

ICS
CCS

T/HNSPXH

河南省食品科学技术学会团体标准

T/HNSPXH XXX—XXXX

植物蛋白肉中膳食纤维的测定

Determination of dietary fiber in plant-based protein meat

征求意见稿

XXXX—XX—XX 发布

XXXX—XX—XX 实施

河南省食品科学技术学会 发布

前 言

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

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由河南省食品科学技术学会提出并归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

植物蛋白肉中膳食纤维的测定

1 范围

本标准规定了植物蛋白肉中膳食纤维的测定方法。

本标准适用于植物蛋白肉中总膳食纤维、不溶性膳食纤维的测定。但其中不包括可溶性膳食纤维中不可被 78% 乙醇沉淀部分的膳食纤维部分。

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 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 5009.88 食品安全国家标准 食品中膳食纤维的测定
- GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件

3.1

植物蛋白肉 plant-based protein meat

以大豆、豌豆、小麦等植物蛋白为主要原料，添加或不添加其它辅料、食品添加剂，通过加工处理得到的具有类似动物肉蛋白质纤维结构的食品。

4 原理

植物蛋白肉经干燥、粉碎过筛后进行匀质化处理，采用酶解法去除淀粉和蛋白质后，得到不可消化的酶解液。

将酶解液用 78% 乙醇沉淀，收集沉淀部分经洗涤、干燥、称重后，测定残渣中膳食纤维（包括不溶性膳食纤维和可被 78% 乙醇沉淀的可溶性膳食纤维）质量，即为总膳食纤维的质量。其中不包括不可被 78% 乙醇沉淀的可溶性膳食纤维。将酶解液直接抽滤并用热水洗涤，收集滤渣部分经洗涤、干燥、称重后测定残渣质量，即为不溶性膳食纤维质量。

5 试剂和材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，所用水均为 GB/T 6682 规定的二级水。

5.1 试剂

5.1.1 95% 乙醇 (CH₃CH₂OH)。

5.1.2 丙酮 (CH₃COCH₃)。

5.1.3 石油醚：沸程 30 °C~60 °C。

5.1.4 氢氧化钠 (NaOH)。

5.1.5 重铬酸钾 (K₂Cr₂O₇)。

5.1.6 三羟甲基氨基甲烷 (C₄H₁₁NO₃, Tris)。

5.1.7 顺丁烯二酸 (C₄H₄O₄)

5.1.8 浓盐酸 (HCl)。

5.1.9 冰乙酸 (C₂H₄O₂)。

5.1.10 浓硫酸 (H₂SO₄)。

5.1.11 二水合氯化钙 (CaCl₂·2H₂O)

5.1.12 胰α-淀粉酶：CAS 9000-90-2, 40 U / mg ~ 60 U/mg, 于 -20 °C 冰箱储存。酶活性单位定义及酶活性判定标准应符合 GB 5009.88 的要求。

5.1.13 热稳定α-淀粉酶液：CAS 9000-85-5, ≥ 250 U/mg, 于 0 °C ~ 5 °C 冰箱储存。酶活性单位定义及酶活性判定标准应符合 GB 5009.88 的要求。

5.1.14 蛋白酶：CAS 9014-01-1, 7 U/mg ~ 15 U/mg, 于 2 °C ~ 8 °C 冰箱储存。酶活性单位定义及酶活性判定标准应符合 GB 5009.88 的要求。

5.1.15 淀粉葡萄糖苷酶液：CAS 9032-08-0, 30 U/mg ~ 60 U/mg, 于 2 °C ~ 8 °C 冰箱储存。酶活性单位定义及酶活性判定标准应符合 GB 5009.88 的要求。

5.1.16 硅藻土：CAS 68855-54-9。

5.2 试剂配制

5.2.1 乙醇溶液 (78%)：取 821 mL 95% 乙醇，用水稀释并定容至 1 L，混匀。

5.2.2 乙醇溶液 (85%)：取 895 mL 95% 乙醇，用水稀释并定容至 1 L，混匀。

- 5.2.3 盐酸溶液(1 mol/L): 量取 83 mL 浓盐酸, 缓慢加入 500 mL 水中, 混合均匀后加水稀释至 1 L。
- 5.2.4 盐酸溶液(2 mol/L): 量取 167 mL 浓盐酸, 缓慢加入 500 mL 水中, 混合均匀后加水稀释至 1 L。
- 5.2.5 氢氧化钠溶液(4 mol/L): 称取 16 g 氢氧化钠, 缓慢加入 60 mL 水, 溶解后加水稀释至 100 mL, 混匀。
- 5.2.6 氢氧化钠溶液(1 mol/L): 称取 4 g 氢氧化钠, 缓慢加入 60 mL 水, 溶解后加水稀释至 100 mL, 混匀。
- 5.2.7 氢氧化钠溶液(0.1 mol/L): 称取 0.4 g 氢氧化钠, 缓慢加入 60 mL 水, 溶解后加水稀释至 100 mL, 混匀。
- 5.2.8 顺丁烯二酸缓冲液(50 mmol/L): 称取 11.6 g 顺丁烯二酸溶于 1600 mL 水中, 用 4 mol/L 氢氧化钠溶液调整至 pH=6.0, 在加入 0.6 g 二水合氯化钙, 加水稀释至 2 L。在 4 °C 避光保存, 保存期不超过 1 个月。
- 5.2.9 三羟甲基氨基甲烷(Tris)溶液(0.75 mol/L): 称取 90.8 g Tris 固体溶于约 800 mL 水中, 加水稀释至 1 L。
- 5.2.10 乙酸溶液(2 mol/L): 量取 115 mL 冰乙酸, 加水稀释至 1 L。
- 5.2.11 5.2.11 混合酶溶液: 取 0.5 g 胰 α -淀粉酶与 0.05 g 淀粉葡萄糖苷酶, 用 50 ml 50 mmol/L 顺丁烯二酸缓冲液配成每毫升含 400 U 胰 α -淀粉酶和 30 U 淀粉葡萄糖苷酶, 涡旋振荡 5 min。临用现配。
- 5.2.12 蛋白酶溶液: 取 2.5 g 蛋白酶, 用 50 ml 50 mmol/L 顺丁烯二酸缓冲液配成每毫升含 50 mg 的蛋白酶溶液, 涡旋振荡 5 min。临用现配。使用前于 4 °C 储存。
- 5.2.13 重铬酸钾洗液: 称取 100 g 重铬酸钾, 用 200 mL 水溶解, 把烧杯放于冷水中冷却后, 缓慢加入 1800 mL 浓硫酸混合, 边加边用玻璃棒搅动, 防止溅出。

6 仪器和设备

6.1 分析天平: 量感 0.1 mg 和 1 mg。

6.2 膳食纤维测定装置

6.2.1 真空过滤装置: 真空泵或有调节装置的抽吸器。1 L 抽滤瓶, 侧壁有抽滤口, 带与抽滤瓶配套的橡胶塞, 用于酶解液抽滤。

6.2.2 恒温振荡水浴箱：带自动计时器，控温范围在室温 + 5 °C ~ 100 °C，温度波动 ± 1 °C。

6.2.3 高型无导流口烧杯：400 mL 或 600 mL。

6.2.4 坩埚：具有粗面烧结玻璃板，孔径 40 μm ~ 60 μm。清洗后的坩埚在马弗炉中于 550 °C ± 25 °C 灰化 6 h，炉温降至 130 °C 以下取出，于重铬酸钾洗液中室温浸泡 2 h，分别用自来水和水冲洗干净，最后用 15 mL 丙酮冲洗后风干。用前，加入约 1.0 g 硅藻土，在 130 °C ± 3 °C 烘至恒重；取出坩埚，在干燥器中冷却 1 h，称量记录坩埚质量(含硅藻土， m_G)。精确到 0.1 mg。

6.3 烘箱：40 °C ± 1 °C，105 °C ± 2 °C，130 °C ± 3 °C。

6.4 马弗炉：550 °C ± 25 °C。

6.5 旋转蒸发仪。

6.6 干燥器：二氧化硅或同等的干燥剂。

6.7 pH 计：具有温度补偿功能，精度 ± 0.1。用前用 pH 4.0、7.0 和 10.0 标准缓冲液校正。

6.8 粉碎机。

7 分析步骤

7.1 试样制备

取混匀后的适量样品 (m_C ，不少于 50 g) 置于 105 °C ± 2 °C 烘箱中干燥 4 h。将干燥后的试样转移至干燥器中，待试样温度降至室温后进行称量 (m_D)。根据干燥前后试样的质量，计算试样质量变化因子 (f)。将干燥后的试样反复粉碎至通过 0.3 mm ~ 0.5 mm 筛网。粉碎过筛后的干燥试样存放于干燥器中待用。

7.2 酶解

7.2.1 淀粉酶酶解：向高脚烧杯中加入 5 mL 胰 α -淀粉酶和淀粉葡萄糖苷酶混合酶溶液，缓慢搅拌，加盖铝箔，置于 37 °C 的恒温振荡水浴箱中持续振摇，当温度升至 37 °C 开始计时，酶解 16 h。打开铝箔盖，向试样溶液中加入 3.0 mL 0.75 mol/L Tris 溶液，使试样溶液 pH 至 8.2 ± 0.2。盖上铝箔，置于 95 °C ~ 100 °C 水浴箱中水浴加热约 20 min，不时轻摇烧杯。取出烧杯冷却至 60 °C ± 1 °C。

7.2.2 蛋白酶酶解：向每个烧杯加入 100 μL 蛋白酶溶液，盖上铝箔，置于 60 °C ± 1 °C 水浴中持续振摇 30 min。打开铝箔盖，边搅拌边加入 4 mL 2 mol/L 乙酸溶液，用 1 mol/L 氢氧化钠溶液或 1 mol/L 盐酸溶液调节试样液 pH 至 4.3 ± 0.2。

7.3 总膳食纤维含量的测定

7.3.1 沉淀

向试样酶解液中，加入 4 倍体积已预热至 $60\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的 95% 乙醇。取出烧杯，盖上铝箔，室温条件下沉淀 1 h ~ 2 h。

7.3.2 抽滤

取已处理的坩埚，用 15 mL 78% 乙醇润湿硅藻土并展平，接上真空抽滤装置，抽去乙醇使坩埚中的硅藻土平铺于滤板上。将试样乙醇沉淀液转移入坩埚中抽滤，用刮勺和 78% 乙醇将高脚烧杯中所有残渣转至坩埚中，用 15 mL 78% 乙醇洗涤残渣 2 次，收集残渣。

7.3.3 残渣测定

7.3.3.1 残渣质量：残渣分别用 15 mL 95% 乙醇沉淀洗涤 2 次，15 mL 丙酮洗涤 2 次，抽滤去除洗涤液。将坩埚连同残渣置于烘箱内于 $105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘干过夜。将坩埚转移至干燥器内冷却 1 h，称量包括坩埚质量及残渣质量 (m_{GR})，精确至 0.1 mg。减去坩埚质量，计算试样残渣质量 (m_R)。

7.3.3.2 蛋白质和灰分的测定：取 1 份试样残渣参照 GB 5009.5 方法测定蛋白质含量 (m_P)，折算系数为 6.25。取另一份试样参照 GB 5009.4 方法测定灰分含量，即在 $550\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 灰化 4 h 后转至干燥器中，冷却后精确称量坩埚及残渣总质量 (m_{GA})，精确至 0.1 mg，减去坩埚质量，计算灰分质量 (m_A)。

7.4 不溶性膳食纤维的测定

7.4.1 按 7.1 制备试样，按 7.2 酶解。

7.4.2 抽滤：取已处理的坩埚，用 3 mL 水湿润硅藻土上并展平，抽去水分使坩埚中的硅藻土平铺于滤板上。将试样酶解液全部转移至坩埚中抽滤，残渣用 10 mL $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 热水洗涤 2 次，用于不溶性膳食纤维的测定。

7.4.3 残渣测定：按 7.3.3 操作。

7.5 分析结果的表述

7.5.1 试剂制备中质量变化因子按式 (1) 计算。

$$f = \frac{m_C}{m_D} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

f ——试样制备过程中质量变化因子；

m_C ——试样制备前质量，单位为克 (g)；

m_D ——试样制备后质量，单位为克 (g)。

7.5.2 坩埚中残渣质量按式 (2) 计算。

$$m_R = m_{GR} - m_G \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中：

m_R ——坩埚中残渣质量，单位为克（g）；

m_{GR} ——坩埚及残渣质量，单位为克（g）；

m_G ——坩埚质量，单位为克（g）。

7.5.3 试剂空白质量按（3）计算。

$$m_B = \frac{m_{BR1} + m_{BR2}}{2} - m_{BP} - m_{BA} \quad \dots\dots\dots (3)$$

式中：

m_B ——试剂空白质量，单位为克（g）；

m_{BR1} 、 m_{BR2} ——2份试剂空白残渣质量，单位为克（g）；

m_{BP} ——试剂空白残渣中蛋白质质量，单位为克（g）；

m_{BA} ——试剂空白残渣中灰分质量，单位为克（g）。

7.5.4 根据残渣测定获得的不溶性膳食纤维、总膳食纤维含量按式（4）计算。

$$X = \frac{\frac{m_{R1} + m_{R2}}{2} - m_P - m_A - m_B}{\frac{m_1 + m_2}{2} \times f} \times 100 \quad \dots\dots\dots (4)$$

式中：

X ——试样中膳食纤维的含量，单位为克每百克（g / 100 g）；

m_{R1} 、 m_{R2} ——双份试样残渣质量均值，单位为克（g）；

m_P ——试样残渣中蛋白质质量，单位为克（g）；

m_A ——试样残渣中灰分质量，单位为克（g）；

m_B ——试剂空白质量，单位为克（g）；

m_1 、 m_2 ——双份试样取样质量均值，单位为克（g）；

f ——试样制备过程中质量变化因子；

100 ——换算为克每百克的系数。

8 精密度

在重复性条件下获得的2次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的20%。