

## 糖化力測定キット操作説明書

## 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 × 4 |
| 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       |
| 11 | 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 糖化力測定キット

## 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℃にて使用します。

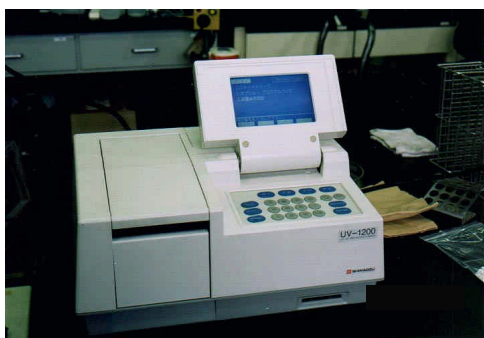
### マイクロピペット



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。

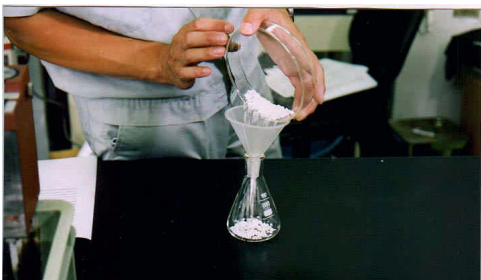
キットでは、400nm の波長の光を測定できる機器を使用します。

### 3. 米麴抽出方法

(第 4 回改正 国税庁所定分析法注解より)



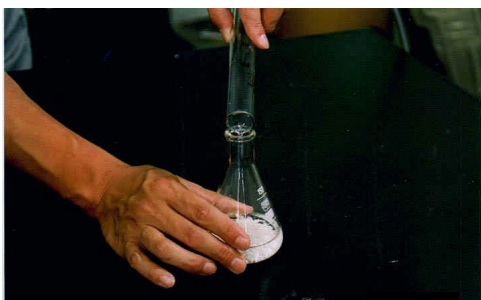
- ①米麴を 10 g 用意します。  
(米麴抽出液の作製方法は第 4 回改正  
国税庁所定分析法注解に従っています。)



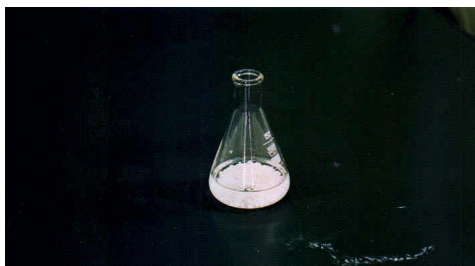
- ②三角フラスコ(150 mL 程度)に米麴  
10 g を入れます。



- 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 通りが  
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】

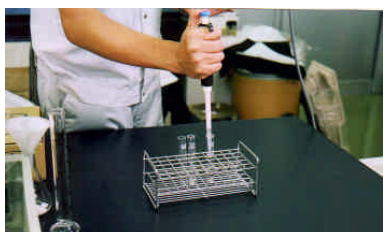


- (1) 使用後の器具を洗浄する際は、手袋を使用して下さい。
- (2) 排水後は、配水管に残留しないように十分量の水で洗い流して下さい。
- (3) キットに含まれる試薬溶液、反応液試薬溶液を口に入れたり、直接手で触れたりしないで下さい。
- (4) 食品類への混入がないよう充分ご注意下さい。排水排出の際は、地下水及び上水道へ混入しないよう注意して下さい。

## 4. 測定手順



①糖化力測定キットには「基質溶液」と「酵素溶液」が入っています。(写真には写っていませんが、このほかに反応停止液も入っています。)



②米麴の抽出液を希釈液にて2倍に希釈し試料とします。



③試験管を4本用意します。



④ピペットで基質溶液を0.5 mL とります。



⑤試験管に入れます(4本に入れる)。



⑥ピペットで酵素溶液を0.5 mL とります。



⑦試験管に入れます(4本に入れる)。



⑧恒温槽に入れ 37℃で約 5 分間予備加温します。



⑨写真のようなストップウォッチやタイマーを利用して時間を計ってください。



⑩約 5 分経過後、4 本の試験管のうち 3 本に試料を 0.1 mL ずつ入れます。

1 本はブランクとし、そのまま加温します。



⑪よく攪拌します。写真では試験管ミキサーという機器を使用しています。攪拌後、**37℃で正確に 10 分間**加温します。

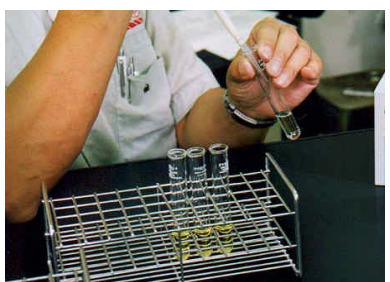


⑫10 分経過したらピペットで反応停止液を 2 mL とります。



⑬反応停止液を試験管に入れ、よく攪拌します。(正確に 10 分後に反応停止液を入れます)

反応停止液を入れると試験管の中の液が黄色に発色します。



⑭反応停止液を入れた後に、空白とした試験管に試料 0.1 mL を入れ、よく攪拌します。



⑮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容器)に黄色に着色した反応液を入れ、分光光度計にセットします。



⑯分光光度計に表示された数値を読みます。  
(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)  
表示された数値を用いて次のように計算します。

{(抽出液を入れた反応液の平均吸光度)  
- (抽出液を入れない反応液吸光度)} × 0.342 = 糖化力

※ここで得られた糖化力は所定法の値に簡単に換算することができます。