# 商品化复合型与自配 LG 培养基对保障生产线 无菌验证效果的对比分析

杨宁<sup>1,2</sup>,卢勉飞<sup>1</sup>,李艳嫦<sup>1</sup>,蔡芷荷<sup>1,2,3</sup>,吴清平<sup>2\*</sup>,余锦銮<sup>1</sup>

(1. 广东环凯微生物科技有限公司,广东广州 510663)(2. 广东省微生物研究所,广东广州 510070) (3. 广东环凯生物科技有限公司,广东肇庆 526238)

摘要: 比较 3 批商品化复合型 LG 培养基(简称: 复合型 LG)与由 3 个饮料生产厂自行采购原料配制的 LG 培养基(简称: 自配 LG)的感官指标、pH 及生物学指标,从而评价复合型 LG 与自配 LG 培养基的稳定性,以及对无菌冷灌装生产线验证效果的影响。结果表明: 在感官方面,3 批复合型 LG 一致,3 个自配 LG 培养基感官参差不齐,有的存在沉淀或杂质现象,不符合 LG 培养基的外观标准。在 pH 方面,3 批复合型 LG 培养基 pH 一致,均在标准要求范围(6.5±0.2)内,pH 使用前无需调试可直接使用,优于三个自配 LG 的培养基。在生长速度方面,复合型 LG 3 批效果相当,均优于 3 个自配,第 7 d 时,8 个测试菌在 3 批次复合型 LG 上生长均已达最大值,而自配 G 和自配 H 分别接种黑曲霉和洋葱假单胞菌的管未见生长。结论: 复合型 LG 培养基总体性能佳,批间稳定性很好,非常适合无菌冷灌装生产线的无菌验证。自配 LG 培养基批间稳定性差,检测灵敏度较低,存在低浓度微生物漏检的风险。

关键词: LG 培养基; 冷灌装生产线; 无菌验证

文章篇号: 1673-9078(2021)10-79-86

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.10.0018

# Comparative Analysis of the Performances of Commercial Composite and

# Self-made LG Media on Guaranteeing the Sterility of Production Lines

YANG Ning<sup>1,2</sup>, LU Mian-fei<sup>1</sup>, LI Yan-chang<sup>1</sup>, CAI Zhi-he<sup>1,2,3</sup>, WU Qing-ping<sup>2\*</sup>, YU Jin-luan<sup>1</sup>

(1.Guangdong Huankai microbial Sci & Tech. Co. Ltd., Guangzhou 510663, China) (2.Guangdong Institute of Microbiology, Guangzhou 510070, China) (3.Guangdong Huankai Microbial Sci. & Tech. Co. Ltd., Zhaoqing 526238, China)

Abstract: The sensory and biological characteristics and pH properties of three batches of commercial composite LG media (referred to as the composite LG) and LG media prepared by three beverage companies using raw materials purchased by themselves (referred to as the self-made LG) were compared to evaluate the stability of the composite and self-made LG media and their performances in ensuring the sterility of cold aseptic filling production lines. Results reveal that the three batches of composite LG have similar sensory characteristics, whereas the three self-made LG have markedly different sensory characteristics. As precipitation or impurities are noted, the three media do not meet the appearance standards. Meanwhile, the pH values of the three batches of composite LG are all within the standard range (6.5±0.2), indicating that these media can be used directly without modifying their pH before use; in this regard, they outmatch the self-made LG media. Moreover, the composite LG media give similar culture rates, higher than those of the self-made LG. More specifically, the maximum growth of the eight examined bacteria was noted on the 7th day of culture for the three batches of composite LG, while *Aspergillus Niger* and *Pseudomonas onioniae* did not grow in two of the self-made LG media, namely media G and H. Therefore, the following conclusions are drawn: The overall

引文格式:

杨宁,卢勉飞,李艳嫦,等.商品化复合型与自配 LG 培养基对保障生产线无菌验证效果的对比分析[J].现代食品科技,2021,37(10): 79-86

YANG-Ning, LU Mian-fei, LI Yan-chang, et al. Comparative analysis of the performances of commercial composite and self-made LG media on guaranteeing the sterility of production lines [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(10): 79-86

收稿日期: 2021-01-07

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFC1604201);肇庆市引进西江创新团队项目(肇人才领2018-8)

作者简介: 杨宁(1975-), 男, 高级工程师, 研究方向: 微生物检测产品的研发及应用推广, E-mail: 13602818372@163.com

通讯作者:吴清平(1962-),男,博士,研究员,中国工程院院士,研究方向:食品安全监测与控制,E-mail:wuqp203@163.com

performances of the composite LG are satisfactory, and adequate stability is noted for different batches. Hence, they are suitable for use in cold aseptic filling production lines because they can ensure the sterility of the latter. In contrast, the self-made LG media of different branches show poor stability. Moreover, as low detection sensitivity is observed for all self-made media, the risk of low counts of microorganisms remaining undetected exists when these media are used.

Key words: LG medium; cold filling production line; sterility validation

随着无菌冷灌装生产线逐渐成为中国饮料行业的主流生产工艺<sup>[1-9]</sup>,如何确保冷灌装生产线无菌,对于饮料生产是一个非常重要的环节。不单是饮料还有药品,为确保无菌生产工艺系统中无菌的可靠性和适应性,国内法规及指导文件均要求通过一定的验证方法对其进行验证<sup>[10-12]</sup>。多数企业采用培养基灌装试验来证明其无菌工艺的可靠性<sup>[13-16]</sup>。培养基灌装又称无菌培养基模拟灌装试验,是采用微生物培养基替代产品对无菌工艺进行评估的验证<sup>[15,16]</sup>。GB/T 24571-2009规定了PET 瓶无菌冷灌装生产线验证的培养基为 LG培养基<sup>[11,16-19]</sup>。

目前,饮料企业大多数是自行购买 LG 培养基配方中的各个原材料配制 LG 培养基,用于冷灌装生产线的无菌验证。由于培养基原材料一般是化学和生物试剂,不同厂家的试剂质量优劣不齐,饮料企业对培养基所用的原料控制比较粗放,导致饮料企业采用自行配制的 LG 培养基验证时,经常会出现培养基混浊,颜色不一的现象,以致不能使用;或者出现 LG 培养基检测微生物的灵敏度低,不能如实地反映生产线的微生物污染情况,导致造成很大的生产风险以及由于微生物污染造成的损失。

针对这一行业共性问题,我们通过优选 LG 培养基配方所用的原料,以及研究及优选出合适的生产工艺,生产出商品化复合型 LG 干粉培养基,解决饮料企业自行配制培养基存在批间差的问题。相关文献也表明,复合型的 LG 培养基无论对细菌还是真菌,均具有较高的检测灵敏度及较优的促生长能力<sup>[20]</sup>。

本研究采用中国饮料罐装生产线上常见的污染菌株作为试验菌株<sup>[20,21]</sup>,以半定量的方法,以符合标准的工厂化生产的 3 批复合型 LG 培养基作为参照,比较由同一集团 3 个饮料分厂分别提供的各个原料在本实验室配制的 LG 培养基,对比其在外观、理化指标及微生物指标(灵敏度)方面的差异,得出一定的研究结论,旨在为 PET 瓶饮料无菌灌装生产线的无菌验证进行培养基选择时提供参考。

#### 1 材料与方法

# 1.1 培养基

3 批商品化复合型 LG 培养基(复合型 LG: 1069401、1069361、1069421)、血平板和改良马丁琼脂均由广东环凯微生物科技有限公司提供; 3 批自配 LG 培养基分别由国内某食品集团公司的 3 个分厂提供,分别命名为自配 G、自配 T 和自配 H。

#### 1.2 仪器与设备

BSC-1360-L II B2 生物安全柜,北京东联哈尔仪器; PB-10 pH 计,赛多利斯; HVE50 灭菌锅,日本HIRAYAMA; DNP-9162 电热恒温培养箱,广东环凯微生物科技有限公司。

# 1.3 培养基的制备

取复合型 LG 培养基 3 批(批号: 1069401,1069361,1069421)与 3 个自行配制的 LG 培养基分别按 LG 培养基配方配制量称取于不同的 2 L 三角瓶中,各加 1000 mL 的纯化水,充分溶解后,煮沸,冷却至 45  $\mathbb{C}$ ,测定各瓶培养基的初始 pH 值,然后用碱调节至相同的 pH,分装试管,每管 10 mL。上述培养基 121  $\mathbb{C}$ 高压灭菌 15 min 后备用。

LG 配方 $^{[17]}$ : 葡萄糖 20 g/L,蛋白胨 2 g/L,酵母提取物 3.5 g/L,硫酸铵 2 g/L,硫酸镁 1 g/L,磷酸二氢钾 1 g/L,pH 值 6.5±0.2。

#### 1.4 试验菌株

金黄色葡萄球菌(Staphylococcus aureus)ATCC 6538、肺炎克雷伯氏菌(Klebsiella. peneumoniae)CMCC(B) 46117、枯草芽孢杆菌黑色变种(Bacillus subtilis var. niger)ATCC 9372、铜绿假单胞菌(Pseudomonas. aeruginosa)ATCC 27853、洋葱假单胞菌(Pseudomonas cepacia)ATCC 25416、蜡样芽孢杆菌(Bacillus cereus)CMCC(B)63303、黑曲霉(Aspergillus niger)ATCC 16404、白色念珠菌(canidia albicans)ATCC 10231,由广东环凯微生物科技有限公司提供。

#### 1.5 试验用菌悬液的制备

# 1.5.1 细菌试验用菌悬液的制备 将试验菌株接种于血平板上,置 36 ℃±1 ℃培养

18 h~24 h,以无菌生理盐水悬浮培养物,制备成约含活菌数 100~1000 CFU/mL 的菌悬液,再以无菌生理盐水 10 倍稀释成分别制成约含活菌数 10~100 CFU/mL 和 1~10 CFU/mL 的菌悬液,备用。

#### 1.5.2 霉菌试验用菌悬液的制备

将试验菌株接种于改良马丁琼脂斜面上,置 25 °C±1 °C培养7 d,加入  $3\sim5$  mL 含 0.05% (V/V) 聚 山梨酯 80 的无菌生理盐水,轻轻洗脱孢子。并以无菌生理盐水稀释制备成约含活菌数  $100\sim1000$  CFU/mL、 $10\sim100$  CFU/mL 和  $1\sim10$  CFU/mL 的菌悬液,备用。

上述试验菌株的培养物均使用新鲜培养物,传代次数不超过5代。

## 1.6 试验方法

分别取上述 2 个不同剂量(10~100 CFU/mL、1~10 CFU/mL)的试验菌株的菌悬液 1 mL 种接于 LG 6 个检样的培养基管中。于 30 ℃±1 ℃中培养 18 h~24 h 后,轻轻振摇试管,同时与无生长管(阴性对照管)比较,当出现肉眼可见的混浊时计为生长管(阳性管)。逐日观察结果,直到各个菌在各自配培养基上均出现相同的生长速度。分别记录不同接种量的受试培养基的混浊程度。每种受试培养基每稀释度分别接种 3 管培

养基。

## 2 结果与讨论

## 2.1 感观及理化试验

不同 LG 培养基感观及理化结果如表 1 所示。 在感观方面,复合型 LG 3 批与自配 G 的相当, 均为澄清无沉淀,浅黄色,符合 LG 培养基的标准; 优于自配 T 和自配 H,其培养基底部有黑色杂质,其 中自配 T 轻微混浊,有白色絮状沉淀,且为黄色,色 泽最深,这两个自配 LG 培养基感官均不合格。由此 可见,饮料企业自行采用不同原料配制的培养基其外 观存在较大差异,黑色杂质、白色絮状沉淀及色泽过

在理化方面,自配 G、自配 T 和自配 H,初始 pH 值均较低,灭菌前需调节 pH 值到合适的范围,灭菌后才能达到要求的 pH 值;而复合型 LG 灭菌前无需调整 pH,灭菌后 3 批均在标准要求范围(6.5±0.2)内,可以直接使用。

深均会影响结果的观察及判断。而 3 批复合型 LG 培

养基的感官一致,没有批间差异。

复合型 LG 培养基的准确性和稳定性均优于其它 三个自配的 LG 培养基。

表 1 LG 培养基 3 批及 3 个自配的感观及理化结果

复合型 LG 自配指标 自配 H 自配 G 自配T 1069401 1069361 1069421 黄色, 轻微混浊, 浅黄色,澄清, 浅黄色, 感观 浅黄色澄清无沉淀 底部有沉淀及黑色杂质 底部有黑色杂质 澄清无沉淀 溶解后 pH (45 ℃) 5.71 5.31 6.38 6.40 6.35 5.81 调整后 pH (45 ℃) 6.38 6.37 6.37 \_ \_ 灭菌后 pH (25 ℃) 6.56 6.57 6.55 6.55 6.54 6.53 标准 pH 6.5±0.2

Table 1 The results of sensory and physicochemical of LG media form four manufactor

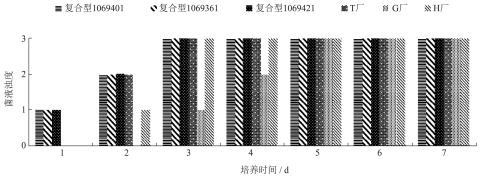


图 1 金黄色葡萄球菌(6 CFU)在不同厂家 LG 培养基上的生长情况

Fig.1 Growth of Staphylococcus aureus (6 CFU) on LG medium from different manufacturers

注:纵坐标菌液混浊度 0 代表无生长,培养基澄清; 1 代表有生长培养基轻微混浊; 2 代表生长好,培养基中度混浊; 3 代表生长极好,培养基极度混浊。下同。

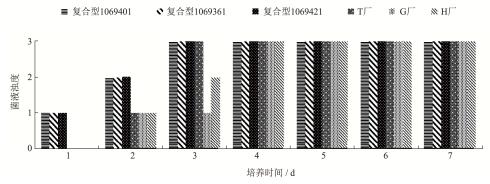


图 2 肺炎克雷伯氏菌(7 CFU)在不同厂家 LG 培养基上的生长情况

Fig.2 Growth of Klebsiella pneumoniae (7 CFU) on LG medium from different manufacturers

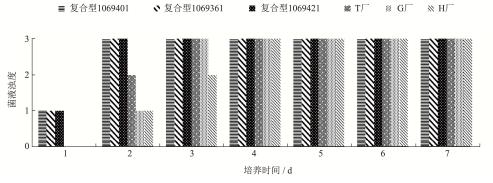


图 3 枯草芽孢杆菌黑色变种(8 CFU)在不同厂家 LG 培养基上的生长情况

Fig.3 Growth of Bacillus subtilis var. Niger (8 CFU) on LG medium from different manufacturer

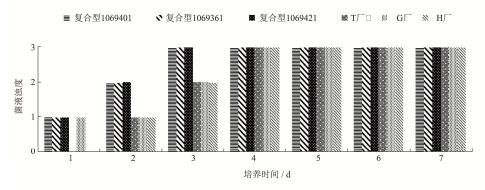


图 4 铜绿假单胞菌(8 CFU)在不同厂家 LG 培养基上的生长情况

Fig.4 Growth of Pseudomonas aeruginosa (8 CFU) on different LG media from different manufacturer

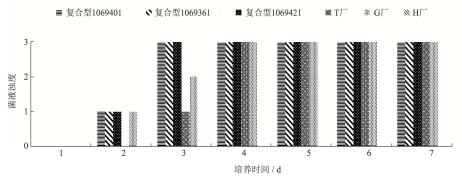


图 5 洋葱假单胞菌(8 CFU)在不同厂家 LG 培养基上的生长情况

Fig.5 Growth of Pseudomonas cepacia (8 CFU) on LG medium from different manufacturers

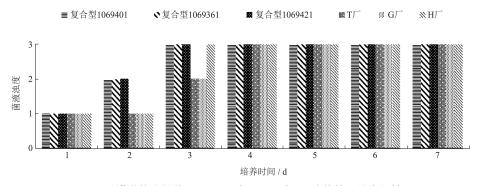


图 6 蜡样芽孢杆菌(4 CFU)在不同厂家 LG 培养基上的生长情况

Fig.6 Growth of Bacillus cereus (4 CFU) on LG medium from different manufacturers

## 2.2 金黄色葡萄球菌的生物学结果

生长速度结果如图 1 所示。第 1 d 时,金黄色葡萄球菌在 3 批复合型 LG 上均生长有轻微混浊,而在自配 G、自配 H 和自配 T3 个自配的培养基上均未见生长;第 2 d 时,金黄色葡萄球菌在复合型 LG 3 批和自配 T 上均达到生长良好的状态,而在自配 H 上可见轻微混浊,自配 G 仍未见生长;第 3 d 时,金黄色葡萄球菌在复合型 LG 3 批、自配 H 和自配 T 上均达到生长极好的状态,而在自配 G 上才可见轻微混浊。直到第 5 d,自配 G 才达到生长极好的状态。5 d 后金黄色葡萄球菌在 6 个样品上的生长无明显差别。

# 2.3 肺炎克雷伯氏菌的生物学结果

生长速度结果如图 2 所示。第 1 d 时,肺炎克雷伯氏菌在复合型 LG 3 批上均生长有轻微混浊,而在自配 G、自配 H 和自配 T3 个自配的培养基上均未见生长;第 2 d 时,肺炎克雷伯氏菌在复合型 LG 3 批上均达到生长良好的状态,而在自配 G、自配 H 和自配 T 上可见轻微混浊;第 3 d 时,肺炎克雷伯氏菌在复合型 LG 3 批及自配 T 上均达到生长极好的状态,而在自配 G 和自配 H 上分别为生长良好和轻微混浊。直到第 4 d,自配 G 和自配 H 才达到生长极好的状态。4 d 后肺炎克雷伯氏菌在 6 个样品上的生长无明显差别。

#### 2.4 枯草芽孢杆菌黑色变种的生物学结果

生长速度结果如图 3 所示。第 1 d 时,枯草芽孢杆菌黑色变种在复合型 LG 3 批上均生长有轻微混浊,而在自配 G、自配 H 和自配 T3 个自配的培养基上均未见生长;第 2 d 时,枯草芽孢杆菌黑色变种在复合型 LG 3 批上均达到生长极好的状态,而在自配 T 上生长良好,在自配 G 和自配 H 可见轻微混浊;第 3 d 时,除在自配 H 上为生长良好外,枯草芽孢杆菌黑色

变种在其余样品上均达到生长极好的状态;而在自配 G 和自配 H 上分别为生长良好和轻微混浊。直到第 4 d,自配 H 才达到生长极好的状态。4 d 后枯草芽孢杆菌黑色变种在 6 个样品上的生长无明显差别。

## 2.5 铜绿假单胞菌的生物学结果

生长速度结果如图 4 所示。第 1 d 时,铜绿假单胞菌在复合型 LG 3 批和自配 G 上均生长有轻微混浊,而在自配 T 和自配 H2 个自配的培养基上均未见生长;第 2 d 时,铜绿假单胞菌在复合型 LG 3 批上均达到生长良好的状态,而在自配 G、自配 H 和自配 T 上仍为可见轻微混浊;第 3 d 时,铜绿假单胞菌在复合型 LG 3 批上均达到生长极好的状态,而在自配 G、自配 H 和自配 T 上均为生长良好。直到第 4 d,自配 G、自配 H 和自配 T 才达到生长极好的状态。4 d 后铜绿假单胞菌在 6 个样品上的生长无明显差别。

#### 2.6 洋葱假单胞菌的生物学结果

生长速度结果如图 5 所示。第 1 d 时,洋葱假单胞菌在 6 个样品上均未见生长;第 2 d 时,洋葱假单胞菌在复合型 LG 3 批和自配 G 上均有轻微混浊,而在自配 H 和自配 T2 个自配的培养基上均未见生长;第 3 d 时,洋葱假单胞菌在复合型 LG 3 批上均达到生长极好的状态,而在自配 G 和自配 T 上分别为生长良好和轻微混浊,在自配 H 上仍为未见生长。直到第 4 d,自配 G 和自配 T 才达到生长极好的状态,而自配 H 一直未见生长。4 d 后,除自配 H 外,洋葱假单胞菌在其余 5 个样品上的生长无明显差别,7 d 内均未观察到自配 H 有生长。

#### 2.7 蜡样芽孢杆菌的生物学结果

生长速度结果如图 6 所示。第 1 d 时,蜡样芽孢杆菌在 6 个 LG 培养基样品上均生长有轻微混浊;第 2 d 时,蜡样芽孢杆菌在复合型 LG 3 批上均达到生长

良好的状态,而在自配 G、自配 H 和自配 T 厂上仍为可见轻微混浊;第3d时,蜡样芽孢杆菌在复合型 LG3批和自配 H 厂上均达到生长极好的状态,而在自配 G 和自配 T 上均为生长良好。直到第4d,自配 G 和自配 T 才达到生长极好的状态。4d 后蜡样芽孢杆菌在6个样品上的生长无明显差别。

#### 2.8 黑曲霉的生物学结果

生长速度结果如图 7 所示。第 1、2 d 时,黑曲霉在 6 个样品上均未见生长;第 3 d 时,黑曲霉在复合型 LG 3 批上均有轻微混浊,而在自配 G、自配 H 和自配 T3 个自配的培养基上均未见生长;第 4 d 时,黑曲霉在复合型 LG 3 批上均达到生长良好的状态,而在自配 H 和自配 T 上均为轻微混浊,在自配 G 上仍为未见生长。第 5 d 时,黑曲霉在复合型 LG 3 批上均达到生长极好的状态,自配 T 未见有进一步的生长,自配 G 仍为未见生长;第 6 d 时,自配 H 也达到了生长极好的状态,而自配

T为生长良好,自配 G 仍为未见生长;第 7 d 时,除自配 G 仍为未见生长外,黑曲霉在其余 5 个样品上的生长无明显差别,均达到生长极好的状态。

# 2.9 白色念珠菌的生物学结果

生长速度结果如图 8 所示。第 1 d 时,白色念珠菌在 6 个样品上均未见生长;第 2 d 时,白色念珠菌在复合型 LG 3 批上均有轻微混浊,而在自配 G、自配 H 和自配 T3 个自配的培养基上均未见生长;第 3 d 时,白色念珠菌在复合型 LG 3 批上均达到生长良好的状态,而在自配 G 和自配 T 上均为轻微混浊,在自配 H 上仍为未见生长。第 4 d 时,白色念珠菌在复合型 LG 3 批上均达到生长极好的状态,自配 G 和自配 T 上均为生长良好的状态,而自配 H 为轻微混浊;第 5 d 时,白色念珠菌在复合型 LG 3 批和自配 G 上均达到生长极好的状态,自配 H 和自配 T 上均为生长良好;第 6 d 时,自配 H 和自配 T 才达到生长极好的状态。6 d 后白色念珠菌在 6 个样品上的生长无明显差别。

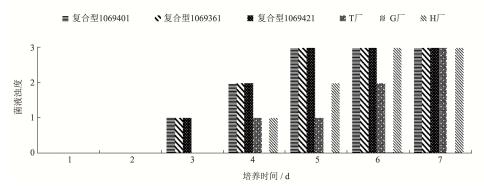


图 7 黑曲霉(8 CFU)在不同厂家 LG 培养基上的生长情况

Fig.7 Growth of Aspergillus niger (8 CFU) on LG medium from different manufacturers

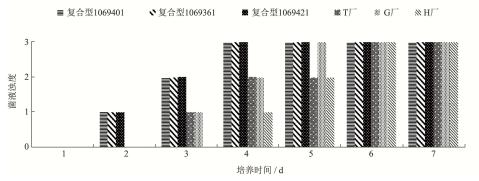


图 8 白色念珠菌(6 CFU)在不同厂家 LG 培养基上的生长情况

Fig.8 Growth of Candida albicans (6 CFU) on LG medium from different manufacturers

注:图表 1~8 中纵坐标菌液混浊度 0 代表无生长,培养基澄清; 1 代表有生长培养基轻微混浊; 2 代表生长好,培养基中度混浊; 3 代表生长极好,培养基极度混浊。

# 3 讨论

3.1 无菌培养基模拟灌装试验,无论采用 TSB 或 LG

培养基,在上线验证前均需对培养基进行性能测试 [10,12,17],如果培养基灵敏度不够,会导致试验结果无 法真实的反映灌装工艺的无菌保证水平,所以在试验

前对培养基进行灵敏度试验,确保培养基的灵敏度及 促生长实验符合要求<sup>[20,22]</sup>。

- 3.2 在本研究中,微生物促生长方面,3 批次复合型 LG 效果相当,微生物促生长效果均优于3个自配 LG,而且3个自行配制的 LG 培养基的促生长能力差异较大,稳定性不好。第7d时,8个测试菌在3批次复合型 LG上生长均已达最大值,而自配 G 和自配 H 分别接种黑曲霉和洋葱假单胞菌的3个平行管依然未见生长。可见,自配 G 和自配 H LG 培养基的促生长能力不稳定,存在漏检的风险。促生长能力越强、越稳定,微生物生长速度越快,越能准确、快速地发现生产线的染菌情况,从而可以及早作出处理,避免了在时间上的浪费以及出现微生物漏检的风险。
- 3.3 出现上述差异的原因,主要是饮料企业自行配置 的 LG 培养基,是自行购买培养基原材料配制的,由 于培养基原材料中的酵母浸粉、蛋白胨是生物试剂, 质量批间差较大,受专业程度和保存菌株多样性的限 制,饮料企业很难对培养基原材料像专业培养基生产 厂家那样进行全面的微生物生长指标测试,所以不同 的企业配置出来的培养基质量有很大的差异;加上LG 培养基配方中含盐较多,在自行配制过程中需按一定 的投料顺序一项一项进行,须等前一组完全溶解后才 能加入下一组成分, 否则容易出现混浊或沉淀, 其实 是 LG 培养基组分在配制过程中的性能已发生了改 变,不同程度上也会影响检测微生物的灵敏度;另外, 配制过程中 pH 的调试也容易出现不稳定性,这些因 素导致即使是同一个饮料企业配制出来的培养基批间 差也较大。而商品化复合型 LG 培养基是由专业培养 基生产商研发生产的,所用的每批原材料均进行严格 筛选,确保原材料批间质量的稳定性,同时通过专业 的、标准化的生产工艺控制,确保每批复合型 LG 培 养基批间的感官、理化及灵敏度的稳定性。

#### 4 结论

PET 瓶饮料无菌灌装生产线的无菌验证所用的 LG 培养基建议选用商品化复合型 LG,尽量避免自行 购买原材料配制 LG 培养基,以降低由于原料的质量 不稳定以及配制的复杂过程导致培养基质量无法控制 的风险。

#### 参考文献

[1] 孔凡真.饮料无菌冷灌装生产线的应用是大势所趋[J].饮料 工业,2007,12:45-46

KONG Fan-zhen. The application of aseptic cold filling production line is the general trend [J]. Beverage Industry,

2007, 12: 45-46

- [2] 李光强.浅析饮料无菌冷灌装技术[J].中国高新技术, 2008,19:121-122
  - LI Guang-qiang. Analysis of aseptic cold filling technology for beverages [J]. China Hitech, 2008, 19: 121-122
- [3] 尹志坚,任凤莲.浅谈茶饮料无菌冷灌装技术[J].科技与企业,2012,15:348
  - YIN Zhi-jian, REN Feng-lian. Discussion on aseptic cold filling technology of tea beverage [J]. Technology and Enterprise, 2012, 15: 348
- [4] 刘志雄.乐惠集团 PET 瓶无菌冷灌装生产线[J].酒:饮料技术装备,2004,3:15-16
  - LIU Zhi-xiong. PET bottle aseptic cold filling production line of Lehui group [J]. Technical Equipment for Wine and Beverage, 2004, 3: 15-16
- [5] 张威.PET 热灌装与无菌冷灌装工艺技术比较[J].中外食品工业,2014,5:6,8
  - ZHANG Wei. Comparison of pet hot filling and aseptic cold filling technology [J]. Food Industry at Home and Abroad, 2014, 5: 6, 8
- [6] 江苏新美星包装机械股份有限公司.PET 无菌线培养基灌 装测试综述[J].食品安全导刊,2015,109(19):52-53 Jiangsu Xinmeixing Packaging Machinery Co., Ltd. Review

on filling test of pet aseptic line medium [J]. Food Safety Guide, 2015, 109(19): 52-53

- [7] 王鹏.PET 瓶无菌线培养基灌装测试[J].酒:饮料技术装备, 2014,80(3):48-49
  - WANG Peng. Filling test of sterile line culture medium for PET bottle [J]. Wine: Beverage Technology and Equipment, 2014, 80(3): 48-49
- [8] 田中光幸.在容器装饮料中微生物变败的风险及其对策 III.PET瓶装饮料的无菌灌装[J].食品工业科技,2007,28(12): 183-184
  - Guangxing Tanaka. The risk of microbial degradation in bottled beverages and its countermeasures. III. Aseptic filling of PET bottled beverages [J]. Food Industry Science and Technology, 2007, 28(12): 183-184
- [9] 胡小松,廖小军,陈芳,等.中国果蔬加工产业现状与发展态势[J].食品与机械,2005,21(3):4-9
  - HU Xiao-song, LIAO Xiao-jun, CHEN Fang, et al. Current situation and development trend of fruit and vegetable processing industry in China [J]. Food and Machinery, 2005, 21(3): 4-9
- [10] 万春艳.药品生产质量管理规范2010版[M].北京:化学工业 出版社,2012:145

- WAN Chun-yan. Pharmaceutical Production Quality Management Standard 2010 Edition [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2012: 145
- [11] 全国包装机械标准化技术委员会.GB/T 24571-2009.中华 人民共和国国家标准 PET 瓶无菌冷灌装生产线[S] National Packaging Machinery Standardization Technical Committee. GB/T 24571-2009. National standard PET bottle aseptic cold filling production line of the People's Republic of China [S]
- [12] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(四部):通则 1101[S] State Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (Part IV): General Principles 1101 [S]
- [13] 孙奇,张国宏.运动饮料PET瓶无菌灌装生产线工艺设计及 其验证[J].机械与装备,2007,10(5):30-35 SUN Qi, ZHANG Guo-hong. Process design and verification of aseptic filling production line for PET bottles of sports drinks [J]. Machinery and Equipment, 2007, 10(5): 30-35
- [14] 北京安洁康生物科技有限公司.PET 无菌冷灌装生产线无菌验证的限量检测及菌群分析[J].中国洗涤用品工业,2014, 11:32-39
  - Beijing Anjekang Biotechnology Co. Ltd.. Limit test and flora analysis of aseptic validation of PET aseptic cold filling production line [J]. China Detergent Industry, 2014, 11: 32-39
- [15] 钟裔荣,范庆龙,徐殿红,等.无菌培养基模拟灌装实验的研究[J].医学信息,2015,28(11):70-71

  ZHONG Yi-rong, FAN Qing-long, XU Dian-hong, et al.
  Study on simulated filling experiment of sterile medium [J].

  Medical Information, 2015, 28(11): 70-71
- [16] 潘友文.无菌生产工艺验证培养基灌装试验[J].中国医药工业杂志,2002,33(1):34-37

PAN You-wen. Filling test of sterile production process validation medium [J]. Chinese Journal of Pharmaceutical

- Industry, 2002, 33(1): 34-37
- [17] 罗四维.无菌冷灌装线安全和清洁生产的研究[D].广州:华南理工大学,2009:1-38
  - LUO Si-wei. Research on safety and clean production of aseptic cold filling line [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2009: 1-38
- [18] 任河山,刘勇.浅谈 PET 无菌冷灌装[J].中国洗涤用品工业, 2014,3:32-35
  - REN He-shan, LIU Yong. Discussion on aseptic cold filling of PET [J]. China Detergent Industry, 2014, 3: 32-35
- [19] 余军.国产软饮料无菌冷灌装生产线微生物验证剖析[J].饮料工业,2010,13(3):16-24 YU Jun. Microbiological verification analysis of domestic
  - YU Jun. Microbiological verification analysis of domestic aseptic cold filling production line for soft drinks [J]. Beverage Industry, 2010, 13(3): 16-24
- [20] 杨宁,卢勉飞,蔡芷荷,等.三种培养基运用于饮料无菌冷灌 装生产线无菌验证效果的评价[J].中国卫生检验杂志,2020,30(8):906-908,915
  - YANG Ning, LU Mian-fei, CAI Zhi-he, et al. Evaluation on the effect of three kinds of culture media used in aseptic cold filling production line of beverage [J]. Chinese Journal of Health Inspection, 2020, 30(8): 906-908, 915
- [21] 金卫胜,甘宪兰,赖哲鹏,等.浅析 PET 无菌线的微生物管理 [J].生物技术世界,2016,100(3):203-204 JIN Wei-sheng, GAN Xian-lan, LAI Zhe-peng, et al. Analysis on microbial management of PET sterile line [J]. Biotechnology World, 2016, 100(3): 203-204
- [22] 陈华美,黄渝,王大平.培养基模拟灌装试验方法探讨[J].山东化工,2015,44(8):88-90
  CHEN Hua-mei, HUANG Yu, WANG Da-ping. Discussion on the test method of medium simulation filling [J].

Shandong Chemical Industry, 2015, 44(8): 88-90

#### (上接第 135 页)

- [32] Karakaya S, Yilmaz S V, Zdemir Z, et al. A caryophyllene oxide and other potential anticholinesterase and anticancer agent in *Salvia verticillata* subsp. *amasiaca* (Freyn & Bornm.) Bornm. (Lamiaceae) [J]. Journal of Essential Oil Research, 2020, 32(6): 1-14
- [33] Jacob D Langsi, Elias N Nukenine, Kary M Oumarou, et al. Evaluation of the insecticidal activities of α-pinene and 3-carene on *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) [J]. Insects, 2020, 11(8): 540