

글루타미나아제

Glutaminase

정 의 이 품목은 *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Aspergillus*속 및 *Candida*속의 배양물에서 얻어진 효소이다. 다만, 역가조정, 품질보존 등을 위하여 희석제, 안정제 등을 첨가할 수 있다. 이 품목은 L-글루타민에 작용하여 아미드기를 가수분해하여 L-글루탐산과 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 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 pH 6.0, 온도 37°C에서 L-γ-glutamyl-p-nitroanilide를 기질로 10분간 가수분해에 근거를 두고 있다. 생성된 p-nitroaniline을 흡광도측정법으로 측정한다.

시험용액의 조제 : 검체를 희석용액에 녹여 다음의 시험방법에 따라 시험할 때 흡광도차(As-Ab)가 0.3~1.0의 범위가 되도록 시험용액을 조제한다.

검량선의 작성 : p-니트로아닐린 0.0414g을 초산 6g에 용해하고 1M 초산·초산나트륨완충액(pH 6.0) 10mL를 가한 다음 물을 가하여 100mL로 한다. 이 용액은 1mL당 3μmol의 p-니트로아닐린을 함유한다. 이 용액을 1.1M 초산·초산나트륨완충액을 사용하여 1mL당 0.025, 0.05, 0.075, 0.1, 0.125μmol을 함유하도록 희석한다. 5개의 용액을 1.1M 초산·초산나트륨완충액을 대조액으로 하여 액층 1cm, 파장 410nm 에서 흡광도를 측정한다. 흡광도의 차 1.000에 대한 p-니트로아닐린의 농도(F, μmol/mL)를 구한다.

시험조작 : 20×150mm 시험관을 효소시험용 및 효소공시험용으로 하여 각각에 기질용액 4mL씩을 가한다. 시험관을 37±0.2°C의 수욕조에서 5분간 항온시킨다. 효소시험용에는 시험용액 0.5mL를 정확히 취하여 재빨리 가하고 흔들어서 수욕조에 다시 방치한다. 정확히 10분후에

10M 초산 0.5mL를 가하여 효소의 작용을 정지시킨다. 효소공시험용 시험관에는 10M 초산 0.5mL를 가하여 흔들여 준 다음 시험용액 0.5mL의 순으로 가하여 진탕혼합한 다음 수욕조에서 10분간 가온한다. 효소공시험을 대조액으로 하여 액층 1cm, 파장 410nm에서 효소시험용액(As) 및 효소공시험용액(Ab)의 흡광도를 측정한다.

다음 계산식에 따라 효소제의 역가를 측정한다.

$$\text{역가(GSU/g)} = (A_s - A_b) \times F \times D$$

F : 검량선에서 얻어진 흡광도 차가 1.000일 때의 p-nitroaniline 농도 ($\mu\text{mol/mL}$)

D : 검체의 희석배수

역가의 정의 : 1 Glutaminase unit(GSU)는 상기시험조건 하에서 1 분간에 $1\mu\text{mol}$ 의 p-니트로아닐린을 유리시키는 효소의 양이다.

시 액

기질용액 : L- γ -glutamyl-p-nitroanilide \cdot H₂O 0.0285g을 달아 2N 염산 0.2mL에 용해하고 물 약 70mL를 가한다. 이 용액에 1M 초산 \cdot 초산나트륨완충액(pH 6.0) 10mL에 2N 수산화나트륨용액 0.2mL를 가한 액을 넣은 다음 물을 가하여 100mL로 한다. 이 용액은 사용 시 조제한다.

2N 염산 : 염산 16.7mL에 물을 가하여 용해한 다음 100mL로 한다.

2N 수산화나트륨용액 : 수산화나트륨 8g에 물을 가하여 녹이고 100mL로 한다.

1M 초산 : 초산 60g에 물을 가하여 1,000mL로 한다.

1M 초산나트륨용액 : 초산나트륨(3수화물) 136g을 물에 용해한 다음 전량을 1,000mL로 한다.

1M 초산·초산나트륨완충액(pH 6.0) : 1M 초산나트륨용액에 1M 초산을 가하여 pH 6.0으로 조정한다.

1.1M 초산·초산나트륨완충액 : 초산 60g 및 1M 초산·초산나트륨완충액(pH 6.0) 100mL에 물을 가하여 1,000mL로 한다.

10% TRITON X-100 용액 : TRITON X-100 10g에 물 약 70mL를 가하여 가운시켜 용해한 다음 냉각 후 물을 가하여 100mL로 한다.

희석용액 : 염화나트륨(NaCl) 5.84g을 물로 용해한 다음 1M 초산·초산나트륨완충액(pH 6.0) 100mL 및 10% TRITON X-100 1mL를 넣은 다음 물을 가하여 1,000mL로 한다.

보존기준

냉암소에서 밀봉 보존하여야 한다.