



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0035374
(43) 공개일자 2025년03월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12P 21/02 (2006.01) A23K 20/179 (2016.01)
A23L 33/195 (2017.01) A23L 5/43 (2016.01)
C12N 1/12 (2006.01) C12N 1/38 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12P 21/02 (2013.01)
A23K 20/179 (2016.05)
(21) 출원번호 10-2023-0117981
(22) 출원일자 2023년09월05일
심사청구일자 2023년09월05일
기술이전 희망 : 기술양도

(71) 출원인
경상국립대학교산학협력단
경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)
주식회사 스톱워터바이오
인천광역시 서구 정서진로 410, 연구실험동 비동
202호(오류동, 환경산업연구단지)
(72) 발명자
권중희
경상남도 진주시 진주대로 501 경상대학교
권경호
경기도 남양주시 와부읍 덕소로71번길 20-7 경남
아너스빌
(74) 대리인
이보근

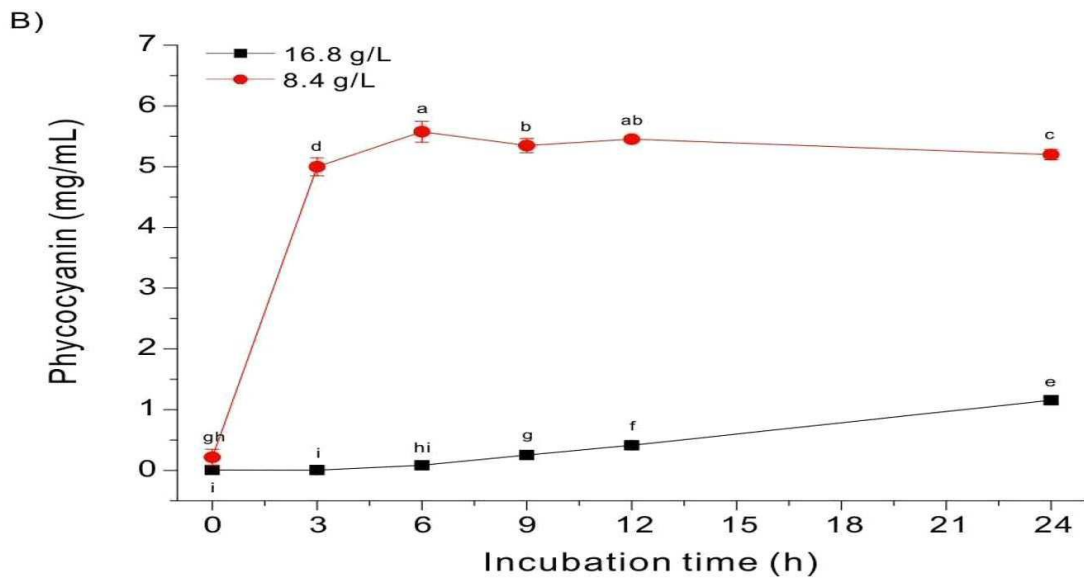
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 스피루리나 자가분해를 통해 피코시아닌을 추출 및 제조하는 방법

(57) 요약

본 발명은 스피루리나를 동결 및 해동하여 자기분해반응을 이용하여 피코시아닌을 추출, 제조 및 생산하는 방법에 관한 것으로서, 본 발명의 방법을 활용하여 피코시아닌을 추출하는 경우 피코시아닌의 추출 농도, 수율 및 순도가 현저하게 증가한다.

대표도 - 도3b



(52) CPC특허분류

A23L 33/195 (2016.08)

A23L 5/43 (2016.08)

C12N 1/12 (2019.02)

C12N 1/38 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1415186476
과제번호	00155902
부처명	산업통상자원부
과제관리(전문)기관명	한국산업기술평가관리원
연구사업명	탄소저감형석유계원료대체화학공정기술개발사업(R&D)
연구과제명	CO2 원료로 활용한 광합성 PHA 생산기술 개발
기 여 율	2/4
과제수행기관명	위택코퍼레이션(주)
연구기간	2023.01.01 ~ 2023.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345356213
과제번호	LINC3.0-2022-11
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	산학연협력고도화지원
연구과제명	3단계산학연협력선도대학육성사업(LINC3.0)(0.5)
기 여 율	1/4
과제수행기관명	경상국립대학교
연구기간	2022.03.01 ~ 2023.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345364947
과제번호	2021R1I1A3055799
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	이공학학술연구기반구축
연구과제명	유글레나 유래 베타글루칸을 경제적으로 대량생산하기 위한 화학적 멸균 중화기술
기반 순수배양기술의 개발과 배양조건 최적화	
기 여 율	1/4
과제수행기관명	경상국립대학교
연구기간	2023.03.01 ~ 2024.02.29

명세서

청구범위

청구항 1

스피루리나(*Arthrospira platensis*)를 중탄산염이 포함된 배지에 배양하는 단계;
상기 배양물을 습식 바이오매스로 제조하는 단계; 및
동결 및 해동하여 피코시아닌을 추출하는 단계;를 포함하는 피코시아닌을 제조하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서,
상기 중탄산염이 포함된 배지에 배양하는 단계에서 상기 중탄산염은 중탄산나트륨(NaHCO_3), 중탄산칼륨(KHCO_3), 및 중탄산칼슘($\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$)으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상을 포함하는 것을 특징으로 하는, 피코시아닌을 제조하는 방법.

청구항 3

제2항에 있어서,
상기 중탄산염이 포함된 배지에 배양하는 단계에서 중탄산염은 중탄산나트륨(NaHCO_3)인 것을 특징으로 하는, 피코시아닌을 제조하는 방법.

청구항 4

제1항에 있어서,
상기 중탄산염이 포함된 배지에 배양하는 단계에서 상기 중탄산염이 포함된 배지의 중탄산염 농도는 3 g/L 내지 14 g/L인 것을 특징으로 하는, 피코시아닌을 제조하는 방법.

청구항 5

제1항에 있어서,
상기 배양물을 습식 바이오매스로 제조하는 단계는 60 내지 100%의 습식도인 것을 특징으로 하는, 피코시아닌을 제조하는 방법.

청구항 6

제1항에 있어서,
상기 동결 및 해동하여 스피루리나를 추출하는 단계는 동결이후 습식 바이오매스를 18℃ 내지 40℃에서 자가분해 반응하는 것을 특징으로 하는, 피코시아닌을 제조하는 방법.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 자가분해 반응은 1.5 내지 7.5 시간 동안 진행되는 것을 특징으로 하는, 피코시아닌을 제조하는 방법.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 동결 및 해동하여 스피루리나를 추출하는 단계에서 추출된 피코시아닌이 증가된 것을 특징으로 하는, 피코시아닌을 제조하는 방법.

청구항 9

제1항의 제조 방법으로 제조된 피코시아닌.

청구항 10

제1항의 제조 방법으로 제조된 피코시아닌을 포함하는 식품 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 중탄산염이 포함된 배지에 배양하는 단계에서 중탄산염은 중탄산나트륨(NaHCO_3)인 것을 특징으로 하는, 피코시아닌을 포함하는 식품 조성물.

청구항 12

제1항의 제조 방법으로 제조된 피코시아닌을 포함하는 건강기능식품 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서,

상기 중탄산염이 포함된 배지에 배양하는 단계에서 중탄산염은 중탄산나트륨(NaHCO_3)인 것을 특징으로 하는, 피코시아닌을 포함하는 건강기능식품 조성물.

청구항 14

제1항의 제조 방법으로 제조된 피코시아닌을 포함하는 사료 조성물.

청구항 15

제14항에 있어서,

상기 중탄산염이 포함된 배지에 배양하는 단계에서 중탄산염은 중탄산나트륨(NaHCO_3)인 것을 특징으로 하는, 피코시아닌을 포함하는 사료 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 중탄산염을 포함한 배지를 이용하여 배양한 스피루리나를 자가분해하여 고농도 및 고순도의 피코시아닌(phyococyanin)을 추출 및 제조하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 시아노박테리아에서 발견되는 피코시아닌(PC)은 화장품 및 제약 산업과 형광 라벨링에 사용되는 수용성 광흡수성 단백질이다. 스피루리나(*Arthrospira platensis*)는 풍부하고 저렴하며 천연 피코시아닌(PC) 안료 공급원으로 널리 사용되고 있다. 시아노박테리아에서 피코시아닌(PC)을 추출하는 것은 저항력이 강한 다층 세포벽 때문에 어렵다. 따라서, 간단하고 효과적으로 스피루리나에서 피코시아닌(PC) 추출 공정을 개발하는 것은 피코시아닌(PC)의 산업적 응용에 있어서 상당히 중요하다.

[0003] 피코시아닌은 인체에 유해한 활성 산소를 효과적으로 제거하여 지질 과산화(lipid peroxidation)를 방지하고 염증반응을 억제함이 알려져 있는 산업적으로 유용한 물질이다. 또한, 피코시아닌은 염증을 발생시키는 물질을 만드는 효소인 cyclooxygenase-2의 활성을 감소시키고, 비만세포(mast cell)로부터 히스타민의 방출을 억제하여 항염증의 효과가 있고, lipid peroxidation 과 cyclooxygenase-2의 억제를 통해 사염화탄소에 의한 간 독성 발생을 억제할 수 있음이 알려져 있다.

[0004] 피코시아닌(PC)을 추출하기 위해서 냉동-해동, 화학적(유기 및 무기산) 처리, 리소자임 처리, 초음파 처리, 펄스 전기장 처리 및 기계적 균질화 등의 다양한 기술들이 사용되고 있다. 한편, 냉동-해동 방법은 스피루리나의 습식 바이오매스에서 피코시아닌(PC) 추출하는데 사용되고 있다고 알려져 있지만, 종래 냉동-해동 방법을 사용하여 스피루리나에서 피코시아닌(PC)을 추출하는 경우 시간이 많이 소요되는 동결-해동 주기를 수차례 반복해야 하고 인산나트륨이나 염화암모늄과 같은 추출 염을 사용해야 하므로 추가적인 공정 비용이 발생한다는 문제가 있었다.

[0005] 이에, 본 발명자들은 피코시아닌(PC)의 효율적인 추출 방법을 개발하여 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 스피루리나(*Arthrospira platensis*)를 중탄산염이 포함된 배지에 배양하는 단계;

[0008] 상기 배양물을 습식 바이오매스로 제조하는 단계; 및

[0009] 동결 및 해동하여 피코시아닌을 추출하는 단계;를 포함하는 피코시아닌을 제조하는 방법을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 제조 방법으로 제조된 피코시아닌을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 제조 방법으로 제조된 피코시아닌을 포함하는 식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 제조 방법으로 제조된 피코시아닌을 포함하는 건강기능식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 제조 방법으로 제조된 피코시아닌을 포함하는 사료 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0014] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 스피루리나(*Arthrospira platensis*)를 중탄산염이 포함된 배지에 배양하는 단계;

[0015] 상기 배양물을 습식 바이오매스로 제조하는 단계; 및

[0016] 동결 및 해동하여 피코시아닌을 추출하는 단계;를 포함하는 피코시아닌을 제조하는 방법을 제공한다.

[0017] 또한, 본 발명은 상기 제조 방법으로 제조된 피코시아닌을 제공한다.

[0018] 또한, 본 발명은 상기 제조 방법으로 제조된 피코시아닌을 포함하는 식품 조성물을 제공한다.

[0019] 또한, 본 발명은 상기 제조 방법으로 제조된 피코시아닌을 포함하는 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0020] 또한, 본 발명은 상기 제조 방법으로 제조된 피코시아닌을 포함하는 사료 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0021] 본 발명은 스피루리나를 동결 및 해동하여 피코시아닌을 추출, 제조 및 생산하는 방법에 관한 것으로서, 본 발명의 방법을 활용하여 피코시아닌을 추출하는 경우 동결-해동 주기를 수차례 반복할 필요없이 빠르고 용이하게 피코시아닌을 고농도, 고수율 및 고순도로 추출이 가능하다.

도면의 간단한 설명

[0022] 도 1a는 스피루리나(*Arthrospira platensis*)의 자가 분해 방법으로 25℃ 보관 온도에서 피코시아닌의 추출 농도를 나타낸 것이다.

도 1b는 스피루리나(*Arthrospira platensis*)의 자가 분해 방법으로 37℃ 보관 온도에서 피코시아닌의 추출 농도를 나타낸 것이다.

도 1c는 스피루리나(*Arthrospira platensis*)의 자가 분해 방법으로 4℃ 보관 온도에서 피코시아닌의 추출 농도를 나타낸 것이다.

도 2는 스피루리나(*Arthrospira platensis*)의 습식 바이오매스 자가분해 과정을 온도 조건에 따른 형태의 변화를 현미경으로 관찰한 것을 나타낸 것이다.

도 3a는 본 발명의 자가 분해 방법으로 성장 배지의 중탄산염 초기 농도(16.8 g/L 또는 8.4 g/L)의 영향에 따른 스피루리나의 바이오매스의 성장곡선을 나타낸 것이다.

도 3b는 본 발명의 자가 분해 방법으로 성장 배지의 중탄산염 초기 농도(16.8 g/L 또는 8.4 g/L)의 영향에 따른 스피루리나에 습식 바이오매스의 피코시아닌(PC)의 농도를 나타낸 것이다.

도 3c는 본 발명의 자가 분해 방법으로 성장 배지의 중탄산염 초기 농도(16.8 g/L 또는 8.4 g/L)의 영향에 따른 스피루리나에 습식 바이오매스의 피코시아닌(PC)의 순도를 나타낸 것이다.

도 4a는 초기 스피루리나에 습식 바이오매스 농도가 자가분해 방법에 의한 피코시아닌(PC) 추출 수율에 미치는 영향을 나타낸 것이다.

도 4b는 초기 스피루리나에 습식 바이오매스 농도가 자가분해 방법에 의한 피코시아닌(PC) 순도에 미치는 영향을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0023] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0024] 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

[0025] 또한, 본 명세서에서 사용되는 용어(terminology)들은 본 발명의 바람직한 실시예를 적절히 표현하기 위해 사용된 용어들로써, 이는 사용자, 운용자의 의도 또는 본 발명이 속하는 분야의 관례 등에 따라 달라질 수 있다. 따라서, 본 용어들에 대한 정의는 본 명세서 전반에 걸친 내용을 토대로 내려져야 할 것이다. 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.

[0026] 본 발명에서 스피루리나에서 피코시아닌을 추출하는 방법으로는 열수추출법, 냉침추출법, 환류냉각추출법, 용매추출법, 수증기증류법, 초음파추출법, 용출법, 압착법 등의 방법 중 어느 하나를 선택하여 사용할 수 있다. 또한, 목적하는 추출물은 추가로 통상의 분획 공정을 수행할 수도 있으며, 통상의 정제 방법을 이용하여 정제될 수도 있다. 본 발명의 추출물의 제조방법에는 제한이 없으며, 공지되어 있는 어떠한 방법도 이용될 수 있다.

[0027] 본 발명에서 “스피루리나 바이오매스”는 스피루리나라고 알려진 청록조류를 배양하여 생성된 유기물 질량을

의미할 수 있다. 스피루리나는 단백질, 비타민, 미네랄, 오메가-3 지방산, 채식성 비타민 B₁₂ 등 다양한 영양소를 포함하며, 수많은 건강 효과와 산업적 활용이 가능한 친환경적 식품 원료이지만, 이에 제한되지 않는다.

[0028] 본 발명에서 “스피루리나 습식 바이오매스”는 스피루리나 배양물을 증류수로 세척하고 수집된 것을 의미할 수 있다. 구체적으로, 습식 바이오매스라 함은 스피루리나 배양물을 0.045 mm 메쉬 크기의 표준체로 걸러서 얻은 산물을 증류수로 세척하여 수집된 것을 의미할 수 있고, 구체적으로 상기 표준체로 걸러서 얻은 산물을 100% 습식 바이오매스라 하고, 100% 습식 바이오매스에 증류수를 가하여 75% 희석한 것을 75% 습식 바이오매스라 하고 50% 희석한 것을 50% 습식 바이오매스라 할 수 있다.

[0029] 본 발명에서 “자가분해(autolysis)”는 생물이 죽거나 파괴되었을 때 내생적 효소로 세포의 구성 성분이 분해되는 현상 또는 자가 소화라고도 하고 이를 통해 세포 안의 효소가 유리될 수 있다. 스피루리나 자가분해는 동결 해동 과정 등 세포를 죽이는 다양한 공정을 통해서 수행될 수 있고, 이를 통해 스피루리나가 생산한 유용물질인 피코시아닌을 추출 및 제조할 수 있다.

[0030] 한편, 본 발명의 방법으로 스피루리나 습식 바이오매스를 자가분해하는 경우 높은 농도, 수율 및 순도로 피코시아닌을 추출, 제조 및 생산할 수 있다.

[0032] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 구현예로 본 발명을 상세히 설명하기로 한다. 다만, 하기 구현예는 본 발명에 대한 예시로 제시되는 것으로, 당업자에게 주지 저명한 기술 또는 구성에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명을 생략할 수 있고, 이에 의해 본 발명이 제한되지는 않는다, 본 발명은 후술하는 특허청구범위의 기재 및 그로부터 해석되는 균등 범주 내에서 다양한 변형 및 응용이 가능하다.

[0034] 본 발명의 하나의 양태는 스피루리나(*Arthrospira platensis*)를 중탄산염이 포함된 배지에 배양하는 단계;

[0035] 상기 배양물을 습식 바이오매스로 제조하는 단계; 및

[0036] 동결 및 해동하여 스피루리나를 추출하는 단계;를 포함하는 피코시아닌을 제조하는 방법에 관한 것이다.

[0037] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 중탄산염이 포함된 배지에 배양하는 단계에서 상기 중탄산염은 중탄산나트륨(NaHCO_3), 및 중탄산칼륨(KHCO_3), 중탄산칼슘($\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$)으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상을 포함하는 것을 특징으로 할 수 있고, 바람직하게는 상기 중탄산염이 포함된 배지에 배양하는 단계에서 중탄산염은 중탄산나트륨(NaHCO_3)일 수 있지만, 이에 제한되지 않는다.

[0038] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 중탄산염이 포함된 배지에 배양하는 단계에서 상기 중탄산염이 포함된 배지의 중탄산염 농도는 3 g/L 내지 14 g/L인 것을 특징으로 하는 것이나, 바람직하게는 6.4 g/L 내지 12.6 g/L이고, 더욱더 바람직하게는 8.4 g/L일 수 있다. 스피루리나(*Arthrospira platensis*)를 중탄산염이 포함된 배지에 배양하는 단계에서 첨가하는 중탄산나트륨 농도를 3 g/L 미만으로 사용하는 경우 스피루리나 생장이 저해되는 문제가 있을 수 있고, 첨가하는 중탄산나트륨 농도를 14 g/L 초과하여 사용하는 경우 세포막 탄산염의 침착으로 인해 단단해져서 피코시아닌 추출 수율 및 순도가 현저히 감소할 수 있다.

[0039] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 배양물을 습식 바이오매스로 제조하는 단계는 스피루리나(*Arthrospira platensis*)를 중탄산염이 포함된 배지에 배양하는 단계에서 수득한 스피루리나 배양물을 0.045 mm 메쉬 크기의 표준체로 걸러서 얻은 산물을 증류수로 세척하여 수집하는 과정을 통해 수행되는 것을 의미할 수 있고, 구체적으로 상기 표준체로 걸러서 얻은 산물의 경우 100% 습식 바이오매스라 하고, 100% 습식 바이오매스에 증류수를 가하여 75% 희석한 것을 75% 습식 바이오매스라 하고 50% 희석한 것을 50% 습식 바이오매스라 할 수 있다.

[0040] 본 발명에서 상기 100% 습식 바이오매스를 기준으로 희석한 비율을 습식도라 한다.

[0041] 상기 스피루리나 습식 바이오매스(이하 습식 바이오매스)는 60 내지 100%의 습식도인 것을 특징으로 할 수 있고, 바람직하게는 70 내지 100% 습식도인 것을 특징으로 할 수 있고, 가장 바람직하게는 75%의 습식도인 것을 특징으로 할 수 있다.

[0042] 상기 배양물을 습식 바이오매스로 제조하는 단계에서 60%의 습식도 미만의 스피루리나 습식 바이오매스를 제조하고 동결 해동하여 스피루리나를 자가분해하는 경우 누출된 자가분해효소가 너무 희석되어 피코시아닌 추출 효율이 떨어질 수 있고, 100%의 습식도 초과인 스피루리나 습식 바이오매스를 제조하고 동결 해동하여 스피루리나를 자가분해하는 경우에는 주변의 습기가 적어 누출된 자가분해효소의 이동이 방해되어 피코시아닌 추출 효율이

떨어질 수 있다.

- [0043] 상기 동결 및 해동하여 피코시아닌을 추출하는 단계는 습식 바이오매스를 동결 및 해동하여 피코시아닌을 추출 및 제조하는 것을 의미할 수 있다. 한편, 동결 및 해동하여 피코시아닌을 추출하는 단계는 습식 바이오매스를 동결 및 해동한 후 자가분해 반응시키는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [0044] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 동결 및 해동하여 피코시아닌을 추출하는 단계는 상기 배양물을 습식 바이오매스로 제조하는 단계로 제조한 습식 바이오매스를 -20°C 에서 24시간 동안 한 번 냉동하고 25°C 에서 해동한 이후 특정 온도에서 자가분해 반응시키는 것을 의미할 수 있다.
- [0045] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 동결 및 해동하여 스피루리나를 추출하는 단계는 습식 바이오매스를 -20°C 에서 24시간 동안 한 번 냉동한 후 25°C 에서 1시간 동안 해동한 이후 습식 바이오매스를 18°C 내지 40°C 에서 자가분해 반응시키는 것을 의미할 수 있으나, 바람직하게는 25°C 내지 38°C 에서 반응시키는 것 일 수 있으나, 더 바람직하게는 37°C 에서 반응시키는 것 일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0046] 상기 습식 바이오매스를 18°C 미만에서 반응시킬 경우 습식 바이오매스의 자가분해효소의 활성이 감소되어 배양 속도가 느려 스피루리나 추출 효율이 낮을 수 있고, 상기 습식 바이오매스를 40°C 이상에서 반응시킬 경우 습식 바이오매스의 효소의 활성이나 구조가 변형될 수 있어서 스피루리나 생성 자체에 문제가 있을 수 있다.
- [0047] 상기 동결 및 해동하여 스피루리나를 추출하는 단계에서 자가분해 반응은 1.5 내지 7.5 시간동안 진행되는 것을 특징으로 하는 것이나, 바람직하게는 2 내지 6 시간동안 진행되는 것일 수 있으나, 더 바람직하게는 2.5 내지 5 시간동안 진행되는 것일 수 있으나, 더욱더 바람직하게는 3 시간동안 진행되는 것 일 수 있다. 상기 동결 및 해동하여 스피루리나를 추출하는 단계에서 자가분해 반응을 1.5 시간 미만 수행했을 경우 자가분해하여 피코시아닌이 추출되기 위한 시간 자체가 부족할 수 있고, 7.5 시간을 초과하여 수행했을 경우 자가분해되어 추출된 피코시아닌의 변성이 발생할 수 있다.
- [0048] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 습식 바이오매스를 동결 후 37°C 에서 시간순으로 자가분해 반응한 결과 3 시간가량 반응 후 피코시아닌을 측정했을 때 피코시아닌 농도, 추출 수율 및 순도가 급격하게 증가하였다. 즉, 자가분해 반응을 3시간 동안 진행할 경우 피코시아닌 농도, 추출 수율, 순도가 빠르게 증가하고, 자가분해 반응을 1.5 내지 7.5 시간동안 진행할 경우 반응 시간의 경과에 따라 피코시아닌 농도, 추출 수율, 순도가 점차 증가하였다.
- [0049] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 동결 및 해동하여 스피루리나를 추출하는 단계에서 추출된 피코시아닌은 종래 동결 및 해동방법을 사용하여 피코시아닌을 추출했을 때, 동결 및 해동을 하지 않고 피코시아닌을 추출했을 때, 스피루리나를 중탄산염이 포함되지 않은 배지에서 배양 후 피코시아닌을 추출했을 때, 또는 본 발명에서 사용한 조건과 상이한 조건으로 스피루리나를 배양 후 피코시아닌을 추출했을 때와 비교했을 때 피코시아닌 농도, 추출 수율, 및 순도가 현저히 증가될 수 있다.
- [0050] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 스피루리나를 중탄산염을 포함한 배지에서 배양 후 습식 바이오매스를 제조하고 이를 동결-해동하여 자가분해 반응시키는 경우 피코시아닌 농도, 추출 수율, 및 순도가 현저히 증가되었다. 구체적으로, 스피루리나를 8.4 g/L 중탄산염(NaHCO_3) 포함된 성장배지에서 스피루리나 세포를 배양하고 배양된 스피루리나를 증류수로 희석한 75% 습식 바이오매스를 3시간 동안 자가분해 반응하였을 때, 고농도 및 고순도의 피코시아닌(PC)을 추출하는 것을 확인하였다.
- [0052] 본 발명에서 피코시아닌을 추출하는 방법의 구체적인 사항은 본 발명의 방법으로 제조된 피코시아닌의 활용 용도의 본질적 사항에 어긋나지 않는 한도에서 동일 또는 유사하게 적용될 수 있다. 구체적으로 본 발명에서 피코시아닌을 추출하는 방법의 구체적인 사항은 하기 본 발명의 방법을 활용하여 제조된 피코시아닌, 본 발명의 방법을 활용하여 제조된 피코시아닌을 포함하는 식품 조성물, 본 발명의 방법을 활용하여 제조된 피코시아닌을 포함하는 건강기능식품 조성물, 및 본 발명의 방법을 활용하여 제조된 피코시아닌을 포함하는 사료 조성물 등에 동일 또는 유사하게 적용될 수 있다.
- [0054] 또 하나의 양태로 본 발명은 상기 제조 방법으로 제조된 피코시아닌에 관한 것이다.
- [0055] 또 하나의 양태로 본 발명은 상기 제조 방법으로 제조된 피코시아닌을 포함하는 식품 조성물에 관한 것이다.
- [0056] 본 발명의 식품 조성물은 유효성분인 추출물을 함유하는 것 외에 통상의 식품 조성물과 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다.

- [0057] 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 홉당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 향미제는 천연 향미제 (타우마틴), 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제 (사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 본 발명의 식품 조성물은 상기 약학적 조성물과 동일한 방식으로 제제화되어 기능성 식품으로 이용하거나, 각종 식품에 첨가할 수 있다. 본 발명의 조성물을 첨가할 수 있는 식품으로는 예를 들어, 음료류, 육류, 초코렛, 식품류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 사탕류, 아이스크림류, 알코올 음료류, 비타민 복합제 및 건강보조식품류 등이 있다.
- [0058] 또한 상기 식품 조성물은 유효성분인 추출물 외에 여러 가지 영양제, 비타민, 광물 (전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 중진제 (치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 식품 조성물은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.
- [0059] 또 하나의 양태로 본 발명은 상기 제조 방법으로 제조된 피코시아닌을 포함하는 건강기능식품 조성물에 관한 것이다.
- [0060] 본 발명의 기능성 식품 조성물은, 정제, 캡셀, 분말, 과립, 액상, 환 등의 형태로 제조 및 가공될 수 있다. 본 발명에서 '건강기능성 식품 조성물'이라 함은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 말하며, 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻는 목적으로 섭취하는 것을 의미한다. 본 발명의 건강기능식품은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 식품 첨가물로서의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한, 식품의약품안전청에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다. 상기 '식품 첨가물 공전'에 수재된 품목으로는 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼슘, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물; 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물; L-글루타민산나트륨 제제, 면류첨가알칼리제, 보존료 제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류 등을 들 수 있다. 예를 들어, 정제 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분을 부형제, 결합제, 봉해제 및 다른 첨가제와 혼합한 혼합물을 통상의 방법으로 과립화한 다음, 활택제 등을 넣어 압축성형 하거나, 상기 혼합물을 직접 압축성형할 수 있다. 또한 상기 정제 형태의 건강기능식품은 필요에 따라 교미제 등을 함유할 수도 있다. 캡셀 형태의 건강기능식품 중 경질 캡셀제는 통상의 경질 캡셀에 본 발명의 유효성분을 부형제 등의 첨가제와 혼합한 혼합물을 충전하여 제조할 수 있으며, 연질 캡셀제는 본 발명의 유효성분을 부형제 등의 첨가제와 혼합한 혼합물을 젤라틴과 같은 캡셀기체에 충전하여 제조할 수 있다. 상기 연질 캡셀제는 필요에 따라 글리세린 또는 소르비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다. 환 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분과 부형제, 결합제, 봉해제 등을 혼합한 혼합물을 기준에 공지된 방법으로 성형하여 조제할 수 있으며, 필요에 따라 백당이나 다른 제피제로 제피할 수 있으며, 또는 전분, 탈크와 같은 물질로 표면을 코팅할 수도 있다. 과립 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분의 부형제, 결합제, 봉해제 등을 혼합한 혼합물을 기준에 공지된 방법으로 입상으로 제조할 수 있으며, 필요에 따라 착향제, 교미제 등을 함유할 수 있다.
- [0061] 또 하나의 양태로 본 발명은 상기 제조 방법으로 제조된 피코시아닌을 포함하는 사료 조성물에 관한 것이다.
- [0062] 본 발명의 사료 조성물은 기존의 소염제를 대체하고 유해한 식품 병원성균의 생장을 억제하는 바, 동물체의 건강상태를 양호하게 하고, 가축의 증체량과 육질을 개선시키며, 산유량 및 면역력을 증가시키는 효과를 기대할 수 있다. 본 발명의 사료 조성물은 발효사료, 배합사료, 펠렛 형태 및 사일리지 등의 형태로 제조될 수 있다. 상기 발효사료는 본 발명의 펩타이드 이외의 여러 가지 미생물군 또는 효소들을 첨가함으로써 유기물을 발효시켜 제조할 수 있으며, 배합사료는 여러 종류의 일반사료와 본 발명의 펩타이드를 혼합하여 제조할 수 있다. 펠렛 형태의 사료는 상기 배합사료 등을 펠렛기에서 열과 압력을 가하여 제조할 수 있으며, 사일리지는 청에 사료를 본 발명에 따른 미생물로 발효시킴으로써 제조할 수 있다. 습식발효사료는 음식물 쓰레기 등과 같은 유기물을 수집 및 운반하여 살균과정과 수분조절을 위한 부형제를 일정비율로 혼합한 후, 발효에 적당한 온도에서 24 시간 이상 발효하여, 수분함량이 약 70%로 포함되도록 조절하여 제조할 수 있다. 발효건조사료는 습식 발효 사료를 건조과정을 추가로 거쳐 수분함량이 30% 내지 40% 정도 함유되도록 조절하여 제조할 수 있다.
- [0063] 본 발명의 사료 조성물은 종래 사료에 첨가되는 성분을 더 포함할 수 있다. 이러한 사료에 첨가되는 성분의 일례로서 곡류분말, 고기분말, 및 두류 등을 포함할 수 있다. 상기에서 곡류분말은 쌀가루, 밀가루, 보리가루, 및

옥수수가루 중에서 선택된 1종 이상을 사용할 수 있다. 상기에서 고기분말은 닭고기, 소고기, 돼지고기, 및 타조고기 중에서 선택된 어느 하나 이상을 분말화 한 고기분말을 사용할 수 있다. 상기에서 두류는 대두, 강낭콩, 완두콩, 및 검정콩 중에서 선택된 1종 이상을 사용할 수 있다.

[0064] 본 발명의 사료 조성물은 상기에서 언급한 종래 사료에 첨가되는 성분인 곡류분말, 고기분말, 및 두류 이외에도 사료의 영양성을 증대시키기 위해 영양제, 및 무기물 중에서 선택된 어느 하나 이상을 첨가할 수 있으며, 사료 품질의 저하를 막기 위해 항곰팡이제, 항산화제, 항응고제, 유화제, 및 결착제 중에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있다.

[0066] 이하 준비예 및 실시예를 통해 본 발명을 보다 상세히 설명한다.

[0067] 하지만, 실시예는 본 발명의 기술적 사상의 내용과 범위를 쉽게 설명하기 위한 예시일 뿐, 이에 의해 본 발명의 기술적 범위가 한정되거나 변경되는 것은 아니다. 또한, 이러한 예시에 기초하여 본 발명의 기술적 사상의 범위 안에서 다양한 변형과 변경이 가능함은 통상의 지식을 가지는 자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0069] 준비예 1. 스피루리나의 배양

[0070] 스피루리나(*Arthrospira platensis*) KCTC AG40101은 생물자원센터 KCTC에서 입수하였다. 스피루리나는 Zarrouk 배지(Hirano et al., 1990)(NaHCO_3 (중탄산) 8.4 g/L 포함)상에서 투명한 수직 컬럼광생물 반응기(높이 45 cm, 직경 12 cm, 자체제작)에서 배양되었다. 반응기 바닥에서 0.2 μm 폴리테트라플루오로에틸렌(PTFE) 필터를 통과한 일정한 버블링 공기와 통기에 의해 혼합되었다.

[0071] 상기 Zarrouk 배지는 NaHCO_3 는 8.4 g/L, K_2HPO_4 0.5 g/L, NaNO_3 2.5 g/L, K_2SO_4 1.0 g/L, 1.0 NaCl 1.0 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g/L, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.04 g/L, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g/L, 에틸렌디아민테트라아세트산(ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA) 0.08 g/L 및 미량영양소 용액 1 mL을 포함하고 있고, 상기 미량영양소 용액은 H_3BO_3 2.86 g/L, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1.81 g/L, $\text{ZnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.222 g/L, Na_2MoO_4 0.0177 g/L 및 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.079 g/L를 포함하고 있다.

[0072] 모든 배양물은 25°C의 투명한 수직 컬럼 반응기(높이 45 cm, 직경 12 cm)에서 유지되었고 반응기 바닥에서 0.2 μm 폴리테트라플루오로에틸렌(PTFE) 필터를 통과한 일정한 버블링 공기와 통기에 의해 혼합되었다.

[0073] 광원은 백색 발광 다이오드(LED)였으며, 광생물 반응기 전면의 표준 입사 광자 플럭스 밀도는 배양 동안 100 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$ 의 연속 광조명을 사용하였다. 세포 성장은 680 nm 파장으로 분광광도계(JASCO-V-730 Spectrophotometer, Tokyo, Japan)를 이용하여 매일 측정하였다.

[0074] 한편, 피코시아닌 추출을 위해서는 680 nm 파장의 분광광도계 측정값이 2에 다다르도록 스피루리나 세포를 배양하였다.

[0075] 스피루리나의 세포 건중량(dry cell weight)은 사전 건조 및 사전 칭량된 0.45 μm 셀룰로오스 니트레이트 멤브레인(Whatman, USA)을 통해 여과하고 세포를 80°C의 오븐에서 24시간 동안 건조한 후 측정하였다.

[0077] 준비예 2. 동결-해동 방법의 자가분해 방법을 통한 피코시아닌 추출

[0078] 스피루리나 습식 바이오매스를 동결-해동 방법으로 자가분해하여 세포막을 파쇄하고 세포질속에 들어있는 피코시아닌을 하기 방법으로 추출하였다.

[0079] 동결-해동 방법(freezing-thawing method)시 염 용액의 종류에 따른 피코시아닌(PC) 추출 수율의 효과 차이를 확인하기 위해서 Manirafasha et al. (2017)의 동결-해동 방법을 참고하여 피코시아닌을 추출하였다.

[0080] 구체적으로, 준비예 1과 같은 방법으로 배양한 스피루리나 세포를 0.045 mm 메쉬 크기의 표준체를 사용하여 수확하여 여과된 세포(250 mg)를 얻고 이를 증류수로 3회 세척하여 얻은 100% 스피루리나 습식 바이오매스(이하 습식 바이오매스라고 함)를 증류수를 사용하여 정의된 농도로 희석하였다(예를 들어, 75% 습식 바이오매스는 상기 100% 습식 바이오매스 7.5 mL과 2.5mL의 증류수로 구성됨). 상기 제조된 습식 바이오매스를 -20°C에서 24시간 동안 한 번 냉동한 후 25°C에서 1시간 동안 해동하였다. 이어지는 자가분해 과정은 습식 바이오매스를 0, 3, 6, 9, 12 또는 24시간 동안 4, 25 또는 37°C의 챔버(chamber)에서 다양한 농도의 습식 바이오매스를 반응하여 수행되었다. 자가분해 과정 동안 세포의 형태 변화를 현미경으로 확인하였다(도 2). 배양 후, 세포 용해물을 4°C에서 15분 동안 8960xg에서 원심분리하고 피코시아닌을 함유하는 청색 상층액(이하 조추출물이라고 함)을 수

집하였다.

[0082] 준비예 3. 피코시아닌 순도 및 농도 측정

[0083] 추출한 피코시아닌의 순도(purity) 및 추출 수율(extraction yield)을 측정하기 위해, 준비예 2의 조추출물(청색 상층액)을 분광광도계(JASCO-V-730 Spectrophotometer, Tokyo, Japan)를 사용하여 280~750 nm의 파장 범위에서 흡수 스펙트럼을 확인하였다. 추출한 피코시아닌의 순도(purity)는 흡광도 비율 A_{620}/A_{280} 에 따라 측정되었다. 피코시아닌(PC)의 농도 및 추출 수율은 하기 방정식을 사용하여 결정하였다.

$$[0084] \text{피코시아닌 농도(mg/mL)} = (A_{615} - 0.474 \times A_{652}) / 5.34$$

$$[0085] \text{추출 수율(mg/g)} = (\text{피코시아닌(PC) 농도} \times \text{용매 부피}) / \text{건조 세포 중량}$$

[0087] 실시예 1. 자가분해를 통한 피코시아닌(PC) 추출

[0088] 본 발명의 자가분해 과정 시 반응 온도 및 시간에 따라 피코시아닌(PC) 추출 효율의 증가여부를 확인하기 위해, 준비예 2와 같이 제조한 75% 습식 바이오매스를 -20℃에서 24시간 동안 동결시킨 후 25℃에서 1시간 동안 해동한 세포를 4℃, 25℃ 또는 37℃의 세 가지 온도 조건에서 반응하고 준비예 3과 같은 방법으로 조추출물 상층액 샘플의 흡광도 스펙트럼을 측정하였다(도 1).

[0089] 그 결과 도 1에 나타난 것과 같이 620 nm에서의 피크 강도는 25℃ 및 37℃에서 반응 시간이 증가함에 따라 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 피코시아닌(PC)은 620 nm에서 최대 흡수 피크(maximal absorption peak)가 나타나는 특징을 기반으로 측정하였다.

[0090] 25℃에서 반응하는 경우 9시간 이후 의미 있는 양의 피코시아닌 이 추출되었으나(620 nm 흡수 피크를 통해 확인), 37℃에서 반응하는 경우 3시간 반응 한 이후 91% 최대 흡수 피크가 관찰되는 것을 확인할 수 있었다(도 1a, 도 1b). 반면, 4℃에서 반응한 경우에는 자가분해를 통해 피코시아닌(PC)이 추출되지 않았음을 확인하였다(도 1c).

[0091] 또한, 본 자가분해과정을 현미경으로 관찰 결과, 스피루리나(*Arthrospira platensis*)의 습식 바이오매스 형태의 극적인 변화를 확인할 수 있었다(도 2). 온전한 형태를 갖추었던 스피루리나 세포는 37℃에서 3시간 자가분해 반응 후 완전히 사라졌으나, 세포를 4℃에서 자가분해 반응했을 때 코일형태의 변화는 없었음을 확인하였다(도 2).

[0092] 준비예 2 및 3의 방법을 사용하여 각 자가분해 반응시간에 따른 조추출물 중의 피코시아닌(PC)의 농도, 추출 수율 및 순도를 산출하여 표 1에 나타내었다. 37℃에서 반응한 경우 3시간 반응 이후 피코시아닌의 순도 지수는 1을 초과하고, 반응시간이 경과함에 따라 그 수치가 증가하였다(표 1). 표 1은 피코시아닌 농도, 추출 수율 및 순도를 한 방향 아노바 테스트 및 던칸 테스트를 통해 분석한 결과이다($p < 0.05$).

[0093]

표 1

항목	온도	0 h	3 h	6 h	9 h	12 h	24 h
피코시아닌 농도 (Phycocyanin) (mg/mL)	25℃	0.042 ^h	0.080 ^h	0.0127 ^{gh}	0.885 ^f	2.973 ^e	5.155 ^{cd}
	4℃	0.042 ^h	0.065 ^h	0.092 ^{gh}	0.103 ^{gh}	0.105 ^{gh}	0.133 ^{gh}
	37℃	0.259 ^g	5.030 ^d	5.522 ^a	5.303 ^{bc}	5.334 ^b	5.202 ^{bc}
추출 수율 (Extraction yield) (mg/g)	25℃	0.779 ^h	1.495 ^h	2.372 ^{gh}	16.467 ^f	55.320 ^e	95.919 ^{cd}
	4℃	0.780 ^h	1.206 ^h	1.716 ^{gh}	1.923 ^{gh}	1.960 ^{gh}	2.470 ^{gh}
	37℃	4.813 ^g	93.603 ^d	102.751 ^a	98.677 ^{bc}	99.252 ^b	96.807 ^{bc}
순도 (Purity)	25℃	0.070 ^h	0.106 ^{ghi}	0.145 ^g	0.589 ^e	1.045 ^c	0.947 ^d
	4℃	0.078 ^{hi}	0.108 ^{ghi}	0.140 ^{gh}	0.146 ^g	0.143 ^g	0.155 ^g
	37℃	0.257 ^f	1.194 ^b	1.168 ^b	1.261 ^a	1.271 ^a	1.318 ^a

[0095] 실시예 2. 본 발명의 최적화된 자가분해에 따른 피코시아닌 추출

[0096] 스피루리나(Spirulina) 성장배지의 초기 중탄산염 농도 및 습식 바이오매스의 농도가 자가분해 방법에 따른 피코시아닌(PC) 추출 수율에 미치는 효과를 확인하기 위해서 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0098] 실시예 2-1. 성장배지의 초기 중탄산염 농도

[0099] 스피루리나 성장배지의 초기 중탄산염 농도가 스피루리나의 피코시아닌 생장, 추출 수율 및 순도에 미치는지 확인하기 위해서 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0100] 구체적으로, 실시예 1과 같은 방법으로 스피루리나(Spirulina) 성장배지의 초기 중탄산염(NaHCO_3) 농도를 8.4 g/L(준비에 1의 Zarrouk 배지) 또는 16.8 g/L(표준 Zarrouk 배지)로 배양하였고 실시예 1과 같은 방법으로 제조된 75% 스피루리나 습식 바이오매스를 -20°C 에서 24시간 동안 한 번 냉동하고 25°C 에서 1시간 동안 해동한 후 37°C 에서 반응하고 자가 분해에 의한 피코시아닌(PC) 추출 수율을 중탄산염(NaHCO_3) 16.8 g/L가 포함된 배지에서 성장한 스피루리나 세포와 중탄산염(NaHCO_3) 8.4 g/L가 포함된 배지에서 성장한 스피루리나 세포에서 추출한 피코시아닌 함량을 비교하였다(도 3).

[0101] 그 결과, 스피루리나 세포를 16.8 g/L의 중탄산염(NaHCO_3)이 포함된 배지 또는 8.4 g/L의 중탄산염(NaHCO_3)이 포함된 배지에 성장시킬 경우 스피루리나 세포의 성장 차이는 없는 것을 확인하였다(도 3a). 반면, 스피루리나 세포가 16.8 g/L의 중탄산염(NaHCO_3)이 포함된 배지에서 성장한 경우 24시간 이내에 피코시아닌의 의미 있는 추출이 관찰되지 않았지만, 스피루리나 세포를 8.4 g/L의 중탄산염(NaHCO_3)이 포함된 배지에서 성장한 경우 37°C 에서 3시간 자가분해 반응하였을 때 피코시아닌(PC) 농도가 90%가량 증가된 것을 확인하였다(도 3b). 또한, 스피루리나 세포를 16.8 g/L의 중탄산염(NaHCO_3)이 포함된 배지에서 배양한 경우 피코시아닌(PC) 순도는 초기 3시간 자가분해 반응했을 때 0.1(A620nm/A280nm) 밖에 되지 않지만, 스피루리나 세포를 8.4 g/L의 중탄산염(NaHCO_3)이 포함된 배지에서 배양한 경우 초기 3시간 자가분해 반응했을 때 피코시아닌(PC) 순도가 1.2(A620nm/A280nm)에 빠르게 도달하는 것을 확인하였다(도 3c).

[0102] 상기 결과에 의해서, 스피루리나 세포의 배지 중 포함된 중탄산염(NaHCO_3)의 농도가 스피루리나 세포의 피코시아닌의 농도 및 추출 순도에 영향을 미침을 확인하였다.

[0104] 실시예 2-2. 습식 바이오매스의 농도

[0105] 스피루리나 습식 바이오매스 회석물이 스피루리나의 피코시아닌 추출 수율 및 순도에 미치는지 확인하기 위해서 하기와 같은 실험을 수행하였다.

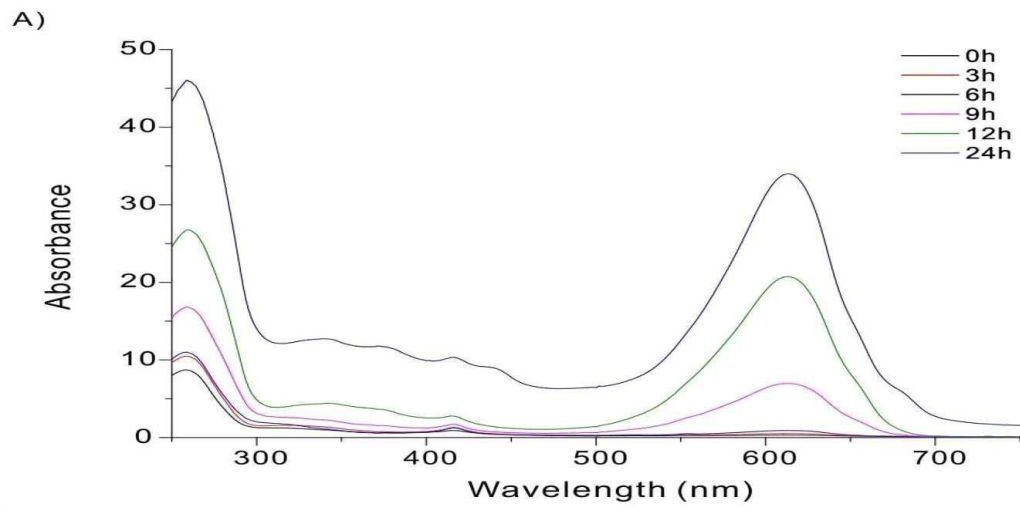
[0106] 구체적으로, 자가분해에 의한 최적의 피코시아닌(PC) 추출을 위한 습식 바이오매스의 유효 농도를 확인하기 위해서 실시예 1과 같은 방법으로 스피루리나를 중탄산염(NaHCO_3) 농도가 8.4 g/L인 성장배지에서 배양하고 준비예 2와 같은 방법으로 100%, 75% 또는 50%의 서로 다른 습식 바이오매스 회석물을 갖도록 증류수와 혼합하고 -20°C 에서 24시간 동안 한 번 냉동하고 25°C 에서 1시간 동안 해동한 후 37°C 에서 시간순으로 반응하고 준비예 3과 같은 방법으로 피코시아닌 순도 및 농도를 측정하였다.

[0107] 상기 결과에 의해서, 100% 습식 바이오매스를 37°C 에서 12시간 동안 자가분해 반응했을 때 추출 수율이 최대에 도달하는 것을 확인하였고, 50% 바이오매스는 37°C 에서 24시간 이내에 최대 추출 수율에 도달하지 못하는 것을 확인하였으나, 75% 습식 바이오매스는 37°C 에서 자가분해 반응을 시켰을 때 3시간 이내에 피코시아닌(PC)의 최대 추출 수율을 확인하였다(도 4a).

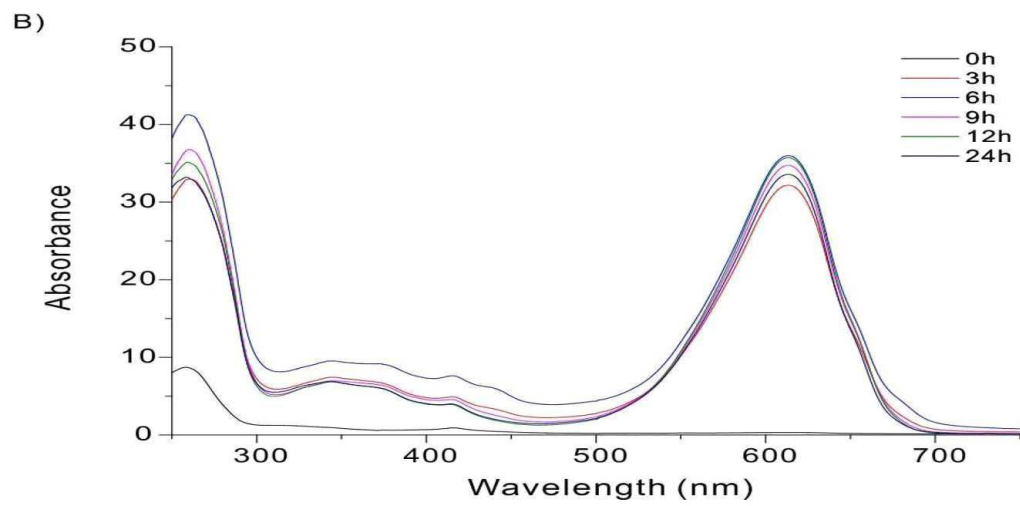
[0108] 또한, 100% 습식 바이오매스의 경우 10시간 동안 자가분해 반응한 이후 반응시간이 증가하여도 피코시아닌 순도의 변화가 없음을 확인하였고, 50% 습식 바이오매스의 경우 24시간 동안 관찰했을 때 반응시간이 증가함에 따라 피코시아닌 순도가 증가함을 확인하였다. 또한, 75% 습식 바이오매스의 경우 3시간 동안 반응한 이후 반응시간이 증가하여도 피코시아닌 순도의 변화가 없어 3시간만 만에 최대 순도에 도달하는 것을 확인하였다(도 4b).

도면

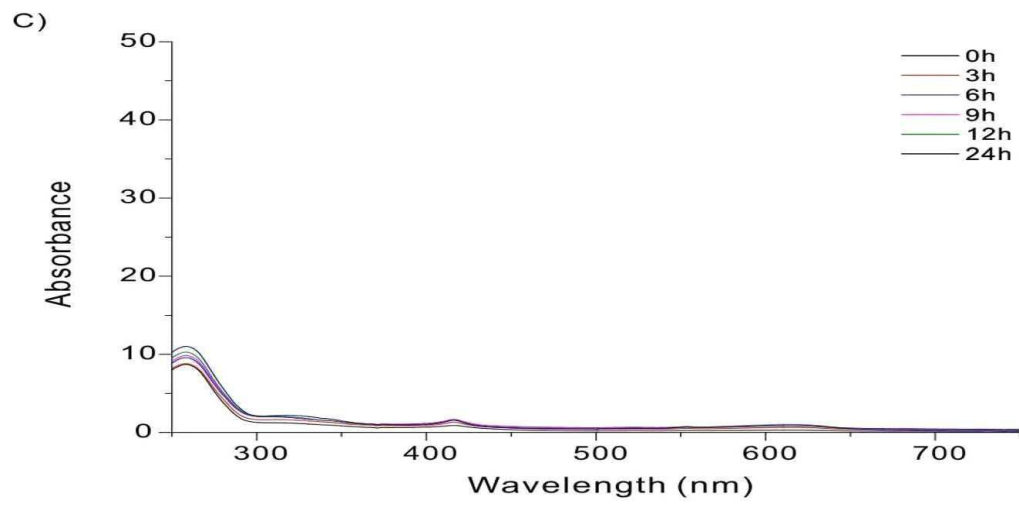
도면1a



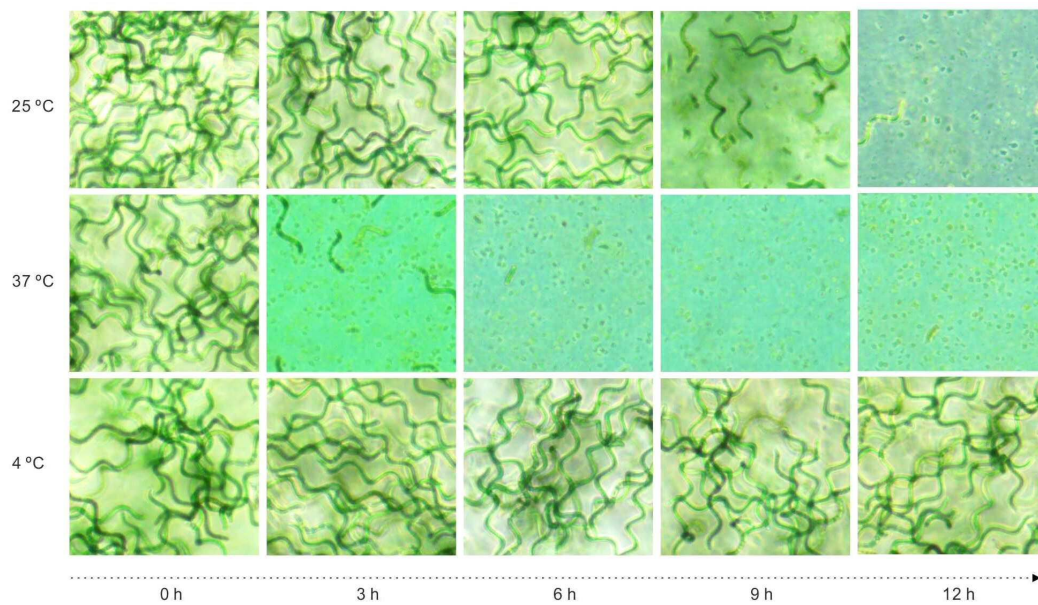
도면1b



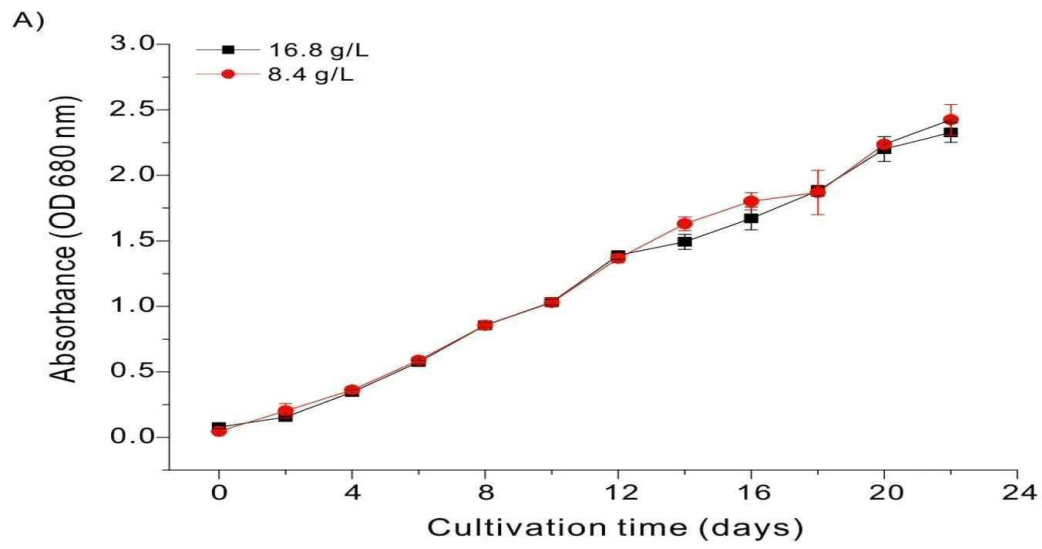
도면1c



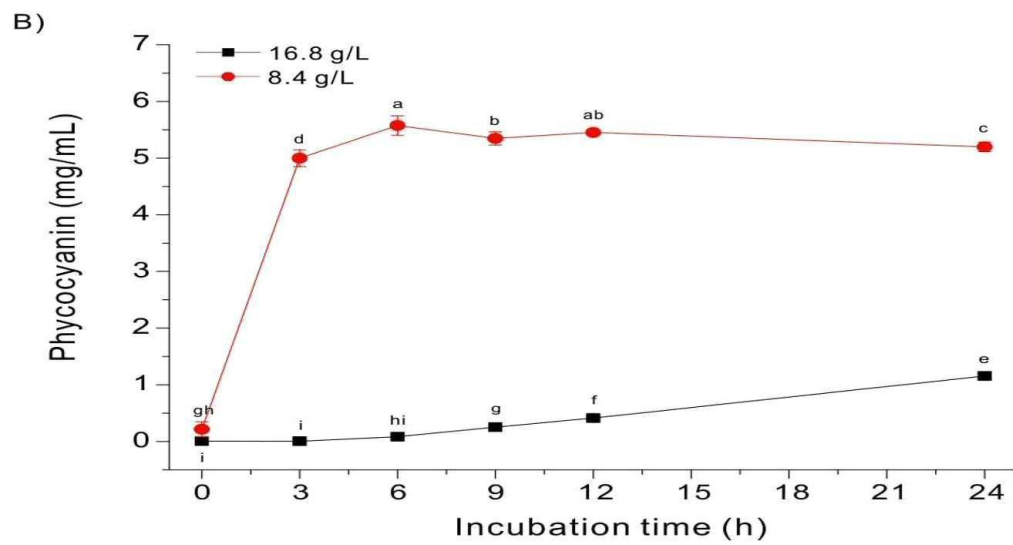
도면2



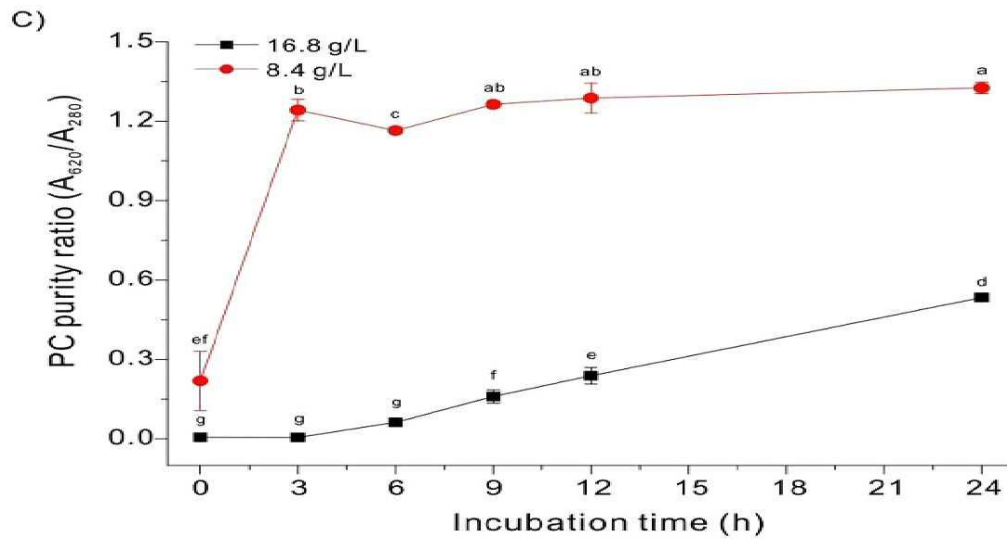
도면3a



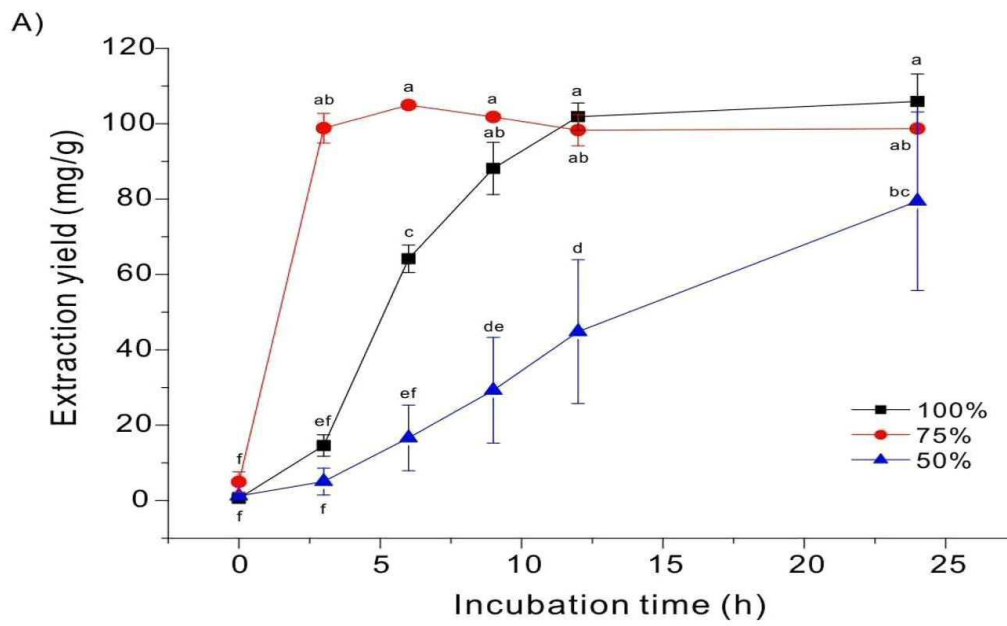
도면3b



도면3c



도면4a



도면4b

