

动物性食品 卫生学实验教程

DongWuXingShiPin
WeiShengXueShiYanJiaoCheng

赵月兰
王雪敏
主编



中国农业大学出版社

ZHONGGUONONGYEDAXUE CHUBANSHE

责任编辑：潘晓丽

封面设计：郑 川

动物性食品 卫生学实验教程

定价：15.00元

ISBN 978-7-5655-0177-7



9 787565 501777 >

动物性食品卫生学实验教程

赵月兰 王雪敏 主编

内 容 简 介

本教材包括实验教程和实习教程两部分内容。实验部分主要介绍动物性食品中细菌菌落总数的测定,大肠菌群数测定,沙门氏菌检验,旋毛虫检验,有毒有害元素和化学致癌物质的检测,肉品新鲜度的综合检验,各类动物性食品的卫生检验。实习部分主要介绍肉类联合加工企业的教学参观,屠宰加工厂各检验岗位的检验操作程序要点,家畜、家禽、家兔的宰前、宰后检验技术。

本教材内容丰富,重点突出,知识体系、深度、广度适合现阶段教学的需要。同时,本书还可作为基层兽医工作者、动物防疫与检疫、检测人员以及从事相关科研工作人员和研究生等的实用参考书。

图书在版编目(CIP)数据

动物性食品卫生学实验教程/赵月兰,王雪敏主编. —北京:中国农业大学出版社,2011.1

ISBN 978-7-5655-0177-7

I. ①动… II. ①赵… ②王… III. ①动物性食品-食品卫生学-实验-高等学校 IV. ①R155.5-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2010)第 251442 号

书 名 动物性食品卫生学实验教程

作 者 赵月兰 王雪敏 主编

策划编辑 潘晓丽

封面设计 郑 川

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

电 话 发行部 010-62731190,2620

编辑部 010-62732617,2618

网 址 <http://www.cau.edu.cn/caup>

经 销 新华书店

印 刷 涿州市星河印刷有限公司

版 次 2011 年 1 月第 1 版 2011 年 1 月第 1 次印刷

规 格 787×980 16 开本 9.5 印张 170 千字

印 数 1~3 000

定 价 15.00 元

责任编辑 潘晓丽

责任校对 陈 莹 王晓凤

邮政编码 100193

读者服务部 010-62732336

出 版 部 010-62733440

E-mail cbsszs @ cau.edu.cn

图书如有质量问题本社发行部负责调换

编写人员

主 编 赵月兰 王雪敏

副主编 张 磊 李全福 姚春雨

参编人员 (以单位首字笔画排序)

山东农业大学	刁有祥	
广东海洋大学	李淑芳	
天津农学院	马吉飞	
内蒙古民族大学	姚春雨	
北京农学院	孙英健	
吉林农业大学	王龙涛	
佛山科学技术学院	陆英杰	娄 华
河北工程大学	王雪敏	
河北北方学院	庞向红	李全福
河北农业大学	王建永	张 磊 赵月兰
河北科技师范学院	张艳英	
唐山职业技术学院	赵金芳	
廊坊职业技术学院	王飒爽	
黑龙江八一农垦大学	杨玉英	

主 审 秦建华 张 勤

前 言

动物性食品卫生学是一门政策性很强的学科,包括动物性食品卫生的理论和检验技术。动物性食品卫生学实验实习是“动物性食品卫生学”的重要内容,是理论联系实际的重要环节,因此教师应按着教学大纲的要求确定实验实习项目。本教材作为面向动物医学及动物防疫与检疫等专业的主干课程——动物性食品卫生学的实验实习教材,是在借鉴以往相关教材优点的基础上,结合目前动物性食品卫生工作的特点和本学科的最新研究与发展动态编写而成。本书编写的总原则是“创新、科学和实用”,立足较成熟的理论和技术,同时收集了最能体现当前发展趋势和方向的前沿技术,参考和引用了最新的法规和国家标准,使各类食品的检验方法更具规范性和可操作性,在内容上体现实用、先进的动物性食品检验检疫技术特点。

本教材包括检验原理、检验技术、有害成分在食品中允许含量标准,还包括屠宰加工厂各检验岗位的检验操作技术等教学实习内容。本书在确保满足教学的同时,还可作为基层兽医工作者、动物防疫与检疫人员、食品卫生监督与检测人员以及相关科研工作者和研究生等的实用参考书。

动物性食品卫生学实验实习的教学方法,必须立足于调动学生的学习积极性,使学生在教师指导下独立完成实验实习任务。学生除认真操作实验学习外,还要做好实验实习记录,结束后教师应对本次实验实习进行简单小结。作业(实习报告)根据内容不同可在课内完成,也可在课后完成,最后由教师填写评语、评定成绩。

本教材在编写过程中得到了中国农业大学出版社、河北农业大学等单位的大力支持,河北省畜牧兽医研究所张勤教授和河北农业大学秦建华教授对书稿进行了全面的审阅,并提出了宝贵的意见和建议,在此一并表示衷心的感谢。

在编写过程中,由于时间仓促和编者水平有限,错误和遗漏之处在所难免,恳请广大读者批评指正。

编 者

2010年10月

目 录

第一部分 实验教程	1
实验一 动物性食品中细菌菌落总数的测定	3
实验二 动物性食品中大肠菌群的测定	7
实验三 动物性食品沙门氏菌的检验	13
实验四 肉中旋毛虫的检验	26
实验五 动物性食品中有害化学物质的检验	31
实验六 肉品新鲜度的综合检验	47
实验七 肉制品的卫生检验	56
实验八 肉类罐头食品的卫生检验	65
实验九 食用动物油脂的卫生检验	71
实验十 病、死畜禽肉的鉴定	75
实验十一 乳与乳制品的卫生检验	80
实验十二 蛋与蛋制品的卫生检验	106
实验十三 鲜鱼的卫生检验	117
实验十四 屠宰污水中溶解氧和生化需氧量的测定	122
第二部分 实习教程	127
实习一 肉类联合加工企业的教学参观	129
实习二 屠宰加工厂各检验岗位的检验操作	132
实习三 家禽的宰前检疫与宰后检验	139
实习四 家兔的宰前检疫与宰后检验	141
参考文献	143

第一部分

实验教程

实验一 动物性食品中细菌菌落总数的测定

一、实验目的与要求

掌握动物性食品中菌落总数测定方法、菌落计数和报告方式。

二、器材与试剂

1. 设备和材料

除微生物实验室常规灭菌及培养设备外,其他设备和材料如下。

恒温培养箱: $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$, $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$; 冰箱: $2 \sim 5^\circ\text{C}$; 恒温水浴箱: $(46 \pm 1)^\circ\text{C}$; 天平: 感量为 0.1 g ; 均质器; 振荡器; 无菌吸管: 1 mL (具 0.01 mL 刻度)、 10 mL (具 0.1 mL 刻度) 或微量移液器及吸头; 无菌锥形瓶: 容量 250 mL 、 500 mL ; 无菌培养皿: 直径 90 mm ; pH 计或 pH 比色管或精密 pH 试纸; 放大镜或/和菌落计数器。

2. 培养基和试剂

(1) 平板计数琼脂培养基。胰蛋白胨 5.0 g , 酵母浸膏 2.5 g , 葡萄糖 1.0 g , 琼脂 15.0 g , 蒸馏水 $1\ 000\text{ mL}$, 将上述成分加于蒸馏水中, 煮沸溶解, 调节 pH 为 7.0 ± 0.2 。分装试管或锥形瓶, 121°C 高压灭菌 15 min 。

(2) 磷酸盐缓冲液。

贮存液: 34.0 g 的磷酸二氢钾溶于 500 mL 蒸馏水中, 用大约 175 mL 的 1 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 为 7.2 , 用蒸馏水稀释至 $1\ 000\text{ mL}$, 贮存于冰箱。

稀释液: 取贮存液 1.25 mL , 用蒸馏水稀释至 $1\ 000\text{ mL}$, 分装于适宜容器中, 121°C 高压灭菌 15 min 。

(3) 无菌生理盐水。 8.5 g 氯化钠溶于 $1\ 000\text{ mL}$ 蒸馏水中, 121°C 高压灭菌 15 min 。

三、实验内容与方法

采用常规检验方法, 即国家标准检验方法。《中华人民共和国国家标准食品卫生微生物学检验菌落总数测定》(GB/T 4789.2—2010) 的检验程序如图 1-1 所示。

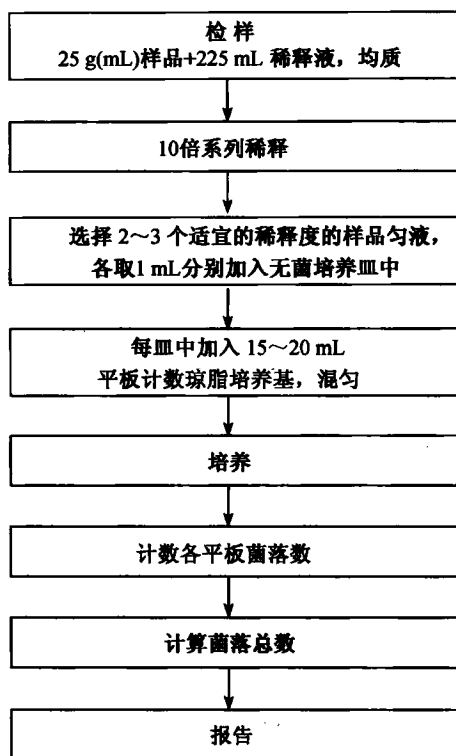


图 1-1 菌落总数的检验程序

1. 样品的稀释

(1) 固体和半固体样品。称取 25 g 样品置盛有 225 mL 磷酸盐缓冲液或生理盐水的无菌均质杯内, 8 000~10 000 r/min 均质 1~2 min, 或放入盛有 225 mL 稀释液的无菌均质袋中, 用拍击式均质器拍打 1~2 min, 制成 1:10 的样品匀液。

(2) 液体样品。以无菌吸管吸取 25 mL 样品置盛有 225 mL 磷酸盐缓冲液或生理盐水的无菌锥形瓶(瓶内预置适当数量的无菌玻璃珠)中, 充分混匀, 制成 1:10 的样品匀液。

(3) 用 1 mL 无菌吸管或微量移液器吸取 1:10 样品匀液 1 mL, 沿管壁缓慢注于盛有 9 mL 稀释液的无菌试管中(注意吸管或吸头尖端不要触及稀释液面), 振荡试管或换用 1 支无菌吸管反复吹打使其混合均匀, 制成 1:100 的样品匀液。

(4) 按程序(3)操作, 制备 10 倍系列稀释样品匀液。每递增稀释一次, 换用 1 次 1 mL 无菌吸管或吸头。

(5) 根据对样品污染状况的估计, 选择 2~3 个适宜稀释度的样品匀液(液体样



品可包括原液),在进行 10 倍递增稀释时,吸取 1 mL 样品匀液于无菌平皿内,每个稀释度做两个平皿。同时,分别吸取 1 mL 空白稀释液加入两个无菌平皿内作空白对照。

(6)及时将 15~20 mL 冷却至 46℃ 的平板计数琼脂培养基[可放置于(46±1)℃ 恒温水浴箱中保温]注平皿,并转动平皿使其混合均匀。

2. 培养

(1)待琼脂凝固后,将平板翻转,(36±1)℃ 培养(48±2) h。水产品(30±1)℃ 培养(72±3) h。

(2)如果样品中可能含有在琼脂培养基表面弥漫生长的菌落时,可在凝固后的琼脂表面覆盖一薄层琼脂培养基(约 4 mL),凝固后翻转平板,按程序(1)条件进行培养。

3. 菌落计数

可用肉眼观察,必要时用放大镜或菌落计数器,记录稀释倍数和相应的菌落数量。菌落数以菌落形成单位(colony-forming units, cfu)表示。

(1)选取菌落数在 30~300 cfu 之间、无蔓延菌落生长的平板计数菌落总数。低于 30 cfu 的平板记录具体菌落数,大于 300 cfu 的可记录为“多不可计”。每个稀释度的菌落数应采用两个平板的平均数。

(2)其中一个平板有较大片状菌落生长时,则不宜采用,而应以无片状菌落生长的平板作为该稀释度的菌落数;若片状菌落不到平板的一半,而其余一半菌落分布又很均匀,即可计算半个平板菌落乘以 2,代表一个平板菌落数。

(3)当平板上出现菌落间无明显界线的链状生长时,则将每条单链作为一个菌落计数。

4. 结果与报告

(1) 菌落总数的计算方法。

①若只有一个稀释度平板上的菌落数在适宜计数范围内,计算两个平板菌落数的平均值,再将平均值乘以相应稀释倍数,作为每克(毫升)样品中菌落总数结果。

②若有两个连续稀释度的平板菌落数在适宜计数范围内时,按下面公式计算:

$$N = \frac{\sum C}{(n_1 + 0.1n_2)d}$$

式中: N ——样品中菌落数; $\sum C$ ——平板(含适宜范围菌落数的平板)菌落数之和; n_1 ——第一稀释度(低稀释倍数)平板个数; n_2 ——第二稀释度(高稀释倍数)平板



个数; d ——稀释因子(第一稀释度)。

示例,见表 1-1。

表 1-1 稀释度与菌落数

稀释度	1:100(第一稀释度)	1:1 000(第二稀释度)
菌落数(cfu)	232,244	33,35

$$N = \frac{\sum C}{(n_1 + 0.1n_2)d}$$

$$= \frac{232+244+33+35}{[2+(0.1 \times 2)] \times 10^{-2}} = \frac{544}{0.022} = 24\ 727$$

上述数据按程序②数字修约后,表示为 25 000 或 2.5×10^4 。

③若所有稀释度的平板上菌落数均大于 300 cfu,则对稀释度最高的平板进行计数,其他平板可记录为多不可计,结果按平均菌落数乘以最高稀释倍数计算。

④若所有稀释度的平板菌落数均小于 30 cfu,则应按稀释度最低的平均菌落数乘以稀释倍数计算。

⑤若所有稀释度(包括液体样品原液)平板均无菌落生长,则以小于 1 乘以最低稀释倍数计算。

⑥若所有稀释度的平板菌落数均不在 30~300 cfu 之间,其中一部分小于 30 cfu 或大于 300 cfu 时,则以最接近 30 cfu 或 300 cfu 的平均菌落数乘以稀释倍数计算。

(2) 菌落总数的报告。

①菌落数小于 100 cfu 时,按“四舍五入”原则修约,以整数报告。

②菌落数大于或等于 100 cfu 时,第 3 位数字采用“四舍五入”原则修约后,取前 2 位数字,后面用 0 代替位数;也可用 10 的指数形式来表示,按“四舍五入”原则修约后,采用两位有效数字。

③若所有平板上为蔓延菌落而无法计数,则报告菌落蔓延。

④若空白对照上有菌落生长,则此次检测结果无效。

⑤称重取样以 cfu/g 为单位报告,体积取样以 cfu/mL 为单位报告。

四、实验报告

根据检验结果,报告被检食品的菌落总数,并对检样卫生状况进行评价。

实验二 动物性食品中大肠菌群的测定

一、实验目的与要求

掌握动物性食品中大肠菌群最可能数(MPN)及 cfu 的测定方法和报告方式。
熟悉大肠菌群 MPN 检验中各种培养基的配制。

二、器材与试剂

1. 设备和材料

除微生物实验室常规灭菌及培养设备外,其他设备和材料如下。

恒温培养箱:(36 ± 1) $^{\circ}\text{C}$;冰箱: $2 \sim 5^{\circ}\text{C}$;恒温水浴箱:(46 ± 1) $^{\circ}\text{C}$;天平:感量 0.1 g;均质器;振荡器;无菌吸管:1 mL(具 0.01 mL 刻度)、10 mL(具 0.1 mL 刻度)或微量移液器及吸头;无菌锥形瓶:容量 500 mL;无菌培养皿:直径 90 mm;pH 计或 pH 比色管或精密 pH 试纸;菌落计数器。

2. 培养基和试剂

- (1)月桂基硫酸盐胰蛋白胨(LST)肉汤。
- (2)煌绿乳糖胆盐(BGLB)肉汤。
- (3)结晶紫中性红胆盐琼脂(VRBA)。
- (4)磷酸盐缓冲液。
- (5)无菌生理盐水。
- (6)1 mol/L 氢氧化钠(NaOH)。
- (7)无菌 1 mol/L 盐酸(HCl)。

三、实验内容与方法

(一)大肠菌群 MPN 计数法

大肠菌群 MPN 计数法(GB 4789.3—2010,第一法)的检验程序见图 2-1。

1. 样品的稀释

(1)固体和半固体样品。称取 25 g 样品,放入盛有 225 mL 磷酸盐缓冲液或生理盐水的无菌均质杯内,8 000~10 000 r/min 均质 1~2 min,或放入盛有 225 mL



磷酸盐缓冲液或生理盐水的无菌均质袋中,用拍击式均质器拍打 1~2 min,制成 1:10 的样品匀液。

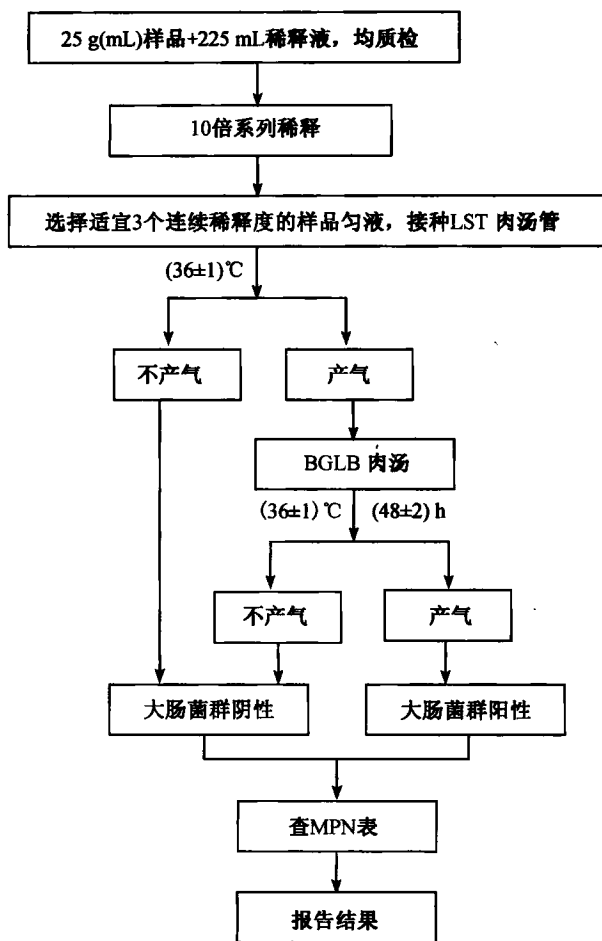


图 2-1 大肠菌群 MPN 记数法检验程序

(2)液体样品。以无菌吸管吸取 25 mL 样品置盛有 225 mL 磷酸盐缓冲液或生理盐水的无菌锥形瓶(瓶内预置适当数量的无菌玻璃珠)中,充分混匀,制成 1:10 的样品匀液。

(3)样品匀液的 pH 值应在 6.5~7.5 之间,必要时分别用 1 mol/L NaOH 或 1 mol/L HCl 调节。

(4)用 1 mL 无菌吸管或微量移液器吸取 1:10 样品匀液 1 mL,沿管壁缓缓注



入 9 mL 磷酸盐缓冲液或生理盐水的无菌试管中(注意吸管或吸头尖端不要触及稀释液面),振摇试管或换用 1 支 1 mL 无菌吸管反复吹打,使其混合均匀,制成 1:100 的样品匀液。

(5)根据对样品污染状况的估计,按上述操作,依次制成 10 倍递增系列稀释样品匀液。每递增稀释 1 次,换用 1 支 1 mL 无菌吸管或吸头。从制备样品匀液至样品接种完毕,全过程不得超过 15 min。

2. 初发酵试验

每个样品,选择 3 个适宜的连续稀释度的样品匀液(液体样品可以选择原液),每个稀释度接种 3 管月桂基硫酸盐胰蛋白胨(LST)肉汤,每管接种 1 mL(如接种量超过 1 mL,则用双料 LST 肉汤),(36±1)℃培养(24±2) h,观察导管内是否有气泡产生,(24±2) h 产气者进行复发酵试验,如未产气则继续培养至(48±2) h,产气者进行复发酵试验。未产气者为大肠菌群阴性。

3. 复发酵试验

用接种环从产气的 LST 肉汤管中分别取培养物 1 环,移种于煌绿乳糖胆盐肉汤(BGLB)管中,(36±1)℃培养(48±2) h,观察产气情况。产气者,计为大肠菌群阳性管。

4. 大肠菌群最可能数(MPN)的报告

按程序 3 确证的大肠菌群 LST 阳性管数,检索 MPN 表(表 2-1),报告每克(毫升)样品中大肠菌群的 MPN 值。

表 2-1 大肠菌群最可能数(MPN)检索表

阳性管数			MPN	95%可信限			阳性管数			MPN	95%可信限	
0.1	0.01	0.001		下限	上限		0.1	0.01	0.001		下限	上限
0	0	0	<3.0	—	9.5		2	2	0	21	4.5	42
0	0	1	3.0	0.15	9.6		2	2	1	28	8.7	94
0	1	0	3.0	0.15	11		2	2	2	35	8.7	94
0	1	1	6.1	1.2	18		2	3	0	29	8.7	94
0	2	0	6.2	1.2	18		2	3	1	36	8.7	94
0	3	0	9.4	3.6	38		3	0	0	23	4.6	94
1	0	0	3.6	0.17	18		3	0	1	38	8.7	110
1	0	1	7.2	1.3	18		3	0	2	64	17	180
1	0	2	11	3.6	38		3	1	0	43	9	180
1	1	0	7.4	1.3	20		3	1	1	75	17	200
1	1	1	11	3.6	38		3	1	2	120	37	420
1	2	0	11	3.6	42		3	1	3	160	40	420