

食品微生物检测工作指南

贾俊涛 梁成珠 马维兴 主编



中国质检出版社
中国标准出版社

食品微生物检测工作指南

贾俊涛 梁成珠 马维兴 主编



中国质检出版社
中国标准出版社

北 京

图书在版编目 (CIP) 数据

食品微生物检测工作指南 / 贾俊涛, 梁成珠, 马维兴主编.

—北京: 中国标准出版社, 2012. 12

ISBN 978 - 7 - 5066 - 7021 - 0

I. ①食… II. ①贾… III. ①食品微生物—食品检验—指南

IV. ①TS207.4 - 62

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2012) 第 231539 号

中国质检出版社 出版发行
中国标准出版社

北京市朝阳区和平里西街甲 2 号 (100013)

北京市西城区三里河北街 16 号 (100045)

网址: www.spc.net.cn

总编室: (010)64275323 发行中心: (010)51780235

读者服务部: (010)68523946

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 28.5 字数 700 千字

2012 年 12 月第一版 2012 年 12 月第一次印刷

*

定价 79.00 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) 68510107

编委会

主 编 贾俊涛 梁成珠 马维兴

副主编 房保海 徐彪 杨丽君 唐静 姜英辉 张健
马云

编写人员 (按拼音顺序排序)

蔡向荣	陈吉祥	陈 晓	董学森	邓明俊	封立平
龚 方	宫小明	郭 君	郝 杰	侯 伟	贾 臻
姜光域	姜荧安	金 燕	雷质文	李明哲	李伟才
李正义	厉 艳	林 超	林修光	刘云国	吕 宁
邵秀玲	谭乐义	汤志旭	王 丹	王海霞	王 靖
王 静	王树峰	王晓龙	王妍婷	王 赞	魏晓棠
吴兴海	吴振兴	徐 琴	薛秋红	薛晓宁	叶曦文
颜显辉	杨捷琳	杨伟克	袁 涛	岳志芹	张 明
张 鹏	赵丽青	祝素珍			

序

食品安全是全世界普遍关注的问题。随着食品贸易的不断扩大、食品供应的全球化、食品生产加工工业化的进程加快，食品安全问题频发，影响波及面也越来越广。

食源性致病菌对人类健康造成的危害已是食品安全最主要、最重大的隐患。据统计，近年来在世界各国发生的各种食品安全问题，绝大部分是由于食源性致病菌引起食源性疾病导致的。据世界卫生组织统计，发达国家死于食物中毒的儿童中，约70%是由微生物性食物中毒所致；在发展中国家，每年腹泻及其相关疾病约有2.7亿病例，导致240万5岁以下儿童死亡。近十几年来，世界范围内多次暴发严重的食源性疾病。2011年4月德国出现的肠出血性大肠杆菌O104:H4疫情更是引起全球民众恐慌，又一次将食品安全问题推向世界舆论的风口浪尖。

为应对食品安全问题，世界各国政府都加强了食品安全的立法、管理和检测把关工作。2011年美国新颁布了《FDA食品安全现代化法》，该法案将食品安全由事后处理改进为事前预防，是70年来美国对《联邦食品药品化妆品法》最大的一次修订，其修改和14亿美元的实施经费都凸显了食品安全的重要性。2009年我国颁布的《中华人民共和国食品安全法》和《中华人民共和国食品安全法实施条例》，是进一步保障我国食品安全的法律依据。2011年4月29日，胡锦涛总书记在天津视察国家加工食品质量监督检验中心时强调：食品安全是关系人民群众身体健康和生命安全的大事，要严格把好食品安全关，让广大人民群众吃上放心的食品，做好食品安全的守卫者。

目前，我国已在食品安全管理上采取了如进出口食品卫生注册、出入境查验、QS制度、HACCP、ISO 9000、微生物风险评估和监测网络等措施保障食品安全，中国合格评定国家认可委员会（CNAS）认可的食品检测实验室也有上千家，食品安全水平已极大提升，但还存在食品生产人员整体素质偏低，食品生产小企业、小作坊比例偏高，少数从业者唯利是图和诚信缺失，食品检测实验室整体技术水平还有待提高的问题，尤其是基层的食品微生物检验实验室还普遍存在数量多、规模小、检测能力差的问题。

食品安全检测是食品安全管理的基础。加强检测人员技术培训是极为重要的一项工作。正是为了解决这样的问题，质检系统从事微生物检测多年的专业人员整理了他们的工作心得，汇编成书。此书内容避开枯燥乏味的检验标准，紧密结合实际检测工作，告诉读者应怎样去操作微生物以及注意的问题，具有较强的针对性、规范性、实用性和可操作性。特别难能可贵的是，质检系统有一大批像贾俊涛这样的优秀青年，他们倾心质检科技，潜心技术研究，醉心实验室工作，他们是质检事业的希望。

衷心希望此书的出版能对从事微生物检测的工作人员有所帮助，能为进一步提升食品微生物检测实验室管理水平、保障食品安全起到积极的作用。

国务院参事、全国政协委员
中国出入境检验检疫协会会长

葛志荣

2012年6月

前 言

“国以民为本，民以食为天，食以安为先。”然而近年来全球范围内食品安全事件频繁发生。在已知的致病因子引起的食源性疾病中，微生物病原引发的疾病占了绝大部分：美国曾发生过菠菜、点心、紫花苜蓿芽、西红柿、花生酱、鸡蛋、苋菜叶沙拉等污染沙门氏菌引起的食品召回或疾病暴发事件；日本、加拿大等发达国家多次发生牛肉、牛奶、菠菜等食品中污染大肠杆菌 O157、金黄色葡萄球菌、阪崎肠杆菌等致病微生物的事件；2011 年德国大肠杆菌 O104 疫情的暴发更是引起全球的恐慌。据美国疾病预防控制中心估计，美国每年约 4800 万人（占美国人口的六分之一）感染食源性疾病，128000 人因此住院治疗，其中 3000 人死亡。

美国等发达国家有着较为完善的食品法律法规体系和食品监管体系，然而其食品安全状况仍不容乐观。与之相比，我国等发展中国家中有关食源性疾病暴发的报道却很少，微生物污染引发的食品召回也鲜有见到。值得注意的是，并非我们的食品安全状况比发达国家要好，更主要的原因是我们的食品安全监管体系和疾病追溯体系不够完善，疾病发生的漏报率比较高。据世界卫生组织统计，发展中国家的食源性疾病漏报率在 95% 以上。我国采取了食品立法，明确各职能部门的职责分工，开展风险分析，加强食品生产、流通各环节的监管等一系列措施来保障食品安全。但这些措施仍是不够的，应该明确地把努力降低食源性疾病的漏报率作为提升食品安全水平的一项必不可少的措施，而降低食源性疾病漏报率的关键就是要提高致病微生物的检测水平。

我国是食品生产和消费大国，食品检测实验室众多，有着庞大的食品检测人员队伍，但食品污染问题发现得少，检测的阳性率偏低。这说明我们的监测体系有待完善，实验室检测工作还存在问题，实验人员的检测技术水平亟待提高。编者在走访一些微生物检测实验室后发现：很多基层的微生物检测人员缺乏微生物检测基础知识，无法正确理解及实施检测标准，对照检测标准无法进行正确的操作。就拿微生物检测中很常见的最大可能数（MPN）计数来说，大多数微生物检测人员都不能理解 MPN 方法的原理和正确进行 MPN 计数，要么接种方式完全错误，要么换算错误，从而导致 MPN 计数结果的错误。面对国内检测工作的现状，面临国内外严峻的食品安全形势，作为一线的检测人员，编者深感身上的责任重大，希望通过一己之力抛砖引玉，希望有更多的检测人员把好的理论和好的方法总结出来并推广交流，为检测工作的日趋完善和发展尽绵薄之力，这也是编者编写此书的初衷。

编者认为对于食品微生物检测领域，现有的参考资料还不能满足基层微生物检测人员的需要，仍缺乏结合微生物检测工作讲解具体操作技术和微生物检测相关知识的参考书。多少年来，国内外一线的检测人员和研究人员在食品微生物领域辛勤耕耘，获得了丰硕成果，在长期的业务实践中积累了宝贵的检测经验，这些成果、这些经验在呼唤我们去把它们汇集起来。本书立足这一出发点，紧密结合微生物检测的实际工作，按照检测工作的各项步骤对微生物操作技术进行了分解和介绍，在介绍的同时添加了图片帮助理解，同时还介绍了与微生物检测工作密不可分的质量控制、数据分析、生物安全和实验室设计等方面的内容。希望读者阅读本书后能够对微生物检测立即“上手”或者有所提高。

本书分基础篇和管理篇。基础篇（前六章）面向基层的微生物检测人员，介绍微生物

检测的关键步骤和正确的操作方法等基础内容；管理篇（后五章）面向微生物检测工作的管理人员和研究人員，介绍微生物检测工作相关问题并提出解决问题的办法。前六章介绍了食品微生物的基础知识、实验材料的准备以及样品的处理和接种、微生物的培养和鉴定等内容。第七章介绍了现代微生物检测方法。第八章为冷冻食品中可能出现的活的难以检测的非可培养状态细菌的检测提出解决办法。第九章结合实验室质量控制工作，应用 MATLAB 软件对微生物实验室的一些具体数据分析工作给出了方便实用的解决办法。这些程序多为作者原创，使用非常方便，不仅能用于实验室质量控制工作，也可以用于实验室其他工作。本章将数学软件 MATLAB 与微生物检测工作结合是本书的亮点之一。最后两章分别对微生物检测人员普遍关注的生物安全和实验室设计问题进行了介绍，为微生物检测人员澄清一些认识上的误区提供帮助。

本书是全体编写人员长期从事微生物检测工作的知识汇总和经验总结，是为了规范微生物检测操作，解决微生物检测相关的关键性问题而编写的。本书主要面向食品生产企业、质检系统、卫生医疗等系统的微生物检测人员和质量管理人员，也可以作为大专院校、科研院所从事微生物检测和研究的实验人员的参考书。如果这本书的出版对国内检测工作能有所帮助，将使本书的编者不胜欣慰。

感谢本书全体编写人员的辛勤付出，特别感谢马维兴、唐静、马云、张健、李正义、王晓龙和郭君等人在资料搜集整理和文字校对过程中的辛勤劳动。由于篇幅所限，本文中的食品微生物主要指食品中的细菌和真菌，没有涉及食品中寄生虫、病毒、微藻等微生物。由于成书时间不长，编者都是利用业余时间辛勤笔耕，加上编写人员的水平有限，本书难免出现疏漏甚至错误，恳请广大读者不吝指正（电子邮箱：jiajt@163.com）。

编 者

2012 年 9 月于青岛

目 录

基础篇

第一章 食品微生物基础知识	(2)	二、食品中主要微生物的分类地位 ...	(33)
第一节 食品中微生物的发展历程	(2)	三、细菌命名法	(35)
第二节 食品中微生物的来源	(5)	第二章 微生物检测实验材料的准备	(36)
一、土壤	(5)	第一节 消毒和灭菌	(36)
二、水	(5)	一、常用化学杀菌剂和消毒剂	(36)
三、空气	(6)	二、紫外线杀菌	(42)
四、人和动物	(6)	三、红外线杀菌	(43)
第三节 食品中常见微生物种类	(6)	四、臭氧杀菌	(43)
一、细菌	(6)	五、火焰灼烧	(44)
二、霉菌	(13)	六、干热灭菌	(44)
三、酵母菌	(14)	七、煮沸灭菌	(45)
第四节 影响食品微生物生长的因素	(15)	八、巴氏灭菌	(45)
一、温度	(15)	九、间歇灭菌	(45)
二、水	(16)	十、过滤除菌	(45)
三、pH	(16)	十一、高压蒸汽灭菌	(46)
四、氧气	(17)	十二、微生物 <i>D</i> 值的测定	(49)
第五节 食品质量的指示微生物	(18)	第二节 实验器具的准备	(50)
一、细菌数量	(18)	一、玻璃器皿的准备	(50)
二、大肠菌群	(18)	二、金属器械的准备	(53)
三、肠杆菌科	(19)	三、塑料类材料的准备	(54)
四、厌氧亚硫酸盐还原梭菌	(19)	四、其他材料的准备	(54)
五、霉菌和酵母菌	(20)	第三节 培养基的制备	(58)
第六节 几种食品微生物检测项目简介	(20)	一、称取	(58)
一、大肠菌群计数	(20)	二、溶化	(59)
二、金黄色葡萄球菌	(20)	三、调 pH	(59)
三、革兰氏阳性产芽孢细菌	(21)	四、过滤	(59)
四、单核细胞增生李斯特氏菌	(22)	五、分装	(59)
五、沙门氏菌	(25)	六、灭菌	(60)
六、志贺氏菌	(28)	七、倒平板	(60)
七、副溶血性弧菌	(29)	八、摆斜面	(61)
第七节 食品微生物的分类	(33)	九、质量检查	(61)
一、伯杰氏手册	(33)	十、培养基质量控制	(61)
		十一、保存	(64)

第四节 参照菌株的使用	(64)	三、半固体培养法	(114)
一、获取	(64)	第二节 厌氧培养法	(114)
二、活化	(65)	一、液体培养基	(115)
三、确认	(67)	二、固体培养基	(115)
四、使用	(68)	第三节 二氧化碳培养法	(118)
五、保存	(69)	一、烛缸法	(119)
六、复核	(73)	二、二氧化碳孵箱法	(119)
第三章 样品的处理和接种及其相关技术	(75)	三、化学法	(119)
第一节 无菌技术	(75)	四、产气袋法	(119)
一、概述	(75)	第四节 结果观察	(119)
二、微生物检测中无菌技术的组成	(75)	一、试管培养物	(120)
第二节 抽样和样品传递	(76)	二、平板培养物	(121)
一、抽样	(76)	三、标准平板菌落计数法	(124)
二、抽样方案	(77)	四、MPN 计数	(126)
三、抽样操作	(79)	五、直接镜检计数	(135)
四、样品运输	(81)	第五节 微生物的个体与群体生长和繁殖	(137)
五、样品接收	(81)	一、微生物的个体生长与繁殖	(138)
六、样品储存	(82)	二、微生物的群体生长规律——细菌生长曲线	(139)
七、验余样品	(82)	三、微生物生长量的测定	(142)
第三节 样品的处理	(82)	第五章 微生物的鉴定	(144)
一、一般要求	(82)	第一节 常用的染色方法	(144)
二、肉类	(84)	一、染色的基本原理及步骤	(144)
三、海产品	(88)	二、简单染色	(145)
四、奶及奶制品	(91)	三、负染色	(145)
五、其他产品	(93)	四、革兰氏染色	(147)
六、均质器的使用	(97)	五、芽孢染色法	(149)
第四节 接种	(99)	六、鞭毛染色	(150)
一、接种操作相关基本技术	(99)	七、荚膜染色	(151)
二、斜面接种	(101)	八、死活染色	(152)
三、液体培养基接种	(103)	第二节 光学显微镜的使用	(153)
四、半固体穿刺	(105)	一、显微镜的构造	(153)
五、平板接种	(106)	二、显微镜的光路	(154)
六、膜过滤系统的使用	(108)	三、分辨率	(155)
七、螺旋接种	(109)	四、显微镜的使用方法	(155)
八、3M 测试片的接种	(111)	第三节 测量细胞大小	(157)
第四章 微生物的培养与结果观察	(113)	一、测量原理	(158)
第一节 需氧培养法	(113)	二、测微尺的校对	(158)
一、固体培养法	(113)	三、实验操作	(158)
二、液体培养法	(114)	第四节 细菌运动性	(159)
		一、悬滴法	(159)

二、半固体穿刺	(161)	二、酵母菌的繁殖方式	(188)
第五节 其他表型鉴定	(161)	三、酵母菌的菌落	(188)
一、氧化酶试验	(161)	第三节 霉菌和酵母菌的形态结构	
二、溶血试验	(162)	观察	(188)
三、传统生化鉴定	(163)	一、霉菌的形态结构观察	(188)
四、微生物生化鉴定系统简介	(170)	二、普通酵母菌的形态结构观察	(190)
五、常见微生物生化鉴定系统	(173)	三、活酵母菌和死酵母菌的暗视野	
第六节 血清凝集试验	(182)	光学显微镜观察区分	(190)
一、血清学的原理及特点	(182)	第四节 霉菌和酵母菌的计数	(191)
二、凝集反应	(182)	一、霉菌和酵母菌的平板计数	(191)
三、沉淀反应	(184)	二、霉菌和酵母菌的测试片计数	(192)
四、补体结合反应	(185)	三、霍华德霉菌计数	(193)
第六章 霉菌和酵母菌的检测	(186)	第五节 霉菌和酵母菌的鉴定	(196)
第一节 霉菌简介	(186)	一、常见产毒霉菌的鉴定	(196)
一、霉菌细胞的形态和构造	(186)	二、酵母菌的鉴定	(209)
二、霉菌的菌落形态	(187)	第六节 耐热霉菌的检测和计数	(210)
第二节 酵母菌简介	(187)	一、耐热霉菌的简介	(210)
一、酵母菌的细胞形态和构造	(187)	二、实验步骤	(210)

管 理 篇

第七章 现代微生物检测方法	(214)	第六节 基因芯片技术	(239)
第一节 微生物快速计数方法	(214)	一、概述	(239)
一、电阻抗微生物计数	(214)	二、基本原理	(240)
二、ATP 生物荧光法	(216)	三、具体步骤	(241)
三、流式细胞技术	(217)	第七节 生物传感器	(244)
四、荧光染色计数法	(217)	一、基本概念	(245)
第二节 免疫学方法	(218)	二、工作原理	(246)
一、免疫胶体金技术	(218)	第八节 质谱鉴定系统	(248)
二、酶联免疫技术	(219)	一、不同质谱技术的原理	(248)
三、免疫荧光技术	(225)	二、质谱技术应用于微生物检测的	
第三节 脂肪酸分析	(227)	特点	(250)
一、概述	(227)	第八章 活的非可培养状态细菌的	
二、原理	(228)	检测	(251)
三、Sherlock 微生物鉴定系统	(228)	第一节 细菌的活的非可培养状态	
第四节 底物利用	(229)	简介	(252)
一、微量生化反应	(229)	一、VBNC 细菌的研究现状	(252)
二、碳源利用	(229)	二、活的非可培养细胞、芽孢和 L-	
第五节 核酸扩增技术	(230)	型细菌区别与联系	(253)
一、聚合酶链式反应	(230)	三、影响细菌进入活的非可培养	
二、荧光定量 PCR	(234)	状态的因素	(254)
三、环介导等温扩增技术	(238)	第二节 经典方法	(256)

一、经典方法的作用原理	(257)	五、 χ^2 拟合优度检验	(303)
二、副溶血弧菌荧光显微镜下的 形态特征	(257)	六、Fisher 确切概率法	(304)
三、经典方法的改进	(257)	七、相关性	(305)
第三节 Live - dead 试剂盒染色法	(258)	八、离群值的检验	(306)
一、作用原理	(258)	九、 T 检验	(310)
二、研究进展与操作	(259)	十、 F 检验	(313)
第四节 间接免疫荧光抗体法	(260)	十一、单因素方差分析	(313)
一、作用原理	(260)	十二、回归分析和拟合分析	(314)
二、实验操作	(260)	十三、检测方法性能指标	(316)
第五节 流式细胞仪检测法	(261)	十四、重复性和再现性	(318)
一、流式细胞仪的作用原理	(261)	十五、细菌繁殖的 Gompertz 模型	(324)
二、实验操作	(261)	十六、MPN 值的计算	(326)
三、方法特点	(262)	十七、菌落总数结果的计算	(327)
第六节 EMA - 荧光 PCR 法	(263)	十八、聚类分析	(330)
一、作用原理	(263)	十九、序列比对	(331)
二、实验操作	(263)	二十、绘图功能的应用	(332)
第七节 其他检测方法	(263)	第十章 实验室生物安全	(338)
一、基于细菌外源蛋白(绿色荧光蛋 白)的检测方法	(263)	第一节 实验室生物安全基础知识	(338)
二、基于细菌 mRNA 分子的检测 方法	(264)	一、生物危害事件	(338)
第九章 微生物检测质量控制及 MATLAB 应用实例	(265)	二、实验室生物安全的概念	(339)
第一节 内部质量控制	(265)	三、生物安全基本术语	(340)
一、使用标准物质	(266)	四、生物安全相关法律、标准及 规定	(341)
二、使用添加样品	(267)	五、病原微生物分级	(345)
三、实验室内部比对	(267)	六、生物安全实验室的分级	(346)
四、精密度控制	(268)	第二节 个体防护装备和防护服	(351)
五、不确定度评定	(270)	一、实验服、隔离衣、连体衣和 围裙	(351)
六、质控图	(274)	二、护目镜、安全眼镜和面罩	(352)
第二节 外部质量评估	(276)	三、防毒面具	(352)
一、实验室评审	(277)	四、手套	(352)
二、实验室间比对	(280)	第三节 生物安全柜	(352)
三、能力验证	(281)	一、生物安全柜的作用	(352)
四、测量审核	(292)	二、生物安全柜的级别和型号	(353)
第三节 MATLAB 在微生物检测质量 控制中的应用实例	(293)	三、生物安全柜的要求	(355)
一、MATLAB 基础	(294)	四、生物安全柜的试验方法	(357)
二、描述统计	(298)	五、生物安全柜安装注意事项	(364)
三、随机数	(300)	六、生物安全柜的使用及维护	(364)
四、正态性检验	(300)	第四节 实验室的无菌环境	(366)
		一、无菌室	(367)
		二、超净台	(367)
		三、洁净室	(368)

四、无菌或杀菌效果检查	(371)	九、通风	(392)
第五节 生物安全实验室良好工作 行为	(374)	十、空调	(393)
一、生物安全实验室标准的良好 工作行为	(374)	十一、通讯系统	(394)
二、生物安全实验室特殊的良好 工作行为	(375)	十二、消防系统	(398)
三、生物安全实验室的清洁	(376)	十三、实验台	(398)
第六节 废弃物的处理	(376)	第三节 食品微生物实验室平面布局 草图	(399)
一、废液的处理	(377)	一、普通食品微生物实验室平面 布局草图	(399)
二、废气的处理	(378)	二、三级生物安全微生物实验室 平面布局草图	(400)
三、固体废弃物的处理	(378)	附录1 常用染色液、缓冲液、化学 杀菌剂和消毒剂的配制	(402)
第七节 生物安全实验室应急程序	(379)	一、染色液	(402)
一、表面创伤	(379)	二、缓冲液	(404)
二、潜在生物危险物质吸入	(380)	三、化学杀菌剂和消毒剂	(407)
三、潜在危害性气溶胶的释放	(380)	附录2 常用指示剂的变色范围及 配制方法	(410)
四、生物危险物质的溢洒	(380)	附录3 常用培养基配方及配制	(412)
五、火灾和自然灾害	(381)	一、细菌常用培养基	(412)
第十一章 食品微生物实验室的 设计	(382)	二、放线菌常用培养基	(419)
第一节 食品微生物实验室设计 原则	(382)	三、酵母用培养基	(419)
一、符合规定 满足要求	(382)	四、霉菌用培养基	(420)
二、满足需要 适度超前	(383)	五、噬菌体检测培养基	(421)
三、科学布局 合理分区	(383)	六、细菌生理生化反应用培养基	(421)
四、周全考虑 协调统一	(384)	七、真菌生理生化反应用培养基	(422)
五、深入细致 关注细节	(384)	八、微生物育种用培养基	(423)
第二节 食品微生物实验室设施设计 要求	(386)	九、微生物检测用培养基	(424)
一、地面	(387)	附录4 食品微生物互联网资源	(426)
二、墙壁	(387)	一、菌种资源	(426)
三、顶棚	(388)	二、机构和组织	(428)
四、密封	(388)	三、食品安全网站	(429)
五、门窗	(388)	四、生物公司	(429)
六、水路	(389)	五、资料类	(430)
七、电气	(390)	附录5 最大可能数 (MPN) 表	(431)
八、气路	(391)	参考文献	(437)

基础篇

第一章 食品微生物基础知识

第一节 食品中微生物的发展历程

人类与食品微生物的关系起源于人类历史的初始时期。虽然早期人们对食品微生物的认识是朦胧的、朴素的，并且食品微生物的历史十分久远已难以追溯和考证，但是历史上食品微生物的一些重大事件的记录，仍能让我们了解到食品微生物学发展的历程，帮助我们理解食品微生物对于人类历史发展的重大意义。

人类最早与食品微生物的接触便是解决食物的储藏问题，人们在长期的生产和生活中不断探寻抑制有害微生物生长的有效手段和利用有益微生物的方法，为人类的生存和繁衍提供保障。其中，防腐和酿造便是人类早期应对食品腐败的方法。在人类历史的初期，人们仅仅凭经验来认知食品微生物。随着科技的发展，人类采用了各种各样的方式来进行与食品微生物密切接触的活动，这些活动逐渐从被动地认识食品微生物的低层次阶段过渡到主动地研究和利用食品微生物的高层次阶段。

下面按时间顺序回顾一下人类认知食品微生物的历史过程中的一些重大事件。

公元前 7000 年左右，古巴比伦人掌握酿酒技术。

公元前 6000 年左右，苏美尔人和古埃及人已学会酿造葡萄酒。

公元前 3000 ~ 1200 年，犹太人已学会用盐来保存食物。此时，中国人和希腊人的食物中开始出现腌制的鱼。

公元前 2500 年左右，叙利亚人已开始大量生产很多种类的啤酒。

公元前 1500 年，中国人和古巴比伦人已开始制作发酵香肠。

公元前 500 年左右，中国人掌握了制酱和醋的技术。

943 年，法国记载了由麦角菌引起的麦角中毒，导致四万多人死亡。

1658 年，一名叫 A. Kircher 的传教士首先提出微生物是引起食物中毒的重要原因，但是局限于观察手段，他只是提出有一种无法为肉眼所观察到得的微小生物存在于腐败的食物中，他称之为“虫”，然而他的描述和理论并未得到大家的认可，因为对于当时的人来说去认识一种肉眼无法看到的生物是非常困难的。

1659 年，Kircher 证实了牛乳中含有细菌。

1765 年，L. Spallanzani 提出了用煮沸 1 h 的方法可以使密封的牛肉汤不会发生变质，这个实验反驳了自然发生假说，但人们仍然认为他的方法只是赶走了生物自发产生所必需的氧气而已。随后又有许多人发表了各种加热密封保藏的方法，但是都没有能解释食品腐败的真正原因。

1683 年，荷兰的列文虎克用显微镜观察并描述细菌。

1804 年，法国厨师 N. Appert 发明了食品的玻璃瓶罐藏技术，为食品的长期保藏找到了一种有效办法。

1813 年，Donkin、Hall 和 Gamble 对罐藏食品采用后续工艺保温技术。

1820 年，德国诗人 J. Kerner 描述了“香肠中毒”事件。

1825 年, T. Kensett 和 E. Daggett 发明了马口铁罐藏食品技术, 并获得美国专利。

1835 年, 英国的 Newton 获得浓缩乳技术专利。

1836 年, Latour 发现了酵母。

1837 年, Winslow 成功研究了玉米罐头。

1839 年, Kircher 研究发黏的甜菜汁时发现了使其发黏的微生物。

1840 年, 将鱼和水果制成了罐头。

1843 年, I. Winslow 首次使用蒸汽杀菌。

1853 年, R. Chevallier 获得食品的高压灭菌专利。

1855 年, 英国的 Grimwade 生产乳粉。

1857 年, Pasteur 发现牛乳发酸是由于微生物生长的结果。

1860 年, L. Pasteur 用加热的方法杀死了葡萄酒和啤酒中的不良微生物, 这便是众所周知的巴斯德杀菌法。

1865 年, 美国出现商业化的冷冻鱼。

1873 年, Lister 在纯培养中分离出乳酸乳球菌。

1874 年, 海上运输肉的过程中开始广泛使用冰。

1880 年, 德国开始对乳品进行巴斯德杀菌。

1881 年, Koch 建立了明胶平板培养技术, 之后创立了细菌鞭毛染色、悬滴培养法等一系列显微镜技术。

1882 年, Krukowisch 发现臭氧对细菌具有杀灭作用。

1884 年, Koch 提出科赫法则。

1887 年, Miquel 开始研究嗜热细菌。

1887 年, Foster 提出纯培养的细菌可以在 0℃ 条件下生长。

1888 年, Caertner 从导致 57 人食物中毒的食物中分离出肠炎沙门氏菌。

1894 年, T. Denys 提出葡萄球菌与食物中毒有关。

1895 年, V. Geuns 对牛奶中的细菌进行计数。

1896 年, V. Remengem 发现了肉毒梭菌。

1897 年, 德国人 E. Buchner 成功地用无细胞酵母菌压榨汁中的“酶”对葡萄糖进行酒精发酵, 开创了微生物生化研究的新时代。

1902 年, 提出嗜冷微生物的概念。

1906 年, 确认蜡状芽孢杆菌食物中毒。

1907 年, E. Metchnikoff 等分离并命名酸奶细菌——保加利亚乳杆菌。

1909 年, 德国医生和化学家 P. Ehrlich 合成了一种化学治疗剂——砷凡纳明, 随后化学治疗剂的研究蓬勃开展。

1915 年, 分离出凝结芽孢杆菌。

1917 年, P. J. Donk 从玉米糊罐头中分离到嗜热脂肪芽孢杆菌。

1920 年, Bigelow 和 Esty 发表了关于芽孢耐热性的系统研究。

1926 年, Linden、Turner 和 Tom 提出链球菌引起的食物中毒事件。

1929 年, 英国细菌学家 A. Fleming 发现了第一种抗生素——青霉素。

1937 年, E 型肉毒梭状芽孢杆菌由 L. Bier 和 E. Hazen 鉴定得到。

1939 年, 确认了小肠结肠炎耶尔森氏菌可引起食物中毒。

1945 年, 确认产气荚膜梭状芽孢杆菌的致病机理。

1950 年, *D* 值概念开始使用。

1951 年, T. Fujino 提出副溶血性弧菌可引起食物中毒。

1953 年, J. D. Watson 和 H. F. C. Crick 发现了 DNA 的双螺旋结构, 标志着生命科学进入分子生物学研究的新阶段, 也将食品微生物学引向深入。

1960 年, 报道黄曲霉产生黄曲霉毒素。

1960 年, 鉴定出 F 型肉毒梭状芽孢杆菌。

1967 年, 在美国出现世界上第一台工业化辐射食品设备。

1969 年, 由 C. L. Duncan 和 D. H. Strong 确认产气梭状芽孢杆菌的肠毒素。

1971 年, 美国暴发副溶血性弧菌引起的胃肠炎和大肠杆菌引起的胃肠炎。

1975 年, 沙门氏菌的肠毒素由 L. R. Koupal 和 R. H. Deibel 证实。

1976 年, 美国暴发小肠结肠炎耶尔森氏菌引起的胃肠炎。

1977 年, 巴布亚岛和几内亚暴发环孢霉菌病。

1978 年, 澳大利亚暴发诺瓦克病毒引起的胃肠炎。

1979 年, 美国佛罗里达州发生了非 O1 群霍乱弧菌引发的肠胃炎。

1981 年, 美国暴发李斯特病。

1982 年, 美国暴发了食物传播的产血性结肠炎。

1982 年, 徐怀恕等通过对霍乱弧菌和大肠杆菌存活规律的研究, 首次发现并提出了细菌“活的非可培养”状态, 即细菌处于不良环境条件下, 其细胞通常缩成球形, 用常规方法培养不能使其生长繁殖, 但仍然具有代谢活性的一种状态。

1983 年, 由 Ruiz - Palacios 等人发现了空肠弯曲杆菌肠毒素。

1986 年, 诊断牛绵状脑病。

1996 年, 日本暴发因食用萝卜幼苗引起的大肠埃希氏菌 O157 感染。

1996 年, 英国政府宣布新型克雅氏症患者与疯牛病有关。

1996 年, 印度加尔各答出现的副溶血性弧菌新的血清型 O3: K6 在亚洲开始流行, 并传播到美国。

1997 年, 中国香港暴发 H5N1 禽流感, 造成 18 人受感染, 5 名儿童及 1 名女子死亡, 全港逾 130 万只活鸡被销毁。

1997 年~1998 年, 美国和加拿大暴发了四次源自生牡蛎中副溶血性弧菌引起的疾病。

1999 年, 美国发生了历史上因食用受李斯特氏菌污染的食品而引发的最严重的食物中毒事件。

2000 年初, 法国卫生部门在本国生产的熟肉酱和猪舌中发现李斯特杆菌。

2000 年, 日本发生了葡萄球菌肠毒素中毒引起的“雪印牛奶事件”。

2000 年, 美国科学家完成霍乱弧菌的全基因组测序。

2001 年, 疯牛病在法国、德国、比利时、西班牙等国相继发生, 欧盟各国牛肉及其制品销售遭受重创。

2006 年, 英国吉百利公司的清洁设备污水污染了巧克力, 致使多人因食用被沙门氏菌污染的巧克力而中毒, 公司紧急在欧盟和全球范围内召回上百万块巧克力。

2008 年, 美国疾病控制和预防中心宣布, 美国发生 10 年来最严重的沙门氏菌病疫情。

2011 年, 德国暴发大肠埃希氏菌 O104 疫情, 3000 多人受感染, 死亡 30 人。

2011 年, 北京市工商局公布, 思念水饺被查出金黄色葡萄球菌, 而金黄色葡萄球菌在食品安全检查中为不得检出物质。

2011 年, 美国暴发了因食用香瓜引起的李斯特氏菌中毒事件。

2012 年, 美国有 19 个州暴发了由巴雷利沙门菌引发的感染病例, 造成 93 人染病。

第二节 食品中微生物的来源

一、土壤

土壤的特点使其具备微生物繁殖的理想环境, 因此土壤中的微生物含量丰富, 其中的数量和种类都是最多的, 土壤具有如下适合微生物生存的条件:

(1) 土壤中营养丰富, 含有大量的有机质、微量元素、水分和维生素等;

(2) 土壤的表层和深层适合生长不同的微生物, 表层土壤疏松, 透气性好, 适合好氧微生物生长; 而深层土壤结构紧密, 氧气含量稀少, 适合厌氧微生物生长;

(3) 土壤的 pH 大多接近中性, 适合大多微生物的生长和繁殖, 即使其 pH 偏酸或是偏碱, 仍有与之相适应的微生物可以生长 (如: 酵母菌、霉菌、放线菌、耐碱菌和耐酸菌等);

(4) 土壤的温度适宜, 无极端环境, 适合大多数微生物的生长。

土壤中细菌的比率占据多数, 主要的细菌有: 腐生性的球菌、需氧性的芽孢杆菌 (如枯草芽孢杆菌、巨大芽孢杆菌)、厌氧性的芽孢杆菌 (如腐化梭状芽孢杆菌、肉毒梭菌) 及非芽孢菌 (如大肠杆菌)。当然在不同地区和不同性质的土壤中, 微生物的种类和数量是有很大差别的, 一般来说较浅 (10 cm ~ 20 cm) 的土壤中微生物的数量和种类都是最多的, 深层土壤中的微生物数量减少。

二、水

水是仅次于土壤的第二大微生物生长的理想环境, 无论淡水还是海水中都有大量的微生物存在, 连一些较为极端的环境中也有微生物生长 (如温泉和海底热泉)。近岸水源和土壤中的微生物种类往往很相似, 因为土壤中的微生物可以被雨水冲刷进入水中, 而水中微生物也可以通过降雨进入土壤, 这些循环都使得土壤和水中的微生物种类相似。

(一) 水环境的特点

水中有着不同含量的有机物和无机物, 可以为微生物的生长提供一定的养料, 水中有溶解氧 (表层含氧量较多, 深层缺氧), 水的温度和 pH 决定其微生物的类群。

(二) 水中微生物的主要类群

1. 淡水中的微生物

一类为假单胞菌属、产碱杆菌属、气单胞菌属、无色杆菌属等组成的一群 G^- 菌杆菌。这类微生物的适宜生长温度为 $20\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, 所以它们可以适应淡水环境, 并长期生存, 由此成为淡水中的天然的微生物类群。

另一类是外部进入淡水环境的微生物, 这些微生物大多是来自空气、土壤和生产生活污水等多个渠道的微生物。土壤中随雨水进入淡水的微生物是污染的主要来源。这一类微生物的成分较为复杂, 但不同污染源所带来的微生物是有差别的。来自生活污水、废物和人畜排泄物中的微生物大多是消化道内的寄生菌, 如大肠杆菌、粪肠球菌和极少的致病微生物。

2. 海水中的微生物

海水中生活的微生物都是有嗜盐性的。靠近陆地的海水中, 微生物数量较多 (有江水、河水的流入, 营养成分较多), 并具有和陆地微生物相似的特点。