

揭阳职业技术学院
生物工程系

授 课 教 案

2025 -- 2026 学年度第一学期

课程名称 食品微生物检验技术

班 级 食检 241/食检 (3+) 241

教 研 室 食品教研室

授课教师 谢桂勉

绪论

授课章节	绪论				
课时安排	2 学时	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
教学主要内容： <ol style="list-style-type: none">1 引入2 工作情景案例3 岗位要求4 学什么？5 怎样学？6 关于行动导向教学					
教学目标： <p>一、知识目标</p> <ol style="list-style-type: none">1. 熟悉微生物的定义、特性、危害和益处。2. 熟悉食品微生物检验岗位的素质要求。 <p>二、能力目标</p> <ol style="list-style-type: none">1. 能说出微生物的危害和检验指标。2. 能说出微生物检验岗位需要具备哪些技能。 <p>三、素质目标</p> <ol style="list-style-type: none">1. 了解我国先人酿酒的历史，树立文化自信。2. 了解微生物发展历程标志事件，弘扬科学家精神。3. 提高观察、分析问题和解决问题的能力。 <p>思政元素：国家战略意义和民族健康意识</p>					
教学重点： <p>食品微生物检验岗位的素质要求。</p>					
教学难点： <p>理解食品微生物检验岗位的素质要求。</p>					
教学方法及手段： <p>讲授、讨论、案例分析</p>					
教学过程设计：					

一、学情分析和新课导入（5 分钟）

学生已学习食品微生物学等课程，对食品微生物检验指标有所了解。由食品企业微生物检验岗位任务引入新课内容。

二、新课内容（80 分钟）

绪 论

1 引入

通过引入国家食品安全法律法规，如《中华人民共和国食品安全法》，让学生理解食品微生物检测工作的重要性和法律责任。分析国内外食品安全事件，让学生认识到食品微生物检测的重要性，理解每一次检测都是对民族健康的守护（思政元素）。

2 工作情景案例

假如你是广东同享食品有限公司的一名化验员，负责微生物检验工作。一日，主管要你抽检 8 月 28 日生产的一批九制尚品乌梅的菌落总数指标是否合格。你将怎样着手工作？

采用什么检验方法？（国标、地标、行标、企标？）

抽样方案如何？（二级、三级抽样？）

玻璃器皿、培养基怎样准备？

怎样进行样品制备？（均质、研磨、稀释？）

怎样进行接种？

怎样进行菌落计数？

怎样报告结果？

3 岗位要求

- 1) 无菌操作
- 2) 检验方法
- 3) 抽样方案
- 4) 器材准备
- 5) 样品稀释
- 6) 接种技术
- 7) 结果报告

4 学什么？

- 1) 一个理念：无菌操作
- 2) 两种技术：染色镜检技术；接种技术
- 3) 三个指标：菌落总数；大肠菌群；霉菌和酵母菌

5 怎样学？

- 1) 知识储备
- 2) 积极主动
- 3) 团队合作
- 4) 项目实施

6 关于行动导向教学

- 1) 即学即用
- 2) 学生主体
- 3) 教师主导
- 4) 能力提升

三、小结（5分钟）

总结食品微生物检验的岗位要求、检测指标、操作技能、结果分析的内容。

四、布置复习思考题（0分钟）

无

参考资料：

主要参考书：

- 1、 《食品微生物检验技术》 姚勇芳 主编 科学出版社
- 2、 《食品微生物检验技术》 罗红霞 主编 中国农业大学出版社
- 3、 《食品微生物检验技术》 李殿鑫 主编 华中科技大学出版社
- 4、 《食品微生物检验技术》 刘用成 主编 中国轻工业出版社
- 5、 《食品微生物检验技术》 魏明奎、段鸿斌主编 化学工业出版社
- 6、 《食品微生物学》 何国庆 主编 中国农业大学出版社
- 7、 《食品微生物学》 杨玉红 主编 中国轻工业出版社

学习情境一 常用玻璃器皿的准备

授课章节	学习情境一 常用玻璃器皿的准备				
课时安排	2 学时	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
<p>教学主要内容：</p> <ol style="list-style-type: none">1 基础知识<ol style="list-style-type: none">1.1 玻璃器皿的清洗1.2 玻璃器皿的包扎1.3 玻璃器皿的灭菌1.4 微生物实验室的生物安全及规章制度1.5 微生物实验常用器材2 任务描述3 任务要求4 任务实施5 评价反馈<ol style="list-style-type: none">5.1 学生评价5.2 考核5.3 反馈6 思考题					
<p>教学目标：</p> <p>一、知识目标</p> <ol style="list-style-type: none">1. 了解洗涤液的配制。2. 识别微生物检验常用的玻璃器皿并且熟悉其功能。 <p>二、能力目标</p> <ol style="list-style-type: none">1. 学会包扎玻璃器皿。2. 掌握干热灭菌的方法及条件。 <p>三、素质目标</p> <ol style="list-style-type: none">1. 培养食品微生物安全意识和无菌观念。2. 有意识地锻炼自己与人沟通、协作的能力。 <p>思政元素：科学诚信和严谨态度</p>					

教学重点：

玻璃器皿的清洗、包扎和干热灭菌。

教学难点：

玻璃器皿的规范包扎。

教学方法及手段：

讲授、讨论

教学过程设计：

一、学情分析和新课导入（5分钟）

学生已对食品微生物检验岗位的要求有所了解，由食品微生物检验的工作过程导入常用玻璃器皿的准备。通过情境模拟教学，让学生理解科学诚信和严谨态度在食品安全领域中的重要性（思政元素）。

二、新课内容（80分钟）

学习情境一 常用玻璃器皿的准备

1 基础知识

1.1 玻璃器皿的清洗

1) 新玻璃器皿

游离碱多；2%盐酸溶液浸泡 2~3h

2) 使用过的玻璃器皿

灭菌后再清洗

1.2 玻璃器皿的包扎

1) 培养皿包扎

教学视频、教师示范

2) 吸量管包扎

教学视频、教师示范

3) 三角瓶包扎

教学视频、教师示范

4) 试管包扎

教学视频、教师示范

1.3 玻璃器皿的灭菌

1) 干热灭菌

高温使细胞内的蛋白质凝固变性。

2) 基本操作步骤

装入待灭菌物品；升温、恒温—160~170°C，保持 2h；降温；开箱取物—降至 70°C。

1.4 微生物实验室的生物安全及规章制度

1.5 微生物实验常用器材

2 任务描述

3 任务要求

4 任务实施

5 评价反馈

5.1 学生评价

5.2 考核

5.3 反馈

6 思考题

- 1) 微生物检验常用的玻璃器皿有哪些？
- 2) 常用玻璃器皿的用途及使用注意事项有哪些？
- 3) 包扎玻璃器皿所用的材料有哪些？它们的作用是什么？
- 4) 干热灭菌的方法包括哪些？它们的条件是什么？
- 5) 玻璃器皿灭菌时有哪些注意事项？
- 6) 新购买的玻璃器皿的洗涤方法有哪些？
- 7) 使用过的试管、培养皿、三角烧瓶、烧杯、吸管、载玻片、盖玻片应如何洗涤？
- 8) 简述电烘箱的基本操作过程。
- 9) 电烘箱使用时的注意事项有什么？
- 10) 简述微生物实验室的生物安全及规章制度。

三、小结（4 分钟）

总结食品微生物检验玻璃器皿清洗、包扎、灭菌的基本要求和操作方法。

四、布置复习思考题

1、微生物检验常用的玻璃器皿如何包扎？

2、玻璃器皿灭菌时有哪些注意事项？

参考资料：

主要参考书：

- 1、《食品微生物检验技术》 姚勇芳 主编 科学出版社
- 2、《食品微生物检验技术》 罗红霞 主编 中国农业大学出版社
- 3、《食品微生物检验技术》 李殿鑫 主编 华中科技大学出版社
- 4、《食品微生物检验技术》 刘用成 主编 中国轻工业出版社
- 5、《食品微生物检验技术》 魏明奎、段鸿斌主编 化学工业出版社
- 6、《食品微生物学》 何国庆 主编 中国农业大学出版社
- 7、《食品微生物学》 杨玉红 主编 中国轻工业出版社

学习情境二 普通光学显微镜的使用和维护

授课章节	学习情境二 普通光学显微镜的使用和维护				
课时安排	2 学时	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
<p>教学主要内容：</p> <ol style="list-style-type: none">1 基础知识<ol style="list-style-type: none">1.1 光学显微镜的构造和使用1.2 显微镜的使用1.3 显微镜的种类1.4 显微观察样品的制备2 任务描述3 任务要求4 任务实施5 评价反馈<ol style="list-style-type: none">5.1 学生评价5.2 考核5.3 反馈6 思考题					
<p>教学目标：</p> <p>一、知识目标</p> <ol style="list-style-type: none">1. 熟悉普通光学显微镜的构造及性能。2. 了解其他显微镜的类型及应用。 <p>二、能力目标</p> <ol style="list-style-type: none">1. 学会正确使用及维护光学显微镜。2. 掌握微生物标本的观察和绘图方法。 <p>三、素质目标</p> <ol style="list-style-type: none">1. 弘扬科学家精神，培养严谨的科学实验态度。2. 掌握查阅资料、讨论等多种学习方法，不断提高自学能力。 <p>思政元素：科学家精神</p>					
<p>教学重点：</p>					

光学显微镜的使用和维护。

教学难点：

光学显微镜的规范使用。

教学方法及手段：

讲授、讨论

教学过程设计：

一、学情分析和新课导入（5分钟）

学习在《食品微生物学》学过光学显微镜的使用和维护基础知识，本学习情景二进一步培养学生显微镜使用和维护技能。通过列文虎克不懈努力改进显微镜引入新课内容，弘扬科学家精神（思政元素）。

二、新课内容（80分钟）

学习情境二 普通光学显微镜的使用和维护

1 基础知识

1.1 光学显微镜的构造和使用

1) 机械装置

镜座和镜臂、镜筒、转换器、载物台

2) 光学系统

物镜、目镜、聚光器、光源、滤光片

1.2 显微镜的使用

1) 观察前的准备

拿好扶稳；轻拿轻放；左右分工；调节光源(虹彩光圈最大，聚光镜最高)

2) 低倍镜观察

夹好标本；物镜下降到最低；往上粗调至出现影像；上下微调至清晰目标移至视野中心

3) 高倍镜观察

升高物镜；转入高倍镜；镜头几乎接触标本；往上粗调至出现影像上下微调至清晰目标移至视野中心

4) 油镜观察

升高物镜；转入油镜；滴加香柏油；镜头几乎接触标本往上粗调至出现影像

上下微调至清晰；用毕清洁、还原

1.3 显微镜的种类

- 1) 普通光学显微镜
- 2) 暗视野显微镜
- 3) 相差显微镜
- 4) 荧光显微镜
- 5) 电子显微镜

1.4 显微观察样品的制备

- 1) 活体观察
- 2) 染色观察

2 任务描述

3 任务要求

4 任务实施

5 评价反馈

5.1 学生评价

5.2 考核

5.3 反馈

6 思考题

- 1) 常用的显微镜有哪些？
- 2) 显微镜的机械装置包括哪些？作用分别是什么？
- 3) 显微镜的光学系统包括哪些？作用分别是什么？
- 4) 在使用高倍镜和油镜进行调焦时，应将镜筒徐徐上升还是下降？为什么？
- 5) 如何进行低倍镜观察？
- 6) 如何进行高倍镜观察？
- 7) 如何使用油镜观察？
- 8) 用油镜观察时，为什么要在载玻片上滴加香柏油？
- 9) 在明视野显微镜下，观察细菌形态时，你认为用染色标本好，还是用未染色的活标本好，为什么？
- 10) 显微镜闲置时如何处理？

- 11) 显微镜经常性维修包括哪些?
- 12) 显微镜使用注意事项有哪些?
- 13) 显微镜光学系统擦拭时应注意什么?
- 14) 如何擦拭显微镜机械部分?
- 15) 显微镜的样品制备方法有哪些?

三、小结 (4 分钟)

总结普通光学显微镜的基本构造、使用方法及注意事项、维护方法。

四、布置复习思考题 (1 分钟)

- 1、显微镜的机械装置和光学系统分别包括哪些?
- 2、如何使用光学显微镜观察标本?

参考资料:

主要参考书:

- 1、《食品微生物检验技术》 姚勇芳 主编 科学出版社
- 2、《食品微生物检验技术》 罗红霞 主编 中国农业大学出版社
- 3、《食品微生物检验技术》 李殿鑫 主编 华中科技大学出版社
- 4、《食品微生物检验技术》 刘用成 主编 中国轻工业出版社
- 5、《食品微生物检验技术》 魏明奎、段鸿斌主编 化学工业出版社
- 6、《食品微生物学》 何国庆 主编 中国农业大学出版社
- 7、《食品微生物学》 杨玉红 主编 中国轻工业出版社

学习情境三 普通微生物培养基的制备

授课章节	学习情境三 普通微生物培养基的制备				
课时安排	2 学时	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
教学主要内容： <ul style="list-style-type: none">1 基础知识<ul style="list-style-type: none">1.1 平板计数琼脂培养基的配制1.2 高压蒸汽灭菌锅的使用1.3 培养基的概述1.4 微生物的营养1.5 微生物的生长1.6 微生物的湿热灭菌1.7 微生物的代谢2 任务描述3 任务要求4 任务实施5 评价反馈<ul style="list-style-type: none">5.1 学生评价5.2 考核5.3 反馈6 思考题					
教学目的、要求： <p>一、知识目标</p> <ul style="list-style-type: none">1 知道微生物生长所需的营养物质及生理功能。2. 了解培养基的概念、类型、配制原则和方法。3. 知道微生物的生长繁殖规律。4. 熟悉湿热灭菌的常用方法。 <p>二、能力目标</p> <ul style="list-style-type: none">1. 能够配制常用的培养基。2. 学会使用高压灭菌锅进行培养基灭菌。					

三、素质目标

1. 培养严谨的科学实验态度。
2. 不断提高与人沟通、与人交往的能力，增强团结合作精神。

思政元素：环保意识和资源节约

教学重点：

培养基的制备和灭菌。

教学难点：

商品培养基的正确配置方法。

教学方法及手段：

讲授、讨论、基于工作过程导向教学

教学过程设计：

一、学情分析和新课导入（5分钟）

学生已对食品微生物检验岗位的要求有所了解，由食品微生物检验的工作过程导入普通微生物培养基的制备。

二、新课内容（80分钟）

学习情境三 普通微生物培养基的制备

1 基础知识

在讲授培养基的基础知识与配制技术时，强调节约药品、爱惜实验材料的习惯，培养学生的环保意识（思政元素）。

1.1 平板计数琼脂培养基的配制

1) 实验试剂、设备和材料

试剂：胰蛋白胨、酵母浸膏、葡萄糖、琼脂、1mol/L NaOH、1mol/L HCl、蒸馏水

2) 操作步骤

① 绵塞的制作

② 称取药品

③ 溶化

④ 调节 pH 值

⑤ 过滤

⑥分装

⑦加塞

⑧包扎、灭菌

⑨搁置斜面

⑩无菌检查

1.2 高压蒸汽灭菌锅的使用

1) 加水

往外层锅内加入适量的水，以水面与三脚架相平为宜。

2) 装料

待灭菌物品装入装料桶；不宜装得太挤；三角瓶和试管口不要与桶壁接触。

3) 加盖

将排气软管插入排气槽；摆正锅盖，对齐螺口,对称拧紧；打开排气阀。

4) 排气

接通电源，待水煮沸后,水蒸气和空气一起排出；冒大量白汽，并有嘘声即可。

5) 升压

关闭排气阀，压力开始上升。

6) 保压

达到所需压力后，控制热源，开始计时并维持压力至所需时间。

7) 降压

关闭热源，让压力自然下降，降至 0.05mPa 以下时，可打开排气阀，放净余汽后开锅取出物品。

8) 无菌检查

将已灭菌培养基于 37°C 培养 24h，若无杂菌生长，即可待用。

1.3 培养基的概述

1) 配制培养基的基本原则

①营养物质的选择

②注意营养物质的浓度及配比

③保证适宜的环境

④培养基中原料的选择

2) 培养基的类型

- ①根据营养成分划分：天然培养基、合成培养基、半合成培养基
- ②根据物理状态划分：固体培养基、液体培养基、半固体培养基
- ③根据用途划分：加富培养基、鉴别培养基、选择培养基

1.4 微生物的营养

1) 微生物的营养类型

光能自养、化能自养、光能异养、化能异养

2) 微生物对营养的吸收方式

单纯扩散、促进扩散、主动运输、基团转位

1.5 微生物的生长

1) 微生物生长与繁殖

生长；繁殖；群体生长

2) 微生物生长量的测定方法（数量）

- ①稀释平板菌落计数法
- ②血细胞计数板法
- ③液体稀释培养法
- ④比浊法

3) 微生物生长量的测定方法（生长量）

- ①称重法
- ②总氮量测定
- ③代谢活动法

4) 微生物生长规律

- ①适应（延滞）期
- ②对数（指数）生长期
- ③稳定（最高生长）期
- ④衰亡期

1.6 微生物的湿热灭菌

1) 煮沸消毒法

100℃煮沸 15min 以上；加入 1%碳酸钠或 2%~5%石炭酸更好。

2) 巴氏灭菌

63 °C处理 30min; 72 °C处理 15min; 适合牛乳、酱腌菜、果汁、啤酒、果酒、蜂蜜的消毒。

3) 间歇灭菌

100 °C、30min, 连续三天, 第一、二天消毒后置于室温培养 18~24h; 适合明胶培养基、牛乳培养基、含糖培养基。

4) 高压蒸汽灭菌

103kPa、121 °C保持 15~30min; 适合培养基、工作服、橡皮物品、玻璃器皿。

5) 超高温杀菌

135~150 °C, 3~5s; 适合于液体食品

1.7 微生物的代谢

1) 生物的能量代谢

生物氧化类型; 生物氧化链; ATP 的产生

2) 微生物的分解代谢

3) 微生物的合成代谢

4) 分解代谢与合成代谢的关系

5) 微生物的初级代谢和次级代谢

6) 食品工业微生物发酵代谢途径

2 任务描述

3 任务要求

4 任务实施

5 评价反馈

5.1 学生评价

5.2 考核

5.3 反馈

6 思考题

1) 微生物生长所需的基本营养有哪些?

2) 什么叫生长因子? 包括哪些?

3) 微生物的营养类型包括哪些?

- 4) 微生物吸收营养的方式有哪些？
- 5) 什么叫做微生物的生长曲线？
- 6) 微生物生长分哪几个时期？每个时期的特点是什么？
- 7) 微生物恒化连续培养法和恒浊连续培养法的不同点是什么？
- 8) 培养基的概念是什么？
- 9) 详细介绍培养基的类型包括哪些？
- 10) 配制培养基的原则有哪些？
- 11) 简述培养基的配制过程。
- 12) 制作棉塞最好选用什么样的棉花？
- 13) 调节培养基的 pH 值用什么试剂？浓度为多少？
- 14) 培养基分装的要求有哪些？
- 15) 斜面培养基的制作要求有哪些？
- 16) 如何验证你所配制的培养基是否合格？
- 17) 高压蒸汽灭菌锅的使用方法及注意事项有哪些？
- 18) 影响微生物生长的环境因素主要有哪些？
- 19) 微生物按生长温度划分为哪几类？
- 20) 什么叫微生物的水分活度？
- 21) 灭菌、消毒、商业灭菌、防腐、无菌的概念是什么？
- 22) 湿热灭菌包括哪几种？每一种灭菌的具体的条件及适用范围是什么？

三、小结（4 分钟）

总结培养基配制的准备、培养基配制步骤、培养基灭菌方法以及微生物营养、生长规律等知识。

四、布置复习思考题（1 分钟）

- 1、微生物生长所需的基本营养有哪些？
- 2、简述培养基的配制和灭菌过程。

参考资料：

主要参考书：

- 1、《食品微生物检验技术》 姚勇芳 主编 科学出版社
- 2、《食品微生物检验技术》 罗红霞 主编 中国农业大学出版社

- 3、《食品微生物检验技术》 李殿鑫 主编 华中科技大学出版社
- 4、《食品微生物检验技术》 刘用成 主编 中国轻工业出版社
- 5、《食品微生物检验技术》 魏明奎、段鸿斌主编 化学工业出版社
- 6、《食品微生物学》 何国庆 主编 中国农业大学出版社
- 7、《食品微生物学》 杨玉红 主编 中国轻工业出版社

学习情境四 细菌的革兰染色

授课章节	学习情境四 细菌的革兰染色				
课时安排	3 学时	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
教学主要内容： 1 基础知识 1.1 细菌的简单染色 1.2 细菌的革兰染色 1.3 细菌概述 1.4 影响微生物生长的理化因素 1.5 细菌芽孢染色法 1.6 细菌鞭毛染色法及运动观察 1.7 荚膜染色法 2 任务描述 3 任务要求 4 任务实施 5 评价反馈 5.1 学生评价 5.2 考核 5.3 反馈 6 思考题					
教学目标： 一、知识目标 1. 熟悉革兰染色的原理、目的及应用范围。 2. 了解细菌的形态、结构、大小及繁殖方式。 3. 了解影响微生物生长的物理、化学因素在消毒灭菌中的应用。 二、能力目标 1. 学会进行革兰染色并进行结果判断。 2. 了解细菌的其他染色法。 3. 掌握火焰灭菌等无菌操作技术，理解无菌操作的实质与内涵。					

三、素质目标

1. 掌握无菌操作理念，使无菌观念和微生物生态平衡的观念不断增强。
2. 培养严谨的科学实验态度和科学探究精神。

思政元素：科学精神和创新意识

教学重点：

革兰染色的原理和实验操作。

教学难点：

理解革兰染色的原理和结果判定。

教学方法及手段：

讲授、讨论

教学过程设计：

一、学情分析和新课导入（5分钟）

学生已对细菌形态和基本结构有所了解，由细菌的染色及显微镜观察要求导入细菌的革兰染色内容。通过革兰染色方法的创新，培养学生的科学精神和创新意识（思政元素）。

二、新课内容（125分钟）

学习情境四 细菌的革兰染色

1 基础知识

1.1 细菌的简单染色

1) 基本原理

未经染色，细菌难以观察；经过染色，可以区分菌体与背景

2) 器材

显微镜、酒精灯、载玻片、接种环、双层瓶、擦镜纸、生理盐水；吕氏碱性美蓝染色液、石炭酸复红染色液、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌

3) 操作步骤

涂片、干燥、固定、染色、水洗、干燥、镜检

1.2 细菌的革兰染色

1) 基本原理

革兰染色可以区分革兰阳性菌和阴性菌；染色不同反应因为细胞壁的成分和结构不同

2) 器材

革兰染色液、载玻片、显微镜、大肠杆菌、枯草芽孢杆菌

3) 操作步骤

涂片、初染、媒染、脱色、复染、镜检

1.3 细菌概述

1) 细胞壁

G+菌：细胞壁只有一层，厚 20~80nm，由肽聚糖、磷壁质和少量脂类组成。其中肽聚糖含量高。占细胞壁干重 40%~90%，且网状结构致密。

G-菌：细胞壁分两层，厚约 20nm，结构比 G+菌复杂。外层为脂蛋白和脂多糖层，内层为肽聚糖层。肽聚糖含量低，占细胞壁干重的 5%~10%，且网状结构疏松。

革兰染色机理：G+菌细胞壁较厚，肽聚糖含量高且网状结构紧密，脂类含量极低，当用酒精脱色时，引起肽聚糖层脱水，使网状结构的孔径缩小，导致细胞壁的通透性降低，从而使结晶紫-碘的复合物不易被洗脱而保留在细胞内，使菌体仍呈深紫色。

革兰染色机理：G-菌细胞壁肽聚糖层薄且网状结构疏松，脂类含量高，当酒精脱色时，脂类物质溶解，细胞壁通透性增大，使结晶紫-碘复合物较易被洗脱出来，菌体经番红复染后呈红色。

2) 细胞膜

细胞膜是具有高度选择性的半透膜，含有丰富的酶系和多种膜蛋白。具有重要的生理功能。

①选择渗透性

②参与细胞壁各种组分以及糖等的生物合成

③参与产能代谢

3) 细胞质及内含物

细胞质中含有许多的酶系，是细菌新陈代谢的主要场所。

①核糖体

②贮藏性颗粒

③液泡（气泡）

4) 原核

细菌细胞核是由一条环状双链的 DNA 分子高度缠绕折叠而形成。

原核是重要的遗传物质，携带着细菌的全部遗传信息。

5) 荚膜

荚膜是细菌在新陈代谢过程中产生的覆盖在细胞壁外的一层疏松透明的黏液状物质。

分为大荚膜、黏液层、菌胶团。

功能：①保护作用；②贮藏养料；③表面吸附作用；④作为透性屏障

6) 芽孢

某些细菌生长到一定阶段，在细胞内形成一个圆形、厚壁、含水量极低、对不良环境极具抗性的休眠孢子。

芽孢具有极强的抗热、抗辐射、抗化学药物和抗静水压等特性。

芽孢的着生位置有近中央、末端和中央 3 种情况。

芽孢由孢外壁、芽孢衣、皮层和核心组成。

7) 鞭毛与纤毛

鞭毛：某些运动细菌菌体表面着生的一根或数根由细胞内生出的细长而呈波状弯曲的丝状结构。

纤毛：菌毛，某些革兰阴性菌和少数革兰阳性菌细胞上长出的数目较多、短而直的蛋白质丝或细管，分布于整个菌体。

1.4 影响微生物生长的理化因素

1.5 细菌芽孢染色法

1) 实验内容

细菌的芽孢染色法、观察芽孢、营养体及芽孢囊

2) 器材

枯草芽孢杆菌，球形芽孢杆菌 1~2d 营养琼脂斜面培养物；5%孔雀绿水溶液，0.5%番红水溶液；小试管，滴管，烧杯，试管架，载玻片，木夹子，显微镜等。

3) 操作步骤

①改良的 Schaeffer-Fulton 染色法

菌悬液制备、染色、涂片固定、脱色、复染、镜检

②Schaeffer-Fulton 染色法

制片、染色、水洗、复染、水洗、镜检

4) 注意事项

供芽孢染色用的菌种应控制菌龄，使大部分芽孢仍保留在菌体上为宜。

1.6 细菌鞭毛染色法及运动观察

1) 鞭毛染色法

①实验内容

细菌的鞭毛染色法、用压滴法观察细菌的运动、用悬滴法观察细菌的运动。

②材料

普通变形菌、金黄色葡萄球菌、牛肉膏蛋白胨培养基斜面、鞭毛染色液、0.01%美蓝水溶液、香柏油、二甲苯、无菌水、凡士林、显微镜、擦镜纸、接种环、酒精灯、载玻片、凹玻片、盖玻片、镊子、细玻棒、吸水纸

③操作步骤

活化菌种、制片、染色、镜检

2) 压滴法

①制备菌液

取 2~3 环稀释菌液于洁净载玻片中央，再加入一环 0.01%的美蓝水溶液，混匀；

用镊子夹一洁净的盖玻片，先使其一边接触菌液，然后慢慢地放下盖玻片

②镜检

3) 悬滴法

取洁净盖玻片，在四周涂少许凡士林；在盖玻片中央滴一小滴菌液；将凹玻片的凹窝向下，使凹窝中心对准盖玻片中央的菌液，轻轻地盖在盖玻片上，使凹玻片与盖玻片粘在一起；小心将玻片翻转过来，使菌液正好悬在凹窝的中央；镜检。

4) 注意事项

鞭毛染色液当日配制；染色时一定要充分洗净 A 液后再加 B 液，否则背景不清晰；载玻片和盖玻片都要洁净无油

1.7 荚膜染色法

1) 实验内容

细菌的荚膜染色法、观察细菌的荚膜

2) 材料

褐球固氮菌、牛肉膏蛋白胨培养基斜面、荚膜染色液、95%乙醇、香柏油、二甲苯、无菌水、凡士林、显微镜、擦镜纸、接种环、酒精灯、载玻片、凹载玻片、盖玻片、镊子、细玻棒、吸水纸

3) 染色

①石炭酸复红染色

取培养了 72h 的褐球固氮菌制成涂片，自然干燥；滴入 1~2 滴 95%乙醇固定；加石炭酸复红染色液染色 1~2min，水洗，自然干燥；在载玻片一端加一滴墨汁，另取一块边缘光滑的载玻片与墨汁接触，再以匀速推向另一端，涂成均匀的薄层，自然干燥；干燥后用油镜观察。菌体红色，荚膜无色，背景黑色。

②背景染色

先加 1 滴墨水于洁净的玻片上，并挑取少量褐球固氮菌与之充分混合均匀
放一清洁盖玻片于混合液上，然后在盖玻片上放一张滤纸，向下轻压，吸收多余的菌液；干燥后用油镜观察。背景灰色，菌体较暗，在其周围呈现一明亮的透明圈即荚膜。

4) 注意事项

荚膜染色涂片不要用加热固定，以免荚膜皱缩变形。

2 任务描述

3 任务要求

4 任务实施

5 评价反馈

5.1 学生评价

5.2 考核

5.3 反馈

6 思考题

- 1) 制备染色标本时，应注意哪些事项？
- 2) 涂片为什么要完全干燥后才能用油镜观察？
- 3) 如果涂片未经热固定，将会出现什么问题？如果加热温度过高、时间太长，又会怎样？
- 4) 什么是革兰染色？其原理是什么？
- 5) 哪些环节会影响革兰染色结果的正确性？其中最关键的环节是什么？
- 6) 进行革兰染色时为什么特别强调菌龄不能太老？用老龄细菌染色会出现什么问题？
- 7) 革兰染色时，能先加碘液后再初染吗？乙醇脱色后复染之前，革兰阳性菌和革兰阴性菌应分别是什么颜色？
- 8) 原核微生物、菌落、鞭毛、芽孢、荚膜的概念是什么？

- 9) 细菌有哪几种形态？试说明细菌的一般结构和特殊结构及其生理功能。
- 10) 细菌的菌落特征是什么？
- 11) 影响微生物生长的物理因素是什么？
- 12) 紫外线杀菌的机理、最强的波长及适用范围是什么？
- 13) 专性好氧菌、兼性厌氧菌、微好氧菌、耐氧性厌氧菌、厌氧菌的特点是什么？
- 14) 化学消毒剂、氧化剂的杀菌机理是什么？

三、小结（4 分钟）

总结细菌简单染色、革兰染色的原理和实验操作要点，细菌的形态、结构、大小及繁殖方式，影响微生物生长的物理、化学因素在消毒灭菌中的应用等知识。

四、布置复习思考题（1 分钟）

- 1、什么是革兰染色？其原理是什么？
- 2、简述革兰染色的步骤？

参考资料：

主要参考书：

- 1、《食品微生物检验技术》 姚勇芳 主编 科学出版社
- 2、《食品微生物检验技术》 罗红霞 主编 中国农业大学出版社
- 3、《食品微生物检验技术》 李殿鑫 主编 华中科技大学出版社
- 4、《食品微生物检验技术》 刘用成 主编 中国轻工业出版社
- 5、《食品微生物检验技术》 魏明奎、段鸿斌主编 化学工业出版社
- 6、《食品微生物学》 何国庆 主编 中国农业大学出版社
- 7、《食品微生物学》 杨玉红 主编 中国轻工业出版社

学习情境五 放线菌的个体形态观察

授课章节	学习情境五 放线菌的个体形态观察				
课时安排	1	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
教学主要内容：					
1 基础知识					
1.1 放线菌个体形态观察的方法					
1.2 放线菌					
1.3 其他原核微生物					
2 任务描述					
3 任务要求					
4 任务实施					
5 评价反馈					
5.1 学生评价					
5.2 考核					
5.3 反馈					
6 思考题					
教学目标：					
一、知识目标					
1. 熟悉放线菌的形态结构、繁殖方式。					
2. 了解放线菌在抗生素生产中的基本应用。					
二、能力目标					
1. 掌握常用的放线菌形态观察方法。					
2. 能够辨认放线菌的营养菌丝、气生菌丝、孢子丝、孢子的形态特征。					
三、素质目标					
1. 掌握多种自主学习方法，树立自信心和终身学习理念。					
2. 提高观察、分析问题和解决问题的能力。					
思政元素：科学精神和创新意识					
教学重点：					
放线菌的形态观察。					

教学难点：

理解放线菌形态观察的原理和方法设计。

教学方法及手段：

讲授、讨论

教学过程设计：

一、学情分析和新课导入（3分钟）

学生已对放线菌的个体形态、培养特征有所了解，由产抗生素放线菌的筛选导入新课，培养科学精神和创新意识（思政元素）。

二、新课内容（40分钟）

学习情境五 放线菌的个体形态观察

1 基础知识

1.1 放线菌个体形态观察的方法

1) 菌种：5406 放线菌或青色链霉菌；弗氏链霉菌

培养基：灭菌的高氏 1 号培养基

2) 仪器及其他用具：石炭酸复红染液，载玻片，显微镜等；经灭菌的玻璃纸、盖玻片，玻璃涂布棒、接种铲、接种环、小刀、镊子。

3) 扞片法

倒平板；接种；扞片：以无菌操作用镊子将灭菌的盖玻片以大约 45°角扞入琼脂内（扞在接种线上），扞片数量可根据需要而定；培养；镜检。

4) 玻璃纸法

倒平板；铺玻璃纸：以无菌操作用镊子将已灭菌的玻璃纸片（似盖玻片大小）铺在培养基琼脂表面，用无菌玻璃棒将玻璃纸压平，使其紧贴在琼脂表面，玻璃纸和琼脂之间不留气泡；接种；培养；镜检。

5) 印片法

接种；印片：用接种铲或解剖刀将平板上的菌苔连同培养基切下一小块，菌面朝上放在一载玻片上。另取一洁净载玻片置火焰上微热后，盖在菌苔上，轻轻按压，使培养物附着在另一块载玻片中央，有印迹的一面朝上，通过火焰 2~3 次固定；染色；镜检。

1.2 放线菌

放线菌，革兰阳性原核微生物，因在固体培养基上的菌落呈现放射状生长而得名。

放线菌多数为腐生菌，少数为寄生菌。

放线菌是生产抗生素的主要微生物。

1.3 其他原核微生物

2 任务描述

3 任务要求

4 任务实施

5 评价反馈

5.1 学生评价

5.2 考核

5.3 反馈

6 思考题

- 1) 比较放线菌的三种培养及观察方法的优缺点。
- 2) 玻璃纸培养和观察法是否还可以用于其他类群微生物的培养和观察？为什么？
- 3) 镜检时，如何区分放线菌的基内菌丝和气生菌丝？
- 4) 放线菌、菌丝体、营养菌丝、气生菌丝？
- 5) 据形态与功能的不同放线菌的菌丝分为哪些几类？其功能分别是什么？
- 6) 放线菌菌落的特征是什么？
- 7) 什么是原核微生物？包括哪些微生物？其特点是什么？

三、小结（2分钟）

总结放线菌的形态结构、繁殖方式，放线菌形态观察3种方法等知识。

四、布置复习思考题（0分钟）

无

参考资料：

主要参考书：

- 1、《食品微生物检验技术》 姚勇芳 主编 科学出版社
- 2、《食品微生物检验技术》 罗红霞 主编 中国农业大学出版社
- 3、《食品微生物检验技术》 李殿鑫 主编 华中科技大学出版社
- 4、《食品微生物检验技术》 刘用成 主编 中国轻工业出版社

- 5、《食品微生物检验技术》 魏明奎、段鸿斌主编 化学工业出版社
- 6、《食品微生物学》 何国庆 主编 中国农业大学出版社
- 7、《食品微生物学》 杨玉红 主编 中国轻工业出版社

学习情境六 霉菌和酵母菌的个体形态观察

授课章节	学习情境六 霉菌和酵母菌的个体形态观察				
课时安排	1	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
教学主要内容： 1 基础知识 1.1 霉菌的形态观察 1.2 酵母菌的形态观察及死、活细胞的鉴别 1.3 酵母菌 1.4 霉菌 1.5 非细胞型微生物 2 任务描述 3 任务要求 4 任务实施 5 评价反馈 5.1 学生评价 5.2 考核 5.3 反馈 6 思考题					
教学目标： 一、知识目标 1. 熟悉霉菌、酵母菌的形态结构和菌落特征。 2. 了解霉菌、酵母菌的繁殖方式。 二、能力目标 1 掌握观察霉菌和酵母菌形态的基本方法。 2. 学会观察酵母菌的细胞形态，学会区分酵母菌死、活细胞的方法。 三、素质目标 1. 培养良好的表达、沟通和团队协作能力。 2. 培养竞争意识和集体荣誉感。 思政元素：科学精神和创新意识					

教学重点：

霉菌和酵母菌的形态观察。

教学难点：

理解霉菌和酵母菌的形态观察原理和方法设计。

教学方法及手段：

讲授、讨论

教学过程设计：

一、学情分析和新课导入（3 分钟）

学生已对霉菌和酵母菌的个体形态和培养特征有所了解，由“产纤维素酶真菌筛选”案例导入霉菌和酵母菌的个体形态观察，培养科学精神和创新意识（思政元素）。

二、新课内容（40 分钟）

学习情境六 霉菌和酵母菌的个体形态观察

1 基础知识

1.1 霉菌的形态观察

霉菌可产生复杂分枝的菌丝体，分基内菌丝和气生菌丝，气生菌丝生长到一定阶段分化产生繁殖菌丝，由繁殖菌丝产生孢子。

菌丝体及孢子的形态特征是识别不同种类霉菌的重要依据。

1) 直接制片观察法

培养物置于乳酸石炭酸棉蓝染色液中制成霉菌标本片镜检。

细胞不变形；具有杀菌防腐作用；防止孢子飞散；染成蓝色容易观察。

2) 载玻片培养观察法

接种霉菌孢子于载玻片上的适宜培养基上，盖上盖玻片培养，将载玻片置于显微镜下观察。

可保持霉菌自然生长状态，便于观察不同发育期的培养物。

3) 玻璃纸培养观察法

将霉菌生长在覆盖于琼脂培养基表面的玻璃纸上，然后将长菌的玻璃纸剪取一小片，贴在载玻片上用显微镜观察。

便于观察不同生长阶段的形态。

4) 实验内容

①实验材料

菌种：曲霉、青霉、根霉和毛霉培养 2~5d 的马铃薯琼脂平板培养物

培养基：查氏琼脂平板、马铃薯琼脂平板

溶液或试剂：乳酸石炭酸棉蓝染色液、20%甘油、50%乙醇。

仪器和其他用具：无菌吸管、平皿、载玻片、盖玻片、U形玻璃棒、解剖刀、玻璃纸、镊子、滤纸、显微镜等。

②直接制片观察法

于洁净的载玻片上，滴一滴乳酸石炭酸棉蓝染色液；用解剖针从霉菌菌落的边缘处取少量带有孢子的菌丝，先置于 50%乙醇中浸一下（洗去脱落的孢子），再置于染色液中，小心将菌丝挑散开；盖上盖玻片，置显微镜下观察。

③载玻片培养观察法

培养小室的灭菌；琼脂块的制作；接种；培养；镜检。

④玻璃纸培养观察法

制备孢子悬液；将玻璃纸置于察氏培养基上；将孢子悬液涂布在平板上培养后将玻璃纸剪一小块置于载玻片上观察。

1.2 酵母菌的形态观察及死、活细胞的鉴别

酵母菌是单细胞的真核微生物；酵母菌繁殖方式包括无性繁殖（芽殖、裂殖）和有性繁殖（子囊孢子）；采用美蓝浸片和水-碘浸片观察活酵母形态及芽殖方式；美蓝染色可区分死（蓝色）、活（无色）细胞。

1) 实验材料

酿酒酵母或卡尔酵母培养约 2d 的麦芽汁（或豆芽汁）斜面培养物；0.05%和 0.1%吕氏碱性美蓝染液，革兰染色所用的碘液；显微镜，载玻片，盖玻片等。

2) 美蓝浸片的观察

在载玻片中央加一滴 0.1%吕氏碱性美蓝染液，将培养好的酵母菌涂布其中；小心盖上盖玻片；放置 3min 后镜检；染色 30min 后，观察死细胞数是否增加；用 0.05%吕氏碱性美蓝染液重复上述操作。

3) 水-碘浸片的观察

在载玻片中央滴一滴革兰染色用的碘液，然后再在其上加三小滴水，取酿酒酵母少许放

在水-碘液滴中，使菌体与溶液混匀，盖上盖玻片后镜检。

1.3 酵母菌

1.4 霉菌

1.5 非细胞型微生物

2 任务描述

3 任务要求

4 任务实施

5 评价反馈

5.1 学生评价

5.2 考核

5.3 反馈

6 思考题

- 1) 吕氏碱性美蓝染液浓度和作用时间不同，对酵母菌死活细胞数量有何影响？试分析其原因。
- 2) 在显微镜下，酵母菌区别于一般细菌有哪些突出的特征？
- 3) 主要根据哪些形态特征来区分曲霉、青霉、根霉和毛霉四种霉菌？
- 4) 根据载玻片培养观察方法的基本原理，你认为操作过程中哪些步骤可以根据具体情况做一些改进活可用其他的方法替代？
- 5) 在显微镜下，细菌、放线菌、酵母菌和霉菌形态上的主要区别是什么？
- 6) 玻璃纸应怎样进行灭菌？为什么？
- 7) 名词解释：真菌、霉菌、芽殖、初生菌丝、次生菌丝。
- 8) 真菌有哪些特点？
- 9) 试述酵母细胞的主要特征。
- 10) 试述酵母菌的菌落特征。
- 11) 举例说明酵母菌的生活史的不同。
- 12) 试述酵母菌和细菌的菌落的异同。
- 13) 简述霉菌的细胞结构特征。
- 14) 简述霉菌的菌落特征。
- 15) 病毒、烈性噬菌体、温和噬菌体的概念是什么？
- 16) 病毒的形态特征和主要结构是什么？

17) 噬菌体的生长繁殖过程分为哪几个阶段? 各自的特点是什么?

18) 简述食品中常见的噬菌体的防治办法。

三、小结 (2 分钟)

总结霉菌和酵母菌的形态结构、繁殖方式, 霉菌形态观察 3 种方法以及酵母菌形态观察的 2 种方法等知识。

四、布置复习思考题 (0 分钟)

无

参考资料:

主要参考书:

- 1、《食品微生物检验技术》 姚勇芳 主编 科学出版社
- 2、《食品微生物检验技术》 罗红霞 主编 中国农业大学出版社
- 3、《食品微生物检验技术》 李殿鑫 主编 华中科技大学出版社
- 4、《食品微生物检验技术》 刘用成 主编 中国轻工业出版社
- 5、《食品微生物检验技术》 魏明奎、段鸿斌主编 化学工业出版社
- 6、《食品微生物学》 何国庆 主编 中国农业大学出版社
- 7、《食品微生物学》 杨玉红 主编 中国轻工业出版社

学习情境七 微生物大小的测定

授课章节	学习情境七 微生物大小的测定				
课时安排	1 学时	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
教学主要内容： 1 基础知识 1.1 微生物大小的测定方法 2 任务描述 3 任务要求 4 任务实施 5 评价反馈 5.1 学生评价 5.2 考核 5.3 反馈 6 思考题					
教学目标： 一、知识目标 1. 了解测微尺的工作原理。 2. 熟悉不同形态微生物大小的表示方式。 二、能力目标 1. 会使用显微测微尺测量微生物大小。 2. 会根据测量数据计算微生物大小。 三、素质目标 1. 培养严谨的科学实验态度，以及完成工作任务的积极态度。 2. 提高观察、分析问题和解决问题的能力。 思政元素：工匠精神和职业认同					
教学重点、难点： 测微尺的使用和微生物大小的测量。					
教学难点： 理解测微尺测量微生物大小的原理。					

教学方法及手段：

讲授、讨论

教学过程设计：

一、学情分析和新课导入（3 分钟）

学生已对微生物的基本形态有所了解，由如何比较微生物的大小导入微生物大小的测定，培养学生的工匠精神和职业认同（思政元素）。

二、新课内容（40 分钟）

学习情境七 微生物大小的测定

1 基础知识

1.1 微生物大小的测定方法

微生物细胞大小是微生物的基本形态特征。

测量细胞大小的工具有目镜测微尺和镜台测微尺。镜台测微尺是中央部分刻有精确等分线的载玻片。每格长度等于 0.01mm，用于校正目镜测微尺每格的相对长度。目镜测微尺是一块可放在接目镜内的隔板上的圆形小玻片，中央刻有精确刻度，有等分 50 小格或 100 小格两种。

球菌用直径表示大小，杆菌用宽和长表示大小。

1) 实验材料

菌种：金黄色葡萄球菌、大肠杆菌的玻片标本，酿酒酵母 24h 马铃薯斜面培养物。

仪器或其他用具：显微镜、目镜测微尺、镜台测微尺、载玻片、盖玻片、擦镜纸、香柏油

2) 装目镜测微尺

取出接目镜，把目镜上的透镜旋下，将目镜测微尺的刻度朝下放在接目镜筒内的隔板上，然后旋上目镜透镜，最后将此接目镜插入镜筒内。

3) 目镜测微尺的校正

放置镜台测微尺；校正：分别在低倍镜、高倍镜和油镜下，分别数出目镜测微尺和镜台测微尺两重合线之间所占的格数。

4) 计算

校正后，移去镜台测微尺，换上标本，先用低倍镜和高倍镜找到标本后，换油镜校正焦距使菌体清晰，（转动目镜测微尺或标本）测定微生物大小。

测定 10~20 个菌体，求平均值。

$$\text{目镜测微尺每小格长度}(\mu\text{m}) = \frac{\text{两条重合线间镜台测微尺格数} \times 10}{\text{两条重合线间目镜测微尺格数}}$$

5) 实验报告

①目镜测微尺标定结果

低倍镜下__倍目镜测微尺每格长度是__ μm 。

高倍镜下__倍目镜测微尺每格长度是__ μm 。

油镜下__倍目镜测微尺每格长度是__ μm 。

菌号	大肠杆菌的测定结果				酵母菌的测定结果	
	目镜测微尺格数		实际长度		目镜测微尺格数	实际直径
	宽	长	宽	长		
1						
2--						
均值						

②菌体大小测定结果

2 任务描述

3 任务要求

4 任务实施

5 评价反馈

5.1 学生评价

5.2 考核

5.3 反馈

6 思考题

- 1) 为什么更换不同放大倍数的目镜和物镜时必须重新用镜台测微尺对目镜测微尺进行标定?
- 2) 若目镜不变, 目镜测微尺也不变, 只改变物镜, 那么目镜测微尺每格所测量的镜台上的菌体细胞的实际长度 (或宽度) 是否相同? 为什么?
- 3) 微生物大小的单位用什么表示?

三、小结（2分钟）

总结微生物大小的概念以及使用显微测微尺测量微生物大小的基本方法等知识。

四、布置复习思考题（0分钟）

无

作业布置：

无

参考资料：

主要参考书：

- 1、《食品微生物检验技术》 姚勇芳 主编 科学出版社
- 2、《食品微生物检验技术》 罗红霞 主编 中国农业大学出版社
- 3、《食品微生物检验技术》 李殿鑫 主编 华中科技大学出版社
- 4、《食品微生物检验技术》 刘用成 主编 中国轻工业出版社
- 5、《食品微生物检验技术》 魏明奎、段鸿斌主编 化学工业出版社
- 6、《食品微生物学》 何国庆 主编 中国农业大学出版社
- 7、《食品微生物学》 杨玉红 主编 中国轻工业出版社

学习情境八 微生物的纯培养

授课章节	学习情境八 微生物的纯培养				
课时安排	4 学时	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
教学主要内容：					
1 基础知识					
1.1 微生物的分离和纯培养					
1.2 微生物的遗传变异					
1.3 微生物的菌种选育					
1.4 微生物菌种保藏及复壮					
2 任务描述					
3 任务要求					
4 任务实施					
5 评价反馈					
5.1 学生评价					
5.2 考核					
5.3 反馈					
6 思考题					
教学目标：					
一、知识目标					
1. 理解微生物分离与纯化、无菌操作、接种的概念。					
2. 理解微生物分离、纯化操作及注意事项。					
3. 理解菌种保藏的原理和方法。					
二、能力目标					
1. 能正确使用接种工具进行微生物分离、纯化操作（斜面接种、平板划线分离、涂布法、倾注法）。					
2. 能规范进行无菌操作。					
3. 能对微生物进行简单的活化复壮。					
三、素质目标					
1. 严格执行无菌操作，培养实事求是、严谨认真的科学态度。					

2. 培养整洁、有序、规范的实验习惯。
3. 提高观察、分析问题和解决问题的能力。

思政元素：科学家贡献精神

教学重点：

微生物检验无菌操作的意识，接种技术的概念及各种微生物接种技术（斜面接种技术、液体接种技术、平板划线法、涂布平板法、倾注平板法、有限稀释法）。

教学难点：

无菌操作意识的培养，如何利用接种技术对菌种进行有效的分离纯化。

教学方法及手段：

讲授、讨论、案例分析

教学过程设计：

一、学情分析和新课导入（5分钟）

学生已对微生物的接种技术和无菌操作要求有所了解，由讨论《汤飞凡-沙眼病之父》视频的启示导入新课，加深学生学习我国科学家在微生物分离纯化领域取得成就的了解，弘扬科学家贡献精神（思政元素）。

二、新课内容（170分钟）

学习情境八 微生物的纯培养

1 基础知识

1.1 微生物的分离和纯培养

在人为规定的条件下培养、繁殖得到的微生物群体称为培养物，而只有一种微生物的培养物称为纯培养物。

无菌技术：在分离、转接及培养纯培养物时防止其被其他微生物污染的技术。

严格执行无菌操作，培养实事求是、严谨认真的科学态度（思政元素）。

1) 常用器具及灭菌

器具：试管、平皿、吸管、三角瓶

灭菌：高压蒸汽灭菌、高温干热灭菌

2) 接种技术

接种技术：用接种环或接种针分离微生物，或在无菌条件下把微生物由一个培养器皿转

接到另一个培养容器进行培养。

3) 斜面接种技术

斜面接种：从已生长好的菌种斜面上挑取少量菌种移植至另一支新鲜斜面培养基上的方法。

4) 液体接种技术

使用接种环接种；使用吸量管接种；直接移入接种；使用装置接种

5) 用固体培养基分离

平板划线法；涂布平板法；稀释倒平板法；稀释摇管法

6) 用液体培养基分离

适用于不能固体培养的微生物；采用稀释法

1.2 微生物的遗传变异

1) 遗传与变异

①遗传与变异的概念

遗传：子代与亲代间相似、连续的性状；

变异：子代与亲代间不连续、差异性的现象。

②物质基础-核酸

DNA 或 RNA 肺炎双球菌转化实验；噬菌体感染实验；植物病毒重建实验

2) 微生物的基因突变

①基因突变类型

营养缺陷型；条件致死突变型；形态突变型；抗性突变型；产量突变型

②基因突变的特点

自发性和不对应性；自发突变概率低；独立性；稳定性；诱变性；可逆性

1.3 微生物的菌种选育

1) 从自然界中分离菌种的步骤

采样；增殖培养；纯种分离；纯种培养；生产性能测定

2) 微生物的诱变育种

利用物理和化学诱变剂处理微生物细胞群，促进其突变率迅速提高，再从中筛选出少数符合育种目的的突变株。

3) 食品工业微生物的杂交育种

不同基因型细胞间杂交，出现遗传性状分离和重组，再筛选符合要求的生产菌种。

1.4 微生物菌种保藏及复壮

1) 微生物菌种的保藏类型

①传代培养保藏

微生物保藏的基本方法：常用琼脂斜面、半固体琼脂柱、液体培养传代保藏

②冷冻保藏

冷冻保藏使微生物处于冷冻状态，令其代谢作用停止以达到保藏的目的。

要点：速冻、保护剂（甘油、二甲亚砷）

③干燥保藏

深度干燥是微生物保藏常用的手段；沙土管保存（产孢子微生物）

④冷冻真空保藏

专业保藏法：加有保护剂的细胞样品预先冷冻，使其冻结，然后在真空下通过冰的升华作用除去水分。

2) 微生物菌种的保藏方法

①斜面传代保藏法

②液体石蜡保藏法

③沙土管保藏法

④冷冻干燥保藏法

3) 微生物菌种的退化和复壮

①菌种的退化

②退化菌种的复壮

通过小组讨论学习微生物的遗传变异、菌种选育、菌种保藏及复壮知识。培养学生客观公正、严谨科学的职业素养（思政元素）。

2 任务描述

3 任务要求

4 任务实施

5 评价反馈

5.1 学生评价

5.2 考核

5.3 反馈

6 思考题

- 1) 什么叫做无菌技术?
- 2) 斜面接种的基本操作有哪些?
- 3) 液体接种技术有哪些?
- 4) 平板划线法需注意什么?
- 5) 简述微生物保藏的原理。
- 6) 简述常见的微生物保藏方法及其保藏条件、保藏时间。
- 7) 什么叫做接种? 接种的方法有哪些?
- 8) 什么叫做遗传和变异?
- 9) 基因突变的类型有哪些?
- 10) 基因突变的特点有哪些?
- 11) 简述微生物菌种选育的过程?
- 12) 什么叫做菌种的退化和复壮?
- 13) 菌种退化的主要原因有哪些?
- 14) 防止菌种退化的措施有哪些?

三、小结 (4 分钟)

总结微生物纯培养、接种技术、无菌技术的概念, 微生物接种的方法过程, 菌种保藏的原理和保藏法, 以及菌种退化与复壮等知识。

四、布置复习思考题 (1 分钟)

- 1、什么叫做无菌技术?
- 2、什么叫做接种? 接种的方法有哪些?
- 3、简述常见的微生物保藏方法及其保藏条件、保藏时间。
- 4、什么叫做菌种的退化和复壮?

参考资料:

主要参考书:

- 1、《食品微生物检验技术》 姚勇芳 主编 科学出版社
- 2、《食品微生物检验技术》 罗红霞 主编 中国农业大学出版社
- 3、《食品微生物检验技术》 李殿鑫 主编 华中科技大学出版社

- 4、《食品微生物检验技术》 刘用成 主编 中国轻工业出版社
- 5、《食品微生物检验技术》 魏明奎、段鸿斌主编 化学工业出版社
- 6、《食品微生物学》 何国庆 主编 中国农业大学出版社
- 7、《食品微生物学》 杨玉红 主编 中国轻工业出版社

学习情境九 食品中菌落总数的测定

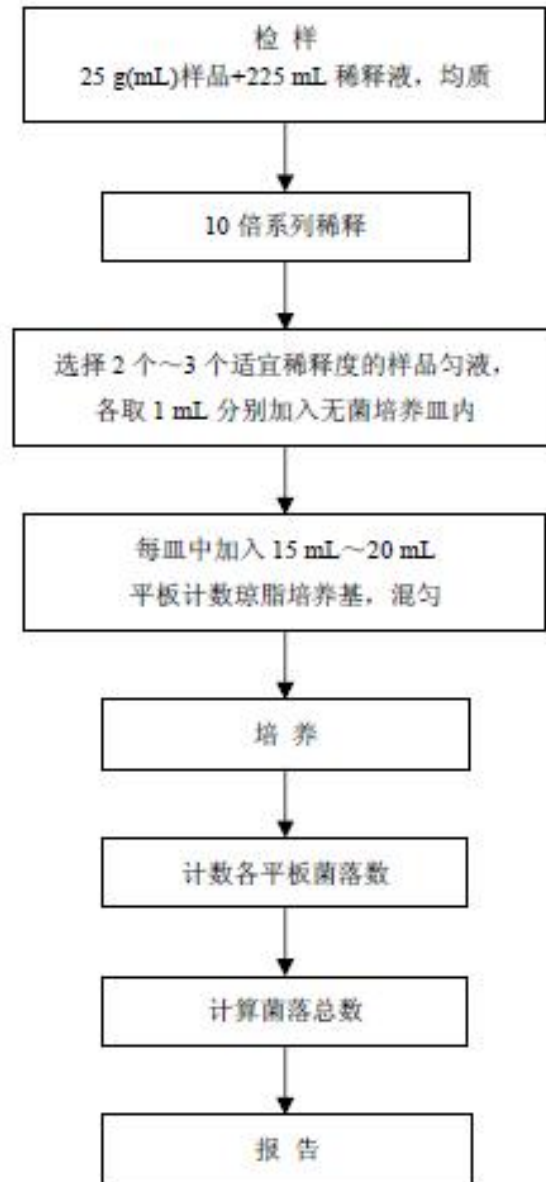
授课章节	学习情境九 食品中菌落总数的测定				
课时安排	4 学时	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
教学主要内容： 1 基础知识 1.1 菌落总数的测定方法 1.2 微生物检验的采样、处理 2 任务描述 3 任务要求 4 任务实施 5 评价反馈 5.1 学生评价 5.2 考核 5.3 反馈 6 思考题					
教学目标： 一、知识目标 1. 理解菌落的概念，菌落总数的卫生学意义。 2. 理解菌落总数与食品品质的关系。 3. 理解微生物的生长、培养条件，掌握食品中菌落总数测定的原理和注意事项。 二、能力目标 1. 能查找产品标准，正确选择采样方案，规范采集样品。 2. 能制备培养基和灭菌，能熟练进行样品制备、稀释、接种及倒平板的无菌操作。 3. 能准确观察菌落并正确计数。 4. 能独立进行菌落总数的测定及结果报告。 三、素质目标 1. 严格执行无菌操作，培养实事求是、严谨认真的科学态度。 2. 培养整洁、有序、规范的实验习惯。 3. 提高观察、分析问题和解决问题的能力。					

思政元素：严谨的职业态度和精益求精的职业精神
教学重点： 菌落总数的测定和结果分析。
教学难点： 理解菌落总数测定的原理和结果分析方法。
教学方法及手段： 讲授、讨论、案例分析
教学过程设计： 一、学情分析和新课导入（5 分钟） 学生已对食品污染及菌落总数概念有所了解，讨论黑龙江“酸汤子”中毒事件，通过多媒体直观展示黑龙江“酸汤子”事件相关视频和图片，引起学生对食品安全的思考，培养学生高度的工作责任心、诚信品质和遵纪守法意识。培养学生诚信的职业道德、爱岗敬业、社会责任感以及科学严谨的职业态度和精益求精的职业精神（思政元素）。 二、新课内容（170 分钟） <h3 style="text-align: center;">学习情境九 食品中菌落总数的测定</h3> 1 基础知识 1.1 菌落总数的测定方法 1) 材料工具 设备、仪器：冰箱、恒温培养箱、恒温水浴锅、均质器、振荡器、天平、菌落计数器或放大镜、无菌吸管、无菌锥形瓶、无菌培养皿、无菌刀、剪子、镊子、试管架和记号笔等 培养基和试剂： ①营养琼脂培养基 成分：胰蛋白胨 5.0g；酵母浸膏 2.5g；葡萄糖 1.0g；琼脂 15.0g；蒸馏水 1000mL 制法：取 23.5g 培养基溶于水，煮沸，调节 pH7.0±0.2，定容至 1000mL，分装锥形瓶，121℃高压灭菌 15min。 ②磷酸盐缓冲溶液 成分：磷酸二氢钾 34.0g；蒸馏水 500mL。 ③无菌生理盐水

成分：氯化钠 8.5g；蒸馏水 1000mL

制法：称取 8.5g 氯化钠溶于 1000mL 蒸馏水中，121°C 高压灭菌 15min。

2) 检验流程



3) 测定过程

①样品的稀释

固体和半固体样品：25g 样品+225mL 稀释液，均质（或研磨、或加热溶解），制成 1:10 样品匀液

液体样品：25mL+225mL 稀释液，混匀，制成 1:10 样品匀液

稀释：1mL+9mL 稀释液，混匀（振摇或吹打），制成 1:100 样品匀液；按上述程序，制备系列 10 倍稀释样品匀液；每个稀释度换用 1 支无菌吸管；根据对样品污染状况的估计，选

择 2~3 个适宜稀释度（液体样品包括原液）进行 10 倍稀释的同时，吸取 1mL 样品匀液于无菌平皿内，各做两个平行；同时做空白对照

及时将 15~20mL 冷却至 45~46°C 的平板计数琼脂培养基倾注于平皿，混匀。

注意问题：无菌操作；采样的代表性；样品稀释误差；稀释液

②培养

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

如可能含有在琼脂表面弥漫生长菌落，可在凝固后琼脂表面覆盖一薄层琼脂培养基（约 4mL），凝固后翻转平板按上述培养。

③菌落计数

选取菌落数在 30~300CFU、无蔓延菌落生长的平板计数菌落总数。

低于 30CFU 的平板记录具体菌落数，大于 300CFU 的可记录为“多不可计”。

菌落数指两个平板的平均数。

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；

如片状菌落不到平板一半，而其余一半中菌落分布又很均匀，即可计算半个平板后乘以 2，代表 1 个平板菌落数。

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

菌落总数的计算方法：

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，再乘以相应的稀释倍数；

有两个连续稀释度的平板菌落数在适宜计数范围内：按以下公式计数

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

所有稀释度的平板上菌落数均大于 300CFU：以稀释度最高的平均菌落数计算；

所有稀释度的平板上菌落数均小于 30CFU：以稀释度最低的平均菌落数计算；

所有稀释度均无菌落生长：以小于 1 乘以最低稀释倍数计算；

所有稀释度的平板上菌落数均不在 30~300CFU：以最接近 30CFU 或 300CFU 的平均菌落

数乘以稀释倍数计算。

菌落总数的报告：

菌落数小于 100CFU 时，按“四舍五入”原则修约，以整数报告；

菌落数大于或等于 100CFU 时，第 3 位数采用“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 的指数形式表示，按“四舍五入”原则修约后，采用两位有效数字；

所有平板上为蔓延菌落而无法计数，则报告菌落蔓延；

空白对照上有菌落生长，则此次检测结果无效；

称重取样以 CFU/g 为单位报告，体积取样以 CFU/mL 为单位报告。

1.2 微生物检验的采样、处理

1) 采样原则

根据检验目的、食品特点、批量、检验方法、微生物的危害程度等确定采样方案。

应采用随机原则进行采样，确保所采集的样品具有代表性。

采样过程遵循无菌操作程序，防止一切可能的污染。

样品在保存和运输的过程中，应采取必要的措施防止样品中原有微生物的数量变化，保持样品的原有状态。

2) 采样方案

①类型：二级采样方案和三级采样方案

二级采样方案设有 n 、 c 和 m 值，三级方案设有 n 、 c 、 m 和 M 值； n 为同一批次产品应采集的样品件数； c 为最大可允许超出 m 值的样品数； m 为微生物指标可接受水平的限量值； M 为微生物指标的最高安全限量值。

二级采样方案：在 n 个样品中，允许有小于等于 c 个样品其相应微生物指标检验值大于 m 值。

三级采样方案：在 n 个样品中，允许全部样品中相应微生物指标检验值小于或等于 m 值；允许有小于等于 c 个样品其相应微生物指标检验值在 m 值和 M 值之间；不允许有样品相应微生物指标检验值大于 M 值。

例： $n=5$ ， $c=2$ ， $m=100\text{CFU}$ ， $M=1000\text{CFU/g}$

练习

某烘焙食品抽检沙门氏菌项目，规定 $m=0\text{cfu/g}$ ， $n=20$ ， $c=0$ ，表明抽样 20 个样品中，阳

性个数必须为___?

某烘焙食品抽检金黄色葡萄球菌项目，规定 $m=100\text{cfu/g}$ ， $M=10000\text{cfu/g}$ ， $n=5$ ， $c=1$ ，则表示抽样 5 个样品中，菌落总数介于 $100\sim 10000\text{cfu/g}$ 的个数___，且菌落总数大于 10000cfu/g 个数___，才算附加条件合格。

某蛋制品抽检大肠菌群项目，规定 $m=10\text{cfu/g}$ ， $M=1000\text{cfu/g}$ ， $n=5$ ， $c=2$ 。抽样结果如下：

抽样个数 n	1	2	3	4	5
菌落总数 cfu/g	50	500	8	0	4

②各类食品的采样方案：按相应产品标准中的规定执行

③食源性疾病及食品安全事件中的食品样品的采集

3) 各类食品的采样方法

即食类预包装食品：取相同批次的最小零售原包装，检验前要保持包装的完整，避免污染。

非即食类预包装食品：原包装小于 500g 的固态食品或小于 500mL 的液体食品，取相同批次的最小零售原包装；大于 500mL 的液体食品，取样前搅匀，分别从相同批次的 n 个容器中采集 5 倍或以上检验单位的样品；大于 500g 的固态食品，从同一包装的几个不同部位采取适量的样品，放入同一个无菌采样容器内。

散装食品或现场制作食品：用无菌采样器现场采集 5 倍或以上检验单位的样品，放入同一个无菌采样容器内。

食源性疾病或食品安全事件中的食品样品：采样量应满足食源性疾病诊断和食品安全事件病因判定的检验要求。

4) 采集样品的标记

填写采样单：采样人、采样地点、时间、样品名称、来源、批号、数量、保存条件

5) 采集样品的贮存和运输

在接近原有贮存温度条件下尽快送往实验室检验；

不能及时运送，应在接近原有贮存温度条件下贮存。

6) 样品处理

实验室接到样品后应认真核对登记，确保样品的相关信息完整并符合检验要求。

实验室应按要求尽快检验。

冷冻食品应在 45°C以下不超过 15min 或 2~5°C不超过 18h 解冻后进行检验。

7) 检验方法的选择

应选择现行有效的国家标准方法。

有两个或以上定性检验方法时，以常规培养方法为基准方法。

有两个或以上定量检验方法时，以平板计数法为基准方法。

检验结果报告后，被检验样品方能处理。检出致病菌的样品要经过无害化处理。

检验结果报告后，剩余样品或同批样品不进行微生物项目的复检。

2 任务描述

3 任务要求

案例分析

某批次食品抽检菌落总数项目，规定 $m=1000\text{cfu/mL}$ ， $M=100000\text{cfu/mL}$ ， $n=5$ ， $c=3$ 。抽样原始记录如下，试分析该批次食品是否合格。

分析：

①样品 A~E 的菌落总数分别为_____。

②该批次食品_____合格。

结果记录表

4 任务实施

5 评价反馈

5.1 学生评价

5.2 考核

5.3 反馈

6 思考题

1 简述细菌的菌落特征。

2) 细菌的最适 pH 值是什么？

3) 细菌的最适生长温度是多少？

4) 测定菌落总数所需的培养基有哪些？

5) 为什么融化后的培养基要冷却至 45°C左右才能倒平板？

6) 若使平板菌落计数准确，需要掌握哪几个关键？为什么？

三、小结（4 分钟）

总结菌落总数概念，菌落总数测定方法，菌落总数结果分析和报告，微生物样品采样方案等知识。

四、布置复习思考题（1分钟）

- 1、简述细菌的菌落特征。
- 2、菌落总数结果分析（计算题）

参考资料：

主要参考书：

- 1、《食品微生物检验技术》 姚勇芳 主编 科学出版社
- 2、《食品微生物检验技术》 罗红霞 主编 中国农业大学出版社
- 3、《食品微生物检验技术》 李殿鑫 主编 华中科技大学出版社
- 4、《食品微生物检验技术》 刘用成 主编 中国轻工业出版社
- 5、《食品微生物检验技术》 魏明奎、段鸿斌主编 化学工业出版社
- 6、《食品微生物学》 何国庆 主编 中国农业大学出版社
- 7、《食品微生物学》 杨玉红 主编 中国轻工业出版社

学习情境十 食品中大肠菌群计数

授课章节	学习情境十 食品中大肠菌群计数				
课时安排	4 学时	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
教学主要内容： 1 基础知识 1.1 大肠菌群的测定方法 1.2 大肠菌群平板计数法 2 任务描述 3 任务要求 4 任务实施 5 评价反馈 5.1 学生评价 5.2 考核 5.3 反馈 6 思考题					
教学目标： 一、知识目标 1. 熟悉大肠菌群的定义及卫生学意义。 2. 食品中大肠菌群检测方法和质量判断标准。 二、能力目标 1. 熟练掌握食品检样采取的方法。 2. 掌握大肠菌群 MPN 计数法。 3. 掌握大肠菌群平板计数法。 三、素质目标 1. 严格执行无菌操作，培养实事求是、严谨认真的科学态度。 2. 培养整洁、有序、规范的实验习惯。 3. 培养爱岗敬业和吃苦耐劳的精神。 思政元素：科学诚信和严谨态度					
教学重点：					

大肠菌群计数的测定和结果分析。

教学难点：

理解大肠菌群计数的原理和结果分析方法。

教学方法及手段：

讲授、讨论、基于工作过程导向教学

教学过程设计：

一、学情分析和新课导入（5分钟）

学生已对食品污染及大肠菌群概念有所了解，由酱油中大肠菌群指标的规定及大肠菌群检测工作导入食品中大肠菌群的测定，培养学生科学诚信和严谨态度（思政元素）。

二、新课内容（170分钟）

学习情境十 食品中大肠菌群计数

1 基础知识

1.1 大肠菌群的测定方法

1) 材料工具

①仪器、器皿：冰箱、恒温培养箱、恒温水浴锅、均质器或均质乳钵、振荡器、天平、菌落计数器或放大镜、无菌吸管、灭菌锥形瓶、pH计、无菌刀、剪子、镊子、试管架和记号笔等

②月桂基硫酸盐胰蛋白胨（LST）肉汤

成分：胰蛋白胨或胰酪胨 20.0g；氯化钠 5.0g；乳糖 5.0g；磷酸氢二钾 2.75g；磷酸二氢钾 2.75g；月桂基硫酸钠 0.1g，蒸馏水 1000mL

制法：将上述成分溶解于蒸馏水，调节 pH6.8±0.2。分装到有小倒管的试管中，每管 10mL，121℃高压灭菌 15min。

③煌绿乳糖胆盐（BGLB）肉汤

成分：胰蛋白胨 10.0g；乳糖 10.0g；牛胆粉溶液 200mL；0.1%煌绿水溶液 13.3mL；蒸馏水 800mL

制法：将蛋白胨、乳糖溶于约 500mL 蒸馏水中，加入牛胆粉溶液 200mL，用蒸馏水稀释到 975mL，调节 pH7.2±0.1，再加入 0.1%煌绿水溶液 13.3mL，用蒸馏水补足到 1000mL，用棉花过滤后，分装到有玻璃小倒管的试管中，每管 10mL，121℃高压灭菌 15min。

④0.85%无菌生理盐水

取 8.5g 氯化钠溶于 1000mL 蒸馏水中，121°C 高压灭菌 15min。

⑤ 磷酸盐缓冲溶液

取 34.0g 磷酸二氢钾溶于 500mL 蒸馏水中，用大约 175mL 的 1mol/mL 氢氧化钠溶液调节 pH 至 7.2，用蒸馏水稀释至 1000mL 后贮存于冰箱。取贮存液 1.25mL，用蒸馏水稀释至 1000mL，分装于适宜的容器中，121°C 高压灭菌 15min。

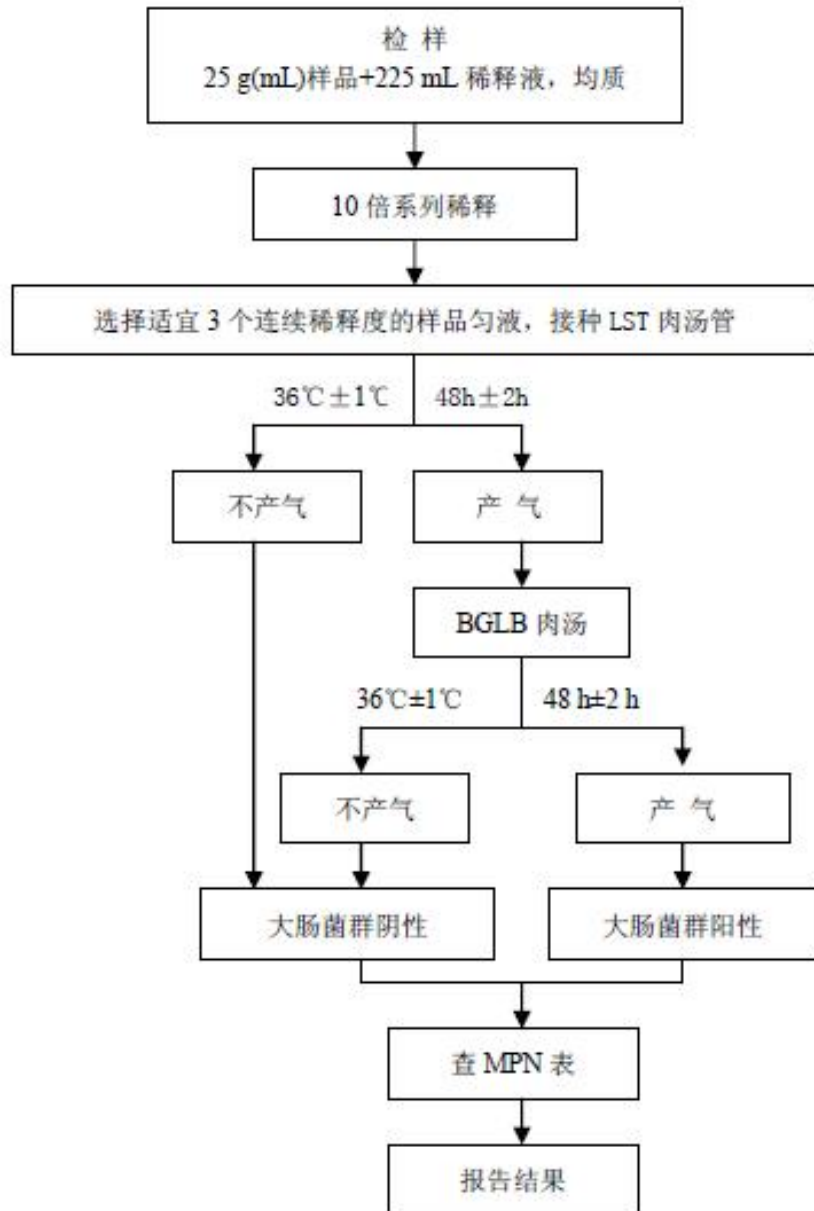
⑥ 1mol/L NaOH 溶液

称取 40g 氢氧化钠溶于 1000mL 蒸馏水中，121°C 高压灭菌 15min。

⑦ 1mol/L HCl 溶液

移取浓盐酸 90mL，用蒸馏水稀释至 1000mL，121°C 高压灭菌 15min。

2) 检验流程



3) 测定过程

①样品的稀释

固体和半固体样品：25g 样品+225mL 稀释液，均质（或研磨、或加热溶解），制成 1:10 样品匀液

液体样品：25mL+225mL 稀释液，混匀，制成 1:10 样品匀液

样品稀释：1mL+9mL 稀释液，混匀（振摇或吹打），制成 1:100 样品匀液；按上述程序，制备系列 10 倍稀释样品匀液；每个稀释度换用 1 支无菌吸管

样品匀液 pH 调节：应用 1mol/L NaOH 或 1mol/L HCl 调节至 6.5~7.5。

②初发酵试验

选择 3 个连续稀释度，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 1mL（超过 1mL 用双料 LST 肉汤）。（36±1）℃培养（24±2）h，观察倒管内是否产气，产气者进行复发酵；未产气则继续培养至（48±2）h，产气者进行复发酵，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）报告

根据证实为大肠菌群阳性的管数，查 MPN 表，报告每毫升（克）大肠菌群的 MPN 值。

练习：对 3 个品牌饮水机过滤的饮用水样品 1、2、3 分别进行大肠菌群检验，结果证实为阳性管数如下表：

加样量（mL）	1	0.1	0.01
样品 1 阳性管数	0	0	0
样品 2 阳性管数	0	1	0
样品 3 阳性管数	3	1	2

试分别报告样品 1、2、3 的大肠菌群 MPN 值。

解：样品 1，根据确证为阳性管数的个数 0，0，0，查对应 MPN 检索表，可知 MPN 为 <3.0MPN/mL。由于加样量是检索表中的 10 倍，则样品 1 大肠菌群为 <0.3MPN/mL。

样品 2，根据确证为阳性管数的个数 0，1，0，查对应 MPN 检索表，可知 MPN 为 3.0MPN/mL。由于加样量是检索表中的 10 倍，则样品 2 大肠菌群为 0.3MPN/mL。

样品 3，根据确证为阳性管数的个数 3，1，2，查对应 MPN 检索表，可知 MPN 为 120MPN/mL。由于加样量是检索表中的 10 倍，则样品 3 大肠菌群为 12MPN/mL。

1.2 大肠菌群平板计数法

1) 大肠菌群介绍

大肠菌群：在一定培养条件下能发酵乳糖、产酸产气的需氧和兼性厌氧革兰氏阴性无芽孢杆菌。

大肠菌群包括大肠埃希菌、柠檬酸杆菌、产气克雷白菌和阴沟肠杆菌等。

大肠菌群是粪便污染的指标菌，是评价食品卫生质量的重要指标之一。

2) 平板计数法

①材料工具

仪器、器皿：冰箱、恒温培养箱、恒温水浴锅、均质器或灭菌乳钵、振荡器、天平、菌落计数器或放大镜、无菌吸管、无菌锥形瓶、无菌培养皿、pH计、灭菌刀、剪子、镊子、试管架和记号笔等。

培养基和试剂：

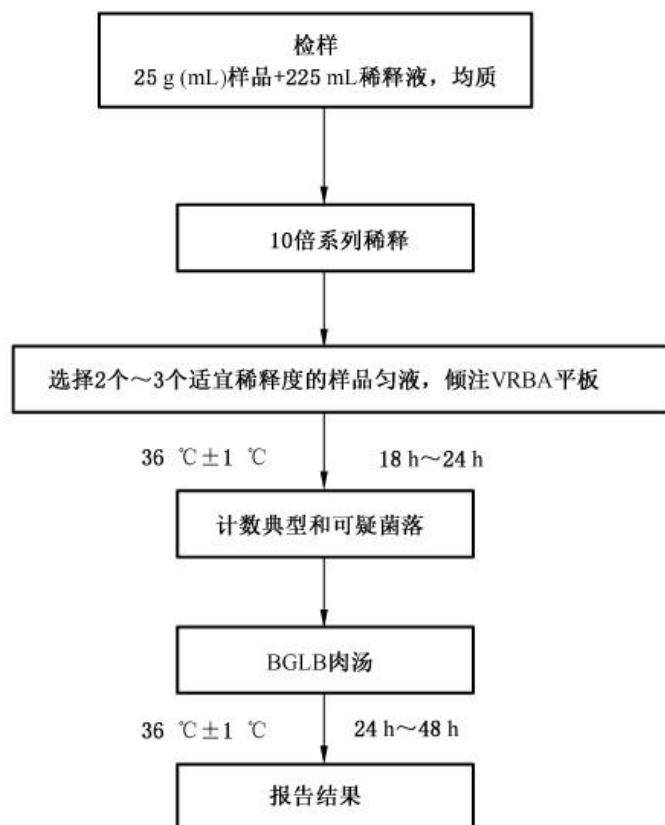
结晶紫中性红胆盐琼脂（VRBA）

成分：蛋白胨 7.0g；酵母膏 3.0g；乳糖 10.0g；氯化钠 5.0g；胆盐或 3 号胆盐 1.5g；中性红 0.03g；结晶紫 0.002g；琼脂 15~18g；蒸馏水 1000mL。

制法：将上述成分溶于蒸馏水中，静置几分钟，充分搅拌，调节 pH7.4±0.1。煮沸 2min，将培养基冷却至 45~50℃，倾注于培养皿。

煌绿乳糖胆盐（BGLB）肉汤；0.85%无菌生理盐水；磷酸盐缓冲溶液；1mol/L NaOH 溶液；1mol/L HCl 溶液

②检验程序



③操作步骤

样品的稀释：

固体和半固体样品：25g 样品+225mL 稀释液，均质（或研磨、或加热溶解），制成 1:10 样品匀液

液体样品：25mL+225mL 稀释液，混匀，制成 1:10 样品匀液

样品溶液的 pH 值应在 6.5~7.5，必要进行调节。

平板计数：

选择 2~3 个适宜的连续稀释度，每个稀释度接种 2 个无菌平皿，每皿 1mL。同时做空白对照。

及时将 15~20mL 晾至 46°C 的结晶紫中性红胆盐琼脂（VRBA）倾注于每个平皿中，混匀。待琼脂凝固后，再将 3~4mL VRBA 覆盖平板表层。翻转平板，置（36±1）°C 温箱内培养 18~24h。

平板菌落数的选择：

选取菌落数在 15~150CFU 的平板，分别计数平板上典型和可疑大肠菌群菌落。

典型菌落为紫红色，菌落周围有红色的胆盐沉淀环，菌落直径为 0.5mm 或更大，最低稀释度平板低于 15CFU 的记录具体菌落数（2016 版）。

验证试验：

从 VRBA 平板上挑取 10 个不同类型的典型和可疑菌落，少于 10 个菌落的挑取全部典型和可疑菌落（2016 版）。分别移种于 BGLB 肉汤管内， $36^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ （2016 版）24~48h，观察产气情况。

凡 GBLB 肉汤管产气，即可报告为大肠菌群阳性。

大肠菌群平板数报告：

经最后证实为大肠菌群阳性的试管比例乘以 9.3 中计数的（2016 版，下同）平板菌落数，再乘以稀释倍数，即为每 g（mL）样品中大肠菌群数。

例：10⁻⁴ 样品稀释液 1mL，在 VRBA 平板上有 100 个典型和可疑菌落，挑取其中 10 个接种 BGLB 肉汤管，证实有 6 个阳性管，则该样品的大肠菌群数为： $100\times 6/10\times 10^4\text{g(mL)}=6.0\times 10^5\text{CFU/g(mL)}$ 。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。

2 任务描述

3 任务要求

4 任务实施

5 评价反馈

5.1 学生评价

5.2 考核

5.3 反馈

6 思考题

简述大肠菌群的概念及特性。

简述大肠菌群的卫生学意义。

3) 大肠菌群主要由肠杆菌科中哪四个属内的一些细菌所组成的？

三、小结（4 分钟）

总结大肠菌群概念，大肠菌群的测定方法，大肠菌群结果分析和报告等知识。

四、布置复习思考题（1 分钟）

1、简述大肠菌群的概念及特性。

2、大肠菌群结果分析（计算题）

参考资料：

主要参考书：

- 1、《食品微生物检验技术》 姚勇芳 主编 科学出版社
- 2、《食品微生物检验技术》 罗红霞 主编 中国农业大学出版社
- 3、《食品微生物检验技术》 李殿鑫 主编 华中科技大学出版社
- 4、《食品微生物检验技术》 刘用成 主编 中国轻工业出版社
- 5、《食品微生物检验技术》 魏明奎、段鸿斌主编 化学工业出版社
- 6、《食品微生物学》 何国庆 主编 中国农业大学出版社
- 7、《食品微生物学》 杨玉红 主编 中国轻工业出版社

学习情境十一 食品中霉菌和酵母菌的测定

授课章节	学习情境十一 食品中霉菌和酵母菌的测定				
课时安排	2 学时	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
教学主要内容： 1 基础知识 1.1 霉菌和酵母菌计数的方法 2 任务描述 3 任务要求 4 任务实施 5 评价反馈 5.1 学生评价 5.2 考核 5.3 反馈 6 思考题					
教学目标： 一、知识目标 1. 熟悉霉菌和酵母菌检验常用培养基及制备方法。 2. 熟悉霉菌和酵母菌的菌落形态不同。 二、能力目标 1. 掌握食品中霉菌、酵母菌检验样品的采集与制备。 2. 学会食品中霉菌、酵母菌的测定方法。 三、素质目标 1. 增强食品质量安全责任感、安全生产意识。 2. 遵纪守法、遵守规程，培养实事求是、严谨认真的科学态度。 思政元素：科学、公正、实事求是的良好职业素质					
教学重点： 霉菌和酵母菌的测定和结果分析。					
教学难点： 理解霉菌和酵母菌测定的原理和结果分析方法。					

教学方法及手段：

讲授、讨论、基于工作过程导向教学

教学过程设计：

一、学情分析和新课导入（5分钟）

学生已对平板计数法检测微生物污染程度有所了解，由如何选择合适的培养基同时检测霉菌和酵母菌以及霉菌和酵母菌计数工作过程导入食品中霉菌和酵母菌的测定，培养学生科学、公正、实事求是的良好职业素质（思政元素）。

二、新课内容（80分钟）

学习情境十一 食品中霉菌和酵母菌的测定

1 基础知识

1.1 霉菌和酵母菌计数的方法

1) 材料工具

①设备、器材

培养箱、拍击式均质器及均质袋、电子天平、无菌锥形瓶、无菌吸管、旋涡混合器、无菌平皿、恒温水浴箱、显微镜、微量移液器及枪头、折光仪、郝氏计测玻片、盖玻片、测微器（2016版，下同）

②培养基和试剂

马铃薯葡萄糖琼脂

成分：马铃薯（去皮切块）300g；葡萄糖 20.0g；琼脂 20.0g；氯霉素 0.1g；蒸馏水 1000mL

制法：将马铃薯去皮切块，加 1000mL 蒸馏水，煮沸 10min~20min，用纱布过滤，补加蒸馏水至 1000mL，加入葡萄糖和琼脂，加热溶解，分装后，121℃灭菌 15min，备用。

孟加拉红琼脂

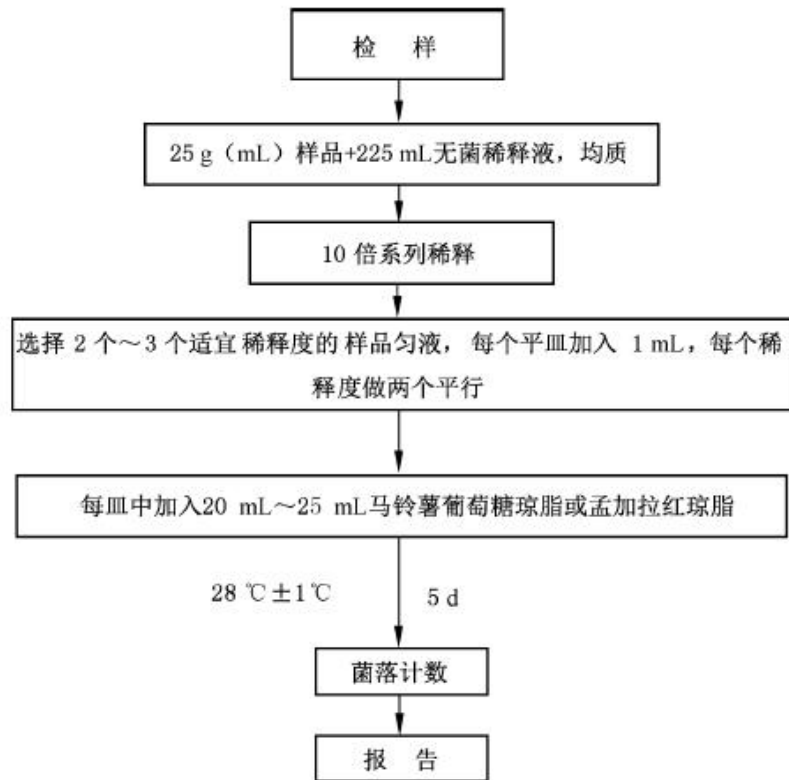
成分：蛋白胨 5.0g；葡萄糖 10.0g；磷酸二氢钾 1.0g；硫酸镁（无水）0.5g；琼脂 20.0g；孟加拉红 0.033g；氯霉素 0.1g；蒸馏水 1000mL

制法：上述各成分加入蒸馏水中，加热溶解，补足蒸馏水至 1000mL，分装后，121℃高压灭菌 15min，避光保存备用。

0.85%灭菌生理盐水

磷酸盐缓冲溶液

2) 检验流程



3) 操作步骤

①样品的稀释

固体和半固体样品：25g 样品+225mL 稀释液，均质（或研磨、或加热溶解），制成 1:10 样品匀液

液体样品：25mL+225mL 稀释液，混匀，制成 1:10 样品匀液

②样品稀释

1mL+9mL 稀释液，混匀（振摇或吹打），制成 1:100 样品匀液；按上述程序，制备系列 10 倍稀释样品匀液；每个稀释度换用 1 支无菌吸管

③倾注培养

选择 2~3 个适宜稀释度的样品匀液，分别在制 10 倍稀释液的同时，移取 1mL 稀释液于无菌平皿中，每个稀释度做 2 个平行。

及时将冷却至 46°C 的培养基 20~25mL 倾注于平皿，混匀。待琼脂凝固后，倒置，于 (28±1) °C 培养 5d。

④菌落计数

选取菌落数在 10~150CFU 的平板，根据菌落形态分别计数霉菌和酵母菌数。

霉菌蔓延生长至覆盖整个平板的可记录为菌落蔓延。

⑤结果计算

计算同一稀释度的两个平板菌落数的平均值，再将平均值乘以相应稀释倍数。

若有两个稀释度平板上菌落数均在 10CFU~150CFU 之间，则按照 GB 4789.2 的相应规定进行计算。

所有平板上菌落数均大于 150CFU，以最高稀释度的平均菌落数乘以稀释倍数计算。

所有平板上菌落数均小于 10CFU，以最低稀释度的平均菌落数乘以稀释倍数计算。

所有稀释度平板无菌落生长，以小于 1 乘以最低稀释倍数计算。

若所有稀释度的平板菌落数均不在 10CFU~150CFU 之间，其中一部分小于 10CFU 或大于 150CFU 时，则以最接近 10CFU 或 150CFU 的平均菌落数乘以稀释倍数计算。

⑥菌落总数的报告

菌落数按“四舍五入”原则修约，菌落数在 10 以内时，采用一位有效数字报告；菌落数在 10~100 之间时，采用两位有效数字报告。

菌落数大于或等于 100CFU 时，前 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 代替位数表示结果；也可用 10 的指数形式来表示，此时也按“四舍五入”原则修约，采用两位有效数字。

称重取样以 CFU/g 为单位报告，体积取样以 CFU/mL 为单位报告。

2 任务描述

3 任务要求

4 任务实施

5 评价反馈

5.1 学生评价

5.2 考核

5.3 反馈

6 思考题

简述霉菌、酵母菌的个体形态。

简述霉菌、酵母菌的菌落特征。

霉菌、酵母菌的最适 pH 值是多少？

霉菌、酵母菌的最适生长温度是多少？

5) 霉菌、酵母菌的最适生长时间是多少?

三、小结(4分钟)

总结霉菌和酵母菌的测定方法,霉菌和酵母菌计数结果分析和报告等知识。

四、布置复习思考题(1分钟)

- 1、简述霉菌、酵母菌的菌落特征。
- 2、霉菌、酵母菌结果分析(计算题)

参考资料:

主要参考书:

- 1、《食品微生物检验技术》 姚勇芳 主编 科学出版社
- 2、《食品微生物检验技术》 罗红霞 主编 中国农业大学出版社
- 3、《食品微生物检验技术》 李殿鑫 主编 华中科技大学出版社
- 4、《食品微生物检验技术》 刘用成 主编 中国轻工业出版社
- 5、《食品微生物检验技术》 魏明奎、段鸿斌主编 化学工业出版社
- 6、《食品微生物学》 何国庆 主编 中国农业大学出版社
- 7、《食品微生物学》 杨玉红 主编 中国轻工业出版社

学习情境十二 食品中金黄色葡萄球菌的检验

授课章节	学习情境十二 食品中金黄色葡萄球菌的检验				
课时安排	4 学时	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
教学主要内容：					
1 基础知识					
1.1 金黄色葡萄球菌检验的方法					
1.2 金黄色葡萄球菌 Baird-Parker 平板计数					
1.3 金黄色葡萄球菌 MPN 计数					
1.4 细菌性食物中毒					
2 任务描述					
3 任务要求					
4 任务实施					
5 评价反馈					
5.1 学生评价					
5.2 考核					
5.3 反馈					
6 思考题					
教学目标：					
一、知识目标					
1. 了解金黄色葡萄球菌的污染来源及危害。					
2. 熟悉金黄色葡萄球菌的生物学特性。					
3. 理解金黄色葡萄球菌定性检验和定量检验的异同点。					
二、能力目标					
1. 能依据样品的产品标准正确选择采样方案，规范采集样品。					
2. 能采用国标方法（定性方法、MPN 法、平板计数法）完成金黄色葡萄球菌的检验。					
3. 能准确分析样品中金黄色葡萄球菌的含量并出具报告。					
三、素质目标					
1. 增强食品质量安全责任感、安全生产意识。					
2. 遵纪守法、遵守规程，培养实事求是、严谨认真的科学态度。					

3. 提高观察、分析问题和解决问题的能力。

思政元素：遵守规程、求真务实、科学严谨的职业态度和遵纪守法、爱岗敬业、诚信自律的职业守则

教学重点：

金黄色葡萄球菌的测定和结果分析。

教学难点：

理解金黄色葡萄球菌测定的原理和结果分析方法。

教学方法及手段：

讲授、讨论、案例分析

教学过程设计：

一、学情分析和新课导入（5分钟）

学生已对致病菌的污染及危害有所了解，引入 2024 年韩国好丽友蛋黄派被检出金黄色葡萄球菌热搜话题以及 2022 年海口一学校学生因食用受金黄色葡萄球菌污染食物而出现呕吐腹泻等症状事件，引导学生关注身边的食品安全问题，认识致病菌污染并产生毒素的危害，培养学生的食品安全意识和社会责任感。通过金黄色葡萄球菌检验训练，培养学生遵守规程、求真务实、科学严谨的职业态度和遵纪守法、爱岗敬业、诚信自律的职业守则（思政元素）。

二、新课内容（170分钟）

学习情境十二 食品中金黄色葡萄球菌的检验

1 基础知识

1.1 金黄色葡萄球菌检验的方法

1) 材料工具

①设备、仪器

冰箱、恒温培养箱、恒温水浴锅、均质器或均质乳钵、振荡器、天平、菌落计数器或放大镜、无菌吸管、无菌锥形瓶、无菌培养皿、注射器、pH 计

②培养基和试剂

7.5%氯化钠肉汤

成分：蛋白胨 10.0g；牛肉膏 5.0g；氯化钠 75g；蒸馏水 1000mL

制法：将上述各成分加热溶解，调节 pH7.4，分装，每瓶 225mL，121℃高压灭菌 15min。

10%氯化钠胰酪胨大豆肉汤（2016版不用）

成分：胰酪胨 17.0g；植物蛋白胨 3.0g；氯化钠 100.0g；葡萄糖 2.5g；丙酮酸钠 10.0g；磷酸氢二钾 2.5g；蒸馏水 1000mL

制法：将上述各成分混合，加热，轻轻搅拌并溶解，调节 pH7.3±0.2，分装，每瓶 225mL，121℃高压灭菌 15min。

血琼脂平板

成分：豆粉琼脂 100mL；脱纤维兔血 5~10mL

制法：加热融化琼脂，冷却至 50℃，以无菌操作加入脱纤维兔血，摇匀，倾注平板。

Baird-Parker 琼脂平板

成分：胰蛋白胨 10.0g；牛肉膏 5.0g；酵母膏 1.0g；丙酮酸钠 10.0g；甘氨酸 12.0g；氯化锂 5.0g；琼脂 20.0g；蒸馏水 950mL

制法：

兔血浆

取柠檬酸钠 3.8g，加蒸馏水 100mL，溶解后过滤，装瓶，121℃高压灭菌 15min；取 3.8% 柠檬酸钠溶液一份，加兔全血四份，混好静置，使血液细胞下沉，即可得血浆。

营养琼脂小斜面

成分：蛋白胨 10.0g；牛肉膏 3.0g；氯化钠 5.0g；琼脂 15.0~20.0g；蒸馏水 1000mL。

制法：将除琼脂以外的各成分溶解于蒸馏水内，加入 15%氢氧化钠溶液约 2mL 调节 pH 至 7.2~7.4。加入琼脂，加热煮沸，使琼脂溶化，分装于 13mm×130mm 试管，121℃高压灭菌 15min。

脑心浸出液肉汤（BHI）

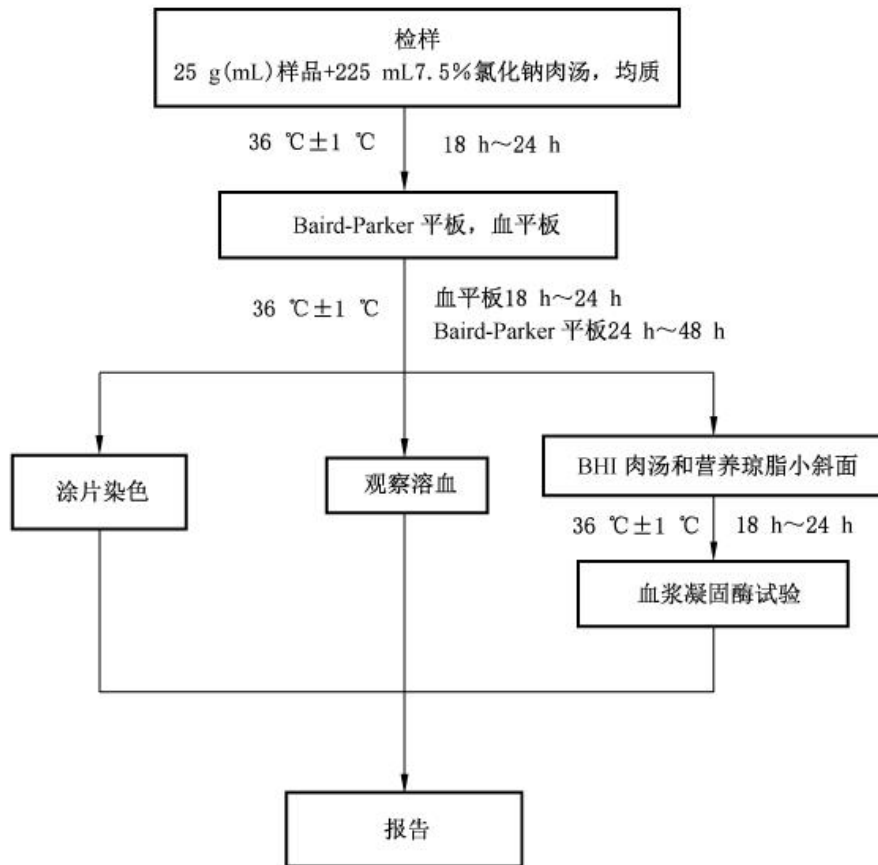
成分：胰蛋白胨 10.0g；氯化钠 5.0g；磷酸氢二钠 2.5g；葡萄糖 2.0g；牛心浸出液 500mL。

制法：加热溶解，调节 pH7.4±0.2，分装于 16mm×160mm 试管，每管 5mL 置 121℃高压灭菌 15min。

0.85%无菌生理盐水

磷酸盐缓冲溶液

2) 检验流程



3) 操作步骤

①样品的处理

25g 样品+225mL 7.5%氯化钠肉汤，均质；25mL 样品+225mL 7.5%氯化钠肉汤，混匀

②增菌

将上述样品匀液于 36°C±1°C培养 18h~24h。金黄色葡萄球菌在 7.5%氯化钠肉汤中呈混浊生长。

③分离

将增菌后的培养物，分别划线接种到 Baird-Parker 平板和血平板，血平板 36°C±1°C培养 18h~24h。Baird-Parker 平板 36°C±1°C培养 24h~48h。

④初步鉴定

金黄色葡萄球菌在 Baird-Parker 平板上呈圆形，表面光滑、凸起、湿润、菌落直径为 2mm~3mm，颜色呈灰黑色至黑色，有光泽，常有浅色（非白色）的边缘，周围绕以不透明圈（沉淀），其外常有一清晰带。当用接种针触及菌落时具有黄油样黏稠感。

在血平板上，形成菌落较大，圆形、光滑凸起、湿润、金黄色（有时为白色），菌落周围可见完全透明溶血圈。

⑤确证鉴定

染色镜检：革兰阳性球菌，排列呈葡萄球状，无芽孢，无荚膜，直径约为 $0.5\mu\text{m}\sim 1\mu\text{m}$ 。

血浆凝固酶试验：挑取 Baird-Parker 平板或血平板上至少 5 个可疑菌落（小于 5 个全选），分别接种到 5mL BHI 和营养琼脂小斜面， $36^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养 18~24h。取新鲜配制的兔血浆 0.5mL，放入小试管中，再加入 BHI 培养物 0.2~0.3mL，振荡摇匀，置 $36^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 温箱或水浴箱内，每半小时观察一次，观察 6h，如呈现凝固（即将试管倾斜或倒置时，呈现凝块）或凝固体积大于原体积的一半，判定为阳性结果。同时以血浆凝固酶试验阳性和阴性葡萄球菌菌株的肉汤培养物作为对照。结果如可疑，挑取营养琼脂小斜面的菌落到 5mL BHI， $36^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养 18~48h，重复试验。

⑥葡萄球菌肠毒素的检验

附录 5

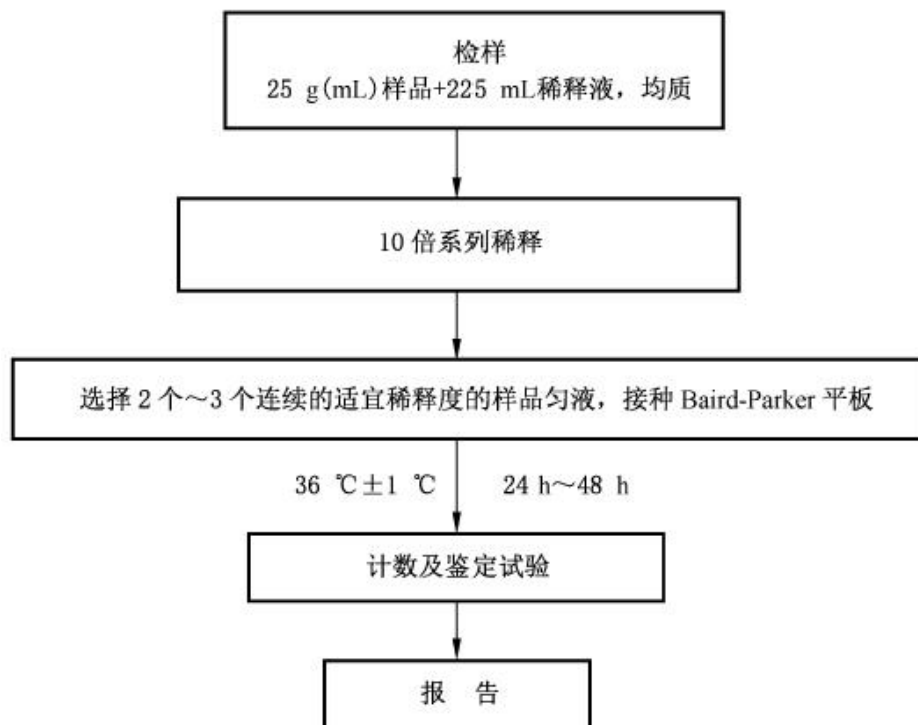
⑦结果与报告

结果判定：分离培养出现特征菌落，血浆凝固酶阳性，可判定为金黄色葡萄球菌。

结果报告：在 25g（mL）样品中检出或未检出金黄色葡萄球菌。

1.2 金黄色葡萄球菌 Baird-Parker 平板计数

1) 检验流程



2) 操作步骤

①样品的稀释

固体和半固体样品：25g 样品+225mL 稀释液，均质（或研磨、或加热溶解），制成 1:10 样品匀液

液体样品：25mL+225mL 稀释液，混匀，制成 1:10 样品匀液

稀释：1mL+9mL 稀释液，混匀（振摇或吹打），制成 1:100 样品匀液；按上述程序，制备系列 10 倍稀释样品匀液；每个稀释度换用 1 支无菌吸管

②样品的接种

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，在进行 10 倍递增稀释时，每个稀释度分别吸取 1mL 样品匀液以 0.3mL、0.3mL、0.4mL 接种量分别加入 3 块 Baird-Parker 平板，然后用无菌玻棒涂布平板接种。

③培养

涂布后，静置 10min，如样液不易吸收，可将平板放在培养箱 36°C±1°C 培养 1h；等样品匀液吸收后翻转平板，倒置后于 36°C±1°C 培养 24~48h。

④典型菌落计数和确认

如果只有一个稀释度平板的菌落数在 20 CFU~200 CFU 之间且有典型菌落，计数该稀释度平板上的典型菌落；

最低稀释度平板的菌落数小于 20 CFU 且有典型菌落，计数该稀释度平板上的典型菌落；

某一稀释度平板的菌落数大于 200 CFU 且有典型菌落，但下一稀释度平板上没有典型菌落，应计数该稀释度平板上的典型菌落；

某一稀释度平板的菌落数大于 200 CFU 且有典型菌落，且下一稀释度平板上有典型菌落，但其平板上的菌落数不在 20 CFU~200 CFU 之间，应计数该稀释度平板上的典型菌落。

2 个连续稀释度的平板菌落数均在 20 CFU~200 CFU 之间，按公式（2）计算。

⑤结果计算

$$T = \frac{AB}{Cd} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

T——样品中金黄色葡萄球菌菌落数；

A——某一稀释度典型菌落的总数；

B——某一稀释度血浆凝固酶阳性的菌落数；

C——某一稀释度用于血浆凝固酶试验的菌落数；

d——稀释因子。

$$T = \frac{A1B1/C1 + A2B2/C2}{1.1d} \dots\dots\dots (2)$$

式中：

- T*——样品中金黄色葡萄球菌菌落数；
- A1*——第一稀释度（低稀释倍数）典型菌落的总数；
- A2*——第二稀释度（高稀释倍数）典型菌落的总数；
- B1*——第一稀释度（低稀释倍数）血浆凝固酶阳性的菌落数；
- B2*——第二稀释度（高稀释倍数）血浆凝固酶阳性的菌落数；
- C1*——第一稀释度（低稀释倍数）用于血浆凝固酶试验的菌落数；
- C2*——第二稀释度（高稀释倍数）用于血浆凝固酶试验的菌落数；
- 1.1——计算系数；
- d*——稀释因子（第一稀释度）。

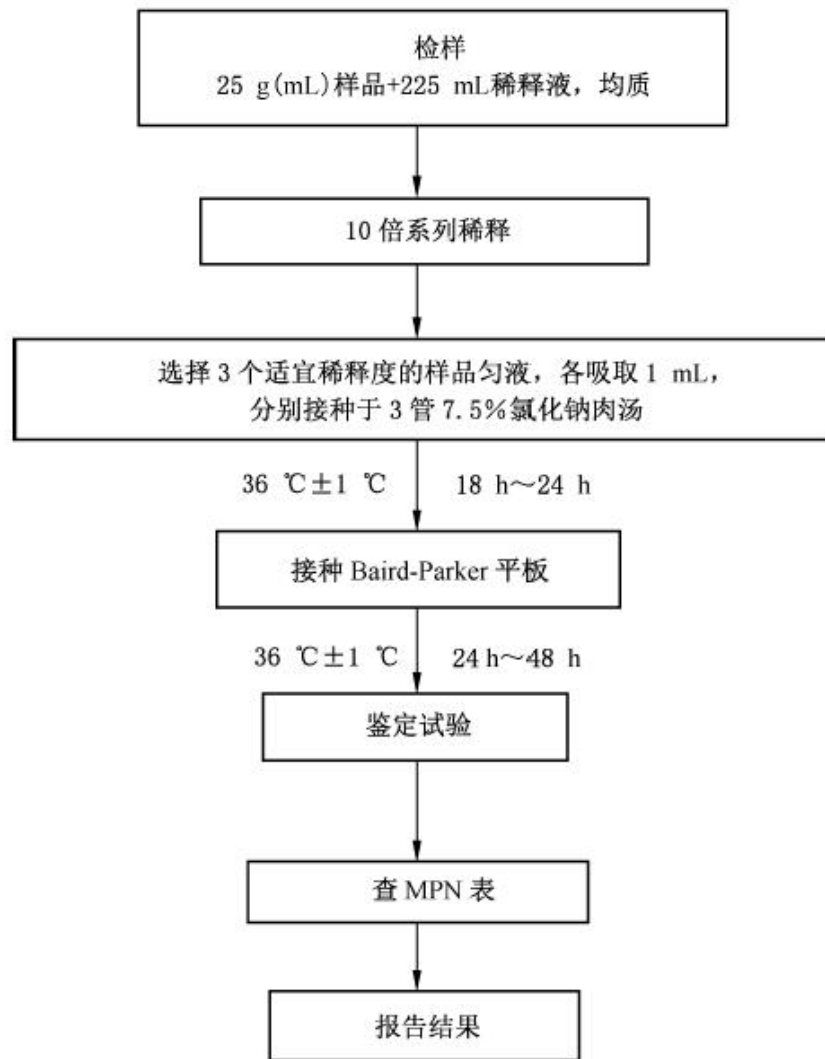
⑥结果与报告

根据 Baird-Parker 平板上金黄色葡萄球菌的典型菌落数，按公式计算，报告每克（毫升）样品中金黄色葡萄球菌数，以 CFU/g(mL)表示；

如 *T* 值为 0，则以小于 1 乘以最低稀释倍数报告。

1.3 金黄色葡萄球菌 MPN 计数

1) 检验流程



2) 操作步骤

① 样品稀释

同“金黄色葡萄球菌 Baird-Parker 平板计数”

② 接种和培养

根据对样品污染状况的估计, 选择 3 个适宜稀释度的样品匀液, 在进行 10 倍稀释时, 每个稀释度分别吸取 1 mL 样品匀液接种到 7.5% 氯化钠肉汤管 (如接种量超过 1 mL, 则用双料 7.5% 氯化钠肉汤), 每个稀释度接种 3 管, 于 $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养 18~24 h。

用接种环从培养后的 7.5% 氯化钠肉汤管中分别取培养物 1 环, 移种于 Baird-Parker 平板 $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养, 24 h~48 h。

③ 典型菌落确认

按第二法“典型菌落计数和确认”确认典型菌落。

④ 结果与报告

根据证实为金黄色葡萄球菌阳性的试管管数，查 MPN 检索表，报告每 g (mL) 样品中金黄色葡萄球菌的最可能数，以 MPN/g(mL)表示。

1.4 细菌性食物中毒

2 任务描述

3 任务要求

4 任务实施

5 评价反馈

5.1 学生评价

5.2 考核

5.3 反馈

6 思考题

- 1) 简述金黄色葡萄球菌的个体形态。
- 2) 在血平板和 Baird-Parker 平板培养基上生长金黄色葡萄球的典型菌落特征有哪些？
- 3) 金黄色葡萄球菌有哪些重要代谢产物？
- 4) 怎样鉴别病原性与非病原性葡萄球菌？

三、小结（4 分钟）

总结金黄色葡萄球菌定性检验、平板计数和 MPN 法的操作步骤以及结果分析和报告等知识。

四、布置复习思考题（1 分钟）

- 1、简述金葡在在血平板和 Baird-Parker 平板培养基上的典型菌落特征。
- 2、简述金黄色葡萄球菌的个体形态。

参考资料：

主要参考书：

- 1、《食品微生物检验技术》 姚勇芳 主编 科学出版社
- 2、《食品微生物检验技术》 罗红霞 主编 中国农业大学出版社
- 3、《食品微生物检验技术》 李殿鑫 主编 华中科技大学出版社
- 4、《食品微生物检验技术》 刘用成 主编 中国轻工业出版社
- 5、《食品微生物检验技术》 魏明奎、段鸿斌主编 化学工业出版社

- 6、《食品微生物学》 何国庆 主编 中国农业大学出版社
- 7、《食品微生物学》 杨玉红 主编 中国轻工业出版社

揭阳职业技术学院

课 程 教 案（实训指导）



课程名称：食品微生物检验技术（实验）

授课专业：食品检验检测技术

撰写人：谢桂勉

揭阳职业技术学院

实训(验)项目单

编制部门：生物工程系

编制人：谢桂勉

编制日期：2025.09.03

项目编号	1	项目名称	微检室使用规范及仪器设备使用方法	实训班级	食检 241/ 食检 (3+) 241	学时	3
课程名称	食品微生物检验技术 (实验)			教材	《食品微生物检验技术》		
教学目标	<p>一、知识目标</p> <ol style="list-style-type: none">1. 熟悉微检室的基本平面布局。2. 熟悉微检室常用的仪器设备。3. 了解微检室的质量控制规范。 <p>二、能力目标</p> <ol style="list-style-type: none">1. 能正确使用微检室，熟悉操作人出入路径和物品传递路径。2. 能正确使用微检室常用仪器设备。 <p>三、素质目标</p> <ol style="list-style-type: none">1. 培养学生科学、公正、实事求是的良好职业素质。2. 培养学生严谨的工作态度和守护百姓餐桌食品质量安全的责任感。 <p>思政元素：科学精神和创新意识</p>						
教学重点	微检室的平面布局和设备配套、微检室的使用规范和仪器设备的使用方法。						
教学难点	微检室的使用规范和仪器设备的使用方法。						
教学方法与	讲授、演示、过程指导						

手段		
更新、补充 删减内容		
仪器材料	<p>仪器：生物安全柜、超净工作台、培养箱、恒温水浴锅、显微镜等设备</p> <p>材料：GB/T 27405-2008《实验室质量控制规范 食品微生物检测》</p>	
教学过程设计		
操作原理与步骤	<p>1、学情分析和新课导入（2分钟）</p> <p>学生已学习《食品微生物学》，对食品微生物检验室有一定了解。介绍微生物发展史及微检室和设施设备的更新换代，让学生体会科学家不断钻研、勇于创新的奉献精神（思政元素）。通过现代食品微生物检验对微检室和相关仪器设备的要求导入新课。</p> <p>2、新课内容（120分钟）</p> <p>2.1 实验原理</p> <p>食品微生物检验室一般由准备室、洗涤室、灭菌室、无菌室、恒温培养室和普通实验室六部分组成。主要负责各类微生物项目的检测，主要检测项目有菌落总数、大肠菌群、霉菌、酵母菌、乳酸菌、双歧杆菌、罐头商业无菌、致病菌等。</p> <p>2.2 实验方法与步骤</p> <p>（1）参观微检室，了解微检室的平面布局和功能分区。</p> <p>（2）认识超净工作台等仪器设备的用途</p>	<p>设计意图/思政元素</p> <p>1、遵守微生物检验室的管理制度。</p> <p>2、遵守仪器设备的操作规程。</p> <p>3、注意生物安全和个人安全。</p> <p>4、思政元素：科学精神和创新意识。</p>

	<p>和使用方法。</p> <p>3、小结（10 分钟）</p> <p>总结微检室使用规范、仪器设备使用方法以及微检室的质量控制规范。</p> <p>4、布置复习思考题（3 分钟）</p> <p>根据实验目的布置复习思考题：（1）简述微检室的功能分区（2）简述 GB/T 27405-2008 对微生物无菌室基本要求及管理。</p>	
课外作业	无	
课后体会	根据实训开展情况，进行反思总结。	

实训（验）报告

评语						成绩	
						学时	
		教师签字		日期			
姓名		学号		班级		组别	
项目编号		项目名称					
课程名称				教材			
一、实训目的							
二、实验步骤							

续上表

三、结果记录与分析

1、结果记录

(1) 微检室的平面布局图

(2) 常用仪器设备清单

名称	型号	厂家	使用参数

2、结果分析

四、思考题

1、简述微检室的功能分区。

2、简述 GB/T 27405-2008 对微生物无菌室基本要求及管理。

附表

主要仪器设备、玻璃器皿清单（单组）					
名称	型号规格	产家	数量	使用时间	备注
合计					
耗材清单（单组）					
名称	型号规格	产家	用量	是否回收	备注
合计					

揭阳职业技术学院 实训(验)项目单

编制部门：生物工程系

编制人：谢桂勉

编制日期：2025.09.03

项目编号	2	项目名称	霉菌形态观察	实训 班级	食检 241/ 食检 (3+) 241	学时	3
课程名称	食品微生物检验技术 (实验)			教材	《食品微生物检验技术》		
教学目标	<p>一、知识目标</p> <p>1. 熟悉常见霉菌菌落及菌体形态特征。</p> <p>2. 熟悉霉菌标本片的制作方法。</p> <p>二、能力目标</p> <p>1. 掌握霉菌镜检观察方法。</p> <p>2. 掌握霉菌水浸片的制作方法。</p> <p>三、素质目标</p> <p>1. 培养学生科学、公正、实事求是的良好职业素质。</p> <p>2. 培养学生提高发现问题、分析问题、解决问题能力。</p> <p>3. 培训学生具有团结、组织、协助、语言表达等综合职业素质。</p> <p>思政元素：弘扬科学家精神</p>						
教学重点	霉菌的菌落及菌体形态特征、霉菌镜检观察方法。						
教学难点	霉菌镜检观察方法。						
教学方法与手段	讲授、演示、过程指导						
更新、补充							

删减内容		
仪器材料	<p>仪器及用具：显微镜、载玻片、盖玻片、镊子、接种环、酒精灯、洗瓶、废液缸等</p> <p>材料：霉菌标本片、乳酸苯酚固定液</p>	
教学过程设计		
操作原理与步骤	<p>1、学情分析和新课导入（2分钟）</p> <p>学生已学习霉菌的菌落及形态特征。</p> <p>通过“列文虎克发明显微镜”的微视频导入新课，弘扬科学家精神（思政元素）。</p> <p>2、新课内容（120分钟）</p> <p>2.1 实验原理</p> <p>霉菌由粗大、有隔或无隔分支状菌丝构成，菌丝分为基质菌丝和气生菌丝。气生菌丝特化结构上产生多种无性、有性孢子。孢子着生部位、排列方式以及形态是真菌鉴定的重要依据。观察霉菌菌丝体及孢子的形态有多种方法，如制片观察法、载片培养观察法、插片培养观察法、粘片观察法等。</p> <p>2.2 实验方法与步骤</p> <p>（1）霉菌菌落形态观察。</p> <p>（2）霉菌镜检观察。</p> <p>3、小结（10分钟）</p> <p>总结霉菌菌落及菌体形态特征、霉菌镜检观察方法。</p> <p>5、布置复习思考题（3分钟）</p>	<p>设计意图/思政元素</p> <p>1、遵守微生物检验室的管理制度。</p> <p>2、遵守仪器设备的操作规程。</p> <p>3、注意生物安全和个人安全。</p> <p>4、思政元素：弘扬科学家精神。</p>

	根据实验目的布置复习思考题：（1）简述各类常见霉菌的形态特征。（2）简述霉菌菌落与细菌菌落的差别。	
课外作业	查阅霉菌标本制片的方法。	
课后体会	根据实训开展情况，进行反思总结。	

续上表

三、结果记录与分析

1、结果记录

(1) 描述霉菌菌落特征

(2) 绘制镜检下霉菌形态特征

2、结果分析

四、思考题

1、简述各类常见霉菌的形态特征。

2、简述霉菌菌落与细菌菌落的差别。

附表

主要仪器设备、玻璃器皿清单（单组）					
名称	型号规格	产家	数量	使用时间	备注
合计					
耗材清单（单组）					
名称	型号规格	产家	用量	是否回收	备注
合计					

揭阳职业技术学院 实训(验)项目单

编制部门：生物工程系

编制人：谢桂勉

编制日期：2025.09.03

项目编号	3	项目名称	酵母菌活体染色及死亡率的测定	实训班级	食检 241/ 食检(3+) 241	学时	3
课程名称	食品微生物检验技术(实验)			教材	《食品微生物检验技术》		
教学目标	<p>一、知识目标</p> <p>1. 熟悉酵母菌的形态。</p> <p>2. 熟悉酵母菌活体染色及死亡率测定的原理。</p> <p>二、能力目标</p> <p>1. 掌握用显微镜观察酵母菌形态的方法。</p> <p>2. 能正确区分酵母菌死、活细胞并进行死亡率计算。</p> <p>三、素质目标</p> <p>1. 培养学生科学、公正、实事求是的良好职业素质。</p> <p>2. 培养学生提高发现问题、分析问题、解决问题能力。</p> <p>3. 培训学生具有团结、组织、协助、语言表达等综合职业素质。</p> <p>思政元素：科学、公正、实事求是的良好职业素质</p>						
教学重点	用显微镜观察酵母菌形态的方法及区分酵母死、活细胞的方法。						
教学难点	区分酵母菌死、活细胞的实验方法及死亡率计算方法。						
教学方法与手段	讲授、演示、过程指导						

更新、补充 删减内容		
仪器材料	<p>仪器及用具：显微镜、载玻片、盖玻片、吸水纸、胶头滴管、擦镜纸</p> <p>材料：酵母菌、0.05%美蓝染液</p>	
教学过程设计		
操作原理与步骤	<p>1、学情分析和新课导入（2分钟）</p> <p> 学生已学习酵母菌的基本形态特征。</p> <p> 通过“如何判断酵母的活性”引入新课。</p> <p>2、新课内容（120分钟）</p> <p>2.1 实验原理</p> <p> 通过美蓝染液水浸片观察酵母菌的形态和出芽生殖方式。美蓝是一种无毒性的染料，它的氧化型呈蓝色，还原型无色，用美蓝对酵母的活细胞进行染色时，由于细胞的新陈代谢作用，细胞内具有较强的还原能力，能使美蓝由蓝色的氧化型变为无色的还原型。因此，具有还原能力的酵母活细胞是无色的，而死细胞或代谢作用微弱的衰老细胞则呈蓝色或浅蓝色，借此可对酵母菌的死细胞和活细胞进行鉴别。</p> <p>2.2 实验方法与步骤</p> <p> （1）酵母菌的活体染色观察。</p> <p> （2）死亡率的测定。</p> <p> （3）废弃物处理。</p> <p> 通过实践过程，培养学生科学、公正、实事求是的良好职业素质（思政元素）。</p>	<p>设计意图/思政元素</p> <p>1、遵守微生物检验室的管理制度。</p> <p>2、遵守仪器设备的操作规程。</p> <p>3、注意生物安全和个人安全。</p> <p>4、思政元素：科学、公正、实事求是的良好职业素质。</p>

	<p>3、小结（10 分钟）</p> <p>总结酵母菌活体染色及死亡率的测定方法。</p> <p>6、布置复习思考题（3 分钟）</p> <p>根据实验目的布置复习思考题：（1）死、活细胞染色鉴别方法的原理是什么？</p> <p>（2）在进行酵母菌死亡率统计时，随着时间的延长，统计结果可能会有什么变化？试分析其中的原因。</p>	
<p>课外作业</p>	<p>查阅酵母菌活性的测定方法。</p>	
<p>课后体会</p>	<p>根据实训开展情况，进行反思总结。</p>	

续上表

三、结果记录与分析

1、结果记录

视野	1	2	3	均值
死亡数				
细胞总数				
死亡率/%				
染色 10min 后的记录结果				
死亡数				
细胞总数				
死亡率/%				

2、结果分析

(1) 死活细胞的计数：在一个视野里计数死细胞和活细胞数，共计数 5~6 个视野，取平均数。

(2) 死亡率计算：死亡率=死细胞总数/死活细胞总数×100%

四、思考题

1、死、活细胞染色鉴别方法的原理是什么？

2、在进行酵母菌死亡率统计时，随着时间的延长，统计结果可能会有什么变化？试分析其中的原因。

附表

主要仪器设备、玻璃器皿清单（单组）					
名称	型号规格	产家	数量	使用时间	备注
合计					
耗材清单（单组）					
名称	型号规格	产家	用量	是否回收	备注
合计					

揭阳职业技术学院 实训(验)项目单

编制部门：生物工程系

编制人：谢桂勉

编制日期：2025.09.03

项目编号	4	项目名称	微生物接种与培养技术	实训班级	食检 241/ 食检(3+) 241	学时	3
课程名称	食品微生物检验技术(实验)			教材	《食品微生物检验技术》		
教学目标	<p>一、知识目标</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 熟悉微生物常用培养基以及微生物培养条件。 2. 熟悉微生物纯培养、接种技术的定义。 <p>二、能力目标</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 掌握各种微生物的接种技术。 2. 掌握微生物平板划线分离菌种的方法。 <p>三、素质目标</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 培养学生科学、公正、实事求是的良好职业素质。 2. 培养学生提高发现问题、分析问题、解决问题能力。 3. 培训学生具有团结、组织、协助、语言表达等综合职业素质。 4. 培养学生严谨的工作态度和守护百姓餐桌食品质量安全的责任感。 <p>思政元素：科学严谨的工作态度</p>						
教学重点	微生物各种接种技术及划线分离方法。						
教学难点	微生物划线分离方法。						
教学方法与	讲授、演示、过程指导						

手段			
更新、补充 删减内容			
仪器材料	<p>仪器：超净工作台、培养箱、酒精灯、打火机、镊子、接种环、接种针、试管架、洗耳球、记号笔、三角瓶、量筒、试管、吸量管、培养皿、洗瓶、废物筐、废液缸</p> <p>材料：大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、无菌牛肉膏蛋白胨培养基</p>		
教学过程设计			
操作原理与步骤	<table border="1"> <tr> <td> <p>1、学情分析和新课导入（2分钟）</p> <p>学生已学习微生物各类接种技术的要点。通过微生物检验无菌操作的要求引入新课，培养学生科学严谨的工作态度（思政元素）。</p> <p>2、新课内容（120分钟）</p> <p>2.1 实验原理</p> <p>微生物的接种技术是微生物学研究的一项最基本的操作技术。将一种微生物移到另一种灭菌的培养基上称为接种。根据不同的目的可采用不同的接种方法，如斜面接种、液体接种、平板接种、穿刺接种等。</p> <p>2.2 实验方法与步骤</p> <p>（1）接种前准备。</p> <p>（2）斜面接种。</p> <p>（3）穿刺接种。</p> <p>（4）液体接种。</p> </td> <td> <p>设计意图/思政元素</p> <p>1、遵守微生物检验室的管理制度。</p> <p>2、遵守仪器设备的操作规程。</p> <p>3、注意生物安全和个人安全。</p> <p>4、思政元素：科学严谨的工作态度。</p> </td> </tr> </table>	<p>1、学情分析和新课导入（2分钟）</p> <p>学生已学习微生物各类接种技术的要点。通过微生物检验无菌操作的要求引入新课，培养学生科学严谨的工作态度（思政元素）。</p> <p>2、新课内容（120分钟）</p> <p>2.1 实验原理</p> <p>微生物的接种技术是微生物学研究的一项最基本的操作技术。将一种微生物移到另一种灭菌的培养基上称为接种。根据不同的目的可采用不同的接种方法，如斜面接种、液体接种、平板接种、穿刺接种等。</p> <p>2.2 实验方法与步骤</p> <p>（1）接种前准备。</p> <p>（2）斜面接种。</p> <p>（3）穿刺接种。</p> <p>（4）液体接种。</p>	<p>设计意图/思政元素</p> <p>1、遵守微生物检验室的管理制度。</p> <p>2、遵守仪器设备的操作规程。</p> <p>3、注意生物安全和个人安全。</p> <p>4、思政元素：科学严谨的工作态度。</p>
<p>1、学情分析和新课导入（2分钟）</p> <p>学生已学习微生物各类接种技术的要点。通过微生物检验无菌操作的要求引入新课，培养学生科学严谨的工作态度（思政元素）。</p> <p>2、新课内容（120分钟）</p> <p>2.1 实验原理</p> <p>微生物的接种技术是微生物学研究的一项最基本的操作技术。将一种微生物移到另一种灭菌的培养基上称为接种。根据不同的目的可采用不同的接种方法，如斜面接种、液体接种、平板接种、穿刺接种等。</p> <p>2.2 实验方法与步骤</p> <p>（1）接种前准备。</p> <p>（2）斜面接种。</p> <p>（3）穿刺接种。</p> <p>（4）液体接种。</p>	<p>设计意图/思政元素</p> <p>1、遵守微生物检验室的管理制度。</p> <p>2、遵守仪器设备的操作规程。</p> <p>3、注意生物安全和个人安全。</p> <p>4、思政元素：科学严谨的工作态度。</p>		

	<p>(5) 平板接种。</p> <p>(6) 培养。</p> <p>3、小结（10 分钟）</p> <p>总结微生物斜面接种、穿刺接种、液体接种和平板接种等接种技术以及微生物培养技术。</p> <p>7、布置复习思考题（3 分钟）</p> <p>根据实验目的布置复习思考题：（1）为什么从事微生物实验工作的最基本要求是无菌操作？（2）划线分离时为什么每次都要将接种环上的剩余物烧掉？</p>	
课外作业	查阅微生物分离纯化的技术进展。	
课后体会	根据实训开展情况，进行反思总结。	

实训（验）报告

评语	教师签字					成绩	
						学时	
姓名		学号		班级		组别	
项目编号		项目名称					
课程名称				教材			
一、实训目的							
二、实验步骤							

续上表

三、结果记录与分析

1、结果记录

(1) 接种情况

菌名	培养基名称	生长情况	接种方法	有无污染及原因

(2) 分离情况记录表

菌名	培养基名称	有无单个菌落	有无污染情况

2、结果分析

四、思考题

1、为什么从事微生物实验工作的最基本要求是无菌操作？

2、划线分离时为什么每次都要将接种环上的剩余物烧掉？

附表

主要仪器设备、玻璃器皿清单（单组）					
名称	型号规格	产家	数量	使用时间	备注
合计					
耗材清单（单组）					
名称	型号规格	产家	用量	是否回收	备注
合计					

揭阳职业技术学院 实训(验)项目单

编制部门: 生物工程系

编制人: 谢桂勉

编制日期: 2025.09.03

项目编号	5	项目名称	空气中微生物的检验	实训班级	食检 241/ 食检(3+) 241	学时	3
课程名称	食品微生物检验技术(实验)			教材	《食品微生物检验技术》		
教学目标	<p>一、知识目标</p> <ol style="list-style-type: none">1. 了解食品生产环境空气中微生物的分布状况。2. 熟悉空气洁净度的定义和测定原理。 <p>二、能力目标</p> <ol style="list-style-type: none">1. 掌握沉降法测定空气中微生物的方法。2. 会根据沉降法测定结果评估生产环境空气洁净度。 <p>三、素质目标</p> <ol style="list-style-type: none">1. 培养学生科学、公正、实事求是的良好职业素质。2. 培养学生提高发现问题、分析问题、解决问题能力。3. 培训学生具有团结、组织、协助、语言表达等综合职业素质。4. 培养学生严谨的工作态度和守护百姓餐桌食品质量安全的责任感。 <p>思政元素: 环保意识</p>						
教学重点	空气中微生物的检测和计数的基本方法。						
教学难点	对无菌空气进行无菌程度检查。						

教学方法与手段	讲授、演示、过程指导	
更新、补充删减内容		
仪器材料	<p>仪器：超净工作台、培养箱、酒精灯、打火机、镊子、接种环、接种针、试管架、洗耳球、记号笔、三角瓶、量筒、试管、吸量管、培养皿、洗瓶、废物筐、废液缸</p> <p>材料：营养琼脂培养基、察氏培养基</p>	
教学过程设计		
操作原理与步骤	<p>1、学情分析和新课导入（2分钟）</p> <p>学生已学习环境中微生物的分布状况。通过生产车间对空气洁净度的要求引入新课，同时培养学生的环保意识（思政元素）。</p> <p>2、新课内容（120分钟）</p> <p>2.1 实验原理</p> <p>检测空气中微生物的方法分为沉降法、过滤法和撞击法三种。沉降法是将盛有培养基的培养皿放在空气中暴露一定时间，经培养后计算出其上所生长的菌落数。按奥梅梁计算法，认为在面积为 100cm² 培养基表面，5min 沉降下来的微生物，相当于 10L 空气中所含的微生物数。将具有一定表面积平板在空气中暴露 5min，然后将平板在 37℃ 培养 24h 通过平板上的菌落数计数出 1m³ 被检空气中的细菌数。</p> <p>2.2 实验方法与步骤</p> <p>（1）以无菌操作将已融化并冷却至 50℃ 的</p>	<p>设计意图/思政元素</p> <p>1、遵守微生物检验室的管理制度。</p> <p>2、遵守仪器设备的操作规程。</p> <p>3、注意生物安全和个人安全。</p> <p>4、思政元素：环保意识。</p>

	<p>营养琼脂、察氏培养基倒入培养皿中，各倒三个平板，放置凝固。</p> <p>(2) 在不同地点将培养皿分别打开，在空气中暴露 5min，立即将培养皿盖好，作上记号，并作空白对照。</p> <p>(3) 将上述营养琼脂培养基平板倒置于 37℃ 恒温培养箱培养 24h，察氏培养基平板倒置于 28℃ 恒温培养箱培养 48h，计算其生长菌落数，1~2d 后开始连续观察，注意不同类别的菌落出现的顺序及菌落的大小、形状、颜色、干湿等的变化。</p> <p>(4) 计算：根据奥氏公式，计算 1m³ 被检空气中的细菌数或霉菌数。空气中的细菌数或霉菌数 = $(N \times 100 \times 100) / \pi r^2$ 个/m³</p> <p>其中：N——5min 降落在平板上，经 37℃ 培养 24h 或 48h 所生长的菌落数；r——平皿底半径。</p> <p>3、小结（10 分钟）</p> <p>总结空气中微生物的检测和计数的基本方法和操作步骤，总结实验过程中的注意事项。</p> <p>布置复习思考题（3 分钟）</p> <p>根据实验目的布置复习思考题：（1）检测空气中的微生物数量的意义是什么？（2）影响空气中微生物检测结果的因素有哪些？（3）如何利用空气中微生物检测结果来评价环境空气质量？</p>	
<p>课外作业</p>	<p>查阅空气中微生物检测的研究进展。</p>	

课后体会

根据实训开展情况，进行反思总结。

实训（验）报告

评语	教师签字 日期					成绩	
						学时	
姓名		学号		班级		组别	
项目编号		项目名称					
课程名称				教材			
一、实训目的							
二、实验步骤							

续上表

三、结果记录与分析

1、结果记录

(1) 检测结果数据统计

平板	菌落数	菌落形态描述	细菌总数 / (个 /m ³)	平板	菌落数	菌落形态描述	细菌总数 / (个 /m ³)
1				1			
2				2			
3				3			
平均				平均			

2、结果分析

四、思考题

1、检测空气中的微生物数量的意义是什么？

2、影响空气中微生物检测结果的因素有哪些？

3、如何利用空气中微生物检测结果来评价环境空气质量？

附表

主要仪器设备、玻璃器皿清单（单组）					
名称	型号规格	产家	数量	使用时间	备注
合计					
耗材清单（单组）					
名称	型号规格	产家	用量	是否回收	备注
合计					

揭阳职业技术学院 实训(验)项目单

编制部门：生物工程系

编制人：谢桂勉

编制日期：2025.09.03

项目编号	6	项目名称	细菌的生理生化反应	实训班级	食检 241/ 食检(3+) 241	学时	3
课程名称	食品微生物检验技术(实验)			教材	《食品微生物检验技术》		
教学目标	<p>一、知识目标</p> <ol style="list-style-type: none">1. 熟悉细菌常见的生理生化反应原理。2. 了解生理生化反应在鉴别细菌中的意义。 <p>二、能力目标</p> <ol style="list-style-type: none">1. 掌握细菌鉴定中常见的生理生化反应方法。2. 能够利用 IMViC 试验判别大肠杆菌、产气肠杆菌等微生物。 <p>三、素质目标</p> <ol style="list-style-type: none">1. 培养学生科学、公正、实事求是的良好职业素质。2. 培养学生提高发现问题、分析问题、解决问题能力。3. 培训学生具有团结、组织、协助、语言表达等综合职业素质。 <p>思政元素：弘扬科学家精神</p>						
教学重点	细菌的生理生化反应(V-P 反应、甲基化实验、吲哚实验、糖酵解试验)原理、实验步骤及结果分析方法。						
教学难点	细菌的生理生化反应(V-P 反应、甲基化实验、吲哚实验、糖酵解试验)原理及结果分析方法。						
教学方法与手段	讲授、演示、过程指导						

更新、补充 删减内容		
仪器材料	<p>仪器：超净工作台、培养箱、高压灭菌锅、酒精灯、打火机、镊子、接种环、试管架、洗耳球、移液枪、滴管、记号笔、三角瓶、量筒、试管、吸量管、洗瓶、废物筐、废液缸</p> <p>材料：大肠杆菌、产气肠杆菌、普通变形菌、枯草芽孢杆菌；葡萄糖蛋白胨水培养基、蛋白胨水培养基、糖发酵培养基（葡萄糖、乳糖或蔗糖）、V-P 试剂、甲基红试剂、吲哚试剂</p>	
教学过程设计		
操作原理与步骤	<p>1、学情分析和新课导入（2 分钟）</p> <p>学生已学习细菌的合成与分解代谢。</p> <p>通过微生物生理生化试验的开拓者是路易斯·巴斯德的微视频引入新课(思政元素)。</p> <p>2、新课内容（120 分钟）</p> <p>2.1 实验原理</p> <p>通过测定微生物细胞内某些酶类的有无、对某些底物的利用能力、代谢产物的类型等 来研究微生物代谢的多样性。某些细菌产生色氨酸酶.能分解培养基蛋白胨中的色氨酸 产生吲哚，吲哚与对二甲基氨基苯甲醛发生反应，形成红色的玫瑰吲哚，为吲哚反应阳 性。微生物发酵葡萄糖成丙酮酸，2 分子丙酮酸缩合脱羧成乙酰甲基甲醇。乙酰甲基甲醇 在碱性条件下与肌酸类物质反应，生成红色化合物为 V-P 试 验 (Voges-Prokauer test) 反 应阳性。有些细菌发酵糖类产生有机酸较多，使发酵液的 pH 值下降到 4.2 以下，当加入甲基红试剂后，若发酵液变红色，为甲基红反应阳性。某</p>	<p>设计意图/思政元素</p> <p>1、遵守微生物检验室的管理制度。</p> <p>2、遵守仪器设备的操作规程。</p> <p>3、注意生物安全和个人安全。</p> <p>4、思政元素：弘扬科学家精神。</p>

	<p>种微生物能以某种糖类为碳源，产酸产气，则判断为发酵这种糖。</p> <p>2.2 实验方法与步骤</p> <p>(1) V-P 反应</p> <p>(2) 甲基红实验</p> <p>(3) 吲哚实验</p> <p>(4) 糖发酵试验</p> <p>(5) 废弃物处理</p> <p>3、小结（10 分钟）</p> <p>总结细菌的生理生化反应（V-P 反应、甲基化实验、吲哚实验、糖酵解试验）原理、实验步骤及结果分析方法，点评学生实验结果。</p> <p>布置复习思考题（3 分钟）</p> <p>根据实验目的布置复习思考题：（1）在吲哚试验和硫化氢产生试验中细菌各分解哪种氨基酸？（2）细菌生理生化反应中为什么要设空白对照？</p>	
课外作业	查阅细菌生理生化实验研究的技术进展。	
课后体会	根据实训开展情况，进行反思总结。	

实训（验）报告

评语	教师签字 日期					成绩	
						学时	
姓名		学号		班级		组别	
项目编号		项目名称					
课程名称				教材			
一、实训目的							
二、实验步骤							

续上表

三、结果记录与分析

1、结果记录

生理生化反应实验结果

菌名	大肠杆菌	产气肠杆菌	普通变形菌	枯草芽孢杆菌	对照
V-P 反应					
甲基红实验					
吲哚实验					
糖发酵试验					

2、结果分析

四、思考题

1、在吲哚试验和硫化氢产生试验中细菌各分解哪种氨基酸？

2、细菌生理生化反应中为什么要设空白对照？

附表

主要仪器设备、玻璃器皿清单（单组）					
名称	型号规格	产家	数量	使用时间	备注
合计					
耗材清单（单组）					
名称	型号规格	产家	用量	是否回收	备注
合计					

揭阳职业技术学院 实训(验)项目单

编制部门：生物工程系

编制人：谢桂勉

编制日期：2025.09.03

项目编号	7	项目名称	乳粉中菌落总数的测定（常规操作）	实训班级	食检 241/ 食检(3+) 241	学时	3
课程名称	食品微生物检验技术（实验）			教材	《食品微生物检验技术》		
教学目标	<p>一、知识目标</p> <ol style="list-style-type: none">1. 熟悉菌落总数的定义。2. 熟悉菌落总数测定（常规操作）材料准备的工作。 <p>二、能力目标</p> <ol style="list-style-type: none">1. 掌握食品样品（固体）的制备方法。2. 掌握菌落总数测定（常规操作）的方法步骤。3. 掌握菌落总数报告的方法。 <p>三、素质目标</p> <ol style="list-style-type: none">1. 培养学生科学、公正、实事求是的良好职业素质。2. 培养学生提高发现问题、分析问题、解决问题能力。3. 培训学生具有团结、组织、协助、语言表达等综合职业素质。4. 培养学生严谨的工作态度和守护百姓餐桌食品质量安全的责任感。 <p>思政元素：守护食品安全的责任感</p>						
教学重点	菌落总数的测定的原理和方法、微生物检验的采样、处理。						
教学难点	菌落总数的测定的原理和方法、微生物检验的采样、处理。						

教学方法与手段	讲授、演示、过程指导	
更新、补充删减内容		
仪器材料	<p>仪器：超净工作台、培养箱、酒精灯、打火机、镊子、接种环、接种针、试管架、洗耳球、记号笔、三角瓶、量筒、试管、吸量管、培养皿、洗瓶、废物筐、废液缸</p> <p>材料：平板计数琼脂培养基、氯化钠、乳粉</p>	
教学过程设计		
操作原理与步骤	<p>1、学情分析和新课导入（2分钟）</p> <p>学生已学习细菌数量的衡量方法和菌落总数的概念。根据乳粉产品标准中关于菌落总数的规定引入新课，激发学生守护食品质量安全的责任感（思政元素）。</p> <p>2、新课内容（120分钟）</p> <p>2.1 实验原理</p> <p>菌落总数是指食品检样经过处理，在一定条件下（如培养基、培养温度和培养时间等）培养后，所得每 g（mL）检样中形成的微生物菌落总数。平板菌落计数法是一种最常用的活菌计数法。取一定体积的稀释菌液与合适的固体培养基在其凝固前均匀混合，或涂布于已凝固的固体培养基平板上。经保温培养后，由每个单细胞生长繁殖而形成肉眼可见的菌落，即一个单菌落应代表原样品中的一个单细胞。统计菌落数，根据其</p>	<p>设计意图/思政元素</p> <p>1、遵守微生物检验室的管理制度。</p> <p>2、遵守仪器设备的操作规程。</p> <p>3、注意生物安全和个人安全。</p> <p>4、思政元素：守护食品质量安全的责任感。</p>

	<p>稀释倍数和取样接种量即可换算出样品中的含菌数。</p> <p>2.2 实验方法与步骤</p> <p>(1) 样品稀释</p> <p>(2) 培养</p> <p>(3) 菌落计数</p> <p>(4) 结果报告</p> <p>3、小结（10 分钟）</p> <p>总结菌落总数的测定的原理和方法、微生物检验的采样和处理, 点评学生的操作过程及结果。</p> <p>布置复习思考题（3 分钟）</p> <p>根据实验目的布置复习思考题：（1）比较平板菌落计数法与显微镜直接计数法的优缺点。（2）为什么每个稀释度要换用一支吸量管？</p>	
课外作业	查阅微生物数量衡量方法的研究进展。	
课后体会	根据实训开展情况, 进行反思总结。	

实训（验）报告

评语	教师签字 日期					成绩	
						学时	
姓名		学号		班级		组别	
项目编号		项目名称					
课程名称				教材			
一、实训目的							
二、实验步骤							

续上表

三、结果记录与分析

1、结果记录

稀释度							空白对照	
	1	2	1	2	1	2	1	2
菌落计数								
菌落总数 cfu/g								

2、结果分析

四、思考题

1、比较平板菌落计数法与显微镜直接计数法的优缺点？

2、为什么每个稀释度要换用一支吸量管？

附表

主要仪器设备、玻璃器皿清单（单组）					
名称	型号规格	产家	数量	使用时间	备注
合计					
耗材清单（单组）					
名称	型号规格	产家	用量	是否回收	备注
合计					

揭阳职业技术学院

实训(验)项目单

编制部门：生物工程系

编制人：谢桂勉

编制日期：2025.09.03

项目编号	8	项目名称	固体饮料中大肠菌群的计数(MPN法, 常规操作)	实训班级	食检 241/ 食检(3+) 241	学时	3
课程名称	食品微生物检验技术(实验)			教材	《食品微生物检验技术》		
教学目标	<p>一、知识目标</p> <ol style="list-style-type: none">1. 熟悉大肠菌群的定义。2. 熟悉大肠菌群计数(MPN法, 常规操作)材料准备的工作。 <p>二、能力目标</p> <ol style="list-style-type: none">1. 掌握大肠菌群计数(MPN法, 常规操作)的方法步骤。2. 掌握大肠菌群计数(MPN法, 常规操作)结果报告的方法。 <p>三、素质目标</p> <ol style="list-style-type: none">1. 培养学生科学、公正、实事求是的良好职业素质。2. 培养学生提高发现问题、分析问题、解决问题能力。3. 培训学生具有团结、组织、协助、语言表达等综合职业素质。4. 培养学生严谨的工作态度和守护百姓餐桌食品质量安全的责任感。 <p>思政元素：守护食品安全的责任感</p>						
教学重点	大肠菌群的定义、大肠菌群的测定方法(MPN法)和结果报告方法。						
教学难点	大肠菌群 MPN 计数法及结果分析报告。						

教学方法与手段	讲授、演示、过程指导	
更新、补充删减内容		
仪器材料	<p>仪器：超净工作台、培养箱、酒精灯、打火机、镊子、接种环、接种针、试管架、洗耳球、记号笔、三角瓶、量筒、试管、吸量管、培养皿、洗瓶、废物筐、废液缸</p> <p>材料：月桂基硫酸盐胰蛋白胨肉汤、煌绿乳糖胆盐肉汤、氯化钠、固体饮料</p>	
教学过程设计		
操作原理与步骤	<p>1、学情分析和新课导入（2分钟）</p> <p>学生已学习食品卫生学指标及评价方法。通过检测某固体饮料大肠菌群指标以及该样品是否受到污染的评价的要求引入新课，激发学生守护食品质量安全的责任感（思政元素）。</p> <p>2、新课内容（120分钟）</p> <p>2.1 实验原理</p> <p>大肠菌群是指在一定培养条件下能发酵乳糖、产酸产气的需氧和兼性厌氧革兰氏阴性无芽胞杆菌。MPN法是统计学和微生物学结合的一种定量检测法。待测样品经系列稀释并培养后，根据其未生长的最低稀释度与生长的最高稀释度，应用统计学概率论推算出待测样品中大肠菌群的最大可能数。</p> <p>2.2 实验方法与步骤</p>	<p>设计意图/思政元素</p> <p>1、遵守微生物检验室的管理制度。</p> <p>2、遵守仪器设备的操作规程。</p> <p>3、注意生物安全和个人安全。</p> <p>4、思政元素：守护食品质量安全的责任感。</p>

	<p>(1) 样品稀释</p> <p>(2) 初发酵试验</p> <p>(3) 复发酵试验 (证实实验)</p> <p>(4) 大肠菌群最可能数 (MPN) 的报告</p> <p>3、小结 (10 分钟)</p> <p>总结大肠菌群的定义、大肠菌群 MPN 计数法检验原理及实验方法, 评价学生的实验结果。</p> <p>布置复习思考题 (3 分钟)</p> <p>根据实验目的布置复习思考题: (1) 检验固体饮料中大肠菌群有何意义? (2) 当试验的样品用量 (体积) 与 MPN 表不一致时, 结果怎样计算?</p>	
课外作业	查阅大肠菌群检测的技术进展。	
课后体会	根据实训开展情况, 进行反思总结。	

实训（验）报告

评语	教师签字 日期					成绩	
						学时	
姓名		学号		班级		组别	
项目编号		项目名称					
课程名称				教材			
一、实训目的							
二、实验步骤							

续上表

三、结果记录与分析

1、结果记录

样品用量			
试验管数			
初发酵阳性管数			
复发酵阳性管数			

2、结果分析

四、思考题

1、检验固体饮料中大肠菌群有何意义？

2、当试验的样品用量（体积）与 MPN 表不一致时，结果怎样计算？

附表

主要仪器设备、玻璃器皿清单（单组）					
名称	型号规格	产家	数量	使用时间	备注
合计					
耗材清单（单组）					
名称	型号规格	产家	用量	是否回收	备注
合计					