



百事糖标准与测试方法

2007年12月4日
南宁





议 程

■ 百事糖的标准

- 标准糖

- 处理糖

■ 百事糖测试的测试方法



百事可乐蔗糖标准* - 标准级

参 数	标 准	原 因
灰分 (%w/w)	最大值0.020%	饮料口味指标; 絮凝
色值	最大值45 I.U.	饮料口味指标
浊度	最大值25 A.U.	饮料口味指标; 絮凝
水份	最大值0.04%	回收率, 结块
旋光度	最大值99.8%	法律法规要求, 总体质量
沉淀物	最大值10 mg/Kg	总体质量, 目测;絮凝
絮凝	通过测试	饮料外观 (目测)
二氧化硫	最大值6 mg/Kg	潜在口味影响
口味, 气味和外观测试	通过测试	饮料口味
总菌	<200 CFUs/ 10 g	饮料微生物稳定性
酵母菌和霉菌	<10 CFUs/ 10 g	饮料微生物稳定性
还原糖	最大值0.04%	总体质量
铁	最大值1.0 mg/Kg	口味
砷	最大值1.0 mg/Kg	法律法规要求
铅	最大值0.1 mg/Kg	法律法规要求
铜	最大值1.0 mg/Kg	口味

* 糖必须要符合所有相关的法律法规的要求 (如, 重金属, 杀虫剂等.)



百事可乐蔗糖标准 – 处理级

参 数	标 准	原 因
灰分 (%w/w)	最大值0.05%	饮料口味指标; 絮凝
色值	最大值150 I.U.	饮料口味指标
浊度	最大值125 A.U.	饮料口味指标; 絮凝
水份	目标<0.05%;最大0.10%	回收率, 结块
沉淀物	目标<10 mg/Kg;最大20mg/kg	总体质量, 目测;絮凝
絮凝	通过测试	饮料外观 (目测)
二氧化硫	目标<6 mg/kg;最大15mg/kg	潜在口味影响
口味, 气味和外观测试	通过测试	饮料口味

* 糖必须要符合所有相关的法律法规的要求 (如,. 重金属, 杀虫剂等.)



百事糖测试方法目录

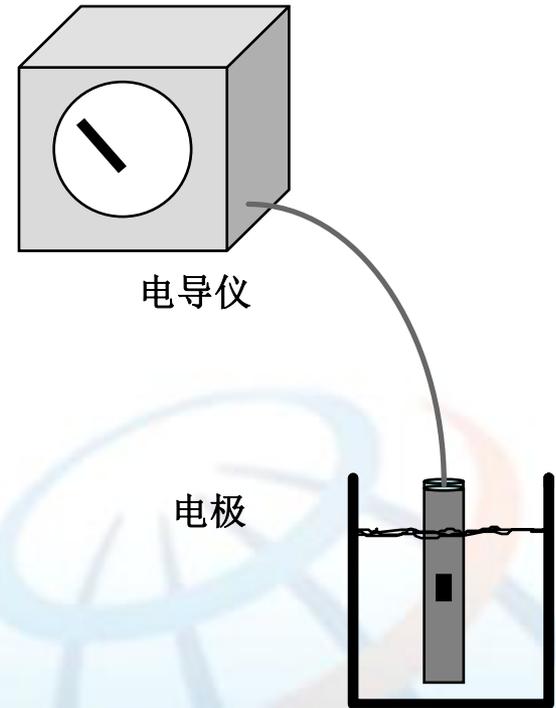
1. 灰分 (%w/w)
2. 色值和浊度
3. 水份
4. 旋光度
5. 沉淀物
6. 絮凝
7. 微生物 -- 总菌、酵母菌和霉菌
8. 二氧化硫
9. 口味, 气味和外观测试
10. 还原糖
11. 重金属测试 -- 铁, 砷, 铅, 铜



灰分测试

• 设备与试剂

- A) 电导仪
- B) 蒸馏水
- C) 0.01N KCl 电导校准液 ($1273\mu\text{S}/\text{cm}$, 20°C)
- D) 分析天平, $\pm 0.0001\text{ g}$
- E) 150 ml 烧杯
- F) 电磁搅拌器





灰分测试

• 测试步骤

1. 校正电导仪，校正温度控制在 $20^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$
2. 测量去蒸馏水（ 20°C ）的电导率
3. 配制糖样品：
用干净烧杯称取 28.0 ± 0.1 g糖，加入蒸馏水至糖溶液样品总重为 100.0 ± 0.1 g
4. 将样品的温度调至 $20^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$
5. 用样品溶液润洗电极2-3次
6. 将电极插入溶液中
7. 对糖样检测，记录读数并计算灰分含量

$$\text{灰分 \%} = \frac{\text{样品电导率} - (0.35) \times (\text{水电导率})}{1666.7}$$



灰分测试

- 注意事项

1. 校正

- a. 保证电导仪经过校正。校正温度确保在 $20^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$

2. 电极

- a. 每次使用的前后要清洁电极
- b. 将电极浸入样品溶液中，电极的检测池部分应全部浸没在溶液中。
- c. 电极应距离烧杯壁至少1/4英寸
- d. 除去附在电极上的气泡
- e. 用样品溶液润洗测试用的烧杯内壁2-3次，以确保作了彻底清洗。

3. 样品

- a. 搅拌过程中应密封烧杯口，防止水分蒸发。



百事糖测试方法目录

1. 灰分 (%w/w)
2. 色值和浊度
3. 水份
4. 旋光度
5. 沉淀物
6. 絮凝
7. 微生物 -- 总菌、酵母菌和霉菌
8. 二氧化硫
9. 口味, 气味和外观测试
10. 还原糖
11. 重金属测试 -- 铁, 砷, 铅, 铜



色值和浊度测试

• 设备与试剂

A) 分光光度计

- 10 cm 参比石英比色皿
- 10 cm 样品石英比色皿
- 波长 420nm

B) 真空过滤装置

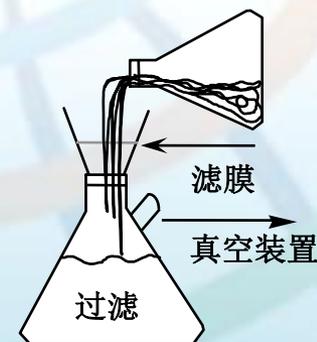
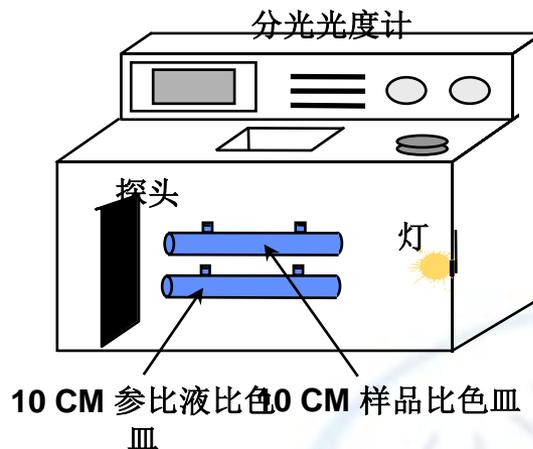
- 滤膜 47mm 直径
- 0.45 μ m 孔径

C) 天平, ± 0.01 g

D) 电磁搅拌器

E) 精密擦镜纸

F) 烧杯





色值与浊度测试

• 测试步骤

1. 分别称取 100 ± 0.1 g糖和 100 ± 0.1 g蒸馏水。开动电磁搅拌器，一边搅拌一边把糖加入水中。
2. 如果样品色值大于100 I.U，用0.1N HCl或0.1N NaOH调节PH至7.00
3. 取约一半样品进行过滤（0.45 μ m孔径滤膜）
4. 过滤后的样品脱气
5. 分光光度计：
 - a. 调节仪器的波长，420nm
 - b. 调零：用配制样品的去离子水，对分光光度计的样品比色皿和参比比色皿调零
6. 将过滤后的样品装入样品比色皿进行检测
7. 色值计算公式：

$$\text{色值 I.U.} = \frac{\text{过滤样品读数} \times 1000}{(\text{比色皿长度} / \text{厘米}) \times (\text{克} / \text{毫升固态糖})} \times 162.66$$



色值与浊度测试

8. 取在另一半未过滤的那部分样品。
9. 将样品装入样品比色皿进行检测。
10. 浊度计算公式：

$$\text{浊度 A.U.} = \frac{(\text{未过滤样品读数} - \text{过滤样品读数}) \times 1000}{(\text{比色皿长度} / \text{厘米}) \times (\text{克} / \text{毫升} \text{ 固态糖})} \times 162.66$$



色值和浊度测试

- 注意事项

1. 糖样的溶解

- a. 糖必需是符合水分含量要求。
- b. 用单独的容器分别称量水和糖样
- c. 搅拌过程中应密封烧杯口，防止水分蒸发

2. 校正

- a. 校正（调零）仪器和配制糖溶液应使用同样的蒸馏水
- b. 按质量手册和 / 或制造商的说明来校正分光光度计

3. 吸光值的读取

- a. 用精密擦镜纸擦干净比色皿两侧透光部分
- b. 确保比色皿中的样品没有气泡
- c. 使样品稳定一段时间，以得到稳定的读数



百事糖测试方法目录

1. 灰分 (%w/w)
2. 色值和浊度
3. 水份
4. 旋光度
5. 沉淀物
6. 絮凝
7. 微生物 -- 总菌、酵母菌和霉菌
8. 二氧化硫
9. 口味, 气味和外观测试
10. 还原糖
11. 重金属测试 -- 铁, 砷, 铅, 铜



水分测试

• 设备与试剂

- A) 烘箱
- B) 带盖的烘干专用表面皿（镍金属制品或其他适用制品）。
- C) 硅胶式干燥器**
- D) 镊子
- E) 分析天平， $\pm 0.0001\text{g}$





水分测试

• 测试步骤

1. 把烘干专用表面皿放进烘箱，在 $105^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 下烘30分钟。
2. 用镊子把表面皿放在硅胶式干燥器里，冷却至室温 $\pm 2^{\circ}\text{C}$
3. 精确称量表面皿的重量。
4. 取20-30g糖倒入表面皿中，精确称量其总重。
5. 将装有样品的表面皿放入烘箱，在 $105^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 下烘3小时。
6. 用镊子取出表面皿，放置到硅胶式干燥器里，冷却至室温 $\pm 2^{\circ}\text{C}$
7. 精确称量冷却后表面皿的重量
8. 计算水分公式：

$$\text{水分}\% = \frac{100 \times (W_2 - W_3)}{W_2 - W_1}$$

W_1 =表面皿的重量； W_2 =表面皿+干燥前样品的重量

W_3 =表面皿+干燥后样品的重量

9. 按照上述重做一次水分测试，重做的结果与前一次的结果相差应小于 $\pm 8\%$



水分测试

- 注意事项

1. 禁止手直接接触平皿，应使用镊子等工具。
2. 平皿干燥后，应尽可能快的称取糖样。
3. 确保烘箱温度控制在 $105^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$
4. 烘干专用平皿直径6-10CM，高2-3CM。
5. 平皿装的糖样品不要超过1CM厚。



百事糖测试方法目录

1. 灰分 (%w/w)
2. 色值和浊度
3. 水份
4. 旋光度
5. 沉淀物
6. 絮凝
7. 微生物 -- 总菌、酵母菌和霉菌
8. 二氧化硫
9. 口味, 气味和外观测试
10. 还原糖
11. 重金属测试 -- 铁, 砷, 铅, 铜



旋光度

- 设备与试剂

- A) 采用石英楔补偿器的检糖计(带国际糖度标尺, 单位 $^{\circ}\text{Z}$, 精确度 $\pm 0.01^{\circ}\text{Z}$)
- B) 恒温水浴箱 $20.0 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$
- C) 200mm旋光仪石英样品池
- D) 电磁搅拌器
- E) 天平, $\pm 0.0001\text{g}$
- F) A级100ml容量瓶



旋光度

• 测试方法步骤

1. 准确称量26.000g样品糖至100ml容量瓶里，添加蒸馏水至指示刻度
2. 将样品放置到水浴箱里至样品温度为 $20 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$
3. 将蒸馏水放置到水浴箱里至温度为 $20 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$
4. 用蒸馏水为旋光仪调零
5. 用样品液润洗2-3次样品池。
6. 检测样品，记录读数 P_t
7. 旋光值计算公式：
旋光值= $P_t [1 + 0.00032(t - 20)]$
式中： P_t —观测旋光度读数， $^{\circ}\text{Z}$
 t —观测 P_t 时糖液温度， $^{\circ}\text{C}$ 。



旋光度

- 注意事项
 1. 控制测试样品温度保持在 $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 。
 2. 确保仪器调零。



百事糖测试方法目录

1. 灰分 (%w/w)
2. 色值和浊度
3. 水份
4. 旋光度
5. 沉淀物
6. 絮凝
7. 微生物 -- 总菌、酵母菌和霉菌
8. 二氧化硫
9. 口味, 气味和外观测试
10. 还原糖
11. 重金属测试 -- 铁, 砷, 铅, 铜



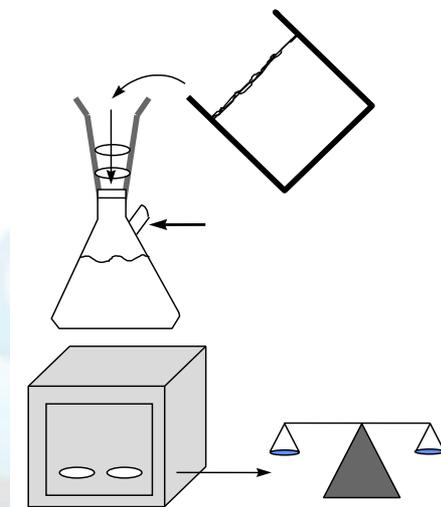
沉淀物测试

• 目的

检测糖的沉淀物含量，同时还提供在糖加工过程中是否存在局部高温引起的焦屑等沉淀物信息。

• 设备与试剂

- A) 真空过滤装置
- B) 硅胶式干燥器
- C) 50mm, 8 μ m孔径滤膜
- D) 烘箱, 60°C-65°C
- E) 烘干专用平皿(2价铝制品或其他适用制品)
- F) 搅拌器
- G) 分析天平, $\pm 0.0001\text{g}$
- H) 天平, Max 5Kg, $\pm 1\text{g}$
- I) 2L烧杯
- G) 10ml移液管
- K) 镊子
- L) 喷雾器
- M) 1-萘酚溶液 (1.0g 1-萘酚溶于100ml乙醇, 添加10ml 85%磷酸)





沉淀物测试

• 测试步骤

1. 称取 $1000 \pm 1\text{g}$ 糖至2L烧杯中，加入 95°C 的蒸馏水至糖溶液样品总容量约1800ml，称量样品总重
2. 保持温度 95°C 下搅拌至糖全部溶解
3. 精确称量过滤膜+平皿的重量，精确度 0.0001g
4. 用干净的镊子把过滤膜装在过滤器上，用 95°C 蒸馏水润湿整个过滤装置和过滤膜
5. 开始过滤糖样
6. 糖样过滤完以后，用1L约 95°C 蒸馏水冲洗烧杯和过滤器。确保过滤膜没有糖残留
7. 用干净的镊子把过滤膜转放入原来称量时的平皿里，放置在烘箱里 60°C - 65°C 烘一个小时
8. 用镊子把平皿盖子盖好，转放置到硅胶式干燥器冷却至室温
9. 精确称量过滤膜+平皿重量，精确度 0.0001g
10. 沉淀物计算公式：
$$\text{沉淀物ppm} = \frac{\text{过滤后的膜重量} - \text{过滤前的膜重量}}{\text{糖样品重量}} \times 10^6$$
11. 检查过滤后的膜是否残留有糖溶液。
 - a. 用1-萘酚溶液喷淋过滤膜。
 - b. 105°C 烘干，膜上不得有紫色痕迹。如果有，说明冲洗不干净，有糖液残留



沉淀物测试

- 注意事项

1. 所有与糖液接触的容器都要求用蒸馏水清洗干净。并且不得用布或纸擦拭容器。
2. 注意避免空气中的尘埃被吸附在过滤膜上。
3. 安装润湿滤膜时注意检查膜与过滤器支架之间是否存在空隙。



百事糖测试方法目录

1. 灰分 (%w/w)
2. 色值和浊度
3. 水份
4. 旋光度
5. 沉淀物
6. 絮凝
7. 微生物 -- 总菌、酵母菌和霉菌
8. 二氧化硫
9. 口味, 气味和外观测试
10. 还原糖
11. 重金属测试 -- 铁, 砷, 铅, 铜



絮凝测试 -- 颗粒糖

- 目的:

通过对糖的絮凝测试为饮料加工中形成的絮凝物提供一个指示参数。

- 设备与试剂

- A) 酸度计
- B) 搅拌器
- C) 天平, $\pm 1\text{g}$
- D) 1000ml玻璃广口瓶
- E) 滴管
- F) 85% 磷酸



絮凝测试 -- 颗粒糖

- 测试步骤

1. 称取**600**克样品糖溶解在**500**毫升蒸馏水中,慢慢加入**85%**磷酸调节糖溶液**pH**值到**1.5**
2. 盖上广口瓶盖,然后在室温下存放。
3. 分别在**3**天,**7**天和**10**天后,对样品进行观察,是否有絮凝出现。
4. 在观察时,要小心移动广口瓶.不可以摇动瓶子,因为絮凝很容易分散
5. 观察絮凝时,广口瓶要放在强光束前(建议在黑房内)进行观察. 因为絮凝可以是上浮的,悬浮的或下沉的状态,所以对每个样品都要从上而下地进行观察。



絮凝测试 -- 颗粒糖

- 注意事项
 1. 观察光源应尽量避免使用散光光源
 2. 观察应在黑暗的背景下进行
 3. 对每个样品都要从上而下地观察



糖浆的絮凝测试

- 目的

此方法用以衡量在实验室条件下，经过热碳处理的糖浆形成絮凝的可能性

- 设备与试剂

1. 天平 – (精确到0.1 g)
2. pH 计, 电极和校正用缓冲液 (pH 3, 7, 9)
3. 可加热的搅拌器
4. 吸液管
5. 玻璃表面皿—用以盖500mL 烧杯
6. 烧杯(500ml & 1000ml)
7. 真空过滤装置
8. 滤纸 (Whatman No.1, 或其他适用制品)
9. 温度计
10. 蒸馏水
11. 磷酸, 85 %
12. 活性炭 (灌瓶厂热碳处理过程中所用的活性炭)
13. 硅藻土(灌瓶厂热碳处理过程中所用的硅藻土)



糖浆的絮凝测试

• 测试步骤

1. 准备待测的颗粒糖样品,或处理级糖浆样品。如果是处理级糖浆样品,直接到第10步
2. 用1000 ml烧杯准确称量300.0 g (± 0.1 g) 糖样
3. 称量 200g 蒸馏水,加入到同一个烧杯
4. 将烧杯放到可加热的搅拌器上,搅拌加热至 80°C
5. 加入适量活性碳到此烧杯内 (活性碳的剂量依照灌瓶厂热碳处理时所用活性碳的比例计算)
6. 将烧杯放到搅拌器上,搅拌20分钟
7. 加入适量的助滤剂,搅拌混合均匀 (助滤剂的剂量依照灌瓶厂热碳处理时所用助滤剂的比例计算)
8. 装好真空过滤装置,放好Whatman No. 1 滤纸
9. 过滤糖浆溶液,收集滤液
10. 加蒸馏水稀释滤液至50 Brix (每 100 g 60 Brix 的滤液加 20g 蒸馏水).
11. 冷却至室温,准备测pH值。测试PH值前,先校正PH计
12. 用1 ml 吸液管滴加磷酸溶液至溶液pH值到 2.0 ± 0.1
13. 将糖浆放到可加热的搅拌器上,搅拌加热至沸腾。将烧杯移下,盖上玻璃表面皿,静置
14. 将糖浆保持没有干扰的条件下静置48小时。48小时以后,仔细观察糖浆溶液是否有絮凝出现。如果有,则说明这批糖不通过絮凝测试。
15. 如果48小时以后没有絮凝出现,再连续观察8天如果有絮凝出现,则说明这批糖不通过絮凝测试。如果没有,则这批糖通过絮凝测试。



糖浆的絮凝测试

- 注意事项

1. 观察用的玻璃表面皿要求光滑无划痕。
2. 注意控制加热强度，过强的加热会引起局部高温而使糖焦化。
3. 玻璃盖与烧杯之间注意密封性。可用密封膜将其密封。
4. 注意沸腾时间，当溶液开始沸腾后应立即停止加热，并把样品从加热器上移开。
5. 观察光源应尽量避免使用散光光源
6. 观察应在黑暗的背景下进行。



百事糖测试方法目录

1. 灰分 (%w/w)
2. 色值和浊度
3. 水份
4. 旋光度
5. 沉淀物
6. 絮凝
7. 微生物 -- 总菌、酵母菌和霉菌
8. 二氧化硫
9. 口味, 气味和外观测试
10. 还原糖
11. 重金属测试 -- 铁, 砷, 铅, 铜



总菌

- 目的

这个方法可适用在样品糖在干燥或液体的情况下,评估总菌落计数是必需的.

- 试剂和培养基

A)TGE琼脂 (品牌:Difco或其它相等的产品)

依照工厂的指示准备

高压灭菌锅设定在121 °C, 压力15-17 磅下15分钟进行消毒

在25 °C温度下,培养剂的pH应在7.0 +/- 0.2.

B) 革兰氏染色试剂:

结晶紫

革兰氏碘液

脱色剂

番红色染料

C)70% 酒精

D)去离子水-经过消毒

E)m-总菌肉汤 (品牌:Difco或其它相等的产品)



总菌

• 仪器及器材

1. 培养箱- 温度范围在 $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 10\text{C}$
2. 蒸汽高压灭菌锅
3. 天平 – 称量能力 1200g , 灵敏度 0.1g
4. 计数器—机械式或手摇计数器
5. 琼脂冷却水浴锅—可调节到 $45\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$
6. 多光路显微镜
7. 过滤支架
8. 直径为 150mm 和 100mm 无菌培养皿
9. 10ml 无菌移液管
10. 无菌的 100ml 量筒, 或无菌乳稀释瓶, 烧瓶或标有 40ml 标记的烧杯
11. 装琼脂的玻璃容器—良好的玻璃器皿(硼硅酸盐)和能够经受高压消毒的防漏的瓶盖
12. 已消毒的过滤膜— 0.45 微米
13. 47mm 已消毒的培养皿(如果使用液体的琼脂, 要加入吸水衬垫)
14. Millipore 55 监测过滤器
15. 使用Millex过滤器制造灭菌水(0.22 微米)
16. 50ml 塑料注射器





总菌

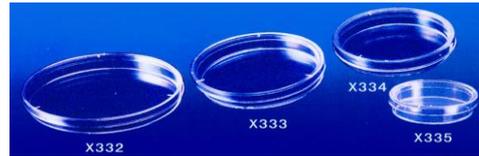
- 样品准备

1. 在无菌条件下称取**20克**的样品糖代表性样品到一个已消毒的**100ml**容器中（如., 无菌乳稀释瓶, 烧瓶或锥形瓶），并已对其在**40ml**容量标记处进行校正。
2. 加入无菌水到**40ml**标记处并摇动使其充分混合
3. 采用标准平板计数法或膜过滤法其中的一种对此溶液进行分析



总菌

- 平板法



1. 用无菌移液管各移取**20毫升**糖溶液到**2个150 mm** 有标记的培养皿中.倒入**50-60毫升**的以冷却到**45 °C**的**TGE琼脂**到培养皿.盖上皿盖后,然后把培养皿向同一方向打漩,在反方向打漩,使样品和琼脂充分的混合.
2. 等琼脂凝固后,把培养皿倒置放入**35 °C +/- 1 °C**的培养箱中,培养至少**48小时**不多于**96小时**.
3. 对两个培养皿进行读数并记录单个的结果在实验室的微生物记录本上.
4. 如果发现**霉菌和酵母**在总菌计数板上,计数时要将它们包含在内.对这些案例,要使用多光路的显微镜进行菌种鉴定.



总菌

膜过滤法



1. 准备有**TGE**琼脂的**47**毫米培养皿. 二选一的方法: 1. 在吸水垫上浸透**TGE**液体琼脂;2. 用凝固的琼脂
2. 带盖子过滤器放入高压灭菌器内消毒**15**分钟,灭菌器设定在**121 °C**,**15-17**磅的压力下消毒**15**分钟. 把过滤器安装在支架上(真空瓶或多头连接支架上)
3. 用**70%** 酒精浸泡镊子对其进行消毒.
4. 在无菌的环境下打开**0.45**微米过滤膜的包装物和用消毒过的镊子取出一片.
5. 打开过滤漏斗把过滤膜放在基座的中间.把漏斗放回原位, 在这过程中要防止把过滤膜压裂
6. 到入**20**毫升糖溶液到漏斗内并快速盖上盖子防止空气污染
7. 打开真空泵, 让样品全部通过滤膜
8. 用大约**30**毫升的无菌蒸馏水冲洗漏斗和滤
9. 打开真空泵
10. 过滤掉所有溶液,用消毒过的镊子取下过滤膜并放入已经准备好琼脂的培养皿中. 确保过滤膜要和琼脂或吸水垫完全接触,不可以有空气,否则会影响细菌生长.
11. 培养皿盖要盖紧,保持培养皿内部潮湿的环境,防止干裂.
12. 用无菌水清洗过滤装置并重复多次.
13. 把培养皿倒置放入**35 °C +/- 1 °C**的培养箱中,培养至少**48**小时不多于**96**小时.
14. 对两个培养皿进行读数并记录单个的结果在实验室的微生物记录本上.



总菌

- 监测过滤器法 (Monitor)
 1. 把监测过滤器插入真空瓶或多头过滤支架上并连接真空泵
 2. 打开监测过滤器的盖子并把盖子倒放在工作台上。
 3. 倒**20**毫升样品到监测过滤器内
 4. 打开真空泵并加如总菌培养剂.培养剂可以从上加也可以从底部加入。
 5. 盖上盖子和塞子.当在底部加入培养剂时,防止过滤膜在基座上脱落。
 6. 把培养皿倒置放入**35 °C +/- 1 °C**的培养箱中**48**小时
 7. 对两个培养皿进行读数并记录单个的结果在实验室的微生物记录本上





酵母菌和霉菌

- 目的

这个方法可适用在样品糖在干燥或液体的情况下,评估酵母菌和霉菌是必需的.

- 试剂和培养基

- A) **PDA琼脂** (品牌:Difco或同类型产品)依照工厂的指示准备
高压灭菌锅设定在**121 °C**, 压力**15-17 磅**下**15分钟**进行消毒
在**45 °C**的水浴锅中降温
在使用前每**100毫升**培养剂加入**1毫升**无菌**10%酒石酸**, 轻轻混合.调整培养剂的**pH 在3.5 +/- 0.1**
加入**10%酒石酸(无菌)**后不能加热
- B) 配制**10%酒石酸**, 称取**10克**酒石酸到**90毫升**蒸馏水.
无菌水可通过**0.22微米**的过滤器进行过滤
酒石酸储存在室温下
- C) 革兰氏染色试剂:
结晶紫
革兰氏碘液
脱色剂
番红色染料
- D)**70% 酒精**
- E)去离子水-经过消毒
- F)**m-Green**酵母菌和霉菌培养剂(**Difco**或同类型产)



酵母菌和霉菌

仪器及器材

1. 培养箱- 温度范围在 $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 10\text{C}$
2. 蒸汽高压灭菌锅
3. 天平 - 称量能力 1200g , 灵敏度 0.1g
4. 计数器—机械式或手摇计数器
5. 琼脂冷却水浴锅—可调节到 $45\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$
6. 多光路显微镜
7. 过滤支架
8. 直径为 150mm 和 100mm 无菌培养皿
9. 10ml 无菌移液管
10. 无菌的 100ml 量筒, 或无菌乳稀释瓶, 烧瓶或标有 40ml 标记的烧杯
11. 装琼脂的玻璃容器—良好的玻璃器皿(硼硅酸盐)和能够经受高压消毒的防漏的瓶盖
12. 已消毒的过滤膜— $0.45\text{ }\mu\text{m}$
13. 47mm 已消毒的培养皿(如果使用液体的琼脂, 要加入吸水衬垫)
14. Millipore 55 监测过滤器
15. 使用Millex过滤器制造灭菌水($0.22\text{ }\mu\text{m}$)
16. 50ml 塑料注射器





酵母菌和霉菌

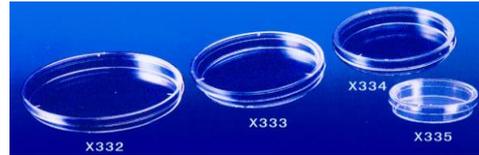
- 样品准备

1. 在无菌条件下称取**20克**的样品糖代表性样品到一个已消毒的**100ml**容器中（如., 无菌乳稀释瓶, 烧瓶或锥形瓶），并已对其在**40ml**容量标记处进行校正。
2. 加入无菌水到**40ml**标记处并摇动使其充分混合
3. 采用标准平板计数法或膜过滤法其中的一种对此溶液进行分析



酵母菌和霉菌

- 平板法

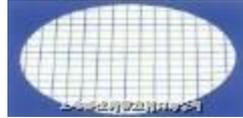


1. 用无菌移液管各移取**20毫升**糖溶液到**2个150 mm** 有标记的培养皿中.**PDA**冷却到**45 °C**,在使用前加入酒石酸并倒**50-60毫升**入培养皿. 盖上皿盖后,然后把培养皿向同一方向打漩,在反方向打漩,使样品和琼脂充分的混合.
2. 等琼脂凝固后,把培养皿倒置放入**25 °C +/- 1 °C**的培养箱中,培养**5天(120 小时 +/- 2 小时内)**.
3. 对两个培养皿进行读数并记录单个的结果在实验室的微生物记录本上.
4. 如果发现**有霉菌和酵母**在总菌计数板上,记数时要将它们包含在内.对这些案例,要使用多光路的显微镜进行菌种鉴定.



酵母菌和霉菌

膜过滤法



1. 准备有PDA琼脂的47毫米培养皿. 二选一的方法: 1. 在吸水垫上浸透PDA液体琼脂;2. 用凝固的琼脂
2. 带盖子过滤器放入高压灭菌器内消毒15分钟,灭菌器设定在121 °C,15-17磅的压力下消毒15分钟. 把过滤器安装在支架上(真空瓶或多头连接支架上)
3. 用70% 酒精浸泡镊子对其进行消毒.
4. 在无菌的环境下打开0.45微米过滤膜的包装物和用消毒过的镊子取出一片.
5. 打开过滤漏斗把过滤膜放在基座的中间.把漏斗放回原位, 在这过程中要防止把过滤膜压裂
6. 到入20毫升糖溶液到漏斗内并快速盖上盖子防止空气污染
7. 打开真空泵, 让样品全部通过滤膜
8. 用大约30毫升的无菌蒸馏水冲洗漏斗和滤
9. 打开真空泵
10. 过滤掉所有溶液,用消毒过的镊子取下过滤膜并放入已经准备好琼脂的培养皿中.确保过滤膜要和琼脂或吸水垫完全接触,不可以有空气,否则会影响细菌生长.
11. 培养皿盖要盖紧,保持培养皿内部潮湿的环境,防止干裂.
12. 用无菌水清洗过滤装置并重复多次.
13. 把培养皿倒置放入25 °C +/- 1 °C的培养箱中,培养5天(120 小时 +/- 2 小时内).
14. 对两个培养皿进行读数并记录单个的结果在实验室的微生物记录本上.



酵母菌和霉菌

监测过滤器法 (Monitor)

1. 把监测过滤器插入真空瓶或多头过滤支架上并连接真空泵
2. 打开监测过滤器的盖子并把盖子倒放在工作台上.
3. 倒**20**毫升样品到监测过滤器内
4. 打开真空泵并加如**m-Green**培养剂.培养剂可以从上加也可以从底部加入.
5. 盖上盖子和塞子.当在底部加入培养剂时,防止过滤膜在基座上脱落.
6. 把培养皿倒置放入**25 °C +/- 1 °C**的培养箱中**5天(120 小时 +/- 2 小时内)**.
7. 对两个培养皿进行读数并记录单个的结果在实验室的微生物记录本上





百事糖测试方法目录

1. 灰分 (%w/w)
2. 色值和浊度
3. 水份
4. 旋光度
5. 沉淀物
6. 絮凝
7. 微生物 -- 总菌、酵母菌和霉菌
8. 二氧化硫
9. 口味, 气味和外观测试
10. 还原糖
11. 重金属测试 -- 铁, 砷, 铅, 铜



SO₂测试

• 设备

1. 分光光度计，波长560nm
2. A级100ml，500ml和1L容量瓶
3. A级2ml，10ml和25ml移液管
4. 10ml滴定管，最小刻度为0.05ml
5. 分析天平， $\pm 0.0001\text{g}$
6. 试管和锥形瓶

• 试剂

1. 饱和苯胺红溶液：1g苯胺红试剂加入蒸馏水溶解成100ml 溶液，加热到50°C后冷却到室温，静置48小时后过滤
2. 脱色的苯胺红溶液：取饱和的苯胺红溶液4ml到100ml容量瓶，加入6ml 1.18g/ml 的浓盐酸，加入蒸馏水之刻度。注意：配置后必须静置1小时以上才能使用
3. 0.2%甲醛溶液
4. 10%纯糖溶液
5. 0.1N NaOH 溶液
6. 1mol/L 盐酸溶液
7. 碘指示剂 0.05mol/L
8. 碘（淀粉）指示剂
9. 0.1mol/L 硫代硫酸钠溶液
10. 七水亚硫酸钠



SO₂测试

• 测试步骤

1. 称取10-40g样品糖，用100ml容量瓶定容至标示刻度。
 - a. 根据糖SO₂的含量范围确定称量重量。
 - b. 0-5ppm SO₂ 称取40g糖
 - c. 5-15ppm SO₂ 称取20g糖
 - d. 15-30ppm SO₂ 称取10g糖
2. 用A级移液管转移10ml样品糖溶液至洁净的试管里，加入2ml脱色的苯胺红溶液和0.2%甲醛溶液2ml。在室温条件下静置30分钟后使用
3. 配制标准亚硫酸钠溶液：
 - a. 称量2.5g七水亚硫酸钠，放入500ml容量瓶中，加入10%纯糖溶液至指示刻度
 - b. 取25ml碘指示剂，移至300ml锥形瓶，加入10ml 1mol/L盐酸溶液，再加入100ml蒸馏水混合均匀。接着用A级移液管取25ml亚硫酸钠溶液至锥形瓶中混合均匀
 - c. 用0.1 mol/L 硫代硫酸钠溶液滴定3. b. 所述溶液至粉红色出现。接着滴加0.2-0.5ml碘（淀粉）指示剂，然后继续滴定至蓝色出现
 - d. 记录所用0.1 mol/L 硫代硫酸钠溶液的毫升数 “L”
4. 稀释标准亚硫酸钠溶液：
 - a. 用A级移液管移取5ml标准亚硫酸钠溶液，用10%纯糖溶液稀释至100ml。
 - b. 计算稀释后标准亚硫酸钠浓度： $C = (25-L) \times 3.203 \times 2 \mu\text{gSO}_2/\text{mL}$



SO₂测试

5. 配置不同浓度亚硫酸钠溶液:

- 分别用**A级移液管**移取第4.a.所述“稀释后标准亚硫酸钠溶液” **N=1, 2, 3, 4, 5和6ml**到**6个**洁净的**100ml**容量瓶中。此外，取一只空的容量瓶作为空白对照样
- 分别在**7只**容量瓶里加入**4ml 0.1N NaOH**溶液
- 再分别加入**10%糖溶液**至容量瓶的指示刻度，混合均匀
- 从每只容量瓶里用**A级移液管**取**10ml**样品至洁净的试管中
- 每个试管里分别添加**2ml**脱色的苯胺红溶液和**0.2%甲醛溶液2ml**。在室温条件下静置30分钟后使用

6. 分光光度计:

- 调节仪器的波长，560nm
- 调零：用蒸馏水，对分光光度计的样品比色皿和参比比色皿调零
- 先测试第5步所述的空白对照样，再按照其他浓度的亚硫酸钠溶液
- 接着测试第一步配制的样品糖溶液

6. 计算公式:

- $SO_2 \mu g \text{值} = (C \times N) / 10$ ，C=稀释后标准亚硫酸钠浓度，N=第5步的a. 移取标准亚硫酸钠溶液的毫升数
- 用标准亚硫酸钠溶液的测试结果画出“ $SO_2 \mu g \text{值}$ —吸光值”曲线图。
- 用作图法求出第一步配制样品的 $SO_2 \mu g \text{值}$

Module Title 计算糖样品的SO₂含量： $\frac{\text{作图求出的} SO_2 \mu g \text{值} \times 10}{\text{样品糖的重量}}$ mg SO₂/kg 样品糖 49



百事糖测试方法目录

1. 灰分 (%w/w)
2. 色值和浊度
3. 水份
4. 旋光度
5. 沉淀物
6. 絮凝
7. 微生物 -- 总菌、酵母菌和霉菌
8. 二氧化硫
9. 口味, 气味和外观测试
10. 还原糖
11. 重金属测试 -- 铁, 砷, 铅, 铜



糖的口味、气味和外观

- 目的

这个测试是用来评估糖的口味,气味和外观

- 仪器及试剂

- A) 无异味的塑料杯和盖
- B) 标准糖样品, 已通过口味测试并得到认可的糖(例如., 符合百事标准的高品质糖)
- C) 食品级85% 磷酸
- D) 天平- 精度 + 0.1 g
- E) 100 mL 容量瓶
- F) 自动移液枪和移液管
- G) 磁力搅拌器
- H) 蒸馏水/去离子水或处理水符合以下标准:

碱度	<15 ppm (as CaCO ₃)
硬度	<25 ppm (as CaCO ₃)
总固溶物	<50 ppm
氯	不得检出
味道和气味	不能有异味



糖的口味、气味和外观

- 样品配置
 1. 在**100ml**的容量瓶内称取**10.0克**的糖样品
 2. 加入**90 mL**的去离子水(无色无味)
 3. 加**35微升85%磷酸**到容量瓶内(或使用滴管进行添加,**pH** 范围控制在**2.4 – 2.6**)
 4. 把磁力搅拌子放入容量瓶内
 5. 盖紧容量瓶塞,保证所有的气味都保存在容量瓶内
 6. 把容量瓶放在磁力搅拌器上,搅拌**5分钟**或以上,直至样品完全溶解
 7. 把混合好的糖样品倒入口味测试专用塑料杯并盖上盖子
 8. 保持糖样品的密封性等待测试



糖的口味、气味和外观

- 气味测试

1. 把配制的糖样品倒入口味测试专用塑料杯并盖上盖子
2. 拿起杯子并轻轻旋转样品杯(不可以用力摇)
3. 把杯子拿近鼻子边,打开杯盖闻闻样品
4. 评估气味
5. 记录造成异味污染的原因或发现的异味(与标准糖样品进行比较)
6. 测试样品不能有异味.



糖的口味、气味和外观

- 外观测试
 1. 在良好的光源下观测所配制的糖溶液
 2. 评估样品的外观
 3. 糖溶液必须是澄清
 4. 测试样品不能有明显的沉淀或混浊





糖的口味、气味和外观

- 口味测试
 1. 喝2口同样的测试样品
 2. 让样品铺面整个舌面
 3. 吞下样品
 4. 评估口味 (与标准糖样品进行比较)
 5. 记录异常味道、造成异味污染的原因



糖的口味、气味和外观

- 注意事项

确保最终糖溶液的pH值控制在**2.4 – 2.6**范围内. 对 pH 值的影响因素包括水质,仪器的精确度和试剂的使用,和被测试的糖样品的性质



百事糖测试方法目录

1. 灰分 (%w/w)
2. 色值和浊度
3. 水份
4. 旋光度
5. 沉淀物
6. 絮凝
7. 微生物 -- 总菌、酵母菌和霉菌
8. 二氧化硫
9. 口味, 气味和外观测试
- 10. 还原糖**
11. 重金属测试 -- 铁, 砷, 铅, 铜



还原糖

- 目的

这个方法用于检测样品糖中的%还原糖含量

- 试剂

- A) 碱性铜试剂 – 把**25克碳酸钠**和**25酒石酸钾钠**溶解在**600毫升**已加入**40毫升1.0摩尔/升氢氧化钠**溶液中,转移到**1升**的容量瓶中. 称**6克**的**五水硫酸铜**溶解**100毫升**去离子水,加入到之前配制的碱性溶液中,定容到**1000毫升**并充分混合.
- B) **0.0025摩尔/升EDTA**溶液
- C) 红紫酸铵指示剂- 称取**0.5克**红紫酸铵+**0.15克**亚甲基蓝+**40克**氯化钠,混合好放入干燥皿内保存,防止因潮湿造成结块.
- C) 标准糖 – 还原糖含量低于**0.002%**

- 器材

- A) 天平- 可读**到2毫克**
- B) 试管
- C) 白瓷皿
- D) 水浴
- E) 滴定管和移液管



还原糖

• 测试方法

1. 称去**5克**的糖样品到试管中,加入**5毫升**的去离子水,摇动溶解不可以加热.
2. 把溶解的样品完全转移到白瓷皿内,加入**0.1克**指示剂
3. 用**EDTA**溶液对样品进行滴定, 样品从绿色转变成灰色,终点时是紫色.
4. 每个样品需要测平行样,记录平均值**T**.

注意:

如果滴定是<4毫升时,要加入一个已知的标准糖稀释样品,确保得到准确的结果.

稀释的方法: 1. 称取**1或2克**的样品糖,加入标准糖到总重为**5克**.

2. 按照测试方法**1至4**进行测试

注意: 必须要测出标准糖的%还原值



还原糖

- 计算

1. %还原糖含量可以从对照表中查取

2. 高%还原糖的计算公式:

用精确的滴定值查取对照表X5

%还原糖=

糖样品的质量

标准糖的%还原X使用质量

5

Titration Volume		%
Tml EDTA solution (3.2)		Reducing Sugars
1.7 - 2.2		0.017
2.3 - 2.9		0.016
3.0 - 3.6		0.015
3.7 - 4.2		0.014
4.3 - 4.8		0.013
4.9 - 5.5		0.012
5.6 - 6.2		0.011
6.3 - 6.8		0.010
6.9 - 7.5		0.009
7.6 - 8.1		0.008
8.2 - 8.7		0.007
8.8 - 9.4		0.006
9.5 - 10.1		0.005
10.2 - 10.7		0.004
10.8 - 11.3		0.003
11.4 - 11.8		0.002



百事糖测试方法目录

1. 灰分 (%w/w)
2. 色值和浊度
3. 水份
4. 旋光度
5. 沉淀物
6. 絮凝
7. 微生物 -- 总菌、酵母菌和霉菌
8. 二氧化硫
9. 口味, 气味和外观测试
10. 还原糖
11. 重金属测试 -- 铁, 砷, 铅, 铜



铁 砷 铅 铜 ---原子吸收光谱法

- 目的

这个方法用于检测糖或精炼糖中的铁,砷, 铅, 铜含量

- 试剂

- A) 铁,砷, 铅, 铜(1000ppm)标准液
- B) 硝酸, 分析纯
- C) 30%双氧水
- D) 不含重金属的蒸馏水/去离子水 (电阻=18MΩ)

- 仪器和器材

- A) 原子吸收光谱(火焰或石墨炉)
- B) 天平
- C) 移液管
- D) 容量瓶
- E) 锥形烧瓶





铁 砷 铅 铜 ---原子吸收光谱法

- 原子吸收光谱设置参数:

原子: 铁 铜 铅 砷
波长: 248.3nm 324.7nm 283.3nm 193.7nm

- 标准金属溶液配制

1. **50ppm工作金属标准溶液:**移取**5毫升1000ppm**的原溶液到**100毫升容量瓶**中,用不含重金属的蒸馏水定容
2. **1ppm金属标准溶液:** 移取**2毫升金属标准溶液**和**10毫升10%硝酸**到**100毫升容量瓶**中,用不含重金属的蒸馏水定容
3. **2ppm金属标准溶液:** 移取**2毫升金属标准溶液**和**5毫升10%硝酸**到**50毫升容量瓶**中,用不含重金属的蒸馏水定容
4. **4ppm金属标准溶液:** 移取**2毫升金属标准溶液**和**2.5毫升10%硝酸**到**25毫升容量瓶**中,用不含重金属的蒸馏水定容
5. **空白:**移取**10毫升10%硝酸**到**100毫升容量瓶**中,用不含重金属的蒸馏水定容



铁 砷 铅 铜 ---原子吸收光谱法

- 样品准备

1. 准确称取**5克**的样品糖到锥形烧瓶中,在烧瓶装上过滤漏斗
2. 准备一个锥形烧瓶作为空白试剂瓶
3. 加入**10毫升**硝酸到烧瓶中,在加热板上慢慢加热直到棕色的烟雾差不多减退
4. 让烧瓶冷却下来,加入**5毫升30%**双氧水
5. 再次加热直到有棕色的烟雾
6. 重复**4-5**步骤两次
7. 盖上盖子
8. 冷却后转移到**50毫升**容量瓶中,用不含重金属的蒸馏水进行定容



铁 砷 铅 铜 ---原子吸收光谱法

• 测试

1. 对分光计进行例行校正
2. 参照设备的分析法，原子吸收光谱设置工作参数
3. 向终端输入积分时间
4. 向终端输入浓度
5. 吸收值（0至4.000A）和浓度（0.1至100X）示数为四位数字显示
6. 通过调整火焰高度、波长设定和阴极管位置，得到最大吸收值
7. 将要通过喷雾器吸气的样品放置到位。要测定的金属浓度应在0.001到0.050个吸收单位之间。每次测量应有大约2毫升的溶液
8. 制备要在与试验样品相同的溶剂中分析的、具有已知金属浓度的标准溶液
9. 测定样品及标准溶液的吸收值。应在每次试验的开始和结束之时分析标准溶液。在较长时间的试验中，还要定期分析。在各个样品或标准溶液试验之间，还要试验空白溶液或溶剂，以验证示数的稳定性
10. 通过在预先编程的线性工作范围之内进行浓度校正，直接依据数字显示值确定被分析的金属浓度
11. 完成后，废弃标准溶液



百事糖查阅资料及COA要求

#	测试	可接受标准或范围	百事方法或交替的参考书目	供应商测试和COA要求	
				测试频率要求	需要COA
1	口味评估 1.口味 2.气味 3.外观	1. 通过 2. 通过 3. 通过	168.003或ISBT Pcedure2.0 Granular Sucrose Manual	每一个批次	要
2	色值在420nm	最大值45 ICUMSA	190.002或ICUMSAGS2/3-10	每一个批次	要
3	浊度	最大值25 A.U.	190.002或ISBT Pcedure1.0 Granular Sucrose Manual	每一个批次	要
4	灰分	最大值0.020%	139.001或ICUMSAGS2/3-17	每一个批次	要
5	旋光度	最大值99.8%	ICUMSAGS2/3-1	GMP	不要
6	水份	最大值0.04%	ICUMSAGS2/1/3-15	GMP	不要
7	二氧化硫	最大值6 mg/Kg	ICUMSAGS2/1/7-33或CRA E-67A	GMP	不要
8	铅	最大值0.1 mg/Kg	ICUMSAGS2/3-24	GMP	不要
9	铁	最大值1.0 mg/Kg	109.108或ICUMSAGS2/3/7/8-31	GMP	不要
10	砷	最大值1.0 mg/Kg	ICUMSAGS2/3-23	GMP	不要
11	铜	最大值1.0 mg/Kg	109.108或ICUMSAGS2/3-29	GMP	不要
12	还原糖	最大值0.04%	ICUMSAGS2/3-5	GMP	不要
13	沉淀物	最大值10 mg/Kg	177.003或ICUMSAGS2/3-19	GMP	不要
14	絮凝	通过测试	ICUMSAGS2/3-40	每一个批次	不要
15	总菌	<200 CFUs/ 10 g	700.075或ISBT Pcedure 4 Granular Sucrose Manual	每个季度	不要
16	酵母菌	<10 CFUs/ 10 g	700.075或ISBT Pcedure 5 Granular Sucrose Manual	每月	不要
17	霉菌	<10 CFUs/ 11 g	700.075或ISBT Pcedure 5 Granular Sucrose Manual	每月	不要

2018年4月1日

Draft Pilot Only - Business Confidential



谢谢大家!
问题?

