中华人民共和国国家标准

GB 5413.3—2010

食品安全国家标准
婴幼儿食品和乳品中脂肪的测定

National food safety standard

Determination of fat in foods for infants and young children,

milk and milk products

2010-03-26 发布　　2010-06-01 实施

中华人民共和国卫生部　发布

前　　言

本标准代替 GB/T 5009.46-2003《乳与乳制品卫生标准的分析方法》中脂肪的测定、GB/T 5409-85《牛乳检验方法》中脂肪的测定、GB/T 5416-85《奶油检验方法》中脂肪的测定、GB/T 5413.3-1997《婴幼儿配方食品和乳粉 脂肪的测定》。

本标准的附录 A 为资料性附录。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

——GB/T 5409-85；

——GB/T 5413.3-1997；

——GB/T 5416-85；

——GB 5009.46-1985、GB/T 5009.46-1996、GB/T 5009.46-2003。

食品安全国家标准
婴幼儿食品和乳品中脂肪的测定

1 范围

本标准规定了巴氏杀菌乳、灭菌乳、生乳、发酵乳、调制乳、乳粉、炼乳、奶油、稀奶油、干酪和婴幼儿配方食品中脂肪的测定方法。

本标准第一法适用于巴氏杀菌乳、灭菌乳、生乳、发酵乳、调制乳、乳粉、炼乳、奶油、稀奶油、干酪和婴幼儿配方食品中脂肪的测定；第二法适用于巴氏杀菌乳、灭菌乳、生乳中脂肪的测定。

2 规范性引用文件

本标准中引用的文件对于本标准的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本标准。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本标准。

第一法

3 原理

用乙醚和石油醚抽提样品的碱水解液，通过蒸馏或蒸发去除溶剂，测定溶于溶剂中的抽提物的质量。

4 试剂和材料

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 淀粉酶：酶活力≥1.5 U/mg。

4.2 氨水（NH_4OH）：质量分数约 25%。

注：可使用比此浓度更高的氨水。

4.3 乙醇（C_2H_5OH）：体积分数至少为 95%。

4.4 乙醚（$C_4H_{10}O$）：不含过氧化物，不含抗氧化剂，并满足试验的要求。

4.5 石油醚（C_nH_{2n+2}）：沸程 30 ℃～60 ℃。

4.6 混合溶剂：等体积混合乙醚（4.4）和石油醚（4.5），使用前制备。

4.7 碘溶液（I_2）：约 0.1 mol/L。

4.8 刚果红溶液（$C_{32}H_{22}N_6Na_2O_6S_2$）：将 1 g 刚果红溶于水中，稀释至 100 mL。

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

4.9 盐酸（6 mol/L）：量取 50 mL 盐酸（12 mol/L）缓慢倒入 40 mL 水中，定容至 100 mL，混匀。

5 仪器和设备

5.1　分析天平：感量为 0.1 mg。

5.2　离心机：可用于放置抽脂瓶或管，转速为 500 转/分钟～600 转/分钟，可在抽脂瓶外端产生 80 g～90 g 的重力场。

5.3　烘箱。

5.4　水浴。

5.5　抽脂瓶：抽脂瓶应带有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，后放入 60 ℃或 60 ℃以上的水中保持至少 15 min，冷却后使用。不用时需浸泡在水中，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。

6　分析步骤

6.1　用于脂肪收集的容器（脂肪收集瓶）的准备

于干燥的脂肪收集瓶中加入几粒沸石，放入烘箱中干燥1 h。使脂肪收集瓶冷却至室温，称量，精确至0.1 mg。

注：脂肪收集瓶可根据实际需要自行选择。

6.2　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10 mL水代替试样。

6.3　测定

6.3.1　巴氏杀菌乳、灭菌乳、生乳、发酵乳、调制乳

称取充分混匀试样10 g（精确至0.0001 g）于抽脂瓶中。

6.3.1.1　加入 2.0 mL 氨水（4.2），充分混合后立即将抽脂瓶放入 65 ℃±5 ℃的水浴中，加热 15 min～20min，不时取出振荡。取出后，冷却至室温。静止 30 s 后可进行下一步骤。

6.3.1.2　加入 10 mL 乙醇（4.3），缓和但彻底地进行混合，避免液体太接近瓶颈。如果需要，可加入两滴刚果红溶液（4.8）。

6.3.1.3　加入 25 mL 乙醚（4.4），塞上瓶塞，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 1 min，也可采用手动振摇方式。但均应注意避免形成持久乳化液。

抽脂瓶冷却后小心地打开塞子，用少量的混合溶剂冲洗塞子和瓶颈，使冲洗液流入抽脂瓶。

6.3.1.4　加入 25 mL 石油醚（4.5），塞上重新润湿的塞子，按 6.3.1.3 所述，轻轻振荡 30 s。

6.3.1.5　将加塞的抽脂瓶放入离心机中，在 500 转/分钟～600 转/分钟下离心 5 min。否则将抽脂瓶静止至少 30 min，直到上层液澄清，并明显与水相分离。

6.3.1.6　小心地打开瓶塞，用少量的混合溶剂（4.6）冲洗塞子和瓶颈内壁，使冲洗液流入抽脂瓶。

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。

6.3.1.7　将上层液尽可能地倒入已准备好的加入沸石的脂肪收集瓶中，避免倒出水层（见图 2）。

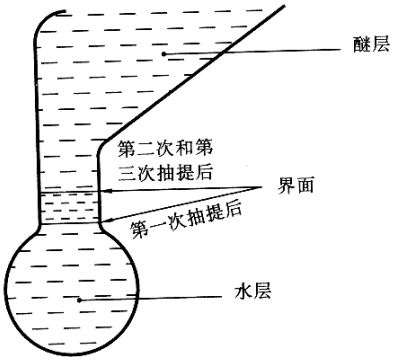

图1 倾倒醚层前

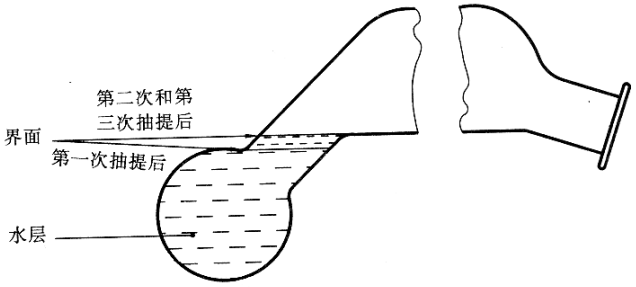

图2 倾倒醚层后

6.3.1.8 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。要防止溶剂溅到抽脂瓶的外面。

6.3.1.9 向抽脂瓶中加入 5 mL 乙醇，用乙醇冲洗瓶颈内壁，按 6.3.1.2 所述进行混合。重复 6.3.1.3～6.3.1.8 操作，再进行第二次抽提，但只用 15 mL 乙醚和 15 mL 石油醚。

6.3.1.10 重复 6.3.1.2～6.3.1.8 操作，再进行第三次抽提，但只用 15 mL 乙醚和 15 mL 石油醚。

注：如果产品中脂肪的质量分数低于5 %，可只进行两次抽提。

6.3.1.11 合并所有提取液，既可采用蒸馏的方法除去脂肪收集瓶中的溶剂，也可于沸水浴上蒸发至干来除掉溶剂。蒸馏前用少量混合溶剂冲洗瓶颈内部。

6.3.1.12 将脂肪收集瓶放入 102 ℃±2 ℃的烘箱中加热 1 h，取出脂肪收集瓶，冷却至室温，称量，精确至 0.1 mg。

6.3.1.13 重复 6.3.1.12 操作，直到脂肪收集瓶两次连续称量差值不超过 0.5 mg，记录脂肪收集瓶和抽提物的最低质量。

6.3.1.14 为验证抽提物是否全部溶解，向脂肪收集瓶中加入 25 mL 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，则含抽提物的脂肪收集瓶的最终质量和最初质量之差，即为脂肪含量。

6.3.1.15 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。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，再用石油醚冲洗脂肪收集瓶口的内部。

最后，用混合溶剂冲洗脂肪收集瓶口的外部，避免溶液溅到瓶的外壁。将脂肪收集瓶放入102 ℃±2 ℃的烘箱中，加热1 h，按6.3.1.12和6.3.1.13所述操作。

6.3.1.16 取 6.3.1.13 中测得的质量和 6.3.1.15 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，步骤如附录A（标准的附录）所述。

6.3.2 乳粉和乳基婴幼儿食品

称取混匀后的试样，高脂乳粉、全脂乳粉、全脂加糖乳粉和乳基婴幼儿食品：约1 g（精确至0.0001 g），脱脂乳粉、 乳清粉、酪乳粉：约1.5 g（精确至0.0001 g）。

6.3.2.1 不含淀粉样品

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

6.3.2.2 含淀粉样品

将试样放入抽脂瓶中，加入约0.1 g的淀粉酶（4.1）和一小磁性搅拌棒，混合均匀后，加入8 mL～10 mL 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2 h，每隔10 min摇混一次。为检验淀粉是否水解完全可加入两滴约0.1 mol/L的碘溶液（4.7），如无蓝色出现说明水解完全，否则将抽脂瓶重新置于水浴中，直至无蓝色产生。冷却抽脂瓶。

以下操作同6.3.1.1～6.3.1.16。

6.3.3 炼乳

脱脂炼乳、全脂炼乳和部分脱脂炼乳称取约3 g～5 g、高脂炼乳称取约1.5 g（精确至0.0001 g），用10 mL蒸馏水，分次洗入抽脂瓶小球中，充分混合均匀。

以下操作同6.3.1.1～6.3.1.16。

6.3.4 奶油、稀奶油

先将奶油试样放入温水浴中溶解并混合均匀后，称取试样约0.5 g样品（精确至0.0001 g），稀奶油称取1g于抽脂瓶中，加入8 mL～10 mL 45℃的蒸馏水。加 2 mL氨水充分混匀。

以下操作同6.3.1.1～6.3.1.14。

6.3.5 干酪

称取约2 g研碎的试样（精确至0.0001 g）于抽脂瓶中，加10 mL盐酸（4.9），混匀，加塞，于沸水中加热20 min～30 min。以下操作按6.3.1.2～6.3.1.16操作。

7 分析结果表述

样品中脂肪含量按式（1）计算：

$$X=\frac{(m_1-m_2)-(m_3-m_4)}{m}\times 100 \quad\cdots\cdots(1)$$

式中：

X——样品中脂肪含量，单位为克每百克（g/100g）；

m——样品的质量，单位为克（g）；

m_1——6.3.1.13 中测得的脂肪收集瓶和抽提物的质量，单位为克（g）；

m_2——脂肪收集瓶的质量，或在有不溶物存在下，6.3.1.15 中测得的脂肪收集瓶和不溶物的质量，单位为克（g）；

m_3——空白试验中，脂肪收集瓶和 6.3.1.13 中测得的抽提物的质量，单位为克（g）；

m_4——空白试验中脂肪收集瓶的质量，或在有不溶物存在时，6.3.1.15 中测得的脂肪收集瓶和不溶物的质量，单位为克（g）。

以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留三位有效数字。

8 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果之差应符合：

脂肪含量≥15%，≤0.3g/100g；

脂肪含量 5～15%，≤0.2g/100g；

脂肪含量≤5%，≤0.1g/100g。

9 其他

实验过程注意事项：

9.1 空白试验检验试剂

要进行空白试验，以消除环境及温度对检验结果的影响。

进行空白试验时在脂肪收集瓶中放入 1 g 新鲜的无水奶油。必要时，于每 100 mL 溶剂中加入 1 g 无水奶油后重新蒸馏，重新蒸馏后必须尽快使用。

9.2 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。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 0.5 mg。在常规测定中，可忽略不计。

如果全部试剂空白残余物大于 0.5 mg，则分别蒸馏 100 mL 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 0.5 mg。 否则应更换不合格的试剂或对试剂进行提纯。

9.3 乙醚中过氧化物的检验

取一只玻璃小量筒，用乙醚冲洗，然后加入 10 mL 乙醚，再加入 1 mL 新制备的 100 g/L 的碘化钾溶剂，振荡，静置 1 min，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。

在不加抗氧化剂的情况下，为长久保证乙醚中无过氧化物，使用前三天按下法处理：

将锌箔削成长条，长度至少为乙醚瓶的一半，每升乙醚用 80 cm^2 锌箔。

使用前，将锌片完全浸入每升中含有 10 g 五水硫酸铜和 2 mL 质量分数为 98 %的硫酸中 1 min，用水轻轻彻底地冲洗锌片，将湿的镀铜锌片放入乙醚瓶中即可。也可以使用其他方法，但不得影响检测结果。

第二法

10 原理

在乳中加入硫酸破坏乳胶质性和覆盖在脂肪球上的蛋白质外膜，离心分离脂肪后测量其体积。

11 试剂和材料

11.1 硫酸（H_2SO_4）：分析纯，ρ_{20} 约 1.84 g/L。

11.2 异戊醇（$C_5H_{12}O$）：分析纯。

12 仪器和设备

12.1 乳脂离心机。

12.2 盖勃氏乳脂计：最小刻度值为 0.1 %，见图 3。

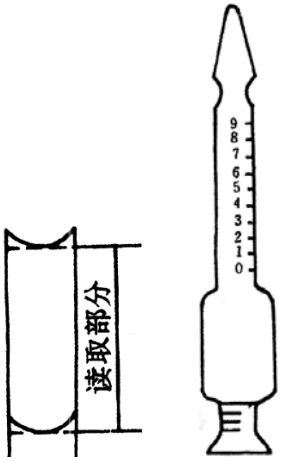

图 3 盖勃氏乳脂计

12.3 10.75 mL 单标乳吸管。

13 分析步骤

于盖勃氏乳脂计中先加入 10 mL 硫酸（11.1），再沿着管壁小心准确加入 10.75 mL 样品，使样品与硫酸不要混合，然后加 1 mL 异戊醇（11.2），塞上橡皮塞，使瓶口向下，同时用布包裹以防冲出，用力振摇使呈均匀棕色液体，静置数分钟（瓶口向下），置 65 ℃～70 ℃水浴中 5 min，取出后置于乳脂离心机中以 1100 转/分钟的转速离心 5 min，再置于 65 ℃～70 ℃水浴水中保温 5 min（注意水浴水面应高于乳脂计脂肪层）。取出，立即读数，即为脂肪的百分数。

14 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 5%。

附 录 A
（资料性附录）
使用带虹吸管或洗瓶的抽脂管的操作步骤

A.1 步骤

A.1.1 脂肪收集瓶的准备：见6.1。

A.1.2 空白试验：见6.2和9.2。

A.1.3 测定

A.1.3.1 巴氏杀菌、灭菌乳、生乳、发酵乳、调制乳：称取充分混匀样品 10 g（精确至 0.001 g）于抽脂管底部。

乳粉及乳基婴幼儿食品：称取混匀后的样品高脂乳粉、全脂乳粉、全脂加糖乳粉和乳基婴幼儿配方食品：约1g，脱脂乳粉、 乳清粉、酪乳粉：约1.5 g（精确至0.001 g），于抽脂管底部，加入10 mL 65 ℃±5 ℃的水，充分混合，直到样品完全分散，放入流动水中冷却。

炼乳：脱脂炼乳称取约 10 g、全脂炼乳和部分脱脂炼乳称取约 3 g～5 g；高脂炼乳称取约 1.5g（精确至 0.001g），于抽脂管底部。加入 10 mL 水，充分混合均匀。

奶油、稀奶油：先将奶油样品放入温水浴中溶解并混合均匀后，奶油称取约 0.5 g 样品，稀奶油称取 1g 于抽脂管底部（精确至 0.001 g）。

上述样品接以下 A.1.3.1.1 操作。

干酪：称取约 2 g 研碎的样品（精确至 0.001 g）。加水 9 mL、氨水 2 mL，用玻璃棒搅拌均匀后微微加热使酪蛋白溶解，用盐酸（4.9）中和后再加盐酸（4.9）10 mL，加海砂 0.5 g，盖好玻璃盖，以文火煮沸 5 min，冷却后将烧杯内容物移入抽脂管底部，用 25 mL 乙醚冲洗烧杯，洗液并入抽脂管中，以下操作按 A.1.3.1.4“加软木塞”以后操作。

A.1.3.1.1 加入2 mL氨水，与管底部已稀释的样品彻底混合。加入氨水后，应立即进行下步操作。

A.1.3.1.2 将抽脂管放入65 ℃±5 ℃的水浴中，加热15 min～20 min，偶尔振荡样品管，然后冷却至室温。

A.1.3.1.3 加入10 mL乙醇，在管底部轻轻彻底地混合，必要时加入两滴刚果红溶液。

A.1.3.1.4 加入25 mL乙醚，加软木塞（已被水饱和），或用水浸湿的其他瓶塞，上下反转1 min，不要过度（避免形成持久性乳化液）。必要时，将管子放入流动的水中冷却，然后小心地打开软木塞，用少量的混合溶剂（使用洗瓶）冲洗塞子和管颈，使冲洗液流入管中。

A.1.3.1.5 加入25 mL石油醚，加塞（塞子重新用水润湿），按A.1.3.1.3所述轻轻振荡30 s。

A.1.3.1.6 将加塞的管子放入离心机中，在500 转/分钟～600 转/分钟下离心1 min～5 min。或静止至少30 min，直到上层液澄清，并明显地与水相分离，冷却。

A.1.3.1.7 小心地打开软木塞，用少量混合溶剂洗塞子和管颈，使冲洗液流入管中。

A.1.3.1.8 将虹吸管或洗瓶接头插入管中，向下压长支管，直到距两相界面的上方4 mm处，内部长支管应与管轴平行。

小心地将上层液移入含有沸石的脂肪收集瓶中，也可用金属皿。避免移入任何水相。用少量混合溶剂冲洗长支管的出口，收集冲洗液于脂肪收集瓶中。

A.1.3.1.9 松开管颈处的接头，用少量的混合溶剂冲洗接头和内部长支管的较低部分，重新插好接头，将冲洗液移入脂肪收集瓶中。

用少量的混合溶剂冲洗出口，冲洗液收集于瓶中，必要时，按6.3.1.11所述，通过蒸馏或蒸发去除部分溶剂。

A.1.3.1.10 再松开管颈处的接头，微微抬高接头，加入5 mL乙醇，用乙醇冲洗长支管，如A.1.3.1.3

所述混合。

A.1.3.1.11　重复A.1.3.1.4～A.1.3.1.9步骤进行第二次抽提，但仅用15 mL乙醇和15 mL石油醚，抽提之后，在移开管接头时，用乙醚冲洗内部长支管。

A.1.3.1.12　重复A.1.3.1.4～A.1.3.1.9步骤，不加乙醇，进行第三次抽提，仅用15 mL乙醇和15 mL石油醚。

注：如果产品中脂肪的质量分数低于5 %，可省略第三次抽提。

A.1.3.1.13　以下按6.3.1.11～6.3.1.15所述进行。