

原料乳生产中空气源微生物的快速检测及 控制方法

刘洋, 许晓曦*, 赵楠

(东北农业大学食品学院, 哈尔滨 150030)

摘要: 微生物的污染是影响乳制品安全的重要因素, 主要以空气为媒介污染原料乳进而影响乳制品安全。本文概述了原料乳中微生物的来源、种类; 空气中微生物的采集方法、检测方法以及如何控制原料乳中微生物。原料乳中可能污染的微生物有葡萄球菌、沙门氏菌、志贺氏菌、链球菌属、大肠杆菌等病原微生物和腐败菌、真菌。空气微生物的采样方法有自然沉降法和微生物采样器采样法, 比较而知采样器采样法具有稳定、不受气候影响的优点; 同时比较了固体和液体微生物采样器的优缺点。原料乳质量好坏直接影响到后续加工乳制品, 乳中微生物指标成为制约原料乳卫生指标的关键因素, 该指标一直倍受乳品厂家及消费者的关注。因此, 保证原料乳的安全是保证乳品安全的前提。

关键词: 原料乳; 空气微生物; 采样方法; 检测

The rapid detection and control methods for the air microorganism during production process of raw milk

LIU Yang, XU Xiao-Xi*, ZHAO Nan

(Food College of Northeast Agriculture University, Harbin 150030, China)

ABSTRACT: The contamination of microorganism is an important factor affecting the safety of dairy products, mainly by the medium of air to pollute the raw milk, thereby, affecting the safety of dairy products. This article outlines the sources and species of microorganism in raw milk; acquisition method of microorganisms in the air, testing methods, and how to control microorganisms in raw milk. Raw milk may be contaminated with pathogenic microorganism such as *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Shigella*, *Streptococcus*, *E. coli* and so on, and spoilage bacteria, fungi. Air microorganism sampling method has natural sedimentation method and air microorganism sampler sampling method, compared and then known sampler sampling method has the advantages of stable and is not affected by the climate; at the same time compared with the advantages and disadvantages of the solid air-sampler and liquid air-sampler for airborne microorganisms. The microbiological index of milk quality was always a question of people attention. So, the safety of the raw milk is the premise to ensure the safety of dairy products.

KEY WORDS: raw milk; air microorganism; acquisition method; test

*通讯作者: 许晓曦, 教授, 主要研究方向为乳品科学与技术及食品安全。E-mail: xiaoxi_xu01@163.com

*Corresponding author: XU Xiao-Xi, Professor, Food College of Northeast Agriculture University No. 59, MuCai Road, Xiangfang District, Harbin 150030, China. E-mail: xiaoxi_xu01@163.com

1 引言

近年来, 全球乳制品行业接连不断地出现负面新闻报道, 由微生物污染而造成的乳制品安全事件层出不穷。2013 年 7 月 31 日, 恒天然公司发现 38 吨浓缩乳清蛋白可能受肉毒杆菌污染, 其生产的 3 个批次乳清蛋白中检出肉毒杆菌, 影响包括中国企业在内的 8 家客户, 事件导致近 1000 吨疑似污染产品的召回^[1]; 2011 年 8 月 8 日由长沙亚华乳业有限公司生产的 5 批次南山幼儿配方奶粉被检出黄曲霉毒素 M₁(剧毒、具有强致癌性)超标; 奥德华(北京)有限公司 2012 年 4 月 23 日生产的 3 批次光明奶油被查出菌落总数超标^[2]。

乳及乳制品中病原菌主要来源于原料乳生产过程和乳制品生产过程。乳制品生产过程中病原微生物的引入可通过良好操作规范(GMP)进行控制, 但是原料乳生产过程中由微生物导致的风险成为我国乳制品安全必须严格控制的方向之一。目前, 国内外对原料乳生产过程的微生物风险控制方法尚未有全面细致的报道, 而牛舍及榨乳间等空间微生物检测及监测手段也存在诸多问题, 难以实现快速准确的判定。因此, 对原料乳生产过程中空间微生物来源的控制和检测, 是目前我国保证原料乳安全性的亟待解决的重要研究方向。

2 原料乳中微生物来源

牛奶营养丰富, 其中所含的蛋白质、脂肪、乳糖、矿物质和维生素等比较齐全; 奶中的钙和磷不仅含量多, 而且比例适当, 极易吸收。但正是由于牛乳中营养物质丰富, 如果处理不当将会导致奶中微生物的生长和繁殖, 进而造成牛乳营养成分的破坏甚至食源性疾病的传播。

2.1 来自空气的污染

微生物一般附着在空气中悬浮的尘埃、雾滴等粒子上, 呈气溶胶状态分散在空气中^[3,4]。

真菌孢子具有自身悬浮的特性。漂浮着的灰尘颗粒常吸附有抵抗力较弱的球菌和细菌芽孢、真菌孢子等^[5]。挤乳过程和刚挤出的鲜牛乳不可避免地接触牛舍内空气, 因此牛舍内的空气洁净状况是直接影响原料乳中微生物数量的重要因素。一般情况下, 牛舍内的空气含菌量约为 5~100 CFU/mL, 当灰尘增多时可达 1000 CFU/mL, 主要为细菌芽孢、真菌孢子和一些球菌以及酵母菌^[6]; 真菌有曲霉、青霉、毛霉^[7]。另外, 牛舍中的苍蝇及其他昆虫也是原料乳中微生物的来源之一。

2.2 其他来源的污染

原料乳中的微生物来源广泛, 除乳牛饲养、榨乳、运动空间空气中的微生物, 还有以下来源: 来自乳牛体表的污染、来自挤奶器具和盛乳容器的污染^[8]、来自工作人员

的污染^[9]、来自牧草、牛舍垫草和水的污染^[10]。这些微生物也会随着空气流动、奶牛运动分散到空气中进而可能会污染原料乳。

3 原料乳生产过程中可能污染的空气源微生物种类

牛乳中较高的水分含量和接近中性的 pH 值也非常适合各种微生物的生长与繁殖^[11]。原料乳中可能污染的空气源微生物种类众多, 主要包括:

3.1 病原微生物

原料乳中含有的病原微生物会造成人类感染一些疾病, 即使在后续生产过程中可将病原菌菌体杀死, 但有些病原菌会产生相应的毒素, 而这些毒素是不容易使其失活的, 所以依旧对人体存在一定的危害。历史上因为饮用了受污染的牛乳而导致人类最严重的疾病是肺结核和布氏杆菌病^[12]。

近年来, 国内外液态乳和原料乳中检出黄曲霉毒素和金黄色葡萄球菌的案例时有发生, 如, 2011 年 12 月 24 日国家质检总局公布蒙牛乳业(眉山)有限公司生产的一批次产品检出黄曲霉毒素 M₁ 超标 140%^[13]; 2000 年 6 月 27 日, 日本有近万人因饮用了金黄色葡萄球菌的雪印牌低脂肪牛奶而食物中毒^[14]。由此可见病原微生物污染对于乳品安全影响重大。原料乳中空气源病原微生物主要有:

(1)葡萄球菌属: 葡萄球菌是革兰氏阳性菌, 在条件适宜时细菌生长代谢会产生毒素^[15], 摄入 2~6 小时后即会出现呕吐、腹泻等症状^[16 17]。

(2)沙门氏菌属: 牛乳中的沙门氏菌主要是肠炎沙门氏菌、鼠伤寒沙门氏菌、伤寒沙门氏菌和副伤寒沙门氏菌, 它们都能产生抗热性内毒素, 引起食物中毒, 会导致肠胃炎、肠伤寒和副伤寒病症^[17 18]。

(3)志贺氏菌: 属于肠杆菌科, 潜伏期 6~24 小时, 主要症状剧烈腹痛、呕吐、腹泻。

(4)链球菌属: 链状排列的革兰氏阳性菌, 能引起人的化脓性疾病、猩红热、扁桃体炎、败血症等疾病^[19]。

(5)大肠杆菌: 兼性厌氧、革兰氏阴性无芽孢杆菌。近几年, 常有大肠杆菌 O157:H7 污染牛乳引起人类出血性肠炎的报道。该菌是在原料乳中值得重视的一种病原菌^[19]。

除以上的病原菌外原料乳还可会污染弯曲杆菌属、叶尔森氏菌属、李斯特氏菌、芽孢杆菌属、放线菌属、分枝杆菌、梭菌属等致病菌^[20]。

3.2 原料乳中的腐败菌和真菌

原料乳中的腐败变质主要是由于一些分解蛋白质和脂肪的细菌产生蛋白质分解酶导致乳组织状态的变化。原料乳中常见的空气源腐败菌有大肠菌群、假单胞菌属、莫拉氏菌属、形成芽孢的革兰氏阳性杆菌等。腐败菌中最主

要的是嗜冷菌^[21]。真菌主要有酵母菌、霉菌(孢子)、病毒、噬菌体等。

4 空气中微生物检测和监测方法

目前,我国对空气微生物的研究多为调查研究,即在一定时间内对某种场所进行空气微生物采样,了解微生物的浓度、种属等情况^[22]。主要是空气微生物的定性、定量及其变化的研究;空气微生物学知识的实际研究应用,如将空气微生物学的成果应用于临床医学、预防医学和生物医学中,促进了洁净技术和消毒学的发展^[23]。

国外对空气微生物的研究比较早,从19世纪初期发现无菌材料在空气中被微生物发酵和分解到现在,已经历了一个半世纪。国外对空气微生物的来源、类型、粒谱范围和影响空气微生物群落变化的因素以及毒理学等进行了较系统的研究^[24]。

4.1 空间微生物的采样方法

空气中微生物的采样方法主要由两种:自然沉降法和空气微生物采样器采样法^[25]。

4.1.1 自然沉降法

自然沉降法是由德国科学家科赫最早建立,它是利用空气微生物粒子的重力作用,一定时间内,让所处区域的空气微生物粒子逐步沉降到带有培养介质的平皿内的一种采样方法^[26,27]。其优点是:设备简单、操作简便、成本低、能初步了解空气细菌情况^[28];缺点是:(1)由于小粒子重力较小,在空气中沉降速度慢,所以难以测出空气中较小粒子的微生物气溶胶。(2)奥姆斯基公式具有一定的局限性,其忽略了沉降量和粒子颗粒大小有关这一重要因素。(3)采样需要在无风条件下进行,在采样时难以控制自然环境,易造成在同一环境下多次采样的结果有所差异^[29]。

4.1.2 固体微生物采样器和液体微生物采样器

目前,在各地医院、疾控中心和检验检疫部门日常的空气检测中使用最多的空气微生物采样器主要是固体空气微生物采样器和液体微生物采样器^[30]。此外,还有静电采集法、离心采集法等。

(1) 采样器原理

固体空气微生物采样器,其原理是空气中的微生物气溶胶粒子在获得足够的惯性后脱离气流,撞击在固体培养基平面上;液体空气微生物采样器,其基本原理是利用旋风机的圆柱或圆锥部分高速气旋的惯性,使气流中的微生物气溶胶粒子分离出来,然后被旋风内壁上的循环冲洗采样液收集。

(2) 两种采样器对比

在空气中微生物气溶胶浓度较高时,使用固体撞击采样器采样易造成培养基表面过载,无法在平板上进行有效计数;而液体微生物采样器由于采样介质是液体,操作

人员可以将样品进行稀释,从而进行准确的空气微生物浓度测定。

由于采样液对微生物气溶胶粒子具有缓冲作用,能够避免采样时对微生物造成损伤,特别是对于病毒的采样^[31]。液体采样器采集的样本可以随时进行分子生物学的检测,可以缩短检测时间,同时该样本还可以长时间保存^[32]。液体采样器由于其工作特点在采样时可以将气溶胶粒子团中的多个微生物分离开来使其均匀分布于采样液中;而固体采样器只能将气溶胶粒子冲击在平板的培养基上,无法进行有效分离^[33]。

(3) 主要优缺点

液体空气微生物采样器的主要优点是:适于高浓度微生物气溶胶的采集;避免微生物损伤;采样样本可以分别分析;样本分布均匀,能测出空气中活的微生物数量。其主要缺点是:不适于长时间采样;不能有效采集低浓度微生物气溶胶;采样液易受污染;采样过程中易发生再次气溶胶化现象^[34]。

固体空气微生物采样器的主要优点是:采样效率高,适用于气溶胶浓度范围广;采样敏感度高^[35]。主要缺点是:采样培养后微生物菌落易出现重叠现象^[36]。

由此,自然沉降法采样的不确定因素较多,易受气候、空气洁净度的影响、多次采样结果差异大^[37]。而微生物采样器采样能够克服自然沉降法的不足之处,采样稳定不受气候影响。

4.2 空气微生物的检验和鉴定方法

(1)DNA的G+C含量:主要是排除不确定的分类单元而不是去建立一个新的分类单元,因为G+C摩尔百分比相近不一定是同一种,但是G+C摩尔比不同的2个种之间的亲缘关系必定较远^[38,39]。

(2)核酸分子杂交:是采用示踪物标记的一条DNA分子与另一条在适当的条件下杂交(包括DNA-DNA杂交、DNA-rRNA杂交、核酸探针),获得两者间的杂交百分率即DNA同源性,以判断两菌株是否同属^[39]。

(3)随机扩增DNA多态性分析(RAPD):又称随意引物PCR,是一种DNA指纹多态性分析技术。理论依据是不同的基因组中与随意引物匹配的碱基序列的位点和数目可能不同,因而用一组人为设计的核苷酸作为引物,通过PCR随机扩增可产生物种特异性DNA带谱可用于细菌种间、亚种间乃至株间的亲缘关系分析^[40]。RAPD有如下优点:①分型率高,适合性状接近的菌种分型;②不用事先知道基因序列或特异片段^[41,42];③RAPD遵循孟德尔遗传定律;④敏感度高、快速、简便^[43]。

(4)16SrRNA序列分析,随着微生物核糖体数据库的日益完善,16SrRNA序列分析已广泛用于微生物多样性的研究,在空气微生物群落结构分析中应用较少^[44]。16SrRNA序列分析稳定、准确可靠,但工作量大,实验条件

复杂和操作要求严格^[30 45 46]。

(5)气相色谱分析: 是依据脂肪酸分类的化学分析技术, 可在短时间内对大量菌株进行鉴定。气相色谱技术具有极高的选择性, 分辨率高, 而且敏感快速, 特别适合鉴定厌氧菌, 但对细菌的培养和纯化要求较高^[47]。

(6) 微生物实时荧光光电检测: 该技术是近年来新兴的细菌、霉菌、酵母菌快速检测技术。它将改进后的传统培养分离技术、染色技术、传感和荧光检测技术以及计算机控制的模块化技术合为一体, 大大简化了传统微生物的检测方法, 也将从取样到获得检测结果的时间从数天缩短为数小时。相比琼脂平板计数法涉及的实验较多、操作繁琐、需要时间较长、准备和收尾工作繁重而且要有大量人员参与等缺点, 生物荧光法有简便、快速的特点^[48,49]。但检测过程需要较为昂贵的耗材试剂, 酶促反应也需一定时间^[50]。

5 原料乳中微生物的控制

原料乳来源于牛体, 因此对牛体及其生活的环境要保持高度的清洁, 不断的发展和完善挤奶过程的机械化, 实现无人挤奶, 并且对运输的管道以及储存的设备一定要严格检查, 确保卫生, 防止外界环境对牛奶的污染。具体措施为:

(1) 贯彻实施乳牛兽医保健工作和检疫制度

乳牛场和养殖户要做到定期检疫、兽医保健和卫生检查, 建立健全疾病预防制度及检验检疫制度, 加强卫生管理, 严防传染病的发生和流行, 保证乳牛健康^[9]。

(2) 保证牛舍环境及牛体卫生

乳牛牛体不洁和牛舍环境卫生不良是导致乳中微生物数量增加的重要原因。因此, 要及时建立起相应的卫生管理制度, 并加大管理力度, 保证牛体及牛舍的卫生。

经常清扫牛舍周边保证环境清洁, 每日清理乳牛的排泄物和勤换垫草, 用适宜的消毒剂清洗牛床; 牛舍通风采光应该良好, 防止灰尘飞扬; 及时清理饮水槽和饲料槽; 每日挤乳前对牛体进行刷拭, 注意牛体卫生^[20]。

(3) 加强挤乳和贮存设备的清洗消毒

挤乳设备和贮存设备如果清洗不彻底也是原料乳中微生物的来源途径。

(4) 原料乳贮存及运输期间对微生物的控制,

牛乳进入贮乳罐 2 小时内迅速冷却到 4℃ 是抑制乳中微生物生长的有效措施^[8]。

6 结 语

空气中微生物对原料乳的品质有很大影响。目前, 对空气中微生物进行了大量研究, 但仍有很多方面需要进一步研究。首先是采样技术, 目前还没有一种采样技术能保证样本尽可能反映原始状态, 因为经过采样器采样头高速

气流的冲击、机械撞击和培养选择性试剂的刺激, 微生物会受到一定损伤, 导致研究结果具有一定误差。其次是鉴定技术, 应根据不同的研究目标和实验条件选择不同的方法。

未来空气微生物的研究趋势: 不断扩大空气微生物研究的范围; 增强和加大空气微生物采样、研究开发新的鉴定方法以及检测技术。

原料乳质量和安全的保证是高品质乳制品生产的前提, 建立更灵敏、更有效、更可靠、更简便的空气微生物的采样与检测技术是保证原料乳质量的必要措施。因此, 要不断加强在空气微生物方面的研究, 尽量避免在原料乳及乳制品生产方面的微生物污染, 保证乳品安全和消费者身体健康。

参考文献

- [1] 贾兴鹏, 李彤. 恒天然跌落“神坛”[J]. 质量探索, 2008, (8): 6-7.
Jia XP, Li T. Fonterra drop the altar [J]. Qual Expl. 2008, (8): 6-7.
- [2] 张思家. 南山奶粉危机能扛过去吗? [J]. 乳品与人类, 2012, (4): 44-49.
Zhang SJ. Can Nan Shan milk crisis pass through? [J]. Dairy Human, 2012, (4): 44-49.
- [3] 莫浩联, 牛姬飞, 司徒潮满, 等. 采样介质对空气中流感病毒的富集效能 [J]. 预防医学情报杂志, 2012, 28(10): 772-775.
Mo HL, Niu JF, SiTu CM, et al. Sampling medium enrichment efficacy of influenza virus in the air [J]. J Prev Med Inform, 2012, 28(10): 772-775.
- [4] Douwes J, Thorne P, Pearce N, et al. Bioaerosol health effects and exposure assessment: progress and prospects [J]. Ann Occ, 2003, 47(3): 187-200.
- [5] 雷长红. 空气微生物污染及其控制的研究进展 [J]. 职业与健康, 2013, 29(24): 3348-3350.
Lei CH. Research progress on air microbial contamination and control [J]. Occ Health, 2013, 29(24): 3348-3350.
- [6] 张和平, 张列兵. 现代乳品工业手册 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2005, 37.
Zhang HP, Zhang LB. Modern Dairy Industry Manual [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2005, 37.
- [7] Ekhaise FO, Ighosewe OU, Ajakpovi OD. Hospital indoor airborne microflora in private and government owned hospitals in Benin City, Nigeria [J]. World J Med Sci, 2008, 3(1): 19-23.
- [8] 许红岩. 生鲜乳中微生物控制浅析 [J]. 中国乳业, 2013, (135): 52-53.
Xu HY. Control of microorganisms in raw milk [J]. China Dairy, 2013, (135): 52-53.
- [9] 张和平, 张佳程. 乳品工艺学 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2007, 81-84.
Zhang HP, Zhang JC. Dairy process engineering [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2007, 81-84.
- [10] 张景田, 张拥军. 浅谈微生物在乳品加工中的污染及控制 [J]. 民营科技, 2010, (9): 32.
Zhang JT, Zhang YJ. Discussion and control of the microbial contamination in dairy processing in [J]. Priv Sci Tech, 2010, (9): 32.
- [11] 汪银锋, 李素平, 高腾云, 等. 原料乳质量指标关系概述 [J]. 江苏农业科学, 2010(2): 332-333.
Wang YF, Li SP, Gao TY, et al. The raw milk quality indicators relations

- review[J]. *J S Agric Sci*, 2010, (2): 332-333.
- [12] 陈历俊. 原料乳生产和质量控制[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2008, 216.
Chen LJ. The production and quality control of the raw milk [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2008, 216.
- [13] 马志英. 乳品安全再敲警钟: 牛奶“黄曲霉毒素”超标[J]. *生命与灾害*, 2012, (1): 10-12.
Ma ZY. Chime the alarm bell of the dairy safety again: milk, "aflatoxin" excessive[J]. *Life Dis*, 2012, (1): 10-12.
- [14] 王大军. 日本食品安全神话的破灭—雪印牛奶骚动始末[J]. *中国经贸导刊*, 2000, (14): 41.
Wang DJ. The Japanese food safety myth is undone - stir by snow brand milk [J]. *Chin Bus Update*, 2000, (14): 41.
- [15] 巢国祥, 焦新安, 周丽萍, 等. 食源性金黄色葡萄球菌流行特征、产肠毒素特性及耐药性研究[J]. *中国卫生检验杂志*, 2006, 16(8): 904-907.
Chao GX, Jiao XA, Zhou LP, *et al*. Preventive medicine intelligence magazine, Enterotoxigenic characteristics and drug resistance[J]. *Chin J Health Lab Tech*, 2006, 16(8): 904-907.
- [16] 闫军, 许晓曦, 张海瑞. 原料乳中特征病原菌的风险评估基础研究[J]. *食品工业科技*, 2008, 29(4): 299-301.
Yan J, Xu XX, Zhang HR. Research on risk assessment of basic characteristics of pathogenic bacteria in raw milk [J]. *Food Sci Tech Ind*, 2008, 29(4): 299-301.
- [17] 郭本恒. 液态奶[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004.
Guo BH. Liquid Milk [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2004.
- [18] 高文茹, 陈庆森, 庞广昌, 等. 西北地区原料奶沙门氏菌污染程度鉴定与分析[J]. *食品科技*, 2011, 36(2): 285-289.
Gao WR, Chen QS, Pang GC, *et al*. The northwest area of raw milk Salmonella contamination degree identification and analysis [J]. *Food Sci Tech*, 2011, 36(2): 285-289.
- [19] 张和平, 张列兵. 现代乳品工业手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2005.
Zhang HP, Zhang LB. Modern Dairy Industry Manual [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2005.
- [20] 张和平, 张佳程. 乳品工艺学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2007.
Zhang HP, Zhang JC. Dairy process engineering[M]. Beijing: China Light Industry Press, 2007.
- [21] 剧柠, 夏淑鸿. 原料乳中微生物的多样性[J]. *食品与发酵工业*, 2013, 39(2): 150-155.
Ju N, Xia SH. Diversity of microorganisms in raw milk [J]. *Food Ferment Ind*, 2013, 39(2): 150-155.
- [22] 韩佳, 王中卫. 空气微生物作为大气污染常规分析指标的重要性[J]. *环境科学与管理*, 2013, 37(8): 129-131.
Han J, Wang ZW. Air microorganism as importance index of routine analysis for atmospheric pollution [J]. *Environ Sci Manag*, 2013, 37(8): 129-131.
- [23] 陈皓文, 陈阳. 空气微生物学的国内研究进展[J]. *疾病控制杂志*, 2005, 9(6): 627-629.
Chen HW, Chen Y. The process of domestic air microbiology research [J]. *Chin J Disease Control Prev*, 2005, 9(6): 627-629.
- [24] 孙平勇, 刘雄伦, 刘金灵, 等. 空气微生物的研究进展[J]. *中国农学通报*, 2010, 26(11): 336-340.
Sun PY, Liu XL, Liu JL, *et al*. Progress Airborne microbes [J]. *Chin Agr Sci Bull*, 2010, 26(11): 336-340.
- [25] 陈锴, 万乐, 褚可成, 等. 空气微生物污染监测及研究进展[J]. *中国环境监测*, 2014, 30(4): 171-178.
Chen E, Wan L, Zhu KC, *et al*. Progress of microbial air pollution monitoring and research [J]. *Environ Mon Chin*, 2014, 30(4): 171-178.
- [26] 陈烈贤. 空气微生物污染及采样方法的进展[J]. *中国环境卫生*, 2003, 6: 11-19.
Chen LX. Air microorganism pollution and sampling method [J]. *Chin Environ Health*, 2003, 6: 11-19.
- [27] 陈烈贤. 自然沉降法采样方法准确性探讨[J]. *中国环境卫生*, 2001, 4(2): 14-16.
Chen LX. Natural sedimentation sampling method to study the accuracy [J]. *Chin Environ Health*, 2001, 4(2): 14-16.
- [28] 邱方, 张丽. 撞击法和沉降法采样对医院病房空气细菌总数检测结果比较[J]. *预防医学论坛*, 2006, 12(5): 581-582.
Qiu F, Zhang L. Impact method and sedimentation sampling method for comparison of the test results of total bacteria in hospital ward air [J]. *Prev Med Tribune*, 2006, 12(5): 581-582.
- [29] 李涛. 空气微生物采样及发展趋势[J]. *中国卫生检验杂志*, 2003, 13(5): 538-539.
Li T. Microbial air sampling and development trends [J]. *Chin J Health Lab Tech*, 2003, 13(5): 538-539.
- [30] 谈书勤, 顾大勇, 侯婷, 等. 固体空气微生物采样器与液体空气微生物采样器采样效果比较[J]. *中国疾病预防控制中心杂志*, 2014, 18(1): 51-54.
Tan SQ, Gu DY, Hou T, *et al*. Compare with solid and liquid microbial air sampler results [J]. *Chin J Dis Control*, 2014, 18(1): 51-54.
- [31] Verreault D, Moineau S, Duchaine C. Methods for sampling of airborne viruses [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2008, 72(3): 413-444.
- [32] Myatt T, Johnston S, Rudnick S, *et al*. Airborne rhinovirus detection and effect of ultraviolet irradiation on detection by a semi-nested RT-PCR assay[J]. *BMC Public Health*, 2003, 3: 5.
- [33] 于玺华, 车凤翔. 现代空气微生物学[M]. 北京: 军事医学科学出版社, 1998.
Yu XH, Che FX. Modern air microbiology [M]. Beijing: Military Medical Science Press, 1998.
- [34] Riemenschneider L, Woo MH, Wu CY, *et al*. Characterization of re-aerosolization from impingers in an effort to improve airborne virus sampling [J]. *J Appl Microbiol*, 2010, 108(1): 315-324.
- [35] Sahu A, Geimber SJ, Holsen TM. A static water surface sampler measure bioaerosol deposition and characterize microbial community diversity [J]. *J Aer Sci*, 2005, 36(5-6): 639-650.
- [36] 杨文慧, 温占波, 于龙, 等. 应用气溶胶法生价评价空气微生物采样器采样效率[J]. *中国消毒学杂志*, 2009, 26(3): 245-248.
Yang WH, Wen ZB, Yu L, *et al*. Application of aerosol air microorganism sampler method to evaluate the sampling efficiency [J]. *Chin J Disinfection*, 2009, 26(3): 245-248.
- [37] 郭雅蓉, 廖春蓉, 刘玉梅. 室内空气微生物不同采样方法的检测分析[J]. *疾病预防控制中心通报*, 2014, 29(4): 75-76.
Guo YR, Liao CR, Liu YM. Detection and analysis of the different indoor air microorganism sampling method [J]. *Bull Dis Control Prev*, 2014, 29(4): 75-76.
- [38] 于玺华. 现代空气微生物学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2002.
Yu XH. Modern air microbiology [M]. Beijing: People's Medical Publish-

- ing Press, 2002.
- [39] 刘慧. 现代食品微生物学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2006, 291–293.
Liu H. Modern Food Microbiology[M]. Beijing: China Light Industry Press, 2006, 291–293.
- [40] Guan W, Xu Y, Chen DL, *et al.* Application of multilocus sequence analysis (MLSA) for accurate identification of *Legionella* spp. Isolated from municipal fountains in Chengdu, China, based on 16S rRNA, mip, and rpo B genes [J]. Microbiol, 2012, 50(1): 127–136.
- [41] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001.
Dong XZ, Cai MY. Common bacterial identification system manual [M]. Beijing: Science Press, 2001.
- [42] 吴少慧, 张成刚, 张忠泽. RAPD 技术在微生物多样性鉴定中的应用[J]. 微生物学杂志, 2000, 20(2): 44–47.
Wu SH, Zhang CG, Zhang ZZ. RAPD technique in the identification of microbial biodiversity [J]. J Microbiol, 2000, 20(2): 44–47.
- [43] Haugland RA, Vesper SJ, Wymer LJ. Quantitative measurement of *Stachybotrys chartarum* conidia using real time detection of PCR products with the TaqMan™ fluorogenic probe system [J]. Mol Cell Probes, 1999, 13(5): 329–340.
- [44] 周煜, 陈梅玲, 姜黎, 等. 16SrRNA 序列分析法在大气微生物检测中的应用[J]. 生物技术通讯, 2000, 11(2): 111–113.
Zhou Y, Chen ML, Jiang L, *et al.* Application of 16SrRNA sequence analysis method in atmospheric detection of microorganism [J]. Letters Biotechnol, 2000, 11(2): 111–113.
- [45] 唐振强, 赵奇, 刘吉起, 等. 16S rRNA 序列分析法对城市居民区德国小蠊携带致病菌检测研究[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2013, 24(1): 64–66.
Tang ZQ, Zhao Q, Liu JQ, *et al.* Identification of pathogenic bacteria carried by *Blattella germanica* in urban communities by 16S rRNA sequence analysis [J]. Chin J Vector Biol Control. 2013, 24(1): 64–66.
- [46] Pace NR. A molecular view of microbial and the biosphere [J]. Science, 1997, 276: 734–740.
- [47] 方治国, 欧阳志云, 胡利锋, 等. 空气微生物研究方法进展与展望[J]. 环境污染治理技术与设备, 2005, 6(7): 8–13.
Fang ZG, Ouyang ZY, Hu LF, *et al.* Progress and Prospects air microbial research methods [J]. Technol Equip Environ Poll Control, 2005, 6(7): 8–13.
- [48] 王 茁. ATP 荧光微生物检测法在食品卫生监控领域中的应用与展望[J]. 中国食品卫生杂志, 2004, 16(3): 266–267.
Wang Z. Application and Prospect of ATP fluorescence detection in food hygiene surveillance in the field [J]. Chin J Food Hygiene, 2004, 16(3): 266–267.
- [49] 董晓寅, 王卫涛, 王文峰, 等. 现代空气微生物监测技术概述[J]. 现代科学仪器, 2013, 3: 29–32.
Dong XY, Wang WT, Wang WF, *et al.* Modern air microorganism monitoring technology overview [J]. Mod Sci Instr, 2013, 3: 29–32.
- [50] 廖如燕, 陈胤瑜, 华志涛, 等. ATP 生物荧光检测法快速检测水细菌污染的评价[J]. 旅行医学科学, 2011, 6: 5–11.
Liao RY, Chen YY, Hua ZT, *et al.* Evaluation on ATP bioluminescence assay for rapid determination for Bacterial contamination of water [J]. Sci Trav Med, 2011, 6: 5–11.

(责任编辑: 白洪健)

作者简介

刘 洋, 硕士研究生, 主要研究方向为乳品科学与技术及食品安全。
E-mail: liuyangneau@163.com



许晓曦, 教授, 主要研究方向为乳品科学与技术及食品安全。
E-mail: xiaoxi_xu01@163.com