

食品及び一般分析用試薬キット

E-液状キット D-グルコース/果糖
ENZYTEC Fluid D-Glucose/D-Fructose

製品番号
E5160

包装単位
10 回 x 4 測定用



(製品写真例)

はじめに

E-液状キット D-グルコース/果糖は、食品及び一般試料中の D-グルコース/果糖の酵素法による UV 吸収法測定キットです。
測定には、比色計又は分光光度計が必要です。

測定原理

- (1).D-果糖 + ATP → ヘキソキナーゼ (HK)
→ 果糖-6-リン酸 (F6P) + ADP
- (2).D-グルコース + ATP → HK → グルコース-6-リン酸 (G6P) + ADP
- (3).F6P ← グルコースリン酸イソメラーゼ (PGI) → G6P
- (4).G6P + NAD⁺ → G6P-デヒドロゲナーゼ (G6P-DH)
→ D-グルコン酸-6-リン酸 + NADH + H⁺

D-グルコースおよび果糖は、HK および ATP 存在下で G6P および F6P にリン酸化されます (1) (2)。G6P-DH および NAD 存在下で G6P から D-グルコン酸-6-リン酸および NADH が生成します (4)。この時生成される NADH の量が D-グルコースの量と相関性しているため、NADH を 340nm の波長で測定し、D-グルコース量を算出します。

(4) の反応が終了することで、F6P が PGI の働きにより G6P に変換されます (3)。G6P からは D-グルコン酸-6-リン酸および NADH が生成されます。この時生成される NADH の量は果糖の量と相関性があるため、NADH を 340nm の波長で測定し、果糖の量を算出します。

測定条件

波 長 : 340 nm (NADH)
光 路 長 : 1.00cm (ガラスまたはプラスチック(PMMA)製セル)
温 度 : 室温 (+20℃ ~) 又は +37℃
反応液量 : 2.600mL(D-グルコース) 3.100mL(果糖)
測定対照 : 水
試料量 : 0.100 mL

試薬調製

試薬類および標準液はそのまま直ぐに使用できます。

キット内容

試薬#R1(20mL x 4 本) : バッファー pH7.8, ATP 1.7mmol/L, NAD 1.7mmol/L。

試薬#R2(5mL x 4 本) : ヘキソキナーゼ(HK)1.5kU/L, グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ(G6P-DH) 1.5kU/L

試薬#R3(5mL x 4 本) : バッファー pH7.8, グルコースリン酸イソメラーゼ(PGI)20kU/L

濃度計算

試料中の D-グルコースの濃度 (C) は、測定された吸光度差 (ΔA) から下記の式で計算されます。

$$C(\text{g/L}) = \frac{V \times MW \times \Delta A}{\epsilon \times d \times v \times 1000}$$

V = 反応液量(mL)
MW = 分子量(D-グルコース)
d = 光路長(cm)
ε = モル吸光係数
v = 試料量(mL)

果糖の濃度は、PGI 添加前後の吸光度差から同様に計算されます。

キャリブレーション (校正) 用および測定用コントロール

自動吸光度測定システムの校正用、ならびに精度および正確度管理用内部標準として、別売の ENZYTEC E-キット・液状 糖類標準液 (Cat. No. E5440、3 × 3 ml) をご使用下さい。標準液はそのまま使用できます。

取扱上の注意

この測定用試薬類はすべて、人に無害です。試薬は保存剤としてアジ化ナトリウム (0.95 g/l) を含んでいます。飲み込まないようご注意ください。また皮膚や粘膜に触れないようご注意ください。化学実験室における作業用一般安全性規則に準拠して、使用後は実験室廃棄物として処理できます。包装材料はリサイクルできます。

特長

1. 測定範囲 : 本法は 20 ~ 1000 mg/l (340 nm で測定) の D-グルコースと D-果糖を測定することができます。測定範囲の上限を超えた場合は、試料を希釈して 90 ~ 1000 mg/l に蒸留水により希釈して再測定をしてください。計算の際に希釈係数をかけます。
2. 特異性 : 本法は D-グルコースと D-果糖に特異的な方法です。測定の妨害は観察されていません。D-グルコースと D-果糖の比が 10 : 1 以上の場合は、D-果糖の測定精度が低下します。
3. 検出限界 : 340 nm 測定で、4.8 mg/l が最小検出濃度です。最小検出限界は最小 D-果糖検出濃度でゼロと区別されます。ゼロ試料を 20 回測定し、その標準偏差値を 3 倍した数値に相当します。

株式会社 J.K.インターナショナル

〒103-0025 東京都中央区日本橋茅場町 3-2-10 鉄鋼会館 5F
(アジマックス㈱内)

TEL 03-6661-6132 FAX 03-6661-1091

E-mail: info@jki.co.jp URL: http://www.jki.co.jp