

# 产品使用说明书

## Product Manual

### 紫色非硫细菌培养基 1

品牌	Chinook 钦诺克
货号	CN260028
中文名称	紫色非硫细菌培养基 1
英文名称	Purple Non-Sulfur Bacteria Medium 1
产品别名	紫色非硫细菌培养基 1(pH7.0)
用途	用于土壤中光合细菌的测定
配方出处	林先贵.2008.土壤微生物研究原理与方法.北京: 高等教育出版社
<b>成分 (g/L) :</b>	
醋酸钠 $\text{CH}_3\text{COONa}$	2.0
氯化铵 $\text{NH}_4\text{Cl}$	1.0
氯化钠 $\text{NaCl}$	1.0
磷酸氢二钾 $\text{K}_2\text{HPO}_4$	0.4
氯化镁 $\text{MgCl}_2$	0.2
二水氯化钙 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.1
酵母浸出粉 Yeast Extract Powder	0.1
pH	7.0
<b>用法:</b>	
称取本品 4.8 g, 加入 1000mL 蒸馏水中溶解, 分装, 121°C 高压灭菌 20 分钟。	
<b>相关产品:</b>	
光合细菌培养基 (常规法测定土壤光合细菌) 紫色硫细菌培养基 紫色非硫细菌培养基 1 紫色非硫细菌培养基 2	
<b>实验方法与步骤(供参考):</b>	
实验名称: 光合细菌的测定 (土壤中各生理类群微生物的检测)	
实验器材:	
1.培养基	

光合细菌培养基（常规法测定土壤光合细菌）、紫色硫细菌培养基、紫色非硫细菌培养基 1、紫色非硫细菌培养基 2

## 2. 溶液或试剂

焦性没食子酸等。

### 实验操作：

#### 1. 土样的采样

- (1)根据研究设计选择具有代表性的土壤，确定采样地点。
- (2)除去地面植被和枯枝落叶，铲除表面 1cm 左右的表土，以避免地面微生物与土样混杂。
- (3)多点采取重量大、体相当的土样于塑料布上，剔除石砾和植物残根等杂物，混匀后取一定数量装袋。
- (4)需要保持通气的样品可用聚乙烯袋包装，也可用铝盒、玻璃瓶等其他容器，但要使容器中留有空间；如果样品需要保持嫌气状态，则应用玻璃瓶等可密封的容器包装。
- (5)样品带回实验室后应尽快分析。

#### 2. 光合细菌的测定（以红螺菌科固体石蜡双层培养法为例）

(1)吸取一定稀释梯度的土壤悬液 0.1mL 加入到灭菌的培养皿中，再加入 20mL 处于 40~45℃ 的固体培养基(尚未凝固)，均摇晃使得菌液和培养基充分混合。等固体培养基凝固后，再向固体培养基上面倒入 55~60℃ 的熔化的固体石蜡，缓慢地水平摇动培养皿，使得石蜡均匀地覆盖在固体培养基的上面，特别要注意培养基的边缘。等固体石蜡凝固后，倒置培养皿，2400lx 光照培养 15d 后，计算结果。

(2) 如需对光合细菌进一步分离与纯化，可采用焦性没食子酸法进行厌氧平板培养。把干燥器内的空气用真空泵减压到 1/3，再通入无菌的氢气，进行气体置换造成厌氧条件，然后用焦性没食子酸除去残余的氧气。把悬液和琼脂培养基混匀后装入已灭菌的细玻璃管中凝固，把玻璃管口两端用橡皮塞塞紧后进行光照培养。在无菌条件下推出凝固琼脂，或打碎玻璃管，将分离到的不同形态菌株进行反复纯化，直到在显微镜下观察菌体形态基本一致，纯化工作才结束。

### 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℃ 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°C 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°C 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°C 十五分钟

②对于大份：121°C 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°C/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°C 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。