

0.1mol/L ハルヒタールナトリウム試液と 0.1mol/L 塩酸試液を混ぜ、pH8.0 に調整する。

6) 0.0005mol/L 塩化コハルト試液

塩化コハルト (II) 0.119g に水を加えて 1,000ml とする。用時調製する。

7) クエン酸 水酸化ナトリウム緩衝液 (pH5.0)

クエン酸 21.0g に水酸化ナトリウム試液 200ml を加えて溶かし、水を加えて 500ml とする。

この液を水酸化ナトリウム試液で pH5.0 に調整する。

8) ニンヒトリン溶液

ニンヒトリン (アミノ酸自動分析用) 1.00g にエチレングリコールモノメチルエーテル 25ml を加えて溶かした後、クエン酸 水酸化ナトリウム緩衝液 (pH5.0) 25ml を加える。

9) 塩化スス (II) 溶液

塩化スス (II) 0.1g にクエン酸 水酸化ナトリウム緩衝液 (pH5.0) 6.2ml を加えて溶かす。
用時調製する。

第2法

酵素を基質 N-アセチル-DL-トリプトファンに作用させ、L-トリプトファンを生成する。L-トリプトファンはニンヒトリンと定量的に発色する。この性質を利用して吸光度を測定し定量する方法である。

(1) 試料溶液

操作法により試験するとき、生成した L-トリプトファンの増加が試料濃度に比例する範囲内の濃度になるように、本品に適量の水 (又は適切な緩衝液、塩類溶液) を加えて溶かし試料溶液とする。その濃度は通例 0.4~1.9 単位/ml である。

(2) 基質溶液

N-アセチル-DL-トリプトファン 1.232g を正確に量り、水 10ml 及び水酸化ナトリウム試液 10ml を正確に加え溶かした後、最初 0.1mol/L 塩酸試液で、次いで 0.1mol/L 塩酸試液を適当に水で薄めた液を加えて pH8.0 に調整し、水を加えて 50ml とする。

(3) 操作法

0.1mol/L ハルヒタールナトリウム 塩酸緩衝液 (pH8.0) 2ml, 0.0005mol/L 塩化コハルト試液 1ml 及び試料溶液 1ml をそれぞれ正確に量り、共栓付試験管に入れ振り混ぜ、37±0.5℃で正確に 5分間放置した後、基質溶液 1ml を正確に加え振り混ぜる。直ちにこの液 1ml を正確に採り、別の共栓付試験管に入れ、直ちに沸騰水浴中で正確に 3分間加熱した後、流水中で冷却する。(フランク液, A₂)

一方、上記フランク液を採取した後の反応液は、引き続き 37±0.5℃で正確に 30分間放置した後、この液 1ml を正確に採り、別の共栓付試験管に入れ、直ちに沸騰水浴中で正確に 3分間加熱した後、流水中で冷却する。(A₁)

冷後、ニンヒトリン溶液 2ml 及び塩化スス (II) 溶液 0.1ml を加え振り混ぜ、沸騰水浴中で正確に 20分間加熱した後、流水中で冷却し、冷後、1-プロパノール/水混液 (1:1) 10ml を加え振り混ぜる。この液につき、水を対照として波長 570nm における吸光度 (A₁ 及び A₂) を測定する。

その酵素活性の単位は、操作法の条件で 30分間に 1 μモルの L-トリプトファンを生成するとき 1単位とし、次式により算出される。

$$\text{本品中の酵素活性の単位 (単位/g 又は単位/ml)} = (A_1 - A_2) \times 157.4 \times \frac{1}{204} \times 5 \times \frac{1}{W}$$

但し、A₁ 反応液の吸光度
A₂ フランク液の吸光度
157.4 吸光度 1 のときの L-トリプトファン量 (μg) (L-トリプトファン検量線から)
1/204 L-トリプトファン 1 μモルの μg
5 反応系液量 (ml)

W 試料溶液 1 ml 中の試料の量 (g 又は ml)

(4) 試薬 試液

1) N-アセチル-DL-トリプトファン

例えば第一化学薬品製 (製品番号 054960) 又は同等品が使用できる。

2) ニンヒトリン (アミノ酸自動分析用)

例えば和光純薬工業製 (製品番号 207-02772) 又は同等品が使用できる。

3) 0.1mol/L 塩酸試液

塩酸 9.0ml に水を加えて 1,000mL とする。

4) 0.1mol/L ハルヒタールナトリウム試液

ハルヒタールナトリウム 20.62g を水に溶かして 1,000ml とする。

5) 0.1mol/L ハルヒタールナトリウム・塩酸緩衝液 (pH8.0)

0.1mol/L ハルヒタールナトリウム試液と 0.1mol/L 塩酸試液を混ぜ、pH8.0 に調整する。

6) 0.0005mol/L 塩化コハルト試液

塩化コハルト (II) 0.119g に水を加えて 1,000ml とする。用時調製する。

7) クエン酸 水酸化ナトリウム緩衝液 (pH5.0)

クエン酸 21.0g に水酸化ナトリウム試液 200ml を加えて溶かし、水を加えて 500ml とする。

この液を水酸化ナトリウム試液で pH5.0 に調整する。

8) ニンヒトリン溶液

ニンヒトリン (アミノ酸自動分析用) 1.00g にエチレンクリコールモノメチルエーテル 25ml を加えて溶かした後、クエン酸 水酸化ナトリウム緩衝液 (pH5.0) 25ml を加える。

9) 塩化スス (II) 溶液

塩化スス (II) 0.1g にクエン酸 水酸化ナトリウム緩衝液 (pH5.0) 6.2ml を加えて溶かす。

用時調製

アシラーゼ測定結果

品名 アシラーゼ「アマノ」原末 (基原 *Aspergillus melleus* 由来)

規格項目	規 格	測定回数	製造番号		
			ACA0750203K	ACA0750204K	ACB0252509K
性状	白～濃褐色の粉末若しくは粒状又はペースト状, 又は無色～濃褐色の液状である。 においはないか又は特異なにおいがある。	3回	濃褐色の粉末 においは無い	濃褐色の粉末 においは無い	濃褐色の粉末 においは無い
確認試験	酵素活性を示す	①	酵素活性を示した	酵素活性を示した	酵素活性を示した
		②	酵素活性を示した	酵素活性を示した	酵素活性を示した
		③	酵素活性を示した	酵素活性を示した	酵素活性を示した
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 50 μg/g 以下	①	50 μg/g 以下	50 μg/g 以下	50 μg/g 以下
		②	50 μg/g 以下	50 μg/g 以下	50 μg/g 以下
		③	50 μg/g 以下	50 μg/g 以下	50 μg/g 以下
ヒ素	As ₂ O ₃ 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
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(メチオニン 基質測定法)	単位/g	①	32,800	32,400	37,500
		②	31,900	33,900	38,000
		③	33,300	32,800	37,200
		④	31,800	32,900	37,000
		⑤	32,700	31,600	36,700
		⑥	33,400	33,300	36,300
	平均 (n=6)	32,650	32,817	37,117	
	標準偏差	677	783	598	
	CV (%)	2.08	2.39	1.61	
最大値	33,400	33,900	38,000		
最小値	31,800	31,600	36,300		

規格項目	規格	測定回数	製造番号		
			ACA0750203K	ACA0750204K	ACB0252509K
酵素活性 第 2 法(トリプトファン基質 測定法)	単位/g	①	19,200	19,300	20,900
		②	19,300	18,400	21,500
		③	19,100	18,600	22,000
		④	18,900	18,900	21,100
		⑤	18,400	18,300	20,900
		⑥	18,900	18,500	21,900
		平均(n=6)	18,967	18,667	21,400
		標準偏差	320	372	492
		CV(%)	1.69	1.99	2.30
		最大値	19,300	19,300	22,000
	最小値	18,400	18,300	20,900	

* 確認試験の方法

酵素活性第 1 法 (メチオニン基質) 測定法に準じた。

* 酵素活性第 1 法 (メチオニン基質) 測定法の測定条件

試料溶液 本品に水を加えて溶解し、試料溶液とした。(1→60000)

基質 N-7セチル-DL-メチオン 和光純薬工業(株), LotNo WAE5466 を使用した。

* 酵素活性第 2 法 (トリプトファン基質) 測定法の測定条件

試料溶液 本品に水を加えて溶解し、試料溶液とした。(1→30000)

基質 N-7セチル-DL-トリプトファン 和光純薬工業(株), LotNo ASK1658 を使用した。

アルギン酸リアーゼ

Alginate lyase

定義 本品は、細菌 (*Alteromonas macleodu* , *Flavobacterium multivorum* , *Pseudomonas* , *Xanthomonas*) の培養物より得られた、アルギン酸を分解する酵素である。乳糖、デキストリン、ブドウ糖又はシロ糖を含むことがある。

酵素特性 本品は、アルギン酸を分解する。

ECナンバー (参考) EC 4 2 2 3 (Poly(1,4-β-D-mannuronide)lyase)

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

確認試験 酵素活性測定法のアルギン酸リアーゼ活性測定法に準じて試験を行うとき、酵素活性を示す。

純度試験 (1) 重金属 Pbとして40 μg/g以下 (0.50g, 第2法, 比較液 鉛標準液 2.0ml)

(2) 鉛 Pbとして50 μg/g以下 (2.0g, 第1法)

(3) ヒ素 As₂O₃として40 μg/g以下 (0.50g, 第3法, 装置B)

微生物限度 微生物限度試験法により試験を行うとき、本品1gにつき、細菌数は50,000以下である。また、大腸菌は認めない。

酵素活性測定法 酵素活性測定法のアルギン酸リアーゼ活性測定法により試験を行う。但し、測定条件 (反応pH, 緩衝液の種類, 試料希釈液等) は、アルギン酸リアーゼの基原, 性質に応じて適切なものを選択する。

アルギン酸リアーゼ活性測定法（案）

アルギン酸(D・マンニユロン酸, L・グルロン酸からなる鎖状の複合多糖類)を基質にして酵素を作用させたとき、アルギン酸の分解個所の糖に二重結合が生成される。二重結合が紫外部に吸収を持つことを利用して、反応停止液の波長 235nm における吸光度の増加を測定して定量する方法である。

(1) 試料溶液

操作法により試験するとき、分解生成物による波長 235nm における吸光度の増加が、試料濃度に比例する範囲内の濃度になるように、本品に適量の 0.1mol/L リン酸緩衝液(pH 6.3) (又は適切な緩衝液, 塩類溶液) を加えて溶かし試料溶液とする。その濃度は通例 0.05~1.5 単位/ml である。

(2) 基質溶液

アルギン酸ナトリウム 0.10g を正確に量り、0.2mol/L リン酸緩衝液 (pH 5.8) (又は適切な緩衝液) 50ml と水 20ml の中に加え、一晚スターラーで撹拌を行い、溶解させた後 2mol/L 水酸化ナトリウム溶液で pH 6.3 に調整して、水で正確に 100ml とする。

(3) 操作法

試験管に基質溶液 4.5ml を正確に量り、 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で 5 分間放置した後、試料溶液 0.15ml を正確に加え、直ちに振り混ぜる。 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で正確に 30 分間放置した後、0.1mol/L 水酸化ナトリウム溶液 4.65ml を加え、直ちに振り混ぜて反応を停止する。水を対照として波長 235nm における吸光度を測定する。(A_T)

別に対照として、試験管に基質溶液 4.5ml を正確に量り、 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で 5 分間放置した後、0.1mol/L 水酸化ナトリウム溶液 4.65ml を加え、 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で正確に 30 分間放置した後、試料溶液 0.15ml を正確に加え、直ちに振り混ぜる。水を対照として波長 235nm における吸光度を測定する。(A_B)

その酵素活性の単位は、操作法の条件で試験するとき、1 分間に波長 235nm における吸光度を 1 増加させる酵素量を 1 単位とする。

$$\text{本品中の酵素活性の単位 (単位/g 又は単位/ml)} = (A_T - A_B) \times \frac{1}{30} \times 9.3 \times \frac{1}{0.15} \times \frac{1}{W}$$

但し、A _T	反応液の吸光度
A _B	対象液の吸光度
30	反応時間 (分)
9.3	反応停止後の最終液量 (4.5+0.15+4.65 ml)
0.15	試料溶液量 (ml)
W	試料溶液 1 ml 中の試料の量 (g 又は ml)

(4) 試薬 試液

1) 0.1mol/L リン酸緩衝液 (pH 6.3)

リン酸一カリウム 13.6g を水約 900ml に溶かし、2mol/L 水酸化ナトリウム溶液で pH 6.3 に調整し、更に水を加え全量を 1,000ml とする。

2) 0.2mol/L リン酸緩衝液 (pH 5.8)

リン酸一カリウム 13.6g を水約 400ml に溶かし、2mol/L 水酸化ナトリウム溶液で pH 5.8 に調整し、更に水を加え全量を 500ml とする。

3) アルギン酸ナトリウム

例えば、ナカライテスク株式会社製(Code 311-32, 1000CPS), 又は同等品が使用できる。

アルギン酸リアーゼ測定結果

品名 アルギン酸リアーゼ S (基原 *Flavobacterium multivorum* 由来)

規格項目	規格	測定回数	製造番号			
			2328180	2356776	2363854	
性状	白～濃褐色の粉末若しくは粒状又はペースト状、又は無色～濃褐色の液状である。においはないか又は特異なにおいがある。	①	灰褐色の粉末でわずかに特異なにおいがある	灰褐色の粉末でわずかに特異なにおいがある	灰褐色の粉末でわずかに特異なにおいがある	
		②	灰褐色の粉末でわずかに特異なにおいがある	灰褐色の粉末でわずかに特異なにおいがある	灰褐色の粉末でわずかに特異なにおいがある	
		③	灰褐色の粉末でわずかに特異なにおいがある	灰褐色の粉末でわずかに特異なにおいがある	灰褐色の粉末でわずかに特異なにおいがある	
確認試験	アルギン酸リアーゼ活性測定法により酵素活性を示す。	①	酵素活性を示した	酵素活性を示した	酵素活性を示した	
		②	酵素活性を示した	酵素活性を示した	酵素活性を示した	
		③	酵素活性を示した	酵素活性を示した	酵素活性を示した	
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 50 µg/g 以下	①	50 µg/g 以下	50 µg/g 以下	50 µg/g 以下	
		②	50 µg/g 以下	50 µg/g 以下	50 µg/g 以下	
		③	50 µg/g 以下	50 µg/g 以下	50 µg/g 以下	
ヒ素	As ₂ O ₃ 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	
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	単位/g	①	32,430	45,140	42,820	
		②	31,930	44,640	44,140	
		③	31,870	44,310	41,910	
		④	32,670	45,220	43,480	
		⑤	32,430	45,010	42,820	
		⑥	32,610	44,270	44,390	
	平均値(n=6) 単位/g			32,323	44,765	43,260
	標準偏差			342	418	928
	CV(%)			1.1	0.9	2.1
	最大値 単位/g			32,670	45,220	44,390
最小値 単位/g			31,870	44,270	41,910	

* 確認試験の方法

酵素活性測定を実施

* 酵素活性測定

試料溶液

本品 約1g を精密に採取し、0.1mol リン酸緩衝液(pH 6.3)で溶解し全量を正確に 100ml にした後、その溶液をさらに同緩衝液で正確に 400 倍希釈して試料溶液とした。

エキソマルトテトラオヒドロラーゼ

Exomaltotetrahydrolase

G4 生成酵素

定義 本品は、細菌(*Pseudomonas stutzeri*)の培養物より得られたデンプンを分解する酵素である。乳糖、デキストリン、フトウ糖、マルトース又はノヨ糖を含むことがある。

酵素特性 本品はデンプンに作用し、非還元末端からマルトテトラオース単位で加水分解する。マルトテトラオースそのものにも、わずかに作用して、フトウ糖 マルトース マルトトリオースを生成する。

ECナンバー (参考) EC3.2.1.32

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

確認試験 本品は、次の条件で液体クロマトグラフ法により試験を行うとき、試料溶液の主たる反応生成物のピークはマルトテトラオース標準溶液のピークと同一位置に認められる。

試料溶液 酵素活性測定法のエキソマルトテトラオヒドロラーゼ活性測定法に準じて操作した反応液を水浴中で5分間加熱後、冷却して試料溶液とする。必要ならば、前処理(除タンパク、脱塩、ろ過等)を行う。

標準溶液 マルトテトラオース0.10gを量り、水を加えて溶かし50mlとする。

操作法 試料溶液及び標準溶液それぞれ20 μ lずつを量り、それぞれの液につき、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行う。

操作条件

検出器 示差屈折計

カラム充てん剤 スチレンと α -ヒニルヘンセンの共重合体にスルホン酸基を結合させた強酸性陽イオン交換樹脂

カラム管 内径8.0mm、長さ20～50cmのステンレス管

カラム温度 40～60 $^{\circ}$ Cの一定温度

移動相 水

流量 0.3～1.0ml/分の一定量

純度試験 (1)重金属 Pbとして40 μ g/g以下(0.50g、第2法、比較液 鉛標準液2.0ml)

(2)鉛 Pbとして5.0 μ g/g以下(2.0g、第1法)

(3)ヒ素 As₂O₃として4.0 μ g/g以下(0.50g、第3法、装置B)

微生物限度 微生物限度試験法により試験を行うとき、本品1gにつき、細菌数は50,000以下である。また大腸菌は認めない。

酵素活性測定法 酵素活性測定法のエキソマルトテトラオヒドロラーゼ活性測定法により試験を行う。ただし、測定条件(反応pH、緩衝液の種類、試料希釈液等)は、エキソマルトテトラオヒドロラーゼの基原、性質に応じて適切なものを選択する。

試薬 試液

マルトテトラオース C₂₄H₄₂O₂₁ (市販試薬)

たとえば、林原生物化学研究所社製(製品番号MA-141)又は同等品が使用できる。

エキソマルトテトラオヒドロラーゼ活性測定法

酵素を基質デンプンに作用させ、生成した還元糖の還元力をソモギー-ネルソン変法により定量する方法である。

(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濃度になるように、本品に適量の pH7.0 の 4mmol/L リン酸緩衝液（又は適切な pH, 種類の緩衝液, 塩類溶液）を加えて溶かし試料溶液とする。その濃度は通例 0.3~0.6 単位/ml である。

(2) 基質溶液

あらかじめ、可溶性デンプン、酵素試験用約 2g を精密に量り、90℃、減圧下で 16 時間乾燥し、その減量を測定する。その換算した乾燥物 5.000g に対応する可溶性デンプン、酵素試験用を正確に量り、300ml の水に懸濁し、デンプンが沈殿しないように時々振り混ぜながら加熱する。5 分間沸騰させた後十分冷却する。これに pH7.0 の 200mmol/L リン酸緩衝液（又は適切な pH, 種類の緩衝液, 塩類溶液）50ml 及び水を加えて正確に 500ml とする。

(3) フトウ糖標準溶液の調製

あらかじめフトウ糖約 1g を精密に量り、105℃で 6 時間乾燥し、その減量を測定する。その換算した乾燥物 3.000g に対応するフトウ糖を正確に量り、水を加えて溶かし、正確に 100ml とする。この液 1ml を正確に量り、水を加えて正確に 100ml とし、フトウ糖標準溶液とする。

(4) 操作法

40±0.5℃に加熱した基質溶液 5ml に試料溶液 0.2ml を正確に加えて混和し、40±0.5℃で正確に 20 分間作用させる。反応液 1ml を量り、あらかじめ用意したソモギー銅試液 2ml に直ちに加えて反応を停止させる。試験管にカラス王をのせ、沸騰水浴中で 10 分間加熱する。冷却後、ネルソン試液 2ml を加え、よく混和し、30 分間放置する。測定前に水 5ml を正確に加え、波長 520nm における吸光度 A_T を測定する。別に、40±0.5℃に加熱した基質溶液 5ml に試料溶液 0.2ml を正確に加えて混和し、直ちに 1ml を量り、あらかじめ用意したソモギー銅試液 2ml に加えて反応を停止し、同様に操作し吸光度 A_0 を測定する。

また、フトウ糖標準溶液又は水 1ml を正確に量り、あらかじめ用意したソモギー銅試液 2ml に加え、以下同様に操作し吸光度 A_S 及び A_B を測定し、次式により酵素活性を求める。

その酵素活性の単位は、操作法の条件で操作するとき、1 分間に 1.6143 μmol のフトウ糖に相当する還元力を生成する酵素量を 1 単位とする。

$$\text{本品中の酵素活性の単位 (単位/g 又は単位/ml)} = \frac{(A_T - A_0) \times 300 \times 5.2 \times n}{(A_S - A_B) \times 180.16 \times 0.2 \times 20 \times 1.6143}$$

ただし、

A_T	反応液の吸光度
A_0	反応停止液の吸光度
A_S	フトウ糖標準溶液の吸光度
A_B	水の吸光度
300	フトウ糖標準溶液の濃度 ($\mu\text{g/ml}$)
180.16	フトウ糖の分子量
5.2	反応液の総液量 (ml)
0.2	試料溶液の量 (ml)
20	反応時間 (分)

n 試料溶液の希釈倍数

16143 酵素活性1単位を定義するためのフトウ糖生成量（圧 吸光度変化を基準に酵素活性を定義していたことによる）

(5) 試薬 試液

1) pH7.0の4mmol/Lリン酸緩衝液

pH7.0の200mmol/Lリン酸緩衝液に水を加えて50倍容量に薄める。

2) pH7.0の200mmol/Lリン酸緩衝液

第1液 リン酸一ナトリウム31.2gを量り、水を加えて溶かして1,000mlとする。

第2液 リン酸二ナトリウム71.6gを量り、水を加えて溶かして1,000mlとする。第1液と第2液を混ぜpH7.0に調整する。

3) ソモキー銅試液

リン酸二ナトリウム71g及び酒石酸カリウムナトリウム40gに水650mlを加えて溶かし、水酸化ナトリウム試液100mlを加える。硫酸銅溶液（1→10）80mlをかき混ぜながら加えて加温した後、無水硫酸ナトリウム180g及び水を加えて1,000mlとする。2日間室温で放置した後、ろ紙（No.2）でろ過し、遮光密栓して保存する。

4) ネルソン試液

モリブデン酸アンモニウム50gに水900mlを加えて、加温して溶かし、冷却後、硫酸42gを正確に加え、さらにヒ酸二ナトリウム溶液（6→50）50mlを加えた後、水を加えて1,000mlとし、37℃で一昼夜放置する。遮光密栓して保存する。

エキソマルトテトラオヒドロラーゼ測定結果

品名 C 酵素 (基原 *Pseudomonas stutzeri* 由来)

規格項目	規格	測定回数	Lot No.		
			30711	30120	20705
性状	白～濃褐色の粉末若しくは粒状又はペースト状、又は無色～濃褐色の液状である。 においはないか又は特異なにおいがある。	①	褐色の液体、特異なにおいがある	褐色の液体、特異なにおいがある	褐色の液体、特異なにおいがある
		②	褐色の液体、特異なにおいがある	褐色の液体、特異なにおいがある	褐色の液体、特異なにおいがある
		③	褐色の液体、特異なにおいがある	褐色の液体、特異なにおいがある	褐色の液体、特異なにおいがある
確認試験	試料溶液の主たる反応生成物のビークはマルトテトラオース標準溶液のビークと同じ位置に認める	①	主たる反応生成物のビークをマルトテトラオース標準溶液のビークと同じ位置に認める	主たる反応生成物のビークをマルトテトラオース標準溶液のビークと同じ位置に認める	主たる反応生成物のビークをマルトテトラオース標準溶液のビークと同じ位置に認める
		②	主たる反応生成物のビークをマルトテトラオース標準溶液のビークと同じ位置に認める	主たる反応生成物のビークをマルトテトラオース標準溶液のビークと同じ位置に認める	主たる反応生成物のビークをマルトテトラオース標準溶液のビークと同じ位置に認める
		③	主たる反応生成物のビークをマルトテトラオース標準溶液のビークと同じ位置に認める	主たる反応生成物のビークをマルトテトラオース標準溶液のビークと同じ位置に認める	主たる反応生成物のビークをマルトテトラオース標準溶液のビークと同じ位置に認める
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 50 μg/g 以下	①	50 μg/g 以下	50 μg/g 以下	50 μg/g 以下
		②	50 μg/g 以下	50 μg/g 以下	50 μg/g 以下
		③	50 μg/g 以下	50 μg/g 以下	50 μg/g 以下
ヒ素	As ₂ O ₃ 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
細菌数	50,000/g 以下	①	0 個/g	0 個/g	0 個/g
		②	0 個/g	0 個/g	0 個/g
		③	0 個/g	0 個/g	0 個/g
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 (エキソ マルトテ トラオヒ ドロラー ゼ活性測 定法)	単位/g	①	3,337	3,403	3,205
		②	3,376	3,442	3,091
		③	3,392	3,514	3,125
		④	3,308	3,503	3,159
		⑤	3,378	3,433	3,080
		⑥	3,313	3,422	3,137
	平均 (n=6)	3,351	3,453	3,133	
	標準偏差	36	45	46	
CV (%)	1.1	1.3	1.5		
最大値	3,392	3,514	3,205		
最小値	3,308	3,403	3,080		

・ 確認試験の測定条件

カラム Shodex SUGAR KS-801 8mm ϕ \times 300mm

カラム温度 50℃

移動相 水

流量 0.4ml/分

・ 酵素活性の測定条件

試料溶液の調製に用いた緩衝液 pH7.0 の 4mmol/L リン酸緩衝液

基質溶液の調製に用いた緩衝液 pH7.0 の 200mmol/L リン酸緩衝液

・ 規格設定の根拠

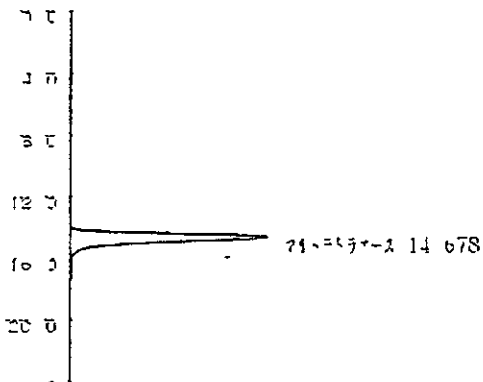
- ① 確認試験 酵素を基質デンプンに作用させたときに生成する主たる反応生成物が、マルトテトラオースであることを液体クロマトグラフ法の保持時間により確認する。
- ② 活性測定法 酵素を基質デンプンに作用させたときに生成するマルトテトラオースの還元力をソモギー・ネルソン変法により定量する。

エキソマルトテトラオヒドロラーゼ確認試験分析データ

2003年12月24日

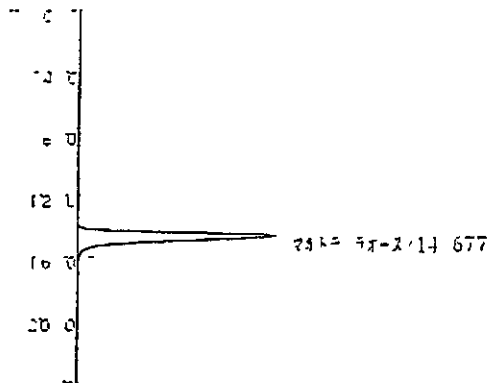
株林原 製造技術部

1 標準溶液HPLCチャート



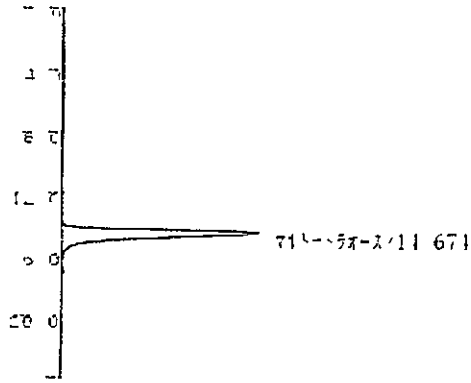
** 定量計算結果 **

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	PK	IDNO	CONC	NAME
1	1	14.678	130927	3603		1	100	71-5574-1
TOTAL			130927	3603			100	



** 定量計算結果 **

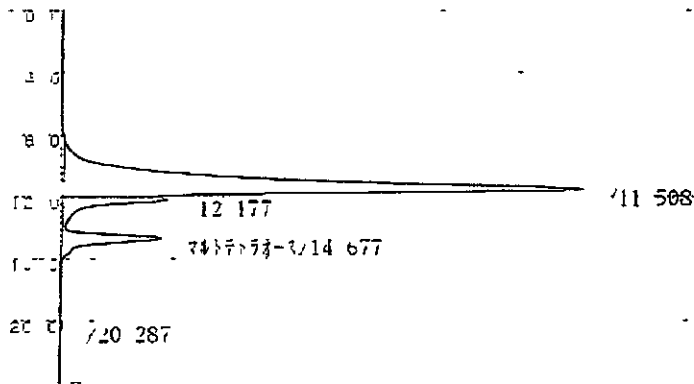
CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	PK	IDNO	CONC	NAME
1	1	14.677	130981	3610		1	100	71-5574-1
TOTAL			130981	3610			100	



** 定量計算結果 **

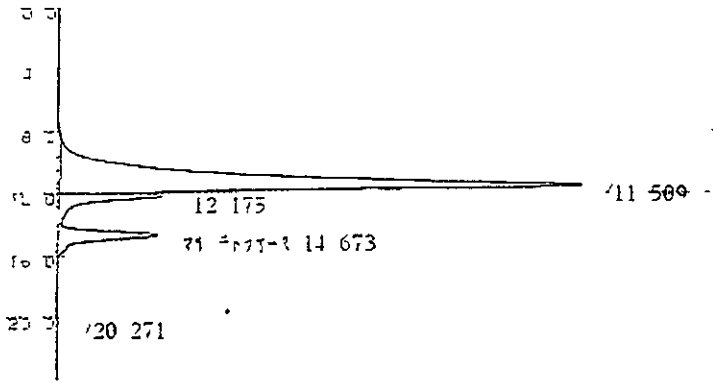
CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	14.671	130889	3602		1	100	711-11508-1
TOTAL			130889	3602			100	

2 Lot No 30711の確認試験HPLCチャート



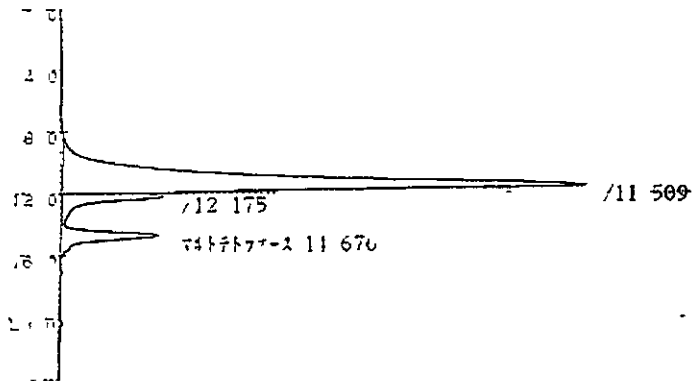
** 定量計算結果 **

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	11.508	564290	9622				可溶性テノノ
	2	12.177	61233	1906	V			可溶性テノノ
	3	14.677	70701	1829	V	1	100	711-11508-1
	4	20.287	982	36				
TOTAL			697206	13392			100	



** 定量計算結果 **

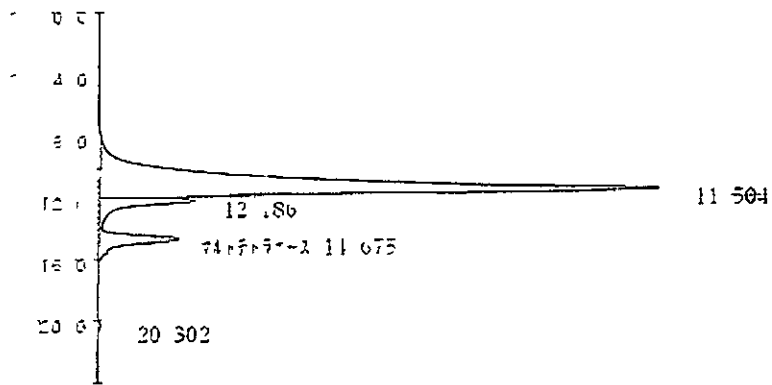
CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	11 509	564222	9668				可溶性アノール
	2	12 175	60858	1903	V			可溶性アノール
	3	14 673	70692	1828	V	1	100	アトトロオース
	4	20 271	1049	36				
TOTAL			696811	13135			100	



** 定量計算結果 **

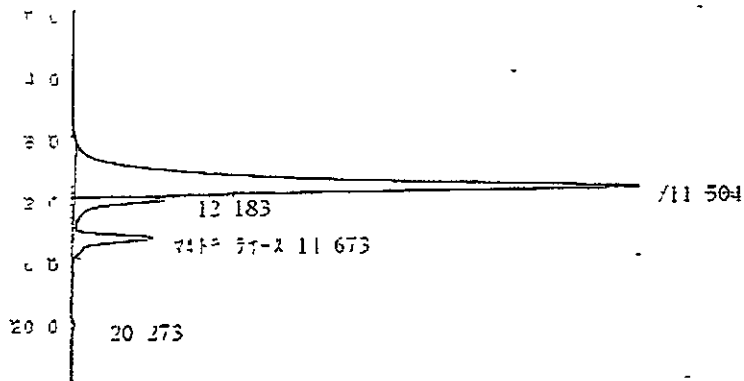
CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	11 509	566808	9706				可溶性アノール
	2	12 175	61487	1910	V			可溶性アノール
	3	14 676	70945	1829	V	1	100	アトトロオース
TOTAL			699240	13145			100	

3 Lot No 30120の確認試験HPLCチャート



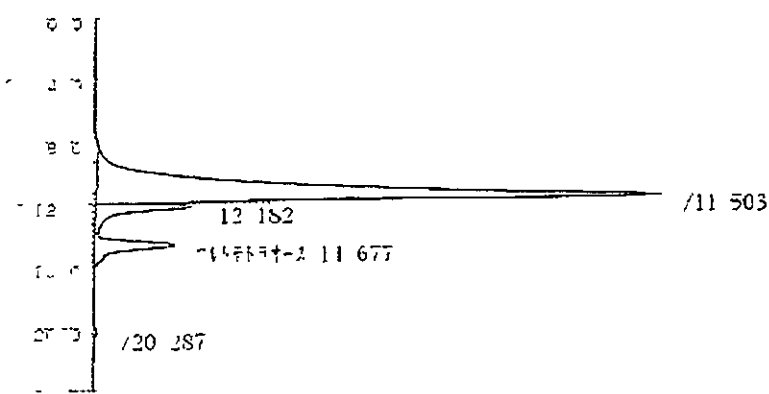
** 定量計算結果 **

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	11.504	593622	10325				可溶性テフノ
	2	12.186	56882	1762	\			可溶性テフノ
	3	11.675	58980	1484	\	1	100	マトキシロース
	4	20.302	1575	52				
TOTAL			711067	13624			100	



** 定量計算結果 **

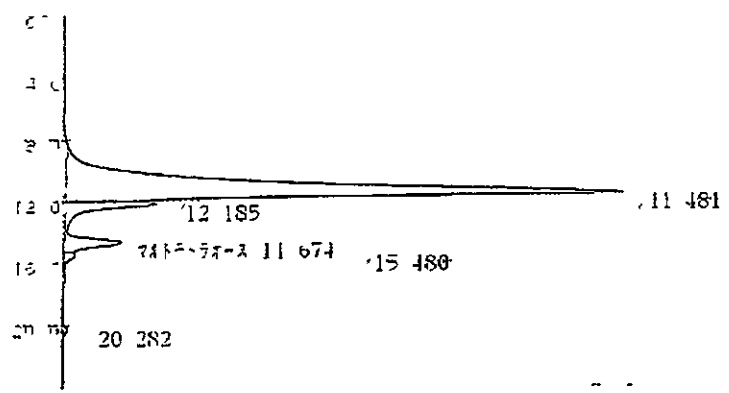
CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	11.503	594408	10358				可溶性テフノ
	2	12.182	56950	1770	V			可溶性テフノ
	3	11.677	59003	1484	V	1	100	マトキシロース
	4	20.287	1613	51				
TOTAL			711974	13666			100	



** 定量計算結果 **

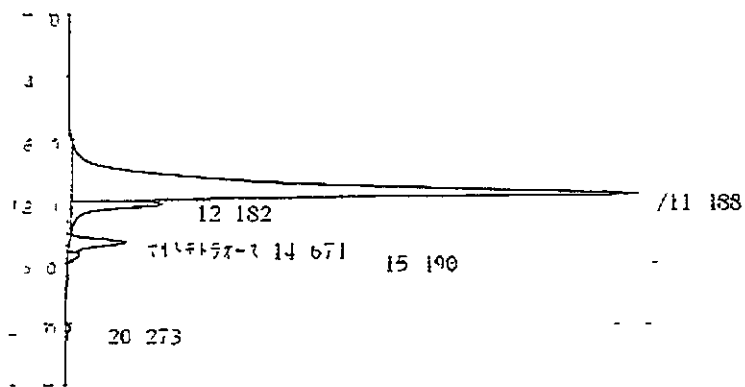
CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	11 504	594969	10406				可溶性テフノ
	2	12 183	56575	1764	V			可溶性テフノ
	3	14 673	58763	1482	V	1	100	741テトラオース
	4	20 273	1556	53				
TOTAL			711864	13705			100	

4 Lot No 20705の確認試験HPLCチャート



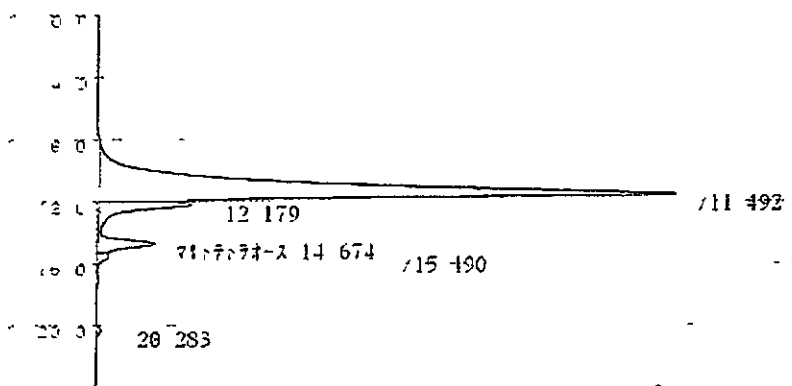
** 定量計算結果 **

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	11 181	586555	10222				可溶性テフノ
	2	12 185	56151	1703	V			可溶性テフノ
	3	14 674	38902	1063	V	1	100	741テトラオース
	4	15 48	6145	206	V			
	5	20 282	2571	83				
TOTAL			690324	13277			100	



** 定量計算結果 **

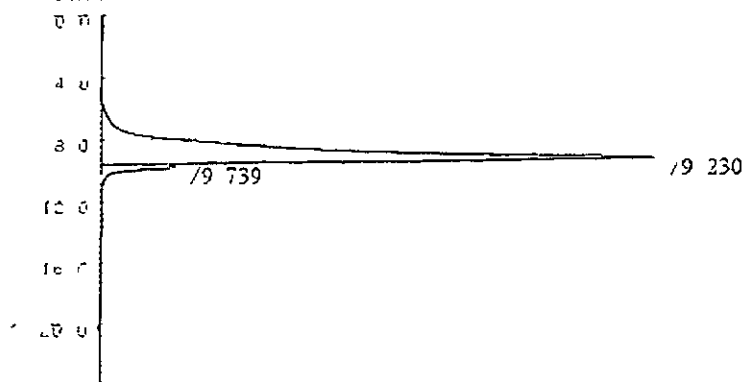
CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	11 488	590387	10465				可溶性テフロン
	2	12 182	52246	1684	V			可溶性テフロン
	3	14 671	36651	1033		1	100	711テトラオース
	4	15 49	5628	192	V			
	5	20 273	2570	83				
TOTAL			687481	13457			100	



** 定量計算結果 **

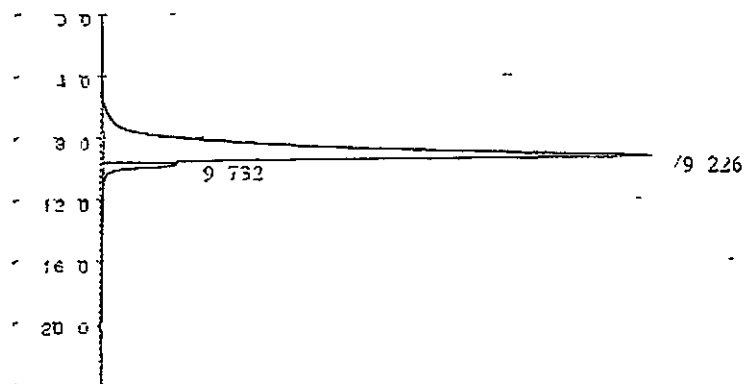
CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	11 492	598739	10626				可溶性テフロン
	2	12 179	56224	1716	V			可溶性テフロン
	3	14 674	38913	1058	V	1	100	711テトラオース
	4	15 49	6223	209	V			
	5	20 283	2651	85				
TOTAL			702750	13695			100	

5 可溶性デンプン溶液HPLCチャート



** 定量計算結果 **

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	9.23	515918	10236				可溶性デンプン
	2	9.739	30380	1365	V			可溶性デンプン
TOTAL			546328	11601			0	



** 定量計算結果 **

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	9.226	513813	10180				可溶性デンプン
	2	9.732	30260	1364	V			可溶性デンプン
TOTAL			544073	11544			0	