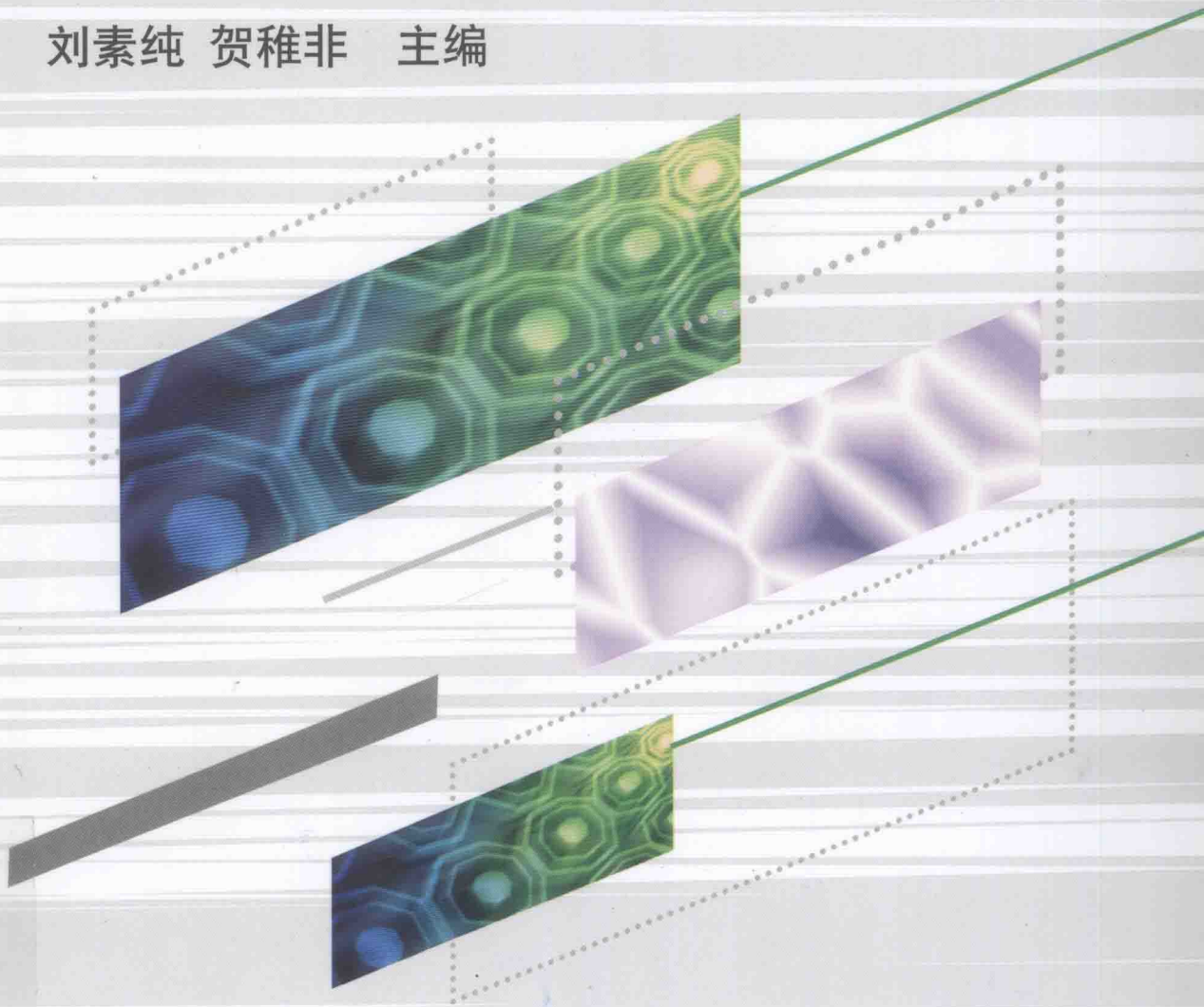




普通高等教育“十二五”规划教材  
食品专业类教材系列

# 食品微生物检验

刘素纯 贺稚非 主编



科学出版社

普通高等教育“十二五”规划教材

食品专业类教材系列

# 食品微生物检验

刘素纯 贺稚非 主编

科学出版社

北京

## 内 容 简 介

本书共分为六章, 主要介绍食品微生物检验在食品检验中的意义和作用、食品安全国家标准食品微生物学检验的基本原理与方法、食品安全国家标准食品微生物学检验总则和意义、食品中几种主要病原微生物的检验原理和方法、各类食品安全的微生物学检验方法以及食品微生物快速测定技术。

本书侧重于理论解释, 力求将食品微生物学的基础理论与基本实验技能完美融合, 使读者能对食品微生物学检验能够有清晰的认识与良好的实践能力。

本书可作为普通高等院校食品科学与工程、食品质量与安全专业的教材, 也可供食品生产质量控制、食品质量检验、食品安全检验检疫、安全卫生监督人员以及工商管理部门、大专院校、食品行业协会等其他相关工作者参考和使用。

### 图书在版编目 (CIP) 数据

食品微生物检验/刘素纯, 贺稚非主编. —北京: 科学出版社, 2013  
普通高等教育“十二五”规划教材·食品专业类教材系列  
ISBN 978-7-03-038094-4

I. ①食… II. ①刘… ②贺… 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 (2013) 第 145275 号

责任编辑: 沈力匀 / 责任校对: 马英菊  
责任印制: 吕春珉 / 封面设计: 耕者设计工作室

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

源海印刷有限责任公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2013 年 7 月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

2013 年 7 月第一次印刷 印张: 13 1/2

字数: 330 000

定价: 28.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换〈路通〉)

销售部电话 010-62134988 编辑部电话 010-62135235 (VP04)

版权所有, 侵权必究

举报电话: 010-64030229; 010-64034315; 13501151303

# 《食品微生物检验》

## 编写委员会

主 编 刘素纯 湖南农业大学  
贺稚非 西南大学

### 副 主 编

王远亮 湖南农业大学  
武 运 新疆农业大学

### 参编人员 (按姓氏笔画排列)

王 伟 新疆农业大学  
旭日花 内蒙古农业大学  
张香美 河北经贸大学  
周 康 四川农业大学  
钟青萍 华南农业大学  
逢唤明 新疆农业大学

## 前 言

食品是人类生命活动赖以生存的物质，食品质量与安全关系到人民的身体健康。随着科学技术的发展和人们生活水平的提高，食品安全已经成为人们特别关注的问题。国际卫生组织、各国食品卫生、安全管理部门一直对微生物污染食品带来的危害给予极大的重视和关注。由于我国食品企业大部分为中小型企业，技术人员匮乏，尤其是食品质量安全检验人员缺少，单凭传统的加工经验进行生产，这不仅严重影响企业的自身发展，也危害着人们的身体健康。食品微生物检验是食品质量安全控制方面的重要技术和手段，在控制微生物引起的食源性疾病方面具有重要的作用，目前已成为食品安全中重要的研究领域。

本书是一本贯彻食品安全法和确保食品质量与安全的实用工具书。全书内容丰富，系统地、全面地论述了食品检验的基础理论知识和技能知识。是各普通高等院校师生的实用性科学知识和技能的理论课参考教材，同时也可满足不同层次食品科学工作者的需求，也可供从事相关食品专业人员作参考。

本书共分六章，包括绪论、食品微生物检验的基本原理与方法、食品安全国家标准食品微生物学检验、食品中几种主要病原微生物的检验、各类食品安全的微生物学检验和食品微生物快速测定技术等内容，分别由长期从事食品检验教学与研究的教授和骨干教师持笔完成，编写成员有湖南农业大学刘素纯和西南大学贺稚非（第一章）、内蒙古农业大学旭日花（第二章）、华南农业大学钟青萍（第三章）、新疆农业大学武运和王伟及逢唤明（第四章）、四川农业大学周康（第五章）、河北经贸大学张香美和湖南农业大学王远亮（第六章），全书由刘素纯和贺稚非负责统稿。全书的绘图由刘素纯负责。

本书在撰写过程中参考了国内外大量的研究成果，这固然能为本书的内容增加新鲜知识，但有些观点和结论仍需要实践验证，有些问题还需要继续研究和探讨。

在编写、统稿等过程中，我们参考了前辈和同行已经出版的大量文献资料，在此特向有关作者谨致谢意！感谢他们的帮助和支持！

本书由集体编写而成，倾注了每位编者的辛劳，但由于编写人员的学识和写作水平有限，书中不妥之处，敬请读者和同行专家批评指正。

# 目 录

第一章 绪论	1
一、食品微生物检验概念	1
二、食品微生物检验特点	1
三、食品微生物检验作用	3
四、食品微生物检验的指标及其食品安全学意义	3
五、食品安全与食品微生物检验的展望	11
第二章 食品微生物检验的基本原理与方法	12
第一节 食品中微生物的个体形态检查	12
一、不染色标本检查	12
二、染色标本检查	13
第二节 微生物的培养特性检查	14
一、培养基的种类	14
二、微生物的接种	16
三、微生物的培养	18
四、培养结果观察	19
第三节 微生物的生理生化反应	20
一、含碳物质的代谢	20
二、含氮物质的代谢	22
三、呼吸酶类试验	24
四、有机酸的利用	25
五、毒性酶类试验	26
第四节 微生物的血清学检验	27
一、抗原	27
二、抗体	29
三、血清学反应（抗原抗体反应）	31
四、常用的血清学检验方法	32
第五节 动物试验	39
一、概述	39
二、接种前的准备	39
三、接种方法	41
四、实验动物观察和剖检	42

<b>第三章 食品安全国家标准食品微生物学检验</b> .....	44
<b>第一节 食品微生物学检验总则</b> .....	44
一、实验室基本要求 .....	44
二、样品的采集 .....	46
三、样品检验 .....	50
四、生物安全与质量控制 .....	51
五、记录与报告 .....	55
六、检验后样品的处理 .....	56
<b>第二节 菌落总数测定</b> .....	56
一、平板菌落计数法 .....	56
二、菌落总数 Petrifilm TM 测试片法 .....	58
三、平板菌落计数法新标准与旧标准的差异 .....	59
<b>第三节 大肠菌群测定</b> .....	60
一、大肠菌群 MPN 计数法 .....	60
二、大肠菌群平板计数法 .....	63
三、大肠菌群 PetrifilmTM 测试片法 .....	65
<b>第四节 霉菌和酵母数测定</b> .....	65
一、霉菌和酵母平板计数法 (GB 4789.15—2010) .....	65
二、霉菌直接镜检计数法 .....	67
<b>第五节 致病菌的检验</b> .....	67
一、检验程序 .....	68
二、主要步骤及原理 .....	68
<b>第四章 食品中几种主要病原微生物的检验</b> .....	71
<b>第一节 沙门氏菌检验</b> .....	71
一、生物学性状 .....	71
二、食物中毒 .....	73
三、微生物学检验 .....	73
<b>第二节 志贺氏菌检验</b> .....	83
一、生物学性状 .....	83
二、致病性 .....	84
三、微生物学检验 .....	85
<b>第三节 致泻大肠埃希氏菌检验</b> .....	89
一、生物学性状 .....	89
二、致病性 .....	90
三、中毒机制与主要症状 .....	90
四、微生物学检验 .....	91

第四节 金黄色葡萄球菌检验 .....	95
一、生物学性状 .....	95
二、食物中毒 .....	96
三、微生物学检验 .....	97
第五节 溶血性链球菌检验 .....	102
一、生物学性状 .....	102
二、致病性 .....	103
三、微生物学检验 .....	103
第六节 蜡样芽孢杆菌检验 .....	105
一、生物学性状 .....	105
二、食物中毒 .....	106
三、微生物学检验 .....	107
第七节 副溶血性弧菌的检验 .....	109
一、生物学特性 .....	109
二、食物中毒 .....	110
三、微生物学检验 .....	110
第八节 产气荚膜梭菌的检验 .....	115
一、生物学特性 .....	115
二、食物中毒 .....	116
三、微生物学检验 .....	116
第九节 小肠结肠炎耶尔森氏菌检验 .....	119
一、生物学性状 .....	119
二、致病性 .....	120
三、微生物学检验 .....	120
第十节 肉毒梭菌及肉毒毒素检验 .....	124
一、生物学性状 .....	124
二、致病性 .....	125
三、微生物学检验 .....	125
第十一节 空肠弯曲菌的检测 .....	128
一、生物学性状 .....	128
二、致病性 .....	129
三、微生物学检验 .....	129
第十二节 单核细胞增生李斯特氏菌检验 .....	132
一、生物学性状 .....	132
二、致病性 .....	133
三、微生物学检验 .....	134



第十三节 阪崎肠杆菌检验 .....	136
一、生物学性状 .....	137
二、致病性 .....	137
三、微生物学的检验 .....	137
第十四节 大肠埃希氏菌 O157:H7/NM 检验 .....	140
一、生物学性状 .....	140
二、致病性 .....	141
三、微生物学的检验 .....	141
<b>第五章 各类食品安全的微生物学检验 .....</b>	<b>144</b>
第一节 空气和食品接触面微生物污染的检验 .....	144
第二节 食品用水卫生微生物学检验 .....	145
第三节 肉与肉制品检验 .....	152
第四节 乳及乳制品检验 .....	153
第五节 蛋与蛋制品检验 .....	156
第六节 水产食品检验 .....	157
第七节 冷冻饮品、饮料检验 .....	159
第八节 调味品检验 .....	160
第九节 冷食菜、豆制品检验 .....	161
第十节 糖果、糕点、蜜饯检验 .....	161
第十一节 酒类检验 .....	162
第十二节 粮谷、果蔬类食品检验 .....	163
第十三节 罐头食品商业无菌的检验 .....	164
一、罐头食品的特性 .....	164
二、检验方法 .....	166
三、结果判定 .....	169
第十四节 鲜乳中抗生素残留量检验 .....	169
一、嗜热链球菌抑制法 .....	169
二、嗜热脂肪芽孢杆菌抑制法 .....	171
第十五节 食品中双歧杆菌的鉴定 .....	172
第十六节 食品中乳酸菌检验 .....	176
<b>第六章 食品微生物快速测定技术 .....</b>	<b>179</b>
第一节 免疫学方法技术 .....	179
一、酶联免疫吸附技术 .....	179
二、免疫荧光技术 .....	182
三、免疫印迹技术 .....	183
四、乳胶凝集试验 .....	183

---

五、放射免疫技术 .....	184
第二节 PCR 技术 .....	186
一、PCR 的工作原理 .....	186
二、PCR 技术的应用 .....	187
第三节 核酸探针杂交技术 .....	187
一、核酸探针杂交技术的基本原理 .....	188
二、核酸探针杂交技术的应用 .....	188
第四节 ATP 生物发光检测技术 .....	189
一、ATP 生物发光技术的基本原理 .....	189
二、ATP 生物发光技术的应用 .....	189
第五节 阻抗法 .....	192
一、阻抗法的工作原理 .....	192
二、阻抗法的应用 .....	193
第六节 生物传感器 .....	193
一、生物传感器工作原理 .....	193
二、生物传感器的应用与发展 .....	194
第七节 流式细胞技术 .....	195
一、流式细胞技术的原理 .....	195
二、流式细胞技术的应用与发展 .....	196
第八节 测试纸片快速检验法 .....	197
一、测试纸片快速检验法基本原理 .....	197
二、测试纸片快速检测技术的应用 .....	198
第九节 其他 .....	199
主要参考文献 .....	202

# 第一章 绪 论

随着生活水平的提高，人们对食品的安全性要求也越高，不仅要求营养丰富、美味可口，而且要求安全经济。民以食为天，食品与人民群众的生活息息相关，但由于微生物在自然界中无处不在，在食品的加工、贮藏、运输过程中都不可避免地存在许多微生物的污染问题，因此学习和掌握食品微生物检验技术，是保证食品安全和人民身体健康的重要手段，也是为食品工业发展保驾护航的重要基础。本课程的任务是使学生全面系统地掌握微生物的培养特征及形态观察技术、微生物的大小测定等基本操作技能，进一步掌握菌落总数、大肠菌群等食品安全学的意义和检验技术，以及由食品传染给人的病原微生物的检验技术，同时介绍食品微生物的快速检验方法，为学生毕业后从事食品检验和科研工作奠定坚实的基础。

## 一、食品微生物检验概念

食品中微生物的种类、数量、性质、活动规律与人类健康关系极为密切。微生物与食品的关系复杂，既有有益的一面，也有不利的一面，必须经过检验才能确保其安全性。食品微生物检验作为监控食品质量的工具，早已为食品生产厂家的食品原料、生产过程、产品等的微生物学监测把关，也是食品监测机构的常规检验的内容。对人们提高生活质量起到了极其重要的作用。

食品微生物检测就是应用微生物学的理论与方法，研究外界环境和食品中微生物的种类、数量、性质、活动规律及对人和动物健康的影响。它与食品微生物学、医学微生物学、兽医微生物学、农业微生物学、安全学等关系甚为密切，与传染病学、免疫学、病理学、组织学、解剖学等也有一定的联系。

传统的食品微生物检验学主要是运用微生物学的理论与技术，建立食品微生物学检验方法和确定食品安全的微生物学标准的一门应用性科学。该方法主要是靠微生物培养和生理生化实验，耗时长、效率低、敏感性差，不能及时检出食品中的病原微生物。然而随着科学的进步，又逐步发展出现了现代食品微生物检验学。现代微生物检验学是以微生物学为基础，运用现代免疫学、分子生物学、生物传感器、自动化仪器等方面的理论和技术，研究食品中微生物，特别是病原微生物的种类、数量、性质等，并建立现代食品微生物检验方法。其具有简便、快速、准确、高效、高灵敏度的特点。

目前我国食品安全国家标准食品微生物学检验的方法大部分采用传统的检验方法即第一法作为检验依据。

## 二、食品微生物检验特点

食品在食用前的各个环节中，往往是不可避免被微生物污染。食品被微生物所污染无疑会对食品的安全状况和质量造成影响。评价食品被微生物污染的程度，要采用微生物

物检验指标来进行。食品微生物检验具有以下特点：

#### 1. 研究对象以及研究范围广、种属多

食品种类多，各地区有各地区的特色，分布不同，在食品来源、加工、运输等都可能受到各种微生物的污染；微生物的种类非常多，数量巨大。食品微生物检验的研究对象包括：经食物传播的病原微生物，它们是人类疾病的病原微生物、畜禽疫病的病原微生物、人兽共患传染病的病原微生物，这几类微生物的种类更多，一般情况下就可达数百种之多；引起人类食物中毒的微生物及其毒素如沙门氏菌、小肠结肠炎耶尔森菌、黄曲霉菌、副溶血性弧菌等十几种之多的病菌；引起食品腐败变质的微生物如假单胞杆菌、微球菌属、芽孢杆菌属、梭状芽孢杆菌、嗜盐杆菌属、嗜盐球菌属、霉菌等多种属微生物；食品工业微生物如酿造、发酵工业用霉菌、酵母等曲种。

#### 2. 涉及学科多样

食品微生物检验是以微生物学为基础的，还涉及生物学、生物化学、医学、兽医学、食品工业以及兽医学方面的知识等。根据不同的食品以及不同的微生物，采取的检验方法也不同。

#### 3. 受检细菌数量少，杂菌量多，干扰性大

食品微生物检验过程中的受检菌株，主要是生产加工、贮存运输以及销售等过程中因操作不规范而感染的，大量存在的是非致病性微生物，而致病性微生物数量却相对较少，两者之间比例悬殊。此外有些致病菌在热加工和冷加工过程中受到损伤，也会使受检菌株不易检出，从而给检验工作带来许多麻烦，影响检验结果的正确性。

#### 4. 一定的快速性与准确性

本学科在促进人类健康方面起着重要的作用。通过检验，掌握微生物的特点及活动规律，识别有益的、腐败的、致病的微生物，在食品生产和保藏过程中，可以充分利用有益微生物为人类服务，同时控制腐败和病原微生物的活动，防止食品变质和杜绝因食品而引起的病害，这就要求检验工作尽快获得结果，保证食品安全。另一方面，工厂化大规模生产的食品，每一批次数量较大，采样数量、采样方法和检验方法都直接影响到检验准确性和批量产品的处理，如果不准确，将会造成严重的政治影响和经济损失。

#### 5. 具有一定法律性质

在食品的安全质量标准中，有明确的微生物学检验标准，必须达到法规规定的标准。对食品的微生物检验，世界各国均制定有检验法规。在国际往来中，对食品中微生物也有明确规定其检验方法。在我国卫生部颁布了《中华人民共和国食品安全国家标准——食品微生物检验》方法，国家商检局颁布了进出口检验用的专业检验标准(ZBX)。在国际上食品法规委员会(CAC)也制定了一系列检验方法。这些都具体规定了一些食品有关的微生物的检验程序和方法。作为食品微生物检验人员，在进行食品的微生物检验时，均按以上规定的要求实施，是法定的检验依据，不得任意更换其他方法。

#### 6. 食品微生物检验中包括非微生物检验方法

一般微生物检验中，采取增菌、分离培养、生化鉴定、血清学、免疫学等方法，而食品微生物检验有时要采用理化、感官检验等方法，如罐头商业无菌检验时，测定罐头食品 pH、感官检验食品有无腐败变质现象，应起很重要的作用。

### 7. 具有数量观念

这是与医学、兽医学检验不同的一个特点。在 GB 4798—2010 中对某些微生物的数量已明确规定，除检测食品污染程度指示菌如菌落总数、大肠菌群（MPN）的测定外，还有致病菌如金黄色葡萄球菌、产气荚膜杆菌、蜡样芽孢杆菌等都需要数量计算，金黄色葡萄球菌和副溶血性弧菌在某些食品质量标准（肉及肉制品、水产品、粮食制品）中还有限量标准要求。而且检验报告中必须标示检样数量，即 25g/mL 样品中是否检出该致病菌及数量多少。因此诊断食物中毒单凭定性检验是不够的，还需对致病菌定量检验。

### 8. 采集样品较复杂、要求高

在食品微生物检验中，采集样品极为重要，所采样品必须有代表性，在采样时应对食品的原料来源、加工方法、运输、保藏条件及销售中的各个环节等进行调查的基础上采集有代表性的样品，采样在无菌操作下进行，按照不同的检验目的，采集数量及方法也有所不同，同时记录采样现场的温度、湿度及卫生状况。新标准中必须采用采样方案设置  $n$ 、 $c$ 、 $m$ 、 $M$  值及限量（若非指定，均以/25g 或/25mL 表示）。

## 三、食品微生物检验作用

食品微生物检验的广泛应用和不断改进，是制定各级预防、监控和预警系统的重要组成部分，是食品微生物污染的溯源、控制和降低由此引发的一系列重大损失的重要有效手段，对促进人民身体健康、经济可持续发展和收入稳定都非常重要，具有较大的经济、社会和安全意义。随着人们生活水平的提高，食品安全逐渐为政府和民众所重视。在食品安全中，微生物污染造成的食源性疾病仍是世界食品安全中最突出的问题。和食品有关的各行各业都离不开食品微生物检验，食品生产企业要保证产品质量必须自检，国家在海关、机场、码头都设有食品检验机构，以保证国际贸易的正常进行。因此食品微生物检测是食品监测必不可少的重要组成部分。其作用为：

首先，它是衡量食品安全质量的重要指标之一，也是判定被检食品能否食用的科学依据之一。

其次，通过食品微生物检测，可以判断食品加工环境及食品卫生情况，能够对食品被细菌污染的程度做出正确的评价，为各级政府对食品的监管工作提供科学依据，提供传染病和人类、动物的食物中毒的防治措施。

再次，食品微生物检验贯彻“预防为主”的方针，可有效防止或者减少食物中毒和人畜共患病的发生，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政治上和经济上的重大的意义。

## 四、食品微生物检验的指标及其食品安全学意义

食品安全是一门专门探讨在食品加工、存贮、销售等过程中确保食品的安全，降低疾病隐患，防范食物中毒的一个跨学科领域。食品生产、流通、消费等环节被微生物污染对食品安全的危害主要为引起食品的腐败和霉变；引起食物中毒使人感染疾病。原辅料和食品的微生物检验按检测对象可分为细菌学检验和真菌学检验。

食品中细菌的数量与种类是导致食品腐败变质的关键因素，衡量食品安全的细菌学检验指标主要包括菌落总数、大肠菌群和致病菌。霉菌和酵母菌是引起食品霉变的主要因素，是食品安全的真菌学检验指标。目前，我国食品安全国家标准中的微生物检验指标一般是指菌落总数、大肠菌群数、致病菌、霉菌和酵母菌数等五项指标进行综合评定，这些项目也都有对应的国家标准检验方法。在不同的国家食品安全标准中的微生物指标含义、表示方法及检测方法不尽相同，应区别对待，并按规定方法检验。

### 1. 菌落总数及其食品安全学意义

#### 1) 菌落总数的概念

菌落是指细菌在固体培养基上发育而形成的能被肉眼所识别的生长物，它是由数以万计的相同细菌聚集而成的，故又有细菌集落之称。

菌落总数 (aerobic plate count) 即细菌总数或现存活菌的总数) 是指在被检样品的单位重量 (g)、容积 (mL) 或表面积 ( $\text{cm}^2$ ) 内，所含能于某种培养基上，在一定条件下培养后所生成的细菌集落的总数，但不考虑其种类。食品安全国家标准 GB 4789.2—2010 的菌落总数测定是食品检样经过处理，在一定条件下 (如培养基、培养温度和培养时间等) 培养后，所得每 1g (mL) 检样中形成的微生物菌落总数。即在平板计数琼脂培养基上，以  $36^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 、 $48\text{h} \pm 2\text{h}$  培养长出的菌落数量，菌落计数以菌落形成单位 (colony forming unit, CFU) 表示，一般以 1g 食品或 1mL 食品或  $1\text{cm}^2$  食品表面积上所含的细菌数来表示 (报告结果)，即 CFU/g 或 CFU/mL 或 CFU/ $\text{cm}^2$ 。新标准中的培养基采用了平板计数琼脂，其营养成分要优于以往的营养琼脂。营养琼脂含有微生物复苏繁殖的最低成分要求，对于较弱的细菌，平板计数琼脂营养更好，含有更好的生长因子，更适合受损菌体的复苏。

#### 2) 菌落总数在食品卫生质量评价中的意义

菌落总数主要是作为判定食品被细菌污染程度的标志，也可以用这一方法观察食品中细菌的性质以及细菌在食品中繁殖动态，以便对该食品进行安全学评价时提供科学依据。我国和许多国家均在食品安全标准中，规定了各种食品的菌落总数的允许限量，以促进提高食品的安全状况。其对食品安全的意义体现于：

(1) 食品中细菌数量可反映该食品被污染的程度。一般来讲，食品中细菌总数越多，则表明该食品污染程度越重，腐败变质速度加快。新鲜食品内部一般是没有或很少有细菌的，但由于外界污染情况不同，食品被细菌污染的多少就有所不同。食品中细菌数量越多，说明被污染的程度就越严重，越不新鲜，对人体健康威胁越大。相反，食品中菌数越少，说明该食品被污染的程度越轻，食品安全质量越好，对人体健康影响也越小。

(2) 食品中细菌数量可预测食品耐放程度和时间。一般讲，细菌数越少，食品耐放时间越长；相反，食品耐放时间就越短，例如用  $0^\circ\text{C}$  保存牛肉，菌落总数为  $10^3\text{CFU}/\text{cm}^2$  时，可保存 18d，而当菌落总数增至  $10^5\text{CFU}/\text{cm}^2$  时则只能保存 7d。另外，用  $0^\circ\text{C}$  保存鱼时，菌落总数为  $10^5\text{CFU}/\text{cm}^2$  时可保存 6d，而菌落总数在  $10^3\text{CFU}/\text{cm}^2$  时则可保存 12d。

(3) 食品中细菌数量可估测出食品腐败状况。一般认为日常食品的活菌数为  $10^4 \sim 10^7\text{CFU}/\text{g}$ 。而当活菌数达到  $10^8\text{CFU}/\text{g}$  则可认为处于初期腐败阶段。例如，活的家禽，

皮肤表面的细菌数可低到  $1.5 \times 10^3$  CFU/cm<sup>2</sup>。而加工后马上检测可达  $3.5 \times 10^4$  CFU/cm<sup>2</sup>。当菌落数为  $10^7$  CFU/cm<sup>2</sup> 时表示已经腐败，鸡肉的细菌数达  $10^8$  CFU/cm<sup>2</sup> 时可有气味并变黏。一般讲，食品中细菌数量越多，则会加速腐败变质过程的进程，甚至可能引起食用者的不良反应。

### 3) 菌落总数的测定

平板菌落计数法又称标准平板活菌计数法 (standard plate count, SPC)，是我国食品安全标准菌落总数测定规定采用的方法。测定食品中菌落总数时，是在严格规定的条件下，根据样品污染程度，将食品检样做成几个不同的 10 倍递增稀释液，选择其中的 2~3 个适宜的稀释度，然后从各个稀释液中分别取出一定量在无菌平皿内与平板计数琼脂混合，经一定培养条件下，按一定要求计算出皿内琼脂平板上所生成的细菌集落数，并再根据检样的稀释倍数，计算出每 1g 或 1mL 或 1cm<sup>2</sup> 样品中所含细菌菌落的总数。应报告为单位质量或体积样品在培养基上形成的菌落数。食品中菌落总数测定的结果并不表示样品中实际存在的所有细菌数量，它实际上是把检样中在给定生长条件下可生长的细菌数量即一群在平板上生长的嗜热中温性的需氧、厌氧或微需氧的细菌。有特殊营养要求的以及非嗜中温的细菌不能生长。由于不能区分细菌的种类，所以又被称之为杂菌数或中温需氧菌数。

## 2. 大肠菌群及其食品安全学意义

### 1) 大肠菌群的概念

大肠菌群不是细菌学上的分类命名，而是根据安全学方面的要求，提出来的一组与粪便污染有关的细菌，这些细菌在生化反应及血清学方面并非完全一致。其定义为：“大肠菌群 (coliforms) 是指一定培养条件下能发酵乳糖、产酸产气的需氧和兼性厌氧革兰氏阴性无芽孢杆菌”。大肠菌群所含细菌种类繁多，它包括肠杆菌科 (*Enterobacteriaceae*) 的埃希氏菌属 (*Escherichia*)、柠檬酸杆菌属 (*Citrobacter*)、克雷伯氏菌属 (*Klebsiella*)、产气肠杆菌属 (*Enterobacter*) 等。其中以埃希氏菌属为主，称为典型大肠杆菌，其他三属习惯上称为非典型大肠杆菌。该菌群主要来源于人和温血动物的肠道，作为粪便污染指标评价食品的安全状况，推断食品中肠道致病菌污染的可能。目前，大肠菌群已被许多国家 (包括我国) 用作食品安全质量评价的指标菌。

### 2) 大肠菌群的食物安全学意义

大肠菌群被国内外广泛应用为评价食品安全质量的主要指标之一，主要是以该菌群的检出情况来表示食品中有否粪便污染。一般认为，大肠菌群都是直接或间接来自于人与温血动物的粪便，人类经常活动的场所以及有粪便污染的地方。粪便内除了一般健康人畜体内的正常细菌外，同时也会有一些肠道致病菌存在 (如沙门氏菌、志贺氏菌、结核杆菌和肠道病毒等)。因而食品中有粪便污染，就意味着有可能被肠道传染病、人畜共患病等病原菌所污染，就将对人体健康造成一定的危害。由于微量粪便的污染不可能以化学方法检查出来，在食品中大肠菌群的存在即使是少数也很容易而且准确地被检出，如大肠埃希氏菌属约以  $10^8$  CFU/g 存在于粪便中。因此，检测大肠菌群对食品安全学的意义在于：第一，它可作为粪便污染食品的指标菌，大肠菌群数的高低，表明了食品被粪便污染的程度和对人体健康危害性的大小。如食品有典型大肠杆菌存在，即说明

受到粪便近期污染，这主要是由于典型大肠杆菌常存在于排出不久的粪便中；非典型大肠杆菌主要存在于陈旧粪便中。第二，它可以作为肠道致病菌污染食品的指标菌。食品安全性的主要威胁是肠道致病菌，如沙门氏菌属、志贺氏菌等。肠道病患者或带菌者的粪便中，有一般正常细菌，也有肠道致病菌存在，若对食品逐批或经常检验肠道致病菌有一定困难；而大肠菌群容易检测，且与肠道致病菌有相同来源，一般条件下在外界环境中生存时间也与主要肠道致病菌相近，故常用其作为肠道致病菌污染食品的指示菌。当食品中检出大肠菌群数量越多，肠道致病菌存在的可能性就越大。当然，这两者之间的存在并非一定平行。

因此，为确保食品安全质量就必须要求尽可能使大肠菌群的数量降低到最小的程度。在国家规定的食品安全标准中，对一些食品的大肠菌群允许量做了明确规定，不得超出。我国规定的常见食品中大肠菌群的限量指标见表 1-1 中。在规定限量以内的食品，经过人们的长期食用证明基本上是安全的。

表 1-1 常见食品中大肠菌群限量指标（2008 年前）

食品名称	大肠菌群/[MPN/100mL(g)]	食品名称	大肠菌群/[MPN/100mL(g)]
肉灌肠类（出厂，销售）	≤30, 30	汽酒	≤3
酱卤肉类（出厂，销售）	≤70, 150	黄酒	≤3
烧烤肉（出厂，销售）	≤40, 100	葡萄酒	≤3
肴肉（出厂，销售）	≤70, 150	生、熟啤酒	≤50, 30
肉松	≤40	酱油	≤30
消毒牛奶	≤10	酱	≤30
酸牛奶	≤90	食醋	≤3
乳粉	≤40	碳酸饮料	≤6
糕点、面包-热加工，出厂	≤30	固体饮料	≤40
冰淇淋等	≤100	皮蛋	≤30
生活用水	≤3MPN/L	鸡蛋黄粉	≤40

### 3) 大肠菌群的测定

要求食品中完全不存在大肠菌群，实际上是不大可能的，重要的是它的污染程度，即菌量。食品中大肠菌群的数量，我国和许多其他国家均采用相当于 g 或 mL 食品中的最可能数来表示，简称大肠菌群 MPN (most probable number)。该法是基于泊松分布的一种间接计数方法，根据 Mcrcady 及 Hopkins 等按概率论所求出的统计数值，编制成 MPN 检索表。所谓一定检验方案，在我国统一采用一个样品 3 个稀释度各 3 管的乳糖初发酵和复发酵，据检验结果证实为大肠菌群阳性的管数，查 MPN 检索表，从而得出每 1g(mL) 检样中大肠菌群活菌密度的估测数，即最可能数 (MPN)。再乘以 100，即得 100g(mL) 检样中大肠菌群的最可能数 (MPN)。MPN 检索表只给了 3 个稀释度，如改用不同的稀释度，则表内数字应相应降低或增加 10 倍。该法适用于目前食品安全标准中大肠菌群限量用 MPN/g(mL) 表示的情况。

### 4) 肠球菌

(1) 肠球菌的定义及其食品安全学意义。肠球菌属于链球菌属中的肠球菌群，根据



血清学分类是 D 群（粪大肠菌群），包括粪链球菌（*Streptococcus faecalis*）、粪链球菌（*S. faecium*）及它们的一些变种。肠球菌是呈双球菌或短链状排列的革兰氏阳性球菌，可在 10℃ 和 45℃、pH 7.5、6.5% NaCl 等的环境下生长，过氧化氢酶阴性。对氨基酸、维生素类等的营养要求比大肠菌群严格。

肠球菌和大肠菌群，主要来源于人和动物的肠道，随粪便散布于自然界中而造成污染，使周围环境、食品等含有一定量的肠球菌。尤其是土壤中有大量的肠球菌存在，可通过食品原料、产、贮、运、销等各环节的不卫生操作而使食品受到污染，造成对人类健康的潜在危险。Ostrolenk（1947）曾提出用肠球菌作为污染指标，以后 Burton（1949）、Jay（1970）等通过对肠球菌和大肠菌群进行比较观察，认为肠球菌对恶劣环境和冷冻条件均比大肠菌群的抵抗力要强。因此有些国家已把它作为粪便污染食品的指示菌并规定其限量要求（一般为 0~10<sup>5</sup>CFU/g）。我国目前尚未考虑这方面的工作。但肠球菌的污染在某些食品是经常出现的，从预防食物中毒考虑，防止该菌对食品的大量污染，制定适宜的污染限量，对保障人民身体健康是具有实际意义的。

（2）肠球菌检定方法。目前尚未有法定检查方法，只有商检行业标准（SN），但计数方法采用平板直接计数法和 MPN 计数法（培养采用 44℃±1℃ 条件）两大类。其分离和计数方法主要是以叠氮化钠为基础。

### 3. 致病菌及其食品安全学意义

2010 年以前中华人民共和国食品安全国家标准规定，任何食品都不得检出致病菌，即食品中均不能有致病菌存在，这是一项非常重要的食品安全质量指标，是绝对不能缺少的项目。但在 2010 年中华人民共和国卫生部发布食品安全国家标准食品中致病菌限量标准（征求意见稿），该标准规定了金黄色葡萄球菌和副溶血性弧菌在肉及肉制品、水产品、粮食制品中的限量要求（表 1-2）。其他食品中致病菌均不得检出。食品中致病菌限量标准的规定是参考国际和相关国家标准，在现有国家标准基础上，参考 ICMFS 中各种致病菌的生物学特征，分析其在各类食品中可能产生的风险性，采用 *n*、*c*、*m*、*M* 形式表述方法。同时结合我国食物中毒的高危食品和致病菌的风险而制定的。

表 1-2 食品中新增设的致病菌限量标准

食 品	致病菌指标	采样方案及限量（若非指定，均以/25g 或/25mL 表示）				检验方法	备 注
		<i>n</i>	<i>c</i>	<i>m</i>	<i>M</i>		
肉及肉制品	金黄色葡萄球菌	5	0	100 CFU/g	—	GB 4789.10—2010	适用于熟肉制品和即食生肉制品
水产品	副溶血性弧菌	5	0	100 MPN/g	—	GB/T 4789.7—2010	适用于生食水产品 和预制水产品
粮食制品	金黄色葡萄球菌	5	1	100 CFU/g	1000 CFU/g	GB 4789.10—2010	适用于熟制粮食制品
	金黄色葡萄球菌	5	1	1000 CFU/g	10000 CFU/g		适用于生制粮食制品