

国家示范性高职院校建设项目成果系列



北京电子科技职业学院

WEISHENGWU SHIYONGJINENG XUNLIAN

微生物实用技能训练

主编 李双石



中国轻工业出版社

全国百佳图书出版单位

国家示范性高职院校建设项目成果系列

微生物实用技能训练

主 编 李双石



中国轻工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

微生物实用技能训练/李双石主编. —北京: 中国轻工业出版社, 2014. 8

国家示范性高职院校建设项目成果系列

ISBN 978 - 7 - 5019 - 7532 - 7

I. ①微… II. ①李… III. ①微生物学—高等职业教育—教材
IV. ①Q93

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2014) 第 085824 号

责任编辑: 张 靓 贾 磊

策划编辑: 张 靓 责任终审: 张乃柬 封面设计: 锋尚设计

版式设计: 王超男 责任校对: 晋 洁 责任监印: 张 可

出版发行: 中国轻工业出版社 (北京东长安街 6 号, 邮编: 100740)

印 刷: 北京君升印刷有限公司

经 销: 各地新华书店

版 次: 2014 年 8 月第 1 版第 1 次印刷

开 本: 720 × 1000 1/16 印张: 20.5

字 数: 410 千字

书 号: ISBN 978-7-5019-7532-7 定价: 39.00 元

邮购电话: 010 - 65241695 传真: 65128352

发行电话: 010 - 85119835 85119793 传真: 85113293

网 址: <http://www.chlip.com.cn>

Email: club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请直接与我社邮购联系调换

091110J2X101ZBW

本书编写人员

主 编：李双石（北京电子科技职业学院）

参 编：李向东（北京光明健能乳业有限公司）

梁恒宇（中粮营养健康研究院）

严寅卓（中国食品发酵工业研究院）

吴小禾（中山职业技术学院）

兰 蓉（北京电子科技职业学院）

李 淳（北京电子科技职业学院）

张虎成（北京电子科技职业学院）

宋金慧（北京电子科技职业学院）

前 言

微生物技术是生物及其相关专业（如食品专业、环境专业、医药专业和生物技术专业）的一门必修专业基础课，课程主要培养学生完成微生物分离培养、微生物检测与鉴定、微生物选育与保藏、消毒与灭菌等工作任务所必备的基础理论、专业技能和职业素养。教材编写总体思路紧紧围绕高职高专层次应用型人才的培养目标，力求将理论、技术和方法融为一体，以企业人才岗位技能需求为依托，按“工学结合”的要求设计教材内容，将企业岗位标准操作规程引入教材，兼顾学生自学、教师教学和企业微生物技术工作人员培训等各方面需求，注重学生实践能力和全面素质的培养，以符合社会对高等技术应用型人才的需求。本教材创新了编写模式，课程内容职业化、项目化，选用项目的适用性、典型性和可操作性较强，体现了行动导向的实践教学模式，便于学生和教师有效利用。

本教材共分 13 个项目，内容分为基础部分和应用部分。基础部分包括微生物技术基础认知训练，微生物显微形态观察技能训练，微生物制片与染色技能训练，消毒灭菌技能训练，培养基选择与制备、分装技能训练，微生物接种、分离纯化与培养技能训练，微生物菌株保藏技能训练，微生物生长量测定技能训练，微生物分类与鉴定技能训练，微生物选育技能训练 10 个项目；应用部分包括微生物技能在食品行业的应用，微生物技能在环保行业的应用，微生物技能在医药行业的应用 3 方面内容。教师在教学过程中可根据不同专业的培养目标和实验实训条件，有针对性地进行项目选择。每个项目均设有项目介绍（含项目背景、项目任务和项目目标）、背景知识、项目实施和项目思考，使学生在项目任务完成过程中构建和完善自己的知识体系。正文内还穿插有“拓展知识窗”，用于加深学生对项目的理解。

本教材是校企合作共建教材，由北京电子科技职业学院、中山职业技术学院的多名教师 and 北京光明健能乳业有限公司、中粮营养健康研究院、中国食品发酵

工业研究院的多位微生物工作者共同完成。

本教材适合生物专业、食品专业、医药专业和环境专业的高职高专师生用作微生物学的理论和实训教材，也可供从事微生物发酵生产、微生物检验和研究工作的科技人员作为培训教材或参考书使用。

限于编者的学识和水平，书中有不当甚至错漏之处，殷切希望读者和同行给予批评指正。

李双石

2014 年 2 月

目 录

1	项目一 微生物技术基础认知训练
1	项目介绍
1	项目背景
1	项目任务
1	项目目标
2	背景知识
2	一、微生物的概念
2	二、微生物的生物学特性
4	三、微生物学的发展
7	四、微生物实验室基本要求
9	五、微生物实验室工作规则
10	六、微生物实验室意外事故的处理
11	七、微生物实验室常用仪器和设备
15	八、微生物实验室常用器皿
16	项目实施
16	任务一 微生物实验室安全隐患排查
17	任务二 微生物实验室建设
17	项目思考
18	项目二 微生物显微形态观察技能训练
18	项目介绍
18	项目背景
18	项目任务
18	项目目标
19	背景知识
19	一、微生物的种类
19	二、常见微生物类群的形态与大小
41	三、普通光学显微镜的结构和使用
46	四、生物绘图的基本要求
47	五、微生物显微测微技术
49	项目实施
49	任务一 微生物标本片的形态观察

49	任务二 微生物大小的测定
50	项目思考
52	项目三 微生物制片与染色技能训练
52	项目介绍
52	项目背景
52	项目任务
52	项目目标
53	背景知识
53	一、常见微生物的细胞结构
63	二、微生物制片与染色简介
67	三、细菌染色法
70	四、细菌特殊构造染色法
73	五、霉菌、放线菌和酵母菌染色法
77	项目实施
77	任务一 细菌的简单染色
78	任务二 细菌的革兰氏染色
78	任务三 细菌芽孢、荚膜和鞭毛染色
80	任务四 放线菌、酵母菌、霉菌的制片和染色
80	项目思考
82	项目四 消毒灭菌技能训练
82	项目介绍
82	项目背景
82	项目任务
82	项目目标
83	背景知识
83	一、环境因子对微生物生长的影响
89	二、消毒技术规范常用术语
90	三、常用消毒灭菌技术
97	四、常用消毒灭菌设备的使用
101	五、常用消毒剂的配制
102	六、常用洗涤剂的配制

103	七、常用玻璃器皿的清洗技术
104	八、常用玻璃器皿的包扎技术
107	项目实施
107	任务一 常见消毒灭菌设备的使用和保养
107	任务二 常用玻璃器皿的包扎与灭菌
107	项目思考
108	项目五 培养基选择与制备、分装技能训练
108	项目介绍
108	项目背景
108	项目任务
108	项目目标
109	背景知识
109	一、微生物的营养物质
111	二、微生物的营养类型
112	三、微生物营养物质的吸收方式
115	四、培养基及其分类
121	五、选择或设计培养基的原则
122	六、培养基的制备
126	项目实施
126	任务 培养基的制备、分装与灭菌
126	项目思考
128	项目六 微生物接种、分离纯化与培养技能训练
128	项目介绍
128	项目背景
128	项目任务
128	项目目标
129	背景知识
129	一、微生物的接种技术
134	二、微生物的分离技术
136	三、微生物的培养技术

140	项目实施
140	任务一 土壤中微生物的分离与纯化
142	任务二 厌氧微生物的培养
143	项目思考
144	项目七 微生物菌株保藏技能训练
144	项目介绍
144	项目背景
144	项目任务
144	项目目标
145	背景知识
145	一、菌种衰退
146	二、菌种复壮
147	三、菌种保藏
156	四、设计菌种保藏方法所依据的原则
156	五、菌种保藏机构
157	项目实施
157	任务一 微生物菌种斜面传代保藏和石蜡油封藏
158	任务二 微生物菌种冷冻真空干燥保藏
158	任务三 微生物菌种液氮超低温保藏
159	任务四 发酵乳制品生产菌种的复壮技术
161	项目思考
162	项目八 微生物生长量测定技能训练
162	项目介绍
162	项目背景
162	项目任务
162	项目目标
163	背景知识
163	一、微生物生长繁殖的测定方法
171	二、微生物群体生长规律——生长曲线
174	项目实施
174	任务一 酵母菌显微镜直接计数

175	任务二 平板菌落计数
175	任务三 大肠杆菌生长曲线的制作
177	项目思考
178	项目九 微生物分类与鉴定技能训练
178	项目介绍
178	项目背景
178	项目任务
178	项目目标
179	背景知识
179	一、微生物在生物界中的地位
179	二、微生物的培养特征
183	三、微生物的血清学反应
187	四、微生物的分类
192	五、微生物的命名
192	项目实施
192	任务一 微生物菌体形态和菌落特征的观察
193	任务二 微生物生化性能鉴定技术
197	任务三 细菌凝集鉴定反应
199	项目思考
200	项目十 微生物选育技能训练
200	项目介绍
200	项目背景
200	项目任务
200	项目目标
201	背景知识
201	一、微生物的繁殖方式
207	二、微生物的遗传变异
212	三、微生物菌种的选育
218	项目实施
218	任务 紫外线诱变筛选淀粉酶活力高的菌株
220	项目思考

222 项目十一 微生物技能在食品行业的应用

222 项目介绍

222 项目背景

222 项目任务

222 项目目标

223 背景知识

223 一、微生物与食品腐败变质

228 二、微生物与食品加工

233 三、食源性致病菌

237 四、食品微生物检验

250 五、食品微生物检验技术的发展

255 项目实施

255 任务一 酸奶的制作

256 任务二 甜酒酿的酿制

258 任务三 食品菌落总数测定

259 任务四 食品大肠菌群计数

259 项目思考

261 项目十二 微生物技能在环保行业的应用

261 项目介绍

261 项目背景

261 项目任务

261 项目目标

262 背景知识

262 一、自然界中微生物的分布

266 二、环境中微生物的相互作用

268 三、微生物与环境污染

270 四、微生物与环境治理

278 五、微生物与环境监测

279 项目实施

279 任务一 空气中细菌总数的测定

281 任务二 自来水中菌落总数和大肠菌群的测定

287	任务三 活性污泥中生物相的观察
290	项目思考
291	项目十三 微生物技能在医药行业的应用
291	项目介绍
291	项目背景
291	项目任务
291	项目目标
292	背景知识
292	一、环境中的病原微生物
294	二、微生物药物
296	三、药物制剂的微生物学检查
297	项目实施
297	任务一 注射剂的无菌检验
298	任务二 口服液中细菌总数、霉菌和酵母菌总数的检查
302	项目思考
303	附录
303	附录一 染色液的配制
306	附录二 实验用培养基的配制
311	附录三 实验用试剂的配制
312	参考文献

项目一 微生物技术基础认知训练

项目介绍

项目背景

微生物是存在于自然界的一大群体形微小、结构简单的生物群体，是生物界中一支数量无比庞大的队伍，它们所起作用的大小、对人们有利或有害，与人们对其活动规律的认识和掌握程度有很大关系。

只有人类认识微生物并逐步掌握其活动规律后，才可能做到使原来无利的微生物变为有利，小利者变大利，有害者变小害、无害甚至有利，从而大大地推动了人类的进步，这就是我们学习微生物学及其技术的根本目的。

微生物实验室是进行微生物实验的重要场所，所有参与微生物实验的人员都必须在健康和安全的环境中从事实验工作，在进行实验之前应当接受安全操作的宣传和培训。每一名从事微生物实验的人员都有对自己和他人的健康安全负责的义务。因此，掌握微生物实验安全知识与技能是每一名微生物实验工作者必须具有的基本素质。

项目任务

任务一 微生物实验室安全隐患排查

任务二 微生物实验室建设

项目目标

知识目标

1. 能理解微生物的基本概念、在自然界的分类地位和重要性。
2. 能理解并举例描述微生物的基本特征。
3. 能理解微生物实验室的工作规则和安全要求。
4. 能阐述微生物实验室所需的设施与设备要求。

能力目标

1. 树立安全防范意识。
2. 能识别微生物实验室常用仪器和器皿，熟悉其功能。

背景知识

一、微生物的概念

微生物 (microorganism, microbe) 是包括所有形体微小的单细胞, 或个体结构简单或多细胞, 或没有细胞结构的低等生物的通称。

微生物并不是生物分类学上的名词, 它是一群进化地位较低的简单生物, 因其个体微小, 通常需借助光学显微镜甚至电子显微镜才能观察其形态结构和大小, 故俗称为“微生物”。但随着科学技术的发展和微生物新物种的发现, 微生物也不仅指在显微镜下才可见的生物了, 因为近年来已经发现有少数微生物是肉眼可见的。例如, 德国科学家在非洲纳米比亚海岸的海床沉积物中发现接近于肉眼可见的世界上最大的细菌, 这种球状细菌直径有 $0.1 \sim 0.3\text{mm}$, 有的可达 0.75mm , 它们比一般细菌大 1000 倍以上; 另外, 一些真核微生物的个体也是肉眼可见的, 有些甚至很大, 如木耳、蘑菇等担子菌。

在生物发展的历史上, 曾把所有的生物分为动物界和植物界两大类。而微生物不仅形体微小、结构简单, 而且它们中间有些类型像动物, 有些类型像植物, 还有些类型既有动物的某些特征, 又具有植物的某些特征, 因而归于动物或植物都不合适。随着科学技术的发展, 根据生物的细胞核结构和遗传学性质, 我国学者王大耜于 1977 年提出六界分类系统, 将生物分类如下: 动物界、植物界、原生生物界 (原生动物、大部分藻类及黏菌)、真菌界 (酵母菌、霉菌)、原核生物界 (细菌、放线菌、蓝细菌等) 和病毒界, 微生物在该系统中分别属于病毒界、原核生物界、原生生物界和真菌界。

二、微生物的生物学特性

(一) 个体小, 结构简单

微生物个体微小, 通常必须借助于显微镜才能观察到。细菌通常以微米 (μm) 为计量单位, 病毒用纳米 (nm) 为计量单位, 类病毒和朊病毒个体最小, 大约是病毒的 $1/100$ 。微生物个体微小, 因而比表面积 (表面积/体积) 大, 具有一个巨大的营养吸收、代谢废物排泄和环境信息接受面。如乳酸杆菌的比表面积是 12000、鸡蛋的比表面积为 1.5、体重 80kg 的人体比表面积则仅为 0.3。这一特点也是微生物与其他生物相区别的关键所在, 是微生物最大的特点。

微生物的结构都很简单，多数为单细胞生物，如细菌、酵母菌、原生动、单细胞藻类等，就算结构较复杂的霉菌也只是多细胞的简单排列，并无组织器官的分化。

（二）吸收多，转化快

由于微生物具有较大比表面积，因而能与环境之间进行迅速的物质能量交换，吸收和转化营养物质。例如，地鼠每天消耗与体重等重的粮食，乳酸杆菌在1h内可分解比自身重1000~10000倍的乳糖，而人要代谢自身体重1000倍的糖则需要250多万小时（约280多年）；某些酵母菌合成蛋白质的能力比大豆强100倍，比食用牛强10万倍。这一特性为微生物高速生长繁殖和产生大量代谢物提供了充分的物质基础。

（三）生长旺，繁殖快

微生物的生长繁殖速度快得惊人，是其他生物所不能比拟的。例如，有的细菌每隔20min即可分裂一次，一天时间内即可繁殖72代，如果不发生细胞死亡且生长不受任何限制，一个细菌则可繁殖成为 2^{72} 个细菌，总质量将达到4722t。当然这种情况是不会出现的，因为营养的限制、空间限制等因素同时也在起作用。

微生物这种惊人的繁殖速度，使我们可以在短时间内获得大量菌体，利用微生物的这一特性就可以实现发酵工业的短周期、高效率生产。例如用酵母生产单细胞蛋白质，每隔8~12h就可以收获一次，如果建一个年产量 10^5 t酵母菌的工厂，且酵母菌的蛋白质含量按45%计算，则相当于56万亩（ $1\text{hm}^2=15$ 亩）农田所生产的大豆蛋白质的量，并且不受气候和季节的影响，这将对缓解全球面临的粮食匮乏有着非常重大的现实意义。

当然，这种快速繁殖的特点也给人类带来了极大的危害，例如病原菌和腐败微生物的快速繁殖极易引起人类发生食物感染或食物中毒。

（四）易变异，适应强

微生物个体微小，对外界环境很敏感，很容易受到各种外界环境的诱导引发变异；另外，微生物的结构简单，缺乏免疫监控系统，很容易变异。正由于微生物的遗传物质易变异，使微生物在长期进化过程中产生了许多灵活的代谢调控机制。为了适应各种各样的污染环境，不仅不同种类的微生物有不同的代谢方式，而且有的同种微生物在不同环境中也具有不同的代谢方式，如酵母菌等兼性厌氧菌有好氧、厌氧和兼性厌氧三种类型。微生物比其他任何生物对环境的变化更敏感，对于变化的环境具有惊人的适应性，甚至能在严酷的外界环境中随机应变，对极端环境具有惊人的适应力。在任何有其他生物生存的环境中，都能找到微生物，而在其他生物不可能生存的极端环境中也可能有微生物存在。

此外，微生物的遗传稳定性差，其遗传的保守性低，因而容易得到微生物突

变株，给人类利用与开发微生物带来广阔契机，使得微生物菌种培育相对容易得多。通过育种工作，可大幅度地提高菌种的生产性能，其产量性状提高幅度是高等动、植物所难以实现的。所以，几乎所有微生物发酵工厂都十分重视菌种选育工作。但是易变异也是导致菌种衰退的内在原因，给微生物菌种保藏工作带来一些不便，此外，微生物还容易由此产生抗药性。

（五）分布广，种类多

微生物因其体积小、重量轻和数量多等原因，故可借助空气、水、动植物等作媒介而到处散播，只要条件适宜，它们就可“随遇而安”，因此无论是土壤、水体和空气，还是动物、植物和人体内外，甚至在高山、深海、冰川、沙漠和盐湖等恶劣环境中也有相适应的微生物存在。

微生物的物种多，据估计，微生物的种数有 50 万~600 万之多，其中已记载的有 20 多万种，包括真菌 9 万种，原生动物和藻类 10 万种，原核生物及病毒等约 1 万种，并不断有新物种被发现，这些数字也在急剧增长过程中。

三、微生物学的发展

因为微生物用肉眼难以看见，使得这类生物一直具有很多的神秘色彩，所以人们认识它并发展成为一门学科，相比其他学科还是很晚的。

微生物学的发展可以划分为以下几个时期。

（一）微生物学的史前时期——经验应用

在人类没有发现微生物之前，就已经开始利用微生物为生产和生活服务了。考古发现史前人类已经在很多方面利用了微生物，世界各国人民在自己的生产实践中都积累了很多利用有益微生物和防治有害微生物的经验。公元 6 世纪（北魏时期），我国的贾思勰在《齐民要术》一书中就详细记载了制醋、酿酒、制酱和制曲的方法。我国古代劳动人民利用盐腌、糖渍、烟熏、风干等方法来保藏和加工食物。但是这个时期，人们并没有理论上的认识，对微生物的应用还只是经验性的，带有浓重的盲目色彩。

（二）微生物的发现与微生物学启蒙时期——微生物的形态学研究

17 世纪，荷兰人列文虎克（Antonie van Leeuwenhoek，1632—1723）用自制的简易显微镜（50~300 倍）观察牙垢、雨水、植物浸液等，发现其中有许多运动着的“微小动物”，并用文字和图画科学地记载下来（图 1-1）。列文虎克首次提示了一个崭新的生物世界——微生物界，具有划时代的意义。由于他的划时代贡献，1680 年他被选为英国皇家学会会员。

随后在近 200 年的时期，随着显微镜的不断改进、分辨率的提高，人们对微生物的认识由粗略的形态描述逐步发展到对微生物进行详细的观察和根据形态进行分类研究，形成了启蒙的微生物学。