

附2

国家市场监督管理总局 保健食品产品技术要求

国食健注G20100555

保罗牌益生菌粉

【原料】 低聚果糖、酿酒酵母、嗜酸乳杆菌菌粉、鼠李糖乳杆菌菌粉、长双歧杆菌菌粉

【辅料】 木糖醇、磷酸三钙、甜橙香精

【生产工艺】 本品经过筛、混合、分装等主要工艺加工制成。

【直接接触产品包装材料种类、名称及标准】

复合膜应符合YBB00172002的规定。

【感官要求】 应符合表1的规定。

表1 感官要求

项 目	指 标
色泽	乳白色
滋味、气味	具有本品应有的滋味和气味，无异味
性状	粉末，无霉变、无粘连
杂质	无正常视力可见外来异物

【鉴别】 无

【理化指标】 应符合表2的规定。

表2 理化指标

项 目	指 标	检测方法
水分，%	≤5.0	GB 5009.3
灰分，%	≤5.0	GB 5009.4
铅（以Pb计），mg/kg	≤0.5	GB 5009.12
总砷（以As计），mg/kg	≤0.3	GB 5009.11
总汞（以Hg计），mg/kg	≤0.3	GB 5009.17

【微生物指标】 应符合表3的规定。

表3 微生物指标

项 目	指 标	检测方法
大肠菌群, MPN/g	≤0.92	GB 4789.3 MPN计数法
霉菌和酵母, CFU/g	≤50	GB 4789.15
沙门氏菌	≤0/25g	GB 4789.4
金黄色葡萄球菌	≤0/25g	GB 4789.10

【标志性成分含量测定】应符合表4的规定。

表4 标志性成分含量测定

项 目	指 标	检测方法
低聚果糖, g/100g	≥65	1 低聚果糖的测定
嗜酸乳杆菌, CFU/100g	≥1.0×10 ⁸	GB 4789.35
长双歧杆菌, CFU/100g	≥1.0×10 ⁸	GB 4789.34

1 低聚果糖的测定（来源于《保健食品检验与评价技术规范》（2003年版））

1.1 范围

本方法规定了保健食品中异麦芽低聚糖、低聚果糖、大豆低聚糖的测定方法。

本方法适用于保健食品（糖浆、糖粉、饮料、奶粉）中异麦芽低聚糖、低聚果糖、大豆低聚糖的含量测定。

本方法最低检出量：异麦芽糖2μg；潘糖5μg；异麦芽三糖10μg；蔗果三糖（GF₂）5μg；蔗果四糖（GF₃）5μg；蔗果五糖（GF₄）10μg；棉籽糖20μg；水苏糖30μg。

1.2 原理：试样除去蛋白后，离心、脱色，用液相色谱分析，用NH₂柱分离，示差检测器测定，外标法定量。

1.3 试剂

除特殊说明，所用试剂均为分析纯。实验用水为去离子水或同等纯度的蒸馏水。

1.3.1 乙腈：色谱纯。

1.3.2 无水乙醇。

1.3.3 麦芽糖、异麦芽糖、潘糖、麦芽三糖、异麦芽三糖、棉籽糖、水苏糖（含量≥98%）。

1.3.4 低聚果糖（总含量≥96%，其中GF₂38%，GF₃51%，GF₄7%）。

1.3.5 麦芽糖、异麦芽糖混合标准溶液：分别称取麦芽糖10.0mg、异麦芽糖15.0mg、潘糖9.0mg、麦芽三糖15.0mg、异麦芽三糖12.0mg、用水溶解并定容至1.0mL。将此溶液逐级稀释成下列浓度：

标准溶液名称	麦芽糖 (mg/mL)	异麦芽糖 (mg/mL)	潘糖 (mg/mL)	麦芽三糖 (mg/mL)	异麦芽三糖 (mg/mL)
1	0.50	0.75	0.45	0.75	0.60
2	1.00	1.50	0.90	1.50	1.20
3	2.00	3.00	1.80	3.00	2.40
4	10.00	15.00	9.00	15.00	12.00

1.3.6 低聚果糖标准溶液：精密称取含GF₂38%、GF₃51%、GF₄7%的低聚果糖标准品0.0500g，用水溶解并定容至2.50mL。将此液逐级稀释成下列浓度：

标准溶液名称	GF ₂ (mg/mL)	GF ₃ (mg/mL)	GF ₄ (mg/mL)
1	1.50	2.00	0.30
2	3.00	4.00	0.60
3	4.50	6.00	0.90
4	6.00	8.00	1.20
5	7.50	10.00	1.40

1.3.7 棉籽糖、水苏糖标准溶液：精密称取棉籽糖0.0400g、水苏糖0.0600g，用水溶解并定容至4.0mL。将此液逐级稀释成下列浓度：

标准溶液名称	棉籽糖 (mg/mL)	水苏糖 (mg/mL)
1	2.0	3.0
2	4.0	6.0
3	6.0	9.0
4	8.0	12.0
5	10.0	15.0

由于试样中程度不同的含有葡萄糖、果糖、蔗糖、乳糖，所以在配制标准应用液时可加入适量的葡萄糖、果糖、蔗糖、乳糖，主要是用于定性。

将各标准系列注入高效液相色谱仪进行测定，绘制标准工作曲线。

1.4 仪器

1.4.1 高效液相色谱仪（附带示差检测器）。

1.4.2 离心机：10000r/min。

1.4.3 分析天平：1/10000。

1.4.4 分析天平：1/1000。

1.5 分析步骤

1.5.1 试样制备

1.5.1.1 糖浆和糖粉：称取1.0000g糖浆或0.2000g糖粉，用水稀释或溶解，并定容置10.0mL，摇匀，溶液过0.45μm滤膜，滤液用于HPLC测定。

1.5.1.2 不含乳液体饮料：饮料直接离心，上清液过0.45μm滤膜，滤液用于HPLC测定。

1.5.1.3 含乳液体饮料：取10.0mL试样放入烧杯中，加无水乙醇30mL，搅拌混匀，放置5min，离心，取上清液20 mL在沸水浴上挥发近干。残液用水溶解并定容至5-10 mL，溶液过0.45μm滤膜，滤液用于HPLC测定。

1.5.1.4 奶粉：称取2.000g试样，放入200mL烧杯中，加水15.0mL溶解，再加45.0mL无水乙醇，搅匀，放置5min，离心，取上清液30.0mL在沸水浴上挥发近干，残液用水溶解并定容至一定体积，溶液过0.45μm滤膜，滤液用于HPLC测定。

1.5.2 高效液相色谱参考条件

1.5.2.1 色谱柱：不锈钢柱，内径4.6mm×300mm反相氨基柱，粒径5μm。

1.5.2.2 柱温：45℃，检测室40℃。

1.5.2.3 流动相：乙腈+水=76+24。

1.5.2.4 流量：1.5mL/min。

1.5.2.5 灵敏度：64。

1.5.2.6 进样量：20μL。

1.5.2.7 在上述色谱条件下注入标准溶液和试样溶液，以保留时间定性，外标法定量。

1.6 分析结果的表述

1.6.1 计算

$$X = \frac{A \times C_i \times V}{A_i \times m \times 1/2}$$

式中：

X—试样中某低聚糖的含量，g/kg（g/L）；

A—试样的峰面积或峰高；

C_i—单一低聚糖标准溶液的浓度，mg/mL；

A_i—标准溶液的峰面积或峰高；

m—试样质量，g（mL）；

V—试样定容体积，mL。

1.6.2 结果表示：结果保留两位有效数字。

注：功能性异麦芽低聚糖的含量以异麦芽糖、潘糖、异麦芽三糖计。

1.7 允许差：同一实验室，平行测定两次结果的相对偏差不得超过10%。

1.8 准确度

1.8.1 准确度以回收率表示。

1.8.2 将某种低聚糖加入糖浆、饮料或奶粉中，做回收率实验，回收率应在90~104%范围内。

1.9 正相氨基色谱柱转换为反相氨基色谱柱的步骤以产品说明书为准。

【装量或重量差异指标/净含量及允许负偏差指标】

净含量为2g/袋，允许负偏差为9%。

【原辅料质量要求】

1. 低聚果糖：应符合GB/T 23528《低聚果糖》的要求。

2. 酿酒酵母

项 目	指 标
来源	酿酒酵母 (CNCMI-1079) <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
制法	经培养、发酵（培养基组成：葡萄糖、酵母粉、玉米浆、硫酸铵、硫酸镁、磷酸氢二钾、水；28~32℃；20h；pH4.5~5.0）、分离（5000r/min、10~15min）、干燥（0.08Mpa，35℃，5~6h）、过筛、包装等主要工艺制成
感官要求	褐色粉末，无杂质
活菌计数，CFU/g	$\geq 2.0 \times 10^{10}$
铅（以Pb计），mg/kg	≤ 0.5
总砷（以As计），mg/kg	≤ 0.3
总汞（以Hg计），mg/kg	≤ 0.3
大肠菌群，MPN/g	≤ 0.92
金黄色葡萄球菌	$\leq 0/25g$
沙门氏菌	$\leq 0/25g$

3. 嗜酸乳杆菌菌粉

项 目	指 标
来源	嗜酸乳杆菌 (R0052) (<i>Lactobacillus acidophilus</i>)
制法	经培养、发酵（培养基组成：酵母提取物、蛋白胨、葡萄糖、硫酸镁、硫酸锰、乙酸钠、磷酸氢二钾、山梨醇酐单油酸酯、牛肉膏、琼脂、水；35℃；12h；pH6.2±0.2）、分离（3000r/min、10~30min）、干燥（第一阶段：-35℃，10~30Pa，1~2h；第二阶段：25~30℃，15~30Pa，2h）、包装等主要工艺制成
感官要求	米色均匀粉末
嗜酸乳杆菌菌数，CFU/g	$\geq 1.3 \times 10^{11}$
铅（以Pb计），mg/kg	≤ 0.5
总砷（以As计），mg/kg	≤ 0.3
总汞（以Hg计），mg/kg	≤ 0.3
大肠菌群，MPN/g	≤ 0.92
霉菌和酵母，CFU/g	≤ 50
金黄色葡萄球菌	$\leq 0/25g$
沙门氏菌	$\leq 0/25g$

4. 鼠李糖乳杆菌菌粉

项 目	指 标
来源	鼠李糖乳杆菌 (R0011) (<i>Lactobacillus rhamnosus</i>)
制法	经培养、发酵(培养基组成: 蛋白胨、牛肉粉、酵母浸出汁、葡萄糖、山梨聚糖、磷酸氢二钾、乙酸钠、柠檬酸三铵、硫酸镁、硫酸锰、琼脂、水; 35℃; 12h; pH6.2±0.2)、分离(3000r/min、10~30min)、干燥(第一阶段: -35℃, 10~30Pa, 1~2h; 第二阶段: 25~30℃, 15~30Pa, 2h)、包装等主要工艺制成
感官要求	白色均匀粉末
鼠李糖乳杆菌菌数, CFU/g	$\geq 1.3 \times 10^{11}$
铅(以Pb计), mg/kg	≤ 0.5
总砷(以As计), mg/kg	≤ 0.3
总汞(以Hg计), mg/kg	≤ 0.3
大肠菌群, MPN/g	≤ 0.92
霉菌和酵母, CFU/g	≤ 50
金黄色葡萄球菌	$\leq 0/25g$
沙门氏菌	$\leq 0/25g$

5. 长双歧杆菌菌粉

项 目	指 标
来源	长双歧杆菌 (R0175) (<i>Bifidobacterium longum</i>)
制法	经培养、发酵(培养基组成: 酵母提取物、蛋白胨、葡萄糖、可溶性淀粉、氯化钠、乙酸钠、半胱氨酸盐酸盐、琼脂、牛肉膏、水; 37℃; 18h; pH6.8±0.2)、分离(3000r/min、10~30min)、离心、干燥(第一阶段: -35℃, 10~30Pa, 1~2h; 第二阶段: 25~30℃, 15~30Pa, 2h)、包装等主要工艺制成
感官要求	米色均匀粉末
长双歧杆菌菌数, CFU/g	$\geq 5.0 \times 10^{10}$
铅(以Pb计), mg/kg	≤ 0.5
总砷(以As计), mg/kg	≤ 0.3
总汞(以Hg计), mg/kg	≤ 0.3
大肠菌群, MPN/g	≤ 0.92
霉菌和酵母, CFU/g	≤ 50
金黄色葡萄球菌	$\leq 0/25g$
沙门氏菌	$\leq 0/25g$

6. 木糖醇: 应符合GB 1886.234《食品安全国家标准 食品添加剂 木糖醇》的规定。

7. 磷酸三钙: 应符合GB 25558《食品安全国家标准 食品添加剂 磷酸三钙》的规定。

8. 甜橙香精：应符合GB 30616《食品安全国家标准 食品用香精》的规定。
