

베타글리코시다아제

β -Glycosidase

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

이 품목은 β -글리코시드 결합을 가수분해한다.

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 살모넬라균시험법에 따라 시험할 때, 음성(-)이어야 한다.

(5) 대장균 : 이 품목은 「식품의 기준 및 규격」 일반시험법의 미생물시

험법 중 대장균에 따라 시험할 때, 음성(-)이어야 한다.

활성시험법(역가)

분석원리 : 본 역가시험은 pH 4.5, 온도 40℃에서 p-니트로페닐-베타-D-글루코피라노사이드(p-Nitrophenyl-β-D-glucopyranoside)를 기질로 하여 10분 동안 가수분해하는데 근거를 두고 있다.

시험용액의 조제 : 검체를 적당한 양의 20mM 초산완충액(pH 4.5)에 녹여 다음의 시험방법에 따라 시험할 때, 흡광도 값이 0.1~1.5 범위에 들도록 시험용액을 조제한다.

시험 조작 : 기질용액 0.4mL을 정확히 취하여 18 × 105mm 시험관 (효소시험용)에 넣고 40℃ 수욕조에 넣고 5분간 정치시킨다. 여기에 시험용액 0.1mL을 가하여 흔들어 섞은 다음 다시 40℃ 수욕조에서 10분간 항온시킨다. 여기에 0.05M 탄산나트륨용액 5.0mL을 가한다. 별도로, 효소공시험용 시험관에는 기질용액 0.4mL을 가한 다음 40℃의 수욕조에서 5분간 정치시킨다. 여기에 0.05M 탄산나트륨용액 5.0mL을 가하고 잘 혼합한 다음 시험용액 0.1mL을 가하여 흔들어 섞은 다음 다시 40℃ 수욕조에서 10분간 항온시킨다. 효소공시험용액을 대조액으로 하여 액층 1cm, 파장 412nm에서 흡광도를 측정한다.

다음 계산식에 따라 효소제의 역가를 구한다.

$$\text{역가(U/g)} = \frac{(A_S - A_B) \times F}{0.1 \times 10} \times \frac{1}{w}$$

AS : 효소 시험용액의 흡광도

AB : 효소 공시험액의 흡광도

F : 계수 (ΔOD 의 1에 해당하는 p-니트로페놀의 양)

0.1 : 반응을 위해 가해진 시험용액의 양 (mL)

10 : 반응시간(분)

w : 시험용액 1mL에 함유된 검체의 양 (g)

$$F = \left\{ \frac{0.025}{(A_{21} - A_{20})} + \frac{0.05}{(A_{22} - A_{20})} + \frac{0.125}{(A_{23} - A_{20})} + \frac{0.250}{(A_{24} - A_{20})} + \frac{0.500}{(A_{25} - A_{20})} \right\} \times \frac{1}{5}$$

역가의 정의 : 1 베타글리코시다아제 unit은 상기시험조건 하에서 분당 $1\mu\text{mol}$ 의 p-니트로페놀을 생성하는 효소의 양이다.

시 액

20mM 초산나트륨용액 : 1.64g의 초산나트륨을 물에 녹여 1,000mL로 한다.

20mM 초산용액 : 초산 1.2g을 물에 녹여 1,000mL로 한다.

20mM 초산완충액(pH 4.5) : 20mM 초산나트륨용액을 계속 저으면서

20mM 초산용액을 가하여 pH 4.5로 조절한다.

20mM 기질용액 : p-니트로페닐-베타-D-글루코피라노시드

(p-Nitrophenyl- β -D-glucopyranoside)(MW=301.3) 1.88g와 포도당

6.3g을 정밀히 달아 20mM 초산완충액(pH 4.5) 40mL에 가하여 4

0°C에서 녹인다. 20mM 초산완충액(pH 4.5)을 가하여 50mL로 한다.

50mM 탄산나트륨용액 : 탄산나트륨 2.65g을 물에 녹여 500mL로

한다.

표준 p-니트로페놀용액 : p-Nitrophenol 348mg을 정밀히 달아 20mM 초산완충액(pH 4.5)에 녹여 100mL로 한다. 이 용액 1mL에는 25 μ mol 니트로페놀을 함유한다. 이 용액을 1mL당 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1 μ mol을 함유하도록 20mM 초산완충액(pH 4.5)로 희석한다. 각각의 표준용액 0.5mL을 시험관에 넣고 50mM 탄산나트륨용액 5mL을 가하여 섞는다. 412nm에서 흡광도를 측정한다(A_{S1} , A_{S2} , A_{S3} , A_{S4} , A_{S5}). 대조액은 20mM 초산완충액(pH 4.5)을 사용한다(A_{S0}).

보존기준

냉암소에서 밀봉 보존하여야 한다.