

陈广全 张惠媛 曾静 主编

食品安全检测培训教材

微生物检测



 中国标准出版社

食品安全检测培训教材

微生物检测

陈广全 张惠媛 曾 静 主编

中国标准出版社

北 京

图书在版编目 (CIP) 数据

食品安全检测培训教材. 微生物检测/陈广全,
张惠媛, 曾静主编. —北京: 中国标准出版社, 2010
ISBN 978-7-5066-5910-9

I. ①食… II. ①陈…②张…③曾… III. ①食品微
生物-食品检验-技术培训-教材 IV. ①TS207

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 179587 号

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街 16 号

邮政编码: 100045

网址 www.spc.net.cn

电话: 68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

各地新华书店经销

*

开本 787×1092 1/16 印张 31.75 字数 741 千字

2010 年 11 月第一版 2010 年 11 月第一次印刷

*

定价 65.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换

版权专有 侵权必究

举报电话: (010)68533533

编委会名单

主 编 陈广全 张惠媛 曾 静

编写人员(按姓氏笔画排序)

马维兴	王小玉	王振国	王海艳	冯家望
厉 艳	邝筱珊	刘 培	刘中学	刘云国
刘军义	刘淑艳	成晓维	许龙岩	张 昕
张 健	张 捷	张 霞	张建军	张惠媛
李 可	李正义	杨海荣	汪 琦	陈 颖
畅晓辉	罗雁非	赵贵明	饶 红	凌 莉
唐 静	栾 军	袁 飞	高旗利	曹际娟
傅溥博	曾 静	游淑珠	蒋 原	蔡 阳
黎昊雁	薛 峰	魏海燕		

前 言

食品检测是食品安全保障的关键环节。随着我国人民生活水平的提高,食品加工技术的发展和食品贸易的迅猛增长,人们对食品安全的期望也越来越高,对食品安全检测提出了更高的要求。

食品安全检测能力和质量保证是确保检测结果可靠的基础。近年来,食品安全检测技术得到了快速发展,引入了大量的先进检测技术,这些快速、高通亮检测技术在食品安全检测领域得到了推广应用,如自动化检测技术、分子生物学检测技术、芯片检测技术、生物传感器检测技术等,部分解决了现代食品安全保障的需求问题。但是,满足日益增长的食品检测能力需求、确保检测结果的可靠,依然是我们面临的严峻挑战,为此我们组织有关人员编写了《食品安全检测培训教材》,本教材分为两册,即《微生物检测》和《理化检测》,供从事食品检测人员参考。

本教材的编写宗旨是以适应经济社会发展,培养食品检测实验室技术型人才为目的,突出了以应用为主、理论必需、够用为度的专业培训特色,为从事食品检测领域的人员提供一本实用的参考书籍。通过本教材的学习,使得技术人员具备根据检测的目的、要求、检测对象和目标的特征,综合运用所学知识选择适宜的测定方法或手段解决实际问题的能力。

本书为《食品安全检测培训教材 微生物检测》,较全面地介绍了目前食品微生物学的基础理论、食品中常见的微生物生物学特征、致病性及其检测方法、质量控制等在实际检测工作中

需要掌握的理论和操作知识,并以较大的篇幅介绍了目前在食品微生物检测中急需解决的快速检测技术和方法,包括快速检测方法的发展、现状和趋势,对于指导食品微生物检测非常实用。本书的特点是以实用为主,力求内容新、概念准、引用资料可靠。

本书由多年从事食品检验科研及分析技术的专家编写,汇集了他们多年工作的结晶,可作为从事食品生产质量控制、食品质量检验、食品安全检验检疫、安全卫生监督工作的人员以及工商管理部门、大专院校、食品行业协会等相关工作者的参考用书。

本书在编写过程中,得到了北京出入境检验检疫局领导的大力支持,他们在确保本书的问世与提高编写质量上起了较大作用,在此表示由衷的谢意。

由于编者水平有限,书中不妥之处恳请广大读者批评指正。

编著者

2010年2月

目 录

第 1 篇 食品微生物基础知识

第 1 章 食品微生物概述	3
1.1 微生物界简述	3
1.2 微生物学的历史和发展	5
1.3 微生物的分类和命名	9
1.4 食品微生物学的研究内容	13
参考文献	15
第 2 章 食品中常见的微生物	16
2.1 细菌	16
2.2 真菌——霉菌和酵母菌	25
2.3 放线菌	30
2.4 病毒	31
参考文献	33
第 3 章 食品微生物的生理	34
3.1 微生物的化学组成	34
3.2 微生物的营养和代谢	34
3.3 微生物的遗传和变异	38
3.4 食品微生物的成长消亡及其影响因素	41
参考文献	47
第 4 章 食品微生物与食品安全	48
4.1 食品中微生物污染的来源和途径	48
4.2 食源性病原微生物及其危害	53
4.3 腐败微生物和食品变质	54
4.4 食品中的产毒性致病菌	66
参考文献	67

第 5 章 食品微生物实验室的管理	68
5.1 微生物实验室的基本条件	68
5.2 微生物实验室的人员守则和实验守则	76
5.3 洁净室	80
5.4 病原微生物实验室的生物安全管理	82
5.5 检验废弃物的处理	92
5.6 微生物实验室的安全和应急机制	93
5.7 实验室质量控制和质量保证	95
参考文献	109
第 6 章 微生物检验基本技术	110
6.1 微生物检验的常用仪器及其使用和维护	110
6.2 微生物检验常用器皿的清洁	130
6.3 消毒与灭菌	134
6.4 染料的配制和染色方法	139
6.5 微生物培养基	143
6.6 微生物培养基的制备和质量控制	150
6.7 微生物的培养特征	173
6.8 接种和培养	177
6.9 菌种的保藏和复苏	182
6.10 血清学试验	190
参考文献	192
第 7 章 食品微生物快速检测技术	194
7.1 食品微生物快速检测技术简介	194
7.2 PCR 技术及其在食品微生物检测中的应用	206
7.3 免疫学检测技术及其在食品致病微生物检测中的应用	209
7.4 生物芯片技术及其在食品微生物检测中的应用	233
7.5 核酸探针技术及其在食品微生物检测中的应用	240
7.6 食品微生物自动化检测仪器	249
参考文献	252
第 8 章 检测样品的制备	253
8.1 抽样	253
8.2 样品的运输	256
8.3 样品的接收和保存	257
8.4 样品的制备	257
参考文献	258

第 2 篇 食品微生物检测方法

第 9 章 食品卫生指标菌的检验	261
9.1 菌落总数的检测	261
9.2 大肠菌群、粪大肠菌群和耐热大肠菌群的检验	271
9.3 大肠杆菌的检验	283
9.4 霉菌和酵母菌的检验	289
参考文献	292
第 10 章 沙门氏菌的检验	293
10.1 生物学特性	293
10.2 食品中沙门氏菌的风险评估	296
10.3 检验方法	296
10.4 常见问题	304
参考文献	305
第 11 章 志贺氏菌的检验	307
11.1 生物学特性	307
11.2 流行病学	308
11.3 致病性	308
11.4 与食品安全的关系	309
11.5 检测方法	309
参考文献	313
第 12 章 大肠埃希氏菌的检验	314
12.1 致泻大肠埃希氏菌	314
12.2 大肠埃希氏菌 O157:H7	319
参考文献	327
第 13 章 弧菌的检验	329
13.1 弧菌概述	329
13.2 霍乱弧菌	331
13.3 副溶血性弧菌	337
13.4 其他致病性弧菌	342
13.5 检验中需注意的问题、主要培养基的说明及危害控制	347
参考文献	349
第 14 章 金黄色葡萄球菌的检验	351
14.1 生物学特性	351

14.2 致病性因子.....	352
14.3 流行病学和临床表现.....	353
14.4 检验方法.....	353
14.5 葡萄球菌肠毒素检测.....	361
14.6 注意的问题.....	362
参考文献.....	362
第 15 章 单核细胞增生性李斯特氏菌的检验	364
15.1 生物学特性.....	364
15.2 流行病学.....	366
15.3 致病性.....	366
15.4 预防控制.....	367
15.5 检验和控制.....	368
参考文献.....	379
第 16 章 阪崎肠杆菌的检验	381
16.1 生物学特性.....	381
16.2 流行病学.....	382
16.3 婴儿配方粉污染阪崎肠杆菌的情况.....	383
16.4 检验方法.....	384
16.5 降低阪崎肠杆菌危害的措施.....	389
参考文献.....	390
第 17 章 空肠弯曲杆菌的检验	391
17.1 生物学特性.....	391
17.2 流行病学.....	392
17.3 临床症状.....	392
17.4 检验和控制.....	392
17.5 要点提示.....	398
参考文献.....	398
第 18 章 蜡样芽孢杆菌的检验	400
18.1 生物学特性.....	400
18.2 流行病学.....	401
18.3 国内外相关限量标准.....	403
18.4 检验原理及关键控制点.....	404
18.5 其他生物学方法的研究进展.....	407
参考文献.....	408

第 19 章 肉毒梭菌及其毒素的检验	409
19.1 肉毒梭菌	409
19.2 肉毒毒素	414
参考文献	420
第 20 章 产气荚膜梭菌的检验	421
20.1 生物学特性	421
20.2 流行病学	422
20.3 致病性	423
20.4 检验和控制	423
20.5 非标检测方法的研究进展	426
参考文献	427
第 21 章 小肠结肠炎耶尔森氏菌的检验	429
21.1 生物学特性	429
21.2 流行病学	430
21.3 临床症状	431
21.4 检验方法	432
参考文献	444
第 22 章 溶血性链球菌的检验	445
22.1 生物学特性	445
22.2 检验方法	447
参考文献	455
第 23 章 罐头的商业无菌检验	456
23.1 罐头食品中的微生物	456
23.2 引起罐头食品腐败的微生物原因	458
23.3 罐头食品的商业无菌检验标准	461
23.4 罐头食品的商业无菌检验中的常见问题以及解决建议	463
23.5 国外的罐头食品检验标准	465
参考文献	468
第 24 章 常见产毒霉菌的鉴定	469
24.1 生物学特性	469
24.2 与食品安全的关系	472
24.3 检验方法	475
24.4 要点提示	477
参考文献	479

第 25 章 常见的食源性病毒的检验	480
25.1 甲型肝炎病毒	480
25.2 轮状病毒	483
25.3 诺如病毒	488
25.4 星状病毒	491
参考文献	495

第 1 篇

食品微生物基础知识

第 1 章 食品微生物概述

1.1 微生物界简述

1.1.1 微生物的概念及其在生物分类中的地位

1.1.1.1 微生物的概念

微生物是一群体形微小、构造简单的低等生物的总称。从广义上讲,它包括细菌、放线菌、酵母菌、霉菌、病毒、类病毒、蓝绿藻、螺旋体、支原体、立克次氏体、衣原体、黏菌、单细胞藻类和原生动物等。在食品工业中,较为常见的微生物即前五大类。

从细胞构造是否完整的角度来看,可以把微生物分成不同的类型。有的微生物没有典型的细胞构造,只有裸露的核酸和蛋白质,例如病毒;20 世纪 70 年代初期又发现仅有核酸的类病毒。病毒和类病毒都属于非细胞生物。有的微生物虽有细胞构造,但只有原始的细胞核,没有核膜,例如细菌、放线菌等。它们属于原核生物(Procaryote),称为原核微生物。大多数微生物具有完整的细胞构造,细胞核被核膜包围,例如酵母菌、霉菌等。它们属于真核生物(Eucaryote),称为真核微生物。

1.1.1.2 微生物在生物分类中的地位

在生物发展史上,曾把生物分为动物界和植物界两大类。而微生物,不仅形体微小、结构简单,而且它们中间有些类型像动物,有些类型像植物,还有些类型既具有动物的某些特征,又具有植物的某些特征,因而归于动物或植物都不合适。于是,1866 年海克尔(Haeckel)提出区别动物界与植物界的第三界——原生生物界,包括藻类、原生动物、真菌和细菌。

随着科学技术的发展,尤其是电子显微镜和超显微结构研究技术的应用,人类发现了生物的细胞核有两种类型,一种是没有真正的核结构,称为原核,其细胞不具核膜,只有一团裸露的核物质;另一种是由核膜、核仁及染色体组成的真正的核结构,称为真核。动物界、植物界及原生生物界中的大部分藻类、原生动物和真菌是真核生物,而细菌、蓝细菌则是原核生物。真核生物和原核生物不仅细胞核的结构不同,而且其性状也有差别。

1. 五界系统

根据核结构的不同,惠特克(R. H. Whittaker)于 1969 年提出五界说,并于 1971 年和 1974 年经马古里斯(L. Margulis)两次修订。五界系统包括动物界、植物界、原生生物界、真菌界和原核生物界。五界系统的生物都有细胞结构。病毒作为一界被提出的较晚,主要原因是:

(1) 病毒和类病毒是生物还是非生物,是原始类型还是次生类型,是长期争论未解决

的问题;

(2) 病毒不适用双命法,分类不用阶元系统。

2. 六界系统

经过长期研究发现,病毒和细胞型生物具有共同特性,即遗传物质是 DNA(部分病毒是 RNA),并使用共同的遗传密码。在此基础上,1975 年特劳巴和 1977 年我国学者王大耜认为病毒一类非细胞生物应另立一个病毒界,于是提出了六界系统,包括:

(1) 细胞型生物:动物界(Animalia)、植物界(Plantae)、原生生物界(Protista)(原生动物、大部分藻类及黏菌)、真菌界(Fungi)(酵母、霉菌)、原核生物界(Procaryotae)(细菌、放线菌、蓝细菌等);

(2) 非细胞型生物:病毒界(Vira)。

1.1.2 微生物的特点

微生物与动、植物相比,具有以下的特点。

1.1.2.1 形态微小、结构简单

微生物的个体极其微小。以常见的杆菌为例,平均长度为 $2\text{ }\mu\text{m}$,1 500 个杆菌头尾相连,仅有一粒芝麻长。它们的宽度只有 $0.5\text{ }\mu\text{m}$,60~80 个杆菌“肩并肩”也只相当于一根头发丝的直径宽。而细菌的体重就更微乎其微了,每毫克的细菌约(10~100)亿个。

1.1.2.2 繁殖快、代谢旺

微生物的繁殖速度非常惊人。细菌每隔 20 min~30 min 即可分裂 1 次,细胞的数目就比原来增加 1 倍,假如 1 个细菌 20 min 分裂 1 次,而且每个子细胞都具有同样的繁殖能力,那么 1 h 后,就变成 $8(2^3)$ 个,2 h 后变成 $64(2^6)$ 个,24 h 可繁殖 72 代,结果最初的 1 个细菌细胞变成了 2^{72} 个细菌。如果按每 10 亿个细菌重 1 mg 计算,则 2^{72} 个细菌的重量超过 4 722 t。假使再这样繁殖 4~5 天,它就会形成和地球同样大小的物体。当然,由于种种原因,这种情况并不存在。微生物这种惊人的繁殖速度为在短时间内获得大量的菌体提供了极为有利的条件。例如利用培养酵母来生产蛋白质,一般每隔 8 h~12 h 就可“收获”1 次。相反,如果发酵生产受到其他微生物的污染,其危害性也是十分严重的。

微生物虽然很小,但“胃口”却很大,代谢作用十分旺盛,素有小型“活的化工厂”之称。从单位重量来看,微生物代谢强度比高等动物的代谢强度要大几千倍甚至几万倍。例如 1 kg 酒精酵母 1 天内能“消耗”掉几千公斤糖,把它转变为酒精。从工业生产的角度来看,它能够把基质较多地转变为有用的产品,例如用乳酸菌生产乳酸,每个细胞可以产生其体重 $10^3\sim10^4$ 倍的乳酸。

代谢旺的另一个表现形式就是微生物的代谢类型非常多,有些是动植物所不具有的,例如生物固氮作用等。在生产实践中,应用这个特点不仅可以获得种类繁多的发酵产品,而且可以找到比较简便的生产工艺路线。在理论研究上,可以更好地揭示生命活动的本质。但如果食品碰上了腐败微生物,发酵污染了杂菌,代谢越旺,损失就越大。

1.1.2.3 食谱杂

微生物利用物质的能力很强。凡是能被动、植物利用的物质,例如蛋白质、糖类、脂肪

及无机盐等,微生物都能利用。微生物还可以分解纤维素、石油、塑料等这些动植物不能利用的物质。另外还有一些对动植物有毒的物质,例如氰、酚、聚氯联苯等,也有一些微生物能分解利用它们。美国康奈尔大学早在20世纪70年代初期就分离到能分解DDT的微生物,日本也发现了分解聚氯联苯的红酵母。

1.1.2.4 适应强

微生物对外界环境条件的适应能力很强。例如肺炎双球菌有荚膜,就可以抵抗白细胞的吞噬。微生物还可以及时形成休眠体,然后长期进入休眠状态。例如细菌的芽孢、放线菌的分生孢子、真菌的各种孢子等。这些孢子较之营养体更具有抵抗不良环境的能力,一般能存活数月或数年,甚至几十年。当外界条件十分恶劣时,虽然大部分个体都因抵抗不住而被淘汰,但仍有少数“顽固分子”会发生某种“变异”而蒙混过关。微生物之所以能够延种续代,数量极其庞大,“善变”也是一个十分重要的原因。

在生产实践中,常利用这个特点来保藏菌种和诱变育种。例如人们常常利用物理或化学因素对微生物进行诱变,从而改变它的遗传性质和代谢途径,使之适应于人们提供的条件,满足人们提高产量或简化工艺的需要。

1.1.2.5 种类繁多、分布广泛

微生物在自然界分布极其广泛。上至几万米的高空,下至数千米的深海;高达90℃的温泉,冷至-80℃的南极;盐湖、沙漠、人体内外、动植物组织、化脓的伤口、隔夜的饭菜等,到处都有微生物的足迹。微生物之所以分布广泛,与微生物的前四个特点密切相关。

微生物虽然分布广泛,但其分布密度是不一样的。一般地说,外界环境条件适宜,有机物质丰富的地方,微生物的种类和数量就多。一个感冒的人,打一个喷嚏含有1500万个左右的病菌。土壤更是微生物的“大本营”。1g肥沃土壤中含有几十亿个微生物。相反,如果营养缺乏,条件恶劣,微生物的种类和数量就大大减少。

微生物分布广泛,我们可以更好地开发菌种资源,从各种场所筛选到我们所需要的微生物。我国曾多次从土壤中筛选到许多抗菌素的产生菌。

以上种种特点使微生物显示了神通广大的本领,在生物界中占据了特殊的位置。它不仅广泛地被用于生产实践,而且是生物科学研究的理想材料,推动和加快了生命科学的发展。特别是在当前掀起的新技术革命的浪潮中,微生物更是引起了人们的重视,被优先得到开发和利用,微生物工程作为生物工程的突破口而得到迅速发展。

1.2 微生物学的历史和发展

微生物学的研究对象是微生物。研究微生物及其生命活动规律的科学被称为微生物学(Microbiology)。人类在长期的生产实践中利用微生物,认识微生物,研究微生物,改造微生物,使微生物学的研究得以不断深入和发展。

1.2.1 微生物学发展简史

微生物学的发展过程一般可分为四个时期。