

菌落总数能力验证样品均匀性和稳定性

刘芳*, 杨平, 李传礼

(深圳市计量质量检测研究院, 深圳 518131)

摘要: **目的** 研究制备适用于菌落总数能力验证冷冻干燥样品的方法, 并对样品的稳定性和均匀性进行评估。**方法** 采用真空冷冻干燥方式分别制备菌落总数能力验证阳性样品与阴性样品, 西林瓶真空包装、4℃冷藏贮存, 制备出以脱脂奶粉为基质的均匀性好、稳定性强的菌落总数能力验证样品。通过随机抽样以评估样品的均匀性; 通过观察样品在12 w内不同温度下菌落总数的测试结果以评估样品的稳定性。**结果** 随机抽检的样品具有较好的均匀性; 贮存温度对样品稳定性有较大影响, 高温明显降低样品稳定性; 通过保存时间和时间的稳定性检验显示测试结果符合预期效果, 样品具有较好的稳定性。**结论** 建立了有效的菌落总数能力验证样品制备的方法与评价程序。

关键词: 菌落总数; 能力验证; 均匀性; 稳定性

Homogeneity and stability of samples used by bacterial count proficiency testing

LIU Fang*, YANG Ping, LI Chuan-Li

(Shenzhen Academy of Metrology and Quality Inspection, Shenzhen 518131, China)

ABSTRACT: Objective The preparation of lyophilized samples were applied in bacterial count proficiency testing, to assess the homogeneity and stability of samples. **Method** Bacterial count proficiency testing positive samples and negative samples were made by vacuum freeze drying method in penicillin bottles vacuum packaging and stored at 4℃. The uniformity of the proficiency testing samples was evaluated by random sampling, and the stability of proficiency testing samples was kept for 12 weeks. **Results** Random samples had a preferable accordance ratio, and could keep stable for at least 12 weeks while stored at different temperatures. Suitable bacterial count proficiency testing samples and effective sample preparation and evaluation process were established. **Conclusion** Effective bacterial count proficiency testing sample preparation method and evaluation process were established

KEY WORDS: bacterial count; proficiency testing; homogeneity; stability

1 引言

能力验证是利用实验室间比对判定实验室的校准、检测能力或检测机构能力的活动, 是认可机构评价实验室和检查机构技术能力的重要手段, 也是判

定其申请认可项目和获准项目技术能力的重要依据。参加能力验证计划是实验室检测结果质量保证的重要手段, 有助于实验室评价和证明其检测数据可靠性, 发现和纠正自身存在的问题, 改进实验室的检测工作^[1]。目前由于微生物学检验领域的特殊性, 微生

*通讯作者: 刘芳, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品微生物检测。E-mail: 4275777@qq.com

*Corresponding author: LIU Fang, Engineer, Shenzhen Academy of Metrology and Quality Inspection, Minkang Road 114, Shenzhen 518131, China. E-mail: 4275777@qq.com

物学能力验证尚未有高可信度、有规模的微生物能力验证样品, 在菌落总数的检测项目上无标准物质, 这就造成微生物学检验的随意性和不确定性, 实验室间的检验结果差别较大, 结果的可信度降低, 结论的可重复性较差; 因而微生物学能力验证具有重要的意义。微生物学测试的主要难题在样品的制备、样品的均匀性和稳定性方面^[2,3]。利用真空冷冻干燥技术制备微生物能力验证样品能够在最大程度上防止干燥物质化学和生物性质的变化, 对于细胞体损伤较少, 减少活菌体的死亡, 有效地保持了样品中微生物的数量及其生物学特性^[4,5], 因此近年来越来越多地应用于微生物能力验证样品的制作当中。

本研究采用真空冷冻干燥技术制备微生物能力验证样品, 分别从冻干菌种的选取、冻干工艺条件的设置、冻干保护剂的使用、再水化介质的选取等方面综合评价所制备样品的均匀性; 再次, 通过对存放样品的周期性验证试验评价所制能力验证样品的稳定性。

2 材料与方法

2.1 材料与仪器

2.1.1 菌种

蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) CICC10041、大肠埃希氏菌(*Escherichia coli*) ATCC25922、弗氏柠檬酸杆菌(*Citrobacter freundii*) ATCC8090、产气肠杆菌(*Enterobacter aerogenes*) ATCC13048: 中国工业微生物菌种保藏管理中心。

2.1.2 试剂和培养基

脱脂奶粉(碧迪医疗器械有限公司); 谷氨酸钠、海藻糖(上海晶纯生化科技股份有限公司); PCA 平板计数琼脂(北京陆桥技术股份有限公司)。

2.1.3 仪器设备

自动高压灭菌器(HV-110, 日本 Hirayama); 电子比浊仪(DENSIMAT, 法国生物梅里埃); 自动压盖冷冻干燥机(FreeZone[®] Triad[™] 2.5 L, 美国 LABCONCO); 电热恒温培养箱(KB720, 德国 Binder)。

2.2 实验方法

选择谷氨酸钠、海藻糖和脱脂牛奶等不同物质作为基质, 加入标准菌株混合制成菌悬液, 利用冷冻干燥机对菌悬液进行干燥, 制备成用于微生物能力验

证菌落总数的干粉样品。对样品进行验证试验, 按一定的间隔周期测定干粉样品中的菌落总数, 比较测定结果随时间推移的变化情况, 评价所制干粉样品的均匀性、稳定性。

按照能力验证中企业比对考核的实际需求, 采用的试验方法为: GB 4789.2-2010《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》。

2.2.1 菌株复苏传代

选取 4 种标准菌株, 蜡样芽孢杆菌作为主导菌, 大肠埃希氏菌、弗氏柠檬酸杆菌和产气肠杆菌作为混合背景菌, 利用营养肉汤分别进行复苏, 并对复苏的菌株进行鉴定。

2.2.2 菌悬液配制

将各菌株在适宜的条件下生长, 培养至对数生长期后, 用生理盐水进行稀释, 按照 GB 4789.2-2010《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》进行菌落计数。采用比浊法检查菌株浓度, 按 $10^8 \sim 10^9$ cfu/mL 配制菌悬液, 背景菌悬液按 1:1:1 (V:V:V) 混合, 制成背景菌悬液, 再与主导菌稀释液以 1:1(V:V) 混合, 得到混合菌悬液。按一定比例与不同的基质均匀混合, 分别制备只含主导菌(约 10^6 cfu/mL)以及主导菌(约 10^6 cfu/mL)与混合背景菌(各约 10^5 cfu/mL)混合的菌悬液。本研究选用两种基质, 一种为谷氨酸钠(8%)、海藻糖(4.8%)溶液, 一种为 20%脱脂牛奶。

2.2.3 冻干样品制备

将制备的不同基质的主导菌悬液、混合菌悬液在均匀搅拌下分装西林瓶, 每只西林瓶分装 1.0 mL。然后将装有菌悬液西林瓶放置 -20 °C 冰箱进行预冷冻, 预冷冻完成后, 放置于冷冻干燥机中, 按设定好的预冻—冷冻干燥—抽真空—压盖—真空释放程序进行真空冷冻干燥流程, 制备真空干粉样品。

2.2.4 样品的保存和测试

对制成的不同基质、含不同菌株干粉样品分别放置 3 种温度条件(4 °C、25 °C、37 °C)保存, 每隔 1 w 对不同保存条件的样本分别进行菌落总数和大肠菌群测定, 每次测定 2 个平行样本。(应为 3 个平行样本)

操作步骤: 向每份干粉样品中加入无菌生理盐水 9 mL, 干粉溶解后振荡混匀, 以此液作为测试原液。依次 10 倍稀释制成 $10^{-1} \sim 10^{-5}$ 稀释液, 按照 GB4789.2-2010 测定各样品的菌落总数。

3 结果与分析

经试验,以谷氨酸钠(8%)、海藻糖(4.8%)溶液作为基质制备的菌悬液冻干粉无法形成均匀沉淀的粉状样品,膨胀迹象明显,效果无法达到要求,最终选用 20%脱脂牛奶作为样品制备基质。

3.1 均匀性测试

均匀性检验常用的统计方法有:方差分析法、不均匀性标差法、*t* 检验法、极差检验法和平均值一致检验法等^[6]。按照 CNAS-GL03: 2006《能力验证样品均匀性和稳定性评价指南》要求^[7],采用单因素方差分析(one way ANOVA)对样品的均匀性进行统计分析。单因素方差分析也即一维方差分析,是检验由单一因素影响的多组样本某因变量的均值是否有显著差异的问题,如各组之间有显著差异,说明这个因素(分类变量)对因变量是有显著影响的,因素的不同水平会影响到因变量的取值^[8]。

分别从主导菌样品、混合菌冻干粉样品总体中随机抽取 15 个样品进行均匀性测试;对抽取的每份样品,在重复条件下测试 2 次。结果数据用单因子方差分析进行统计处理。分析方法如下:

抽取 *i* 份样品(*i*=1、2、……*m*),每份样在重复条

件下测试 *j* 次(*j*=1、2、……*n*)。

$$\text{则每份样品测试平均值为 } \bar{x}_i = \sum_{j=1}^n x_{ij} / n_i ;$$

$$\text{全部样品测试总平均值为 } \bar{x} = \sum_{i=1}^m \bar{x}_i / m ;$$

$$\text{测试总次数为 } N = \sum_{i=1}^m n_i ;$$

$$\text{样品间离均差平方和为 } SS_1 = \sum_{i=1}^m n_i (\bar{x}_i - \bar{x})^2 \quad \text{均}$$

$$\text{方为 } MS_1 = \frac{SS_1}{f_1} ;$$

$$\text{样品内离均差平方和为 } SS_2 = \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_i} (x_{ij} - \bar{x}_i)^2 \quad \text{均}$$

$$\text{方为 } MS_2 = \frac{SS_2}{f_2} ;$$

$$\text{自由度为 } f_1 = m - 1, f_2 = N - m; \text{ 统计量为 } F = \frac{MS_1}{MS_2}。$$

经测试,主导菌、混合菌样品菌落总数及其 log₁₀ 对数变换结果见表 1:

样品菌落总数均匀性试验方差分析结果如表 2 所示:

表 1 菌落总数均匀性测试结果
Table 1 Homogeneity results of bacterial count

样品 编号	主导菌样品(cfu/mL)				混合菌样品(cfu/mL)			
	结果 1	结果 2	结果对数变换(log ₁₀)		结果 1	结果 2	结果对数变换(log ₁₀)	
			结果 1	结果 2			结果 1	结果 2
1	8600	8300	3.934	3.919	5600	5900	3.748	3.771
2	8800	8500	3.944	3.929	5800	5900	3.763	3.771
3	9100	8200	3.959	3.914	6100	6400	3.785	3.806
4	8500	8600	3.929	3.934	5700	5900	3.756	3.771
5	8100	8300	3.908	3.919	6400	6200	3.806	3.792
6	8200	8000	3.914	3.903	5800	6300	3.763	3.799
7	7800	8000	3.892	3.903	5500	6100	3.740	3.785
8	8500	8900	3.929	3.949	5300	5900	3.724	3.771
9	8000	7900	3.903	3.898	6100	6400	3.785	3.806
10	8100	8700	3.908	3.940	6000	5800	3.778	3.763
11	8600	8400	3.934	3.924	6400	5800	3.806	3.763
12	7900	8400	3.898	3.924	6200	5700	3.792	3.756
13	8600	8200	3.934	3.914	6200	5700	3.792	3.756
14	8400	8600	3.924	3.934	5500	6200	3.740	3.792
15	8700	8300	3.940	3.919	6200	6100	3.792	3.785

3.2 稳定性测试

每周随机抽取 3 种温度条件(4 °C、25 °C、37 °C)保存的主导菌、混合菌样品各 2 份进行测试, 即每周测试 12 份样品, 共测试 12 w。

菌落总数测试结果及 log₁₀ 对数变换结果分别见表 3、表 4:

同期测试同温度保存样菌落总数 log₁₀ 对数变换

结果的平均值如表 5 所示:

按照 CNAS-GL03: 2006 《能力验证样品均匀性和稳定性评价指南》要求, 5.3 条 $|\bar{x} - \bar{y}| \leq 0.3\sigma$ 准则, 其中 \bar{x} 为均匀性检验的总平均值, \bar{y} 为稳定性检验中抽出样品的测试平均值。主导菌样品、混合菌样品在三种温度下与相应总平均值的相对偏差如表 6 所示:

表 2 菌落总数均匀性方差分析结果
Table 2 Variance homogeneity results of bacterial count

项目	差异源	离均差平方和 SS	自由度 f	均方 MS	F 值	P-value	临界值 F crit
主导菌样品	样品间	0.00492	14	0.000351	1.75	0.148189	2.42
	样品内	0.00302	15	0.000201			
混合菌样品	样品间	0.006416	14	0.000458	0.93	0.552435	2.42
	样品内	0.007401	15	0.000493			

表 3 菌落总数周期测试结果
Table 3 Periodic testing results of bacterial count

测试 周期	主导菌样品(cfu/mL)						混合菌样品(cfu/mL)					
	4 °C		25 °C		37 °C		4 °C		25 °C		37 °C	
	样 1	样 2	样 3	样 4	样 5	样 6	样 7	样 8	样 9	样 10	样 11	样 12
1	8500	8400	8500	8100	7900	7600	5500	5900	5600	5800	5100	5700
2	8600	8100	7900	7800	7800	8100	5100	5800	5600	5700	5500	5400
3	9100	8400	7400	7600	7100	6800	5200	4800	5400	5000	5400	5200
4	8200	8000	7300	6800	7300	7200	6200	5700	4700	5400	5900	4800
5	7600	7200	6200	6800	7100	6400	5400	6100	5000	4900	4700	4200
6	7200	6400	5800	5900	5100	6200	5500	5000	4200	5300	3800	4500
7	7000	7200	6500	7000	6000	5200	5100	4500	4700	4800	4400	4000
8	7500	7200	6400	6500	6600	6300	5200	5700	4200	4000	3500	4600
9	7400	6500	6400	6000	6100	5900	4300	5000	4100	4700	4300	4100
10	5400	6400	5200	6400	6000	5500	5200	5600	4200	4300	3200	4400
11	7000	6300	6600	6100	6200	5400	4600	5600	4500	4700	4100	4500
12	6600	7100	5400	6000	5400	5000	4500	5100	4300	4200	3600	4200

表4 菌落总数周期测试对数变换结果
Table 4 Logarithmic results of periodic test for bacterial count

测试周期	主导菌样品						混合菌样品					
	4 °C		25 °C		37 °C		4 °C		25 °C		37 °C	
	样1	样2	样3	样4	样5	样6	样7	样8	样9	样10	样11	样12
1	3.929	3.924	3.929	3.908	3.898	3.881	3.740	3.771	3.748	3.763	3.708	3.756
2	3.934	3.908	3.898	3.892	3.892	3.908	3.708	3.763	3.748	3.756	3.740	3.732
3	3.959	3.924	3.869	3.881	3.851	3.833	3.716	3.681	3.732	3.699	3.732	3.716
4	3.914	3.903	3.863	3.833	3.863	3.857	3.792	3.756	3.672	3.732	3.771	3.681
5	3.881	3.857	3.792	3.833	3.851	3.806	3.732	3.785	3.699	3.690	3.672	3.623
6	3.857	3.806	3.763	3.771	3.708	3.792	3.740	3.699	3.623	3.724	3.580	3.653
7	3.845	3.857	3.813	3.845	3.778	3.716	3.708	3.653	3.672	3.681	3.643	3.602
8	3.875	3.857	3.806	3.813	3.820	3.799	3.716	3.756	3.623	3.602	3.544	3.663
9	3.869	3.813	3.806	3.778	3.785	3.771	3.633	3.699	3.613	3.672	3.633	3.613
10	3.732	3.806	3.716	3.806	3.778	3.740	3.716	3.748	3.623	3.633	3.505	3.643
11	3.845	3.799	3.820	3.785	3.792	3.732	3.663	3.748	3.653	3.672	3.613	3.653
12	3.820	3.851	3.732	3.778	3.732	3.699	3.653	3.708	3.633	3.623	3.556	3.623

表5 菌落总数周期测试对数变换结果平均值
Table 5 Logarithmic average results of periodic test for bacterial count

测试周期	主导菌样品			混合菌样品		
	4 °C	25 °C	37 °C	4 °C	25 °C	37 °C
	1	3.927	3.919	3.889	3.756	3.756
2	3.921	3.895	3.900	3.735	3.752	3.736
3	3.942	3.875	3.842	3.699	3.716	3.724
4	3.908	3.848	3.860	3.774	3.702	3.726
5	3.869	3.812	3.829	3.759	3.695	3.648
6	3.832	3.767	3.750	3.720	3.674	3.616
7	3.851	3.829	3.747	3.680	3.677	3.623
8	3.866	3.810	3.809	3.736	3.613	3.603
9	3.841	3.792	3.778	3.666	3.642	3.623
10	3.769	3.761	3.759	3.732	3.628	3.574
11	3.822	3.802	3.762	3.705	3.663	3.633
12	3.835	3.755	3.716	3.680	3.628	3.590

表6 菌落总数平均值偏差比较
Table 6 Deviation of average results for bacterial count

样品类别	主导菌样品			混合菌样品		
均匀性检验 平均值	3.922			3.775		
温度调节 平均值	4 °C	25 °C	37 °C	4 °C	25 °C	37 °C
相对偏差	1.45%	2.56%	3.03%	1.46%	2.56%	3.25%

4 讨论

随着全球食品中致病菌污染不断引起大范围的疾病暴发, 如大肠埃希氏菌 O104 污染豆芽事件等, 已经严重威胁着人类的身体健康。全球的食品安全已经面临着前所未有的巨大挑战。食源性疾病的常规监测、暴发调查以及追溯污染源等工作都基于实验室提供的科学检测数据。因此, 实验室的检验能力是保证食品安全工作顺利进行的重要部分^[9]。微生物能力验证项目可有效评估参与实验室进行相关微生物检验的技术能力^[10,11]。真空冷冻干燥法适用范围广; 保藏期长、存活率高且在保藏期可避免其它杂菌污染; 便于携带运输。有些微生

物在真空冷冻干燥后成活率较低, 微生物PT 样品的质量因冻干条件的影响存在较大不确定性^[12-15]。

本研究中菌落总数能力验证样品的制备是以真空冷冻干燥技术为基础, 对主导菌和背景菌的稀释度、混合比例、冻干条件、均匀性和稳定性进行测试评估。由于微生物样品测试结果变化的特殊性, 主要比较菌落总数的 \log_{10} 对数变换结果。根据单因素方差分析结果可以看出, 抽样测试的主导菌、混合菌样品菌落总数结果的 F 值均小于自由度(14,15)及给定显著性水平 α (通常 $\alpha=0.05$)的临界值 F_{α} , 表明样品内和样品间无显著性差异, 所制备的样品在菌落总数方面满足均匀性的要求。

由各温度条件下主导菌、混合菌样品菌落总数周期测试 \log_{10} 对数变换结果平均值(图 1、图 2)可以看出, 两种样品各菌落总数测试结果之间无明显大幅度的上升或下降, 测试结果趋于稳定; 由表 6 可以看出, 在测定期间内, 所制备微生物能力验证样品菌落总数无显著差异, 具有良好的稳定性。

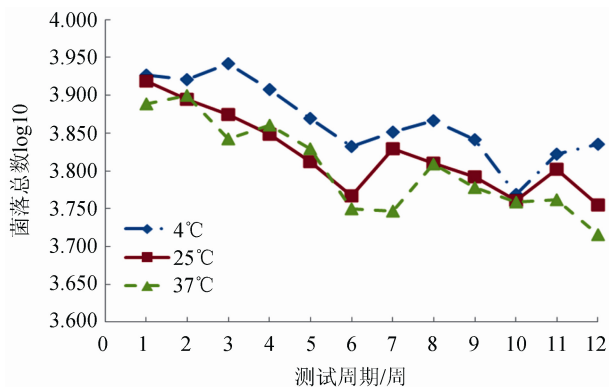


图 1 主导菌样品 3 种温度条件保存的菌落总数稳定性试验结果

Fig. 1 Stability results of bacterial count for positive samples in different temperatures

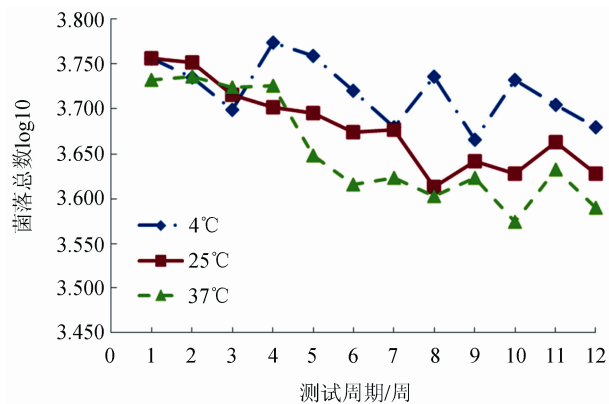


图 2 混合菌样品 3 种温度条件保存的菌落总数稳定性试验结果

Fig. 2 Stability results of bacterial count for mixed samples in different temperatures

从抽检样品菌落总数的测试方法和结果可以看到, 利用真空冷冻干燥技术制备的微生物能力验证样品具有良好的均匀性、稳定性, 采用此法进行菌落总数能力验证样品的制备是可行的。同时所制备的样品在 4 °C 冷藏条件下具有较好稳定性, 在 25 °C 和 37 °C 条件下, 稳定性稍差。因此, 制成的样品如需保存和运输, 建议在 4 °C 下进行。

参考文献

- [1] 炊慧霞, 张丁, 裴晓燕, 等. 食品卫生微生物质控定量检测样品的制备及结果评价分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2012, 22(11): 2621-2624.
Chui HX, Zhang D, Pei XY, et al. Preparation of food hygiene and microbiological quality control samples and analysis of the test results [J]. Chin J Health Lab Technol, 2012, 22(11): 2621-2624.
- [2] 卢行安, 郑江, 曹志军, 等. 微生物能力验证样品均匀性试验的研究[J]. 中国微生态学杂志, 2003, 15(1): 33-34.
Lu XA, Zheng J, Cao ZJ, et al. The study of homogeneity of microbiological proficiency [J]. Chin J Microecol, 2003, 15(1): 33-34.
- [3] 曹文博, 倪长鹏, 董伟峰, 等. 沙门氏菌能力验证样品制备[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 1(6): 134-139.
Cao WB, Ni CP, Dong WF, et al. Preparation of *Salmonella* samples for proficiency testing [J]. J Food Safety Qual, 2015, 1(6): 134-139.
- [4] 董充慧, 苏杭, 张特立, 等. 真空冷冻干燥技术在生物制药方面的应用[J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26(7): 76-78.
Dong CH, Su H, Zhang TL, et al. Biological drugs manufacture on vacuum freezing and drying technology [J]. J Shenyang Pharm Univ, 2009, 26(7): 76-78.
- [5] 周向阳, 王淑娜, 鄢建辉. 微生物能力验证样品制备工艺及水产品企业水平测试结果评价[J]. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 2011, 30(4): 322-325.
Zhou XY, Wang SN, Yan JH. Preparation technology of microbiological proficiency testing samples and evaluation of the level test results of aquatic enterprises [J]. J Zhejiang Ocean Univ (Nat Sci), 2011, 30(4): 322-325.
- [6] 王承忠. 实验室间比对的能力验证及稳健统计技术 第四讲能力验证试样的均匀性和稳定性检验[J]. 理化检验-物理分册, 2004, 40(10): 534.
Wang CZ. The proficiency testing by inter laboratory comparisons and robust statistical techniques—lecture No.4 The homogeneity testing and stability testing for proficiency testing [J].

- PTCA (Part A: Physical Testing), 2004, 40(10): 534.
- [7] CNAS-GL03: 2006 能力验证样品均匀性和稳定性评价指南 [Z].
CNAS-GL03: 2006 Guidance on evaluating the homogeneity and stability of samples used for proficiency testing [Z].
- [8] 芦云, 薛晓晶, 王芳, 等. 多靶标微生物能力验证样品的均匀性研究[J]. 检验检疫学刊, 2013,4(23): 46-49
Lu Y, Xue XJ, Wang F, *et al.* Homogeneity of proficiency testing samples of multi-target microbiology [J]. J Inspect Quarant, 2013, 4(23): 46-49
- [9] 赵薇, 刘桂华, 张炜煜. 食品中菌落总数与金黄色葡萄球菌定量检测能力验证结果与分析[J]. 中国卫生工程学, 2014,13(4): 320-322.
Zhao W, Liu GH, Zhang WY. Proficiency testing results and analysis of bacterial count and quantitative detection of *Staphylococcus aureus* in food [J]. Chin J Public Health Eng, 2014, 13(4): 320-322.
- [10] 马聪, 谭海玲, 刘礼平, 等. 副溶血性弧菌鉴定能力验证样品的制备[J]. 中国食品卫生杂志, 2011, 23(6): 515-519.
Ma C, Tan HL, Liu LP, *et al.* Preparation of *Vibrio parahaemolyticus* lyophilization materials for proficient test on bacteria identification [J]. Chin J Food Hyg, 2011, 23(6): 515-519.
- [11] GB 15483.1-1999 利用实验室间比对的能力验证第一部分: 能力验证计划的建立和运作[S].
GB 15483.1-1999 The Proficiency testing by interlaboratory comparisons part1: the establishment and operation of proficiency testing [S].
- [12] Howerton D, Krolak JM, Manasterski A, *et al.* Proficiency testing performance in US laboratories: results reported to the centers for medicare and medicaid services, 1994 through 2006 [J]. Arch Pathol Lab Med, 2010, 134(5): 751-758.
- [13] 常金梅, 蔡芷荷, 吴清平, 等. 菌种冷冻干燥保藏的影响因素[J]. 微生物学通报, 2008, 35(6): 959-962.
Chang JM, Cai ZH, Wu QP, *et al.* Influencing factors to freeze-drying preservation of culture [J]. Inst Microbiol, 2008, 35(6): 959-962.
- [14] 苏丽春, 何天文, 陈佐威, 等. 浅谈微生物菌种真空冷冻干燥的影响因素及其保藏形式[J]. 中国卫生检验杂志, 2009, 19(9): 2193-2195.
Su LC, He TW, Chen ZW, *et al.* Influencing factors and preservation forms to vacuum freeze-drying reservation of culture [J]. Chin J Health Lab Technol, 2009, 19(9): 2193-2195.
- [15] 李华, 骆艳娥, 刘延琳. 真空冷冻干燥微生物的研究进展[J]. 微生物学通报, 2002, 29(3): 78-82.
Li H, Luo YE, Liu YL. Study on vacuum freeze-drying preservation of microorganisms [J]. Microbiology, 2002, 29(3): 78-82.

(责任编辑: 金延秋)

作者简介



刘芳, 工程师, 主要研究方向为食品微生物检验。
E-mail: 4275777@qq.com