



*1 定量計算結果 *1

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	WK	IDNO	CONC	NAME
1	1	9 222	506815	10055				可溶性テブロン
	2	9 74	29827	1353	V			可溶性テブロン
TOTAL			536641	11108			0	

エステラーゼ

Esterase

定 義 本品は、動物の肝臓、魚類、糸状菌 (*Aspergillus*)、細菌 (*Pseudomonas*) 若しくは酵母 (*Candida Torulopsis*) の培養物より得られた、エステルを加水分解する酵素である。乳糖、デキストリン、フトウ糖又はノヨ糖を含むことがある。

酵素特性 本品は、カルボン酸エステルを加水分解してカルボン酸とアルコールを生成する。

ECナンバー (参考) EC3 1 1 (Carboxylic ester hydrolases)

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おいかある。

確認試験 酵素活性測定法のエステラ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 $\mu\text{g/g}$ 以下 (0.50g, 第2法, 比較液 鉛標準液 2.0ml)

(2) 鉛 Pbとして50 $\mu\text{g/g}$ 以下 (2.0g, 第1法)

(3) ヒ素 As_2O_3 として40 $\mu\text{g/g}$ 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ステラ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、エステラーゼの基原、性質に応じて適切なものを選択する。

エステラーゼ活性測定法

クロロケン酸のエステル結合が加水分解されたときに、紫外部の吸収が変化することを利用する。クロロケン酸基質に酵素を作用させ、波長 350nm における吸光度を測定して酵素活性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、クロロケン酸の加水分解量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 0.3～0.6 単位/ml である。

(2) 基質溶液

クロロケン酸 53mg を正確に量り、特級メタノール 10ml で溶解し、0.05mol/L リン酸緩衝液（pH 6.5）（又は適切な緩衝液）を加えて溶かし、正確に 100ml とする。

(3) 操作法

試験管に基質溶液 0.50ml を正確に量り、 $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で 2 分間放置した後、同しく $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で予備加熱しておいた試料溶液 0.03ml を正確に加え、直ちに振り混ぜる。 $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で正確に 30 分間放置した後、80% メタノール溶液 10ml を加え、直ちに振り混ぜて酵素反応を停止させる。波長 350nm における吸光度（As）を測定する。

別に対照として、試料溶液を加えず同様の操作をして、波長 350nm における吸光度（Ab）を測定する。

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 $1 \mu\text{mol}$ のクロロケン酸のエステル結合を加水分解する酵素量を 1 単位とし、次式により決定される。

本品中の酵素活性の単位（単位/g）

$$= \frac{0.75}{0.62} \times \frac{A_b - A_s}{30} \times \frac{1}{0.03} \times \frac{1}{W}$$

0.75	クロロケン酸 1mol 中のエステル結合数 (μmol)
0.62	クロロケン酸基質が完全に加水分解された時の吸光度変化
A _s	反応液の吸光度
A _b	反応対照液の吸光度
30	反応時間 (分)
0.03	試料溶液量 (ml)
W	試料溶液の濃度 (g/ml)

(4) 試薬 試液

1) 0.05mol/L クエン酸緩衝液 (pH 6.5)

第 1 液 リン酸一カリウム 6.8g を水に溶かし 1,000ml とする。

第 2 液 リン酸水素二カリウム 12.4g 水塩 17.9g を水に溶かし 1,000ml とする。

第 1 液と第 2 液を混ぜ pH 6.5 に調整する。

2) クロロケン酸

たとえば、ナカライテスク製（製品番号 084-16）又は同等品が使用できる。

平成 16 年 1 月

キッコーマン株式会社

バイオケミカル事業部

エステラーゼ測定結果

品名 クロロゲン酸エステラーゼ (基原 *Aspergillus japonicus* 由来)

規格項目	規格	測定回数	製造番号		
			CHE2903	CHE3604	CHE3Z08
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	淡褐色の粉末で、わずかに特異なにおいがある	淡褐色の粉末で、わずかに特異なにおいがある	淡褐色の粉末で、わずかに特異なにおいがある
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 μ g/g以下	①	30 μ g/g以下	30 μ g/g以下	30 μ g/g以下
		②	30 μ g/g以下	30 μ g/g以下	30 μ g/g以下
		③	30 μ g/g以下	30 μ g/g以下	30 μ g/g以下
鉛	Pbとして 50 μ g/g以下	①	20 μ g/g以下	20 μ g/g以下	20 μ g/g以下
		②	20 μ g/g以下	20 μ g/g以下	20 μ g/g以下
		③	20 μ g/g以下	20 μ g/g以下	20 μ g/g以下
ヒ素	As ₂ O ₃ として 40 μ g/g以下	①	20 μ g/g以下	20 μ g/g以下	20 μ g/g以下
		②	20 μ g/g以下	20 μ g/g以下	20 μ g/g以下
		③	20 μ g/g以下	20 μ g/g以下	20 μ g/g以下
細菌数	50,000/g以下	①	100/g以下	200/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 (エステラーゼ活性 測定法)	単位/g	①	17.2	22.4	22.4
		②	18.5	22.4	21.3
		③	16.9	23.2	23.6
		④	19.8	24.8	25.8
		⑤	18.0	22.8	22.3
		⑥	16.6	20.7	21.4
	平均 (n=6)	17.8	22.7	22.8	
	標準偏差	1.2	1.3	1.7	
	CV (%)	6.7	5.9	7.4	
	最大値	19.8	24.8	25.8	
最小値	16.6	20.7	21.3		

* 確認試験の方法

エステラーゼ活性測定法に準じた。

* 酵素活性測定法の測定条件

試料溶液 0.3～0.6単位/mlになるように本品に水を加えて溶解し、試料溶液とした。

基質 クロロゲン酸 ナカライテスク製 (製品番号 084-16) を使用した。

タンナーゼ

Tannase

定 義 本品は、糸状菌 (*Aspergillus oryzae*) の培養物より得られた、タンニン類のデブシト結合を加水分解する酵素である。乳糖、デキストリン、フトウ糖又はショ糖を含むことがある。

酵素特性 本品は、タンニン類のデブシト結合を加水分解する。

ECナンバール (参考) EC3.1.1.20 (Tannase)

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 酵素活性測定法のタンナ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) 重金屬 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50 μ g/g以下 (2.0g, 第1法)

(3) ヒ素 As₂O₃として40 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 酵素活性測定法のタンナ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、タンナーゼの基原, 性質に応じて適切なものを選択する。

タンナーゼ活性測定法

酵素を基質タンニン酸に作用させ、タンニン酸のデブント結合の分解に伴う波長 310nm における吸光度の減少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、タンニン酸の加水分解量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 0.05mol/L クエン酸緩衝液（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 1 単位/ml（吸光度差 $a-b$ の値が 0.09-0.11 の範囲）である。

(2) 基質溶液

タンニン酸 0.320g を正確に量り、0.05mol/L クエン酸緩衝液（pH 5.50）約 10ml を加え、加温又は攪拌し溶解する。溶解後、0.05mol/L クエン酸緩衝液（pH 5.50）を加え、正確に 100ml とする。

(3) 操作法

基質溶液 4 ml を 3 本の試験管（1～3）に正確にとり、あらかじめ 30℃ の恒温水槽で約 10 分間加温した後、試料溶液 1 ml をそれぞれの試験管（1～3）に正確に加える。よく振り混ぜた後、30℃ の恒温水槽に入れ、反応を行う。

反応開始から正確に 10 分後、反応液 1 ml を正確にとり、80vol% エタノール溶液 9 ml 中に入れ、よく振り混ぜ、反応を停止する。この反応液を A 液（ $A_1 \sim A_3$ ）とする。更に、正確に 10 分間反応後（反応開始から正確に 20 分後）反応液 1 ml を正確にとり、80vol% エタノール溶液 9 ml 中に入れ、よく振り混ぜ、反応を停止する。この反応液を B 液（ $B_1 \sim B_3$ ）とする。

A 液（ $A_1 \sim A_3$ ）及び B 液（ $B_1 \sim B_3$ ）をそれぞれ 80vol% エタノール溶液で、正確に 10 倍容量に薄める。80vol% エタノール溶液を対照として、分光光度計で層長 10mm、波長 310nm における吸光度 a （ $a_1 \sim a_3$ ）及び b （ $b_1 \sim b_3$ ）を測定する。

その酵素活性の単位は、操作法の条件で 1 分間に 1 μ mol のデブント結合を分解するとき 1 単位とし、次式により算出される。

$$\text{本品中の酵素活性の単位 (単位/g)} = \frac{(a_x - b_x)}{10} \times 114 \times \frac{\text{試料溶液 (ml)}}{\text{試料秤取量 (g)}}$$

但し、 a_x A 液の 10 倍希釈液の吸光度

b_x B 液の 10 倍希釈液の吸光度

114 基質溶液に含まれる総エステル結合数 (μ mol/ml) \times (基質溶液の容量/試料溶液の容量) \times (1/基質溶液のエステル結合分解時の吸光度変化)

注) $a_x - b_x$ の値は、0.09-0.11 の範囲に入ること。

(4) 試薬・試液

1) クエン酸溶液

クエン酸 10.5g を量り、水を加えて溶かして 1000ml とする。

2) クエン酸ナトリウム 2 水和物溶液

クエン酸ナトリウム 2 水和物 14.7g を量り、水を加えて溶かして 1000ml とする。

3) 0.05mol/L クエン酸緩衝液 (pH 5.50)

クエン酸溶液 138ml にクエン酸ナトリウム 2 水和物溶液 500ml を加えて pH 計にて pH 5.50 に調製する。

4) タンニン酸

たとえば、小宗化学薬品(株)製、Sigma 製（製品番号 S-AWAXP）又は同等品が使用できる。

5) 80vol% エタノール溶液

エタノールに水を加えて 80vol% に調製する。

タンナーゼ測定結果

品名 タンナーゼ「三共」 (基原 *Aspergillus oryzae* 由来)

規格項目	規格	測定回数	製造番号		
			02101	03061	03101
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	白色の粉末でわずかに特異なにおいがある	白色の粉末でわずかに特異なにおいがある	白色の粉末でわずかに特異なにおいがある
		②	白色の粉末でわずかに特異なにおいがある	白色の粉末でわずかに特異なにおいがある	白色の粉末でわずかに特異なにおいがある
		③	白色の粉末でわずかに特異なにおいがある	白色の粉末でわずかに特異なにおいがある	白色の粉末でわずかに特異なにおいがある
確認試験	酵素活性を示す	①	酵素活性を示す	酵素活性を示す	酵素活性を示す
		②	酵素活性を示す	酵素活性を示す	酵素活性を示す
		③	酵素活性を示す	酵素活性を示す	酵素活性を示す
重金属	Pbとして 40 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
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	20 µg/g 以下	20 µg/g 以下	20 µg/g 以下
		②	20 µg/g 以下	20 µg/g 以下	20 µg/g 以下
		③	20 µg/g 以下	20 µg/g 以下	20 µg/g 以下
細菌数	50,000/g 以下	①	20/g	20/g	30/g
		②	10/g	60/g	10/g
		③	0/g	0/g	10/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 (タンナーゼ活性測定法)	単位/g	①	582	545	628
		②	536	690	569
		③	536	608	569
		④	551	654	578
		⑤	536	588	591
		⑥	553	631	587
	平均 (n=6)	549	619	587	
	標準偏差	18	51	22	
	CV (%)	3.3	8.2	3.8	
	最大値	582	690	628	
最小値	536	545	569		

* 確認試験の方法

タンナーゼ活性測定法に準じた。

* 酵素活性測定法の条件

0.05mol/L クエン酸緩衝液, pH5.5

デキストラナーゼ

Dextranase

定 義 本品は、糸状菌 (*Chaetomium erraticum*, *Chaetomium gracile*, *Penicillium lilacinum*) の培養物より得られた、デキストランを分解する酵素である。乳糖、デキストリン、フトウ糖又はショ糖を含むことがある。

酵素特性 本品は、デキストランの α -1,6-グルコシド結合を分解し、グルコースとイソマルトース系オリゴ糖を生成する。

ECナンバー (参考) EC3.2.1.11 (Dextranase)

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 酵素活性測定法のデキストラナ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 $40\mu\text{g/g}$ 以下 (0.50g, 第2法, 比較液 鉛標準液 2.0ml)

(2) 鉛 Pbとして $50\mu\text{g/g}$ 以下 (2.0g, 第1法)

(3) ヒ素 As_2O_3 として $40\mu\text{g/g}$ 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 酵素活性測定法のデキストラナ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、デキストラナーゼの基原, 性質に応じて適切なものを選択する。

デキストラナーゼ活性測定法

第1法

酵素を基質デキストランに作用させ、 α 1,6-グルコシド結合を分解し、生成した還元糖を Somogyi 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、生成した還元糖量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、本品に本品に適量のアルブミン-0.01mol/L リン酸塩緩衝液（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 0.78~0.96 単位/ml である。

(2) 基質溶液

デキストラン 2.5g を 0.1mol/L 酢酸塩緩衝液に溶かし、100ml とする。用時調製する。

(3) 操作法

基質溶液 2 ml を正確に量り、25×200mm の試験管に入れ、 $40 \pm 0.5^\circ\text{C}$ の恒温水槽中に約 10 分間放置する。この試験管に、あらかじめ恒温（ $40 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ）にした試料溶液 1 ml を正確に加え、直ちに振り混ぜた後、恒温水槽中に放置する。試料溶液を加えてから、正確に 10 分後、1mol/L 硫酸溶液 0.5ml を素早く加え、直ちに恒温水槽より取り出して振り混ぜる。約 10 分間放置した後、フェノールフタレイン試液 1 滴を加え、水酸化ナトリウム試液で中和し、銅溶液 5 ml を正確に加えて振り混ぜる。

別に空試験用として、基質溶液 2 ml を正確に量り、同型の試験管に入れ、上記の恒温水槽中に約 10 分間放置した後、1 mol/L 硫酸溶液 0.5ml を加え、更にあらかじめ恒温（ $40 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ）にした試料溶液 1 ml を正確に加えて、振り混ぜる。約 10 分間放置した後、フェノールフタレイン試液 1 滴を加え、水酸化ナトリウム試液で中和し、銅溶液 5 ml を正確に加えて振り混ぜる。

別にフトウ糖標準溶液 1 ml、2 ml^{註1} をそれぞれ同型の試験管に正確に量り、水 4 ml、3 ml をそれぞれ加えてから、更に銅溶液 5 ml を正確に加えて振り混ぜる。フトウ糖の空試験用として、同型の試験管に水 5 ml をとり、銅溶液 5 ml を正確に加えて振り混ぜる。

全ての試験管にカラス球を乗せ、水浴中で 20 分間加熱した後、直ちに試験管を流水中で冷却し、上記の恒温水槽中に入れ、沈殿が管底に溜まるまで 10 分以上静置する。試験管を恒温水槽から取り出し、ヨウ化カリウム溶液 2 ml を静かに加え、直ちに 1 mol/L 硫酸溶液 1.5ml を素早く加えた後、液が褐色澄明になるまでかき混ぜる。次いで、0.005mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液で滴定^{註2}する（指示薬 テンブレン試薬 0.5ml）。

その酵素活性の単位は、操作法の条件で 1 分間に 1 μmol のフトウ糖に相当する還元糖を生成させるデキストラナーゼ活性を 1 単位とし、次式により算出される。

$$\text{本品中の酵素活性の単位 (単位/g)} = (T_B - T_A) \times K \times 2.775 \times 1000 \times (1/W)$$

但し、K 還元糖の係数

$$K = 1 / (\text{フトウ糖空試験での滴定量 (ml)} - \text{フトウ糖標準溶液 1.0ml での滴定量 (ml)})$$

T_B 試料溶液空試験での滴定量 (ml)

T_A 試料溶液での滴定量 (ml)

W 試料の量 (g)

(4) 試薬・試液

1) デキストラン

例えば Amersham Biosciences AB 製 DEXTRAN T-2000（分子量約 2×10^6 ）又は同等のものを用いる。

2) アルブミン-0.01mol/L リン酸塩緩衝液

pH7.0 の 0.1mol/L リン酸塩緩衝液 100ml 及びアルブミン溶液 10ml をとり、水を加えて 1000ml とする。

3) アルフミン溶液

ウン血清アルフミン 0.1g に pH7.0 の 0.1mol/L リン酸塩緩衝液 10ml を加え、更に水を加えて溶かし、100ml とする。

4) pH7.0 0.1mol/L リン酸塩緩衝液

リン酸二水素カリウム 2.7g 及びリン酸一水素ナトリウム (12 水塩) 10.7g に煮沸冷却水を加えて溶かし、500ml とする。

5) 0.1mol/L 酢酸塩緩衝液

0.1mol/L 酢酸ナトリウム溶液に 0.1mol/L 酢酸を加えて pH5.1 に調製する。

6) ヨウ化カリウム水溶液

ヨウ化カリウム 1g を量り、水を加えて溶かして 40ml とする。

7) 1mol/L 硫酸溶液

硫酸 60ml を水 1000ml 中にかき混ぜながら徐々に加えた後、放冷する。

8) 水酸化ナトリウム溶液

水酸化ナトリウム 10g を量り、水を加えて溶かして 50ml とする。

9) 硫酸銅溶液

硫酸銅 8g を水に溶かして 100ml とする。

10) 銅溶液

リン酸一水素ナトリウム 71g、酒石酸カリウムナトリウム 40g 及び無水硫酸ナトリウム 180g を水 600ml に溶かし、水酸化ナトリウム溶液 20ml を加える。この液にかき混ぜながら、硫酸銅溶液 100ml 及び 0.167mol/L ヨウ素酸カリウム溶液 25ml を加え、更に水を加えて 1000ml とする。

11) 0.167mol/L ヨウ素酸カリウム溶液

ヨウ素酸カリウム 3.567g を量り、水を加えて溶かして 100ml とする。

12) フトウ糖標準溶液

フトウ糖標準原液 10ml を正確に量り、水を加えて正確に 100ml とする。用時調製する。なお、フトウ糖標準原液は、乾燥減量から換算して無水フトウ糖として 1.000g に相当する量のフトウ糖 (無水) を正確に量り、水を加えて溶かし、正確に 100ml とする。冷暗所に保存し、2 週間以内に使用する。乾燥減量は、フトウ糖 (無水, JIS K8824) 約 1g を精密に量り、105℃で 6 時間乾燥してあらかじめ求めておく。また、フトウ糖標準原液として和光純薬工業(株)製光電用フトウ糖標準液 (10.0mg/ml) 又はこれと同等のものを用いることもできる。

13) 0.005mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液

用時、0.1mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液に、新たに煮沸して冷却した水を加えて正確に 20 倍容量とする。また、市販の 0.1mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液 (JIS K8001) を用いて製することもできる。

注 1 フトウ糖の空試験とフトウ糖標準溶液 1.0ml との滴定差の 2 倍か、同空試験とフトウ糖標準溶液 2.0ml との滴定差の 98~102% 間でない場合は再度試験を行う。

注 2 液の色が淡黄色になった後、テンブン試液を加える。

第 2 法

酵素を基質デキストランに作用させ、 α 1,6-グルコシド結合を分解し、生成した還元糖を Hanes 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、生成した還元糖量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5～15単位/mlである。

(2) 基質溶液

デキストラン約1gを精密に量り，105℃で4時間乾燥し，その減量を測定する。その乾燥物100gに対応するデキストランを正確に量り，水を加えて溶かし正確に100mlとする。用時調製する。

(3) 操作法

基質溶液10ml及び0.01mol/L酢酸 酢酸ナトリウム緩衝液（pH5.8）4mlを正確に量り，共栓付き試験管に入れ，栓をして振り混ぜ，37±0.5℃で10～15分間放置した後，試料溶液1mlを正確に加え，栓をしてよく振り混ぜる。この液を37±0.5℃で正確に30分間放置した後，2mlを正確量り，あらかじめ水3mlとフェリンアン化カリウム溶液5mlを正確に入れた平底試験管に加え，よく振り混ぜる。これに栓をして沸騰水浴中で正確に15分間加熱した後，流水中で冷却する。冷後，硫酸亜鉛試液5ml及び酢酸試液（5→100）3mlを正確に加え，指示薬としてデンプン試液5滴を加え，直ちに0.01mol/Lチオ硫酸ナトリウム溶液（容量分析用）で青色が消えるまで滴定する。（a ml）

別に対照として，試料溶液の代わりに水1mlを用いて以下同様に操作する。（b ml）

その酵素活性の単位は，操作法の条件で1分間に1 μmoleのチオ硫酸ナトリウムに相当する還元糖を生成するとき1単位とし，次式により算出される。

$$\text{本品中の酵素活性の単位 (単位/g 又は 単位/ml)} = (b - a) \times 0.01 \times 1000 \times \frac{1}{30} \times \frac{15}{2} \times \frac{1}{W}$$

- 但し、b フランクの滴定値 (ml)
a 試料反応液の滴定値 (ml)
0.01 単位換算係数 (0.01mol/L チオ硫酸ナトリウム)
1000 1 μmole のチオ硫酸ナトリウムに換算
1/30 反応時間1分あたりに換算
15/2 反応液15mlから2ml採取への換算
W 試料溶液1ml中の試料の量 (g 又は ml)

(4) 試薬 試液

1) デキストラン (C₆H₁₀O₅)_n (市販試薬)

例えば Amersham Biosciences AB 製 DEXTRAN 70 (製品番号 17-0280 01) 又は同等品が使用できる。

2) 0.01mol/L 酢酸 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH5.8)

第1液 無水酢酸ナトリウム 8.20g を水に溶かして 1,000ml とする。

第2液 酢酸 6.0g に水を加えて 1,000ml とする。

第1液と第2液を混ぜ，pH5.8に調整する。その容量比は約 16 : 1 である。

3) フェリンアン化カリウム溶液

フェリシアン化カリウム 1.65g 及び無水炭酸ナトリウム 2.12g を水に溶かして 200ml とする。

暗所に 2～3 日間放置した後使用する。

4) 硫酸亜鉛試液

塩化ナトリウム 50.0g, 硫酸亜鉛七水和物 10.0g 及びヨウ化カリウム 5.0g を水に溶かして 200ml とする。

デキストラナーゼ測定結果

品名 デキストラナーゼ 2F (基原 *Chaetomium gracile* 由来)

規格項目	規格	測定回数	製造番号		
			NP066	NP067	NP068
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	淡褐色のやや粘稠性のある液体で、特異なにおいがある	淡褐色のやや粘稠性のある液体で、特異なにおいがある	淡褐色のやや粘稠性のある液体で、特異なにおいがある
		②	淡褐色のやや粘稠性のある液体で、特異なにおいがある	淡褐色のやや粘稠性のある液体で、特異なにおいがある	淡褐色のやや粘稠性のある液体で、特異なにおいがある
		③	淡褐色のやや粘稠性のある液体で、特異なにおいがある	淡褐色のやや粘稠性のある液体で、特異なにおいがある	淡褐色のやや粘稠性のある液体で、特異なにおいがある
確認試験	酵素活性を示す	①	酵素活性を示す	酵素活性を示す	酵素活性を示す
		②	酵素活性を示す	酵素活性を示す	酵素活性を示す
		③	酵素活性を示す	酵素活性を示す	酵素活性を示す
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	10 個/g 以下	10 個/g 以下	10 個/g 以下
		②	10 個/g 以下	10 個/g 以下	10 個/g 以下
		③	10 個/g 以下	10 個/g 以下	10 個/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 (デキストラナーゼ活性測定法第1法)	単位/g	①	4400	4200	4400
		②	4300	4100	4100
		③	4300	4300	4400
		④	4200	4300	4500
		⑤	4000	4200	4200
		⑥	4200	4200	4300
	平均 (n=6)		4233	4217	4317
	標準偏差		136.6	75.2	147.1
	CV (%)		3.2	1.8	3.4
	最大値		4400	4300	4500
最小値		4000	4100	4100	

* 確認試験の方法

デキストラナーゼ活性測定法第1法に準じた。

* 酵素活性測定法の条件

0.1mol/L 酢酸塩緩衝液, pH5.1

デキストラナーゼ測定結果

品名 デキストラナーゼ L「アマノ」 (基原 *Chaetomium erraticum* 由来)

規格項目	規格	測定回数	製造番号		
			DXB0150701L	DXB0451501L	DXB0852801L
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	淡褐色のやや粘稠性のある液体で特異な臭いがある。	淡褐色のやや粘稠性のある液体で特異な臭いがある。	淡褐色のやや粘稠性のある液体で特異な臭いがある。
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	0/g	0/g	0/g
		②	0/g	0/g	0/g
		③	0/g	0/g	0/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 (デキストラナーゼ 活性測定 法第2法)	単位/g	①	30 300	30, 700	28, 300
		②	28, 600	29, 400	27, 800
		③	28, 900	30, 300	28, 300
		④	27, 600	29, 600	27, 800
		⑤	28, 600	30, 100	28, 200
		⑥	28, 500	30, 000	28, 000
	平均 (n=6)		28 800	30, 000	28, 100
	標準偏差		878	471	234
	CV (%)		3.1	1.6	0.83
	最大値		30, 300	30, 700	28, 300
最小値		27, 600	29, 400	27, 800	

* 確認試験の方法

デキストラナーゼ活性測定法 に準じた。

* 酵素活性測定法の測定条件

試料溶液 5～15 単位/ml になるように本品に水を加えて溶解し、
試料溶液とした。(1→3000)

基質 デキストラン Amersham Biosciences DEXTRAN 70
(製品番号 17-0280-01) を使用した。

ナリンジナーゼ

Naringinase
ナリンキナーゼ

定義 本品は、糸状菌 (*Aspergillus usami*, *Penicillium decumbens*) の培養物より得られた、ナリンノンを分解する酵素である。乳糖、デキストリン、フトウ糖又はショ糖を含むことがある。

酵素特性 本品は、ナリンノンを加水分解する。

ECナンバー (参考) EC3 2 1 21 (β -Glucosidase) EC3 2 1 40 (α -L-Rhamnosidase)

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 酵素活性測定法のナリンナ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 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50 μ g/g以下(2.0g, 第1法)

(3) ヒ素 As₂O₃として40 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 酵素活性測定法のナリンナ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、ナリンナーゼの基原、性質に応じて適切なものを選択する。

ナリンジナーゼ活性測定法

ナリンノン基質に酵素を作用させ、生成した還元糖（ラムノース及びグルコース）をソモキー試液と加熱し、定量的に亜酸化銅を沈殿させ、過剰の硫酸銅を硫酸酸性下でヨウ化カリウムと反応させ、生成したヨウ素をチオ硫酸ナトリウムで滴定し、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、分解生成物の増加か、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 0.5～0.6 単位/ml である。

(2) 基質溶液

ナリンノン 0.125g を正確に量り、水 25ml 及び水酸化ナトリウム試液 12.5ml を正確に加えて溶かし、マンキルハイン緩衝液（pH3.5）37.5ml を正確に加え、1mol/L 塩酸試液で pH3.50 に調整した後、マンキルハイン緩衝液（pH3.5）を加えて正確に 100ml とする。調製後直ちに使用する。

(3) ラムノース検量線の作成

あらかじめ、 α -L-ラムノース水和物を約 1g 量り、105℃で 6 時間乾燥し、減量を測定する。その乾燥物 0.500g に対応する量を正確に量り、水を加えて溶かし、正確に 50ml とする。この液 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 及び 2.5ml をそれぞれ正確に量り、水を加えて正確に 100ml とする。この液 5ml ずつを正確に量り、ネスラー管に入れ、ソモキー試液を正確に 5ml 加え振り混ぜて栓をし、沸騰水浴中で正確に 20 分間加熱した後、流水中で冷却する。冷後、ヨウ化カリウム溶液（1→200）1.5ml を正確に加え、更に 1mol/L 硫酸試液 3ml を加え、よく振り混ぜた後、テンブン試液 3 滴を加え、攪拌しながら 0.01mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液（容量分析用）で液のヨート呈色が消えるまで滴定する。（ T_{s_1} , T_{s_2} , T_{s_3} , T_{s_4} , T_{s_5} ml）

別に、フランクとして、ラムノース溶液の代わりに水 5ml を用いて以下同様に操作する。（ T_{s_0} ml）

(4) 操作法

ネスラー管（ A_1 , A_2 ）に基質溶液を正確に 4ml 量り、ネスラー管（ A_3 , A_4 ）にマンキルハイン緩衝液（pH3.5）と水を 1:1 に混合した液 4ml を正確に量る。これを 40±0.5℃で 10～15 分間放置した後、ネスラー管（ A_1 , A_3 ）に試料溶液 1ml を、ネスラー管（ A_2 , A_4 ）に水 1ml をそれぞれ正確に加え、振り混ぜ 40±0.5℃で正確に 30 分間放置した後、ソモキー試液 5ml を正確に加えて沸騰水浴中で正確に 20 分間加熱し、流水中で冷却する。冷後、ヨウ化カリウム溶液（1→200）を正確に 1.5ml 及び 1mol/L 硫酸試液 3ml を加え、よく振り混ぜた後、テンブン試液 3 滴を加え、攪拌しながら 0.01mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液（容量分析用）で液のヨート呈色が消えるまで滴定する。（ネスラー管 A_1 , A_2 , A_3 , A_4 の滴定値 T_1 , T_2 , T_3 , T_4 ml）

その酵素活性の単位は、操作法の条件で 30 分間に 1mg のラムノースに相当する還元糖を生成するとき 1 単位とし、次式により算出される。

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

$$R \text{ (mg)} = \frac{[(T_2 - T_1) - (T_4 - T_3)] - b}{a}$$

- 但し、R 生成ラムノース量 (mg)
 W 試料溶液 1 ml 中の試料の量 (g 又は ml)
 a 検量線の傾き
 T_1, T_2, T_3, T_4 , 反応液及びフランクの滴定値 (ml)
 b 検量線の切片

(5) 試薬 試液

1) ナリンノン

例えば東京化成工業製（製品番号 N0073, ナリンキン）又は同等品が使用できる。

2) α -L-ラムノース水和物

例えば和光純薬工業製（製品番号 180-00752）又は同等品が使用できる。

3) 1mol/L 塩酸試液

塩酸 90ml に水を加えて 1,000mL とする。

4) マノキルハイン緩衝液 (pH3.5)

第1液 クエン酸 21.0g を量り、水を加えて溶かし 1,000ml とする。

第2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 1,000ml とする。

第1液と第2液を混ぜ pH3.5 に調整する。

5) 0.05mol/L ヨウ素酸カリウム試液

ヨウ素酸カリウム 1.07g に水を加えて溶かし、100ml とする。

6) ソモギー試液

無水炭酸ナトリウム 25.0g 及び酒石酸カリウムナトリウム 25.0g に水 150ml を加えて溶かし、水酸化ナトリウム試液 40ml, 硫酸銅溶液 (1→10) 60ml, ヨウ化カリウム溶液 (1→5) 25ml を加えて混ぜ、更に、無水硫酸ナトリウム 180g を水 500ml に溶かした液を全量加え、0.05mol/L ヨウ素酸カリウム試液 50ml 及び水を加えて 1,000ml とする。調製後 2 日間室温放置し、ろ紙ろ過して使用する。

7) 1mol/L 硫酸試液

水 500ml に硫酸 30ml を加えて混ぜる。

ナリンジナーゼ測定結果

品名 ナリンジナーゼ「アマノ」 (基原 *Penicillium decumbens* 由来)

規格項目	規格	測定回数	製造番号		
			NAY0550206	NAZ0551503	NAB0851906
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	淡黄色の粉末 においは無い	淡黄色の粉末 においは無い	淡黄色の粉末 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	単位/g	①	153	165	168
		②	155	170	163
		③	149	174	173
		④	147	161	165
		⑤	147	168	173
		⑥	149	165	166
	平均 (n=6)	150	167	168	
	標準偏差	3.29	4.54	4.20	
	CV (%)	2.19	2.71	2.50	
	最大値	155	174	173	
最小値	147	161	163		

* 確認試験の方法

酵素活性測定法に準じた。

* 酵素活性測定法の測定条件

試料溶液 ラムノース生成量が 0.5～0.6mg になるように本品に水を加えて溶解し、脱糖処理操作後、試料溶液とした。(1→300)

基質 ナリンジン 東京化成工業, Lot No AP01 を使用した。

フルクトシルトランスフェラーゼ

Fructosyl transferase

定 義 本品は、糸状菌 (Aspergillus, Penicillium roqueforti) 又は細菌 (Arthrobacter, Bacillus) の培養物より得られた、糖のフルクトシル基を転移する酵素である。乳糖、デキストリン、フトウ糖又はショ糖を含むことかある。

酵素特性 本品は、糖のフルクトシル基を転移する。

ECナンバ (参考) EC2 4 1 99 (Sucroser^f-fructosyl transferase)

EC3 2 1 26 (β -Fructofranosidase)

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 酵素活性測定法のフルクトシルトランスフェラ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 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50 μ g/g以下 (2.0g, 第1法)

(3) ヒ素 As₂O₃として40 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 酵素活性測定法のフルクトシルトランスフェラ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、フルクトシルトランスフェラーゼの基原, 性質に応じて適切なものを選択する。

フルクトシルトランスフェラーゼ活性測定法

酵素を基質キシロース及びシヨ糖に作用させ、糖転移反応を起こさせる。これによって遊離したグルコースをFキント（グルコース/フルクトース）を用いて、波長 340nm における吸光度で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、生成したグルコース量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 38～77 単位/ml である。

(2) 基質溶液

キシロース 40g を正確に量り、0.1mol/L リノ酸塩緩衝液（pH6.5）50ml を正確に加え 40～50℃ で、かき混ぜながら溶かした後、流水中で冷却する。冷後、1mol/L 塩酸試液又は水酸化ナトリウム試液で pH6.5 に調整し、シヨ糖 20g を正確に加え 40～50℃ で、かき混ぜながら溶かした後、流水中で冷却する。冷後、pH を確認し、pH が 6.5 になっていなければ、1mol/L 塩酸試液又は水酸化ナトリウム試液で pH6.5 に調整し、水を加えて 100ml とする。なお、不溶物が認められる場合は、40～50℃ に加温し、ろ紙でろ過する。

(3) 操作法

試験管に試料溶液 0.2ml を正確に量り、40±0.5℃ で正確に 2 分間放置し、あらかじめ 40±0.5℃ で加温した基質溶液 0.2ml を正確に加えて振り混ぜ、40±0.5℃ で正確に 10 分間放置する。この液を正確に 0.1ml 量り、あらかじめ水 1.9ml を正確に量り、沸騰水浴中で約 10 分間加熱した試験管に加え、沸騰水浴中で正確に 20 分間加熱した後、流水中で冷却する。この液 0.04ml を正確に量り、あらかじめ Fキント溶液（1, 2 混合液）1.168ml を正確に入れた試験管に加えて振り混ぜ、室温で 10～15 分間放置した後、水を対照として波長 340nm における吸光度（SE₁）を測定する。

別に、フランクとして試験管に水 1.9ml を正確に量り、これに試料溶液 0.05ml を正確に加えて振り混ぜ、沸騰水浴中で正確に 10 分間加熱する。加熱後、基質溶液を正確に 0.05ml 加え、沸騰水浴中で正確に 20 分間加熱した後、流水中で冷却する。この液を 0.04ml 正確に量り、以下同様に操作して吸光度（BE₁）を測定する。

その酵素活性の単位は、操作法の条件で 1 分間に 1 μmol のグルコースを生成するとき 1 単位とし、次式により算出される。

本品中の酵素活性の単位（単位/g 又は単位/ml）

$$= 0.864 \times (SE_1 - BE_1) \times 40 \times \frac{1}{W} - 180.16 \times \frac{1}{10} \times 1000$$

但し、0.864 Fキント（グルコース/フルクトース）による測定時のグルコース量換算係数

SE₁ 反応液の吸光度

BE₁ フランクの吸光度

40 反応系の試料溶液希釈倍数

180.16 グルコース分子量

W 試料溶液 1 ml 中の試料の量（g 又は ml）

1/10 反応時間（1 分当たり）

1000 mol を μmol に換算

(4) 試薬 試液

1) キシロース（D (+)-Xylose）（市販試薬特級）

例えば Fluka 製（製品番号 95730）又は同等品が使用できる。

2) シヨ糖（市販試薬特級）

例えば塩水港精糖製 (TypeCH) 又は同等品が使用できる。

3) Fキント (D Glucose/D Fructose) 一般食品分析酵素試薬

例えばヘーリノカー マノハイム製 (製品番号 0139106) 又は同等品が使用できる。

4) Fキント溶液 (1,2 混合液)

第1液 Fキント ヒン1 (ATP NADP) に水 27ml を加え溶かす。凍結保存で6ヶ月使用可。

第2液 Fキント ヒン2 (hexokinase, glucose-6-phosphate dehydrogenase)

第1液を検体数×400 µl 量り, 水を検体数×760 µl 加え, 更に第2液を検体数×8 µl 加えて混ぜる。
用時調製する。

5) 1mol/L 塩酸試液

塩酸 90ml に水を加えて 1,000mL とする。

6) 0.1mol/L リン酸塩緩衝液 (pH6.5)

第1液 リン酸一ナトリウム, 無水 12.0g を水に溶かして 1,000ml とする。

第2液 リン酸二ナトリウム, 無水 14.2g に水を加えて 1,000ml とする。

第1液と第2液を混ぜ, pH6.5 に調整する。その容量比は約5 : 4である。