

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2014-0068415 (43) 공개일자 2014년06월09일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) C12N 11/02 (2006.01) C12N 9/20 (2006.01) C12N 9/02 (2006.01)	(71) 출원인 고려대학교 산학협력단 서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)	
(21) 출원번호 10-2012-0135853	(72) 발명자 김승욱 서울 노원구 공릉로46길 32, 104동 905호 (공릉동, 삼익아파트)	
(22) 출원일자 2012년11월28일 심사청구일자 없음	박철환 서울 성북구 동소문로29길 63, B동 402호 (동선동5가, 동선빌라) (뒷면에 계속)	
	(74) 대리인 한양특허법인	

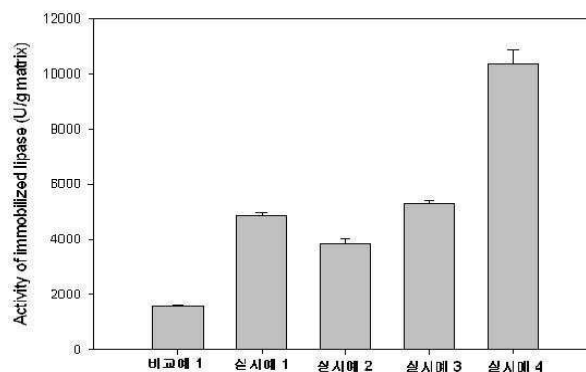
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 **활성탄에 효소 또는 바이오 물질을 고정화하는 방법 및 이에 따라 제조된 활성탄**

(57) 요약

본 발명은, (a) 활성탄에 산, 산화제 또는 그 혼합물을 처리하여 활성탄의 표면을 산화하는 단계; (b) 상기 표면이 산화된 활성탄을, -NH₂, -COOH, -NHS 및 바이오틴(-Biotin)으로 이루어진 군부터 선택되는 치환기로 개질하는 단계; 및 (c) 상기 개질된 활성탄에, 리파아제(lipase), 글루코오스 옥시데이즈, 라카아제(laccase), 카탈라아제(catalase), 미생물, 항원 및 항체로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 효소 또는 바이오 물질을 고정화하는 단계를 포함하는, 활성탄에 효소 또는 바이오 물질을 고정화하는 방법을 제공한다. 본 발명에 따라 활성탄을 개질하여 효소 등을 고정화하는 경우, 고활성의 효소 촉매 생산 공정의 개발이 가능하여, 환경 및 에너지 문제에 많은 기여를 할 것으로 기대된다.

대표도 - 도4



(72) 발명자

이자현

서울 성북구 안암로 145, 공학관 734호 (안암동5가, 고려대학교)

김성봉

서울 성북구 화랑로 114, 307호 (하월곡동, 대운빌딩)

서영준

서울 성북구 안암로 145, 공학관 734호 (안암동5가, 고려대학교)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 20110031360

부처명 교육과학부 (연구재단)

연구사업명 글로벌프론티어연구개발사업

연구과제명 바이오매스의 바이오디젤 및 고부가가치 화학물질 생산을 위한 전환 기술개발

기 여 율 1/1

주관기관 고려대학교

연구기간 2010.10.22 ~ 2019.08.21

특허청구의 범위

청구항 1

- (a) 활성탄에 산, 산화제 또는 그 혼합물을 처리하여 활성탄의 표면을 산화하는 단계;
- (b) 상기 표면이 산화된 활성탄을, $-NH_2$, $-COOH$, $-NHS$ 및 바이오틴(-Biotin)으로 이루어진 군부터 선택되는 치환기로 개질하는 단계; 및
- (c) 상기 개질된 활성탄에, 리파아제(lipase), 글루코오즈 옥시데이즈, 라카아제(laccase), 카탈라아제(catalase), 미생물, 항원 및 항체로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 효소 또는 바이오 물질을 고정화하는 단계를 포함하는, 활성탄에 효소 또는 바이오 물질을 고정화하는 방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서,

상기 (a) 단계의 산은 황산, 인산 또는 그 혼합물인, 활성탄에 효소 또는 바이오 물질을 고정화하는 방법.

청구항 3

청구항 1에 있어서,

상기 (b) 단계에서 활성탄을, $-NH_2$ 치환기로 개질하는 경우, 3-아미노프로필트리에톡시실란(aminopropyltriethoxysilane; 3-APTES), 에틸렌디아민 (Ethylenediamine) 및 NN'-디사이클로헥실카보디이미드(NN'-dicyclohexylcarbodiimide; DCC)로 구성된 그룹에서 선택되는 하나 이상을 사용하는 것을 특징으로 하는, 활성탄에 효소 또는 바이오 물질을 고정화하는 방법.

청구항 4

청구항 3에 있어서,

과산화수소를 더 사용하는 것을 특징으로 하는, 활성탄에 효소 또는 바이오 물질을 고정화하는 방법.

청구항 5

청구항 1에 있어서,

상기 (a) 단계의 활성탄은, 8×30 내지 60×80 메쉬 크기의 활성탄인 것을 특징으로 하는, 활성탄에 효소 또는 바이오 물질을 고정화하는 방법.

청구항 6

청구항 1 내지 5 중 어느 한 항에 따라, 효소 또는 바이오 물질이 고정화된 활성탄.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 활성탄에 효소 또는 바이오 물질을 고정화하는 방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 활성탄의 표면을 개질하여 효과적으로 효소 등의 물질을 고정화하는 방법 및 그에 따라 제조된 활성탄에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 현재까지 우리나라 경제, 산업의 기반은 대부분 석유화학 산업에 기반을 두고 있는 체제이고 석유는 앞으로도 전 세계적으로도 주종 에너지원으로서의 위치를 유지할 전망이다. 세계 석유공급 구조와 국내 석유소비 전망을 고려할 때, 향후 우리나라 뿐 아니라 세계 석유소비의 중동 의존도가 심화될 전망이며 이로 인한 경제, 산업구조에 미칠 영향도 고려해야 하는 상황에 도달하고 있다. 현재 운영되고 있는 공정의 대부분이 화학적인 공정에 기반을 두고 있는데, 그 이유는 값싸고 쉽게 구할 수 있는 화학촉매를 대부분 사용하고 있기 때문이다. 반응속

도나 수율 면에서 본다면 확실히 좋은 공정 이지만 환경적인 문제와 그 외에 들어가는 추가적인 공정 상 비용을 본다면 앞으로의 미래를 생각한다면 경제적, 환경적 문제가 대두될 것이다.

[0003] 이에, 종의 화석연료 기반의 에너지 및 화학제품 생산 공정을 대체할 수 있는 효소기반의 촉매의 필요성이 점차 커지고 있다. 효소 자체의 가격이 비싸 효소기반 촉매의 경제성이 다소 떨어지지만, 이러한 문제는 효소 고정화 기술을 도입하여 재사용을 가능하게 함으로 보완 가능하다. 효소 고정화 기술은 지금도 지속적으로 개발되고 있고, 그 종류로는 크게 4가지로 분류된다. (담체결합법: 공유결합, 이온결합, 물리적 흡착, 생화학적 결합을 담체에 효소를 고정화 하는 방법, 가교법: 효소분자끼리 가교체로 결합시켜 불용화시키는 방법, 포괄법: 저분자 화합물을 중합시켜 고분자 겔을 형성시키는 격자법, 복합법: 가교법과 포괄법의 조합, 결합법과 포괄법의 조합, 공유결합법과 포괄법의 조합) 이러한 다양한 고정화 기술을 바탕으로 화학촉매를 대체할 수 있는 효소촉매의 개발은 친환경적인 물질을 만드는데 필요한 분야이다.

[0004] 한편, 활성탄(active carbon)은 목재나 갈탄 등을 연화아연 등의 약품으로 처리, 건조시켜 제조한 것으로, 흡착성이 강하여 기체나 습기를 흡수시키는 흡착제 또는 탈색제로 사용된다. 특히, 활성탄은 대부분의 구성물질이 탄소질로 이루어져 친환경 소재로 활용 가능하다. 대한민국 공개특허 제2012-0108223호에는 활성탄을 소변기용 탈취제로 활용하고 있으며, 대한민국 공개특허 제2012-0108410호에서는 활성탄을 이용한 휴대용 정수기가 기재되어 있다.

[0005] 다만, 활성탄을 이용하여 효소 등을 고정화하는 기술은, 현재까지 개발된 바 없으며, 이에 본 발명자들은 친환경 효소촉매인 활성탄에 효소를 고정화하는 기술을 개발함으로써 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 제2012-0108223호
(특허문헌 0002) 대한민국 공개특허 제2012-0108410호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 하나의 목적은, 효과적으로 활성탄에 효소 또는 바이오 물질을 고정화하는 방법을 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명의 다른 목적은, 효소 또는 바이오 물질이 고정화된 활성탄을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0009] 본 발명은, (a) 활성탄에 산, 산화제 또는 그 혼합물을 처리하여 활성탄의 표면을 산화하는 단계; (b) 상기 표면이 산화된 활성탄을, $-NH_2$, $-COOH$, $-NHS$ 및 바이오틴(-Biotin)으로 이루어진 군부터 선택되는 치환기로 개질하는 단계; 및 (c) 상기 개질된 활성탄에, 리파아제(lipase), 글루코오즈 옥시데이즈, 라카아제(laccase), 카탈라아제(catalase), 미생물, 항원 및 항체로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 효소 또는 바이오 물질을 고정화하는 단계를 포함하는, 활성탄에 효소 또는 바이오 물질을 고정화하는 방법을 제공한다.

[0010] 본 발명의 일 예에 의하면, 상기 (a) 단계의 산은 황산, 인산 또는 그 혼합물일 수 있다.

[0011] 본 발명의 다른 예에 의하면, 상기 (b) 단계에서 활성탄을, $-NH_2$ 치환기로 개질하는 경우, 3-아미노프로필트리 에톡시실란(aminopropyl-triethoxysilane; 3-APTES), 에틸렌디아민 (Ethylenediamine) 및 NN'-디사이클로헥실 카보디이미드(NN'-dicyclohexylcarbodiimide; DCC)로 구성된 그룹에서 선택되는 하나 이상을 사용할 수 있다.

[0012] 본 발명의 또 다른 예에 의하면, 과산화수소를 더 사용할 수 있다.

[0013] 본 발명의 또 다른 예에 의하면, 상기 (a) 단계의 활성탄은, 8×30 내지 60×80 메쉬 크기의 활성탄인 것이 바람직하다.

[0014] 한편, 본 발명은, 상기 방법에 따라 효소 또는 바이오 물질이 고정화된 활성탄을 제공한다.

발명의 효과

[0015] 본 발명에 따라 활성탄을 개질하여 효소 등을 고정화하는 경우, 고활성의 효소 촉매 생산 공정의 개발이 가능하여, 환경 및 에너지 문제에 많은 기여를 할 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

[0016] 도 1 은 다양한 크기의 활성탄에 리파아제를 고정화하여, 활성탄의 크기에 따른 고정화된 효소의 활성도를 측정하여 나타낸 그래프이다.

도 2 는 본 발명에 따라, 활성탄의 표면을 산과 산화제로 개질하여 제조한 다공성의 활성탄을 보여주는 그림이다.

도 3은 본 발명의 최종적으로 선정된 고정화 방법으로 리파아제가 활성탄에 붙어있는 것을 분석한 그림이다.

도 4는 본 발명에 따라 활성탄의 표면을 개질하여 리파아제를 고정화한 활성탄((나) 내지 (마)) 및 표면의 개질 없이 리파아제를 고정화한 활성탄(가)의 활성도를 비교하여 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0018] 본 발명은, (a) 활성탄의 표면을 산화하는 단계; (b) 활성탄의 표면을 -NH₂, -COOH, -NHS 또는 바이오틴(-Biotin)으로 개질하는 단계; 및 (c) 상기 개질된 활성탄에, 효소 또는 바이오 물질을 고정화하는 단계를 포함하는, 활성탄에 효소 또는 바이오 물질을 고정화하는 방법에 대한 것이다.

[0019] 이하, 본 발명의 방법을 단계별로 설명한다.

[0020]

(a) 활성탄의 표면을 산화하는 단계

[0022] 상기 단계는 활성탄에의 고정화를 최적화 하기 위해, 활성탄의 표면 자체를 산 및/또는 산화제로 처리하여 더욱 다공성으로 만드는 단계이다.

[0023] 본 단계에서 사용되는 활성탄은, 당업자에게 활성탄으로 인식되는 것을 사용할 수 있다. 또한, 활성탄의 크기에 따라 고정되는 효소 등의 활성이 차이나게 되는데, 8×30 내지 60×80 메쉬 크기의 활성탄을 사용하는 것이 바람직하며, 30×60 메쉬 크기의 활성탄을 사용하는 것이 더욱 바람직하다.

[0024] 본 단계에서 사용 가능한 산은 특별히 한정되는 것은 아니나, 황산, 인산 또는 그 혼합물을 사용하는 것이 바람직하다. 또한, 상기 산화제는 특정 산화제로 한정되는 것은 아니나, 아염소산 나트륨 (sodium chlorite), 과망간산칼륨 (potassium permanganate), 염소산칼륨 (potassium chlorate) 또는 이들의 혼합물을 사용하는 것이 바람직하다.

(b) 활성탄의 표면을 개질하는 단계

[0026] 본 단계는 활성탄에 효소 또는 바이오 물질의 고정화를 용이하기 위해 활성탄의 표면을 개질하는 단계로, 구체적으로 -NH₂, -COOH, -NHS 또는 바이오틴(-Biotin)으로 개질할 수 있다.

[0027] 활성탄의 표면을 -NH₂ 치환기로 개질하는 경우, 3-아미노프로필트리에톡시실란(aminopropyl-triethoxysilane; 3-APTES), 에틸렌디아민 (Ethylenediamine) 및 NN'-디사이클로헥실카보디이미드(NN'-dicyclohexylcarbodiimide; DCC)로 구성된 그룹에서 선택되는 하나 이상을 사용할 수 있다.

- [0028] (c) 상기 개질된 활성탄에 효소 또는 바이오 물질을 고정화하는 단계
- [0029] 상기 효소 또는 바이오 물질은, 당업자에게 효소 또는 바이오 물질로 인식되는 것이면 특별히 한정되지 않는다. 바람직하게는, 리파아제(lipase), 글루코오즈 옥시데이즈, 라카아제(laccase), 카탈라아제(catalase), 미생물, 향원 및 향체로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 효소 또는 바이오 물질을 사용할 수 있다.
- [0030] 본 단계에서 효소 또는 바이오 물질의 고정화는, 담체에 효소 또는 바이오 물질을 고정화 하기 위하여 알려진 방법을 사용할 수 있으며, 구체적으로는 활성탄의 표면의 치환기와 효소 또는 바이오 물질상의 단백질과의 공유 결합에 의해 고정될 수 있다.
- [0031] 한편, 본 발명은, 상기 방법에 따라 효소 또는 바이오 물질이 고정화된 활성탄을 제공한다.
- [0032] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시하나, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.
- [0033] [참조예]
- [0034] <활성탄의 크기가 효소 고정화에 미치는 영향 평가>
- [0035] 본 발명에서 활성탄(삼천리활성탄소(주)에서 구입)의 크기가 효소의 활성도에 영향을 미치는지 알아보기 위해 5 가지의 메시 크기로 선정하고, 고정화를 실시하여 활성도를 측정하였다.
- [0036] 구체적으로, 각각 (가) 4×8, (나) 8×12, (다) 8×30, (라) 30×60, (마) 60×80 메시 크기의 활성탄(삼천리 활성탄소(주)에서 구입)을 준비하여, 각각의 활성탄에 대하여 효소 고정화를 다음과 같이 실시하였다.
- [0037] 여기서 사용된 효소는 리파아제로, 무위치 선택성 리파아제(non-specific lipase)인 켄디다 루고사(*Candida rugosa*) 리파아제(시그마알드리치) 및 1,3-위치선택성 리파아제(1,3-specific lipase)인 리조포스 오라이제(*Rhizopus oryzae*) 리파아제(시그마알드리치)가 하나의 담체에 동시고정화된 동시고정화 리파아제를 사용하였다. 구체적으로, 리파아제 용액 및 글루타르알데히드를 첨가하여, 리파아제와 활성탄 사이에 가교반응을 일으켜 효소를 막 위에 고정화 시켰다.
- [0038] 구체적인 고정화 방법은 다음과 같다.
- [0039] 1. 리파아제 준비
- [0040] 1g의 리파아제를 0.25M sodium phosphate (SP)와 3-(N-morpholino) propane-1-sulfonic acid (MOPs) 혼합버퍼 용액 100 mL에 현탁하고 이를 원심분리기에서 4℃, 4000 rpm에서 15분 동안 원심분리를 수행한 후, 상등액만 회수하여 고정화 연구를 위해 4℃에 저장하였다.
- [0041]
- [0042] 2. 리파아제 전처리
- [0043] 0.5 ml의 Soybean oil 에 *C. rugosa*와 *R. oryzae* 리파아제 용액 10 ml을 넣어 200 rpm, 40℃의 반응조건에서 30분 동안 반응 시켰다. 그 후에 반응한 리파아제 용액을 고정화 공정에 사용하였다.
- [0044] 3. 활성탄의 표면 개질
- [0045] 황산과 인산의 적절한 비율로 혼합한 혼합액 50 ml을 활성탄 1g과 산화제 10g을 4℃의 반응기에서 24시간동안 반응 시켜준다. 그 후, 물로 중화를 시키고 80℃에서 건조시켜준다.
- [0046]

- [0047] 4. 리파아제의 고정화를 위한 활성탄의 활성화
- [0048] 아세톤의 20 ml에 3-aminopropyltriethoxysilane (3-APTES)를 첨가하여 10 %의 3-APTES용액을 제조하고 여기에 NN'-디사이클로헥실카보디이미드(NN'-dicyclohexylcarbodiimide; DCC), 1그램의 건조한 활성탄을 넣어 50℃의 온도에서 2시간 동안 반응시킨다. 반응 후 증류수를 이용하여 담체를 세척하고 이를 60℃의 온도에서 건조한 후 1mM의 phosphate 버퍼 20 mL에 넣어 현탁하고 25% (w/v) glutaraldehyde의 2mL를 첨가하여 20℃의 조건에서 2시간 동안 반응시켰다. 그 후에 증류수를 이용하여 세척 후 60℃의 조건에서 2시간 동안 건조하였다.
- [0049] 5. 리파아제 고정화
- [0050] 활성화된 활성탄 (1g)을 20 mL의 리파아제 용액과 혼합하여 20℃에서 24h 동안 고정화를 수행하였다. 고정화 공정 후 동시고정화된 리파아제는 여과장치를 이용하여 분리 후 증류수를 세척 후 상온 조건에서 건조하였다.
- [0051]
- [0052] 위와 같은 방법으로, 5가지 크기의 활성탄에 각각 고정화된 리파아제의 활성도를 다음과 같이 측정하였다. 10%(w/v)의 대두유를 녹인 10mL의 이소옥탄(isooctane)을, 200mg의 고정화된 리파아제를 혼합한 0.5M 인산완충액(pH 7) 10mL에 첨가하였다. 반응 혼합액을 37℃ 항온조안에서 150 rpm으로 교반하면서 30분 동안 반응시켰다. 반응 종료 후, 상층액 2mL를 취하여 시험관에 넣은 후 구리-아세테이트-피리딘(Cu-acetate-pyridine) 용액 0.5mL와 반응시켰다. 발색된 유리 지방산을 715nm에서 흡광도를 측정함으로써 정량하였다. 1분간 생성된 지방산의 μmol 수를 1U으로 하여 리파아제의 활성을 계산하였다. 그 결과, 각각의 리파아제 활성은 (가) 4×8: 976U/g, (나) 8×12: 1127U/g, (다) 8×30: 1411U/g, (라) 30×60: 1829U/g, (마) 60×80: 1669U/g이며, 이를 도 1에 나타내었다. 도 1의 결과를 보면, 측정된 5가지의 샘플 중 30×60 크기의 활성탄이 1829U/g으로 가장 좋은 효율을 보임을 알 수 있다.
- [0053] [실시예]
- [0054] 실시예 1. 산(산화제)처리 및 3-APTES 처리를 통한 리파아제의 고정화
- [0055] (1) 산 및/또는 산화제의 처리를 통한 활성탄의 표면 산화
- [0056] 리파아제를 활성탄에 고정하기 위하여, 30×60 크기의 활성탄에 황산과 인산을 부피 비 9:1로 혼합한 혼합액을, 활성탄 10g 기준으로 200ml 첨가하고, 산화제인 과망간산칼륨 30g을 4℃로 돌아가는 자켓(4℃의 물이 반응기를 순환하는 워터자켓 (순환식냉각관))에 함께 첨가하여 24시간 동안 반응시켰다. 반응종료 후, 개질된 활성탄을 물로 세척하고, 진공오븐에 80℃에서 4시간 이상 건조시켰다.
- [0057] (2) 3-APTES 처리를 통한 활성탄에 아민 작용기 생성
- [0058] 산 처리 한 활성탄에 아민(NH_2)작용기를 생성하기 위해, 상기 (1)에서 표면이 개질된 활성탄에 3-아미노프로필 트리에톡시실란(aminopropyl-triethoxysilane; 3-APTES) 60ml을 첨가한 후, 50℃에서 자켓에 완전 밀봉하여 24시간 동안 반응을 시켰다. 그 후, 상기 활성탄을 다시 물로 세척 후, 4시간이상 건조 시켰다.
- [0059] (3) 리파아제의 고정
- [0060] 상기 과정을 통해 제조된 아민기를 가지고 있는 활성탄에, 상기 참조예 1에서 사용한 방법과 동일한 방법으로 리파아제를 고정시켰다.
- [0061] 실시예 2. 산(산화제)처리 및 에틸렌디아민 처리를 통한 리파아제의 고정화
- [0062] 상기 실시예 1(2)에서 3-아미노프로필트리에톡시실란(aminopropyl-triethoxysilane; 3-APTES) 대신 에틸렌디아민 (Ethylenediamine)을 동량 사용한 것을 제외하고, 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 활성탄에 리파아제를 고정하였다.

[0063] **실시예 3. 산(산화제)처리 및 3-APTES/DCC 처리를 통한 리파아제의 고정화**

[0064] 상기 실시예 1(2)에서 상기 3-아미노프로필트리에톡시실란(aminopropyl-triethoxysilane; 3-APTES)에 NN'-디사이클로헥실카보디이미드(NN'-dicyclohexylcarbodiimide; DCC) 0.29ml를 더 첨가하여 반응시킨 것을 제외하고, 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 활성탄에 리파아제를 고정하였다.

[0065] **실시예 4. 산(산화제)처리 및 에틸렌디아민/과산화수소 처리를 통한 리파아제의 고정화**

[0066] 상기 실시예 2(2) 단계 후, 과산화수소(H_2O_2) 34.5%를 100ml/g을 넣어주어 2시간 내지 3시간 반응을 시킨 것을 제외하고, 상기 실시예 2과 동일한 방법으로 활성탄에 리파아제를 고정하였다.

[0067] **비교예 1. 활성탄에 리파아제의 고정화**

[0068] 상기 실시예 1(1) 및 (2)의 활성탄 표면개질 단계를 수행하지 않은 것을 제외하고, 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 활성탄에 리파아제를 고정하였다.

[0069] **[시험예 1] 표면을 개질한 활성탄의 표면 관찰**

[0070] 상기 실시예 1(1)에서 표면처리한 활성탄의 표면을, 전자주사현미경 (Scanning Electron Microscope)을 이용하여 활성탄의 표면을 찍어 개질 정도를 확인하였다. 그 결과를 도 2에 나타내었다. 도 2를 참조하면, (가)는 개질 전과 (나)는 개질 후의 활성탄의 표면을 찍은 것으로 육안으로도 확실히 다공성이 되었다는 것을 확인 할 수 있다.

[0071] **[시험예 2] 리파아제를 고정화한 활성탄의 표면 관찰**

[0072] 상기 실시예 1에 따라 리파아제를 고정화한 활성탄의 표면을 전자주사현미경 (Scanning Electron Microscope) (제조사: 히타치(Hitach), 모델명: FE-SEM Hitach S-4300) 을 이용하여 관찰하였다. 그 결과를 도 3에 나타내었다. 도 3을 참조하면, 개질된 활성탄 표면에 리파아제가 붙어 있는 것을 확인 할 수 있다.

[0073] **[시험예 3] 활성탄에 고정된 리파아제의 활성도 측정**

[0074] 상기 실시예 1 내지 4 및 비교예 1에 대하여, 리파아제의 활성도를 상기 참조예에서 수행한 것과 동일한 방법으로 평가하였다.

[0075] 그 결과를 도 4에 나타내었다. 도 4를 참조하면, 실시예 1 내지 4는 비교예 1에 비해 월등히 높은 활성도를 나타내어, 본 발명의 방법에 따른 리파아제의 활성탄에의 고정화 효과를 확인하였다.

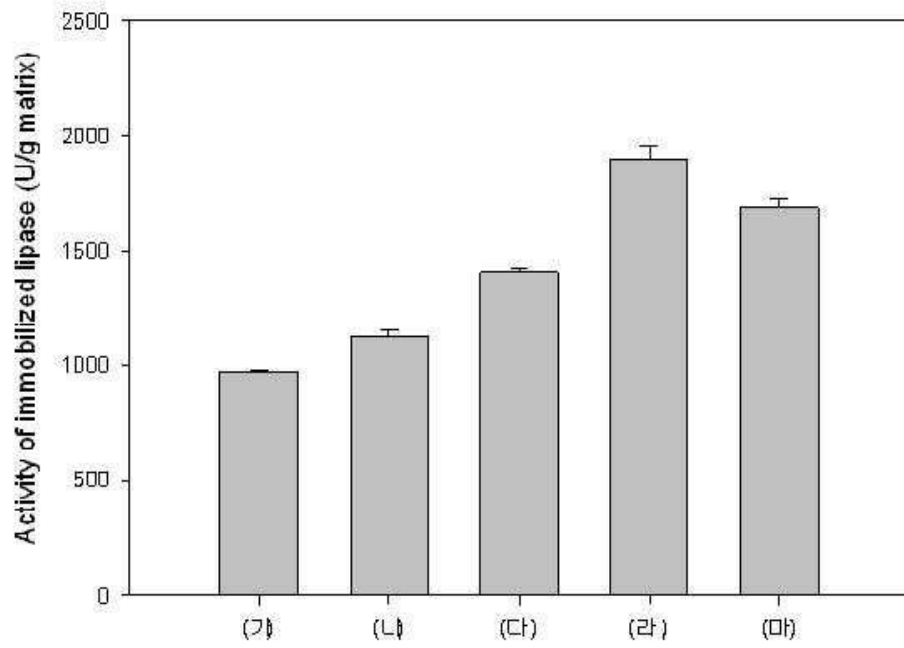
[0076] 구체적으로, 개질된 활성탄에 3-APTES과 에틸렌디아민을 각각 사용한, 실시예 1 과 실시예 2 중에서, 3-APTES를 사용한 실시예 1이 보다 높은 효율을 나타내었으며,

[0077] 실시예 3의 경우, 실시예 1 보다 높은 활성도를 나타내었는데, 이는 DCC의 처리에 의해 더욱 강한 결합력이 형성되었기 때문이다.

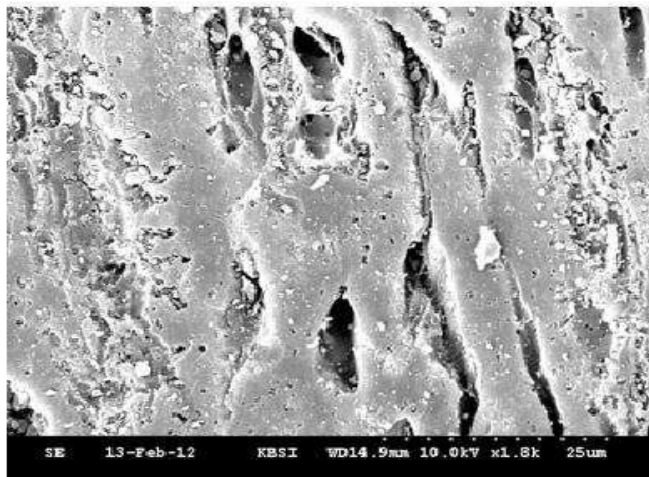
[0078] 또한, 실시예 4의 활성탄이 가장 우수한 활성도를 나타내었는데, 과산화수소 처리로 인하여 수화반응이 일어나 작용기간의 강한 결합을 가지게 되기 때문이다.

도면

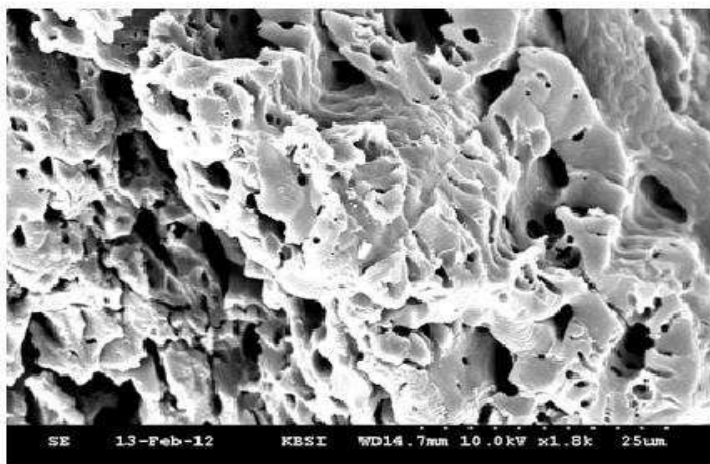
도면1



도면2

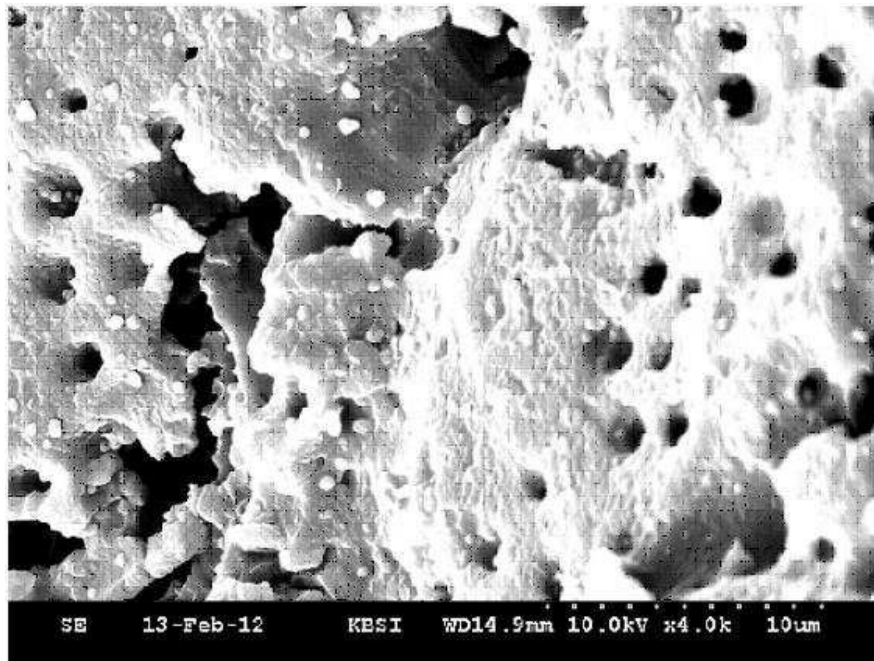


(가)



(나)

도면3



도면4

