

活性酸乳中每种益生菌总数的同时计数法

辛若竹, 丁 梅, 孟宪志, 孙 健

(梅河口市产品质量监督检验所, 吉林 梅河口 135000)

摘 要: 益生菌酸奶的营养作用和保健功能决定于成品中必须含有一定数量级的活性益生菌数。本实验通过研究分析活性酸奶中嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌、嗜酸乳杆菌、双歧杆菌、鼠李糖乳杆菌(LGG 菌)、干酪乳杆菌等乳酸菌在 BBL 平板培养基上的菌落特征及菌体形态, 提出了一种可同时准确计数每种益生菌总数的新方法, 该方法可直观地观察到各种益生菌的生长活度, 免除了传统方法计数不同益生菌总数要用不同培养基的繁琐, 为快速鉴定益生菌酸奶品质好坏和保健功能活性高低提供了检测依据。

关键词: 活性酸乳; 益生菌; 菌落特征; 菌体形态; 菌落计数

Simultaneous Counting Method for Total Probiotics Species in Active Yoghurt

XIN Ruo-zhu, DING Mei, MENG Xian-zhi, SUN Jian

(Meihekou Quality Supervision and Inspection Station of Product and Commodity, Meihekou 135000, China)

Abstract: Nutrition and health protection of active yoghurt are assayed by the total active probiotics species involved. In this study, a new method was suggested for simultaneous and accurate counting of the total Probiotics species by analyzing the colony characteristics and mycelial morphology of all *Lactobacillus* species of active yoghurt in the BBL flat culture medium, namely: *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacteria*, *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Lactobacillus casei*. The growth activity of different probiotics species can be directly observed and quickly judged for good or poor quality and high or low activity in the active yoghurt, so as to simplify the prolix procedure of the traditional method in using different specific culture medium to count different probiotics species.

Key words active yoghurt; probiotics; colony characteristics; mycelial morphology; colony-counting

中图分类号: Q949.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2008)04-0244-05

目前市场上常见的活性酸乳制品有两种, 一种是由鲜牛奶添加两种乳酸菌(嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌)后发酵制成的传统酸奶; 另一种是在前者发酵的基础上, 又添加了另外几种乳酸菌类(嗜酸乳杆菌、双歧杆菌、鼠李糖乳杆菌(LGG 菌)、干酪乳杆菌)的益生菌酸奶。益生菌酸奶的最大特点是必须含有一定数量级的耐酸能力强, 可以经受住人体胃酸考验并能在人体肠道中定植, 对人体起着有益健康作用的活性益生菌, 因此益生菌酸奶比传统酸奶更具有诸如“平衡和改善胃肠道功能”、“增强人体自身免疫能力”、“防止过敏, 减少受感染的几率”等特殊的生理活性功能。益生菌酸奶的这种特殊营养作用和保健功能都决定于其成品必须含有足够数量级的活性益生菌数, 即含有嗜酸乳杆菌、双歧杆菌、鼠李糖乳杆菌(LGG 菌)、干酪乳杆菌的数量, 所以计数活性酸乳中各种益生菌总数成为判断益生菌酸奶品质好坏和保健功能活性高低的重要手段。由于目前我国还没有活性益生菌酸奶的产品标准及其检验方法标

准, 对益生菌酸奶产品中活性益生菌总数的多少, 对益生菌酸奶的保质期和贮存条件未做明确规定, 也没有一套完整的体系来进行监控, 导致益生菌酸奶在销售的环节中, 由于冷链不成熟, 仓储管理不妥当等原因造成产品虽然在保质期内, 但产品中的活性益生菌存活量已经大大降低, 消费者食用后达不到理想调节肠道微生态平衡, 增强机体免疫力等保健作用, 因此急需为生产企业和检测部门提供可同时准确计数活性酸乳中各种益生菌总数的检测方法, 以控制益生菌酸奶在生产、销售过程中的质量, 同时建议国家有关部门尽快出台有关益生菌酸奶的相关标准, 严格规定其产品在保质期内的活性益生菌总数, 以保证消费者的利益。本实验通过对嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌、嗜酸乳杆菌、双歧杆菌、鼠李糖乳杆菌(LGG 菌)、干酪乳杆菌的分离纯化, 研究分析六种乳酸菌在 BBL 培养基平板上的菌落特征及菌体形态, 并分别对其菌落特征和菌体形态作详细的文字和图像说明, 直观地观察到各种益生菌的生长活

收稿日期: 2007-04-21

作者简介: 辛若竹(1969-), 女, 工程师, 主要从事食品分析与检验及食品发酵技术研究。E-mail: mhkxrz@yahoo.com.cn

度, 解决混合发酵酸乳中多种乳酸菌同时存在下计数每种益生菌总数的难题, 为快速、准确计数每种益生菌的总数提供检测依据。

1 材料与方法

1.1 菌种

嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌、嗜酸乳杆菌、双歧杆菌从市售光明牌酸牛奶中分离获得; 鼠李糖乳杆菌(LGG 菌)从市售伊利牌酸牛奶中分离获得; 干酪乳杆菌从市售广泽牌酸牛奶中分离获得。

1.2 原料与试剂

1.2.1 改良 TJA 培养基

按 GB/T4789.35 — 2003 附录 A 专用培养基及试剂中 A.1 章规定制备。

1.2.2 BBL 培养基

按 GB/T4789.34 — 2003 附录 A 专用培养基及试剂中 A.1 章规定制备。

1.2.3 MRS 培养基

按文献[5]附录 5 常用培养基中 5.1 章规定制备。

1.2.4 试管培养基(A)

市售纯牛奶定量分装于试管内 115℃ 灭菌 8min。用于培养嗜热链球菌。

1.2.5 试管培养基(B)

市售纯牛奶中加入 0.2%~0.5% 的酵母浸粉、2%~5% 的葡萄糖、0.05% 的半胱氨酸, 定量分装于试管内 115℃ 灭菌 8min。用于培养双歧杆菌。

1.2.6 试管培养基(C)

市售纯牛奶中加入 0.2%~0.5% 的酵母浸粉、2%~5% 的葡萄糖, 定量分装于试管内 115℃ 灭菌 8min。用于培养保加利亚乳杆菌、嗜酸乳杆菌、鼠李糖乳杆菌(LGG 菌)、干酪乳杆菌。

1.2.7 市售伊利牌酸牛奶

由嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌、LGG 菌三种混合菌发酵加工制成。

1.2.8 市售光明牌酸牛奶

由嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌、嗜酸乳杆菌、双歧杆菌四种混合菌发酵加工制成。

1.2.9 市售广泽牌酸牛奶

由嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌、嗜酸乳杆菌、双歧杆菌、干酪乳杆菌五种混合菌发酵加工制成。

1.2.10 试剂

革兰氏染色液; 3% 过氧化氢溶液; 0.85% 生理盐水; 按 GB4789.28 规定配制。

1.3 仪器与设备

恒温培养箱(36±1℃)、厌氧培养装置(厌氧罐)、冰箱(0~4℃)、吸管(容量为 1、10 和 25ml)、三角瓶(容量为 250ml)、平皿(直径为 9cm)、试管(18×180mm)、接种环和涂布棒、架盘药物天平、酸度计、均质机、高压蒸汽灭菌锅、超净工作台及生物显微镜等。

1.4 菌种的分离和纯化

1.4.1 鼠李糖乳杆菌(LGG 菌)分离和纯化^[1-2]

1.4.1.1 鼠李糖乳杆菌(LGG 菌)的分离

将市售伊利牌酸牛奶(以嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌、LGG 菌为发酵剂)用生理盐水稀释至 10⁻⁷, 取 10⁻⁶、10⁻⁷ 两级稀释液各 1ml, 分别移入平皿后, 将冷至 50℃ 的 MRS 培养基注入平皿约 15ml, 并转动平皿使混合均匀, 或直接用接种环蘸取活化过酸牛乳原液平板划线分离, 放至厌氧罐内, 置 40℃ 培养箱培养 48h, 将呈现的大而不透明菌落, 圆形光滑, 边缘整齐, 奶油白色, 散发奶油味, 且过氧化氢酶阴性的, 初定为鼠李糖乳杆菌(LGG 菌)。

1.4.1.2 鼠李糖乳杆菌(LGG 菌)的鉴别纯化

将初定为鼠李糖乳杆菌(LGG 菌)的菌落染色镜检并转至试管培养基(C)中, 40℃ 培养 8~24h, 若乳出现凝固、无气泡、呈酸性, 涂片镜检, 革兰氏阳性无芽孢, 细胞呈细小杆状, 单个或成双或成链, 鉴别为鼠李糖乳杆菌(LGG 菌)。然后再将鼠李糖乳杆菌(LGG 菌)连续传代 3~4 次, 最终分别选择出在 6~8h 发生乳凝, 滴定酸度为 0.7%~0.9% 的菌管作为鼠李糖乳杆菌(LGG 菌)菌种。

1.4.2 嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌、嗜酸乳杆菌、双歧杆菌的分离和纯化

将市售光明牌酸牛奶(以嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌、嗜酸乳杆菌、双歧杆菌为发酵剂)用生理盐水稀释至 10⁻⁷, 各选取 10⁻⁶、10⁻⁷ 两个稀释度, 分别移 0.1ml 稀释液于 BBL 平板培养基上, 均匀涂布, 放至厌氧罐内, 置 36±1℃ 恒温箱内培养 72±3h 取出, 按文献[3]给出的四种菌在 BBL 平板培养基上的菌落特征观察菌体形态。将菌落细小光滑, 湿润微白色, 边缘整齐, 且镜检结果为细胞呈卵圆形, 成对或形成长链的鉴别为嗜热链球菌; 将菌落中等大小, 微白色, 湿润, 边缘不整齐, 如棉絮团状菌落, 且镜检结果为细胞两端钝圆, 呈细杆状, 单个或成链的鉴别为保加利亚乳杆菌; 将菌落粗糙, 无色素, 呈颗粒状, 边缘不整齐, 且镜检: 细胞两端钝圆, 呈杆状, 单个或成双或成短链, 部分细胞形状变得不规则的鉴别为嗜酸乳杆菌; 将菌落中等大小, 表面光滑、凸起, 边缘整齐成灰白色, 质地柔软、细腻, 且镜检结果为着色不均匀、出现“Y”或“V”型的分叉、或棍棒状、勺状、弯曲状等多形态的杆菌鉴别为双歧杆菌。然后再将分离出的四种单

一菌株分别移入各自适合的试管培养基(A、B、C)中,最终选出凝乳效果好菌管的作为菌种。

1.4.3 干酪乳杆菌分离和纯化^[4-5]

1.4.3.1 干酪乳杆菌的分离

以无菌操作吸取市售广泽牌酸牛奶(以嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌、嗜酸乳杆菌、双歧杆菌、干酪乳杆菌为发酵剂)1ml,移入试管培养基(C)中40℃增酸培养48h,以增加耐酸性强的干酪乳杆菌的数量。将增菌培养的试管酸奶用生理盐水稀释至 10^{-7} ,取 10^{-6} 、 10^{-7} 两级稀释液各1ml,分别移入平皿后,将冷至50℃的改良TJA培养基注入平皿约15ml,并转动平皿使混合均匀,至40℃培养箱培养48h,将TJA琼脂平板深层中白色或淡黄色,圆形光滑,边缘整齐,凸镜形或侧面呈菱形状的菌落,且过氧化氢酶阴性的,初定为干酪乳杆菌。

1.4.3.2 干酪乳杆菌的鉴别纯化

将初定为干酪乳杆菌的菌落染色镜检并转至试管培养基(C)中,40℃培养8~24h,若乳出现凝固、无气泡、呈酸性,且镜检是革兰氏阳性无芽孢、呈短杆状,单个或成双,菌端通常平直,鉴别为干酪乳杆菌。然后再将干酪乳杆菌各连续传代3~4次,最终选择出在6~8h发生乳凝,滴定酸度为0.7%~0.9%的菌管作为干酪乳杆菌菌种。

嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌、嗜酸乳杆菌、双歧杆菌、鼠李糖乳杆菌(LGG菌)、干酪乳杆菌在BBL培养基上生长实验以无菌操作程序,分别用接种环直接蘸取以上纯化好的六种乳酸菌,在BBL平板培养基上分区划线分离,放至厌氧罐内,置 36 ± 1 ℃恒温箱内培养 72 ± 3 h取出,观察嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌、嗜酸乳杆菌、双歧杆菌、鼠李糖乳杆菌(LGG菌)、干酪乳杆菌在BBL平板培养基上的生长状态及菌落特征,并染色镜检观察菌体形态。

1.5 BBL平板培养基同时计数每种益生菌总数、总益生菌数和乳酸菌总数

1.5.1 六种菌酸奶的制备

市售纯牛奶中加入2%的葡萄糖、7%的蔗糖、0.3%的低聚木糖,经115℃灭菌8min,冷却。按照一定比例接入上述分离好的六种菌种,混匀后放入38~40℃恒温培养箱中发酵12~14h,酸度可达0.8%~0.9%后取出,在4℃冰箱冷藏24h即成。

1.5.2 BBL同时计数每种单一益生菌总数、总益生菌数和乳酸菌总数

将自制的六种菌酸奶用生理盐水稀释至 10^{-9} ,各选取 10^{-7} 、 10^{-8} 、 10^{-9} 三个稀释度,以吸取该稀释度的吸管分别移0.1ml稀释液于BBL平板培养基上,均匀涂布,每个稀释度做两个平皿。放至厌氧罐内,置 36 ± 1 ℃

恒温箱内培养 72 ± 3 h取出,根据嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌、嗜酸乳杆菌、双歧杆菌、鼠李糖乳杆菌(LGG菌)、干酪乳杆菌在BBL平板培养基上各自独特的菌落特征和菌体形态,分别计算出平皿内每种单一乳酸菌个数,然后乘其稀释倍数即得每毫升酸奶中每种单一乳酸菌总数。六种单一乳酸菌总数之和即为总乳酸菌数,其中嗜酸乳杆菌、双歧杆菌、鼠李糖乳杆菌(LGG菌)、干酪乳杆菌是能在人体肠道中定植的益生菌,这四种益生菌的总数即为总益生菌数。

1.5.3 传统方法用不同培养基分别计数各种乳酸菌总数

同时将以上各梯度的自制六种菌酸奶的样品稀释液分别按GB/T4789.35-2003中改良TJA培养基普通培养计数嗜热链球菌总数、保加利亚乳杆菌总数和干酪乳杆菌总数;按GB/T4789.34-2003中BBL培养基厌氧培养计数双歧杆菌总数;按文献[2]和[5]中MRS培养基厌氧培养计数鼠李糖乳杆菌(LGG菌)总数和嗜酸乳杆菌总数。

2 结果与分析

2.1 菌种的分离纯化

实验证实,可以通过本实验的分离纯化方法,从市售酸牛奶中分离获得嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌、嗜酸乳杆菌、双歧杆菌、鼠李糖乳杆菌(LGG菌)、干酪乳杆菌六种单个菌株,并可进一步纯化培养出性能优良的作为菌种。

2.2 嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌、嗜酸乳杆菌、双歧杆菌、鼠李糖乳杆菌(LGG菌)、干酪乳杆菌在BBL培养基上生长特征

实验结果表明,嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌、嗜酸乳杆菌、双歧杆菌、鼠李糖乳杆菌(LGG菌)、干酪乳杆菌均能在BBL培养基上良好生长,且能形成各自独特的菌落特征(表1)和菌体形态(表2),实现了在同一种培养基上能同时明显地区分开六种乳酸菌目的,可直观地观察到各种益生菌的生长活度,为快速、准确计数每种益生菌的总数提供了检测依据。

以上菌体形态图片由OLYMPUS C-310型数码相机在显微镜下实物拍取,电脑PHOTOSHOP软件选取制作。

2.3 BBL平板培养基同时计数法与其他传统培养计数法的比较试验

取本实验自制的六种菌酸奶两瓶,按本实验确定的BBL培养基同时计数方法计数自制酸奶中各种益生菌的总数及乳酸菌总数,同时按本实验1.4.5.3条中的其他传统计数法使用不同培养基计数同一酸奶样品中各种益生菌的总数及乳酸菌总数。两种方法每份样品进行三次平行测定,计数结果见表3。由表3可知,两种方法的计数结果较为接近,因微生物学乳酸菌菌落总数计数方法本身就是一种大约近似方法,加之在实验中不可避免

表1 嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌、嗜酸乳杆菌、双歧杆菌、鼠李糖乳杆菌(LGG菌)、干酪乳杆菌在BBL培养基上的菌落特征
Table 1 Colony characteristics of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacteria*, *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Lactobacillus casei* in BBL culture medium

菌种名称	菌落特征文字描述	菌落特征图片说明
嗜热链球菌	菌落光滑, 湿润, 边缘整齐, 乳白或微白色, 呈针尖状圆点菌落。	
保加利亚乳杆菌	菌落中等大小, 扁平光滑, 微白色, 湿润, 边缘不整齐, 如棉絮状或似绒毛状菌落。	
嗜酸乳杆菌	粗糙菌落, 无色素, 表面呈颗粒状, 边缘不整齐, 有似花瓣状菌形; 或光滑菌落, 圆形扁平, 菌中心有脐状凹陷点。同一培养出现光滑和粗糙菌落是嗜酸乳杆菌的特征。	
双歧杆菌	菌落中等大小, 表面光滑、凸起, 边缘整齐灰白色, 质地柔软、细腻。	
鼠李糖乳杆菌	呈现大的不透明的菌落, 圆形光滑, 边缘整齐, 奶油白色, 散发奶油味。	
(LGG菌)		
干酪乳杆菌	中等大小不透明的菌落, 圆形光滑, 边缘整齐, 凸起, 白色或淡黄色。	

存在样品均匀性、偶然性的问题, 只要是不存在很大的偏差, 就可表明两种计数方法的结果上无明显差异。因此可以确认: 嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌、嗜酸乳杆菌、双歧杆菌、鼠李糖乳杆菌(LGG菌)、干酪乳杆菌在BBL平板培养基上形成的各自独特菌落特征和菌体形态, 可直观、快速、准确地计数出活性酸奶中每种益生菌的总数及乳酸菌总数。免去了传统方法计数不同乳酸菌数要用不同培养基的繁琐, 满足了实际生产和检测工作快速分析的需要。

2.4 酸乳产品质量分析

目前市场上有两种常见的乳酸菌发酵酸奶产品, 一种是由嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌两种乳酸菌发酵制成的传统酸奶; 另一种是在前者发酵的基础上, 又添加了嗜酸乳杆菌、双歧杆菌、鼠李糖乳杆菌(LGG菌)、干酪乳杆菌等益生菌发酵制成的益生菌酸奶。传统酸奶中嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌不能在人体肠道中定植, 因此不具备活性乳酸菌保健功能, 但也是有营养价值

的, 因为在乳酸菌发酵过程中, 消耗掉了乳糖, 产生一系列对人体有益处的代谢产物如维生素类、酶类等。益生菌酸奶中必须含有一定数量级的耐酸能力强并能在人体肠道中定植活性益生菌, 如嗜酸乳杆菌、双歧杆菌、鼠李糖乳杆菌(LGG菌)、干酪乳杆菌等, 这种酸奶除了具有传统酸奶乳酸菌发酵过程中产生的一系列有益人体的代谢产物外, 其含有的一定数量级的活性益生菌对人体起着重要的特殊的生理活性保健功能。益生菌酸奶的活性度与其生产日期和销售环节的贮存条件有很大关系, 因此消费者在选购酸乳时最好是选择冷链贮存条件好, 生产日期较近的活性益生菌酸奶, 这样才能保证产品中含有高活性益生菌, 才能更好地增进人体健康。

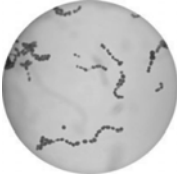
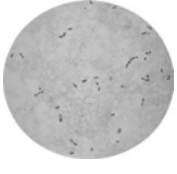


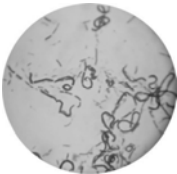

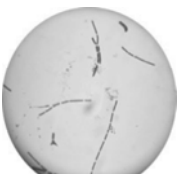
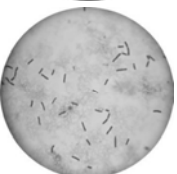
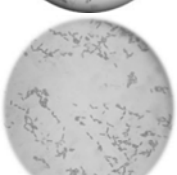

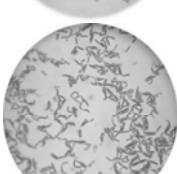

3 结 论

3.1 通过研究分析活性酸乳中嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌、嗜酸乳杆菌、双歧杆菌、鼠李糖乳杆菌(LGG菌)、干酪乳杆菌在BBL平板培养基上的菌落特征及菌

表3 两种计数方法计数结果的比较(n=3)
Table 3 Comparison of counting results of two counting methods (n=3)

计数方法	样品编号	嗜热链球菌数 ($\times 10^9$ CFU/ml)	保加利亚乳杆菌数 ($\times 10^9$ CFU/ml)	干酪乳杆菌数 ($\times 10^9$ CFU/ml)	双歧杆菌数 ($\times 10^{10}$ CFU/ml)	LGG菌数 ($\times 10^{11}$ CFU/ml)	嗜酸乳杆菌数 ($\times 10^{11}$ CFU/ml)	益生菌总数 ($\times 10^{11}$ CFU/ml)	乳酸菌总数 ($\times 10^{11}$ CFU/ml)
BBL	1#	5.0	1.0	6.0	3.0	1.0	2.4	4.3	4.36
计数法	2#	4.0	2.0	7.0	2.0	1.3	1.6	3.8	3.86 ¹
传统	1#	5.6	1.4	5.5	3.1	1.3	2.2	4.36	4.43
计数法	2#	4.2	1.8	6.5	2.2	1.7	1.3	3.87	3.93

表2 嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌、嗜酸乳杆菌、双歧杆菌、鼠李糖乳杆菌(LGG菌)、干酪乳杆菌在BBL培养基上的菌体形态
Table 2 Mycelial morphology of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacteria*, *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Lactobacillus casei*. in BBL culture medium

菌种名称	菌体形态文字描述	BBL培养基上的菌体形态 (显微镜下放大1600倍)	奶培养基中菌体形态 (显微镜下放大1600倍)
嗜热链球菌	细胞呈卵圆形, 成对或形成长链, 平板培养时细胞膨胀变粗, 有时会呈杆菌状, 革兰氏阳性无芽孢。		
保加利亚乳杆菌	细胞两端钝圆, 呈细杆状, 单个或成链, 革兰氏阳性无芽孢。		
嗜酸乳杆菌	细胞两端钝圆, 呈杆状, 单个或成双或成短链, 随环境变化其形态亦发生变化, 有的细胞膨胀变粗、弯曲, 形状变得不规则, 革兰氏阳性无芽孢。		
双歧杆菌	细胞形状多样, 有棍棒状、勺状、V字形、弯曲状、球杆菌状和Y字形等, 革兰氏阳性无芽孢。		
鼠李糖乳杆菌(LGG菌)	细胞呈细小杆状, 单个或成双或成链, 革兰氏阳性无芽孢。		
干酪乳杆菌	呈短杆状, 单个或八字成双排列或成短链, 菌端通常平直, 革兰氏阳性无芽孢。		

体形态, 建立了可同时准确计数每种益生菌总数的新方法, 该方法在同一种培养基上能明显地区分开六种乳酸菌, 可直观地观察到各种益生菌的生长活度, 解决了混合发酵酸乳中多种乳酸菌同时存在下计数每种益生菌总数的难题, 免除了传统方法计数不同益生菌数要用不同培养基的繁琐, 为其生产和检测提供了依据, 在实际应用中取得了很好的效果。

3.2 建议国家有关部门尽快出台益生菌酸乳的相关标准, 严格规定其产品在保质期内的活性益生菌总数, 并明确规定益生菌的保质期及贮存条件, 以保证益生菌酸乳在生产、销售过程中的质量。为实现在人体的保健功能, 建议规定益生菌酸奶在保质期内益生菌(嗜酸乳

杆菌、双歧杆菌、鼠李糖乳杆菌(LGG菌)、干酪乳杆菌)总数大于 10^6 个/ml。

参考文献:

[1] 万萍. 食品微生物基础与实验技术[M]. 北京: 科学出版社, 2004: 172-174.
[2] 郭本恒. 益生菌[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 361-369.
[3] 辛若竹, 丁梅. 功能性酸乳中每种益生菌的单独计数方法及其混合发酵工艺的研究[J]. 食品与发酵工艺, 2006(7): 151-156.
[4] GB/T4789. 35—2003. 乳酸菌饮料中乳酸菌的微生物学检验[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.
[5] 曾寿瀛. 现代乳与乳制品加工技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 30-36.
[6] GB/T4789. 34—2003. 双歧杆菌的微生物学检验[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.