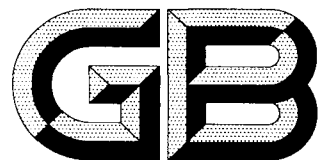


ICS 67.160.20
X 50



中华人民共和国国家标准

GB/T 12143—2008

代替 GB/T 12143.1~12143.3—1989、GB/T 12143.4~12143.5—1992、GB/T 16771—1997

饮料通用分析方法

General analytical methods for beverage

2008-12-31 发布

2009-05-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

目 次

前言	I
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 总则	1
4 饮料中可溶性固形物的测定方法(折光计法)	1
5 果蔬汁饮料中氨基态氮的测定方法(甲醛值法)	2
6 果蔬汁饮料中 L-抗坏血酸的测定方法(乙醚萃取法)	3
7 碳酸饮料中二氧化碳的测定方法(蒸馏滴定法)	6
8 浓缩果汁中乙醇的测定方法	9
9 橙、柑、桔汁及其饮料中果汁含量的测定	12
附录 A(资料性附录) 20 ℃时折光率与可溶性固形物含量换算表	14
附录 B(资料性附录) 20 ℃时可溶性固形物含量对温度的校正表	15
附录 C(规范性附录) 钾的测定	16
附录 D(规范性附录) 总磷的测定	18
附录 E(规范性附录) L-脯氨酸的测定	20
附录 F(规范性附录) 总 D-异柠檬酸的测定	22
附录 G(规范性附录) 总黄酮的测定	26

前 言

本标准代替 GB/T 12143.1—1989《软饮料中可溶性固形物的测定方法 折光计法》、GB/T 12143.2—1989《果蔬汁饮料中氨基态氮的测定方法 甲醛值法》、GB/T 12143.3—1989《果蔬汁饮料中 L-抗坏血酸的测定方法 乙醚萃取法》、GB/T 12143.4—1992《碳酸饮料中二氧化碳的测定方法》、GB/T 12143.5—1992《浓缩果汁中乙醇的测定方法》、GB/T 16771—1997《橙、柑、桔汁及其饮料中果汁含量的测定》。

本标准与 GB/T 12143.1~12143.3—1989、GB/T 12143.4~12143.5—1992、GB/T 16771—1997 相比主要变化如下：将 GB/T 12143.1~12143.3—1989、GB/T 12143.4~12143.5—1992、GB/T 16771—1997 六项标准整合为一项标准。

本标准的附录 C、附录 D、附录 E、附录 F 和附录 G 为规范性附录，附录 A 和附录 B 为资料性附录。

本标准由全国食品工业标准化技术委员会提出。

本标准由全国饮料标准化技术委员会归口。

本标准中“饮料中可溶性固形物的测定方法(折光计法)”、“果蔬汁饮料中氨基态氮的测定方法(甲醛值法)”和“碳酸饮料中二氧化碳的测定方法(蒸馏滴定法)”主要起草单位：中国食品发酵工业研究院；主要起草人：徐清渠、龚玲娣。

本标准中“果蔬汁饮料中 L-抗坏血酸的测定方法(乙醚萃取法)”和“浓缩果汁中乙醇的测定方法”主要起草单位：中国食品发酵工业研究院；主要起草人：龚玲娣、徐清渠。

本标准中“橙、柑、桔汁及其饮料中果汁含量的测定方法”负责起草单位：全国食品工业标准化技术委员会、中国食品发酵工业研究院、中国农业大学、浙江省轻工业研究所、四川省轻工业研究所、湖南省食品质量监督检验所、河北省衡水市卫生防疫站，参加起草单位：广东健力宝集团有限公司、海口罐头厂、杭州娃哈哈集团公司、浙江圣达保健品有限公司；主要起草人：徐清渠、郝煜、任一平、张永顺、徐德忠、冯敏、吴卫华、杨代明、元晓梅、陈青俊、霍秀岩。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

- GB/T 12143.1—1989；
- GB/T 12143.2—1989；
- GB/T 12143.3—1989；
- GB/T 12143.4—1992；
- GB/T 12143.5—1992；
- GB/T 16771—1997。

饮料通用分析方法

1 范围

本标准规定了饮料通用分析方法的总则和具体分析方法。

本标准适用于饮料中特定组分的分析。

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 601 化学试剂 标准滴定溶液的制备

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法(GB/T 6682—2008,ISO 3696:1987,MOD)

GB 10789 饮料通则

3 总则

3.1 本标准中所采用的名词术语、计量单位应符合国家相关标准的规定。

3.2 本标准中的“仪器”为分析中所必备的仪器,一般实验室常用仪器、设备等不逐项列出。

3.3 本标准中所用的水,在未注明其他要求时,应符合 GB/T 6682 中三级以上(含三级)水的规格。所用试剂,在未注明其他规格时,均指分析纯。

3.4 本标准中的“溶液”,除另有说明外,均指水溶液。

4 饮料中可溶性固形物的测定方法(折光计法)

4.1 方法适用范围

本方法适用于透明液体、半粘稠、含悬浮物的饮料制品。

4.2 方法原理

在 20 °C 用折光计测量待测样液的折光率,并用表 A.1 查得或从折光计上直接读出可溶性固形物含量。

4.3 仪器

实验室常用仪器以及下列仪器:

4.3.1 阿贝折光计或其他折光计:测量范围 0%~80%,精确度 $\pm 0.1\%$ 。

4.3.2 组织捣碎机。

4.4 试液的制备

4.4.1 透明液体制品

将试样充分混匀,直接测定。

4.4.2 半粘稠制品(果浆、菜浆类)

将试样充分混匀,用四层纱布挤出滤液,弃去最初几滴,收集滤液供测试用。

4.4.3 含悬浮物制品(果粒果汁类饮料)

将待测样品置于组织捣碎机中捣碎,用四层纱布挤出滤液,弃去最初几滴,收集滤液供测试用。

4.5 分析步骤

4.5.1 测定前按说明书校正折光计,以阿贝折光计为例,其他折光计按说明书操作。

- 4.5.2 分开折光计两面棱镜,用脱脂棉蘸乙醚或乙醇擦净。
- 4.5.3 用末端熔圆之玻璃棒蘸取试液 2 滴~3 滴,滴于折光计棱镜面中央(注意勿使玻璃棒触及镜面)。
- 4.5.4 迅速闭合棱镜,静置 1 min,使试液均匀无气泡,并充满视野。
- 4.5.5 对准光源,通过目镜观察接物镜。调节指示规,使视野分成明暗两部,再旋转微调螺旋,使明暗界限清晰,并使其分界线恰在接物镜的十字交叉点上。读取目镜视野中的百分数或折光率,并记录棱镜温度。
- 4.5.6 如目镜读数标尺刻度为百分数,即为可溶性固形物含量(%);如目镜读数标尺为折光率,可按附录 A 换算为可溶性固形物含量(%).

将上述百分含量按附录 B 换算为 20 °C 时可溶性固形物含量(%).

4.6 允许差

同一样品两次测定值之差,不应大于 0.5%。取两次测定的算术平均值作为结果,精确到小数点后一位。

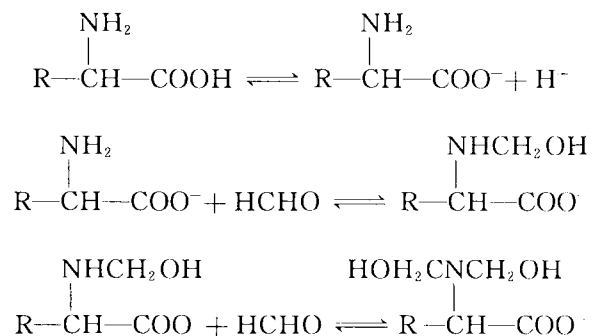
5 果蔬汁饮料中氨基态氮的测定方法(甲醛值法)

5.1 方法适用范围

本方法适用于果汁和蔬菜汁类饮料。

5.2 方法原理

氨基酸为两性电解质。在接近中性的水溶液中,全部解离为双极离子。当甲醛溶液加入后,与中性的氨基酸中的非解离型氨基反应,生成单羟甲基和二羟甲基诱导体,此反应完全定量进行。此时放出氢离子可用标准碱液滴定,根据碱液的消耗量,计算出氨基态氮的含量。其离子反应式如下:



5.3 试剂

- 5.3.1 30%过氧化氢。
- 5.3.2 中性甲醛溶液:量取 200 mL 甲醛溶液于 400 mL 烧杯中,置于电磁搅拌器上,边搅拌边用 0.05 mol/L 氢氧化钠溶液调至 pH8.1。
- 5.3.3 氢氧化钠标准溶液:0.1 mol/L,按 GB/T 601 配制与标定。
- 5.3.4 氢氧化钠标准滴定溶液:0.05 mol/L,用 0.1 mol/L 的氢氧化钠标准溶液当天稀释。
- 5.3.5 pH6.8 缓冲溶液。

5.4 仪器

- 5.4.1 酸度计:测量范围 0~14pH,精度 ±0.1pH。
- 5.4.2 电磁搅拌器。
- 5.4.3 玻璃电极和甘汞电极。

5.5 试样液的制备

5.5.1 浓缩果蔬汁

在浓缩果蔬汁中加入与在浓缩过程中失去的天然水分等量的水,使其成为果汁,并充分混匀,供测试用。

5.5.2 果蔬汁及果蔬汁饮料

将试样充分混匀,直接测定。

5.5.3 含有碳酸气的果蔬汁饮料

称取 500 g 试样,在沸水浴上加热 15 min,不断搅拌,使二氧化碳气体尽可能排除。冷却后,用水补充至原质量,充分混匀,供测试用。

5.5.4 果蔬汁固体饮料

称取约 125 g(精确至 0.001 g)试样,溶解于蒸馏水中,将其全部转移到 250 mL 容量瓶中,用蒸馏水稀释至刻度。充分混匀,供测试用。

5.6 分析步骤

5.6.1 将酸度计接通电源,预热 30 min 后,用 pH6.8 的缓冲溶液校正酸度计。

5.6.2 吸取适量试样液(氨基态氮的含量为 1 mg~5 mg)于烧杯中,加 5 滴 30% 过氧化氢。将烧杯置于电磁搅拌器上,电极插入烧杯内试样中适当位置。如需要加适量蒸馏水。

5.6.3 开动电磁搅拌器,先用 0.1 mol/L 氢氧化钠标准溶液慢慢中和试样中的有机酸。当 pH 达到 7.5 左右时,再用 0.05 mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液调至 pH8.1,并保持 1 min 不变。然后慢慢加入 10 mL~15 mL 中性甲醛溶液。1 min 后用 0.05 mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液滴定至 pH8.1。记录消耗 0.05 mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液的毫升数。

5.7 结果计算

试样中氨基态氮含量按式(1)计算:

$$X = \frac{c \times V \times K \times 14}{m} \times 100 \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X —— 每 100 g(或 100 mL)试样中氨基态氮的毫克数,单位为毫克每百克或毫克每百毫升(mg/100 g 或 mg/100 mL);

c —— 氢氧化钠标准滴定溶液的浓度,单位为摩尔每升(mol/L);

V —— 加入中性甲醛溶液后,滴定试样消耗 0.05 mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液的体积,单位为毫升(mL);

K —— 稀释倍数;

14 —— 1 mL 1 mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液相当于氮的毫克数;

m —— 试样的质量或体积,单位为克或毫升(g 或 mL)。

5.8 允许差

同一样品以两次测定结果的算术平均值作为结果,精确到小数点后第一位。

同一样品的两次测定结果之差:

氨基态氮 ≥ 10 mg/100 g(或 10 mg/100 mL),不得大于 2%;

氨基态氮 < 10 mg/100 g(或 10 mg/100 mL),不得大于 5%。

6 果蔬汁饮料中 L-抗坏血酸的测定方法(乙醚萃取法)

6.1 方法适用范围

本方法适用于果汁和蔬菜汁类饮料中 L-抗坏血酸的测定,但不适用于脱氢抗坏血酸的测定。

6.2 方法原理

本方法根据氧化还原反应原理,2,6-二氯靛酚能被 L-抗坏血酸还原为无色体,微过量的 2,6-二氯靛酚用乙醚提取,然后由醚层中的玫瑰红色来确定滴定终点。

6.3 试剂

6.3.1 丙酮。

6.3.2 乙醚。

6.3.3 硫酸铜溶液:10%,称取 10 g 硫酸铜(CuSO₄·5H₂O)溶解于水,并稀释至 100 mL。

6.3.4 草酸溶液:2%,称取 20 g 草酸(C₂H₂O₄·2H₂O)溶解于水,并稀释至 1 L。

6.3.5 碘标准滴定溶液 $\left[c\left(\frac{1}{2}I_2\right)=0.1 \text{ mol/L} \right]$:按 GB/T 601 配制与标定,贮存于棕色瓶中。

6.3.6 碘标准滴定溶液 $\left[c\left(\frac{1}{2}I_2\right)=0.01 \text{ mol/L} \right]$:将 0.1 mol/L $\left(\frac{1}{2}I_2\right)$ 碘标准滴定溶液在使用时稀释 $V_{25 \text{ mL}} \rightarrow V_{250 \text{ mL}}$,浓度以 c_1 表示。

6.3.7 0.88 mg/mL 抗坏血酸标准溶液:称取 0.22 g 抗坏血酸,用草酸溶液(6.3.4)溶解并稀释到 250 mL。

标定:吸取抗坏血酸标准溶液 20.00 mL,加 1 mL 淀粉指示液(6.3.10),用 0.01 mol/L 碘标准滴定溶液(6.3.6)滴定至呈微蓝色为止。

L-抗坏血酸的浓度按式(2)计算:

$$c_2 = \frac{c_1 \times V_1}{20} \times 88 \dots\dots\dots(2)$$

式中:

c_2 ——L-抗坏血酸溶液的浓度,单位为毫克每毫升(mg/mL);

c_1 ——碘标准滴定溶液的浓度,单位为摩尔每升(mol/L);

V_1 ——标定时所用碘标准滴定溶液的体积,单位为毫升(mL);

88——1 mL 1 mol/L $\left(\frac{1}{2}I_2\right)$ 碘标准滴定溶液相当于 L-抗坏血酸的毫克数。

6.3.8 0.088 mg/mL L-抗坏血酸标准溶液:吸取 25.00 mL 0.88 mg/mL L-抗坏血酸标准溶液(6.3.7),用草酸溶液(6.3.4)稀释, $V_{25 \text{ mL}} \rightarrow V_{250 \text{ mL}}$ 。

注:6.3.7 和 6.3.8 的 L-抗坏血酸溶液在使用时配制。

6.3.9 2,6-二氯靛酚标准滴定溶液:称取 200 mg 2,6-二氯靛酚,用少量热的重蒸馏水湿润,然后再慢慢加入热的重蒸水,搅拌溶解,过滤。冷却后,滤液用重蒸馏水稀释到 1 L,保存于冰箱中。一星期至少标定一次。

标定:吸取 10.00 mL L-抗坏血酸标准溶液(6.3.8)置于 50 mL 比色管中,按测定样品的步骤标定 2,6-二氯靛酚溶液的滴定度。

2,6-二氯靛酚溶液的滴定度按式(3)计算:

$$F = \frac{m_1}{V_2} \dots\dots\dots(3)$$

式中:

F ——2,6-二氯靛酚溶液的滴定度,即 1 mL 2,6-二氯靛酚溶液相当于 L-抗坏血酸的毫克数,单位为毫克每毫升(mg/mL);

m_1 ——10 mL L-抗坏血酸标准溶液中含抗坏血酸的量,单位为毫克(mg);

V_2 ——标定时所用 2,6-二氯靛酚溶液的体积,单位为毫升(mL)。

6.3.10 淀粉指示液:5 g/L,称取 0.5 g 可溶性淀粉,用 5 mL 冷水调匀,将所得乳浊液在搅拌下徐徐注入 100 mL 沸腾着的水中,再煮沸 2 min~3 min,使溶液透明。加 0.1 g 碘化汞作保存剂。

6.4 仪器

6.4.1 微量滴定管:10 mL。

6.4.2 比色管:50 mL 和 100mL。

6.4.3 分液漏斗:125 mL。

6.5 试液的制备

6.5.1 浓缩汁

在浓缩汁中加入与在浓缩过程中失去的天然水分等量的水,使成为原汁。然后同原汁一样取一定量样品,稀释、混匀供测。

6.5.2 原汁

称取含抗坏血酸 4 mg~10 mg 有代表性的样品(精确到 0.001 g),用 2% 草酸溶液稀释到 200 mL,混匀供测。

6.5.3 果蔬汁饮料

6.5.3.1 抗坏血酸含量在 0.05 mg/mL 以下的样品,混匀后直接取样测定。

6.5.3.2 抗坏血酸含量在 0.05 mg/mL 以上的样品,称取含抗坏血酸 4 mg~10 mg 有代表性的样品(精确到 0.001 g),用 2% 草酸溶液稀释到 200 mL,混匀供测。

6.5.4 果蔬汁碳酸饮料

先将样品旋摇到基本无气泡后,按 6.5.3 制备。

6.5.5 固体饮料

称取含抗坏血酸 4 mg~10 mg 有代表性的样品(精确到 0.001 g),用 2% 草酸溶液溶解并稀释至 200 mL,混匀供测。

6.5.6 乙醚抽提处理

对于高度乳化或样液色泽较深且易被乙醚抽提的样品,取样后置分液漏斗中。加 30 mL 乙醚,充分振摇但勿使之乳化。待分层后将下层样液放入 200 mL 容量瓶中,分液漏斗中加入 20 mL 2% 草酸溶液。适当振摇,待分层后,将下层水溶液放入上面的 200 mL 容量瓶中。如此反复操作四次,将每次的下层水溶液均放入 200 mL 容量瓶内,然后用 2% 草酸溶液稀释至刻度。

6.5.7 空白试液的制备

按试液制备中所确定的取样量称取同一样品(精确到 0.001 g),置于 250 mL 锥形瓶中,加 20 mL 10% 硫酸铜溶液,加水使总体积约为 100 mL,置于垫有石棉网的电炉上,小心加热至沸并保持微沸 15 min,然后用流动水冷却到室温。将此溶液转移到 200 mL 容量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,供空白测定。

6.6 分析步骤

6.6.1 试液的测定

取 10 支~15 支 50 mL 比色管,在每支比色管中加入 10.00 mL 按 6.5 制备好的试液,各加 2.5 mL 丙酮。放置 3 min 后,在第一支比色管中加入 1 mL 2,6-二氯靛酚溶液(6.3.9),充分混匀,精确控制 40 s 后,加入 2 mL 乙醚,充分振摇,放置几分钟,待乙醚与水溶液分层后,观察醚层有无出现玫瑰红色。当出现淡玫瑰红色时,则表明已达到测定的暂定终点。如果 2,6-二氯靛酚全部被抗坏血酸还原,乙醚层保持无色,则在第二支比色管中加入 1.5 mL 2,6-二氯靛酚溶液。如还不显红色,再逐一按 2.0 mL、2.5 mL、3.0 mL、3.5 mL、4.0 mL、4.5 mL、5.0 mL 的量加入 2,6-二氯靛酚溶液,直到乙醚层出现玫瑰红色达到暂定终点为止。这时所加的 2,6-二氯靛酚的量常常是过量的,所以需进一步试验,确定精确的终点。

如果加到 3.0 mL 2,6-二氯靛酚溶液时出现玫瑰红色,则从第六支加有试液的比色管中开始分别加入 2.6 mL、2.7 mL、2.8 mL、2.9 mL 2,6-二氯靛酚溶液,直至呈现淡玫瑰红色为止。如在 2.9 mL 刚呈红色,则 2.9 mL 为精确终点。如加到 2.9 mL 2,6-二氯靛酚溶液仍不显玫瑰红色,则上面的 3.0 mL 就是精确终点。所用 2,6-二氯靛酚溶液为 V_0 。

对于抗坏血酸含量低于 2 mg/100 g 的样品,用 100 mL 比色管直接加倍取样测定。丙酮与乙醚的加量也相应加倍,操作同上。

对于同一个被测样液需平行测定三次。

6.6.2 空白试液的测定

吸取空白试液 10.00 mL 于比色管中,同 6.6.1 加丙酮并逐一按 0.05 mL、0.10 mL、0.15 mL、0.20 mL 的量加入 2,6-二氯靛酚溶液,测得在乙醚层中刚呈现玫瑰红色所需的 2,6-二氯靛酚溶液的量 为 V_b 。

6.7 结果计算

试样中 L-抗坏血酸含量按式(4)计算:

$$X_1 = \frac{(V_a - V_b) \times F}{m_2} \times 100 \quad \dots\dots\dots(4)$$

式中:

X_1 ——100 g(或 100 mL)样品所含 L-抗坏血酸的毫克数,单位为毫克每百克或毫克每百毫升 (mg/100 g 或 mg/100 mL);

V_a ——测定试液时所需 2,6-二氯靛酚溶液的体积,单位为毫升(mL);

V_b ——测定空白试液时所需 2,6-二氯靛酚溶液的体积,单位为毫升(mL);

F ——2,6-二氯靛酚溶液的滴定度,单位为毫克每毫升(mg/mL),即每毫升此溶液相当于 L-抗坏血酸的毫克数;

m_2 ——10 mL 试液中所含样品的量,单位为克或毫升(g 或 mL)。

6.8 允许差

以误差在允许范围内的三次测定结果的算术平均值报告结果,精确到小数点后第一位。同一样品三次测定结果的相对偏差为:其抗坏血酸含量大于或等于 10 mg/100 g 的样品应小于 2%,含量小于 10 mg/100 g 的样品应小于 5%。

7 碳酸饮料中二氧化碳的测定方法(蒸馏滴定法)

7.1 方法适用范围

本方法适用于碳酸饮料中二氧化碳的测定。

7.2 方法原理

试样经强碱、强酸处理后加热蒸馏。逸出的二氧化碳用氢氧化钠吸收生成碳酸盐。用氯化钡沉淀碳酸盐,再用盐酸滴定剩余的氢氧化钠。根据盐酸的消耗量,计算样品中二氧化碳的含量。

7.3 试剂

7.3.1 不含二氧化碳的水(应当天制备):将水煮沸,煮去原体积的 1/5~1/4,迅速冷却。

7.3.2 酸性磷酸盐溶液:称取 100 g 磷酸二氢钠,溶于水中,加 25 mL 磷酸转移至 500 mL 容量瓶中,用水稀释至刻度。

7.3.3 氯化钡溶液:称取 60 g 氯化钡,溶于 1 000 mL 水中,以酚酞-百里香酚酞(7.3.5)为指示液,用氢氧化钠标准滴定溶液(7.3.7)和盐酸标准滴定溶液(7.3.8)中和至中性。

7.3.4 过氧化氢溶液(临用时制备):10%,取 10 mL 过氧化氢,加 20 mL 水。

7.3.5 酚酞-百里香酚酞指示液:将 1 g 酚酞与 0.5 g 百里香酚酞溶于 100 mL 乙醇中。

7.3.6 氢氧化钠溶液:50%,称取 500 g 氢氧化钠,溶解于 500 mL 水中,贮存于塑料瓶中,静置 15 d。

7.3.7 氢氧化钠标准滴定溶液:0.25 mol/L。

7.3.7.1 配制

取 13.5 mL 50% 氢氧化钠溶液(7.3.6)的上层清液于 1 000 mL 容量瓶中,用不含二氧化碳的水(7.3.1)稀释至刻度,摇匀。

7.3.7.2 标定

称取约 0.8 g 于 105 °C 烘至恒重的苯二甲酸氢钾,精确至 0.000 2 g,溶于 80 mL 不含二氧化碳的水中,加 3 滴(约 0.15 mL)酚酞-百里香酚酞指示液(7.3.5),用氢氧化钠溶液(7.3.7.1)滴定至溶液呈

现淡紫色。

氢氧化钠标准滴定溶液的浓度按式(5)计算:

$$c_3 = \frac{m_3}{V_3 \times 0.2042} \quad \dots\dots\dots(5)$$

式中:

- c_3 ——氢氧化钠标准滴定溶液的浓度,单位为摩尔每升(mol/L);
- m_3 ——苯二甲酸氢钾的质量,单位为克(g);
- V_3 ——滴定时消耗氢氧化钠标准滴定溶液的体积,单位为毫升(mL);
- 0.2042——与1.00 mL 氢氧化钠标准滴定溶液[$c(\text{NaOH})=1.000 \text{ mol/L}$]相当的以克表示的苯二甲酸氢钾的质量。

7.3.8 盐酸标准滴定溶液:0.25 mol/L。

7.3.8.1 配制

取21.0 mL的盐酸于1 000 mL容量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀。

7.3.8.2 标定

取20.0 mL盐酸溶液(7.3.8.1)于250 mL锥形瓶中,加60 mL不含二氧化碳的水和3滴酚酞-百里香酚酞指示液(7.3.5),用0.25 mol/L氢氧化钠标准滴定溶液(7.3.7)滴定,近终点时加热锥形瓶内的溶液至80℃,继续滴定至溶液呈淡紫色。

盐酸标准滴定溶液的浓度按式(6)计算:

$$c_4 = \frac{c_3 \times V_4}{20.0} \quad \dots\dots\dots(6)$$

式中:

- c_4 ——盐酸标准滴定溶液的浓度,单位为摩尔每升(mol/L);
- c_3 ——氢氧化钠标准滴定溶液的浓度,单位为摩尔每升(mol/L);
- V_4 ——滴定时消耗氢氧化钠标准滴定溶液的体积,单位为毫升(mL);
- 20.0——滴定时取盐酸标准滴定溶液的体积,单位为毫升(mL)。

7.4 仪器、设备

- 7.4.1 二氧化碳蒸馏吸收装置(见图1)。
- 7.4.2 台式真空泵或抽气管(伽氏)。
- 7.4.3 真空表:量程1 kPa~100 kPa(0 mmHg~760 mmHg)。
- 7.4.4 冰箱或冰-盐水浴。
- 7.4.5 分析天平:感量0.000 1 g。

7.5 试液的制备

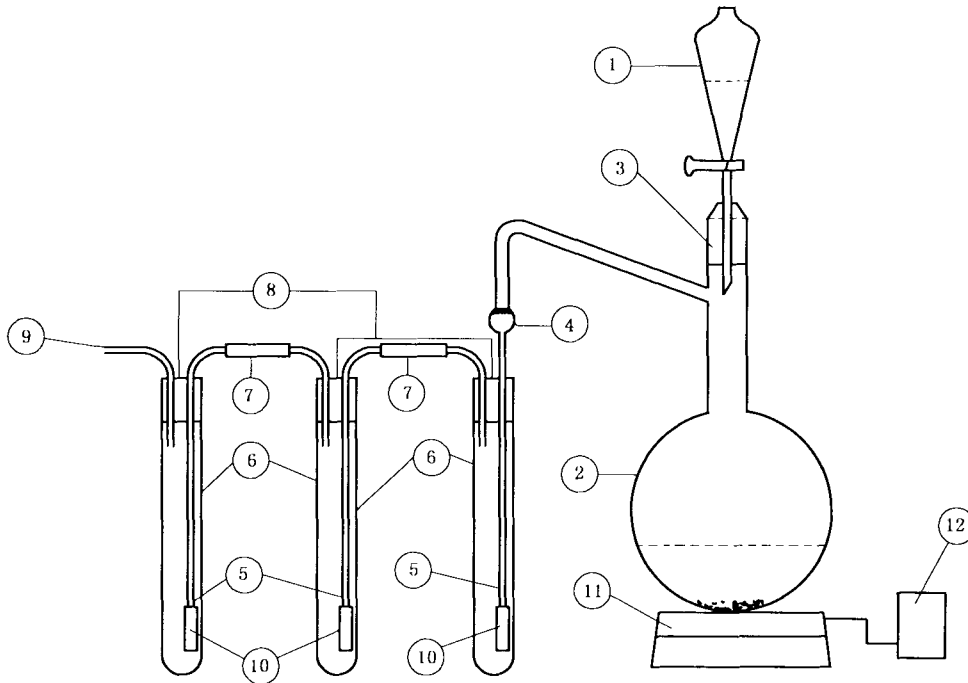
将未开盖的汽水放入0℃以下冰-盐水浴(或冰箱的冷冻室)中,浸泡1 h~2 h,待瓶内汽水接近冰冻时(勿振摇)打开瓶盖,迅速加入50%氢氧化钠溶液的上层清液(每100 mL汽水加2.0 mL~2.5 mL),立即用橡皮塞塞住。将瓶底向上,缓慢振摇数分钟后放至室温,待测定。

7.6 分析步骤

7.6.1 试液的蒸馏-吸收

取15.00 mL~25.00 mL上述制备好的试液(二氧化碳含量在0.06 g~0.15 g)于500 mL具支圆底烧瓶中,加入3 mL 10%过氧化氢溶液(7.3.4)和几粒多孔瓷片,连接吸收管,将分液漏斗紧密接到烧瓶上,不得漏气。预先在第一及第二支吸收管中,分别准确加入20 mL 0.25 mol/L氢氧化钠标准滴定溶液(7.3.7),并将两支吸收管浸泡在盛水的烧杯中,在蒸馏吸收过程中,温度控制在25℃以下。在第三支吸收管中准确加入10 mL 0.25 mol/L氢氧化钠标准滴定溶液(7.3.7)及10 mL氯化钡溶液(7.3.3)。将三支吸收管串联。第三支吸收管一端连接真空泵,使整个装置密封(见图1)。打开连接真

空泵的阀门,缓慢增加真空度,控制在 14 kPa~20 kPa(100 mmHg~150 mmHg),直至无气泡通过吸收管。继续抽气,使其保持真空状态,将 35 mL 酸性磷酸盐溶液(7.3.2)加入分液漏斗中,打开活塞,使酸性磷酸盐溶液缓慢滴入烧瓶中(约 30 mL),关闭活塞,摇动烧瓶,使样品与酸液充分混合,用调压器控制电炉温度,缓慢加热,使二氧化碳逐渐逸出,控制吸收管中有断断续续气泡上升。待第一支吸收管中约增加 2 mL~3 mL 馏出液。吸收管上部手感温热时,即表明烧瓶内的二氧化碳已全部逸出,并被吸收管内氢氧化钠所吸收。此时关闭第三支吸收管与真空泵之间的连接阀,关闭电炉,慢慢打开分液漏斗的活塞,通入空气,使压力平衡。将三支吸收管中的溶液合并洗入 500 mL 锥形瓶中,并用少量水多次洗涤吸收管,洗液并入锥形瓶中,加入 50 mL 氯化钡溶液(7.3.3),充分振摇,放置片刻。



- 1— 100 mL 分液漏斗;
- 2— 500 mL 具支圆底烧瓶;
- 3、8— 橡皮塞;
- 4— $\phi 4/15$ 磨口;
- 5— $\phi 8$ mm 的玻璃管;
- 6— 250 mm×25 mm 试管;
- 7— 橡皮管;
- 9— 接真空泵;
- 10— 气体分散器(具有四个孔径为 0.1 mm 一端封死的乳胶管);
- 11— 电炉;
- 12— 调压器;1 kW。

图 1 二氧化碳蒸馏吸收装置

7.6.2 滴定

在上述锥形瓶中,加入 3 滴(约 0.15 mL)酚酞-百里香酚酞指示液(7.3.5),用 0.25 mol/L 盐酸标准滴定溶液(7.3.8)滴定至溶液为无色。记录消耗盐酸标准滴定溶液的毫升数(V_5)。

7.7 结果计算

试样中二氧化碳含量按式(7)计算:

$$X_2 = (c_3 \times 50 - c_4 \times V_5) \times 0.022 \times \frac{100}{V_6} \times \frac{100 + V_7}{100} \dots\dots\dots(7)$$

式中:

X_2 ——样品中二氧化碳含量, %;

c_3 ——氢氧化钠标准滴定溶液的浓度, 单位为摩尔每升(mol/L);

50——加入三支吸收管中 0.25 mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液的体积, 单位为毫升(mL);

c_4 ——盐酸标准滴定溶液的浓度, 单位为摩尔每升(mol/L);

V_5 ——滴定时消耗 0.25 mol/L 盐酸标准滴定溶液的体积, 单位为毫升(mL);

0.022——与 1.00 mL 氢氧化钠标准滴定溶液 [$c(\text{NaOH}) = 1.000 \text{ mol/L}$] 相当的以克表示的二氧化碳的质量;

V_6 ——蒸馏时取试液的体积, 单位为毫升(mL);

V_7 ——每 100 mL 汽水加入 50% 氢氧化钠溶液的上层清液的体积, 单位为毫升(mL)。

当两次测定结果符合允许差时, 取两次测定结果的算术平均值作为结果, 精确至 0.001%。

7.8 允许差

两次测定结果之差不得超过平均值的 5.0%。

7.9 其他

本方法与减压器法测定值之间的换算关系按式(8)计算:

$$X_3 = \frac{1.9768 \times K_1}{1000} \times 100 \quad \dots\dots\dots(8)$$

式中:

X_3 ——样品中二氧化碳的含量, %;

1.9768——在标准状况下二氧化碳的密度, 单位为克每升(g/L);

K_1 ——在某一个温度下用减压器法测得的二氧化碳气容量, 倍。

8 浓缩果汁中乙醇的测定方法

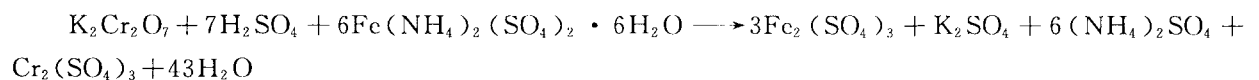
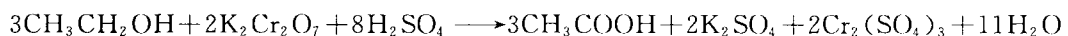
8.1 方法适用范围

本方法适用于浓缩果汁中乙醇的测定。

8.2 方法原理

在酸性条件下用重铬酸钾氧化试样中的乙醇, 再用硫酸亚铁铵滴定过量的重铬酸钾, 根据重铬酸钾的加入量和硫酸亚铁铵的消耗量计算试样中的乙醇含量。

反应式如下:



8.3 试剂

8.3.1 硅油。

8.3.2 氢氧化钠溶液: 1 mol/L, 称取 40 g 氢氧化钠, 溶于水中, 并用水稀释至 1 000 mL。

8.3.3 硫酸溶液: 1+1, 量取 1 体积的水于烧杯中, 再量取 1 体积的硫酸边搅边徐徐倒入水中, 混匀。

8.3.4 重铬酸钾标准溶液: 称取 4.3 g~4.4 g 于 150 °C~200 °C 烘至恒重的重铬酸钾, 精确至 0.000 2 g, 溶于少量水中, 小心转移到 1 000 mL 容量瓶中, 用水稀释至刻度。1 mL 此溶液约相当于 0.001 g 乙醇。

按式(9)计算:

$$c_5 = \frac{46.07 \times 3 \times m_4}{294.18 \times 2} \times \frac{1}{1000} = 0.0002349 m_4 \quad \dots\dots\dots(9)$$

式中:

c_5 ——1 mL 重铬酸钾标准溶液相当于乙醇的质量, 单位为克每毫升(g/mL);

46.07 ——乙醇的相对分子质量；

m_4 ——称取重铬酸钾的质量,单位为克(g)；

294.18 ——重铬酸钾的相对分子质量。

8.3.5 硫酸亚铁铵标准滴定溶液:称取 17 g 硫酸亚铁铵,溶于水中,加 20 mL 硫酸,稀释至 1 000 mL,贮于棕色试剂瓶中,2 mL 此溶液约相当于 1 mL 重铬酸钾溶液(8.3.4)。

注:因该溶液不稳定,在空气中易被氧化,应在使用当天用重铬酸钾标准溶液标定,临用时移入棕色滴定管中。

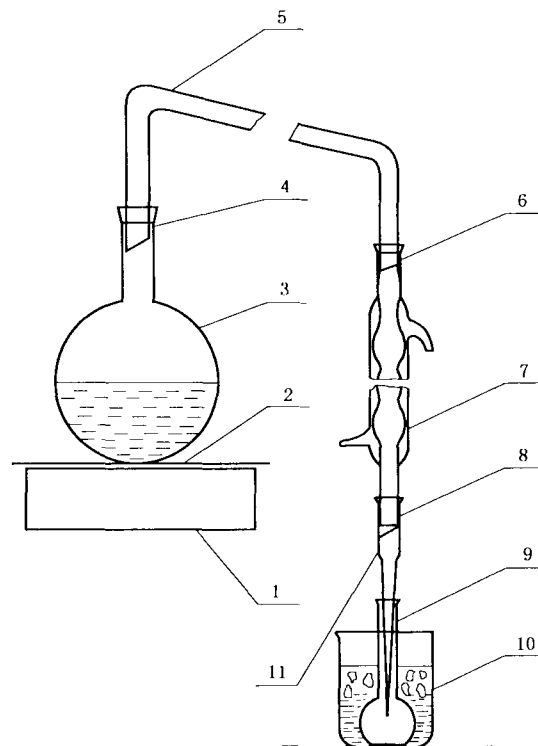
8.3.6 邻菲罗啉铁指示液:称取 0.695 g 硫酸亚铁与 1.485 g 邻菲罗啉,溶于 100 mL 水中。

8.3.7 溴百里香酚蓝指示液:1%,称取 1 g 溴百里香酚蓝,加 8 mL 0.2 mol/L 的氢氧化钠溶液,用水溶解并稀释至 100 mL。

8.4 仪器和设备

8.4.1 恒温水浴锅:100 °C ± 1 °C。

8.4.2 蒸馏装置(见图 2)。



1 ——可调电炉；

2 ——石棉网；

3 ——圆底烧瓶 1 000 mL；

4、6、8 ——磨口；

5 ——连接弯管,角度 105°~75°；

7 ——球形冷凝管:40 cm；

9 ——容量瓶 100 mL；

10 ——冰水浴；

11 ——接收管。

图 2 蒸馏装置

8.4.3 50 mL 棕色滴定管。

8.5 试液的制备

8.5.1 称样

称取 10 g~40 g 混合均匀的样品(乙醇含量为 0.005 g~0.12 g)于小烧杯中,精确至 0.001 g,将样品转移到 1 000 mL 蒸馏烧瓶中(总体积不超过烧瓶容量的 1/2)。

8.5.2 中和

加 0.2 mL 1% 溴百里香酚蓝指示液(8.3.7),用 1 mol/L 氢氧化钠溶液(8.3.2)滴定到明显的蓝色,加数粒瓷片或玻璃珠,如泡沫较多,可加 0.5 mL 硅油。

8.5.3 蒸馏

将烧瓶立即与蒸馏器的其他装置连接好,用预先存有 10 mL 水的 100 mL 容量瓶作为接收容器,接收管的下端应浸入水中,但不接触瓶底。容量瓶用冰水冷却。

连接好后立即进行蒸馏。用可调电炉加热,开始时升温可快些,接近沸腾时降低电炉温度,以不使泡沫上溢为宜。待泡沫散开后再提高电炉温度,直至容量瓶内液体约为 80 mL 时,将冷凝管与连接弯管脱开、卸下,停止加热。弯管、冷凝器及接收管用水淋洗,洗液并入容量瓶内。待温度上升至室温后用水定容至刻度,混匀。

8.6 分析步骤

8.6.1 氧化

吸取上述制备好的试液(8.5)10 mL 于 250 mL 碘量瓶内,加 10 mL~15 mL(V_8)重铬酸钾标准溶液(8.3.4),塞紧瓶塞,轻轻摇匀,迅速用量筒量取 20 mL 硫酸溶液(8.3.3),略开启瓶塞,沿瓶口倒入瓶内,塞紧瓶塞,轻轻摇匀(注意不使瓶塞跳出)。放入 40 °C 恒温水浴中保温氧化 1 h,其间稍加摇动,取出,如瓶内溶液呈绿色,则说明溶液中乙醇含量太高,应减少取样量。

8.6.2 测定

打开瓶塞,瓶口四周用水冲洗,然后用硫酸亚铁铵标准滴定溶液(8.3.5)滴定至黄绿色,加 0.2 mL 邻菲罗啉铁指示液(8.3.6)继续滴定,逐渐变为蓝绿色直至突变为棕红色即为终点。记录消耗硫酸亚铁铵标准滴定溶液的体积(V_9)。

同一样品平行测定两次,在收样后 24 h 内应测定完毕。

8.6.3 空白试验

用水代替试液,其余按 8.6.1~8.6.2 操作。记录消耗硫酸亚铁铵标准滴定溶液的体积(V_{10})。

8.7 结果计算

试样中乙醇含量按式(10)计算:

$$X_4 = \left[(V_{10} - V_9) \times \frac{V_8}{V_{10}} \right] \times c_5 \times \frac{K_2}{m_5} \times 1000 \quad \dots\dots\dots (10)$$

式中:

X_4 —— 样品中乙醇的含量,单位为克每千克(g/kg);

V_{10} —— 空白试验时消耗硫酸亚铁铵标准滴定溶液的体积,单位为毫升(mL);

V_9 —— 测定试样时消耗硫酸亚铁铵标准滴定溶液的体积,单位为毫升(mL);

V_8 —— 氧化乙醇时所加入的重铬酸钾标准溶液的体积,单位为毫升(mL);

c_5 —— 1 mL 重铬酸钾标准溶液相当于乙醇的质量,单位为克每毫升(g/mL);

K_2 —— 试样的稀释倍数;

m_5 —— 样品质量,单位为克(g)。

8.8 允许差

当两次测定结果符合允许差时,则取两次测定结果的算术平均值报告结果。所得结果应表示至两位小数。同一样品由同一分析人员连续两次测定结果之差,乙醇含量大于 0.1 g/kg 的样品不得超过平均值 2.5%,乙醇含量在 0.05 g/kg~0.1 g/kg 的样品不得超过平均值的 5%。

9 橙、柑、桔汁及其饮料中果汁含量的测定

9.1 方法适用范围

本方法适用于判定橙、柑、桔浓缩汁和果汁,以及果汁含量不低于 2.5%的橙、柑、桔汁饮料。

9.2 术语和定义

下列术语和定义适用于本方法。

9.2.1

浓缩汁、果汁及其饮料 **concentrated juice, fruit juice and its beverage**

定义同 GB 10789。

9.2.2

标准值 **standard value**

根据不同品种、不同产区、不同采收期、不同加工工艺、不同贮存期橙、柑、桔果汁及其由其浓缩汁复原的果汁中可溶性固形物含量和 6 种组分实测值的分布状态,经数理统计确定的合理数值。

9.2.3

权值 **weighted value**

根据 6 种组分实测值变异系数的大小而确定的某种组分在总体中所占的比重。

9.3 方法原理

9.3.1 按本标准规定的方法测定样品中 6 种组分。

9.3.2 将 6 种组分的实测值分别与各自标准值的比值合理修正后,乘以相应的修正权值,逐项相加求得样品中的果汁含量。

9.4 橙、柑、桔汁及其混合果汁的标准值和权值

9.4.1 可溶性固形物的标准值

20 °C 时,用折光计测定(不校正酸度),橙、柑、桔汁及其混合果汁可溶性固形物(加糖除外)的标准值,以不低于 10.0% 计。

9.4.2 6 种组分的标准值和权值

6 种组分的标准值和权值见表 1。

表 1 6 种组分的标准值和权值

组 分	标准值			权 值		
	橙汁	柑、桔汁	混合果汁	橙汁	柑、桔汁	混合果汁
钾/(mg/kg)	1 370	1 250	1 300	0.18	0.16	0.18
总磷/(mg/kg)	135	130	135	0.20	0.19	0.19
氨基酸态氮/(mg/kg)	290	305	300	0.19	0.19	0.19
L-脯氨酸/(mg/kg)	760	685	695	0.14	0.14	0.14
总 D-异柠檬酸/(mg/kg)	80	140	115	0.15	0.17	0.15
总黄酮/(mg/kg)	1 185	1 100	1 105	0.14	0.15	0.15

注:如标签上未标明橙汁或柑、桔汁时,以混合果汁计算。

9.5 测定方法

9.5.1 可溶性固形物

按第 4 章规定的方法测定。

9.5.2 钾

按附录 C 的规定测定。

9.5.3 总磷

按附录 D 的规定测定。

9.5.4 氨基酸态氮

按第 5 章规定的方法测定。测定结果的单位以 mg/kg 表示。

9.5.5 L-脯氨酸

按附录 E 的规定测定。

9.5.6 总 D-异柠檬酸

按附录 F 的规定测定。

9.5.7 总黄酮

按附录 G 的规定测定。

9.6 结果计算

橙、柑、桔汁及其饮料中果汁含量按式(11)计算:

$$y = \sum_{i=1}^6 \left(\frac{x_i}{X_i} \times R_i \right) \times 100 \quad \dots\dots\dots(11)$$

式中:

y ——果汁含量, %;

x_i ——样品中相应的钾、总磷、氨基酸态氮、L-脯氨酸、总 D-异柠檬酸、总黄酮含量的实测值, 单位为毫克每千克(mg/kg);

X_i ——相应的钾、总磷、氨基酸态氮、L-脯氨酸、总 D-异柠檬酸、总黄酮的标准值, 单位为毫克每千克(mg/kg);

R_i ——相应的钾、总磷、氨基酸态氮、L-脯氨酸、总 D-异柠檬酸、总黄酮的权值。

9.7 异常数据的修正原则

9.7.1 当 $\frac{x_i}{X_i} > 1.25$ 时($i=1, 2, 3, 4, 6$), 应将大于 1.25 的组分项删除, 其权值按比例分配给剩余组分项; 修正后的果汁含量按式(12)计算:

$$y' = \frac{y_1'}{1 - \sum R_i} \quad \dots\dots\dots(12)$$

式中:

y' ——修正后的果汁含量, %;

y_1' ——删除异常数据后果汁含量的计算值, %;

R_i ——被删除组分项的权值。

9.7.2 当 $\frac{x_5}{X_5} > 1.25$ 时, 按 1.25 计算。

9.7.3 当 $\frac{x_i}{X_i} (i=1, 2, 3, 4, 6) > \frac{x_5}{X_5} \times 2$; 或 $\frac{x_i}{X_i} (i=1, 2, 3, 4, 6) < \frac{x_5}{X_5} \times 0.35$ 时, 应将其组分项删除, 相应的权值按比例分配给剩余组分项, 按式(12)计算果汁含量。

9.7.4 当同时修正 3 种组分时(总 D-异柠檬酸除外), 果汁含量按式(13)计算:

$$y'' = \frac{x_5}{X_5} \times 100 \quad \dots\dots\dots(13)$$

式中:

y'' ——用总 D-异柠檬酸组分项计算出的果汁含量, %。

附 录 A
(资料性附录)

20 ℃时折光率与可溶性固形物含量换算表

表 A.1 20 ℃时折光率与可溶性固形物含量换算表

折光率	可溶性 固形物/ %	折光率	可溶性 固形物/ %	折光率	可溶性 固形物/ %	折光率	可溶性 固形物/ %	折光率	可溶性 固形物/ %	折光率	可溶性 固形物/ %
1.333 0	0.0	1.354 9	14.5	1.379 3	29.0	1.406 6	43.5	1.437 3	58.0	1.471 3	72.5
1.333 7	0.5	1.355 7	15.0	1.380 2	29.5	1.407 6	44.0	1.438 5	58.5	1.473 7	73.0
1.334 4	1.0	1.356 5	15.5	1.381 1	30.0	1.408 6	44.5	1.439 6	59.0	1.472 5	73.5
1.335 1	1.5	1.357 3	16.0	1.382 0	30.5	1.409 6	45.0	1.440 7	59.5	1.474 9	74.0
1.335 9	2.0	1.358 2	16.5	1.382 9	31.0	1.410 7	45.5	1.441 8	60.0	1.476 2	74.5
1.336 7	2.5	1.359 0	17.0	1.383 8	31.5	1.411 7	46.0	1.442 9	60.5	1.477 4	75.0
1.337 3	3.0	1.359 8	17.5	1.384 7	32.0	1.412 7	46.5	1.444 1	61.0	1.478 7	75.5
1.338 1	3.5	1.360 6	18.0	1.385 6	32.5	1.413 7	47.0	1.445 3	61.5	1.479 9	76.0
1.338 8	4.0	1.361 4	18.5	1.386 5	33.0	1.414 7	47.5	1.446 4	62.0	1.481 2	76.5
1.339 5	4.5	1.362 2	19.0	1.387 4	33.5	1.415 8	48.0	1.447 5	62.5	1.482 5	77.0
1.340 3	5.0	1.363 1	19.5	1.388 3	34.0	1.416 9	48.5	1.448 6	63.0	1.483 8	77.5
1.341 1	5.5	1.363 9	20.0	1.389 3	34.5	1.417 9	49.0	1.449 7	63.5	1.485 0	78.0
1.341 8	6.0	1.364 7	20.5	1.390 2	35.0	1.418 9	49.5	1.450 9	64.0	1.486 3	78.5
1.342 5	6.5	1.365 5	21.0	1.391 1	35.5	1.420 0	50.0	1.452 1	64.5	1.487 6	79.0
1.343 3	7.0	1.366 3	21.5	1.392 0	36.0	1.421 1	50.5	1.453 2	65.0	1.488 8	79.5
1.344 1	7.5	1.367 2	22.0	1.392 9	36.5	1.422 1	51.0	1.454 4	65.5	1.490 1	80.0
1.344 8	8.0	1.368 1	22.5	1.393 9	37.0	1.423 1	51.5	1.455 5	66.0	1.491 4	80.5
1.345 6	8.5	1.368 9	23.0	1.394 9	37.5	1.424 2	52.0	1.457 0	66.5	1.492 7	81.0
1.346 4	9.0	1.369 8	23.5	1.395 8	38.0	1.425 3	52.5	1.458 1	67.0	1.494 1	81.5
1.347 1	9.5	1.370 6	24.0	1.396 8	38.5	1.426 4	53.0	1.459 3	67.5	1.495 4	82.0
1.347 9	10.0	1.371 5	24.5	1.397 8	39.0	1.427 5	53.5	1.460 5	68.0	1.496 7	82.5
1.348 7	10.5	1.372 3	25.0	1.398 7	39.5	1.428 5	54.0	1.461 6	68.5	1.498 0	83.0
1.349 4	11.0	1.373 1	25.5	1.399 7	40.0	1.429 6	54.5	1.462 8	69.0	1.499 3	83.5
1.350 2	11.5	1.374 0	26.0	1.400 7	40.5	1.430 7	55.0	1.463 9	69.5	1.500 7	84.0
1.351 0	12.0	1.374 9	26.5	1.401 6	41.0	1.431 8	55.5	1.465 1	70.0	1.502 0	84.5
1.351 8	12.5	1.375 8	27.0	1.402 6	41.5	1.432 9	56.0	1.466 3	70.5	1.503 3	85.0
1.352 6	13.0	1.376 7	27.5	1.403 6	42.0	1.434 0	56.5	1.467 6	71.0		
1.353 3	13.5	1.377 5	28.0	1.404 6	42.5	1.435 1	57.0	1.468 8	71.5		
1.354 1	14.0	1.378 1	28.5	1.405 6	43.0	1.436 2	57.5	1.470 0	72.0		

附录 B

(资料性附录)

20℃时可溶性固形物含量对温度的校正表

表 B.1 20℃时可溶性固形物含量对温度的校正表

温度/℃	可溶性固形物含量/%														
	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70
应减去之校正值															
10	0.50	0.54	0.58	0.61	0.64	0.66	0.68	0.70	0.72	0.73	0.74	0.75	0.76	0.78	0.79
11	0.46	0.49	0.53	0.55	0.58	0.60	0.62	0.64	0.65	0.66	0.67	0.68	0.69	0.70	0.71
12	0.42	0.45	0.48	0.50	0.52	0.54	0.56	0.57	0.58	0.59	0.60	0.61	0.61	0.63	0.63
13	0.37	0.40	0.42	0.44	0.46	0.48	0.49	0.50	0.51	0.52	0.53	0.54	0.54	0.55	0.55
14	0.33	0.35	0.37	0.39	0.40	0.41	0.42	0.43	0.44	0.45	0.45	0.46	0.46	0.47	0.48
15	0.27	0.29	0.31	0.33	0.34	0.34	0.35	0.36	0.37	0.37	0.38	0.39	0.39	0.40	0.40
16	0.22	0.24	0.25	0.26	0.27	0.28	0.28	0.29	0.30	0.30	0.30	0.31	0.31	0.32	0.32
17	0.17	0.18	0.19	0.20	0.21	0.21	0.21	0.22	0.22	0.23	0.23	0.23	0.23	0.24	0.24
18	0.12	0.13	0.13	0.14	0.14	0.14	0.14	0.15	0.15	0.15	0.15	0.16	0.16	0.16	0.16
19	0.06	0.06	0.06	0.07	0.07	0.07	0.07	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
应加入之校正值															
21	0.06	0.07	0.07	0.07	0.07	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
22	0.13	0.13	0.14	0.14	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16
23	0.19	0.20	0.21	0.22	0.22	0.23	0.23	0.23	0.23	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24
24	0.26	0.27	0.28	0.29	0.30	0.30	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.32	0.32	0.32	0.32
25	0.33	0.35	0.36	0.37	0.38	0.38	0.39	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
26	0.40	0.42	0.43	0.44	0.45	0.46	0.47	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48
27	0.48	0.50	0.52	0.53	0.54	0.55	0.55	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56
28	0.56	0.57	0.60	0.61	0.62	0.63	0.63	0.63	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64	0.64
29	0.64	0.66	0.68	0.69	0.71	0.72	0.72	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73
30	0.72	0.74	0.77	0.78	0.79	0.80	0.80	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81

附 录 C
(规范性附录)
钾的测定

C.1 方法原理

钾的基态原子吸收钾空心阴极灯发射的共振线,吸收强度与钾的浓度成正比。将处理过的样品吸入原子吸收分光光度计的火焰原子化系统中,使钾离子原子化,在共振线 766.5 nm 处测定吸光度,与标准系列溶液比较,确定样品中钾的含量。添加适量钠盐,消除电离干扰。

C.2 试剂

C.2.1 硝酸。

C.2.2 硫酸。

C.2.3 10 g/L 氯化钠溶液:称取 1.0 g 氯化钠,用水溶解后定容至 100 mL。

C.2.4 体积分数为 10% 的硝酸溶液:量取 1 体积硝酸(C.2.1),注入 9 体积水中。

C.2.5 体积分数为 50% 的盐酸溶液:量取 1 体积盐酸,注入 1 体积水中。

C.2.6 钾标准溶液:称取 0.953 4 g 经 150 °C ± 3 °C 烘烤 2 h 的氯化钾,精确至 0.000 1 g。置于 50 mL 烧杯中。加水溶解,转移到 500 mL 容量瓶中。加 2 mL 盐酸溶液(C.2.5),用水定容至刻度,摇匀。吸取 10.00 mL 于 100 mL 容量瓶中,用水定容至刻度,摇匀。此溶液钾的含量为 100 mg/L。

C.3 仪器与设备

C.3.1 原子吸收分光光度计:带钾空心阴极灯。

C.3.2 空气压缩机或空气钢瓶气。

C.3.3 乙炔钢瓶气。

C.3.4 凯氏烧瓶:500 mL。

C.3.5 天平:感量 10 mg。

C.3.6 分析天平:感量 0.1 mg。

C.4 试液的制备

称取一定量经混合均匀的样品(浓缩果汁 1.00 g~2.00 g;果汁 5.00 g~10.00 g;果汁饮料 20.0 g~50.0 g;水果饮料和果汁型碳酸饮料 50.0 g~100.0 g)于 500 mL 凯氏烧瓶中,加入 2 粒~3 粒玻璃珠、10 mL~15 mL 硝酸(C.2.1)、5 mL 硫酸(C.2.2)(称样量大于 20 g 的样品,应预先加热除去部分水分,待瓶中样液剩余约 20 g 时停止加热,冷却,再加硝酸、硫酸),浸泡约 2 h 或静置过夜。先用微火加热,待剧烈反应停止后,加大火力。溶液开始变为棕色时,立即滴加硝酸(C.2.1),直至溶液透明,颜色不再变深为止。继续加热数分钟至浓白烟逸出,冷却,小心加入 20 mL 水,再加热至白烟逸出,冷却至室温。将溶液转移到 50 mL 容量瓶中,用水定容至刻度,摇匀,备用。

取相同量的硝酸、硫酸,按上述步骤做试剂空白消化液,备用。

C.5 分析步骤

C.5.1 工作曲线的绘制

吸取 0.00 mL、1.00 mL、2.00 mL、4.00 mL、6.00 mL、8.00 mL、10.00 mL 钾标准溶液(C.2.6),分别置于 50 mL 容量瓶中,加 10 mL 硝酸溶液(C.2.4)、2.0 mL 氯化钠溶液(C.2.3),用水定容至刻

度,摇匀,配制成 0.0 mg/L、2.0 mg/L、4.0 mg/L、8.0 mg/L、12.0 mg/L、16.0 mg/L、20.0 mg/L 钾标准系列溶液。

依次将上述标准系列溶液吸入原子化系统中,用 0.0 mg/L 钾标准溶液调整零点,于波长 766.5 nm 处测定钾标准系列溶液的吸光度。以吸光度为纵坐标,钾标准系列溶液的浓度为横坐标,绘制工作曲线或计算回归方程。

C.5.2 测定

吸取 5.0 mL~20.0 mL 试液(C.4)于 50 mL 容量瓶中,加 10 mL 硝酸溶液(C.2.4)、2.0 mL 氯化钠溶液(C.2.3),用水定容至刻度,摇匀。将此溶液吸入原子化系统中,用试剂空白溶液(C.5.1)调整零点,于波长 766.5 nm 处测吸光度,在工作曲线上查出(或用回归方程计算出)试液中钾的含量(c_1)。

按上述步骤同时测定试剂空白消化液中钾的含量(c_{01})。

C.6 结果计算

样品中钾的含量按式(C.1)计算:

$$x_1 = \frac{c_1 - c_{01}}{\frac{m_1}{50} \times \frac{V_1}{50}} = \frac{(c_1 - c_{01}) \times 2\,500}{m_1 \times V_1} \dots\dots\dots (C.1)$$

式中:

x_1 ——样品中钾的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

c_1 ——从工作曲线上查出(或用回归方程计算出)试液中钾的含量,单位为毫克每升(mg/L);

c_{01} ——从工作曲线上查出(或用回归方程计算出)试剂空白消化液中钾的含量,单位为毫克每升(mg/L);

m_1 ——样品的质量,单位为克(g);

V_1 ——测定时吸取试液的体积,单位为毫升(mL)。

C.7 允许差

计算结果精确至小数点后第一位。同一样品的两次测定结果之差不得超过平均值的 5.0%。

附 录 D
(规范性附录)
总磷的测定

D.1 方法原理

样品经消化后,在酸性条件下,磷酸盐与钒-钼酸铵反应呈现黄色,在波长 400 nm 处测定溶液的吸光度,与标准系列溶液比较,确定样品中总磷的含量。

D.2 试剂

D.2.1 硝酸。

D.2.2 硫酸。

D.2.3 体积分数为 10% 的硫酸溶液:量取 1 体积硫酸(D.2.2),缓慢注入 9 体积水中。

D.2.4 钒-钼酸溶液:称取 20.0 g 钼酸铵,溶解在约 400 mL 50 °C 热水中,冷却。称取 1.0 g 偏钒酸铵,溶解在 300 mL 50 °C 热水中,冷却,边搅拌,边加入 1 mL 硫酸(D.2.2)。将钼酸铵溶液缓慢加到偏钒酸铵溶液中,搅拌均匀后转移到 1 000 mL 容量瓶中,用水定容至刻度。

D.2.5 磷标准溶液:称取 0.439 4 g 经 105 °C ± 2 °C 烘烤 2 h 的磷酸二氢钾,精确至 0.000 1 g。置于 50 mL 烧杯中。加水溶解,转移到 1 000 mL 容量瓶中,用水定容至刻度,摇匀。此溶液磷的含量为 100 mg/L。

D.3 仪器

D.3.1 紫外分光光度计。

D.3.2 凯氏烧瓶:500 mL。

D.3.3 天平:感量 10 mg。

D.3.4 分析天平:感量 0.1 mg。

D.4 试液的制备

按第 C.4 章中的步骤操作。

D.5 分析步骤**D.5.1 工作曲线的绘制**

吸取 0.00 mL、1.00 mL、2.00 mL、3.00 mL、4.00 mL、5.00 mL 磷标准溶液(D.2.5),分别置于 50 mL 容量瓶中,加 10 mL 硫酸溶液(D.2.3),摇匀,加 10 mL 钒-钼酸溶液(D.2.4),用水定容至刻度,摇匀,配制成 0.0 mg/L、2.0 mg/L、4.0 mg/L、6.0 mg/L、8.0 mg/L、10.0 mg/L 磷标准系列溶液。在室温下放置 10 min。用 1 cm 比色皿,以 0.0 mg/L 磷标准溶液调整零点,在波长 400 nm 处测定磷标准系列溶液的吸光度。以吸光度为纵坐标,磷的含量为横坐标,绘制工作曲线或计算回归方程。

D.5.2 测定

吸取 5.0 mL~10.0 mL 试液(第 D.4 章)于 50 mL 容量瓶中,加硫酸溶液(D.2.3)补足至 10 mL,以下步骤按 D.5.1 操作。以试剂空白溶液调整零点,在波长 400 nm 处测定吸光度。从工作曲线上查出(或用回归方程计算出)试液中磷的含量(c_2),同时测定试剂空白消化液(第 C.4 章)中磷的含量(c_{02})。

D.6 结果计算

样品中总磷的含量按式(D.1)计算:

$$x_2 = \frac{c_2 - c_{02}}{\frac{m_2}{50} \times \frac{V_2}{50}} = \frac{(c_2 - c_{02}) \times 2\,500}{m_2 \times V_2} \dots\dots\dots (D.1)$$

式中:

x_2 ——样品中总磷的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

c_2 ——从工作曲线上查出(或用回归方程计算出)试液中磷的含量,单位为毫克每升(mg/L);

c_{02} ——从工作曲线上查出(或用回归方程计算出)试剂空白消化液中磷的含量,单位为毫克每升(mg/L);

m_2 ——样品的质量,单位为克(g);

V_2 ——测定时吸取试液的体积,单位为毫升(mL)。

D.7 允许差

计算结果精确至小数点后第一位。同一样品的两次测定结果之差不得超过平均值的5.0%。

附 录 E
(规范性附录)
L-脯氨酸的测定

E.1 方法原理

L-脯氨酸与水合茚三酮作用,生成黄红色络合物。用乙酸丁酯萃取后的络合物,在波长 509 nm 处测定吸光度,与标准系列溶液比较,确定样品中 L-脯氨酸的含量。

E.2 试剂

E.2.1 乙酸丁酯。

E.2.2 甲酸。

E.2.3 无过氧化物乙二醇独甲醚:将数粒锌粒放入乙二醇独甲醚中,在避光暗处放置 2 d。

E.2.4 3.0%茚三酮乙二醇独甲醚溶液:称取 3.0 g 水合茚三酮,溶解在 100 mL 无过氧化物的乙二醇独甲醚溶液(E.2.3)中,贮存在棕色瓶内,置避光处。此溶液易被氧化,应每周制备一次。

E.2.5 L-脯氨酸标准贮备溶液:称取 0.050 0 g L-脯氨酸(生化试剂, $C_5H_9NO_2$, $[\alpha]_D^{20} = -83^\circ \sim -85^\circ$),精确至 0.000 1 g,置于 50 mL 烧杯中,加水溶解,转移到 100 mL 棕色容量瓶中,用水定容至刻度,摇匀,贮存在约 4 °C 冰箱内。此溶液含 L-脯氨酸为 500 mg/L。

E.3 仪器

E.3.1 分光光度计。

E.3.2 具塞试管:25 mL。

E.3.3 离心机:转速不低于 4 000 r/min,带 10 mL 具塞离心管。

E.3.4 分析天平:感量 0.1 mg。

E.3.5 天平:感量 10 mg。

E.4 试液的制备

称取一定量混合均匀的样品(浓缩汁 1.00 g;果汁 5.00 g;果汁饮料、水果饮料和果汁型碳酸饮料 10.00 g~200.0 g)于 200 mL 容量瓶中,用水定容至刻度,摇匀,备用。

E.5 分析步骤

E.5.1 工作曲线的绘制

E.5.1.1 显色

吸取 0.00 mL、0.50 mL、1.00 mL、2.50 mL、4.00 mL、5.00 mL L-脯氨酸贮备溶液(E.2.5)于 50 mL 容量瓶中,用水定容至刻度,摇匀,配制成 0.0 mg/L、5.0 mg/L、10.0 mg/L、25.0 mg/L、40.0 mg/L、50.0 mg/L 的 L-脯氨酸标准系列溶液。

吸取上述标准系列溶液各 1.0 mL,分别置于 6 支 25 mL 具塞试管(E.3.2)中,各加 1 mL 甲酸(E.2.2),充分摇匀,加 2 mL 茚三酮乙二醇独甲醚溶液(E.2.4),摇匀。将 6 支试管同时置于 1 000 mL 烧杯的沸水浴中(电炉与烧杯间应垫石棉网,水浴液面应高于试管液面)。待烧杯中的水沸腾后,精确计时 15 min,同时取出 6 支试管,置于 20 °C~22 °C 水浴中冷却 10 min。

E.5.1.2 萃取、测定吸光度

在上述 6 支试管中各加 10.0 mL 乙酸丁酯(E.2.1),盖塞,充分摇匀,使黄红色络合物萃取到乙酸

丁酯液层中。静置数分钟,将试管中的乙酸丁酯溶液分别倒入 10 mL 具塞离心管中,盖塞。以 2 500 r/min 转速,离心 5 min。

将上层清液小心倒入 1 cm 比色皿中,以试剂空白溶液调整零点,在波长 509 nm 处测定各上层清液的吸光度。以吸光度为纵坐标,L-脯氨酸的浓度为横坐标,绘制工作曲线或计算回归方程。

E.5.2 试液的测定

吸取 1.0 mL 试液(第 E.4 章)于 25 mL 具塞试管(E.3.2)中,以下步骤按 E.5.1 操作。从工作曲线上查出(或用回归方程计算出)试液中 L-脯氨酸的含量(c_3)。

E.6 结果计算

样品中 L-脯氨酸的含量按式(E.1)计算:

$$x_3 = \frac{c_3}{\frac{m_3}{200} \times 1.0} = \frac{c_3 \times 200}{m_3} \quad \dots\dots\dots (E.1)$$

式中:

x_3 ——样品中 L-脯氨酸的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

c_3 ——从工作曲线上查出(或用回归方程计算出)试液中 L-脯氨酸的含量,单位为毫克每升(mg/L);

m_3 ——样品的质量,单位为克(g)。

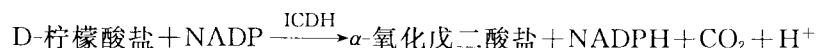
E.7 允许差

计算结果精确至小数点后第一位。同一样品的两次测定结果之差不得超过平均值的 5.0%。

附 录 F
(规范性附录)
总 D-异柠檬酸的测定

F.1 方法原理

在异柠檬酸脱氢酶(ICDH)催化下,样品中的 D-异柠檬酸盐与烟酰胺-腺嘌呤-双核苷酸磷酸(NADP)作用,生成 NADPH 的含量,相当于 D-异柠檬酸盐的量。在波长 340 nm 处测定吸光度,确定样品中总 D-异柠檬酸的含量。



F.2 试剂

F.2.1 组合试剂盒:

- 1 号瓶:内含咪唑缓冲液(稳定性)30 mL,pH=7.1;
- 2 号瓶:内含 β-烟酰胺-腺嘌呤-双核苷酸-磷酸二钠 45 mg、硫酸锰 10 mg;
- 3 号瓶:内含异柠檬酸脱氢酶 2 mg,5(U)个活力单位。

注:组合试剂盒型号为 Cat No. 414433。

F.2.2 NADP 溶液:将 F.2.1 中 1 号瓶内的溶液升温至 20 °C~25 °C,倒入 2 号瓶中,使 2 号瓶的物质全部溶解,混合均匀。

F.2.3 异柠檬酸脱氢酶溶液:用 1.8 mL 水溶解 3 号瓶的物质,混合均匀。

F.2.4 4 mol/L 氢氧化钠溶液:称取 16 g 氢氧化钠,加水溶解,定容至 100 mL。

F.2.5 4 mol/L 盐酸溶液:量取 33.4 mL 盐酸,用水定容至 100 mL。

F.2.6 300 g/L 氯化钡溶液:称取 30 g 氯化钡,溶解于热水中,冷却后定容至 100 mL。

F.2.7 71 g/L 硫酸钠溶液:称取 71 g 无水硫酸钠,溶解于水中,定容至 1 000 mL。

F.2.8 缓冲溶液:称取 2.4 g 三羟甲基氨基甲烷和 0.035 g 乙二胺四乙酸二钠,用 80 mL 水溶解。先用 4 mol/L 的盐酸调整 pH=7.2 左右,再用 1 mol/L 盐酸溶液调整 pH=7.0(用酸度计测定),用水定容至 100 mL。

F.2.9 氨水。

F.2.10 丙酮。

F.2.11 洗涤溶液:量取 150 mL 水,加入 10 mL 氨水(F.2.9)、100 mL 丙酮(F.2.10),混匀。

F.3 仪器与设备

F.3.1 紫外分光光度计:带石英比色皿,光程 1 cm。

F.3.2 酸度计:精度 0.1pH 单位。

F.3.3 离心机:转速不低于 4 000 r/min,离心管容积大于 80 mL。

F.3.4 微量可调移液管:

10 μL~50 μL,允许误差:±4.8%;

0 μL~1 000 μL,允许误差:100 μL,±2.0%;500 μL,±1.0%;1 000 μL,±1.0%。

F.3.5 玻璃棒或塑料棒:自制,直径约 3 mm,一端带钩。

F.3.6 分析天平:感量 0.1 mg。

F.3.7 天平:感量 10 mg,500 mg,1 g。

F.4 试液的制备

F.4.1 果汁型碳酸饮料

称取 500 g 样品于 1 000 mL 烧杯中,加热煮沸,在微沸状态下保持 5 min,并不断搅拌。待二氧化碳基本除净后冷却至室温,称量。用水补足至加热前的质量,备用。

F.4.2 浓缩果汁、果汁、果汁饮料、水果饮料

混匀后备用。

F.5 分析步骤

F.5.1 水解

按表 F.1 规定的取样量称取试液。

浓缩汁、果汁:将试样称取在 50 mL 烧杯中,加 5 mL 氢氧化钠溶液(F.2.4)。用玻璃棒搅拌均匀,在室温放置 10 min,使之水解。将溶液移入离心管(F.3.3)中,用 5 mL 盐酸溶液(F.2.5)和 10 mL~20 mL 水,分数次洗涤烧杯,并入离心管中,使总体积约为 30 mL,搅拌均匀。

果汁饮料、水果饮料、果汁型碳酸饮料:将试液称取在离心管(F.3.3)中,加 5 mL 氢氧化钠溶液(F.2.4),用玻璃棒搅拌均匀,在室温放置 10 min,使之水解。加 5 mL 盐酸溶液(F.2.5),搅拌均匀。

表 F.1 水解时取样量和比色测定时吸取量

样品名称	水解时取样量/g	比色测定时吸取量(V_2)/mL
浓缩果汁	2.00	0.4~0.8
果汁	10.00	0.8~1.2
含 40%果汁的果汁饮料	20.00	1.5~2.0
含 20%果汁的果汁饮料	25.00	2.0
含 10%果汁的果汁饮料	40.0	2.0
含 5%果汁的水果饮料	60.0~80.0	2.0
含 2.5%果汁的果汁型碳酸饮料	100.0~150.0	2.0

F.5.2 沉淀

F.5.2.1 称样量小于或等于 25 g 的试液

在盛有水解物的离心管(F.5.1)中依次加入 2 mL 氨水(F.2.9)、3 mL 氯化钡溶液(F.2.6)、20 mL 丙酮(F.2.10),用玻璃棒搅拌均匀。取出玻璃棒,按顺序摆放在棒架上。将离心管在室温(约 20 °C)放置 10 min,以 3 000 r/min 转速,离心 5 min~10 min,小心倾去上层溶液,保留离心管底部沉淀物。

F.5.2.2 称样量大于 25 g 的试液

按 F.5.1 和 F.5.2.1 的步骤分别制备 2 份~6 份沉淀物,然后用约 50 mL 洗涤溶液(F.2.11)将 2 支(或 3 支、4 支、6 支,视称样量而定)离心管中的沉淀物合并到 1 支离心管中,在室温(约 20 °C)放置 10 min。以下步骤按 F.5.2.1 操作。

F.5.3 溶解

将 F.5.2 中取出的玻璃棒按顺序放回原离心管中,向离心管中加入 20 mL 硫酸钠溶液(F.2.7)。将离心管置于微沸水浴中加热 10 min,同时用玻璃棒不断搅拌。趁热用缓冲溶液(F.2.8)将离心管中的内容物转移至 50 mL 容量瓶中。冷却至室温(约 20 °C)后用缓冲溶液(F.2.8)定容至刻度,摇匀。

F.5.4 过滤

将上述溶液用滤纸过滤,弃去最初滤液,保留滤液备用。

F.5.5 测定

F.5.5.1 测定条件

波长:340 nm;温度:20 °C~25 °C;比色浓度:在 0.1 mL~2.0 mL 试液中,含 D-异柠檬酸 3 μg~100 μg。

F.5.5.2 测定步骤

按表 F.2 规定的程序和溶液的加入量,用微量可调移液管(F.3.4)依次将各种溶液加入比色皿中(微量可调移液管应用吸入溶液至少冲洗一次,再正式吸取溶液),立即用玻璃棒(F.3.5)上下搅拌,使比色皿中的溶液充分混匀。

加异柠檬酸脱氢酶溶液后的最终体积为 3.05 mL。

表 F.2

单位为毫升

加入比色皿中的溶液	空 白	样 品
NADP 溶液(F.2.2)	1.00	1.00
重蒸馏水	2.00	2.00-V ₂
试样溶液(F.5.4)(V ₂)		V ₂
混匀,约 3 min 后分别测定空白吸光度(E _{1空白})和样品吸光度(E _{1样品})。		
异柠檬酸脱氢酶溶液(F.2.3)	0.05	0.05
混匀,约 10 min 达到反应终点,出现恒定的吸光度,分别记录空白吸光度(E _{2空白})和样品吸光度(E _{2样品})。如果 10 min 后未达到反应终点,每 2 min 测定一次吸光度,待吸光度恒定增加时,分别记录空白和样品开始恒定增加时的吸光度(E _{2空白} 和 E _{2样品})。		

上述步骤完成后按式(F.1)计算 ΔE:

$$\Delta E = \Delta E_{\text{样品}} - \Delta E_{\text{空白}} = (E_{2\text{样品}} - E_{1\text{样品}}) - (E_{2\text{空白}} - E_{1\text{空白}}) \quad \dots\dots\dots(F.1)$$

为得到精确的测定结果,ΔE 应大于 0.100。如 ΔE 小于 0.100,应增加水解时的取样量或增加比色时的吸取量。

F.5.5.3 异柠檬酸脱氢酶活力的判定方法

F.5.5.3.1 D-异柠檬酸标准溶液

称取 $\frac{0.0153}{P}$ g、含有两个结晶水的 D-异柠檬酸三钠盐(C₆H₅Na₃·2H₂O)基准试剂,精确至 0.000 1 g。置于 50 mL 烧杯中。加水溶解,转移到 100 mL 容量瓶中,用水定容至刻度,摇匀,贮存于冰箱中。此溶液含 D-异柠檬酸为 100 mg/L。

P 为 D-异柠檬酸基准试剂的纯度(百分含量)。0.015 3 为系数,按式(F.2)计算得出:

$$\frac{294.1 \times 100 \times 0.1}{192.1 \times 1\,000} = 0.0153 \quad \dots\dots\dots(F.2)$$

式中:

- 294.1 —— C₆H₅Na₃·2H₂O 的相对分子质量;
- 100 —— 稀释体积,单位为毫升(mL);
- 0.1 —— D-异柠檬酸的浓度,单位为克每升(g/L);
- 192.1 —— D-异柠檬酸的相对分子质量。

F.5.5.3.2 酶活力与标样吸潮的判定

酶活力与标样吸潮的判定见表 F.3。

表 F.3 酶活力与标样吸潮的判定

标准溶液的加入量/mL	酶溶液的加入量/mL	ΔE	判定
0.5	0.05	大于 0.5	正常
0.5	0.05	小于 0.5	酶失活或标样吸潮
0.5	0.10	大于 0.5	酶活力降低
0.5	0.10	小于 0.5	标样吸潮
1.0	0.05	大于 0.5	标样吸潮
1.0	0.05	小于 0.5	酶失活

若酶活力降低,应控制测定样品的 ΔE ,使之小于标样的 ΔE ,以保证测定样品中总 D-异柠檬酸反应完全。

F.6 结果计算

样品总 D-异柠檬酸的含量按式(F.3)计算:

$$x_4 = \frac{3.05 \times 192.1 \times V_4}{m_4 \times 6.3 \times 1 \times V'_4} \times \Delta E \quad \dots\dots\dots (F.3)$$

式中:

- x_4 --- 样品中总 D-异柠檬酸的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);
- 3.05 --- 比色皿中溶液的最终体积,单位为毫升(mL);
- 192.1 --- D-异柠檬酸的分子质量,单位为克每摩尔(g/mol);
- V_4 --- 试液的定容体积,单位为毫升(mL);
- m_4 --- 样品的质量,单位为克(g);
- 6.3 --- 反应产物 NADPH 在 340 nm 的吸光系数, $1 \times \text{mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$;
- 1 --- 比色皿光程,单位为厘米(cm);
- V'_4 --- 比色测定时吸取滤液的体积,单位为毫升(mL)。

F.7 允许差

同一样品的两次测定结果之差,果汁含量等于或大于 10% 的样品,不得超过平均值的 5.0%;果汁含量 2.5%~10.0% 的样品,不得超过平均值的 10.0%。

附 录 G
(规范性附录)
总黄酮的测定

G.1 方法原理

橙、柑、桔中的黄酮类(橙皮苷、新橙皮苷等)与碱作用,开环生成2,6-二羟基-4-环氧基苯丙酮和对甲氧基苯甲醛;在二甘醇环境中遇碱缩合生成黄色橙皮素查耳酮,其生成量相当于橙皮苷的量。在波长420 nm处比色测定吸光度,扣除本底后,与标准系列比较定量。

G.2 试剂

G.2.1 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液

称取4 g 氢氧化钠,加水溶解,定容至1 000 mL。

G.2.2 4 mol/L 氢氧化钠溶液

称取16 g 氢氧化钠,加水溶解,定容至100 mL。

G.2.3 200 g/L 柠檬酸溶液

称取20 g 柠檬酸,加水溶解,定容至100 mL。

G.2.4 体积分数为90%的二甘醇溶液

量取90 mL 一缩二乙二醇(又名二甘醇),加10 mL 水,混匀,备用。

G.2.5 试剂空白溶液

量取20 mL 氢氧化钠溶液(G.2.1)于50 mL 烧杯中,用柠檬酸溶液(G.2.3)调至pH=6,转移到100 mL 容量瓶中,用水定容至刻度,摇匀。

G.2.6 橙皮苷标准溶液

称取0.025 0 g 橙皮苷[hesperidin(由 hesperetin 及 7-rhamnoglucoside 组成),分子式: $C_{28}H_{34}O_{15}$,相对分子质量:610.6,橙皮苷含量约为80%,本方法以80%计],精确至0.000 1 g,置于50 mL 烧杯中,加20 mL 氢氧化钠溶液(G.2.1)溶解,用柠檬酸溶液(G.2.3)调至pH=6,转移到100 mL 容量瓶中,用水定容至刻度,摇匀。溶液中橙皮苷的含量为200 mg/L。此标准溶液应当日配制。

G.3 仪器与设备

G.3.1 紫外分光光度计。

G.3.2 酸度计:精度0.1pH单位。

G.3.3 恒温水浴:温控 ± 1 °C。

G.3.4 具塞试管与试管架。

G.3.5 分析天平:感量0.1 mg。

G.3.6 天平:感量10 mg。

G.4 试液的制备

称取一定量混合均匀的样品(浓缩汁2.00 g~5.00 g;果汁10.0 g;果汁饮料、水果饮料和果汁型碳酸饮料50.0 g)于100 mL 烧杯中,加入10 mL 氢氧化钠溶液(G.2.1),用氢氧化钠溶液(G.2.2)调至pH=12。静置30 min后,再用柠檬酸溶液(G.2.3)调至pH=6,转移到100 mL 容量瓶中,加水定容至刻度,用滤纸过滤,收集澄清滤液,备用。

G.5 分析步骤

G.5.1 工作曲线的绘制

分别吸取 0.00 mL、1.00 mL、2.00 mL、3.00 mL、4.00 mL、5.00 mL 橙皮苷标准溶液(G.2.6)于六支具塞试管(G.3.4)中,分别依次加入 5.00 mL、4.00 mL、3.00 mL、2.00 mL、1.00 mL、0.00 mL 试剂空白溶液(G.2.5),摇匀。再各加 5.0 mL 二甘醇溶液(G.2.4)、0.1 mL 氢氧化钠溶液(G.2.2),摇匀,配制成 0.0 mg/L、20.0 mg/L、40.0 mg/L、60.0 mg/L、80.0 mg/L、100.0 mg/L 总黄酮标准系列溶液。

将上述试管置于 40 °C 水浴(G.3.3)中保温 10 min。取出,在冷水浴中冷却 5 min。用 1 cm 比色皿,以 0.0 mg/L 标准溶液调整零点,在波长 420 nm 处测定各溶液的吸光度。以吸光度为纵坐标,相应的总黄酮浓度为横坐标,绘制工作曲线或计算回归方程。

G.5.2 测定

吸取 1 mL~5 mL 试液(第 G.4 章)于具塞试管中,用试剂空白溶液(G.2.5),补加至 5 mL,加 5.0 mL 二甘醇溶液(G.2.4),摇匀后加 0.1 mL 氢氧化钠溶液(G.2.2),摇匀。同时吸取一份等量的试液(第 G.4 章)按上述步骤不加氢氧化钠溶液(G.2.2),作为空白调零。以下步骤按 G.5.1 操作,测定试液吸光度,从工作曲线上查出(或用回归方程计算出)试液中总黄酮的含量(c_5)。

G.6 结果计算

样品中总黄酮的含量按式(G.1)计算:

$$x_5 = \frac{c_5}{\frac{m_5}{100} \times \frac{V_5}{10}} = \frac{c_5 \times 1\,000}{m_5 \times V_5} \dots\dots\dots (G.1)$$

式中:

x_5 ——样品中总黄酮的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

c_5 ——从工作曲线上查出(或用回归方程计算出)试液中黄酮的含量,单位为毫克每升(mg/L);

m_5 ——样品的质量,单位为克(g);

V_5 ——测定时吸取试液的体积,单位为毫升(mL)。

G.7 允许差

同一样品的两次结果之差不得超过平均值的 5.0%。