

版权所有 · 禁止翻制、电子传阅、发售

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 2632—2010

微生物菌种常规保藏技术规程

Technical codes for routine microbial culture collection

2010-05-27 发布

2010-12-01 实施

中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局
www.biaozhun.org 标准网

发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

请注意本文的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位：中华人民共和国广东出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：王锦彤、黎学琴、史咏梅、陈泽瑜、陈小刚、王向阳。

微生物菌种常规保藏技术规程

1 范围

本标准规定了微生物菌种保藏的基本原则和常规方法。
本标准适用于微生物菌种常规保藏工作。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 4789.28 食品卫生微生物学检验 染色法、培养基和试剂

GB 19489 实验室 生物安全通用要求

SN/T 1538.1 培养基制备指南 第1部分:实验室培养基制备质量保证通则

WS 233 微生物和生物医学实验室生物安全通用准则

病原微生物实验室生物安全管理条例(国务院令 第424号)

人间传染的病原微生物菌(毒)种保藏机构管理办法(中华人民共和国卫生部令 第68号)

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

微生物 microorganism

广泛分布于自然界中的一群肉眼看不到的微小生物,包括细菌、螺旋体、立克次体、衣原体、支原体、放线菌、真菌、病毒等类,其结构简单,以单细胞、细胞群体或非细胞状态存在,在提供营养物质和适宜环境的条件下,一般都能独立生活,迅速生长繁殖。

3.2

微生物菌种 microbial strain

可培养的具有保藏价值的微生物纯培养(株)。

3.3

菌种保藏 culture collection

微生物菌种用各种适宜的方法妥善保藏,避免死亡、污染,保持其原有性状基本稳定,以便于研究、交换和使用的目的。

3.4

定期移植保藏法 periodic transfer on agar or in liquid medium

亦称传代培养保藏法,包括斜面培养、穿刺培养、液体培养等。是指将菌种接种于适宜的培养基中,最适条件下培养,待菌种生长完全后,通常置于4℃~6℃进行保存并间隔一定时间进行移植培养的菌种保藏方法。

3.5

液体石蜡保藏法 preservation under liquid paraffin

亦称矿物油保藏法,是定期移植保藏法的改良方法。是指将菌种接种在适宜的斜面培养基或半固

体培养基上,最适条件下培养至对数生长期后注入灭菌的液体石蜡,使其覆盖整个斜面或半固体,再通常直立放置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 进行保存的一种菌种保藏方法。

3.6

沙土管保藏法 sand preservation

属于载体保藏法的一种,是指将培养好的菌种用无菌水制成悬浮液,注入灭菌的沙土管中混合均匀,或直接将菌苔或孢子刮下接种于灭菌的沙土管中,使其吸附在载体上,将管中水分抽干后熔封或石蜡封口,置干燥器中于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 进行保存的一种菌种保藏方法。

3.7

低温冷冻保藏法 cryopreservation

将菌种保藏在 $-60\text{ }^{\circ}\text{C}\sim -80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温冰箱中以减缓其生理活动的一种菌种保藏方法。

3.8

冷冻干燥保藏法 freeze-drying preservation

亦称冻干法,是在无菌条件下将欲保藏的菌种制成悬浮液后冻结,在真空条件下使冰升华直至干燥,从而使微生物的生理活动趋于停止而长期维持存活状态的一种菌种保藏方法。

4 基本原则

4.1 应针对菌种的生物学性状选择适宜方法进行保藏。

4.2 应使保藏的菌种不染杂菌,使退化和死亡降低到最低限度。

4.3 应保证菌种保藏的安全性,不能对周围环境造成污染和危害。病原微生物菌(毒)种的保藏应遵从 GB 19489 和 WS 233 以及《病原微生物实验室生物安全管理条例》、《人间传染的病原微生物菌(毒)种保藏机构管理办法》的规定,根据病原微生物的危害类别在相应生物安全等级的实验室开展工作,且应加强个体防护和环境保护。

5 方法

5.1 定期移植保藏法

按附录 A 的规定。

5.2 液体石蜡保藏法

按附录 B 的规定。

5.3 沙土管保藏法

按附录 C 的规定。

5.4 低温冷冻保藏法

按附录 D 的规定。

5.5 冷冻干燥保藏法

按附录 E 的规定。

附录 A
(规范性附录)
定期移植保藏法

A.1 适用范围

本方法广泛适用于细菌、放线菌、酵母、真菌等的短期保藏。

A.2 原理

保藏培养基一般含有机氮多,糖分总量不超过 2%,既能满足菌种培养时生长繁殖的需要,又可防止因产酸过多而影响菌种性能。大多数在低温条件下保藏可大大减缓菌种的代谢活动,抑制繁殖速度,降低突变频率,延长菌种保藏时间。

A.3 技术要求

A.3.1 不同菌种应根据要求选择合适的培养基。

A.3.2 接种时要求无菌操作,避免污染。

A.3.3 保藏期间要定期检查菌种存放的房间、冰箱、冷库等的温度、湿度,不可使培养基干枯,如发现异常应重新移植培养。

A.3.4 在传代过程中,将保藏菌种在营养贫乏和丰富的新鲜培养基中作交替培养,有利于保持菌种的优良特性。

A.3.5 每次移植培养后,应与原保藏菌株及其登记卡片(包含菌株名称、编号、所用培养基等信息)逐个对照,检查无误后再存放。

A.3.6 保藏菌种的移植不宜频繁,每次移植时,数量可以多一些,以延长使用期。

A.4 方法与步骤

A.4.1 培养基制备

按 GB/T 4789.28 和 SN/T 1538.1 执行,常用菌种保藏培养基的配方参见附录 F。

A.4.2 接种

A.4.2.1 斜面接种

A.4.2.1.1 点接

用接种环把菌种点接在斜面中部偏下方处。适用于扩散型生长及绒毛状气生菌丝类霉菌(如:毛霉、根霉等)。

A.4.2.1.2 中央划线

用接种环从斜面中部自下而上划一直线。适用于细菌和酵母菌等。

A.4.2.1.3 稀波状蜿蜒划线法

用接种环从斜面底部自下而上划稀“之”字形线。适用于易扩散的细菌,也适用于部分真菌。

A.4.2.1.4 密波状蜿蜒划线法

用接种环从斜面底部自下而上划密“之”字形线。能充分利用斜面获得大量菌体细胞,适用于细菌和酵母菌等。

A.4.2.1.5 挖块接种法

用接种铲挖取菌丝体连同少量琼脂培养基,转接到新鲜斜面上。适用灵芝等担子菌类真菌。

A.4.2.2 穿刺接种

用接种针从原菌种斜面上挑取少量菌苔,从半固体培养基中心自上而下刺入,直到接近管底(勿穿到管底),然后沿原穿刺途径慢慢抽出接种针。适用于细菌和酵母菌等。

A.4.2.3 液体接种

挑取少量固体斜面菌种或用无菌滴管等吸取原菌液接种于新鲜液体培养基中。

A.4.3 培养

将接种后的培养基放入培养箱中,在适宜的条件下培养至良好状态。

A.4.4 保藏

A.4.4.1 保藏温度

培养好的菌种于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 6\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,有些菌种(如:部分弧菌、假单胞菌等) $4\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 6\text{ }^{\circ}\text{C}$ 容易死亡,适于 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 室温保藏。

A.4.4.2 保藏湿度

通常相对湿度为 $50\%\sim 70\%$ 。

A.4.5 定期移植

定期移植的间隔时间,因微生物种类不同而异。一般不产生芽孢的细菌间隔较短,需1周~2周,最长一个月移植一次。放线菌、酵母菌和丝状真菌间隔时间较长,每4个月~6个月移植一次即可。对于某些菌种(如:芽裂酵母,阿舒假囊酵母,棉病囊霉等),应1个月~3个月移植一次。按相应的间隔时间将保藏菌种转接到新鲜培养基中,在适宜条件下培养。

附录 B

(规范性附录)

液体石蜡保藏法

B.1 适用范围

本方法适用于不能分解液体石蜡的酵母菌、某些细菌(如:芽孢杆菌属、乙酸杆菌属等)和某些丝状真菌(如:青霉属、曲霉属等),而某些细菌(如:固氮菌、乳酸杆菌、明串珠菌、分枝杆菌、红螺菌及沙门氏菌等)和一些真菌(如:卷霉菌、小克银汉霉、毛霉、根霉等)不宜采用此法进行保存。

B.2 原理

液体石蜡保藏法可作为定期移植保藏法的辅助方法。在液体石蜡覆盖下,菌种的生物代谢受到抑制,细胞老化被推迟。此方法可阻止氧气进入,使需氧菌不能继续生长,也可防止因培养基的水分蒸发而引起的菌体死亡,达到延长菌种保藏时间的目的。

B.3 技术要求

B.3.1 菌种培养按附录 A 的规定。

B.3.2 应选用优质化学纯液体石蜡。

B.3.3 液体石蜡易燃,在操作时注意防止火灾。

B.3.4 应在生物安全柜中用电子式火焰灭菌器对移种过培养物的接种环灭菌,以防止液体石蜡燃烧造成飞溅。

B.3.5 保藏场所应保持干燥,防止胶塞污染。

B.3.6 保藏期间应定期检查,如培养基露出液面,应及时补充无菌液体石蜡。

B.4 方法与步骤

B.4.1 液体石蜡的准备

将液体石蜡分装加胶塞,用牛皮纸包好,采用以下两种方式进行灭菌:

- 121 °C 湿热灭菌 30 min,置 40 °C 恒温箱中蒸发水分,经无菌检查后备用;
- 160 °C 干热灭菌 2 h,冷却后,经无菌检查后备用。

B.4.2 斜面培养物的制备

按附录 A 的规定。

B.4.3 灌注石蜡

无菌条件下将灭菌的液体石蜡注入刚培养好的斜面培养物上,液面高出斜面顶端 1 cm~2 cm,加胶塞并用固体石蜡封口,使菌种与空气隔绝。

B.4.4 保藏

将注入石蜡油的菌种斜面直立存放于低温(4℃~6℃)干燥处或室温下保存,见 A.4.4.1。保藏时间为2年~10年不等。保藏期间应定期检查活力及杂菌情况。

B.4.5 恢复培养

恢复培养时,挑取少量菌种转接在适宜的新鲜培养基上,生长繁殖后,再重新转接一次。

附录 C

(规范性附录)

沙土管保藏法

C.1 适用范围

本方法适用于产孢类放线菌、芽孢杆菌、曲霉属、青霉属以及少数酵母(如:隐球酵母和红酵母等),不适用于病原性真菌的保藏,特别是不适于以菌丝发育为主的真菌的保藏。

C.2 原理

利用细沙土创造的干燥条件,使那些能产生孢子或芽孢的微生物,在干燥环境中代谢活动减缓,繁殖速度受到抑制,抵抗力强,不易死亡。此方法可减少菌株突变,延长存活时间。

C.3 技术要求

C.3.1 菌种培养按附录 A 的规定。

C.3.2 沙和土过筛后应按适当比例混匀、灭菌、烘干后方可备用。

C.3.3 菌种可制成浓的菌或孢子悬液加入沙土管,放线菌和真菌也可直接刮下孢子与沙土混匀。

C.3.4 菌种保藏期间应定期检查活力及杂菌情况。

C.4 方法与步骤

C.4.1 沙土管制备

将河、海沙用 60 目过筛,弃去大颗粒及杂质,再用 80 目过筛,去掉细沙。用吸铁石吸去铁质,放入容器中用 10% 盐酸浸泡,如河沙中有机物较多可用 20% 盐酸浸泡。24 h 后倒去盐酸,用自来水浸泡数次至中性,将沙子烘干或晒干。另取未被污染的地表以下土壤用 100 目过筛,自来水洗至中性,烘干。按沙:土=2:1 混合均匀,分装入安瓿管或小试管中,高度为 1 cm 左右,塞好棉塞,121 °C 高压灭菌 1 h~1.5 h,或常压间歇灭菌 3 次、每天每次 1 h。在 50 °C 以下烘干(温度不宜过高,否则土壤有机质被高温分解后,产生有害物质,影响菌种性能),经检查无微生物生长方可使用。

C.4.2 斜面培养物的制备

按附录 A 的规定。

C.4.3 制备菌悬液

向培养好的斜面培养物中注入 3 mL~5 mL 无菌水,洗下菌落或孢子制成菌悬液。用无菌吸管吸取菌悬液,均匀滴入沙土管中,每管 0.2 mL~0.5 mL。放线菌和霉菌可直接挑取孢子拌入沙土管中。

C.4.4 干燥

将有菌悬液的沙土管放入底部盛有干燥剂的干燥器内,用真空泵抽真空 4 h,至沙土粒疏散不结团

为止。

C.4.5 纯培养检查

从做好的沙土管中,按 10:1 比例抽查。无菌条件下用接种环取出少量沙土粒,接种于适宜的固体培养基上,培养后观察其生长情况和有无杂菌生长。如出现杂菌或菌落数很少,或根本不长,则应进一步抽样检查。

C.4.6 保藏

将纯培养检查合格的沙土管用火焰熔封管口,存放于低温(4℃~10℃)或常温干燥处,定期检查活力及杂菌情况。用此方法保藏时间为 2 年~10 年不等。

C.4.7 复活

复活时在无菌条件下打开沙土管,取部分沙土粒于适宜的斜面培养基上,长出菌落后再转接一次,也可取沙土粒于适宜的液体培养基中,增殖培养后再转接斜面。

附录 D
(规范性附录)
低温冷冻保藏法

D.1 适用范围

本方法适用于大多数需要长期保藏的细菌、真菌、放线菌、病毒等。

D.2 原理

大多数微生物可在 $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 及以下的低温中保藏。通过低温,使微生物代谢活动停止。一般而言,冷冻温度愈低,效果愈好。

D.3 技术要求

D.3.1 为了获得满意的冷冻效果,应在培养物中加入一定的冷冻保护剂。

D.3.2 冷冻保藏时,要掌握好冷冻速度和解冻速度。

D.3.3 注意低温冰箱的故障和停电事故,可以在低温槽内留有一定的空间,如果发生使低温冰箱温度变化的情况,可加入干冰以防止培养物融化。

D.3.4 融化后的菌种不能再用低温保存,应重新移种后再冷冻保藏。

D.4 方法与步骤

D.4.1 冻存管的准备

将 2.0 mL 冻存管(圆底硼硅玻璃安瓿管或螺旋式塑料管)清洗干净, $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下高压灭菌 $15\text{ min}\sim 20\text{ min}$,备用。也可使用商品化的菌种保存管。注意冻存管不能有裂纹。

D.4.2 保护剂的准备

保护剂种类要根据微生物类别选择,一般采用无菌的 $10\%\sim 20\%$ 甘油或脱脂奶粉,或 10% 二甲亚砜。

D.4.3 培养物的准备

微生物不同的生理状态对存活率有影响,一般使用对数生长中后期培养物。菌种的准备可采用下列几种方法:

- a) 刮取培养物斜面上的孢子或菌体,与保护剂混匀后加入冻存管内;
- b) 接种液体培养基,振荡培养后取菌悬液与等体积的保护剂混匀后分装于冻存管内,或者用 $\phi 5\text{ mm}$ 的无菌玻璃珠来吸附菌液,然后把玻璃珠置于冻存管内;
- c) 将培养物在平皿培养,形成菌落后,用无菌打孔器从平板上切取一些大小均匀的小块(直径约 $5\text{ mm}\sim 10\text{ mm}$),真菌最好取菌落边缘的菌块,与保护剂混匀后加入冻存管内;
- d) 在安瓿管中装 $1.2\text{ mm}\sim 2\text{ mm}$ 的琼脂培养基,接种菌种,培养 $2\text{ d}\sim 10\text{ d}$ 后,加入保护剂,待保藏。

D.4.4 冷冻保藏

将含菌种的冻存管插入保藏塑料盒中置于 $-60\text{ }^{\circ}\text{C}\sim-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温冰箱中保藏,保藏期间应定期检查活力及杂菌情况。保藏周期一般1年~5年。

D.4.5 复苏方法

从冰箱中取出菌种冻存管,应立即置 $37\text{ }^{\circ}\text{C}\sim40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴中轻轻摇动,直到溶化为止。开启冻存管,将内容物移接至适宜的培养基培养。

附录 E
(规范性附录)
冷冻干燥保藏法

E.1 适用范围

本方法适用于保藏大多数细菌、放线菌、病毒、噬菌体、立克次体、霉菌和酵母等,但不适于保藏不产孢子的丝状真菌等。

E.2 原理

冷冻干燥保藏法是在低温、干燥、缺氧条件下保藏菌种。即在低温条件下快速地将菌种冻结,使微生物保持完整,然后减压抽真空使冰升华直至脱水干燥,并在真空状态密封隔绝空气,使微生物代谢活动停止,得以长期保藏。

E.3 技术要求

E.3.1 应使用冷冻保护剂,以防止冷冻干燥过程和保存期间微生物的损伤和死亡。

E.3.2 应选用最适条件的培养物,菌龄控制在稳定期,此期对外界抵抗能力强,容易忍耐冷冻和干燥的环境。

E.3.3 菌悬液浓度要足够高,以弥补因冷冻干燥过程中部分死亡而造成浓度下降。

E.3.4 盛装菌悬液的安瓿管应尽快冷冻,以防菌体沉淀而致菌悬液不均匀以及微生物的再次生长或萌发孢子。

E.3.5 应掌握好冷冻温度及干燥速度。

E.3.6 融化后的菌种不能再用低温保存,应重新移种后再冻干保藏。

E.4 方法与步骤

E.4.1 安瓿管的准备

选用中性玻璃制作的安瓿管,规格为 8 mm×100 mm。将安瓿管洗净,并用 2% 盐酸浸泡过夜,用蒸馏水洗干净后烘干。瓶内放入印有菌号和日期的标签,塞上棉塞,121 °C 灭菌 30 min 后置 60 °C 烘箱中干燥备用。

E.4.2 保护剂的准备

保护剂采用低分子和高分子化合物及一些天然化合物,其中以高分子和低分子化合物混合使用效果最好。冷冻干燥法常用保护剂及配方见表 E.1。

表 E.1 冷冻干燥法常用保护剂及配方

名称	配方
脱脂牛奶	脱脂牛奶(或奶粉)20%,110℃灭菌 20 min
脱脂牛奶-谷氨酸钠	脱脂牛奶 10%,谷氨酸钠 1%
血清	马血清,过滤除菌
血清-葡萄糖	马血清 400 mL,葡萄糖 30 g,0.2 μm 过滤除菌
干燥合剂	马血清 300 mL,牛肉膏 0.5 g,蛋白胍 0.8 g,葡萄糖 30 g,蒸馏水 100 mL,0.2 μm 过滤除菌

E.4.3 斜面培养物的制备

按附录 A 的规定。

E.4.4 菌悬液的制备

在无菌条件下,先将少量灭菌保护剂加入培养物斜面,轻轻刮下稳定期的菌苔或成熟的孢子,制成菌悬液。一般细菌浓度为 10^7 /mL~ 10^8 /mL,孢子浓度为 10^6 /mL 以上为宜。用毛细滴管取 0.1 mL~0.2 mL 菌悬液加入灭菌安瓿管底部,注意不要溅污上部管壁,塞好棉塞。若是液体培养的微生物,应离心去除培养基,然后将培养物与保护剂混匀,再分装于安瓿管中。分装时间要短,在 1 h~2 h 内分装完毕。

E.4.5 预冻

将装有菌悬液的安瓿管预冻 2 h 以上,冷冻温度达到 -15℃ ~ -20℃ 即可。

E.4.6 冷冻干燥

到达冷冻温度后,立即启动冷冻真空干燥机的真空泵,在 15 min 内使真空度达到 66.66 Pa。真空度上升至 13.33 Pa 以上,升高温度至室温(20℃ ~ 30℃)。在真空状态下,让安瓿管保存在冷冻真空干燥机中至少 16 h,以获得完全干燥。

E.4.7 熔封安瓿

干燥后,在 2.67 Pa~4.00 Pa 的真空度下,将安瓿管颈部用强火焰拉细熔封。

E.4.8 测真空度

熔封后的安瓿管采用高频电火花真空测定仪测定真空度,如管内出现蓝色光则符合要求,若是红色光说明尚未真空。

E.4.9 保藏

安瓿管应低温避光保藏,在 4℃ ~ 5℃ 温度下可保藏 5 年~10 年,室温下保藏效果不佳, -20℃ ~ -70℃ 可长期稳定保藏。保藏期间应定期检查活力和杂菌情况,一般保存半年、2 年、5 年、10 年分别检查一次。

E.4.10 复苏方法

从冰箱中取出安瓿管,用 75%酒精棉球擦拭安瓿管上部,用火焰加热其顶端,滴少量无菌水至加热

顶端使之破裂,用无菌锉刀或镊子敲下已破裂的安瓿管顶端,加入 0.5 mL~1 mL 无菌水或培养液溶解菌块,用无菌吸管移接到新鲜培养基上作适宜培养。

E. 4. 11 冷冻干燥保藏法操作流程

见图 E. 1。

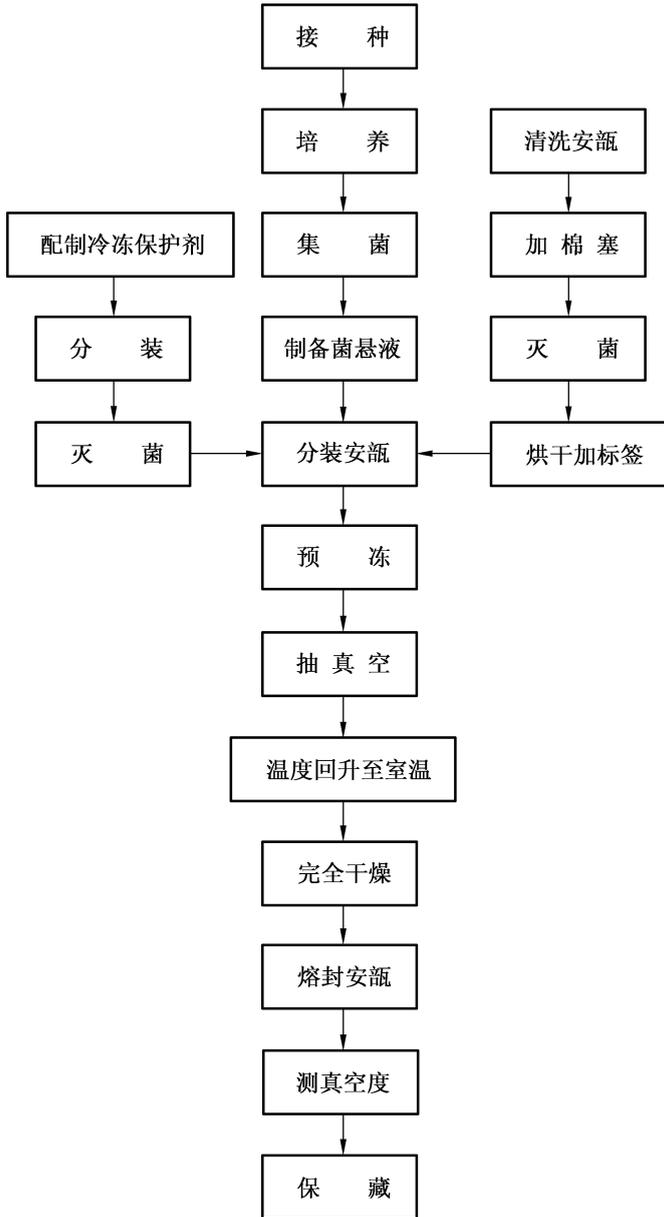


图 E. 1 冷冻干燥保藏法操作流程

附录 F

(资料性附录)

常用菌种保藏培养基

F.1 营养琼脂

F.1.1 成分

蛋白胨	10 g
牛肉膏	3 g
氯化钠	5 g
琼脂	15 g~20 g
蒸馏水	1 000 mL

F.1.2 制法

将除琼脂以外的各成分溶解于蒸馏水内,加入 15%氢氧化钠溶液约 2 mL,校正 pH 至 7.2~7.4。加入琼脂,加热煮沸,使琼脂溶化。分装,121 °C 高压灭菌 15 min。

F.1.3 用途

用于需氧菌的保藏。

F.2 土浸出液琼脂

F.2.1 成分

蛋白胨	5 g
牛肉膏	3 g
琼脂	15 g
土壤浸出液	1 000 mL

F.2.2 制法

首先制备土壤浸出液,即取干燥去杂石的土壤 400 g 加入 960 mL 自来水中,121 °C 高压灭菌 30 min。棉布初滤,再用滤纸过滤。再次 121 °C 灭菌 20 min。滤液用于配制培养基。滤液中加入蛋白胨、牛肉膏和琼脂加热溶化。分装,121 °C 高压灭菌 20 min。

F.2.3 用途

最宜于芽孢杆菌的保藏。

F.3 MRS 培养基

F.3.1 成分

蛋白胨	10.0 g
-----	--------

牛肉膏	5.0 g
酵母膏	4.0 g
葡萄糖	20.0 g
吐温-80	1.0 mL
磷酸氢二钾	2.0 g
乙酸钠	5.0 g
柠檬酸三铵	2.0 g
硫酸镁	0.2 g
硫酸锰	0.05 g
琼脂	15.0 g
蒸馏水	1 000 mL

F.3.2 制法

将上述成分加入蒸馏水中,加热溶解,校正 pH6.2~6.6,分装后 121 °C 高压灭菌 15 min~20 min。

F.3.3 用途

用于乳酸杆菌的保藏。

F.4 番茄汁培养基

F.4.1 成分

酵母膏	10 g
碳酸钙(CaCO ₃)	15 g
蛋白胨	10 g
琼脂	11 g
番茄汁滤液(pH7.0)	200 mL
蒸馏水	800 mL

F.4.2 制法

番茄汁滤液的制法是将新鲜番茄洗净,切碎(切勿捣碎),放入三角烧瓶,置 4 °C 冰箱 8 h~12 h,取出后用纱布过滤即成。如一次使用不完,可将其置入 0 °C 冰箱,可保存 4 个月。使用时让其在常温下自然溶解。

番茄汁培养基的制法是将所有成分加入烧杯中,加热溶解,校正 pH6.8±0.2。分装烧瓶,高压灭菌 121 °C 15 min~20 min。临用时加热溶化琼脂,冷至 50 °C 时使用。

F.4.3 用途

用于乳酸杆菌的保藏。

F.5 乙酸杆菌保藏培养基

F.5.1 成分

蛋白胨	5 g
-----	-----

葡萄糖	20 g
肝浸液	100 mL
碳酸钙(CaCO_3)	10 g
琼脂	20 g
蒸馏水	900 mL

F.5.2 制法

肝浸液的制备方法是称取牛肝,切碎,加水 2 L,加热煮沸 3 h,过滤。

乙酸杆菌保藏培养基的制法是将上述所有成分加入烧杯中,加热溶解后分装烧瓶,121 °C 高压灭菌 15 min~20 min。

F.5.3 用途

用于乙酸杆菌的保藏。

F.6 高氏合成培养基

F.6.1 成分

可溶性淀粉	20 g
氯化钠	0.5 g
硝酸钾	1 g
硫酸铁($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.01 g
磷酸氢二钾	0.5 g
硫酸镁($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.5 g
琼脂	20 g
蒸馏水	1 000 mL

F.6.2 制法

将上述所有成分加入烧杯中,加热溶解,校正 pH7.2~pH7.4。分装烧瓶,121 °C 高压灭菌 15 min~20 min。

F.6.3 用途

用于放线菌的保藏。

F.7 麦芽浸汁琼脂

F.7.1 成分

麦芽浸膏	25 g
琼脂	15 g
蒸馏水	1 000 mL

F.7.2 制法

上述成分混匀,121 °C 高压灭菌 10 min 后备用。

F.7.3 用途

可用于观察酵母产生子囊孢子及保藏。

F.8 玉米粉琼脂培养基(CMA)

F.8.1 成分

玉米粉	60 g
琼脂	15 g~18 g
蒸馏水	1 000 mL

F.8.2 制法

将玉米粉加入蒸馏水中,搅匀,文火煮沸 1 h,纱布过滤,加琼脂后加热溶化,补足水量至 1 000 mL。分装,121 °C 灭菌 20 min。

F.8.3 用途

假丝酵母、霉菌的鉴定和保藏。

F.9 马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)

F.9.1 成分

马铃薯(去皮切块)	300 g
葡萄糖	20 g
琼脂	20 g
蒸馏水	1 000 mL

F.9.2 制法

将马铃薯去皮切块,加 1 000 mL 蒸馏水,煮沸 10 min~20 min。用纱布过滤,补加蒸馏水至 1 000 mL。加入葡萄糖和琼脂,加热溶化,分装,121 °C 高压灭菌 20 min。

F.9.3 用途

霉菌的分离培养和保藏。

F.10 察氏培养基

F.10.1 成分

硝酸钠	3 g
磷酸氢二钾	1 g
硫酸镁(MgSO ₄ · 7H ₂ O)	0.5 g
氯化钾	0.5 g
硫酸亚铁	0.01 g
蔗糖	30 g

琼脂	20 g
蒸馏水	1 000 mL

F. 10.2 制法

加热溶解,分装后 121 °C 灭菌 20 min。

F. 10.3 用途

青霉、曲霉鉴定及保藏。

F. 11 菠菜-胡萝卜琼脂

F. 11.1 成分

菠菜	20 g
胡萝卜	20 g
琼脂	20 g
蒸馏水	1 000 mL

F. 11.2 制法

将菠菜和胡萝卜洗净切碎后加入 1 000 mL 蒸馏水中,煮沸 1 h 过滤,滤液中加入琼脂后加热溶化,补足水量至 1 000 mL。分装,121 °C 灭菌 15 min。

F. 11.3 用途

主要用于毛霉的保藏。

中华人民共和国出入境检验检疫
行 业 标 准
微生物菌种常规保藏技术规程
SN/T 2632—2010

*

中国标准出版社出版
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

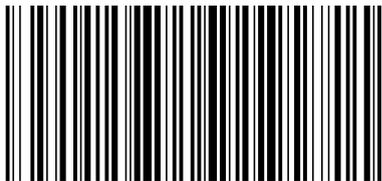
电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

*

开本 880×1230 1/16 印张 1.5 字数 33 千字
2010年11月第一版 2010年11月第一次印刷
印数 1—1 600

*



SN/T 2632-2010