

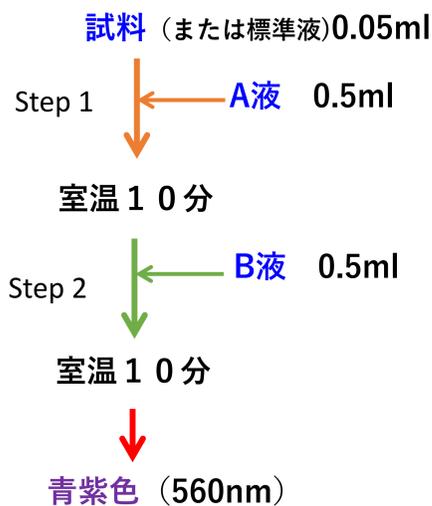
L-グルタミン・L-グルタミン酸・グルコース・乳酸を簡単に色で測る試薬溶液

ウォロ トリアルシ、橋野 彩子、日下部 均 株式会社エンザイム・センサ

はじめに

食品あるいは培地などのL-グルタミン・L-グルタミン酸・グルコース・乳酸を定量する場合、高速液体クロマトグラフィーあるいはバイオセンサなどの自動分析機による方法以外にも、用手法による比色測定キットが古くから使われている。それらのキットは、各々の基質に対する脱水素酵素または酸化酵素を応用した吸光度測定法であるが、試薬溶液が不安定であり、測定に影響を与える共存物質の除去も不十分である。そこで私達は、これら4つの比色分析がより正確かつ簡単にできるキットを商品化するため、自社製の酵素と市販酵素を組み合わせ、同一の操作で測定できる、各々AとBの2液から成る安定な試薬溶液を開発した。

方法



A液とB液に使用する7種の酵素

A液

L-グルタミン測定における共存L-グルタミン酸の除去

- ① L-グルタミン酸オキシダーゼ
- ② カタラーゼ

各測定における試料中の発色阻害物質の除去

- ③ アスコルビン酸オキシダーゼ

B液

L-グルタミン測定におけるL-グルタミン酸の生成

- ④ グルタミナーゼ

各測定におけるH₂O₂の生成

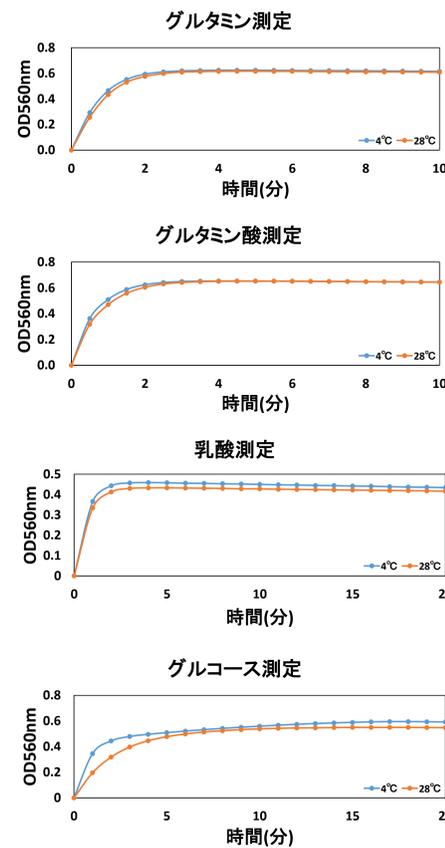
- | | |
|----------------|------------------|
| (1) L-グルタミン測定 | ① L-グルタミン酸オキシダーゼ |
| (2) L-グルタミン酸測定 | ① L-グルタミン酸オキシダーゼ |
| (3) グルコース測定 | ⑤ グルコースオキシダーゼ |
| (4) 乳酸測定 | ⑥ 乳酸オキシダーゼ |

各測定におけるH₂O₂からの色素生成

- ⑦ パーオキシダーゼ

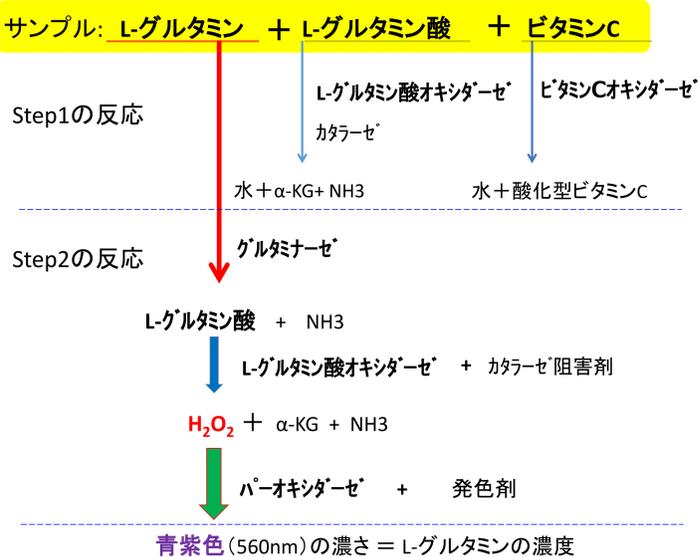
タイムコース

各々の溶液は4℃と28℃に保管し4週後測定した



測定原理 (L-グルタミンの場合)

測定に影響を与えるL-グルタミン酸とビタミンCが混在する試料の場合

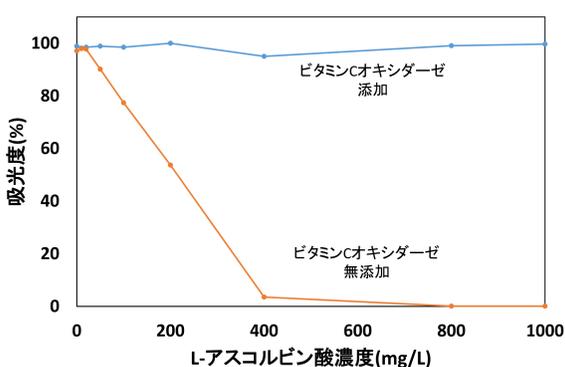


食品サンプルの測定

| | グルタミン酸 | | グルタミン | | グルコース | | 乳酸 | |
|----------------|----------|------------|----------|------------|---------|------------|----------|------------|
| | 量 (mg/L) | 添加回収率※ (%) | 量 (mg/L) | 添加回収率※ (%) | 量 (g/L) | 添加回収率※ (%) | 量 (mg/L) | 添加回収率※ (%) |
| 日本酒 | | | | | | | | |
| 純米 | 195.7 | 107.6 | 37.5 | 95.6 | 9.6 | 103.4 | 114.5 | 99.1 |
| 大吟醸 | 126.4 | 98.2 | 66.9 | 96.0 | 29.2 | 108.2 | 166.1 | 99.6 |
| 吟醸 | 156.2 | 97.8 | 82.5 | 97.1 | 26.3 | 109.0 | 186.6 | 95.6 |
| カッブ | 135.5 | 106.2 | 20.7 | 104.0 | 14.0 | 104.1 | 111.9 | 85.9 |
| トマトジュース | | | | | | | | |
| ジュース1 | 2437.6 | 101.4 | 126.4 | 81.5 | 27.9 | 133.2 | ≤30 | - |
| ジュース2 | 4110.3 | 103.9 | 57.3 | 92.1 | 36.5 | 118.9 | ≤30 | - |
| ジュース3 | 1691.4 | 100.7 | 47.3 | 83.8 | 14.3 | 109.8 | 73.2 | 106.3 |
| 乳酸飲料 | | | | | | | | |
| ヤクルト | nd | - | nd | - | 31.97 | 96.1 | 5904.6 | 98.5 |
| ヨーグルト1 | nd | - | nd | - | 1.67 | 119.1 | 6453.5 | 106.8 |
| ヨーグルト2 | nd | - | nd | - | 0.02 | 100.3 | 4022.7 | 94.7 |
| スープ類 | | | | | | | | |
| カッブ類 | 3124.7 | 103.5 | 166.8 | 114.8 | - | - | - | - |
| カッブうどん | 2966.1 | 90.6 | 97.7 | 113.2 | - | - | - | - |
| わかめスープ | 1977.4 | 106.2 | 17.7 | 97.2 | - | - | - | - |

| | グルタミン酸 | | グルタミン | | グルコース | | 乳酸 | |
|-------------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|------------|
| | 量 (mg/100g) | 添加回収率※ (%) |
| 生トマト | | | | | | | | |
| トマト1 | 53.9 | 90.9 | 35.3 | 94.5 | 1569.0 | 109.9 | nd | - |
| トマト2 | 182.0 | 90.2 | 33.6 | 106.6 | 1786.2 | 106.1 | nd | - |
| トマト3 | 160.0 | 96.3 | 98.6 | 115.9 | 703.4 | 108.8 | nd | - |
| トマト4 | 96.6 | 99.0 | 76.6 | 106.9 | 531.0 | 106.8 | nd | - |
| 野菜 | | | | | | | | |
| ほうれん草 | 14.2 | 102.5 | 49.9 | 93.1 | - | - | - | - |
| ブロッコリー | 54.9 | 125.3 | 337.7 | 101.4 | - | - | - | - |
| もやし | 4.2 | 117.7 | 17.6 | 107.9 | - | - | - | - |
| きゅうり | 0.3 | 111.9 | 111.2 | 112.7 | - | - | - | - |

ビタミンCの影響除去



培地の測定

| 培地 | グルタミン酸 | | グルタミン | |
|-----------------------------------|----------|------------|----------|------------|
| | 量 (mg/L) | 添加回収率※ (%) | 量 (mg/L) | 添加回収率※ (%) |
| BD Bacto Tryptic Soy Broth | 152.3 | 93.4 | 15.0 | 101.2 |
| Beef extract | 125.2 | 103.2 | 14.4 | 99.0 |
| RPMI-1640 with L-Gln & Phenol Red | 9.2 | 88.8 | 228.1 | 99.3 |

※サンプルに標準物質を一定量添加して測定し、添加分の回収率を算出した。

まとめ

- ★ 4種同一の操作方法はごく簡単で測定時間が短い。
- ★ 結果は視覚的に観察することができる。
- ★ 試料中のビタミンCによる減色がない。
- ★ トマト、日本酒などの食品および培地の測定ができる。