

ICS 67.040

CCS X 80

# 团体标准

T/CHC XXX—202X

## 后生元食品通则

General rules for postbiotics food

(征求意见稿)

202X-XX-XX 发布

202X-XX-XX 实施

中国保健协会 发布

## 前 言

本标准按GB/T1.1《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定编写。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国保健协会食物营养与安全专业委员会提出。

本文件由中国保健协会归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

本文件为首次发布。

征求意见稿

# 后生元食品通则

## 1 范围

本文件规定了后生元食品的术语、定义、分类、技术要求、检验方法、标识、包装、贮存及运输等要求。

本标准适用于以非活性微生物及/或其代谢产物为原料的食品。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过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，其最新版本包括所有的修改单) 适用于本文件。

- GB 14880 食品安全国家标准 食品营养强化剂使用标准
- GB 14881 食品安全国家标准 食品生产通用卫生规范
- GB/T 191 包装储运图示标志
- 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 4789.1 食品安全国家标准 食品微生物学检验 总则
- 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 4789.15 食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数
- GB 5009.3 食品安全国家标准 食品中水分的测定
- GB 5009.237 食品安全国家标准 食品 pH 值的测定
- GB 5009.12 食品安全国家标准 食品中铅的测定
- GB 5009.11 食品安全国家标准 食品中总砷及无机砷的测定
- GB 5009.124 食品安全国家标准 食品中氨基酸的测定
- GB 5009.157 食品安全国家标准 食品中有机酸的测定
- GB/T 6543 运输包装用单瓦楞纸箱和双瓦楞纸箱
- GB 7718 食品安全国家标准 预包装食品标签通则
- GB 28050 食品安全国家标准 预包装食品营养标签通则

GB/T 28118 食品包装用塑料与铝箔复合膜、袋

GB 31639 食品安全国家标准 食品加工用菌种制剂

可用于食品的菌种名单及公告（国家卫生健康委员会 2022 年第 4 号）

### 3 术语和定义

#### 3.1

##### 后生元 Postbiotics

对宿主健康有益的食品用灭活微生物和/或其代谢物的制剂，不包括纯化的代谢物。

#### 3.2

##### 后生元食品 Postbiotic foods

以后生元为原料，可添加或不添加其他食品原料、食品添加剂的食品。

### 4 分类

按产品工艺的不同分为灭活微生物、灭活微生物及代谢物、代谢物；依照产品形态不同，分为液体及固体。

### 5 技术要求

#### 5.1 原料要求

5.1.1 使用的菌种应符合国务院卫生行政部门发布的法规、公告和相关规定，菌种来源于国家卫生健康委发布的食品用菌种名单及后续的公告。

5.1.2 应在菌株水平进行鉴定和安全性评价。根据目前已有的技术，基于表型及基因测序技术鉴定到菌株水平。应建立菌株档案资料，包括来源、历史、筛选、鉴定、保存方法、数量、启用时间、传代次数等完整记录。应制定培养基的配方、投料、补料、灭菌、培养、取样等工艺要求，控制微生物污染水平。

5.1.3 菌株发酵培养、标准化等生产过程所添加的原料，应符合相应的食品标准和有关规定。

#### 5.2 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	取适量试样置于清洁、干燥的无色玻璃皿中，在自然光线下，观察其色泽和状态，并嗅（品）其味。
滋味、气味	具产品特有的气味和滋味，无异味	
状态	符合相应产品的特性	
杂质	无正常视力可见外来异物	

### 5.3 理化指标

理化指标应符合表2的规定。

表2 理化指标

项目	指标要求	检验方法
	固体	
干燥失重, g/100g	≤ 7.0	GB 5009.3
	液体	
酸碱值, pH	4.0~7.0	GB 5009.237

### 5.4 污染物限量

污染物限量应符合表3的规定。

表3 污染物指标

项目		指标		检验方法
		固体	液体	
铅（以Pb计）/(mg/kg)	≤	1	0.3	GB 5009.12
总砷（以As计）/(mg/kg)	≤	0.5		GB 5009.11
注：其他污染物限量依据不同要求应符合GB 2762的规定。				

### 5.5 微生物指标

致病菌限量应符合GB 31639《食品安全国家标准 食品加工用菌种制剂》的规定。

### 5.6 效性物质指标

效性物质应符合表5的规定。

表5 效性物质指标

项目	指标		检验方法	
	液体	固体		
总灭活菌数检验/ (CFU/g或mL)	≥	1.0x10 <sup>7</sup>	1.0x10 <sup>8</sup>	附录A
灭活微生物及代谢物				
项目		液体	固体	检验方法
总灭活菌数检验/ (CFU/g或mL)	≥	1.0x10 <sup>7</sup>	1.0x10 <sup>8</sup>	附录A
粗多醣/ (μg/mL)	≥	250	-	附录B
有机酸/ (μg/g或mL) (以乳酸计)	≥	20	200	GB 5009.157
游离氨基酸/ (mg/100g或mL)	≥	100	200	GB 5009.124
代谢物				
项目		液体	固体	检验方法
粗多醣/ (μg/mL)	≥	25	-	附录B
有机酸/ (μg/g或mL) (以乳酸计)	≥	20	200	GB 5009.157
游离氨基酸/ (mg/100g或mL)	≥	100	200	GB 5009.124

## 5.7 生产加工过程的卫生要求

应符合GB14881《食品生产通用卫生规范》。

## 5.8 食品添加剂和食品营养强化剂

5.8.1 食品添加剂的使用应符合 GB2760的规定

5.8.2 食品营养强化剂的使用应符合 GB14880的规定

## 5.9 健康作用评价

以体外试验、动物试验为参考，以人体试验为重要依据。确定菌株健康作用的相关性应在统计学或生物学上具有显著意义。

## 6 标签、包装、贮存和运输

## 6.1 标签

6.1.1 产品标签应符合 GB 7718 和 GB 28050 的规定；标签应按照 5.6 的规定标示总灭活菌数；在配料中应标示菌株名/菌株号。

6.1.2 包装储运图示标志应符合 GB/T 191 的规定。

6.1.3 应标注贮存条件，如需冷藏或冷冻的，应标注具体冷藏和冷冻的温度范围。食品安全标准对食品储存条件有明确规定的，应符合其规定。

## 6.2 包装

产品内包装材料应清洁、卫生、无毒、无害、无异味，应符合GB/T 28118的要求；外包装材料应符合 GB/T 6543 的规定。内、外包装均应完整、清洁、牢固、不破裂。

## 6.3 贮存和运输

6.3.1 应按照产品包装标识的贮存条件进行贮存。

6.3.2 产品运输工具应清洁、卫生、干燥、无污染物，运输过程中应防尘、防蝇、防雨、防晒，搬运时应轻拿、轻放。严禁与有毒、有害或影响产品质量的物品混装运输。

---

## 附录 A

### (规范性)

## 总灭活菌数检测方法

### A.1 流式细胞仪计数

#### A.1.1 方法提要

参照 Julia Robertson et al., 2019. 等人实验方法、《生鲜乳体细胞检测仪校准规范》及 GB/T 39730《细胞计数通用要求 流式细胞测定法》，采用流式细胞仪测定。即以荧光染料标记的菌体本身，根据激活荧光侦测，确认样品中含有之数量。用标准样品配制成不同浓度的标准，等体积准确量进样，测量各浓度之所含数量，进行设备之校正。

#### A.1.2 试剂

A.1.2.1 有证标准物质：应采用国内外有证标准物质进行仪器校准。选取仪器测量范围内不同浓度细胞数标准物质，相对扩展不确定度 $\leq 20\%$  ( $k=2$ )。

A.1.2.2 荧光染剂：

A.1.2.2.1 细菌：LIVE/DEAD® BacLight™ Bacterial Viability Kit (Invitrogen™ L34856)

A.1.2.2.2 真菌：LIVE/DEAD™ FungaLight™ Yeast Viability Kit (Invitrogen™ L34952)

A.1.2.2.3 通用：SYTO™ 9 Green Fluorescent Nucleic Acid Stain (Invitrogen™ S34854)

或 Wheat Germ Agglutinin (W6748) 及 Propidium Iodide (Invitrogen™ P1304MP)

#### A.1.3 仪器跟设备

A.1.3.1 流式细胞仪

A.1.3.2 水浴锅

#### A.1.4 仪器校准

A.1.4.1 环境条件

环境温度：(15~35) °C，相对湿度： $\leq 80\%$ 。

A.1.4.2 校准项目和校准方法

A.1.4.2.1 校准前准备

参照仪器说明书对仪器进行预热，至仪器达到稳定状态。运行仪器的常规清洗、调零、

质控等程序。

#### A.1.4.2.2 相对示值误差

混匀后连续测量6次，记录测量值，并计算测量平均值，按式（A.1）计算仪器的相对示值误差。

$$\Delta = \frac{|\bar{C}_i - C_s|}{C_s} \times 100\% \dots\dots\dots (A.1)$$

式中：

$\Delta$ ——相对示值误差，%；

$\bar{C}_i$ ——测量平均值，mL；

$C_s$ ——标准物质的标准值，mL。

A.1.4.2.3 选取仪器测量范围内至少三种不同浓度标准物质进行重复性测量。以每种浓度标准物质10次测量结果的相对标准偏差（RSD值）表示仪器在该标准物质浓度所在范围内的测量重复性。

按式（A.2）计算RSD值：

$$RSD = \frac{1}{C_i} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (C_i - \bar{C}_i)^2}{n-1}} \times 100\% \dots\dots\dots (A.2)$$

式中：

RSD——相对标准偏差，%；

$C_i$ ——第*i*次测量的结果，/mL；

$\bar{C}_i$ ——*n*次测量结果的平均值，/mL；

*n*——测量次数。

#### A.1.4.2.4 复校时间间隔

由于复校时间间隔的长短是由仪器的使用情况、使用者、仪器本身质量等诸因素所决定的，因此，送校单位可根据实际使用情况自主决定复校时间间隔。复校时间间隔建议不超过一年。

### A.1.5 检测条件

样品依照前述取样标准采集，并进行适当稀释，再以流式细胞仪测得荧光讯号（发光：480-490 nm；散射光：SYTO9-500 nm Wheat Germ Agglutinin-524nm 及Propidium Iodide-635 nm），以得到样品中所含之菌数。

## A.2 荧光显微镜计数

### A.2.1 目的

对样品中总灭活菌体进行荧光染色，并利用细菌计数板进行计数。

### A.2.2 材料和设备

荧光显微镜，细菌计数板，荧光染色剂：碘化丙啶（Propidium iodide, PI）、SYTO9 5mmol (溶于 DMSO)；PBS (pH 7.2)。

### A.2.3 试验方案

#### A.2.3.1 细菌计数板的基本构造

细菌计数板计数区的刻度有两种：一种是计数区分为 16 个大方格（大方格用三线隔开），而每个大方格又分成 25 个小方格；另一种是一个计数区分成 25 个大方格（大方格之间用双线分开），而每个大方格又分成 16 个小方格。两种构造，计数区都由 400 个小方格组成。计数区边长为 1mm，则计数区的面积为  $1\text{mm}^2$ ，每个小方格的面积为  $1/400\text{mm}^2$ 。盖上盖玻片后，计数区的高度为 0.1mm，所以每个计数区的体积为  $0.1\text{mm}^3$ ，每个小方格的体积为  $1/4000\text{mm}^3$ 。使用细胞计数板计数时，先要测定每个小方格中微生物的数量，再换算成每毫升菌液（或每克样品）中微生物细胞的数量。

#### A.2.3.2 染色

染色方法参照 A1 流式细胞仪计数法。

#### A.2.3.3 计数

A.2.3.3.1 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。

A.2.3.3.2 加菌悬液样品：将菌悬液吸出少许，从计数板边缘的沟槽内沿盖玻片的下边缘滴入一小滴（不宜过多），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。也可以将菌悬液直接滴加在计数区上。

A.2.3.3.3 使用落射荧光显微镜，蓝色激光道，紫外光波长 480 nm。

A.2.3.3.4 镜检视野中的荧光菌体，发橘红色荧光为灭活菌体细胞。

A.2.3.3.5 显微镜计数：先在低倍镜下找到计数区后，再转换高倍镜观察并计数。计数区上的菌体数量应在 15~150 之间。

A.2.3.3.6 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。若是 25 个大方格组成的计数区，除上述 4 个大方格外，还需数中央 1 个大方格的菌数（即 80 个小格）。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。如观察到由两个以上细胞组成的细胞团，应按单个细胞计算，若细胞团占 10%以上，说明分散性不佳，需重新制备细胞悬液。

#### A.2.3.4 计算结果

16 格 × 25 格计算公式：细胞数（个/mL）=100 小格内细胞个数/100 × 400 × 稀释倍数 × 10。

25 格 × 16 格计算公式：细胞数（个/mL）=80 小格内细胞个数/80 × 400 × 稀释倍数 × 10。

#### A.2.4 结果与报告

根据总灭活菌数计数结果出具报告，报告单位以个/g（mL）表示。

**附录B**  
**(规范性)**  
**粗多糖检测方法**

### B.1.方法提要

参照DB 15/T 2033—2020《乳酸菌胞外多糖的分离纯化与鉴定技术规程》及NY/T 1676-2023《食用菌中粗多糖的测定 分光光度法》。采用硫酸-苯酚法测定。利用多糖在硫酸的作用下先水解成单糖，并迅速脱水生成糖醛衍生物，然后与苯酚生成橙黄色化合物，再以比色法测定。

### B.2.试剂

- B.2.1 Ethanol absolute（水乙醇）:Sigma 1.07017 或同等规格之化学试剂。  
B.2.2 Trichloroacetic acid（氯乙酸）:Sigma 8.22342 或同等规格之化学试剂。  
B.2.3 D-Glucose（葡萄糖）:Sigma G8270 或同等规格之化学试剂。  
B.2.4 Phenol（酚）:Merck 1.00206.0250 或同等规格之化学试剂。  
B.2.5 95.5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>（浓硫酸）:Showa 1970-5250 或同等规格之化学试剂。

### B.3 仪器跟设备

- B.3.1 分光亮度计  
B.3.2 水浴锅

### B.4 粗多糖的提取

#### B.4.1 样品制备

粉体样品需以适量无菌水回溶，液体样品则直接跳到 D4.2

#### B.4.2 三氯乙酸处理

上清液中缓慢加入浓度为800 mg/mL三氯乙酸，使其终浓度为40 mg/mL，4℃静置8 h后于10000 rpm、4℃条件下离心10 min，弃去沉淀，收集上清。

#### B.4.3 无水乙醇处理

按1:4的体积比向上清液中加入无水乙醇，4℃过夜，10000 rpm、4℃条件下离心10 min后收集底部沉淀。将沉淀溶于60℃蒸馏水中，10000 rpm离心10 min，弃去底部不溶沉淀，收集上清供后续检验使用。

## B.5 检测条件

### B.5.1 标准曲线绘制

B.5.1.1 精密称取 D-Glucose 10 mg, 置于 10 mL 容量瓶中, 以 dd H<sub>2</sub>O 定量至 10 mL, 配置为 1 mg/mL 之 D-Glucose。

B.5.1.2 将上述标准品进行系列稀释, 以 dd H<sub>2</sub>O 稀释为 0, 20, 50, 100, 150, 200  $\mu$ g/mL 之 D-Glucose。

依照下表配置标准溶液

浓度 ( $\mu$ g/mL)	0	20	50	100	150	200
Glucose stock (1 mg/mL)	0 $\mu$ L	20 $\mu$ L	50 $\mu$ L	100 $\mu$ L	150 $\mu$ L	200 $\mu$ L
ddH <sub>2</sub> O	1000 $\mu$ L	980 $\mu$ L	950 $\mu$ L	900 $\mu$ L	850 $\mu$ L	800 $\mu$ L

B.5.1.3 取标准溶液各 100  $\mu$ L 于玻璃试管中。

B.5.1.4 各加入 500  $\mu$ L 5% Phenol 溶液。

B.5.1.5 缓慢加入 2.5 mL 硫酸溶液。

B.5.1.6 涡旋后, 放置于 30°C 水浴, 20 mins。

B.5.1.7 取 200  $\mu$ L 不同浓度标准品放入 96 well 或分光液槽, 于 490 nm 下测定其吸光值。并绘制标准曲线。

### B.5.2 样品处理

B.5.2.1 取 100  $\mu$ L 经适当稀释之样品于玻璃试管中。

B.5.2.2 各加入 500  $\mu$ L 5% Phenol 溶液。

B.5.2.3 缓慢加入 2.5 mL 硫酸溶液。

B.5.2.4 涡旋后, 放置于 30°C 水浴, 20 mins。

B.5.2.5 取 200  $\mu$ L 样品放入 96 well 或分光液槽, 于 490 nm 下测定其吸光值。

B.5.2.6 以内差法算出浓度后再回乘稀释倍数以取得原液浓度。