

엑소말토테트라히드로라아제

Exo-maltotetrahydrolase

G4생성효소

1,4- α -D-Glucan Maltotetrahydrolase

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

이 품목은 전분의 비환원 말단부터 가수분해하여 말토테트라오스를 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 미생물 시험법 중 대장균에 따라 시험할 때, 음성(-)이어야 한다.

활성시험법(역가)

시험용액의 조제 : 검체 일정량을 취하여 1mL당 0.5~0.9 Unit를 함유하도록 염화칼슘·초산완충액(pH 6.0)으로 희석한다.

시험조작 : 기질용액 0.5mL와 염화칼슘·초산완충액(pH 6.0) 0.4mL를 25mL 메스플라스크에 넣고 $40\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 의 수욕조에 15분간 항온시킨다.

시험용액 0.1mL를 정확히 가하고 흔들어서 혼합한 후 수욕조에 방치한다.

정확히 15분 후 알칼리성동용액 2mL를 가하여 잘 혼합하고 밀봉하여

끓는 수욕조에서 정확히 20분간 가열한 다음 즉시 식혀준다. 이 액에

비소·몰리브덴산암모늄용액 2mL를 가하여 아산화동의 적색침전이 완

전히 용해될 때까지 잘 흔들어서 섞어주고 실온에서 20분간 방치한 다음

물을 가하여 25mL로 하고 물을 대조액으로 하여 액층 1cm, 파장

520nm에서 흡광도(A_s)를 측정한다. 따로 효소공시험용으로 기질

0.5mL와 염화칼슘·초산완충액(pH 6.0) 0.4mL를 혼합한 액에 알칼리성

동용액 2mL를 가하여 잘 혼합한 다음 시험용액 0.1mL를 가해주고 시

험용액과 동일조작하여 흡광도(A_B)를 측정한다.

검량선의 작성 : 미리 105°C 에서 6시간 건조한 포도당 1.0g을 정밀히

달아 물을 가하여 100mL로 한다. 이 액을 1.0mL, 2.0mL, 3.0mL 및

4.0mL를 각각 취하여 물을 가하여 100mL씩으로 한다. 이 액 1mL는

100 μ g, 200 μ g, 300 μ g 및 400 μ g의 포도당을 함유한다. 각 포도당표준용액 1mL를 25mL 메스플라스크에 넣고 알칼리성동용액 2mL를 가하여 잘 혼합하고 밀봉하여 끓는 수욕조에서 정확히 20분간 가열한 다음 즉시 식혀 준다. 각 액에 비소·몰리브덴산암모늄용액 2mL를 각각 가하여 아산화동의 적색침전이 완전히 용해될 때까지 잘 흔들어 섞어주고 실온에서 20분간 방치한 다음 물을 가하여 25mL로 한다. 따로, 표준용액대신 물을 사용하여 동일조작한 액을 대조액으로 하여 액층 1cm, 파장 520nm에서 흡광도를 측정하고 포도당 양(μ g)에 대한 흡광도로 검량선을 작성한다.

다음의 계산식에 따라 효소제의 역가를 구한다.

$$\text{역가(units/g)} = \{(A_s - A_B)\} \times F \times \frac{1}{15} \times \frac{1.0}{0.1} \times \frac{1}{180} \times \frac{N}{W}$$

F : 흡광도차가 1.0일 때의 포도당 양(μ g)으로 검량선에서 구함

15 : 반응시간(분)

180 : 포도당 분자량

N : 시험용액의 희석배수

W : 검체의 채취량(g)

역가의 정의 : 1 Exomaltotetrahydrolase unit는 상기사험조건 하에서 분당 1 μ mol의 포도당에 상당하는 환원당을 생성하는 효소의 양이다.

시 액

기질용액 : 가용성전분(Lintner) 1.0g을 달아 물 50mL에 분산시켜 끓는물 50mL에 천천히 가하고 저으면서 1~2분간 끓여 식힌 다음 물을 가하여 10mL로 한다.

알칼리성동용액 : 무수탄산나트륨 24.0g과 주석산칼륨나트륨 12.0g에 물 200mL를 가하여서 녹인다. 따로, 황산동 4.0g에 물 50mL를 가하여 녹인 액에 탄산수소나트륨 18.0g 및 물 150mL를 가하여 가열용해하고 냉각시킨 액을 앞의 액에 가하여 합한 다음 물을 가하여 1,000mL로 한다. 이 액을 10분간 끓인 후 1주간 방치하고 유리여과기로 여과한다.

비소·몰리브덴산암모늄용액 : 비산수소이나트륨(7수화물) 3g에 물 25mL를 가하여 녹인다. 몰리브덴산암모늄(4수화물) 25g을 물 450mL에 녹인 다음 황산 21mL를 가해준다. 비산수소이나트륨용액을 몰리브덴산암모늄용액에 교반하면서 천천히 가하여 혼합해 주고 37°C에서 24시간 방치한 다음 갈색병에 넣고 사용한다.

염화칼슘·초산완충액(pH 6.0) : 5mM 염화칼슘을 함유하는 0.1M 초산용액과 5mM 염화칼슘을 함유하는 0.1M 초산나트륨용액을 조제한다. 이 두액을 혼합하여 pH 6.0으로 조절한다.

보존기준

냉암소에서 밀봉 보존하여야 한다.