

乳脂肪球膜乳(清)蛋白粉

1 范围

本文件规定了乳脂肪球膜乳(清)蛋白粉的要求、检验规则及标志、包装、运输和贮存,描述了相应的试验方法,界定了相关的术语和定义。

本文件适用于作为食品原料使用的乳脂肪球膜乳(清)蛋白粉的生产、检验和销售。

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/T191 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 5009.3 食品安全国家标准 食品中水分的测定

GB 5009.4 食品安全国家标准 食品中灰分的测定

GB 5009.5 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定

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 11674 食品安全国家标准 乳清粉和乳清蛋白粉

GB 19301 食品安全国家标准 生乳

GB 19646 食品安全国家标准 稀奶油、奶油和无水奶油

GB 28050 食品安全国家标准 预包装食品营养标签通则

GB 29921 食品安全国家标准 预包装食品中致病菌限量

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 乳脂肪球膜 milk fat globule membranes

包裹在乳脂肪球表面,由极性脂质、胆固醇和蛋白质等组成的复杂的三层磷脂蛋白膜。

3.2 乳脂肪球膜乳清蛋白粉 whey protein powder with milk fat globule membranes

以生乳或乳清为原料，经分离、浓缩、干燥等工序制成的含有乳脂肪球膜的粉末状产品。

3.3 乳脂肪球膜乳蛋白粉 milk protein powder with milk fat globule membranes

以生乳或稀奶油为原料，经分离、浓缩、干燥等工序制成的含有乳脂肪球膜的粉末状产品。

4 要求

4.1 原料要求

4.1.1 生乳：应符合 GB 19301 的规定。

4.1.2 乳清：应符合 GB 11674 的规定

4.1.3 稀奶油：应符合 GB 19646 的规定。

4.2 感官要求

应符合表 1 的规定。

表 1 感官要求

项目	要求
色泽	呈乳白色或微黄色
滋味、气味	具有本产品特有的滋味、气味，无异味
组织状态	干燥均匀的粉末状产品，无结块
杂质	无正常视力可见外来异物

4.3 理化指标

应符合表 2 的规定。

表 2 理化指标

项目	指标	
	乳脂肪球膜乳清蛋白粉	乳脂肪球膜乳蛋白粉
蛋白质/(g/100g) \geq	60.0	25.0
磷脂/(g/100g) \geq	4.0	
鞘磷脂/(g/100g 磷脂)	15.0~35.0	

神经节苷脂/(mg/100g) \geq	160
水分/(g/100g) \leq	6.0
灰分/(g/100g) \leq	9.0

4.4 安全要求

4.4.1 真菌毒素限量应符合 GB 2761 的规定。

4.4.2 污染物限量应符合 GB 2762 的规定。

4.4.3 微生物限量应符合 GB 29921 的规定。

5 试验方法

5.1 感官

取适量试样，置于清洁、干燥的白色瓷盘中，在自然光线下观察其色泽和外观，闻其气味，用温开水漱口，品尝滋味。

5.2 蛋白质

按 GB 5009.5 规定的方法检测。

5.3 磷脂

按附录 A 规定的方法检测。

5.4 鞘磷脂

按附录 A 规定的方法检测。

5.5 神经节苷脂

按附录 B 规定的方法检测。

5.6 水分

按 GB 5009.3 规定的方法检测。

5.7 灰分

按 GB 5009.4 规定的方法检测。

6 检验规则

6.1 组批

以同一次投料生产，同一品种的产品为一个批次。

6.2 抽样

产品按批抽样。

预包装产品，抽取 5 件包装样品。10kg 以上的大包装产品，可分别在抽取的 5 件包装样品中抽取分装 500 g 产品作为样品，样品取样总量不少于 2500g。

6.3 出厂检验

产品出厂前应由生产企业的质量检验部门逐批进行检测，检测项目按相关的规定执行，检测合格后方可出厂。

6.4 判定规则

6.4.1 检验指标全部合格时，判该批产品为合格品。

6.4.2 检验结果若有不合格项目时，可以从该批产品中加倍抽取样品，对不合格项目进行复检，复检结果全部合格时，判定该批产品为合格品，复检结果有 1 项不合格时，则判该批产品为不合格品；微生物限量不合格时不应复检。

7 标志、包装、运输和贮存

7.1 标志

预包装产品标签应标明产品类别（乳脂肪球膜乳清蛋白粉、乳脂肪球膜乳蛋白粉），其他应符合 GB 7718 和 GB 28050 的规定。包装储运图示标志应符合 GB/T 191 的规定。

7.2 包装

包装材料和容器应符合相关标准的规定。

7.3 运输

产品运输时应避免日晒、雨淋。不应与有毒、有害、有异味或影响产品质量的物品混装运输。

7.4 贮存

产品应贮存在干燥、通风良好的场所。不应与有毒、有害、有异味、易挥发、易腐蚀的物品共同贮存。

附录A

(规范性)

磷脂、鞘磷脂的检测方法

A.1 磷脂的鉴别试验

按照A.2方法对磷脂的含量进行测定,如鞘磷脂含量比例符合表A.3的要求,则判定为牛乳来源的磷脂。

A.2 磷脂的定量测定

A.2.1 方法提要

经三氯甲烷与甲醇的混合溶液提取,通过硅胶色谱柱分离,采用高效液相色谱配置蒸发光散射检测器进行检测,外标法定量。

A.2.2 试剂和材料

本标准所用试剂和水,在没有注明其他要求时,均指分析纯试剂和GB/T 6682中规定的一级水。

A.2.2.1 乙腈(CH_3CN): 色谱纯。

A.2.2.2 氯化钾(KCl): 优级纯。

A.2.2.3 乙酸铵($\text{CH}_3\text{COONH}_4$): 色谱纯。

A.2.2.4 冰乙酸(CH_3COOH): 优级纯。

A.2.2.5 三氯甲烷(CHCl_3): 色谱纯。

A.2.2.6 甲醇(CH_3OH): 色谱纯。

A.2.2.7 三氯甲烷: 甲醇=1:1 (V/V), 临用前配制。

A.2.2.8 三氯甲烷: 甲醇=1:2 (V/V), 临用前配制。

A.2.2.9 0.01mol/L氯化钾溶液: 称取0.7455g KCl , 500mL水溶解, 定容至1L, $1-8^\circ\text{C}$ 保存, 有效期一周。

A.2.2.10 磷脂酰丝氨酸: 纯度 $\geq 95\%$ 。

A.2.2.11 鞘磷脂: 纯度 $\geq 95\%$ 。

A.2.2.12 磷脂酰胆碱: 纯度 $\geq 95\%$ 。

A.2.2.13 磷脂酰乙醇胺: 纯度 $\geq 95\%$ 。

A.2.2.14 磷脂酰肌醇: 纯度 $\geq 95\%$ 。

A.2.2.15 磷脂系列标准储备溶液: 分别称取适量的(精确至0.1mg)磷脂酰丝氨酸、鞘磷脂、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇标准物质于10 mL容量瓶中,用三氯甲烷甲醇溶液(A.2.2.7)溶解并定容,折算纯度后达到10mg/mL。 -18°C 保存,有效期一周。

A.2.2.16 磷脂系列标准工作溶液: 分别准确移取磷脂酰丝氨酸、鞘磷脂、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺和磷脂酰肌醇标准储备溶液1.0mL至10mL容量瓶中,用三氯甲烷甲醇溶液(A.2.2.8)溶解并定容,摇匀后再吸取0.0 mL、0.05mL、0.1 mL、0.5 mL、1.0mL、2.0 mL、5.0 mL至10 mL容量瓶中,用三氯甲烷甲醇溶液(A.2.2.8)溶解并定容。磷脂酰丝氨酸、鞘磷脂、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇标准工作溶液浓度分别为 $0\mu\text{g/mL}$ 、 $5\mu\text{g/mL}$ 、 $10\mu\text{g/mL}$ 、 $50\mu\text{g/mL}$ 、 $100\mu\text{g/mL}$ 、 $200\mu\text{g/mL}$ 、 $500\mu\text{g/mL}$ 、 $1000\mu\text{g/mL}$, 临用前配制。

A.2.3 仪器和设备

A.2.3.1 高效液相色谱仪: 配有蒸发光散射检测器。

A.2.3.2 离心机: 转速5000 r/min。

A. 2.4 参考色谱条件

- A. 2.4.1 色谱柱：填料硅胶， $5\mu\text{m}$ ， $250\text{ mm}\times 3.0\text{ mm}$ （内径），或等效色谱柱。
- A. 2.4.2 柱温： 30°C 。
- A. 2.4.3 进样体积： $10\mu\text{L}$ 。
- A. 2.4.4 流速： 1.0 mL/min 。
- A. 2.4.5 流动相：95%乙腈（含5% 0.01 mol/L 的乙酸铵，混匀后用冰乙酸调节 $\text{pH}=5.6\pm 0.5$ ）和50%乙腈（含5% 0.01 mol/L 的乙酸铵，混匀后用冰乙酸调节 $\text{pH}=5.6\pm 0.5$ ），梯度洗脱参数见表A.1。
- A. 2.4.6 蒸发光散射检测器：漂移管温度 90°C ；雾化气流量 2.2 L/min ；雾化器温度默认（缺省）。

表 A.1 流动相梯度洗脱程序

时间 (min)	95%乙腈 (%)	50%乙腈 (%)
0	99	1
3	99	1
7	91	9
10	88	12
20	75	25
25	75	25
27	99	1
35	99	1

A. 2.5 操作步骤

A. 2.5.1 提取

A. 2.5.1.1 称取试样 2.5 g （精确至 0.01 g ）至烧杯中，加入水 25 mL 超声溶解，转移并用水定容至 50 mL ，摇匀后准确吸取 1.0 mL 于具塞离心管。

A. 2.5.1.2 向具塞离心管中加入 9 mL 三氯甲烷甲醇溶液（A.2.2.7）涡旋混合，在混摇振荡器上振荡 10 min ；取出在 4000 r/min 下离心 10 min ，移取上清液于另一具塞离心管中，剩余沉淀物加 1.0 mL 水，振荡混匀后再加 9 mL 三氯甲烷甲醇溶液（A.2.2.7），涡旋混合后在混摇振荡器上振荡 10 min ；取出在 4000 r/min 下离心 10 min 移出上清液；转移合并上清液。

A. 2.5.1.3 向合并的上清液中加入 2.0 mL 水和 0.01 mol/L 氯化钾溶液（A.2.2.9） 1.0 mL ，涡旋混合后在 4000 r/min 下离心 10 min ，弃去上层水相层，下层有机溶液在 40°C 氮吹至近干，加入三氯甲烷甲醇溶液（A.2.2.8） 2.5 mL ，振荡溶解后在 5000 r/min 下室温（ $20\text{--}25^{\circ}\text{C}$ ）离心 5 min ，用 $0.22\mu\text{m}$ 的有机膜过滤后上机测定。

A. 2.5.2 测定

将磷脂系列标准工作液分别注入高效液相色谱仪中，测定相应的峰面积，以标准工作液浓度的对数为横坐标，以峰面积的对数为纵坐标，绘制标准曲线。再将试样提取液注入高效液相色谱仪中，得到相对应的峰面积，根据标准曲线得到试样磷脂成分的浓度。

A. 2.6 结果计算

试样中磷脂各成分的含量 X_i ，单位为克每百克（g/100g），按式（A.1）计算：

$$X_i = \frac{c}{m} \times V \times f \times \frac{100}{1000 \times 1000} \dots \dots \dots (A.1)$$

式中：

- X_i —试样中磷脂各成分的含量，单位为克每百克（g/100g）；
 c —从标准工作曲线中得到的磷脂成分的浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；
 V —样品溶液定容体积 50mL，单位为毫升（mL）；
 m —试样的质量，单位为克（g）；
 f —稀释倍数为 2.5。

试样中磷脂的总含量 X ，单位为克每百克（g/100g），按式（A.2）计算：

$$X = \sum X_i \dots \dots \dots (A.2)$$

式中：

- X —试样中磷脂总含量，单位为克每百克（g/100g）；
 X_i —试样中磷脂各成分的含量，单位为克每百克（g/100g）。

计算结果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。

在重复性条件下获得两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的15%。

当称样量为2.5g时，磷脂酰胆碱（PC）检出限为0.10g/100g，定量限为0.25g/100g；磷脂酰乙醇胺（PE）检出限为0.05g/100g，定量限为0.15g/100g；磷脂酰肌醇（PI）检出限为0.10g/100g，定量限为0.25g/100g；磷脂酰丝氨酸（PS）检出限为0.25g/100g，定量限为0.50g/100g；鞘磷脂（SPH）检出限为0.07g/100g，定量限为0.20g/100g。

A. 2. 7 结果判定

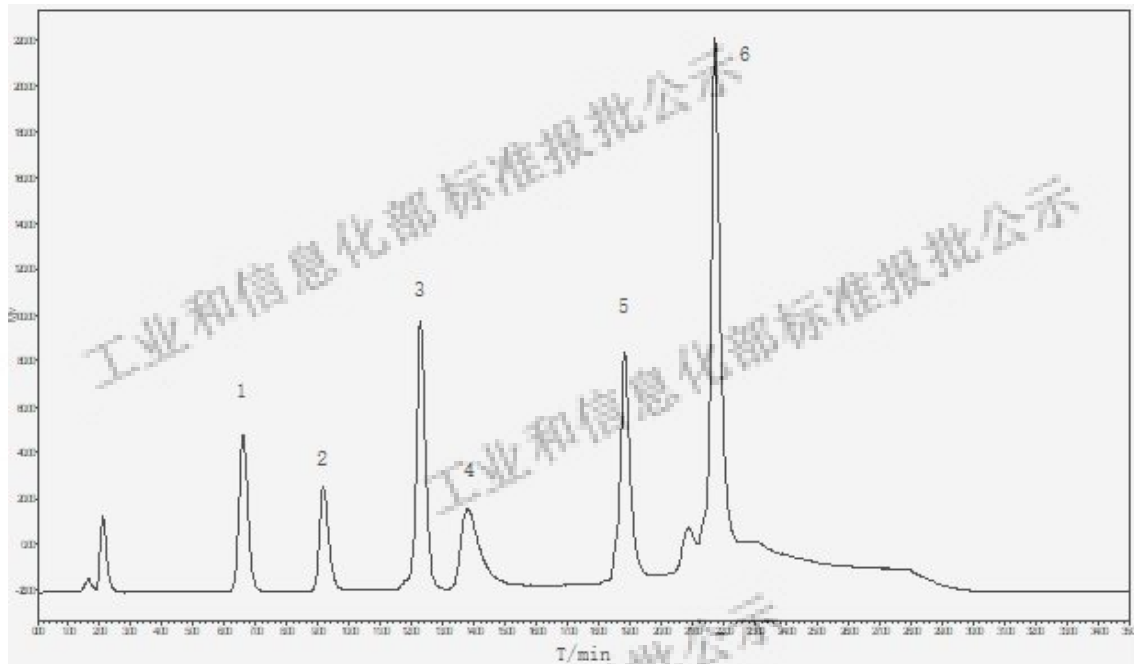
试样中鞘磷脂成分含量比例应符合表A. 3的要求。

表 A. 3 鞘磷脂成分含量比

成分	比例区间
鞘磷脂：磷脂酰胆碱	0.6:1 ~ 1.2:1
鞘磷脂：总磷脂	0.15 :1~ 0.35:1

A. 2. 8 磷脂(成分参考色谱图)

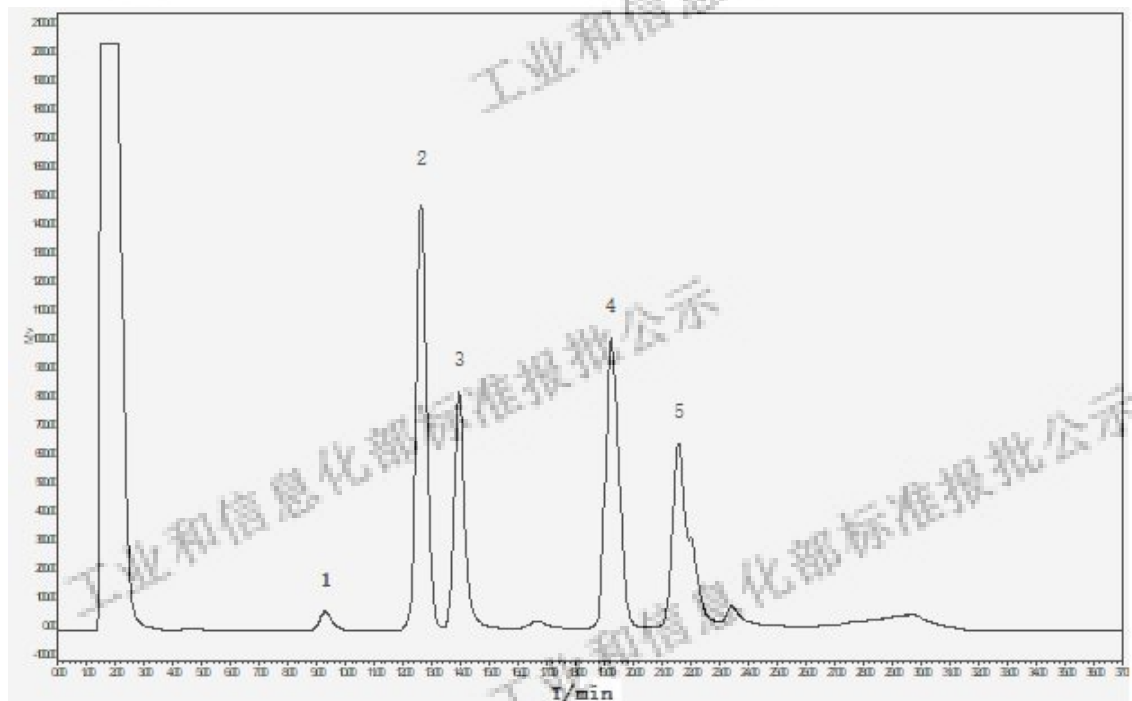
磷脂各成分标样色谱图见图 A. 1



标引序号说明：1-磷脂酰甘油，2-磷脂酰肌醇，3-磷脂酰乙醇胺，4-磷脂酰丝氨酸，5-磷脂酰胆碱，6-鞘磷脂。

图 A.1 磷脂各成分标样色谱

试样中磷脂各成分色谱图见图A.2



标引序号说明：1-磷脂酰肌醇，2-磷脂酰乙醇胺，3-磷脂酰丝氨酸，4-磷脂酰胆碱，5-鞘磷脂。

图 A.2 试样中磷脂各成分色谱图

(规范性)

神经节苷脂的检测方法

B.1 神经节苷脂的鉴别试验

按照B.2方法对神经节苷脂的含量进行测定，如定性离子色谱图与图B.3一致，则判定为牛乳来源的神经节苷脂。

B.2 神经节苷脂的定量测定

B.2.1 方法提要

经三氯甲烷与甲醇的混合溶液提取，通过硅胶色谱柱分离，采用超高效液相色谱串联质谱/质谱法进行检测，外标法定量。

B.2.2 试剂和材料

本标准所用试剂和水，在没有注明其他要求时，均指分析纯试剂和GB/T 6682中规定的一级水。

B.2.2.1 乙腈 (CH_3CN)：色谱纯。

B.2.2.2 氯化钾 (KCl)：优级纯。

B.2.2.3 乙酸铵 ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$)：色谱纯。

B.2.2.4 三氯甲烷 (CHCl_3)：色谱纯。

B.2.2.5 甲醇 (CH_3OH)：色谱纯。

B.2.2.6 冰乙酸 (CH_3COOH)：优级纯。

B.2.2.7 三氯甲烷：甲醇=1：2 (V/V)，临用前配制。

B.2.2.8 甲醇：水=1：1 (V/V)，临用前配制。

B.2.2.9 0.01mol/L氯化钾溶液：称取0.7455g KCl ，500mL水溶解，定容至1L， -18°C 保存，有效期一周。

B.2.2.10 神经节苷脂GD3：纯度>99%，中文名称、英文名称、CAS号、分子式、相对分子量见表B.1。

表B.1 神经节苷脂GD3的信息

中文名称	英文名称	CAS 登录号	分子式	相对分子量	来源
双唾液神经节苷脂 (GD3)	Disialoganglioside GD3 (NH+salt)	62010-37-1	$\text{C}_{75}\text{H}_{135}\text{N}_3\text{O}_{29} \cdot 2\text{NH}_3$	1543+2NH ₃	Natural, bovine buttermilk

B.2.2.11 神经节苷脂标准储备溶液：称取适量的（精确至0.1mg）神经节苷脂标准物质于10 mL容量瓶中，用甲醇水溶液（B.2.2.8）溶解并定容，折算纯度后达到1.0mg/mL。 -18°C 保存，有效期一周。

B.2.2.12 神经节苷脂标准工作溶液：准确吸取神经节苷脂标准储备溶液1.0mL到10mL容量瓶中用甲醇水溶液（B.2.2.8）定容，摇匀后再吸取0.0 mL、0.05mL、0.1 mL、0.5 mL、1.0mL、2.0 mL、2.5 mL至10 mL容量瓶中，用甲醇水溶液（B.2.2.7）定容摇匀。标准工作溶液浓度分别为0.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、20.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、25.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，临用前配制。

B.2.3 仪器和设备

B.2.3.1 超高效液相色谱仪：配置串联四极杆质谱检测器。

B.2.3.2 离心机：转速5000 r/min。

B.2.4 参考色谱条件

- B. 2. 4. 1 色谱柱：填料适用于HILIC分离模式的硅胶，1.7 μ m，100 mm \times 2.1 mm（内径），或等效色谱柱。
- B. 2. 4. 2 柱温：30 $^{\circ}$ C。
- B. 2. 4. 3 进样体积：2 μ L。
- B. 2. 4. 4 流速：0.5mL/min。
- B. 2. 4. 5 流动相：95%乙腈（含5%0.01mol/l的乙酸铵，混匀后用冰乙酸调节pH=5.6 \pm 0.5）和50%乙腈（含50%0.01mol/l的乙酸铵，混匀后用冰乙酸调节pH=5.6 \pm 0.5），梯度洗脱参数见表B.2。

表 B. 2 流动相梯度洗脱程序

时间 (min)	95%乙腈 (%)	50%乙腈 (%)
0	99	1
3	99	1
6	60	40
10	60	40
11	99	1
15	99	1

B. 2. 5 参考质谱条件

- B. 2. 5. 1 电喷雾模式：ESI-；
- B. 2. 5. 2 毛细管电压：2.8kV；
- B. 2. 5. 3 锥孔电压：110 v；
- B. 2. 5. 4 脱溶剂温度：450 $^{\circ}$ C；
- B. 2. 5. 5 脱溶剂气流量：900L/h；
- B. 2. 5. 6 采用母离子模式采集数据进行定量测定，质谱参数见表B.3。

表B. 3 定量参考质谱参数

参数	化合物
	双唾液神经节苷脂（GD3）
扫描模式	母离子
质荷比(M/Z)	290.1 或 581.0
扫描范围	700-800
碰撞能(V)	40
锥孔电压(V)	100

- B. 2. 5. 7 采用多反应监测（MRM）模式采集数据进行定性鉴别，质谱参数见表B.4。

表B. 4定性参考质谱参数

化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	子离子 (m/z)	锥孔电压 (V)	碰撞能量 (eV)
双唾液神经节苷脂 (GD3)	707.8	290.1	581.1	-80	-38/-18
	715.1	290.1	581.1	-90	-39/-19
	721.0	290.1	581.1	-100	-42/-18
	728.0	290.1	581.1	-100	-39/-17
	734.9	290.1	581.1	-100	-40/-21
	742.0	290.1	581.1	-90	-40/-20
	748.9	290.1	581.1	-100	-42/-17
	756.0	290.1	581.1	-100	-43/-18
	763.0	290.1	581.1	-100	-43/-16
	770.1	290.1	581.1	-90	-40/-20
	777.1	290.1	581.1	-100	-42/-15
	784.1	290.1	581.1	+100	-43/-16

B.2.6 操作步骤

B.2.6.1 提取

B.2.6.1.1 称取试样 2.5g (精确至 0.01g) 于烧杯中, 加入水 25mL 超声溶解, 转移并用水定容至 50mL, 摇匀后准确吸取 1.0mL 于具塞离心管。

B.2.6.1.2 向具塞离心管中加入 4mL 三氯甲烷甲醇溶液 (B.2.2.7) 涡旋混合, 在混摇振荡器上振荡 10min; 在 4000 r/min 下离心 10 min, 转移上清液于另一具塞离心管中, 剩余沉淀物加 1.0mL-, 振荡混匀后再加 4mL 三氯甲烷甲醇溶液 (B.2.2.7), 涡旋混合后在混摇振荡器上振荡 10min; 在 4000 r/min 下离心 10 min, 转移合并上清液。

B.2.6.1.3 向合并的上清液中加入 2.0mL 水, 涡旋混合后在 4000 r/min 室温 (20-25℃) 下离心 10min, 转移上层水相层于 10mL 容量瓶中, 下层有机溶液再加入 0.01mol/L 氯化钾溶液 (B.2.2.9) 0.25 mL 和 0.35mL 甲醇 (B.2.2.5), 涡旋混合后在 4000 r/min 室温 (20-25℃) 下离心 10min, 转移上层水相层合并于 10mL 容量瓶中用甲醇 (B.2.2.5) 定容, 混匀后用 0.22um 的有机膜过滤后上机测定。

B.2.6.2 测定

将神经节苷脂标准工作液分别注入超高效液相色谱串联质谱/质谱仪中, 测定相应的峰面积, 以标准工作液的浓度为横坐标, 以峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线。再将试样提取液注入高效液相色谱仪中, 测得相对应的峰面积, 根据标准曲线得到试样神经节苷脂的浓度。

B.2.7 结果计算

试样中双唾液神经节苷脂 (GD3) 的含量 X , 单位为克每百克 (g/100g), 按式 (B.1) 计算:

$$X = \frac{c}{m} \times V \times f \times \frac{100}{1000 \times 1000} \dots \dots \dots (B.1)$$

式中:

X —试样中双唾液神经节苷脂的含量, 单位为克每百克 (g/100g)。

c —从标准工作曲线中得到的神经节苷脂的浓度, 单位为微克每毫升 ($\mu\text{g/mL}$);

V —样品溶液定容体积 50mL，单位为毫升（mL）；

m —试样的质量，单位为克（g）；

f —稀释倍数为 10。

计算结果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。

在重复性条件下获得两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的15%。

当称样量为2.5g时，神经节苷脂的检出限为0.04g/100g，定量限为0.10g/100g。

B.2.8 神经节苷脂参考离子色谱图

神经节苷脂标样母离子扫描色谱图见图 B.1

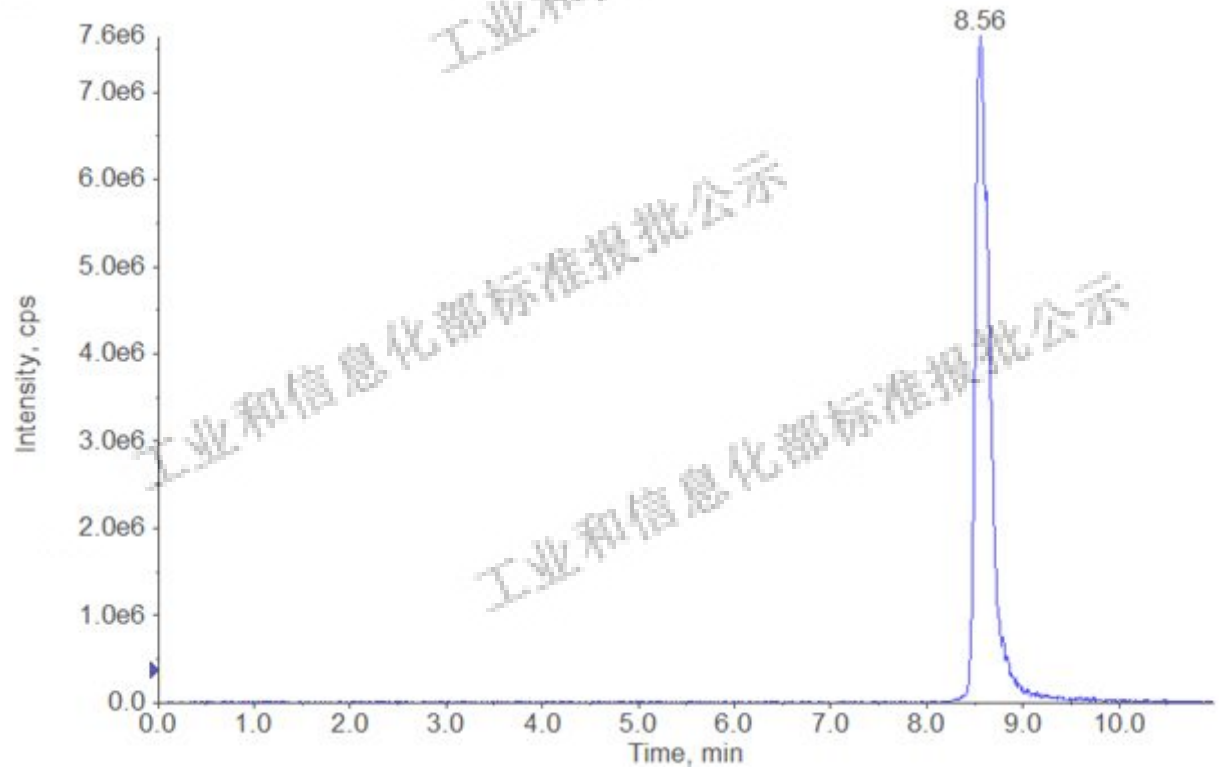


图 B.1 神经节苷脂标样母离子扫描色谱

试样中神经节苷脂色谱图见图 B.2

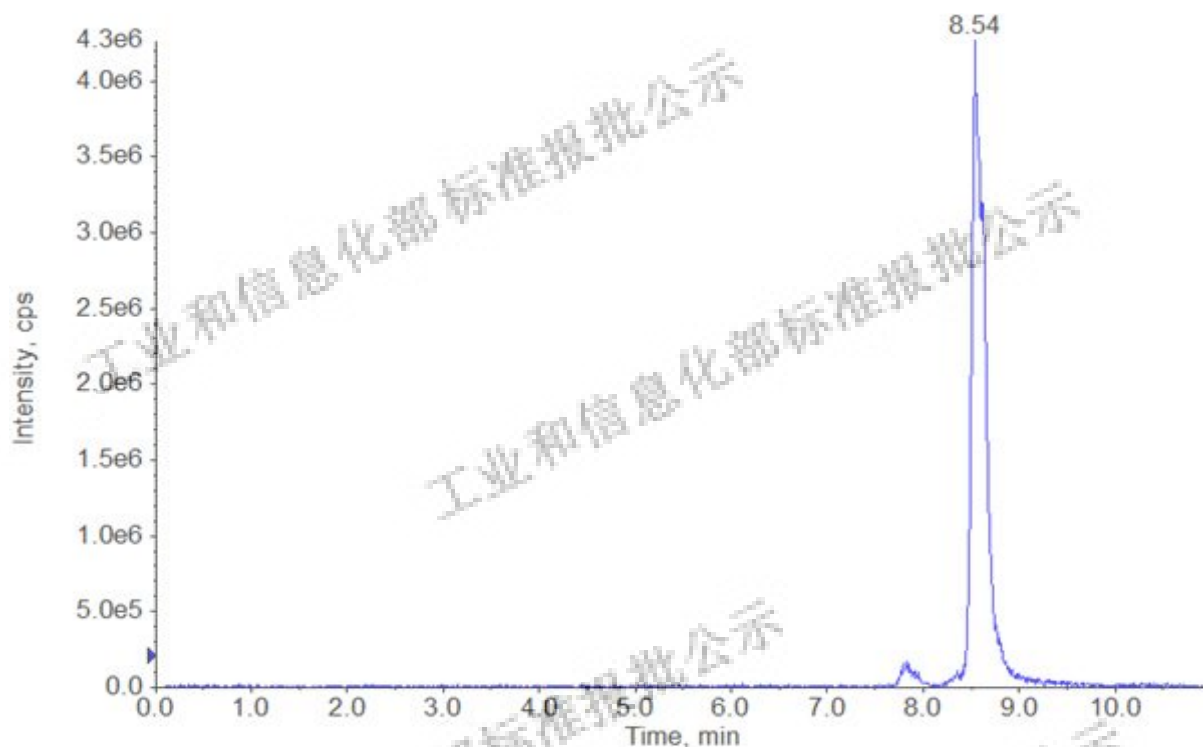
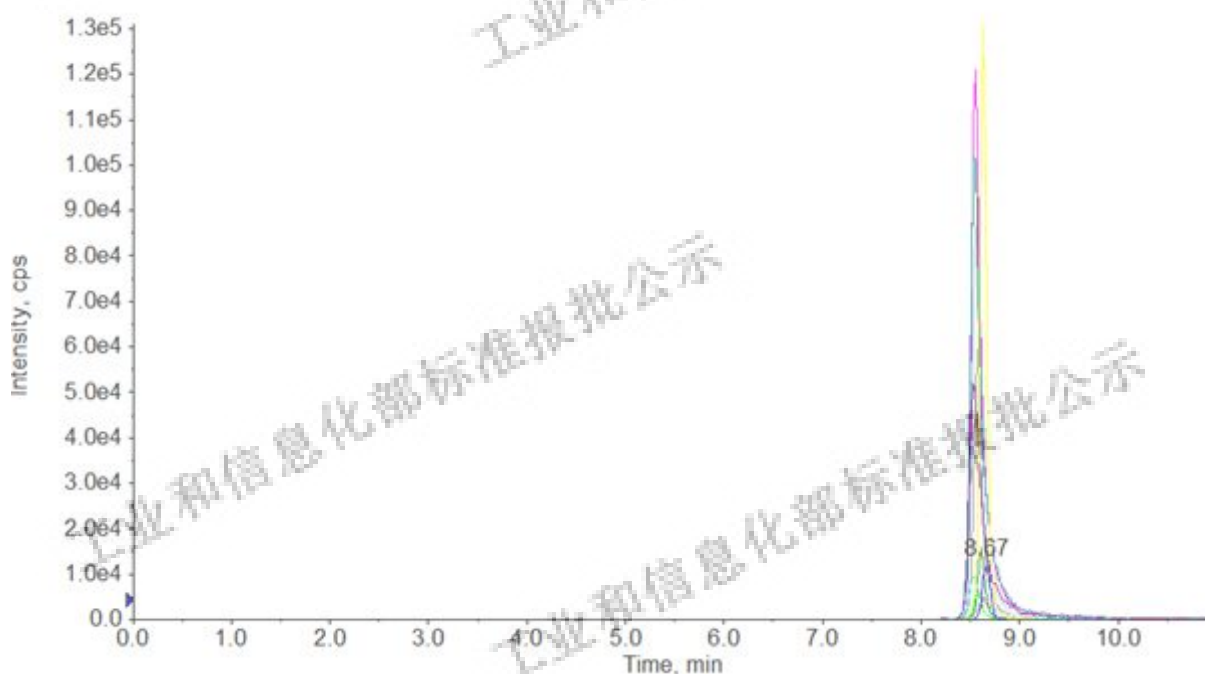


图 B.2 试样中神经节苷脂母离子扫描色谱

神经节苷脂定性鉴别多反应离子监测子离子色谱图见图 B.3



图B.3 神经节苷脂定性多反应离子监测子离子色谱

工业和信息化部标准报批公示

工业和信息化部标准报批公示

工业和信息化部标准报批公示

工业和信息化部标准报批公示

工业和信息化部标准报批公示

工业和信息化部标准报批公示