(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0043874
(43) 공개일자 2025년03월31일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
*C12Q 1/44* (2006.01) *G01N 30/58* (2006.01)
(52) CPC특허분류
*C12Q 1/44* (2013.01)
*C12Y 301/0102* (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-0127133
(22) 출원일자 2023년09월22일
심사청구일자 2023년09월22일

(71) 출원인
**조선대학교산학협력단**
광주광역시 동구 조선대길 126(서석동, 산학협력단)
(72) 발명자
**유훈**
광주광역시 광산구 장덕로95번길 45 수완자이 104동 2102호
**부 뚜엉 동**
광주광역시 동구 필문대로 309 조선대학교 치과대학 치과약리학 교실
(74) 대리인
**신무연**

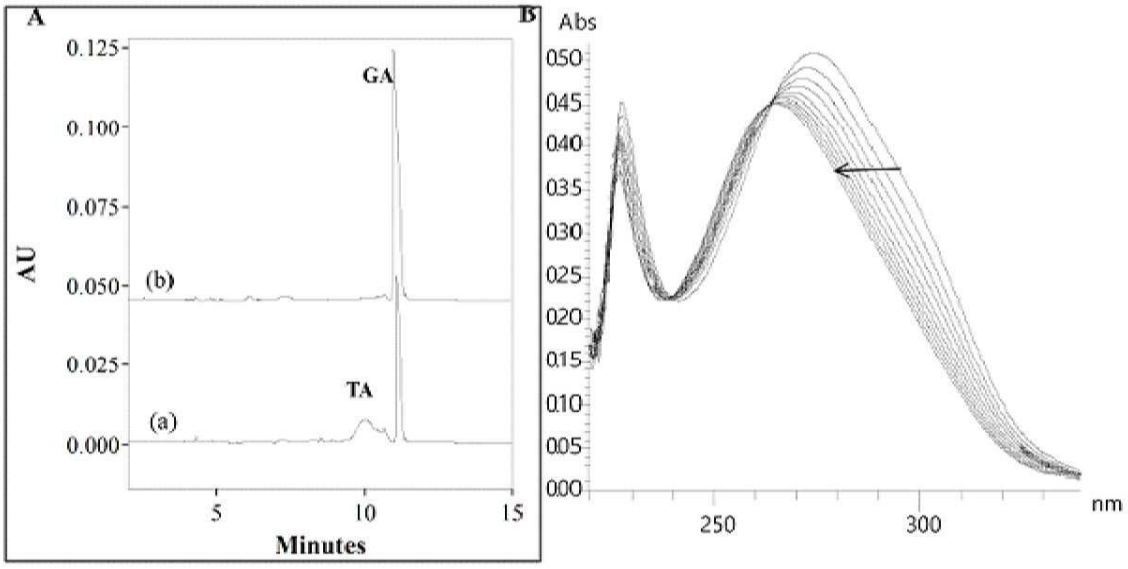
전체 청구항 수 : 총 4 항

(54) 발명의 명칭 **타닌분해효소의 활성도 결정 방법**

## (57) 요 약

본 발명은 타닌분해효소와 타닌산을 반응시키고, 알코올을 첨가하여 상기 반응을 종료시키는 단계; 및 상기 반응 생성물에 배경 전해질을 첨가하고, 모세관 전기영동 분석을 수행하여 상기 반응 생성물에서 타닌산 및 갈산을 분리하는 단계;를 포함함으로써, 빠르고, 간단하며, 특정 시간에 생성된 갈산을 정확하게 정량화 할 수 있고, 재현 가능한 타닌분해효소의 활성도 결정 방법에 관한 것이다.

*대 표 도* - 도2



(52) CPC특허분류
*G01N 2030/582* (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

# 명 세 서

## 청구범위

### 청구항 1

타닌분해효소와 타닌산을 반응시키고, 알코올을 첨가하여 상기 반응을 종료시키는 단계; 및

상기 반응 생성물에 배경 전해질을 첨가하고, 모세관 전기영동 분석을 수행하여 상기 반응 생성물에서 타닌산 및 갈산을 분리하는 단계;를 포함하는 타닌분해효소의 활성도 결정 방법.

### 청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 반응은 소듐 시트레이트 버퍼 하에 수행되는 타닌분해효소의 활성도 결정 방법.

### 청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 배경 전해질은 5 내지 15 mM 붕산, 5 내지 15mM 붕산나트륨, 0.1 내지 0.5% PEG 8000, pH 9 내지 10의 버퍼인 타닌분해효소의 활성도 결정 방법.

### 청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 분리된 타닌산과 갈산의 양을 정량화하여 타닌분해효소의 활성도를 결정하는 단계;를 더 포함하는 타닌분해효소의 활성도 결정 방법.

## 발명의 설명

### 기 술 분 야

[0001] 본 발명은 타닌분해효소의 활성도 결정 방법에 관한 것이다.

### 배 경 기 술

[0003] 탄나제(Ta, 타닌분해효소)는 알로탄닌 및 엘라기탄닌과 같은 폴리페놀 화합물 그룹인 탄닌을 GA(3,4,5-트리하이드록시벤조산)와 포도당으로 가수분해하는 촉매 역할을 하는 효소이다. 탄나제는 식물과 미생물(박테리아, 효모, 곰팡이)에 존재하며 식품, 음료, 양조, 화장품 및 화학 산업에서 사용되어 왔다. 치과 분야에서 탄나제는 치아 변색과 에나멜 침식의 원인이 되는 타닌을 분해하는 항우식성 특성으로 인해 잠재적인 용도가 있다. 또한 탄나제 작용의 산물은 치아 강화, 플라그 제거, 치아 미백 및 항염증에 사용되었다. 예를 들어, 탄나제의 가수분해 산물인 갈산(GA)은 항산화 및 항염 작용을 하는 갈레이트 에스터의 다양한 생리 활성 유도체를 합성하는 데 유용한 중간체이다. 또한, 탄나제는 복합 레진 및 의치 접착제와 같은 치과 재료의 생체 적합성을 개선하고 박테리아 성장 위험을 줄이기 위해 복합 레진 및 의치 접착제와 같은 치과 재료 생산에 사용되어 왔으며, 특히 구강 병원균인 스트렙토코커스 뮤탄스에 의한 생물막 형성을 방지하는 데에도 사용된다.

[0004] 지난 수년 동안 임상 및 산업 공정에서 탄나제 활성을 평가하기 위한 다양한 방법이 개발되었다. 예를 들어, TA 반응에서 방출된 포도당을 추정하거나, 잔류 타닌산을 정량화하는 비색분석법, 그 외에 활성 측정을 위한 UV 분광광도법 등이 사용되었다.

[0005] 그러나 이러한 방법은 매우 특이적이고 민감하며 신뢰할 수 있지만 분석 시간이 오래 걸린다는 문제가 있다.

## 선행기술문헌

### 특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 한국특허 제2486631호

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 타닌분해효소의 빠르고, 민감한 활성도 결정 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

### 과제의 해결 수단

[0010] 1. 타닌분해효소와 타닌산을 반응시키고, 알코올을 첨가하여 상기 반응을 종료시키는 단계; 및

[0011] 상기 반응 생성물에 배경 전해질을 첨가하고, 모세관 전기영동 분석을 수행하여 상기 반응 생성물에서 타닌산 및 갈산을 분리하는 단계;를 포함하는 타닌분해효소의 활성도 결정 방법.

[0012] 2. 위 1에 있어서, 상기 반응은 소듐 시트레이트 버퍼 하에 수행되는 타닌분해효소의 활성도 결정 방법.

[0013] 3. 위 1에 있어서, 상기 배경 전해질은 5 내지 15 mM 붕산, 5 내지 15mM 붕산나트륨, 0.1 내지 0.5% PEG 8000, pH 9 내지 10의 버퍼인 타닌분해효소의 활성도 결정 방법.

[0014] 4. 위 1에 있어서, 상기 분리된 타닌산과 갈산의 양을 정량화하여 타닌분해효소의 활성도를 결정하는 단계;를 더 포함하는 타닌분해효소의 활성도 결정 방법.

### 발명의 효과

[0016] 본 발명의 방법은 특정 시간에 생성된 갈산을 정확하게 정량화 할 수 있다. 본 발명의 방법은 빠르고, 간단하며, 정확하고 재현 가능하다.

[0017] 본 발명의 방법은 다양한 산업 임상 응용 분야에서 타닌분해효소 활성을 측정하는 신뢰할 수 있고 효율적인 방법이 될 수 있다.

## 도면의 간단한 설명

[0019] 도 1은 GA의 CE 전기영동도 및 피크 영역 분석 결과이다. (A) GA(40 μM)의 CE 전기영동도. (B) 다양한 농도에서 생성된 다양한 농도에서 GA 피크 영역을 분석하여 생성된 표준 곡선. 피크 면적의 평균을 평균값으로 나타냈다(n=5). 내부 표준물질(IS)로 아세트아미노펜(100 μM)을 사용했다.

도 2는 타닌분해효소의 작용에 의한 TA에서 GA로의 변환의 CE 전기 음성도 및 UV-Vis 스펙트럼이다. (A) 타닌분해효소 처리 전 (a) / 후 (b) TA 및 GA의 CE 검출. (B) 25℃에서 다양한 배양 기간(0~18분)에 타닌분해효소(20 ㎍/ml)를 처리하는 동안 TA(5 μM)가 GA로 전환되는 UV-Vis 스펙트럼 변화. TA의 최대 흡광도는 272nm에서 262 nm으로 청색 이동되었다. GA: 갈산, TA: 타닌산.

도 3은 알코올이 탄나제 활성 종결에 미치는 영향을 나타낸 것이다. 다양한 농도의 알코올을 준비하여 탄나제와 함께 20분간 배양한 후 탄나제 활성을 종료하는 데 사용했다. 상대적인 GA의 농도는 CE 전기영동도 GA 피크를 분석하여 측정했다. 세로 막대는 평균 및 표준 오차(n = 3).

도 4는 GTE 용액에서 타닌분해효소 작용의 CE 검출 결과이다. GTE 용액(a)의 피크는 10분(b) 및 20분(c) 동안 타닌분해효소로 처리한 후 변경되었다. GTE의 피크는 동일한 조건에서 표준 화합물의 이동 시간을 비교하여 확인했다: 카페인(1); 에피-아테킨/Epi-갈로카테킨(EC/EGC) (2); 에피-카테킨 갈레이트/Epi-갈로카테킨 갈레이트

(ECG/EGCG) (3); GA (4).

## *발명을 실시하기 위한 구체적인 내용*

[0020] 이하 본 발명을 상세히 설명한다.

[0022] 본 발명은 타닌분해효소의 활성도 결정 방법에 관한 것이다.

[0023] 본 발명의 방법은 타닌분해효소와 타닌산을 반응시키고, 알코올을 첨가하여 상기 반응을 종료시키는 단계; 및 상기 반응 생성물에 배경 전해질을 첨가하고, 모세관 전기영동 분석을 수행하여 상기 반응 생성물에서 타닌산 및 갈산을 분리하는 단계;를 포함한다.

[0024] 타닌분해효소(tannase)는 타닌과 갈산 에스터의 분해를 촉매하는 효소로서, 타닌산(tannic acid)의 갈산(gallic acid)으로의 전환을 촉매한다. 타닌분해효소로는 당 분야에 공지된 것이 제한 없이 사용될 수 있다.

[0025] 타닌분해효소와 타닌산의 반응 조건은 제한되지 않는다. 예를 들면 상온에서 수행될 수 있고, 버퍼 하에 수행될 수 있다. 버퍼는 예를 들면 소듐 시트레이트 버퍼일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0026] 반응은 타닌산이 갈산으로 충분히 전환되어 타닌분해효소의 활성도를 평가할 수 있을 정도의 시간으로 수행할 수 있다. 예를 들면 10분 내지 30분, 15분 내지 25분 동안 수행할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0027] 반응으로 방출된 갈산을 정확하게 결정하기 위해 반응 생성물에 알코올을 첨가하여 상기 반응을 종료시킨다.

[0028] 알코올은 예를 들면 탄소수 1 내지 5의 알코올일 수 있다. 알코올은 알코올 수용액일 수 있고, 그 농도는 10부피% 내지 99부피%, 30부피% 내지 70부피% 등일 수 있다.

[0029] 이후, 상기 반응 생성물에 배경 전해질을 첨가하고, 모세관 전기영동 분석을 수행하여 상기 반응 생성물에서 타닌산 및 갈산을 분리한다.

[0030] 모세관 전기영동은 널리 알려진 화학 또는 생화학적 화합물들의 분리 기술이다. 분리시킬 화합물 또는 분자들을 함유하는 시료 용액을 전기영동 매질을 함유하는 일정 길이의 모세관 튜브에 넣는다. 상기 모세관을 가로질러 전기장을 적용시키면, 상기 시료 내의 상이한 성분들은 상기 전기영동 매질에서의 상대적인 전기영동에 의한 이동성에 따라 상기 모세관의 반대 전하를 띈 말단부를 향해 각기 다른 속도로 이동한다. 상기 시료 내의 성분들은 상기 모세관을 따라 상이한 전기이동 속도로 이동함에 따라 각기 다른 영역들 또는 그룹들로 점점 더 분리된다. 상기 모세관을 따라 어느 정해진 위치에서, 상기 시료의 성분들이 검출기에 의해 검출된다.

[0031] 배경 전해질(background electrode)로는 당 분야에 공지된 물질, 조성이 제한없이 사용될 수 있으나, 타닌산과 갈산을 보다 명확하게 분리하고, 분리된 피크를 얻기 위해 바람직하게는 붕산, 붕산나트륨, PEG8000을 포함하는 버퍼를 사용할 수 있다. 구체적으로 5 내지 15 mM 붕산, 5 내지 15mM 붕산나트륨, 0.1 내지 0.5% PEG 8000, pH 9 내지 10의 버퍼를 사용할 수 있다.

[0032] 모세관 전기영동에 사용되는 실리카 모세관은 유효 길이가 예를 들면 유효 길이 30 내지 100cm, 40 내지 80cm, 50 내지 80cm일 수 있다. 내경은 50 내지 150㎛, 80 내지 120㎛, 90 내지 110㎛일 수 있다. 외경은 200 내지 500㎛, 300 내지 400㎛, 340 내지 380㎛일 수 있다.

[0033] 전기영동은 적정 전압으로 수행될 수 있다. 예를 들면 5 내지 50kV, 10 내지 40kV, 10 내지 30kV, 15 내지 25kV 등으로 수행될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0034] 시료는 예를 들면 0.1 내지 1psi의 압력으로 주입될 수 있다.

[0035] 타닌산과 갈산을 분리하여, 타닌산과 갈산의 피크 면적을 알 수 있고, 이를 정량화함으로써 소정 기간에서의 타닌분해효소의 활성도를 결정할 수 있다.

[0036] 이에, 본 발명의 방법은 타닌산과 갈산의 양을 정량화하여 타닌분해효소의 활성도를 결정하는 단계;를 더 포함한다.

[0037] 타닌산의 갈산으로의 전환은 모세관 전기영동 근전도 피크 영역의 분석을 통해 확인될 수 있으며, 흡광도, UV 스펙트럼 분석으로도 확인이 가능하다. 정량화는 당 분야에 공지된 수단을 사용하여 공지된 방법으로 수행될 수 있다.

[0038] 타닌분해효소의 활성도는 예를 들어, 단위 시간 동안 생성된 갈산의 양으로 결정될 수 있고, 이는 갈산의 양/단위 시간으로 표시될 수 있다.

[0039] 본 발명의 방법은 특정 시간에 생성된 갈산을 정확하게 정량화 할 수 있다. 본 발명의 방법은 빠르고, 간단하며, 정확하고 재현 가능하다. 이에, 본 발명의 방법은 다양한 산업 임상 응용 분야에서 타닌분해효소 활성을 측정하는 신뢰할 수 있고 효율적인 방법이 될 수 있다.

[0041] 이하 실시예를 들어 본 발명을 상세히 설명한다.

[0043] **실시예**

[0044] **재료 및 방법**

[0045] **재료**

[0046] 탄나제(319 U/g, Aspergillus ficuum 유래), 타닌산, 갈산, 구연산, 구연산 나트륨, 아세트아미노펜, 에피갈로카테킨 갈레이트(EGCG) 및 에피카테킨 갈레이트(ECG)는 Sigma-Aldrich(미국)에서 공급되었다. 무수에탄올, 헥산, 에틸아세테이트는 대정화공(경기, 한국)에서 구입하였다. 탄나제 활성은 시트레이트 완충액(50mM, pH 5.5)에서 분석되었다.

[0048] **모세관 전기영동(Capillary electrophoresis, CE) 절차**

[0049] CE는 PDA 검출기가 장착되고 데이터 수집을 위해 Karat 8.0 소프트웨어와 인터페이스되는 P/ACE 시스템(Beckman Coulter, CA, USA)에 의해 수행되었다. 융합 실리카 모세관(전체 길이 60cm, 내경 100㎛, 외경 365㎛)은 Polymicro Technologies(Phoenix, AZ, USA)에서 공급되었다. 샘플은 3초 동안 0.5psi에서 유체역학적 주입 방법으로 주입되었다. 검출 창은 전극으로부터 10 cm 거리에 배치되었다. 전기영동은 25℃에서 양극성(20kV)으로 10mM 붕산, 10mM 붕산나트륨(미국 시그마 알드리치), 0.3% PEG 8000(미국 시그마 알드리치), pH 9.5의 배경 전해질(BGE)을 사용하여 수행되었다. 모든 용액은 0.22㎛ Millex 필터(Merck Millipore, 미국)를 통해 미세 여과했다.

[0051] **탄나제 활성 정지 용액의 제조**

[0052] 특정 배양 시간에 Ta 반응에서 방출된 GA를 정확하게 결정하려면 탄나제 작용을 즉시 종료해야 한다. 적합한 종결 용액을 찾기 위해 알코올을 효소 완충액에 희석하여 제조한 다양한 농도(0~100%)의 동일한 양의 알코올을 첨가하여 세 가지 유형의 알코올(메탄올, 에탄올 및 1-프로판올)을 테스트했다. 그런 다음, 20분 동안 인큐베이션 후 50 μM의 TA와 Ta(0.2 mg/ml) 용액(샘플)에서 방출된 GA를 검출하고 정량하여 효소 반응성을 결정했다. 비알코올 조건에서 Ta 반응으로부터 방출된 GA를 양성대조군으로 사용하였다.

[0054] **녹차 추출(Green Tea Extract, GTE) 용액 제조**

[0055] 건조 녹차(Camellia sinensis) 10g을 끓인 물 50ml에 5분간 분산시켰다. 추출된 용액을 상온으로 식힌 후 여과하여 GTE 용액을 얻었다. Ta 처리를 위해 Ta 0.5ml(0.2mg/ml)에 GTE 용액 0.5ml를 첨가하였다. 효소 반응은 25℃에서 20분간 진행하였고, 일정 시간 배양 후 동량의 100% 에탄올을 첨가하여 반응을 종료하였다. GTE에서 추출된 GA 및 기타 카테킨은 CE 시스템에 의해 검출되었다. 탄나제 활성을 추정하기 위해 활성 1단위(U)는 분당 1 마이크로몰의 GA를 방출하는 데 필요한 효소의 양으로 정의되었다.

[0057] **결과**

[0058] **GA 검출을 위한 CE의 배경 전해질(BGE)**

[0059] GA의 민감한 검출을 위해 농도와 pH가 다른 다양한 버퍼를 검사했다. (데이터는 표시되지 않음). 테스트한 완충

액 중 붕산 10mM, 붕산나트륨 10mM, 0.3의 PEG 8000을 pH 9.5에서 사용하는 것이 가장 민감했다(도 1A). 이 BGE 조건을 사용한 GA의 CE 검출 및 GA 피크 영역 분석은 다음과 같이 가장 잘 맞는 공식을 가진 표준 곡선 (도 1B)을 생성했다.

[0060] 하기와 같은 최적의 피팅 공식을 도출했다:

[0061] $y = 9531.5\ x - 23968\ (R^2 = 0.999)$

[0062] (x는 GA 농도이고, y는 CE 분석에서 GA의 피크 영역임)

[0064] GA 검출의 재현성을 확인하기 위해 아세트아미노펜(100 μM)을 내부 표준(IS)으로 사용하여 각 샘플에 대해 5번의 독립적인 주입을 시도했다. 표 1에서 볼 수 있듯이 GA의 이동 시간과 피크 면적의 RSD 값은 0.52와 0.39였다. 선형 회귀 공식을 사용하여 GA 피크 면적 분석을 통해 LOD 및 LOQ 값의 분석 매개 변수를 계산했다. LOD 및 LOQ 값은 S/a에 LOD의 경우 3.3, LOQ의 경우 10을 곱하여 계산되었다(여기서 "Sr"은 표준 편차이고 "a"는 위 선형 회귀 공식의 기울기임). GA의 CE 검출에서 추정된 정확도와 감도는 각각 $0.4 \times 10^{-6}$ Min 검출 한계(LOD) 및 $1.34 \times 10^{-6}$ Min 정량 한계(LOQ)였다.

표 1

[0066]

| | Migration time | | Peak area | |
|---|---|---|---|---|
| | GA | IS | GA | IS |
| Mean | 11.65 | 4.83 | 325522 | 17233 |
| SD | 0.06 | 0.02 | 1276 | 504 |
| RSD (%) | 0.52 | 0.41 | 0.39 | 2.93 |

[0067] 모든 데이터는 GA의 마이그레이션 시간과 피크 영역을 기준으로 계산되었다. SD: 표준편차, RSD: 상대표준편차 (n=5).

[0069] **타닌산(TA)에 대한 탄나제 작용 검출**

[0070] 탄나제의 작용에 의한 TA의 GA로의 전환은 CE 및 UV-Vis 분광학에 의해 검출되었다(도 2). CE 전기영동도에서는 TA(0.1mM)와 GA(0.1mM)의 혼합 용액은 TA의 경우 10분, GA의 경우 각각 11분의 이동 시간에서 초기 피크를 나타냈다. 그러나 탄나제 첨가 후 TA의 확장 피크는 점차 사라지고 GA의 피크 강도는 증가한다(도 2A). 유사하게, UV 스펙트럼에서 TA의 흡광도는 최대 파장이 262 nm로 청색 이동하면서 시간에 따라 변화했는데, 이는 탄나제의 작용에 의해 TA가 GA로 전환되었음을 나타낸다(도 2B).

[0072] **탄나제 활성 종료**

[0073] 주어진 시간에 탄나제 활동을 즉시 종료하는 것은 방출된 GA의 정확한 CE 검출을 위해 중요하다. 가장 적합한 종결제를 찾기 위해 서로 다른 비율의 알코올 용액을 준비하여 세 가지 유형의 알코올(메탄올, 에탄올 및 2-프

로판올)을 테스트했다. 흥미롭게도, 50% 농도로 제조된 모든 알코올 용액은 탄나아제 활성을 완전히 종결시키는 탄나아제에 대한 탁월한 작용을 보여주었다(도 3). 50% 에탄올 용액이 인체 건강에 덜 해롭기 때문에 종결제로 선택되었다.

[0075] **녹차 추출 용액(green tea extracted solution)의 탄나제 활성 측정**

[0076] 탄나제 활성에 대한 시험 분석은 녹차 추출(GTE) 용액을 사용하여 수행되었다. 도 4a는 CE 시스템에 의해 검출된 GTE의 카페인, 카테킨 및 카테킨 갈레이트의 피크를 보여준다. 표준 화합물과 이동 시간을 비교하여 개별 구성 요소를 식별했다. GTE 용액을 탄나아제로 처리한 후, 탄나아제의 배양 시간이 10분에서 20분으로 증가함에 따라 갈레이트 에스터의 피크는 점차 감소하였고, 카테킨과 GA 피크는 동시에 증가했다(도 4b 및 4c). 갈레이트 에스터(EGCG 및 ECG)의 확장된 피크는 20분 후에 완전히 사라졌으며, 이는 갈레이트 에스터가 탄나제의 작용에 의해 카테킨(EGC 및 EC)으로 가수분해되었음을 나타낸다. 또한, 방출된 GA의 농도는 0에서 126.82 μM로 증가했다. 피크 면적 분석과 GA 농도 측정 결과, GTE 용액의 탄나제 활성은 6.938U로 배양 15분에 최대치에 도달했다(표 2).

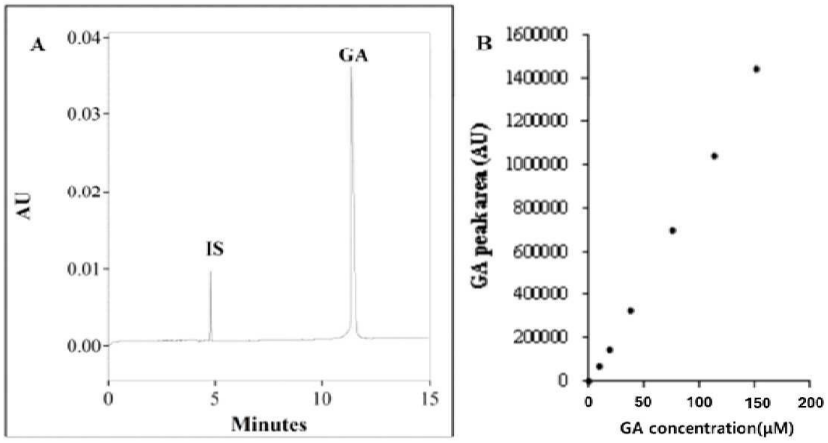
*표 2*

[0078]

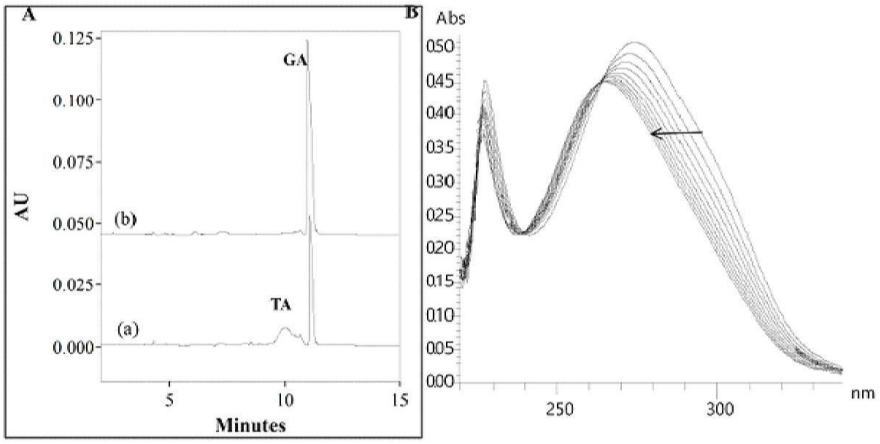
| Time of treatment (min) (1) | Mean of CE peak area (n=3) | | | | GA concentration (μM) (2) | Ta activity (U) ((2)/(1)) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Caffeine | EC/EGC | ECG/EGCG | GA | | |
| 0 | 514.1 | 1.010 | 3.923.920 | 0 | 0 | |
| 5 | 517.0 | 1.674 | 2.271.055 | 215.928 | 25.17 | 5.034 |
| 10 | 512.7 | 2.390 | 1.089.752 | 517.095 | 56.77 | 5.677 |
| 15 | 514.8 | 2.765 | 592.197 | 967.909 | 104.07 | 6.938 |
| 20 | 513.9 | 3.199 | 0 | 1.184.713 | 126.82 | 6.341 |

*도면*

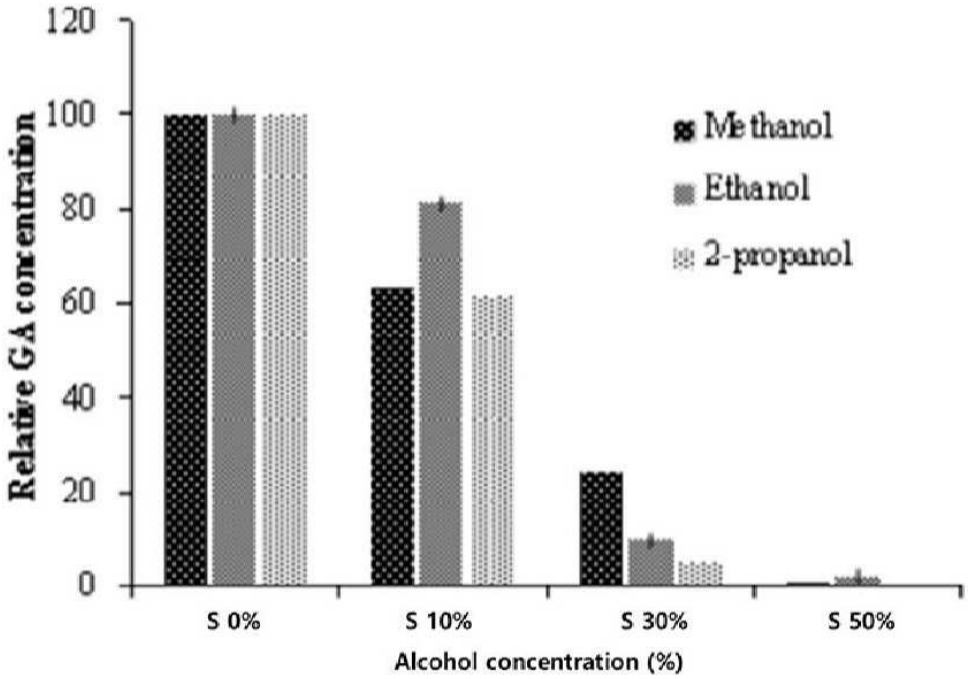
*도면1*



도면2


A
B
AU
0.125
0.100
0.075
0.050
0.025
0.000
GA
TA
(b)
(a)
5
10
15
Minutes
Abs
050
045
040
035
030
025
020
015
010
005
000
250
300
nm

도면3


120
100
80
60
40
20
0
Relative GA concentration
Methanol
Ethanol
2-propanol
S 0%
S 10%
S 30%
S 50%
Alcohol concentration (%)

도면4

