

락타아제

Lactase

β -Galactosidase

β -갈락토시다아제

정의 이 품목은 *Aspergillus niger* 및 그 변종, *Aspergillus oryzae* 및 그 변종, *Bacillus circulans*, *Saccharomyces*속의 배양물, *Bifidobacterium bifidum*의 락타아제 유전자를 삽입한 *Bacillus licheniformis*의 배양물에서 얻어진 효소제이다. 다만, 역가조정, 품질보존 등을 위하여 희석제, 안정제 등을 첨가할 수 있다.

이 품목은 젖당을 가수분해하여 포도당과 갈락토오스를 생성한다.

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 pH(*Aspergillus niger* 및 그 변종과 *Aspergillus oryzae* 및 그 변종은 4.5, *Bacillus circulans*는 6.0, *Saccharomyces*속은 6.5, 온도 37℃)에서 o-Nitrophenyl-β-D-Galactopyranoside(ONPG) 기질의 15분간 가수분해에 근거를 두고 있다.

시험용액의 조제 : 최종희석액 1mL가 0.15~0.65 Lactase unit를 함유하도록 시험용액을 조제한다. 검체를 정밀히 달아 유발에 취하고 각각의 알맞은 완충액을 가하여 분쇄시킨 다음 이를 일정량의 메스플라스크에 옮겨 각각에 알맞은 완충액으로 채운다.

시험조작 : 20×150mm 마개 있는 시험관 몇 개를 일조로 하여 해당기질용액 4mL씩을 취하여 넣고 37±0.1℃의 수욕조에 유지하여 온도를 평형 시킨다. 시험용액 1mL를 정확히 취하여 가하고 흔들어 혼합한다. 정확히 15분후 이들 혼합액 중 각 1mL를 10% 탄산나트륨용액 1mL가 든 시험관에 취하고 흔든 다음 물을 가하여 10mL로 한다. 따로, 시험용액 대신 물 1mL를 사용하여 시험용액과 같이 처리한 것을 대조액으로 하여 액층 1cm, 파장 420nm에서 흡광도를 측정한다.

다음 계산식에 따라 효소제의 역가를 구한다.

$$\text{역가(LACU/g)} = \frac{A \times 5 \times 10}{\varepsilon \times 15 \times W}$$

A : 시험용액에 대한 평균흡광도

5 : 효소반응혼합액의 양(mL)

10 : 희석된 효소반응혼합액의 최종량(mL)

ε : 표준 *o*-니트로페놀용액에 따라 측정된 흡광계수

15 : 항온시간(분)

W : 시험용액 1mL에 함유된 검체의 양(g)

역가의 정의 : 1 Lactase unit(LACU)는 상기시험조건 하에서 분당 1 μ mol의 *o*-니트로페놀을 유리시키는 효소의 양이다.

시 액

초산염완충액(*Aspergillus niger* 및 그 변종, *Aspergillus oryzae* 및 그 변종용) : 2N 초산 50mL를 물 약 800mL에 가하고 2N 수산화나트륨용액으로 pH 4.5 \pm 0.05로 조절(단, *Bacillus circulans*인 경우는 pH 6.0 \pm 0.05로 조절)한 다음 물을 가하여 1,000mL로 한다.

P-E-M완충액(*Saccharomyces*속용) : 인산일칼륨 27.2g, 이.디.티.에이.이 나트륨(2수화물) 37.2mg 및 염화마그네슘(MgCl₂ · 6H₂O) 20.3mg을 물 800mL에 녹이고 2N 수산화나트륨용액을 가하여 pH 6.5 \pm 0.05로 조절한 다음 물을 가하여 전량을 1,000mL로 한다.

표준 *o*-니트로페놀용액 : *o*-니트로페놀(*o*-Nitrophenol) 139.0mg을 1,000mL 메스플라스크에 취하고 95% 에탄올 10mL를 가하여 녹인 다음 물을 가하여 1,000mL로 한다. 이 용액 2, 4, 6, 8, 10, 12 및

14mL를 100mL 메스플라스크에 각각 취하여 1% 탄산수소나트륨용액으로 채운다. 이들 희석액은 1mL당 *o*-니트로페놀 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.10, 0.12 및 0.14 μ mol을 함유한다. 이들 용액에 대해 물을 대조액으로 하여 액층 1cm, 파장 420nm에서 흡광도를 각각 측정하고 *o*-니트로페놀 μ mol수에 대한 검량선에 작성한다. 검량선은 0점을 통과하는 일직선이어야 한다. 각 희석액 흡광도를 *o*-니트로페놀 μ mol/mL수로 나누어 희석액에 대한 흡광계수(Extinction coefficient)(ϵ)를 구한다. 그 값은 4.65 근사치가 얻어져야 한다.

Aspergillus 및 *Bacillus* 기질용액 : *o*-니트로페닐- β -D-갈락토피라노시드(*o*-Nitrophenyl- β -D-galactopyranoside) 370mg을 100mL 메스플라스크에 취하여 초산염완충액 약 75mL에 녹인 후 전량을 100mL로 한다.

Saccharomyces 기질용액 : *o*-니트로페닐- β -D-갈락토피라노시드(*o*-Nitrophenyl- β -D-galactopyranoside) 250mg을 취하여 100mL의 메스플라스크에 취하여 P-E-M

완충액 약 75mL에 녹인 후 전량을 100mL로 한다.

보존기준

냉암소에서 밀봉 보존하여야 한다