

河北省地方标准

DB13/T 746—2005

生鲜牛乳快速检验方法

2005-09-20 发布

2005-10-20 实施

河北省质量技术监督局 发布

前 言

本标准由衡水市质量技术监督局提出并归口。

本标准起草单位：衡水市卫生防疫站、浙江大学食品科学与发酵工程研究所、衡水陆海乳业有限公司。

本标准主要起草人：张永顺、田志梅、裴世弟、张文萍、李迎霞、叶兴乾。

生鲜牛乳快速检验方法

1 范围

本标准规定了生鲜牛乳的感官、理化、微生物及牛奶掺伪的快速检验方法。
本标准适用于生鲜牛乳的快速检验。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GB/T 4789.27—2003 食品卫生微生物学检验 鲜乳中抗生素残留量检验

GB/T 5009.46—2003 乳与乳制品卫生标准的分析方法

GB/T 5409—1985 牛乳检验方法

GB/T 5413.30—1997 乳与乳粉 杂质度的测定

GB/T 6914—1986 生鲜牛乳收购标准

3 抽样

按GB/T 6914—1986中3.1进行。取样量不少于250 ml。

4 检验方法

4.1 感官检验

取适量样品于干净的烧杯中，按GB/T 6914—1985中第2.2条进行。另外取适量样品于干净的烧杯中加热至85℃，观察组织形态，嗅其气味、品尝滋味，应无沉淀、无凝块、无杂质，具有新鲜牛乳固有的香味，无异味。

4.2 理化检验

第一法 —— 化学法

4.2.1 蛋白质

4.2.1.1 原理

氨基酸是构成蛋白质的基本单位。牛乳中蛋白质含量与氨基酸含量呈良好的正相关。氨基酸为两性电解质，在接近中性的水溶液中，全部解离为双极离子。当甲醛溶液加入后，与中性的氨基酸中非解离型氨基反应，生成单羟甲基和二羟甲基诱导体，使氨基酸失去氨基特性，游离的羧基（—COOH）可以用标准碱溶液滴定。根据碱溶液的消耗量，计算出蛋白质的含量。加入草酸钾的目的是使它与乳中的钙生成不溶性稳定化合物，消除钙离子的影响，有利于终点的判断。

4.2.1.2 试剂

4.2.1.2.1 饱和草酸钾溶液：330 g/L。

4.2.1.2.2 酚酞指示液：5 g/L 乙醇溶液。

4.2.1.2.3 氢氧化钠标准溶液 [c(NaOH)=0.1 mol/L]。

4.2.1.2.4 氢氧化钠标准滴定溶液 [c(NaOH)=0.05 mol/L]。

4.2.1.2.5 中性甲醛溶液。

4.2.1.3 分析步骤

准确吸取乳样 10.0 ml 于三角瓶中，加入 0.5 ml 饱和草酸钾溶液和 0.5 ml 酚酞指示液，经 2 min 后用 0.1 mol/L 氢氧化钠标准溶液滴定至粉红色。然后加入 2 ml 中性甲醛溶液。再用 0.05 mol/L 氢氧化

钠标准滴定溶液滴定至粉红色，记录滴定消耗的 0.05mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液的毫升数。

4.2.1.4 分析结果的表述与计算

样品中蛋白质的含量 X_1 按式 (1) 计算：

$$X_1 = \frac{C \cdot V_1 \times 0.014 \times 6.38 \times \frac{100}{5.006}}{V} \times 100 \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中：

- X_1 ——样品中蛋白质的含量，单位为克每百毫升 (g/100 ml)；
- C——氢氧化钠标准滴定溶液的浓度，单位为摩尔每升 (mol/L)；
- V_1 ——加入中性甲醛溶液后，滴定试样消耗氢氧化钠标准滴定溶液的体积，单位为毫升 (ml)；
- 0.014——1 mol/L 氢氧化钠标准溶液 1 ml 相当于氮的克数；
- 6.38——氮换算为蛋白质的系数；
- 100/5.006——经验常数；
- V——样品的体积，单位为毫升 (ml)。

计算结果保留三位有效数字。

4.2.1.5 允许差

同一样品的两次测定结果之差，不得超过平均值的 5.0% 。

4.2.2 脂肪

4.2.2.1 试剂

4.2.2.1.1 碱试剂：将30 g氢氧化钠用300 ml水溶解于第一个烧杯中；将40 g无水碳酸钠用300 ml 水溶解于第二个烧杯中；将75 g氯化钠用300 ml 65℃~70℃水溶解于第三个烧杯中。然后，将三种溶液混合，加水定容至1 000 ml，用脱脂棉滤入试剂瓶中，备用。

4.2.2.1.2 异戊醇-乙醇混合液：异戊醇+乙醇=65+105。

4.2.2.2 仪器

4.2.2.2.1 盖勃氏乳脂计。

4.2.2.2.2 恒温水浴锅。

4.2.2.3 分析步骤

吸取10 ml碱试剂于盖勃氏乳脂计中，加入混匀的牛乳11 ml，再加入异戊醇-乙醇混合液1 ml，用橡皮塞将乳脂计塞紧，轻轻振荡使其混合，直至出现泡沫使牛乳凝块溶解。将乳脂计放入70℃~73℃恒温水浴锅内保持10 min，约5 min振荡一次。然后，将乳脂计倒置，使橡皮塞向下，再置70℃~73℃恒温水浴锅内10 min~15 min，至脂肪柱不含泡沫时取出，立即读数。读数时要将乳脂肪柱下弯月面放在与眼同一水平面上，以弯月面下限为准。所读数值即为脂肪百分率。

4.2.2.4 允许差

同一样品的两次测定结果之差，不得超过平均值的10.0% 。

4.2.3 相对密度

按GB/T 5009.46—2003中4.1测定。

4.2.4 非脂乳固体 (计算法)

样品中非脂乳固体含量 X_2 按式 (2) 计算：

$$X_2 = 0.25L + 1.2F + 0.14 - F \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中：

- X_2 ——样品中非脂乳固体含量，单位为克每百毫升 (g/100 ml)；
- L——乳稠计 (15℃/15℃) 的读数，密度计 (20℃/4℃) 的读数加2° ；
- F——脂肪含量，单位为克每百毫升 (g/100 ml)。

4.2.5 滴定酸度

4.2.5.1 试剂

4.2.5.1.1 酚酞指示液：5 g/L 乙醇溶液。

4.2.5.1.2 氢氧化钠标准溶液 [c(NaOH)=0.1 mol/L]。

4.2.5.2 仪器

4.2.5.1.1 100 ml 三角瓶。

4.2.5.1.2 50 ml 碱式滴定管。

4.2.5.1.3 吸管：10 ml。

4.2.5.3 分析步骤

准确吸取乳样 10.0 ml 于三角瓶中，加入 0.5 ml 酚酞指示液。用 0.1 mol/L 氢氧化钠标准溶液滴定至粉红色，并在 0.5 min 内不褪色，为滴定终点。记录 0.1 mol/L 氢氧化钠标准溶液消耗的毫升数。

4.2.5.4 分析结果的表述与计算

消耗 0.1 mol/L 氢氧化钠标准溶液的毫升数乘以 10 即为酸度 (°T)。

用乳酸来表示牛乳的酸度水平，即每 100 ml 牛乳中所含有的乳酸克数。样品中乳酸的含量 X_3 按式 (3) 计算：

$$X_3 = \frac{C \cdot V \times 0.09}{10} \times 100 \quad \dots\dots\dots (3)$$

式中：

X_3 ——样品中乳酸含量，单位为克每百毫升 (g/100 ml)；

C ——氢氧化钠标准溶液的浓度，单位为摩尔每升 (mol/L)；

V ——消耗氢氧化钠标准溶液的体积，单位为毫升 (ml)；

0.09——1 ml 1 mol/L 氢氧化钠标准溶液相当乳酸的克数，单位为克 (g)。

4.2.5 杂质度

按 GB/T 5413.30—1997 操作。

4.2.6 酒精试验

4.2.6.1 试剂

4.2.6.1.1 75% 中性酒精溶液 (用酚酞检验)。

4.2.6.1.2 72% 中性酒精溶液 (用酚酞检验)。

4.2.6.1.3 70% 中性酒精溶液 (用酚酞检验)。

4.2.6.2 仪器

4.2.6.2.1 试管：20 ml。

4.2.6.2.2 移液管：1 ml 或 2 ml。

4.2.6.3 分析步骤

取 3 支试管分别加入 1 ml 70% 中性酒精溶液或 72% 中性酒精溶液或 75% 中性酒精溶液，再加入等量牛乳。转动试管，充分混匀，观察有无絮状沉淀。如果无絮状沉淀，表明乳是新鲜的，称为酒精试验阴性乳。出现絮状的乳，为酸度较高的乳，称为酒精试验阳性乳。

4.2.6.4 分析结果的表述

如果在 70% 中性酒精溶液中不出现絮片，表示牛乳酸度在 20°T 以下；如果在 72% 中性酒精溶液中不出现絮片，表示牛乳酸度在 18°T 以下；如果在 75% 中性酒精溶液中不出现絮片，则牛乳酸度在 17°T 以下。

第二法 —— 仪器法

4.2.7 脂肪、非脂乳固体、相对密度、掺水率、冰点、蛋白质的测定 (快速乳成分分析仪法——超声波传感器)

4.2.7.1 方法提要

进样系统吸入乳样至超声波传感器，发射超声波并反馈信号到微型计算机，信号强度与组分含量呈

正比，计算机按照一定的固定参数把反馈信号转化成分析结果并保存。

4.2.7.2 仪器

MILKYWAY 快速乳成分分析仪

4.2.7.3 样品预处理

取样适量放于恒温水浴中，使样品温度控制在 25℃~30℃。搅拌均匀，用玻璃棒同方向圆周搅拌，使样品表面无明显气泡。

4.2.7.4 测定

开电源，显示 WARM UP（预热）字样，约 5 min~15 min 结束，仪器显示 EKOMILK，准备就绪，按仪器使用说明书用 GB/T 5009.46、GB/T 5409 或本标准所规定理化检验方法校正仪器。如果校正多项指标，应先校正非脂乳固体，然后校正密度，最后校正脂肪和蛋白质。每校正一个指标后，应使用同一牛奶重新测定其他指标再进行校正，存储校正值。

把预处理完毕的样品，倒入进样杯中，倒入量为容器的 80%，防止吸空。把进样杯放入进样口，选择菜单，显示 COW MILK，点击“确定”仪器显示 WORKING（工作）字样，进样开始检测。快速乳成分分析仪直接显示乳样中脂肪、非脂乳固体、相对密度、掺水率、冰点、蛋白质的测定结果，接记录仪可自动打印。

4.2.7.5 清洗

每天工作的开始或两次测样间隔大于 10 min 或每天工作的结束时，按仪器使用说明书规定方法清洗仪器。

4.2.8 脂肪、蛋白质、乳糖、全乳固体、酸度、冰点的测定（牛乳成份快速分析仪——红外光谱法）

4.2.8.1 方法提要

进样系统吸入乳样至样品室，采用红外光谱扫描样品，样品各组分的红外光谱强度与其含量呈正比，计算机根据固定的参数把红外信号转化成分析结果输出并保存。

4.2.8.2 仪器

红外牛乳成份快速分析仪。

4.2.8.3 样品预处理

所有由冷藏处取出的样品均须升温至 40℃，剧烈上下颠倒摇荡，使内部脂肪完全融开并混合均匀。

4.2.8.4 测定

先打开计算机，再打开红外分析仪电源，预热 90 min。在 WINDOWS 窗口下进入检测程序。检查清洗液和调零液是否够用。用鼠标点击“清洗”按钮，对仪器进行三次清洗。用鼠标点击“调零”按钮，仪器自动调零。选定被检样品，将样品摇匀，放于吸管下，用鼠标点击“检测”按钮进行检测。样品检测完一批后对仪器进行三次清洗。

4.2.8.5 仪器校正

为保证仪器的准确性，每月需用国家标准方法对牛乳成份分析仪进行考核校正。

a) 选取 10 份不同的生鲜牛乳样品，先将样品混匀后用国家标准方法对脂肪、蛋白质、乳糖、全乳固体、酸度、冰点进行检验（脂肪：盖勃法；蛋白质：凯氏定氮法；乳糖：莱因—埃农氏法；全乳固体：烘箱干燥法；酸度：直接滴定法；冰点：冰点仪），得到一组数据。

b) 用牛乳成份快速分析仪对同一组鲜奶样品的脂肪、蛋白质、乳糖、全乳固体、酸度、冰点指标进行快速检测，得到另一组数据，对两组数据的平均值进行比较，计算其相对偏差。脂肪、蛋白质、酸

度、全乳固体的最大相对偏差为±1.5%；乳糖的最大相对偏差为±2.5%。

c) 当相对偏差超出要求时，应对仪器中生鲜牛乳检测曲线的斜率和截距参数进行调整，再次进行测定，直至符合要求。

4.2.8.6 仪器保养

每隔3 d按仪器使用说明书规定方法，用专用强力清洗液清洗仪器。

4.3 微生物指标

按GB/T 6914—1986中3.10进行。其中美蓝溶液的配制：称取分析纯美蓝（又名亚甲蓝）5.0 mg于100 ml容量瓶中，加适量新煮沸放冷的蒸馏水使其溶解并定容至刻度，塞上瓶盖，放冰箱中贮存备用。使用期限为14天。

4.4 牛奶掺伪的检验

4.4.1 掺碱（碳酸钠）的检验

4.4.1.1 试剂

玫瑰红酸酒精溶液(0.5g/L)：称取0.05 g玫瑰红酸溶于100 ml 95%酒精中（pH值范围6.9~8.0）。

4.4.1.2 分析步骤

吸取5 ml乳样于试管中，加入5 ml玫瑰红酸酒精溶液，摇匀，乳样呈肉桂黄色为正常，呈玫瑰红色为加碱，加碱越多玫瑰红色越鲜艳。应以正常作对照。

4.4.2 掺亚硝酸盐的检验

4.4.2.1 试剂

格里斯试剂：对氨基苯磺酸10 g，1-萘胺1 g，酒石酸89 g。三种试剂分别称好后于乳钵中研碎，在棕色瓶中干燥保存备用。

4.4.2.2 分析步骤

取乳样2 ml于试管中，加入固体混合试剂0.2 g，混匀。乳中有亚硝酸盐存在时，即出现桃红色。同时做空白对照。

4.4.3 掺尿素的检验

4.4.3.1 试剂

4.4.3.1.1 亚硝酸钠溶液(10 g/L)。

4.4.3.1.2 浓硫酸。

4.4.3.1.3 格里斯试剂：对氨基苯磺酸10 g，1-萘胺1 g，酒石酸89 g。三种试剂分别称好后于乳钵中研碎，在棕色瓶中干燥保存备用。

4.4.3.2 分析步骤

取乳样3 ml于试管中，向试管中加入亚硝酸钠溶液1 ml，浓硫酸1 ml，摇匀后再加入少量格里斯试剂混合均匀，观察其颜色变化，如有尿素存在则颜色不变（因尿素与亚硝酸盐作用在酸性溶液中生成二氧化碳、氨气和水），乳中无尿素存在时，即出现紫红色。同时做空白对照。

4.4.4 掺淀粉的检验

4.4.4.1 试剂

碘溶液：取碘化钾4 g溶于少量蒸馏水中，然后，用此溶液溶解结晶碘2 g，待结晶碘完全溶解后，移入100 ml容量瓶中，加水至刻度。

4.4.4.2 分析步骤

吸取乳样5 ml于试管中，加入碘溶液2滴~3滴，乳中掺有淀粉时，即出现蓝色、紫色或暗红色及沉淀。牛乳中掺豆浆，加碘溶液后呈现浅污绿色。同时做空白对照。

4.4.5 掺过氧化氢的检验

4.4.5.1 试剂

4.4.5.1.1 硫酸溶液：1+1。

4.4.5.1.2 碘化钾-淀粉溶液：称取3 g 淀粉用少量温水混合成乳浊液，然后，边搅拌边加入沸水100 ml，冷却后加入碘化钾溶液5 ml（事先取碘化钾3 g 溶于5 ml 水中）。

4.4.5.2 分析步骤

吸取乳样1 ml 于试管中，加1滴硫酸溶液，然后，滴加碘化钾-淀粉溶液3滴~4滴，摇动混匀后，观察结果。如果，立即呈现兰色，判断为过氧化氢阳性，否则为阴性。

4.4.6 掺甲醛的检验

4.4.6.1 试剂

4.4.6.1.1 溴化钾。

4.4.6.1.2 硫酸溶液：5+1。

4.4.6.2 分析步骤

吸取3 ml 硫酸溶液(5+1)注入试管中，加溴化钾小晶粒1粒，摇匀后，立即沿试管壁徐徐注入1 ml 乳样，静置于试管架上，观察接触面上的环变化，如有甲醛存在则很快出现紫色环，否则为橙黄色。

4.4.7 掺氯化钠的检验

4.4.7.1 试剂

4.4.7.1.1 硝酸银溶液(0.01 mol/L)。

4.4.7.1.2 铬酸钾溶液(1 g/L)。

4.4.7.2 分析步骤

吸取乳样1 ml 于试管中，滴加铬酸钾溶液2滴~3滴后，再加入硝酸银溶液5 ml，摇匀观察溶液颜色。溶液呈黄色表明掺有食盐，呈棕红色表明未掺食盐。

4.4.8 抗生素残留量的检验

4.4.8.1 方法一

按 GB/T 4789.27—2003 进行。

4.4.8.2 方法二

将20 ml 被检奶样注入试管中，浸入沸水浴中10 min~15 min，然后冷却至43℃，加入1 ml~2 ml 酸乳。将试管置于43℃水浴保温3 h，测试pH值应≤4.2。

4.4.9 掺陈乳的检验

4.4.9.1 分析步骤

吸取乳样10 ml~20 ml 于烧杯中，加热煮沸，然后，加入等体积中性蒸馏水（新煮沸10 min，冷却至室温），观察有无凝块生成。

4.4.9.2 结果判定

煮沸试验不能单纯理解为酸度试验，因为，蛋白质凝块和多种因素有关，单从酸度看可认为是新鲜乳，但加热煮沸试验出现凝块，遇此情况应判断为：在新鲜乳中掺有陈乳。

