

食品及び一般分析用試薬キット

E-液状キット グリセロール
ENZYTEC Fluid Glycerol

製品番号
E5360

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 グリセロールは、食品及び一般試料中のグリセロールの酵素法による 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) グリセロール + ATP → グリセロキナーゼ (GK)
→ L-グリセロール-3-リン酸 + ADP
- (2) ADP + D-グルコース → ADP 依存性ヘキソキナーゼ (ADP-HK)
→ D-グルコース-6-リン酸 (G6P) + AMP
- (3) G6P + NAD⁺ → グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ (G6P-DH)
→ グルコン酸-δ-ラクトン-6-リン酸 + NADH + H⁺

グリセロールは GK により触媒される反応において ATP によりリン酸化され L-グリセロール-3-リン酸となります (1)。続いて ADP-HK が存在するとグルコースはグルコース-6-リン酸 (G6P) へと変換されます。さらに G6P は G6P-DH と NAD⁺ の働きによりグルコン酸-δ-ラクトンへと変換されます。この際 NAD⁺ は NADH に変化しますが、この変化 (NADH の増加) 量がグリセロール量と関連しているため、340 nm の吸光を示す NADH 量を測定することでグリセロール量を算出します。

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 (+20-25℃) 又は 37℃
反応液量 : 2.600mL
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(20.8mL x 4 本) : バッファー pH7.5、
D-グルコース 10mmol/L、GK 500U/L、
ADP-HK 500U/L、G6P-DH 5000U/L
試薬#R2(5.5mL x 4 本) : バッファー pH6.0、NAD 20mmol/L、ATP
1mmol/L

濃度計算

試料中のエタノールの濃度(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(グリセロール)
d = 光路長(cm)
ε = モル吸光係数
v = 試料量(mL)

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-キット液状グリセロール標準液 (Cat. No. E5480、3mL x 3) 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

b
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 10 ~ 250 mg/l (340 nm で測定) の範囲内のグリセロール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、試料を希釈して再測定してください。計算の際には希釈係数をかけます。
2. 特異性 : 本法はグリセロールに特異的な方法です。GK 活性が低いのでジヒドロキシアセトンに変換されません。
3. 検出限界 : 340 nm 測定で、2.1 mg/l が最小検出濃度です。検出限界は、グリセロールを含まない試料を 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
(アズマックス棟内)
TEL 03-6661-6132 FAX 03-6661-1091
E-mail: info@jki.co.jp URL: http://www.jki.co.jp