



411677S-2024



安琪酵母（睢县）有限公司企业标准

Q/YB 2005S-2024

葡萄酒高活性干酵母

2024-06-27 发布

2024-06-27 实施

安琪酵母（睢县）有限公司 发布

前 言

本标准中附录A、附录B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：张方方、全明旭、司明星。

H N

Q B

葡萄酒高活性干酵母

1 范围

本标准规定了葡萄酒活性干酵母的要求、检验方法、检验规则等。

本标准适用于以甘蔗糖蜜、食用玉米淀粉、葡萄糖浆为原料，添加加工助剂（硫酸铵、氨水、磷酸二氢铵），经通风发酵培养酿酒酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）、葡萄汁酵母（*S.uvarum*）、贝酵母（*S.bayanus*）可食用菌种，脱水、添加山梨醇酐单硬脂酸酯（司盘 60）食品添加剂，干燥、包装等工艺加工制得的葡萄酒活性干酵母。本产品适用于以葡萄及其它水果（苹果、梨、草莓、桑椹等）为原料进行葡萄酒及果酒酿制。

2 要求

2.1 原辅料要求

- 2.1.1 生产用水应符合 GB 5749 的规定。
- 2.1.2 甘蔗糖蜜应符合 QB/T 2684 的规定。
- 2.1.3 食用玉米淀粉应符合 GB/T 8885 和 GB 31637 的规定。
- 2.1.4 硫酸铵应符合 GB 29206 的规定。
- 2.1.5 氨水应符合 GB 29201 的规定。
- 2.1.6 磷酸二氢铵应符合 GB 1886.330 的规定。
- 2.1.7 山梨醇酐单硬脂酸酯（司盘 60）应符合 GB 13481 的规定。
- 2.1.8 葡萄糖浆应符合 GB/T 20882.2 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
性状	颗粒状	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	淡黄色至黄棕色	
气味	具有酵母的特有气味，无腐败，无异嗅	
滋味	本产品特殊的滋味	
杂质	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, %	≤ 5.5	GB 5009.3
酵母活细胞数, 亿个/g	≥ 150	附录A

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	20	0	500000	500000	附录B
大肠菌群，CFU/g	≤	100			GB 4789.3
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
单核细胞增生李斯特氏菌，/25g		不得检出			GB 4789.30
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 和 GB 31612 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、菌落总数、大肠菌群、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)
酵母活细胞数的测定

A.1 适用范围

适用于葡萄酒活性干酵母酵母活细胞数的测定。

A.2 原理

活酵母能将进入细胞的次甲基兰染色液立即还原脱色，不被染色，而死酵母被染成蓝色，通过显微镜观察即可计算活细胞数。

A.3 试剂和溶液

a) 无菌生理盐水: 称取氯化钠 0.85g, 加水溶解, 并定容至 100mL, 在 0.1mpa 下灭菌 20 分钟;

b) 次甲基蓝染色液: 称取次甲基蓝 0.025g, 氯化钾 0.042g, 氯化钠 0.9g, 六水氯化钙 0.048g, 碳酸氢钠 0.02g 和葡萄糖 1g, 加水溶解, 并定容至 100mL。密封, 室温保存。

A.4 仪器设备或装置

- a) 显微镜 放大倍数 500 以上;
- b) 血球计数板 XB-K-25;
- c) 血球计数板专用盖玻片 20mm*20mm;
- d) 试管 18mm*200mm;
- e) 容量瓶 100mL
- f) 分析天平 感量 0.01g;
- g) 恒温箱 控温精度 $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$;
- h) 均质分散机: IKA T18 basic。

A.5 试样制备

准确称取干酵母 0.5g 至一 100mL 烧杯, 加入 38-40 $^{\circ}\text{C}$ 无菌生理盐水约 40mL, 使用均质分散机, 在 14000rpm 下均质 5min, 转移至 100mL 容量瓶中, 用 38-40 $^{\circ}\text{C}$ 无菌生理盐水定容至 100mL, 摇匀, 在 32 $^{\circ}\text{C}$ 下活化 1hr。备用。

A.6 操作步骤

A.6.1 染色

将活化液振荡均匀, 取酵母活化液 0.1mL 至一试管中, 加入染色液 0.9mL, 摇匀, 室温下染色 10min。

A.6.2 制片

将泡在 75%酒精中的血球计数板取出, 自然晾干或者微热烘干, 用专用盖玻片盖好, 使之紧紧盖在血球计数板上。取 0.02mL 染色后的菌液于血球计数板和盖玻片结合处, 让菌液自动吸入计数室。菌液中不得有气泡, 静置 1min 后, 用显微镜观察计数。。

A.6.3 计数

用 10×接物镜和 16×接目镜找出方格后，换用 40×接物镜，调整微调至视野最清晰，开始计数，当细胞处于方格线上时，计数原则：数上不数下，数左不数右。计出芽时，超过母细胞的二分之一者按细胞计，小于二分之一者忽略不计。染为蓝色的为死细胞，无色的为活细胞，只计活细胞数。

A.7 计算

$$X_1 = \frac{A \times 400 \times 10^4 \times 100 \times 10}{m \times N \times 10^8}$$

式中： X_1 —— 每克样品中活细胞数，(亿个/g)；

A —— 所数小格内活细胞数，(个)；

m —— 称取样品的量，(g)；

N —— 所数小格数，(个)。

A.8 结果的允许差

取平行测定结果的算术平均值为测定结果，平行测定结果的最大差值不得超过其算术平均值的 5%。

A.9 注意事项

A.9.1 在显微镜下观察干酵母细胞形态如下：细胞卵圆形或椭圆形，大小为 $(5-7.5) \times (7.5-10)$ μm ，胞内可看到明显的细胞核。

A.9.2 计数板通常有两种规格：一种是1大格中有16中格，1个中格又分25个小格，即16×25规格，用这种规格计数板，取左上、左下、右上、右下四个中格（即100个小格）进行计数。另一种是1个大格分为25个中格，一个中格分为16个小格，即25×16规格，用这种计数板，则除了左上、左下、右上、右下四个中格外，还需加中央的一个中格（即80个小格）进行计数。

A.9.3 对每个样品重复计数三次，取其算术平均值。

A.9.4 盖玻片放置好后不要滑动，否则细胞也会移动，滴注后计数时须处于水平状态。

附录 B

(规范性附录)

酵母中菌落总数检测方法

B.1 适用范围

适用于了酵母中菌落总数的测定。

B.2 培养基和试剂

B.2.1 试剂

B.2.1.1 75%乙醇

B.2.1.2 磷酸盐缓冲液，按下面方法配制：

B.2.1.2.1 贮存液：

磷酸二氢钾(KH ₂ PO ₄)	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。

B.2.1.2.2 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。

B.2.1.3 生理盐水：称取8.5g氯化钠，溶于1000mL蒸馏水中，121℃高压灭菌15min。

B.2.1.4 1mol/L氢氧化钠溶液：称取40g氢氧化钠溶于1000mL蒸馏水。

B.2.1.5 1mol/L盐酸溶液：移取90mL浓盐酸，用蒸馏水稀释至1000mL。

B.2.1.6 放线菌酮溶液：0.1%(CYCLOHEXIMIDE 0.1% SOLUTION)：OXOID公司生产，货号为SR0222C。

B.2.2 培养基

B.2.2.1 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。

B.2.2.2 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。

B.2.3 仪器设备或装置

- 恒温培养箱：36±1℃
- 恒温水浴箱：46±1℃
- 均质器
- 振荡器
- 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
- 无菌培养皿：直径为90 mm
- 无菌锥形瓶：容量150 mL
- 玻璃珠：直径为5mm左右
- 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

B.3 操作步骤

B.3.1 样品制备

B.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。

B.3.2 样品的稀释

B.3.2.1 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。

B.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。

B.3.2.3 继续上述操作,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。

B.3.3 平板接种

B.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。

B.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±1℃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。混合方法是平皿倾斜和旋转,并转动平板使其混合均匀。

B.3.4 培养

B.3.4.1 待琼脂凝固后将平皿翻转,36±1℃培养48±2h。

B.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,36±1℃培养48±2h。

B.3.5 菌落计数

B.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。

B.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。

B. 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。

B. 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。

B. 4 结果与报告

参照GB4789. 2-2016中“7 结果与报告”。

H N

Q B

编制说明

本标准适用于以甘蔗糖蜜、食用玉米淀粉、葡萄糖浆为原料，添加加工助剂（硫酸铵、氨水、磷酸二氢铵），经通风发酵培养酿酒酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）、葡萄汁酵母（*S.uvarum*）、贝酵母（*S.bayanus*）可食用菌种，脱水、添加山梨醇酐单硬脂酸酯(司盘 60)食品添加剂，干燥、包装等工艺加工制得的葡萄酒活性干酵母。本产品适用于以葡萄及其它水果（苹果、梨、草莓、桑椹等）为原料进行葡萄酒及果酒酿制。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 食品加工用菌种制剂》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