

트립신

Trypsin

정 의 이 품목은 돼지, 소의 췌장 추출물에서 얻어진 효소제이다. 다만, 역가조정, 품질보존 등을 위하여 희석제, 안정제 등을 첨가할 수 있다. 이 품목은 단백질, 아미드 및 에스테르류 중 L-아르지닌 또는 L-라이신의 카복실기 결합 부위를 가수분해하여 저분자량의 펩타이드를 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 : 검체를 0.001N 염산에 녹여 최종희석액 1mL가 약 3,000 Trypsin units를 함유하도록 조제한 다음 다시 이 용액을 일정량씩 취하여 0.001N 염산으로 0.2mL당 12, 18 및 24 Trypsin units를 함유하도록 조제한다. 이 용액은 다음의 시험조작에 따라 사용된다.

시험조작 : 시험은 분광광도계의 셀 부위의 온도가 $25\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 가 되게 유지시켜 행한다. 반응셀에 온도계를 장치하여 흡광도 측정전과 측정후의 온도차가 0.5°C 이하인가를 확인하여야 한다. 0.001N 염산 0.2mL와 기질용액 3mL를 취하여 1cm셀에 넣는다. 이를 분광광도계에 장치하고 253nm에 흡광도가 0.050되게 조절한다. 또 다른 셀에 12 units를 함유하는 시험용액 0.2mL를 정확히 가한다. 이에 기질용액 3mL를 가하고 셀은 분광광도계에 장치한다. 5분동안 30초 간격으로 흡광도를 측정한다. 18 및 24 Trypsin units를 함유하는 표준용액에 대해서도 같은 조작을 하여, 각 농도의 시간에 대한 흡광도의 곡선을 그린다. 단, 곡선이 일직선인 것의 값만 사용한다. 굴곡에서 얻은 값은 버리고 실제의 트립신역가로서 3개의 농도에서 얻은 결과의 평균을 취한다.

다음 계산식에 따라 효소제의 역가를 구한다.

$$\text{역가(units/mg)} = (A_1 - A_2) / (T \times W \times 0.003)$$

- A₁ : 일직선상에서 최후의 흡광도
- A₂ : 일직선상에서 최초의 흡광도
- T : 최초와 최후의 시간차(분)
- W : 흡광도 측정에 사용된 시험용액중의 Trypsin 양(mg)

역가의 정의: 1 Trypsin unit은 상기시험조건 하에서 분당 0.003 흡광단위를 변화하는 효소의 양이다.

시 액

$\frac{1}{15}$ M 인산염완충액(pH 7.6) : 인산일칼륨 4.54g을 충분한 양의 물에 녹여 500mL로 한다. 따로, 인산이나트륨(무수) 4.73g을 충분한 양의 물에 녹여 500mL로 한다. 인산일칼륨액 13mL와 인산이나트륨액 87mL를 혼합한다.

기질용액 : 트립신분석용N-벤조일-L-아르지닌에틸에스테르염산염 (N-benzoyl-L-arginine ethyl ester hydrochloride) 85.7mg을 물에 녹여 100mL로 한다(※주 : Trypsin reference standard를 사용하여 기질의 적합성 및 분광광도계의 조절을 점검한다). 이 용액 10mL를 취하여 pH 7.6인 인산염완충액을 사용하여 100mL로 한다. 액층 1cm, 파장 253nm에서 물을 대조액으로 25±0.1℃에서 이 용액의 흡광도를 측정한다. 필요하면 인산염완충액을 사용하여 흡광도가 0.575~0.585 범위에 오도록 조절한다. 이 용액은 조제 후 2시간 이내에 사용하여야 한다.

보존기준

냉암소에서 밀봉 보존하여야 한다.