



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106929391 A

(43)申请公布日 2017.07.07

(21)申请号 201710219671.0

(22)申请日 2017.04.06

(71)申请人 大连理工大学

地址 116024 辽宁省大连市高新园区凌工
路2号

(72)发明人 吕阳 胡光耀 韩秀友 袁文杰

(74)专利代理机构 大连星海专利事务所 21208

代理人 花向阳 杨翠翠

(51)Int.Cl.

C12M 1/00(2006.01)

C12Q 1/02(2006.01)

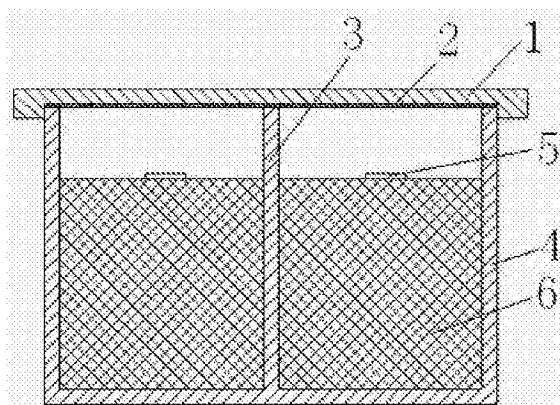
权利要求书1页 说明书4页 附图4页

(54)发明名称

一种预测室内空气微生物污染潜在性的热湿响应装置及其制作方法

(57)摘要

一种预测室内空气微生物污染潜在性的热湿响应装置及其制作方法,属于空气环境生物污染预测领域。本发明包括装置及其制作方法,该装置包含了两个塑料小室,半透膜,PDA培养基及一定量、一定浓度的枝孢属、青霉属真菌孢子悬浮液。该装置设计简洁,使用方便,极大的减少了使用者检测室内空气微生物污染潜在性的不便。装置设置了只能透过空气的半透膜,不会产生二次污染的现象。制作方法包括了菌株的活化、真菌孢子悬浮液的配制及接种、仪器的消毒处理等步骤,该方法简洁高效,具有较高的精确度,可进行大批量生产。



1. 一种预测室内空气微生物污染潜在性的热湿响应装置,它包括一个设有中隔板(3)的箱体(4)和盒盖(1),其特征是:它还包括一个半透膜(2)、真菌菌落(5)和PDA培养基(6),所述PDA培养基(6)放在中隔板(3)两侧的箱体(4)中,在PDA培养基(6)上平面的中间位置放置真菌菌落(5),然后用半透膜(2)封贴在箱体(4)的口部,盖上盒盖(1)。

2. 根据权利要求1所述的一种预测室内空气微生物污染潜在性的热湿响应装置的制作方法,其特征是:步骤如下:

(a) 本发明装置的两株菌株购买于中国工业微生物菌种保藏管理中,冻干管形式的菌种置于 4℃温度条件下保存;

(b) 实验前,使用75%医用酒精擦拭安瓿管表面消毒,在对安瓿管封口进行烧热处理时,采用无菌水滴在封口使其破裂;

(c) 以移液枪吸取 0.5ml液体培养基于安瓿管中将干燥菌体全部溶解,吸出并放入盛有 4-5ml 液体培养基的试管中,在 28℃的最佳温度下静置1-2天,培养2-3代以恢复其活力;

(d) 使用八层纱布过滤法,真菌孢子和水分子可以通过纱布滤出,进而将液体培养基中菌丝体去除,最终形成均匀分布的真菌孢子悬浮液;

(e) 使用血球计数板等仪器,确保接种的真菌孢子悬浮液浓度为 10^6 孢子/ml;

(f) 各接种100μL的枝孢属、青霉属孢子悬浮液于装置两个小室的PDA培养基上,培养基配方:马铃薯 200克,葡萄糖 20克,琼脂15-20克,自来水 1000毫升,自然PH,接种后使用半透膜密封,允许空气进入并防止真菌孢子逸出,并加装盒盖进行密封,置于 4℃温度条件下保存,最长保存时间为1个月;

(g) 在装置制作过程中,对实验材料及仪器分别采用了高温蒸汽灭菌锅处理、隔离空气包裹、75%医用酒精浸泡、酒精灯外焰灼烧等方法进行杀菌,实验的整个过程均在垂直层流洁净工作台中的无菌环境下操作完成。

一种预测室内空气微生物污染潜在性的热湿响应装置及其制作方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种预测室内空气微生物污染潜在性的热湿响应装置及其制作方法，属于空气环境生物污染预测领域。

技术背景

[0002] 目前室内空气污染状况不容乐观，随着人们生活水平的不断进步，对于室内空气质量的要求也越来越高。目前各种生物污染疫情在全球范围内接连出现，空气微生物污染问题日益成为人们关注的焦点，在当前污染形势严峻的前提下，预测室内空气微生物污染显得十分重要。人们每天大约80%-90%的时间是在室内度过的，因此室内环境对于人们身体健康和生活质量有着极大的影响。特别是随着中央空调系统在大型建筑中的广泛运用，使建筑物密闭程度增加，置换通风的次数减少，室内的微生物在适宜的生长环境下将会大量繁殖，严重影响室内环境，危害人体健康，极易引起呼吸道系统疾病和各种过敏症状等。

[0003] 关于室内空气微生物检验方法，国家“GB/T 18204.3-2013公共场所卫生检验方法”规定了两种方法，撞击法与自然沉降法，但无论是使用空气微生物采样器采样，还是使用平板沉积法进行采集，采集后均需进行实验室培养采集样本，且仪器成本高，耗费时间长，不适用于有需要的一般家庭使用。

发明内容

[0004] 为解决目前预测空气微生物污染潜在性缺乏相关研究应用的现状，本发明提供一种预测室内空气微生物污染潜在性的热湿响应装置及其制作方法。该热湿响应装置结构简单，制作和使用方便。针对日趋严重的建筑室内生物污染问题，在已进行热湿响应实验的基础上，预测室内环境中潜在的滋生微生物污染的可能性，为建筑生物安全问题提供污染风险预测。

[0005] 本发明的采用技术方案是：一种预测室内空气微生物污染潜在性的热湿响应装置，它包括一个设有中隔板的盒体和盒盖，它还包括一个半透膜、真菌菌落和PDA培养基，所述PDA培养基放在中隔板两侧的盒体中，在PDA培养基上平面的中间位置放置真菌菌落，然后用半透膜封贴在盒体的口部，盖上盒盖。

[0006] 所述的一种预测室内空气微生物污染潜在性的热湿响应装置的制作方法步骤如下：

(a) 本发明装置的两株菌株购买于中国工业微生物菌种保藏管理中，冻干管形式的菌种置于 4℃温度条件下保存；

(b) 实验前，使用75%医用酒精擦拭安瓿管表面消毒，在对安瓿管封口进行烧热处理时，采用无菌水滴在封口使其破裂；

(c) 以移液枪吸取 0.5ml液体培养基于安瓿管中将干燥菌体全部溶解，吸出并放入盛有 4-5ml 液体培养基的试管中，在 28℃的最佳温度下静置1-2天，培养2-3代以恢复其活

力;

(d) 使用八层纱布过滤法,真菌孢子和水分子可以通过纱布滤出,进而将液体培养基中菌丝体去除,最终形成均匀分布的真菌孢子悬浮液;

(e) 使用血球计数板等仪器,确保接种的真菌孢子悬浮液浓度为 10^6 孢子/ml;

(f) 各接种100 μ L的枝孢属、青霉属孢子悬浮液于装置两个小室的PDA培养基上,培养基配方:马铃薯 200克,葡萄糖 20克,琼脂15-20克,自来水 1000毫升,自然PH,接种后使用半透膜密封,允许空气进入并防止真菌孢子逸出,并加装盒盖进行密封,置于 4℃温度条件下保存,最长保存时间为1个月;

(g) 在装置制作过程中,对实验材料及仪器分别采用了高温蒸汽灭菌锅处理、隔离空气包裹、75%医用酒精浸泡、酒精灯外焰灼烧等方法进行杀菌,实验的整个过程均在垂直层流洁净工作台中的无菌环境下操作完成。

[0007] 本发明的有益效果是:这种预测室内空气微生物污染潜在性的热湿响应装置包括一个设有中隔板的箱体、盒盖、半透膜、真菌菌落和PDA培养基,、PDA培养基放在中隔板两侧的箱体中,在PDA培养基上平面的中间位置放置真菌菌落,然后用半透膜封贴在盒体的口部,盖上盒盖。该装置针对于建筑室内生物污染,使用建筑室内优势微生物作为指示菌种,以建筑内复杂多变的环境因子为影响微生物繁殖的参数,采用了简洁高效的发明装置,提出了一种预测微生物污染的新方法,极大地提高了家庭用预测室内空气生物污染潜在性的可行性,缩短了检测周期,降低了检测成本,可进行大批量生产,且装置的设计避免了二次污染的产生。

附图说明

[0008] 图1是一种预测室内空气微生物污染潜在性的热湿响应装置的结构图。

[0009] 图2是20℃、不同相对湿度(RH)下,枝孢属菌落直径随时间的变化图。

[0010] 图3是25℃、不同相对湿度(RH)下,枝孢属菌落直径随时间的变化图。

[0011] 图4是30℃、不同相对湿度(RH)下,枝孢属菌落直径随时间的变化图。

[0012] 图5是20℃、不同相对湿度(RH)下,青霉属菌落直径随时间的变化图。

[0013] 图6是25℃、不同相对湿度(RH)下,青霉属菌落直径随时间的变化图。

[0014] 图7是30℃、不同相对湿度(RH)下,青霉属菌落直径随时间的变化图。

[0015] 图中:1、盒盖,2、半透膜(允许空气进入,防止真菌孢子逸出)3、隔板,4、箱体,5、真菌菌落,6、PDA培养基。

具体实施方式

[0016] 以下参照附图对本发明作进一步描述。

[0017] 图1示出了一种预测室内空气微生物污染潜在性的热湿响应装置的结构图。这种预测室内空气微生物污染潜在性的热湿响应装置包括一个设有中隔板3的箱体4、盒盖1、半透膜2、真菌菌落5和PDA培养基6。PDA培养基6放在中隔板3两侧的箱体4中,在PDA培养基6上平面的中间位置放置真菌菌落5,然后用半透膜2封贴在箱体4的口部,盖上盒盖1。

[0018] 一种预测室内空气微生物污染潜在性的热湿响应装置的制作方法步骤如下:

(a) 本发明装置的两株菌株购买于中国工业微生物菌种保藏管理中,冻干管形式的菌

种置于 4℃温度条件下保存；

(b) 实验前,使用75%医用酒精擦拭安瓿管表面消毒,在对安瓿管封口进行烧热处理时,采用无菌水滴在封口使其破裂；

(c) 以移液枪吸取 0.5ml液体培养基于安瓿管中将干燥菌体全部溶解,吸出并放入盛有 4-5ml 液体培养基的试管中,在 28℃的最佳温度下静置1-2天,培养2-3代以恢复其活力；

(d) 使用八层纱布过滤法,真菌孢子和水分子可以通过纱布滤出,进而将液体培养基中菌丝体去除,最终形成均匀分布的真菌孢子悬浮液；

(e) 使用血球计数板等仪器,确保接种的真菌孢子悬浮液浓度为 10^6 孢子/ml；

(f) 各接种100μL的枝孢属、青霉属孢子悬浮液于装置两个小室的PDA培养基上,培养基配方:马铃薯 200克,葡萄糖 20克,琼脂15-20克,自来水 1000毫升,自然PH,接种后使用半透膜密封,允许空气进入并防止真菌孢子逸出,并加装盒盖进行密封,置于 4℃温度条件下保存,最长保存时间为1个月；

(g) 在装置制作过程中,对实验材料及仪器分别采用了高温蒸汽灭菌锅处理、隔离空气包裹、75%医用酒精浸泡、酒精灯外焰灼烧等方法进行杀菌,实验的整个过程均在垂直层流洁净工作台中的无菌环境下操作完成。

[0019] 这种预测室内空气微生物污染潜在性的热湿响应装置的使用方法：

该装置实测布点要求按照国家“GBT 18204.3-2013公共场所卫生检验方法”自然沉降法布点要求进行布置。使用时开启盒盖,放置于室内环境空间144h后,肉眼观察或尺规测量形成的菌落直径,热湿响应实验相对最不利生长环境(20℃,相对湿度45%)下,枝孢属培养后的菌落直径为2.1cm,青霉属菌落培养后的菌落直径为1cm,以此为界定值。若两株真菌菌落直径均没有超过此数值,则该建筑室内中潜在的滋生微生物的可能性较小；若两株真菌菌落直径有一个超过此数值,则该建筑室内中存在一定的潜在的滋生微生物的可能性；若两株真菌菌落直径均超过此数值,则该建筑室内中存在较高的潜在的滋生微生物的可能性,需要注意是否需要采取相应的污染控制措施。

[0020] 采用上述的技术方案,以界定建筑室内空气环境中是否易于滋生微生物污染。该装置选取了室内空气中常见的真菌微生物——青霉属、枝孢属,作为污染潜在性指示菌种,菌株购买于中国工业微生物菌种保藏管理中(CICC),菌株保藏编号分别为:枝孢属(2665)、青霉属(40279)。以青霉属、枝孢属热湿响应实验的菌落数据为基础,由热湿实验结果可知,当温度为20℃,相对湿度为45%,培养时间144h时,实验条件中相对最不利条件下,枝孢属培养后的菌落直径为2.1cm,青霉属菌落培养后的菌落直径为1cm。为界定建筑室内环境中是否存在潜在的污染可能性,选择实验条件中相对最不利条件下,枝孢属菌落直径2.1cm以及青霉属菌落直径1cm作为两个典型值。

[0021] 确定该装置中初始接种的真菌量与热湿响应实验接种的真菌类相同是至关重要的(10^6 孢子/ml,100μL)。利用八层纱布过滤法配制真菌孢子悬浮液,最终形成可均匀分布的真菌孢子悬浮液,使用血细胞计数器等确保浓度与热湿实验浓度基本相同。在装置左右小室中倒入适当PDA培养基,并各移液100μL枝孢属、青霉属真菌孢子悬浮液,用半透膜封住,半透膜只允许空气进入装置,而阻隔真菌产生的孢子逸出,装置放置于建筑室内中,根据装置中真菌的生长情况,界定室内环境中滋生微生物污染的可能性。该装置可以在家用

冰箱冷藏室中储存一段时间,提高了装置在家庭中应用的便利性。

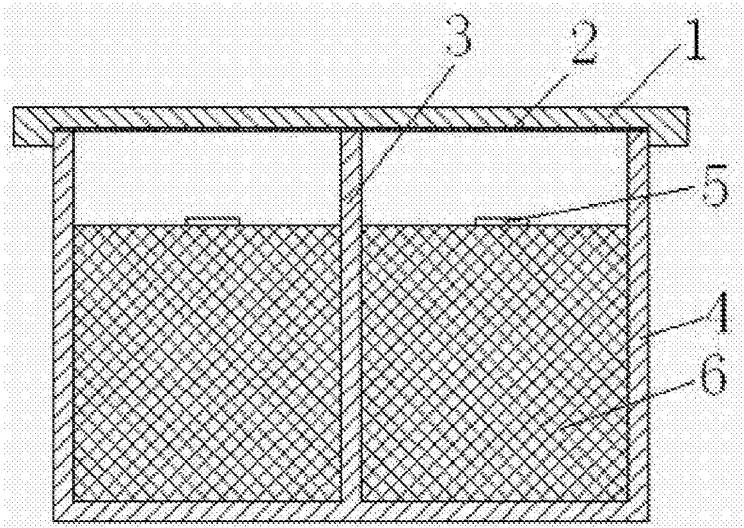


图1

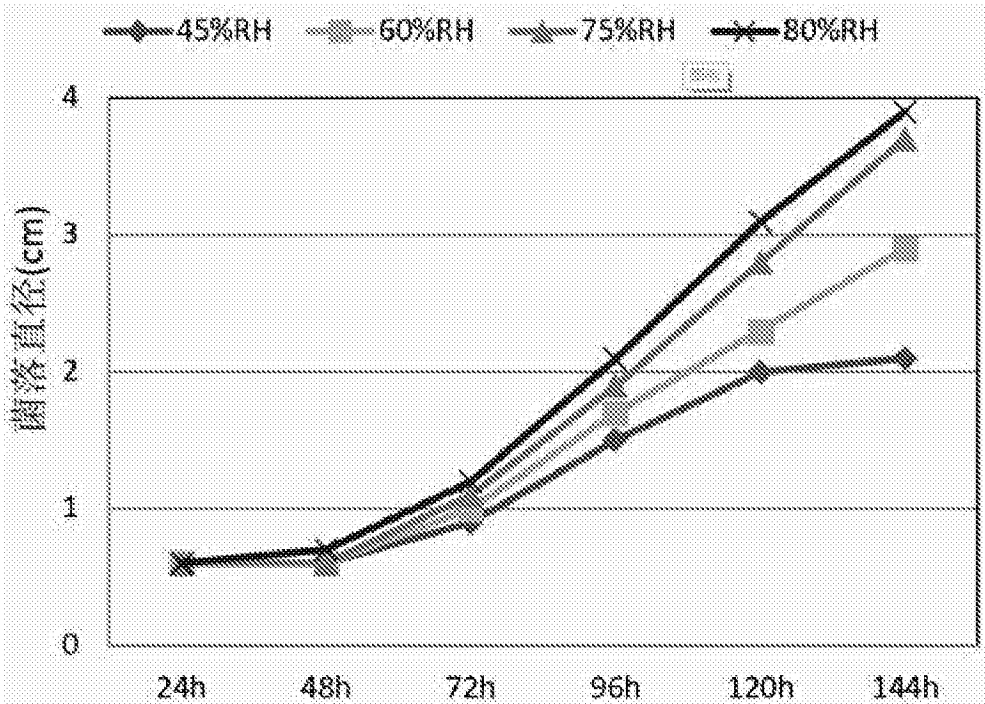


图2

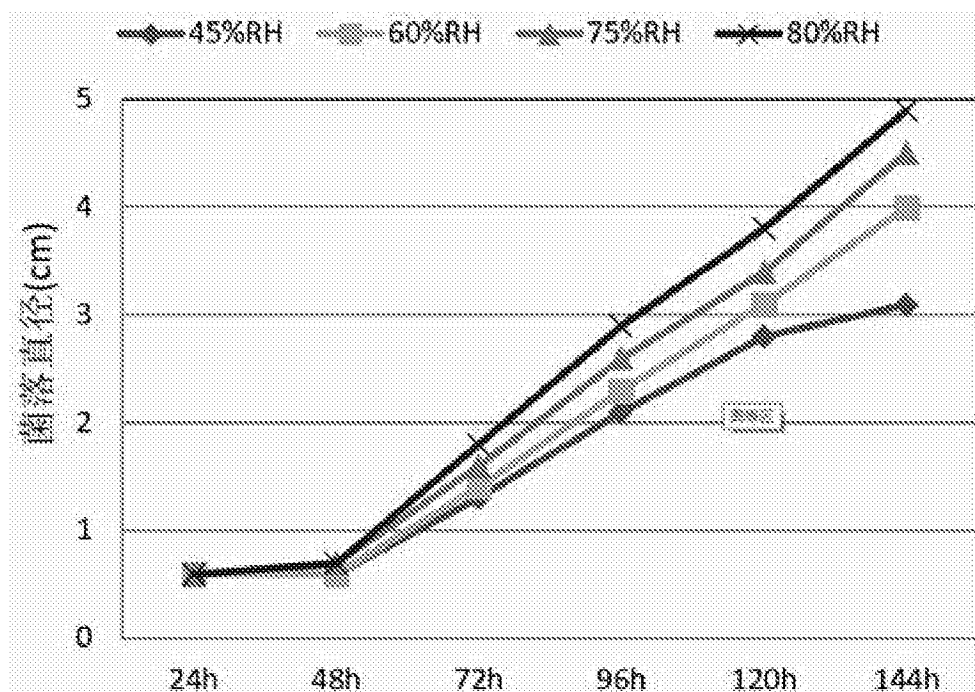


图3

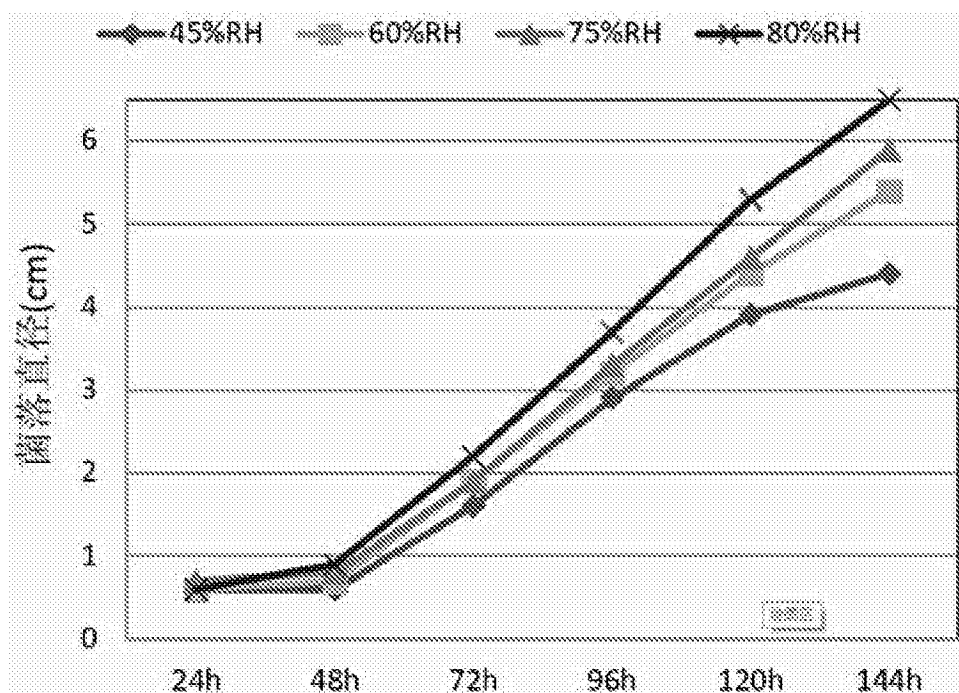


图4

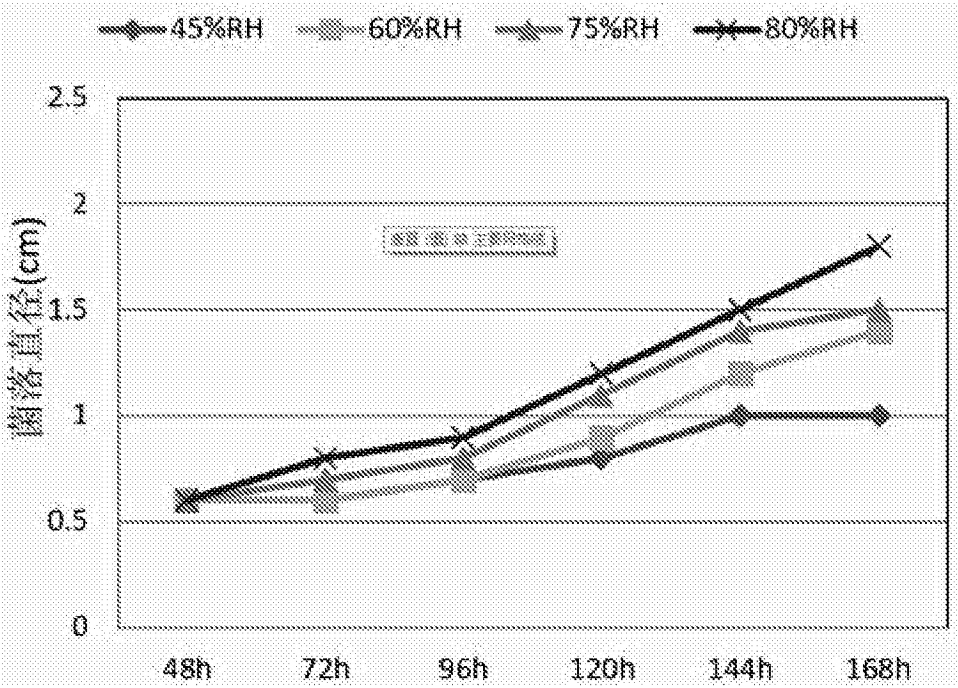


图5

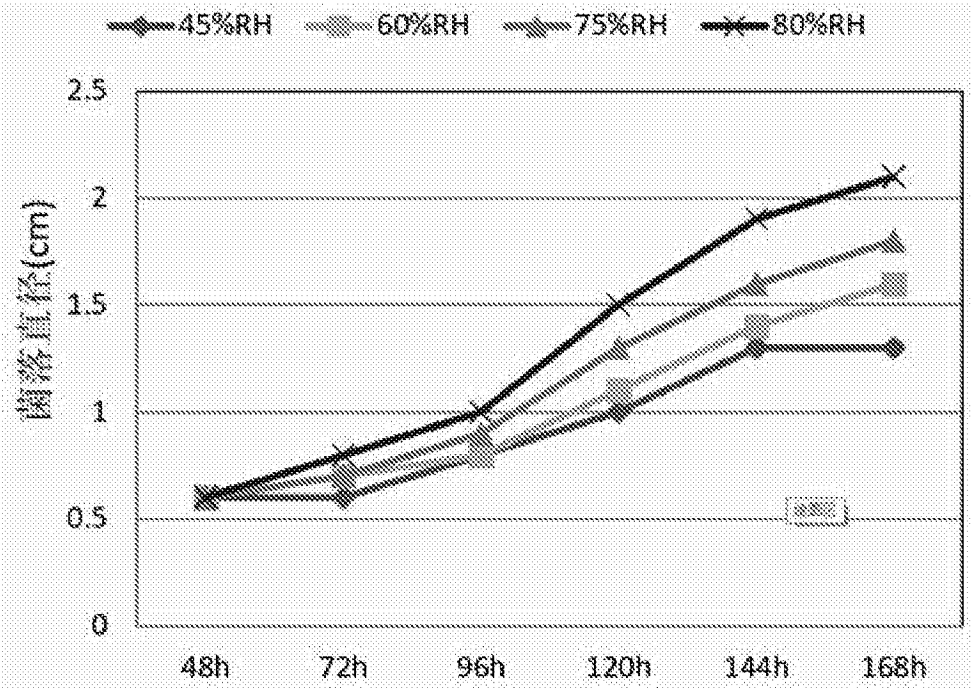


图6

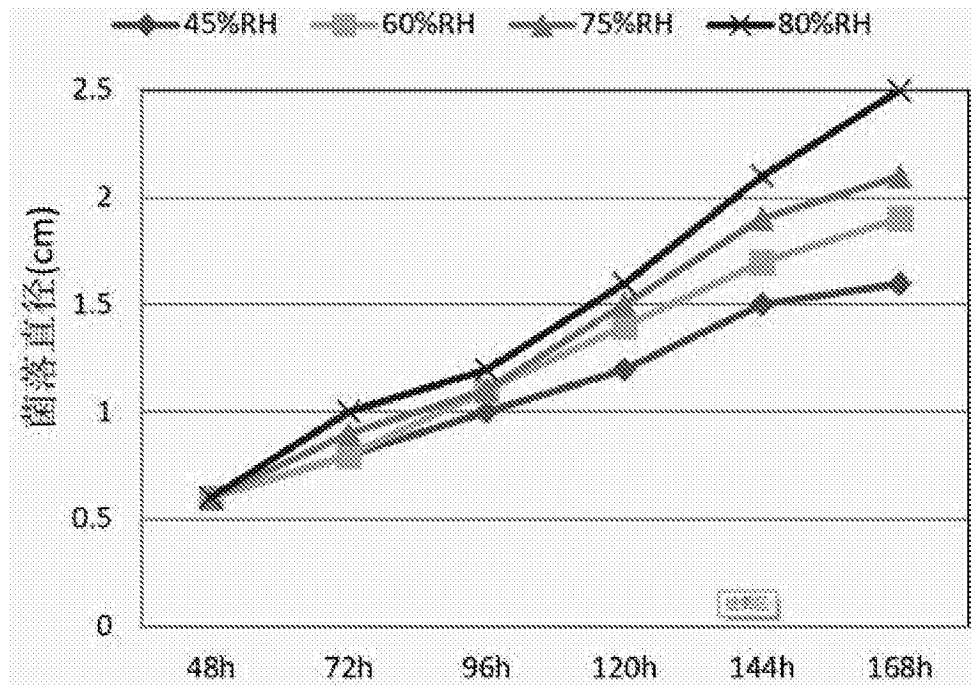


图7