



412628S-2022

漯河微康生物科技有限公司企业标准

Q/LHWK 0037S-2022

即食型益生菌粉

2022-09-19 发布

2022-09-19 实施

漯河微康生物科技有限公司 发布

前 言

本标准中附录 A、附录 B、附录 C、附录 D、附录 E 为规范性附录。

本标准由漯河微康生物科技有限公司提出并起草。

本标准主要起草人：夏九学、白海平、李占峰、张悦、栗青青。

H N

Q B

即食型益生菌粉

1 范围

本标准规定了即食型益生菌粉的分类和命名、要求、检验方法、检验规则等。

本标准适用于以青春双歧杆菌粉、动物双歧杆菌（乳双歧杆菌）粉、两歧双歧杆菌粉、短双歧杆菌粉、婴儿双歧杆菌粉、长双歧杆菌粉、嗜酸乳杆菌粉、干酪乳杆菌粉、卷曲乳杆菌粉、德氏乳杆菌保加利亚亚种（保加利亚乳杆菌）菌粉、德氏乳杆菌乳亚种菌粉、发酵乳杆菌粉、格氏乳杆菌粉、瑞士乳杆菌粉、约氏乳杆菌粉、副干酪乳杆菌粉、植物乳杆菌粉、罗伊氏乳杆菌粉、鼠李糖乳杆菌粉、唾液乳杆菌粉、嗜热链球菌粉、乳酸乳球菌乳酸亚种菌粉、乳酸乳球菌乳脂亚种菌粉、乳酸乳球菌双乙酰亚种菌粉、费氏丙酸杆菌谢氏亚种菌粉、肠膜明串珠菌肠膜亚种菌粉、乳酸片球菌粉、戊糖片球菌粉、小牛葡萄球菌粉、木糖葡萄球菌粉、肉葡萄球菌粉、清酒乳杆菌粉、弯曲乳杆菌粉、产丙酸丙酸杆菌粉、凝结芽孢杆菌粉、马克斯克鲁维酵母粉、灭活益生菌粉中的一种或多种，配以食品加工用酵母粉、低聚果糖、低聚木糖、低聚甘露糖、低聚异麦芽糖、麦芽糖、乳糖、葡萄糖、白砂糖、水苏糖、壳寡糖、海藻糖、燕麦 β -葡聚糖、酵母 β -葡聚糖、L-阿拉伯糖、棉籽低聚糖、塔格糖、乳清粉、食用淀粉（马铃薯淀粉、玉米淀粉、土豆淀粉、小麦淀粉、木薯淀粉中的一种或几种）、菊粉、乳粉、酶解燕麦粉、鱼油粉、植脂末（葡萄糖浆、精炼植物油、乳粉、单双甘油脂肪酸酯、硬脂酰乳酸钠、磷酸氢二钠、二氧化硅、胭脂树橙、食品用香精）、食用植物酵素（以桃、木瓜、苹果、橙、芒果、水蜜桃、火龙果、猕猴桃、櫻桃、石榴、柑橘、西柚、荔枝、红枣、青梅、南瓜、胡萝卜、番茄、生姜、香芋、山药、西瓜、无花果、桑椹、杏、草莓、黄桃、菠萝、雪梨、柠檬、香蕉、山楂、洋葱、苦瓜、黄瓜、冬瓜、圆白菜、西兰花、芹菜、菠菜、紫甘蓝、青椒、马蹄、板栗、苜蓿苗、大麦苗、小麦苗、葡萄、山竹、沙棘、油菜、玉米、紫菜头中的一种或几种为原料，添加麦芽糊精、菠萝蛋白酶、 α -淀粉酶、脂肪酶、酵母中一种或几种）、椰子粉、猴头菇粉、发酵酸奶粉、速溶豆粉、白芸豆粉、红豆粉、藕粉、黑姜粉、黑豆粉、小麦苗粉、大麦苗粉、杭菊粉、绿茶粉、玉米须粉、黑米粉、高粱粉、燕麦粉、荞麦粉、人参粉（人工种植5年及5年以下）、燕麦麸皮粉、食用螺旋藻粉（钝顶螺旋藻、极大螺旋藻）、可可粉、咖啡粉、银耳浓缩粉、植物提取物（水煮提取物）【白扁豆提取物、百合提取物、大枣提取物、丁香提取物、茯苓提取物、甘草提取物、核桃仁提取物、黑枸杞提取物、猴头菇提取物、金银花提取物、桔梗提取物、橘皮提取物、莱菔子提取物、莲子提取物、马齿苋提取物、麦芽提取物、苜蓿提取物、青果提取物、人参（人工种植5年及5年以下）提取物、桑叶提取物、砂仁提取物、山药提取物、山楂提取物、生姜提取物、杏仁提取物、益智仁提取物、紫苏提取物中的一种或几种】、棕榈油粉、鸡内金粉、薏苡仁粉、荷叶粉、薄荷粉、益智仁粉、茯苓粉、紫苏粉、桑叶粉、枳椇子粉、白扁豆粉、莲子粉、山楂粉、酸枣粉、罗汉果粉、麦芽粉、牡蛎粉、火麻仁、余甘子、沙棘、白果粉、芡实粉、菊花粉（怀菊粉、杭菊粉、贡菊粉）、砂仁粉、葛根粉、山药粉、黑芝麻粉、黄精粉、蜂蜜粉、果蔬粉（百香果果粉、草莓水果粉、橙子粉、枸杞果粉、黑枸杞冻干果粉、苦瓜粉、蓝莓粉、梨粉、柳橙水果粉、蔓越莓粉、芒果粉、猕猴桃果粉、柠檬

水果粉、青柠粉、桑椹粉、山楂粉、树莓粉、水蜜桃粉、甜橙粉、西柚水果粉、香蕉粉、雪梨粉、血橙粉、椰子粉、樱桃粉、菠菜粉、番茄粉、枸杞粉、沙棘粉、山药粉中的一种或几种)、食品加工用植物蛋白(大豆、豌豆、蚕豆、小麦、玉米、大米、燕麦、马铃薯中的一种或几种)、乳清蛋白粉、水解胶原蛋白(食用明胶)、浓缩牛奶蛋白、酪蛋白、胶原蛋白肽、小麦低聚肽、鱼胶原蛋白、大豆肽粉、玉米低聚肽粉、海洋鱼低聚肽粉、大豆蛋白粉、抗性糊精、麦芽糊精、异麦芽酮糖醇、圆苞车前子壳、奇亚籽、雨生红球藻、磷脂酰丝氨酸、蛋白核小球藻、茶叶茶氨酸、蛹虫草、植物甾醇、梨果仙人掌、DHA藻油、辣木叶、中链甘油三酯、抹茶、酵母抽提物、食用盐、食品添加剂【赤藓糖醇、乳糖醇、半乳甘露聚糖、DL-苹果酸、维生素C(抗坏血酸)(抗氧化剂)、柠檬酸、柠檬酸钠、乳酸、木糖醇、罗汉果甜苷、微晶纤维素、阿拉伯胶、瓜尔胶、海藻酸钾(又名褐藻酸钾)、海藻酸钠(又名褐藻酸钠)、黄原胶(又名汉生胶)、辛烯基琥珀酸淀粉钠、碳酸钙(包括轻质和重质碳酸钙)、谷氨酸钠(味精)、甲基纤维素中的一种或几种】、柠檬味香精、柠檬味粉末香精、薄荷味粉末香精、抹茶香精(粉末)、鲜奶粉末香精、谷物粉末香精、口味优化香精、蓝莓粉末香精的一种或多种为原料,经配料、混合、制粒或不制粒、包装而成的即食型益生菌粉(以下简称“产品”)。

2 分类和命名

2.1 分类

2.1.1 根据添加菌种活性,可分为活菌型和杀菌型(或灭活型)。

2.1.2 根据生产工艺是否造粒,可分为颗粒型和粉末型。

2.2 命名

产品根据添加菌种类别命名,添加乳酸菌菌粉的命名为即食型益生菌粉(即食型益生菌菌粉)或即食型冻干粉、益生菌粉;添加乳酸菌菌粉和非乳酸菌菌粉的命名为即食型益生菌粉(即食型益生菌菌粉)或益生菌粉。

3 要求

3.1 原辅料

3.1.1 青春双歧杆菌粉、动物双歧杆菌(乳双歧杆菌)粉、两歧双歧杆菌粉、短双歧杆菌粉、婴儿双歧杆菌粉、长双歧杆菌粉、嗜酸乳杆菌粉、干酪乳杆菌粉、卷曲乳杆菌粉、德氏乳杆菌保加利亚亚种(保加利亚乳杆菌)菌粉、德氏乳杆菌乳亚种菌粉、发酵乳杆菌粉、格氏乳杆菌粉、瑞士乳杆菌粉、约氏乳杆菌粉、副干酪乳杆菌粉、植物乳杆菌粉、罗伊氏乳杆菌粉、鼠李糖乳杆菌粉、唾液乳杆菌粉、嗜热链球菌粉、乳酸乳球菌乳酸亚种菌粉、乳酸乳球菌乳脂亚种菌粉、乳酸乳球菌双乙酰亚种菌粉、费氏丙酸杆菌谢氏亚种菌粉、肠膜明串珠菌肠膜亚种菌粉、乳酸片球菌粉、戊糖片球菌粉、小牛葡萄球菌粉、木糖葡萄球菌粉、肉葡萄球菌粉、清酒乳杆菌粉、弯曲乳杆菌粉、产丙酸丙酸杆菌粉应符合附录E的规定。

3.1.2 凝结芽孢杆菌粉应符合卫生计生委2016年第6号公告以及附录A的规定。

3.1.3 马克斯克鲁维酵母粉、食品加工用酵母粉应符合GB 31639的规定。

3.1.4 灭活益生菌粉应符合附录C的规定。

3.1.5 低聚果糖应符合GB/T 23528.2的规定。

- 3.1.6 低聚木糖应符合GB/T 35545的规定。
- 3.1.7 低聚甘露糖应符合卫生计生委2013年第10号公告的规定。
- 3.1.8 低聚异麦芽糖应符合GB/T 20881的规定。
- 3.1.9 麦芽糖应符合GB/T 20883 的规定。
- 3.1.10 乳糖应符合GB 25595的规定。
- 3.1.11 葡萄糖应符合GB/T 20880和GB 15203的规定。
- 3.1.12 白砂糖应符合GB/T 317和GB 13104的规定。
- 3.1.13 水苏糖应符合QB/T 4260的规定。
- 3.1.14 壳寡糖应符合卫生部2014年第6号公告的规定。
- 3.1.15 海藻糖应符合GB/T 23529的规定。
- 3.1.16 燕麦 β -葡聚糖应符合卫生计生委2014年第20号公告的规定。
- 3.1.17 酵母 β -葡聚糖应符合卫生部2010年第9号公告的规定。
- 3.1.18 L-阿拉伯糖应符合QB/T 4321和卫生部2008年第12号公告的规定。
- 3.1.19 酶解燕麦粉、椰子粉、猴头菇粉、发酵酸奶粉、白芸豆粉、红豆粉、黑姜粉、黑豆粉、小麦苗粉、大麦苗粉、杭菊粉、玉米须粉、黑米粉、高粱粉、燕麦粉、燕麦麸皮粉、咖啡粉、白扁豆提取物、百合提取物、大枣提取物、丁香提取物、茯苓提取物、甘草提取物、核桃仁提取物、黑枸杞提取物、猴头菇提取物、金银花提取物、桔梗提取物、橘皮提取物、莱菔子提取物、莲子提取物、马齿苋提取物、麦芽提取物、苜蓿提取物、青果提取物、人参（人工种植5年及5年以下）提取物、桑叶提取物、砂仁提取物、山药提取物、山楂提取物、生姜提取物、杏仁提取物、益智仁提取物、紫苏提取物、棕榈油粉、鸡内金粉、薏苡仁粉、荷叶粉、薄荷粉、益智仁粉、茯苓粉、紫苏粉、桑叶粉、枳椇子粉、白扁豆粉、莲子粉、山楂粉、酸枣粉、罗汉果粉、麦芽粉、牡蛎粉、火麻仁、余甘子、沙棘、白果粉、芡实粉、银耳浓缩粉应符合GB/T 29602的规定。
- 3.1.20 棉籽低聚糖、植物甾醇应符合卫生部2010年第3号公告的规定。
- 3.1.21 塔格糖、奇亚籽、圆苞车前子壳、蛹虫草应符合卫生计生委2014年第10号公告的规定。
- 3.1.22 乳清粉和乳清蛋白粉应符合GB 11674的规定。
- 3.1.23 食用淀粉应符合GB 31637的规定。
- 3.1.24 菊粉应符合卫生部2009年第5号公告的规定。
- 3.1.25 乳粉、浓缩牛奶蛋白应符合GB 19644的规定。
- 3.1.26 鱼油粉应符合卫生部2009年第18号公告的规定。
- 3.1.27 植脂末应符合QB/T 4791的规定。
- 3.1.28 速溶豆粉应符合GB/T 18738的规定。
- 3.1.29 藕粉应符合GB/T 25733的规定。
- 3.1.30 绿茶粉应符合NY/T 2672的规定。
- 3.1.31 荞麦粉应符合GB/T 35028的规定。

- 3.1.32 人参粉（人工种植5年及5年以下）应符合卫生部2012年第17号公告的规定。
- 3.1.33 食用螺旋藻粉应符合GB/T 16919的规定。
- 3.1.34 可可粉应符合GB/T 20706的规定。
- 3.1.35 菊花粉应符合GB/T 20353的规定。
- 3.1.36 砂仁粉应符合DB52/T 543的规定。
- 3.1.37 葛根粉应符合GB/T 30637的规定。
- 3.1.38 山药粉应符合GB/T 20351的规定。
- 3.1.39 黑芝麻粉应符合GB/T 11761和GB 19300的规定。
- 3.1.40 黄精粉应符合DB34/T 3014的规定。
- 3.1.41 蜂蜜粉应符合GB 14963的规定。
- 3.1.42 果蔬粉（百香果果粉、草莓水果粉、橙子粉、枸杞果粉、黑枸杞冻干果粉、苦瓜粉、蓝莓粉、梨粉、柳橙水果粉、蔓越莓粉、芒果粉、猕猴桃果粉、柠檬水果粉、青柠粉、桑椹粉、山楂粉、树莓粉、水蜜桃粉、甜橙粉、西柚水果粉、香蕉粉、雪梨粉、血橙粉、椰子粉、樱桃粉、菠菜粉、番茄粉、枸杞粉、沙棘粉、山药粉）应符合GB/T 29602的规定。
- 3.1.43 食品加工用植物蛋白应符合GB 20371的规定。
- 3.1.44 水解胶原蛋白应符合QB 2732的规定。
- 3.1.45 酪蛋白应符合GB 31638的规定。
- 3.1.46 胶原蛋白肽应符合GB 31645的规定。
- 3.1.47 小麦低聚肽应符合QB/T 5298和卫生部2012年第16号公告的规定。
- 3.1.48 鱼胶原蛋白应符合SB/T 10634的规定。
- 3.1.49 大豆肽粉应符合GB/T 22492的规定。
- 3.1.50 玉米低聚肽粉应符合QB/T 4707和卫生部2010年第15号公告的规定。
- 3.1.51 海洋鱼低聚肽粉应符合GB/T 22729的规定。
- 3.1.52 大豆蛋白粉应符合GB/T 22493、GB/T29602的规定。
- 3.1.53 抗性糊精应符合卫生部2012年第16号公告的规定。
- 3.1.54 麦芽糊精应符合GB/T 20882.6的规定。
- 3.1.55 雨生红球藻应符合GB/T 30893和卫生部2010年第17号公告的规定。
- 3.1.56 磷脂酰丝氨酸应符合卫生部2010年第15号公告的规定。
- 3.1.57 蛋白核小球藻、梨果仙人掌应符合卫生部2012年第19号公告的规定。
- 3.1.58 茶叶茶氨酸应符合卫生计生委2014年第15号公告的规定。
- 3.1.59 DHA藻油应符合LS/T 3243和卫生部2010年第3号公告的规定。
- 3.1.60 辣木叶应符合NY/T 3604和卫生部2012年第19号公告的规定。
- 3.1.61 中链甘油三酯应符合GB 2716的规定。
- 3.1.62 抹茶应符合GB/T 34778的规定。

- 3.1.63 酵母抽提物应符合GB/T 20886.2的规定。
- 3.1.64 食用盐应符合GB 2721的规定。
- 3.1.65 赤藓糖醇应符合GB 26404的规定。
- 3.1.66 乳糖醇应符合GB 1886.98 的规定。
- 3.1.67 半乳甘露聚糖应符合GB 1886.301的规定。
- 3.1.68 DL-苹果酸应符合GB 25544的规定。
- 3.1.69 维生素C（抗坏血酸）应符合GB 14754的规定。
- 3.1.70 柠檬酸应符合GB 1886.235的规定。
- 3.1.71 柠檬酸钠应符合GB 1886.25的规定。
- 3.1.72 维生素E应符合GB 1886.233的规定。
- 3.1.73 乳酸应符合GB 1886.173的规定。
- 3.1.74 木糖醇应符合GB 1886.234的规定。
- 3.1.75 罗汉果甜苷应符合GB 1886.77的规定。
- 3.1.76 微晶纤维素应符合GB 1886.103的规定。
- 3.1.77 阿拉伯胶应符合GB 29949的规定。
- 3.1.78 瓜尔胶应符合GB 28403的规定。
- 3.1.79 海藻酸钾(褐藻酸钾)应符合GB 29988的规定。
- 3.1.80 海藻酸钠（又名褐藻酸钠）应符合GB 1886.243的规定。
- 3.1.81 黄原胶（又名汉生胶）应符合GB 1886.41的规定。
- 3.1.82 辛烯基琥珀酸淀粉钠应符合GB 28303的规定。
- 3.1.83 碳酸钙（包括轻质和重质碳酸钙）应符合GB 1886.214的规定。
- 3.1.84 谷氨酸钠（味精）应符合GB/T 8967的规定。
- 3.1.85 甲基纤维素应符合GB 1886.256的规定。
- 3.1.86 柠檬味香精、柠檬味粉末香精、薄荷味粉末香精、抹茶香精(粉末)、鲜奶粉末香精、谷物粉末香精、口味优化香精、蓝莓粉末香精应符合GB 30616的规定。
- 3.1.87 食用植物酵素应符合QB/T 5323的规定。

3.2 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
色泽	具有产品应有的色泽	取适量的被测样品置于一洁净、干燥的无色玻璃皿中，在自然光线下用肉眼观察其色泽和组织状态、有无外来杂质，
滋味、气味	香气适中，滋味纯正，符合品种应有的滋味及气味， 无异味，无异臭	

组织状态	粉末状或颗粒状，无结块	并嗅其气味、品其滋味
杂质	无正常视力可见外来杂质	

3.3 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, %	≤ 7.0	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
展青霉素 ^a ，μg/kg	≤ 20	GB 5009.185
脲酶试验 ^b	阴性	GB/T 5009.183
氰化物 ^c （以HCN计），mg/kg	≤ 0.05	GB 5009.36

注：* 该指标严于食品安全国家标准 GB 2762 的规定。

a 仅适用于含苹果和山楂的产品。

b 仅适用于含大豆或含大豆蛋白的制品的产品。

c 仅适用于含杏仁或杏仁制品的产品，检测结果换算为以 HCN 计。

3.4 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
	I 型 ^f	II 型 ^f	III 型 ^f	
乳酸菌总数 ^b ，CFU/g	≥ 1×10 ⁶	1×10 ⁷	1×10 ⁸	GB 4789.35
凝结芽孢杆菌数 ^d ，CFU/g	≥ 1×10 ⁶	1×10 ⁷	1×10 ⁸	附录 B
菌落总数 ^e ，CFU/g	n=5, c=2, m=1000, M=50000			GB 4789.2
大肠菌群，CFU/g	n=5, c=2, m=10, M=100			GB 4789.3
霉菌，CFU/g	≤ 50			GB 4789.15
致病菌	沙门氏菌，/25g	n=5, c=0, m=0		GB 4789.4
	金黄色葡萄球菌，CFU/g	n=5, c=1, m=0, M=10		GB 4789.10

注：a 样品的采集及处理按 GB 4789.1 执行。

b. 适用于活菌型产品，仅含凝结芽孢杆菌的产品除外。

d. 适用于含凝结芽孢杆菌活菌型产品；

e 适用于杀菌型（灭活型）产品。

f. 产品选型根据宣称乳酸菌总数和（或）凝结芽孢杆菌数确定。

3.5 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。

3.6 食品生产加工过程卫生要求

应符合 GB 14881 和 GB 12695 的规定。

3.7 其他要求

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；农药残留限量应符合 GB 2763 的规定；兽药残留限量应符合 GB 31650 的规定；新食品原料的使用应符合国家相关公告的规定。

4 检验

出厂检验项目包括感官要求、水分、乳酸菌总数（或菌落总数、凝结芽孢杆菌数）、大肠菌群、霉菌、净含量及允许短缺量。型式检验按国家有关规定执行。

附录 A

(规范性附录)

凝结芽孢杆菌粉质量要求

A.1 原料来源

本规定适用于以凝结芽孢杆菌为原料，经接种、发酵、离心、乳化、杀菌（或不杀菌）、干燥、粉碎、标准化、包装等制成的凝结芽孢杆菌粉。

A.2 指标要求

指标要求应符合 A.1 指标要求。

表 A.1 指标要求

项 目		要 求	检验方法
感 官 要 求	色泽	具有产品应有的色泽	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组织形态、杂质，并嗅其气味，温开水漱口，品其滋味
	滋味、气味	产品固有的发酵气味，无异味， 无不良气味，无异臭	
	组织形态	粉末状或颗粒状，无结块	
	杂质	无正常视力可见异物	
理 化 要 求	水分，% \leq	8.0	GB 5009.3
	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
微 生 物 要 求	凝结芽孢杆菌数 ^a ，CFU/g \geq	1×10^6	附录 B
	菌落总数 ^b ，CFU/g	n=5, c=2, m=1000, M=50000	GB 4789.2
	菌体数 ^c ，个 \geq	1×10^8	附录 C
	大肠菌群，CFU/g	n=5, c=2, m=10, M=100	GB 4789.3
	霉菌，CFU/g \leq	50	GB 4789.15
	致病菌	沙门氏菌，/25g	不得检出
金黄色葡萄球菌，/25g		不得检出	GB 4789.10

注：a. 适用于活菌型产品出厂时；b、c 适用于杀菌型（灭活型）产品出厂时。

附录 B

(规范性附录)

凝结芽孢杆菌数检测方法

B.1 范围

本规范规定了含凝结芽孢杆菌样品的检测方法。

本规范用于含凝结芽孢杆菌样品中凝结芽孢杆菌的检验和计数。

B.2 术语与定义

凝结芽孢杆菌芽孢总数

含凝结芽孢杆菌样品经过处理后，在一定条件下（如培养基、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。

B.3 设备和材料

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：

B.3.1 天平：精度为 0.01 g；

B.3.2 移液枪：20-200 μ L、1mL；

B.3.3 涡旋混匀器；

B.3.4 培养箱：42 \pm 1 $^{\circ}$ C

B.3.5 恒温振荡器

B.3.6 恒温水浴锅

B.3.7 培养皿：直径为 90 mm

B.3.8 枪头：100 μ L、1mL

B.3.9 冻存管：2 mL

B.3.10 锥形瓶：250 mL

B.4 培养基和试剂

B.4.1 培养基配方

酵母浸粉 5.0g

葡萄糖 5.0g

蛋白胨 10.0g

牛肉膏 5.0g

NaCl 250mg

CaCl₂ 150mg

MnSO₄·H₂O 100mg

L-半胱氨酸盐酸盐 500mg

琼脂粉 15.0g

pH5.0-5.5 定容 1000mL

B.4.2 稀释液配方

0.1%的蛋白胍水溶液，分散剂（含0.5%吐温80）（备注：试管内梯度稀释液不含0.5%吐温80）

B.5 操作步骤

B.5.1 无菌操作，准确称取1g样品加入到盛有99g含有分散剂并带玻璃珠的0.1%蛋白胍水溶液的250 mL锥形瓶中，于恒温振荡器上（设定温度20℃，速度250rpm）均质30 min，制备成 10^{-2} 的菌悬液，从中吸取2mL菌悬液于冻存管中，浸入80℃水浴中处理10 min。

B.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

B.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^{-3} ， 10^{-4} ， 10^{-5} ，… 10^{-10} 稀释液。每递增稀释梯度一次，需更换一支枪头。

B.5.4 根据对样品中芽孢数量的估计，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30-300 CFU）进行检测。

B.5.5 通过涡旋振荡器混匀，从试管内液体旋转至底部开始计时，约10-15S，每个稀释度吸取1.0 mL样品匀液于无菌平皿内，每个稀释度做三个平皿。同时分别吸取1 mL空白无菌稀释液加入3套无菌培养皿内做空白对照。

B.5.6 将冷却至46℃左右的培养基（可在46℃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。

B.5.7 待培养基凝固后，倒置放入培养箱， $42 \pm 1^\circ\text{C}$ 培养48 h。

B.6 结果与报告

B.6.1 菌落计数的计算方法

B.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。

B.6.1.2 若有两个连续稀释度的平板菌落数在适宜计数范围内，按式（1）计算。

$$N = \frac{\sum c}{(n_1 + 0.1n_2)d} \dots\dots\dots$$

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

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

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

B.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。

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

B.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。

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

B.6.2 菌落总数的报告

B.6.2.1 菌落数小于 100 CFU 时，按“四舍五入”原则修约，以整数报告。

B.6.2.2 菌落数大于或等于 100 CFU 时，第 3 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，采用两位有效数字。

B.6.2.3 若所有平板上为蔓延菌落而无法计数，则报告菌落蔓延。

B.6.2.4 若空白对照上有菌落生长，则此次检测结果无效。

B.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。

附录 C

(规范性附录)

灭活益生菌粉质量要求

C.1 原料来源

本规定适用于以益生菌为原料，经接种、发酵、离心、乳化、杀菌、冻干、粉碎、标准化、包装等制成的灭活益生菌粉。

C.2 指标要求

指标要求应符合 C.1 指标要求

表 C.1 指标要求

项目		要求	检验方法
感官要求	色泽	具有产品应有的色泽	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组织形态，杂质，并嗅其气味，温开水漱口，品其滋味
	滋味、气味	产品固有的发酵气味，无异味，无不良气味，无异臭	
	组织形态	粉末状或颗粒状，无结块	
	杂质	无正常视力可见异物	
理化要求	水分，%	≤ 8.0	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
微生物要求	菌落总数，CFU/g	n=5, c=2, m=1000, M=50000	GB 4789.2
	菌体数，个	≥ 1×10 ⁸	附录 D
	大肠菌群，CFU/g	n=5, c=2, m=10, M=100	GB 4789.3
	霉菌，CFU/g	≤ 50	GB 4789.15
	致病菌	沙门氏菌，/25g	不得检出
金黄色葡萄球菌，/25g		不得检出	GB 4789.10

附录 D
（规范性附录）
菌体数检测方法

D.1 范围

本规范规定了菌体数检测方法。

本规范用于菌体数的检验和计数。

D.2 术语与定义

菌体数

含益生菌的样品，在一定条件下（如培养基、培养温度和培养时间等）培养后，所得每 g(mL) 检样中形成灭活菌细胞数（灭活后乳酸菌细胞数）。

D.3 设备和材料

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：

D.3.1 显微镜

D.3.2 血球计数板

D.3.3 涡旋混匀器

D.3.4 载玻片

D.3.5 盖玻片

D.3.6 毛细血管

D.4 操作步骤

D.4.1 镜检计数室：在加样前，先对计数板的计数室进行镜检，若有污物，则需清洗、吹干后进行计数；

D.4.2 制备细胞悬液：视待测菌悬液浓度，对样品进行 10 倍梯度稀释，稀释程度以每小格的菌数可数为度（以 5-10 个菌为宜）；

D.4.3 加菌悬液样品：将清洁干燥的血球计数板盖上盖玻片，再用无菌的毛细滴管吸取少许摇匀的菌悬液，从计数板中间平台两侧的沟槽内滴一小滴，让菌液沿缝隙靠毛细渗透作用自动进入计数室，用吸水纸吸去多余水液，计数室内不能有气泡，静置 5-10 分钟，使细胞沉降于计数板上；

D.4.4 显微镜计数：将血球计数板放置于显微镜的载物台上夹稳，先在低倍镜下找到计数区后，再转换高倍镜观察并计数；

D.4.5 计数时若计数区是由 16 个大方格组成，按对角线方位，数左上、左下、右上、右下的 4 个大方格（即 100 小格）的菌数。如果是 25 个大方格组成的计数区，除数上述四个大方格外，还需数中央 1 个大方格的菌数（即 80 个小格）。为保证计数的准确性并避免重复计数和漏记，在计数时，对沉降在格线上的细胞的统计应有统一的规定。如菌体位于大方格的双线上，计数时则数上线不数下线，数左线不数右线，以减少误差（即位于本格上线和左线上的细胞计入本格，本格的下线和右线上的细胞按规定计入相应的格中）；

D.4.6 每个样品重复计数 2-3 次（每次数值不应相差过大，否则应重新操作），按公式计算出每 mL (g)

菌悬液所含细胞数量;

(1) 16 格×25 格血球计数板计算公式:

细胞数/mL=100 小格内细胞个数/100×400×10⁴×稀释倍数

(2) 25 格×16 格血球计数板计算公式:

细胞数/mL=80 小格内细胞个数/80×400×10⁴×稀释倍数

H N

Q B

附录 E
(规范性附录)
益生菌粉质量要求

E.1 原料来源

本规定适用于以益生菌为原料，经接种、发酵、离心、乳化、杀菌、干燥、粉碎、标准化、包装等制成的益生菌粉。

E.2 指标要求

指标要求应符合 D.1 指标要求

表 E.1 指标要求

项目		要求	检验方法	
感官要求	色泽	具有产品应有的色泽	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组织形态，杂质，并嗅其气味，温开水漱口，品其滋味	
	滋味、气味	产品固有的发酵气味，无异味，无不良气味，无异臭		
	组织形态	粉末状或颗粒状，无结块		
	杂质	无正常视力可见异物		
理化要求	水分，% \leq	5.0	GB 5009.3	
	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	
微生物要求	乳酸菌数 ^a ，CFU/g \geq	1×10^6	GB 4789.35	
	菌落总数，CFU/g	n=5, c=2, m=1000, M=50000	GB 4789.2	
	大肠菌群，CFU/g	n=5, c=2, m=10, M=100	GB 4789.3	
	霉菌，CFU/g \leq	50	GB 4789.15	
	致病菌	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
		单核细胞增生李斯特氏菌，/25g	不得检出	GB 4789.30

编制说明

本标准适用于以青春双歧杆菌粉、动物双歧杆菌（乳双歧杆菌）粉、两歧双歧杆菌粉、短双歧杆菌粉、婴儿双歧杆菌粉、长双歧杆菌粉、嗜酸乳杆菌粉、干酪乳杆菌粉、卷曲乳杆菌粉、德氏乳杆菌保加利亚亚种（保加利亚乳杆菌）菌粉、德氏乳杆菌乳亚种菌粉、发酵乳杆菌粉、格氏乳杆菌粉、瑞士乳杆菌粉、约氏乳杆菌粉、副干酪乳杆菌粉、植物乳杆菌粉、罗伊氏乳杆菌粉、鼠李糖乳杆菌粉、唾液乳杆菌粉、嗜热链球菌粉、乳酸乳球菌乳酸亚种菌粉、乳酸乳球菌乳脂亚种菌粉、乳酸乳球菌双乙酰亚种菌粉、费氏丙酸杆菌谢氏亚种菌粉、肠膜明串珠菌肠膜亚种菌粉、乳酸片球菌粉、戊糖片球菌粉、小牛葡萄球菌粉、木糖葡萄球菌粉、肉葡萄球菌粉、清酒乳杆菌粉、弯曲乳杆菌粉、产丙酸丙酸杆菌粉、凝结芽孢杆菌粉、马克斯克鲁维酵母粉、灭活益生菌粉中的一种或多种，配以食品加工用酵母粉、低聚果糖、低聚木糖、低聚甘露糖、低聚异麦芽糖、麦芽糖、乳糖、葡萄糖、白砂糖、水苏糖、壳寡糖、海藻糖、燕麦 β -葡聚糖、酵母 β -葡聚糖、L-阿拉伯糖、棉籽低聚糖、塔格糖、乳清粉、食用淀粉（马铃薯淀粉、玉米淀粉、土豆淀粉、小麦淀粉、木薯淀粉中的一种或几种）、菊粉、乳粉、酶解燕麦粉、鱼油粉、植脂末（葡萄糖浆、精炼植物油、乳粉、单双甘油脂肪酸酯、硬脂酰乳酸钠、磷酸氢二钠、二氧化硅、胭脂树橙、食品用香精）、食用植物酵素（以桃、木瓜、苹果、橙、芒果、水蜜桃、火龙果、猕猴桃、樱桃、石榴、柑橘、西柚、荔枝、红枣、青梅、南瓜、胡萝卜、番茄、生姜、香芋、山药、西瓜、无花果、桑椹、杏、草莓、黄桃、菠萝、雪梨、柠檬、香蕉、山楂、洋葱、苦瓜、黄瓜、冬瓜、圆白菜、西兰花、芹菜、菠菜、紫甘蓝、青椒、马蹄、板栗、苜蓿苗、大麦苗、小麦苗、葡萄、山竹、沙棘、油菜、玉米、紫菜头中的一种或几种为原料，添加麦芽糊精、菠萝蛋白酶、 α -淀粉酶、脂肪酶、酵母中一种或几种）、椰子粉、猴头菇粉、发酵酸奶粉、速溶豆粉、白芸豆粉、红豆粉、藕粉、黑姜粉、黑豆粉、小麦苗粉、大麦苗粉、杭菊粉、绿茶粉、玉米须粉、黑米粉、高粱粉、燕麦粉、荞麦粉、人参粉（人工种植5年及5年以下）、燕麦麸皮粉、食用螺旋藻粉（钝顶螺旋藻、极大螺旋藻）、可可粉、咖啡粉、银耳浓缩粉、植物提取物（水煮提取物）【白扁豆提取物、百合提取物、大枣提取物、丁香提取物、茯苓提取物、甘草提取物、核桃仁提取物、黑枸杞提取物、猴头菇提取物、金银花提取物、桔梗提取物、橘皮提取物、莱菔子提取物、莲子提取物、马齿苋提取物、麦芽提取物、苜蓿提取物、青果提取物、人参（人工种植5年及5年以下）提取物、桑叶提取物、砂仁提取物、山药提取物、山楂提取物、生姜提取物、杏仁提取物、益智仁提取物、紫苏提取物中的一种或几种】、棕榈油粉、鸡内金粉、薏苡仁粉、荷叶粉、薄荷粉、益智仁粉、茯苓粉、紫苏粉、桑叶粉、枳椇子粉、白扁豆粉、莲子粉、山楂粉、酸枣粉、罗汉果粉、麦芽粉、牡蛎粉、火麻仁、余甘子、沙棘、白果粉、芡实粉、菊花粉（怀菊粉、杭菊粉、贡菊粉）、砂仁粉、葛根粉、山药粉、黑芝麻粉、黄精粉、蜂蜜粉、果蔬粉（百香果果粉、草莓水果粉、橙子粉、枸杞果粉、黑枸杞冻干果粉、苦瓜粉、蓝莓粉、梨粉、柳橙水果粉、蔓越莓粉、芒果粉、猕猴桃果粉、柠檬水果粉、青柠粉、桑椹粉、山楂粉、树莓粉、水蜜桃粉、甜橙粉、西柚水果粉、香蕉粉、雪梨粉、血橙粉、椰子粉、樱桃粉、菠菜粉、番茄粉、枸杞粉、沙棘粉、山药粉中的一种或几种）、食品加工用植物蛋白（大豆、豌豆、蚕豆、小麦、玉米、大米、燕麦、马铃薯中的一种或几种）、乳清蛋白粉、水解胶原蛋白（食用明胶）、浓缩牛奶蛋白、酪蛋白、胶原蛋白肽、小麦低聚肽、鱼胶原蛋白、大豆肽粉、玉

米低聚肽粉、海洋鱼低聚肽粉、大豆蛋白粉、抗性糊精、麦芽糊精、异麦芽酮糖醇、圆苞车前子壳、奇亚籽、雨生红球藻、磷脂酰丝氨酸、蛋白核小球藻、茶叶茶氨酸、蛹虫草、植物甾醇、梨果仙人掌、DHA藻油、辣木叶、中链甘油三酯、抹茶、酵母抽提物、食用盐、食品添加剂【赤藓糖醇、乳糖醇、半乳甘露聚糖、DL-苹果酸、维生素C（抗坏血酸）（抗氧化剂）、柠檬酸、柠檬酸钠、乳酸、木糖醇、罗汉果甜苷、微晶纤维素、阿拉伯胶、瓜尔胶、海藻酸钾（又名褐藻酸钾）、海藻酸钠（又名褐藻酸钠）、黄原胶（又名汉生胶）、辛烯基琥珀酸淀粉钠、碳酸钙（包括轻质和重质碳酸钙）、谷氨酸钠（味精）、甲基纤维素中的一种或几种】、柠檬味香精、柠檬味粉末香精、薄荷味粉末香精、抹茶香精（粉末）、鲜奶粉末香精、谷物粉末香精、口味优化香精、蓝莓粉末香精的一种或多种为原料，经配料、混合、制粒或不制粒、包装而成的即食型益生菌粉（以下简称“产品”）。

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。

漯河微康生物科技有限公司