

DOI: 10.14188/j.ajsh.20241203001

# 一种新型全自动菌种保藏真空封管机的研发和利用

蒋利<sup>1</sup>, 李育霖<sup>1</sup>, 方辉<sup>2</sup>, 彭方<sup>1\*</sup>

(1. 武汉大学 生命科学学院/中国典型培养物保藏中心, 湖北 武汉 430072;

2. 武汉超熔激光科技有限公司, 湖北 武汉 430205)

**摘要:** 冷冻真空干燥保藏法(简称冻干法)是专业机构保藏菌种使用最多的方法,冻干法制备的菌种冻干管可以不受低温制约,在储藏成本和运输成本上相较于冷冻保藏法具有显著优势,是菌种长期安全保藏可靠的保障。近年来,中国菌种资源开发和保藏量急剧上升,传统人工制备冻干管的方法已经不能满足大量菌株的保藏,制约了微生物保藏机构的发展。本研究设计制造了一款全自动菌种保藏真空封管机(简称封管机)。封管机由操作软件系统、机械臂系统、真空系统和热熔系统组成,实现了冻干管全自动化、标准化的制备,真空熔封冻干管的速度达到33 s/支,每管真空度5~30 kPa,合格率达到100%,其工作效率和稳定性均优于传统人工方法。其实用性和安全性受到全国多家保藏机构的认可,并已经逐步推广使用。封管机的面世解决了冻干管制备中的自动化问题,在菌种保藏领域实现跨越式的工艺创新升级,为微生物资源安全和高效的保藏提供了保障。

**关键词:** 菌种保藏;冷冻真空干燥管;全自动菌种保藏真空封管机

中图分类号: Q93

文献标志码: A

文章编号: 2096-3491(2025)04-0397-06

## Development and utilization of a new type of fully automatic vacuum sealing machine for microbial strain preservation

Jiang Li<sup>1</sup>, Li Yulin<sup>1</sup>, Fang Hui<sup>2</sup>, Peng Fang<sup>1\*</sup>

(1. College of Life Sciences/China Center for Type Culture Collection, Wuhan University, Wuhan 430072, Hubei, China;

2. Wuhan Cron Laser Technology Co., Ltd., Wuhan 430205, Hubei, China)

**Abstract:** Freeze vacuum drying preservation method (freeze-drying method) is the most commonly used method for microbial strain preservation by professional institutions. The freeze-drying tubes are not limited by low temperature, and have advantages in storage and transportation costs compared to freezing method. It is a reliable guarantee for the long-term safe preservation of strains. In recent years, the development and preservation of strains in China have risen sharply. The traditional manual method of preparing freeze-drying tubes can no longer meet the needs of preserving a large number of strains, which has restricted the development of strain preservation institutions. This research designed and manufactured an automatic vacuum sealing machine (sealing machine) for strain preservation. The sealing machine is composed of a operating software system, a mechanical arm system, a vacuum system, and a hot-melt system, achieving fully automated and standardized preparation of freeze-drying tubes. The speed of vacuum sealing freeze-drying tubes reaches 33 s per tube, with a vacuum degree of 5~30 kPa per tube, and a pass rate of 100%. Moreover, it has been verified that this equipment is superior to traditional manual methods in working efficiency and stability. Its practicality and safety have been recognized by many preservation institutions across the country, and this equipment has been gradually promoted and used. The appearance of the sealing machine has solved the problem of automation in the preparation of

收稿日期: 2024-12-03 修回日期: 2025-05-28 接受日期: 2025-06-12

作者简介: 蒋利(1988-),女,学士,实验员,主要从事微生物菌种保藏工作,E-mail: 263992884@qq.com

\* 通讯联系人: 彭方(1972-),女,教授,研究方向为极地微生物多样性的研究及应用,E-mail: pf-cctcc@whu.edu.cn

引用格式: 蒋利,李育霖,方辉,等.一种新型全自动菌种保藏真空封管机的研发和利用[J].生物资源,2025,47(4):397-402.

Jiang Li, Li Yulin, Fang Hui, et al. Development and utilization of a new type of fully automatic vacuum sealing machine for microbial strain preservation [J]. Biotic Resources, 2025, 47(4): 397-402.

freeze-drying tubes, achieving a leapfrog technological innovation and upgrade in the field of strain preservation, providing a guarantee for the safe and efficient preservation of microbial resources.

**Key words:** strain preservation; freeze-drying tube; automatic vacuum sealing machine for strain preservation

## 0 引言

自然资源的开发和合理利用是21世纪全球面临的重大课题,世界各国都高度重视生物种质资源的收集、保存和利用,“谁拥有了资源,谁就拥有了未来”已成为全球共识<sup>[1]</sup>。在微生物研究领域,菌种是国家重要种质资源,不管是基础科研工作还是生物技术应用研究,均需对菌种进行科学、高效的保藏,以保证菌种质量和活力<sup>[2-3]</sup>。为了保证菌种长期保藏的安全性,通常需要采用冷冻真空干燥保藏法和冷冻法(包括低温法-80℃和液氮法-196℃)两种方法进行保藏。冷冻法的威胁在于极端情景下导致断电或液氮无法及时补充,生物样品会因升温而丧失活性。而冻干法不受低温限制,短期可以常温储存,相较于冷冻法,其在储藏成本和运输成本上具有优势<sup>[4-9]</sup>。但是冻干法工艺复杂,特别是高温熔封冻干管环节,对实验室真空熔封设备和人员有较高要求,熟练实验员和新手操作的差异化也会直接影响菌种冻干管质量,因此大多实验室不易配备。调研国内外各微生物保藏机构发现,目前菌种冻干管的制备大多是全人工或者半人工。近年来,生物菌种资源的保藏呈急速上升态势,保藏中心迫切需要保藏技术的自动化和智能化改革。

面对菌种资源的爆发式增长,亟需全自动化设备应对大量微生物资源保藏中日益凸显的问题。通过对技术难点的梳理,辩证地考察相关技术的可行性,本研究探讨设计并制造了全自动菌种保藏真空封管机(以下简称封管机),以解决微生物菌种冷冻真空干燥批量保藏的问题。

## 1 材料和方法

### 1.1 封管机主要材料

封管机主要材料有氢氧机、火焰枪、空气压缩机、真空传感器、磁流体旋转密封件、夹持臂和套具、电机、皮带、带轮、通气管道、钢体支架结构、平板电脑等。

### 1.2 菌种

大肠杆菌(*Escherichia coli*),菌株编号CCTCC AB 93154,来自中国典型培养物保藏中心(China Center for Type Culture Collection, CCTCC)。

### 1.3 样品

冻干管规格:试管长12 cm,外径0.8 cm,内径

0.7 cm,中性硼硅玻璃管。

### 1.4 方法

#### 1.4.1 外观检测方法

实验员通过肉眼观察封口熔结处是否有大气泡或者通气口。

#### 1.4.2 冻干管真空检测方法

电火花检测通过高频电火花真空检测器进行真空检漏,同时可进行真空度检测。当遇到漏孔时,分散的火花束会集中成明亮的细束,指向漏孔。当压强为 $10^3$  Pa数量级时,空气放电颜色为淡紫色;当压强为 $10^2$  Pa数量级时,放电颜色由淡紫色变成粉红色;当系统压强为10 Pa时,粉红色变得很浅;在1 Pa数量级时,放电颜色消失,在玻璃管内壁上开始有荧光,其颜色因玻璃成分不同而可能出现绿色、蓝色或其他颜色<sup>[10]</sup>。

#### 1.4.3 封管菌种存活率检测方法

通过稀释涂布活菌计数检测封管菌种存活率,具体如下:在LB(Luria-Bertani)斜面上划线接满大肠杆菌,37℃培养24 h后,使用18%脱脂牛奶做保护剂,取2 mL保护剂加入斜面,用灭菌长竹签轻轻刮取斜面菌苔与保护剂混匀,制备混悬液。将混悬液分装入6支已灭菌的冻干管,编号1、2、3、4、5、6,每只约200 μL。预冷后将样品转入冷冻真空干燥机,抽干后下机。冻干管1、2、3号上封管机熔封,冻干管4、5、6号不熔封直接操作。以400 μL无菌水溶解冻干粉后约500 μL,稀释8个梯度后,每个梯度取100 μL涂布平板培养后计数,计算公式如下:活菌数=同一稀释度3次重复的平均菌落数×稀释倍数×5;存活率=熔封管活菌数÷未熔封管活菌数×100%。

#### 1.4.4 人机封管效率测评方法

测评对象:实验学员16人,每人封制10支冻干管,以接力赛形式总共完成160支冻干管的封制;封管机上样盒装满冻干管,和实验学员同时进行冻干管的熔封。

人工封管流程:准备160支待熔封的冻干管,每10支依次安装到抽真空的装置,打开真空泵,待真空压力表降到极值并保持稳定,点燃火焰喷枪,待火焰燃烧稳定开始熔封并计时,学员手动操作将冻干管置于火焰枪上方5 cm处,火焰包裹冻干管指定区域软化后拉伸熔结封口,培训老师配合更替冻干管,

直至完成 160 支冻干管的熔封,并停止计时。

封管机流程:将冻干管装满上样盒,开启电源,与学员同时开始熔封并计时,当学员完成时,机器同时停止。

通过观察冻干管是否破裂和电火花检测真空情况确定合格支数。以“完成时间÷合格支数”计算封管率,即平均封制 1 支冻干管的时间,用时少的获胜。

## 2 全自动菌种保藏真空封管机介绍

封管机参考传统人工封管方式,通过引入先进的自动化技术和智能控制组件,实现了冻干管熔封的自动化、标准化与批量化。

### 2.1 核心组成部分

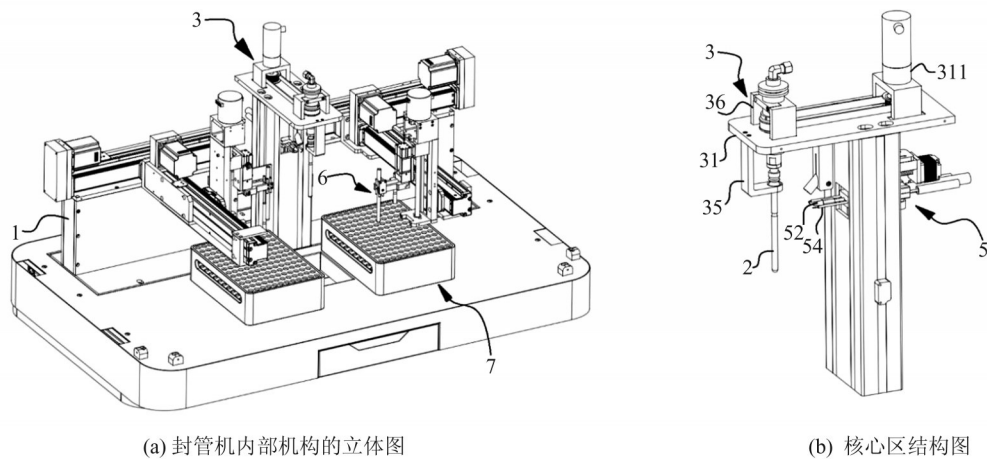
1)操作软件系统。操作软件系统编写语言为 C 语言和 C++,是一个高效、稳定的控制平台。其创新之处在于利用高扫描系统对试管盒和上样点位进行高扫描拍摄,并通过先进的图像分析算法对每个运行点位生成精确的坐标路径。这种基于视觉识别与路径规划的技术,使得操作系统能够精准控制机械臂抓取试管,按照设计路径运动,实现自动化上样和收样。相较于传统人工操作,该系统大大提高了操作的准确性和效率,避免了人为因素导致的误差,为封管过程的自动化奠定了基础。

2)机械臂系统。机械臂系统主要由支架机构、夹持臂机构和试管盒组成,封管机内部机构图<sup>[11]</sup>如图 1 所示。支架机构为整个机械臂提供了稳定的支撑结构,确保在运行过程中保持高精度和稳定性。夹持臂机构采用特殊的设计,能够精准地抓取和放

置试管,其抓取力度和稳定性经过精心调试,可适应不同规格的冻干管。设计试管盒时,根据机械臂的运行和取样轨迹精准开孔,便于机械臂快速准确地进行试管存取操作。机械臂系统通过与操作软件系统的协同工作,实现试管在各个工位之间的精确转移。

3)真空系统。该系统由空气压缩器、通气管道和真空传感器构成,是封管机实现精准真空控制的核心部分。当夹持臂将试管插入通气管道末端的硅胶套后,空气压缩泵通过负压管道对试管抽真空,真空范围控制在 5~30 kPa。这一精确的真空控制范围能够满足不同冻干管熔封对真空环境的要求。真空传感器实时监测试管内的真空度,当检测到真空低于设定值 30 kPa 时,系统会立即反馈,若无法达到设定值,则报错停止工作,有效避免了由真空度不达标导致的熔封失败问题。此外,在试管熔封完成后,空气压缩泵通过出气管道对试管产生向外的高压推力,促使试管废弃端脱离硅胶套,掉落至废弃盒,实现了废弃玻璃头的自动处理。

4)热熔系统。热熔系统主要由氢氧机、通气管道、挡火板和火焰枪组成。氢氧机通过电解水产生氢气和氧气,为火焰枪提供清洁、高效的燃料。通过电磁阀控制通气管道内的可燃气流,能够精准调节火焰枪的火焰状态,利用高压电火花点火,确保点火的可靠性和稳定性。挡火板的设计是热熔系统的一大创新点,在试管抽真空过程中,挡火板将火焰挡住,有效防止了试管在真空未达到要求时进行熔封,保证了熔封过程的科学性和准确性。火焰枪通过对试管熔封部位进行均匀加热,使试管在 5~7 s 内受



1: 支架机构和机械臂机构,包括 X 轴运动组件、Y 轴运动组件与 Z 轴运动组件;2: 试管(冻干管);3: 旋转机构,用于驱使试管绕自身轴线转动,夹持试管相连接的气道通路及真空传感器(包括 31,35,36,311);5: 火焰喷枪调节机构;6: 夹持臂机构,接样夹持臂用于拉伸受热软化的试管;7: 试管盒;52: 火焰喷枪;54: 高压点火器。

图 1 全自动菌种保藏真空封管机内部机构图

Figure 1 Internal structure of automatic vacuum sealing machine for strain preservation

热软化。

## 2.2 运行流程

1)操作软件系统控制取样机械臂系统夹持试管移动至火焰枪正前方设定位置,取样机械臂夹持试管向上插入真空系统硅胶套,随后空气压缩泵对试管抽真空3 s。在负压作用下,试管被紧紧吸住,真空传感器实时监测试管真空度,当检测到真空低于设定值30 kPa后(若无法达到设定值,系统将报错并停止工作),进入下一步操作。这一过程实现了对试管真空环境的精准控制和实时监测,确保了熔封前试管处于合适的真空状态。

2)移除试管后方挡火板,取样机械臂回到预设取样位置,同时磁流体旋转密封件带动连接试管的硅胶套匀速旋转,火焰包裹试管熔封部位,使其受热均匀约5~7 s软化。磁流体旋转密封件的应用保证了试管在旋转过程中的密封性和稳定性,使火焰能够均匀地对试管熔封部位进行加热。

3)收样机械臂夹持试管底部向下拉动1 cm,使试管断开,产生一个密封玻璃熔结端,再由收样机械臂向上移动0.7 cm将熔结端送入火焰内钝化封口处2 s,最后收样机械臂夹持熔封后的试管移动至预设回收位置。与此同时,真空系统向硅胶套内吹气,将废弃玻璃头吹落至废弃盒,至此完成一轮完整封管流程。

## 3 结果与讨论

### 3.1 封管质量检测

1)冻干管外观检测。封管机熔封完成50只冻干管,实验员肉眼观察外观均合格。

2)冻干管真空度检测。对冻干管外观检测合格样品进行电火花检测,上述50只冻干管均无漏孔,空气放电辉光呈淡紫色,与压强为 $10^3$  Pa数量级时,空气放电颜色为淡紫色<sup>[10]</sup>的描述吻合。

3)封管菌种存活率检测。采用稀释涂布平板法对熔封与未熔封冻干管中保藏的微生物活菌数进行定量检测,活菌计数结果如表1所示。经3次重复实验取均值后,得到的熔封组与未熔封组的活菌数分别为 $5.9 \times 10^9$  CFU/mL和 $4.9 \times 10^9$  CFU/mL,对应的存活率为120%。分析表明,菌种混悬液与脱脂牛奶保护剂混合时存在局部不均匀性,可能导致实验结果产生偏差。尽管如此,数据仍表明封管机熔封工艺对冻干管内微生物的活性无显著直接影响。

### 3.2 封管机效率测评

通过“人机封管大赛”检验封管机对生物菌种冷

表1 活菌计数结果

Table 1 Viable bacterial count

组别	试管序号	平均活菌数/(CFU·mL <sup>-1</sup> )
熔封组	1	$2.9 \times 10^9$
	2	$11.0 \times 10^9$
	3	$3.9 \times 10^9$
	平均值	$5.9 \times 10^9$
未熔封组	4	$3.0 \times 10^9$
	5	$7.9 \times 10^9$
	6	$3.7 \times 10^9$
	平均值	$4.9 \times 10^9$

冻真空干燥保藏工作效率的提升效果。在人工封管组,16位学员参赛,以接力赛形式共完成160支冻干管的封制,用冻干管外观检测方法和真空检测方法进行检测,其中134支达标,因由两人合作完成,所以单支熔封时间为39 s。而在同等时间,封管机完成79支,全部达标,单支熔封时间为33 s,每管真空度5~30 kPa,合格率100%。

### 3.3 封管机技术创新点分析及不足

#### 3.3.1 创新点

1)自动化与智能化控制。新型封管机通过操作软件系统与机械臂系统的紧密配合,实现了从试管上样、熔封到收样的全自动化操作。基于视觉识别的路径规划技术和精确的机械控制,使得封管过程无需人工干预,减少了人为误差,提高了操作的一致性和可靠性。同时,真空系统和热熔系统的智能控制,能够根据预设参数自动调节工作状态,确保封管过程在最佳条件下进行,体现了设备的智能化水平。

2)精准的真空控制技术。真空系统中真空传感器的应用和精确的真空范围控制,是该封管机的重要创新之一。能够实时监测试管内的真空度,并根据设定值进行反馈和调整,保证了每一个试管在熔封前都能达到合适的真空环境,这对于保证冻干管内样品的保存质量和后续实验的准确性具有重要意义。相较于传统封管方式中难以精确控制真空度的问题,该技术实现了质的突破。

3)高效的热熔控制技术。热熔系统以氢氧机为燃料源,通过电磁阀精确控制火焰状态,结合挡火板和磁流体旋转密封件等创新设计,实现了对试管熔封部位的均匀、高效加热。火焰枪的点火可靠性和稳定性高,能够在短时间内使试管受热软化,提高了熔封效率和质量。同时,挡火板的设置有效避免了因真空未达标而提前熔封的问题,确保了熔封过程的科学性和准确性。

### 3.3.2 不足之处

全自动真空封管机经过多年测试迭代,已实现菌种冻干管封装的全自动化,但在部分细节方面依旧存在待优化环节,主要表现为以下两点:

1) 氢氧机火焰不稳定。氢氧机(600D)使用超过150 h后,需要清洗电解缸并换上新鲜配置的15% KOH电解液。初次注入的电解液使用30~35 h后,需要补充纯水,避免产气不足导致火焰熔断力不够,从而影响正常熔封。考虑到火焰的不稳定性和安全性,下一步或许可以将火焰熔封改为激光熔封。

2) 需要定期清理和保养封管机的各类气管和火焰枪头,避免因堵塞造成通气不畅,从而影响机器正常运行。后期会通过加增管道过滤装置来改善此问题。

## 4 结束语

封管机由操作系统控制,机械臂系统执行,真空系统和热熔系统完成真空熔封,实现冻干管熔封的全自动化。传统的封管工作是实验员将冻干管置于火焰喷枪上方,由火焰包裹冻干管指定位置进行熔封,长时间批量熔封冻干管对实验员安全是一大考验,同时可燃气瓶的存放也存在安全隐患。而封管机能解决这些痛难点。封管机的熔封速度可达到33 s/支,每管真空度达到5~30 kPa,整体合格率为100%,相较于传统封管工作,不仅高效快速,而且安全稳定。

该新型封管机通过自动化、智能化技术的应用,以及在真空控制和热熔控制等方面的创新,成功实现了冻干管熔封的自动化、标准化与批量化。相较于传统人工封管方式,该新型封管机在提高工作效率、保证操作质量、减少人为误差等方面具有显著优势。未来,随着技术的不断发展,可进一步对封管机进行优化和升级,例如,增加更多的智能监测和故障诊断功能,以适应不断变化的需求,该设备的应用将极大提高中国微生物资源收集保藏的能力和效率。

## 参考文献

- [1] 肖建富, 雷建兰, 赫运涛, 等. 中国生物种质资源实验技术人才队伍的建设与管理初探[J]. 实验室研究与探索, 2019, 38(4): 233-237.  
Xiao J F, Lei J L, He Y T, et al. A preliminary exploration on the construction and management of the experiment technical team of biological germplasm resources in China[J]. Research and Exploration in Laboratory, 2019, 38(4): 233-237.
- [2] 郭玲玲. 微生物菌种保藏方法及关键技术[J]. 微生物学杂志, 2019, 39(3): 105-108.  
Guo L L. Preservation method and preservation key technology of microbial strain seed[J]. Journal of Microbiology, 2019, 39(3): 105-108.
- [3] 李雁, 郑从义. 微生物物种多样性的保护与其资源保藏[J]. 氨基酸和生物资源, 2003, 25(3): 4-6.  
Li Y, Zheng C Y. The conservation of microbial species diversity and the collection of microbial resources[J]. Amino Acids & Biotic Resources, 2003, 25(3): 4-6.
- [4] 郝一楠, 张静静, 郭冰峰, 等. 肺炎链球菌4型菌株冷冻真空干燥工艺保护剂配方的筛选[J]. 中国当代医药, 2021, 28(14): 22-26, 277.  
Hao Y N, Zhang J J, Guo B F, et al. Screening of protective agent formula for freezing and vacuum drying process of *Streptococcus pneumoniae* type 4 strain[J]. China Modern Medicine, 2021, 28(14): 22-26, 277.
- [5] 黄刚, 金刚. 真空冷冻干燥乳酸菌的研究进展[J]. 食品安全导刊, 2022(16): 148-150.  
Huang G, Jin G. Research progress of vacuum freeze-drying lactic acid bacteria[J]. China Food Safety Magazine, 2022(16): 148-150.
- [6] 裴正胜, 张宁, 邢国庆, 等. 菌种保藏管法和冷冻真空干燥保藏法对金黄色葡萄球菌抗力的影响[J]. 中国医学工程, 2023, 31(7): 125-127.  
Pei Z S, Zhang N, Xing G Q, et al. Influence on the resistance of *Staphylococcus aureus* in methods of strain storage tube and freeze vacuum drying[J]. China Medical Engineering, 2023, 31(7): 125-127.
- [7] 刘开文, 马雯, 金刚. 真空冷冻干燥提高乳酸菌存活率及延长贮藏期的研究进展[J]. 食品科学, 2024, 45(2): 325-333.  
Liu K W, Ma W, Jin G. Research progress on improving the survival rate and extending the storage period of lactic acid bacteria through vacuum freeze-drying[J]. Food Science, 2024, 45(2): 325-333.
- [8] 吴亚迪, 常嘉琪, 金何雨洁, 等. 噬菌体保藏方法研究综述[J]. 聊城大学学报(自然科学版), 2023, 36(6): 86-93.  
Wu Y D, Chang J Q, Jin H Y J, et al. A brief review about phage storage methods[J]. Journal of Liaocheng University (Natural Science Edition), 2023, 36(6): 86-93.
- [9] 黄文, 杨莉, 马志宏. 噬菌体弧菌Bd-9五种保藏方法的比较研究[J]. 大连水产学院学报, 2002, 17(4): 341-344.  
Huang W, Yang L, Ma Z H. Comparative study on five preserve methods of *Bdellovibrio bacteriovorus* [J].

- Journal of Dalian Fisheries University, 2002, 17(4): 341-344.
- [10] 程新选. 力学计量[M]. 北京:中国计量出版社,2007.  
Cheng X X. Mechanical Metrology [M]. Beijing: China Metrology Publishing House, 2007.
- [11] 武汉佰力博科技有限公司. 一种生物样品全自动封装装置:CN202110366475. 2[P]. 2021-07-16.  
Wuhan Bailibo Technology Co., Ltd. A fully automated sealing device for biological samples:CN202110366475. 2[P]. 2021-07-16.