



国家示范性高职院校优质核心课程系列教材

# 微生物应用技术

■ 金月波 主编

WEISHENGWU  
YINGYONG  
JISHU



化学工业出版社



国家示范性高职院校优质核心课程系列教材

# 微生物应用技术

■ 金月波 主编

■ 宋连喜 主审

WEISHENGWU  
YINGYONG  
JISHU



化学工业出版社

· 北京 ·

本书为国家示范性高职院校优质核心课程系列教材之一。教材根据行业岗位实际组织内容,设计了常见微生物的识别,消毒、灭菌操作技术,微生物菌种的培育、扩大培养与保藏技术,微生物发酵与控制技术,微生物农药生产技术,微生物肥料生产技术,微生物饲料生产技术,微生物在食品发酵工程中的应用和微生物在环境治理中的应用九个项目。每个项目将相关的理论知识融入典型工作任务中,设计了31个工作任务,融“教、学、做”为一体。教材学习目标指向明确,知识讲解内容充实,典型任务突出,案例解析生动,知识拓展充分。

本书可作为高职高专生物技术类专业、农学类专业、食品类相关专业的教学用书,也可作为微生物发酵工、微生物培菌工等国家职业标准工位的考试用书,还可以供相关领域科学研究和实践操作人员参考使用。

# 微生物应用技术(第2版)

主编 金月波  
副主编 李植峰 迟蕾

## 图书在版编目(CIP)数据

微生物应用技术/金月波主编. —北京:化学工业出版社, 2014.11

国家示范性高职院校优质核心课程系列教材

ISBN 978-7-122-21722-6

I. ①微… II. ①金… III. ①微生物学-教材 IV. ①Q93

中国版本图书馆CIP数据核字(2014)第203582号

责任编辑:李植峰 迟蕾

装帧设计:韩飞

责任校对:王素芹

出版发行:化学工业出版社(北京市东城区青年湖南街13号 邮政编码100011)

印装:三河市延风印装厂

787mm×1092mm 1/16 印张18 字数449千字 2014年11月北京第1版第1次印刷

购书咨询:010-64518888(传真:010-64519686) 售后服务:010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

定 价: 39.00 元

版权所有 违者必究

# 《微生物应用技术》编写人员

主 编 金月波

副 主 编 唐 伟 应俊辉 白忠义

编写人员 (按姓名汉语拼音排序)

白忠义 (辽宁农业职业技术学院)

程贵兰 (辽宁农业职业技术学院)

金月波 (辽宁农业职业技术学院)

李春龙 (北京诚益通控制工程科技股份有限公司)

李春艳 (辽宁农业职业技术学院)

李洪森 (辽宁农业职业技术学院)

刘 斌 (沈阳乾宇生物制药有限公司)

牛长满 (辽宁农业职业技术学院)

唐 伟 (辽宁农业职业技术学院)

王东明 (丽水职业技术学院)

魏雅冬 (绥化学院)

应俊辉 (丽水职业技术学院)

张 晶 (辽宁农业职业技术学院)

主 审 宋连喜 (辽宁农业职业技术学院)

# “国家示范性高职院校优质核心课程系列教材” 建设委员会成员名单

主任委员 蒋锦标

副主任委员 荆宇 宋连喜

委员 (按姓名汉语拼音排序)

蔡智军	曹晶	曹军	陈杏禹	崔春兰	崔颂英
丁国志	董炳友	鄂禄祥	冯云选	关秀杰	郝生宏
何明明	胡克伟	贾冬艳	姜凤丽	姜君	蒋锦标
荆宇	雷恩春	李继红	梁文珍	钱庆华	乔军
曲强	宋连喜	田长永	田晓玲	王国东	王庆菊
王润珍	王雅华	王艳立	王振龙	相成久	肖彦春
徐凌	薛全义	姚卫东	俞美子	张广燕	张力飞
张淑梅	张文新	张秀丽	赵希彦	郑虎哲	邹良栋

# 序

我国高等职业教育在经济社会发展需求推动下，不断地从传统教育教学模式中蜕变出新，特别是近十几年来在国家教育部的重视下，高等职业教育从示范专业建设到校企合作培养模式改革，从精品课程遴选到双师队伍构建，从质量工程的开展到示范院校建设项目的推出，经历了从局部改革到全面建设的历程。教育部《关于全面提高高等职业教育教学质量的若干意见》（教高〔2006〕16号）和《教育部、财政部关于实施国家示范性高等职业院校建设计划，加快高等职业教育改革与发展的意见》（教高〔2006〕14号）文件的正式出台，标志着我国高等职业教育进入了全面提高质量阶段，切实提高教学质量已成为当前我国高等职业教育的一项核心任务，以课程为核心的改革与建设成为高等职业院校当务之急。目前，教材作为课程建设的载体、教师教学的资料和学习依据，存在着与当前人才培养需要的诸多不适应。一是传统课程体系与职业岗位能力培养之间的矛盾；二是教材内容的更新速度与现代岗位技能的变化之间的矛盾；三是传统教材的学科体系与职业能力成长过程之间的矛盾。因此，加强课程改革、加快教材建设已成为目前教学改革的重中之重。

辽宁农业职业技术学院经过十年的改革探索和三年的示范性建设，在课程改革和教材建设上取得了一些成就，特别是示范院校建设中的32门优质核心课程的物化成果之一——教材，现均已结稿付梓，即将与同行和同学们见面交流。

本系列教材力求以职业能力培养为主线，以工作过程为导向，以典型工作任务和生产项目为载体，立足行业岗位要求，参照相关的职业资格标准和行业企业技术标准，遵循高职学生成长规律、高职教育规律和行业生产规律进行开发建设。教材建设过程中广泛吸纳了行业、企业专家的智慧，按照任务驱动、项目导向教学模式的要求，构建情境化学习任务单元，在内容选取上注重了学生可持续发展能力和创新能力培养，具有典型的工学结合特征。

本套以工学结合为主要特征的系列化教材的正式出版，是学院不断深化教学改革，持续开展工作过程系统化课程开发的结果，更是国家示范院校建设的一项重要成果。本套教材是我们多年来按农时季节工艺流程工作程序开展教学活动的一次理性升华，也是借鉴国外职教经验的一次探索尝试，这里面凝聚了各位编审人员的大量心血与智慧。希望该系列教材的出版能为推动基于工作过程系统化课程体系建设和促进人才培养质量提高提供更多的方法及路径，能为全国农业高职院校的教材建设起到积极的引领和示范作用。当然，系列教材涉及的专业较多，编者对现代教育理念的理解不一，难免存在各种各样的问题，希望得到专家的斧正和同行的指点，以便我们改进。

该系列教材的正式出版得到了姜大源、徐涵等职教专家的悉心指导，同时，也得到了化学工业出版社、中国农业大学出版社、相关行业企业专家和有关兄弟院校的大力支持，在此一并表示感谢！

蒋锦标  
2010年12月

教育部《关于全面提高高等职业教育教学质量的若干意见》中提出：“要积极推行与生产劳动和社会实践相结合的学习模式，把工学结合作为高等职业教育人才培养模式改革的重要切入点，带动专业调整与建设，引导课程设置、教学内容和教学方法改革。”同时也指出，要根据技术领域和职业岗位（群）的任职要求，参照相关的职业资格标准，改革课程体系和教学内容，突出职业能力培养；要融“教、学、做”为一体，改革教学方法和手段，提高课程教学质量。本书正是遵循这样的指导思想，并结合不同院校的微生物应用技术课程改革的实际经验编写的。

本书全面打破传统教材的编写体例，深刻体现“工学结合”精神，强化职业素质与职业能力培养，呈现出以下几个特色。

第一，教育逻辑特色。教材编写体现了中国古代“知行合一”的教育哲学思想和人才培养逻辑，认知密切结合实践，在实践中深化认知。

第二，就业导向特色。教材编写以岗位需求和学生就业情况为导向，紧紧围绕微生物发酵工、微生物培菌工、微生物发酵灭菌工等国家职业标准工位分析、确定教学目标，力求使学生熟练掌握消毒、灭菌操作技术，微生物菌种的培育、扩大培养与保藏技术，微生物发酵与控制技术，全面了解微生物资源在工农业、食品及环境治理等可持续发展中的作用及其合理开发利用，加强学生对微生物肥料、微生物饲料、微生物农药等相关知识及其生产技术认知与应用。

第三，理实一体特色。教材编写均从微生物应用岗位任务与职业能力分析入手，按照产业、行业、企业和职业岗位能力培养的要求归纳总结典型工作任务，按照工艺流程逐级展开，每个项目都形成相对独立的相关知识单元，相关理论知识融于典型工作任务中，实施理实一体化教学。

第四，工学结合特色。教学内容与实际工作岗位密切相关，突出了实践技能的培养，将理论知识和操作技能有机地结合起来，教学内容贴近实际工作任务，学习过程贴近工作过程。

第五，内容结构特色。教材编写打破以往知识逻辑结构，采用模块式结构。全书分为九个项目，每个项目均按“学习目标”、“知识讲解”、“典型任务”、“案例解析”、“知识链接”等内容编写，目标指向明确，学教任务突出，案例学导生动，知识拓展充分，十分有利于学、教活动的开展。

本教材由辽宁农业职业技术学院金月波主编，丽水职业技术学院应俊辉和辽宁农业职业技术

学院唐伟、白忠义为副主编，程贵兰、李洪淼、李春艳、魏雅冬、张晶、牛长满、王东明等老师以及多年从事微生物肥料生产和发酵工艺控制的企业技术人员李春龙和刘斌参与编写，全书最后由金月波统稿。辽宁农业职业技术学院的宋连喜老师对本书进行了具体审阅。在此，谨向为本教材编写和审阅付出艰辛努力的各位老师表示衷心的感谢，本教材在编写过程中参阅了大量的国内外教科书和微生物学期刊，并引用了相关图表，无法一一列出，谨在此向相关作者及专家致谢。

由于我们的学术水平、编写能力及对项目化教学改革的认识水平有限，书中内容难免有疏漏和不足之处，恳请广大读者提出宝贵意见，以便于我们修改和完善。

编者

2014年3月



<b>微生物实验实训安全操作基本要求</b>	1
<b>项目一 常见微生物的识别</b>	3
知识讲解	3
一、细菌	3
二、放线菌	7
三、真菌	8
四、病毒	11
五、微生物生长繁殖的测定方法	12
典型任务	14
任务一 显微镜的使用与细菌形态观察	14
任务二 细菌的简单染色与革兰染色	17
任务三 细菌的芽孢和荚膜染色	22
任务四 霉菌、放线菌插片培养技术及其形态观察	24
任务五 酵母菌的死活细胞鉴别与镜检计数	26
任务六 四大类细胞型微生物菌落形态比较和识别	29
案例解析	32
<b>项目二 消毒、灭菌操作技术</b>	33
知识讲解	33
一、微生物的分布	33
二、无菌室与微生物检测	35
三、消毒、灭菌技术	37
四、灭菌在微生物工业中的应用	41
五、影响培养基灭菌的因素	44
典型任务	45

任务一 手及无菌室表面环境微生物监测 .....	45
任务二 接种前的准备 .....	47
任务三 高压蒸汽灭菌 .....	48
案例解析 .....	51

### 项目三 微生物菌种的培育、扩大培养与保藏技术 53

知识讲解 .....	53
一、微生物的营养 .....	53
二、微生物的培养基 .....	56
三、微生物接种技术 .....	64
四、微生物菌种的使用与扩大培养 .....	66
五、微生物菌种退化、复壮 .....	75
六、微生物菌种保藏 .....	76
典型任务 .....	77
任务一 常用玻璃器皿的清洗、干燥与包扎 .....	77
任务二 微生物培养基的制备 .....	80
任务三 微生物接种与无菌操作 .....	82
任务四 微生物的分离与培养 .....	85
任务五 菌种的传代与保藏 .....	89
任务六 光电比浊计数法测定细菌生长曲线 .....	92
案例解析 .....	94

### 项目四 微生物发酵与控制技术 96

知识讲解 .....	96
一、常见微生物发酵类型 .....	96
二、微生物发酵设备 .....	98
三、微生物发酵动力学 .....	107
四、微生物发酵的中间控制 .....	109
五、微生物发酵生产中的染菌与防止 .....	115
六、微生物发酵产物的提取与加工 .....	122
典型任务 .....	126
任务一 小型发酵罐结构与操作 .....	126
任务二 培养基实罐灭菌操作 .....	132
任务三 酵母菌的液体发酵生产 .....	134
案例解析 .....	136

### 项目五 微生物农药生产技术 138

知识讲解 .....	138
------------	-----

一、微生物农药的种类及特点	138
二、几种常见微生物农药的生产技术	140
三、我国对微生物农药的登记要求	157
四、我国对微生物农药的规范管理	159
<b>典型任务</b>	163
任务一 苏云金芽孢杆菌制剂的实验室简易生产	163
任务二 苏云金芽孢杆菌感染菜青虫	164
任务三 金龟子绿僵菌的固体发酵生产	166
<b>案例解析</b>	168
<b>项目六 微生物肥料生产技术</b>	<b>170</b>
<b>知识讲解</b>	170
一、微生物肥料概述	170
二、我国微生物肥料应用中存在的问题	173
三、几种常见微生物肥料的生产及应用	173
<b>典型任务</b>	190
任务一 根瘤菌肥料的生产	190
任务二 光合细菌肥料的生产	192
任务三 微生物肥料有效活菌数和杂菌含量测定	193
<b>案例解析</b>	195
<b>项目七 微生物饲料生产技术</b>	<b>197</b>
<b>知识讲解</b>	197
一、单细胞蛋白(SCP)饲料生产技术	197
二、发酵饲料生产技术	200
三、藻类饲料生产	204
四、微生态制剂生产	204
<b>典型任务</b>	205
任务 秸秆微贮饲料制作	205
<b>案例解析</b>	207
<b>项目八 微生物在食品发酵工程中的应用</b>	<b>208</b>
<b>知识讲解</b>	208
一、酒精饮料生产	208
二、酱油酿造	223
三、酸乳生产	228
<b>典型任务</b>	232
任务一 生牛乳消毒	232

任务二 固定化啤酒酵母发酵生产啤酒	234
任务三 甜米酒的制作	237
任务四 泡菜的制作	238
案例解析	240
<b>项目九 微生物在环境治理中的应用</b>	<b>242</b>
知识讲解	242
一、废物和废水的处理	242
二、农药残留的微生物降解	253
三、微生物传感器在环境监测方面的应用	254
四、有机污染土壤的生物修复	255
典型任务	257
任务一 水中细菌总数的测定	257
任务二 水中总大肠菌群的测定	260
案例解析	264
<b>附录</b>	<b>265</b>
附录 I 常用培养基	265
附录 II 常用染色液的配制	269
附录 III 常用试剂与指示剂的配制	271
附录 IV 常用消毒剂配制	273
附录 V 饱和水蒸气压与温度的关系	273
<b>参考文献</b>	<b>274</b>

# 微生物实验实训安全操作基本要求

为保证实验实训安全进行并得到正确的实验结果，必须谨记以下事项。

## 1. 实验实训开始前

(1) 每次实验实训前，必须认真预习相关任务内容，了解任务目标、说明和操作步骤，做到心中有数，思路清晰。

(2) 进入实验实训室应将长发扎在脑后，穿工作衣；进入无菌室要戴口罩、工作帽，换专用鞋。

(3) 实验实训之前要用肥皂或洗手液洗手，并使用酚消毒剂如5%来苏尔或5%酚溶液擦拭工作台。

## 2. 实验实训过程中

(1) 在实验实训室内保持安静，不随意走动，不抽烟，不饮食，不随地吐痰；不要用手触摸自己的面孔，尤其是远离眼睛和嘴巴，也不要把手指放在嘴里。

(2) 将所有不必要的衣服、书、钱包、背包等非实验实训必需品放在搁物架上。

(3) 操作时认真细致，不能讲话，以免染菌。

(4) 进行致病微生物操作时，必须戴上口罩和手套；避免污染实验台、地板和垃圾桶。

(5) 感染的物品意外溢出时，立刻使用消毒剂（5%来苏尔或5%酚溶液）覆盖，30min后才能抹去，并立即报告指导老师。

(6) 所用器皿应标明班次、组别（或姓名）、项目、日期。所用器皿如需灭菌，灭菌后才可使用；如需培养，所用培养器皿要按老师指定位置摆放。

(7) 在培养箱、冰箱内取放物品，开启箱门时间越短越好，严禁随意开关或拧动旋钮。

(8) 接种环或接种针转移培养物前后均需立刻用火焰灼烧；不要手持含感染物品的接种环或针在室内走动；吸过菌液的吸管、滴管，沾过菌液的玻片等使用后，要立刻浸泡在盛有5%来苏尔或5%石炭酸溶液的玻璃缸内，再进行清洗；其他污染的试管、培养皿、锥形瓶等必须放到专门的容器中，高压蒸汽灭菌后再洗涤晾干。

(9) 对易燃药品如酒精、二甲苯、乙醚、丙酮等的使用要加倍小心，既不要大量放在实验台上，更不能接近火源。易挥发性的药品如乙醚、氯仿、氨水等，应放在冰箱内保存。

(10) 每次实验实训要及时、实事求是地做好记录，并结合所学理论知识分析成败原因。

(11) 爱护公物，节约使用水、电、气及药品等。

(12) 始终正确使用移液设施，不许使用嘴巴移液。

(13) 在实验实训过程中，如遇火险，应立即关闭电源、天然气（煤气、液化气）开关；如果酒精、乙醚、汽油着火，切勿用水，应采用覆盖灭火法。

(14) 如遇皮肤破伤，应先除尽异物，后用蒸馏水或生理盐水洗净并涂以2%碘酒。



(15) 发生灼烧伤, 应涂以凡士林油、5%的鞣酸或2%的苦味酸。

(16) 化学药品腐蚀伤, 若为强酸腐蚀, 应先用大量清水冲洗后, 再用50g/L碳酸氢钠或氢氧化铵溶液洗涤中和; 若为强碱腐蚀, 应先用大量清水冲洗后, 再用5%乙酸或5%硼酸溶液洗涤中和。若是眼部受伤, 经上述步骤处理后再滴入橄榄油或液体石蜡1~2滴。如有污染物进入嘴内, 要立即吐出, 并以大量清水漱口, 切勿使漱口水咽下, 必要时可服用有关药物。以防发生传染。病原微生物污染工作服时, 应立即脱下, 并用高压蒸汽灭菌消毒。

### 3. 实验实训结束后

(1) 实验实训完毕应及时清理台面, 并使用酚消毒剂如5%来苏尔或5%酚溶液擦净工作台。

(2) 按要求清洗各种应处理的器皿、物品, 废纸入篓。凡是要丢弃的培养物应经高压蒸汽灭菌后处理。

(3) 仔细检查烘箱、电炉是否切断电源, 培养箱、电冰箱的温度是否正常, 门是否关严。

(4) 所用器皿、试剂、培养基要放到原处。

(5) 离开实验实训室前一定要用肥皂或洗手液把手洗净, 脱去工作衣、帽、专用鞋。关闭门窗以及水、电、天然气等开关, 以确保安全。

(6) 值日的同学要认真打扫整个实验实训室。

(7) 认真完成作业和实验实训报告, 要求字迹清晰, 语言简练, 绘图准确、真实。

# 项目一

## 常见微生物的识别

### 【学习目标】

- ◎ 了解细菌、放线菌、真菌等微生物的形态结构；
- ◎ 学会各类微生物标本片的制作；
- ◎ 能熟练运用光学显微镜进行微生物观察；
- ◎ 掌握使用血球计数板在显微镜下直接计算酵母菌细胞数的方法；
- ◎ 掌握识别四大类微生物菌落形态的依据和要点，学会识别未知的四大类微生物菌落。

### 知识讲解

#### 一、细菌

细菌是一类细胞细短、结构简单、具有细胞壁、多以二分裂方式繁殖的水生性较强的单细胞原核生物。

##### 1. 细菌的个体形态、大小、繁殖

细菌的基本形态有球状、杆状和螺旋状三种。细菌的个体微小，常用微米( $\mu\text{m}$ )作为测量其长度、宽度或直径的单位。多数球菌的直径为 $0.5\sim 2.0\mu\text{m}$ ；杆菌的大小为 $(0.5\sim 1.0)\mu\text{m}\times(1.0\sim 5.0)\mu\text{m}$ 。观察细菌需要借助显微镜。细菌主要以无性二分裂方式繁殖，即细菌生长到一定时期，在细胞中间形成横隔，由一个母细胞分裂成为两个等大的子细胞。由于分裂方式和分裂后的排列方式不同，形成了细菌的各种形态，如双球状、四联球状、葡萄状、链状等(图 1-1)。

##### 2. 细菌的结构

(1) 细菌的一般结构 细菌是单细胞的原核生物，细胞的结构可分为一般结构和特殊结构，一般结构是指一般细菌细胞共同具有的结构，包括细胞壁、细胞质膜、细胞质和核区等(图 1-2)。

(2) 细菌的特殊结构 细菌的特殊结构是指仅在某些细菌细胞才具有的或仅在特殊条件下才能形成的结构，包括荚膜(图 1-3)、鞭毛和芽孢(图 1-4)等。

##### 3. 细菌的生长

(1) 细菌的个体生长 在适宜的条件下，细菌从外界摄取营养，进行分解代谢，获得原料和能量，同时进行合成代谢，合成菌体所需的成分，引起细胞的重量、体积、大小的不断



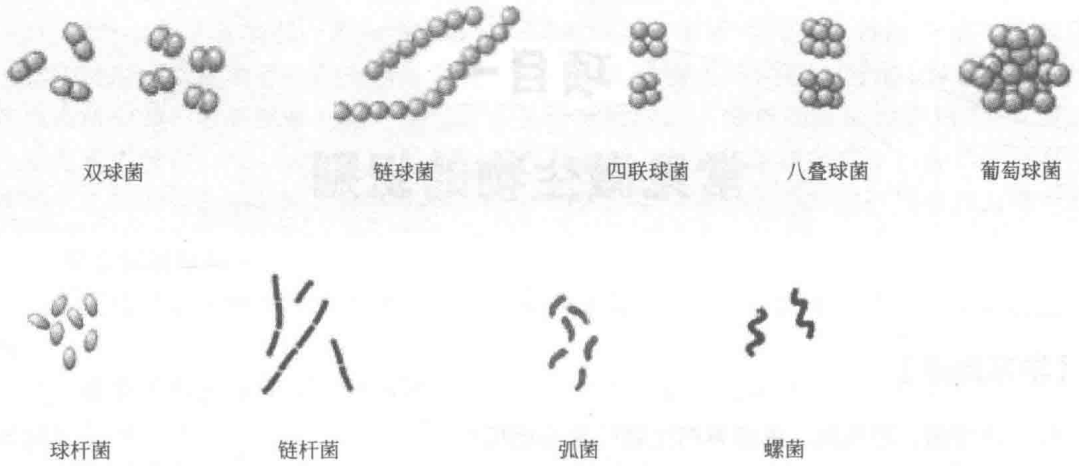


图 1-1 常见的典型细菌形态模式

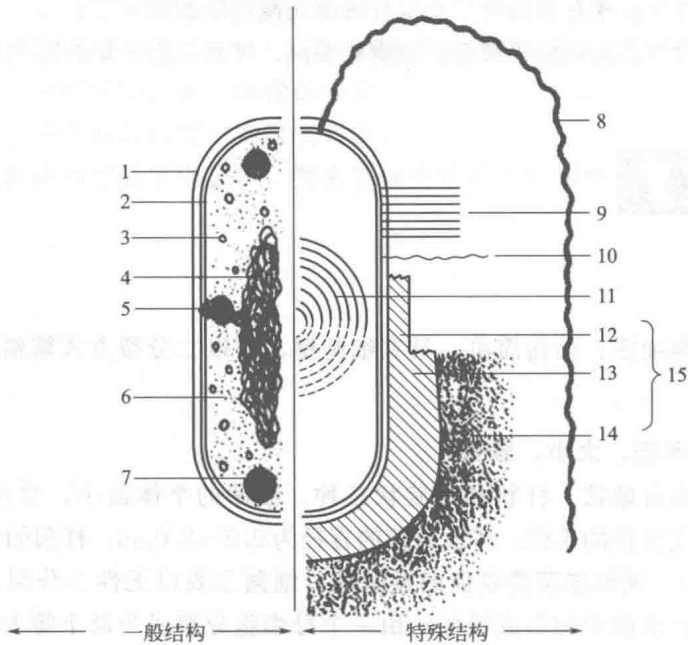


图 1-2 细菌细胞结构模式

1—细菌壁；2—细胞质膜；3、7—内含物；4—核区；5—间体；6—细胞质；8—鞭毛；9—菌毛；  
10—性毛；11—芽孢；12—微荚膜；13—荚膜；14—黏液层；15—糖被

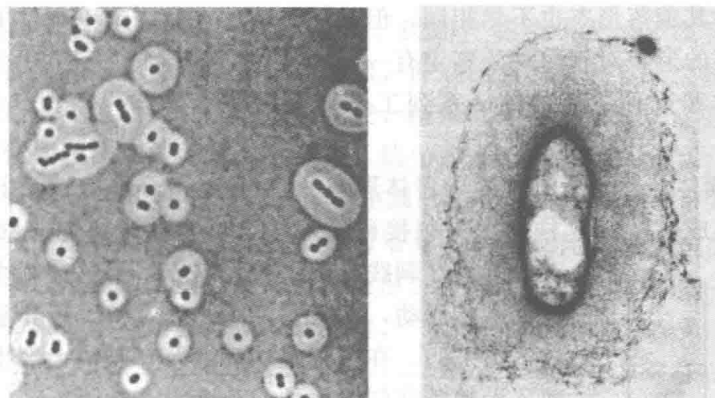
增加，这就是细菌细胞的个体生长。

(2) 细菌的群体生长 细菌的群体生长包括个体体积的增大和细胞数量的增加。

① 细菌在固体培养基上的群体形态 把单个细菌（或其他微生物）细胞接种到适合的固体培养基表面，在适合的环境条件下细菌能迅速生长繁殖，在培养基表面形成一个肉眼可见的细胞群体，这个群体称为菌落。菌落是一个纯种细胞群，如果把大量分散的纯种细胞密集地接种在固体培养基的较大表面上，结果长出的菌落相互连接成一片，称为菌苔。

细菌菌落特征：一般呈现湿润、较光滑、较透明、黏稠、易于挑取、质地均匀以及菌落正反面或边缘与中央部位的颜色一致等特征（图 1-5）。不同菌种的菌落特征不同，同一菌

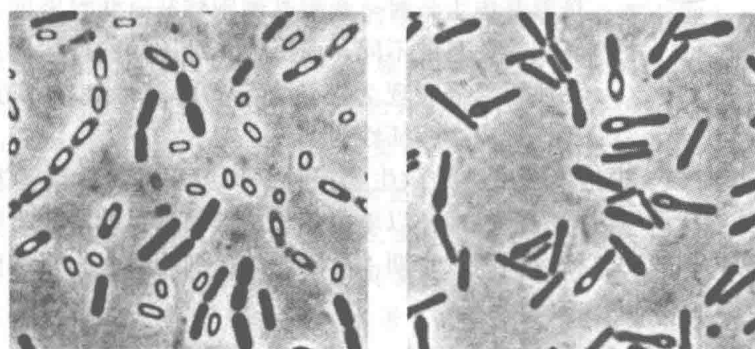




(a) 负染色

(b) 电镜切片

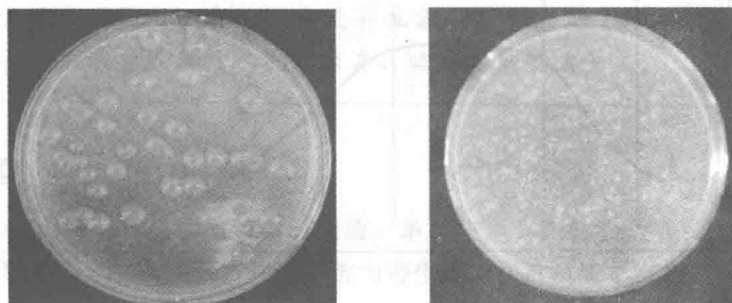
图 1-3 细菌的荚膜



(a) 枯草芽孢杆菌的芽孢

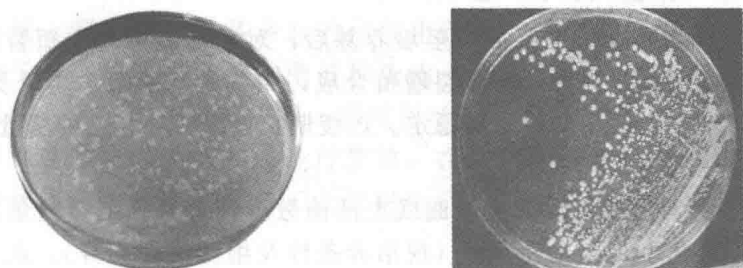
(b) 梭状芽孢杆菌的芽孢

图 1-4 细菌的芽孢



(a) 硅酸盐细菌菌落

(b) 大肠杆菌菌落



(c) 枯草芽孢杆菌菌落

(d) 金黄色葡萄球菌菌落

图 1-5 几种细菌的菌落特征