



410250 S-2023



安琪酵母（睢县）有限公司企业标准

Q/AQJM 2146S-2023

酿酒酵母 布拉迪酵母

2023-02-03 发布

2023-02-03 实施

安琪酵母（睢县）有限公司 发布

前 言

本标准中附录A为规范性附录。

本标准由安琪酵母（睢县）有限公司提出。

本标准主要起草单位：安琪酵母（睢县）有限公司。

本标准主要起草人：张海波、陈智仙、马长勇、司明星。

H N
Q B

酿酒酵母 布拉迪酵母

1 范围

本标准规定了酿酒酵母 布拉迪酵母的分类、要求、检验方法、检验规则等要求。

本标准适用于以糖蜜和玉米淀粉为主要碳源，添加加工助剂（硫酸铵、氨水、磷酸二氢铵），接种布拉迪酵母（*Saccharomyces boulardii*）菌种，经发酵培养、分离、过滤，添加山梨醇酐单硬脂酸酯（司盘 60），经混合、干燥、制粒或不制粒等工序包装加工而成的具有活性的酿酒酵母 布拉迪酵母。

根据产品组织形态的不同，产品分为颗粒型和粉末型。

2 要求

2.1 原辅料要求

- 2.1.1 酿酒布拉迪酵母菌株要求无杂菌、无污染。
- 2.1.2 生产用水应符合 GB 5749 的规定。
- 2.1.3 糖蜜应符合 QB/T 2684 的规定。
- 2.1.4 玉米淀粉应符合 GB/T 8885 和 GB 31637 的规定。
- 2.1.5 硫酸铵应符合 GB 29206 的规定。
- 2.1.6 氨水应符合 GB 29201 的规定。
- 2.1.7 磷酸二氢铵应符合 GB 1886.330 的规定。
- 2.1.8 山梨醇酐单硬脂酸酯（司盘 60）应符合 GB 13481 的规定。

2.2 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
	颗粒型	粉末型	
性状	颗粒状	粉末状	取适量样品，在自然光下用肉眼观察性状、色泽、杂质，闻其气味。然后以温开水漱口，品其滋味。
色泽	淡黄色至淡棕黄色	乳白色至淡黄色	
气味	本产品的特有气味	本产品的特有气味	
滋味	本产品特殊的滋味	本产品特殊的滋味	
杂质	无正常视力可见外来物	无正常视力可见外来物	

2.3 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	检验方法
水分/(%)	≤ 5.0	GB 5009.3
酵母活细胞数/(CFU/g)	≥ 2×10^{10}	先按GB/T 20886.1附录D中D.4的方法将酵母活化后，再

			按GB 4789.15规定的方法测定。
总砷（以As计，干基计）/(mg/kg)	≤	1.5	GB 5009.11
铅*（以Pb计，干基计）/(mg/kg)	≤	0.9	GB 5009.12
* 该指标严于食品安全国家标准GB 31639的规定。			

2.4 微生物限量

微生物限量应符合表3的规定。

表3 微生物限量

项 目	采样方案 ^a 及限量				检验方法
	n	c	m	M	
菌落总数/(CFU/g)	5	2	10000	30000	附录 A
大肠菌群/(MPN/g)	5	2	0.3	3.0	GB 4789.3MPN 计数法
沙门氏菌/(/25g)	不得检出				GB 4789.4
金黄色葡萄球菌/(/25g)	不得检出				GB 4789.10
a 样品的采样及处理按GB 4789.1执行。					

2.5 净含量及允许短缺量

净含量及允许短缺量应符合JJF 1070的规定。

2.6 生产加工过程的卫生要求

应符合 GB 14881 的规定。

2.7 其它要求

食品添加剂的使用应符合 GB 2760 的规定；污染物限量应符合 GB 2762 的规定。

3 检验

出厂检验项目包括：感官要求、水分、酵母活细胞数、净含量及允许短缺量。型式检验按国家相关规定执行。

附 录 A

(规范性附录)

酵母中菌落总数检测方法

A.1 适用范围

适用于了酵母中菌落总数的测定。

A.2 培养基和试剂

A.2.1 酵母中菌落培养基

A.2.1.1 成平板计数琼脂:直接使用购买的成品平板计数琼脂按标签说明配制。

A.2.1.2 在培养基灭菌前按照0.0070g/1000ml的比例添加放线菌酮,即每1L平板计数琼脂中添加7mL0.1%的放线菌酮溶液,抑制酵母的生长。

A.2.2 试剂

A.2.2.1 75%乙醇

A.2.2.2 磷酸盐缓冲液,按下面方法配制:

A.2.2.2.1 贮存液:

磷酸二氢钾(KH₂PO₄) 34.0g

蒸馏水 500mL

称取34.0g的磷酸二氢钾溶于500mL的蒸馏水中,用大约175mL的1mol/L氢氧化钠溶液调节pH至7.2,用蒸馏水稀释至1000mL后贮存于冰箱。

A.2.2.2.2 稀释液:用蒸馏水稀释1.25mL贮存液至1000mL,分装于合适容器,121℃高压灭菌15min。

A.2.2.3 生理盐水:称取8.5g氯化钠,溶于1000mL蒸馏水中,121℃高压灭菌15min。

A.2.2.4 1mol/L氢氧化钠溶液:称取40g氢氧化钠溶于1000mL蒸馏水。

A.2.2.5 1mol/L盐酸溶液:移取90mL浓盐酸,用蒸馏水稀释至1000mL。

A.2.2.6 放线菌酮溶液:0.1%(CYCLOHEXIMIDE 0.1% SOLUTION):OXOID公司生产,货号为SR0222C

A.2.3 仪器设备或装置

- a) 恒温培养箱:36±1℃
- b) 恒温水浴箱:46±1℃
- c) 均质器
- d) 振荡器
- e) 无菌吸管:1mL(具有0.01mL刻度)、10mL(具有0.1mL刻度)或微量移液器及吸头
- f) 无菌培养皿:直径为90 mm
- g) 无菌锥形瓶:容量150 mL
- h) 玻璃珠:直径为5mm左右

- i) 天平：感量 0.1g
- j) 冰箱：2~10℃
- k) pH 计或 pH 比色管或精密 pH 试纸
- l) 放大镜

A.3 操作步骤

A.3.1 样品制备

A.3.1.1 以无菌操作取有代表性的样品盛于灭菌容器内，如有包装，则用75%乙醇在包装开口处擦拭后取样。

A.3.2 样品的稀释

A.3.2.1.1 方法一：以无菌操作取5g样品，倒入装有45mL磷酸盐缓冲液或生理盐水的无菌均质杯内，于8000r/min均质1~2min，制成1:10的样品匀液。如样品均质时间超过2min，应在均质杯外加冰水冷却。

A.3.2.1.2 方法二：以无菌操作取5g样品，放入装有45mL磷酸盐缓冲液或生理盐水，以及适量玻璃珠的150mL三角瓶中。迅速振摇，将样品混匀，制成1:10的样品匀液。振摇时，幅度为30cm，7s内振摇25次，也可用机械振荡器振荡15s代替手摇。

A.3.2.2 用1mL灭菌吸管准确吸取1:10的样品匀液1mL，放入装有9mL磷酸盐缓冲液或生理盐水的无菌试管中（注意吸管或吸头尖端不要触及稀释液面），振摇试管使其混合均匀，制成1:100的样品匀液。从容器中吸取样品匀液和以后的稀释操作中，吸管尖不要碰着瓶口。吸入的液体应先高于所要求的刻度，然后提起吸管使其尖端离开液面并贴在容器内壁将液体调至所要求的刻度。

A.3.2.3 按照“C.3.2.2”操作程序，制成10倍系列稀释样品匀液，如 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} ……，每稀释一次，换用一次1mL的无菌吸管或吸头。

A.3.3 平板接种

A.3.3.1 根据对样品污染状况的估计，对于每一个样品，选用合适的2~3个适宜的连续稀释度的样品匀液（液体样品可包括原液），在进行10倍递增稀释时，每个稀释度分别用灭菌吸管吸取1mL样品匀液放入作了适宜标志的无菌平皿内。如果某一样品匀液在取出供试部分前的放置时间超过3min，应重新将样品溶液振摇均匀。同时取1mL磷酸盐缓冲液或生理盐水加入到平皿作空白对照。

A.3.3.2 及时将15~20mL冷却至46℃平板计数琼脂培养基（可放置于 $46 \pm 1^\circ\text{C}$ 的水浴中恒温）倾注到各平皿内。立即将平皿内的样品液和琼脂培养基充分混合。混合方法是将平皿倾斜和旋转，并转动平板使其混合均匀。

A.3.4 培养

A.3.4.1 待琼脂凝固后将平皿翻转， $36 \pm 1^\circ\text{C}$ 培养 $48 \pm 2\text{h}$ 。

A.3.4.2 如果样品中含有在琼脂培养基表面弥漫生长的菌落时，可在凝固后的琼脂表面覆盖一薄层琼脂培养基（约4mL），凝固后翻转平板，按“C.3.4.1”条件进行培养。

A.3.5 菌落计数

A. 3. 5. 1 可用肉眼观察，必要时用放大镜，记录稀释倍数和相应的菌落数量。菌落计数以菌落形成单位（colony-forming units, CFU）表示。

A. 3. 5. 2 选取30CFU~300CFU之间，无蔓延菌落生长的平板计数菌落总数。低于30CFU的平板记录具体菌落数，大于300CFU的可记录为多不可计。每个稀释度的菌落应采用两个平板的平均数。

A. 3. 5. 3 其中一个平板有较大片菌落生长时，则不宜采用，而应以无片状菌落生长的平板作为该稀释度的菌落数；若片状菌落不到平板的一半，而其余一并的菌落分布又很均匀，可计算半个平板后乘以2，代表一个平板的菌落数。

A. 3. 5. 4 当平板上出现菌落间无明显界限的链状生长时，则将每条单链作为一个菌落计数。

A. 4 结果与报告

A. 4. 1 菌落总数的计算方法

A. 4. 1. 1 若只有一个稀释度的平板上的菌落在合适范围内，计算两个平板菌落总数的平均值，再将平均值乘以相应稀释倍数，作为每克(毫升)样品中平板菌落数。（下表，样品1）

A. 4. 1. 2 若有两个稀释度在合适范围内，按GB4789. 2-2010中7. 1. 2的公式（1）计算（下表，样品2）

$$N = \frac{\sum c}{(n_1 + 0.1n_2) \times d}$$

式中：

N—样品中菌落数；

$\sum C$ —平板（含适宜范围菌落数的平板）菌落数之和；

n_1 —第一稀释度（低稀释倍数）平板个数；

n_2 —第二稀释度（高稀释倍数）平板个数；

d—稀释因子（第一稀释度）。

示例：

稀释度	1:100（第一稀释度）	1:1000（第二稀释度）
菌落数（CFU）	232, 244	33, 35

$$N = \frac{\sum c}{(n_1 + 0.1n_2) \times d} = \frac{232 + 244 + 33 + 35}{(2 + 0.1 \times 2) \times 10^{-2}} = 24727$$

上述数据按“8. 2. 2”数字修约后，表示为 25000或 2.5×10^4 。

A. 4. 1. 3 若所有稀释度的平板菌落数都小于30CFU，则按稀释度最低的平均菌落乘以稀释倍数计算。（下表，样品3）

A. 4. 1. 4 若所有稀释度的平板上的菌落都大于300CFU，则对稀释度最高的平板进行计数，其他平板可记录多不可计，结果按平均菌落数乘以最高稀释倍数计算。（下表，样品4）

A. 4. 1. 5 若所有稀释度（包括液体样品原液）的平板都无菌落生长，则以小于1乘以最低稀释倍数计算。（下表，样品5）

A. 4. 1. 6 若所有稀释度的平板菌落均不在30CFU~300CFU之间, 其中一部分小于30CFU或大于300CFU时, 则以最近30CFU或300CFU的平均菌落数乘以稀释倍数计算。(下表, 样品6)

样品号	菌落数			结果报告 CFU/g (ml)
	1:100	1:1000	1:10000	
1	多不可计	190	16	190000 (1.9×10^5)
2	多不可计	224	35	240000 (2.4×10^5)
3	18	2	0	1800 (1.8×10^3)
4	多不可计	多不可计	523	5200000 (5.2×10^6)
5	0	0	0	<100 ($<1.0 \times 10^2$)
6	305	12	0	30500 (3.1×10^4)

A. 4. 2 菌落总数的报告

A. 4. 2. 1 菌落数小于100CFU时, 按“四舍五入”原则修约, 以整数报告。

A. 4. 2. 2 大于或等于100时, 第三位数字采用“四舍五入”原则修约, 取前两位数字, 后面用0代替位数; 也可用10的指数形式来表示, 按“四舍五入”原则修约后, 采用两位有效数字。

A. 4. 2. 3 若所有平板上蔓延菌落而无法计数, 需要扩大稀释倍数重新检测, 报告具体的数字。

A. 4. 2. 4 若空白对照上有菌落长出, 则此次检测结果无效。

A. 4. 2. 5 称重取样以CFU/g为单位报告, 体积取样以CFU/mL为单位报告。

编制说明

本标准适用于以糖蜜和玉米淀粉为主要碳源，添加加工助剂（硫酸铵、氨水、磷酸二氢铵），接种布拉迪酵母（*Saccharomyces boulardii*）菌种，经发酵培养、分离、过滤，添加山梨醇酐单硬脂酸酯（司盘 60），经混合、干燥、制粒或不制粒等工序包装加工而成的具有活性的酿酒酵母布拉迪酵母。根据《中华人民共和国食品安全法》和《中华人民共和国标准化法》的有关规定，参照 GB 31639《食品安全国家标准 食品加工用酵母》、GB/T 20886.1《酵母产品质量要求 第 1 部分：食品加工用酵母》、GB/T 32099《酵母产品分类导则》相关国标、行标的要求制订本企业标准，作为组织生产、质量控制和监督检查依据。

本标准中铅指标严于食品安全国家标准 GB 31639 的规定。

安琪酵母（睢县）有限公司