

《发酵乳用植物乳杆菌发酵剂制备技术规范》编制说明

一、项目来源

根据浙江省食品学会关于 2025 年度第二批团体标准立项的通知，浙江工商大学组织金华银河生物科技有限公司、杭州新希望双峰乳业有限公司、杭州核力欣健生物医药（集团）股份有限公司起草工作组负责团体标准《发酵乳用植物乳杆菌发酵剂制备技术规范》草案稿的起草工作，并由浙江省食品学会归口。

二、标准制定工作的目的与意义

1、发酵乳用植物乳杆菌发酵剂背景

发酵乳是实现我国奶业战略升级与保障国民营养的重要乳制品。乳酸菌发酵剂是发酵乳制品生产的核心，其质量直接决定了产品的风味、质地、活菌数及保健价值。虽然国内的特色发酵乳制品早已实现工业化生产，但乳酸菌发酵剂等发酵乳生产中的核心技术仍然受制于国外，85%以上依赖杜邦、IFF、帝斯曼等进口“洋菌种”。我国菌种资源丰富，发掘更多具有自主知识产权的核心菌株，是发展我国发酵乳产业，打破国外垄断，亟待解决的瓶颈问题。植物乳杆菌（*Lactiplantibacillus plantarum*）作为我国卫生部公布的可用于食品的乳酸菌菌种之一，在发酵乳制品生产中具有应用基础，不仅能够有效耐受人体的消化系统，在肠道内大量存活，发挥调节肠内菌群平衡、促进人体消化吸收等作用；同时还具有降胆固醇、预防心血管疾病、控制体重、增强人体免疫力、以及预防癌症和抑制肿瘤生长等益生保健功能。

近年来国内对乳酸菌发酵剂，尤其是植物乳杆菌发酵剂的研究逐步加深。2024 年《中国食品学报》第 24 卷第 5 期发布的《食品发酵剂研究进展与发展趋势浅析》中指出，乳酸菌发酵剂是发酵乳制造的关键，被誉为发酵乳的“芯片”，筛选具有优良生产及益生特性的乳酸菌发酵剂菌种是食品发酵工业的发展趋势。中华人民共和国农村农业部的专家在《饲料添加剂 第五部分：微生物植物乳杆菌》中规定了饲料添加剂植物乳杆菌的技术要求并描述了相应的试验方法，适用于以植物乳杆菌为菌种，经液态发酵、干燥等工艺后制得得饲料添加剂。2008 年吉林省农科院科研人员公开了一种植物乳杆菌发酵剂及其制备方法与专用菌株（CN 101748083 B），该植物乳杆菌发酵剂用量小，与不产胞外多糖的菌株混合制备的发酵乳能够提高酸奶的黏度，赋予产品吸引人的外观和细腻滑爽的口感，组织状态良好。

2、发展现状

优良乳酸菌发酵剂不仅应具有发酵剂的基础活性，还应具备改善发酵乳风味、质地等品质的多元化功能。根据 2023 年全球益生菌市场规模数据显示，美洲占据 34%，欧洲占据 22%，亚洲位居第一占据 42%，中东和非洲占据 1.2%。亚洲作为全球最大益生菌市场，其年复合增长率也位居于第一。尽管杜邦、IFF 等“洋菌种”在我国发酵乳生产的市场占有率较大，但旗下明星菌株的产香、产酸、耐酸水平并不突出且较为单一。我国作为世界第二消费大国，其生产技术、规模及乳酸菌发酵剂的制备与保存等技术总体与欧美发达国家有一定差距，通常活菌数低于欧美等国家近 5~10 倍。除发酵活菌密度低外，我国乳制品工业还主要面临耐酸优良菌种匮乏、发酵产率低、发酵技术落后、发酵规模小、行业标准不全等。由于缺少具有自主知识产权的国产菌株，目前市面上的风味酸奶主要通过外源添加乳酸、香精、香料等手段来实现品质的差异化。因此，发掘“本土化”高品质耐酸发酵乳酸菌菌株，是解决发酵乳同质化问题的有效途径。

基于 WoS 数据库的 4292 篇英文文献（2000-2024 年）进行突显词及突发强度和持续时间分析发现，突发强度排名前 20 的突显词依次为“切达干酪、抗氧化活性、干香肠、肉类产品、抑制、制造、组胺、梯度凝胶电泳、PCR、微生物群落、影响、淀粉、感官品质、微生物区系、微生物群、谱系、高通量测序、植物乳杆菌、乳酸发酵、质构”。其中，植物乳杆菌是唯一进入前 20 名的乳酸菌种类，凸显了其在食品科学和食品工业实践中的重要发展趋势。

3、技术现状

近年来，我国发酵乳制品行业发展迅速，植物乳杆菌作为重要发酵菌种，其制备工艺不断优化。目前，植物乳杆菌发酵剂的制备主要包括菌种活化、传代、扩培、发酵培养、离心浓缩或不离心浓缩、冻干、粉碎等步骤。同时，冻干保护剂的配方优化、发酵条件控制、菌种存活率提升等关键技术仍有待规范化和标准化。

4、存在的问题

当前市场上发酵乳用植物乳杆菌发酵剂制备存在菌种酸耐受性差、发酵密度低、生产工艺不统一、质量波动大等问题，缺乏统一的技术规范和质量标准，易导致批次间一致性不足、适用性与可追溯性不强，同时产品质量参差不齐，贮存、运输、标签标识等方面也缺乏明确要求，制约了发酵剂及高品质发酵乳的开发与产业升级。

5、必要性

通过规范植物乳杆菌发酵剂制备技术，可确保发酵乳制品风味品质稳定、活菌数达标、益生功能有效。与此同时，将酸驯化技术标准化，可为植物乳杆菌发酵剂生产企业提供技术依据，推动行业技术升级。

三、与我国法律法规和其他标准的关系

目前发酵乳用植物乳杆菌发酵剂制备技术规范主要执行的标准包括：GB 7300.502 饲料添加剂 第5部分：微生物 植物乳杆菌和 QB/T 4575 食品加工用乳酸菌，植物乳杆菌发酵剂属于乳酸菌菌粉/发酵剂中的一类。但 GB 7300.502 规定的只是应用于饲料添加剂中的植物乳杆菌的技术要求、理化及安全指标，但并不适用于食品及发酵乳制品。而 QB/T 4575 虽包含食品加工用乳酸菌相关要求以及微生物检验方法与限量控制等，但对发酵乳用植物乳杆菌发酵剂的制备工艺链条（酸驯化参数、专用发酵培养基与条件、冻干保护体系与冻干关键参数等）缺乏系统、可直接执行的技术规范。

可参考的行业标准有 Q/SYRK 乳酸菌菌粉、Q/NJCC 食品用乳酸菌发酵剂、SN/T 5436-2022 乳及乳制品发酵剂、发酵产品中乳酸菌计数 流式细胞仪法等。

四、标准制定工作主要过程

- 1、2025年11月8日-11月10日，收集相关的国家标准、法律法规等信息。
- 2、2025年11月11日-11月23日，收集资料并完成了立项申请书。
- 3、2025年12月15日，浙江省食品学会印发了《浙江省食品学会发布2025年度第二批团体标准立项的通知》，并成立起草工作组。
- 4、2025年1月26日-3月15日，工作组讨论后形成了《发酵乳用植物乳杆菌发酵剂制备技术规范》工作组讨论稿。

五、标准制定原则

根据《中华人民共和国食品安全法》及其实施条例等有关法律法规，按 GB/T 1.1-2020 的编写原则进行编写。以加强发酵乳用植物乳杆菌发酵剂制备技术规范为原则，深入调查研究，保证起草工作的科学性、规范性和可操作性。

（一）可操作性原则

本文件制定过程中根据可操作性的原则，结合发酵乳用植物乳杆菌发酵剂制备的实际情况，对文件内容进行科学设定。为发酵剂行业、发酵乳生产企业、检测单位、市场监管等部门提供科学管理的依据。

（二）与国内外标准协调一致原则

在制定过程中，起草组按照食品安全标准《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》（GB/T 1.1-2020）中的原则要求进行编写。仔细查阅国内外的相关标准，根据实际情况，确定了团标的框架结构和各项技术内容要求。

（三）公开透明的原则

起草过程中坚持公开、透明的原则，除召开专家座谈会听取意见外，还将向社会公开广泛征求意见，如来自行业协会、检测机构、生产企业以及食品安全监督管理部门等各方意见，并吸收和采纳部分意见。

六、标准主要条款说明

1 标准名称和范围

根据关于浙江省食品学会 2025 年度第二批团体标准立项的通知，标准名称要求一致为“发酵乳用植物乳杆菌发酵剂制备技术规范”。

范围根据标准内容确定，本文件规定了植物乳杆菌发酵剂的术语和定义、材料仪器、测定步骤、技术要求、检验规则、标签标识、包装、运输、贮存和保质期、销售等；规定了适用于以植物乳杆菌为主要原料，经传代、扩培、酸驯化、发酵剂制备、真空冷冻干燥等工艺制成的发酵乳制品用植物乳杆菌菌粉；不适用于基因工程改造菌株。

2 规范性引用文件

在规范性引用文件中，根据发酵乳用植物乳杆菌发酵剂制备技术规范的技术要求中“试验方法、原辅料要求、感官及理化要求（污染物限量）、微生物要求、净含量、生产加工过程卫生要求、包装、标签和标志、运输贮存、保质期”等条款引用了相关国家标准等文件。

3 术语和定义

乳酸菌：本文件规定乳酸菌的定义为“能利用可发酵碳水化合物产生大量乳酸的一类无芽孢、革兰氏染色阳性细菌的总称，其包含多种属，具体包括乳杆菌属、乳球菌属、链球菌属、片球菌属、明串珠菌属以及双歧杆菌属等”。

植物乳杆菌发酵剂：本文件规定植物乳杆菌发酵剂的定义为“以植物乳杆菌为主要或唯一功能微生物，经过专门培养、制备而成，用于食品、发酵乳制品或饲料发酵的活性微生物制剂”。

4 材料、仪器和试剂

菌株材料：分离、保存并鉴定的植物乳杆菌菌株。

仪器：高压蒸汽灭菌锅、高速冷冻离心机、恒温摇床、超净工作台、涡旋振荡器、pH 计、真空冷冻干燥机、超低温冰箱、发酵罐、生化培养箱。

试剂与耗材：MRS 固体及液体培养基、碳酸氢钠、柠檬酸钠、盐酸、L-谷氨酸钠、甘油、D-海藻糖、脱脂乳粉、D-山梨醇、蛋白胨、酵母浸粉、牛肉浸粉、甘油磷酸二钠、乙酸钠、磷酸氢二钾、七水合硫酸镁、硫酸亚铁、一水合硫酸锰、吐温-80。

5 测定步骤

5.1 植物乳杆菌工作菌种及种子液的制备

将植物乳杆菌菌株于 MRS 固体培养基上划线分离，挑取单菌落接种至 MRS 液体培养基中进行活化培养（培养基体积 10 mL，37℃培养24 h）。取活化菌液按 2%（v/v）接种量接种至 MRS 液体培养基中传代培养（培养基体积 20 mL，37℃培养12 h），随后将传代菌株进行扩大培养（37℃下培养15 h）。取无菌、洁净离心瓶分装菌液，于 4℃、2000 g 条件下离心 10 min，弃上清，收集菌泥。加入100 mL无菌PBS重悬并涡旋混匀，在相同条件下再次离心10 min弃上清；再加入100 mL 无菌 PBS，涡旋混匀1 min，制备菌悬液。预先在1.5 mL无菌离心管中加入600 μL 50%（v/v）无菌甘油，取400 μL菌悬液加入上述离心管中，充分混匀后置于-80℃超低温冰箱保存备用。

一级种子液的制备：取上述工作菌种甘油保藏管，在MRS液体培养基中按1%（v/v）接种量接种，培养基体积10 mL，于 37℃条件下培养 12 h。

二级种子液的制备：取一级种子液按2% (v/v) 接种量接种至MRS液体培养基中，培养基体积200 mL，于37 °C、180 rpm条件下培养12 h。

三级种子液的制备：取二级种子液按2% (v/v) 接种量接种至装有MRS液体培养基的锥形瓶中，培养基体积1 L，于37 °C、180 rpm条件下培养12 h。

5.2 植物乳杆菌酸适应性驯化

采用 MRS 液体培养基作为基础培养基。驯化阶段所需培养基的pH采用浓盐酸调节，pH控制精度应满足各阶段要求。pH调节后培养基应按无菌要求处理后备用。驯化过程分为四个阶段，按培养基 pH 逐步降低进行，具体如下：a) 第一阶段：pH 5.5 ± 0.02 ，连续培养10天；b) 第二阶段：pH 4.5 ± 0.01 ，连续培养20天；c) 第三阶段：pH 4.0 ± 0.01 ，连续培养30天；d) 第四阶段：pH 3.5 ± 0.01 ，连续培养40天。每间隔12 h进行一次传代培养，每次接种量为 1% (v/v)，各阶段培养温度均为37 °C。驯化前60天采用振荡培养，驯化后40天采用静置培养。

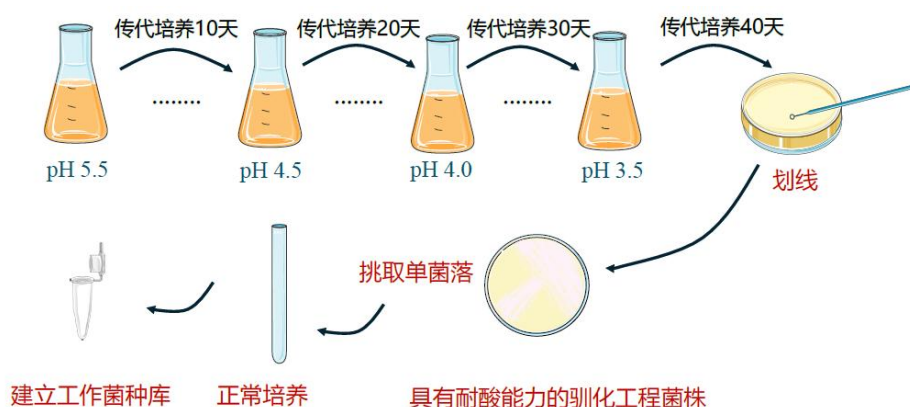


图1 驯化过程示意图

5.3 生长特性测定

将 5.2 中的野生株与驯化株作为接种源，采用 10 倍梯度稀释法与平板菌落计数法测定菌液活菌数。将计得的野生株活菌数记为 X1 CFU/ml，驯化株活菌数记为 X2 CFU/ml，则测试时，取原保藏管的菌液接种，改变驯化株或野生株移液接种体积使初始活菌数基本一致。随后测试比较 OD600 生长动力学曲线、活菌数生长曲线以及发酵 24 h 的生物质质量。

5.4 发酵剂制备

5.4.1 培养基及培养条件

植物乳杆菌酸驯化株发酵培养基组分如下：海藻糖(2.0%)、蛋白胨(1.5%)、酵母浸粉(0.25%)、牛肉浸粉(0.5%)、甘油磷酸二钠(1.0%)、乙酸钠(0.5%)、磷酸氢二钾(0.2%)、七水合硫酸镁(0.05%)、硫酸亚铁(0.02%)、一水合硫酸锰(0.005%)、Tween-80(0.1%)。发酵条件为：34°C，180 rpm，16 h，培养基的发酵终pH为4.02 (± 0.02)。若考虑成本效应，可将甘油磷酸二钠(1.0%)替换为谷氨酸钠(1.0%)。将酸驯化菌株按照2%的接种量接种至上述培养基中，所得发酵液的发酵活菌数可达 7.2×10^{10} CFU/mL ($\pm 1.0 \times 10^{10}$ CFU/mL)。

5.4.2 冻干保护剂

将上述驯化株的三级发酵液离心并富集菌泥(6000 g，4°C，10 min)，根据菌泥质量加入适量缓冲液，充分斡旋均匀后平均分装到10 mL离心管中，并再次离心(6000 g，4°C，5 min)去除上清液获得菌泥。随后，向菌泥中加入冻干保护剂组合，即1.24%甘油(m/v)、8.51% 脱脂乳粉(m/v)、1.00% 山梨醇(m/v)和0.81% 谷氨酸钠(m/v)，冻干总体积为5 mL。

5.4.3 真空冷冻干燥

将上述冻干体系混匀后，立即放入液氮中快速冷冻1 min，保持体系分散均匀，再放入-80°C超低温冰箱中预冻8 h-24 h。预冻结束后，立即放入预热好的真空冷冻干燥机中进行主干燥过程。预

冻参数：-79℃；冻干参数：0.123 mbar，13.8℃，48 h。经冷冻干燥后，酸驯化植物乳杆菌菌粉（发酵剂）的存活率为98.42%（±4.22%）。

5.5 质量检验

5.5.1 急性毒理学测试

检验依据如下：样品受试液处理应符合 GB 15193.21《食品安全国家标准 受试物试验前处理办法》4.3；急性毒性实验应符合 GB 15193.3《食品安全国家标准 急性经口毒性测试》4.3.2 限量法。

5.5.2 产品检验

检验项目包括：产品外观、色泽、滋味、气味、状态、水分、乳酸菌活菌数、霉菌和酵母菌、肠杆菌科、金黄色葡萄球菌、单核细胞增生李斯特氏菌、沙门氏菌。

6 技术要求

6.1 原辅料要求

6.1.1 植物乳杆菌菌粉

可用于发酵乳的植物乳杆菌应符合国家原卫生部办公厅关于印发《可用于食品的菌种名单》的通知（卫办监督发[2010]65号）的规定，质量应符合 QB/T 4575 以及相应的食品安全标准和/或有规定。

6.1.2 海藻糖

应符合国家卫生计生委 2014 年第 15 号公告及 GB/T 23529 的规定。

6.1.3 脱脂乳粉

应符合 GB 19644 食品安全国家标准 乳粉和调制乳粉的规定。

6.1.4 山梨醇

应符合 GB 5009.279 食品安全国家标准 食品中木糖醇、山梨醇、麦芽糖醇、赤藓糖醇的测定的规定。

6.1.5 谷氨酸钠

应符合 GB 1886.306 食品安全国家标准 食品添加剂 谷氨酸钠的规定。

6.1.6 甘油

应符合 GB 29950 食品安全国家标准 食品添加剂 甘油的规定。

6.1.7 生产用水

应符合 GB 5749 生活饮用水卫生标准的规定。

6.1.8 其他食品添加剂

食品添加剂的品种和使用量应符合 GB 2760 的规定，保证不使用和添加法律、法规、国家部门规章、食品安全国家标准所规定许可之外的任何物质。

6.2 感官要求

发酵乳用植物乳杆菌发酵剂应符合表 1 的规定。

表 1 感官要求

项目	要求	检验方法
色泽	具有该产品应有的色泽，无异常色泽。	取 5g 左右的被测样品置于洁净的白色瓷盘中，在自然光线下观察其色泽和外观形态；按标签标示的冲调方法制备样品，倒入无色透明的容器中，在自然光下观察色泽，鉴别气味，用温开水漱口，品尝滋味，检查其有无外来异物。
滋味、气味	具有该产品应有的滋味、气味、无腐败、无异味。	
组织形态	粉末、颗粒状。	
杂质	无正常视力可见外来杂质或异物。	

6.3 理化要求

发酵乳用植物乳杆菌发酵剂应符合表 2 中的规定。

表 2 理化要求

项目	指标	检验方法
水分 (g/100g)	≤7.0	GB 5009.3
铅 (以 Pb 计) (mg/kg)	≤0.8	GB 5009.12
总砷 (以 As 计) (mg/kg)	≤1.5	GB 5009.11
其他污染物限量	应符合 GB 2762 的规定	
农药残留限量	应符合 GB 2763 的规定	
真菌毒素限量	应符合 GB 2761 的规定	

6.4 微生物要求

发酵乳用植物乳杆菌发酵剂应符合表 3 的规定。

表 3 微生物要求

项目	采样方案 a 及限量				检验方法
	n	c	m	M	
菌落总数（CFU/g） b	5	2	103	5×104	GB 4789.2
大肠菌群（CFU/g）	5	2	10	102	GB 4789.3（平板计数法）
沙门氏菌（/25g）	5	0	0	-	GB 4789.4
金黄色葡萄球菌（CFU/g）	5	1	102	103	GB 4789.10
单核细胞增生李斯特氏菌（CFU/g）	5	0	0	-	GB 4789.30
霉菌（CFU/g）≤	50				GB 4789.15
乳酸菌活菌数 c（CFU/g）≥	1×10 ¹¹				GB 4789.35
注：a 样品的采样及处理按 GB 4789.1 执行；b 仅适用于食品加工用乳酸菌菌粉（非活菌型）；c 仅适用于食品加工用乳酸菌菌粉（活菌型）。					

6.5 净含量

净含量应符合《定量包装商品计量监督管理办法》(国家质量监督检验检疫总局令〔2005〕年第 75 号)的规定,并按照 JJF 1070 的规定检验。

6.6 卫生要求

生产加工过程卫生要求应符合 GB 14881、GB 12695 的有关规定。

7 检验规则

7.1 组批

以同一次投料、同一生产线生产的同品种、同规格产品为一组批。

7.2 抽样

每批产品由公司质量检验部门随机抽样进行检验,抽样基数不少于 200 个最小包装,抽样数量不得少于 6 个最小包装,抽样质量不得少于 500 g。

7.3 出厂检验

7.3.1 每批产品应经公司质检部门检验合格,并提供出厂检验合格证或者其他合格证明文件方可出厂。

7.3.2 出厂检验项目为:感官要求、净含量、水分、乳酸菌活菌数、大肠杆菌、霉菌、金黄色葡萄球菌、单核细胞增生李斯特氏菌。

出厂检验项目全部符合本文件要求时，判定该批产品为合格或优级；检验结果不符合本文件要求时，可在抽样批次中加倍抽样复检，复检结果符合本文件要求时，判定该批产品为合格，如复检结果仍有一项不合格，则判定该批产品为不合格。

7.4 型式检验

7.4.1 正常生产时应每 6 个月进行一次型式检验。此外有下列情况之一时，亦应进行型式检验：

原料、工艺发生较大变化时；

停产 3 个月以上（包括 3 个月）再恢复生产时；

出厂检验结果与平常记录有较大差别时；

国家有关主管部门提出进行型式检验要求时。

7.4.2 项目

型式检验项目包括本文件 6.1-6.6 规定的项目。

7.5 判定规则

产品经检验，所有项目指标符合本标准规定时，判定该批产品为“合格批”或该次型式检验结论为“合格”。产品经检验，微生物指标如有不合格，不允许复检并判定该批产品为“不合格批”或该次型式检验结论为“不合格”；其余指标如有不合格项，可加倍抽样，对不合格项目进行复检。如复检结果仍不合格，则判该批产品为“不合格批”或该次型式检验结论为“不合格”。

8 标签标识、包装

8.1 标签标识

产品标识应符合 GB 7718 和 GB 28050 的规定和国家质量监督检验检疫总局令第 123 号《国家质量监督检验检疫总局关于修改〈食品标识管理规定〉的决定》的规定，并注明“使用本产品制作终产品建议稀释倍数”；

运输包装标识如下：产品名称、生产日期、保质期、厂名、厂址、体积、重量、数量及符合 GB/T 191 的储运图示标志。

8.2 包装

包装材料应清洁、干燥、无毒、无异味、符合 GB 4806.1 及相应食品安全国家标准的要求。产品内包装用塑料袋应符合 GB 4806.7 的规定，产品内包装用铝箔复合袋应符合 GB/T 28118 的规定，产品内包装用复合食品袋应符合 GB 9683 的规定，产品外包装用瓦楞纸箱应符合 GB/T 6543 的规定。销售包装应完整、严密、无破损。

9 运输、贮存和保质期

9.1 运输

运输和装卸所用容器、设备、工具应清洁、干燥、无异味、无污染，在运输过程中应避免日晒、雨淋、重压。产品应在清洁、避光、干燥、无虫害、无鼠害的仓库内贮存。产品不应与有毒、有害、有异味、易挥发、易腐蚀的物品混装运输或贮存。未特殊标示贮存条件的产品可以常温贮存；如有特殊贮存要求的产品应在-20℃±2℃下贮存，如活菌型发酵乳加工用植物乳杆菌菌粉。

9.2 贮存

9.2.1 贮存场所应清洁、通风、干燥，并有防尘、防蝇、防虫、防鼠等设施，不得与有毒、有害物品混放。

9.2.2 应分类、分架存放，应离墙离地存放，堆放高度应以提取方便为宜。

9.3 保质期

在本标准规定的贮运条件下，在包装完好和未经启封的情况下，发酵乳加工用植物乳杆菌发酵剂（活菌型）冷冻（≤-18℃）条件下保质期为 24 个月，常温条件（非活菌型）下保质期为 18 个月。

10 销售

销售应符合 GB 31621 的规定。