

国外食品标准和检验方法汇编

(第 一 辑)

(1 9 8 9 年 1 2 月)

(第 二 版)

上海进出口商品检验局情报资料室

目 录

1. 色拉调料中聚山梨酸酯 60 的比色和薄层层析测定·····	1
2. 荷兰可可粉质量规格·····	9
3. 矿物油真空蒸馏法测定油煎咸肉中亚硝基胺〈用热能分 析器〉的协作研究·····	15
4. 食品的(商业)无菌(低酸罐头)微生物学方法·····	41
5. 在食品中金黄色葡萄球菌 微生物学方法·····	46
6. 葡萄球菌 表面种植(培养)方法用作分离和计算食品中的金 黄色葡萄球菌·····	47
7. 用疏水格膜过滤方法检测食品中的大肠菌群值, 粪大肠 杆菌群值和埃希氏大肠杆菌·····	49
8. 反相液相色谱测定蜂蜜中磺胺噻唑的残留量·····	55
9. 巴西出口可可豆的分类标准·····	62
10. 厄瓜多尔可可豆的品质标准·····	68
11. 刚果出口可可豆的标准·····	69
12. 法国袋装绿咖啡·····	70
13. 法国可可豆取样·····	77
14. 斯里兰卡可可豆标准规格·····	84
15. 马来西亚可可豆品质·····	92
16. 咖啡和茶 绿咖啡·····	96
17. 咖啡豆缺陷和杂质的测定·····	114

色拉调料中聚山梨酸酯

60 的比色和薄层层析测定

本文介绍了色拉调料中聚山梨酸酯 (PS60) 的定量和验证方法。样品在二氯甲烷和水两者之间分配, 二氯甲烷萃取液进而经硅胶柱层析处理, 离析的 PS60 和硫代钴氰酸铵络合, 然后在 620 毫微米分光光度测定。此外, 显示聚山梨酸酯存在的确证试验, 由改进的 Drogendoff 试剂作显色剂, 薄层分析来证实。

PS60, 是山梨醇的聚氧乙基脂肪酸酯和它的缩水酯的复杂混合物。它广泛地用作食品添加剂和调味辅料, 联邦管制法规规定: 对不同的食品 PS60 的用量水平为 1% 或低于 1%, 而色粒调料的限量为 0.3% (3 毫克 PS60 / 每克调料)。

文献中介绍过很多测定 PS60 的分析方法; Murphy 和 Scott (2) 用索氏提取法从焙烤食品中提取 PS60, 而酯, 用薄层层析进一步检测 (TLG)。Smullin 等 (3) 则把聚山梨酸酯 60 皂化, 并用磷钼酸钡沉淀产生的聚山梨醇来分析一些食品基质中的 PS60。Lindner (用气相色谱的方法对聚山梨酸酯分子中的脂肪酸酯部分作了定量。Boyer 等 (5) 用硫代钴氰酸铵络合法对环境中的聚乙氧基去垢剂进行了定量。对复杂的食品分析, 为了消除干扰物质, 这些方法都需要耗费时间的样品制备过程。所以更是选择性的样品制备需时较短的分析方法是适宜的。

在此我们介绍了一种由硅胶柱和比色技术相结合的测定色拉调料中 PS60 的方法; 纵然 PS60 可用于多种食品, 但 PS60 广泛地用于各种形式的色拉调料中, 所以我们的研究工作仅限于色拉调料;

这类基质不仅是复杂得足以提供方法的需要，而且避免了发生在如焙制的那类食品中热分解的复杂情况。文章介绍了使用由Murphy和Scott详为介绍和修正的Dragendorff试剂的薄层层析步骤，并用以验证比色法测定的结果。

基于和特殊功能团（氧-1，2-乙二烯），多聚物反应的比色技术是专一的。而PS60恰恰是全部或部分地由聚氧乙烯链组成的含有许多不同化合物的复杂混合物，具有聚氧乙烯链的这些物质，包括PS60，可分为二种主要形式：多聚酯和多聚醇，多聚酯由山梨醇分子和一个或多个脂肪酸以聚氧乙烯链键合，每个分子具有总数相当于20个的氧乙烯。多聚醇包括氧乙烯聚合物，如山梨醇的衍生物，它有一个或多个聚氧乙烯链（但没有脂肪酸酯），这些聚氧乙烯链不是食品所固有的，而在PS60中是所有的化合物所共有的。

样品在二氯甲烷和水二者间液液分配，分离两相，为了净化，把二氯甲烷萃取液浓缩，并注入硅胶柱层析，硅胶柱用乙腈淋洗，除去样品的干扰组分，PS60用二氯甲烷、甲醇和丙酮的混合液洗脱，洗脱液蒸干，残留物用二氯甲烷稀释至定容。然后，择液和硫代钴氰酸铵试剂反应，在620毫微米处测量光密度。所得的结果，用修正的Dragendorff试剂的薄层层析检测步骤来验证。

方法

仪器装置

(1) 分光光度计——可见波紫外波段，Cary 18型(Varian Associates Palo Alto, CA 94303)或相当的仪器。

(2) 玻璃柱：长25厘米，外径17毫米，内径14.5毫米

(Konteo Co., Vineland, NJ 08360) .

(3) 薄层层析展开器——Camag Vario KS (Camag Inc., 16229 W Ryerson Rd, New Berlin, WI 53151), 附有18×2.5厘米溶剂室和18×18厘米溶剂盘(使近盘处气层呈饱和状态) .

(4) TLC展开器的溶剂(吸收) 纱布条: Camag Inc.,

(5) 预涂TLC平板: 硅胶60, 20×20厘米, 厚0.25毫米 (Scientific Products Div., American Hospital Supply Corp. McGaw, IL, 60085)

(6) TLC喷雾器: Supelco Cat. No. 5~8005 (Supelco, Inc., Bellefonte, PA 16823), 或相当的 .

(7) 紫外灯: Chromato-Vue Cabinet (Ultra-Violet Products Inc., San Gabriel, CA 91778), 或相当的 .

(8) 旋转蒸发器: 附有24/40磨砂玻璃接头 (Buchler Instrumento Inc., Fort Lee, NJ 07024)

(9) 恒温水浴: Buchler Instrumento Inc.,

试剂

(1) 溶剂: 甲醇、二氯甲烷、乙腈、丙酮。玻璃蒸馏器重蒸质量级 (Burdick & Jackson Laboratories, Inc., Muskegon, MI 49442) .

(2) 硫代钴氰酸铵试剂: 溶解6.2克硫氰酸铵、2.8克硝酸钴和5.0克氯化钠于250毫升水中(所有的试剂符合美国化学品标准, Fisher Scientific Co., Pittsburgh, PA 15219, 或相当的), 用水稀释到500毫升。以100毫升二氯甲烷萃取杂

质。

(3) 聚山梨酸酯 60 (PS60) : 从下列的供应者得到的 PS60, 它们具有相同的比色吸光值和一致的 TLC 模式: Emery Industries, Inc., PO Box 628 Mauldin, PA 17701; Hodag Chemical Co., 7247N Central Park Ave, Skokie, IL 60077; ICI Americas, Inc., Atleo Chemical Division, Wilmington, DE 19810; PVO International, Inc., 416 Division St, Boonton, NJ 07005

(4) 高真空润滑脂: Dow Corning Corp., Midland, MI 48640

(5) 硅胶: 7% 水去活 (Fisher Scientific Co.) 硅胶在 100 °C 真空烘箱中加热 4 小时, 100 克硅胶加 7 毫升水, 混和均匀, 贮于密封罐内。

(6) 离心机: Sorvall RC-3 (Dupont Instrument-Sorvall Biomedical Div., Dupont Co., Newtown, CT 06470) 或相当的, 备有 50 毫升试管座。

(7) 真空烘箱: National Appliance Co., Portland OR 97204, 或相当的。

(8) 修正的 Dragendorff 试剂: 溶 1.7 克亚硝酸铋于 20 毫升醋酸, 为了得到澄清液可略为加热。加 80 毫升水和 40% 碘化钾溶液 100 毫升, 加 200 毫升醋酸。标以溶液 A, 并贮存于暗处。溶解 20 克氯化钡于 75 毫升水, 并用水稀释到 100 毫升, 制得溶液 B。此两种溶液稳定 2 个星期, 使用前混合 2 份溶液 A 和

1 份溶液 B (6) 制备成喷雾溶液。

样液萃取和液液分配

称 5 克氯化钠于 250 毫升的分液漏斗中，加 5 克色拉调料、125 毫升二氯甲烷和 25 毫升水，激烈振摇 200 次（如果必要，分析者可记录振摇 200 次所需要的时间，并对随后的萃取按此时间操作），待液层分离，放二氯甲烷层于 200 毫升容量瓶，水相层再用 75 毫升二氯甲烷萃取。强烈振摇 200 次，合并二氯甲烷萃取液于 200 毫升容量瓶。把二氯甲烷溶液定容到 200 毫升，定量地移 150 毫升萃取样液于 250 毫升圆底烧瓶，剩余样液放在一边作 TLC 分析。用带有水抽气泵的蒸发器，减压蒸除 150 毫升样液至 5~15 毫升。

硅胶柱层析

加 7 克硅胶于玻璃层析柱，先以 25 毫升乙腈清洗柱，排出乙腈，使乙腈液面高出填充的硅胶顶部 1 毫米。移样液于层析柱，4 × 25 毫升的乙腈淋洗，在每次淋洗后，洗液排出至液面近层析柱填充物的顶部。用 150 毫升二氯甲烷-甲醇-丙酮液（55 + 30 + 15）从层析柱洗脱 PS60，洗脱液收集于 250 毫升圆底烧瓶内，在旋转蒸发器上蒸除所有的溶剂，立即把残渣溶于 20 毫升二氯甲烷，移入 50 毫升容量瓶，并用二氯甲烷定容。

标准曲线

用移液管吸取 PS60 标准贮存液（3 毫克 PS60 / 毫升二氯甲烷）1、2、4、8、15 和 30 毫升于 100 毫升容量瓶内，用二氯甲烷稀释定容，得到浓度分别为 0.03、0.06、0.12、0.24、0.45 和 0.90 毫克 / 毫升的标准溶液，分别吸取各标准液 20 毫升

于 60 毫升分液漏斗。每个分液漏斗定量地添加 20 毫升硫代钴氰酸铵试剂，激烈振摇 100 次，于 1500 转/分离心 20 分钟，620 毫微米处测吸光值（色泽在半小时后明显地减弱）绘制吸光值对应浓度的标准曲线。

测定

移液管吸取 20 毫升净化的样液于 60 毫升的分液漏斗，按标准测定所述的步骤进行比色，620 毫微米处测量吸光值。从标准曲线读出样液的 PS60 的浓度，样品中 PS60 的含量如下计算：

$$C = C' \times (50 / 150) \times (200 / W)$$

此处 C，样品中 PS60 的浓度（毫克/克）；

C'，从标准曲线查得的样液中 PS60 的浓度（毫克/毫升）；

W，样品的重量（克）。

TLC 分析

将硅胶薄层层析板划分成 2 × 20 厘米的 8 个通道。离通道底部，英寸处，点出足以容纳 6 微克聚山梨酸酯样液的穴位。点加多至 400 微升的样品萃取液。在样液一边的通道上点上 5.0 微克聚山梨酸酯标准液；在另一边的通道上点上 8.0 微克的 PS60 标准液。把薄层层析展开室的溶剂室或盘充上二氯甲烷，置薄板于层析器内，随着二氯甲烷，脂肪从原点移离展开至薄板顶端 2 厘米处。置层析板于架上 1 小时，任二氯甲烷蒸发，在紫外光照射下观察薄板，如果在原点和原点以上 8 厘米的范围内有萤光淬灭物质存在，再次在二氯甲烷溶液中展开，至展开相达薄板顶端 2 厘米处，重复干燥过程。给层析展开室的溶剂室或盘充上二氯甲烷—甲醇—丙酮—水

(55 + 20 + 15 + 4) 展开液，置薄板于层析室内，并展开至 8 ~ 10 厘米。其后，喷以修正的 Dragendorff 试剂，得到四个色点。Dragendorff 试剂把多聚酯（低极性斑）转变为橙色。把多聚醇（强极性斑）转变为粉红色。Dragendorff 试剂喷后，再喷以亚硝酸钠溶液以增强聚氧乙烯的检测(7)。

结果和讨论

在不添加 PS60 的商品色拉调料中，我们添加水平在 0.1、0.3 和 1 % 的 PS60，经比色法分析测定，平均回收率分别为 82、85 和 86 %。这些结果列于表一。

表1 色拉调料中 PS60 的添加回收率^a

水平 % (W / W)	平均回收率 %	变异系数 %
0.1	82	3.7
0.3	85	2.4
1.0	86	1.3

a：每个水平 9 次测定的平均值。

我们还分析了 6 种稳定的乳胶调料，它们都含有 PS60 的组分。列于表 2 的结果是用薄层层析法验证过的。每个样品四个色斑的 R_f 值分别为 0.5、0.6、0.7、0.8。存在于色斑间的色线产生于 PS60 混合物的复杂性。由于 R_f 值是有一些变化的，所以参比的标准液要包括在每块微层层析板上。用 Dragendorff 溶液喷雾使斑点显色，和标准对照的 TLC 步骤测定值为比色法测定值的

表二 稳定乳胶调料中的 PS60 含量^a

调 料	PS60 毫克/克 ^{b, c}
乳胶 意大利 A 级	2.6
乳胶 意大利 B 级	1.7
乳胶 苏联	0.9
乳胶 干岛群岛	1.0
乳胶 低热量法国	2.3
黄瓜乳胶	1.7

a. 用 TLC 半定量证实的值。

b. 结果用平均回收率 84.4 % 校正。

c. 双试验

100 % ± 20 %。

我们用由 Coupkova 等介绍的 Wiebull 法鉴定了 PS60 中哪些色斑是多聚酯，和哪些色斑是多聚醇。方法是将样品于氯化钠水溶液和乙酸乙酯溶液中分配。多聚酯保留在乙酸乙酯相中，而多聚醇溶于水相中。多聚醇是两个极性大的色斑（ R_F 值小），多聚酯为两个极性小的色斑（ R_F 值大）。

用 6 份 25 毫升的二氯甲烷—甲醇—丙酮（55 + 30 + 15）的洗脱剂，通过层析柱洗脱 PS60，把每一份洗脱液点在硅胶层析板上，在最后一份洗脱液中无山梨酸酯检出。薄层层析证实了所有的 PS60 能被 150 毫升的流动相从硅胶柱上洗脱。

上述的分析技术可用于各种色拉调料中 PS60 的分析，硅胶柱/

络合比色测定方法提供了对样品中乙氧基化合物的快速定量。方法的特点是基于层析柱可用如乙腈这样的极性溶剂，在二氯甲烷—甲醇—丙酮混合液洗脱PS60之前，把样品中的干扰组分洗除，并用TLC得到PS60特性的进一步的证实。

译自J. AOAC (Vol. 65 No 11982)

荷兰可可粉质量规格

质量规格的重要性：

不论消费者或卫生当局，对食品和糖果都须建立严格的标准。此外，由于生产的不断发展，以及产品系列变得越来越多样化，对于原料、中间体及制造技术的要求项目就不断增加，这也要求食品制造商付出越来越多的时间和注意力。因此，对制造商来说必须要从那些能够提供质量规格产品十分可靠的供应商那里获取他所要的原料和中间体。他们应尽可能规定这一产品的性质。这些性质的规定关系到完善的制造方法和确保最终产品的良好效果。这种规格必须体现安全保证。用菲列浦B·克考斯比的话来说：“如这样加工的产品不应也不会引起麻烦”。

我们将这种安全保证说明如下：

安全性：原料必须没有有害成份。

卫生条件：原料的生产必须是在食品工业中应用高标准卫生学的条件下生产的。

能存期限：原料不得具有为害最终产品储存的性质。

稳定性：原料应当适合于今后长期加工的需要，并在固定的条件下进行。这样才能达到最终产品质量的一致性。

只有质量规格：没有绝对的保证。

供应的产品要能始终如一和完全满足要求，单就质量规格本身而言，它并不能构成一个绝对的保证。因此，加工者必需对进厂的物料进行检查。这种控制加工程序的频率和程度取决于所承担的风险和费用。当广泛使用各种原料和生产规模的扩大，这种风险也就增加了。除了这一事实外，就是即使最好的扦样程序也有怀疑的余地。如果一切工作进行得太快，就不可能控制每批进厂原料中的所有重要问题。实际上，最主要的解决办法是对供应商的选择。至于敏感性较强的可可粉尤为如此。对于供应商的选择也是取决于食品制造商提供给市场的最终产品的质量。制造商只有依赖他的原料供应商才能保证他自己的最终产品的质量，这就是许多年来，De Zean的基本理论。

要向我们的消费者提供一贯高质量的产品，则既需费用，又要努力，要有一种非常有效的管理方法不断地保证加工制造的进行，要有现代化的，有经验的化学家和设备完善的实验室条件、建立我们产品的可靠性应能减轻消费者一部分负担和质量管理的费用。诚然消费者必须正确地知道他们购买的是什么。而且一定有机会来验证是否符合他的愿望。所以，De Zean是第一个对可可工业提出质量规格的人。我们规定并保证可可粉的性状。我们也向消费者提供用于检查他所购之物的分析方法。这对众多消费者来说在一个不熟悉的领域提供了良好指南。

评论规格的关键：

当判断可可粉的质量规格时，人们会提出第一个问题，这些规格的关键是否真正对可可粉有用。要规定可可粉的多项特征来说明其质量并不困难（例如：可以碱、钙、糖等的含量）。然而，这些特征对大多数食品制造商没有意义。所以，常用的质量规格应当是 a) 适用于好的可可粉。b) 在数据和有关方面都要对可可粉质量最为满意。De Zean 规格是依据高质量标准对可可粉作了广泛而明知的说明，并胜过了现有的法定要求。对食品制造商来说当可可粉的质量规格能够符合这样的标准，它就达到了有效的安全界限，亦就获得了优质产品。当然这种规格是产品性状的常规，是为使用于多种加工类型设计的，但必须得到实现。关于规格关键的选择，这是加工商对他的最终产的不同情况进行研究后而确定。巧克力牛奶制造商要特别注意含壳量（它会对机器引起磨损和破坏作用）。速溶产品制造商应特别关心规格中的细菌指标。按照法定的要求，一个零售包装的供应商必须注意脂肪的含量。所以并不是每一个可可粉方面的专家都能对这种关键作出解释。在着手进行详细说明这种规格之前，必须弄清楚一件事；质量规格应经常考察其有关的分析方法，予以校正。此外，用另外的话说，没有适当的分析方法，即使规定得再好，广泛而明智其规格也就没有多大的意义。

图表：见 p 13。

脂肪含量

食品法规定了可可粉脂肪含量的最小百分率。工业加工商可以在这种法定范围内选择他的产品最适合的脂肪含量。如早就规定的

那样，在技术上经压榨的可可粉脂肪含量达到10.0%精确度那是不可能的。因此，公差限度是非常必要的，但限度应当尽可能地小。我们规定了脂肪含量在 $\pm 1.0\%$ 的幅度。

pH值：

目前有二种主要类别的可可粉：碱化可可粉和天然可可粉（荷兰式和天然加工）。非碱化可可粉颜色比较淡带有一点天然的涩味。通过广泛研究和实践经验的结果，我们能提供多种类别不同颜色和风味的碱化可可粉。为了使今后产品质量的变化保持在小范围以内，在碱化加工时，必须监控原料可可豆的天然质量的差别。碱化工艺可提高天然酸性的可可豆的pH值。酸度是取决于碱化的程度。我们将pH值的公差限度控制在 ± 0.2 之内。

细度：

因为对于可可粉的视觉细度是没有标准的，所以本项目出现混乱。在干筛过程中，微细的可可粉粒常会凝聚在一起，并很难分离开。然而在水份与热的影响下，它们又是确实可以分离的。如：在制造最终产品时的可可粉是可以使用的。对可可粉细度的真正判断依据是凭目测印象和对最终产品的味觉接受程度。对可可粉加工商来说测定细度的最好方法则是用热水湿洗后筛分测试。

水分含量：

有的食品法允许可可粉水份含量高达9%以上。这实际上太高了一点。在储藏和运输期间，温度快速下降。这样一个较高的水份含量就会导致冷凝，这就使产品中霉菌滋长。根据我们经验，水份含量5%较为安全的。

可可粉标准规格

	类别 N	类别 A	类别 V	类别 S	类别 ASOL 磷脂处理过的标准 荷兰式加工
脂肪含量	9.0±1.0%至 23.0±1.0%	9.0±1.0%至 23.0±1.0%	11.0±1.0%至 23.0±1.0%	11.0±1.0%至 23.0±1.0%	11.0%±1.0%至 7.0±1.0%
PH 值	5.85±0.35	b)	7.5±0.2	8.0±0.2	7.2±0.2
细度湿法 200 目 c)	99.7±0.2%	99.7±0.2%	99.7±0.2%	99.7±0.2%	99%
最大含水量	5%	5%	5%	5%	5%
最大含壳量 d)	1.75%	1.75%	1.75%	1.75%	1.75%
最大杂菌总量/(克) e)	5.000	5.000	5.000	5.000	5.000
霉菌/克 (最大)	50	50	50	50	50
酵母菌/克 (最大)	50	50	50	50	50
大肠菌群/克	无	无	无	无	无
埃希氏大肠杆菌/克	无	无	无	无	无
沙门氏菌/10 克	无	无	无	无	无

另外我们的可可粉能符合我们国家的所有食品法规定。这些规格适用于产品出厂后贸易过程抽取的平均样品。

a) 可可白脱含量：不包括含脂 4—6%的大豆磷脂(含 15%的磷)

b) A 类的 PH 含脂 8/10% 7.1±0.2

A 类的 PH 含脂 10/12—18/20% 7.2±0.2

A 类的 PH 含脂 20/22—22/24% 7.4±0.2

c) 筛子设计相当于：200 目 = $D_{10} - 80 = 0.075$ 毫米

d) 以碱化后可可仁计算

e) 中等值 300

f) 中等值 5

保证不用人工消毒。

含壳：

因为从技术上来说，要完全去除含壳的可可粉是不可能的。所以，食品法对产品的含壳量规定了最高百分率的限量。由于可可粉的含壳量是产品质量的一个重要因素，所以可可粉制造商必须提供一种最少含量的可可粉。豆壳——“可可豆的外包装”，通常是受到严重的污染；如：受农药的污染。同时也显示出比较差的细菌污染情况。可可豆壳含有硅质细胞非常坚硬会引起设备，如：轧滚成均质器的较大程度的磨损和损坏。另外，含壳量较高对可可粉的风味也不利。因此对于可可粉的使用者来说要求含壳最低的产品是有充足的理由的。很遗憾的是可可制品的含壳量很难测定，为此目的所使用的许多技术都不能令人满意。国际上公认的一种可靠方法已经我们的实验室加以发展了。

微生物学特点：

可可粉是一种广泛使用于消费品的原料。其中许多产品是为儿童所消费。有时，这些产品在加工中未经过加热杀菌或者在食用前，不经过预先加热处理，速溶产品就是这种例子。因此，对可可粉，非常必要建立严格的细菌标准。

香味与色泽：

香味是不能用数字来表示的。所以，在标准规定中，你就不可能找到它们。虽然所有标准规定的特征都是非常重要，但遗憾的是消费者的判断是根据最终产品的香味和色泽。这一点非常重要对加工工业来说对于这些要求，可可粉要能令人满意，尤其是尽可能地保持始终如一。因此要有可靠方法测定交货是否符合标准样品的香味和色泽。

摘要：

可可粉质量包括许多方面。有些项目更为重要，每个加工商对自己的产品，有特殊的要求。当然对于所有使用者来说卫生条件特别重要。脂肪含量百分率的少量差异对大多数最终产品没有什么影响。但是，埃希氏大肠杆菌被核定为阳性者经常被拒绝进入产品。生产始终如一的高质量可可粉，要求多方面的专业知识，非常的谨慎和有现代化的设备。视察工厂对原料的供应是一种最好的途径来检测他们对产品的质量控制的。

管妙法译自“Cocoa Powder for
Industrial Processing”

陈佐唐校

矿物油真空蒸馏法测定油煎咸肉中

亚硝基胺（用热能分析器）的协作研究

测定六种亚硝基胺：二甲基亚硝胺（DMNA），二乙基亚硝胺（DENA），二丁基亚硝胺（DBNA），亚硝基替哌啶（NPIP），亚硝基吡咯烷（NPYR）和亚硝基吗啉（NMOR）协作性地研究了由Greenfield所报告的矿物油真空蒸馏——热能分析器法。预先筛选熟咸肉使其只存在低水平的DMNA和NPYR通过添加，设计其研究所概括的范围为5 - 17ppb。所有咸肉在340°F的电热长柄小锅中烹熟。使平锅热平衡，咸肉的每一面油煎3分钟并且只