

ГОСТ Р 51198—98  
(ИСО 4134—78)

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

---

## МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

### Метод определения L-(+)-глутаминовой кислоты

Издание официальное



Москва  
Стандартинформ  
2010

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Московской государственной академией пищевых производств

ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 335 «Методы испытаний агропромышленной продукции на безопасность»

2 ПРИНЯТ И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Госстандарта России от 28 августа 1998 г. № 336

3 Настоящий стандарт представляет собой аутентичный текст международного стандарта ИСО 4134—78 «Мясо и мясные продукты. Определение содержания L-(+)-глутаминовой кислоты» с дополнительными требованиями, отражающими потребности экономики страны (2, 4, 6.6, 6.8, 6.12, 6.13, 7.1 и 9.1)

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

5 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Январь 2010 г.

© ИПК Издательство стандартов, 1998  
© СТАНДАРТИНФОРМ, 2010

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

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

Метод определения L-(+)-глутаминовой кислоты

Meat and meat products.  
Method for determination of L-(+)-glytamic acid content

Дата введения 2000—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на мясо и мясные продукты и устанавливает метод определения L-(+)-глутаминовой кислоты.

2 Нормативные ссылки

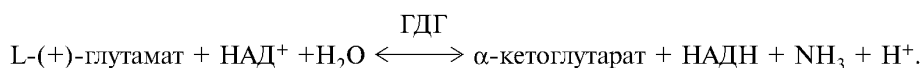
ГОСТ 9793—74 Продукты мясные. Методы определения влаги  
ГОСТ Р 51447—99 (ИСО 3100-1—91) Мясо и мясные продукты. Методы отбора проб

3 Определение

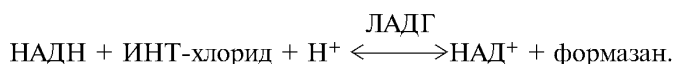
Массовая доля L-(+)-глутаминовой кислоты — массовая доля L-(+)-глутаминовой кислоты, определенная в соответствии с настоящим стандартом и выраженная в процентах.

4 Сущность метода

L-(+)-глутаминовую кислоту экстрагируют из пробы продукта, взятой на испытание, ледяным раствором хлорной кислоты. Смесь центрифугируют, фильтруют и доводят активную кислотность фильтрата до требуемого значения. Проводят ферментативное преобразование L-(+)-глутамата в  $\alpha$ -кетоглутарат в ходе реакции с никотинамидадениндинуклеотидом (НАД) в присутствии глутамат-дегидрогеназы (ГДГ):



Затем окисляют эквивалентное количество восстановленной формы НАДН хлоридом йодонитротетразолия (ИНТ) в присутствии липоаминдегидрогеназы (ЛАДГ):



Измеряют массовую долю образовавшегося формазана на спектрофотометре при длине волны 492 нм.

5 Реактивы

Все реактивы должны быть аналитического качества (не ниже х. ч.). Все растворы, кроме растворов неорганических соединений (5.1 и 5.2), должны храниться в закрытой посуде из темного стекла, тщательно вымытой и пропаренной или стерилизованной.

Вода, используемая для приготовления растворов ферментов, должна быть деминерализованной или бидистиллированной, полученной в стеклянном дистилляторе.

Вода, используемая для приготовления растворов химических реагентов и подготовки проб, должна быть дистиллированной или деминерализованной.

**П р и м е ч а н и е** — Однократно дистиллированная вода может содержать ионы металлов, которые снижают активность ферментов, а деминерализованная вода может содержать микроорганизмы, увеличивающие неспецифическую фоновую ферментативную активность и искажающие результаты анализа.

Препарат НАД должен содержать не менее 90 % основного вещества.

L-(+)-глутаминовая кислота должна содержать не менее 98 % основного вещества.

Допускается использовать имеющиеся в продаже готовые наборы реактивов при условии соответствия качества реактивов требованиям настоящего стандарта.

#### **5.1 Раствор хлорной кислоты с (НСЮ<sub>4</sub>) = 1,0 моль/дм<sup>3</sup>**

8,6 см<sup>3</sup> раствора хлорной кислоты массовой доли 70 % и плотности 1,67 г/см<sup>3</sup> помещают в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> и доводят объем раствора до метки водой.

**П р и м е ч а н и е** — При использовании хлорной кислоты меньшей массовой доли проводят перерасчет объема кислоты, используемой для осаждения белков.

#### **5.2 Раствор гидроксида калия с (КОН) = 2 моль/дм<sup>3</sup>**

Растворяют 56,1 г гидроксида калия (КОН) в воде, доводят объем раствора до 500 см<sup>3</sup>.

#### **5.3 Буферный раствор активной кислотности 8,6 рН**

5.3.1 Растворяют 1,86 г гидрохлорида триэтанолamina в воде, доводят активную кислотность раствора до 8,6 рН раствором гидроксида калия (5.2), используя для измерений рН-метр. Затем добавляют 0,68 г октилфенолдекаэтиленгликолевого эфира (например, Тритон X = 100) и доводят объем раствора до 100 см<sup>3</sup> водой.

5.3.2 Растворяют 0,86 г двузамещенного фосфорнокислого калия (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) и 0,007 г однозамещенного фосфорнокислого калия (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) в воде и доводят объем раствора до 100 см<sup>3</sup>.

5.3.3 Смешивают 20 см<sup>3</sup> раствора по 5.3.1 и 5 см<sup>3</sup> раствора по 5.3.2.

Раствор хранят при температуре 4 °С.

#### **5.4 Раствор НАД**

Навеску НАД массой 0,025 г растворяют в 5,0 см<sup>3</sup> воды в небольшой колбе со шлифом, колбу закрывают пробкой.

Раствор устойчив не менее 1 мес при температуре 4 °С.

#### **5.5 Раствор йодонитротетразолия [2-(p-йодофенил)-3-(p-нитрофенил)-5-фенилтетразолия] хлорида (ИНТ-хлорида)**

Растворяют 0,030 г ИНТ-хлорида в 50 см<sup>3</sup> воды, колбу закрывают пробкой.

Раствор устойчив не менее 2 мес при температуре 4 °С в темноте.

#### **5.6 Раствор ЛАДГ**

Растворяют 0,003 г лиофильно высушенной липоаминдегидрогеназы в 1 см<sup>3</sup> воды.

Раствор устойчив не менее трех недель при температуре 4 °С.

#### **5.7 Раствор ГДГ**

Используют раствор глутаматдегидрогеназы концентрации 10 мг/см<sup>3</sup>, свободный от сульфата аммония, этилендиамина тетрауксусной кислоты и глутаминазы, поставляемый в готовом виде (например, в расфасовке по 1,0 см<sup>3</sup>), удельной активностью не менее 900 Е/см<sup>3</sup>.

Раствор устойчив не менее 12 мес при температуре 4 °С.

#### **5.8 Стандартный раствор L-(+)-глутаминовой кислоты**

Растворяют 0,050 г L-(+)-глутаминовой кислоты в 25 см<sup>3</sup> воды. Активную кислотность раствора устанавливают 7,0 рН раствором гидроксида калия (5.2), после чего доводят объем раствора до 50 см<sup>3</sup>.

Раствор хранят при температуре 4 °С и непосредственно перед использованием разводят водой в соотношении объемов 1 : 49.

## **6 Средства контроля и вспомогательные устройства**

Обычная лабораторная аппаратура, а также указанная в 6.1 — 6.11.

6.1 Мясорубка механическая лабораторная, снабженная перфорированной пластинкой с отверстиями диаметром не более 4 мм.

6.2 Миксер лабораторный.

6.3 Центрифуга лабораторная с пробирками вместимостью 50 или 100 см<sup>3</sup>.

6.4 Ионмер или рН-метр диапазоном измерений от 1 до 14 рН и допускаемой погрешностью ± 0,05 рН.

6.5 Фильтры бумажные гофрированные диаметром 15 см.

6.6 Колбы мерные вместимостью 100 и 250 см<sup>3</sup> и допускаемой относительной погрешностью  $\pm 0,2$  %.

6.7 Дозаторы пипеточные объемами доз 25, 50 и 100 см<sup>3</sup> и относительной погрешностью дозирования  $\pm 1$  %.

6.8 Пипетки градуированные вместимостью 0,05; 0,2; 0,5 и 2,5 см<sup>3</sup> и допускаемой относительной погрешностью  $\pm 1$  %.

6.9 Шпатели пластиковые или палочки стеклянные для перемешивания содержимого кюветы при проведении фотометрических измерений.

6.10 Спектрофотометр (фотометр) со следующими техническими характеристиками: спектральный интервал — не более 10 нм; интервал измерений оптической плотности — от 0,000 до 2,000; погрешность установки длины волны —  $\pm 3$  нм; среднее квадратическое отклонение случайной составляющей погрешности измерений — не более 0,15 %.

6.11 Кюветы фотометрические толщиной поглощающего слоя 10 мм.

6.12 Термометр жидкостный стеклянный с интервалом измерений от 0 до 100 °С, допускаемой погрешностью измерений  $\pm 2$  °С.

6.13 Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания 200 г и допускаемой погрешностью  $\pm 0,001$  г.

## 7 Порядок подготовки к проведению измерений

7.1 Отбор проб — по ГОСТ Р 51447.

7.2 Пробу массой не менее 200 г, полученную из репрезентативной выборки, хранят в условиях, предотвращающих порчу и изменение состава.

## 8 Порядок проведения измерений

### 8.1 Подготовка пробы к проведению измерений

Образец пробы гомогенизируют, дважды пропуская через мясорубку (6.1) и тщательно перемешивая.

Образец хранят не более 24 ч в заполненном доверху и герметически закрытом контейнере таким образом, чтобы предотвратить порчу или изменение состава.

### 8.2 Навеска для проведения анализа

Взвешивают приблизительно 50 г исследуемого образца с точностью до 10 мг и помещают навеску образца в лабораторный миксер (6.2).

### 8.3 Приготовление экстракта

8.3.1 К навеске образца в лабораторном миксере добавляют 100 см<sup>3</sup> охлажденного льдом раствора хлорной кислоты (5.1) и гомогенизируют.

8.3.2 Часть гомогенизата помещают в центрифужную пробирку и центрифугируют 10 мин при угловой скорости 3000 мин<sup>-1</sup>, затем, осторожно отодвинув слой жира, отфильтровывают супернатант через гофрированный бумажный фильтр (6.5) в коническую колбу вместимостью 200 см<sup>3</sup>. Первые 10 см<sup>3</sup> фильтрата выбрасывают.

8.3.3 50 см<sup>3</sup> подготовленного раствора, который может быть слегка мутным, переносят в стаканчик вместимостью 100 см<sup>3</sup> и доводят активную кислотность раствора до 10 pH раствором гидроксида калия (5.2).

8.3.4 Количественно переносят содержимое стаканчика в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> и доводят объем раствора до метки водой.

8.3.5 Раствор охлаждают в ледяной бане 20 мин и фильтруют через гофрированный бумажный фильтр (6.5), отбросив первые 10 см<sup>3</sup> фильтрата.

8.3.6 25 см<sup>3</sup> фильтрата переносят в мерную колбу вместимостью 250 см<sup>3</sup> и доводят объем фильтрата до метки водой.

Примечание — Объем фильтрата выбирают так, чтобы концентрация L-(+)-глутаминовой кислоты была приблизительно 0,030 г/дм<sup>3</sup>.

### 8.4 Определение

8.4.1 Температуру растворов по 5.3 и 8.3.6 доводят до 20—25 °С. Для проведения ферментативной реакции берут две фотометрические кюветы (6.11), в каждую из которых пипеточным дозатором (6.5) добавляют:

- 2,50 см<sup>3</sup> буферного раствора (5.3);
- 0,20 см<sup>3</sup> раствора НАД (5.4);

- 0,20 см<sup>3</sup> раствора ИНТ (5.5) и
- 0,05 см<sup>3</sup> раствора линоаминдегидрогеназа (5.6).

Затем в одну кювету вносят 0,50 см<sup>3</sup> экстракта (8.3.6), получая исследуемый раствор, а вторую — 0,50 см<sup>3</sup> воды, получая контрольный раствор.

Растворы в кюветах перемешивают пластиковыми шпателями или стеклянными палочками (6.9) и измеряют оптические плотности относительно воздуха при длине волны 492 нм:  $A_1$  — оптическая плотность исследуемого раствора,  $A_{1к}$  — оптическая плотность контрольного раствора.

Температура растворов должна быть от 20 до 25 °С.

8.4.2 В каждую кювету вносят по 0,05 см<sup>3</sup> раствора ГДГ (5.7) и тщательно смешивают с содержимым, используя шпатель или стеклянную палочку (6.9).

Растворы выдерживают 15 мин. Затем измеряют оптические плотности при длине волны 492 нм, повторяя измерения через каждые 2 мин до достижения постоянных значений.

Строят графики зависимости оптических плотностей растворов от времени и экстраполируют их на момент внесения фермента ГДГ (приложение А).

Получают экстраполированные значения оптических плотностей исследуемого ( $A_2$ ) и контрольного ( $A_{2к}$ ) растворов.

8.4.3 Определяют микромолярный коэффициент оптической плотности формазана, повторяя операции по 8.4.1 и 8.4.2, но заменяя 0,5 см<sup>3</sup> экстракта в первой фотометрической кювете на 0,5 см<sup>3</sup> стандартного раствора L-(+)-глутаминовой кислоты (5.8).

Получают следующие значения оптических плотностей:

- $A_1$  — стандартного раствора L-(+)-глутаминовой кислоты;
- $A_{1к}$  — контрольного раствора;
- $A_2$  — стандартного раствора L-(+)-глутаминовой кислоты;
- $A_{2к}$  — контрольного раствора.

8.5 Выполняют два параллельных определения в двух пробах из одного и того же образца (8.1).

## 9 Правила обработки результатов измерений

### 9.1 Метод расчета

Массовую долю L-(+)-глутаминовой кислоты в пробе  $X$ , %, вычисляют по формуле

$$X = \Delta A \times \frac{3,5 \times 147,1}{k \times 0,5 \times 1000} \times \frac{250}{1000} \times \frac{100}{V} \times \frac{(100 + \frac{M \times m}{100})}{50} \times \frac{100}{m} =$$

$$= 51,485 \times \frac{\Delta A}{k \times V \times m} \times (100 + \frac{M \times m}{100}),$$

где  $\Delta A = (A_2 - A_1) - (A_{2к} - A_{1к})$ ;

147,1 — молярная масса L-(+)-глутаминовой кислоты;

$M$  — массовая доля влаги в пробе, определенная по ГОСТ 9793;

$m$  — масса навески (8.2), г;

$V$  — объем фильтрага, взятый на определение (8.3.6), см<sup>3</sup>;

$k$  — микромолярный коэффициент оптической плотности формазана при длине волны 492 нм, см<sup>2</sup>/мкмоль, рассчитанный по формуле

$$k = \Delta A' \times \frac{3,5}{0,5} \times \frac{50}{1000} \times 147,1 - 51,485 \times \Delta A',$$

где  $\Delta A' = (A'_2 - A'_1) - (A'_{2к} - A'_{1к})$ .

За результат измерений принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений при условии выполнения 9.2.

Результат определяют с точностью 0,01 %.

### 9.2 Сходимость

Относительное расхождение результатов двух параллельных определений, выполненных в одной лаборатории, не должно превышать 10 % среднеарифметического значения.

## 10 Оформление результатов измерений

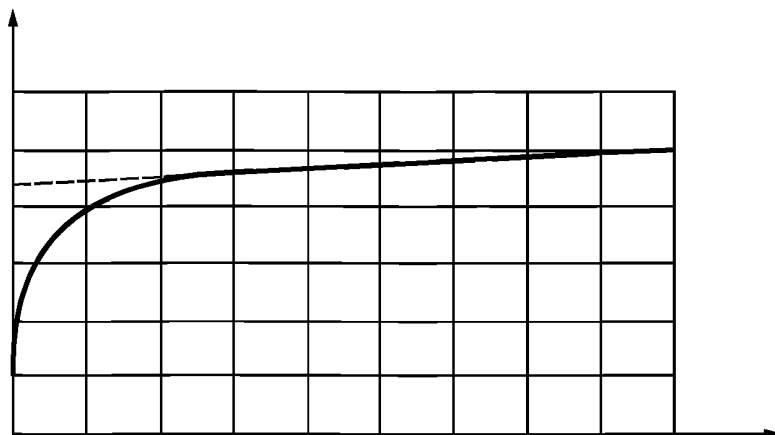
В отчете об испытании должны быть указаны:

- используемый метод;
- полученные результаты;
- любые условия проведения испытаний, не установленные данным стандартом и касающиеся подробностей, которые могут повлиять на конечный результат.

В отчете должны быть все данные, необходимые для полной идентификации пробы.

### ПРИЛОЖЕНИЕ А (справочное)

Пример построения графика зависимости  
оптической плотности раствора от времени



Ключевые слова: мясо, мясные продукты, химический анализ, определение массовой доли, органические кислоты, L-(+)-глутаминовая кислота

---