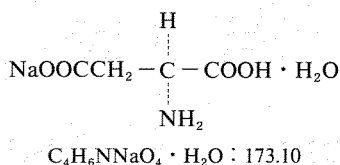


48 L-アスパラギン酸ナトリウム

Monosodium L-Aspartate



1. 試験法の概要

食品中のL-アスパラギン酸ナトリウムは、液体クロマトグラフィーによりアスパラギン酸として定量する。必要があれば分量比を乗じてL-アスパラギン酸ナトリウムの量として求める。食品中には天然の遊離のL-アスパラギン酸が分布している。したがって、定量値は食品由来の遊離アスパラギン酸と添加されたものとの合計値である。

2. 試験法（液体クロマトグラフィー）

(1) 検体の採取と試料の調製

一般試料採取法を準用する¹⁾。

(2) 試料液の調製

① 水溶性食品

L-アスパラギン酸として50~100mgに対応する試料の量を精密に量り、水を用いて分散又は溶かして正確に200mlとし、試料溶液とする。

この液約2mlを採り、ピクリン酸溶液(1→100)10mlを加えるとき²⁾、液が懸濁した場合は、次の除タンパク操作を行い、懸濁しない場合はそのまま試料液とする。

除タンパク操作

試料溶液50mlを正確に量り、エタノール150mlを加え、振り混ぜた後、ろ過する³⁾。残留物は、エタノール(3→4)20mlずつで3回洗い、ろ液及び洗液を合わせ、50~60℃で減圧濃縮して約40~45mlとした後、水を加えて正確に50mlとし、試料液とする。

② タンパク食品

L-アスパラギン酸として50~100mgに対応する試料の量を精密に量り、遠心管に入れ、試料約1gについて約100℃の水を約5mlの割合で加え、水浴中で15分間加熱⁴⁾した後、冷後、

冷凍遠心分離（約 10 分間，約 5,000 回転/分）し，分離液を別に分ける．遠心管の残留物に最初に加えた水の量の約 2/3 量ずつの約 100℃の水を加え，同様な操作を 3 回繰り返す．全分離液を合わせ，水を加えて正確に 200ml とし，必要があればろ過し，試料溶液とする．この際全分離液量が 200ml を超えるときは，約 180~190ml になるまで減圧濃縮した後，正確に 200ml とし，必要があればろ過し，試料溶液とする．

試料溶液約 2ml にピクリン酸溶液（1 → 100）10ml を加えるとき⁵⁾，液が懸濁した場合は①水溶性食品の除タンパク操作を行い，試料液とし，懸濁しない場合はそのまま試料液とする．

③ 油脂食品

通常，②タンパク食品の場合と同様に操作し，試料液を調製する．ただし，遠心分離した際，分離液が油層と水層の 2 層に分かれたり，分離液の乳濁が著しい場合は，次の脱脂操作を行った後，試料液とする．

脱脂操作⁶⁾

全分離液を分液漏斗に入れ，エチルエーテル又はエチルエーテル・*n*-ヘキサン混液（2：1）50ml ずつを用い，振り混ぜて脱脂を 2 回繰り返す，水層を分取した後，水浴上でエチルエーテル及び *n*-ヘキサンのにおいがなくなるまで加熱し，水を加えて正確に 200ml とし，必要があればろ過する．

（3）標準液の調製

L-アスパラギン酸ナトリウム 130.1mg を正確に量り，水を加えて溶かして正確に 100ml とした後，その 2ml を正確に量り，クエン酸緩衝液（pH2.2）⁷⁾を加えて正確に 100ml とし，標準液とする（この液 1ml は，L-アスパラギン酸 20 μ g を含む）．

（4）測定法

① 測定条件

液体クロマトグラフとしてアミノ酸分析計を用い，次の条件によって測定する⁸⁾．

カラム充てん剤：ゲル型強酸性陽イオン交換樹脂，平均粒径 17 μ m，架橋度 8%

カラム管：内径 9mm，長さ 500mm

カラム温度：55℃

移動相：クエン酸緩衝液（pH3.25），0.6ml/分

反応コイル：内径 0.5mm，長さ 20m

反応槽温度：98℃

ニンヒドリン液の流速：0.3ml/分

② 測定液の調製

試料液 10ml を正確に量り，塩酸（1 → 6）を加えて pH2.2 に調整した後，クエン酸緩衝液

(pH2.2)⁷⁾を加えて正確に100mlとし、測定液とする。

③ 定量

測定液及び標準液それぞれ500 μ lずつを正確に量り、液体クロマトグラフに注入し、570nmにおける吸光度として得られた測定液のクロマトグラムと、標準液のクロマトグラムとの面積比例計算で定量する⁹⁾。

$$\text{L-アスパラギン酸含量 (g/kg)} = \frac{2 \times S \times A^{10})}{W \times A_s}$$

S：標準液中のL-アスパラギン酸濃度 (μ g/ml)

W：試料の採取量 (g)

A_s：標準液で得られたクロマトグラムのL-アスパラギン酸ピーク面積

A：測定液で得られたクロマトグラムのL-アスパラギン酸ピーク面積

$$\text{L-アスパラギン酸ナトリウム含量 (g/kg)} = \text{L-アスパラギン酸含量 (g/kg)} \times 1.301$$

試薬・試液

1. エタノール：[99.5v/v%，特級]
2. エチレングリコールモノメチルエーテル：市販のアミノ酸自動分析用を用いる。
3. 塩酸：市販の35%精密分析用を用いる。
4. *n*-カプリル酸：市販のアミノ酸自動分析用を用いる。
5. クエン酸・一水塩：市販のアミノ酸自動分析用を用いる。
6. クエン酸緩衝液 (pH2.2)：クエン酸ナトリウム・二水塩 19.6g，塩酸 16.5ml，*n*-カプリル酸 0.1ml，チオジグリコール 20ml¹¹⁾ 及び BRIJ-35 溶液 (1→4) 4ml に水を加えて溶かして1,000ml とする。
7. クエン酸緩衝液 (pH3.25)：クエン酸ナトリウム・二水塩 7.7g，クエン酸・一水塩 17.9g，塩化ナトリウム 7.1g，*n*-カプリル酸 0.1ml，チオジグリコール 5ml¹¹⁾，BRIJ-35 溶液 (1→4) 4ml 及びエタノール 80ml に水を加えて溶かして1,000ml とする。
8. クエン酸ナトリウム・二水塩：市販のアミノ酸自動分析用を用いる。
9. 酢酸：市販のアミノ酸自動分析用を用いる。
10. 酢酸ナトリウム・三水塩：市販のアミノ酸自動分析用を用いる。
11. 三塩化チタン溶液：市販品のニンヒドリン試液用を用いる。
12. チオジグリコール：市販のアミノ酸自動分析用を用いる。
13. 窒素：高純度の市販品を用いる。
14. ニンヒドリン：市販のアミノ酸自動分析用を用いる。
15. ニンヒドリン液¹²⁾：使用する分析計に付属の耐圧容器を用い、酢酸ナトリウム・三水塩 136g 及び氷酢酸 25ml に水を加えて溶かして 250ml とする。これにエチレングリコールモ

ノメチルエーテル750mlを加え、かき混ぜながら20分間窒素を通気した後、ニンヒドリン20gを加え、更に15分間窒素を通気し、かき混ぜてニンヒドリンを完全に溶解させる。その後、三塩化チタン溶液1.7mlを加え、更に10分間窒素を通気し、かき混ぜて完全に溶解混合させ、調圧器で0.28kg/cm²に加圧し、保存する。

16. ピクリン酸： [特級]
17. BRIJ-35：市販品を用いる。
18. ベンジルアルコール： [特級]

[注]

- 1) 試料が調製機器に付着し、その後の操作が困難となる検体については包丁又はハサミ等で、できる限り細切して試料とする。
- 2) 検体の組成によっては試料液中に可溶性タンパクが混入することがあり、これが分析計のカラムの汚染又は反応コイルの詰まり等の原因となる。したがって、除タンパク操作の必要の有無を調べる。
- 3) ろ過にはガラスろ過器11G 4又はろ紙No.5B相当品を用いる。ろ過が著しく困難な場合は遠心分離によって分離してもよい。
- 4) 食品に含まれる遊離L-アスパラギン酸は水溶性であり、水又は熱水により容易に抽出される。したがって、熱水抽出によって試料液を調製することが一般的である。
- 5) 試料溶液調製時の冷凍遠心分離操作により、食品素材のタンパク質はほとんど除かれるが、2)と同じ理由により可溶性タンパクの混入を調べる。
- 6) L-アスパラギン酸は油には溶解しない。試料を熱水抽出及び冷凍遠心分離するとき、通常、油脂分は固化し、抽出液と分離して取り除きやすいが、油脂含量がきわめて多い試料で固化しない油等が存在するときには、ここで脱脂操作が必要である。
- 7) 使用する分析計の機種によっては希釈液は塩酸(1→600)等を用いるものがある。また適正濃度の異なるものもあり、それぞれの機種の定めに従って調製する。
- 8) 使用する分析計により測定条件が異なるときはその分析計に指定された条件により行う。
- 9) 面積計算は半値幅法、積分計又はコンピューター等いずれを用いてもよい。
- 10) L-アスパラギン酸含量 (g/kg) =

$$\frac{1}{1,000} \times \frac{S}{W} \times \frac{A}{A_s} \times \frac{200}{10} \times 100$$
- 11) チオジグリコールはメチオニンの酸化を防止するために作用するので、メチオニン以外のアミノ酸を測定するときは省略して差し支えない。
- 12) ニンヒドリン液の調製にあたっては、空気との接触を極力防ぐよう注意する。