
高职高专“十一五”规划教材

食品营养与检测技能实训

展跃平 刘 靖 主 编
臧大存 主审



化学工业出版社

· 北京 ·

本书从职业教育目的出发,结合专业培养目标及专业对应的职业岗位的实际,介绍了食品营养与检测岗位相关知识及食品检验实践训练的具体安排与内容。本书分为五章,包括食品检验基本技能实训、食品感官检验实训、食品理化检验技能实训、食品微生物检测实训、综合技能实训。对每个实训项目除了介绍基本原理、试剂及溶液、主要仪器、操作步骤、数据处理外,还对实训过程中应该注意的问题以注意事项形式加以说明。本书体现了多学科、多技术领域的交叉渗透与复合,具有综合性、技术实践性、实用性和可操作性强的特点,对提高学生职业技术的应用能力、职业岗位变换的适应能力具有很大的帮助。

本书既可作为高职高专食品营养与检测、食品安全与检验、食品加工与检测等专业的实训教材,又可作为食品检验行业的职业培训教材,部分内容也可作为食品检验的初级、中级、高级工实操考核的依据,也可供食品检验工作者参考。

图书在版编目(CIP)数据

食品营养与检测技能实训/展跃平,刘靖主编. —北京:
化学工业出版社, 2008.7
高职高专“十一五”规划教材
ISBN 978-7-122-03170-9

I. 食… II. ①展…②刘… III. ①食品营养-高等学校:技术学院-教材②食品检验-高等学校:技术学院-教材 IV. R151.3 TS207

中国版本图书馆CIP数据核字(2008)第097406号

责任编辑:于卉
责任校对:战河红

文字编辑:杨欣欣
装帧设计:郑小红

出版发行:化学工业出版社(北京市东城区青年湖南街13号 邮政编码100011)

印 装:化学工业出版社印刷厂

787mm×1092mm 1/16 印张16¼ 字数420千字 2008年8月北京第1版第1次印刷

购书咨询:010-64518888(传真:010-64519686) 售后服务:010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

定 价:29.00元

版权所有 违者必究

前 言

食品营养与检测专业技能实训教材，是从职业教育目的出发，结合专业培养目标及专业对应的职业岗位的实际，介绍了食品营养与检测岗位相关知识及食品检验实践训练的具体安排与内容。编写过程依据食品检验相关标准，参照国家职业技能鉴定食品检验工的考核标准，将涉及的相关课程的内容进行综合提炼，既具有系统性又使各实训内容保持相对独立性。

在实施教学的过程中，应注重理论联系实际，结合各学期所学课程，分阶段、分层次按本教材设定内容有选择地进行实训。实训方式应灵活多样，根据学校具体情况和实训内容不同，可采用参观、演示、多媒体、现场操作等各种方式进行。

本书由展跃平、刘靖担任主编，参编人员有王正云、牛林、盖圣美等，具体分工如下：第一章由刘靖编写；第二、四章由盖圣美编写；第三章由王正云、牛林编写；第五章和附录由展跃平编写。全书由臧大存主审。

由于编者水平有限，书中不妥之处在所难免，敬请读者批评指正。

编 者

2008年3月

第一章 食品检验基本技能实训

实训 1-1 玻璃器皿准备

一、实训材料

- ① 常用各种玻璃器皿及常用设备（如培养箱、干热灭菌箱、滤菌器和湿热灭菌器等）。
- ② 常用清洗工具，各种洗涤剂、去污粉和肥皂。
- ③ 包扎用纱布、棉花及棉线等。

二、实训操作

1. 铬酸洗液的配制

铬酸洗液是实验室中最常用的玻璃仪器洗涤剂。铬酸洗液配制方法是：取 100mL 工业硫酸置于烧杯中，小心加热，而后缓慢加入 5g 重铬酸钾粉末，边搅拌边加入，待重铬酸钾完全溶解后冷却至室温备用。或是称取 5g 重铬酸钾粉末，置于 250mL 烧杯中，加水 5mL，并尽量使其溶解，而后缓慢地加入 100mL 浓硫酸，边搅拌边加入，冷却至室温备用。

通常情况下，铬酸洗液可以反复使用，而且主要以去除应用常规方法很难去除的污垢为目的。为了确保洗涤效果，使用时应当注意如下事项：①使用前必须先将待洗涤的玻璃器皿用清水清洗干净，去除肥皂液、去污粉或各种废液，而后再使用洗涤剂清洗玻璃器皿；②如果仪器上粘有凡士林等应当先用软纸擦拭，再用乙醇、乙醚等有机溶剂擦净，最后再使用洗涤剂；③使用时应当尽量避免稀释，如果需要加快洗涤速度，可以将洗涤剂加热至 40~50℃；④将待洗涤玻璃器皿先按有否油污或洗涤难易等进行分类，而后分别进行洗涤。

2. 玻璃器皿的清洗

实验室所用玻璃仪器应当保持清洁，否则会造成实验结果较大的误差，甚至导致实验失败。因此，玻璃仪器的洗涤清洁工作十分重要。经过洗涤后的玻璃器皿，不应在器壁上挂有水珠。

(1) 初用玻璃器皿的清洗（新购入的玻璃器皿常附着一些碱性杂质）先用肥皂水或去污粉洗刷干净，然后浸泡在质量分数为 1%~2% 的盐酸溶液中过夜；次日用自来水冲洗，最后用蒸馏水冲洗 2~3 遍。洗涤至器壁上不挂有水珠后于 100~130℃ 烘箱中烘干备用。

(2) 使用过的玻璃器皿的清洗

① 试管、烧杯、锥形瓶以及量筒清洗 先用自来水刷洗干净，而后用肥皂水或去污粉洗刷，自来水冲洗，最后用蒸馏水冲洗 2~3 遍。洗涤至器壁上不挂有水珠后于 100~130℃ 烘箱中烘干备用。

② 吸管、滴定管以及容量瓶等器皿清洗 在使用结束后，应立即倒出试剂，并浸泡于凉水中；工作结束后用流水清洗去除杂质，晾干后浸泡于铬酸洗液中（保持 4~6h），再用自来水充分冲洗，最后用蒸馏水清洗 2~3 遍，合格后风干备用。

3. 玻璃器皿的包扎（微生物检验用）

为了使实验用玻璃器皿，如培养皿、吸管、试管和锥形瓶等在灭菌后仍然可以保持无菌

状态，防止被空气中的微生物或尘埃所污染，以利于微生物的纯培养，各种玻璃器皿均需包扎处理。玻璃器皿应包扎规范、松紧适度。

(1) 培养皿的包扎 将洗净烘干后的培养皿以每 10 套叠在一起，用牢固的硫酸纸或牛皮纸卷成一个筒形，用棉绳捆扎，以免散开，然后进行干热灭菌处理，在干热灭菌结束后，静置至室温，并存放于无菌室内备用。

(2) 吸管的包扎

① 将洗净烘干后的吸管在吸口的一端用尖头镊子或针塞入少许脱脂棉，以防止菌体误吸口中或口中的微生物进入吸管中而进入培养物中造成微生物污染。塞入的棉花以不露出吸管口为宜，如有少量棉花露出吸管口，可用酒精灯的火焰烧掉。

② 每支吸管用一条宽约 4~5cm 的纸条，以 45°左右的角度螺旋形卷起来，吸管的尖端在头部，吸管的另一端用剩余的纸条折叠打结，以不散开为度。

③ 在纸卷上注明已包扎吸管的容量和规格，然后将若干个吸管扎成一束，置于干热灭菌箱中进行灭菌处理。

④ 经过干热灭菌处理过的吸管必须在无菌室内才能打开使用。

(3) 试管和锥形瓶的包扎

① 用普通棉花做成棉花塞（棉花塞制成标准为紧贴玻璃内壁，无皱纹和缝隙，松紧适宜，长度不少于管口直径的 2 倍，约 2/3 塞进管口为宜）。

② 将若干个试管用棉线包扎，并用硫酸纸或牛皮纸在外部包裹并扎紧。

③ 锥形瓶每个需单独包扎棉花塞，并用硫酸纸或牛皮纸在外部包裹并扎紧。

实训 1-2 容量器皿的使用

一、实训材料

(1) 移液管 常用的有 15mL、20mL、25mL 等多种规格。

(2) 吸量管 常用的有 1mL、2mL、5mL、10mL 等规格。

(3) 容量瓶 常用的有 50mL、100mL、125mL、250mL 等规格。

二、实训操作

1. 移液管的使用

移取溶液前，先用吸水纸将尖端外的水吸除掉，然后用待吸溶液转洗 3 次，管内用过的溶液从下管口放出弃掉。

吸取溶液时，将移液管直接插入液面下 1~2cm 深处。用右手拿移液管，左手拿洗耳球，排出球内空气，紧接管口上，使溶液缓慢上升，管内溶液上升至标线以上时，移去洗耳球，右手食指迅速按紧管口，把移液管提出液面，用滤纸将移液管外的沾液抹干，左手拿容器，倾斜 45°，将管的尖端垂直紧贴容器内部，食指稍松，使液面缓慢下降，待管中溶液的凹液面与刻度线相切时，用食指紧按管口，使溶液不再外漏。此时溶液恰好为管上所示容量。

用左手拿另一洁净的容器，右手将移液管放入容器，方法如图 1-1 所示，待溶液自然流完，停 15s 后取出移液管。凡移液管上未写“吹”字的，其残留液不用吹出，若管上标有“吹”字，其

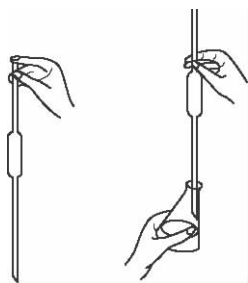


图 1-1 移液管的使用

残留液必须吹出。

2. 吸量管的使用

吸量管的使用方法与移液管基本相同，只是它可以分多次放出溶液，放出的体积以刻度管上为准。应小心操作，谨防放过刻度。

3. 容量瓶的使用

(1) 检漏 先注入自来水至标线，盖好瓶塞，将外壁及瓶口溶液吸干，将瓶倒立 2min，观察瓶口处是否有水渗出。若不漏水，把磨口瓶塞旋转 180° ，塞紧，照前样倒置，若仍不漏水，则可以使用。

(2) 洗涤 用洗液洗涤，然后分别用自来水、纯化水冲洗。

(3) 溶液的配制 将准确称取的固体试剂放在小烧杯中，加少量溶剂，搅拌使其溶解，并将烧杯中的溶液沿玻璃棒把溶液转入容量瓶中（图 1-2），烧杯要冲洗 3~4 次，每次的洗涤液按同样的方法转移至容量瓶中，继续加溶剂，至接近刻度线时，需用胶头滴管逐滴加入溶剂至弯液面与刻度线相切。盖上瓶塞，用左手食指压紧，右手托住瓶底，倒立容量瓶，边倒转边振摇，反复多次，使瓶内溶液充分混匀，即得一定体积和一定浓度的溶液。

若是溶液的定量稀释，只需用精密量器准确移取一定体积的浓溶液，直接放入容量瓶，然后加溶剂至刻度。

4. 注意事项

① 移液管或吸量管用毕，应随手放在移液管架上，做完实验时，用自来水、纯化水依次冲洗干净，放在移液管架上，如果尖端被碰坏，则不能再用。

② 容量瓶的磨口玻璃塞是配套的，不能随便和其他容量瓶调换。一般用橡皮筋或细绳把它系在瓶颈上，以防调换或掉下摔破。

③ 在容量瓶中配制溶液时，一定要将热的溶液冷却之后，再转移到容量瓶中。

④ 不能将固体试剂直接放进容量瓶中配制溶液。

⑤ 容量瓶只能用来配制溶液，不能用来贮存溶液，特别是不能用来贮存强碱溶液。配制完毕，要转入试剂瓶中贴上标签备用。



图 1-2 将溶液转移至容量瓶中

实训 1-3 滴定管的使用

一、实训材料

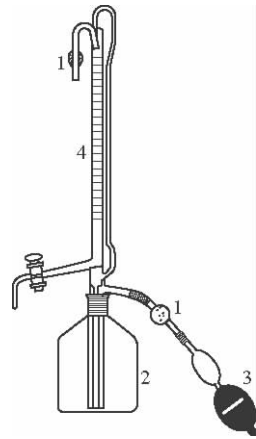
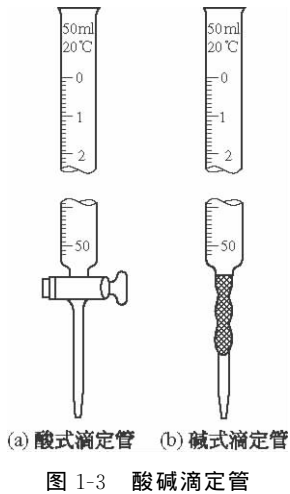
滴定管分为酸式滴定管、碱式滴定管和自动滴定管。常量滴定管的容量限度为 50mL 和 25mL，最小刻度为 0.1mL，而读数可以估计到 0.01mL；10mL 滴定管用于半微量分析；1~5mL 微量滴定管用于微量分析。

(1) 酸式滴定管 可装酸性或具有氧化性的滴定液。酸式滴定管 [图 1-3(a)] 下端有一玻璃活塞，用以控制滴定过程中溶液的流出速度。

(2) 碱式滴定管 可装碱性或具有还原性的滴定液。碱式滴定管 [图 1-3(b)] 的下端用橡皮管连接一个带有尖嘴的小玻璃管。橡皮管内装有一个玻璃珠，用以堵住溶液。

(3) 自动滴定管 其结构见图 1-4，两通气口装有硅胶干燥剂 1，滴定液装贮液瓶 2 中，通过双联打气球 3，打气入瓶 2，将滴定液压入滴定管 4 内，当液面超过 0.00 处，液体自动吸回，即能自动调节零点。自动滴定管常用于非水溶液滴定（装高氯酸滴定液）或用于水分

测定（盛装费休试液）等。



1—干燥剂；2—贮液瓶；3—双联打气球；4—滴定管

二、实训操作

(1) 洗涤 同前。

(2) 涂凡士林 将酸式滴定管平放在实验台上，取下活塞小头处的橡皮圈，用滤纸将玻璃塞和套中的水擦干。用手指蘸少许凡士林在活塞的两头各涂上薄薄的一层，凡士林要适量，不能涂得太多，以免堵塞滴定管。将涂好的活塞插入活塞套中，压紧后向同一方向旋转活塞。直到凡士林均匀透明为止。转动活塞是否正常，再检查是否漏水。若仍然漏水，说明凡士林涂得不够，需重复上述操作。如果达到上述要求，在活塞的小头套上橡皮圈，即可使用。

(3) 试漏 将滴定管装满水垂直置于滴定管架上，静置 2min 后观察酸式管的下口有无水珠滴出、活塞两端缝隙有无水渗出，然后把玻璃塞转动 180°，照前法再观察，若两次均无水漏出，即可使用。碱式滴定管观察下口处有无水滴流出。若不漏水，则检验完毕。

(4) 装滴定液 滴定液装入之前，要用该滴定液荡洗滴定管 2~3 次，以除去管内残留水分，保证滴定液浓度不变。每次倒入 5~10mL，从试剂瓶直接倒入滴定管，不能借用任何其他容器（如漏斗、烧杯等）。

滴定管处理完毕，即可将滴定液直接倒入管内，溶液面至“0”刻线以上停止。

(5) 排气泡 当滴定液装入滴定管时，出口管还没有充满溶液。此时将酸式滴定管倾斜约 30°，左手迅速打开活塞使溶液冲出，就能充满全部出口管。如果使用碱式滴定管，则把橡皮管向上弯曲，玻璃尖嘴斜向上方。用两指挤压玻璃珠，使溶液从出口管喷出，气泡随之逸出（如图 1-5 所示）。

(6) 滴定操作 将碱式滴定管夹在滴定管夹上（左边），酸式滴定管夹在滴定管夹上（右边），活塞柄向外。滴定管保持垂直。

滴定操作在锥形瓶中进行，便于振摇，溶液不易外溅。必要时可在烧杯中进行，注意小心搅拌，或用自动搅拌器进行磁力搅拌。

酸式滴定管用左手控制活塞，大拇指在前，食指和中指在后，轻轻向内扣住活塞，手心空握以防将活塞顶出，滴定时根据需要旋转，要练习快慢速度控制自如；右手握锥形瓶，边滴定边摇。碱式滴定管应控制好玻璃珠，左手拇指在前，食指在后，捏住玻璃珠部位的稍上

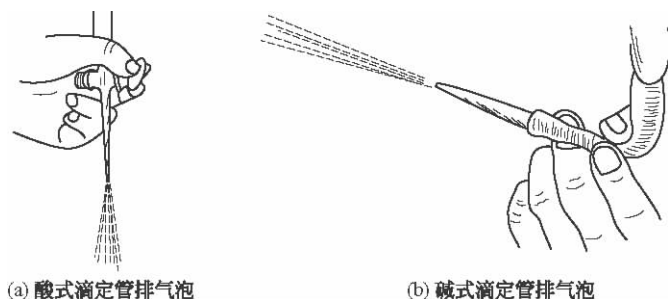


图 1-5 滴定管气泡的排除

方的橡皮管，无名指和小指夹住尖嘴玻璃管，向手心挤捏橡皮管，使其与玻璃管形成一条缝隙，溶液即可流出，可利用手指用劲大小控制滴定速度。滴定开始时速度可稍快，但不能太快。接近终点时速度应放慢，每滴加一滴都要观察颜色变化，最后半滴半滴地加，若要滴加半滴则将悬挂在管口的半滴滴定液与锥形瓶内壁接触，再用少量纯化水将其冲洗并振摇。

滴定时注意：①边滴定边振摇，向同一方向做圆周运动，用烧杯滴定时，也向一个方向搅动，切勿让溶液溅出；②滴定时，注意观察滴定液落下时，溶液周围的颜色变化；③溶液或滴下的滴定液沾在锥形瓶或烧杯内壁时，可用洗瓶吹下；④平行测定几份样品时，每次滴定都从“0.00”刻线开始，前次完成，重新充满，再进行滴定，这样记录数据方便，且可减小误差（用滴定管的同一部位）。

(7) 读数 注入或放出溶液后稍等 1~2min，待附着于内壁的溶液流下后再开始读数。读数时应将滴定管取下，用右手拇指和食指捏住滴定管上部无刻度处，使滴定管保持垂直状态，视线与弯液面下最低处在同一水平线上，如图 1-6(a) 所示，应读到 25.80mL，而深色溶液由于弯液面不够清晰，所以视线与液面两侧的最高点在同一水平线上，如图 1-6(b) 所示，应读 24.10mL。一般读数方法如图 1-6(c) 所示。

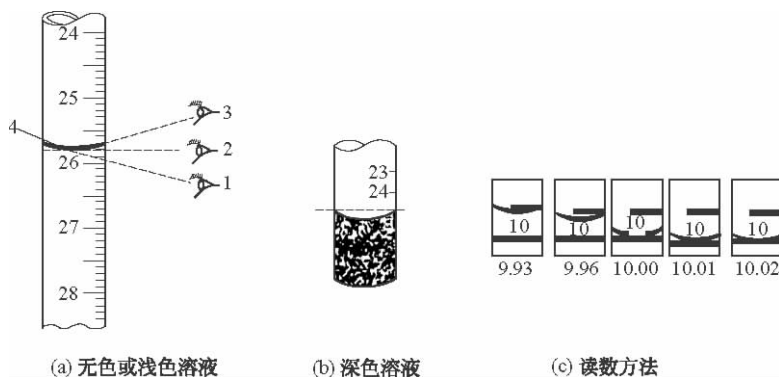


图 1-6 滴定管读数

1—低读数；2—正确读数；3—高读数；4—弯液面

常量滴定管读数可估读到小数点后第 2 位，如 25.83mL、22.10mL，读取后立即记录在实验记录本上，一次滴定的始末两次读数要由一个人用同样的方法读取，以减小误差。

(8) 滴定后的处理 滴定完毕，测定管内的溶液应弃去，不能倒回原试剂瓶中。用水冲洗干净，充满纯化水，垂直夹在滴定管架上，上口用试管盖住，或洗干净后倒夹在滴定管架上（防止灰尘落入）。

(9) 原始记录表 酸碱滴定数据记录见表 1-1。

表 1-1 酸碱滴定数据记录

项 目	序号	初始读数/mL	终止读数/mL	实际消耗值/mL
酸式滴定管	1			
	2			
	3			
	平均值			
碱式滴定管	1			
	2			
	3			
	平均值			

实训 1-4 分析天平的使用

一、实训材料

(1) 电光分析天平 根据称量物品的量和称量精度的要求,选择适宜级别的天平。要求精密称定时,当取样量大于 100mg 时,选用感量为 0.1mg 的天平;取样量在 100~10mg 时,选用感量为 0.01mg 的天平;小于 10mg 时,选用感量为 0.001mg 的天平。

(2) 电子天平 结构上没有刀口,仅有支点弹簧片;具有去皮装置,直接显示称重物质量;具有高智能化的特点,可在全量程范围内实现去皮、累加、超载显示、故障报警等。

二、实训操作

1. 电光分析天平的使用

(1) 称量前的准备

① 检查天平的使用登记记录,了解天平前一次使用情况以及天平是否处于正常可用状态。并检查水准器内的气泡是否位于水准器的中心位置,否则应调节天平的支架使其处于水平状态。检查天平的各个零件是否在正确的位置上,刀垫是否在支架的正确位置上(对于电光天平或电子天平要检查其电源是否正确),用软毛刷刷去秤盘上的灰尘。然后开启天平,观察指针摆动是否正常。

② 开启天平两侧门 5~10min,使天平内外的温度和湿度一致。

③ 关闭天平两侧门,多次开启和关闭天平,使天平各零件落在正常位置上(对于电子天平无需此操作),以便在使用天平时变动性小。

④ 接通电源。

⑤ 关闭天平两侧门,轻轻转动开关手柄(具有锁定装置的开关,应轻轻拉出后再转动),使天平横梁落下,观察光屏上的法线或天平指针是否与标牌上的“0”处相重合。如果离“0”处不远,可轻轻调节微调钮使其重合。如法线或指针离“0”处较远,应关闭天平,根据法线或指针偏离方向调节内部的平衡螺丝位置,再开启天平。照上述方法调节,使法线或指针与“0”处重合,关闭天平。

(2) 称量

① 将被称取物质预先放置使其与天平室温度一致(过冷、过热物均不能放在天平内称量),先用托盘天平称出被称物大约质量。开启天平侧门,将被称物置于天平载物盘的正中

央；放入被称物时应戴手套或用带橡皮套的镊子镊取，不应直接用手接触。

② 用砝码专用镊子将砝码置于砝码盘正中央，机械加码天平应轻轻转动砝码钮选择合适的砝码，使其加于砝码骑梁上。

③ 关闭天平两侧门，轻轻转动开关手柄，并仔细观察光屏上的法线或天平指针的摆动方向，一般若光屏右移，说明砝码太重，相反砝码太轻，应立即关闭天平。

④ 根据光屏法线或天平指针的偏移方向决定加减砝码（必须在天平关闭下进行），直至天平处于平衡状态为止。

⑤ 根据砝码的加入量和光屏法线或指针所处的位置读取称量数据并记录。

⑥ 关闭天平，按放入时的要求取出被称物，从砝码盘上取下砝码放回砝码盒，机械加码天平需轻轻转动砝码钮，使天平砝码骑梁空载。

⑦ 使用完毕，应在天平使用登记本上登记。登记内容包括使用日期、被称物、称量次数、使用时间、使用前后天平的状态、使用人等。

(3) 注意事项

① 开启、关闭天平动作要轻缓、仔细。待指针在正中时才能开启或关闭天平。

② 称量时，使用侧门而不能使用前门（前门只供安装、调整维修时使用），以防呼出的热量、水汽和 CO_2 及气流影响称量。

③ 称量时，取放秤盘上的物体最好用长镊子，避免因手伸入造成天平受热不均匀而引起变动。拿称量瓶时，应戴称量手套。

④ 砝码只许用镊子夹取，绝不允许用手接触砝码；砝码只能放在砝码盒内或天平盘上，而不允许放在其他地方；每一架天平只能用其专用的砝码。

⑤ 称样时，向盘内加砝码应从约等于被称物体质量的砝码开始（若事先进行预称量，再在分析天平上称量，可加快称量速度），然后依次增减砝码，直至天平平衡为止。在天平达到平衡状态之前，不应将开关全部开启，只能谨慎地部分开启，以判断需要增减砝码；在向盘内增减样品后，再开启天平时，也不应将天平全部开启，以判断是增添或减少样品。

⑥ 天平处在开启状态时绝对不可在秤盘上取放物品或砝码，包括不能转动机械加码指数盘，以及开启天平门（电子天平除外）。

⑦ 称量物品，不得超过天平规定的最大载荷。

2. 电子天平的使用

(1) 使用方法

① 查水平 操作前检查天平是否水平，否则可调节支架螺丝使水准器中的气泡处于正中央。

② 通电源 接通电源预热，预热时间按仪器说明书进行。

③ 校准 首次使用天平必须校准天平，将天平移动或使用一段时间（30天左右）后，应对天平重新校准。

④ 称量 按下显示屏的开关键，待显示稳定的零点后，将物品放到秤盘上，关上防风门。显示稳定后即可读取称量值。使用相应的键可以实现“去皮”、“增重”、“减重”等功能。

(2) 注意事项

① 电子天平的心脏——重力电磁传感器簧片（一般共有6~8片）细而薄，极易受损，且天平的精度越高，其重力传感簧片也越薄，所以在使用中应特别注意加以保护，不要向天平上加载质量超过其称量范围的物体，绝不能用手压称盘或使天平跌落地下，以免损坏天平或使重力传感器的性能发生变化，另外，称量一个物体（特别是较重的物体）一般不要超过30s，搬动和运输时应将秤盘及其托盘取下来。

② 电子天平实际上是测量地球对放在秤盘上的物体的引力（即重力）的仪器，而由于

地球经纬度的不同,各地的重力加速度并不相同,在使用当地,其称量准确度取决于是否进行了正确的校正和校正砝码的精度,假如您发现在外地经校正好的天平,在本地称量有一定误差,这并不表示天平有任何故障,请按各型号电子天平说明书上介绍的方法用计量部门认可的标准砝码进行校正,即可进行准确称量。

③ 电子天平的校正机构一般分三大类:①全自动校正,内含标准砝码和电机伺服机构,只需按一个功能键即可在数十秒钟内完成校正,一般新型的 10^{-4} g 精度以上的电子天平均采用全自动校正机构;②半自动校正,内装标准砝码但无伺服机构,在进入校正程序后,需要手动加载和卸下校正码;③手动校正,天平内没有标准砝码和伺服机构,需要手动进入校正程序并外加标准砝码进行校正,一般精度较低的天平采用手动校正。

④ 电子天平是对环境高度敏感的精密电子测量仪器,使用时应小心操作,安装台面应无明显震动,不要放在空调口,若这些条件不能满足,应采取一些改进措施,如变更使用地点、装上防风罩等,同时注意要调整底角螺丝使水准器的气泡居中。天平未调好水平也是产生称量误差的原因之一。

实训 1-5 标准溶液的配制与标定

一、仪器

分析天平、移液管、容量瓶、胶头滴管、烧杯、玻璃棒、洗耳球、聚乙烯塑料瓶、酸式滴定管、碱式滴定管。

二、试剂及溶液

无水 Na_2CO_3 、0.1mol/L HCl 标准溶液、甲基红-溴甲酚绿混合指示液、酚酞指示剂、邻苯二甲酸氢钾、氢氧化钠。

三、配制与标定

1. 盐酸标准溶液 (0.1mol/L) 的配制与标定

(1) 配制 用移液管精密量取 9.0mL 浓盐酸 (A. R.), 倒入 1000mL 容量瓶中, 加蒸馏水至刻度, 摇匀。

(2) 标定 取 270~300℃ 干燥至恒重的基准无水碳酸钠约 0.15g, 精密称量, 置洗净的小烧杯中, 加水 50mL 使完全溶解, 加甲基红-溴甲酚绿混合指示液 10 滴, 用盐酸标准溶液 (0.1mol/L) 滴定至溶液由绿色转变为紫红色时, 煮沸 2min, 冷却至室温, 继续滴定至溶液由绿色转变为暗紫色。平行滴定 3 次, 并计算平均值。每 1mL 盐酸标准溶液 (0.1mol/L) 相当于 5.30mg 的无水碳酸钠。根据盐酸标准溶液的消耗量与无水碳酸钠的取用量, 计算出盐酸标准溶液 (0.1mol/L) 的浓度。标定完毕, 将试剂瓶贴好标签, 备用。

(3) 数据记录及结果处理 数据记录及结果处理见表 1-2。

表 1-2 数据记录及结果处理表

序号	1	2	3
HCl 溶液用量/mL			
Na_2CO_3 标准溶液用量/mL			
HCl 溶液平均浓度/(mol/L)			

2. 氢氧化钠标准溶液 (0.1mol/L) 的配制与标定

(1) 配制 取氢氧化钠适量,加水振摇使其溶解成饱和溶液,冷却后,置聚乙烯塑料瓶中,静置数日,澄清后备用。取澄清的氢氧化钠饱和溶液 5.6mL,加新沸过的冷纯化水使成 1000mL,摇匀。

(2) 标定 取在 105℃干燥至恒重的基准邻苯二甲酸氢钾约 0.6g,精密称量,加新沸过的冷纯化水 50mL,振摇,使其尽量溶解;加酚酞指示剂 2 滴,用氢氧化钠标准溶液滴定;在接近终点时,应使邻苯二甲酸氢钾完全溶解,滴定至溶液显粉红色。每 1mL 的氢氧化钠标准溶液 (0.1mol/L) 相当于 20.42mg 的邻苯二甲酸氢钾。根据氢氧化钠标准溶液的消耗量与邻苯二甲酸氢钾的取用量,计算出氢氧化钠标准溶液的浓度,即得。标定完毕,将试剂瓶贴好标签,备用。

(3) 数据记录及结果处理 数据记录及结果处理同盐酸标准溶液 (0.1mol/L)。

(4) 贮藏 置聚乙烯塑料瓶中,密封保存;塞中有 2 孔,孔内各插入玻璃管 1 支,1 管与钠石灰管相连,1 管供吸出本液使用。

四、注意事项

① 操作中所用分析天平及其砝码、滴定管、量瓶和移液管等,均应经过检定合格;其校正与原标示值之比的绝对值大于 0.05% 时,应在计算中采用校正予以补偿。

② 标定工作宜在室温 (10~30℃) 下进行,并应在记录中注明标定时的室内温度。

③ 所用基准物质应采用“基准试剂”,取用时应先用玛瑙乳钵研细,并按规定条件干燥,置干燥器中放冷至室温后,精密称取 (精确至 0.0001g);有引湿性的基准物质宜采用“减量法”进行称量。如系以另一已标定的标准溶液作为标准溶液,通过“比较”进行标定,则该另一已标定的标准溶液的取用应为精密量取 (精确至 0.01mL),用量除另有规定外应等于或大于 20mL,其浓度亦应按《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》) 规定准确标定。

④ 根据标准溶液的消耗量选用适宜容量的滴定管;滴定管应洁净,玻璃活塞应密合、旋转自如,盛装标准溶液前,应先用少量标准溶液淋洗 3 次,盛装标准溶液后,宜用小烧杯覆盖管口。

⑤ 标定中,标准溶液宜从滴定管的起始刻度开始;标准溶液的消耗量,除另有特殊规定外,应大于 20mL,读数应估计到 0.01mL。

⑥ 标定中的空白试验,系指在不加供试品或以等量溶剂替代供试液的情况下,按同法操作和滴定所得的结果。

⑦ 标定工作应由初标者 (一般为配制者) 和复标者在相同条件下各作平行试验 3 份。各项原始数据经校正后,根据计算公式分别进行计算;3 份平行试验结果的相对平均偏差,除另有规定外,不得大于 0.1%;初标平均值和复标平均值的相对偏差也不得大于 0.1%;标定结果按初、复标的平均值计算,取 4 位有效数字。

⑧ 直接法配制的标准溶液,其浓度应按配制时基准物质的取用量 (准确至 0.0001g) 与量瓶的容量以及计算公式进行计算,最终取 4 位有效数字。

⑨ 临用前按稀释法配制浓度等于或低于 0.02mol/L 的标准溶液,除另有规定外,其浓度可按原标准溶液 (浓度等于或大于 0.1mol/L) 的标定浓度与取用量 (加校正),以及最终稀释成的容量 (加校正),计算而得。

⑩ 应在标准溶液贮瓶外的醒目处贴上标签,填写标准溶液名称及其标示浓度。

⑪ 标准溶液经标定所得的浓度,除另有规定外,可在 3 个月内应用;过期应重新标定。

当标定与使用时的室温相差未超过 10°C 时，除另有规定外，其浓度值可不加温度补正值；但当室温之差超过 10°C ，应加温度补正值，或重新标定。

⑫ 取用标准溶液时，一般应事先轻摇贮存有大量标准溶液的容器，使与黏附于瓶壁的液滴混合均匀，而后分取略多于需用量的标准溶液置于洁净干燥的具塞玻璃瓶中，用以直接转移至滴定管内，或用移液管量取，避免因多次取用而反复开启贮存标准溶液的大容器；取出后的标准溶液不得倒回原贮存容器中，以避免污染。

⑬ 配制成的标准溶液必须澄清，必要时可过滤。

实训 1-6 微生物检验常用仪器使用

一、实训材料

- ① 培养箱。
- ② 高压灭菌器。
- ③ 细菌过滤器。

二、实训操作

1. 培养箱操作步骤

① 装箱 将待培养物品放入培养箱内，关好箱门。物品不要摆得太挤，以免妨碍空气流通。

② 加热 接通电源，拨动开关，打开培养箱排气孔，旋动恒温调节器至红灯亮，让温度逐渐上升。当温度升至所需培养温度时，旋动恒温调节器至绿灯亮。在升温过程中，如果红灯熄灭绿灯亮，表示箱内停止加温，此时如果还未达到所需温度，则需转动调节器使红灯再亮，如此反复调节，直到达到所需温度。（不同的培养箱指示灯的颜色可能会不同，应根据具体情况而定。）

③ 恒温 当温度升达到培养温度时，恒温调节器会自动控制调节温度，保持此温度到规定时间。培养过程中，严防恒温调节的自动控制失灵而造成安全事故。

④ 降温 培养时间到达后切断电源，自然降温。

⑤ 开箱取物 待培养箱内温度降至接近室温后，打开箱门，取出培养物品。

2. 高压灭菌器操作步骤

① 加水于夹层中（蒸汽加热的灭菌器无需加水）。

② 放入待灭菌的物品。

③ 盖好容器盖，并用螺旋拧紧。

④ 加热或通入蒸汽。

⑤ 待升至规定压力时，打开排气阀，排出器内冷空气，防止形成“假压”，即压力表所指压力高于实际压力。

⑥ 待容器内蒸汽压力上升至所需压力（如 0.1MPa ）时，开始计时。

⑦ 持续蒸汽加热 $15\sim 20\text{min}$ 。

⑧ 待容器内压力降至自然压力时，打开容器盖，取出灭菌物品。切记不要突然打开容器盖，以防止灭菌器中培养物从盛装的容器中喷出。

⑨ 灭菌效果检查。可将有芽孢的细菌放在培养皿内，用纱布包好，按常法灭菌，灭菌后取出培养皿，若无细菌生长，即表示灭菌效果良好。

3. 细菌过滤器操作步骤

- ① 如使用新的滤菌器,可先以酸溶液处理,再用蒸馏水冲洗、抽滤、干燥后保存。
- ② 如使用旧滤器,可先将滤菌器用硫酸纸包扎好,用高压灭菌锅,在 0.105MPa 高压下进行湿热灭菌处理。
- ③ 无菌操作安装就绪。
- ④ 将待滤液体倒入滤器后,使用抽气机或大号注射器抽气。
- ⑤ 待过滤结束后,先取下抽气管,再打开滤瓶橡皮塞。
- ⑥ 无菌操作取出滤液。
- ⑦ 如果滤瓶被污染,应当先将其浸于不使蛋白质凝固的消毒液中灭菌,再用清水刷洗干净。
- ⑧ 滤板处理后丢掉。

实训 1-7 显微镜的使用与微生物形态观察

一、实训材料

- ① 普通光学显微镜和揩镜纸。
- ② 示教标本(球菌、杆菌、酵母菌、青霉菌、毛霉菌及曲霉菌等)。

二、实训操作

1. 采光

- ① 将显微镜放在桌上合适的位置,调整座位以便于操作。
- ② 如果使用电光源显微镜,应当先将光源亮度调至最小,然后接通电源,调光源亮度为最大亮度的 2/3。
- ③ 选择低倍接物镜(如 10×),并转到中央适宜位置,眼睛推进至接目镜上。
- ④ 如果使用普通光学显微镜,则应当转动反光镜,调节螺旋使镜筒升至适宜的高度,待视野明亮即可。
- ⑤ 如果使用双目显微镜,应当调节双目距离,直到双眼看到单一圆形视野。

2. 放置标本于载物台上

- ① 将标本载玻片用弹簧夹固定,从侧面观察,调节推进器上的螺旋,使光线通过标本。
- ② 选择适宜的低倍(或高倍)接物镜,先调节粗调节螺旋,后调节细调节螺旋,使观察到的图像呈一个比较清晰的倒立图像。
- ③ 上、下移动集光器和光圈,通过观察,确定最佳光亮和最佳图像。

3. 油镜的使用

- ① 如需要使用油镜,则需将光圈大开且集光器上升至载物台。
- ② 在标本上滴一小滴香柏油。
- ③ 眼睛从镜筒的侧面观察,缓慢调节粗(细)调节螺旋直至使油镜浸于油滴内,切勿使油镜与标本相撞。

4. 观察标本微生物形态

- ① 上、下调节细螺旋使模糊的物像清晰。
- ② 调节推进器螺旋,观察不同位置的微生物形态,并在纸上绘制图像或记录所观察到的物像。

5. 整理

- ① 移去载玻片，清洁载物台。
- ② 将光源亮度调至最小，关闭电源。
- ③ 用擦镜纸清洁目镜镜头，检查物镜是否干净，如果需要清洁应当用擦镜纸清洁干净。
- ④ 拔下电源插头，盖上遮尘布或将显微镜放于箱中。

三、注意事项

- ① 显微镜为精密仪器，其各部件不得随意拆卸。
- ② 搬动显微镜时，应当一手握住镜臂，一手托住镜座，放于胸前，以免损坏。
- ③ 使用前前后后都应以软绸或擦镜纸擦拭镜头和机械部分。
- ④ 油镜使用后，应立即先以擦镜纸拭去香柏油，而后用二甲苯擦拭，最后再用擦镜纸擦拭，直到干净为止。
- ⑤ 将各接物镜转成“八”字形，集光镜下移。
- ⑥ 最后将显微镜轻放回镜箱。
- ⑦ 显微镜应当注意防潮（防霉）、防尘、防晒和防热。

实训 1-8 微生物制片与染色技术

一、实训材料

- ① 普通光学显微镜和揩镜纸。
- ② 示教标本和载玻片、接种环、酒精灯。
- ③ 香柏油、二甲苯、石炭酸复红染色剂、草酸铵结晶紫、路哥氏碘液、质量分数为 0.5% 的蕃红液及体积分数为 95% 的酒精。
- ④ 大肠杆菌和枯草杆菌。

二、实训操作

1. 大肠杆菌的简单染色

(1) 涂片 滴一滴生理盐水于干净的载玻片上；按无菌操作规程，用接种环取待检微生物少许；将采取的待检样品与载玻片上的水滴均匀混合；将此混合物均匀地涂成薄薄的一层。

(2) 干燥 置于室温下自然干燥（或用酒精灯烘干，但应当注意勿使载玻片靠近火焰）。

(3) 固定 持待固定的干燥涂片，标本朝上，在酒精灯的火焰上快速通过 2~3 次，以载玻片上的温度不超过 60℃ 和菌体紧贴在载玻片上不易脱落为宜。

(4) 染色 滴加一滴石炭酸复红染色剂于固定后的标本上，染色 1~3min。

(5) 水洗与干燥 用清水冲洗干净多余的染料（勿使水流直接冲刷涂片处），直到洗下的水呈无色为止；自然风干或微微加热，使标本干燥，待镜检。

(6) 镜检 通过显微镜对标本进行检查，以了解待检微生物的细胞结构等信息，并认真做好记录。

2. 枯草杆菌和大肠杆菌的革兰染色

① 经正常涂片、干燥、固定的涂片滴加草酸铵结晶紫，保持 1min。如果结晶紫干了，补加结晶紫。

同，因此也存在几点不同之处：

① 事先准确称取琼脂 20g [液体培养基总量的 2%(质量分数)]，在未补水时，煮沸已制成的液体培养基，在煮沸状态下加入琼脂，并不断搅拌直至完全溶化为止，待冷却后补水至全量。

② 趁热 (50℃) 按排摆放试管，使培养基形成的斜面的长度不超过试管总长的一半。

三、注意事项

① 调节 pH 时应当充分搅拌，防止局部过碱或调节 pH 过头。

② 分装时切勿将培养基沾到试管管口或棉塞上，防止微生物污染。

③ 包扎时用牛皮纸扎紧，勿使水蒸气打湿棉塞，而使棉塞的气密性降低，造成杂菌侵染。

④ 在使用高压灭菌锅时，外盖螺栓应当对称拧紧，以防漏气；并仔细检查排气阀是否畅通。

⑤ 在灭菌操作结束时，必须等待压力表指针降到零时，才能打开排气阀或锅盖，以防容器内的培养基剧烈沸腾而冲出沾污棉塞。

实训 1-10 酵母菌大小测定及计数

一、实训材料与仪器

① 啤酒酵母发酵液。

② 显微镜、接目测微尺、镜台测微尺、16 格×25 格及 25 格×16 格规格的血细胞计数板、无菌水、试管、载玻片、盖玻片、胶头滴管等。

二、实训步骤

1. 酵母菌细胞的大小测量

(1) 酵母水浸片的制备

① 取培养在麦汁培养液中的酵母菌一管，稍加振荡使酵母菌细胞上浮。

② 在无菌条件下，用接种环取一环酵母菌种悬液于载玻片的中央，加少许无菌水，并与菌悬液混合均匀。

③ 取盖玻片一块，小心地将盖玻片的一端与菌液接触，并缓慢地将盖玻片放下（防止产生气泡），制得酵母水浸片。

(2) 接目测微尺的校正

① 将接目测微尺装于接目镜中，而后再将镜台测微尺放于镜台之上，使分度位于视野中央。

② 观察显微镜，调节焦点后使接目镜和镜台测微尺的分度准确一致。

③ 严格检查若干格的接目测微尺，调节接目测微尺，使之恰当地与镜台测微尺相符。

④ 计算接目测微尺每格的长度，如接目测微尺只有 20 个格，并正好与镜台测微尺的 4 个格相符，则接目测微尺每个格的长度为： $(4 \times 0.01) / 20 = 0.002\text{mm} = 2\mu\text{m}$ 。

(3) 酵母菌细胞尺寸的测量与计算

① 取下镜台测微尺，换上酵母水浸片。

② 将标本片置于载物台上观察，测量酵母菌的长和宽约占接目测微尺的格数，并换算