

글루코아밀라아제

Glucoamylase

Amyloglucosidase

아밀로글루코시다아제

정의 이 품목은 *Aspergillus niger* 및 그 변종, *Aspergillus oryzae* 및 그 변종, *Rhizopus oryzae* 및 그 변종, *Talaromyces emersonii*의 글루코아밀라아제 유전자를 삽입한 *Aspergillus niger*의 배양물에서 얻어진 효소제이다. 다만, 역가조정, 품질보존 등을 위하여 희석제, 안정제 등을 첨가할 수 있다.

이 품목은 전분 등의 α-1,4 글루코시드 결합을 비환원 말단에서 포도당 단위로 가수분해한다.

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 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 일정시간, 온도, pH 및 농도 조건하에서 옥수수전분 가수분해물 용액이 분해되어 생성된 환원당으로서 측정하는데 근거를 두고 있다.

시험용액의 조제 : 하기 시험법은 글루코아밀라아제 역가 0.1~0.2unit 를 함유하는 검체의 사용에 기초를 두고 있다. 이 검체의 양은 동 시험 조건 하에서 환원당 0.2~0.4g을 생성하는 양이 되며 이 범위에서 가장 적합한 값이 얻어진다. 액체검체, 고체검체 및 액체농축물은 다음 도표에 따라 조제되고 표시된 일정량이 사용되어야 한다.

액체검체

검체 중의 효소(단위/mL)	희석배율(mL)	취하는 양(mL)	희석배수(F)
0.05이하	—	5.0	0.2
0.06~0.1	—	2.0	0.5
0.11~0.25	—	0.80	1.25
0.3~0.5	—	0.40	2.5
0.6~1.0	—	0.20	5
1.1~2.0	—	0.10	10
2.1~4.0	5.0 → 100	1.00	20
4.1~5.0	4.0 → 100	1.00	25
5.1~7.0	3.0 → 100	1.00	33.3
7.1~10.0	2.0 → 100	1.00	50

고체검체 및 액체농축물

검체 중의 효소(단위/mL)	검체무게(g)**	희석되는 양(mL)	취하는 양(mL)
4이하	10	1,000	5.0
5~10	4	1,000	5.0
11~25	1.6	1,000	5.0
26~50	1.4	1,000	3.0
51~75	1.25	1,000	2.0
76~100	1.00	1,000	2.0
101~150	1.25	1,000	1.0
151~200	1.00	1,000	1.0
201~250	1.50	2,000	1.0
251~300	1.00	2,000	1.0

※ 검체를 정밀히 달아 1,000mL 메스플라스크에 넣고 물로 2/3정도 채우고 상온에서 30분간 방치한다. 방치하는 동안 격렬히 흔들어 주는 조작을 5회 이상 실시한 다음 물로 채운다. 이 용액을 왓트만 No.12 또는 동종의 여지를 사용하여 여과한 여액을 시험용액으로 하여 지시된 일정량을 취한다.

시험조작 : ① 환원당의 생성 : 전분가수분해물용액 50mL와 초산염완충액 5mL를 100mL 메스플라스크에 넣어 시험용액용 플라스크로 한

다. 대조용으로 다른 메스플라스크를 준비하여 시험용액 대신 물을 취하여 시험용액의 경우와 동일하게 취급한다. 플라스크를 60°C 수욕조에 넣어 10분간 방치한다(※주: *Aspergillus oryzae*와 *Rhizopus oryzae*에 의해 생산된 효소는 55°C에서 실시한다). 해당량의 시험용액을 시험용액용 플라스크에 가하고 동시에 시간을 측정한다(여러개의 검체를 분석할 경우는 120분간의 반응시간 후 각각 중화시키는 시간을 고려하여 시험용액 취하는 시간에 간격을 둔다). 내용물을 흔들어서 완벽하게 혼합하고 수욕조에서 120분간 방치한다. 반응시간이 115~118분 지났을 경우 페놀프탈레인시액 3방울을 가하고 정확히 120분이 되면 플라스크를 수욕조에서 꺼내어 빨리 흐르는 뷰렛을 사용하여 2% 수산화나트륨용액으로 중화(약 3~7mL가 소요됨)한 다음 흐르는 물로 상온으로 식히고 물을 가하여 100mL로 한다. 이 액 10mL와 대조액 10mL를 취하여 다음과 같이 환원당량을 측정한다.

② 환원당의 측정(Schoorl Method)

(※ 주 : 본 시험방법은 단백질을 함유하지 않는 용해성물질에서 환원당을 측정하는데 적합한 방법이다. 다만, 상당량의 단백질을 함유하는 검체는 단백질침전제로 처리한 후 실험한다)

펠링시액 A, B 각 10mL씩을 취하여 250mL 삼각플라스크에 넣고 위의 환원당 생성에 따라 얻은 용액 10mL를 정확히 가한다. 대조액도 동일하게 처리한다(※주 : 여러개의 검체를 분석할 경우 시험용액을 일련의 플라스크에 취하여 물을 가하여 30mL로 희석하여 펠링시액 A

를 가하고 펠링시액 B는 가열하기 직전에 가한다). 물을 가하여 50mL로 하고 조용히 흔들어서 내용물을 혼합한다. 유리구 2개를 넣고 조그만 깔때기로 마개를 하고 가열하여 3분 이내에 끓도록 하여 2분간 계속 가열한다. 이어 얼음욕이나 흐르는 냉수에서 빨리 식힌 다음 소량의 물로 깔때기를 씻어내린다. 이에 30% 요오드칼륨용액 10mL, 28% 황산 10mL를 가하고 요오드의 색이 거의 없어질 때까지 0.1N 치오황산나트륨용액으로 재빨리 적정한 다음, 다시 전분시액 1mL를 가하여 0.1N 치오황산나트륨용액을 한 방울씩 가하여 청색이 없어질 때까지 적정한다. 시험용액 적정에 소비된 0.1N 치오황산나트륨용액의 소비 mL수를 S로 하고, 대조액에 소비된 mL수를 C로 한다. 검체에 대해 물 30mL로 대체하여 시약공시험을 두개 행한다. 그 소비 mL수의 평균치를 B로 한다. B에서 S를 빼서 검체에 대해 0.1N 치오황산나트륨용액 소비 mL수로서 표시하여 적정차값을 구하여 얻은 값을 Ts로 한다. B에서 C를 빼서 대조액에 대한 적정차값을 구하고 이를 Tc로 한다(※ 주 : 다음 도표를 참조할 것).

③ 환원당함량 : 적정차값의 환원당량 환산표를 참고로 하여 검체에 대한 적정차값(Ts)에 해당하는 환원당량(mg)을 찾아 그 값을 Ws라 한다. 동일한 방법으로 대조액에 대한 적정차값(Tc)에 대한 환원당량(mg)을 찾아 그 값을 Wc라 한다. 시험용액 취한 양에 의해 생성된 총환원당(포도당)량은 다음 계산식에 따라 구한다.

$$Ds/g = \frac{Ws \times 100}{1,000 \times 10}$$

대조액에 의해 생성된 총환원당(포도당)량은 다음 계산식에 따라 구한다.

$$Dc/g = \frac{Ws \times 100}{1,000 \times 10}$$

다음 계산식에 따라 분석한 액체효소제의 역가를 구한다.

$$\text{역가(units/mL)} = (Ds - Dc) \times \frac{F}{2h}$$

F : 회석배수

고체, 액체농축물 효소역가의 계산

다음 계산식에 따라 분석한 고체, 액체농축물의 역가를 구한다.

$$\text{역가(units/g)} = \frac{(Ds - Dc) \times V}{(G \times A \times 2h)}$$

V : 회석용량(mL)

A : 시험에 사용된 시험용액의 양(mL)

(시험용액의 조제에서 고체검체 및 액체농축물에 대한 표를 참조할 것)

G : 검체의 채취량(g)

역가의 정의 : 1 Glucoamylase unit는 상기시험조건 하에서 1시간
에 환원당으로서 포도당 1g을 생성하는 효소의 양이다.

적정차값의 환원당량 환산표[㉠]

적정차 (mL)	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
환원당량(포도당으로) (mg)										
0.0	0.0	0.3	0.7	1.0	1.3	1.6	1.9	2.2	2.5	2.8
1.0	3.2	3.5	3.8	4.1	4.4	4.7	5.0	5.3	5.6	5.9
2.0	6.4	6.6	6.9	7.2	7.5	7.8	8.1	8.5	8.8	9.1
3.0	9.4	9.8	10.1	10.4	10.7	11.0	11.4	11.7	12.0	12.3
4.0	12.6	13.0	13.3	13.6	14.0	14.3	14.6	15.0	15.3	15.6
5.0	15.9	16.3	16.6	16.9	17.2	17.6	17.9	18.2	18.5	18.9
6.0	19.2	19.5	19.8	20.1	20.5	20.8	21.1	21.4	21.8	22.1
7.0	22.4	22.7	23.0	23.3	23.7	24.0	24.3	24.6	24.9	25.2
8.0	25.6	25.9	26.2	26.6	26.9	27.3	27.6	28.0	28.3	28.6
9.0	28.9	29.3	29.6	30.0	30.3	30.6	31.0	31.3	31.6	31.9
10.0	32.3	32.7	33.0	33.3	33.7	34.0	34.3	34.6	35.0	35.3
11.0	35.7	36.0	36.3	36.7	37.0	37.3	37.6	38.0	38.3	38.7
12.0	39.0	39.3	39.6	40.0	40.3	40.6	41.0	41.3	41.7	42.0
13.0	42.4	42.8	43.1	43.4	43.7	44.1	44.4	44.8	45.2	45.5
14.0	45.8	46.2	46.5	46.9	47.2	47.6	47.3	48.3	48.6	48.9
15.0	49.3	49.6	49.9	50.3	50.7	51.1	51.4	51.7	52.1	52.4
16.0	52.8	53.2	53.5	53.9	54.2	54.5	54.9	55.3	55.6	56.0
17.0	56.3	56.7	57.0	57.3	57.7	58.1	58.4	58.8	59.1	59.5
18.0	59.8	60.1	60.5	60.9	61.2	61.5	61.9	62.3	62.6	63.0
19.0	63.3	63.6	64.0	64.3	64.7	65.0	65.4	65.8	66.1	66.5
20.0	66.9	67.2	67.6	68.0	68.4	68.8	69.1	69.5	69.9	70.3
21.0	70.7	71.1	71.5	71.9	72.2	72.6	73.0	73.4	73.7	74.1
22.0	74.5	74.9	75.3	75.7	76.1	76.5	76.9	77.3	77.7	78.1
23.0	78.5	78.9	79.3	79.7	80.1	80.5	80.9	81.3	81.7	82.1
24.0	82.6	83.0	83.4	83.8	84.2	84.6	85.0	85.4	85.8	86.2
25.0	86.6	87.0	87.4	87.8	88.2	88.6	89.0	89.4	89.8	90.2
26.0	90.7	91.1	91.5	91.9	92.3	92.7	93.1	93.5	93.9	94.3
27.0	94.8									

㉠ 이 도표의 사용은 분석자가 자료가 얻어지는 조건하에 2회의 실험값이 동일하여야 함을 전제로 한다. 오차의 위험은 이미 알고 있는 순수한 포도당의 양(10~70mg 범위의 5개 검체)으로 세심한 중복의 표준화에 의해 피할 수 있다. 포도당 mg에 대한 적정차값의 검량선은 원점을 통과하여 약간 굽은 일직선이 된다. 만약 표준화 곡선이 채택될 경우 치오황산나트륨용액은 표정을 구하지 않아도 된다. 0.065N 치오황산나트륨용액을 사용하므로 공시험적정값을 44~45mL로 증가시켜 더 정확한 결과를 얻을 수 있다.

시 액

전분가수분해물용액(4%) : 포도당당량(Dextrose equivalent, DE)이 15~20인 옥수수시럽 고형물을 건조물로 40g에 상당하는 양을 정밀히 달아 물에 녹여 1,000mL로 한다. 이 용액은 매일 새로 조제하여 사용한다.

초산염완충액 : 빙초산 60g을 달아 물을 가하여 1,000mL로 한 다음, 초산나트륨($\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) 136g을 녹여 1,000mL로 한 액으로 pH 4.2로 조절한다(*Aspergillus oryzae*와 *Rhizopus oryzae*에 의해 생산된 효소제는 pH 5.0으로 한다).

펠링시액 A : 황산동($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 34.66g을 달아 물을 가하여 500mL로 한다. 이 용액은 적은 용기에 보관하고 마개를 꼭하여 보존한다.

펠링시액 B : 주석산칼륨나트륨($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 173g을 물 일정량에 녹이고 수산화나트륨 50g을 가하여 녹인 후 물을 가하여 500mL로 한다. 이 용액은 적은 용기에 보관하고 마개를 꼭하여 보존한다. 사용시에 A액과 B액 동량을 혼합한다. 이론적 공시험 적정치는 27.8mL이나 적정치가 27.5~29.5mL이면 적당하다.

보존기준

냉암소에서 밀봉 보존하여야 한다.