

우레아제

Urease

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

이 품목은 우레아를 가수분해하여 이산화탄소와 암모니아를 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 미생물시험법 중 대장균군에 따라 시험할 때, 제품 1g당 30 이하이어야 한다.

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

(5) 대장균 : 이 품목 25g을 취하여 「식품의 기준 및 규격」 일반시험법의 미생물시험법 중 대장균에 따라 시험할 때, 음성(-)이어야 한다.

활성시험법(역가)

분석원리 : 본 역가시험은 pH 4.0, 온도 37℃에서 요소 기질에 우레아제를 작용시켜 생성된 암모니아를 페놀-니트로프루시드(phenol-nitroprusside) 용액 및 알칼리성차아염소산나트륨(alkaline sodium hypochlorite) 용액과 반응시켜 흡광도측정법으로 측정하는데 근거를 두고 있다.

시험용액의 조제 : 검체를 물에 녹여 최종희석액 1mL가 0.1~0.4 unit 을 함유하도록 시험용액을 조제한다.

시험조작 : 효소시험용 시험관에 시험용액 0.5mL 및 0.1M 초산완충액 (pH 4.0, 20% 에탄올 함유) 2.5mL을 넣고 37±0.5℃에서 5분간 정치한 후, 미리 37±0.5℃에서 가온한 기질용액 1.0mL을 가하여 즉시 섞는다. 이 용액을 37±0.5℃에서 30분간 반응시킨 다음 10% 삼염화초산용액 4mL을 가하여 반응을 정지시킨다(효소시험용액). 따로, 효소공시험용 시험관에 시험용액 0.5mL 및 0.1M 초산완충액(pH 4.0, 20% 에탄올 함유) 2.5mL을 넣고 37±0.5℃에서 35분간 정치한 후, 10% 삼염화초산용액 4mL을 가하여 섞은 용액에 기질용액 1.0mL을 가한다(효소공시험용액). 효소시험용액 또는 효소공시험용액을 각각 2mL 취하고 물을 가하여 20mL로 한다. (다만, 시료가 불용성인 경우 효소시험용액 또는 효소공시험용액을 5,000rpm이상에서 5분간 원

심분리를 한 후, 상등액 2mL을 사용한다.) 10배 희석된 상기 용액에서 각각 4mL을 취한 후, 페놀-니트로프루시드용액 2mL을 가한 후 알칼리성차아염소산나트륨용액 2mL을 가하여 37±0.5℃에서 30분간 반응시킨다. 물을 사용한 것을 대조액으로 하여 파장 640nm에서 각각의 흡광도를 구한다.

검량선의 작성 : 황산암모늄표준용액(0~100µg/mL) 2mL, 10% 삼염화초산용액 1mL, 0.1M 초산완충액(pH 4.0, 20% 에탄올 함유)을 0.625mL를 취한 후 물을 가하여 20mL로 한 용액을 10배 희석된 상기 용액의 반응조건과 동일한 조작을 행한다. 황산암모늄표준용액 2mL 대신에 물 2mL을 사용한 것을 대조액으로 하여 각각의 흡광도를 측정하고 암모니아의 농도(µg/mL)에 대한 검량선을 작성한다.

다음의 계산식에 따라 효소제의 역가를 구한다.

$$\text{역가 (units/g 또는 units/mL)} = (A \times 8.0) / (17.03 \times 30 \times 0.5 \times W)$$

A : 검량선에서 얻어진 효소시험용액과 효소공시험용액의 암모니아 농도(µg/mL)의 차

8.0 : 최종 반응액의 양 (mL)

17.03 : 암모니아의 분자량

30 : 반응시간(분)

0.5 : 반응에 사용된 시험용액의 양(mL)

W : 시험용액 1mL에 함유된 검체의 양(g 또는 mL)

역가의 정의 : 1 Urease unit은 상기시험조건 하에서 분당 1 μ mol의 암모니아를 생성하는 효소의 양이다.

시 액

기질용액 : 요소 0.60g을 물에 녹여 100mL로 한다.

0.1M 초산완충액(pH 4.0, 20% 에탄올 함유)

제1액 : 초산 6.01g을 20% 에탄올을 함유하는 물에 녹여 1,000mL로 한다.

제2액 : 초산나트륨삼수화물 13.61g을 20% 에탄올을 함유하는 물에 녹여 1,000mL 로 한다.

제1액과 제2액을 혼합하여 pH 4.0으로 조정한다.

10% 삼염화초산용액 : 100g의 삼염화초산에 물을 가하여 1,000mL로 한다.

페놀-니트로프루시드(phenol-nitroprusside) 용액 : 페놀 5g, 니트로프루시드나 트롬 0.025g을 물에 녹여 500mL로 한다. 냉암소에 보관한다.

알칼리성차아염소산나트륨용액 : 수산화나트륨 5.0g 및 차아염소산
나트륨용액(시판시약, 유효염소농도 약 5%) 7.5mL을 물에 녹여
500mL로 한다. 사용 시 조제한다.

보존기준 냉암소에서 밀봉 보존하여야 한다.