

말토티리오히드로라아제

Maltotriohydrolase

G3생성효소

정 의 이 품목은 *Microbacterium imperiale*의 배양물에서 얻어진 효소제이다. 다만, 역가조정, 품질보존 등을 위하여 희석제, 안정제 등을 첨가할 수 있다.

이 품목은 전분 등을 가수분해하여 말토티리오스를 생성한다.

성 상 이 품목은 백~진한 갈색의 분말, 입상, 페이스트상 또는 무~진한 갈색의 액상이다.

확인시험 이 품목의 활성시험법에 따라 시험할 때 활성을 나타내어야 한다.

순도시험 (1) 비소 : 이 품목을 비소시험법에 따라 시험할 때, 그 양은 4.0ppm 이하이어야 한다.

(2) 납 : 이 품목 5.0g을 취하여 원자흡광광도법 또는 유도결합플라즈마발광광도법에 따라 시험할 때, 그 양은 5.0ppm 이하이어야 한다.

(3) 대장균군 : 이 품목은 「식품의 기준 및 규격」 일반시험법의 미생물 시험법 중 대장균군에 따라 시험할 때, 제품 1g당 30 이하이어야 한다.

(4) 살모넬라 : 이 품목은 「식품의 기준 및 규격」 일반시험법의 미생물 시험법 중 살모넬라균 시험법에 따라 시험할 때, 음성(-)이어야 한다.

(5) 대장균 : 이 품목은 「식품의 기준 및 규격」 일반시험법의 미생물

시험법 중 대장균에 따라 시험할 때, 음성(-)이어야 한다.

활성시험법(역가)

시험용액의 조제 : 검체 일정량을 취하여 1mL당 0.2~0.85 Unit를 함유하도록 염화칼슘·초산완충액(pH 6.0)으로 희석한다.

시험조작 : 기질용액 0.5mL와 염화칼슘·초산완충액(pH 6.0) 0.4mL를 50mL 메스플라스크에 넣고 $40\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 수욕조에 10분간 항온시킨다.

시험용액 0.1mL를 정확히 가하고 흔들어서 혼합한 후 수욕조에 방치한다. 정확히 15분 후 알칼리성동용액 1mL를 가하여 잘 혼합하고 밀봉하여 끓는 수욕조에서 정확히 20분간 가열한 다음 즉시 식혀준다.

이 액에 비소·몰리브덴산암모늄용액 1mL를 가하여 아산화동의 적색침전이 완전히 용해될 때까지 잘 흔들어서 섞어주고 실온에서 20분간 방치한 다음 물을 가하여 25mL로 하고 물을 대조액으로 하여 액층 1cm, 파장 520nm에서 흡광도(A_S)를 측정한다. 따로 효소공시험용으로 기질 0.5mL와 염화칼슘·초산완충액(pH 6.0) 0.4mL를 혼합한 액에 알칼리성동용액 1mL를 가하여 잘 혼합한 후 시험용액 0.1mL를 가해주고 시험용액과 동일한 조작을 하여 흡광도(A_B)를 측정한다.

검량선의 작성 : 미리 105°C 에서 6시간 건조한 포도당 1.0g을 정밀히 달아 물을 가하여 100mL로 한다. 이 액을 1.0mL, 2.0mL, 3.0mL, 4.0mL, 5.0mL를 각각 취하여 물을 가하여 100mL씩으로 한다. 이 액 1mL는 0.1mg, 0.2mg, 0.3mg, 0.4mg, 0.5mg의 포도당을 함유한다. 각 포도당 표준용액 1mL를 50mL 네슬러관에 넣고 알칼리성동용액 1mL를 가하여

잘 혼합하고 밀봉하여 끓는 수욕조에서 정확히 20분간 가열한 다음 즉시 식혀 준다. 각 액에 비소·몰리브덴산암모늄용액 1mL를 각각 가하여 아산화동의 적색침전이 완전히 용해될 때까지 잘 흔들어 섞어 주고 실온에서 20분간 방치한 후 물을 가하여 25mL로 한다. 이것을 물을 대조액으로 하여 액층 1cm, 파장 520nm에서 흡광도를 측정하고 포도당 양(mg)에 대한 흡광도로 검량선을 작성한다.

다음의 계산식에 따라 효소제의 역가를 구한다.

$$\text{역가(units/g)} = (A_S - A_B) \times F \times \frac{1}{15} \times \frac{1.0}{0.1} \times \frac{1}{0.180} \times \frac{N}{W}$$

F : 흡광도차가 1.0일 때의 포도당 양(mg)으로 검량선에서 구함

15 : 반응시간(분)

0.1 : 시험용액의 양(mL)

0.180 : 포도당 1 μ mol에 대한 계수(포도당 1 μ mol = 0.180mg)

N : 시험용액의 희석용량(mL)

W : 검체의 채취량(g)

역가의 정의 : 1 Maltotriohydrolase unit는 상기시험조건 하에서 분당 1 μ mol의 포도당에 상당하는 환원당을 생성하는 효소의 양이다.

시 액

기질용액 : 가용성 전분 1.0g을 달아 물 10mL에 분산시켜 끓는 물 50mL에 서서히 가하고 저으면서 5분간 끓여 식힌 다음 물을 가하여 100mL로 한다.

염화칼슘·초산완충액(pH 6.0) : 무수 염화칼슘 5mM을 함유하는 0.1M 초산용액과 무수 염화칼슘 5mM을 함유하는 0.1M 초산나트륨 용액을 조제한다. 이 두 액을 혼합하여 pH 6.0으로 조절한다.

알칼리성용액 : 무수황산나트륨 200g, 무수탄산나트륨 25g, 탄산수소나트륨 20 g, 주석산칼륨나트륨 25g을 물에 녹이고 1,000mL로 한다.

동용액 : 황산동 30g을 150mL 물에 녹이고, 황산을 4방울 떨어뜨린 후 물을 가하여 200mL로 한다.

알칼리성동용액 : 알칼리성용액 25mL와 동용액 1mL를 혼합하여 조제한다. 사용 시 조제한다.

비소·몰리브덴산암모늄 용액 : 비산수소이나트륨(7수화물) 3g에 물 25mL를 가하여 녹인다. 몰리브덴산암모늄(4수화물) 25g을 물 450mL에 녹인 다음 황산 21mL를 가해준다. 비산수소이나트륨용액을 몰리브덴산암모늄용액에 교반하면서 천천히 가하여 혼합해 주고 37℃에서 24시간 방치한 다음 갈색병에 넣고 사용한다.

보존기준

냉암소에서 밀봉 보존하여야 한다.