

## 酵素活性測定法（案）

日本食品添加物協会・第7部会

酵素活性測定法は、酵素の原体及び製剤について酵素活性を測定する方法である。

酵素の基原、性質により測定条件（反応pH、緩衝液の種類、試料希釈液等）を選択してもよい。

1.  $\alpha$ -アミラーゼ活性測定法（自主規格の酵素活性測定法を収載予定）
2.  $\beta$ -アミラーゼ活性測定法（自主規格の酵素活性測定法を収載予定）
3. イソアミラーゼ活性測定法（自主規格の酵素活性測定法を収載予定）
4. カタラーゼ活性測定法（案）
5. グルコアミラーゼ活性測定法（自主規格の酵素活性測定法を収載予定）
6. グルタミナーゼ活性測定法（自主規格の酵素活性測定法を収載予定）
7. シクロデキストリングルカノトランスフェラーゼ活性測定法  
（自主規格の酵素活性測定法を収載予定）
8. セルラーゼ活性測定法（案）
9. トランスグルタミナーゼ活性測定法（自主規格の酵素活性測定法を収載予定）
10. パンクレアチン活性測定法（自主規格の酵素活性測定法を収載予定）
11. プルナーゼ活性測定法（自主規格の酵素活性測定法を収載予定）
12. プロテアーゼ活性測定法（案）
13. ヘクチナーゼ活性測定法（案）
14. ヘミセルラーゼ活性測定法（案）
15. リゾチーム活性測定法（自主規格の酵素活性測定法を収載予定）
16. リパーゼ活性測定法（自主規格の酵素活性測定法を収載予定）
17. レンネット活性測定法（自主規格の酵素活性測定法を収載予定）

現在自主規格（第2版、第2版追補）に収載されている $\alpha$ -アミラーゼなど成分規格12品目の酵素活性測定法は、平成12年度に見直して、一般試験法の「酵素活性測定法」へ収載する予定である。尚、新たに作成する酵素活性測定法は、追加収載する。

## ペクチナーゼ(案)

Pectinase

**定 義** 本品は、糸状菌 (*Aspergillus aculeatus*, *Aspergillus alliaceus*, *Aspergillus awamori*, *Aspergillus japonicus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus pulverulentus*, *Aspergillus usamii*, *Rhizopus oryzae*, *Trichoderma*)、細菌 (*Bacillus subtilis*)、担子菌 (*Corticium*) 若しくは酵母 (*Trichosporon*) の培養物より、抽出、精製して得られたもので、ペクチン分解酵素である。

**酵素特性** 本品は、ペクチン及びペクチン酸を分解し、還元糖などを生成する。

EC ナンバー : EC 3.2.1.15 ポリガラクチュロナーゼ

**性 状** 本品は、白～褐色の粉末、又は粒、あるいは無～濃褐色の液体、ペーストである。においはないか、又は特異なにおいがある。

**確認試験** 酵素の基原、性質により、(1) 又は (2) の方法を選択して行う。

- (1) ペクチナーゼ活性測定法に準じて試験を行うとき、第 1 法、第 2 法又は第 3 法の酵素活性を示す。
- (2) 本品 1.0g 又は 1ml を量り、水を加えて 1ml 中に 100～300 単位 (ペクチン酸糖化力測定法) を含む液を調製する。この液 1 ml を量り、あらかじめ  $40 \pm 1^\circ\text{C}$  に加温したペクチン溶液 10ml に加え、 $40 \pm 1^\circ\text{C}$  で 30 分間放置するとき、液の粘性は低下する。

**純度試験** 酵素一般規格 純度試験 (1)、(2) 及び (3) を適用する。

**微生物限度** 酵素一般規格 微生物限度を適用する。

**酵素活性測定法** 一般試験法・酵素活性測定法中のペクチナーゼ活性測定法の第 1 法、第 2 法又は第 3 法により試験を行う。酵素活性の測定条件 (反応 pH、緩衝液の種類、試料希釈用液等) は、酵素の基原、性質に応じて適切なものを選択する。

### \* 試薬・試液

#### 1) ペクチン溶液

ペクチン 2.0g を酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液 (pH4.0) 50ml に溶かし、水を加えて 100ml とする。

一般試験法 酵素活性測定法

## ペクチナーゼ活性測定法 (案)

### 第 1 法 (ペクチン酸糖化力測定法)

ペクチン酸 (ポリガラクトuron酸) にペクチナーゼが作用するとき、ペクチン酸が分解されて還元糖のガラクトuron酸を生じる。生じた還元糖量を、アルカリ性下で過剰のヨウ素と反応させて残存するヨウ素をチオ硫酸ナトリウムで滴定することにより酵素活性を求める方法である。

#### (1) 試料溶液

本品 1.000g または 1ml を正確に量り、クエン酸緩衝液 (pH4.0) <sup>1)</sup> を加えて溶かし、表示量に従って 1ml 中にガラクトuronナーゼの 40~60 単位を含むように調製し、試料溶液とする。

#### (2) 基質溶液

あらかじめペクチン酸 <sup>1)</sup> 約 1g を精密に量り、105°C で 3 時間乾燥し、その減量を測定する。その換算した乾燥物 0.55g に対応するペクチン酸を正確に量り、クエン酸緩衝液 (pH4.0) 80ml を加えて溶かす。溶解後、クエン酸三ナトリウム溶液 (29.4→100) または薄めた塩酸 (9→100) を用いて pH4.0 に調整し、さらにクエン酸緩衝液 (pH4.0) を加えて正確に 100ml とする。

#### (3) 操作法

基質溶液 10ml を 100ml の共栓付き三角フラスコにとり、40±1°C で 5 分間加温した後、試料溶液 1ml を正確に加え、直ちに振り混ぜる。この液を 40±1°C で正確に 30 分間放置した後、1mol/l 炭酸ナトリウム溶液 <sup>2)</sup> 3ml を加えて反応を停止する。次に 0.05 mol/l ヨウ素溶液 6ml を正確に加えてよく振り混ぜ、暗所に 30 分間放置する。これに 4 mol/l 硫酸 6ml を加え、デンプン試液を指示薬として 0.02 mol/l チオ硫酸ナトリウム溶液 <sup>1)</sup> で滴定する (Aml)。ただし滴定の終点は、滴定が終点近くなったときデンプン試液 1~2 滴を加え、生じた青色が脱色するときとする。

別に、空試験として、100ml の共栓付き三角フラスコに 1mol/l 炭酸ナトリウム溶液 3ml をとり、これに試料溶液 1ml を加えてよく振り混ぜる。次に基質溶液 10ml を加え、さらに 0.05 mol/l ヨウ素溶液 6ml を正確に加えてよく振り混ぜ、暗所に 30 分間放置した後、同様に滴定し (Bml)、次式により酵素活性を求める。

その酵素活性の単位は、操作法の条件で試験するとき、1 時間に 1μmol のガラクトuron酸を生成する酵素量を 1 単位とする。

$$\text{本品中の酵素活性の単位 (単位/g または 単位/ml)} = (B-A) \times f \times 513 \times 2 / 100 \times 60 / 30 \\ \times \text{試料溶液の希釈倍数}$$

ただし、513 : 1mol/l チオ硫酸ナトリウム溶液 1ml は 1mg 当量のヨウ素に相当する。1mg 当量のヨウ素は 513μmole ガラクトuron酸に相当する。

f : 0.1 mol/l チオ硫酸ナトリウム溶液のファクター

## 第 2 法 (ペクチン粘度降下力測定法-1)

基質アップルペクチン溶液にペクチナーゼが作用するとき、ペクチンが分解されてペクチン溶液の粘度が低下する。この粘度の低下を測定して酵素活性を求める方法である。

### (1) 試料溶液

本品 0.500g または 0.5ml を正確に量り、水を加えて溶かし、正確に 100ml とする。この液を、必要があれば遠心分離し、上澄液を水で希釈して、表示量に従って 1ml 中に約 8 単位含む液を調製する。

### (2) 基質溶液

あらかじめアップルペクチン<sup>①</sup>約 1g を精密に量り、105℃で 3 時間乾燥し、その減量を測定する。その換算した乾燥物 1.45g に対応するペクチンを正確に量り、エタノール約 2ml で湿潤した後、水 70ml を加え、30 分間攪拌して溶かした後、水を加えて正確に 100ml とする。必要ならば過する。用時調製する。

### (3) 操作法

基質溶液 10ml を平底試験管 (30×130mm) に入れ、次に 0.5mol/l 酢酸緩衝液 (pH4.0)<sup>②</sup> 1ml を加えて混合し、40±0.5℃で 5 分間加温した後、試料溶液 1ml を正確に加え、直ちに振り混ぜる。このとき、反応時間測定用ストップウォッチ-1 をスタートする。この酵素反応液を、40±0.5℃で加温したキャノンフェンスケ型粘度計 (No.200) に移す。反応開始 2 分後から 8 分後までの間、2 分間隔で酵素反応液の流下時間  $F_n$  を流下時間測定用ストップウォッチ-2 で測定する。このとき、それぞれの流下時間測定開始時間  $t_n$  を反応時間測定用ストップウォッチ-1 から記録し、各流下時間測定時の反応時間  $T_n$  を次式により求める。

$$T_n = t_n + F_n / 2$$

別に、基質溶液 10ml を平底試験管 (30×130mm) に入れ、次に 0.5mol/l 酢酸緩衝液 (pH4.0) 1ml を加えて混合し、40±0.5℃で 5 分間加温した後、水 1ml を加えてよく振り混ぜる。この基質ブランク液を、40±0.5℃で加温したキャノンフェンスケ型粘度計 (No.200) に移し、流下時間  $F_\infty$  を測定する。さらに、水 12ml を別の平底試験管 (30×130mm) に入れ、40±0.5℃で 5 分間加温した後、40±0.5℃で加温したキャノンフェンスケ型粘度計 (No.200) に移して、水ブランク液の流下時間  $F_0$  を測定し、粘度半減期の流下時間  $F_{1/2}$  を次式により求める。

$$F_{1/2} = (F_\infty + F_0) / 2$$

グラフの X 軸に反応時間  $T_n$  をとり、Y 軸にそれに対応する流下時間  $F_n$  をとり、粘度半減期の流下時間  $F_{1/2}$  に対応する酵素反応時間  $T$  を X 軸から求め、次式により酵素活性の単位を求める。

その酵素活性の単位は、操作法の条件で試験するとき、反応液 1ml の粘度を 60 秒間に半減させる酵素量を 1 単位とする。

本品中の酵素活性の単位 (単位/g 又は単位/ml) =  $12 \times 60 / T \times 1 / C \times S$

- ただし、12 : 酵素反応液の量 (ml)  
60 : 基準の反応時間 (秒)  
T : 粘度半減期の流下時間  $F_{1/2}$  に対応する酵素反応時間 (秒)  
C : 試料溶液の濃度 (g/ml 又は ml/ml)

### 第 3 法 (ペクチン粘度降下力測定法-2)

基質レモンペクチン溶液にペクチナーゼが作用するとき、ペクチンが分解されてペクチン溶液の粘度が低下する。この粘度の低下を測定して酵素活性を求める方法である。

#### (1) 試料溶液の調製

操作法により試験するとき、基質レモンペクチン溶液の粘度低下が試料濃度に比例する範囲内の濃度になるように、試料に適量の冷水を加えて溶かし、試料溶液とする。その濃度は、通例 0.2 単位/ml 前後である。

#### (2) 基質溶液の調製

レモンペクチン<sup>7)</sup> 0.950g を量り、あらかじめ、70~90°C に加熱した水約 70ml 中に入れて溶かした後、冷却する。冷後、0.1mol/l クエン酸試液<sup>8)</sup> 又は 0.2mol/l リン酸水素二ナトリウム試液<sup>9)</sup> で pH 3.50 に調整し、マッキルバイン緩衝液 (pH 3.5)<sup>10)</sup> 10ml 及び水を加えて正確に 100ml とする。

#### (3) 操作法

基質溶液 (pH 3.5) 6ml とマッキルバイン緩衝液 (pH 3.5) 6ml を正確に量り、ウベローデ型粘度計<sup>11)</sup> の管 A から静かに入れ、40±0.5°C の恒温水槽中に垂直に設置し、10~15 分間放置した後、試料溶液 2ml を正確に加える。加え終わったら直ちに管 C を指で閉じ、管 B より口で空気を吹き込み内容物を混合する。管 C を指で閉じ、空気の泡が管 B 中に入らないようにして管 B から弱く吸引して液面を球 F の中心部まで吸い上げた後、吸引を止め、管 C の管口を開き、直ちに管 B の管口を閉じ、毛細管の最下端の試料溶液が流下したとき、管 B の管口を開き、液面が球 E の上の標線から下の標線まで流下するに要する時間  $t_i$  秒を測定する。この操作を 5 回繰り返す。

別に、基質溶液 (pH 3.5) 6ml、マッキルバイン緩衝液 (pH 3.5) 6ml 及び水 2ml を用いて同様に操作して流下時間  $t_0$  秒を測定する。

更に、水 14ml を用いて同様に操作して、流下時間  $t_w$  秒を測定し、次式より酵素活性を求める。その酵素活性の単位は、操作法の条件で試験するとき、1 分間に粘度を 50% 低下させる酵素量を 1 単位とする。

$$\text{本品中の酵素活性の単位(単位/g 又は単位/ml)} = \frac{60}{V_{50}} \times \frac{1}{W}$$

$$\text{ただし、粘度低下率 (} V_{50} \text{)} = \frac{t_0 - t_i}{t_0 - t_w} \times 100$$

$t_0$  : 基質 6ml + 緩衝液 6ml + 水 2ml の流下時間(秒)

$t_i$  : 反応液の流下時間 (秒)

$t_w$  : 水の流下時間 (秒)

60 : 単位換算係数 (1 分間=60 秒)

W : 試料溶液 1ml 中の試料の量 (g、ml)

$V_{50}$  : 粘度低下率 50%になる時間  $\left[ T_i + \frac{t_i}{2} \right]$  秒

$T_i$  は、反応開始から  $i$  回目の粘度測定開始までの経過時間

縦軸に粘度低下率、横軸に時間  $\left[ T_i + \frac{t_i}{2} \right]$  秒

をとり、曲線を描き、粘度低下率 50%になる時間を読みとる。

#### 4. 試薬・試液

##### 1) クエン酸緩衝液 (pH4.0)

0.1mol/l 塩酸にクエン酸三ナトリウム溶液(14.7→1000)を加え、pH を 4.0 に調整する。

##### 2) ペクチン酸

ナカライテスク試薬または同等品を使用する。

##### 3) 1mol/l 炭酸ナトリウム溶液

炭酸ナトリウム (無水) 106 g を水に溶かし 1000ml とする。

##### 4) 0.02mol/l チオ硫酸ナトリウム溶液

0.1mol/l チオ硫酸ナトリウム溶液に、新たに煮沸し冷却した水を加えて正確に 5 倍容量に薄める。

##### 5) アップルペクチン

Apple pectin Type NS-2 (Herbstreith 製) または同等品を用いる。

##### 6) 0.5mol/l 酢酸緩衝液 (pH4.0)

酢酸 30 g を量り、水を加えて 600ml とし、1 mol/l 水酸化ナトリウム溶液で pH4.0 とした後、水を加えて 1000ml とする。

##### 7) レモンペクチン

和光純薬工業(株)製レモンペクチン、(株)ニチエイケミカル製 ペクチン 170、又は同等品を使用する。

##### 8) 0.1mol/l クエン酸試液

クエン酸 21.0g を量り、水を加えて溶かし、正確に 1000ml とする。

##### 9) 0.2mol/l リン酸二ナトリウム試液

リン酸二ナトリウム、無水 28.4g を量り、水を加えて溶かし、正確に 1000ml とする。

##### 10) マッキルバイン緩衝液(pH3.5)

0.1mol/l クエン酸試液と 0.2mol/l リン酸二ナトリウム試液を混和し、pH を 3.50 に調整する。

1 1) 粘度計

一般試験法、粘度測定法に記載されている毛細管粘度計（ウペローデ型粘度計）を用いる。

毛細管内径	: 0.56~0.60mm
毛細管の長さ	: 85~95mm
動粘度の測定範囲	: 2~10mm <sup>2</sup> /s
球Bの容量	: 4ml
粘度計の概略の定数	: K=0.01

## ペクチナーゼ測定結果-1

測定サンプル 可溶性ペクチナーゼ&lt;タナベ&gt;

試験項目	規格	測定回数	製造番号		
			94001	96004	98006
性状	白～褐色の粉末、粒 あるいは無～濃褐色 の液体、ペースト	①	淡褐色の粉末	淡褐色の粉末	淡褐色の粉末
		②	淡褐色の粉末	淡褐色の粉末	淡褐色の粉末
		③	淡褐色の粉末	淡褐色の粉末	淡褐色の粉末
確認試験	(1)第1法、第2法又は 第3法の酵素活性を示す  (2)粘度は低下する	①	(1)第1法の酵素 活性を示した (2)粘度は低下した	(1)第1法の酵素 活性を示した (2)粘度は低下した	(1)第1法の酵素 活性を示した (2)粘度は低下した
		②	(1)第1法の酵素 活性を示した (2)粘度は低下した	(1)第1法の酵素 活性を示した (2)粘度は低下した	(1)第1法の酵素 活性を示した (2)粘度は低下した
		③	(1)第1法の酵素 活性を示した (2)粘度は低下した	(1)第1法の酵素 活性を示した (2)粘度は低下した	(1)第1法の酵素 活性を示した (2)粘度は低下した
重金属	Pbとして 40 $\mu$ g/g以下	①	40 $\mu$ g/g以下	40 $\mu$ g/g以下	40 $\mu$ g/g以下
		②	40 $\mu$ g/g以下	40 $\mu$ g/g以下	40 $\mu$ g/g以下
		③	40 $\mu$ g/g以下	40 $\mu$ g/g以下	40 $\mu$ g/g以下
鉛	Pbとして 10 $\mu$ g/g以下	①	10 $\mu$ g/g以下	10 $\mu$ g/g以下	10 $\mu$ g/g以下
		②	10 $\mu$ g/g以下	10 $\mu$ g/g以下	10 $\mu$ g/g以下
		③	10 $\mu$ g/g以下	10 $\mu$ g/g以下	10 $\mu$ g/g以下
ヒ素	As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> として 4.0 $\mu$ g/g以下	①	4.0 $\mu$ g/g以下	4.0 $\mu$ g/g以下	4.0 $\mu$ g/g以下
		②	4.0 $\mu$ g/g以下	4.0 $\mu$ g/g以下	4.0 $\mu$ g/g以下
		③	4.0 $\mu$ g/g以下	4.0 $\mu$ g/g以下	4.0 $\mu$ g/g以下
細菌数	50,000/g以下	①	100/g以下	100/g以下	100/g以下
		②	100/g以下	100/g以下	100/g以下
		③	100/g以下	100/g以下	100/g以下
大腸菌	認めない	①	認めない	認めない	認めない
		②	認めない	認めない	認めない
		③	認めない	認めない	認めない
酵素活性 第1法(ペクチン酸 糖化力測定法)	単位/g	①	32,300	33,500	30,300
		②	33,000	32,400	30,800
		③	32,200	32,600	31,300
		④	31,000	32,900	32,200
		⑤	32,500	34,300	32,200
		⑥	31,000	33,600	30,800
	平均(n=6)		32,000	33,200	31,300
	標準偏差		822	714	789
	CV(%)		2.57	2.15	2.52
	最大値		33,000	34,300	32,200
最小値		31,000	32,400	30,300	



## ペクチナーゼ測定結果-2

測定サンプル スミチームAP2

試験項目	規格	測定回数	製造番号		
			990409-02	990706-03	991228-02
性状	白～褐色の粉末、粒 あるいは無～濃褐色 の液体、ペースト	①	淡褐色の粉末	淡褐色の粉末	淡褐色の粉末
		②	淡褐色の粉末	淡褐色の粉末	淡褐色の粉末
		③	淡褐色の粉末	淡褐色の粉末	淡褐色の粉末
確認試験	(1)第1法、第2法又は 第3法の酵素活性を示す  (2)粘度は低下する	①	(1)第2法の酵素 活性を示した (2)粘度は低下した	(1)第2法の酵素 活性を示した (2)粘度は低下した	(1)第2法の酵素 活性を示した (2)粘度は低下した
		②	(1)第2法の酵素 活性を示した (2)粘度は低下した	(1)第2法の酵素 活性を示した (2)粘度は低下した	(1)第2法の酵素 活性を示した (2)粘度は低下した
		③	(1)第2法の酵素 活性を示した (2)粘度は低下した	(1)第2法の酵素 活性を示した (2)粘度は低下した	(1)第2法の酵素 活性を示した (2)粘度は低下した
重金属	Pbとして 40 µg/g以下	①	40 µg/g以下	40 µg/g以下	40 µg/g以下
		②	40 µg/g以下	40 µg/g以下	40 µg/g以下
		③	40 µg/g以下	40 µg/g以下	40 µg/g以下
鉛	Pbとして 10 µg/g以下	①	10 µg/g以下	10 µg/g以下	10 µg/g以下
		②	10 µg/g以下	10 µg/g以下	10 µg/g以下
		③	10 µg/g以下	10 µg/g以下	10 µg/g以下
ヒ素	As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> として 4.0 µg/g以下	①	4.0 µg/g以下	4.0 µg/g以下	4.0 µg/g以下
		②	4.0 µg/g以下	4.0 µg/g以下	4.0 µg/g以下
		③	4.0 µg/g以下	4.0 µg/g以下	4.0 µg/g以下
細菌数	50,000/g以下	①	100/g以下	100/g以下	100/g以下
		②	100/g以下	100/g以下	100/g以下
		③	100/g以下	100/g以下	100/g以下
大腸菌	認めない	①	認めない	認めない	認めない
		②	認めない	認めない	認めない
		③	認めない	認めない	認めない
酵素活性 第2法(ペクチン粘度 降下力測定法-1)	単位/g	①	12,400	12,100	12,100
		②	12,200	12,400	12,200
		③	12,400	12,300	12,100
		④	12,600	12,200	12,200
		⑤	12,400	12,100	12,100
		⑥	12,200	12,400	12,100
	平均(n=6)		12,400	12,300	12,100
	標準偏差		151	138	52
	CV(%)		1.21	1.12	0.43
	最大値		12,600	12,400	12,200
最小値		12,200	12,100	12,100	

## 確認試験の方法

(1) 基質溶液: ペクチン粘度降下力測定法(1)で使用する基質溶液を使用した。

(2) 試料溶液: ペクチン粘度降下力測定法(1)で500～2,000単位/mlになるように試料を適量の水で溶かし試料溶液とした。ペクチナーゼ原体は(1→100)とした。

(3) 試験方法: 基質溶液10mLに0.5mol/l酢酸緩衝液(pH4.0)1mlと試料溶液1mlを加え混ぜ、40±0.5℃で10分間反応するとき基質溶液の粘度は低下する。

## ペクチナーゼ測定結果-3

## 測定サンプル ペクチナーゼPⅡ

試験項目	規格	測定回数	製造番号		
			CX03530	CX08518	CX08531
性状	白～褐色の粉末、粒 あるいは無～濃褐色 の液体、ペースト	①	淡黄褐～淡褐色の粉末	淡黄褐～淡褐色の粉末	淡黄褐～淡褐色の粉末
		②	淡黄褐～淡褐色の粉末	淡黄褐～淡褐色の粉末	淡黄褐～淡褐色の粉末
		③	淡黄褐～淡褐色の粉末	淡黄褐～淡褐色の粉末	淡黄褐～淡褐色の粉末
確認試験	(1)第1法、第2法又は 第3法の酵素活性を 示す (2)粘度は低下する	①	(1)第3法の酵素 活性を示した (2)粘度は低下した	(1)第3法の酵素 活性を示した (2)粘度は低下した	(1)第3法の酵素 活性を示した (2)粘度は低下した
		②	(1)第3法の酵素 活性を示した (2)粘度は低下した	(1)第3法の酵素 活性を示した (2)粘度は低下した	(1)第3法の酵素 活性を示した (2)粘度は低下した
		③	(1)第3法の酵素 活性を示した (2)粘度は低下した	(1)第3法の酵素 活性を示した (2)粘度は低下した	(1)第3法の酵素 活性を示した (2)粘度は低下した
重金属	Pbとして 40 μg/g以下	①	40 μg/g以下	40 μg/g以下	40 μg/g以下
		②	40 μg/g以下	40 μg/g以下	40 μg/g以下
		③	40 μg/g以下	40 μg/g以下	40 μg/g以下
鉛	Pbとして 10 μg/g以下	①	10 μg/g以下	10 μg/g以下	10 μg/g以下
		②	10 μg/g以下	10 μg/g以下	10 μg/g以下
		③	10 μg/g以下	10 μg/g以下	10 μg/g以下
ヒ素	As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> として 4.0 μg/g以下	①	4.0 μg/g以下	4.0 μg/g以下	4.0 μg/g以下
		②	4.0 μg/g以下	4.0 μg/g以下	4.0 μg/g以下
		③	4.0 μg/g以下	4.0 μg/g以下	4.0 μg/g以下
細菌数	50,000/g以下	①	100/g以下	100/g以下	100/g以下
		②	100/g以下	100/g以下	100/g以下
		③	100/g以下	100/g以下	100/g以下
大腸菌	認めない	①	認めない	認めない	認めない
		②	認めない	認めない	認めない
		③	認めない	認めない	認めない
酵素活性 第3法(ペクチン 年度降下力 測定法-2)	単位/g	①	3,780	3,850	3,740
		②	3,890	3,720	3,840
		③	3,860	3,760	3,770
		④	3,720	3,900	3,790
		⑤	3,900	3,920	3,910
		⑥	3,750	3,950	3,810
	平均(n=6)	3,820	3,850	3,810	
	標準偏差	77	92	60	
CV(%)	2.01	2.39	1.57		
最大値	3,900	3,950	3,910		
最小値	3,720	3,720	3,740		

## 確認試験の方法

- 基質溶液: レモンペクチン((株)ニチエイケミカル、ペクチン170)10gを量り、70～90℃の水約70ml中に徐々に加え、溶解した。冷後、1mol/lリン酸水素二ナトリウム試液でpH3.50に調製し、マッキルバイン緩衝液(pH 3.5)10mlおよび水を加えて正確に100mlとした。
- 試料溶液: ペクチン粘度降下力測定法(2)で100～300単位/mlになるように試料を適量の水で溶かし試料溶液とした。ペクチナーゼ原体は(1→40)とした。
- 試験方法: 基質溶液10mlを40±1℃にて10～15分保った後、試料溶液1mlを加えてよく混ぜ、40±1℃で30分間反応するとき基質溶液の粘度は低下する。

## 酵素活性の測定法: ペクチナーゼ活性測定法2ペクチン粘度降下力測定法(2)

試料溶液の調製には冷水を使用した(1→30000)。  
冷水とは、冷蔵庫(5～15℃)で冷却した水を示す。

## ヘミセルラーゼ(案)

Hemicellulase

**定義** 本品は、枯草菌 (*Bacillus subtilis*)、糸状菌 (*Aspergillus aculeatus*, *Aspergillus awamori*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus usamii*, *Humicola insolens*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma viride*) 若しくは担子菌 (*Corticium*, *Pycnoporus coccineus*) の培養物より得られた、ヘミセルロース分解酵素である。

**酵素特性** 本品は、ヘミセルロースを加水分解する。

ECナンバー : EC 3. 2. 1. 7 8 (Endo-1,4- $\beta$ -D-mannanase)  
EC 3. 2. 1. 8 (Endo-1,4- $\beta$ -D-xylanase)

**性状** 本品は、白～濃褐色の粉末若しくは粒、又は無色～濃褐色の液体若しくはペーストである。においはないか又は特異なにおいがある。

**確認試験** 酵素活性測定法に準じて試験を行うとき、第1法(1. 1又は1. 2)、又は第2法(2. 1又は2. 2)の酵素活性を示す。

**純度試験** 酵素一般規格 純度試験(1)、(2)及び(3)を適用する。

**微生物限度** 酵素一般規格 微生物限度を適用する。

**酵素活性測定法** 一般試験法・酵素活性測定法中のヘミセルラーゼ活性測定法の第1法(1. 1又は1. 2)、又は第2法(2. 1又は2. 2)により試験を行う。但し、測定条件(反応pH、緩衝液の種類、試料希釈液等)は、酵素の基原、性質に応じて適切なものを選択する。

## ヘミセルラーゼ活性測定法(案)

### 1. 第1法

#### 1.1 キシラン糖化力測定法

キシランを基質として酵素を作用させるときにグルコシド結合の切断に伴って増加する還元力を測定する方法である。

##### (1) 試料溶液

操作法により試験するとき、還元力の増加が試料濃度に比例する範囲内の試料濃度になるように、試料に適量の水を加えて溶かし試料溶液とする。その濃度は、通例 0.6、1.2 単位/ml である。必要な場合、水に代えて緩衝液又は塩類溶液を用いることができる。

##### (2) 基質溶液

あらかじめキシラン<sup>1)</sup> 約 1g を精密に量り、105℃で 4 時間乾燥して、その減量を測定する。この乾燥物 0.500 g に対応するキシランを正確に量り、約 30ml の水を加え、かき混ぜながら加熱し、沸騰し始めから 3 分間煮沸する。冷後、水を加えて正確に 50ml とする。

##### (3) キシロース検量線

あらかじめキシロース<sup>2)</sup> を 80℃で 5 時間乾燥し、デシケーター(シリカゲル)中で 30 分以上(恒量になるまで)放置し、その 0.125 g を正確に量り、水を加えて溶かし正確に 100ml とする(1.25mg/ml)。

この液 2ml、3ml、4ml、5ml 及び 6ml をそれぞれ正確に量り、水を加えて正確に 100ml とする(0.10、0.15、0.20、0.25、0.30 mg/4ml)。

この液 4ml ずつを 50ml ネスラー管に正確に量り、キシラン基質溶液 1ml 及びソモギー試液<sup>3)</sup> 2ml を加えよく振り混ぜ、栓をし、沸騰水浴中で正確に 20 分間加熱したのち、直ちに冷却する。冷後、ヒ素モリブデン酸アンモニウム試液<sup>4)</sup> 1ml を加え、亜酸化銅の赤色沈澱が完全に溶けるまでよく振り混ぜた後、室温で約 20 分間放置し、水 17ml を加えて正確に全量 25ml とし、よく振り混ぜる。この液を 15ml 遠沈管に約 8ml 量り、冷却遠心機で遠心分離(3000min<sup>-1</sup>、25℃、10 分間)した後、波長 500nm に於ける吸光度  $A_{500}$  を測定する。

別に、水 4ml とキシラン基質溶液 1ml にソモギー試液 2ml を加え振り混ぜた後、以下同様に操作して吸光度  $A_{510}$  を測定する。用時調製する

##### (4) 操作法

キシラン基質溶液 1ml と 0.1mol/l 酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液<sup>5)</sup> 3ml を量り 40±0.5℃の恒温水槽に入れ 10~15 分間放置した後、試料溶液 1ml を正確に加え直ちに振り混ぜる。この液を 40±0.5℃で正確に 30 分間放置した後、ソモギー試液 2ml を加えて振り混ぜ、栓をし、沸騰水浴中で正確に 20 分間加熱し、直ちに冷却する。冷後、ヒ素モリブデン酸アンモニウム試液 1ml を加え、亜酸化銅の赤

色沈澱が完全に溶けるまでよく振りまぜ、室温で約 20 分間放置し、水 17ml を加えて、全量を 25ml とし、よく振り混ぜる。この液を 15ml 遠沈管に約 8ml 量り、冷却遠心機で遠心分離（3,000min<sup>-1</sup>、25°C、10 分間）した後、波長 500nm に於ける吸光度 A<sub>30</sub> を測定する。

別に、キシラン基質溶液 1ml と 0.1mol/l 酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液 3ml にソモギー試液 2ml を加え、振り混ぜた後、試料溶液 1ml を加えたものを以下同様に操作して吸光度 A<sub>0</sub> を測定する。

上記の操作条件で試験するとき、1 分間に 1mg のキシロースに相当する還元糖の増加をもたらす酵素量を 100 単位とし、次式より算出する。

$$\text{本品中の酵素活性の単位 (単位/g 又は単位/ml)} = X \times 1/30 \times 100 \times 1/W$$

X : 生成キシロース量 (mg) で、(A<sub>30</sub>-A<sub>0</sub>) 値とキシロース検量線から求める。

$$X = [(A_{30}-A_0)] - b / a$$

1/30 : 1 分間当たりへの換算係数

100 : 100 単位

a : キシロース検量線の傾き

b : キシロース検量線の切片

W : 試料 1ml 中の試料の量 (g, ml)

#### (5) 試薬・試液

##### 1) キシラン

生化学工業（株）製、Fluka No.95590 又は同等品を使用する。

##### 2) キシロース

試薬特級を使用する。

##### 3) ソモギー試液

硫酸銅 4.0g、無水炭酸ナトリウム 24g、炭酸水素ナトリウム 16g、無水硫酸ナトリウム 18g 及び酒石酸カリウムナトリウム 12g に水を加えて溶解し 1000ml とする。この液を 10 分間煮沸し、遮光密栓して 1 週間放置した後、ろ紙 (No.2) を 2 枚重ねて 2 回ろ過する。遮光密栓して保存する。

##### 4) ヒ素モリブデン酸アンモニウム試液

モリブデン酸アンモニウム 50g に水 900ml を加え、加温して溶かし、冷後、硫酸 42ml を正確に加え、更にヒ酸二ナトリウム試液<sup>6)</sup> 50ml を加えたのち、水を加えて正確に 1000ml とし、37°C で一昼夜放置する。

##### 5) 1 mol/l 酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液

酵素の基原、性質に応じて反応至適 pH の適切な緩衝液を使用する。

##### 6) ヒ酸二ナトリウム試液

ヒ酸二ナトリウム ([試薬特級] JIS K8764) 6.00g に水を加えて溶かし 50ml とする。

## 1. 2 キシラン糖化力測定法

キシランを基質として酵素を作用させるときにグルコシド結合の切断に伴って増加する還元力を測定する方法である。

### (1) 試料溶液

本品約 0.5g を精密に量り、水を加えて溶かし、正確に 100ml とする。この液を、必要があれば遠心分離し、上澄液を水で希釈して 1ml 中に 1~2 単位含む液を調製する。通常、この範囲を含む 3 点以上の希釈段階をとり、グラフから吸光度差 0.250 となる試料濃度を求めて酵素活性値を求める。

### (2) 基質溶液

あらかじめキシラン<sup>1)</sup> 約 1g を精密に量り、105°C で 3 時間乾燥し、その減量を測定する。その換算した乾燥物 1.00g に対応するキシランを正確に量り、0.2mol/l 酢酸緩衝液 (pH4.5)<sup>2)</sup> 100ml を加えて 30 分間攪拌を続けてけん濁液とし、更に 60°C で加温しながら一時間攪拌を続けた後、室温まで冷す。pH4.5±0.05 であることを確認する。用時調製する。

### (3) キシロース検量線

あらかじめキシロース約 1g を精密に量り、105°C で 3 時間乾燥し、その減量を測定する。その換算した乾燥物 2.50g に対応するキシロースを正確に量り、水を加えて溶かし、正確に 100ml とする。この液の 2、4、及び 6ml を正確に量り、それぞれ水を加えて正確に 50ml とする。これらのキシロース標準液は 0.1ml 中にキシロース 0.10、0.20、及び 0.30mg を含む。

それぞれのキシロース標準溶液 0.1ml を正確に量り、試験管に入れ、反応停止液<sup>3)</sup> 4ml を加え混合し、次に基質溶液 1.9ml を加えよく混合する。次にガラスビーズで試験管にフタをして、沸騰水浴中で 15 分間加温した後、水浴中に移して室温まで冷す。この液を遠心分離 (3,000rpm、10 分間) し、この液につき、水を対照とし、波長 540nm における吸光度  $A_S$  を測定する。

別に、水 0.1ml を量り、試験管に入れ、反応停止液 4ml を加え混合し、次に基質溶液 1.9ml を加えよく混合し、以下同様に操作して吸光度  $A_{S0}$  を測定する。

各キシロース標準液 0.1ml 中のキシロース量を X 軸にとり、それらに対応する吸光度から水の吸光度を差引いた値 ( $A_S - A_{S0}$ ) を Y 軸にとったキシロース検量線を引き、直線 ( $Y = aX$ ) の傾き  $a$  を求める。

### (4) 操作法

基質溶液を攪拌しながら正確に 1.9ml 量り、試験管に入れ、40±0.5°C で 5 分間加温し、試料溶液 0.1ml を正確に加え、直ちによく混合する。この液を 40±0.5°C で 10 分間反応させた後、反応停止液 4ml を加え混合する。次にガラスビーズで試験管にフタをして、沸騰水浴中で 15 分間加温した後、水浴中に移して室温まで冷す。この液を遠心分離 (3000rpm、10 分間) し、この液につき、水を対照とし、波長 540nm における吸光度  $A_T$  を測定する。

別に、試料溶液 0.1ml を量り、試験管に入れ、反応停止液 4ml を加え混合し、次に基質溶液 1.9ml を加えよく混合し、以下同様に操作して吸光度  $A_p$  を測定する。

上記の操作条件で試験するとき、1 分間に 1 $\mu$ mol のキシロースに相当する還元糖を生成する酵素量を 1 単位とし、次式より算出する。

本品中の酵素活性の単位 =  $(A_T - A_B) \times F \times 1000/150 \times 1/10 \times 1/0.1 \times C$   
(単位/g 又は単位/ml)

$A_T$	:	反応液の吸光度
$A_B$	:	反応ブランク液の吸光度
F	:	$F=1/a$ , キシロース検量線より求めた吸光度差が1のときの キシロース量 (mg)
1000	:	mg から $\mu\text{g}$ への換算
150	:	キシロースの分子量
10	:	反応時間 (分)
0.1	:	反応に使用する試料溶液量 (ml)
C	:	試料溶液の濃度 (g/ml)

#### (5) 試薬・試液

##### 1) キシラン

オート麦由来、SIGMA 製 (X-0627) 又は同等品を使用する。

##### 2) 0.2 mol/l 酢酸緩衝液 (pH4.5)

酢酸 12g を量り、水を加えて 800ml とし、水酸化ナトリウム (4→100) で pH4.5 に調整し、水を加えて 1000ml とする。

##### 3) 反応停止液

3,5-ジニトロサリチル酸溶液<sup>4)</sup> の 150ml と乳糖溶液<sup>5)</sup> の 50ml を混合する。用時調製する。

##### 4) 3,5-ジニトロサリチル酸溶液

3,5-ジニトロサリチル酸 (SIGMA、D-0550) 20.0g を量り、水 800ml を加えて攪拌しながら加温してけん濁し、この液に、水酸化ナトリウム (32→300) を徐々に加え、50°C を越えないように注意して加温を続けながら溶かす。次に酒石酸カリウムナトリウム 600g を量り、徐々に加え、更に水を加えて液量を 1900ml とし、50°C を越えないように注意して加温と攪拌を続けながら溶かす。次に室温まで冷し、水を加えて 2000ml とし、必要ならばガラスフィルターでろ過する。かつ色ビンに入れ、密栓して暗所に室温で保存する。(6ヶ月以内に使用する。)

##### 5) 乳糖溶液

乳糖一水和物 (特級) 1.20g を水に溶かして 100ml とし、この液 1ml を正確に量り、水を加えて 100ml とする。

## 2. 第2法

### 2.1 ガラクトマンナン糖化力測定法

ローカストビーンガムにガラクトマンナーゼが作用するときにマンノシッド結合の切断に伴って増加する還元力を測定する方法である。

#### (1) 試料溶液

試料に適量の水を加えて溶かし、試料溶液とする。その濃度は、通例0.05～0.15単位/mlである。水の代わりに適当な緩衝液又は塩類溶液などを用いることができる。

#### (2) 基質溶液

ローカストビーンガム<sup>1)</sup> 1gを精密に量り、105℃で2時間乾燥し、その減量を測定する。その換算した乾燥物0.2gに水50mlを加え、マグネチックスターラーを用いて15分間攪拌した後、0.2mol/l水酸化ナトリウムを加えて所定のpHに調整し、酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液<sup>2)</sup> 2.0mlを加え、更に水を加えて正確に100mlとする。この液を遠心分離(3000rpm、10分間)し、その上澄液を基質溶液とする。用時調製する。

#### (3) マンノース検量線の作成

あらかじめマンノース(試薬特級)約0.5gを量り、105℃で6時間乾燥する。その乾燥物0.500gを正確に量り、水を加えて溶かし、正確に1000mlとする。この液1ml、2ml、3ml、4ml、5ml及び6mlを正確に量り、それぞれに水を加えて正確に10mlとする。それぞれの液1ml中にはマンノースが0.05mg、0.10mg、0.15mg、0.20mg、0.25mg及び0.30mg含まれる。それぞれの液1mlを正確に量り、50ml容のネスラー管に入れ、水4.0ml及びアルカリ性銅試液<sup>3)</sup> 2mlを加え、振り混ぜ、ネスラー管の口をアルミホイルで覆い、沸騰水浴中で正確に30分間加熱し、直ちに流水で冷却する。次にヒ素モリブデン酸試液<sup>4)</sup> 2.0mlを加えてよく振り混ぜ、20分間放置した後、水を加えて正確に50mlとする。この液をよく振り混ぜた後、波長750nmにおける吸光度 $A_1$ 、 $A_2$ 、 $A_3$ 、 $A_4$ 、 $A_5$ 及び $A_6$ を測定する。

別にマンノース溶液1mlの代わりに水1mlをとり、以下同様に操作して吸光度 $A_0$ を測定する。これより縦軸に吸光度差( $A_1-A_0$ 、 $A_2-A_0$ 、 $A_3-A_0$ 、 $A_4-A_0$ 、 $A_5-A_0$ 及び $A_6-A_0$ )を、横軸にマンノース量(mg)をとり、検量線とする。

#### (4) 操作法

基質溶液4.0mlを量り、50ml容のネスラー管に入れ、40±0.5℃で10分間放置した後、試料溶液1mlを正確に量って加え、直ちに振り混ぜる。この液を40±0.5℃で正確に10分間放置し、アルカリ性銅試液2.0mlを加えて振り混ぜ、ネスラー管の口をアルミホイルで覆い、沸騰水浴中で正確に30分間加熱し、直ちに流水で冷却する。次にヒ素モリブデン酸試液2.0mlを加えてよく振り混ぜ、20分間放置した後、水を加えて50mlとする。この液をよく振り混ぜ、遠心分離(3000rpm、10分間)した後、この上澄液の波長750nmにおける吸光度 $A_7$ を測定する。

別に試料溶液1mlを正確に量り、50ml容ネスラー管に入れ、アルカリ性銅試液2.0mlを加えてよく振り混ぜ、次に基質溶液4.0mlを加えて振り混ぜ、以下同様に操作して、吸光度 $A_8$ を測定する。 $A_7$ 及び $A_8$ に相当するマンノース量をマンノース検量線より求め、それぞれのマンノースmg数を



$M_T$  及び  $M_S$  とする。

上記の操作法の条件で試験するとき、反応初期の 1 分間に  $1\mu\text{mol}$  のマンノースに相当する還元力の増加をもたらす酵素量を 1 ガラクトマンナン糖化力単位とし、次式により算出する。

$$\text{本品中の酵素活性の単位 (単位/g)} = (M_T - M_S) \times 1/10 \times 1/0.18 \times 1/W$$

$M_T$  : 酵素反応によるマンノース量 (mg)

$M_S$  : ブランクのマンノース量 (mg)

1/10 : 1 分間当たりの換算係数

0.18 : マンノース  $1\mu\text{mol}$  (mg)

W : 試料溶液 1ml 中の試料の量 (g)

#### (5) 試薬・試液

##### 1) ローカストビーンガム

GUM, LOCUST BEAN, G-0753 (SIGMA 製) または同等品を使用する。

##### 2) 酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液

酢酸ナトリウム試液に希酢酸を加えて所定の pH に調整する (1mol/l)。

酢酸ナトリウム試液 : 酢酸ナトリウム (三水和物) 13.6g に水を加えて溶かし、100ml とする (1mol/l)。

##### 2) アルカリ性銅試液

硫酸銅 4.0g、無水炭酸ナトリウム 24g、炭酸水素ナトリウム 16g、無水硫酸ナトリウム 180g 及び酒石酸カリウムナトリウム 12g に水を加えて溶かし、900ml とする。この液を 10 分間煮沸した後、水を加えて 1000ml とし、密栓して 1 週間放置した後、ガラスフィルター ( $G_3$ ) でろ過し、遮光して保存する。

##### 3) ヒ素モリブデン酸試液

モリブデン酸アンモニウム 50g に水 900ml を加え、加温して溶かし、冷後、硫酸 42ml を正確に加え、更にヒ酸二ナトリウム試液 50ml を加えた後、水を加えて正確に 1000ml とし、 $37^\circ\text{C}$  で 2 日間放置する。

ヒ酸二ナトリウム試液 : ヒ酸二ナトリウム 6.00g に水を加えて溶かし、50ml とする。

## 2.2 ガラクトマンナン粘度低下力測定法

ローカストビーンガム溶液にガラクトマンナーゼが作用するとき、ガラクトマンナンが分解されてローカストビーンガム溶液の粘度が低下する。この粘度の低下する割合を測定し活性を求める方法である。

### (1) 試料溶液

本品約0.5gを精密に量り、水を加えて溶かし、正確に100mlとする。この液を、必要があれば遠心分離し、上澄液を水で希釈して1ml中に0.015-0.04単位含む液を調製する。

### (2) 基質溶液

ローカストビーンガム<sup>1)</sup>約1gを精密に量り、105°Cで3時間乾燥し、その減量を測定する。その換算した乾燥物0.44gに対応するローカストビーンガムを正確に量り、約240mlの水を加えマグネティックスターラーで攪拌しながら徐々に加えけん濁した後、水を加えて300gとする。沸騰水浴中で3分以上加熱して溶かし、必要ならば少量のケイソウ土<sup>2)</sup>をろ過助剤として用いてろ紙(No.5A)でろ過する。用時調製する。

### (3) 操作法

基質溶液10mlを正確に量り、平底試験管(30×130mm)に入れ、次に0.5mol/l酢酸緩衝液(pH4.5)<sup>3)</sup>1mlを加えて混合し、40±0.5°Cで5分間加温する。試料溶液1mlを正確に加え混合し、反応時間測定用ストップウォッチ-1をスタートさせ、40±0.5°Cで5分間加温したキャノンフェンスケ型粘度計(No.200)にこの反応液を移す。反応時間2分目から8分目までの間、2分間隔毎に反応液の流下時間 $F_n$ を流下時間測定用ストップウォッチ-2で測定する。このときそれぞれの流下時間測定開始時間 $t_n$ を反応時間測定用ストップウォッチ-1から記録し、各流下時間測定時の反応時間 $T_n$ を以下の式に従って計算する。

$$T_n = t_n + F_n / 2$$

次に、基質溶液10mlを量り、平底試験管(30×130mm)に入れ、次に0.5mol/l酢酸緩衝液(pH4.5)1mlを加えて混合し、40±0.5°Cで5分間加温する。ガラクトマンナーゼ標準液<sup>4)</sup>1mlを加え混合し、40±0.5°Cで5分間加温したキャノンフェンスケ型粘度計(No.200)にこの反応液を移す。反応時間2分目から8分目までの間、2分間隔毎にこの反応液の流下時間 $F_{sn}$ を流下時間測定用ストップウォッチ-2で測定する。このときそれぞれの流下時間測定開始時間 $t_{sn}$ を反応時間測定用ストップウォッチ-1から記録し、ガラクトマンナーゼ標準液の各流下時間測定時の反応時間 $T_{sn}$ を以下の式に従って計算する。

$$T_{sn} = t_{sn} + F_{sn} / 2$$

別に、基質溶液10mlを量り、平底試験管(30×130mm)に入れ、次に0.5mol/l酢酸緩衝液(pH4.5)1mlを加えて混合し、40±0.5°Cで5分間加温する。水1mlを加え混合し、40±0.5°Cで5分間加温したキャノンフェンスケ型粘度計(No.200)にこの基質ブランク液を移して、流下時間 $F_0$ を測定する。更に、水12mlを量り、平底試験管(30×130mm)に入れ、40±0.5°Cで5分間加温した後、40±0.5°Cで5

分間加温したキャノンフェンスケ型粘度計 (No.200) に液を移して、水ブランク液の流下時間  $F_W$  を測定し、次式に従って粘度半減期の流下時間  $F_{1/2}$  を求める。

$$F_{1/2} = (F_0 + F_W) / 2$$

グラフの X 軸に試料溶液の反応時間  $T_N$  を、Y 軸にそれに対応する流下時間  $F_N$  をとり、粘度半減期の流下時間  $F_{1/2}$  に対応する試料溶液の酵素反応時間  $T$  を X 軸から求める。別に、グラフの X 軸にガラクトマンナーゼ標準液の反応時間  $T_{SN}$  を、Y 軸にそれに対応する流下時間  $F_{SN}$  をとり、粘度半減期の流下時間  $F_{1/2}$  に対応するガラクトマンナーゼ標準液の酵素反応時間  $T_S$  を X 軸から求める。

次式により酵素活性を求める。

$$\text{本品中の酵素活性の単位 (単位/g 又は単位/ml)} = S \times (T_S \times C_S) / (T \times C)$$

S	:	ガラクトマンナーゼ標準品の酵素活性 (50,000 単位/g)
$T_S$	:	ガラクトマンナーゼ標準液の酵素反応時間 (秒)
$C_S$	:	ガラクトマンナーゼ標準液の濃度 (g/ml)
T	:	試料溶液の酵素反応時間 (秒)
C	:	試料溶液の濃度 (g/ml)

#### (4) 試薬・試液

##### 1) ローカストビーンガム

GUM, LOCUST BEAN、G-0753 (SIGMA 製) または同等品を使用する。

##### 2) ケイソウ土

食品添加物 (融剤焼成品) を使用する。

##### 3) 0.5mol/l 酢酸緩衝液 (pH4.5)

酢酸 30g を量り、水を加えて 600ml とし、水酸化ナトリウム (4→100) で pH4.5 とした後、水を加えて 1000ml とする。

##### 4) ガラクトマンナーゼ標準液

ガラクトマンナーゼ標準品<sup>5)</sup> 約 0.5g を精密に量り、水を加えて溶かし、正確に 100ml とする。この液を、必要があれば遠心分離し、上澄液 1ml を正確に量り水を加えて 250ml とし、この液 1.5ml を正確に量り水を加えて 50ml とする。

##### 5) ガラクトマンナーゼ標準品

新日本化学工業株式会社のガラクトマンナーゼ標準品 (50,000 単位/g) を用いる。

## ヘミセルラーゼ測定結果

品名 ヘミセルラーゼ「アマノ」90G

規格項目	規 格	測定回数	Lot No.		
			CX09519G	CX09520G	CX09521G
性状	白～濃褐色の粉末 若しくは粒又は無色～濃褐色の液体 若しくはペースト	3回	淡黄褐色～淡褐色の粒	淡黄褐色～淡褐色の粒	淡黄褐色～淡褐色の粒
確認試験	キシランに作用させた時、還元糖を生成する	①	還元糖を生成する	還元糖を生成する	還元糖を生成する
		②	還元糖を生成する	還元糖を生成する	還元糖を生成する
		③	還元糖を生成する	還元糖を生成する	還元糖を生成する
重金属	Pbとして 40 $\mu$ g/g以下	①	40 $\mu$ g/g以下	40 $\mu$ g/g以下	40 $\mu$ g/g以下
		②	40 $\mu$ g/g以下	40 $\mu$ g/g以下	40 $\mu$ g/g以下
		③	40 $\mu$ g/g以下	40 $\mu$ g/g以下	40 $\mu$ g/g以下
鉛	Pbとして 10 $\mu$ g/g以下	①	10 $\mu$ g/g以下	10 $\mu$ g/g以下	10 $\mu$ g/g以下
		②	10 $\mu$ g/g以下	10 $\mu$ g/g以下	10 $\mu$ g/g以下
		③	10 $\mu$ g/g以下	10 $\mu$ g/g以下	10 $\mu$ g/g以下
ヒ素	As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> として 4.0 $\mu$ g/g以下	①	4.0 $\mu$ g/g以下	4.0 $\mu$ g/g以下	4.0 $\mu$ g/g以下
		②	4.0 $\mu$ g/g以下	4.0 $\mu$ g/g以下	4.0 $\mu$ g/g以下
		③	4.0 $\mu$ g/g以下	4.0 $\mu$ g/g以下	4.0 $\mu$ g/g以下
細菌数	50,000/g以下	①	100/g以下	100/g以下	100/g以下
		②	100/g以下	100/g以下	100/g以下
		③	100/g以下	100/g以下	100/g以下
大腸菌	認めない	①	認めない	認めない	認めない
		②	認めない	認めない	認めない
		③	認めない	認めない	認めない
酵素活性 (1.1 キシラン糖化力測定法)	単位/g	①	99,500	100,000	99,800
		②	103,000	104,000	105,000
		③	98,000	99,500	97,700
		④	101,000	101,000	101,000
		⑤	98,500	97,300	98,000
		⑥	96,100	97,000	98,800
	平均(n=6)	99,400	99,800	100,000	
	標準偏差	2,416	2,581	2,711	
	CV(%)	2.4	2.6	2.7	
最大値	103,000	104,000	105,000		
最小値	96,100	97,000	97,700		