



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0041436

(43) 공개일자 2025년03월25일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12N 9/18 (2006.01) C12N 11/10 (2006.01)

C12P 7/40 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C12N 9/18 (2013.01)

C12N 11/10 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2023-0124158

(22) 출원일자 2023년09월18일

심사청구일자 2023년09월18일

(71) 출원인

조선대학교산학협력단

광주광역시 동구 조선대길 126(서석동, 산학협력단)

(72) 발명자

유훈

광주광역시 광산구 장덕로95번길 45 수완자이 104동 2102호

부 두영 등

광주광역시 동구 필문대로 309 조선대학교 치과대학 치과약리학 교실

(74) 대리인

신무연

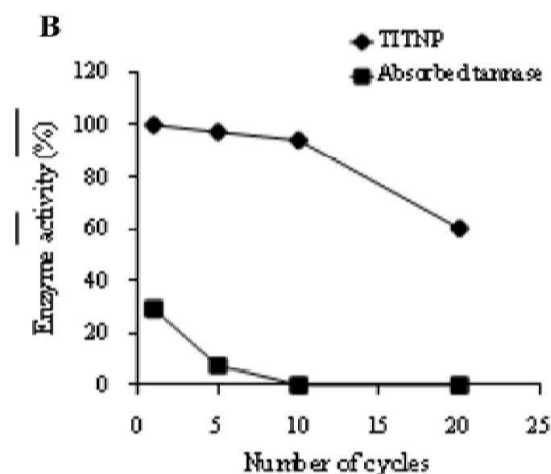
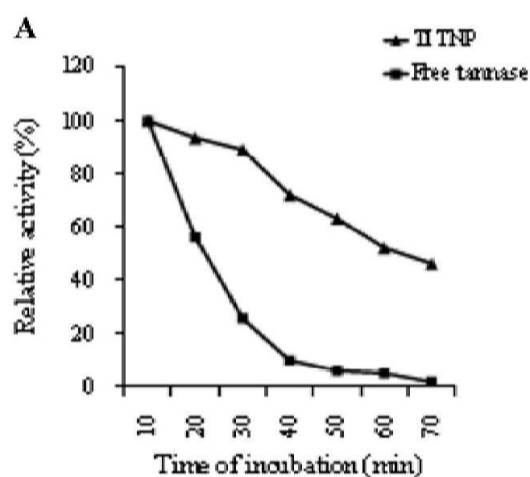
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 타닌분해효소 입자

(57) 요약

본 발명은 표면에 복수개의 타닌분해효소가 결합된 이산화티타늄 입자를 포함하는 타닌분해효소 입자에 관한 것으로, 유리 타닌분해효소 대비 개선된 열안정성 및 재사용성을 갖는다.

대표도 - 도6



(52) CPC특허분류

C12P 7/40 (2022.01)

C12Y 301/0102 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711197926
과제번호	00222390
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	집단연구지원
연구과제명	구강연조직 질환극복 융복합 연구센터
기 여 율	1/2
과제수행기관명	조선대학교 산학협력단
연구기간	2023.06.01 ~ 2024.02.29

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711146991
과제번호	2020R1F1A1058604
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)
연구과제명	산화티타늄을 이용한 기능성 나노입자 개발 및 생명분야 응용
기 여 율	1/2
과제수행기관명	조선대학교 산학협력단
연구기간	2020.06.01 ~ 2023.05.31

명세서

청구범위

청구항 1

표면에 복수개의 타닌분해효소가 결합된 이산화티타늄 입자를 포함하는 타닌분해효소 입자.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 타닌분해효소는 상기 이산화티타늄 입자 표면 실록산기 중 적어도 일부에 결합된 타닌분해효소 입자.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 타닌분해효소는 링커를 통해 C=N 공유결합으로 결합된 타닌분해효소 입자.

청구항 4

청구항 1 내지 3 중 어느 한 항의 타닌분해효소 입자를 포함하는 갈릭산 제조용 조성물.

청구항 5

이산화티타늄 나노입자의 표면을 아미노화하는 단계; 및

포밀기가 결합된 타닌분해효소를 상기 이산화티타늄 나노입자와 반응시켜, 이산화티타늄 나노입자의 표면에 타닌분해효소를 결합시키는 단계;를 포함하는 타닌분해효소 입자의 제조 방법.

청구항 6

청구항 5에 있어서, 상기 아미노화는 상기 이산화티타늄 나노입자에 아미노알킬폴리실록산을 가하여 수행되는 타닌분해효소 입자의 제조 방법.

청구항 7

청구항 6에 있어서, 아미노알킬실란트라이올을 축합하여 상기 아미노알킬폴리실록산을 제조하는 단계를 더 포함하는 타닌분해효소 입자의 제조 방법.

청구항 8

청구항 5에 있어서, 타닌분해효소에 알칸디알을 처리하여 상기 포밀기가 결합된 타닌분해효소를 제조하는 단계를 더 포함하는 타닌분해효소 입자의 제조 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 타닌분해효소 입자에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 효소는 높은 기질 특이성, 거울상 선택성을 가지고 있어 아미노 분해, 에스테르화 등에 용이하고 반응 시 높은 압력이나 온도 조건이 필요하지 않아 산업분야에서 다양하게 사용되고 있다. 또한 효소는 반응 후 완전히 분해되어 화학 물질 및 폐기물이 생성되는 화학 촉매와 달리 친환경적으로 사용이 가능하다.

[0004] 그러나 이러한 효소 촉매는 물에서 용해도가 높아 수용성 반응 혼합물에서 회수하는 것이 어려워 상용화 과정에 어려움을 겪고 있다. 또한 생화학 반응 중에 단백질의 구조적 안정성을 유지하는 것이 어려워 이로 인해 효소의 생물학적 활성에도 영향을 미칠 수 있다. 뿐만 아니라 보관 기간이 짧아 장기간 사용 시 안정성이 떨어져 생산 및 가공 과정에서 많은 비용이 발생한다.

[0005] 최근 효소의 생물학적 활성을 보존하고 지지체에 강력하게 고정화할 수 있도록 가교결합, 흡착, 공유결합, 캡슐화 등 다양한 효소고정화 방법이 연구되고 있다. 효소고정화는 반응 혼합물에서 효소 분리 및 재사용이 용이하고 열적, 화학적 안정성을 향상시킨다. 또한 효소의 보관기간을 높여 장기간 사용시에도 효소의 활성을 잃지 않도록하여 반응 공정 시 비용을 감소시킬 수 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 한국특허 제2486631호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 타닌분해효소 입자를 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

- [0010] 1. 표면에 복수개의 타닌분해효소가 결합된 이산화티타늄 입자를 포함하는 타닌분해효소 입자.
- [0011] 2. 위 1에 있어서, 상기 타닌분해효소는 상기 이산화티타늄 입자 표면 실록산기 중 적어도 일부에 결합된 타닌분해효소 입자.
- [0012] 3. 위 1에 있어서, 상기 타닌분해효소는 링커를 통해 C=N 공유결합으로 결합된 타닌분해효소 입자.
- [0013] 4. 위 1 내지 3 중 어느 한 항의 타닌분해효소 입자를 포함하는 갈릭산 제조용 조성물.
- [0014] 5. 이산화티타늄 나노입자의 표면을 아미노화하는 단계; 및
- [0015] 포밀기가 결합된 타닌분해효소를 상기 이산화티타늄 나노입자와 반응시켜, 이산화티타늄 나노입자의 표면에 타닌분해효소를 결합시키는 단계;를 포함하는 타닌분해효소 입자의 제조 방법.
- [0016] 6. 위 5에 있어서, 상기 아미노화는 상기 이산화티타늄 나노입자에 아미노알킬폴리실록산을 가하여 수행되는 타닌분해효소 입자의 제조 방법.
- [0017] 7. 위 6에 있어서, 아미노알킬실란트라이올을 축합하여 상기 아미노알킬폴리실록산을 제조하는 단계를 더 포함하는 타닌분해효소 입자의 제조 방법.
- [0018] 8. 위 5에 있어서, 타닌분해효소에 알칸디올을 처리하여 상기 포밀기가 결합된 타닌분해효소를 제조하는 단계를 더 포함하는 타닌분해효소 입자의 제조 방법.

발명의 효과

[0020] 본 발명의 타닌분해효소 입자는 유리 타닌분해효소 대비 우수한 열안정성 및 재사용성을 갖는다.

도면의 간단한 설명

[0022] 도 1은 TINTP(Tannase-immobilized titanium dioxide nanoparticles, 타닌분해효소 입자)의 제조 스킴을 나타낸 것이다.

도 2는 아나타제, 비정질 및 루틸 형태의 TNP에 대한 아미노 관능화의 효율성을 나타낸 것이다.

도 3은 APTES와의 반응 전후의 아나타제 TNP의 FTIR 스펙트럼이다.

도 4는 TNP의 아미노 관능화 전/후의 제타 전위 및 침전 거동의 변화를 나타낸 것이다. A, 제타 전위 (왼쪽) 및 TNP의 분산 용액 (오른쪽) 이미지 (25 ° C에서 1 일 후); B, 제타 전위(왼쪽) 및 침전된 아미노 관능화 TNP의 이미지(오른쪽). (25° C에서 1일 후).

도 5는 온도와 pH가 TINTP의 활성에 미치는 영향을 나타낸 것이다: A, TINTP로의 탄닌산 가수분해 후 다양한 온도에서 검출된 GA 피크의 모세관 전기전도도(위); TINTP의 상대적 활성도(아래); B, TINTP로의 탄닌산 가수분해 후 다양한 pH에서 검출된 GA 피크의 모세관 전기전도도(위); TINTP의 상대적 활성도(아래).

도 6은 TINTP의 열 안정성 및 재사용성을 나타낸 것이다: A, 열 안정성; B, 재사용성.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0023] 이하 본 발명을 상세히 설명한다.

[0025] 본 발명은 타닌분해효소 입자에 관한 것이다.

[0026] 본 발명의 타닌분해효소 입자는 표면에 복수개의 타닌분해효소가 결합된 이산화티타늄 입자를 포함한다.

[0027] 복수개의 타닌분해효소가 사용됨으로써 효소 활성이 우수하고, 이산화티타늄 입자에 결합되어 효소의 열안정성, 재사용율이 현저히 개선된다.

[0028] 타닌분해효소(tannase)는 타닌과 갈산 에스터의 분해를 촉매하는 효소로서, 타닌산(tannic acid)의 갈산(gallic acid)으로의 전환을 촉매할 수 있다. 타닌분해효소로는 당 분야에 공지된 것이 제한 없이 사용될 수 있다.

[0029] 이산화티타늄 입자는 당 분야에 공지된 이산화티타늄 입자가 제한없이 사용될 수 있다.

[0030] 이산화티타늄 입자는 예를 들면 아나타제(anatse)형일 수 있다.

[0031] 이산화티타늄 입자는 예를 들면 그 입경이 10 내지 100nm, 10 내지 50nm, 10 내지 30 nm 등 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0032] 타닌분해효소는 이산화티타늄 입자에 직접 결합될 수도 있고, 링커를 거쳐 결합될 수도 있다.

[0033] 타닌분해효소의 이산화티타늄 입자에의 결합 방법은 제한되지 않고, 당 분야에 공지된 방법이 제한없이 사용될 수 있다.

[0034] 결합 방법의 예를 들면 타닌분해효소의 포밀기와 이산화티타늄 입자 표면의 아미노기의 반응에 의한 C=N 이중결합으로 결합될 수 있다. 타닌분해효소는 포밀기를 갖는 링커와 반응으로 포밀기가 도입된 것일 수 있다. 포밀기를 갖는 링커는 알칸디알(alkanedial)일 수 있다. 이는 예를 들면 프로판디알, 부탄디알, 펜탄디알, 헥산디알, 헵탄디알, 옥탄디알 등일 수 있다. 이산화티타늄 입자는 아미노알킬폴리실록산이 처리되어 아미노기가 도입된 것일 수 있다.

[0035] 이산화티타늄 입자는 표면에 다수의 실록산기를 가질 수 있고, 타닌분해효소는 그 중 적어도 일부에 결합될 수 있다. 인접한 또는 이격된 실록산기에 결합될 수도 있고, 2개 이상이라면 그 수는 제한되지 않으며, 입자 표면

의 모든 실록산기에 결합될 수도 있다. 인접한 실록산기에 결합된 경우 타닌분해효소가 인접/밀집하게 되므로 기질과의 접촉 가능성이 증가하고, 이에 반응 수율이 증가할 수 있다.

[0036] 이산화티타늄 입자 표면적이 타닌분해효소 또는 실록산기 크기 대비 현저히 넓으므로, 이산화티타늄 입자 표면에 다수 실록산기가 결합될 수 있고, 이에, 다수의 타닌분해효소가 결합될 수 있다. 이에, 기질과의 접촉 가능성이 증가하고 반응 수율이 상승할 수 있다.

[0038] 또한, 본 발명은 상기 타닌분해효소 입자를 포함하는 갈릭산 제조용 조성물에 관한 것이다.

[0039] 전술한 바와 같이, 본 발명의 타닌분해효소 입자는 타닌분해효소 대비 개선된 효소 활성, 열안정성, 재사용율을 가지므로, 종래 타닌분해효소 대비 보다 우수한 갈릭산 제조용 조성물로서 사용될 수 있다.

[0041] 또한, 본 발명은 타닌분해효소 입자의 제조 방법에 관한 것이다.

[0042] 본 발명의 방법은 이산화티타늄 나노입자의 표면을 아미노화하는 단계; 및 포밀기가 결합된 타닌분해효소를 상기 이산화티타늄 나노입자와 반응시켜, 이산화티타늄 나노입자의 표면에 타닌분해효소를 결합시키는 단계;를 포함한다.

[0043] 타닌분해효소의 결합을 위해 이산화티타늄 나노입자의 표면을 아미노화할 수 있다.

[0044] 이산화티타늄 입자는 예를 들면 아나타제(anatase)형일 수 있다. 그러한 경우 아미노화 효율이 우수하다.

[0045] 아미노화 방법은 제한되지 않고 공지된 방법, 물질을 사용하여 수행될 수 있다. 예를 들면 이산화티타늄 나노입자에 아미노알킬폴리실록산을 가하여 수행될 수 있다.

[0046] 이산화티타늄 입자는 표면에 히드록시기를 갖고 있는데, 아미노알킬폴리실록산을 가하면, 탈수가 일어나면서 도 1에 예시된 바와 같이 Si-O 결합이 형성되면서 아미노알킬폴리실록산이 이산화티타늄 입자 표면에 결합된다.

[0047] 아미노알킬폴리실록산은 아미노알킬실란트라이올을 축합하여 제조될 수 있다. 이에 본 발명의 방법은 아미노알킬실란트라이올을 축합하여 상기 아미노알킬폴리실록산을 제조하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0048] 아미노알킬실란트라이올을 축합하면 탈수되면서 복수개의 아미노알킬실란트라이올이 반응에 참여하여 아미노알킬폴리실록산이 얻어진다.

[0049] 아미노알킬실란트라이올은 아미노알킬트리알콕시실란을 가수분해하여 제조될 수 있다. 이에, 본 발명은 아미노알킬트리알콕시실란을 가수분해하여 아미노알킬실란트라이올을 제조하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0050] 아미노알킬트리알콕시실란의 알킬은 탄소수 1 내지 5의 알킬일 수 있고, 알콕시는 탄소수 1 내지 3의 알콕시일 수 있다.

[0051] 이후, 포밀기가 결합된 타닌분해효소를 상기 이산화티타늄 나노입자와 반응시켜, 이산화티타늄 나노입자의 표면에 타닌분해효소를 결합시킨다.

[0052] 포밀기가 결합된 타닌분해효소를 상기 이산화티타늄 나노입자와 반응시키면, 아미노기와 포밀기가 반응하여 C=N 공유결합이 형성되면서 타닌분해효소가 이산화티타늄 나노입자 표면에 결합된다.

[0053] 본 발명의 방법은 포밀기 도입을 위해, 타닌분해효소에 알칸디알을 처리하여 상기 포밀기가 결합된 타닌분해효소를 제조하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0054] 알칸디알은 예를 들면 프로판디알, 부탄디알, 펜탄디알, 헥산디알, 헵탄디알, 옥탄디알 등일 수 있다.

[0056] 실시예

[0057] 1. 방법

[0058] 재료

[0059] 탄나제(319 U/g, 타닌분해효소), 탄닌산, 갈산, 사염화티탄(TiCl₄), 3-아미노프로필트리에톡시실란(APTES) 및

글루타르알데히드(GLA, 50 %)는 시그마 알드리치(미국, 미주리)에서 구입하였다.

[0060] TNP(이산화티타늄 나노입자)는 TiCl_4 의 가수분해 반응에 의해 제조되었다. 구체적으로, 사업화 티타늄(98% TiCl_4)을 추가 정제 없이 주 출발 물질로 사용했으며, 적정량의 TiCl_4 를 얼음 수조에서 증류수에 용해했다. 티타늄의 농도를 3M으로 조정된 다음, 이 수용액을 온도 조절 수조에서 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 용액 또는 증류수(각각 아나타제 또는 혼합물 제조용)와 혼합했다. 혼합물을 고속으로 교반하면서 원하는 $[\text{H}_2\text{O}]:[\text{Ti}]$ 물 비율에 필요한 양의 TiCl_4 용액을 한 방울씩 첨가했다. 가수분해 온도(70°C)에서 1시간 동안 유지한 후, 혼합 용액을 2.5M 묽은 NH_4OH 로 pH 값이 7이 될 때까지 처리했다. 그런 다음 혼합 용액을 5 시간 동안 일정한 온도 (70°C)를 유지하는 수조에 넣었다. 그 후 침전된 산화 티타늄 ($\text{TiO}_2\text{-nH}_2\text{O}$)을 분리했다. 원심분리를 사용하여 용액에서 분리하고 증류수로 반복적으로 세척하여 염화 티탄이 없는 $\text{TiO}_2\text{-nH}_2\text{O}$ 를 만들었다. 수산화물을 진공 상태에서 110°C 에서 건조하고 미세한 분말로 분쇄했다. 이후 분말을 400°C 및 900°C 에서 2시간 동안 소성하여 아나타제 및 루틸 결정체의 산화 티타늄을 제조하였다.

[0062] 아미노 관능화 TNP의 제조

[0063] 아나타제 TNP 20mg을 10분 동안 초음파 처리하여 2ml 에탄올에 분산시켰다. 분산된 TNP 용액에 적절한 농도의 APTES를 첨가하고 15분 동안 초음파 처리하였다. 반응 생성물을 10,000rpm에서 5분간 원심분리하여 수집하고 에탄올로 세척한 후 진공 증발기에서 900°C 에서 4시간 동안 건조시켰다.

[0065] FT-IR 분광법

[0066] FT-IR 스펙트럼은 각 샘플에 대해 32 회 스캔하여 Nicolet 6700 분광 광도계 (Thermo Scientific, USA)를 사용하여 $400 \sim 4,000 \text{ cm}^{-1}$ 범위에서 얻었다.

[0068] 제타 전위

[0069] 제타 전위는 고성능 말변 제타사이저(Malvern Zetasizer, 영국 말변, 우스터셔)를 사용하여 측정했다. 샘플은 증류수 1ml에 나노 입자 0.01mg을 분산하여 준비했다.

[0071] 모세관 전기 영동

[0072] 용융 실리카 모세관이 설치된 모세관 전기영동(CE)(P/ACE 5500 시스템, Beckman, Kraemer, CA)을 실행하여 GA를 검출했다(길이 60cm, 내경 $100 \mu\text{m}$)(Polymicro Technologies, Phoenix, AZ, USA). CE는 정전류 모드($55 \pm 1 \mu\text{A}$)에서 정극성(+20 kV) 및 일정한 온도(25°C)에서 붕산나트륨 완충액(10 mM, pH 9.1)의 배경 전해질 하에 수행되었다. 유체 역학 주입(3초 동안 0.5psi)으로 샘플을 주입하고 UV 검출기로 214nm에서 피크를 검출했다.

[0074] 아미노 관능화 TNP에 탄나제의 결합

[0075] 탄나아제 결합은 GLA를 가교제로 사용하여 탄나아제를 아미노 관능화 된 TNP에 공유 결합하여 수행했다. TNP 10mg을 구연산염 완충액(50mM, pH 5.0) 1ml에 분산시키고 탄나제 $500 \mu\text{L}$ (2mg/ml) 및 GLA $50 \mu\text{L}$ (50%)를 첨가했다. 혼합물을 25°C 에서 15분간 더 인큐베이션했다. 마지막으로, 원심분리(10,000rpm, 5분간)를 통해 TITNP를 수집하고 구연산염 완충액에서 0.1mM TA로 세척했다.

[0077] 탄나제 활성 분석

[0078] 고정화된 탄나제의 활성은 탄나제가 촉매하는 TA 가수분해에서 방출되는 갈산(GA)의 양을 정량하여 측정했다. 간단히 말해, 구연산나트륨(0.1mM)에 $150 \mu\text{L}$ 의 TA(0.1mM)를 넣고 완충액(50mM, pH 5.0)을 25°C 에서 $50 \mu\text{L}$ 의 TITNP 현탁액(20 mg/ml)과 함께 배양했다. 10분 후, 반응 혼합물 $50 \mu\text{L}$ 를 에탄올 $50 \mu\text{L}$ (99.9%)가 들어 있는

마이크로튜브로 옮기고 10,000 rpm에서 5분간 원심분리했다. GA의 농도는 CE 전기영동도에서 GA의 피크 면적을 기준으로 GA의 표준 검량선을 작성하여 결정되었다.

[0080] **TITNP 활성 특성 분석**

[0081] 고정된 탄나제의 활성에 대한 온도와 pH의 영향은 10~80℃의 온도 범위와 2.0~9.0의 pH 범위(pH 2.0~6.0에서는 50mM 구연산 나트륨 완충액, pH 7.0~9.0에서는 50mM Tris-HCl 완충액 사용)에서 조사되었다. 샘플을 주어진 온도 또는 pH 조건에서 15분 동안 배양하고, 유리 탄나제(2 mg/ml)를 100% 활성으로 가정하여 TITNP의 탄나제 활성 백분율을 결정했다. 열 안정성 테스트를 위해 TITNP를 50mM 구연산염 완충액(pH 5.0)에서 70℃에서 60분 동안 배양하고 상대 탄나제 활성을 탄나제 활성 분석으로 측정했다.

[0083] **재사용 가능성**

[0084] 고정된 탄나제의 재사용 가능성을 확인하기 위해 0.1mM의 탄닌산을 준비했다. 각 사이클 후, 10,000 rpm에서 2분간 원심분리하여 TITNP를 회수하고 100 μ l의 구연산염으로 세척했다. 버퍼로 세척한 후 다음 사이클을 위해 재로딩했다. 가수분해 반응 조건은 탄나제 활성 분석에 설명된 바와 동일하다.

[0086] **2. 결과**

[0087] **아미노 관능화 TNP의 제조**

[0088] 아미노 관능화 TNP는 상기 방법으로 제조되었으며 다른 결정 형태 (무정형, 아나타제 및 루틸)의 TNP에 부착된 APTES의 정도는 아래 방정식으로 계산되었다.

$$\text{Functionalization efficiency (\%)} = \frac{m - m_0}{m} \times 100$$

[0089]

[0090] 여기서 m과 m₀는 각각 아미노 관능화 및 초기 TNP의 질량을 나타낸다. APTES(순도 98%)의 부피가 증가함에 따라 효율은 아나타제의 경우 4.52에서 8.12로, 무정형의 경우 1.95에서 4.71로 각각 증가했다. 그러나 루틸 형태의 TiO₂ NP는 효율이 나타나지 않아 APTES가 TNP와 반응하지 않았음을 나타낸다(도 2).

[0092] **아미노 관능화 TNP의 특성 분석**

[0093] 아나타제에서 TNP와 APTES의 반응은 FTIR 스펙트럼에서 APTES와 관련된 흡수 대역의 새로운 출현으로 TNP의 표면 화학적 특성을 변화시켰다(도 3) : 3396 및 3291 cm⁻¹에서 두 개의 피크, NH₂의 신축 모드; 3650 ~ 3210 cm⁻¹의 광대역, Si-OH 그룹에서 수소의 신축 모드; 2929 및 2879 cm⁻¹의 피크, CH₂ 신축 모드; 1525 및 1425 cm⁻¹의 피크, APTES의 아민기; 1386 cm⁻¹의 피크, Si-CH₂의 진동 모드; 1025 및 1114 cm⁻¹의 피크, Si-O-Si 및 Si-O-C 결합의 비대칭 신축 모드. 아미노 관능화 TNP는 또한 제타 전위(29.9 ~ -11mV)와 침전 거동(백색 침전물로 백색 분산)의 변화를 보였다(도 4).

[0095] **고정화된 탄나제(탄닌분해효소 입자) 활성 평가**

[0096] 탄나제 결합은 GLA 가교제를 사용하여 탄나제를 아미노 관능화 TNP에 공유 결합시킴으로써 수행되었다. 고정화 탄나제 활성에 대한 pH와 온도의 영향은 다양한 온도 또는 pH 조건에서 CE 실행 후 GA의 피크 면적을 정량하여 탄나제 활성 분석으로 조사했다. 도 5a에서 볼 수 있듯이 TITNP는 넓은 온도 범위(낮은 활성: 10℃에서 46.9%, 80℃에서 41.0%)에서 촉매 활성을 유지했으며, 40℃에서 최대 활성을 보였다. 또한 TITNP의 활성은 pH 5에서 최대 활성(pH 8에서 20% 미만)으로 pH 의존적이었다(도 5b). 또한 TITNP는 70℃에서 60분간 배양하는 가혹한 조건

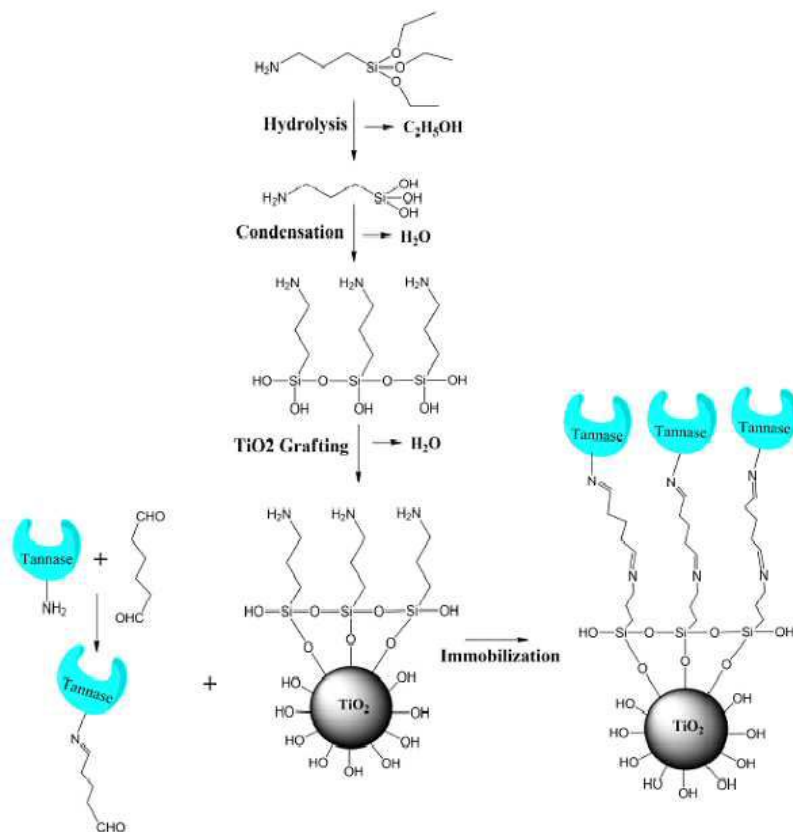
에서도 초기 효소 활성의 43%를 유지하는 향상된 열 안정성을 보인 반면, 유리 탄나제는 같은 조건에서 98%의 활성을 잃었다(도 6a). 재사용성의 경우, TITNP는 1주기 후 90% 이상, 20주기 후 60% 이상의 탄나제 활성을 유지하여 TiO_2 NP에 탄나제를 물리적으로 흡수하여 제조한 대조군보다 훨씬 높은 활성을 보였다(도 6b).

[0098] 재사용 가능성

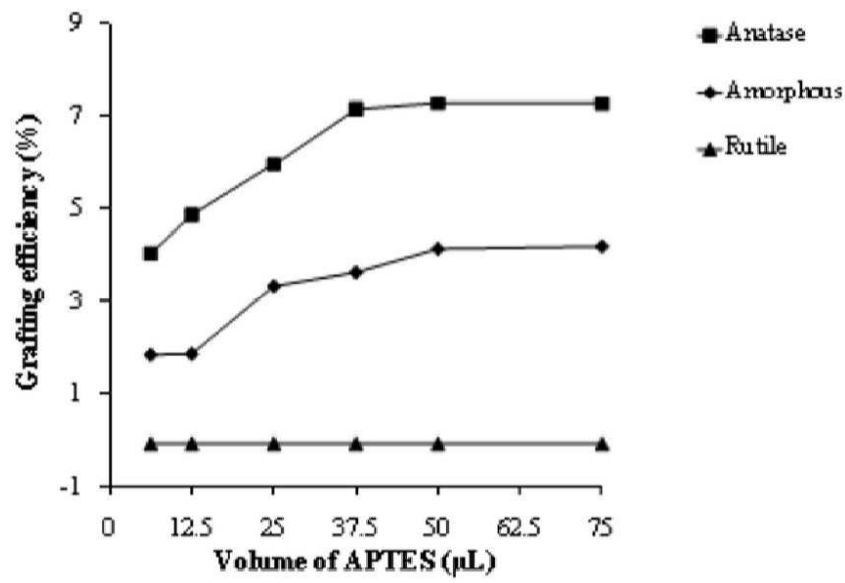
[0099] TITNP는 20회 가수분해 사이클 이후에도 잔여 활성이 60%인 것을 확인했다.

도면

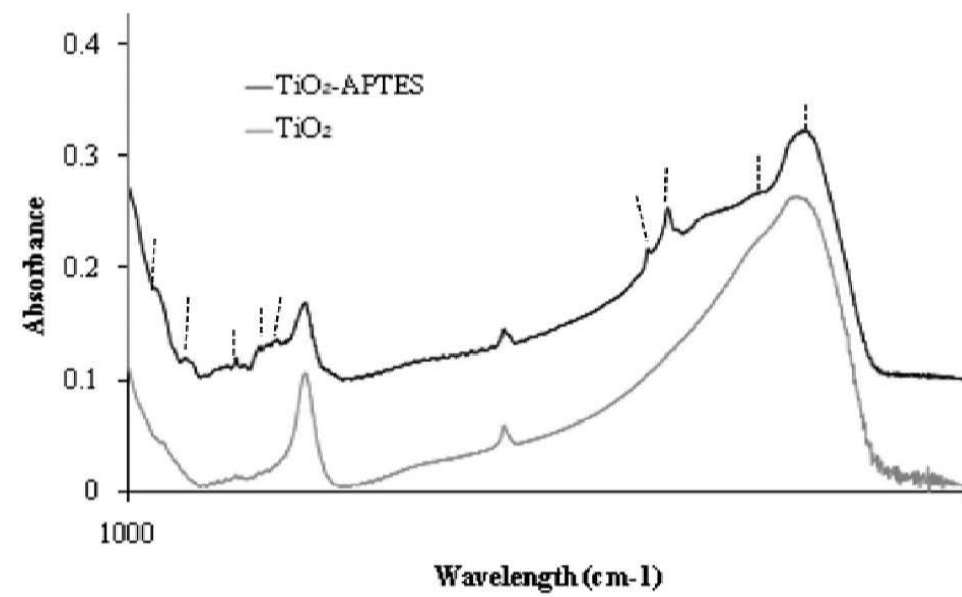
도면1



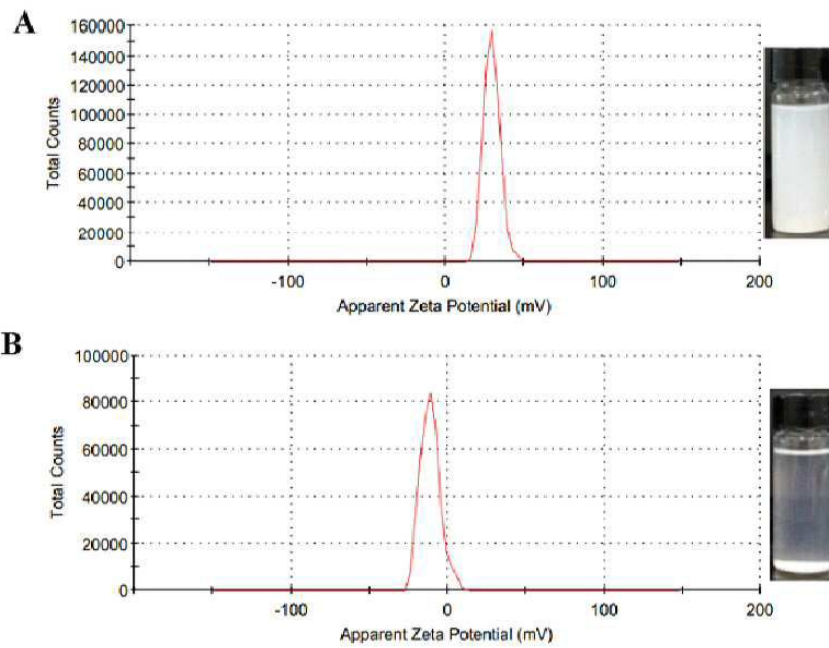
도면2



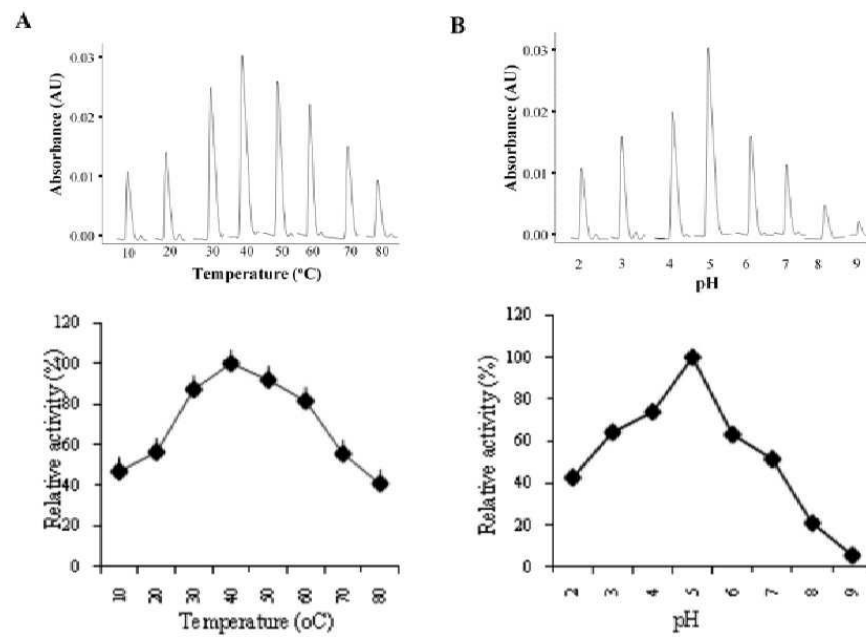
도면3



도면4



도면5



도면6

