

β-アミラーゼ測定結果

品名 β-アミラーゼ #1500S (基原：大豆由来)

規格項目	規格	測定回数	製造番号		
			2649514	3684177	3684180
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～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	淡黄褐色の粉末で僅かに特異なにおいがある	淡黄褐色の粉末で僅かに特異なにおいがある	淡黄褐色の粉末で僅かに特異なにおいがある
		②	淡黄褐色の粉末で僅かに特異なにおいがある	淡黄褐色の粉末で僅かに特異なにおいがある	淡黄褐色の粉末で僅かに特異なにおいがある
		③	淡黄褐色の粉末で僅かに特異なにおいがある	淡黄褐色の粉末で僅かに特異なにおいがある	淡黄褐色の粉末で僅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
鉛	Pbとして 5.0 μg/g 以下	①	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下
		②	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下
		③	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下
ヒ素	As ₂ O ₃ 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	10,000/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 (デンプン糖化力 活性測定 法 銅試薬法 2)	単位/g	①	15,820	16,560	16,210
		②	15,910	16,160	16,400
		③	15,790	16,730	16,660
		④	15,190	16,020	16,250
		⑤	15,720	15,880	16,890
		⑥	15,900	16,330	16,380
	平均 (n=6)	15,722	16,280	16,465	
	標準偏差	270	324	261	
	CV (%)	1.7	2.0	1.6	
最大値	15,910	16,730	16,890		
最小値	15,190	15,880	16,210		

* 確認試験の方法

デンプン糖化力活性測定法 銅試薬法 2 にて実施

* 酵素活性測定の条件

試料液：デンプン糖化力活性測定法 銅試薬法 2 で 1～3 単位/ml になるように本品に水を加えて溶解し(8,000 倍)、試料溶液とした。

β-アミラーゼ測定結果

品名 β-アミラーゼ L (基原：大麦由来)

規格項目	規 格	測定回数	製造番号		
			2649477	2656608	2663717
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～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	褐色の液状で僅かに特異なにおいがある	褐色の液状で僅かに特異なにおいがある	褐色の液状で僅かに特異なにおいがある
		②	褐色の液状で僅かに特異なにおいがある	褐色の液状で僅かに特異なにおいがある	褐色の液状で僅かに特異なにおいがある
		③	褐色の液状で僅かに特異なにおいがある	褐色の液状で僅かに特異なにおいがある	褐色の液状で僅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
鉛	Pbとして 5.0 μg/g 以下	①	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下
		②	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下
		③	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下
ヒ素	As ₂ O ₃ 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	10,000/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 (デンプン糖化力活性測定法 銅試薬法2)	単位/ml	①	24,560	26,190	25,350
		②	23,740	26,800	26,860
		③	24,420	25,670	25,140
		④	23,940	25,870	27,700
		⑤	24,320	26,290	27,700
		⑥	24,460	26,530	25,410
	平均 (n=6)		24,240	26,225	26,360
	標準偏差		325	415	1,204
	CV (%)		1.3	1.6	4.6
	最大値		24,560	26,800	27,700
最小値		23,740	25,670	25,350	

* 確認試験の方法

デンプン糖化力活性測定法 銅試薬法2にて実施

* 酵素活性測定の条件

試料液 : デンプン糖化力活性測定法 銅試薬法2で1~3 単位/ml になるように本品に水を加えて溶解し(15,000 倍)、試料溶液とした。

β-アミラーゼ測定結果

品名 オプチマルト BBA (基原：大麦 由来)

規格項目	規 格	測定回数	ロット番号		
			J6525158	J7021159	J7032161
性状	白～濃褐色の粉末若しくは粒、又は無～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。	1回	褐色の液体 特異なにおいが有る	褐色の液体 特異なにおいが有る	褐色の液体 特異なにおいが有る
確認試験	酵素活性を示す		酵素活性を示した	酵素活性を示した	酵素活性を示した
鉛	Pbとして 5.0 μg/g 以下		5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下
ヒ素	As ₂ O ₃ として 4.0 μg/g 以下		4.0 μg/g 以下	4.0 μg/g 以下	4.0 μg/g 以下
細菌数	10,000/g 以下		10,000/g 以下	10,000/g 以下	10,000/g 以下
大腸菌	認めない		認めない	認めない	認めない
酵素活性 (デンプン糖化力活性測定法(鉄試薬法))	単位/g		1,315	1,352	1,306

* 確認試験の方法

酵素活性測定法（鉄試薬法）に準じた。

* 酵素活性測定法の測定条件

試料液：デンプン糖化力活性測定法（鉄試薬法）で 0.2～20 単位/ml になるように本品に水を加えて溶解し、試料液とした。

基 質：デンプン，可溶性，酵素試験用（ジェイ・ティー・ベイカー製）を使用した。

反応 pH：pH 4.6

反応温度：20℃

イソアミラーゼ活性測定法

第1法（ヨウ素呈色法－酸性）

本法は、デンプン（ワキシ－コーンスターチ）にヨウ素溶液を加えると呈色反応を示すことを利用して、減少するデンプン（枝分かれ構造を含む）を波長 610nm の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、デンプンのヨウ素による呈色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 pH4.5 の 0.01mol/L 酢酸緩衝液（又は、水、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 25～50 単位/ml である。必要ならば加温抽出を行う。

(2) 基質溶液

リントナー可溶化ワキシ－コーンスターチ（又は同等品）4.17g（無水物換算）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 pH3.5 の 1 mol/L 酢酸緩衝液（又は適切な緩衝液）50ml 及び水を加えて正確に 500ml とする。

(3) 操作法

40±0.5℃に加温した基質溶液 3 ml に試料溶液 0.5ml を正確に加えて混和し、40±0.5℃で正確に 30 分 30 秒間作用させる。反応液 0.5ml を量り、あらかじめ用意した硫酸（1 ml→1800）15ml に直ちに加えて反応を停止させる。これに 0.005mol/L ヨウ素試液 0.5ml を加えて、25℃で 15 分間放置後、水を対照とし、波長 610nm における吸光度 A を測定する。別に、40±0.5℃に加温した基質溶液 3 ml に試料溶液 0.5ml を正確に加えて混和し、直ちに 0.5ml を量り、30 秒後に 0.01mol/L 硫酸 15ml に加えて反応を停止し、同様に操作し吸光度 A₀ 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、操作法の条件で試験するとき、吸光度 0.004 を増加させる酵素量を 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） = $(A - A_0) / 0.004 \times 1 / W$
ただし、

A : 反応液の吸光度

A₀ : 反応対照液の吸光度

0.004 : 酵素活性 1 単位を定義するための吸光度増加量

W : 試料溶液 1 ml 中の試料の量（g 又は ml）

(4) 試薬・試液

1) Lintner 可溶化ワキシ－コーンスターチ

本品はモチトウモロコシ（*Zea mays* Linne var. *certina* Sturt）の種子から得たデンプンを酸で処理した後脱脂したものである。白色～淡黄色の粉末で、においがなく、味がない。確認試験（1）本品 1 g に水 50ml を加えて煮沸し、放冷するとき、ほとんど溶解し、無色透明又はわずかに白濁した粘性の液体となる。（2）本品に 0.005mol/L ヨウ素溶液を滴下するとき、赤紫色を呈する。

純度試験本品を鏡検するとき、他のデンプン粒を認めない。また、原植物の組織の破片を含むことがあっても、極めてわずかである。

* 鏡検日本薬局方一般試験法生薬試験法「鏡検」に準じて行う。

乾燥減量 5.0%以下（4 g, 105℃, 6 時間）

2) 0.01mol/L 酢酸緩衝液（pH4.5）

第 1 液：酢酸ナトリウム 82 g を量り、水を加えて溶かして 1,000ml とする。

第2液：酢酸 60 g を水に加えて 1,000ml とする。第1液と第2液とを混和し、両液を用いて pH4.5 に調整する。これを、水を用いて 100 倍に希釈する。

3) 1.0mol/L 酢酸緩衝液 (pH3.5)

第1液：酢酸ナトリウム 82 g を量り、水を加えて溶かして 1,000ml とする。第2液：酢酸 60 g を水に加えて 1,000ml とする。第1液と第2液とを混和し、両液を用いて pH3.5 に調整する。

4) 0.01mol/L 硫酸

水 1,800ml に、硫酸 1 ml を加える。

5) 0.005mol/L ヨウ素溶液

褐色瓶に保存した 0.05mol/L ヨウ素溶液を使用時に 10 倍に希釈する。

第2法 (ヨウ素呈色法-中性)

本法は、デンプン (ワキシコーンスターチ) に酵素を作用させ、ヨウ素溶液による呈色反応を利用して、減少する枝分かれ構造を波長 610nm の吸光度を測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

操作法により試験するとき、デンプンのヨウ素による呈色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 pH6.0 の 0.05mol/L 酢酸緩衝液(0.02mol/L 塩化カルシウム含)を加えて、試料溶液とする。その濃度は通例 15~25 単位/ml である。

(2) 基質溶液

ワキシコーンスターチ (又は同等品) 0.5g を正確に量り、50ml の水に懸濁し、デンプンが沈殿しないように時々攪拌しながら加熱する。2 分間沸騰させた後、水を加えて正確に 100ml とする。用時調製とし、調製後は 45±0.5℃ に保温する。

(3) 操作法

試験管に各々 45±0.5℃ に加温した pH6.0 の 0.05mol/L 酢酸緩衝液(0.02mol/L 塩化カルシウム含)0.1ml と基質溶液 0.35ml を正確に量りとり、それに試料溶液 0.1ml を正確に加え、直ちに振り混ぜる。45±0.5℃ で正確に 15 分間反応させた後、0.1mol/L ヨウ化カリウム・0.01mol/L ヨウ素・0.08N 塩酸混合溶液 0.5ml を加え反応を停止する。室温で正確に 15 分間放置した後、水を 10ml 加え十分に混合する。水を対照とし、610nm における吸光度を測定する。別にブランクとして試験管に 0.05mol/L 酢酸緩衝液(0.02mol/L 塩化カルシウム含)0.1ml と基質溶液 0.35ml を正確に量り、45±0.5℃ で正確に 15 分間反応させた後、0.1mol/L ヨウ化カリウム・0.01mol/L ヨウ素・0.08N 塩酸混合溶液 0.5ml を加え、試料溶液 0.1ml を正確に加え、直ちに振り混ぜる。室温で正確に 15 分間放置した後、水を 10ml 加え十分に混合する。水を対照とし、610nm における吸光度を測定する。

その酵素活性の単位は、上記の条件で試験するとき、1 分間に 610nm における吸光度を 0.01 増加させる酵素量を 1 単位とする。

$$\text{本品中の酵素活性の単位 (単位/g 又は単位/ml)} = \Delta \text{Abs} / 0.01 / 15 \times 1.05 / 0.1 / W$$

但し、 ΔAbs : 酵素反応サンプルとブランクサンプルの吸光度の差

0.01 : 酵素活性 1 単位を定義するための吸光度増加量

15 : 反応時間 (分)

1.05 : 反応停止後の液量 (ml)

- 0.1 : 試料溶液の液量 (ml)
W : 試料溶液 1ml 中の試料の量 (g 又は ml)

(4) 試薬・試液

1) ワキシコーンスターチ

たとえば, 日本食品化工株式会社製又は同等品が使用できる。

2) 0.05mol/L 酢酸緩衝液(0.02mol/L 塩化カルシウム含) (pH6.0)

第1液: 酢酸ナトリウム 82 g を量り, 水を加えて溶かし 1,000ml とする。

第2液: 酢酸 60 g を量り, 水を加えて溶かし 1,000ml とする。

第3液: 塩化カルシウム 111 g 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, pH6.0 に調整する。これを 50ml と第3液 20ml とを混合し, 水を加えて 1,000ml とする。

3) 0.1mol/L ヨウ化カリウム-0.01mol/L ヨウ素-0.08N 塩酸混合溶液

第1液: ヨウ化カリウム 8.30g とヨウ素 0.635g を水に溶かし, 正確に 100ml とする。遮光して保存する。

第2液: 塩酸 (1→120)

その容量比は 2 : 8 である。

イソアミラーゼ測定結果

品名 GODO-FIA (基原: Flavobacterium odoratum 由来)

規格項目	規格	測定回数	製造番号		
			#17005S	#17007S	#18001
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である。においはないか又は特異なにおいがある。	①	淡黄色の液体でわずかに特異なにおいがある	淡黄色の液体でわずかに特異なにおいがある	淡黄色の液体でわずかに特異なにおいがある
		②	淡黄色の液体でわずかに特異なにおいがある	淡黄色の液体でわずかに特異なにおいがある	淡黄色の液体でわずかに特異なにおいがある
		③	淡黄色の液体でわずかに特異なにおいがある	淡黄色の液体でわずかに特異なにおいがある	淡黄色の液体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
鉛	Pb として 5.0 µg/g 以下	①	5.0 µg/g 以下	5.0 µg/g 以下	5.0 µg/g 以下
		②	5.0 µg/g 以下	5.0 µg/g 以下	5.0 µg/g 以下
		③	5.0 µg/g 以下	5.0 µg/g 以下	5.0 µg/g 以下
ヒ素	As ₂ O ₃ 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	10,000 個/g 以下	①	10,000 個/g 以下	10,000 個/g 以下	10,000 個/g 以下
		②	10,000 個/g 以下	10,000 個/g 以下	10,000 個/g 以下
		③	10,000 個/g 以下	10,000 個/g 以下	10,000 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	単位/g	①	243,000	118,000	209,000
		②	241,000	128,000	211,000
		③	239,000	128,000	211,000
		④	237,000	121,000	203,000
		⑤	239,000	123,000	204,000
		⑥	237,000	116,000	202,000
	平均値(n=6)	単位/g	239,333	122,333	206,667
	標準偏差		2,338	5,007	4,131
	CV(%)		0.98	4.09	2.00
	最大値	単位/g	243,000	128,000	211,000
最小値	単位/g	237,000	116,000	202,000	

* 確認試験の方法

酵素活性測定法第2法を実施。

* 酵素活性測定

酵素活性測定法第 2 法を実施。

試料溶液

GODO-FIA 1g を精密に採取し、pH6.0 の 0.05mol/L 酢酸緩衝液(0.02mol/L 塩化カルシウム含)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 75 倍希釈して試料溶液とした。

基質溶液

水を使用した。

* 参考情報

インベルターゼ活性測定法

第1法

ショ糖にインベルターゼが作用するとき、ショ糖が分解されて還元糖のブドウ糖及びフラクトースを生じる。生じた還元糖量を、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) 試料液

操作法により試験するとき、還元糖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、本品に水（又は適切な緩衝液、塩類溶液）を加えて溶かし、試料液とする。その濃度は、通例3～4単位/mlである。

(2) 基質溶液

ショ糖 20.0g を正確に量り、水を加えて溶かし、正確に 100ml とする。

(3) 操作法

基質溶液 5 ml 及び 0.1mol/L 酢酸塩緩衝液 (pH 5.0) (又は適切な緩衝液) 4 ml 正確に量り、200ml の三角フラスコに入れ、 $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ にて 5 分間予熱した後、試料液 1 ml を正確に加えてよく振り混ぜる。試料液を加えてから正確に 10 分間、 $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ に放置した後、0.1mol/L 水酸化ナトリウム試液 10ml を加えてよく振り混ぜる。次いで、フェーリング試液銅液 10ml、同アルカリ性酒石酸塩液 10ml を正確に加えて加熱し、3分以内に沸騰させ、正確に 2 分間沸騰させた後、ただちに冷却する。冷却後、ヨウ化カリウム溶液 (3→10) 5 ml を加え、次にうすめた硫酸 (16→100) 10ml を加えよく振り混ぜた後、0.1mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液で適定する (Aml)。指示薬としては、可溶性デンプン試液 2～3 滴を用いる。

別に、基質溶液 5 ml 及び 0.1mol/L 酢酸塩緩衝液 (pH 5.0) (又は適切な緩衝液) 4 ml を正確に量り、200ml の三角フラスコへ入れ、 $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ にて 15 分間放置した後、0.1mol/L 水酸化ナトリウム試液 10ml を加えてよく振り混ぜ、以下試料反応液と同様に操作し、ブランク試験とする (Bml)。

その酵素活性の単位は、操作法の条件で試験するとき、1分間にブドウ糖 1 mg に相当する還元糖を生成する酵素量を 1 単位とする。

$$\text{本品中の酵素活性の単位 (単位/g 又は単位/ml)} = (A - B) \times 3.28 \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{W}$$

但し、

(A - B) × 3.28 : ブドウ糖量 (mg)

3.28 : 0.1mol/l チオ硫酸ナトリウム溶液 1 ml はブドウ糖 3.28mg に相当する

W : 試料液 1 ml 中の試料の量 (g 又は ml)

(4) 試薬・試液・標準液

1) 0.1mol/L 酢酸塩緩衝液 (pH5.0)

希酢酸 (6→100) に酢酸ナトリウム溶液 (13.6→1000) を加え pH5.0 に調整する。

2) フェーリング試液銅液

硫酸銅 34.64g を水に溶かして 500ml とする。

3) フェーリング試液アルカリ性酒石酸塩液

酒石酸カリウムナトリウム 173g 及び水酸化ナトリウム 50g を水に溶かして 500ml とする。ポリエチレン瓶に保存する。

4) 可溶性デンプン試液

可溶性デンプン 2g を少量の水に懸濁させ、沸騰水 100ml 中に徐々に注ぎ 1～2 分間よくかき混ぜて溶かした後、冷却する。

第 2 法 (DNS-乳糖試薬法)

ショ糖にインベルターゼが作用するとき、ショ糖が分解されて還元糖のブドウ糖及びフルクトースを生じる。生じた還元糖量を DNS 法で比色測定する方法である。

(1) 検液

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) を加えて溶かし検液とする。その濃度は通例 0.25～0.75 単位/ml である。

(2) 基質溶液

ショ糖 11.20g を正確に量り、水 70ml 中にかき混ぜながら徐々に加えて溶かす。1 mol/L 酢酸緩衝液 (pH4.5) (又は適切な緩衝液) 10ml を加え、水で正確に 100ml とする。

(3) ブドウ糖検量線

あらかじめ、ブドウ糖約 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 1.25g に対応するブドウ糖を正確に量り、水を加えて溶かし正確に 50ml とする。この溶液 1, 2 及び 3 ml を正確に量り、水を加えて正確に 50ml とする。それぞれの液 1ml 中には、フルクトースが 500, 1,000 及び 1,500 μ g 含まれる。試験管にそれぞれの液 0.2ml を正確に量り、基質溶液 1.8ml 及びジニトロサリチル酸-乳糖試液 4ml を加えて振り混ぜる。試験管にガラス玉をのせて沸騰水浴中で 15 分間加温した後、水浴中に移して室温まで冷やす。水を対照として 540nm における吸光度 A_1 , A_2 及び A_3 を測定する。別に試験管に水 0.2ml を正確に量り、基質溶液 1.8ml 及びジニトロサリチル酸-乳糖試液 4ml を加えて振り混ぜる。試験管にガラス玉をのせて沸騰水浴中で 15 分間加温した後、水浴中に移して室温まで冷やす。水を対照として 540nm における吸光度 A_0 を測定する。横軸にそれぞれの液のブドウ糖濃度 (μ g/ml) を、縦軸に吸光度差 (A_1-A_0 , A_2-A_0 及び A_3-A_0) をとり、検量線を作成し吸光度差 1 に対応するブドウ糖濃度 (μ g/ml) を求める。

(4) 操作法

試験管に基質溶液 1.8ml を正確に量り、 $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で 5 分間放置した後、検液 0.2ml 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 10 分間放置した後、ジニトロサリチル酸-乳糖試液 4ml を加えて直ちに振り混ぜる。試験管にガラス玉をのせて沸騰水浴中で 15 分間加温し

た後、水浴中に移して室温まで冷やす。水を対照として 540nm における吸光度 A_T を測定する。別に試験管に検液 0.2ml を正確に加え、 $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で 5 分間放置した後、ジニトロサリチル酸-乳糖試液 4 ml を加えて直ちに振り混ぜる。次に基質溶液 1.8ml を加えて振り混ぜる。試験管にガラス玉をのせて沸騰水浴中で 15 分間加温した後、水浴中に移して室温まで冷やす。水を対照として 540nm における吸光度 A_B 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 $1 \mu\text{mol}$ のブドウ糖に相当する還元糖を生成する酵素量を 1 単位とする。

$$\text{本品中の酵素活性の単位 (単位/g 又は単位/ml)} = (A_T - A_B) \times \frac{1,000}{180} \times F \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{0.2} \times \frac{1}{W}$$

- 但し、 A_T : 反応液の吸光度
 A_B : 対照液の吸光度
 1,000 : mg \rightarrow μg の変換
 180 : ブドウ糖の分子量
 F : 検量線より求めた吸光度差 1 の時のブドウ糖濃度 ($\mu\text{g/ml}$)
 10 : 反応時間 (分)
 0.2 : 検液の液量 (ml)
 W : 検液 1 ml 中の試料の量 (g 又は ml)

(5) 試薬・試液

1) ショ糖

たとえば、和光純薬工業株式会社製 (製品番号 196-00015) 又は同等品が使用できる。

2) 1 mol/L 酢酸緩衝液 (pH4.5)

第 1 液：酢酸ナトリウム 82g に水を加えて 1,000ml とする。

第 2 液：酢酸 60g に水を加えて 1,000ml とする。

第 1 液と第 2 液を混ぜ、pH4.5 に調整する。

3) 3,5-ジニトロサリチル酸

$(\text{NO}_2)_2\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})\text{COOH}$ (市販試薬特級)

4) 3,5-ジニトロサリチル酸試液 (DNS 試液)

3,5-ジニトロサリチル酸 10.0g を量り、水 400ml を加えてかき混ぜながら加温してけん濁し、この液に、水酸化ナトリウム溶液 (16 \rightarrow 150) を徐々に加え、 50°C を超えないように注意してかき混ぜながら加温して溶かす。次に酒石酸カリウムナトリウム 300g を量り、徐々に加え、更に水を加えて液量を 950ml とし、 50°C を超えないように注意してかき混ぜながら加温して溶かす。次に室温まで冷し、水を加えて 1,000ml とし、必要ならばガラスフィルターでろ過する。褐色瓶に入れ、密栓して暗所に室温で保存する。調製後 6 ヶ月以内に使用する。

5) 乳糖溶液

乳糖一水和物 1.20g を量り，水を加えて溶かして 100ml とし，この液 1ml を量り，水を加えて 100ml とする。

6) ジニトロサリチル酸－乳糖試液

3,5-ジニトロサリチル酸試液 150ml と乳糖溶液 50ml を混ぜ合わせる。用時調製する。

インペルターゼ測定結果

品名 スミチーム I N V (基原: *Aspergillus niger* 由来)

規格項目	規 格	測定回数	製造番号	
			050128T3-13	060603T3-14
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～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	淡褐色の粉末で僅かに特異なにおいがある	淡褐色の粉末で僅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
		②	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
鉛	Pb として 5.0 μg/g 以下	①	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下
		②	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下
		③	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下
ヒ素	As ₂ O ₃ として 4.0 μg/g 以下	①	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
		③	4.0 μg/g 以下	4.0 μg/g 以下
細菌数	10,000/g 以下	①	100/g 以下	100/g 以下
		②	100/g 以下	100/g 以下
		③	100/g 以下	100/g 以下
大腸菌	認めない	①	認めない	認めない
		②	認めない	認めない
		③	認めない	認めない
酵素活性 (インペルターゼ活性測定法第2法)	単位/g	①	366,000	617,000
		②	386,000	600,000
		③	345,000	671,000
		④	341,000	671,000
		⑤	370,000	625,000
		⑥	367,000	643,000
	平均 (n=6)	362,500	637,833	
	標準偏差	16,790	29,178	
	CV (%)	4.63	4.57	
最大値	386,000	671,000		
最小値	341,000	600,000		

* 確認試験の方法

インペルターゼ活性測定法第2法に準じた。

* 酵素活性測定法の測定条件

試料液 : インペルターゼ活性測定法第2法で0.25~0.75単位/mlになるように本品に水を加えて溶解し、試料液とした。

製造番号 050128T3-13 (1→800,000)

製造番号 060603T3-14 (1→1,300,000)

キシラナーゼ活性測定法

第1法（レマゾール染色アラビノキシラン糖化力測定法）

レマゾールで染色した小麦アラビノキシラン基質に酵素を作用させ、転換されていない基質をエタノールで沈殿させ、沈殿しなかったレマゾール染色基質の分解生成物による上澄みの青色を比色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、分解生成物による上澄みの青色の増加が、試料濃度に比例する範囲内の試料濃度になるように、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 0.4~1.4 単位/ml である。

(2) 基質溶液

アゾー小麦アラビノキシラン 0.50g を正確に量り、0.1mol/L リン酸緩衝液（pH 6.0）（又は適切な緩衝液）を加えて溶かし、正確に 100ml とする。

(3) 酵素活性標準曲線

4,000 単位相当の FXU 標準酵素を正確に量り、0.1mol/L リン酸緩衝液（pH6.0）（又は適切な緩衝液）を加えて溶かし、正確に 200ml とする。この溶液 2ml, 3ml, 4ml, 5ml, 6ml 及び 7ml を正確に量り、0.1mol/L リン酸緩衝液（pH 6.0）（又は適切な緩衝液）を加えて正確に 100ml とする。それぞれの液 1ml 中には、酵素活性が 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 及び 1.4 単位含まれる。試験管にこの酵素溶液 0.1ml を正確に量り、 $50 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で 10 分間放置した後、基質溶液 0.9ml を正確に加え、直ちに振り混ぜる。 $50 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で正確に 30 分間放置した後、停止液 5ml を加え、直ちに振り混ぜる。30 分間放置した後、4,000rpm で 15 分間遠心分離し、20 分以内に上澄みの 585nm における吸光度を測定する。横軸に酵素活性（単位/ml）、縦軸に吸光度をとり、酵素活性標準曲線とする。

(4) 操作法

試験管に試料溶液 0.1ml を正確に量り、 $50 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で 10 分間放置した後、基質溶液 0.9ml を正確に加え、直ちに振り混ぜる。 $50 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で正確に 30 分間放置した後、停止液 5ml を加え、直ちに振り混ぜる。30 分間放置した後、反応液を 4,000rpm で 15 分間遠心分離し、20 分以内に上澄みの 585nm における吸光度を測定する。

その酵素活性の単位は、操作法の条件で試験するとき、次式により決定される。

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

ただし、C : 標準曲線から読み取った酵素活性（単位/ml）

W : 試料溶液 1ml 中の試料の量（g 又は ml）

(5) 試薬・試液

1) 0.1mol/L リン酸緩衝液（pH6.0）

リン酸二水素ナトリウム一水和物 12.1g 及びリン酸水素二ナトリウム二水和物 2.19g を

水約 900ml に溶かし、水酸化ナトリウム溶液または塩酸で pH6.0 に調整し、更に水を加え全量を 1,000ml とする。

2) アゾー小麦アラビノキシラン

たとえば、Megazyme 製（製品番号 S-AWAXP）又は同等品が使用できる。

3) FXU 標準酵素，定量用

Novozymes A/S 製（約 3,500 単位/g）を用いる。

4) 停止液

2 mol/L 塩酸 7 ml にエタノール，無水を加え，全量を 1,000ml とする。

第 2 法（キシラン糖化力測定法-銅試薬法）

キシラン溶液に酵素を一定時間作用させ、Somogyi 変法により滴定し、キシランを分解して得られるキシロース量を算出することにより、キシラナーゼ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、0.01mol/L 酢酸緩衝液（pH4.5）（又は水，適切な緩衝液，塩類溶液）を加えて溶かした後、0.005mol/L チオ硫酸ナトリウム液の消費量が 7 ml 以下となるよう、更に、0.01mol/L 酢酸緩衝液（pH4.5）（又は水，適切な緩衝液，塩類溶液）を加えて、正確に一定量とし、試料溶液とする。

(2) 基質溶液

キシラン 4.0g をスターラーでかき混ぜている 50ml の水酸化ナトリウム試液中へ徐々に加えて溶かした後、フェノールフタレイン試液 2 滴を加え、1mol/L 塩酸試液で中和した後、0.1mol/L 酢酸緩衝液（pH4.5）100ml を加え、更に水を加えて 200ml とする。

(3) キシロース検量線

キシロース約 0.5g [乾燥品（1g，105℃，3時間）に換算した量] を精密に量り、水を加えて溶かし正確に 100ml とする。この液 1, 2, 3 及び 4ml を正確に量り、別々の 100ml メスフラスコに入れ、水を加えて正確に 100ml とし各々標準溶液 1, 2, 3 及び 4 とする。各標準溶液 5 ml を正確に量り、別々の試験管に入れ、アルカリ性銅溶液 5 ml を正確に加え、以下試料と同様に操作したときの 0.005mol/L チオ硫酸ナトリウム液の量をそれぞれ S_1 , S_2 , S_3 及び S_4 とする。

別に、水 5 ml を入れた試験管にアルカリ性銅溶液 5 ml を正確に加え以下標準溶液と同様に操作したときの 0.005mol/L チオ硫酸ナトリウム液の量を B' ml とする。各標準溶液の 0.005mol/L チオ硫酸ナトリウム液の消費量 ($B' - S_1$), ($B' - S_2$), ($B' - S_3$) 及び ($B' - S_4$) の縦軸に対応するキシロースの量を横軸にとり、キシロース検量線とする。

(4) 操作法

基質溶液 2 ml を正確に量り、試験管に入れ、 $40 \pm 0.5^\circ\text{C}$ の恒温水槽中で 5 分間予熱した後、試料溶液 1 ml を正確に加えてよく振り混ぜ直ちに同恒温水槽中で正確に 30 分間放置する。放置後、直ちに、薄めた硫酸（6→100）0.5ml を加えよく振り混ぜて 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、1 mol/L 水酸化ナトリウム試液で中和する。次に水を加えて全量を 5 ml とした後アルカリ性銅溶液 5 ml を正確に加えてよく振り混

ぜる。試験管の口をアルミホイルで軽く覆い、時々振り混ぜながら 20 分間水浴中で加熱した後 30℃以下にならないように急冷する。冷後、ヨウ化カリウム溶液（1→40）2 ml を加えて振り混ぜ、更に薄めた硫酸（6→100）1.5ml を加え、直ちに激しく振り混ぜる。液が澄明になったとき 0.005mol/L チオ硫酸ナトリウム液で滴定を行い、液が微黄色になったとき、デンプン試液 1 ml を加え、青色が消えるまで滴定を続け、その量を Aml とする。

別に、基質溶液 2 ml を正確に量り、試験管に入れ、薄めた硫酸 0.5ml を加えて振り混ぜた後、試料溶液 1 ml を正確に加えてよく振り混ぜる。次に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、水を加えて全量を約 5 ml とした後、アルカリ性銅溶液 5 ml を正確に加えてよく振り混ぜ、以下試料と同様に操作したときの 0.005mol/L チオ硫酸ナトリウム液の量を Bml とする。0.005mol/L チオ硫酸ナトリウム液の消費量(B-A) ml に対するキシロースの量を検量線より求め、酵素の単位は次式により算出する。

$$\text{本品中の酵素活性の単位（単位/g 又は単位/ml）} = \frac{K}{150.13 \times 10^{-6} \times 30} \times \frac{1}{W}$$

但し、K : キシロース検量線より求めたキシロースの量 (g)

W : 試料溶液 1ml 中の試料の量 (g 又は ml)

(5) 試薬・試液

1) 0.1mol/L 酢酸緩衝液 (pH4.5)

希酢酸 100ml に酢酸ナトリウム溶液 (13.6→100) 80ml を徐々に加え、pH を 4.5 に調整する。この液 10ml に水を加えて 1,000ml とする。

2) キシロース

D-キシロース $C_5H_{10}O_5$: 150.13 無色～白色の結晶又は結晶性の粉末

3) クエン酸緩衝液 (pH4.0)

0.1mol/L 塩酸試液 45ml にクエン酸二ナトリウム溶液(26.3→1,000)55ml を徐々に加え、pH を 4.0 に調整する。

4) アルカリ性銅溶液

リン酸二ナトリウム (12 水塩) 71g 及び酒石酸カリウムナトリウム 40g を水 650ml に溶かし、1mol/L 水酸化ナトリウム試液 100ml を加え、静かにかき混ぜながら硫酸銅溶液 (10→100) 80ml を徐々に加える。次に無水硫酸ナトリウム 180g を加えて溶かした後、ヨウ素酸カリウム溶液 (3.6→100) 25ml を加え、水で 1,000ml とする。2 日間 25～35℃ で放置した後、沈殿物をろ過して除き、25～35℃ で保存する。

5) 0.005mo/L チオ硫酸ナトリウム液

0.1mol/L チオ硫酸ナトリウム液 10ml を正確に量り、新たに煮沸し、冷却した水を加えて正確に 200ml とする。用時調製

6) キシラン

植物繊維をアルカリで抽出して得られる複雑な多糖類で加水分解にキシロースを生ずるものをいう。キシラン TCI-GR (東京化成製) 又は XYLAN EXLACH WOOD

(ALDRICH 社 USA) を使用する。5℃以下で保存する。

7) クエン酸二ナトリウム

$C_6H_6Na_2O_7 \cdot 1\frac{1}{2}H_2O$: 263.13

無色～白色の結晶ではない。

キシラナーゼ測定結果

品名 スクララーゼA (基原: *Aspergillus awamori* 由来)

規格項目	規格	測定回数	製造番号	
			051004T3-11	060214T3-13
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～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	淡黄白色の粉末で僅かに特異なにおいがある	淡黄白色の粉末で僅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
		②	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
鉛	Pbとして 5.0 μg/g 以下	①	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下
		②	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下
		③	5.0 μg/g 以下	5.0 μg/g 以下
ヒ素	As ₂ O ₃ として 4.0 μg/g 以下	①	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
		③	4.0 μg/g 以下	4.0 μg/g 以下
細菌数	10,000/g 以下	①	100/g 以下	100/g 以下
		②	100/g 以下	100/g 以下
		③	100/g 以下	100/g 以下
大腸菌	認めない	①	認めない	認めない
		②	認めない	認めない
		③	認めない	認めない
酵素活性 (キシラナーゼ活性測定法第2法)	単位/g	①	6,070	6,930
		②	5,800	6,950
		③	5,790	6,980
		④	6,080	7,060
		⑤	6,100	7,090
		⑥	6,100	6,940
	平均 (n=6)		5,990	6,992
	標準偏差		152	67
	CV (%)		2.53	0.96
	最大値		6,100	7,090
最小値		5,790	6,930	

* 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

試料液 : キシラナーゼ活性測定法第2法 (キシラン糖化力測定法-銅試薬法) で 0.1~0.2 単位/ml になるように本品に 0.01mol/L 酢酸緩衝液 (pH4.5) を加えて溶解し、試料液とした。
(1→50,000)

反応 pH : pH4.5

キチナーゼ

Chitinase

定義 本品は、糸状菌 (Trichoderma harzianum, Trichoderma reesei), 放線菌 (Amycolatopsis orientalis, Streptomyces) 又は細菌 (Aeromonas) の培養物より得られた, キチン質を加水分解する酵素である。乳糖, デキストリン, ブドウ糖又はショ糖を含むことがある。

酵素特性 本品は, キチン質を加水分解する。

EC ナンバー (参考) : EC 3.2.1.14 (Chitinase)

EC 3.2.1.52 (β -N-Acetylhexosaminidase)

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～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 酵素活性測定法のキチナーゼ活性測定法のいずれかにより試験を行うとき, 酵素活性を示す。

純度試験 (1) 鉛 Pb として $5.0 \mu\text{g/g}$ 以下 (2.0g, 第1法)

(2) ヒ素 As_2O_3 として $4.0 \mu\text{g/g}$ 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 10,000 以下である。また, 大腸菌は認めない。

酵素活性測定法 酵素活性測定法のキチナーゼ活性測定法により試験を行う。ただし, 測定条件 (反応温度, 反応 pH, 緩衝液の種類, 試料希釈液等) は, キチナーゼの基原, 性質に応じて適切なものを選択する。