



中华人民共和国国家标准

GB 5009.154—2016

食品安全国家标准 食品中维生素 B₆ 的测定

2016-12-23 发布

2017-06-23 实施

中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会
国家食品药品监督管理总局 发布

前 言

本标准代替 GB/T 5009.154—2003《食品中维生素 B₆ 的测定》、GB 5413.13—2010《食品安全国家标准 婴幼儿食品和乳品中维生素 B₆ 的测定》。

本标准与 GB/T 5009.154—2003 相比,主要变化如下:

- 标准名称修改为“食品安全国家标准 食品中维生素 B₆ 的测定”;
- 增加了高效液相色谱法。

食品安全国家标准

食品中维生素 B₆ 的测定

1 范围

本标准规定了食品中维生素 B₆ 的测定方法。

本标准第一法为高效液相色谱法,适用于添加了维生素 B₆ 的食品测定;第二法为微生物法,适用于各类食品中维生素 B₆ 的测定。

第一法 高效液相色谱法

2 原理

试样经提取等前处理后,经 C₁₈ 色谱柱分离,高效液相色谱-荧光检测器检测,外标法定量测定维生素 B₆ (吡哆醇、吡哆醛、吡哆胺) 的含量。

3 试剂和材料

除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

3.1 试剂

- 3.1.1 辛烷磺酸钠(C₈H₁₇NaO₃S)。
- 3.1.2 冰乙酸(C₂H₄O₂)。
- 3.1.3 三乙胺(C₆H₁₅N):色谱纯。
- 3.1.4 甲醇(CH₄O):色谱纯。
- 3.1.5 盐酸(HCl)。
- 3.1.6 氢氧化钠(NaOH)。
- 3.1.7 淀粉酶:酶活力≥1.5 U/mg。

3.2 试剂配制

- 3.2.1 盐酸溶液(5.0 mol/L):量取 45 mL 盐酸,用水稀释并定容至 100 mL。
- 3.2.2 盐酸溶液(0.1 mol/L):吸取 9 mL 盐酸,用水稀释并定容至 1 000 mL。
- 3.2.3 氢氧化钠溶液(5.0 mol/L):称取 20 g 氢氧化钠,加 50 mL 水溶解,冷却后,用水定容至 100 mL。
- 3.2.4 氢氧化钠溶液(0.1 mol/L):称取 0.4 g 氢氧化钠,加 50 mL 水溶解,冷却后,用水定容至 100 mL。

3.3 标准品

- 3.3.1 盐酸吡哆醇(C₈H₁₂ClNO₃, CAS 号:58-56-0):纯度≥98%,或经国家认证并授予标准物质证书

的标准物质。

3.3.2 盐酸吡哆醛($C_8H_{10}ClNO_3$, CAS号:65-22-5):纯度 $\geq 99\%$,或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

3.3.3 双盐酸吡哆胺($C_8H_{14}Cl_2N_2O_3$, CAS号:524-36-7):纯度 $\geq 99\%$,或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

3.4 标准溶液配制

3.4.1 吡哆醇标准储备液(1 mg/mL):准确称取 60.8 mg 盐酸吡哆醇标准品,用 0.1 mol/L 盐酸溶液溶解后定容到 50 mL,在 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 下避光保存,有效期 1 个月。

3.4.2 吡哆醛标准储备液(1 mg/mL):准确称取 60.9 mg 盐酸吡哆醛标准品,用 0.1 mol/L 盐酸溶液溶解后定容到 50 mL,在 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 下避光保存,有效期 1 个月。

3.4.3 吡哆胺标准储备液(1 mg/mL):准确称取 71.7 mg 双盐酸吡哆胺标准品,用 0.1 mol/L 盐酸溶液溶解后定容到 50 mL,在 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 下避光保存,有效期 1 个月。

3.4.4 维生素 B₆ 混合标准中间液(20 $\mu\text{g}/\text{mL}$):分别准确吸取吡哆醇、吡哆醛、吡哆胺的标准储备液各 1.00 mL,用 0.1 mol/L 盐酸溶液稀释并定容至 50 mL。临用前配制。

3.4.5 维生素 B₆ 混合标准系列工作液:分别准确吸取维生素 B₆ 混合标准中间液 0.5 mL、1.0 mL、2.0 mL、3.0 mL、5.0 mL,至 100 mL 容量瓶中,用水定容。该标准系列浓度分别为 0.10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。临用前配制。

注:标准储备液在使用前需要进行浓度校正,校正方法参照附录 A。

4 仪器和设备

4.1 高效液相色谱仪:带荧光检测器。

4.2 天平:感量 1 mg 和 0.01 mg。

4.3 pH 计:精度 0.01。

4.4 涡旋混合器。

4.5 超声波振荡器。

4.6 分光光度计。

4.7 恒温培养箱,或性能相当者。

5 分析步骤

5.1 试样制备

5.1.1 含淀粉的试样

a) 固体试样:称取混合均匀的固体试样约 5 g(精确至 0.01 g),于 150 mL 锥形瓶中,加入约 25 mL $45\text{ }^\circ\text{C}\sim 50\text{ }^\circ\text{C}$ 的水,混匀。加入约 0.5 g 淀粉酶,混匀后向锥形瓶中充氮,盖上瓶塞,置 $50\text{ }^\circ\text{C}\sim 60\text{ }^\circ\text{C}$ 培养箱内约 30 min。取出冷却至室温。

b) 液体试样:称取混合均匀的液体试样约 20 g(精确至 0.01 g)于 150 mL 锥形瓶中,混匀。加入约 0.5 g 淀粉酶,混匀后向锥形瓶中充氮,盖上瓶塞,置 $50\text{ }^\circ\text{C}\sim 60\text{ }^\circ\text{C}$ 培养箱内约 30 min。取出冷却至室温。

5.1.2 不含淀粉的试样

a) 固体试样:称取混合均匀的固体试样约 5 g(精确至 0.01 g),于 150 mL 锥形瓶中,加入约 25

mL 45 ℃~50 ℃的水,混匀。静置 5 min~10 min,冷却至室温。

- b) 液体试样:称取混合均匀的液体试样约 20 g(精确至 0.01 g)于 150 mL 锥形瓶中。静置 5 min~10 min。

5.1.3 待测液的制备

用盐酸溶液,调节上述试样溶液的 pH 至 1.7 ± 0.1 ,放置约 1 min。再用氢氧化钠溶液调节试样溶液的 pH 至 4.5 ± 0.1 。把上述锥形瓶放入超声波振荡器中,超声振荡约 10 min。将试样溶液转移至 50 mL 容量瓶中,用水冲洗锥形瓶。洗液合并于 50 mL 容量瓶中,用水定容至 50 mL。另取 50 mL 锥形瓶,上面放入漏斗和滤纸,把定容后的试样溶液倒入其中,自然过滤。滤液再经 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤,用试管收集,转移 1 mL 滤液至进样瓶作为试样待测液。

注:操作过程应避免强光照射。

5.2 仪器参考条件

仪器参考条件列出如下:

- 色谱柱: C_{18} 柱,柱长 150 mm,柱内径 4.6 mm,柱填料粒径 $5 \mu\text{m}$,或相当者;
- 流动相:甲醇 50 mL、辛酸磺酸钠 2.0 g、三乙胺 2.5 mL,用水溶解并定容到 1 000 mL 后,用冰乙酸调 pH 至 3.0 ± 0.1 ,过 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤;
- 流速:1 mL/min;
- 柱温:30 ℃;
- 检测波长:激发波长 293 nm,发射波长 395 nm;
- 进样体积:10 μL 。

5.3 标准曲线的制作

将维生素 B₆ 混合标准系列工作液分别注入高效液相色谱仪中,测定各组分的峰面积,以相应标准工作液的浓度为横坐标,以峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。

5.4 试样溶液的测定

将试样溶液注入高效液相色谱仪中,得到各组分相应的峰面积,根据标准曲线得到待测试样溶液中维生素 B₆ 各组分的浓度。

6 分析结果的表述

试样中维生素 B₆ 各组分的含量按式(1)计算:

$$X_i = \frac{\rho \times V}{m} \times \frac{100}{1\,000} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

- X_i ——试样中维生素 B₆ 各组分的含量,单位为毫克每百克(mg/100 g);
- ρ ——根据标准曲线计算得到的试样中维生素 B₆ 各组分的浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g}/\text{mL}$);
- V ——试样溶液的最终定容体积,单位为毫升(mL);
- m ——试样质量,单位为克(g);
- 100 ——换算为 100 克样品中含量的换算系数;
- 1 000 ——将浓度单位 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 换算为 mg/mL 的换算系数。

试样中维生素 B₆ 的含量按式(2)计算:

$$X = X_{\text{醇}} + X_{\text{醛}} \times 1.012 + X_{\text{胺}} \times 1.006 \quad \dots\dots\dots(2)$$

式中:

X ——试样中维生素 B₆(以吡哆醇计)的含量,单位为毫克每百克(mg/100 g);

$X_{\text{醇}}$ ——试样中吡哆醇的含量,单位为毫克每百克(mg/100 g);

$X_{\text{醛}}$ ——试样中吡哆醛的含量,单位为毫克每百克(mg/100 g);

1.012 ——吡哆醛的含量换算成吡哆醇的系数;

$X_{\text{胺}}$ ——试样中吡哆胺的含量,单位为毫克每百克(mg/100 g);

1.006 ——吡哆胺的含量换算成吡哆醇的系数。

结果保留三位有效数字。

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不得超过算术平均值的 15%。

8 其他

当取样量为 5.00 g 时,方法检出限为:吡哆醇 0.02 mg/100 g,吡哆醛 0.02 mg/100 g,吡哆胺 0.02 mg/100 g;方法定量限为:吡哆醇 0.05 mg/100 g,吡哆醛 0.05 mg/100 g,吡哆胺 0.05 mg/100 g。

第二法 微生物法

9 原理

食品中某一种细菌的生长必须要有某一种维生素的存在,卡尔斯伯(*Saccharomyces Carlsbergensis*)酵母菌在有维生素 B₆ 存在的条件下才能生长,在一定条件下维生素 B₆ 的量与其生长呈正比关系。用比浊法测定该菌在试样液中生长的浑浊度,与标准曲线相比较得出试样中维生素 B₆ 的含量。

10 试剂和材料

除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的二级水。培养基可使用符合测试要求的商品化的培养基。

10.1 试剂

10.1.1 盐酸(HCl)。

10.1.2 硫酸(H₂SO₄)。

10.1.3 氢氧化钠(NaOH)。

10.1.4 吡哆醇 Y 培养基:不得含维生素 B₆ 生长因子。

10.1.5 琼脂[(C₁₂H₁₈O₉)_n]。

10.1.6 氯化钠(NaCl)。

10.1.7 溴甲酚绿(C₂₁H₁₄Br₄O₅S)。

10.2 试剂配制

10.2.1 盐酸溶液(0.01 mol/L):吸取 0.9 mL 盐酸,用水稀释并定容至 1 000 mL。

10.2.2 硫酸溶液(0.22 mol/L):于 2 000 mL 烧杯中加入 700 mL 水、12.32 mL 硫酸,用水稀释至 1 000 mL。

10.2.3 硫酸溶液(0.5 mol/L):于 2 000 mL 烧杯中加入 700 mL 水、28 mL 硫酸,用水稀释至 1 000 mL。

10.2.4 氢氧化钠溶液(10 mol/L):称取 40 g 氢氧化钠,加 40 mL 水溶解,冷却后,用水定容至 100 mL。

10.2.5 氢氧化钠溶液(0.1 mol/L):移取 10 mol/L 氢氧化钠溶液 1 mL,用水定容至 100 mL。

10.2.6 生理盐水(9 g/L):称取 9 g 氯化钠,用水溶解后定容至 1 000 mL,于 121 °C 下高压灭菌 15 min,冷却后备用。

10.2.7 溴甲酚绿溶液(0.4 g/L):准确称取 0.1 g 溴甲酚绿于研钵中,加 1.4 mL 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液研磨,加少许水继续研磨,直至完全溶解,用水稀释到 250 mL。

10.3 培养基(培养基组分与配制方法参见附录 C)

10.3.1 吡哆醇 Y 培养基。

10.3.2 吡哆醇 Y 琼脂培养基。

10.3.3 麦芽浸粉琼脂培养基。

10.3.4 YM 肉汤培养基。

10.3.5 YM 肉汤琼脂培养基。

10.4 标准品

盐酸吡哆醇($C_8H_{12}ClNO_3$, CAS 号:58-56-0):纯度 $\geq 99\%$,或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

10.5 标准溶液配制

10.5.1 吡哆醇标准储备液(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$):准确称取 122 mg 盐酸吡哆醇标准品,用 0.01 mol/L 的盐酸溶液溶解并定容至 1 000 mL。于 4 °C 下避光保存,有效期 1 个月。

10.5.2 吡哆醇标准中间液(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$):准确吸取 1 mL 吡哆醇标准储备液,用水稀释并定容至 100 mL。

10.5.3 吡哆醇标准工作液(50 ng/mL):准确吸取 5 mL 吡哆醇标准中间液,用水定容至 100 mL。

11 仪器和设备

11.1 光栅分光光度计。

11.2 天平:感量 1 mg 和 0.1 mg。

11.3 电热恒温培养箱,或性能相当者。

11.4 高压釜,或性能相当者。

11.5 涡旋混合器。

11.6 离心机。

11.7 超净工作台,或性能相当者。

12 分析步骤

注：预包装了菌种的商业化维生素 B₆ 检测试剂盒，其检测原理相同，检测效果相当，实际使用时按试剂盒中的操作指南进行操作。

12.1 菌种的制备及保存(避光处理)

12.1.1 菌种复壮：卡尔斯伯酵母(*Saccharomyces carlsbergensis*)，ATCC # 9080 菌种或等效菌种冻干品，加入约 0.5 mL YM 肉汤培养基或生理盐水复溶，取几滴复溶的菌液分别接种 2 支装有 10 mL YM 肉汤培养基的试管中，于 30 ℃ 水浴振荡培养 20 h~24 h。

12.1.2 月储备菌种制备：将菌种复壮培养液划线接种于 YM 肉汤琼脂培养基(传代培养基)斜面上，于 30 ℃ 培养 20 h~24 h，于 2 ℃~8 ℃ 冰箱内保存，此菌种为第一代月储备菌种；以后每月将上一代的月储备菌种划线接种于 YM 肉汤琼脂培养基(传代培养基)斜面，于 30 ℃ 培养 20 h~24 h，于 2 ℃~8 ℃ 冰箱内保存，有效期一个月，此菌种为当月储备菌种。

12.1.3 周储备菌种制备：每周从当月储备菌种接种于 YM 肉汤琼脂培养基(传代培养基)斜面，于 30 ℃ 培养 20 h~24 h，于 2 ℃~8 ℃ 冰箱内保存，有效期 7 d。保存数星期以上的菌种，不能立即用作制备接种液之用，一定要在使用前每天移种一次，连续 2 d~3 d，方可使用，否则生长不好。

12.1.4 接种菌悬液制备：在维生素 B₆ 测定实验前一天，将周储备菌种转接于 10 mL YM 肉汤培养基(种子培养液)中，可同时制备 2 管，于 30 ℃ 振荡培养 20 h~24 h，得到测定用的种子培养液，从月储备菌种到种子培养液总代数不超过 5 代。将该种子培养液于 3 000 r/min 下离心 10 min，倾去上清液；用 10 mL 生理盐水洗涤，离心，倾去上清液，用生理盐水重复洗涤 2 次；再加 10 mL 消毒过的生理盐水，将离心管置于涡旋混匀器上充分混合，使菌种成为混悬液，将此菌悬液倒入已消毒的注射器内，立即使用。

12.2 试样处理

12.2.1 称取试样 0.5 g~10 g(精确至 0.01 g，其中维生素 B₆ 含量不超过 10 ng)放入 100 mL 锥形瓶中，加 72 mL 0.22 mol/L 硫酸溶液。放入高压釜 121 ℃ 下水解 5 h，取出冷却，用 10.0 mol/L 氢氧化钠溶液和 0.5 mol/L 硫酸溶液调 pH 至 4.5，用溴甲酚绿做指示剂(指示剂由黄-黄绿色)，将锥形瓶内的溶液转移到 100 mL 容量瓶中，用蒸馏水定容至 100 mL，滤纸过滤，保存滤液于冰箱内备用(有效期不超过 36 h)。

注：整个试样处理过程需要注意避光操作。

12.2.2 标准曲线的制备：3 组试管各加 0.00 mL、0.02 mL、0.04 mL、0.08 mL、0.12 mL 和 0.16 mL 吡哆醇工作液，再加吡哆醇 Y 培养基补至 5.00 mL，混匀，加棉塞。

12.2.3 试样管的制备：在试管中分别加入 0.05 mL、0.10 mL、0.20 mL 样液，再加入吡哆醇 Y 培养基补至 5.00 mL，用棉塞塞住试管，将制备好的标准曲线和试样测定管放入高压釜 121 ℃ 下高压灭菌 10 min，冷至室温备用。

12.2.4 接种和培养：每管种一滴接种液，于 30 ℃ ± 0.5 ℃ 恒温箱中培养 18 h~22 h。

12.3 测定

将培养后的标准管和试样管从恒温箱中取出后，用分光光度计于 550 nm 波长下，以标准管的零管调零，测定各管的吸光度值。以标准管维生素 B₆ 所含的浓度为横坐标，吸光度值为纵坐标，绘制维生素 B₆ 标准工作曲线，用试样管得到的吸光度值，在标准曲线上查到试样管维生素 B₆ 的含量。

13 分析结果的表述

试样提取液中维生素 B₆ 的浓度按式(3)计算:

$$\rho = \frac{\rho_1 + \rho_2 + \rho_3}{3} \dots\dots\dots(3)$$

式中:

ρ ——试样提取液中维生素 B₆ 的浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);

ρ_i ——各试样测定管中维生素 B₆ 的浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL)。

试样中维生素 B₆ 的含量按式(4)计算:

$$X = \frac{\rho \times V \times 100}{m \times 10^6} \dots\dots\dots(4)$$

式中:

X ——试样中维生素 B₆(以吡哆醇计)的含量,单位为毫克每百克(mg/100 g);

ρ ——试样提取液中维生素 B₆ 的浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);

V ——试样提取液的定容体积与稀释体积总和,单位为毫升(mL);

m ——试样质量,单位为克(g);

$\frac{100}{10^6}$ ——折算成每 100 g 试样中维生素 B₆ 的毫克数。

计算结果保留到小数点后两位。

14 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得超过算术平均值的 15%。

15 其他

当取样量为 1.00 g 时,定量限为 0.002 mg/100 g。

附录 A

维生素 B₆ 各组分标准溶液的浓度校正方法

A.1 标准校正溶液的配制

分别准确吸取 1.00 mL 吡哆醇、吡哆醛、吡哆胺标准储备液,用 0.1 mol/L 盐酸溶液定容到 100 mL,作为标准校正液。

A.2 对照溶液的配制

以 0.1 mol/L 盐酸溶液作为对照溶液。

A.3 吸收值的测定

用 1 cm 比色杯于相应最大吸收波长下,以对照溶液为空白对照,测定各标准校正溶液的吸收值。

A.4 标准溶液的浓度计算

各标准储备液的质量浓度按式(A.1)计算:

$$\rho_i = \frac{A_i \times M_i}{\epsilon_i} \times V \times F_i \quad \dots\dots\dots (A.1)$$

式中:

- ρ_i ——维生素 B₆ 各组分(吡哆醇、吡哆醛、吡哆胺)标准储备液的质量浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g}/\text{mL}$);
- A_i ——维生素 B₆ 各组分(吡哆醇、吡哆醛、吡哆胺)标准测试液在各自最大吸收波长 λ_{max} 下的吸收值(见表 A.1);
- M_i ——维生素 B₆ 各组分(吡哆醇、吡哆醛、吡哆胺)标准品的分子量(见表 A.1);
- ϵ_i ——维生素 B₆ 各组分(吡哆醇、吡哆醛、吡哆胺)在 0.1 mol/L 盐酸溶液中的吸收系数(见表 A.1);
- V ——稀释因子;
- F_i ——无维生素 B₆ 各组分(吡哆醇、吡哆醛、吡哆胺)的对照溶液的换算因子(见表 A.1)。

表 A.1 维生素 B₆ 各组分标准溶液浓度校正的相关参数

化合物	溶剂	λ_{max}	M_i g/mol	ϵ_i $\text{mmol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$	F_i
盐酸吡哆醇 (pyridoxine-hydrochloride)	0.1 mol/L HCl(pH≈1)	291	205.6	8.6	0.823
盐酸吡哆醛 (pyridoxal-hydrochloride)	0.1 mol/L HCl(pH≈1)	288	203.6	9.0	0.821
双盐酸吡哆胺 (pyridoxamine-dihydrochloride)	0.1 mol/L HCl(pH≈1)	292	241.1	8.2	0.698

附录 B
维生素 B₆ 液相色谱图

维生素 B₆ 的液相色谱图见图 B.1。

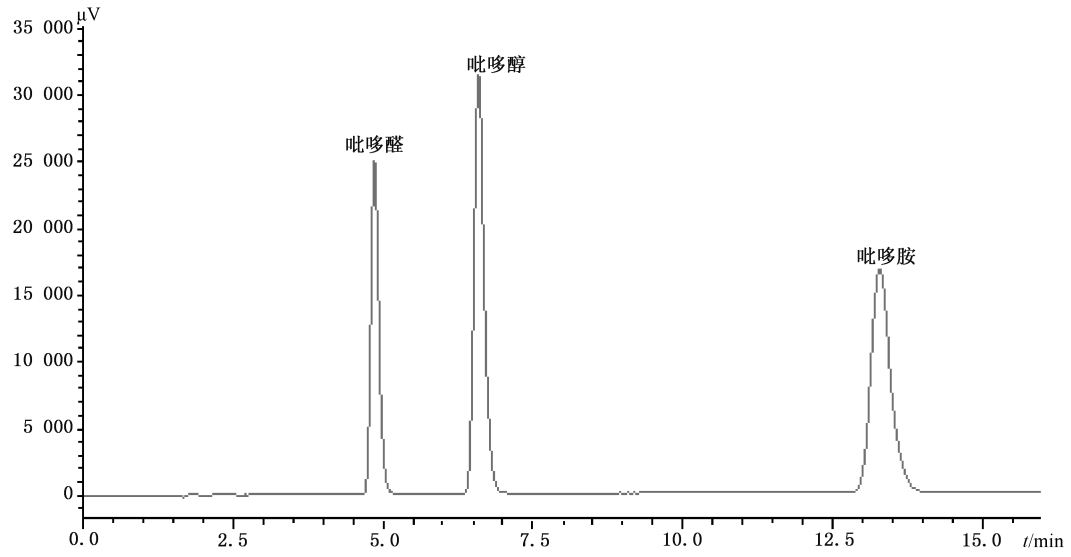


图 B.1 维生素 B₆ 标准溶液的液相色谱图

附录 C

培养基组分与配制方法

C.1 吡哆醇 Y 培养基

每升溶液成分:葡萄糖 40.0 g, L-天冬酰胺 4.0 g, 硫酸铵 4.0 g, 磷酸二氢钾 3.0 g, 硫酸镁 1.0 g, 氯化钙 0.49 g, DL-蛋氨酸 40.0 mg, DL-色氨酸 40.0 mg, DL-异亮氨酸 40.0 mg, DL-缬氨酸 40.0 mg, 盐酸组氨酸 20.0 mg, 核黄素 20.0 mg, 生物素 8.0 mg, 肌醇 5.0 mg, 硫酸亚铁 500.0 μg , 盐酸硫胺素 400.0 μg , 泛酸钙 400.0 μg , 胆碱酸 400.0 μg , 硼酸 200.0 μg , 碘化钾 200.0 μg , 钼酸铵 40.0 μg , 硫酸锰 80.0 μg , 硫酸铜 90.0 μg , 硫酸锌 80.0 μg , 蒸馏水 1 000 mL。

称量 5.3 g 上述吡哆醇 Y 培养基培养基, 溶解于 100 mL 蒸馏水中, 调 pH 至 4.1 ± 0.05 , $121\text{ }^\circ\text{C}$ 灭菌 15 min, 备用。

C.2 吡哆醇 Y 琼脂培养基

称量 5.3 g 上述吡哆醇 Y 培养基, 溶解于 100 mL 蒸馏水中, 调 pH 至 4.1 ± 0.05 , 加入 1.2 g 琼脂, 加热煮沸使琼脂融化, 混合均匀后分装于试管中, 每管 10 mL, $121\text{ }^\circ\text{C}$ 灭菌 15 min, 摆成斜面备用。

C.3 麦芽浸粉琼脂培养基

称取麦芽糖 12.75 g, 糊精 2.75 g, 丙三醇 2.35 g, 蛋白胨 0.78 g, 溶解于 1 000 mL 蒸馏水中, 调 pH 至 4.7 ± 0.2 , 加入 15.0 g 琼脂, 加热煮沸使琼脂融化, 混合均匀后分装于试管中, 每管 10 mL, $121\text{ }^\circ\text{C}$ 灭菌 15 min, 摆成斜面备用。用于制备卡尔斯伯酵母的每月和每周传代菌种培养基。

C.4 YM 肉汤培养基

每升溶液成分:酵母浸膏 3.0 g, 麦芽浸膏 3.0 g, 蛋白胨 5.0 g, 葡萄糖 10.0 g, 蒸馏水 1 000 mL。按 2.1 g/100 mL 水的比例称量培养基, 加入对应体积的蒸馏水, 搅拌均匀, 调 pH 至 6.2 ± 0.2 , 分装于试管中, 每管 10 mL, $121\text{ }^\circ\text{C}$ 灭菌 15 min, 冷却后放入冰箱 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 保存, 有效期一个月, 作为卡尔斯伯酵母菌种复苏培养液和日常检测用种子培养液培养基。

C.5 YM 肉汤琼脂培养基

按 2.1 g/100 mL 水的比例称量上述 YM 肉汤培养基, 并按 1.3 g/100 mL 的比例加入琼脂后, 加入对应体积的蒸馏水, 加热至沸腾, 分装于试管中, 每管 10 mL, $121\text{ }^\circ\text{C}$ 下灭菌 15 min, 摆成斜面, 放入冰箱 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 保存, 有效期一个月, 用于制备卡尔斯伯酵母的每月和每周传代菌种培养基。