

团 体 标 准

T/AHSX 15—2024

饲料原料 酿酒酵母培养物

Feedstuff—*Saccharomyces cerevisiae* culture

2024 - 11 - 15 发布

2024 - 11 - 25 实施

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。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由安徽东方新新生物技术有限责任公司提出。

本文件由安徽省饲料与健康养殖行业协会归口。

本文件起草单位：安徽东方新新生物技术有限责任公司、安徽科技学院、亳州市畜牧发展中心、阜阳市农业农村局兽药监察所、安徽省饲料与健康养殖行业协会。

本文件主要起草人：谢申猛、杨超、华金玲、高树朋、徐建晨、韦敏侠、张岚琪、孙强、王小龙、吴皖榕。

饲料原料 酿酒酵母培养物

1 范围

本文件规定了饲料原料酿酒酵母培养物的生产工艺、质量要求、试验方法、检验规则和标签、包装、运输、贮存及保质期。

本文件适用于饲料原料酿酒酵母培养物生产及质量评判，或作为贸易结算和产品监管的依据。

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 5917.1 饲料粉碎粒度测定 两层筛筛分法
- GB/T 6432 饲料中粗蛋白测定方法
- GB/T 6434 饲料中粗纤维的含量测定
- GB/T 6435 饲料中水分的测定
- GB/T 6438 饲料中粗灰分的测定
- GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法
- GB/T 8170 数值修约规则与极限数值的表示和判定
- GB 10648 饲料标签
- GB 13078 饲料卫生标准
- GB/T 14699.1 饲料 采样
- GB/T 17480 饲料中黄曲霉毒素 B₁的测定 酶联免疫吸附法
- GB/T 18246 饲料中氨基酸的测定
- GB/T 18823 饲料检测结果判定的允许误差
- GB/T 19540 饲料中玉米赤霉烯酮的测定
- GB/T 21704 乳与乳制品中非蛋白氮含量的测定
- GB/T 30956 饲料中脱氧雪腐镰刀菌烯醇的测定 免疫亲和柱净化-高效液相色谱法
- GB/T 32141 饲料中挥发性盐基氮的测定
- NY/T 3477 饲料原料 酿酒酵母细胞壁
- 《饲料原料目录》（中华人民共和国农业农村部公告 2013年第1773号）
- 《饲料添加剂品种目录》（中华人民共和国农业农村部公告 2013年第2045号）

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

酿酒酵母培养物 *saccharomyces cerevisiae culture*

以酿酒酵母为菌种，经固体发酵后，浓缩、干燥获得的产品。

4 质量要求

4.1 原料要求

发酵原料使用应符合《饲料原料目录》的规定。

4.2 菌种要求

4.2.1 酿酒酵母应符合《饲料添加剂品种目录》的规定。

4.2.2 酿酒酵母应具有稳定的生物学特征和代谢特征，生物有效性应符合 GB/T 2318 的规定。

4.2.3 酿酒酵母应采用甘油悬液保藏方法保存，并有完整的记录，包括来源历史、筛选、检测、冻干保存、数量、使用等。

4.3 工艺要求

选用发酵原料作为培养底物，加入酵母菌菌种，采用固态发酵工艺。需严格控制发酵过程，定时通风、翻料，温度控制 $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ，pH值5.0以上，经烘干，粉碎、包装。

4.4 外观与性状

应符合表1规定。

表 1

项目	要求
色泽	灰褐色或黄褐色
气味	具有酿酒酵母发酵的典型香味
杂质	无异物
状态	粉状或不规则谷壳状

4.5 粒度

标准筛20目（孔径0.85 mm）通过率为99.0%。

4.6 质量指标

应符合表2的规定。

表 2

项目	指标			
	I级	II级	III级	IV级
水分/%	≤ 12.0	≤ 12.0	≤ 12.0	≤ 12.0
粗灰分/%	≤ 12.0	≤ 12.0	≤ 12.0	≤ 14.0
粗蛋白/%	≥ 22.0	≥ 20.0	≥ 17.0	≥ 15.0
非蛋白氮/%	≤ 0.5	≤ 0.5	≤ 0.8	≤ 0.8
挥发性盐基氮/（mg/100g）	≤ 200	≤ 200	≤ 400	≤ 400
18种氨基酸总量/%	≥ 20.0	≥ 18.0	≥ 13.0	≥ 12.0
甘露聚糖总量/%	≥ 6	≥ 6	≥ 5	≥ 5
酵母细胞壁甘露聚糖/%	≥ 1.5	≥ 1.0	≥ 0.5	≥ 0.5

4.7 卫生指标

卫生指标应符合表3的要求，其他未标明指标，应符合GB 13078的规定。

表 3

项目	限量
黄曲霉毒素B ₁ / (μg/kg)	≤10.0
玉米赤霉烯酮 / (mg/kg)	≤0.5
脱氧雪腐镰刀菌烯醇（呕吐毒） / (mg/kg)	≤1.0

5 取样

按 GB/T 14699.1的规定执行。

6 试验方法

6.1 外观与性状

取适量试样置于清洁、干燥的白色背景板上，在非阳光直射条件下观察其色泽和形态，并嗅其气味。

6.2 粒度

按GB/T 5917.1规定执行。

6.3 水分

按GB/T 6435规定执行。

6.4 粗灰分

按GB/T 6438规定执行。

6.5 粗纤维

按GB/T 6434规定执行。

6.6 粗蛋白

按GB/T 6432规定执行。

6.7 非蛋白氮

按GB/T 21704规定执行。

6.8 挥发性盐基氮

按GB/T 32141规定执行。

6.9 酵母细胞壁甘露聚糖

按附录A的规定执行。

6.10 甘露聚糖总量

按NY/T 3477规定执行。

6.11 18种氨基酸总量

按GB/T 18246规定执行。

6.12 黄曲霉毒素 B₁

按GB/T 17480规定执行。

6.13 玉米赤霉烯酮

按GB/T 19540规定执行。

6.14 脱氧雪腐镰刀菌烯醇

按GB/T 30956规定执行。

6.15 其他卫生指标

按GB 13078规定执行。

6.16 净含量

按JJF 1070规定执行。

7 检验规则

7.1 组批

以相同原料、相同生产工艺、连续生产或同一班次生产的同一规格的产品为一批，每批产品不得超过1 000 t。

7.2 出厂检验

出厂检验包括外观与性状、水分、粗蛋白质、粗灰分和黄曲霉毒素B₁。

7.3 型式检验

型式检验项目为第4章规定的全部要求。产品正常生产时，型式检验每半年至少进行一次，有下列情况之一时，应进行型式检验：

- a) 产品定型正式投产时；
- b) 生产工艺、配方或主要原料有较大变动时；
- c) 停产3个月以上，恢复生产时；
- d) 出厂检验结果与上次型式检验结果有较大差异时；
- e) 饲料行政管理部门提出检验要求时。

7.4 判定规则

7.4.1 所检项目的检验结果均与本文件规定一致，则判定该批次产品合格。

7.4.2 检验结果中有任何指标不符合本文件规定时，可自同批产品中重新加倍取样进行复检。复检结

果即使有一项指标不符合本文件规定，则判定该批产品不合格。微生物指标不得复检。

7.4.3 检测结果判定的允许误差按 GB/T 18823 的规定执行。

7.4.4 各项指标的极限数值判定按 GB/T 8170 中修约值比较法执行。

8 标签、包装、运输、贮存及保质期

8.1 标签

按GB 10648的规定执行。

8.2 包装

包装材料应清洁、卫生、无毒、无污染，包装应完好、防潮。

8.3 运输

运输工具应清洁、卫生、防晒、防雨淋，不得与有害物质混装、混运，避免包装破损。

8.4 贮存

应贮存于干燥、通风、无鼠害、无虫害、无污染的地方，避免阳光直射及露天堆放。

8.5 保质期

未开启包装的产品，在本文件规定的运输、贮存条件下，产品保质期应与标签中标明的保质期一致。

附录 A

(规范性)

酿酒酵母培养物中甘露聚糖含量的测定 高效液相色谱

A.1 原理

样品经酸水解,使甘露聚糖转化为甘露糖,以1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮为衍生剂进行衍生,经高效液相色谱分离,紫外检测器检测,外标法进行定量。将测得的甘露糖含量通过转化系数校正,计算得到甘露聚糖的含量。

A.2 试剂

- A.2.1 试验用水:应符合GB/T 6682中一级水的规定。
- A.2.2 浓盐酸(HCl):分析纯。
- A.2.3 氢氧化钠(NaOH):分析纯。
- A.2.4 二氯甲烷(CH_2Cl_2):分析纯。
- A.2.5 甲醇(CH_3OH):色谱纯。
- A.2.6 乙腈(CH_3CN):色谱纯。
- A.2.7 乙酸铵($\text{CH}_3\text{COONH}_4$):色谱纯。
- A.2.8 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮($\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}$):分析纯。

A.3 试剂配制

A.3.1 氢氧化钠溶液(6 mol/L)

称取120 g氢氧化钠(精确至0.01 g),缓缓加入盛有200 mL~300 mL水的烧杯中,使其完全溶解,待溶液冷却后,移至500 mL容量瓶中,定容。

A.3.2 氢氧化钠溶液(0.3 mol/L)

称取6 g氢氧化钠(精确至0.01 g),缓缓加入盛有200 mL~300 mL水的烧杯中,使其完全溶解,待溶液冷却后,转移至500 mL容量瓶中,定容。

A.3.3 盐酸溶液(0.3 mol/L)

移取12.5 mL盐酸(精确至0.01 mL),缓缓加入盛有200 mL~300 mL水的烧杯中,待溶液冷却后,转移至500 mL容量瓶中,定容。

A.3.4 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮溶液(0.5 mol/L)

称取4.35 g的1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮溶液,用甲醇溶解,定容至50 mL,即配即用。

A.3.5 乙酸铵溶液(0.1 mol/L)

称取7.708 g的乙酸铵,加入适量水溶解,定容至1 000 mL,过0.22 μm 的滤膜后备用。

A.4 标准品

甘露糖 ($C_6H_{12}O_6$, CAS号3458-28-4): 纯度 $\geq 98\%$, 或经国家认证授予标准物质证书的标准物质。

A.5 甘露糖标准溶液

A.5.1 标准储备溶液 (1000 mg/L)

称取甘露糖标准品0.05 g (精确至0.0001 g), 用水溶解并定容至50 mL容量瓶中, 摇匀, 保存恒温于4℃标准储存柜内, 有效期为7 d, 使用前放置至室温。

A.5.2 标准中间溶液 (100mg/L)

移取5 mL标准储备溶液 (A.5.1) 于50 mL容量瓶中, 用水定容。即配即用。

A.5.3 系列标准工作溶液

分别移取标准中间溶液 (A.5.2) 0.50 mL、1.00 mL、2.00 mL、3.00 mL、4.00 mL和5.00 mL于10 mL容量瓶中, 用水定容, 得到质量浓度分别为5.00 $\mu\text{g/mL}$ 、10.00 $\mu\text{g/mL}$ 、20.00 $\mu\text{g/mL}$ 、30.00 $\mu\text{g/mL}$ 、40.00 $\mu\text{g/mL}$ 和50.00 $\mu\text{g/mL}$ 的系列标准工作溶液。即配即用。

A.6 材料

A.6.1 三角瓶: 150 mL, 配留有气孔的胶塞。

A.6.2 塑料离心管: 15 mL, 50 mL, 带螺口盖。

A.6.3 滤膜: 0.22 μm , 水系。

A.6.4 pH精密试纸: pH范围为5.5~9.0。

A.6.5 定量滤纸。

A.7 仪器

A.7.1 高效液相色谱仪: 配有紫外检测器。

A.7.2 分析天平: 感量0.0001g和0.001 g。

A.7.3 离心机: 转速 ≥ 8000 r/min。

A.7.4 高压灭菌锅: 工作压力0.2 MPa~0.4 MPa, 工作温度121℃~134℃, 控温精度 ± 0.1 ℃。

A.7.5 恒温水浴锅: 控温精度 ± 0.1 ℃。

A.7.6 涡旋振荡器。

A.8 样品制备

取不少于200 g样品, 粉碎使其完全通过0.425 mm孔径的分析筛, 充分混匀, 装入磨口瓶中, 备用。

A.9 试验步骤

A.9.1 水解

准确称取0.5 g~1.0 g试样 (精确至0.0001 g) 于50 mL塑料离心管中, 加入6 mL盐酸 (A.2.2), 旋紧离心管盖, 于涡旋振荡器上涡旋2 min, 充分浸润混匀, 全部转入150 mL三角瓶中, 用50 mL水分数次清洗离心管, 清洗液并入三角瓶中, 塞上瓶口塞, 置于高压灭菌锅121℃水解60 min。取出冷却至室温, 使用氢氧化钠水溶液 (A.3.1和A.3.2) 调水解液pH至中性, 转移水解液至100 mL容量瓶中, 用水定容。取适量水解液过滤, 滤液备用。高甘露聚糖含量试样, 过滤液需适当用水稀释后备用。

A.9.2 衍生

A.9.2.1 吸取 (A.9.1) 滤液 400 μL 于 15 mL 塑料离心管中, 加入 0.5 mol/L 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮溶液 (5.2.4)、0.3 mol/L 氢氧化钠溶液 (A.3.2) 各 400 μL , 充分混匀, 于 70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴衍生化反应 60 min。取出冷却至室温, 加入 0.3 mol/L 盐酸溶液 (A.3.3) 500 μL , 混匀。加入 2.5 mL 二氯甲烷, 涡旋 30 s, 3 000 r/min 离心 5min, 弃去下层二氯甲烷相, 上层水相使用 2.5 mL 二氯甲烷重复萃取 3 次, 最后取上层水相, 过 0.22 μm 滤膜, 待测定。

A.9.2.2 同样方法对系列标准工作溶液 (A.5.3) 进行衍生化处理。

A.9.3 测定

A.9.3.1 色谱条件

色谱条件应满足:

- 色谱柱: C18 柱, 柱长 250 mm, 内径 4.6 mm, 粒径 5 μm ; 或性能相当者;
- 柱温: 35 $^{\circ}\text{C}$;
- 检测波长: 250 nm;
- 进样量: 20 μL ;
- 流动相: A 为 0.1 mol/L 乙酸铵溶液 (A.3.5); B 为乙腈 (A.2.6);
- 流动相流速: 1.0 mL/min。流动相洗脱参考程序见表 A.1。

表 A.1 流动相洗脱参考程序

时间/min	A/%	B/%
0.00	75	25
10.00	75	25
11.00	0	100
14.00	0	100
14.10	75	25
20.00	75	25

A.9.3.2 标准曲线的制作

将经衍生化处理后的系列标准工作溶液在上述色谱条件下准确进样 20 μL , 以系列标准工作溶液 (A.5.3) 浓度为横坐标、峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线。标准溶液衍生色谱图见附录 B 中图 B.1。

A.9.3.3 试样溶液的测定

A.9.3.3.1 定性分析: 将经衍生化处理后的样品水解液, 在上述色谱条件下准确进样 20 μL , 同样测试条件下, 试样溶液中目标物的保留时间与标准工作溶液中甘露糖衍生物的保留时间相比, 偏差应在 $\pm 2.5\%$ 范围内。样品水解液衍生色谱图见附录 B 中图 B.2。

A.9.3.3.2 定量检测: 在定性分析的基础上, 将得到的峰面积代入标准曲线方程, 计算得最终试样溶液中甘露糖的质量浓度。

A.10 试验数据处理

试样中甘露聚糖的含量按公式 (A.1) 计算:

$$X = \frac{P \times V \times n \times 0.9}{m \times 10^6} \times 100\% \quad \text{..... (A. 1)}$$

式中：

X ——甘露聚糖含量；

P ——由标准曲线计算获得样品水解液中甘露糖的质量浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；

V ——水解液定容体积，单位为毫升（ mL ）；

n ——水解液稀释倍数；

0.9——甘露糖转化为甘露聚糖的系数；

M ——用于水解的样品质量，单位为克（ g ）。

A. 11 方法精密度

在重复条件下获得两次测定结果的绝对差值不应超过算术平均值的15%。

附录 B

(资料性)

标准溶液和样品水解液中甘露糖衍生物色谱图

标准溶液和样品水解液中甘露糖衍生物的色谱图分别见图B.1和图B.2。

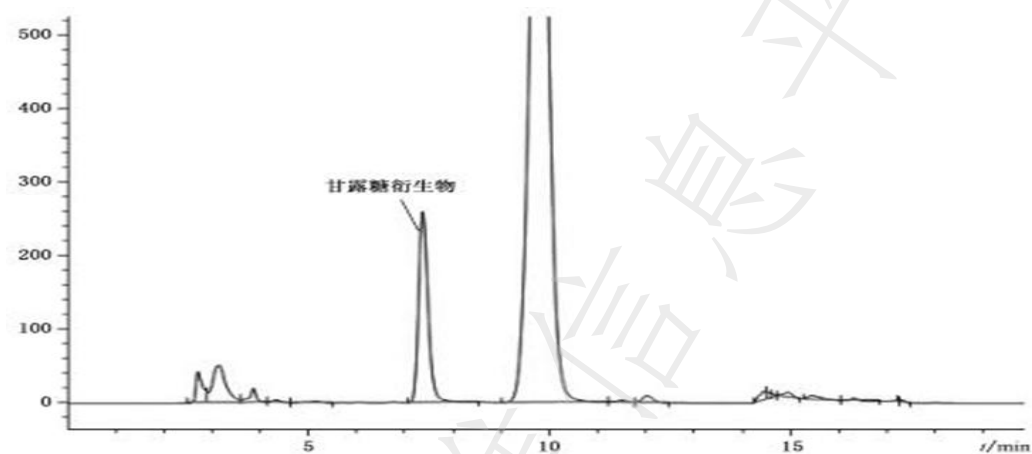


图 B.1 甘露糖标准溶液衍生色谱图 (甘露糖 50mg/L)

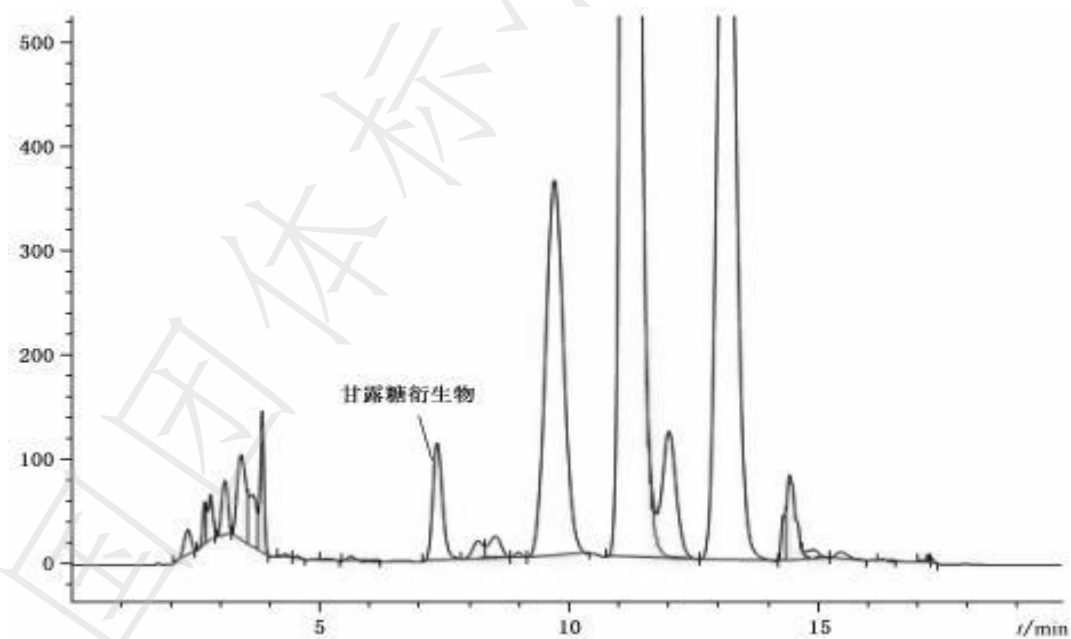


图 B.2 样品水解液衍生色谱图 (甘露糖 50mg/L)