

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 3050—2016

羊奶真实性鉴定技术规程

Code of practice for adulteration in goat milk product

行业标准信息服务平台

2016-12-23 发布

2017-04-01 实施



中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由农业部畜牧业司提出。

本标准由全国畜牧业标准化技术委员会(SAC/TC 274)归口。

本标准起草单位：中国农业科学院北京畜牧兽医研究所、农业部奶产品质量安全风险评估实验室(北京)、青岛农业大学、安徽农业大学、安徽省农业科学院畜牧兽医研究所。

本标准主要起草人：郑楠、屈雪寅、杨晋辉、杨永新、胡菡、周雪巍、李松励、叶巧燕、于建国、文芳、许晓敏、韩荣伟、张养东、程建波、王加启。

行业标准信息服务平台

羊奶真实性鉴定技术规程

1 范围

本标准规定了聚合酶链式反应(PCR)方法、二维凝胶电泳(2-DE)法及酶联免疫吸附(ELISA)法,对生羊奶、超高温灭菌(UHT)液态羊奶和羊奶粉中掺入牛源性奶成分的定性检测方法。

本标准第一法和第二法适用于生羊奶、UHT 灭菌液态羊奶及羊奶粉;第三法适用于生羊奶。

本标准第一法的检出限为:生羊奶中掺假 2.0%生牛奶,生羊奶掺假 0.2%牛奶粉,UHT 液态羊奶掺假 5.0% UHT 液态牛奶,羊奶粉掺假 2.0%牛奶粉;第二法的检出限为生羊奶掺假 5.0%生牛奶,生羊奶掺假 1.0%牛奶粉,UHT 液态羊奶掺假 5.0% UHT 液态牛奶,羊奶粉掺假 2.0%牛奶粉;第三法的检出限为生羊奶掺假 0.1%生牛奶。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

第一法 聚合酶链式反应(PCR)法

3 原理

提取奶及奶制品中体细胞 DNA,利用牛特异性的引物通过 PCR 扩增牛特定的 DNA 序列,电泳分离 PCR 产物,以牛源性成分 PCR 产物作对照,初步判断是否含有牛源性奶成分。通过对 PCR 扩增的特定 DNA 片段进行测序,与标准序列进行比较,确认检测结果。

4 试剂和材料

除非另有说明,在分析中仅使用确认为分析纯的试剂,水应符合 GB/T 6682 一级水的要求。

4.1 无水乙醇。

4.2 75%乙醇。

4.3 三羟甲基氨基甲烷(Tris)。

4.4 琼脂糖:电泳级。

4.5 蛋白酶 K:20 g/L。

4.6 核酸荧光染料。

4.7 DNA 分子量标记(Marker):50 bp~500 bp。

4.8 牛源性成分检测用引物(对)序列:

正向:5'-GCCATATACTCTCCTTGGTGACA-3';

反向:5'-GTAGGCTTGGGAATAGTACGA-3'。

4.9 磷酸盐缓冲液(PBS 缓冲液):分别称取磷酸二氢钾 0.27 g、磷酸氢二钠 1.42 g、氯化钠 8.0 g、氯化钾 0.2 g,于 800 mL 水中充分溶解,用浓盐酸调节溶液 pH 至 7.4,加水定容至 1 L,分装后高压灭菌。

4.10 氯化钠溶液(0.9 g/L):称取 0.90 g 氯化钠,于 800 mL 水中充分溶解后,加水定容至 1 L。

4.11 乳化缓冲液:取 430 mL 浓度为 0.9 g/L 的氯化钠溶液(4.10),加入 10 mL 聚乙二醇对异辛基苯