

食品及び一般分析用試薬キット

E-キット Liquid ショ糖/D-グルコース
ENZYTEC Liquid Sucrose/D-Glucose)

UV 法 要 2~8 °C保存
製品番号 E8180

包装単位
50回 測定用



(製品写真例)

はじめに

E-キット Liquid ショ糖/D-グルコースは、食品及び一般試料中のショ糖/D-グルコースの酵素法による 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

- ショ糖 + H₂O $\xrightarrow{\beta\text{-フルクトシダーゼ}}$ D-グルコース + D-果糖
- D-グルコース + ATP $\xrightarrow{\text{HK}}$ グルコース-6-リン酸 (G6P) + ADP
- G6P + NAD⁺ $\xrightarrow{\text{G6P-デヒドロゲナーゼ (G6P-DH)}}$ D-グルコン酸-6-リン酸 + NADH + H⁺

ショ糖が β -フルクトシダーゼの作用により加水分解されると、D-グルコースと果糖が生成します (1)。ヘキソキナーゼ (HK) 存在下で ATP によってグルコースがリン酸化されると、同時に ADP が生成します (2)。グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ (G6P-DH) および NAD 存在下で、グルコース-6-リン酸 (G6P) は D-グルコン酸-6-リン酸へと酸化され、NADH が生成します (3)。この新規に生成する NADH の量はショ糖 + D-グルコースの総量と相関しています。340 nm での吸光度を測定し、NADH の増加量から総ショ糖量 (ショ糖 + D-グルコースの合計量) 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°C ~) 又は +37 °C
反応液量 : 3.100mL
測定対照 : 純水
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#1(R1)(50mL x 2 本) : NAD、 β -フルクトシダーゼ、ATP
試薬#2(R2)(12.5mL x 2 本) : HK、G6P-DH

濃度計算

試料中のショ糖/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 (ショ糖)
d = 光路長 (cm)
 ϵ = モル吸光係数
v = 試料量 (mL)

上記の濃度計算には、ショ糖と試料中に存在する遊離の D-グルコースが含まれています。総ショ糖として、ショ糖の分子量 (342.3g/mol) で計算されています。分別定量のためには、遊離の D-グルコースを E8140 E-キット Liquid D-グルコースなどで別途測定する必要があります。ショ糖の濃度は、総ショ糖濃度から遊離の D-グルコース濃度を差し引いて求められます。

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。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

- 測定範囲 : 本法は 20 ~ 1500 mg/L (340 nm で測定) の範囲のトータルグルコースを測定することができます。測定範囲の上限を超過した場合は、試料を希釈して 100 ~ 1500 mg/L になるよう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。
- 特異性 : β -フルクトシダーゼは、ショ糖のフルクトースとグルコースとの間の結合を特異的に切断します。糖類としてショ糖しか含んでいない場合は、特異的にヘキソキナーゼ反応により特異的に測定されます。ラフィノースタイプのオリゴサッカリドも加水分解されますが、ショ糖の方が速く加水分解を受けます。また α -フルクトフラノシド、フルクトピラノシド、 β -ソルボフラノシド、 β -D-キシロクトフラノシド、あるいは置換基を有する β -フルクトフラノシル残基を加水分解しない。D-グルコース/ショ糖の比が 10 : 1 以上に開いている場合はショ糖の定量の精度は低下します。
- 検出限界 : 340nm 測定で、10 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
TEL 03-6661-6132 FAX 03-6661-1091
E-mail: info@jki.co.jp URL: http://www.jki.co.jp

