



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0056797
(43) 공개일자 2016년05월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12M 3/06 (2006.01) C12M 1/00 (2006.01)
C12M 1/12 (2006.01) C12P 7/64 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12M 3/06 (2013.01)
C12M 1/12 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-0154555
(22) 출원일자 2015년11월04일
심사청구일자 2015년11월04일
(30) 우선권주장
1020140157448 2014년11월12일 대한민국(KR)

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
심상준
서울특별시 강남구 선릉로 221, 301동 803호 (도곡동, 도곡테크아파트)
임현석
서울특별시 성북구 안암로 145 고려대학교 자연캠퍼스 창의관 618호 (안암동5가)
김영환
서울특별시 성북구 안암로 145 고려대학교 자연캠퍼스 창의관 618호 (안암동5가)
(74) 대리인
특허법인충현

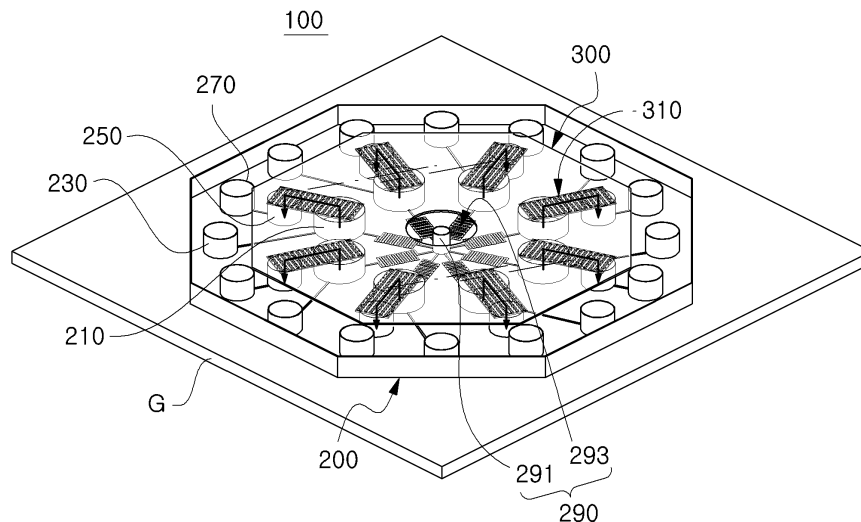
전체 청구항 수 : 총 17 항

(54) 발명의 명칭 세포 배양 및 지질 추출이 가능한 미세유체 장치와 이를 이용한 지질 추출방법

(57) 요약

세포 배양 및 지질 추출이 가능한 미세유체 장치와 이를 이용한 지질 추출방법이 개시된다. 본 발명의 일 실시예에 따른 세포 배양 및 지질 추출이 가능한 미세유체 장치는 미세조류를 배양하는 독립된 복수의 배양챔버를 구비한 미세조류 배양모듈; 및 미세조류 배양모듈의 상부에 적층되어 결합되, 복수의 배양챔버와 연통되며 복수의 배양챔버에 공급된 유기용매에 의해 파쇄된 미세조류의 파쇄물 중 미세조류의 지질성분이 용해된 지질용해액을 여과하는 지질용해액 여과모듈을 포함한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C12M 21/12 (2013.01)

C12M 23/16 (2013.01)

C12M 23/22 (2013.01)

C12M 29/04 (2013.01)

C12M 43/02 (2013.01)

C12P 7/64 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2014M1A8A1049278

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 (재)한국이산화탄소포집및처리연구개발센터

연구사업명 거대과학연구개발사업(Korea CCS 2020사업)

연구과제명 생물학적 이산화탄소 고속전환 유기 자원화 기술

기 여 율 1/1

주관기관 고려대학교 산학협력단

연구기간 2014.06.01 ~ 2015.05.31

명세서

청구범위

청구항 1

미세조류를 배양하는 독립된 복수의 배양챔버를 구비한 미세조류 배양모듈; 및

상기 미세조류 배양모듈의 상부에 적층되어 결합되되, 상기 복수의 배양챔버와 연통되며 상기 복수의 배양챔버에 공급된 유기용매에 의해 파쇄된 상기 미세조류의 파쇄물 중 상기 미세조류의 지질성분이 용해된 지질용해액을 여과하는 지질용해액 여과모듈을 포함하는 세포 배양 및 지질 추출이 가능한 미세유체 장치.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 미세조류 배양모듈은,

상기 복수의 배양챔버에 인접하게 마련되며, 상기 지질용해액 여과모듈과 연통되어 여과된 상기 지질용해액을 수용되는 복수의 지질용해액 수용챔버를 더 포함하는 세포 배양 및 지질 추출이 가능한 미세유체 장치.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 지질용해액 여과모듈은,

인접하는 상기 배양챔버와 상기 지질용해액 수용챔버를 한 쌍으로 상호 연통되게 연결하되, 상기 지질용해액을 여과하여 상기 배양챔버에서 상기 지질용해액 수용챔버로 공급하는 복수의 지질용해액 여과부를 포함하는 세포 배양 및 지질 추출이 가능한 미세유체 장치.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 복수의 지질용해액 여과부 각각은,

인접하는 상기 배양챔버에서 상기 지질용해액 수용챔버로 상기 지질용해액이 이동하는 지질용해액 이동유로; 및

상기 지질용해액 이동유로에 연통되게 연결되되, 상기 배양챔버와 상기 지질용해액 수용챔버의 상부영역에 각각 배치되며, 상기 지질용해액이 여과되어 통과되는 미세크기의 중공을 가지는 복수의 여과부재를 포함하며,

상기 배양챔버에 수용된 상기 지질용해액은 상기 배양챔버의 상부영역에 위치한 상기 복수의 여과부재에 의해 여과되어 상기 지질용해액 이동유로로 이동된 후 상기 지질용해액 수용챔버의 상부영역에 위치한 상기 복수의 여과부재로 이동되고 상기 지질용해액 수용챔버에 공급되는 세포 배양 및 지질 추출이 가능한 미세유체 장치.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 복수의 여과부재 각각은 기둥형상으로 형성되며,

상기 배양챔버의 상부영역에 위치한 상기 복수의 여과부재는 일단이 상기 배양챔버에 침지되고 타단이 상기 지질용해액 이동유로에 연통되게 연결되고,

상기 지질용해액 수용챔버의 상부영역에 위치한 상기 복수의 여과부재는 일단이 상기 지질용해액 수용챔버에 침지되고 타단이 상기 지질용해액 이동유로에 연통되게 연결되는 세포 배양 및 지질 추출이 가능한 미세유체 장치.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 미세조류 배양모듈은,

상기 복수의 배양챔버에 연통되게 연결되며, 상기 복수의 배양챔버 내의 상기 미세조류 내 지질 축적을 위한 배지 및 상기 미세조류를 파쇄하기 위한 유기용매를 공급하는 배지 및 유기용매 공급부를 더 포함하는 세포 배양 및 지질 추출이 가능한 미세유체 장치.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 배지 및 유기용매 공급부는,

배지 및 유기용매가 수용되는 배지 및 유기용매 수용챔버; 및

상기 배지 및 유기용매 수용챔버와 상기 복수의 배양챔버 각각을 연통되게 연결하는 복수의 배지 및 유기용매 공급유로를 포함하며,

상기 배지 및 유기용매 공급유로는,

배지 및 유기용매가 상기 배지 및 유기용매 수용챔버에서 상기 배양챔버로 지그재그 형태로 형성되는 세포 배양 및 지질 추출이 가능한 미세유체 장치.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 복수의 배양챔버는 상기 배지 및 유기용매 수용챔버를 중심으로 방사형으로 배치되며,

상기 복수의 지질용해액 수용챔버는 상기 복수의 배양챔버의 외측에 인접하게 배치되는 세포 배양 및 지질 추출이 가능한 미세유체 장치.

청구항 9

제7항에 있어서,

상기 배지 및 유기용매 수용챔버에 배지 및 유기용매를 공급하는 펌프를 더 포함하는 세포 배양 및 지질 추출이 가능한 미세유체 장치.

청구항 10

제2항에 있어서,

상기 미세조류 배양모듈은,

상기 복수의 배양챔버에 각각 연통되게 연결되어 상기 복수의 배양챔버에 상기 미세조류를 공급하는 복수의 미세조류 공급부; 및

상기 복수의 지질용해액 수용챔버에 각각 연통되게 연결되어 상기 복수의 지질용해액 수용챔버에 수용된 상기 지질용해액을 배출하는 지질용해액 배출부를 더 포함하는 세포 배양 및 지질 추출이 가능한 미세유체 장치.

청구항 11

제1항에 있어서,

상기 미세조류 배양모듈과 상기 지질용해액 여과모듈은,

PMMA(Polymethyl Methacrylate), PS(Polystyrene), PDMS (polydimethylsiloxane)를 포함하는 광투과성이 있는 투명재질로 형성되는 세포 배양 및 지질 추출이 가능한 미세유체 장치.

청구항 12

미세조류 배양모듈의 배양챔버에 미세조류와 상기 미세조류의 성장에 필요한 배지를 공급하여 상기 미세조류를

배양하는 단계;

상기 미세조류 내 지질을 축적하는 단계;

상기 배양챔버에 유기용매를 공급하여 상기 배양챔버 내의 상기 미세조류를 파쇄하는 단계; 및

지질용해액 여과모듈을 이용하여 상기 미세조류의 파쇄물 중 상기 미세조류의 지질성분이 용해된 지질용해액을 여과하여 추출하는 단계를 포함하는 미세유체 장치를 이용한 지질 추출방법.

청구항 13

제12항에 있어서,

상기 지질용해액을 여과하여 추출하는 단계는,

상기 배양챔버의 상부영역에 위치하고 일단이 상기 배양챔버에 침지된 미세크기의 중공을 가지는 상기 지질용해액 여과모듈의 복수의 여과부재에 의해 상기 미세조류의 파쇄물 중 상기 지질용해액이 여과되고, 상기 지질용해액은 상기 미세조류 배양모듈의 상기 배양챔버에 인접하게 마련되는 지질용해액 수용챔버의 상부영역에 위치하고 일단이 상기 지질용해액 수용챔버에 침지된 복수의 여과부재로 이동되어 상기 지질용해액 수용챔버에 수용되는 미세유체 장치를 이용한 지질 추출방법.

청구항 14

제12항에 있어서,

상기 미세조류 내 지질을 축적하는 단계는,

상기 배양챔버에 인접하게 마련되는 배지 및 유기용매 공급부에 질소 결핍 배지를 공급하여 상기 배양챔버 내의 배지를 질소 결핍 배지로 교환하고, $40 \text{ mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 세기의 24시간 지속적인 광조건 및 23°C 에서 4일간 상기 미세조류를 배양하는 미세유체 장치를 이용한 지질 추출방법.

청구항 15

제12항에 있어서,

상기 미세조류를 파쇄하는 단계는,

상기 배양챔버에 유기용매를 공급한 후 가열하는 미세유체 장치를 이용한 지질 추출방법.

청구항 16

제12항에 있어서,

상기 유기용매는 메탄올, 에탄올, 아이소프로판올을 포함하는 미세유체 장치를 이용한 지질 추출방법.

청구항 17

제12항에 있어서,

상기 미세조류를 배양하는 단계는,

$40 \text{ mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 세기의 24시간 지속적인 광조건 및 23°C 에서 3일간 상기 미세조류를 배양하는 미세유체 장치를 이용한 지질 추출방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 세포 배양 및 지질 추출이 가능한 미세유체 장치와 이를 이용한 지질 추출방법에 관한 것으로서, 보다 상세하게는, 미세조류의 배양에서부터 지질성분 추출까지 일련의 과정을 신속하고 효율적으로 수행할 수 있는 세포 배양 및 지질 추출이 가능한 미세유체 장치와 이를 이용한 지질 추출방법에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 박테리아, 효모, 미세조류 등을 포함하는 단세포 생물체는 농업, 축산, 수산, 의약 및 자원 분야에서 여러 목적으로 사용되고 있다.
- [0003] 여기서, 미세조류(microalgae)는 클로로필, 카로티노이드, 파이코빌린스 등과 같은 다양한 색소를 함유하고 있으며 광합성을 통해 세포성장 및 이에 필요한 유기물질을 합성할 수 있는 단세포성 조류를 의미하며, 대부분의 식물성 플랑크톤이 여기에 속한다.
- [0004] 박테리아와 효모는 의약품 단백질 발현에 사용되며, 미세조류는 광에너지와 이산화탄소 및 무기물질을 이용하여 여러 유용물질을 생산해 낼 수 있어 그 관심이 집중되고 있다.
- [0005] 예를들어 미세조류는 식물에 비하여 성장속도가 매우 빠르고 빛에너지와 이산화탄소 및 무기물질로부터 바이오디젤로 전환이 가능한 중성지질을 다량으로 생산할 수 있으므로 화석연료의 대안으로 급부상하고 있으며 또한 이산화탄소를 이용하므로 지구 온난화가 문제가 되는 온실가스에 대한 해결책으로 주목받고 있다.
- [0006] 미세조류에서 생산되는 바이오매스 중 사용가능한 오일 성분은 30~70%에 달하므로 기존의 식물에서 생산되는 오일에 비해 높은 연료 생산성을 나타낸다.
- [0007] 따라서, 미세조류의 효율적 이용을 위하여 배지의 최적화, 최적의 반응기 설계, 대사공정 및 생산물 정제 등의 다양한 연구가 필요하다.
- [0008] 한편, 특성이 밝혀지지 않은 미세조류는 배지 최적화와 미세조류가 생산하는 물질이 어떤 것이며 어떤 성분을 가지고 있는지를 신속하고 효율적으로 분석할 수 있는 시스템 및 방법의 개발이 요구되고 있다.
- [0009] 현재 미세조류의 생산물질에 대한 성분 분석은 시간이 많이 소요되며, 미세조류의 지질을 추출하는 방법은 유독 물질인 클로로포름 등의 유기용매를 다량으로 사용하고 있다.
- [0010] 대한민국 등록특허 제10-0320786호에는 미세조류로부터 지질을 추출하는 방법에 관한 것으로서, 미세조류의 배양액을 침전시키고 원심분리방법을 이용하여 회수한 미세조류를 클로로포름과 메탄올의 혼합용매에 분산시켜 탄화수소를 회수하는 방법이 개시되어 있다.
- [0011] 종래기술에 따른 미세조류로부터 지질을 추출하는 방법은 유기용매에 대한 높은 내구성을 지닌 유리 등의 재료만이 사용가능하며 이에 따른 높은 비용 및 복잡한 제작공정 등의 제약이 존재한다.
- [0012] 또한, 종래기술은 탈수과정 및 추출과정에서 미세조류가 파괴되는 일이 발생하여 실제 미세조류가 가지고 있는 유용한 식량원인 탄수화물, 세포 내 단백질 그리고 유용한 바이오연료인 지질 등의 성분이 유출 및 소실되어 재배양을 요구하거나 바이오매스를 재사용하는데 어려움이 있다.
- [0013] 따라서, 미세조류로부터 생산되는 지질의 효율적인 분석과 그 성장성을 분석하기 위해 단세포 미세조류의 배양, 지질 축적 및 지질 추출을 신속하고 효율적으로 수행할 수 있는 연구가 필요하다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0014] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제10-0320786호(2002.05.13. 공고)

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0015] 따라서 본 발명이 해결하고자 하는 기술적 과제는, 적어도 한 종 이상의 미세조류를 독립적으로 배양할 수 있으며 미세조류의 배양에서부터 지질성분 추출까지 일련의 과정을 미세조류의 회수과정 없이 신속하고 효율적으로 수행할 수 있는 세포 배양 및 지질 추출이 가능한 미세유체 장치와 이를 이용한 지질 추출방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0016] 본 발명의 일 측면에 따르면, 미세조류를 배양하는 독립된 복수의 배양챔버를 구비한 미세조류 배양모듈; 및 상기 미세조류 배양모듈의 상부에 적층되어 결합되되, 상기 복수의 배양챔버와 연통되며 상기 복수의 배양챔버에 공급된 유기용매에 의해 과채된 상기 미세조류의 과채물 중 상기 미세조류의 지질성분이 용해된 지질용해액을 여과하는 지질용해액 여과모듈을 포함하는 세포 배양 및 지질 추출이 가능한 미세유체 장치가 제공될 수 있다.
- [0017] 상기 미세조류 배양모듈은, 상기 복수의 배양챔버에 인접하게 마련되며, 상기 지질용해액 여과모듈과 연통되어 여과된 상기 지질용해액이 수용되는 복수의 지질용해액 수용챔버를 더 포함할 수 있다.
- [0018] 상기 지질용해액 여과모듈은, 인접하는 상기 배양챔버와 상기 지질용해액 수용챔버를 한 쌍으로 상호 연통되게 연결하되, 상기 지질용해액을 여과하여 상기 배양챔버에서 상기 지질용해액 수용챔버로 공급하는 복수의 지질용해액 여과부를 포함할 수 있다.
- [0019] 상기 복수의 지질용해액 여과부 각각은, 인접하는 상기 배양챔버에서 상기 지질용해액 수용챔버로 상기 지질용해액이 이동하는 지질용해액 이동유로; 및 상기 지질용해액 이동유로에 연통되게 연결되되, 상기 배양챔버와 상기 지질용해액 수용챔버의 상부영역에 각각 배치되며, 상기 지질용해액이 여과되어 통과되는 미세크기의 중공을 가지는 복수의 여과부재를 포함하며, 상기 배양챔버에 수용된 상기 지질용해액은 상기 배양챔버의 상부영역에 위치한 상기 복수의 여과부재에 의해 여과되어 상기 지질용해액 이동유로로 이동된 후 상기 지질용해액 수용챔버의 상부영역에 위치한 상기 복수의 여과부재로 이동되고 상기 지질용해액 수용챔버에 공급될 수 있다.
- [0020] 상기 복수의 여과부재 각각은 기둥형상으로 형성되며, 상기 배양챔버의 상부영역에 위치한 상기 복수의 여과부재는 일단이 상기 배양챔버에 침지되고 타단이 상기 지질용해액 이동유로에 연통되게 연결되고, 상기 지질용해액 수용챔버의 상부영역에 위치한 상기 복수의 여과부재는 일단이 상기 지질용해액 수용챔버에 침지되고 타단이 상기 지질용해액 이동유로에 연통되게 연결될 수 있다.
- [0021] 상기 미세조류 배양모듈은, 상기 복수의 배양챔버에 연통되게 연결되며, 상기 복수의 배양챔버 내의 상기 미세조류 내 지질 축적을 위한 배지 및 상기 미세조류를 과채하기 위한 유기용매를 공급하는 배지 및 유기용매 공급부를 더 포함할 수 있다.
- [0022] 상기 배지 및 유기용매 공급부는, 배지 및 유기용매가 수용되는 배지 및 유기용매 수용챔버; 및 상기 배지 및 유기용매 수용챔버와 상기 복수의 배양챔버 각각을 연통되게 연결하는 복수의 배지 및 유기용매 공급유로를 포함하며, 상기 배지 및 유기용매 공급유로는, 배지 및 유기용매가 상기 배지 및 유기용매 수용챔버에서 상기 배양챔버로 지그재그 형태로 형성될 수 있다.
- [0023] 상기 복수의 배양챔버는 상기 배지 및 유기용매 수용챔버를 중심으로 방사형으로 배치되며, 상기 복수의 지질용해액 수용챔버는 상기 복수의 배양챔버의 외측에 인접하게 배치될 수 있다.
- [0024] 상기 배지 및 유기용매 수용챔버에 배지 및 유기용매를 공급하는 펌프를 더 포함할 수 있다.
- [0025] 상기 미세조류 배양모듈은, 상기 복수의 배양챔버에 각각 연통되게 연결되어 상기 복수의 배양챔버에 상기 미세조류를 공급하는 복수의 미세조류 공급부; 및 상기 복수의 지질용해액 수용챔버에 각각 연통되게 연결되어 상기 복수의 지질용해액 수용챔버에 수용된 상기 지질용해액을 배출하는 지질용해액 배출부를 더 포함할 수 있다.
- [0026] 상기 미세조류 배양모듈과 상기 지질용해액 여과모듈은, PMMA(Polymethyl Methacrylate), PS(Polystyrene), PDMS (polydimethylsiloxane)를 포함하는 광투과성이 있는 투명재질로 형성될 수 있다.
- [0027] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 미세조류 배양모듈의 배양챔버에 미세조류와 상기 미세조류의 성장에 필요한 배지를 공급하여 상기 미세조류를 배양하는 단계; 상기 미세조류 내 지질을 축적하는 단계; 상기 배양챔버에 유기용매를 공급하여 상기 배양챔버 내의 상기 미세조류를 과채하는 단계; 및 지질용해액 여과모듈을 이용하여 상기 미세조류의 과채물 중 상기 미세조류의 지질성분이 용해된 지질용해액을 여과하여 추출하는 단계를 포함하는 미세유체 장치를 이용한 지질 추출방법이 제공될 수 있다.
- [0028] 상기 지질용해액을 여과하여 추출하는 단계는, 상기 배양챔버의 상부영역에 위치하고 일단이 상기 배양챔버에 침지된 미세크기의 중공을 가지는 상기 지질용해액 여과모듈의 복수의 여과부재에 의해 상기 미세조류의 과채물 중 상기 지질용해액이 여과되고, 상기 지질용해액은 상기 미세조류 배양모듈의 상기 배양챔버에 인접하게 마련되는 지질용해액 수용챔버의 상부영역에 위치하고 일단이 상기 지질용해액 수용챔버에 침지된 복수의 여과부재로 이동되어 상기 지질용해액 수용챔버에 수용될 수 있다.
- [0029] 상기 미세조류 내 지질을 축적하는 단계는, 상기 배양챔버에 인접하게 마련되는 배지 및 유기용매 공급부에 질

소 결핍 배지를 공급하여 상기 배양챔버 내의 배지를 질소 결핍 배지로 교환하고, $40 \text{ mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 세기의 24시간 지속적인 광조건 및 23°C 에서 4일간 상기 미세조류를 배양할 수 있다.

[0030] 상기 미세조류를 과채하는 단계는, 상기 배양챔버에 유기용매를 공급한 후 가열할 수 있다.

[0031] 상기 유기용매는 메탄올, 에탄올, 아이소프로판올을 포함할 수 있다.

[0032] 상기 미세조류를 배양하는 단계는, $40 \text{ mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 세기의 24시간 지속적인 광조건 및 23°C 에서 3일간 상기 미세조류를 배양할 수 있다.

발명의 효과

[0033] 본 발명의 실시예는 적어도 한 종 이상의 미세조류를 동시에 독립적으로 배양할 수 있으며, 미세조류의 배양 및 지질축적 과정을 실시간으로 용이하게 모니터링 할 수 있다.

[0034] 또한, 본 발명의 실시예는 미세조류의 배양에서부터 지질성분 추출까지 일련의 과정을 연속적으로 신속하게 수행할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0035] 도 1은 본 발명에 따른 세포 배양 및 지질 추출이 가능한 미세유체 장치를 나타내는 평면도이다.

도 2는 본 발명에 따른 세포 배양 및 지질 추출이 가능한 미세유체 장치를 나타내는 분해 사시도이다.

도 3은 본 발명에 따른 미세조류 배양모듈을 나타내는 평면도이다.

도 4는 본 발명에 따른 지질용해액 여과모듈을 나타내는 평면도이다.

도 5는 도 3의 A부분 확대도이다.

도 6은 도 3의 B부분 확대도이다.

도 7은 도 4의 C부분 확대도이다.

도 8은 본 발명에 따른 미세유체 장치를 이용한 지질 추출방법을 나타내는 흐름도이다.

도 9는 본 발명에 따른 미세조류 배양모듈을 이용하여 8개의 서로 다른 미세조류를 배양한 결과를 나타내는 그래프이다.

도 10은 본 발명에 따른 지질 추출 효율을 나타내는 그래프이다.

도 11은 본 발명의 복수의 여과부재 여부에 따른 지질 추출 효율을 나타내는 그래프이다.

도 12는 본 발명의 세포 배양 및 지질 추출이 가능한 미세유체 장치에 의해 추출된 8종류의 미세조류 각각의 지질함량을 나타내는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0036] 본 발명과 본 발명의 동작상의 이점 및 본 발명의 실시에 의하여 달성되는 목적을 충분히 이해하기 위해서는 본 발명의 바람직한 실시 예를 예시하는 첨부 도면 및 첨부 도면에 기재된 내용을 참조하여야만 한다.

[0037] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 바람직한 실시 예를 설명함으로써, 본 발명을 상세히 설명한다. 각 도면에 제시된 동일한 참조부호는 동일한 부재를 나타낸다.

[0038] 본 실시예에 따른 "미세조류"는 광합성 색소를 가지고 광합성을 하는 단세포 생물들에 대한 통칭이며, 본 실시예에 따른 미세조류는 녹조류, 규조류, 홍조류, 편모류, 담류조류, 갈색 편모조류, 황녹색조류, 와편모류, 또는 남조류 등을 포함한다.

[0039] 그리고, 본 실시예에서는 미세조류 중 클라미도모나스 레인하르티아이(*Chlamydomonas reinhardtii*)의 3종(CC124, CC125, CC4348), 클로렐라 3종(*Chlorella vulgaris*, *Chlorella protothecoides*, *Chlorella zofingiensis*), 네오클로리스 올레오아번단스(*Neochloris oleoabundans*) 및 *Scenedesmus* sp.의 총 8개의 미세조류가 사용되었으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [0040] 또한, 본 실시예에서 "지질"이란 미세조류를 구성하는 물질 중 물에는 녹지 않고 유기용매에 잘 녹는 것으로서 그 성분이나 화학구조에 따라 단순지질과 복합지질로 나눌 수 있으며 또한 중성지방, 글리세롤인지질, 글리세롤당지질, 카로티노이드 및 스테로이드 등이 있다. 특히 미세조류의 지질은 중성지방을 많이 포함하고 있고 석유계 기름과 유사한 분자구조를 가지고 있으며 함유량은 콩의 10배, 땅콩의 7~8배에 달한다.
- [0041] 도 1은 본 발명에 따른 세포 배양 및 지질 추출이 가능한 미세유체 장치를 나타내는 평면도이고, 도 2는 본 발명에 따른 세포 배양 및 지질 추출이 가능한 미세유체 장치를 나타내는 분해 사시도이고, 도 3은 본 발명에 따른 미세조류 배양모듈을 나타내는 평면도이고, 도 4는 본 발명에 따른 지질용해액 여과모듈을 나타내는 평면도이고, 도 5는 도 3의 A부분 확대도이고, 도 6은 도 3의 B부분 확대도이고, 도 7은 도 4의 C부분 확대도이다.
- [0042] 도 1 및 도 2를 참조하면, 본 발명의 일 실시예에 따른 세포 배양 및 지질 추출이 가능한 미세유체 장치(100)는 미세조류를 배양하는 미세조류 배양모듈(200)과, 미세조류 배양모듈(200)의 상부에 적층되어 결합되며 미세조류 배양모듈(200)에서 배양된 미세조류의 지질성분이 용해된 지질용해액을 여과하는 지질용해액 여과모듈(300)을 포함한다.
- [0043] 본 실시예에 따른 미세조류 배양모듈(200)과 지질용해액 여과모듈(300)은 광투과성이 있는 투명한 재질로 미세조류에 대한 독성이 없고 생물활성에 필요한 물질전달이 용이하며 미세조류의 이동을 방해하지 않는 재질 또는 상기한 특징을 갖도록 전처리된 재질로 제작된다.
- [0044] 예를들어, 미세조류 배양모듈(200)과 지질용해액 여과모듈(300)은 PMMA(Polymethyl Methacrylate), PS(Polystyrene), PDMS(polydimethylsiloxane)를 포함하는 광투과성이 있는 투명재질로 형성될 수 있다.
- [0045] 상기와 같이 미세조류 배양모듈(200)과 지질용해액 여과모듈(300)을 투명재질로 형성함으로써, 미세조류의 배양 및 지질추적 과정을 현미경을 이용하여 쉽고 빠르게 실시간으로 모니터링 할 수 있는 이점이 있다.
- [0046] 그리고, 본 발명의 일 실시예에 따른 세포 배양 및 지질 추출이 가능한 미세유체 장치(100)는 미세조류 배양모듈(200)이 하부에 배치되고, 미세조류 배양모듈(200)이 상부에 지질용해액 여과모듈(300)이 적층되어 결합된다.
- [0047] 미세조류 배양모듈(200)과 지질용해액 여과모듈(300)이 결합된 미세유체 장치(100)를 제작하는 과정을 살펴보면 다음과 같다.
- [0048] 미세조류 배양모듈(200)은 실리콘 기판에 음성감광제 SU-8을 회전 도포한 후 디자인된 마스크를 덮고 자외선에 노출시키는 포토리소그래피(photo-lithography)를 통해 SU-8 몰드를 제작하고, SU-8 몰드 위에 고분자 PDMS(Polydimethylsiloxane)와 경화제를 10:1의 비율로 혼합하여 포토리소그래피로 후술할 미세조류 배양모듈(200)을 구성하는 배양챔버(210), 지질용해액 수용챔버(250) 등을 제작한다. 그리고, 미세조류 배양모듈(200)의 하부를 플라즈마 처리를 통해 글라스에 결합시킨다.
- [0049] 또한, 지질용해액 여과모듈(300)은 실리콘 기판에 음성감광제 SU-8을 회전도포한 후, 디자인된 마스크를 덮고 자외선에 노출시키는 포토 리소그래피를 통해 SU-8 몰드를 제작하고, SU-8 몰드 위에 고분자 PDMS와 경화제를 20:1의 비율로 혼합하여 포토리소그래피로 후술할 지질용해액 여과모듈(300)을 구성하는 복수의 여과부재(313) 등을 제작하고 60℃의 오븐에서 10분간 굳힌 후, 미세조류 배양모듈(200)의 상부의 정해진 위치에 올려놓고 60℃ 오븐에서 30분간 추가로 굳혀 미세조류 배양모듈(200)에 완전히 결합시킨다.
- [0050] 한편, 도 2 및 도 3을 참조하면, 본 실시예에 따른 미세조류 배양모듈(200)은 미세조류를 배양하는 독립된 복수의 배양챔버(210)와, 복수의 배양챔버(210)에 인접하게 마련되어 복수의 배양챔버(210)에 미세조류를 공급하는 복수의 미세조류 공급부(230)와, 복수의 배양챔버(210)에 배양된 미세조류의 지질을 추적하고 미세조류를 파쇄하기 위해 배지 및 유기용매를 공급하는 배지 및 유기용매 공급부(290)와, 지질용해액 여과모듈(300)에서 여과된 미세조류의 지질성분이 용해된 지질용해액을 수용하여 저장하는 복수의 지질용해액 수용챔버(250)와, 복수의 지질용해액 수용챔버(250)에 인접하게 마련되어 복수의 지질용해액 수용챔버(250)에 수용된 지질용해액을 배출하는 지질용해액 배출부(270)를 포함한다.
- [0051] 배양챔버(210)는 미세조류를 배양하는 역할을 하며, 본 실시예에서 배양챔버(210)는 독립되게 복수 개 마련되므로 한 종 이상의 미세조류를 동시에 독립적으로 배양할 수 있다.
- [0052] 본 실시예에서는 8개의 배양챔버(210)가 도시되어 있으나, 배양챔버(210)의 개수는 이에 한정되지 않는다. 또한, 본 실시예에 따른 각각의 배양챔버(210)는 지름이 4mm 크기를 가지도록 도시되었으나 배양챔버(210)의 크기는 이에 한정되지 않는다.

[0053] 또한, 본 실시예에서는 8개의 배양챔버(210) 각각에 클라미도모나스 레인하르티아이(*Chlamydomonas reinhardtii*)의 3종(CC124, CC125, CC4348), 클로렐라 3종(*Chlorella vulgaris*, *Chlorella protothecoides*, *Chlorella zofingiensis*), 네오클로리스 올레오아번단스(*Neochloris oleoabundans*) 및 *Scenedesmus* sp.의 총 8개의 미세조류를 배양하도록 하였다.

[0054] 그리고, 미세조류 공급부(230)는 복수의 배양챔버(210)의 개수에 대응되는 개수로 마련되고 각각의 배양챔버(210)에 인접하게 배치되고 연통되게 연결되어, 복수의 배양챔버(210)에 미세조류를 공급한다. 본 실시예에 따른 미세조류 공급부(230)는 지름이 2mm 크기를 가지도록 도시되었으나 그 크기는 이에 한정되지 않는다.

[0055] 한편, 미세조류 공급부(230)는 미세조류를 배양하기 위한 배지를 더 공급할 수 있다. 미세조류를 배양하기 위한 배지는 TAP 배지이고 그 구성성분은 아래의 [표 1]과 같다.

표 1

[0056]

TAP Medium	
성분	함량 (in 1 ℓ water)
TAP salts (in 1 ℓ water)	25 ml
NH ₄ Cl 15.0g	
MgSO ₄ · 7H ₂ O 4.0g	
CaCl ₂ ·H ₂ O 2.0g	
Phosphate solution (in 100 ml water)	0.375 ml
K ₂ HPO ₄ 28.8g	
KH ₂ PO ₄ 14.4g	
Hutners trace elements	1.0 ml
EDTA disodium salt 50g(250 ml water)	
ZnSO ₄ · 7H ₂ O 22g(100 ml water)	
H ₃ BO ₃ 11. 4g(200 ml water)	
MnCl ₂ · 4H ₂ O 5.06g(50 ml water))	
CoCl ₂ · 6H ₂ O 1.61g(50 ml water)	
CuSO ₄ · 5H ₂ O 1.57g(50 ml water)	
(NH ₄) ₆ MO ₇ O ₂₄ · 4H ₂ O 1.10g(50 ml water)	
FeSO ₄ · 7H ₂ O 4.99g(50 ml water)	
Tris base	2.42 g
Glacial acetic acid	1.0 ml

[0057] 그리고, 배지 및 유기용매 공급부(290)는 복수의 배양챔버(210) 내의 미세조류 내 지질축적을 위한 배지와 지질이 축적된 미세조류를 파쇄하기 위한 유기용매를 공급하는 역할을 한다.

[0058] 여기서, 본 실시예에서 지질 축적을 위한 배지는 질소 영양분 결핍 배지, 염분을 함유한 배지 등 미세조류 내 지질 축적을 유도하는 배지인 TAP-N 배지이며, TAP-N 배지는 상기한 TAP배지 내 NH₄Cl을 같은 몰수(mol)를 갖는 KCl로 대체한 배지이다.

[0059] 또한, 본 실시예에서 유기용매는 지질이 축적된 미세조류의 세포막의 기능을 상실시키고 세포 내용물이 수중에 분산 또는 용해시키는 세포파쇄 및 미세조류의 지질성분을 용해하는 것으로, 유기용매는 미세조류 배양모듈(200) 및 지질용해액 여과모듈(300)과 화학적 작용을 하지 않고 변형을 유발하지 않는 것으로서 메탄올, 에탄올 또는 아이소프로판올(IPA)이 사용될 수 있으나 본 발명의 청구범위가 이에 제한되는 것은 아니다.

[0060] 도 3 및 도 5를 참조하면, 본 실시예에서 배지 및 유기용매 공급부(290)는 미세조류 배양모듈(200)의 중심부에 위치하며, 이때 복수의 배양챔버(210)는 배지 및 유기용매 공급부(290)를 중심으로 방사형으로 배치된다. 이는 하나의 배지 및 유기용매 공급부(290)를 통해 복수의 배양챔버(210)에 동시 또는 별개로 배지 또는 유기용매를 공급할 수 있도록 하기 위함이다. 이때, 복수의 미세조류 공급부(230)는 복수의 배양챔버(210)의 외측에 인접하게 배치될 수 있다.

[0061] 또한, 본 실시예에서는 하나의 배지 및 유기용매 공급부(290)가 도시되었으나, 본 발명의 권리범위는 이에 한정

되지 않고 복수 개의 배지 및 유기용매 공급부(290)가 마련될 수 있다.

- [0062] 또한, 본 실시예에 따른 배지 및 유기용매 공급부(290)는 지름이 1mm 크기를 가지도록 도시되었으나 그 크기는 이에 한정되지 않는다.
- [0063] 상기한 배지 및 유기용매 공급부(290)는 TAP-N 배지 및 유기용매가 수용되는 배지 및 유기용매 수용챔버(291)와, 배지 및 유기용매 수용챔버와 복수의 배양챔버(210) 각각을 연통되게 연결하는 복수의 배지 및 유기용매 공급유로(293)를 포함한다.
- [0064] 복수의 배양챔버(210)에 배지 및 유기용매가 공급되는 과정은 미세조류 배양모듈(200)의 중심부에 배치되는 배지 및 유기용매 수용챔버(291)에 TAP-N 배지 또는 유기용매를 공급하면, 배지 및 유기용매 수용챔버(291)에 공급된 TAP-N 배지 또는 유기용매는 복수의 배지 및 유기용매 공급유로(293)를 따라 각각의 배양챔버(210)에 공급된다.
- [0065] 한편, 본 발명의 일 실시예에 따른 세포 배양 및 지질 추출이 가능한 미세유체 장치(100)는 TAP-N 배지 및 유기용매 수용챔버(291)에 배지 및 유기용매를 공급하는 펌프(미도시)를 더 포함할 수 있다.
- [0066] 예를 들어 본 실시예에서 펌프는 주사기 펌프가 사용될 수 있으며, 주사기 펌프는 배지 및 유기용매 수용챔버(291)에 TAP-N 배지 또는 유기용매를 일정한 속도로 공급하며 배지 및 유기용매 수용챔버(291) 및 복수의 배양챔버(210)에 압력을 가하여 미세조류의 파쇄물 중 미세조류의 지질성분이 용해된 지질용해액을 후술할 미세조류 배양모듈(200)의 상부에 배치된 지질용해액 여과모듈(300)을 거쳐 지질용해액 수용챔버(250)에 공급되게 한다.
- [0067] 그리고, 본 실시예에 따른 배지 및 유기용매 공급유로(293)는 배양챔버(210)와 배지 및 유기용매 공급부(290)를 상호 연결하는 역할을 한다.
- [0068] 도 3 및 도 6을 참조하면, 배지 및 유기용매 공급부(290)에 공급된 TAP-N 배지 또는 유기용매는 배지 및 유기용매 공급유로(293)를 따라 배양챔버(210)에 공급된다. 배지 및 유기용매 공급유로(293)는 하나의 배지 및 유기용매 공급부(290)와 복수의 배양챔버(210) 상호 간을 연통되게 연결하도록 복수 개 마련된다.
- [0069] 또한, 도 6에서 도시한 바와 같이 배지 및 유기용매 공급유로(293)는 배지 및 유기용매가 배지 및 유기용매 수용챔버(291)에서 배양챔버(210)로 지그재그 형태로 형성된다. 배지 및 유기용매 공급부(290)에서 각각의 배양챔버(210)로 TAP-N 배지 또는 유기용매가 공급되거나 공급되는 도중에 다시 배지 및 유기용매 공급부(290)로 역류하는 것을 방지하기 위함이다.
- [0070] 또한, 배지 및 유기용매 공급유로(293)는 지름이 3 μ m 크기를 가지도록 도시되었으나 그 크기는 이에 한정되지 않는다.
- [0071] 그리고, 본 실시예에 따른 지질용해액 수용챔버(250)는 배양챔버(210) 내의 미세조류의 파쇄물 중 미세조류의 지질성분이 용해된 지질용해액을 수용하는 역할을 한다.
- [0072] 즉, 지질용해액 수용챔버(250)는 후술할 지질용해액 여과모듈(300)에 의해 배양챔버(210)와 연통되며, 배양챔버(210) 내의 유기용매에 의해 용해된 지질용해액이 지질용해액 여과모듈(300)을 통해 이동된 지질용해액을 수용한다.
- [0073] 도 3에서 도시한 바와 같이 복수의 배양챔버(210)가 배지 및 유기용매 공급부(290)를 중심으로 방사형으로 배치된 경우에 복수의 지질용해액 수용챔버(250)는 복수의 배양챔버(210)의 외측에 인접하고 이격되며 배지 및 유기용매 공급부(290)를 중심으로 방사형으로 배치될 수 있다.
- [0074] 그리고, 각각의 지질용해액 수용챔버(250)와 배양챔버(210)는 배지 및 유기용매 공급부(290)에 대해 인라인되게 배치될 수 있다. 이는 배양챔버(210) 내의 지질용해액이 후술할 지질용해액 여과모듈(300)의 지질용해액 여과부(310)에 의해 지질용해액 수용챔버(250)로 이동되는 최단경로를 형성하기 위함이다.
- [0075] 그리고, 본 실시예에 따른 지질용해액 배출부(270)는 상기한 복수의 지질용해액 수용챔버(250)의 개수에 대응되는 개수로 마련되고 각각의 지질용해액 수용챔버(250)에 인접하게 배치되고 연통되게 연결되어 각각의 지질용해액 수용챔버(250)에 수용된 지질용해액을 배출한다.
- [0076] 본 실시예에 따른 지질용해액 배출부(270)는 지름이 2mm 크기를 가지도록 도시되었으나 그 크기는 이에 한정되지 않는다.
- [0077] 한편, 본 실시예에 따른 지질용해액 여과모듈(300)은 배양챔버(210) 내의 미세조류의 지질성분이 용해된 지질용

해액을 여과하고 지질용해액을 지질용해액 수용챔버(250)로 공급하는 역할을 한다.

- [0078] 전술한 바와 같이, 지질용해액 여과모듈(300)은 광투과성이 있는 투명한 재질로 미세조류에 대한 독성이 없고 생물활성에 필요한 물질전달이 용이하며 미세조류의 이동을 방해하지 않는 재질 및 유기용매와 화학적 작용을 하지 않는 재질 또는 상기한 특징을 갖도록 전처리된 재질로 제작된다.
- [0079] 예를 들어, 지질용해액 여과모듈(300)은 PMMA(Polymethyl Methacrylate), PS(Polystyrene), PDMS(polydimethylsiloxane)를 포함하는 광투과성이 있는 투명재질로 형성될 수 있다.
- [0080] 지질용해액 여과모듈(300)은 인접하는 배양챔버(210)와 지질용해액 수용챔버(250)를 한 쌍으로 하여 상호 연통되게 연결하는 복수의 지질용해액 여과부(310)를 포함한다.
- [0081] 지질용해액 여과부(310)는 인접하는 배양챔버(210)와 지질용해액 수용챔버(250)를 한 쌍으로 상호 연결하며, 배양챔버(210) 내의 지질용해액을 여과하고 지질용해액을 지질용해액 수용챔버(250)로 이동시키는 경로를 제공한다.
- [0082] 도 4에서 도시한 바와 같이, 지질용해액 여과부(310)는 지질용해액 여과모듈(300)의 중심부에 대해 방사형으로 복수 개 배치되며, 각각의 지질용해액 여과부(310)는 인접하는 한 쌍의 배양챔버(210)와 지질용해액 수용챔버(250)의 상부위치에 각각 배치된다.
- [0083] 본 실시예에 따른 지질용해액 여과부(310)는 인접하는 배양챔버(210)에서 지질용해액 수용챔버(250)로 지질용해액이 이동하는 지질용해액 이동유로(311)와, 지질용해액 이동유로(311)에 연통되게 연결되 배양챔버(210)와 지질용해액 수용챔버(250)의 상부영역에 각각 배치되며 지질용해액이 여과되어 통과되는 미세크기의 중공을 가지는 복수의 여과부재(313)를 포함한다.
- [0084] 도 1에 도시된 화살표에서와 같이, 배양챔버(210) 내에 수용된 지질용해액은 배양챔버(210)의 상부영역에 위치한 복수의 여과부재(313)에 의해 여과되어 지질용해액 이동유로(311)로 이동된 후 지질용해액 수용챔버(250)의 상부영역에 위치한 복수의 여과부재(313)로 이동되고 지질용해액 수용챔버(250)로 공급된다. 지질용해액 수용챔버(250)로 공급된 지질용해액은 지질용해액 배출부(270)를 통해 외부로 배출된다.
- [0085] 본 실시예에서 지질용해액 이동유로(311)는 배양챔버(210)의 상부영역에 위치한 복수의 여과부재(313)와 지질용해액 수용챔버(250)의 상부영역에 위치한 복수의 여과부재(313)를 상호 연통되게 연결한다.
- [0086] 그리고, 여과부재(313)는 기둥형상으로 형성되며 배양챔버(210)의 상부영역 및 지질용해액 수용챔버(250)의 상부영역에 각각 복수 개 마련된다.
- [0087] 배양챔버(210)의 상부영역에 위치한 복수의 여과부재(313) 각각은 일단이 배양챔버(210)에 침지되고 타단이 지질용해액 이동유로(311)에 연통되게 연결되고, 지질용해액 수용챔버(250)의 상부영역에 위치한 복수의 여과부재(313) 각각은 일단이 지질용해액 수용챔버(250)에 침지되고 타단이 지질용해액 이동유로(311)에 연통되게 연결된다.
- [0088] 도 7에서 도시한 바와 같이 본 실시예에 따른 복수의 여과부재(313) 각각은 지질용해액이 여과되어 통과되는 미세크기의 중공을 가지며 기둥형상으로 형성되고 사각단면을 가질 수 있다.
- [0089] 그리고, 본 실시예에서 여과부재(313)의 중공 단면의 크기는 가로와 세로가 $10\mu\text{m} \times 10\mu\text{m}$ 가하도록 형성될 수 있으나, 이는 미세조류의 크기 및 종류에 의해 변경가능하다.
- [0090] 또한 여과부재(313)의 높이가 $3\mu\text{m}$ 를 가하도록 형성될 수 있으나 이는 배양챔버(210)와 지질용해액 이동유로(311) 간의 높이 차에 의해 변경가능하다.
- [0091] 주사기 펌프를 이용하여 배지 및 유기용매 공급부(290)를 통해 유기용매가 배양챔버(210) 내에 유입되면, 유기용매에 의해 미세조류는 파괴되고 미세조류에 포함된 지질은 유기용매에 용해한다.
- [0092] 그리고, 지질이 용해된 지질용해액은 주사기 펌프에 의해 가해지는 압력에 의해 배양챔버(210)의 상부영역에 위치한 복수의 여과부재(313)의 미세크기의 중공을 따라 지질용해액 이동유로(311)로 이동되고 지질용해액 수용챔버(250)의 상부영역에 위치한 복수의 여과부재(313)의 미세크기의 중공을 따라 지질용해액 수용챔버(250)로 이동된다.
- [0093] 이때, 배양챔버(210) 내의 미세조류의 파쇄물 중 지질용해액을 제외한 미세조류의 파쇄물은 기둥형상의 복수의 여과부재(313) 사이에 잔류하며, 지질용해액 만이 여과부재(313)의 중공을 따라 여과되어 지질용해액 이동유로

(311)로 이동된다.

- [0094] 한편, 기둥형상의 여과부재(313)는 실리콘, 유리 및 플라스틱 폴리머 등의 재질로 제작될 수 있다. 그리고, 플라스틱 폴리머는 사이클로올레핀 코폴리머(cycloolefin copolymer;COC), 폴리디메틸 실록세인(polydimethylsiloxane;PDMS), 폴리메틸메타크릴레이트(polymethylmethacrylate;PMMA), 폴리카보네이트(polycarbonate;PC), 폴리아미드(polyamide;PA), 폴리에틸렌(polyethylene;PE), 폴리프로필렌(polypropylene;PP), 폴리페닐렌 에테르(polyphenylene ether;PPE), 폴리스티렌(polystyrene;PS), 폴리옥시메틸렌(polyoxymethylene;POM), 폴리에테르에테르케톤(polyetheretherketone;PEEK), 폴리테트라프로오르에틸렌(polytetrafluoroethylene;PTFE), 폴리비닐클로라이드(polyvinylchloride;PVC), 폴리비닐리덴 플루오라이드(polyvinylidene fluoride;PVDF), 폴리부틸렌테레프탈레이트(polybutyleneterephthalate;PBT), 불소화 에틸렌프로필렌(fluorinatedethylenepropylene;FEP) 및 퍼플로로알콕시알칸(perfluoralkoxyalkane;PFA)으로 이루어진 그룹에서 선택된 어느 하나인 것일 수 있으나 본 발명의 권리범위에 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0095] 상기와 같이 구성되는 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유체 장치(100)를 이용하여 지질을 추출하는 방법을 설명하면 다음과 같다.
- [0096] 도 8은 본 발명에 따른 미세유체 장치를 이용한 지질 추출방법을 나타내는 흐름도이고, 도 9는 본 발명에 따른 미세조류 배양모듈을 이용하여 8개의 서로 다른 미세조류를 배양한 결과를 나타내는 그래프이고, 도 10은 본 발명에 따른 지질 추출 효율을 나타내는 그래프이고, 도 11은 본 발명의 복수의 여과부재에 따른 지질 추출 효율을 나타내는 그래프이고, 도 12는 본 발명의 세포 배양 및 지질 추출이 가능한 미세유체 장치에 의해 추출된 8종류의 미세조류 각각의 지질함량을 나타내는 그래프이다.
- [0097] 도 8을 참조하면, 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유체 장치(100)를 이용한 지질 추출방법은 먼저 배양챔버(210)에 미세조류와 미세조류의 성장에 필요한 TAP 배지를 공급하여 미세조류를 배양한다(S100). 복수의 배양챔버(210) 각각에 연결된 미세조류 공급부(230)를 통해 배양하고자 하는 미세조류 및 TAP 배지를 각각의 배양챔버(210)에 공급한다.
- [0098] 본 실시예에서는 8개의 배양챔버(210) 각각에 클라미도모나스 레인하르티아이(*Chlamydomonas reinhardtii*)의 3종(CC124, CC125, CC4348), 클로렐라 3종(*Chlorella vulgaris*, *Chlorella protothecoides*, *Chlorella zofingiensis*), 네오클로리스 올레오아번단스(*Neochloris oleoabundans*) 및 *Scenedesmus* sp.의 총 8개의 미세조류를 배양하도록 하였으며, 8개의 배양챔버(210) 각각에 서로 다른 8개의 미세조류를 $3.0 \times 10^3 \text{ cells ml}^{-1}$ 의 초기농도로 TAP 배지에 희석하여 500 l를 넣은 후 $40 \text{ mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 세기의 24시간 지속적인 광조건 및 23℃에서 3일간 상기 미세조류를 배양한다.
- [0099] 그리고, 배양 4일째 배양챔버(210)에 TAP-N 배지를 주입하여 미세조류 내 지질을 축적을 유도한다(S200). 도 9에서 도시한 바와 같이 미세조류의 성장을 마이크로플레이트 리더기(Infinite 200 Pro, Tecan, 미도시)를 이용하여 800nm의 파장에서 흡광도를 측정함으로써 지질축적을 확인하였다.
- [0100] 배양챔버(210) 내의 TAP 배지는 배지 및 유기용매 공급부(290)의 지질 및 유기용매 수용챔버 내에 공급되는 TAP-N 배지로 교환된다. 그리고, 미세조류 내의 지질축적은 $40 \text{ mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 세기의 24시간 지속적인 광조건 및 23℃에서 4일간 미세조류를 배양한다.
- [0101] 그리고, 미세조류 내의 지질축적을 유도한 경우에, 배양챔버(210)에 유기용매를 공급하여 배양챔버(210) 내의 미세조류를 파쇄한다(S300).
- [0102] 유기용매는 지질이 축적된 미세조류의 세포막의 기능을 상실시키고 미세조류의 내용물이 분산 또는 용해시키는 세포파쇄 및 미세조류의 지질성분을 용해시킨다.
- [0103] 통상적으로 지질 추출에 널리 쓰이는 클로로포름, 헥산 등의 유기용매는 본 발명의 미세유체 장치(100)의 재질인 PDMS를 팽윤 및 용해시키는 문제가 있다.
- [0104] 따라서, 본 실시예에서는 PDMS와 화학적 작용을 하지 않는 메탄올, 에탄올 또는 아이소프로판올(IPA)를 70% 수용액 상태로 만들어 배양챔버(210) 내의 미세조류에 공급하여 미세조류를 파쇄한다. 그리고, 지질용해액의 추출능을 향상시키기 위해 배양챔버(210)에 유기용매를 공급한 후 60℃이상의 온도로 가열한다.
- [0105] 그리고, 미세조류의 파쇄물 중 미세조류의 지질성분이 용해된 지질용해액을 여과하여 추출한다(S400).

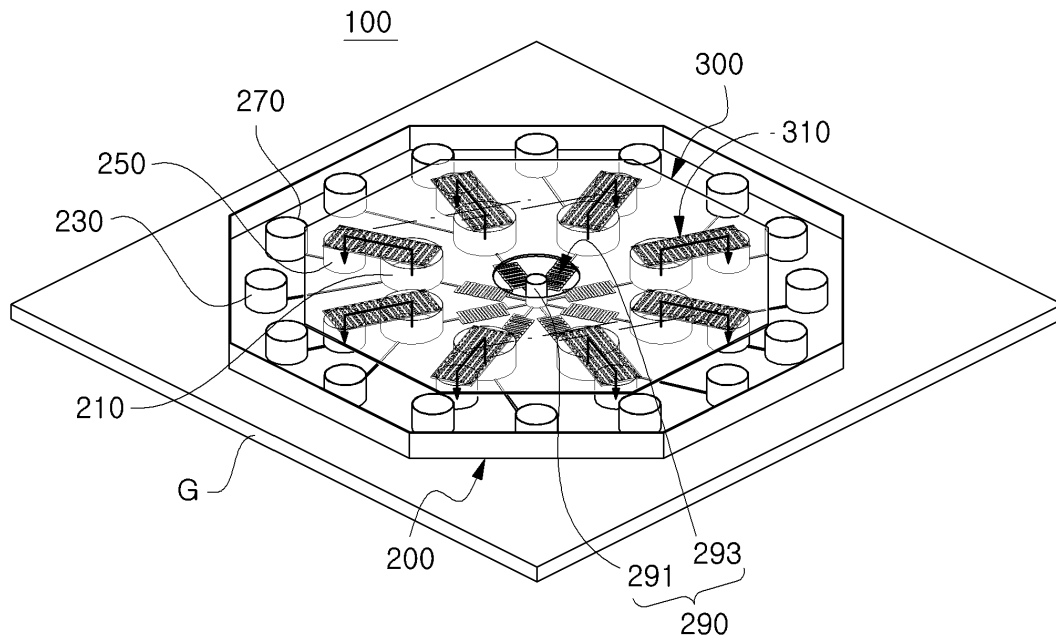
- [0106] 지질용해액 여과 및 추출과정은 정량 주사기 펌프 (PHD 2000 Advanced Syringe, Harvard Apparatus, USA)를 이용하여 배양챔버(210) 내의 미세조류의 과쇄물 중 지질용해액을 배양챔버(210)의 상부영역에 위치한 복수의 여과부재(313)를 통해 여과하고 지질용해액 이동유로(311)를 따라 이동시킨 후 지질용해액 수용챔버(250)의 상부 영역에 위치한 복수의 여과부재(313)를 따라 지질용해액 수용챔버(250)로 이동시킨다.
- [0107] 도 10에서 첫번째는 종래의 유기용매로 클로로포름을 사용한 Bligh-Dyer 지질 추출 방법이고, 두번째는 종래의 일반 bulk 상태에서 유기용매로 70% 아이소프로판올(IPA) 수용액을 사용한 지질 추출 방법이고, 세번째는 본 발명의 미세유체 장치(100)에 유기용매로 70% 아이소프로판올(IPA) 수용액을 사용한 지질 추출방법을 비교 분석한 것이다.
- [0108] 도 10에서 도시한 바와 같이 다른 8개의 미세조류에 대해 본 발명의 미세유체 장치(100)를 이용하고 유기용매로 70% 아이소프로판올(IPA) 수용액을 사용한 지질 추출효율이 종전의 지질 추출 방법과 비교하여 높게 유지됨을 알 수 있다.
- [0109] 또한, 도 11는 본 발명의 2층 구조를 갖는 미세유체 장치(100)에서 첫번째는 기둥형상이고 미세크기의 중공을 가지는 복수의 여과부재(313)를 구비한 지질용해액 여과부(310)를 갖는 경우이고 두번째는 기둥형상이고 미세크기의 중공을 가지는 복수의 여과부재(313)를 구비하지 않은 경우를 비교 분석한 것이다.
- [0110] 도 11에서 도시한 바와 같이 기둥형상이고 미세크기의 중공을 가지는 복수의 여과부재(313)를 구비한 경우에 지질 추출 효율이 높게 유지됨을 알 수 있다.
- [0111] 또한, 도 12는 본 발명의 미세유체 장치(100)에서 유기용매로 70% 아이소프로판올(IPA) 수용액을 사용하여 동시에 다른 8개의 미세조류에서 추출한 지질 추출물을 GC(Gas Chromatography, agilent technologies 7890A GC system)를 통해 분석한 것으로서 다른 8개의 미세조류의 실제 지질의 종류 및 각 지질 성분이 얼마나 추출되었는가를 확인하였다.
- [0112] 이와 같이 본 발명은 기재된 실시 예에 한정되는 것이 아니고, 본 발명의 사상 및 범위를 벗어나지 않고 다양하게 수정 및 변형할 수 있음은 이 기술의 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 자명하다. 따라서 그러한 수정 예 또는 변형 예들은 본 발명의 특허청구범위에 속한다 하여야 할 것이다.

부호의 설명

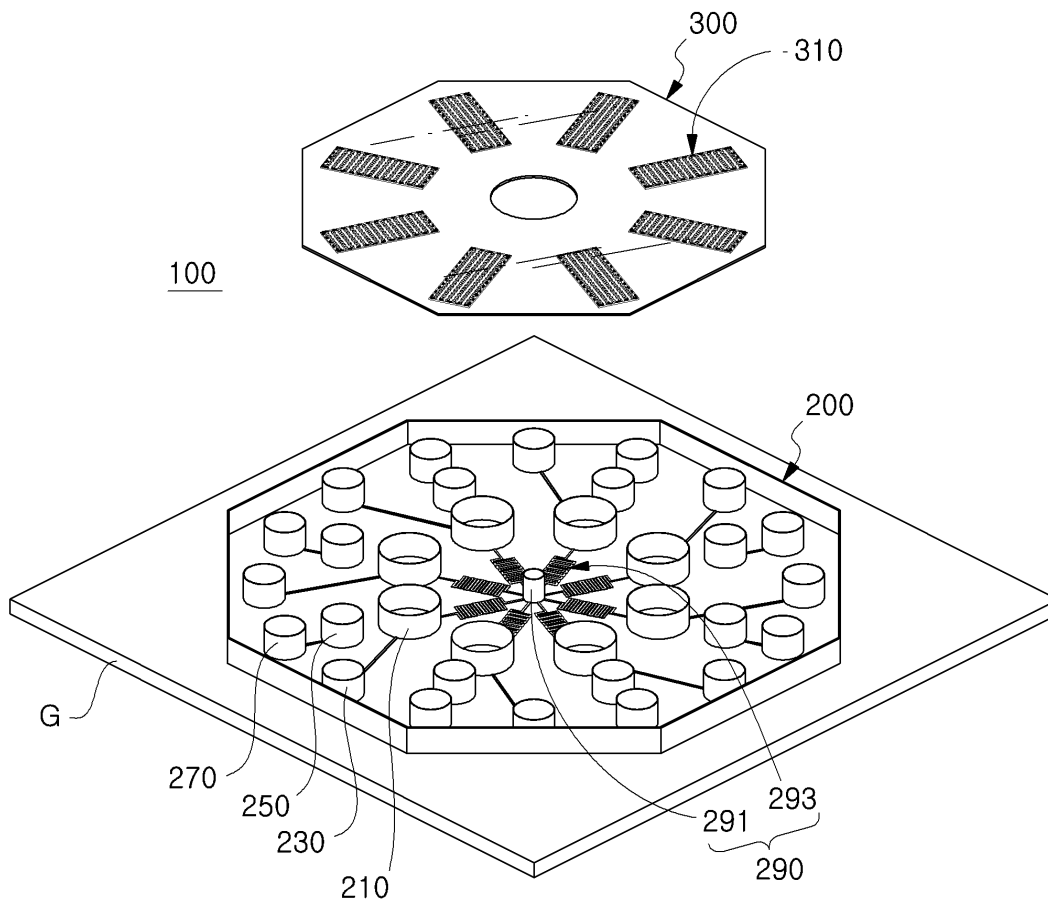
- [0113]
- | | |
|---------------------|---------------------|
| 100: 미세유체 장치 | 200: 미세조류 배양모듈 |
| 210: 배양챔버 | 230: 미세조류 공급부 |
| 250: 지질용해액 수용챔버 | 270: 지질용해액 배출부 |
| 290: 배지 및 유기용매 공급부 | 291: 배지 및 유기용매 수용챔버 |
| 293: 배지 및 유기용매 공급유로 | 300: 지질용해액 여과모듈 |
| 310: 지질용해액 여과부 | 311: 지질용해액 이동유로 |
| 313: 여과부재 | |

도면

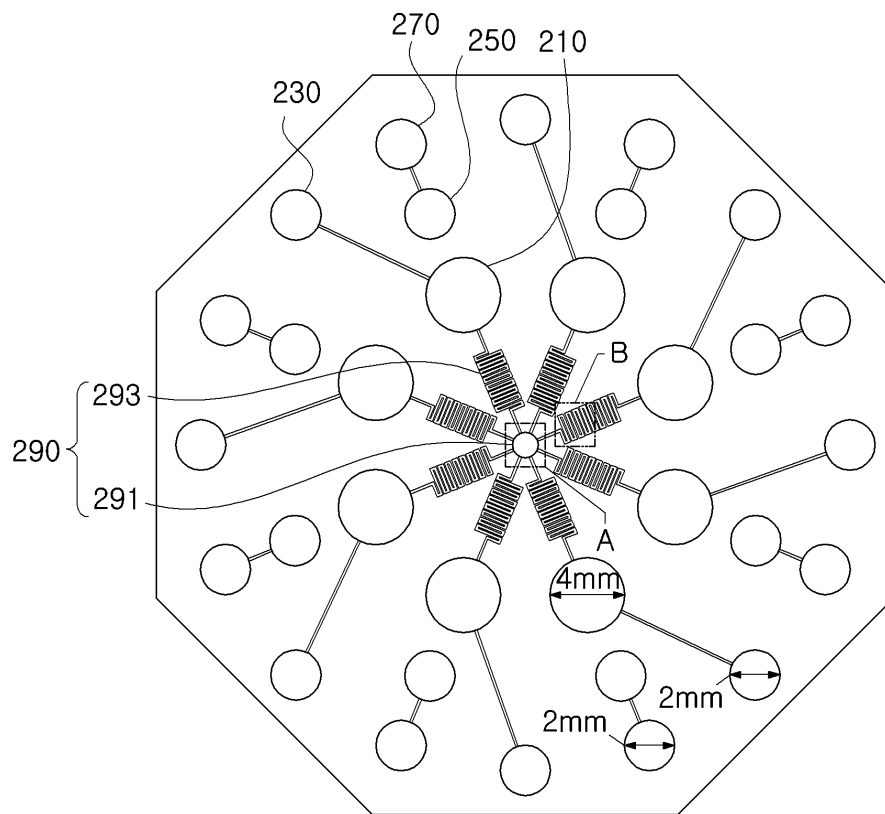
도면1



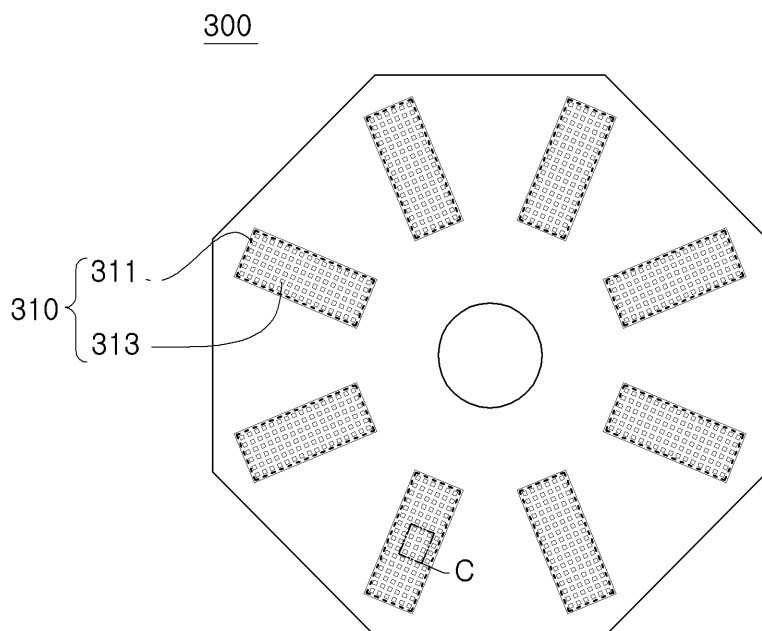
도면2



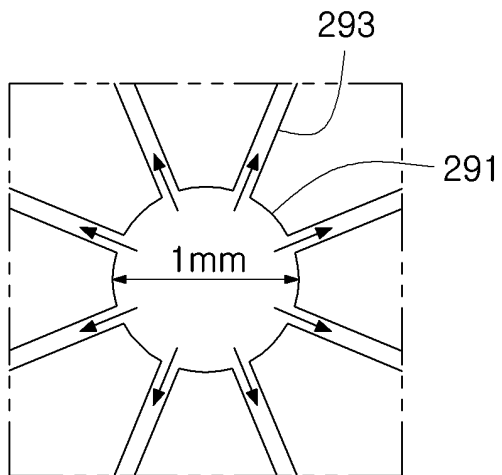
도면3



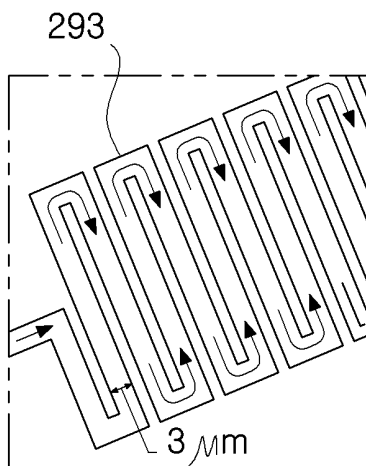
도면4



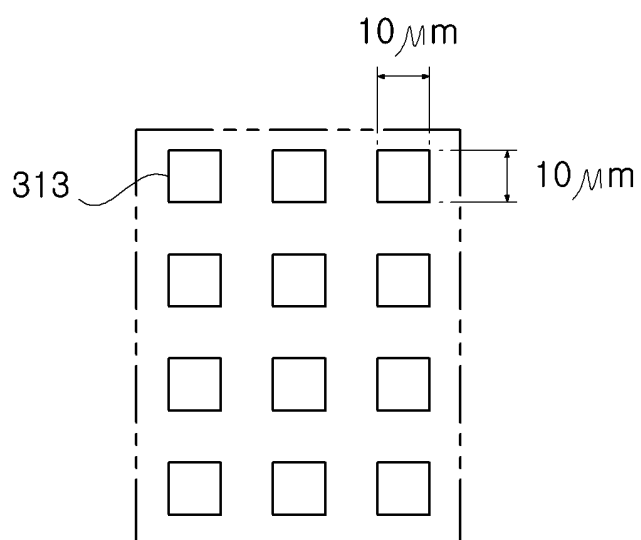
도면5



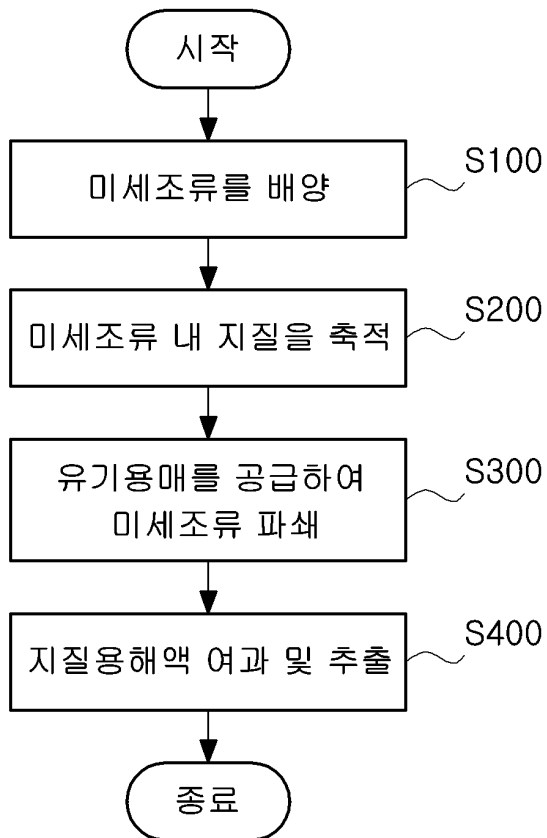
도면6



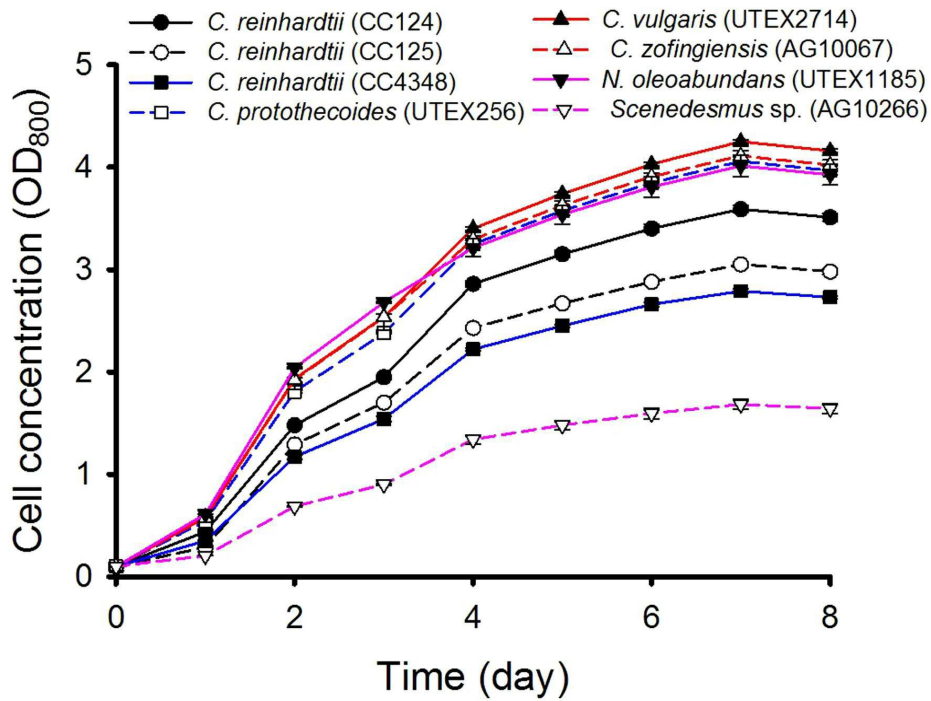
도면7



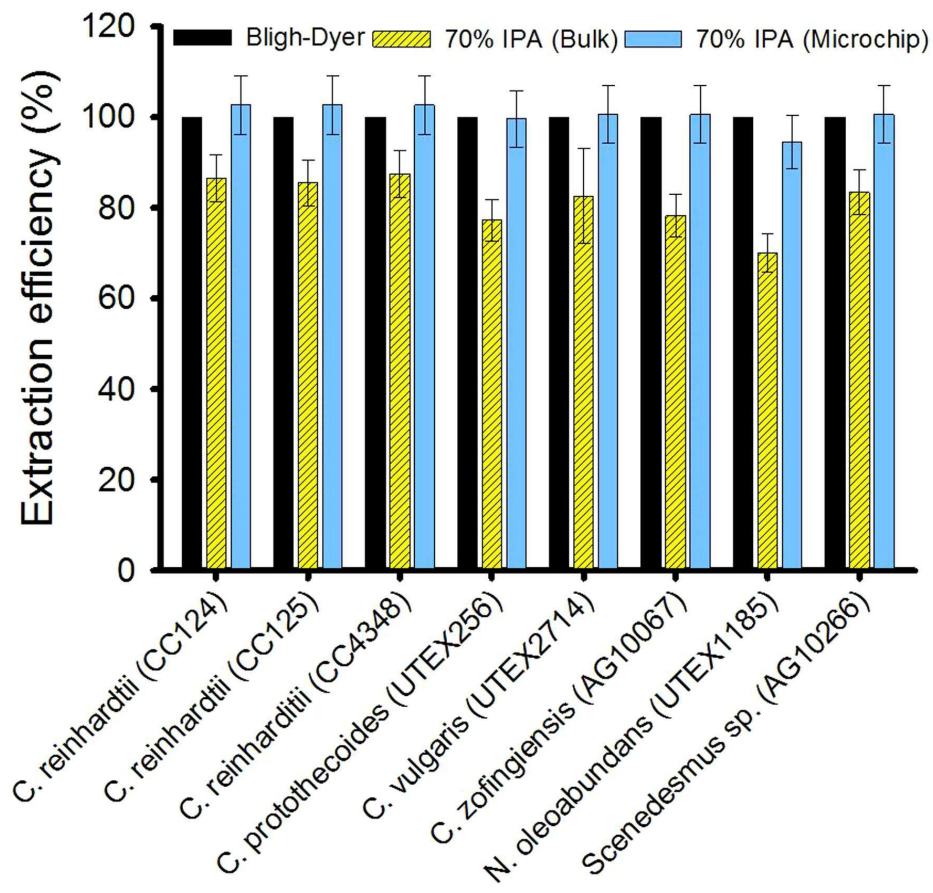
도면8



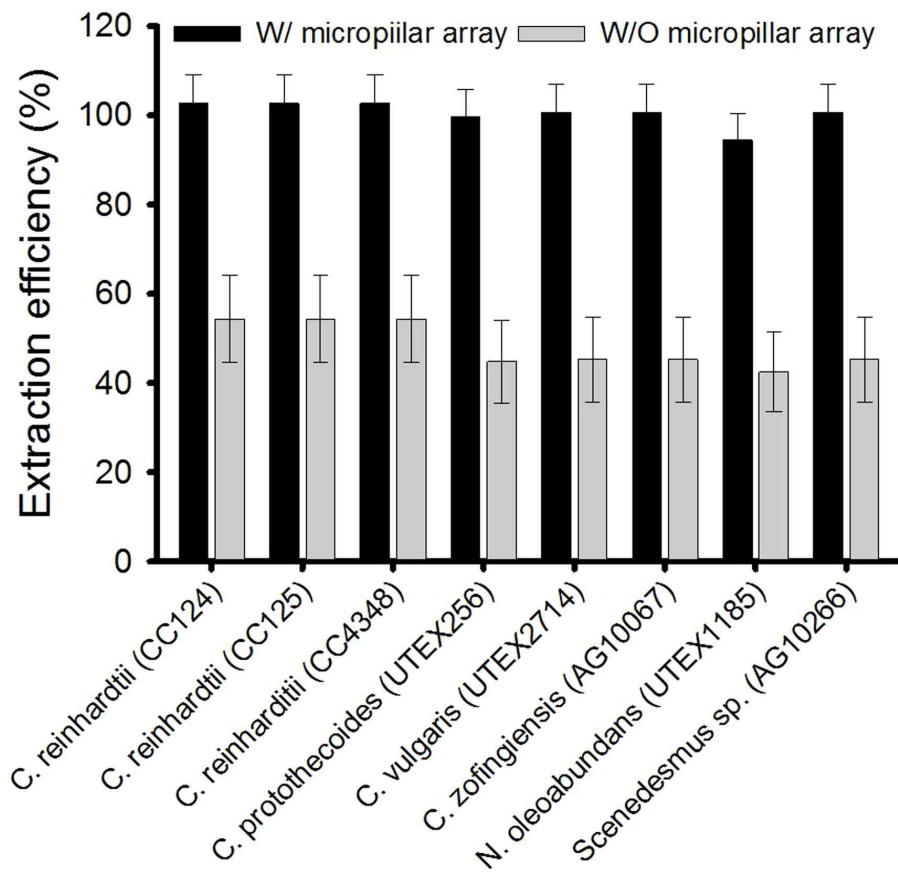
도면9



도면10



도면11



도면12

