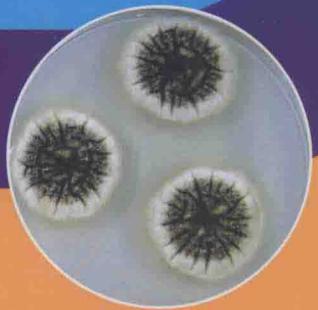




普通高等教育食品科学与工程类“十二五”规划实验教材

FOOD MICROBIOLOGY EXPERIMENTS



食品微生物学实验

梁志宏◎主编

中国林业出版社

普通高等教育食品科学与工程类“十二五”规划实验教材

食品微生物学实验

梁志宏 主编

中国林业出版社

内 容 简 介

本书是以微生物学、食品微生物学及病原微生物学为理论依据，以微生物学基础、应用食品微生物学和食品安全微生物检验等实验技能为基本框架编写而成。主要介绍微生物学相关的实验原理、基本步骤及注意事项。

全书共设计43个实验，分为3篇。单独的经典微生物实验可分可合，综合实验是对基础实验的综合运用，具有一定的挑战性。本书主要目的是在扎实掌握基础实验的同时，学会对实验内容的融会贯通；注意事项和思考题的编撰主要针对重要实验环节，对其进行强调和复习；书后附有详细的附录和参考书，供读者查阅和参考。

本书可作为高等院校的食品科学与工程、食品质量与安全等专业的微生物学实验课程教材，也可以作为一些相关微生物学实验研究的参考教材，同时可供相关研究机构或企业的专业技术人员参考阅读。

图书在版编目（CIP）数据

食品微生物学实验/梁志宏主编. —北京：中国林业出版社，2013. 12

普通高等教育食品科学与工程类“十二五”规划实验教材

ISBN 978-7-5038-7289-1

I. ①食… II. ①梁… 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（2013）第 292748 号

中国林业出版社·教材出版中心

策划、责任编辑：高红岩

电话：83221489

传真：83220109

出版发行 中国林业出版社(100009 北京市西城区德内大街刘海胡同 7 号)

E-mail:jiaocaipublic@163.com 电话:(010)83224477

<http://lycb.forestry.gov.cn>

经 销 新华书店

印 刷 中国农业出版社印刷厂

版 次 2013 年 12 月第 1 版

印 次 2013 年 12 月第 1 次印刷

开 本 787mm×1092mm 1/16

印 张 12.75

字 数 280 千字

定 价 24.00 元

未经许可，不得以任何方式复制或抄袭本书之部分或全部内容。

版权所有 侵权必究

普通高等教育食品科学与工程类“十二五”规划实验教材
编写指导委员会

主任 罗云波（中国农业大学食品科学与营养工程学院，教授）

委员（按拼音排序）

陈宗道（西南大学食品科学学院，教授）

程建军（东北农业大学食品学院，教授）

迟玉杰（东北农业大学食品学院，教授）

江连洲（东北农业大学食品学院，教授）

李洪军（西南大学食品科学学院，教授）

李里特（中国农业大学食品科学与营养工程学院，教授）

廖小军（中国农业大学食品科学与营养工程学院，教授）

任发政（中国农业大学食品科学与营养工程学院，教授）

赵国华（西南大学食品科学学院，教授）

赵新淮（东北农业大学食品学院，教授）

《食品微生物学实验》编写人员

主编 梁志宏

副主编 李铁晶 索化夷 郑 艳

编 者 (按拼音排序)

杜 鹏 (东北农业大学)

谷新晰 (河北农业大学)

霍乃蕊 (山西农业大学)

梁志宏 (中国农业大学)

李丽杰 (内蒙古农业大学)

李铁晶 (东北农业大学)

刘素纯 (湖南农业大学)

索化夷 (西南大学)

张华江 (东北农业大学)

郑海涛 (中国农业大学)

郑 艳 (沈阳农业大学)

前　言

当你关注食品安全，倾心食品科学或者已经进入相关领域深造的时候，时常会涉猎微生物学的相关知识，是否有时对其中的某些概念、原理不甚理解？实验的主要功能就是证实或证伪，好的实验不仅能够使你更好的理解课程知识，也会启迪你未来的科研探索之路。理论上的知识点需要用实验夯实，这就是实验性学科的基本特点，也是目前高等教学教育、研究教育以及大众食品安全普及教育的基础。

《食品微生物学实验》的宗旨是紧扣食品微生物教学的基本特点，结合目前的食品微生物领域的研究进展，突出实践性、应用性。

本书分为3篇，包括食品微生物学基本实验技术（包括微生物显微观察技术、微生物染色技术、微生物的分离纯化与接种技术、微生物的生理生化反应、综合实验）、食品安全的微生物检验技术（包括食品微生物常规检测、食品中致病菌检测、动物性食品中微生物检测、毒素/诱变剂检测）和食品微生物应用技术。本书中所列实验主要是对微生物学的基本概念和原理的证实性实验。本书编者多年从事食品微生物科研、教学工作，书中的实验细节和注意事项是十多年教育工作的总结，具有很好的指导价值。

本书的特点是每个实验都设计为独立完整的小实验，也可以几个相关实验整合起来作为一个综合性实验，可分可合、具有灵活性，未尽相关内容作为参考资料附在实验后面，利于主体实验内容的理解和延伸。例如，实验1、实验2在实际操作中可以合并完成，实验3、实验5可以合并，实验4、实验10也可以合并，等等，参考者可以依据院校的实际情况进行合并取舍。综合实验是为了适应目前本科生的科研实践训练项目，综合实验课程的知识点，结合目前的研究或应用热点而制订，目的是培养学生的分析问题、解决问题的实践能力，适合高等教育领域的学生完成一些探索性实验。

本书编写分工如下：张华江老师负责编写实验1、2、3、4、25；谷新晰老师负责编写实验5、6、7、8、9、10；李丽杰老师负责编写实验11、21、22、24、41和附录F（常用玻璃器皿的清洗和包扎）；郑海涛老师负责编写实验12、33、35和附录E（微生物实验常用设备介绍）；李铁晶老师负责编写实验12、16、20、31、42；郑艳老师负责编写实验13、14、20、23；杜鹏老师负责编写实验15、32、39；霍乃蕊老师负责编写实验17、18、19、38、43；索化夷老师负责编写实验26、27、28、29、30；刘素纯老师负责编写实验34、36、40；梁志宏老师负责编写实验13、14、19、25、33、35、37、43和“微生物学实验操作守则”。梁志宏老师、李丽杰老师、石丽敏硕士、师磊硕士共同完成附录A（常用培养基）、附录B（常用试剂染液）、附录C（常用表格）、附录D（文中菌株名称的中文/拉丁文对照）的整理工作，本书的统稿工作由梁志宏老师完成。

本书的编写得到了各参与院校和单位的支持与关爱，中国林业出版社的领导和编辑

做了大量辛勤和细致的工作，在此致以衷心的感谢！编写过程中，我们参考了国内外相关文献资料，再次向前辈和同行致敬，也向参与查阅资料的石丽敏硕士和师磊硕士表示感谢！

由于编者水平有限，书中疏漏在所难免，真诚希望专家、同行及广大读者批评指正。

梁志宏

2013年8月

目 录

前 言

微生物学实验操作守则

第1篇 食品微生物学基本实验技术 (3)

微生物显微观察技术

- | | |
|-----------------------------------|------|
| 实验 1 普通光学显微镜的构造与使用 | (7) |
| 实验 2 四大类微生物标本的显微观察 | (12) |
| 实验 3 微生物个体大小的测量方法——显微测微尺的使用 | (14) |
| 实验 4 微生物数量的测量方法——血球计数板计数法 | (17) |

微生物染色技术

- | | |
|----------------------|------|
| 实验 5 细菌的简单染色 | (23) |
| 实验 6 细菌的革兰染色 | (26) |
| 实验 7 细菌的芽孢染色 | (28) |
| 实验 8 细菌的荚膜染色 | (30) |
| 实验 9 细菌的鞭毛染色 | (33) |
| 实验 10 酵母菌的活菌染色 | (36) |

微生物的分离纯化与保藏技术

- | | |
|--------------------------------|------|
| 实验 11 培养基的制备与灭菌 | (41) |
| 实验 12 实验室环境的微生物检测 | (46) |
| 实验 13 细菌和酵母菌的接种技术及形态特征观察 | (48) |
| 实验 14 霉菌和放线菌的接种技术及形态特征观察 | (51) |
| 实验 15 菌种保藏技术 | (53) |

微生物的生理生化反应实验

- | | |
|----------------------------|------|
| 实验 16 细菌生长曲线的测定 | (59) |
| 实验 17 温度对微生物生长的影响 | (62) |
| 实验 18 pH 值对微生物生长的影响 | (64) |
| 实验 19 微生物鉴定用典型生理生化实验 | (66) |

综合实验

- 实验 20 细菌的分离、纯化技术——目标菌以芽孢杆菌为例 (73)

第2篇 食品安全的微生物学检验技术 (79)**食品微生物常规检测**

- 实验 21 空气中微生物数量的测定 (83)
 实验 22 食品中细菌菌落总数的测定 (86)
 实验 23 食品中大肠菌群的测定 (89)
 实验 24 罐头食品商业无菌检验 (91)
 实验 25 食品中酵母菌和霉菌的检验 (95)

食品中致病菌检测

- 实验 26 食品中金黄色葡萄球菌的检测 (103)
 实验 27 食品中沙门菌属的检验 (106)
 实验 28 食品中蜡样芽孢杆菌的检验 (111)
 实验 29 食品中副溶血性弧菌的检验 (114)
 实验 30 食品中单核细胞增生李斯特菌的检测 (117)

动物性食品中微生物检测

- 实验 31 鲜牛乳自然发酵过程中微生物菌相变化测定 (123)
 实验 32 奶粉中阪崎克罗诺杆菌的检测 (125)
 实验 33 冷鲜肉中假单胞菌属的检测 (128)
 实验 34 肉及肉制品中热杀索丝菌的检测 (131)

毒素/诱变剂检测

- 实验 35 肉毒梭状芽孢杆菌及肉毒毒素的检验 (135)
 实验 36 花生中黄曲霉毒素 B1 的检测 (138)
 实验 37 粮食(稻米)中赭曲霉毒素 A 的检测 (141)
 实验 38 Ames 法对诱变剂的检测 (144)

第3篇 食品微生物应用技术 (151)

- 实验 39 乳酸菌的分离、发酵剂的制作及检验 (153)
 实验 40 酱油种曲中米曲霉孢子数及发芽率的测定 (159)

实验 41 啤酒酵母的扩大培养及固定化发酵技术	(162)
实验 42 甜酒酿的制作	(166)
实验 43 黄芪多糖的抑菌实验	(168)
附录 A 培养基	(170)
附录 B 试剂	(182)
附录 C MPN 检验结果检索表	(184)
附录 D 书中出现的菌种中文名称/拉丁文学名对照表	(187)
附录 E 微生物实验常用设备介绍	(188)
附录 F 常用玻璃器皿的清洗和包扎	(190)
参考文献	(192)

微生物学实验操作守则

- (1) 不允许携带饮料、食品进入实验室，不仅仅是工作区。
- (2) 实验前后要洗手，头发束结以免影响实验并保证人身安全。
- (3) 无论何时都要严格执行无菌操作技术。实验前后都要按照指导教师的要求对操作区进行消毒。
- (4) 实验前要预习实验目的和原理，实际动手操作之前，更要在头脑里预演每一个实验步骤。
- (5) 实验操作过程中手和仪器要远离脸部；为了防止随机感染，也不要触摸头发、脸、眼睛等部位。
- (6) 实验中请勿擅自离开座位和操作区，除了实验手册、实验报告和笔，其他用具一律不准带入工作区。
- (7) 实验材料定点放置。实验中含有培养物的试管，实验后含培养物的培养皿、接种工具等都要按照指导教师的要求定点放置，消杀处理。
- (8) “洁净”是微生物实验室的原则。实验结束后在实验室管理人员的指导下，安排实验人员进行清洁和整理工作。
- (9) 所有实验相关器皿、材料均不可携带离开实验室。

特别注意事项：①一些微生物在某些状态下可能是潜在的病源。②要注意实验用火焰、玻璃仪器和化学药品的可能危害性。③实验室发生的任何安全相关的事情都要向指导老师汇报。

第 1 篇

食品微生物学基本实验技术

食品微生物学是微生物学在食品领域的分支，其建立在普通微生物学的实验基础之上，是普通微生物基本实验技能在食品科学领域的具体应用，因此食品微生物学的基本实验技术囊括了普通微生物学的六大基本技术——显微观察技术、染色技术、分离纯化技术、接种技术、生理生化实验、菌种保存技术。

本书第 1 篇就是依据该体系，设立了微生物显微观察技术(包含 4 个实验)、微生物染色技术(包含 6 个实验)、微生物的分离纯化与保藏技术(包含 5 个实验)、微生物的生理生化反应实验(包含 4 个实验)和 1 个综合实验，该篇合计有 20 个独立的实验。

微生物显微观察技术

微生物是一类个体微小、结构简单的生物类型，必须借助工具才能够观察到其个体形态，这个工具就是显微镜。微生物显微观察技术就是利用不同类型的显微镜，获得目标微生物的清晰影像及图像资料。

微生物显微观察技术的发展取决于显微镜功能的提升和目标微生物处理水平的提高(见微生物染色技术)。显微镜波束来源有光波和电磁波，显微镜波束为光波的叫作光学显微镜，波束为电磁波的统称电子显微镜。

光波只能对大于其波长的物体造象，目前的光学显微镜放大和分辨率已经越来越接近其极限，最高可将观察目标放大2 000倍。电磁波的波长是光波波长的十万分之一，电子显微镜可以分辨 $1/10\text{nm}$ ，不仅可以看到亚细胞结构，还能观察分子的形态。

本部分重点介绍光学显微镜在微生物显微观察技术中的应用，针对不同种类的微生物，灵活选择不同的放大倍数，获得满意的观察和测量效果。

实验1 普通光学显微镜的构造与使用

一、实验目的

1. 了解普通光学显微镜的构造、各部分的功能和使用方法。
2. 学习并掌握油镜的原理和使用方法。

二、实验原理

1. 普通光学显微镜的构造

显微镜的构造可分为机械装置和光学系统两大部分(图 1-1)。

机械装置包括镜座、镜筒、镜臂、物镜转换器、载物台、推进器、粗调螺旋、微调螺旋、光圈等部件。

光学系统由接目镜、接物镜、聚光器、反光镜等组成。普通显微镜装有低倍镜($10\times$)、高倍镜($40\times$)和油镜($100\times$)3种物镜，使用低倍镜和高倍镜时，物镜与标本间的介质是空气，称为干燥系物镜；而使用油镜时，物镜与标本间的介质是香柏油，称

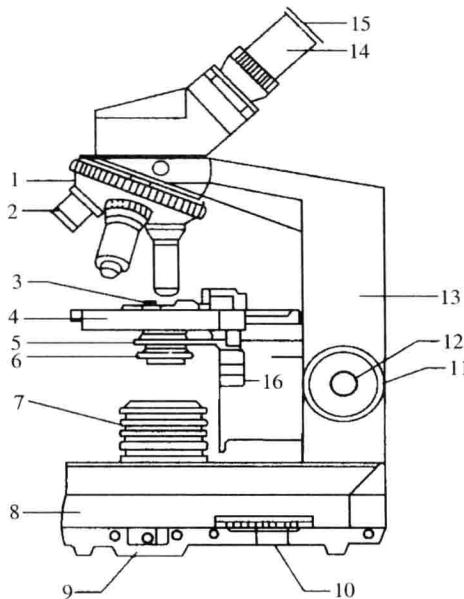


图 1-1 光学显微镜构造示意图

1. 物镜转换器
2. 物镜
3. 游标卡尺
4. 载物台
5. 聚光器
6. 虹彩光圈
7. 光源
8. 镜座
9. 电源开关
10. 光源滑动变阻器
11. 粗调螺旋
12. 微调螺旋
13. 镜臂
14. 镜筒
15. 目镜
16. 标本移动螺旋