

분지글리코실트랜스퍼라아제
Branching Glycosyltransferase
1,4- α -Glucan Branching Enzyme

분지글리코실전달효소

정 의 이 품목은 *Rhodothermus obamensis*의 분지글리코실트랜스퍼라아제 유전자가 삽입된 *Bacillus subtilis*의 배양물에서 얻어진 효소제이다. 다만, 역가조정, 품질보존 등을 위하여 희석제, 안정제 등을 첨가할 수 있다.

이 품목은 아밀로오스 등의 α -1,4-글루코시드 결합을 비환원성 말단에서 α -1,6-글루코시드 결합으로 변형시킨다.

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 유도결합플라즈마 발광광도법에 따라 시험할 때, 그 양은 5.0ppm 이하이어야 한다.

(3) 대장균균 : 이 품목은 「식품의 기준 및 규격」 일반시험법의 미생물시험법 중 대장균균에 따라 시험할 때, 제품 1g당 30 이하이어

야 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」 일반시험법의 미생물시험법 중 대장균에 따라 시험할 때, 음성(-)이어야 한다.

활성시험법(역가)

분석원리 : 본 역가시험은 기질인 아밀로오스에서 1-6- α 결합이 생성되는 속도를 측정해 계산하며, 효소 활성은 Branching Enzyme Units(BEU)으로 표시한다. 1 BEU는 주어진 표준조건에서(pH 7.2, 60°C) 시험조작 후 660nm에서 아밀로오스-요오드 complex의 흡광도를 측정하는데 근거를 두고 있다.

시험용액의 조제 : 약 1g(\pm 0.5mg)의 효소를 비이커에 취하여 Tris-HCl 완충액 80mL 를 가하고 30 분간 천천히 교반하여 효소를 완전히 용해시킨 후 100mL 용량플라스크에 넣고 Tris-HCl 완충액을 가하여 전량을 100mL 로 맞춘다. 필요시 이를 다시 Tris-HCl 완충액으로 희석하여, 희석된 시험용액의 효소 활성을 30~50 BEU/mL 이내로 맞춘다. 희석배수(D)를 계산하여 활성계산에 이용한다(보통 희석배수는 10~40 범위임). 시험 당일 조제하여 사용한다.

시험조작 : 시험관에 각각 다음과 같이 내용물을 넣는다.(각각 4번 반복용으로 준비) 시험용액은 50 μ L 의 시험용액($V_s=0.050$ mL)과 50 μ L 의

기질용액을 넣어 혼합하고, 대조액은 50 μ L의 물과 50 μ L의 기질용액을 넣어 혼합하며, 공시험액은 100 μ L의 물을 넣는다. 각각을 잘 혼합한 후 모든 시험관을 60 $^{\circ}$ C에서 반응시간으로 30분(t)간 반응시키고, 30분 후 각각에 2mL씩의 stop reagent를 가하고 혼합한 후 실온에서 20분간 정치시켜 발색을 안정화시켜 660nm에서 흡광도를 측정한다. 각각 4번 반복 실험하여 평균 흡광도를 구한다(효소시험용액의 평균 흡광도: A_S , 대조군의 평균 흡광도: A_R , 공시험액의 평균 흡광도: A_B)

※ 효소시험용액의 흡광도는 0.15~0.3이어야 한다. 그렇지 않은 경우에는 0.1M Tris-HCl(pH 7.2) 완충액을 이용하여 시험용액의 희석정도를 조정하여 다시 측정한다.

다음의 계산식에 따라 효소제의 역가를 구한다.

$$\text{역가(BEU/g)} = \frac{(A_R - A_S) \times V \times D \times 100}{(A_R - A_B) \times t \times V_S \times W}$$

($A_R - A_S$): 대조군과 효소시험용액의 흡광도 차이

($A_R - A_B$): 대조군과 공시험액의 흡광도 차이

V: 효소시험용액의 최초용량(mL)

D: 희석배수

100: 효소활성단위를 BEU/g으로 표시하기 위한 환산계수

t: 반응시간(분)

V_S : 시험조각에 사용된 효소시험용액의 용량(mL)

W: 검체의 양(g)

역가의 정의 : Branching Enzyme Units(BEU)는 상기 시험의 주어진 조건에서(pH 7.2, 60℃) 시험 조작 후 660nm 에서 아밀로오스-요오드 complex 의 흡광도를 측정 시, 분당 1%의 감소를 가져오는 효소의 양으로 정의한다.