

ICS 67.060
B 22



中华人民共和国国家标准

GB/T 7416—2008
代替 GB/T 7416—2000

GB/T 7416—2008

啤酒大麦

Malting barley

中华人民共和国
国家标准
啤酒大麦
GB/T 7416—2008

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 1.25 字数 29 千字
2008年10月第一版 2008年10月第一次印刷

*

书号:155066·1-33659 定价 18.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换

版权专有 侵权必究

举报电话:(010)68533533



GB/T 7416—2008

2008-06-25 发布

2009-06-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

- g) 用灭菌枪头挑出 DNA, 并用 70% 乙醇漂洗 2~3 次, 室温下放置干燥, 乙醇挥发后加入 100 μL 1 \times TE 或者无菌水溶解。
- h) 用琼脂糖凝胶(A. 2. 2. 2. 17)检测(约需 2 μL ~3 μL), 电泳后放凝胶于凝胶成像仪拍照。样品于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

A. 2. 2. 4. 2 PCR 扩增

在 PCR 薄壁管中用微量移液器依次加入 12. 8 μL 无菌水、2 μL PCR 缓冲液、2 μL 200 $\mu\text{mol/L}$ dNTP、2 μL 500 $\mu\text{mol/L}$ 引物、0. 2 μL 1 U/ μL *Taq* DNA 聚合酶, 最后加入 1 μL 大麦 DNA(浓度 30 ng/ μL ~50 ng/ μL)使终体积达 20 μL , 加 5 μL 矿物油离心 10 s, 混匀放入 PCR 仪扩增。

大麦模板先在 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min 后, 按下列条件进行扩增循环 35 个轮次:

(1) 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s; (2) 55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 40 s; (3) 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 40 s。最后在 72 $^{\circ}\text{C}$ 下保温 10 min 结束扩增程序, 取出扩增产物放置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用。

A. 2. 2. 4. 3 聚丙烯酰胺凝胶板的制作

- a) 首先用自来水将玻璃平板和耳朵板冲洗干净。
- b) 区分好两块玻璃板正反面后用乙醇分别擦拭一遍。
- c) 待乙醇挥发后在平板一面用亲和硅烷均匀涂抹两次, 耳朵板用剥离硅烷均匀涂抹两次(此操作在通风橱下操作, 小心被腐蚀)。
- d) 上述步骤完成后, 将两片压条分别放于平板(涂亲和和硅烷一面)两侧, 并将耳朵板(涂剥离硅烷一面)盖于平板上面, 用夹子加紧。
- e) 将凝胶贮存液(A. 2. 2. 2. 14)沿两板之间的缝隙(耳朵板一侧)缓慢灌入, 灌胶过程中勿使气泡产生, 避免对实验产生影响(60 mL 凝胶贮存液+200 μL 10% 过硫酸胺+100 μL TEMED)。
- f) 胶灌好以后, 将梳子(不带齿子一端)插入胶面, 插入深度要适宜。
- g) 室温放置 1 h~2 h 静止凝胶(依据温度确定凝胶时间)。

A. 2. 2. 4. 4 预电泳

- a) 胶凝固定好以后将梳子拔出, 平板一面向外, 耳朵板一面向内放于垂直电泳槽内, 两端用铁夹子加紧。
- b) 将电泳缓冲液 I (A. 2. 2. 2. 7) 稀释为 0. 5 \times TBE, 灌于垂直电泳槽上下槽内, 吹净胶板上样端的碎胶。
- c) 将电泳槽的电源线连接电泳仪后, 通电。70 W 恒功率电泳 30 min。

A. 2. 2. 4. 5 上样跑电泳

- a) 30 min 预电泳后断电, 将梳子(有齿一端)插入胶板内, 适宜深度。
- b) 将 PCR 扩增产物加入变性上样缓冲液后, 在 PCR 仪内 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 5 min, 并迅速转移至冰水内冷却。
- c) 取 3 μL ~5 μL 变性扩增产物顺梳子孔加入, 启动电源, 70 W 恒功率电泳 45 min。

A. 2. 2. 4. 6 银染显影

- a) 电泳后将玻璃板分开, 把平板(粘有凝胶的玻璃板)放入装有固定液(A. 2. 2. 2. 12)的洗脱盒内, 在回旋水平摇床上振荡 20 min~30 min, 固定脱色。
- b) 脱色后用重蒸水水洗 2 次~3 次, 3 min/次~5 min/次。
- c) 用凝胶染色液(A. 2. 2. 2. 15)染色 20 min~30 min。
- d) 迅速用重蒸水水洗 8 s~10 s。
- e) 用凝胶显影液(A. 2. 2. 2. 16)显影, 直到可见清晰带为止。
- f) 用 10% 冰醋酸固定 3 min~5 min。
- g) 用重蒸水水洗 3 min~5 min, 室温下风干。

目 次

前言	III
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 要求	2
6 分析方法	3
7 检验规则	7
8 标志、包装、运输和贮存	8
附录 A (资料性附录) 企业自控技术指标的分析方法	9

A.2.1.3 仪器

A.2.1.3.1 垂直板式凝胶电泳仪。

A.2.1.3.2 分析天平:感量 0.1 mg。

A.2.1.3.3 离心机:转速 5 000 r/min,离心管 $\Phi 9$ mm \times 35 mm;

A.2.1.4 分析步骤

A.2.1.4.1 样品数:取 100 粒大麦用于本测定。

A.2.1.4.2 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 萃取液混合,浸泡最少 16 h,使用前将离心管置于离心机中,在转速 5 000 r/min 下,离心 30 min。

A.2.1.4.3 凝胶的形成:于 100 mL 凝胶贮备液中加入 0.15 mL 过氧化氢溶液,混匀。将已充分混匀的溶液灌入灌胶模具中(要保证凝胶有 1.5 mm 厚度,10 cm~15 cm 长度),在几分钟内聚合即会发生。用一把梳子在凝胶内开槽,以便放置样品(梳子一定要在刚刚灌胶时放入)。

A.2.1.4.4 凝胶展层:撤掉梳子,吸取适量的萃取液 10 μ L~20 μ L 加入凝胶顶部的槽内(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缓冲溶液中,使槽在板的上侧,让自来水循环流过电泳仪的冷却装置,使溶液冷却并保持在 10 $^{\circ}$ C~20 $^{\circ}$ C。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。

A.2.1.4.5 凝胶展层后,将凝胶从玻璃板上取下,立即在染色液中染色,凝胶可持续染色一夜。

A.2.1.4.6 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,胶板与镜头约 400 mm。

A.2.1.4.7 结果的显示:根据与用纯品种所得结果进行比较后,可对大麦样品中的各种品种做定性的阐明,为定出各种品种的量,要用存在于样品中的每一品种已确认的谷粒数除以谷粒的总数(100)。若做平行试验,则需用平均值表示(用百分数),并四舍五入至整数。

A.2.2 聚合酶链式反应法

A.2.2.1 原理

通过聚合酶链式反应(PCR)扩增技术,对大麦 DNA 进行体外酶促扩增。经聚丙烯酰胺凝胶电泳分离扩增产物后,与原来大麦纯品种基因图谱进行对照鉴定待测大麦样品。

A.2.2.2 试剂和溶液

A.2.2.2.1 Tris-盐酸溶液(1 mol/L, pH=8.0):称取 121.1 g 三羟甲基氨基甲烷(Tris),用 800 mL 去离子水溶解,冷却至室温后用浓盐酸调节溶液的 pH 值至 8.0(约需 42 mL 浓盐酸),加水定容至 1 L,分装后高压灭菌。

A.2.2.2.2 EDTA 溶液(0.5 mol/L, pH=8.0):称取 186.1 g 乙二胺四乙酸二钠(EDTA, $C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2 \cdot 2H_2O$),加入 800 mL 水中,在磁力搅拌器上搅拌,用氢氧化钠调节溶液的 pH 值至 8.0(约需 20 g NaOH 颗粒)然后定容至 1 L,分装后高压灭菌。

A.2.2.2.3 DNA 提取液:称取 46.75 g 氯化钠和 20 g 溴代十六烷基三甲胺(CTAB),加入 800 mL 去离子水,摇动容器使溶质完全溶解。然后加入 50 mL Tris-盐酸溶液(A.2.2.2.1)和 20 mL EDTA 溶液(A.2.2.2.2),用水定容至 1 L,分装后高压灭菌。

A.2.2.2.4 三氯甲烷-异戊醇溶液(24+1):量取 240 mL 三氯甲烷和 10 mL 异戊醇混匀。

A.2.2.2.5 核糖核酸酶 A(RNaseA, 10 mg/mL):生化试剂公司购买。

A.2.2.2.6 PCR 扩增试剂:生化试剂公司购买[PCR 扩增试剂包括: *Taq* DNA 聚合酶、dNTP、氯化镁($MgCl_2$)、PCR 缓冲液(含 $MgCl_2$)、引物(Primer)]。

A.2.2.2.7 电泳缓冲液 I (10 \times TBE):称取 108 g Tris 碱、55 g 硼酸和 7.44 g EDTA 混合,用重蒸水溶解后,在定容至 1 L。

A.2.2.2.8 电泳缓冲液 II (50 \times TAE):称取 242 g Tris 碱和 37.2 g EDTA 混合,加入 57.1 mL 冰醋酸,用重蒸水溶解后,定容至 1 L。

前 言

本标准代替 GB/T 7416—2000《啤酒大麦》。

本标准与 GB/T 7416—2000 相比主要变化如下:

——术语和定义中,增加了啤酒大麦的定义,去掉了水敏感性的描述,对二棱、多棱大麦等其他定义描述作了适当修改;

——将表 1 中项目“感官”改为“外观”,其描述未作修改;

——将原表 2 拆分为两个表格,二棱、多棱大麦理化指标分别列入两个表中;

——二棱、多棱大麦优级和一级的千粒重指标各提高了 1 个百分点,二级不变;

——对二棱、多棱大麦的蛋白质指标分别作了调整;

——将选粒试验改为饱满粒和瘦小粒,二棱、多棱大麦优级和一级的饱满粒指标各提高了 3 个~4 个百分点,二级不变,增加了瘦小粒的要求;

——取消了“水敏感性”指标,但将其测定方法放入附录 A 中;

——测定三天、五天发芽率的两个方法,将平皿法作为第一法,漏斗法改为第二法;

——判定规则中,主要指标除五天发芽率外,另增加了水分指标;

——将生产企业需要自行控制的一些指标的分析方法,作为附录 A 列出,供企业参考;

——将原附录 A、附录 B 合并。

本标准的附录 A 为资料性附录。

本标准由全国食品工业标准化技术委员会酿酒分技术委员会提出并归口。

本标准起草单位:中国食品发酵工业研究院、永顺泰麦芽集团有限公司、广州珠江啤酒股份有限公司、广州麦芽有限公司、北京燕京啤酒股份有限公司、宁波麦芽有限公司。

本标准主要起草人:张五九、康永璞、熊晓帆、方贵权、莫力、贾凤超、张海波、李惠萍、林艳、黄春燕、韩永红、古方红、柴凤萍。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为:

——GB 7416—1987、GB/T 7416—2000。