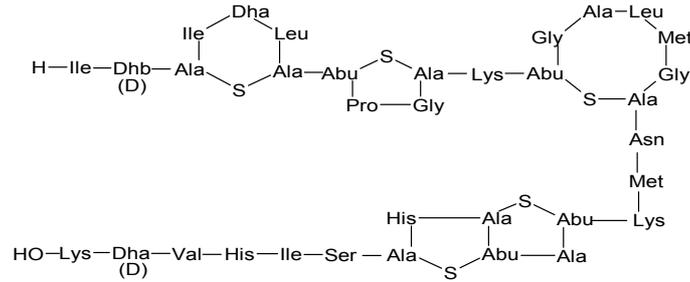


# 니신

## Nisin



Abu = alpha-aminobutylic acid  
Dha = dehydroalanine  
Dhb = dehydrobutyrine

분자식:  $C_{143}H_{230}N_{42}O_{37}S_7$

분자량: 3354.12

이 명: Nicin preparation

INS No.: 234

CAS No.: 1414-45-5

정 의 이 품목은 Lancefield group N에 속하는 *Lactococcus lactis* (*Streptococcus Lactis*)가 생산한 폴리펩타이드와 염화나트륨이 혼합된 화합물이다.

합 량 이 품목은 니신( $C_{143}H_{230}N_{42}O_{37}S_7$ )으로서 900 IU/mg 이상이어야 한다.

성 상 이 품목은 백색의 미세한 분말이다.

확인시험 (1) 산 안전성 : 이 품목 100mg를 취하여 정량법 중 니신 표준 용액의 조제에서와 같이 0.02N 염산에 현탁시킨다. 이 용액을 5분간 끓인 후 정량법 중 시험법에 따라 니신농도를 구한다. 이 때, 가열처리에 따른 명확한 활성의 손실은 일어나지 않아야 한다. 끓인 시료의 니신농도는 분석수치의  $100\pm 5\%$ 이다. 니신용액을 5N 수산화나트륨용액을

사용하여 pH 11로 조정 한 후 65℃에서 30분간 가열한 다음 식힌다. 이어서 염산을 가해 pH 2.0으로 맞춘 후 정량법에 따라 다시 니신농도를 구한다. 이 처리에 따른 니신의 항균활성이 완전히 소멸되었는지를 확인한다.

(2) 고농도의 니신에 대한 *Lactococcus lactis*의 내성 : *Lactococcus lactis*(ATCC 11454, NCIBM 8586)를 멸균 탈지유에 넣어 30℃, 18시간 동안 배양한다. Litmus milk 100mL를 넣은 하나 이상의 플라스크를 121℃, 15분간 멸균한다. 멸균한 Litmus milk에 시료 0.1g을 넣어 잘 현탁하고 상온에서 2시간 정치한 후 *L. lactis* 배양액 0.1mL를 넣고 30℃, 24시간 동안 배양한다. 이 때, *L. lactis*는 이 검체농도(약 1,000 IU/mL)에서 자라는 것이 확인된다.

**순도시험** (1) 납 : 이 품목 5.0g을 취하여 원자흡광광도법 또는 유도결합플라즈마발광광도법에 따라 시험할 때, 그 양은 1.0ppm 이하이어야 한다.

(2) 비소 : 이 품목을 비소시험법에 따라 시험할 때, 그 양은 1.3ppm 이하이어야 한다.

(3) 수은 : 이 품목을 수은시험법에 따라 시험할 때, 그 양은 1.0ppm 이하이어야 한다.

(4) 세균수 : 이 품목은 「식품의 기준 및 규격」 일반시험법의 미생물 시험법 중 세균수(일반세균수) 시험법에 따라 시험할 때, 1g당 10CFU 이하이어야 한다.

(5) 대장균 : 이 품목은 「식품의 기준 및 규격」 일반시험법의 미생물 시험법 중 대장균에 따라 시험할 때, 25g에서 음성(-) 이어야 한다.

(6) 살모넬라 : 이 품목은 「식품의 기준 및 규격」 일반시험법의 미생물 시험법 중 살모넬라에 따라 시험할 때, 25g에서 음성(-) 이어야 한다.

(7) 대장균군 : 이 품목을 「식품의 기준 및 규격」 일반시험법의 미생물 시험법 중 대장균군에 따라 시험할 때, 제품 1g당 30 이하이어야 한다.

**염화나트륨** 이 품목 약 20mg을 정밀히 달아 유리마개가 달린 플라스크에 물 50mL을 넣어 녹인 후 저으면서 질산 3mL, 니트로벤젠 5mL, 0.1N 질산은용액 50mL 및 황산제이철암모늄시액 2mL를 가한 후 잘 흔들어 준 다음 0.2N 치오시안산암모늄용액으로 적색이 나타날 때 까지 과잉의 질산은을 적정한다. 따로, 물을 이용하여 공시험을 하고 아래의 공식에 따라 염화나트륨 함량을 계산한다. 그 함량은 50.0%이상이어야 한다.

$$\text{염화나트륨 함량(\%)} = (2 \times 5.844)(A - B) / S \times 100$$

A : 공시험에서의 0.2N 치오시안산암모늄용액의 소비량(mL)

B : 본시험에서의 0.2N 치오시안산암모늄용액의 소비량(mL)

S : 검체의 채취량(mg)

## 정 량 법

배 지 : Bacteriological Peptone 10g, Beef Extract 3g, Sodium Chloride 3g, Autolyzed Yeast (Yeast Extract) 1.5g, Brown Sugar 1g 및 Agar 15g을 물 1,000mL에 녹여 121℃에서 15분간 멸균한다. 배지는

밀봉된 용기에 담아 보관할 수 있다. 사용할 때에는 배지를 녹여 약 50°C로 식힌 후 Tween 20(polyoxyethylene sorbitan monolaurate)과 물(1 : 1)의 혼합물 2%를 배지에 가하여 미리 48°C에서 20~30분 동안 방치한 후 사용한다.

시험균주 : *Micrococcus luteus*(ATCC 10240, NCIMB 8166)를 사면배지에 접종하여 30°C에서 48시간 배양한다. 사면배지는 4°C에서 14일까지 보관하여 사용할 수 있다. 사면배지 배양균은 멸균생리식염수 7mL에 현탁시켜 놓는다.

니신 표준원액 : 니신표준품(1,000 IU/mg) 1,00mg을 정밀히 달아 0.02N 염산 80mL에 현탁시킨 후 상온에서 2시간 방치한 다음 0.02N 염산을 가하여 100mL로 조제한다(1,000 IU/mL). 표준원액은 4°C에서 7일간 보관가능하다.

니신 표준용액 : 니신 표준원액 각각 0.5, 1.0, 2.5, 5.0 및 10.0mL를 정확히 취하여 각 1,000mL 메스플라스크에 넣고 0.02N 염산을 가하여 1,000mL로 한다(0.5, 1.0, 2.5, 5.0 10.0 IU/mL). 각 표준용액은 사용시 제조한다.

검량선의 작성 : 시험균주 현탁액을 멸균생리식염수로 희석(1 : 10) 하여 완전히 혼합한다. 이 용액 2mL를 취하여 48°C로 유지한 위의 배지 100mL에 가한다. 접종된 배지를 5개의 페트리접시에 각각 3~4mm 두께(약 15mL)로 부어 굳힌 후 페트리접시를 뒤집어 4°C에서 1시간 정치한다. 각각의 Agar 배지판에서 30mm 간격으로 지름 8~9mm의

구멍 4개를 뚫는다. 구멍 이외의 흡수시키는 디스크를 사용할 수도 있다. 페트리접시 각각의 배지판의 구멍에 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 10.0 IU/mL의 니신 표준용액 각각 0.2mL를 가한다. 이 때 하나의 페트리접시에 한 농도의 표준용액을 가한다. 페트리접시 뚜껑을 덮고 30°C에서 하룻밤 배양한 후 캘리퍼스나 다른 적당한 도구로 0.1mm까지 저지환을 측정한다. 저지환의 지름에 대한 니신 농도들을 점으로 찍어 연결하여 직선상의 검량선을 작성한다.

시험조작 : 0.02N 염산 80mL를 넣은 100mL 메스플라스크에 검체 100mg을 현탁시켜 상온에서 2시간 방치한 후 0.02N 염산을 가하여 100mL로 정용한 다음 0.02N 염산으로 200배(1:200)로 희석한다. 위의 검량선 작성에서와 같이 Agar 배지판의 뚫어 놓은 4개의 구멍에 4번 반복하여 검액 0.2mL를 넣은 후 페트리접시 뚜껑을 덮고 30°C에서 하룻밤 배양한 다음 저지환을 측정한다. 검량선으로 부터 니신 농도들을 구하여 평균값을 계산한다.

**건조감량** 이 품목 2g을 105°C에서 2시간 동안 건조할 때, 그 감량은 3.0% 이하이어야 한다.

### **보존기준**

이 품목은 잘 밀봉한 용기에 넣고 온도는 22°C를 초과하지 않는 곳에 보존하여야 한다.