



# 中华人民共和国国家标准

GB 5009.88—2014

---

## 食品安全国家标准 食品中膳食纤维的测定

2015-09-21 发布

2016-03-21 实施

---

中华人民共和国  
国家卫生和计划生育委员会 发布

## 前 言

本标准代替 GB/T 5009.88—2008《食品中膳食纤维的测定》，部分代替 GB/T 22224—2008《食品中膳食纤维的测定 酶重量法和酶重量法-液相色谱法》。

本标准与 GB/T 5009.88—2008 相比，主要变化如下：

- 标准名称修改为“食品安全国家标准 食品中膳食纤维的测定”；
- 修改了方法适用范围；
- 增加了膳食纤维、总膳食纤维、不溶性膳食纤维、可溶性膳食纤维的定义；
- 删除了中性洗涤剂法；
- 修改了总膳食纤维计算公式；
- 添加了当食品中含有低分子质量可溶性膳食纤维时总膳食纤维计算方法的注释。

本标准与 GB/T 22224—2008 相比，主要变化如下：

- 整合了第一法 酶重量法。

# 食品安全国家标准

## 食品中膳食纤维的测定

### 1 范围

本标准规定了食品中膳食纤维的测定方法(酶重量法)。

本标准适用于所有植物性食品及其制品中总的、可溶性和不溶性膳食纤维的测定,但不包括低聚果糖、低聚半乳糖、聚葡萄糖、抗性麦芽糊精、抗性淀粉等膳食纤维组分。

### 2 术语和定义

#### 2.1 膳食纤维(DF)

不能被人体小肠消化吸收但具有健康意义的、植物中天然存在或通过提取/合成的、聚合度  $DP \geq 3$  的碳水化合物聚合物。包括纤维素、半纤维素、果胶及其他单体成分等。

#### 2.2 可溶性膳食纤维(SDF)

能溶于水的膳食纤维部分,包括低聚糖和部分不能消化的多聚糖等。

#### 2.3 不溶性膳食纤维(IDF)

不能溶于水的膳食纤维部分,包括木质素、纤维素、部分半纤维素等。

#### 2.4 总膳食纤维(TDF)

可溶性膳食纤维与不溶性膳食纤维之和。

### 3 原理

干燥试样经热稳定  $\alpha$ -淀粉酶、蛋白酶和葡萄糖苷酶酶解消化去除蛋白质和淀粉后,经乙醇沉淀、抽滤,残渣用乙醇和丙酮洗涤,干燥称量,即为总膳食纤维残渣。另取试样同样酶解,直接抽滤并用热水洗涤,残渣干燥称量,即得不溶性膳食纤维残渣;滤液用4倍体积的乙醇沉淀、抽滤、干燥称量,得可溶性膳食纤维残渣。扣除各类膳食纤维残渣中相应的蛋白质、灰分和试剂空白含量,即可计算出试样中总的、不溶性和可溶性膳食纤维含量。

本标准测定的总膳食纤维为不能被  $\alpha$ -淀粉酶、蛋白酶和葡萄糖苷酶酶解的碳水化合物聚合物,包括不溶性膳食纤维和能被乙醇沉淀的高分子质量可溶性膳食纤维,如纤维素、半纤维素、木质素、果胶、部分回生淀粉,及其他非淀粉多糖和美拉德反应产物等;不包括低分子质量(聚合度3~12)的可溶性膳食纤维,如低聚果糖、低聚半乳糖、聚葡萄糖、抗性麦芽糊精,以及抗性淀粉等。

### 4 试剂和材料

注:除非另有说明,本标准所用试剂均为分析纯,水为GB/T 6682规定的二级水。

## 4.1 试剂

- 4.1.1 95%乙醇( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ )。
- 4.1.2 丙酮( $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ )。
- 4.1.3 石油醚:沸程  $30\text{ }^\circ\text{C}\sim 60\text{ }^\circ\text{C}$ 。
- 4.1.4 氢氧化钠( $\text{NaOH}$ )。
- 4.1.5 重铬酸钾( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ )。
- 4.1.6 三羟甲基氨基甲烷( $\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}_3$ , TRIS)。
- 4.1.7 2-(*N*-吗啉代)乙烷磺酸( $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_4\text{S}\cdot\text{H}_2\text{O}$ , MES)。
- 4.1.8 冰乙酸( $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ )。
- 4.1.9 盐酸( $\text{HCl}$ )。
- 4.1.10 硫酸( $\text{H}_2\text{SO}_4$ )。
- 4.1.11 热稳定 $\alpha$ -淀粉酶液: CAS 9000-85-5, IUB 3.2.1.1,  $10\ 000\ \text{U/mL}\pm 1\ 000\ \text{U/mL}$ , 不得含丙三醇稳定剂, 于  $0\text{ }^\circ\text{C}\sim 5\text{ }^\circ\text{C}$  冰箱储存, 酶的活性测定及判定标准应符合附录 A 的要求。
- 4.1.12 蛋白酶液: CAS 9014-01-1, IUB 3.2.21.14,  $300\ \text{U/mL}\sim 400\ \text{U/mL}$ , 不得含丙三醇稳定剂, 于  $0\text{ }^\circ\text{C}\sim 5\text{ }^\circ\text{C}$  冰箱储存, 酶的活性测定及判定标准应符合附录 A 的要求。
- 4.1.13 淀粉葡萄糖苷酶液: CAS 9032-08-0, IUB 3.2.1.3,  $2\ 000\ \text{U/mL}\sim 3\ 300\ \text{U/mL}$ , 于  $0\text{ }^\circ\text{C}\sim 5\text{ }^\circ\text{C}$  储存, 酶的活性测定及判定标准应符合附录 A 的要求。
- 4.1.14 硅藻土: CAS 688 55-54-9。

## 4.2 试剂配制

- 4.2.1 乙醇溶液(85%, 体积分数): 取 895 mL 95%乙醇, 用水稀释并定容至 1 L, 混匀。
- 4.2.2 乙醇溶液(78%, 体积分数): 取 821 mL 95%乙醇, 用水稀释并定容至 1 L, 混匀。
- 4.2.3 氢氧化钠溶液(6 mol/L): 称取 24 g 氢氧化钠, 用水溶解至 100 mL, 混匀。
- 4.2.4 氢氧化钠溶液(1 mol/L): 称取 4 g 氢氧化钠, 用水溶解至 100 mL, 混匀。
- 4.2.5 盐酸溶液(1 mol/L): 取 8.33 mL 盐酸, 用水稀释至 100 mL, 混匀。
- 4.2.6 盐酸溶液(2 mol/L): 取 167 mL 盐酸, 用水稀释至 1 L, 混匀。
- 4.2.7 MES-TRIS 缓冲液(0.05 mol/L): 称取 19.52 g 2-(*N*-吗啉代)乙烷磺酸和 12.2 g 三羟甲基氨基甲烷, 用 1.7 L 水溶解, 根据室温用 6 mol/L 氢氧化钠溶液调 pH,  $20\text{ }^\circ\text{C}$  时调 pH 为 8.3,  $24\text{ }^\circ\text{C}$  时调 pH 为 8.2,  $28\text{ }^\circ\text{C}$  时调 pH 为 8.1;  $20\text{ }^\circ\text{C}\sim 28\text{ }^\circ\text{C}$  之间其他室温用插入法校正 pH。加水稀释至 2 L。
- 4.2.8 蛋白酶溶液: 用 0.05 mol/L MES-TRIS 缓冲液配成浓度为 50 mg/mL 的蛋白酶溶液, 使用前现配并于  $0\text{ }^\circ\text{C}\sim 5\text{ }^\circ\text{C}$  暂存。
- 4.2.9 酸洗硅藻土: 取 200 g 硅藻土于 600 mL 的 2 mol/L 盐酸溶液中, 浸泡过夜, 过滤, 用水洗至滤液为中性, 置于  $525\text{ }^\circ\text{C}\pm 5\text{ }^\circ\text{C}$  马弗炉中灼烧灰分后备用。
- 4.2.10 重铬酸钾洗液: 称取 100 g 重铬酸钾, 用 200 mL 水溶解, 加入 1 800 mL 浓硫酸混合。
- 4.2.11 乙酸溶液(3 mol/L): 取 172 mL 乙酸, 加入 700 mL 水, 混匀后用水定容至 1 L。

## 5 仪器和设备

- 5.1 高型无导流口烧杯: 400 mL 或 600 mL。
- 5.2 坩埚: 具粗面烧结玻璃板, 孔径  $40\ \mu\text{m}\sim 60\ \mu\text{m}$ 。清洗后的坩埚在马弗炉中  $525\text{ }^\circ\text{C}\pm 5\text{ }^\circ\text{C}$  灰化 6 h, 炉温降至  $130\text{ }^\circ\text{C}$  以下取出, 于重铬酸钾洗液中室温浸泡 2 h, 用水冲洗干净, 再用 15 mL 丙酮冲洗后风干。用前, 加入约 1.0 g 硅藻土,  $130\text{ }^\circ\text{C}$  烘干, 取出坩埚, 在干燥器中冷却约 1 h, 称量, 记录处理后坩埚质

量( $m_G$ ),精确到 0.1 mg。

5.3 真空抽滤装置:真空泵或有调节装置的抽吸器。备 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。

5.4 恒温振荡水浴箱:带自动计时器,控温范围室温 5 °C~100 °C,温度波动 $\pm 1$  °C。

5.5 分析天平:感量 0.1 mg 和 1 mg。

5.6 马弗炉:525 °C $\pm 5$  °C。

5.7 烘箱:130 °C $\pm 3$  °C。

5.8 干燥器:二氧化硅或同等的干燥剂。干燥剂每两周 130 °C $\pm 3$  °C 烘干过夜一次。

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

5.10 真空干燥箱:70 °C $\pm 1$  °C。

5.11 筛:筛板孔径 0.3 mm~0.5 mm。

## 6 分析步骤

### 6.1 试样制备

注:试样处理根据水分含量、脂肪含量和糖含量进行适当的处理及干燥,并粉碎、混匀过筛。

#### 6.1.1 脂肪含量 $< 10\%$ 的试样

若试样水分含量较低( $< 10\%$ ),取试样直接反复粉碎,至完全过筛。混匀,待用。

若试样水分含量较高( $\geq 10\%$ ),试样混匀后,称取适量试样( $m_C$ ,不少于 50 g),置于 70 °C $\pm 1$  °C 真空干燥箱内干燥至恒重。将干燥后试样转至干燥器中,待试样温度降到室温后称量( $m_D$ )。根据干燥前后试样质量,计算试样质量损失因子( $f$ )。干燥后试样反复粉碎至完全过筛,置于干燥器中待用。

注:若试样不宜加热,也可采取冷冻干燥法。

#### 6.1.2 脂肪含量 $\geq 10\%$ 的试样

试样需经脱脂处理。称取适量试样( $m_C$ ,不少于 50 g),置于漏斗中,按每克试样 25 mL 的比例加入石油醚进行冲洗,连续 3 次。脱脂后将试样混匀再按 6.1.1 进行干燥、称量( $m_D$ ),记录脱脂、干燥后试样质量损失因子( $f$ )。试样反复粉碎至完全过筛,置于干燥器中待用。

注:若试样脂肪含量未知,按先脱脂再干燥粉碎方法处理。

#### 6.1.3 糖含量 $\geq 5\%$ 的试样

试样需经脱糖处理。称取适量试样( $m_C$ ,不少于 50 g),置于漏斗中,按每克试样 10 mL 的比例用 85%乙醇溶液冲洗,弃乙醇溶液,连续 3 次。脱糖后将试样置于 40 °C 烘箱内干燥过夜,称量( $m_D$ ),记录脱糖、干燥后试样质量损失因子( $f$ )。干样反复粉碎至完全过筛,置于干燥器中待用。

### 6.2 酶解

6.2.1 准确称取双份试样( $m$ ),约 1 g(精确至 0.1 mg),双份试样质量差 $\leq 0.005$  g。将试样转置于 400 mL~600 mL 高脚烧杯中,加入 0.05 mol/L MES-TRIS 缓冲液 40 mL,用磁力搅拌直至试样完全分散在缓冲液中。同时制备两个空白样液与试样液进行同步操作,用于校正试剂对测定的影响。

注:搅拌均匀,避免试样结成团块,以防止试样酶解过程中不能与酶充分接触。

6.2.2 热稳定 $\alpha$ -淀粉酶酶解:向试样液中分别加入 50  $\mu$ L 热稳定 $\alpha$ -淀粉酶液缓慢搅拌,加盖铝箔,置于 95 °C~100 °C 恒温振荡水浴箱中持续振摇,当温度升至 95 °C 开始计时,通常反应 35 min。将烧杯取出,冷却至 60 °C,打开铝箔盖,用刮勺轻轻将附着于烧杯内壁的环状物以及烧杯底部的胶状物刮下,用

10 mL 水冲洗烧杯壁和刮勺。

注：如试样中抗性淀粉含量较高(>40%)，可延长热稳定 $\alpha$ -淀粉酶酶解时间至90 min，如必要也可另加入10 mL 二甲基亚砒帮助淀粉分散。

6.2.3 蛋白酶酶解：将试样液置于 $60\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴中，向每个烧杯加入100  $\mu\text{L}$ 蛋白酶溶液，盖上铝箔，开始计时，持续振摇，反应30 min。打开铝箔盖，边搅拌边加入5 mL 3 mol/L 乙酸溶液，控制试样温度保持在 $60\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。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 $4.5\pm 0.2$ 。

注：应在 $60\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时调pH，因为温度降低会使pH升高。同时注意进行空白样液的pH测定，保证空白样和试样液的pH一致。

6.2.4 淀粉葡萄糖苷酶酶解：边搅拌边加入100  $\mu\text{L}$ 淀粉葡萄糖苷酶液，盖上铝箔，继续于 $60\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴中持续振摇，反应30 min。

## 6.3 测定

### 6.3.1 总膳食纤维(TDF)测定

6.3.1.1 沉淀：向每份试样酶解液中，按乙醇与试样液体积比4:1的比例加入预热至 $60\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的95%乙醇(预热后体积约为225 mL)，取出烧杯，盖上铝箔，于室温条件下沉淀1 h。

6.3.1.2 抽滤：取已加入硅藻土并干燥称量的坩埚，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。

6.3.1.3 洗涤：分别用78%乙醇15 mL 洗涤残渣2次，用95%乙醇15 mL 洗涤残渣2次，丙酮15 mL 洗涤残渣2次，抽滤去除洗涤液后，将坩埚连同残渣在 $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘干过夜。将坩埚置干燥器中冷却1 h，称量( $m_{\text{GR}}$ ，包括处理后坩埚质量及残渣质量)，精确至0.1 mg。减去处理后坩埚质量，计算试样残渣质量( $m_{\text{R}}$ )。

6.3.1.4 蛋白质和灰分的测定：取2份试样残渣中的1份按GB 5009.5测定氮(N)含量，以6.25为换算系数，计算蛋白质质量( $m_{\text{P}}$ )；另1份试样测定灰分，即在 $525\text{ }^{\circ}\text{C}$ 灰化5 h，于干燥器中冷却，精确称量坩埚总质量(精确至0.1 mg)，减去处理后坩埚质量，计算灰分质量( $m_{\text{A}}$ )。

### 6.3.2 不溶性膳食纤维(IDF)测定

6.3.2.1 按6.1称取试样、按6.2酶解。

6.3.2.2 抽滤洗涤：取已处理的坩埚，用3 mL 水润湿硅藻土并展平，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 $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 热水10 mL 洗涤2次，收集合并滤液，转移至另一600 mL 高脚烧杯中，备测可溶性膳食纤维。残渣按6.3.1.3洗涤、干燥、称量，记录残渣重量。

6.3.2.3 按6.3.1.4测定蛋白质和灰分。

### 6.3.3 可溶性膳食纤维(SDF)测定

6.3.3.1 计算滤液体积：收集不溶性膳食纤维抽滤产生的滤液，至已预先称量的600 mL 高脚烧杯中，通过称量“烧杯+滤液”总质重，扣除烧杯质量的方法估算滤液体积。

6.3.3.2 沉淀：按滤液体积加入4倍量预热至 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的95%乙醇，室温下沉淀1 h。以下测定按总膳食纤维测定步骤6.3.1.2~6.3.1.4进行。

## 6.4 分析结果的表述

TDF、IDF、SDF均按式(1)~式(4)计算。

试剂空白质量按式(1)计算：

$$m_B = \bar{m}_{BR} - m_{BP} - m_{BA} \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中：

- $m_B$  —— 试剂空白质量,单位为克(g);  
 $\bar{m}_{BR}$  —— 双份试剂空白残渣质量均值,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)。

试样中膳食纤维的含量按式(2)~式(4)计算：

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

$$X = \frac{\bar{m}_R - m_P - m_A - m_B}{\bar{m} \times f} \times 100 \quad \dots\dots\dots(3)$$

$$f = \frac{m_C}{m_D} \quad \dots\dots\dots(4)$$

式中：

- $m_R$  —— 试样残渣质量,单位为克(g);  
 $m_{GR}$  —— 处理后坩埚质量及残渣质量,单位为克(g);  
 $m_G$  —— 处理后坩埚质量,单位为克(g);  
 $X$  —— 试样中膳食纤维的含量,单位为克每百克(g/100 g);  
 $\bar{m}_R$  —— 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);  
 $\bar{m}$  —— 双份试样取样质量均值,单位为克(g);  
 $f$  —— 试样制备时因干燥、脱脂、脱糖导致质量变化的校正因子;  
100 —— 换算稀释;  
 $m_C$  —— 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)。

注1: 如果试样没有经过干燥、脱脂、脱糖等处理,  $f=1$ 。

注2: TDF的测定可以按照6.3.1进行独立检测,也可分别按照6.3.2和6.3.3测定IDF和SDF,根据公式计算,  $TDF = IDF + SDF$ 。

注3: 当试样中添加了抗性淀粉、抗性麦芽糊精、低聚果糖、低聚半乳糖、聚葡萄糖等符合膳食纤维定义却无法通过酶重量法检出的成分时,宜采用适宜方法测定相应的单体成分,总膳食纤维可采用如下公式计算:

$$\text{总膳食纤维} = \text{TDF(酶重量法)} + \text{单体成分}$$

以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示,结果保留三位有效数字。

## 6.5 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的10%。

## 附录 A

## 热稳定淀粉酶、蛋白酶、淀粉葡萄糖苷酶的活性要求及判定标准

## A.1 酶活性要求

## A.1.1 热稳定淀粉酶

A.1.1.1 以淀粉为底物用 *Nelson/Somogyi* 还原糖测试的淀粉酶活性:10 000 U/mL+1 000 U/mL。1 U表示在 40 °C,pH 6.5 环境下,每分钟释放 1  $\mu$ mol 还原糖所需要的酶量。

A.1.1.2 以对硝基苯基麦芽糖为底物测试的淀粉酶活性:3 000 Ceralpha U/mL+300 Ceralpha U/mL。1 CeralphaU表示在 40 °C,pH 6.5 环境下,每分钟释放 1  $\mu$ mol 对硝基苯基所需要的酶量。

## A.1.2 蛋白酶

A.1.2.1 以酪蛋白为底物测试的蛋白酶活性:300 U/mL~400 U/mL。1 U表示在 40 °C,pH 8.0 环境下,每分钟从可溶性酪蛋白中水解出可溶于三氯乙酸的 1  $\mu$ mol 酪氨酸所需要的酶量。

A.1.2.2 以酪蛋白为底物采用 Folin-Ciocalteu 显色法测试的蛋白酶活性:7 U/mg~15 U/mg。1 U表示在 37 °C,pH 7.5 环境下,每分钟从酪蛋白中水解得到相当于 1.0  $\mu$ mol 酪氨酸在显色反应中所引起的颜色变化所需要的酶量。

A.1.2.3 以偶氮-酪蛋白测试的内肽酶活性:300 U/mL~400 U/mL。1 U表示在 40 °C,pH 8.0 环境下,每分钟从可溶性酪蛋白中水解出 1  $\mu$ mol 酪氨酸所需要的酶量。

## A.1.3 淀粉葡萄糖苷酶

A.1.3.1 以淀粉/葡萄糖氧化酶-过氧化物酶法测试的淀粉葡萄糖苷酶活性:2 000 U/mL~3 300 U/mL。1 U表示在40 °C,pH 4.5 环境下,每分钟释放 1  $\mu$ mol 葡萄糖所需要的酶量。

A.1.3.2 以对-硝基苯基- $\beta$ -麦芽糖苷(PNPBM)法测试的淀粉葡萄糖苷酶活性:130 PNP U/mL~200 PNP U/mL。1 PNP U表示在 40 °C且有过量  $\beta$ -葡萄糖苷酶存在的环境下,每分钟从对-硝基苯基- $\beta$ -麦芽糖苷释放 1  $\mu$ mol 对-硝基苯基所需要的酶量。

## A.2 酶干扰

市售热稳定  $\alpha$ -淀粉酶、蛋白酶一般不易受到其他酶的干扰,蛋白酶制备时可能会混入极低含量的  $\beta$ -葡聚糖酶,但不会影响总膳食纤维测定。本方法中淀粉葡萄糖苷酶易受污染,是活性易受干扰的酶。淀粉葡萄糖苷酶的主要污染物为内纤维素酶,能够导致燕麦或大麦中  $\beta$ -葡聚糖内部混合键解聚。淀粉葡萄糖苷酶是否受内纤维素酶的污染很容易检测。

## A.3 判定标准

当酶的生产批次改变或最长使用间隔超过 6 个月时,应按表 A.1 所列标准物进行校准,以确保所使用的酶达到预期的活性,不受其他酶的干扰。

表 A.1 酶活性测定标准

底物标准	测试活性	标准质量 g	预期回收率 %
柑橘果胶	果胶酶	0.1~0.2	95~100
阿拉伯半乳聚糖	半纤维素酶	0.1~0.2	95~100
$\beta$ -葡聚糖	$\beta$ -葡聚糖酶	0.1~0.2	95~100
小麦淀粉	$\alpha$ -淀粉酶+淀粉葡萄糖苷酶	1.0	<1
玉米淀粉	$\alpha$ -淀粉酶+淀粉葡萄糖苷酶	1.0	<1
酪蛋白	蛋白酶	0.3	<1