

(製品写真例)

はじめに

E-キット D-グルコース/ショ糖/果糖は、食品及び一般試料中の D-グルコース/ショ糖/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。

本法は、オーストリア、オランダ、ドイツ、スイスの食品法に収載されています。IFU、AIJN、MEBAK、および OICCC で推奨され、DIN、EN、GOST、NEN、および NF で標準化されています。

測定原理

ショ糖 + H2O — β · フルクトシダーゼ (β FS) → D· グルコース + D· 果糖 D· グルコース + ATP — ヘキソキナーゼ (HK) → グルコース・6・リン酸 (G6P) + ADP D· 果糖 + ATP — ヘキソキナーゼ (HK) → 果糖・6・リン酸 (F6P) + ADP F6P — ホスホグルコースイソメラーゼ (PGI) → G6P G6P + NADP+ — G6P・デヒドロゲナーゼ (G6P・DH) → D・グルコン酸・6・P + NADPH + H*

この反応で生成される NADPH の量は、D-グルコース、ショ糖、果糖 の量と化学量論的に等しくなり、NADPH の増加は 340nm の吸光度で 測定されます。

測定条件

波 長:340 nm (NADPH)

光 路 長:1.00cm (ガラスまたはプラスティック(PMMA)製セル)

温 度:室温 (+20℃ ~) 反応液量:3.020 mL

測定対照:水

試料量: $0.100 \sim 1.800 \text{ mL}(ショ糖)/2.000 \text{ mL}(D-グルコース、果糖)$

試料溶液中 $4\sim 150 \, \mu g$ ショ糖+D-グルコース+果糖

薬絬

試薬#S. クエン酸 バッファー pH 約 4.6、510U の β FS の凍結乾燥粉 \pm

試薬#1. トリエタノールアミン バッファー pH 約 7.6、約 80 mg の NADP、約 190 mg の ATP、硫酸マグネシウムからなる混合 料サ

試薬#2. 約 0.7 ml の HK/G6P-DH 懸濁液(約 200 U/100 U)(硫酸ア

ンモニウム液)

試薬#F. 約 0.7 ml の PGI 懸濁液 (約 490 U) (硫酸アンモニウム液)。

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(⊿A)から下記のの式で計算されます。

 $C(g/L) = \frac{V \times MW \times \triangle A}{\varepsilon \times d \times v \times 1000}$

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

ε =七ル吸光係 Φ v =試料量(mL)

A Bed-1 T(IIIT)

ショ糖の濃度は、遊離の D-グルコースの吸光度を差し引いて、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。

必要試薬(キットには含まれません)

測定試験のコントロールとして、無水超高純度のショ糖 $0.8\,\mathrm{g/L}$ 、無水 D-グルコース $0.5\,\mathrm{g/L}$ 、D-果糖 $0.5\,\mathrm{g/L}$ の標準液をそれぞれ使用します。

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

- 1. 特異性: D-グルコースと D-果糖に特異的です。2- β -フルクトサンが存在しない場合は、ショ糖に対しても比較的特異性の高い測定法になります(2- β -フルクトサンが存在する場合は、ショ糖よりも反応が遅れます。)市販のショ糖を測定した場合は、100%が期待できます。D-グルコースおよびD-グルコース無水物を測定した場合は、吸湿しているために<100%になります。
- 2. 感度: 0.2 mg D-グルコース/L、またはD-果糖/L

 $(\Delta A = 0.005; v = 2.000 \text{ mL}; V = 3.020/3.040 \text{ mL})$

1 mg ショ糖/L ($\Delta A = 0.010$; v = 1.800 mL; V = 3.020 mL)

3. 検出限度: $0.4\,\mathrm{mg/}$ D-グルコース/L、または D-果糖/L($\Delta\mathrm{A}=0.010$; v = $2.000\,\mathrm{mL}$; V = $3.020/3.040\,\mathrm{mL}$)

2 mg/ ショ糖/L(Δ A = 0.020; v = 1.800 mL; V = 3.020 mL)

4. 直線性:4 μ g ショ糖 + D-グルコース + D-果糖/ 測定(v = 1.800 mL; V = 3.020/3.040 mL) \sim 150 μ g ショ糖 + D-グルコース + D-果糖/ 測定(v = 0.100 mL; V = 3.020/3.040 mL)

5. 精度: ΔA = ± 0.005 吸収単位 (D-グルコース、D-果糖) (Abs.)

ΔA = ± 0.010 吸収単位(ショ糖)(Abs.)

CV = 約 1 \sim 2 % (D-グルコース)

CV = 約 1 ~ 3 % (ショ糖)

果実ジュース: $r = 1.9 + 0.033 \times C$ ショ糖 [g/L]

R = 3.3 + 0.061 ×Cショ糖 [g/L]

 $r = 0.42 + 0.027 \times CD$ -グルコース[g/L]

 $R = 1.0 + 0.042 \times CD$ -グルコース [g/L]

 $r = 0.15 + 0.033 \times CD$ - 果糖 [g/L]

R = 1.05 + 0.045 ×CD-果糖「g/L」

測定妨害:特にありません。

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 (アヅマックス㈱内)

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

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