

ICS 67.220.20
分类号: X 69
备案号: 43596-2013



中华人民共和国轻工行业标准

QB/T 4575—2013

食品加工用乳酸菌

Lactic acid bacteria for food process

2013-12-31 发布

2014-07-01 实施

中华人民共和国工业和信息化部 发布

前 言

本标准按照GB/T 1.1—2009给出的规则起草。

本标准技术指标参照ISO 27205 | IDF 149: 2010《用于发酵乳制品的细菌发酵剂》中的技术指标。

本标准由中国轻工业联合会提出。

本标准由全国食品发酵标准化中心归口。

本标准起草单位：丹尼斯克（中国）有限公司、科汉森（北京）贸易有限公司、润盈生物工程（上海）有限公司、帝斯曼（中国）有限公司、中国食品发酵工业研究院。

本标准主要起草人：张蔚、郭新光、文焱、刘虹、宋锦安、宋萃、杜建华、滕家琦、郝志华。

食品加工用乳酸菌

1 范围

本标准规定了食品加工用乳酸菌的术语和定义、分类、要求、试验方法、检验规则和标志、包装、运输、贮存。

本标准适用于以适宜的发酵用营养物质接种乳酸菌种，经发酵培养，浓缩等工艺制成的，用于乳及乳制品、肉制品、饮料、泡菜发酵及发酵剂以外的其他用途的食品加工用乳酸菌。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（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/T 601 化学试剂 标准滴定溶液的制备
- GB/T 602 化学试剂 杂质测定用标准溶液的制备
- GB/T 603 化学试剂 试验方法中所用制剂及制品的制备
- 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 4789.10 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 4789.30 食品安全国家标准 食品微生物学检验 单核细胞增生李斯特氏菌检验
- 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/T 6682—2008 分析实验室用水规格和试验方法
- GB 7718 预包装食品标签通则
- SN/T 0738 出口食品中肠杆菌科检验方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

乳酸菌 (LAB) *lactic acid bacterium (LAB)*

能使糖发酵、并产生大量乳酸的细菌的通称，不能液化明胶、也不产生吲哚、呈革兰氏阳性、无运动、无芽孢、触酶阴性反应、硝酸还原酶阴性反应和细胞色素氧化酶阴性反应的细菌。

注：本标准中所涉及的乳酸菌是食品加工业重要的食品原料，主要包括乳杆菌属 (*Lactobacillus*)、双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*)、链球菌属 (*Streptococcus*)、乳球菌属 (*Lactococcus*)、明串珠菌属 (*Leuconostoc*) 和片球菌属 (*Pediococcus*) 等。

3.2

乳酸菌发酵剂 *lactic acid bacterium starter cultures*

加入到乳类、肉类、水果、蔬菜等食品原料中，可带来预期的酶反应（如乳糖发酵产酸，乳酸降解成丙酸或其他代谢反应产生特定产物），使得发酵食品具有一定酸度、滋味、香味和变稠等特性的一种或多种乳酸菌菌种。

4 分类

4.1 按用途分为：

- 发酵剂；
 - 其他功能用途乳酸菌。
- 4.2 按菌种类型和菌株数分为：
- 单菌株乳酸菌：只含有一种明确菌株的乳酸菌产品；
 - 单菌种多菌株乳酸菌：含有一株以上属于同一种的乳酸菌产品；
 - 多菌种乳酸菌：含有一个种以上的乳酸菌产品。
- 4.3 按使用温度分为：
- 嗜温乳酸菌：使用温度在18℃~37℃的乳酸菌产品；
 - 嗜热乳酸菌：使用温度在30℃~45℃的乳酸菌产品。
- 4.4 按物理形态分为：
- 液体：以液体形式存在的乳酸菌产品；
 - 冷冻：以深度冷冻形式存在的乳酸菌产品；
 - 干燥：经冷冻或低温喷雾等方式以干燥形式存在的乳酸菌产品。
- 5 要求
- 5.1 乳酸菌种
应符合国家或行业相关规定。
- 5.2 感官
感官应符合表1规定。

表1 感官要求

项 目	要 求		
	液 体	冷 冻	干 燥
色 泽	白色至棕色		
气 味	具有乳酸菌特殊气味，无腐败，无异臭		
组织状态	混悬液，可有沉淀	不规则冻状固体	粉末或颗粒
杂 质	无肉眼可见异物		

- 5.3 理化
理化要求应符合表2的规定。

表2 理化要求

项 目	发 酵 剂			其 他 功 能 用 途		
	液 体	冷 冻	干 燥	液 体	冷 冻	干 燥
产酸活力 ^a (h或ΔpH)	符合产品标称			—		
发酵酸度 ^b (以乳酸计) /%	符合产品标称			—		
^a 适用于乳及乳制品、含乳饮料用乳酸菌发酵剂。 ^b 适用于饮料、肉制品、泡菜用乳酸菌发酵剂。						

- 5.4 微生物
- 5.4.1 乳酸菌微生物应符合表3的规定。

表3 乳酸菌微生物要求

项目	发酵剂			其他功能用途		
	液 体	冷 冻	干 燥	液 体	冷 冻	干 燥
乳酸菌活菌数/(CFU/g或CFU/mL)	≥			10 ⁸		
注：作为不同产品应用的发酵剂，乳酸菌活菌数及产酸活力或乳酸菌活菌数及发酵酸度可选择使用。						

5.4.2 其他微生物应符合表4的规定。

表4 其他微生物要求

项目	发酵剂			其他功能用途		
	液 体	冷 冻	干 燥	液 体	冷 冻	干 燥
酵母和霉菌/(CFU/g)	< 1	1	10	1	1	10
肠杆菌科/(CFU/g)	< 1	1	10	1	1	10
金黄色葡萄球菌/g	不应检出					
沙门氏菌/g	不应检出					
单核细胞增生李斯特氏菌/g	不应检出					
注：如产品中含有食品加工用酵母或霉菌，则不对产品中酵母和霉菌的限量做要求。						

6 试验方法

本标准所用试剂和水，在没有注明其他要求时，均指分析纯试剂和符合GB/T 6682—2008规定的三级水。试验中所用溶液在未注明用何种溶剂配制时，均指水溶液。

6.1 感官

取适量样品，在自然光线下，用肉眼观察样品的颜色和形态，检查有无杂质。

6.2 乳酸菌活菌数

按GB 4789.35进行测定。

注：按GB 4789.35中乳酸菌总数测定结果低于限值时，可加测嗜热链球菌数，数值纳入乳酸菌总数计算。

6.3 产酸活力

6.3.1 仪器和设备

pH计，精度0.01。

6.3.2 试剂和溶液

6.3.2.1 乳酸菌培养液的制备（10%）

将100g脱脂奶粉充分溶解于900mL 50℃的水中，缓慢搅拌后稳定20min，密封置于适当的容器中，于高压灭菌釜中110℃加热20min，待用。

6.3.2.2 NaOH标准溶液（0.1mol/L）

6.3.2.3 发酵剂样品溶液的制备

6.3.2.3.1 称取对应每100L奶接种量的菌粉，溶解于100mL相应发酵温度（根据产品标志）的乳酸菌培养液（6.3.2.1）中，摇动10min直到完全溶解。

6.3.2.3.2 从上述菌液用无菌移液管或移液枪均匀抽取10mL菌液，转移到90mL乳酸菌培养液（6.3.2.1）中，摇动1min直到分散均匀。

注：对于由多种菌发酵剂物理混合而成的产品，将单位包装产品充分溶解后，按规定量取样测定。

6.3.3 分析步骤

6.3.3.1 用0.1mol/L NaOH标准溶液调整待测乳酸菌培养液（6.3.2.1）的pH到6.6。

6.3.3.2 从无菌脱脂复原乳(6.3.2.3.2)中取出 10 mL, 转移到相应发酵温度(根据产品标志)的 990mL 的 pH 调整到 6.6 的无菌脱脂复原乳中(6.3.3.1), 摇动 1 min 后放置到相应发酵温度(根据产品标示)的恒温水浴锅或恒温箱中培养, 开始计时。

6.3.3.3 记录脱脂奶(6.3.3.2)达到标称 pH 的时间。

6.3.3.4 记录脱脂奶(6.3.3.2)标称时间内达到的 pH。

6.3.4 结果判定

产酸活力按下述方法进行判定:

—— 达到标称 pH 的时间;

—— 标称时间内 pH 的变化值。

注 1: 冷冻和干燥产品需在室温下放置 0.5 h~1 h 后方可使用。

注 2: 根据产品标志, 选择记录时间(6.3.3.3)或 pH(6.3.3.4)。

6.4 发酵酸度

6.4.1 原理

根据酸碱中和的原理, 用碱液滴定试液中的酸, 以酚酞为指示剂确定指示终点, 按碱液消耗的量计算样品中总酸含量。

6.4.2 仪器和设备

除实验室常用仪器外, 还需碱式滴定管: 25 mL。

6.4.3 试剂和溶液

6.4.3.1 1%酚酞指示剂: 按 GB/T 603 配制。

6.4.3.2 NaOH 标准滴定溶液(0.01 mol/L): 吸取 10 mL、0.1 mol/L 氢氧化钠溶液(按 GB/T 601 配制), 稀释至 100 mL, 用时当天稀释。

6.4.4 发酵用乳酸菌剂溶液的制备

称取或量取一定量的乳酸菌样品, 溶解于 80 mL 一定温度(根据产品标志)的水中, 定容至 100 mL, 使最终溶液的浓度控制在活菌数在 10^8 CFU/mL。

注: 对于由多种菌发酵剂物理混合而成的产品, 将单位包装产品充分溶解后, 按规定量取样测定。

6.4.5 发酵试样的制备

6.4.5.1 发酵饮料用试样的制备

量取新鲜压榨、打浆或者浓缩纯果蔬汁 500 mL(固形物浓度控制在 8 Brix~12 Brix 的浓度范围), 装入适当的容器内(容积为 600 mL~800 mL), 接种菌剂溶液(6.4.4) 1 mL, 37 °C 恒温培养 24 h。以乳酸为基准, 进行酸度滴定。

注: 调整浓度过程中用无菌水进行稀释。

6.4.5.2 发酵酸(泡)菜用试样的制备

选择新鲜, 漂洗干净的蔬菜 100 g, 腌渍蔬菜中心到蔬菜表面的厚度不超过 5 mm, 装入玻璃或陶制容器内, 在食盐浓度为 5% 的盐水腌渍下(按蔬菜重量大于盐水重量的同时, 确保蔬菜不应露出盐水表面), 接种菌剂溶液(6.4.4) 1 mL, 在 30 °C 下厌氧发酵, 培养 3 天。以乳酸为基准, 进行酸度滴定。

6.4.5.3 发酵肉制品用试样的制备

称取检疫合格的猪肉 100 g(猪肉脂肪 25 g, 净瘦肉 75 g, 混匀), 用搅拌机制成颗粒直径小于 0.5cm 的肉糜。添加葡萄糖 1 g、砂糖 1 g、食盐 1.5 g, 接种菌剂溶液(6.4.4) 1 mL, 搅拌、混合 3 min, 灌装成腊肠。在 25 °C~35 °C(具体温度可根据产品说明), 湿度至少为 55% 的条件下, 保温培养 3 天。以乳酸为基准, 进行酸度滴定。

6.4.6 分析步骤

取(6.4.5)中对应溶液 50 mL (g) 到 250 mL 三角瓶中, 加入 40 mL~60 mL 去二氧化碳的蒸馏水, 加 1% 酚酞指示剂 2 滴, 用 0.01 mol/L NaOH 标准滴定溶液定至微红色, 保持 30 s 不褪色, 即为终点。

用无二氧化碳的水代替试样溶液进行空白实验。

注: 冷冻和干燥产品需在室温下放置 0.5 h~1 h 后使用。

6.4.7 计算

发酵酸度(以乳酸计)按公式(1)计算:

$$X_1 = \frac{c \times (V_1 - V_2) \times 0.090 \times 250 / 50}{m} \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X_1 —— 发酵酸度, 以质量百分数 (%) 表示;

c —— NaOH 标准滴定溶液的摩尔浓度, 单位为摩尔每升 (mol/L);

V_1 —— 样品滴定时消耗 NaOH 标准滴定溶液的体积, 单位为毫升 (mL);

V_2 —— 空白滴定时消耗 NaOH 标准滴定溶液的体积, 单位为毫升 (mL);

0.090 —— 与 1.00 mL 氢氧化钠标准滴定溶液 [$c(\text{NaOH}) = 0.01 \text{ mol/L}$] 相当的乳酸的质量, 单位为克 (g);

m —— 称取样品的质量, 单位为克 (g)。

结果保留两位小数。

6.4.8 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不应超过算术平均值的 5%。

6.5 酵母和霉菌

按 GB 4789.15 进行检验。

6.6 肠杆菌科计数

按 SN/T 0738 进行检验。

6.7 金黄色葡萄球菌

按 GB 4789.10 进行检验。

6.8 沙门氏菌

按 GB 4789.4 进行检验。

6.9 单核细胞增生李斯特氏菌

按 GB 4789.30 进行检验。

7 检验规则

7.1 一般要求

每批产品应经生产厂检验部门检验合格后方可出厂, 并附有产品质量合格证明。

7.2 组批

以同一原料, 同一工艺生产的同一类型和统一规格的产品为一批。

7.3 抽样方法

7.3.1 产品按批抽样。批量少于 600 件时, 从不少于 3 件包装中抽取样品; 批量大于 600 件时, 从不少于 0.5% 比例的包装中抽取样品。每份样本总量不少于 3 倍试验检测量。

7.3.2 桶装产品应从表面 10 cm 以下处抽取样品, 取样器应符合食品卫生标准。

7.3.3 抽取样品两份，签封，粘贴标签。在标签上应注明产品名称、生产厂名及地址、批号、取样日期及地点、取样人姓名。一份送检，一份封存，保留15天备查。做微生物检验时，取样器和玻璃瓶应事先灭菌（样品不应接触瓶口）。

7.4 出厂检验

出厂检验项目为感官、乳酸菌活菌数、产酸活力或发酵酸度。

注：作为不同产品应用的发酵剂，乳酸菌活菌数及产酸活力或乳酸菌活菌数及发酵酸度，可根据选择进行检验。

7.5 型式检验

7.5.1 型式检验项目为本标准规定的全部要求。

7.5.2 一般情况下，型式检验每6个月进行1次。有下列情况之一时，亦需进行：

- a) 更改主要原辅材料；
- b) 更改关键工艺和设备；
- c) 新试制的产品或正常生产的产品停产3个月以上重新恢复生产时；
- d) 国家质量监督机构进行抽检时。

7.6 判定规则

检验结果如有不合格时，可以从该批产品中加倍抽取样品，对不合格项目进行复检，复检结果只要有一项不合格，判该批产品为不合格。

8 标志、包装、运输、贮存

8.1 预包装产品标签应符合 GB 7718 的要求。一个销售单元（外包装或大包装）内含有相同品种、独立包装但不单独销售的产品，可只在外包装（或大包装）标示强制内容。直接提供给消费者的预包装产品根据产品特性，还应标注类型或乳酸菌菌种名称、产品用途、使用方法等。

8.2 包装储运图示标志应符合 GB/T 191 的规定，包装应注有产品名称、制造厂名、厂址及联系方式、净含量、生产日期、保质期。

8.3 包装物和容器应整洁、卫生、无破损，并符合《中华人民共和国食品安全法》的规定。

8.4 运输过程中，应防尘、防蝇、防晒、防雨，严禁与有毒、有害物质混装混运，应提供运输、贮存说明。

8.5 根据产品类型，符合产品标称的贮存条件，严禁与有毒、有害物质混放。

附录 A
(资料性附录)
检验方法

A.1 一般规定

A.1.1 本附录所用试剂和水，在没有注明其他要求时，均指分析纯试剂和符合 GB/T 6682—2008 规定的三级水。试验中所用标准滴定溶液、杂质测定用标准溶液、制剂及制品，在没有注明其他要求时，均按 GB/T 601、GB/T 602、GB/T 603 的规定制备。试验中所用溶液在未注明用何种溶剂配制时，均指水溶液。

A.1.2 本附录中的设备和材料、培养基和试剂、计数方法、结果的表述及结果与报告参照 GB 4789.35。

A.2 嗜热链球菌计数

采用 MC 或 M17 培养基，需氧培养， $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ ，48 h~72 h。

A.3 德氏乳杆菌保加利亚亚种计数

采用 MRS 培养基，厌氧培养， $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ ，48 h~72 h。

A.4 双歧杆菌计数

对于单纯的双歧杆菌的选择性检测，采用 MRS 或 TOS 培养基。在 200 mL 培养基中加入 2 mL 浓度为 5% 的盐酸半胱氨酸溶液（每次使用前配制）。厌氧培养， $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ ，48 h~72 h。

对于双歧杆菌与其他乳酸菌的混合产品的选择性检测，采用 MRS 或 TOS 培养基。在 200 mL 培养基中加入 10 mL 浓度为 0.1% 的莫匹罗星锂盐溶液（每次使用前配制）。厌氧培养， $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ ，48 h~72 h。

A.5 嗜酸乳杆菌计数

对于单纯的嗜酸乳杆菌的选择性检测，采用 MRS 培养基。在 200 mL 培养基中加入 2 mL 浓度为 5% 的盐酸半胱氨酸溶液（每次使用前配制）。厌氧培养， $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ ，48 h~72 h。

对于嗜酸乳杆菌与其他乳酸菌的混合产品的选择性检测，采用 MRS 培养基，调整其 pH 为 7.0。在 200 mL 培养基中加入 0.4 mL 浓度为 0.005% 的盐酸克林霉素（使用前于 4°C 下放置 14 天）和 1 mL 浓度为 0.2% 的盐酸环丙沙星（使用前于 -20°C 下放置 56 天）。厌氧培养， $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ ，48 h~72 h。

A.6 干酪乳杆菌或鼠李糖乳杆菌计数

对于单纯的干酪乳杆菌（或鼠李糖乳杆菌）的选择性检测，采用 MRS 培养基。厌氧培养， $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ ，48 h~72 h。

对于干酪乳杆菌（或鼠李糖乳杆菌）与其他乳酸菌的混合产品的选择性检测，采用 MRS 培养基，调整其 pH 为 7.0。在 200 mL 培养基中加入 1 mL 浓度为 1% 的万古霉素（使用前于 4°C 下放置 14 天）。厌氧培养， $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ ，48 h~72 h。

注：当产品中同时含有干酪乳杆菌和鼠李糖乳杆菌时，无法对二者分别进行选择性计数。

A.7 明串珠菌计数

采用 MRS 培养基, 在 200 mL 培养基中加入 1 mL 浓度为 5% 的万古霉素溶液; 需氧培养, $(24 \pm 1)^\circ\text{C}$, 72 h。

A.8 乳酸乳球菌计数

采用 M17 培养基, 调整其 pH 为 7.0。需氧培养, $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$, 48 h~72 h。

A.9 片球菌计数

采用 MRS 培养基, 调整其 pH 为 6.0~6.4。厌氧培养, $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$, 48 h~72 h。
