

L-Glutamate Assay Kit YAMASA NEO

Cat. No. YMS-80128

Last Updated: Oct 1st, 2016

www.cosmobio.com

【 I 】 Features of the kit

This product has the following features for the measurement of L-glutamic acid.

- This product includes ready-to-use solution reagents.
- Only a small amount (only 10 μ L) is required for measurement.
- The measurement range is wide (10-1,500 mg/L).
- Pretreatment for samples containing ascorbic acid is not required even for samples containing ascorbic acid at 1,000 mg/L.

【 II 】 Measurement principles

R1 enzyme reagent solution is added to remove ascorbic acid (vitamin C) from samples by the action of ascorbic acid oxidase. Subsequently, R2 enzyme reagent solution is added to oxidize L-glutamic acid by the action of L-glutamic acid oxidase, generating hydrogen peroxide (1). Using hydrogen peroxide, purple color is generated through oxidative condensation between TOOS and 4-aminoantipyrine by the action of peroxidase (2). L-glutamic acid concentrations in the samples are determined based on the violet absorbance (555 nm).

【 III 】 Product comparison table

The present product is compared with the conventional product.

Items	L-Glutamic KIT YAMASA NEO		Yamasa L-Glutamic acid measurement kit II	
Components	R1 enzyme reagent solution	30 mL	50 mM Good's buffer (pH 7.1)	60 mL
	R2 enzyme reagent solution	30 mL	Enzyme reagent (lyophilized)	
	L-Glutamic acid standard solution (250 mg/L)	0.5 mL	L-glutamic acid standard solution (100 mg/L)	1.5 mL
Amount of sample	0.01 mL		0.06 mL	
Measurement range	10 ~ 1500 mg/L		10 ~ 500 mg/L	
Samples containing	No pre treatment required (no effect up to 1,000 mg/L ascorbic acid)		Pretreatment required (about 30% decrease in measure values at 100 mg/L ascorbic acid)	
Number of tests	66			
Storage	4°C			
Shelf life	12 months after the date of manufacture			

【IV】 Comparison of measured values

Various samples were measured using the present and conventional products. The measured values of this product were 94 -106% of the conventional product.

Samples	L-glutamic acid concentration (mg/L)		Present product/ Conventional product
	L-Glutamic KIT YAMASA NEO (Present product)	Yamasa L-Glutamic acid measurement kit II (Conventional product)	
Grace's medium (10% FBS)	700	747	94%
Tomato juice	2032	2072	98%
Soy sauce	10701	10850	99%
Commercial soup stock solution	22327	22673	98%
Sausage solution	200	189	106%

Notes

- After extraction and removal of insoluble matters from solids, samples are appropriately diluted for measurement.
- The indicated concentrations are calculated from the measured values and the dilution rates.
- The above concentrations are our results, which do not reflect general L-glutamic acid concentrations.

Effects of ascorbic acid

To prepare samples, ascorbic acid was added to L-glutamic acid solutions at 0, 100, and 1,000 mg/L. The samples were measured using the present and conventional products.

Using the present product, no effects were observed up to 1,000 mg/L ascorbic acid.

【V】 Measuring methods

1. Add 10 μ L each of sample, standard solution, and purified water to tubes.
2. Add 450 μ L each of R1 enzyme reagent solution to the tubes, followed by mixing.
3. Allow the tubes to stand at 20-30° C for 20 minutes. For samples for which ascorbic acid needs not be removed, skip (3) and proceed to (4).
4. Add 450 μ L each of R2 enzyme reagent solution to the tubes, followed by mixing. Since the sample colors of dark samples may affect absorbance, prepare a test tube containing 10 μ L of sample and 900 μ L of purified water as a sample dye solution.
5. Allow the tubes to stand at 20-30° C for 20 minutes, followed by absorbance measurement at 555 nm using purified water as a control.

	Test tubes			
	Samples	Standard solution	Purified water	Sample dye
Samples	10 µL	—	—	10 µL
Standard solution	—	10 µL	—	—
Purified water	—	—	10 µL	900 µL
R1 enzyme reagent solution	450 µL	450 µL	450 µL	—
R2 enzyme reagent solution	450 µL	450 µL	450 µL	—
Absorbance at 555 nm	A	S	R	B

【 VI 】 Calculation of concentrations

The concentrations of L-glutamic acid in samples are calculated using the following formula:

$$\text{L-glutamic acid (mg/L)} = (A-B-R) \div (S-R) \times 250 \times \text{dilution rate}$$

※ A,B,R and S stand for the absorbance as listed above.

Notes

- Dilute liquid foods, such as soy sauce, with purified water to adjust L-glutamic acid concentrations to 10-1,500 mg/L (e.g., 100-200-fold dilution for soy sauce).
- Cut solid foods, such as cheese and sausage, into pieces. Mix these pieces with 10-20 times the amount of purified water or phosphate buffer. Cool and filter the mixture. Dilute the filtrates 2-5 fold with purified water for sample preparation. For turbid samples, repeat filtration and centrifugation. Protein removal is not needed.
- Medium can be measured without dilution. Samples with concentrations above the measurement range need to be diluted with purified water.

【 VII 】 References

- Kusakabe H. et al.: Agric. Biol. Chem., 47(6):1323, 1983
- Yamauchi H. et al.: J. Japan Soy Sauce Research Institute 13(1):8, 1987
- Kusakabe H. et al.: Agric. Biol. Chem., 48(1):181, 1984
- Maruyama H. et al.: J. Japan Soy Sauce Research Institute 15(6):239, 1989
- Kusakabe H. et al.: Agric. Biol. Chem., 48(5):1357, 1984

12077



COSMO BIO Co., LTD.

TOYO EKIMAE BLDG. 2-20, TOYO 2-CHOME,
KOTO-KU. TOKYO 135-0016, JAPAN
TEL : (81)3-5632-9617
FAX : (81)3-5632-9618
e-mail : export@cosmobio.co.jp
URL : www.cosmobio.com



(研究用試薬)

新発売

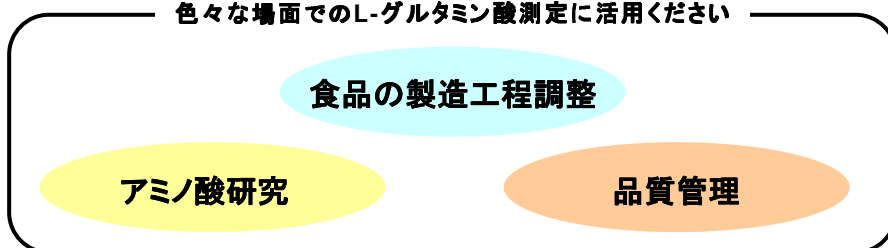
L-グルタミン酸測定キット「ヤマサ」NEO

より簡便にL-グルタミン酸を測定できるようになりました！

本製品は、L-グルタミン酸特異的に作用する酵素 L-グルタミン酸オキシダーゼ(EC1.4.3.11)を用いて、L-グルタミン酸を測定するキットです。従来製品である「ヤマサ L-グルタミン酸測定キットⅡ※1」を、より使いやすく改良したものです。一方で、測定値に変動はなく、従来製品に引き続いてご使用いただけます(詳しくは裏面を参照ください)。

- ★ 測定に必要な試料は、わずか0.01mL
- ★ 必要な試薬は溶液状態で添付されたReady To Use製品
- ★ 特殊な機器は必要なく、反応は2ステップ、約40分で終了

色々な場面でのL-グルタミン酸測定に活用ください



【従来製品との比較】

ココがポイント!	比較項目	L-グルタミン酸測定キット「ヤマサ」NEO	ヤマサ L-グルタミン酸測定キットⅡ
より微量の試料でL-グルタミン酸の測定が可能となりました	必要試料量	0.01mL	0.06mL
測定範囲が広がりました	測定範囲	10~1500mg/L	10~500mg/L
すぐに測定可能で、添付酵素試薬は使用期限※2まで使用できます	構成試薬	すべて溶液状態	酵素試薬は凍結乾燥品で 使用直前に添付緩衝液で溶解 (溶解後安定性は約1ヶ月間※3)
共存するアスコルビン酸の影響を受けません	アスコルビン酸共存試料	前処理必要なし (1000mg/Lまで影響なし)	前処理必要 (100mg/Lで測定値約30%低下)
測定可能検体数、測定値等には変更はありません	検体数	66	66

※1 「ヤマサ L-グルタミン酸測定キットⅡ」(製品コード 80057)は2016年3月をもって製造販売を終了しました。

※2 有効期間は製造日より12ヶ月、使用期限は製品外箱ラベル上に記載しております。

※3 溶解前の有効期間は製造日より12ヶ月です。

【製品情報】

製品コード	製品名	テスト数	貯蔵方法	希望小売価格
80128	L-グルタミン酸測定キット「ヤマサ」NEO	66	2~8℃/暗所	43,000円

<製品内容>

- | | | |
|-------------------------|-------|-------|
| 1. R1酵素試薬液 | 30mL | 1バイアル |
| 2. R2酵素試薬液 | 30mL | 1バイアル |
| 3. L-グルタミン酸標準液(250mg/L) | 0.5mL | 1バイアル |

・本製品は研究用試薬です。研究以外の目的には使用できません。

・測定には、試験管やピペットなどの一般実験器具の他、555nmの吸光度が測定できる分光光度計が必要です。



ヤマサ醤油株式会社

測定原理

試料にR1酵素試薬液を添加すると、アスコルビン酸オキシダーゼの作用で試料に含まれるアスコルビン酸(ビタミンC)が除かれます。続いてR2酵素試薬液を添加すると、L-グルタミン酸はL-グルタミン酸オキシダーゼの作用で酸化され、過酸化水素を生成します(①)。生成された過酸化水素からペルオキシダーゼの作用によるTOOSと4-アミノアンチピリンとの酸化縮合反応で紫色色素が生成されます(②)。この紫色の吸光度(555nm)から試料中のL-グルタミン酸濃度を定量します。

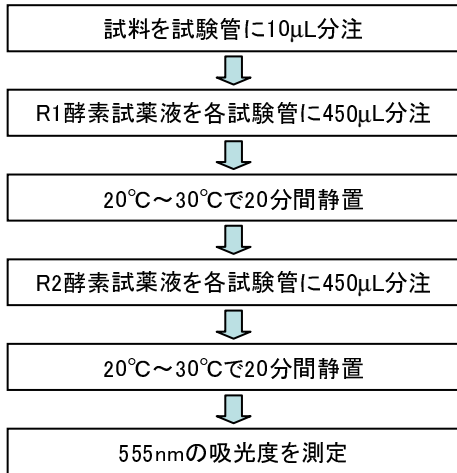
- ①L-グルタミン酸オキシダーゼの酸化反応

$$\text{L-グルタミン酸} + \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2 \rightarrow \alpha\text{-ケトグルタル酸} + \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$$
- ②ペルオキシダーゼによる紫色色素形成

$$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{TOOS} + 4\text{-AA} \rightarrow \text{紫色色素(555nm)}$$

測定方法および性能

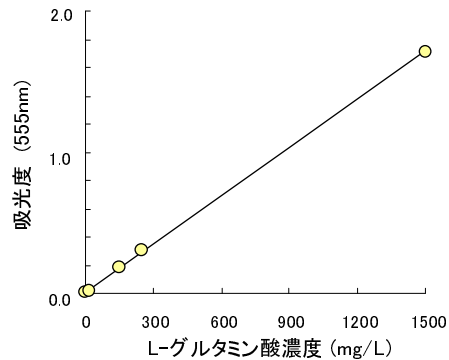
【測定方法】



*試料と同時に標準液、精製水も測定し、濃度算出に用います。
 *試料が濃色の場合は、その影響も確認する必要があります。

【希釈直線性】

1500、250、150、15mg/LのL-グルタミン酸溶液を試料として測定した結果を下記に示します。濃度と吸光度の間に良好な直線性が認められました。



【試料中L-グルタミン酸濃度測定】

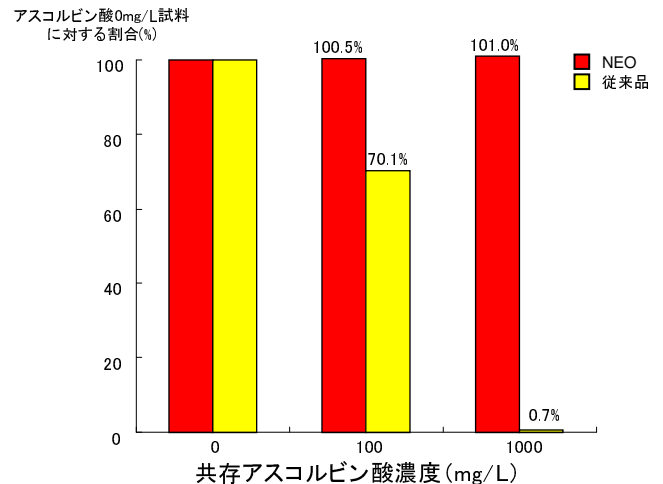
各種試料を、本製品(NEO)で測定した結果を下記表に示します。同時にヤマサ L-グルタミン酸測定キットⅡ(従来品)で測定したところ、NEOでの測定値は従来品に対して94~106%を示し、大きな相違は見られませんでした。

試料*1	L-グルタミン酸濃度(mg/L)*2		NEO/従来品
	NEO	従来品	
Grace培地(10%FBS)	700	747	94%
トマト汁	2032	2072	98%
醤油	10701	10850	99%
市販だし溶解液	22327	22673	98%
ソーセージ液	200	189	106%

*1 試料は適宜希釈して測定し、結果は原液濃度に換算しております。
 *2 社内での検討結果であり、一般的なL-グルタミン酸濃度を示すものではありません。

【アスコルビン酸の影響】

L-グルタミン酸溶液に、アスコルビン酸を0、100、1000mg/Lの濃度になるよう加えたものを試料とし、NEOおよび従来品で測定を行いました。NEOではアスコルビン酸が1000mg/L共存している場合でも殆ど影響は見られませんでした。



(掲載データは全て社内検討結果より)

関連製品

L-グルタミン酸の影響を受けずにL-グルタミンを測定できるキットです。

製品コード	製品名	テスト数	貯蔵方法	希望小売価格
80116	L-グルタミンアッセイキット	66	2~8°C/暗所	160,000円

・本製品は研究用試薬です。研究以外の目的には使用できません。

【製造販売】



ヤマサ醤油株式会社

【問い合わせ先】

診断薬部 診断薬営業情報室

〒103-0014

東京都中央区日本橋蛸殻町1-23-8

Tel.03-3668-8558 Fax.03-3668-8407