



中华人民共和国国家标准

GB/T XXXXX—XXXX
代替 GB/T 23530-2009

酵母产品质量要求 第 2 部分：酵母加工制品

Quality requirements for yeast products—
Part 2: Processed yeast products

(报批稿)

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会

发布

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件是GB/T 20886-XXX《酵母产品质量要求》的第2部分。GB/T 20886-XXX拟分为以下部分：

- 第1部分：食品加工用酵母；
- 第2部分：酵母加工制品；
- 第3部分：富营养素酵母。

本文件代替GB/T 23530-2009《酵母抽提物》，与GB/T 23530-2009相比主要技术变化如下：

- 增加了酵母加工制品、酵母水解物、核苷酸型酵母水解物、风味型酵母水解物、酵母细胞壁、培养基用酵母加工制品的术语和定义（见 3.5~3.9）
- 增加了酵母加工制品的分类（见第 4 章）；
- 增加了酵母水解物的氯化钠、总氮、氨基酸态氮占总氮百分比、铵盐、不溶物、总灰分、核苷酸、 $X_{(IMP+GMP+AMP)}$ 、 $X_{(CMP+UMP)}$ 、谷氨酸、谷氨酸占总蛋白质百分比、钾等指标要求（见 6.3.3）；
- 增加了风味型酵母水解物的氯化钠、总氮和总灰分指标要求（见 6.3.4）；
- 增加了酵母细胞壁的水分、总氮、总灰分和多糖指标要求（6.3.5）；
- 增加了培养基用酵母加工制品的氯化钠、总氮、铵盐、总灰分和 pH 指标要求（见 6.3.6）；
- 更改了“H-G 型酵母抽提物”为“核苷酸型酵母抽提物”（见 3.3,2009 年版的 4.2）；
- 更改了酵母抽提物定义（见 3.2，2009 年版的 3.1.1）；
- 更改了酵母抽提物分类（见 5.1，2009 年版的 4）；
- 增加了按应用分（见5.2）。

本文件由全国食品工业标准化技术委员会（SAC/TC64）提出。

本文件由全国食品工业标准化技术委员会工业发酵分技术委员会（SAC/TC64/SC5）归口。

本文件起草单位：安琪酵母股份有限公司、大连珍奥生物技术股份有限公司、广西一品鲜生物科技有限公司、珠海天香苑生物科技发展股份有限公司、凯美瑞配料贸易（上海）有限公司、山东圣琪生物有限公司、帝斯曼（中国）有限公司、英联马利（北京）食品销售有限公司、中国食品发酵工业研究院有限公司。

本文件主要起草人：武竹英、陈蓉、陈玉平、周世伟、陈雪松、王杰红、邓娟娟、易勇、杜建华、李天宇、郭新光、刘明、黄国新、李沛、吴李娣、张敬松、张继祥、过菲、王丽霞、罗必英、孟镇、吴晓倩、廖英扬、刘帅、潘玉。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

- 2009年首次发布版本为GB/T 23530-2009；
- 本次为第一次修订。

酵母产品质量要求

第2部分：酵母加工制品

1 范围

本文件规定了酵母加工制品的质量要求，包括术语和定义、产品分类、要求、试验方法、检验规则、标志、包装、运输和贮存。

本文件适用于酵母加工制品的生产、检验和销售。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 191 包装储运图示标志

GB/T 601 化学试剂 标准滴定溶液的制备

GB/T 602 化学试剂 杂质测定用标准溶液的制备

GB/T 603 化学试剂 试验方法中所用制剂及制品的制备

GB 5009.4 食品安全国家标准 食品中灰分的测定

GB 5009.5-2016 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定

GB 5009.44-2016 食品安全国家标准 食品中氯化物的测定

GB 5009.91 食品安全国家标准 食品中钾、钠的测定

GB/T 6682-2008 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

酵母加工制品 processed yeast products

以食品加工用酵母为主要原料，在酵母自身的酶或外加酶的作用下自溶或酶解，经分离或不分离、干燥或不干燥等工艺制成的产品。

3.2

酵母抽提物 yeast extract

以食品加工用酵母为主要原料，在酵母自身酶或外加食品加工用酶的作用下，酶解自溶并分离提取后，经过或不经过热加工等工艺得到含有氨基酸、肽、核苷酸等酵母细胞中的可溶性成分的产品，属于食品配料。

注：生产过程中根据需要可加入食用盐。

3.3

核苷酸型酵母抽提物 rich nucleotide yeast extract

以食品加工用富核酸酵母为主要原料，在酵母自身酶或外加食品加工用酶的作用下，酶解自溶并分离提取后，经过或不经过热加工等工艺得到，含有氨基酸、肽、核苷酸等酵母细胞中的可溶性成分的产品，属于食品配料。

注：生产过程中根据需要可加入食用盐。

3.4

风味型酵母抽提物 flavoured yeast extract

以酵母抽提物为主要原料，根据需要加入麦芽糊精、葡萄糖、谷氨酸钠、5'-呈味核苷酸二钠、食用盐等食品配料进行调配，或经美拉德反应等工艺，赋予产品特殊风味的产品，属于食品配料（酵母抽提物基料不应低于55%，以干基计）。

3.5

酵母水解物 autolyzed yeast

自溶酵母

酵母自溶物

以食品加工用酵母为主要原料，在酵母自身的酶或外加食品加工用酶的作用下，经酶解自溶、浓缩或干燥等工艺制得的含酵母全细胞成分的产品，属于食品配料。

注：生产过程中根据需要可加入食用盐。

3.6

核苷酸型酵母水解物 rich nucleotide autolyzed yeast

以食品加工用富核酸酵母为主要原料，在酵母自身的酶或外加食品加工用酶的作用下，经酶解自溶、浓缩或干燥等工艺制得的含酵母全细胞成分的产品，属于食品配料。

注：生产过程中根据需要可加入食用盐。

3.7

风味型酵母水解物 flavoured autolyzed yeast

风味型酵母自溶物

以酵母水解物为主要原料，根据需要加入麦芽糊精、葡萄糖、谷氨酸钠、5'-呈味核苷酸二钠、食用盐等食品配料进行调配，或经过美拉德反应等工艺，赋予产品特殊风味的产品，属于食品配料（酵母水解物基料不应低于55%，以干基计）。

3.8

酵母细胞壁 yeast cell wall

以食品加工用酵母为主要原料，经酶解自溶、分离、提取后获得的，含有酵母葡聚糖、甘露寡糖、蛋白质和少量几丁质的酵母细胞的外壁物质，属于食品配料。

3.9

培养基用酵母加工制品 processed yeast products used for culture medium

用作微生物培养营养源的酵母加工制品，包括培养基用酵母抽提物(酵母浸出物、酵母蛋白胨)，培养基用酵母水解物（自溶物）等。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

AMP: 5'-腺苷酸二钠 Disodium adenosine-5'-monophosphate

CMP: 5'-胞苷酸二钠 Disodium cytidine-5'-monophosphate

GMP: 5'-鸟苷酸二钠 Disodium guanylate-5'-monophosphate

IMP: 5'-肌苷酸二钠 Disodium inosinate-5'-monophosphate

UMP : 5'-尿苷酸二钠 Disodium uridine-5'-monophosphate

5 产品分类

5.1 按工艺分

酵母加工制品按工艺分类，可分为：

- a) 酵母抽提物。包括纯品型酵母抽提物和核苷酸型酵母抽提物。核苷酸型酵母抽提物又可分为 I 型和 II 型。
- b) 风味型酵母抽提物。
- c) 酵母水解物。包括纯品型酵母水解物和核苷酸型酵母水解物。
- d) 风味型酵母水解物。
- e) 酵母细胞壁。
- f) 培养基用酵母加工制品。

5.2 按应用分

酵母加工制品按应用分类，可分为：

- a) 食品配料用酵母加工制品。包括酵母抽提物、风味型酵母抽提物、酵母水解物、风味型酵母水解物和酵母细胞壁。
- b) 发酵用酵母加工制品。包括培养基用酵母加工制品。

6 要求

6.1 食品配料用酵母加工制品原料要求

6.1.1 酵母菌种

符合国家相关法规、标准和有关规定。

6.1.2 其他原料

符合国家相关法规、标准和有关规定。

6.2 感官要求

应符合表1的规定。

表1 感官要求

项 目	要 求
形 态	液浆状、黏稠膏状、粉末、颗粒或片状
色 泽	淡黄色至黑褐色
气 味	特有的气味，无异味
杂 质	无正常视力可见杂质

6.3 理化要求

6.3.1 酵母抽提物

应符合表2的规定。

表2 酵母抽提物的理化要求

项目		指标		
		纯品型	核苷酸型	
			I型	II型
氯化钠/(g/100 g)	≤	50.0	22.0	50.0
总氮(除NaCl干基计)/(g/100 g)	≥	7.0	10.0	7.0
氨基酸态氮占总氮百分比(AN/TN)/%		15.0~55.0	—	—
铵盐(NH ₃ -N)(除NaCl干基计)/(g/100 g)	≤	2.0	2.0	2.0
不溶物/(g/100 g)	≤	2.0	—	—
总灰分(除NaCl干基计)/(g/100 g)	≤	20.0	25.0	25.0
核苷酸(除NaCl干基计,以核苷酸钠盐合物计)/(g/100 g)	≥	—	20.0	8.0
$X_{(IMP+GMP+AMP)}:X_{(CMP+UMP)}^a$	≤	—	2.1:1	2.1:1
谷氨酸(除NaCl干基计)/(g/100 g)	≤	20.0	20.0	20.0
钾/(g/100 g)	≤	13.0	13.0	13.0

a 5'-肌苷酸二钠、5'-鸟苷酸二钠、5'-腺苷酸二钠三种核苷酸含量之和与5'-胞苷酸二钠、5'-尿苷酸二钠两种核苷酸含量之和的比值,以钠盐合物计。

6.3.2 风味型酵母抽提物

应符合表3的规定。

表3 风味型酵母抽提物的理化要求

项目	指标
总氮（除NaCl干基计）/(g/100 g) \geq	4.0
铵盐（NH ₃ -N）（除NaCl干基计）/(g/100 g) \leq	1.5
氯化钠/(g/100 g) \leq	50.0
总灰分（除NaCl干基计）/(g/100 g) \leq	20.0

6.3.3 酵母水解物

应符合表4的规定。

表4 酵母水解物的理化要求

项目	指标	
	纯品型	核苷酸型
氯化钠/(g/100 g) \leq	50.0	50.0
总氮（除NaCl干基计）/(g/100 g) \geq	6.1	9.0
氨基酸态氮占总氮百分比（AN/TN）/% \geq	5.0	—
铵盐（NH ₃ -N）（除NaCl干基计）/(g/100 g) \leq	1.0	1.0
不溶物/(g/100 g) \leq	60	—
总灰分（除NaCl干基计）/(g/100 g) \leq	15.0	20.0
核苷酸（除NaCl干基计，以核苷酸钠水合物计）/(g/100 g) \geq	—	10.0
$X_{(\text{IMP}+\text{GMP}+\text{AMP})}:X_{(\text{CMP}+\text{UMP})}$ ^a \leq	—	2.1:1
谷氨酸（除NaCl干基计）/(g/100 g) \leq	13.0	—
谷氨酸占总蛋白质百分比/% \leq	24.0	—
钾/(g/100 g) \leq	13.0	—

a 5'-肌苷酸二钠、5'-鸟苷酸二钠、5'-腺苷酸二钠三种核苷酸含量之和与5'-胞苷酸二钠、5'-尿苷酸二钠两种核苷酸含量之和的比值，以钠盐水合物计。

6.3.4 风味型酵母水解物

应符合表5的规定。

表5 风味型酵母水解物的理化要求

项目	指标
氯化钠/(g/100 g) \leq	50.0
总氮（除NaCl干基计）/(g/100 g) \geq	5.0
总灰分（除NaCl干基计）/(g/100 g) \leq	20.0

6.3.5 酵母细胞壁

应符合表6的规定。

表6 酵母细胞壁的理化要求

项 目	指 标
水分/(g/100 g) ≤	8.0
总氮(以干基计)/(g/100 g) ≤	6.5
总灰分(以干基计)/(g/100 g) ≤	8.0
多糖(以葡聚糖和甘露寡糖总和计)/(g/100 g) ≥	32.0

6.3.6 培养基用酵母加工制品

应符合表7的规定。

表7 培养基用酵母加工制品理化要求

项目	指 标
氯化钠/(g/100 g) ≤	2.0
总氮(除 NaCl 干基计)/(g/100 g) ≥	6.0
铵盐(NH ₃ -N)(除 NaCl 干基计)/(g/100 g) ≤	2.0
总灰分(除NaCl干基计)/(g/100 g) ≤	25.0
pH	4.0~7.5

7 试验方法

7.1 一般要求

本方法中所用的水,在未注明其他要求时,应符合GB/T 6682-2008中的三级水要求,所用试剂,在未注明其他规格时,均指分析纯。分析中所用标准滴定溶液、杂质测定用标准溶液、制剂及制品,在没有注明其他要求时,均按GB/T 601、GB/T 602、GB/T 603的规定制备。试验中所用溶液在未注明用何种溶剂配制时,均指水溶液。

7.2 感官

取适量样品,放入无色、洁净、干燥的玻璃杯(或白瓷盘)中,置于明亮处,在自然光下用肉眼观察其形态、色泽,嗅其气味,检查有无正常视力可见杂质。

7.3 水分

按附录A执行。

7.4 氯化钠

按 GB 5009.44-2016 中电位滴定法测定。计算公式(3)中质量转换系数由 0.0355 改为 0.0585,计量单位转换为克每百克 (g/100 g)。

7.5 总氮

按附录B执行。

7.6 氨基酸态氮占总氮百分比 (AN/TN)

按附录C执行。

7.7 铵盐

按附录D执行。

7.8 不溶物

按附录E执行。

7.9 谷氨酸、谷氨酸占总蛋白质百分比

按附录F执行。

7.10 总灰分

按附录 G 执行。

7.11 核苷酸、 $X_{(\text{IMP}+\text{GMP}+\text{AMP})}:X_{(\text{CMP}+\text{UMP})}$

按附录 H 执行。

7.12 钾

按GB 5009.91规定的方法测定。

7.13 多糖

按附录 I 执行。

7.14 pH

按附录 J 执行。

8 检验规则

8.1 组批

以相同原料、相同的生产工艺，经连续生产或同一班次生产的均匀一致的产品为一批。

8.2 抽样

8.2.1 产品按批抽样。批量不大于 600 件时，从不少于 3 件包装中抽取样品；批量大于 600 件时，从不少于 0.5%比例的包装中抽取样品。每份样本总量不少于三倍试验检测量。

8.2.2 桶装产品应从表面 10 cm 以下处抽取样品。取样器应洁净、干燥。

8.2.3 抽取样品三份，签封。粘贴标签，在标签上注明产品名称、生产厂名及地址、批号、取样日期及地点、取样人姓名。一份用于感官和理化检验，一份用于微生物检验，一份封存，保留半个月备查。做微生物检验时，取样器和玻璃瓶应事先灭菌（样品不应接触瓶口），当抽取的样本总量少于 200 g 时，应适当加大抽样比例。

8.3 检验分类

8.3.1 出厂检验

8.3.1.1 产品出厂前，应由生产厂的质量监督检验部门按本文件规定逐批进行检验。

8.3.1.2 检验项目：

- 酵母抽提物及酵母水解物：感官要求、总氮、氯化钠，针对核苷酸型产品还需检测核苷酸含量和 $X_{(IMP+GMP+AMP)}:X_{(CMP+UMP)}$ 。
- 风味型酵母抽提物及风味型酵母水解物：感官要求、总氮和氯化钠。
- 酵母细胞壁：感官要求、总氮、多糖、水分。
- 培养基用酵母加工制品：感官要求、总氮、pH。

8.3.2 型式检验

8.3.2.1 检验项目：本文件中全部要求项目。

8.3.2.2 一般情况下，同一类产品的型式检验每年至少进行一次，有下列情况之一者，亦应进行：

- a) 原辅材料有较大变化时；
- b) 更改关键工艺或设备；
- c) 新试制的产品或正常生产的产品停产三个月后，重新恢复生产时；
- d) 出厂检验与上次型式检验结果有较大差异时；
- e) 市场监督管理部门按有关规定需要抽检时。

8.4 判定规则

8.4.1 抽取样品经检验，检验项目全部符合要求，判该批产品符合本文件。

8.4.2 检验项目如有一项至两项不符合要求，应重新自同批产品中抽取两倍量样品进行复验，以复检结果为准。若仍有一项不符合要求，判该批产品为不符合本文件。检验结果如有三项及以上指标不符合要求，判定该批产品为不符合本文件。

9 标志、包装、运输、贮存

9.1 标志

9.1.1 销售包装使用标签时，还应注明产品分类。

9.1.2 包装储运图示的标志应符合 GB/T 191 的有关规定。

9.2 包装

符合相关规定。

9.3 运输

9.3.1 运输工具应保持清洁、干燥，无外来气味和污染物。

9.3.2 产品在运输时，保持干燥、洁净，不应与有毒、有害、有腐蚀性物品混装混运，避免日晒和雨淋。

9.3.3 货物装卸时应轻拿轻放。

9.4 贮存

9.4.1 成品不应露天堆放，不应与有霉变、有毒、有异味、有腐蚀性物质混放。

9.4.2 成品应贮存在清洁、干燥、通风的仓库内。

附 录 A
(规范性附录)
水分的测定

A.1 仪器设备

A.1.1 电热干燥箱：控温精度±2℃。

A.1.2 分析天平：感量0.1 mg。

A.1.3 称量皿：50 mm×30 mm。

A.1.4 干燥器：用变色硅胶做干燥剂。

A.2 试验步骤

根据产品状态称取 0.3 g~2.0 g（精确至 0.0001 g）样品于烘干至恒重的称量皿中均匀铺开，然后放入 103℃±2℃电热干燥箱内，烘 6 h 后，加盖取出移入干燥器内冷却，30 min 后称量。

A.3 试验数据处理

水分的含量按式（A.1）计算：

$$X_1 = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m} \times 100 \dots\dots\dots (A.1)$$

式中：

X_1 ——样品的水分含量，单位为克每百克(g/100 g)；

m_1 ——烘干前称量皿加样品的质量，单位为克（g）；

m_2 ——烘干后称量皿加样品的质量，单位为克（g）；

m ——称量皿的质量，单位为克（g）。

所得结果保留一位小数。

A.4 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应不超过其算术平均值的 5%。

附 录 B
(规范性附录)
总氮的测定

B.1 试验步骤

同GB 5009.5-2016第一法。

B.2 试验数据处理

样品的除NaCl干基率按式(B.1)计算:

$$w = \frac{100 - X_1 - X_2}{100} \times 100\% \dots\dots\dots (B.1)$$

式中:

w ——样品的除 NaCl 干基率, %;

100 ——换算系数;

X_1 ——样品的水分含量, 单位为克每百克(g/100 g);

X_2 ——样品中氯化钠含量, 单位为克每百克(g/100 g)。

所得结果保留一位小数。

总氮的含量按式 (B.2) 计算:

$$X_3 = \frac{(V_1 - V_2) \times c_1 \times 0.0140}{m_3 \times w \times V_3 / 100} \times 100 \dots\dots\dots (B.2)$$

式中:

X_3 ——试样中总氮的含量, 单位为克每百克(g/100 g);

V_1 ——试液消耗硫酸或盐酸标准滴定液的体积, 单位为毫升(mL);

V_2 ——试剂或材料空白消耗硫酸或盐酸标准滴定液的体积, 单位为毫升(mL);

c_1 ——硫酸或盐酸标准滴定溶液浓度, 单位为摩尔每升(mol/L);

0.0140——1.0 mL 硫酸[$c(1/2\text{H}_2\text{SO}_4)=1.000 \text{ mol/L}$]或盐酸[$c(\text{HCl})=1.000 \text{ mol/L}$]标准滴定溶液相当的氮的质量, 单位为克(g);

m_3 ——试样的质量, 单位为克(g);

w ——样品的除 NaCl 干基率, %, 计算细胞壁总氮含量(以干基计)时, w 为“ $\frac{100 - X_1}{100} \times 100\%$ ”;

V_3 ——吸取消化液的体积, 单位为毫升(mL);

100 ——换算系数。

所得结果保留一位小数。

B.3 精密度

在重复条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不应超过其算术平均值的 10%。

附 录 C

(规范性附录)

氨基酸态氮占总氮百分比 (AN/TN) 的测定

C.1 氨基酸态氮的测定

C.1.1 第一法 滴定法 (仲裁法)

C.1.1.1 原理

利用氨基酸的两性作用,加入甲醛以固定氨基的碱性,使羧基显示出酸性,用氢氧化钠标准溶液滴定后定量,以酸度计指示终点。

C.1.1.2 试剂或材料

C.1.1.2.1 氢氧化钠标准溶液 [$c(\text{NaOH})=0.05 \text{ mol/L}$]。

C.1.1.2.2 甲醛溶液 (36%~38%): 应不含有聚合物 (没有沉淀且溶液不分层)。

C.1.1.3 仪器设备

C.1.1.3.1 酸度计: 直接读数,测量范围 (0~14) pH, 精度 $\pm 0.01\text{pH}$ 。

C.1.1.3.2 电磁搅拌器。

C.1.1.3.3 碱式滴定管。

C.1.1.4 试验步骤

称取样品 5 g (精确至 0.0001 g),加水溶解并定容至 100 mL。吸取样品溶液 5.0 mL 于 100 mL 烧杯中,加入 55 mL 水,用氢氧化钠标准溶液 (C.1.1.2.1) 滴定至 pH 8.2,并保持 1 min 不变,此结果为游离酸度,不予计量体积。慢慢加入甲醛溶液 (C.1.1.2.2) 10 mL,放置 1 min 后,用氢氧化钠标准滴定溶液滴定至 pH 9.20,记录消耗氢氧化钠标准滴定溶液的体积 (mL)。同时做空白试验,记录加入甲醛溶液后,空白试验所消耗氢氧化钠标准滴定溶液的体积 (mL)。

C.1.1.5 试验数据处理

按式 (C.1) 计算氨基酸态氮的含量:

$$X_4 = \frac{c_1 \times (V_4 - V_5) \times 20 \times 0.014}{m_4 \times w} \times 100 \dots \dots \dots (C.1)$$

式中:

X_4 ——样品的氨基酸态氮的含量,单位为克每百克(g/100 g);

c_1 ——氢氧化钠标准滴定溶液的浓度,单位为摩尔每升 (mol/L);

V_4 ——加入甲醛溶液后,滴定样品消耗氢氧化钠标准滴定溶液的体积,单位为毫升 (mL);

V_5 ——加入甲醛溶液后,空白试验时消耗氢氧化钠标准滴定溶液的体积,单位为毫升 (mL);

20——样品稀释倍数;

0.014——与 1.00 mL 氢氧化钠标准溶液 [$c(\text{NaOH}) = 1.000 \text{ mol/L}$] 相当的以克表示的氨基酸态氮的质量;

m_4 ——样品的质量,单位为克 (g);

w ——样品的除 NaCl 干基率，%。

所得结果保留一位小数。

C.1.1.6 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应不超过其算术平均值的5%。

C.1.2 第二法 分光光度法

C.1.2.1 原理

位于酵母抽提物中游离氨基酸末端的 $-NH_2$ ，与合成剂1-2萘醌4-磺酸钠(NQS)反应，产生的螯合物对于475 nm波长的光具有明显的吸收特性。用甘氨酸为基准物，制备不同浓度的标准溶液，以其浓度和相应吸光度值建立标准曲线，得到浓度和吸光度的线性关系，进而测试并计算出待测样品的氨基酸态氮含量。

C.1.2.2 试剂或材料

C.1.2.2.1 甘氨酸：纯度 $>98\%$ 。

C.1.2.2.2 萘醌4-磺酸钠(NQS)。

C.1.2.2.3 硼酸。

C.1.2.2.4 乙醇。

C.1.2.2.5 氢氧化钠：32% (质量分数)。

C.1.2.2.6 硼酸缓冲剂 (pH 8.8)。

称取1.5 g硼酸，加水溶解并定容至500 mL，用32%氢氧化钠将pH调整到8.8。该溶液在4℃条件下可保存1周。

C.1.2.2.7 萘醌4-磺酸钠试剂或材料。

称取500 mg NQS，加入50 mL水和50 mL纯乙醇。该溶液在4℃条件下可保存1周。

C.1.2.2.8 甘氨酸基准溶液。

甘氨酸母液的制备：准确称取约250 mg \pm 1 mg的甘氨酸，用水溶解并定容到250 mL。该溶液在4℃条件下可保存1周。

甘氨酸子液的制备：分别取5 mL、10 mL、20 mL和25 mL甘氨酸母液于100 mL容量瓶中，定容至刻度，配制成浓度分别为0.05 g/L、0.1 g/L、0.2 g/L和0.25 g/L的甘氨酸子液。

注：在绘制标准曲线时，至少要配制3个不同浓度的甘氨酸子液；每次测定前，需重新配制甘氨酸子液。

C.1.2.3 仪器设备

C.1.2.3.1 聚丙烯 (PP) 试管：10 mL。

C.1.2.3.2 聚碳酸酯 (PC) 比色皿：3 mL的。

C.1.2.3.3 可见光分光光度计。

C.1.2.3.4 用于10 mL试管加热的加热器，40℃。

C.1.2.3.5 单标线移液管：1 mL。

C.1.2.3.6 数显连续分配器。

C.1.2.3.7 分析天平：感量0.1 mg。

C.1.2.4 样品

称取样品8 g~10.0 g（精确至0.0001 g），用去离子水溶解并定容到100 mL，移取1 mL初次定容溶液到100 mL容量瓶中，再次定容到刻度。

C.1.2.5 试验步骤

C.1.2.5.1 测定

分别取5个试管，按表C.1顺序依次加入相应试剂或材料后，塞紧管口，用旋涡混合器轻轻混匀，然后将试管置于在40℃的干燥器中放置90 min。取出试管后，每支试管中加入4 mL去离子水，翻转混合，用空白溶液调零，在475 nm处测定各样品的吸光度。

表 C.1 溶液配制梯度表

	空白	浓度为0.05 g/L的 甘氨酸子液	浓度为0.1 g/L的 甘氨酸子液	浓度为0.2 g/L的 甘氨酸子液	样品
甘氨酸 0.05 g/L	—	1 mL	—	—	—
甘氨酸 0.1 g/L	—	—	1 mL	—	—
甘氨酸 0.2 g/L	—	—	—	1 mL	—
样品溶液	—	—	—	—	1 mL
水	1 mL+2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL
硼酸缓冲液	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL
NQS 试剂或材料	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL

注：每个样品需做平行测试。

C.1.2.5.2 标准曲线的建立

以甘氨酸子溶液浓度对应的氨基酸态氮的含量（见表 C.2）为纵坐标、测得的 OD 值为横坐标绘制标准曲线。

表 C.2 不同浓度的甘氨酸子溶液对应的氨基酸态氮含量

甘氨酸子溶液浓度/（g/L）	氨基酸态氮含量/（g/L）
0.05	0.009362
0.1	0.018724
0.2	0.037448

C.1.2.6 试验数据处理

氨基酸态氮的含量，按式（C.2）计算：

$$X_4 = \frac{(k \times D + b) \times 100 \times 100}{m_5 \times w \times 1000} \times 100 = (k \times D + b) \times 1000 \dots \dots \dots (C.2)$$

式中：

X_4 ——样品氨基酸态氮含量，单位为克每百克(g/100 g)；

k ——标准曲线斜率，需介于 0.0365~0.0395 之间；

D ——样品对 475 nm 波长光的吸光度值；

b ——标准曲线截距；

m_5 ——样品质量，单位为克（g）；

- w ——样品的除 NaCl 干基率, %;
 100 ——样品定容体积, 单位为毫升 (mL);
 100 ——样品溶液稀释倍数;
 1000 ——转换系数。

C.1.2.7 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应不超过其算术平均值的5%。

C.2 氨基酸态氮占总氮百分比 (AN/TN) 的计算

氨基酸态氮占总氮百分比以质量分数计, 按式 (C.3) 计算:

$$w_1 = \frac{X_4}{X_3} \times 100 \dots\dots\dots (C.3)$$

式中:

- w_1 ——样品氨基酸态氮占总氮百分比, %;
 X_3 ——总氮含量, 单位为克每百克(g/100 g);
 X_4 ——氨基酸态氮含量, 单位为克每百克(g/100 g)。
 所得结果保留一位小数。

附 录 D
(规范性附录)
铵盐的测定

D.1 溶液

所有试剂均用不含氨的蒸馏水配制。

D.1.1 氢氧化钠溶液 (400 g/L)

称取氢氧化钠 40 g，溶于 100 mL 水中，静置，吸取上层清液于带橡皮塞的瓶内。

D.1.2 硼酸溶液 (20 g/L)

称取 20 g 硼酸，加水溶解后并稀释至 1000 mL。

D.1.3 盐酸标准滴定溶液 [$c(\text{HCl}) = 0.1 \text{ mol/L}$]

按 GB/T 601 配制与标定。

D.1.4 甲基红乙醇溶液 (1g/L)。

称取 0.1 g 甲基红，溶于 95% 乙醇，用 95% 乙醇稀释至 100 mL。

D.1.5 溴甲酚绿乙醇溶液 (1g/L)。

称取 0.1 g 溴甲酚绿，溶于 95% 乙醇，用 95% 乙醇稀释至 100 mL。

D.1.6 甲酚绿-甲基红混合指示剂。

1 份甲基红乙醇溶液与 5 份溴甲酚绿乙醇溶液临用时混合。

D.2 仪器设备

D.2.1 凯氏定氮仪：成套仪器或自行组装的仪器。

D.2.2 分析天平：感量 0.1 mg。

D.2.3 滴定管：50 mL。

D.3 试验步骤

D.3.1 预先在接收瓶中加入 25 mL 硼酸溶液 (D.1.2)，以及 1 滴~2 滴甲酚绿-甲基红混合指示剂 (D.1.6)，并使冷凝管的下端伸入液面下。

D.3.2 称取样品 1.0 g~2.0 g，用少量水多次溶解并转移至凯氏定氮装置的反应室中。将 10 mL 氢氧化钠溶液 (D.1.1) 倒入小烧杯中，提起玻塞使其缓缓流入反应室，立即将玻塞塞紧，并加水于小玻璃杯内以防漏气。夹紧螺旋夹，开始蒸馏。蒸馏 5 min，移动接收瓶，液面离开冷凝管下端，再蒸馏 1 min。然

后用少量水冲洗冷凝管下端外部。取下接收瓶，用盐酸标准滴定溶液（D.1.3）滴定至绿色消失转变为灰红色为终点。同时做空白试验。

D.4 试验数据处理

铵盐含量按式（D.1）计算：

$$X_5 = \frac{c_2 \times (V_6 - V_7) \times 0.0140}{m_6 \times w} \times 100 \dots \dots \dots \text{(D.1)}$$

式中：

X_5 ——样品中铵盐的含量（以氮计），单位为克每百克（g/100 g）；

c_2 ——盐酸标准滴定溶液的浓度，单位为摩尔每升（mol/L）；

V_6 ——样品消耗盐酸标准滴定溶液的体积，单位为毫升（mL）；

V_7 ——试剂空白消耗盐酸标准滴定溶液的体积，单位为毫升（mL）；

0.0140——与 1.00 mL 盐酸[$c(\text{HCL}) = 1.000 \text{ mol/L}$]相当的以克表示的氮的质量；

m_6 ——样品的质量，单位为克（g）；

w ——样品的除 NaCl 干基率，%。

所得结果保留一位小数。

D.5 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应不超过其算术平均值的 10%。

附 录 E
(规范性附录)
不溶物的测定

E.1 仪器设备

- E.1.1 三角瓶：250 mL。
- E.1.2 G3玻璃坩埚过滤器。
- E.1.3 电热干燥箱：控温精度 $\pm 2^{\circ}\text{C}$ 。
- E.1.4 分析天平：感量0.1 mg。
- E.1.5 干燥器：用变色硅胶作干燥剂。

E.2 试验步骤

称取样品 5 g（精确至 0.01 g）于 250 mL 三角瓶中，加 75 mL 水，充分溶解。盖上表面皿，微沸 2 min，用已在 $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 下恒重并已称重的 G3 玻璃坩埚过滤器过滤，用 50 mL 水分 2~3 次洗涤，用 G3 玻璃坩埚过滤器过滤，将过滤器连同滤渣置于 $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 干燥 1 h，取出放入干燥器内，冷却后称量。

E.3 试验数据处理

不溶物的含量按式（E.1）计算：

$$X_6 = \frac{m_7 - m_8}{m_9} \times 100 \dots\dots\dots (E.1)$$

式中：

X_6 ——样品的不溶物含量，单位为克每百克(g/100 g)；

m_7 ——烘干后坩埚加样品的质量，单位为克 (g)；

m_8 ——坩埚的质量，单位为克 (g)；

m_9 ——样品的质量，单位为克 (g)。

所得结果保留一位小数。

附 录 F

(规范性附录)

谷氨酸、谷氨酸占总蛋白质百分比的测定

F.1 谷氨酸含量的测定

F.1.1 原理

使用离子交换氨基酸分析仪，样品经色谱柱分离后与（水合）茚三酮试剂混合，通过记录仪连续不断地、自动测量反应产物在 570 nm 的吸光度。

F.1.2 试剂或材料

F.1.2.1 盐酸溶液 [$c(\text{HCl})=0.02 \text{ mol/L}$]

量取 1.8 mL 浓盐酸，注入 1000 mL 的高纯水中，摇匀。

F.1.2.2 谷氨酸标准储备溶液

称取 0.7356 g 谷氨酸于 100 mL 容量瓶，用盐酸溶液（F.1.2.1）溶解，并稀释至刻度。该溶液含谷氨酸 0.05 mol/L。

F.1.2.3 谷氨酸标准使用溶液

吸取谷氨酸标准储备溶液（F.1.2.2）1 mL，用盐酸溶液（F.1.2.1）稀释至 1000 mL。每 50 μL 该溶液含有 2.5 nmol 的谷氨酸，相当于 50 μL 该溶液含有谷氨酸 367.83 ng。

F.1.3 仪器设备

F.1.3.1 离子交换氨基酸分析仪

F.1.3.2 容量瓶：100 mL、1000 mL

F.1.3.3 分析天平：感量 0.1 mg

F.1.3.4 滤膜：0.2 μm

F.1.4 试验步骤

F.1.4.1 样品制备

称取样品 1 g（精确至 0.0001 g；当谷氨酸含量大于 7% 时，应适当减少称样量），加入 40 mL 盐酸溶液（F.1.2.1），充分搅拌溶解后，全部转移至 100 mL 容量瓶中，并用盐酸溶液（F.1.2.1）稀释至刻度。

取上述溶液 1.00 mL，用盐酸溶液（F.1.2.1）稀释至 100 mL，再用滤膜过滤。该溶液为样品待测液。

F.1.4.2 样品测定

分别取 50 μL 的谷氨酸标准使用溶液和样品待测液上机测定。仪器最佳条件选择和操作方法依照设备制造商的操作说明。根据获得的色谱图，比较标准溶液和样品溶液的保留时间来鉴别谷氨酸所产生的

峰。记录样品中谷氨酸的峰面积为 A_U ，标准溶液中谷氨酸的峰面积为 A_S 。

F.1.5 试验数据处理

谷氨酸的含量按式 (F.1) 计算。

$$X_7 = \frac{(A_U \times m_S / A_S) \times 100 \times 10^3 \times 100 \times 10^{-9}}{50 \times m_{10} \times w} \times 100 = \frac{A_U \times m_S / A_S}{m_{10} \times w \times 50} \dots \dots \dots (F.1)$$

式中：

X_7 ——样品中谷氨酸的含量，单位为克每百克(g/100 g)；

A_U ——50 μ L 样品待测液在仪器上产生的峰面积；

m_S ——50 μ L 谷氨酸标准使用溶液中含有谷氨酸的质量，单位为纳克 (ng)；

A_S ——50 μ L 谷氨酸标准使用溶液在仪器上产生的峰面积；

100×10^3 ——转换系数；

100×10^{-9} ——转换系数。

50 ——谷氨酸标准使用溶液体积，单位为微升 (μ L)；

m_{10} ——样品的质量，单位为克 (g)；

w ——样品的除 NaCl 干基率，%；

所得结果保留一位小数。

F.1.6 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应不超过其算术平均值的 10%。

F.2 谷氨酸占总蛋白质百分比计算

谷氨酸占总蛋白质百分比按公式 (F.2) 计算：

$$w_2 = \frac{X_7}{X_3 \times 6.25} \times 100 \dots \dots \dots (F.2)$$

式中：

w_2 ——样品中谷氨酸占总蛋白质的百分比，%；

X_7 ——样品中谷氨酸含量，单位为克每百克(g/100 g)；

X_3 ——样品中总氮含量，单位为克每百克(g/100 g)；

6.25——氮折算成蛋白质的折算系数。

所得结果保留一位小数。

附 录 G
(规范性附录)
总灰分的测定

G.1 试验步骤

按照GB 5009.4规定的方法执行。

G.2 试验数据处理

总灰分的含量按公式 (G.1) 计算:

$$X_8 = \frac{(m_{11}-m_{12})/(m_{13}-m_{12}) \times 100 - X_2}{100 - X_1 - X_2} \times 100 \dots\dots\dots (G.1)$$

式中:

X_8 ——试样中灰分的含量, 单位为克每百克(g/100g);

m_{11} ——坩埚和灰分的质量, 单位为克(g);

m_{12} ——坩埚的质量, 单位为克(g);

m_{13} ——坩埚和试样的质量, 单位为克(g);

100——单位换算系数;

X_2 ——样品中氯化钠含量, 单位为克每百克(g/100 g), 计算细胞壁总氮含量时, X_2 为 0;

X_1 ——样品的水分含量, 单位为克每百克(g/100 g)。

所得结果保留一位小数。

G.3 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应超过其算术平均值的 5%。

附 录 H

(规范性附录)

酵母制品中核苷酸的测定

H.1 原理

同一时间进入色谱柱的各组分,由于在流动相和固定相之间溶解、吸附、渗透或离子交换等作用的不同,随流动相在色谱柱两相之间进行反复多次的分配,由于各组分在色谱柱中的移动速度不同,经过一定长度的色谱柱后,彼此分离开来,按顺序流出色谱柱,进入信号检测器,在记录仪或数据处理装置上显示出各组分的谱峰数值,根据保留时间定性,以峰面积大小,按外标法定量。

H.2 试剂

- H.2.1 5'-胞苷酸二钠(CMP) 标准品: 分子式 $C_9H_{12}N_3Na_2O_8P$, 纯度 $\geq 98\%$ 。
- H.2.2 5'-尿苷酸二钠(UMP) 标准品: 分子式 $C_9H_{11}N_2Na_2O_9P$, 纯度 $\geq 98\%$ 。
- H.2.3 5'-鸟苷酸二钠(GMP) 标准品: 分子式为 $C_{10}H_{12}N_5Na_2O_8P$, 纯度 $\geq 98\%$ 。
- H.2.4 5'-肌苷酸二钠(IMP) 标准品: 分子式为 $C_{10}H_{11}N_4Na_2O_8P$, 纯度 $\geq 98\%$ 。
- H.2.5 5'-腺苷酸二钠(AMP) 标准品: 分子式为 $C_{10}H_{12}N_5Na_2O_7P$, 纯度 $\geq 98\%$ 。
- H.2.6 超纯水: 经过超纯水系统处理过的纯化水。
- H.2.7 七水合硫酸镁 ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$), 纯度 $\geq 99.0\%$ 。
- H.2.8 磷酸二氢钾 (KH_2PO_4), 纯度 $\geq 99.0\%$ 。

H.3 仪器设备

- H.3.1 高效液相色谱仪(配紫外检测器和柱温箱系统)。
- H.3.2 色谱柱: C18 柱(250 mm \times 4.6 mm)或其他等效色谱柱。
- H.3.3 过滤装置: 1000 mL 真空抽滤器, $\phi 50$ mm, 0.45 μ m 水系滤膜。
- H.3.4 针筒式微孔滤膜: 0.22 μ m。
- H.3.5 容量瓶: 50mL、100 mL。
- H.3.6 分析天平: 感量 0.01 mg。

H.4 试验步骤

H.4.1 参考色谱条件

- H.4.1.1 流动相: 称取 4.19 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 和 13.61g KH_2PO_4 , 用水溶解并稀释至 1000 mL。用 0.45 μ m 水系滤膜过滤, 超声除气, 作为流动相。
- H.4.1.2 流 速: 1.0 mL/min。
- H.4.1.3 检测波长: 260 nm。

H. 4. 1. 4 柱温箱温度：25℃。

H. 4. 1. 5 进样量：5μ样。

H. 4. 2 样品制备

H. 4. 2. 1 标准储备溶液的制备

称取各标准品约 50 mg（精确至 0.01 mg），于 50 mL 容量瓶中，加水溶解，稀释至刻度，摇匀，用 0.22 μm 滤膜过滤，作为对照品溶液（每种成分约 1 mg/mL）。

H. 4. 2. 2 样品溶液的制备

称取样品约 0.5 g（精确至 0.0001 g），于小烧杯中，加水溶解并全量转移至 100 mL 容量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀，用 0.22 μm 滤膜过滤，作为样品溶液，样品溶液需配制 2 份作为平行样。

H. 4. 3 标准溶液制备

按表H 1制备标准系列溶液。

表 H.1 标准系列溶液的准备

序号	标准储备溶液取用量	定容体积 mL	每种核苷酸的浓度 μg/mL
1	吸取 CMP、UMP、GMP、IMP、AMP 混合标准储备溶液 0 mL	10	0
2	吸取 CMP、UMP、GMP、IMP、AMP 混合标准储备溶液 1 mL	10	100
3	吸取 CMP、UMP、GMP、IMP、AMP 混合标准储备溶液 2 mL	10	200
4	吸取 CMP、UMP、GMP、IMP、AMP 混合标准储备溶液 3 mL	10	300
5	吸取 CMP、UMP、GMP、IMP、AMP 混合标准储备溶液 4 mL	10	400
6	吸取 CMP、UMP、GMP、IMP、AMP 混合标准储备溶液 5 mL	10	500

注：用流动相溶液定容标准系列溶液。

H. 4. 4 测定

将标准系列和供试品溶液分别进样，进样量为 5 μL，根据标准品的保留时间定位样品中 CMP、UMP、GMP、IMP、AMP 的色谱峰。根据样品的峰面积，以外标法计算各组分的百分含量。

H. 5 试验数据处理

样品中各核苷酸钠盐水合物的含量按公式（H.1）计算（以除盐干基计）：

$$X_m = \frac{C \times V \times F}{m_{14} \times w} \times 10^{-6} \times K \times 100 \dots \dots \dots (H.1)$$

式中：

X_m ——样品中核苷酸钠盐水合物各组分（ X_{CMP} 、 X_{UMP} 、 X_{GMP} 、 X_{IMP} 、 X_{AMP} ）的含量，单位为克每百克(g/100 g)；

C ——查标准曲线获得样品溶液中 CMP/UMP/GMP/IMP/AMP 的含量，单位为微克每毫升(μg/mL)；

V ——样品溶液的定容体积，单位为毫升（mL）；

F ——稀释倍数；

m_{14} ——称样质量，单位为克（g）；

w ——样品的除 NaCl 干基率，%；

10^{-6} ——单位转换系数；

K ——5'-核苷酸二钠盐折换为对应的 5'-核苷酸钠盐水合物的系数，见表 H.2。

所得结果保留一位小数。

表 H.2 K 值表

5'-核苷酸	K
CMP	1.32
UMP	1.07
GMP	1.31
IMP	1.32
AMP	1.18

样品中总核苷酸含量按公式(H.2)计算：

$$X_g = X_{\text{CMP}} + X_{\text{UMP}} + X_{\text{GMP}} + X_{\text{IMP}} + X_{\text{AMP}} \dots \dots \dots \text{(H.2)}$$

式中：

- X_g ——样品中核苷酸的含量，以钠盐水合物计，单位为克每百克(g/100 g)；
- X_{CMP} ——5'-胞苷酸二钠(CMP)的含量，以钠盐水合物计，单位为克每百克(g/100 g)；
- X_{UMP} ——5'-尿苷酸二钠(UMP)的含量，以钠盐水合物计，单位为克每百克(g/100 g)；
- X_{GMP} ——5'-鸟苷酸二钠(GMP)的含量，以钠盐水合物计，单位为克每百克(g/100 g)；
- X_{IMP} ——5'-肌苷酸二钠(IMP)的含量，以钠盐水合物计，单位为克每百克(g/100 g)；
- X_{AMP} ——5'-腺苷酸二钠(AMP)的含量，以钠盐水合物计，单位为克每百克(g/100 g)。

样品中 $X_{(\text{IMP}+\text{GMP}+\text{AMP})}$: $X_{(\text{CMP}+\text{UMP})}$ 按公式(H.3)计算：

$$X_{(\text{IMP}+\text{GMP}+\text{AMP})} : X_{(\text{CMP}+\text{UMP})} = (X_{\text{IMP}} + X_{\text{GMP}} + X_{\text{AMP}}) : (X_{\text{CMP}} + X_{\text{UMP}}) \dots \dots \dots \text{(H.3)}$$

式中：

- X_{CMP} ——5'-胞苷酸二钠(CMP) 的含量，以钠盐水合物计，单位为克每百克(g/100 g)；
- X_{UMP} ——5'-尿苷酸二钠(UMP) 的含量，以钠盐水合物计，单位为克每百克(g/100 g)；
- X_{GMP} ——5'-鸟苷酸二钠(GMP) 的含量，以钠盐水合物计，单位为克每百克(g/100 g)；
- X_{IMP} ——5'-肌苷酸二钠(IMP) 的含量，以钠盐水合物计，单位为克每百克(g/100 g)；
- X_{AMP} ——5'-腺苷酸二钠(AMP) 的含量，以钠盐水合物计，单位为克每百克(g/100 g)。

H.6 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应超过其算术平均值的 10%。

H.7 定量限

以信噪比为 10: 1 时对应的浓度作为定量限，单个核苷酸定量限为 40 mg/kg。

附 录 I

(规范性附录)

酵母细胞壁中多糖的测定

1.1 原理

酵母细胞壁中多糖物质主要是葡聚糖和甘露寡糖。将酵母细胞壁中葡聚糖和甘露寡糖酸水解为葡萄糖和甘露糖后，利用液相色谱进行检测。

1.2 试剂或材料

1.2.1 纯水。

1.2.2 盐酸：37%~38%（质量分数）。

1.2.3 葡萄糖：分析纯。

1.2.4 甘露糖：分析纯。

1.2.5 氢氧化钠：分析纯。

1.2.6 葡萄糖和甘露糖混合标液（2 g/L）。

分别称取葡萄糖和甘露糖各0.2000 g，用纯水定容至100 mL。

1.2.7 氢氧化钠溶液：300 g/L。

1.3 仪器和设备

1.3.1 水浴锅。

1.3.2 旋涡混合器。

1.3.3 电炉。

1.3.4 压力蒸汽灭菌器。

1.3.5 高效液相色谱仪：带示差检测器和糖柱（6.5 mm×300 mm）。

1.3.6 分析天平：感量0.01 mg。

1.4 试验步骤

1.4.1 样品处理

准确称取样品400 mg（精确至0.1 mg）样品放入一个20 mL的耐热玻璃制的带螺帽的小试管中，加入6.0 mL盐酸（1.2.2），小心地将试管盖紧后用旋涡混合器混合，得到均一的悬浮液。将小试管放入30℃水浴中处理45 min，每15 min用旋涡混合器振荡混合一次。然后将悬浮物定量的转移到200 mL耐热带盖玻璃瓶中，用100 mL~120 mL的水，分几次洗涤小试管，洗涤液并入耐热带盖玻璃瓶中。将耐热带盖玻璃瓶放入高压灭菌锅，121℃下处理60 min。取出后冷却，用氢氧化钠溶液将溶液调pH到6~7，然后定容至200 mL。使用0.45 μm孔径的醋酸纤维素膜过滤备用。

1.4.2 色谱条件

采用纯水作为流动相，流速为0.5 mL/min，柱温80℃，待仪器基线平稳后再进样。

1.4.3 标准曲线的绘制

分别吸取甘露糖/葡萄糖标液（1.2.6）1mL、2mL、3mL、4mL、5 mL到10 mL容量瓶中，用一级水定容到刻度，得到甘露糖、葡萄糖各为200mg/L、400mg/L、600mg/L、800mg/L、1000 mg/L的混合标样。在上述色谱条件下准确进样20 μL，得到色谱峰面积和标准物质量浓度之间的回归方程，绘制标准曲线。

1.4.4 样品及对照品的测定

在同样的色谱条件下，将处理好的样品注入色谱仪中，记录各色谱峰的保留时间和峰面积。用糖标样色谱峰的保留时间定性，用糖标样色谱峰的峰面积来定量。

1.5 试验数据处理

葡聚糖或甘露寡糖的含量按公式(I.1)计算：

$$X_i = \frac{A \times 0.2}{m_{15}} \times 0.9 \times 100 \dots \dots \dots (I.1)$$

式中：

X_i ——样品中葡聚糖或甘露寡糖的含量，单位为克每百克(g/100 g)；

A ——根据样品溶液的峰面积，在标准曲线上查得的样品溶液的葡萄糖或甘露糖的含量，单位为毫克每升 (mg/L)；

0.2——样品/葡聚糖对照品处理后定容的体积，单位为升 (L)；

m_{15} ——称取样品的质量，单位为毫克 (mg)；

0.9——将葡萄糖或甘露糖换算成葡聚糖或甘露寡糖的系数。

酵母细胞壁中多糖的含量按公式(I.2)计算：

$$X_{10} = X_{11} + X_{12} \dots \dots \dots (I.2)$$

式中：

X_{10} ——样品中多糖的含量，单位为克每百克(g/100 g)；

X_{11} ——样品中葡聚糖的含量，单位为克每百克(g/100 g)；

X_{12} ——样品中甘露寡糖的含量，单位为克每百克(g/100 g)。

1.6 精密度

在重复性检测条件下获得的两次独立测定结果的相对相差不应超过其算术平均值的 10%。

附 录 J
(规范性附录)
pH 的测定

J.1 仪器和设备

酸度计 (pH计)。

J.2 试验步骤

称取试样2 g (精确至0.01 g), 加水至100 mL溶解, 用酸度计测定溶液pH, 并记录读数。

J.3 精密度

在重复性条件下获得的两次独立pH测定结果的绝对差值应不超过0.04。
