

---

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО  
ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

---



НАЦИОНАЛЬНЫЙ  
СТАНДАРТ  
РОССИЙСКОЙ  
ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р  
57513—  
2017

---

**ПРОДУКЦИЯ ПИЩЕВАЯ  
СПЕЦИАЛИЗИРОВАННАЯ**

**Методы определения  $\beta$ -глюканов**

Издание официальное



Москва  
Стандартинформ  
2017

## Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Федеральным государственным бюджетным учреждением науки «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи» (ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»)

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 036 «Продукция пищевая специализированная»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 29 июня 2017 г. № 603-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Правила применения настоящего стандарта установлены в статье 26 Федерального закона от 29 июня 2015 г. № 162-ФЗ «О стандартизации в Российской Федерации». Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном (по состоянию на 1 января текущего года) информационном указателе «Национальные стандарты», а официальный текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ближайшем выпуске ежемесячного информационного указателя «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 ([www.gost.ru](http://www.gost.ru))*

© Стандартиформ, 2017

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 методов . . . . .	2
5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда и реактивы . . . . .	3
6 Отбор проб . . . . .	4
7 Подготовка к проведению измерений . . . . .	4
8 Условия проведения измерений . . . . .	7
9 Требования безопасности . . . . .	7
10 Проведение измерений . . . . .	7
11 Обработка результатов измерений . . . . .	9
12 Контроль точности результатов измерений . . . . .	11
13 Оформление результатов измерений . . . . .	11
Библиография . . . . .	13

## ПРОДУКЦИЯ ПИЩЕВАЯ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННАЯ

Методы определения  $\beta$ -глюканов

Foods for special dietary uses.  
Methods for determination of  $\beta$ -glucans

Дата введения — 2018—07—01

## 1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на специализированную пищевую продукцию растительного и микробиологического происхождения и устанавливает методы определения  $\beta$ -глюканов. Диапазон измерения массовой доли  $\beta$ -глюканов — от 1 % до 95 % массы сухого вещества.

## 2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

- ГОСТ 12.0.004—2015 Система стандартов безопасности труда. Организация обучения безопасности труда. Общие положения
- ГОСТ 12.1.004—91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования
- 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 12.2.007.0—75 Система стандартов безопасности труда. Изделия электротехнические. Общие требования безопасности
- ГОСТ 12.4.009—83 Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание
- ГОСТ 12.4.021—75 Система стандартов безопасности труда. Системы вентиляционные. Общие требования
- ГОСТ 12.4.103—83 Система стандартов безопасности труда. Одежда специальная защитная, средства индивидуальной защиты ног и рук. Классификация
- ГОСТ 61—75 Реактивы. Кислота уксусная. Технические условия
- ГОСТ 199—78 Реактивы. Натрий уксуснокислый 3-водный. Технические условия
- ГОСТ 245—76 Реактивы. Натрий фосфорнокислый однозамещенный 2-водный. Технические условия
- ГОСТ 1770—74 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия
- ГОСТ 3118—77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия
- ГОСТ 4198—75 Реактивы. Калий фосфорнокислый однозамещенный. Технические условия
- ГОСТ 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 5962—2013 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия

ГОСТ 6038—79 Реактивы. D-глюкоза. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 13867—68 Продукты химические. Обозначение чистоты

ГОСТ 24363—80 Реактивы. Калия гидроксид. Технические условия

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

ГОСТ 28311—89 Дозаторы медицинские лабораторные. Общие технические требования и методы испытаний

ГОСТ 28498—90 Термометры жидкостные стеклянные. Общие технические требования. Методы измерений

ГОСТ 29227—91 Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

ГОСТ ИСО/МЭК 17025—2009 Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий

ГОСТ Р 12.1.019—2009 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

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

**П р и м е ч а н и е** — 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 ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана недатированная ссылка, то рекомендуется использовать действующую версию этого стандарта с учетом всех внесенных в данную версию изменений. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, то рекомендуется использовать версию этого стандарта с указанным выше годом утверждения (принятия). Если после утверждения настоящего стандарта в ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение рекомендуется применять без учета данного изменения. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, рекомендуется применять в части, не затрагивающей эту ссылку.

### 3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1  **$\beta$ -глюканы**: Полисахариды, состоящие из цепочек молекул глюкозы, соединенных между собой  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-,  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-связями (в источниках растительного происхождения) и  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-,  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6)-связями (в источниках микробиологического происхождения).

3.2  **$\alpha$ -глюканы**: Полисахариды, состоящие из цепочек молекул глюкозы, соединенных между собой  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 3)-,  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4)-связями и  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 3)-,  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 6)-связями (в источниках микробиологического происхождения).

3.3 **ферментативный гидролиз**: Расщепление высокомолекулярных соединений при участии катализаторов белковой природы — гидролитических ферментов (гидролаз, класс 3).

3.4 **системные названия ферментов**: Названия, указывающие природу химической реакции, катализируемой данным ферментом (КФ), в соответствии с [1].

3.5 **супернатант**: Жидкость, располагающаяся над осадком после центрифугирования.

### 4 Сущность методов

#### 4.1 Определение (1 $\rightarrow$ 3)(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-глюкана в специализированной пищевой продукции растительного происхождения

Метод основан на постадийном ферментативном гидролизе (1 $\rightarrow$ 3)(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-глюкана в специализированной пищевой продукции растительного происхождения с использованием высокоочищенных ферментных препаратов лихениназы и  $\beta$ -глюкозидазы до  $\beta$ -глюкоолигосахаридов и глюкозы соответственно. Массовую долю прогидролизованного (1 $\rightarrow$ 3)(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-глюкана определяют колориметрическим методом по степени окраски молекул глюкозы глюкозооксидазным реагентом.

#### 4.2 Определение (1→3)(1→6)-β-D-глюкана в специализированной продукции микробиологического происхождения

Метод основан на ферментативном гидролизе глюкана и α-глюкана в специализированной пищевой продукции микробиологического происхождения с использованием высокоочищенных ферментных препаратов глюкан-1,3-β-глюкозидазы/β-глюкозидазы и глюкан-1,4-α-глюкозидазы/α-глюкозидазы, соответственно, до глюкозы.

Массовую долю (1→3)(1→6)-β-D-глюкана определяют по разнице между показателями, полученными колориметрическим методом по степени окраски молекул глюкозы, после ферментативного гидролиза глюкана и α-глюкана глюкозооксидазным реагентом.

### 5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда и реактивы

5.1 Для определения массовой доли (1→3)(1→4)-β-D-глюкана и (1→3)(1→6)-β-D-глюкана используют следующие средства измерений, вспомогательные устройства, материалы, посуду и реактивы:

- весы любого типа с наибольшим пределом взвешивания 100 г и пределом допускаемой погрешности не более ±0,02 мг;
- рН-метр любого типа для измерения в диапазоне рН от 0 до 14 с пределом допускаемой погрешности в эксплуатации ±0,5 ед. рН;
- секундомер с емкостью шкалы счетчика 1 мин, ценой деления 1 с и погрешностью ±1,5 с;
- спектрофотометр любого типа, обеспечивающий измерения при диапазоне волны 510 нм с погрешностью измерения коэффициента пропускания не более 1 % в кюветах с толщиной поглощающего свет слоя 10 мм;
- мешалка магнитная, обеспечивающая скорость вращения от 0 мин<sup>-1</sup> до 1500 мин<sup>-1</sup> с точностью поддержания скорости ±5 мин<sup>-1</sup>;
- баня водяная любого типа, которая обеспечивает поддержание температуры (100 ± 1) °С с точностью регулирования температуры ±1 °С;
- центрифуга любого типа лабораторная, которая обеспечивает скорость вращения ротора не менее 1000 мин<sup>-1</sup>;
- встряхиватель любого типа для перемешивания жидкости с минимальной скоростью вращения 100 мин<sup>-1</sup>;
- мельница лабораторная любого типа с 12-зубчатым ротором и ситом с проходным размером не более 0,5 мм;
- аппарат для высушивания под вакуумом, который обеспечивает поддержание температуры не ниже (100 ± 1) °С с точностью регулирования температуры ±1 °С;
- пипетки автоматические емкостью от 0,1 до 1,0 см<sup>3</sup> и от 0,2 до 5,0 см<sup>3</sup> с наконечниками по ГОСТ 28311;
- колбы мерные стеклянные 1—100—2, 2—1000—2 по ГОСТ 1770;
- пипетки стеклянные 1—2—2—2, 1—2—2—5, 1—2—2—10 по ГОСТ 29227;
- пробирки стеклянные П2Т-25 по ГОСТ 25336;
- стаканы и колбы стеклянные В-1—100, В-1—1000, Кн-2—1000 по ГОСТ 25336;
- цилиндры мерные стеклянные 1—100—2 по ГОСТ 1770;
- термометры ртутные стеклянные лабораторные от 0 °С до 50 °С и от 0 °С до 100 °С с ценой деления шкалы 0,5 °С по ГОСТ 28498;
- пробирки полипропиленовые стерильные с крышками вместимостью 5 см<sup>3</sup>;
- пробирки полипропиленовые с крышками вместимостью 20 и 100 см<sup>3</sup>;
- кислота 4-гидроксibenзойная с массовой долей основного вещества 99 %;
- D-глюкоза по ГОСТ 6038;
- калий фосфорнокислый однозамещенный по ГОСТ 4198;
- кислота соляная по ГОСТ 3118;
- кислота уксусная по ГОСТ 61;
- калия гидроокись по ГОСТ 24363;
- натрий уксуснокислый 3-водный по ГОСТ 199;
- натрий фосфорнокислый однозамещенный 2-водный по ГОСТ 245;
- натрия гидроокись по ГОСТ 4328;
- спирт этиловый по ГОСТ 5962;
- вода дистиллированная по ГОСТ 6709;

- лихениназа (КФ 3.2.1.73) удельной активностью 1000 ед./см<sup>3</sup> \*;
- β-глюкозидаза (КФ 3.2.1.21) удельной активностью 40 ед./см<sup>3</sup> \*;
- β-глюкозидаза (КФ 3.2.1.21) удельной активностью 20 ед./см<sup>3</sup> \*;
- глюкан 1,3-β-глюкозидаза (КФ 3.2.1.58) удельной активностью 100 ед./см<sup>3</sup> \*;
- глюкан 1,4-α-глюкозидаза (КФ 3.2.1.3) удельной активностью 3260 ед./см<sup>3</sup> \*;
- α-глюкозидаза (КФ 3.2.1.20) удельной активностью 1000 ед./см<sup>3</sup> \*;
- реагент глюкозооксидазный удельной активностью глюкозооксидазы — 12000 ед./дм<sup>3</sup>, пероксидазы — 650 ед./дм<sup>3</sup> и концентрацией 4-антиаминопиринина 0,4 ммоль/дм<sup>3</sup> \*.

5.2 Все реактивы должны относиться к подгруппе чистоты 2 (х. ч) или 3 (ч. д. а) по ГОСТ 13867.

5.3 Допускается применение других средств измерений с аналогичными метрологическими характеристиками и вспомогательного оборудования с техническими характеристиками, а также посуды и реактивов по качеству, не ниже указанных в настоящем стандарте.

## 6 Отбор проб

Отбор проб пищевой специализированной продукции проводят по нормативным документам на соответствующие виды продукции.

## 7 Подготовка к проведению измерений

### 7.1 Приготовление раствора этанола с объемной долей 50 %

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> вносят 50 см<sup>3</sup> 95 %-ного этилового спирта, используя мерный цилиндр, и доводят объем до метки при температуре 20 °С дистиллированной водой.

Срок хранения раствора в закрытой стеклянной посуде при температуре 20 °С — не более четырех недель.

### 7.2 Приготовление раствора фосфатного буфера молярной концентрации 20 ммоль/дм<sup>3</sup>, рН = 6,5 ед. рН

#### 7.2.1 Приготовление раствора гидроксида натрия молярной концентрации 100 ммоль/дм<sup>3</sup>

В мерную колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup> помещают (4,000 ± 0,001) г гидроксида натрия, растворяют в 300 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и доводят объем до метки при температуре 20 °С дистиллированной водой.

Срок хранения раствора в закрытой стеклянной посуде при температуре 4 °С — не более четырех недель.

7.2.2 В мерную колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup> помещают (3,120 ± 0,001) г фосфорнокислого однозамещенного 2-водного натрия, растворяют в 900 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и доводят значение рН до 6,5 ед. рН, измеряя показания рН-метром, раствором гидроксида натрия молярной концентрации 100 ммоль/дм<sup>3</sup> (см. 7.2.1).

Срок хранения раствора в закрытой стеклянной посуде при температуре 4 °С — не более четырех недель.

### 7.3 Приготовление раствора глюкозооксидазного реагента

#### 7.3.1 Приготовление раствора соляной кислоты молярной концентрации 2 моль/дм<sup>3</sup> (раствор А)

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> стеклянной пипеткой вносят 16,7 см<sup>3</sup> концентрированной соляной кислоты и доводят объем до метки при температуре 20 °С дистиллированной водой.

Срок хранения раствора в закрытой стеклянной посуде при температуре 4 °С — не более четырех недель.

\* Допускается использование имеющихся в продаже готовых наборов реактивов (ферментов) для определения массовой доли (1→3)(1→4)-β-D-глюкана и (1→3)(1→6)-β-D-глюкана (например, фирмы Megazyme) при условии соответствия качества реагентов требованиям настоящего стандарта. Эта информация приведена для сведения пользователей настоящего стандарта и не означает, что стандарт устанавливает обязательное применение данных наборов реактивов.

### 7.3.2 Приготовление раствора гидроокиси натрия молярной концентрации 2 моль/дм<sup>3</sup> (раствор Б)

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают (8,000 ± 0,001) г гидроокиси натрия, растворяют в 50 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и доводят объем до метки при температуре 20 °С дистиллированной водой.

Срок хранения раствора в закрытой стеклянной посуде при температуре 4 °С — не более четырех недель.

### 7.3.3 Приготовление буферного раствора

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают (13,600 ± 0,001) г калия фосфорнокислого однозамещенного, (4,200 ± 0,001) г гидроокиси натрия и (3,000 ± 0,001) г 4-гидроксibenзойной кислоты, растворяют в 96 см<sup>3</sup> дистиллированной воды. Доводят значение рН до 7,4 ед. рН, измеряя показания рН-метром, раствором А или раствором Б. Доводят объем до метки при температуре 20 °С дистиллированной водой.

Срок хранения раствора в закрытой стеклянной посуде при температуре 4 °С — не более четырех недель.

7.3.4 В мерную колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup> вносят 50 см<sup>3</sup> буферного раствора (см. 7.3.3), используя мерный цилиндр, растворяют в 300 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и доводят объем до метки при температуре 20 °С дистиллированной водой. Растворяют в полученном растворе (46,8 ± 0,1) мг глюкозооксидазного реагента.

Срок хранения раствора глюкозооксидазного реагента в закрытой стеклянной посуде при температуре:

- 4 °С — не более 2 мес;
- минус 20 °С — не более двух лет\*.

### 7.4 Приготовление раствора ацетатного буфера молярной концентрации 200 ммоль/дм<sup>3</sup>, рН = 4,0 ед. рН

В мерной колбе вместимостью 1000 см<sup>3</sup> растворяют 7,6 см<sup>3</sup> ледяной уксусной кислоты, используя стеклянную пипетку, в 990 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, добавляют и растворяют (4,800 ± 0,001) г уксуснокислого 3-водного натрия. Доводят значение рН до 4,0 ед. рН, измеряя показания рН-метром, раствором А (см. 7.3.1) или раствором Б (см. 7.3.2) при необходимости. Доводят объем до метки при температуре 20 °С дистиллированной водой.

Срок хранения раствора в закрытой стеклянной посуде при температуре 4 °С — не более 2 мес.

### 7.5 Приготовление раствора ацетатного буфера молярной концентрации 50 ммоль/дм<sup>3</sup>, рН = 4,0 ед. рН

В мерную колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup> вносят 250 см<sup>3</sup> раствора ацетатного буфера молярной концентрации 200 ммоль/дм<sup>3</sup>, рН = 4,0 ед. рН (см. 7.4), доводят объем до метки при температуре 20 °С дистиллированной водой.

Срок хранения раствора в закрытой стеклянной посуде при температуре 4 °С — не более 2 мес.

### 7.6 Приготовление раствора лихениназы активностью 50 ед./см<sup>3</sup>

Разводят 1 см<sup>3</sup> ферментного препарата лихениназы в 19 см<sup>3</sup> раствора фосфатного буфера молярной концентрации 20 ммоль/дм<sup>3</sup> (см. 7.2).

Разделяют ферментный раствор по аликвотам 5 см<sup>3</sup> в полипропиленовые пробирки с крышками вместимостью 5 см<sup>3</sup>, используя автоматические пипетки, и хранят при температуре 4 °С — не более одного года.

### 7.7 Приготовление раствора β-глюкозидазы активностью 2 ед./см<sup>3</sup>

Разводят 1 см<sup>3</sup> ферментного препарата β-глюкозидазы (удельной активности 40 ед./см<sup>3</sup>) в 19 см<sup>3</sup> раствора ацетатного буфера молярной концентрации 50 ммоль/дм<sup>3</sup> (см. 7.5).

Разделяют ферментный раствор по аликвотам 5 см<sup>3</sup> в полипропиленовые пробирки с крышками вместимостью 5 см<sup>3</sup>, используя автоматические пипетки, и хранят при температуре 4 °С — не более одного года.

\* Допускается использование имеющихся в продаже готовых глюкозооксидазных реагентов (например, фирм Megazyme, Ebra Mannheim) при условии соответствия качества реагентов требованиям настоящего стандарта. Эта информация приведена для сведения пользователей настоящего стандарта и не означает, что стандарт устанавливает обязательное применение данных готовых глюкозооксидазных реагентов.



**7.8 Приготовление раствора смеси глюкан-1,3-β-глюкозидазы активностью 10 ед./см<sup>3</sup> и β-глюкозидазы активностью 2 ед./см<sup>3</sup>.**

Разводят 1 см<sup>3</sup> ферментного препарата глюкан-1,3-β-глюкозидазы и 1 см<sup>3</sup> ферментного препарата β-глюкозидазы (удельной активности 20 ед./см<sup>3</sup>) в 8 см<sup>3</sup> раствора ацетатного буфера молярной концентрации 200 ммоль/дм<sup>3</sup> (см. 7.4).

Разделяют ферментный раствор по аликвотам 5 см<sup>3</sup> в полипропиленовые пробирки с крышками вместимостью 5 см<sup>3</sup>, используя автоматические пипетки, и хранят при температуре 4 °С — не более одного года.

**7.9 Приготовление раствора смеси глюкан-1,4-α-глюкозидазы активностью 1630 ед./см<sup>3</sup> и α-глюкозидазы активностью 500 ед./см<sup>3</sup>.**

В стеклянную пробирку вместимостью 25 см<sup>3</sup> вносят 1 см<sup>3</sup> ферментного препарата глюкан-1,4-α-глюкозидазы и 1 см<sup>3</sup> ферментного препарата α-глюкозидазы, перемешивают.

Срок хранения раствора в закрытой стеклянной посуде при температуре 4 °С — не более двух недель.

**7.10 Приготовление раствора ацетатного буфера молярной концентрации 200 ммоль/дм<sup>3</sup>, рН = 5,0 ед. рН**

**7.10.1 Приготовление раствора гидроокиси натрия молярной концентрации 4 моль/дм<sup>3</sup>**

В мерную колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup> помещают (16,000 ± 0,001) г гидроокиси натрия, растворяют в 300 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и доводят объем до метки при температуре 20 °С дистиллированной водой.

Срок хранения раствора в закрытой стеклянной посуде при температуре 4 °С — не более четырех недель.

7.10.2 В мерной колбе вместимостью 1000 см<sup>3</sup> растворяют 11,6 см<sup>3</sup> ледяной уксусной кислоты, используя стеклянную пипетку, в 900 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, доводят значение рН до 5,0 ед. рН, измеряя показания рН-метром, раствором гидроокиси натрия молярной концентрации 4 моль/дм<sup>3</sup> (см. 7.10.1). Доводят объем до метки при температуре 20 °С дистиллированной водой.

Срок хранения раствора в закрытой стеклянной посуде при температуре 4 °С — не более одного года.

**7.11 Приготовление раствора ацетатного буфера молярной концентрации 1,2 моль/дм<sup>3</sup>, рН = 3,8 ед. рН**

В мерной колбе вместимостью 1 дм<sup>3</sup> растворяют 69,6 см<sup>3</sup> ледяной уксусной кислоты, используя стеклянную пипетку, в 800 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, доводят рН до 3,8 ед. рН, измеряя показания рН-метром, раствором гидроокиси натрия молярной концентрации 4 моль/дм<sup>3</sup> (см. 7.10.1). Доводят объем до метки при температуре 20 °С дистиллированной водой.

Срок хранения раствора в закрытой стеклянной посуде при температуре 20 °С — не более двух лет.

**7.12 Приготовление раствора гидроокиси калия молярной концентрации 2 моль/дм<sup>3</sup>**

В мерную колбу вместимостью 1 дм<sup>3</sup> помещают (112,000 ± 0,001) г гидроокиси калия, растворяют в 800 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и доводят объем до метки при температуре 20 °С дистиллированной водой.

Срок хранения раствора в закрытой стеклянной посуде при температуре 20 °С — не более двух лет.

**7.13 Приготовление раствора глюкозы массовой концентрации 1 мг/см<sup>3</sup>**

7.13.1 Высушивают кристаллический порошок глюкозы при температуре 60 °С в течение 16 ч под вакуумом.

7.13.2 В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают (100,0 ± 0,1) мг глюкозы, растворяют в 50 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и доводят объем до метки при температуре 20 °С дистиллированной водой.

Раствор глюкозы готовят в день проведения анализа.

**7.14 Подготовка проб**

7.14.1 Измельчают, при необходимости, пробу специализированной пищевой продукции на лабораторной мельнице до размера не более 0,5 мм.

7.14.2 При содержании в специализированном пищевом продукте сахара проводят предварительную экстракцию. Пробу массой (0,100 ± 0,001) г помещают в стеклянную пробирку вместимостью

25 см<sup>3</sup>, добавляют 20 см<sup>3</sup> раствора этанола (см. 7.1), перемешивают на встряхивателе и помещают на водяную баню при температуре  $(80 \pm 1)$  °С на 10 мин. Далее пробу центрифугируют при скорости вращения ротора 1000 мин<sup>-1</sup> в течение 10 мин, удаляют супернатант. Для определения массовой доли β-глюкана используют полученный осадок.

## 8 Условия проведения измерений

При подготовке к проведению измерений и проведении измерений соблюдают следующие условия:

температура окружающего воздуха . . . . .	$(20 \pm 1)$ °С;
атмосферное давление . . . . .	$(97 \pm 10)$ кПа;
относительная влажность . . . . .	не более $(70 \pm 10)$ %;
напряжение в питающей сети . . . . .	$(230 \pm 10)$ В.

## 9 Требования безопасности

При выполнении измерений соблюдают следующие требования:

- требования охраны труда при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007 и ГОСТ 12.4.103;
- помещение химико-аналитической лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009;
- электробезопасность при работе с электроустановками следует осуществлять в соответствии ГОСТ 12.1.018, ГОСТ Р 12.1.019 и ГОСТ 12.2.007.0;
- помещение, в котором проводят исследования, должно быть оборудовано общей приточно-вытяжной вентиляцией по ГОСТ 12.4.021. Содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать норм, установленных ГОСТ 12.1.005.

К выполнению измерений и обработке их результатов допускаются лица не моложе 18 лет, обученные для проведения данного вида работ по ГОСТ 12.0.004 и прошедшие инструктаж по охране труда. Оператор должен быть ознакомлен со специфическими свойствами и действием на организм человека вредных веществ и(или) опасных, применяемых в настоящем стандарте.

## 10 Проведение измерений

### 10.1 Метод определения $(1 \rightarrow 3)(1 \rightarrow 4)$ -β-D-глюкана в специализированной пищевой продукции растительного происхождения

10.1.1 В две стеклянные пробирки вместимостью 25 см<sup>3</sup> вносят пробу массой  $(0,100 \pm 0,001)$  г или осадок (см. 7.14.2), добавляют по 2 см<sup>3</sup> раствора этанола (см. 7.1) и перемешивают на встряхивателе. Добавляют в пробирки по 4 см<sup>3</sup> раствора фосфатного буфера (см. 7.2) и перемешивают на встряхивателе.

10.1.2 Помещают пробирки на водяную баню при температуре  $(100 \pm 1)$  °С на 2 мин, засекая время с помощью секундомера, перемешивают на встряхивателе. Далее снова помещают пробирки на водяную баню при температуре  $(50 \pm 1)$  °С на 5 мин для стабилизации температуры.

10.1.3 Добавляют в пробирки по 0,2 см<sup>3</sup> раствора лихениназы (см. 7.6), перемешивают на встряхивателе и помещают на водяную баню при температуре  $(50 \pm 1)$  °С на 60 мин, периодически перемешивая (3—4 раза в течение времени инкубации).

10.1.4 Добавляют в пробирки по 5 см<sup>3</sup> раствора ацетатного буфера (см. 7.4), перемешивают на встряхивателе и охлаждают при комнатной температуре в течение 10 мин.

10.1.5 Переносят содержимое пробирок в полипропиленовые пробирки вместимостью 20 см<sup>3</sup> и центрифугируют при скорости вращения ротора 1000 мин<sup>-1</sup> в течение 10 мин.

10.1.6 Переносят по 0,1 см<sup>3</sup> супернатанта в две стеклянные пробирки вместимостью 25 см<sup>3</sup>. В одну пробирку добавляют 0,1 см<sup>3</sup> раствора ацетатного буфера (см. 7.5), а в другую пробирку добавляют 0,1 см<sup>3</sup> раствора β-глюкозидазы (см. 7.7). Помещают пробирки на водяную баню при температуре  $(50 \pm 1)$  °С на 10 мин.

10.1.7 В стеклянную пробирку вместимостью 25 см<sup>3</sup> вносят 0,2 см<sup>3</sup> раствора ацетатного буфера (см. 7.5) — «холостая проба».

10.1.8 В стеклянную пробирку вместимостью 25 см<sup>3</sup> вносят 0,1 см<sup>3</sup> раствора глюкозы (см. 7.13) и 0,1 см<sup>3</sup> раствора ацетатного буфера (см. 7.5).

10.1.9 В каждую пробирку (см. 10.1.6—10.1.8) добавляют по 3 см<sup>3</sup> раствора глюкозооксидазного реагента (см. 7.3). Помещают пробирки на водяную баню при температуре (50 ± 1) °С на 20 мин.

10.1.10 На спектрофотометре измеряют оптическую плотность растворов анализируемой пробы и глюкозы (см. 10.1.6 и 10.1.8) против «холостой пробы» (см. 10.1.7) при длине волны 510 нм.

**Примечание** — Растворы исследуемых образцов с содержанием (1→3)(1→4)-β-D-глюкана свыше 10 % будут иметь значение оптической плотности больше, чем значение оптической плотности у раствора глюкозы. В этом случае проводят повторный анализ пробы, повторяют процедуры, описанные в пунктах 10.1.1—10.1.5, в пункте 10.1.6 добавляют в каждую пробирку по 0,1 см<sup>3</sup> ацетатного буфера (см. 7.5). Затем повторяют пункты 10.1.7—10.1.10. При расчете массовой доли β-глюкана (см. 11.1) результат, полученный в формуле (1), умножают на коэффициент разбавления — 0,5.

## 10.2 Метод определения (1→3)(1→6)-β-D-глюкана в специализированной пищевой продукции микробиологического происхождения

### 10.2.1 Определение общего глюкана

10.2.1.1 В две стеклянные пробирки вместимостью 25 см<sup>3</sup> вносят пробу массой (0,100 ± 0,001) г или осадок (см. 7.14.2), добавляют по 1,5 см<sup>3</sup> концентрированной соляной кислоты и перемешивают на встряхивателе. Помещают пробирки на водяную баню при температуре (30 ± 1) °С на 45 мин и перемешивают на встряхивателе каждые 15 мин в течение всего периода инкубирования.

10.2.1.2 Добавляют по 10 см<sup>3</sup> дистиллированной воды в пробирки, перемешивают на встряхивателе.

10.2.1.3 Помещают пробирки на водяную баню при температуре (100 ± 1) °С на 2 ч.

10.2.1.4 Охлаждают пробирки до температуры 20 °С и добавляют по 20 см<sup>3</sup> раствора гидроксида калия (см. 7.12).

10.2.1.5 Количественно переносят содержимое пробирок в мерные колбы вместимостью 100 см<sup>3</sup>, доводят объем до метки раствором ацетатного буфера (см. 7.10).

10.2.1.6 Переносят содержимое колб в полипропиленовые пробирки вместимостью 100 см<sup>3</sup> и центрифугируют при скорости вращения ротора 1500 мин<sup>-1</sup> в течение 10 мин.

10.2.1.7 Переносят 0,1 см<sup>3</sup> супернатанта в стеклянную пробирку вместимостью 25 см<sup>3</sup>, добавляют 0,1 см<sup>3</sup> раствора глюкан-1,3-β-глюкозидазы/β-глюкозидазы (см. 7.8), перемешивают на встряхивателе. Помещают пробирки на водяную баню при температуре (40 ± 1) °С на 60 мин.

10.2.1.8 В стеклянную пробирку вместимостью 25 см<sup>3</sup> вносят 0,2 см<sup>3</sup> раствора ацетатного буфера (см. 7.10) — «холостая проба».

10.2.1.9 В стеклянную пробирку вместимостью 25 см<sup>3</sup> вносят 0,1 см<sup>3</sup> раствора глюкозы (см. 7.13) и 0,1 см<sup>3</sup> раствора ацетатного буфера (см. 7.10).

10.2.1.10 В каждую пробирку (см. 10.2.1.7—10.2.1.9) добавляют по 3 см<sup>3</sup> раствора глюкозооксидазного реагента (см. 7.3). Помещают пробирки на водяную баню при температуре (40 ± 1) °С на 20 мин.

10.2.1.11 Измеряют оптическую плотность растворов исследуемой пробы и глюкозы (см. 10.2.1.7 и 10.2.1.9) против «холостой пробы» (см. 10.2.1.8) при длине волны 510 нм.

### 10.2.2 Определение α-глюкана

10.2.2.1 В две стеклянные пробирки вместимостью 25 см<sup>3</sup> вносят пробу массой (0,100 ± 0,001) г или осадок (см. 7.14.2), добавляют по 2 см<sup>3</sup> раствора гидроксида калия (см. 7.12), помещают в стеклянный стакан, наполненный дистиллированной водой температурой 4 °С и льдом. Стакан с пробирками помещают на магнитную мешалку при скорости 1000 об/мин на 20 мин.

10.2.2.2 Добавляют в пробирки по 8 см<sup>3</sup> раствора ацетатного буфера (см. 7.11), добавляют по 0,2 см<sup>3</sup> раствора смеси глюкан-1,4-α-глюкозидазы и α-глюкозидазы (см. 7.9), перемешивают на встряхивателе и помещают пробирку на водяную баню при температуре (40 ± 1) °С на 30 мин, периодически перемешивая (3—4 раза в течение времени инкубации).

10.2.2.3 Переносят содержимое пробирок в полипропиленовые пробирки вместимостью 20 см<sup>3</sup> и центрифугируют при скорости вращения ротора 1500 мин<sup>-1</sup> в течение 10 мин.

10.2.2.4 Переносят 0,1 см<sup>3</sup> супернатанта в стеклянную пробирку вместимостью 25 см<sup>3</sup>, добавляют 0,1 см<sup>3</sup> раствора ацетатного буфера (см. 7.10).

10.2.2.5 В стеклянную пробирку вместимостью 25 см<sup>3</sup> вносят 0,2 см<sup>3</sup> раствора ацетатного буфера (см. 7.10) — «холостая проба».

10.2.2.6 В стеклянную пробирку вместимостью 25 см<sup>3</sup> вносят 0,1 см<sup>3</sup> раствора глюкозы (см. 7.13) и 0,1 см<sup>3</sup> раствора ацетатного буфера (см. 7.10).

10.2.2.7 В каждую пробирку (см. 10.2.2.4—10.2.2.6) добавляют по 3 см<sup>3</sup> раствора глюкозооксидазного реагента. Помещают пробирки на водяную баню при температуре (40 ± 1) °С на 20 мин.

10.2.2.8 Измеряют оптическую плотность растворов исследуемой пробы и глюкозы (см. 10.2.2.4 и 10.2.2.6) против «холостой пробы» (см. 10.2.2.5) при длине волны 510 нм.

**П р и м е ч а н и е** — Растворы исследуемых образцов с содержанием α-глюкана свыше 10 % будут иметь значение оптической плотности больше, чем значение оптической плотности у раствора глюкозы. В этом случае проводят повторный анализ исследуемого образца, повторяют процедуры, описанные в 10.2.2.1—10.2.2.3: «Количественно переносят содержимое пробирок в мерные колбы вместимостью 100 см<sup>3</sup>, доводят объем до метки дистиллированной водой. Переносят содержимое колб в полипропиленовые пробирки вместимостью 100 см<sup>3</sup> и центрифугируют при скорости вращения ротора 1500 мин<sup>-1</sup> в течение 10 мин». Затем повторяют 10.2.2.4—10.2.2.8.

## 11 Обработка результатов измерений

### 11.1 Метод определения (1→3)(1→4)-β-D-глюкана в специализированной пищевой продукции растительного происхождения

Массовую долю (1→3)(1→4)-β-D-глюкана β-GI, %, вычисляют по формуле

$$\beta\text{-GI} = \frac{\Delta A \cdot F \cdot 94 \cdot 10^{-3}}{m} \cdot \frac{162}{180} \cdot 100, \quad (1)$$

где ΔA — разница в оптической плотности анализируемой пробы, обработанной раствором β-глюкозидазы и без, вычисляют по формуле

$$\Delta A = A_1 - A_2, \quad (2)$$

где A<sub>1</sub> — оптическая плотность анализируемой пробы с воздействием на него раствора β-глюкозидазы;

A<sub>2</sub> — оптическая плотность анализируемой пробы без обработки раствором β-глюкозидазы;

F — коэффициент перевода оптической плотности раствора глюкозы в микрограммы вычисляют по формуле

$$F = \frac{A_G}{100}, \quad (3)$$

где A<sub>G</sub> — оптическая плотность раствора глюкозы;

100 — масса глюкозы в растворе, мкг;

94 — поправочный коэффициент (0,1 см<sup>3</sup> от общего объема раствора 9,4 см<sup>3</sup> анализируемой пробы проанализировано);

10<sup>-3</sup> — коэффициент перевода из микрограммов в миллиграммы;

m — масса анализируемой пробы, мг;

$\frac{162}{180}$  — поправочный коэффициент для свободной безводной глюкозы;

100 — коэффициент для перевода в проценты.

### 11.2 Метод определения (1→3)(1→6)-β-D-глюкана в специализированной пищевой продукции микробиологического происхождения

11.2.1 Массовую долю общего глюкана GI, %, вычисляют по формуле

$$GI = \frac{A \cdot F \cdot 10^{-3}}{m} \cdot \frac{100}{Q_1} \cdot \frac{162}{180} \cdot 100, \quad (4)$$

где A — оптическая плотность анализируемой пробы;

F — коэффициент перевода оптической плотности раствора глюкозы в микрограммы рассчитывают по формуле (3);

10<sup>-3</sup> — коэффициент перевода из микрограммов в миллиграммы;

m — масса анализируемой пробы, мг;

$\frac{100}{Q_1}$  — поправочный коэффициент (0,1 см<sup>3</sup> от общего объема раствора 100 см<sup>3</sup> анализируемой пробы проанализировано);

$\frac{162}{180}$  — поправочный коэффициент для свободной безводной глюкозы;

100 — коэффициент для перевода в проценты.

11.2.2 Массовую долю  $\alpha$ -глюкана  $\alpha$ -GI, %, в пробах с массовой долей  $\alpha$ -глюкана более 10 % вычисляют по формуле

$$\alpha\text{-GI} = \frac{A \cdot F \cdot 10^{-3}}{m} \cdot \frac{100}{Q_1} \cdot \frac{162}{180} \cdot 100, \quad (5)$$

где  $A$  — оптическая плотность анализируемой пробы;

$F$  — коэффициент перевода оптической плотности раствора глюкозы в микрограммы рассчитывают по формуле (3);

$10^{-3}$  — коэффициент перевода из микрограммов в миллиграммы;

$m$  — масса анализируемой пробы, мг;

$\frac{100}{Q_1}$  — поправочный коэффициент (0,1 см<sup>3</sup> от общего объема раствора 100 см<sup>3</sup> анализируемой пробы проанализировано);

$\frac{162}{180}$  — поправочный коэффициент для свободной безводной глюкозы;

100 — коэффициент для перевода в проценты.

11.2.3 Массовую долю  $\alpha$ -глюкана  $\alpha$ -GI, %, в образцах с массовой долей  $\alpha$ -глюкана менее 10 % вычисляют по формуле

$$\alpha\text{-GI} = \frac{A \cdot F \cdot 103 \cdot 10^{-3}}{m} \cdot \frac{162}{180} \cdot 100, \quad (6)$$

где  $A$  — оптическая плотность анализируемого образца;

$F$  — коэффициент перевода оптической плотности раствора глюкозы в микрограммы, рассчитывают по формуле (3);

103 — поправочный коэффициент (0,1 см<sup>3</sup> от общего объема раствора 10,3 см<sup>3</sup> анализируемой пробы проанализировано);

$10^{-3}$  — коэффициент перевода из микрограммов в миллиграммы;

$m$  — масса анализируемого образца, мг;

$\frac{162}{180}$  — поправочный коэффициент для свободной безводной глюкозы;

100 — коэффициент для перевода в проценты.

11.2.4 Массовую долю (1→3)(1→6)- $\beta$ -D-глюкана  $\beta$ -GI, %, вычисляют по формуле

$$\beta\text{-GI} = \text{GI} - \alpha\text{-GI}. \quad (7)$$

11.3 Массовую долю (1→3)(1→4)- $\beta$ -D-глюкана и (1→3)(1→6)- $\beta$ -D-глюкана на сухое вещество  $\beta\text{-GI}_{\text{сух}}$ , %, вычисляют по формуле

$$\beta\text{-GI}_{\text{сух}} = \frac{\beta\text{-GI} \cdot 100}{x}, \quad (8)$$

где  $\beta\text{-GI}$  — массовая доля  $\beta$ -глюкана в специализированной пищевой продукции, %;

100 — коэффициент для перевода в проценты;

$x$  — массовая доля сухого вещества, %, вычисляют по формуле

$$x = 100 - w, \quad (9)$$

где  $w$  — влажность специализированного пищевого продукта, %.

## 12 Контроль точности результатов измерений

При соблюдении всех регламентируемых условий и проведении определения массовой доли (1→3)(1→4)-β-D-глюкана и (1→3)(1→6)-β-D-глюкана в пищевой специализированной продукции в точном соответствии с настоящим стандартом, значения погрешности (и ее составляющих) результатов измерений не превышают значений, приведенных в таблице 1.

Таблица 1

Показатель	(1 →3)(1 →4)-β-D-глюкан	(1 →3)(1 →6)-β-D-глюкан
Показатель точности (границы относительной погрешности) ± δ, % β-GI	8,4	5,6
Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости) σ <sub>r</sub> , % β-GI	0,7	1,1
Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости) σ <sub>R</sub> , % β-GI	2,7	2,5
Предел повторяемости (относительное значение допустимого расхождения между двумя результатами параллельных определений) r, % β-GI	1,8	3,1
Предел воспроизводимости (относительное значение допустимого расхождения между двумя результатами измерений, полученных в разных лабораториях) R, % β-GI	7,4	6,9

Контроль качества результатов измерения в лаборатории при реализации методов осуществляют по ГОСТ Р ИСО 5725-6, используя контроль стабильности среднеквадратического (стандартного) отклонения промежуточной прецизионности и показателя правильности.

Периодичность контроля стабильности результатов выполняемых измерений регламентируют в Руководстве по качеству лаборатории, разработанном в соответствии с ГОСТ ИСО/МЭК 17025.

## 13 Оформление результатов измерений

13.1 За окончательный результат принимают среднеарифметическое значение двух параллельных определений массовой доли β-глюкана, выполненных в условиях повторяемости, если выполняется условие приемлемости

$$|X_1 - X_2| \leq 0,01 \cdot r \cdot X, \quad (10)$$

где  $X_1$  и  $X_2$  — результаты двух параллельных определений, выполненных в условиях повторяемости, %;

$r$  — предел повторяемости (сходимости), % β-GI (см. таблицу 1);

$X$  — среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, %.

Если условие (10) не выполняется, выясняют причины превышения предела повторяемости, устраняют их и повторяют измерения.

13.2 Приемлемость результатов определений, полученных в двух лабораториях, оценивают сравнением разности этих результатов по абсолютной величине со значением предела воспроизводимости

$$|X_3 - X_4| \leq 0,01 \cdot R \cdot X, \quad (11)$$

где  $X_3$  и  $X_4$  — результаты двух определений, выполненных в условиях воспроизводимости, %;

$R$  — предел воспроизводимости, %  $\beta$ -GI (см. таблицу 1);

$X$  — среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, %.

Если предел воспроизводимости не превышен, то приемлемы оба результата измерений, полученные двумя лабораториями. За окончательный результат принимают их среднеарифметическое значение. Если предел превышен, то выполняют процедуры в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-6.

13.3 Результат определений массовой доли  $\beta$ -глюкана в специализированной пищевой продукции представляют в виде

$$X \pm \Delta, \text{ при } P = 0,95,$$

где  $X$  — среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, %;

$\Delta$  — значение границ абсолютной погрешности определений, %, вычисляют по формуле

$$\Delta = 0,01 \cdot \delta \cdot X, \quad (12)$$

где  $\delta$  — границы относительной погрешности результата определений, %  $\beta$ -GI (см. таблицу 1).

**Библиография**

- [1] Номенклатура ферментов /под ред. А.Е. Браунштейна, пер. с англ.// М., 1979



УДК 543.9:637.072:006.354

ОКС 67.050

ОКПД 2 10.89.19

Ключевые слова: продукция пищевая специализированная, специализированная пищевая продукция растительного происхождения, специализированная пищевая продукция микробиологического происхождения,  $\beta$ -глюканы, ферментативный гидролиз, глюкозооксидазный реагент, глюкан 1,4- $\alpha$ -глюкозидаза,  $\alpha$ -глюкозидаза,  $\beta$ -глюкозидаза, глюкан 1,3- $\beta$ -глюкозидаза, пихениназа

---

**БЗ 8—2017/247**

Редактор *Л.С. Зимилова*  
Технический редактор *И.Е. Черелкова*  
Корректор *Ю.М. Прокофьева*  
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Сдано в набор 04.07.2017. Подписано в печать 27.07.2017. Формат 60 × 84  $\frac{1}{8}$ . Гарнитура Ариал.  
Усл. печ. л. 2,32. Уч.-изд. л. 2,10. Тираж 26 экз. Зак. 1230.  
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

---

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123001 Москва, Гранатный пер., 4.  
[www.gostinfo.ru](http://www.gostinfo.ru) [info@gostinfo.ru](mailto:info@gostinfo.ru)