検量線の作成

キシロースを105℃で３時間乾燥し、その0.50g（0.495～0.504g）を量り、100mLの全量フラスコに入れ、水を加えて溶かし、更に水を標線まで加えて100mLとする。この溶液１mL、２mL、３mL及び４mLを全量ピペットを用いて量り、それぞれ100mLの全量フラスコに入れ、それぞれに水を標線まで加えて100mLとする。それぞれの溶液５mLを全量ピペットを用いて量り、それぞれ25×200mmの試験管に入れ、全量ピペットを用いてアルカリ性銅試液Ａ５mLを加え、以下試料と同様の方法で操作し、その滴定量をそれぞれS_1mL、S_2mL、S_3mL及びS_4mLとする。別に、水５mLを全量ピペットを用いて量り、25×200mmの試験管に入れ、全量ピペットを用いてアルカリ性銅試液Ａ５mLを加え、以下試料と同様の方法で操作し、その滴定量をB′mLとする。0.005mol/Lチオ硫酸ナトリウム溶液の消費量の差（B′－S_1）、（B′－S_2）、（B′－S_3）及び（B′－S_4）を縦軸に、それぞれに対応するキシロースの量（g）を横軸にとり、検量線を作成する。

②　β-グルカン糖化力試験法

β-グルカン糖化力試験法は、β-グルカンにβ-グルカナーゼが作用するときに、加水分解に伴って増加する還元力により、飼料添加物中のβ-グルカナーゼの量を測定する方法であり、その単位は、β-グルカン糖化力単位で示す。

１β-グルカン糖化力単位は、β-グルカナーゼがβ-グルカンに30℃で作用するとき、反応初期の１分間に１μmolのブドウ糖に相当する還元力の増加をもたらす酵素量に相当する。

基質溶液の調製

β-グルカン1.0g（0.95～1.04g）を量り、100mLの全量フラスコに入れ、10mLのエタノールで湿らせた後、約80mLの水を加え、沸騰させ、β-グルカンを溶解する。かき混ぜながら室温に戻し、水を全量フラスコの標線まで加えて100mLとし、ガラスろ過器（G３）でろ過する。冷蔵庫中で保存し２日以内に使用する。

操作法

試験を行うために必要な量の試料を有効数字３桁まで量り、その数値を記録し、１mL当たりの濃度が0.1～0.2β-グルカン糖化力単位となるように、試料の最大酵素活性を示すpHに調整した0.1mol/L酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液を加えて溶かし、試料溶液とする。試料が完全に溶けない場合には、１時間かき混ぜた後、遠心分離し、その上澄液を試料溶液とする。基質溶液１mLを全量ピペットを用いて量り、16×200mmの試験管に入れ、30±0.2℃の水浴中に５分間放置した後、全量ピペットを用いて試料溶液１mLを加え、よく振り混ぜ、30秒以内に30±0.2℃の水浴中で正確に10分間放置する。次に、全量ピペットを用いてジニトロサリチル酸試液３mLを加え、よく振り混ぜ、試験管の口をアルミホイルで軽く覆い、正確に５分間煮沸した後、冷水浴中で冷却し、室温に戻す。この溶液につき、波長540nmにおける吸光度A_Tを測定する。

別に、基質溶液１mLを全量ピペットを用いて量り、16×200mmの試験管に入れ、全量ピペットを用いてジニトロサリチル酸試液３mLを加え、よく振り混ぜた後、全量ピペットを用いて試料溶液１mLを加え、よく振り混ぜ、30秒以内に30±0.2℃の水浴中に正確に10分間放置する。以下同様の方法で操作し、吸光度A_T'を測定する。

$$1\text{g中のβ-グルカン糖化力単位}=\frac{A_T-A_T'}{10\times 0.18}\times\frac{1}{W}\times F$$

W：試料溶液１mL中の試料の量（g）

F：検量線から求めた吸光度差１に対するブドウ糖の量（mg）

検量線の作成

あらかじめブドウ糖約１gを0.01gの桁まで量り、その数値を記録し、105℃で６時間乾燥し、その減量を測定する。その乾燥物１gに相当するブドウ糖を0.01gの桁まで量り、水を加えて溶かし、100mLの全量フラスコに入れ、更に水を標線まで加えて100mLとする。この溶液１mL、２mL、３mL、４mL、５mL及び６mLを全量ピペットを用いて量り、それぞれ100mLの全量フラスコに入れ、それぞれに水を標線まで加えて100mLとする。それぞれの溶液１mL及び水１mLを全量ピペットを用いて量り、それぞれ16×200mmの試験管に入れ、全量ピペットを用いてジニトロサリチル酸試液３mLをそれぞれ加え、よく振り混ぜ、試験管の口をアルミホイルで軽く覆い、正確に５分間煮沸した後、冷水浴中で冷却し、室温に戻す。これらの溶液につき、波長540nm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、水２mLを全量ピペットを用いて量り、16×200mmの試験管に入れ、全量ピペットを用いてジニトロサリチル酸試液３mLを加え、以下同様の方法で操作して吸光度A_0を測定する。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）を縦軸に、ブドウ糖の量（mg）を横軸にとり、検量線を作成する。

③　脂肪消化力試験法

脂肪消化力試験法は、オリブ油にリパーゼが作用するときに、加水分解に伴って増加する脂肪酸の量により、飼料添加物中のリパーゼの量を測定する方法であり、その単位は、脂肪消化力単位で示す。

１脂肪消化力単位は、リパーゼがオリブ油に作用するとき、反応初期の１分間に１μmolの脂肪酸に相当する消化力の増加をもたらす酵素量に相当する。

基質溶液の調製

ポリビニルアルコール試液・オリブ油混液（３：１）200～300mLを量り、乳化機の500mL容器に入れ、10℃以下に冷却しながら、毎分12,000～16,000回転で10分間乳化し、冷所で１時間放置した後、油層が分離しないことを確認した後使用する。

操作法

試験を行うために必要な量の試料を有効数字３桁まで量り、その数値を記録し、１mL当たりの濃度が1.0～5.0脂肪消化力単位となるように冷水を加えて溶かし、試料溶液とする。必要ならば、ろ過又は遠心分離を行う。基質溶液５mL及び試料の最大酵素活性を示すpHに調整した0.1mol/Lリン酸塩緩衝液４mLを全量ピペットを用いて量り、よく混合し、37±0.5℃で10分間放置した後、全量ピペットを用いて試料溶液１mLを加え、30秒以内に振り混ぜ、37±0.5℃で正確に20分間放置する。次に、アセトン・エタノール混液（１：１）10mLを加え、振り混ぜ、全量ピペットを用いて0.05mol/L水酸化ナトリウム試液10mLを加え、更に全量ピペットを用いてアセトン・エタノール混液（１：１）10mLを加え、振り混ぜた後、0.05mol/L塩酸で滴定する（指示薬　フェノールフタレイン試液２～３滴）。この場合において、滴定の終点は、溶液の赤色が消えたときとし、その滴定量をAmLとする。別に、基質溶液５mL及び試料の最大酵素活性を示すpHに調整した0.1mol/Lリン酸塩緩衝液４mLを全量ピペットを用いて量り、よく混合し、37±0.5℃で30分間放置する。次に、全量ピペットを用いてアセトン・エタノール混液（１：１）10mLを加え、振り混ぜ、さらに、全量ピペットを用いて試料溶液１mLを加え、振り混ぜ、以下同様の方法で操作し、その滴定量をBmLとする。

$$1\text{g中の脂肪消化力単位}=50\times(B-A)\times\frac{1}{20}\times\frac{1}{W}$$

W：試料溶液１mL中の試料の量（g）