

培养基的配制及灭菌实验报告

篇一：培养基的制备与灭菌实验报告(详细)

一、实验题目：培养基的制备与灭菌

二、实验目的：

- 1、明确培养基的配置原则，掌握配置方法。
- 2、了解灭菌的原理，学习掌握灭菌器的使用方法。

三、实验器材：

- 1、药品：牛肉膏、蛋白胨、氯化钠、水、琼脂。
- 2、仪器：三角瓶、培养皿、试管、线绳、棉花、烧杯、报纸、移液管、试管架、铁针、量筒。

四、实验原理：

1、培养基的制备

包括以下几种成分：

- (1) 水分：主要成分。
- (2) n 源：包括无机氮和有机氮。

(3) c 源：主要是含碳有机物、碳氢化合物等。

(4) 无机盐：如 NaCl 、 K_2HPO_4 等。

微量元素：Cu、K、Mg、S、P、Zn。

有些还需要添加“生长因子”，通常是维生素类、某些氨基酸或核酸等。

2、培养基配置的原则

根据不同的培养对象及培养目的，选用不同的培养基，但有机物总量不得超过 15%，盐类一般不超过 1%。

培养基有以下分类：

按成分：天然培养基、合成培养基、半合成培养基

按状态：固体培养基、半固体培养基、液体培养基

按用途：基础培养基、营养培养基、鉴别培养基、选择培养基

培养基配好后应立即灭菌，防止营养物质中的微生物富集。

3、灭菌：

用理化手段杀灭一切微生物的营养体，包括芽孢和孢子，在实验中应对所有仪器、操作场所、药品及培养基灭菌或消毒。

(1) 高压蒸汽灭菌：将物品放入封闭的加压灭菌器，加热使灭菌锅套间的水沸腾产生蒸汽，将冷空气排尽，压力上升，使水沸点变高，导致菌体蛋白质变性，一般 0.1mpa、

121℃、15~30min 可以彻底灭菌，本次实验灭菌 20min。若是含糖培养基，110℃、30min。

(2) 干热灭菌：微生物细胞内蛋白质因高温而凝固变性。因高温，所以含水量小，不利于蛋白质受热变性，所以温度高，时间长。

(3) 紫外灭菌：诱导胸腺嘧啶二聚体形成抑制 DnA 复制。

(4) 过滤除菌：实验室中用微孔滤膜（孔径一般为 0.22 μm ）。除病菌需更小。

五、实验步骤：

1、牛肉膏蛋白胨培养基的制备

依次准确称取 0.5g 牛肉粉、1.0g 蛋白胨、0.5g NaCl 放入烧杯，加入 100mL 水，用玻璃棒搅匀溶解，移入三角瓶，并加入 1.5g 琼脂。加上棉塞，迅速拔出能发出清脆声响即可，用报纸包住并系好麻绳。

2、包移液管和培养皿

(1) 包一包培养皿（一包五个）：用手压紧、塞好，折出棱角，包好后摇晃没有培养皿相互碰撞的声音即可。

(2) 包 2 支移液管：用棉花塞好移液管尾部，露出 1~2cm 即可。取长条报纸，一端折

90° 角，紧密严实沿 30° 角卷好移液管，尾部叠好防止散开。

3、高压蒸汽灭菌

(1) 灭菌前要先看水位是否合适。

(2) 将包好的待灭菌物品放入内层锅，不要装得太挤，棉塞不应染上培养基。

(3) 加盖，两两对称旋紧螺栓。

(4) 设定条件：0.1mpa、121℃、20min，进行加热。

(5) 先打开排气阀，待空气排尽后，关上排气阀。

(6) 结束后，自然降温，压力降为 0 后，打开排气阀取出物品。

4、干热灭菌

(1) 将包好的待灭菌物品放入电热干燥箱内，关好门箱。

(2) 设定条件：160~170℃，恒温 2h。

(3) 结束后，切断电源，自然降温，降到 70℃ 以下后开箱取物。

六、思考题：

1、你配制的是什么培养基？

选择培养基。

2、选择培养基与鉴别培养基的区别？这两种培养基的应用情况。

选择培养基是指根据某种微生物的特殊营养要求或其对某化学、物理因素的抗性而设计的培养基。其功能是使混

合菌样中的劣势菌变成优势菌，从而提高该菌的筛选效率。如以纤维素作唯一碳源的培养基可分散到分解纤维素的微生物分散酵母菌或霉菌时，可添加适量的青霉素、四环素或链霉素，以抑制细菌和放线菌的生长。

鉴别培养基是在成分中加入有能与目的菌的无色代谢产物发生显色反应的指示剂，从而达到只须用肉眼辨别颜色就能方便地从近似菌落中找到目的菌菌落的培养基，此类培养基一般用于鉴定不同微生物。如 emb 即伊红美乳糖造就基。大肠杆菌分解乳糖产生大量混合酸，可染上酸性伊红，伊红和美兰结合，菌落被染成深紫色，从菌落外貌的发射光中还可以看到绿色金属发光。

篇二：《培养基的制备与消毒灭菌》实验报告

《培养基的制备与消毒灭菌》实验报告

实验目的

1. 学习和掌握配制培养基（以牛肉膏蛋白胨培养基的配制为例）的一般方法和原理。
2. 了解消毒和灭菌的原理，掌握常用灭菌方法的操作步骤。

实验原理

培养基是人工配制的适合微生物生长繁殖或积累代谢产物的营养基质，用以培养、分离、鉴定、保存各种微生物或积累代谢产物。在自然界中，微生物种类繁多，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。但是，不同种类的培养基中，一般应含有水分、碳源、氮源、能源、无机盐、生长因素等。不同微生物对 pH 要求不一样，霉菌和酵母的培养基的 pH 一般是偏酸性的，而细菌和放线菌的培养基的 pH 一般为中性或微碱性的（嗜碱细菌和嗜酸细菌例外）。所以配制培养基时，都要根据不同微生物的要求将培养基的 pH 调到合适的范围。此外，由于配制培养的各类营养物质和容器等含有各种微生物，因此，已配制好的培养基必须立即灭菌。如果来不及灭菌，应暂存冰箱内，以防止其中的微生物生长繁殖而消耗养分和改变培养的酸碱度所带来不利的影响。

高压蒸气灭菌是将待灭菌的物品放在一个密闭的加压灭菌锅内，通过加热，使灭菌锅套间的水沸腾而产生蒸气。待水蒸气急剧地将锅内的冷空气从排气阀中驱尽，然后关闭排气阀，继续加热，此时由于蒸气不能逸出，而增加了灭菌器内的压力，从而使沸点增高，得到高于 100℃ 的温度。导致菌体蛋白质凝固变性而达到灭菌的目的。

牛肉膏蛋白胨培养基是一种应用最广泛和最普通的细菌基础培养基，有时又称为普通培养基。由于这种培养基中含有一般细菌生长繁殖所需要的最基本的营养物质，所以可供作微生物生长繁殖之用。基础培养基含有牛肉膏、蛋白胨和 NaCl。其中牛肉膏为微生物提供碳源、能源、磷酸盐和维

生素，蛋白胨主要提供氮源和维生素，而 NaCl 提供无机盐。在配制固体培养基时还要加入一定量琼脂作凝固剂，琼脂在常用浓度下 96°C 时溶化，实际应用时，一般在沸水浴中或下而垫以石棉网煮沸溶化，以免琼脂烧焦。琼脂在 40°C 时凝固，通常不被微生物分解利用。固体培养基中琼脂的含量根据琼脂的质量和气温的不同而有所不同。

由于这种培养基多用于培养细菌，因此要用稀酸或稀碱将其 pH 调至中性或微碱性，以利于细菌的生长繁殖。

牛肉膏蛋白胨培养基的配方如下：

牛肉膏 3.0g

蛋白胨 10.0g

NaCl 5.0g

水 1000ml

pH 7.4—7.6

实验仪器与药品

1. 溶液或试剂：牛肉膏、蛋白胨、 NaCl 、琼脂、 1mol/L NaOH 、 1mol/L HCl 。

2. 仪器或其他用具：试管、三角瓶、1000ml 烧杯（或 1000ml 刻度搪瓷杯）、量筒、玻棒、培养基分装器、天平、牛角匙、高压蒸汽灭菌锅、 pH 试纸（ pH 5.5—9.0）、普通棉花、牛皮纸、记号笔、麻绳、纱布等。

实验步骤

（一）牛肉膏蛋白胨培养基的制备

1. 称量（假定配制 1000ml 培养基）

按培养基配方比例依次准确地称取牛肉膏、蛋白胨、
nacl 放入烧杯（或 1000ml 刻度搪瓷杯）中。牛肉膏常用玻
棒挑取，放在小烧杯或表面皿中称量，用热水溶化后倒入烧
杯。也可放在称量纸上，称量后直接放入水中，这时如稍微
加热，牛肉膏便会与称量纸分离，然后立即取出纸片。

2. 溶化

在上述烧杯中先加入少于所需要的水量（如约 700ml），
用玻棒搅匀，然后，在石棉网上加热使其溶解，将药品完全
溶解后，补充水到所需的总体积（1000ml）；如果配制固体
培养基时，将称好的琼脂放入已溶的药品中，再加热溶化，
最后补足所损失的水分。

3. 调 ph

在未调 ph 前，先用精密 ph 试纸测量培养基的原始 ph，
如果偏酸，用滴管向培养基中逐滴加入 1mol/L naoh，边加
边搅拌，并随时用 ph 试纸测其 ph，直至 ph 达 7.4-7.6。反
之，用 1mol/L hcl 进行调节。

4. 过滤

趁热用滤纸或多层纱布过滤，以利某些实验结果的观察。
可以省去（本实验勿需过滤）。

5. 分装

液体分装

分装高度以试管高度的 $1/4$ 左右为宜。分装三角瓶的虽则根据需要而定，一般以不超过三角瓶容积的一半为宜，如果是用于振荡培养用，则根据通气量的要求酌情减少；有的液体培养基在灭菌后，需要补加一定量的其他无菌成分，如抗生素等，则装量一定要准确。

固体分装

分装试管，其装量不超过管高的 $1/5$ ，灭菌后制成斜面。分装三角烧瓶的量以不超过三角烧瓶容积的一半为宜。

半固体分装

一般以试管高度的 $1/3$ 为宜，灭菌后垂直待凝。

6. 加塞

培养基分装完毕后，在试管口或三角瓶口上塞上棉塞（或硅胶塞、金属或高温塑料试管帽等），以阻止外界微生物进入培养基内面造成污染，并保证有良好的通气性能（棉塞制作方法附本实验后面）。

7. 包扎

加塞后，将全部试管放入铁丝筐或用麻绳捆好，再在棉塞外包一层牛皮纸，以防止灭菌时冷凝水润湿棉塞，其外再用一道麻绳扎好。用记号笔注明培养基名称、配制日期。三角烧瓶加塞后，外包牛皮纸，用麻绳以活结形式扎好，使用时容易解开，同样用记号笔注明培养基名称、配制日期。

8. 灭菌

将上述培养基以 0.103mpa, 121℃, 20min 高压蒸气灭菌。

9. 摆斜面

将灭菌的试管培养基冷至 50℃左右(以防斜面上冷凝水太多), 将试管口端搁在玻棒或其他合适高度的器具上, 搁置的斜面长度以不超过试管总长的一半为宜

10. 无菌检查

将灭菌培养基放入 37℃的恒温箱中培养 24-48h. 以检查灭菌是否彻底。

注意事项

1. 蛋白胨很容易吸湿, 在称取时动作要迅速, 另外, 称量时严防药品混杂. 一把牛角匙用于一种药品. 或称取一种药品后, 洗净——擦干——再称取另一药品——瓶盖也不要盖错。

2. 在琼脂溶化过程中. 应控制火力, 以免培养基因沸腾而溢出容器。同时, 需不断搅拌, 以防琼脂糊底烧焦, 制培养基时, 不可用铜或铁锅加热溶化, 以免离子进入培养基中, 影响细菌生长。

3. 对于有些要求 ph 较精确的微生物, 其 ph 的调节可用酸度计进行(使用方法、可参考有关说明书)。ph 不要调过头, 以避免回调而影响培养基内各离子的浓度。配制 ph 低的琼

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/267003040163006134>