

---

## 厌氧培养箱的应用案例之厌氧菌的生长

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。通常用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。如庖肉培养基、硫基乙酸钠培养基，牛心脑浸液培养基等。常用的厌氧培养方法有许多，可根据实际情况选用。

1. 厌氧缸法接种好标本的平板或液体培养基试管，可放入厌氧缸内培养，厌氧缸是普通的干燥缸，用物理化学的方法使缸内造成厌氧环境，从而将厌氧菌培养出来。

2. 厌氧袋(Bio-bag)即在塑料袋内造成厌氧环境来培养厌氧菌。塑料袋透明而不透气，内装气体发生管(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。放入已接种好的平板后，尽量挤出袋内空气，然后密封袋口。先折断气体发生管，后折断美兰指示剂管，命名袋内在半小时内造成无气环境。如不突变表示袋内已达厌氧状态，可以孵育。

3. 厌氧手套箱(Anaerobic glove box)即厌氧培养箱，是迄今为止国际上公认的培养厌氧菌佳仪器之一。它是一个密闭的大型金属箱，箱的前面有一个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，故名。箱侧有一交换室，具有内外二门，内门通箱内先关着。欲放物入箱，先打开外门，放入交换室，关上外门进行抽气和换气( $H_2$ ,  $CO_2$ ,  $N_2$ )达到厌氧状态，然后手伸入手套把交换室内门打开，将物品移入箱内，关上内门。箱内保持厌氧状态，也是利用充气中的氢在钯的催化下和箱中残余氧化合成水的原理。该箱可调节温度，本身是孵箱或孵箱即附在其内，还可放入解剖显微镜便于观察厌氧菌菌落，这种厌氧箱适于作厌氧细菌的大量培养研究，大量培养基可放入作预还原和厌氧性无菌试验。金属硬壁型厌氧箱的抽气、充气、厌氧环境和温度等均系自动调节。

4. 厌氧盒：原理同厌氧袋，有成品销售。

5. 生物耗氧法：在一密闭的容器内放以生物(多是植物)，消耗氧气，同时产生二氧化碳，供细菌生长用。我没见过。

6. 焦性末食子酸法：在一洁净的玻璃片上铺上纱布或滤纸，均匀撒上焦性末食子酸，然后再混入 $NaHCO_3$ 粉末或 $NaOH$ 溶液，迅速将已接种细菌的平板倒扣在上面，用融化的白蜡封边，造成一个封闭空间。焦性末食子酸与碱反应后耗氧。该法用于厌氧不严格的厌氧菌的培养，简单。如有梭状芽孢杆菌。

7. 庖肉培养基：本身就是一个不需特殊设备的厌氧培养法。庖肉和肉汤装入大试管，液面封凡士林，造成无氧环境。

---

操作室厌氧环境形成：按使用要求放置好必要的配件和器具，并向操作室内放入二个无毒塑料袋。通电源开照明灯，开控温仪，调节所需温度及安全温度。操作室内放入 1000g 钯粒(封闭)和 500g 干燥剂,并放入美兰指示剂(封闭)。关紧取样室内外门，并抽真空校验。操作室内第一次置换（氮气置换）：先用橡皮管插入操作室内进气口，另一头插入塑料袋。接通氮气进气路，打开氮气控制阀，使二只塑料袋充足氮气，然后扎紧袋口。把乳胶手套套在观察板法兰圈上并扎紧。把塑料袋内氮气渐渐地放于操作室内，至全部放出。操作室第二次置换（氮气置换）重复一次充氮过程，并注意随时用脚踏开关开闭排气。操作室第三次置换（混合气体置换）：（混合气体配比为：N<sub>2</sub> ↑ 85% H<sub>2</sub> ↑ 10% CO<sub>2</sub> ↑ 5%）调换气路打开混合气道通阀门进气，充气时要随时脚踏开关开闭排气。混合气充满塑料袋后，关掉混合气直通阀(三通阀),使混合气经过流量计输入操作并调整流量计,流量为每分钟 10 毫升左右。把塑料袋内混合气渐渐排于操作室内。通过三次换气后，操作室内气体含氧量已处于极微量状态。操作室内打开钯粒除氧剂，接通除氧催化器电源进行催化除氧，一 小时后打开美兰指示剂（美兰安瓶）观察其变色情况，不变色为操作室内达到厌氧环境。开紫外线灭菌灯，室内进行灭菌处理。灭菌时间自定。

厌氧培养箱注意事项：尽可能地安装于空气清静，温度变化较小的地方。开机前应全面熟悉和了解各组成配套仪器、仪表的说明书、掌握正确的使用方法。培养物放入必须是在操作室内达到绝对厌氧环境后放入。如发生故障（停气等原因）操作室内仍可保持 12 小时厌氧状态。（超过 12 小时则根据需要把培养物取出另作处理）。经常注意气路有无漏气现象。调换气瓶时，注意要扎紧气管，避免流入含氧气体。真空泵按要求使用，定期检查加油。停止使用，关闭总电源键，及设备后部的电源开关。

YQX-II 厌氧培养箱是一种在无氧环境条件下进行细菌培养及操作的专用装置。它能提供严格的厌氧状态恒定的温度培养条件和具有一个系统化、科学化的工作区域。在本装置内操作培养，可以培养难生长的厌氧生物，又能避免以往厌氧生物在大气中操作时接触氧而死亡的危险性。因此本装置是厌氧生物检测科研的理想工具。本装置也是一物多用的良好仪器，如改变操作方式，为微需氧菌的生长繁殖提供良好的生长条件。

资料来源：杭州川一实验仪器有限公司