

第一部分 历史背景

在这一部分的内容中，读者可以了解到一些最终导致人们认识到食品微生物的意义及其作用的早期所发生的事件。食品微生物学作为一个明确的学科分支目前无法准确了解它的起源。随着年代的久远，十分值得注意某些早期的发现和观察。所选择列出的有关食品保藏、食品腐败、食品中毒和食品立法的著名事件，可以作为食品微生物学演变及其发展的标注。

1. 食品微生物的历史

虽然很难确认人们意识到食品中存在着微生物及其作用的准确的时间，但是已有证据表明，这些知识起源于将细菌学和微生物学作为一门学科。将细菌学确定为一门学科以前的时代，可以称为近代科学出现以前的时代。这个时期也许可以进一步分成所谓的食品收集时期和食品产生时期。食品收集时期包括人类起源的 10 万多年前到 8000 多年以前，据推测，在这段时期中人类是食肉的，其后期是以植物作为食物，也正是在这个时期，首次开始食用熟的食物。

食品的产生起源于 8000 至 10000 年以前，直到现在。推测在这段时间的早期，出现了食品腐败和食物中毒问题。随着制作食物的出现，由于食物以及由于不适合的保存方法引起的食物迅速腐败所造成的疾病的传播问题也就出现了。很明显制作食品的起源大约是从公元前 6000 年开始。大约在公元前 500 年，陶器的制作从近东被带到西欧。近东第一个煮壶要追溯到大约公元前 8000 年以前。谷物的烹调、酿造和食品的保藏技艺就是从这一时期开始或者得到促进，并有了新的发展。最早酿造啤酒的证据可以追踪到古巴比伦时代，远在大约公元前 7000 年^[8]。大约公元前 3000 年，苏美尔人被认为是最早进行规模化饲养家畜和制作乳品的人，并首先制出了黄油。众所周知的盐渍肉、鱼、脂肪、干制皮、小麦及大麦，也都与其文明有关。早在公元前 3000 年埃及人就食用牛奶、黄油和奶酪；公元前 3000 至 1200 年，犹太人用死海中获得的盐来保存各种食物；中国和希腊人的食物中就有盐腌鱼。据说是希腊人把这种方法传给了罗马人，罗马人的食物就包括盐腌肉。木乃伊的制作和食物的保存技术是相关的，并对其他生产发展起着影响。已经知道早在公元前 3500 年就有了葡萄酒的酿造。中国人和古巴比伦人早在公元前 1500 年就制作和消费发酵香肠^[8]。

在这一时期出现的另一种保存食物的方法是使用橄榄油和芝麻油。Jensen^[7]指出使用油会很大程度地导致葡萄球菌引起的食物中毒的发生。Seneca指出,在大约1000多年以前,罗马人在保存除牛肉以外其它肉食方面的技术非常领先,并使用雪来包裹虾和其它易腐烂的东西。据推测,正如奶酪和葡萄酒的制作一样,熏肉的制作作为一种贮藏方式是在这一阶段出现的。值得怀疑的是,人们在这一时期是否就明白这些新发现的保存技术的本质,同样值得怀疑的是,是否认识到食物在传播疾病中的作用和食用感染后的动物肉所带来的危害。

在耶稣基督诞生和公元1000年期间,对食物中毒和食物腐败方面的认识几乎没有有什么明显的进展。中世纪时,麦角中毒(由一种生长在黑麦和其他谷物中的真菌麦角菌引起)造成了许多人死亡,仅在公元943年法国由于麦角中毒就有造成40000多人死亡的记录,当时并不知道是这种症疾中毒是由一种真菌所引起。首次提到肉商是在1156年,1248年瑞士人就涉及到了市场肉和非市场肉,1276年在Augsburg颁布了一道屠宰和检查的强制性命令。虽然到13世纪人们意识到肉食的质量特性,但是毫无疑问还没有认识到肉的质量与微生物之间会产生必然的因果关系。修道士A.Kircher可能是第一个指出腐败食品中微生物的作用的人。早在1658年,A.Kircher在研究腐烂的尸体、腐败的肉和牛奶以及其它物质时发现了当时他称之为“虫”的物体。然而,由于A.Kircher的描述不够严谨,他的观察结果并没有被广泛地接受。L.Spallanzani于1765年指出:将煮沸的牛肉汤放置1h后就会腐败,而煮沸后封闭保存的牛肉汤则不会变质。L.Spallanzani用他的实验反驳了生命会自然产生的学说。但是,当时他并不能使他的支持者确信他的理论,因为他们认为L.Spallanzani的实验结果是由于煮沸赶走了对生命自发产生至关重要的O₂所导致。1837年Schwann将经过加热管的空气通入加热过的浸液中后,仍然可以保持浸液的无菌状态。虽然A.Kircher和L.Spallanzani提出了通过加热可以保存食物的观点,但是他们都没有把其发现进行相关的应用研究。D.Papin和G.Leibniz在18世纪也提出过类似加热可以保存食物的观点。

真正的罐藏是始于1795年,当时法国政府为找到实用的食物保存方法,提供了1.2万法郎的奖金进行悬赏。1809年,巴黎的糖果制造商Francois(Nicolas)Appert使用玻璃瓶成功地保存了肉类物质,就是把玻璃瓶放入煮沸的水中保持不同的时间。这一发现于1810年公诸于世,Appert为此也获得了专利。由于Appert不是专门进行研究的科学家,因此没有意识到自己的发现所具有的深远意义,也不知道其中的原因。当然,众所周知,这就是现在使用的罐藏方法的开始。这一发现是要比L.Pasteur阐明法国葡萄酒酸败是由于微生物作用的结果要早50年。L.Pasteur的发现又重新发现了细菌。早在1683年荷兰人A.Leeuwenhoek通过显微镜已经观察到了细菌,并且对细菌进行了描述。但是,Appert是不可能认识到这一点,因为Appert并不是科学家。即使是在法国也没有出现A.Leeuwenhoek那样的观察报告。

第一个意识并发现食品中微生物的存在及其作用的人是L.Pasteur。他在1837年指出:牛奶变酸是由微生物所造成的。大约在1860年L.Pasteur首先用加热的方法杀灭了葡萄酒和啤酒中令人讨厌的微生物,这一过程就是目前所说的Pasteur灭菌法。

1.1 发展的历史

有关食品的保存、食品的腐败、食品中毒和食品立法过程中具有重要意义的事件及发生的时间如下：

1.1.1 食品保存

- 1782年——瑞典化学家开始使用罐藏的醋。
- 1810年——在法国 Appert 的罐藏食品技术获得专利。
 - Peter Durand 获得英国专利，该技术是“使用玻璃、陶器、锡或其它金属材料、合适的材料保存食物”；Hall、Gamble 和 Donkin 从 Appert 处获得此专利^[1,4]；参见参考文献 1 和 4。
- 1813年——Donkin、Hall 和 Gamble 对罐藏食品采用后续工艺保温技术。
 - 认为使用 SO₂ 作为肉的防腐剂是从这个时候开始。
- 1825年——T. Kensett 和 E. Daggett 的马口铁罐藏食品技术获得美国专利。
- 1835年——英国的 Newton 获得浓缩乳技术的专利。
- 1837年——Winslow 首先将玉米制成罐头。
- 1839年——美国广泛使用罐头。
 - L. A. Fastier 由于使用盐水浴提高了水的沸点。
- 1840年——首次将鱼和水果制成罐头。
- 1841年——S. Goldner 和 J. Wertheimer 的基于 Fastier 方法的盐水浴获得英国专利。
- 1842年——英国的 H. Benjamin 获得使用冰和盐水浸入法冷冻食品的专利。
- 1843年——I. Winslow 首次使用蒸汽杀菌。
- 1845年——S. Elliott 将罐藏技术传播到澳大利亚。
- 1853年——R. Chevallier-Appert 因食品的高压灭菌获得专利。
- 1854年——Pasteur 研究葡萄酒的难题，在 1867~1868 年间采用加热去除不良微生物的方法进入工业化实践。
- 1855年——英国的 Grimwade 首次生产乳粉。
- 1856年——美国的 Gail Borden 获得制造不加糖炼乳的专利。
- 1861年——I. Solomon 在美国使用盐水浴方法。
- 1865年——商业规模的人工冷冻鱼在美国出现，随后于 1889 年人工冷冻鸡蛋出现。
- 1874年——在海上运输肉过程中首次广泛使用冰。
 - 使用蒸汽压力锅。
- 1878年——首次成功地从澳大利亚向英国船运冷冻肉；1882 年首次成功地完成从新西兰向英国运送冷冻肉。
- 1880年——在德国开始对乳进行巴斯德杀菌。
- 1882年——Krukowisch 首次提出臭氧对腐败细菌具有毁灭性作用。

- 1886 年 —— 美国的 A. F. Spawn 采用机械化干燥水果和蔬菜。
- 1890 年 —— 在美国对牛乳采用工业化巴斯德杀菌工艺。
—— 水果贮藏的机械化冷藏在芝加哥诞生。
- 1893 年 —— H. L. Coit 在新泽西州发起合格牛乳运动。
- 1895 年 —— Russell 首次对罐藏食品进行细菌学研究。
- 1907 年 —— E. Metchnikoff 以及合作者分离并命名酸奶细菌保加利亚乳杆菌。
—— B. T. P. Barker 提出苹果酒生产中醋酸菌的作用。
- 1908 年 —— 美国官方批准苯甲酸钠作为某些食品的防腐剂。
- 1916 年 —— 德国的 R. Plank, E. Ehrenbaum 和 K. Reuter 实现了食品的速冻。
- 1917 年 —— 美国的 Clarence Birdseye 开始从事冷冻食品的零售业务。
—— Franks 采用 CO₂ 保存水果和蔬菜技术获得专利。
- 1920 年 —— Bigelow 和 Esty 发表了关于芽孢在 100℃ 下的耐热性的系统研究，
Bigelow, Bohart, Richardson 和 Ball 提出计算热处理的“一般方法”，
1923 年 C. O. Ball 简化了这个方法。
- 1922 年 —— Esty 和 Meyer 提出肉毒梭状芽孢杆菌的芽孢在磷酸缓冲溶液中的 Z 值为 18 F。
- 1928 年 —— 在欧洲首次采用气调方法贮藏苹果（首次在纽约是在 1940 年）。
- 1929 年 —— 使用高能辐射处理食品的专利在法国签署。
—— Birdseye 的冷冻食品出现在零售市场。
- 1943 年 —— 美国的 B. E. Proctor 首次采用离子辐射保存汉堡肉。
- 1950 年 —— D 值概念进入使用。
- 1954 年 —— 用抗菌的乳链球菌肽在奶酪加工中控制梭状芽孢菌腐败的技术在英国获得专利。
- 1955 年 —— 山梨酸通过批准作为食品防腐剂。
—— 抗生素金霉素获得批准在新鲜家禽中使用（羟四环素（土霉素）在一年后得到批准）。1966 年该批准被撤消。
- 1967 年 —— 第一台工业化辐射食品设备进行设计构思，并在美国完成设计。第二台于 1992 年在美国佛罗里达州开始使用。
- 1988 年 —— 在美国乳酸链球菌肽被列为“一般公认安全”（GRAS）。
- 1990 年 —— 在美国对海鲜食品强制性实施 HACCP 体系（详见第六部分 19）。

1.1.2 食品腐败

- 1659 年 —— Kircher 证实了牛乳中含有细菌； Bonderu 在 1847 年得到同样的结论。
- 1680 年 —— Leeuwenhoek 首先发现了酵母细胞。
- 1780 年 —— Scheele 发现酸奶中主要的酸是乳酸。
- 1836 年 —— Latour 发现了酵母的存在。
- 1839 年 —— Kircher 研究发黏的甜菜汁并发现了可在蔗糖溶液中生长并使其发黏的微生物。

- 1857年 —— Pasteur 揭示出牛乳的发酸是由于微生物在其中生长的结果。
- 1866年 —— L. Pasteur 的著作 “*Etude sur le Vin*” 出版。
- 1867年 —— Martin 发展了奶酪变酸与酒精、乳酸和丁酸发酵相似的理论。
- 1873年 —— Gayon 首次发表关于鸡蛋的微生物变质的研究。
—— Lister 第一个在纯培养中分离出乳酸乳球菌。
- 1876年 —— Tyndall 发现腐败物质中的细菌总是可以从空气、物质或容器中检测到。
- 1878年 —— Cienkowski 报道首次对糖的黏液进行微生物学研究，并从中分离出肠膜明串珠菌。
- 1887年 —— Foster 首先提出纯培养的细菌可以在 0℃条件下生长。
- 1888年 —— Miquel 首先研究嗜热细菌。
- 1895年 —— 荷兰阿姆斯特丹的 Von Geuns 首先进行了牛乳中细菌的计数工作。
—— S. C. Prescott 和 W. Underwood 首次跟踪研究不良热处理罐藏玉米的腐败。
- 1902年 —— “嗜冷菌” 这一概念被 Schmidt-Nielsen 用在处于 0℃条件下生长的微生物。
- 1912年 —— “嗜高渗微生物” 被 Richter 用来描述处于高渗透压环境中的酵母
- 1915年 —— B. W. Hammer 首次从凝结的牛乳中分离出凝结芽孢杆菌。
- 1917年 —— P. J. Donk 首次从奶油状的玉米中分离出嗜热脂肪芽孢杆菌。
- 1933年 —— 英国的 Oliver 和 Smith 观察 *Byssochlamys fulva* 的腐败，第一次在美国的研究是由 D. Maunder 于 1964年进行的。

1.1.3 食物中毒

- 1820年 —— 德国诗人 Justinus Kerner 描述了“香肠中毒”（可能是肉毒中毒）及其致死率。
- 1857年 —— 在英国 Penrith, W. Taylor 指控牛乳是伤寒热传播媒介。
- 1870年 —— Francesco Selmi 发展了尸毒理论，指出由于食入某些食品所导致的疾病。
- 1888年 —— Gaertner 首先从导致 57人食物中毒的肉食中分离出肠炎沙门氏菌。
- 1894年 —— T. Denys 首次将葡萄球菌与食物中毒联系起来。
- 1896年 —— Van Remengem 首先发现了肉毒梭状芽孢杆菌。
- 1904年 —— G. Landman 分离并鉴定出 A 型肉毒梭状芽孢杆菌。
- 1906年 —— 确认了蜡状芽孢杆菌食物中毒，首例裂头绦虫病真相 (diphyllobothriasis) 被确认。
- 1926年 —— Linden, Turner 和 Thom 提出了首例链球菌引起的食物中毒。
- 1937年 —— L. Bier 和 E. Hazen 鉴定出 E 型肉毒梭状芽孢杆菌。
- 1937年 —— 确认出贝类麻痹中毒。
- 1938年 —— 寻找到弯曲菌肠炎爆发的原因是牛乳。
- 1939年 —— Schleifstein 和 Coleman 确定了小肠结肠炎耶尔森氏菌引起的胃肠炎。

- 1945 年——McClung 首次证实食物中毒中产气荚膜梭状芽孢杆菌的病原机理。
- 1951 年——日本的 T. Fujino 提出副溶血弧菌是引起食物中毒的原因。
- 1955 年——S. Thompson 指出婴儿霍乱和大肠杆菌胃肠炎之间的相似性。
- 鲭鱼中毒被确认。
 - 首例有记载的异尖线虫病 (anisakiasis) 发生在美国。
- 1960 年——Moller 和 Scheibel 鉴定出 F 型肉毒梭状芽孢杆菌。
- 首次报道黄曲霉产生黄曲霉毒素。
- 1965 年——确认了由食物传播的贾第鞭毛虫病 (giardiasis)。
- 1969 年——气荚膜梭状芽孢杆菌的肠毒素被 C. L. Duncan 和 D. H. Strong 确定。
- G 型肉毒梭状芽孢杆菌在阿根廷由 Gimenez 和 Ciccarelli 首次分离出来。
- 1971 年——在美国的马里兰州首次暴发食品传播的副溶血弧菌引起的胃肠炎。
- 出现食物传播的大肠杆菌胃肠炎在美国第一次暴发的记载。
- 1975 年——L. R. Koupal 和 R. H. Deibel 证实沙门氏菌肠毒素。
- 1976 年——在美国纽约首次暴发食物传播小肠结肠炎耶尔森氏菌引起的胃肠炎。
- 在美国加利福尼亚发生婴儿肉毒中毒。
- 1978 年——澳大利亚首次出现 Norwalk 病毒引起的食物传播的胃肠炎的记载。
- 1979 年——美国佛罗里达州发生了非 O1 的霍乱弧菌引发的食物传播的胃肠炎；在此之前在捷克斯洛伐克 (1965) 和澳大利亚 (1973) 就曾经暴发过这类胃肠炎。
- 1981 年——在美国暴发了食物传播的李斯特病。
- 1982 年——在美国首次暴发了由食物产生血性结肠炎。
- 1983 年——Ruiz-Palacios 等描述了空肠弯曲杆菌肠毒素。

1.1.4 食品立法

- 1890 年——通过了第一部关于肉检验的国家法令，但只要求检验出口的肉制品。
- 1895 年——修改了前面这部肉检验的法令，加强了某些条款。
- 1906 年——美国国会通过了美国食品与药物条例。
- 1910 年——纽约市健康委员会签署了要求对牛奶进行巴斯德杀菌的命令。
- 1939 年——新的食品、药物和化妆品条例成为法规。
- 1954 年——美国国会通过了对食品、药物和化妆品法规中杀虫剂方面的修订。
- 1957 年——美国执行强制性家禽及家禽制品法规。
- 1958 年——美国通过了食品、药物和化妆品有关食品添加剂的条例。
- 1962 年——美国 Talmadge-Aiken 条例 (国家对各联邦的肉食进行检测) 形成法规。
- 1963 年——美国食品与药物管理局通过使用辐射处理来贮藏培根。
- 1967 年——美国国会通过安全肉条例，并于 12 月 5 日成为法规。
- 1968 年——美国食品与药物管理局撤消了 1963 年通过的辐射保藏培根的条例。
- 将家禽检测议案签署成为法规。

1969年——美国食品与药物管理局规定允许食用的谷物和坚果存有 0.2mg/kg 的黄曲霉毒素。

1973年——美国俄勒冈州对新鲜和加工的零售肉执行微生物标准，1977年又废除了该标准。

参 考 文 献

- [1] Bishop, P. W. 1978. Who introduced the tin can? Nicolas Appert? Peter Durand? Bryan Donkin? *Food Technol.* 32 (4): 60~67.
- [2] Brandly, P. J., G. Migaki, and K. E. Taylor. 1966. *Meat Hygiene*, 3d ed., ch. 1. Philadelphia: Lea & Febiger.
- [3] Cowell, N. D. 1995. Who introduced the tin can? —A new candidate. *Food Technol.* 49 (12): 61~64.
- [4] Farrer, K. T. H. 1979. Who invented the brine bath? —The Isaac Solomon myth. *Food Technol.* 33 (2): 75~77.
- [5] Goldblith, S. A. 1971. A condensed history of the science and technology of thermal processing. *Food Technol.* 25 (12): 44~50.
- [6] Goldblith, S. A., M. A. Joslyn, and J. T. R. Nickerson. 1961. *Introduction to Thermal Processing of Foods*, vol. 1. Westport, CT: AVI.
- [7] Jensen, L. B. 1953. *Man's Foods*, chs. 1, 4, 12. Champaign, IL: Garrard Press.
- [8] Pederson, C. S. 1971. *Microbiology of Food Fermentations*. Westport, CT: AVI.
- [9] Schormüller, J. 1966. *Die Erhaltung der Lebensmittel*. Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag.
- [10] Stewart, G. F., and M. A. Amerine. 1973. *Introduction to Food Science and Technology*, ch. 1. New York: Academic Press.
- [11] Tanner, F. W. 1944. *The Microbiology of Foods*, 2d ed. Champaign, IL: Garrard Press.
- [12] Tanner, F. W., and L. P. Tanner. 1953. *Food-borne Infections and Intoxications*, 2d ed. Champaign, IL: Garrard Press.

第二部分 分布、分类和生长参数

在过去的十年中，食品微生物的分类有了许多变化。这些变化与食品微生物的主要分布包括在第二章的内容中。而影响微生物生长的参数将安排在第三部分中。详细情况可以参考下列资料：

Deak, T. 和 L. R. Beuchat. 1996 年编著的《食品腐败酵母手册》(Boca Raton, Fla. : CRC Press, Inc.)。主要内容：食品腐败酵母的检测，计数和鉴定。

食品微生物分类国际委员会 (ICMSF) 1980年编著的《食品微生物生态学》(第一卷)(New York: Academic Press)。主要内容：介绍影响食品微生物生长的内在和外部因素。

T. J. Montville. 1987 编著的《食品微生物学》(第一卷) (Boca Raton, Fl. : CRC Press.)。主要内容：介绍微生物生长所有的内在因素。

A. H. Rose. 1987 编著的《酵母生物学》(New York: Academic Press)主要内容 :论述酵母生物学和分类学。

2. 食品微生物的分类作用和重要性

由于人类的食物大多来源于植物和动物，因此，了解与动、植物生长环境和作用相关的微生物群落的生态学原理是十分重要的。虽然有时微生物通过侵染和毁坏动、植物来破坏我们的食品资源，但这决不是自然界中主要的作用。在这个星球上，按照我们现在的观点，自然界中微生物的主要功能自我生存。在此过程中异养菌进行的反应如下：

当然其中最重要的是氮循环和其它元素的循环(图 2.1)。微生物腐败食物可以简单地看成是食品微生物执行其自然界中主要功能的过程，不应该将它理解为其自身的目的(目的论)。与高等生物相比，尽管微生物比较简单，但是微生物却能够进行对其生存极为重要的许多复杂的化学反应。为此，微生物必须从有机物中获取营养，而某些有机物是我们的食物的构成。

如果人们研究与自然界中动植物食品相关的微生物的类型，那么就可以预测到在之后的食品中可能会存在的微生物的一般的类型。许多研究表明未处理的食物可能存在大量的细菌、霉菌、酵母，加工的食品中微生物数量所带来的食品的安全性的问题就出现了。问题应该是双重的：每克或毫升中微生物的总量？在这些微生物总量中那些微生物

是有代表性？必须知道哪些微生物与自然状态的特殊食品有关，哪些现存的微生物对特殊食品不是通常应该存在的。因此，了解细菌在自然界中一般的分布情况以及了解在食物生长或食品加工特殊条件下通常存在的微生物的一般类型是很有价值。

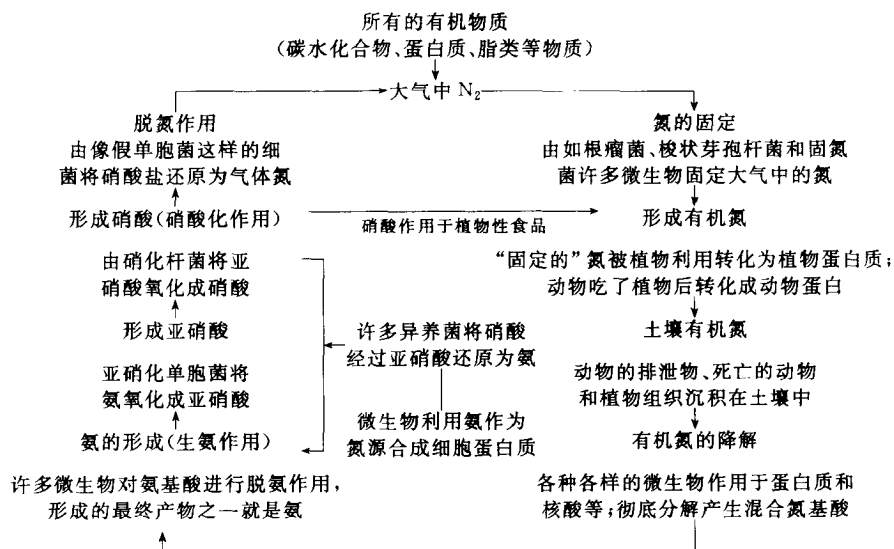


图 2.1 自然界中氮循环以及微生物作用的图解

(摘自 M. J. Pelczar 和 R. Reid 编著的《微生物学》(McGraw-Hill Book Company, 1965))

2.1 细菌的分类

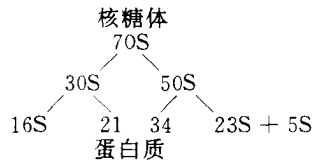
细菌的分类在过去十年中有许多变化。并且由于采用了分子遗传学的方法或分子遗传学与传统的方法相结合的方法，而产生了許多新的分类群。

- DNA 同源性和 DNA 中 (G+C) 的摩尔分数
- 23S, 16S 和 5S rRNA 序列的类似性
- 寡核苷酸种类
- 全可溶性蛋白或一系列形态与生化特征的数值分类法
- 细胞壁分析
- 血清反应法
- 细胞脂肪酸组成

虽然这些方法中有些方法（例如：细胞壁分析和血清反应）已经使用了许多年，还有一些方法（例如：rRNA 序列的相似性）在 20 世纪 80 年代就已经广泛地得到了应用。下面将略述和探讨作为细菌分类中最权威的方法。

2.1.1 rRNA 序列的分析

从核苷酸序列的 RNA 以及检测 RNA 序列的相似性中能够得到分类的信息。首先，原核生物的核糖体是 70S (Svedberg)，它是由二个单独功能的亚基 50S 和 30S 组成。50S 亚基则由 23S、5S RNA 和 34 种蛋白质组成，而 30S 是由 16S RNA 和 21 蛋白质组成。



16S RNA 的保真性极高，它是细菌很好的计时器^[44]。使用反转录酶对 16S rRNA 进行测序，测序的长度可达整个序列的 95%，这样可以精确地检测出微生物的亲缘关系^[25]。由于 5S RNA 的尺寸较短，因此可以对其进行完全测序。

为了对 16S rRNA 进行测序，以 RNA 作为模版用反转录酶来合成出一条单链 DNA 的拷贝。在双脱氧核苷酸存在条件下合成单链 DNA，各种大小不同的 DNA 片段可以使用 Sanger 方法进行测序。按照这个 DNA 的序列可以推断出 16S rRNA 的序列。正是通过对 16S rRNA 序列的研究，使得 Woese 以及他的助手提出并创立了生命形式的三个王国：真核、古细菌和原核生物。食品中重要的细菌是真细菌，原核生物也包括蓝藻细菌和真细菌。由于广泛地使用 16S rRNA 序列相似法，新的食品传播的微生物分类群就是通过这种分类方法与其他的信息相结合而创立出来。虽然已经建立起了真细菌的 5S rRNA 序列库，但是 16S RNA 的序列信息还比较少。

对许多微生物已经建立了 16S rRNA 核苷酸目录，也有了 16S rRNA 核苷酸序列库。这个方法，采用 RNaseT1 酶将 16S rRNA 进行降解，RNaseT1 酶是在 G 残基上分解 RNA 分子，因此对 6-20 碱基片段进行分离、测序，再比较微生物之间 S_{AB} 的相似性。尽管 S_{AB} 的关系以及同源的百分数低于 0.4 就不好了，但是对于确定到门也还是十分有用的。用反转录酶确定 16S rRNA 的序列要比确定寡核苷酸目录更好，因为它可以定出更长的 rRNA 序列。

2.1.2 DNA 的分析

采用 DNA 中 (G+C) 的摩尔分数的方法来分类细菌已经有几十年的历史，与 16SrRNA 和 5SrRNA 序列的测定相结合使这个方法更加有意义。使用 16SrRNA 的分析法可以将革兰氏阳性的真细菌分为二个门：一组是 G+C 的摩尔分数大于 55%；另一组是小于 50%^[44]。前面这一组包括链球菌、丙酸杆菌、微球菌、双歧杆菌、棒杆菌、短杆菌等等；另外 (G+C) 的摩尔分数低的一组包括梭状芽孢杆菌、芽孢杆菌、葡萄球菌、乳杆菌、片球菌、明串珠菌、李斯特菌、丹毒丝菌等等，这一组称为真细菌树中的梭状芽孢杆菌分枝。如果二个微生物的 (G+C) 含量相差 10%，那么它们的碱基序列相同的就很少。

DNA-DNA 或 DNA-RNA 的杂交法也已经使用了有段时间了，在细菌的分类学中它一直是很有用的方法。已经表明细菌分类理想的参照系统是某个微生物完整的 DNA 序列^[42]。人们普遍认为使用 DNA-DNA 杂交的结果可以确定细菌的种名，而 70% 或 70% 以上的相关性以及 5°C 或 $<5^{\circ}\text{C}$ 的 T_m 就可以确定种^[42]。使用 DNA-DNA 杂交法时，表型的特征无法避免会存在例外的情况^[42]。尽管比较难以确定属，但是只要序列上最低需要有 20% 的相似性就可以认为是 DNA-DNA 同源。

即使对细菌属还没有一个满意的系统分类的定义，持续应用核酸技术，并结合以上

提及的其它方法，最终可以形成一个细菌的亲缘分类体系。同时，现有分类群也会不断地改进。

食品中一些重要的已知微生物属依字母的顺序列在下面，其中有的微生物在有些食品中是有益的，有的则会造成腐败或引起胃肠炎：

细菌

不动杆菌	欧文氏菌	片球菌
气单胞菌	埃希氏菌	变形菌
产碱菌	黄杆菌	假单胞菌
芽孢杆菌	哈夫尼菌	嗜冷杆菌
索丝菌	考克氏菌	沙门氏菌
弯曲杆菌	乳球菌	沙雷氏菌
肉杆菌	乳杆菌	希瓦氏菌
柠檬素杆菌	明串珠菌	志贺氏菌
棒杆菌	李斯特菌	葡萄球菌
梭状芽孢杆菌	微球菌	漫游球菌
肠杆菌	莫拉氏菌	弧菌
肠球菌	类芽孢杆菌	魏斯氏菌
	泛菌	耶尔森氏菌

霉菌

链格孢	枝孢霉	毛霉
曲霉	刺盘孢霉	青霉
短柄霉	尖镰孢	根霉
葡萄孢	白地霉	木霉
丝衣霉	丛根孢	<i>Wallemia</i>
		<i>Xeromyces</i>

酵母

酒香酵母	伊氏酵母	裂殖酵母
假丝酵母	克鲁维酵母	有孢酵母
隐球酵母	毕赤酵母	丝孢酵母
德巴里酵母	红酵母	接合酵母
有孢汉逊酵母	酵母属	

原生动动物

<i>Cryptosporidium parvum</i>	贾第虫
痢疾内变形虫	鼠弓形虫

2.2 食品中微生物的主要来源

前面列出的微生物的种属通常都是食品中发现的重要的食品微生物。每一个属的微生物都有其特殊的营养要求，并且每个属都以该属固定特有的方式受到环境因素的影响。食品微生物的八个环境源见下述，表 2.1 列出这些微生物的环境源以及其中存在的细菌和原生动动物。

表 2.1

食品中相对重要的细菌和原生动物的八个来源

微 生 物	土壤和水	植物和 植物产品	食品器 皿、用具	人与动物 的肠道	食品 生产者	动物饲料	畜皮	空气和 尘埃
细菌								
不动杆菌	××	×	×				×	×
气单胞菌	×× ^a	×						
产碱菌	×	×	×	×			×	××
交替单胞菌	×× ^a							
芽孢杆菌	×× ^b	×	×		×	×	×	××
索丝菌		××	×					
弯曲杆菌				××	×			
肉杆菌	×	×	×					
柠檬素杆菌	×	××	×	××				
梭状芽孢杆菌	×× ^b	×	×	×	×	×	×	××
棒杆菌	×× ^b	×	×		×		×	×
肠杆菌	×	××	×				×	
肠球菌	×	×	×	××	×	×	×	×
欧文氏菌	×	××	×					
埃希氏菌	×	×		××	×			
黄杆菌	×	××					×	
哈夫尼菌	×	×		××			×	
考克氏菌	×	×	×		×		×	×
乳球菌		××	×	×			×	
乳杆菌		××	×	×			×	
明串珠菌		××	×	×			×	
李斯特菌	×	××		×	×	×	×	
微球菌	×	×	×		×	×	×	××
莫拉氏菌	×	×					×	
类芽孢杆菌	××	×	×					××
泛菌	×	×		×				
片球菌		××	×	×				
变形菌	×	×	×	×	×		×	
假单胞菌	××	×	×				×	
嗜冷杆菌	××	×	×				×	
沙门氏菌				××		××		
沙雷氏菌	×	×	×	×		×	×	
希瓦氏菌	×	×						
志贺氏菌				××				
葡萄球菌				×	××			×
漫游球菌	××			××				
弧菌	×× ^a			×				
魏斯氏菌		××	×					
耶尔森氏菌	×	×		×				
原生动物								
<i>C. parvum</i>	×× ^a			×	×			
痢疾内变形虫	×× ^a			×	×			

续表

微生物	土壤和水	植物和植物产品	食品器皿、用具	人与动物的肠道	食品生产者	动物饲料	畜皮	空气和尘埃
贾第虫	×× ^a			×	×			
鼠弓形虫		×		××				

注：××表示为非常重要的来源。

^a 主要为水中来源。

^b 主要为土壤来源。

2.2.1 土壤和水

将这两个环境放在一起是因为许多栖息在一起的细菌和霉菌有许多共同之处。由于风的作用，土壤微生物会进入空气中，下雨时再进入水体中。当雨水流入土壤时，土壤微生物也会进入水体中。水中的微生物可通过云的形成接着下雨落下来再进入土壤中。这样往复的循环使得水和土壤中的微生物在很大程度上是相同的。但是有些水中微生物在土壤中无法存留，尤其是这些水生海洋微生物。交替单胞菌是需要在海水中生长的水生微生物，它在土壤中无法存留下来。海水中的微生物群主要是革兰氏阴性菌，其中存在的革兰氏阳性菌也只是暂居微生物。

2.2.2 植物和植物产品

可以假定许多或大多数水和土壤微生物都会沾染到植物上。但是只有很少的微生物适合在植物环境中存在。能存留在植物产品中的微生物之所以能够在植物上生存，正是由于它们具有能够附着在植物表面、不易被洗去的特点，能够获得其所需的营养。其他通常与植物相关的就是棒杆菌、短小杆菌、假单胞菌、黄单胞菌等属的植物细菌病原菌以及几个霉菌属的植物真菌病原菌。

2.2.3 食品器皿、用具

将蔬菜收放在容器或用具中，就会发现蔬菜表面的某些或所有微生物可污染其接触的用具。当同一个容器中放入的蔬菜越来越多时，就会产生一定数量的微生物菌落。同样，在肉类市场上切割肉块时，切割的刀具和绞碎机上就污染了肉上的微生物，这个过程就组成了微生物群落，形成了相当稳定数量的肉制品传播的微生物。

2.2.4 人与动物的肠道

当使用污染的水冲洗食品原料时，肠道微生物就变成水源微生物。肠道微生物菌群是由许多不能在水中长期存留的微生物，很明显的是如沙门氏菌那样的病原菌。所有的肠道菌都可以在粪便中找到，粪便中同时还有包括四种原生动物的肠道病原菌。

2.2.5 食品生产者

食品生产者的手上以及外套上的微生物能够反映出微生物的环境和栖息特性，这些微生物是来自土壤、水、尘埃和其他环境之中。另外一个微生物的重要的来源就是生产

者的鼻孔、口腔和皮肤，肠道微生物可以通过不卫生的操作进入食品中去。

2.2.6 动物饲料

动物饲料一直是家禽和其他动物沙门氏菌的重要来源。已经了解某些青贮饲料是乳品和肉禽单核细胞增生李斯特菌主要的来源。干饲料中的微生物可以通过动物的生长环境扩散开来，存留在动物的皮毛上。

2.2.7 畜皮

例如对于乳牛，在没有按照正确的产乳程序的操作中，鲜乳中的微生物的类型反映出奶牛乳房上的微生物以及动物生存环境中的微生物的群落。通过动物的毛皮和乳房，微生物能够污染环境、鲜乳和生产者的手。

2.2.8 空气和尘埃

虽然列在表 2.1 中的大多数的微生物有时能够在食品加工的空气和尘埃中找到，但是可以存留下来的微生物包括列出的革兰氏阳性菌。在空气和尘埃中还有许多霉菌和一些酵母。一般来讲，空气和尘埃中的微生物的类型是可以经常存在于环境中的微生物，尘埃是微生物主要的来源。

2.3 食品中常见的细菌概要

本概要将全书所涉及的细菌简要地介绍给读者，这些微生物并不是用于菌种的鉴定。对于菌种的鉴定详见参考资料。

气单胞菌 (ae. ro. mo' nas; 产气)：典型的水生革兰氏阴性棒状杆菌。曾归入弧菌科，现归入气单胞菌科。如其属名，该属菌株能发酵糖类并产生大量气体。它们通常出现在鱼以及鱼类病原体中。其 DNA 中 (G+C) 的摩尔分数为 57%~65%。

产碱菌 (al. ca. li' ge. nes; 产碱)：属革兰氏阴性棒状杆菌，但菌体着色时有时也显现革兰氏阳性反应。正如属名所述，不能发酵糖类，但能够产碱（特别是在石蕊乳中）。该属菌株不产色素，分布在自然界中各种腐烂物质中，并大量存在于原乳、食用家禽制品以及排泄物中。其 DNA 中 (G+C) (摩尔分数) 为 58%~70%，这也表明该属菌株种类比较丰富。

Alteromonas (al. te. ro. mo' nas; 单细胞微生物)：均为革兰氏阴性杆菌，能运动，好氧菌。大量存在于海洋中或沿海水域中，海洋食品中也能发现该属菌株。该属菌株需要依靠海水中盐分生长。

芽孢杆菌 (ba. cal' lus)：革兰氏阳性杆菌，产孢子，与厌氧菌梭状芽孢杆菌相反，为好氧菌。大部分为中温微生物，但也有部分嗜寒微生物、嗜热微生物。包括两种病原体：炭疽芽孢杆菌（引发炭疽热）和蜡状芽孢杆菌。尽管其它种微生物都是非病原体，但有些菌株会引起由食品中毒而引起的胃肠炎（我们将在第七部分 21 中讨论）。根据现代分类学中的种属亲源关系的判别依据——微小的亚单位 rRNA 序列数据，认为该属微生物

由 5 组构成^[2]。第一组包括蜡状芽孢杆菌，枯草芽孢杆菌，凝结芽孢杆菌和炭疽芽孢杆菌等，这组微生物看起来极有可能保留在芽孢杆菌属中。第 3 组菌株现在已经有了新的属名类芽孢杆菌（见下页），而嗜热脂肪芽孢杆菌则归入了第 5 组。嗜酸的芽孢杆菌属菌株酸热芽孢杆菌、酸土芽孢杆菌和环庚基芽孢杆菌现在重新划分归入了新的脂环酸芽孢杆菌属^[43]。后者的 DNA 中(G+C) 摩尔分数为 51.6%~60.3% 能够在 35~70℃ 之间生长，其生长 pH 范围为 (G+C) 2~6。

索丝菌 (bro. cho. thr'ix; *Gr. brochs, loop; thrix, thread*) : 革兰氏阳性杆菌，不产孢子。与乳杆菌属和李斯特氏菌属^[31]种属亲源关系密切。其特征性状将在第七部分 22 中进行讨论。尽管它们不是真正意义上棒状杆菌，但它们具有许多杆菌的类似之处。对数期的细胞为棒状，是典型的棒状杆菌，而老熟后则为球菌。尽管该属只有两株菌株，热杀索丝菌和乡间索丝菌，但分类学 rRNA 数据再次证实该属划分的准确性。它们具有微杆菌属的特征性状，通常存在于肉类以及冷藏温度下保存的新鲜的真空包装的肉类制品中。与热杀索丝菌相比，乡间索丝菌能够利用鼠李糖和马尿酸盐^[34]，其 DNA 中(G+C) 摩尔分数为 36%。

弯曲杆菌 (cam. py'. lo. bac. ter; *Gr. campylo* , 曲形) : 虽然大多数人发音为“camp' lo. bac. ter”，但在学术上的正确发音应当见注释。这些革兰氏阴性菌，弯曲成螺旋状杆菌，曾归入弧菌类，厌氧或需要极少氧。该属在 1984 年被重新划分。其中硝化弯曲菌和嗜低温弯曲菌组成了新的弓形菌属；而同性恋弯曲菌和菲氏弯曲菌也被归入了螺杆菌属；屈曲沃林氏菌和直肠沃林氏菌就是现在的屈曲弯曲杆菌和直肠弯曲杆菌^[37]。其 DNA 中(G+C) 的摩尔分数为 30%~35%。其余详细情况见参考书^[30]或本书第七部分 25。

肉杆菌 (car. no. bac. terium; *L. carnis* , 新鲜肉类上的细菌) : 革兰氏阳性杆菌，过氧化氢酶阴性，曾归入乳酸杆菌属。其种属亲源关系与肠道球菌和漫游球菌更为相似。异型发酵，绝大多数能在 0~45℃ 之间生长。有些种能够发酵葡萄糖产生气体。该属菌株 DNA 中(G+C) 的摩尔分数为 33.0%~37.2%。它们与乳酸杆菌的区别在于不能在醋酸盐培养基上生长，在代谢过程中能够合成油酸。通常存在于真空包装的肉制品或相关制品如鱼或者家禽制品中^[10,19,40]。

柠檬素杆菌 (cit. ro. bac' ter) : 这些肠道细菌进行缓慢的乳糖发酵，革兰氏阴性杆菌。所有菌株都能够利用柠檬酸盐为惟一碳源生长。弗氏柠檬酸细菌是其中与食品关系最密切的菌株，它与其他菌株不同，通常存在于蔬菜或新鲜的肉类上。其 DNA 中(G+C) 的摩尔分数为 50%~52%。

棒杆菌 (clos. tri'di. um; *Gr. closter.*) : 厌氧杆菌，产孢子。广泛分布于自然界中，与好氧微生物芽孢杆菌类似。该属包括许多菌株，有些会引起人体疾病（见第七部分 21 产气荚膜梭菌食物中毒与香肠中毒）。中间营养型，嗜冷型，嗜热型菌株都存在。它们的重要之处将在第五部分 16 热的罐头食品中讨论。这个被重新划分的属包括以下几个 5 个新属：C. aloramater，产线菌属，穆尔氏菌属，产醋杆菌属，嗜草酸菌属^[6]。梭菌属的菌株在食品行业中以在大量存在于食品中著称。但这 5 个重新划分的属对食品工业来说并不十分重要。

棒状芽孢杆菌 (co. ry. ne. bac. ter' um; *Gr. , coryne, club*) : 该属菌株是真正的棒状

杆菌，革兰氏阳性，棒杆状。与部分蔬菜以及肉类制品的腐败有关。尽管以嗜冷菌株而著称，但大多数菌株都是中间营养型。其中白喉棒杆菌能够引起人体白喉病。由于棍状杆菌属和短小杆菌属归入植物病原体，该属菌株数因而减少。其 DNA 中 (G+C) 摩尔分数为 51%~63%。

肠杆菌 (en. te. ro. bac'ter)：尽管总的来说这些肠道革兰氏阴性菌并不适应胃肠道，但它们是典型的人体生长所需要的肠道菌。我们将在第 18 章中讨论成团肠杆菌的特征。

肠球菌 (en. te. ro. coc'cus)：该属的建立与血清学中的 D 型球菌有关。菌体呈卵形单个、成对或短链状出现。现该属菌株已超过 16 个。以前曾将它们归入链杆菌属。该属至少有三株菌株不与 D 型抗血清发生反应。我们将在第六部分 18 中对该属进行详细的阐述。该属菌株与其他乳酸菌属的亲源关系见图 22.1。

欧文氏菌 (er. wi'ni. a)：这些革兰氏阴性肠道杆菌与植物的关系密切，它们能引起细菌性腐败，但不产酒精（见第三部分 8）。该属至少有 3 株菌株已经归入泛菌属，其 DNA 中 (G+C) 的摩尔分数为 51%~63%。

埃希氏菌 (esch. er. i'chi. a)：该属是目前细菌中研究最为广泛的属。这些菌株能够引起由食物传染的肠胃炎，我们将在第七部分 24 及第六部分 18（主要讨论以大肠杆菌作为食品安全性指标）中进行详细的讨论。

黄杆菌 (fla. vo. bac. te'ri. um)：这些革兰氏阴性杆菌以其利用植物中的糖类生成黄、红色素而著称。有些菌株为中间营养型，有些是嗜冷菌，它们与冷冻肉制品以及冷冻蔬菜的腐败有关。这个属经过重新分类后，发生了较大的变化，新建了几个新属（如威克斯氏菌属，金黄杆菌属，稳杆菌属，伯杰氏菌属），但其中没有与食品相关的微生物。这些新的属中有些还包括一些鱼类病原体，而且有些属还是嗜盐微生物。

哈夫尼菌 (haf'ni. a)：这些革兰氏阴性肠道杆菌在冷冻肉制品以及蔬菜制品的腐败中起着十分重要的作用。蜂房哈夫尼菌是该属中惟一与食品有关的菌株，能运动，对赖氨酸与鸟氨酸敏感，其 DNA 中 (G+C) 的摩尔分数为 48%~49%。

考克氏菌 (ko. cu'ri. a, after M. Kocur)：这是从微球菌属中拆分出来的一个新属^[33]。其中 3 个菌株 (*K. rosea*, *K. varians*, *K. kristinae*) 为氧化酶阴性，过氧化氢酶阳性，其 DNA 中 (G+C) 的摩尔分数为 66%~75%。

乳球菌 (lac. to. ba. cil'lus)：20 世纪 80 年代开始广泛应用的分类学基本原理在这个属中得到了充分的体现。在第 9 版的 Bergey 手册中该属的一些菌株被划分入其他的属。根据 16S-RNA 的序列信息，该属可以分为 3 个明显的组^[8]，其中一个组包括魏斯氏菌，因此该属菌株很有可能会被重新分类。该属菌株为革兰氏阳性、过氧化氢酶阴性杆菌，呈长链状。尽管在食品中出现的该属菌株都是典型的微好氧菌，但也有严格意义上的厌氧菌，它们经常出现在人体的粪便以及瘤胃中。虽然不是所有的乳球菌都会与乳酸细菌同时出现，但典型的乳球菌常与乳酸细菌同时出现在蔬菜上，它们通常也存在于日常用品中。最新发现的一个菌株斯瓦比乳球菌是从苹果以及捣碎的梨块中发现的。当 pH 为 2.8 时，斯瓦比乳球菌能够在 12%~16% 的乙醇溶液中生长^[23]。我们将在第三部分 7 中对乳球菌的发酵产物进行详细的阐述。而那些经常出现在冷冻制品以及真空包装制品的菌株

将在第三部分 5 中讨论。

乳球菌 (lac. to. coc'cus) : 血清中的非运动型 N 型球菌, 原来属于链球菌属, 而现在被单独列为一个属。该属菌株都是革兰氏阳性, 非运动型, 过氧化氢酶阴性球菌, 呈球形或卵形, 单个、成对或链状出现。它们能在 10℃ 下生长, 但不能在 45℃ 下生长。所有的菌株发生 N 型抗血清反应, 并在发酵过程中主要产 L-乳酸。

乳杆菌 (leu. co. nos'toc ; 无色 *nostoc*) : 经常与乳酸菌同时出现, 是乳酸细菌的另一个属。革兰氏阳性, 过氧化氢酶阴性球菌, 异型发酵。该属的菌株数减少了很多 (见下面的魏斯氏菌)。该属中的酒明串珠菌归入了新的酒球菌属即而改称为酒球菌^[14] 而类肠膜明串珠菌也归入了新的魏斯氏菌属; 这些过氧化氢酶阴性的球菌进行异型发酵, 十分典型地与乳酸菌同时出现。

李斯特菌明串珠菌 (lis. te'ri. a) : 该属有 6 株菌株都是革兰氏阳性、无孢子杆菌, 与索丝菌属的种间关系密切。而其中还有 7 株菌株如果按照数值分类法分类, 其相似值接近 80%。它们具有同样的细胞壁结、脂肪酸和细胞色素。我们将在第七部分 22 中详细介绍。

微球菌 (mi. cro. coc'cus) : 革兰氏阳性、过氧化氢酶阳性球菌。有些菌株能产粉红色、橘红色或红色色素, 其它菌株则不产色素。大多数菌株都能够耐高浓度的盐, 绝大多数菌株为半自养型微生物, 而该属却以嗜冷菌株而著称。由于现在重新划分了 5 个新的属 (皮生球菌属, 考克氏菌属, 皮球菌属, 涅斯捷连科氏菌属和口腔球菌属), 这个大属如同上面所述的考克氏菌属一样变小了。而活泼微球菌现已作为节杆菌归入了节杆菌属; 玫瑰色微球菌则归入了嗜盐球菌属。该属种典型的菌株是藤黄微球菌, 重新划分后的微球菌属 DNA 中 (G+C) 的摩尔分数为 69%~76%。

莫拉氏菌 (mo. rax. el'la) : 这些革兰氏阴性短杆菌有时也被划入不动杆菌属, 它们与后者之间的区别在于对青霉素的敏感性、氧化酶阳性以及 DNA 中 (G+C) 的摩尔分数为 40%~46%。该属的部分菌株现归入了新建立的嗜冷细菌属。它们的新陈代谢是氧化性的, 同时葡萄糖发酵过程种不产酸。

类芽孢杆菌 (pae. ba. cillus; almost a bacillus) : 这个新建立的属主要包括以前属于芽孢杆菌属以及梭状芽孢杆菌的菌株。它们包括以下 11 个种: 蜂房类芽孢杆菌、解淀粉类芽孢杆菌、固氮类芽孢杆菌、环状类芽孢杆菌、坚韧类芽孢杆菌、幼虫类芽孢杆菌、浸麻类芽孢杆菌、饲料类芽孢杆菌、马阔里类芽孢杆菌、尘埃类芽孢杆菌和强壮类芽孢杆菌^[1,3]。

泛菌 (pan. toe'a) : 这个属为革兰氏阴性、无荚膜、无孢子的直杆菌, 大部分菌株能够依靠周生的鞭毛运动。广泛分布在植物、种子、土壤、水以及人体标本中。有些为植物病原体。其中四株菌株曾归入肠道细菌属或欧文氏菌属中。成团泛菌包括成团肠杆菌和草生欧文氏菌以及鸡血藤欧文氏菌; 而菠萝泛菌则包括菠萝欧文氏菌和噬夏孢欧文氏菌; 斯氏泛菌就是斯氏欧文氏菌; 分散泛菌是一株原始菌株。该属菌株的 DNA 中 (G+C) 的摩尔分数为 49.7%~60.6%^[27]。

片球菌 (pe. di. o. coc'cus) : 这些异型发酵的球菌属于乳酸菌, 成对或两平面四个同时出现。乳酸片球菌是其原始菌株, 它能引起了 50 多岁男性的败血症。其 DNA 中 (G+