



中华人民共和国国家标准

GB/T 5009.39—2003
代替 GB/T 5009.39—1996

酱油卫生标准的分析方法

Method for analysis of hygienic standard of soybean sauce

2003-08-11 发布

2004-01-01 实施

中华人民共和国卫生部
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准代替 GB/T 5009.39—1996《酱油卫生标准的分析方法》。

本标准与 GB/T 5009.39—1996 相比主要修改如下：

——按照 GB/T 20001.4—2001《标准编写规则 第4部分：化学分析方法》对原标准的结构进行了修改；

——增加了氨基酸态氮的比色法作为第二法。

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准由北京市卫生防疫站、邯郸市卫生防疫站、唐山市卫生防疫站负责起草。

本标准于 1985 年首次发布，1996 年第一次修订，本次为第二次修订。

酱油卫生标准的分析方法

1 范围

本标准规定了酱油各项卫生指标的分析方法。

本标准适用于以粮食和其副产品豆饼、麸皮等为原料酿造或配制的酱油各项卫生指标的分析。

本标准中氨基酸态氮第二法检出限为 $0.070 \mu\text{g/mL}$, 线性范围 $0 \sim 10 \mu\text{g/mL}$ 。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 5009.2 食品的相对密度的测定

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 B_1 的测定

GB/T 5009.29 食品中苯甲酸、山梨酸的测定

3 感官检查

3.1 取 2 mL 试样于 25 mL 具塞比色管中,加水至刻度,振摇观察色泽、澄明度,应不浑浊,无沉淀物。

3.2 取 30 mL 试样于 50 mL 烧杯中,观察应无霉味,无霉花浮膜。

3.3 用玻璃棒搅拌烧杯中试样后,尝其味不得有酸、苦、涩等异味。

4 理化检验

4.1 相对密度

按 GB/T 5009.2 中相对密度计法操作。

4.2 氨基酸态氮

4.2.1 第一法 甲醛值法

4.2.1.1 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,以酸度计测定终点。

4.2.1.2 试剂

4.2.1.2.1 甲醛(36%):应不含有聚合物。

4.2.1.2.2 氢氧化钠标准滴定溶液 [$c(\text{NaOH}) = 0.050 \text{ mol/L}$]。

4.2.1.3 仪器

4.2.1.3.1 酸度计。

4.2.1.3.2 磁力搅拌器。

4.2.1.3.3 10 mL 微量滴定管。

4.2.1.4 分析步骤

吸取 5.0 mL 试样,置于 100 mL 容量瓶中,加水至刻度,混匀后吸取 20.0 mL,置于 200 mL 烧杯中,加 60 mL 水,开动磁力搅拌器,用氢氧化钠标准溶液 [$c(\text{NaOH}) = 0.050 \text{ mol/L}$] 滴定至酸度计指示

pH8.2,记下消耗氢氧化钠标准滴定溶液(0.05 mol/L)的毫升数,可计算总酸含量。

加入 10.0 mL 甲醛溶液,混匀。再用氢氧化钠标准滴定溶液(0.05 mol/L)继续滴定至 pH9.2,记下消耗氢氧化钠标准滴定溶液(0.05 mol/L)的毫升数。

同时取 80 mL 水,先用氢氧化钠溶液(0.05 mol/L)调节至 pH 为 8.2,再加入 10.0 mL 甲醛溶液,用氢氧化钠标准滴定溶液(0.05 mol/L)滴定至 pH9.2,同时做试剂空白试验。

4.2.1.5 结果计算

试样中氨基酸态氮的含量按式(1)进行计算。

$$X = \frac{(V_1 - V_2) \times c \times 0.014}{5 \times V_3 / 100} \times 100 \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X ——试样中氨基酸态氮的含量,单位为克每百毫升(g/100 mL);

V_1 ——测定用试样稀释液加入甲醛后消耗氢氧化钠标准滴定溶液的体积,单位为毫升(mL);

V_2 ——试剂空白试验加入甲醛后消耗氢氧化钠标准滴定溶液的体积,单位为毫升(mL);

V_3 ——试样稀释液取用量,单位为毫升(mL);

c ——氢氧化钠标准滴定溶液的浓度,单位为摩尔每升(mol/L);

0.014——与 1.00 mL 氢氧化钠标准滴定溶液 [$c(\text{NaOH}) = 1.000 \text{ mol/L}$] 相当的氮的质量,单位为克(g)。

计算结果保留两位有效数字。

4.2.1.6 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得超过算术平均值的 10%。

4.2.2 第二法 比色法

4.2.2.1 原理

在 pH 4.8 的乙酸钠-乙酸缓冲液中,氨基酸态氮与乙酰丙酮和甲醛反应生成黄色的 3,5-二乙酰-2,6-二甲基-1,4-二氢化吡啶氨基酸衍生物。在波长 400 nm 处测定吸光度,与标准系列比较定量。

4.2.2.2 试剂

4.2.2.2.1 乙酸溶液(1 mol/L):量取 5.8 mL 冰乙酸,加水稀释至 100 mL。

4.2.2.2.2 乙酸钠溶液(1 mol/L):称取 41 g 无水乙酸钠或 68 g 乙酸钠($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$),加水溶解后并稀释至 500 mL。

4.2.2.2.3 乙酸钠-乙酸缓冲液:量取 60 mL 乙酸钠溶液(1 mol/L)与 40 mL 乙酸溶液(1 mol/L)混合,该溶液为 pH4.8。

4.2.2.2.4 显色剂:15 mL 37% 甲醇与 7.8 mL 乙酰丙酮混合,加水稀释至 100 mL,剧烈振摇混匀(室温下放置稳定三日)。

4.2.2.2.5 氨氮标准储备溶液(1.0 g/L):精密称取 105℃ 干燥 2 h 的硫酸铵 0.472 0 g,加水溶解后移入 100 mL 容量瓶中,并稀释至刻度,混匀,此溶液每毫升相当于 1.0 mg $\text{NH}_3\text{-N}$ (10℃ 下冰箱内贮存稳定 1 年以上)。

4.2.2.2.6 氨氮标准使用溶液(0.1 g/L):用移液管精密称取 10 mL 氨氮标准储备液(1.0 mg/mL)于 100 mL 容量瓶内,加水稀释至刻度,混匀,此溶液每毫升相当于 100 μg $\text{NH}_3\text{-N}$ (10℃ 下冰箱内贮存稳定 1 个月)。

4.2.2.3 仪器

4.2.2.3.1 分光光度计。

4.2.2.3.2 电热恒温水浴锅(100℃ $\pm$ 0.5℃)。

4.2.2.3.3 10 mL 具塞玻璃比色管。

4.2.2.4 分析步骤

4.2.2.4.1 精密吸取 1.0 mL 试样于 50 mL 容量瓶中,加水稀释至刻度,混匀。

4.2.2.4.2 标准曲线的绘制:精密吸取氨氮标准使用溶液 0,0.05,0.1,0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 mL(相当于 $\text{NH}_3\text{-N}$ 0,5.0,10.0,20.0,40.0,60.0,80.0,100.0 μg)分别于 10 mL 比色管中。向各比色管分别加入 4 mL 乙酸钠-乙酸缓冲溶液(pH4.8)及 4 mL 显色剂,用水稀释至刻度,混匀。置于 100℃ 水浴中加热 15 min,取出,水浴冷却至室温后,移入 1 cm 比色皿内,以零管为参比,于波长 400 nm 处测量吸光度,绘制标准曲线或计算直线回归方程。

4.2.2.4.3 试样测定:精密吸取 2 mL 试样稀释溶液(约相当于氨基酸态氮 100 μg)于 10 mL 比色管中。以下按 4.2.2.4.2 自“加入 4 mL 乙酸钠-乙酸缓冲溶液(pH4.8)及 4 mL 显色剂……”起依法操作。试样吸光度与标准曲线比较定量或代入标准回归方程,计算试样含量。

4.2.2.5 结果计算

试样中氨基酸态氮的含量按式(2)进行计算。

$$X = \frac{c}{V_1 \times \frac{V_2}{50} \times 1\,000 \times 1\,000} \times 100 \quad \dots\dots\dots(2)$$

式中:

X——试样中氨基酸态氮的含量,单位为克每百毫升(g/100 mL);

c——试样测定液中氮的质量,单位为微克(μg);

V_1 ——试样体积,单位为毫升(mL);

V_2 ——测定用试样溶液体积,单位为毫升(mL)。

4.2.2.6 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 10%。

4.3 食盐(以氯化钠计)

4.3.1 原理

用硝酸银标准溶液滴定试样中的氯化钠,生成氯化银沉淀,待全部氯化银沉淀后,多滴加的硝酸银与铬酸钾指示剂生成铬酸银使溶液呈桔红色即为终点。由硝酸银标准滴定溶液消耗量计算氯化钠的含量。

4.3.2 试剂

4.3.2.1 硝酸银标准滴定溶液 [$c(\text{AgNO}_3)=0.100\text{ mol/L}$]。

4.3.2.2 铬酸钾溶液(50 g/L):称取 5 g 铬酸钾用少量水溶解后定容至 100 mL。

4.3.3 仪器

10 mL 微量滴定管。

4.3.4 分析步骤

吸取 2.0 mL 试样稀释液,于 150 mL~200 mL 锥形瓶中,加 100 mL 水及 1 mL 铬酸钾溶液(50 g/L),混匀。用硝酸银标准溶液(0.100 mol/L)滴定至初显桔红色。

量取 100 mL 水,同时做试剂空白试验。

4.3.5 结果计算

试样中食盐(以氯化钠计)的含量按式(3)进行计算。

$$X = \frac{(V_1 - V_2) \times c \times 0.058\,5}{5 \times 2/100} \times 100 \quad \dots\dots\dots(3)$$

式中:

X——试样中食盐(以氯化钠计)的含量,单位为克每百毫升(g/100 mL);

V_1 ——测定用试样稀释液消耗硝酸银标准滴定溶液的体积,单位为毫升(mL);

V_2 ——试剂空白消耗硝酸银标准滴定溶液的体积,单位为毫升(mL);

c——硝酸银标准滴定溶液的浓度,单位为摩尔每升(mol/L);

0.058 5——与 1.00 mL 硝酸银标准溶液 [$c(\text{AgNO}_3) = 1.000 \text{ mol/L}$] 相当的氯化钠的质量,单位为克(g)。

计算结果保留三位有效数字。

4.3.6 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得超过算术平均值的 10%。

4.4 总酸

4.4.1 原理

酱油中含有多种有机酸,用氢氧化钠标准溶液滴定,以酸度计测定终点,结果以乳酸表示。

4.4.2 试剂

氢氧化钠标准滴定溶液 [$c(\text{NaOH}) = 0.050 \text{ mol/L}$]。

4.4.3 仪器

同 4.2.1.3。

4.4.4 分析步骤

按 4.2.1.4 操作,量取 80 mL 水,同时做试剂空白试验。

4.4.5 结果计算

试样中总酸的含量(以乳酸计)按式(4)进行计算。

$$X = \frac{(V_1 - V_2) \times c \times 0.090}{5 \times V_3 / 100} \times 100 \dots\dots\dots(4)$$

式中:

- X —— 试样中总酸的含量(以乳酸计),单位为克每百毫升(g/100 mL);
- V_1 —— 测定用试样稀释液消耗氢氧化钠标准滴定溶液的体积,单位为毫升(mL);
- V_2 —— 试剂空白消耗氢氧化钠标准滴定溶液的体积,单位为毫升(mL);
- V_3 —— 试样稀释液取用量,单位为毫升(mL);
- c —— 氢氧化钠标准滴定溶液的浓度,单位为摩尔每升(mol/L);

0.090——与 1.00 mL 氢氧化钠标准溶液 [$c(\text{NaOH}) = 1.000 \text{ mol/L}$] 相当的乳酸的质量,单位为克(g)。

计算结果保留三位有效数字。

4.4.6 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 10%。

4.5 砷

按 GB/T 5009.11 操作。

4.6 铅

按 GB/T 5009.12 操作。

4.7 黄曲霉毒素 B₁

按 GB/T 5009.22 操作。

4.8 苯甲酸、山梨酸

按 GB/T 5009.29 操作。

4.9 铵盐(半微量定氮法)

4.9.1 原理

试样在碱性溶液中加热蒸馏,使氨游离蒸出,被硼酸溶液吸收,然后用盐酸标准溶液滴定计算含量。

4.9.2 试剂

4.9.2.1 氧化镁。

4.9.2.2 硼酸溶液(20 g/L)。

- 4.9.2.3 盐酸标准滴定溶液[$c(\text{HCl})=0.100\text{ mol/L}$]。
- 4.9.2.4 混合指示液:甲基红-乙醇溶液(2 g/L)1份与溴甲酚绿-乙醇溶液(2 g/L)5份,临用时混匀。
- 4.9.3 分析步骤

吸取 2 mL 试样,置于 500 mL 蒸馏瓶中,加约 150 mL 水及约 1 g 氧化镁,连接好蒸馏装置,并使冷凝管下端连接弯管伸入接收瓶液面下,接收瓶内盛有 10 mL 硼酸溶液(20 g/L)及 2 滴~3 滴混合指示液,加热蒸馏,由沸腾开始计算约蒸 30 min 即可,用少量水冲洗弯管,以盐酸标准溶液 (0.100 mol/L) 滴至终点。取同量水、氧化镁、硼酸溶液按同一方法做试剂空白试验。

4.9.4 结果计算

试样中铵盐的含量(以氮计)按式(5)进行计算。

$$X = \frac{(V_1 - V_2) \times c \times 0.017}{V_3} \times 100 \dots\dots\dots(5)$$

式中:

X ——试样中铵盐的含量(以氮计),单位为克每百毫升(g/100 mL);

V_1 ——测定用试样消耗盐酸标准滴定溶液的体积,单位为毫升(mL);

V_2 ——试剂空白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实际浓度,单位为摩尔每升(mol/L);

0.017——与 1.00 mL 盐酸标准溶液[$c(\text{HCl})=1.000\text{ mol/L}$]相当的铵盐(以氮计)的质量,单位为克(g);

V_3 ——试样体积,单位为毫升(mL)。

计算结果保留两位有效数字。

4.9.5 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得超过算术平均值的 10%。