



GAODENG XUEXIAO ZHUANYE JIAOCAI

• 高等学校专业教材 •

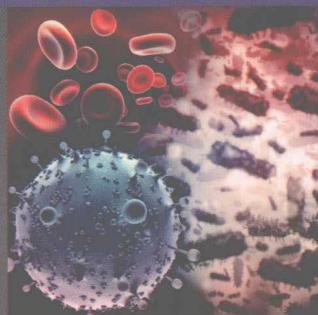
[高校教材]

食品微生物检验

刘斌 主 编

李志明 赵超 副主编

MICROBIOLOGICAL EXAMINATION
OF FOOD



中国轻工业出版社 | 全国百佳图书出版单位

高等学校专业教材

食品微生物检验

主 编 刘 斌

副主编 李志明 赵 超



图书在版编目(CIP)数据

食品微生物检验/刘斌主编. —北京:中国轻工业出版社,2013.1

高等学校专业教材

ISBN 978-7-5019-9073-3

I. ①食… II. ①刘… 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(2012)第 269513 号

责任编辑:李亦兵 张 磊 责任终审:张乃柬 封面设计:锋尚设计
版式设计:宋振全 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:北京君升印刷有限公司

经 销:各地新华书店

版 次:2013 年 1 月第 1 版第 1 次印刷

开 本:787 × 1092 1/16 印张:10.25

字 数:233 千字

书 号:ISBN 978-7-5019-9073-3 定价:22.00 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

110560J1X101ZBW

本书编委会成员

主 编 刘 斌(福建农林大学)

**副主编 李志明(国家副食品质量监督检验中心)
赵 超(福建农林大学)**

编 者 (按拼音顺序排列)

姜德铭(国家副食品质量监督检验中心)
江玉姬(福建农林大学)
宁 芊(福建农林大学)
王良玉(福建师范大学福清分校)
杨 玉(福建省福清市质量技术监督局)
郑亚凤(福建农林大学)
周 辉(福建农林大学)

审 稿 何国庆(浙江大学)

前　　言

科学技术推动了现代工业、农业和商业的迅速发展,也推动了人类社会的进步和人们生活水平的提高,但也导致了资源的过度开发、生态的破坏和环境的污染,致使人类的生存环境和食物的生产环境恶化。近年来,在世界范围内频发的食品安全事件,对人们的健康和生命造成了巨大的威胁。据世界卫生组织统计,在全世界每年发生的数以亿计的食源性疾病中,70%是由于各种病原生物污染的食品和饮用水引起的。致病菌、病毒、真菌及其毒素、寄生虫等生物性危害是对食品安全最大的危害之一,也是食源性疾病的最大祸根之一。因此,学习食品微生物检验的基础知识,掌握微生物检验技术,加强食品微生物的检验工作,控制腐败微生物和病原微生物的活动,防止食品变质和食源性疾病的发生,是保证食品安全、保障人类健康的重要手段之一。

随着食品微生物检验技术的不断发展,食品微生物检验包含的内容也越来越多,而让教师和学生在有限的教与学的时间内,真正全面系统地掌握食品微生物检验的核心内容的合适的教材却不常见。本书作者作为在食品微生物检验一线的教学和科研人员,在综合了国内外一些最新的食品微生物检验学研究进展和书目的基础上,根据在教学过程中对食品微生物检验这门学科的理解及教学科研的积累,编写了本教材。本书以《中华人民共和国食品安全法》和2012版《食品安全标准》有关食品微生物学检验方法为依据,注重微生物基础知识与专业实验的有机衔接和食品微生物检验原理与技能的结合。学生修完本课程后,可独立完成微生物基础检验和符合国家标准要求的食品微生物检测方案设计、采样及样品处理、检验及结果分析、数据记录与报告等工作。

本书由福建农林大学刘斌教授担任主编,国家副食品质量监督检验中心的李志明高级工程师和福建农林大学赵超博士担任副主编。编写分工如下:第一章(赵超、江玉姬),第二章(李志明、杨玉、王良玉),第三章(李志明、姜德铭),第四章、第五章(刘斌、宁芊),第六章(郑亚凤、刘斌),第七章(周辉、赵超、刘斌),第八章(李志明)。刘斌教授负责全书的统稿定稿,浙江大学何国庆教授对全书进行了审阅。同时,本书的出版还得到了福建农林大学教材出版基金的大力支持,在此一并表示感谢。

鉴于食品安全新情况、新问题的不断发生,食品微生物检验新标准的不断出台,食品微生物检验新技术的不断发展,加上编写人员的学识和写作水平有限,书中难免有不足和疏漏之处,敬请广大读者、同行和专家批评指正。

编者
2012年8月于福州

目 录

第一章 绪论	1
第一节 食品的微生物污染来源与途径	1
一、食品的微生物污染源	1
二、食品的微生物污染途径	3
第二节 食品中有害微生物对人类和生产的影响	3
一、引起食品变质	3
二、引起食物中毒	4
三、导致人体患病	4
第三节 食品微生物检验的目的、任务及意义	4
一、食品微生物检验的目的	4
二、食品微生物检验的任务	4
三、食品微生物检验的意义	5
第四节 食品微生物检验的范围及指标	5
一、食品微生物检验的范围	5
二、食品微生物检验的指标	5
三、食品微生物检验技术的发展	6
复习题	8
参考文献	8
第二章 食品微生物检验条件及基本技术	9
第一节 食品微生物检验条件	9
一、微生物实验室	9
二、无菌室的建设	10
三、微生物实验室主要设备与器具	12
第二节 微生物检验基本技术	20
一、细菌形态学检验技术	20
二、培养基制备技术	27
三、微生物的分离、纯化与接种技术	31
复习题	34
参考文献	35
第三章 食品微生物生化试验与抗原 - 抗体反应	36
第一节 微生物生化试验	36

一、与糖源类有关试验	36
二、尿素、氨基酸和蛋白质有关试验	37
三、有机酸为唯一碳源试验和葡萄糖胺试验	39
四、与呼吸有关的酶类试验	40
五、毒性酶类试验	41
第二节 抗原 - 抗体反应	41
一、抗原与抗体	41
二、单克隆抗体与多克隆抗体	43
三、抗原 - 抗体反应	43
复习题	45
参考文献	45
 第四章 食品微生物检验的基本程序	46
第一节 检验样品的采集	46
一、采样的一般规则	46
二、样品的采集	46
三、采样方案	46
四、送检	47
第二节 食品样品的处理	48
一、检验前准备	48
二、检验样品的处理原则	48
第三节 食品样品的检验与报告	48
一、食品样品的检验	48
二、检验结果的报告	49
三、检验后样品的处理	50
复习题	50
参考文献	50
 第五章 各类食品微生物检验方法及其标准	51
第一节 食品中菌落总数及其测定	51
一、食品中菌落总数概述	51
二、检验前准备	52
三、检验方法	52
第二节 食品中大肠菌群的测定	55
一、食品中大肠菌群概述	55
二、检验前准备	56

目 录

三、大肠菌群 MPN 计数法检验方法	56
四、大肠菌群平板计数法检验方法	59
第三节 致病菌的检验	60
一、沙门菌的检验	60
二、志贺菌的检验	67
三、金黄色葡萄球菌的检验	73
四、副溶血性弧菌的检验	79
五、蜡样芽孢杆菌的检验	86
六、大肠杆菌 O157:H7 的检验	90
第四节 霉菌和酵母菌的测定	94
一、霉菌和酵母菌概述	94
二、检验前准备	95
三、检验方法	95
第五节 罐头食品商业无菌的检验	97
一、罐头食品商业无菌检验中的概念与定义	97
二、检验前准备	97
三、检验方法	98
复习题	102
参考文献	103
 第六章 食源性致病菌快速检测技术	104
第一节 免疫学检测技术	104
一、酶联免疫吸附检测	104
二、免疫磁性分离技术	106
三、免疫胶体金技术	107
四、应用实例	108
第二节 聚合酶链反应(PCR)等技术	109
一、依赖 PCR 的 DNA 指纹图谱技术	110
二、多重 PCR 检测技术(m-PCR)	110
三、实时荧光定量 PCR 技术	110
四、应用实例	111
第三节 基因芯片技术	112
一、芯片制备	113
二、样品制备	113
三、杂交反应	113
四、信号检测和结果分析	113

五、应用实例	114
第四节 其他快速检测方法	117
一、生物传感器技术	117
二、自动化仪器分析技术	117
三、“干片”法	118
四、综合法	118
复习题	119
参考文献	119
第七章 食品微生物检验学实验指导	120
第一节 水质卫生检测实验指导	120
一、菌落总数测定	120
二、大肠菌群检验	122
第二节 霉菌和酵母菌计数实验指导	126
第三节 沙门菌检验实验指导	127
第四节 金黄色葡萄球菌的检验实验指导	128
第五节 PCR 检测实验指导	129
第六节 酶联免疫法检测食品中沙门菌实验指导	131
复习题	133
参考文献	133
第八章 食品微生物检验常用培养基及试剂	134
一、染色液配制及染色法	134
二、生化试验培养基和试剂	134
三、一般培养基和专用培养基	139

第一章 絮 论

食品微生物检验是应用微生物学及其相关学科的理论和方法，研究如何检测外界环境和食品中微生物及其毒素的种类、数量和特性，为食品加工中的环境卫生管理和食品生产管理及产品的质量鉴定与控制提供科学依据，以保证人畜健康、防止疾病传播和增进人类福祉的一门应用性学科。

自然界中微生物种类多，数量大。食品在来源地、加工及运输等过程中都可能受到各种微生物及其代谢产物的污染，这使得食品微生物检验的研究对象以及研究范围广泛。此外，食品微生物检验还具有实用性及应用性强的特点，通过检验、控制及利用微生物，防止食品变质和杜绝食源性病害，进而保证食品卫生安全，在促进人类健康方面起着重要的作用。

第一节 食品的微生物污染来源与途径

一、食品的微生物污染源

自然界中各种微生物的普遍性，导致动物性食物、植物性食物或由它们加工成的食品不可避免地存在着微生物。了解微生物的来源，对进行食品微生物检验具有重要意义。食品中微生物的来源主要有以下几个方面。

(一) 土壤中的微生物

自然界中的微生物绝大部分都存在于土壤中，土壤是食品中微生物的主要来源。土壤中的微生物种类繁多、数量大，每克土壤中含有几千万乃至几千亿个微生物，以细菌为最多，放线菌、霉菌次之，其他种类较少。土壤中的微生物类群和数量可随土壤的地理位置、土壤的种类以及有机物的含量、生物种类、湿度、酸碱度等的不同而异。

土壤中除含有大量的原住微生物外，还有随人和动物分泌物、排泄物以及污水等进入土壤的异养菌。在这些异养菌中有一部分是病原菌。虽然它们一般在土壤中容易死亡、存活期短，但个别能形成芽孢的细菌（如炭疽芽孢杆菌）可长期存在。它们可通过污染的食品、饮水或直接感染人或动物而引起人或动物患病。

(二) 水中的微生物

水中的微生物主要来自土壤，其次还来自尘埃、人畜的排泄物、垃圾、污水等。水因含有无机物质和有机物质，也是微生物广泛生存的天然环境，且是污染食品的微生物主要来源。

病原微生物可随患病人和动物的排泄物等一起进入水中，一般常因水的自净作用而难以长期生存，有些病原菌可在水中生存相当长的时间并成为传染源。水中的微生物类群和数量可因水源的不同、污染程度的差异和有机物含量以及各种理化因素的影响和自净作用

而有很大的差别。食品的生产、加工，以及设备、场地洗刷等都离不开水，因此水的卫生质量好坏直接影响食品的卫生安全。

水中的细菌菌落总数是用营养琼脂作倾注平板培养，于36℃培养48h后计算的菌落数，是指示水体中粪便等含微生物污染程度的指标。

我国饮用水卫生标准中规定生活饮用水中细菌菌落总数<100CFU/mL，纯水或净化水的标准为<50CFU/mL。

(三) 空气中的微生物

由于干燥、流动、日光直射作用及缺乏营养物质，进入空气中的大部分微生物都会死亡，只有一些对干燥和阳光抵抗力强，能产生芽孢的细菌以及真菌的孢子可长期存在于空气中。大多数病原菌在空气中存活时间短，一般仅为数小时，但在阴暗、通风不良的情况下能存活较长时间，所以空气中基本上没有病原微生物的存在，仅在患病的人和动物附近、医院周围等空气中含有，可造成飞沫传染。

空气中微生物的主要来源是地面上的微生物伴随尘埃、水滴，人和动物喊叫、喷嚏、咳嗽时喷出的飞沫等一并飞扬进入，霉菌孢子则常被气流直接吹散入空气中。因此，尘埃越多，越靠近地面的空气，及人和动物活动越频繁处的空气受微生物污染的程度越严重。空气中的微生物类群和数量受到许多因素的影响，如高度、季节与气候、地区、人口居住的密度、风速、动物的数量等。

检测空气中细菌含量一般常采用郭霍氏平皿沉降法（表1-1），即将营养琼脂平板或血琼脂平板于检测场所的四角和中央各放置一个，打开平皿使其暴露于空气中5min（有的规定15~20min），盖上皿盖置37℃培养24~48h，计算所形成的菌落数。食品厂可根据实际情况及生产环境的要求在生产场所进行不定期或定期检测，一般每隔一周或半个月进行一次，以了解生产场所的卫生状况。

表1-1 室内空气落下微生物的污染度分级参考值 ($\phi=9\text{cm}$, 5min)

落下菌落数/个	空气污染度	评价
<3	洁净	无菌室、超净台
<30	清洁	安全
30~50	轻度污染	
50~75	中度污染	应加注意
75~100	高度污染	禁忌、不宜生产
>100	严重污染	禁忌

(四) 人和动物体中的微生物

在正常情况下，人和动物由于与自然界密切接触，其体表皮肤、黏膜以及与外界相通的腔道，如口腔、鼻咽腔、呼吸道、消化道、泌尿生殖道等，均有一定类群和数量的微生物，称为常住微生物。当人和动物被某些病原菌侵害而感染传染病时，或成为带菌（带毒）者时，则体内含有的大量病原微生物可通过痰液、粪便等分泌物向体外排出。人和动物的常住微生物和病原微生物均可污染外界环境或直接由人或动物污染食品，成为食品中的微生物污染来源，这也是动物性食品发生内源性污染和外源性污染的重要原因。

(五) 用具上的微生物

应用于食品的一切用具，如原料的包装物、生产加工用具、运输工具、工厂设备、成品的包装材料或容器，以及食品加工的炊具等，由于土壤、水、空气或其他因素而被各种微生物污染，特别是与含有病原微生物的物品或腐败食品接触后，就能作为媒介将其所污染的微生物污染到其他食品上。

二、食品的微生物污染途径

食品在生产加工、运输、贮存、销售、烹调直至食用的整个过程的各个环节，都有可能存在微生物的污染。作为动物性食品，其污染还可能来自于动物本身，常因此使食品被污染某些病原微生物，这在食品卫生学上是非常重要的。

(一) 内源性污染

内源性污染是指由动植物本身携带的微生物而造成食品的污染，也称第一次污染。这种污染包括健康动物体表、呼吸道、消化道及泌尿生殖道的一些常住微生物和动物由于感染了某种病原微生物而造成生前在动物组织和脏器中存在的病原微生物引起的污染。

(二) 外源性污染

经过这一途径污染食品的情况较为复杂。外源性污染是指食品在生产、贮存、运输、销售和食用等一系列过程中，不遵守操作规程或不按卫生要求使食品被微生物所污染，也称二次污染。这种污染的程度因食品种类、所处环境的不同而不尽相同。这是食品微生物污染的主要方面，包括外环境土壤和空气的污染、所用水的污染、生产和运输用具的污染、贮存过程中的污染、昆虫等动物的污染以及食品从业人员的污染等。

第二节 食品中有害微生物对人类和生产的影响

食品安全是世界范围内广泛关注的问题，近年来中国也屡屡发生因食品污染引起的食物中毒事件，引发了人们对食品安全的进一步关注。有统计显示，在影响中国食品安全的诸因素中，微生物污染仍高居首位。根据中国卫生部通报，中国 1990 年至 1999 年 10 年间发生的食物中毒事件中，微生物居各类食物中毒病原的首位，是威胁中国食品安全的头号杀手。2007 年报告的食物中毒中，微生物性食物中毒的中毒人数占总数的 58.86%。由于微生物具有较强的生态适应性，食品原料在种植、收获、饲养、捕捞、加工、包装、运输、销售、保存以及食用等每一个环节都可能被微生物污染。同时，微生物具有易变异性，未来可能不断地会有新的病原微生物威胁食品安全和人类健康。食品的微生物污染是由一些有害微生物引起的，可引起食品变质、食物中毒和导致人体患病等。

一、引起食品变质

食品中含有水分、蛋白质、脂肪、碳水化合物等营养物质，这些成分是微生物的生长基质，因此微生物在食品中能够生长繁殖。食品腐败变质的原因有物理、化学、生物化学和微生物等方面的原因，但最普遍、最主要的因素是微生物。

环境中微生物无处不在，使得食物在生产、加工、运输、贮存、销售过程中，很容易被微生物污染。只要温度适宜，微生物就会生长繁殖，分解食物中的营养素，以满足自身

需要。这时食物中的蛋白质等营养物质就被破坏了，发出臭味和酸味，失去了原有的坚韧性和弹性，颜色也会发生变化，从而造成食品变质。

二、引起食物中毒

微生物的有害作用包括病原微生物的作用和腐败微生物的作用。引起人类病害的微生物有多种，其中一部分是因侵入消化道而引起疾病的，这些病原体主要属于细菌和病毒，是疾病的根源。其常以食物或水作为载体，引发的疾病称为消化道疾病，如食物中毒、食源性传染病。病原体进入消化道以后，是否必然引起疾病及病害程度，是由病原菌菌种的毒力、感染的菌量及人体的免疫力等多种因素所决定的。

三、导致人体患病

微生物对人类的危害主要是由病原微生物引起的。有的病毒可通过食物和饮用水引起腹泻等病毒性疾病，且目前人类对病毒性疾病还没有特效的治疗方法。食品中的病原菌如沙门菌，饮用水中的病原菌如霍乱弧菌、小肠结肠炎耶尔森菌等都会引发人类的疾病，甚至是严重的疾病。此外，真菌毒素以及细菌毒素等也能引发人类的疾病。

第三节 食品微生物检验的目的、任务及意义

一、食品微生物检验的目的

食品微生物检验是检测食品中是否存在有害微生物及其毒素并做出卫生评价，为生产出安全、卫生、符合标准的食品提供科学依据，以保证获得符合卫生要求，适于人类消费的食品。

食品质量是生产出来的，不是检验出来的。微生物检验的目的不仅仅是证明产品是否合格，更在于在食品生产过程中执行并完善良好的管理体系，使包括微生物在内的各项产品各项质量指标都合格。检验的目的，一是监测生产过程中是否有严重偏差（如半成品受到污染），以便及时纠正和召回产品；二是积累数据并定期分析，根据分析结果来监测生产过程、工艺以及产品质量等是否出现波动、偏差和漂移，以便纠正和调整（即：回顾性验证）。三是保证食品的卫生质量安全，避免食物中毒的发生。大肠菌群的检出，表明食品被粪便直接或间接污染，食品就有可能污染了致病菌。金黄色葡萄球菌的检出表明食物被人或动物接触过。就目前状况看，除肉类食品屠宰中被粪便污染造成沙门菌污染、蛋被粪便污染、乳源被乳房炎污染外，大都与人手接触有关。人手上有时就有大肠杆菌、沙门菌和志贺菌。如果微生物学检验中出现不合格的情况时，就要查相关的生产环节。因此食品微生物检验对生产具有重要的指导意义。

二、食品微生物检验的任务

食品微生物检验用以确定食品的可食程度，控制食品的有害微生物及代谢产物的污染，督促食品加工工艺改进，改善生产卫生状况，防止人畜共患病传播，保证人类身体健康。

食品微生物检验的任务包括：研究各类食品中微生物种类、分布及其特性；食品的微生物污染及其控制，提高食品的卫生质量；微生物与食品贮存的关系；食品中的致病性、中毒性、致腐性微生物研究；各类食品中微生物的检验方法及标准。

三、食品微生物检验的意义

食品微生物检验是衡量食品卫生质量的重要手段，也是判定被检食品能否食用的科学依据。通过食品微生物检验，可以判断食品加工环境及食品卫生状况，能够对食品被细菌等微生物污染的程度作出正确的评价，为各项卫生管理工作提供科学依据，提供食物中毒重复发生的防治措施。食品微生物检验贯彻“预防为主”的卫生方针，可以有效地防止或者减少食物中毒人以及畜共患病的发生，保障人民的身体健康；同时，它对提高产品质量，避免经济损失，保证出口等方面具有重要意义。

第四节 食品微生物检验的范围及指标

一、食品微生物检验的范围

食品不论在产地或加工前后，均可能遭受微生物的污染。污染的机会和原因很多，一般有：食品生产环境的污染，食品原料的污染，食品加工过程的污染等。根据食品被微生物污染的原因和途径，进行以下几个方面的检验：

- (1) 生产环境的检验 包括车间用水、空气、地面和墙壁的检验等。
- (2) 原辅料检验 包括食用动植物、谷物、添加剂等一切原辅材料的检验。
- (3) 食品加工、贮存、销售诸环节的检验 包括食品从业人员的个人卫生状况、加工工具、运输车辆、包装材料的检验等。
- (4) 食品的检验 重要的是对出厂食品、可疑食品及食物中毒食品的检验。

二、食品微生物检验的指标

食品微生物检验的指标是根据食品卫生的要求，从微生物学的角度对不同食品所提出的与食品有关的具体指标要求。我国卫生部颁布的食品微生物检验指标主要有细菌菌落总数、大肠菌群数和致病菌等。

1. 细菌菌落总数

细菌菌落总数是指食品检验样品经过处理，在一定条件下培养后 1g 或 1mL 或 1cm^2 待检样品中所含细菌菌落的总数。通常采用平板计数法（SPC），它反映出食品的新鲜度、被细菌污染的程度、生产过程中食品是否变质和食品生产的一般卫生状况等。因此，这是判断食品卫生质量的重要依据之一。

2. 大肠菌群数

大肠菌群包括大肠杆菌和产气肠杆菌之间的一些生理上比较接近的中间类型的（如柠檬酸杆菌、阴沟肠杆菌、克雷伯菌等）细菌，它们是能在 24h 内发酵乳糖产酸产气的革兰阴性无芽孢杆状菌。这些细菌是寄居于人和温血动物肠道内常见的细菌，随着粪便排出体外。食品中大肠菌群的检出，表明食品直接或间接受粪便污染。故以大肠菌群数作为粪便

污染食品的卫生指标来评价食品的质量具有广泛意义。

3. 致病菌

致病菌即能引起人体发病的细菌，对不同的食品和不同的场合应选择对应的参考菌群进行检验。例如海产品以副溶血性弧菌、沙门菌、志贺菌、金黄色葡萄球菌等作为参考菌群；蛋与蛋制品以沙门菌、志贺菌等作参考菌群；糕点、面包以沙门菌、志贺菌、金黄色葡萄球菌等作为参考菌群；软饮料以沙门菌、志贺菌、金黄色葡萄球菌等作为参考菌群。

4. 霉菌及其毒素

许多霉菌会产生毒素而引起急性或慢性疾病，虽然我国还没制定出具体的指标，但这几年已开始重视对产毒霉菌的检验工作。霉菌的检验，目前主要是霉菌计数或同酵母菌一起计数以及黄曲霉毒素等真菌毒素的检验，以了解真菌污染程度和食物被真菌毒素污染的状况。

三、食品微生物检验技术的发展

食品微生物检验的发展是与整个微生物学的发展分不开的。人类很早就开始利用微生物的许多特性为人类的生产、生活服务，古代人类早已将微生物学知识用于工农业生产和疾病防治中，公元前二千多年的夏禹时代，就有酿酒的记载。北魏（公元 386—534 年）《齐民要术》一书中详细记载了制醋的方法。长期以来民间常用的盐腌、糖渍、烟熏、风干等保存食物的方法，实际上正是通过抑制微生物的生长而防止食物的腐烂变质。在预防医学方面，我国自古就有将水煮沸后饮用的习惯。明朝李时珍在《本草纲目》中指出，将病人的衣服蒸过后再穿就不会传染上疾病，说明已有消毒的记载。

（一）致病菌检测阶段

微生物的发现：首先观察到微生物的是荷兰人列文虎克（Antonie van Leeuwenhoek，1632—1723）。他于 1676 年用自磨镜片制造了世界上第一架显微镜（约放大 300 倍），并从雨水、牙垢等标本中第一次观察和描述了各种形态的微生物，为微生物的存在提供了有力证据，并确定了细菌的三种基本形状：球菌、杆菌和螺旋菌，列文虎克也被称为显微镜之父。

微生物与食品腐败：法国科学家巴斯德（Louis Pasteur，1822—1895）首先通过实验证明了有机物质的发酵与腐败是微生物作用的结果，而酒类变质是因污染了杂菌，从而推翻了当时盛行的自然发生说。巴斯德在病原体研究和预防方面也作出了卓越的贡献，他发明了巴氏消毒法，被称为现代微生物学之父。

病原微生物：19 世纪末至 20 世纪初，在巴斯德和科赫光辉业绩的影响下，国际上形成了寻找病原微生物的热潮。有关食品微生物学方面的研究主要是检测致病菌。

我国从 20 世纪 50 年代开始对沙门菌、葡萄球菌、链球菌等食物中毒菌进行调查研究，并建立了各种引起食物中毒的细菌的分离鉴定方法。

（二）指示菌检测阶段

在我国，80% 的传染病是肠道传染病，为了预防肠道传染病，制定了各种食品微生物的检验方法和检验标准。通过这些方法和标准，可以检测并判断水、空气、土壤、食品、日常用品以及各类公共场所的有关微生物的安全卫生状况。但是，有时直接检测目的病原微生物非常困难，需借助带有指示性的微生物（指示菌），根据其被检出情况，判断样品

被污染程度，并间接指示致病微生物有无存在可能，以及对人群是否构成潜在威胁。

指示菌（Indicator microorganism）是在常规安全卫生检测中，用以指示检验样品卫生状况及安全性的指示性微生物。检验指示菌的目的，主要是以指示菌在检品中存在与否以及数量多少为依据，对照国家卫生标准，对检品的饮用、食用或使用的安全性作出评价。这些微生物应该在环境中存在数量较多，易于检出，检测方法较简单，而且具有一定的代表性。指示菌可分为三种类型：

(1) 评价被检样品一般卫生质量、污染程度以及安全性的指示菌——最常用的是菌落总数、霉菌和酵母菌数。

(2) 粪便污染的指示菌——主要指大肠菌群。其他还有肠球菌、粪大肠菌群等。其检出标志着检品受过人畜粪便的污染，而且有肠道病原微生物存在的可能性。

(3) 其他指示菌——包括某些特定环境不能检出的菌类，如特定菌、某些致病菌或其他指示性微生物。如嗜热脂肪芽孢杆菌用于灭菌锅灭菌指示菌。

(三) 微生态制剂检测阶段

19世纪人们就发现并开始认识厌氧菌（巴斯德，1863），但直到20世纪70年代了解到厌氧菌主要是无芽孢专性厌氧菌后，才重新开始重视其研究。厌氧菌广泛分布在自然界，尤其是广泛存在于人和动物的皮肤和肠道。生态平衡时，与人和动物体“和平共处”。生态失调时，成为条件致病菌（opportunistic pathogen），形成厌氧菌感染症。由此，1980年以来，市场上出现了以乳酸菌、双歧杆菌为主的各种微生态制剂后，检验其菌株特性和数量就成了目前食品微生物检测的一项重要内容。

(四) 现代基因工程菌和尚未能培养菌的检测

转基因动物、植物和基因工程菌被批准使用以及进入商品化生产，加大了食品微生物检测的任务。转基因食品的检验也逐渐成为一项检验项目。通过16s rDNA扩增等技术，目前也发现了一些活着但不能培养的微生物，这也促进了食品微生物检验技术的发展。

目前微生物应用技术、实验方法也在极其迅速地发展。如电镜技术结合生物化学、电泳、免疫化学等技术，推动了微生物的分类和鉴定技术。荧光抗体技术、单抗技术、PCR技术等，也进一步促进了微生物检验的发展。

在今后一段时间内，我国在保证食品安全方面需要着重开展以下工作。

(1) 加大人力和物力的投入力度，进行相关理论的研究和技术的开发；提高食品毒理学、食品微生物学、食品化学等学科的研究水平，并将这些研究领域的成果及时地应用于食品安全保障工作之中；对食品生产的环境开展有害物的背景调查，对各种食品中的危害因子进行系统地检测与分析，为食品安全的有效控制提供基础数据和信息。

(2) 以现代食品安全控制的最新理论和技术，不断制定和修订各项食品安全与卫生技术规范，并加以落实；不断完善相应的法律法规，加强法制管理，明确执法机构人员的职责；研究食物中毒的新病原物质，提高食物中毒的科学评价水平和管理水平；进一步推广良好操作规范（GMP）和危害分析与关键控制点（HACCP）等有效的现代管理与控制系统；对全体国民加强新知识、现代技术和食品安全基本常识的宣传与教育，加强相关法律法规的教育，提高广大民众自我保护意识。

(3) 研究WTO规则中有关食品安全的条例，有效应对国际食品贸易中与食品安全相关的技术壁垒，以保护我国的经济利益和广大民众的生命安全；加强国际合作，同FAO、

WHO 等国际专门机构或组织进行经常性的沟通与合作，不断就世界范围内的食品污染物质和添加剂的评价、制定 ADI 值、食品规格、监督管理措施等问题提出意见或建议，维护我国在处理有关食品安全国际事务中的权力和利益。

民以食为天。食品安全问题关系到人民健康、社会稳定和国家经济的可持续发展，已引起前所未有的重视。目前，食品安全问题形势严峻，食品微生物污染问题突出。食品微生物检验作为给人类提供有益于健康、能确保食用安全的食品科学的保障措施之一，对食品安全控制起着非常关键的作用。食品微生物学检验的广泛应用和不断改进，是制定和完善有关法律法规的基础和执行依据，是制定各级预防和监控系统的重要组成部分，是食品微生物污染溯源的有效手段，也是控制和降低由此引起重大损失的有效手段，具有较大的经济和社会意义。

复习题

1. 食品微生物检验的目的和任务是什么？
2. 对食品进行微生物检验具有何意义？
3. 食品微生物检验的范围包括哪些？
4. 食品卫生标准中的微生物指标有哪些？

参考文献

1. 谭龙飞，黄壮霞. 食品安全与生物污染防治 [M]. 北京：化学工业出版社，2007：1~236.
2. 吴坤，孙秀发. 营养与食品卫生（第五版）[M]. 北京：人民卫生出版社，2003：218~242.
3. 彭海滨，吴德峰，孔繁德等. 我国沙门菌污染分布概况 [J]. 中国国境卫生检疫杂志，2006，29（2）：125~128.
4. 冯家望，吴小伦，陈静静等. 食品中李斯特菌污染状况研究 [J]. 中国食品卫生杂志，2007，19（1）：44~46.
5. 盛东. 食品微生物检验的特点 [J]. 中国卫生检验杂志. 2000, 10 (2): 230~231.
6. 张洁梅. 食品微生物检验技术的研究进展 [J]. 现代食品科技. 2005, 21 (2): 221~222.
7. 林蕾，张炜. 食品微生物检验技术的研究进展 [J]. 现代农业科学. 2008, 15 (10): 97~99.
8. 苏景如. 食品微生物检验新方法 [J]. 食品研究与开发. 2004, 25 (1): 115~116.
9. 徐茂军. 基因探针技术及其在食品卫生检测中的应用 [J]. 食品与发酵工业. 2000, 27 (2): 66~70.
10. 何宏艳. 核酸杂交技术在食品微生物检验中的应用 [J]. 中国卫生检验杂志. 2005, 15 (6): 767~768.
11. 刘用成. 食品检验技术（微生物部分）[M]. 北京：中国轻工业出版社，2008.
12. 周新建，焦凌霞. 食品微生物学检验 [M]. 北京：化学工业出版社，2011：1~167.
13. 姚勇芳. 食品微生物检验技术 [M]. 北京：科学出版社，2011：1~163.