## F-キット グリセロール

製品番号 148 270

包装単位 11 回 X 3



(製品写真例)

F-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。定量には比色計又は分光光度計が必要です。

### 測定原理

グリセロールは、グリセロキナーゼ(GK)の触媒下、アデノシン -5'-三リン酸(ATP)により L-グリセロール-3-リン酸にリン酸化 されます(1)。

(1) グリセロール+ $ATP \xrightarrow{GK} L$ -グリセロール-3-リン酸+ADP

上記の式で生成されたアデノシン-5'-二リン酸(ADP)は、ピルビン酸キナーゼ(PK)を用いてホスホエノールピルビン酸(PEP) により ATP に再変換されピルビン酸を生成します(2)。

## (2) $ADP + PEP \xrightarrow{PK} ATP + ピルビン酸$

酵素、L・乳酸脱水素酵素(L・LDH)の存在下、ピルビン酸は還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(NADH)の NAD への酸化により L・乳酸に還元されます(3)。

(3) ピルビン酸 +  $NADH + H^+ \xrightarrow{L-LDH} L -$  乳酸 +  $NAD^+$ 

上記の式で酸化される NADH の量は、グリセロールの量に化学量論的に比例します。 NADH は、340,334 又は 365nm での吸光度で測定されます。

### キット内容

- 1. ビン1、3本、1本あたり約2g コエンザイム/バッファー混合物: グリシルグリシンバッファー、pH 約7.4; NADH 約7mg; ATP 約22mg; PEP-CHA約11mg; Mg2SO4
- 2. ビン2、約0.4mL 懸濁液、PK 約240U;L-LDH 約220U
- 3. びん3、約0. 4mL グリセロキナーゼ(GK) 懸濁液約34U
- 4. ビン4、グリセロール標準液

#### 特異性

本測定法は、グリセロールについて特異的です。ジヒドロキシアセトンは、この条件では反応しません。市販のグリセロールの測定では、約100%の結果が得られます(無水として計算)。

# 感度と検出限界

測定感度: グリセロール 0.1 mg/L

試料量(v)2.000mL,吸光度差 0.005A(340nm)

検出限界: グリセロール 0.4mg/L

試料量(v)2.000mL,吸光度差 0.010A(340nm)

### 直線性

 $1.0\,\mu$  g/アッセイ (グリセロール  $0.4\,\mathrm{mg/L}$  試料量:v=2.000mL から  $40\,\mu$  g/アッセイ (グリセロール  $0.4\,\mathrm{g/L}$  試料量:v=0.100mL) まで

## 試薬

この測定キットの試薬は、法律で定める危険性又は有害性物質には該当しておりませんが化学物質の取扱いに係る一般的な安全上の注意に従って取り扱ってください。使用後の試薬は実験廃液として廃棄してください。また容器等は廃棄物の処理に従ってください。

### 試料調製の一般的情報

- \*無色、透明でほぼ中性の試料を直接または希釈表に従って希 釈して使用してください。最大試料量 2.000mL。
- \*濁った試料はろ過または遠心分離してください。
- \*炭酸入り試料は脱ガス処理をしてください。(例:ろ過)
- \*酸性の試料は、KOH/NaOH 溶液を加えて pH 8 に調整して ください。
- \*酸性で薄く着色した試料は、KOH/NaOH 溶液を加えて pH 8 に調整後、約15分程度インキュベートしてください。
- \*特に濃く着色した試料(希釈せずに測定するか試料量を増やして測定する場合)は、ポリビニルポリピロリドン(PVPP)で脱色してください。
- \*固形又は半固形の試料は、粉砕またはホモジナイズし蒸留水で抽出又は溶解し必要であればろ過してください。濁りや染料は Carrez 試薬で除いてください。
- \*タンパク質を含む試料は Carrez 試薬で除タンパクしてください。
- \*脂肪を含んだ試料は、密閉容器内で温水で抽出してください (抽出温度は含まれる脂肪の融点以上にすること)。

脂肪を分離するため冷却してから定容にし、15分程度氷冷し、 ろ過または遠心分離します。又は温水で抽出後 Carrez 試薬 処理を行っても構いません。

## 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