



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 7416.1—××××

代替 GB/T 7416—2008

## 啤酒原料质量要求 第 1 部分：啤酒大麦

Quality requirements of brewing material—Part 1: Malting barley

××××-××-×× 发布

××××-××-×× 实施

国家市场监督管理总局  
国家标准化管理委员会 发布

目 次

前言 ..... III

引言 ..... IV

1 范围 ..... 1

2 规范性引用文件 ..... 1

3 术语和定义 ..... 1

4 产品分类 ..... 2

5 技术要求 ..... 2

6 试验方法 ..... 3

7 检验规则 ..... 9

8 标志、包装、运输和贮存..... 10

附录 A（规范性） 总氮的试验方法 ..... 11

附录 B（规范性） 品种纯度的试验方法 ..... 14

附录 C（资料性） 企业自控技术指标的试验方法 ..... 19

参考文献 ..... 21

## 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。

本文件规定了食品质量相关技术要求，食品安全相关要求见有关法律法规、政策和食品安全标准等文件。

本文件是 GB/T 7416《啤酒原料质量要求》的第1部分。GB/T 7416 已经发布了以下部分：

——第1部分：啤酒大麦；

——第2部分：啤酒麦芽。

本文件代替 GB/T 7416—2008《啤酒大麦》，与 GB/T 7416—2008 相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- a) 更改了“啤酒大麦”的定义(见 3.1, 2008 年版的 3.1)；
- b) 删除了“多棱大麦”“四棱大麦”的术语定义(见 2008 年版的 3.3、3.3.1)；
- c) 增加了“夹杂物”“病斑粒”“霉变粒”“破损粒”和“品种纯度”的术语和定义(见 3.7、3.8、3.9、3.10、3.11)；
- d) 更改了产品分类(见第4章, 2008 年版的第4章)；
- e) 更改了技术要求中的“质量等级”，分为优级、合格(见 5.1、5.2, 2008 年版的 5.1、5.2)；
- f) 更改了“理化要求”，删除了其中的“蛋白质”，增加了“总氮”和“品种纯度”的要求(见表 2, 2008 年版的表 2)；
- g) 删除了卫生要求(见 2008 年版的 5.3)；
- h) 更改了“三天发芽率”“五天发芽率”的试验方法(见 6.7, 2008 年版的 6.6)；
- i) 更改了判定规则(见 7.4.2, 2008 年版的 7.4.2)。
- j) 增加了“总氮”和“品种纯度”的试验方法(见附录 A、附录 B)。

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。

本文件由中国轻工业联合会提出。

本文件由全国酿酒标准化技术委员会(SAC/TC 471)归口。

本文件起草单位：中国酒业协会、青岛啤酒股份有限公司、粤海永顺泰(广州)麦芽有限公司、中国食品发酵工业研究院有限公司、中粮麦芽(大连)有限公司、青岛市产品质量检验研究院、华润雪花啤酒(中国)有限公司、百威投资(中国)有限公司、北京燕京啤酒股份有限公司、嘉士伯企业管理咨询有限公司、江苏省农垦麦芽有限公司、中国农业科学院作物科学研究所、江南大学、欧麦(保定)麦芽有限公司、山东鲁中啤酒原料有限公司、大连工业大学、大连兴泽制麦有限公司、扬州大学、黑龙江省农垦科学院农作物开发研究所、甘肃省农业科学院经济作物与啤酒原料研究所、云南省农业科学院生物技术与种质资源研究所。

本文件主要起草人：何勇、张五九、郭新光、徐楠、尹花、韩永红、王德良、佟恩杰、谭燕、刘月琴、向阳、宋玉梅、吕彦东、朱江胜、郭刚刚、陆健、卢红卫、王生绪、王越、张凤艳、丛刚、许如根、李作安、潘永东、曾亚文、元月、郝建秦、尤贺。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

——2000 年首次发布为 GB/T 7416—2000, 2008 年第一次修订；

——本次为第二次修订。

## 引 言

啤酒是以麦芽、水为主要原料,加啤酒花(包括啤酒花制品),经酵母发酵酿制而成的、含有二氧化碳并可形成泡沫的发酵酒。麦芽、啤酒花等作为生产啤酒的主要原料,对啤酒产品的食品安全、品类风格具有重要影响。GB/T 7416《啤酒原料质量要求》规定了包括啤酒大麦、啤酒麦芽、啤酒花及其制品等原料的质量要求,GB/T 7416 拟分为以下部分:

- 第 1 部分:啤酒大麦;
- 第 2 部分:啤酒麦芽;
- 第 3 部分:啤酒花及其制品。

# 啤酒原料质量要求

## 第1部分：啤酒大麦

### 1 范围

本文件规定了啤酒大麦的技术要求、检验规则和标志、包装、运输、贮存等要求，给出了产品分类，描述了相应的试验方法。

本文件适用于啤酒大麦的收购、检验、销售与采购。

### 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 603 化学试剂 试验方法中所用制剂及制品的制备

GB/T 3543.2 农作物种子检验规程 第2部分：扦样

GB/T 5491 粮食、油料检验 扦样、分样法

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

JJF 1070 定量包装商品净含量计量检验规则

### 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

#### 3.1

**啤酒大麦** **malting barley**

经过一定程序认定的、适用于制麦和啤酒酿造的大麦。

#### 3.2

**二棱大麦** **2-row barley**

麦穗呈扁形、沿穗轴有两行籽粒的大麦。

#### 3.3

**六棱大麦** **6-row barley**

麦穗呈六棱柱形、沿穗轴有六行籽粒的大麦。

#### 3.4

**千粒重** **thousand kernel weight**

1 000 颗麦粒的绝干质量。

#### 3.5

**三天发芽率** **3-day germination rate**

三天后大麦发芽粒占总麦粒的百分数。

注：主要表示大麦发芽的整齐程度。

3.6

五天发芽率 5-day germination rate

五天后大麦发芽粒占总麦粒的百分数。

注：主要表示可发芽的大麦百分数。

3.7

夹杂物 foreign material

混杂在啤酒大麦中,凡非大麦的物质。

注：非大麦的物质包括麦皮。

3.8

病斑粒 lesions kernel

粒面带有病斑,伤及胚或胚乳的颗粒。

3.9

霉变粒 mildew kernel

粒面明显生霉并伤及胚或胚乳或子叶,无食用价值的颗粒。

3.10

破损粒 broken kernel

破粒(胚芽不完整)、半粒、病斑粒(非检疫对象所规定的)、霉变粒等颗粒的统称。

3.11

品种纯度 varietal purity

供检样品中本品种的颗粒数占大麦颗粒数的百分率。

注：主要表示品种的一致性。

4 产品分类

4.1 按麦穗形态分为：

——二棱大麦；

——六棱大麦。

4.2 按播种季节分为：

——春大麦；

——冬大麦。

5 技术要求

5.1 感官要求

应符合表 1 的规定。

表 1 感官要求

项目	优级	合格
外观	淡黄色具有光泽,无病斑粒 <sup>a</sup>	淡黄色或黄色,无病斑粒 <sup>a</sup>
气味	有原大麦固有的香气,无霉味和其他异味	无霉味和其他异味
<sup>a</sup> 此处指检疫对象所规定的病斑粒。		

## 5.2 理化要求

应符合表 2 的规定。

表 2 理化要求

项目		优级	合格
夹杂物/%		$\leq 1.0$	$\leq 1.5$
破损率/%		$\leq 1.0$	$\leq 2.0$
水分/%		$\leq 12.0$	$\leq 13.0$
千粒重(以绝干计)/g	二棱大麦	$\geq 38.0$	$\geq 32.0$
	六棱大麦	$\geq 37.0$	
三天发芽率/%		$\geq 95$	$\geq 85$
五天发芽率/%		$\geq 97$	$\geq 90$
总氮(以干基计)/%	二棱大麦	1.52~2.00	1.52~2.16
	六棱大麦	1.52~2.08	
饱满粒(腹径 $\geq 2.5$ mm)/%		$\geq 85.0$	$\geq 75.0$
瘦小粒(腹径 $< 2.2$ mm)/%	二棱大麦	$\leq 4.0$	$\leq 6.0$
	六棱大麦	$\leq 4.0$	$\leq 8.0$
品种纯度/%		$\geq 95$	$\geq 90$

## 5.3 净含量

见《定量包装商品计量监督管理办法》。

## 6 试验方法

### 6.1 通则

6.1.1 本文件中所用的水,在没有注明其他要求时,应符合 GB/T 6682 的要求。

6.1.2 本文件中所用的试剂,在未注明规格时,均指分析纯(AR)。配制的“溶液”,除另有说明外,均指水溶液,实验室常见试剂和材料不再列入。

6.1.3 本文件中的仪器,为试验中所必需的仪器,一般实验室仪器不再列入。

6.1.4 本文件中同一检测项目,有两个或两个以上试验方法时,实验室可根据自身条件选用,以第一法为仲裁法。

6.1.5 本文件中除夹杂物、破损率试验外,所用的大麦样品一律采用除杂均匀后的试样。

### 6.2 感官要求

在自然光线明亮的场所观察大麦的颜色,将大麦样品在手中握 5 min,并嗅其气味;观看颜色,记录有无光泽、病斑粒(检疫对象所规定的)、霉变粒、霉味或其他异味等情况。

### 6.3 夹杂物

#### 6.3.1 试验步骤

称取样品 200 g(精确至 0.1 g),拣出所有夹杂物,在天平(感量 0.1 g)上称其质量。

#### 6.3.2 结果计算

夹杂物含量以百分数(%)表示,按式(1)计算:

$$X_1 = \frac{m}{M} \times 100 \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

$X_1$ ——样品中夹杂物的含量,%;

$m$ ——样品中夹杂物的质量,单位为克(g);

$M$ ——称取样品的质量,单位为克(g)。

结果表示到小数点后一位。

#### 6.3.3 精密度

在重复性测定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%。

### 6.4 破损率

#### 6.4.1 试验步骤

称取样品 200 g(精确至 0.1 g),拣出所有破损粒,在天平(感量 0.1 g)上称其质量。

#### 6.4.2 结果计算

破损率含量以百分数(%)表示,按式(2)计算:

$$X_2 = \frac{m}{M} \times 100 \quad \dots\dots\dots(2)$$

式中:

$X_2$ ——样品中破损粒的含量,%;

$m$ ——样品中拣出物的质量,单位为克(g);

$M$ ——称取样品的质量,单位为克(g)。

结果表示到小数点后一位。

#### 6.4.3 精密度

在重复性测定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%。

### 6.5 水分

#### 6.5.1 原理

样品于 105℃~107℃直接干燥,所失质量的百分数即为该样品的水分。

#### 6.5.2 仪器

6.5.2.1 分析天平:感量 0.1 mg。

6.5.2.2 电热干燥箱:控温精度±1℃。



6.5.2.3 称量皿:30 mm×50 mm。

6.5.2.4 盘式粉碎机。

6.5.2.5 干燥器:用变色硅胶作干燥剂。

### 6.5.3 细粉试样的制备

取一定量大麦试样,使用盘式粉碎机,盘间距为 0.2 mm,进行粉碎后,即得到细粉试样。

### 6.5.4 试验步骤

称取细粉试样(6.5.3)3 g~5 g(精确至 0.000 1 g),置于已烘至恒重的称量皿中,连同盖一并放入 106 ℃±1 ℃电热干燥箱内,取下盖子,烘 3 h。趁热盖上盖子移入干燥器内冷却,30 min 后称量,然后再放入电热干燥箱内烘 1 h,称量,直至恒重。

### 6.5.5 结果计算

试样的水分以百分数(%)表示,按式(3)计算:

$$X_3 = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m} \times 100 \quad \dots\dots\dots (3)$$

式中:

$X_3$ ——试样水分的质量分数,%;

$m_1$ ——干燥前称量皿加试样的质量,单位为克(g);

$m_2$ ——干燥后称量皿加试样的质量,单位为克(g);

$m$ ——称量皿的质量,单位为克(g)。

结果保留至小数点后一位。

### 6.5.6 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 2%。

## 6.6 千粒重

### 6.6.1 仪器

6.6.1.1 计数器。

6.6.1.2 天平:感量 0.1 g。

### 6.6.2 试验步骤

从样品中随机数出 1 000 粒完整大麦颗粒,在天平上称其质量。

### 6.6.3 结果计算

试样的千粒重按式(4)计算:

$$X_4 = m_2 \times (1 - m_1) \quad \dots\dots\dots (4)$$

式中:

$X_4$ ——试样的千粒重(以绝干计),单位为克(g);

$m_2$ ——直接称量得到的试样风干千粒重,单位为克(g);

$m_1$ ——试样水分的质量分数,%。

结果保留至小数点后一位。

#### 6.6.4 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不应超过其算术平均值的 2%。

### 6.7 三天发芽率和五天发芽率

#### 6.7.1 培养皿法

##### 6.7.1.1 仪器

6.7.1.1.1 培养皿：直径 10 cm。

6.7.1.1.2 恒温恒湿培养箱。

6.7.1.1.3 滤纸：中速滤纸。

##### 6.7.1.2 试验步骤

将两张直径 9 cm 的中速滤纸放入培养皿底部，加 4 mL 水均匀润湿滤纸。取 100 粒试样放在滤纸上，使每一麦粒的腹部很好地与滤纸接触，盖上培养皿盖，用薄膜封口以防止水蒸发，或将培养皿放入恒温恒湿培养箱中。在 18℃～20℃ 下，于暗处静置发芽。

##### 6.7.1.3 结果计算

放置 72 h 后大麦发芽粒数为三天发芽率，以百分数(%)表示，按式(5)计算：

$$X_5 = 100 - n \quad \dots\dots\dots (5)$$

放 120 h 后大麦发芽粒数为五天发芽率，以百分数(%)表示，按式(6)计算：

$$X_6 = 100 - n \quad \dots\dots\dots (6)$$

式中：

$X_5$ ——试样三天发芽率，%；

$n$  ——不发芽麦粒数；

$X_6$ ——试样五天发芽率，%。

结果保留至整数。

##### 6.7.1.4 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不应超过其算术平均值的 5%。

#### 6.7.2 漏斗法

##### 6.7.2.1 仪器

6.7.2.1.1 漏斗：直径 100 mm，在颈中有一扁平的小玻棒。

6.7.2.1.2 培养皿盖。

6.7.2.1.3 大烧杯。

6.7.2.1.4 喷雾器。

##### 6.7.2.2 试验步骤

取 1 000 粒试样放在大烧杯内，用 18℃～20℃ 水浸渍 1 h。弃水，用自来水洗 5 次，再用 18℃～20℃ 水浸渍 6 h。弃水，转移麦粒到漏斗中，盖上培养皿盖，在 18℃～20℃ 下静置过夜，次日将麦粒倒出，混匀，用喷雾器喷水，使麦粒潮湿，再装回漏斗中。此操作于上下午各进行一次(两次操作间隔时间

为 10 h~12 h)。

### 6.7.2.3 结果计算

浸渍开始后 72 h 大麦发芽粒数为三天发芽率,以百分数(%)表示,按式(7)计算:

$$X_7 = \frac{1\,000 - n}{10} \dots\dots\dots (7)$$

浸渍开始后 120 h 大麦发芽粒数为五天发芽率,以百分数(%)表示,按式(8)计算:

$$X_8 = \frac{1\,000 - n}{10} \dots\dots\dots (8)$$

式中:

$X_7$ ——试样三天发芽率,%;

$n$  ——不发芽麦粒数;

$X_8$ ——试样五天发芽率,%。

结果保留至整数。

### 6.7.2.4 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不应超过其算术平均值的 2%。

## 6.7.3 快速检测法

### 6.7.3.1 原理

用快速染色技术测定大麦样品中具有生命活力谷物的百分比。将两等份的大麦粒浸泡在 2,3,5-三苯基四唑氯化钠溶液中。大麦粒根据胚胎的染色程度进行分类。该方法适用于所有的大麦品种。

### 6.7.3.2 仪器

6.7.3.2.1 样品收集器。

6.7.3.2.2 谷粒纵向切断器。

6.7.3.2.3 试管。

6.7.3.2.4 真空泵。

6.7.3.2.5 放大镜:6×。

### 6.7.3.3 溶液

2,3,5-三苯基四唑氯化钠溶液:10 g/L。在暗处用水溶解(不加热),装入棕色瓶中,避光保存。

### 6.7.3.4 试验步骤

用样品收集器准确取 100 粒完整麦粒。将麦粒沿纵向切开平分为两个半粒堆,随机丢弃其中一堆,保留 100 个半粒麦粒放入试管中。随后,加入 2,3,5-三苯基四唑氯化钠溶液(6.7.3.3),将麦粒完全浸没,密封试管并用真空泵将压力降低至 200 mm 汞柱(1 mm 汞柱=133.3 Pa)以下,保持 3 min~4 min 后恢复气压,使溶液充分渗透。将试管置于 40℃ 水浴中 30 min,后倒出液体并沥干谷粒。将麦粒均匀铺在湿滤纸上,用放大镜检查,并按染色情况分类:

- a) 完整且完全着色的麦粒,在麦芽生产中能完好发芽(Y);
- b) 有破损但完全着色的麦粒,在麦芽生产中仍能完好发芽(Z);
- c) 有着色但着色不完全的麦粒,通常在麦芽生产中不能发芽(K);
- d) 未着色的麦粒,在麦芽生产中不能发芽(N)。

6.7.3.5 结果计算

发芽率以百分数(%)表示,按式(9)计算:

$$X_9 = Y + Z \quad \dots\dots\dots(9)$$

式中:

$X_9$ ——发芽率,%;

$Y$ ——完整且完全着色的麦粒数;

$Z$ ——有破损但完全着色的麦粒数。

结果保留至整数。

6.7.3.6 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5%。

6.8 总氮

按附录 A 的方法进行。

6.9 饱满粒、瘦小粒

6.9.1 原理

大麦样品在一个具有不同孔径的三层筛板的振动中,按谷粒大小加以筛分。

6.9.2 仪器

6.9.1.1 天平:感量 0.1 g。

6.9.1.2 选粒机:由电动机通过曲轴带动,装有 3 层筛板,上下间距为 12 mm~25 mm,并有盖子和底盘。全机总高度 80 mm~100 mm。选粒机应符合以下要求:

- a) 筛板材料:由厚度为 1.3 mm±0.1 mm 的硬黄铜制成,上有条状孔,加工公差为 0.03 mm;
- b) 筛板尺寸:长为 43 cm,宽为 15 cm;
- c) 筛孔尺寸:上面为长度 25 mm,下面为长度 22 mm。宽度,筛 I 为 2.8 mm,筛 II 为 2.5 mm,筛 III 为 2.2 mm;
- d) 筛孔数目:筛 I 为 28×13,第 II 为 30×13,筛 III 为 32×13;
- e) 振荡速度:300 r/min~320 r/min;
- f) 平台移动的总长度:18 mm~22 mm。

筛面应在两个方向严格保持水平,孔径应经常用双脚规核对。

6.9.3 试验步骤

称取试样 100.0 g(精确至 0.1 g),放入选粒机上层,加盖,开启电动机,准确振荡 5 min。分别称量 2.5 mm 及以上和 2.2 mm 以下的麦粒的质量(精确至 0.1 g)。

6.9.4 结果计算

饱满粒、瘦小粒以百分数(%)表示,分别按式(10)、式(11)计算:

$$X_{10} = \frac{m_1}{M} \times 100 \quad \dots\dots\dots(10)$$

$$X_{11} = \frac{m_2}{M} \times 100 \quad \dots\dots\dots(11)$$

式中：  
 $X_{10}$ ——样品中饱满粒的含量，%；  
 $m_1$ ——样品中腹径 $\geq 2.5$  mm 的麦粒的质量，单位为克(g)；  
 $M$ ——称取试样的质量，单位为克(g)；  
 $X_{11}$ ——样品中瘦小粒的含量，%；  
 $m_2$ ——样品中腹径 $< 2.2$  mm 的麦粒的质量，单位为克(g)。  
结果表示到小数点后一位。

6.9.5 精密度

在重复性测定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%。

6.10 品种纯度

按附录 B 的方法进行。

6.11 净含量

按 JJF 1070 的规定执行。

6.12 其他

企业对大麦中霉菌数和水敏感性有特殊要求时，可参考附录 C 进行自控试验。

7 检验规则

7.1 组批

同一产地、同一品种、同一收获期、同等级、同货位、同车船(舱)的产品为一批。

7.2 抽样

7.2.1 非散装大麦按表 3 抽取样本；散装大麦按 GB/T 5491 抽样，每次抽取的样品数不应小于 5 kg。

表 3 抽样表

批量/袋	抽取样本数/袋	接收数(Ac)	拒收数(Re)
26~150	5	1	2
151~500	8	1	2
501~3 200	13	2	3
3 201~35 000	20	3	4
注：“样本”指产品的最大包装。			

7.2.2 按表 3 抽取样本后，再从每个样本中抽取 500 g 样品，将所有抽取的样品混匀，用对角四分法或分样器分为两份，一份封存备查，另一份做感官和理化分析。

7.3 交收检验

7.3.1 交收时由相应质检部门负责按本文件的规定逐批进行检验。

7.3.2 交收检验项目包括本文件要求的全部项目。

#### 7.4 判定规则

7.4.1 按表 3 抽取样本,先进行包装和净含量检查。若检验结果不符合要求时,则直接判该批产品不符合本文件要求。

7.4.2 水分、总氮和五天发芽率为质量等级的主要指标,当其他指标都在同一级别,而此三项主要质量指标有一项低于这一级别时,以该项主要质量指标所在级别判定大麦等级。

7.4.3 所有其他指标都在同一级别,只有一项指标(除水分、总氮和五天发芽率外)低于该级别时,不作降级处理。但该项指标低于下一级别时,则降至下一级别。

7.4.4 所有其他指标都在同一级别,但有两项及以上指标(除水分、总氮和五天发芽率外)低于该级别时,降至下一级别。

### 8 标志、包装、运输和贮存

#### 8.1 标志

8.1.1 啤酒大麦运到粮库或规定地点,应标明产地、品种名称、收获时间、收购日期、类别、等级。

8.1.2 销售的产品应具有质量合格证或同类证明文件,并标明供应商名称、地址、产品名称及品种、批号、净重、执行标准编号。

8.1.3 储运图示的标志应符合 GB/T 191 的有关规定。

#### 8.2 包装

8.2.1 不同品种、不同产地啤酒大麦不应混杂入库。

8.2.2 啤酒大麦可散装,放入筒仓或粮垛;也可用麻袋或编织袋包装入库。

#### 8.3 运输

车厢或其他运输工具应保持清洁、干燥,无外来气味和污染物。

#### 8.4 贮存

8.4.1 保管时应做到先进先出。

8.4.2 仓库应保持清洁、干燥、通风。应定期进行检查。应防潮湿、霉变、鼠虫害等。

8.4.3 每批大麦应标明产地、品种、数量、等级、收购日期。

附 录 A  
(规范性)  
总氮的试验方法

## A.1 凯氏定氮法

### A.1.1 原理

在催化剂作用下,用硫酸分解样品,使有机化合物中的氮转变成氨,以硼酸溶液吸收蒸馏出的氨,用酸碱滴定法测定氮含量。

### A.1.2 仪器

A.1.2.1 凯氏定氮仪:自行组装的仪器或成套仪器。

A.1.2.2 分析天平:感量 0.1 mg。

A.1.2.3 酸式滴定管:50 mL。

A.1.2.4 盘式粉碎机。

### A.1.3 试剂和溶液

A.1.3.1 无氨的水:按 GB/T 603 配制。

A.1.3.2 浓硫酸:95 %~98 %。

A.1.3.3 氢氧化钠溶液(400 g/L):称取 400 g 氢氧化钠溶于 1L 无氨的水(A.1.3.1)中,摇匀,静置。吸取上层清液于带橡皮塞的瓶中。

A.1.3.4 硼酸溶液(20 g/L):称取 20 g 硼酸,用水溶解,并定容至 1 L,混匀。

A.1.3.5 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。

A.1.3.6 混合催化剂:将硫酸钾( $\text{K}_2\text{SO}_4$ )、硫酸铜( $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{ H}_2\text{O}$ )按 10 : 1 的比例混合,并研细。

A.1.3.7 溴甲酚绿指示液(1 g/L):按 GB/T 603 配制。

A.1.3.8 甲基红指示液(1 g/L):按 GB/T 603 配制。

A.1.3.9 溴甲酚绿混合指示液:按 10 : 4 的比例分别吸取溴甲酚绿指示液(A.1.3.7)和甲基红指示液(A.1.3.8),并混匀。

### A.1.4 试验步骤

#### A.1.4.1 方法提要

凯氏定氮仪按使用说明书进行试样测定。自行组装的仪器按下述方法进行操作。

#### A.1.4.2 细粉试样的制备

取一定量大麦样品,使用盘式粉碎机,盘间距为 0.2 mm,进行粉碎后,即得到细粉试样。

#### A.1.4.3 试样消化

称取细粉试样 1.5 g(精确至 0.000 2 g)到已干燥的凯氏烧瓶中,加入混合催化剂(A.1.3.6)10 g,缓缓加入浓硫酸(A.1.3.2)20 mL,摇匀,在通风橱内文火加热至泡沫停止发生后,大火使之沸腾。待溶液清亮后,再继续加热 20 min~30 min。

#### A.1.4.4 试样蒸馏

待消化液冷却后,缓缓加入无氨的水(A.1.3.1)250 mL,摇匀,冷却,并加入几块小瓷片。连接凯氏烧瓶与蒸馏装置,将馏出管的尖端插入已盛有 25 mL 硼酸溶液(A.1.3.4)和 0.5 mL 溴甲酚绿混合指示液(A.1.3.9)的锥形瓶中,馏出管尖端应在液面之下。通过加液漏斗加入 70 mL 氢氧化钠溶液(A.1.3.3)于凯氏烧瓶中,轻轻摇匀,使内容物混匀,然后加热蒸馏。待馏出液达到 180 mL 时,停止蒸馏。

#### A.1.4.5 试样滴定

用盐酸标准滴定溶液(A.1.3.5)滴定馏出液,颜色由绿色消失转变为灰色即为终点。记录消耗盐酸标准滴定溶液的毫升数。

按上述操作同时进行空白试验。

#### A.1.5 结果计算

试样的总氮含量以百分数(%)表示,按式(A.1)计算:

$$X_{A1} = \frac{(V_2 - V_1) \times c \times 14}{m(1 - X_1) \times 1\,000} \times 100 \quad \dots\dots\dots (A.1)$$

式中:

$X_{A1}$ ——样品中总氮的含量(以干基计),%;

$V_2$ ——试样滴定时消耗盐酸标准滴定溶液的体积,单位为毫升(mL);

$V_1$ ——空白滴定时消耗盐酸标准滴定溶液的体积,单位为毫升(mL);

$c$ ——盐酸标准滴定溶液的浓度,单位为摩尔每升(mol/L);

14——氮的摩尔质量的数值,单位为克每摩尔(g/mol);

$m$ ——称取试样的质量,单位为克(g);

$X_1$ ——试样水分的质量分数,%。

结果保留至小数点后两位。

#### A.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不应超过其算术平均值的 4%。

### A.2 燃烧法

#### A.2.1 原理

通过高温燃烧将样品中的氮转化为氮气,使用特定吸收剂去除干扰成分后,用热导检测器定量检测氮气浓度,最终计算出样品中的氮含量。

#### A.2.2 仪器

##### A.2.2.1 盘式粉碎机。

A.2.2.2 燃烧氮分析仪:依靠杜马斯原理,并装有热导率检测器。仪器应有能力将氮氧化物化合物还原为氮。

A.2.2.3 分析天平:感量 0.1 mg。

#### A.2.3 试剂和材料

A.2.3.1 氧气(纯度 99.995%)。



- A.2.3.2 氮:无氮(纯度 99%)。
- A.2.3.3 二氧化碳(纯度 99.995%)。
- A.2.3.4 天冬氨酸或乙二胺四乙酸:分析纯。

A.2.4 样品制备

根据 A.1.4.2 的要求制备样品。

A.2.5 试验步骤

A.2.5.1 校准

根据设备的要求设置燃烧氮分析仪,调整操作条件(如气体流量、炉温、燃烧时间等),平衡仪器。衡量适当的氮标准物质/标准样品(天冬氨酸或乙二胺四乙酸)校准仪器。运行适量试剂空白(空胶囊),确定仪器基线。

A.2.5.2 测定

- A.2.5.2.1 称取 20 g 左右细粉试样,根据设备的操作要求进行测定。
- A.2.5.2.2 对仪器使用的样本量连续进行 10 次测定,检查仪器的性能,变异系数应小于 2 %。变异系数(CV)按式(A.2)计算。

$$CV = \frac{SD}{AVG(N)} \times 100 \qquad \dots\dots\dots (A.2)$$

式中:  
CV       —— 变异系数,%;  
SD       —— 标准偏差;  
AVG(N) —— 含氮量均值。

A.2.6 结果计算

总氮的计算通常由数据采集和处理系统自动完成。结果保留至小数点后两位。

A.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应超过其算术平均值的 10%。

**附 录 B**  
(规范性)  
品种纯度的试验方法

**B.1 凝胶电泳法**

**B.1.1 原理**

通过聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)鉴定大麦品种,用板式凝胶电泳分离大麦的醇溶蛋白部分。

**B.1.2 仪器**

**B.1.2.1** 垂直板式凝胶电泳仪。

**B.1.2.2** 分析天平:感量 0.1 mg。

**B.1.2.3** 离心机:转速 5 000 r/min,离心管  $\phi 9\text{ mm}\times 35\text{ mm}$ 。

**B.1.3 试剂和溶液**

**B.1.3.1** 萃取液:称取 18 g 尿素和 0.01 g 甲基绿,用水溶解,然后加入 2-巯基乙醇 1 mL 和 2-氯乙醇 20 mL,再用水定容至 100 mL,混匀。

**B.1.3.2** 硫酸亚铁溶液(5 g/L):按 GB/T 603 配制。

**B.1.3.3** 凝胶贮备液:称取 115.3 g 丙烯酰胺、4.6 g 亚甲叉双丙烯酰胺、69.2 g 尿素、1.2 g 甘氨酸、1.2 g 抗坏血酸,用水溶解,加入 3 mL 新配制的硫酸亚铁溶液、23 mL 冰乙酸,混匀,并定容至 1 L,混匀。抽滤后装入棕色瓶中,于 4 ℃ 下贮存,当月使用。

**B.1.3.4** 过氧化氢溶液:吸取 30 %过氧化氢 2 mL,用水定容至 100 mL,混匀。

**B.1.3.5** 电极缓冲溶液:称取 2 g 甘氨酸,用水溶解,加入 20 mL 冰乙酸,再加水至 5 L。

**B.1.3.6** 三氯乙酸溶液(10 g/L):称取 10 g 三氯乙酸,用水溶解,并定容至 100 mL,混匀。

**B.1.3.7** 考马斯亮蓝溶液(10 g/L):称取 1 g 考马斯亮蓝,用 95 %乙醇溶解,并定容至 100 mL,混匀。

**B.1.3.8** 染色溶液:吸取 20 mL 三氯乙酸溶液(B.1.3.6),加入 1 mL 考马斯亮蓝溶液(B.1.3.7),混合备用。

**B.1.4 试验步骤**

**B.1.4.1** 样品数:取 100 粒大麦用于本方法。

**B.1.4.2** 萃取大麦醇溶蛋白:单独碾碎每粒大麦并放入离心管中,吸取 0.4 mL 萃取液(B.1.3.1)混合,浸泡最少 16 h,使用前将离心管置于离心机中,在转速 500 0 r/min 下,离心 30 min。

**B.1.4.3** 凝胶的形成:于 100 mL 凝胶贮备液(B.1.3.3)中加入 0.15 mL 过氧化氢溶液(B.1.3.4),混匀。将已充分混匀的溶液灌入灌胶模具中(应保证凝胶厚度 1.5 mm,长度 10 cm~15 cm),在几分钟内聚合即会发生。用一把梳子在凝胶内开槽(梳子应在刚刚灌胶时放入)。

**B.1.4.4** 凝胶展层:撤掉梳子,吸取适量的萃取液(B.1.3.1)10  $\mu\text{L}$ ~20  $\mu\text{L}$  入凝胶顶部的槽内(若条带分离不清,则取量可减少),将每一槽装上样品,把凝胶玻板垂直地放入电极缓冲溶液(B.1.3.5)中,使槽在板的上侧,让自来水循环流过电冰仪的冷却装置,使溶液冷却并保持在 10 ℃~20 ℃。在 200 V 下凝胶展层 20 min,然后在 500 V 下继续展层,时间为色带(甲基绿)通过凝胶所需要时间的两倍。

**B.1.4.5** 凝胶展层后,将凝胶从玻璃板上取下,立即在染色溶液(B.1.3.8)中染色,凝胶可持续染色一夜。

**B.1.4.6 照相:**凝胶染色后在蒸馏水中浸泡 1 h 脱色,然后取出放在灯箱上照相,胶板与镜头距离约 400 mm。

### B.1.5 结果分析与计算

与用纯品种所得结果进行比较后,对大麦样品的品种做定性的阐明。依据定性结果,计算其所占的百分数。

## B.2 单核苷酸多态性(SNP)标记法

### B.2.1 原理

不同啤酒大麦品种的基因组间存在核苷酸序列差异,通过荧光标记的竞争性等位基因特异性聚合酶链式反应技术检测啤酒大麦样品在单核苷酸多态性位点上的不同等位基因以及不同等位基因之间的比例,可对啤酒大麦样品进行纯度的检测。

### B.2.2 仪器

**B.2.2.1** 实时荧光定量聚合酶链式反应仪(实时荧光定量 PCR 仪)。

**B.2.2.2** 离心机:转速 5 000 r/min。

**B.2.2.3** 核酸浓度测定仪。

**B.2.2.4** 酸度计。

**B.2.2.5** 磁力搅拌器。

**B.2.2.6** 恒温水浴锅。

**B.2.2.7** 高压灭菌锅。

**B.2.2.8** 分析天平:感量 0.1 mg。

**B.2.2.9** 微量移液器:10  $\mu$ L、100  $\mu$ L、200  $\mu$ L、1 000  $\mu$ L。

### B.2.3 试剂和材料

**B.2.3.1** 2 mol/L 三羟甲基氨基甲烷盐酸盐(Tris-HCl)溶液(pH 8.0):称取三羟甲基氨基甲烷 242.8 g,溶于 850 mL 水中,加入浓盐酸调节 pH 至 8.0,定容至 1 000 mL,混匀。高压灭菌备用。

**B.2.3.2** 0.25 mol/L 乙二胺四乙酸(EDTA)溶液(pH 8.0):称取 84.06 g 乙二胺四乙酸二钠二水合物,溶于 900 mL 水中,加固体 NaOH(约 20 g)调节 pH 至 8.0,加水定容至 1000 mL,混匀。高压灭菌备用。

**B.2.3.3** 10 %十二烷基硫酸钠(SDS)溶液:称取 100 g 十二烷基硫酸钠,加水定容至 1 000 mL,混匀。

**B.2.3.4** 溶液 I:取 2 mol/L 三羟甲基氨基甲烷盐酸盐溶液(B.2.3.1)、0.25 mol/L 乙二胺四乙酸溶液(B.2.3.2)、10 %十二烷基硫酸钠溶液(B.2.3.3)各 100 mL,加水 900 mL,调节 pH 至 8.0,定容至 1 000 mL,混匀。使用时按 2 % (质量分数)加入聚乙烯吡咯烷酮 K30(PVPK30)。

**B.2.3.5** 溶液 II:取 500 g 醋酸铵固体,加入 860 mL 水,抽滤后放置 4  $^{\circ}$ C 冰箱备用。

**B.2.3.6** 2 $\times$ 竞争性等位基因特异聚合酶链式反应荧光标记探针及缓冲液预混物(KASP Master Mix):包括水生栖热菌脱氧核苷酸(*Taq* DNA)聚合酶、通用荧光引物、脱氧核糖核苷三磷酸(dNTP)、镁离子、6-羧基-x-罗丹明(ROX)内参荧光染料。

**B.2.3.7** 竞争性等位基因特异聚合酶链式反应引物预混物(KASP Primer mix)。

**B.2.3.8** 96 孔聚合酶链式反应板。

**B.2.3.9** 无菌离心管:1.5 mL、2 mL。

## B.2.4 试验步骤

### B.2.4.1 样品准备

样品的分样与保存,应符合 GB/T 3543.2 的规定。

### B.2.4.2 样品脱氧核苷酸(DNA)提取

随机抽取 100 颗样品,加入液氮,每粒单独研磨,分别取 50 mg 装入 2 mL 离心管中,加入 500  $\mu\text{L}$  溶液 I (B.2.3.4),充分混匀后 65  $^{\circ}\text{C}$  恒温水浴 30 min;加入 300  $\mu\text{L}$  溶液 II (B.2.3.5),充分混匀后,3 600 r/min 离心 20 min;取 300  $\mu\text{L}$  上清液移入新的 2 mL 离心管中,加入 0.6 倍体积预冷的异丙醇,充分混匀后,−20  $^{\circ}\text{C}$  静置 10 min;4 000 r/min 离心 15 min,弃上清液;加入 300  $\mu\text{L}$  70% (体积分数)乙醇,充分混匀后,4 000 r/min 离心 15 min;再次用 70% 乙醇重复洗涤一次;弃上清液,室温放置晾干,充分干燥后,加 200  $\mu\text{L}$  双蒸水充分溶解,使用核酸浓度测定仪检测浓度后,放置 4  $^{\circ}\text{C}$  冰箱保存备用。

注:也能用等效脱氧核苷酸提取试剂盒提取样品。

### B.2.4.3 聚合酶链式反应(PCR)扩增

#### B.2.4.3.1 引物

用于鉴定的引物序列见表 B.1。

表 B.1 引物序列

标记	序列(5'→3')
D01	GGAGGTGGTGCAGTACTGCT[A/C]CGCTGTGGACATGGATCAG
D02	GAGACAGACATCATATACAT[A/G]TCTTCTTTTGGCTCATTTG
D03	TCCTTGCTCAGCCGCCCTT[A/G]TCGTTGGTGATGGTGATCT
D04	TTGGTACTCAGTAGTGTGTT[A/G]TCGTTCCGCCCTGTGTCT
D05	AGCACCACCGTCAAGGACGA[A/G]GAGGGCATGCCGGCCTTCG
D06	CAGGCACTACAATCGGTAAG[A/C]GGTATGCAAGGACAGACGA
D07	TGGGAAGTGTGGGGCACACC[A/G]CGTGTCCCGTGGAATCAT
D08	TATGGTTATGCGAGCTCCCT[C/G]GGTAAAAGGGCTTCCATGG
D09	ACCATCCCACGGCCTTCGAC[A/G]CTAAGCTTTGAAGCCTGAA
D10	CCTCCTGATAGCTGTATGCC[A/G]TGCTCTCCACAATCAGTGT
D11	GGTAGTCAAAAGATTCCACA[C/G]AGCTCCAAGTCCCGCTCTC
D12	GATATAAGCTCCTTGAAGT[A/G]CCGTCATATGCGTTTGACG
D13	TTTGTGCATCCMAGACAGG[A/C]AAAGCACACCACAAGGACA
D14	TCGGCGCCAAATTTGGACAT[A/T]GTCGTGCAAAGATCCCCTGA
D15	ATACCAGTGGATTTGAAAAG[C/G]CTGACACAGGACCTGAACC
D16	GCTTTACTCTGGTCAGCAGC[A/G]ATTTTCATCTGGAAACAAC
D17	CCGATGGAGCTGGTCCCTGT[A/G]ATCTGTGTGGCCTTCCCCT

表 B.1 引物序列 (续)

标记	序列(5'→3')
D18	TCCAGCATTAAACGTTCTGCG[A/G]CCACTTACGAACATGCTCA
D19	TTCCAAGGGGTGAACTGTTG[A/C]TGTTCTTCTCTGTCCTTGC
D20	TCCAGCCACCGCCCCACCTT[C/G]GTGATCTCCTAGCGCGCGC
D21	CATGACGATGAAGATTCCCC[A/G]AAATTCATTTCGGGGTTTC
D22	TGCTGTGGGTCTTGAACCGT[C/G]GTCGCCACGGGAAAAGAGA
D23	GGAATCAGCAAAAAATCCG[A/G]GAAAGAGGCTGATTTCTTA
D24	GTTTGGACGACTCGGCGACG[A/G]GAGAAGCCGAGGAGAGGAA
D25	AGATGTAAACCTGGCAAGGG[A/G]AGAGGGAACCTGCGATGTC
D26	GGCAAAGCAGATCAAGATGT[C/G]GAGAACGAAGAGCAGAACG
D27	AAATAACAACATATCAGGGY[A/G]GGCTTAGAAACCTGCTCG
D28	ACAACCTGATTTGATTGATG[A/G]ATCACACGCCTTGCAATTT
D29	GTGAAGAAGAAGATCTAATC[A/G]AAGAGGGAGAAGCCAAGGT
D30	CAATTTGCTTTTGCTTCACC[A/G]GAGTTTGTGTAGATGCGAA

B.2.4.3.2 实时荧光定量聚合酶链式反应(PCR)体系

反应在 10 μL 的反应体系中进行,包括 5 μL 2×竞争性等位基因特异聚合酶链式反应荧光标记探针及缓冲液预混物(B.2.3.6)、0.14 μL 竞争性等位基因特异聚合酶链式反应引物预混物(其中引物序列参考表 B.1)(B.2.3.7)、50 ng 模板 DNA。

B.2.4.3.3 实时荧光定量聚合酶链式反应(PCR)条件

条件为 94 ℃ 预变性 15 min;94 ℃ 变性 20 s,61 ℃ 退火和延伸 60 s,10 个循环,每个循环降低 0.6 ℃;94 ℃ 变性 20 s,55 ℃ 退火和延伸 60 s,26 个循环。

B.2.4.3.4 质控设置

每个聚合酶链式反应(PCR) 反应均设置两个平行试验,并设置空白对照、阳性对照和阴性对照,空白对照的 PCR 反应体系中使用无菌双蒸水代替 DNA 模板。

B.2.4.4 数据采集和结果分析

B.2.4.4.1 数据采集

采用实时荧光定量聚合酶链式反应仪提供的数据分析软件,对每一标记产生的单核苷酸多态性荧光信号和基因型分型值进行分析。按分型明确、无样品阴性对照(NTC)无特异性扩增的原则,保留或删除该位点的数据。纯和位点的基因型数据记录为 X/X 和 Y/Y,其中 X、Y 为同一位点上两个不同的等位变异;杂合位点的基因型数据记录为 X/Y;缺失位点等位变异数据记录为—/—。

#### B.2.4.4.2 品种鉴定结果分析

根据送检样品在单核苷酸多态性位点基因型的差异进行品种鉴定,具体判定标准如下:

- a) 差异位点数 $\geq 4$ ,判定为不同品种;
- b) 差异位点数在 1~3(包含 1 和 3),判定为近似品种;
- c) 差异位点数为 0,判定为极为相似或相同品种;
- d) 当供检样品中某个体在 2 个或 2 个以上标记位点与本品种标准基因型存在差异时,判定该个体为异型个体。

品种纯度以百分数(%)表示,按式(B.1)计算:

$$X_{B1} = 100 - n \quad \dots\dots\dots (B.1)$$

式中:

$X_{B1}$ ——品种纯度,%;

$n$  ——异型个体总数,单位为个。

## 附录 C

(资料性)

## 企业自控技术指标的试验方法

## C.1 大麦中霉菌数的测定

## C.1.1 原理

将大麦表层的微生物冲洗到无菌水中,接种到孟加拉红培养基上培养并计数菌落,评估大麦中霉菌数。

## C.1.2 仪器

C.1.2.1 摇床:转速 180 r/min~200 r/min。

C.1.2.2 三角瓶:300 mL。

C.1.2.3 培养皿:直径 10 cm。

C.1.2.4 移液管:0.2 mL。

## C.1.3 培养基

孟加拉红培养基(31.6 g/L):称取 31.6 g 孟加拉红培养基,加入 1 000 mL 蒸馏水溶化,分装,于 121 ℃ 20 min 高压灭菌备用。

## C.1.4 试验步骤

C.1.4.1 称取麦粒试样 10 g(精确至 0.02 g)倒入盛有 90 mL 无菌水的三角瓶中,塞紧棉塞,置于摇床上,在 30 ℃,转速 180 r/min~200 r/min 下,振荡 30 min。

C.1.4.2 将孟加拉红培养基融化,在无菌条件下倒平皿,冷却为固体后备用。

C.1.4.3 在无菌条件下,用已灭菌的移液管吸取按 C.1.4.1 制备的试液 0.2 mL 涂于平皿上(每个试样平行做 3 个平皿),将平皿倒置,于 25 ℃ 培养 7 d。

## C.1.5 结果计算

用肉眼观察,必要时可用放大镜或低倍镜,记录菌落数。定量评估大麦的霉菌污染程度。

## C.2 水敏感性测定

## C.2.1 原理

通过比较大麦在 4 mL 和 8 mL 水量下的发芽率差值,测定其水敏感性。

## C.2.2 仪器

C.2.2.1 培养皿:直径 10 cm。

C.2.2.2 刻度吸管:分度值 0.1 mL。

## C.2.3 试验步骤

取两组培养皿,分别将两张 9 cm 的滤纸放入培养皿底部,再分别加入 4.0 mL 和 8.0 mL 水均匀润湿滤纸,各取 100 粒大麦试样放在滤纸上,使每一麦粒的腹部很好地与滤纸接触,盖上皿盖。将培养皿

放入塑料袋密闭,以防止水蒸发。在 18℃~20℃,于暗处培养。在浸渍开始后 24 h、48 h 和 72 h 各拣除一次发芽的麦粒。

C.2.4 结果计算

加 4 mL 水,72 h 大麦发芽率以百分数(%)表示,按式(C.1)计算:

$$W_1 = 100 - n \quad \dots\dots\dots (C.1)$$

加 8 mL 水,72 h 大麦发芽率以百分数(%)表示,按式(C.2)计算:

$$W_2 = 100 - n \quad \dots\dots\dots (C.2)$$

试样的水敏感性( $W_3$ )以百分数(%)表示,按式(C.3)计算:

$$W_3 = W_1 - W_2 \quad \dots\dots\dots (C.3)$$

式中:

$W_1$ ——加 4 mL 水,120 h 大麦发芽率,%;

$n$  ——不发芽麦粒的数量,单位为粒;

$W_2$ ——加 8 mL 水,120 h 大麦发芽率,%;

$W_3$ ——试样的水敏感性,%。

结果表示到整数。

C.2.5 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不应超过其算术平均值的 3%。



参 考 文 献

- [1] 定量包装商品计量监督管理办法(国家市场监督管理总局令第 70 号)
-