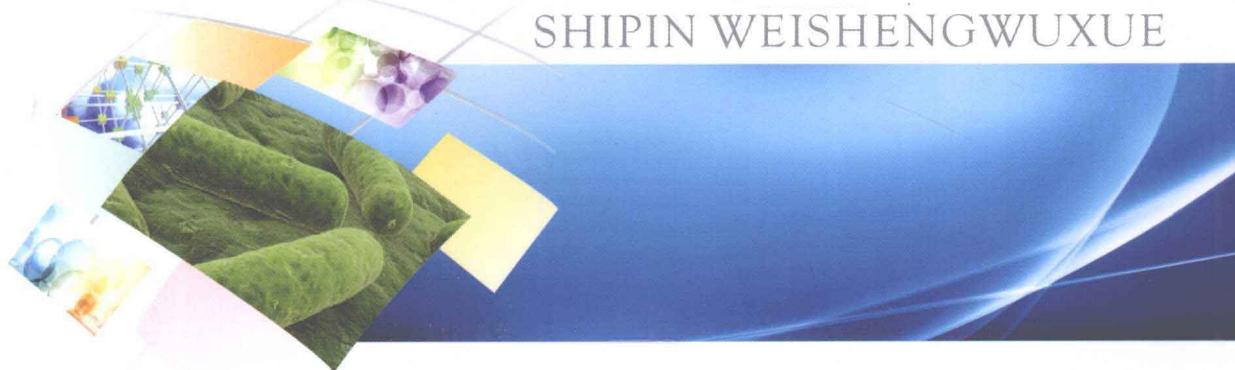




普通高等教育食品类专业“十二五”规划教材
高等学校食品类国家特色专业建设教材

食品微生物学

SHIPIN WEISHENGWUXUE



樊明涛 赵春燕 雷晓凌 ◎主编



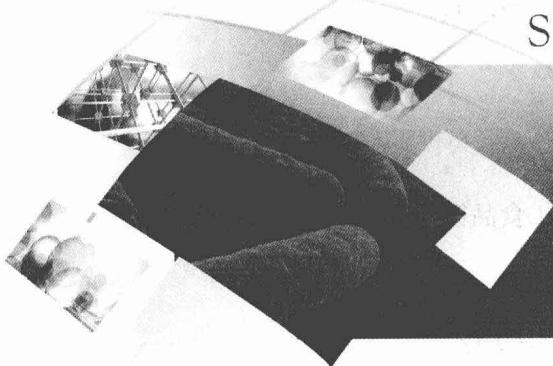
郑州大学出版社



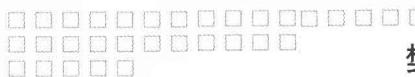
普通高等教育食品类专业“十二五”规划教材
高等学校食品类国家特色专业建设教材

食品微生物学

SHIPIN WEISHENGWUXUE



樊明涛 赵春燕 雷晓凌 ◎主编



郑州大学出版社

内容提要

食品微生物学主要研究与食品生产、食品安全有关的微生物的特性,研究如何更好地利用有益微生物为人类生产各种各样的食品以及改善食品的质量,防止有害微生物引起的食品腐败变质、食物中毒,并不断开发新的食品微生物资源。近年来,随着分子生物学技术的不断发展,许多新技术也越来越多地应用到食品微生物学的学科领域,并取得了可喜的成绩。

图书在版编目(CIP)数据

食品微生物学/樊明涛,赵春燕,雷晓凌主编. —郑州:
郑州大学出版社,2011.2
(普通高等教育食品类专业规划教材)
ISBN 978-7-5645-0306-2

I . ①食… II . ①樊…②赵…③雷… III . ①食品微生物-生物-
微生物学-高等学校-教材 IV . ①TS201.3

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 235160 号

郑州大学出版社出版发行

郑州市大学路 40 号

出版人:王 锋

全国新华书店经销

河南省瑞光印务股份有限公司印制

开本:787 mm×1 092 mm

邮政编码:450052

发行部电话:0371-66966070

印张:24.5

1/16

字数:598 千字

版次:2011 年 2 月第 1 版

印次:2011 年 2 月第 1 次印刷

书号:ISBN 978-7-5645-0306-2

定价:42.00 元

本书如有印装质量问题,由本社负责调换



编写指导委员会

(按姓氏笔画排序)

- 王茂增 河北工程大学农学院副教授
艾志录 河南农业大学食品科学技术学院教授
刘全德 徐州工程学院食品生物工程学院副教授
刘延奇 郑州轻工业学院食品与生物工程学院教授
孙俊良 河南科技学院食品学院教授
权伍荣 延边大学农学院食品科学系教授
张凤宽 吉林农业大学发展学院生物食品学院教授
张进忠 安阳工学院生物与食品工程学院教授
李新华 沈阳农业大学食品学院教授 博导
汪东风 中国海洋大学食品科学与工程学院教授 博导
肖安红 武汉工业学院食品科学与工程学院教授
邵秀芝 山东轻工业学院食品与生物工程学院教授
陆启玉 河南工业大学粮油食品学院教授 博导
陈从贵 合肥工业大学生物与食品工程学院教授
岳田利 西北农林科技大学食品科学与工程学院教授 博导
侯玉泽 河南科技大学食品与生物工程学院教授
胡耀辉 吉林农业大学食品科学与工程学院教授 博导
章超桦 广东海洋大学食品科技学院教授 博导
蔺毅峰 运城学院生命科学系教授
阚建全 西南大学食品科学学院教授 博导



Food 本书作者

主 编 樊明涛 赵春燕 雷晓凌
副 主 编 杜不英 陈宏伟 秦翠丽
编 委 (按姓氏笔画排序)
王永霞 尤丽新 伍金娥
刘 柳 刘变芳 刘新利
杨利玲 赵 林 黄现青
董彩文 焦凌霞 魏新元



近年来,我国高等教育事业快速发展,取得了举世瞩目的成就,为我国经济社会的快速、健康和可持续发展以及高等教育自身的改革发展做出了巨大贡献。但是,高等教育质量还不能完全适应经济社会发展的需要,迫切需要进一步深化高等学校教育教学改革,提高人才培养的能力和水平,更好地满足经济社会发展对高素质创新性人才的需要。为此,国家实施了高等学校本科教学质量与教学改革工程,进一步确立了人才培养是高等学校的根本任务,质量是高等学校的命脉,教学工作是高等学校各项工作的中心的指导思想,把深化教育教学改革,全面提高高等教育教学质量放在了更加突出的位置。

专业建设、课程建设和教材建设是“质量工程”的重要组成部分,是提高高等教育质量的关键。“质量工程”实施以来,在专业建设、课程建设方面取得了明显的成果,而教材是这些成果的直接体现,同时也是深化教学内容和教学方法改革的重要推动力。为此,教育部要求加强新教材和立体化教材建设,提倡和鼓励学术水平高、教学经验丰富的教师,根据教学需要编写适应不同层次、不同类型院校,具有不同风格和特点的高质量教材。郑州大学出版社按照这样的要求和精神,在教育部食品科学与工程专业教学指导委员会的指导下,在全国范围内,对食品类专业的培养目标、规格标准、培养模式、课程体系、教学内容等,进行了广泛而深入的调研,在此基础上,组织全国二十余所学校召开了食品类专业教育教学研讨会、教材编写论证会,组织学术水平高、教学经验丰富的一线教师,吸收了近年来食品类专业教育教学经验和成果特别是各校特色专业建设成果,编写了本套系列教材。

教育教学改革是一个不断深化的过程,教材建设是一个不断推陈出新、反复锤炼的过程,希望这些教材的出版对食品类专业教育教学改革和提高教育教学质量起到积极的推动作用,也希望使用教材的师生多提意见和建议,以便及时修订、不断完善。

编写指导委员会
2010年11月



Food

前言

食品微生物学是基础微生物学一个非常重要的分支,属于应用微生物学的范畴,它主要研究与食品生产、食品安全有关的微生物的特性,研究如何更好地利用有益微生物为人类生产各种各样的食品、改善食品的质量,以及如何防止有害微生物引起的食品腐败变质、食物中毒,并不断开发新的食品微生物资源。近年来,随着分子生物技术的不断发展,许多新技术也越来越多地应用到食品微生物学的学科领域,并取得了可喜的成绩。

食品微生物学也是高等院校食品科学与工程、食品质量与安全等相关专业一门很重要的专业基础课,在该门课程中,学生不但要掌握基础微生物学的知识,更要学会在食品加工中如何利用有益微生物、如何防控有害微生物,所以食品微生物学更强调微生物在食品工业中的具体应用。我们联合国内十多所院校长期从事微生物学教学和科研工作的教师,共同编写这本教材。

本书由西北农林科技大学食品学院樊明涛编写前言和第6章;广东海洋大学食品科技学院雷晓凌编写第1章;徐州工程学院食品工程学院陈宏伟编写第2章;郑州轻工业学院食品与生物工程学院董彩文编写第3章和第12章;沈阳农业大学食品学院赵春燕编写第4章;河南科技大学食品与生物工程学院秦翠丽编写第5章第1、2节;吉林农业大学发展学院尤丽新编写第5章第3节和第9章;陕西师范大学食品工程与营养科学学院刘柳编写第6章和第8章;山东轻工业学院食品与生物工程学院刘新利、赵林编写第7章;河南科技学院食品学院焦凌霞编写第8章;河南农业大学食品科学技术学院黄现青编写第9章;西南大学食品科学学院杜不英编写第10章;河北工程大学农学院王永霞编写第11章和第12章;安阳工学院生物与食品工程学院杨利玲编写第11章;武汉工业学院食品学院伍金娥编写第12章;西北农林科技大学食品学院魏新元、刘变芳编写第13章。

由于编者水平有限,书中难免有不当、疏漏甚至错误之处,恳请专家和广大读者批评指正,以便我们及时修补,使教材的质量不断提高。

编 者
2010年7月



第1章 绪论	1
1.1 微生物的特点	2
1.2 微生物的发展史	3
1.3 微生物的分类鉴定与命名	6
1.4 食品微生物学的研究内容	11
1.5 微生物与食品生产	11
1.6 食品微生物的发展与展望	12
第2章 原核微生物的形态、结构和功能	14
2.1 细菌	15
2.2 放线菌	29
2.3 蓝细菌	32
2.4 古菌	33
2.5 其他类型的原核微生物	35
2.6 原核微生物的分类系统	38
第3章 真核微生物的形态、结构和功能	42
3.1 酵母菌	43
3.2 丝状真菌——霉菌	51
3.3 真核微生物的分类系统	65
第4章 非细胞微生物——病毒	67
4.1 病毒的形态结构和化学成分	68
4.2 病毒的分类	70
4.3 病毒的复制	71
4.4 亚病毒因子	74
4.5 噬菌体	76
第5章 微生物的营养	80
5.1 微生物细胞的化学组成	81
5.2 微生物的营养物质及生理功能	83
5.3 微生物对营养物质的吸收方式	86
5.4 微生物的营养类型	90

5.5	培养基	94
第6章	微生物的生长与控制	100
6.1	微生物生长繁殖测定方法	101
6.2	影响微生物生长的主要因素	111
6.3	控制微生物的物理化学因素	118
第7章	微生物能量和物质代谢	131
7.1	化能异养菌的生物氧化和产能	132
7.2	自养菌的生物氧化和产能	139
7.3	微生物获得能量的途径	142
7.4	微生物的物质代谢	143
7.5	分解代谢和合成代谢的关系	157
7.6	微生物的初级代谢和次级代谢	158
7.7	微生物的代谢调控与发酵生产	164
第8章	微生物遗传变异和育种	167
8.1	遗传变异的物质基础	168
8.2	基因突变和诱变育种	179
8.3	基因重组和杂交育种	184
8.4	基因工程简介	196
8.5	菌种的衰退、复壮和保藏	200
第9章	微生物生态	204
9.1	微生物在自然界中的分布与菌种资源的开发	205
9.2	微生物之间的关系	211
9.3	微生物与自然界物质循环	213
9.4	微生物与环境保护	220
第10章	传染与免疫	229
10.1	传染	230
10.2	免疫	235
10.3	抗原与抗体	241
10.4	免疫学方法及其应用	250
10.5	免疫学生物制品及其应用	258
第11章	微生物与食品生产	262
11.1	微生物与食品生产的关系	263
11.2	细菌性发酵食品	265
11.3	真菌性发酵食品	277
11.4	微生物菌体食品	291
11.5	微生物与生物活性物质	295

第12章	微生物与食品腐败变质	301
12.1	食品的腐败变质	302
12.2	食品腐败变质的基本条件	303
12.3	食品腐败变质机制	306
12.4	主要食品的腐败变质	308
12.5	食品防腐保藏技术	318
12.6	食品保藏的栅栏技术	326
第13章	微生物与食品卫生	329
13.1	食品卫生的微生物学标准	330
13.2	微生物污染与食物中毒	332
13.3	细菌性食物中毒	333
13.4	真菌性食物中毒	347
13.5	食品介导的病毒感染	354
第14章	食品中微生物生长模型的建立与食品安全预警技术	357
14.1	微生物生长与微生物生长模型的建立	358
14.2	微生物的衰亡与致死模型的建立	367
14.3	预测食品微生物学	369
14.4	预测食品微生物学与食品质量管理	373
14.5	食品安全预警系统	374
参考文献		379

微生物是指肉眼看不到、需借助显微镜放大才能观察到的一群微小生物的总称。它们个体微小、结构简单、代谢类型多，主要包括无细胞结构不能独立生活的病毒、亚病毒（类病毒、拟病毒、阮病毒）、原核细胞结构的真细菌、古细菌和真核细胞结构的真菌（酵母菌、霉菌等），有些藻类、原生动物也包括在微生物中。

第 1 章

绪 论

1.1 微生物的特点

微生物除了具有和其他生物一样的新陈代谢、遗传、繁殖等基本的生命特征外,还具有一些其他生物不具有的特点。

1.1.1 体积微小,比表面积大

衡量微生物的大小一般用微米(μm)、纳米(nm),每个细胞的质量也非常轻,据估计每个细菌的质量只有 $10^{-10}\sim 10^{-12}\text{ mg}$,即大约 $10^9\sim 10^{10}$ 个细菌的总质量才有 1 mg 。这样小的细胞,比表面积很大,使微生物与外界物质的交换能力非常强。

1.1.2 生长旺盛,繁殖快

生长旺盛和繁殖快是微生物最重要的特点之一,单个微生物细胞很快就会发展成为一个种群。微生物细胞增殖快的几分钟就扩增一代,慢的也就几个小时。细菌细胞的繁殖代时大约是 $20\sim 30\text{ min}$,如 *E. coli* 的代时大约 20 min ,即一个细胞 20 min 就繁殖1代。假设每个繁殖的后代细胞都具有相同的繁殖能力,一个细胞经过 24 h 繁殖后,其细胞数目理论上应该为 2^{72} ,即大约 4.7×10^{22} 个细菌。按每 10^{10} 个细菌质量为 1 mg 计算,则上述细菌的质量超过 0.47 t ,这是不可想象的,但实际上由于空间、营养、细胞死亡等各种原因,这样的繁殖速度客观上是不存在的,只在细菌的对数生长期才有几何扩增的繁殖速度。微生物如此高速繁殖的特点已经被人们所利用,各种发酵工业的产品主要来源于微生物的中间产物或菌体。例如,酵母菌合成蛋白质的速度是动物、植物合成蛋白质速度的 $10^2\sim 10^4$ 倍;每个乳酸菌细胞产生的乳酸是其体质量的 $10^3\sim 10^4$ 倍。

1.1.3 分布广泛,种类繁多

微生物在地球上几乎无处不在,无孔不入,就连人体的皮肤上、口腔里,甚至胃肠道里,都有许多微生物。百十公里的高空、十多公里深的海底、 $2\,000$ 多米深的地层、近 $100\text{ }^\circ\text{C}$ 的温泉、零下 $250\text{ }^\circ\text{C}$ 的环境中,均有微生物存在,这些都属极端环境微生物。至于人们正常生产、生活的地方,微生物更是不计其数,但人们往往是“身在菌中不知菌”。

微生物聚集最多的地方是土壤,土壤是各种微生物生长繁殖的大本营,任意取一把土或一粒土,就是一个微生物世界,不论是数量还是种类均很多。在肥沃的土壤中,每克土大约含有 20 亿个微生物,即使是贫瘠的土壤,每克土中也大约含有 3 亿~ 5 亿个微生物。空气里悬浮着无数细小的尘埃和水滴,它们是微生物在空气中的藏身之地。哪里的尘埃多,哪里的微生物就多。一般来说,陆地上空比海洋上空的微生物多,城市上空比农村上空的微生物多,杂乱肮脏地方的空气里比整洁卫生地方的空气里的微生物多,人烟稠密、家畜家禽聚居地方空气里的微生物最多。现已发现的微生物种类多达 10 万种以上,但有学者估计,目前发现的微生物种类还不到实际存在的 $1/5$,还有大量的未知微生物有待我们开发利用。

1.1.4 适应性强,代谢途径多,易变异

微生物对外界环境适应能力特别强,原因有两方面:一方面和微生物的一些特殊结



构有一定的关系,如有些细菌有荚膜、有些细菌产芽孢,放线菌和真菌能产生各种各样的孢子,据报道,有些孢子可以在特殊环境中存活几百年;另一方面,一些极端环境的微生物都能产生相应特殊结构的蛋白质、酶和其他物质,使之适应恶劣环境,使物种能延续。微生物代谢途径多也是适应性强的一个很重要的原因,这使得微生物在许多其他生物不能生存的环境下都能生存。例如,一些微生物能够利用大多数生物不能利用的物质(如纤维素、塑料甚至有毒的有机农药),还有一些化能自养菌能够利用 NH_4^+ 、 NO_2^- 、 Fe^{2+} 、 S^{2-} 等获得能量而生存。

由于微生物的比表面积大,与外界环境的接触面大,因而受环境影响也大,一旦环境条件不适于微生物生长时,大多数微生物细胞死亡,少数存活下来的细胞可能发生一定的变异,利用这一特点,人们可以对微生物进行各种各样的处理,促使微生物发生变异,再进行筛选,最终得到目标菌。

总之,微生物的这些特点,使它在生物界中占据特殊的位置。它不仅广泛应用于生产实践,而且成了生物科学的研究的理想材料,推动和加速了生命科学的研究的迅猛发展。在当今高新技术革命的浪潮中,以细菌和酵母菌等为模式菌,研究其核酸组成和基因功能,调控微生物的代谢,使其更加符合人类的生产要求,同时对人类基因功能的探索以及一些疾病的治疗都具有重要的借鉴作用。

1.2 微生物的发展史

微生物的发展同其他科技的发展是分不开的,都经历了漫长的过程,但从观察到微生物的存在到现在却只有 300 多年的历史,国内学者大多认为将微生物的发展分为五个时期较为科学。

1.2.1 微生物利用的朦胧阶段——史前期

这一时期经历了漫长的过程,大多处于朦胧的利用阶段,积累了一些利用微生物和防控微生物的经验。我国民间利用微生物进行酿酒,可以追溯到 4 000 多年前,而在古文明发源地埃及,民间酿酒和醋的时期大约在 3 000 年前,比我国要晚将近 1 000 年。在古希腊的石刻上,记有酿酒的操作过程。古埃及人很早就掌握了面包制作和果酒酿制技术。我国北魏时期农学家贾思勰的《齐民要术》(大约写成于公元 533 年—公元 534 年)中,列有谷物制曲、制酱、酿酒、造醋和腌菜等工艺,这些都说明人类已经在生产与日常生活中自发地控制和利用微生物,以满足人类日常生活的需要。我国在春秋战国时期(公元前 770 年—公元前 221 年)就有利用微生物沤粪积肥的记载。大约在 2 000 年前,已发现豆科植物的根瘤有增产作用,并能采取相应的措施来利用和控制有益微生物的生命活动,从而提高作物产量。这一时期最显著的特点是凭经验利用微生物的有益活动。

1.2.2 微生物的形态学描述阶段——初创期

微生物发展史上具有划时代意义的大事是首次观察到了微生物。1676 年,荷兰的列文虎克(A. V. Leeuwenhoek)用自制的单式显微镜首次观察到了细菌的个体,初步揭开了微生物世界的奥秘。列文虎克用他自己制造的显微镜观察了河水、雨水、牙垢等样本,发

4 食品微生物学

现了运动的微小生物，并将观察到的杆状、球状、螺旋状细菌的图形描画出来，但限于当时的条件，这一发现并未引起重视。在之后近 200 年的时间里，人们对微生物的研究仅停留在对它们形态描述的低级水平上，而对它们的生理活动及其与人类实践活动的关系知之甚少，因此，在这一时期微生物学还不能作为一门独立的学科。

1.2.3 微生物的生理学阶段——奠基期

大约从 1861—1897 年，这一时期虽然短暂，但却涌现了几个对微生物发展作出重要贡献的人物。法国的巴斯德和德国的柯赫功不可没。巴斯德（L. Pasteur, 1822—1895 年）的主要贡献有以下几方面。

(1) 彻底否定了自然发生说 在人类对微生物还没有完全认识之前，人们对好多现象没法解释，认为是自然发生的。1861 年，巴斯德把营养基质装在长颈的玻璃瓶内，然后将瓶内的营养基质予以加热并将长颈在热的作用下拉成细弯曲状，营养基质将在瓶内长期保存而不腐败变质，而不经过加热或虽然经过加热但瓶颈较短、较粗的瓶内所装营养基质很容易腐败变质（瓶颈较短、较粗的瓶子和外界的空气实际上是连通的），这个简单的实验以无可辩驳的事实彻底推翻了长期以来大家公认的自然发生说，证明空气中含有微生物。

(2) 创立了巴氏消毒技术 这一技术解决了当时法国酒变质和家蚕微粒子病的问题，推动了病原学的发展，也为后续许多食品和饮料的消毒奠定了基础，到现在还在广泛应用，是蛋白质饮料、奶制品以及酱油、食醋最常用的消毒方法。

(3) 证明发酵是微生物作用的结果 巴斯德认为一切发酵都与微生物的生长、繁殖有关，经过大量的工作，他分离得到许多与发酵有关的微生物，并证明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是由不同的细菌引起的，这为微生物的生理生化研究和微生物许多分支学科的诞生奠定了一个坚实的基础。随后，微生物的研究很快进入生理生化阶段并相应建立了许多分支学科，如工业微生物学、酿造学、食品微生物学、医学微生物学等。

(4) 预防接种提高机体免疫功能 虽然人们很早就利用一些技术来预防天花，但一直不知道其机制，实际还是一种经验的传续。1798 年，英国的 Jenner 医生发明了接种痘苗预防天花，但对其机制还是知之甚少。1877 年，巴斯德研究了禽霍乱，发现病原菌经过减毒处理可以产生免疫，从而预防禽霍乱病。随后，他又研究了炭疽病和狂犬病，首次制成了狂犬疫苗用于防治狂犬病，为人类防治传染病作出了杰出的贡献。

德国的柯赫（R. Koch, 1842—1910 年）是同时期另一位著名的微生物学家，他的主要贡献有以下几方面。

(1) 建立了微生物的纯培养技术 他用固体培养基进行细菌的分离纯化，使这一过程变得简便易行，也是获得微生物纯培养的前提。随后，柯赫分离出炭疽杆菌、结核杆菌、链球菌和霍乱弧菌（1877—1883 年）的纯培养物，并对这些病原菌进行了相应的研究。

(2) 提出了著名的柯赫法则 柯赫法则：①病原微生物总是存在于患传染病的动物中，不存在于健康个体中；②可自原患病寄主获得病原微生物的纯培养；③将病原微生物的纯培养人工接种健康寄主，必然诱发寄主患病，且症状相同；④可以从人工接种后发病的寄主中再次分离出同一病原微生物的纯培养。他的工作为微生物学奠定了坚实的科

学基础。

在同一时期,其他研究工作者也对微生物的发展作出了显著的贡献。1865年,英国外科医生李斯特(J. Lister)提出了外科手术无菌操作方法,创立了外科消毒术。1888年,贝叶林克(M. Beijerinck)在研究土壤细菌各个生理类群的生命活动时分离出了豆科植物的根瘤菌。1895年又发现了硝化细菌,进一步揭示了微生物参与土壤物质转化的各种作用,为土壤微生物学的发展奠定了基础。1892年,俄国学者伊万诺夫斯基(D. Ivanowsky)首先发现了烟草花叶病毒(TMV),奠定了病毒学研究的里程碑,使微生物学步入快速发展的轨道。

1.2.4 微生物的生物化学阶段——快速发展期

大约从20世纪初开始到20世纪50年代结束,历时虽短,但却是微生物的快速发展时期,主要揭示了微生物生理生化反应的机制以及物质代谢的途径。这一时期取得的主要成果是:①证明了使碳水化合物发酵的是酵母菌所含的各种酶而不是酵母菌本身;②通过无细胞的酵母菌汁液,证明了辅酶的存在;③发现了细菌的转化现象和抗细菌的物质——“Penicillin”(青霉素);④提出了生物呼吸作用的三羧酸循环;⑤分离纯化了青霉素,并使青霉素得到了真正的应用,随后又相继发现了其他抗生素;⑥获得了烟草花叶病毒的结晶体,并证实该结晶为核蛋白,它具有感染力;⑦提出了“一个基因一个酶”假说,并被以后的研究所证实;⑧证明细菌对噬菌体产生的抗性由基因发生自发突变所致,与它们是否同噬菌体接触无关;⑨证明遗传物质的化学本质是DNA;⑩发现了细菌基因重组的另一方式——接合作用,随后又发现基因的连锁现象,至20世纪50年代初,又发现F因子这种细菌质粒。微生物学、遗传学和生物化学的相互渗透与作用导致了现代分子遗传学的诞生与发展。

1.2.5 微生物发展的分子生物学阶段——成熟期

从20世纪50年代开始,对微生物生理生化尤其是对遗传变异规律的研究,使人们清楚地知道生物界不论是多细胞生物、单细胞生物还是非细胞的分子生物,它们在基本生物学规律上有着惊人的一致。由于微生物特别是原核微生物的结构简单、营养要求低、培养迅速、生理类型多、多数为单倍体、容易发生变异、容易累积中间代谢产物、具有许多选择性的遗传标记和存在多种原始的遗传重组类型等优点,使微生物在解决当代生物学基本理论问题中发挥着越来越大的作用,于是微生物的研究进入到了分子生物学水平。这一时期取得的主要成果有以下几方面:①提出了DNA双螺旋结构模型,揭开了遗传信息复制和转录的奥秘,初步阐明了生物大分子三维结构与功能的关系;②提出并证实了DNA半保留复制的原则;③提出了遗传信息传递的中心法则,阐明了遗传信息从核酸向蛋白质的流动过程;④提出了大肠杆菌乳糖代谢的操纵子学说,阐明了遗传信息传递与表达的关系,开创了基因表达调节机制研究的新领域;⑤用大肠杆菌的离体酶系证实了三联体遗传密码的存在,阐明了遗传信息的表达过程;⑥从流感嗜血菌Rd的提取液中发现并提纯了限制性内切酶,该酶被誉为DNA定向切除的“手术刀”;⑦首次将重组质粒成功地转入大肠杆菌中并予以表达,开创了基因工程崭新的历程;⑧提出了生物分类的三域学说,根据该学说,可以将自然界的生物分为细菌、古细菌和真核生物三域,阐述了

6 食品微生物学

各生物之间的系统发育关系,创立了在分子和基因水平上进行分类鉴定的理论与技术;⑨完成了ΦX174 噬菌体 DNA 全序列分析;⑩发现了世界上最大的细菌—纳米比亚硫黄珍珠菌和最大的病毒,又分离到生长温度可以达到 121 ℃ 的古细菌。

总之,从 20 世纪 50 年代开始,微生物学的发展日新月异,新理论、新技术层出不穷。到目前为止,已完成大约 200 种微生物全基因测序,使人类对微生物的认识上升到了一个新的高度。

1.3 微生物的分类鉴定与命名

微生物种类繁多,性质差异很大,给研究和利用带来了很大困难,只有将性质相同或相近的微生物进行归类,才能对纷繁的微生物类群有一个清晰的认识,为人类开发利用微生物提供有用的依据。在这种背景下,微生物分类学应运而生。微生物分类学 (microbial taxonomy) 是一门以微生物亲缘关系远近、性质差异大小为依据,把它们分门别类安排成条理清楚的小单元或类群的科学,它的具体任务就是鉴定 (identification)、分类 (classification) 和命名 (nomenclature)。鉴定是指对一个新分离的微生物培养物,在充分了解其性质的基础上,判断是否可以归属于一个已经命名的分类单元中或需要另外新建一个单元的过程。鉴定是从一般到特殊或从抽象到具体的过程,亦即通过详细观察和描述一个未知名称的纯种微生物的各种性状特征,并同现有分类系统中已经存在的微生物予以对照,以辨明未知菌的真实身份。分类指的是将亲缘关系比较近或相似性比较高的一类微生物放在一个单元中的过程,分类和鉴定密切相关,不可分开。分类是从个别到一般或从具体到抽象的过程,亦即通过大量描述有关个体的文献资料和数据,经过科学的归纳,整理成为一个小的单元。命名则是根据国际命名法,给已经鉴定的微生物一个科学合理的名称的过程,亦即当有一个新发现的菌种后,经过查找权威性的分类鉴定手册,与现有的菌种性状确实有差异,是一个从未记载过的新种,则按照国际命名法给该种一个新的学名。

1.3.1 微生物分类鉴定的依据

1.3.1.1 形态特征

个体形态,镜检细胞形状、大小、排列,革兰染色反应,运动性,鞭毛位置、数目,有无芽孢、荚膜、细胞内含物,放线菌和真菌的菌丝结构,孢子丝、孢子囊或孢子穗的形状和结构,孢子的形状、大小、颜色及表面特征等。

1.3.1.2 培养特征

在固体培养基平板上的菌落 (colony) 和斜面上菌苔 (lawn) 的性状 (形状、光泽、透明度、颜色、质地等);在半固体培养基中穿刺接种培养的生长情况;在液体培养基中的混浊程度,液面有无菌膜、菌环,管底有无絮状沉淀,培养液颜色等。

1.3.1.3 生理生化特征

能量代谢是利用光能还是化学能;对 O₂ 的要求是专性好氧、微需氧、兼性厌氧或专性厌氧等;营养和代谢所需碳源、氮源的种类,有无特殊营养需要,所含酶的种类等。



1.3.1.4 生态习性

生长温度,酸碱度,嗜盐性,致病性,寄生、共生关系等。

1.3.1.5 血清学反应

用已知菌种或菌株制成抗血清,然后根据它们与待鉴定微生物是否发生特异性的血清学反应,来确定未知菌种或菌株。

1.3.1.6 噬菌反应

菌体的寄生有专一性,在有敏感菌的平板上产生噬菌斑,斑的形状和大小可作为鉴定的依据;在液体培养中,噬菌体的侵染液由混浊变为澄清。噬菌体寄生的专一性有差别,寄生范围广的为多价噬菌体,能侵染同一属的多种细菌;单价噬菌体只侵染同一种的细菌;极端专业化的噬菌体甚至只对同一种菌的某一菌株有侵染力,故可寻找适当专业化的噬菌体作为鉴定各种细菌的生物试剂。

1.3.1.7 细胞壁成分

革兰阳性菌的细胞壁含肽聚糖多、脂类少,革兰阴性菌与之相反。链霉菌属(*Streptomyces*)的细胞壁含丙氨酸、谷氨酸、甘氨酸和2,6-氨基庚二酸,而诺卡氏菌属(*Nocardia*)的细胞壁则含有阿拉伯糖,霉菌细胞壁则主要含几丁质,酵母菌细胞壁则常含有甘露聚糖,这些都是微生物分类的依据。

1.3.1.8 红外吸收光谱

利用红外吸收光谱技术测定微生物细胞的化学成分,了解微生物的化学性质,也常作为分类依据之一。

1.3.1.9 G+C 含量

生物遗传的物质基础是核酸,核酸组成上的异同反映生物之间的亲缘关系。就一种生物的DNA来说,它的碱基含量是相对固定的。亲缘关系接近的微生物,它们的(G+C)含量相同或近似,测定G和C所占的摩尔分数,就可作为判断微生物亲缘关系远近的依据之一。

1.3.1.10 DNA 杂交

要判断微生物之间的亲缘关系,需要比较它们DNA的碱基顺序,最常用的方法是DNA杂交法。杂交率越高,表示两个DNA链之间的碱基顺序越相似,它们间的亲缘关系也就越近。

1.3.1.11 核糖体核糖酸相关度测定(rRNA-DNA分子杂合试验)

rRNA的同源性能在DNA相关度低的细菌之间显示它们的亲缘关系,从而弥补DNA相关度测定的缺陷。

1.3.1.12 rRNA 的碱基顺序

RNA的碱基顺序是由DNA转录来的,故完全具有相对应的关系。提取并分离细菌内标记的16S rRNA,用核糖核酸酶消化,可获得各种寡核苷酸,测定这些寡核苷酸上的碱基顺序,可作为细菌分类学的一种标记。