

抑菌圈实验说明

老顾整理

抑菌圈法是衡量杀菌防霉剂效果的一种方式，主要用于测定杀菌防霉剂对细菌、霉菌、酵母菌的抑菌作用，是定性或半定量的方法。

1. 原理

利用抑菌剂不断溶解经琼脂扩散形成不同浓度梯度，以显示其抑菌作用。试验通过抑菌环大小以判断其是否具有抑菌能力。

2. 用具和材料

2.1 器材：培养皿，无菌吸管（或针筒），圆片滤纸（直径 2cm），带玻璃珠的无菌水，带过滤漏斗的三角瓶，镊子，接种针（环），微量移液器（5 μ l~50 μ l，可调式）、游标卡尺、熔化状态的琼脂培养基（最好保温于 45℃ 左右水浴中）。

2.2 待测的药剂（配制一定浓度）。

2.3 供试菌株

霉菌（8 株）：

黑曲霉 (*Aspergillus niger*)

黄曲霉 (*Aspergillus flavus*)

变色曲霉 (*Aspergillus versicolor*)

上海万厚生物科技有限公司

桔青霉(*Penicillium citrinum*)

宛氏拟青霉(*Pacilomyces varioti*)

腊叶芽枝霉(*Cladosporium herbarum*)

绿色木霉(*Trichoderma viride*)

球毛壳霉(*Chaetomium globasum*)

细菌 (5 株):

枯草芽胞杆菌(*Bacillus subtilis*)

巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)

大肠杆菌(*Escherichia coli*)

荧光假单胞杆菌(*Pseudomonas fluorescens*)

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)

酵母 (2 株):

啤酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)

酒精酵母(*Kloeckeria Janke*)

3. 试验过程

3.1 用接种环挑取各试管斜面的菌株于带玻璃珠的无菌水中,用手振荡数分钟使孢子分散,过滤后制成混合孢子悬液。

3.2 用无菌吸管(或针筒)向各培养皿中注入一定浓度的混合孢子悬浮液 0.5mL。

上海万厚生物科技有限公司

3.3 向各培养皿内注入 15ml~20ml 的熔化状琼脂培养基（约 45℃），将菌液与培养基混合均匀，待其冷却。

3.4 抑菌片的制备：对液体抑菌剂，取无菌并干燥的滤纸片。每片滴加不同使用浓度抑菌剂溶液 20μl，然后将滤纸片平放于清洁的无菌平皿内，开盖置温箱（37℃）中烤干，或置室温下自然干燥后备用。

3.5 用镊子将圆片滤纸（抑菌片），取出置于带菌培养基平板的中央，盖上盖子。

3.6 置适宜温度，培养 2~3d 观察滤纸片圆片周围抑菌圈的有无及大小。

4. 注意事项

4.1 所有的操作用具和材料都要事先做灭菌处理，操作必须在无菌室（或无菌箱）内于火焰旁进行。

4.2 霉菌、细菌、酵母菌等各种微生物都必须分别配置混合菌液，即这里指的混合菌液是霉菌或酵母菌等诸种菌的分别混合液，并非霉菌、细菌和酵母菌的混合液。

4.3 混合菌液的浓度一般为 $10^6 \sim 10^8$ cfu/mL。

4.4 倒入培养皿的琼脂培养基温度不能太高（一般为 45℃ 左右），否则会引起微生物死亡。也不能太低，因为琼脂会很快凝结，以致搅拌不均匀，影响试验结果。

4.5 各种微生物的最适生长温度不同（例如霉菌一般为 25~30℃，细菌

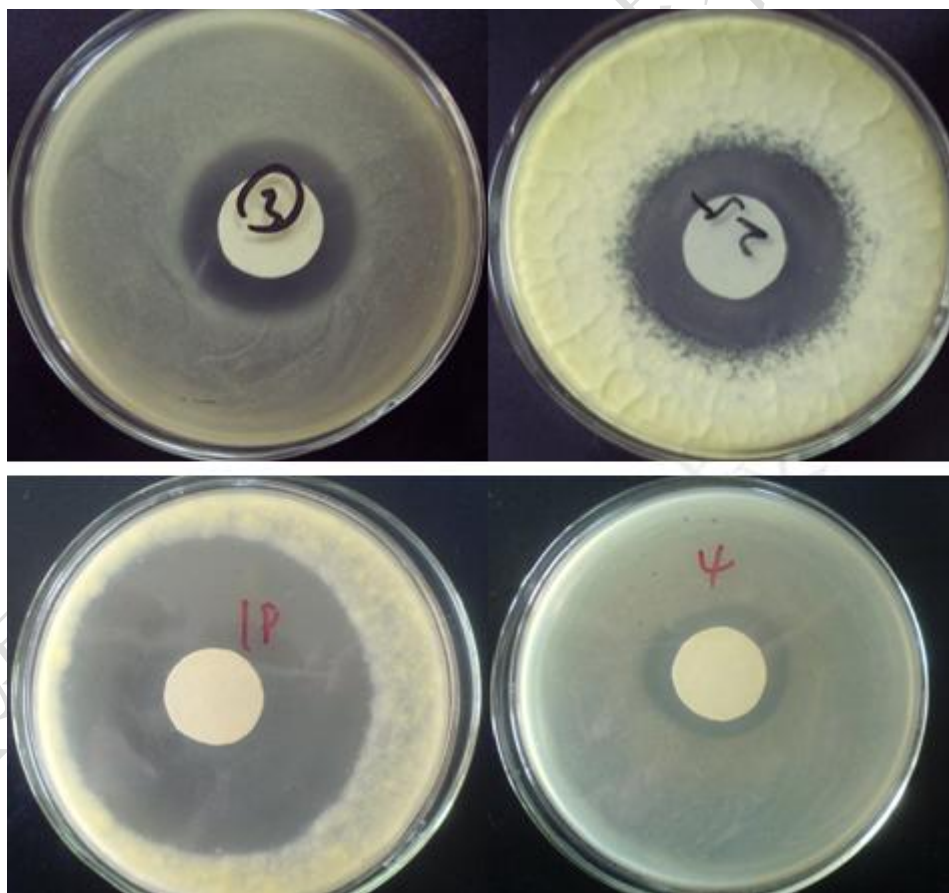
上海万厚生物科技有限公司

一般为 32~37℃ 等), 恒温培养时宜分开放置。

5. 结果评判

由于滤纸圆片所吸附的药液慢慢向四周扩散, 因此在滤纸片的周围就出现清晰的抑菌圈 (加入该防霉剂对供试菌有抑制效果)。抑菌圈的大小代表药剂抗菌力的高低。在一定的药剂浓度范围内, 药剂的浓度越高则抑菌圈的直径越大。此法同样适合于测定单个菌的抗菌效果。

附图:



上海万厚生物科技有限公司