



“十二五”职业教育规划教材

食品微生物检验实训

主 编 李 燕 王晓峨

食 京
品 一
专 师
业 职
教



北京
北京
师范
大学
出版
集团



“十二五”职业教育规划教材

食品微生物检验实训

主 编 李 燕 王晓峨
副主编 季 者 李彦坡
曲春波 窦 勇
郑晓杰

食 品 专 业
京 师 职 业 教 育



北京 师范大学 出版 集团
Beijing Normal University Publishing Group

图书在版编目(CIP)数据

食品微生物检验实训 / 李燕, 王晓峨主编. —北京: 北京师范大学出版社, 2015. 5

ISBN 978-7-303-18377-7

I. ①食… II. ①李… ②王… III. ①食品微生物—食品
检验—高等学校—教材 IV. ①TS207.4

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2015)第 007692 号

营 销 中 心 电 话 010-58802755 58800035
北 师 大 出 版 社 职 业 教 育 分 社 网 http: //zjfs. bnup. com
电 子 信 箱 zhijiao@126. com

出版发行: 北京师范大学出版社 www. bnup. com
北京新街口外大街 19 号
邮政编码: 100875

印 刷: 北京市东方圣雅印刷有限公司
经 销: 全国新华书店
开 本: 184 mm×260 mm
印 张: 8
字 数: 220 千字
版 次: 2015 年 5 月第 1 版
印 次: 2015 年 5 月第 1 次印刷
定 价: 21.00 元

策划编辑: 周 强 责任编辑: 宋淑玉
美术编辑: 高 霞 装帧设计: 李 尘
责任校对: 陈 民 责任印制: 陈 涛

版权所有 侵权必究

反盗版、侵权举报电话: 010-58800697

北京读者服务部电话: 010-58808104

外埠邮购电话: 010-58808083

本书如有印装质量问题, 请与印制管理部联系调换。

印制管理部电话: 010-58800825

前言

食品微生物检验技术是食品类专业必修的一门专业技术主干课程,是利用食品微生物学的基础理论与技能、细菌的生化试验和血清学试验的基本知识,在掌握与食品卫生检验中的有关微生物特性的基础上,通过系统的检验方法,及时、准确地对食品样品作出食品卫生检验的报告,为食品安全生产及卫生监督提供科学依据,因此该课程是实践性、技术性很强的一门专业课程。

本书以职业能力培养为主线,以食品微生物检验职业岗位的需求为导向设计教学内容;及时更新教学内容,保持内容的先进性,将国家最新的食品微生物检验标准添加到教学内容中,替换已经停用的国家检验标准;将教学和考证相结合,使在学习教学内容时,达到食品检验工的知识和技能标准,有利于调动学生的积极性和主动性。本书的内容实践性强,突出能力目标,强化能力训练,兼顾理论知识的学习,注重良好职业素质的养成,具有较强的实用性和可操作性,有利于锻炼学生的专业能力和社会能力。

本书总共包括两个模块,模块一为食品微生物检验基本技能训练,包括普通光学显微镜的使用、玻璃仪器的包扎与灭菌、细菌的简单染色和革兰氏染色、微生物培养基的准备、微生物的分离接种纯化、环境因素对微生物生长的影响、菌种的保藏技术。模块二为食品微生物检验技术,包括食品中菌落总数的测定、食品中大肠菌群的测定、食品中霉菌和酵母菌计数、食品中金黄色葡萄球菌检验、食品中沙门氏菌验、食品中副溶血性弧菌的检验、食品商业无菌的检验。本书在每个实验项目后面都链接了该项目所需要的理论知识,便于学生更好地了解实验原理,熟悉实验步骤,将理论知识与实验项目相结合。

本书是由从事食品微生物检验的专业教师和行业技术人员,结合近年来教学研究和课程改革的经验和成果进行编写的。由李燕、王晓峨主编,李燕负责全书的统筹工作。季者、李彦坡、曲春波、窦勇、郑晓杰任副主编。具体编写人员分工是:李彦坡、丁梁斌、窦勇、顾霞编写模块一的项目一、项目二、项目四、项目五;郑晓杰、高鑫编写模块一的项目六;孙长花、方道赠编写模块一的项目七;王晓峨、季者、贾宏信编写模块二的项目八、项目九、项目十、项目十一;李燕、孙敏、徐娜、曲春波负责模块一的项目三、模块二的项目十二、项目十三和项目十四。

本书基本理论精炼,实验步骤条理清晰,本书除了可以作为高中高专食品类专业的教材外,也可以作为技能鉴定和岗位培训的资料。由于水平和时间有限,书中难免有不妥之处,敬请使用该教材的各位老师和同学提出宝贵意见,以使我们的教材得到充实和完善。

李 燕

2014年9月

《食品微生物检验实训》编写人员

主 编：李 燕(温州科技职业学院)

王晓峨(温州科技职业学院)

副主编：季 者(上海工会管理职业学院)

李彦坡(温州科技职业学院)

曲春波(上海工会管理职业学院)

窦 勇(江苏财经职业技术学院)

郑晓杰(温州科技职业学院)

编 委：(按照姓氏排名)

丁梁斌(徐州生物工程职业技术学院)

窦 勇(江苏财经职业技术学院)

方道赠(温州市质量技术监督检测院)

顾 霞(南京莫愁中等专业学校)

高 鑫(上海工会管理职业学院)

季 者(上海工会管理职业学院)

贾宏信(光明乳业生物技术国家重点实验室)

李 燕(温州科技职业学院)

孙长花(扬州市职业大学)

李彦坡(温州科技职业学院)

曲春波(上海工会管理职业学院)

孙 敏(上海工会管理职业学院)

王晓峨(温州科技职业学院)

徐 娜(南京莫愁中等专业学校)

郑晓杰(温州科技职业学院)

目 录

模块一 食品微生物检验基本技能训练	1
项目一 普通光学显微镜的使用	2
项目二 玻璃仪器的包扎与灭菌	8
项目三 细菌的简单染色和革兰氏染色	14
项目四 微生物培养基的制备	23
项目五 微生物的分离、接种、纯化	31
项目六 环境因素对微生物生长的影响	42
项目七 菌种的保藏技术	50
模块二 食品微生物检验技术	57
项目八 菌落总数的测定	58
项目九 大肠菌群的测定	66
项目十 霉菌和酵母菌计数	79
项目十一 金黄色葡萄球菌检验	85
项目十二 沙门氏菌检验	98
项目十三 副溶血性弧菌的检验	106
项目十四 食品商业无菌检验	113
参考文献	119

模块一

食品微生物检验基本技能训练

项目一

普通光学显微镜的使用

●●●● 学习目标

1. 了解普通光学显微镜的构造。
2. 掌握普通光学显微镜的使用方法及维护。
3. 能够正确使用普通光学显微镜观察微生物的形态。
4. 了解微生物分析研究中常用的几种特殊显微镜。

●●●● 学习内容

一、实训目的

1. 了解普通光学显微镜的构造与原理。
2. 掌握普通光学显微镜的使用技术。
3. 掌握普通显微镜清洁和保管方法。

二、实训原理

1. 显微镜的构造

普通光学显微镜(图 1-1)是通过两种透镜系统放大图像的一种设备。放大的作用主要由物镜和目镜配合实现。物镜位于显微镜的旋转基座上,一般至少有 3 个物镜,通过旋转基座的转换器旋转使用,不同的物镜与目镜配合,实现最终的放大。普通光学显微镜结构如图 1-1 所示。

普通光学显微镜可分为两大部分:光学部分和机械部分。光学部分通常是由接目镜、接物镜和照明装置(聚光镜、虹彩光圈、反光镜等)组成的。它使待检视物放大,造成物

像，是显微镜的重要组成部分。机械部分由镜座、镜臂、镜筒、物镜转换器、载物台、载物台移动器、粗调节器、微调调节器等部件组成。它起着支持、调节、固定等作用。

物镜分为低倍镜、高倍镜和油镜三种。低倍镜常常为 $4\times$ 和 $10\times$ 物镜；高倍镜为 $40\times$ 物镜或 4 mm 物镜；油镜为 $90\times$ 、 $100\times$ 或 1.8 mm 物镜。随着放大倍数增加，镜头与物体的距离越来越近，进而物镜的光线也越来越少。这就是使用不同物镜来观察样本时，需要改变聚光器和可变光圈进行调整的原因之一。

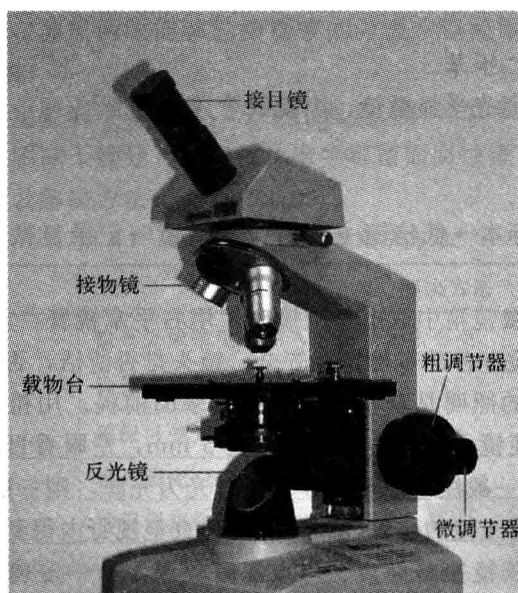


图 1-1 普通光学显微镜

2. 显微镜的放大倍数

显微镜放大物体，首先经过物镜第一次放大造像，再经过目镜在明视距离内第二次放大造像。因此，显微镜的放大倍数等于接物镜放大倍数和接目镜放大倍数的乘积，即：

$$\text{显微镜放大倍数} = \text{接物镜放大倍数} \times \text{接目镜放大倍数}$$

3. 油镜使用原理

对个体微小，用高倍镜仍观察不清的微生物，则必须使用油镜来观察。使用时，需要在标本和物镜间加入一种镜头油，如香柏油，所以叫油浸接物镜，简称油镜(图 1-2)。

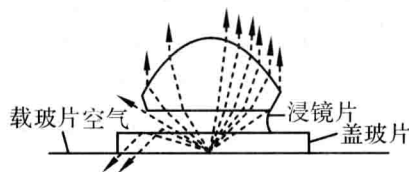


图 1-2 油镜使用原理

一般在镜头上有一黑圈或红圈的，表示为油镜物镜，也有的以“IO”或“HI”字样来表示。由于油镜镜面很小，使用时，检视物与镜面又非常靠近($0.14\text{ mm} \sim 0.19\text{ mm}$)，因而使进入镜头的光线较少。当光线由反光镜通过玻片与镜头之间的空气时，由于玻片与物镜之间的介质为空气，空气折射率为 1，由于空气与玻片的密度不同，光线发生散射现象，结果进入物镜的光线减少，这样就降低了视野的照明度。若载玻片与物镜之间的介质不是

空气,而是香柏油,其折射率为 1.515,与玻璃的折射率(1.52)相近,光线通过载玻片可直接通过香柏油进入物镜而几乎不发生折射,使视野增加进光量,这样就能使物像更加清晰(图 1-2)。

三、实训材料

1. 实验菌种标本片:有隔菌丝、无隔菌丝、曲霉、酵母、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌等常见微生物标本片。
2. 试剂:香柏油、二甲苯。
3. 仪器及用具:普通光学显微镜、擦镜纸等。

四、实训步骤

取镜→调整→放置标本→低倍镜→高倍镜→油镜→记录显微观察结果→镜头清理→放镜。

1. 用前检查:从显微镜箱中取出显微镜时,用右手拿镜臂,左手托镜座,直立移动,轻放于平稳的桌面上,检查各部零件是否齐全,镜头是否清洁,否则报告老师。

2. 调节光照,正确的照明是获得良好检查效果的前提。用粗调节器提升镜筒,将低倍镜旋转到镜筒下方,使镜头和载物台距离约为 5 mm,左眼看目镜调节反光镜镜面角度(在天然的光线下观察,一般用平面反光镜;若以灯光为光源,则一般多用凹面反光镜)。调节光线强弱,然后调节聚光镜的位置(酌予升降),直至视野内得到最适宜的光度为止。

3. 低倍镜观察:低倍镜视野面广、焦点深度较深,易于发现目标,故应先用低倍镜观察。

将载片标本(涂面朝上)置于载物台的标本夹上,并将标本部位处于物镜的正下方,转动粗调节器,使镜头下降至镜面距离检视物大约 10 mm 处。然后以左眼看目镜,右眼睁开,一边观察视野,一边旋转粗调节器使镜头缓慢升高,至视野内出现物像后,改用细调节器,上下微微转动,仔细调节焦距和照明,直至视野内获得清晰的物像,选择适宜部位,移到视野中心,待换中倍镜、高倍镜观察。

4. 依次再进行中倍镜、高倍镜观察:在物镜依次由低倍至中倍、高倍的观察过程中,应逐次上升聚光镜以调节光线强度,同样选择适宜的部位移至视野中央。

5. 油镜观察:将聚光镜提升至最高点,转动转换器,移开高倍镜,使高倍镜和油镜呈“八”字形,在标本中央滴一小滴香柏油,使油镜镜头浸入香柏油中,微微转动微调节器至可见清晰物像,如果还未看清物像的话,需重新调节。此时可从侧面注视,用粗调节器将镜筒小心地降下,使油镜浸在香柏油中,其镜头几乎与标本相接。应特别注意不能压在标本上,更不能用力过猛,否则不仅会压碎玻片,还会损坏镜头。用左手缓慢调节粗调节器,当视野中有模糊的标本物像时,改用细调节器,直到看清物像为止。

6. 换片:另换新的标本片,必须从第三步开始操作。

7. 用后复原:观察完毕,上旋镜筒,先用擦镜纸擦去镜头上的油,然后再用擦镜纸蘸取少许二甲苯(香柏油溶于二甲苯)擦去镜头上的残留油迹,最后再用擦镜纸擦去残留的二甲苯。机械部件用细软布擦去灰尘和冷凝水,下降镜筒,将低倍镜对准目镜。放进显微镜箱中锁好,并放入指定的显微镜柜中。

8. 显微镜保养和使用中的注意事项：

(1)不准擅自拆卸显微镜的任何部件，以免损坏。

(2)镜面只能用擦镜纸擦，不能用手指或粗布擦，以保证镜面的光洁度。

(3)观察标本时，必须依次用低倍镜、中倍镜、高倍镜，最后用油镜。当目视接目镜时，特别在使用油镜时，切不可用粗调节器向下旋，以免物镜碰到玻片损伤镜面或压碎玻片。

(4)观察时两眼睁开，养成两眼能够轮换观察的习惯，以免眼睛疲劳，并且能够在左眼观察时，右眼注视绘图。

(5)拿显微镜时，一定要右手拿镜臂，左手托镜座，不可单手拿，更不可倾斜晃动。

(6)显微镜应存放在阴凉干燥处，以免镜片滋生霉菌而腐蚀镜片。

(7)显微镜常见问题及解决方法，见表 1-1。

表 1-1 显微镜常见问题及解决方法

常见问题	解决方法
没有光线透过目镜	检查显微镜电线插入的插座是否有电
	确保观察物在指定位置
	确保可变光圈已经打开
透过目镜的光线不足	将光圈完全打开
	确保观察物固定在指定位置
视野范围内有杂物(线、粉尘、眼睫毛等)	用擦镜清洁剂清洁目镜
视野中有颗粒游动且视野模糊	多加油或确保相应的物镜完全浸没在油中
	若使用非油浸高倍物镜，确保其未使用油
	确保盖玻片上没有油。油会使盖玻片与其粘连而从载玻片上脱离，从而导致视野模糊或看不见

● ● ● ● 思考题

1. 显微镜镜台下光圈的作用是什么？

2. 绘制有隔菌丝、无隔菌丝、曲霉、酵母、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌等常见微生物标本片的形态。

3. 为什么在使用高倍镜及油镜之前要先用低倍镜进行观察？

4. 使用油镜时加香柏油的作用是什么？

● ● ● ● 操作评分标准

项目	考核内容	分值	考核记录(以“√”表示)		备注	得分
镜检 (52分)	摆放(显微镜摆放、载玻片放置)	8	正确,得8分			
			显微镜摆放不正确,扣8分			
			载玻片放置不正确,扣4分			
	观察操作(低倍至高倍、粗细调节、滴加油、图像清晰)	20	正确,得20分			
			未从低倍镜到高倍镜调节,扣4分			
			在油镜下使用粗调旋钮,扣4分			
			油镜观察时未滴加油,扣6分			
			图像不清晰,扣6分			
	显微镜清洗	12	正确,得12分			
			镜检结束后,显微镜未清洗或清洗方法不正确,扣12分			
	操作熟练程度	12	熟练,得12分			
			较熟练,得8分			
			一般,得4分			
			不熟练,得0分			
绘图 (40分)	绘图结果 (看一个视野)	40	有隔菌丝、无隔菌丝、霉菌孢子、酵母菌、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌形态比例绘制正确,得40分			
			每个绘制不正确,扣6分			
			绘制不美观,扣4分			
文明 操作 (8分)	实验后台面整理	4	整理,得4分			
			未整理,扣4分			
	器皿破损	4	未破损,得4分			
			破损,扣4分			
完成 时间 (0分)	共用()分钟	0	提前,不加分不扣分			
	开始: _____		按时,不加分不扣分			
	结束: _____		超时,每超过1分钟,扣1分(最多扣5分)			
合计: 分						

● ● ● ● 知识链接

知识链接一 显微镜的发明

Leeuwenhoek 是 17 世纪中期荷兰代尔夫特的一位磨制显微镜镜片的工匠。他是早期最伟大的显微镜专家,也是一个痴迷的观察者。他利用其显微镜观察一切能够观察的事物。

他发现到处都是这些微小的生物。他向皇家学会报告:他从其嘴里发现了成群的、只

有显微镜才能看得见的东西。他在报告中写道：“虽然我现在已经 50 岁了，但我的牙齿保护得非常好，因为我习惯每天早上用盐仔细刷牙，并且在用牙刷清理完牙齿后，我会拿布用力擦拭……”

他从他的牙齿上刮出了一些白色东西放进小管里，用纯净的雨水混合，蘸一点到一个小管里，放在显微镜下，然后关上门开始了他的研究……

当他将这个小平管转入视野时，发现里面有一些让人难以置信的微小生物，在小平管的水里跳跃。另外有一种东西向前游动，然后突然转弯，又突然翻个小筋斗……在他嘴里有一个小动物园，有一些柔韧的形似杆状生物，还有些像飞速转动的螺丝钉在水里打转。

知识链接二 几种特殊显微镜

1. 暗视野显微镜

细菌在明视野显微镜下是透明的，不易看清，而暗视野显微镜则利用特殊的聚光器实现斜射照明，给样品照明的光不直接穿过物镜，而是由样品反射或折射后再进入物镜，因此，整个视野是暗的，而样品是明亮的。暗视野显微镜不具备观察物体内部的细微结构的功能，但可以分辨 $0.004\ \mu\text{m}$ 以上的微粒的存在和运动，因而常用于观察活细胞的结构和细胞内微粒的运动等。

2. 相差显微镜

相差显微镜是将光通过物体时产生的相位差(或光程差)转变为振幅(光强度)变化的显微镜。相差显微镜主要用于观察活细胞、不染色的组织切片或缺少反差的染色标本。人眼只能鉴别可见光的波长(颜色)和振幅的变化，不能鉴别相位的变化，而大多数生物标本高度透明，光波通过后振幅基本不变，仅存在相位的变化。相差显微镜基本把透过标本的可见光的光程差变成振幅差，从而提高了各种结构间的对比度，使各种结构变得清晰可见。

3. 体视显微镜

体视显微镜载物台直接固定在镜座上，并配有黑白双面板或玻璃板，操作者可根据镜检的对象和要求加以选择。体视显微镜的成像是正立的，便于解剖操作。体视显微镜的物镜仅一只，其放大倍数可通过旋转调节螺旋连续调节。普通光学显微镜的光源为平行光，因而形成的是二维平面影像，而体视显微镜采用双通道光路，双目镜筒中的左右两光束具有一定的夹角体视角，因而能形成三维空间的立体图像。体视显微镜与普通光学显微镜的使用方法相近，但更为便捷。

4. 荧光显微镜

荧光显微镜是利用细胞内物质发射的荧光强度对其进行定性和定量研究的一种光学工具。细胞内的荧光物质有两类，一类直接经紫外线照射后即可发出荧光，如叶绿素等；另有一些物质本身不具有这一性质，但如果以特定的荧光染料或荧光抗体染色，经紫外线照射后也可以发出荧光。荧光显微镜利用一个高发光效率的点光源(如超高压汞灯)，经过滤色系统发出一定波长的光(如紫外光 $3\ 650\ \text{\AA}$ 或紫蓝光 $4\ 200\ \text{\AA}$)作为激发光，激发标本内的荧光物质发射出各色的荧光后，再通过物镜后面的阻断(或压制)滤光片的过滤，最后经由目镜的放大作用加以观察。

项目二

玻璃仪器的包扎与灭菌

● ● ● ● 学习目标

1. 了解实验室常见玻璃仪器的种类和用途。
2. 掌握各种玻璃仪器的洗涤和包扎方法。
3. 掌握灭菌的原理和方法。

● ● ● ● 学习内容

一、实训目的

1. 掌握常用玻璃仪器的正确洗涤和包扎方法。
2. 熟悉高压蒸汽灭菌锅的使用方法。

二、实训原理

微生物实验室的玻璃仪器在实验之前必须洗涤清洁,且通常需要灭菌后才可使用,否则会直接影响实验的结果。玻璃仪器的包扎和灭菌可有效去除仪器与环境的影响,保证实验结果的准确性。

高压蒸汽灭菌是将待灭菌的物品放入一个密闭的加压灭菌锅内,通过加热,使灭菌锅内水沸腾产生蒸汽,水蒸气急剧地将锅内的冷空气从排气阀中驱尽,然后关闭排气阀,继续加热,此时由于水蒸气不能溢出而增加了灭菌锅内的压力,从而使沸点升高,得到高于 100°C 的温度,高温导致菌体蛋白质凝固变性,从而达到灭菌的目的。一般培养基用 0.1 MPa 、 121°C 、 $15\text{ min}\sim 30\text{ min}$ 灭菌,灭菌的温度及维持的时间随灭菌物品的性质和容量等具体情况而有所改变。

在同一温度下,湿热的杀菌效力比干热大,其原因有三:一是湿热中细菌菌体吸收水分,蛋白质较易凝固,因为蛋白质含水量增加,所需凝固温度降低;二是湿热的穿透力比干热大;三是湿热的蒸汽有潜热存在,这种潜热能迅速提高被灭菌物体的温度,从而增加灭菌效力。

在使用高压蒸汽灭菌锅灭菌时,灭菌锅内冷空气的排除是否完全极为重要,因为空气的膨胀压大于水蒸气的膨胀压,所以,当水蒸气中含有空气时,在同一压力下,含空气蒸汽的温度要低于饱和蒸汽的温度。

三、实训材料

试管(大、中、小)、杜氏小管、移液管、培养皿、三角瓶与烧杯、玻璃涂布棒、报纸、棉线。

四、实训步骤

1. 新购置的玻璃器皿的洗涤

新购置的玻璃器皿一般含较多的游离碱,可先放在2%的盐酸或洗涤液内浸泡几小时,然后用自来水冲洗干净,倒置在洗涤架上晾干或在干燥箱内烘干备用。也可将器皿先用热水浸泡,再用去污粉或肥皂粉刷洗,最后经过热水洗刷、自来水清洗,待干燥后,灭菌备用。

2. 使用过的玻璃器皿的洗涤

(1) 试管或三角瓶洗刷

盛有废弃物的试管或三角瓶,因其含有大量微生物,洗刷前应先经过高压蒸汽灭菌。对只带有细菌标本或培养物的试管等玻璃器皿,用过后应立即将其浸于2%的来苏水消毒水中,经24 h后,才可以取出洗刷。

加过消泡剂的发酵瓶或做过通气培养的大三角瓶,一般先将倒空的瓶子用碱粉去掉油污后,再行洗刷。如瓶壁还挂有水珠,则需用洗涤液浸泡数小时,然后再用自来水冲洗干净。

(2) 培养皿的清洗

用过的器皿中往往有废弃的培养基,需先经高压蒸汽灭菌或沸水煮沸30 min后,倒掉污物,方可清洗。

如果灭菌条件不便,可将皿中培养基刮出来,倒在一起,以便统一处理。洗刷时,先用热水洗一遍,再用洗衣粉或去污粉擦洗,然后用自来水冲洗干净,将平皿全部倒扣向下,一个压着一个,扣于洗涤架上或桌子上。

(3) 玻璃吸管的洗涤

吸过菌液的吸管(滴管的橡皮头应先拔去)应立即投入2%煤酚皂溶液或0.25%新洁尔灭消毒液内,浸泡24 h后方可取出冲洗。吸过血液、血清、糖溶液或染料溶液的吸管应立即投入自来水中,免得干燥后难以冲洗干净,待实验结束后再集中冲洗。

吸管的内壁如果有油垢,同样应先在洗涤液内浸泡数小时,然后再冲洗。

(4) 载玻片和盖玻片的清洗

用过的载玻片与盖玻片如滴有香柏油,要先擦去香柏油或浸在二甲苯内摇晃几次,使

油垢溶解，再在肥皂水中煮沸 5 min~10 min，用软布或脱脂棉花擦拭，立即用自来水冲洗，然后在稀洗液中浸泡 0.5 h~2 h，自来水冲洗洗液，最后用蒸馏水换洗几次，晾干后浸于 95% 乙醇中保存备用。

检查过活菌的载玻片或盖玻片应先在 2% 煤酚皂溶液或 0.25% 新洁尔灭溶液中浸泡 24 h，然后按上述方法洗涤和保存。

3. 玻璃器皿的包扎

(1) 培养皿的包扎

培养皿用报纸或牛皮纸包紧，卷成一筒，一般以 6~8 套为宜，包好后干热或湿热灭菌。或者不用纸包扎，直接放入特制的金属（不锈钢或铁皮）筒内，加盖干热灭菌。

(2) 移液管的包扎

干燥的移液管上端塞入 1 cm~1.5 cm 棉花，用纸条以螺旋式包扎，将每支移液管尖端斜放在旧报纸条的近右端，与纸条约呈 45°，并利用余下的一段纸条将吸管卷好。

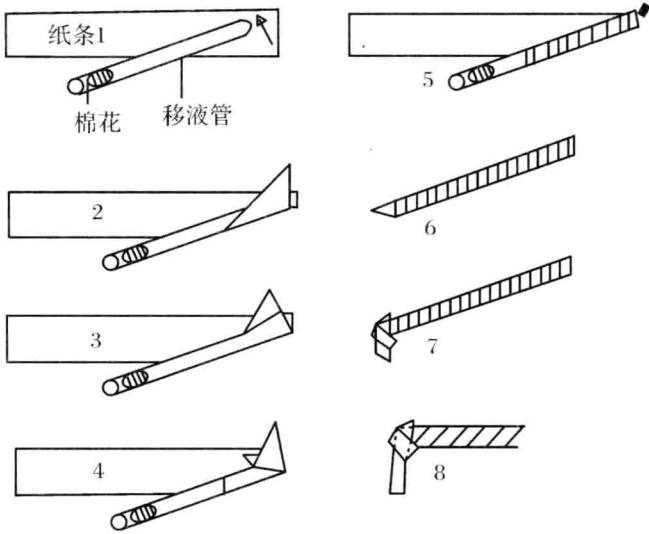


图 2-1 移液管的包扎

(3) 试管的包扎

洗净的试管塞上合适的、不松也不太紧的棉塞或硅胶塞，塞子入管 2/3，管外留 1/3，同规格的数支试管用棉绳捆扎在一起，试管上半部分用报纸包起来，再用棉绳捆扎后准备灭菌。

(4) 三角瓶的包扎

每个三角瓶需单独塞好塞子，用报纸包扎瓶颈以上部分，用棉绳扎紧。如瓶内装有待灭菌的物质如培养基、生理盐水等，应用记号笔注明。



图 2-2 常用玻璃器皿的包扎

4. 玻璃器皿灭菌

(1) 干热灭菌

干热灭菌一般在 $160^{\circ}\text{C} \sim 170^{\circ}\text{C}$ ，持续 $1\text{ h} \sim 2\text{ h}$ ，适用于各种耐热的玻璃容器或器皿、金属用具和某些物品(如液体石蜡)的灭菌。干热灭菌的具体步骤如下。

①装料：将待灭菌的物品包扎好，放入电烘箱内，关好箱门。注意：物品不能摆得太挤，以免影响热空气流通；用纸包扎的物品不能接触电烘箱内壁，以免着火。

②保温：接通电源，设定温度在 $160^{\circ}\text{C} \sim 170^{\circ}\text{C}$ ；打开电烘箱排气孔，排除箱内湿空气；当温度升至 100°C 时，关闭排气孔，继续升温到设定温度，维持 $1\text{ h} \sim 2\text{ h}$ 。灭菌物品用纸包扎或带有棉塞时温度不能超过 170°C 。

③降温：达到规定时间后，切断电源，自然冷却降温。

④取出：待电烘箱内温度降到 60°C 以下，打开箱门，取出灭菌物品。箱内温度过高时，请勿打开箱门，以免骤然降温导致玻璃器皿破裂。

(2) 湿热灭菌

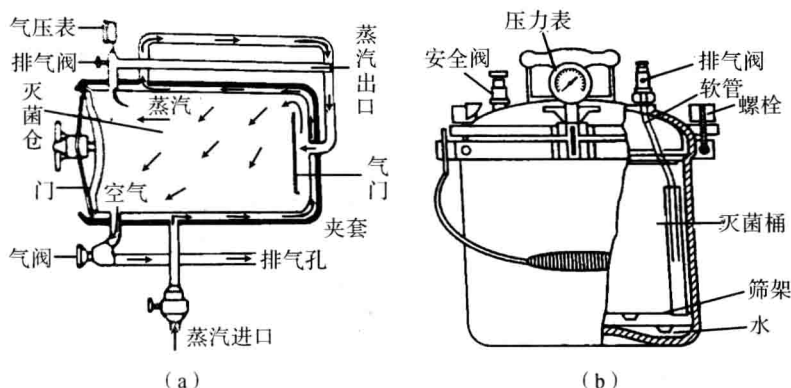


图 2-3 高压蒸汽灭菌锅

(a)卧式高压蒸汽灭菌锅；(b)手提式高压蒸汽灭菌锅

湿热灭菌具体步骤如下。

①打开电源，首先在内外两层锅中间，加入适量的水，至“高水位”指示灯亮即可。

②设置灭菌参数， 121°C ， $15\text{ min} \sim 20\text{ min}$ 。

③装入待灭菌物品，不要装得太挤，以免妨碍蒸汽流通影响灭菌效果，三角瓶口不要与桶壁接触，以免冷凝水淋湿包口的纸而透入棉塞，加盖。

④灭菌开始，此时应打开排气阀，待冷空气排尽后(蒸汽冒出后 5 min)，关上排气阀，让锅内的温度逐渐上升，当锅内达到所需压力时，维持压力至所需时间。

⑤灭菌结束，待压力表的压力降至零位时，打开排气阀，打开盖子，取出灭菌物品。注意：当压力不为零时，不能开盖取物，否则由于压力突然下降，容器内外压力不平衡而导致容器内液体冲出烧瓶口或试管口，造成棉塞沾染而发生污染，甚至灼伤操作者。

⑥高压蒸汽灭菌锅上的安全阀是保障安全使用的重要零件，不得随意调节。