

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 2659—2014

牛乳脂肪、蛋白质、乳糖、总固体的 快速测定 红外光谱法

**Rapid determination of fat,protein,lactose and total solids in milk—
Infrared spectrometry**

**(ISO 9622: 1999, Whole milk-Determination of milkfat,protein and lactose
content-Guidance on the operation of mid-infrared instruments,NEQ)**

2014-10-17 发布

2015-01-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准非等效采用 ISO 9622:1999《全脂牛乳—乳脂肪、蛋白质和乳糖含量测定—中红外仪操作指南》(Whole milk-Determination of milkfat, protein and lactose content-Guidance on the operation of mid-infrared instruments)。与 ISO 9622:1999 相比主要区别如下:

- 删除原标准的红外测定仪的主要特征、采样、试样均匀性、检验报告等章节及附录 A、附录 B、附录 C;
- 增加试剂和仪器等章节;
- 将影响测定准确度的因子和仪器校准等章节修改为本标准的附录 A;
- 将仪器短期稳定性的日检查修改为本标准的附录 B。

本标准由农业部畜牧业司提出。

本标准由全国畜牧业标准化技术委员会(SAC/TC 274)归口。

本标准起草单位:农业部乳品质量监督检验测试中心(哈尔滨)。

本标准主要起草人:李琴、巩军、姜金斗、徐萍、褚中秋、尹凤芝、陶大利、韩秋红、王迎俊。

牛乳脂肪、蛋白质、乳糖、总固体的快速测定 红外光谱法

1 范围

本标准规定了牛乳中脂肪、蛋白质、乳糖、总固体的牛乳红外光谱仪快速测定方法。

本标准适用于牛乳中脂肪、蛋白质、乳糖、总固体的快速测定。

本标准各组分检出限为 0.01 g/100 g。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB 5009.5 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定

GB 5413.3 食品安全国家标准 婴幼儿食品和乳品中乳糖、蔗糖的测定

GB 5413.5 食品安全国家标准 婴幼儿食品和乳品中脂肪的测定

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

均质牛乳中甘油酯的羰基在 $5.7\ \mu\text{m}$ 处(脂肪 A)、碳氢基在 $3.5\ \mu\text{m}$ 处(脂肪 B)红外吸收测定脂肪;肽键的胺基在 $6.5\ \mu\text{m}$ 处红外吸收测定蛋白质;乳糖的羟基在 $9.6\ \mu\text{m}$ 处红外吸收测定乳糖。以上 3 个测定值加 0.7% 维生素及无机盐在牛乳红外光谱仪内计算总固体含量。

4 试剂

除非另有规定,本方法所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的三级水。

4.1 专用防腐剂。

4.2 重铬酸钾($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$)。

4.3 叠氮化钠(NaN_3)。

5 仪器设备

5.1 恒温水浴锅: $(45 \pm 1)^\circ\text{C}$ 。

5.2 牛乳红外光谱仪。

a) 仪器测定准确度的影响因子的控制,按附录 A 的规定执行。

b) 仪器稳定性日检查,按附录 B 的规定执行。

5.3 采样管。

6 试样制备

6.1 样品从采集到测定,常温下放置不应超过 2 h, $2^\circ\text{C} \sim 6^\circ\text{C}$ 条件下放置不应超过 72 h。如超过上述时间,需加入防腐剂。

6.2 常用防腐剂使用方法如下:

a) 专用防腐剂,按使用说明加入,充分溶解,摇匀;

b) 重铬酸钾(4.2):在试样(6.1)中浓度 0.1 g/100 mL,此样品在室温下可保存 2 d;在 $2^\circ\text{C} \sim 6^\circ\text{C}$ 条

件下可保存 5 d;

- c) 叠氮化钠(4.3):在试样(6.1)中浓度 0.03 g/100mL,此样品在室温下可保存 2 d;在 2℃~6℃条件下可保存 5 d。

7 分析步骤

7.1 使用恒温水浴锅(5.1)或等同设施,使试样测试前预热至 $(40\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 。且上下颠倒 9 次,水平振摇 6 次。

7.2 按牛乳红外光谱仪(5.2)操作说明书的规定进行测定。

8 结果表述

仪器计算结果,精确至小数点后 2 位,单位为质量分数(%)。

9 精密度

9.1 重复性条件下获得的 2 次独立测试结果的绝对差值不大于 0.06%。

9.2 再现性条件下测定值(不包括离群值)标准差不大于 0.045%。

注:实验室间的再现性考察,仪器的校准应使用同一参比方法定值的同批次校准样品。

附 录 A
(规范性附录)
仪器测定准确度影响因子的控制

A.1 测量线性

A.1.1 线性范围

A.1.1.1 脂肪线性范围质量分数宜为 2.5%~5.0%，测高脂牛乳产地的牛乳红外光谱仪宜将上限提到 7.0%。

A.1.1.2 蛋白质线性范围质量分数宜为 2.5%~4.0%，测高蛋白质牛乳产地的牛乳红外光谱仪宜将上限提到 5.0%。

A.1.1.3 乳糖线性范围质量分数宜为 4.0%~6.0%。

A.1.2 测定线性样品的制备

在以上线性范围内制备不同浓度的脂肪、蛋白质、乳糖样品各 6 个。配制的原料及比例见表 A.1 所示。

表 A.1 原料及其配制比例

脂肪样品			蛋白质样品			乳糖样品		
脂肪含量 5.0%牛奶	水	浓度,%	蛋白质含量 4.0%脱脂乳	水	浓度,%	乳糖含量 6.0% 乳糖溶液	水	浓度,%
100	0	5.0	100	0	4.0	100	0	6.0
90	10	4.5	92.5	7.5	3.7	93.3	6.7	5.6
80	20	4.0	85	15	3.4	86.7	13.3	5.2
70	30	3.5	77.5	22.5	3.1	80	20	4.8
60	40	3.0	70	30	2.8	73.3	26.7	4.4
50	50	2.5	62.5	37.5	2.5	66.7	33.3	4.0

A.1.3 参比方法

A.1.3.1 脂肪:按 GB 5413.3 规定的方法进行测定。

A.1.3.2 蛋白质:按 GB 5009.5 规定的方法进行测定。

A.1.3.3 乳糖:按 GB 5413.5 规定的方法进行测定。

A.1.4 分析步骤

每个浓度样品按第 7 章规定的方法进行二次平行测定,结果达到重复性条件下的精密度要求,取算术平均值,得到仪器测定值。

每个浓度样品按 A.1.3 规定的参比方法进行测定,得到参比方法测定值。

A.1.5 结果计算

线性相关系数以 τ 计,数值以质量分数(%)表示,按式(A.1)计算。

$$\tau = \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x_i - \bar{x})^2 \sum (y_i - \bar{y})^2}} \dots\dots\dots (A.1)$$

式中:
 x_i ——第 i 次仪器测定值,单位为质量分数(%);

$\bar{x}$ ——仪器测定值的算术平均值,单位为质量分数(%);

y_i ——第 i 次参比方法测定值,单位为质量分数(%);

$\bar{y}$ ——参比方法测定值的算术平均值,单位为质量分数(%).

计算结果保留 4 位有效数字。

A.1.6 线性要求

线性相关系数 r 应不小于 0.999 0。

A.2 样品池清洗效率

A.2.1 测定样品池清洗效率的样品制备

以牛乳和水各 10 个为试样,成双相间排列:水、水、牛乳、牛乳、水、水……

A.2.2 分析步骤

按第 7 章规定的方法测定脂肪、蛋白质、乳糖的含量。

A.2.3 结果计算

样品池清洗效率以 E 计,数值以质量分数(%)表示,按式(A.2)计算。

$$E = \frac{\sum M_1 - \sum W_2}{\sum M_2 - \sum W_2} \times 100 \quad \text{..... (A.2)}$$

式中:

M_1 ——成双牛乳样的第一个测定值,单位为质量分数(%);

W_2 ——成双水样的第二个测定值,单位为质量分数(%);

M_2 ——成双牛乳样的第二个测定值,单位为质量分数(%).

A.2.4 样品池清洗效率的要求

样品池清洗效率 E 应在 $100\% \pm 1\%$ 范围内。

A.3 校准有效性的确认

A.3.1 初始校准的检查

A.3.1.1 样品要求

用于检查的样品为牛乳,数量不小于 6 个,应同时满足以下条件:

- 脂肪、蛋白质、乳糖的含量均在仪器测量线性范围内(A.1.1);
- 体细胞含量不超过 10^6 sc/mL;
- 样品在感官上不应变质。

A.3.1.2 分析步骤

同 A.1.4。

A.3.1.3 结果计算

以仪器测定值为横坐标 x ,参比方法测定值为纵坐标 y ,作图。线性回归方程如式(A.3)。

$$y = ax + b \quad \text{..... (A.3)}$$

该线性回归方程的剩余标准差以 S 计,数值以质量分数(%)表示,按式(A.4)计算。

$$S = \sqrt{\frac{\sum [y_i - (ax_i + b)]^2}{n - 1}} \quad \text{..... (A.4)}$$

式中:

y_i ——第 i 次参比方法测定值,单位为质量分数(%);

x_i ——第 i 次仪器测定值,单位为质量分数(%);

n ——测定次数。

A.3.1.4 校准有效性的确认

剩余标准差 S 应不大于 0.06%；否则，应重新校准。

A.3.2 期间核查

A.3.2.1 期间核查周期

仪器校准状态期间核查的周期为 3 个月。当发生下列情况之一时，应随时进行期间核查：

- a) 参比方法修订；
- b) 牛乳红外光谱仪的主要部件，包括样品池、均质器、光学部件等进行维修或更换；
- c) 牛乳红外光谱仪稳定性日检查发生异常。

A.3.2.2 分析步骤

选 n 个 (≥ 6) 试样，分析步骤同 A.1.4。

A.3.2.3 校准有效性的确认

期间核查结果应同时满足以下条件，否则应重新校准：

- a) n 个 (≥ 6) 试样的仪器测定值和参比方法测定值之差的算术平均值不超过 $0.2/n^{1/2}$ ；
- b) n 个 (≥ 6) 试样的仪器测定值和参比方法测定值之差的标准差不超过 0.1%。

附 录 B

(规范性附录)

仪器稳定性日检查

B.1 质控样制备和贮存

B.1.1 质控样制备

B.1.1.1 取超高温灭菌乳,制成若干份质控样,用于质控图制作及一个或数个工作日的仪器稳定性的检查。

B.1.1.2 检查均匀度:按5%随机抽出质控样,用红外光谱仪作一系列单项测定,计算各项测定值的标准差。标准差均低于0.02%,表明均匀性合格;否则,应重新制备。

B.1.2 质控样贮存

可按6.2或6.3加入防腐剂,4℃条件下保存使用不超过2周。

B.2 质控样测定

B.2.1 制图:在重复性条件下,按第7章规定的方法测定,获得不少于20次的质控样测定结果。

B.2.2 日检查质控样:每个工作日,每测定20个~100个样品后,应测定一个质控样。

B.3 质控图制作

B.3.1 横坐标

质控样测定次数。

B.3.2 纵坐标

参比方法测定值 m_0 。

B.3.3 上下个体线

参比方法测定值加/减个体值的置信值($m_0 \pm I_c$)为起点,沿横坐标方向,水平画2条直线。

置信水平99%的个体值的置信值以 I_c 计,数值以质量分数(%)表示,按式(B.1)计算。

$$I_c = 5.16 \times S_r \quad \text{..... (B.1)}$$

式中:

S_r ——重复性条件下测定定标质控样结果的标准差,单位为质量分数(%)。

注:若实验要求更严,宜选用95%置信水平,则将式(B.1)中的5.16改为3.92计算。

B.3.4 上下置信带

参比方法测定值加/减累积测定平均值的置信值($m_0 \pm M_c$),对应测定次数描点,连接各点画2条弧线。

置信水平99%的累积测定平均值的置信值以 M_c 计,数值以质量分数(%)表示,按式(B.2)计算。

$$M_c = \frac{I_c}{\sqrt{n}} \quad \text{..... (B.2)}$$

式中:

I_c ——置信水平99%的个体值的置信值,单位为质量分数(%)

n ——质控样测定次数。

B.3.5 日检查质控样绘制

B.3.5.1 将日检查质控样个体测定值以“·”形式标在相应次数的测定值上,依次以“——”连接。

B.3.5.2 将日检查质控样累积测定平均值以“×”形式标在相应次数的测定值上,依次以“——”连接。

B.3.6 质控图示例

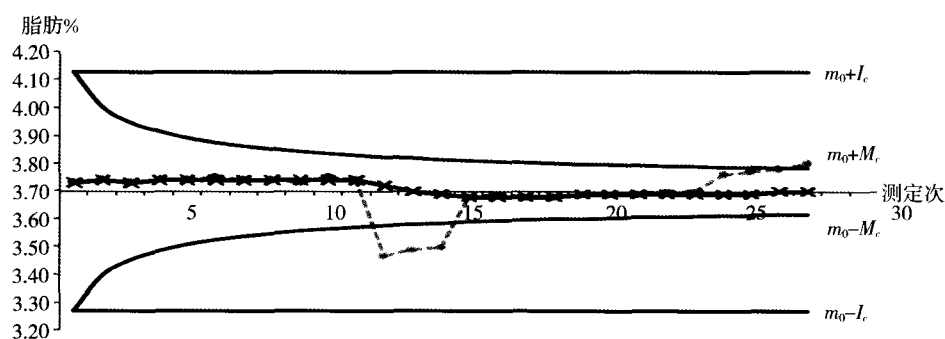


图 B.1 质控图示例

B.4 质控结果判断

B.4.1 个体测定值在上、下个体线内表明合格,否则不合格。

B.4.2 累积测定平均值在上、下置信带内表明合格,否则不合格。

B.4.3 若连续两个累积测定平均值处于同一(上或下)置信带之外,说明仪器发生飘移。此时,它们的个体测定值的偏离方向相同。

B.4.4 若个体测定值有 3 个或 4 个处于 2 条个体线附近或之外,说明质控样质量不佳,使仪器重复性变差。

B.5 质控措施

B.5.1 首先检查质控样质量,用同一批次未开包装的质控样测定至少 3 次。若测定结果在质控图上表明不合格,则说明质控样质量不佳,按 B.1 制备新的质控样,更换旧的,且重新制作质控图。

B.5.2 若按 B.5.1 检查的质控样没问题,则按 A.2 测定样品池清洗效率。若清洗效率达不到标准要求,则应该清洗样品池或更换。重新测定质控样 3 次,若结果处于质控图限度之内,则仪器调零补偿飘移,继续测定。

B.5.3 若仪器调零后测定值又处于质控图限度之外,则停止运行,重新校准,且重新制作质控图。