



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2014년05월30일
(11) 등록번호 10-1401998
(24) 등록일자 2014년05월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 21/64 (2006.01) G01N 33/22 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-0137613
(22) 출원일자 2012년11월30일
심사청구일자 2012년11월30일
(56) 선행기술조사문헌
JP2004508833 A*
JP05111394 A
JP2010104361 A
JP11500832 A
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
김승욱
서울 노원구 공릉로46길 32, 104동 905호 (공릉동, 삼익아파트)
김성봉
서울 성북구 화랑로 114, 307호 (하월곡동, 대운빌딩)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
한양특허법인

전체 청구항 수 : 총 5 항

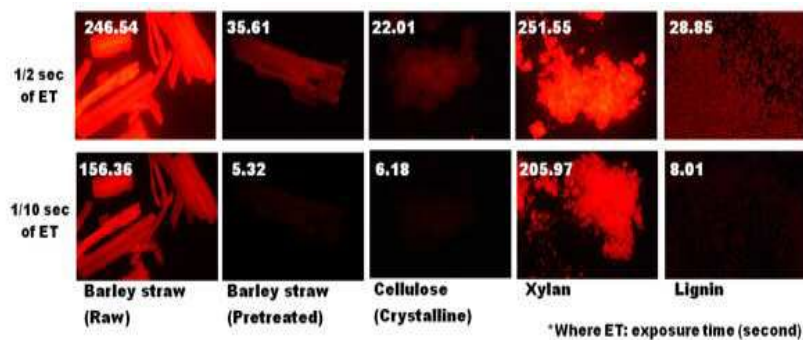
심사관 : 차영란

(54) 발명의 명칭 바이오매스의 광 발광 분석 방법

(57) 요약

본 발명은 제 2세대 바이오매스를 희석 황산으로 전처리한 후, 전처리의 효과를 간편하고 신속하게 측정해 볼 수 있는 방법에 관한 것으로, 전처리 후의 바이오매스를 형광 현미경으로 분석하여 이미지의 형광 강도를 측정하여 전처리 과정을 통해 제거된 바이오매스의 양을 효과적으로 예측 할 수 있는 방법에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

이자현

서울 성북구 안암로 145, 공학관 734 (안암동5가,
고려대학교)

김준석

경기도 수원시 영통구 광교산로 154-42 경기대학교
리서치센터 508호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 309016-5

부처명 농림수산식품부

연구사업명 농림기술개발과제

연구과제명 바이오매스 활용을 위한 전처리 및 당화공정 시스템 개발

기 여 율 1/1

주관기관 고려대학교 산학협력단

연구기간 2009.04.10 ~ 2014.04.09

특허청구의 범위

청구항 1

바이오매스를 형광 현미경(fluorescence microscope)을 사용하여 특이 파장대의 형광 방출을 관찰하고, 컴퓨터 프로그램을 이용해 이미지(image)를 얻는 단계; 및

상기 이미지에서 바이오매스의 발광에 대하여 바이오매스 전처리 효과를 나타내는 형광 파장의 평균 강도를 측정하고, 이 강도 값으로부터 바이오매스의 전처리 여부를 확인하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하며,

상기 전처리 여부를 확인은 상기 강도 값이 감소한 경우에 전처리를 한 것으로 판단하는 것인

바이오매스의 광 발광 분광 분석 방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 바이오매스는 셀룰로오스, 자일렌 및 리그닌으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 또는 2종 이상인 것을 특징으로 하는, 바이오매스의 광 발광 분광 분석 방법.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 바이오매스를 볼텍싱(voltexing) 또는 음파 처리(sonication)를 이용하여 분산시키는 것을 특징으로 하는, 바이오매스의 광 발광 분광 분석 방법.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 특이 파장대가 650 ~ 680 nm인 것을 특징으로 하는, 바이오매스의 광 발광 분광 분석 방법.

청구항 5

청구항 1에 있어서, 상기 강도 값의 감소는 전처리에 의한 자일렌 함량의 감소에 따른 것인, 바이오매스의 광 발광 분광 분석 방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 바이오매스의 특성을 분광학(spectroscopy)적인 분석, 특히 광 발광의 형광을 통해 전처리 전과 후의 차이를 측정, 해석하여 전처리의 효과를 입증하는 방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 바이오리파이너리(Biorefinery)는 미래에 석유를 대체할 친환경 신재생 에너지의 하나이다. 수송 연료, 난방 등의 분야는 태양광, 풍력, 수자원 등을 이용한 발전이나 수소 연료 전지 등에 의존할 수 있지만, 석유 화학 공학의 대부분을 차지하는 석유 기반의 원료와 그를 이용한 원자재, 고분자 등을 대체할 물질은 천연에서 찾을 수 밖에 없으므로, 신재생 에너지 분야에서는 바이오케미컬에 의존적일 수 밖에 없다.

[0003] 바이오케미컬(biochemicals)은 미생물을 이용하는 공정의 결과물이며 미생물을 유전자 조작(genetic manipulation)으로 디자인하여 원하는 생산물을 유도(균주 개발)하는 업스트림(upstream)기술에 대한 연구가 바이오리파이너리 분야에서 중요한 이슈로 전 세계적으로 활발하게 진행되고 있고, 이 미생물을 키우는 영양분 공급을 위한 바이오매스 활용에 대한 슈가 플랫폼(sugar platform) 기술 개발 연구도 또 하나의 중요한 이슈로써 수행되고 있다. 미생물을 위한 영양분은 전통적인 바이오프로세스(bioprocess)인 주정 공정에서 볼 수 있듯이, 사람이 먹을 수 있는 곡물이나 과실을 이용하였으나 바이오리파이너리가 세계적인 추세로 연구와 상용화가 진행되면서 국제 곡물 가격의 상승을 야기시켰고, 따라서 식용 바이오매스가 아닌 비식용 바이오매스를 활용하는 연구가 진행이 되고 있다. 비식용 바이오매스의 경우 목질계나 초목계의 식물들이 주목 되고 있고, 특히 초목계의

경우 6 탄당과 5 탄당의 함량이 비교적 높고 목질계와 달리 유연하여 다루기가 용이하다는 장점이 있어 특히 주목되고 있고, 에너지 작물 뿐만 아니라 농업폐기물 등도 바이오매스로 활용하는 방안에 대한 연구가 지속적으로 진행되어 오고 있다.

[0004] 비식용 바이오매스는 구체적으로 상기 6 탄당, 5 탄당 또는 리그닌으로 구성되어있는 세포벽을 일컫는 말이며 효소적 당화를 위해서는 적절한 물리적, 화학적 처리가 당화 단계 전에 필요하며 이를 전처리(pretreatment)라 부른다. 전처리 효과는 일반적으로 이후 공정인 당화 반응의 초기 반응속도나 당 회수율(sugar recovery)을 통해 실질적으로 확인할 수 있고 간접적으로 X-ray 회절분석기(X-ray diffractometer: XRD), FT-IR 또는 NIR 등을 통해서 분석할 수 있다.

[0005] 광 발광(photoluminescence)은 물질의 복사선 파장(radiant rays)의 흡수(absorbance)와 방출(emission)에 대한 현상으로, 흡수 파장 영역을 기준으로 방출 파장의 영역에 따라 형광(fluorescence)과 인광(phosphorescence)으로 구분 할 수 있다. 대부분의 물질은 들뜬 상태(excited state)로 전이되기 위한 특이 영역의 흡수 파장대를 가지고 있으며 $10^{-8} \sim 10^{-5}$ 초 정도 후에 바닥 상태(floor state)로 돌아가게 된다. 들뜬 상태에서 바닥 상태로 돌아갈 때에 흡수한 파장과 같은 두 개의 복사선을 모든 방향으로 방출시키게 되는데, 이를 공명 복사선(resonance radiant rays)이라고 하며 일반적으로 형광이라 한다. 실제로는 흡수한 공명선 보다 더 긴 파장의 복사선을 방출하는데 흡수한 에너지보다 더 낮은 에너지를 방출하게 되는 Stokes 이동을 보이는 물질이 대부분이다. 인광 방출은 형광과 같이 파장을 흡수하여 들뜬 상태가 되는 것은 동일하지만, 분자의 전자 스핀이 바뀌어 흡수 파장이 없어도 파장 노출 후 몇 초나 그 이상 동안 발광이 지속되는 현상이다. 형광에 미치는 영향으로는 분자 구조 및 강도, 온도와 용매, pH 그리고 용액의 경우 용해된 산소 및 대상 물질의 농도가 있으며, 분자 구조와 대상 물질의 농도가 가장 영향력 있는 분자 고유의 효과로 알려져 있다. 즉, 특이 형광을 나타내는 분자 구조와 그 물질의 몰량이 형광 발광을 일으키는 주요한 요인으로 생각될 수 있다.

[0006] 한편, 대한민국 공개특허 제 2012-0073087호 및 대한민국 공개특허 제 2010-0125845호 등에는 바이오매스의 처리 방법에 대한 기술이 공개되어 있으나, 바이오매스의 광발광 분석 방법에 관하여 데이터를 컴퓨터 프로그램을 이용하여 처리하는 방법에 대한 기술은 기재되어 있지 않다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 제 2012-0073087호
(특허문헌 0002) 대한민국 공개특허 제 2010-0125845호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 바이오매스의 전처리 후 바이오매스의 조성의 변화를 간편하고 신속한 광 발광 분광법을 통해 확인하여, 바이오매스의 전처리의 효과를 직접적으로 확인 및 분석하는 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0009] 상기와 같은 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 바이오매스를 형광 현미경(fluorescence microscope)을 사용하여 특이 파장대의 형광 방출을 관찰하고, 컴퓨터 프로그램을 이용해 이미지(image)를 얻는 단계; 및

[0010] 상기 이미지에서 바이오매스의 발광에 대하여 바이오매스 전처리 효과를 나타내는 형광 파장의 평균 강도를 측정하고, 이 강도 값으로부터 바이오매스의 전처리 여부를 확인하는 것을 특징으로 하는, 바이오매스의 광 발광 분광 분석 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0011] 본 발명의 바이오매스 광 발광 분석 방법은 바이오리파이너리에 필수적인 전처리 공정의 효과를 당화 단계 이전에 간단하고 신속한 방법을 통해 직접적으로 확인 할 수 있게 함으로써, 공정 비용 절감이 상용화의 핵심인 수

가 플랫폼을 구축하는데 유용하게 사용될 수 있다는 장점이 있다.

도면의 간단한 설명

- [0012] 도 1은 본 발명의 리그노셀룰로스계(lignocellulosic) 바이오매스 중 하나인 보릿짚(Barley straw)의 묶은 황산 전처리 전 후의 형광 이미지 분석 사진이다.
- 도 2는 본 발명의 보릿짚의 흡수 스펙트럼이다.
- 도 3은 본 발명의 보릿짚의 방출 스펙트럼이다.
- 도 4는 크기 및 형태가 불균일한 보릿짚으로부터 통계학적으로 유효한 평균 형광 강도를 측정하는 방법의 순서를 나타낸 사진이다.
- 도 5는 자일렌(xylan) 함량이 점점 증가됨에 따른 형광 강도를 측정한 점정선을 나타내는 그래프이다.
- 도 6은 형광 강도에 따른 당 회수율의 상관 관계를 나타내는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0013] 이하, 본 발명에 대하여 상세히 설명한다.
- [0014] 형광의 경우 형광 강도에 영향을 미치는 다양한 요인으로 인하여 비교가 절대적이지 않을 가능성이 높기 때문에, 변수를 최대한 고정된 조건에서 분석을 수행하였다. 본 발명에서는 바이오매스 적당량을 슬라이드 글라스 위에 놓고 형광 현미경으로 분석하였다. 이때 광원에 BP480-550(550nm)의 여기 필터(excitation filter)를 사용하였고, BA590(590nm)의 barrier 필터를 사용하여 550nm 근방에서 여기 광선을 발생시켰다.
- [0015] 형광 감도는 200이고 노출 시간은 각각 2초, 1/2초 및 1/10초로 하였다. 보릿짚을 묶은 황산 용액으로 전처리 할 경우, 형광은 전처리 하지 않은 보릿짚과 비교할 때 감소되었고, 묶은 황산으로 전처리 한 것과 전처리 하지 않은 보릿짚의 형광 강도는 각각 1/10초 동안 노출 시켰을 때, 40.69와 70.27로 나타났다. 이러한 변화는 자일렌 함량이 줄어들에 따라 형광 강도 감소가 유발됨으로 나타났고, 이는 각각의 성분의 시약을 이용한 형광 강도의 비교에 의해 밝혀졌다. 각각의 주요 성분이 1/2초 동안 노출 되었을 때, 형광 강도는 셀룰로오스 22.01, 셀로비오스 4.74, 자일렌 88.22 및 리그닌 28.85로 측정되었다. 1/2초의 노출 시간에서는 자일렌의 경우 형광 강도가 포화로 나타났고, 상기 노출 시간에서 1/10초의 노출에서는 매우 약했던 셀룰로오스와 리그닌의 형광이 관찰되었다. 묶은 황산 전처리의 지표에 대하여 자일렌 함량의 강력한 형광을 이용하기 위해서는 상기 노출 시간을 1/10초가 되도록 감소시켜야 한다. 상기 성분들이 1/10초 동안 노출 될 때, 형광의 강도는 셀룰로오스 6.18, 셀로비오스 3.47 및 리그닌 9.01로 측정되었으나, 상기 성분들은 육안으로 관찰되지 않았다. 그러나 자일렌의 경우는 강도가 72.20으로 관측되었다.
- [0016] 도 1은 리그노셀룰로스계(lignocellulosic) 바이오매스 중 하나인 보릿짚(Barley straw)의 묶은 황산 전처리 전 후의 형광 이미지 분석 사진을 나타낸 것으로, 550nm 여기 광선에 의해 특히 파장대(650 ~ 680 nm)에서 형광을 방출하는 현상을 관찰하였다. 이 때 묶은 황산으로 전처리한 보릿짚과 전처리하지 않은 보릿짚의 형광 강도의 차이는 분명하게 구분 가능하였다. 광원 노출 시간을 조절하여 포화된 형광 강도를 낮출 수도 있고, 전처리된 보릿짚의 경우, 형광 강도를 높여서 바이오매스의 윤곽을 확인 할 수 있었다.
- [0017] 또한, 대부분의 리그노셀룰로스계(lignocellulosic) 바이오매스를 구성하는 세 가지 주요 성분인 셀룰로오스, 자일렌 및 리그닌의 형광 현미경 분석도 수행되었고, 자일렌에서의 특이할 만한 강한 형광 방출은 도 1의 형광 이미지에서 확인 할 수 있었다. 묶은 황산 전처리 공정에서 주로 제거되는 성분이 자일렌인 점을 고려할 때, 묶은 황산 전처리를 한 보릿짚에서 형광 강도가 전처리를 하지 않은 보릿짚과 비교하여 낮은 이유는 자일렌의 함량에 따른 차이로 생각할 수 있다.
- [0018] 바이오매스인 보릿짚의 흡수 스펙트럼을 측정한 결과를 도 2에 나타내었다. 보릿짚(Barley straw)과 세 가지 구성 성분(Xylan, Cellulose, Lignin)을 함께 분석, 관찰하였다. 그 결과, 당이 단량체인 셀룰로오스와 자일렌은 보릿짚과 같은 영역에서 흡수 peak를 나타내었다. 바이오매스의 조성이나 구조가 매우 복잡하고 일정하지 않기 때문에, peak에 노이즈가 많지만 대략 500 ~ 580nm 사이의 영역에서 peak를 확인 할 수 있었다. 또한 보릿짚의 방출 스펙트럼을 도 3에 나타내었다. 세 가지(Xylan, Cellulose, Lignin) 구성 성분과 함께 보릿짚의 방출 스펙트럼을 측정하였고, 650 ~ 680 nm(665 nm)의 파장대에서 분명한 방출 peak를 확인할 수 있었다. 이 결과는 실

험을 실시한 리그노셀룰로오스계(Lignocellulosic) 바이오매스에서 공통적으로 확인되었다. 정리하면, 리그노셀룰로오스계(Lignocellulosic) 바이오매스는 550 nm(초록색)의 여기 파장(excitation wave)으로 인해 들뜬 상태가 되며 665 nm(빨간색)에서 형광을 방출하는 것으로 밝혀졌다. 방출 스펙트럼에서 셀룰로오스 역시 분명한 방출 peak를 보였지만 도 1에서의 형광 이미지 분석 결과 동일한 감도와 노출에서 자일렌과는 전혀 다른 형광 강도를 나타내었다. 같은 peak를 가지고 있더라도 형광 방출은 여러 가지 요인에 의해 강한 강도의 형광이 관찰 될 수도 있고, 약한 강도의 형광이 관찰 될 수도 있었다. 특히 분자 구조에 따라서 영향이 큰 것으로 알려져 있는데 들뜬 상태에서 $\pi \rightarrow \pi^*$ 전이를 하는 방향족 또는 방향족 작용기를 가진 분자 또는 컨쥬게이션 되어 있는 이중 결합을 가진 화합물에서 형광 강도가 증폭 될 수 있다. 따라서, 셀룰로오스가 자일렌과 마찬가지로 같은 방출 스펙트럼의 결과를 보여주지만 형광 강도가 약한 이유는, 셀룰로오스의 분자 구조가 단순 글루코스 단량체의 beta-1,4 결합으로 구성된 고분자이기 때문이다. 자일렌의 경우 자일로스로 구성된 고분자 체인에 다양한 작용기들이 부수적으로 결합되어 헤테로폴리머(heteropolymer)로 구분되어 있으며, 그 작용기들 중에는 아세테이트(acetate), 알파-엘 아라비노푸라노오스(alpha-L arabinofuranose), 페룰산(ferulic acid) 및 알파-4-메틸-글루쿠론산(alpha-4-Me-GlcUA) 등이 있다. 이 중 페룰산(ferulic acid)의 경우 방향족 화합물이기 때문에, 자일렌의 고분자에 직접 붙어있거나 곁가지에 붙어있는 페룰산의 풍부하고 안정적인 전자 분포가 강한 형광 강도의 원인으로 예측 될 수 있다.

[0019] 이러한 관찰 결과를 활용하여 전처리 전과 후의 비교를 수행할 수 있고 그 전처리가 효과적이었는지 이미지를 직접 확인할 수 있다. 바이오매스의 경우 불균일(Heterogeneous)한 크기 및 형태를 가지고 있고, 물(증류수)에 불용성(insolubility)이기 때문에 바이오매스를 볼텍싱(voltexing) 또는 음파 처리(sonication)를 이용하여 모양 및 크기를 고려하여 균일한 파티클 상태로 분산시킨다. 그 후, 단위 면적당 구하는 값을 컴퓨터 프로그램을 통해 측정한다.

[0020] 포토샵(Adobe Photoshop CS4)의 선택 기능을 이용해 상기 이미지의 바이오매스 부분의 형광 강도를 측정하면 통계학적으로 의미가 있고 전처리의 효과를 나타내는 평균 형광 강도를 측정할 수 있다. 도 4는 크기 및 형태가 불균일한 보트짚으로부터 통계학적으로 유효한 평균 형광 강도를 측정하는 방법의 순서를 나타내었다. 첫 번째로, 바이오매스의 정확한 윤곽을 측정하기 위해 노출 시간(본 발명의 실시예에서는 2초, 1/2초)을 적절하게 연장하고, 포토샵(Adobe Photoshop CS4)의 선택하기 기능을 이용하여 바이오매스의 윤곽을 이끌어 내었다. 두 번째로, 노출 시간을 줄이는데, 이 때 도 1에서 나타난 것과 같이 셀룰로오스와 리그닌의 형광 강도가 10 이하로 의미 없는 강도로 측정되는 노출 시간을 미리 알아내어 목표 바이오매스에 적용시켜 형광 강도를 측정하였다. 그 이유는 자일렌이 특히 파장대(650 ~ 680 nm)에서 형광 강도를 나타내고 묶은 황산 전처리의 효과가 자일렌을 제거하는 것이기 때문에 바이오매스의 자일렌 함량에 따른 형광 강도의 변화를 관찰하기 위함이다. 그 노출 시간에서 적절하게 전처리된 바이오매스는 육안으로 윤곽을 알기가 어렵기 때문에 미리 지정해 놓은 윤곽선을 적용시켜 테두리 안의 형광 강도를 측정하였다. 본 실험에서는 노출 시간이 1/10초 일 때 이미지의 형광 강도가 10 이하로 측정되었고, 이 경우 형광 강도와 바이오매스의 자일렌 함량이 부정확하여 그 수치에 의미를 두기 어렵기 때문에, 10 이하의 강도를 의미없는 강도로 표현하였다.

[0021] 형광 강도에 따른 당 회수율의 상관 관계를 도 6에 나타내었는데, 기존의 XRD를 이용한 결정화도에 따른 예측에 비해 효과적인 예측이 가능함을 알 수 있었다. 이러한 실험 결과를 바탕으로 도 5에 자일렌(xylan) 함량이 점점 증가됨에 따른 형광 강도를 측정한 검정선 그래프를 나타내었는데, 일정한 편차 내에서 대략적인 자일렌의 함량을 예측할 수 있는 것으로 나타났다.

[0022] 본 발명은 물질에 따라 특이성을 가지는 광선 또는 그 이상의 범위에서의 파장을 받아 들뜬 상태가 되고 바닥 상태로 내려가는 과정에서의 방출 파장을 조사하여 물질의 특성을 알아내는 방법을 제공할 수 있다. 본 발명의 결과를 뒷받침하기 위한 실험에서는 자일렌을 주로 제거하는 묶은 황산 전처리 공정에 대하여 이루어졌지만, 실험을 거쳐 리그닌을 주로 제거하는 알칼리 전처리에서도 같은 방법으로 리그닌의 제거량을 예측할 수 있는 바이오매스 분석법을 개발 할 수도 있을 것으로 생각되어진다.

[0023] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하기로 한다. 이 실시예는 단지 본 발명을 예시하기 위한 것이므로, 본 발명의 범위가 이 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는다.

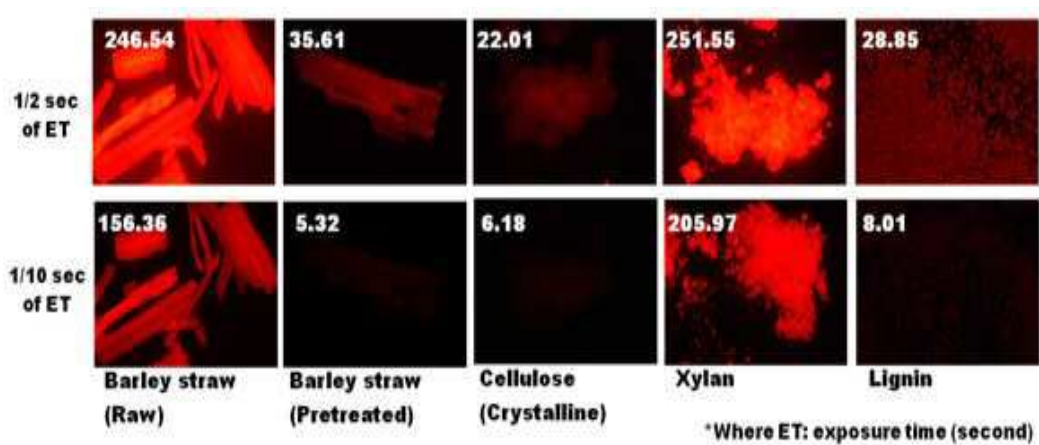
[0024] 실시예 1

[0025] 30 ~ 50 메쉬(mesh) 사이즈의 체(sieve)를 이용하여 선별한 보릿짚 0.2 g을 묶은 황산 용액(1.2%, 7 mL)을 이용해 실링된 반응기에서 150℃의 온도에서 17분 동안 전처리 한 후 고체(전처리된 보릿짚)와 액체를 분리하였다. 상기 고체를 흐르는 물에서 세척하여 60℃에서 6시간 이상 보릿짚의 무게가 변화되지 않을 때까지 건조시켰다. 전처리된 보릿짚은 적정량을 슬라이드 글라스 위에 올려두고 형광 현미경(Olympus BX51 model)을 이용하여 초록색 영역대의 파장을 조성하고, 형광 이미지를 분석하였다. 이때 광원에 BP480-550(550nm)의 여기 필터(excitation filter)를 사용하였고, BA590(590nm)의 barrier 필터를 사용하여 550nm 근방에서 여기 광선을 발생시켰다. 현미경 전용 프로그램에 의해 컴퓨터로 관찰을 하였고, 이미지를 캡처하기 위해 적절한 감도와 노출을 적용시켜 원하는 이미지를 얻어내었다.

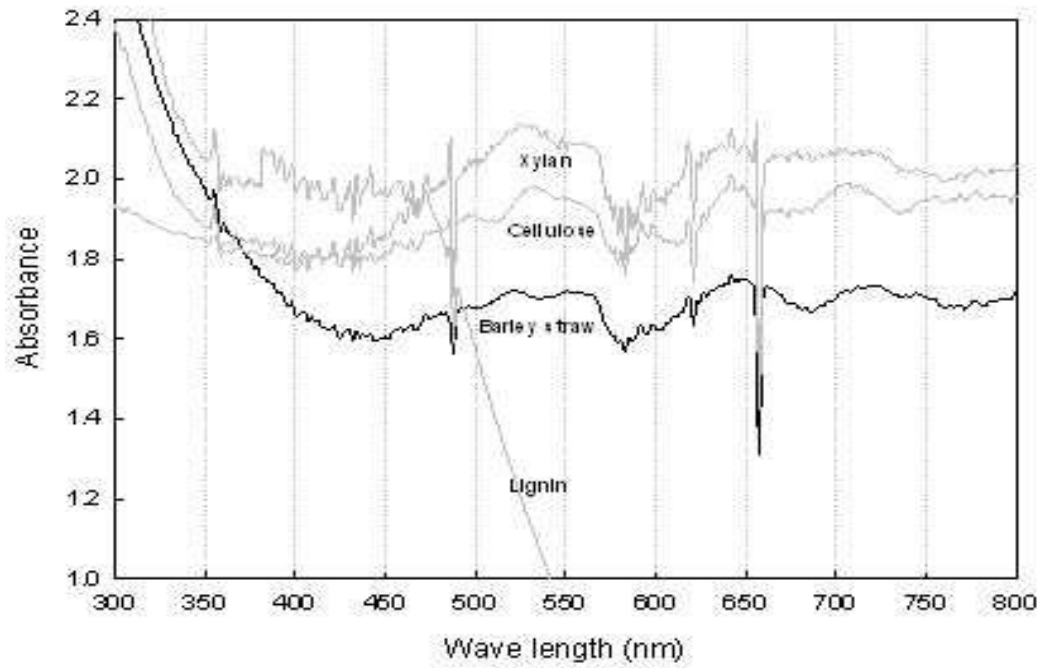
[0026] 형광은 기초 실험(검정선을 얻기 위해서 보리짚의 전처리 시간을 조절하여 자일렌 함량이 다른 샘플들을 얻는 실험)의 결과에 의해 650 ~ 680 nm의 파장대에서 관찰하였다. 기초 실험에서는 열수 처리(liquid hot water treatment)를 통해 최대한 6탄당과 리그닌의 구조와 함량의 변화를 줄이고 5탄당(자일렌) 부분만을 제거하였다. 여러가지 자일렌 함량이 다른 샘플을 얻기 위해 다양한 처리 시간을 적용하였다. 기초 실험을 위한 보릿짚의 흡수 및 방출을 측정하기 위해서는 UV-Vis spectrometer (HP8453 UV-Vis spectrophotometer)와 fluorescence spectrophotometer(Hitach F7000)를 각각 이용하였다. 흡수의 경우 200 ~ 1100nm까지의 파장 영역에서 측정하였고, 결과를 확인 후 500 ~ 580nm에서 형광 흡수를 측정하였다. 얻어낸 형광이미지는 Adobe Photoshop CS4 프로그램을 이용하여 형광 강도를 측정하였다. 형광 강도는 보릿짚 형태의 테두리 내에서의 단위 면적당 구하는 형광 강도를 선택적으로 측정하였다.

도면

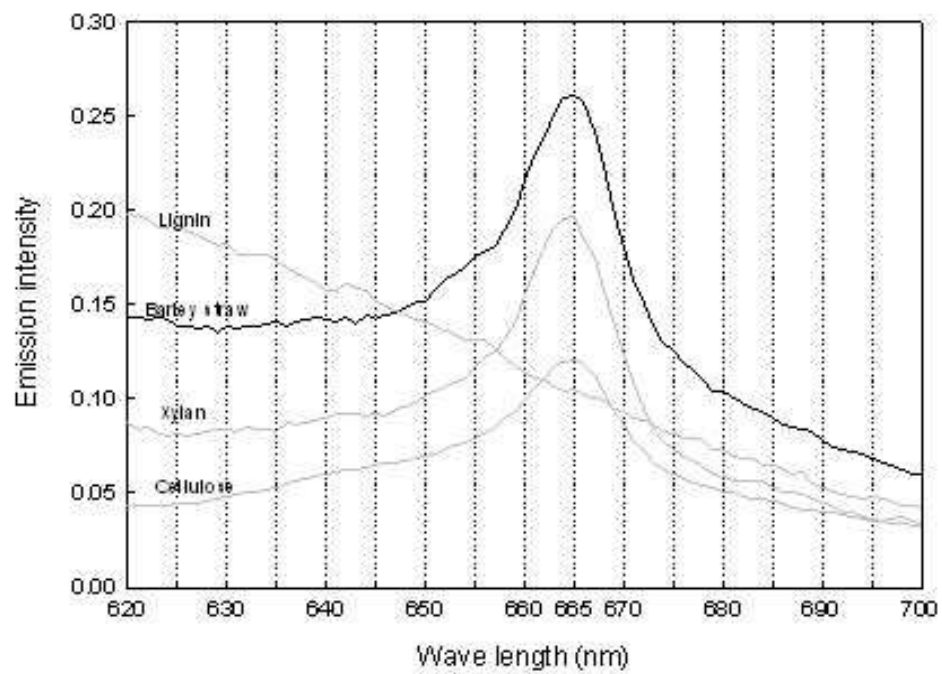
도면1



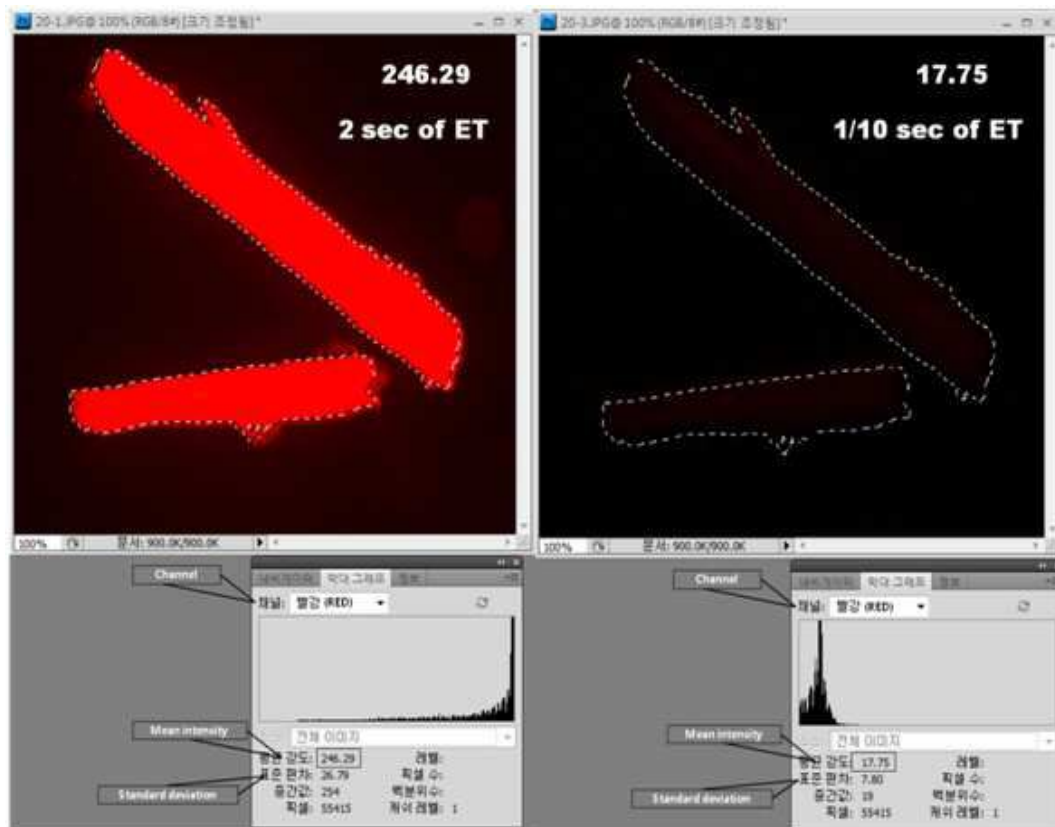
도면2



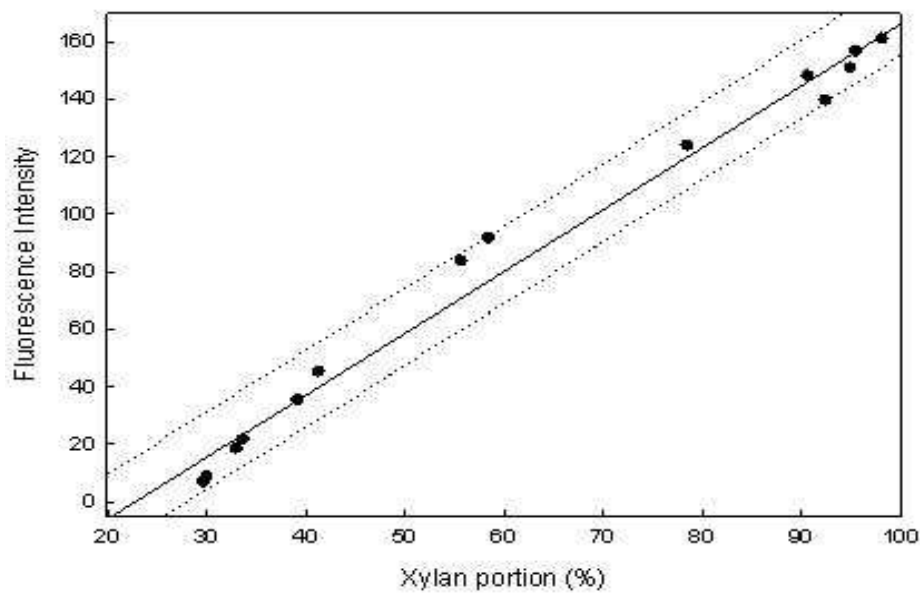
도면3



도면4



도면5



도면6

