

ノート

ガスクロマトグラフィーによるうに中のグルタミン酸の定量

達 家 清 明, 牧 田 兼 正, 浅 野 成 子*

1 緒 言

グルタミン酸ナトリウムで調味されたうには関税率表 21.07 - 2 - (2) - B に, また調味していないものは 04.07 - 1 に分類される。うに中にはもともと遊離のグルタミン酸が含まれており, グルタミン酸ナトリウムの添加の有無の判定には定量分析が必要となる。アミノ酸のガスクロマトグラフィーによる定量方法としては N - Trifluoroacetyl - n - butyl 誘導体として測定する方法^{1),2)}がすぐれているが, 今回は定量の目的がグルタミン酸のみであるので, より簡単に行うため, Trimethylsilyldiethylamine (TMSDEA) を用いて TMS 誘導体として定量する方法について検討し, 実用に供し得る結果を得たので報告する。

2 実 験

2・1 試料及び試薬

用いた試料及び試薬を Table 1 に示す。

2・2 GCの条件

装置: 島津ガスクロマトグラフ GC 4 BM 型, デジタルインテグレーター I T G 4 A X 型, カラム: ガラス 3 mm × 2 m, OV - 17 3 %, Chromosorb W AWD MCS, 80 ~ 100 メッシュ, カラム温度: 100 ~ 270 °C, 8 °C/min. 昇温, キャリヤーガス: N₂ 30 ml/min., 注入口温度: 280 °C, 検知器: FID, 280 °C. 尚グルタミン酸 TMS 化物とピーク A との面積比を求める際の面積の測定は, ベースラインを設定し, 半値巾 × 高さの実測値によった。

2・3 TMS化条件の検討

TMS 化の最適条件は次のようにして求めた。グルタミン酸ナトリウム 1,000 g を 0.1 N - HCl に溶解して 50 ml とし, その 0.1 ml (グルタミン酸ナトリウムとして 2 mg を含む) を小型試験管にとり, ロータリーエバポレーターを用いて約 60 °C で乾固後, TMS 化剤として TMSDEA 約 0.2 ml を添加し, 90 °C, 100 °C, 110 °C, 120 °C 及び 130 °C の油浴中にそれぞれ 5 分, 10 分, 20 分, 30 分及び 60 分放置後, 油浴から取り出し, 内部標準としてドコサンのトルエン溶液 0.2 ml (ドコサン 2 mg 相

Table 1 Sample and reagent

Sample and reagent	Origin
Sea urchin (fresh, unseasoned)	Tangodani Suisan Kakōsho, Hokkaido, Japan
Salted sea urchin (red)	North Korea
Salted sea urchin (violet)	North Korea
Seasoned sea urchin, Trade name "KANETOKU"	Tōkai Tokutarō Shōten, Kobe, Japan
Docosane	Applied Science Laboratories Inc., U.S.A.
L-Glutamic acid, monosodium salt	Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Japan
Trimethylsilyldiethylamine (TMSDEA)	Tōkyō Kasei Kōgyō Co., Ltd., Japan

* 大阪税関輸入部分析室 552 大阪市港区築港 4 - 10 - 3

当)を添加後直ちに測定した。その結果最も収量のよい条件は 120 , 10 分であることが判ったので、以後すべてこの条件によった³⁾。グルタミン酸の TMS 化物は、室温では安定といえず、TMS 化後徐々に分解するので、反応後直ちに GC 測定することが必要である。

2・4 面積補正係数

2・3 の方法に従って、グルタミン酸ナトリウム 1 , 2 , 4 及び 8 mg に相当する TMS 化物にドコサン各 2 mg (トルエン溶液として 0.2ml) を加え GC 測定した。Fig. 1 にみられるようにグルタミン酸 TMS 化物のピークは多かれ少なかれ 2 本に割れるが、ピーク面

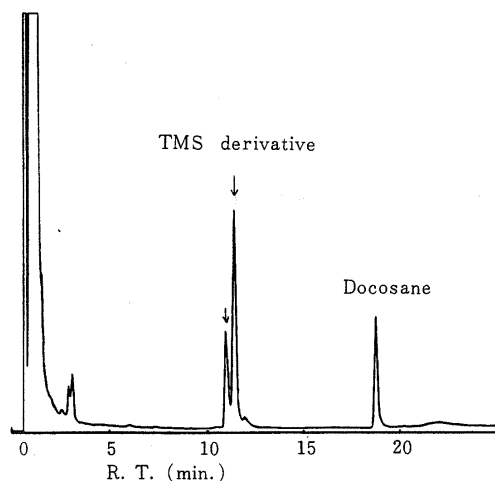


Fig. 1 Gas chromatogram of glutamic acid - TMS derivative and docosane

積としてはその和を用いた。面積比と重量比とほぼ直線関係となり (Fig. 2) , 面積補正係数 0.67 を得た。

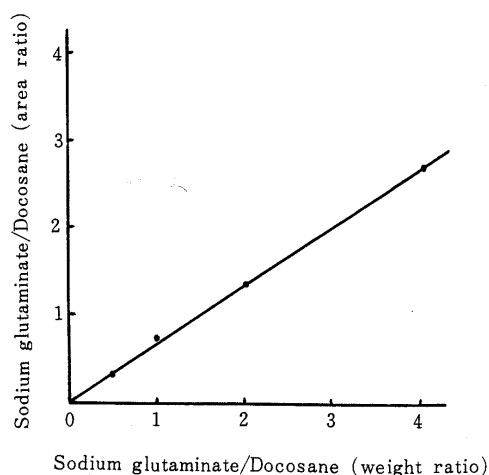


Fig. 2 Calibration curve
Correlation factor = 0.67

2・5 うに中のグルタミン酸及びグルタミン酸ナトリウムの定量

うに 0.2 g を秤取し、乳鉢中で 50v/v% のエチルアルコールを加えながらよく砕いた後 100ml 定容とする。75~80 の湯浴中で約 10 分間振とう後加温ろ過、ろ液 50ml を小型フラスコに取り、ロータリーエバポレーターを用いて約 60 で乾固する。ついで 0.1N - HCl 10ml を加え内容物を溶解後再び乾固する。更に TMSDEA 0.4ml を加え 120 , 10 分間油浴中に放置後、ドコサン・トルエン溶液 0.2ml (2 mg のドコサンに相当) を加え直ちに GC 測定する。

Table 2 Analytical results

Sample	Moisture (%)	Content as monosodium glutamate (%)		Glutamic acid TMS derivative/Peak A (peak area ratio*)
		Original sample	Dry base	
Sea urchin (fresh, unseasoned)	66.1	0.28	0.83	4.3
Salted sea urchin (red)	52.4	0.32	0.67	3.8
Salted sea urchin (violet)	46.1	0.46	0.85	3.1
Seasoned sea urchin	39.4	2.32	3.83	37.1

*area = half width × height The digital integrator was not used in this case.

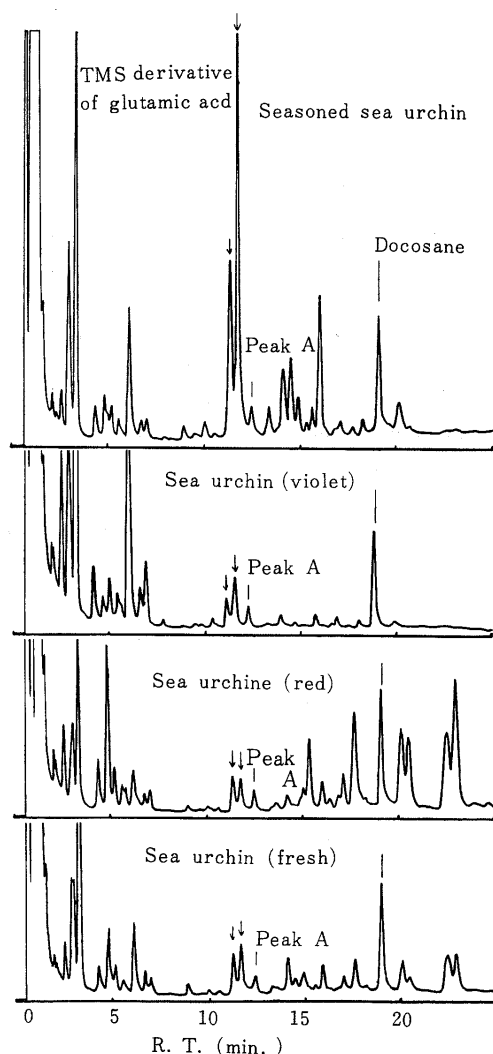


Fig. 3 Gas chromatograms of TMS derivative of sea urchin extract by 50v/v% ethyl alcohol

3 結果及び考察

生うに、赤うに、紫うに及び市販練りうにのクロマトグラムを Fig. 3 に、定量結果を Table 2 に示す。

ピークの同定が出来ていないので断定は出来ないが、筆者らが実験に先だって予想したように、内部標準を用いなくても、この条件下で GC ピークを示す一定の成分（一成分もしくは数成分の和）のピーク面積とグルタミン酸 TMS 化物とピーク面積の比を求めることによって、グルタミン酸ナトリウムの添加の有無の判定が可能である。例えば、グルタミン酸 TMS 化物の二つに割れたピーク面積の和とそのすぐ後に出ているピーク（Peak A と吸ぶ）との面積比はグルタミン酸ナトリウムとしての含有量と強い正の相関々係がある。

グルタミン酸ナトリウムとして絶乾ベースで 1% 以下か、上記ピーク比が 5 以下であればグルタミン酸ナトリウムの添加はないものとみてよいであろう。

ピークの割れる点については他の TMS 化剤、例えば Bis (trimethylsilyl) trifluoroacetamide (BSTFA)⁴⁾ を用いても同様であった。

この方法は TMS 化物の収量と生成した TMS 化物の不安定性のために、TMS 化条件を一定とすること、TMS 化後直ちに GC 測定する点に特に注意が必要である。何分にも日常の仕事に追われ、標準偏差、変動係数など十分に検討できなかったが、本法は迅速かつ簡便な方法であるので、調味料としてグルタミン酸ナトリウムが添加されているか否かの判定が必要な場合には有効な方法と考えられる。

本研究にあたり、関連文献の調査に御協力いただいた関税中央分析所加藤分析官、助言をいただいた関税局企画課出来課長補佐に御礼申し上げます。

（本研究は昭和 53 年 3 月第 14 回税関分析研究発表会において発表した。）

文 献

- 1) M. Stefanovic and B. L. Walker : *Anal. Chem.*, **39**, 710 (1967).
- 2) B. M. Nair : *J. Agric. Food Chem.*, **25**, 614 (1977).
- 3) E. D. Smith and K. L. Shewbart : *J. Chromatogr. Sci.*, **7**, 704 (1969).
- 4) D. L. Stalling, C. W. Gerke, and R. W. Zumwalt : *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **31**, 616 (1968).

Quantitative Gas Chromatography of Monosodiumglutamate in Sea Urchin as Trimethylsilyl Derivative

Kiyoaki TATSUKA, Kanemasa MAKITA and Shigeko ASANO*

* Osaka Customs Laboratory,

4 - 10 - 3, Chikko, Minato - ku, Osaka - shi, 552 Japan

The determination of monosodiumglutamate added in fresh and salted sea urchin has been studied by quantitative gas chromatography. Glutamic acid and monosodiumglutamate contained in the sea urchins were extracted by 50 v/v % ethyl alcohol at 75 ° - 80 °. The extract dried by a rotary evaporator was reacted with trimethylsilyldiethylamine at 120 ° for ten minutes. After having been added a suitable amount of docosane - toluene solution as internal standard, the reactant was immediately injected in the gas chromatograph. Analytical conditions were OV - 17 3% Chromosorb W AW DMCS, 2m glass column, temp. 100 ° - 270 °, program rate 8 °/min. The amount measured as monosodiumglutamate being less than 1% in the dry base may indicate the sea urchin is not seasoned.

Received Sept. 2, 1978