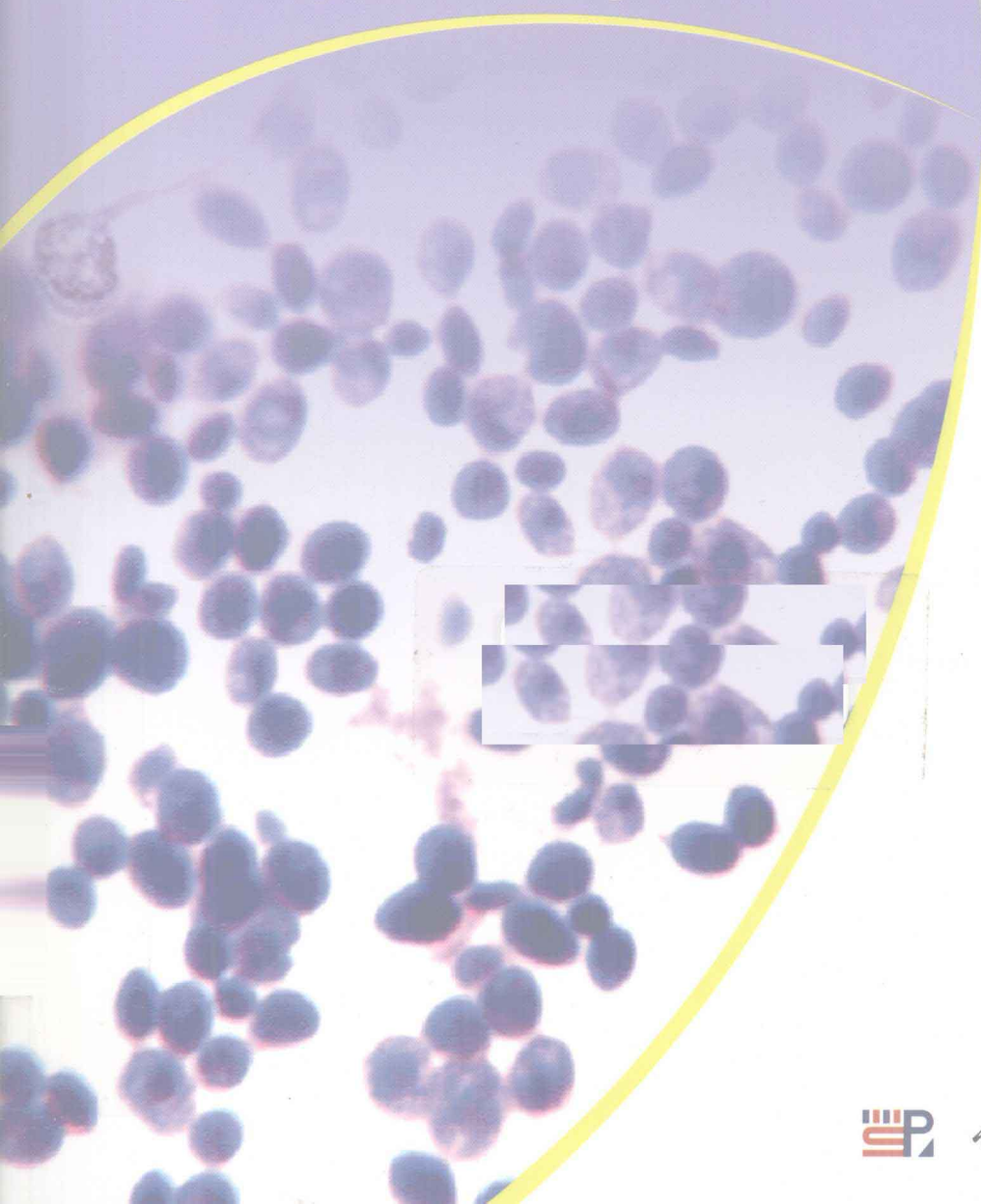




普通高等教育“十二五”规划教材
高职高专食品类专业教材系列

食品微生物

检验技术



姚勇芳 主编



科学出版社

普通高等教育“十二五”规划教材

高职高专食品类专业教材系列

食品微生物检验技术

主编 姚勇芳

主审 杨冠东

副主编 朱美娟 谭才邓

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书主要内容包括：食品微生物检验室建设与管理、食品微生物检验基础操作技术、食品微生物检验总则、食品卫生细菌学检验技术、真菌学检验、食品中常见病原微生物检验技术、发酵食品微生物检验技术、罐装食品商业无菌检验技术。

全书理论突出“必需、够用、实用”的原则，侧重实际操作、检验方法，并对操作经验及食品微生物检验实验室管理等内容做了适当的介绍。可作为高等职业教育食品加工、食品生物技术、食品营养检测、食品储运与营销、农产品安全检验等专业教材使用，也可供相关企业技术人员参考。

图书在版编目 (CIP) 数据

食品微生物检验技术/姚勇芳主编. —北京：科学出版社，2010
(普通高等教育“十二五”规划教材·高职高专食品类专业教材系列)
ISBN 978-7-03-029775-4

I. ①食… II. ①姚… III. ①食品微生物-食品检验-高等学校：技术学校-教材 IV. ①TS207.4

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 247054 号

责任编辑：沈力匀 / 责任校对：马英菊
责任印制 吕春珉 / 封面设计：东方人华平面设计部

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街16号
邮政编码 100717

<http://www.sciencep.com>

铭浩彩色印装有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2011年3月第 一 版 开本：787×1092 1/16

2011年3月第一次印刷 印张：10 3/4

印数 1—3 000 字数 260 000

定价：19.00 元

(如有印装质量问题，我社负责调换〈俊〉)

销售部门电话 010-62134988 编辑部电话 010-62135235 (VP04)

版权所有，侵权必究

举报电话：010-64030229；010-64034315；13501151303

前 言

《食品微生物检验技术》是按照食品营养与检测专业的培养目标、岗位能力要求以及食品微生物检验技术课程标准，结合编者多年来从事食品微生物检验方面的教学和实践的经验，并根据行业、企业的发展和实际工作岗位的需求而编写的。本书以岗位技能性知识为主，适度够用的原理与概念为辅，突出以“理论必需，应用为主”为原则，以“检验目标引导教学”为主线，以国家食品检验职业标准为依据组合内容；以食品微生物检验操作技能为明线，以微生物学理论知识为暗线，将食品微生物学的理论知识融入微生物检验的各项操作任务之中。

由于食品微生物检验新标准不断地出台，微生物检验的新情况、新问题也不断地涌现，加上作者编写水平有限，书中难免有不足之处。敬请广大读者、专家和同行批评指正。

本书在编写过程中参考了大量同行的出版物，并由广州微生物检测中心主任杨冠东进行了细致的审稿工作，在此一并表示衷心的感谢！

目 录

前言	
绪论	1
第一章 食品微生物检验室建设与管理	9
第一节 食品微生物检验室基本设计	9
第二节 食品微生物检验室使用与管理	11
第二章 食品微生物检验基础操作技术	18
第一节 普通光学显微镜的使用技术	18
第二节 细菌形态观察技术	23
第三节 酵母菌鉴别技术	31
第四节 霉菌鉴别技术	39
第五节 细菌典型生理生化鉴定技术	42
第六节 培养基的制作技术	47
第七节 消毒与灭菌技术	54
第八节 微生物的分离纯化技术	62
第九节 细菌、霉菌接种技术	66
第三章 食品微生物检验总则	70
第一节 样品采集	70
第二节 样品的标记和运输	74
第三节 样品的处理	79
第四节 检验与报告	82
第四章 食品卫生细菌学检验技术	84
第一节 食品卫生菌落总数检验技术	84
第二节 食品生产环境菌落总数检验技术	90
第三节 食品卫生大肠菌群检验技术	93
第五章 真菌学检验	100
第一节 霉菌和酵母菌菌数检验技术	100
第二节 常见产毒霉菌的鉴定技术	104
第六章 食品中常见病原微生物检验技术	110
第一节 沙门氏菌检验技术	110
第二节 志贺氏菌检验技术	117
第三节 致泻大肠埃希氏菌检验技术	124
第四节 金黄色葡萄球菌检验技术	128
第五节 副溶血性弧菌检验技术	133

第六节 单核细胞增生李斯特氏菌检验技术·····	137
第七章 发酵食品微生物检验技术·····	143
第一节 食品中乳酸菌数的检验技术·····	143
第二节 酱油种曲孢子数及发芽率的测定·····	149
第八章 罐装食品商业无菌检验技术·····	154
主要参考文献·····	164

绪 论

能力目标

- (1) 掌握食品微生物的检验技术。
- (2) 掌握不同食品中存在的微生物污染种类。

知识目标

- (1) 了解食品安全与微生物的关系。
- (2) 理解食品微生物检验意义。

一、微生物与食品安全

食品安全是世界范围内广泛关注的问题，近年来中国也屡屡发生由于食品污染所引起的食物中毒事件，例如，2008年的三鹿奶粉事件。有统计显示，在影响中国食品安全的诸多因素中，微生物性污染高居首位。根据中国卫生部通报，中国1990~1999年10年间发生的食物中毒事件中，微生物性食物中毒居各类食物中毒病原的首位，成为中国食品安全的头号杀手。2007年报告的食物中毒中，微生物性食物中毒的人数占总数的58.86%。食品的微生物性污染是由一些致病性微生物而引起的，主要包括细菌、真菌和病毒等三类。由于微生物具有较强的生态适应性，在食品原料的加工、包装、运输、销售、保存以及食用等每一个环节都可能被微生物污染。同时，微生物具有易变异性，未来可能会不断有新的病原微生物威胁着食品的安全和人类的健康。

(一) 细菌性污染

细菌性污染是涉及面最广、影响最大、问题最多的一类食品污染，其引起的食物中毒是所有食物中毒中最普遍、最具爆发性的。细菌性食物中毒全年皆可发生，具有易发性和普遍性等特点，对人类健康有较强的威胁。细菌性食物中毒可分为感染型和毒素型，感染型如沙门氏菌属 (*Salmonella*)、变形杆菌属 (*Proteus*) 引起的食物中毒。毒素型又可分为体外毒素型和体内毒素型两种，体外毒素型是指病原菌在食品内大量繁殖并产生毒素，如葡萄球菌 (*Staphylococcus*) 肠毒素中毒、肉毒梭菌 (*Clostridium botulinum*) 毒素中毒。体内毒素型是指病原体随食品进入人体肠道内产生毒素而引起中毒，如产气荚膜梭状芽孢杆菌 (*Clostridium perfringens*) 食物中毒、产肠毒素型大肠杆菌 (*ETEC*) 食物中毒等。也有感染型和毒素型混合存在的情况发生。引起食品污染的微生物主要有沙门氏菌、副溶血性弧菌 (*Bibriopara hemolyticus*)、志贺菌 (*Shigella*)、葡

萄球菌等。近年来,变形菌属、李斯特菌 (*Listeria*)、大肠菌科、弧菌属 (*Vibrio*) 引起的食品污染呈上升趋势。沙门氏菌是全球报送最多的、各国公认的食源性疾病的首要病原菌,其中 96% 的患者是由于摄入食物而引起的。1999 年在美国、2000 年在法国都发生过李斯特菌中毒事件。根据美国食品和药物管理局 (FDA) 的统计,2001~2005 年,美国共有 470 人因饮用生牛奶而感染埃希氏大肠杆菌,总共发生中毒事件 18 起,涉及 16 个州。

(二) 真菌性污染

真菌在发酵食品行业应用非常广泛,但许多真菌也可以产生真菌毒素,引起食品污染。尤其 20 世纪 60 年代发现强致癌的黄曲霉素以来,真菌与真菌毒素对食品的污染日益引起人们重视。真菌毒素不仅具有较强的急性毒性和慢性毒性,而且具有致癌、致畸、致突变性,如黄曲霉 (*Aspergillus flavus*)、寄生曲霉 (*Aspergillus parasiticus*) 产生的黄曲霉素,麦角菌 (*Claviceps purpurea*) 产生的麦角碱,杂色曲霉 (*Aspergillus versicolor*)、构巢曲霉 (*Aspergillus nidulans*) 产生的杂色曲霉素等。真菌毒素的毒性可以分为神经毒、肝脏毒、肾脏毒、细胞毒等,例如黄曲霉素具有强烈的肝脏毒,可以引起肝癌。真菌性食品污染一是来源于作物种植过程中的真菌病,如小麦、玉米等禾本科作物的麦角病、赤霉病,都可以引起毒素在粮食中的累积;另一来源是粮食、油料及其相关制品保藏和储存过程中发生的霉变,如甘薯被痂腐腐皮镰刀菌 (*Fusarium solani*) 或甘薯长喙壳菌 (*Ceratocystis fimbriata*) 污染可以产生甘薯酮、甘薯醇、甘薯宁毒素,甘蔗保存不当也可被甘蔗节菱孢霉 (*Arthrimum sacchari*) 侵染而霉变。常见的产毒真菌主要有曲霉 (*Aspergillus*)、青霉 (*Penicillium*)、镰刀菌 (*Arium*)、交链孢霉 (*Alternaria*) 等。由于真菌生长繁殖及产生毒素需要一定的温度和湿度,真菌性食物中毒往往有比较明显的季节性和地区性。在中国,北方食品中黄曲霉素 B₁ 污染较轻,而长江沿岸和长江以南地区较重。也有调查发现,肝癌等癌症的发病率与当地的粮食霉变现象有一定关系。大型真菌中的毒蘑菇也含有毒素,其毒性有胃肠炎型、神经精神型、溶血型、肝病型等。中国的毒蘑菇约有 100 多种,中毒事件经常发生。据卫生部统计,2007 年,全国食物性中毒有 13280 人,死亡 258 人。其中,526 人因食毒蘑菇中毒,113 人死亡,其死亡人数占食物中毒死亡总人数的 43.80%。

(三) 病毒性污染

与细菌、真菌不同,病毒的繁殖离不开宿主,所以病毒往往先污染动物性食品,然后进一步通过宿主、食物等媒介进行传播。带有病毒的水产品,患病动物的乳、肉制品一般是病毒性食物中毒的起源。与细菌、真菌引起的病变相比,病毒病多难以有效治疗,更容易爆发流行。常见食源性病毒主要有甲型肝炎病毒 (*Hepatitis A*)、戊型肝炎病毒 (*Hepatitis E*)、轮状病毒 (*Rotavirus*)、诺瓦克病毒 (*Norwalk*)、朊病毒 (*Prion*)、禽流感病毒 (*Avian influenza*) 等,这些病毒曾经或仍在肆虐,造成许多重大的疾病事件。1988 年初,上海市区居民因食用甲型肝炎病毒污染的毛蚶而使甲型肝炎爆发流行,发病人数达 30 万。由朊病毒引起的疯牛病于 1986 年首先在英国被确认,迄今

为止，全球共有 100 余人死于这一病症，据估计，西欧已有 50 万人被疯牛病毒所感染，预计到 2040 年将有 6 万~13.6 万人病发死亡。由 H5N1 型高致病性禽流感病毒引起的禽流感疫情爆发以来，全球死亡人数已经过百，中国也有 10 余人死亡。美国目前每年有 2300 万例诺瓦克病毒性胃肠炎，其中 5 万患者需住院治疗，300 人死亡。

二、食品微生物污染的途径

(一) 内源性污染

凡是作为食品原料的动植物体在生活过程中，由于本身带有的微生物而造成食品的污染称为内源性污染，也称第一次污染。如畜禽在生活期间，其消化道、上呼吸道和体表总是存在一定类群和数量的微生物；受到沙门氏菌、炭疽杆菌等病原微生物感染的畜禽某些器官和组织内就会有病原微生物的存在。

(二) 外源性污染

食品在生产加工、运输、储藏、销售、食用过程中，通过水、空气、人、动物、机械设备及用具等使食品发生微生物污染称为外源性污染，也称第二次污染。

1. 通过水污染

食品生产加工过程中，水既是许多食品的原料或配料成分，也是清洗、冷却、冰冻不可缺少的物质，设备、环境及工具的清洗也需要大量用水。各种天然水源（地表水和地下水）不仅是微生物的污染源，也是微生物污染食品的主要介质。自来水是天然水经过净化消毒后而供饮用的，正常情况下含菌较少，但若自来水管出现漏洞、管道中压力不足或暂时变成负压时，则会引起管道周围环境中的微生物渗漏进入管道，使水中的微生物数量增加。生产中所用的水如果被生活污水、医院污水或厕所粪便污染，就会使微生物数量骤增，其中不仅可能含有细菌、病毒、真菌、钩端螺旋体，还可能含有寄生虫，用这种水进行食品生产会造成严重的生物性污染，甚至可能导致其他有毒物质污染，所以水的卫生质量与食品的卫生质量密切相关，食品生产用水必须符合饮用水标准。

2. 空气污染

空气中的微生物可能来自土壤、水、人及动植物的脱落物和呼吸道、消化道的排泄物。人体的痰沫、鼻涕与唾液的小水滴中含有的微生物包括病原微生物，它们可随着灰尘、水滴的飞扬或沉降而污染食品，人在讲话或打喷嚏时，距身体 15m 内的范围是直接污染区，因此不应使食品直接暴露在空气中。

3. 人及动物接触污染

如果食品从业人员的身体、衣帽不经常清洗，不保持清洁，就会有大量的微生物附在其上，通过皮肤、毛发、衣帽与食品接触而造成污染。在食品的加工、运输、储藏及销售过程中，如果被鼠、蝇、蟑螂等直接或间接接触，同样会造成食品的微生物污染。

试验证明，每只苍蝇带有数百万个细菌，80%的苍蝇肠道中带有痢疾杆菌，鼠类粪便中带有沙门氏菌、钩端螺旋体等病原微生物。

4. 加工设备及包装材料污染

食品生产加工、运输、储藏过程中所用的各种机械设备及包装材料，在未经消毒或灭菌前，总会带有不同数量的微生物而污染食品，通过不经消毒灭菌的设备越多，造成微生物污染的机会也越多。已经消毒灭菌的食品，如果使用的包装材料未经灭菌处理，则会造成食品的二次污染。

三、食品微生物检验的任务和内容

食品微生物检验是食品质量监测的重要组成部分。

食品的微生物污染情况是食品卫生质量的重要指标之一。通过微生物检验，可以判断食品的卫生质量（微生物标准）及是否可食用，从而判断食品的加工环境和食品原料及其在加工过程中被微生物污染及生长的情况，为食品环境卫生管理和食品生产管理以及对某些传染病的防疫措施提供科学依据，以防止人类因食物而发生微生物中毒或感染，保障人类健康。

食品微生物检验就是应用微生物学及其相关学科的理论与方法，研究外界环境和食品中微生物的种类、数量、性质、活动规律及其对人体健康的影响。具体来说，有以下两个方面。

（一）食品微生物检验的范围

1. 生产环境的检验

生产环境的检验包括车间用水、空气、地面、墙壁等的微生物学检验。

2. 原辅料的检验

原辅料的检验包括主料、辅料、添加剂等一切原辅料的微生物学检验。

3. 食品加工、储藏、销售环节的检验

食品加工、储藏、销售环节的检验包括生产工人的卫生状况、加工工具、生产环境、运输车辆、包装材料等的微生物学检验。

4. 食品的检验

食品的检验重点是对出厂食品、可疑食品及食物中毒的检验，这是食品微生物检验的重点范围。

（二）食品微生物检验的指标

1. 菌落总数

菌落总数是反映食品的新鲜度、被细菌污染的程度及在加工过程中细菌繁殖情况的

一项指标，是判断食品卫生质量的重要依据之一。

2. 大肠菌群

大肠菌群寄居于人及温血动物肠道内。因此，大肠菌群数可反映食品受粪便污染的情况，是评价食品卫生质量的重要依据之一。

3. 致病菌

致病菌种类多，特性不一，在食品中进行致病菌检验时不可能对各种致病菌都进行检验，而应根据不同的食品或不同场合选检某一种或几种致病菌。如罐头食品常选检肉毒梭状芽孢杆菌，蛋及蛋制品选检沙门氏菌、金黄色葡萄球菌等。当某种病流行时，则有必要选检引起该病的病原菌。

另外，目前与肝炎病毒、口蹄疫病毒、猪瘟病毒等与人类健康有直接关系的病毒类微生物在一定场合也是食品微生物检验的指标。

四、食品微生物检验新技术的概述

随着现代科学技术的不断发展，特别是免疫学、生物化学、分子生物学的不断发展，新的细菌诊断技术和方法已广泛用于食品微生物的鉴别。传统的细菌分离、培养及生化反应，已远远不能满足对各种病原微生物的诊断以及流行病学的研究。近年来国内外学者不断努力，已创建不少快速、简便、特异、敏感、低耗且适用的细菌学诊断方法，尤其是 DNA 探针和多聚酶链反应技术的发展和运用，明显提高了细菌的诊断水平。

(一) 快速酶触反应及细菌代谢产物的检测

快速酶触反应是根据细菌在其生长繁殖过程中可合成和释放某些特异性的酶，按酶的特性，选用相应的底物和指示剂，将它们配制在相关的培养基中。根据细菌反应后出现的明显的颜色变化，确定待分离的可疑菌株，反应的测定结果有助于细菌的快速诊断。这种技术将传统的细菌分离与生化反应有机地结合起来，并使得检测结果直观，正成为今后微生物检测发展的一个主要发展方向。Rosa 等将样本直接接种于 Granda 培养基，经 18h 培养后，B 群链球菌呈红色菌落且可抑制其他菌的生长。

Delise 等新合成一种羟基吡啶- β -D-葡萄糖苷酸 (IBDG)，在 β -D-葡萄糖苷酶的作用下，生成不溶性的蓝色，将一定量的 IBDG 加入到麦康盖培养基琼脂中制成 MAC-IBDG 平板，35℃ 培养 18h，出现深蓝色菌落者为大肠埃希氏阳性菌株。其色彩独特，且靛蓝不易扩散，易与乳糖发酵菌株区别。

(二) 免疫学方法检测细菌抗原或抗体的技术

在细菌诊断中利用免疫学的各种方法日益受到人们的极大关注，从而简化了病原微生物的鉴定手续。

1. 抗血清凝集技术

早在 1933 年, Lancefield 就成功地用多价血清对链球菌进行了血清分型。随着抗体制备技术的进一步完善, 尤其是单克隆抗体的制备, 明显提高了细菌凝集实验的特异性, 今天广泛用于细菌的分型和鉴定, 如沙门氏菌、霍乱弧菌等。

2. 乳胶凝集实验

将特异性的抗体包被在乳胶颗粒上, 通过抗体与相应的细菌抗原结合, 产生肉眼可见的凝集反应。通常此法需获得细菌纯培养物, 再将培养物与致敏乳胶反应。乳胶凝集实验业已用于鉴定大肠杆菌 O157 : H7。

3. 荧光抗体检测技术

用于快速检测细菌的荧光抗体技术主要有直接法和间接法。直接法是在检测样品上直接滴加已知特异性荧光标记的抗血清, 经洗涤后在荧光显微镜下观察结果。间接法是在检样上滴加已知的细菌特异性抗体, 待作用后经洗涤, 再加入荧光标记的第二抗体。如研制成的抗沙门氏菌荧光抗体, 用于 750 份食品样品的检测, 结果表明与常规培养法符合率基本一致。

4. 协同凝集试验 (COA)

业已证实, 葡萄球菌 A 蛋白 (SPA) 具有与人及各种哺乳动物 IgG 的 Fc 段结合的能力, 而不影响抗体 Fab 段的活性。近年来国内外学者采用抗体致敏的 SPA 检测细菌即协同凝集试验。如 Rahman 等用协同凝集试验鉴定霍乱弧菌 O1 群的初代分离物做快速筛选, 比常规法节省时间, 对 204 份材料用两种方法比较表明协同凝集试验具有较高的特异性和敏感性。

5. 酶联免疫测试技术

酶联免疫技术的应用, 大大提高了检测的敏感性和特异性, 现已广泛地应用在病原微生物的检验。应用酶联免疫技术制造的 mini-Vidas 全自动免疫分析仪, 是用荧光分析技术通过固相吸附器, 用已知抗体来捕捉目标生物体, 然后以带荧光的酶联抗体再次结合, 经充分冲洗, 通过激发光源检测, 即能自动读出发光的阳性标本, 其优点是检测灵敏度高、速度快, 可以在 48h 的时间内快速鉴定沙门氏菌、大肠杆菌 O157 : H7、单核李斯特菌、空肠弯曲杆菌和葡萄球菌肠毒素等。

(三) 分子生物学技术在检测食源性病原微生物中的应用

随着分子微生物生物学和分子化学的飞速发展, 对病原微生物的鉴定已不再局限于对它的外部形态结构及生理特性等一般检验上, 而是从分子生物学水平上研究生物大分子, 特别是核酸结构及其组成部分。在此基础上建立的众多检测技术中, 核酸探针和聚合酶链反应以其敏感、特异、简便、快速的特点成为世人瞩目的生物技术革命的新产

物,业已逐步应用于食源性病原菌的检测。

1. 核酸探针杂交技术原理

将已知核苷酸序列 DNA 片段用同位素或其他方法标记,加入已变性的被检 DNA 样品中,在一定条件下即可与该样品中有同源序列的 DNA 区段形成杂交双链,从而达到鉴定样品中 DNA 的目的,这种能认识到特异性核苷酸序列有标记的单链 DNA 分子称为核酸探针或基因探针。

根据完成杂交反应所处介质的不同,分成固相杂交反应和液相杂交反应。

(1) 固相杂交反应是在固相支持物上完成的杂交反应,如常见的印迹法和菌落杂交法。事先破碎细胞使之释放 DNA/RNA,然后把裂解获得的 DNA/RNA 固定在硝基纤维素薄膜上,再加标记探针杂交,依颜色变化确定结果,该法是最原始的探针杂交法,容易产生非特异性背景干扰。

(2) 液相杂交法是指杂交反应在液相中完成,不需固相支持,优点是杂交速度比固相杂交反应速度快 10 倍。缺点是为消除背景干扰必须进行分离,以除去加入反应体系中的干扰剂。

分离杂交 DNA 探针的方法有两种,一种用羟磷灰石,它仅能与双股 DNA 结合,单股 DNA 在和羟磷灰石结合前必须先同一个探针或互补单链杂交成双股 DNA 才可。当溶液中 DNA 通过羟磷灰石柱时,只有双股 DNA 能吸附,然后再把吸附在柱上的 DNA 洗脱下来,最后用激活的标记物检测。另一种分离方法运用磁球技术把探针与小磁球连接,再用多核苷酸尾部连接第二探针,不用离心就能分离 DNA 与未杂交 DNA。短寡核苷酸能和磁球连接,也能从磁球上洗脱,在以 mRNA 系统进行靶循环的检测过程中,该方法能将背景干扰降低 2~3 个数量级,从而达到较高的敏感性。

2. 聚合酶技术 (PCR) 的原理

为提高 DNA 探针的敏感性,可先将靶 DNA 序列扩增,增加 DNA 数量,使其达到足够的检测量,若反应以动力学为基础,则能定量分析。1983 年 Millus 和 Cetus 发明了最基本的扩增 DNA 或增加样品中特殊核苷酸片段数量的方法,聚合酶链反应即 PCR 法。PCR 法建立在三步重复发生反应的基础上。

(1) 通过热处理将双股 DNA 变性裂解成单股 DNA。

(2) 退火延伸引物至特异性寡核苷酸上。

(3) 酶促延伸引物与 DNA 配对合成模板,引物退火,变性 DNA 片段,引物杂交形成的模板可参与再次反应。

溶液中核苷酸通过酶聚合成相互补对的 DNA 片段,并能重新裂解成单股 DNA,成为下次 PCR 复制的模板。因此每次循环特异性 DNA 将以双倍量增加。典型扩增经过 40 次循环能引起 100 万倍的扩增。在 PCR 反应中引入 Taq 聚合酶使反应得以半自动化和简便反应程序。用扩增 DNA 进行的 PCR 反应具有无与伦比的优越性。为快速准确地检测食品中污染的病原微生物带来一线曙光。

当然 PCR 也存在缺点,主要是系统容易受外源 DNA 的污染,并随样品中待检

DNA 一起扩增。特别是 1990 年 Bottger 发现某些 Taq 聚合酶被外源性 DNA 物质污染。另外试验中需要一定的特殊设备和熟练的操作技术，尚不能全自动化，需要花费劳力制备待检样品。

（四）病原微生物的自动化系统

近年来，随着计算机技术的不断发展，对病原微生物的鉴定技术朝着微量化、系列化、自动化的方向发展，从而开辟了微生物检测与鉴定的新领域。最有代表性的是 AMS 微生物自动分析系统。

AMS 为美国 VITEK 厂产品，属于自动化程度高的仪器，由 7 个部件组成应用一系列小的、多孔的聚苯乙烯卡片进行测试，卡片含有干燥的抗菌药物和生化基质，可用于不同的用途，卡片用后可弃去。

操作时，先制备一定浓度的欲鉴定菌株的菌悬液，然后将菌悬液接种到各种细菌的小卡上，将其放入具有读数功能的孵箱内，每隔一定时间，仪器会自动检测培养基的发酵情况，并换算成能被计算机所接受的生物编码。最后由计算机判定，打印出鉴定结果。

该套系统检测卡片为 14 种，每一种鉴定卡片要含有 25 种以上的生化反应指标，基本同常规检测鉴定，检测所需时间为 4~8h，最长不超过 20h。

第一章 食品微生物检验室建设与管理

第一节 食品微生物检验室基本设计

☞ 能力目标

掌握不同食品企业微生物检验室布局。

☞ 知识目标

理解微生物检验室建设与产品卫生标准的关系。

☞ 教学方式

教师讲解原理→学生讨论→独立设计→总结修改。

☞ 效果评价

实验室设计合理。

食品微生物检验室的布局

【选址与规模】

(1) 检验室应建设在远离粉尘、噪声、散发异味气体等地方；电源电压应当相对稳定的地点。根据企业规模和产品种类，应建设不同要求的化验室。

(2) 室内应有足够的照明条件。

(3) 室内必须配置干粉或二氧化碳灭火器，以备电器或化学品燃烧灭火使用。

(4) 所有电器插座均应有牢固的地线装置，以防止设备带电，造成操作人员触电事故。有条件的还应在地面铺设绝缘胶板。

【食品微生物检验室的各功能室】

食品厂微生物检验室的功能室主要包括办公室、通用实验室、灭菌室、更衣室、缓冲室、培养室、无菌室等。

1. 办公室

实验室的办公室是检验工作人员办公的地方，其面积应 20m²左右，通风采光好，内设基本的办公桌、椅、电脑、存放资料和留样的柜等。检验工作人员可以在办公室里

登记待检验的样品、出检验报告和处理有关的文件资料等，也可供工作人员在工作过程中放松休息，以便更清醒地思考、分析和解决问题。

2. 通用实验室

通用实验室是供进行微生物检验准备工作和非无菌操作实验时使用的，也可供理化检验及科研工作使用。通用实验室应设有较大的长方形工作台作为实验操作台，台下设计了各专用仪器柜，台面用石板加塑胶垫等不易腐蚀和稳固耐用的材料设置，并设有专用搁物架。另外，还应设置一个适当大小的通风橱，配有排气系统和安装给排水系统，如水槽及水槽上的各种水龙头。实验室的地面设计为水磨石地面，这样既容易清洁和不易积水，方便工作，并有良好的通风照明设备和消防设施。

通用实验室为了方便实验工作的开展，通常配备了常用的仪器（分光光度计、pH计、烘箱、电炉等）及常用的各种玻璃器皿和常用的各种化学试剂、药品。此外，还应配有清洁用工具和工作服。如果工厂条件许可，检验人员可以根据分工，各自拥有专用的实验工作台或工作地方，以便快速、高效地完成检验任务。

3. 灭菌室

灭菌室是培养基及有关的检验材料灭菌的场所。灭菌设备是高压设备，具有一定的危险性，所以灭菌室应与办公室保持一定距离，以保证安全，使用时应有专人操作，但也要方便工作，通常设在通用实验室附近并与其保持一定距离（如隔一条走廊的距离或小房间的距离），以减少影响。灭菌室内安装有灭菌锅等灭菌设备。如果有条件的工厂可以配置更好的仪器设备（如双扇高压灭菌柜和安全门等设施）。另外，灭菌室里应水电齐备，并有防火措施和设备，人员要遵守安全操作制度。

4. 更衣室

更衣室是为进行微生物检验时进入无菌室之前的工作人员更衣、洗手的地方。室内设置无菌室及缓冲室的电源控制开关，并放置无菌操作时穿的工作服、鞋、帽子、口罩等。有时还设有装有鼓风机的小型房间，其作用是减少工作人员带入的杂菌，但相应其成本也很高。

5. 缓冲室

缓冲室是进入无菌室之前所经过的房间，安装有鼓风机，以减少操作人员进入无菌室时的污染，保证实验结果的准确性。进口和出口通常是呈对角线位置，以减少空气直接对流造成的污染。要求比较高的微生物检验项目，如致病菌的检验，应设有多个缓冲室。

6. 培养室

培养室是为微生物检验时培养微生物的房间，通常要配备恒温培养箱、恒温水浴锅及振荡培养箱等设备，或整个房间安装保温、控温设备。房间要求保持清洁，有防尘、隔噪声等功能。出于实际工作情况考虑，灭菌室与准备室可以合并在一起使用，有条件的工厂还可以设置样品室和仪器室。总地来说，微生物检验室的硬件建设要合理和实用，讲究科学性。

7. 无菌室

无菌室是微生物检验过程无菌操作的场所，要求密封、清洁，安装紫外灯和空调设备（带过滤设备）及传递物品用的传递小窗，传递小窗应向缓冲室内开口以减少污染和方便工作。另外，无菌室内还应配备超净工作台和普通工作台。有条件的工厂可设置生物安全柜。

【化实验室主要仪器设备】

微生物检验常用的仪器设备主要有：显微镜、电冰箱、培养箱、水浴锅、均质器、电子天平、电炉、分光光度计、灭菌锅、超净工作台、紫外线灯等，仪器设备可根据工厂实际情况和检验项目进行选择和配置。

【食品微生物实验室布局要求】

1) 环境要求

- (1) 实验室工作区域应与办公室区域明显分开。
- (2) 实验室工作面积和总体布局应能满足从事检验工作的需要，实验室布局应采用单方向流程，避免交叉污染。
- (3) 实验室内环境的温度、湿度、照度、噪声和洁净度等应符合工作要求。
- (4) 洁净区域应有明显的标志。

2) 仪器的布局

- (1) 动仪器与静仪器分开。精密仪器（如光度计、天平、比色计、酸度计、色谱仪等）应必须与震动仪器（如振荡器、验粉筛、离心机、搅拌器等）分开。
- (2) 常温与热源设备分开。热源仪器（如电热蒸馏水器、恒温干燥箱、高温电阻炉、恒温培养箱、水浴锅、电炉等）必须与其他一切设备分开，不然会影响其他设备的正常使用，严重的会造成热蒸汽腐蚀其他设备，影响其使用寿命。
- (3) 化学分析台与热源设备分开。化学分析台面上应尽量少放易燃和腐蚀性试剂。化学分析台的摆放应远离热源设备。

第二节 食品微生物检验室使用与管理

🔍 能力目标

掌握无菌室的使用方法。

🔍 知识目标

掌握微生物室人员、药品及仪器的管理。

🔍 教学方式

教师讲解→学生讨论→参观无菌室→总结。

🔍 效果评价

食品微生物检验室使用与管理合理性。