

糖化力分別定量キット操作説明書

1. 用意する器具、機器、試薬

		仕様	数
1	秤	10 g 測定用	1
2	シャーレ		試料数 × 1
3	三角フラスコ	150 mL 程度	試料数 × 2
4	ろ紙	No. 2	試料数 × 1
5	漏斗		試料数 × 1
6	メスシリンダー	50 mL 測定用	1
7	試験管		試料数 × 8
8	試験管たて		1
9	マイクロピペット	0.1～1mL 可変式のもの	1
10	マイクロピペット	1～5 mL 可変式のもの	1
10	分光光度計	測定波長(400 nm)	1
12	恒温槽	使用温度(37 °C)	1
13	試験管ミキサー		1
14	抽出液	0.5 % NaCl ・10 mM 酢酸緩衝液(pH 5.0)	
15	希釈液(＊)	0.5 % NaCl ・10 mM 酢酸緩衝液(pH 5.0)	
16	蒸留水		

(＊)希釈液は、10 mM 酢酸緩衝液(pH 5.0)または、蒸留水でも代用可能です。

その他

- 1 試薬保存用冷蔵庫
- 2 ストップウォッチまたは、タイマー
- 3 糖化力分別定量キット

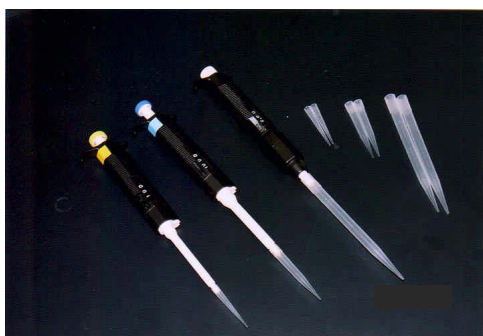
2. 主な機器の説明

恒温槽



恒温槽は、反応液の温度を一定に保つための装置です。キットでは 37°C にて使用します。

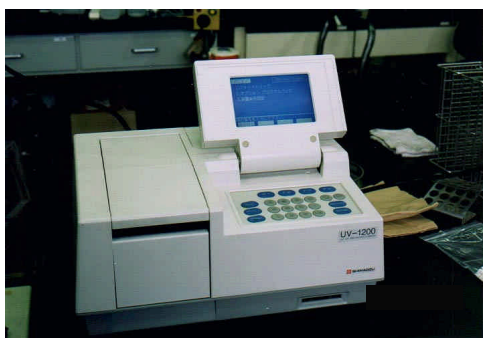
マイクロピペット



マイクロピペットは、試料や試薬を一定量採取するために使用します。プラスチック製のチップを先端に取り付けて利用します。

* ガラス製のピペットは誤って液を吸い込む恐れがあるので使用しないでください。

分光光度計



分光光度計は色の濃さを測定する器械です。各メーカーにより、様々なタイプのものがあります。

キットでは、400nm の波長の光を測定できる機器を使用します。

3. 米麴抽出方法

(第 4 回改正 国税庁所定分析法注解より)



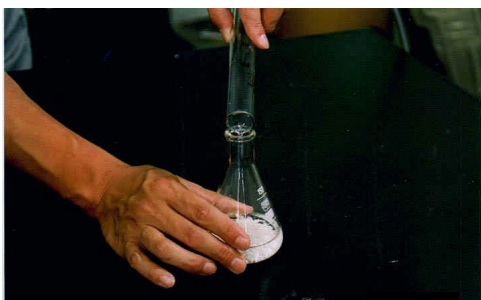
- ①米麴を 10 g 用意します。
(米麴抽出液の作製方法は第 4 回改正
国税庁所定分析法注解に従っています。)



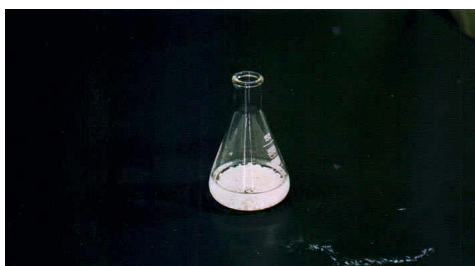
- ②三角フラスコ(150 mL 程度)に米麴
10 g を入れます。



- ③三角フラスコに米麴を入れた状態。



- ④ここに抽出用緩衝液を 50 mL 入れま
す。
※抽出用緩衝液は、0.5%の NaCl を含む 10 mM
酢酸緩衝液 (pH 5.0) を用います。



⑤抽出は、(1)室温(15-20℃)で3時間と
きどき振りまぜながら行う方法、(2)5℃以
下で一夜放置して行う方法、の2とおりが
あります。



⑥抽出後、ろ紙を用いて濾過し、抽出液を
得ます。

【作業終了後の注意】



- (1) 使用後の器具を洗浄する際は、手袋を使用して下さい。
- (2) 排水後は、配水管に残留しないように十分量の水で洗い流して下さい。
- (3) キットに含まれる試薬溶液、反応液試薬溶液を口に入れたり、直接手で触れたりしないで下さい。
- (4) 食品類への混入がないよう充分ご注意下さい。排水排出の際は、地下水及び上水道へ混入しないよう注意して下さい。

4. 測定方法



①糖化力測定用の試料は、米麴の抽出液を希釈液で、2倍に希釈します。

α -グルコシダーゼ活性測定用の試料は、抽出液をそのまま使用します。



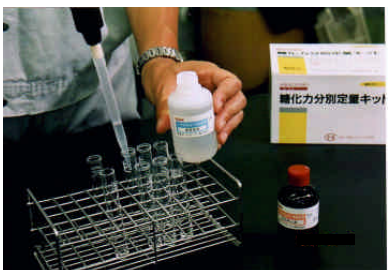
②糖化力分別定量キットには糖化力測定用の試薬と、 α -グルコシダーゼ活性測定用の試薬が入っています。



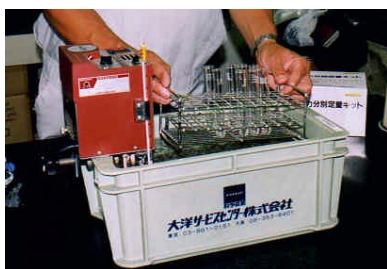
③試験管を8本用意します。このうち4本に糖化力測定用の基質溶液を0.5 mLずついれます。



④基質溶液を入れた試験管4本に、糖化力測定用の酵素溶液を0.5 mLずつ入れます。



⑤残りの試験管4本に α -グルコシダーゼ活性測定用の基質溶液を2 mLずつ入れます。



⑥試験管を恒温槽に入れ 37℃で加温します。



⑦約 5 分間 37℃にて予備加温します。写真のようなストップウォッチやタイマーなどを用いて時間を計ります。



⑧約 5 分の加温終了後、それぞれ 4 本の試験管のうち 3 本に試料を 0.1 mL ずつ入れます。それぞれ残りの 1 本は、ブランクとして、そのまま加温します。



⑨ミキサー等で良く攪拌した後、37℃恒温槽に入れて 37℃で正確に 10 分間加温します。



⑩10 分後に糖化力測定用の反応停止液を 4 本の試験管に 2 mL ずつ入れます。ここで黄色に発色します。



⑪良く攪拌します。



⑫同様に、 α -グルコシダーゼ活性測定用の反応停止液を残りの試験管 4 本に 1 mL ずつ入れます。
ここで黄色に発色します。



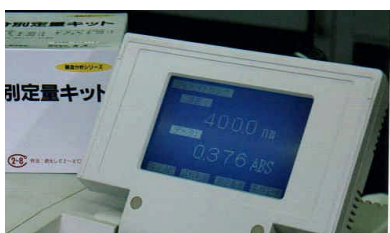
⑬反応停止液を入れた後に、blankとした試験管に試料 0.1 mL を入れます。



⑭分光光度計を用いて黄色の濃さを測定します。
セル(ガラスまたはプラスチック製の測定専用容器)に黄色に着色した反応液を入れ、分光光度計をセットします。



⑮分光光度計を用いて黄色の濃さを測定し、分光光度計のパネルに表示された数値を読み取ります。
(写真ではパネル表示のうち、上の数値が測定波長 400 nm を、下の数値が吸光度(色の濃さ)を示しています)



⑯糖化力と α -グルコシダーゼ活性の測定結果から、計算式でグルコアミラーゼ活性と α -グルコシダーゼ活性をそれぞれ簡単に求めることができます。