

Q/FJMY

明一国际营养品集团有限公司企业标准

Q/FJMY 0908S-2021

婴儿配方奶粉基粉(有机)

福建省卫生健康委员会

食品安全企业标准
备案专用章

备案号: 350091S-(2021)

备案日期: 2021年05月10日

该标准备案为存档备查行为, 标准中涉及需经许可的项目和内容, 应取得有关部门许可后方可生产经营

2021-04-01 发布

2021-06-30 实施

明一国际营养品集团有限公司 发布

前 言

本标准编写规则按 GB/T 1.1—2020 的规定进行。

本标准按 GB 10765—2021《食品安全国家标准 婴儿配方食品》、GB 14880—2012《食品安全国家标准 食品营养强化剂使用标准》以及 GB 13432—2013《食品安全国家标准 预包装食品特殊膳食用食品标签》规定编制。

本标准附录为规范性附录。

本标准由明一国际营养品集团有限公司提出。

本标准由明一国际营养品集团有限公司起草。

本标准适用于：

1、明一国际营养品集团有限公司

地址：福州航空港工业集中区仙昙路 3 号

2、明一乳业（齐齐哈尔）有限公司

地址：黑龙江省齐齐哈尔市碾子山区工业园区

3、明一乳业（富裕）有限公司

地址：黑龙江省齐齐哈尔市富裕县富裕镇五街工业园区

4、福建明一生态营养品有限公司

地址：福建省三明市建宁县经济开发区明一高新科技园

本标准主要起草人：刘洪涛、江晓丽、危娟、陈虹玲、张曼莲

婴儿配方奶粉基粉（有机）

1 范围

本标准适用于以有机脱盐乳清粉、有机全脂奶粉、有机脱脂奶粉、乳清蛋白粉为主要原料，按固定配方添加有机食用植物调和油[葵花籽油、大豆油、椰子油、菜籽油]、有机低聚果糖粉、有机低聚半乳糖粉、复配婴儿维生素营养强化剂-E①[维生素A（醋酸视黄酯）、维生素D（胆钙化醇）、维生素E（d1- α -醋酸生育酚）、维生素K₁（植物甲萘醌）、维生素B₁（盐酸硫胺素）、维生素B₂（核黄素）、维生素B₆（盐酸吡哆醇）、维生素B₁₂（氰钴胺）、烟酸（烟酰胺）、叶酸、泛酸（泛酸钙）、生物素、牛磺酸、肌醇]、复配婴儿营养强化剂-E②（碳酸钙、L-抗坏血酸）、复配婴儿营养强化剂-E③（磷酸氢钙、L-抗坏血酸）、复配婴儿抗氧化剂-E④（磷脂、L-抗坏血酸）、复配婴儿营养强化剂-E⑤（氯化钾、L-抗坏血酸）、复配婴儿营养强化剂-E⑥（氯化钠、L-抗坏血酸）、复配婴儿营养强化剂-E⑦（硫酸镁、L-抗坏血酸）、复配婴儿矿物质营养强化剂-E⑧（硫酸铜、硫酸亚铁、硫酸锰、碘酸钾、亚硒酸钠、硫酸锌）、复配婴儿营养强化剂-E⑨（氯化胆碱、L-抗坏血酸）、复配婴儿营养强化剂-E⑩（左旋肉碱酒石酸盐、L-抗坏血酸）经湿法工艺加工制成适合于生产0~6个月龄婴儿食用的婴儿配方奶粉的原料基粉。

2 规范性引用文件

本标准中引用的文件对于本标准的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本标准。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本标准。

3 要求

3.1 原料要求

- 3.1.1 有机全脂奶粉、有机脱脂奶粉：应符合 GB 19644 的规定。
- 3.1.2 有机脱盐乳清粉、乳清蛋白粉：应符合 GB 11674 的规定。
- 3.1.3 有机食用植物调和油：应符合 GB 2716 的规定。
- 3.1.4 有机低聚果糖粉：应符合 GB/T 23528 的规定。
- 3.1.5 有机低聚半乳糖粉：应符合国家卫计委 2016 年第 8 号公告的规定。
- 3.1.6 复配婴儿维生素营养强化剂-E①：应符合 GB 26687 及供应商企业标准或产品规格书的规定。
- 3.1.7 复配婴儿营养强化剂-E②：应符合 GB 26687 及供应商企业标准或产品规格书的规定。
- 3.1.8 复配婴儿营养强化剂-E③：应符合 GB 26687 及供应商企业标准或产品规格书的规定。
- 3.1.9 复配婴儿抗氧化剂-E④：应符合 GB 26687 及供应商企业标准或产品规格书的规定。
- 3.1.10 复配婴儿营养强化剂-E⑤：应符合 GB 26687 及供应商企业标准或产品规格书的规定。
- 3.1.11 复配婴儿营养强化剂-E⑥：应符合 GB 26687 及供应商企业标准或产品规格书的规定。
- 3.1.12 复配婴儿营养强化剂-E⑦：应符合 GB 26687 及供应商企业标准或产品规格书的规定。
- 3.1.13 复配婴儿矿物质营养强化剂-E⑧：应符合 GB 26687 及供应商企业标准或产品规格书的规定。

3.1.14 复配婴儿营养强化剂-E⑨：应符合 GB 26687 及供应商企业标准或产品规格书的规定。

3.1.15 复配婴儿营养强化剂-E⑩：应符合 GB 26687 及供应商企业标准或产品规格书的规定。

3.2 感官要求

应符合表1规定。

表1 感官要求

项目	要求
色泽	呈均匀一致的乳黄色。
滋味、气味	具有本产品特有的滋气味，无异味。
组织状态	呈干燥疏松的粉末，无结块，无正常视力可见的外来异物。
冲调性	冲调下沉快，冲调后呈均匀乳液。

3.3 营养素指标

3.3.1 婴儿配方奶粉基粉（有机）每 100 kJ 所含营养素应符合表 2 规定。

表2 营养素指标

项目	单位	指标	检验方法
能量 ^a	kJ/100mL	250~295	—
蛋白质 ^b	g/100 kJ	0.43~0.72	GB 5009.5
脂肪 ^c	g/100 kJ	1.05~1.43	GB 5009.6
亚油酸	g/100 kJ	0.07~0.33	GB 5009.168
α-亚麻酸	mg/100 kJ	≥12	
亚油酸与α-亚麻酸比值	/	5:1~15:1	—
碳水化合物 ^{d,e}	g/100 kJ	2.2~3.3	—
维生素 A	μg RE ^f /100 kJ	14~36	GB 5009.82
维生素 D ^g	μg/100 kJ	0.48~1.20	
维生素 E	mg α-TE ^h /100 kJ	0.12~1.20	
维生素 K ₁	μg/100 kJ	0.96~6.45	GB 5009.158
维生素 B ₁	μg/100 kJ	14~72	GB 5009.84
维生素 B ₂	μg/100 kJ	19~120	GB 5009.85
维生素 B ₆	μg/100 kJ	8.4~41.8	GB 5009.154
维生素 B ₁₂	μg/100 kJ	0.024~0.359	GB 5413.14 或附录 A
烟酸（烟酰胺） ⁱ	μg/100 kJ	96~359	GB 5009.89
叶酸	μg/100 kJ	2.9~12.0	GB 5009.211 或附录 B
泛酸	μg/100 kJ	96~478	GB 5009.210
维生素 C	mg/100 kJ	≤2.4	GB 5413.18
生物素	μg/100 kJ	0.36~2.39	GB 5009.259 或附录 C
胆碱	mg/100 kJ	4.8~23.9	GB 5413.20
钠	mg/100 kJ	7~14	GB 5009.91 或 GB 5009.268
钾	mg/100 kJ	17~43	

表 2 (续)

项目	单位	指标	检验方法
铜	μg/100 kJ	14.3~28.7	GB 5009.13 或 GB 5009.268
镁	mg/100 kJ	1.2~3.6	GB 5009.241 或 GB 5009.268
铁	mg/100 kJ	0.10~0.36	GB 5009.90 或 GB 5009.268
锌	mg/100 kJ	0.12~0.36	GB 5009.14 或 GB 5009.268
锰	μg/100 kJ	0.72~23.90	GB 5009.242 或 GB 5009.268
钙	mg/100 kJ	12~35	GB 5009.92 或 GB 5009.268
磷	mg/100 kJ	6~24	GB 5009.87 或 GB 5009.268
钙磷比值	/	1:1~2:1	——
碘	μg/100 kJ	3.6~14.1	GB 5009.267
氯	mg/100 kJ	12~38	GB 5009.44
硒	μg/100 kJ	0.72~2.06	GB 5009.93 或 GB 5009.268
肌醇	mg/100 kJ	1.0~9.6	GB 5009.270
牛磺酸	mg/100 kJ	0.8~4.0	GB 5009.169
左旋肉碱	mg/100 kJ	≥0.3	GB 29989
低聚半乳糖	mg/100 g	≥804	附录 D
低聚果糖	mg/100 g	≥1600	GB 5009.255

^a 能量的计算按每100mL产品中蛋白质、脂肪测定值，碳水化合物计算值，分别乘以能量系数17 kJ/g、37 kJ/g、17 kJ/g（膳食纤维的能量系数为8 kJ/g），所得之和为千焦/100毫升（kJ/100mL）值，再除以4.184为千卡/100毫升（kcal/100mL）值。

^b 蛋白质含量，应以氮（N）×6.25计算；婴儿配方羊奶粉基粉中乳清蛋白含量应≥60%（可按原料添加量计算）。

^c 终产品脂肪中月桂酸和肉豆蔻酸（十四烷酸）总量≤总脂肪酸的20%；反式脂肪酸含量≤总脂肪酸的3%；芥酸含量≤总脂肪酸的1%；总脂肪酸指C4~C24脂肪酸的总和。

^d 乳糖占碳水化合物总量应≥90%。

^e 碳水化合物的含量 A_1 ，按式（1）计算：

$$A_1 = 100 - (A_2 + A_3 + A_4 + A_5 + A_6) \dots\dots\dots (1)$$

式中：

A_1 ——碳水化合物的含量，g/100 g；

A_2 ——蛋白质的含量，g/100 g；

A_3 ——脂肪的含量，g/100 g；

A_4 ——水分的含量，g/100 g；

A_5 ——灰分的含量，g/100 g；

A_6 ——膳食纤维的含量（可按低聚糖和（或）多聚糖的添加量计），g/100 g。

^f RE为视黄醇当量。1 μg RE = 1 μg全反式视黄醇（维生素A）= 3.33 IU维生素A。维生素A只包括预先形成的视黄醇，在计算和声称维生素A活性时不包括任何类胡萝卜素组分。

^g 钙化醇，1 μg维生素D = 40 IU维生素 D。

^h 1 mg d-α-生育酚=1 mg α-TE（α-生育酚当量）；1 mg dl-α-生育酚=0.74 mg α-TE（α-生育酚当量）。

ⁱ 烟酸不包括前体形式。

3.4 理化指标

应符合表3的规定。

表3 理化指标

项目	指标	检验方法
水分, %	≤ 5.0	GB 5009.3
灰分, %	≤ 4.0	GB 5009.4
杂质度, mg/kg	≤ 12	GB 5413.30

3.5 卫生指标

3.5.1 污染物指标

应符合表4的规定, 其中铅指标要求严于GB 2762的规定。

表4 污染物指标 (以粉状产品计)

项目	指标	检验方法
铅, mg/kg	< 0.15	GB 5009.12或GB 5009.268
硝酸盐 (以 NaNO ₃ 计), mg/kg	≤ 100	GB 5009.33
亚硝酸盐 (以 NaNO ₂ 计), mg/kg	≤ 2	
黄曲霉毒素 M ₁ , μg/kg	≤ 0.5	GB 5009.24

3.5.2 微生物指标

应符合表5的规定。其中菌落总数指标要求严于GB 10765的规定。

表5 微生物指标

微生物	采样方案 ^a 及限量 (若非指定, 均以CFU/g表示)				检验方法
	n	c	m	M	
菌落总数	5	2	1 000	9 000	GB 4789.2
大肠菌群	5	2	10	100	GB 4789.3
克罗诺杆菌属 (阪崎肠杆菌)	3	0	0/100 g	—	GB 4789.40
沙门氏菌	5	0	0/25 g	—	GB 4789.4
金黄色葡萄球菌	5	2	10	100	GB 4789.10

^a 样品的分析及处理按 GB 4789.1 和 GB 4789.18 执行。

3.6 食品添加剂和食品强化剂要求

3.6.1 食品添加剂和营养强化剂质量应符合相应的安全标准和有关规定。

3.6.2 食品添加剂和营养强化剂使用应符合 GB 2760 和 GB 14880 的规定。

3.7 净含量

应符合《定量包装商品计量监督管理办法》规定, 按JJF 1070检验。

3.8 生产过程卫生要求

应符合GB 23790的规定。

4 试验方法

4.1 感官指标

取1个销售包装单位的样品，打开外包装，将适量内容物置于白色瓷盘中，先嗅其气味，在自然光下观察其组织形态及色泽。取250 mL烧杯加入50℃左右的温开水100 mL，称取15g样品进行冲调，观察其冲调性，温开水漱口后，品尝其滋味。

5 检验规则

5.1 组批

以连续生产的同一品种、同一规格的产品为一批次。

5.2 取样

所抽样品应均为同一批次保质期内的，至少抽取7个样品，分装成小包装。样品分成2份，1份作为检验用样品，1份作为备查样品。

5.3 检验分类

检验类型分为出厂检验、型式检验。

5.4 出厂检验

5.4.1 产品出厂按标准要求进行全项目检验；无国标检测方法的项目，可采用经验证的非标方法进行检验。

5.5 型式检验

5.5.1 型式检验为本要求中的全部项目。

5.5.2 有下列情况之一时，应进行型式检验：

- a) 新产品投产时；
- b) 主要原料来源、生产工艺和设备有明显变化可能影响产品质量时；

5.6 判定

全部项目检验结果均符合本标准要求时，判该批产品合格；微生物项目检验结果不符合本标准要求时，判定为不合格；其他指标不符合本标准要求时，允许对该批产品备查留样加倍复检，复检结果均符合本标准要求时，判定该批产品合格，如仍有一项不符合本标准要求，则判该批产品不合格。

6 标志、标签、包装、运输、贮存

6.1 标志、标签

6.1.1 包装标签按 GB 7718 中“非直接提供给消费者的预包装食品标签”规定执行，应按要求标示食品名称、规格、净含量、生产日期、保质期和贮存条件。其他内容如未在标签上标注，则应在说明书或合同中注明。

6.1.2 包装纸箱标志按 GB/T 191 规定执行。

6.2 包装

6.2.1 采用符合食品级包装材料。

6.2.2 所用包装材料应清洁、无毒，卫生指标应符合 GB 9683。

6.2.3 聚乙烯大包装袋卫生标准应符合 GB 4806.7。

6.3 运输、贮存

6.3.1 运输工具应干净卫生、禁止抛摔，严禁与有毒、有害、有异味、有腐蚀性的物品同车运输。产品应贮存在阴凉通风干燥的清洁仓库内，运输要防雨淋、防日晒。

6.4 保质期

在规定的贮运条件下，保质期不少于 12 个月。

福建省食品安全企业标准备案

附录 A (规范性附录)

维生素 B₁₂ 的检验方法

1 依据、范围及原理

1.1 依据：① GB 5413.14-2010 婴幼儿食品和乳品中维生素 B₁₂ 的测定。

② 维生素 B₁₂ 微生物法定量检测试剂盒说明书。

1.2 范围：本规程适用于乳品/米粉中维生素 B₁₂ 的检测。

1.3 原理：维生素 B₁₂ 是从样品稀释提取所获得的。将稀释了的提取物和维生素 B₁₂ 检测培养基加入包被有德氏乳杆菌的微孔中。德氏乳杆菌的生长情况取决于维生素 B₁₂ 的含量。添加维生素 B₁₂ 作为标准或者作为样品混合物，细菌会一直生长直至维生素 B₁₂ 被消耗殆尽。细菌生长时的新陈代谢的强度和维生素 B₁₂ 的含量形成关系并可以绘制标准曲线，最后 ELx808 在 630nm 读取结果。

2 试剂和设备

2.1 每个试剂盒中包含：

1x 96 孔微孔板，包被有德氏乳杆菌

3x 无菌蒸馏水（30mL），用于准备培养基、标准品和样品提取稀释液

3x B₁₂ 培养基固体（固体）

3x B₁₂ 标准品（固体）

3x 粘性箔

1x 微孔板固定器

2.2 需要试剂但试剂盒中不提供

吸头 20-200 μ L；100-1000 μ L

带帽的无菌离心机管 1.5-2.0mL

无菌注射器和 0.2 μ m 无菌滤膜

离心管 50mL

注：以上耗材均需无菌需要提前准备

2.3 试验所需的设备和仪器

无菌工作台

无菌移液枪：20-200 μ L，100-1000 μ L 两种规格

黑暗条件下的培养箱，37 $^{\circ}$ C

95 $^{\circ}$ C 水浴或者高压灭菌锅

酶标仪 ELx 808 reader 630nm、pH 测量仪

离心机，大约 10000xg、

3 样品制备

3.1 称量 1g（精确到 0.1mg）均质过的样品至一个 50mL 无菌试管中，加入 30mL 无菌超纯水，摇匀，加无菌超纯水至 40mL。

3.2 在 95℃ 水浴中提取 30 分钟。提取时试管须振动至少 5 次。其间保持试管塞紧闭。

3.3 迅速冷却至室温，离心。

3.4 离心后的样品提取液用 0.2 μ m 滤膜过滤至一个 1.5mL-2.0mL 无菌试管中。

4 培养基制备

4.1 打开瓶盖，用镊子取出干燥剂。

4.2 加入 10mL 无菌水至 B₁₂ 培养基。

4.3 95℃ 水浴中加热 5 分钟，期间振荡 2 次。

4.4 迅速冷却至室温（低于 30℃）。

4.5 培养基用 0.2 μ m 无菌过滤。

5 标准品浓缩液配置

5.1 标准品浓缩液：加入 XmL(X=详见质量保证书) 无菌水（试剂盒自带）至标准品瓶中。

5.2 取 6 个无菌管（1.5-2.0mL）。

5.3 按照下列表格准备标准品溶液。

注：1 标准品必须在试验之前新鲜配置

2 操作在无菌操作台内进行

标准品稀释表

标准曲线 $\mu\text{g}/100\text{g}$ (mL)	无菌水 μL		标准浓缩液 μL		总体积 μL
空白: 0	900	+	0	=	900
标准品 1: 0.030	900	+	100	=	1000
标准品 2: 0.060	400	+	100	=	500
标准品 3: 0.090	350	+	150	=	500
标准品 4: 0.120	300	+	200	=	500
标准品 5: 0.180	200	+	300	=	500

6 检测过程

6.1 取出需要数量的微孔板，固定在板架上。

6.2 移液枪吸取 150 μ L B₁₂ 培养基至微孔。

6.3 移液枪吸取 150 μ L 标准品或样品至指定的微孔。

6.4 样品提取液的稀释倍数计算示例：

固体样品，标注浓度 1.2 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 提取液稀释应在标准曲线中间区域。

因此，浓度应除以标准 2

计算： $1.2\mu\text{g} \div 0.06\mu\text{g} = 20 \rightarrow$ 结果为稀释倍数大约为 $20 \rightarrow 1 : 20$ 稀释

稀释步骤：

a) 1 : 10 (0.1 mL 样品提取溶液 + 0.9 mL 试剂盒中的无菌水)

c) 1 : 2 (0.5mL a 液 + 0.5 mL 试剂盒中的无菌水)

样品提取液可以在提取当天使用，使用之前应避光保存。提取稀释液应马上使用。

7 密封微孔板

7.1 用粘合箔盖住微孔

7.2 37℃ 黑暗条件下培养 44-48 小时

8 测量

8.1 培养 44-48 小时后，振荡微孔板

8.2 揭去粘合箔

9 酶标仪读数

用酶标仪 630nm 条件下读取混浊度。

10 结果计算

10.1 将读取的吸光值和维生素 B₁₂ 的含量形成关系并绘制标准曲线，通过读取样品吸光值算出样品的维生素 B₁₂ 含量。

10.2 计算公式： $X = C_s \times F$

式中：X — 样品中维生素 B₁₂ 含量(μg/100g)；

C_s — 样品溶液中维生素 B₁₂ 含量(μg/100g)；

F — 稀释倍数；

m — 质量，g

10.3 计算结果保留两位有效数字。

10.4 在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

11 注意事项

11.1 保证粘合箔和微孔的封闭性，特别注意微孔的边缘部分。

11.2 当孵育 44-48 小时后，微孔板能在冰箱里最多储存 48 小时，因此必须在这个时间段内测量混浊度。

11.3 为了避免由于假期或周末所产生的时间上的损失，微孔板能在 60 小时之后进行评估计算。推荐使用定时器在 48 小时之后关闭孵育器。

附录 B (规范性附录)

叶酸的检验方法

1 依据、范围及原理

1.1 依据：①GB 5009.211-2014 食品安全国家标准食品中叶酸的测定。

②维生素 B₉ 检测试剂盒操作说明。

1.2 范围：本规程适用于乳品/米粉中叶酸的检测。

1.3 原理：叶酸是从样品稀释提取所获得的。将稀释了的提取物和叶酸检测培养基加入包被有鼠李糖乳杆菌的微孔中。鼠李糖乳杆菌的生长情况取决于叶酸的含量。添加叶酸作为标准或者作为样品混合物，细菌会一直生长直至叶酸被消耗殆尽。细菌生长时的新陈代谢的强度和叶酸的含量形成关系并可以绘制标准曲线，最后 ELx808 在 630nm 读取结果。

2 试剂和设备

2.1 每个试剂盒中包含：

1x 96 孔微孔板，包被有鼠李糖乳杆菌

3x 无菌蒸馏水（30mL），用于准备培养基、标准品和样品提取稀释液

3x 叶酸培养基固体（固体）

3x 叶酸标准品（固体）

3x 叶酸缓冲液（液体）

3x 粘性箔

1x 微孔板固定器

2.2 需要试剂但试剂盒中不提供

吸头 20-200 μ L； 100-1000 μ L

带帽的无菌离心管 1.5-2.0mL

无菌注射器和 0.2 μ m 无菌滤膜

离心管 50mL

注：以上耗材均需无菌需要提前准备

2.3 试验所需的设备和仪器

无菌工作台

液灭菌移液枪： 20-200 μ L， 100-1000 μ L 两种规格

黑暗条件下的培养箱，37℃

95℃水浴，或者高压灭菌锅

酶标仪 ELx 808 reader 630nm、pH 测量仪

离心机，大约 10000xg

2.4 需要配置的试剂（包括所有检测项目）

磷酸盐缓冲液(0.05mol/L，0.1%抗坏血酸盐；pH7.2) 溶解 7.8 gKH₂PO₃ · 2H₂O 和 1g 抗坏血酸钠于 1L 双蒸水或去离子水中，调整 pH 值至 7.2。此溶液需要每日新鲜制备。

3 样品制备

3.1 准确称取 1g（精确到 0.1mg）均质过的样品至一个 50mL 无菌试管中，加入 30mL 磷酸盐缓冲液，摇匀，加磷酸盐缓冲液至 40mL。

3.2 在 95℃水浴中提取 30 分钟。提取时试管须振动至少 5 次。其间保持试管塞紧闭。

3.3 迅速冷却至室温，离心。

3.4 离心后的样品提取液用 0.2μm 滤膜过滤至一个 1.5-2.0mL 无菌试管中。

4 培养基制备

4.1 打开瓶盖，用镊子取出干燥剂。

4.2 加入 10mL 无菌水至叶酸培养基。

4.3 加入 1mL 叶酸缓冲液至培养基中，摇匀。

4.4 95℃水浴中加热 5 分钟，期间振荡 2 次。

4.5 迅速冷却至室温（低于 30℃）。

4.6 培养基用 0.2μm 无菌过滤。

5 标准品浓缩液配置

5.1 标准品浓缩液：加入 X mL(X=详见质量保证书) 无菌水（试剂盒自带）至标准品瓶中

5.2 取 6 个无菌管（1.5-2.0mL）

5.3 按照下列表格准备标准品溶液

注：1 标准品必须在试验之前新鲜配置； 2 操作在无菌操作台内进行。

标准品稀释表

标准曲线 μg /100g (mL)	无菌水 μL		标准浓缩液 μL		总体积 μL
空白：0	900	+	0	=	900
标准品 1：0.16	900	+	100	=	1000

标准品 2: 0.32	400	+	100	=	500
标准品 3: 0.64	300	+	200	=	500
标准品 4: 0.96	200	+	300	=	500
标准品 5: 1.28	100	+	400	=	500

6 检测过程

6.1 取出需要数量的微孔板，固定在板架上。

6.2 移液枪吸取 150 μ L 叶酸培养基至微孔。

6.3 移液枪吸取 150 μ L 标准品或样品至指定的微孔。

样品提取液的稀释倍数计算示例：

固体样品，标注浓度 125 μ g /100g 提取液稀释应在标准曲线中间区域。

因此，浓度应除以标准 2（0.32 μ g/100g（mL））

计算：125 μ g \div 0.32 μ g = 390 \rightarrow 结果为稀释倍数大约为 400 \rightarrow 1 : 400 稀释

稀释步骤：

a) 1 : 10（0.1 mL 样品提取溶液+0.9 mL 试剂盒中的无菌水）

b) 1 : 10（0.1 mL a 液+0.9 mL 试剂盒中的无菌水）

c) 1 : 4（0.25 mL b 液+0.75 mL 试剂盒中的无菌水）

样品提取液可以在提取当天使用，使用之前应避光保存。提取稀释液应马上使用。

微克叶酸当量 1 μ gDFE=0.6 μ g 叶酸，计算结果保留三位有效数字，在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

7 密封微孔板

7.1 用粘合箔盖住微孔

7.2 37 $^{\circ}$ C 黑暗条件下培养 44-48 小时。

8 测量

8.1 培养 44-48 小时后，振荡微孔板。

8.2 揭去粘合箔。

9 酶标仪读数

用酶标仪 630nm 条件下读取混浊度。

10 注意事项

10.1 保证粘合箔和微孔的封闭性，特别注意微孔的边缘部分。

10.2 当孵育 44-48h 后，微孔板能在冰箱里最多储存 48 小时，因此必须在这个时间段内测量混浊度。

10.3 为了避免由于假期或周末所产生的时间上的损失，微孔板能在 60 小时之后进行评估计算。推荐使用定时器在 48 小时之后关闭孵育器。

10.4 检测培养基有可能刺激眼睛、皮肤、隔膜，操作时应注意做好防护措施。

10.5 本实验中所使用磷酸二氢钾、抗坏血酸钠和氯化钠为危险物品，其所含的危险因子、危险特性、急救措施等详见 MSDS。

福建省食品安全企业标准备案

福建省食品安全企业标准备案

附录 C (规范性附录)

生物素的检验方法

1 依据、范围及原理

1.1 依据：① GB 5009.259-2016 食品中生物素的测定。

② 维生素 B₇ 微生物法定量检测试剂盒说明书。

1.2 范围：本规程适用于乳品/米粉中生物素的检测。

1.3 原理：生物素是从样品稀释提取所获得的。将稀释了的提取物和生物素检测培养基加入包被有植物乳酸杆菌的微孔中。植物乳酸杆菌的生长情况取决于生物素的含量。添加生物素作为标准或者作为样品混合物，细菌会一直生长直至生物素被消耗殆尽。细菌生长时的新陈代谢的强度和生物素的含量形成关系并可以绘制标准曲线，最后 ELx808 在 630nm 读取结果。

2 试剂和设备

2.1 每个试剂盒中包含：

1x 96 孔微孔板，包被有植物乳杆菌

3x 无菌蒸馏水（30mL），用于准备培养基、标准品和样品提取稀释液

3x 生物素培养基固体（固体）

3x 生物素标准品（固体）

3x 粘性箔

1x 微孔板固定器

2.2 需要试剂但试剂盒中不提供

吸头 20-200uL； 100-1000uL

带帽的无菌离心管 1.5-2.0mL

无菌注射器和 0.2 μm 无菌滤膜

离心管 50mL

注：以上耗材均需无菌需要提前准备

2.3 试验所需的设备和仪器

无菌工作台

无菌移液枪： 20-200μL， 100-1000μL 两种规格

黑暗条件下的培养箱， 37℃

95℃水浴，或者高压灭菌锅

酶标仪 ELx 808 reader 630nm、pH 测量仪

离心机，大约 10000xg

3 样品制备

3.1 称量 1g（精确到 0.1mg）均质过的样品至一个 50mL 无菌试管中，加入 30mL 无菌超纯水，摇匀，加无菌超纯水至 40mL。

3.2 在 95℃水浴中提取 30 分钟。提取时试管须振动至少 5 次。其间保持试管塞紧闭。

3.3 迅速冷却至室温，离心。

3.4 离心后的样品提取液用 0.2 μ m 滤膜过滤至一个 1.5-2.0mL 无菌试管中。

4 培养基制备

4.1 打开瓶盖，用镊子取出干燥剂。

4.2 加入 10mL 无菌水至生物素培养基。

4.3 95℃水浴中加热 5 分钟，期间振荡 2 次。

4.4 迅速冷却至室温（低于 30℃）。

4.5 培养基用 0.2 μ m 无菌过滤。

5 标准品浓缩液配置

5.1 标准品浓缩液：加入 X μ L (X=详见质量保证书) 无菌水（试剂盒自带）至标准品瓶中。

5.2 取 6 个无菌管（1.5-2.0mL）。

5.3 按照下列表格准备标准品溶液。

注：1 标准品必须在试验之前新鲜配置

2 操作在无菌操作台内进行

标准品稀释表

标准曲线 μ g / 100g (mL)	无菌水 μ L		标准浓缩液 μ L		总体积 μ L
空白：0	900	+	0	=	900
标准品 1：0.08	900	+	100	=	1000
标准品 2：0.24	350	+	150	=	500
标准品 3：0.40	250	+	250	=	500
标准品 4：0.56	150	+	350	=	500
标准品 5：0.72	50	+	450	=	500

6 检测过程

- 6.1 取出需要数量的微孔板，固定在板架上
- 6.2 移液枪吸取 150 μ L 生物素培养基至微孔
- 6.3 移液枪吸取 150 μ L 标准品或样品至指定的微孔

样品提取液的稀释倍数计算示例：

固体样品，标注浓度 80 μ g / 100g 提取液稀释应在标准曲线中间区域。

因此，浓度应除以标准 2

计算：80 μ g \div 0.24 μ g=333 \rightarrow 结果为稀释倍数大约为 300 \rightarrow 1: 300 稀释

稀释步骤：

- a) 1 : 10 (0.1 mL 样品提取溶液+0.9 mL 试剂盒中的无菌水)
- b) 1 : 10 (0.1 mL a 液+0.9 mL 试剂盒中的无菌水)
- c) 1 : 3 (0.2 mL b 液+0.4 mL 试剂盒中的无菌水)

样品提取液可以在提取当天使用，使用之前应避光保存。提取稀释液应马上使用。

7 密封微孔板

- 7.1 用粘合箔盖住微孔。
- 7.2 37 $^{\circ}$ C 黑暗条件下培养 44-48 小时。

8 测量

- 8.1 培养 44-48 小时后，振荡微孔板。
- 8.2 揭去粘合箔。

9 酶标仪读数

用酶标仪 630nm 条件下读取混浊度。

10. 结果计算

10.1 将读取的吸光值和生物素的含量形成关系并绘制标准曲线，通过读取样品吸光值算出样品的生物素含量。

10.2 计算公式： $X = C_s \times F$

式中：X — 样品中生物素含量 (μ g/100g)；

C_s — 样品溶液中生物素含量 (μ g/100g)；

F — 稀释倍数；

m — 质量，g

10.3 计算结果保留三位有效数字。

10.4 在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

11 注意事项

11.1 保证粘合箔和微孔的封闭性，特别注意微孔的边缘部分。

11.2 当孵育 44-48 小时后，微孔板能在冰箱里最多储存 48 小时，因此必须在这个时间段内测量混浊度。

11.3 为了避免由于假期或周末所产生的时间上的损失，微孔板能在 60 小时之后进行评估计算。推荐使用定时器在 48 小时之后关闭孵育器。

福建省食品安全企业标准备案
福建省食品安全企业标准备案

附录 D (规范性附录)

低聚半乳糖的检验方法

1 依据、范围及原理

- 1.1 依据：AOAC 发布的测定特定食品中的反式低聚半乳糖离子交换色谱法。
- 1.2 范围：本规程适用于奶粉等配方食品中低聚半乳糖的检测。
- 1.3 原理：样品经水溶解在 60%乙腈水条件下沉淀蛋白，过滤后经离子交换色谱柱分离低聚半乳糖，用离子色谱脉冲安培检测器检测，外标法定量。

2 试剂和材料

除非另有规定，本方法中所用试剂均为分析纯，水为GB/T6682 规定的实验室一级水。

- 2.1 乙腈：色谱纯。
- 2.2 标准储备液：准确称取折算后的低聚半乳糖（GOS）标准品用水定容至容量瓶中，此溶液低聚半乳糖含量为2.0 mg/mL，该溶液现配现用。
- 2.3 标准工作液：分别准确吸取0.10mL、0.25mL、0.50mL、0.75mL、1.0mL标准储备液（2.4）用水定容至10 mL，低聚半乳糖标准工作液浓度分别为20 μ g/mL、50 μ g/mL、100 μ g/mL、150 μ g/mL、200 μ g/mL，此工作液现用现配。
- 2.4 微孔滤膜：0.22 μ m。

3 仪器和设备

- 3.1 离子色谱仪：940 Professional IC Vario。
- 3.2 涡旋混合器。
- 3.3 天平：感量为0.0001g，0.01g。
- 3.4 超声波振荡器

4 分析步骤

4.1 前处理：

准确称取奶粉样品 0.5g（精确至 0.001g），置于 10mL 容量瓶中，加水 4mL，振摇使其溶解，60℃ 水浴 30 分钟。放至室温后，加乙腈至刻度，摇匀。静置 10min 使其沉降（必要时延长沉降时间，或离心）。根据样品低聚半乳糖含量取上清液 1mL 或 2mL，加水稀释至 10mL，摇匀，过 RP 柱后再过 0.22 μ m 滤膜上机测定浓度 C。

前处理条件选择的分析：温度提高时，GOS 溶解度增加，60℃水浴 30 分钟，可保证奶粉中 GOS 的

溶出。奶粉中含有大量的蛋白和脂肪，需要在进入色谱柱之前出除去去。选择水：乙腈=4:6 来沉降蛋白，沉降蛋白需要的时间为 10min 左右；可用正己烷萃取溶液中的脂肪，并使用氮吹除去多余的正己烷。

4.2 参考色谱条件：

分析柱：HAMILTON RCX-30 250/4.6

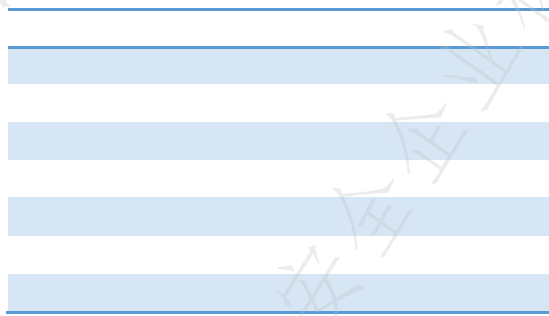
柱温：32℃

仪器：离子色谱仪-脉冲安培检测器 PAD, Au 电极

AgCl 参比模式，糖四电位波形-Carbohydrates (std. quad. potential)

淋洗液/流动相：A:105mmol/L NaOH, 15 mmol/L NaOAc; B:150mmol/L NaOH, 100 mmol/L NaOAc

梯度洗脱如下：



备注：以上仪器条件是参考条件，在实际操作过程中可以根据样品特性和仪器状态做适当调整。

4.3 定量分析

4.3.1 标准曲线的绘制

将低聚半乳糖的标准工作液(2.5)注入离子色谱仪中，得到峰面积。以峰面积为纵坐标，以低聚半乳糖标准工作液浓度为横坐标绘制标准曲线。

4.3.2 试样测定

将待测液(4.1)注入离子色谱仪中，得到峰面积，根据标准曲线得到待测液中低聚半乳糖的浓度。

5 色谱图的选择

对照标品峰的选择

GOS中含有聚合度2-8的低聚半乳糖。不同厂家的GOS原料，其含有的低聚半乳糖的种类和量均有差异。本公司主要使用量子高科GOS原料，可以找到6个特征峰，基于空白样品本底的干扰及响应大小不同，选

择最优GOS-6，出峰时间为35.11min这个目标峰作为对照峰，通过其出峰时间与峰面积来定性定量分析低聚半乳糖。谱图见图1。

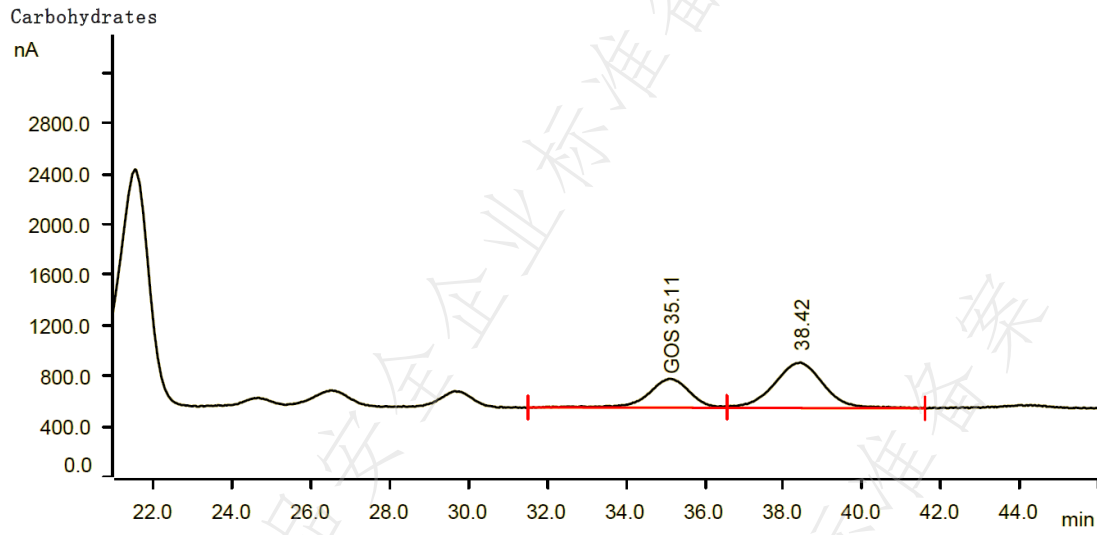


图 1 浓度为 100µg/ml 的 GOS 标准溶液的色谱图

6 分析结果的表述

试样中低聚半乳糖含量按式（1）计算：

$$X = \frac{C \times V \times f \times 100}{m \times 1000}$$

X —— 试样中低聚半乳糖的含量，单位为毫克每百克（mg/100g）；

C —— 测定试样溶液中低聚半乳糖的浓度，单位为毫克每升（µg/mL）；

V —— 试样溶液体积，单位为毫升（mL）V=10；

f —— 试样溶液稀释倍数；

m —— 试样取样量，单位为克（g）

100, 1000 —— 换算系数；

结果保留三位有效数字。

7 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得超过算术平均值的 10%。

8 其它：

当取样量为 0.5g, 定容 10 mL 时, 检出限为 11.0mg/100g, 定量限为 36.5 mg/100g。

9 注意事项

本实验中所使用的乙腈、氢氧化钠、乙酸钠为危险物品，其所含的危险因子、危险特性、急救措施等详见 MSDS。

福建省食品安全企业标准备案

福建省食品安全企业标准备案