

α-아밀라아제

α-Amylase

정의 이 품목에는 α-아밀라아제(비세균성), α-아밀라아제(세균성)이 있다. 각각의 정의는 다음과 같다.

α-아밀라아제(비세균성) : *Aspergillus niger* 및 그 변종, *Aspergillus oryzae* 및 그 변종, *Rhizopus oryzae* 및 그 변종의 배양물, 맥아에서 얻어진 효소제이다. 다만, 역가조정, 품질보존 등을 위하여 희석제, 안정제 등을 첨가할 수 있다.

α-아밀라아제(세균성) : *Bacillus subtilis* 및 그 변종, *Bacillus licheniformis* 및 그 변종, *Bacillus amyloliquefaciens* 및 그 변종, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus stearothermophilus*의 아밀라아제 유전자를 삽입한 *Bacillus licheniformis*의 배양물에서 얻어진 효소제이다. 다만, 역가조정, 품질보존 등을 위하여 희석제, 안정제 등을 첨가할 수 있다.

이 품목은 전분 등의 α-1,4 글루코시드 결합을 endo형으로 가수분해하여 텍스트린, 올리고당 및 단당류를 생성한다.

가. α-아밀라아제(비세균성) [α-Amylase, Nonbacterial]

성상 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 살모넬라에 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 $30\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 에서 일정농도의 전분용액의 표준가수분해 정도를 얻는데 요하는 시간을 측정하는데 근거를 두고 있다. 가수분해의 정도는 가수분해물의 요오드색을 표준색과 비교하여 측정한다.

시험용액의 조제 : 시험조건하에서 최종희석액 5mL의 종말점이 10~30분 되도록 시험용액을 조제한다. 맥아의 경우는 분쇄기로 같은 미세한 분말 25.0g을 1,000mL 삼각플라스크에 취하여 0.5% 염화나트륨용액 500mL를 가하여 $30\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ 에서 20분에 1회씩 내용물을 저으면서 2.5시간 침출시킨다(주의 : 거꾸로 흔들지 말 것이며 기벽에 내용물이 최

소만으로 묻게 하여야 한다). 침출 후 직경 32cm의 왓트만 No.1 또는 동종의 여지로 지름 20cm 크기의 깔때기를 사용하여 여과하고 초류액 50mL는 원액에 합하여 다시 여과한다. 여과는 시료와 염화나트륨용액을 혼합한 시간으로부터 3시간 경과하는 지점까지 실시하며, 여액 20.0mL에 0.5% 염화나트륨용액을 가하여 100mL로 한 것을 시험용액으로 한다.

시험조작 : 13×100mm시험관 20개를 1조로 하여 요오드시액 5mL씩을 취하여 각 시험관에 넣고 30±0.1℃의 수욕조에 항온시킨다. 미리 수욕조에서 20분간 처리한 기질용액 20mL를 50mL 삼각플라스크에 넣고 동 수욕조에서 미리 20분간 처리한 0.5% 염화나트륨용액 5mL를 취하여 항온시킨 기질용액에 넣고 이를 즉시 마개를 하여 혼합하고 수욕조에 유지시킨다. 시험시작시간에서 시험용액 5mL를 가하여 수욕조에서 유지시킨다. 10분 후 50mL 삼각플라스크내의 반응혼액 1mL를 요오드시액이 든 시험관에 취하여 잘 흔들어 내용물을 비색계에서 얻은 표준색과 즉시 비교한다. 비색관 뒤에는 물이 든 튜브를 사용한다(주 : 반응액을 취하는 피펫의 끝이 요오드시액에 닿지 않도록 한다. 요오드시액이 반응액에 들어가면 반응의 결과에 영향을 미침). 동일한 방법으로 일정하고 정확한 시간의 간격으로 반복 비교실험을 하여 표준색과 동일하게 될 때까지 행한다. 취하는 매시간을 기록한다.

(※ 참조 : 30초 간격의 시험에서 앞의 것은 표준색보다 짙고 후의 것은 옅은 경우 가까운 색쪽의 시간에 15초를 가산하여 종말점으로 한

다. 13mm비색관은 관측 후마다 흔들어 준다. 관측자에 따라 색의 판정에 있어 차이는, 프리즘부착물을 사용하고 관측자의 눈에서 15~25cm 떨어져 관측할 때 최소한으로 할 수 있다.)

다음 계산식에 따라 효소제의 역가를 구한다.

$$DU(\text{solution}) = \frac{24}{W \times T}$$

$$\text{역가}[DU(\text{건조물로서})] = DU(\text{solution}) \times \frac{100}{100 - M}$$

W : 시험용액 5mL에 함유된 효소의 양(g)

T : 텍스트린화 시간(분)

24 : 전분기질무게(0.4g)와 60분간의 계산값

M : 검체의 수분함량(%)

역가의 정의 : 1 α -Amylase dextrinizing unit(DU)는 충분한 양의 β -아밀라아제(β -Amylase) 존재하에 30°C에서 1시간에 1g의 비율로 가용성전분을 텍스트린화하는 효소의 양이다.

장 치

대조표준색 : α -아밀라아제색관을 사용한다. 또는 염화코발트($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 25g과 중크롬산칼륨 3.84g을 0.01N 염산에 녹여 100mL로 한 것을 사용한다(마개를 해두면 장기간 안정함).

비색계(Comparator) : 표준 Hellige 비색계 또는 Pocket 비색계를 프리즘 부착물과 함께 사용한다. 비색계의 젓빛유리 뒷쪽 6인치 떨어진 곳에서 100W 젓빛전등으로 비색계가 비추어지도록 하며 전등의 위치는 실험자의 눈에 직광이 비치지 않도록 해야 한다.

비색관(Comparator tubes) : 13mm 관측층의 각관 또는 이와 동등한 제품을 사용한다.

시 액

초산염완충액(pH 4.8) : 초산나트륨(무수) 164g을 물 500mL에 녹이고 빙초산 120mL를 가한 후 빙초산으로 pH 4.8로 한다. 물을 가하여 1,000mL로 하고 잘 혼합한다.

β -아밀라아제(β -Amylase)용액 : α -아밀라아제(α -Amylase)를 함유하지 않는 2,000 DP°의 β -아밀라아제(β -Amylase) 250mg을 물 5mL에 녹인다(※ 주 : 효소는 냉장 보존되어야 하며 마개를 열기 전에 상온으로 하여 수분의 응축을 방지하도록 한다).

전분 : 가용성전분(Lintner) 또는 이와 동등한 것을 사용한다. 새로운 Lot의 것을 사용하기 전에 먼저의 것과 동일한 것인지를 확인하고 사용한다. 편차가 Diastatic power $\pm 3^\circ$ 이상은 사용할 수 없다.

기질용액 : 전분(건조물로서) 10.0g을 찬물 100mL에 분산시켜 끓는 물 300mL에 천천히 가하고 저으면서 1~2분간 끓여 식힌 다음 500mL 메스플라스크에 옮기고 초산염완충액 25mL를 가한 후 β -아밀라아제용액 전량을 가해준다. 다시 이를 톨루엔으로 포화시킨 물을 가하여 500mL로 한 다음 $30 \pm 2^\circ\text{C}$ 에서 18~72시간 방치한 후 사용한다.

요오드원액 : 요오드 5.5g과 요오드칼륨 11.0g을 물 200mL에 녹여 물로 250mL로 한다. 암소에 보존하고 30일마다 새로 조제한다.

요오드시액 : 요오드칼륨 20g을 물 300mL에 녹이고 요오드원액 2.0mL를 가하여 물로 500mL로 한다.

보존기준

냉암소에서 밀봉 보존하여야 한다.

나. α -아밀라아제(세균성) [α -Amylase, Bacterial]

성상 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 살모넬라에 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 $30\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 에서 일정농도의 전분용액의 표준가수분해정도를 얻는데 요하는 시간에 근거를 두고 있다. 가수분해의 정도는 표준색과 가수분해물의 요오드색과 비교하여 측정한다(본 시험방법은 β -아밀라아제를 함유하는 효소제에는 적용할 수 없다).

시험용액의 조제 : 시험조건하에서 최종희석액 10mL의 종말점이 15~35분 되도록 시험용액을 조제한다.

시험조작 : α -아밀라아제(비세균성) 시험조작에 따라 시험한다. 다만, 염화나트륨용액은 가하지 아니하고 시험용액은 10mL를 가한다.

다음 계산식에 따라 효소제의 역가를 구한다.

$$\text{역가(BAU/g)} = 40F/T$$

F : 희석배수(총 희석량/검체의 채취량(g))

T : 덱스트린화 시간(분)

40 : Factor(400/10)로서 2% 기질용액 20mL의 전분량 400mg과 사용된 시험용액 10mL의 양에서 산출된 수치임.

역가의 정의 : 1 Bacterial amylase unit(BAU)는 상기시험조건 하에서 분당 전분 1mg을 덱스트린화하는 효소의 양이다.

장 치

대조표준색, 비색계(Comparator), 비색관(Comparator Tubes)은 α -아밀라아제(비세균성)에 따라 사용하되 광원은 일광 또는 일광형의 형광램프를 사용한다.

시 액

인산염완충액(pH 6.6)

A 액 : 인산일칼륨(무수) 9.1g을 충분한 양의 물에 녹여 1,000mL로 한다.

B 액 : 인산이나트륨(무수) 9.5g을 물에 녹여 1,000mL로 한다.

A 액 400mL를 B 액 600mL에 혼합하여, 필요하면 A 액 또는 B 액을 사용하여 pH를 6.6으로 조절한다.

요오드시액 : α -아밀라아제(비세균성)에 따라 조제한다.

전분 : α -아밀라아제(비세균성)에 따라 사용한다.

기질용액 : 전분(건조물로서) 10g을 찬물 100mL에 분산시켜 끓는 물 300mL에 천천히 가하고 저으면서 1~2분간 끓여 식힌다. 500mL 메스플라스크에 옮기고 인산염완충액(pH 6.6) 10mL를 가하고 물로 전량을 500mL로 한다.

보존기준

냉암소에서 밀봉 보존하여야 한다.