



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2015년01월21일

(11) 등록번호 10-1484732

(24) 등록일자 2015년01월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C02F 1/50 (2006.01) *C12N 1/12* (2006.01)

(21) 출원번호 10-2013-0009459

(22) 출원일자 2013년01월28일

심사청구일자 2013년01월28일

(65) 공개번호 10-2014-0097678

(43) 공개일자 2014년08월07일

(56) 선행기술조사문헌

KR100562456 B1*

KR1020020080826 A*

KR1020110098407 A*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

한국과학기술원

대전광역시 유성구 대학로 291(구성동)

(72) 발명자

임성갑

대전광역시 유성구 대학로 291 한국과학기술원 생명화학공학과

양지원

대전광역시 유성구 대학로 291 한국과학기술원 생명화학공학과

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이처영

전체 청구항 수 : 총 6 항

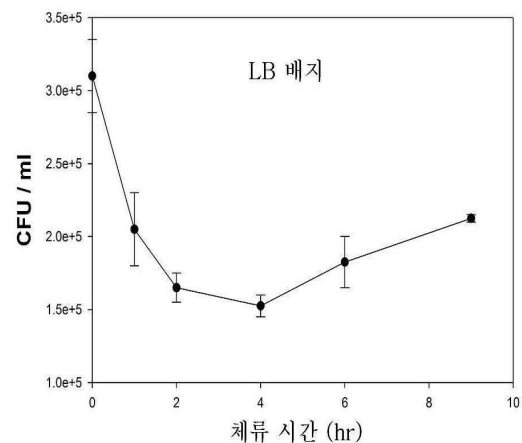
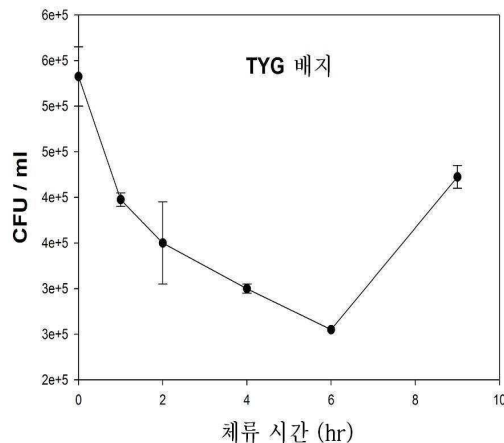
심사관 : 박지형

(54) 발명의 명칭 고분자 박막으로 전처리한 폐수를 이용한 미세조류의 배양 방법

(57) 요약

본 발명은 고분자 박막을 형성하는 단계, 상기 고분자 박막을 이용하여 폐수를 전처리하는 단계 및 상기 전처리된 폐수를 배지로 하여 미세조류를 배양하는 단계를 포함하는 미세조류 배양 방법에 관한 것이다. 본 발명에 의해 폐수를 양이온성 고분자로 전처리하면 폐수 내의 박테리아의 개체수가 감소하게 되어 미세조류의 생산성을 높일 수 있으며, 폐수의 오염물질을 효과적으로 제거할 수 있다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

유영민

서울특별시 송파구 잠전로9길 15 202호

남기복

경기 화성시 봉담읍 동화길 82, 100동 202호 (동화마을동일하이빌아파트)

임준택

서울 은평구 불광로2길 7, 101동 1301호 (불광동, 북한산현대홈타운아파트)

박민성

대전광역시 유성구 대학로 291 한국과학기술원

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 ABC-2011-0031356

부처명 교육과학기술부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 글로벌프론티어사업

연구과제명 바이오매스 당화 반응시스템 및 당화액 내 독성물질 제거 기술 개발

기 여 율 1/3

주관기관 한국과학기술원

연구기간 2012.09.01 ~ 2013.08.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 ABC-2010-0029728

부처명 교육과학기술부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 글로벌프론티어사업

연구과제명 일화 공정 개발 유기성 폐수를 활용한 미세조류 대량생산 및 저에너지 소모형 미세조류 배양/수확/추출 단

기 여 율 1/3

주관기관 한국과학기술원

연구기간 2012.09.01 ~ 2015.08.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2012T100201665

부처명 지식경제부

연구관리전문기관 한국에너지기술평가원

연구사업명 에너지기술개발사업

연구과제명 디젤 연료화 통합시스템 실증 300톤급 PBR-Open pond 하이브리드형 배양 시스템을 이용한 미세조류 바이오매스 양산 및

기 여 율 1/3

주관기관 한국과학기술원

연구기간 2012.10.01 ~ 2015.09.30

특허청구의 범위

청구항 1

삭제

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

하기의 단계를 포함하는 미세조류 배양 방법:

- (i) 유리, 금속, 금속 산화물, 목재, 종이, 섬유, 플라스틱, 고무, 피혁 및 실리콘 웨이퍼로 이루어진 군에서 선택되는 지지체의 표면에 양이온성 고분자를 증착하여 고분자 박막을 형성하는 단계;
- (ii) 폐수와 상기 고분자 박막을 교반하여 폐수 내의 박테리아를 제거하는 단계; 및
- (iii) 상기 박테리아가 제거된 폐수를 배지로 하여 미세조류(microalgae)를 배양하는 단계.

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

제 9항에 있어서, 상기 양이온성 고분자는 폴리디메틸아미노메틸스티렌(polydimethylaminomethylstyrene; PDMA_{MS}), 폴리비닐아민, 폴리아미노아미드, 폴리-2-디메틸아미노에틸메타크릴레이트(pDMAEMA), 폴리-1-비닐피롤리돈(p1-VP), 폴리에틸아미노에틸아크릴레이트(pDEAEA), 폴리디메틸아미노에틸아크릴레이트(pDMAEA) 및 폴리에틸아미노에틸메타크릴레이트(pDEAMA)로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 미세조류 배양 방법.

청구항 13

제 9항에 있어서, 상기 증착은 화학적 기상 증착법(CVD) 또는 플라즈마 화학 증착법(PECVD)으로 수행되는 것을 특징으로 하는 미세조류 배양 방법.

청구항 14

제 9항에 있어서, 상기 고분자 박막은 200 nm ~ 5 μ m의 두께인 것을 특징으로 하는 미세조류 배양 방법.

청구항 15

제 9항에 있어서, 상기 미세조류는 클로렐라 속(*Chlorella* sp.)인 것을 특징으로 하는 미세조류 배양 방법.

청구항 16

제 15항에 있어서, 상기 클로렐라 속은 클로렐라 불가리스(*Chlorella vulgaris*), 클로렐라 프로토테코이드(*Chlorella protothecoides*), 클로렐라 케슬레리(*Chlorella kessleri*), 클로렐라 루테오비리디스(*Chlorella luteoviridis*), 클로렐라 스파에리카(*Chlorella sphaerica*), 클로렐라 피레노이도사(*Chlorella pyrenoidosa*), 클로렐라 살리나(*Chlorella salina*), 클로렐라 맥시마(*Chlorella maxima*) 및 클로렐라 플라텐시스(*Chlorella platensis*)로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 미세조류 배양 방법.

명세서

기술 분야

[0001]

본 발명은 고분자 박막으로 전처리한 폐수를 이용한 미세조류의 배양 방법에 관한 것으로, 보다 구체적으로는, 고분자 박막을 이용하여 폐수를 전처리한 뒤, 상기 전처리된 폐수를 배지로 하여 미세조류를 배양하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002]

축산 폐수는 일반 오·폐수와 달리 고농도의 유기성 오염물과 영양염류를 함유하고 있어 국내에서 발생하는 총 오·폐수 발생량 중에서 물량은 0.5% 내외에 불과하지만 수계에 미치는 오염 부하율은 18%에 달하는 것으로 알려져 있다. 이러한 고농도의 축산 폐수는 하천의 수질 악화 및 부영양화를 초래하여, 식수원을 위협할 뿐만 아니라 토양 및 지하수의 오염을 가속화시키는 문제가 있다.

[0003]

그러나 급증하는 축산 폐수의 발생량에 비해, 축산 폐수 처리 시설의 노후화 및 부적절한 공법의 선정으로 인하여 처리 효율이 저조하거나 방류수의 법적 기준을 유지하지 못한 상태로 하천에 방류되고 있는 실정이다. 최근 들어 하천의 부영양화를 초래하는 유기물질, 질소/인 화합물에 대한 방류기준이 엄격히 적용되고 있으므로, 이에 대한 고도처리 기술의 개발이 시급하다.

[0004]

종래에는 축산 폐수로부터 영양염류를 제거하기 위하여 활성 슬러지법과 생물막법 등 다양한 물리적, 화학적, 생물학적 방법들이 사용되어 왔다. 이런 방법들을 단일 혹은 복합적으로 사용하면 영양염류를 양호한 수준으로 제거할 수 있지만, 높은 운전 비용, 다량의 화학약품 요구, 과도한 슬러지의 발생 등의 단점이 있다. 따라서 이러한 전통적인 폐수처리 방법을 대신하여 미세조류를 이용하는 처리 시스템이 유기물 및 영양염류 제거 방법의 대안으로 고려되고 있다.

[0005]

한편, 미세조류의 경우 다른 광합성 식물보다 생장이 빠르고, 단위 면적당 높은 생산성을 나타내어 지속 가능한 바이오에너지원으로 각광받고 있다. 그러나 많은 이점에도 불구하고, 조류-기반 바이오디젤의 상업적 생산을 위해서는 해결되어야 할 몇몇 문제점들이 존재한다. 예를 들어, 대량 배양을 위한 빛 침투의 한계, 조류 바이오매스의 높은 수확 비용, 그리고 물-의존적 배양으로 인해 광합성 생물체에 의해 요구되는 엄청난 물의 양 등이 문제점으로 지적되고 있다(Gerbens-Leenes et al., 2009. PNAS. 106, 10219-10223).

[0006]

질소 및 인과 같은 폐수 내의 영양소는 환경으로 배출되기 전에 제거되어야 하는데, 상기 영양소는 미세조류의 광합성에서 바이오매스로의 흡수에 의해 제거될 수 있다. 따라서, 폐수는 미세조류를 배양하는데 이미 사용되었지만, 주된 목적은 영양소를 제거하는데 있었다(Lim et al., 2010, Bioresour. Technol. 101, 7314-7322). 최

근에는, 폐수에서의 미세조류의 배양은 영양소 제거를 위한 과정뿐 아니라 바이오디젤의 공급 연료로서 미세조류의 대량 배양에서 요구되는 물 및 영양소를 공급하는 과정으로도 그 개념이 확장되었다(Chinnassamy et al., 2012, Bioresour. Technol. 101, 3097-3105).

[0007] 광합성을 기반으로 한 바이오에너지 생산에 있어 미세조류와 같은 광합성 생물체의 배양을 위해서는 엄청난 양의 물을 필요로 할 것이나, 다행히 미세조류가 폐수, 해수 또는 담수와 같은 다양한 수원을 이용할 수 있다는 것이 알려져 있다(NREL report, 1998, National Renewable Energy Laboratory report/TP-580-24190, p.217). 그러나, 일반적으로 재사용되는 폐수는 미세조류의 성장을 억제할 수 있는 엄청난 수의 세균을 포함하며, 세균의 생장은 미세조류의 성장보다 더 빠르다. 폐수 내 잔존하는 박테리아는 미세조류를 섭식하고, 미세조류부근에 존재하여 빛의 이용을 저해함으로써 미세조류 성장에 장애를 유발시킬 수 있다.

[0008] 대한민국 등록특허 제10-1061035호에서는 미세조류를 유기성 폐자원을 이용하여 배양하는 단계를 포함하는 미세조류 배양 방법을 제공하나, 폐수를 가용화하기 위하여 초음파 분해 또는 오존 살균을 실시해야 하므로 시설비 및 운영비가 고가이므로 경제적이지 못하다. 또한, 대한민국 공개특허 제10-2012-0016800호에서는 폐수 내성이 강하여 폐수 내의 질소와 인을 제거할 수 있고, 고품질의 바이오디젤 생산에 매우 효과적인 신킨주 클로렐라 불가리스를 개시하고 있으나, 폐수의 전처리 방법에 대해서는 개시한 바 없다.

[0009] 이에, 본 발명자들은 상기 문제점을 해결하기 위하여 예의 노력한 결과, 고분자 박막을 이용하여 폐수를 전처리하면 폐수 내의 박테리아가 감소한다는 것을 확인함과 아울러, 상기 전처리된 폐수에서 미세조류를 배양하면 종래의 방법에 비하여 생산성이 증가한다는 것을 확인하고 본 발명을 완성하게 되었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명의 목적은 미세조류의 생산성을 높이기 위하여 고분자 박막으로 전처리한 폐수에서 미생물을 배양하는 방법을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0011] 상기 목적을 달성하기 위하여, (i) 지지체 표면에 양이온성 고분자를 증착하여 고분자 박막을 형성하는 단계; 및 (ii) 폐수와 상기 고분자 박막을 교반하여 폐수 내의 박테리아를 제거하는 단계를 포함하는 고분자 박막을 이용한 폐수의 전처리 방법을 제공한다.

[0012] 본 발명의 다른 목적은 (i) 지지체 표면에 양이온성 고분자를 증착하여 고분자 박막을 형성하는 단계; (ii) 폐수와 상기 고분자 박막을 교반하여 폐수 내의 박테리아를 제거하는 단계; 및 (iii) 상기 박테리아가 제거된 폐수를 배지로 하여 미세조류(microalgae)를 배양하는 단계를 포함하는 미세조류의 배양 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0013] 본 발명에 따른 미세조류 배양 방법은 미세조류의 성장을 방해하는 박테리아를 처리하는데 유용하며, 미세조류를 대량 배양할 수 있어 경제적이며, 처리가 지속적으로 요구되고 있는 축산 폐수 등의 활용이 가능하기에 유용하다. 또한, 저렴한 비용으로 폐수를 처리할 수 있으며, 바이오화합물, 의약품, 건강 기능성 식품, 바이오 연료 및 단백질 가수분해산물 등의 생산에 유용한 미세조류의 생산성을 극대화할 수 있어 특히 유용하다.

도면의 간단한 설명

[0014] 도 1은 축산폐수를 pDMAMS로 처리할 경우 세포 생존률에 미치는 영향을 나타낸 것이다.

도 2는 1) 전처리를 하지 않은 축산 폐수, 2) 오토클레이브로 전처리한 축산 폐수, 3) 필터링(pore size = 0.2 μ m)으로 전처리한 축산 폐수, 4) pDMAMS로 전처리한 축산 폐수에서 각각 *Chlorella vulgaris*를 배양한 결과를

나타낸 것이다.

도 3은 1) 전처리를 하지 않은 축산 폐수, 2) 오토클레이브로 전처리한 축산 폐수, 3) 필터링(pore size = 0.2 μm)으로 전처리한 축산 폐수, 4) pDMAMS로 전처리한 축산 폐수에서 *Chlorella vulgaris*를 배양할 때 클로로필 함량을 나타낸 것이다.

도 4는 1) 전처리를 하지 않은 축산 폐수, 2) 오토클레이브로 전처리한 축산 폐수, 3) 필터링(pore size = 0.2 μm)으로 전처리한 축산 폐수, 4) pDMAMS로 전처리한 축산 폐수에서 *Chlorella vulgaris* 배양 전후의 화학적 산소 요구량을 나타낸 것이다.

도 5는 1) 전처리를 하지 않은 축산 폐수, 2) 오토클레이브로 전처리한 축산 폐수, 3) 필터링(pore size = 0.2 μm)으로 전처리한 축산 폐수, 4) pDMAMS로 전처리한 축산 폐수에서 *Chlorella vulgaris*를 배양할 때 질소 농도의 변화를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0015] 다른 식으로 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 숙련된 전문가에 의해서 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 일반적으로, 본 명세서에서 사용된 명명법은 본 기술 분야에서 잘 알려져 있고 통상적으로 사용되는 것이다.
- [0016] 본 발명에서는 양이온성 고분자를 이용하여 전처리한 폐수에서 미세조류를 배양하면, 미세조류의 생산성이 증가할 뿐 아니라 폐수 내의 오염 물질의 제거에 효과가 있음을 확인하고자 하였다.
- [0017] 따라서 본 발명은 일 관점에서, (i) 지지체 표면에 양이온성 고분자를 증착하여 고분자 박막을 형성하는 단계; 및 (ii) 폐수와 상기 고분자 박막을 교반하여 폐수 내의 박테리아를 제거하는 단계를 포함하는 고분자 박막을 이용한 폐수의 전처리 방법을 제공한다.
- [0018] 또 다른 관점에서 본 발명은 (i) 지지체 표면에 양이온성 고분자를 증착하여 고분자 박막을 형성하는 단계; (ii) 폐수와 상기 고분자 박막을 교반하여 폐수 내의 박테리아를 제거하는 단계; 및 (iii) 상기 박테리아가 제거된 폐수를 배지로 하여 미세조류(microalgae)를 배양하는 단계를 포함하는 미세조류 배양 방법을 제공한다.
- [0019] 상기 미세조류의 배양 단계에서, 미세조류의 성장에 필요한 영양원(질소 및 인)은 폐수로부터 충분히 공급되므로, 추가적인 영양원의 공급 없이 미세조류의 대량 배양이 가능하다. 상기 미세조류의 배양 단계에서, 광합성에 필요한 이산화탄소는 당업계에서 통상적으로 사용되는 임의의 방법을 이용하여 추가 공급될 수 있다.
- [0020] 본 발명에서 고분자 박막은 지지체의 표면에 형성된다. 상기 지지체는 특별히 제한되지 않으나, 이용 목적에 따라서, 유리, 금속, 금속 산화물, 목재, 종이, 섬유, 플라스틱, 고무, 피혁, 실리콘 웨이퍼 등을 이용할 수 있다. 또한 상기 플라스틱으로는 폴리에틸렌(polyethylene, PE), 폴리프로필렌(polypropylene, PP), 폴리스티렌(polystyrene, PS), 폴리에틸렌 테레프탈레이트(polyethylene terephthalate, PET), 폴리아미드(polyamides, PA), 폴리에스터(polyester, PES), 폴리염화비닐(polyvinyl chloride, PVC), 폴리우레탄(polyurethanes, PU), 폴리카보네이트(polycarbonate, PC), 폴리염화비닐리덴(polyvinylidene chloride, PVDC), 폴리테트라플루오르에틸(polytetrafluoroethylene, PTFE), 폴리에트르에테르케톤(polyetheretherketone, PEEK), 폴리에트라이미드(polyetherimide, PEI) 등을 예시할 수 있다.
- [0021] 본 발명에서 상기 양이온성 고분자는 양전하(positive charge)를 가지고 있어, 음전하를 가지는 박테리아의 세포벽 표면과 결합하여 세포벽을 파괴할 수 있는 고분자라면 어느 것이라도 가능하며, 폴리디메틸아미노메틸스티렌(polydimethylaminomethylstyrene; PDMAMS), 폴리비닐아민, 폴리아미노아미드, 폴리-2-디메틸아미노에틸메타크릴레이트(pDMAEMA), 폴리-1-비닐피롤리돈(p1-VP), 폴리디에틸아미노에틸아크릴레이트(pDEAEA), 폴리디메틸아미노에틸아크릴레이트(pDMAEA) 또는 폴리디에틸아미노에틸메타크릴레이트(pDEAMA) 일 수 있으며, 바람직하게는 폴리디메틸아미노메틸스티렌(polydimethylaminomethylstyrene; PDMAMS)일 수 있다. 상기 고분자는 말단에 양전하를 띠고 있는 질소를 포함하는 3차 아민(tertiary amine)이 음전하를 띠고 있는 박테리아와 접촉하여 세포벽에서 전하 분열(charge disruption)을 발생시켜 세포벽을 파괴함으로써, 폐수를 미세조류를 배양하기 유리한 상태로 만든다.
- [0022] 상기 고분자 박막은 화학적 기상 증착법(CVD) 또는 플라즈마 화학 증착법(PECVD)을 이용하여 형성할 수 있으며, 본 발명에서는 개시제를 이용한 화학 기상 증착법(initiated chemical vapor deposition)을 이용하여 고분자 박막을 형성하였다. 양이온성 고분자 박막으로 폐수를 전처리함으로써, 박테리아에 의한 오염을 배제하고, 미세

조류에 의한 폐수 내의 영양물의 흡수율을 높일 수 있다.

[0023] 본 발명에 의해 형성되는 고분자 박막은 200 nm ~ 5 μ m 두께일 수 있으며, 박막의 두께가 200 nm 미만일 경우에는 폐수의 미생물을 파괴하는 효율이 떨어지며, 5 μ m를 초과할 경우에는 고분자를 증착하는데 장시간이 걸린다는 문제가 있다.

[0024] 본 발명에서는 폐수는 질소와 인을 다량 포함하여 오염된 수질을 통칭하는 것으로 하수 슬러지, 정수 슬러지, 하수처리장 유입수, 방류수, 산업폐수, 축산폐수 등을 의미한다. 본 발명에서는 하기 표 1의 조성을 갖는 축산 폐수를 이용하였다.

표 1

[0025]

변수	농도(mg/L)
pH	7.75
총 고형물 (Total solid)	19,560 $\pm$ 156
휘발성 고형물 (Volatile solid)	13,070 $\pm$ 184
총 부유 고형물 (Total suspended solid)	15,913 $\pm$ 641
휘발성 부유 고형물 (Volatile suspended solid)	11,183 $\pm$ 401
화학적 산소 요구량 (Chemical oxygen demand)	24,050 $\pm$ 495
용해성의 화학적 산소 요구량 (Soluble chemical oxygen demand)	8,320 $\pm$ 424
총 질소(Total nitrogen)	1,544.3 $\pm$ 1.0
-NH ₄ ⁺ -N	1,499.6 $\pm$ 1.0
-NO ₃ ⁻ -N	44.7 $\pm$ 0.0
-NO ₂ ⁻ -N	검출되지 않음
총 인(Total phosphorous)	88.2 $\pm$ 2.0
Al ⁺	0.1
Ca ²⁺	77.7
Fe ²⁺	0.2
K ⁺	487.8
Mg ²⁺	7.0

[0026] 본 발명에서 미세조류는 폐수에 대해 내성을 가지며, 폐수에서 성장이 빠르고, 인과 질소의 제거능이 우수한 것으로 알려진 미세조류라면 어느 것이라도 가능하며, 클로렐라 속(*Chlorella* sp.), 세네데스무스 속(*Scenedesmus* sp.), 두안리엘라 속(*Duanliella* sp.), 난노클로리스 속(*Nannochloris* sp.), 비둘피아 속(*Biddulphia* sp.), 케토세로스 속(*Chaetoceros* sp.), 모노두스 속(*Monodus* sp.), 파리에토클로리스 속(*Parietochloris* sp.), 에밀리아니아 속(*Emiliania* sp.), 이소크리시스 속(*Isochrysis* sp.), 패모나스 속(*Phaemonas* sp.), 글로소마스트릭스 속(*Glossomastrix* sp.), 아파노캡사 속(*Aphanocapsa* sp.), 스피루리나 속(*Spirulina* sp.), 트리코데스뮴 속(*Trichodesmium* sp.), 헤미셀미스 속(*Hemiselmis* sp.), 로도모나스 속(*Rhodomonas* sp.), 짐노디늄 속(*Gymnodinium* sp.), 스크립시엘라 속(*Scrippsiella* sp.)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니며, 바람직하게는 클로렐라 속(*Chlorella* sp.)이다.

[0027] 상기 클로렐라 속은 클로렐라 불가리스(*Chlorella vulgaris*), 클로렐라 프로토테코이드(*Chlorella protothecoides*), 클로렐라 케슬러(*Chlorella kessleri*), 클로렐라 루테오비리디스(*Chlorella luteoviridis*), 클로렐라 스파에리카(*Chlorella sphaerica*), 클로렐라 피레노이도사(*Chlorella pyrenoidosa*),

클로렐라 살리나(*Chlorella salina*), 클로렐라 맥시마(*Chlorella maxima*) 또는 클로렐라 플라텐시스(*Chlorella platensis*)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니며, 바람직하게는 클로렐라 불가리스이다.

[0028] 폴리디메틸아미노메틸스티렌(polydimethylaminomethylstyrene; PDMAAMS)으로 전처리한 축산 폐수에서 *C. vulgaris* 배양한 결과, 배양 전후의 화학적 산소 요구량(COD, Chemical Oxygen Demand)이 큰 차이를 나타낸 것을 확인할 수 있었다(도 4). 배양 종료 후에 잔존 COD 농도는 초기 COD의 약 10%의 수준으로 측정되어, *C. vulgaris* 배양을 통하여 축산 폐수에 존재하는 질소의 약 90%를 제거할 수 있는 것으로 확인되었다. 또한 도 5를 통하여, *C. vulgaris*를 축산 폐수에서 배양함에 따라 축산 폐수 내에 다량 함유된 질소의 농도가 감소함을 확인할 수 있다. 이는 본 발명에 따른 미세조류의 배양이 축산 폐수 내의 오염물질을 제거하는데 효과가 있음을 보여준다.

[0029] 즉, 고분자 박막을 이용한 폐수의 전처리를 통해 박테리아를 제거함으로써 미세조류의 생장이 촉진될 수 있으며, 이로 인해 질소의 고갈이 빠르게 진행될 수 있다. 상기 질소의 고갈을 미세조류가 인지하여 미세조류 내 지질의 축적이 증진되며, 이에 따라 지질 함량이 증진된 미세조류를 제공할 수 있다.

[0030] [실시예]

[0031] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0032] 실시예 1: 고분자 박막 제조

[0033] iCVD(initiated chemical vapor deposition) 반응기(대기 하이테크사)의 단량체통에 디메틸아미노메틸스티렌(Dimethylaminomethylstyrene, 아크로스)(DMAAMS)을 넣고, 50℃로 가열하였다. TBPO(tert-butyl peroxide, 알드리치)를 개시제로 하여, 이를 개시제통에 넣고 상온으로 유지하였다. 그 후, 단량체(monomer)와 개시제를 2:1의 비율로 혼합하여 iCVD 반응기 내에서 흐르게 하였다. 반응기 내의 필라멘트의 온도는 200℃로 유지하였다. 반응기 내의 기판 온도를 30℃로 유지하였고, 기판 위에 10cm * 10cm로 자른 나일론 메쉬(100 μ m, 을지 와이어 메쉬)를 올려 평평하게 고정하였다. 챔버 내의 압력은 200 mTorr로 유지하였다. 시간이 흐른 뒤, 1 μ m 두께의 pDMAAMS(poly-DMAAMS)가 쌓인 나일론 메쉬를 얻을 수 있었다. 동일한 방법을 이용하여 나일론 메쉬의 뒷면에도 pDMAAMS를 증착하였다.

[0034] 실시예 2: 고분자 박막을 이용한 폐수의 전처리

[0035] 50 mL의 팔콘 튜브에 가축 분뇨 및 도축 부산물이 혼합된 축산 폐수(농촌진흥청, 국립축산과학원) 30 mL와 pDMAAMS가 코팅된 나일론 메쉬를 2.5cm * 5cm 크기로 잘라서 함께 넣고, 뚜껑을 닫아 옆으로 눕힌 다음, 진탕기(Green Sseriker, 비전과학)를 이용하여 200 rpm으로 교반하였다.

[0036] 교반 직후, 1시간, 2시간, 4시간, 6시간, 9시간 후에 각각 샘플링을 한 뒤 이를 100배 희석하여 20 μ L씩 TYG(Tryptone-Yeast extract-Glucose) 배지와 LB 배지에 살포하였다. 이를 상온에서 24시간 배양한 후, CFU 방법(Colony Forming Unit)을 이용하여 각 배지에 생성된 콜로니의 개수를 확인하였다. 모든 분석은 반복하여 행하였다.

[0037] 그 결과 도 1에 나타난 바와 같이, pDMAAMS로 축산 폐수를 처리할 경우 박테리아 개체 수가 감소한다는 사실을 확인할 수 있었다. TYG 배지에서는 약 51.1%의 박테리아 개체가 감소하였고, LB 배지에서는 약 50.8%의 박테리아 개체가 감소하였다. 이는 나일론 메쉬의 막(membrane)에 코팅된 pDMAAMS 고분자의 작용에 기인한 것으로, pDMAAMS 고분자에 의하여 박테리아의 세포벽이 파괴되는 원리는 다음과 같다. 나일론 메쉬에 코팅된 고분자 아민 그룹은 양 전하(positive charge)를 띠므로, 이는 박테리아 세포벽 표면의 음 전하(negative charge)와 결합할 수 있다. 이때, 막 표면에 긴 사슬 형태로 증착된 pDMAAMS 고분자의 자연적인 유동성으로 인한 교반(agitation) 효과에 의해 고분자와 결합한 세포벽의 물리적인 파괴가 발생하게 된다.

[0038]

실시예 3: 폐수에서의 미세조류 배양

[0039]

Chlorella vulgaris UTEX 264 균주를 100 ml의 액체 TAP 배지에서 5일간 배양하였다. 그 후 1) 전처리를 하지 않은 축산 폐수, 2) 오토클레이브로 전처리한 축산 폐수, 3) 필터링(pore size = 0.2 μ m)으로 전처리한 축산 폐수, 4) pDMAMS로 전처리한 축산 폐수에 초기 접종량이 0.1 g/L가 되도록 접종을 하였다. 축산 폐수의 TN 농도는 240 mg/L로 맞추었다. 100%의 이산화탄소와 공기를 혼합하여 제조한 2%의 이산화탄소를 주입하면서 140 rpm의 진탕기 조건 하에서 8일간 배양하였다. 미세조류의 성장은 헤모사이토미터(hemocytometer)를 이용하여 현미경으로 관찰하면서 세포 계수법으로 확인하였다. 배양액의 클로로필 농도는 PL(Photo Luminescence) 분석기기를 이용하여 측정하였다.

[0040]

도 2는 축산 폐수에서 *Chlorella vulgaris*를 배양한 결과를 나타낸 것으로, 오토클레이브로 전처리한 축산 폐수에서의 *C. vulgaris*가 가장 높은 생산성을 보여주는 것을 확인할 수 있었고, pDMAMS 접촉으로 전처리한 축산 폐수에서 배양한 *C. vulgaris*는 전처리 하지 않은 축산 폐수에서 배양한 것보다 28.1% 가량 높은 생산성을 나타내었다.

[0041]

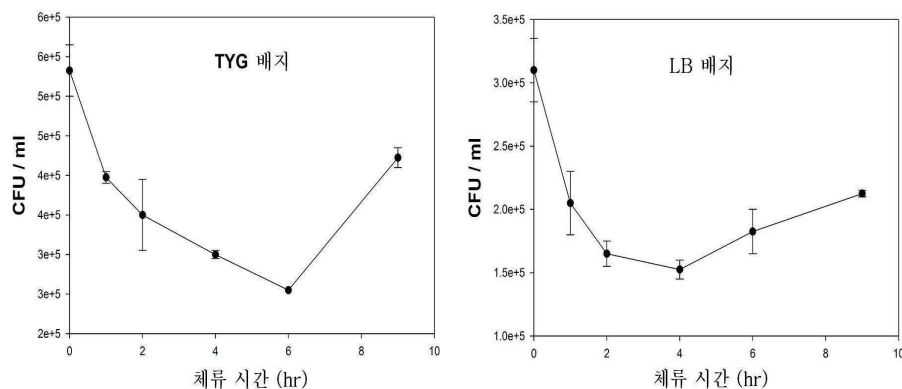
미세조류 개체수와 비례 관계에 있는 클로로필 함량을 측정한 결과(도 3)도 마찬가지로 pDMAMS 접촉 처리한 축산 폐수에서의 *C. vulgaris*가 전처리를 하지 않은 축산 폐수의 것보다 더 높은 생산성을 나타내는 것을 확인하였다. 클로로필 함량 측정을 통하여, 간접적으로 *C. vulgaris*가 어느 정도 성장했는지를 추정할 수 있다. 전처리를 하지 않은 축산 폐수에서 배양할 때보다 pDMAMS로 처리한 축산 폐수에서 배양할 때가 클로로필이 약 37.8% 가량 증가했음을 알 수 있다.

[0042]

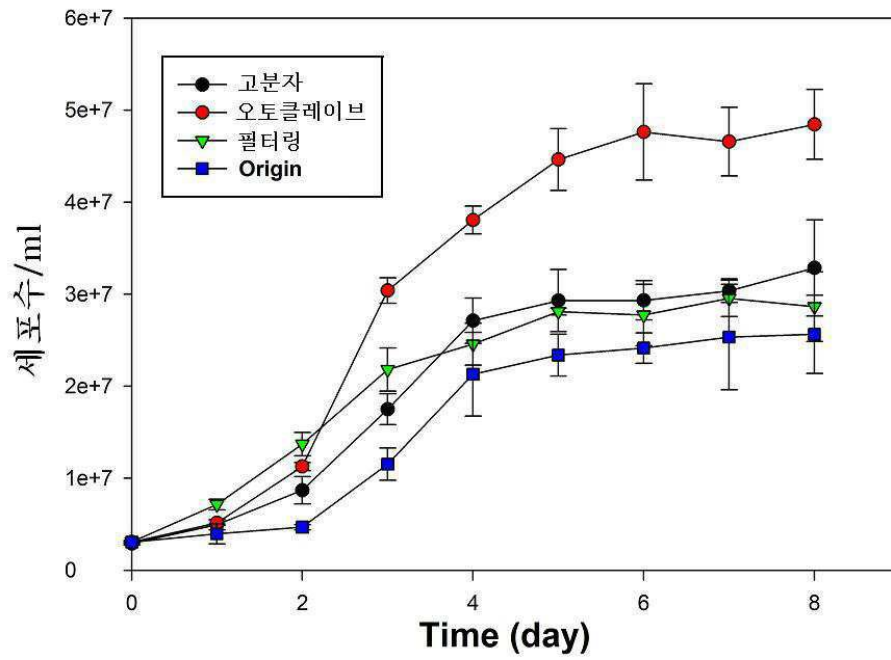
이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시태양일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

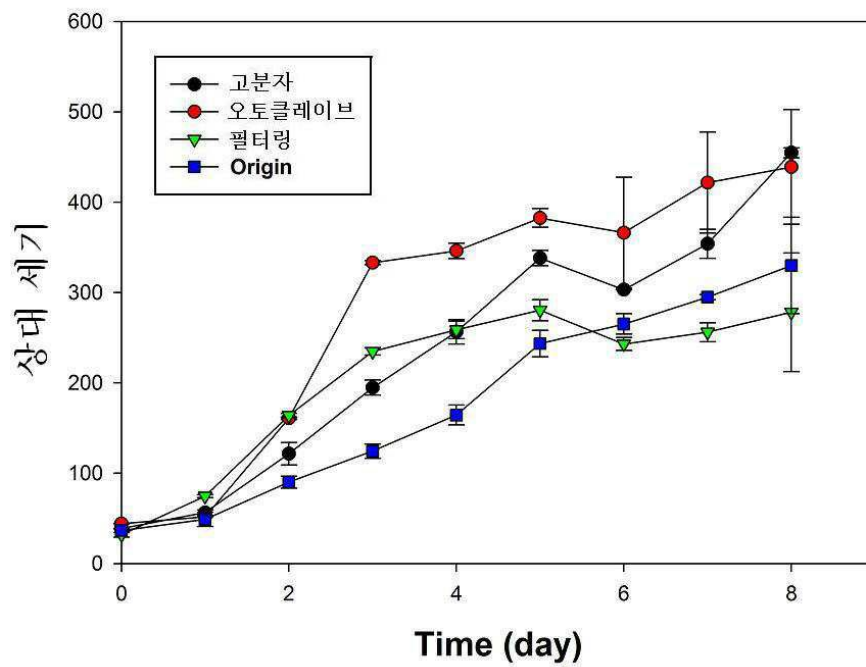
도면1



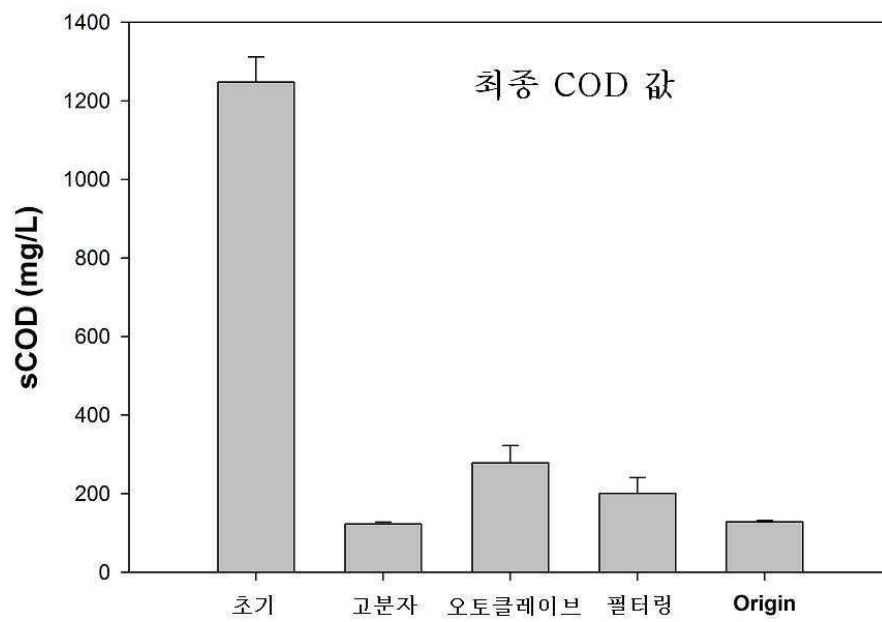
도면2



도면3



도면4



도면5

