

琼脂在微生物培养基中用量的科学表示法的探讨

陈 宏 伟

(克山师范专科学校生物系 克山 161601)

关键词: 培养基, 琼脂, 硬度, 表示方法, 凝胶强度

中图分类号: Q93-335 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654(2000)05-0384-02

琼脂(Agar)是微生物固体和半固体培养基中最常用的性能优良的凝固剂。琼脂的化学成分是聚半乳糖的硫酸酯^[1], 根据其分散相质点的性质, 它属于弹性凝胶, 性质介于固体与液体之间, 当其在凝胶状态时, 显示出固体的一些力学性质, 具有一定的弹性、强度和硬度等特性, 这些特性在形成凝胶所需最低浓度值至形成干凝胶的范围内, 随琼脂在介质中含量的增加而增加^[2,3]。衡量其硬度的标准是凝胶强度(Gel strength)这个物理量(又称为豚力强度), 即将琼脂配成1.5%的溶液, 在温度为20℃, 凝胶厚度为3cm, 长、宽各在小于或等于10cm的条件下, 在20s的时间内凝胶所能承受的最大重量, 以g/cm²来表示^[4]。目前在各种教材和技术研究报告中均以琼脂的重量占培养基体积(g/mL)的百分含量来表示琼脂在培养基中的用量。而生产琼脂的不同厂家或同一厂家的不同批号生产出的琼脂的凝胶强度, 都存在着一定差异, 有的甚至差异很大, 不可能完全相同。琼脂在培养基中用量的多少, 直接影响着培养基的硬度, 也影响着物质的扩散和微生物对物质的吸收, 以及微生物的运动、微生物的生长和形态特征等^[5-7]。所以在微生物培养基中用琼脂占总培养基体积的百分含量来表示琼脂的用量, 不能严格准确地体现出培养基实际的硬度, 这将直接影响着微生物的某些特征和某些实验的技术操作。所以我认为应该用凝胶强度来表示培养基的硬度。

凝胶强度是衡量琼脂质量的一个重要指标, 市场上销售检验合格的琼脂都标有凝胶强度。如青岛水产品加工厂生产的250g瓶装的试剂级琼脂粉的凝胶强度标为“300g/cm²以上”; 广州白云山制药厂生产的250g

瓶装的琼脂粉的凝胶强度标为“700g/cm²”。我们用250g瓶装, 凝胶强度标为“300g/cm²以上”的琼脂粉配成琼脂百分含量不同的牛肉膏蛋白胨培养基^[8]和水琼脂凝胶, 将其制成1×1×1cm³的凝胶块, 测定其凝胶强度。经多次实验测定表明, 在pH6~7.5, 室温条件下, 琼脂的凝胶强度随介质中琼脂的百分含量的增加而增加, 且琼脂含量在0.3%~2.5%之间时, 凝胶强度与琼脂含量成线性关系, 而且培养基中其他成份对凝胶强度的影响不明显。见图1。

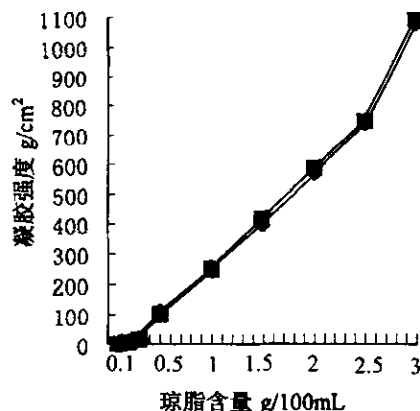


图1 琼脂百分含量与凝胶强度的关系

由于固体、半固体培养基中琼脂的常用量在这个线性比例之间, 所以根据凝胶强度的定义可导出计算实际使用的培养基中所需琼脂量的公式:

$$\frac{W_0}{W} = \frac{P_0}{P} \text{ 即 } \frac{1.5\% \times V}{W} = \frac{P_0}{P}$$

$$\text{所以可导出 } W = \frac{PV}{P_0} \times 1.5\%$$

式中:

W_0 : 琼脂出厂时测定凝胶强度所用的琼脂重量 (g)

P_0 : 所用琼脂的凝胶强度 (g / cm²)

W: 所需琼脂的重量 (g)

P: 所需配制培养基的凝胶强度 (g / cm²)

V: 所需配制培养基的体积 (mL)

用于培养微生物的固体培养基的琼脂用量常为 1.5%~2%^[9,10], 而半固体培养基的琼脂用量则各家说法不一^[5,6,8~10], 这样琼脂在培养基中用量的多少就要依据琼脂质量的不同而定了。我们经多次实验认为, 固体培养基的适宜凝胶强度为 250~450g / cm²之间, 这样硬度的固体培养基, 既有利于物质的扩散和微生物对物质的吸收, 又有一定的硬度, 有利于划线、涂布和影印等技术的操作。而半固体培养基的适宜凝胶强度在 90g / cm²左右, 这样的培养基既可以凝固而不流动, 又不影响菌体的运动, 用手轻轻敲打试管即可使培养基破碎^[10]。

所以如果配制培养基所用琼脂的凝胶强度 P_0 为 300g / cm², 制备凝胶强度 P 为 250g / cm² 的培养基 1000mL, 则需加入琼脂的重量 W 为:

$$W = \frac{PV}{P_0} \times 1.5\% = \frac{250 \times 1000}{300} \times 1.5\% = 12.5\text{g}$$

如果配制培养基所用琼脂的凝胶强度 P_0 为 700g / cm², 制备凝胶强度 P 为 250g / cm² 的培养基 1000mL, 则需加入该琼脂的重量 W 为:

$$W = \frac{PV}{P_0} \times 1.5\% = \frac{250 \times 1000}{700} \times 1.5\% = 5.4\text{g}$$

由此可以看出, 同样配制 1000mL, P 为 250g / cm² 的培养基, 所需 2 种不同的琼脂的量是不同的, 如果这时还按培养基体积的百分比 (1.5%~2%) 加入琼脂的话, 则至少还需多加入 9.6g 的琼脂, 这样就造成了不必要的浪费, 而且还影响营养物质的扩散和微生物对营

养物质吸收利用, 培养基的透明度, 以及微生物产生色素的扩散等。在半固体培养基中造成的影响就更大, 甚至造成错误的实验结果等现象。所以在制备培养基时, 可以根据上述公式计算出所需琼脂的量 (因产品质量不同琼脂的实际凝胶强度有可能与产品标明的不符, 在实际工作中要酌情增加一些)。这样既方便又准确; 既科学又合理; 既不影响物质的扩散, 又不影响微生物对营养物质的吸收; 既达到了凝固的目的, 又不至于造成不必要的浪费, 尤其在配制半固体培养基时, 不必因不同厂家或不同批号生产的琼脂而多次试验所需琼脂的量, 直接按公式计算所需凝胶强度即可得出实际所需琼脂的量。

上述方法, 经多年实验, 效果较好, 供同行们参考使用。

参 考 文 献

- [1] 周德庆著. 微生物学教程. 北京: 高等教育出版社, 1993, 118~119.
- [2] 周祖康, 顾锡人, 马季铭编著. 胶体化学基础. 北京: 北京大学出版社, 1987, 318~321.
- [3] 吉林大学, 四川大学编. 物理化学与胶体化学. 北京: 人民教育出版社, 1980, 394~456.
- [4] 马同江, 杨冠著. 新编食品添加剂手册. 北京: 农村读物出版社, 1989, 222.
- [5] 厦门大学生物学系微生物学教研室译, (美) Philipp Gerhardt 主编. 普通细菌学方法手册. 厦门: 厦门大学出版社, 1989, 189~196.
- [6] 白毓谦, 方善康等. 微生物实验技术. 济南: 山东大学出版社, 1987, 118~119.
- [7] 方佩静, 姜淑珍, 叶绪慰. 微生物学通报, 1999, 26(1): 45~47.
- [8] 范秀容, 李广武, 沈 萍. 微生物学实验. 北京: 高等教育出版社, 1989, 260~261.
- [9] 武汉大学, 复旦大学. 微生物学. 北京: 高等教育出版社, 1987, 171.
- [10] 中国科学院微生物研究所细菌分类组. 一般细菌常用鉴定方法. 北京: 科学出版社, 1978, 102, 141.