

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2023-0174848
(43) 공개일자 2023년12월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C08L 23/08 (2006.01) C08L 1/28 (2006.01)
C08L 101/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C08L 23/0853 (2013.01)
C08L 1/286 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-0075973
(22) 출원일자 2022년06월22일
심사청구일자 2022년06월22일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암
동5가)
(72) 발명자
심상준
서울특별시 영등포구 의사당대로 127, 102동 140
1호
성영준
서울특별시 영등포구 여의동로3길 10, 201동 501
호
서영현
서울특별시 동작구 동작대로29길 110, 404동 105
호
(74) 대리인
정은열, 김태훈

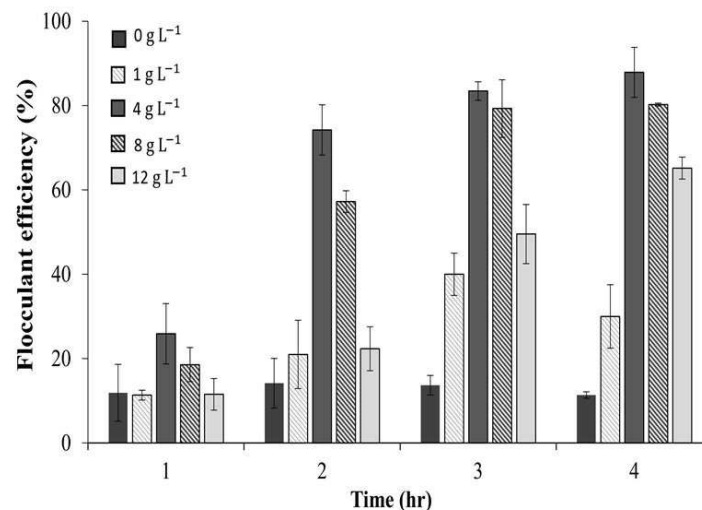
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 미세조류 기반 바이오플라스틱 조성물 제조방법

(57) 요약

본 발명은 미세조류 기반 바이오플라스틱 조성물 제조방법에 관한 것으로, 본 발명에 따른 미세조류 기반 바이오 플라스틱 조성물 제조방법은 배지에서 미세조류를 광배양하는 단계, 배지에 카르복시메틸셀룰로오스(carboxymethyl cellulose, CMC)를 첨가하여, 배양된 미세조류를 침전시키는 단계, 침전된 미세조류를 회수하여 바이오매스를 제조하는 단계, 회수된 바이오매스를 동결건조하는 단계, 및 동결건조된 바이오매스와 소정의 플라스틱 소재를 혼합하는 단계를 포함한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C08L 101/00 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711128194
과제번호	2020M3H7A1098295
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	유용물질생산을위한Carbontox기술개발(R&D)
연구과제명	연소가스 내 CO2 직접 광생물전환을 위한 고효율 공정 원천 기술
기 여 율	1/1
과제수행기관명	고려대학교
연구기간	2021.01.27 ~ 2022.01.26

명세서

청구범위

청구항 1

- (a) 배지에서 미세조류를 광배양하는 단계;
- (b) 상기 배지에 카르복시메틸셀룰로오스(carboxymethyl cellulose, CMC)를 첨가하여, 배양된 상기 미세조류를 침전시키는 단계;
- (c) 침전된 상기 미세조류를 회수하여 바이오매스를 제조하는 단계;
- (d) 회수된 상기 바이오매스를 동결건조하는 단계; 및
- (e) 동결건조된 상기 바이오매스와 소정의 플라스틱 소재를 혼합하는 단계;를 포함하는 미세조류 기반 바이오플라스틱 조성물 제조방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서,

상기 미세조류는,

클로렐라 소로키니아나(*Chlorella sorokiniana*)인 미세조류 기반 바이오플라스틱 조성물 제조방법.

청구항 3

청구항 1에 있어서,

상기 (a) 단계는,

$50 \sim 450 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ 의 광세기, $20 \sim 30^\circ\text{C}$ 의 온도, 및 3 ~ 8%의 CO_2 조건에서 광배양하는 미세조류 기반 바이오플라스틱 조성물 제조방법.

청구항 4

청구항 1에 있어서,

상기 카르복시메틸셀룰로오스는,

2 ~ 10 g/ℓ의 농도로 첨가되는 미세조류 기반 바이오플라스틱 조성물 제조방법.

청구항 5

청구항 1에 있어서,

상기 플라스틱 소재는,

에틸렌초산비닐(ethylene vinyl acetate, EVA)인 미세조류 기반 바이오플라스틱 조성물 제조방법.

청구항 6

청구항 1에 있어서,

상기 (e) 단계에서 상기 플라스틱 소재와 혼합되는 상기 바이오매스의 함량은 5 ~ 15 wt%인 미세조류 기반 바이오플라스틱 조성물 제조방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 미세조류 기반 바이오플라스틱 조성물 제조방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 미세조류 배양 후 침전 건조된 바이오매스를 회수하고 이에 플라스틱 소재를 혼합하여 바이오플라스틱 조성물을 제조하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 플라스틱은 바다, 강, 토양, 공기 등을 오염시키는 오염원으로서 생태계 전반에 큰 문제를 야기하기 때문에, 플라스틱의 다양한 오염원들을 제거하기 위한 다양한 기반시설 확충, 특정 플라스틱 사용 중지 등 전 세계적으로 다양한 정부정책들이 만들어지고 있으나, 버려지는 플라스틱으로 인한 오염은 감당할 수 없는 수준에 이르고 있다.

[0004] 이러한 상황에서 친환경적인 플라스틱이 주목받고 있다. 이러한 친환경적인 플라스틱은 기존 화석 연료를 사용하여 제조되는 플라스틱과 달리 바이오에 기반을 두고 있다. 일례로, 하기 선행기술문헌의 특허문헌에 개시된 바와 같이, lactic acid의 발효를 통해 집약적인 고분자로 만들어진 polylactic acid (PLA)를 들 수 있다. 그러나 대표적인 상업적 바이오플라스틱인 PLA는 식용으로 사용되는 옥수수 등과 경작물에서 추출되므로 넓은 경작지와 많은 영양분이 필요하다. 또 다른 생분해 가능한 바이오플라스틱의 종류로는 Polyhydroxyalkanoates(PHAs)가 있다. PHA는 미생물의 배양을 통해 생산이 가능하므로 고가의 유기탄소원을 대체하여 이산화탄소와 광합성을 활용할 수 있는 장점이 있다. 비록 PHA가 PLA와 관련된 여러 문제로부터 자유롭지만 세포 추출 과정에 비용이 소요되고, 추출 후 생산성이 낮기 때문에 대량생산이 어렵다.

[0005] 이에 종래 바이오플라스틱 제조 기술의 문제점을 해결하기 위한 방안이 절실히 요구되고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) KR 10-2015-0128099 A

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 상술한 종래기술의 문제점을 해결하기 위한 것으로, 본 발명의 일 측면은 배지에 카르복시메틸셀룰로오스(carboxymethyl cellulose, CMC)를 첨가하여 광배양이 종료된 미세조류를 침전시켜 회수하고, 건조된 바이오매스와 플라스틱 소재를 혼합하여 바이오플라스틱 조성물을 제조하는 미세조류 기반 바이오플라스틱 조성물 제조방법을 제공하는 데 있다.

과제의 해결 수단

[0010] 본 발명의 실시예에 따른 미세조류 기반 바이오플라스틱 조성물 제조방법은 (a) 배지에서 미세조류를 광배양하는 단계; (b) 상기 배지에 카르복시메틸셀룰로오스(carboxymethyl cellulose, CMC)를 첨가하여, 배양된 상기 미

세조류를 침전시키는 단계; (c) 침전된 상기 미세조류를 회수하여 바이오매스를 제조하는 단계; (d) 회수된 상기 바이오매스를 동결건조하는 단계; 및 (e) 동결건조된 상기 바이오매스와 소정의 플라스틱 소재를 혼합하는 단계;를 포함한다.

- [0011] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 미세조류 기반 바이오플라스틱 조성물 제조방법에 있어서, 상기 미세조류는, 클로렐라 소로키니아나(*Chlorella sorokiniana*)일 수 있다.
- [0012] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 미세조류 기반 바이오플라스틱 조성물 제조방법에 있어서, 상기 (a) 단계는, $50 \sim 450 \mu\text{Em}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 의 광세기, $20 \sim 30^\circ\text{C}$ 의 온도, 및 $3 \sim 8\%$ 의 CO_2 조건에서 광배양할 수 있다.
- [0013] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 미세조류 기반 바이오플라스틱 조성물 제조방법에 있어서, 상기 카르복시메틸셀룰로오스는, $2 \sim 10 \text{ g/l}$ 의 농도로 첨가될 수 있다.
- [0014] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 미세조류 기반 바이오플라스틱 조성물 제조방법에 있어서, 상기 플라스틱 소재는, 에틸렌초산비닐(ethylene vinyl acetate, EVA)일 수 있다.
- [0015] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 미세조류 기반 바이오플라스틱 조성물 제조방법에 있어서, 상기 (e) 단계에서 상기 플라스틱 소재와 혼합되는 상기 바이오매스의 함량은 $5 \sim 15 \text{ wt}\%$ 일 수 있다.

- [0017] 본 발명의 특징 및 이점들은 첨부도면에 의거한 다음의 상세한 설명으로 더욱 명백해질 것이다.
- [0018] 이에 앞서 본 명세서 및 청구범위에 사용된 용어나 단어는 통상적이고 사전적인 의미로 해석되어서는 아니되며, 발명자가 그 자신의 발명을 가장 최선의 방법으로 설명하기 위해 용어의 개념을 적절하게 정의할 수 있다는 원칙에 입각하여 본 발명의 기술적 사상에 부합하는 의미와 개념으로 해석되어야만 한다.

발명의 효과

- [0020] 본 발명에 따르면, 미세조류 셀 표면의 음전하 특성에 따른 셀들간의 반발로 인한 침전의 어려움을 해결하고자 카르복시메틸셀룰로오스(carboxymethyl cellulose, CMC)를 미세조류의 침전제로 활용하여 침전의 효율을 증가시키고, 동시에 세포벽 파괴와 같은 별도의 전처리 과정 없이 바이오매스를 필터로 사용하여 EVA 등과 같은 플라스틱의 소재와 혼합함으로써 물성이 향상된 바이오 플라스틱을 생산할 수 있다.
- [0021] 또한, 별도의 유기 탄소원 없이 산업 배기가스에서 유래한 이산화탄소를 사용하여 미세조류를 배양함으로써, 이산화탄소 저감에도 기여할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0023] 도 1은 배지에 CMC를 농도별로 첨가하여 시간별로 회수효율을 비교한 그래프이다.
- 도 2는 배지에 CMC를 농도별로 첨가하여 CMC 농도에 따른 회수효율의 차이를 나타내는 사진이다.
- 도 3은 최적화된 CMC 농도를 첨가하여 미세조류와 CMC의 결합을 확인하는 푸리에 변환 적외선 분광법(FT-IR) 그래프이다.
- 도 4는 최적화된 CMC 농도를 첨가하여 미세조류와 CMC의 결합을 확인하는 주사전자현미경(SEM) 이미지이다.
- 도 5는 미세조류와 CMC간의 결합과정을 설명하는 도면이다.
- 도 6은 배기가스를 이용한 미세조류 대량 배양 과정을 나타내는 모식도이다.
- 도 7은 도 6에 따라 대량 배양하고 최적화된 CMC를 첨가한 후의 회수효율을 나타내는 그래프이다.
- 도 8은 대량 생산 후 건조된 바이오매스와 에틸렌초산비닐(ethylene vinyl acetate, EVA)를 혼합한 바이오플라스틱의 기계적 물성을 비교한 그래프이다.
- 도 9는 대량 생산 후 건조된 바이오매스와 에틸렌초산비닐(ethylene vinyl acetate, EVA)를 혼합한 바이오플라

스틱의 분산도를 나타내는 주사전자현미경(SEM) 이미지이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0024] 본 발명의 목적, 특정한 장점들 및 신규한 특징들은 첨부된 도면들과 연관되어지는 이하의 상세한 설명과 바람직한 실시예들로부터 더욱 명백해질 것이다. 이하, 본 발명을 설명함에 있어서, 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있는 관련된 공지 기술에 대한 상세한 설명은 생략한다.
- [0026] 본 발명에 따른 미세조류 기반 바이오플라스틱 조성물 제조방법은 배지에서 미세조류를 광배양하는 단계, 배지에 카르복시메틸셀룰로오스(carboxymethyl cellulose, CMC)를 첨가하여, 배양된 미세조류를 침전시키는 단계, 침전된 미세조류를 회수하여 바이오매스를 제조하는 단계, 회수된 바이오매스를 동결건조하는 단계, 및 동결건조된 바이오매스와 소정의 플라스틱 소재를 혼합하는 단계를 포함한다.
- [0028] 구체적으로, 본 발명은 미세조류 바이오매스를 이용하여 친환경적인 바이오플라스틱을 제조하는 방법으로서, 미세조류 광배양 단계, 미세조류 침전 단계, 바이오매스 제조 단계, 바이오매스 동결건조 단계, 및 플라스틱 소재 혼합 단계를 포함한다.
- [0030] 미세조류 광배양 단계에서는 배지에서 미세조류를 광배양한다. 미세조류는 광합성을 하는 수중 단세포 생물로서, 빠른 세포 성장, 높은 이산화탄소 고정률, 재활용 가능한 폐수 활용 등으로 인해 제조비용이 낮고 지속 가능한 장점이 있어, 본 발명은 바이오플라스틱 조성물 제조에 미세조류를 사용한다.
- [0031] 미세조류는 이산화탄소가 공급되는 배지에 접종되어 광배양될 수 있다. 이때, 배기가스를 이용하여 이산화탄소 저장과 동시에 고단백질 바이오매스를 대량생산할 수 있다. 일례로, $50 \sim 450 \mu\text{Em}^{-2} \text{s}^{-1}$ 의 광세기, $20 \sim 30^\circ\text{C}$ 의 온도, 및 3 ~ 8%의 CO_2 조건하에서 미세조류를 광배양할 수 있다.
- [0032] 본 발명은 미세조류 바이오매스와 기존 플라스틱 소재를 혼합하여 바이오플라스틱을 제조하는데, 여기서 미세조류 바이오매스는 상대적으로 작은 세포의 크기와 생물학적으로 고정화된 이산화탄소의 증가로 인해 인장 강도를 강화시키고, 혼합 효율을 향상시킬 수 있다. 이러한 점을 고려할 때에, 바이오플라스틱 제조에 사용되는 미생물로서, 클로렐라(*Chlorella*) 종을 사용할 수 있다. 클로렐라 종은 작은 세포 크기, 빠른 성장성 및 높은 단백질 함량으로 인해 바이오플라스틱 제조에 적합한 후보군으로 뽑힌다. 이에 적합한 미세조류로서 클로렐라 소로키니아(*Chlorella sorokiniana*)를 사용할 수 있다. 다만, 미세조류가 반드시 상기 클로렐라 종에만 한정되어야 하는 것은 아니다.
- [0034] 미세조류 침전 단계는 광배양된 미세조류를 배지 내에 침전시키는 공정이다. 배양된 미세조류는 배지에 침전시켜 회수하는데, 세포 표면의 음전하로 인한 세포들간의 반발력과 작은 세포 크기로 인해 침전률이 낮다. 이에 본 발명에서는 카르복시메틸셀룰로오스(carboxymethyl cellulose, CMC)를 배지에 첨가하여 미세조류를 침전시킨다. 셀룰로오스에 기반을 둔 CMC는 생물학적 적합성이 우수하고, 물에 대한 용해도가 높으며, 다양한 온도에서 안정적인 형태로 존재한다. 이러한 CMC의 백본(backbone)에는 수많은 친수성 하이드록시기($-\text{OH}$)와 소수성 에스테르기(COO^-)가 존재하기 때문에, 미세조류의 작용기와 반응하여, 배지 내에서 미세조류를 응집시킨다. 또한, 미세조류와 결합하고 남은 CMC의 잔여기는, 후술하는 플라스틱 소재 혼합 단계에서, 바이오매스가 플라스틱 소재에 더 골고루 분산될 수 있도록 기능한다. 이러한 CMC의 계면/흡착 성질은 CMC 구조에 존재하는 하이드록시기($-\text{OH}$)와 직접적인 관련이 있는 것으로 파악되고, 이는 혼합 과정에서 효과적인 접착과 분산을 가능케 하며, 높은 혼합효율과 안정적인 구조를 유지할 수 있게 하므로, 고단백질 바이오매스와 CMC의 결합을 통해 효과적으로 바이오매스를 회수하고, 제조되는 바이오플라스틱의 물성을 향상시킬 수 있다.
- [0035] 한편, CMC는 2 g/ℓ의 농도 이상으로 배지에 첨가될 수 있고, 적합하게는 2 ~ 10 g/ℓ의 농도로 첨가되는 것이 바람직하다.

- [0037] 바이오매스 제조 단계는 배지 내에 침전된 바이오매스를 회수하는 공정이다. 미세조류는 CMC를 매개로 배지 내에 응집되어 침전되므로, 이를 배지로부터 분리 회수하여 바이오매스를 제조한다. 여기서, CMC 첨가 후 1시간 이상, 바람직하게는 2시간 이상, 보다 바람직하게는 4시간 이상이 경과한 후에, 침전된 바이오매스를 회수할 수 있다. 상기 침전 시간은 바이오매스의 침전 효율에 영향을 미치지만, 반드시 상기 시간에 한정되어야 하는 것은 아니다.
- [0039] 바이오매스 동결건조 단계에서는 회수된 바이오매스를 동결건조하여, 건조 바이오매스를 생산한다.
- [0041] 플라스틱 소재 혼합 단계는 건조 바이오매스와 소정의 플라스틱 소재를 혼합하는 공정이다. 본 발명은 이산화탄소 기반의 미세조류와 상업적으로 이용한 가능한 플라스틱 소재를 혼합하여, 생분해 가능하고, 기계적 물성이 향상되며, 저렴하고, 저탄소 발자국을 가지는 바이오플라스틱을 생산한다. 즉, 플라스틱 소재를 매트릭스로, 미세조류 바이오매스를 필러(filler)로 사용하여, 바이오플라스틱을 제조한다. 여기서, 플라스틱 소재는 에틸렌초산비닐(ethylene vinyl acetate, EVA)일 수 있다. EVA는 에틸렌(ethylene)과 초산비닐(vinyl acetate)의 자유라디칼 결합을 통해 중합된 열가소성 고분자로, 뛰어난 물리 화학적 거동과 점탄성 특성으로 인해 상업적으로 대량 사용되고 있지만, 낮은 생분해성과 쉽게 점화되는 점, 연소시 독성 가스를 배출하는 특성으로 인해 그 사용이 엄격히 제한되고 있다. 이에, 본 발명은 고단백질 미세조류 바이오매스를 EVA와 혼합함으로써, 상기 EVA의 단점을 보완한다. 여기서, 전술한 바와 같이, CMC의 작용기 중 미세조류와 결합되고 남은 잔여기가, 미세조류의 단백질 간 결합으로 인해 분산도가 감소하는 것을 막고, EVA에 더 골고루 분산될 수 있게 한다.
- [0042] 한편, 플라스틱 소재와 혼합되는 바이오매스의 함량은 5 ~ 15 wt%일 수 있다.
- [0044] 이하에서는 구체적인 실시예를 통해 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.
- [0046] 실시예 1. 이산화탄소 유래 고단백질 바이오매스 생산
- [0047] 일차적으로 안정적인 버퍼(buffer)를 만들기 위해 강염기를 10 mM 첨가한 후 이산화탄소를 공급하고, 중탄산이온이 생성된 후 pH 조건이 약 7.5 가 되었을 때에 영양소들을 첨가하고, 이를 플라스크에 주입한 다음에, 미세조류(*Chlorella sorokiniana*)를 접종하였다. 이때 배지는 250 ml 플라스크에 약 1/5 정도를 채웠다. 그런 다음에 광세기 $100 \mu\text{Em}^{-2} \text{s}^{-1}$, 온도 25°C 조건에서, 5%의 이산화탄소가 포함된 에어(air)를 공급하면서 인큐베이터에서 미세조류를 배양하였다. 고단백질 바이오매스가 생성될 때까지 약 3일간 배양한 다음, 배양을 멈추고 바이오매스를 회수하였다.
- [0048] 여기서, 고단백질을 확인하는 지표로 원소분석을 통한 질량 방법 외에 Lowry method의 기반을 둔 Bio-Rad DC™ protein assay 염색법을 사용하였다. 바이오매스 성장성은 건조 전 미리 건조한 필터 페이퍼를 미리 저울을 통해 측정하고, 그 필터 페이퍼에 바이오매스를 첨가한 후 무게를 측정하여, 바이오매스 첨가 전후 필터 페이퍼 무게 차이를 이용해 계산하였다.
- [0050] 실시예 2. 고단백질 바이오매스의 회수를 위한 CMC 최적화
- [0051] 3일 배양 후 고단백질 클로렐라를 회수하고, 20 cm glass tube에 10 ml의 미세조류를 첨가하였다. 이때 미세조류가 첨가된 screw-capped glass tube의 길이는 12 cm이며 높이를 이용하여 침전 효과를 비교하였다. 미리 CMC ($M_w \sim 90,000$)를 8 g/l의 농도로 증류수(distilled water)에 녹여 만들어 둔 후 glass tube에 1, 4, 8, 12 g/l의 CMC를 첨가하고, 1시간 간격으로 세포 농도를 확인하여 세포 침전 효과를 비교함으로써 가장 최적의 CMC 첨가량을 결정하였다. uv-1800 spectrometer 기계를 통해 800 nm의 파장에서 세포의 농도를 측정하여 그 농도를 확인하였다. 침전 효과를 확인하기 위하여 사용하는 식은 $(OD_i - OD_f)/(OD_i) \times 100$ 이다. 여기서, OD_i 는 처음 측정한 세포의 농도이고, OD_f 는 침전 후 세포의 농도이다.
- [0052] 이에 따른 결과는 도 1 및 도 2에 나타냈는데, 도 1은 배지에 CMC를 농도별로 첨가하여 시간별로 회수효율을 비

교한 그래프이고, 도 2는 배지에 CMC를 농도별로 첨가하여 CMC 농도에 따른 회수효율의 차이를 나타내는 사진이다. 도 1 내지 도 2를 참고로, 4 g/l의 CMC를 첨가한 경우에, 2시간 후 74%, 3시간 후 83%, 4시간 후 88%로 가장 높은 회수효율을 나타냈다. CMC를 첨가하지 않은 대조군의 회수효율이 약 10%인 점에서, 4 g/l의 CMC를 첨가한 경우에는 회수효율이 약 8배 이상 증가하는 것을 알 수 있다. 4 g/l 이상 CMC를 첨가한 경우에도 높은 침전 효과를 나타내는데, 대량배양에 사용하기 위해 가장 적은 양으로 높은 효율을 확인할 수 있는 4 g/l를 최적의 양으로 정하고, 이하의 실험을 진행하였다.

[0054] 실시예 3. CMC와 바이오매스의 화학적 결합 확인

[0055] 고단백질 바이오매스에 4 g/l의 CMC를 첨가한 후 미세조류와 CMC의 결합을 확인하기 위하여 푸리에 변환 적외선 분광법(FT-IR)과 주사전자현미경(SEM)을 이용하여 표면의 변화를 관찰하고, 그 결과를 도 3 및 도 4에 나타냈다. 도 3은 최적화된 CMC 농도를 첨가하여 미세조류와 CMC의 결합을 확인하는 푸리에 변환 적외선 분광법(FT-IR) 그래프이고, 도 4는 최적화된 CMC 농도를 첨가하여 미세조류와 CMC의 결합을 확인하는 주사전자현미경(SEM) 이미지이다.

[0056] FT-IR 측정을 위해, CMC가 첨가되지 않은 대조군 미세조류, CMC가 4 g/l 첨가된 미세조류와 CMC 단독을 동결건조하여 건조된 상태로 만들고, 측정 기기는 FT-IR (Cary 630, Agilent technologies)를 사용하였다. 도 3을 참고로, 피크(peak)에서의 전체적인 transmittance(%)의 변화를 통해 모든 작용기(functional group)에서 결합이 이루어진 것을 확인할 수 있다. 3,280 cm^{-1} peak가 O-H, N-H를 나타내며, 이때의 peak는 carbohydrate에 의해 유래한다. 3,300 cm^{-1} , 3,170 cm^{-1} 에서 아미노산과 아민기의 peak를 보인다. 또한, 1,650 cm^{-1} , 1,540 cm^{-1} , 1,030 cm^{-1} 에서 (C=O) amide I, (C=N, N-H) amide II, and (C-O) carbohydrate를 나타낸다. 또한, CMC의 중요한 peak로 3,369 cm^{-1} 에서 가장 broad한 band인 (O-H)를 보여주며, 2,290 cm^{-1} 에서 (C-H)를 보여준다. CMC의 가장 중요한 peak인 (COO-)가 1,587 cm^{-1} 의 비대칭 결합(asymmetric bonding)과 1,415 cm^{-1} 의 대칭 결합(symmetric bonding)을 보인다. 이 peak를 기준으로 1,560 ~ 1,520 cm^{-1} 의 새로운 결합(bonding)이 나타남을 확인할 수 있다. 이것은 세포 표면의 아미드기(amide group)와 CMC의 (COO-)의 결합이 형성됨을 나타낸다. 1,030 cm^{-1} 에서 broad한 peak가 발생하는 것을 통해 이 결합을 확인할 수 있다. 파장의 peak를 통해 새로운 결합이 형성되었음을 확인할 수 있으며 전체적으로 peak의 강도(intensity)를 통해 수소결합이 일어남을 확인할 수 있다.

[0057] 도 4를 참고로, SEM 이미지를 통해서도 세포 표면의 결합을 확인할 수 있는데, 세포 표면의 작용기와 CMC의 carboxylate의 (O-H)기가 서로 수소결합을 형성함을 확인하였다.

[0058] 도 5는 미세조류와 CMC간의 결합과정을 설명하는 도면으로, 상기 미세조류와 CMC간의 결합을 나타낸다.

[0060] 실시예 4. 배기가스를 이용한 미세조류 대량 생산

[0061] 도 6은 배기가스를 이용한 미세조류 대량 배양 과정을 나타내는 모식도이다. 플라스크 스케일(Flask scale)을 통해 세포 성장성을 확인한 후, 도 6을 참고로, 배기가스를 이용하여 미세조류를 배양하였다. 배기가스는 열병합발전소에서 발생하는 배기가스를 이용하였으며 100 l 광반응기를 준비하여 실험을 진행하였다. 실험은 9월에 진행하였으며 광도는 400 $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$, 온도는 28°C로 설정하였다. 고단백질 바이오매스 생산이 종료되는 시점인 약 22일 후에 회수를 진행하였다. 회수 시에는 회수조를 따로 준비하여 배양기에 바이오매스를 채워 준비하였다. 이때, 대조군 바이오매스와 CMC를 첨가할 바이오매스를 구분하였다. CMC는 플라스크 스케일과 동일하게 8 g/l의 농도로 미리 증류수에 녹여 준비했고, 준비된 CMC를 최적량인 4 g/l의 농도로 회수조에 첨가하였다.

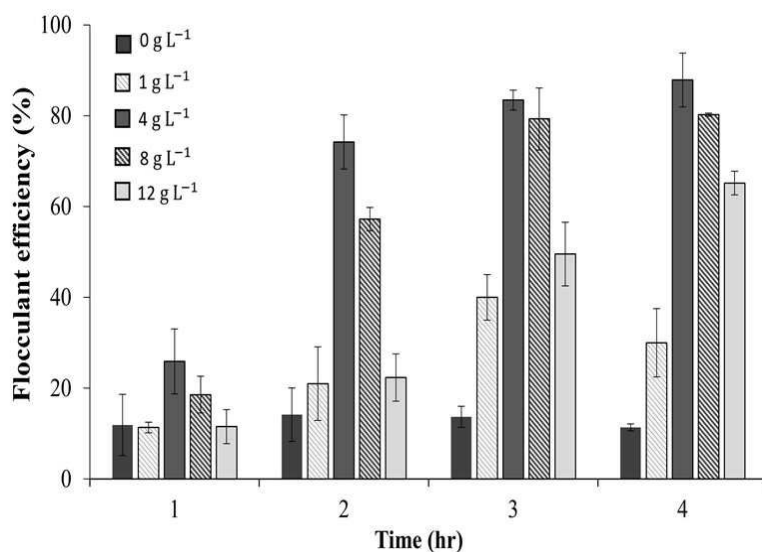
[0062] 도 7은 도 6에 따라 대량 배양하고 최적화된 CMC를 첨가한 후의 회수효율을 나타내는 그래프이다. CMC 첨가 후 침강 효율은 기존 플라스크 스케일에서 진행하던 식을 사용하였다. 도 7을 참고로, 대량배양에서 CMC를 첨가한 경우 2시간 후 86%, 4시간 후 93%, 6시간 후 94%의 효율을 나타냈고, 이는 대조군에 비해 약 98% 향상된 효율이다.

[0064] 실시예 5. 바이오매스 대량 생산 후 건조 바이오매스 확보 및 바이오플라스틱 제조

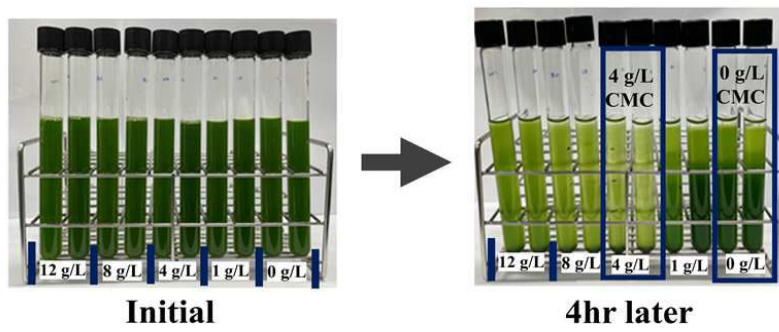
- [0065] CMC를 활용하여 바이오매스를 회수하고 동결건조하여 건조 바이오매스를 생산하고, 그 바이오매스를 EVA(Melt index = 2.5 g/10 min; $T_m = 71\text{ }^{\circ}\text{C}$; Vinyl acetate content = 28 wt%)와 혼합하여 바이오플라스틱을 제조하였다. 또한, CMC가 결합되지 않은 바이오매스를 준비하고, 동일하게 EVA와 혼합하여 바이오플라스틱을 제조하였다. 이때, 혼합되는 미세조류의 함량은 10 wt% 이었다. 다음, 각각의 바이오플라스틱으로 dog-bone shape를 만들고, uniaxial tensile machine, UTM (LF Plus, Lloyd Instruments Ltd)를 이용하여 기계적 물성을 평가하였다.
- [0066] 도 8은 대량 생산 후 건조된 바이오매스와 에틸렌초산비닐(ethylene vinyl acetate, EVA)를 혼합한 바이오플라스틱의 기계적 물성을 비교한 그래프이다. 도 8을 참고로, 미세조류 바이오매스를 EVA에 첨가한 경우, 기존 EVA 만 측정해본 결과와 다르게 인장강도(Tensile strength)는 16 MPa 에서 14 Mpa 로 감소하였다. 유사하게 절단신장률(Elongation at break)도 감소하였다. 즉, 미세조류를 첨가하는 경우에 영률을 제외한 부분에서 기계적 물성이 약간 감소한다. 이를 통해, 미세조류의 단백질 간의 상호작용으로 인하여 자체적인 응집이 있다는 것을 알 수 있다. 그러나 CMC를 첨가한 경우, 절단신장률의 감소가 보강된다. 이는 1726%로 줄었던 절단신장률이 1834%로 증가한 것을 통해 확인할 수 있다. 또한, 증가한 영률 또한 유지됨을 확인할 수 있다. 이를 통해 바이오매스 회수가 종료된 후 CMC의 나머지 작용기, 주로 친수성기를 가지는 -OH기가 미세조류의 단백질 간의 결합으로 인한 분산도 감소를 막고, EVA에 더 골고루 분산되게 하여 바이오플라스틱의 강성을 향상시킨다는 것을 알 수 있다.
- [0067] 이러한 미세조류의 분산도는 SEM 이미지를 통해서도 확인할 수 있다. 도 9는 대량 생산 후 건조된 바이오매스와 에틸렌초산비닐(ethylene vinyl acetate, EVA)를 혼합한 바이오플라스틱의 분산도를 나타내는 주사전자현미경(SEM) 이미지로, CMC를 첨가한 미세조류의 경우 더 분산이 잘된 바이오플라스틱으로 제조되는 것을 알 수 있다.
- [0069] 이상 본 발명을 구체적인 실시예를 통하여 상세히 설명하였으나, 이는 본 발명을 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명은 이에 한정되지 않으며, 본 발명의 기술적 사상 내에서 당 분야의 통상의 지식을 가진 자에 의해 그 변형이나 개량이 가능함이 명백하다.
- [0070] 본 발명의 단순한 변형 내지 변경은 모두 본 발명의 영역에 속한 것으로 본 발명의 구체적인 보호 범위는 첨부된 특허청구범위에 의하여 명확해질 것이다.

도면

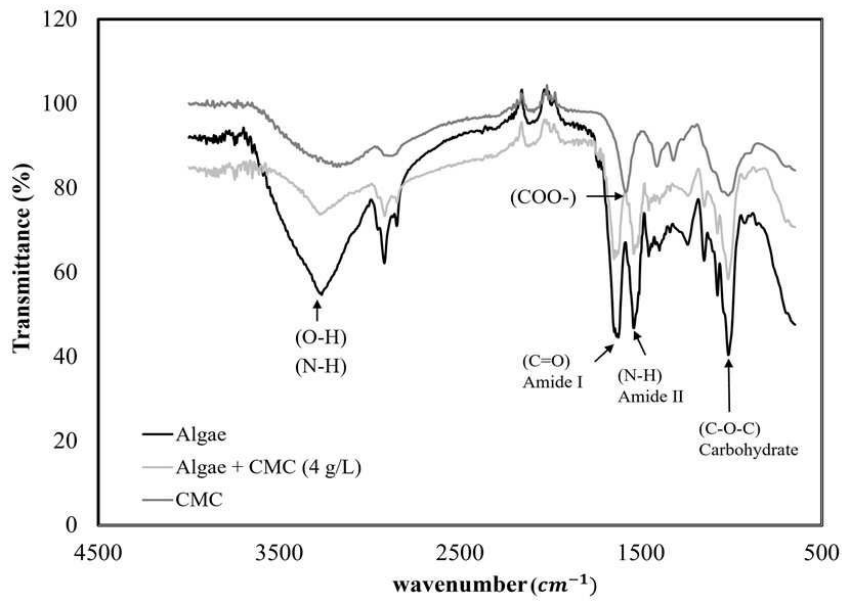
도면1



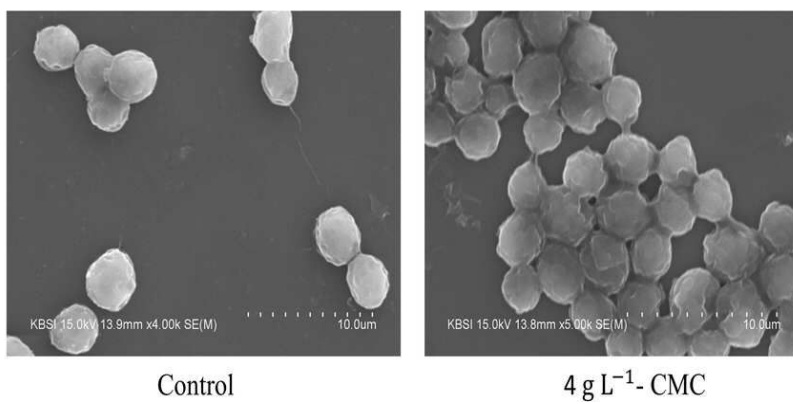
도면2



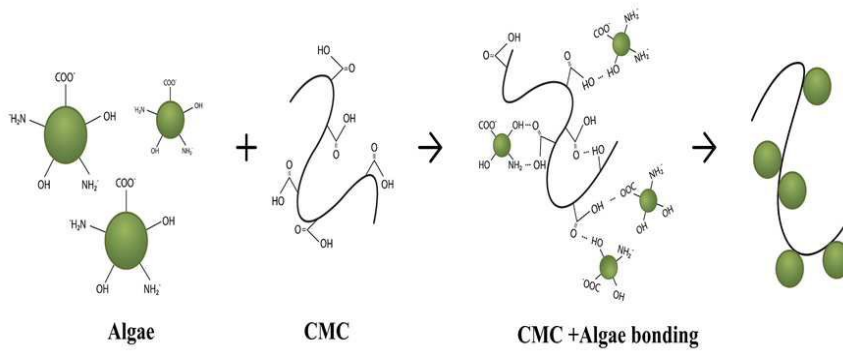
도면3



도면4



도면5



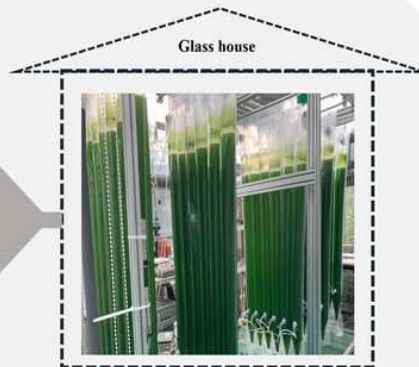
도면6

1) Outdoor scale up



Combined heat and power (CHP) plant

3-6 % CO₂,
11.99 % O₂,
21.72 ppm Nox
1.43 ppm CO
Water vapor and dust

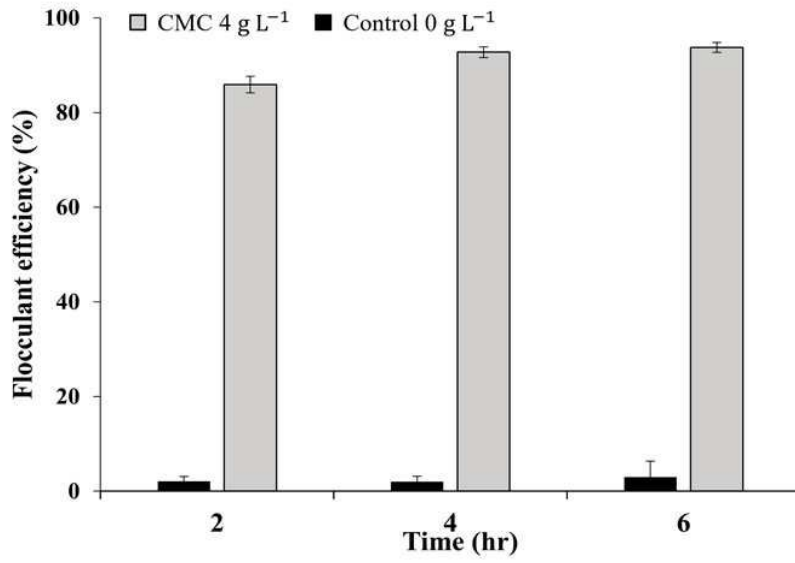


100 L photobioreactor

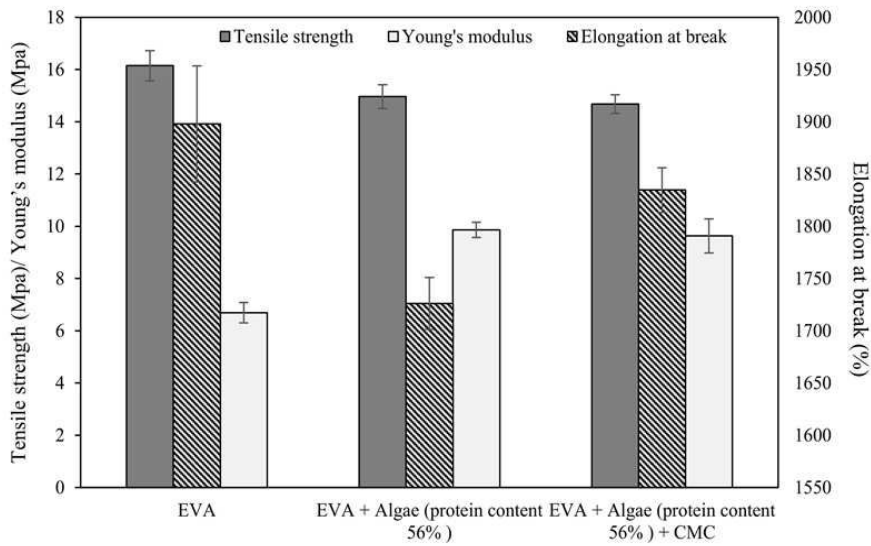
2) Outdoor Harvest using CMC



도면7



도면8



도면9

