



# 中华人民共和国国家标准

GB/T ×××××—202×/ISO 4134:2021

---

## 肉与肉制品中 L-(+)-谷氨酸含量的测定

Determination of L-(+)-glutamic acid content in meat and meat products

(ISO 4134:2021, Meat and meat products—Determination of L-(+)-glutamic acid content—Reference method, IDT)

××××-××-××发布

××××-××-××实施

---

国家市场监督管理总局  
国家标准化管理委员会 发布



## 前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件等同采用 ISO 4134:2021《肉与肉制品 L-(+)-谷氨酸含量的测定 参考方法》。

本文件做了下列最小限度的编辑性改动：

——为与现有标准协调，将标准名称修改为《肉与肉制品中 L-(+)-谷氨酸含量的测定》。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国商业联合会提出。

本文件由全国肉禽蛋制品标准化技术委员会(SAC/TC 399)归口。

本文件起草单位：华测检测认证集团股份有限公司、安徽国泰众信检测技术有限公司、谱尼测试集团四川有限公司、福建中检华日食品安全检测有限公司、广州检验检测认证集团有限公司、合肥工业大学、山东鼎科检测技术有限公司、中山洪力健康食品产业研究院有限公司、利诚检测认证集团股份有限公司、广州质量监督检测研究院、中国肉类食品综合研究中心、上海微谱检测认证有限公司、味斯美食品科技(安吉)有限公司、深圳市虹彩检测技术有限公司、青岛元信检测技术有限公司、实朴检测技术(上海)股份有限公司、厦门泓益检测有限公司、南京市食品药品监督管理局、台州市食品药品检验研究院、重庆市华测检测技术有限公司、中国商业联合会。

本文件主要起草人：刘文秋、陈洪周、杨柳、冉光芝、陈桂友、温文娟、王志英、郑萍、陈新文、洗燕萍、王守伟、赵冰、赵燕、郭敏、蔚盛超、黄胜明、雒飞飞、金尉、赵叶祺、胡文彦、夏慧丽、赵婷、姚杰、税刘杨、赵彦远、刘振宇、鲁振。

# 肉与肉制品中 L-(+)-谷氨酸含量的测定

## 1 范围

本文件描述了测定肉与肉制品中游离 L-(+)-谷氨酸含量的分光光度法和光吸收酶标法。  
本文件适用于肉与肉制品。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

ISO 648 实验室玻璃器皿 单容量吸量管(Laboratory glassware—Single-volume pipettes)

注: GB/T 12808—2015 实验室玻璃仪器 单标线吸量管(ISO 648:2008, NEQ)

ISO 1042 实验室玻璃器皿 单标线容量瓶(Laboratory glassware—One-mark volumetric flasks)

注: GB/T 12806—2011 实验室玻璃仪器 单标线容量瓶(ISO 1042:1998, NEQ)

ISO 1442 肉和肉制品 水分含量的测定 参照法(Meat and meat products—Determination of moisture content—Reference method)

注: GB 5009.3—2016 食品安全国家标准 食品中水分的测定(ISO 1442:1997, NEQ)

ISO 3696 分析实验室用水 规范和试验方法(Water for analytical laboratory use—Specification and test methods)

注: GB/T 6682—2008 分析实验室用水规格和试验方法(ISO 3696:1987, MOD)

ISO 8655-2 活塞式容量测量仪 第 2 部分: 活塞式移液器(Piston-operated volumetric apparatus—Part 2: Pipettes)

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

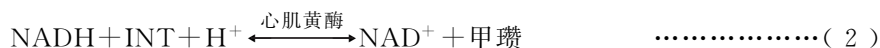
### 3.1

**游离 L-(+)-谷氨酸 free L-(+)-glutamic acid**

以游离态存在于肉与肉制品中的 L-(+)-谷氨酸和谷氨酸盐。

## 4 原理

用高氯酸溶液提取测试样品中的游离 L-(+)-谷氨酸( $C_5H_9NO_4$ )。提取液离心、过滤,加水稀释至合适浓度,调节 pH 至 10。烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)在谷氨酸脱氢酶的存在下被 L-(+)-谷氨酸还原,见公式(1)。所得到的还原态烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)在心肌黄酶的存在下与碘硝基氯化四氮唑蓝(INT)反应,见公式(2)。在 490 nm 波长下测量所得甲瓩的含量,并计算测试样品的游离 L-(+)-谷氨酸含量。



## 5 抽样

抽取 200 g 以上的有代表性样品。如果不立即分析,应在 0 °C ~ 4 °C 或 -18 °C 及以下储存。

## 6 试样制备

用适当的设备(见 7.2.1)均质化试样。制备时试样的温度不超过 25 °C。如果使用绞肉机,至少处理 2 次。

将制备好的试样装入合适的密封容器中,应在均质后 24 h 内分析。如果不立即分析,应在 0 °C ~ 4 °C 或 -18 °C 及以下储存。

## 7 分光光度法

### 7.1 试剂

除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为 ISO 3696 规定的二级水或一级水。除无机化合物溶液(7.1.1 和 7.1.2)外,所有溶液应存放在洁净的具塞棕色玻璃瓶中。

#### 7.1.1 高氯酸溶液: $c = 1.0 \text{ mol/L}$

**警告:**高氯酸与氧化物、易燃物、脱水剂、还原剂接触会导致火灾或爆炸,使用者应知悉其危险性,具体请参阅附录 A 中列出的安全措施。

量取高氯酸(70%,  $\rho_{20} = 1.67 \text{ g/mL}$ ) 8.6 mL,用水稀释至 100 mL。

#### 7.1.2 氢氧化钾溶液: $c = 4 \text{ mol/L}$ 、 $2 \text{ mol/L}$ 、 $0.5 \text{ mol/L}$ 和 $0.02 \text{ mol/L}$

称取 22.4 g 氢氧化钾,用适量水溶解冷却后,用水稀释至 100 mL,  $c = 4 \text{ mol/L}$ 。

称取 11.2 g 氢氧化钾,用适量水溶解冷却后,用水稀释至 100 mL,  $c = 2 \text{ mol/L}$ 。

量取 2.5 mL  $2 \text{ mol/L}$  氢氧化钾溶液于 10 mL 容量瓶中,用水稀释至刻度,  $c = 0.5 \text{ mol/L}$ 。

量取 0.1 mL  $2 \text{ mol/L}$  氢氧化钾溶液于 10 mL 容量瓶中,用水稀释至刻度,  $c = 0.02 \text{ mol/L}$ 。

#### 7.1.3 溶液 R1:磷酸三乙醇胺缓冲溶液, $\text{pH} = 8.6$

溶液 A:称取 1.86 g 三乙醇胺盐酸盐溶于约 25 mL 水中,用  $2 \text{ mol/L}$  氢氧化钾溶液(7.1.2)调节 pH 至 8.6,加入 0.68 g 辛基苯酚十乙二醇醚(例如 Triton X-100),用水稀释至 100 mL,混匀。

溶液 B:称取 0.86 g 磷酸氢二钾( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ )和 7 mg 磷酸二氢钾( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )溶解在水中并稀释至 100 mL,混匀。

溶液 R1:量取 20 mL 溶液 A 与 5 mL 溶液 B 混匀,该溶液在 0 °C ~ 6 °C 下储存,有效期 2 个月。

#### 7.1.4 溶液 R2:NAD 和心肌黄酶(硫辛酰胺脱氢酶 EC<sup>1)</sup> 1.8.1.4)的混合溶液, $\rho_{\text{NAD}} = 11 \text{ mg/mL}$ ,心肌黄酶,不低于 $4 \text{ IU/mL}$

称取 110 mg NAD 和约 8 mg(不低于 40 IU)心肌黄酶,放入具塞玻璃瓶中。加入 10.0 mL 水溶解

1) EC 编号是指国际生物化学联合会,Enzymenoclature,Elsevier,Amsterdam,1965 中给出的酶分类编号。

并混匀。

该溶液在 0 °C~6 °C 下避光储存,有效期 1 周。

#### 7.1.5 溶液 R3: 氯化碘硝基四唑 (INT) 溶液, 2-(4-碘苯基)-3-(4-硝基苯基)-5-苯基氯化四唑, $\rho = 0.6 \text{ mg/mL}$

称取 6 mg INT 于具塞的棕色小瓶中,加入 10.0 mL 水溶解并混匀。

该溶液在 0 °C~6 °C 下避光储存,有效期 4 周。

#### 7.1.6 溶液 R123: 溶液 R1、溶液 R2 和溶液 R3 的混合溶液

量取 6 mL 溶液 R1、2 mL 溶液 R2 和 2 mL 溶液 R3 于具塞的棕色玻璃瓶中,并在测试前混匀。

该溶液在室温下避光储存可稳定 1 h。

#### 7.1.7 谷氨酸脱氢酶 (GLDH) 溶液 (EC<sup>1</sup> 1.4.1.3), 不低于 900 IU/mL

称取 10 mg (约 900 IU) 的冻干谷氨酸脱氢酶 (GLDH) 于具塞的小瓶中,加入 1 mL 水溶解并混匀。

该酶悬浮在硫酸铵、乙二胺四乙酸 (EDTA)、谷氨酰胺酶溶液中时,在 0 °C~6 °C 下储存,有效期 12 个月。

#### 7.1.8 L-(+)-谷氨酸标准储备溶液: $\rho = 1\,000 \text{ mg/L}$

称取约 50.0 mg L-(+)-谷氨酸 (精确至 0.000 1 g), 溶解于约 25 mL 水中,用 2 mol/L 氢氧化钾溶液 (7.1.2) 调节 pH 至 5~6。用 0.02 mol/L 氢氧化钾溶液 (7.1.2) 缓慢调节 pH 至 7.0, 并用水稀释至 50 mL, 混匀。

该溶液在 0 °C~6 °C 下储存,有效期 6 个月。

#### 7.1.9 L-(+)-谷氨酸标准溶液: $\rho = 100 \text{ mg/L}$

量取 5.0 mL L-(+)-谷氨酸标准储备溶液 (7.1.8) 于 50 mL 容量瓶 (7.2.8) 中,用水稀释至刻度并混匀。

该溶液现配现用。

#### 7.1.10 L-(+)-谷氨酸系列标准溶液: $\rho = 5 \text{ mg/L}$ 、 $10 \text{ mg/L}$ 、 $15 \text{ mg/L}$ 、 $20 \text{ mg/L}$ 、 $30 \text{ mg/L}$ 和 $40 \text{ mg/L}$

分别量取 0.50 mL、1.00 mL、1.50 mL、2.00 mL、3.00 mL 和 4.00 mL L-(+)-谷氨酸标准溶液 (7.1.9) 于 6 个 10 mL 容量瓶 (7.2.8) 中,用水稀释至刻度并混匀。

该溶液现配现用。

## 7.2 仪器和设备

7.2.1 样品均质化设备,包括高速旋转切割机,或装有孔径不超过 4.0 mm 板的绞肉机。

7.2.2 混匀器: 搅拌器或振荡器。

7.2.3 离心机: 配备 50 mL 或 100 mL 离心管。

7.2.4 分析天平: 感量 0.001 g、0.000 1 g。

7.2.5 恒温干燥箱。

7.2.6 pH 计。

7.2.7 滤纸: 直径约 15 cm, 快速或中速。

7.2.8 单标容量瓶: 容量为 10 mL、50 mL 和 100 mL, 应符合 ISO 1042 的 B 级标准。

7.2.9 单标移液管, 容量为 50 mL、25 mL 和 1 mL, 应符合 ISO 648 的 B 级标准。

- 7.2.10 单通道或多通道移液器和吸头:5 mL、1 000  $\mu$ L、200  $\mu$ L 和 100  $\mu$ L,符合 ISO 8655-2 的要求。
- 7.2.11 塑料抹刀或盖子:用抹刀搅拌比色皿或摇动盖上盖子的比色皿来混匀内容物。
- 7.2.12 紫外分光光度计:配备在波长为 490 nm 处具有最大透射率的滤光片或光谱仪。
- 7.2.13 比色皿:10 mm 光程长度。

### 7.3 测定步骤

#### 7.3.1 通则

如果需要检查是否达到可重复性要求,则应进行 2 次单独的测定。

#### 7.3.2 试样

称取制备好的试样约 25 g 或其他适合的质量( $m_1$ ),精确至 0.001 g。

#### 7.3.3 提取

7.3.3.1 向试样中加入 50 mL 高氯酸溶液(7.1.1),用混匀器(7.2.2)混匀。

7.3.3.2 将匀浆后的样品转移至离心管(7.2.3)中,在 10  $^{\circ}$ C 的温度下,以约 2 000g 的径向加速度或等效速度(例如 3 500 r/min 至 4 000 r/min)离心 10 min。撇去脂肪层,将上清液通过滤纸(7.2.7)滤入 100 mL 锥形瓶中,弃去前 10 mL 的滤液。

7.3.3.3 用移液管(7.2.9)吸取 25 mL 溶液至离心管(7.2.3)中,用 4 mol/L 氢氧化钾溶液(7.1.2)调节 pH 至 7~8,然后用 2 mol/L 和 0.5 mol/L 氢氧化钾溶液(7.1.2)缓慢调节 pH 至 10.0。以约 2 000g 的径向加速度或同等速度(例如 3 500 r/min 至 4 000 r/min)离心 3 min。

注:如果 pH 略高于 10.0,可用高氯酸溶液(7.1.1)将其调回所需的 pH。

7.3.3.4 将所有上清液转移至 50 mL 容量瓶中(7.2.8),用水稀释至刻度并混匀。

7.3.3.5 将溶液在冰中冷却 10 min,并通过滤纸(7.2.7)过滤,弃去前 10 mL 的滤液。

7.3.3.6 吸取 5 mL 或其他适当体积( $V_1$ )的滤液到 50 mL 容量瓶(7.2.8)中,用水稀释至刻度并混匀。所得溶液将用于测定试样中游离 L-(+)-谷氨酸的含量。

宜选择体积  $V_1$ ,使得溶液中的 L-(+)-谷氨酸含量介于 8 mg/L 和 40 mg/L 之间。

#### 7.3.4 测定

##### 7.3.4.1 检测仪器的准备

设置分光光度计(7.2.12),预热达到平衡条件。将检测波长设置为 490 nm,用纯水调零设备基线。

##### 7.3.4.2 L-(+)-谷氨酸试样液吸光度测定

7.3.4.2.1 将溶液 R123(7.1.6)、水和 L-(+)-谷氨酸试样液(7.3.3.6)的温度保持在 20  $^{\circ}$ C~25  $^{\circ}$ C。

移取 1.0 mL 溶液 R123(7.1.6)于比色皿(7.2.13)中并加入 2.0 mL 水。所得溶液为空白溶液。

移取 1.0 mL 溶液 R123(7.1.6)、1.8 mL 水和 200  $\mu$ L L-(+)-谷氨酸试样液(7.3.3.6)于另一个比色皿中。所得溶液为试样液。

用抹刀或盖子(7.2.11)将溶液混匀,放入分光光度计中,读取 490 nm 波长处试样液的吸光度  $A_1$  和空白溶液的吸光度  $A_{bl}$ 。

7.3.4.2.2 移取 50  $\mu$ L GLDH 溶液(7.1.7)于每个比色皿中,用抹刀或盖子(7.2.11)将溶液混匀。

静置 10 min~15 min 后,读取 490 nm 波长处试样液的吸光度  $A_1'$  和空白溶液的吸光度  $A_{bl}'$ ,每 2 min 读取一次直至达到恒定的吸光度。取恒定吸光度值作为测试结果。

宜尽可能避免反应溶液暴露在光线下,溶液温度宜保持在 20  $^{\circ}$ C~25  $^{\circ}$ C。

7.3.4.3 L-(+)-谷氨酸标准溶液吸光度测定

重复 7.3.4.2.1 的操作, 但将 L-(+)-谷氨酸试样液(7.3.3.6)替换为 L-(+)-谷氨酸系列标准溶液(7.1.10)。读取 L-(+)-谷氨酸标准溶液的吸光度  $A_{s1}$  和空白溶液的  $A_{b2}$ 。然后重复 7.3.4.2.2 中的操作。读取 L-(+)-谷氨酸标准溶液的吸光度  $A_{s1}'$  和空白溶液的吸光度  $A_{b2}'$ 。

注: 如果 7.3.4.2 和 7.3.4.3 在同一批次检测, 7.3.4.3 的空白溶液测定能省略。直接取  $A_{b1}$  的值为  $A_{b2}$  及  $A_{b1}'$  的值为  $A_{b2}'$ 。

7.3.4.4 试样水分测定

按 ISO 1442 规定的方法测定试样的水分含量。

7.4 结果计算和表述

7.4.1 L-(+)-谷氨酸标准溶液的吸光度差值

按公式(3)计算 L-(+)-谷氨酸标准溶液的吸光度差:

$$\Delta A_{s1} = (A_{s1}' - A_{s1}) - (A_{b2}' - A_{b2}) \dots\dots\dots(3)$$

式中:

- $\Delta A_{s1}$  —— L-(+)-谷氨酸标准溶液的吸光度差;
- $A_{s1}'$  —— 标准溶液的吸光度, 按 7.3.4.3 测定;
- $A_{s1}$  —— 标准溶液的吸光度, 按 7.3.4.3 测定;
- $A_{b2}'$  —— 空白溶液的吸光度, 按 7.3.4.3 测定;
- $A_{b2}$  —— 空白溶液的吸光度, 按 7.3.4.3 测定。

7.4.2 L-(+)-谷氨酸试样液的吸光度差值

按公式(4)计算 L-(+)-谷氨酸试样液的吸光度差:

$$\Delta A_1 = (A_1' - A_1) - (A_{b1}' - A_{b1}) \dots\dots\dots(4)$$

式中:

- $\Delta A_1$  —— L-(+)-谷氨酸试样液的吸光度差;
- $A_1'$  —— 试样液的吸光度, 按 7.3.4.2 测定;
- $A_1$  —— 试样液的吸光度, 按 7.3.4.2 测定;
- $A_{b1}'$  —— 空白溶液的吸光度, 按 7.3.4.2 测定;
- $A_{b1}$  —— 空白溶液的吸光度, 按 7.3.4.2 测定。

7.4.3 L-(+)-谷氨酸标准曲线的线性回归方程

以 L-(+)-谷氨酸系列标准溶液(7.1.10)的浓度为  $x$  坐标轴, 以  $\Delta A_{s1}$  (7.4.1) 为  $y$  坐标轴绘制 L-(+)-谷氨酸标准曲线。L-(+)-谷氨酸标准曲线的线性回归方程如公式(5)所示:

$$y = a \times x + d \dots\dots\dots(5)$$

式中:

- $y$  —— L-(+)-谷氨酸系列标准溶液的吸光度差;
- $a$  —— 方程的系数, 将数值四舍五入至最接近的 0.000 1;
- $x$  —— L-(+)-谷氨酸系列标准溶液的质量浓度, 单位为毫克每升(mg/L);
- $d$  —— 方程的系数。



#### 7.4.4 L-(+)-谷氨酸试样液的浓度

按公式(6)计算试样液(7.3.3.6)中 L-(+)-谷氨酸的浓度:

$$c_1 = \frac{\Delta A_1 - d}{a} \dots\dots\dots(6)$$

式中:

- $c_1$  ——L-(+)-谷氨酸试样液(7.3.3.6)的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);
- $\Delta A_1$ ——7.4.2 中 L-(+)-谷氨酸试样液的吸光度差;
- $d$  ——7.4.3 中方程的系数;
- $a$  ——7.4.3 中方程的系数。

#### 7.4.5 试样的 L-(+)-谷氨酸含量

按公式(7)计算试样中的 L-(+)-谷氨酸含量:

$$W_1 = \frac{c_1}{10\,000 \times m_1} \times \frac{50 + \frac{W_m}{100} \times m_1}{\frac{V_1}{50} \times \frac{25}{50}} \dots\dots\dots(7)$$

式中:

- $W_1$  ——试样中 L-(+)-谷氨酸的含量,单位为克每百克(g/100 g);
- $c_1$  ——L-(+)-谷氨酸试样液(7.3.3.6)的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);
- $m_1$  ——试样(7.3.2)的质量,单位为克(g);
- $W_m$  ——水分的含量(7.3.4.4),单位为克每百克(g/100 g);
- $V_1$  ——7.3.3.6 中所取滤液的体积,单位为毫升(mL);
- $V_1/50$ ——7.3.3.6 中滤液稀释倍数;
- $25/50$ ——“25”为 7.3.3.3 中用于调节 pH 的滤液的体积,单位为毫升(mL),“50”是 7.3.3.4 中溶液的体积,单位为毫升(mL)。

将结果修约至小数点后 2 位。

### 7.5 精密度

#### 7.5.1 实验室间测试

该方法的精密度是通过与 ISO 5725-1 和 ISO 5725-2 一致的实验室间测试来建立的。从这些测试中得出的值可能不适用于给定以外的浓度范围和基质类型。

#### 7.5.2 重复性

样品中 L-(+)-谷氨酸含量为 0.159 2 g/100 g~0.305 0 g/100 g 时,在重复性条件下获得的 2 个测试结果之间的绝对差值在 95%的置信区间下,不超过 0.55%。

#### 7.5.3 再现性

样品中 L-(+)-谷氨酸含量为 0.159 2 g/100 g~0.305 0 g/100 g 时,在再现性条件下获得的 2 个测试结果之间的绝对差值在 95 %的置信区间下,不超过 0.82%。

### 7.6 检出限

当  $W_m$  (7.3.4.4 中试样水分的含量)为 70,  $V_1/50$ (7.3.3.6 中滤液稀释倍数)为 1/15 时,L-(+)-谷氨

酸含量的检出限为 0.02 g/100 g。

## 8 光吸收酶标法

### 8.1 试剂

同 7.1。

### 8.2 设备

除 7.2.1~7.2.9 的设备外,还应包括以下设备。

8.2.1 单道或多道移液器和吸头:容量为 1000  $\mu\text{L}$ 、200  $\mu\text{L}$ 、100  $\mu\text{L}$  和 20  $\mu\text{L}$ ,符合 ISO 8655-2 的要求。

8.2.2 光吸收酶标仪:波长 490 nm。

8.2.3 微孔板:96 孔(推荐),平整透明。

8.2.4 棕色玻璃小瓶:带盖,容积不少于 1.5 mL。

### 8.3 测定步骤

#### 8.3.1 通则

如果需要检查是否达到可重复性要求,则应进行 2 次单独的测定。

#### 8.3.2 试样中 L-(+)-谷氨酸的提取

同 7.3.2、7.3.3。

#### 8.3.3 测定

##### 8.3.3.1 检测仪器的准备

设置光吸收酶标仪(8.2.2),预热达到平衡条件。将检测波长设置为 490 nm,微孔板每孔读取时间间隔约为 0.5 s。

##### 8.3.3.2 吸光度的测定

8.3.3.2.1 将溶液 R123(7.1.6)、水、L-(+)-谷氨酸系列标准溶液(7.1.10)和 L-(+)-谷氨酸试样液(8.3.2)的温度保持在 20  $^{\circ}\text{C}$ ~25  $^{\circ}\text{C}$ 。

移取 300  $\mu\text{L}$  溶液 R123(7.1.6)和 600  $\mu\text{L}$  水于带盖的棕色玻璃小瓶(8.2.4)中。通过倒转或缓慢摇动小瓶混匀溶液。所得溶液为空白溶液。

移取 300  $\mu\text{L}$  溶液 R123(7.1.6)、540  $\mu\text{L}$  水和 60  $\mu\text{L}$  L-(+)-谷氨酸试样液(8.3.2)于棕色玻璃小瓶(8.2.4)中。通过倒转或缓慢摇动小瓶混匀溶液。所得溶液为试样液。

移取 300  $\mu\text{L}$  溶液 R123(7.1.6)、540  $\mu\text{L}$  水和 60  $\mu\text{L}$  L-(+)-谷氨酸系列标准溶液(7.1.10)于棕色玻璃小瓶(8.2.4)中。通过倒转或缓慢摇动小瓶混匀溶液。所得溶液为标准溶液。

8.3.3.2.2 吸取 200  $\mu\text{L}$  空白溶液、标准溶液和试样液(8.3.3.2.1)到同一微孔板(8.2.3)的不同孔中。

将微孔板放入光吸收酶标仪中摆动 5 s~10 s。读取 490 nm 波长处空白溶液的吸光度  $A_{\text{b3}}$ 、L-(+)-谷氨酸系列标准溶液的吸光度  $A_{\text{s2}}$  和 L-(+)-谷氨酸试样液的吸光度  $A_{\text{t}}$ 。

8.3.3.2.3 移取 10  $\mu\text{L}$  GLDH 溶液(7.1.7)于每个棕色玻璃小瓶中(8.3.3.2.1),通过倒转或缓慢摇动小瓶混匀溶液。

取出微孔板(8.3.3.2.2),从每个棕色玻璃瓶中分别吸取 200  $\mu\text{L}$  溶液到不同的孔中。每瓶建议测定 3 次,取平均值作为测试结果。

将微孔板放入光吸收酶标仪中摆动 5 s~10 s,10 min~15 min 后,读取 490 nm 波长处空白溶液的吸光度  $A_{b3}'$ 、L-(+)-谷氨酸系列标准溶液的吸光度  $A_{s2}'$  和 L-(+)-谷氨酸试样液的吸光度  $A_2'$ ,每 2 min 读取一次直至达到恒定的吸光度。取恒定吸光度值作为测试结果。如果每个棕色玻璃瓶进行了 3 个微孔测定,则取 3 个微孔恒定吸光度的平均值作为测试结果。

宜缓慢地移取或混匀以避免气泡,尽可能避免反应溶液暴露在光线下,溶液温度宜保持在 20 °C~25 °C。

### 8.3.3.3 试样水分测定

同 7.3.4.4。

## 8.4 结果计算和表述

### 8.4.1 L-(+)-谷氨酸标准溶液的吸光度差值

按公式(8)计算 L-(+)-谷氨酸标准溶液的吸光度差值:

$$\Delta A_{s2} = (A_{s2}' - A_{s2}) - (A_{b3}' - A_{b3}) \quad \dots\dots\dots(8)$$

式中:

$\Delta A_{s2}$ ——L-(+)-谷氨酸系列标准溶液的吸光度差;

$A_{s2}'$ ——标准溶液的吸光度,按 8.3.3.2.3 测定;

$A_{s2}$ ——标准溶液的吸光度,按 8.3.3.2.2 测定;

$A_{b3}'$ ——空白溶液的吸光度,按 8.3.3.2.3 测定;

$A_{b3}$ ——空白溶液的吸光度,按 8.3.3.2.2 测定。

### 8.4.2 L-(+)-谷氨酸试样液的吸光度差值

按公式(9)计算 L-(+)-谷氨酸试样液的吸光度差:

$$\Delta A_2 = (A_2' - A_2) - (A_{b3}' - A_{b3}) \quad \dots\dots\dots(9)$$

式中:

$\Delta A_2$ ——L-(+)-谷氨酸试样液的吸光度差;

$A_2'$ ——L-(+)-谷氨酸试样液的吸光度,按 8.3.3.2.3 测定;

$A_2$ ——L-(+)-谷氨酸试样液的吸光度,按 8.3.3.2.2 测定;

$A_{b3}'$ ——空白溶液的吸光度,按 8.3.3.2.3 测定;

$A_{b3}$ ——空白溶液的吸光度,按 8.3.3.2.2 测定。

### 8.4.3 L-(+)-谷氨酸标准曲线的线性回归方程

以 L-(+)-谷氨酸系列标准溶液(7.1.10)的浓度为 X 坐标轴,以  $\Delta A_{s2}$  为 Y 坐标轴绘制 L-(+)-谷氨酸标准曲线。L-(+)-谷氨酸标准曲线的线性回归方程如公式(10)所示:

$$Y = AX + D \quad \dots\dots\dots(10)$$

式中:

Y——L-(+)-谷氨酸系列标准溶液的吸光度差;

A——方程的系数,将数值四舍五入至最接近的 0.000 1;

X——L-(+)-谷氨酸系列标准溶液的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);

D——方程的系数。

### 8.4.4 L-(+)-谷氨酸试样液的浓度

按公式(11)计算 L-(+)-谷氨酸试样液(8.3.2)中 L-(+)-谷氨酸的浓度:

$$c_2 = \frac{\Delta A_2 - D}{A} \dots\dots\dots(11)$$

式中：

$c_2$  ——L-(+)-谷氨酸试样液(8.3.2)的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L)；

$\Delta A_2$  ——8.4.2 中 L-(+)-谷氨酸试样液的吸光度差；

$D$  ——8.4.3 中方程的系数；

$A$  ——8.4.3 中方程的系数。

#### 8.4.5 试样的 L-(+)-谷氨酸含量

按公式(12)计算试样中的 L-(+)-谷氨酸含量：

$$W_2 = \frac{c_2}{10\,000 \times m_1} \times \frac{50 + \frac{W_m}{100} \times m_1}{\frac{V_1}{50} \times \frac{25}{50}} \dots\dots\dots(12)$$

式中：

$W_2$  ——试样中 L-(+)-谷氨酸的含量,单位为克每百克(g/100 g)；

$c_2$  ——L-(+)-谷氨酸试样液(8.4.4)的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L)；

$m_1$  ——试样(7.3.2)的质量,单位为克(g)；

$W_m$  ——水分的含量(8.3.3.3),单位为克每百克(g/100 g)；

$V_1$  ——7.3.3.6 中所取滤液的体积,单位为毫升(mL)；

$V_1/50$  ——7.3.3.6 中滤液稀释系数；

$25/50$  ——“25”为 7.3.3.3 中用于调节 pH 的滤液的体积,单位为毫升(mL),“50”是 7.3.3.4 中溶液的体积,单位为毫升(mL)。

将结果修约至小数点后 2 位。

### 8.5 精密度

#### 8.5.1 实验室间测试

该方法的精密度是通过与 ISO 5725-1 和 ISO 5725-2 一致的实验室间测试来建立的。从这些测试中得出的值可能不适用于给定以外的浓度范围和基质类型。

#### 8.5.2 重复性

样品中 L-(+)-谷氨酸含量为 0.157 7 g/100 g~0.298 7 g/100 g 时,在重复性条件下获得的 2 个测试结果之间的绝对差异在 95%的置信区间下,不超过 0.43%。

#### 8.5.3 再现性

样品中 L-(+)-谷氨酸含量为 0.157 7 g/100 g~0.298 7 g/100 g 时,在再现性条件下获得的 2 个测试结果之间的绝对差异在 95%的置信区间下,不超过 1.10%。

### 8.6 检出限

当  $W_m$  (8.3.3.3 中试样水分含量)为 70、 $V_1/50$  (7.3.3.6 中取滤液稀释系数)为 1/15 时,L-(+)-谷氨酸含量的检出限为 0.02 g/100 g。

## 9 检测报告

检测报告应注明：

- 样品信息；
- 使用的标准编号；
- 抽样方法(适用时)；
- 检测方法；
- 本文件中未规定或被视为可选的所有操作细节,以及可能影响检测结果的任何事件的细节；
- 获得的检测结果,或者如果重复性已经过检查,则获得的2个检测结果；
- 与步骤的任何偏差；
- 观察到的任何异常特征；
- 检测日期。

附 录 A  
(资料性)  
安全实践

处置高氯酸(HClO<sub>4</sub>)的安全实践应包括以下内容。

- a) 去除溢出的 HClO<sub>4</sub>,应立即用大量水彻底清洗。
- b) 用于去除 HClO<sub>4</sub> 蒸气的罩子、管道和其他装置应由化学惰性材料制成,并设计成可以用水彻底清洗的结构。排气系统应排放到安全位置,风扇应易于清洁。
- c) 避免在使用 HClO<sub>4</sub> 的通风橱或其他除烟装置中使用有机化学品。
- d) 使用护目镜、防护罩和其他必要的个人保护装置。使用聚氯乙烯,不要使用橡胶、手套。
- e) 在使用 HClO<sub>4</sub> 进行湿燃烧时,除非另有说明,否则应首先用硝酸处理样品以破坏易氧化的有机物。不要蒸发至干。
- f) HClO<sub>4</sub> 与五氧化二磷或浓硫酸等强脱水剂接触会生成无水 HClO<sub>4</sub>,与有机物和还原剂发生爆炸性反应。需要将 HClO<sub>4</sub> 与此类试剂一起使用时,在分析操作时要特别小心。HClO<sub>4</sub> 质量分数为 72 g/100 g 时对撞击和热极为敏感。

注:取自参考文献[3]。

参 考 文 献

- [1] ISO 5725-1 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results—Part 1: General principles and definitions
- [2] ISO 5725-2 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results—Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method
- [3] AOAC Official Methods of Analysis, Laboratory Safety, Appendix B, 1995, p.3
-