

69 アンモニア及びその塩類

Ammonia and Its Salts

塩化アンモニウム
Ammonium Chloride
 NH_4Cl : 53.49

炭酸アンモニウム
Ammonium Carbonate

炭酸水素アンモニウム
Ammonium Bicarbonate
別名：重炭酸アンモニウム
 NH_4HCO_3 : 79.06

硫酸アルミニウムアンモニウム
Aluminium Ammonium Sulfate
別名：アンモニウムミョウバン
 $\text{AlNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$: 453.33

硫酸アルミニウムアンモニウム
(乾燥)
Aluminium Ammonium Sulfate (dry)
別名：焼アンモニウムミョウバン
 $\text{AlNH}_4(\text{SO}_4)_2$: 237.15

硫酸アンモニウム
Ammonium Sulfate
 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$: 132.14

アンモニア*
Ammonia
 NH_3 : 17.03

過硫酸アンモニウム*
Ammonium Persulfate
 $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$: 228.20

クエン酸鉄アンモニウム*
Ferric Ammonium Citrate

リン酸水素二アンモニウム*
Diammonium Hydrogen Phosphate
別名：リン酸二アンモニウム,
第二リン酸アンモニウム
 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$: 132.06

リン酸二水素アンモニウム*
Ammonium Dihydrogen Phosphate
別名：リン酸一アンモニウム,
酸性リン酸アンモニウム
 $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$: 115.03

*：化学構造が類似している他の用途の食品添加物も、本法の測定対象に含まれる。

1. 試験法の概要

食品中のアンモニア及びその塩類は、グルタミン酸脱水素酵素を用いる酵素法によりアンモニアとして定量する。必要があれば分子量比を乗じて各アンモニウム塩の量として求める。食品中には、食品成分の分解により生ずる天然のアンモニアが分布している場合もある。したがって、検体中にこれらの食品が素材として含有されている場合には、定量値は素材由来のアンモニアと添加されたものとの合計値である。

2. 試験法 (酵素法)

(1) 検体の採取と試料の調製

一般試料採取法を準用する。

(2) 試料液の調製

① 液状食品

アンモニアとして1~10mgに対応する、通常、10g以下の試料の量を精密に量る。試料が澄明で着色していないか、着色していても薄い場合は、水を加えて正確に100mlとし、試料液とする。試料が懸濁している場合は、水を加えて約50~70mlとし、ろ過する。容器及び残留物は水20~30mlを用いて数回洗い、ろ液及び洗液を合わせ、水を加えて正確に100mlとし、試料液とする。試料の着色の著しい場合は、試料の量の約1/10量のポリアミド末又はポリビニルピロリドンを加え、必要があれば水20~30mlを加え、激しく振り混ぜ、ろ過する。容器及び残留物を水40~50mlを用いて数回洗い、ろ液及び洗液を合わせ、水を加えて正確に100mlとし、試料液とする。

② 固体食品

アンモニアとして1~10mgに対応する、通常、10g以下の試料の量を精密に量る。試料が脂肪及びタンパクを含まないか、ほとんど含まない場合は、ブレンダー容器に入れ、水10~30mlを加えて5分間ホモジナイズした後、ろ過する。容器及び残留物は水50~60mlを用いて数回洗い、ろ液及び洗液を合わせ、必要があれば2mol/l水酸化カリウム溶液で中和した後、水を加えて正確に100mlとし、試料液とする。試料が脂肪又はタンパクに富む場合¹⁾は、ブレンダー容器に入れ、氷冷した0.4mol/l過塩素酸溶液10mlを加えて5分間ホモジナイズした後、ろ過する。容器及び残留物は水50~70mlを用いて数回洗い、ろ液及び洗液を合わせ、2mol/l水酸化カリウム溶液で中和²⁾した後、冷蔵庫中に10分間放置する³⁾。この液をろ過し、水を加えて正確に100mlとし、試料液とする。

(3) 検量線用標準液の調製

130℃で3時間乾燥した硫酸アンモニウム388mgを正確に量り、水を加えて溶かして正確に1,000mlとし、標準液とする(この液1mlは、アンモニア100 μ gを含む)。標準液1, 3, 5, 8ml及び10mlをそれぞれ正確に量り、それぞれに水を加えて正確に100mlとし、検量線用標準液とする(これらの液1mlは、それぞれアンモニア1, 3, 5, 8 μ g及び10 μ gを含む)。

(4) 測定法

① 測定条件

分光光度計を用い、波長 340nm で吸光度を測定する。

② 測定⁴⁾

光路幅 1cm のキュベット 2本を用意し、A、Bとする。A、Bそれぞれにトリエタノールアミン緩衝液 1ml ずつ、NADH 液 0.1ml ずつを正確に量って加え混和する。Aには試料液を、試料液中のアンモニア量を推定し、キュベット中のアンモニア量が約 2~8 μ gと目されるような量として 0.1~1ml の範囲で正確に量って入れ、更に水を加えて正確に 2.6ml とし、3分間放置し、試料測定液とする。Bには水 1.5ml を正確に量って加え、3分間放置し、空測定液とする。

試料測定液及び空測定液につき、それぞれ水を対照として波長 340nm における吸光度 E_A 及び E_B を測定する。次に A、B のキュベットそれぞれにグルタミン酸脱水素酵素液 0.02ml ずつを正確に量って加え、混和し、15分間放置した後、再び同条件で吸光度を測定し⁵⁾、 $E_{A'}$ 及び $E_{B'}$ とする。

E_A と $E_{A'}$ の差 ΔE_A 、 E_B と $E_{B'}$ の差 ΔE_B を求め、更に ΔE_A と ΔE_B の差 ΔE_T を計算する。

③ 検量線

各検量線用標準液 1ml ずつをそれぞれ正確に量り、②測定における試料液の代わりにそれぞれキュベット S_1 、 S_2 、…… S_5 に入れ、②測定と同様に操作し、それぞれ ΔE_{S_1} 、 ΔE_{S_2} 、…… ΔE_{S_5} を求め、検量線を作成する。

④ 定量

試料液の ΔE_T と検量線から、②測定において用いた試料液の量 t (ml) に応じ $1/t$ を乗じて試料中のアンモニア濃度 (μ g/ml) を求め、次式によって検体中のアンモニア含量 (g/kg) を計算する。必要があれば分子量比から特定アンモニウム塩の含量に換算する。

$$\text{アンモニア含量 (g/kg)} = \frac{C}{10 \times W}$$

C：試料液中のアンモニア濃度 (μ g/ml)

W：試料の採取量 (g)

硫酸アルミニウムアンモニウム (結晶) 含量 (g/kg) = アンモニア含量 (g/kg) \times 26.62

硫酸アルミニウムアンモニウム (乾燥) 含量 (g/kg) = アンモニア含量 (g/kg) \times 13.93

塩化アンモニウム含量 (g/kg) = アンモニア含量 (g/kg) \times 3.141

過硫酸アンモニウム含量 (g/kg) = アンモニア含量 (g/kg) \times 6.700

硫酸アンモニウム含量 (g/kg) = アンモニア含量 (g/kg) \times 3.880

リン酸水素二アンモニウム含量 (g/kg) = アンモニア含量 (g/kg) \times 3.877

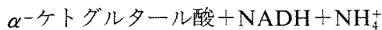
リン酸二水素アンモニウム含量 (g/kg) = アンモニア含量 (g/kg) \times 6.755

試薬・試液

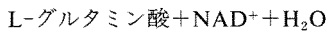
1. 過塩素酸：[特級]
2. 還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NADH-Na₂)：市販品を用いる。
3. グルタミン酸脱水素酵素液：市販のグルタミン酸脱水素酵素のグリセリン液⁶⁾を希釈せずそのまま用いる。この液は4℃で保存するとき、1年間は安定である。
4. α-ケトグルタール酸二ナトリウム：[特級]
5. トリエタノールアミン塩酸塩：[特級]
6. トリエタノールアミン緩衝液：トリエタノールアミン塩酸塩 9.3g 及び α-ケトグルタール酸二ナトリウム 670mg に約 70ml の水を加えて溶かし、5mol/l 水酸化ナトリウム溶液で pH8.6 に調整した後、水を加えて 100ml とする。この液は 4℃ で保存するとき、4 週間は安定である。
7. NADH 液：還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド 30mg 及び炭酸水素ナトリウム 60mg に水 6ml を加えて溶かす。この液は 4℃ で保存するとき、4 週間は安定である。

[注]

- 1) ソーセージ等。
- 2) 中和に用いた 2mol/l 水酸化カリウム溶液の液量を記録しておく。この液量は測定の際に必要な試料液中のアンモニア含量の推定に必要なデータである。
- 3) 沈殿は主として過塩素酸カリウム及びタンパク質よりなる。
- 4) 本法の原理は次のようである。



↓ グルタミン酸脱水素酵素



上式の反応で酸化されて減量する NADH の量はアンモニアの量と定量的に対応するので、NADH の波長 340nm における吸光度の変化を利用してアンモニア量を測定する。

- 5) グルタミン酸脱水素酵素液添加後 15 分間経過しても反応が完了しない場合、2 分間ごとに吸光度を測定してほぼ一定値をとるまで続ける。
- 6) ウシ肝臓由来、10mmol/l リン酸カリウム緩衝液に透析し、50% の割合にグリセリンを加えたもの。