

婴幼儿配方乳粉菌落总数检测与细菌 污染种属分析

安琳, 余文, 徐颖华, 李景云, 崔生辉*

(中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

摘要: **目的** 考察婴幼儿配方乳粉的微生物污染情况, 分析婴幼儿配方乳粉的菌相构成。**方法** 采用国标方法测定 30 批次 1 段、2 段、3 段婴幼儿配方乳粉菌落总数, 使用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱对检出的优势菌落进行鉴定。**结果** 30 批次婴幼儿配方乳粉的菌落总数均符合国家限量要求, 其中 1 段乳粉菌落总数显著性低于 2 段和 3 段乳粉($P<0.05$)。婴幼儿配方乳粉中检出的细菌主要为芽孢杆菌属、类芽孢杆菌属、球形芽孢杆菌属、肠球菌属、葡萄球菌属和链球菌属, 其中芽孢杆菌属检出率最高。此外, 9 批次样品中检出蜡样芽孢杆菌。**结论** 我国婴幼儿配方乳粉质量仍存在一定的风险, 监管部门应加强日常监管工作。

关键词: 婴幼儿配方乳粉; 菌落总数; 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱; 芽孢杆菌

Determination of total bacterial colony and analysis of bacterial contamination species in infant formula milk powder

AN Lin, YU Wen, XU Ying-Hua, LI Jing-Yun, CUI Sheng-Hui*

(National Institute for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the microbial contamination of infant formula milk powder and analyze the bacterial composition of infant formula milk powder. **Methods** The total number of bacterial colonies of 30 batches of infant formula milk powder in 1, 2 and 3 stages was determined by national standard method. The dominant bacterial colonies detected were identified by stroma-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. **Results** The total number of bacterial colonies in 30 batches of infant formula milk powder met the national limit requirements, and the total number of bacterial colonies in the first stage of milk powder was significantly lower than that of the second and third stages of milk powder ($P<0.05$). The bacteria detected in infant formula milk powder were mainly *Bacillus*, *Paenibacillus* Ash, *Bacillus sphaericus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus* and *Streptococcus*, among which *Bacillus* had the highest detection rate, and *Bacillus cereus* was detected in 9 batches of samples. **Conclusion** There are still some risks in the quality of infant formula milk powder in China, so the supervision department should strengthen the daily supervision.

KEY WORDS: infant formula milk powder; total number of colonies; matrix assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry; *Bacillus*

基金项目: 科技部“食品安全关键技术研发”重点专项项目(2018YFC1603900)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Program of the Ministry of Science and Technology (2018YFC1603900)

*通讯作者: 崔生辉, 研究员, 主要研究方向为食品微生物。E-mail: cui shenghui@aliyun.com

*Corresponding author: CUI Sheng-Hui, Professor, National Institute for Food and Drug Control, No.2, Tiantan West Lane, Dongcheng District, Beijing 100050, China. E-mail: cui shenghui@aliyun.com

1 引言

婴幼儿配方乳粉是指以乳类及乳蛋白制品为主要原料,加入适量的维生素、矿物质和/或其他成分,仅用物理方法生产加工成粉状的产品,其能量和营养成分能满足 0~6 月龄婴儿、6~12 月龄较大婴儿和 12~36 月龄幼儿的部分营养需要^[1-3]。市售婴幼儿配方乳粉分为:婴儿配方乳粉(0~6 月龄,1 段)、较大婴儿配方乳粉(6~12 月龄,2 段)和幼儿配方乳粉(12~36 月龄,3 段)。婴幼儿配方乳粉具有丰富的营养组成,一旦在生产过程中受到有害微生物污染,将可能直接威胁婴幼儿的生命健康^[4,5]。为有效控制婴幼儿配方乳粉中微生物污染水平,国家标准 GB10765-2010《食品安全国家标准:婴儿配方食品》^[2]和 GB10767-2010《食品安全国家标准:较大婴儿和幼儿配方食品》^[3]中对微生物指标提出了明确限量要求,其中菌落总数指标是用来判定乳粉被微生物污染的程度及卫生质量,尤其某些对环境因素(如干燥、加热等)抵抗力强的微生物(如芽孢类)可在乳粉中长期存活,菌落总数的多少在一定程度上标志着乳粉在生产、运输、储存等环节卫生质量的优劣^[6]。

近年来,随着相关监管法规的逐步完善和监管力度的加强,我国婴幼儿乳粉安全质量稳步提升,2018 年抽检合格率达到 99.93%^[7]。但在日常菌落总数检验工作中仍时有微生物检出。为分析污染乳粉的常见微生物种属,本研究对 30 批次婴幼儿配方乳粉菌落总数测定过程中平板上生长的菌落进行了纯化并采用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)进行鉴定,分析探讨我国婴幼儿配方乳粉中微生物种属构成,为监管部门日常监管工作提供参考。

2 材料与方法

2.1 婴幼儿乳粉样品信息

本研究采集 16 个品牌 30 个批次婴幼儿配方乳粉样品,其中包括婴儿配方乳粉(0~6 月龄,1 段)、较大婴儿配方乳粉(6~12 月龄,2 段)、幼儿配方乳粉(12~36 月龄,3 段)各 10 批次,每批次采集 5 个样品,共计 150 个样品。

2.2 试剂与仪器

0.85%生理盐水(北京三药科技开发公司);平板计数琼脂培养基(plate count agar, PCA)(北京路桥技术股份有限公司)、胰蛋白胨大豆琼脂培养基(Tryptic Soy Agar, TSA)(美国 BD 公司); α -氰基-4-羟基肉桂酸(α -cyano-4-hydroxy-cinnamic acid, HCCA, 德国 Bruker 公司);标准溶剂(50%乙腈、47.5%水和 2.5%三氟乙酸)、甲酸(优级纯,美国 Sigma 公司)

STOMACHER400 拍打式均质器(德国 Seward 公司);

PR205050GCN 生化培养箱(美国 Thermo 公司); IUL FLASH GO 自动菌落成像分析系统(西班牙 IUL 公司); Bruker Autoflex II 型 MALDI-TOF MS(德国 Bruker 公司)。

2.3 实验方法

2.3.1 菌落总数测定

菌落总数测定依据 GB 4789.2-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》进行^[8]。具体步骤如下:无菌操作称取 25 g 乳粉样品于均质袋中,加入 225 mL 生理盐水,用拍打式均质器 250 r/min 均质 2 分钟后,用生理盐水进行 1:10(V:V)倍稀释。取 10^{-1} 和 10^{-2} 稀释度样品各 1 mL,分别用(46±1) °C 的灭菌 PCA 琼脂 15~20 mL 倾注平皿,转动混匀,每个稀释度倾注两个平皿。待琼脂凝固后倒置平板,经(36±1) °C 培养(48±2) h 后,用自动菌落成像分析系统计数各平皿上的菌落总数,每批次乳粉样品检测 5 份。

2.3.2 菌株分离纯化

培养结束后,如有菌落生长,从每批次乳粉的 PCA 琼脂平板上挑取形态有差异的菌落,平均每个板挑取 1~2 个菌落,最多挑取 20 个菌落。当该批次乳粉 PCA 平板上菌落数不足 20 个,则挑取平板上的全部菌落。将挑取的菌落分别划线接种于 TSA 琼脂平板,(36±1) °C 倒置培养(24±2) h,取单个菌落进行 MALDI-TOF MS 鉴定。

2.3.3 分离菌株的 MALDI-TOF MS 鉴定操作

参照仪器手册,用 1 μ L 无菌接种环蘸取少量菌落直接涂抹于飞行质谱靶板样本孔位上,取 1 μ L 70%甲酸涂敷于样本孔位上,彻底干燥后再滴加 1 μ L HCCA 基质液,室温干燥后上机检测。采用 Flexcontrol 软件手动获取样本质谱图,具体参数如下:激光频率 60 Hz、离子源加速电压 19.97 kV、120 ns 离子延时引出,设定的质核比(m/z)为 2000~20000 Da 区域,波峰的信号强度大于 600。

2.3.4 鉴定分值评估

应用 MALDI Biotyper 软件将样品的质谱图与 Bruker 菌种鉴定数据库进行比对,鉴定分值 ≥ 2.000 为鉴定到种水平可信; $1.700 \leq$ 分值 < 2.000 为鉴定到属水平可信; 分值 < 1.700 , 认为其无法提供可信鉴定结果。

2.3.5 统计学处理

将 1、2 和 3 段婴幼儿配方乳粉中菌落总数的计数结果取以 10 为底的对数后,采用 SPSS Statistics 19.0 软件的单因素方差分析模块进行差异性统计。

2.3.6 16S rDNA 测序分析

用 1 μ L 无菌接种环蘸取 MALDI-TOF MS 鉴定无可靠结果的菌株(MALDI-TOF MS 分值 < 1.700),划线接种于 TSA 琼脂平板,(36±1) °C 倒置培养(24±2) h,送北京诺禾致源科技股份有限公司进行 16S rDNA 基因测序。基因组提取采用天根细菌 DNA 提取试剂盒,16S rDNA 序列扩增采用通用引物 27f(5'-A GAGTTTGATCTGGCTCAG-3')和

1492r(5'-GGTTAC CTTGTTACGACTT-3')^[8]。将所测的序列提交到 GenBank 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi>)进行 BLAST 检索, 确定细菌属种信息^[9]。

3 结果与分析

3.1 婴幼儿配方乳粉中菌落总数测定结果

本研究采集的 30 批次婴幼儿配方乳粉样品的菌落总数结果均未超出我国婴幼儿配方食品的相关限量标准(表 1)。分别从 10 批次 42 个 1 段乳粉样品、10 批次 46 个 2 段乳粉样品、10 批次 45 个 3 段乳粉样品中培养出微生物。其中 92% 的 1 段乳粉样品中菌落总数值低于 100 CFU/g, 而 58% 和 56% 的 2 段和 3 段乳粉样品中的菌落总数值低于 100 CFU/g, 显著高于 1 段乳粉的菌落总数值($P < 0.05$)。此外, 有一个 2 段乳粉样品的菌落总数为 1155 CFU/g, 同批次的

另外 4 个样品菌落总数值介于 740~840 CFU/g 之间。

3.2 婴幼儿配方乳粉中分离微生物鉴定结果

从 30 批次 131 个婴幼儿配方乳粉样品的菌落总数检测平板上, 共计纯化鉴定菌落 469 个, 如表 2。MALDI-TOF MS 鉴定结果显示, 菌落主要为芽孢杆菌属微生物(94.9%, 445/469), 另外还有少量的类芽孢杆菌属($n=3$)、球形芽孢杆菌属($n=3$)、肠球菌属($n=11$)、葡萄球菌属($n=7$)和链球菌属($n=1$)微生物。1 段、2 段和 3 段婴幼儿配方乳粉中排名前两位的芽孢杆菌属微生物为地衣芽孢杆菌(75.5%, 336/445)和枯草芽孢杆菌(11.9%, 53/445)。从分属 1 段、2 段和 3 段婴幼儿配方乳粉 9 批次样品中检出蜡样芽孢杆菌, 从 1 批 2 段较大婴幼儿配方乳粉中检出金黄色葡萄球菌。此外有 7 株乳粉分离菌株经 MALDI-TOF MS 鉴定无可靠结果(分值 <1.700), 辅助 16S rDNA 测序鉴定为芽孢杆菌属, 包括地衣芽孢杆菌 5 株、枯草芽孢杆菌 1 株、烟酸芽孢杆菌 1 株。

表 1 婴幼儿乳粉菌落总数分布情况
Table 1 Distribution of total bacterial colonies in infant milk powder

乳粉类别		菌落总数/(CFU/g),				检出率/%		
		<10	10~100	101~1000	>1000	25% 位数	50% 位数	75% 位数
1 段婴幼儿配方乳粉($n=50$)	样品数量	11,(22%)	35,(70%)	4,(8%)	0,(0%)	23	45	70
	样品批次	3	6	1	0			
2 段较大婴幼儿配方乳粉($n=50$)	样品数量	9,(18%)	20,(40%)	20,(40%)	1,(2%)	38	88	185
	样品批次	1	5	3	1			
3 段幼儿配方乳粉($n=50$)	样品数量	10,(20%)	18,(36%)	22,(44%)	0,(0%)	28	100	208
	样品批次	2	4	4	0			

注: *将菌落总数结果取以 10 为底的对数后进行单因素方差分析, 差异有显著性($F=3.894$, $P=0.022$)。

表 2 婴幼儿配方乳粉分离微生物 MALDI-TOF MS 种属鉴定结果
Table 2 MALDI-TOF MS species identification results of microorganisms isolated from infant formula milk powder

乳粉分类	微生物属名	微生物种名	样品批次	鉴定菌落数量	分值范围
1 段	芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i> spp.	地衣芽孢杆菌 <i>Bacillus licheniformis</i>	10	109	1.845~2.473
		枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	2	16	1.987~2.653
		蜡样芽孢杆菌 <i>Bacillus cereus</i>	3	3	2.099~2.254
		弯曲芽孢杆菌 <i>Bacillus flexus</i>	2	2	2.064~2.067
		Kochii 芽孢杆菌 <i>Bacillus kochii</i>	1	2	2.268~2.321
		高地芽孢杆菌 <i>Bacillus altitudinis</i>	1	1	2.356
		蔬菜芽孢杆菌 <i>Bacillus oleronius</i>	1	1	2.342
		环状芽孢杆菌 <i>Bacillus circulans</i>	1	1	2.097
		蕈状芽孢杆菌 <i>Bacillus mycoides</i>	1	1	2.112
		球形芽孢杆菌属 <i>Lysinibacillus</i> spp.	长赖氨酸芽孢杆菌 <i>Lysinibacillus macroides</i>	3	3

续表 2

乳粉 分类	微生物属名	微生物种名	样品 批次	鉴定菌 落数量	分值 范围	
2 段	类芽孢杆菌属 <i>Paenibacillus</i> spp.	浸麻类芽孢杆菌 <i>Paenibacillus macerans</i>	2	2	2.066~2.138	
	肠球菌属 <i>Enterococcus</i> spp.	屎肠球菌 <i>Enterococcus faecalis</i>	2	5	2.056~2.530	
	葡萄球菌属 <i>Staphylococcus</i> spp.	人葡萄球菌 <i>Staphylococcus hominis</i>	1	1	2.251	
	链球菌属 <i>Streptococcus</i> spp.	口腔链球菌 <i>Streptococcus oralis</i>	1	1	2.24	
		无可靠鉴定结果	3	3	1.328~1.522	
		*地衣芽孢杆菌 <i>Bacillus licheniformis</i>	3	3	99%~100%	
		地衣芽孢杆菌 <i>Bacillus licheniformis</i>	9	113	1.88~2.601	
		枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	4	23	1.985~2.498	
		索诺拉沙漠芽孢杆菌 <i>Bacillus sonorensis</i>	3	7	1.999~2.365	
		蜡样芽孢杆菌 <i>Bacillus cereus</i>	2	5	1.934~2.158	
		短小芽孢杆菌 <i>Brevibacillus brevis</i>	1	2	2.225~2.241	
		巨大芽孢杆菌 <i>Bacillus megaterium</i>	1	2	2.063~2.246	
		芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i> spp.	苏云金芽孢杆菌 <i>Bacillus thuringiensis</i>	1	1	2.096
			暹罗芽孢杆菌 <i>Bacillus siamensis</i>	1	1	2.371
			中孢短芽孢杆菌 <i>Brevibacillus centrosporus</i>	1	1	2.281
			假蕈状芽胞 <i>Bacillus pseudomycooides</i>	1	1	2.236
			巨兽芽孢杆菌 <i>Bacillus megaterium</i>	1	1	1.926
			蔬菜芽孢杆菌 <i>Bacillus oleronius</i>	1	1	2.025
		肠球菌属 <i>Enterococcus</i> spp.	铅黄肠球菌 <i>Enterococcus casseliflavus</i>	1	1	2.209
		葡萄球菌属 <i>Staphylococcus</i> spp.	腐生葡萄球菌 <i>Staphylococcus saparophyticus</i>	1	2	2.151~2.217
			金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	1	1	2.262
			无可靠鉴定结果	2	2	1.469~1.492
			*地衣芽孢杆菌 <i>Bacillus licheniformis</i>	2	2	98%~100%
			地衣芽孢杆菌 <i>Bacillus licheniformis</i>	10	114	1.886~2.429
			枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	2	14	1.967~2.278
			蜡样芽孢杆菌 <i>Bacillus cereus</i>	4	5	2.084~2.304
	3 段	芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i> spp.	短小芽孢杆菌 <i>Brevibacillus brevis</i>	3	5	2.016~2.375
		蔬菜芽孢杆菌 <i>Bacillus oleronius</i>	2	3	1.973~2.321	
		索诺拉沙漠芽孢杆菌 <i>Bacillus sonorensis</i>	1	6	2.083~2.262	
		高地芽孢杆菌 <i>Bacillus altitudinis</i>	1	1	1.969	

续表 2

乳粉分类	微生物属名	微生物种名	样品批次	鉴定菌落数量	分值范围
		弯曲芽孢杆菌 <i>Bacillus flexus</i>	1	1	1.989
		凝结芽孢杆菌 <i>Bacillus coagulans</i>	1	1	2.065
		沙氏芽孢杆菌 <i>Bacillus shackletonii</i>	1	1	2.114
	类芽孢杆菌属 <i>Paenibacillus</i> spp.	库氏类芽孢杆菌 <i>Paenibacillus cookie</i>	1	1	2.03
	肠球菌属 <i>Enterococcus</i> spp.	屎肠球菌 <i>Enterococcus faecalis</i>	2	5	1.999~2.526
	葡萄球菌属 <i>Staphylococcus</i> spp.	人葡萄球菌 <i>Staphylococcus hominis</i>	1	1	2.153
		头状葡萄球菌 <i>Staphylococcus capitis</i>	1	2	2.387~2.493
		无可靠鉴定结果	2	2	1.327~1.469
		*枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	1	1	99%
		*烟酸芽孢杆菌 <i>Nicotinic acid bacillus</i>	1	1	96%

注: *MALDI-TOF MS 无可靠鉴定结果菌株的 16S rDNA 鉴定结果及其与同源参考序列相似性(%)。

4 结论与讨论

乳粉中的微生物污染来源主要有 2 类: (1)生产原料, 包括原料乳、辅料和添加剂等; (2)生产加工过程和环境^[4]。现行婴幼儿配方乳粉国家标准规定: 随机抽取的 5 个样品中, 规定菌落总数超过 1000 CFU/g 的样品数不能超过 2 个, 任何 1 个样品的菌落总数不能超过 10000 CFU/g, 否则判为不合格($n=5, c=2, m=1000 \text{ CFU/g}, M=10000 \text{ CFU/g}$)^[8]。这就要求生产厂家对原料、加工过程及生产环境的微生物污染进行有效控制^[10]。虽然本实验检测的所有婴幼儿配方乳粉微生物污染能够被控制在 GB10765 规定的限量范围内, 但仍检测到一个 2 段乳粉样品的菌落总数超过 1000 CFU/g, 指示该产品的原料、生产过程或环境存在一定问题。本研究发现, 1 段婴幼儿配方乳粉菌落总数显著低于 2 段较大婴幼儿配方乳粉和 3 段幼儿配方乳粉($P<0.05$), 这可能是由于婴配企业生产过程中对 2、3 段乳粉微生物污染控制要求低于 1 段乳粉所致。

MALDI-TOF MS 已被广泛用于微生物种属鉴定, 其原理是对 2000~20000Da 区域的细菌蛋白进行检测, 形成特征蛋白质组指纹图谱, 与数据库中标准图谱进行比对, 从而对不同细菌属、种的区分和鉴定^[11]。该方法与传统鉴定方法相比具有准确、特异、灵敏、快速、操作简便、可实现高通量以及经济等优点。Carbonnelle 等^[12]对比了 VITEK 和 MALDI-TOF MS 方法对 296 株常见食源性致病菌的鉴定结果, 显示 MALDI-TOF MS 系统鉴定到属和种

的水平分别是 94.9%、83.8%, 高于 VITEK 系统的鉴定水平(83.4%、65.9%)。Mellmann 等^[13]采用 3 种不同型号 MALDI-TOF MS 及 16S rRNA 基因测序方法对 80 株临床非发酵菌株进行种属鉴定, 发现 3 种型号 MALDI-TOF MS 的检测结果显示与 16S rRNA 基因测序结果一致, 显示 MALDI-TOF MS 对微生物种属鉴定结果具有较好的重现性及可靠性。虽然 MALDI-TOF MS 可将大多数菌株鉴定到属和种水平, 然而由于微生物种和种以下蛋白标志物差异很小、数据库不完善、参数设定、试验操作等因素影响, MALDI-TOF MS 的鉴别能力也存在一定的局限性。本实验从乳粉中分离的菌株经 MALDI-TOF MS 鉴定后有 7 株无可靠结果, 因此辅助 16S rDNA 测序方法进行进一步鉴定。

本研究对菌落总数平板检出的微生物进行了 MALDI-TOF MS 鉴定, 显示婴幼儿配方乳粉中芽孢杆菌属检出率最高。由于芽孢菌对热、干燥等的抵抗力强, 从生乳采集、加工到包装, 芽孢菌随时可以由于控制不当污染乳粉, 并在加工过程中存活下来^[14]。本研究从 9 批次乳粉样品中检出蜡样芽孢杆菌。蜡样芽孢杆菌可在适宜温度下繁殖并产生肠毒素、呕吐毒素和腹泻毒素, 对婴儿健康造成威胁^[15]。乳粉中大量芽孢菌的检出提示, 乳粉中也可能存在高致病性的肉毒梭菌。12 个月以下的婴幼儿摄食含有肉毒梭菌的乳粉后, 该菌可在婴幼儿肠道中产生致死剂量的肉毒毒素^[16]。虽然 2013 年新西兰最大乳品公司恒天然集团曝出浓缩乳清蛋白检出肉毒梭菌为乌龙事件^[17], 但从本次研究检出的大量芽孢菌提示, 肉毒梭菌污染婴幼儿

培养乳粉并非没有可能。虽然截止目前,我国食品安全国家标准未对乳粉中肉毒梭菌污染做出限量规定,我国应积极开展乳粉中肉毒梭菌污染的风险评估工作。

本研究通过检测婴幼儿配方乳粉的菌落总数和细菌种属分布,提示我国婴幼儿配方乳粉质量仍存在一定的风险,数据对婴幼儿配方乳粉的质量监督与监测、企业产品质量提升具有一定参考价值,并为限量标准的制修订提供了参考数据。

参考文献

- [1] 王颂萍,任发政,罗洁,等. 婴幼儿配方乳粉研究进展[J]. 农业机械学报, 2015, 46(4): 200–210.
Wang SP, Ren FZ, Luo J, *et al.* Progress in infant formula milk powder [J]. Transact Chin Soc Agric Mach, 2015, 46(4): 200–210.
- [2] GB 10765-2010 食品安全国家标准 婴儿配方食品[S].
GB 10765-2010 National food safety standard-Infant formula [S].
- [3] GB 10767-2010 食品安全国家标准 较大婴儿和幼儿配方食品[S].
GB 10767-2010 National food safety standard-Older infants and young children formula [S].
- [4] 丁晓贝,谢志梅,裴晓方. 乳及乳制品中微生物污染及其控制[J]. 中国乳业, 2009, (6): 52–53.
Ding XB, Xie ZM, Pei XF. Microbiological contamination in milk and dairy products and its control [J]. China's Dairy Ind, 2009, (6): 52–53.
- [5] 任国谱,卢雁,刘莉. 婴幼儿配方乳粉的微生物控制体系研究[J]. 中国乳品工业, 2016, (1): 54–56.
Ren GP, Lu Y, Liu L. Study of the control system of microbe in infant formula [J]. China Dairy Ind, 2016, (1): 54–56.
- [6] 蔡彦希. 婴幼儿配方乳粉生产过程中微生物控制的研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2018.
Cai YX. Study of the control of microbe in infant formula in production [J]. Changsha: Central South University Of Forestry & Technology, 2018.
- [7] 田洪芸,任雪梅,王文特,等. 婴幼儿配方乳粉全产业链的质量安全风险及监管要求[J]. 中国食物与营养, 2020, 26(1): 24–27.
Tian HY, Ren XM, Wang WT, *et al.* Quality safety risks and regulatory requirements of infant formula milk powder industry chain [J]. Food Nutr China, 2020, 26(1): 24–27.
- [8] GB 4789.2-2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定[S].
GB 4789.2-2016 National food safety standard-Food microbiological examination-Aerobic plate count [S].
- [9] 韩瑞芳,董晓敏,刘天明. 应用 16S rDNA 全序列测序技术鉴定生鲜乳中的细菌种类[J]. 食品工业科技, 2015, (15): 152–156.
Han RF, Dong XM, Liu TM. Identification of bacterial species from raw milk by 16S rDNA sequencing [J]. Sci Technol Food Ind, 2015, (15):

152–156.

- [10] 杨光,赵平,郭莹莹,等. 婴幼儿配方乳粉中菌相的构成与分析[J]. 现代食品, 2018, 11(21): 146–152.
Yang G, Zhao P, Guo YY, *et al.* Composition and analysis of bacterial phase in infant formula milk powder [J]. Mod Food, 2018, 11(21): 146–152.
- [11] 袁璐,伍勇. 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱在临床病原微生物鉴定中的应用进展[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2013, 33(2): 148–151.
Yuan L, Wu Y. Application progress of matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry in identification of clinical pathogenic microorganisms [J]. Chin J Microbiol Immunol, 2013, 33(2): 148–151.
- [12] Carbonnelle E, Grohs P, Jacquier H, *et al.* Robustness of two MALDI-TOF mass spectrometry systems for bacterial identification [J]. J Microbiol Proced, 2012, 89(2): 133–136.
- [13] Mellmann A, Cloud J, Maier T, *et al.* Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-flight mass spectrometry in comparison to 16S rRNA gene sequencing for species identification of nonfermenting bacteria [J]. J Clin Microbiol, 2008, 46(6): 1946–1954.
- [14] Yuan DD, Liu GC, Ren DY, *et al.* A survey on occurrence of thermophilic bacilli in commercial milk powders in China [J]. Food Control, 2012, 25(2): 752–757.
- [15] Bottone EJ. *Bacillus cereus* volatile human pathogen [J]. Clin Microbiol Rev, 2010, 23(2): 382–398.
- [16] Johnson EA, Bradshaw. *Clostridium botulinum* and its neurotoxins: A metabolic and cellular perspective [J]. Toxicon, 2001, 39(11): 1703–1722.
- [17] Xin H. New Zealand gov't names infant formula brand in Fonterra botulism alert [Eb/OL]. [2013-08-04]. http://www.chinadaily.com.cn/world/2013-08/04/content_16869296.htm

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介

安琳, 主要研究方向为食品微生物。
E-mail: 2048779487@qq.com

崔生辉, 研究员, 主要研究方向为食品微生物。

E-mail: cuishenghui@aliyun.com