

ICS 67.040
B 33
备案号: 45164-2015

DB46

海南省地方标准

DB 46/T 313—2015

椰子粗蛋白和粗脂肪含量测定

The content determination standard of crude protein and
crude fat of coconut

2015 - 02 - 06 发布

2015 - 03 - 01 实施

海南省质量技术监督局 发布

目 次

前言.....	III
1 范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语和定义.....	1
3.1.....	1
3.2.....	1
4 取样方法.....	1
4.1 取样要求.....	1
4.2 取样方法.....	2
5 粗蛋白含量测定.....	2
5.1 原理.....	2
5.2 试剂.....	2
5.3 仪器、器皿.....	2
5.4 试样制备.....	3
5.5 测定方法.....	3
5.6 质量控制.....	4
5.7 结果计算.....	4
5.8 重复性.....	5
6 粗脂肪含量测定.....	5
6.1 索氏抽提法.....	5
6.2 残余法.....	8

前 言

本标准依据GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

本标准由海南省林业厅提出并归口。

本标准负责起草单位：中国热带农业科学院椰子研究所。

本标准主要起草人：刘蕊 范海阔 赵松林 王萍

椰子粗蛋白和粗脂肪含量测定

1 范围

本标准规定了椰子果实中椰肉与椰水的取样方法、粗蛋白含量测定和粗脂肪含量测定方法。

本标准适用于各种椰子品种嫩果及成熟种果中粗蛋白、粗脂肪含量的测定。

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，仅所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。

GBT 5512-2008 粮油检验 粮食中粗脂肪含量测定

GBT 14489.2-2008 粮油检验 植物油料粗蛋白质的测定

GB 50095-2010 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定

NY/T 353 椰子 种果和种苗

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

椰肉

指椰子果实中的固体胚乳，存在于椰子果实种壳和种皮内部，不易与种皮分开。

3.2

椰水

指椰子果实中的液体胚乳，存在于椰子果实种壳和种皮内部，一般被固体胚乳包围。

4 取样方法

4.1 取样要求

嫩果采样需选择健康的椰子树，采集8-9个月果穗，取果穗中部3个果实作为分析样果，果实要健康无病虫害。成熟种果采样需参照NY/T 353，采集完全成熟的果穗，取果穗中部3个果实，作为分析样果，果实要健康无病虫害。

4.2 取样方法

椰肉取样：各取3个果实中部椰肉（去掉种皮）20 g~60 g，装入自封袋中备用。全部样品于-20℃低温下保存。椰水取样：各取3个果实的椰水30 mL~50 mL混合均匀，装入试剂瓶中备用。

5 粗蛋白含量测定

5.1 原理

在催化剂存在下，用硫酸消化试样中的有机物，使含氮物转化成硫酸铵。再加入强碱并蒸馏使氨逸出，用硼酸吸收氨，用标准酸滴定计算含氮量，乘以蛋白质换算系数计算出粗蛋白含量。

5.2 试剂

所有试剂应为无氮化合物、分析纯，所用的水应为蒸馏水。

硫酸：18 mol/L。

混合催化剂：0.4 g硫酸铜（ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ），6 g硫酸钾或硫酸钠，磨碎混匀。

氢氧化钠溶液： $c(\text{NaOH}) = 400 \text{ g/L}$ ，400 g氢氧化钠加水溶解并定容至1000 mL。

硼酸溶液： $c(\text{H}_3\text{BO}_3) = 20 \text{ g/L}$ ，20 g硼酸加水溶解并定容至1000 mL。

混合指示剂：1份1 g/L甲基红乙醇（95%）溶液与5份1 g/L溴甲酚绿乙醇（95%）溶液均匀混合。

盐酸标准溶液： $c(\text{HCl}) = 0.1 \text{ mol/L}$ 。

蔗糖。

硫酸铵：干燥。

甲基红指示剂：0.1 g甲基红溶于100 mL乙醇（95%）。

5.3 仪器、器皿

分析天平：分度值0.0001 g。

粉碎机：易清理，在粉碎过程中不会使物料受热，对试样的水分、挥发物及油含量没有影响。

消化炉或电炉。

凯氏蒸馏装置：常量直接蒸馏式或半微量水蒸气蒸馏式。

定氮仪：基于凯氏定氮原理的各类型半自动、全自动蛋白质测定仪。

凯氏烧瓶：250 mL。

收集瓶：150 mL、250 mL。

消化管：250 mL。

容量瓶：100 mL。

移液管：20 mL。

量筒：100 mL。

滴定管：酸式。

5.4 试样制备

椰水试样用移液管量取混合椰水试样 20 mL（含氮量 3 mg~7.5 mg）。椰肉试样采用机械粉碎，称取 1 g（含氮量 4 mg~8 mg），准确至 0.0001 g。

5.5 测定方法

5.5.1 人工法

5.5.1.1 试样消化

将制备好的试样无损失地放入凯氏烧瓶中，加入 6.4 g 混合催化剂与试样混合均匀，再加入 12 mL 硫酸和 2 粒玻璃珠，充分混匀，保证试样完全与硫酸混匀或完全被硫酸浸湿。将上述烧瓶置于通风橱内的电炉上 200℃ 条件下加热。不时旋摇，碳化至泡沫消失，然后 420℃ 至消化液呈透明的蓝绿色，再继续加热 1 h~2 h。

5.5.1.2 蒸馏

将消化液（5.5.1.1）冷却，加入 20 mL 蒸馏水，转入 100 mL 容量瓶中，冷却后用水稀释至刻度线，摇匀，作为试样分解液。将半微量蒸馏装置的冷凝管末端浸入装有 20 mL 硼酸溶液的吸收液和 2 滴混合指示剂的收集瓶内，蒸汽发生器的水中应加有甲基红指示剂数滴，硫酸数滴，在蒸馏过程中保持此液为橙红色，否则需补加硫酸。准确移取试样分解液 10 mL~20 mL 注入蒸馏装置的反应室中，用少量蒸馏水冲洗进样入口，塞好入口玻璃塞，再加入 10 mL 氢氧化钠溶液，小心提起玻璃塞使之流入反应室，将玻璃塞塞好，且在入口处加水密封，防止漏气。蒸馏 4 min 降下收集瓶使冷凝管末端离开吸收液面，再蒸馏 1 min，用蒸馏水冲洗冷凝管末端，洗液均流入收集瓶内，然后停止蒸馏。

5.5.1.3 滴定

用5.5.1.2法蒸馏后的吸收液立即用盐酸标准溶液滴定，以溶液由蓝绿色变成粉红色为终点。

5.5.2 全自动法

5.5.2.1 试样的消煮

将制备的试样放入消化管中，加2片消化片或6.4 g混合催化剂，12 mL硫酸，于420℃下的消煮炉上消化至消化液呈透明的蓝绿色，然后继续加热，至少0.5 h~1 h，取出冷却后加入30 mL蒸馏水。

5.5.2.2 蒸馏

采用全自动定氮仪时，按仪器本身常量程序进行测定。

5.5.2.3 滴定

5.5.2.4 用盐酸标准溶液滴定吸收液，以溶液由蓝绿色变成粉红色为终点。

5.6 质量控制

准确称取0.2000 g硫酸铵，代替试样，按5.5.1.2、5.5.1.3和5.5.2.2、5.5.2.3进行操作，测得的硫酸铵含氮量应为21.19%±0.2%，否则应检查加碱、蒸馏和滴定各步骤是否正确。

称取约0.5 g蔗糖代替试样，人工法按5.5.1操作步骤进行空白测定，全自动法按5.5.2操作步骤进行空白测定。消耗盐酸标准溶液的体积不得超过0.2 mL。

5.7 结果计算

5.7.1 椰水中粗蛋白含量

椰水粗蛋白含量（以质量体积分数计）按式（1）计算。

$$X = \frac{(V_1 - V_0) \times c \times 0.0140 \times f}{v \times \frac{V'}{V}} \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X —— 粗蛋白的含量（以质量体积分数计），%；

V_1 —— 滴定试样时所需标准酸溶液体积，单位为毫升（mL）；

V_0 —— 滴定空白时所需标准酸溶液体积，单位为毫升（mL）；

c —— 所用盐酸标准溶液浓度，单位为摩尔每升（mol/L）；

v —— 试样体积，单位为毫升（mL）；

V —— 试样分解液总体积，单位为毫升（mL）；

V' —— 试样分解液蒸馏用体积，单位为毫升（mL）；

0.0140 —— 与盐酸标准溶液相当的、以克表示的氮的质量 (g) ;

f —— 氮换算成蛋白质的平均系数, 这里取6.25。

5.7.2 椰肉中粗蛋白含量

椰肉粗蛋白含量 (以质量分数计) 按式 (2) 计算。

$$X = \frac{(V_1 - V_0) \times c \times 0.0140 \times f}{m \times \frac{V'}{V}} \times 100 \dots\dots\dots (2)$$

式中:

X —— 粗蛋白的含量 (以质量分数计), %;

V_1 —— 滴定试样时所需标准酸溶液体积, 单位为毫升 (mL) ;

V_0 —— 滴定空白时所需标准酸溶液体积, 单位为毫升 (mL) ;

c —— 所用盐酸标准溶液浓度, 单位为摩尔每升 (mol/L) ;

m —— 试样质量, 单位为克 (g) ;

V —— 试样分解液总体积, 单位为毫升 (mL) ;

V' —— 试样分解液蒸馏用体积, 单位为毫升 (mL) ;

0.0140 —— 与盐酸标准溶液相当的、以克表示的氮的质量 (g) ;

f —— 氮换算成蛋白质的平均系数, 这里取6.25。

5.8 重复性

在重复性条件下获得的两次独立测定结果允许相对偏差为3%。

相对偏差 = [(单次测定值 - 平均值) / 平均值] × 100%

6 粗脂肪含量测定

6.1 索氏抽提法

6.1.1 原理

将粉碎、分散且干燥的试样用有机溶剂回流提取, 使试样中的脂肪被溶剂抽提出来, 回收溶剂后所得到的残留物, 即为粗脂肪。

6.1.2 试剂

无水乙醚: 分析纯。

注 1: 不能用石油醚代替乙醚, 因为它不能溶解全部的植物脂类物质。

6.1.3 仪器和用具

分析天平: 分度值0.0001g。

鼓风干燥箱: 50℃~200℃。

电热恒温水浴锅: 37℃~100℃。

备有变色硅胶的干燥器。

索氏提取器: 各部件应洗净, 在105℃温度下烘干, 其中接收瓶烘至恒重。

粉碎机、刨丝器。

移液管: 50 mL。

蒸发皿、一端扁平的玻璃棒。

滤纸筒(无脂)。

脱脂线、脱脂细沙、脱脂棉。

6.1.4 试样制备

6.1.4.1 椰水试样

用移液管量取椰水20 mL~30 mL, 置于蒸发皿中, 加入约20 g脱脂细沙, 于沸水浴上蒸发水分, 用一端扁平的玻璃棒不断搅拌, 直至松散状; 在100℃±5℃干燥, 全部移入滤纸筒内。蒸发皿及附有试样的玻璃棒, 均用沾有乙醚的脱脂棉擦净, 并将棉花放入滤纸筒内, 并用脱脂线捆好。

6.1.4.2 椰肉试样

将椰肉用刨丝器刨成细条状, 称取20.0000 g~40.0000 g, 于70℃±5℃干燥至恒重后, 用粉碎机粉碎至适当粒度。称取1.0000 g~2.0000 g, 全部移入滤纸筒内, 最后再用脱脂棉塞入上部, 压住试样, 用脱脂线捆好。

6.1.5 操作步骤

6.1.5.1 抽提

将滤纸筒放入索氏提取器的抽提筒内, 连接已干燥至恒重的接收瓶, 由抽提器冷凝管上端加入无水乙醚至虹吸管高度以上。提取液流净后, 再加提取液至虹吸管高度的三分之一处, 连接回流冷凝管。将接收瓶放在水浴锅上加热, 使乙醚不断回流提取(6次/h~8次/h), 一般抽提8 h~12 h。提取结束时, 用磨砂玻璃接取一滴提取液, 磨砂玻璃上无油斑表明提取完毕。

6.1.5.2 称量

取下接收瓶，回收乙醚，待接收瓶内乙醚剩1 mL~2 mL时在水浴上蒸干，用脱脂滤纸擦净接收瓶外部，于100℃±5℃电热恒温箱中干燥2 h，放干燥器内冷却至室温后称量。重复以上操作直至两次称量差不超过0.0020g。

6.1.6 结果计算

6.1.6.1 椰水中粗脂肪的含量

椰水中粗脂肪的含量（以质量体积分数计）按式（3）计算。

$$X = \frac{m_1 - m_0}{V} \times 100 \dots\dots\dots (3)$$

式中：

X —— 试样中粗脂肪的含量，单位为克每百毫升（g/100 mL）；

m_1 —— 接收瓶和粗脂肪的质量，单位为克（g）；

m_0 —— 接收瓶的质量，单位为克（g）；

V —— 试样的体积，单位为毫升（ml）。计算结果表示到小数点后一位。

6.1.6.2 椰肉中粗脂肪的含量

椰肉中粗脂肪的含量（以质量分数计）按式（4）计算。

$$X = \frac{m_1 - m_0}{m_2} \times 100 \dots\dots\dots (4)$$

式中：

X —— 试样中粗脂肪的含量，单位为克每百克（g/100g）；

m_1 —— 接收瓶和粗脂肪的质量，单位为克（g）；

m_0 —— 接收瓶的质量，单位为克（g）；

m_2 —— 试样的质量（烘干水分前的质量），单位为克（g）。计算结果表示到小数点后一位。

6.1.7 重复性

在重复性条件下获得的两次独立测定结果允许相对偏差为3%。

相对偏差=[（单次测定值—平均值）/平均值]×100%

6.2 残余法

6.2.1 原理

将一定质量的粉碎、分散且干燥的试样放入抽提器中，用能与脂肪溶混的有机溶剂除去脂肪，称量残渣质量，则样品质量与残渣质量之差即为粗脂肪的含量。

6.2.2 试剂

无水乙醚：分析纯。

6.2.3 仪器和用具

分析天平：精确度0.0001 g。

粉碎机。

鼓风干燥箱箱：50℃~200℃。

电热恒温水浴锅：37℃~100℃。

YG-2型脂肪抽提器。

刨丝器。

培养皿：直径11 cm~13 cm。

干燥器：直径15 cm~18 cm，备有变色硅胶。

称量瓶：直径3.5×7 cm

滤纸，中速，无脂。

6.2.4 试样制备

6.2.4.1 滤纸包准备

将滤纸切成7×7 cm大小，并叠成一边不封口的纸包，用铅笔编上序号，顺序排列在培养皿中，每皿不得多于20包。将培养皿连同滤纸包移入105±2℃电热恒温箱中干燥2 h。取出放入干燥器中冷却至室温(大约45 min~60 min)，分别将各包放入同一个称量瓶中称重(a)。

注2：称样时的室内相对湿度不宜高于70%。

6.2.4.2 试样处理

将椰肉用刨丝器刨成细条状，称取20.0000 g~40.0000 g，于70℃±5℃干燥72 h，取出后置于干燥器中冷却至室温。同等条件下再烘干3 h，冷却后称量，两次的称量结果之差不应超过0.0200 g。

如超过，需重新烘干，冷却后称量，直到两次的称量结果之差在 0.0200 g 之内。用粉碎机粉碎至适当粒度。称取 1.0000 g~2.0000 g，全部移入纸包中，封上包口，并按原序号排列在培养皿中，放入 105±2℃烘箱中，干燥 3 h，然后放入干燥器中冷却至室温。分别将各包在原称量瓶中称重(b)。这次称重与第一次称重之差即为样重。

6.2.5 操作步骤

6.2.5.1 抽提

在 YG-2 型脂肪抽提器抽提筒底部的溶剂回收嘴上装一短优质橡皮管，夹上弹簧夹。将样包装入抽提筒中，倒入无水乙醚，使之刚好超过样包高度，连接好抽提器的各部分，浸泡一夜。将浸泡后的无水乙醚放入抽提瓶，在抽提瓶中加入几粒玻璃球或浮石，然后，在抽提筒中重新倒入无水乙醚，使其完全浸泡样包，连接好抽提器的各部分，接通冷凝水流，在水浴锅中进行抽提，水浴温度为 70℃~80℃，使冷凝乙醚呈连珠状滴下（乙醚回流量为每分钟 20 ml 以上），抽提约 8 h。抽提时的室温以 12℃~30℃为宜。

6.2.5.2 称量

抽提完毕，取出样包，在通风橱挥发乙醚。将样包仍按原序号排列在培养皿中，放入 105±2℃烘箱中干燥 2 h，取出放入干燥器，冷却至室温，再将各包在原称量瓶中称重(c)，这次称重与第二次称重之差即为粗脂肪重。

6.2.6 结果计算

椰肉中粗脂肪酸的含量（以质量分数计）按式（5）计算。

$$\text{粗脂肪, \% (干基)} = (b - c) / (b - a) \times 100 \dots\dots\dots (5)$$

式中：

a—称量瓶加纸重，单位为克（g）；

b—称量瓶加纸重加烘干样重，单位为克（g）；

c—称量瓶加纸重加抽提后样重，单位为克（g）。

测定的结果用算术平均值表示，保留小数后两位。

注 3：若要计算新鲜样品的粗脂肪含量，则需在 5.2.4.2 步骤中计算样品失水量。

6.2.7 重复性

在重复性条件下获得的两次独立测定结果允许相对偏差为2.5%。

相对偏差=[(单次测定值-平均值)/平均值]×100%
