

Иранский институт стандартов и промышленных исследований

Стандарт № 6939



Мясо и мясные продукты

Измерение содержания крахмала и глюкозы ферментативным методом -
Метод испытаний

Первое издание

Ознакомление с Институтом стандартов и промышленных исследований Ирана

Иранский институт стандартов и промышленных исследований (ISIRI) в соответствии с законом является единственным официальным органом в стране, ответственным за определение, разработку и публикацию национальных стандартов.

Стандарты по различным направлениям разрабатываются техническими комиссиями, состоящими из экспертов института, экспертов научных, исследовательских, производственных и экономических центров и учреждений, обладающих соответствующими знаниями и опытом в данной области. Ставится задача обеспечения того, чтобы национальные стандарты соответствовали национальным интересам и потребностям, учитывали производственные, технические и технологические условия, и являлись результатом осознанного и справедливого участия всех заинтересованных сторон, включая: производителей, потребителей, торговцев, научные и специализированные центры, государственные учреждения и организации. Проекты национальных стандартов для общественного обсуждения направляются заинтересованным сторонам и членам соответствующих технических комиссий. После получения отзывов и предложений, они рассматриваются в соответствующем национальном комитете по направлению и в случае одобрения публикуются в качестве национального (официального) стандарта.

Проекты стандартов, подготовленные заинтересованными и компетентными учреждениями и организациями с соблюдением установленных нормативов, также после рассмотрения в соответствующем национальном комитете и в случае одобрения публикуются в качестве национальных стандартов.

Таким образом, национальными стандартами считаются те, которые разработаны на основе положений, изложенных в Национальном стандарте № (5), и утверждены соответствующим национальным комитетом, сформированным Институтом стандартов.

Иранский институт стандартов и промышленных исследований является одним из основных членов Международной организации по стандартизации и при разработке национальных стандартов учитывает общие условия и специфические потребности страны, используя при этом новейшие научные, технические и промышленные достижения в мире и международные стандарты.

Институт стандартов и промышленных исследований Ирана уполномочен, при соблюдении положений, предусмотренных законом, и с утверждения Высшего совета по стандартам, сделать соблюдение определенных стандартов

обязательным в целях защиты потребителей, поддержания здоровья и безопасности граждан и населения, обеспечения качества продукции, а также соблюдения экологических и экономических требований. Институт стандартов уполномочен в обязательном порядке вводить стандарты для экспортной продукции и её классификации с целью сохранения международных рынков сбыта для продукции страны. Кроме того, в целях обеспечения уверенности пользователей в услугах организаций и учреждений, работающих в сферах консалтинга, обучения, инспекции, аудита и сертификации систем менеджмента качества и экологического менеджмента, лабораторий и органов по калибровке измерительных приборов, Институт стандартов проводит оценку таких организаций на основе критериев Иранской системы аккредитации, выдает им при выполнении необходимых условий сертификат соответствия и осуществляет надзор за их деятельностью. Продвижение Международной системы единиц, калибровка измерительных приборов, определение пробы драгоценных металлов и проведение прикладных исследований для повышения уровня национальных стандартов также входят в число других задач данного Института.

Комиссия по стандартизации мяса и мясных продуктов-Измерение содержания крахмала и глюкозы ферментативным методом - Метод испытаний

Председатель комиссии	Представитель:
Абольфазл Камкар (доктор наук в области санитарии и контроля пищевых продуктов)	Тегеранский университет - Факультет ветеринарной медицины
Члены комиссии	
Бехзад Долатшахи (ветеринарный врач)	фабрика гамбургеров 202
Хормоз Заг (Биолог)	Эксперт
Хедаят Хоссейни, (доктор наук в области санитарии и контроля пищевых продуктов)	Министерство здравоохранения
Надия Никхо (Магистр биохимии)	Институт стандартов и промышленных исследований Ирана
Секретарь	
Хосров Баразнеган Магистр пищевой промышленности	Институт стандартов и промышленных исследований Ирана

Предисловие

Стандарт Мясо и мясные продукты - Измерение содержания крахмала и глюкозы ферментативным методом - Метод испытаний, который был подготовлен и разработан соответствующими техническими комиссиями и утвержден на 399-м заседании Национального комитета по стандартам пищевых продуктов и сельскохозяйственной продукции 22 декабря 2010 года, настоящим публикуется в качестве национального стандарта Ирана в соответствии с пунктом 1 статьи 3 Закона о пересмотре законов и нормативных актов Иранского института стандартов и промышленных исследований, принятого в феврале 1993 года.

Для обеспечения актуализации соответствия международным стандартам при необходимости стандарты пересматриваются, следовательно, всегда используется последняя версия стандарта.

Следовательно, при использовании иранских стандартов следует всегда руководствоваться их последними редакциями. В этих последних версиях стандартов учтены все обстоятельства и потребности населения страны, и одновременно соблюдена их координация со стандартами развитых стран.

Источник, использованный для разработки данного стандарта, указан ниже:

1- ISO 13965: 1998, meat and meat products – Determination of starch and glucose content - Enzymatic method, First edition

Мясо и мясные продукты - Измерение содержания крахмала и глюкозы ферментативным методом - Метод испытаний

1- Цель

Целью данного стандарта является установление метода измерения содержания безводного крахмала и глюкозы во всех видах мяса убойных животных, мяса птицы и продуктов из них ферментативным методом.

2- Область применения:

Настоящий стандарт применяется для определения содержания крахмала во всех видах мяса убойных животных, мяса птицы и продуктов из них. Данный метод подходит для количественного измерения содержания крахмала и глюкозы до уровня 0.3% (вес/вес).

3- Список необходимой литературы

Указанные ниже обязательные документы содержат положения, на которые даны ссылки в тексте настоящего стандарта. Эти положения считаются частью данного стандарта. Для документов с указанием даты публикации и/или пересмотра последующие поправки и пересмотры не применяются. Однако заинтересованным пользователям рекомендуется рассмотреть возможность применения последних редакций этих документов. Для документов без указания даты применяются последние издания указанных обязательных документов.

Для применения настоящего стандарта обязательно использование следующих документов:

- 1.Национальный стандарт Ирана 690: 2000 г. — Отбор проб - мяса и мясных продуктов.
- 2.Национальный стандарт Ирана 691: 1971 г. — Подготовка проб.
- 3.Национальный стандарт Ирана 1053: 1995 г. — Вода питьевая. Технические условия.
- 4.Национальный стандарт Ирана 1728: 2002 г. — Вода, используемая в аналитических лабораториях. Технические условия и методы испытаний.

4 - Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины и их определения:

4.1 Содержание крахмала в мясе и мясных продуктах

Количество крахмала, определяемое в соответствии с методом, изложенным в настоящем стандарте. Выражается в процентах по массе.

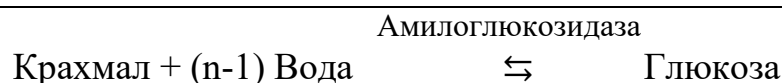
4.2 Содержание глюкозы в мясе и мясных продуктах

Количество глюкозы, определяемое в соответствии с методом, изложенным в настоящем стандарте. Выражается в процентах по массе.

5- Принцип метода

5-1 Метод заключается в гидролизе крахмала, содержащегося в пробе, с помощью фермента альфа-амилазы¹ и РН=5 в течение пятнадцати минут и последующем определении содержания крахмала с использованием следующих ферментативных реакций:

5-1-1 Растворенный крахмал гидролизуется с образованием глюкозы с использованием фермента амилоглюкозидазы² в соответствии со следующей реакцией:



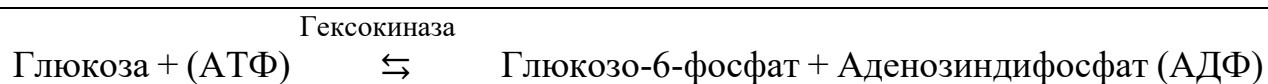
Примечание:

Для определения исходного содержания глюкозы данный этап исключается.

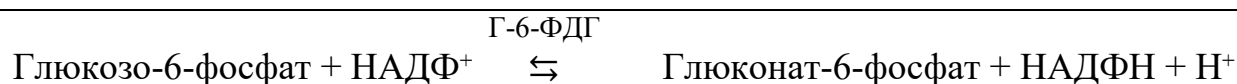
1-alpha - amylase

2- Amyloglucosidase (AGS)

5-1-2 Фосфорилирование³ глюкозы аденозинтрифосфатом (АТФ) с образованием глюкозо-6-фосфата под действием фермента Гексокиназы(ГК).



5-1-3 Окисление глюкозо-6-фосфата (Г-6-Ф) с помощью никотин амид аденин ди нуклеотидфосфата (НАДФ) до глюконат-6-фосфата под действием глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ)⁴:



5-1-4 Измерение количества, восстановленного никотин амид ди ниндинуклеотид фосфата (НАДФН) спектрофотометрическим методом при длине волны 340 нм.

6- Необходимые материалы

Используйте только реагенты с известной степенью разложения 3, если не указано иное.

6-1 Вода

Используемая вода должна обладать необходимой чистотой, и её характеристики должны соответствовать Иранскому национальному стандарту 1728: 2002 г.

6-2 Суспензия фермента альфа-амилазы

Ферментный раствор, приготовленный из термостойкой альфа-амилазы, полученной из бактерий рода *Bacillus licheniformis*.

6-3 Раствор гидроксида натрия, 5 моль/л

Растворите 200 граммов гидроксида натрия в дистиллированной воде, охладите до комнатной температуры и доведите объем до 1000 мл.

6-4 Раствор гидроксида натрия 0,5 моль/литр

Растворите 20 граммов гидроксида натрия в дистиллированной воде, охладите до комнатной температуры и доведите объем до 1000 мл.

6-5 Раствор сульфата аммония¹ 3,2 моль/ см³.

Растворить 20 г гидроксида натрия в воде. Разбавить до 1000 мл, и помешать.

6-6 Ацетатный буфер 0,1 моль/литр, РН = 5

Растворите 6,8 г ацетата натрия с тремя молекулами воды² в 400 мл воды и отрегулируйте РН раствора раствором соляной кислоты или гидроксида натрия до РН = 5, затем разбавьте водой до объёма 500 мл. Полученный раствор стабилен при температуре +4 °С в темноте не менее 3 месяцев.

6-7 Цитратный буфер 0,05 моль/литр, РН = 4,6

Растворите 440 г лимонной кислоты в одной молекуле воды³ и 850 мг тринатрийцитрата в двух молекулах воды⁴ в воде, доведите объём до 100 мл и перемешайте. При необходимости доведите рН раствора до 4,6, используя раствор гидроксида натрия или соляную кислоту.

Этот раствор стабилен при температуре 4°С в темноте не менее 3 месяцев.

6-8 Триэтаноламиновый буфер, с (три этанол амин) = 0,75 моль/ л, рН =7,6

Разбавить 14,0 гидрохлорид триэтаноламина⁵ и 0,25 г гептагидрат сульфата магния в 80 см³ воды⁶. Урегулировать рН с помощью рН-метра раствором гидроксидом натрия. Разбавить до 100 см³ и перемешать. Раствор допускается хранить в темном месте до 4 недель при температуре 4 °С.

1- (NH₄)₂ So₄

2- CH₃Co₂Na.3H₂O

3- C₆H₈O₇.H₂O

4- C₆H₅Na₃O₇ . 2H₂O

5- C₆H₁₅No₃. HCL

6- Mg So₄ . 7H₂O

6-9 Раствор никотинамид аденин динуклеотид фосфата¹ с концентрации 12.7×10^3 моль/л.

Растворите 100 мг динатриевой соли никотинамидадениндинуклеотидфосфата¹ в 10 мл воды и перемешайте. Допускается раствор хранить в темном месте до 4 недель при температуре 4 °С.

6-10 Раствор аденозин-5-трифосфата² с концентрацией³ 81×10^3 моль/л.

Растворите 500 мг аденозин-5-трифосфата с тремя молекулами воды и 500 мг безводного гидрокарбоната натрия³ в 10 мл воды, затем перемешайте. Допускается раствор хранить в темном месте до 4 недель при температуре 4 °С.

6-11 Амилоглюкозидаза (АГЗ)⁴

Представляет собой суспензию фермента в растворе сульфата аммония согласно пункту 6-5, плотность амилоглюкозидазы 10 мг/мл. Удельная активность фермента должна быть 14 ед/мг. Эта суспензия стабильна при температуре +4°С в темноте в течение одного года.

6-12 Гексокиназа⁵ (ГК; ЕС 2.7.1.1) и глюкоза б-фосфат дегидрогеназа (G-6-PDH; ЕС 1.1.1 49)

ферментативная суспензия в растворе сульфата аммония (см. 5.5), р(ГК) 2 мг/мл и р(G-6-PDH) 1 мг/мл. Раствор сульфата аммония согласно пункту (6-5). Удельная активность обоих ферментов должна составлять 140 единиц на миллиграмм.

Суспензия стабильна при температуре +4°С в течение одного года.

7- Аппаратура

7-1 Механическое или электрическое оборудование, гомогенизирующее образец.

Данное оборудование должно в чать высокоскоростной вращающей измельчающий аппарат, или дробитку с соответствующей пластиной отверстиями диаметром не более 4,00 мм.

1- Nicotin amide adenin- dinucleotide phosphate c (β - NADP- NO₂)

2- 5 – ATP- Na₂H₂ .3H₂O

3- Na H Co₃

4- (AGS , ЕС 3 . 2 . 1 . 3)

5- Hexokinase (НК , ЕС 2 . 7 . 1.1)

7-2 рН-метр (кислотный измеритель).

7-3 Гофрированная фильтровальная бумага, без содержания диаметром 15 см.

7-4 Пипетки, калиброванные, для ферментативного анализа или автопипетки соответствующего качества со следующими объемами: 20, 50, 100 и 200 мкл.

7-5 Маленькая пластмассовая лопаточка¹, смешивания содержимого кювета².

7-6 Водяная баня, обеспечивающая температуру $(60 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

7-7 Плита нагревательная.

7-8 Спектрометр, допускающий измерение при длине волны 340 нм.

Примечание: Если пригоден спектрометр, оснащенный ртутной паровой лампой, то снятие показаний может осуществляться при 365 нм и 334 нм. Коэффициент молекулярного поглощения k для НАДФ равняется $3,51 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ при 365 нм и $6,18 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ при 334 нм.

7-9 Кюветы, изготовленные из кварца или стекла, с крышечкой, или одноразовые кюветы разового пользования, изготовленные из полиметакрилат, оптической³ длины пути 10 мм.

8- Отбор проб

Отбор проб для этого метода должен осуществляться в соответствии с Иранским национальным стандартом 690 от 2005 года.

Примечание: Важно, чтобы лаборатория получила образец, действительно репрезентативный для данного образца, и чтобы образец не был поврежден или изменен во время транспортировки и хранения.

Примечание: Минимальный вес образца должен составлять 200 граммов, а хранение образца должно осуществляться таким образом, чтобы предотвратить порчу и изменение его состава.

1- Small plastic spatula

2- Cuvettes

3- Poly methacrylate

9- Подготовка образца к испытаниям

Образец необходимо гомогенизировать с помощью оборудования по (7-1). Температура материала образца не должна превышать 25 °С. При применении мясорубки, образец необходимо пропустить, по меньшей мере, дважды через нее. Наполнить подходящий воздухонепроницаемый контейнер подготовленным образцом. Хранить образец в герметично закупоренной до конца заполненной в контейнере, таким образом, чтобы избежать порчи и изменения состава. Анализировать образец по возможности сразу после гомогенизации, но не позднее чем через 24 часа.

10- Метод проведения контроля

Примечание: Мышечный гликоген, который возникает, как правило, в колбасах, не препятствуют при выполнении измерений. Мальтоза препятствует, потому что данный дисахарид подвергается гидролизу амилаглюкозидазой в глюкозу. Мальтоза (и глюкоза) может, следовательно, экстрагироваться из образца алкоголем.

10-1 Образец

Если испытательный образец содержит мальтозу, то удостоверьтесь, что содержание воды не превышает 20 % (вес-вес). По требованию высушить рабочую часть образца.

Взвесить 400 мг приготовленного рабочего образца (см. раздел 9) с точностью до 0,1 мг в центрифужной пробирке. Продолжать действия в соответствии с (10-2). Если образец не содержит мальтозы, то взвесить между 100 мг и 1,0 г приготовленного рабочего образца с точностью до 0,1 мг в 100 см³ мерной колбе. Добавить 30 см³ ацетатного буфера продолжать действия в соответствии с (10-3).

10- 2 Экстракция мальтозы и глюкозы

Промыть образец три раза 10 см³ 40 % (объем - объем) этанолом, промойте 3 раза, а потом центрифугируйте каждый раз. Слейте надосадочную жидкость и смешайте осадок в центрифужной пробирке с осадком на фильтре. Перенесите осадок в колбу Эрленмейера объемом 100 мл, используя четыре порции по 5 мл ацетатного буфера (пункт 6-6), затем добавьте 10 мл ацетатного буфера.

10-3 Приготовление экстракта

Используя микропипетку согласно пункту (7-4), добавьте 50 микролитров суспензии альфа-амилазы в колбу Эрленмейера, содержащую образец. Накройте горлышко колбы Эрленмейера алюминиевой фольгой и кипятите на

плитке в течение 15 минут. Встряхните колбу несколько раз в течение этого времени, затем поместите её на водяную баню с температурой 60 °С на 15 минут. Перелейте содержимое колбы Эрленмейера в мерную колбу объёмом 100 мл. Ополосните колбу тёплой водой и снова добавьте промывную воду в мерную колбу. Подождите, пока раствор остынет до комнатной температуры, и доведите до метки дистиллированной водой. Отфильтруйте нужный раствор и отбросьте первые несколько миллилитров и обработайте не менее 10 миллилитров извлеченного экстракта V_2 согласно пункту (10-4).

10- 4 определение количества

10-4-1 Приготовьте раствор контрольного реагента следующим образом:

Добавьте 200 микролитров ацетатного буферного раствора и 100 микролитров воды и поместите в кювету с лопаточкой., как описано в (7-9).

10-4-2 Приготовить испытательный раствор для определения содержания

глюкозы как приведено ниже.

Добавьте 200 микролитров ацетатного буферного раствора и 100 микролитров отфильтрованного экстрактного раствора V_2 во флакон со шпателем как описано в (10-3).

10-4-3 Приготовить раствор для определения содержания крахмала как приведено ниже.

Добавьте 200 микролитров ацетатного буферного раствора и 100 микролитров отфильтрованного экстрактного раствора V_2 во флакон со лопаточкой как описано в (10-3).

Если концентрация крахмала в растворе образца превышает 0,4 г/л, разбавьте его перед анализом.

10-4-4 Добавьте 20 мкл суспензии амилаглюкозидазы в стакан с раствором холостого реагента. Добавьте 20 мкл в стакан с раствором для анализа крахмала. Затем добавьте 20 мкл дистиллированной воды в стакан с раствором для анализа глюкозы.

Перемешайте содержимое обоих стаканов, вращая или перемещая шпатель сверху вниз. Закройте отверстия предметных стекол крышками или другими приспособлениями (например, парафиновыми пластинами). Поместите предметные стекла в водяную баню при температуре $(60 \pm 2) ^\circ\text{C}$. на 15 минут.

Вышеуказанная процедура с пипетками приведена в таблице 1:

Реактив	Реактивный исходный раствор, мкл	Испытательный раствор для определения содержания ГЛЮКОЗЫ, мкл	Испытательный раствор для определения содержания Крахмала, мкл
Цитратный буфер (пункт 6-7)	200	200	200
Экстракт образца (пункт 10-3)	-	100	100
Вода (пункт 6-1)	100	200	-
Суспензия АГЗ (11-6)	20	-	20

Объем экстракта образца, отмеренные в кювете, могут быть увеличены до 1,00 см³ водным раствором. При необходимости регулируют рН фильтрата до рН = 4 до рН=5. Таким образом снижая объем воды, добавленной к реакционной смеси по (10-4-5) получают конечный объем V₂, по (10-4-6).

10-4-5 Кювету охлаждают до температуры (22,5 ± 2,5) 0С. и очищают его наружную поверхность. Пипеткой (8-6) последовательно распределить во все кюветы с объемом 1,00 см³ триэтаноламинового буфера по (6-9), 0,1 см³ раствора НАДФ по (6-10), 0,1 см³ раствора АТФ по (6-10) и 1,50 см³ воды осторожно перемешивают вращением с помощью лопатки.

Снимают показания оптической плотности A₁, каждой кюветы при длине волны 340 им против воды по истечение 3 мин.

10-4-6 Распределить пипеткой по 6.4 последовательно во все кюветы по 0,02 см³ суспензии ГК/G-6-PDH по (6-12). Смешивают содержимое кювет движением лопаты вверх и вниз. Конечное значение кюветы I равняется 3,04 см³ (V₁).

Снимают показания оптической плотности A₂ при длине волны 340 им против воды по истечение 15 мин.

Примечание: Реакция, как правило, длиться в пределах от 5 мин до 10 мин. Если реакция не прекращается в течение вышеуказанного времени, повторить снятие показаний каждые 2 минут пока возрастание константы оптической плотности не будет обнаруживаться каждые 2 минут. Экстраполировать оптическую плотность во время добавления фермента ГК/G-6-PDH (например, см. рисунок 1.)

11- Обработка результатов

11-1 Содержание безводного крахмала

11-1-1 Разница оптической плотности

Разница оптической плотности вычисляют по формуле (1):

$$\Delta A_s = (A_{2s} - A_{1s}) - (A_{2g} - A_{1g}) - (A_{2b} - A_{1b}),$$

Где ΔA_s - разница оптической плотности из-за содержания крахмала;

A_{1b} - Оптическая плотность, измеренная в 10-4-5, реактивного исходного раствора;

A_{1g} - Оптическая плотность, измеренная в 10-4-5, испытательного раствора для определения глюкозы;

A_{1s} - Оптическая плотность, измеренная в 10-4-5, испытательного раствора для определения крахмала;

A_{2b} - Оптическая плотность, измеренная в 10-4-6, реактивного исходного раствора;

A_{2g} - Оптическая плотность, измеренная в 10-4-6, испытательного раствора для определения глюкозы;

A_{2s} - Оптическая плотность, измеренная в 9.4.6, испытательного раствора для определения крахмала;

11-1-2 Расчет содержания безводного крахмала вычисляют

Расчет содержания безводного крахмала вычисляют по формуле:

$$W_s = \frac{\Delta A_s \cdot M_{rgs} \cdot V_1 \cdot f \cdot 10}{d \cdot k \cdot m \cdot V_2 \cdot 1000 \cdot 10}$$

где:

W_s - численное значение содержания безводного крахмала, выраженное в процентном отношении, образца;

ΔA_s - разница оптической плотности, вычисленная по (11-1-1);

Mr_{gs} - Относительная молекулярная масса глюкозы в крахмале.

(Mr_{gs} = Mr_{glucose} - Mr_{water} = 162.1)

V₁ - Численное значение конечного значения, в мл, в кювете (V₁ = 3,04 см³);

f - Коэффициент разбавления;

d - Численное значение оптической длины пути, в сантиметрах, кюветы;

k - Численное значение молярного коэффициента поглощения, в литрах на миллимольный сантиметр, НАДФ (k = 6,30 при измерении при 340 нм);

m - численное значение массы, в граммах, рабочей части образца по (10-1);

V₂ - численное значение объема, в мл, добавленного экстракта образца по (10-4-3).

Полученные результаты округляют до двух знаков после запятой.

11-2 Содержание глюкозы

11.2.1 Разницу оптической плотности

Разницу оптической плотности вычисляют по формуле:

$$\Delta A_g = (A_{2g} - A_{1g}) - (A_{2b} - A_{1b})$$

Где:

ΔA_g - разница оптической плотности

A_{1b} - равна поглощению измеренного раствора контрольного реагента.

A_{1g} - Оптическая плотность, измеренная в (10-4-5), испытательного раствора

Для определения глюкозы;

A_{2b} - Оптическая плотность, измеренная в (10-4-5), реактивного исходного раствора;

A_{2g} - Оптическая плотность, измеренная в (10-4-5), испытательного раствора для определения глюкозы;

11-2-2 Расчет содержания глюкозы

Расчет содержания глюкозы вычисляют по формуле:

$$W_g = \frac{\Delta A_g \times M_{rgs} \times V_1 \times f \times 100}{d \times K \times m \times V_2 \times 1000 \times 10}$$

где:

W_g – численное значение содержание безводного глюкозы, выраженное в процентном отношении, образца;

ΔA_g – разница оптической плотности, вычисленная по (11-2-1);

M_{rgs} - молекулярная масса глюкозы ($M_{rg} = 180$)

V_1 – Численное значение конечного значения, в мл, в кювете ($V_1 = 3,04 \text{ см}^3$);

f - Коэффициент разбавления;

d - Численное значение оптической длины пути, в сантиметрах, кюветы;

k - Численное значение молярного коэффициента поглощения, в литрах на миллимольный сантиметр, НАДФ ($k = 6,30$ при измерении при 340 нм);

m - Численное значение массы, в граммах, рабочей части образца по (10-1);

V_2 - численное значение объема, в мл, добавленного экстракта образца по (10-4-2).

Полученные результаты округляют до двух знаков после запятой.

12-Точность

12-1 Повторяемость¹

12-1-1 Содержание безводного крахмала

Абсолютная разница между двумя независимыми единичными результатами испытания, полученные в результате применения такого же метода на идентичном испытательном материале с содержанием крахмала между 0,3 % и 0,4 % в такой же лаборатории таким же лаборантом с использованием такого же оборудования в коротком интервале времени, не превышающая более чем 5 % случаев, превышающие пределы повторяемости, которые вычисляются по следующей формуле:

$$r_s = 0,102 + 0,132 \times W_s$$

1- Repeatability

где:

r_s - численное значение предела повторяемости, которое выражено в процентном отношении массой, содержания безводного крахмала;

W_s - среднее значение двух результатов содержания безводного крахмала.

12-1-2 Содержание глюкозы

Абсолютная разница между двумя независимыми единичными результатами испытания, полученные в результате применения такого же метода на идентичном испытательном материале с содержанием крахмала между 0,3 % и 1,2 % в такой же лаборатории таким же лаборантом использованием такого же оборудования в коротком интервале времени, не превышающая более чем 5 % случаев, превышающие пределы повторяемости, которые вычисляются по формуле:

$$r_g = 0,197 + 0,070 \times \overline{w_g},$$

Где:

r_g - числовому значению предела повторяемости в массовых процентах для содержания глюкозы

W_g - Равно среднему значению двух результатов для содержания глюкозы.

12-2 Воспроизводимость¹

12-2-1 Содержание безводного крахмала

Абсолютная разница между результатами двух независимых испытаний, проведенных по одному и тому же методу с использованием одних и тех же испытуемых материалов с содержанием крахмала от 0,3 до 5 процентов (по весу) в разных лабораториях с использованием нескольких тестеров и на разном оборудовании в течение короткого промежутка времени, не должна превышать 5 процентов от значения повторяемости, полученного по следующему уравнению:

$$r_s = 0,229 + 0,232 \times W_s$$

Где:

r_s - Числовое значение предела воспроизводилось, которое выражено в процентном отношении массой, содержания безводного крахмала;

W_s - среднее значение двух результатов содержания безводного

крахмала.

12-2-2 Содержание глюкозы

Абсолютная разница между результатами двух независимых испытаний, проведенных с использованием одного и того же метода и с использованием одних и тех же испытуемых материалов с содержанием глюкозы от 0,3 до 1,2% (вес/вес) в одной и той же лаборатории и на одном и том же оборудовании, полученными одним и тем же оператором в течение короткого промежутка времени, не должна превышать 5% от повторяемости (r_g), полученной по формуле:

$$r_g = 0,232 + 0,086 \times W_g$$

где:

r_g - Числовое значение предела воспроизводимости, которое выражено в процентном отношении массой, содержания глюкозы;

W_g - среднее значение двух результатов содержания глюкозы;

13- Оформление результатов испытаний

Протокол испытания должен содержать следующую информацию:

13-1 Содержит всю информацию, необходимую для полной идентификации образца.

13-2 применяемый метод отбора проб

13-3 Используемый метод содержит ссылку на национальный стандарт.

13-4 все операционные детали, не установленные настоящим стандартом или рассмотренные в качестве необязательного, вместе с деталями случая.

13-5 Подробная информация обо всем, что может повлиять на результаты испытания.

13-6 - полученные результаты испытания;

13-7 - результаты испытания, в случае если проверялось повторяемость.

13-8- Дата проведения испытания

13-9- Имя, фамилия и подпись оператора, проводившего испытание

Приложение А (график №1)

Пример нанесения данных на график и экстраполяции значений оптической плотности

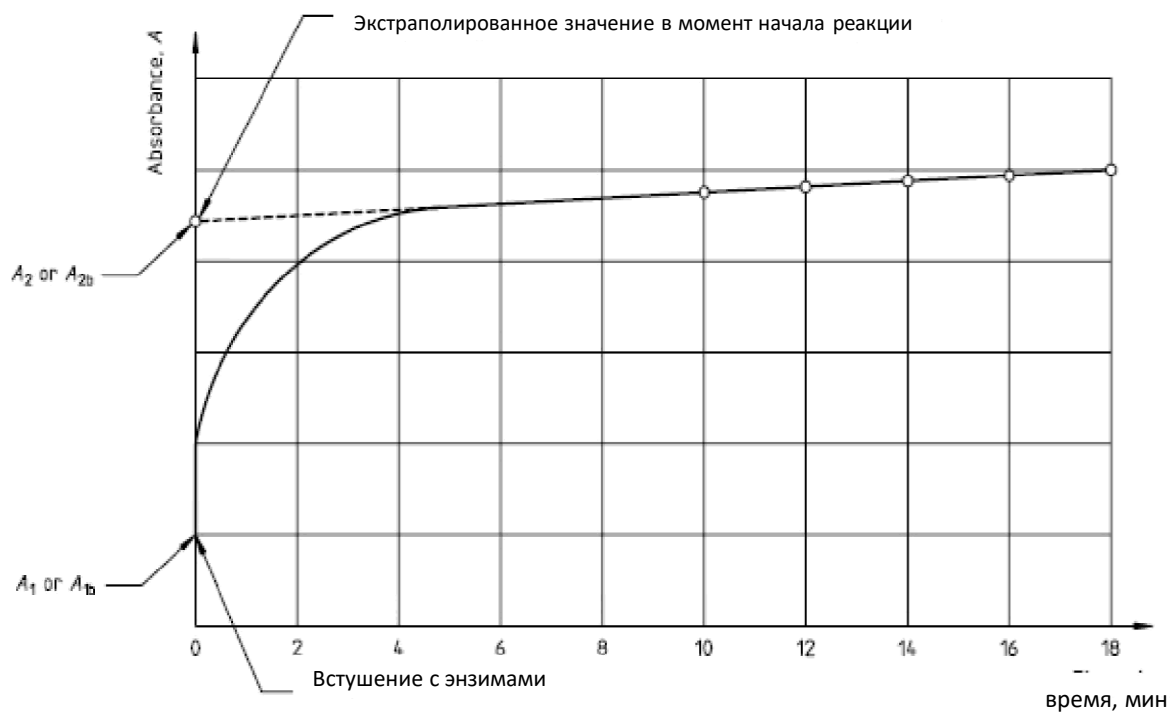


Рисунок А.1 Пример нанесения данных на график и экстраполяции значений оптической плотности

ISLAMIC REPUBLIC OF IRAN
Institute of Standards and Industrial Research of Iran
ISIRI NUMBER
_6939



Meat and meat products – Determination of starch and glucose
content – Enzymatic method- Test method

1st. Revision

Иранский институт стандартов и промышленных исследований

Стандарт № 6951



МЯСО И МЯСНЫЕ ПРОДУКТЫ

Определение содержания L-(+)- глютаминовой кислоты-Контрольный метод-
Метод испытаний

Первое издание

Ознакомление с Институтом стандартов и промышленных исследований Ирана

Иранский институт стандартов и промышленных исследований (ISIRI) в соответствии с законом является единственным официальным органом в стране, ответственным за определение, разработку и публикацию национальных стандартов.

Стандарты по различным направлениям разрабатываются техническими комиссиями, состоящими из экспертов института, экспертов научных, исследовательских, производственных и экономических центров и учреждений, обладающих соответствующими знаниями и опытом в данной области. Ставится задача обеспечения того, чтобы национальные стандарты соответствовали национальным интересам и потребностям, учитывали производственные, технические и технологические условия, и являлись результатом осознанного и справедливого участия всех заинтересованных сторон, включая: производителей, потребителей, торговцев, научные и специализированные центры, государственные учреждения и организации. Проекты национальных стандартов для общественного обсуждения направляются заинтересованным сторонам и членам соответствующих технических комиссий. После получения отзывов и предложений, они рассматриваются в соответствующем национальном комитете по направлению и в случае одобрения публикуются в качестве национального (официального) стандарта.

Проекты стандартов, подготовленные заинтересованными и компетентными учреждениями и организациями с соблюдением установленных нормативов, также после рассмотрения в соответствующем национальном комитете и в случае одобрения публикуются в качестве национальных стандартов.

Таким образом, национальными стандартами считаются те, которые разработаны на основе положений, изложенных в Национальном стандарте № (5), и утверждены соответствующим национальным комитетом, сформированным Институтом стандартов.

Иранский институт стандартов и промышленных исследований является одним из основных членов Международной организации по стандартизации и при разработке национальных стандартов учитывает общие условия и специфические потребности страны, используя при этом новейшие научные, технические и промышленные достижения в мире и международные стандарты.

Институт стандартов и промышленных исследований Ирана уполномочен, при соблюдении положений, предусмотренных законом, и с утверждения Высшего совета по стандартам, сделать соблюдение определенных стандартов обязательным в целях защиты потребителей, поддержания здоровья и безопасности граждан и населения, обеспечения качества продукции, а также соблюдения экологических и экономических требований. Институт стандартов уполномочен в обязательном порядке вводить стандарты для экспортной продукции и её классификации с целью сохранения международных рынков сбыта для продукции страны. Кроме того, в целях обеспечения уверенности пользователей в услугах организаций и учреждений, работающих в сферах консалтинга, обучения, инспекции, аудита и сертификации систем менеджмента качества и экологического менеджмента, лабораторий и органов по калибровке измерительных приборов, Институт стандартов проводит оценку таких организаций на основе критериев Иранской системы аккредитации, выдает им при выполнении необходимых условий сертификат соответствия и осуществляет надзор за их деятельностью. Продвижение Международной системы единиц, калибровка измерительных приборов, определение пробы драгоценных металлов и проведение прикладных исследований для повышения уровня национальных стандартов также входят в число других задач данного Института.

Комиссия по стандартизации Определение содержания L-(+)- глютаминовой кислоты-Контрольный метод- Метод испытаний

Председатель комиссии	Представитель:
Хамид Голчобян, (доктор неорганической химии)	Университет Мазандарана
Члены комиссии	
Махмуд Таджбахш, (доктор органической химии)	Университет Мазандарана
Фарзане Табариния, (магистр наук в области физической химии)	Главное управление стандартов и промышленных исследований провинции Мазандаран

Фахиме Фаранак, (магистр наук в области питания)	Главное управление лабораторий контроля качества пищевых продуктов и лекарственных средств, Министерство здравоохранения и медицинского образования
Ширин Фагих Насири, (эксперт пищевой промышленности)	Институт стандартов и промышленных исследований провинции Мазандаран
Али Мотамеди, (доктор ветеринарный врач)	Газель Мясные Продукты Белок Север
Муса Гаеми, (доктор органической химии)	Университет Мазандарана
Секретарь	
Роксана Омдурари, (магистр аналитической химии)	Институт стандартов и промышленных исследований Ирана

Содержание

- Предисловие

- Введение

1- Цель и Область применения

2- Список необходимой литературы

3- Определения и терминология

4- Методы исследования

5- Отбор проб

6- Необходимые материалы

7- Аппаратура

8- Подготовка образца к испытаниям

9- Метод проведения контроля

10- Обработка результатов

11- Точность

12- Оформление результатов испытаний

Приложение А -

Приложение Б -

Приложение В -

Приложение Д -

Предисловие

Стандарт Мясо и мясные продукты - Определение содержания L-(+)-глутаминовой кислоты-Контрольный метод- Метод испытаний, который был подготовлен и разработан соответствующими техническими комиссиями и утвержден на 398-м заседании Национального комитета по стандартам пищевых продуктов и сельскохозяйственной продукции 20 ноября 2010 года, настоящим публикуется в качестве национального стандарта Ирана в соответствии с пунктом 1 статьи 3 Закона о пересмотре законов и нормативных актов Иранского института стандартов и промышленных исследований, принятого в феврале 1993 года.

Для обеспечения актуализации соответствия международным стандартам при необходимости стандарты пересматриваются, следовательно, всегда используется последняя версия стандарта.

Следовательно, при использовании иранских стандартов следует всегда руководствоваться их последними редакциями. В этих последних версиях стандартов учтены все обстоятельства и потребности населения страны, и одновременно соблюдена их координация со стандартами развитых стран.

Источник, использованный для разработки данного стандарта, указан ниже:

1-ISO 4134:1999(E) Meat and meat product-Determination of L-(+)-glutamic acid content – Reference method

2-The Merck Index, Thirteenth Edition, 2001.

Введение

L (+)-Глютаминовая кислота — одна из заменимых аминокислот, входящих в структуру белков организма, и один из самых известных стимуляторов нервной системы, выделяемых предстательной железой.

Основным источником глютаминовой кислоты, как и других аминокислот, являются красное мясо, яичные белки, рыба и молочные продукты. Однако её применение в качестве лекарственного средства назначается врачом, если в организме диагностирован дефицит этого вещества и нет подозрения на заболевание почек или печени. Помимо других медицинских применений, это вещество и эффекты его производных, таких как альфа-кетоглутаматы и мононатриевая соль, особенно полезны для укрепления сердечной мышцы пациентов, перенесших операцию на сердце, гидрохлоридная форма и мононатриевая соль используются в качестве одних из самых распространенных ароматизаторов и пищевых добавок в мясных продуктах. До сих пор не было зарегистрировано ни одного случая вредного взаимодействия этого вещества с какими-либо лекарственными препаратами.

Мясо и мясные продукты - Определение содержания L-(+)- глутаминовой кислоты-Контрольный метод- Метод испытаний

1. Цель и Область применения

Целью разработки настоящего стандарта является определение эталонного метода измерения содержания L-(+)- глутаминовой кислоты¹ в мышечной ткани различных продуктов из красного мяса и птицы.

2. Список необходимой литературы

Указанные ниже обязательные документы содержат положения, на которые даны ссылки в тексте настоящего стандарта. Эти положения считаются частью данного стандарта. Для документов с указанием даты публикации и/или пересмотра последующие поправки и пересмотры не применяются. Однако заинтересованным пользователям рекомендуется рассмотреть возможность применения последних редакций этих документов. Для документов без указания даты применяются последние издания указанных обязательных документов.

Для применения настоящего стандарта обязательно использование следующих документов:

- 2.1. Национальный стандарт Ирана 690: 2000 г. — Отбор проб - мяса и мясных продуктов.
- 2.2. Национальный стандарт Ирана 745: 1971 г. — мясо и мясные продукты — измерение влажности
- 2.3. Национальный стандарт Ирана 1728: 2002 г. — Вода, используемая в аналитических лабораториях. Технические условия и методы испытаний.
- 2.4. Национальный стандарт Ирана 1959: 1981 г. — Пипетки с маркировочной линией
- 2.5. Национальный стандарт Ирана 5657-2: 2001 г. — Лабораторные градуированные пипетки. Часть 2: Пипетки, не требующие ожидания
- 2.6. ISO 1042: Laboratory glassware – One Mark Volumetric Flask
- 2.7. AOAC Official Methods Of Analysis (1995), Laboratory Safety, Appendix B, p.3

1- L-(+)- glutamic acid

3. Определения и терминология

В настоящем стандарте применяется следующий термин с соответствующим определением:

3.1. Содержание L -(+)-глутаминовой кислоты мяса и мясных Продуктов

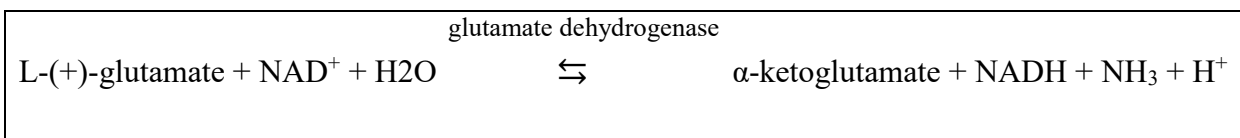
Массовая доля¹ L -(+)-глутаминовой кислоты, определенная согласно процедуре, описанной в настоящем стандарте.

4. Методы исследования

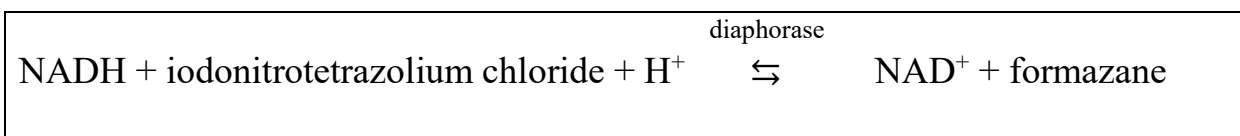
L (+)-глутаминовая кислота, присутствующая в рабочей части (образца), экстрагируется с помощью раствора хлорной кислоты при температуре 0 °С. Экстракт центрифугируется, ссезивается и фильтруется, а рН доводится до 10,0. Никотинамидадениндинуклеотид (NAD)² понижается с помощью L (+)-глутаминовой кислоты в присутствии глутаматдегидрогеназы³ [формула (1)]. Получившийся в результате понижения никотинамидадениндинуклеотид (NADH) вступает в реакцию с хлоридом йодонитротетразолия⁴ в присутствии диафоразы⁵ [формула (2)].

Получившийся формазан⁶ измеряется при длине волны 492 нм, и вычисляется содержание L (+)-глутаминовой кислоты.

Формула (1):



Формула (2):



1 - Mass fraction

2 - Nicotinamide adenine dinucleotide

3 - Glutamate dehydrogenase

4 - Iodonitrotetrazolium chloride

5 - Diaphorase

6 - Formazane

5. Отбор проб

Отбор проб для этого метода должен осуществляться в соответствии с Иранским национальным стандартом 690 от 2005 года.

Важно, чтобы лаборатория получила образец, действительно репрезентативный для данного образца, и чтобы образец не был поврежден или изменен во время транспортировки и хранения.

Минимальный вес образца¹ должен составлять 200 граммов, а хранение образца должно осуществляться таким образом, чтобы предотвратить порчу и изменение его состава.

6. Необходимые материалы

Если не указано иное, используйте только реагенты с классом разложения. Согласно этому методу все растворы, за исключением минеральных соединений пунктов (6-2) и (6-3), следует хранить в емкостях из коричневого стекла, тщательно вымытых и стерилизованных.

6.1. Вода

Вода, используемая для приготовления ферментов, должна быть деминерализованной или бидистиллированной, полученной в стеклянном дистилляторе. Используемая вода должна обладать необходимой чистотой, и её характеристики должны соответствовать Иранскому национальному стандарту 1728: 2002 г.

Примечание: 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. Учитывая вышеизложенное, рекомендуется использовать обе стадии дистилляции.

6.2. Раствор хлорной кислоты, $c(\text{НСЮ}_4) = 1,0$ моль/л.

Примечание: Контакт с окисляемыми или воспламеняемыми материалами, или с дегидрирующими веществами или восстановителями может привести к воспламенению или взрыву. Лица, использующие данную кислоту, должны четко осознавать ее опасность. Смотрите правила безопасности, перечисленные в Приложении А. $8,6 \text{ см}^3$ раствора хлорной кислоты массовой доли 70 % и плотности $d_{20} = 1,67 \text{ г/см}^3$ помещают в мерную колбу вместимостью 100 см^3 и доводят объем раствора до метки водой. 5.3 Раствор гидроксида калия, $c(\text{КОН}) = 2$ моль/л. Растворяют 56,1 г гидроксида калия в воде, доводят объем раствора до 500 см^3 .

6.3. Раствор гидроксида калия, $c(\text{KOH}) = 2$ моль/л.

Растворяют 56,1 г гидроксида калия в воде (6.1), доводят объем раствора до 500 см³

6.4. Триэтаноламиновый фосфатный¹ буферный раствор, (pH = 8,6)

Растворите 1,86 г гидрохлорида триэтаноламина в воде (см. 6.1), и доведите до 8,6 pH при помощи раствора гидроксида калия (см. 6.3), используя pH-метр.

Добавьте 0,68 г октилфенолдекаэтиленогликолевого эфира² и доведите объем раствора до 100 см³ водой (раствор А).

Растворите 0,86 г калий дигидроортофосфата (K_2HPO_4) и 7 мг дигидрофосфата калия (KH_2PO_4) в воде (см. 6.1), и доведите объем раствора до 100 см³ (раствор В).

Смешайте 20 см³ раствора А с 5 см³ раствора В.

Раствор устойчив в течение 2 месяцев, если будет храниться при температуре от 0 °С до 6 °С.

6.5. Раствор никотинамидадениндинуклеотида (NAD)

Взвесьте 25 мг NAD, поместите в маленькую закупориваемую колбу. Добавьте 5,0 см³ воды (см. 6.1), и перемешайте.

Раствор устойчив в течение 2 месяцев, если будет храниться при температуре от 0 °С до 6 °С в темноте.

6.6. Раствор хлорида йодонитротетразолия (INT)³, хлорид 2-(4йодофенил) 3-(4-нитрофенил)-5-фенилтетразолия.

Взвесьте 30 мг INT, поместите в закупориваемую колбу из темного стекла. Добавьте 50 см³ воды и перемешайте.

Раствор устойчив в течение 4 недель, если будет храниться при температуре от 0 °С до 6 °С в темноте.

1-Triethanolamine phosphate

2-Octylphenol decaethyleneglycol ether (e.g. Triton X-100)

3-Iodonitrotetrazolium chloride (INT)

6.7. Раствор диафоразы¹ (липоамид дегидрогеназа, ЕС 1.8.1.4)²

Растворите 3 мг лиофилизной диафоразы³ в 1 см³ воды (5.1) и перемешайте.

Раствор устойчив в течение 4 недель, если будет храниться при температуре от 0 °С до 6 °С.

6.8. Раствор глутамат дегидрогеназы (GLDH) (ЕС* 1.4.1.3)

10 мг/см³, аммонийсульфата, этилен-динитрилтетрауксусной кислоты (EDTA) и глутаминазы.

Данный раствор поставляется как таковой (например, в количестве 1.0 см³) и устойчив в течение 12 месяцев, если будет храниться при температуре от 0 °С до 6 °С.

6.9. L -(+)- глютаминовая кислота, стандартный раствор

Растворите 50,0 мг L -(+)- глютаминовой кислоты (C₅H₉O₄N) в 25 см³ воды. Доведите pH до 7,0 с помощью гидроксида калия (см. 5.3). Разбавьте до 50 см³ и перемешайте.

Храните данный раствор при температуре от 0 °С до 6 °С и непосредственно перед применением разведите водой (см. 6.1), в соотношении объемов 1:49.

7- Аппаратура

Требуется обычное лабораторное оборудование и предметы, перечисленные ниже:

7.1 Механическое или электрическое оборудование, способное измельчать лабораторную пробу. Оно включает в себя высокоскоростной вращающийся резец, или мясорубку, оборудованную пластинами с отверстиями диаметром не более 4.0 мм.

7.2 Лабораторный миксер

7.3 Лабораторная центрифуга, с центрифужными пробирками вместимостью 50 см³ или 100 см³, работающих при радиальном ускорении 2000 м/с²

7.4 pH-метр

7.5 Гофрированная фильтровальная бумага, диаметром 15 см, высокого или среднего хода.

7.6 Мерные колбы с одной отметкой, емкостью 100 см³ и 250 см³, согласно ISO1042, класс В.

7.7 Пипетки с одной отметкой, емкостью 10 см³, 50 см³ и 25 см³, Согласно Иранскому национальному стандарту № 1959, класс В.

7.8 Пипетки градуированные (автоматические), вместимостью 2,50 см³, 0,50 см³, 0,20 см³ и 0,05 см³, согласно Иранскому национальному стандарту № 45657-1, 2001г. класс А.

7.9 Маленькая пластмассовая лопаточка, согнутая до 90°, для перемешивания содержимого кюветок.

7.10 Фотоэлектрический колориметр предоставляется фильтром, имеющим коэффициент пропускания максимум при длине волны 492 нм, или спектрометр.

7.11 Кюветы с толщиной поглощаемого слоя 10 мм.

7.12 Аналитические весы, допускающие взвешивание до 1,0 мг

8- Подготовка образца к испытаниям

Образец необходимо гомогенизировать с помощью оборудования по (7.1). Температура материала образца не должна превышать 25 °С. При применении мясорубки, образец необходимо пропустить, по меньшей мере, дважды через нее. Храните образец в плотно закрытой стеклянной таре, чтобы предотвратить порчу и изменение состава. По возможности проанализируйте образец сразу после гомогенизации, но не позднее, чем через 24 часа.

9- Метод проведения контроля

Примечание: если требуется, проверьте, встречается ли повторяемость, проведите два отдельных определения в соответствии с 9.1-9.3.

9.1 Рабочая часть (образца)

Взвесьте с точностью 0,01 г приблизительно 50,00 г образца (см. Раздел 8) и поместите данную рабочую часть образца в лабораторный миксер (см. 7.2).

9.2 Подготовка экстракта

9.2.1 К навеске образца добавьте 100 см³ разбавленной хлорной кислоты (см. 6.2) при температуре 0 °С и измельчите в смесь.

9.2.2 Переместите часть измельченной пробы в центрифужную пробирку (см. 7.3). Центрифугируйте 10 минут при радиальном ускорении 2000 м/с². Осторожно отодвиньте в сторону жирный слой и сцедите верхний слой через гофрированную фильтровальную бумагу (см. 7.5) в коническую колбу вместимостью 200 см³. Избавьтесь от первых 10 см³ фильтрата.

9.2.3 Перенесите пипеткой (см. 7.7) 50 см³ раствора (который должен быть слегка мутноватым) в мензурку вместимостью 100 см³ и доведите рН до 10,0 с помощью раствора гидроксида калия см. (6.3), для измерения используйте рН-метр (см. 7.4).

9.2.4 Количественно переместите содержимое мензурки в мерную колбу вместимостью 100 см³ (см. 7.6). Доведите до метки водой (см. 6.1) и перемешайте.

9.2.5 Поместите раствор в лед и охладите в течение 10 минут, и профильтруйте через гофрированную фильтровальную бумагу (см. 7.5). Избавьтесь от первых 10 см³ фильтрата.

9.2.6 Отмерьте пипеткой 25 см³, или другой соответствующий объем (V), фильтрата в мерную колбу вместимостью 250 см³ (см. 7.6) и разбавьте до метки водой.

Примечание: Объем V должен быть выбран так, чтобы содержание раствора L -(+)-глутаминовой кислоты было меньше 30 мг/ см³.

9.3 Определение

9.3.1 Доведите буферный раствор (см. 6.4) и фильтрат (9.2.6) до температуры от 20 °С до 25 °С. Отмерьте пипеткой в каждую из двух кюветок (см. 7.11) 2,50 см³ буферного раствора (см. 6.4), 0,20 см³ NAD раствора (см. 6.5), 0,20 см³ INT раствора (см. 6.6) и 0,05 см³ раствора диафоразы (см. 6.7). После добавления раствора INT, ограничьте воздействие света на реакционную смесь до минимума. В другую кюветку отмерьте пипеткой 0,50 см³ воды (см. 6.1); полученный раствор будет бесцветным раствором. Перемешайте растворы шпателем или стеклянной палочкой (см. 7.9) и измерьте оптическую плотность A1 каждой кюветки при длине волны 492 нм по отношению к воде. Температура раствора должна быть от 20 °С до 25 °С.

9.3.2 Отмерьте пипеткой 0,05 см³ GLDH раствора (см. 6.8) в каждую из кюветок. Перемешайте содержимое кюветок шпателем или стеклянной палочкой. Измерьте оптическую плотность A2 каждой кюветки при длине волны 492 нм по отношению к воде после выдержки раствора от 10 до 15 минут. Повторяют измерения каждые 2 мин до достижения постоянных значений. Изобразите график оптической плотности по отношению к времени. Экстраполируйте значения оптической плотности к моменту начала реакции (см. Приложение Б).

9.3.3 Повторите действия, описанные в (9.3.1) и (9.3.2), но замените 0,50 см³ фильтрата (см. 9.2.6) в первой кюветке на 0,50 см³ стандартного раствора L -(+)-глутаминовой кислоты.

9.3.4 Определите содержание влаги опытного образца согласно Иранскому национальному стандарту № 745: 1971 г.

10- Обработка результатов испытаний

10.1 Разница оптической плотности для эталонного раствора вычислите разницу оптической плотности для эталонного раствора по Формуле 1:

$$\Delta A_s = (A_{2s} - A_{1s}) - (A_{2b} - A_{1b}) \quad (1)$$

Где:

ΔA_s : разница оптической плотности для эталонного раствора;

A_{1b} - оптическая плотность бесцветного раствора, измеренная в (9.3.3) в соответствии с (9.3.1);

A_{2b} - оптическая плотность бесцветного раствора, измеренная в (9.3.3) в соответствии с (9.3.2);

A_{1s} - оптическая плотность эталонного раствора, измеренная в (9.3.3) в соответствии с (9.3.1);

A_{2s} - оптическая плотность эталонного раствора, измеренная в (9.3.3) в соответствии с (9.3.2).

10.2 Разница оптической плотности для контрольного раствора вычислите разницу оптической плотности для контрольного раствора по Формуле 2:

$$\Delta A = (A_2 - A_1) - (A_{2b} - A_{1b}) \quad (2)$$

Где:

ΔA_s - разница оптической плотности для контрольного раствора;

A_1 - оптическая плотность контрольного раствора, измеренная в соответствии с (9.3.1);

A_2 - оптическая плотность контрольного раствора, измеренная в соответствии с (9.3.2);

A_{1b} - оптическая плотность бесцветного раствора, измеренная в соответствии с (9.3.1);

A_{2b} - оптическая плотность бесцветного раствора, измеренная в соответствии с (9.3.2).

10.3 Содержание L (+)-глутаминовой кислоты

Вычислите содержание L (+)-глутаминовой кислоты по Формуле 3:

$$W_g = \frac{\Delta A}{\Delta A_s \times V} \left(\frac{100}{m} + \frac{W_g}{100} \right)$$

Где:

W_g - численное значение содержания L (+)-глутаминовой кислоты, как процентное содержание сухого опытного образца;

A_A - разница оптической плотности для контрольного раствора (см. 10.2);

ΔA_s - разница оптической плотности для эталонного раствора (см. 10.1);

V - численное значение объема, в миллилитрах, фильтрата, взятого в (9.2.6);

W_m - численное значение содержания влаги (см. 9.3.4), как процентное содержание (массой) образца;

m - Численное значение массы, в граммах, рабочей части (образца) (см. 9.1).

Примечание: Полное разъяснение данного уравнения дается в приложении Б.

Округлите результат с точностью до 0,01 %.

11. Точность

11.1 Межлабораторное испытание

Точность метода была установлена межлабораторными испытаниями, проведенными согласно ISO¹ 5725:1986. Результаты данных испытаний были опубликованы в достоверных источниках³. Значения, полученные при данных испытаниях, могут не подходить к другим интервалам концентрации и матрицам, как к тем, которые были даны.

1— Precision

2- Эти стандарты находятся в стадии разработки.

3- К этим достоверным источникам относятся: — Amliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach Par.35 LMBG. Bestimmung von L Glutaminsaure (L-Glutamat) in Fleischerzeugnissen. L07.00-17, November 1981.

— HATTULA, M.T.and WALLIN, H.C.J.AOAC International, 74, 1991. Pp 921-925

11.2 Повторяемость¹

Абсолютная разница между двумя независимыми отдельными результатами испытания, полученными с помощью одного и того же метода, на идентичных материалах испытания, в той же лаборатории, тем же оператором, использующим то же оборудование за короткий промежуток времени², не будет составлять более 5 % случаев превышения для содержащего L -(+)-глутаминовой кислоты от 0,02 % до 0,14 % (массой).

11.3 Воспроизводимость³

Абсолютная разница между двумя отдельными результатами испытания, полученными с помощью одного и того же метода, на идентичных материалах испытания, в разных лабораториях разными операторами, использующим разное оборудование, не будет составлять более 5 % случаев превышения 0,04 % (массой) для содержащего L (+)- глутаминовой кислоты до 0,14 %.

12. Оформление результатов контроля

Протокол испытаний должен определять:

12.1 всю информацию необходимую для полной идентификации образца;

12.2 используемый метод отбора проб;

12.3 используемый метод испытания, со ссылкой на настоящий стандарт;

12.4 все детали работы, не определенные настоящим стандартом, или рассматриваемые, как необязательные, вместе с деталями любых инцидентов, которые могут повлиять на результаты испытания;

12.5 полученный результат испытания или два результата испытания, полученные при проверке повторяемости.

12.6 Дата проведения испытания

12.7 Имя, фамилия и подпись оператора, проводившего испытание

1 – Repeatability

2 – Short Interval of Time

3–Reproducibility

Приложение А

Инструкции по безопасности
(обязательное)

Важно знать следующие правила техники безопасности, связанные с обслуживанием и работой с перхлоридной кислотой (HClO_4), и они заключаются в следующем:

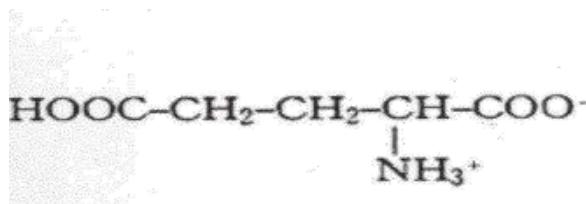
- а) Устраните разлитую хлорную кислоту незамедлительным и тщательным промыванием большим количеством воды;
- б) Колпачки, трубки и другие устройства, предотвращающие испарение хлорной кислоты, должны быть сделаны из химически инертных материалов и так, чтобы они могли тщательно промываться водой. Системы выпуска должны сливать в безопасное место, а вентиляторы должны быть доступны для чистки;
- в) Избегайте использование органических химикатов в колпачках или других пароустроющих устройствах, используемых для усвоения хлорной кислоты;
- г) При необходимости используйте защитные очки, ограждающие защитные средства и другие устройства для личной защиты; используйте поливинилхлоридовые, не резиновые, перчатки;
- д) в мокрых озолениях с хлорной кислотой сначала обработайте пробу зотной кислотой, чтобы легко уничтожить окисляемое органическое вещество, если не указан иной способ действий;
- е) контакт хлорной кислоты с дегидрирующими веществами, такими как пентоксид фосфора или концентрированная серная кислота, может иметь следствием образование безводной хлорной кислоты, которая вступает в взрывную реакцию с органическим веществом и восстановителем. Проявите особую осторожность в проведении анализов, требующих использование хлорной кислоты с такими веществами. Она чрезвычайно чувствительна к ударам и теплу, когда концентрация составляет 72 % (массой).

Приложение Б

Свойства

L-(+)- глютаминовой кислоты

L-(+)- Глютаминовая кислота — это аминокислота с названием по июпак 2-аминопентандиовая кислота с формулой $C_5H_9NO_2$ и молекулярной массой 143,7 г/моль.



Некоторые физические и химические свойства этого материала:

Система кристаллизации: Орторомбическая – имеет альфа- и бета-формы, образование каждой из которых зависит от условий кристаллизации.

Температура плавления: 247 градусов Цельсия

Удельное вращение: $[\alpha] = +31,8^\circ$

Константы диссоциации: $pK_{COOH} = 2,19$ $pK_{COO^-} = 4,25$ $pK_{NH_3^+} = 9,67$

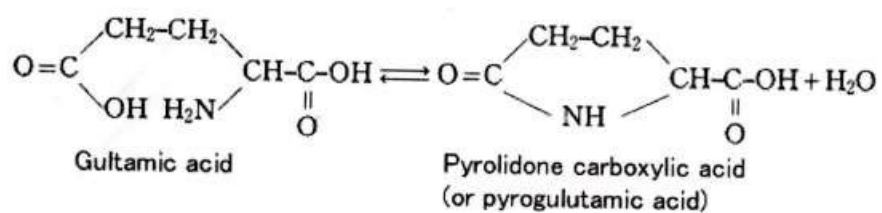
Растворимость: Это вещество нерастворимо в таких растворителях, как этанол и диэтиловый эфир, а его растворимость в воде указана в таблице ниже:

Растворимость, г/л	0,34	0,50	0,72	1,04	1,51	2,19	0,17	4,59	6,66	9,66	14,00
Температура, градусы Цельсия	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100

Таблица Б1- Различные значения растворимости L-(+)- Глютаминовой кислоты при повышении температуры

Примечание: Это вещество стабильно в кристаллической форме, но при температуре выше 160 градусов переходит в циклическую форму. Он становится токсичным при температуре выше 190 градусов по Цельсию. Процесс циклизации протекает в водном растворе. В кислой среде скорость

циклизации высока, но числовая константа равновесия мала. В нейтральной среде скорость реакции низкая, а константа равновесия больше.

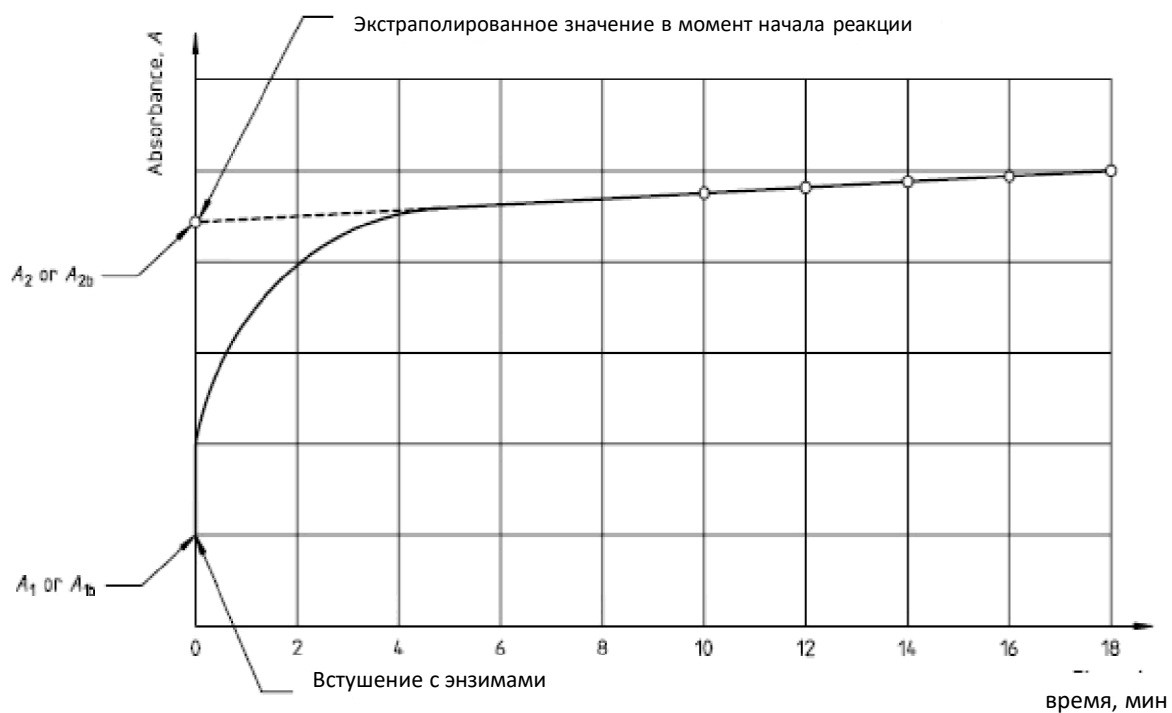


Приложение В

(график №1)

Пример нанесения данных на график и экстраполяции значений оптической плотности

(информационный)



Приложение Д

Вывод уравнения для вычисления содержания

L-(+)- глютаминовой кислоты

(информационное)

Д.1- Скорость молярного усвоения формазана

Вычислите численное значение скорости молярного усвоения формазана по Формуле Д.1:

$$k = \Delta A_s \times 3,5/0,5 \times 50/1000 \times 147,1 = 51,485 \Delta A_s$$

Где:

k - численное значение скорости молярного усвоения, в литрах на миллимоль сантиметров, формазана при длине волны 492 нм;

ΔA_s - разница оптической плотности для эталонного раствор

Д.2- Содержание L-(+)- глютаминовой кислоты

Вычислите численное значение содержания L (+)-глютаминовой кислоты сухого опытного образца по Формуле Д.2:

$$w_g = \Delta A \times \frac{3,5 \times 147,1}{k \times 0,5 \times 1000} \times \frac{250}{1000} \times \frac{100}{V} \times \frac{(100 + \frac{w_m \times m}{100})}{50} \times \frac{100}{m} = 51,485 \times \frac{\Delta A}{k \times V \times m} (100 + \frac{w_m \times m}{100})$$

Где:

W_g - численное значение содержания L - (+)-глютаминовой кислоты, как процентное содержание (массой) сухого опытного образца;

ΔA - разница оптической плотности для опытного образца;

k - численное значение скорости молярного усвоения, в литрах на миллимоль сантиметров, формазана при длине волны 492 нм;

147,1 - относительная молекулярная масса L-(+)- глютаминовой кислоты;

V - численное значение объема, в сантиметрах кубических, фильтрата, взятое в (9.2.6);

W_m - численное значение содержания влаги (см. 9.3.4), как процентное содержание (массой) образца;

m - численное значение массы, в граммах, рабочей части образца (см.9.1).

ISLAMIC REPUBLIC OF IRAN
Institute of Standards and Industrial Research of Iran
ISIRI NUMBER
_6951



*Meat and meat products – Determination of
L-(+)-glutamic acid content–Reference method- Test method*

1st. Revision

Настоящим уведомляем, что передаваемые документы подписаны усиленной электронной подписью в соответствии с Федеральным законом от 06.04.2011 № 63-ФЗ «Об электронной подписи».

Функция проверки электронной подписи, а также сертификата цифровой подписи в документе может быть реализована следующими способами:

- использование специальных плагинов для Word, Excel, PDF;
- применение специальных онлайн-сервисов (например, КриптоПро DSS);
- использование портала Госуслуг в режиме «онлайн».

На портале Госуслуги предусмотрен раздел для проверки действительности цифровой подписи. Для проверки подлинности подписи к документам необходимо:

1. Зайти на портал «ГОСУСЛУГИ», в раздел «Подтверждение подлинности ЭП» адрес (<https://www.gosuslugi.ru/pgu/eds>)
2. Выбрать в разделе «Подтверждение подлинности ЭП» значение «- электронного документа. ЭП – отсоединенная, в формате PKCS#7»
3. Загрузить проверяемый файл (документ) в соответствующее поле
4. Загрузить электронную подпись к проверяемому файлу (документу) в соответствующее поле (электронная подпись файла соответствует имени проверяемого файла)
5. Ввести проверочный код (код будет указан на странице портала)
6. Нажать кнопку «Проверить»
7. Ознакомиться с результатом проверки подлинности электронной подписи к проверяемому файлу (документу)