포스포디에스테라아제

Phosphodiesterase

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

이 품목은 핵산 등의 인산디에스테르 결합을 가수분해하여 인산모노에스테르를 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 살모넬라에 따라 시험할 때, 음성(-)이어야 한다.

(5) 대장균 : 이 품목 25g을 취하여 「식품의 기준 및 규격」 일반시험

법의 미생물시험법 중 대장균에 따라 시험할 때, 음성(-)이어야 한다.

활성시험법(역가)

분석원리 : 본 역가시험은 3′-아데닐산나트륨(adenosine 3′-monophosphate sodium salt) 기질에 포스포디에스테라아제를 작용시켜 생성된 인산을 과염소산 산성하에서 인몰리브덴산으로 변화시키고 이를 아미돌시액으로 환원시켜 생성된 몰리브덴블루의 청색을 비색정량하는데 근거를 두고 있다.

시험용액의 조제 : 검체 일정량을 취하여 물을 사용하여 최종 희석액 1mL가 0.09~0.43 unit을 함유하도록 시험용액을 조제한다.

검량선의 작성 : 인산수소이나트륨(무수물) 0.142g을 정밀히 달아 물을 가하여 100mL로 한다(10μmol/mL). 이 액 1mL, 5mL, 10mL, 15mL 및 20mL를 정확히 취하여 물을 가하여 각각 100mL로 한 액을 각 표준용액으로 한다. 각 액 0.5mL씩을 정확히 취하고 각각에 6% 과염소산시액 4mL를 가해주고 즉시 흔들어 섞어주고 아미돌시액 0.4mL를 가하여 흔들어 섞어준 후 몰리브덴산암모늄용액(8.3→100) 0.2mL를 정확히 가해주고 흔들어 섞어준다. 각 액을 물을 대조액으로 하여 파장 750nm에서 흡광도(A_1, A_2, A_3, A_4 및 A_5)를 측정한다. 따로, 물 0.5mL를 취하여 6% 과염소산시액 4mL를 가하여 흔들어 섞어주고 아미돌시액 0.4mL를 가하여 흔들어 섞어준 후 몰리브덴산암모늄용액(8.3→100) 0.2mL를 정확히 가하여 흔들어 섞어주고 물을 대조액으로 하여 파장 750nm에서 흡광도(A_0)를 측정한다. X축에는 각 액의 인산

농도(μmol/mL), Y축에는 흡광도(A_n-A_0)로 하여 인산의 검량선을 작성하여 인산의 흡광계수(E)를 구한다.

시험조작 : 기질용액 0.4mL를 정확히 취하여 시험관에 넣고 70±0.5℃에서 정확히 5분간 방치한 후 시험용액 0.1mL를 정확히 가하여 즉시 흔들어 섞어준다. 이 액을 70±0.5℃에서 정확히 15분간 반응시킨 후 6% 과염소산시액 4mL를 정확히 가해주고 즉시 흔들어 섞어주고 아미돌시액 0.4mL를 정확히 가해주고 흔들어 섞어준 후 몰리브덴산암모늄용액(8.3→100) 0.2mL를 가하여 흔들어 섞어주고 흐르는 물 중에서 15분간 방치하고 물을 대조액으로 하여 파장 750nm에서 효소반응액의 흡광도(A_T)를 측정한다. 따로, 기질용액 0.4mL를 정확히 취하여 6% 과염소산시액 4mL를 가하여 흔들어 섞어주고 시험용액 0.1mL를 정확히 가해주고 흔들어 섞어준다. 이어서 아미돌시액 0.4mL를 가해주고 즉시 흔들어 섞어준 후 몰리브덴산암모늄용액(8.3→100) 0.2mL를 가하여 흔들어 섞어주고 흐르는 물 중에서 15분간 방치하고 물을 대조액으로 하여 파장 750nm에서 효소공시험용액의 흡광도(A_B)를 측정한다.

다음 계산식에 따라 효소제의 역가를 구한다.

$$\text{역가(units/g)} = (A_T - A_B) \times \frac{1}{E} \times \frac{5.1}{0.1} \times \frac{1}{15} \times \frac{1}{W}$$

A_T : 효소반응액의 흡광도

A_B : 효소공시험용액의 흡광도

E : 흡광계수(총반응액량 5.1mL 중 인산농도(μmol/mL)의 흡광도)

15 : 반응시간(분)

W : 시험용액 1mL에 함유된 검체의 양(g)

역가의 정의 : 1 Phosphodiesterase unit는 상기시험조건 하에서 기질로부터 1분간에 1μmol의 인산을 유리시키는 효소의 양이다.

시 액

기질용액 : 미리 3′-아데닐산나트륨(adenosine 3′-monophosphate sodium salt) 약 0.1g을 105℃에서 4시간 건조시키고 건조감량을 구하여 건조물로 환산하여 0.0183g에 대응하는 3′-아데닐산나트륨을 정밀히 달아 바르비탈나트륨·염산완충액(pH 5.0) 10mL를 가하여 녹이고 멤브레인필터(0.45μm)로 여과한다. 이 액은 사용시 조제한다.

아미돌시액 : 아미돌 0.5g과 아황산나트륨 10g을 정밀히 달아 물에 녹여 50mL로 하고 여과한다. 이 액은 사용시 조제한다.

6% 과염소산시액 : 과염소산(60%) 20mL를 물로 희석하여 200mL로 한다.

바르비탈나트륨·염산완충액(pH 5.0) : 바르비탈나트륨·초산나트륨시액(1/7mol/L) 100mL 및 염화나트륨용액(8.5→100) 40mL를 취한 다음 이에 물 100mL를 가해주고 1N 염산으로 pH 5.0으로 조정한 후 물을 가하여 500mL로 한다.

바르비탈나트륨·초산나트륨시액(1/7mol/L) : 바르비탈나트륨 5.88g 및

무수초산나트륨 2.34g을 달아 물을 가하여 200mL로 한다.

보존기준

냉암소에서 밀봉 보존하여야 한다.