

ICS
CCS

T/SDAS

团 体 标 准

T/SDAS × × × × — × × × ×

灭活益生菌粉

2021 - × × - × × 发布

2021 - × × - × × 实施

山东标准化协会 发布

前 言

本文件按照 GB/T 1.1 - 2020 《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由山东环亿生物科技有限公司提出。

本文件由山东标准化协会归口。

本文件起草单位：山东环亿生物科技有限公司、高质标准化研究（山东）有限公司。

本文件主要起草人：张起凡、刘朋朋、刘鹏。

灭活益生菌粉

1 范围

本文件规定了灭活益生菌粉的术语和定义、产品分类和命名、生产工艺、技术要求和检验方法、检验规则、标签、包装、运输和贮存等内容。

本文件适用于灭活益生菌粉的加工和销售。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过对文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新的版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

- GB/T 191 包装储运图示标志
- GB 1886.187 食品安全国家标准 食品添加剂 山梨糖醇和山梨糖醇液
- GB 2760 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准
- GB 2762 食品安全国家标准 食品中污染物限量
- GB 4789.3 食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠菌群计数
- GB 4789.4 食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验
- GB 4789.5 食品安全国家标准 食品微生物学检验 志贺氏菌检验
- GB 4789.10 食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验
- GB 4789.15 食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数
- GB 4789.35 食品安全国家标准 食品微生物学检验 乳酸菌检验
- GB 5009.3 食品安全国家标准 食品中水分的测定
- GB 5009.11 食品中总砷及无机砷的测定
- GB 5009.12 食品安全国家标准 食品中铅的测定
- GB 7718 食品安全国家标准 预包装食品标签通则
- GB/T 8884 玉米淀粉
- GB 19644 食品安全国家标准 脱脂奶粉
- GB/T 20880 食用葡萄糖
- GB/T 20881 低聚异麦芽糖
- GB/T 20884 麦芽糊精
- GB/T 23528 低聚果糖
- GB 25533 食品安全国家标准 食品添加剂 果胶
- GB 25541 食品安全国家标准 食品添加剂 聚葡萄糖
- GB 28050 食品安全国家标准 预包装食品营养标签通则
- GB 28307 食品安全国家标准 食品添加剂 麦芽糖醇和麦芽糖醇液
- GB 30616 食品安全国家标准 食品用香精
- GB/T 35545 低聚木糖

QB/T 4575 食品加工用乳酸菌

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

灭活益生菌粉

可用于食品的益生菌菌种经原辅料灭菌 检验、冷却、发酵、灭活、离心、干燥、混合调配等工艺加工，可添加糖或甜味剂等一种或几种食品原辅料和食品添加剂。

4 生产工艺

原辅料灭菌检验→冷却→加入菌种→发酵→灭活→离心→提取→包被→干燥→混合调配→包装→检验→入库。

5 技术要求和检验方法

5.1 原辅料

5.1.1 青春双歧杆菌、动物双歧杆菌（乳双歧杆菌）、两歧双歧杆菌、短双歧杆菌、婴儿双歧杆菌、长双歧杆菌、嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌、约氏乳杆菌、副干酪乳杆菌、植物乳杆菌、保加利亚乳杆菌、罗伊氏乳杆菌、鼠李糖乳杆菌、唾液乳杆菌、嗜热链球菌的要求参见《可用于食品的菌种名单》。

5.1.2 肠膜明串珠菌肠膜亚种的要求参见《关于食品中使用菌种标签标示有关问题的复函 卫办监督函（2013）367 号的》。

5.1.3 乳酸片球菌、戊糖片球菌的要求参见《关于批准壳寡糖等 6 种新食品原料的公告（2014 年第 6 号）》。

5.1.4 清酒乳杆菌的要求参见《关于批准番茄籽油等 9 种新食品原料的公告（2014 年第 20 号）》。

5.1.5 玉米淀粉应符合 GB/T 8884 的规定。

5.1.6 脱脂奶粉应符合 GB 19644 的规定。

5.1.7 食用葡萄糖应符合 GB/T 20880 的规定。

5.1.8 麦芽糊精应符合 GB/T 20884 的规定。

5.1.9 低聚果糖应符合 GB/T 23528 的规定。

5.1.10 低聚木糖应符合 GB/T 35545 的规定。

5.1.11 果胶应符合 GB 25533 的规定。

5.1.12 抗性糊精应符合卫生部 2012 年第 16 号公告的要求。

5.1.13 低聚异麦芽糖应符合 GB/T 20881 的规定。

5.1.14 聚葡萄糖应符合 GB 25541 的规定。

5.1.15 麦芽糖醇应符合 GB 28307 的规定。

5.1.16 山梨糖醇应符合 GB 1886.187 的规定。

5.2 感官要求

产品的感官要求应符合表2的规定。

表 1 感官指标

| 项目 | 要求 | 试验方法 |
|----|-----------|---|
| 色泽 | 灰白色或褐色 | 取 5g 左右样品置于一洁净的白色瓷盘中，在自然光线下用肉眼观察其色泽和外观形态，按标签上所述的使用方法与透明的玻璃烧杯内冲溶稀释后，立即嗅其气味，辨其滋味，静置 2min 后观察烧杯底部有无异物。 |
| 状态 | 粉末或细微颗粒 | |
| 气味 | 无不良气味 | |
| 杂质 | 无正常视力可见异物 | |

5.3 理化要求

理化指标应符合表3的规定。

表 2 理化指标

| 项目 | 指标 | 检验方法 |
|-----------------------------|-----------------|------------|
| 水分 / (g / 100 g) | ≤ 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 |
| 食品添加剂 | 应符合 GB 2760 的要求 | |

5.4 有效成分指标

有效成分指标应符合表4的规定。

表 3 有效成分指标

| 项目 | 指标 | 检验方法 |
|------------------|-------------------|------|
| 灭活益生菌数 (个 / g) | ≥ 1×10^9 | 附录A |

5.5 微生物指标

微生物指标应符合表5的规定。

表 5 微生物指标

| 项目 | 指标 | 检验方法 |
|--|---|-------------|
| 大肠菌群 / (CFU/g) | 采样方案及限量: n=5, c=2, M=10 | GB 4789.3 |
| 酵母和霉菌 / (CFU/g) | 采样方案及限量: n=5, c=2, M=50 | GB 4789.153 |
| 沙门氏菌 | 采样方案及限量: n=5, c=0, m=0/25g | GB 4789.4 |
| 金黄色葡萄球菌 | 采样方案及限量: n=5, c=1, m=100 cfu/g, M=1 000 cfu/g | GB 4789.10 |
| 注: n 为同一批次产品应采集的样品件数; c 为最大可允许超出 m 值的样品数; m 为致病菌指标可接受水平的限量值; M 为致病菌指标的最高安全限量值。 | | |

5.6 净含量及允许短缺量

应符合国家质量监督检验检疫总局 [2005] 第 75 号令《定量包装商品计量监督管理办法》的规定。

5.7 生产加工过程

卫生要求应符合 GB 14881 的规定。

6 检验规则

6.1 组批

由同一次投料、同一班次、同一条生产线生产的包装完好的产品为一批。

6.2 抽样

自同一组批产品中，按检验项目的要求随机抽取不得少于 8 袋(瓶)或不得少于 500 g 样品。

6.3 出厂检验

6.3.1 每批产品出厂前生产单位都应按本标准进行出厂检验，检验合格并附合格证的产品方可出厂。

6.3.2 出厂检验项目包括感官要求、水分、灭活益生菌数、大肠菌群、酵母和霉菌、净含量。

6.4 型式检验

型式检验项目包括 5.2、5.3、5.4、5.5、5.6 的全部项目。正常生产时每半年进行一次，当出现下列情况之一时亦应进行型式检验：

- 正式生产后，原料来源发生较大变化，可能影响产品质量时；
- 产品停产 3 个月以上，恢复生产时；
- 出厂检验结果与上一次型式检验结果有较大差异时；
- 国家食品安全监管部门提出要求时。

6.5 判定规则

检验项目全部符合本标准判为合格品；如有不合格项，允许对不合格项目进行加倍抽样复检，以复检结果为准。若复检结果仍有不合格项，则判定该批产品不合格。微生物指标不得复检。

7 标签、包装、运输和贮存

7.1 标签、标志

7.1.1 产品的标签应符合 GB 7718 和 GB 28050 的规定。

7.1.2 运输包装的储运图示标志应标明：产品名称、生产公司名称及地址、净含量/规格、生产日期、保质期及符合 GB/T 191 的包装储运图示标志的有关规定。

7.2 包装

7.2.1 包装材料和容器应符合相应的包装材料卫生标准及国家有关规定。

7.2.2 包装应干燥、清洁、无异味、无毒无害。

7.3 运输

7.3.1 运输工具应清洁、干燥、无异味、无污染；运输时应防雨、防潮、防暴晒。

7.3.2 不得与有毒、有污染、有异味的物品混装、混运。

7.3.3 装卸时应轻搬轻放，不得重压。

6.4 贮存

本品易吸潮，应贮存于阴凉、通风、干燥的地方；禁止与有毒、有害物质共存。对于已开封尚未用完部分应封好保存，并且尽快使用完毕。

7.4 保质期

在符合上述包装、运输、贮存条件下，本产品自生产日期起保质期为 36 个月。

附录 A
(规范性)
显微计数法

A.1 基本原理

A.1.1 微生物细胞显微计数法中的血球计数板——血球计数法或细菌计数板——细菌计数法对样品中的细胞进行计数，以检测样品中灭活乳酸菌粉总细胞数含量。

A.1.2 利用血球计数板在显微镜下直接计数，是一种常用的微生物计数方法。此法的优点是直观、快速。将经过适当稀释的菌悬液放在血球计数板载玻片与盖玻片之间的计数室中，在显微镜下进行计数。由于计数室的容积是一定的（ 0.1 mm^3 ），所以可以根据在显微镜下观察到的微生物数目来换算成单位体积内的微生物总数目。由于此法计得的是活菌体和死菌体的总和，故又称为总菌体计数法。

A.1.3 血球计数板，通常是一块特制的载玻片，其上由四条槽构成三个平台（见图 A.1）。中间的平台又被一短横槽隔成两半，每一边的平台上各刻有一个方格网，每个方格网共分九个大方格，中间的大方格即为计数室，微生物的计数就在计数室中进行。

A.1.4 计数室的刻度一般有两种规格，一种是一个大方格分成 16 个中方格，而每个中方格又分成 25 个小方格；另一种是一个大方格分成 25 个中方格，而每个中方格又分成 16 个小方格。但无论是哪种规格的计数板，每一个大方格中的小方格数都是相同的，即 $16 \times 25 = 400$ 小方格。

A.1.5 每一个大方格边长为 1 mm，则每一大方格的面积为 1 mm^2 ，盖上盖玻片后，载玻片与盖玻片之间的高度为 0.1 mm，所以计数室的容积为 0.1 mm^3 。

A.1.6 在计数时，通常数五个中方格的总菌数，然后求得每个中方格的平均值，再乘上 16 或 25，就得出一个大方格中的总菌数，然后再换算成 1 mL 菌液中的总菌数。

A.1.7 下面以一个大方格有 25 个中方格的计数板为例进行计算：

——设五个中方格中细胞总数为 A，菌液（样品）稀释倍数为 B，那么，一个大方格中的总菌数

——因 $1 \text{ mL} = 1 \text{ cm}^3 = 1000 \text{ mm}^3$ （即 0.1 mm^3 中的细胞总数）为 $A/5 \times 25 \times B$ 。

——故 1 mL 菌液（1 g 样品）中的细胞总数 = $A/5 \times 25 \times 10 \times 1000 \times B = 50000 A \times B$ （个）

——同理，如果是 16 个中方格的计数板，设五个中方格的细胞总数为 A'，菌液（样品）稀释倍数为 B 则：1 mL 菌液（1 g 样品）中细胞总数 = $A' / 5 \times 16 \times 10 \times 1000 \times B' = 32000 A' \times B'$ （个）。

A.2 器材与药品

血球计数板、电子天平（有效位数 0.01 g）、显微镜（带 40 倍物镜和油镜）、载玻片、盖玻片、无菌毛细管、无菌蒸馏水。

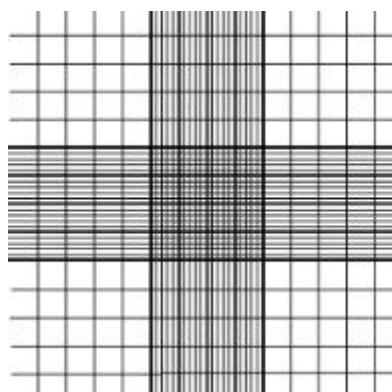


图 A.1 血球计数板及方格

A.3 计数步骤

A.3.1 制备细胞悬液：视待测菌悬液浓度，取1g菌粉样品，加入 100 ml 无菌水震荡混匀，进行 10 倍梯度稀释，稀释程度以每小格的菌数清晰可数为度。

A.3.2 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。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 min ~ 10 min，使细胞沉降于计数板上。

A.3.3 显微镜计数。将血球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。

A.3.4 计数时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）。

A.3.5 每个样品取样 3 批次，每批次重复计数3次以上（两个数相差 1 个数量级的舍弃），按公式计算出每 mL (g) 菌悬液所含细胞数量。

A.3.6 清洗血球计数板。测数完毕，取下盖玻片，用水将血球计数板冲洗干净，切勿用硬物洗刷或抹擦，以免损坏网格刻度。洗净后自行晾干或用吹风机吹干，放入盒内保存。

参 考 文 献

- [1] 《可用于食品的菌种名单》的通知 卫办监督发（2010）65号
 - [2] 关于食品中使用菌种标签标示有关问题的复函 卫办监督函（2013）367号
 - [3] 关于批准壳寡糖等6种新食品原料的公告（2014年第6号）
 - [4] 关于批准番茄籽油等9种新食品原料的公告（2014年第20号）
-