

产品使用说明书 Product Manual

霍格兰营养液（含钙盐，大量元素减少 10 倍）

品牌	Chinook 钦诺克	
货号	CN260745	
中文名称	改良型霍格兰营养液（含钙盐，大量元素减少 10 倍）	
英文名称	Hoagland Modified Nutrient Salts(1/10 Macroelement)	
产品别名	改良型霍格兰营养液（1/10 大量元素）	
用途	用于 AM 真菌的繁殖和抗菌剂生产试验（营养流动液培养法）	
营养液干粉成分（mg/L）：		
硝酸钾 KNO ₃	50.6	
硝酸铵 NH ₄ NO ₃	8.0	
磷酸二氢钾 KH ₂ PO ₄	13.6	
硫酸镁 MgSO ₄	24.1	
乙二胺四乙酸铁钠 FeNaEDTA	3.67	
碘化钾 KI	0.083	
硼酸 H ₃ BO ₃	6.2	
一水硫酸锰 MnSO ₄ ·H ₂ O	16.9	
七水硫酸锌 ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8.6	
二水钼酸钠 Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.25	
五水硫酸铜 CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.025	
六水氯化钴 CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.025	
pH	5.8±0.2	
钙盐浓缩液成分（mg/L）		
四水硝酸钙 Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	94.5	
用法：		
1. 配置 1000×钙盐母液： 称取钙盐浓缩液干粉 9.45g，加入 100mL 水，配置成 1000×钙盐母液（也可根据比例配置其他容量）；		
2. 称取营养液干粉 0.132g，加入 999mL 水中，磁力搅拌溶解后，滴入配置好的 1000X 钙盐母液 1mL，混匀，即为 1L 工作液。		



产品组成:	
货号与规格	组成
CN260745-250g	营养液干粉 250g+钙浓缩液干粉 200g
储存方式:	
营养液基盐干粉: 常温运输, 2-8°C 密封保存, 贮存于避光、干燥处; 钙盐浓缩粉: 常温运输, 26°C 以下室温密封保存, 贮存于避光、通风、干燥处; 注意: 钙浓缩液干粉极易吸水潮解, 要特别注意密封保存。	
注意事项:	
1. 本产品配制工作液的 pH 值为 5.8 ± 0.2 (25°C), 无特殊要求无需再做调整。 2. 影响植物生长的因素有很多, 如光照、温度、湿度、病虫害等, 实验前请充分考虑环境因素。 3. 打开包装的产品务必及时配制工作液, 配制好的工作液只能短期常温储存。 4. 该系列产品常温储存运输, 长期保存 2-8°C 更佳。高倍母液低温会有析出, 完全溶解后再配制工作液。 5. 营养液缓冲体系较小, 用水偏酸或偏碱都会对营营养液造成影响。 6. 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。 7. 干粉培养基使用后应立即旋紧瓶盖, 避免吸潮结块。贮存于避光、干燥处。 钙浓缩液干粉极易吸水潮解, 要特别注意密封保存, 可在瓶外加一层自封袋, 并且远离火种、热源。 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五十五度至六十度，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°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℃ 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。