

农业行业标准

《牛初乳及其制品中免疫球蛋白IgG的测定》

(公开征求意见稿)

编制说明

XXX

2026年02月

农业行业标准《牛初乳及其制品中免疫球蛋白 IgG 的测定》 (公开征求意见稿)

编制说明

一、工作简况

(一) 任务来源

2022 年 4 月 29 日，农业农村部农产品质量安全监管司下达文件《关于下达 2022 年农业国家和行业标准制修订项目计划的通知》(农质标函[2022]66 号) 批准项目立项，项目编号：农质标函[2022]66 号 NCB-22279，由 XXX 主持承担“修订《牛初乳及其制品中免疫球蛋白 IgG 的测定 分光光度法》(NY/T 2070-2011)标准”的工作，首席专家是 XXX。标准由中华人民共和国农业农村部畜牧兽医局提出。由全国畜牧业标准化技术委员会 (SAC/TC 274) 归口。起草单位：XXX 等。标准起草人:XXX 等。

(二) 制定背景

牛初乳中的活性免疫球蛋白是其最具价值的免疫成分，其中免疫球蛋白 G (IgG) 含量最高，且与其他活性物质含量呈正相关。母牛分娩后，初乳中的蛋白质、IgG 等营养成分随时间迅速下降，通常在 72 小时后逐渐接近常乳。因此，IgG 含量已成为评判牛初乳及其制品品质的核心指标。随着牛初乳在营养保健食品、特别是婴幼儿食品中的广泛应用，建立准确、可靠的 IgG 检测方法对保障产品质量与安全具有重要意义。

我国牛初乳行业规范化管理始于 2005 年相关技术规范的发布，

其中明确规定了产品中 IgG 的最低含量要求，生鲜牛初乳（指正常饲养的、无传染病和乳房炎的健康母牛分娩后 72 h 内所挤出的乳汁）IgG 含量每毫升不得低于 12 mg，牛初乳粉 IgG 含量下限为 10%。为满足此检测需求，农业部于 2011 年发布了农业行业标准 NY/T 2070-2011 《牛初乳及其制品中免疫球蛋白 IgG 的测定 分光光度法》。该方法操作简便、成本较低，曾为行业质量控制提供了重要支持。然而，随着技术进步与市场对品质要求的提升，该分光光度法的局限性日益显现。作为一种间接测量法，其结果易受样品基质、非特异性结合及其他结构相似蛋白（如 IgA、IgM）的干扰，可能导致偏差，在需要高准确度的仲裁、高端产品评价等场景中显得不足。

目前，国内外 IgG 测定方法多样，包括酶联免疫法、免疫扩散法、高效液相色谱法等。其中，高效液相色谱法凭借高分离能力、良好的准确性与特异性，已成为国际公认的可靠检测手段，并被 AOAC 等国际组织以及越南等国家的相关标准采纳。我国虽已发布针对牛乳、饲料等领域的高效液相色谱检测标准，但尚未建立专门适用于牛初乳及其制品中 IgG 测定的液相色谱方法，现有标准体系存在技术空白。

为适应检测技术的发展与行业需求，提升标准方法的科学性与适用性，本次修订拟在保留原分光光度法的基础上，新增“高效液相色谱法”作为方法二。该方法选用凝胶色谱柱，可依据分子量差异有效分离 IgG 与其他结构相似的免疫球蛋白（如 IgA、IgM 等），并结合 Protein G 亲和层析原理，进一步提高分离的选择性与准确性。高效液相色谱仪已在各类检测机构和企业普及，具备良好的实施基础。

此次修订旨在构建一个包含分光光度法与高效液相色谱法的多元检测体系,既能满足不同层级实验室的常规检测需要,也可为质检、研发及高端产品评价提供更精准、可靠的技术选择,从而全面提升标准的先进性、实用性与行业指导作用。

(三) 起草过程

第一阶段：起草阶段

1) 成立起草组

2022年6月2日签订“修订《牛初乳及其制品中免疫球蛋白 IgG 的测定分光光度法》(NY/T 2070-2011)标准”(项目编号: NCB-22279)实施方案。项目主持单位为 XXX;项目参加单位包括 XXX 等。项目负责人组织相关人员成立了标准编制小组。本着对行业认真负责的态度、科学严谨的工作作风,展开了对该标准的讨论;经过研讨,确定了该标准的检测方法及相关内容,同时会上明确了工作分工。

表 1 标准起草组成员及分工

序号	姓名	单位	分工
1	XXX	XXX	整体方案设计, 组织协调
2	XXX	XXX	标准文本撰写
3	XXX	XXX	文本撰写、方法优化
4	XXX	XXX	方法开发, 文本撰写
5	XXX	XXX	材料修改
6	XXX	XXX	材料检查
7	XXX	XXX	标准征求意见
8	XXX	XXX	材料检查
9	XXX	XXX	材料完善
10	XXX	XXX	材料修改
11	XXX	XXX	方法验证
12	XXX	XXX	方法验证
13	XXX	XXX	方法验证

14	XXX	XXX	材料提供
----	-----	-----	------

(2) 收集和分析相关标准、参考文献

项目研究团队对国际、国内外相关标准情况和文献进行了查询和研究，广泛调研了牛初乳及其制品中免疫球蛋白 IgG 的测定方法，讨论并确定项目的技术内容和技术路线。

关于牛初乳免疫球蛋白 IgG 定量检测，国内外主要方法有：放射免疫法、免疫火箭电泳法、酶联免疫法、琼脂单双向免疫扩散法、分光光度法等。而单向免疫扩散法和免疫火箭电泳法检测时间较长，不能达到快速测定的目的。①国外情况：2000 年日本颁布了“K0604-2000 单株 IgG 定量分析方法”（已作废）；2008 年韩国 KS J 4203-2008 单克隆免疫球蛋白的定量分析方法；2017 年越南 TCVN 11913-2017 食品 测定牛初乳、奶粉和膳食补充剂中的免疫球蛋白 G 液相色谱法：测定蛋白 G 亲和性；2010 年 AOAC 国际官方分析方法，2010.01：用蛋白 G 亲和液相色谱法分析牛初乳、奶粉和牛源膳食补充剂中的牛免疫球蛋白 G。②我国情况：IgG 检测方法有 2 个国家标准、3 个行业标准、2 个团体标准。主要有：针对牛初乳及其制品的方法，NY/T 2070-2011《牛初乳及其制品中免疫球蛋白 IgG 的测定 分光光度法》；针对牛乳及其制品的方法，NY/T4629-2025《牛乳及其制品中免疫球蛋白 IgG 的测定 高效液相色谱法》；针对免疫球蛋白 IgG 含量较高的保健品的检测方法，即 GB/T 5009.194-2003《保健食品中免疫球蛋白 IgG 的测定》；针对检测饲料的方法，即 GB/T 21033-2007《饲料中免疫球蛋白 IgG 的测定 高效液相色谱法》；针对出口牛乳制品的方法，SN/T 3132-2012《出口牛乳制品中牛免疫球蛋白 G 的测定 酶联免疫吸附法》。其中保健食品和饲料中的免疫球蛋白 IgG 检测方法技术路线基本一致，使用 Pharmacia Hi-Trap 蛋白质 G 色谱柱，T/SSFS0002-2021、T/TDSTIA 003-2021 则是利用 Protein G SPE 柱实

现 IgG 富集。目前我国针对牛初乳及其制品，NY/T 2070-2011《牛初乳及其制品中免疫球蛋白 IgG 的测定 分光光度法》被广泛用于牛初乳及其制品中免疫球蛋白的检测，缺乏高效液相色谱法的定量检测方法。

表 2 收集的国内外 IgG 测定方法标准

序号	国家	发布年份	标准名称	是否现行有效
1	日本	2000	JIS K0604-2000 蛋白质.单株 IgG.定量分析方法 (Proteins - Monoclonal IgG - Methods for quantitative analysis)	否
2	韩国	2008	KS J 4203-2008 单克隆免疫球蛋白的定量分析方法 (Methods for quantitative analysis of monoclonal IgG)	是
3	越南	2017	TCVN 11913-2017 食品. 测定牛初乳,奶粉和膳食补充剂中的免疫球蛋白 G. 液相色谱法测定蛋白 G 亲和性 (Foodstuffs. Determination of immunoglobulin G in bovine colostrum, milk powders, and in dietary supplements - Protein G affinity liquid chromatographic method)	是
4	AOAC	2010	AOAC 国际官方分析方法 2010.01: 用蛋白 G 亲和液相色谱法分析牛初乳、奶粉和牛源膳食补充剂中的牛免疫球蛋白 G (AOAC International Official Methods of Analysis. 2010.01: Bovine Immunoglobulin G Analysis in Bovine Colostrum and Milk Powders, and Dietary Supplements of Bovine Origin by Protein G Affinity Liquid Chromatography)	是
5	中国	2003	GB/T 5009.194-2003 保健食品中免疫球蛋白 IgG 的测定	是
6	中国	2007	GB/T 21033-2007 饲料中免疫球蛋白 IgG 的测定高效液 8 相色谱法	是
7	中国	2011	NY/T 2070—2011 牛初乳及其制品中免疫球蛋白 IgG 的测定分光光度法	是
8	中国	2012	SN/T 3132—2012 出口牛乳制品中牛免疫球蛋白 IgG 的测定酶联免疫吸附法	是
9	中国	2021	T/SSFS0002-2021 乳及乳制品中免疫球蛋白 IgG 的测定 (高效液相色谱法)	是
10	中国	2021	T/TDSTIA 003-2021 奶及奶制品中免疫球蛋白 IgG 的测定高效液相色谱法	是
11	中国	2025	NY/T 4629-2025 牛乳及其制品中免疫球蛋白 IgG 的测定 高效液相色谱法	是

(3) 方法建立

2022 年 6 月-2025 年 5 月，标准编制小组开展了实验研究，并根据研究结果拟定了标准初稿与编制说明初稿。

标准起草组在广泛查阅收集国内外相关技术资料和标准基础上，

拟定了样品前处理方法和仪器检测条件等初步实验方案,开展了牛初乳及其制品中免疫球蛋白 IgG 含量的高效液相色谱法检测技术研究。本方法主要围绕生鲜牛初乳、牛初乳粉、牛初乳胶囊、牛初乳奶贝、牛初乳奶棒中免疫球蛋白 IgG 含量的测定,从色谱柱的选择、检测波长的选择、缓冲液 pH 选择和 Protein G 亲和柱净化等多个方面对免疫球蛋白 IgG 的测定方法进行了优化,最后对建立的方法进行方法学评价,包括准确度、精密度、灵敏度、线性范围等。

(4) 方法验证

委托 4 家具有资质的单位农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)、中国海关科学技术研究中心食品安全研究所、北京市疾病预防控制中心、黑龙江省质量监督检测研究院、及 XXX 对农业行业标准《牛初乳及其制品中免疫球蛋白 IgG 的测定方法二高效液相色谱法》进行了方法验证。按照 GB/T 6379.2-2004 《测量方法与结果的准确度第 2 部分确定标准测量方法重复性与再现性》的基本方法,进行实验室间方法的重复性和再现性评价。从验证结果看,该方法精密度和回收率良好,方法可行。

(5) 形成标准征求意见稿

在以上收集和分析相关参考文献,调研、试验、验证工作的基础上,起草组按照《标准化工作导则第 1 部分:标准化文件的结构和起草规则》(GB/T 1.1—2020)和《标准编写规则第 4 部分:试验方法标准》(GB/T 20001.4—2015)的规定起草编写标准文本内容和编制说明内容,形成《牛初乳及其制品中免疫球蛋白 IgG 的测定(征求意见稿)》。

第二阶段:定向征求意见与预审阶段

（一）第一次定向征求意见

标准起草组已于2023年12月面向国内科研、教学、生产和检测等相关领域26家单位的26位专家发出征求意见函，包括科研院所12家，质检中心4家，高等院校2家，协会1家，乳品及检测相关企业7家。总计回函22份，包括科研院所9家，质检中心4家，高等院校2家，协会1家，乳品及检测相关企业6家。经汇总，意见共计122条（不同专家提出的相同意见累计计数），采纳110条，部分采纳3条，不采纳9条。在此基础上，形成《牛初乳及其制品中免疫球蛋白IgG的测定方法二高效液相色谱法（预审稿）》。于2024年3月11日向全国畜牧业标准化技术委员会秘书处及牛业及奶业标准化工作组提出预审申请，并提交相关预审材料。

表3 征求意见单位名单（回函）

序号	单位名称
1	国家乳品工程中心
2	农业农村部乳品质量检验检测中心（哈尔滨）
3	农业农村部乳品质量监督检验检测中心（天津）
4	农业农村部乳品质量检验检测中心（北京）
5	农业农村部食品质量监督检验检测中心(上海)
6	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所
7	山东省农业科学院质量标准与检测技术研究所
8	黑龙江省农业科学院农产品质量安全研究所
9	浙江省农业科学院农产品质量安全与营养研究所
10	北京市疾病预防控制中心
11	中国农业科学院蔬菜花卉研究所
12	中国农业科学院茶叶研究所
13	中国农业科学院植物保护研究所
14	山西农业大学山西功能农产品检验检测中心

序号	单位名称
15	西南大学
16	广东省农业标准化协会
17	北京三元食品股份有限公司
18	内蒙古伊利实业集团股份有限公司
19	内蒙古优然牧业有限责任公司
20	君乐宝集团股份有限公司
21	黑龙江省康平生物工程有限责任公司
22	纳谱分析技术（苏州）有限公司

（二）第一次预审意见

2024年11月22日，全国畜牧业标准化技术委员会牛业及奶业标准化工作组组织专家对XXX等单位修订的农业行业标准《牛初乳及其制品中免疫球蛋白IgG的测定 分光光度法》(预审稿)进行了认真审查。在听取起草专家汇报的基础上，专家组审查了标准文本及编制说明，提出如下修改意见：

表4 预审意见表

序号	意见内容
1	修改为“牛初乳及其制品中免疫球蛋白IgG的测定”。
2	进一步优化色谱条件和前处理方法，优化液相色谱方法的检出限和定量限。考虑优化原分光光度法的可行性。
3	补充HPLC方法与原分光光度法对比表，及相关比较数据。
4	补充牛初乳胶囊、牛初乳奶贝和牛初乳奶棒等固体样品添加回收数据。
5	补充其他免疫球蛋白的干扰试验数据等相关内容。
6	根据标准内容的变化重新验证。
7	标准文本按照修订标准的要求进一步完善。
8	按照GB/T 1.1和 GB/T 20001.4的要求进一步规范标准文本。

经汇总，意见共计8条，采纳8条，不采纳0条。标准组根据意见重新补充并完善实验。

（三）第二次定向征求意见

标准起草组再次于 2025 年 11 月面向国内科研、教学、生产和检测等相关领域 27 家单位的 30 位专家发出征求意见函，包括科研院所 10 家，质检中心 7 家，高等院校 3 家，协会 1 家，乳品及检测相关企业 6 家。总计回函 20 份，包括科研院所 8 家，质检中心 6 家，高等院校 2 家，协会 1 家，乳品及检测相关企业 2 家。经汇总，意见共计 97 条（不同专家提出的相同意见累计计数），采纳 75 条，部分采纳 8 条，不采纳 14 条。在此基础上，形成《牛初乳及其制品中免疫球蛋白 IgG 的测定》（预审稿），于 2025 年 12 月 11 日向全国畜牧业标准化技术委员会秘书处及牛业及奶业标准化工作组提出预审申请，并再次提交相关预审材料。

表 5 征求意见单位名称（回函）

序号	单位名称
1	农业农村部乳品质量检验检测中心（北京）
2	黑龙江省质量监督检测研究院
3	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)
4	山西农业大学山西功能农产品检验检测中心
5	山东省畜产品质量安全中心
6	青岛海关技术中心
7	中国农业科学院北京畜牧兽医研究所
8	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所
9	北京市疾病预防控制中心
10	中国农业科学院农产品加工所
11	中国农业科学院蔬菜花卉研究所
12	中国农业科学院茶叶研究所
13	中国农业科学院植物保护研究所
14	中国科学院生态环境研究中心
15	中国农业大学
16	齐鲁师范学院
17	广东省农业标准化协会
18	内蒙古优然牧业有限责任公司
19	君乐宝集团股份有限公司

（四）第二次预审意见

XXX 向全国畜牧业标准化技术委员会牛业及奶业标准化工作组提出组织专家对该方法标准进行预审的需求。2026 年 1 月 5 日，专家组对修订的农业行业标准《牛初乳及其制品中免疫球蛋白 IgG 的测定》(预审稿)进行了认真审查，通过了该标准的预审。在听取起草专家汇报的基础上，专家组审查了标准文本及编制说明，提出如下修改意见：

表 6 预审意见表

序号	意见内容
1	标准名称修改为《牛初乳及其制品中免疫球蛋白IgG的测定》
2	分光光度法中的“方法检出限”修改为“方法定量限”；增加“样品”章节；删除空白实验内容；进一步规范计算公式
3	高效液相色谱法中进一步细化“样品”要求；删除空白实验内容；进一步规范计算公式；优化附录A中的色谱图。
4	编制说明中补充分光光度法定量限的相关内容；补充牛初乳实际样品测定结果；完善干扰试验内容
5	按照GB/T 1.1和 GB/T 20001.4的要求进一步规范标准文本

经汇总，意见共计5条，采纳5条，不采纳0条。标准组根据意见重新补充并完善实验。

二、标准编制原则、主要内容及其确定依据

（一）标准编制原则

以现行法律法规为依据，符合《中华人民共和国农产品质量安全法》有关规定。本标准按照 GB/T 1.1-2020 《标准化工作导则第 1 部分：标准的结构和编写》和 GB/T 20001.4-2015 《标准编写规则第 4 部分：试验方法标准》中的有关规定编写，同时遵循以下原则：

1、政策性：制定本文件直接关系到国家和广大人民群众的利益。因此，在制定过程中严格贯彻国家有关方针、政策、法规和规章。

2、先进性：对本文件中有关内容的确定，力求反映本研究领域的国内外先进技术和经验，使文件中所规定的技术内容可用于免疫球蛋白 IgG 含量的准确测定。

3、规范性：在本文件的编制过程中力求做到技术内容的叙述正确无误，文字表达准确和简明易懂，文件构成严谨合理；内容编排、层次划分等符合逻辑。

4、可操作性：可操作性是制定标准的必备因素。制定本文件时，始终把经济实用和可操作性作为重要依据，以便在执行中容易操作。

（二）主要技术内容及其确定依据

1. 适用范围

本文件描述了牛初乳及其制品中免疫球蛋白 IgG 测定的分光光度法和高效液相色谱法。

本文件适用于牛初乳及其制品（乳粉、胶囊、奶贝、奶棒）中免疫球蛋白 IgG 含量的测定。

本文件分光光度法的定量限：液态样品为 0.2 mg/mL，固态样品为 0.2 mg/g；高效液相色谱法的检出限：液态样品为 0.3 mg/mL、固态样品为 0.2 mg/g，定量限：液态样品为 1.0 mg/mL、固态样品为 1.0 mg/g。

2. 测定原理

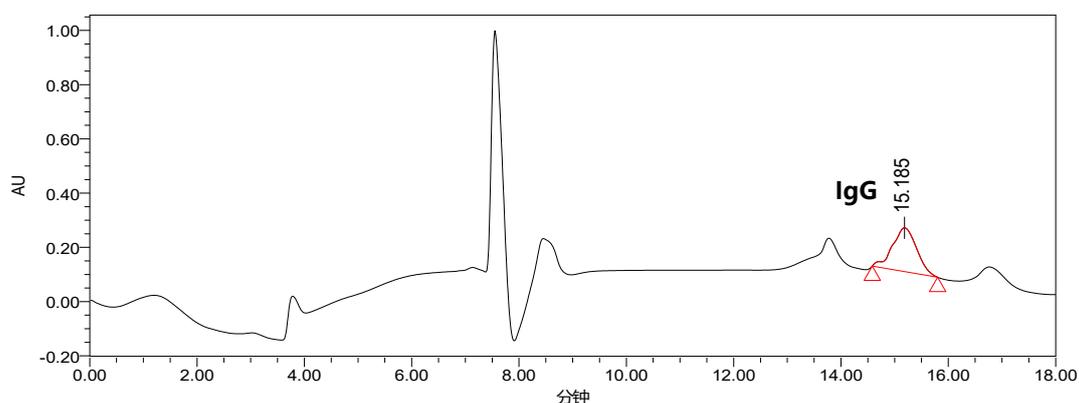
分光光度法：试样中可溶性抗原 IgG 与抗体形成的可溶性免疫复合物在聚乙二醇的作用下析出，形成微粒，试液浊度发生变化，试液浊度与所含 IgG 抗原量成正比，在 340 nm 测定免疫球蛋白 IgG 含量。

高效液相色谱法：试样中的免疫球蛋白 IgG 用磷酸盐缓冲溶液提取，经 Protein G 亲和柱富集净化，高效液相色谱仪测定，外标法定量。

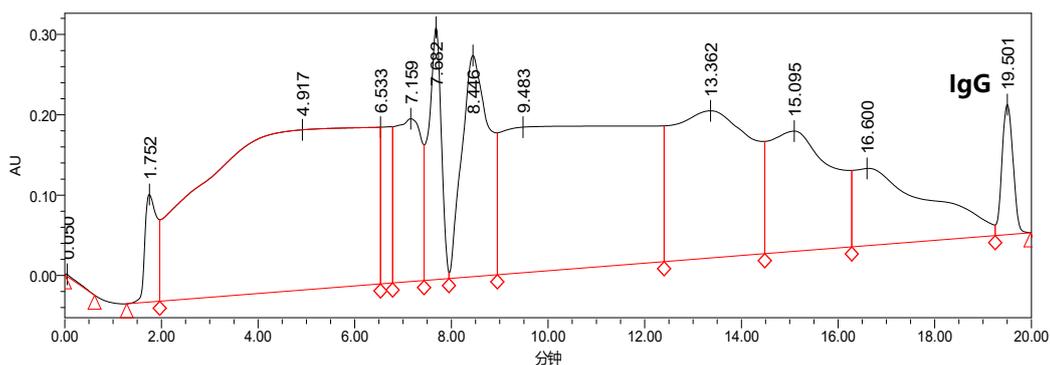
3. 高效液相色谱检测条件的优化

3.1 色谱柱的选择

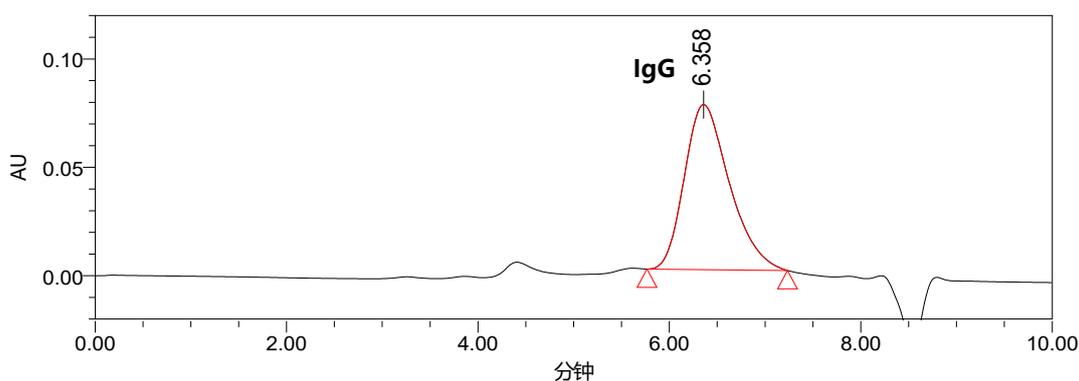
通过文献和标准查询,筛选了 3 款用于免疫球蛋白 IgG 测定的色谱柱。试验选择 C4 色谱柱、C18 色谱柱和体积排阻色谱柱 (BioCore™SEC-300 4.6×250 mm, 5 μm), 不同色谱柱参考相关文献色谱条件, 比对浓度 50 μg/mL 的 IgG 的分离效果, 色谱图出峰情况如图 1 所示。免疫球蛋白 IgG 标品在 BioCore SEC-300 色谱柱上所出图谱基线平整, 峰型对称性更好, 没有明显拖尾。BioCore SEC-300 为分子排阻色谱柱, 分子排阻色谱作为凝胶色谱的一种形式, 是利用填料中固定相的孔隙来限制溶剂和溶质分子的进入, 从而实现对分子的分离。在分子排阻色谱中, 较大的分子能够顺利通过更大的孔隙, 流速较快; 而较小的分子则受到孔隙的限制, 流速较慢。分子排阻色谱可以用于分离蛋白质、聚合物、核酸等。故最终选择 BioCore SEC-300 色谱柱作为本项目检测用色谱柱。



a) C4 色谱柱



b) C18色谱柱



c) SEC-300色谱柱

图1 免疫球蛋白IgG在不同色谱柱的色谱图 (50 $\mu\text{g/mL}$)

注：BioCore SEC-300分析柱，孔径大小就是300 Å，针对蛋白类分子的分子量体积排阻范围为10000~750000。颗粒度5 μm ，pH使用范围2~8，温度范围 $<20^\circ\text{C}$ 。色谱柱基质为单分散高纯硅球。

3.2 特征吸收波长的选择

不同文献中报道，利用液相色谱法对免疫球蛋白IgG进行检测采用的检测波长主要为280 nm和214 nm。为确定待测物的最佳检测波长，本实验首先使用PDA检测器对全波长进行了扫描（图2）。结果显示，样品在200 nm波长处吸收最高。然而，考虑到此处的高吸收可能是溶剂的末端吸收效应造成的，我们进一步比较了免疫球蛋白IgG在200 nm、280 nm以及最大吸收峰的拐点214 nm处的响应情况（图3）。由图3b可见，IgG在214 nm波长下展现处最优的色谱性能：峰形较好，

基线稳定，响应信号最高。因此本试验采用214 nm作为后续免疫球蛋白IgG的检测波长。

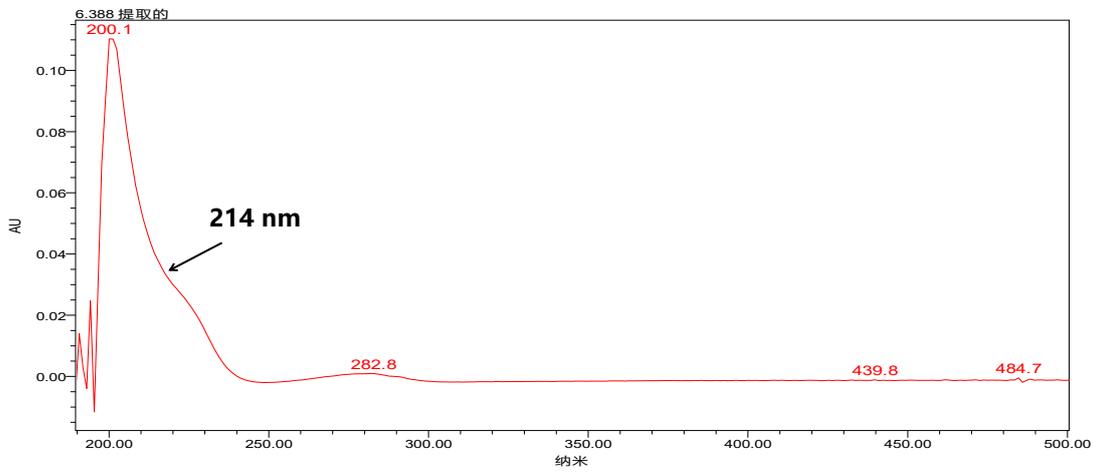
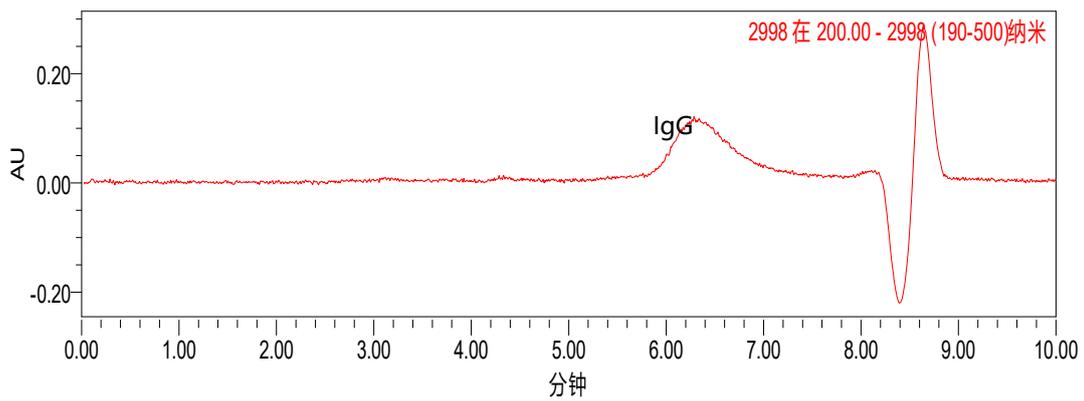
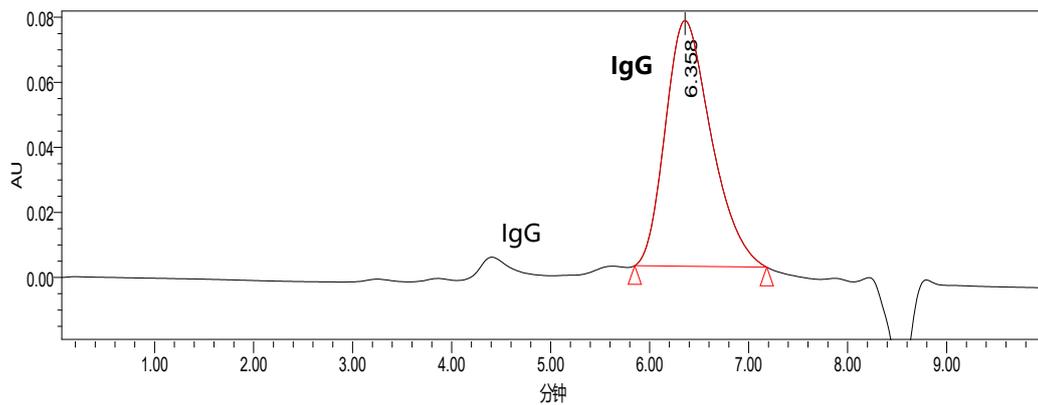


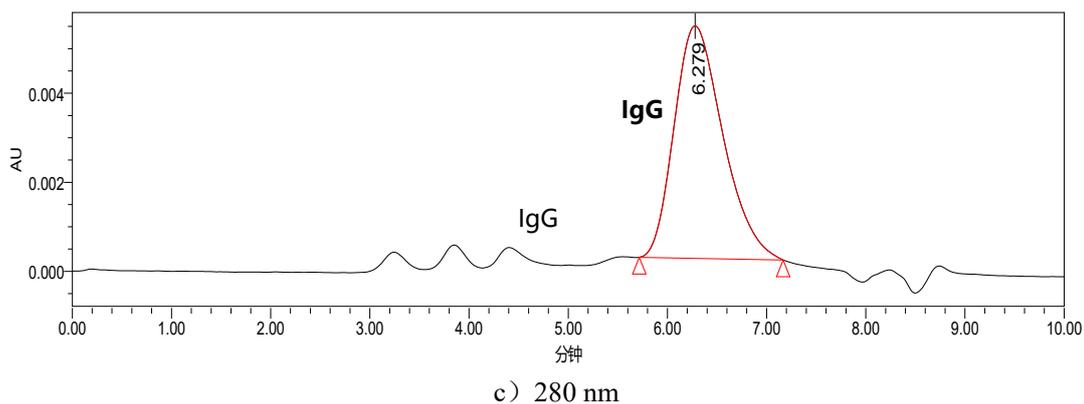
图2 全波长扫描下测定IgG谱图



a) 200 nm



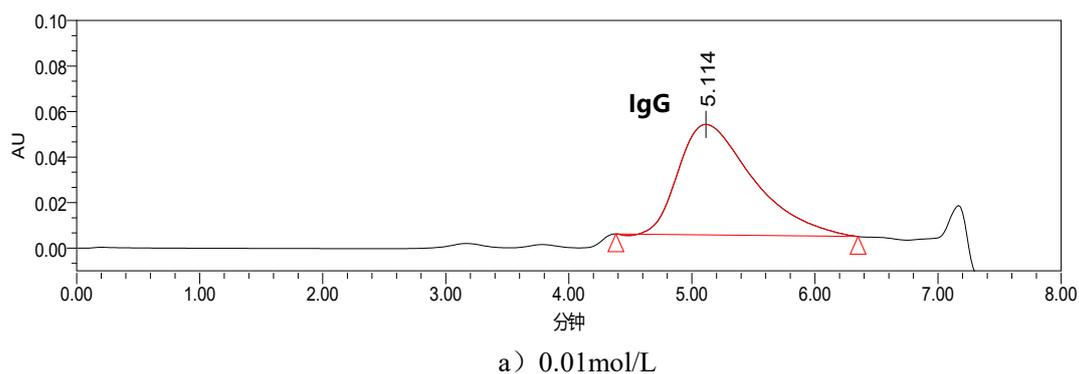
b) 214 nm

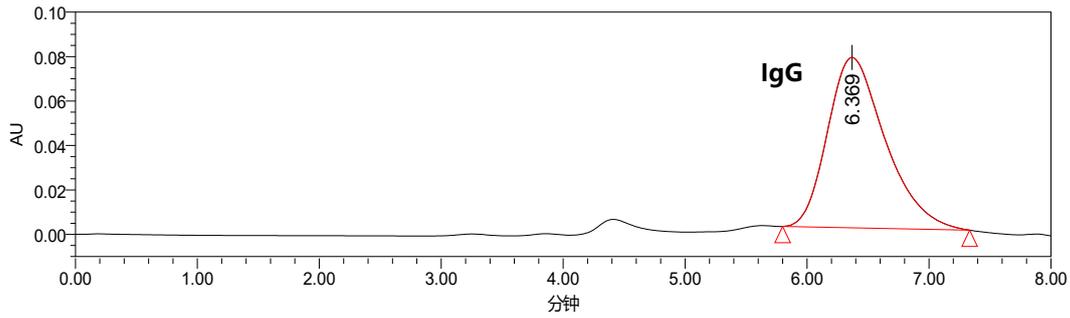


c) 280 nm
图3 不同波长下测定的IgG谱图 (50 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

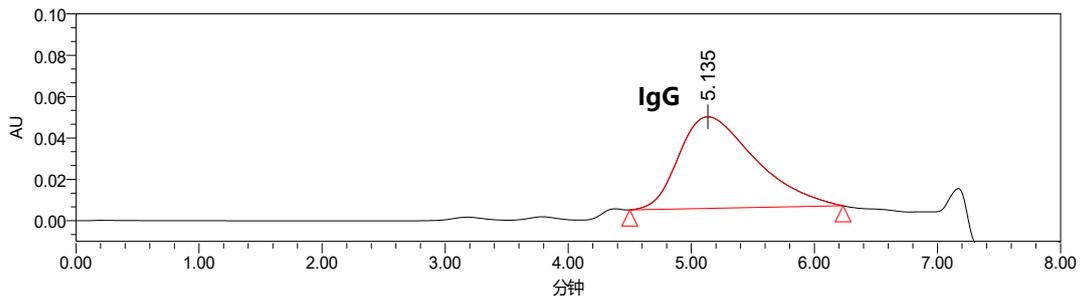
3.3 流动相缓冲盐浓度的选择

参照了其他标准，均选择磷酸盐缓冲溶液作为流动相。加上BioCore SEC-300色谱柱也推荐磷酸盐缓冲溶液作为流动相，因此本研究确定磷酸盐缓冲溶液作为流动相进行样品的分离，选择0.01 mol/L、0.05 mol/L、0.10 mol/L三个浓度的磷酸氢二钠 (Na_2HPO_4) 溶液作为流动相，比对浓度50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的IgG的响应强度如图4。结果显示，由图4b可见，免疫球蛋白IgG在流动相为0.05 mol/L Na_2HPO_4 溶液时，谱图基线平稳，IgG目标峰峰形尖锐，对称性好，响应更高，故本实验选择选择0.05 mol/L Na_2HPO_4 溶液作为初步流动相体系。





b) 0.05 mol/L

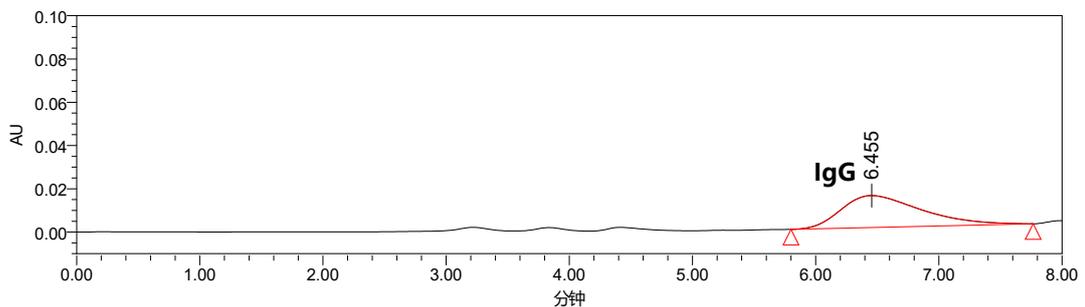


c) 0.10 mol/L

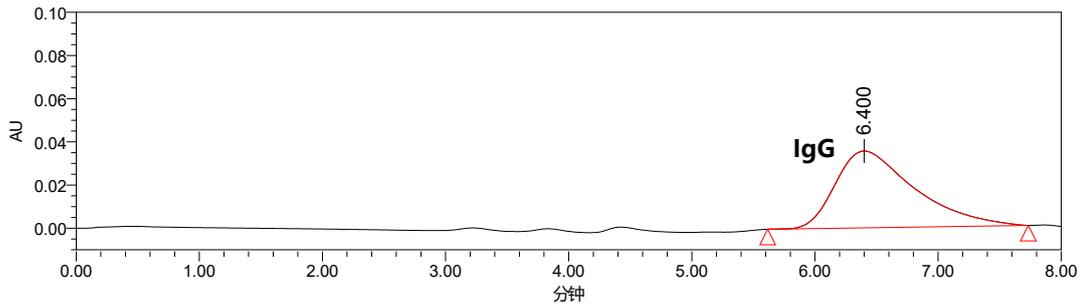
图4 流动相不同缓冲盐浓度测定的IgG谱图

3.4 流动相pH的选择

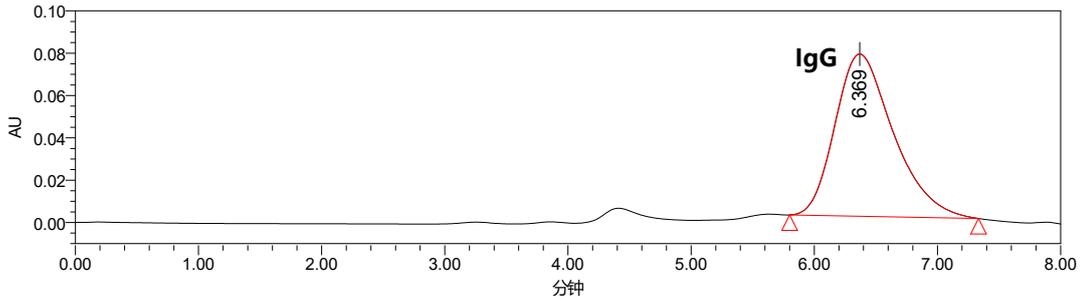
基于色谱柱推荐的pH适用范围为pH=2-8，考虑到免疫球蛋白IgG的活性，因此本实验选择pH=6.5、7.0、7.5和8.0四个不同pH的流动相，考察浓度50 $\mu\text{g/mL}$ 的IgG的响应强度如图5。结果显示，免疫球蛋白IgG在流动相为pH=7.5时，谱图基线平稳，峰型对称性好，响应信号更高，因此本实验采用pH=7.5的0.05 mol/L Na_2HPO_4 作为流动相。



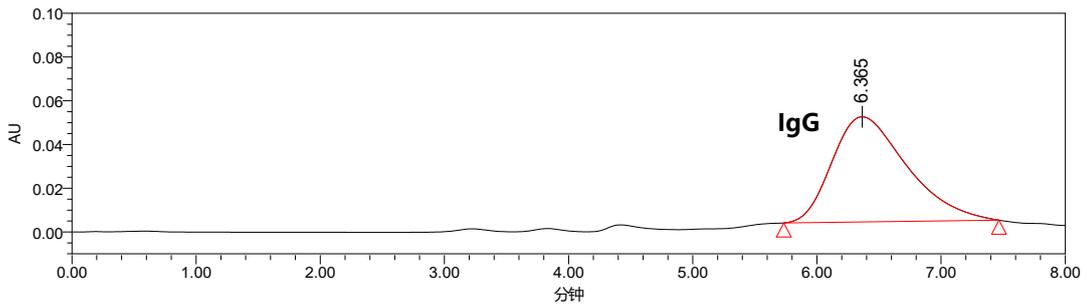
a) pH=6.5



b) pH=7.0



c) pH=7.5



d) pH=8.0

图5 流动相不同pH测定的IgG谱图

3.5 流速的选择

本实验比较了0.1 mL/min、0.2 mL/min、0.3 mL/min和0.4 mL/min四种常用的流速下免疫球蛋白IgG（50 μg/mL）的响应情况。如表7所示，免疫球蛋白IgG在流速为0.4 mL/min时谱图响应最高，峰形最好。由于BioCore SEC-300色谱柱要求流速不得超过0.4 mL/min，因此本实验采用0.4 mL/min作为本实验的流速。

表7 流动相流速考察

流速 (mL/min)	0.1	0.2	0.3	0.4
IgG单体峰面积	66845	68233	1345256	3225457

3.6 进样量的选择

本实验进一步考察了20 μL 、30 μL 、40 μL 和50 μL 四个不同进样体积对色谱峰形的影响，如图6所示。四个不同进样体积对IgG的峰形差异不大，50 μL 进样时IgG响应最高，灵敏度最好(峰谷比=17.86)。因此本实验进样量采用50 μL 。

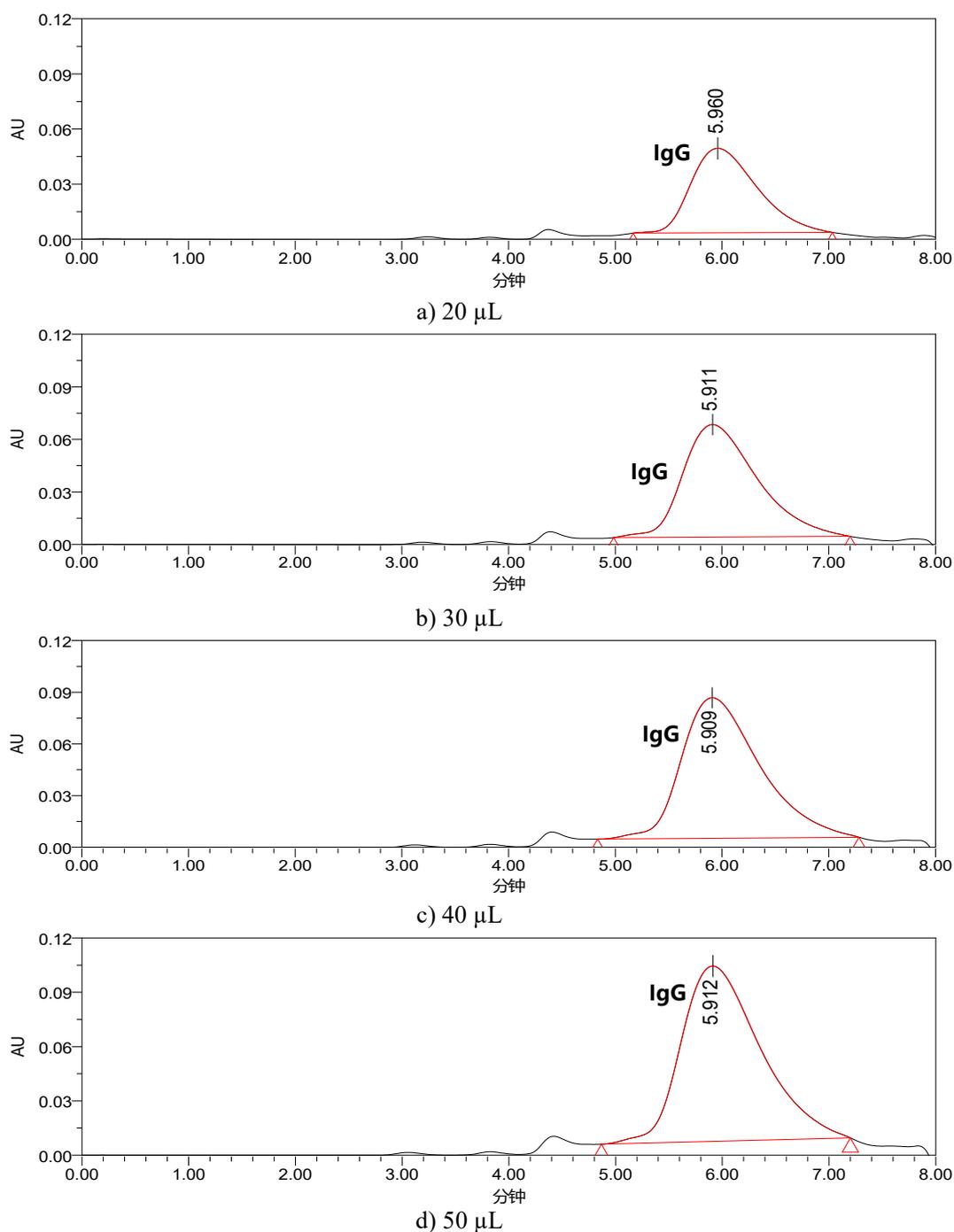


图6 不同进样量的IgG谱图

4. 试样前处理的优化

目前含免疫球蛋白IgG的牛初乳及其制品主要包括液体、粉剂、片剂和胶囊等。本阶段重点对提取溶剂、净化材料的洗脱和称样量等条件进行优化。

4.1 提取溶剂缓冲盐浓度的选择

准确移取1 mL生鲜牛初乳（牛初乳粉1 g）试样至50 mL离心管中，用Na₂HPO₄溶液定容至50 mL，涡旋混匀，于4°C、11 000 r/min离心10 min，立即用大量程移液器轻轻取出中间层30 mL于离心管中，再次4°C、11 000 r/min离心10 min，取中间层10 mL待测。为确定最佳提取条件，本实验以高温灭菌乳为样品空白基质，比较了不同浓度Na₂HPO₄溶液（0.01 mol/L、0.05 mol/L、0.1 mol/L）作为提取溶剂，对免疫球蛋白IgG的提取效果。通过比对浓度50 μg/mL的IgG的峰型及响应强度，由图7所示，发现免疫球蛋白IgG在提取溶剂为0.05 mol/L Na₂HPO₄溶液时峰形最好，仪器响应效果最高(峰谷比2.97)，故本实验选择选择0.05 mol/L Na₂HPO₄溶液作为初步提取溶剂。

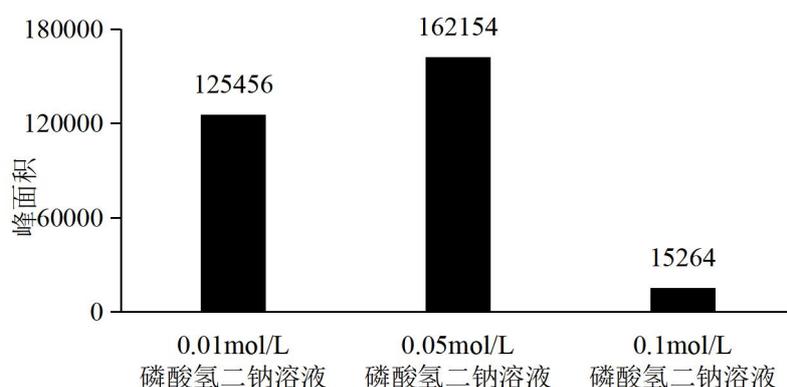


图7 提取溶剂缓冲盐浓度的峰面积图

4.2 提取溶剂pH的选择

由于pH会使IgG变性失活，需要对所用缓冲液的pH进行优化选择。本实验考察了pH=6.0、6.5、7.0和7.5时，不同pH的提取溶剂对IgG的提取效果。如下图所示，免疫球蛋白IgG在提取溶剂的pH为6.5时，峰

形较尖锐，响应信号最高，说明提取效果最好。因此本实验最终采用pH=6.5的0.05 mol/L Na₂HPO₄作为提取溶剂。

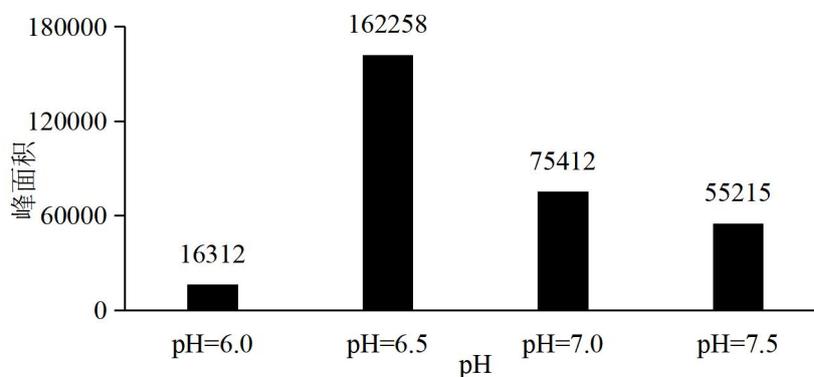


图8 提取溶剂pH的峰面积图

4.3 离心速度选择

本实验考察了3000 r/min、5000 r/min、8000 r/min和11000 r/min四个不同离心速率对IgG回收率的影响。由下图9可见，在3000 r/min和5000 r/min的离心速度下，样品与提取溶剂反应不充分，呈现浑浊状态，未出现明显分层；当离心速度为8000 r/min和11000 r/min的情况下，分层明显，可进行后续实验。为进一步对比这两种离心速度下的样品前处理情况，比较了IgG的回收率：11000 r/min的回收率（101.5%±1.7%）高于8000 r/min的回收率（83.6%±4.8%）。因此，本实验选用11000 r/min作为前处理的离心速度。

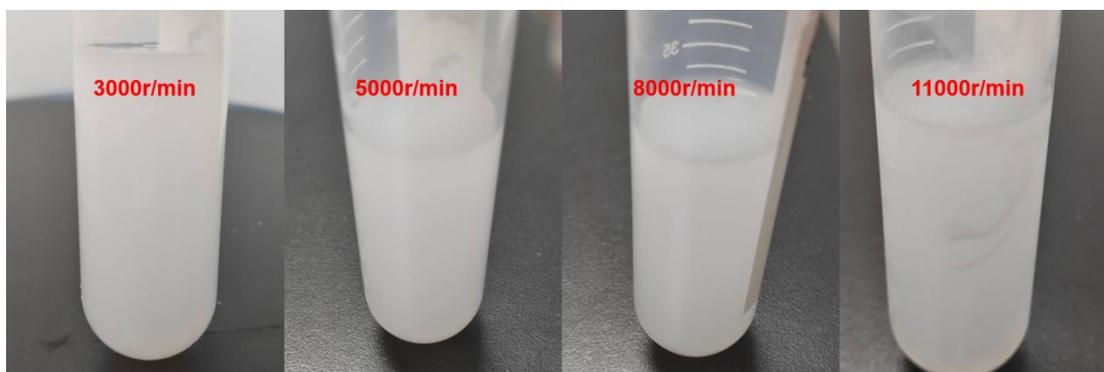


图9 不同离心速度后的IgG样品图

4.4 IgG亲和柱的选择

由于乳制品基质复杂，干扰蛋白成分多，样品如果未经前处理，检测方法将受到很大的杂质干扰。此外，不同剂型的产品在加工过程中还可能加入全脂乳粉、D-甘露糖醇、微晶纤维素、羧甲基淀粉钠、羟丙基甲基纤维素、二氧化硅、硬脂酸镁、琼脂、柠檬酸、香精等辅料成分。根据文献可知，免疫球蛋白G（Protein G）亲和柱可与免疫球蛋白IgG通过亲和层析相结合，IgG将特异性吸附在亲和柱上，用淋洗液将亲和柱上的杂质除去后，用洗脱液通过亲和柱，将IgG与其他杂质分离开，与其他杂峰更好地分开。因此本方法加入了Protein G亲和柱净化步骤。

为确保检测方法的准确度，Protein G亲和柱对免疫球蛋白G（IgG）的承载量是关键影响因素之一。鉴于牛初乳中IgG含量较高，本方法通过柱载量计算，确定需选用更大规格的Protein G亲和柱以保障足够的回收率。我们系统调研了纳谱、美正生物及Cytiva等多个品牌亲和柱的IgG回收性能、价格等。综合考虑柱载量、回收效率与成本因素，最终选用美正生物提供的Protein G亲和柱，其柱载量为15 mg，在满足高回收率要求的同时，具备良好的经济性。

注:不同品牌的Protein G亲和柱的淋洗要求和洗脱液成分、pH值可能有一定的差异。通过实验证实，按照Protein G亲和固相萃取柱的使用说明书要求配制淋洗液和洗脱液，并进行样品净化处理。

4.5 Protein G亲和柱洗脱溶剂浓度的选择

依据美正生物的牛免疫球蛋白G亲和柱的使用说明，洗脱溶液采用甘氨酸溶液进行洗脱。本实验考察了0.05 mol/L、0.1 mol/L、1 mol/L三个浓度的甘氨酸溶液作为洗脱溶剂的IgG的色谱响应。结果表明，免疫球蛋白IgG在洗脱溶剂浓度为0.1 mol/L时峰形最佳，响应信号最高，灵敏度最好，因此本实验洗脱溶剂浓度采用0.1 mol/L。

表8 洗脱溶剂浓度的考察

甘氨酸溶液浓度 (mol/L)	0.05	0.1	1
IgG单体峰面积	17827	162154	152365

4.6 Protein G亲和柱洗脱溶剂pH的选择

根据Protein G亲和柱的使用说明，洗脱溶液的pH要偏酸性，因此，本实验考察了pH=1.5、2.0、2.5和3.0四个不同pH的洗脱溶剂对IgG的响应的影响。免疫球蛋白IgG在洗脱溶剂为pH=2.0时峰形最佳，响应最高，说明其结合能力更强。主要原因是：当洗脱能力相同时，结合力越强，结合的IgG量越多，则洗脱下来的IgG量就越多，响应值越大。因此本实验最终采用pH=2.0的0.1 mol/L甘氨酸作为洗脱条件。

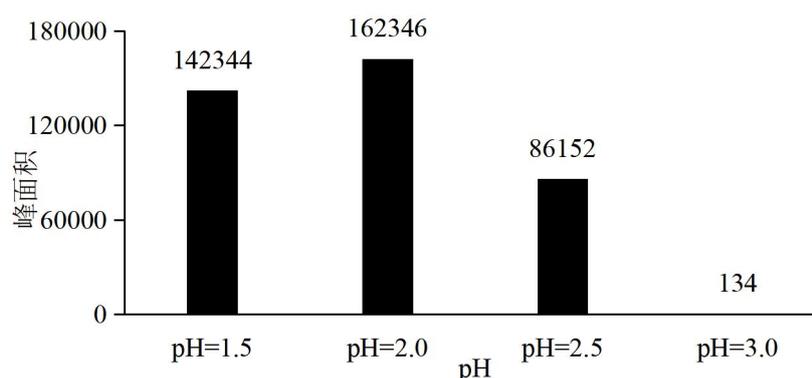


图10 不同洗脱溶剂pH的峰面积图

4.7 Protein G亲和柱洗脱溶剂体积的选择

本实验考察了不同洗脱体积（2 mL、4 mL与5 mL）对IgG的回收率的影响（见表9）。通过向空白基质样品中添加IgG 1.5 mg/mL，分别进行2 mL、4 mL与5 mL的pH=2.0的0.1 mol/L甘氨酸进行洗脱，结果表明，当洗脱体积为2 mL时，IgG的峰面积为153245；当洗脱体积为4 mL时，IgG的峰面积为163251；而当洗脱体积为5 mL时，IgG的峰面积为153745。因此，当洗脱体积为4 mL，即达到最高的回收率，确定4 mL为最优洗脱体积，在保证洗脱完全的同时，显著提高了实验方法的可靠性。

表9 洗脱体积的优化结果

洗脱体积	2 mL	4 mL	5 mL
峰面积	153245	163251	153745
谱图			

4.8 滤膜的选择

在确定洗脱后的溶剂是否需经滤膜过滤再进行检测分析时，我们系统评估了不同材质滤膜对IgG响应信号的影响。实验选用了0.45 μm聚醚砜滤膜与0.22 μm尼龙滤膜，分别对含IgG的洗脱液进行过滤处理，并采用相同条件上机检测。结果表明（见表10），经滤膜过滤后，样品中IgG的响应信号均出现不同程度下降，普遍低于未经滤膜处理的原始样品。该现象提示，滤膜材质可能对IgG存在非特异性吸附，从而导致目标蛋白损失，浓度降低。

表10 不同类型滤膜的使用比较

	未经滤膜处理	0.45μm聚醚砜滤膜	0.22μm尼龙滤膜
峰面积	7958694	1814695	2843789

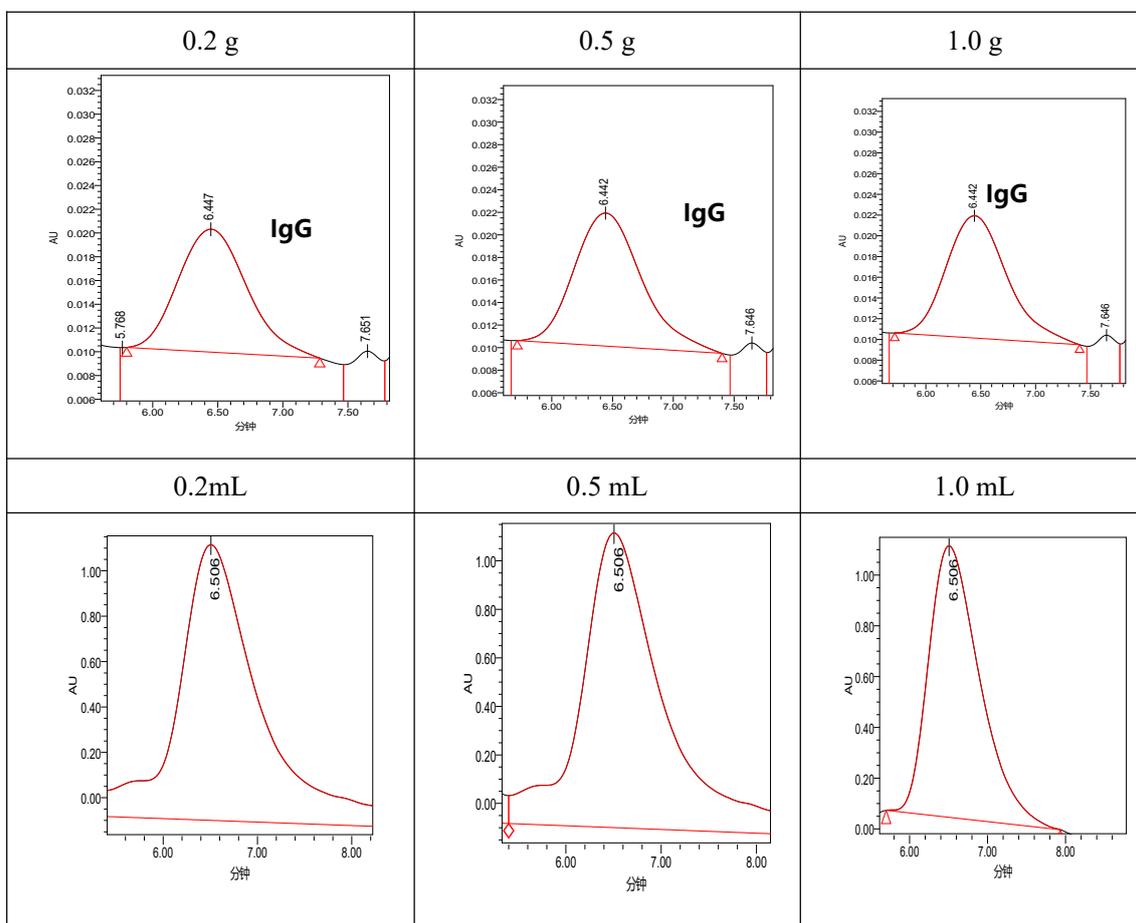
基于上述结果，建议在洗脱定容后尽量避免使用滤膜过滤步骤，以防因吸附作用引起IgG损失，影响检测准确度。若实验流程确需过滤处理，则应选用经实验验证对IgG无吸附或吸附性极低的滤膜类型，并在方法中明确其材质与规格，以避免检测结果出现负偏差。

4.9 称样量的选择

本实验考察了0.2 g、0.5 g和1.0 g三个不同固体称样量和0.2 mL、0.5 mL、1.0 mL三个不同液体称样量对IgG的响应的影响（表11）。

考虑到较大称样量有助于提高方法的灵敏度、改善信噪比，并确保在定量范围内获得稳定可靠的检测结果，因此本实验称样量最终采用1.0 g和1.0 mL。

表11 称样量的优化结果



4.10 样品前处理方法总结：

液体牛初乳样品提取：准确移取1 mL（精确至0.01 mL）液体牛初乳试样至50 mL离心管中，用磷酸盐缓冲液 I（pH 6.5）定容至50 mL，涡旋混匀，于4℃、11 000 r/min离心10 min，立即用移液器取出中间层30 mL于离心管中，移取的液体再次于4℃、11 000 r/min离心10 min，移取中间层10 mL待净化。

固体牛初乳样品提取：准确称取1 g（精确至1 mg）固体牛初乳试样至50 mL离心管中，用磷酸盐缓冲液（pH 6.5）定容至50mL，涡

旋混匀，于4℃、11 000 r/min离心10 min，立即用移液器轻轻取出中间层30 mL于离心管中，移取的液体再次于4℃、11 000 r/min离心10 min，移取中间层10 mL待净化。

净化：Protein G 亲和柱用5 mL磷酸盐缓冲液活化，将待测液过柱，待管中滤液见底立刻向其中加入10 mL磷酸盐缓冲液淋洗，然后加入4.0 mL甘氨酸洗脱液洗脱，用10 mL离心管收集洗脱液，用并定容至5.0 mL，涡旋混匀后用针管吸取并移至样品瓶中，待测。

5. 标准曲线与线性相关

准确移取免疫球蛋白IgG标准稀释液（1.0 mg/mL），用pH 2.0甘氨酸溶液稀释定容，配制成免疫球蛋白IgG浓度分别为20.0 mg/L、50.0 mg/L、100.0 mg/L、200.0 mg/L、500.0 mg/L和1000.0 mg/L的标准工作溶液，现用现配。将免疫球蛋白IgG标准系列工作液分别注入高效液相色谱仪中，测定相应的峰面积，以标准工作液的浓度为横坐标，以峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，得到免疫球蛋白IgG线性方程： $y = 123307x + 166239$ ， $r = 0.9994$ 。免疫球蛋白IgG标准曲线图、各浓度色谱图如下图11-17所示。

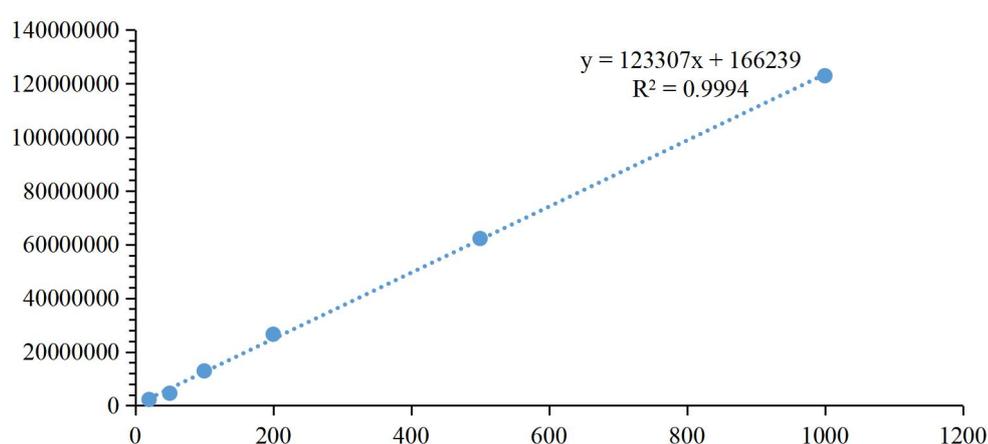


图11 免疫球蛋白IgG标准曲线图

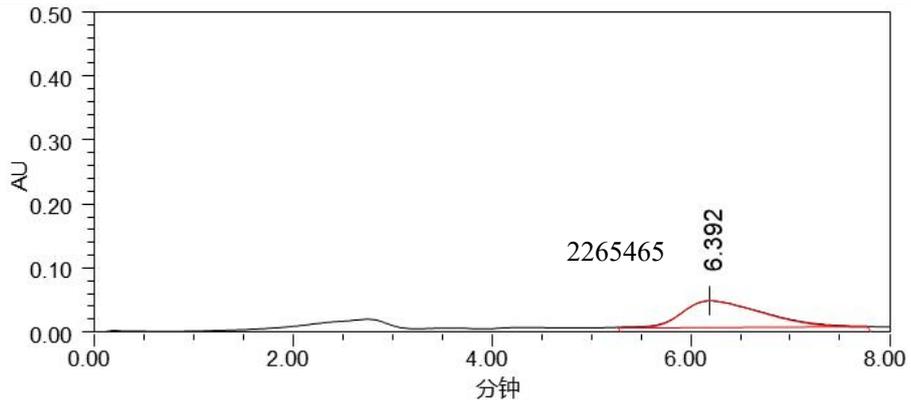


图12 20.0 mg/L免疫球蛋白IgG标准溶液的色谱图

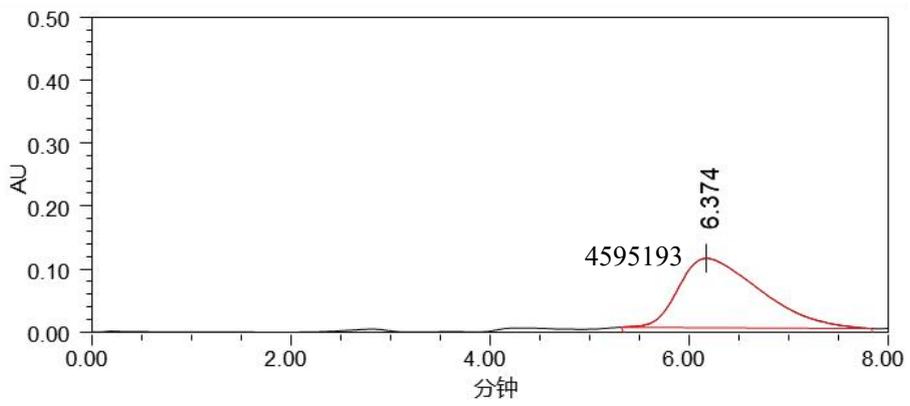


图13 50.0 mg/L免疫球蛋白IgG标准溶液的色谱图

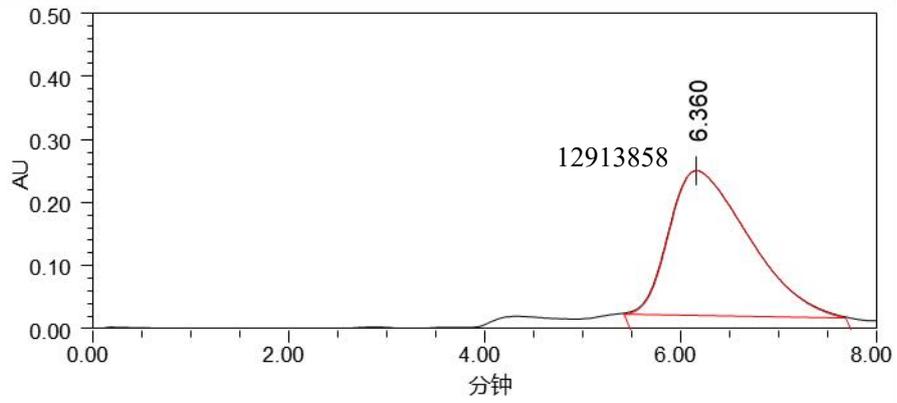


图14 100 mg/L免疫球蛋白IgG标准溶液的色谱图

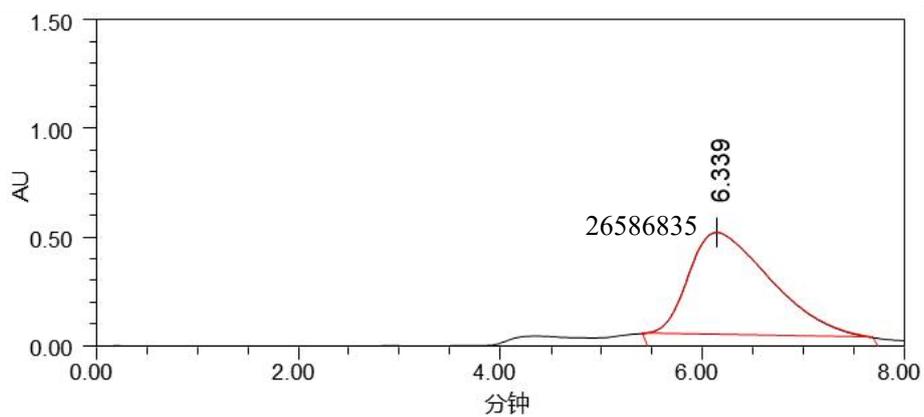


图15 200 mg/L免疫球蛋白IgG标准溶液的色谱图

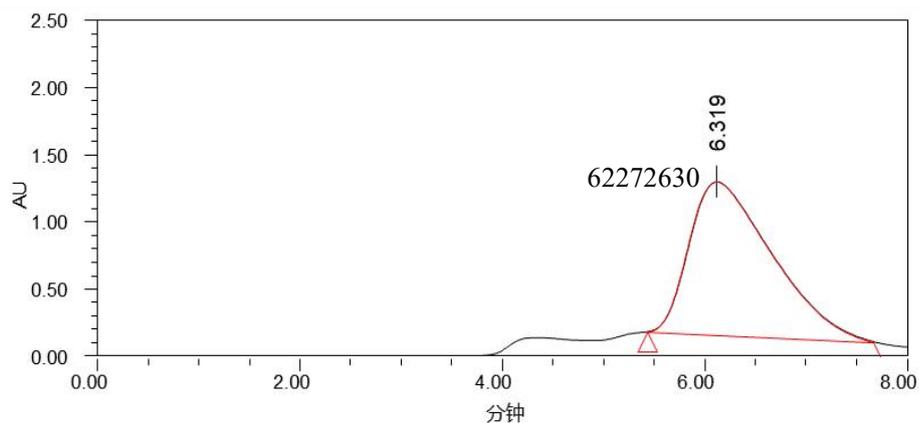


图16 500 mg/L免疫球蛋白IgG标准溶液的色谱图

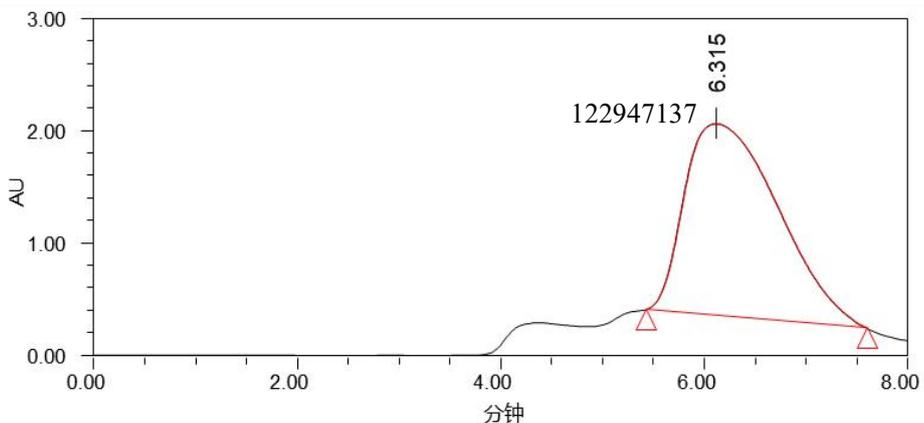


图17 1000 mg/L免疫球蛋白IgG标准溶液的色谱图

6. 方法正确度

6.1 基质空白

为获得适用于本研究的空白样品，针对牛初乳中IgG含量较高的特点，首先尝试采用高温灭菌处理（121℃、15 min）。然而，该处

理导致牛初乳样品发生蛋白变性并凝固，基质性状发生显著改变（图18），无法继续用于后续样品前处理流程。

因此，本研究改用沸水浴加热5 min的处理方式，使IgG充分热变性失活。将经该条件处理的牛初乳样品，按照已建立的样品前处理与检测方法进行分析，结果显示未检出IgG，表明该方法可有效制备牛初乳空白样品。实验中所用的市售灭菌乳同样未检出IgG，亦可作为合适的空白液体样品基质。相应色谱图见图19-20，可见在IgG单体保留时间（约6.4 min）附近未出现干扰色谱峰，表明所采用的空白样品适用于本方法的检测要求。



图18 沸水浴后和高温灭菌后的牛初乳粉照片

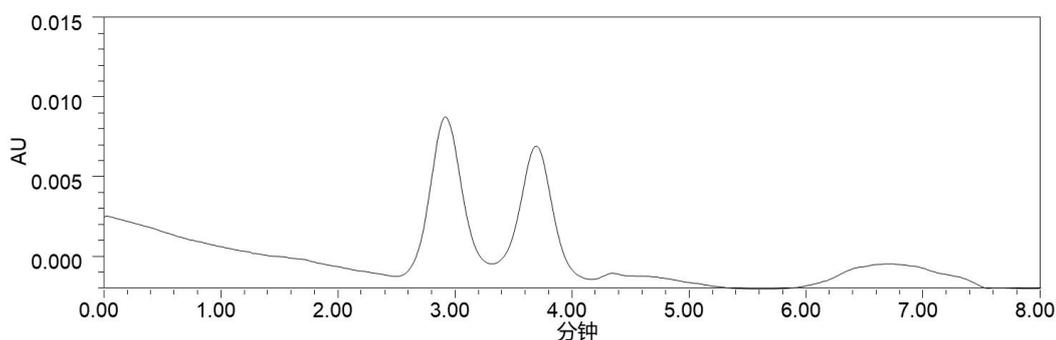


图19 牛初乳液体空白样品（沸水5 min）的色谱图

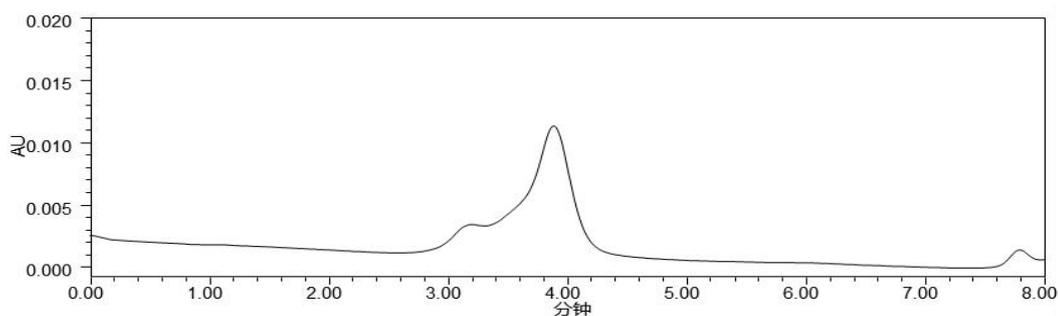


图20 牛初乳粉空白样品（沸水5 min）的色谱图

6.2 方法检出限

方法二 高效液相色谱法：向空白样品基质添加目标分析物，信噪比 ≥ 3 时的添加浓度作为估算检出限，见下表12。

表12 估算检出限

空白基质	添加IgG浓度	信噪比 S/N	估算检出限
液态样品	0.30 mg/mL	3.1	0.30 mg/mL
固态样品	0.20 mg/g	3.2	0.20 mg/g

因此，牛初乳液态样品中IgG的估算检出限为0.30 mg/mL；固态样品中IgG的估算检出限为0.20 mg/g。

测定：选取空白样品基质至少20个平行样，分别添加估算检出限浓度的目标分析物，如目标分析物的检出概率不低于95%，则定为检出限浓度，结果见下表13。

表13 方法检出限测定结果表

液态样品名称	检测浓度 (mg/mL)	固体样品名称	检测浓度 (mg/g)
样品1	ND	样品1	0.196
样品2	0.301	样品2	0.208
样品3	0.295	样品3	0.199
样品4	0.307	样品4	0.205
样品5	0.298	样品5	0.194

样品6	0.304	样品6	0.203
样品7	0.299	样品7	0.191
样品8	0.298	样品8	0.209
样品9	0.306	样品9	0.197
样品10	0.302	样品10	0.202
样品11	0.294	样品11	0.195
样品12	0.308	样品12	0.207
样品13	0.297	样品13	0.2
样品14	0.305	样品14	0.206
样品15	0.297	样品15	0.193
样品16	0.309	样品16	0.21
样品17	0.298	样品17	0.198
样品18	0.296	样品18	0.204
样品19	0.303	样品19	0.192
样品20	0.306	样品20	0.201

综上，向空白牛初乳及其制品中添加估算检出限的IgG后，IgG的检出概率为97.5%。因此，牛初乳液态样品中IgG的方法检出限为0.30 mg/mL；固态样品中IgG的方法检出限为0.20 mg/g。

6.3 方法定量限

方法一 分光光度法：为验证原标准中检出限（0.2 mg/mL）即为方法定量限，选取空白样品基质至少6个平行样，分别添加0.2 mg/mL的IgG标准品进行独立检测，如目标分析物在该浓度的测定结果的正确度和精密度满足 GB 5009.295-2023的要求，则可将该浓度作为方法的定量限，具体结果见下表14：

表14 方法定量限测定结果表

样品名称	检测浓度 (mg/mL或mg/g)	回收率 (%)	相对偏差 (%)
生鲜牛初乳样品1	0.1944	97.2	2.85
生鲜牛初乳样品2	0.2082	104.1	

生鲜牛初乳样品3	0.1986	99.3		
生鲜牛初乳样品4	0.1926	96.3		
生鲜牛初乳样品5	0.2058	102.9		
生鲜牛初乳样品6	0.1972	98.6		
牛初乳粉样品1	0.1914	95.7		3.13
牛初乳粉样品2	0.2068	103.4		
牛初乳粉样品3	0.1958	97.9		
牛初乳粉样品4	0.19	95		
牛初乳粉样品5	0.2046	102.3		
牛初乳粉样品6	0.1996	99.8		
牛初乳棒样品1	0.1938	96.9	2.98	
牛初乳棒样品2	0.2076	103.8		
牛初乳棒样品3	0.1964	98.2		
牛初乳棒样品4	0.1908	95.4		
牛初乳棒样品5	0.2052	102.6		
牛初乳棒样品6	0.1982	99.1		
牛初乳胶囊样品1	0.192	96	3.35	
牛初乳胶囊样品2	0.2086	104.3		
牛初乳胶囊样品3	0.1954	97.7		
牛初乳胶囊样品4	0.2064	103.2		
牛初乳胶囊样品5	0.1934	96.7		
牛初乳胶囊样品6	0.1932	96.6		
牛初乳奶贝样品1	0.2046	102.3	2.74	
牛初乳奶贝样品2	0.1948	97.4		
牛初乳奶贝样品3	0.2044	102.2		
牛初乳奶贝样品4	0.195	97.5		
牛初乳奶贝样品5	0.1942	97.1		
牛初乳奶贝样品6	0.2074	103.7		

方法二 高效液相色谱法：向空白样品基质添加目标分析物，信噪比 ≥ 10 时的添加浓度作为估算定量限，见下表15。

表15 估算定量限

空白基质	添加IgG浓度	信噪比 S/N	估算定量限
液态样品	1.0 mg/mL	10.4	1.0 mg/mL
固态样品	1.0 mg/g	10.2	1.0 mg/g

因此，牛初乳液态样品中IgG的估算定量限为1.0 mg/mL；固态样品中IgG的估算定量限为1.0 mg/g。

测定：选取空白样品基质至少6个平行样，分别添加估算定量限浓度的目标分析物进行独立检测，如目标分析物在该浓度的测定结果的正确度和精密度满足 GB 5009.295-2023的要求，则可将该浓度作为方法的定量限，见下表16。

表16 方法定量限的数据结果表

样品名称	检测浓度 (mg/mL或mg/g)	回收率 (%)	相对偏差 (%)
生鲜牛初乳样品1	0.975	97.5	2.94
生鲜牛初乳样品2	0.963	96.3	
生鲜牛初乳样品3	0.985	98.5	
生鲜牛初乳样品4	1.024	102.4	
生鲜牛初乳样品5	0.989	98.9	
生鲜牛初乳样品6	1.048	104.8	
牛初乳粉样品1	0.983	98.3	2.08
牛初乳粉样品2	0.975	97.5	
牛初乳粉样品3	0.997	99.7	
牛初乳粉样品4	0.962	96.2	
牛初乳粉样品5	1.020	102.0	
牛初乳粉样品6	1.015	101.5	
牛初乳棒样品1	0.965	96.5	2.20
牛初乳棒样品2	0.982	98.2	
牛初乳棒样品3	1.017	101.7	
牛初乳棒样品4	1.031	103.1	
牛初乳棒样品5	0.995	99.5	

牛初乳棒样品6	0.987	98.7	1.46
牛初乳胶囊样品1	1.025	102.5	
牛初乳胶囊样品2	1.049	104.9	
牛初乳胶囊样品3	1.032	103.2	
牛初乳胶囊样品4	1.010	101.0	
牛初乳胶囊样品5	1.034	103.4	
牛初乳胶囊样品6	1.006	100.6	1.27
牛初乳奶贝样品1	0.962	96.2	
牛初乳奶贝样品2	0.979	97.9	
牛初乳奶贝样品3	0.950	95.0	
牛初乳奶贝样品4	0.987	98.7	
牛初乳奶贝样品5	0.968	96.8	
牛初乳奶贝样品6	0.982	98.2	

因此，分光光度法的定量限：液态样品为0.2 mg/mL，固态样品为0.2 mg/g；高效液相色谱法的定量限：液态样品为1.0 mg/mL、固态样品为1.0 mg/g。

6.4 正确性和重复性

根据GB 5009.295-2023中正确性和重复性的要求，对液态和固态牛初乳空白样品分别对应定量限1倍、3倍和5倍进行添加回收试验，确定牛初乳添加回收浓度水平为1.0 mg/mL、3 mg/mL和5 mg/mL，牛初乳粉/棒/胶囊/奶贝添加回收水平为1.0 mg/g、3 mg/g和5 mg/g。另外，本研究还对液态和固态牛初乳样品设置了接近本底浓度的添加回收水平，其中液态牛初乳设置高浓度12 mg/mL和24 mg/mL；固态牛初乳粉/棒/胶囊/奶贝设置高浓度10 g/100g和20 g/100g)。添加回收结果如表17-表21显示，牛初乳添加免疫球蛋白IgG平均回收率范围为95.3%-102.5%，RSD为1.7%-3.2%；牛初乳粉添加免疫球蛋白IgG平均回收率范围为95.0%-102.0%，RSD为1.2%-2.2%；牛初乳棒添加免疫球蛋白IgG平均回收率范围为95.1%-104.1%，RSD为1.1%-2.7%；牛

初乳胶囊添加免疫球蛋白IgG平均回收率范围为95.5%-104.9%，RSD为1.4%-2.5%，牛初乳奶贝添加免疫球蛋白IgG平均回收率范围为95.0%-104.6%，RSD为1.3%-2.0%；均满足GB/T 27404-2008要求（见表22）。

表17 生鲜牛初乳添加免疫球蛋白IgG回收率及相对标准偏差

基质名称	添加水平mg/mL	回收率 %					平均 回收率 %	RSD %
		1	2	3	4	5		
生鲜 牛初乳	1.0	97.5	96.3	98.5	102.4	98.9	98.7	2.3
	3	97.0	100.2	95.6	102.5	95.3	98.1	3.2
	5	95.6	97.9	100.1	96.5	96.5	97.3	1.7
	12	102.2	99.7	100.4	96.5	102.3	100.2	2.4
	24	96.8	97.7	96.9	98.4	102.2	98.4	2.3

表18 牛初乳粉添加免疫球蛋白IgG回收率及相对标准偏差

基质名称	添加水平 mg/g	回收率 %					平均 回收率 %	RSD %
		1	2	3	4	5		
牛初乳粉	1.0	98.3	97.5	99.7	96.2	102.0	98.7	2.2
	3	97.6	95.2	96.2	99.8	95.0	96.8	2.0
	5	96.4	98.4	95.3	97.0	95.9	96.5	1.2
	100	98	100.2	99.6	102.5	97.3	99.5	2.0
	200	97.8	97.9	100.1	98.4	96.2	98.1	1.4

表19 牛初乳棒添加免疫球蛋白IgG回收率及相对标准偏差

基质名称	添加水平 mg/g	回收率 %					平均 回收率 %	RSD %
		1	2	3	4	5		
牛初乳棒	1.0	96.5	98.2	101.7	103.1	99.5	99.8	2.7
	3	104.2	102.0	100.1	98.9	103.3	101.7	2.2
	5	97.8	95.7	96.9	98.4	95.1	96.8	1.4
	100	99.6	98.2	99.8	97.2	99.6	98.9	1.1
	200	97.4	98.2	99.3	101.9	97.9	98.9	1.8

表20 牛初乳胶囊添加免疫球蛋白IgG回收率及相对标准偏差

基质名称	添加水平 mg/g	回收率 %					平均 回收率 %	RSD %
		1	2	3	4	5		
牛初乳胶囊	1.0	102.5	104.9	103.2	101.0	103.4	103.0	1.4
	3	98.5	96.0	97.2	95.5	99.8	97.4	1.8

基质名称	添加水平 mg/g	回收率 %					平均 回收率 %	RSD %
		1	2	3	4	5		
	5	100.8	102.5	96.2	99.6	101.9	100.6	2.5
	100	97.5	99.3	101.2	96.7	97.8	98.5	1.8
	200	101.6	98.5	98.2	101.4	99.2	99.8	1.6

表21 牛初乳奶贝添加免疫球蛋白IgG回收率及相对标准偏差

基质名称	添加水平 mg/g	回收率 %					平均 回收率 %	RSD %
		1	2	3	4	5		
牛初乳奶贝	1.0	96.2	97.9	95.0	98.7	96.8	96.9	1.5
	3	103.8	104.6	101.5	104.2	102	103.2	1.3
	5	99.2	101.5	97.4	100.3	98.1	99.3	1.7
	100	102.6	101.9	99.2	100.4	98.5	100.5	1.7
	200	97.2	96.5	97.4	98.1	101.5	98.1	2.0

表22 添加回收率、RSD参考范围 (GB/T 27404-2008)

基质	添加浓度水平	回收率%	RSD%
液态 牛初乳	1.0 mg/mL	95-105	≤3.8
	3.0 mg/mL	95-105	≤3.8
	5.0 mg/mL	95-105	≤3.8
	12 mg/mL	95-105	≤3.8
	24 mg/mL	95-105	≤3.8
固体 牛初乳	1.0 mg/g	95-105	≤2.7
	3.0 mg/g	95-105	≤2.7
	5.0 mg/g	95-105	≤2.7
	100 mg/g	95-105	≤2.0
	200 mg/g	95-105	≤2.0

6.6 样品稳定性

为评估样品前处理后的稳定性,本研究考察了前处理完毕的样品在-20℃条件下保存不同时间(6 h与12 h)对其测定结果的影响。实验结果表明,样品在-20℃保存6 h后,其回收率为96.4%±3.2%,仍在可接受范围内;然而,当保存时间延长至12 h后,样品色谱图中未出现明显目标峰,提示样品稳定性显著下降(见图21-22)。基于以上结果,建议样品前处理完成后应尽快进行测定;若无法立即检测,可暂存于-20℃环境,并于6 h内完成测定,以确保分析结果的准确性与可靠性。

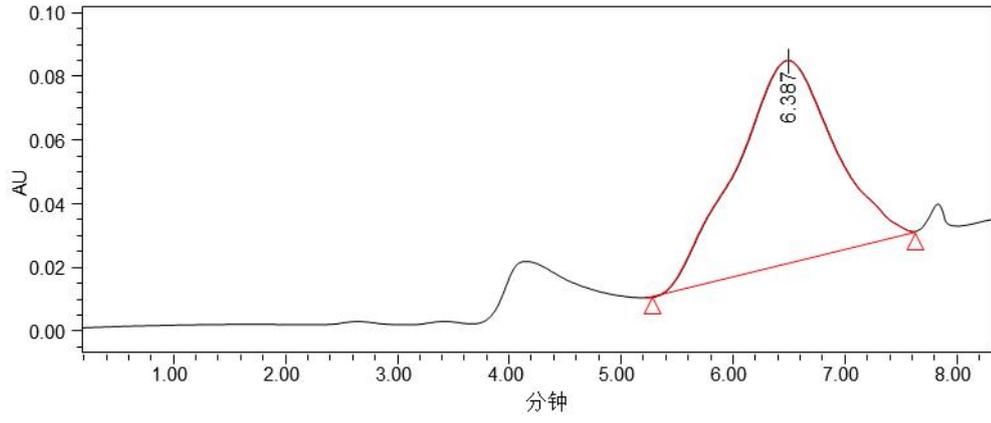


图21 -20°C 保存6 h后的IgG色谱图

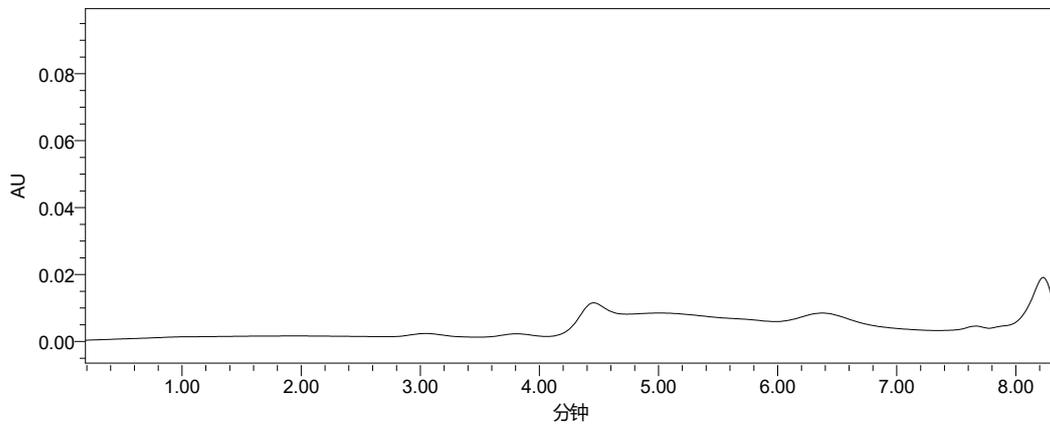


图22 -20°C 保存12 h后的IgG色谱图

7. 方法再现性

在不同实验室，由不同操作者按相同的测试方法，从同一被测对象取得相互独立测试结果的一致性程度。本方法分别在5家有资质的实验室进行比对验证实验，以验证其重复性与再现性。以牛初乳、牛初乳粉和牛初乳胶囊等为5种样品基质，分别进行免疫球蛋白IgG五个添加浓度水平，每个浓度水平进行5次平行试验。液态牛初乳样品添加回收浓度水平1 mg/mL、3 mg/mL、5 mg/mL、12 mg/mL和24 mg/mL，固态牛初乳样品添加回收水平1 mg/g、3 mg/g、5 mg/g、100 mg/g和200 mg/g。5家单位分别为黑龙江省质量监督检测研究院、农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)、中国海关科学技术研究中心食品安全研究所、北京市疾病预防控制中心及XXX（本实验室），具体汇总见表84-表88。

8. 实际样品检测与一致性分析

为验证本研究所建立高效液相色谱法(方法二)与分光光度法(方法一)的准确性与适用性，我们选取了市售的五种不同类型牛初乳制品(包括粉剂、胶囊、奶贝、奶棒及液态牛初乳，见表23)作为代表性样品进行方法学比对。每种样品各取5份，分别采用新建的HPLC方法与原方法《牛初乳及其制品中免疫球蛋白IgG的测定 分光光度法》(NY/T 2070-2011)进行平行测定。

表23 市售的五种不同类型牛初乳制品样品信息表

样品类型	品牌	生产厂家
生鲜牛初乳	伊利	内蒙古伊利实业集团股份有限公司
牛初乳粉1	认养一头牛	江苏天美健大自然生物工程有限公司
牛初乳粉2	天美健	杭州贝因美母婴营养品有限公司
牛初乳棒1	咕咕豆	晋江咕咕佳食品科技有限公司
牛初乳胶囊1	元大	江苏天美健大自然生物工程有限公司
牛初乳胶囊2	北京同仁堂	武汉市元大生物科技有限公司
牛初乳奶贝1	雪原	内蒙古蒙中牧场食品有限公司
牛初乳奶贝2	其嘉	乌兰察布市集宁区雪原乳业有限公司

每种方法对同一份样品的五个重复测定值经平均后,得到该样品的最终IgG含量。采用配对样本t检验对两种方法的测定结果进行统计学比较,以判断其差异是否具有统计学意义(显著性水平 $\alpha=0.05$,临界值 $t_{6,0.95}=2.447$)。具体比对测定结果详见表24至表28。

表24 牛初乳中免疫球蛋白IgG的配对测定记录表

样本数量	方法二测定值 A (mg/mL)	方法一测定值 B (mg/mL)	差值 (d=A-B) (mg/mL)
1	12.45	12.62	-0.17
2	12.63	13.05	-0.42
3	13.12	12.75	0.37
4	12.68	12.44	0.24
5	12.52	12.63	-0.11
检验统计量 t	0.6325		
显著性差异检验结论	无显著性差异		

表25 牛初乳粉中免疫球蛋白IgG的配对测定记录表

样本数量	方法二测定值 A (mg/g)	方法一测定值 B (mg/g)	差值 (d=A-B) (mg/g)
1	158.4	156.4	2
2	162.4	158.9	3.5
3	157.3	160.8	-3.5
4	161.1	161.4	-0.3
5	159.7	158.2	1.5
检验统计量 t	0.6316		
显著性差异检验结论	无显著性差异		

表26 牛初乳棒中免疫球蛋白IgG的配对测定记录表

样本数量	方法二测定值 A (mg/g)	方法一测定值 B (mg/g)	差值 (d=A-B) (mg/g)
1	32.9	31.9	1
2	31.4	32.6	-1.2
3	33.2	33.4	-0.2
4	32.8	31.6	1.2
5	32.6	32.7	-0.1
检验统计量 t	0.7605		
显著性差异检验结论	无显著性差异		

表27 牛初乳胶囊中免疫球蛋白IgG的配对测定记录表

样本数量	方法二测定值 A (mg/g)	方法一测定值 B (mg/g)	差值 (d=A-B) (mg/g)
1	230.5	224.1	6.4
2	221.6	223.1	-1.5
3	226.4	233.5	-7.1
4	224.2	232.4	-8.2
5	225.3	228.8	-3.5

检验统计量 t	0.3098
显著性差异检验结论	无显著性差异

表28 牛初乳奶贝中免疫球蛋白IgG的配对测定记录表

样本数量	方法二测定值 A (mg/g)	方法一测定值 B (mg/g)	差值 (d=A-B) (mg/g)
1	22.7	22.4	0.3
2	21.4	22.8	-1.4
3	22.6	21.4	1.2
4	21.9	22.6	-0.7
5	22.2	22.9	-0.7
检验统计量 t	0.4898		
显著性差异检验结论	无显著性差异		

实验数据表明，对于牛初乳及其制品的测定，采用用本标准建立的高效液相色谱法（方法二）和分光光度法（方法一）对于免疫球蛋白IgG的测定结果没有显著性差异。该结论表明，新建的高效液相色谱法在检测准确性上与现行国家标准方法等效，为其实际应用提供了可靠依据。

三、 试验验证的分析、综述报告，技术经济论证，预期的经济效益、社会效益和生态效益。

（一）试验验证的分析、综述报告

本方法分别在4家具备资质的实验室进行重现验证试验，5家实验室分别为黑龙江省质量监督检测研究院、农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)、中国海关科学技术研究中心食品安全研究所、北京市疾病预防控制中心及XXX（本实验室）。分别选择生鲜牛初乳、牛初乳粉、牛初乳棒、牛初乳胶囊和牛初乳奶贝添加5个浓度水平进行重现验证试验，每个浓度水平进行5次重复试验，得免疫球蛋白IgG的测定值汇总于表29-33。

根据5家单位免疫球蛋白IgG添加回收及精密度实验结果，对每种基质在每一个添加水平的数据进行汇总和分析，对数据平均值、方差

进行计算,并用科克伦检验方法检验方差,格拉布斯检验单元平均值,详见表34-表83。最终对每种基质在每个添加水平的数据进行汇总和分析,得生鲜牛初乳方法的重复性限范围是0.27 mg/mL-1.89 mg/mL,再现性限范围是0.27 mg/mL-2.28 mg/mL;牛初乳粉方法的重复性限范围是0.56 mg/g-5.95 mg/g,再现性限范围是0.57 mg/g-13.87 mg/g;牛初乳棒方法的重复性限范围是0.39 mg/g-4.38 mg/g,再现性限范围是0.39 mg/g-8.14 mg/g;牛初乳胶囊方法的重复性限范围是0.28 mg/g-5.17 mg/g,再现性限范围是0.28 mg/g-5.17 mg/g;牛初乳奶贝方法的重复性限范围是0.38 mg/g-3.66 mg/g,再现性限范围是0.39 mg/g-4.19 mg/g,汇总见表84-表88。

表29 生鲜牛初乳中免疫球蛋白IgG测定结果4家验证单位及本单位汇总表

验证单位	添加水平 mg/mL	测定值 (mg/mL)					平均检测结果 mg/mL	RSD %	平均回收率
		1	2	3	4	5			
黑龙江省 质检院	1	0.95	0.98	0.97	0.96	0.98	0.97	1.5	96.8%
	3	3.14	3.10	3.09	3.05	3.14	3.11	2.6	103.5%
	5	4.95	4.86	4.88	4.94	4.93	4.91	1.7	98.2%
	12	12.01	12.35	12.17	11.96	12.17	12.13	2.3	101.1%
	24	22.87	22.87	23.02	22.78	23.30	22.97	1.5	95.7%
部食品中 心 (上海)	1	0.97	0.99	1.02	0.95	0.98	0.98	2.6	98.0%
	3	3.10	3.05	2.97	3.17	3.01	3.06	2.2	102.0%
	5	4.88	4.76	4.99	4.66	5.00	4.86	2.7	97.1%
	12	12.49	12.76	12.18	12.98	12.47	12.58	2.2	104.8%
	24	23.69	23.14	24.50	22.87	24.29	23.70	2.7	98.7%
中国 海关	1	0.98	1.00	1.01	0.96	0.99	0.99	2.0	98.6%
	3	3.07	3.08	3.00	3.20	2.98	3.07	2.5	102.2%
	5	4.93	4.81	5.04	4.61	5.05	4.89	3.4	97.7%
	12	12.37	12.88	12.30	13.10	12.35	12.60	2.6	105.0%
	24	23.93	23.38	24.74	23.11	24.53	23.94	2.6	99.7%
北京 疾控	1	0.97	0.97	0.97	0.97	0.98	0.97	1.4	97.2%
	3	3.12	3.14	3.11	3.08	3.16	3.12	2.6	104.1%
	5	4.94	4.94	4.94	4.90	4.99	4.94	1.8	98.8%
	12	12.22	12.28	12.23	12.13	12.29	12.23	2.2	101.9%
	24	22.90	22.92	22.92	22.82	23.04	22.92	1.6	95.5%
XXX	1	0.98	0.96	0.99	1.02	0.99	0.99	2.1	98.7%
	3	2.91	3.01	2.87	3.08	2.86	2.94	2.8	98.1%
	5	4.78	4.90	5.01	4.83	4.83	4.87	1.6	97.3%
	12	12.26	11.96	12.05	11.58	12.28	12.03	2.1	100.2%
	24	23.23	23.45	23.26	23.62	24.53	23.62	2.0	98.4%

表30 牛初乳粉中免疫球蛋白IgG测定结果4家验证单位及本单位汇总表

验证单位	添加水平 mg/g	测定值 / mg/g					平均检测结果 %	RSD %	平均回收率
		1	2	3	4	5			
黑龙江省 质检院	1	1.04	1.07	1.06	1.03	1.05	1.05	2.7	104.9%
	3	2.92	2.91	2.91	2.88	3.00	2.93	1.9	97.5%
	5	5.09	5.14	5.17	5.08	5.11	5.12	2.2	102.3%
	100	100.21	99.20	99.50	98.90	100.21	99.60	1.7	99.6%
	200	195.60	201.20	203.20	196.80	203.00	199.96	2.4	100.4%
部食品中 心 (上海)	1	0.95	0.94	0.98	0.96	0.97	0.96	1.5	96.0%
	3	3.09	3.14	3.02	3.20	3.11	3.11	1.9	103.7%
	5	4.96	4.87	5.08	4.78	5.04	4.94	2.2	98.9%
	100	96.09	95.10	98.40	92.50	97.61	95.94	2.2	95.9%
	200	207.00	210.40	203.40	214.20	208.20	208.64	1.7	104.3%
中国 海关	1	0.96	0.95	0.99	0.97	0.96	0.97	1.5	96.6%
	3	3.12	3.11	3.05	3.23	3.08	3.12	2.0	103.9%
	5	5.01	4.92	5.03	4.83	5.09	4.97	1.8	99.5%
	100	97.10	96.09	99.39	93.49	98.60	96.94	2.1	96.9%
	200	205.01	212.39	205.41	216.20	206.20	209.04	2.1	104.5%
北京 疾控	1	1.03	1.04	1.03	1.02	1.05	1.03	2.7	103.3%
	3	2.99	2.99	2.99	2.96	3.02	2.99	1.9	99.7%
	5	5.12	5.14	5.13	5.10	5.14	5.13	2.1	102.5%
	100	96.91	96.91	96.91	96.30	97.50	96.90	1.7	96.9%
	200	209.20	210.40	209.39	207.40	210.61	209.40	2.5	104.7%
XXX	1	0.98	0.98	1.00	0.96	1.02	0.99	2.0	98.7%
	3	2.93	2.86	2.89	2.99	2.85	2.90	1.8	96.8%
	5	4.82	4.92	4.77	4.85	4.80	4.83	1.1	96.6%
	100	98.01	100.21	99.60	102.50	97.30	99.52	1.8	99.5%
	200	195.60	195.80	200.21	196.80	192.39	196.16	1.3	98.1%

表31 牛初乳棒中免疫球蛋白IgG测定结果4家验证单位及本单位汇总表

验证单位	添加水平 mg/g	测定值 / mg/g					平均检测结果 %	RSD %	平均回收率
		1	2	3	4	5			
黑龙江省 质检院	1	0.96	0.96	0.96	0.96	0.97	0.96	1.4	96.1%
	3	3.17	3.15	3.11	3.11	3.21	3.15	2.8	105.0%
	5	4.95	4.90	4.97	4.92	5.00	4.95	1.9	98.9%
	100	101.31	102.70	101.71	100.80	102.50	101.80	2.3	101.8%
	200	189.20	190.40	190.61	190.80	191.00	190.40	1.6	95.2%
部食品中 心 (上海)	1	1.00	0.99	1.03	0.97	1.02	1.00	2.2	100.1%
	3	2.92	2.87	3.00	2.82	2.97	2.92	2.2	97.2%
	5	5.24	5.33	5.16	5.12	5.27	5.22	1.4	104.4%
	100	101.60	99.90	104.20	98.10	103.20	101.40	2.2	101.4%
	200	197.40	194.00	202.39	190.61	200.61	197.00	2.2	98.5%
中国 海关	1	1.01	1.00	1.04	0.96	1.03	1.01	2.8	100.7%
	3	2.95	2.90	3.03	2.85	2.94	2.93	2.0	97.8%
	5	5.14	5.28	5.21	5.17	5.02	5.16	1.6	103.2%
	100	102.60	100.89	105.20	99.11	102.20	102.00	2.0	102.0%
	200	199.39	196.00	204.40	192.60	202.60	199.00	2.2	99.5%
北京 疾控	1	0.98	0.96	0.98	0.99	0.97	0.98	1.4	98.1%
	3	3.02	3.03	3.02	2.99	3.05	3.02	2.6	100.6%
	5	4.80	4.79	4.79	4.76	4.84	4.80	1.9	95.9%
	100	103.70	104.20	103.80	102.90	104.40	103.80	2.3	103.8%
	200	195.20	195.20	195.20	194.00	196.40	195.20	1.6	97.6%
XXX	1	0.97	0.98	1.02	1.03	1.00	1.00	2.4	99.8%
	3	3.13	3.06	3.00	2.97	3.10	3.05	1.9	101.7%
	5	4.89	4.79	4.85	4.92	4.76	4.84	1.3	96.8%
	100	99.60	98.20	99.79	97.19	99.60	98.88	1.0	98.9%
	200	194.80	196.40	198.60	203.80	195.80	197.88	1.6	98.9%

表32 牛初乳胶囊中免疫球蛋白IgG测定结果4家验证单位及本单位汇总表

验证单位	添加水平 mg/g	测定值 / mg/g					平均检测结果 %	RSD %	平均回收率
		1	2	3	4	5			
黑龙江省 质检院	1	1.04	1.04	1.03	1.02	1.05	1.04	2.6	103.7%
	3	2.91	2.92	2.90	2.89	2.94	2.91	1.8	97.0%
	5	5.12	5.17	5.16	5.13	5.16	5.15	2.1	102.9%
	100	99.00	99.11	99.30	98.80	99.30	99.10	1.5	99.1%
	200	201.80	202.60	201.00	199.20	204.40	201.80	2.5	100.9%
部食品中 心 (上海)	1	1.05	0.98	1.04	1.04	1.06	1.03	2.6	103.4%
	3	3.06	3.01	3.14	2.96	3.11	3.06	2.2	101.9%
	5	4.96	4.88	5.09	4.79	5.04	4.95	2.2	99.0%
	100	96.30	94.59	98.80	93.00	97.90	96.12	2.2	96.1%
	200	207.40	210.80	204.00	214.59	208.60	209.08	1.7	104.5%
中国 海关	1	1.06	0.99	1.03	1.05	1.05	1.04	2.4	103.6%
	3	3.09	3.04	3.11	2.99	3.14	3.08	1.8	102.5%
	5	5.01	4.93	5.14	4.84	5.09	5.00	2.1	100.0%
	100	97.30	95.60	99.79	94.00	98.90	97.12	2.2	97.1%
	200	209.39	208.80	206.00	216.60	206.60	209.48	1.8	104.7%
北京 疾控	1	1.01	1.02	1.01	1.00	1.02	1.01	2.7	101.3%
	3	2.98	2.97	2.98	2.96	3.00	2.98	1.7	99.2%
	5	5.14	5.16	5.15	5.12	5.15	5.14	2.1	102.8%
	100	96.20	96.30	96.40	96.00	96.60	96.30	1.5	96.3%
	200	208.60	209.79	208.80	206.80	210.00	208.80	2.6	104.4%
XXX	1	1.03	1.05	1.03	1.01	1.03	1.03	1.2	103.0%
	3	2.96	2.88	2.92	2.87	2.99	2.92	1.6	97.4%
	5	5.04	5.13	4.81	4.98	5.10	5.01	2.2	100.2%
	100	97.50	99.30	101.20	96.70	97.80	98.50	1.6	98.5%
	200	203.20	197.00	196.40	202.81	198.40	199.56	1.4	99.8%

表33 牛初乳奶贝中免疫球蛋白IgG测定结果4家验证单位及本单位汇总表

验证单位	添加水平 mg/g	测定值 / mg/g					平均检测结果 %	RSD %	平均回收率
		1	2	3	4	5			
黑龙江省 质检院	1	0.97	0.96	0.96	0.96	0.97	0.97	1.8	96.5%
	3	3.12	3.14	3.13	3.10	3.14	3.13	2.2	104.2%
	5	4.93	4.92	4.92	4.89	4.96	4.92	1.6	98.4%
	100	101.31	101.90	101.60	100.50	102.20	101.50	2.5	101.5%
	200	197.00	199.39	199.20	197.40	206.00	199.80	2.0	99.9%
部食品中 心 (上海)	1	1.01	0.99	1.03	0.97	1.02	1.00	2.2	100.3%
	3	2.93	2.88	3.00	2.83	2.97	2.92	2.2	97.4%
	5	5.25	5.33	5.16	5.13	5.28	5.23	1.4	104.5%
	100	101.71	100.00	104.31	98.20	103.30	101.50	2.2	101.5%
	200	197.61	194.20	202.60	190.80	200.80	197.20	2.2	98.6%
中国 海关	1	1.02	1.00	1.04	0.98	1.03	1.01	2.2	101.3%
	3	2.96	2.91	3.03	2.86	3.00	2.95	2.2	98.4%
	5	5.30	5.38	5.11	5.08	5.33	5.24	2.3	104.7%
	100	102.70	101.00	105.30	99.20	102.30	102.10	2.0	102.1%
	200	199.60	196.20	204.59	192.81	202.81	199.20	2.2	99.6%
北京 疾控	1	0.99	0.98	0.99	0.98	0.99	0.99	2.0	98.5%
	3	3.02	3.03	3.02	3.00	3.04	3.02	2.2	100.8%
	5	4.80	4.70	4.90	4.78	4.83	4.80	1.7	96.0%
	100	104.90	105.41	105.01	104.10	105.60	105.00	2.4	105.0%
	200	199.00	198.80	199.00	197.40	200.80	199.00	1.9	99.5%
XXX	1	0.96	0.98	0.95	0.99	0.97	0.97	1.3	96.9%
	3	3.11	3.14	3.05	3.13	3.06	3.10	1.2	103.2%
	5	4.96	5.08	4.87	5.02	4.91	4.97	1.5	99.3%
	100	102.60	101.90	99.20	100.40	98.50	100.52	1.5	100.5%
	200	194.40	193.00	194.80	196.20	203.00	196.28	1.8	98.1%

表34 生鲜牛初乳样品实验室间添加1 mg/mL免疫球蛋白IgG验证数据 单位 (mg/mL)

实验室编号	实验室单位	1	2	3	4	5
1	黑龙江省质量监督检测研究院	0.95	0.98	0.97	0.96	0.98
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)	0.97	0.99	1.02	0.95	0.98
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所	0.98	1.00	1.01	0.96	0.99
4	北京市疾病预防控制中心	0.97	0.97	0.97	0.97	0.98
5	XXX	0.98	0.96	0.99	1.02	0.99

表35 生鲜牛初乳样本实验室间方法的重复性和再现性评价统计结果 单位 (mg/mL)
(添加浓度为1 mg/mL)

实验室编号	实验室名称				平均值 Y_i	重复 n_i	方差 S_i^2
1	黑龙江省质量监督检测研究院				0.97	5	0.00017
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)				0.98	5	0.00067
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所				0.99	5	0.00037
4	北京市疾病预防控制中心				0.97	5	0.00002
5	XXX				0.99	5	0.00047
检验单元方差	S_{\max}^2 实验室 编号	柯克伦检验 值(C)	0.5441	柯克伦检验 临界值	0.394	判定	正常
	3						
检验单元平均值	格拉布斯检验值(G)		1.715	格拉布斯临 界值	0.912	判定	正常
比对试验的统计结果	参加的实验室数目, p				5		
	可接受的数目				5		
	平均值, $m=T_1/T_3$				0.98		
	$S_r^2 = \frac{T_5}{T_3 - p}$ 重复性标准偏差				0.009		
	$S_L^2 = \left[\frac{T_2 T_3 - T_1^2}{T_3(p-1)} - S_r^2 \right] \times \left[\frac{T_3(p-1)}{T_3^2 - T_4} \right]$				0.0001		
	$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2$				0.009		
	重复性, $r = 2.8 \sqrt{S_r^2}$				0.269		
	再现性, $R = 2.8 \sqrt{S_R^2}$				0.270		

表36 生鲜牛初乳样品实验室间添加3mg/mL免疫球蛋白IgG验证数据 单位 (mg/mL)

实验室编号	实验室单位	1	2	3	4	5
1	黑龙江省质量监督检测研究院	3.14	3.1	3.09	3.05	3.14
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)	3.1	3.05	2.97	3.17	3.01
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所	3.07	3.08	3	3.2	2.98
4	北京市疾病预防控制中心	3.12	3.14	3.11	3.08	3.16
5	XXX	2.91	3.01	2.87	3.08	2.86

表37 生鲜牛初乳样本实验室间方法的重复性和再现性评价统计结果 单位 (mg/mL)
(添加浓度为3 mg/mL)

实验室编号	实验室名称				平均值 Y_i	重复 n_i	方差 S_i^2
1	黑龙江省质量监督检测研究院				3.10	5	0.0014
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)				3.06	5	0.0061
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所				3.07	5	0.0074
4	北京市疾病预防控制中心				3.12	5	0.00092
5	XXX				2.95	5	0.0091
检验单元方差	S_{\max}^2 实验室编号	柯克伦检验值 (C)	0.5441	柯克伦 检验临 界值	0.364	判定	正常
	5						
检验单元平均值	格拉布斯检验值(G)		1.715	格拉布 斯临 界值	0.910	判定	正常
比对试验的 统计结果	参加的实验室数目, p				5		
	可接受的数目				5		
	平均值, $m=T_1/T_3$				3.06		
	$S_r^2 = \frac{T_5}{T_3 - p}$ 重复性标准偏差				0.069		
	$S_L^2 = \left[\frac{T_2 T_3 - T_1^2}{T_3(p-1)} - S_r^2 \right] \times \left[\frac{T_3(p-1)}{T_3^2 - T_4} \right]$				0.0047		
	$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2$				0.073		
	重复性, $r = 2.8 \sqrt{S_r^2}$				0.73		
	再现性, $R = 2.8 \sqrt{S_R^2}$				0.75		

表38 生鲜牛初乳样品实验室间添加5 mg/mL免疫球蛋白IgG验证数据 单位 (mg/mL)

实验室编号	实验室单位	1	2	3	4	5
1	黑龙江省质量监督检测研究院	4.95	4.86	4.88	4.94	4.93
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)	4.88	4.76	4.99	4.66	5
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所	4.93	4.81	5.04	4.61	5.05
4	北京市疾病预防控制中心	4.94	4.94	4.94	4.9	4.99
5	XXX	4.78	4.9	5.01	4.83	4.83

表39 生鲜牛初乳样本实验室间方法的重复性和再现性评价统计结果 单位 (mg/mL)
(添加浓度为5 mg/mL)

实验室编号	实验室名称				平均值 Y_i	重 复 n_i	方差 S_i^2
1	黑龙江省质量监督检测研究院				4.91	5	0.0015
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)				4.86	5	0.021
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所				4.89	5	0.033
4	北京市疾病预防控制中心				4.94	5	0.001
5	XXX				4.87	5	0.007
检验单元方差	S^2_{\max} 实验室编号	柯克伦检验值 (C)	0.5441	柯克伦检 验临界值	0.510	判 定	正 常
	3						
检验单元平 均值	格拉布斯检验值(G)		1.715	格拉布斯 临界值	1.425	判 定	正 常
比对试验的 统计结果	参加的实验室数目, p				5		
	可接受的数目				5		
	平均值, $m=T_1/T_3$				4.89		
	$S_r^2 = \frac{T_3}{T_3 - p}$ 重复性标准偏差				0.034		
	$S_L^2 = \left[\frac{T_2 T_3 - T_1^2}{T_3(p-1)} - S_r^2 \right] \times \left[\frac{T_3(p-1)}{T_3^2 - T_4} \right]$				0.0011		
	$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2$				0.035		
	重复性, $r = 2.8 \sqrt{S_r^2}$				0.51		
	再现性, $R = 2.8 \sqrt{S_R^2}$				0.52		

表40 生鲜牛初乳样品实验室间添加12 mg/mL免疫球蛋白IgG验证数据 单位 (mg/mL)

实验室编号	实验室单位	1	2	3	4	5
1	黑龙江省质量监督检测研究院	12.01	12.35	12.17	11.96	12.17
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)	12.49	12.76	12.18	12.98	12.47
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所	12.37	12.88	12.3	13.1	12.35
4	北京市疾病预防控制中心	12.22	12.28	12.23	12.13	12.29
5	XXX	12.26	11.96	12.05	11.58	12.28

表41 生鲜牛初乳样本实验室间方法的重复性和再现性评价统计结果 单位 (mg/mL)
(添加浓度为12 mg/mL)

实验室编号	实验室名称				平均值 Y_i	重复 n_i	方差 S_i^2
1	黑龙江省质量监督检测研究院				12.13	5	0.023
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)				12.58	5	0.093
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所				12.60	5	0.13
4	北京市疾病预防控制中心				12.23	5	0.004
5	XXX				12.03	5	0.08
检验单元方差	S_{\max}^2 实验室 编号	柯克伦检验 值(C)	0.5441	柯克伦检验 临界值	0.398	判定	正常
	3						
检验单元平均值	格拉布斯检验值(G)		1.715	格拉布斯临 界值	1.098	判定	正常
比对试验的统计结果	参加的实验室数目, p				5		
	可接受的数目				5		
	平均值, $m=T_1/T_3$				12.31		
	$S_r^2 = \frac{T_3}{T_3 - p}$ 重复性标准偏差				0.26		
	$S_L^2 = \left[\frac{T_2 T_3 - T_1^2}{T_3(p-1)} - S_r^2 \right] \times \left[\frac{T_3(p-1)}{T_3 - T_4} \right]$				0.068		
	$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2$				0.33		
	重复性, $r = 2.8 \sqrt{S_r^2}$				1.43		
再现性, $R = 2.8 \sqrt{S_R^2}$				1.6			

表42 生鲜牛初乳样品实验室间添加24 mg/mL免疫球蛋白IgG验证数据 单位 (mg/mL)

实验室编号	实验室单位	1	2	3	4	5
1	黑龙江省质量监督检测研究院	22.87	22.87	23.02	22.78	23.3
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)	23.69	23.14	24.5	22.87	24.29
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所	23.93	23.38	24.74	23.11	24.53
4	北京市疾病预防控制中心	22.9	22.92	22.92	22.82	23.04
5	XXX	23.23	23.45	23.26	23.62	24.53

表43 生鲜牛初乳样本实验室间方法的重复性和再现性评价统计结果 单位 (mg/mL)
(添加浓度为24 mg/mL)

实验室编号	实验室名称			平均值 Y_i	重复 n_i	方差 S_i^2	
1	黑龙江省质量监督检测研究院			22.97	5	0.042	
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)			23.70	5	0.49	
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所			23.94	5	0.49	
4	北京市疾病预防控制中心			22.92	5	0.006	
5	XXX			23.62	5	0.28	
检验单元方差	S_{\max}^2 实验室 编号	柯克伦检验 值(C)	0.5441	柯克伦检验 临界值	0.375	判定	正常
	3						
检验单元平均值	格拉布斯检验值(G)		1.715	格拉布斯临 界值	1.113	判定	正常
比对试验的统计结果	参加的实验室数目, p			5			
	可接受的数目			5			
	平均值, $m=T_1/T_3$			23.42			
	$S_r^2 = \frac{T_5}{T_3 - p}$ 重复性标准偏差			0.45			
	$S_L^2 = \left[\frac{T_2 T_3 - T_1^2}{T_3(p-1)} - S_r^2 \right] \times \left[\frac{T_3(p-1)}{T_3^2 - T_4} \right]$			0.20			
	$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2$			0.66			
	重复性, $r = 2.8 \sqrt{S_r^2}$			1.89			
再现性, $R = 2.8 \sqrt{S_R^2}$			2.28				

表44 牛初乳粉样品实验室间添加1 mg/g免疫球蛋白IgG验证数据 单位 (mg/g)

实验室编号	实验室单位	1	2	3	4	5
1	黑龙江省质量监督检测研究院	1.04	1.07	1.06	1.03	1.05
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)	0.95	0.94	0.98	0.96	0.97
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所	0.96	0.95	0.99	0.97	0.96
4	北京市疾病预防控制中心	1.03	1.04	1.03	1.02	1.05
5	XXX	0.98	0.98	1	0.96	1.02

表45 牛初乳粉样本实验室间方法的重复性和再现性评价统计结果 单位 (mg/g)

(添加浓度为1 mg/g)

实验室编号	实验室名称				平均值 Y_i	重复 n_i	方差 S_i^2
1	黑龙江省质量监督检测研究院				1.05	5	0.0003
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)				0.96	5	0.0003
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所				0.97	5	0.0002
4	北京市疾病预防控制中心				1.03	5	0.0001
5	XXX				0.99	5	0.0005
检验单元方差	S_{\max}^2 实验室编号	柯克伦检验值 (C)	0.5441	柯克伦检验临界值	0.377	判定	正常
	5						
检验单元平均值	格拉布斯检验值(G)		1.715	格拉布斯临界值	1.245	判定	正常
比对试验的统计结果	参加的实验室数目, p				5		
	可接受的数目				5		
	平均值, $m=T_1/T_3$				1.000		
	$S_r^2 = \frac{T_5}{T_3 - p}$ 重复性标准偏差				0.04		
	$S_L^2 = \left[\frac{T_2 T_3 - T_1^2}{T_3(p-1)} - S_r^2 \right] \times \left[\frac{T_3(p-1)}{T_3^2 - T_4} \right]$				0.0016		
	$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2$				0.042		
	重复性, $r = 2.8 \sqrt{S_r^2}$				0.56		
再现性, $R = 2.8 \sqrt{S_R^2}$				0.57			

表46 牛初乳粉样品实验室间添加3 mg/g免疫球蛋白IgG验证数据 单位 (mg/g)

实验室编号	实验室单位	1	2	3	4	5
1	黑龙江省质量监督检测研究院	2.92	2.91	2.91	2.88	3
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)	3.09	3.14	3.02	3.2	3.11
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所	3.12	3.11	3.05	3.23	3.08
4	北京市疾病预防控制中心	2.99	2.99	2.99	2.96	3.02
5	XXX	2.93	2.86	2.89	2.99	2.85

表47 牛初乳粉样本实验室间方法的重复性和再现性评价统计结果 单位 (mg/g)

(添加浓度为3 mg/g)

实验室编号	实验室名称				平均值 Y_i	重复 n_i	方差 S_i^2
1	黑龙江省质量监督检测研究院				2.92	5	0.0020
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)				3.11	5	0.0044
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所				3.12	5	0.0047
4	北京市疾病预防控制中心				2.99	5	0.0005
5	XXX				2.90	5	0.0033
检验单元方差	S_{\max}^2 实验室编号	柯克伦检验值 (C)	0.5441	柯克伦检验临界值	0.316	判定	正常
	3						
检验单元平均值	格拉布斯检验值(G)		1.715	格拉布斯临界值	1.069	判定	正常
比对试验的统计结果	参加的实验室数目, p				5		
	可接受的数目				5		
	平均值, $m=T_1/T_3$				3.01		
	$S_r^2 = \frac{T_5}{T_3 - p}$ 重复性标准偏差				0.10		
	$S_L^2 = \left[\frac{T_2 T_3 - T_1^2}{T_3(p-1)} - S_r^2 \right] \times \left[\frac{T_3(p-1)}{T_3^2 - T_4} \right]$				0.010		
	$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2$				0.11		
	重复性, $r = 2.8 \sqrt{S_r^2}$				0.89		
	再现性, $R = 2.8 \sqrt{S_R^2}$				0.93		

表48 牛初乳粉样品实验室间添加5 mg/g免疫球蛋白IgG验证数据 单位 (mg/g)

实验室编号	实验室单位	1	2	3	4	5
1	黑龙江省质量监督检测研究院	5.2	4.9	5.1	5.2	5.2
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)	5.2	4.9	5.2	5.2	5.2
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所	4.7	4.9	4.7	5.0	4.8
4	北京市疾病预防控制中心	4.8	4.9	5.0	4.7	4.9
5	XXX	5.0	5.1	4.9	5.1	5.0

表49 牛初乳粉样本实验室间方法的重复性和再现性评价统计结果 单位 (mg/g)

(添加浓度为5 mg/g)

实验室编号	实验室名称				平均值 Y_i	重复 n_i	方差 S_i^2
1	黑龙江省质量监督检测研究院				5.12	5	0.0014
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)				4.95	5	0.015
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所				4.98	5	0.010
4	北京市疾病预防控制中心				5.13	5	0.0003
5	XXX				4.83	5	0.0033
检验单元方差	S_{\max}^2 实验室编号	柯克伦检验值 (C)	0.5441	柯克伦检验临界值	0.496	判定	正常
	2						
检验单元平均值	格拉布斯检验值(G)		1.715	格拉布斯临界值	1.019	判定	正常
比对试验的统计结果	参加的实验室数目, p				5		
	可接受的数目				5		
	平均值, $m=T_1/T_3$				5.000		
	$S_r^2 = \frac{T_5}{T_3 - p}$ 重复性标准偏差				0.12		
	$S_L^2 = \left[\frac{T_2 T_3 - T_1^2}{T_3(p-1)} - S_r^2 \right] \times \left[\frac{T_3(p-1)}{T_3^2 - T_4} \right]$				0.015		
	$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2$				0.13		
	重复性, $r = 2.8 \sqrt{S_r^2}$				0.98		
	再现性, $R = 2.8 \sqrt{S_R^2}$				1.04		

表50 牛初乳粉样品实验室间添加100 mg/g免疫球蛋白IgG验证数据 单位 (mg/g)

实验室编号	实验室单位	1	2	3	4	5
1	黑龙江省质量监督检测研究院	100.21	99.20	99.50	98.90	100.21
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)	96.09	95.10	98.40	92.50	97.61
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所	97.10	96.09	99.39	93.49	98.60
4	北京市疾病预防控制中心	96.91	96.91	96.91	96.30	97.50
5	XXX	98.01	100.21	99.60	102.50	97.30

表51 牛初乳粉样本实验室间方法的重复性和再现性评价统计结果 单位 (mg/g)
(添加浓度为100 mg/g)

实验室编号	实验室名称				平均值 Y_i	重复 n_i	方差 S_i^2
1	黑龙江省质量监督检测研究院				99.60	5	0.35
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)				95.94	5	5.35
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所				96.94	5	5.35
4	北京市疾病预防控制中心				96.90	5	0.18
5	XXX				99.52	5	4.15
检验单元方差	S_{\max}^2 实验室编号 3	柯克伦检验值 (C)	0.5441	柯克伦检验临界值	0.348	判定	正常
检验单元平均值	格拉布斯检验值(G)		1.715	格拉布斯临界值	1.088	判定	正常
比对试验的统计结果	参加的实验室数目, p				5		
	可接受的数目				5		
	平均值, $m=T_1/T_3$				97.782		
	$S_r^2 = \frac{T_5}{T_3 - p}$ 重复性标准偏差				1.676		
	$S_L^2 = \left[\frac{T_2 T_3 - T_1^2}{T_3(p-1)} - S_r^2 \right] \times \left[\frac{T_3(p-1)}{T_3^2 - T_4} \right]$				2.8073		
	$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2$				4.483		
	重复性, $r = 2.8 \sqrt{S_r^2}$				3.624		
	再现性, $R = 2.8 \sqrt{S_R^2}$				5.928		

表52 牛初乳粉样品实验室间添加200 mg/g免疫球蛋白IgG验证数据 单位 (mg/g)

实验室编号	实验室单位	1	2	3	4	5
1	黑龙江省质量监督检测研究院	195.60	201.20	203.20	196.80	203.00
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)	207.00	210.40	203.40	214.20	208.20
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所	205.01	212.39	205.41	216.20	206.20
4	北京市疾病预防控制中心	209.20	210.40	209.39	207.40	210.61
5	XXX	195.60	195.80	200.21	196.80	192.39

表53 牛初乳粉样本实验室间方法的重复性和再现性评价统计结果 单位 (mg/g)
(添加浓度为200 mg/g)

实验室编号	实验室名称				平均值 Y_i	重复 n_i	方差 S_i^2
1	黑龙江省质量监督检测研究院				199.96	5	12.58
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)				208.64	5	16.08
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所				209.04	5	25.02
4	北京市疾病预防控制中心				209.40	5	1.62
5	XXX				196.16	5	7.85
检验单元方差	S_{\max}^2 实验室编号 3	柯克伦检验值 (C)	0.5441	柯克伦检验临界值	0.396	判定	正常
检验单元平均值	格拉布斯检验值(G)		1.715	格拉布斯临界值	0.773	判定	正常
比对试验的统计结果	参加的实验室数目, p				5		
	可接受的数目				5		
	平均值, $m=T_1/T_3$				204.640		
	$S_r^2 = \frac{T_3}{T_3 - p}$ 重复性标准偏差				6.162		
	$S_L^2 = \left[\frac{T_2 T_3 - T_1^2}{T_3(p-1)} - S_r^2 \right] \times \left[\frac{T_3(p-1)}{T_3^2 - T_4} \right]$				37.9654		
	$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2$				44.127		
	重复性, $r = 2.8 \sqrt{S_r^2}$				6.950		
再现性, $R = 2.8 \sqrt{S_R^2}$				18.600			

表54 牛初乳棒样品实验室间添加1 mg/g免疫球蛋白IgG验证数据 单位 (mg/g)

实验室编号	实验室单位	1	2	3	4	5
1	黑龙江省质量监督检测研究院	0.96	0.96	0.96	0.96	0.97
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)	1	0.99	1.03	0.97	1.02
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所	1.01	1	1.04	0.96	1.03
4	北京市疾病预防控制中心	0.98	0.96	0.98	0.99	0.97
5	XXX	0.97	0.98	1.02	1.03	1

表55 牛初乳棒样本实验室间方法的重复性和再现性评价统计结果 单位 (mg/g)

(添加浓度为1 mg/g)

实验室编号	实验室名称				平均值 Y_i	重复 n_i	方差 S_i^2
1	黑龙江省质量监督检测研究院				0.96	5	0.00002
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)				1.00	5	0.00057
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所				1.01	5	0.00097
4	北京市疾病预防控制中心				0.98	5	0.00013
5	XXX				1.00	5	0.00065
检验单元方差	S_{\max}^2 实验室编号	柯克伦检验值 (C)	0.5441	柯克伦检验临界值	0.415	判定	正常
	3						
检验单元平均值	格拉布斯检验值(G)		1.715	格拉布斯临界值	0.936	判定	正常
比对试验的统计结果	参加的实验室数目, p				5		
	可接受的数目				5		
	平均值, $m=T_1/T_3$				0.990		
	$S_r^2 = \frac{T_5}{T_3 - p}$ 重复性标准偏差				0.020		
	$S_L^2 = \left[\frac{T_2 T_3 - T_1^2}{T_3(p-1)} - S_r^2 \right] \times \left[\frac{T_3(p-1)}{T_3^2 - T_4} \right]$				0.0004		
	$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2$				0.020		
	重复性, $r = 2.8 \sqrt{S_r^2}$				0.39		
	再现性, $R = 2.8 \sqrt{S_R^2}$				0.39		

表56 牛初乳棒样品实验室间添加3 mg/g免疫球蛋白IgG验证数据 单位 (mg/g)

实验室编号	实验室单位	1	2	3	4	5
1	黑龙江省质量监督检测研究院	3.17	3.15	3.11	3.11	3.21
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)	2.92	2.87	3	2.82	2.97
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所	2.95	2.9	3.03	2.85	2.94
4	北京市疾病预防控制中心	3.02	3.03	3.02	2.99	3.05
5	XXX	3.13	3.06	3	2.97	3.1

表57 牛初乳棒样本实验室间方法的重复性和再现性评价统计结果 单位 (mg/g)

(添加浓度为3 mg/g)

实验室编号	实验室名称				平均值 Y_i	重复 n_i	方差 S_i^2
1	黑龙江省质量监督检测研究院				3.15	5	0.0018
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)				2.92	5	0.0053
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所				2.93	5	0.0044
4	北京市疾病预防控制中心				3.02	5	0.0005
5	XXX				3.05	5	0.0045
检验单元方差	S_{\max}^2 实验室编号	柯克伦检验值 (C)	0.5441	柯克伦检验临界值	0.323	判定	正常
	2						
检验单元平均值	格拉布斯检验值(G)		1.715	格拉布斯临界值	1.425	判定	正常
比对试验的统计结果	参加的实验室数目, p				5		
	可接受的数目				5		
	平均值, $m=T_1/T_3$				3.015		
	$S_r^2 = \frac{T_5}{T_3 - p}$ 重复性标准偏差				0.095		
	$S_L^2 = [\frac{T_2 T_3 - T_1^2}{T_3(p-1)} - S_r^2] \times [\frac{T_3(p-1)}{T_3^2 - T_4}]$				0.009		
	$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2$				0.104		
	重复性, $r = 2.8 \sqrt{S_r^2}$				0.86		
	再现性, $R = 2.8 \sqrt{S_R^2}$				0.90		

表58 牛初乳棒样品实验室间添加5 mg/g免疫球蛋白IgG验证数据 单位 (mg/g)

实验室编号	实验室单位	1	2	3	4	5
1	黑龙江省质量监督检测研究院	4.95	4.9	4.97	4.92	5
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)	5.24	5.33	5.16	5.12	5.27
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所	5.14	5.28	5.21	5.17	5.02
4	北京市疾病预防控制中心	4.8	4.79	4.79	4.76	4.84
5	XXX	4.89	4.79	4.85	4.92	4.76

表59 牛初乳棒样本实验室间方法的重复性和再现性评价统计结果 单位 (mg/g)

(添加浓度为5 mg/g)

实验室编号	实验室名称				平均值 Y_i	重复 n_i	方差 S_i^2
1	黑龙江省质量监督检测研究院				4.95	5	0.0016
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)				5.22	5	0.0071
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所				5.16	5	0.0092
4	北京市疾病预防控制中心				4.80	5	0.0008
5	XXX				4.84	5	0.0045
检验单元方差	S_{\max}^2 实验室编号	柯克伦检验值 (C)	0.5441	柯克伦检验临界值	0.397	判定	正常
	3						
检验单元平均值	格拉布斯检验值(G)		1.715	格拉布斯临界值	1.199	判定	正常
比对试验的统计结果	参加的实验室数目, p				5		
	可接受的数目				5		
	平均值, $m=T_1/T_3$				4.995		
	$S_r^2 = \frac{T_5}{T_3 - p}$ 重复性标准偏差				0.191		
	$S_L^2 = \left[\frac{T_2 T_3 - T_1^2}{T_3(p-1)} - S_r^2 \right] \times \left[\frac{T_3(p-1)}{T_3^2 - T_4} \right]$				0.036		
	$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2$				0.22		
	重复性, $r = 2.8 \sqrt{S_r^2}$				1.22		
	再现性, $R = 2.8 \sqrt{S_R^2}$				1.33		

表60 牛初乳棒样品实验室间添加100 mg/g免疫球蛋白IgG验证数据 单位 (mg/g)

实验室编号	实验室单位	1	2	3	4	5
1	黑龙江省质量监督检测研究院	101.31	102.70	101.71	100.80	102.50
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)	101.60	99.90	104.20	98.10	103.20
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所	102.60	100.89	105.20	99.11	102.20
4	北京市疾病预防控制中心	103.70	104.20	103.80	102.90	104.40
5	XXX	99.60	98.20	99.79	97.19	99.60

表61 牛初乳棒样本实验室间方法的重复性和再现性评价统计结果 单位 (mg/g)
(添加浓度为100 mg/g)

实验室编号	实验室名称				平均值 Y_i	重复 n_i	方差 S_i^2
1	黑龙江省质量监督检测研究院				101.80	5	0.64
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)				101.40	5	6.06
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所				102.00	5	5.06
4	北京市疾病预防控制中心				103.80	5	0.33
5	XXX				98.88	5	1.30
检验单元方差	S_{\max}^2 实验室编号 2	柯克伦检验值 (C)	0.5441	柯克伦检验临界值	0.453	判定	正常
检验单元平均值	格拉布斯检验值(G)		1.715	格拉布斯临界值	1.258	判定	正常
比对试验的统计结果	参加的实验室数目, p				5		
	可接受的数目				5		
	平均值, $m=T_1/T_3$				101.576		
	$S_r^2 = \frac{T_3}{T_3 - p}$ 重复性标准偏差				1.767		
	$S_L^2 = \left[\frac{T_2 T_3 - T_1^2}{T_3(p-1)} - S_r^2 \right] \times \left[\frac{T_3(p-1)}{T_3^2 - T_4} \right]$				3.1214		
	$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2$				4.888		
	重复性, $r = 2.8 \sqrt{S_r^2}$				3.722		
再现性, $R = 2.8 \sqrt{S_R^2}$				6.191			

表62 牛初乳棒样品实验室间添加200 mg/g免疫球蛋白IgG验证数据 单位 (mg/g)

实验室编号	实验室单位	1	2	3	4	5
1	黑龙江省质量监督检测研究院	189.20	190.40	190.61	190.80	191.00
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)	197.40	194.00	202.39	190.61	200.61
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所	199.39	196.00	204.40	192.60	202.60
4	北京市疾病预防控制中心	195.20	195.20	195.20	194.00	196.40
5	XXX	194.80	196.40	198.60	203.80	195.80

表63 牛初乳棒样本实验室间方法的重复性和再现性评价统计结果 单位 (mg/g)
(添加浓度为200 mg/g)

实验室编号	实验室名称			平均值 Y_i	重复 n_i	方差 S_i^2
1	黑龙江省质量监督检测研究院			190.40	5	0.50
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)			197.00	5	23.03
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所			199.00	5	23.07
4	北京市疾病预防控制中心			195.20	5	0.72
5	XXX			197.88	5	12.88
检验单元方差	S_{\max}^2 实验室编号 3	柯克伦检验值 (C)	0.5441	柯克伦检验临界值	0.383	判定 正常
检验单元平均值	格拉布斯检验值(G)		1.715	格拉布斯临界值	0.920	判定 正常
比对试验的统计结果	参加的实验室数目, p			5		
	可接受的数目			5		
	平均值, $m=T_1/T_3$			195.896		
	$S_r^2 = \frac{T_5}{T_3 - p}$ 重复性标准偏差			3.371		
	$S_L^2 = \left[\frac{T_2 T_3 - T_1^2}{T_3(p-1)} - S_r^2 \right] \times \left[\frac{T_3(p-1)}{T_3^2 - T_4} \right]$			11.3633		
	$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2$			14.734		
	重复性, $r = 2.8 \sqrt{S_r^2}$			5.141		
再现性, $R = 2.8 \sqrt{S_R^2}$			10.748			

表64 牛初乳胶囊样品实验室间添加1 mg/g免疫球蛋白IgG验证数据 单位 (mg/g)

实验室编号	实验室单位	1	2	3	4	5
1	黑龙江省质量监督检测研究院	1.04	1.04	1.03	1.02	1.05
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)	1.05	0.98	1.04	1.04	1.06
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所	1.06	0.99	1.03	1.05	1.05
4	北京市疾病预防控制中心	1.01	1.02	1.01	1	1.02
5	XXX	1.03	1.05	1.03	1.01	1.03

表65 牛初乳胶囊样本实验室间方法的重复性和再现性评价统计结果 单位 (mg/g)

(添加浓度为1 mg/g)

实验室编号	实验室名称				平均值 Y_i	重复 n_i	方差 S_i^2
1	黑龙江省质量监督检测研究院				1.04	5	0.0001
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)				1.03	5	0.0010
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所				1.04	5	0.0008
4	北京市疾病预防控制中心				1.01	5	0.0001
5	XXX				1.03	5	0.0002
检验单元方差	S_{\max}^2 实验室编号	柯克伦检验值 (C)	0.5441	柯克伦检验临界值	0.454	判定	正常
	2						
检验单元平均值	格拉布斯检验值(G)		1.715	格拉布斯临界值	0.631	判定	正常
比对试验的统计结果	参加的实验室数目, p				5		
	可接受的数目				5		
	平均值, $m=T_1/T_3$				1.030		
	$S_r^2 = \frac{T_5}{T_3 - p}$ 重复性标准偏差				0.010		
	$S_L^2 = \left[\frac{T_2 T_3 - T_1^2}{T_3(p-1)} - S_r^2 \right] \times \left[\frac{T_3(p-1)}{T_3^2 - T_4} \right]$				0.0001		
	$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2$				0.010		
	重复性, $r = 2.8 \sqrt{S_r^2}$				0.282		
	再现性, $R = 2.8 \sqrt{S_R^2}$				0.283		

表66 牛初乳胶囊样品实验室间添加3 mg/g免疫球蛋白IgG验证数据 单位 (mg/g)

实验室编号	实验室单位	1	2	3	4	5
1	黑龙江省质量监督检测研究院	2.91	2.92	2.9	2.89	2.94
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)	3.06	3.01	3.14	2.96	3.11
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所	3.09	3.04	3.11	2.99	3.14
4	北京市疾病预防控制中心	2.98	2.97	2.98	2.96	3
5	XXX	2.96	2.88	2.92	2.87	2.99

表67 牛初乳胶囊样本实验室间方法的重复性和再现性评价统计结果 单位 (mg/g)

(添加浓度为3 mg/g)

实验室编号	实验室名称				平均值 Y_i	重复 n_i	方差 S_i^2
1	黑龙江省质量监督检测研究院				2.91	5	0.0004
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)				3.06	5	0.0053
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所				3.07	5	0.0035
4	北京市疾病预防控制中心				2.98	5	0.0002
5	XXX				2.92	5	0.0026
检验单元方差	S_{\max}^2 实验室编号	柯克伦检验值 (C)	0.5441	柯克伦检验临界值	0.441	判定	正常
	2						
检验单元平均值	格拉布斯检验值(G)		1.715	格拉布斯临界值	1.149	判定	正常
比对试验的统计结果	参加的实验室数目, p				5		
	可接受的数目				5		
	平均值, $m=T_1/T_3$				2.989		
	$S_r^2 = \frac{T_5}{T_3 - p}$ 重复性标准偏差				0.074		
	$S_L^2 = [\frac{T_2 T_3 - T_1^2}{T_3(p-1)} - S_r^2] \times [\frac{T_3(p-1)}{T_3^2 - T_4}]$				0.0055		
	$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2$				0.080		
	重复性, $r = 2.8 \sqrt{S_r^2}$				0.76		
	再现性, $R = 2.8 \sqrt{S_R^2}$				0.79		

表68 牛初乳胶囊样品实验室间添加5 mg/g免疫球蛋白IgG验证数据 单位 (mg/g)

实验室编号	实验室单位	1	2	3	4	5
1	黑龙江省质量监督检测研究院	5.12	5.17	5.16	5.13	5.16
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)	4.96	4.88	5.09	4.79	5.04
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所	5.01	4.93	5.14	4.84	5.09
4	北京市疾病预防控制中心	5.14	5.16	5.15	5.12	5.15
5	XXX	5.04	5.13	4.81	4.98	5.1

表69 牛初乳胶囊样本实验室间方法的重复性和再现性评价统计结果 单位 (mg/g)

(添加浓度为5 mg/g)

实验室编号	实验室名称				平均值 Y_i	重复 n_i	方差 S_i^2
1	黑龙江省质量监督检测研究院				5.15	5	0.0005
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)				4.95	5	0.0146
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所				5.00	5	0.0146
4	北京市疾病预防控制中心				5.14	5	0.0002
5	XXX				5.01	5	0.0161
检验单元方差	S_{\max}^2 实验室编号	柯克伦检验值 (C)	0.5441	柯克伦检验临界值	0.350	判定	正常
	5						
检验单元平均值	格拉布斯检验值(G)		1.715	格拉布斯临界值	1.082	判定	正常
比对试验的统计结果	参加的实验室数目, p				5		
	可接受的数目				5		
	平均值, $m=T_1/T_3$				5.052		
	$S_r^2 = \frac{T_5}{T_3 - p}$ 重复性标准偏差				0.089		
	$S_L^2 = [\frac{T_2 T_3 - T_1^2}{T_3(p-1)} - S_r^2] \times [\frac{T_3(p-1)}{T_3^2 - T_4}]$				0.0079		
	$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2$				0.097		
	重复性, $r = 2.8 \sqrt{S_r^2}$				0.83		
	再现性, $R = 2.8 \sqrt{S_R^2}$				0.87		

表70 牛初乳胶囊样品实验室间添加100 mg/g免疫球蛋白IgG验证数据 单位 (mg/g)

实验室编号	实验室单位	1	2	3	4	5
1	黑龙江省质量监督检测研究院	99.00	99.11	99.30	98.80	99.30
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)	96.30	94.59	98.80	93.00	97.90
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所	97.30	95.60	99.79	94.00	98.90
4	北京市疾病预防控制中心	96.20	96.30	96.40	96.00	96.60
5	XXX	97.50	99.30	101.20	96.70	97.80

表71 牛初乳胶囊样本实验室间方法的重复性和再现性评价统计结果 单位 (mg/g)
(添加浓度为100 mg/g)

实验室编号	实验室名称				平均值 Y_i	重复 n_i	方差 S_i^2
1	黑龙江省质量监督检测研究院				99.10	5	0.04
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)				96.12	5	5.61
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所				97.12	5	5.60
4	北京市疾病预防控制中心				96.30	5	0.05
5	XXX				98.50	5	3.16
检验单元方差	S_{\max}^2 实验室编号 2	柯克伦检验值 (C)	0.5441	柯克伦检验临界值	0.388	判定	正常
检验单元平均值	格拉布斯检验值(G)		1.715	格拉布斯临界值	1.263	判定	正常
比对试验的统计结果	参加的实验室数目, p				5		
	可接受的数目				5		
	平均值, $m=T_1/T_3$				97.427		
	$S_r^2 = \frac{T_5}{T_3 - p}$ 重复性标准偏差				1.325		
	$S_L^2 = \left[\frac{T_2 T_3 - T_1^2}{T_3(p-1)} - S_r^2 \right] \times \left[\frac{T_3(p-1)}{T_3^2 - T_4} \right]$				1.7562		
	$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2$				3.081		
	重复性, $r = 2.8 \sqrt{S_r^2}$				3.223		
再现性, $R = 2.8 \sqrt{S_R^2}$				4.915			

表72 牛初乳胶囊样品实验室间添加200 mg/g免疫球蛋白IgG验证数据 单位 (mg/g)

实验室编号	实验室单位	1	2	3	4	5
1	黑龙江省质量监督检测研究院	201.80	202.60	201.00	199.20	204.40
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)	207.40	210.80	204.00	214.59	208.60
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所	209.39	208.80	206.00	216.60	206.60
4	北京市疾病预防控制中心	208.60	209.79	208.80	206.80	210.00
5	XXX	203.20	197.00	196.40	202.81	198.40

表73 牛初乳胶囊样本实验室间方法的重复性和再现性评价统计结果 单位 (mg/g)
(添加浓度为200 mg/g)

实验室编号	实验室名称				平均值 Y_i	重复 n_i	方差 S_i^2
1	黑龙江省质量监督检测研究院				201.80	5	3.70
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)				209.08	5	15.55
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所				209.48	5	17.90
4	北京市疾病预防控制中心				208.80	5	1.62
5	XXX				199.56	5	10.43
检验单元方差	S_{\max}^2 实验室编号 3	柯克伦检验值 (C)	0.5441	柯克伦检验临界值	0.364	判定	正常
检验单元平均值	格拉布斯检验值(G)		1.715	格拉布斯临界值	0.796	判定	正常
比对试验的统计结果	参加的实验室数目, p				5		
	可接受的数目				5		
	平均值, $m=T_1/T_3$				205.744		
	$S_r^2 = \frac{T_3}{T_3 - p}$ 重复性标准偏差				4.694		
	$S_L^2 = \left[\frac{T_2 T_3 - T_1^2}{T_3(p-1)} - S_r^2 \right] \times \left[\frac{T_3(p-1)}{T_3^2 - T_4} \right]$				22.0380		
	$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2$				26.732		
	重复性, $r = 2.8 \sqrt{S_r^2}$				6.067		
再现性, $R = 2.8 \sqrt{S_R^2}$				14.477			

表74 牛初乳奶贝样品实验室间添加1 mg/g免疫球蛋白IgG验证数据 单位 (mg/g)

实验室编号	实验室单位	1	2	3	4	5
1	黑龙江省质量监督检测研究院	0.97	0.96	0.96	0.96	0.97
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)	1.01	0.99	1.03	0.97	1.02
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所	1.02	1	1.04	0.98	1.03
4	北京市疾病预防控制中心	0.99	0.98	0.99	0.98	0.99
5	XXX	0.99	0.98	0.99	0.98	0.99

表75 牛初乳奶贝样本实验室间方法的重复性和再现性评价统计结果 单位 (mg/g)

(添加浓度为1 mg/g)

实验室编号	实验室名称				平均值 Y_i	重复 n_i	方差 S_i^2
1	黑龙江省质量监督检测研究院				0.96	5	0.00003
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)				1.00	5	0.00058
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所				1.01	5	0.00058
4	北京市疾病预防控制中心				0.99	5	0.00003
5	XXX				0.99	5	0.00003
检验单元方差	S_{\max}^2 实验室编号	柯克伦检验值 (C)	0.5441	柯克伦检验临界值	0.464	判定	正常
	2						
检验单元平均值	格拉布斯检验值(G)		1.715	格拉布斯临界值	1.207	判定	正常
比对试验的统计结果	参加的实验室数目, p				5		
	可接受的数目				5		
	平均值, $m=T_1/T_3$				0.991		
	$S_r^2 = \frac{T_5}{T_3 - p}$ 重复性标准偏差				0.019		
	$S_L^2 = \left[\frac{T_2 T_3 - T_1^2}{T_3(p-1)} - S_r^2 \right] \times \left[\frac{T_3(p-1)}{T_3^2 - T_4} \right]$				0.0004		
	$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2$				0.020		
	重复性, $r = 2.8 \sqrt{S_r^2}$				0.38		
	再现性, $R = 2.8 \sqrt{S_R^2}$				0.39		

表76 牛初乳奶贝样品实验室间添加3 mg/g免疫球蛋白IgG验证数据 单位 (mg/g)

实验室编号	实验室单位	1	2	3	4	5
1	黑龙江省质量监督检测研究院	3.12	3.14	3.13	3.1	3.14
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)	2.93	2.88	3	2.83	2.97
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所	2.96	2.91	3.03	2.86	3
4	北京市疾病预防控制中心	3.02	3.03	3.02	3	3.04
5	XXX	3.11	3.14	3.05	3.13	3.06

表77 牛初乳奶贝样本实验室间方法的重复性和再现性评价统计结果 单位 (mg/g)

(添加浓度为3 mg/g)

实验室编号	实验室名称				平均值 Y_i	重复 n_i	方差 S_i^2
1	黑龙江省质量监督检测研究院				3.13	5	0.0003
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)				2.92	5	0.0047
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所				2.95	5	0.0047
4	北京市疾病预防控制中心				3.02	5	0.0002
5	XXX				3.10	5	0.0017
检验单元方差	S_{\max}^2 实验室编号	柯克伦检验值 (C)	0.5441	柯克伦检验临界值	0.406	判定	正常
	2						
检验单元平均值	格拉布斯检验值(G)		1.715	格拉布斯临界值	1.150	判定	正常
比对试验的统计结果	参加的实验室数目, p				5		
	可接受的数目				5		
	平均值, $m=T_1/T_3$				3.024		
	$S_r^2 = \frac{T_5}{T_3 - p}$ 重复性标准偏差				0.089		
	$S_L^2 = \left[\frac{T_2 T_3 - T_1^2}{T_3(p-1)} - S_r^2 \right] \times \left[\frac{T_3(p-1)}{T_3^2 - T_4} \right]$				0.0079		
	$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2$				0.097		
	重复性, $r = 2.8 \sqrt{S_r^2}$				0.83		
	再现性, $R = 2.8 \sqrt{S_R^2}$				0.87		

表78 牛初乳奶贝样品实验室间添加5 mg/g免疫球蛋白IgG验证数据 单位 (mg/g)

实验室编号	实验室单位	1	2	3	4	5
1	黑龙江省质量监督检测研究院	4.93	4.92	4.92	4.89	4.96
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)	5.25	5.33	5.16	5.13	5.28
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所	5.3	5.38	5.11	5.08	5.33
4	北京市疾病预防控制中心	4.8	4.7	4.9	4.78	4.83
5	XXX	4.96	5.08	4.87	5.02	4.91

表79 牛初乳奶贝样本实验室间方法的重复性和再现性评价统计结果 单位 (mg/g)

(添加浓度为5 mg/g)

实验室编号	实验室名称				平均值 Y_i	重复 n_i	方差 S_i^2
1	黑龙江省质量监督检测研究院				4.92	5	0.0006
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)				5.23	5	0.0070
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所				5.24	5	0.0185
4	北京市疾病预防控制中心				4.80	5	0.0053
5	XXX				4.97	5	0.0071
检验单元方差	S_{\max}^2 实验室编号	柯克伦检验值 (C)	0.5441	柯克伦检验临界值	0.480	判定	正常
	2						
检验单元平均值	格拉布斯检验值(G)		1.715	格拉布斯临界值	1.066	判定	正常
比对试验的统计结果	参加的实验室数目, p				5		
	可接受的数目				5		
	平均值, $m=T_1/T_3$				5.033		
	$S_r^2 = \frac{T_5}{T_3 - p}$ 重复性标准偏差				0.194		
	$S_L^2 = \left[\frac{T_2 T_3 - T_1^2}{T_3(p-1)} - S_r^2 \right] \times \left[\frac{T_3(p-1)}{T_3^2 - T_4} \right]$				0.0378		
	$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2$				0.232		
	重复性, $r = 2.8 \sqrt{S_r^2}$				1.23		
	再现性, $R = 2.8 \sqrt{S_R^2}$				1.34		

表80 牛初乳奶贝样品实验室间添加100 mg/g免疫球蛋白IgG验证数据 单位 (mg/g)

实验室编号	实验室单位	1	2	3	4	5
1	黑龙江省质量监督检测研究院	101.31	101.90	101.60	100.50	102.20
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)	101.71	100.00	104.31	98.20	103.30
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所	102.70	101.00	105.30	99.20	102.30
4	北京市疾病预防控制中心	104.90	105.41	105.01	104.10	105.60
5	XXX	102.60	101.90	99.20	100.40	98.50

表81 牛初乳奶贝样本实验室间方法的重复性和再现性评价统计结果 单位 (mg/g)
(添加浓度为100 mg/g)

实验室编号	实验室名称				平均值 Y_i	重复 n_i	方差 S_i^2
1	黑龙江省质量监督检测研究院				101.50	5	0.43
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)				101.50	5	6.08
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所				102.10	5	5.05
4	北京市疾病预防控制中心				105.00	5	0.34
5	XXX				100.52	5	3.01
检验单元方差	S_{\max}^2 实验室编号 2	柯克伦检验值 (C)	0.5441	柯克伦检验临界值	0.408	判定	正常
检验单元平均值	格拉布斯检验值(G)		1.715	格拉布斯临界值	1.687	判定	正常
比对试验的统计结果	参加的实验室数目, p				5		
	可接受的数目				5		
	平均值, $m=T_1/T_3$				102.124		
	$S_r^2 = \frac{T_3}{T_3 - p}$ 重复性标准偏差				1.705		
	$S_L^2 = \left[\frac{T_2 T_3 - T_1^2}{T_3(p-1)} - S_r^2 \right] \times \left[\frac{T_3(p-1)}{T_3^2 - T_4} \right]$				2.9075		
	$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2$				4.613		
	重复性, $r = 2.8 \sqrt{S_r^2}$				3.656		
再现性, $R = 2.8 \sqrt{S_R^2}$				6.014			

表82 牛初乳奶贝样品实验室间添加200 mg/g免疫球蛋白IgG验证数据 单位 (mg/g)

实验室编号	实验室单位	1	2	3	4	5
1	黑龙江省质量监督检测研究院	197.00	199.39	199.20	197.40	206.00
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)	197.61	194.20	202.60	190.80	200.80
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所	199.60	196.20	204.59	192.81	202.81
4	北京市疾病预防控制中心	199.00	198.80	199.00	197.40	200.80
5	XXX	194.40	193.00	194.80	196.20	203.00

表83 牛初乳奶贝样本实验室间方法的重复性和再现性评价统计结果 单位 (mg/g)
(添加浓度为200 mg/g)

实验室编号	实验室名称				平均值 Y_i	重复 n_i	方差 S_i^2
1	黑龙江省质量监督检测研究院				199.80	5	13.13
2	农业农村部食品质量监督检验测试中心(上海)				197.20	5	23.07
3	中国海关科学技术研究中心食品安全研究所				199.20	5	23.03
4	北京市疾病预防控制中心				199.00	5	1.46
5	XXX				196.28	5	15.41
检验单元方差	S_{\max}^2 实验室编号 2	柯克伦检验值 (C)	0.5441	柯克伦检验临界值	0.303	判定	正常
检验单元平均值	格拉布斯检验值(G)		1.715	格拉布斯临界值	1.011	判定	正常
比对试验的统计结果	参加的实验室数目, p				5		
	可接受的数目				5		
	平均值, $m=T_1/T_3$				198.296		
	$S_r^2 = \frac{T_5}{T_3 - p}$ 重复性标准偏差				1.486		
	$S_L^2 = \left[\frac{T_2 T_3 - T_1^2}{T_3(p-1)} - S_r^2 \right] \times \left[\frac{T_3(p-1)}{T_3^2 - T_4} \right]$				2.2097		
	$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2$				3.696		
	重复性, $r = 2.8 \sqrt{S_r^2}$				3.414		
再现性, $R = 2.8 \sqrt{S_R^2}$				5.383			

表84 生鲜牛初乳中IgG实验室间方法重复性和再现性评价汇总表 (mg/mL)

基质名称	添加浓度	重复性限r	再现性限R
生鲜牛初乳	1	0.27	0.27
	3	0.73	0.75
	5	0.51	0.52
	12	1.43	1.6
	24	1.89	2.28

表85 牛初乳粉中IgG实验室间方法重复性和再现性评价汇总表 (mg/g)

基质名称	添加浓度	重复性限r	再现性限R
牛初乳粉	1	0.56	0.57
	3	0.89	0.93
	5	0.98	1.04
	100	3.62	5.93
	200	6.95	18.60

表86 牛初乳棒中IgG实验室间方法重复性和再现性评价汇总表 (mg/g)

基质名称	添加浓度	重复性限r	再现性限R
牛初乳棒	1	0.39	0.39
	3	0.86	0.90
	5	1.22	1.33
	100	3.72	6.19
	200	5.14	10.75

表87 牛初乳胶囊中IgG实验室间方法重复性和再现性评价汇总表 (mg/g)

基质名称	添加浓度	重复性限r	再现性限R
牛初乳胶囊	1	0.28	0.28
	3	0.76	0.79
	5	0.83	0.87
	100	3.22	4.92
	200	6.07	14.48

表88 牛初乳奶贝中IgG实验室间方法重复性和再现性评价汇总表 (mg/g)

基质名称	添加浓度	重复性限r	再现性限R
牛初乳奶贝	1	0.38	0.39
	3	0.83	0.87
	5	1.23	1.34
	100	3.66	6.01
	200	3.41	5.38

(二)、技术经济论证、预期的经济效益、社会效益和生态效益

1. 技术经济论证

牛初乳作为高附加值营养食品，其核心功能性成分免疫球蛋白IgG的含量是评价产品质量和真实性的关键指标。目前，我国仅出台专门针对牛初乳及其制品中免疫球蛋白IgG检测的分光光度法行业标准，缺乏高效液相色谱法标准。各生产企业和检测机构多依据科研文献或内部方法进行的操作，在样品前处理、富集净化和定量手段上存在差异。这导致不同实验室间的检测结果缺乏一致性和可比性，既不利

于生产企业规范质量控制，也影响市场监管的有效性和公信力，已成为制约行业标准化和高质量发展的技术瓶颈。

因此，亟需建立一套统一、准确、实用的高效液相色谱检测方法标准，以规范牛初乳中免疫球蛋白IgG的测定，为产品质量监督、市场规范和企业生产提供可靠技术依据。

本方法采用磷酸盐缓冲溶液提取试样中的免疫球蛋白IgG，利用Protein G亲和柱进行特异性富集与净化，有效去除基质干扰，最后通过高效液相色谱仪进行测定，并采用外标法定量。该方法前处理步骤针对性强，净化效果好，能显著提升检测的准确度和特异性。在技术路线上，选用高效液相色谱仪作为检测设备，该仪器在我国各级检测机构中普及率高，性能稳定，易于操作和维护。

在经济性与推广性方面，该方法所使用的试剂和耗材成本可控，前处理过程无需特殊或昂贵设备，整体运行成本较低，适合常规检测实验室开展。基于其技术成熟度、操作可行性和经济适用性，本标准方法易于在不同层次的检测机构中推广应用，能够有效提升行业整体检测水平，减少因方法不统一导致的数据偏差和经济损失，对保障牛初乳产品质量安全、促进产业健康发展具有重要的技术支撑作用和广阔的应用前景。

2. 预期的经济效益、社会效益和生态效益

在经济效益方面，制定统一、规范的牛初乳中免疫球蛋白IgG检测方法标准，将直接服务于生产企业、检测机构及市场监管部门。该方法通过标准化的前处理与检测流程，可显著提高检测结果的准确性与可比性，减少因方法不一、数据不可靠导致的重复检测和争议复检，从而节约大量实验耗材、试剂及人力资源成本。对企业而言，稳定的质量控制有助于降低产品批次波动风险，提升产品合格率与市场信誉，

增强消费者信任，从而创造更稳定的经济效益。长期高质量的数据积累，也将为行业生产工艺优化和成本控制提供科学依据，推动产业提质增效。

在社会效益方面，本标准的实施将为牛初乳及相关制品中免疫球蛋白IgG的检测提供权威、统一的技术依据，有力支撑市场监管部门开展产品质量监督与执法工作，打击以次充好、虚假标注等违法违规行为，保障消费者知情权与健康权益。统一标准有助于提升全行业产品质量水平，增强公众对国产牛初乳产品的消费信心，促进健康食品行业规范发展。此外，该方法也可为营养学研究、功能性食品开发及相关标准体系的完善提供可靠的数据基础，社会效益显著。

在生态效益方面，本标准从更广义的生态视角看，推动食品检测标准化与质量提升，也是践行可持续农业和负责任食品供应链的重要一环，有利于促进农牧业与食品工业的绿色、高质量发展。

四、与国际、国外同类标准技术内容的对比情况，或者与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况

1. 国外同类标准

通过检索查到日本、韩国、越南、AOAC等同类型标准，其中3个现行，1个作废标准，韩国、越南未收集到标准文本原文，仅AOAC找到标准文本。

- 1) 日本JIS K0604-2000蛋白质.单株IgG.定量分析方法（Proteins -- Monoclonal IgG -- Methods for quantitative analysis）（作废）
- 2) 韩国KS J 4203-2023 单克隆免疫球蛋白的定量分析方法（Methods for quantitative analysis of monoclonal IgG）
- 3) 越南TCVN 11913-2017食品. 测定牛初乳，奶粉和膳食补充剂中的免疫球蛋白G. 液相色谱法测定蛋白G亲和性（Foodstuffs.

Determination of immunoglobulin G in bovine colostrum, milk powders, and in dietary supplements - Protein G affinity liquid chromatographic method))

4) AOAC国际官方分析方法。2010.01：用蛋白G亲和液相色谱法分析牛初乳、奶粉和牛源膳食补充剂中的牛免疫球蛋白G（AOAC International Official Methods of Analysis. 2010.01:Bovine Immunoglobulin G Analysis in Bovine Colostrum and Milk Powders, and Dietary Supplements of Bovine Origin by Protein G Affinity Liquid Chromatography）

AOAC官方方法适用于测定牛初乳、牛乳制品及牛源性膳食补充剂中天然（未变性、未聚集）的牛IgG，测定范围为1–100 mg/g。该方法基于Protein G亲和液相色谱技术，以固化Protein G为配体，在280 nm波长下进行紫外检测，为以IgG含量作为初乳标志物的贸易活动提供了可靠的分析手段。该方法具有成本效益高、操作简便、设备易得等优点，且通过去除酪蛋白，Protein G亲和柱具备良好的选择性。

相比之下，本标准在以下方面具有明显区别与改进：在前处理阶段引入Protein G亲和柱，进一步纯化目标蛋白，有助于减少基质干扰，提高方法特异性；采用体积排阻色谱（SEC）进行分离，可有效区分IgG单体与聚合物，更准确评估其天然状态；适用范围更聚焦于牛初乳及其制品，包括牛初乳粉、胶囊、营养棒及奶贝等形态；检出限能够满足生鲜牛初乳及高IgG含量固体初乳制品的检测需求，适用于产品质量控制与贸易检验。

2 国内同类标准

2.1 国内同类标准基本情况

我国现有涉及到农产品中免疫球蛋白IgG的测定方法标准共有2个国家标准、3个行业标准、2个团体标准，覆盖基质包括饲料、保健

食品、牛初乳及其制品、牛乳制品、乳及乳粉、生乳、巴氏杀菌乳，所用主要仪器包括高效液相色谱、分光光度计、酶标仪。

《保健食品中免疫球蛋白IgG的测定》（GB/T 5009.194—2003）中，仅适用于片剂、胶囊、粉剂类型保健食品中IgG的测定；《牛初乳及其制品中免疫球蛋白IgG的测定分光光度法》（NY/T 2070—2011）主要通过分光光度法检测牛初乳及其制品中免疫球蛋白IgG的含量；《出口牛乳制品中牛免疫球蛋白IgG的测定酶联免疫吸附法》（SN/T 3132—2012）通过酶联免疫吸附法测定出口牛乳制品中免疫球蛋白IgG的含量；《饲料中免疫球蛋白IgG的测定高效液相色谱法》（GB/T 21033-2007）是饲料中免疫球蛋白IgG的测定；《牛乳及其制品中免疫球蛋白IgG的测定 高效液相色谱法》（NY/T4629-2025）是针对牛乳及其制品中免疫球蛋白IgG的测定。

表28 现有IgG 国标、行标、团标测定方法标准比对

序号	标准	基质	仪器	检出限
1	GB/T 5009.194-2003保健食品中免疫球蛋白IgG的测定	保健食品	高效液相色谱	0.5 mg/mL
2	GB/T 21033-2007饲料中免疫球蛋白IgG的测定高效液相色谱法	饲料	高效液相色谱	5 mg/kg
3	NY/T 2070-2011牛初乳及其制品中免疫球蛋白IgG的测定分光光度法	牛初乳及其制品	分光光度计	定量限： 0.2 mg/mL
	本次修订增加“高效液相色谱法”	牛初乳及其制品	高效液相色谱	定量限： 液：1 mg/mL， 固：1 mg/g
4	SN/T 3132-2012出口牛乳制品中牛免疫球蛋白G的测定酶联免疫吸附法	牛乳制品	酶标仪	9.8 mg/g
5	T/SSFS0002-2021乳及乳制品中免疫球蛋白IgG的测定（高效液相色谱法）	乳及乳粉	高效液相色谱	定量限： 液:0.7 mg/100g 固:0.35 mg/100g
6	T/TDSTIA 003-2021奶及奶制品中免疫球蛋白IgG的测定高效液相色谱法	生乳、巴氏杀菌乳	高效液相色谱	定量限 80 mg/kg
7	NY/T4629-2025《牛乳及其制品中免疫球蛋白IgG的测定 高效液相色谱法》	生牛乳、巴氏杀菌牛乳、牛乳基婴幼儿配	高效液相色谱	定量限： 液：10 mg/kg 固：40 mg/kg

		方乳粉		
--	--	-----	--	--

2.2 本次修订标准与国内同类标准比对

(1) 适用范围

现行测定IgG含量方法标准，除了本次修订的NY/T 2070-2011适用于牛初乳及其制品，其它测定免疫球蛋白IgG的标准适用于饲料、保健食品、牛乳制品、乳及乳粉、生乳、巴氏杀菌乳。

(2) 分析测定

现行测定IgG含量方法标准，除了SN/T 3132-2012使用酶标仪，NY/T 2070-2011使用分光光度计外，其它四个方法标准均使用高效液相色谱，其中保健食品（GB/T 5009.194-2003）、饲料（GB/T 21033-2007）、牛乳（NY/T 4629-2025）方法标准是通过亲和色谱柱实现IgG测定，而T/SSFS0002-2021、T/TDSTIA 003-2021则是利用Protein G SPE柱实现IgG富集。本次修订增加的方法二“高效液相色谱法”是通过磷酸盐缓冲液和亲和色谱柱，使用凝胶渗透色谱柱，利用体积排阻实现IgG分离。

(3) 检出限/定量限

我国现有涉及到农产品中免疫球蛋白IgG的测定方法标准的检出限/定量限如上表所示，其中，本次修订增加的“高效液相色谱法”的方法定量限最高。因为牛初乳及其制品中免疫球蛋白IgG含量很高，并非痕量分析，本次修订增加的“方法二 高效液相色谱法”方法定量限：生鲜牛初乳为1 mg/mL，固态牛初乳制品为1 mg/g。即本次修订增加的“方法二高效液相色谱法”是为了满足牛初乳中高含量的免疫球蛋白IgG的测定，填补色谱技术空白。

综上所述，本文件方法适合测定牛初乳及其制品中免疫球蛋白IgG，样品前处理操作简便、对操作人员及设备要求不高，耗材成本较低，更适合实际生产及检测的要求。充分考虑标准的包容性、先进性、实用性和统一协调性，确保通过标准的实施，促进牛初乳制品企业生产，提高牛初乳制品质量安全水平，有利于保护消费者利益。

五、以国际标准为基础的起草情况，以及是否合规引用或者采用国际国外标准，并说明未采用国际标准的原因。

本标准在制定过程中未采用国际标准和国外标准。

六、与有关法律、行政法规及相关标准的关系

在标准的制订过程中严格贯彻国家有关方针、政策、法律和规章，严格执行强制性国家标准和行业标准。与相关的各种基础标准相衔接，遵循了政策性和协调同一性的原则。标准的名称、内容及指标与现行的国家标准之间不存在包含、重复、交叉问题。

本标准是修订NY/T 2070-2011《牛初乳及其制品中免疫球蛋白IgG的测定分光光度法》，在原NY/T 2070-2011基础上，增加“方法二 高效液相色谱法”，来完善牛初乳及其制品中免疫球蛋白IgG测定方法标准，为牛初乳及其制品质量安全监测工作提供技术支撑。本标准与《牛乳及其制品中免疫球蛋白IgG的测定 高效液相色谱法》

（NY/T4629-2025）、《饲料中免疫球蛋白IgG的测定 高效液相色谱法》（GB/T 21033-2007）相衔接。

七、重大分歧意见的处理经过和依据

本标准内容无重大分歧意见。

八、涉及专利的有关说明

经查，本文件不涉及相关专利。

九、实施行业标准的要求，以及组织措施、技术措施、过渡期和实施日期的建议等措施建议

组织措施：本标准由中华人民共和国农业农村部畜牧兽医局提出，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：XXX等。

技术措施：本标准实施推荐性行业标准，个别技术要求需要调整、补充或者删减，可以通过修改单进行修改。修改单由全国畜牧业标准化技术委员会按程序批准后以公告形式发布。

过渡期和实施日期的建议：本标准的发布与实施日期建议为 6 个月。

十、其他应予说明的事项

本文件无其他应予说明的事项。

参考文献:

[1] 牛初乳的研究进展, 陈志伟、马燕芬、侯先志, 甘肃畜牧兽医, 2005 (6): 43-46.

[2] 牛乳中的免疫球蛋白与健康的研究, 裴晓言, 顾名夏, 黄鹤等, 现代生物医学进展, 2007, 7 (3): 418-421.

[3] Effect of colostrum intake on diarrhoea incidence in new-born calves. Gutzwiller A. Schweiz Arch Tierheilkd, 2002, 144 (2): 59-64.

[4] Effect of Colostrum on the Phagocytic Activity of Bovine Polymorphonuclear Leukocytes in vitro. Sugisawa H, Itou T, Sakai T. Promoting Biol Neonate, 2001, 79 (2): 140-144.

[5] 程金波. 不同热处理方式对牛奶中IgG和乳铁蛋白的影响. 华北农学报, 2010, 25: 170-174.

[6] D. E. J. Copestake, H. E. Indyk, D. E. Otter, et al. Affinity Liquid Chromatography Method for the Quantification of Immunoglobulin G in Bovine Colostrum Powders. J. AOAC. Int., 2006, 89: 1249-1256.

[7] G. Abernethy, D. Otter, et. al. Determination of Immunoglobulin G in Bovine Colostrum and Milk Powders, and in Dietary Supplements of Bovine Origin by Protein G Affinity Liquid Chromatography: Collaborative Study. J. AOAC. Int., 2010, 93 (2): 622-627.

[8] P. T. Holland, A. Cargill, A. I. Selwood, et al. Determination of Soluble Immunoglobulin G in Bovine Colostrum Products by Protein G Affinity Chromatography-Turbidity Correction and Method Validation. J. Agric. Food Chem., 2011, 59: 5248-5256.

[9] 乳制品中主要蛋白的色谱及高分辨质谱检测方法研究[D]. 姜敏. 陕西师范大学, 2017.

[10] 牛初乳免疫球蛋白IgG的免疫学测定方法研究[D]. 刘金. 沈阳农业大学, 2016.

[11] 高效液相色谱法测定婴幼儿乳制品中免疫球蛋白IgG的含量[D]. 高旭. 齐齐哈尔大学, 2013.

附件

预审会议审查意见汇总处理表

标准名称：《牛初乳及其制品中免疫球蛋白IgG的测定》共 7 页

标准项目承担单位：XXX 2026年01月05日填写

序号	标准章条编号	意见内容	提出单位	处理意见	备注
1	前言	<p>按照修订标准要求规范。</p> <p>内容修改为：“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。</p> <p>本文件代替NY/T 2070-2011《牛初乳及其制品中免疫球蛋白IgG的测定 分光光度法》，与NY/T 2070-2011相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：</p> <p>a) 更改了检出限，增加了定量限（见第1章，2011年版的第1章）；</p> <p>b) 增加了对标准品选择的要求（见4.2.6，2011年版的4.3）；</p> <p>c) 增加了样品（见4.4）；</p> <p>d) 更改了试验步骤（见4.5，2011年版的第6章）；</p> <p>e) 更改了计算公式（见4.6，2011年版的第7章）；</p> <p>f) 更改了精密度（见4.7，2011年版的第8章）；</p> <p>g) 增加了高效液相色谱法（见第5章）。”</p>	专家组	采纳	
2	1 范围	<p>增加分光光度法和高效液相色谱法的检出限和定量限。</p> <p>内容修改为：“本文件描述了牛初乳及其制品中免疫球蛋白IgG测定的分光光度法和高效液相色谱法。</p> <p>本文件适用于牛初乳及其制品（乳粉、胶囊、奶贝、奶棒）中免疫球蛋白IgG含量的测定。</p> <p>本文件分光光度法的定量限：液</p>	专家组	采纳	

		态样品为0.2 mg/mL，固态样品为0.2 mg/g；高效液相色谱法的检出限：液态样品为0.3 mg/mL、固态样品为0.2 mg/g，定量限：液态样品为1.0 mg/mL、固态样品为1.0 mg/g。”			
3	4	优化分光光度法的原理 内容修改为“4.1 原理 试样中可溶性抗原IgG与抗体形成的可溶性免疫复合物在聚乙二醇的作用下析出，形成微粒，试液浊度发生变化，试液浊度与所含IgG抗原量成正比，在340 nm测定免疫球蛋白IgG含量。”	专家组	采纳	
4	第一法 分光光度法	“第一法 分光光度法”改为“4 分光光度法”	专家组	采纳	
5	4-10	“4-10”修改序号为“4.1-4.7”	专家组	采纳	
6	5.1	修改磷酸盐缓冲液的保存条件 内容修改为：“4.2.2 磷酸盐缓冲液(0.01 mol/L, pH 7.4)：称取0.27 g磷酸二氢钾(KH ₂ PO ₄)，2.86 g磷酸氢二钠(Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O)，0.20 g氯化钾(KCl)，8.80 g氯化钠(NaCl)，水溶解后调pH至7.4 ± 0.1，用水定容至1000 mL，置2℃~8℃保存。”	专家组	采纳	
7	5.1-5.6	规范4.1-4.6的写法，修改抗IgG抗体与IgG标准溶液的顺序与编号，增加IgG标准溶液的纯度等描述 内容修改为：“4.2.6 IgG标准储备溶液(1.0 mg/mL)：称取0.010 g(精确到0.01 mg) IgG标准品(纯度不低于95%，或有国家认证并授予标准物质证书的标准物质)，用磷酸盐缓冲液(4.2.2)溶解并定容至10 mL，摇匀，临用现配。”	专家组	采纳	
8	6	“6 仪器与设备”改为“4.3 仪器设备”，“感量”改为“精度”，增加技术指标要求， 内容修改为：“4.3 仪器设备 4.3.1 紫外分光光度计：340 nm ± 2 nm，配有微量比色皿。”	专家组	采纳	

		<p>4.3.2 分析天平，精度为 0.1 mg 和 0.01 mg。</p> <p>4.3.3 冷冻离心机：不超过 5℃。</p> <p>4.3.4 恒温水浴锅。</p> <p>4.3.5 微量移液器。</p> <p>4.3.6 反应管：0.5 mL。”</p>			
9	样品	<p>增加“样品”一条。具体内容如下： “4.4 样品 4.4.1 液态样品 取有代表性的样品约20 mL，混匀，装入洁净容器，2℃~8℃下密闭保存。 4.4.2 固态样品 取有代表性的样品约20 g，粉碎研磨（胶囊去皮），混匀，装入洁净容器，常温密封保存。”</p>	专家组	采纳	
10	7	<p>“7 分析步骤”改为“4.5 试验步骤”。增加“4.5.1 提取” 内容修改为：“4.5 试验步骤 4.5.1 提取 4.5.1.1 液态样品 平行做两份试验。准确移取2 mL 试样于5 mL离心管中，在1℃~5℃、5 000 r/min条件下离心30 min。弃去上层脂肪，准确移取下层溶液1 mL，用4%聚乙二醇缓冲液(4.2.3)稀释并定容至100 mL~200 mL，混匀，备用。 4.5.1.2 固态样品 平行做两份试验。准确称取0.2 g 试样，精确至 0.001 g，准确加2 mL 水，混匀，在1℃~5℃、5 000 r/min 条件下离心30 min。弃去上层脂肪，准确移取下层溶液1 mL，用4%聚乙二醇缓冲液(4.2.3)稀释并定容至50 mL~100 mL，混匀，备用。”</p>	专家组	采纳	
11	7.2.1	<p>“7.2.1 标准曲线的绘制”修改为“4.5.2.1 标准曲线的绘制”，增加相关系数描述。 内容修改为：“4.5.2.1 标准曲线的绘制 分别取系列标准溶液(4.2.7)各 10 μL加入7个反应管中，涡旋混匀，置于37℃水浴中反应 40 min。以4%</p>	专家组	采纳	

		聚乙二醇缓冲液(4.2.2)调零,于340 nm波长下测定吸光度。以标准溶液浓度为横坐标,吸光值为纵坐标,绘制标准曲线,相关系数不低于0.99。”			
12	7.3	删除“6.3 空白实验”	专家组	采纳	
13	8	<p>“8 结果计算”修改为“4.6 试验数据处理”,分别给出固态样品和液态样品的计算公式 内容修改为:“4.6 试验数据处理 4.6.1 液态样品 试样中 IgG 的含量以质量分数 ω 计,单位为毫克每毫升(mg/mL)表示,按式(1)计算:</p> $\omega = \frac{\rho \times V_1}{V_2} \dots\dots\dots$ <p style="text-align: right;">\dots\dots\dots (1)</p> <p>式中: ρ——从标准曲线查得的试样溶液中免疫球蛋白 IgG 的质量浓度的数值,单位为毫克每毫升(mg/mL); V_1——试样稀释后的体积,单位为毫升(mL); V_2——试样离心后的取样体积,单位为毫升(mL); 计算结果保留两位有效数字。 4.6.2 固态样品 试样中 IgG 的含量以质量分数 ω 计,单位为毫克每克(mg/g)表示,按式(2)计算:</p> $\omega = \frac{\rho \times V_1 \times V_2}{m \times V_3} \dots\dots\dots$ <p style="text-align: right;">\dots\dots\dots (2)</p> <p>式中: ρ——从标准曲线查得的试样溶液中免疫球蛋白 IgG 的质量浓度的数值,单位为毫克每毫升(mg/mL); V_1——试样稀释后的体积,单位为毫升(mL); V_2——试样离心前的体积,单位为毫升(mL); m——试样的质量,单位为克(g);</p>	专家组	采纳	

		<p>V_3——试样离心后的取样体积，单位为毫升(mL)；</p> <p>测定结果用平行测定的算术平均值表示，保留两位有效数字。”</p>			
14	9	内容修改为“在重复性条件下，两次独立测定结果与其算术平均值的绝对差值不大于其算术平均值的20%。”	专家组	采纳	
15	第二法 高效液 相色谱 法	“第二法 高效液相色谱法”改为“5 高效液相色谱法”	专家组	采纳	
16	11-18	“11-18”修改序号为“5.1-5.7”	专家组	采纳	
17	12	规范“5.2 试剂或材料”写法，具体内容同4.2	专家组	采纳	
18		增加微孔滤膜的相关试验 内容修改为：已完成不同类型水系滤膜的使用试验，相关试验数据补充在编制说明中	专家组	采纳	
19	14	修改固态样品的描述 内容修改为：“5.4.2 固态样品 取有代表性的样品约20 g，粉碎研磨（胶囊去皮），混匀，装入洁净容器，常温密封保存。”	专家组	采纳	
20	16	规范“5.6 试验数据处理”中字母顺序及内容表述 内容修改为：“ ρ —从标准曲线查得的试样溶液中IgG的质量浓度的数值，单位为毫克每毫升(mg/mL)； V_4 —试样洗脱后定容的体积，单位为毫升(mL)”	专家组	采纳	
21	附录 A	优化给出的免疫球蛋白IgG标准溶液色谱图	专家组	采纳	

22	标准文本	<p>(1) 章节调整：“方法一 分光光度法”作为第4章；“方法二 液相色谱法”作为第5章。</p> <p>(2) 标准文本按照修订标准的要求进一步完善。</p> <p>(3) 按照GB/T 1.1和GB/T 20001.4的要求进一步规范标准文本</p>	专家组	采纳	
23	编制说明	<p>(1) 补充分光光度法定量限的相关内容；</p> <p>(2) 补充牛初乳实际样品测定结果；</p> <p>(3) 完善干扰试验内容。</p>	专家组	采纳	

注:提出单位为专家组。

