

탄나아제

Tannase

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

이 품목은 탄닌류의 뎀사이드(depside) 결합을 가수분해하여 몰식자산을 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 미생물시

험법 중 대장균에 따라 시험할 때, 음성(-)이어야 한다.

활성시험법(역가)

분석원리 : 본 역가시험은 온도 30℃에서 탄닌산 기질의 데프사이드(depside) 결합의 가수분해에 근거를 두고 있다. 흡광광도계를 이용하여 310nm에서 흡광도 차를 측정한다.

시험용액의 조제 : 최종 희석액 1mL가 1 Tanase unit를 함유하도록 검체 일정량을 취하여 즉시 저온(5±3℃) 상태의 50mM 구연산 완충액(pH 5.5)을 가하여 시험용액을 조제한다.

시험조작 : 25×150mm 시험관에 기질용액 4mL을 넣고 30℃의 수욕조에서 10분간 항온시킨다. 이에 시험용액 1mL를 정확히 가하고 흔들어 혼합한 후 다시 수욕조에서 반응을 시킨다(반응개시). 시험관을 반응액 A용과 반응액 B용으로 하여, 시험관 A에는 반응개시로부터 정확히 10분 후에 반응액 1mL를 정확히 취한 다음, 이에 80% 에탄올용액 9mL를 넣고 격렬히 흔들어 반응을 정지시킨다. 이 반응액을 A액이라고 한다. 또 시험관 B에는 반응개시로부터 정확히 20분 후 반응액 1mL를 정확히 취한 다음 이에 80% 에탄올용액 9mL를 넣고 혼합하여 반응을 정지시킨다. 이 반응액을 B액이라고 한다. A액 및 B액을 각각 다시 80% 에탄올용액으로 10배 희석시킨 다음 효소시험용액 A, B로 한다. 효소시험용액 A 및 B액을 각각 80% 에탄올용액을 대조액으로 하여 액층 1cm, 파장 310nm에서의 흡광도 a 및 b를 측정한다.

다음의 계산식에 따라 효소제의 역가를 구한다.

$$\text{역가(units/g)} = \frac{(a - b) \times 20.3 \times 4}{10 \times 0.71 \times C}$$

- 20.3 : 기질용액 1.0mL에 함유된 탄닌산의 마이크로몰수(μmol)
 4 : 반응에 사용된 기질용액(mL)
 10 : 최종반응시간과 최초반응시간의 차이(min)
 0.71 : 상기시험조건 하에서 탄닌산 20.3 μmol 을 완전히 가수분해했을 때의 흡광도 변화
 C : 시험용액 1mL중에 함유된 검체의 양(g)
 a : 효소시험용액 A의 흡광도
 b : 효소시험용액 B의 흡광도
 [단, (a - b)의 값은 0.09~0.11 범위에 들어가야 한다.]

역가의 정의 : 1 Tannase unit는 상기시험조건 하에서 분당 뎀시드 (depside) 결합된 기질 탄닌산 1 μmol 을 가수분해 시키는 효소의 양이다.

시 액

50mM 구연산완충액(pH 5.5)

A 액 : 구연산 10.5g을 물에 녹여 1,000mL로 한다.

B 액 : 구연산나트륨(2수염) 14.7g을 물에 녹여 1,000mL로 한다.

A 액 138mL와 B 액 500mL를 섞고 양액을 사용하여 pH 5.5로 한다.

기질용액 : 탄닌산(Sigma-Aldrich USP Grade 또는 이와 동등한 것) 0.32g을 달아 50mM 구연산완충액(pH 5.5) 10mL에 가하여 가온교반하면서 녹인 다음 50mM 구연산완충액(pH 5.5)을 가하여 100mL로 한다.

보존기준

냉암소에서 밀봉 보존하여야 한다.