

## β-글루카나아제

### β-Glucanase

정의 이 품목은 *Aspergillus niger* 및 그 변종, *Bacillus subtilis* 및 그 변종, *Humicola insolens* 및 그 변종, *Trichoderma reesei*, *Talaromyces emersonii*의 배양물에서 얻어진 효소제이다. 다만, 역가 조정, 품질보존 등을 위하여 희석제, 안정제 등을 첨가할 수 있다.

이 품목은 β-D-글루칸의 β-1,3 또는 1,4 글루코시드 결합을 endo형으로 가수분해하여 올리고당 및 포도당을 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 6.5, 온도 40℃에서 리케닌(Lichenin)기질의 15분간 가수분해에 근거를 두고 있다. 발생된 환원물질에 따른 환원력의 증가는 Neocuproine법으로 측정된다.

시험용액의 조제 : 최종희석액 1mL가 0.01~0.02  $\beta$ -Glucanase units를 함유하도록 시험용액을 조제한다. 검체 일정량을 취하여 적당한 메스플라스크에 취하여 인산염완충액으로 녹이고 인산염완충액으로 채운다.

시험조작 : 25mL 메스플라스크 4개에 기질용액 2mL씩을 넣고 40℃수욕조에서 10~15분간 항온시킨다. 시험관 1에는 인산염완충액 1mL, 시험관 2(포도당표준품용)에는 포도당표준용액 1mL, 시험관 3(효소공시험용)에는 네오쿠프로인용액 A 4mL와 시험용액 1mL를 가하고 시험관 4(효소시험용)에는 시험용액 1mL를 넣는다. 인산염완충액공시험용으로 제5의 시험관을 준비하여 인산염완충액 3mL를 넣는다. 40℃에서 정확히 15분간 항온 시키고 시험관 1, 2, 4, 5에 네오쿠프로인용액 A 4mL씩을 가하고, 시험관 모두에 네오쿠프로인용액 B 4mL씩을 가하여 유리마개를 한다(고무마개는 사용하지 말 것). 수욕조에서 12분동안 격렬히 가열시켜 발색시키고 냉수에서 상온으로 식힌 다음 물을 가하여 전량을 25mL로 한다. 파라필름으로 마개를 하거나 또는 적당한 마개를 하여 수회 거꾸로 하여 내용물을 혼합한 후 시험관 5의 인산

염완충액공시험용을 대조액으로 하여 액층 1cm, 파장 450nm에서 각 용액의 흡광도를 측정한다.

다음 계산식에 따라 효소제의 역가를 구한다.

$$\text{역가(BGU)} = \frac{(A_4 - A_3) \times 36 \times 10^6 \times F}{(A_2 - A_1) \times 180 \times 15 \times S}$$

- A<sub>4</sub> : 효소시험용(시험관 4)의 흡광도
- A<sub>3</sub> : 효소공시험용(시험관 3)의 흡광도
- A<sub>2</sub> : 포도당표준품용(시험관 2)의 흡광도
- A<sub>1</sub> : 기질공시험용(시험관 1)의 흡광도
- F : 시험용액의 희석배수
- S : 검체의 채취량(μg)
- 36 : 포도당표준용액에 함유된 포도당의 μg수
- 10<sup>6</sup> : μg을 g으로 환산하는 변환계수
- 180 : 포도당 1μmol의 무게
- 15 : 반응시간(분)

역가의 정의 : 1 β-Glucanase unit(BGU)는 상기시험조건 하에서 1분 간에 환원당으로서 포도당 1μmol을 생성하는 효소의 양이다.

## 시 액

인산염완충액 : 인산일칼륨 13.6g을 물 1,900mL에 녹이고 70% 수산화나트륨용액을 가하여 pH를 6.5±0.05로 조절하고 전량을 물로 채워 2,000mL로 한다.

네오쿠프로인(Neocuproine)용액 A : 탄산나트륨(무수) 40g, 글리신 16g 및 황산동(5수화물) 450mg을 물 약 600mL에 녹여 물을 가하여 1,000mL로 한다.

네오쿠프로인(Neocuproine)용액B : 네오쿠프로인염산염(Neocuproine hydrochloride) 600mg을 물 400mL에 녹여 물을 가하여 500mL로

한다. 황색이 나타나면 버린다.

기질용액 : 리케닌(Lichenin) 150mg을 유발에 갈아 미세분말로 하여 약 85°C의 물 50mL에 녹인다. 완전히 녹으면(20~30분 걸림) 수소화붕산나트륨(Sodium borohydride) 90mg을 넣고 비점하에서 1시간 계속 가열한다. Amberlite MB-20(또는 이와 동등한 이온 교환수지) 15g을 가하고 30분간 계속 저어준다. Buchner 깔때기와 왓트만 No.1 또는 동종의 여지를 사용하여 진공여과하고 물 20mL로 씻는다. 여액에 인산일칼륨 680mg을 가하고 0.22 $\mu$ m 밀리포아여과기(또는 이와 동등한 것)를 사용하여 다시 여과한다. 여과기를 물 10mL로 씻고 1N 수산화나트륨용액 또는 1N 염산으로 pH를 6.5 $\pm$ 0.05로 조절한 다음 물을 가하여 100mL로 한다. 2~4°C에서 보관하고 3일 이내에 사용하여 한다.

포도당표준용액 : 포도당(무수) 36.0mg을 인산염완충액 50mL에 녹여 물을 가하여 1,000mL로 한다.

## 보존기준

냉암소에서 밀봉 보존하여야 한다.