生化学分析および食品分析用テストコンビネーション

F-キット　ラフィノース TC Raffinose	製品番号 428 167	包装単位 30 回

UV テスト

精糖製品、大豆、穀類粉などの食品、生体試料中のラフィノース、D-ガラクトースの測定。

分析物

ラフィノースは D-ガラクトース、D-グルコース、D-フルクトースより成るトリサッカライドです。甜菜に相対的に高濃度で存在し、また大豆などの他の植物にも存在します。食品油の存在は混ぜ物、例えば大豆製品の許可されていない添加などの間接的証明となります。

原理(1)

ラフィノース + H_20 $\xrightarrow{\alpha\text{-ガラクトシダーゼ}}$ D-ガラクトース ＋ シュークロース

D-ラクトース ＋ NAD^+ $\xrightarrow{Gal\text{-}DH}$ D-ガラクトン酸 ＋ NADH ＋ H^+

特異性

α-ガラクトシダーゼはラフィノース以外に、ガラクチノール、メリビオース、スタキロースなどの、他のα-ガラクトシドを加水分解します。乳糖などの、β-ガラクトシド結合を持つ基質は加水分解せず、高い濃度で存在しても測定には干渉しません。ガラクトース脱水素酵素は D-ガラクトースに加え L-アラビノースを酸化します。少量の遊離の D-ガラクトースと D-アラビノースは、化学的、酵素的反応により天然のグリコシド結合から遊離する場合のみ、食品中に存在します。

感度と測定限界

測定感度は試料量(v)が 0.500ml の時の 0.005 吸光度に基づいています。これは 340nm で測定した際の約 3 ㎎/l(試料溶液)のラフィノース濃度及びに約 1 ㎎/l(試料溶液)の D-ガラクトース濃度相当します。ラフィノースに関しては 5 ㎎/l、D-ガラクトースは 2 ㎎/l の測定限界は、最大試料量(v)が 0.500ml の時の吸光度変化量 0.010(340nm)に由来します。

直線性

測定の直線性は 3μg ラフィノース＋D-ガラクトース/アッセイ(5mg ラフィノース＋D-ガラクトース/試料溶液:v=0.500mI)から 250μg ラフィノース+D-ガラクトース/アッセイ(2.5g ラフィノース+D-ガラクトース/試料溶液:ｖ=0.100ml)の間にあります。

正確性

D-ガラクトースの測定で一つの試料を二重測定した場合、0.005 から 0.010 の吸光度の違いが起きます。ラフィノースの測定(D-ガラクトースの存在下)で一つの試料を二重測定した場合、0.010 から 0.015 の吸光度の違いが起きます。
標準偏差値は測定範囲内で 1～3%です。
ミルク及び乳製品の分析(3):
D-ガラクトース：

r =0.10x(content D-ガラクトース in g/100g)g/100g
R=0.12x(content D-ガラクトース in g/100g)g/100g

キット内容

1.クエン酸バッファー.pH4.5. 約 28mg NAD
2.約 36U α-ガラクトシダーゼ
3.ニリン酸カリウムバッファー.pH8.6
4.約 30U Ga1-DH

試薬

ラフィノースと D-ガラクトースの測定に用いられる試薬は危険物条令、化学法令、EEC 条令 67/548/EEC 及びその改正版、補遺、適用ガイドラインに入るような危険物ではありません。しかし使用化学物質が接触した場合の一般的安全性は確認してください。使用後の試薬は研究室の使用品として廃棄できますが、地域の規制には常に注意してください。

試料調製の一般的情報

透明で、無色の実際的に中性の液体試料を直接、あるいは希釈後液量 0.500ml まで使用してください。
濁った溶液はろ過してください。
二酸化炭素を含む試料は脱気(ろ過などで)してください。
固形、半固形試料は砕くか、ホモジナイズし、水で抽出するか溶解してください。
脂肪を含む試料は温水で抽出してください。
エマルジョンは Carrez 試薬で破壊してください。

参考文献

1. Bergmeyer, H.U., Bernt, E. & Gutmann, I. (1974) in Methods of Enzymatic Analysis (Bergmeyer, H.U., ed.) 2nd ed., vol. 3, pp. 1172-1175, Verlag Chemie, Weinheim/Academic Press Inc., New York and London
2. Kurz, C. & Wallenfels, K. (1974) in Methods of Enzymatic Analysis (Bergmeyer, H.U.,ed.) 2nd ed., vol.3, pp. 1180-1184 and 1279-1282, Verlag Chemie, Weinheim/ Academic Press Inc., New York and London
3. Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §35 LMBG, Untersuchung von Lebensmitteln: Bestimmung des Lactose- und Galactosegehalts von Milchprodukten (L 02.00-9/November 1983)
4. Schiweck, H. & Büsching, L. (1969) Die enzymatische Bestimmung des Raffinose- und Galactinolgehaltes in Zuckerfabrirksprodukten über die bei der Spaltung-entstehende Galactose mit Hilfe von Galactose-Dehydrogenase, Zucker 22, 377-384
5. Schiweck, H. & Büsching, L. (1975) Die enzymatische Bestimmung des Raffinosegehaltes in Zuckerfabriks-produkten über die bei der Spaltung entstehende Galactose mit Hilfe von Galactose-Dehydrogenase, Zucker 28, 242-243
6. Hollaus, F., Wieninger, L. & Braunsteiner, W. (1977) Erfahrungen mit der enzymatischen Raffinose-Bestimmung mittels Galactose-Dehydrogenase in Rüben und Zuckerfabriksprodukten, Zucker 30, 653-658