



普通高等教育“十三五”精品课程建设教材



面向 21 世纪 课 程 教 材

Textbook Series for 21st Century

Experimental Technique of Food Microbiology

# 食品微生物学 实验技术

第 3 版

郝林 孔庆学 方祥◎主编



中国农业大学出版社

China Agricultural University Press



普通高等教育“十三五”精品课程建设教材



面向 21 世纪课程教材

Textbook Series for 21st Century

# 食品微生物学实验技术

第 3 版

郝 林 孔庆学 方 祥 主编

中国农业大学出版社  
· 北京 ·

## 内 容 简 介

本教材较系统地介绍了与食品微生物学教学、科研和生产有关的微生物学实验的基本原理和操作技术,同时还适当介绍了一些与当前生产实践有关的新技术,并采用了二维码技术将内容加以扩展。全书共分3篇,34个实验,包括显微镜技术、无菌操作技术、染色技术、形态结构观察、培养基制备、消毒灭菌、接种与培养、分离与纯化、生理生化反应、理化因素对微生物的影响、诱变育种、菌种保藏、食品中菌落总数及主要病原菌的检测、发酵微生物的分离检测技术、台式自控发酵罐的使用等内容。书后附有常用培养基及试剂的配制方法。

本教材适宜作为高等院校食品专业本科食品微生物学实验教材,也可以作为相关专业研究生及科技人员的参考书和工具书。

### 图书在版编目(CIP)数据

食品微生物学实验技术/郝林,孔庆学,方祥主编. —3版. —北京:中国农业大学出版社, 2016.5

ISBN 978-7-5655-1546-0

I. ①食… II. ①郝… ②孔… ③方… III. ①食品微生物-微生物学-实验-高等学校-教材  
IV. ①TS201.3-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2016)第076860号

书 名 食品微生物学实验技术(第3版)

作 者 郝 林 孔庆学 方 祥 主编

策划编辑 宋俊果 刘 军

责任编辑 洪重光 郑万萍

封面设计 郑 川

责任校对 王晓凤

出版发行 中国农业大学出版社

社 址 北京市海淀区圆明园西路2号

邮政编码 100193

电 话 发行部 010-62818525,8625

读者服务部 010-62732336

编辑部 010-62732617,2618

出 版 部 010-62733440

网 址 <http://www.cau.edu.cn/caup>

E-mail [cbsszs@cau.edu.cn](mailto:cbsszs@cau.edu.cn)

经 销 新华书店

印 刷 涿州市星河印刷有限公司

版 次 2016年7月第3版 2016年7月第1次印刷

规 格 787×1092 16开本 12.75印张 310千字

定 价 26.00元

图书如有质量问题本社发行部负责调换

全国高等学校食品类专业系列教材  
编审指导委员会委员

(按姓氏拼音排序)

- |     |        |     |              |
|-----|--------|-----|--------------|
| 毕 阳 | 甘肃农业大学 | 孟素荷 | 中国食品科学技术学会   |
| 陈 卫 | 江南大学   | 南庆贤 | 中国农业大学       |
| 陈复生 | 河南农业大学 | 蒲 彪 | 四川农业大学       |
| 陈绍军 | 福建农林大学 | 钱建亚 | 扬州大学         |
| 陈宗道 | 西南大学   | 石阶平 | 国家食品药品监督管理总局 |
| 董海洲 | 山东农业大学 | 史贤明 | 上海交通大学       |
| 郝利平 | 山西农业大学 | 孙宝国 | 北京工商大学       |
| 何国庆 | 浙江大学   | 孙远明 | 华南农业大学       |
| 贾英民 | 河北科技大学 | 田洪涛 | 河北农业大学       |
| 江连洲 | 东北农业大学 | 王 硕 | 天津科技大学       |
| 李洪军 | 西南大学   | 夏延斌 | 湖南农业大学       |
| 李新华 | 沈阳农业大学 | 谢笔钧 | 华中农业大学       |
| 李云飞 | 上海交通大学 | 谢明勇 | 南昌大学         |
| 林家栋 | 中国农业大学 | 薛长湖 | 中国海洋大学       |
| 刘金福 | 天津农学院  | 严卫星 | 国家食品安全风险评估中心 |
| 刘景圣 | 吉林农业大学 | 岳田利 | 西北农林科技大学     |
| 刘静波 | 吉林大学   | 赵丽芹 | 内蒙古农业大学      |
| 罗云波 | 中国农业大学 | 赵谋明 | 华南理工大学       |
| 马 涛 | 渤海大学   | 周光宏 | 南京农业大学       |

## 第3版编写人员

**主 编** 郝 林(山西农业大学)  
孔庆学(天津农学院)  
方 祥(华南农业大学)

**副主编** 梁志宏(中国农业大学)  
许 倩(塔里木大学)  
段 艳(内蒙古农业大学)

**参 编** 许 女(山西农业大学)  
朱丽霞(塔里木大学)  
林 捷(华南农业大学)  
莫美华(华南农业大学)  
任晓璞(塔里木大学)  
杨 宁(山西农业大学)  
褚盼盼(吕梁学院)  
魏宗烽(信阳农林学院)

## 第2版编写人员

主 编 牛天贵(中国农业大学)

副主编 杨幼慧(华南农业大学)

孔庆学(天津农学院)

编 者 (按拼音顺序排列)

陈 静(淮海工学院)

侯红萍(山西农业大学)

李平兰(中国农业大学)

梁志宏(中国农业大学)

张 伟(河北农业大学)

钟士清(华南农业大学)

主 审 薛景珍 李淑高

# 第1版编写人员

主 编 牛天贵(中国农业大学)

副主编 孔庆学(天津农学院)

杨幼慧(华南农业大学)

编 者 (按拼音顺序排列)

陈 静(淮海工学院)

侯红萍(山西农业大学)

李平兰(中国农业大学)

梁志宏(中国农业大学)

张 伟(河北农业大学)

钟士清(华南农业大学)

主 审 薛景珍 李淑高

# 出版说明

## (代总序)

时光荏苒,食品科学与工程系列教材第一版发行距今,已有14年。总计120余万册的发行量,已经表明了这套教材受欢迎的程度,应该说它是全国食品类专业教育使用最多的系列教材。

这套教材已成为经典,作为总策划的我,在再再版的今天,重新翻阅这套教材的每一科目、每一章节,在感慨流年如水的同时,更有许多思考和感激。这里,借出出版说明(代总序)的机会,再一次总结本套教材的编撰理念和特点特色,也和我挚爱的同行们分享我的感悟和喜乐。

第一,优秀的教材一定是心血凝成的精品,杜绝任何形式的粗制滥造。

14年前,全国40余所大专院校、科研院所,300多位一线专家教授,涵盖生物、工程、医学、农学等领域,齐心协力组建出一支代表国内食品科学最高水平的教材撰写队伍。著作者们呕心沥血,在教材中倾注平生所学,那字里行间,既有学术思想的精萃凝结,也不乏治学精神的光华闪现,诚所谓学问人生,经年积成,食品世界,大家风范。这精心的创作,和彼敷衍的粘贴,其间距离,岂止云泥!

第二,优秀的教材必以学生为本,不是居高临下的自说自话。

注重以学生为本,就是彻底摒弃传统填鸭式的教学方法。著作者们谨记“授人以鱼不如授人以渔”,在传授食品科学知识的同时,更启发食品科学人才获取知识和创造知识的思维与灵感。润物细无声中,尽显自由思想,彰耀独立精神。在写作风格上,也注重学生的参与性与互动性,接地气,说实话,深入浅出,有料有趣。

第三,优秀教材与时俱进、推陈出新,绝不墨守成规、原地不动。

首版再版再再版,均是在充分收集和尊重一线任课教师和学生意见的基础上,对新增教材进行科学论证和整体策划。每一次工作量都不小,几乎覆盖食品学科专业的所有骨干课程和主要选修课程,但每一次都不敢有丝毫懈怠,内容的新颖性,教学的有效性,齐头并进,一样都不能少。具体而言,此次再再版,不仅增添了食品科学与工程最新理论发展,又以相当篇幅强调了食品工艺的具体实践。



每本教材,既相对独立又相互衔接互为补充,构建起系统、完整、实用的课程体系。

第四,优秀教材离不开出版社编辑人员的心血倾注。

同为他人作嫁衣裳,教材的著作者和编辑,都一样的忙忙碌碌,飞针走线。这套系列教材的编辑们站在出版前沿,以其炉火纯青的专业技能,辅以最新最好的出版传播方式,保证了这套教材的出版质量和形式上的生动活泼。编辑们的高超水准和辛勤努力,赋予了此套教材蓬勃旺盛的生命力。

这里,我也想和同行们分享以下数字,以表达我发自内心的喜悦:

第1版食品科学与工程系列教材出版于2002年,涵盖食品学科15个科目,全部入选“面向21世纪课程教材”。

第2版(再版)食品科学与工程系列教材出版于2009年,涵盖食品学科29个科目。

第3版(再再版)食品科学与工程系列教材将于2016年暑期出版(其中《食品工程原理》为第4版),涵盖食品学科36个科目,增加了《食品工厂设计》《食品分析》《食品感官评价》《葡萄酒工艺学》《生物技术安全与检测》等9个科目,调整或更名了部分科目。

需要特别指出的是,这其中,《食品生物技术导论》《食品安全导论》《食品营养学》《食品工程原理》4个科目为“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材;《食品化学》《食品化学综合实验》《食品工艺学导论》《粮油加工学》《粮油加工学实验技术》《食品酶学与工程》6个科目为普通高等教育农业部“十二五”规划教材;《食品生物技术导论》《食品营养学》《食品工程原理》《粮油加工学》《食品试验设计与统计分析》为“十五”或“十一五”国家级规划教材。

本套食品科学与工程系列教材出版至今已累计发行超过126万册,使用教材的院校140余所。

第3版有500余人次参与编写,参与编写的院所近80家。

本次出版在纸质基础上引入了数字化元素,增加了二维码,内容涉及推荐阅读文字,直观的图片展示,以及生动形象的短小视频等,使教材的内容更加丰富、信息量更大,形式更加活泼,使用更加便捷,与学生的阅读和学习习惯更加贴近。

虽然我的确有敝帚自珍的天性,但我也深深地知道,世上的事没有百分之百的完美。我还要真心地感谢在此套教材中肯定存在的那些不完美,因为正是她们给了我们继续向前的动力。这里,我真诚地期待大家提出宝贵意见,让我们与这套教材一起共同成长,更加进步。

罗云波

2016年5月5日 于马连洼

# 第3版前言

在全体编委成员的共同努力下,本教材第1版和第2版深受广大同行和读者的欢迎,出版以来多次印刷,被许多院校作为实验教材选用。为更好地反映学科最新发展成果,满足新形势下教学要求,进一步推进食品微生物学实验教学改革,我们在原教材基础上进行了修订改版,努力使其成为一本特色更加明显、内容更加丰富、体例更加新颖、实用性更强的食品微生物学实验教材。

本版教材保留了原版本的基本体系,在内容和结构上做了部分调整,更加突出教材的实用性和针对性。另外,为了更好地推进传统出版与新型出版融合,发挥信息技术对教学的积极作用,本版教材采用了二维码技术将教学内容加以扩展,方便读者扫描参考学习。本版教材在内容上主要做了三大调整:(一)将原来在发酵微生物学实验部分的“细菌生长曲线的测定”及“厌氧菌的分离和培养”调整到基础微生物学实验部分;将原来在发酵微生物学实验部分的“食品中黄曲霉毒素的检测”调整到食品微生物学检验实验部分。(二)增加了实用性更强的2个重要实验,即“食品工业常用微生物菌种的分离筛选”和“诱变育种的程序及操作”。(三)删除了针对性不强的“从自然界中筛选分离微生物菌种”1个实验。

本教材的第1版和第2版由主编牛天贵老师带领编委完成,牛老师兢兢业业,为此贡献了卓越的智慧,付出了艰苦的努力。第3版改版之前牛天贵老师不幸去世。新版教材由郝林老师带领新老编委共同完成。郝林、孔庆学和方祥任主编,梁志宏、许倩、段艳任副主编,共有8所院校的14位老师参与编写。教材分为3篇,共计34个实验。实验一、二、三由孔庆学编写;实验四、八、十一由郝林编写;实验五、六、七由梁志宏编写;实验九、二十八由莫美华编写;实验十、十三由许女编写;实验十二、二十二、三十四由方祥编写;实验十四、三十由褚盼盼编写;实验十五、十六由杨宁编写;实验十七、十八、十九由朱丽霞编写;实验二十、二十一、二十三由段艳编写;实验二十四、二十五由许倩编写;实验二十六、二十七由任晓镛编写;实验二十九、三十二由林捷编写;实验三十一、三十三由魏宗烽编写。全书由郝林、孔庆学和方祥统编定稿。

本教材在修订过程中得到了中国农业大学出版社的大力支持,得到了前一版杨幼慧教授等编写组成员的指导,在此对他们表示由衷的感谢。同时还要感谢本版教材全体编写人员,大家的密切配合使得修订工作顺利完成。

本教材适宜作为高等院校食品专业本科微生物学实验教材,也可以作为相关专业研究生及科技人员的参考书。

由于编者水平和能力有限,教材中一定存在许多不足和错漏之处,敬请广大读者和同行及时指出,以便修订完善。

编者

2015年11月

于山西农业大学

## 第 2 版前言

“马克思的整个世界观不是教义,而是方法。它提供的不是现成的教条,而是进一步研究的出发点和供这种研究使用的方法”。正确的、科学的、聪明的方法,是人类智慧的结晶、宝贵的精神财富。

当今微生物技术已成为微生物学科的一个重要分支学科,它不仅是微生物学进展的基石,而且生命科学的许多重大发现、发明和理论的证实,微生物技术都起着重要作用,不少非生命科学也广泛地采用它,它在工、农、食、医、药方面和人们日常生活中的应用更是越来越普遍。人们通常将微生物技术分为以酿造技术为代表的传统微生物技术、以发酵技术为代表的近代微生物技术和以基因重组为代表的现代微生物技术。而显微镜观察、无菌操作、纯种分离、纯菌培养、菌种鉴定和保存等一系列基本实验技术,对微生物的发现、研究、开发和利用,无论过去、现在和将来,都是不可缺少的。

为了适应 21 世纪科学技术更为迅猛发展的挑战,迎接微生物学迅速向分子生物学水平和微生物产业化发展的机遇和挑战,为社会培养微生物学领域的高素质科技人才,我们希望通过微生物学实验让学生验证理论,巩固和加深理解所学过的专业课知识,熟悉和掌握实验和操作技能,培养学生独立分析问题和解决问题的能力,进一步启发和提高学生的创新意识和创新能力。

总结分析以往开课内容及效果,去除某些重复的实验内容;适当删减某些已经淘汰、过时或不太重要的实验内容;将某些原来分别在普通微生物学、微生物技术学、微生物生理学、微生物遗传学、食品微生物学和发酵食品学中单独开设的小实验,集中、综合为系统、连贯、效果较好的实验系列;并注意适当添加现代分子微生物学的实验方法与技术,在此基础上我们编写了《食品微生物学实验技术》第 2 版。

本书第 2 版由牛天贵任主编,杨幼慧、孔庆学任副主编。全书共分 3 篇,第一篇实验一、二、三、四由孔庆学编写;实验五、六、七由梁志宏编写;第二篇实验十二由陈静编写;实验十四、十五、十六由张伟编写;第三篇实验二十二、二十六由侯洪萍编写;实验二十三、二十四、二十八、二十九、三十一、三十二、三十三由杨幼慧编写;实验二十五、二十七由钟士清编写;实验三十由李平兰编写;其余部分由牛天贵编写。牛天贵负责全书的统编和定稿。

由于食品微生物学检验标准的更新,本书主要修订了食品微生物学的实验部分,主要由牛天贵主编和杨幼慧副主编修订。

本书涉及的学科很多,内容很广,发展变化快,加之编者水平和能力有限,难免存在不足、错误和不妥之处,敬请同行专家和广大读者批评指正,以使本书在使用中不断完善和提高。

编 者

2010 年 11 月 1 日

# 第 1 版前言

恩格斯曾指出：“马克思的整个世界观不是教义，而是方法。它提供的不是现成的教条，而是进一步研究的出发点和供这种研究使用的方法。”正确的、科学的、聪明的方法，是人类智慧的结晶，是宝贵的精神财富。

方法有各种各样，适用不同的领域，在不同的时空发挥不同的作用。生命科学是 21 世纪的带头学科，生物工程是 21 世纪的主流产业。微生物学是生命科学研究中最活跃的学科领域，微生物技术是生物工程技术的核心主体。

当今微生物技术已成为微生物学科的一分支学科，它不仅是微生物学进展的基石，而且生命科学的许多重大发现，发明和理论的证实，微生物技术都起着重要作用，不少非生命科学也广泛地采用它，它在工、农、医方面和人们日常生活中的应用更是越来越普遍。人们通常将微生物技术分为以酿造技术为代表的传统微生物技术、以发酵技术为代表的近代微生物技术和以基因重组为代表的现代微生物技术。而显微镜观察、无菌操作、纯种分离、纯种培养等一系列基本实验技术，对微生物的发现、研究、开发和利用，无论在过去、现在还是将来，则都是不可缺少的。

为了适应 21 世纪科学技术更为迅猛发展的需要，迎接微生物学迅速向分子生物学水平和微生物产业化发展的机遇与挑战，为社会培养微生物学领域的高素质科技人才，我们希望通过微生物学实验让学生验证理论，巩固和加深理解所学过的专业课知识，熟悉和掌握实验和操作技能，培养学生独立分析问题和解决问题的能力，进一步启发和提高学生的创造意识和创新能力。

总结分析以往开课内容及效果，去除某些重复的实验内容；适当删减某些已经淘汰、过时或不太重要的实验内容；集中或改变某些原来分析在普通微生物学、微生物技术学、微生物生理学、微生物遗传学、食品微生物学和发酵食品学中单独开设的小实验，编写成系统、连贯、效果较好的实验系列；并注意适当添加现代分子微生物学的实验方法与技术，在此基础上我们编写了《食品微生物学实验技术》一书。本教材是高等教育面向 21 世纪教学内容和课程体系改革项目(04-10)的研究成果。

本书由牛天贵任主编，孔庆学、杨幼慧任副主编。全书共分 3 篇，第一篇的实验一、二、三、四由孔庆学编写；五、六、七由梁志宏编写；第二篇的实验十二由陈静编写；实验十四、十五、十六由张伟编写；第三篇的实验二十二、二十六由侯红萍编写；实验二十三、二十四、二十八、二十九由杨幼慧编写；实验二十五、二十七由钟士清编写；实验三十由李平兰编写；其余部分由牛天贵编写。牛天贵负责全书的统编定稿。

在本书的编写过程中，薛景珍教授和李淑高教授审阅了编写大纲和教材。

本书涉及的学科较多，内容范围广，加之编者水平和能力有限，难免有不足、错误和不妥之处，敬请同行专家和广大读者批评指正，以便使本书在使用中不断完善和提高。

编者

2002 年 6 月

# 目 录

## 第一篇 基础微生物学实验

实验一 普通显微镜的使用和细菌形态观察	3
实验二 简单染色法和革兰氏染色法	7
实验三 培养基的配制与灭菌	12
实验四 微生物的分离、纯化、接种与培养	17
实验五 放线菌、酵母菌、霉菌形态观察	26
实验六 微生物的培养特征	32
实验七 微生物细胞大小的测定和显微镜直接计数	36
实验八 物理、化学因素对微生物的影响	40
实验九 细菌生长曲线的测定	47
实验十 细菌的生理生化试验	50
实验十一 食品工业常用微生物菌种的分离筛选	56
实验十二 厌氧菌的分离和培养	65
实验十三 诱变育种的程序及操作	68
实验十四 微生物菌种的保藏方法	73

## 第二篇 食品微生物学检验实验

实验十五 食品中菌落总数的测定	79
实验十六 大肠菌群计数	84
实验十七 肉毒梭菌及肉毒毒素的检验	87
实验十八 沙门氏菌属的检验	91
实验十九 志贺氏菌属检验	98
实验二十 金黄色葡萄球菌检验	102
实验二十一 Ames 法检测诱变剂和致癌剂	106
实验二十二 食品中黄曲霉毒素的检测	113
实验二十三 食品中霉菌计数法	117
实验二十四 食品中病原性大肠埃希氏菌的检验	125
实验二十五 微生物的微量简易诊断系统	130

## 第三篇 发酵微生物学实验

实验二十六	生牛乳自然发酵过程中微生物菌相的变化·····	137
实验二十七	糖化曲的制备及其酶活力的测定·····	140
实验二十八	噬菌体的检查及效价测定·····	144
实验二十九	甜酒酿的制作·····	150
实验三十	酸乳中乳酸菌的测定·····	152
实验三十一	酱油种曲孢子数及发芽率的测定·····	154
实验三十二	毛霉的分离和豆腐乳的制备·····	158
实验三十三	食用菌菌种的分离和制种技术·····	161
实验三十四	台式自控发酵罐的原理、构造和使用·····	166
附录	·····	171
参考文献	·····	189

# 第一篇

## 基础微生物学实验





# 实验一 普通显微镜的使用 和细菌形态观察

## 1 目的

- (1)学习并掌握油镜的工作原理和使用方法。
- (2)复习光学显微镜的结构、各部分的功能和使用方法。

## 2 原理

微生物的最显著特点是个体微小,必须借助显微镜才能观察到它们的个体形态和细胞结构。熟悉显微镜和掌握其操作技术是研究微生物不可缺少的手段。本实验将介绍目前微生物学研究中最常用的普通光学显微镜的结构和样品制作。目的在于使同学们通过实验,对光学显微镜有比较全面的了解,并重点掌握明视野普通光学显微镜中油镜的使用。

## 3 材料

### 3.1 菌种

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)及枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)染色玻片标本。

### 3.2 溶液或试剂

香柏油、二甲苯。

### 3.3 仪器及其他用品

显微镜、擦镜纸等。

## 4 方法与步骤

### 4.1 观察前的准备

#### 4.1.1 显微镜的安置

置显微镜于平整的实验台上,镜座距实验台边缘约 10 cm。镜检时姿势要端正。