ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ГОСТ Р 54014— 2010**

# ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ

## Определение растворимых и нерастворимых пищевых волокон ферментативно-гравиметрическим методом

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2011

gost.e-ecolog.ru

## Предисловие

Цели и принципы стандартизации в Российской Федерации установлены Федеральным законом от 27 декабря 2002 г. № 184-ФЗ «О техническом регулировании», а правила применения национальных стандартов Российской Федерации — ГОСТ Р 1.0—2004 «Стандартизация в Российской Федерации. Основные положения»

**Сведения о стандарте**

1 РАЗРАБОТАН Государственным образовательным учреждением высшего профессионального образования «Московский государственный университет пищевых производств» Министерства образования и науки Российской Федерации (ГОУ ВПО «МГУПП»)

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 036 «Функциональные пищевые продукты»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 30 ноября 2010 г. № 624-ст

4 В настоящем стандарте учтены основные положения следующих международных (региональных) стандартов и сводов правил:

- CODEX STAN 234—1999 (с учетом изменений 2007 г.) Комиссии Codex Alimentarius;
- CAC/MISC 6—2008 Комиссии Codex Alimentarius;
- CAC/GL 10—1979 (с учетом изменений 1983, 1991 и 2008 гг.)

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячно издаваемых информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет*

© Стандартинформ, 2011

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

## Содержание

1 Область применения . . . . . 1
2 Нормативные ссылки . . . . . 1
3 Термины и определения . . . . . 2
4 Сущность метода . . . . . 2
5 Реактивы, стандартные вещества и растворы . . . . . 2
6 Средства измерений и оборудование . . . . . 3
7 Отбор и подготовка проб . . . . . 3
8 Подготовка к испытанию . . . . . 3
9 Проведение испытания . . . . . 3
10 Обработка результатов . . . . . 4
11 Метрологические характеристики метода . . . . . 5
12 Требования безопасности . . . . . 5
13 Условия проведения испытания . . . . . 5
Библиография . . . . . 6

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

# ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ

## Определение растворимых и нерастворимых пищевых волокон ферментативно-гравиметрическим методом

Functional food.
Determination of soluble and insoluble dietary fibres by enzymatic-gravimetric method

**Дата введения — 2012—01—01**

## 1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на функциональные пищевые продукты и устанавливает метод определения общей массовой доли растворимых и нерастворимых пищевых волокон, в т. ч. гемицеллюлоз, целлюлозы, пектинов, резистентных крахмалов, лигнина и др.

Диапазон измерения массовой доли пищевых волокон от 1 % до 30 % массы обезжиренного вещества.

## 2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ Р 8.563—96 Государственная система обеспечения единства измерений. Методики выполнения измерений

ГОСТ Р ИСО/МЭК 17025—2006 Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий

ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике

ГОСТ Р 51418—99 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения массовой доли золы, нерастворимой в соляной кислоте

ГОСТ Р 52349—2005 Продукты пищевые. Продукты пищевые функциональные. Термины и определения

ГОСТ Р 53228—2008 Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ Р 51418—99 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения массовой доли золы, нерастворимой в соляной кислоте

ГОСТ 12.1.005—88 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

ГОСТ 12.1.007—76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.018—93 Система стандартов безопасности труда. Пожаровзрывобезопасность статического электричества. Общие требования

ГОСТ 12.1.019—79 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ 200—76 Реактивы. Натрий фосфорнокислый 1-водный. Технические условия

ГОСТ 245—76 Реактивы. Натрий фосфорнокислый однозамещенный 2-водный. Технические условия

**Издание официальное**

ГОСТ 1770—74 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 2603—79 Реактивы. Ацетон. Технические условия

ГОСТ 3118—77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 5901—87 Изделия кондитерские. Методы определения массовой доли золы и металломагнитной примеси

ГОСТ 5962—67 Спирт этиловый ректификованный. Технические условия

ГОСТ 6552—80 Реактивы. Кислота ортофосфорная. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 11773—76 Реактивы. Натрий фосфорнокислый двузамещенный. Технические условия

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 15113.8—77 Концентраты пищевые. Методы определения золы

ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 25555.4—91 Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения золы и щелочности общей и водорастворимой золы

ГОСТ 26313—84 Продукты переработки плодов и овощей. Правила приемки, методы отбора проб

ГОСТ 26671—85 Продукты переработки плодов и овощей, консервы мясные и мясорастительные. Подготовка проб для лабораторных анализов

ГОСТ 26809—86 Молоко и молочные продукты. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу

ГОСТ 26889—86 Продукты пищевые и вкусовые. Общие указания по определению содержания азота методом Кьельдаля

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодно издаваемому информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

## 3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены термины по ГОСТ Р 52349.

## 4 Сущность метода

Метод основан на ферментативном гидролизе крахмальных и некрахмальных соединений с помощью α-амилазы, протеазы и амилоглюкозидазы до моно-, ди-, олигосахаридов и пептидов. Пищевые волокна осаждают этиловым спиртом, высушивают и определяют гравиметрическим методом. Общую массовую долю пищевых волокон выражают в процентах (г/100 г).

## 5 Реактивы, стандартные вещества и растворы

Все реактивы, используемые для анализа, должны быть квалификации чистые для анализа (ч. д. а.). Вода, используемая для приготовления растворов ферментов, должна быть бидистиллированной.

α-Амилаза[1)] термостабильная удельной активностью 10 ед./мг по [1].

Протеаза[1)] удельной активностью 7—15 ед./мг по [1].

Амилоглюкозидаза[1)] удельной активностью 400 ед./мг по [1].

[1)] Допускается использование имеющихся в продаже готовых наборов реактивов (ферментов) для определения общих пищевых волокон (например, фирмы MERCK — Bioquant$^{R}$ Gesamtballastoffe 12979) при условии соответствия качества реагентов требованиям настоящего стандарта. Указанный пример реактивов является рекомендуемым для применения. Эта информация приведена для сведения пользователей настоящего стандарта и не означает, что стандарт устанавливает обязательное применение данного набора реактивов.

Эфир петролейный.

Этиловый спирт 95 % об. по ГОСТ 5962.

Этиловый спирт 78 % об.: смешать 207 $см^3$ дистиллированной воды по ГОСТ 6709 и 793 $см^3$ этанола 95 % об. по ГОСТ 5962.

Раствор фосфатного буфера 0,08 моль/$дм^3$, pH 6,0: растворяют 1,4 г динатрийгидрофосфата ($Na_2HPO_4$) по ГОСТ 245 или 1,752 г динатрий гидрофосфата дигидрата ($Na_2HPO_2 \cdot 2H_2O$) по ГОСТ 200 и 9,68 г натрия дигидрофосфата моногидрата ($NaH_2PO_4 \cdot H_2O$) по ГОСТ 11773 в 700 $см^3$ воды, доводят pH до 6,0 с помощью гидроокиси натрия (NaOH) по ГОСТ 4328 или фосфорной кислоты ($H_3PO_4$) по ГОСТ 6552, разбавляют водой по ГОСТ 6709 до 1000 $см^3$.

Раствор гидроокиси натрия (NaOH) 0,275 моль/$дм^3$: разбавляют 275 $см^3$ раствора гидроокиси натрия 1 моль/$дм^3$ водой до 1000 $см^3$.

Раствор соляной кислоты (HCl) 0,325 моль/$дм^3$: разбавляют 325 $см^3$ концентрированной соляной кислоты 1 моль/$дм^3$ дистиллированной водой до 1000 $см^3$.

Ацетон по ГОСТ 2603.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

## 6 Средства измерений и оборудование

Весы лабораторные по ГОСТ Р 53228.

Фильтры бумажные обеззоленные диаметром 15 см по ГОСТ 12026.

Шкаф сушильный, обеспечивающий температуру от 60 °С до 110 °С.

Эксикатор по ГОСТ 25336.

Стаканы химические вместимостью 400 $см^3$ по ГОСТ 25336.

Баня водяная с терморегулятором для поддержания температуры (60 ± 5) °С, оборудованная качалкой или магнитной мешалкой.

pH-метр с погрешностью измерения не более 0,1 ед. pH.

Дозаторы пипеточные с объемом доз 0,05 и 0,5 $см^3$.

Цилиндры мерные вместимостью 50 и 500 $см^3$ по ГОСТ 1770.

Насос водоструйный стеклянный лабораторный по ГОСТ 25336.

Печь муфельная с терморегулятором для поддержания температуры (900 ± 5) °С.

Фольга алюминиевая.

Мельница лабораторная или ступка.

Допускается использование других средств измерений с метрологическими характеристиками и лабораторного оборудования с техническими характеристиками, не уступающими перечисленным выше.

## 7 Отбор и подготовка проб

Отбор и подготовка проб — по ГОСТ 26313, 26671 и 26809.

## 8 Подготовка к испытанию

При необходимости пробу измельчают в гомогенизаторе или лабораторной мельнице. Если содержание жира в пробе превышает 5 %, его экстрагируют петролейным эфиром из расчета 25 $см^3$ на 1 г пробы. Обезжиренный образец высушивают в сушильном шкафу в течение одного часа при температуре 70 °С и помещают в эксикатор.

## 9 Проведение испытания

При проведении испытания избегают загрязнений, связанных с поглощением пробой дополнительной влаги.

9.1 Берут две навески пробы массой 1 г (с точностью до 0,0001 г) в стеклянные стаканы вместимостью 400 $см^3$ и добавляют в каждый по 50 $см^3$ фосфатного буфера pH 6,0.

### 9.2 Испытание

9.2.1 С помощью пипеточного дозатора в каждый стакан вносят по 0,05 $см^3$ раствора термостабильной α-амилазы по [1].

Содержимое перемешивают, слегка вращая стаканы, после чего стаканы закрывают алюминиевой фольгой и помещают в кипящую водяную баню. Время выдержки 30 мин отсчитывают с момента, когда содержимое нагреется до температуры 90 °С. Затем смесь охлаждают до температуры 20 °С и доводят значение pH до 7,4—7,6 раствором гидроокиси натрия молярной концентрации 0,275 моль/дм$^3$.

9.2.2 В каждый стакан вносят 0,05 см$^3$ раствора протеазы по [1] с помощью пипеточного дозатора. Содержимое стаканов перемешивают и закрывают алюминиевой фольгой, выдерживают на водяной бане при температуре 60 °С в течение 30 мин при постоянном перемешивании, охлаждают до 20 °С и доводят значение pH до 4,3—4,7 с помощью раствора соляной кислоты 0,325 моль/дм$^3$.

9.2.3 Затем в каждый стакан с помощью пипеточного дозатора вносят 0,150 см$^3$ раствора амилоглюкозидазы по [1], выдерживают на водяной бане при температуре 60 °С в течение 30 мин, отсчитывая время с момента, когда температура содержимого стаканов достигнет 60 °С.

9.2.4 Мерным цилиндром отмеряют 280 см$^3$ этилового спирта 78 % об., подогревают его до температуры 60 °С, добавляют к содержимому стаканов и выдерживают при комнатной температуре в течение 60 мин для формирования осадка.

9.2.5 Высушенные при температуре 60 °С до постоянной массы (разница между взвешиваниями не должна превышать 0,001 г) и взвешенные (с точностью до 0,0001 г) бумажные фильтры помещают в стеклянные воронки и смачивают этиловым спиртом 95 % об., осадок, содержащий пищевые волокна, фильтруют количественно, смывая со стенок стаканов порциями этилового спирта, затем осадок на фильтре промывают три раза порциями этилового спирта 78 % об. по 20 см$^3$, два раза порциями этилового спирта 95 % об. по 10 см$^3$ и два раза порциями ацетона по 10 см$^3$.

9.2.6 Осадки на фильтрах высушивают при температуре 105 °С в сушильном шкафу до постоянной массы (разница между взвешиваниями не должна превышать 0,001 г). Фильтры охлаждают в эксикаторе и взвешивают с точностью до 0,0001 г.

9.2.7 В одном из двух осадков определяют содержание азота методом Кьельдаля по ГОСТ 26889. Полученное значение умножают на 6,25, получая содержание белка. Во втором осадке в зависимости от вида функционального пищевого продукта определяют содержание золы по ГОСТ 5901, ГОСТ 15113.8, ГОСТ 25555.4 или ГОСТ Р 51418.

**9.3 Число параллельных определений**

Выполняют два независимых определения в двух различных пробах одного и того же образца.

## 10 Обработка результатов

Общую массовую долю пищевых волокон $X$, %, от массы обезжиренного сухого вещества вычисляют по формуле

$$X = \frac{m_1 - \left[\left(\frac{w_1 + w_2}{100}\right) \cdot m_2\right]}{m_1} \cdot 100, \qquad (1)$$

где $m_1$ — масса навески сухой обезжиренной пробы, г;

$m_2$ — масса осадка, г;

$w_1$ — массовая доля белка в осадке, % (ГОСТ 26889), вычисляемая по формуле

$$w_1 = \frac{m_3}{m_2} \cdot 100;$$

$w_2$ — массовая доля золы в осадке, % (ГОСТ 5901, ГОСТ 15113, ГОСТ 25555.4 или ГОСТ Р 51418), вычисляемая по формуле

$$w_2 = \frac{m_4}{m_2} \cdot 100,$$

где $m_3$ — масса белка, г (ГОСТ 26889);

$m_4$ — масса золы, г (ГОСТ 5901, ГОСТ 15113, ГОСТ 25555.4 или ГОСТ Р 51418).

Результат приводят с точностью до 0,01 г пищевых волокон на 100 г обезжиренного сухого вещества.

## 11 Метрологические характеристики метода

### 11.1 Повторяемость

Абсолютное расхождение между результатами двух параллельных определений, выполненных для одной и той же пробы в одной лаборатории одним сотрудником, не должно превышать 10 % от их среднеарифметического значения (при $P = 0,95$).

### 11.2 Воспроизводимость

Абсолютное расхождение между результатами двух измерений, выполненных для одной и той же пробы в двух различных лабораториях, не должно превышать 0,1 г пищевых волокон на 100 г пробы (при $P = 0,95$).

### 11.3 Контроль стабильности результатов измерений при реализации методики в лаборатории

Контроль стабильности результатов измерений в лаборатории осуществляют в соответствии с требованиями ГОСТ Р ИСО 5725-6, используя метод контроля стабильности стандартного отклонения промежуточной прецизионности по ГОСТ Р ИСО 5725-6 (пункт 6.2.3) с применением контрольных карт Шухарта. Периодичность контроля и процедуры контроля стабильности результатов измерений должны быть предусмотрены в руководстве по качеству лаборатории в соответствии с ГОСТ Р ИСО/МЭК 17025 (подраздел 4.2) и ГОСТ Р 8.563 (пункт 7.1.1).

## 12 Требования безопасности

При проведении испытания следует соблюдать требования электробезопасности по ГОСТ 12.1.018, ГОСТ 12.1.019 и инструкции по эксплуатации лабораторного оборудования.

При работе с чистыми веществами следует соблюдать требования безопасности, установленные для работы с токсичными, едкими и легковоспламеняющимися веществами по ГОСТ 12.1.007.

Контроль за содержанием вредных веществ в воздухе рабочей зоны следует проводить в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.005.

## 13 Условия проведения испытания

При подготовке и проведении испытания должны быть соблюдены следующие условия:

- температура окружающей среды от 10 °С до 25 °С включительно;
- относительная влажность воздуха от 40 % до 70 % включительно.

## Библиография

[1] Номенклатура ферментов. Рекомендации Международного биохимического союза по номенклатуре и классификации ферментов, а также единицам ферментов и символам кинетики ферментативных реакций. — М., 1979

| | | | |
|---|---|---|---|
| УДК 663/664.777:006.354 | ОКС 67.040, 67.050 | Н59 | ОКСТУ 9100 |

Ключевые слова: продукты пищевые функциональные, идентификация, растворимые и нерастворимые пищевые волокна, ферментативно-гравиметрический метод, общая массовая доля

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *М.В. Бучная*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 03.06.2011. Подписано в печать 26.07.2011. Формат 60 × 84 1/8. Бумага офсетная. Гарнитура Ариал.
Печать офсетная. Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 0,75. Тираж 211 экз. Зак. 676.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru
Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ.
Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6.

gost.e-ecolog.ru