



410754S-2022



上海嘉冠生物科技有限公司许昌分公司企业标准

Q/SJS 0002S-2022

凝结芽孢杆菌粉

2022-03-30 发布

2022-03-30 实施

上海嘉冠生物科技有限公司许昌分公司 发布

前 言

本标准的附录 A、附录 B、附录 C 为规范性附录。

本标准由上海嘉冠生物科技有限公司许昌分公司提出。

本标准起草单位：上海嘉冠生物科技有限公司许昌分公司。

本标准主要起草人：杜灵广、刘勤超、李保军、曹业辉、任建伟。

H N

Q B

凝结芽孢杆菌粉

1 范围

本标准规定了凝结芽孢杆菌粉的要求、检验方法、检验规则等。

本标准适用于以凝结芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*) 为菌种, 以食用葡萄糖、蛋白胨、酵母粉、麦芽糊精为原料, 同时加入食用盐 (氯化钠)、食品添加剂 (碳酸钙)、食品加工助剂 (磷酸二氢钾、氨水、硫酸镁、硫酸铵、乙酸钠中的一种或几种) 中的一种或几种, 经接种、发酵、离心、乳化、喷雾干燥, 混合加入或不加入麦芽糊精、乳粉、食用葡萄糖中的一种或多种, 包装制成的凝结芽孢杆菌粉。

2 要求

2.1 原辅料要求

2.1.1 凝结芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*) 应符合原国家卫计委《关于发酵乳杆菌 CECT5716 等 3 个菌种的公告》(2016 年第 6 号) 和 QB/T 4575 的规定。

2.1.2 碳酸钙应符合 GB 1886.214 的规定。

2.1.3 磷酸氢二钾应符合 GB 1886.334 的规定。

2.1.4 食用盐 (氯化钠) 应符合 GB 2721 的规定。

2.1.5 乳粉应符合 GB 19644 的规定。

2.1.6 食用葡萄糖应符合 GB/T 20880 和 GB 15203 的规定。

2.1.7 麦芽糊精应符合 GB/T 20884 和 GB 15203 的规定。

2.1.8 氨水应符合 GB 29201 的规定。

2.1.9 硫酸铵应符合 GB 29206 的规定。

2.1.10 硫酸镁应符合 GB 29207 的规定。

2.1.11 乙酸钠应符合 GB 30603 的规定。

2.1.12 蛋白胨应符合附录 A 的规定。

2.1.13 酵母粉应符合附录 B 的规定。

2.2 感官要求

感官要求应符合表 1 的规定。

表 1 感官要求

项目	要求	检验方法
性状	包装袋完整光洁、无破损、无泄漏; 内容物呈细小颗粒状	从样品中取出 5g, 放入一洁净白色盘中, 自然光下观察性状、色泽、杂质, 按标签所述食用方法于透明玻璃烧杯内冲溶稀释后, 立即嗅其气味, 辨其滋味。
色泽	具有该品特有的色泽	
气味	具有该品特有的气味, 无异味	
滋味	具有该品特有的滋味, 无异味	
杂质	无肉眼可见外来杂质	

2.3 理化指标

理化指标应符合表 2 的规定。

表 2 理化指标

项 目	指 标	检验方法
水分, g/100g	≤ 5.0	GB 5009.3
总砷 (以As计), mg/kg	≤ 0.5	GB 5009.11
铅* (以Pb计), mg/kg	≤ 0.5	GB 5009.12

*该指标严于食品安全国家标准GB 2762的规定。

2.4 微生物限量

微生物限量应符合表 3 的规定。

表 3 微生物限量

项 目	采样方案 ^a 及限量				检验方法
	n	c	m	M	
大肠菌群, CFU/g	5	2	10	10 ²	GB 4789.3
沙门氏菌, /25g	5	0	0	-	GB 4789.4
霉菌, CFU/g	≤	50			GB 4789.15
凝结芽孢杆菌, CFU/g	≥	I 型	II 型	III 型	附录 C
		1.0×10 ¹⁰	5.0×10 ¹⁰	1.0×10 ¹¹	

a采样方案应符合GB 4789.1和GB/T 4789.21的规定。

2.5 净含量及允许短缺量

净含量及允许短缺量应符合 JJF 1070 的规定。

2.6 生产加工过程的卫生要求

应符合 GB 14881 的规定。

2.7 其它要求

食品添加剂的使用应符合 GB 2760 的规定；真菌毒素限量应符合 GB 2761 的规定；污染物限量应符合 GB 2762 的规定。

3 检验

出厂检验项目包括：感官要求、水分、净含量及允许短缺量、大肠菌群、凝结芽孢杆菌的检验。型式检验按国家相关规定执行。

附录 A
(规范性附录)
蛋白胨质量要求

A.1 原料来源

本规定适用于以新鲜骨头为原料，采用生物酶解和后期过滤、浓缩、喷雾干燥制成的蛋白胨（动物源）。

A.2 指标要求

指标要求应符合表 A.1 指标要求

表 A.1 指标要求

项目		指标	检验方法
感官要求	色泽	微黄色至棕色粉末	取适量样品置于一洁净、干燥的无色玻璃皿中，在自然光线下用肉眼观察其色泽和外观、杂质，并嗅其气味。
	气味	具有产品应有气味	
	外观	粉状	
	杂质	无正常视力可见的外来杂质	
理化指标	总氮（以干基计），% \geq	14.5	GB 5009.5
	氨基氮（以干基计），% \geq	1.5	GB/T 23530
	水分，% \leq	6.0	GB 5009.3
	灰分，% \leq	6.0	GB 5009.4
	氯化物（以 NaCl 计），% \leq	5.0	GB 5009.44
	pH	5.0-7.0	GB 5009.237
	胨含量，% \geq	20.0	GB/T 22492
	总砷（以 As 计），mg/kg \leq	0.5	GB 5009.11
	铅（以 Pb 计），mg/kg \leq	0.5	GB 5009.12
	铬（以 Cr 计），mg/kg \leq	1.0	GB 5009.123
	镉（以 Cd 计），mg/kg \leq	0.1	GB 5009.15
N-二甲基亚硝胺， $\mu\text{g/kg}$ \leq	3.0	GB 5009.26	
微生物限量	菌落总数，CFU/g \leq	10000	GB 4789.2
	大肠菌数，MPN/g \leq	0.3	GB 4789.3
	沙门氏菌，/25g	n=5, c=0, m=0	GB 4789.4
	单核细胞增生李斯特氏菌，/25g	n=5, c=0, m=0	GB 4789.30
	金黄色葡萄球菌，CFU/g	n=5, c=1, m=100, M=1000	GB 4789.10

附录 B

(规范性附录)

酵母粉质量要求

B.1 原料来源

本规定适用于以高蛋白质含量的食用酵母为原料,采用现代生物工程技术精制而成的酵母浸粉。

B.2 指标要求

指标要求应符合表 B.1 的指标要求。

表 B.1 指标要求

	项目	指标	检验方法
感官要求	色泽	黄色至淡黄色	取适量样品置于一洁净、干燥的无色玻璃皿中,在自然光线下用肉眼观察其色泽和外观、杂质,并嗅其气味
	性状	粉状	
	滋味与气味	具有酵母浸粉所特有的气味,无腐败异臭	
	杂质	无肉眼可见外来杂质	
理化指标	总氮(以干基计), %	≥ 9.0	GB 5009.5
	氨基氮(以干基计), %	≥ 3.0	GB/T 23530
	水分, %	≤ 6.0	GB 5009.3
	灰分, %	≤ 15.0	GB 5009.4
	pH(2%水溶液)	5.3-7.2	GB 5009.237
	铅(以Pb计), mg/kg	≤ 1.0	GB 5009.12
	总砷(以As计), mg/kg	≤ 0.5	GB 5009.11
微生物限量	菌落总数, CFU/g	≤ 50000	GB 4789.2
	大肠菌群, MPN/g	≤ 0.3	GB 4789.3
	沙门氏菌, /25g	不得检出	GB 4789.4
	金黄色葡萄球菌, /25g	不得检出	GB 4789.10

附录 C

(规范性附录)

凝结芽孢杆菌的测定

C.1 范围

C.1.1 本规范规定了凝结芽孢杆菌粉的检测方法。

C.1.2 本规范用于凝结芽孢杆菌粉中凝结芽孢杆菌的检验和计数。

C.2 术语与定义

凝结芽孢杆菌数：凝结芽孢杆菌粉经过处理后，在一定条件下（培养基、培养温度和培养时间等）培养后，所得每 g (mL) 检样中形成的芽孢数。

C.3 材料和设备

除微生物实验室常规灭菌及培养设备外，其他设备和材料如下：

C.3.1 天平，精度为 0.01g；

C.3.2 移液枪，20-200 μ L、1mL；

C.3.3 涡旋混匀器；

C.3.4 培养箱 $42\pm 1^{\circ}\text{C}$ ；

C.3.5 恒温振荡器；

C.3.6 恒温水浴锅；

C.3.7 培养皿：直径为 90mm；

C.3.8 枪头：100 μ L、1mL；

C.3.9 冻存管：1mL；

C.3.10 锥形瓶：250mL。

C.4 培养基和试剂

C.4.1 PCA 平板计数琼脂培养基。

C.4.2 无菌生理盐水，分散剂（含 0.5%吐温 80 的无菌生理盐水）。

C.5 操作步骤

C.5.1 无菌操作，准确称量被检样品 25g 加入到装有 225mL 含有分散剂并带玻璃珠的无菌生理盐水的 250mL 锥形瓶中，于恒温振荡器上（设温度 20°C ，转速 250rpm）均质 30min，制备成 10^{-1} 菌悬液，从中吸取 2mL 菌悬液于冻存管中，浸入 80°C 水浴中处理 10min。

C.5.2 取出水浴加热的菌液冻存管，迅速放入常温水中冷却至室温。

C.5.3 依照微生物学操作技术，将菌液进行 10 倍梯度稀释，分别制备 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} …… 10^{-10} 稀释液，每递增稀释梯度一次，需更换一支枪头。

C.5.4 根据对菌粉中芽孢数量的估计，选取连续的 2-3 个合适的稀释度（使得培养结束后至少有一个稀释度的培养皿中有 30-300CFU）进行测数。

C.5.5 将稀释液涡旋混匀后，吸取稀释液 1mL，加入预先标注稀释度的无菌培养皿中，每个稀释度重复 3 套培养皿。同时分别吸取 1mL 无菌生理盐水加入 3 套无菌培养皿中做空白对照。

C.5.6 将融化并冷却至 45℃左右的平板计数培养基（可在 45℃恒温水浴锅中预置）倾注于培养皿中，小心轻转培养皿，使样品充分混匀。

C.5.7 待培养基凝固后，倒置放入培养箱。

C.6 结果与报告

C.6.1 菌落计数的计算方法

C.6.1.1 若只有一个稀释平板上的菌落数在适宜计数范围内，计算三个平板菌落数的平均值，再将平均值乘以相应稀释倍数，作为每 g (mL) 样品中菌落总数结果。

C.6.1.2 若有两个连续稀释度平板菌落数在适宜范围内，按式（1）计算

$$N = \sum C / (n_1 + 0.1n_2) d \dots\dots\dots$$

式中：

N——样品中菌落数；

$\sum C$ ——平板（含适宜范围菌落数的平板）菌落数之和；

n_1 ——第一稀释度（低稀释倍数）平板个数；

n_2 ——第二稀释度（高稀释倍数）平板个数；

d——稀释因子（第一稀释度）。

示例：

稀释度	1:100（第一稀释度）	1:1000（第二稀释度）
菌落数（CFU）	232, 244	33, 35

$$N = \sum C / (n_1 + 0.1n_2) d = (232 + 244 + 33 + 35) / [2 + (0.1 \times 2)] \times 10^{-2} = 24727$$

上述数据按 6.2.2 修约后，表示为 25000 或 2.5×10^4 。

C.6.1.3 若所有稀释度的平板上菌落数均大于 300CFU，则对稀释度最高的平板进行计数，其他平板可记录为多不可计，结果按平均菌落数乘以最高稀释倍数计算。

C.6.1.4 若所有稀释度的平板上菌落数均小于 30CFU，则应按稀释度最低的平均菌落数乘以稀释倍数计算。

C.6.1.5 若所有稀释度（包括液体样品原液）平板均无菌落生长，则以 1 乘以最低稀释倍数计算。

C.6.1.6 若所有稀释度的平板菌落数均不在 30–300CFU 之间，其中一部分小于 30CFU 或大于 300CFU 时，则以最接近 30CFU 或 300CFU 的平均菌落数乘以稀释倍数计算。

C.6.2 菌落总数的报告

C. 6. 2. 1 菌落数小于 100CFU，按“四舍五入”原则修约，以整数报告。

C. 6. 2. 2 菌落数大于或等于 100CFU 时，第三位数字采用“四舍五入”原则修约后，取前 2 位数字，后面用 0 代替位数；也可用 10 的指数形式来表示，按“四舍五入”原则修约后，采用 2 位有效数字。

C. 6. 2. 3 若所有平板上为蔓延菌落无法计数，则报告菌落蔓延。

C. 6. 2. 4 若空白对照上有菌落生长，则此次检测结果无效。

C. 6. 2. 5 称重取样以 CFU/g 为单位报告，体积取样以 CFU/mL 为单位报告。

H N

Q B

编制说明

本标准适用于以凝结芽孢杆菌 (*Bacillus coagulans*) 为菌种, 以食用葡萄糖、蛋白胨、酵母粉、麦芽糊精为原料, 同时加入食用盐 (氯化钠)、食品添加剂 (碳酸钙)、食品加工助剂 (磷酸二氢钾、氨水、硫酸镁、硫酸铵、乙酸钠中的一种或几种) 中的一种或几种, 经接种、发酵、离心、乳化、喷雾干燥, 混合加入或不加入麦芽糊精、乳粉、食用葡萄糖中的一种或多种, 包装制成的凝结芽孢杆菌粉。根据《中华人民共和国食品安全法》和《中华人民共和国标准化法》的有关规定, 制订本企业标准, 作为组织生产、质量控制和监督检查依据。

本标准中铅指标严于食品安全国家标准 GB 2762 的规定。

H N

上海嘉冠生物科技有限公司许昌分公司

Q B