

高等职业教育项目课程教材



GAODENG ZHIYE JIAOYU JIAOCAI

• 高等职业教育教材 •

Detection technology for food microorganism

食品微生物检测技术

唐劲松 徐安书 主编



中国轻工业出版社

高等职业教育项目课程教材

食品微生物检测技术

唐劲松 徐安书 主 编



中国轻工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

食品微生物检测技术/唐劲松, 徐安书主编. —北京: 中国轻工业出版社, 2012. 7

高等职业教育项目课程教材

ISBN 978 - 7 - 5019 - 8743 - 6

I. ①食… II. ①唐…②徐… III. ①食品微生物 - 食品检验 - 高等职业教育 - 教材 IV. ①TS207. 4

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2012) 第 058634 号

责任编辑: 张 靓 责任终审: 滕炎福 封面设计: 锋尚设计
版式设计: 王超男 责任校对: 晋 洁 责任监印: 张 可

出版发行: 中国轻工业出版社 (北京东长安街 6 号, 邮编: 100740)

印 刷: 航远印刷有限公司

经 销: 各地新华书店

版 次: 2012 年 7 月第 1 版第 1 次印刷

开 本: 720 × 1000 1/16 印张: 12. 25

字 数: 272 千字

书 号: ISBN 978 - 7 - 5019 - 8743 - 6 定价: 27. 00 元

邮购电话: 010 - 65241695 传真: 65128352

发行电话: 010 - 85119835 85119793 传真: 85113293

网 址: <http://www.chlip.com.cn>

Email: club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请直接与我社邮购联系调换

111234J2X101ZBW

本书编写人员

主 编：唐劲松（江苏畜牧兽医职业技术学院）

徐安书（重庆工贸职业技术学院）

副主编：张璟晶（江苏畜牧兽医职业技术学院）

徐启红（漯河职业技术学院）

参 编：张媛媛（广州轻工职业技术学院）

魏宗烽（信阳农业高等专科学校）

杨 灵（河南省轻工业学校）

殷尔康（江苏畜牧兽医职业技术学院）

刘 炜（涪陵娃哈哈饮料有限公司）

乔勇升（江苏省泰州市产品质量监督检验所）

食品微生物检测技术是食品类专业的一门专业核心技术课，掌握食品微生物检测技术是食品从业人员和食品卫生监督工作者的神圣职责，是贯彻执行《中华人民共和国食品安全法》，提高食品质量必不可少的技术保证，是保证食品安全卫生的重要手段。《食品微生物检测技术》旨在从传统的繁杂松散的理论体系中摸索出适合高职食品类专业教学的新模式，提高学生检测的职业能力。

本教材以培养学生的技能、知识和素质为目标，依据国家标准，对食品微生物检测工作任务进行分析，确立了 21 个工作任务。每一个任务具有代表性，从单一学习型工作任务到综合型工作任务，培养单一操作技能到综合型技能，循序渐进。本书在编写中，时刻牢记温家宝总理在全国职业教育工作会议上关于“深化教学改革，注重学以致用”的指示，理论知识以工作任务为核心进行取舍，对任务相关知识重新调整和整合，充分体现了必需和够用的原则。编写模式打破传统学科体系，使相关理论知识融于各个项目中，使学生在实践过程中构建和完善自己的知识体系，以利于学生综合技能培养。

本教材将 21 个工作任务优化组合，形成 6 个教学模块，包括微生物的常规分类与鉴定技术、食品微生物的纯培养技术、食品安全细菌学检测技术、发酵食品中微生物检测技术、食品中致病菌检验技术，以及微生物的快速检测技术。整个模块由学习型的单项技能向综合技能递进，在递进式的循环练习中增强学生的职业能力。同时每个项目前都有明确的工作任务目标，任务实施中通过问题探究让学生掌握与项目实践中最紧密的理论知识，知识拓展则对项目训练中相关知识进行梳理，加深学生对项目的理解，每模块后都安排了启发学生思考和讨论的第二课堂活动设计，这对于提高学生主动认真学习和掌握教学内容起到很好的促进作用。

本教材项目的选择征求了行业企业专家的意见，是一本校企合作开发课程。教材中选用的项目适用性、典型性、可操作性、应用性很强，适合所用食品类的高职院校使用，并且满足食品类企业技术工作者的需求。

参加本教材编写的老师有重庆工贸职业技术学院的徐安书，漯河职业技术学院徐启红，广州轻工职业技术学院张媛媛，信阳农业高等专科学校魏宗烽，河南

省轻工学校杨灵，江苏畜牧兽医职业技术学院唐劲松、张璟晶、殷尔康，涪陵娃哈哈饮料有限公司刘炜，江苏省泰州市产品质量监督检验所高级工程师乔勇升，在此，对各位老师的辛勤付出表示衷心的感谢。

由于编者水平有限，时间仓促，本书中难免出现不妥之处，恳请广大读者批评指正。

编 者

2012 年 3 月

1 模块一 微生物的常规分类与鉴定技术 [学习型工作任务]

1 教学目标

1 项目1 普通光学显微镜操作技术

- 1 项目导入
- 2 材料与仪器
- 2 实践操作
- 4 问题探究
- 6 知识拓展
- 9 小知识
- 9 课后思考

9 项目2 染色与细菌细胞形态观察

- 9 项目导入
- 10 材料与仪器
- 10 实践操作
- 14 问题探究
- 15 知识拓展
- 19 实训项目拓展
- 21 课后思考

22 项目3 放线菌、酵母菌、霉菌细胞形态观察

- 22 项目导入
- 23 材料与仪器
- 23 实践操作
- 25 问题探究
- 25 知识拓展
- 29 实训项目拓展
- 31 课后思考

31 项目4 常见微生物培养特征观察

- 31 项目导入
- 31 材料与仪器

32	实践操作
33	问题探究
35	知识拓展
37	课后思考
38	项目5 常见微生物生理生化鉴定
38	项目导入
38	材料与仪器
38	实践操作
39	问题探究
40	知识拓展
42	实训项目拓展
46	课后思考
47	第二课堂活动设计
47	知识归纳整理
48	模块二 食品微生物纯培养技术 [学习型工作任务]
48	教学目标
48	项目6 培养基配制技术
48	项目导入
49	材料与仪器
49	实践操作
50	问题探究
52	知识拓展
57	实训项目拓展
58	小知识
58	课后思考
59	项目7 灭菌技术和消毒技术
59	项目导入
59	材料与仪器
59	实践操作
61	问题探究
65	知识拓展
70	实训项目拓展
72	小知识
73	课后思考

73	项目8 微生物的分离纯化技术
73	项目导入
74	材料与仪器
74	实践操作
78	问题探究
80	知识拓展
82	课后思考
82	项目9 微生物的菌种保藏技术
82	项目导入
82	材料与仪器
83	实践操作
85	问题探究
86	知识拓展
87	实训项目拓展
88	课后思考
88	第二课堂活动设计
89	知识归纳整理
90	模块三 食品安全细菌学的检验 [综合型工作任务]
90	教学目标
90	项目10 食品样品的采集及处理
90	项目导入
91	材料与仪器
91	实践操作
92	问题探究
94	知识拓展
95	实训项目拓展
96	小知识
97	课后思考
98	项目11 食品中菌落总数的测定 (GB 4789.2—2010)
98	项目导入
98	材料与仪器
98	实践操作
101	问题探究
102	知识拓展

103	课后思考
103	项目 12 食品中大肠菌群的检测 (GB 4789. 3—2010)
103	项目导入
104	材料与仪器
104	实践操作
105	问题探究
107	知识拓展
107	实训项目拓展
110	课后思考
110	第二课堂活动设计
111	知识归纳整理
112	模块四 发酵食品微生物检测技术 [综合型工作任务]
112	教学目标
112	项目 13 食品中霉菌的计数
112	项目导入
113	材料与仪器
113	实践操作
114	问题探究
115	知识拓展
116	实训项目拓展
116	课后思考
116	项目 14 食品中酵母的直接计数——血球计数板法
116	项目导入
117	材料与仪器
117	实践操作
119	问题探究
119	知识拓展
122	课后思考
122	项目 15 乳酸菌的检验 (GB 4789. 35—2010)
122	项目导入
122	材料与仪器
122	实践操作
125	问题探究
127	知识拓展

130	小 知 识
131	课 后 思 考
131	第二课堂活动设计
131	知识归纳整理
132	模块五 食品中常见致病菌的检测技术 [综合型工作任务]
132	教学目标
132	项目 16 食品中沙门氏菌的检测 (GB 4789. 4—2010)
132	项目导入
133	材料与仪器
133	实践操作
137	问题探究
138	知识拓展
139	课后思考
139	项目 17 食品中金黄色葡萄球菌的检测 (GB 4789. 10—2010)
139	项目导入
140	材料与仪器
140	实践操作
141	问题探究
142	知识拓展
142	实训项目拓展
145	课后思考
145	项目 18 食品中志贺氏菌的检测 (GB 4789. 5—2012)
145	项目导入
146	材料与仪器
146	实践操作
149	问题探究
150	知识拓展
154	课后思考
154	第二课堂活动设计
154	知识归纳整理
155	模块六 其他微生物学的快速检测技术 [综合型工作任务]
155	教学目标

155	项目 19 食品中抗生素残留的检测 (TTC 法检测牛乳中抗生素残留)
155	项目导入
155	材料与仪器
155	实践操作
157	问题探究
157	知识拓展
158	课后思考
158	项目 20 食源性病原微生物生物学快速检测技术 (PCR 法测定食品中沙门氏菌)
158	项目导入
159	材料与仪器
159	实践操作
160	问题探究
161	知识拓展
162	课后思考
162	项目 21 食源性病原微生物免疫学快速检测技术 (酶联免疫分析法测定黄曲霉毒素)
162	项目导入
163	材料与仪器
163	实践操作
164	问题探究
164	知识拓展
168	课后思考
168	第二课堂活动设计
168	知识归纳整理
169	附录一 常见培养基配制
180	附录二 染色液的配制
182	附录三 试剂和溶液的配制
184	参考文献

模块一

微生物的常规分类与鉴定技术

[学习型工作任务]

教学目标

- 知道常见微生物的细胞形态与菌落特征。
- 理解细菌细胞的结构、化学组成和生理功能。
- 会正确使用普通光学显微镜。
- 能熟练进行细菌的染色，得到正确的染色结果。
- 能基本说出微生物生理生化鉴定的操作流程和技术要点。

项目 1

普通光学显微镜操作技术

项目导入

微生物是指一类体形微小、构造简单的单细胞、多细胞，甚至没有细胞结构的低等生物。它包括许多微小生物类群，如原核生物的细菌、放线菌、螺旋体、立克次氏体、衣原体、支原体，还包括不具细胞结构的病毒和属于真核生物的真菌、少数藻类及原生动物等。这些微生物个体测量的级别只是在微米或纳米(μm 或 nm)，都远远低于肉眼的观察极限。举一例子：细菌中大肠杆菌的平均长度约 $2\mu\text{m}$ ，宽度约 $0.5\mu\text{m}$ ，若把 1500 个细胞首尾相连，其长度仅等于一粒米粒的长度 (3mm)；如果把 120 个细胞肩并肩排列在一起，其总宽度才抵得上一根人头发的粗细 ($60\mu\text{m}$)，可见微生物之小。也正因为微生物的这个特点，才决定了显微技术是进行微生物研究的重要技术，我们必须借助显微镜的放大系统才能看得清它们个体的大小、形态甚至内部结构。

随着现代科技的进步，显微镜也有了不断的发展和改进。根据作用和适用范围的不同，现代显微镜分为很多种类，有普通光学显微镜、暗视野显微镜、相差

显微镜、荧光显微镜、电子显微镜等。一般在微生物的形态以及排列观察中，以普通的光学显微镜最常用。那么如何通过普通光学显微镜来观察到微生物？如何进行显微镜的保养和维护？这就是本项目学习的主要内容。

材料与仪器

普通光学显微镜、细菌标本片、香柏油、二甲苯、擦镜纸、吸水纸等。

实践操作

现代普通光学显微镜利用目镜和物镜两组透镜系统来放大成像（见图 1-1 和图 1-2）。

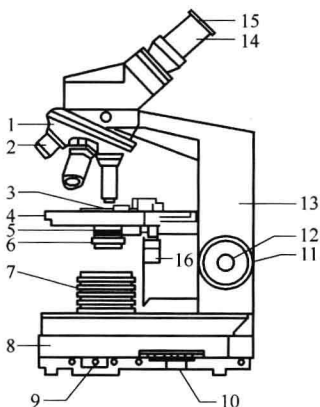


图 1-1 普通光学显微镜构造模式图

- 1—物镜转换器 2—接物镜 3—弹簧夹 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



图 1-2 普通光学显微镜

一、操作步骤

1. 观察前的准备

(1) 显微镜的安置 取、放显微镜时应一手握住镜臂，一手托住镜座，使显微镜保持直立、平稳。放置于适宜的桌面上。

(2) 光源调节 打开电源开关，通过调节光源滑动变阻器，使镜座内的光源灯释放出适当的照明强度。

2. 显微观察

在目镜保持不变的情况下，对于初学者应遵守从低倍镜到高倍镜再到油镜的观察过程。

(1) 低倍镜观察 将标本玻片置于载物台上,用弹簧夹夹住,调节标本移动螺旋使观察对象处于物镜的正下方。首先将载物台升至最高,使其接近标本,用粗调螺旋慢慢下降载物台,使标本在视野中初步聚焦,再使用微调螺旋使图像清晰。通过标本移动螺旋慢慢移动玻片,认真观察标本各部位,找到合适的目的物。

(2) 高倍镜观察 在低倍镜下找到合适的观察目标并将其移至视野中心后,转动物镜转换器将高倍镜移至工作位置。对聚光器光圈及视野亮度进行适当调节后,使用微调螺旋使物像清晰,利用标本移动螺旋移动标本仔细观察。

(3) 油镜观察 在高倍镜下找到要观察的样品区域后,用粗调螺旋将镜筒升高,然后将油镜转到工作位置。在观察的样品区域滴加香柏油,从侧面注视,用粗调螺旋将载物台上升,使油镜浸在镜油中几乎与标本相接,将聚光器升至最高并开足光圈,用微调螺旋将载物台缓慢下降直至视野中物像清晰为止。

3. 显微镜使用后的处理

(1) 下降载物台(或上升镜筒),取下载玻片,放入标本回收瓷盘中。

(2) 用擦镜纸拭去镜头上的镜油,然后用擦镜纸蘸少许二甲苯擦去镜头上残留的油迹,最后再用干净的擦镜纸擦去残留的二甲苯。

(3) 用擦镜纸清洁其他物镜及目镜,用绸布清洁显微镜的金属部件。

(4) 将各部分还原,物镜转成“八”字形,再向下旋。同时把聚光器下降。将显微镜放回显微镜箱中。

二、注意事项

(1) 移动显微镜时切忌用单手拎提显微镜,防止目镜脱落。显微镜应平稳地放置于实验台上,镜检中不得随意移动。

(2) 在观察标本时,镜检者应姿势端正,两眼应同时睁开。无论使用单筒显微镜或双筒显微镜都要双眼同时睁开观察,以减少眼睛疲劳,也便于边观察边绘图或记录。

(3) 镜检时要细心调焦。一般先采用低倍镜,因为低倍镜视野较大,易发现目标和确定观察的位置,再换高倍镜或油镜观察。

(4) 在用油镜观察,上升载物台时应注意不要压碎标本片,防止损坏油镜。

(5) 油镜观察后,用二甲苯擦拭油镜,最后用干净的擦镜纸将多余的二甲苯擦去,因为过多的二甲苯残留于镜头会有腐蚀作用。

(6) 保持载物台的清洁,无油。除油镜外其他物镜不得接触香柏油。

(7) 注意镜头的保养,保持所有物镜的清洁,只能用擦镜纸擦拭镜头,不得用手接触透镜。

(8) 实验结束后,取下标本片,将镜头、载物台等各部位擦拭干净并复原,然后盖上防尘罩,认真填写使用记录后,放入箱内。

问题探究

一、普通光学显微镜的构造

现代普通光学显微镜由机械装置和光学系统两部分组成。

1. 机械部分

机械部分包括镜座、镜臂、载物台、镜筒、物镜转换器、粗调螺旋和微调螺旋、标本移动螺旋、聚光器升降螺旋等部件。

(1) 镜座 显微镜的基座，用以支撑整个显微镜。

(2) 镜臂 移动显微镜的把手，上连镜筒、下连镜座，用以支撑镜筒。

(3) 物镜转换器 由两个金属圆盘叠合而成，上有3~4个螺旋口，用以安装各种放大倍数的物镜。根据需要用转换器使某一物镜和镜筒接通，与镜筒上的目镜配合，构成一个放大系统。转换物镜时，用手指捏住转换器下的金属盘，使之旋转，不得用手捏物镜转动，防止镜头脱落造成损坏。

(4) 载物台 位于镜筒下方，呈方形或圆形，中间有一较大圆孔，用于透光。台上装有标本移动螺旋，用以固定和移动标本片的观察位置。有的显微镜载物台可上下移动，是由粗调螺旋和微调螺旋调节。

(5) 粗调螺旋和微调螺旋 位于镜筒的两旁，粗调螺旋在内侧，微调螺旋在外侧，用以调节载物台的升降，以改变物镜与观察物之间的距离。要使镜筒大幅度升降时用粗调螺旋。微调螺旋只能使镜筒做细微升降(100 μm)，当旋转到极限时，不能再用力旋转，应调节粗调螺旋，然后再反方向调节微调螺旋。

(6) 聚光器升降螺旋 装在载物台下面，可使聚光器升降，用于调节反光镜反射出来的光线。

2. 光学部分

光学部分包括目镜、物镜、反光镜、聚光器、虹彩光圈，有的配备特殊的光源部件。

(1) 光源 现显微镜大都用电光源，老式的显微镜用反光镜采集光线。

(2) 聚光器 位于光源上方，由一组透镜组成，其作用是将反光镜反射来的光线聚为强光束于载玻片标本上。聚光器可根据光线的需要，上下调整。一般用低倍镜时降低聚光器，用油镜时聚光器应升至最高处。

(3) 虹彩光圈 位于聚光器下方，推动光圈把手，可开大或缩小光圈，用以调节射入聚光器光线的多少。

(4) 接物镜 简称物镜，安装在转换器的螺口上，其主要参数见图1-3。一台显微镜有3~4个接物镜，分为低倍镜(4倍、10倍等)、高倍镜(40倍等)和油镜(90倍、100倍等)。使用时通过镜头侧面刻有的放大倍数来辨认。接物镜不仅可以放大标本，而且具有辨析性能，它决定着显微镜的性能。放大倍数越

高的接物镜,工作距离越小,油镜的工作距离只有 0.19mm。

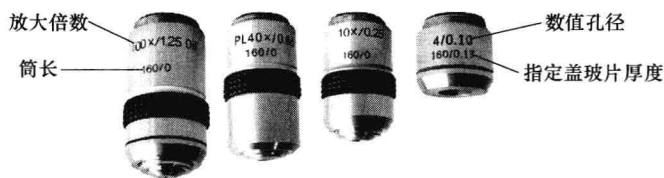


图 1-3 显微镜物镜的主要参数

(5) 接目镜 简称目镜,安装在镜筒上方,由两块透镜组成,它只能将物镜所造成的实像,进一步放大形成虚像映入眼内,不具有辨析性能。每台显微镜上带多种放大倍数的目镜(5倍、10倍等),可供选择使用。为便于指示物像,有的目镜中装有黑色细丝作为指针。

二、普通光学显微镜成像原理

光学显微镜是利用光学原理,把人眼所不能分辨的微小物体放大成像,以供人们提取微细结构信息的光学仪器。

表面为曲面的玻璃或其他透明材料制成的光学透镜可以使物体放大成像,光学显微镜就是利用这一原理把微小物体放大到人眼足以观察的尺寸。而现代光学显微镜就是采用物镜和目镜两组透镜放大而完成的。

如图 1-4 所示,物体(AB)经过光源发出的光线照射,在物镜的作用下形成倒立的实像(BA),这个倒立的实像(BA)经过目镜的再次放大,形成倒立的虚像(B'A'),所以普通的光学显微镜的放大倍数是目镜和物镜放大倍数的乘积。而且在观察时必须使光线通过载物台中间的圆孔,穿过物体,才能形成一个我们看到的倒立的虚像。

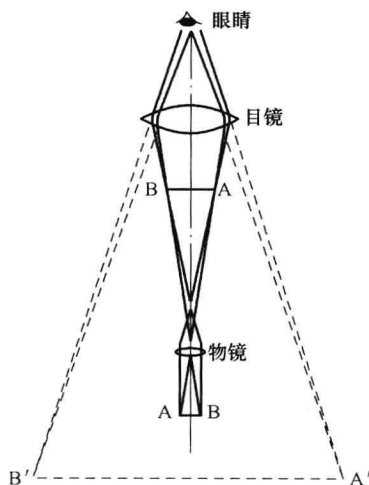


图 1-4 普通光学显微镜放大成像原理

三、油镜的使用原理

在普通光学显微镜通常配置的几种物镜中,油镜的放大倍数最大,对微生物学研究最为重要。与其他物镜相比,油镜的使用比较特殊,需在载玻片与镜头之间加滴香柏油。

油镜的放大倍数可达 100 倍,但焦距很短,镜口直径很小,但是所需要的光照强度却最大。从承载标本的玻璃片透过来的光线,因介质密度不同(光线需从玻片进入空气,再进入镜头),有些光线会因