

空气霉菌总数测定方法分析

刘剑, 刘艳芳, 杨玉萍, 王冲文, 戈帆

(国营第二九八厂, 昆明 650114)

摘要: **目的** 择优选择稳定性较高的空气霉菌总数测定方法。**方法** 在不同采样点和采样时间下, 同时用自然沉降法和撞击法进行空气霉菌采样, 每组三个平行样品, 平板计数结果经格鲁布斯检验, 剔除离群值, 再用平均值计算出每平方米的空气霉菌总数。对比两种采样方法平板计数结果的变异系数, 以及采样时间对计算结果的影响。**结果** 撞击法采集的平行样品变异系数小, 并且在 15 min 的采样时间内, 受采样时间的影响较小。**结论** 撞击法测定空气霉菌总数稳定性更好。

关键词: 空气霉菌总数; 自然沉降法; 撞击法; 格鲁布斯检验; 变异系数

DOI: 10.7643/issn.1672-9242.2018.05.007

中图分类号: TJ01 **文献标识码:** A

文章编号: 1672-9242(2018)05-0029-04

Measurement Analysis of Fungal Counts in Air

LIU Jian, LIU Yan-fang, YANG Yu-ping, WANG Chong-wen, GE Fan
(The State Run Factory 298, Kunming 650114, China)

ABSTRACT: Objective To look for more stable method for measuring fungal counts in air. **Methods** In different sampling points and time, the natural precipitation method and impacting method were used to gather fungus in air at the same time. There were three parallel samples in each treatment group. Fungal counts that cultured in plates were tested by Grubbs' test method and outliers were eliminated. Fungal counts of air were calculated based on the means of parallel samples. Variation coefficient of two measurements' fungal counts that cultured in plates and influences of sampling time on the calculation result were compared. **Results** Variation coefficient of impacting method was smaller, and sampling time had less influence on impacting method within 15 minutes. **Conclusion** The impacting method is more stable to measure fungal counts of air.

KEY WORDS: fungal counts in air; natural precipitation method; impacting method; Grubbs' test method; variation coefficient

霉菌在武器装备上生长时, 新陈代谢分泌的有机酸会腐蚀红外材料、金属、橡胶等, 分泌的水分会增加机壳内湿度, 从而影响装备的力学性能和外观、导致电子装置短路、光学装置精度降低等。红外光学薄膜中的碳膜还为霉菌提供了丰富的碳源, 为霉菌腐蚀创造了条件^[1]。目前, 霉菌腐蚀已成为武器装备常见的腐蚀之一, 更是光学仪器三害之一, 尤其在高温高湿环境中, 霉菌生长条件适宜, 繁殖速度快, 空气霉菌含量高, 武器装备长霉的概率也相应增加, 加速了

霉菌对武器装备的腐蚀。由于红外材料及其涂镀件对霉菌腐蚀较为敏感, 因此在高温高湿、适宜霉菌生长的环境中, 检测空气霉菌总数可以监测空气霉菌数量变化情况, 评估武器装备(尤其是红外产品)在贮存和使用过程中的长霉概率。同时也是空气霉菌采集、鉴定的基础, 为防霉技术研究提供数据支撑。

西双版纳热带雨林自然环境试验站属于高温、高湿环境, 霉菌生长旺盛, 对站内贮存的武器装备试验样品腐蚀较为明显。对此, 笔者进行了较长时间的空

收稿日期: 2018-03-08; 修订日期: 2018-04-02

基金项目: 国防科技工业技术基础科研项目(JSHS2015208B006)

作者简介: 刘剑(1977—), 男, 湖南祁东人, 高级工程师, 主要研究方向为环境试验。

气霉菌总数监测和防霉研究。

GB/T 18204.3—2013《公共场所卫生检验方法第3部分：空气微生物》规定两种空气真菌总数测定方法——自然沉降法和撞击法^[2]，最初采用自然沉降法进行空气霉菌总数测定。经过几次测定以及对相关文献的查阅，发现自然沉降法测定结果在定性和定量上缺乏准确性，通过奥梅梁斯基换算方程式(1)换算的结果没有体现 Stokes 定律中相关因素对测定结果的影响。

$$C = \frac{50000N}{A \cdot t} \quad (1)$$

式中： C 为活菌粒子数， cfu/m^3 ； N 为经培养后平板上生长的菌落数； A 为所用平板的面积， cm^2 ； t 为平板暴露时间， min 。

为了更准确测定空气霉菌总数，购置了六级筛孔撞击式空气微生物采样器，用撞击法测定空气霉菌总数。目前对自然沉降法和撞击法的研究大多在室内进行，但文中开展的空气霉菌相关研究还涉及室外空气霉菌采集。文中将对两种采样方法在空气霉菌总数测定中的应用及测定结果进行比较，选择稳定性更高的方法进行测量，为防霉技术研究提供更为可靠的数据。

1 材料与方 法

1.1 培养基和器材

试验以沙氏培养基作为空气霉菌采集载体，用到的主要器材有 $\phi 90 \text{ mm}$ 玻璃平板(购自云南新茂科研器材开发公司)、六级筛孔撞击式空气微生物采样器(购自美国 SKC 公司)、高温高压灭菌锅(购自上海博讯实业有限公司医疗设备厂)、霉菌培养箱等(购自常州普天仪器制造有限公司)。

1.2 采样原理

自然沉降法是在地心引力作用下，空气中悬浮的带菌颗粒会随时间的延长逐渐沉降^[3]，降落在自然沉降法采样使用的营养琼脂平板表面上。撞击法是采用撞击式空气微生物采样器采样，通过抽气动力作用，使空气通过狭缝或小孔而产生高速气流，使悬浮在空气中的带菌粒子撞击到营养琼脂平板上。

1.3 采样

在昆明室内、室外，西双版纳室外各选择一个采样点，分别标记为1[#]，2[#]，3[#]，在同一采样点的同一时间段，用自然沉降法和撞击法测定空气霉菌总数。由于撞击式空气微生物采样器产生高速气流能更快地收集空气微生物，采样时间设计时撞击法多一个梯度。在昆明用自然沉降法测定空气霉菌总数的空气采

集时间以5，10，15 min为梯度，撞击法以2，5，10，15 min为梯度进行采样。西双版纳属于典型热带雨林气候，霉菌生长旺盛，只能进行短时间的采样，所以自然沉降法以1 min为空气采集时间，撞击法以0.5，1 min为梯度进行采样。两种采样方法均以1.5 m为采样高度。在同一采样点用同一种方法按同一采样时间采集的样品为一组，每组设置三个平行样品。采集了空气霉菌的平板倒置在 $(28 \pm 1)^\circ\text{C}$ 的恒温培养箱中培养。

表1 采样计划

采样点	编号	采样方法	采样时间梯/min
昆明室内	1 [#]	自然沉降法	5, 10, 15
		撞击法	2, 5, 10, 15
昆明室外	2 [#]	自然沉降法	5, 10, 15
		撞击法	2, 5, 10, 15
西双版纳室外	3 [#]	自然沉降法	1
		撞击法	0.5, 1



图1 西双版纳室外撞击法采样

1.4 计数与计算

随培养时间延长，采样平板上的霉菌逐渐长大，形成菌落，如图2所示。培养至第3，5，7天时进行计数，获得各皿平板霉菌菌落总数。通过格鲁布斯检验式(2)求出 G_i ，取置信区间为99%，临界值 $G_{99}(3)=1.15$ ，即 $G_i > 1.15$ ，则判定为离群值，应舍去； $G_i < 1.15$ ，则判定为正常值。平行样品的平均值即为最终平板生长的霉菌菌落数，自然沉降法按奥梅梁斯基公式换算成空气霉菌总数，撞击法按式(3)计算，以 cfu/m^3 表示计算结果。

$$G_i = |X_i - \bar{X}| / S \quad (2)$$

式中： X_i 为样本中的可疑值； \bar{X} 为样本平均值； S 为样本标准差。

$$\text{空气中霉菌菌落数} = (N \times 1000) / (28.3 \times t) \quad (3)$$

式中： N 为经培养后平板上生长的菌落数； t 为采样时间。

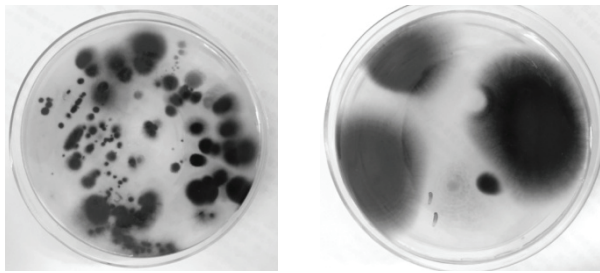


图 2 西双版纳采样结果

2 结果与讨论

2.1 平板计数结果

按表 1 采集 17 组空气样本，每组 3 个平行样，共获得 51 皿采集了空气样本的平板。经过三次计数，获得平板上生长的霉菌菌落数，自然沉降法采样计数

结果见表 2，撞击法采样计数结果见表 3，并计算各组霉菌菌落数的变异系数 C_V 。

由表 2 可以看出，用自然沉降法采样的 7 组试验最大变异系数 1.14，最小 0.458，平均 0.704。由表 3 可以看出，用撞击法采样的 10 组试验最大变异系数 0.948，最小 0.093，平均 0.375。可见撞击法采样计数结果的变异系数比沉降法小。

1[#]为室内采样，2[#]为室外采样。由图 3 可以看出，在室内用沉降法采样时，计数结果的变异系数基本不受采样时间影响，但在室外，随采样时间的增加，变异系数在逐渐减小。用撞击法在室内外采样计数结果的变异系数均随采样时间的增加呈下降趋势，但在室内采样的变化较小。变异系数反应了数据的离散程度，由于室外空气流动较快，致使采样结果较分散，但根据环境条件适当增加采样时间，有利于降低数据的离散程度。

表 2 自然沉降法采样计数结果

	1 [#]			2 [#]			3 [#]
	5 min	10 min	15 min	5 min	10 min	15 min	1 min
计数结果	12	8	23	0	1	4	25
	13	33	42	3	7	10	15
	31	21	10	1	3	3	10
C_V	0.573	0.605	0.644	1.146	0.833	0.668	0.458
平均	0.704						

表 3 撞击法采样计数结果

	1 [#]				2 [#]				3 [#]	
	2 min	5 min	10 min	15 min	2 min	5 min	10 min	15 min	0.5 min	1 min
计数结果	33	56	132	136	90	54	184	108	31	136
	40	86	119	124	22	48	95	134	81	28
	50	100	90	113	17	67	76	181	64	76
C_V	0.208	0.279	0.189	0.093	0.948	0.172	0.487	0.262	0.433	0.676
平均	0.375									

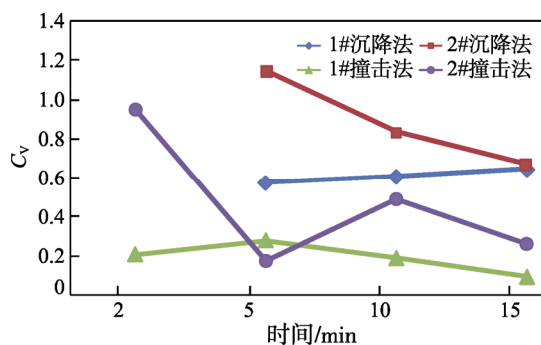


图 3 计数结果变异系数

2.2 格鲁布斯验证

为了剔除离群值，用格鲁布斯检验法对平板计数结果进行检验，三个平行样品中与平均值偏差最大的值视为可疑值，用式 (2) 检验是否属于离群值。检验结果见表 4 和表 5。

经检验，自然沉降法在 1[#]采样点采样 5 min 的数据有一个离群值，撞击法在 2[#]采样点采样 2 min 的数据有一个离群值，剔除这两个数据后再计算空气中霉菌总数。两个离群值均是在较短采样时间产生的，而较长时间的采样均未出现离群值，故适当增加采样时

间能降低瞬时环境因素对采样结果的影响。

表4 自然沉降法采样检验结果

采样点	采样时间/min	可疑值	检验	判断
1#	5	31	1.153	—
	10	8	1.013	+
	15	42	1.056	+
2#	5	3	1.091	+
	10	7	1.091	+
	15	10	1.145	+
3#	1	25	1.091	+

注：“+”表示可疑值属于正常值，“—”表示可疑值属于离群值

表5 撞击法采样检验结果

采样点	采样时间/min	可疑值	检验	判断
1#	2	50	1.053	+
	5	56	1.097	+
	10	90	1.101	+
	15	136	1.014	+
2#	2	90	1.153	—
	5	67	1.098	+
	10	184	1.139	+
3#	15	181	1.081	+
	0.5	31	1.088	+
	1	136	1.035	+

2.3 空气霉菌总数计算

将自然沉降法和撞击法采样计数结果换算成每立方米的空气霉菌总数。由图4可看出,沉降法在室内采样计算结果比撞击法高出许多,但在室外,两种采样方法比较接近。在室内,随采样时间的增加,两种方法采样结果都呈下降趋势,沉降法减少量更大。在室外,沉降法采样结果随时间增加有略微上升,而撞击法的变化量很小。3#采样点用撞击法采样0.5 min和1 min的结果差异较大,是因为1 min采集到霉菌太多,生长慢的霉菌在第二次计数时已被覆盖,所以结果偏小。

总体来说,无论在室内还是室外采样,在15 min的采样时间内,撞击法受采样时间的影响较小。两种方法在室外采样结果也比较接近,所以撞击法也是可以用于室外空气霉菌采样的。3#采样点空气霉菌数量较多,用撞击法只能进行0.5 min的采样。

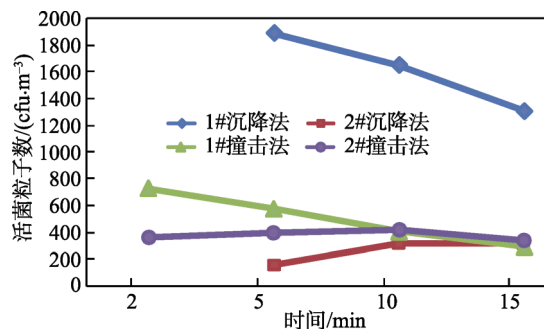


图4 空气霉菌总数计算结果

3 结论

通过对比自然沉降法和撞击法采样结果,撞击法计数结果的变异系数较小,平行样相对离散程度较低,重复试验的结果较稳定。

适当增加采样时间,有利于降低数据的离散程度,但在空气霉菌总数未知的环境中,只能凭经验选定采样时间。撞击法采样结果受采样时间影响较小,可以降低因选择的采样时间较短引起的试验误差。

两种方法在室外测定空气霉菌总数的结果比较接近,但撞击法采样的计数结果变异系数小,受采样时间影响小。说明撞击法测定空气霉菌总数稳定性更好,测定空气霉菌总数可以尽量选用撞击法。

参考文献:

- [1] 杨玉萍, 字正华, 钟辉, 等. 霉菌对 Ge、Zns 和 Znse 膜层的影响[J]. 红外技术, 2016, 38(12): 1078.
- [2] GB/T 18204.3—2013, 公共场所卫生检验方法 第3部分: 空气微生物[S].
- [3] 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.
- [4] 钟巍, 郭重山, 李小晖, 等. 自然沉降法和撞击法在空气细菌总数测定中的应用和比较[J]. 环境与健康杂志, 2004, 21(3): 149-152.
- [5] 阎传海, 葛嘉妮, 尹群. 撞击法测定空气中落菌数的不确定度评估[J]. 广东化工, 2012(13): 135-136.
- [6] 雷晓平. 浅谈可疑数据的取舍方法—格拉布斯法[J]. 河南建材, 2011(2): 163-165.
- [7] 肖建军, 赵远荣, 刘剑, 等. 西双版纳自然环境试验站环境真菌的鉴定[J]. 环境技术, 2014(5): 12.
- [8] 张朝隆, 陈振生, 张松乐. 空气细菌采样器室内采样效果比较[J]. 中国消毒学杂志, 1993, 10(1): 26-28.
- [9] 翁建中, 徐恒省, 王亚超, 等. 环境中细菌总数和霉菌总数监测方法的研究[J]. 中国环境监测, 2008, 24(4): 28-30.
- [10] 方治国, 欧阳志云, 胡利峰, 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): 8-12.
- [11] GB 4789.2—2010, 食品微生物学检验 菌落总数测定[S].