

## 글루코오스이성화효소

### Glucose Isomerase

정의 이 품목은 *Actinoplanes missouriensis*, *Bacillus coagulans*, *Microbacterium arborescens*, *Streptomyces olivaceus*, *Streptomyces olivochromogenes*, *Streptomyces rubiginosus*, *Streptomyces murinus*의 배양물에서 얻어진 효소제이다. 다만, 역가조정, 품질보존 등을 위하여 희석제, 안정제 등을 첨가할 수 있다.

이 품목은 포도당을 이성화하여 과당을 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 유도결합플라즈마 발광광도법에 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 충전된 증반응기내에서 포도당을 과당으로 전환하는 율을 측정하는데 근거를 두고 있다. 시험조작은 대략 최초속도분석법으로 설명되며, 특기할 조건은 45% w/w 포도당농축물, 유입구의 pH는 실온에서 측정할 때 7.0~8.5 범위이며, 온도는 60℃, 마그네슘 농도는  $4 \times 10^{-3}$ M이다.

시험용액의 조제 : 검체가 2,000~8,000 글루코오스이성화효소단위(GlcU)를 함유하는 양(g 또는 mL)을 정밀히 달아 진공플라스크에 넣은 다음 이에 기질용액 200mL를 가하고 15초간 조용히 섞고 5분 간격으로 40분간 저어준다. 이를 진공 처리하여 30분간 탈기시킨다. 다만, 검체가 액체인 경우에는 검체를 수지에 미리 흡착시키기 위해 강염기성 음이온교환수지(IRA-90)를 물로 4시간 이상 수세한 다음 pH를 7.0~9.0으로 조정된 것을 80mL 취하여 유리칼럼에 충전시키고, 다시 물 50mL을 가해 주고 검체를 10,000 GlcU 해당되는 양(mL)을 정밀히 달아 가해준 다음 물 10mL를 사용하여 칼럼을 씻어준다. 검체를 가해주기 전에 유속을 미리 2mL/min으로 맞추어 놓는다. 검체를 가해주고 나서 유출된 유출액을 칼럼상부에 가해 주면서 상온에서 약 8시간 정도 계속 순환시켜 검체를 수지에 흡착시킨다. 이어서 수지에 흡착시킨 검체를 40mL 취하여 진공플라스크에 넣은 다음 이하는 시험용액 조제에 따라

시험한다.

시험조작 : 검체의 예측된 역가를 근거로 하여 1 분획변환이 0.2~0.3 되도록 기질의 유속을 조절한다. 분획변환은 다음 계산식에 따라 최초의 기질과 유출검체에 대하여 얻어진 비선광도값으로부터 구한다. 정확한 유속이 결정되면 칼럼을 1주야(최소 16시간이상)가동한 후 기질용액의 pH를 점검하고 필요하면 조절한다. 유속을 측정하고 칼럼 유출검체를 받는다. 유출검체를 덮개로 하여 상온에서 30분간 방치한 후 포도당이 과당으로 된 분획변환을 구한다(하기 계산식을 참조). 변환이 0.2이하 또는 0.3이상이면 이 범위에 들어오도록 유속을 조절한다. 유속조절이 필요하면 2시간이상 칼럼을 재평형 시킨 후 추가의 유출물을 받고 분획변환을 구한다. 이 때의 유속을 측정하고 유출검체를 받아 덮개를 하여 상온에서 30분간 방치한 후 이에 대해 분획변환을 구한다.

비선광도 : 유출검체와 최초 기질에 대해 25℃에서 선광도를 측정하고 이들의 비선광도를 다음 계산식에 따라 구한다.

$$[a] = \frac{100a}{I_{pd}}$$

a : 관측된 선광도

I : 시료관의 길이(dm)

p : 시험용액의 농도(g/100g용액)

d : 용액의 25℃에서의 비중

분획변환 : 분획변환 X는 다음 계산식에 따라 구한다.

$$X = \frac{(a_E - a_S)}{(a_F - a_S)}$$

$\alpha_E$  : 칼럼용출물의 비선광도  
 $\alpha_S$  : 포도당기질의 비선광도  
 $\alpha_F$  : 과당의 비선광도(이 경우 -94.54로 계산한다)

다음 계산식에 따라 효소제의 역가를 구한다.

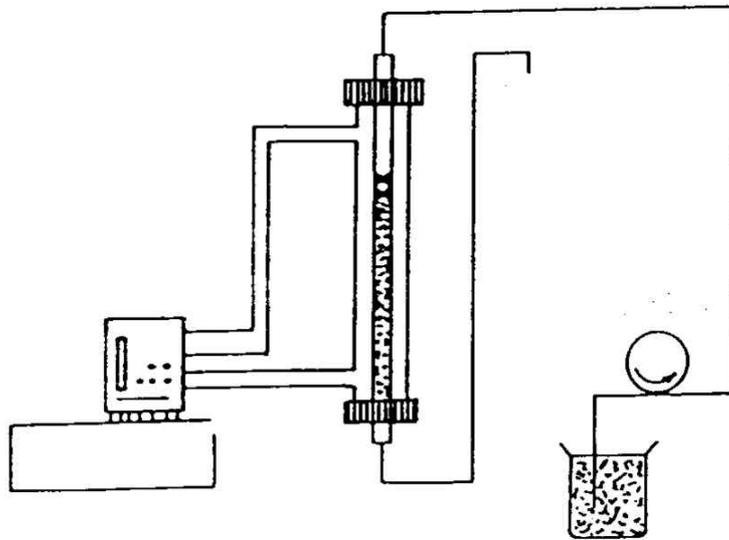
$$\text{역가(GIcU/g or mL)} = \frac{FS}{W} \times X_E \times \ln\left[\frac{X_E}{X_E - X}\right]$$

F : 유속(mL/min)  
 S : 포도당기질의 농도( $\mu\text{mol/mL}$ )  
 X : 분획변환  
 $X_E$  : 평형시에 분획변환 또는 0.51  
 W : 검체의 채취량(g, mL)

역가의 정의 : 1 Glucose isomerase unit(GIcU, C는 칼럼처리 시험법임을 의미)는, 1 GIcU는 상기시험조건 하에서 분당  $1\mu\text{mol}$ 의 최초 비율로 포도당을 과당으로 이성화시키는 효소의 양이다.

장 치 : 칼럼의 장치는 그림과 같다. 밑에는 거칠은 유리여과기가 부착되어 있고  $60^\circ\text{C}$ 의 수욕조에 연결된 이중관으로 된 내경 2.5cm, 길이 40cm의 유리관으로 온수는 순환펌프에 의해 순환된다. 칼럼의 상부는 최대유속 800mL/h의 가변속 연동운동성 펌프에 연결한다. 연동펌프에 연결된 관의 내경은 펌프 용량을 60~150mL/h로 조절할 수 있어야 한다. 칼럼출구의 연결관은 수기에 연결한다.

(※ 주 : 모든 연결부위는 유리 또는 플라스틱의 불활성제로 만든다.)



글루코오스이성화효소의 분석용 칼럼장치

칼럼의 조제 : 황산마그네슘용액을 사용하여 시험용액을 칼럼에 옮긴다. 효소입자가 가라앉도록 정지한 다음 효소위층에 다공성 판을 놓는다. 판에 부착된 모든 공기는 제거시켜야 한다. 판위에는 솜으로 1~2cm 채운다. 이 층은 여과기로 작용하며 포도당기질에서 생성되는 기포의 제거와 용액의 온도를 고르게 하는 역할을 한다. 가변속 연동운동성 펌프에 연결된 관을 칼럼입구에 연결하고 연결부를 밀봉하여 외부의 공기가 들어가지 못하게 한다. 이 펌프유입구 연결관은 기질용액에 넣고 펌프를 시작하여 시간당 최소 80mL 이상 되도록 유속을 조절한다. 이를 상온에서 1시간 계속 유지시킨다.

#### 시 액

기질용액 : 포도당 539g과 황산마그네슘( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ) 1.0g을 50~60°C의 700mL 물에 녹이고, 이 용액을 상온으로 식히고 pH를 7.0~8.5로 맞춘 다음 물을 가하여 1,000mL로 한 후 이를 30분 동안 감압

시켜 액 중의 공기를 제거한다.

황산마그네슘용액 : 황산마그네슘 1g을 녹여 1N 수산화나트륨용액으로 pH 7.5~8.0으로 맞추고 물을 가하여 1,000mL로 한다.

### 보존기준

냉암소에서 밀봉 보존하여야 한다.