

ICS 67.100.10
X 82



中华人民共和国国家标准

GB/T 5413.1~5413.32—1997

婴幼儿配方食品和乳粉通用检验方法

**Analytical methods of milk powder and formula foods
for infant and young children**

1997-05-28 发布

1998-09-01 实施

国家技术监督局 发布

目 录

GB/T 5413.1—1997	婴幼儿配方食品和乳粉	蛋白质的测定	1
GB/T 5413.2—1997	婴幼儿配方食品和乳粉	乳清蛋白的测定	5
GB/T 5413.3—1997	婴幼儿配方食品和乳粉	脂肪的测定	8
GB/T 5413.4—1997	婴幼儿配方食品和乳粉	亚油酸的测定	17
GB/T 5413.5—1997	婴幼儿配方食品和乳粉	乳糖、蔗糖和总糖的测定	20
GB/T 5413.6—1997	婴幼儿配方食品	不溶性膳食纤维的测定	27
GB/T 5413.7—1997	婴幼儿配方食品和乳粉	灰分的测定	29
GB/T 5413.8—1997	婴幼儿配方食品和乳粉	水分的测定	32
GB/T 5413.9—1997	婴幼儿配方食品和乳粉	维生素 A、D、E 的测定	35
GB/T 5413.10—1997	婴幼儿配方食品和乳粉	维生素 K ₁ 的测定	39
GB/T 5413.11—1997	婴幼儿配方食品和乳粉	维生素 B ₁ 的测定	43
GB/T 5413.12—1997	婴幼儿配方食品和乳粉	维生素 B ₂ 的测定	48
GB/T 5413.13—1997	婴幼儿配方食品和乳粉	维生素 B ₆ 的测定	53
GB/T 5413.14—1997	婴幼儿配方食品和乳粉	维生素 B ₁₂ 的测定	57
GB/T 5413.15—1997	婴幼儿配方食品和乳粉	烟酸和烟酰胺的测定	61
GB/T 5413.16—1997	婴幼儿配方食品和乳粉	叶酸(叶酸盐活性)的测定	67
GB/T 5413.17—1997	婴幼儿配方食品和乳粉	泛酸的测定	72
GB/T 5413.18—1997	婴幼儿配方食品和乳粉	维生素 C 的测定	77
GB/T 5413.19—1997	婴幼儿配方食品和乳粉	游离生物素的测定	80
GB/T 5413.20—1997	婴幼儿配方食品和乳粉	胆碱的测定	84
GB/T 5413.21—1997	婴幼儿配方食品和乳粉	钙、铁、锌、钠、钾、镁、铜和锰的测定	88
GB/T 5413.22—1997	婴幼儿配方食品和乳粉	磷的测定	92
GB/T 5413.23—1997	婴幼儿配方食品和乳粉	碘的测定	95
GB/T 5413.24—1997	婴幼儿配方食品和乳粉	氯的测定	99
GB/T 5413.25—1997	婴幼儿配方食品和乳粉	肌醇的测定	102
GB/T 5413.26—1997	婴幼儿配方食品和乳粉	牛磺酸的测定	107
GB/T 5413.27—1997	婴幼儿配方食品和乳粉	DHA、EPA 的测定	110
GB/T 5413.28—1997	乳粉	滴定酸度的测定	114
GB/T 5413.29—1997	婴幼儿配方食品和乳粉	溶解性的测定	119
GB/T 5413.30—1997	乳与乳粉	杂质度的测定	127
GB/T 5413.31—1997	婴幼儿配方食品和乳粉	脲酶的定性检验	132
GB/T 5413.32—1997	乳粉	硝酸盐、亚硝酸盐的测定	135

前 言

本标准仅对 GB 5413—85 中 A. 3 章“半微量凯氏定氮法”的文本格式进行了修改,内容未做改动。

本系列标准从实施之日起,代替 GB 5413—85。

本标准由中国轻工总会提出。

本标准由全国乳品标准化中心归口。

本标准负责起草单位:国家乳制品质量监督检验中心。

本标准参加起草单位:卫生部食品卫生监督检验所、浙江省轻工业研究所、哈尔滨森永乳品有限公司、雀巢(中国)投资服务有限公司。

本标准主要起草人:王芸、黄敏、李玉贤。

中华人民共和国国家标准

婴幼儿配方食品和乳粉 蛋白质的测定

GB/T 5413.1—1997

代替 GB 5413—85

Milk powder and formula foods for infant and young children —Determination of protein

1 范围

本标准规定了蛋白质的测定方法。

本标准适用于婴幼儿配方食品和乳粉中蛋白质的测定。

2 方法提要

在加热时,硫酸分解成亚硫酸酐、水和氧。有机物被氧化为二氧化碳和水,而蛋白质的氨态氮与过量硫酸反应转变为硫酸铵,硫酸铵在碱性溶液中进行蒸馏。将蒸馏出来的氨用硼酸吸收,再用酸标准溶液滴定。

3 试剂

所有试剂,如未注明规格,均指分析纯;所有实验用水,如未注明其他要求,均指三级水。

3.1 浓硫酸。

3.2 硫酸钾。

3.3 硫酸铜。

3.4 过氧化氢溶液:体积分数为 30%。

3.5 硼酸溶液: $c(\text{H}_3\text{BO}_3)$ 为 30g/L。取 30 g 硼酸,溶解在 1L 水中。

3.6 甲基红-溴甲酚绿混合指示剂:用体积分数为 95%的乙醇,将溴甲酚绿及甲基红分别配成 1g/L 的乙醇溶液,使用时按 1g/L 溴甲酚绿:1g/L 甲基红为 5:1 的比例混合。

3.7 硫酸标准溶液: $c(\text{H}^+)$ 为 0.0500mol/L。取 3mL 浓硫酸加到 15mL 水中,冷却后洗入 1000mL 容量瓶中,定容。

3.8 氢氧化钠溶液,质量比为 400/1000。称取 400g 氢氧化钠,用 1000mL 水溶解,待冷却后移入试剂瓶中。

4 仪器

常用实验室仪器及:

4.1 凯氏烧瓶:500mL 或 250mL。

4.2 定氮蒸汽蒸馏器。

4.3 滴定管:25mL。

4.4 三角烧瓶:250mL。

5 操作步骤

5.1 样品的制备

将样品全部移入约两倍于样品体积的洁净干燥容器中,立即盖紧容器,反复旋转振荡,使样品彻底混合均匀。

5.2 测定

5.2.1 称取样品 2g,精确至 0.2mg,放入凯氏烧瓶(4.1)中,加入 10g 硫酸钾(3.2)和 1g 硫酸铜(3.3),量取 20mL 浓硫酸(3.1),徐徐加入凯氏烧瓶中,混合。

注

- 1 加入样品及试剂时,避免粘附在瓶颈上。
- 2 加入硫酸钾的作用:提高硫酸的沸点(338℃),增进反应速度。10g 硫酸钾将沸点提高到 400℃,但过多的硫酸钾会造成沸点太高,生成的硫酸氢铵在 513℃会分解。
- 3 加入硫酸铜的作用:作催化剂,使氧化作用加速。

5.2.2 凯氏烧瓶的瓶口放一小漏斗,用微火加热(小心瓶内泡沫冲出而影响结果),当瓶内发泡停止,稍加大火力。同时,可分数次加入 10mL 过氧化氢溶液(3.4)(但必须将烧瓶冷却数分钟以后加入)。当烧瓶内容物的颜色逐渐转化成透明的淡绿色时,继续消化 0.5~1h(若凯氏烧瓶壁粘有碳化粒时,进行摇动或待瓶中内容物冷却数分钟后,用过氧化氢溶液冲下,继续消化至呈透明为止)。然后取下并使之冷却。

5.2.3 将澄清的消化液小心移入 100mL 容量瓶中,以水洗三次凯氏烧瓶,洗涤液并入上述容量瓶中,冷却后稀释至刻度并摇匀。

5.2.4 吸取 25mL 消化液于定氮蒸馏器中,在冷凝器的下端放置一个盛有 50mL 硼酸溶液(3.5)、3 滴甲基红-溴甲酚绿混合指示剂(3.6)的 250mL 锥形瓶,使冷凝器下端的玻璃管在液面以下。将 25mL 氢氧化钠溶液慢慢地加入蒸馏瓶中(溶液应呈强碱性),迅速将塞子塞好,然后通入蒸汽进行蒸馏,蒸至液面达 150mL 时,提出冷凝器下端的玻璃管,用蒸馏水冲洗冷凝管下端,将洗液一并聚集于硼酸溶液中,让玻璃管靠在锥形瓶的瓶壁,出液口在 200mL 刻度线以上,继续蒸馏,蒸至液位达 200mL。

注:蒸馏时要注意蒸馏情况,避免瓶中的液体发泡冲出,进入接受瓶。火力太弱,蒸馏瓶内压力减低,则接受瓶内液体会倒流,造成实验失败。

5.2.5 用硫酸标准溶液(3.7)滴定至溶液出现酒红色为止,记录所用硫酸标准溶液的体积。同时进行空白试验,并在结果中加以校正。

6 分析结果的表述

$$\text{样品中蛋白质含量(g/100g)} = \frac{(V - V_0) \times c(\text{H}^+) \times 2 \times 0.014 \times F}{m \times \frac{25}{100}} \times 100 \dots\dots(1)$$

式中: V ——滴定时消耗硫酸标准溶液的体积,mL;

V_0 ——空白试验消耗硫酸标准溶液的体积,mL;

$c(\text{H}^+)$ ——硫酸标准溶液中 H^+ 的浓度,mol/L;

m ——样品的质量,g;

0.014——氮原子的摩尔质量,kg/mol;

F ——氮换算为蛋白质的系数。乳粉为 6.38,纯谷物类(配方)食品为 5.90,含乳婴幼儿谷物(配方)食品为 6.25。

注:空白实验仅不加入样品,操作步骤与样品相同。

7 允许差

同一样品的两次测定值之差不得超过平均值的 1.5%。

前 言

本标准参考了日本森永公司的乳清蛋白测定方法。

本系列标准从实施之日起,代替 GB 5413—85。

本标准由中国轻工总会提出。

本标准由全国乳品标准化中心归口。

本标准负责起草单位:哈尔滨森永乳品有限公司、国家乳制品质量监督检验中心。

本标准参加起草单位:卫生部食品卫生监督检验所、浙江省轻工业研究所、雀巢(中国)投资服务有限公司。

本标准主要起草人:于丽坤、张燕杰、赵勤。

中华人民共和国国家标准

婴幼儿配方食品和乳粉 乳清蛋白的测定

GB/T 5413.2—1997

代替 GB 5413—85

Milk powder and formula foods for infant and young children —Determination of whey protein

1 范围

本标准规定了酪蛋白与乳清蛋白含量比率的测定方法。

本标准适用于婴幼儿配方食品和乳粉中酪蛋白与乳清蛋白含量比率的测定。

2 方法提要

试样用 SDS-聚苯烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE, Laemmli 法)后,用光密度计对按分子量顺序分离开的酪蛋白与乳清蛋白各谱带进行测定,求得酪蛋白与乳清蛋白的含量比率。

3 试剂

所有试剂,如未注明规格,均指分析纯;所有实验用水,如未注明其他要求,均指三级水。

3.1 电泳缓冲液:将 Tris(hydroxymethyl)aminomethane 7.5g、甘氨酸 36g、SDS 2.5g 溶于蒸馏水中,定容至 500mL。使用前以蒸馏水稀释 5 倍后使用。

3.2 SDS 试样缓冲液:0.125mol/L Tris-盐酸(pH6.8),体积分数 20%的甘油,4%(m/V)SDS,体积分数 10% 2-mercaptoethanol,质量分数 0.0025%的溴酚蓝(bromophenol blue)。

3.3 染色剂:质量分数 0.1%考马斯蓝 R-250(Coomassie brilliant blue R-250),体积分数 10%的甲醇,体积分数 7.5%的乙酸。

3.4 脱色剂:体积分数 10%的甲醇,体积分数 7.5%的乙酸。

3.5 酪蛋白。

3.6 精制乳清蛋白(WPC)。

3.7 SDS-PAGE:用梯度凝胶(10%~20%)或同效凝胶。

4 仪器

常用实验室仪器及:

4.1 平板式电泳槽。

4.2 供电设备。

4.3 光密度计。

5 操作步骤

5.1 样液的制备

将试剂按蛋白质 10~20 μ g/ μ L 的浓度范围溶解在蒸馏水中。加入与试样同体积的 SDS 试样缓冲

液,在煮沸热水中静置 5min 后,作为试样液。

5.2 标准溶液的制备

使用前,酪蛋白和乳清蛋白的蛋白质浓度按凯氏(Kjeldahl)法精确测定。将酪蛋白和乳清蛋白按上述方法分别进行溶解和处理后作为标准溶液。此外,还可将酪蛋白与乳清蛋白的标准溶液按蛋白质含量的任意比率(比如蛋白质的浓度比为 75 : 25,50 : 50,25 : 75)进行混合作为混合标准溶液。

5.3 电泳

将凝胶设置在电泳槽中,加入电泳缓冲液。试样溶液与标准溶液的添加量为每孔 10 μ L。电泳时间因电泳凝胶的种类不同而异。以 10%~20%的梯度复合凝胶进行电泳时,定电流为 40mA,时间为 60min。电泳结束时间可按溴酚蓝的蓝谱带到达离凝胶下端 5mm 时为标志。电泳结束后将凝胶放入染色液中振荡染色 1h,然后转入脱色液中振荡脱色 12h 再移到蒸馏水中。

5.4 测定

以光密度计对带色的各谱带进行测定,求得其颜色深度(OD)的积分值(=Trace 值)。

6 分析结果的表述

6.1 谱带的测定

电泳后的谱带中,参照分子量以及标准酪蛋白与乳清蛋白的电泳图,分别选择以下谱带进行计算。

(1)酪蛋白: α_3 -酪蛋白(分子量 23500), β -酪蛋白(分子量 24000), κ -酪蛋白(分子量 19000);

(2)乳清蛋白: α -乳白蛋白(分子量 14000), β -乳球蛋白(分子量 18000),血清白蛋白(分子量 66000)。

6.2 计算方法

将以上三种酪蛋白谱带的 Trace 值合计,再除以该条泳线中所有谱带的 Trace 值的总和,求得酪蛋白的比率(C_1 值)。以同样方式将以上三种乳清蛋白谱带的 Trace 值合计,再除以该条泳线中所有谱带 Trace 值的总和,求得乳清蛋白的比率(W_1 值)。

当以酪蛋白与乳清蛋白的单独溶液为标准溶液时,按以上方法分别求得标准酪蛋白的 C_1 值(= C_s 值)与标准乳清蛋白的 W_1 值(= W_s 值)。将试样的 C_1 值与 W_1 值分别除以 C_s 值与 W_s 值,求得暂定的酪蛋白含量比率(C_2 值)与乳清蛋白的含量比率(W_2)。当 C_2 值+ W_2 值不等于 1 时,将 C_2 值、 W_2 值分别除以 C_2 值与 W_2 值的总和进行补整,求得试样中的酪蛋白以及乳清蛋白的比率。

当以酪蛋白与乳清蛋白的混合溶液为标准溶液时,按以上方法分别求得各混合比率中酪蛋白的 C_1 值与乳清蛋白的 W_1 值。将混合标准溶液的 C_1 值与酪蛋白含量比,以及 W_1 值与乳清蛋白含量比做成坐标检量线,利用该检量线求得试样的 C_2 值与 W_2 值。当 C_2 值+ W_2 值不等于 1 时,将 C_2 值、 W_2 值分别除以 C_2 值与 W_2 值的总和进行补整,求得试样中酪蛋白以及乳清蛋白的比率。

前 言

本标准等同采用国际乳品联合会标准 IDF 9C:1987《乳粉、乳清粉、酪乳粉和乳浆粉——脂肪含量的测定——罗兹-哥特里重量分析法(基准法)》。该方法准确度高,是测定乳、乳粉、婴幼儿配方食品中脂肪含量的基准方法。

本系列标准从实施之日起,代替 GB 5413—85。

本标准由中国轻工总会提出。

本标准由全国乳品标准化中心归口。

本标准负责起草单位:国家乳制品质量监督检验中心。

本标准参加起草单位:卫生部食品卫生监督检验所、浙江省轻工业研究所、哈尔滨森永乳品有限公司、雀巢(中国)投资服务有限公司。

本标准主要起草人:王芸、黄敏、张天舒。

中华人民共和国国家标准

婴幼儿配方食品和乳粉 脂肪的测定

GB/T 5413.3—1997

代替 GB 5413—85

Milk powder and formula foods for infant and young children
—Determination of fat

1 范围

本标准规定了脂肪测定的基准方法。

本标准适用于婴幼儿配方食品和乳粉中脂肪的测定。

2 方法提要

用乙醚和石油醚抽提样品的乙醇氨溶液,通过蒸馏或蒸发去除溶剂,测定溶于醚中的抽提物的质量。

3 试剂

所有试剂,如未注明规格,均指分析纯;所有实验用水,如未注明其他要求,均指三级水。

按 5.3 规定的步骤进行空白试验,检验试剂的纯度。按 5.4 的操作准备一空的脂肪收集瓶用来校正环境的影响。试剂残余物含量不得大于 0.5mg(见 8.1)。

如果全部试剂空白残余物大于 0.5mg,则分别蒸馏 100mL 乙醚和石油醚,测定溶剂残余物的含量。用空的控制瓶测得的量和每种溶剂的残余物的含量都不应超过 0.5mg。

更换不合格的试剂,或对试剂进行提纯。

3.1 淀粉酶。

3.2 氨溶液:质量分数约 25%, ρ_{20} 约 910g/L。

注:如果买不到此浓度的氨溶液,可使用已知的、更大浓度的氨溶液(见 5.5.2)。

3.3 乙醇或由甲醇变性的乙醇:体积分数至少为 94%(见 8.5)。

3.4 刚果红溶液:1g 刚果红溶于水中,稀释至 100mL。

注:可选择性地使用。刚果红溶液可使溶剂和水相界面清晰(见 5.5.4),也可使用其他能使水相染色而不影响测定结果的溶液。

3.5 乙醚:不含过氧化物(见 8.3),不含抗氧化剂,或抗氧化剂含量不大于 2mg/kg,并满足空白试验的要求(见第 3 章、8.1 和 8.4)。

3.6 石油醚:沸程 30~60℃。

3.7 混合溶剂:等体积混合乙醚(3.5)和石油醚(3.6),使用前制备。

4 仪器

由于测定中使用了挥发性可燃溶剂,所有电器的使用均应按照这些溶剂使用的有关规定进行。

常用实验室仪器及:

4.1 分析天平。

4.2 离心机:可安放抽脂瓶或管(4.6),转速为 500~600r/min,可在抽脂瓶外端产生 80~90g 的重力场。

注:可选择性使用。

4.3 蒸馏器或蒸发器:可在不超过 100℃ 情况下,蒸馏除掉脂肪收集瓶中的溶剂和乙醇,或蒸发除掉烧杯或皿中的溶剂和乙醇(见 5.5.10,5.5.14)。

4.4 烘箱:电热的,通风口完全打开,工作区域温度可控制在 $102^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 。配有适当的温度计。

4.5 水浴:温度可控制在 $65^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 。

4.6 毛氏抽脂瓶:抽脂瓶(或管,见注)应带有适当的优质软木塞或其他不影响溶剂使用的瓶塞(如硅胶或聚四氟乙烯)。软木塞应先浸于乙醚中(3.5),后放入 60 或 60℃ 以上的水中保持至少 15min,然后在水中冷却,使用时木塞已饱和。不用时要一直浸泡在水中,浸泡用水每天更换一次。

注:也可使用带虹吸管或洗瓶的抽脂管(或烧瓶),但操作步骤有所不同,见附录 A 中规定。接头的内部长支管下端可成勺状。

4.7 支架:放置抽脂瓶(或管)。

4.8 洗瓶:适合装混合溶剂(3.7)。不能使用塑料洗瓶。

4.9 脂肪收集瓶:例如:容量为 125~250mL 可加热烧瓶(平底烧瓶),250mL 锥形瓶或金属皿。若使用金属皿,最好为不锈钢、平底、有溢流口的,直径为 80~100mm,高约 50mm。

4.10 沸石:无脂肪、无气孔的瓷片或碳化硅或玻璃珠(用金属皿的情况下)。

4.11 量筒:5mL 和 25mL。

4.12 吸量管:带刻度的,10mL。

4.13 金属夹钳:用于夹烧瓶、烧杯或皿。

4.14 毛氏抽脂瓶摇混器:可夹放毛氏抽脂瓶,摆动频率为 100 ± 10 次/min。

5 操作步骤

5.1 样品的制备

反复转动样品容器,使样品充分混合(必要时,将实验样品全部移入大的密闭容器中之后,再进行此操作)。

5.2 样品部分

轻轻搅拌或转动样品容器,以便混合实验样品(5.1),立即取样,直接放在抽脂瓶(4.6)或其他容器中,精确至 1mg,取样量如下:

a) 高脂乳粉、全脂乳粉、全脂加糖乳粉和配方乳粉:约 1g。

b) 部分脱脂乳粉:约 1.5g。

c) 脱脂乳粉:约 1.5g。

d) 乳清粉:约 1.5g。

e) 酪乳粉:约 1.5g。

f) 含乳婴儿谷物(配方)食品:约 1.5g。

5.3 空白试验

空白试验与样品检验同时进行,使用相同步骤和相同试剂,但用 10mL 水(见 8.2)代替已稀释的样品(5.5.1)。

5.4 脂肪收集瓶的准备

于干燥的收集瓶(4.9)中加入几粒沸石(4.10),放入烘箱(4.4)中干燥 1h。使收集瓶冷却(防尘)至天平室的温度(玻璃收集瓶至少需要 1h,金属皿至少 0.5h)。

注

- 1 在去除溶剂过程中,特别是使用玻璃收集瓶时,沸石可以使沸腾均匀。用金属皿时,也可选择地使用沸石。
- 2 收集瓶不可放入干燥器中,避免冷却不充分或冷却时间过长。

用夹钳(4.13)(为避免温度的变化)将收集瓶放到天平上称量,精确至0.1mg。

5.5 测定

5.5.1 样品处理

5.5.1.1 不含淀粉样品

加入10mL 65℃±5℃的水,将试样洗入抽脂瓶的小球中,充分混合,直到样品完全分散,放入流动水中冷却。

5.5.1.2 含淀粉样品

将样品放入毛氏抽脂瓶中,加入约0.1g的淀粉酶和一小磁性搅拌棒,混合均匀后,加入8~10mL 45℃的蒸馏水,注意液面不要太高。

盖上瓶塞于搅拌状态下,置65℃水浴中2h,每隔10min摇混一次。检验淀粉是否水解完全:加入两滴约0.1mol/L的碘溶液,无蓝色出现,水解完全,否则将抽脂瓶重新置于水浴中,直至无蓝色产生。

冷却毛氏抽脂瓶。

5.5.2 加入2mL氨溶液(3.2)或同体积的浓氨溶液(见3.2注),在小球中与已溶解的样品充分混合。加入氨水后,应马上进行下一步骤。

5.5.3 将抽脂瓶放入65℃±5℃的水浴(4.5)中,加热15~20min,时而振荡一次,取出,冷却至室温。含淀粉样品不需水浴,静止30s后即可进行下面的步骤。

5.5.4 加入10mL乙醇(3.3),轻轻地使内容物在小球和柱体间来回流动,和缓但彻底地进行混合,避免液体太接近瓶颈。如果需要,可加入2滴刚果红溶液(3.4)。

5.5.5 加入25mL乙醚(3.5),塞上被水饱和的软木塞(见4.6),或用水浸湿的其他瓶塞,将抽脂瓶保持在水平位置,小球的延伸部分朝上夹到摇混器上,按约100次/min振荡烧瓶1min,不要过度(避免形成持久乳化液)。在此期间,使液体由大球冲入小球。

必要时将抽脂瓶放在流水中冷却,然后小心地打开塞子,用少量的混合溶剂(3.7)冲洗塞子和瓶颈〔冲洗时使用洗瓶(4.8)〕,使冲洗液流入抽脂瓶或已准备好的脂肪收集瓶中(见5.4)。

5.5.6 加入25mL石油醚(3.6),塞上重新润湿的塞子(浸入水中),接5.5.5所述,轻轻振荡30s。

5.5.7 将加塞的抽脂瓶放入离心机(4.2)中,在500~600r/min下离心1~5min。如果没有离心机,则将抽脂瓶放到支架上(4.7),静止至少30min,直到上层液澄清,并明显与水相分离。必要时,放在流水中冷却抽脂瓶。

5.5.8 小心地打开软木塞或瓶塞,用少量的混合溶剂冲洗塞子和瓶颈内壁,使冲洗液流入抽脂瓶或脂肪收集瓶中。

如果两相界面低于小球与瓶身相接处,则沿瓶壁边缘慢慢地加入水,使液面高于小球和瓶身相接处(见图1),以便于倾倒。

5.5.9 持抽脂瓶的小球部,小心地将上层液尽可能地倒入已准备好的含有沸石的脂肪收集瓶中(也可选用金属皿),避免倒出水层(见图2)。

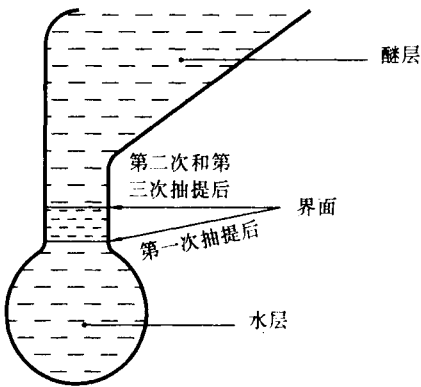


图1 倾倒醚层前

(5.5.8, 5.5.12, 5.5.13)

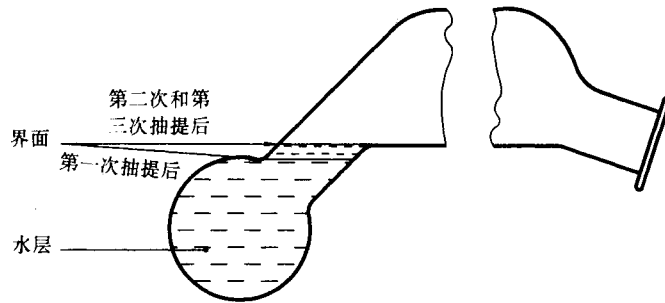


图2 倾倒醚层后

(5.5.9, 5.5.12, 5.5.13)

5.5.10 用少量混合溶剂冲洗瓶颈外部,冲洗液收集在脂肪收集瓶中。要小心操作,以防溶剂溅到抽脂瓶的外面。

最好按 5.5.14 所述,采用蒸馏或蒸发的方法,去除脂肪收集瓶中的溶剂或部分溶剂。

5.5.11 向抽脂瓶中加入 5mL 乙醇(3.3),用乙醇冲洗瓶颈内壁,按 5.5.4 所述进行混合。

5.5.12 重复 5.5.5~5.5.10 操作,进行第二次抽提,但只用 15mL 乙醚(3.5)和 15mL 石油醚(3.6),用混合溶剂(3.7)冲洗瓶颈内壁。

5.5.13 重复 5.5.5~5.5.9 操作,进行第三次抽提,但只用 15mL 乙醚(3.5)和 15mL 石油醚(3.6),用混合溶剂(3.7)冲洗瓶颈内壁。

注:如果产品中脂肪的质量分数低于 5%,可省略第三次抽提。

5.5.14 采用蒸馏的方法除去收集瓶中的溶剂(包括乙醇),对烧杯或皿可用蒸发(4.3)来除掉溶剂。蒸馏前用少量混合溶剂(3.7)冲洗瓶颈内部。

5.5.15 将脂肪收集瓶放入 102℃±2℃的烘箱(4.4)中加热 1h,取出收集瓶,冷却至天平室的温度(不要放入干燥器中,但要防尘,玻璃容器冷却至少 1h,金属容器冷却至少 0.5h)。称量,精确至 0.1mg。称量前不要擦收集瓶。用夹钳将收集瓶放到天平上(避免温度变化)。

5.5.16 重复 5.5.15 操作,直到脂肪收集瓶两次连续称量不超过 0.5mg,记录收集瓶和抽提物的最低质量。

5.5.17 为验证抽提物是否全部溶解,向脂肪收集瓶中加入 25mL 石油醚,微热,振摇,直到脂肪全部溶解。

如果抽提物全部溶于石油醚中,则含抽提物的收集瓶的最终质量(见 5.5.16)和最初质量(见 5.4)之差,即为脂肪含量。

5.5.18 若抽提物未全部溶于石油醚中,或怀疑抽提物是否全部为脂肪,则用热的石油醚洗提。允许微量的不溶物质沉淀。小心地倒出石油醚,不要倒出任何不溶物,重复此操作 3 次以上,再用石油醚冲洗收集瓶口的内部。

最后,用混合溶剂冲洗收集瓶口的外部,避免溶液溅到瓶的外壁。将脂肪收集瓶放入 102℃±2℃的烘箱(4.4)中,加热 1h,按 5.5.15 和 5.5.16 所述去除石油醚,冷却,称量。

取 5.5.16 中测得的质量和 5.5.18 测得的质量之差作为脂肪的质量。

注:选择带有虹吸管或洗瓶附件的抽脂管时(见 4.6 注),步骤如附录 A(标准的附录)所述。

6 分析结果表述

$$\text{样品中脂肪含量(g/100g)} = \frac{(m_1 - m_2) - (m_3 - m_4)}{m_0} \times 100 \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中： m_0 ——样品的质量(5.2),g;

m_1 ——5.5.16中测得的脂肪收集瓶和抽提物的质量,g;

m_2 ——脂肪收集瓶的质量(5.4),或在有不溶物存在下,5.5.18中测得的脂肪收集瓶和不溶物的质量,g;

m_3 ——空白试验(5.3)中,脂肪收集瓶和5.5.16中测得的抽提物的质量,g;

m_4 ——空白试验(5.3)中脂肪收集瓶(见5.4)的质量,或在有不溶物存在时,5.5.18中测得的脂肪收集瓶和不溶物的质量,g。

报告质量分数结果精确至0.01%。

7 允许差

7.1 重复性

在短时间间隔内,由同一分析人员对同一样品所做的两次单独试验的结果之差,应不超过下列值:

——高脂乳粉、全脂乳粉、全脂加糖乳粉和配方乳粉	0.2 g 脂肪/100g 样品
——部分脱脂乳粉、酪乳粉	0.15g 脂肪/100g 样品
——脱脂乳粉	0.1 g 脂肪/100g 样品
——乳清粉	0.1 g 脂肪/100g 样品
——含乳婴儿谷物(配方)食品	0.2 g 脂肪/100g 样品

7.2 重现性

由不同实验室的两个分析人员对同一样品所做的两次独立试验结果之差,应不超过下列值:

——高脂乳粉、全脂乳粉、全脂加糖乳粉和配方乳粉	0.3 g 脂肪/100g 样品
——部分脱脂乳粉、酪乳粉	0.25g 脂肪/100g 样品
——脱脂乳粉	0.2 g 脂肪/100g 样品
——乳清粉	0.2 g 脂肪/100g 样品
——含乳婴儿谷物(配方)食品	0.45g 脂肪/100g 样品

8 实验过程注意事项

8.1 空白试验检验试剂

在进行空白试验时,使用一个质量控制瓶,以消除环境及温度对检验结果的影响。

在极其偶然的的情况下,溶剂中可能会有易溶于脂肪的挥发性物质,此时应对所有试剂做空白试验。进行空白试验时在脂肪收集瓶中放入1g新鲜的无水奶油。必要时,于每100mL溶剂中加入1g无水奶油后重新蒸馏,重新蒸馏后必须尽快使用。

8.2 空白试验与样品测定同时进行

对于存在非挥发性物质的试剂可用与样品测定同时进行的空白试验值进行校正。抽脂瓶与天平室之间的温差可对抽提物的质量产生影响((5.5.16和5.4或5.5.18)。在理想的条件下(试剂空白值低,天平室温度相同,脂肪收集瓶充分冷却),该值通常小于0.5mg。在常规测定中,可忽略不计。若此值稍高(± 2.5 mg),一般也可忽略不计,校正之后,结果仍是准确的。但当校正值大于2.5mg时,检验报告中应予以说明。

如果空白试验值经常超过0.5mg,且近期没有对试剂进行检验,则应马上对试剂进行检验,更换或提纯任何不纯的试剂(第3章和8.1)。

8.3 乙醚中过氧化物的检验

取一只具玻璃塞小量筒,用乙醚冲洗,然后加入10mL乙醚,再加入1mL新制备的100g/L的碘化钾溶剂,振荡,静止1min,两相中均不得有黄色。

也可使用其他适当的方法检验过氧化物。