

## 厌氧菌的培养方法

厌氧菌在有氧的情况下不能生长。要培养厌氧菌，必须创造一个无氧的环境。通常培养基中加入还原剂，或用物理、化学方法去除环境中的游离氧，以降低氧化还原电势。常用的厌氧培养方法有很多种，如疱肉培养基、厌氧罐法、厌氧袋法、厌氧手套箱法等。天美今天为大家介绍几种常用的厌氧菌培养方法。

### 一、疱肉培养基法

疱肉培养基法是最简单的厌氧培养法之一，无需特殊设备。将疱肉和肉汤装入大试管，在液面加入凡士林封闭，从而造成无氧环境。在使用前最好将装有培养基的试管沸水浴 10-20min，以使培养基中溶解的氧释放出来。

### 二、厌氧罐法

厌氧罐法是目前应用较广泛的一种厌氧培养方法，是用物理化学的方法使缸内造成厌氧环境，从而进行厌氧菌的培养。厌氧罐法又分为以下两种：

#### 1、抽气换气法

该法适用于一般实验室，其特点是较经济，可迅速建立厌氧环境。标本接种后，将平板放入厌氧罐，拧紧盖子，用真空泵抽出罐中空气，使压力真空表至 -79.98KPa，停止抽气，充入高纯氮气使压力真空表指针回 0 位。连续反复 3 次，最后在罐内 -79.98KPa 的情况下，充入 70% 的  $N_2$ 、20%  $H_2$ 、10%  $CO_2$  (或 20%  $CO_2$ 、80%  $H_2$ )。罐中需放入冷催化剂钯粒，可催化罐中残余的  $O_2$  和  $H_2$  化合成水。同时罐中应放有美蓝指示管，美蓝在有氧的环境下呈蓝色，无氧时为红色。临用前首先将美蓝煮沸使变成无色，放入罐中先呈浅蓝色，待罐中无氧环境形成，美蓝即可持续无色。

#### 2、气体发生袋法

气体发生袋系由锡箔密封包装，其中含有两种药片，一种为含枸橼酸和重碳酸氢钠的药片，另一种是含有硼氢化钠的药片。前者遇水放出二氧化碳，后者可释放氢。使用时在袋的右上角剪一小口，灌进 10ml 蒸馏水，立即放入含有钯粒、指示剂及平板培养基的厌氧罐中，拧紧盖子。经 2-3 分钟后，可感到盖子微热并有少量水蒸气出现。密封后 1 小时左右罐中的  $O_2$  的含量可低于 1%。

### 三、厌氧袋法

厌氧袋法即在塑料袋内造成厌氧环境来培养厌氧菌。该方法不需要特殊设备，操作简单，使用方便，不但实验室中可用，而且外出采样，现场接种等也可用。原理与 07)

气体发生袋法完全相同，只是采用塑料袋代替了厌氧罐，气袋为一透明而密闭的塑料袋，内装有气体发生管（有硼氢化钠的碳酸氢钠固体以及 5% 柠檬酸安瓿）、美兰指示剂管、钯催化剂管、干燥剂。其操作方法为首先将接种的平板培养基放入袋中，尽量挤出袋内空气，然后密封袋口。然后先折断气体发生管，20 分钟后再折断美兰指示剂管，如果指示剂不变蓝色，说明袋内达到厌氧状态，即可放入 37℃ 进行培养。

#### 四、厌氧手套箱法

厌氧手套箱是一整套系统，是最佳的厌氧菌培养法，通常用于厌氧细菌的大量培养研究。厌氧手套箱是一个密闭的大型箱，一般前部是有机玻璃做的透明面板，板上装有两个手套，可通过手套在箱内进行操作。厌氧手套箱可调节温度，本身是孵育箱或孵育箱即附在其内，还可放入解剖显微镜便于观察厌氧菌菌落。使用时应严格遵守操作规程，保证箱内气体比例合理。

美国 COY 厌氧手套箱有多种材质可选，通过钯催化剂催化氢氧反应去除氧气，厌氧箱包括箱体、催化剂、催化风箱、气锁室等，以及多种可选配件如氢氧分析仪、内置培养箱、显微镜观察窗、除湿装置、除硫化氢装置等，可提供严格的厌氧培养环境及舒适便利的操作方式，是实验室厌氧菌培养的最佳选择。



图一 乙烯膜厌氧手套箱



图二 聚碳酸酯厌氧手套箱



图三 铝制厌氧手套箱

欢迎咨询天美公司COY厌氧手套箱相关事宜！

如有任何其它相关问题，请随时联系天美（中国）科学仪器有限公司。