



北京市高等教育精品教材立项项目

BEIJINGSHI GAODENG JIAOYU
JINGPIN JIAOCAI LIXIANG XIANGMU

现代食品 微生物学

XIANDAI SHIPIN WEISHENGWU XUE

刘 慧 主编



中国轻工业出版社

北京市高等教育精品教材立项项目

现代食品微生物学

刘 慧 主编

参编者(按章节编写先后顺序)

刘 慧 李铁晶

贺小贤 高秀芝

刘一倩 徐文生

 中国轻工业出版社

图书在版编目(CIP)数据

现代食品微生物学/刘慧主编. —北京: 中国轻工业出版社,
2004. 7

北京市高等教育精品教材立项项目

ISBN 7-5019-4331-1

I. 现… II. 刘… III. 食品-微生物学-高等学校-教材
IV. TS201.3

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2004)第 029957 号

责任编辑: 白洁 责任终审 滕炎楠 封面设计: 刘鹏
版式设计: 丁夕 责任校对 燕燕 责任监印 吴京一

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: 北京工大印刷厂

经销: 各地新华书店

版次: 2004年7月第1版 2004年7月第1次印刷

开本: 787×1092 1/16 印张 34 25

字数: 690千字

书号: ISBN 7-5019-4331-1/TS 2568

定价: 55.00元

读者服务部邮购热线电话: 010-65241695 85111729 传真: 85111730

发行电话: 010-88390721 88390722

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读者服务部联系调换

30504J1X101ZBW

前 言

在新世纪里,随着生命科学研究的不断深入和迅猛发展,食品微生物在农畜产品的深加工、食品安全生产等方面都起着巨大作用。特别是我国改革开放进一步加大力度和加入WTO后,农畜产品以及食品的生产、加工、监测对食品微生物学知识的要求越来越高。为了满足教学、科研和生产实践的需要,更好地配合《食品微生物学》的教学改革和课程建设,编著者根据自己18年讲授《食品微生物学》课程的经验与科研实践,在1996年编著的《食品微生物学》教材和总结十几所院校多年教学和科研成果的基础上,借鉴了近年来国内外同类教材的优点,参考大量科技文献资料,编撰这本《现代食品微生物学》。本书可作为高等院校食品科学与工程专业的教科书,也可作为其他相关专业如食品质量与安全、制药工程、制剂专业的教科书和发酵工程、生物化工本科生的参考书,同时也可作为从事食品微生物和发酵工作者的必备资料。本教材在编撰过程中突出以下特点:

① 在编排形式上力求创新。本教材从总体上分为现代食品微生物学总论和各论。总论部分介绍《普通微生物学》课程的基础知识,各论部分介绍《食品微生物学》课程的应用知识,将两门课程的教学内容有机结合起来,目的是使学生更清晰地掌握食品微生物的基础理论和基本实践技能,并使编排形式紧凑、简练,以便更好地扩展和加深两部分的微生物学所要研究的内容,同时在内容取舍和编排上突出重点,尽量删除陈旧的内容。

② 在内容上有所更新。在整个编撰过程中,以“基本”和“新”为原则,将有关食品微生物学方面的最新理论、新技术、新成果、发展新动态融入教科书的每一章节中,使学生便于了解本学科的前沿发展,并尽力做到理论与生产实际相结合,体现课程改革的精神。

③ 在文字表达上把好质量关。本教材编撰力求语言简练、内容精炼、层次分明、表达严谨、图文并茂,避免概念表达不清、内容庞杂、不易被学生掌握记忆等缺点,并注意总论和各论前后章节相关内容的衔接,尽量避免重复。

本教材由刘慧主编。参编人员具体撰写分工为:北京农学院刘慧编写绪论、第一章的第二节、第四节、第六节,第二章、第四章、第六章的第二节、第四节、第五节,第八章的第三节,第九章到第十五章;东北农业大学李铁晶编写第一章的第一节、第三节、第五节、第七节;陕西科技大学贺小贤编写第三章;北京农学院高秀芝编写第五章、第七章;北京农学院刘一倩编写第六章的第一节、第三节,第八章的第一节、第二节;北京农学院徐文生编写第十六章。本书初稿完成后,由刘慧改写和重写了部分章节,并主要完成了对全书章节的多次校对修改、仔细统稿、插图编排和文字排版工作。高秀芝参与了第六章、第八章的校对修改工作。

李铁晶为第二章至第四章的编写内容提供了部分参考资料。插图的收集工作主要由各章节编写者负责完成。

本教材编写历经3年时间,倾注了编者的智慧和精力,熬过了一个个不眠之夜,现在终于可以出版了。在这里非常感谢我的父母和爱人在我紧张写书之日给予我时间、精神、物质方面的大力支持和帮助,同时也要对北京农学院教务处董跃娴老师、编者所在校领导和中国轻工业出版社的大力支持深表感谢。本书引用了一些著作者的插图,在此一并致谢。

由于编著者水平有限,缺点和错误在所难免,恳请广大读者和同行专家提出宝贵意见。

刘 慧

目 录

第一篇 现代食品微生物学总论

绪论	1
第一章 微生物的形态和结构	10
第一节 概述	10
第二节 细菌	12
第三节 放线菌	39
第四节 酵母菌	44
第五节 霉菌	54
第六节 病毒	65
第七节 其他类型的原核微生物	85
第二章 微生物的营养	94
第一节 微生物需要的营养物质	94
第二节 微生物的营养类型	103
第三节 微生物对营养物质的吸收方式	106
第四节 培养基	109
第三章 微生物的代谢与调控	117
第一节 微生物的产能代谢	117
第二节 大分子物质的分解	138
第三节 微生物的酶	147
第四节 微生物代谢的调节与控制	151
第五节 微生物的初级代谢与次级代谢	157
第四章 微生物的生长	162
第一节 微生物的生长繁殖	162
第二节 环境因素对微生物生长的影响	172
第三节 有害微生物的控制	186
第五章 微生物的生态	198
第一节 微生物在生态系统中的作用	198

第二节 微生物与生物环境间的相互关系·····	203
第三节 微生物与环境保护·····	207
第六章 微生物的遗传变异和育种·····	218
第一节 微生物遗传变异的物质基础·····	218
第二节 基因突变和微生物育种·····	225
第三节 基因重组和杂交育种·····	239
第四节 基因工程·····	250
第五节 菌种的衰退、复壮和保藏·····	254
第七章 免疫学方法及其应用·····	260
第一节 抗原与抗体·····	260
第二节 抗原抗体反应及其应用·····	265
第八章 微生物的分类与鉴定·····	278
第一节 微生物在生物界的地位·····	278
第二节 微生物的分类与命名·····	281
第三节 微生物分类鉴定的方法·····	288

第二篇 现代食品微生物学各论

第九章 食品微生物的污染来源及其控制·····	296
第一节 食品微生物的污染来源及其污染途径·····	296
第二节 食品微生物污染的控制·····	302
第三节 控制微生物生长与食品保藏技术·····	308
第十章 食品中常见微生物的类群·····	325
第一节 食品中常见的细菌·····	325
第二节 食品中常见的霉菌和酵母菌·····	336
第三节 食品中常见的乳酸细菌·····	352
第十一章 食品中微生物数量的检测技术与指示菌类·····	368
第一节 食品中的菌数检测方法及其新进展·····	368
第二节 指示菌类·····	384
第三节 其他菌类数量的检测方法·····	389
第十二章 微生物性食物中毒及其检验技术·····	393
第一节 食物中毒概述·····	393
第二节 细菌性食物中毒·····	394
第三节 真菌性食物中毒·····	416

第四节	食物中毒病原菌的快速检验技术·····	427
第十三章	食品传播的病原微生物·····	437
第一节	人畜共患病的病原菌·····	437
第二节	消化道传染病的病原菌·····	442
第三节	食品传播的病毒·····	444
第十四章	微生物在食品发酵工业中的应用·····	451
第一节	微生物的酶及其代谢产物的应用·····	451
第二节	微生物的菌体及其内含物的应用·····	482
第十五章	微生物与食品的腐败变质·····	488
第一节	食品的腐败变质·····	488
第二节	乳与乳制品的腐败变质·····	495
第三节	肉类和鱼类的腐败变质·····	501
第四节	蛋类的腐败变质·····	506
第五节	果蔬及其制品的腐败变质·····	508
第六节	粮食及其制品的腐败变质·····	513
第七节	罐藏食品的腐败变质·····	515
第十六章	食品安全的微生物指标与质量管理控制体系·····	522
第一节	食品微生物质量和安全性指标·····	522
第二节	食品质量管理与控制体系·····	529
第三节	预测食品微生物学·····	533
主要参考书目	·····	539

第一篇 现代食品微生物学总论

绪 论

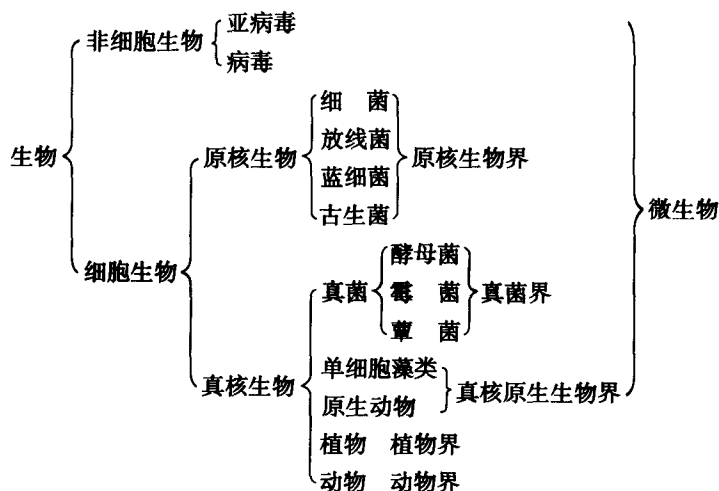
一、微生物简介

1. 微生物及其主要类群

微生物是形体微小、结构简单、大多数肉眼看不到、必须借助显微镜才能观察到的一类低等生物的总称,它包括属于原核微生物的细菌(真细菌和古生菌)、放线菌、蓝细菌、立克次氏体、支原体、衣原体和螺旋体,属于真核微生物的真菌(酵母菌、霉菌和蕈菌)、单细胞藻类和原生动物,以及属于非细胞微生物的病毒(脊椎动物病毒、无脊椎动物病毒、植物病毒、微生物病毒)和亚病毒(类病毒、卫星病毒和朊病毒)。

2. 微生物在生物界中的分类地位

在生物学发展史上,曾将所有生物分为植物界和动物界。藻类有细胞壁,进行光合作用,归于植物界。原生动物无细胞壁,可运动,不进行光合作用,归于动物界。而微生物中的许多细菌具有细胞壁,进行光合作用,又可运动,将它们归于植物界或动物界均不合适。因此,1866年赫克尔(Haeckel)提出3界系统,将生物分为动物界、植物界和原生生物界。1969年魏塔克(Whittaker)提出生物分类的5界系统,将具有细胞结构的生物分为原核生物界(包括细菌、放线菌和蓝细菌等)、原生生物界(包括大部分藻类、原生动物和黏菌)、真菌界(包括酵母菌和霉菌等)、植物界和动物界。1977年我国学者王大耜等提出将所有生物分为6界系统:即在五界系统上增加病毒界。据此,微生物分别属于病毒界、原核生物界、真核原生生物界和真菌界。当代流行的观点是1990年伍斯(Woese)根据16S rRNA序列进行同源性的比较提出的将所有细胞生物分为3个域(Domain)或3个原界(Erkingdom):细菌(Bacteria,或称真细菌)、古生菌(Archaea,或称古细菌)和真核生物(Eukarya)。由此可见,微生物在生物界中占有极其重要的地位。生物的分类表解如下:



3. 微生物的特点

微生物与动植物一样具有生物最基本的特征——新陈代谢、生长发育、衰老死亡,有生命周期。除此之外,还有其自身的特点:即种类多,分布广;个体小,繁殖快;面积大,代谢旺;食谱杂,易培养;适应性强,易变异。

(1) 种类多,分布广 微生物在自然界是一个十分庞杂的生物类群。据统计,已发现的微生物种类多达 10 万种以上。据估计,人类已发现的微生物种类仅占自然界中微生物总数的 10%,而人类至多仅开发利用了已发现微生物种类的 1%。更大量的微生物资源还有待于人类发掘。微生物在自然界的分布极为广泛。由于微生物体积小而质量轻,可以随风飘荡,走遍天涯,以致达到“无孔不入”的地步。地球上不论在动植物体内外,还是土壤、空气、沙漠、温泉、河流、深海、冰川、盐湖、高山、油井、地层下都有大量与其相适应的各类微生物聚居。利用微生物分布广的特点可以从各种场所分离筛选生产菌种,开发菌种资源。如从土壤中筛选生产抗生素的放线菌,从果园土壤中筛选生产乙醇的酵母菌等等。

(2) 个体小,繁殖快 微生物的个体极其微小,测量其大小通常用微米(μm)或纳米(nm)为单位。微生物用肉眼一般看不见,必须借助普通光学(或电子)显微镜才能看清。但也有例外,如大型真菌子实体常肉眼可见。微生物的繁殖速度惊人。细菌一般每 20~30min 即分裂 1 次,细胞数目比原来增加 1 倍,例如大肠杆菌在适宜条件下 20min 即分裂 1 次,那么 1h 后就是 2^3 个,24h 后就是 2^{72} 个,即 4.7×10^{23} 个。但实际上由于受空间、营养物质、代谢产物、生物拮抗及环境条件的限制,微生物的几何级数分裂速度只能维持数小时。发酵工业利用微生物繁殖快的特点可在短时间内获得大量菌体和发酵产物。例如,利用啤酒酵母生产蛋白质,一般每 8~12h 即“收获”1 次,而农作物一般要 1 年才收获 1 次。

(3) 面积大,代谢旺 微生物代谢旺盛表现为代谢能力强和代谢类型多。微生物体积

小,单位体积表面积大(即比表面积大),能迅速与周围环境进行物质交换,使其代谢速率最大,因此具有很强的合成与分解能力。例如,1kg 酒精酵母 1d 能消耗几千公斤的葡萄糖转变为酒精,大肠杆菌每小时可消耗自重 2 000 倍的糖,乳酸细菌发酵乳糖每小时可产生自重 1 000 倍的乳酸,产朊假丝酵母合成蛋白质的能力是大豆的 100 倍。此种特性为微生物快速生长繁殖和产生大量代谢产物提供了充分的物质基础,从而使微生物有可能更好地发挥“活的化工厂”的作用。发酵工业利用微生物高效率的生物化学转化能力将基质快速转化为发酵产品。微生物代谢类型之多是动植物所不及的,它们几乎能分解地球上的一切有机物,既能分解天然气、石油、纤维素、木素等初级有机物,又能分解氰化钾、酚、聚氯联苯、DDT 等有毒物质,也能合成次生代谢产物等各种复杂有机物。微生物有多种产能方式,有的利用分解有机物或无机物的氧化获得能量,有的利用光能进行光合作用,有的利用化学能进行化能合成作用,有的能进行有氧呼吸、无氧呼吸或发酵等而产能。有的具有固定分子态氮或利用复杂有机氮化物的能力,有的具有抗热、冷、酸、碱、高渗、高压、高辐射剂量等极端环境的特殊能力。不同微生物可产生不同的代谢产物,如氨基酸、有机酸、抗生素和酶类等,在生产实践中可应用此特点获得种类繁多的发酵产品。

(4) “食谱杂”,易培养 微生物利用物质的能力很强。凡是能被动植物利用的物质,如蛋白质、糖类、脂肪和无机盐等微生物均能利用,而且有的还能分解动植物不能利用的物质,如纤维素、石油、塑料等。微生物容易培养,能在常温常压下利用简单的营养物质,甚至工农业废弃物生长繁殖,积累代谢产物。发酵工业利用微生物这一特点可以再生资源,如以秸秆、米糠、麸皮、废糖蜜、酒糟、蔗渣等工农业废弃物为原料,生产食品、医药、化工原料。

(5) 适应性强,易变异 微生物有极其灵活的适应性,这是高等动植物不可比拟的。为了适应多变的环境条件,微生物在长期进化中产生了许多灵活的代谢调控机制,并有很多种诱导酶(占细胞蛋白质含量的 10%)。一些极端微生物都有相应特殊结构蛋白质、酶和其他物质,使之适应极端恶劣环境。例如,海洋深处的某些硫细菌可在 100℃ 以上的高温下正常生长,一些嗜盐细菌能在 32% 的盐水中正常活动。此外,微生物为了保护自已形成了一些细胞特殊结构。例如,在菌体外附着的荚膜可免受干燥和寄主吞噬细胞的吞噬,细菌的休眠体芽孢、蓝细菌的静息孢子、放线菌分生孢子和真菌孢子均比其营养细胞有较强的抗不良环境能力。微生物的个体一般都是单细胞、简单多细胞或非细胞的生物,其表面积与体积的比值大,使之与外界接触面大而受环境条件影响大,一旦环境条件激烈变化,多数微生物死亡,少数个体发生变异(基因突变)而存活下来,但由于微生物繁殖快、数量多,即使变异频率十分低(一般为 $10^{-5} \sim 10^{-10}$),也容易产生大量变异后代。此种变异涉及细胞的形态构造、代谢途径、生理类型以及代谢产物的质或量等性状的变化。人类利用微生物容易变异的特点实施诱变育种,再进行突变株的筛选,即可在短时间内获得优良菌种,提高产品质量和产量。微生物易发生变异的特性还常导致菌种衰退以及对抗生素的耐药性。

微生物的这些特点使其在工业生产中正起着愈加显著的作用。有的直接利用菌体及其内含物,有的利用酶及其代谢产物。微生物已被广泛用于生产食品、药物、化工原料、生物制品、饲料、农药等,也有的被用于纺织、制革、石油发酵、细菌冶金、石油开采。近年来也有的利用微生物生产塑料、树脂等高分子化合物。随着基因工程、固定化酶、固定化细胞等先进技术的应用,进一步发掘了微生物在工农业生产中的巨大潜力。

二、食品微生物学研究的对象、内容与学习目的

1. 食品微生物学研究的对象

食品微生物学研究的主要对象包括细菌、酵母菌、霉菌、放线菌等四大类微生物中的某些类群;原核微生物的病毒——噬菌体在食品发酵生产中有较大危害,因而也是食品微生物学研究的范畴。随着现代食品科学的发展,食品研究的范畴不断拓宽,食品微生物学研究的微生物类群也不断增多。例如,为了开发人类可持续发展的食品及营养物质资源,人们研究培养螺旋蓝细菌等作为营养保健食品,其他能进行光合作用的单细胞藻类也逐渐成为食品微生物学研究的对象。

2. 食品微生物学研究的内容

微生物学是研究微生物及其生命活动规律和应用的科学,研究内容包括微生物的形态结构、生理生化、生长繁殖、遗传变异、分类鉴定、生态分布,以及微生物与生物环境间的相互关系,理化环境因素对微生物生长的影响,并将其应用于发酵工业、农业、医药卫生、生物工程和环境保护等实践领域。其根本任务是发掘、利用、改善和保护有益微生物,控制、消灭或改造有害微生物。随着微生物学的不断发展,已形成了基础微生物学和应用微生物学。食品微生物学是专门研究微生物与食品之间相互关系的一门科学,它隶属于应用微生物学范畴,融合了普通微生物学、工业微生物学、医学微生物学、农业微生物学等与食品有关的部分内容,同时又渗透了生物化学、免疫学、机械学和化学工程的有关内容。研究的内容包括:①研究与食品有关的微生物的形态特征、生理生化特性、遗传学特性、免疫学特性及生态学特点等生命活动规律;②研究食品微生物的污染来源、污染途径及食品在生产、加工、贮藏、运输、销售等各环节控制污染的方法;③研究微生物引起食品腐败变质的机理及其现象;④研究如何利用有益微生物的代谢活动为人类制造发酵食品;⑤研究如何控制腐败微生物的生长繁殖,防止食品发生腐败变质;⑥研究如何控制病原微生物的生长和产生毒素,防止食物中毒与食源性传染病的发生;⑦研究如何采用现代微生物检验技术(现代生物学、免疫学、酶学、电化学、生物工程技术及电子技术),快速、准确地检测食品中的微生物数量和检验食品中的病原微生物,以充分发挥防腐保鲜措施的效能和保证食品安全性。总之,食品微生物学的主要任务在于,为人类提供既有益于健康、营养丰富,而又保证生命安全的食品。

3. 学习食品微生物学的目的

食品微生物学是一门实践性较强的专业基础课程,其学习目的是为了掌握食品微生物学的基本知识、基础理论和基本实验技能,熟练掌握检测食品中微生物数量和大肠菌群数的操作技术及检验病原菌的基本方法,掌握一些有益微生物(如乳酸菌、酵母菌等)的分离、纯化与筛选方法,了解发酵食品的制作原理和方法,掌握生产菌种的保藏、活化与发酵剂的制备方法,能够熟悉和识别与食品有关的有益菌、腐败菌和病原菌的形态特征、生理生化特性、免疫学特性、遗传学特性、生态学特点,从而在食品生产、加工与贮藏过程中,充分利用有益菌的代谢作用,增加食品数量和提高产品质量,控制腐败菌和病原菌的有害活动,以防止食品发生腐败变质和防止因食物中毒而引起的病害。

三、微生物学的发展简史

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,使微生物学的研究工作日益得到深入和发展。微生物学的发展过程一般可分以下五个时期。

1. 朦胧时期(史前期)

在人类首次见到微生物个体之前,虽然还未知自然界有微生物存在,但是在长期的生产实践和日常生活中已利用微生物的有益作用生产果酒、食醋、酱、面包等产品。在工业方面,早在 4000 多年前的龙山文化时期我国劳动人民就会利用微生物制曲、酿酒,并以其工艺独特、历史悠久、经验丰富、品种多样的 4 大特点闻名世界,这是我国人民在史前期的重大贡献。当时埃及人也已学会烤制面包和酿造果酒。2500 年前春秋战国时期,我们的祖先已发明制酱和食醋。公元 7 世纪(唐代)食用菌的人工栽培是我国劳动人民的首创,要比西欧(最早是法国)早 11 个世纪。长期以来,我国劳动人民一直利用盐渍、糖渍、干燥、酸化等方法保存食物。在农业上,我国早在商代已使用沤粪肥田。虽然还不知道根瘤菌的固氮作用,但已经利用豆科植物轮作提高土壤肥力。在医学方面,我国劳动人民早在 2500 年前就知道用曲治疗消化道疾病,很早以前就应用茯苓、灵芝等真菌治疗疾病。2000 多年前认识和防治许多传染病、狂犬病。公元 11 世纪(宋代)种人痘苗预防天花已广泛应用,这是我国对世界医学史的重大贡献,后来传至俄国、日本、朝鲜、土耳其及英国。18 世纪末英国医生琴纳(E. Jenner)提出用牛痘苗预防天花。

2. 形态学描述时期(初创期)

人类对微生物的利用虽然很早,并已推测自然界存在肉眼看不见的微小生物,但由于科学技术条件的限制,无法用实验证实微生物的存在。显微镜的发明揭开了微生物世界的奥秘。17 世纪下半叶,荷兰人安东·列文虎克(Antonie Van Leeuwenhock, 1632—1723)用自制能放大 200~300 倍的简单显微镜观察到了污水、牙垢、雨水、腐败有机物中的微小生物,发现了细菌、酵母菌和原生动物,并对它们进行了形态描述,为微生物的存在提供了有力证据,

开始了微生物的形态学描述时期,并一直持续到 200 多年后的 19 世纪中叶。安东·列文虎克即成为微生物学的先驱者。

3. 生理学研究时期(奠基期)

19 世纪中叶,以法国人路易·巴斯德(Louis Pasteur, 1822—1895)和德国人柯赫(Robert Koch, 1843—1910)为代表的科学家才将微生物的研究从形态学描述推进到生理学研究阶段,揭示了微生物是造成葡萄酒发酵酸败和人畜传染病的原因,并建立了接种、分离、培养和灭菌等一整套独特的微生物学基本研究方法,从而奠定了微生物学的基础,同时开辟了医学和工业微生物等分支学科。巴斯德成为微生物学的奠基人,而柯赫是细菌学奠基人。

(1) 巴斯德的主要贡献 巴斯德原是化学家,曾在化学领域做出重要贡献,后来转向微生物学研究领域,为微生物学的建立和发展做出了卓越贡献。主要表现在下列 4 个方面:

① 彻底否定了“自然发生”学说:该学说认为一切生物是自然发生的。当时由于技术问题,如何证实微生物不是自然发生的仍是一个难题。巴斯德在前人工作的基础上进行了著名的曲颈瓶试验。取一个曲颈瓶和直颈瓶,内盛有机汁液(肉汁),两者同时加热以杀死瓶中原有微生物,而后长久置于空气中。结果曲颈瓶中没有微生物发生,而直颈瓶中出现大量微生物使肉汁变质。前者之所以肉汁不变质(或保持无菌状态),是因为空气中带菌尘埃不能通过弯曲长管进入瓶内。由此证明了肉汁变质是由于外界微生物侵入的结果,并不是自然发生的。从此,使微生物的研究从形态描述进入生理学研究的新阶段。

② 证明发酵是由微生物引起的:他认为一切发酵都与微生物生长繁殖有关,并历经辛苦终于分离到了许多引起发酵的微生物,证实了酒精发酵是由酵母菌引起的,乳酸发酵、醋酸发酵和丁酸发酵都是不同细菌引起的,还研究了 O_2 对酵母菌的生长和酒精发酵的影响,为进一步研究微生物的生理生化特性和建立工业微生物学、酿造学、食品微生物学奠定了基础。

③ 创立了巴氏消毒法:他认为酒的变质是有害微生物繁殖的结果,为解决当时法国酒变质问题,他创造了科学的巴氏消毒法($60\sim 65^\circ\text{C}$, 30min),一直沿用至今,仍广泛用于食品制造业的消毒工作。与此同时他证实了家蚕软化病是由病原微生物引起的,并解决了“蚕病”的实际问题,推动了病原学的发展,并深刻影响医学的发展。

④ 接种疫苗预防传染病:琴纳医生虽然早在 1798 年发明了接种痘苗预防天花,但不知其免疫过程的机制。1877 年巴斯德研究了鸡霍乱,发现病原菌经过减毒可使机体产生免疫力,以预防鸡霍乱病。随后,他又研究了牛、羊炭疽病和狂犬病,首次制成炭疽疫苗、狂犬疫苗,并创造了接种疫苗方法,从而开创了免疫学,为人类防治传染病做出了重大贡献。

(2) 柯赫的主要贡献 柯赫曾是德国医生,为著名的细菌学家。其功绩在于:

① 建立了一整套研究微生物的基本技术:他发明了用固体培养基分离和纯培养微生物的技术,即找到了较理想的琼脂作为培养基凝固剂,设计了浇铺平板用的玻璃培养皿,并创造了细菌接种和染色方法。这项技术是研究微生物学的前提条件,一直沿用至今。此外,

他发明的培养基制备方法也是微生物研究的基本技术之一。这两项技术不仅建立了一套研究微生物的实验方法,而且也为今天的动植物细胞培养做出了贡献。

② 对病原细菌的研究:证明了炭疽病、霍乱病和肺结核病是由炭疽杆菌、霍乱弧菌和结核杆菌引起的,并分离培养出相应的病原菌。1884年他提出了证明某种微生物是否为某种疾病病原体的基本原则——柯赫法则:即病原菌必须来自患病机体,从患病机体中分离纯培养必须得到该病原体,用该纯培养物接种到敏感动物体内必须引发相同的疾病,从被感染的敏感动物体内能分离到与原来相同的病原菌。这一法则至今仍指导对动植物病原菌的确定。由于柯赫在病原菌研究方面的开创性工作,自19世纪70年代至20世纪20年代发现的各种病原微生物有上百余种,其中还包括植物病原菌。

由于巴斯德和柯赫的杰出工作,使微生物学作为一门独立的学科开始形成。此后,李斯特(J. Lister)用杀菌药物防止微生物侵入手术伤口,发明了消毒(无菌)外科操作技术;埃里赫(P. Ehrlich)用化学药剂控制病原菌,开创了化学治疗法。20世纪以来,由于工农业生产发展的需要和为了研究、解决许多生物学理论及技术问题,微生物成为重要的研究对象和研究材料,使微生物学进入了高速发展时期,相继建立了微生物学各分支学科,如食品微生物学、酿造学、工业微生物学、农业微生物学、医学微生物学、畜牧兽医微生物学、细菌学、真菌学、病毒学、微生物生理学、微生物遗传学、微生物生态学等。

4. 生物化学研究时期(发展期)

1897年德国人毕希纳(E. Büchner)对酵母菌“酒化酶”进行生化研究,发现了磨碎的酵母菌仍能发酵葡萄糖产生酒精,并将此具有发酵能力的物质称为酶。这样发酵现象的本质才真正被认识。此外,他还发现微生物的代谢统一性,并开展广泛寻找微生物的有益代谢产物的工作,开始了生物化学研究阶段。毕希纳即成为生物化学的奠基人。1929年英国医生弗莱明(A. Fleming)发现青霉素能抑制细菌生长,此后开展了对抗生素的深入研究,并用发酵法生产抗生素。青霉素的发现建立了微生物工业化培养技术,推动了抗生素工业的发展。

5. 分子生物学研究时期(成熟期)

进入20世纪,由于电子显微镜的发明,同位素示踪原子的应用,生物化学、生物物理学等边缘学科的建立,推动了微生物学向分子水平的纵深方向发展。同时微生物学、生物化学和遗传学的相互渗透,又促进了分子生物学的形成。

20世纪30年代:发明了电子显微镜,为微生物学等学科提供了重要的观察工具。1939年考雪(C. Kausche)等首次用电镜观察到了烟草花叶病毒。

20世纪40年代:1941年比德耳(C. Beadle)和塔图姆(E. Tatum)分离并研究了脉孢霉的一系列生化突变类型,促进了微生物遗传学和微生物生理学的建立,推动了分子遗传学的形成。1944年埃弗里(O. Avery)等人通过肺炎链球菌转化实验,证明储存遗传信息的物质是DNA,第一次确切地将DNA和基因的概念联系起来,开创了分子生物学的新纪元。

20 世纪 50 年代: 1953 年沃森(J. Watson)和克里克(F. Crick)提出了 DNA 分子双螺旋结构模型及核酸半保留复制学说。1958 年克里克(F. Crick)提出遗传信息传递的“中心法则”,为分子生物学和分子遗传学奠定了理论基础。沃森和克里克即成为分子生物学的奠基人。

20 世纪 60 年代: 1961 年雅各布(F. Jacob)和莫诺(J. Monod)通过对大肠杆菌乳糖代谢的调节机制的研究,提出了操纵子学说,并指出基因表达的调节机制。1965 年尼伦伯格(M. Nirenberg)等用大肠杆菌的离体酶系证实了三联体遗传密码的存在,提出遗传密码的理论,阐明了遗传信息的表达过程。1963 年莫诺等提出调节酶活力的变构理论。

20 世纪 70 年代: 1970 年史密斯(H. Smith)等从流感嗜血杆菌 *Rd* 的提取液中发现并提纯了限制性内切酶。1973 年科恩(S. Cohen)等人首次将重组质粒成功转入大肠杆菌中,开始了基因工程研究。基因工程是获得新物种的一项崭新技术,为人工定向控制生物遗传性状、根治疾病、美化环境、用微生物生产稀有的多肽类药物及其他发酵产品展现了极其美好的前景。1975 年密尔斯坦(C. Milstein)等人建立生产单克隆抗体技术。1977 年 F. Sanger 等人对 ϕ X174 噬菌体的 5 373 个核苷酸的全部序列进行了分析。

20 世纪 80 年代: 1982—1983 年 Prusiner 发现了朊病毒。1983—1984 年 Mullis 建立了 PCR 技术(聚合酶链式反应),实现了目的基因在体外扩增。

20 世纪 90 年代: 1995 年、1996 年和 1997 年分别完成了对独立生活的原核生物流感嗜血杆菌、自养生活的古生菌和真核生物啤酒酵母的全基因组测序工作,为“人类基因组作图和测序计划”以及其后基因组研究的完成做好了技术准备。对微生物基因组的研究促进了生物信息学时代的到来。

20 世纪 80 年代以来,分子微生物学应运而生,出现了一些新的概念,较突出的有:生物多样性、进化、三原界学说,细菌染色体结构和全基因组测序,细菌基因表达的整体调控和对环境变化的适应机制,细菌的发育及其分子机理,细菌细胞之间和细菌同动植物之间的信号传递,分子技术在微生物原位研究中的应用等。微生物不仅广泛应用于生产实践,而且成为生命科学研究理想材料,如转化、转导、接合、代谢阻遏、遗传密码、转录、转译、mRNA、tRNA 等概念大多以微生物为研究材料发现和证实。微生物学的基础理论和独特实验技术推动了生命科学各领域飞速发展。其独特而先进的实验技术有:显微镜使用技术和制片染色技术、无菌操作技术、消毒灭菌技术、纯种分离和克隆化技术、纯种培养技术、突变型标记及筛选技术、菌种保藏技术、原生质体制备和融合技术及 DNA 重组技术等。

21 世纪,微生物学将进一步向地质、海洋、大气、太空等领域渗透,使更多的边缘学科得到发展,如地质微生物学、海洋微生物学、大气微生物学、太空微生物学和极端环境微生物学等。微生物学的研究技术和方法也将会在吸收其他学科的先进技术的基础上,向自动化、定向化和定量化发展。21 世纪,微生物产业除了广泛利用和发掘不同生活环境(包括极端环

境)的自然菌种资源外,基因工程菌将成为工业生产菌,生产外源基因表达的产物。尤其在药物生产上,结合基因组学在药物设计上的新策略,将出现以核酸(DNA 或 RNA)为靶标的新药物(如反义寡核苷酸、肽核酸、DNA 疫苗等)大量生产,人类将完全征服癌症、艾滋病以及其他疾病。此外,微生物与能源、信息、材料、计算机的结合将开辟新的研究领域,生产各种各样的新产品,例如,降解性塑料、DNA 芯片、生物能源等,在 21 世纪将出现一批崭新的微生物工业,为全世界的经济和社会发展做出更大贡献。

复习思考题

1. 什么是微生物? 它包括哪些类群?
2. 什么是微生物学? 其研究的内容是什么?
3. 简述生物的六界分类系统及微生物在此系统中的分类地位。
4. 简述微生物的五大特点,并列举它们在生产实践中的应用。
5. 简述微生物学发展史中五个时期的代表人物和其科学贡献。
6. 食品微生物学的研究内容和学习目的是什么?