

本标准已于 2021 年 02 月 01 日在上海市市场监督管理局登记，登记号 T/311863310107C6632021

ICS 号： 67.100.10

中国标准文献分类号： X 16

# 团 体 标 准

T/CSCA110059-2020

巴氏杀菌乳—鲜牛奶

Pasteurized milk—Fresh milk

2020-11-10 发布

2020-11-10 实施

上海市认证协会 发布



20122910721447

## 目 次

前言 .....	II
1 范围 .....	1
2 规范性引用文件 .....	1
3 术语和定义 .....	2
4 技术要求 .....	2
5 生产加工过程的要求 .....	3
6 试验方法 .....	3
7 检验规则 .....	4
8 标识、标签、包装、运输及贮存要求 .....	5
9 安全健康环保 .....	5
10 用户体验 .....	6
附录 A（规范性）生乳感官分级评定规程 .....	7
附录 B（规范性）牧场挤奶及贮奶设备清洗消毒技术规范 .....	8
附录 C（规范性）乳铁蛋白含量的测定 .....	10
附录 D（规范性）免疫球蛋白 IgG 含量的测定 .....	12
附录 E（规范性）乳过氧化物酶含量的测定 .....	14
附录 F（规范性）碱性磷酸酶的测定 .....	16
附录 G（规范性）物流配送要求 .....	18
参考文献 .....	19

## 前 言

本文件按照GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由上海市认证协会提出并归口。

本文件由上海市认证协会发布。

本文件起草单位：光明乳业股份有限公司、光明乳业股份有限公司华东中心工厂、上海乳品四厂有限公司、通标标准技术服务(上海)有限公司。

本文件主要起草人：贲敏、刘振民、王惠铭、张锋华、苏永红、王红坤、于鹏、胡维旭、石永根、杨菊香、高斌斌、任璐、花榜清、张红梅、包和平、谢朋军。

本文件为首次发布。

本文件承诺执行单位：光明乳业股份有限公司、光明乳业股份有限公司华东中心工厂、上海乳品四厂有限公司、通标标准技术服务(上海)有限公司、南京光明乳品有限公司、浙江省杭江牛奶公司乳品厂、成都光明乳业有限公司、武汉光明乳品有限公司、广州光明乳品有限公司、北京光明健能乳业有限公司。

# 巴氏杀菌乳-鲜牛奶

## 1 范围

本文件规定了巴氏杀菌乳-鲜牛奶的术语和定义、技术要求、生产加工过程的要求、试验方法、检验规则及标识、标签、包装、运输和贮存、安全健康环保、用户体验等要求。

本文件适用于以生牛乳为原料，经均质、巴氏杀菌、灌装等工艺而制成的产品。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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/T 191 包装储运图示标志
- GB 2761 食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量
- GB 2762 食品安全国家标准 食品中污染物限量
- GB 4789.2 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定
- GB 4789.3 食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠菌群计数
- GB 4789.4 食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验
- GB 4789.10 食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验
- GB 5009.5 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定
- GB 5009.6 食品安全国家标准 食品中脂肪的测定
- GB 5009.11 食品安全国家标准 食品中总砷及无机砷的测定
- GB 5009.12 食品安全国家标准 食品中铅的测定
- GB 5009.17 食品安全国家标准 食品中总汞及有机汞的测定
- GB 5009.24 食品安全国家标准 食品中黄曲霉毒素M族的测定
- GB 5009.123 食品安全国家标准 食品中铬的测定
- GB 5009.239 食品安全国家标准 食品酸度的测定
- GB 5413.39 食品安全国家标准 乳和乳制品中非脂乳固体的测定
- GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法
- GB 7718 食品安全国家标准 预包装食品标签通则
- GB/T 11901 水质 悬浮物的测定 重量法
- GB 12693 食品安全国家标准 乳制品良好生产规范
- GB/T 18706 液体食品保鲜包装用纸基复合材料
- GB 19301 食品安全国家标准 生乳
- GB 19645 食品安全国家标准 巴氏杀菌乳
- GB/T 22388 原料乳与乳制品中三聚氰胺检测方法
- GB/T 27590 纸杯
- GB 28050 食品安全国家标准 预包装食品营养标签通则
- HJ 828 水质 化学需氧量的测定 重铬酸盐法

NY/T 800 生鲜牛乳中体细胞的测定方法  
 QB/T 2357 聚酯 (PET) 无汽饮料瓶  
 QB/T 4622 玻璃容器 牛奶瓶  
 JJF 1070 定量包装商品净含量计量检验规则  
 T/TDSTIA 006-2019 奶及奶制品中乳铁蛋白的测定 液相色谱法

### 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

#### 3.1 巴氏杀菌

在有效杀灭生牛乳中病原性微生物的同时,产生最低程度的化学、物理以及感官变化的热杀菌操作。

#### 3.2 巴氏杀菌乳

以生牛乳为原料,经过滤、均质、巴氏杀菌、灌装等工序制得的液体产品。

### 4 技术要求

#### 4.1 原料要求

生牛乳:应符合GB 19301的规定,其他指标需符合表1规定。

表1 生牛乳感官等级评定、菌落总数和体细胞指标

项 目	指 标	检验方法
感官评定等级	A级	附录A
菌落总数/(CFU/mL)	$\leq 1.0 \times 10^5$	GB 4789.2
体细胞/(个/mL)	$\leq 3.0 \times 10^5$	NY/T 800

为确保生牛乳质量,对牧场制定“牧场挤奶及贮奶设备清洗消毒技术规范”,详见附录B。

#### 4.2 感官要求:应符合表2的规定。

表2 感官要求

项 目	要 求
色泽	呈乳白色或微黄色。
滋味和气味	具有乳固有的香味、无异味。
组织状态	呈均匀一致液体,无凝块、无沉淀、无正常视力可见异物。

#### 4.3 理化指标:应符合表3的规定。

表3 理化指标

项 目	指 标
脂肪 <sup>a</sup> /(g/100g)	$\geq 3.3$
蛋白质/(g/100g)	$\geq 3.3$

表3 (续)

项 目	指 标
非脂乳固体/ (g/100g)	≥8.5
酸度/(°T)	12~18
乳铁蛋白/ (mg/L)	≥45
免疫球蛋白IgG/ (mg/L)	≥180
乳过氧化物酶/ (U/L)	≥1500
碱性磷酸酶	阴性
*仅适用于全脂巴氏杀菌乳。	

4.4 污染物限量：应符合 GB 2762 的规定。

4.5 真菌毒素限量：应符合 GB 2761 的规定。

4.6 微生物限量：应符合 GB 19645 的规定。

4.7 三聚氰胺限量：见“卫生部公告 2011 年第 10 号《卫生部等 5 部门关于三聚氰胺在食品中的限量值的公告》”的规定。

4.8 净含量及允差

见“国家质量监督检验检疫总局令[2005]第75号《定量包装商品计量监督管理办法》”的规定。检验方法按JJF 1070规定执行。

5 生产加工过程的要求

5.1 杀菌

杀菌温度为 72℃~76℃，保持时间不低于 15s。

5.2 灌装

下线温度为 2℃~6℃。

5.3 其他应符合 GB 12693 《食品安全国家标准 乳制品良好生产规范》的规定。

6 试验方法

6.1 感官指标

感官指标按照 GB 19645 中表 1 规定的检验方法测定。

6.2 理化指标

6.2.1 脂肪含量的测定

脂肪含量按照GB 5009.6测定。

6.2.2 蛋白质含量的测定

蛋白质含量按照GB 5009.5测定。

### 6.2.3 非脂乳固体含量的测定

非脂乳固体含量按照GB 5413.39测定。

### 6.2.4 酸度的测定

酸度按照GB 5009.239测定。

### 6.2.5 乳铁蛋白含量的测定

乳铁蛋白含量按照T/TDSTIA 006-2019或附录C测定。

### 6.2.6 免疫球蛋白IgG的测定

免疫球蛋白IgG含量按照附录D测定。

### 6.2.7 乳过氧化物酶的测定

乳过氧化物酶含量按照附录E测定。

### 6.2.8 碱性磷酸酶的测定

碱性磷酸酶按照附录F测定。

### 6.2.9 污染物的测定

污染物限量按照GB 5009.11、GB 5009.12、GB 5009.17、GB 5009.123测定。

### 6.2.10 真菌毒素的测定

真菌毒素限量按照GB 5009.24测定。

### 6.2.11 微生物的测定

微生物限量按照GB 4789.2、GB 4789.3平板计数法、GB 4789.4和GB 4789.10定性检验测定。

### 6.2.12 三聚氰胺的测定

三聚氰胺限量按照GB/T 22388测定。

## 7 检验规则

### 7.1 出厂检验

每批产品须经工厂检验部门检验。出厂每批必检项目为：感官指标、净含量、酸度、脂肪、蛋白质、非脂乳固体、三聚氰胺。国家另有规定的应符合相关的规定。

### 7.2 型式检验

型式检验包括本标准的所有项目，正常生产时至少每半年进行一次，有下列情况下之一时，亦应进行型式检验：

- a) 产品定型投产时；
- b) 停产半年以上恢复生产时；
- c) 生产工艺有较大改变，可能影响产品质量时；

- d) 出厂检验结果与上次型式检验有较大差异时；
- e) 相关监管部门提出要求时。

### 7.3 组批

同一生产日期、同一品种的产品为一批。

### 7.4 判定规则

检验结果符合本标准规定时，判为合格品。如检验结果不符合本标准要求时，可在同批产品中加倍抽取样品，复检不合格项目，以复检结果为准。但微生物指标不得复检。

## 8 标识、标签、包装、运输及贮存要求

### 8.1 标识、标签

应在产品包装主要展示面上紧邻产品名称的位置，使用不小于产品名称字号且字体高度不小于主要展示面高度五分之一的汉字标注“鲜牛奶”或“鲜牛乳”。

产品标识标签应符合GB 7718的规定，营养标识标签应符合GB 28050的规定。包装储运图示标志应符合GB/T 191的规定。

### 8.2 包装

包装材料和容器应密封无洞，封口牢固。玻璃瓶包装应符合QB/T 4622的规定；新鲜杯包装应符合GB/T 27590的规定；屋型纸盒包装应符合GB/T 18706的规定；PET塑料瓶包装应符合QB/T 2357的规定；其他包装形式，其材质应符合食品包装材料相关规定。

### 8.3 运输

运输产品的车辆应用制冷车或保温车，制冷车辆运输温度保持在0℃~6℃。运送工具、车辆应清洁、卫生，备有防雨、防晒设施。不得与有毒、有害、有异味或影响产品品质的物品混运。物流其他内控见附录G。

### 8.4 贮存

玻璃瓶包装：产品在2℃~6℃下贮存，保质期为3天。

新鲜杯包装：产品在2℃~6℃下贮存，保质期为5天。

屋型纸盒包装：产品在2℃~6℃下贮存，保质期为7天。

PET塑料瓶包装：产品在2℃~6℃下贮存，保质期为7天。

## 9 安全健康环保

秉承绿色环保的生产理念，高度重视生产污水处理，污水处理排放需符合表4规定。

表4 污水处理化学指标

检验项目		指标要求	检验方法
指标	化学需氧量（COD）/（mg/L）	≤500	HJ 828
	悬浮物（SS）/（mg/L）	≤400	GB/T 11901

## 10 用户体验

为保证消费者用户体验，定期请第三方权威调研公司进行品牌健康度调查，对品牌形象、产品属性、包装、行销、渗透率进行数据跟踪，并不断进行持续改进，以便更好地满足消费者在饮用、购买便利、品牌感受各方面的体验。



**附录 A**  
(规范性)  
**生乳感官分级评定规程**

**A.1 人员要求**

感官评鉴人员应满足下列要求：

- 具有良好的视觉、嗅觉、味觉以及触觉等感官分析能力；
- 对乳品不过敏，感官评鉴当天应具有良好的健康状况，不得吸烟；
- 必须具备乳制品加工、检验方面的专业知识，经过专门培训与考核，熟悉评鉴样品的色、香、味、质地、类型、特征及检测所需要的方法；
- 具有良好的表达能力，在对样品的感官特性进行描述时，能够做到专业、准确、无误；
- 不应在饥饿、疲劳、饮酒或饮食后1小时内进行感官评鉴工作；
- 工作前不使用香水、化妆品，不用香皂洗手；
- 感官评鉴时应穿清洁、无异味的工作服。

**A.2 评鉴打分标准**

每件样品按照表A.1标度进行打分，通过各项得分累加的综合分数判定其感官评价等级。

**表A.1 生乳评分标准**

项目		评分标度				
		1分	2分	3分	4分	5分
气味	乳香气	清淡	较淡	一般	较浓	浓郁
	奶气味	略牛舍味	略酸味	略饲料味	略腥	略氧化味
滋味	乳香味	清淡	较淡	一般	较浓	浓郁
	奶滋味	略辣口	略涩口	略酸	略咸	略甜
	顺滑	弱	较弱	一般	较强	强

奶气味：当在上表中无法找到对应感官属性词时，则按喜欢度打分；

奶滋味：标度对应为辣、苦、酸、咸、甜五味，当无法分辨时，则按喜好度打分。

**A.3 等级评价**

通过各项合计得分对生乳感官进行分级判定。若出现无法明确具体指标标度的情况，可以由多人参与评价，并以合计得分均值进行分级判定，等级评价详见表 A.2。

**表A.2 生乳等级评价**

分级	合计得分
A级	21 < A级 ≤ 25
B级	17 < B级 ≤ 21
C级	13 < C级 ≤ 17
D级	9 < D级 ≤ 13
E级	5 ≤ E级 ≤ 9

## 附录 B

(规范性)

### 牧场挤奶及贮奶设备清洗消毒技术规范

#### B.1 清洗消毒程序

##### B.1.1 总则

挤奶及贮奶设备中的生乳放出后应及时清洗、消毒,定期对挤奶设备设施及贮存设施进行维护保养,确保设备设施的最佳运行状态。

##### B.1.2 清洗消毒前准备

B.1.2.1 挤奶完全结束后,排尽挤奶管道内奶液(严禁水顶奶),关闭挤奶系统,把挤奶管道系统切换到清洗管道系统。

B.1.2.2 清洗前应对挤奶设施设备表面进行清洁工作,确保设备外表无粪便等污物;对挤奶台管道、场地进行冲洗,确保挤奶厅无粪便等污物;清洗贮奶设施设备前,也应对其表面进行清洁工作。

B.1.2.3 挤奶杯安装到相应的清洗底座,确认安装到位。清洗底座与清洗水管应确保无老化、破损现象。

B.1.2.4 定期对清洗挤奶或贮奶设施设备死角进行人工拆洗,如接头、奶泵等。

##### B.1.3 清洗消毒操作

###### B.1.3.1 预冲洗

挤奶完毕,清洗管路接好后,将出水关口放到下水道口,马上用水进行单向预冲洗,不加任何清洗剂,冲洗时间 5min。

###### B.1.3.2 碱洗

以循环清洗方式用碱液清洗 5min~10min;碱液 pH 值为 11.5~12.0;碱液(常温碱液除外)温度开始时不低于 75℃,结束时应在 40℃以上。

###### B.1.3.3 酸洗

以循环清洗方式用酸液清洗 5min~10min;酸液 pH 值为 2.0~3.0;酸液(常温酸液除外)温度开始时不低于 75℃,结束时应在 40℃以上。

###### B.1.3.4 后冲洗

以单向冲洗清洗方式,用常温水冲洗挤奶设备;清洗管路接好后,将出水关口放到下水道口开始清洗,冲洗后用 pH 试纸检测,直至 pH 值为 7.0。

###### B.1.3.5 热水消毒

用不低于 77℃热水保持至少 5min 进行热水消毒。

##### B.1.4 清洗消毒流程

牧场挤奶及贮奶设备的清洗消毒流程参考图 B.1 所示。

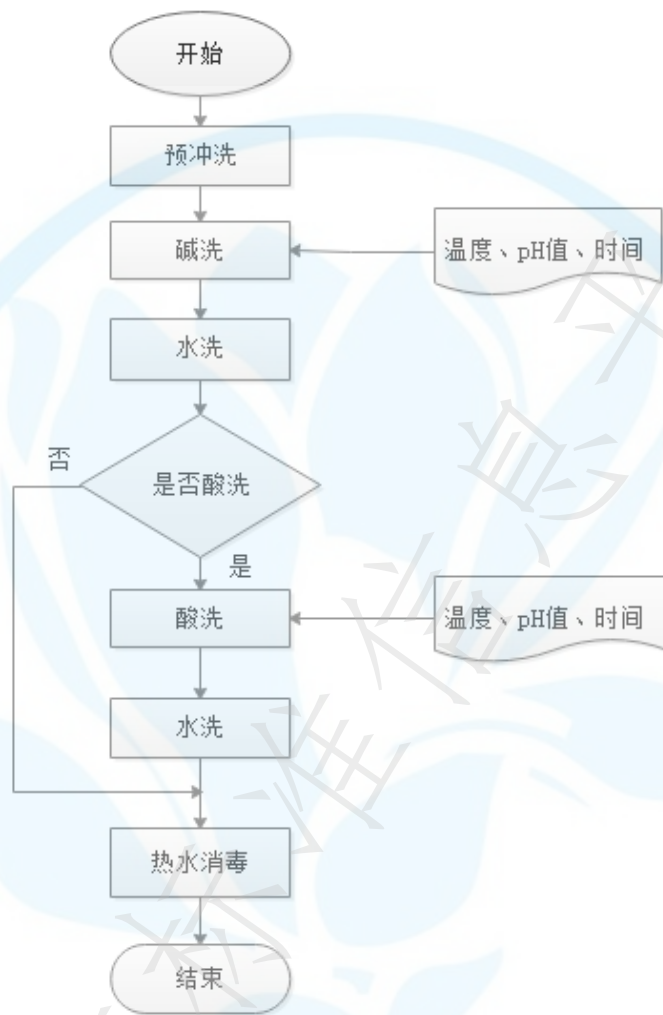


图 B.1 清洗消毒流程图

## B.2 清洗消毒效果验证

B.2.1 设备清洗消毒后应验证清洁效果（清洗消毒效果验证指标限值参考表B.1的要求），发现异常应按B.1.3的要求重启清洗消毒程序。

表B.1 建议监控指标限值

项目	指标	检测方法
菌落总数/ (cfu/mL)	<30	GB 4789.2

### B.2.2 感官检验

清洗完毕后设备应无异味、异色、异物。

### B.2.3 微生物检验

清洗过的挤奶及贮奶设备每周应至少开展一次微生物检测。

**附 录 C**  
**(规范性)**  
**乳铁蛋白含量的测定**

### C.1 范围

本文件规定了乳中乳铁蛋白的酶联免疫（ELISA）的测定方法。  
本文件适用于原料乳、巴氏杀菌乳等乳中乳铁蛋白含量的测定。

### C.2 原理

试样中的乳铁蛋白是通过乳铁蛋白ELISA试剂盒测定。本试剂盒是利用双抗夹心酶联免疫分析方法进行检测。微孔板中包被有抗乳铁蛋白的抗体，加入乳铁蛋白标准品或样品后，游离的乳铁蛋白与微孔板上预包被的抗乳铁蛋白抗体结合，已被捕获的乳铁蛋白再与酶标记的抗乳铁蛋白的抗体结合，用TMB底物显色，加入酸性终止液后颜色由蓝色变黄色，用酶标仪在450 nm波长下进行测定吸光度值，吸光度值与样品中的乳铁蛋白的含量成正比。比较样品的吸光值与样品试剂盒提供的标准品的吸光值即可获得检测结果。

### C.3 试剂和材料

- C.3.1 微孔：置于微孔板中，包被牛乳铁蛋白抗体，共96个微孔（8孔/条，12条）；
- C.3.2 乳铁蛋白标准品：即用型，浓度依次为：0、20、50、125、250、500ng/mL，每瓶1mL；
- C.3.3 酶标物：绿盖，即用型，12mL；
- C.3.4 浓缩洗涤液：60mL，20×浓缩；
- C.3.5 底物试剂：棕盖，稳定的四甲基联苯胺，即用型，12mL；
- C.3.6 终止液：红盖，即用型，0.18mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>，12mL；
- C.3.7 去离子水或蒸馏水；

### C.4 仪器和设备

- C.4.1 酶标仪
- C.4.2 离心机（≥8000×g）
- C.4.3 移液器及相应吸头（100μL、200μL和1000μL），多道移液器，加样槽（可选）
- C.4.4 洗板机（可选）
- C.4.5 天平

### C.5 分析步骤

#### C.5.1 试样制备

C.5.1.1 生鲜乳：4℃，8000×g离心10min。取出下层液体，用1×洗涤溶液稀释，使样品稀释液中乳铁蛋白的浓度在标准曲线范围内（建议先1:1000稀释，如10μL牛奶加9.99mL 1×洗涤溶液）。使用100μL稀释的样品进行检测。

C.5.1.2 巴氏奶：直接用1×洗涤溶液稀释，使样品中乳铁蛋白的浓度在标准曲线范围内。使用100μL稀释的样品进行检测。

## C.5.2 检测步骤

### C.5.2.1 实验准备

- C.5.2.1.1 使用前将所有试剂恢复至室温（20℃~25℃）。
- C.5.2.1.2 使用后应立即将所有试剂放置于2℃~8℃。
- C.5.2.1.3 各操作步骤间请勿使用微孔完全干燥。避免延长各步骤间的时间间隔。
- C.5.2.1.4 实验的重现性在很大程度上取决于洗板的连续性。请按下方建议的洗板顺序洗板。
- C.5.2.1.5 所有孵育步骤应避免阳光直射。建议盖上微孔板盖，请勿使用铝箔或金属膜。
- C.5.2.1.6 请勿交互使用不同批次试剂盒中的试剂。

### C.5.2.2 测定程序

C.5.2.2.1 制备1×洗涤溶液：将20×洗涤溶液20倍稀释，如30mL浓缩洗涤溶液（20×）+570 mL蒸馏水。该体积足够用于整块微孔板。

注：如果冷藏过程中出现结晶，稀释前请将浓缩液37℃放置15min。

- C.5.2.2.2 根据样品检测数将足够数量的酶标板微孔插入反应支架上，建议所有标准品和样品做平行。
- C.5.2.2.3 向标准品孔中加入100μL乳铁蛋白标准品（0μg/mL、20μg/mL、50μg/mL、125μg/mL、250μg/mL、500μg/mL），向样品孔中加入100μL稀释后的样品溶液，盖上微孔板盖，室温孵育30min。
- C.5.2.2.4 温育结束后，弃去微孔中的液体，向每孔加入200μL稀释后的洗涤液洗涤微孔板，重复洗涤4次，共洗涤5次。最后一次洗涤后，倒掉液体后再吸水纸上拍打酶标板，去除残留洗涤液。
- C.5.2.2.5 向微孔中分别加入100μL酶标物（推荐使用多通道移液器），盖上微孔板盖，室温避光孵育30min。
- C.5.2.2.6 温育结束后，按照步骤C.5.2.2.4共洗涤5次微孔板。
- C.5.2.2.7 向微孔中分别加入100μL底物试剂，室温避光反应15min。
- C.5.2.2.8 显色结束后向每孔加入100μL终止液。
- C.5.2.2.9 在水平面轻轻振荡微孔板，用酶标仪测定450nm的吸光度值。

## C.6 实验结果的判定

- C.6.1 计算标准品和稀释的样品的平均吸光度值，将其减去空白值（0μg/mL标准品的平均吸光度值）。
- C.6.2 以标准品与空白的OD值之差为纵坐标，标品中乳铁蛋白浓度值为横坐标，构建半对数曲线。根据样品的OD值，从标准曲线中读取稀释后样品中乳铁蛋白的浓度，将其乘以稀释倍数即获得样品中的乳铁蛋白浓度。

**附 录 D**  
**(规范性)**  
**免疫球蛋白 IgG 含量的测定**

**D.1 范围**

本文件规定了乳中免疫球蛋白IgG的高效液相色谱测定方法。  
本文件适用于原料乳、巴氏杀菌乳等乳中免疫球蛋白IgG含量的测定。

**D.2 原理**

根据高效亲和色谱的原理，在磷酸盐缓冲液条件下免疫球蛋白IgG与配基连接，在pH 2.5的盐酸甘氨酸条件下洗脱免疫球蛋白IgG，然后通过高效液相色谱进行分析，外标法定量。

**D.3 试剂和材料****D.3.1 试剂**

流动相A (0.05mol/L磷酸盐缓冲液 (pH 6.5))：称取磷酸二氢钾6.8g，加入1mol/L氢氧化钠 15.2 mL，加水800mL溶解并定容至1L，用pH计确定pH，如有误差调整至6.5，然后摇匀过膜即得。

流动相B (0.05mol/L甘氨酸盐缓冲液 (pH 2.5))：称取甘氨酸3.7535g，加入800mL水溶解，用盐酸调整溶液pH至2.5，然后摇匀过膜即得。

**D.3.2 标准品及储备液的配制**

标准物质：免疫球蛋白IgG，来源于牛血清；

标准储备液：称取10mg免疫球蛋白IgG标准物质于10mL容量瓶中，用流动相A溶解并定容。

注：除非另有说明，本标准所用试剂均为分析纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

**D.4 仪器和设备**

D.4.1 pH计：测量精度 $\pm 0.02$ ；

D.4.2 天平：感量0.001g和0.00001g；

D.4.3 超声波振荡器；

D.4.4 高效液相色谱仪：带紫外检测器；

D.4.5 色谱分离柱：Pharmacia HI-Trap Protein G柱，1mL；

D.4.6 离心机，10000r/min；

**D.5 分析步骤****D.5.1 试样制备及处理**

精密称定样品20g (精确到0.001 g) 置50mL容量瓶中，流动相A适量，超声提取20分钟，冷却至室温，用流动相定容至刻度，摇匀离心。

然后取2.5mL过滤液，通过Pharmacia HI-Trap Protein G柱进行净化，最后定容至1.5mL，上液相色谱进行分析。

**D.5.2 色谱参考条件**

色谱柱：CAPCELL PARK C18，4.6mmI.D.×250mm×5 $\mu$ m；

流动相：乙腈：0.1% 三氟乙酸=6:4；

流速：1 mL/min；

检测波长：280nm；  
进样量：5 $\mu$ L~20 $\mu$ L；

#### D.6 结果计算

按式（1）计算免疫球蛋白IgG的含量。

$$X = \frac{c \times V \times 1000}{m \times 1000} \times 1.03 \quad (1)$$

式中：

X---试样中免疫球蛋白IgG的含量，单位为毫克每升（mg/L）；

c---根据标准曲线计算得到的试样中免疫球蛋白IgG的浓度，单位为微克每毫升（ $\mu$ g/mL）；

m---试样的称样量，单位为克（g）；

V---定容体积，单位为毫升（mL）；

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。计算结果保留三位有效数字。

#### D.7 精密度

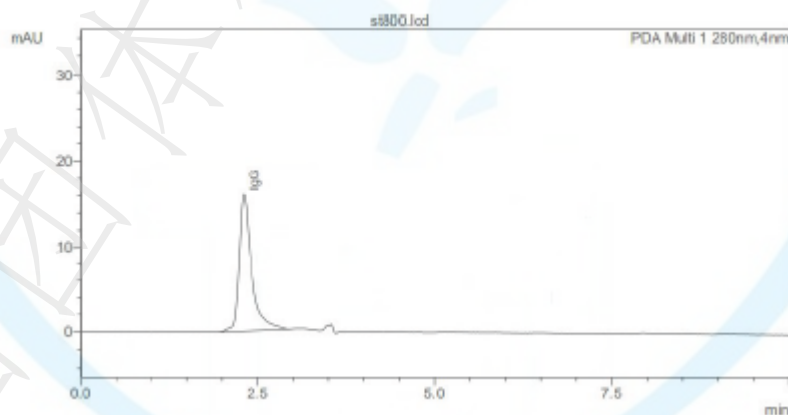
在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的10%。

#### D.8 检出限及定量限

本方法的检出限：液态乳，当取样量为20g时，检出限为1.5mg/100g；

本方法的定量限：液态乳，当取样量为20g时，定量限为5mg/100g；

#### D.9 色谱图



**附录 E**  
**(规范性)**  
**乳过氧化物酶含量的测定**

**E.1 范围**

本文件规定了乳中乳过氧化物酶的比色法测定方法。

本文件适用于原料乳、巴氏杀菌乳等乳中乳过氧化物酶含量的测定。

**E.2 原理**

试样中的乳过氧化物酶是通过乳过氧化物酶活性测定试剂盒测定。该试剂盒以酶促反应为基础，将样品或标准品加入微孔板中，随后加入底物。样品或标准品中的LPO将LPO底物转化，形成蓝色产物。然后加入终止液，溶液由蓝色变为黄色，在450nm测定吸光度值。样品中LPO的浓度与吸光度值成正比。

**E.3 试剂和材料**

E.3.1 微孔板：共96个微孔（12条、8孔/条）

E.3.2 LPO标准品：白盖，琥珀色玻璃瓶，用前稀释，400U/L，1mL

E.3.3 样品稀释液：白盖，即用型，6mL

E.3.4 LPO底物：棕盖，即用型，6mL

E.3.5 终止液：红盖，即用型，含0.18mol/L硫酸，12mL

E.3.6 样品处理溶液：即用型，60mL

**E.4 仪器和设备**

E.4.1 装载450nm滤光片的酶标仪

E.4.2 离心机

E.4.3 移液器及枪头：10~1000μL

E.4.4 多道移液器：50~300μL

E.4.5 加样槽（可选）

E.4.6 恒温振荡器

E.4.7 Whatman1#滤纸

**E.5 样品前处理****E.5.1 生鲜乳**

移取10mL生鲜乳样品至离心管中，恢复至室温。缓慢加入0.6 mL样品处理溶液，同时缓慢振荡，混匀，室温放置5~10分钟。于3000×g离心10分钟，用滤纸过滤上清液，收集滤液。用样品稀释液从1:20~1:80开始稀释滤液，使样品的LPO在标准曲线范围内，待测。

**E.5.2 72℃~76℃巴氏杀菌乳**

移取10mL牛奶样品至离心管中，恢复至室温。缓慢加入0.6mL样品处理溶液，同时缓慢振荡，混匀，室温放置5~10分钟。于3000×g离心10分钟，用滤纸过滤上清液，收集滤液。用样品稀释液从1:5~1:10开始稀释滤液，使样品的LPO在标准曲线范围内，待测。

## E.6 标准品制备

制备200U/L、100U/L、50U/L和25U/L的标准品溶液：使用样品稀释溶液1:2（1+1）连续稀释LPO标准品（400U/L）。样品稀释溶液作为空白（0U/L）。

## E.7 检测步骤

使用前将试剂和微孔板回温至室温（20℃~25℃）。

### E.7.1 准备

取出需要数量的微孔置于微孔架上（每个标准品或待测样品对应一个微孔），记录标准品和样品位置（建议所有样品和标准品做平行样）。

### E.7.2 加样

向微孔中加入50μL标准品（0U/L、25U/L、50U/L、100U/L、200U/L和400U/L）或样品，每加一个标准品或样品要更换一个新的枪头。

### E.7.3 加底物液

向每个微孔中加入50μL底物（建议使用多道移液器），短暂混合。

### E.7.4 孵育

盖上盖板膜，室温（20℃~25℃）孵育10分钟。

### E.7.5 终止和读数

小心揭开盖板膜，向每个微孔中加入100μL终止液，在水平面轻轻振荡混合。加入终止液30分钟内，在450 nm下读取并记录每个微孔的OD值。

试剂和微孔板使用后置于2℃~8℃保存。

## E.8 结果分析

以标准品与空白的吸光度值之差为Y轴，标准品的浓度为X轴构建标准曲线。根据样品的吸光度值，从标准曲线中读取样品中LPO的浓度（U/L），然后乘以稀释倍数，即为样品中乳过氧化物酶（LPO）含量。

## 附录 F (规范性) 碱性磷酸酶的测定

### F.1 范围

本文件规定了乳中碱性磷酸酶的快速测定方法。

本文件适用于原料乳、巴氏杀菌乳等乳中碱性磷酸酶的测定。

### F.2 原理

碱性磷酸酶是天然存在于原奶中的一种酶，它能够被传统的巴氏杀菌所破坏。ATP生物荧光检测仪中的F-AP检测频道可以检测碱性磷酸酶的活性。检测值大于等于350mU/L说明样品为阳性，当检测值为100mU/L~350mU/L时表明样品为可疑样品，当检测值小于100mU/L时表明样品为阴性。

### F.3 试剂和材料

F.3.1 试剂盒（F-AP管、校准药片、微管适配器、复原管及管帽）

F.3.2 吸头

F.3.3 校准药片

F.3.4 ATP荧光检测仪

F.3.5 涡旋混合器

F.3.6 小离心管

F.3.7 底座

F.3.8 温度探针

### F.4 样品制备

#### F.4.1 阴性质控（阴性校准器）

在用前48小时内制备的巴氏杀菌样品或巴氏杀菌样品作为阴性质控。

制备巴氏杀菌样品的方法：取至少20mL全脂均质乳样品加热至 $(95 \pm 1)^\circ\text{C}$ ，在 $(95 \pm 1)^\circ\text{C}$ 下保持1分钟同时不断搅拌。不要使用微波炉加热样品。如果加热导致蛋白质沉淀，可尝试降低温度延长加热时间，例如，在 $(63 \pm 1)^\circ\text{C}$ 下加热45分钟。快速冷却并保持冷藏（在48小时内使用）。

#### F.4.2 阳性质控（350mU/L校准器）

向具帽混合瓶中加入一片校准药片。加入100 $\mu\text{L}$ 水，混合，以打散药片，等待1分钟，再次混合。加入2.5mL阴性质控，以制备350mU/L校准器。标记瓶子、盖子，剧烈震荡10秒钟。冷藏或冰浴10分钟。使用前再次用力混合。使用时应保持冷藏（最多可使用48小时）。

### F.5 检测步骤

F.5.1 进入样品检测模式，开启F-AP检测频道。

F.5.2 将室温的F-AP管放置于管架上，用新的干净的吸头刺穿瓶口箔片的中心约2~3厘米。用移液器吸取100 $\mu\text{L}$ 样品，用纸巾/擦拭巾去除吸头外壁多余的样品。请勿用纸巾/擦拭巾接触吸头底部。

F.5.3 将样品注入F-AP管中，立即点击开始。据屏幕提示，用涡旋振荡器（最高速度）充分混合5秒。根据下一步提示，将F-AP管连接适配器，插入UM中。从出现提示信息到插入样品有30秒时间。计数5秒钟。计数结束时，屏幕出现mU/L数值以及Pass或Fail。从点击开始，检测总时间为45秒。

## F.6 结果分析

F.6.1 当结果大于或者等于350mU/L时，则样品为阳性。

F.6.2 当结果为100~350mU/L时，则为可疑样品，需采用国标微生物检测方法进行确认。

F.6.3 当结果小于100mU/L时，则样品为阴性。



附录 G  
(规范性)  
物流配送要求

G.1 配送设备要求

对各渠道配送硬件设备进行监控,并利用GPS监控系统对配送全程进行监控,以便更好地监控整个配送过程的温度。

G.2 配送温度要求

装车前车辆提前预冷,装车或卸货尽量保持车门随开随关。

配送途中产品温度控制在 $0^{\circ}\text{C}\sim 6^{\circ}\text{C}$ 。产品在市区内配送过程中,车厢温度 $0^{\circ}\text{C}\sim 6^{\circ}\text{C}$ ;产品在移库或出省市的运输,车厢温度 $0^{\circ}\text{C}\sim 4^{\circ}\text{C}$ 。卸货产品温度 $0^{\circ}\text{C}\sim 6^{\circ}\text{C}$ 。

参 考 文 献

- [1] 国家质量监督检验检疫总局令[2005]第75号《定量包装商品计量监督管理办法》
  - [2] 卫生部公告2011年第10号“关于三聚氰胺在食品中的限量值的公告”
- 

