

알파갈락토시다아제

α -Galactosidase

정 의 이 품목은 *Aspergillus niger*의 배양물에서 얻어진 효소이다. 다만, 역가조정, 품질보존 등을 위하여 희석제, 안정제 등을 첨가할 수 있다.

이 품목은 당류의 비환원 말단의 α -D-갈락토시드 결합을 가수분해한다.

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 살모넬라균시험법에 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)

분석원리 : 본 역가시험은 온도 37°C, pH 5.5에서 p-nitrophenyl- α -D-galactopyranoside 기질의 15분간의 가수분해에 근거를 두고 있다.

시험용액의 조제 : 검체를 물에 녹여 최종 희석액 1mL가 0.001~0.003 galactosidase unit를 함유하도록 시험용액을 조제한다.

시험조작 : 20×150mm 마개가 있는 시험관 몇 개를 일조로 하여 기질 용액 2.0mL씩을 취하여 37±0.2°C의 수욕조에서 15분 이상 유지하여 온도를 평형시킨다. 기질용액과 동일한 조건에서 효소시험용액 1.0mL씩을 정확히 취하여 가하고 흔들어 혼합한다. 정확히 15분 후 붕산나트륨 완충액(pH 9.7) 5.0mL을 각 시험관에 가하고 흔들어 혼합한 후 물을 대조액으로 하여 405nm에서 흡광도(A_S)를 측정한다. 따로 효소공시험으로 효소시험용액 1mL씩을 차례로 취하여 붕산나트륨완충액(pH 9.7) 5.0mL을 가하고 흔들어 혼합한 다음 기질용액 2.0mL을 각 시험관에 가하여 혼합한 다음 효소시험용액과 동일하게 조작하여 파장 405nm에서 흡광도(A_B)를 측정한다. 다음의 계산식에 따라 효소제의 역가를 구한다.

$$\text{역가(GALU/g)} = \frac{(A_S - A_B) \times F}{\epsilon \times T \times M}$$

A_S : 시험용액의 흡광도

A_B : 대조액의 흡광도

F : 시험용액의 희석배수

T : 반응 시간(min)

M : 시험용액 1mL에 함유된 검체의 량(g)

ϵ : 표준 4-니트로페놀용액에 따라 측정된 흡광계수

역가의 정의 : 1 α -Galactosidase unit(GALU)는 상기시험조건 하에

서 분당 $1\mu\text{mol}$ 의 p-니트로페놀을 유리시키는 효소의 양이다.

시 액

초산염완충액(pH 5.5)

A액 : 11.55mL의 빙초산을 물에 녹여 1,000mL로 한다.

B액 : 초산나트륨 16.4g을 물에 녹여 1,000mL로 한다.

A액 7.5mL와 B액 42.5mL을 혼합하고 A액 또는 B액을 사용하여 pH 5.5로 조절하고 물을 가하여 전량을 1,000mL로 한다.

기질용액 : p-니트로페닐-알파-D-갈락토피라노사이드(p-nitrophenyl- α -D-galactopyranoside) 0.0383g을 초산염완충액에 혼합하고 희석시켜 100mL로 한다.

붕산나트륨완충액 : 붕산나트륨 47.63g을 미지근한 물에 용해시키고 실온으로 식힌 다음 4N 수산화나트륨 20mL을 가한다. pH 농도를 4N 수산화나트륨으로 9.7까지 조절한 후 희석시켜 2,000mL로 한다.

4-니트로페놀표준원액 : 미리 건조시킨 4-니트로페놀 68.83mg을 정밀히 달아 물에 녹여 1,000mL로 한다. 이 용액 1mL에는 $0.5\mu\text{mol}$ 의 니트로페놀을 함유한다.

표준 4-니트로페놀용액 : 세 개의 시험관에 4-니트로페놀 표준원액을 각각 4mL, 8mL 및 16mL을 취하여 물을 가하여 50mL로 정용한다. 이들 희석액은 1mL당 4-니트로페놀이 각각 0.04, 0.08 및 $0.16\mu\text{mol}$ 을 함유한다. 시험관 5개를 일조로 하여 기질용액 2.0mL씩을 취하여 각각 다섯 개의 시험관에 가한 다음 여기에 표준 4-니트로페놀용액

1mL씩을 네 개의 시험관에 차례로 가하고, 다섯째 시험관에는 표준 원액 대신 물 1.0mL을 가한다. 다시 각각의 시험관에 붕산나트륨 완충액 각각 5.0mL씩을 가한 뒤 흔들어 혼합한 다음 이들 용액에 대해 물을 대조액으로 하여 액층 1cm, 파장 405nm에서 각각의 흡광도를 측정하고 4-니트로페놀 μmol 수에 대한 검량선을 작성한다. 각 희석액의 흡광도를 4-니트로페놀 농도($\mu\text{mol/mL}$)로 나누어 표준 4-니트로페놀용액의 평균 흡광계수(ϵ)를 구한다.

$$\epsilon = A_N/C$$

A_N : 4-니트로페놀 표준용액의 흡광도

C : 4-니트로페놀의 농도($\mu\text{mol/mL}$)

흡광계수 값은 2.29 근사치가 얻어져야 한다.

보존기준

냉암소에서 밀봉 보존하여야 한다.