
| 柠檬酸 Citric Acid                                                                           | 10.0                                     |
| 硼酸 H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>                                                         | 1.5                                      |
| 四水硫酸锰 MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O                                                | 0.8                                      |
| 七水硫酸锌 ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O                                                | 0.6                                      |
| 五水硫酸铜 CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O                                                | 0.1                                      |
| 七水硫酸钴 CoSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O                                                | 0.01                                     |
| 四水合七钼酸铵(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> ·4H <sub>2</sub> O | 0.2                                      |
| 维生素 B <sub>1</sub> Vitamin B <sub>1</sub>                                                 | 0.1                                      |
| 维生素 B <sub>2</sub> Vitamin B <sub>2</sub>                                                 | 0.1                                      |
| 维生素 B <sub>6</sub> Vitamin B <sub>6</sub>                                                 | 0.1                                      |
| 生物素 Biotin                                                                                | 0.1                                      |
| 叶酸 Folic Acid                                                                             | 0.1                                      |
| 烟酸 Nicotinic Acid                                                                         | 0.1                                      |
| 泛酸钙 Calcium Pantothenate                                                                  | 0.1                                      |
| pH                                                                                        | 6.8                                      |

**吐温 80 补充剂 (g/L) :**

|       |     |
|-------|-----|
| 吐温 80 | 1.0 |
|-------|-----|

**玉米素补充剂 ( $\mu\text{g/L}$ ) :**

|            |     |
|------------|-----|
| 玉米素 Zeatin | 2.0 |
|------------|-----|

**用法:**

称取本品 4.82g (精确值 4.82391g), 称取吐温 80 1.0g (约 1mL), 一起加入 1000mL 蒸馏水中溶解, 分装, 115°C 高压灭菌 20 分钟。冷却至室温, 无菌操作, 加入过滤除菌的 1000 $\times$ 玉米素溶液 1mL。

1000 $\times$ 玉米素溶液配置方法: 称取 2mg 玉米素加入少量 95%乙醇, 再用温热的蒸馏水定容 1L, 过滤除菌。

**备注:**

本品包含独立包装的培养基基础 250g、吐温 80 60mL、玉米素 10mg。

**储存方式:**

贮存于避光、干燥处, 用后立即旋紧瓶盖; 贮存期三年。

**注意事项:**

1. 称量时注意粉尘, 佩戴口罩操作以避免引起呼吸道系统不适。
2. 干粉培养基使用后立即旋紧瓶盖, 避免吸潮结块。贮存于避光、干燥处。未开封产品保质期三年。开封后根据存放条件的不同保质时间存在一定的差异。

**废物处理:**

检测之后带菌物品置于 121°C 下高压灭菌 30 分钟后处理。

**附录:**

## 微生物培养基正确配置方法及注意事项

**步骤一: 称量**

根据配方和使用说明上所标注的重量, 用 1/100 的电子天平准确称出所需的培养基 (称量时可以使用称量纸) **注意: 称量一定要准确**, 称量不准, 则会影响使用效果。

**步骤二: 溶解**

## 1.搅拌:

将培养基纳入烧杯容器中，加小适量的水，缓慢加水并用玻璃棒小幅度搅拌。

注意：一定要搅拌。特别是在溶解含有琼脂的培养基，在加热的同时一定要进行搅拌。

## 2.加热:

倘若培养基中不含琼脂，一般不需要对培养基进行加热；相反含有琼脂，需要用本生灯/电磁炉加热煮沸。

注意:

### (1) 琼脂只有煮沸，且不断搅拌才能溶解充分。

不要把未经加热及搅拌煮沸的培养基溶液直接高压灭菌，这样很容易使琼脂溶解不充分，且粘在容器底部。

### (2) 不建议使用水浴加热或微波炉加热，特别是微波炉。

水浴加热：一般需要时间长，也很可能会发生琼脂溶解不充分的情况。

微波炉加热：一般没法进行搅拌，也会容易使琼脂溶解不充分。

(3) 琼脂溶解不充分导致非常严重的后果，会严重影响后续的铺平板、划线以及培养效果等，会导致实验无法完成。

3.待培养基完全溶解后，再加入适量的水搅拌均匀。如准备的培养基较多，在不锈钢锅中融化加热，是可以使用温水加热的，还需不停搅拌，防止焦化。

如果不小心出现焦化现象，则表面制备好的培养基将无法使用，必须重新配制培养基。

## 4.推荐使用玻璃、搪瓷材质的容器来溶解培养基。

注意：一定不要使用铜或铁容器来溶解制备培养基。

因为铜或铁容器可能会导致容器内培养基中铜、铁超标，影响实验结果。

①其中培养基中铜含量大于 0.3 毫克每升，细菌不适宜生长。铁含量超过 0.14 毫克每升，会防止细菌产生毒素。

②实验中，容易发生反应和沉淀的药物应单独溶解，然后加入培养基中，如磷酸氢二钾和硫酸镁。

### 步骤三：调培养基 pH

1.培养基中一般都已调好 pH 值，不需额外再次调节 pH 值。但如果是配制的培养基达不到实验的要求，则必须要进行调整。

(1) 如果有校准过的 **pH 计**，则可以使用 **pH 计**。如果没有，可以使用精确的 **pH 试纸**。

(2) 然后根据调节需要，使用 **1mol/L 氢氧化钠**或 **1mol/L 盐酸**进行微调，直到调节到配方所需要的 pH 值为止。

培养基有酸性或碱性，pH 值一般为 7.4 ~ 7.6。对于需要用氢氧化钠调节的培养基，需将 pH 调至比要求值高 0.1 ~ 0.2 个单位，因为用氢氧化钠调节时，高压灭菌后培养基的 pH 值会降低 0.1 ~ 0.2。如果微生物培养基中含有碳酸钙，一般无需调整 pH 值。

### 步骤四：培养基过滤

1.如果对配制的培养基没有特殊要求，这一步可以省略。

2.培养基如有浑浊和沉淀现象，可将需要澄清的液体培养基进行油纸过滤。固体介质可以用双层纱布过滤，中间有一层薄薄的脱脂棉。

如果过滤法不能满足澄清要求，可以采用蛋清澄清法，即将培养基加热后冷却至五十度至六十度，不超过三角瓶一半的容量。每一千毫升放入 1~2 个蛋清，用力摇晃三至五分钟，用 121℃高压蒸汽灭菌二十分钟，之后趁热取出过滤。

### 步骤五：培养基分装

1. 准备好的培养基根据用途不同，分为烧瓶、试管等容器。

①分装试管量大则采用-自动分液器。

②分装试管量小则采用-漏斗分液。

2. 分液量不超过容器体积的三分之二，三角瓶不要超过体积的二分之一，琼脂斜面不要超过试管长度的五分之一。

灭菌后斜面应为培养基量的三分之一，底层应为培养基量的三分之二，半固态琼脂的体积为三分之一。

用于接种或保护细菌的高级琼脂，分装试管长度的三分之一和四分之一，接种厌氧菌的量应达到三分之二；琼脂平板 90 毫米内径 13~15 毫升，内径 70 毫米 8~10 毫升。

3. 如果琼脂平板表面有较多水，可将平板倒置，置于 37℃培养箱中三十分钟，晾干后使用。每批培养基分装在二十毫升左右的小玻璃瓶中，与该批培养基同时灭菌，在以确定这批培养基的最终 pH 值。

## 步骤六：培养基灭菌处理

分装完成的培养基应马上进行灭菌。其杀毒灭菌方式主要有三种类型：

### (1) 高压蒸汽灭菌方式

此方法可用于大多数耐热培养基。

①对于小份：121℃ 十五分钟

②对于大份：121℃ 三十分钟

③对于含糖类（碳水化合物）的培养基：则需要进行 113~115℃/15min 灭菌，以避免糖分的破坏，**避免焦化**。

### (2) 煮沸灭菌法方式

此方法可用于含有不耐高温物质的培养基。

### (3) 过滤除菌方式

此方法可用于当培养基中含有不耐热物质时。采用无菌技术来定量添加培养基。血液和抗生素可以用无菌技术抽取，并加入已经冷却至约五十度的培养基中。

对 LST 培养基进行灭菌时，发酵管内可能存在气泡。为了防止发酵管内形成气泡，可以采取以下措施：

(1) 倒置的小管内充满培养基，不留气泡，然后加入含有 LST 的试管中。

(2) 在关闭灭菌锅的排气阀之前，将锅内的气体排空。灭菌锅内空气是否排净，这个是影响灭菌是温度和压力比例关系的要点，同样达到了相同的压力的情况下，如果空气未能排净，也就是说不是纯蒸汽灭菌，此时的温度不一定能达到目的要求，会严重影响灭菌效果。

(3) 试管塞不要塞得太紧。使用硅胶塞时，请勿使用橡胶塞。

(4) 不可过早打开灭菌锅，等灭菌锅内的气压和温度降到与室温相同或相差不大时，再打开灭菌锅。如果按照以上方法操作还有气泡，可以用水作为培养基组的对照试验。

如果培养基组依旧有气泡，对照组没有气泡，可以确定是培养基本身原因。

## 步骤七：培养基倒入平板

1. 将灭菌溶化的培养基冷却至五十度后，倒入无菌干燥的培养皿中。

微生物培养基制备的温度不能太高，否则培养皿内盖容易形成过多的冷凝水；温度太低，培养基容易凝固成块状，不能做成平板。

2.倒平板时，要靠近酒精的火焰（以此防止外来细菌落入盘中）。左手托住培养皿，右手托住三角瓶底部。用小指和手掌拉出锥形瓶的棉塞，烧灼烧瓶口，用拇指和食指在培养皿盖上打开一条缝，直到烧瓶口刚好伸进去，倒入培养基，直到底部被覆盖。

3.不要超过培养皿高度的三分之一，迅速盖上盖子，放在桌上后轻轻旋转培养皿，使培养基分布均匀，凝结后即可。24 小时后检查，如培养基未长杂菌，即可用来培养微生物。

## 步骤八：培养基摆斜面

灭菌完成后，将试管中的琼脂培养基放在木架或玻璃架上，并且要有适当的坡度。冷却后使琼脂凝固并变成斜面。（斜面长度不超过试管的二分之一）

## 步骤九：微生物培养基质检

1. 检验培养基灭菌后，若发现有破损，浸水，颜色异常，棉塞被培养基污染。所有这些问题，都必须丢弃，不能重复使用，并确定其最终 pH 值。

2. 无菌检查和效果检查也是必需的。

(1) 无菌检查是取 1~2 瓶无菌培养基，37℃ 孵育一两天，确认无细菌生长。

(2) 效果检查是将标准菌株接种到相关培养基上进行细菌检查。菌种的生长、形态和生化条件与已知条件一致。

若两个条件都检查合格，准备好的培养基就可以使用了。