



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0151721
(43) 공개일자 2023년11월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12P 23/00 (2006.01) *C12N 1/12* (2006.01)

(52) CPC특허분류

C12P 23/00 (2013.01)

C12N 1/12 (2019.02)

(21) 출원번호 10-2022-0051417

(22) 출원일자 2022년04월26일

심사청구일자 2022년04월26일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

이재빈

서울특별시 성동구 금호로 100 (금호동1가, 벽산아파트)

최윤이

서울특별시 성북구 안암로 145 (안암동5가)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인 남앤남

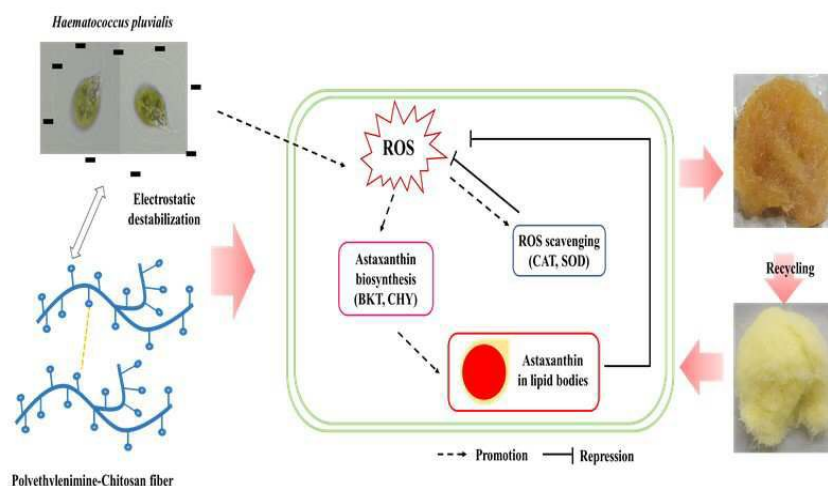
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 이용한 미세조류로부터 아스타잔틴의 대량생산방법

(57) 요약

본 발명은 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 이용한 미세조류로부터 아스타잔틴의 대량생산방법에 관한 것으로, 구체적으로 본 발명은 미세조류가 함유된 배양액에 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 첨가하고 배양하는 단계를 포함하는 미세조류로부터 아스타잔틴의 축적을 증진시키는 방법, 미세조류가 함유된 배양액에 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 첨가하고 배양하되, 상기 섬유의 첨가는 미세조류 배양 0일째~4일째에 배양액에 첨가하여 12일~14일 동안 배양하는 단계를 포함하는 미세조류로부터 아스타잔틴의 대량생산방법, 미세조류에서 아스타잔틴의 축적을 증진시킬 수 있는 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유의 제조방법, 상기 방법으로 제조된 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유 및 상기 섬유의 재활용을 위한 회수 방법에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

김석

서울특별시 성북구 길음로13길 39 (길음동, 길음뉴타운)

박윤환

서울특별시 성북구 고려대로28길 21 (안암동5가)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711141613

과제번호 R2117362

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 (재단)과학기술일자리진흥원

연구사업명 공공연구성과활용촉진(R&D)

연구과제명 광 조건하 미세조류 기반 아스타잔틴 고생산 및 제품화 기술 개발

기 여 율 1/1

과제수행기관명 고려대학교 산학협력단

연구기간 2022.01.01 ~ 2022.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

미세조류가 함유된 배양액에 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 첨가하고 배양하는 단계를 포함하는, 미세조류로부터 아스타잔틴의 축적을 증진시키는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 미세조류는 헤마토코쿠스 플루비알리스인 것을 특징으로 하는, 미세조류로부터 아스타잔틴의 축적을 증진시키는 방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 섬유는 아세트산에 키토산을 용해시킨 키토산 용액에 폴리에틸렌이민 용액을 첨가하여 혼합하고 마이크로파를 이용하여 가열시켜 가교한 후, 수산화나트륨 용액에 방사하여 수득한 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유인 것을 특징으로 하는, 미세조류로부터 아스타잔틴의 축적을 증진시키는 방법.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 폴리에틸렌이민은 10 μ M 농도의 폴리에틸렌이민 용액을 사용하고, 상기 키토산은 50,000~190,000Da의 저분자량 키토산을 사용하는 것을 특징으로 하는, 미세조류로부터 아스타잔틴의 축적을 증진시키는 방법.

청구항 5

제3항에 있어서,

방사된 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유는 에피클로로히드린 0.1mL/L가 첨가된 1M 수산화나트륨 용액에서 37℃의 온도로 4시간 동안 가교를 안정화시키는 단계를 추가로 더 포함하는 것을 특징으로 하는, 미세조류로부터 아스타잔틴의 축적을 증진시키는 방법.

청구항 6

미세조류가 함유된 배양액에 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 첨가하고 배양하되, 상기 섬유의 첨가는 미세조류 배양 0일째~4일째에 배양액에 첨가하여 12일~14일 동안 배양하는 단계를 포함하는,

미세조류로부터 아스타잔틴의 대량생산방법.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 미세조류는 헤마토코쿠스 플루비알리스인 것을 특징으로 하는, 미세조류로부터 아스타잔틴의 대량생산방법.

청구항 8

제6항에 있어서,

상기 섬유는 아세트산에 키토산을 용해시킨 키토산 용액에 폴리에틸렌이민 용액을 첨가하여 혼합하고 마이크로파를 이용하여 가열시켜 가교한 후, 수산화나트륨 용액에 방사하여 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 수득한 다음, 상기 가교된 섬유를 에피클로로히드린이 첨가된 수산화나트륨 용액에서 가교를 안정화시켜 수득한

것을 특징으로 하는, 미세조류로부터 아스타잔틴의 대량생산방법.

청구항 9

제8항에 있어서,

10 μ M 농도의 폴리에틸렌이민 용액을 사용하고, 50,000~190,000Da의 저분자량 키토산을 사용하며, 0.1mL/L의 에피클로로히드린을 사용하는 것을 특징으로 하는, 미세조류로부터 아스타잔틴의 대량생산방법.

청구항 10

(1) 아세트산에 키토산을 용해시켜 키토산 용액을 제조하는 단계;

(2) 상기 키토산 용액에 폴리에틸렌이민을 첨가하고 마이크로파로 가열하여 가교시키는 단계;

(3) 상기 (2) 단계에서 가교된 폴리에틸렌이민과 키토산을 수산화나트륨 용액에서 섬유 형태로 방사하는 단계; 및

(4) 에피클로로히드린이 첨가된 수산화나트륨 용액에 방사된 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 첨가하여 안정화시키는 단계를 포함하는,

미세조류에서 아스타잔틴의 축적을 증진시킬 수 있는 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유의 제조방법.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 키토산은 50,000~190,000Da의 저분자량 키토산을 사용하고,

상기 폴리에틸렌이민은 10 μ M 농도의 폴리에틸렌이민 용액을 사용하며,

상기 에피클로로히드린은 0.1mL/L이 되도록 상기 수산화나트륨 용액에 첨가하는 것을 특징으로 하는, 미세조류에서 아스타잔틴의 축적을 증진시킬 수 있는 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유의 제조방법.

청구항 12

제10항에 있어서,

상기 미세조류는 헤마토코쿠스 플루비알리스인 것을 특징으로 하는, 미세조류에서 아스타잔틴의 축적을 증진시킬 수 있는 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유의 제조방법.

청구항 13

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항의 방법으로 제조된, 미세조류에서 아스타잔틴의 축적을 증진시킬 수 있는 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유.

청구항 14

제13항의 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 이용한 미세조류의 배양이 완료되면, 상기 섬유를 회수하여 1M 수산화나트륨 용액에 첨가하고 교반한 다음, 70% 에탄올 처리 및 UV 조사로 멸균 처리한 후, 건조시키는 단계를 포함하는,

미세조류에서 아스타잔틴의 축적을 증진시킬 수 있는 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유의 재활용을 위한 회수 방법.

청구항 15

제14항에 있어서,

상기 미세조류는 헤마토코쿠스 플루비알리스인 것을 특징으로 하는, 미세조류에서 아스타잔틴의 축적을 증진시킬 수 있는 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유의 재활용을 위한 회수 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 이용한 미세조류로부터 아스타잔틴의 대량생산방법 및 상기 섬유의 재활용 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 아스타잔틴은 자연계에 존재하는 지용성 색소인 카로테노이드(Carotenoid)의 일종으로, 뛰어난 항산화 능력을 지니고 있어 자외선에 의한 눈과 피부 보호, 뇌신경 퇴화 질병 예방, 면역기능강화, 심혈관질환 예방 등의 기능을 갖는다. 따라서 아스타잔틴은 제약, 식품 산업 등에서 활발히 이용되며 높은 경제성(약 US\$ 2,500 kg⁻¹)을 지닌 원료로써 각광받고 있다.

[0003] 산업적 원료로써 아스타잔틴은 크게 천연 아스타잔틴과 합성 아스타잔틴의 두 가지 경로로 공급된다. 그러나 효능 및 안전성 등의 이유로 인해 천연 아스타잔틴이 더욱 선호된다. 천연 아스타잔틴은 일반적으로 새우, 바다가재, 연어, 도미, 송어 등의 어류 및 갑각류에 주로 함유되어 있다고 알려져 있지만, 이들은 스스로 아스타잔틴을 생합성 할 수 없으므로 먹이사슬을 통해 미세조류 등으로부터 섭취한다.

[0004] 미세조류 중 특히 헤마토코쿠스 플루비알리스(*Haematococcus pluvialis*)는 스스로 아스타잔틴의 생합성이 가능하며, 자연환경에서 아스타잔틴의 생산성이 가장 높은 균주로 알려져 있다. 따라서 헤마토코쿠스 플루비알리스로부터 아스타잔틴을 직접 생산하여 원료로 이용하는 방법이 주목을 받고 있다.

[0005] 미세조류인 헤마토코쿠스 플루비알리스는 주변의 환경 조건이 악화될 경우 산화 스트레스를 받게 되어 세포 내에 활성산소를 생성하고, 이에 대처하기 위해 세포 내에 항산화 물질인 아스타잔틴을 축적하는 특성을 지니고 있다. 따라서 헤마토코쿠스 플루비알리스의 아스타잔틴 축적을 유도하기 위해 세포에 다양한 스트레스 조건을 도입하는 연구가 활발히 진행되고 있으며, 이러한 기술로서 광도, pH, 염분, 온도의 조절 및 질소, 인산염 결핍 등의 환경 자극에 대한 연구 결과가 주를 이루고 있다.

[0006] 그러나 지금까지 사용된 상기의 방법들은 일회성에 그치고 있고, 개발된 환경 자극 방법의 경우, 최적화된 배양 조건을 유지하기가 까다롭고 특정 배양 설비가 요구되는 등의 단점이 존재하므로 이를 개선할 수 있는 새로운 방법의 개발이 필요하다.

[0007] 이에, 본 발명자들은 종래의 기술을 탈피하여 아스타잔틴의 생합성이 가장 우수한 미세조류로 알려진 헤마토코쿠스 플루비알리스로부터 아스타잔틴의 축적 증대와 생산 증대를 위한 새로운 방법으로, 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 이용할 경우, 헤마토코쿠스에 물리적 자극을 직접적으로 가하여 아스타잔틴의 축적을 극대화시킬 수 있고, 사용한 상기 섬유는 지속적으로 재활용이 가능하므로 경제적으로도 유리한 효과를 얻을 수 있음을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제10-2167513호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 따라서 본 발명의 목적은 미세조류가 함유된 배양액에 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 첨가하고 배양하는 단계를 포함하는, 미세조류로부터 아스타잔틴의 축적을 증진시키는 방법을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 다른 목적은 본 발명의 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 이용한 미세조류로부터 아스타잔틴의 대량생산방법을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 또 다른 목적은 미세조류에서 아스타잔틴의 축적을 증진시킬 수 있는 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유의 제조방법 및 상기 방법으로 제조된 미세조류에서 아스타잔틴의 축적을 증진시킬 수 있는 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 미세조류에서 아스타잔틴의 축적을 증진시킬 수 있는 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유의 재활용을 위한 회수 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0013] 상기와 같은 목적을 달성하기 위해 본 발명은, 미세조류가 함유된 배양액에 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 첨가하고 배양하는 단계를 포함하는, 미세조류로부터 아스타잔틴의 축적을 증진시키는 방법을 제공한다.

[0014] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 미세조류는 헤마토코쿠스 플루비알리스일 수 있다.

[0015] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 섬유는 아세트산에 키토산을 용해시킨 키토산 용액에 폴리에틸렌이민 용액을 첨가하여 혼합하고 마이크로파를 이용하여 가열시켜 가교한 후, 수산화나트륨 용액에 방사하여 수득한 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유일 수 있다.

[0016] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 폴리에틸렌이민은 10 μ M 농도의 폴리에틸렌이민 용액을 사용하고, 상기 키토산은 50,000~190,000Da의 저분자량 키토산을 사용하는 것일 수 있다.

[0017] 본 발명의 일실시예에 있어서, 방사된 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유는 에피클로로히드린 0.1mL/L가 첨가된 1M 수산화나트륨 용액에서 37℃의 온도로 4시간 동안 가교를 안정화시키는 단계를 추가로 더 포함하는 것일 수 있다.

[0018] 또한 본 발명은 미세조류가 함유된 배양액에 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 첨가하고 배양하되, 상기 섬유의 첨가는 미세조류 배양 0일째~4일째에 배양액에 첨가하여 12일~14일 동안 배양하는 단계를 포함하는, 미세조류로부터 아스타잔틴의 대량생산방법을 제공한다.

[0019] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 미세조류는 헤마토코쿠스 플루비알리스일 수 있다.

[0020] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 섬유는 아세트산에 키토산을 용해시킨 키토산 용액에 폴리에틸렌이민 용액을 첨가하여 혼합하고 마이크로파를 이용하여 가열시켜 가교한 후, 수산화나트륨 용액에 방사하여 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 수득한 다음, 상기 가교된 섬유를 에피클로로히드린이 첨가된 수산화나트륨 용액에서 가교를 안정화시켜 수득한 것일 수 있다.

[0021] 본 발명의 일실시예에 있어서, 10 μ M 농도의 폴리에틸렌이민 용액을 사용하고, 50,000~190,000Da의 저분자량 키토산을 사용하며, 0.1mL/L의 에피클로로히드린을 사용하는 것일 수 있다.

[0022] 또한 본 발명은, (1) 아세트산에 키토산을 용해시켜 키토산 용액을 제조하는 단계; (2) 상기 키토산 용액에 폴리에틸렌이민을 첨가하고 마이크로파로 가열하여 가교시키는 단계; (3) 상기 (2) 단계에서 가교된 폴리에틸렌이민과 키토산을 수산화나트륨 용액에서 섬유 형태로 방사하는 단계; 및 (4) 에피클로로히드린이 첨가된 수산화나트륨 용액에 방사된 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 첨가하여 안정화시키는 단계를 포함하는, 미세조류에서 아스타잔틴의 축적을 증진시킬 수 있는 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유의 제조방법을 제공한다.

[0023] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 키토산은 50,000~190,000Da의 저분자량 키토산을 사용하고, 상기 폴리에틸렌이민은 10 μ M 농도의 폴리에틸렌이민 용액을 사용하며, 상기 에피클로로히드린은 0.1mL/L이 되도록 상기 수산화나트륨 용액에 첨가하는 것일 수 있다.

[0024] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 미세조류는 헤마토코쿠스 플루비알리스일 수 있다.

[0025] 또한 본 발명은 본 발명의 방법으로 제조된, 미세조류에서 아스타잔틴의 축적을 증진시킬 수 있는 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 제공한다.

[0026] 나아가 본 발명은 본 발명의 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 이용한 미세조류의 배양이 완료되면, 상기 섬유를 회수하여 1M 수산화나트륨 용액에 첨가하고 교반한 다음, 70% 에탄올 처리 및 UV 조사로 멸균 처리한 후, 건조시키는 단계를 포함하는, 미세조류에서 아스타잔틴의 축적을 증진시킬 수 있는 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유의 재활용을 위한 회수 방법을 제공한다.

[0027] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 미세조류는 헤마토코쿠스 플루비알리스일 수 있다.

발명의 효과

[0028] 본 발명에서 제공하는 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유는 미세조류의 배양 과정 중에 첨가할 경우, 미세

조류의 아스타잔틴 축적을 효과적으로 증진시킬 수 있고, 따라서 아스타잔틴을 미세조류로부터 대량생산할 수 있다. 나아가 본 발명의 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유는 사용한 섬유를 회수하여 다시 재활용할 수 있으므로, 경제적으로도 매우 유용하다.

도면의 간단한 설명

- [0029] 도 1은 본 발명에 따른 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 이용한 헤마토코쿠스 미세조류의 아스타잔틴 축적 증진유도 작용과 상기 섬유의 재활용 과정을 모식도로 나타낸 것이다.
- 도 2는 본 발명에 따른 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 헤마토코쿠스가 함유된 배양액에 처리하고 14 일 이후, 아스타잔틴 함량 및 세포당 아스타잔틴 함량을 비교분석한 결과로, (a) 폴리에틸렌이민 농도에 따른 아스타잔틴 함량 및 세포당 아스타잔틴 함량, (b) 키토산 분자량에 따른 세포 밀도, (c) 키토산 분자량에 따른 아스타잔틴 함량, (d) 가교제 종류 및 농도에 따른 아스타잔틴 함량을 나타낸 그래프이다.
- 도 3은 본 발명의 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유의 처리량 및 처리시점에 따른 헤마토코쿠스에서 아스타잔틴 축적효과를 분석한 결과로, (a) 섬유 처리량에 따른 결과를 나타낸 것이고, (b) 처리시점에 따른 결과를 나타낸 것이다.
- 도 4는 본 발명의 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유의 처리 기간에 따른 헤마토코쿠스에서의 아스타잔틴 생성 유도 효과를 확인한 것으로, (a) 섬유 처리 후, 시간별 활성산소의 생성 수준을 확인한 결과를 나타낸 것이고, (b) 및 (c)는 아스타잔틴 합성 관련 효소의 유전자인 BKT 및 CHY의 발현수준 변화를 actin 발현을 기준으로 표준화하여 분석한 결과이다.
- 도 5는 (a) 본 발명에서 제조한 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 나타낸 것이고, (b) 섬유를 미세조류 배양물에서 회수한 상태를 나타낸 것이고, (c)는 재활용한 섬유를 나타낸 것이며, (d)는 최초사용, 1회 재사용 및 2회 재사용에 따른 헤마토코쿠스에서 아스타잔틴 유도 효율을 분석한 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0030] 본 발명은 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유 및 이의 용도에 관한 것으로, 구체적으로 본 발명은 미세조류에서 아스타잔틴의 축적을 증진시킬 수 있는 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유 및 이를 이용한 미세조류로부터 아스타잔틴의 축적을 증진시키는 방법을 제공함에 특징이 있다.
- [0031] 본 발명자들은 미세조류로부터 유용한 생리활성물질인 아스타잔틴을 대량 생산할 수 있는 새로운 방법을 개발하기 위해 연구하던 중, 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 미세조류 배양 배지에 첨가하여 미세조류를 배양할 경우, 미세조류 내 아스타잔틴의 축적을 효과적으로 증진시킬 수 있다는 것을 실험을 통해 확인하였다.
- [0032] 따라서 본 발명은 미세조류에서 아스타잔틴의 축적을 증진시킬 수 있는 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 제공함에 특징이 있다.
- [0033] 상기 본 발명의 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유는 다음과 같은 방법을 통해 제조될 수 있는데, (1) 아세트산에 키토산을 용해시켜 키토산 용액을 제조하는 단계; (2) 상기 키토산 용액에 폴리에틸렌이민을 첨가하고 마이크로파로 가열하여 가교시키는 단계; (3) 상기 (2) 단계에서 가교된 폴리에틸렌이민과 키토산을 수산화나트륨 용액에서 섬유 형태로 방사하는 단계; 및 (4) 에피클로로하이드린이 첨가된 수산화나트륨 용액에 방사된 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 첨가하여 안정화시키는 단계를 포함한다.
- [0034] 상기 방법에서, 키토산은 저 분자량의 키토산을 선택하여 사용한다. 본 발명의 일실시예에서는 고 분자량, 중간 분자량 및 저 분자량의 키토산을 각각 사용하여 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 제조하고, 제조된 각 섬유에 따른 미세조류 내 아스타잔틴의 축적 유도를 분석하였는데, 그 결과, 저 분자량의 키토산을 사용한 경우가 미세조류의 세포밀도 및 아스타잔틴의 축적율이 가장 높은 것으로 나타났다.
- [0035] 그러므로 상기 키토산은 50,000~190,000Da의 저분자량의 키토산을 사용하는 것이 바람직하다.
- [0036] 또한, 키토산 용액의 준비가 완료되면, 상기 키토산 용액에 폴리에틸렌이민을 첨가하고 마이크로파로 가열하여 가교시키는 과정을 수행한다.
- [0037] 이때 상기 폴리에틸렌이민은 10nM~100 μ M 농도의 폴리에틸렌이민 용액을 사용할 수 있으며, 바람직하게는 10 μ M 농도의 폴리에틸렌이민 용액을 사용할 수 있다.

- [0038] 본 발명의 일실시예에서는, 첨가되는 폴리에틸렌이민의 농도가 미세조류 내 아스타잔틴의 축적에 영향을 미치는지 확인하기 위해, 폴리에틸렌이민의 첨가 농도를 달리하여 섬유를 제조하고, 미세조류 내 아스타잔틴의 축적 정도를 분석하였는데, 10nM~10 μ M 농도로 폴리에틸렌이민을 첨가한 군에서는 농도가 증가할수록 아스타잔틴의 축적량이 증가하는 것으로 나타난 반면, 상기 범위를 초과한 100 μ M의 폴리에틸렌이민 첨가 군에서는 오히려 아스타잔틴의 양이 감소한 것으로 나타났다.
- [0039] 따라서 폴리에틸렌이민은 10nM~10 μ M 농도로 사용하는 것이 바람직하고, 더 바람직하게는 10 μ M 농도로 사용할 수 있다.
- [0040] 여기서 상기 마이크로파 처리로 가열 및 가교된 폴리에틸렌이민과 키토산의 혼합액은 교반을 통해 25℃의 온도가 되도록 조절하고 상기 혼합액을 섬유방사장치를 이용하여 수산화나트륨 용액에 방사하여 섬유 형태의 소재로 제조된다.
- [0041] 이후 에피클로로히드린이 첨가된 수산화나트륨 용액에 방사된 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 첨가하여 안정화시켜 본 발명의 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 제조한다.
- [0042] 본 발명의 일실시예에서는 가교제의 종류 및 첨가량에 따른 미세조류의 아스타잔틴 축적 변화가 있는지 확인하였는데, 에피클로로히드린(ECH)을 사용한 군이 다른 가교제인 글루타르알데히드(GA)를 사용한 군에 비해 미세조류 내 아스타잔틴의 생산(축적)이 더 높은 것으로 나타났다. 또한, 첨가량 분석에서는 0.1mL/L의 양으로 처리한 군이 이 보다 많은 양인 1.0mL/L 및 5.0mL/L의 에피클로로히드린을 첨가한 군에 비해 아스타잔틴의 생산이 더 높은 것으로 나타났다.
- [0043] 가교 안정화가 완료된 본 발명의 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유 소재는 증류수를 사용하여 세척 후, 동결건조한 다음, 미세조류의 배양에 사용될 수 있다.
- [0044] 본 발명에서 제공하는 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유는 미세조류로부터 아스타잔틴의 축적을 증진시킬 수 있으며, 미세조류로부터 아스타잔틴의 대량생산에 이용될 수 있다.
- [0045] 따라서 본 발명은 미세조류가 함유된 배양액에 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 첨가하고 배양하는 단계를 포함하는, 미세조류로부터 아스타잔틴의 축적을 증진시키는 방법을 제공한다.
- [0046] 또한 본 발명은 미세조류가 함유된 배양액에 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 첨가하고 배양하되, 상기 섬유의 첨가는 미세조류 배양 0일째~4일째에 배양액에 첨가하여 12일~14일 동안 배양하는 단계를 포함하는, 미세조류로부터 아스타잔틴의 대량생산방법을 제공한다.
- [0047] 본 발명의 일실시예에서는, 미세조류로부터 아스타잔틴의 축적을 극대화시키고 아스타잔틴을 효과적으로 대량생산할 수 있기 위한, 상기 가교된 섬유의 최적 처리 시점을 분석하였는데, 이를 위해 미세조류의 각기 다른 성장 시점에 본 발명의 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 첨가하고, 배양이 완료된 시점에 아스타잔틴의 생산량을 분석하였다. 이때 상기 성장시점은, 처음 미세조류를 배지에 접종 후, 적응하는 시기인 지연기(0일~8일째), 미세조류들이 활발히 성장 및 분열하는 시기인 지수기(8일~12일째), 미세조류의 성장이 정지하는 시기인 정지기(12일~16일째)의 시작에 각각 상기 가교된 섬유를 첨가하였다.
- [0048] 그 결과, 상기 가교된 섬유를 지연기 시점(4일째)에 처리한 군이 세포 당 아스타잔틴의 함량이 가장 증가한 것으로 나타났다. 한편, 지수기(8일째) 및 정지기 시기(12일째)에 첨가한 군은 지연기 시기에 첨가한 군에 비해 세포 당 아스타잔틴의 함량이 현저하게 감소된 것으로 나타났다.
- [0049] 따라서 본 발명의 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 이용하여 미세조류로부터 아스타잔틴의 축적 및 생산을 극대화시키기 위해서는 미세조류 배양단계에서 상기 본 발명의 섬유 처리 시점이 중요하게 작용한다는 것을 알 수 있었고, 특히 지연기 시점에 처리하는 것이 가장 효과적이라는 것을 알 수 있었다.
- [0050] 또한, 본 발명의 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유 처리량에 따른 아스타잔틴 생산에 미치는 영향을 분석하였는데, mL 당 10^5 미세조류 세포수에 0.5g의 상기 가교된 섬유를 처리하는 것이 가장 효과적임을 알 수 있었다.
- [0051] 이처럼 본 발명에 따른 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유는 미세조류 내에서 아스타잔틴 축적이 향상되도록 작용하여 궁극적으로 미세조류로부터 아스타잔틴의 대량 생산을 가능하도록 한다.
- [0052] 본 발명의 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유는 미세조류 세포막의 불안정성 및 활성산소의 생성을 유도하

고, 아스타잔틴 합성 관련 유전자들의 발현을 유도하여 아스타잔틴의 생산을 촉진시킨다.

[0053] 나아가 본 발명의 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유의 사용은 일회성에 그치는 것이 아니라 반복적으로 재사용이 가능한 특징이 있다.

[0054] 즉, 본 발명은 미세조류에서 아스타잔틴의 축적을 증진시킬 수 있는 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유의 재활용을 위한 회수 방법을 제공할 수 있으며, 상기 방법은 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 이용한 미세조류의 배양이 완료되면, 상기 섬유를 회수하여 1M 수산화나트륨 용액에 첨가하고 교반한 다음, 이후 증류수로 세척하여 후 동결건조하고, 재활용된 섬유는 70% 에탄올 처리 및 UV 조사로 멸균 처리한 후, 건조시키는 단계를 포함한다.

[0055] 구체적으로, 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 미세조류 배양액에 첨가하여 상기 미세조류로부터 아스타잔틴의 생산 유도를 위한 배양이 완료되면, 상기 배양액으로부터 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 거름망을 이용하여 건져낸다.

[0056] 이후 회수된 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유는 1M 수산화나트륨 용액에 첨가하고 교반하여 작용기를 복원시킨다. 이후 증류수로 3회 세척하여 동결건조하고, 재활용된 섬유는 70% 에탄올 처리 및 UV 조사로 멸균 처리한 후, 건조시켜 다시 미세조류의 배양에 첨가하여 재사용한다.

[0057] 본 발명의 실시예에서는, 최초 사용한 섬유를 재활용이 가능하도록 상기 방법으로 처리한 후, 이를 다시 미세조류 배양액에 첨가하여 아스타잔틴의 축적을 유도하는 과정으로 수행하였는데, 수회 반복 사용하여도 아스타잔틴의 축적 유도효과는 높은 수준을 그대로 유지하는 것을 확인할 수 있었다.

[0058] 따라서 본 발명의 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유는 반복적으로 재활용이 가능하므로 경제적으로 매우 유익한 효과가 있다.

[0059] 나아가 상기 본 발명에서 기술한 미세조류는 아스타잔틴을 생산할 수 있는 모든 미세조류를 포함할 수 있고, 바람직하게는 헤마토코쿠스 플루비알리스 (*Haematococcus pluvialis*)일 수 있다.

[0060]

[0061] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0063] <준비예 및 실험방법>

[0064] 미세조류의 배양

[0065] 미세조류로서 헤마토코쿠스 플루비알리스(*Haematococcus pluvialis*) UTEX 2505를 University of Texas, Austin, USA로부터 구입하여 이용하였다. 배양 배지는 OHM(Optimal Haematococcus Medium) 배지를 이용하였으며, 배지의 구성은 0.41g KNO₃, 0.03g Na₂HPO₄, 0.246g MgSO₄·7H₂O, 0.11g CaCl₂·2H₂O, 2.62mg Fe(III)-citrate·H₂O, 0.011mg CoCl₂·6H₂O, 0.12mg CuSO₄·5H₂O, 0.075mg Cr₂O₃, 0.98mg MnCl₂·4H₂O, 0.12mg Na₂MoO₄·2H₂O, 0.005mg SeO₂, 50 µg biotin, 35 µg thiamine 및 30 µg B₁₂를 1L 3차 증류수에 첨가하여 혼합한 후, 121℃에서 20분간 멸균처리한 후, 사용하였다. 미세조류의 접종밀도는 10 X 10⁴ cells/mL가 되도록 250mL 둥근바닥 플라스크에 150mL의 멸균된 OHM과 함께 접종하였다. 25℃에서 배양하였고, 빛은 광량을 50 µmol·m⁻²·s⁻¹로 조정하여 연속적으로 공급하였으며, 0.2 µm 주사기 필터를 통해 여과된 공기를 1 vvm로 주입하였다.

[0067] 아스타잔틴의 측정

[0068] 헤마토코쿠스 플루비알리스의 아스타잔틴 측정은 채취된 시료에 90% 아세톤과 2가지 크기의 구슬(180 µm 및 600 µm)을 첨가하고 Bead-beater(BioSpec 제조)를 이용하여 미세조류를 파쇄한 후, 원심분리를 통해 상층액을 수득한 후, 분광광도계를 이용하여 474nm에서 흡광도를 측정하였다. 아스타잔틴은 산출된 계산식인 (OD₄₇₄-0.0831) / 0.1426 (단위: mg/L)를 기반으로 함량을 계산하였다.

[0070] 활성산소 분석

[0071] 본 발명의 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유(PCF)를 미세조류 배양물에 처리 후, 2일마다 13,000rpm으로 원심분리하여 세포를 수확하고 펠렛을 0.2% 니트로블루 테트라졸륨에 현탁시켰다. 이후 12시간 동안 배양 후, 펠렛을 50% 빙초산에 현탁시킨 후 제거하고, 90% 아세톤과 2가지 크기의 구슬(180 μm 및 600 μm)을 첨가하여 mini-Beadbeater MBB-16(Biospec, USA)을 사용하여 미세조류를 균질화시킨 다음, 560nm에서 상층액에 대한 흡광도를 분석하여 ROS 수준 측정하였다.

[0073] 아스타잔틴 유전자의 발현수준 분석

[0074] 본 발명의 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유(PCF)가 헤마토코쿠스 플루비알리스(*H. pluvialis*)에서 아스타잔틴 생합성 관련 유전자의 발현에 영향을 미치는지 확인하기 위해, 상기 섬유를 4일 간격으로 미세조류에 처리하고 16일째에 세포를 수확하였다. RNeasy Mini Kit(Qiagen, USA)를 사용하여 세포의 프로토콜에 따라 총 RNA를 추출하였고, 이후 AMPIGEN® cDNA 합성 키트(Enzo Life Sciences, USA)를 이용하여 cDNA를 합성하였다. 유전자 발현 수준은 AMPIGEN® qPCR Green Mix Lo-ROX (Enzo Life Sciences, USA) 키트를 사용하여 CFX Connect Real-Time PCR(Bio-Rad, USA)을 통해 분석하였다. 아스타잔틴 생합성에 관여하는 유전자인 BKT 및 CHY와 항상 동일한 발현을 통해 다른 발현의 변화를 표준화시켜주는 actin 유전자 발현수준 분석을 위한 프라이머 서열은 하기 표에 기재된 바와 같다.

표 1

프라이머 서열

Target	Primer	Nucleotide sequence (5'-3')	Encoding gene	NCBI GenelD
BKT	Hbkt4F1	GGCACTAATGGTCGAGCAGAA	Beta-carotene ketolase	D45881
	Hbkt4R1	ACAATGAAGACTGCGGCGATG		
CHY	Hcrt1F1	CATTGCCATCTTCGCCACCTA	Carotenoid hydroxylase	AF162276
	Hcrt1R1	GGGCAGTCCATTGATGATTGC		
actin	HactF2	CTCAGCGTTTAGCCTTGTCTG	Housekeeping	DV203941
	HactR2	GCCATTGACAAGGAGTTCACG		

[0075]

[0077] <실시예 1>

[0078] 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유의 제조

[0079] 5% 아세트산에 저분자량 키토산을 용해시킨 후, 24시간 동안 교반하여 균질화된 3%(w/w)의 키토산 용액을 제조하였다. 교반이 완료된 키토산 용액에 폴리에틸렌이민 용액을 첨가하여 최종 10 μM의 폴리에틸렌이민 및 2%(w/w) 키토산이 함유된 용액을 제조하였고 마이크로파를 이용하여 가열시켜 가교하였다. 이후 교반을 통해 25℃로 온도 조절된 용액을 290 μm의 내경을 가지는 섬유방사장치를 이용하여 1M 수산화나트륨 용액에 방사하여 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 제조하였다. 그런 뒤, 에피클로로하이드린 0.1mL/L가 첨가된 1M 수산화나트륨 용액에 제조된 상기 가교 섬유 소재를 넣고 4시간 동안 37℃에서 가교를 안정화하였다. 가교가 완료된 섬유 소재를 증류수를 사용하여 3회 세척한 후 동결건조 시켰다.

[0081] <실시예 2>

- [0082] **아스타잔틴의 축적 증대를 위한 최적의 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유의 제조조건 확립**
- [0083] 나아가 본 발명자들은 상기 실시예 1에서 제조된 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유에 있어서, 사용한 원료에 따라 아스타잔틴의 축적에 영향을 줄 수 있는지 확인하기 위해 하기와 같이 각 조건을 달리하여 섬유의 제조하였다.
- [0084] 구체적으로, 다양한 폴리에틸렌이민의 농도(10nM, 100nM, 1 μ M, 10 μ M, 100 μ M), 다양한 키토산의 분자량[저 분자량(분자량 범위: 50,000-190,000Da), 중간 분자량(분자량 범위: 190,000-310,000Da), 고 분자량(분자량 범위: 310,000-375,000Da)], 가교제인 글루타르알데히드 및 에피클로로히드린의 농도별(0.1mL/L, 1.0mL/L, 5.0mL/L)에 따른 섬유 소재를 각각 제조하였다.
- [0086] 이후 각 조건을 달리하여 제조한 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 헤마토코쿠스를 포함하는 배양배지에 첨가하여 미세조류에 물리적 스트레스를 가하도록 유도한 후, 섬유를 제거하고 배양물을 수득한 후, 상기 기술된 아스타잔틴의 측정방법을 이용하여 헤마토코쿠스 플루비알리스 내에 축적된 아스타잔틴의 양을 측정하였다.
- [0088] 그 결과, 섬유 제조 시, 폴리에틸렌이민의 농도에 따른 아스타잔틴 및 세포당 아스타잔틴 함량 분석 결과, 폴리에틸렌이민의 농도가 증가할수록 아스타잔틴 축적이 증가하는 것으로 나타났으나, 10 μ M 보다 높은 농도인 100 μ M에서는 오히려 아스타잔틴의 양이 감소하는 것으로 나타났다. 따라서 폴리에틸렌이민의 농도는 10 μ M로 사용하는 것이 가장 효과적이라는 것을 알 수 있었다(도 2a).
- [0089] 또한, 각기 다른 키토산의 분자량으로 제조한 섬유를 사용한 경우, 키토산의 분자량이 증가할수록 세포 밀도가 감소하고, 아스타잔틴 함량도 감소하는 것으로 나타났다. 따라서 키토산 분자량의 증가는 아스타잔틴 축적 유도에 크게 영향을 미치지 못한다는 것을 알 수 있었다(도 2b 및 2c).
- [0090] 또한, 가교제의 종류와 농도를 달리하여 제조한 섬유를 이용한 경우, 가교제로서 에피클로로히드린(ECH)을 사용한 경우가 글루타르알데히드(GA)를 사용한 것에 비해 높은 아스타잔틴 함량 축적을 확인할 수 있었다. 따라서 가교제로는 에피클로로히드린을 사용하는 것이 효과적이라는 것을 알 수 있었다(도 2d).
- [0092] 이러한 결과를 통해 본 발명자들은 헤마토코쿠스 플루비알리스에서 아스타잔틴의 축적을 효과적으로 유도하기 위해서는, 10 μ M의 폴리에틸렌이민과 저 분자량의 키토산을 에피클로로히드린 0.1mL/L로 가교시켜 제조한 섬유를 사용하는 것이 가장 효과적이라는 것을 알 수 있었다.
- [0094] **<실시예 3>**
- [0095] **폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유의 최적 처리 시점 확인**
- [0096] 본 발명자들은 상기 <실시예 1>의 방법으로 제조된 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유에 대해, 헤마토코쿠스 플루비알리스가 함유된 배양액에 처리하는 최적의 적용조건을 확립하기 위해 다음과 같은 실험을 수행하였다.
- [0097] 먼저, 섬유 소재의 첨가량을 달리하고(0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1g), 세포 상태에 따른 섬유 소재의 적용 시점(지연기(배양 4일째), 지수기(배양 8일째), 정체기(배양 12일째))을 달리하여, 각 조건에서의 아스타잔틴 및 세포당 아스타잔틴의 함량을 분석하였다. 이때 상기 소재 첨가는 mL 당 10만개(10×10^4)의 미세 조류로 구성된 150mL의 배양플라스크에 각 섬유를 첨가하였다.
- [0098]
- [0099] 분석 결과, 헤마토코쿠스 플루비알리스가 함유된 배양액에 본 발명의 섬유를 처리하는 양이 증가함에 따라 미세조류의 아스타잔틴 축적이 증진되는 것으로 나타났다. 그러나 0.5g 보다 많은 양인 1g의 섬유를 처리한 군에서는 오히려 아스타잔틴의 양이 감소하는 것으로 나타났다(도 3a).
- [0100] 또한, 미세조류의 세포상태에 따른 적용 시기별(0, 4일-지연기, 8일-지수기, 12일-정체기) 본 발명의 섬유를

첨가하고 세포당 아스타잔틴의 변화량을 분석한 결과, 미세조류 배양 4일째인 지연기에 섬유를 첨가한 경우, 세포당 아스타잔틴의 함량이 급격하게 증가하는 것으로 나타났으나, 지연기를 지난 지수기 및 정체기에 섬유를 첨가한 경우에는 세포당 아스타잔틴의 함량증가 효과가 미비한 것으로 나타났다(도 3b).

[0102] 따라서 이러한 결과를 통해, 본 발명에 따른 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 이용하여 미세조류로부터 아스타잔틴의 생산을 최대화하기 위해서는, 0.5g의 PCF 섬유/10만개의 미세조류 세포수 양으로 첨가하되, 지연기에 해당하는 배양 4일째에 섬유를 첨가하는 것이 가장 효과적임을 알 수 있었다.

[0104] <실시예 4>

[0105] 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유가 미세조류에 미치는 영향분석

[0106] 상기 실시예들을 통해 본 발명자들은 본 발명의 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 이용할 경우, 헤마토크루스 플루비알리스에서 아스타잔틴의 축적을 효과적으로 증진시킬 수 있음을 확인하였다.

[0107] 이에 본 발명자들은 본 발명의 섬유소재가 미세조류에 미치는 영향을 확인하기 위해, 본 발명의 섬유 소재에 대한 첨가 시간별 미세조류 내의 활성산소 발현과 아스타잔틴 합성 관련 유전자들의 발현의 변화를 분석하였다.

[0108] 일반적으로 헤마토크루스에서 아스타잔틴 합성은 활성산소에 방어 기작으로 생산이 촉진된다고 알려져 있어, 활성산소의 측정을 통해서 아스타잔틴의 축적 또는 합성 정도를 예측할 수 있다. 또한, 아스타잔틴 합성과 관련된 BKT(β -carotene ketolase), CHY(β -carotene hydroxylase)의 유전자 발현 변화를 통해 아스타잔틴 합성 증진 여부를 확인할 수 있다.

[0110] 분석 결과, 도 4에 나타낸 바와 같이, 본 발명의 섬유를 처리하지 않은 대조군에 비해 본 발명의 섬유를 처리한 군에서 활성산소의 생성 및 아스타잔틴 합성 관련 유전자(BKT 및 CHY)의 발현 수준이 증가한 것으로 나타났다.

[0111] 구체적으로, 활성산소의 수준은 섬유를 처리한 군이 대조군에 비해 3배 이상으로 증가하며, 섬유 처리 후, 4일째까지 활성산소의 수준이 증가하다가 이후 차츰 감소하는 것으로 나타났다(도 4a).

[0112] 또한, 아스타잔틴 합성 관련 유전자 발현수준 분석 결과도, BKT 및 CHY 유전자의 발현수준이 섬유 처리 후, 4일째 대조군보다 12배 이상 현저하게 증가하는 것으로 나타났고 이후 시간이 지날수록 차츰 감소하는 것으로 나타났다(도 4b 및 4c).

[0114] 이러한 결과를 통해 본 발명자들은 본 발명의 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 미세조류에 처리한 경우, 미세조류에서 활성산소의 생성을 증가시키고 이러한 스트레스 유도에 의해 아스타잔틴 합성 관련 유전자들의 발현을 증가시켜 아스타잔틴 합성 및 축적이 증진된다는 것을 알 수 있었다. 특히 본 발명의 섬유 처리 후, 4일째에 활성산소 및 아스타잔틴 합성 관련 유전자들 발현이 최대로 증가한 것으로 나타났는데, 이러한 결과는 앞서 본 발명의 섬유 처리 최적 시점을 확인한 실시예 3의 결과와도 일치하는 것을 알 수 있다.

[0116] <실시예 5>

[0117] 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유의 회수 및 재활용 가능성 확인

[0118] 나아가 본 발명자들은 본 발명에서 제조한 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유를 회수하여 다시 재활용이 가능한지 확인하기 위한 실험을 수행하였다. 즉, 섬유 소재를 재활용하였을 때에도 미세조류의 아스타잔틴 축적이 지속적으로 유도될 수 있는지 확인하기 위해, 상기 실시예 3에서 사용한 본 발명의 섬유 소재를 눈금 간격 100 μ m인 거름망을 이용하여 회수하였고, 회수된 섬유는 1M 수산화나트륨용액에 넣고 격렬하게 교반하여 섬유의 작용기를 회복시켰다. 이후 증류수로 3회 이상 세척하여 잔여 염류를 제거 한 후 동결건조하였다. 재활용된 섬유는 10분 동안 70% 에탄올 처리 이후 UV 조사로 멸균하였고 클린벤치에서 4시간 이상 건조시켰다.

[0120] 상기 실시예 3에서는 본 발명의 섬유를 처음으로 사용하였고(PCF-0R), 앞서 기술한 방법으로 회수된 섬유를 1회 재활용하였으며(PCF-1R), 1회 재활용한 섬유를 다시 상기 방법으로 회수하여 2회 재활용하였다(PCF-2R). 이후 각 실험군의 미세조류에서 아스타잔틴 축적 유도 효율을 분석하였다.

[0122] 그 결과, 도 5에 나타난 바와 같이, 본 발명의 섬유를 처음 사용한 군을 아스타잔틴 유도 효율 100%로 한다면, 1회 재사용의 경우, 아스타잔틴 유도 효율이 93.4%인 것으로 나타났고, 2회 재사용의 경우, 1회 재사용한 경우와 거의 유사한 유도 효율(93.0%)을 보임을 확인할 수 있었다.

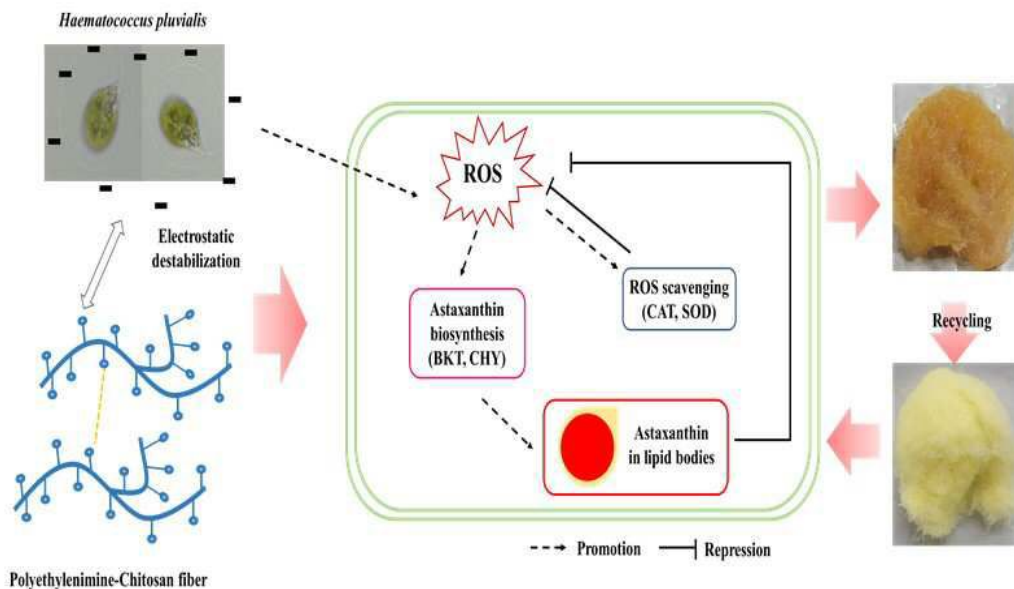
[0123]

[0124] 이러한 결과를 통해 본 발명자들은 폴리에틸렌이민과 키토산이 가교된 섬유는 미세조류의 아스타잔틴 축적을 효과적으로 유도할 수 있을 뿐만 아니라, 사용 후 다시 재활용이 가능하며 수차례 반복적인 사용에도 불구하고 90% 이상의 높은 아스타잔틴 축적 유도 효율을 지속적으로 유지할 수 있어 경제적으로도 유용한 효과가 있음을 알 수 있었다.

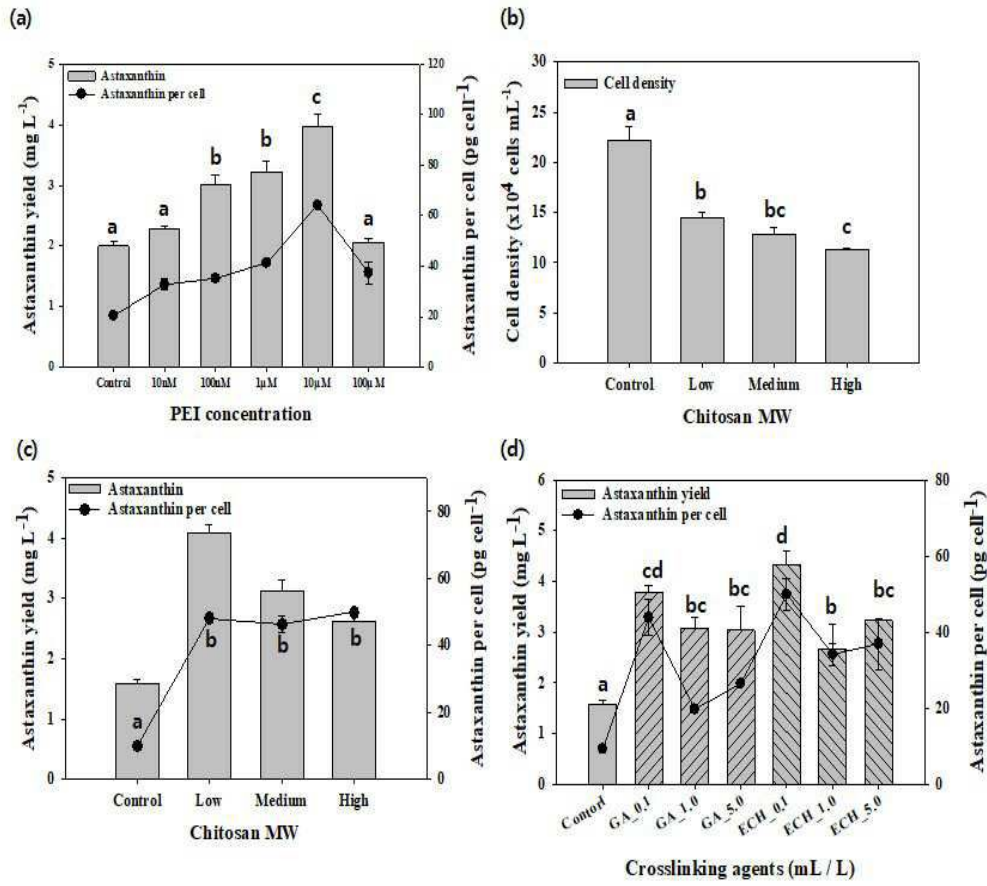
[0126] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

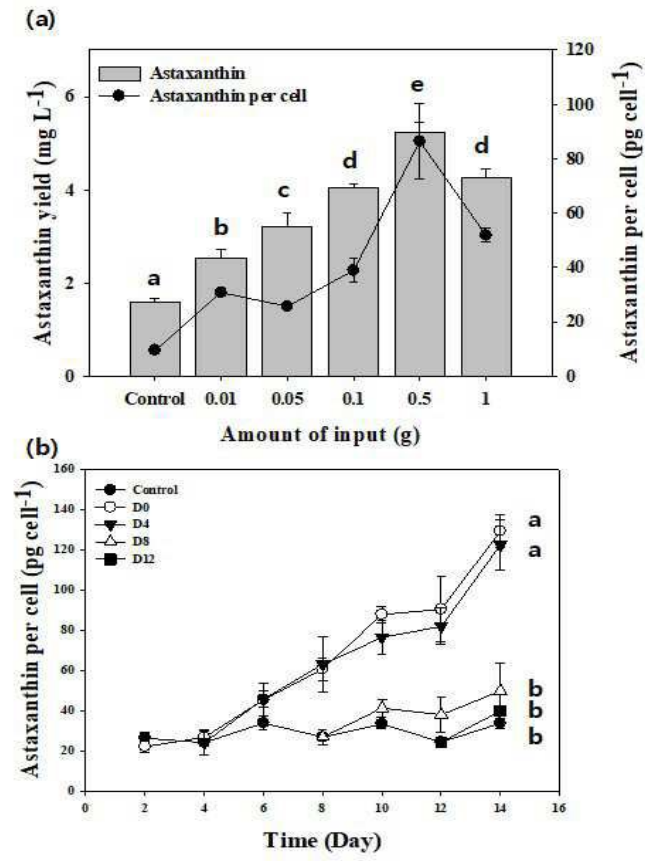
도면1



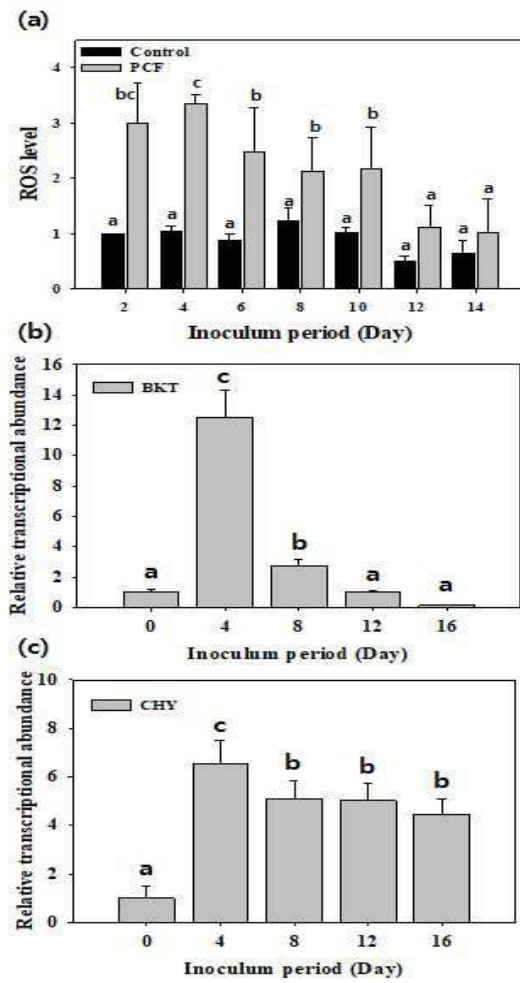
도면2



도면3



도면4



도면5

