

ICS 67.160.10
X 62

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 273—2012
代替 NY/T 273—2002

绿色食品 啤酒

Green food—Beer

2012-12-07 发布

2013-03-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1 给出的规则起草。

本标准代替 NY/T 273—2002《绿色食品 啤酒》。与 NY/T 273—2002 相比,除编辑性修改外,主要技术变化如下:

- 增加了产品分类;
 - 酒精度的计量单位改用体积分数表示;
 - 取消质量等级;
 - 对淡色啤酒的泡持性、酒精度、原麦汁浓度、总酸、二氧化碳指标进行了调整;
 - 对浓色啤酒和黑色啤酒的泡持性、酒精度、原麦汁浓度、二氧化碳指标进行了调整,另增加了蔗糖转化酶活性要求;
 - 将标准中的游离二氧化硫指标改为总二氧化硫;更换了总二氧化硫的检测方法,并将指标值改为 10 mg/L;
 - 改进了甲醛的检测方法,增加了高效液相色谱法作为测定的第二法,并将指标值改为 0.9 mg/L;
 - 改进了硝酸盐的检测方法;
 - 产品的检验规则、包装、运输和贮存要求均改为按绿色食品的相关标准执行;
- 本标准由农业部农产品质量安全监管局提出。
- 本标准由中国绿色食品发展中心归口。
- 本标准起草单位:江南大学、北京燕京啤酒股份有限公司、青岛啤酒股份有限公司。
- 本标准主要起草人:陆健、孙军勇、林智平、董建军、王莉娜、尹花、王安平。
- 本标准所代替标准的历次版本发布情况为:
- NY/T 273—1995;
 - NY/T 273—2002。

绿色食品 啤酒

1 范围

本标准规定了绿色食品啤酒的产品分类、要求、检验规则、标志和标签、包装、运输和贮存。
本标准适用于绿色食品啤酒。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是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 4544 啤酒瓶

GB/T 4789.2 食品卫生微生物学检验 菌落总数测定

GB/T 4789.3 食品卫生微生物学检验 大肠菌群测定

GB/T 4789.4 食品卫生微生物学检验 沙门氏菌检验

GB/T 4789.5 食品卫生微生物学检验 志贺氏菌检验

GB/T 4789.10 食品卫生微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验

GB/T 4789.25 食品卫生微生物学检验 酒类检验

GB 4927 啤酒

GB/T 4928 啤酒分析方法

GB/T 5009.11 食品中总砷及无机砷的测定

GB/T 5009.12 食品中铅的测定

GB/T 5009.22 食品中黄曲霉毒素 B₁ 的测定

GB/T 5738 瓶装酒、饮料塑料周转箱

GB/T 6543 瓦楞纸箱

GB 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB 7718 食品安全国家标准 预包装食品标签通则

GB/T 9106 包装容器 铝易开盖两片罐

GB/T 10111 随机数的产生及其在产品抽样检验中的应用程序

GB 10344 预包装食品酒标签通则

GB/T 13521 冠形瓶盖

GB/T 17714 啤酒桶

JJF 1070 定量包装商品净含量计量检验规则

NY/T 391 绿色食品 产地环境技术条件

NY/T 392 绿色食品 食品添加剂使用准则

NY/T 658 绿色食品 包装通用准则

NY/T 896 绿色食品 产品抽样准则

NY/T 1056 绿色食品 贮藏运输准则

国家质量监督检验检疫总局令 2005 年第 75 号 定量包装商品计量监督管理办法

中国绿色食品商标标志设计使用规定手册

3 术语和定义

GB 4927 界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

4 产品分类

- 4.1 淡色啤酒:色度 2 EBC~14 EBC 的啤酒。
- 4.2 浓色啤酒:色度 15 EBC~40 EBC 的啤酒。
- 4.3 黑色啤酒:色度大于等于 41 EBC 的啤酒。
- 4.4 特种啤酒。

5 要求

5.1 产地环境

原料产地环境要求应符合 NY/T 391 的规定。

5.2 原料要求

生产原料应符合绿色食品的规定。所使用的食品添加剂应符合 NY/T 392 的规定。

5.3 感官要求

应符合表 1 的规定。

表 1 啤酒的感官要求

项 目		指 标		检验方法
		淡色啤酒	浓色、黑色啤酒	
外观 ^a	透明度	清亮	酒体有光泽	GB/T 4928
	浊度, EBC	≤0.9	—	
		允许有肉眼可见的微细悬浮物和沉淀物(非外来异物)		
泡沫	形态	泡沫洁白细腻,持久挂杯	泡沫细腻挂杯	
	泡持性 ^b , s	瓶装	≥180	
		听装	≥150	
香气和口味		有明显的酒花香气,口味纯正,爽口,酒体协调,柔和,无异香、异味	具有明显的麦芽香气,口味纯正,爽口,酒体醇厚,杀口,柔和,无异味	
^a 不适用于非瓶装的鲜啤酒。 ^b 不适用于桶装啤酒。				

5.4 理化指标

应符合表 2 的规定。特种啤酒除特征性指标外,其他要求应符合相应啤酒的规定。

表 2 啤酒理化指标要求

项 目		指 标		检验方法
		淡色啤酒	浓色、黑色啤酒	
酒精度 ^a , mL/100mL	≥14.1°P		≥5.2	GB/T 4928
	12.1°P~14.0°P		≥4.5	
	11.1°P~12.0°P		≥4.1	
	10.1°P~11.0°P		≥3.7	
	8.1°P~10.0°P		≥3.3	
	≤8.0°P		≥2.5	
原麦汁浓度 ^b , °P		X		

表 2 (续)

项 目	指 标		检验方法
	淡色啤酒	浓色、黑色啤酒	
总酸, mL/100 mL	$\geq 14.1^{\circ}\text{P}$	≤ 3.0	GB/T 4928
	$10.1^{\circ}\text{P}\sim 14.0^{\circ}\text{P}$	≤ 2.6	
	$\leq 10.0^{\circ}\text{P}$	≤ 2.2	
二氧化碳 ^c , g/100 g	0.35~0.65		
双乙酰, mg/L	≤ 0.10	—	
蔗糖转化酶活性 ^d	阳性		

^a 不适用于低醇啤酒、脱醇啤酒。
^b X 为标签上标注的原麦汁浓度, $\geq 10.0^{\circ}\text{P}$ 允许的负偏差为 -0.3°P ; $< 10.0^{\circ}\text{P}$ 允许的负偏差为 -0.2°P 。
^c 桶装啤酒二氧化碳不得小于 $0.25\text{ g}/100\text{ g}$ 。
^d 仅适用于生啤酒和鲜啤酒。

5.5 污染物限量和食品添加剂限量

应符合相关食品安全国家标准及 NY/T 392 的规定,同时符合表 3 的规定。

表 3 啤酒中污染物限量

项 目	指 标	检验方法
铅(以 Pb 计), mg/L	≤ 0.1	GB/T 5009.12
甲醛, mg/L	≤ 0.9	附录 B
总二氧化硫, mg/L	≤ 10	附录 C
硝酸盐(以 NO_3^- 计), mg/L	≤ 25	附录 D
黄曲霉毒素 B ₁ , $\mu\text{g}/\text{L}$	≤ 5	GB/T 5009.22

5.6 微生物限量

应符合表 4 的规定。

表 4 绿色食品啤酒中微生物的限量

项 目	指 标		检测方法
	鲜啤酒	生啤酒、熟啤酒	
菌落总数, CFU/mL	—	≤ 50	GB 4789.2
大肠菌群, MPN/mL	≤ 3	≤ 3	GB 4789.3
肠道致病菌(沙门氏菌、志贺氏菌、金黄色葡萄球菌)	0/25 mL		GB 4789.4
			GB 4789.5
			GB 4789.10
			GB/T 4789.25

5.7 净含量

应符合国家质量监督检验检疫总局令 2005 第 75 号的规定,检验方法按 JJF 1070 执行。

6 检验规则

6.1 组批

发酵成熟的啤酒经过滤后,同一清酒罐、同一包装线、连续生产的同一包装形式的产品为一组批。

6.2 抽样

6.2.1 样品抽样应按照 NY/T 896 规定执行,并按表 5 抽取样本。桶装啤酒应使用灭菌的器具,在无菌条件下抽样。箱装(瓶、听)啤酒先按表 5 规定随机抽取样本,再随机从中抽取样品。当样品总量不足 4.0 L 时,应适当按比例增加取样量。

随机抽样方法按 GB/T 10111 的规定执行。

表 5 绿色食品啤酒检验抽样表

样品总体数,箱或桶	样本数,箱或桶	样品数,瓶或听
50 以下	3	3
51~1 200	5	2
1 201~35 000	8	1
≥35 001	13	1

6.2.2 采样后应立即贴上标签,注明样品名称、品种规格、数量、制造者名称、采样时间与地点、采样人。将其中三分之一样品封存,于 5℃~25℃保留 10 d 备查。其余样品立即送化实验室。

6.3 检验分类

6.3.1 出厂检验

6.3.1.1 产品出厂前,应由生产厂的质量监督检验部门按本标准规定逐批进行检验,检验合格,方可出厂。产品质量检验合格证明(合格证)可放在包装箱内,也可在标签上或在包装箱外打印“合格”二字。

6.3.1.2 检验项目

净含量、感官要求、理化指标和微生物限量中的菌落总数和大肠菌群。

6.3.2 型式检验

型式检验是对产品进行全面考核,即对产品标准规定的全部指标进行检验,至少每半年进行一次。有下列情况之一者,亦应进行:

- a) 原辅材料有较大变化时;
- b) 更换设备或停产后,重新恢复生产时;
- c) 出厂检验与上次型式检验结果有较大差异时;
- d) 国家质量监督检验机构提出抽检要求时。

6.3.3 认证检验

申请绿色食品认证的产品应按照本标准 5.3~5.7 及附录 A 所确定的项目进行检验。

6.4 判定规则

6.4.1 受检样品的检验项目全部合格,则判定为合格产品。受检样品如有两项以下(含两项)指标不合格,应重新自同批产品中抽取两倍量样品进行复检,以复检结果为准。

6.4.2 微生物指标不得复检。

7 标志和标签

7.1 标志

7.1.1 产品包装上应标注绿色食品标志,其标注办法应符合《中国绿色食品商标标志设计使用规定手册》的规定。

7.1.2 贮运图示按 GB/T 191 的规定执行。

7.2 标签

外包装纸箱上除标明产品名称、制造者名称和地址、生产日期外,还应标明单位包装的净含量和总数量。产品标签应按 GB 7718 的规定执行。另外,销售包装标签还应符合 GB 10344 的有关规定。应标明产品名称、原料、酒精度、原麦汁浓度、净含量、制造者名称和地址、灌装(生产)日期、保质期、产品标准号。用玻璃瓶包装的啤酒,还应在标签、附标或外包装上印有警示语——“切勿撞击,防止爆瓶”。

8 包装、运输和贮存

8.1 包装

产品包装应按 NY/T 658 的规定执行,还应符合以下规定:

- a) 瓶装啤酒应使用符合 GB 4544 有关要求的玻璃瓶和符合 GB/T 13521 有关要求的瓶盖;
- b) 听装啤酒应使用有足够耐受压力的包装容器包装,如:铝易开盖两片罐,并应符合 GB/T 9106 的有关要求;
- c) 桶装啤酒应使用符合 GB/T 17714 有关要求的啤酒桶;
- d) 产品应封装严密,不应有漏气、漏酒现象;
- e) 瓶装啤酒外包装应使用符合 GB/T 6543 要求的瓦楞纸箱、符合 GB/T 5738 要求的塑料周转箱,或者使用软塑整体包装。瓶装啤酒不应只用绳捆扎出售。

注:当使用自动包装机打包时,瓦楞纸箱内允许无间隔材料。

8.2 运输和贮存

产品运输和贮存按 NY/T 1056 的规定执行,还应符合以下规定:

- a) 搬运啤酒时,应轻拿轻放,不应扔摔,应避免撞击和挤压;
- b) 啤酒不应与有毒、有害、有腐蚀性、易挥发或有异味的物品混装、混贮、混运;
- c) 啤酒宜在 5℃~25℃ 下运输和贮存;低于或高于此温度范围,宜采取相应的防冻或防热措施;
- d) 啤酒应贮存于阴凉、干燥、通风的库房中;不应露天堆放,严防日晒、雨淋;不得与潮湿地面直接接触。

附 录 A
(规范性附录)
绿色食品啤酒产品认证检验项目

A.1 表 A.1 规定了除 5.3~5.7 所列项目外,依据食品安全国家标准和绿色食品生产实际情况,绿色食品申报检验还应检验的项目。

表 A.1 依据食品安全国家标准绿色食品啤酒产品认证检验必检项目

序号	检验项目	限量值	检验方法
1	无机砷(以 As 计),mg/kg	≤0.05	GB/T 5009.11

A.2 如食品安全国家标准及相关国家规定中上述项目和指标有调整,且严于本标准规定,按最新国家标准及规定执行。

附 录 B
(规范性附录)
啤酒中甲醛的测定

B.1 AHMT 比色法**B.1.1 原理**

甲醛与 4-氨基-3-联氨-5-巯基-1,2,4-三氮杂茂(4-Amino-3-hydrazino-5-mercapto-1,2,4-triazole,简称 AHMT)在碱性条件下缩合,经过高碘酸钾氧化成紫红色三唑缩合物,在 550 nm 处测定吸光度,与标准系列比较定量。

B.1.2 试剂

除非另有说明,在分析中仅使用确认为分析纯的试剂,实验用水应符合 GB 6682 中二级水要求。

B.1.2.1 0.5 mol/L 盐酸溶液

量取 4.45 mL 浓盐酸定容至 100 mL。

B.1.2.2 5 g/L AHMT 溶液

称取 0.25 g AHMT 溶于 0.5 mol/L 盐酸并稀释至 50 mL,于棕色瓶中室温下可保存半年。

B.1.2.3 0.2 mol/L 氢氧化钾溶液

称取 1.18 g KOH 溶于水中,定容至 100 mL。

B.1.2.4 15 g/L 高碘酸钾溶液

称取 0.75 g KIO_4 溶于 0.2 mol/L KOH 中,于水浴加温使之溶解,并用 0.2 mol/L KOH 溶液稀释至 50 mL。

B.1.2.5 5 mol/L 氢氧化钾溶液

称取 73.75 g KOH 溶于水中,冷却后定容至 250 mL。

B.1.2.6 5 mol/L 氢氧化钾-乙二胺四乙酸二钠溶液

称取 25.0 g 乙二胺四乙酸二钠溶于 5 mol/L KOH 溶液中,并用 5 mol/L KOH 溶液稀释至 250 mL。

B.1.2.7 100 g/L 乙酸锌溶液

称取 10.0 g 乙酸锌用水溶解并定容至 100 mL。

B.1.2.8 10% 硫酸溶液

量取 12 mL 浓硫酸,缓缓注入适量水中,边加边搅拌,冷却至室温后用水稀释至 200 mL,摇匀。

警告——禁止将水加入浓硫酸,否则会引起爆炸,伤及人身。

B.1.2.9 3% 硫酸溶液

量取 30 mL 浓硫酸,缓缓注入适量水中,边加边搅拌,冷却至室温后用水稀释至 1 000 mL,摇匀。

警告——禁止将水加入浓硫酸,否则会引起爆炸,伤及人身。

B.1.2.10 硫酸溶液(1+8)

量取 10 mL 浓硫酸,缓缓注入 80 mL 水中,边加边搅拌。

警告——禁止将水加入浓硫酸,否则会引起爆炸,伤及人身。

B.1.2.11 5 g/L 淀粉指示液

称取 0.5 g 可溶性淀粉,加入 5 mL 水,搅匀后缓缓倾入 100 mL 沸水中,随加随搅拌,煮沸 2 min,放

冷。临用时现配。

B. 1.2.12 0.1 mol/L 碘溶液

称取 13.0 g 碘及 35.0 g 碘化钾,溶于 100 mL 水中,定容至 1 000 mL,摇匀,贮于棕色试剂瓶中。

B. 1.2.13 4% 氢氧化钠溶液

吸取 5.6 mL 澄清的氢氧化钠饱和溶液,加适量新煮沸过的冷水至 1 000 mL,摇匀。

B. 1.2.14 硫代硫酸钠标准溶液 [C(Na₂S₂O₃ · 5H₂O) = 0.100 mol/L]

B. 1.2.14.1 配制

称取 26 g 硫代硫酸钠及 0.2 g 碳酸钠,加入适量新煮沸过的冷水使之溶解,并稀释至 1 000 mL,混匀,放置一个月后过滤备用。

B. 1.2.14.2 标定

准确称取约 0.15 g 在 120℃ 干燥至恒量的基准重铬酸钾,置于 500 mL 碘量瓶中,加入 50 mL 水使之溶解。加入 2 g 碘化钾,轻轻振摇使之溶解。再加入 20 mL 硫酸溶液(B. 1.2.10),密塞,摇匀,放置暗处 10 min 后用 250 mL 水稀释。用硫代硫酸钠标准溶液(B. 1.2.14.1)滴至溶液呈浅黄绿色,再加入 3 mL 5 g/L 淀粉指示液(B. 1.2.11),继续滴定至蓝色消失而显亮绿色。反应液及稀释用水的温度不应高于 20℃。同时做试剂空白试验。

B. 1.2.14.3 计算

硫代硫酸钠标准溶液的浓度以物质的量浓度 C 计,数值以摩尔每升(mol/L)表示,按(B. 1)式计算:

$$C = \frac{m}{(V_1 - V_2) \times 0.04903} \dots\dots\dots (B. 1)$$

式中:

- m* —— 基准重铬酸钾的质量,单位为克(g);
- V*₁ —— 硫代硫酸钠标准溶液用量,单位为毫升(mL);
- V*₂ —— 试剂空白试验中硫代硫酸钠标准溶液用量,单位为毫升(mL);
- 0.04903 —— 与 1.00 mL 硫代硫酸钠标准溶液 [C(Na₂S₂O₃ · 5H₂O) = 1.000 mol/L] 相当的重铬酸钾的质量,单位为 g。

B. 1.2.15 甲醛标准溶液(1 000 mg/L)

B. 1.2.15.1 配制

量取 2.8 mL 甲醛溶液(含甲醛 36%~38%)于 1 L 容量瓶中,加 0.5 mL 3% 硫酸(B. 1.2.9)并用水稀释至刻度,摇匀。

B. 1.2.15.2 标定

吸取 20.0 mL 甲醛标准溶液(B. 1.2.15.1)于 250 mL 碘量瓶中,加入 20 mL 0.100 mol/L 碘液(B. 1.2.12),15 mL 4% 氢氧化钠溶液(B. 1.2.13),加塞,混匀放置 15 min。加 20 mL 3% 硫酸,混匀,再放置 15 min。用 0.1 mol/L 的硫代硫酸钠标准溶液(B. 1.2.14)滴定至溶液呈淡黄色时,加 1 mL 5 g/L 淀粉指示液,继续滴定至蓝色刚好褪去。同时用水代替甲醛溶液,以相同步骤做空白试验。

B. 1.2.15.3 计算

甲醛标准溶液的浓度以质量浓度 C 计,数值以毫克每升(mg/L)表示,按(B. 2)式计算:

$$C = \frac{(V_1 - V_2) \times M \times 15 \times 1000}{20.0} \dots\dots\dots (B. 2)$$

式中:

- V*₁ —— 空白消耗硫代硫酸钠溶液的体积,单位为毫升(mL);
- V*₂ —— 标定甲醛消耗的硫代硫酸钠溶液体积,单位为毫升(mL);
- M* —— 硫代硫酸钠溶液的标准浓度,单位为摩尔每升(mol/L);

15——甲醛的换算值。

B.1.3 仪器

B.1.3.1 15 mL 具塞比色管数支；

B.1.3.2 分光光度计：具 550 nm 波长，并配有 10 mm 光程的比色皿。

B.1.4 分析步骤

B.1.4.1 试样制备

取经过除气的啤酒 50 mL，置于 500 mL 烧瓶中，加入 25 mL 水，5 mL 10% 硫酸溶液 (B.1.2.8)，2 mL 100 g/L 乙酸锌溶液 (B.1.2.7) 以及数粒玻璃珠。以 6 mL/min~10 mL/min 馏速蒸馏，用 50 mL 容量瓶收集馏出液约 45 mL，待容量瓶恢复至室温后用水定容。

B.1.4.2 标准曲线绘制

将甲醛标准液 (B.1.2.15) 稀释 20 倍，分别吸取 0 mL, 0.25 mL, 0.5 mL, 0.75 mL, 1.0 mL, 1.25 mL, 1.5 mL 于 50 mL 容量瓶，用水定容至 50 mL 并转入 500 mL 蒸馏烧瓶中，用 25 mL 水分三次洗涤 50 mL 容量瓶并转入烧瓶内，向烧瓶中加入 5 mL 10% 硫酸溶液，2 mL 100 g/L 乙酸锌溶液以及数粒玻璃珠。以 6 mL/min~10 mL/min 馏速蒸馏，用 50 mL 容量瓶收集馏出液约 45 mL，待容量瓶恢复至室温后用蒸馏水定容。

取馏出液 2.5 mL 于 15 mL 比色管中，加水定容至 5 mL (相当于 0 mg/L, 0.14 mg/L, 0.28 mg/L, 0.42 mg/L, 0.56 mg/L, 0.70 mg/L, 0.84 mg/L 左右甲醛)，再加入 2.0 mL 5 mol/L 氢氧化钾—乙二胺四乙酸二钠溶液 (B.1.2.6)，1.5 mL 5 g/L AHMT 溶液 (B.1.2.2)，加塞上下颠倒 5 次混匀，于室温下放置 20 min。加入 0.5 mL 15 g/L 高碘酸钾溶液 (B.1.2.4)，振荡混匀，准确放置 5 min 使显色反应完全。用 10 mm 比色皿，以试剂空白为参比，调零，于波长 550 nm 处测量吸光度，以甲醛浓度为横坐标，吸光度为纵坐标绘制标准曲线。

B.1.4.3 试样测定

取馏出液 2.5 mL (视试样中甲醛含量而定) 于 15 mL 比色管中，加水定容至 5 mL，加入 2.0 mL 5 mol/L 氢氧化钾—乙二胺四乙酸二钠溶液，1.5 mL 5 g/L AHMT 溶液，加塞上下颠倒 5 次混匀，于室温下放置 20 min。加入 0.5 mL 15 g/L KIO_4 溶液，振荡混匀，准确放置 5 min 使显色反应完全。用 10 mm 比色皿，以零管为参比，调零，于波长 550 nm 处测定吸光度。

B.1.5 结果计算

根据试样的吸光度从标准曲线中查出甲醛含量，再乘以稀释倍数。

B.1.6 干扰因素

乙醛、丙醛、正丁醛、丙烯醛、丁烯醛、乙二醛、苯(甲)醛、甲醇、乙醇、正丙醇、正丁醇、仲丁醇、异丁醇、异戊醇、乙酸乙酯对本法无影响。

B.1.7 检出限

检出限为 0.04 mg/L。

B.1.8 加标回收率

含量 0.1 mg/L~1 mg/L 时，加标回收率为 80%~110%。

B.1.9 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 10%。

B.2 高效液相色谱法

B.2.1 范围

本方法适用于啤酒中甲醛的测定。

B.2.2 原理

Nash 试剂可与甲醛反应生成黄色化合物,啤酒样品中的甲醛与 Nash 试剂衍生后,可用高效液相色谱 UV 检测器测定,并利用外标法定量。

B.2.3 仪器

B.2.3.1 高效液相色谱仪(真空脱气器、四元泵、自动进样器、柱温箱、UV 检测器);分析柱 4.6 mm×250 mm,5 μm,Zorbax sb-c18,并带有 5 μm octyldecylsilyl(ODS)预柱。

B.2.3.2 针筒式微孔滤膜过滤器;1~5 μL 的移液枪;容量瓶 10 mL、100 mL、500 mL、1 000 mL;刻度移液管 2 mL、10 mL;具塞试管 10 mL;刻度量筒 100 mL、1 000 mL;分析天平,精度 0.1 mg;恒温水浴锅,(50±1)°C。

B.2.4 试剂

除非另有说明,在分析中仅使用确认为分析纯的试剂,实验用水应符合 GB 6682 中二级水要求。

B.2.4.1 Nash 试剂

将 15.0 g 乙酸铵、0.3 mL 乙酸、0.2 mL 乙酰丙酮溶于水,混均,定容至 100 mL,低温保存。

B.2.4.2 1 mol/L 硫酸溶液

量取 5.326 mL 浓硫酸,缓缓注入适量水中,边加边搅拌,冷却至室温后用水稀释至 100 mL,摇匀。

警告——禁止将水加入浓硫酸,否则会引起爆炸,伤及人身。

B.2.4.3 1 mol/L 氢氧化钠溶液

溶 40 g 氢氧化钠于水中,并稀释至 1 L。

B.2.4.4 甲醛标准储备液的配制和标定

吸取 36%~38% 甲醛溶液 7.0 mL,加入 0.5 mL 1 mol/L 硫酸(B.2.4.3),用水稀释至 250 mL,吸此溶液 10.0 mL 于 100 mL 容量瓶中,加水稀释定容。从中吸取 10.0 mL 置于 250 mL 碘量瓶中,加 90 mL 水;20 mL 0.1 mol/L 碘溶液(B.1.2.12)和 15 mL 1 mol/L 氢氧化钠溶液(B.2.4.3),摇匀,放置 15 min。再加入 20 mL 1 mol/L 硫酸酸化,用 0.100 mol/L 硫代硫酸钠标准溶液(B.1.2.14)滴定至淡黄色,然后加约 1 mL 5 g/L 淀粉指示剂(B.1.2.11),继续滴定至蓝色褪去即为终点。同时做试剂空白试验。

甲醛标准储备液的浓度以质量浓度 C 计,数值以毫克每升(mg/L)表示,按(B.3)式计算:

$$C = (V_1 - V_2) \times c_1 \times 15 \times 1000 \dots\dots\dots (B.3)$$

式中:

V_1 ——空白试验所消耗的硫代硫酸钠标准溶液的体积,单位为毫升(mL);

V_2 ——滴定甲醛溶液所消耗的硫代硫酸钠标准溶液的体积,单位为毫升(mL);

c_1 ——硫代硫酸钠标准溶液的浓度,单位为摩尔每升(mol/L);

15——与 1.0 mL 碘标准溶液(1.000 mol/L)相当的甲醛的质量,单位为毫克(mg)。

B.2.4.5 甲醛标准工作液的配制

用上述已标定的甲醛标准储备液(B.2.4.4),稀释成 100.0 mg/L 的浓度的标准工作液,临用时现配。

B.2.5 分析步骤

B.2.5.1 高效液相色谱参考条件

流动相的准备:配制乙腈+水(20+80),通过 0.45 μm 膜过滤备用。流速 1.2 mL/min,进样体积 20 μL,柱温 30°C。检测器波长 412 nm。

B.2.5.2 试样制备

啤酒样品经折叠滤纸过滤脱气,吸取 2 mL 脱气啤酒于 10 mL 比色管中(具塞),加入 2 mL NaSh 试剂(B.2.4.1),混匀,在 50°C 恒温水浴锅中衍生 20 min(期间用手按着盖,以免跑气),将溶液冷却至室温,经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后,进样 HPLC 分析。

B. 2.5.3 测定

将空白啤酒样品与加标啤酒样品同时于液相色谱仪上进行分析,使用增量法在工作站中建立外标回归方程。

B. 2.6 结果计算

甲醛的浓度以质量浓度 C 计,数值以毫克每升(mg/L)表示,按式(B. 4)计算:

$$C = \frac{m}{(A_1 - A_0) \times V} \times A_0 \dots\dots\dots (B. 4)$$

式中:

m ——加入的甲醛标准使用液所含的甲醛量,单位为微克(μg);

A_1 ——啤酒加标后的甲醛衍生物的色谱峰面积;

A_0 ——啤酒本底的甲醛衍生物的色谱峰面积;

V ——所取啤酒样品的体积,单位为毫升(mL)。

B. 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不得超过算术平均值的 10%。

附 录 C
(规范性附录)

啤酒中二氧化硫的测定——盐酸副玫瑰苯胺法

C.1 原理

啤酒中以气态和水合态形式存在的游离二氧化硫与以亚硫酸盐形式存在的结合态二氧化硫的总和,即为总二氧化硫。亚硫酸盐与四氯汞钠反应生成稳定的络合物,再与甲醛及盐酸副玫瑰苯胺作用生成紫红色络合物,与标准系列比较定量。

C.2 试剂

除非另有说明,在分析中仅使用确认为分析纯的试剂,实验用水应符合 GB 6682 中二级水要求。

C.2.1 稀盐酸溶液(1+1)

取 50 mL 浓盐酸,慢慢加入到 50 mL 水中。

C.2.2 0.1 mol/L 硫酸溶液

量取 1.5 mL 浓硫酸,缓缓注入适量水中,边加边搅拌,冷却至室温后用水稀释至 500 mL,摇匀。

警告——禁止将水加入浓硫酸,否则会引起爆炸,伤及人身。

C.2.3 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液

称取 100 g 氢氧化钠,溶于 100 mL 水中,摇匀,注入聚乙烯容器中。密闭放置至溶液清亮。吸取 2.5 mL 上层清液,注入 500 mL 无二氧化碳的水中混匀。

C.2.4 0.05 mol/L 碘溶液

吸取 50 mL 0.1 mol/L 碘溶液(B.1.2.12),用水稀释至 100 mL,混匀。保存于棕色具塞瓶中。

C.2.5 汞稳定剂溶液

称取 2.72 g 氯化汞及 1.17 g 氯化钠,用水溶解,并稀释至 100 mL,混匀。保存于棕色具塞瓶中。

C.2.6 0.4 g/L 盐酸副玫瑰苯胺溶液

称取 0.100 g 盐酸副玫瑰苯胺,用水溶解并转移至 250 mL 容量瓶中,加入 40 mL 稀盐酸溶液(C.2.1),旋转混合,用水稀释至刻度,混匀。用具塞的棕色瓶贮于冰箱中保存。使用前,需恢复至室温。

C.2.7 10 g/L 淀粉指示液

称取 1 g 可溶性淀粉,用少许水调成糊状,缓缓倾入 60 mL 左右沸水中,边加边搅拌,煮沸 2 min,冷却稀释至 100 mL 备用。临用时现配。

C.2.8 稀甲醛溶液

吸取 5 mL 36%~38% 甲醛溶液,用水稀释至 1 000 mL,混匀。用具塞的棕色瓶贮于冰箱中保存。

C.2.9 5 mg/mL 二氧化硫标准储备液

C.2.9.1 配制

称取 2.15 g 偏重亚硫酸钠($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$),用新煮沸的水溶解,定容至 250 mL,混匀。此溶液二氧化硫含量约为 5 mg/mL,并需每周标定。

C.2.9.2 标定

吸取 10.0 mL 二氧化硫储备液(C.2.9.1)于 250 mL 碘量瓶中,加入 100 mL 水,准确加入 20.00 mL 0.1 mol/L 碘溶液(B.1.2.12),5 mL 冰乙酸,摇匀放置暗处 2 min 后迅速以硫代硫酸钠标准溶液

(B. 1. 2. 14) 滴定至淡黄色,加 0.5 mL 10 g/L 淀粉指示液(C. 2. 7),继续滴至无色。并做试剂空白试验。

C. 2. 9. 3 计算

二氧化硫标准储备液的浓度以质量浓度 C 计,数值以毫克每升(mg/L)表示,按式(C. 1)计算:

$$C = \frac{(V_2 - V_1) \times c_1 \times 32.03}{10} \dots\dots\dots (C. 1)$$

式中

V_2 ——试剂空白消耗硫代硫酸钠标准溶液的体积,单位为毫升(mL);

V_1 ——消耗硫代硫酸钠标准溶液的体积,单位为毫升(mL);

c_1 ——硫代硫酸钠标准溶液的浓度,单位为摩尔每升(mol/L);

32.03——与每毫升硫代硫酸钠[$c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}) = 1.000 \text{ mol/L}$]标准溶液相当的二氧化硫的质量,单位为毫克(mg)。

C. 2. 10 50 $\mu\text{g/mL}$ 二氧化硫标准使用液

吸取 1 mL 二氧化硫标准储备液(C. 2. 9)于加有 20 mL 汞稳定剂溶液(C. 2. 5)的 100 mL 容量瓶中,用水稀释至刻度,混匀。临用时现制。

C. 3 仪器

C. 3. 1 分光光度计;

C. 3. 2 恒温水浴,(25 ± 1) $^\circ\text{C}$;

C. 3. 3 分析天平,感量 0.1 mg;

C. 4 分析步骤

C. 4. 1 试样制备

吸取 2 mL 汞稳定剂溶液及 5 mL 0.1 mol/L 硫酸溶液(C. 2. 2)于 100 mL 容量瓶中。用加有 1 滴正己醇消泡剂的量筒仔细量取 10 mL 冷的未脱气啤酒至容量瓶中,旋转混合,加入 1.5 mL 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液(C. 2. 3),旋转混合并保持 15 s,再加入 10 mL 0.1 mol/L 硫酸溶液,加水至刻度,混匀。吸取 25 mL 上述溶液于 50 mL 容量瓶中。

C. 4. 2 空白制备

用加有 1 滴正己醇消泡剂的量筒仔细量取 10 mL 冷的未脱气的啤酒至 100 mL 容量瓶中,加入 0.5 mL 10 g/L 淀粉指示剂溶液(C. 2. 7),然后用滴管小心滴加 0.1 mol/L 碘溶液至蓝色不褪,再加入 1 滴 0.1 mol/L 碘溶液,使碘稍微过量(碘液滴加量为 4 滴~7 滴),加水至刻度,充分混匀,当蓝色消失后,吸取 25 mL 上述溶液于 50 mL 容量瓶中。

C. 4. 3 标准曲线

C. 4. 3. 1 二氧化硫标准系列溶液配制

用加有 1 滴正己醇消泡剂的 10 mL 量筒分别量取 6 份 10 mL 冷的未脱气的啤酒至 6 个 100 mL 容量瓶中,依次加入 0 mL、0.5 mL、1.0 mL、2.0 mL、3.0 mL、5.0 mL 二氧化硫标准使用液(C. 2. 10),相应的二氧化硫含量为 0 μg 、25 μg 、50 μg 、100 μg 、150 μg 、250 μg ,用水定容,混匀。分别吸取 25 mL 上述溶液于 50 mL 容量瓶中。

C. 4. 3. 2 标准曲线绘制

在上述 6 个 25 mL 溶液中加入 5 mL 0.4 g/L 盐酸副玫瑰苯胺溶液(C. 2. 6),旋转混合,再加入 5 mL 稀甲醛溶液(C. 2. 8),用水稀释至刻度,混匀于 25 $^\circ\text{C}$ 水浴保温 30 min。取出后用 1 cm 吸收皿,以未加标样的显色液作参比,在分光光度计上于波长 550 nm 处测定吸光值,以吸光值为纵坐标,以二氧化硫含量为横坐标,绘制标准曲线。

C. 4.4 试样测定

以试样空白作参比,按 C. 4. 3. 2 操作测定试样的吸光度。

C. 4.5 结果计算

根据试样的吸光值从标准曲线中查出二氧化硫含量。

C. 5 检出限

最低检出浓度为 0.46 mg/L。

C. 6 加标回收率

含量 1 mg/L~100 mg/L 时,加标回收率为 90%~110%;含量 0.1 mg/L~1 mg/L 时,加标回收率为 80%~110%。

C. 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 5%。

附 录 D
(规范性附录)

啤酒中硝酸盐含量的测定——离子色谱法

D.1 原理

啤酒样品经脱气、适当稀释后,以氢氧化钾溶液为淋洗液,阴离子交换柱分离,电导检测器检测。以保留时间定性,外标法定量。

D.2 试剂

除非另有说明,在分析中仅使用确认为分析纯的试剂,实验用水应符合 GB 6682 中二级水要求。

D.2.1 超纯水:电阻率 $>18.2\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$ 。

D.2.2 氢氧化钾(KOH):分析纯。

D.2.3 硝酸根离子标准储备液(1 000 mg/L,水基体)。

D.2.4 硝酸根离子标准工作液

准确移取硝酸根离子(NO_3^-)标准储备液 1 mL 于 100 mL 容量瓶中,用水稀释至刻度,此溶液每 1 L 含硝酸根离子 10.0 mg。

D.3 仪器

D.3.1 离子色谱仪:配电导检测器,配有抑制器,大容量阴离子交换柱,50 μL 定量环。

D.3.2 离心机:转速 $\geq 10\,000\text{ r/min}$,配 5 mL 或 10 mL 离心管。

D.3.3 0.45 μm 微孔滤膜过滤器

D.3.4 注射器:1.0 mL 或 2.5 mL 的注射器。

D.4 分析步骤

D.4.1 试样制备

样品脱气后,10 000 r/min 离心,吸取上清液用超纯水稀释 10 倍,经 0.45 μm 微孔滤膜过滤器过滤,待测。

D.4.2 参考色谱条件

D.4.2.1 色谱柱:氢氧化物选择性,可兼容梯度洗脱的高容量阴离子交换柱,如 Dionex IonPac AS11-HC4 mm \times 250 mm(带 IonPac AS11-HC 型保护柱 4 mm \times 50 mm),或性能相当的离子色谱柱。

D.4.2.2 梯度淋洗参考程序:氢氧化钾溶液,浓度为 6 mmol/L \sim 70 mmol/L;梯度淋洗参考程序见表 1。

表 1 淋洗液浓度梯度程序

时间, min	KOH 浓度, mmol/L
0.0	0.8
16.0	0.8
29.0	16.5
35.0	20.0
39.0	35.0
47.0	35.0
47.1	0.8
59.0	0.8

D. 4. 2. 3 抑制器:连续再生膜阴离子抑制器或等效抑制装置。

D. 4. 2. 4 检测器:电导检测器,检测池温度为 30℃。

D. 4. 2. 5 进样体积:进样体积为 50 μL (可根据试样中被测离子含量调整)。

D. 4. 3 分析步骤

D. 4. 3. 1 标准曲线绘制

移取硝酸根离子标准工作液(D. 2. 4),分别稀释成浓度 0. 0 mg/L、0. 2 mg/L、0. 4 mg/L、0. 6 mg/L、0. 8 mg/L、1. 0 mg/L、1. 5 mg/L、2. 0 mg/L,从低到高浓度依次进样。以硝酸根离子的浓度为横坐标,以峰高或峰面积为纵坐标,绘制标准曲线或计算线性回归方程。

D. 4. 3. 2 试样测定

分别吸取空白和试样溶液 50 μL ,在相同工作条件下,依次注入离子色谱仪中,记录色谱图。根据保留时间定性,峰高或峰面积定量。

D. 4. 4 结果计算

试样中硝酸盐含量,可以直接在校正曲线上查得。

D. 5 回收率

含量 1 mg/L~100 mg/L 时,加标回收率为 90%~110%;含量 0. 1 mg/L~1 mg/L 时,加标回收率为 80%~110%。

D. 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得超过算术平均值的 5%。
