



413735S-2025

漯河微康益生菌生物科技有限公司企业标准

Q/LHWK 0003S-2025

益生菌粉

2025-12-26 发布

2025-12-26 实施

漯河微康益生菌生物科技有限公司 发布

前 言

本标准附录 A、附录 B、附录 C、附录 D、附录 E、附录 F 为规范性附录。

本标准由漯河微康益生菌生物科技有限公司提出。

本标准由河南省口岸食品检验检测所和河南省食品药品检验所共同起草。

本标准主要起草人：方曙光、夏九学、徐建忠、于永超、陈卓。

H N

Q B

益生菌粉

1 范围

本标准规定了益生菌粉的分类、要求、检验方法、检验规则等。

本标准适用于以青春双歧杆菌、动物双歧杆菌动物亚种菌、动物双歧杆菌乳亚种菌、两歧双歧杆菌、短双歧杆菌、长双歧杆菌婴儿亚种菌、长双歧杆菌长亚种、嗜酸乳杆菌、干酪乳酪杆菌、卷曲乳杆菌、德氏乳杆菌保加利亚亚种菌、德氏乳杆菌乳亚种、发酵粘液乳杆菌、格氏乳杆菌、瑞士乳杆菌、约氏乳杆菌、副干酪乳酪杆菌、植物乳植杆菌、罗伊氏粘液乳杆菌、鼠李糖乳酪杆菌、唾液乳杆菌、弯曲乳杆菌、嗜热链球菌、乳酸乳球菌乳酸亚种、乳酸乳球菌双乙酰亚种、费氏丙酸杆菌谢氏亚种、肠膜明串珠菌肠膜亚种、马克斯克鲁维酵母、乳酸片球菌、戊糖片球菌、小牛葡萄球菌、木糖葡萄球菌、肉葡萄球菌、食品加工用酵母、清酒广布乳杆菌、产丙酸丙酸杆菌中的一种或多种为菌种，添加食用葡萄糖、乳糖、白砂糖、蛋白胨、酵母浸膏、牛肉浸粉、酵母浸粉、酵母蛋白胨、胡萝卜粉、大米蛋白粉、乳清蛋白粉、大豆蛋白胨、小麦低聚肽、酵母抽提物、食用盐、低聚木糖、麦芽糖、麦芽糊精、水苏糖、低聚异麦芽糖、异麦芽酮糖醇、乳粉、食用马铃薯淀粉、食用玉米淀粉、低聚果糖、菊粉、海藻糖、抗性糊精、食品加工助剂[氨水、吐温80、聚二甲基硅氧烷及其乳液、聚氧丙烯甘油醚、聚氧丙烯氧化乙烯甘油醚、氯化铵、二氧化硅、乙酸钠、氯化钾、氯化镁、硫酸镁、硫酸钠、氯化钙、碳酸钠、氢氧化钠、碳酸镁、碳酸钾、硫酸铵、硫酸锌、硫酸铜、氢氧化钾、硫酸、磷酸二氢钾、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、硫酸锰]中的几种，经过接种、发酵，加入或不加入食品添加剂[木糖醇、乳糖醇、赤藓糖醇、黄原胶、柠檬酸钠、柠檬酸钾、柠檬酸、微晶纤维素、海藻酸钠(又名褐藻酸钠)、海藻酸钾(褐藻酸钾)、谷氨酸钠、阿拉伯胶、抗坏血酸(维生素C)、抗坏血酸钠、抗坏血酸钙、乳酸钠、甲基纤维素、D-异抗坏血酸、磷脂、甘油、D-异抗坏血酸钠中的一种或几种]，经离心、乳化、杀菌或不杀菌、干燥后、混合加入或不加入葡萄糖、麦芽糊精、玉米淀粉、马铃薯淀粉中的一种或多种，包装制成的益生菌粉。用于食品加工食品原料。

2 分类

- 2.1 根据菌体是否进行杀菌处理，分为“活菌型和杀菌型”；
- 2.2 根据使用菌种类，添加一种菌株的为单菌型，添加两种及以上混合的菌粉为复合型。

3 要求

3.1 原辅料要求

3.1. 青春双歧杆菌、动物双歧杆菌动物亚种菌、动物双歧杆菌乳亚种菌、两歧双歧杆菌、短双歧杆菌、长双歧杆菌婴儿亚种菌、长双歧杆菌长亚种、嗜酸乳杆菌、干酪乳酪杆菌、卷曲乳杆菌、德氏乳杆菌保加利亚亚种菌、德氏乳杆菌乳亚种、发酵粘液乳杆菌、格氏乳杆菌、瑞士乳杆菌、约氏乳杆菌、副干酪乳酪杆菌、植物乳植杆菌、罗伊氏粘液乳杆菌、鼠李糖乳酪杆菌粉、唾液乳杆菌、弯曲乳杆菌、嗜热链球菌、乳酸乳球菌乳酸亚种、乳酸乳球菌双乙酰亚种、费氏丙酸杆菌谢氏亚种、肠膜明串珠菌肠膜亚种、马克斯克鲁维酵母、乳酸片球菌、戊糖片球菌、小牛葡萄球菌、木糖葡萄球菌、肉葡萄球菌、清酒广布乳杆菌、产丙酸丙酸杆菌、马克斯克鲁维酵母应符合GB 31639的规定。

- 3.1.3 食用盐应符合 GB 2721 的规定。
- 3.1.4 乳粉应符合 GB 19644 的规定。
- 3.1.5 食用葡萄糖应符合 GB/T 20882.1 和 GB 15203 的规定。
- 3.1.6 麦芽糖应符合 GB/T 20882.5 和 GB 15203 的规定。
- 3.1.7 低聚果糖应符合 GB/T 23528.2 的规定。
- 3.1.8 麦芽糊精应符合 GB/T 20882.6 和 GB 15203 的规定。
- 3.1.9 海藻糖应符合 GB/T 20882.7 的规定。
- 3.1.10 酵母抽提物应符合 GB/T 20886.2 的规定。
- 3.1.11 乳糖应符合 GB 25595 的规定。
- 3.1.12 白砂糖应符合 GB/T 317 和 GB 13104 的规定。
- 3.1.13 食用马铃薯淀粉应符合 GB/T 8884 和 GB 31637 的规定。
- 3.1.14 食用玉米淀粉应符合 GB/T 8885 和 GB 31637 的规定。
- 3.1.15 水苏糖应符合 QB/T 4260 的规定。
- 3.1.16 异麦芽酮糖醇应符合 QB/T 4486 的规定。
- 3.1.17 低聚异麦芽糖应符合 GB/T 23528.4 的规定。
- 3.1.18 低聚木糖应符合 GB/T 23528.3 的规定。
- 3.1.19 食品加工用酵母应符合 GB 31639 的规定。
- 3.1.20 菊粉应符合卫生部 2009 年第 5 号公告的规定。
- 3.1.21 乳清蛋白粉应符合 GB 11674 的规定。
- 3.1.22 木糖醇应符合 GB 1886.234 的规定。
- 3.1.23 乳糖醇应符合 GB 1886.98 的规定。
- 3.1.24 赤藓糖醇应符合 GB 26404 的规定。
- 3.1.25 磷脂应符合 GB 1886.358 的规定。
- 3.1.26 抗坏血酸（维生素 C）应符合 GB 14754 的规定。
- 3.1.27 抗性糊精应符合卫生部 2012 年第 16 号公告。
- 3.1.28 小麦低聚肽应符合卫生部 2012 年第 16 号公告。
- 3.1.29 碳酸钠应符合 GB 1886.1 的规定。
- 3.1.30 氢氧化钠应符合 GB 1886.20 的规定。
- 3.1.31 柠檬酸钠应符合 GB 1886.25 的规定。
- 3.1.32 D-异抗坏血酸钠应符合 GB 1886.28 的规定。
- 3.1.33 黄原胶应符合 GB 1886.41 的规定。
- 3.1.34 抗坏血酸钙应符合 GB 1886.43 的规定。
- 3.1.35 抗坏血酸钠应符合 GB 1886.44 的规定。

- 3.1.36 氯化钙应符合 GB 1886.45 的规定。
- 3.1.37D-异抗坏血酸应符合 GB 1886.49 的规定。
- 3.1.38 柠檬酸钾应符合 GB 1886.74 的规定。
- 3.1.39 柠檬酸应符合 GB 1886.235 的规定。
- 3.1.40 海藻酸钠（又名褐藻酸钠）应符合 GB 1886.243 的规定。
- 3.1.41 甲基纤维素应符合 GB 1886.256 的规定。
- 3.1.42 微晶纤维素应符合 GB 1886.103 的规定。
- 3.1.43 谷氨酸钠符合 GB/T 8967 的规定。
- 3.1.44 乳酸钠应符合 GB 25537 的规定。
- 3.1.45 吐温 80 应符合 GB 25554 的规定。
- 3.1.46 磷酸二氢钾应符合 GB 1886.337 的规定。
- 3.1.47 磷酸二氢钠应符合 GB 1886.336 的规定。
- 3.1.48 磷酸氢二钠应符合 GB 1886.329 的规定。
- 3.1.49 硫酸锌应符合 GB 25579 的规定。
- 3.1.50 氯化镁应符合 GB 25584 的规定。
- 3.1.51 氯化钾应符合 GB 25585 的规定。
- 3.1.52 碳酸镁应符合 GB 25587 的规定。
- 3.1.53 碳酸钾应符合 GB 25588 的规定。
- 3.1.54 氨水应符合 GB 29201 的规定。
- 3.1.55 硫酸铵应符合 GB 29206 的规定。
- 3.1.56 硫酸镁应符合 GB 29207 的规定。
- 3.1.57 硫酸钠应符合 GB 29209 的规定。
- 3.1.58 阿拉伯胶应符合 GB 29949 的规定。
- 3.1.59 甘油应符合 GB 29950 的规定。
- 3.1.60 海藻酸钾（褐藻酸钾）应符合 GB 29988 的规定。
- 3.1.61 乙酸钠应符合 GB 30603 的规定。
- 3.1.62 二氧化硅应符合 GB 25576 的规定。
- 3.1.63 氯化铵应符合 GB 31631 的规定。
- 3.1.64 胡萝卜粉应符合 GB/T 29602 的规定。
- 3.1.65 聚二甲基硅氧烷及其乳液应符合 GB 30612 的规定。
- 3.1.66 大米蛋白粉应符合附录 B 的规定。
- 3.1.67 蛋白胨、酵母蛋白胨、大豆蛋白胨应符合附录 C 的规定。
- 3.1.68 酵母浸膏应符合附录 D 的规定。

- 3.1.69 牛肉浸粉应符合附录 E 的规定。
- 3.1.70 酵母浸粉应符合附录 A 的规定。
- 3.1.71 硫酸锰应符合 GB 29208 的规定。
- 3.1.72 聚氧丙烯甘油醚应符合 GB 1886.297 的规定。
- 3.1.73 聚氧丙烯氧化乙烯甘油醚应符合 GB 1886.298 的规定。
- 3.1.74 硫酸铜应符合 GB 29210 的规定。
- 3.1.75 氢氧化钾应符合 GB 25575 的规定。
- 3.1.76 硫酸应符合 GB 29205 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	

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, %	≤ 8.0	GB 5009.3
总砷* (以 As 计), mg/kg	≤ 1.0	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 31639的规定。

3.4 微生物限量

微生物指标应符合表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	
乳酸菌总数 ^a , CFU/g	≥	1×10 ¹⁰			GB 4789.35
菌体数 ^b , 个/g	≥	1×10 ¹⁰			见附录 F

菌落总数 ^b , CFU/g	5	2	10000	50000	GB 4789. 2
大肠菌群, CFU/g	5	2	10	100	GB 4789. 3
霉菌, CFU/g	≤	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
注 1: a 仅限于活菌型产品, b 适用于杀菌型产品。					
注 2: 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 为微生物指标可接受水平的限量值; M 为微生物指标的最高安全限量值。					

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 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。

4 检验

出厂检验项目包括感官要求、水分、乳酸菌总数(仅限活菌型)、菌体数(仅限杀菌型)、菌落总数(仅限杀菌型)、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)
酵母浸粉质量要求

A.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。

A.2 指标要求

指标要求应符合表A.1的规定。

表A.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组织形态、杂质,并嗅其气味,温开水漱口,品其滋味。
	滋味	具有酵母浸粉所特有的气味,无腐败 异臭	
	组织形态	粉状	
	杂质	无正常视力可见外来杂质	
理化要求	总氮(以干基计), %	≥ 9.0	GB 5009.5
	氨基酸态氮(以干基计), %	≥ 3.0	GB/T 20886.2
	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, mg/kg	≤ 1.0	GB 5009.12
	总砷, mg/kg	≤ 0.5	GB 5009.11
微生物要求	菌落总数, CFU/g	≤ 50000	GB 4789.2
	大肠菌群, MPN/g	≤ 0.3	GB 4789.3
	霉菌和酵母菌, CFU/g	≤ 20	GB 4789.15
	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B

(规范性附录)

大米蛋白粉质量要求

B.1 原料来源

本规定适用于以大米为原料，从中提取的蛋白质，经粉碎、提纯、干燥等工序制成的粉状产品。

B.2 指标要求

指标要求应符合表B.1的规定。

表B.1 指标要求

项目		指标	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。
	滋气味	具有大米蛋白粉特有的气味，无异味	
	组织形态	粉末状	
	杂质	无正常视力可见外来异物	
理化要求	蛋白质，% \geq	35	GB 5009.5
	脂肪，% \leq	10.0	GB 5009.6
	水分，% \leq	8.0	GB 5009.3
	灰分（以干基计），% \leq	6.0	GB 5009.4
	铅（以Pb计），mg/kg \leq	0.2	GB 5009.12
	总汞（以Hg计），mg/kg \leq	0.02	GB 5009.17
	总砷（以As计），mg/kg \leq	0.5	GB 5009.11
	铬（以Cr计），mg/kg \leq	1.0	GB 5009.123
	镉（以Cd计），mg/kg \leq	0.1	GB 5009.15
苯并[a]芘， $\mu\text{g}/\text{kg}$ \leq	2.0	GB 5009.27	
微生物指标			
微生物要求	菌落总数，CFU/g \leq	30000	GB 4789.2
	大肠菌群，MPN/100g \leq	90	GB 4789.3
	霉菌和酵母菌，CFU/g \leq	30	GB 4789.15
	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=100, M=1000	GB 4789.10

附录C

(规范性附录)

蛋白胨、酵母蛋白胨、大豆蛋白胨质量要求

C.1 原料来源

本规定适用于以新鲜动物骨头为原料，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）或将纯培养的高蛋白面包酵母，经分离富集酵母蛋白处理和复合酶作用，制得的一种稳定、安全且营养全面的酵母蛋白胨或以大豆为原料，经粉碎、酶解、分离提取、干燥等工序制成的粉状蛋白胨。

C.2 指标要求

指标要求应符合表C.1的规定。

项目		蛋白胨 (动物源)	酵母 蛋白胨	大豆蛋白胨	检验方法
感官 要求	色泽	微黄色至棕色粉末	灰白色至浅棕色	浅黄色至乳白色	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组织形态、杂质，并嗅其气味，温开水漱口，品其滋味
	滋气味	具有产品应有气味	具有产品应有气味	具有产品应有气味	
	组织形态	粉状	粉状	粉状	
	杂质	无正常视力可见外来杂质	无正常视力可见外来杂质	无正常视力可见外来杂质	
理化 要求	总氮（以干基计），% \geq	14.5	8.0	8.0	GB 5009.5
	氨基酸态氮（以干基计），% \geq	1.5	1.5	2.0	GB/T 20886.2
	水分，% \leq	6.0	6.0	7.0	GB 5009.3
	灰分（以干基计），% \leq	6.0	15.0	15.0	GB 5009.4
	氯化物（以NaCl计），% \leq	5.0	5.0	-	GB 5009.44
	pH（2%水溶液）	5.0-7.0	5.3-7.2	5.0-7.0	GB 5009.237
	胨含量，% \geq	20.0	20.0	-	GB/T 22492
	总砷（以As计），mg/kg \leq	0.5	1.5	2.0	GB 5009.11
	铬（以Cr计），mg/kg \leq	1.0	-	-	GB 5009.123
	镉（以Cd计），mg/kg \leq	0.1	-	-	GB 5009.15
	铅（以Pb计），mg/kg \leq	0.3	1.0	0.5	GB 5009.12
N-二甲基亚硝胺， $\mu\text{g}/\text{kg}$ \leq	3.0	-	-	GB 5009.26	
微生物 要	菌落总数，CFU/g \leq	10000	50000	50000	GB 4789.2
	大肠菌群，MPN/g \leq	0.3	0.3	0.3	GB 4789.3
	霉菌和酵母菌，CFU/g \leq	20	20	20	GB 4789.15
	沙门氏菌，/25g	n=5, c=0, m=0	不得检出	不得检出	GB 4789.4

求	金黄色葡萄球菌, CFU/g	n=5, c=1, m=100, M=1000	不得检出	不得检出	GB 4789.10
---	----------------	----------------------------	------	------	------------

表C.1 指标要求

HN

QB

附录D

(规范性附录)

酵母浸膏质量要求

D.1 原料来源

本规定适用于以纯化培养的高品质酵母为原料,采用生物定向降解、高速离心分离、高效低温浓缩等生物技术制备得到的酵母浸膏。

D.2 指标要求

指标要求应符合表D.1的规定。

表D.1指标要求

项目		指标	检验方法
感官要求	色泽	灰白色至浅棕色	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组织形态、杂质,并嗅其气味,温开水
	滋味	具有酵母浸膏应用的气味	
	组织形态	膏状	
	杂质	无正常视力可见外来杂质	
理化要求	总氮(除盐干基计), %	≥ 9.0	GB/T 20886.2
	氨基酸态氮(除盐干基计), %	≥ 3.0	GB/T 20886.2
	氨基酸态氮转化率, %	25.0-55.0	GB/T 20886.2
	铵盐(以氮计,以除盐干基计), %	≤ 2.0	GB/T 20886.2
	氯化钠, %	≤ 50	GB/T 20886.2
	水分, %	≤ 40.0	GB/T 20886.2
	灰分(除盐干基计), %	≤ 15.0	GB/T 20886.2
	pH	4.0-7.5	GB/T 20886.2
	钾, %	≤ 5.0	GB 5009.91
	不溶物, %	≤ 2.0	GB/T 20886.2
	谷氨酸, %	≤ 12.0	GB/T 20886.2
	总砷(以As计), mg/kg	≤ 0.5	GB 5009.11
铅(以Pb计), mg/kg	≤ 1.0	GB 5009.12	
微生物要求	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E

(规范性附录)

牛肉浸粉质量要求

E.1 原料来源

本规定适用于以新鲜的牛肉为原料，经热处理、过滤、水解、浓缩、干燥等工序制备得到的牛肉浸粉。

E.2 指标要求

指标要求应符合表E.1的规定。

表E.1 指标要求

项目		指标	检验方法
感 官 要 求	色泽	乳白色或浅黄色	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组织形态、杂质，并嗅其气味，温开水漱口，品其滋味。
	滋气味	具有牛肉浸粉特有的气味， 无异味	
	组织形态	粉末状	
	杂质	无正常视力可见外来杂质	
理 化 要 求	总氮（以干基计），% \geq	14.5	GB 5009.5
	氨基酸态氮，% \geq	2.0	GB/T 20886.2
	水分，% \leq	5.0	GB 5009.3
	灰分（以干基计），% \leq	5.0	GB 5009.4
	pH（2%水溶液）	5.0-6.0	GB 5009.237
	沉淀	无	适量样品溶于纯水观察
	透明度	澄清	适量样品溶于纯水观察
	总砷（以As计），mg/kg \leq	0.5	GB 5009.11
	铬（以Cr计），mg/kg \leq	1.0	GB 5009.123
	镉（以Cd计），mg/kg \leq	0.1	GB 5009.15
	铅（以Pb计），mg/kg \leq	0.3	GB 5009.12
N-二甲基亚硝胺， $\mu\text{g}/\text{kg}$ \leq	3.0	GB 5009.26	
微 生 物 要 求	菌落总数，CFU/g \leq	15000	GB 4789.2
	大肠菌群，MPN/100g \leq	90	GB 4789.3
	霉菌和酵母菌，CFU/g \leq	不得检出	GB 4789.15
	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=100, M=1000	GB 4789.10

附录 F
(规范性附录)
菌体数检测方法

F.1 显微镜计数

F.1.1 仪器与设备

- a) 冰箱： $-18\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ， $3\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- b) 天平：精度为 0.01g。
- c) 涡旋振荡器。
- d) 高压灭菌锅。
- e) 微量移液器（1000 μL 、10 μL ）。
- f) 细胞超声仪
- g) 生物显微镜

F.1.2 试剂与材料

- a) 无菌 0.85%生理盐水。
- b) 移液器及配套吸头（1000 μL 、10 μL ）。
- c) 无菌试管：15mm \times 180mm（18mm \times 150mm），或其他适用规格。
- d) 无菌蓝盖瓶：250mL，或其他可密封玻璃无菌容器。
- e) 无菌均质袋。
- f) 盖玻片。
- g) 计数板：规格 25*16 型，计数室底部到盖玻片深度 0.10 mm，计数室每个小方格面积 1/400(mm^2)

F.1.3 实验流程

F.1.3.1 实验准备：

F.1.3.1.1 器具及耗材：移液器吸头、洁净试管灭菌后烘干备用。蓝盖瓶预置玻璃珠灭菌后烘干备用。计数板、盖玻片清洁后吹干备用。

F.1.3.1.2 初步稀释及梯度稀释液制备：根据样品的活菌数范围计算所需梯度稀释试管数量，分别取灭菌后 9mL 稀释液于灭菌试管中，制备足够数量的试管，并轻轻扣上无菌橡胶试管塞；取灭菌后 250mL 稀释液于无菌蓝盖瓶或无菌均质袋中。

F.1.3.2 样品制备（初步稀释）

F.1.3.2.1 冷冻样品可先使其在 $2\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下解冻，时间不超过 18 h，也可在温度不超过 $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的条件解冻，时间不超过 15 min。

F. 1. 3. 2. 2 液体样品：液体样品应先将其充分摇匀后以无菌吸头吸取样品 1 mL 移入装有 9.0 mL 稀释液的试管中，充分振摇，制成 1:10 的样品匀液。

F. 1. 3. 2. 3 固体样品：以无菌操作称取 25.0 g 样品，置于装有 225 mL 稀释液的无菌蓝盖瓶中于 340 r/min 的摇摇机中旋转 1-2 min，制成 1:10 样品匀液。或置于装有 225 mL 无菌稀释液的无菌均质袋中，均质拍打 1-2 min，制成 1:10 样品匀液。

F. 1. 3. 3 梯度稀释

F. 1. 3. 2. 1 于 1:10 (1:100) 样品匀液中间部位缓慢吸取 1 mL，沿试管壁缓慢注入装有 9 mL 稀释液的试管中（注意枪头尖端不要触及稀释液）。稀释程度以每小格的菌数可数为度（以 3-10 个菌为宜）。

F. 1. 3. 2. 2 梯度稀释后，取最适稀释梯度试管作为检测试管，放入细胞超声仪中，变幅杆 2 号，功率 200W，超声 5s 静置 5s，总处理时长 1min。

F. 1. 3. 2. 3 计数加菌悬液前，需将处理后样品进行震荡摇匀处理。

注：每递增稀释一次，即换用 1 次 1 mL 无菌吸头。

F. 1. 3. 4 样品转移

F. 1. 3. 4. 1 将盖玻片对准计数区域盖下，并小心用手指压住盖玻片两端 10 s，使盖玻片充分与计数板贴合。

F. 1. 3. 4. 2 备好的样品匀液用微量移液器从血球计数板上样沟槽处缓慢加入样品悬浮液，让菌悬液利用液体的表面张力充满计数区，勿使气泡产生，并用吸水纸吸去沟槽中流出的多余菌悬液。

F. 1. 3. 5 计数

F. 1. 3. 5. 1 将计数板置于显微镜载物台，静置时长>10min，直至细菌沉降稳定。利用 10 倍低倍物镜找到计数区域视野，然后换成 100 倍物镜。

F. 1. 3. 5. 2 记录左上、右上、左下、右下、中间 5 个中格的细胞个数。

(1) 细胞处在方格的双线时应始终遵守计左不计右，计下不计上。

(2) 多个细胞相互附着时，附着在一起的菌应按 1 个计算，相互附着的细胞总数不应超过计数结果的 5%，否则应重新制备样品匀液。

(3) 每个中格的细胞个数应在 80~160，否则应重新调整样品匀液的稀释倍数。

F. 1. 3. 6 结果与报告

F. 1. 3. 6. 1 计算公式

菌体数个/g (mL) = 80 小格内细胞个数 / 80 × 400 × 104 × 稀释倍数。

F. 1. 3. 6. 2 修约原则

计算结果第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，单位为“个/g(mL)”或“cell/g(mL)”。

编制说明

本标准适用于以青春双歧杆菌、动物双歧杆菌动物亚种菌、动物双歧杆菌乳亚种菌、两歧双歧杆菌、短双歧杆菌、长双歧杆菌婴儿亚种菌、长双歧杆菌长亚种、嗜酸乳杆菌、干酪乳酪杆菌、卷曲乳杆菌、德氏乳杆菌保加利亚亚种菌、德氏乳杆菌乳亚种、发酵粘液乳杆菌、格氏乳杆菌、瑞士乳杆菌、约氏乳杆菌、副干酪乳酪杆菌、植物乳植杆菌、罗伊氏粘液乳杆菌、鼠李糖乳酪杆菌、唾液乳杆菌、弯曲乳杆菌、嗜热链球菌、乳酸乳球菌乳酸亚种、乳酸乳球菌双乙酰亚种、费氏丙酸杆菌谢氏亚种、肠膜明串珠菌肠膜亚种、马克斯克鲁维酵母、乳酸片球菌、戊糖片球菌、小牛葡萄球菌、木糖葡萄球菌、肉葡萄球菌、食品加工用酵母、清酒广布乳杆菌、产丙酸丙酸杆菌中的一种或多种为菌种，添加食用葡萄糖、乳糖、白砂糖、蛋白胨、酵母浸膏、牛肉浸粉、酵母浸粉、酵母蛋白胨、胡萝卜粉、大米蛋白粉、乳清蛋白粉、大豆蛋白胨、小麦低聚肽、酵母抽提物、食用盐、低聚木糖、麦芽糖、麦芽糊精、水苏糖、低聚异麦芽糖、异麦芽酮糖醇、乳粉、食用马铃薯淀粉、食用玉米淀粉、低聚果糖、菊粉、海藻糖、抗性糊精、食品加工助剂[氨水、吐温80、聚二甲基硅氧烷及其乳液、聚氧丙烯甘油醚、聚氧丙烯氧化乙烯甘油醚、氯化铵、二氧化硅、乙酸钠、氯化钾、氯化镁、硫酸镁、硫酸钠、氯化钙、碳酸钠、氢氧化钠、碳酸镁、碳酸钾、硫酸铵、硫酸锌、硫酸铜、氢氧化钾、硫酸、磷酸二氢钾、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、硫酸锰]中的几种，经过接种、发酵，加入或不加入食品添加剂[木糖醇、乳糖醇、赤藓糖醇、黄原胶、柠檬酸钠、柠檬酸钾、柠檬酸、微晶纤维素、海藻酸钠（又名褐藻酸钠）、海藻酸钾（褐藻酸钾）、谷氨酸钠、阿拉伯胶、抗坏血酸（维生素C）、抗坏血酸钠、抗坏血酸钙、乳酸钠、甲基纤维素、D-异抗坏血酸、磷脂、甘油、D-异抗坏血酸钠中的一种或几种]，经离心、乳化、杀菌或不杀菌、干燥后、混合加入或不加入葡萄糖、麦芽糊精、玉米淀粉、马铃薯淀粉中的一种或多种，包装制成的益生菌粉。用于食品加工食品原料。

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》的规定参照GB 31639《食品安全国家标准 食品加工用酵母》制定本企业标准，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 31639的规定。

漯河微康益生菌生物科技有限公司