

FUJIFILM

Wako

Code No. 073-02851 (5,000 units)

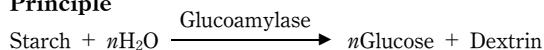
Glucoamylase

グルコアミラーゼ

Source : *Rhizopus* sp.
Physical Form : Lyophilized powder
Activity : Indicated on the label
Molecular weight : ca. 70,000
Optimal pH : 4.5~5.0
Optimal temperature : 60°C

Assay method

1. Principle



2. Reagents

- A. Starch Solution, 10 g/L
Suspend 1.0 g of soluble Starch in 90 mL of water and dissolve by boiling for 3 minutes. After cooling to room temperature, add 5 mL of 1.0 mol/L Acetate buffer (pH 4.5). Then fill up to 100 mL with water. Prepare just before use.
- B. Enzyme Solution
Dissolve 3 mg (weighed correctly) of the Glucoamylase product in 5 mL of cooled water.
And just before use, bring up to a final volume of 100 mL with 1.0 mol/L Acetate buffer (pH 4.5).
- C. Rochelle Salt Alkaline Solution
Dissolve 10 g of Sodium Hydroxide and 36.5 g of Potassium Sodium (+)-Tartrate Tetrahydrate in water and bring up to a final volume of 100 mL.
- D. Copper Sulfate Solution
Dissolve 7 g of Copper(II) Sulfate Pentahydrate in water and bring up to a final volume of 100 mL.
- E. Potassium Iodide Solution (300 g/L)
Store in a brown vial.
- F. Sulfuric Acid (1+5)
- G. 0.05 mol/L Sodium Thiosulfate Solution
- H. Glucose Standard Solution (5.0 mg/mL)
Dissolve 5.0 g (weighed correctly) of D(+)-Glucose in water and bring up to a final volume of 100 mL. Add water to 10 mL of the solution and bring up to a final volume of 100 mL.

Trans *

試薬

- A. でんぷん溶液 (10 g/L)
溶性でんぷん 1.0 g を 90 mL の水に懸濁後、約 3 分間煮沸溶解する。室温まで冷却後、1.0 mol/L 酢酸緩衝液 (pH 4.5) を 5 mL 添加し、100 mL とする。(用時調製)
- B. 酵素溶液
本品 3 mg (正しく) を冷却した水 5 mL に溶解し、測定直前に 1.0 mol/L 酢酸緩衝液 (pH 4.5) を加えて 100 mL とする。
- C. ロッシェル塩アルカリ溶液
水酸化ナトリウム 10 g, (+)-酒石酸ナトリウムカリウム四水和物 36.5 g を水に溶解し、100 mL とする。
- D. 硫酸銅溶液
硫酸銅(II) 五水和物 7 g を水に溶解し、100 mL とする。
- E. よう化カリウム溶液 (300 g/L) (褐色瓶中で保存)
- F. 硫酸 (1+5)
- G. 0.05 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液
- H. グルコース標準溶液 (5.0 mg/mL)
D(+)-グルコース 5.0 g (正しく) を水に溶解し 100 mL にする。その 10 mL を水で 100 mL にする。

3. Procedure

Reagent	Test	Control	Standard
A	4.0 mL	4.0 mL	4.0 mL
Pre-incubate at 40°C for ca. 5 min. 40°C 約 5 分間 予備加温			
B	1.0 mL	—	—
H	—	—	1.0 mL
Incubate at 40°C for 15 min. 40°C 15 分間 保温			
C	2.0 mL	2.0 mL	2.0 mL
B	—	1.0 mL	—
D	2.0 mL	2.0 mL	2.0 mL
Heat for 20 min in boiling bath in a loosely capped bottle. Add 20 mL of water, immediately cool in ice bath. ゆるく蓋をして沸騰水浴中で正確に 20 分間加熱した後、水 20 mL を入れ、氷水中にて直ちに冷却する。			
F	2.0 mL	2.0 mL	2.0 mL
E	2.0 mL	2.0 mL	2.0 mL
Mix well, and titrate using Reagent G, calculating the titration value. よく混和した後、G 液で滴定し、測定値を求める。			

4. Unit definition

One unit is the amount of enzyme, which produces 10 mg of glucose for 30 minutes under the above conditions.

(Calculation)

$$\text{units/mg} = \frac{(b - a)}{(b - c) \times \frac{10}{S'}} \times \frac{30}{15} \times \frac{100}{S}$$

a : Titration value of main test (mL)

b : Titration value of blank (mL)

c : Titration value of standard (mL)

10 : Conversion rate to 10 mg of glucose

S' : Amount of D(+)-Glucose used for test (mg)

30 : Definition time of unit (min)

15 : Reaction time (min)

S : Amount of weighted this product (mg)

Trans *

単位の定義

前記条件下で、30分間に10 mg のグルコースを生成する酵素活性を1 unit とする。

(計 算)

$$\text{units/mg} = \frac{(b - a)}{(b - c) \times \frac{10}{S'}} \times \frac{30}{15} \times \frac{100}{S}$$

a : 本試験の滴定量 (mL)

b : 空試験の滴定量 (mL)

c : 標準液の滴定量 (mL)

10 : グルコースの単位量 (10 mg) に対する換算倍率

S' : 試験に使用した D(+)-グルコースの量 (mg)

30 : 単位の定義時間 (分)

15 : 反応時間 (分)

S : 量り取った本品の量 (mg)

〔Storage〕 Store at -20℃.

〔Package〕 5,000 units.

〔References〕

1. S.Ono, *et al.* : *Biochim. Biophys. Acta*, **302**, 362 (1973).
2. J.Fukumoto : *Protein, Nucleic Acid and Enzyme*, **4**, 3 (1959).

* : **Trans** is the Japanese translation.

FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation

1-2, Doshomachi 3-Chome, Chuo-Ku, Osaka 540-8605, Japan

Telephone : + 81-6-6203-3741

Facsimile : + 81-6-6201-5964

<http://fwvk.fujifilm.co.jp>

FUJIFILM Wako Chemicals U.S.A. Corporation

1600 Bellwood Road

Richmond, VA 23237

U.S.A.

Telephone : + 1-804-271-7677

Facsimile : + 1-804-271-7791

<http://www.wakousa.com>

FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH

Fuggerstrasse 12

D-41468 Neuss

Germany

Telephone : + 49-2131-3111-0

Facsimile : + 49-2131-311100

<http://www.wako-chemicals.de>