

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-3-223-231>

Поступила 02.08.2022

Поступила после рецензирования 30.08.2022

Принята в печать 05.09.2022

© Князева А. С., Вострикова Н. Л., Куликовский А. В., Утьянов Д. А., 2022



<https://www.fsjour.com/jour>

Научная статья

Open access

МЕТОДИКА И МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИЗМЕРЕНИЙ МАССОВОЙ ДОЛИ ГЛУТАМАТА НАТРИЯ В БИОЛОГИЧЕСКИХ МАТРИЦАХ

Князева А. С.*; Вострикова Н. Л., Куликовский А. В., Утьянов Д. А.

Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

глутамат натрия, E621, безопасность, ВЭЖХ, пищевой продукт, биологическая матрица

АННОТАЦИЯ

За прошедшее столетие образ жизни и пищевые привычки человека кардинально изменились: жители развитых стран стали прибегать к быстрому питанию, а также ввели в обиход беспорядочные и частые перекусы. Производство диетических блюд и увеличение ассортимента продуктов питания, в т. ч. вырабатываемого из низкокачественных ингредиентов, приводит к тому, что производителю приходится использовать большое количество функциональных ингредиентов, например таких, которые улучшают вкус. Одной из широко применяемых добавок является глутамат натрия. L-глутамат натрия (E621) представляет собой натриевую соль глутаминовой кислоты, присутствующую во всех белковых продуктах и используется во всем мире в качестве усилителя вкуса пищи. В законодательстве Российской Федерации установлен уровень внесения глутамата натрия, или добавки E621, в пищевой продукт, которме укладываются основной вес в молекуле глутамата натрия составляет глутаминовая кислота, которая естественным образом присутствует практически во всех продуктах, вес молекулы добавки E621 определяли по содержанию аналогичной аминокислоты в пересчете на глутамат натрия. В связи с вышесказанным возникла потребность в разработке метода количественного определения массовой доли внесенного глутамата натрия при производстве пищевых продуктов питания. В рамках рассматриваемой работы предложен новый метод идентификации добавленного глутамата натрия, который не связан с природным содержанием глутаминовой кислоты. Авторами разработана методика определения массовой доли глутамата натрия в пищевых продуктах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с предколоночной дериватизацией. Представлена метрологическая оценка разработанной методологии, установлены показатели точности и воспроизводимости в двух диапазонах концентраций. Для диапазона от 0,1 до 1% показатель воспроизводимости установлен на уровне 17%, а показатель точности — на уровне 30%. В диапазоне же 1–10% воспроизводимость равняется 6%, точность — 10% соответственно. Также в процессе разработки методики были рассчитаны нижние пределы обнаружения количественного (Limit of Detection — LOD) и качественного (Limit of Quantification — LOQ) определения метода. LOQ составил 0,01%, а LOD = 0,1%. Методика прошла метрологическую аттестацию и внесена в Реестр методик измерений РФ. Она может применяться аккредитованными лабораториями для оценки и контроля качества пищевых продуктов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию FNEN-2019–0009 Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук.

Received 02.08.2022

Accepted in revised 30.08.2022

Accepted for publication 05.09.2022

© Knyazeva A. S., Vostrikova N. L., Kulikovskii A. V., Utyanov D. A., 2022

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Original scientific article

Open access

METHOD AND METROLOGICAL CHARACTERISTICS OF MEASURING THE MASS FRACTION OF MONOSODIUM GLUTAMATE IN BIOLOGICAL MATRICES

Alexandra S. Knyazeva*, Natalia L. Vostrikova, Andrey V. Kulikovskii, Dmitry A. Utyanov

V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems, Moscow, Russia

KEY WORDS:

monosodium glutamate, E621, safety, HPLC, food product, biological matrix

ABSTRACT

Over the last century the people's mode of life and eating habits has dramatically changed: the people of developed countries began to consume fast food, and also started disorderly and frequent snacking. The production of dietary meals and the increase of food assortment, including food produced from low-quality ingredients, led to the manufacturer's necessity to use a large number of functional ingredients, i. e. those that improve taste of the food. Monosodium glutamate (MSG) is one of the widely used additives. Monosodium L-Glutamate (E621) is the sodium salt of glutamic acid found in all protein foods; it is used throughout the world as a food flavor enhancer. The legislation of the Russian Federation limits the content of monosodium glutamate, or additive E621, in a food product. Due to the fact that the glutamic acid takes the major weight in the monosodium glutamate molecule, which molecule is naturally present in almost all food products, the weight of the molecule of the E621 additive was determined by content of this amino acid expressed in terms of monosodium glutamate. In connection with the foregoing, it became necessary to develop a method for the quantitative determination of the mass fraction

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Князева, А. С., Вострикова, Н. Л., Куликовский, А. В., Утьянов, Д. А. (2022). Методика и метрологические характеристики измерений массовой доли глутамата натрия в биологических матрицах. *Пищевые системы*, 5(3), 223–231. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-3-223-231>

FOR CITATION: Knyazeva, A. S., Vostrikova, N. L., Kulikovskii, A. V., Utyanov, D. A. (2022). Method and metrological characteristics of measuring the mass fraction of monosodium glutamate in biological matrices. *Food Systems*, 5(3), 223–231. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-3-223-231>

of monosodium glutamate introduced into food during the production of food products. Within the framework of this research a new method for determining the share of added monosodium glutamate is proposed, which is not associated with the natural content of glutamic acid. The authors have developed a method for determining the mass fraction of monosodium glutamate in food products with the help of high performance liquid chromatography with precolumn derivatization. This research presents metrological assessment of the developed methodology, determines accuracy rates and reproducibility factors in two concentrations ranges. For a range of 0.1 to 1%, the reproducibility is set at 17% and the accuracy rate is set at 30%. For the range of 1–10%, the reproducibility is 6%, the accuracy rate is 10% respectively. Also, during the development of the method, the lower limits for the quantitative determination (Limit of Detection — LOD) and qualitative determination (Limit of Quantification — LOQ) of the method were calculated. LOQ was equal to 0.01% and LOD accounted for 0.1%. The method has successfully passed the metrological certification and is included in the Register of Measurement Methods of the Russian Federation. It can be used by accredited laboratories for assessment and control of food quality.

FUNDING: The article was published as part of the research topic No. FNEN-2019–0009 of the state assignment of the V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS.

1. Введение

Употребление пищи является важным процессом для жизнедеятельности живого организма. Однако человек хочет питаться не только правильно, но и быстро и вкусно. Ритм жизни современного человека очень быстрый, и перекусы являются неотъемлемой частью быта.

Пищевые добавки, используемые в пищевой промышленности, служат обеспечению безопасности и улучшению качества продукции. Они выполняют определенные функции, придавая исходному сырью и готовому продукту желаемые свойства. Во многих случаях они необходимы для изготовления и сохранения продукта. С возрастающей потребностью предприятий пищевой промышленности в улучшении экономических показателей выпускаемой продукции произошли существенные изменения в составе и количестве используемых рецептурных ингредиентов в сторону увеличения дополнительно вносимых пищевых добавок стабилизирующего действия. К сожалению, в современной медико-биологической области не все используемые ингредиенты и пищевые добавки изучены досконально: стопроцентная уверенность в их безопасности при постоянном употреблении в пищу и при сочетании разных компонентов отсутствует. Полной информацией о возможных последствиях для организма и для следующих поколений ученые на сегодняшний день не обладают. На данный момент люди страдают от мутагенного и канцерогенного воздействия многих генотоксических агентов в повседневной жизни и на рабочих местах в связи с изменением образа жизни. К таким изменениям относят быстрое увеличение использования химических веществ, таких как лекарства, пищевые добавки, пестициды и наноматериалы. Таким образом, выяснение негативного воздействия этих химических веществ на геном человека приобрело большое значение [1].

Конечно, не все пищевые добавки априори вредны и не стоит бояться «страшного» индекса «Е», однако в больших количествах или при употреблении сочетанного фактора из разных продуктов один из ингредиентов может оказать негативное влияние на организм. Изучение влияния пищевых добавок усложняется ввиду отсутствия данных о реальном содержании заявленного ингредиента в том или ином продукте. Кроме того, бывают случаи, когда присутствие определенного ингредиента и вовсе не указано на упаковке пищевой продукции). И одной из главных проблем остается отсутствие требуемых методологий для идентификации состава пищевых продуктов. При этом стоит отметить, что методология должна быть легко и высоко достоверно воспроизводима, с целью дальнейшего применения в различных сферах и пищевых лабораториях.

Возвращаясь к теме данной работы, глутамат натрия (E621), или натриевая соль L-глутаминовой кислоты, входящая в состав белков, является хорошо известным и широко

используемым усилителем вкуса во всем мире. Он применяется для усиления естественного вкуса птицы, мяса, закусок, морепродуктов, супов и тушеных блюд [2,3]. E621 в наибольшей степени подчеркивает горький и соленый вкус, вызывая ощущение насыщенного мясного вкуса. Глутамат, типичный лиганд умами, часто добавляют в азиатскую кухню для улучшения вкуса пищи [4]. Вкус умами — пятый уникальный вкус. Умами в изобилии присутствует в различных продуктах, включая овощи (помидоры, картофель, капусту, грибы, морковь, сою и зеленый чай), морепродукты (рыбу, водоросли, устрицы, креветки, крабы, морские ежи, моллюски и гребешки), мясо и сыр, и в значительной степени способствует их характерному вкусу [1,5,6]. Именно этим объясняются ярко выраженный вкус и аромат пищевого продукта. В процессе хранения, термической обработки или консервации количество глутаминовой кислоты и глутаматов уменьшается, что приводит к снижению вкуса и аромата в пищевой продукции. Таким образом, добавление глутаминовой кислоты и ее солей позволяет предприятиям восстановить качество продукта и компенсировать снижение органолептических характеристик в процессе термической обработки, замораживания, консервирования и любых других технологических обработок.

Однако существуют нормы внесения пищевой добавки E621, так как ее избыток будет оказывать негативный эффект на органолептические свойства пищевого продукта. Так, при добавлении глутаматов свыше 0,20% произойдет чрезмерное искажение вкуса и аромата продукта, например, он может получиться пересоленным, прогорклым или окислиться.

Глутаминовая кислота сама по себе является одной из протеиногенных аминокислот, и ее кодоны представляют собой GAA и GAG. Это заменимая аминокислота, имеющая функциональную группу «карбоксилатные анионы», и ее соли известны как глутаматы. Глутамат — наиболее распространенный возбуждающий нейротрансмиттер (это химические передатчики сигналов между нейронами и от нейронов на эффекторные (исполнительные) клетки) [7] в центральной нервной системе (ЦНС). Он играет ключевую роль в долгосрочной потенциации, а также участвует в метаболизме и регуляции основных физико-химических и биохимических процессов нервной системы [1,8,9]. Глутаминовая кислота принимает участие в синтезе тормозного нейромедиатора гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), играет важную роль в энергетическом обеспечении нервных клеток, повышает устойчивость организма к гипоксии. Она способна превращаться в незаменимые аминокислоты, такие как гистидин и аргинин.

Глутамат биосинтезируется в митохондриях из промежуточного соединения цикла трикарбоновых кислот (ТКА) α -кетоглутарата с помощью трансаминазы [10]. Он не пере-

секает гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) легко, но транспортируется высокоаффинной транспортной системой. Он также может быть преобразован в глутамин, который способен проникать через ГЭБ, а затем превращаться в глутамат под действием фосфат-активируемой глутамины [11,12] следующим образом: глутамин + H₂O переходит в глутамат + NH₃. Похоже, что глутамат, полученный из глутамина этим путем, вырабатывается внутримитохондриально и впоследствии может подвергаться трансаминированию и катализоваться митохондриальной изоформой аспаратаминотрансферазы (АСТ). Образовавшийся α-кетоглутарат выводится из митохондрий дикарбоксилатным переносчиком и трансаминируется в цитоплазме цитоплазматической изоформой АСТ. Альтернативно глутамат может образовываться из α-кетоглутарата и аланина в реакции, катализируемой аланинаминотрансферазой (АЛТ). Этот цитоплазматический глутамат транспортируется везикулярными переносчиками глутамата, и их высвобождение контролируется концентрацией внутриклеточного кальция (Ca²⁺).

Глутамат натрия впервые был выделен путем экстракции и кристаллизации в 1908 г. японским биохимиком Кикунэ Икеда в ходе исследований комбу (съедобные морские водоросли, часто используемые в японской кухне для приготовления бульонов). После чего ученый исследовал различные соли глутаминовой кислоты для воспроизведения его вкуса, и глутамат натрия показал наилучший результат: он хорошо растворялся в воде, а вкус был наиболее ярким. В 1909 г. был получен патент на производство глутамата натрия, и в настоящее время в мире ежегодно производится около 200 000 тонн чистого глутамата натрия [13].

С момента открытия глутамат натрия в промышленности производили тремя методами:

1. Гидролиз растительных белков с разрушением пептидных связей с помощью соляной кислоты. Данный метод использовался в 1909–1962 гг. Часто глутамат получали из зернового глютена с последующей нейтрализацией белкового солянокислого гидролизата раствором NaOH до pH 5–6, затем уваривали, удаляли примеси, выпавшие в осадок, очищали с помощью обработки активированным углем, подкисляли до pH 3,2 и выкристаллизовывали соль в течение недели на холоде [14,15,16];
2. Прямой химический синтез из акрилонитрила: метод использовался в 1962–1973 гг., однако в связи со сложностью отделения изомеров глутаминовой кислоты перестал быть актуальным [14,15,16];
3. Бактериальная ферментация — применяемый метод и на сегодняшний день. Во время ферментации бактерии вида *Corynebacterium*, культивируемые с аммиаком и углеводами из сахарной свеклы, сахарного тростника, тапиоки или патоки, выделяют аминокислоты в культуральный бульон, из которого отделяют L-глутаминовую кислоту, которую в последствие нейтрализуют натрием [14,15,16].

С начала XX века ученые изучали метаболические функции и влияние глутамата на здоровье животных [16]. Предполагалось, что использование глутамата натрия вызывает несколько последствий для здоровья, включая головную боль и тошноту, в дополнение к фактору риска ожирения [17].

Ученый из Гонконга Квока описывал возможную связь между глутаматом натрия и синдромом «китайского ресторана». Его исследования описывают влияния данной соли на развитие таких заболеваний, как астма, диабет, ожирение и аллергический ринит, а также на повышенное артериальное давление [18,19].

Из-за изменения вкусовых предпочтений человека возросли случаи неинфекционных заболеваний (НИЗ), таких

как гипертония. Данные Китайского национального исследования питания 2002 года показывают, что каждый шестой человек страдает гипертонией. Только 19% людей с гипертонией могут контролировать артериальное давление. Однако и на данный момент ведутся работы по изучению связи между употреблением глутамата натрия и повышением артериального давления [17].

Турецкие ученые из университета Эрджиес провели исследование влияния пищевой добавки на уровень тревожности, паники, а также на память. Эксперимент проводился на крысах. Глутамат натрия вводили в организм через питьевую воду. Результаты, представленные учеными, доказали влияние глутамата на нарушение работы нервной системы. Негативные последствия для организма наблюдались уже через 12 недель [5].

Однако обзор клинических испытаний, изучающих причинно-следственную связь между потреблением глутамата натрия и неблагоприятными последствиями для здоровья, не нашел своего подтверждения из-за отсутствия надлежащих слепых экспериментов и последовательных результатов [1].

Глутамат натрия (E621) — пищевая добавка, разрешенная к применению международными, европейскими межгосударственными, национальными законодательными и нормативными документами в 12 странах [20].

Несмотря на все вышеописанные негативные воздействия глутамата на живой организм, данная добавка оказывает и положительные свойства. Ученые доказали, что глутамат натрия усиливает действие катионов на примере железа. Совместное присутствие E621 и катиона металла значительно повысили уровень гемоглобина в крови [21].

При добавлении в пищу глутамат натрия диссоциирует в нейтральной области и представляет собой свободный глутамат. Природный глутамат и глутамат, полученный из глутамата натрия, химически неразличимы, и человеческий организм метаболизирует их одинаково, независимо от источника их происхождения [3,4]. Глутамат только в свободной форме активизирует вкусовые рецепторы умами, такие как T1R1 и T1R3, и считается, что эта функция опосредует реакции на богатую белком пищу [5]. Согласно данным Управления по безопасности пищевых продуктов EFSA, среднее потребление глутаматаминовой кислоты (как свободной, так и связанной с белком), рассчитанное на основе потребления белка, составило 18 г/сут, а потребление глутамата натрия — 0,55 г/сут [4]. Данный уровень потребления основан на самой высокой дозе, при которой ученые не наблюдали неблагоприятных воздействий на подопытных животных в исследованиях токсичности.

В настоящее время при выборе продуктов питания редко кто обращает внимание на их состав. Поэтому для обеспечения контроля качества продуктов необходимо контролировать содержание глутамата.

Для определения глутаминовой кислоты и ее солей было разработано несколько методик, но только одна была стандартизирована.

К таким методикам относят: капиллярный электрофорез, потенциометрический метод, ВЭТХ, ВЭЖХ метод с постколоночной дериватизацией.

В методе ВЭЖХ с постколоночной дериватизацией определение глутамата натрия в пищевых продуктах основано на регистрации светопоглощения, усиленного 1%-ным раствором нингидрина с постхроматографической дериватизацией. Линейность наблюдается в диапазоне концентраций 0,4–1,0 мкг/мл. Для регистрации аналита использовали диодно-матричный детектор [22].

В работе Волленбергера в 1989 году был предложен биосенсорный метод определения L-глутамата в жидких

приправах с использованием L-глутамата оксидазы в комбинации с перекисью водорода. Реакция биосенсора линейно зависит от концентрации L-глутамата в пределах 0,001–1,0 ммоль/л. Время измерения составляет 2 мин [23].

Электрофорезный метод утвердила компания «ЛЮМЕКС». Диапазон измеряемых масс составляет 1,0–100 г/кг для пищевых продуктов, продовольственного сырья и 2,5–100% — для пищевых добавок. Глутамат натрия измерялся с помощью капиллярного электрофореза и диодиндуцированной флуоресцентной детекции. При использовании дезактивированного капилляра, заполненного 0,6%-ным полиэтиленоксидом в 10 ммоль/л тетрабората (рН 9,3), предел обнаружения глутамата натрия составил 10–30 ммоль/л (методика М 04–90–2019¹).

Также глутаминовую кислоту и ее соли определяли методом тонкослойной хроматографии. В качестве стационарной фазы использовали пластинки Silufol UV-254, а для подвижной: н-бутанол: уксусная кислота: вода в соотношении 3:1:1, проявитель — 1%-й раствор нингидрина. Источником излучения была УФ-лампа. Результаты хроматографического разделения в образце сравнивали с результатами стандарта глутамата при тех же условиях хроматографирования. В тонкослойной хроматографии использовали люминесцентное детектирование с соответствующим маркером (ион Tb (III) с ципрофлоксацином (ЦФ)) [20]. Метод ВЭЖХ с постколлонной дериватизацией получением фенилтиогидантоинов аминокислот предусматривает модификацию аминокислот раствором фенилизотиацианата, с последующим детектированием хроматографирование на колонке и ультрафиолетовое детектирование при длине волны $\lambda = 254$ нм. Чувствительность определения глутаминовой кислоты — 1мкг/мл. Данный метод описывался в работах Руденко в 2010 году [24].

Многие описанные выше методы либо не стандартизированы, либо нуждаются в специальном оборудовании и реактивах или недостаточно воспроизводимы и чувствительны.

В связи с вышеописанным целью настоящей работы была разработана методика определения массовой доли глутамата натрия с использованием ВЭЖХ системы с предколлонной дериватизацией.

2. Материалы и методы

Метод основан на экстракции свободного глутамата натрия из пробы с последующей предколлонной дериватизацией и анализе методом ВЭЖХ со спектрофотометрическим или диодно-матричным детектором.

Количественное определение осуществляют по площади пика глутамата натрия относительно градуировочной зависимости, полученной при использовании градуировочных растворов чистого вещества в аналогичных условиях.

Реагенты. Использовали следующие реактивы: ацетонитрил для ВЭЖХ (Panreac, Франция), гексан (Panreac, Франция), этилацетат (Sigma Aldrich, США), муравьиную кислоту (Merck, США), кислоту соляную, х. ч. кислоту трихлоруксусную $\geq 99,0\%$, 3- меркаптопропионовая кислота $\geq 99,0\%$ (Sigma), гидроксид натрия $\geq 99,0$ гидрофосфат натрия $\geq 99,0$, тетраборат натрия б/в $\geq 99,0$, тетраборат натрия декагидрат $\geq 99,5\%$, деионизированную воду получали на системе Milli Q Direct 8 (Франция). В качестве стандартного образца использовали: акриламид с содержанием основного вещества не менее 99,0% производства компании Sigma-Aldrich (США).

¹ Методика М 04–90–2019 «Пищевые продукты, продовольственное сырье, пищевые добавки. Методика измерений массовой доли глутаминовой кислоты и ее солей методом капиллярного электрофореза с использованием системы капиллярного электрофореза «Капель» — С.П.: Люмэкс-маркетинг. 2019

В качестве объектов исследования были выбраны такие биологические матрицы (б/м):

- 1 б/м — вареная колбаса;
- 2 б/м — паштет печеночный.

Для оценки сходимости готовили лабораторные пробы с внесением глутамата натрия в рецептуру вареной колбасы, выработанной по ГОСТ 23670–2019² в условиях реального производства в количестве 9 образцов, для оценки воспроизводимости печеночный паштет по ГОСТ Р 55336–2012³.

Также для мониторинговых исследований были взяты образцы мясных изделий:

- № 1–8 — варено-копченые колбасы, выработанные по ГОСТ Р 55455–2013⁴
- № 9–16 — вареные колбасы, выработанные по ГОСТ 23670–2019⁵
- № 17–24 — сырокопченые колбасы, выработанные по ГОСТ Р 55456–2013⁶.

Подготовка проб к анализу методом ВЭЖХ. Образцы измельчали с использованием гомогенизатора ВУСНІ В-400 (Vuchi, Швейцария). Гомогенизированную пробу массой 5 г помещали в центрифужную пробирку. К взвешенному образцу приливали 4 см³ 20% трихлоруксусную кислоту (ТХУ) и доводили соляным буфером рН 2,2 до 30 см³. К полученному раствору добавляли 5 см³ гексана. Смесь тщательно перемешивали и выдерживали в течение 1 ч при температуре от 18 °С до 25 °С. Затем экстракт центрифугировали в течение 5 мин при 2000 г и водный слой фильтровали через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм. После этого фильтрат переносили в виалу.

Дериватизацию проводили в автоматическом режиме при помощи устройства введения проб, в хроматограф вводили: 10 мм³ раствора ортофталевого альдегида и 2 мм³ раствора пробы. Объем введенной пробы составлял 12 мм³.

Результаты измерений определяли при длине волны 338 нм и следующих параметрах:

- а) температура колонок 40 °С;
- б) подвижная фаза А: ацетонитрил: карбинол: вода (45:45:10);
- в) подвижная фаза В: 10 мМ Na₂HPO₄, 10 мМ Na₂B₄O₇, рН 8,2;
- г) скорость потока 1 мл/мин;
- д) режим элюирования — градиентный по Таблице 1.

Таблица 1. Параметры градиентного режима

Table 1. Gradient mode parameters

Время, мин	Объемная доля элюента А, %	Объемная доля элюента В, %
0	2	98
0,5	2	98
20	57	43
20,1	100	0
23,5	100	0
23,6	2	98
25	2	98

Результаты выхода глутамата натрия представлены на Рисунке 1.

² ГОСТ 23670–2019 «Изделия колбасные вареные. Технические условия». — М.: Стандартинформ, 2019. — 15 с.

³ ГОСТ Р 55336–2012 «Консервы мясные паштетные. Технические условия». — М.: Стандартинформ, 2019. — 31 с.

⁴ ГОСТ Р 55455–2013 «Колбасы варено-копченые. Технические условия». — М.: Стандартинформ, 2019. — 15 с.

⁵ ГОСТ 23670–2019 «Изделия колбасные вареные мясные. Технические условия». — М.: Стандартинформ, 2019. — 31 с.

⁶ ГОСТ Р 55456–2013 «Колбасы сырокопченые. Технические условия». — М.: Стандартинформ, 2014. — 18 с.

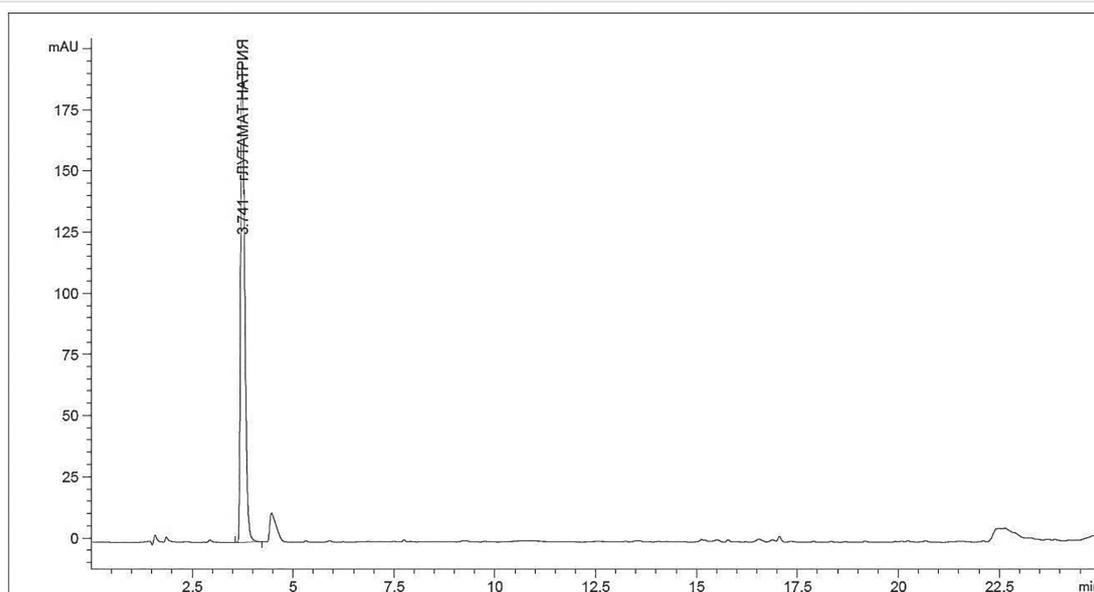


Рисунок 1. Хроматограмма глутамата натрия с концентрацией 400 мкг/см³, колонка C18 PA, 3,5 μm 4,6 × 150 mm
Figure 1. Chromatogram of monosodium glutamate at a concentration of 400 μg/cm³, C18 PA column, 3.5 μm 4.6 × 150 mm

3. Результаты и обсуждение

Для подтверждения или опровержения вынесенной на этикетку информации о глутамате натрия в составе контролирующим органам и аккредитованным лабораториям необходимо иметь высоко достоверный метод, метрологически подтвержденный и легко воспроизводимый.

Существует несколько способов определения как связанных, так и не связанных с белком аминокислот, однако ни один из методик не предполагает выявления добавленной соли глутаминовой кислоты. Кроме того, фоновые пороги глутаминовой кислоты или глутамата натрия для различных биологических матриц не прописаны, порог отсечения на содержание природных концентраций отсутствует.

Одной из популярных методик в арсенале аналитической лаборатории в последнее время является методология, основанная на ВЭЖХ, в связи с чем для исследования была выбрана именно она. Самым сложным представлялся процесс подбора условий хроматографического разделения и выбор способов детектирования. За основу была взята методология определения L-(+)-глутаминовой кислоты по ГОСТ 34448-2018⁷, предложенная авторами и ранее стандартизированная.

Метод основан на экстракции свободного глутамата натрия из пробы с последующей предколоночной дериватизацией и на анализе методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) со спектрофотометрическим или диодно-матричным детектором.

Количественное определение осуществляют по площади пика глутамата натрия относительно градуировочной зависимости, полученной при использовании градуировочных растворов чистого вещества в аналогичных условиях.

Разработка методологии происходила в несколько этапов:

- подбор условий разделения и детектирования глутамата натрия в стандартной смеси;
- построение калибровочной кривой;
- проверка стабильности градуировочной характеристики;
- установление LOQ и LOD пределов метода;
- контроль сходимости и воспроизводимости метода;
- установление границ относительной погрешности метода.

Подобрав условия детектирования, устанавливали градуировочные зависимости и определяли пределы детектирования и обнаружения метода.

Для определения глутамата натрия готовили градуировочные растворы массовой концентрации 50 мкг/см³, 100 мкг/см³, 200 мкг/см³, 400 мкг/см³.

На Рисунке 2 представлена градуировочная зависимость светопоглощения УФ-излучения от концентрации глутамата натрия в растворе.

Также для построения калибровочной кривой можно использовать и глутаминовую кислоту, в этом случае применять коэффициент пересчета 1,15.

Коэффициент линейной корреляции полученной градуировочной зависимости должен быть не менее 0,99. При невыполнении этого условия необходимо выяснить и устранить причины, приводящие к неудовлетворительным результатам. В случае необходимости необходимо приготовить новые градуировочные растворы.

Для расчета нижних пределов обнаружения количественного (Limit of Detection — LOD) и качественного (Limit of Quantification — LOQ) определения метода отобрали 16 образцов мышечной ткани без добавок, в которые вносили исследуемый аналит в концентрации 0,01; 0,05; 0,1 и 0,15%. LOQ составил 0,01%, а LOD = 0,1% соответственно.

При метрологической аттестации данного метода были рассчитаны значения пределов повторяемости, воспроизводимости при доверительной вероятности P = 0,95 (Таблица 3) для двух диапазонов концентраций.

Таблица 3. Значения пределов повторяемости, воспроизводимости и критического диапазона при доверительной вероятности P = 0,95

Table 3. Values of limits of repeatability, reproducibility and critical range at a confidence coefficient P = 0.95

Диапазон измерений массовой доли глутамата натрия, %	Предел повторяемости (допускаемые относительное расхождение между двумя результатами параллельных определений), г, %	Показатель точности (границы относительной погрешности при доверительной вероятности P = 0,95), ± δ
от 0,1 до 1,0 вкл.	17	30
св. 1,0 до 10,0 вкл.	6	10

Затем проверяли условия сходимости и воспроизводимости метода.

⁷ ГОСТ 34448-2018 «Мясо и мясные продукты. Методы определения L-(+)-глутаминовой кислоты». — М.: Стандартинформ, 2018. — 13 с.

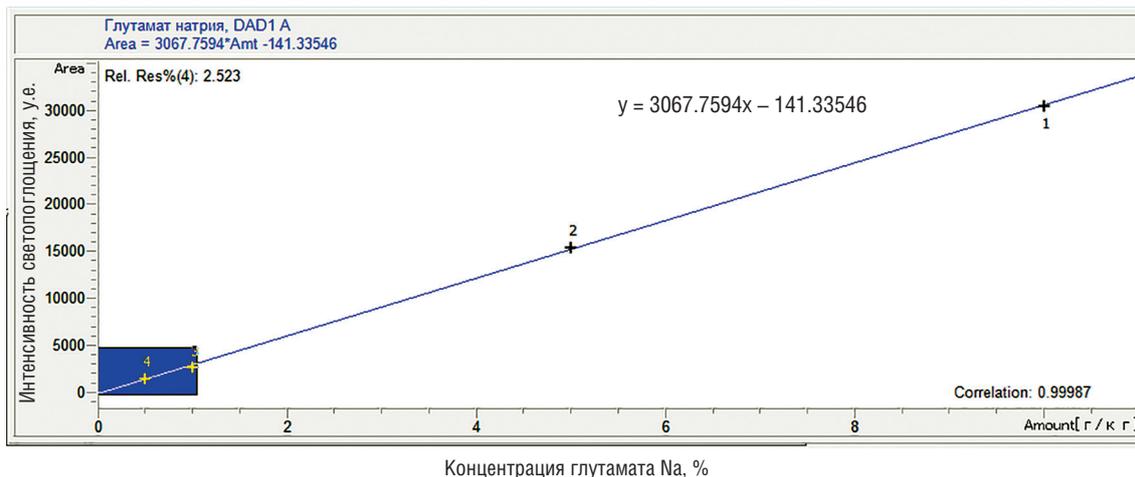


Рисунок 2. График функции калибровочной зависимости светопоглощения УФ излучения от концентрации глутамата натрия в растворе

Figure 2. Function curve of the calibration dependence of light absorption of UV radiation on monosodium glutamate concentration in a solution

Для этого сходимость и воспроизводимость проводили на специальном эксперименте с методом добавок стандартных веществ глутамата натрия в различных диапазонах концентраций. Интерес представлял оценка как на пределе обнаружения метода, так и при достаточно весомом внесении рассматриваемой добавки глутамата натрия. Результаты представлены в Таблице 4.

Таблица 4. Результаты в бланковой матрице при внесении глутамата натрия в двух уровнях концентраций, охватывающих нижний и верхний диапазоны методики

Table 4. Results in a blank matrix when adding monosodium glutamate at two concentrations, covering the lower and upper ranges of the method

№ пробы	Сходимость		Воспроизводимость	
	Концентрация внесенной добавки глутамата натрия, %			
	С _{доб} 0,14	С _{доб} 10,00	С _{доб} 0,14	С _{доб} 10,00
x1	0,15	10,00	0,15	10,00
x2	0,15	10,01	0,16	9,89
x3	0,14	10,05	0,17	9,91
x4	0,14	10,01	0,17	9,95
x5	0,13	10,03	0,14	10,01
x6	0,14	10,00	0,15	9,87
x7	0,14	10,00	0,16	9,92
x8	0,15	10,05	0,17	9,97
x9	0,15	10,04	0,18	9,90
x10	0,15	10,02	0,18	9,90
x11	0,14	10,03	0,16	9,98
x12	0,14	10,01	0,18	9,99
x13	0,15	10,02	0,15	10,02
x14	0,14	10,00	0,16	9,98
x15	0,15	10,00	0,18	9,94
x16	0,14	10,03	0,15	10,01
x ср	0,14	10,02	0,16	9,95

Для расчета условий сходимости и воспроизводимости метода рекомендуется использовать не менее 16 единичных результатов измерений, в соответствии с ГОСТ Р ИСО 21748–2021⁸. При анализе рабочих проб были получены хорошие сходимости и воспроизводимости раз-

⁸ ГОСТ Р ИСО 21748–2021 Статистические методы «Руководство по использованию оценок повторяемости, воспроизводимости и правильности при оценке неопределенности измерений». — М.: Российский институт стандартизации, 2021. — 36 с.

работанного метода. Затем для оценки пригодности метода в условиях рутинной лаборатории были проведены работы по верификации разработанной методологии на реальных матрицах мясной продукции.

Для этого выработали продукцию, по рецептуре вареной колбасы по ГОСТ 23670–2019, и печеночный паштет по ГОСТ Р 55336–2012, с внесением на этапе производства глутамата натрия в количестве 0,3 до 1,2 г/100 г. С учетом факторов потери при технологических операциях было дополнительно внесено 30% глутамата натрия. Таким образом, расчетными значениями должны служить для проб вареных колбас — 0,39% и для паштетов — 1,56%. Образцы 1 б/м и 2 б/м, отражающие нативные концентрации глутамата натрия в пробе, служили в качестве контроля. Целью исследования консервов была оценка нативного содержания глутамата натрия для получения информации о влиянии высоких температур (порядка 120 °С) на разрыв пептидных связей в мясном белке. Содержание нативного уровня натриевой соли глутаминовой кислоты в обоих образцах было определено на уровне 0,03–0,07%. Ниже на Рисунке 3 представлена оценка сходимости разработанной методологии на примере эксперимента определения глутамата натрия при внесении в рецептуру вареных колбас.

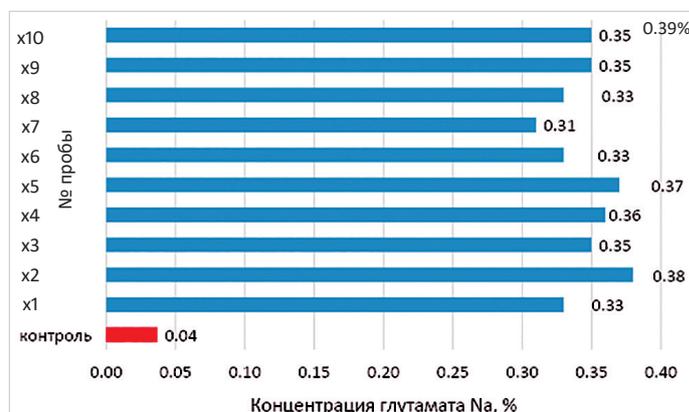


Рисунок 3. Диаграмма оценки сходимости метода (N = 10)
Figure 3. Diagram of the method convergence evaluation (N = 10)

Количество единичных параллельных определений для каждой рабочей пробы n = 3.

Таким образом, в условиях рутинной лаборатории при верификации разработанного метода определения глутамата натрия в пробах с заранее внесенной концентрацией

искомого аналита, равной $C = 0,39\%$, была установлена дисперсия разброса в $0,03\text{--}0,04\%$ от среднего значения, что входит в условия погрешности метода $0,35 \pm 0,11\%$.

Также был проведен аналогичный эксперимент на примере другого диапазона концентраций. В эксперименте принимало участие 3 аккредитованных лаборатории, на базе которых первоначально была проведена оценка адекватности разработанной методологии, и впоследствии они же приняли участие в межлабораторном эксперименте.

Лаборатория № 1 — эксперимент x1, x2, x3;

Лаборатория № 2 — эксперимент x3, x4, x5;

Лаборатория № 3 — эксперимент x6, x7, x8.

На Рисунке 4 представлены данные эксперимента.

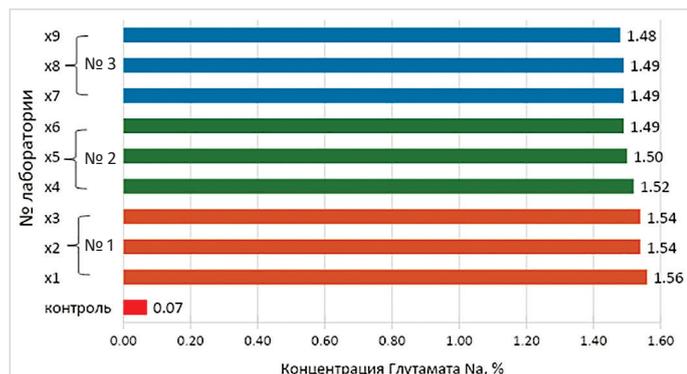


Рисунок 4. Диаграмма воспроизводимости метода на примере печеночного паштета

Figure 4. Method reproducibility diagram on the example of a liver pate

При исследовании образцов паштета с внесенной добавкой глутамата натрия была получена дисперсия разброса значений $0,03\text{--}0,05\%$ от среднего значения, что входит в условия погрешности метода $1,51 \pm 0,45\%$. Концентрация искомого аналита составила $1,56\%$.

Разработанный и стандартизированный метод, описанный выше, был использован для мониторинга качества колбасных изделий (выработанных по ГОСТ, в промышленных условиях № 1–16, № 17–27 выработанных по ТУ) с разным способом технологической обработки: вареные, варено-копченые и сырокопченые. По рассчитанным ранее данным $LOD = 0,1\%$ результаты мониторинга представлены в Таблице 5.

Таким образом, при проведении мониторинговых исследований было обнаружено, что практически все колбасы, за исключением № 12–14, содержали значения искомого глутамата натрия в концентрациях выше диапазона определения методики. Нормативные документы, по которым производилась выработка исследованных образцов, допускают добавление пищевых добавок усилителей вкуса и аромата. Как написано выше, нормируемый уровень в ТР ТС 029⁹ внесения глутамата натрия в пищевой продукт составляет 10 г/кг , или 1% . Все мясные изделия мониторингового исследования не превышают установленного значения.

Предколоночная дериватизация имеет явные преимущества, а именно стабильность выхода продукта по времени, высокую чувствительность, селективность и уникальный дериватирующий агент.

Существует как предколоночная дериватизация, так и постколоночная. Если сравнивать эти две методологии манипуляций с аналитической пробой, во втором случае непрерывный поток в режиме реального времени даст пре-

имущество в качестве, скорости химических реакций, которые обеспечат высокую чувствительность за короткое время анализа, но в то же время окажут влияние на полноту образования производных продуктов дериватизации.

Таблица 5. Мониторинговые исследования колбасных изделий

Table 5. Monitoring studies of sausage products

№ образца	Вид колбасного изделия	Концентрация глутамата натрия, %	
1	варено-копченая	$0,33 \pm 0,10$	
2		$0,34 \pm 0,10$	
3		$0,11 \pm 0,03$	
4		$0,34 \pm 0,10$	
5		$0,24 \pm 0,07$	
6		$0,16 \pm 0,05$	
7		$0,30 \pm 0,11$	
8		$0,16 \pm 0,05$	
9		$0,11 \pm 0,03$	
10		$0,17 \pm 0,05$	
11	вареная	$0,24 \pm 0,07$	
12		Менее $0,10$	
13		Менее $0,10$	
14		Менее $0,10$	
15		$0,11 \pm 0,03$	
16		$0,33 \pm 0,10$	
17		$0,50 \pm 0,15$	
18		$0,54 \pm 0,16$	
19		$0,50 \pm 0,06$	
20		сырокопченая	$0,78 \pm 0,23$
21			$0,60 \pm 0,17$
22			$0,72 \pm 0,22$
23			$0,37 \pm 0,11$
24		$0,48 \pm 0,14$	

При этом методики, основанные на постколоночной дериватизации, показывают, как правило, меньшую вариативность результатов анализа, чем методики, основанные на предколоночной дериватизации.

Стоит также отметить, что и расход реагентов в постколоночной дериватизации будет значительно выше по сравнению с предколоночной дериватизацией, что так же будет отражаться на ценообразовании данного исследования.

Вышеперечисленные достоинства позволяют рекомендовать предколоночную дериватизацию для идентификации и количественного определения глутамата натрия в пищевой промышленности. Поэтому авторы остановили свой выбор на методе с предколоночной дериватизацией, которую проводят перед забором, тогда аналит в пробе практически 100% прореагирует с дериватирующим агентом.

4. Заключение

В результате проведенной работы была разработана методика определения массовой доли глутамата натрия с использованием ВЭЖХ системы с предколоночной дериватизацией в мясной продукции. Обоснованы и установлены метрологические параметры, такие как сходимость и воспроизводимость, нижние границы качественного и количественного предела обнаружения для двух диапазонов концентраций (от $0,1$ до $1,0\%$ и св. $1,1$ до $10,0\%$ включительно). Также были рассчитаны границы относительной погрешности при доверительной вероятности 95% . Для первого диапазона установлена граница 30% , и для второго — 10% .

⁹ ТР ТС 029 Технический регламент Таможенного союза «Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств». — ЕЭК, 2012. — 428 с.

Внедрение и использование данного метода определения глутамата натрия в химико-аналитическую лабораторию позволит использовать любую ВЭЖХ систему с УФ или диодно-матричным детектором, единственной модификацией может быть настраиваемый автосамплер, но и в ручном режиме можно произвести дериватизацию.

Также метод с предколоночной дериватизацией обладает высокой чувствительностью и селективностью.

Разработанная методология была аттестована на базе ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН (свидетельство об аттестации методики измерений № 241.0224/RA.RU.311866/2019 от 11 ноября 2019 г.) и внедрена в лабораторию. При помощи разработанной методологии было успешно проанализировано более 700 проб мясной продукции. Так же разработанная методика была от валидированная на другие матрицы, содержащие глутамат натрия.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Brosnan, J. T., Brosnan, M. E. (2013). Glutamate: a truly functional amino acid. *Amino Acids*, 45(3), 413–418. <https://doi.org/10.1007/s00726-012-1280-4>
- Ataseven, N., Yüzbaşıoğlu, D., Keskin, A. T., Ünal, F. (2016). Genotoxicity of monosodium glutamate. *Food and Chemical Toxicology*, 91, 8–18. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.02.021>
- Adeyemo, O. A., Farinmade, A. E. (2013). Genotoxic and cytotoxic effects of food flavor enhancer, monosodium glutamate (MSG) using Allium cepa assay. *African Journal of Biotechnology*, 12(13), 1459–1466. <https://doi.org/10.5897/AJB12.2927>
- Li, F.-Y., Yang, W.-H., Chang, C.-I., Lee, S.-J., Hung, C.-C., Chen, Y.-J. et al. (2015). Concurrent accumulation of myricetin and gallic acid putatively responsible for the umami taste of a specialized old oolong tea. *Journal of Food and Nutrition Research*, 1(6), 164–173. <https://doi.org/10.12691/jfnr-1-6-8>
- Zolotarev, V. A. (2014). Dietary free amino acids and the gastric phase of digestion. *Current Pharmaceutical Design*, 20(16), 1–7. <https://doi.org/10.2174/13816128113199990581>
- Henry-Unaeze, H. (2022). Monosodium glutamate in foods and its biological importance. Chapter in a book: Ensuring Global Food Safety. Academic Press, 2022. 17, 341–357. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816011-4.00022-7>
- Кулинский, В. И. (2001). Нейротрансмиттеры и головной мозг. *Соросовский образовательный журнал*, 7(6), 11–16.
- Ma, M., Quan, Y., Li, Y., He, X., Xiao, J., Zhan, M. et al. (2018). Bidirectional modulation of insulin action by reactive oxygen species in 3T3-L1 adipocytes. *Molecular Medicine Reports*, 18(1), 807–814. <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.9016>
- Yan, M., Zhu, W., Zheng, X., Li, Y., Tang, L., Lu, B. et al. (2016). Effect of glutamate on lysosomal membrane permeabilization in primary cultured cortical neurons. *Molecular Medicine Reports*, 13(3), 2499–2505. <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.4819>
- Zhang, J., Pavlova, N. N., Thompson, C. B., (2017). Cancer cell metabolism: the essential role of the nonessential amino acid, glutamine. *EMBO Journal*, 36(10), 1302–1315. <https://doi.org/10.15252/embj.201696151>
- Sulkowski, G., Dąbrowska-Bouta, B., Salińska, E., Struzyńska, L. (2014). Modulation of glutamate transport and receptor binding by glutamate receptor antagonists in EAE rat brain. *PLoS One*, 9(11) Article e113954. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0113954>
- Lu, M.-J., Chiu, T.-C., Chang, P.-L., Ho, H.-T., Chang, H.-T. (2005). Determination of glycine, glutamine, glutamate, and γ -aminobutyric acid in cerebrospinal fluids by capillary electrophoresis with light-emitting diode-induced fluorescence detection. *Analytica Chimica Acta*, 538(1–2), 143–150. <http://doi.org/10.1016/j.aca.2005.02.041>
- Sano, C. (2009). History of glutamate production. *American Journal of Clinical Nutrition*, 90(3), 728S–732S. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.27462F>
- Butnariu, M., Sarac, I. (2019). What is sodium glutamate and what effects it has on health. *Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering*, 6(5), 223–226. <https://doi.org/10.15406/jabb.2019.06.00195>
- Aramesh M., Ajoudanifar H. (2017). Alkaline protease producing Bacillus isolation and identification from Iran. *Banat's Journal of Biotechnology*, 8(16), 140–147. [https://doi.org/10.7904/2068-4738-viii\(16\)-140](https://doi.org/10.7904/2068-4738-viii(16)-140)
- Sato, Y., Nakanishi, T., Takeda, M., Oishi, K., Hirooka, H., Kumagai, H. (2019). Effects of supplementary mother liquor, by-product of monosodium glutamate, on in vitro ruminal fermentation characteristics. *Animal Science Journal*, 90(1), 90–97. <https://doi.org/10.1111/asj.13132>
- Obayashi, Y., Nagamura, Y. (2016). Does monosodium glutamate really cause headache? A systematic review of human studies. *Journal of Headache and Pain*, 17(1), Article 54. <https://doi.org/10.1186/s10194-016-0639-4>
- Banerjee, A., Mukherjee, S., Maji, B.K. (2021). Worldwide flavor enhancer monosodium glutamate combined with high lipid diet provokes metabolic alterations and systemic anomalies: An overview. *Toxicology Reports*, 8, 938–961. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2021.04.009>
- Zhao, Y., Li, J.-Y., Yin, L., Feng, L., Liu, Y., Jiang, W.-D. et al. (2019). Effects of dietary glutamate supplementation on flesh quality, antioxidant defense and gene expression related to lipid metabolism and myogenic regulation in Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Aquaculture*, 502, 212–222. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.12.050>
- Baad-Hansen, L., Cairns, B. E., Ernberg, M., Svensson, P. (2010). Effect of systemic monosodium glutamate (MSG) on headache and pericranial muscle sensitivity. *Cephalalgia*, 30(1), 68–76. <https://doi.org/10.1111/j.1468-2982.2009.01881.x>
- Niaz, K., Zaplatic, E., Spoor, J. (2018). Extensive use of monosodium glutamate: A threat to public health? *EXCL Journal*, 17, 273–278. <https://doi.org/10.17179/excli2018-1092>
- Veni, N., Karthika, D., Surya Devi, M., Rubini M. F., Vishalini, M., Pradeepa, Y. J. (2010). Analysis of Monosodium l-Glutamate in Food Products by HighPerformance Thin Layer Chromatography. *Journal of Young Pharmacists*, 2(3), 297–300. <https://doi.org/10.4103/0975-1483.66795>
- Soldatkina, O. V., Soldatkin, O. O., Kasap, B. O., Kucherenko, D. Y., Kucherenko, I. S., Kurc, B. A. et al. (2017). A novel amperometric glutamate biosensor based on glutamate oxidase adsorbed on silicalite. *Nanoscale Research Letters*, 12(1), Article 260. <https://doi.org/10.1186/s11671-017-2026-8>
- Бельтюкова, С. В., Малинка, Е. В. (2016). Определение глутамата натрия методом тонкослойной хроматографии с люминесцентным детектированием. *Вестник Одесского национального университета. Химия*, 21(1(57)), 50–58. [https://doi.org/10.18524/2304-0947.2016.1\(57\).67511](https://doi.org/10.18524/2304-0947.2016.1(57).67511)
- Руденко, А. О., Карцова, Л. А., Снарский, С. И. (2010). Определение важнейших аминокислот в сложных объектах биологического происхождения методом обращённо-фазовой ВЭЖХ с получением фенилтиогидантоинов аминокислот. *Сорбционные и хроматографические процессы*, 10(2), 223–230.

REFERENCES

- Brosnan, J. T., Brosnan, M. E. (2013). Glutamate: a truly functional amino acid. *Amino Acids*, 45(3), 413–418. <https://doi.org/10.1007/s00726-012-1280-4>
- Ataseven, N., Yüzbaşıoğlu, D., Keskin, A. T., Ünal, F. (2016). Genotoxicity of monosodium glutamate. *Food and Chemical Toxicology*, 91, 8–18. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.02.021>
- Adeyemo, O. A., Farinmade, A. E. (2013). Genotoxic and cytotoxic effects of food flavor enhancer, monosodium glutamate (MSG) using Allium cepa assay. *African Journal of Biotechnology*, 12(13), 1459–1466. <https://doi.org/10.5897/AJB12.2927>
- Li, F.-Y., Yang, W.-H., Chang, C.-I., Lee, S.-J., Hung, C.-C., Chen, Y.-J. et al. (2015). Concurrent accumulation of myricetin and gallic acid putatively responsible for the umami taste of a specialized old oolong tea. *Journal of Food and Nutrition Research*, 1(6), 164–173. <https://doi.org/10.12691/jfnr-1-6-8>
- Zolotarev, V. A. (2014). Dietary free amino acids and the gastric phase of digestion. *Current Pharmaceutical Design*, 20(16), 1–7. <https://doi.org/10.2174/13816128113199990581>
- Henry-Unaeze, H. (2022). Monosodium glutamate in foods and its biological importance. Chapter in a book: Ensuring Global Food Safety. Academic Press, 2022. 17, 341–357. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816011-4.00022-7>
- Kulinsky, V. I. (2001). Neurotransmitters and the brain. *Soros Educational Journal*, 7(6), 11–16. (In Russian)
- Ma, M., Quan, Y., Li, Y., He, X., Xiao, J., Zhan, M. et al. (2018). Bidirectional modulation of insulin action by reactive oxygen species in 3T3-L1 adipocytes. *Molecular Medicine Reports*, 18(1), 807–814. <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.9016>
- Yan, M., Zhu, W., Zheng, X., Li, Y., Tang, L., Lu, B. et al. (2016). Effect of glutamate on lysosomal membrane permeabilization in primary cultured cortical neurons. *Molecular Medicine Reports*, 13(3), 2499–2505. <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.4819>
- Zhang, J., Pavlova, N. N., Thompson, C. B., (2017). Cancer cell metabolism: the essential role of the nonessential amino acid, glutamine. *EMBO Journal*, 36(10), 1302–1315. <https://doi.org/10.15252/embj.201696151>
- Sulkowski, G., Dąbrowska-Bouta, B., Salińska, E., Struzyńska, L. (2014). Modulation of glutamate transport and receptor binding by glutamate receptor antagonists in EAE rat brain. *PLoS One*, 9(11) Article e113954. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0113954>

12. Lu, M.-J., Chiu, T.-C., Chang, P.-L., Ho, H.-T., Chang, H.-T. (2005). Determination of glycine, glutamine, glutamate, and γ -aminobutyric acid in cerebrospinal fluids by capillary electrophoresis with light-emitting diode-induced fluorescence detection. *Analytica Chimica Acta*, 538(1–2), 143–150. <http://doi.org/10.1016/j.aca.2005.02.041>
13. Sano, C. (2009). History of glutamate production. *American Journal of Clinical Nutrition*, 90(3), 728S–732S. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.27462F>
14. Butnariu, M., Sarac, I. (2019). What is sodium glutamate and what effects it has on health. *Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering*, 6(5), 223–226. <https://doi.org/10.15406/jabb.2019.06.00195>
15. Aramesh M., Ajoudanifar H. (2017). Alkaline protease producing *Bacillus* isolation and identification from Iran. *Banat's Journal of Biotechnology*, 8(16), 140–147. [https://doi.org/10.7904/2068-4738-viii\(16\)-140](https://doi.org/10.7904/2068-4738-viii(16)-140)
16. Sato, Y., Nakanishi, T., Takeda, M., Oishi, K., Hirooka, H., Kumagai, H. (2019). Effects of supplementary mother liquor, by-product of monosodium glutamate, on in vitro ruminal fermentation characteristics. *Animal Science Journal*, 90(1), 90–97. <https://doi.org/10.1111/asj.13132>
17. Obayashi, Y., Nagamura, Y. (2016). Does monosodium glutamate really cause headache? A systematic review of human studies. *Journal of Headache and Pain*, 17(1), Article 54. <https://doi.org/10.1186/s10194-016-0639-4>
18. Banerjee, A., Mukherjee, S., Maji, B. K. (2021). Worldwide flavor enhancer monosodium glutamate combined with high lipid diet provokes metabolic alterations and systemic anomalies: An overview. *Toxicology Reports*, 8, 958–961. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2021.04.009>
19. Zhao, Y., Li, J.-Y., Yin, L., Feng, L., Liu, Y., Jiang, W.-D. et al. (2019). Effects of dietary glutamate supplementation on flesh quality, antioxidant defense and gene expression related to lipid metabolism and myogenic regulation in Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Aquaculture*, 502, 212–222. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.12.050>
20. Baad-Hansen, L., Cairns, B.E., Ernberg, M., Svensson, P. (2010). Effect of systemic monosodium glutamate (MSG) on headache and pericranial muscle sensitivity. *Cephalalgia*, 30(1), 68–76. <https://doi.org/10.1111/j.1468-2982.2009.01881.x>
21. Niaz, K., Zaplatic, E., Spoor, J. (2018). Extensive use of monosodium glutamate: A threat to public health? *EXCL Journal*, 17, 273–278. <https://doi.org/10.17179/excli2018-1092>
22. Veni, N., Karthika, D., Surya Devi, M., Rubini M. F., Vishalini, M., Pradeepa, Y. J. (2010). Analysis of Monosodium l-Glutamate in Food Products by HighPerformance Thin Layer Chromatography. *Journal of Young Pharmacists*, 2(3), 297–300. <https://doi.org/10.4103/0975-1483.66795>
23. Soldatkina, O. V., Soldatkin, O. O., Kasap, B. O., Kucherenko, D. Y., Kucherenko, I. S., Kurc, B. A. et al. (2017). A novel amperometric glutamate biosensor based on glutamate oxidase adsorbed on silicalite. *Nanoscale Research Letters*, 12(1), Article 260. <https://doi.org/10.1186/s11671-017-2026-8>
24. Belyukova, S. V., Malinka, E. V. (2016). Determination of sodium glutamate by thin, layer chromatography with luminescent detection. *Odesa National University Herald. Chemistry*, 21(1(57)), 50–58. [https://doi.org/10.18524/2304-0947.2016.1\(57\).67511](https://doi.org/10.18524/2304-0947.2016.1(57).67511) (In Russian)
25. Rudenko, A. O., Kartsova, L. A., Snarskiy, S. I. (2010). High performance liquid chromatography determination of the major amino acids in complex biological objects using phenylisothiocyanate derivatization. *Sorption and Chromatographic Processes*, 10(2), 1–8. (In Russian)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p>Князева Александра Сергеевна — младший научный сотрудник, лаборатория «Научно-методических работ, биологических и аналитических исследований», Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-79-61 E-mail: a.knyazeva@fnpcs.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-0038-9744 * автор для контактов</p>	<p>Aleksandra S. Knyazeva, Junior Researcher, Laboratory “Scientific and Methodical Work, Biological and Analytical Research”, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina, 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-79-61 E-mail: a.knyazeva@fnpcs.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-0038-9744 * corresponding author</p>
<p>Вострикова Наталья Леонидовна — доктор технических наук, руководитель Научно-исследовательского испытательного центра, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-60-11 E-mail: n.vostrikova@fnpcs.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9395-705X</p>	<p>Natalia L. Vostrikova, Doctor of Technical Sciences, Head of the Research and Testing Center, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina, 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-60-11 ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9395-705X</p>
<p>Куликовский Андрей Владимирович — кандидат технических наук, заведующий лабораторией «Научно-методических работ, биологических и аналитических исследований», Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-60-11 E-mail: a.kulikovskii@fnpcs.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9140-5390</p>	<p>Andrey V. Kulikovskii, Candidate of Technical Sciences, Head of Laboratory «Scientific and Methodical Work, Biological and Analytical Research», V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina, 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-60-11 E-mail: a.kulikovskii@fnpcs.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9140-5390</p>
<p>Утьянов Дмитрий Александрович — кандидат технических наук, научный сотрудник, лаборатория «Научно-методических работ, биологических и аналитических исследований», Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 +7-495-676-79-61 E-mail: d.utyaynov@fnpcs.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7693-3032</p>	<p>Dmitry A. Utyaynov, Candidate of Technical sciences, Research Scientist, Laboratory «Scientific and Methodical Work, Biological and Analytical Research», V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina, 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-79-61 E-mail: d.utyaynov@fnpcs.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7693-3032</p>
Критерии авторства	Contribution
<p>Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.</p>	<p>Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.</p>
Конфликт интересов	Conflict of interest
<p>Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.</p>	<p>The authors declare no conflict of interest.</p>