

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2023년 5월 11일 (11.05.2023)



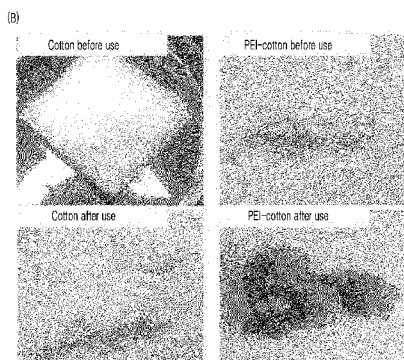
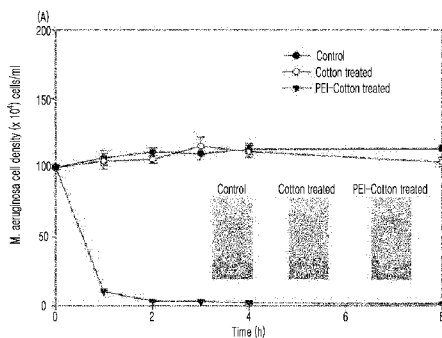
(10) 국제공개번호
WO 2023/080745 A1

- (51) 국제특허분류:
B01J 20/24 (2006.01) *C02F 1/28* (2006.01)
B01J 20/28 (2006.01) *C02F 1/40* (2006.01)
B01J 20/30 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2022/017349
- (22) 국제출원일: 2022년 11월 7일 (07.11.2022)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2021-0152495 2021년 11월 8일 (08.11.2021) KR
- (71) 출원인: 고려대학교 산학협력단 (KOREA UNIVERSITY RESEARCH AND BUSINESS FOUNDATION)
[KR/KR]; 02841 서울특별시 성북구 안암로 145, Seoul (KR).
- (72) 발명자: 최윤이 (CHOI, Yoon E); 02841 서울특별시 성북구 안암로 145, Seoul (KR). 박윤환 (PARK, Yun Hwan); 02856 서울특별시 성북구 고려대로28길 21, Seoul (KR). 김석 (KIM, Sok); 02715 서울특별시 성북구 길음로13길 39, Seoul (KR).

- (74) 대리인: 특허법인 남앤남 (NAM & NAM); 04516 서울특별시 중구 서소문로 95, 3층, Seoul (KR).
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.
- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(54) Title: COTTON ADSORBENT FOR REMOVING HARMFUL CYANOBACTERIA THAT CAUSE ALGAL BLOOM

(54) 발명의 명칭: 녹조를 유발하는 유해 남세균 제거용 면 흡착제



(57) Abstract: The present invention relates to a cotton adsorbent for removing cyanobacteria, which is surface-modified with a cationic polymer and a method for removing algal bloom by using same. The cotton adsorbent of the present invention uses cotton, which is a natural material, thus being environmentally friendly, and contains a large amount of amine groups through modification of the surface of a cotton material with polyethyleneimine, which is a cationic polymer, and thus can effectively adsorb negatively charged harmful cyanobacteria cells. In particular, the cotton adsorbent which is surface-modified with a cationic polymer, according to the present invention, has no ecotoxicity, and thus has the advantage of minimizing various adverse effects such as toxicity on the aquatic ecosystem according to actual use.

(57) 요약서: 본 발명은 표면이 양이온성 고분자로 개질된 남세균 제거용 면 흡착제 및 이를 이용한 녹조 제거 방법에 관한 것이다. 본 발명의 면 흡착제는 천연 소재인 면을 활용하기 때문에 환경 친화적일 뿐 아니라, 면 소재의 표면을 양이온성 고분자인 폴리에틸렌아민으로 개질시킴으로써 다량의 아민기를 포함하는바, 음전하를 띄는 유해 남세균 세포를 효과적으로 흡착할 수 있다. 특히, 본 발명의 표면이 양이온성 고분자로 개질된 면 흡착제는 생태독성이 없는바, 실제 사용에 따른 수생생태계의 독성 등 각종 부정적 영향을 최소화시킬 수 있는 이점을 가진다.

규칙 4.17에 의한 선언서:

- 신규성을 해치지 아니하는 개시 또는 신규성 상실의 예
외에 관한 선언 (규칙 4.17(v))

공개:

- 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

명세서

발명의 명칭: 녹조를 유발하는 유해 남세균 제거용 면 흡착제 기술분야

- [1] 본 발명은 표면이 양이온성 고분자로 개질된 남세균 제거용 면 흡착제 및 이를 이용한 녹조 제거 방법에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 녹조(algal bloom)란 강 또는 호수 등 담수환경에서 남조류(*Cyanobacteria*)의 이상번식으로 인해 물의 색깔이 짙은 녹색으로 변하는 현상을 이야기한다. 최근 지구온난화에 따른 평균기온의 상승과 더불어 담수환경 주변에 위치한 각종 오염원에서의 오염물질 유입으로 인해 녹조현상의 정도와 빈도가 현저하게 증가하고 있으며 그 피해 정도는 해가 거듭될수록 심각해 지고 있는 실정이다. 남조류는 수환경에 bloom 을 일으켜 수중 탁도를 증가시켜 미관상 좋지 않을 뿐만 아니라 수중 산소를 빠르게 소비하여 타 생물의 성장을 방해하고 악취와 독소를 유발하는 등 환경생태학적인 문제점을 야기한다. 현재 이런 녹조현상은 국내에만 국한되어 있는 것이 아닌 전 세계적인 이슈로서 주목받고 있으며 이에 따른 해결책이 다방면으로 연구되고 있다.
- [3] 국내에서 녹조현상을 일으키는 주요 남조류의 종류는 마이크로시스티스 속(*Microcystis*), 아나베나 속(*Anabaena*), 아파니조메논 속(*Aphanizomenon*) 및 오실라토리아 속(*Oscillatoria*) 으로서 위 4종은 독성물질을 배출하여 환경에 유해한 영향을 줄 수 있기 때문에 환경부에서 유해남조류로 지정되어 관리되고 있다. 이들은 통상적으로 수온 22°C 이상에서 매우 활발하게 증식하며 위 4가지 종류 중 특히 마이크로시스티스 에루기노사(*Microcystis aeruginosa*)는 가장 보편적으로 녹조현상을 일으키는 남조류에 속한다.
- [4] 마이크로시스테스 에루기노사는 마이크로시스틴(*Microcystin*)이라는 독성 물질을 방출하는 것으로 알려져 있다. 마이크로시스틴은 70여가지 변종이 있으나 이중 마이크로시스틴-LR(*Microcystin-LR*)의 독성이 가장 강하며 이들은 포유류가 섭취하게 될 시 간독성 및 신경계 독성을 나타내는 것으로 알려져 있고 이러한 이유로 세계보건기구(WHO)에서는 음용수의 조류 독소 농도를 1µg/L로 제한하고 있다. 조류 독소의 증가는 직접적인 독소문제 이외에도 수처리비용의 증가와 친수활동 제한을 야기하는 등 우리 생활과 밀접하게 연관되어 생활의 질을 낮출 수도 있을 만큼 위협적인 실정이다. 이에, 수자원을 지속적으로 유지하기 위해서는 수계에서 마이크로시스테스 에루기노사를 제거 및 제어할 필요성 있다.
- [5] 이러한 배경 하에, 본 발명자는 녹조 제거 기능성을 가진 친환경 소재를 연구하던 중 표면이 폴리에틸렌이민(polyethyleneimine, PEI)으로 개질된 면 흡착제를 개발하였으며, 상기 소재가 녹조현상을 일으키는 주요한 남조류에

해당하는 마이크로시스티스 에루기노사(*Microcystis aeruginosa*)를 효과적으로 제거(흡착)할 수 있음을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [6] 따라서 본 발명의 목적은 녹조를 유발하는 유해 남세균을 효과적으로 제거할 수 있는 있는 표면이 양이온성 고분자로 개질된 면 흡착제를 제공하는 것이다.
- [7] 본 발명의 다른 목적은 상기 표면이 양이온성 고분자로 개질된 면 흡착제를 이용하여 녹조를 제거하는 방법을 제공하는 것이다.

과제 해결 수단

- [8] 상기와 같은 본 발명의 목적을 달성하기 위해서,
- [9] 본 발명은 표면이 양이온성 고분자로 개질된 남세균 제거용 면 흡착제를 제공한다.
- [10] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 양이온성 고분자는 아민기-함유 양이온성 폴리머일 수 있다.
- [11] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 아민기-함유 양이온성 폴리머는 폴리에틸렌이민, 아민-터미네이티드 폴리에틸렌옥사이드, 아민-터미네이티드 폴리에틸렌/프로필렌 옥사이드, 디메틸 아미노 에틸 메타크릴레이트의 폴리머 및 디메틸 아미노에틸 메타크릴레이트와 비닐피롤리돈의 코폴리머, 에피클로로하이드린과 디메틸아민의 선형 폴리머, 폴리디알릴디메틸암모늄 클로라이드, 폴리에탄올아민/메틸클로라이드 및 개질된 폴리에틸렌이민으로 구성되는 군에서 선택될 수 있다.
- [12] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 남세균 제거용 면 흡착제는 a) 면 섬유를 가수분해하는 단계; b) 가수분해된 면 섬유를 1% 내지 3% w/v 농도의 폴리에틸렌이민(polyethyleneimine) 용액에 혼합한 후 반응시킴으로써 표면을 개질시키는 단계; 및 c) 표면이 개질된 면 섬유를 글루타르알데하이드(glutaraldehyde) 용액에 넣은 후 가교 반응을 진행시키는 단계를 포함하는 과정을 통해 제조될 수 있다.
- [13] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 a) 단계는 면 섬유를 3M 농도의 수산화나트륨 용액에 넣어 1-3시간 동안 가수분해시키는 단계일 수 있다.
- [14] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 남세균은 녹조를 유발하는 마이크로시스티스 에루기노사(*Microcystis aeruginosa*)일 수 있다.
- [15] 또한, 본 발명은 상기 표면이 양이온성 고분자로 개질된 남세균 제거용 면 흡착제를 녹조 발생 수역 또는 발생징후가 관찰된 수역에 처리하는 단계를 포함하는, 녹조 제거방법을 제공한다.

발명의 효과

- [16] 본 발명의 면 흡착제는 천연 소재인 면을 활용하기 때문에 환경 친화적일 뿐 아니라, 면 소재의 표면을 양이온성 고분자인 폴리에틸렌이민으로

개질시킴으로써 다량의 아민기를 포함하는바, 음전하를 띄는 유해 남세균 세포를 효과적으로 흡착할 수 있다. 특히, 본 발명의 표면이 양이온성 고분자로 개질된 면 흡착제는 생태독성이 없는바, 실제 사용에 따른 수생생태계의 독성 등 각종 부정적 영향을 최소화시킬 수 있는 이점을 가진다.

도면의 간단한 설명

- [17] 도 1에서 (A)는 흡착제의 처리 후 시간 경과에 따른 *M. aeruginosa* 세포의 제거율을 나타내는 그래프이며, (B)는 *M. aeruginosa* 세포 제거 실험에서 흡착제의 처리 전·후의 색상 변화를 확인한 사진이다(Control: 무처리군, Cotton treated: 깨끗한 면 처리군, PEI-Cotton treated: 본 발명의 PEI-면 흡착제 처리군).
- [18] 도 2는 *M. aeruginosa* 세포의 제거 후 깨끗한 면 및 PEI-면 흡착제의 표면의 변화를 FE-SEM 스캔을 통해 관찰한 사진이다.
- [19] 도 3은 다양한 농도의 NaOH 전처리 조건 하에서의 *M. aeruginosa* 세포 제거 효율(%)을 나타낸 것이다.
- [20] 도 4는 깨끗한 면 및 PEI-면 흡착제의 FT-IR 스펙트럼을 나타낸 것이다.
- [21] 도 5는 깨끗한 면 및 PEI-면 흡착제의 N_{1s} 및 C_{1s} 스펙트럼을 나타낸 것이다((A): N_{1s}, (B): C_{1s}).
- [22] 도 6은 깨끗한 면 및 PEI-면 흡착제의 전위차 적정 곡선을 나타낸 것이다.
- [23] 도 7은 PEI 농도를 달리하여 제조한 PEI-면 흡착제의 처리 후 시간 경과에 따른 *M. aeruginosa* 세포 제거 효율(%)을 나타낸 것이다.
- [24] 도 8은 PEI-면 흡착제의 투입량에 따른 *M. aeruginosa* 세포 제거 효율(%)을 나타낸 것이다.
- [25] 도 9는 PEI-면 흡착제의 생태독성 평가를 위하여 PEI-면 흡착제 존재 하에서 물벼룩(*Daphnia magna*)을 배양한 후 12시간 및 48시간이 경과하였을 때 물벼룩의 생존율을 측정한 결과이다.
- [26] 도 10은 PEI-면 흡착제를 이용한 현장 취수 시료에서의 유해 남세균 제어를 진행한 결과로, 10a는 PEI-면 흡착제 처리 후 시간경과에 따른 680nm에서의 흡광도 측정 결과이며, 10b는 PEI-면 흡착제 처리 후 시간경과에 따른 유해 남세균 제거율(%)이고, 10c는 남세균 제어 후 PEI-면 흡착제의 색깔 변화를 보여주는 사진이다.
- [27] 도 11은 PEI-면 흡착제를 이용한 현장 취수 시료에서의 유해 남세균 유래 독소 물질의 농도를 측정한 결과이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [28] 본 발명은 표면이 양이온성 고분자로 개질된 남세균 제거용 면 흡착제에 관한 것이다.
- [29] 본 발명에서 "남세균(cyanobacteria)"은 광합성 독립영양으로 성장하는 세균군으로 남세균은 일반적으로 짙은 청록색을 띠고 있으며 세균 중에서 유일하게 산소를 발생하는 광합성 세균이다. 이러한 남세균(Cyanobacteria)은

자연계의 먹이사슬에서 최하위에 위치하여 남세균의 대표 분류군은 *Chocococcales*, *Pleurocapsales*, *Oscillatoriales*, *Nostocales*, *Stigonematales*를 들 수 있다.

- [30] 상기 남세균은 남색덩어리말(*Microcystis*)속, 아나베나(*Anabaena*)속, 및 시아노비움(*Cyanobium*)속의 균으로부터 선택되는 어느 하나에 속하는 남세균일 수 있으며, 본 발명과 같이 양이온성 고분자로 개질된 면직물을 이용하여 유해 남세균 세포가 직접적으로 정전기적 인력에 의하여 부착되는 유해 남세균이라면 이에 제한되는 것은 아니며, 바람직하게는, 마이크로시스티스 에루지노사(*Microcystis aeruginosa*)일 수 있다.
- [31] 본 발명에서 "마이크로시스티스(*Microcystis*)"는 대략 3-8 μm 크기로 구형 모양이며, 강, 호수, 연못과 같은 담수에 서식하는 남세균(*cyanobacteria*)의 일종으로, 부영양화에 의한 남세균의 대발생으로 유발되는 녹조 현상을 일으키는 가장 대표적인 광합성 세균이다. 이러한 마이크로시스티스종은 간질환을 유발하는 독소 물질로 알려진 마이크로시스틴(*Microcystin*)을 생성하는 것으로 알려져 있으며, 수백~천여 개의 세포가 모여 군체를 형성하여 수표면에 부유하면서 성장을 하는 것으로 알려져 있다. 이러한 마이크로시스티스(*Microcystis*) 중 대표적인 균주로 마이크로시스티스 에루지노사(*Microcystis aeruginosa*) 종이 있다.
- [32] 본 발명에서 "면"은 중점 구성성분이 셀룰로오스로 구성된 면 섬유의 일종으로서, 탈지면, 이불솜, 면 계열 의류 등 다양한 셀룰로오스 성분이 중점 성분으로 구성된 면 섬유일 수 있다.
- [33] 본 발명의 "양이온성 고분자"는 양이온 및 양전하의 성질을 띠는 고분자로서 아민기를 함유할 수 있으며, 자세하게는, 폴리에틸렌이민, 아민-터미네이티드 폴리에틸렌옥사이드, 아민-터미네이티드 폴리에틸렌/프로필렌 옥사이드, 디메틸 아미노 에틸 메타크릴레이트의 폴리머 및 디메틸 아미노에틸 메타크릴레이트와 비닐피롤리돈의 코폴리머, 에피클로로히드린과 디메틸아민의 선형 폴리머, 폴리디알릴디메틸암모늄 클로라이드, 폴리에탄올아민/메틸클로라이드 및 개질된 폴리에틸렌이민 등을 예시할 수 있으며, 바람직하게는 폴리에틸렌이민(*polyethyleneimine*)일 수 있다.
- [34] 본 발명의 상기 남세균 제거용 면 흡착제는 a) 면 섬유를 가수분해하는 단계; b) 가수분해된 면 섬유를 1% 내지 3% w/v 농도의 폴리에틸렌이민(PEI) 용액에 혼합한 후 반응시킴으로써 표면을 개질시키는 단계; 및 c) 표면이 개질된 면 섬유를 글루타르알데하이드 용액에 넣은 후 가교 반응을 진행시키는 단계를 포함하는 과정을 통해 제조될 수 있다.
- [35] 본 발명의 상기 a) 단계는 면 섬유를 가수분해하는 단계로서, 자세하게는 면 섬유를 3M 농도의 수산화나트륨 용액에 넣어 1-3시간 동안 가수분해시키는 단계이다. 상기 단계는 셀룰로오스 계열 면 섬유의 표면을 활성화시켜 양이온성 고분자 물질의 화학적 개질을 용이하게 한다.

- [36] 상기 b) 단계는 가수분해된 면 섬유의 표면을 개질시키는 단계로서, 자세하게는 상기 a) 단계를 통해 준비한 가수분해된 면 섬유를 1% 내지 3% w/v 농도의 폴리에틸렌이민(PEI) 용액에 혼합한 후 37°C로 유지되는 조건 하에서 6시간 반응시킴으로써 표면을 개질시키는 단계이다. 이때, 균일한 화학적 표면 개질을 위해 자석 교반, 수작업을 통한 교반 등이 수반 될 수 있다.
- [37] 양이온성 고분자 개질 시 일정한 온도로 유지되지 않거나, 교반 작업(자석 교반 및 수작업을 통한 교반)이 수행되지 않을 경우 균일한 소재 개발이 어려운 문제점이 있다.
- [38] 상기 a) 단계 및 b) 단계 사이에 a') 단계로서 가수분해된 면을 증류수로 세척하여 물질에 잔류하는 수산화나트륨을 제거하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [39] 상기 c) 단계는 표면이 폴리에틸렌이민으로 개질된 면 섬유에 가교 반응을 진행시키는 단계로서, 자세하게는 상기 b) 단계를 통해 1차적인 화학적인 개질을 진행한 뒤 화학적 가교 결합(Cross-linking reaction)을 유도하기 위하여 글루타르알데하이드 용액(0.6mL/L Glutaraldehyde 용액을 3차 증류수를 기반으로 하여 제조한 뒤 0.1M NaOH를 이용하여 수소이온농도를 조절함)에 침지시키고 가교 반응을 위해 37°C에서 3-4시간 동안 교반하는 단계이다. 이때, 균일한 가교 결합을 유도하기 위해 자석 교반, 수작업을 통한 교반을 병행할 수 있다.
- [40] 양이온성 고분자 개질 후 화학적 가교 결합 유도 시 일정한 온도로 유지되지 않거나, 교반 작업(자석 교반 및 수작업을 통한 교반)이 수행되지 않을 경우 균일한 소재 개발이 어려운 문제점이 있다.
- [41] 상기 c) 단계 후 추가적으로 가교 반응 후 용액에서 표면이 폴리에틸렌이민으로 개질된 면 섬유를 분리하고 증류수로 세척하여 섬유에 잔류하는 NaOH와 글루타르알데히드(GA)를 제거하는 단계 및 건조(동결 건조 혹은 60°C 오븐 건조)하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [42] 상기 과정을 통해 제조된 표면이 폴리에틸렌이민으로 개질된 면 흡착제(이하 간략하게 'PEI-면 흡착제'로 명명함)는 남세균을 효과적으로 제거 및 흡착할 수 있으며, 바람직하게는 녹조를 유발하는 마이크로시스티스 에루지노사(*Microcystis aeruginosa*)를 제거할 수 있다.
- [43] 본 발명의 PEI-면 흡착제는 천연 소재인 면 섬유를 활용하기 때문에 환경 친화적일 뿐 아니라, 면 소재의 표면을 양이온성 고분자로 개질시킴으로써 다량의 아민기를 포함하는바, 음전하를 띄는 유해 남세균 세포를 효과적으로 흡착할 수 있다. 본 발명의 하기 실시예에서는, 유해 남조류 종인 *M. aeruginosa* 세포에 대한 PEI-면 흡착제의 녹조 제거 효율을 평가하였으며, 그 결과 *M. aeruginosa* 세포 제거 효과가 우수한 것으로 나타났다.
- [44] 한편, 남세균 제거(흡착) 용도를 갖는 본 발명의 PEI-면 흡착제는 녹조가 발생된 수계에 적용하는 경우 수계의 2차 오염을 일으키지 않아야 하는바, 독성이 없어야 한다. 이에, 하기 하기 실시예에서는 본 발명의 PEI-면 흡착제의

생태독성을 살펴보았으며, 그 결과 독성이 거의 없는 것으로 확인되어, 실제 사용에 따른 수생생태계의 독성 등 각종 부정적 영향을 최소화시킬 수 있다.

[45] 또한, 본 발명은 표면이 양이온성 고분자로 개질된 남세균 제거용 먼 흡착제를 녹조 발생 수역 또는 발생징후가 관찰된 수역에 처리하는 단계를 포함하는, 녹조 제거방법에 관한 것이다.

[46]

[47] 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.

발명의 실시를 위한 형태

[48] <실시예>

[49]

[50] 1. 재료 및 방법

[51]

[52] <1-1> 재료 준비

[53] 흡착제 원료인 먼은 ZHENDE MEDICAL CO. LTD(Shaoxing, China)에서 구입하였다. 수산화나트륨 비드와 염화나트륨은 DAEJUNG(서울, 한국)에서 구입하였다. 분지형 폴리에틸렌이민(PEI, Mw 750000, 50% 함량)은 Sigma Aldrich, Inc.(서울, 한국)에서 구입하였다. 글루타르알데하이드(GA, 25wt%)는 Junsei Chemical Co., Ltd.(Tokyo, Japan)에서 구입하였다.

[54] 타겟 오염물질인 마이크로시스티스 에루지노사(*M. aeruginosa* KW) 균주는 왕송저수지에서 동정된 것으로 한국생명공학연구원(Korea Institute of Bioscience and Biotechnology; KRIBB)의 안치용 박사님이 분양해 준 것을 사용하였다. *M. aeruginosa* 배양에는 BG11 배지가 사용되었으며, 상기 배지는 1L 3차 증류수에 하기 표 1에서 나타낸 구성성분을 첨가하여 제조되었다. 배지는 121°C에서 20분간 멸균을 한 후 사용하였다.

[55]

[56] [표1]

BG11 배지 조성

구성성분	농도 (mg L ⁻¹)
NaNO ₃	1,500
K ₂ HPO ₄	40
MgSO ₄ ·7H ₂ O	75
CaCl ₂ ·2H ₂ O	36
Citric Acid·H ₂ O	6
Ferric Ammonium Citrate	6
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	1
Na ₂ CO ₃	20
H ₃ BO ₃	2.86
MnCl ₂ ·4H ₂ O	1.81
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.22
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.39
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.079
Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O KCl	0.0494

[57] <1-2> 흡착제 제조

[58] PEI-면 흡착제를 제조하기 위해 면(5g)을 1L의 3M NaOH 용액에 담그고 2시간 동안 교반(자석 교반 및 수작업 교반)을 진행하여 가수분해하였다. 그 다음, 가수분해된 면을 3차 증류수로 3~7회 세척하여 물질에 잔류하는 NaOH를 제거하였다. 그 후, 가수분해된 면을 1% w/v, 2% w/v, 3% w/v 농도의 PEI 용액 1L에 혼합하고 PEI 개질을 위해 6시간 동안 교반(자석 교반 및 수작업 교반)하면서 반응시켰다. PEI 개질 후, PEI-면 흡착제를 3차 증류수로 3회 세척하여 잔류물을 제거하였다. 세척 후 가교 반응(PEI와 반응한 면에 안정적인 화학적 결합을 유도)을 위해 준비된 흡착제를 1L의 GA 용액(0.6mL GA/L, 0.1M NaOH 기반)에 넣어주어 상온(25°C)에서 4시간 동안 교반하면서 가교반응을 진행하였다. 가교반응이 완료된 후 흡착제를 용액과 분리하고 3차 증류수를 사용하여 5회 세척하였다. 제조된 PEI-면 흡착제를 24시간 동안 동결건조를 진행하였고 건조된 흡착소재는 실험이 진행되는 동안 데시케이터에 보관하여 사용하였다.

[59]

[60] <1-3> 실험실 규모에서 *M. aeruginosa* 흡착 제거 평가

[61] 제조된 흡착제의 제거 효율을 확인하기 위하여 먼저 BG11 배지에서 0.15 L min

의 공기주입속도, 50 $\mu\text{mol m}^{-2}$ 의 광량 및 25°C의 조건에서 *M. aeruginosa*를 배양하였다. 우선 배양된 *M. aeruginosa*는 원심분리를 통하여 배지에서 분리하였다. 그 후, 150 mL 증류수와 혼합하여 *M. aeruginosa*의 초기 세포 농도를 $100 \times 10^4 \text{ cells/mL}$ 로 조정하였다. 이후, *M. aeruginosa*를 배양한 배지 샘플에 0.15, 0.3, 0.45g의 깨끗한 면 및 PEI-면 흡착제 각각을 첨가하였다. 흡착제가 첨가된 시료는 24시간 동안 우선배양의 조건과 동일한 공기주입속도, 광량 및 온도의 조건에서 배양하였다. 정해진 시간 간격으로 샘플링을 진행하여 용액 내 존재하는 *M. aeruginosa* 세포의 수를 hemacytometer(Hausser Scientific, Horsham, PA)를 이용하여 측정하였다. 모든 흡착 제거 평가는 3회 반복 실험을 진행하였다.

[62]

[63] <1-4> 다양한 농도의 NaOH 전처리 조건에서 *M. aeruginosa* 흡착 제거 평가

[64]

[65] *깨끗한 면의 폭채를 통한 표면 작용기 활성화 과정 진행 시 사용한 NaOH 용액의 농도에 따른 제어 효율 평가를 진행하였다. 상기 실시예 <1-2>에서 면을 다양한 농도(0.1M, 1M, 2M, 3M, 5M)의 NaOH 전처리를 통해 가수분해하는 내용을 제외하고는 동일한 방법으로 PEI-면 흡착제를 제조하였다. 제조된 흡착제의 제거 효율은 상기 실시예 <1-3>과 동일한 방식으로 측정되었다.

[66]

[67] <1-5> 흡착제의 표면 작용기의 특성 분석[68] 흡착제 개질 전후의 표면 작용기의 변화를 알아보기 위해 FT-IR 및 XPS 분석을 수행하였다. FT-IR 분석을 위해 FT-IR 기기(Cary 630 FT-IR, Agilent Technology, USA)의 ATR(attenuated total reflectance) 시스템을 사용하여 $650\text{-}4000 \text{ cm}^{-1}$ 의 파장 범위에서 깨끗한 면과 PEI-면 흡착제를 스캔하였다.[69] 또한 흡착제의 탄소(C_{1s} XPS 신호) 및 질소 기반(N_{1s} XPS 신호) 작용기와 관련된 정보를 얻기 위해 XPS 기기(X-TOOL, ULVAC-PHI, JAPAN)를 사용하여 깨끗한 면과 PEI-면 흡착제를 분석하였다.

[70] 또한, 전위차 적정 실험을 통해 흡착제 표면의 특성을 비교하였다. 이를 위해 0.5g의 깨끗한 면과 PEI-면 흡착제를 200mL의 0.01M HCl 용액(초기 pH: 약 2)에 교반하였다. 전위차 적정을 위한 기본 용액은 이온 강도의 영향을 최소화하기 위해 0.1M NaCl 용액을 사용하여 준비하였다. 실험 동안 0.02-0.1 mL의 0.5 M NaOH 용액을 마그네틱 막대로 계속 교반하면서 3분마다 흡착제 침지 용액에 주입하였다. NaOH 용액을 주입하기 전에 샘플의 용액 pH를 측정하였다. 전위차 적정을 위한 염기 용액의 pH 변화 프로파일을 결정하기 위해 0.01M HCl 염기 용액을 사용하여 적정 실험을 수행하였다.

[71]

[72] <1-6> 전계방출주사전자현미경(FE-SEM) 분석[73] *M. aeruginosa* 처리 전후에 흡착제의 표면을 관찰하기 위해 FE-SEM분석을

수행하였다. FE-SEM 분석을 위해 건조된 흡착제를 60초 동안 백금으로 코팅하기 위해 진공 챔버에서 처리하였다(4nm 코팅). 그런 다음 FE-SEM(Quanta 250 FEG, FEI, USA) 기기를 사용하여 백금 코팅된 흡착제를 분석하였다.

[74]

[75] <1-7> 흡착제의 생태독성 평가

[76] 본 발명의 PEI-면 흡착제의 독성을 평가하기 위해 EPA(Environmental Protection Agency) 지침에 따라 독성 테스트를 수행하였다. 태어난지 24시간이 경과되지 않은 *Daphnia magna* 개체 5마리를 이용하였다. PEI-면 흡착제(0.02g)를 시험 용기에 혼합하고 광주기 조건(명: 16시간, 암: 8시간)에서 20°C에서 48시간 동안 배양하였다. 용기 내의 혼합 흡착제 농도는 *M. aeruginosa* 세포 제거 테스트에서와 같이 제어되었다. PEI-면 흡착제 없이 배양된 *D. magna* 샘플을 대조군으로 설정하였다. *D. magna*의 생존율을 배양 24시간 및 48시간에 기록하였다. 독성 평가는 일정한 조건에서 4회 반복하였다.

[77]

[78] <1-8> 현장 취수 시료를 이용한 유해 남세균 제어 성능 평가

[79] 본 발명의 PEI-면 흡착제의 실제 현장 적용을 위해 녹조 현상 발생 지역에서 취수한 현장 시료를 이용하여 유해 남세균 제어 성능 평가를 진행하였다.

[80] 자세하게는 과주운정호수공원 지역에서 취수한 시료 150 ml에 0.3 g의 PEI-면 흡착제를 첨가한 후 정해진 시간 간격으로 샘플링을 진행하여 용액 내 존재하는 *M. aeruginosa* 세포의 수를 UV-VIS spectrophotometer (GENESYS 10S, Thermofisher)를 이용하여 680nm 파장대에서 측정하였다.

[81]

[82] <1-9> 현장 취수 시료의 유해 남세균 제어 시 유해 남세균 유래 독성 물질 농도변화 측정

[83] 본 발명의 PEI-면 흡착제의 실제 녹조 현상 발생 지역에서 취수한 현장 시료를 이용한 유해 조류 제어 시 유해 남세균 유래 독성 물질의 농도 변화 측정을 진행하였다.

[84] 자세하게는, 마이크로시스틴스 에루지노사로부터 배출된 녹조독성물질인 마이크로시스틴-LR (MC-LR)에 대한 흡착소재의 동시 제거 흡착량을 평가하였다. 특정 시간 간격으로 채취한 샘플을 주사기 필터 (PTFE-H, 공극크기 : 0.45um)를 사용하여 여과한 후 분산된 남세균 세포와 용액을 분리하였다. 그 이후 남세균 유래 독성물질을 측정하기 위하여 ALGAL CHEM에서 제조한 Microcystin Plate ELISA Kit를 이용하여 측정하였다. 남세균 유래 독소물질 검출을 위한 샘플과 표준 용액은 Microcystin Plate ELISA Kit의 프로토콜을 준수하여 시행하였으며, 반응 후 마이크로플레이트 리더기 (PowerWave XS, BioTek, USA)를 이용하여 450nm 파장에서 측정을 진행하였다.

[85]

[86] **2. 결과**

[87]

[88] <2-1> 흡착제의 *M. aeruginosa* 제거 효율

[89]

유해 남조류 종인 *M. aeruginosa* 세포에 대한 PEI 면 흡착제의 제거 효율을 평가하기 위하여, 대조군(무처리군), 깨끗한 면 처리군 및 PEI 면 흡착제 처리군에 따른 *M. aeruginosa* 세포 성장 프로파일을 확인하였다. 그 결과 도 1(A)에 나타난 바와 같이, PEI-면 흡착제 처리는 수성 배지로부터 *M. aeruginosa* 세포를 성공적으로 제거할 수 있음을 확인하였다. 대조군 시료의 *M. aeruginosa* 세포는 BG11 수성 배지에서 12시간의 배양 시간 동안 초기 세포 밀도(100.6 ± 2.2) $\times 10^4$ cells/mL에서 (117.5 ± 3.4) $\times 10^4$ cells/mL로 나타나, 시간 경과에 따라 남조류가 지속적으로 증가하는 것으로 나타났다. 한편, 깨끗한 면을 처리한 경우 대조군과 유사한 *M. aeruginosa* 세포 성장 프로파일을 나타내었다. 깨끗한 면을 처리한 경우 최종 *M. aeruginosa* 세포 밀도는 (109.0 ± 4.3) $\times 10^4$ cells/mL로 나타났다. 대조군과 흡착제 처리된 시료의 세포 프로파일 차이의 통계적 유의성(p값)은 과학적 데이터 처리 소프트웨어(SigmaPlot 10.0, Systat Software, Inc.)를 사용한 t-test에 의해 0.287로 추정되었다. 또한, 대조군(무처리군), 깨끗한 면을 처리한 시료 용액에서는 *M. aeruginosa* 세포 고유의 색상인 녹색으로 나타났다. 반면에, PEI-면 흡착제를 처리한 시료는 녹색이 현저히 감소하는 것으로 나타났으며, *M. aeruginosa* 세포 밀도는 대조군 및 깨끗한 면 처리군 대비 지속적으로 감소하는 것을 확인할 수 있었다. *M. aeruginosa* 세포 농도는 PEI-면 흡착제 처리된 시료에서 처리 2시간 후 (10.5 ± 0.6) $\times 10^4$ cells/mL로 계산되었으며, 12시간이 경과되었을 때 (1.3 ± 0.7) $\times 10^4$ cells/mL로 지속적으로 감소하는 것으로 나타났다.

[90]

또한, 도 1(B)에 나타난 바와 같이, PEI-면 흡착제의 색상은 처리 전 깨끗하였으나, *M. aeruginosa* 흡착 후 녹색으로 유의하게 변화되었다. 이러한 결과는 PEI-면 흡착제를 사용하는 경우, 흡착 처리에 의해 수성 배지 중의 *M. aeruginosa* 세포가 성공적으로 제거될 수 있음을 나타내는 것이다.

[91]

M. aeruginosa 세포 제거 처리 후 깨끗한 면과 PEI-면 흡착제의 SEM 분석에서 볼 수 있듯이(도 2 참조), 구형의 *M. aeruginosa* 세포는 PEI-면 흡착제 표면에 결합되어 관찰되었지만 깨끗한 면에서는 *M. aeruginosa* 세포가 결합되지 않아 소재의 표면이 매끄러운 것으로 나타났다. 이를 통해 PEI-면 흡착제가 *M. aeruginosa* 세포를 흡착함으로써 수성 배지에서 상기 세포를 효과적으로 제거하는 것을 확인할 수 있었다.

[92]

이전에 보고된 연구에서 *M. aeruginosa* 세포는 카르복실(pKa 2-6), 포스포닐(pKa 5.6-7.2) 및 히드록실(pKa 8-12)과 같은 음이온성 작용기에 할당된 3.9, 7.1 및 9.0에서 pKa 특성을 나타냈다. 용액 내 *M. aeruginosa* 세포의 표면 전하 특성을 고려할 때, 음전하를 띤 *M. aeruginosa* 세포는 정전기적 상호작용 메커니즘에 의해 흡착제의 양이온 결합 부위에 흡착될 수 있다. 또한, PEI 분자를 이용한 흡착제 원료의 개질을 통해 아민화를 효과적으로 이끌어 낼 수 있다.

따라서 본 발명 흡착제의 *M. aeruginosa* 세포 제거는 면의 PEI 개질에 의한 아민기의 수 증가에 기인할 수 있다.

[93]

[94] [표2]

깨끗한 면 및 PEI-면 흡착제 사용 후 시간 경과에 따른 *M. aeruginosa*의 세포 밀도(cells/mL)

처리군	시간(hr)				
	0	1	2	4	8
Control	100×10 ⁴	116×10 ⁴	121×10 ⁴	123×10 ⁴	125×10 ⁴
면	100×10 ⁴	107×10 ⁴	109×10 ⁴	121×10 ⁴	107×10 ⁴
PEI-면	100×10 ⁴	17×10 ⁴	7×10 ⁴	4×10 ⁴	1×10 ⁴

[95] **<2-2> 흡착제의 다양한 농도의 NaOH 전처리 조건 하에서의 *M. aeruginosa* 세포 제거 효율**

[96] 다양한 농도의 NaOH 전처리 조건 하에서 제조된 PEI-면 흡착제 투입 후 12시간 후 *M. aeruginosa* 제어율을 확인하였으며, 그 결과 3M NaOH와 5M NaOH 처리군에서 제어효율이 가장 뛰어남을 확인하였으며(표 3 및 도 3 참조), 환경 영향 최소화를 위해 투입되는 화학물질의 양을 최소화하기 위하여 3M NaOH를 최적 처리 조건으로 선정하였다.

[97]

[98] [표3]

다양한 농도의 NaOH 전처리 조건 하에서의 *M. aeruginosa* 세포 제거 효율 (%)

비교	0.1M	1M	2M	3M	5M
제거율 (%)	73.92	86.12	91.6	99.25	99.27

[99] **<2-3> 면 섬유 및 PEI-면 흡착제의 표면 특성**

[100] 면의 PEI 개질에 의해 유도될 수 있는 표면 작용기 특성의 변화를 확인하기 위하여, FT-IR 및 XPS 분석 및 전위차 적정 실험을 수행하였다.

[101] 제조된 흡착제의 표면 작용기 특성은 수용액에서 *M. aeruginosa*의 방제에 사용 가능성을 결정하는 핵심 요소이다. 따라서 깨끗한 면과 PEI-면 흡착제의 표면 작용기를 확인하고 비교하기 위해 FTIR 분석을 수행하였다. 도 4는 면 기반 흡착제의 FT-IR 스펙트럼 특성을 보여준다. 깨끗한 면의 FT-IR 스펙트럼에서 면의 OH 그룹에 할당된 넓은 피크는 3300 cm⁻¹에서 관찰되었다. 약 2896 cm⁻¹에서 기록된 FT-IR 피크는 대칭 및 비대칭 C-H 신축 진동을 나타낸다. 또한 면의 주요 구조인 셀룰로오스와 관련된 다양한 FT-IR 피크가 650-2000 cm⁻¹의 파장 범위에서 기록되었다(CH wagging(1428 및 1314cm⁻¹, CH bending(deformation stretch, 1362cm⁻¹), OH in-plane bending(1335cm⁻¹), 비대칭 브리지 C-O-C(1160 및

1108 cm^{-1}), 비대칭 in-plane ring stretch(1052 cm^{-1}), C-O stretch(997 cm^{-1} 에서 피크 주변) 및 베타 글리코시드 결합(898 cm^{-1})).

[102] 깨끗한 면의 PEI 개질 후 주요 FT-IR 피크가 면의 적외선 스펙트럼과 유사한 것으로 기록되었지만, 3330 , 2903 및 1573 cm^{-1} 에서 일부 피크 변화가 관찰되었다. N-H 결합(Puviarasan et al., 2002; Velasco et al., 1999)에 할당된 약 3330 cm^{-1} 의 넓은 피크는 깨끗한 면의 피크와 비교하여 현저하게 변경되었다. 이 피크 향상은 깨끗한 면의 PEI 개질을 통해 PEI-면 흡착제에 있는 아민기의 증가된 수와 연관되어 있다. 또한 PEI-면 흡착제의 FT-IR 스펙트럼에서 C-H stretching에 해당하는 피크가 향상되어 약 2901 cm^{-1} 로 이동하는 것으로 나타났다.

[103] 깨끗한 면과 PEI-면 흡착제의 FT-IR 스펙트럼을 비교한 결과, 일부 부분에서 기능기 특성의 차이가 나타났지만, 파장 2000 cm^{-1} 미만의 변경된 피크는 배경 물질의 강한 강도로 인해 판별할 수 없었다. 따라서 PEI 개질 전·후 흡착제의 표면 특성을 더욱 명확하게 확인하고 비교하기 위하여 C 및 N 원자에 해당하는 결합 에너지 범위에서 XPS 분석을 수행하였다. 깨끗한 면과 PEI-면 흡착제의 XPS(C_{1s} 및 N_{1s} XPS) 추정 결과는 도 5에서 자세히 나타내었다. 획득한 XPS 신호는 XPS 데이터 처리 프로그램으로 분석하여 화학 구조에 해당하는 XPS 피크를 분해하였다. 이러한 XPS 신호에서 분해된 XPS 피크의 특성을 하기 표에 자세히 나타내었다.

[104]

[105] [표4]

깨끗한 면 및 PEI-면 흡착제에 대한 C_{1s} 및 N_{1s} XPS 피크의 특성

Element	Peak(eV)	Assignment	Peak area	
			면	PEI-면
C_{1s}	284.6	C-C/C=C	35.1	28.5
	285.9	C-N	-	33.2
	286.4	C-O	43.6	-
	287.2	C=O/C=N/O=C-NH	-	21.6
N_{1s}	287.8	C=O/O-C-O	21.3	-
	288.7	C-C=O	-	16.7
	399.1	-NH ₂	-	66.8
	400.0	-NH-	-	33.2

[106] 도 5(A)에서 볼 수 있듯이, 깨끗한 면은 질소 원자와 관련된 N_{1s} 신호가 나타나지 않았다. 면의 주요 구조가 질소 기반 화학 결합을 가지고 있지 않기 때문이다. 이것은 표면이 아민기와 같이 양전하를 띌 수 있는 작용기를 포함하지

않는 것을 의미한다. 따라서 깨끗한 면은 정전기적 인력에 의해 *M. aeruginosa* 세포를 흡착할 수 없다. 반면에 PEI-면 흡착제는 약 399.4 eV에서 N_{1s} 신호를 나타냈다. PEI-면 흡착제의 N_{1s} XPS 신호에서 399.1 및 400.0 eV XPS 피크가 분해될 수 있다. 상기 표와 같이 399.1 eV(피크 비율: 66.8%)와 400.0 eV(피크 면적: 33.2%)에서 PEI-면 흡착제의 N_{1s} XPS 신호에서 분해된 피크는 각각 아민기의 N-H 결합과 아미드의 -NH- 밴드에 할당된다. PEI-면의 N_{1s} 신호 출현은 3300cm^{-1} 에서 강화된 FT-IR 피크와 완벽하게 일치하였으며, 이러한 결과는 PEI 개질로 인한 아민기의 증가하는 수를 나타낸다. 한편, 약 286 eV에서 기록된 깨끗한 면과 PEI-면 흡착제의 C_{1s} XPS 신호의 경우 각 흡착제의 XPS 신호에서 상당히 다른 표면 특성이 관찰되었다.

[107] 깨끗한 면은 284.6, 286.4 및 287.8 eV에서 3개의 분해된 C_{1s} XPS 피크를 나타냈다(각각 C-C 또는 C=C, C-O, 및 C=O 또는 O-C-O 및 O-C=O 본드로 지정된). 그러나 PEI-면 흡착제의 경우 285.9(peak ratio: 33.26%), 287.2(peak ratio: 21.57%), 288.7(peak ratio: 16.68%) eV에서 PEI-면 흡착제의 C_{1s} XPS 신호로부터 3개의 다른 XPS 피크가 분해되어 면과 동일한 피크(284.6 eV, peak ratio: 28.49%)가 관찰되었다. 상기 표에 따르면 285.9 및 287.2에서 분해된 XPS 피크는 각각 O=C-NH에서 C-N 및 C=O와 같은 면의 PEI 개질과 연결된다.

[108] 한편, 흡착제의 전위차 적정 곡선은 표면의 작용기와 관련된 뚜렷한 특성을 나타낼 수 있다고 알려져 있다. 깨끗한 면과 PEI-면 흡착제의 전위차 적정 곡선은 표면에 PEI 분자의 존재 여부에 따라 영향을 받는 다양한 기능 그룹 특성을 보여주었다(도 6 참조). 도 6에서 나타낸 바와 같이, 면의 주요 작용기는 수산기이기 때문에 깨끗한 면은 pH 3 이하와 pH 10.5 이상을 제외하고는 pH 완충 부분을 나타내지 않았다. 이러한 pH 완충 부분은 물의 적정 곡선에서 찾을 수 있다. 그러나 PEI-면 흡착제의 전위차 적정 곡선에서 pH 완충 지점의 두 부분은 대략 pH 6.2 및 pH 9.9에서 명확하게 발견되었다. Willner 등에 따르면 (1993), PEI 분자에서 2차 아민기의 pKa 값은 6.7로 보고된 바 있으며, 또한 Kim et al. (2016b) 및 von Harpe et al. (2000)은 PEI의 3차 아민 그룹이 8.18-9.94 범위의 pKa 값을 나타낸다고 보고된 바 있다. 따라서 PEI-면 흡착제의 이러한 pH 완충 특성은 PEI-면 흡착제의 PEI 분자에서 파생된 아민 그룹에 기인할 수 있다. 2차 아민 그룹은 탈양성자화 반응으로 인해 실험 배지 pH(pH7-7.5)에서 양전하를 잃을 수 있다. 그러나 PEI-면 흡착제의 pH 9.9 부근에서 pKa 값을 보인 3차 아민기는 실험 pH 조건에서 양성을 유지할 수 있었다. 따라서 PEI-면 흡착제의 표면 전하는 양수일 수 있다.

[109] 표면 특성의 비교로부터 깨끗한 면의 표면이 PEI 개질에 의해 성공적으로 아민화되었음을 확인하였다. 상기 언급한 바와 같이 PEI-면 흡착제의 아민화된 표면은 양성 작용기를 갖는바, 음전하를 띄는 *M. aeruginosa* 세포를 흡착 메커니즘의 정전기적 상호작용을 통해 표면에 결합될 수 있다.

[110]

[111] **<2-4> PEI 농도를 달리하여 제조한 PEI-면 흡착제의 *M. aeruginosa* 세포 제거 효율 비교**

- [112] 흡착제의 *M. aeruginosa* 세포 제거 효율은 흡착제의 아민기 수에 의해 현저한 영향을 받음을 확인하였다. PEI 개질에 의한 흡착제 표면의 아민기 수의 증가는 개질 과정에서 용액의 PEI 농도에 의해 크게 영향을 받을 수 있다. 따라서, PEI-면 흡착제의 *M. aeruginosa* 세포 제거 효율에 대한 PEI 농도의 영향을 확인하기 위해, 다양한 농도(PEI 1%, 2%, 3%)의 PEI 용액에서 제조된 PEI-면 흡착제를 *M. aeruginosa*에 적용하여 제거 효율을 평가하였다. 다양한 농도(1%, 2% 및 3%)의 PEI 용액을 사용하여 PEI-면 흡착제를 제조하였다. 도 7은 PEI-면 흡착제의 처리 시간에 따른 *M. aeruginosa* 세포 제거 효율을 나타낸 것이다. 도 7에 나타난 바와 같이, PEI-면 흡착제의 *M. aeruginosa* 세포 제거 효율은 PEI 농도에 영향을 받는 것으로 나타났다. 1% PEI-면 흡착제는 처리 1시간 후 *M. aeruginosa* 세포 제거 효율이 $65.0 \pm 1.8\%$ 인 것으로 나타났다. 1% PEI-면 흡착제를 사용한 *M. aeruginosa* 세포 제거 효율은 처리 후 2시간까지 지속적으로 $80.0 \pm 0.2\%$ 로 증가하였고 이후 거의 평형에 도달하였다. PEI 농도를 증가시키는 경우 PEI-면 흡착제의 *M. aeruginosa* 세포 제거 효율이 증가하는 것으로 나타났다. 처리 1시간 후 2% PEI-면 흡착제의 경우 1% PEI-면 흡착제 대비 *M. aeruginosa* 제거 효율($80.0 \pm 3.8\%$)이 더 높은 것을 확인할 수 있었다. 2% PEI-면 흡착제의 *M. aeruginosa* 세포 제거율은 처리 4시간 후에 평형($87.2 \pm 0.9\%$)에 도달하였다. 한편, 3% PEI-면 흡착제는 처리 1시간에서 가장 높은 세포 제거 효율($93.6 \pm 0.1\%$)을 기록하였다. 또한 3% PEI-면 흡착제의 *M. aeruginosa* 세포 제거율은 처리 후 4시간이 경과하였을 때 $97.9 \pm 0.1\%$ 로 증가하였다.
- [113] 따라서, 상기와 같은 결과를 통해 높은 PEI 농도에서 제조된 PEI-면 흡착제가 아민화가 수상에서 *M. aeruginosa* 세포를 효과적으로 제거하는데 도움이 될 수 있음을 확인하였다. 이러한 결과를 바탕으로 가장 높은 *M. aeruginosa* 제거 효율을 보인 3% PEI-면 흡착제를 이용하여 하기 실험을 수행하였다.

[114]

[115] [표5]

PEI 농도를 달리하여 제조한 PEI-면 흡착제의 *M. aeruginosa* 세포 제거 효율(%)

PEI-면 흡착제	시간(hr)
	4
1% PEI	78.1
2% PEI	99.2
3% PEI	99.2

[116] **<2-5> PEI-면 흡착제의 투입량에 따른 *M. aeruginosa* 세포 제거 효율 비교**

- [117] 효과적인 *M. aeruginosa* 세포 처리에 필요한 PEI-면 흡착제 투입량을 결정하기

위하여 다양한 흡착제 농도(1-3g/L)로 세포 제거 효율을 평가하였다. 그 결과 도 8에서 나타난 바와 같이, *M. aeruginosa* 제거 처리에 1 g/L의 흡착제를 적용한 경우 흡착 평형 시간(처리 후 4시간)까지 초기 *M. aeruginosa* 세포의 약 $76.1\pm1.8\%$ (초기 세포 밀도: 100×10^4 cells/mL)가 제거되었다. 대조적으로, 흡착제 농도를 2g/L로 증가시켰을 때 *M. aeruginosa* 제거 효율이 $96.8\pm0.2\%$ 로 나타나, 1g/L 흡착제 투입량에 비해 제거 효율이 유의하게 향상되는 것을 확인하였다. 이러한 결과는 흡착제의 양의 증가에 따라 *M. aeruginosa*의 결합 부위가 증가함에 기인한 것으로 사료된다. 예상된 바와 같이, *M. aeruginosa* 세포 제거 시험에서 사용된 PEI-면 흡착제 농도가 3g/L일 때 가장 높은 세포 제거율($98.2\pm0.1\%$)을 보여주었다. 다만, 2g/L와 3g/L의 차이는 유의하지 않는 것으로 나타났다. 이는, 2g/L의 PEI-면 흡착제 용량이 100×10^4 cells/mL의 *M. aeruginosa* 처리에 충분할 수 있음을 시사한다.

[118]

[119] [표6]

PEI-면 흡착제의 용량에 따른 *M. aeruginosa* 세포 제거 효율(%)

흡착제 투입량	1 g/L	2 g/L	3 g/L
제거율	$76.1\pm1.8\%$	$96.8\pm0.2\%$	$98.2\pm0.1\%$

[120] **<2-4> PEI-면 흡착제의 생태독성**

[121] 이상의 결과를 고려할 때 3% PEI 용액을 사용하여 제조된 PEI-면 흡착제(이하 간략하게 '3% PEI-면 흡착제'로 명명함)의 경우 수계에서 유해 남조류인 *M. aeruginosa*를 제거하기 위한 실현 가능하고 효과적인 흡착제로 판단되었다. 한편, *M. aeruginosa*의 성장을 제어하기 위해 PEI-면 흡착제를 수계에 적용하는 경우 수계의 2차 오염을 방지하기 위해 PEI-면 흡착제의 독성이 없어야 한다. 이에, 본 실험에서는 본 발명의 3% PEI-면 흡착제의 독성 유무를 평가하였다.

[122] 물벼룩(*D. magna*)을 이용하여 상기 흡착제의 독성을 평가한 결과, 3% PEI-면 흡착제의 생태독성은 무시할만한 수준임을 확인하였다(도 9 참조). 3% PEI-면 흡착제(2g/L)의 존재는 *D. magna* 생존율에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 자세하게는, 3% PEI-면 흡착제로 *D. magna*를 24시간 및 48시간 배양한 후 *D. magna*의 추정 생존율은 *D. magna*의 초기 접종 농도($95.0\pm10.0\%$)와 거의 동일하게 유지되는 것으로 나타났다. 이에, 본 발명의 3% PEI-면 흡착제의 경우 수계에 사용하는 경우 생태독성이 없는 안전한 소재임을 확인할 수 있었다.

[123]

[124] **<2-6> PEI-면 흡착제의 실제 현장 적용시 유해 남세균 제어 효과**

[125] 본 발명의 PEI-면 흡착제의 실제 현장 적용을 위해 녹조 현상 발생 지역에서 취수한 현장 시료를 이용하여 유해 남세균 제어 성능 평가한 결과, 소재 투입 직후 약 80%, 2시간 이내 약 90% 12시간 이내 약 99.4%의 유해 남세균이 제어됨을 확인하였다(도 10a 및 10b 참조). 또한, 실제 유해 남세균 제어에 사용한

PEI-면 흡착제의 경우 유해 남세균이 정전기적 인력에 의해 부착되어 제어됨을 실제 제어에 사용한 소재의 색 변화를 통해 관찰할 수 있었다(도 10c 참조).

[126] 상기와 같은 결과를 통해 본 발명의 PEI-면 흡착제의 경우 자연적인 환경에서도 남세균의 제어가 가능함을 확인하였다.

[127]

[128] **<2-7> PEI-면 흡착제의 유해 남세균 유래 독성 물질 흡착·제거 효과**

[129] 본 발명의 PEI-면 흡착제의 실제 녹조 현상 발생 지역에서 취수한 현장 시료를 이용한 유해 조류 제어 시 유해 남세균 유래 독성 물질의 농도 변화 측정을 진행한 결과, 현장에서 취수한 유해 남세균 샘플에서 유해 남세균 제어를 진행함과 동시에 일부 유해 남세균 유래 독성물질의 제어도 가능함을 확인하였다(도 11 참조).

[130] 이와 같은 현상은 PEI-면 흡착제가 유해 남세균 제어 시 세포의 사멸을 유도하지 않으며 소재 표면에 부착되어 제어됨을 시사하며, 현장 적용 시 존재하는 유해 남세균 뿐만 아니라 유해 남세균 유래 독소물질의 일부도 제어가 가능함이 알 수 있다.

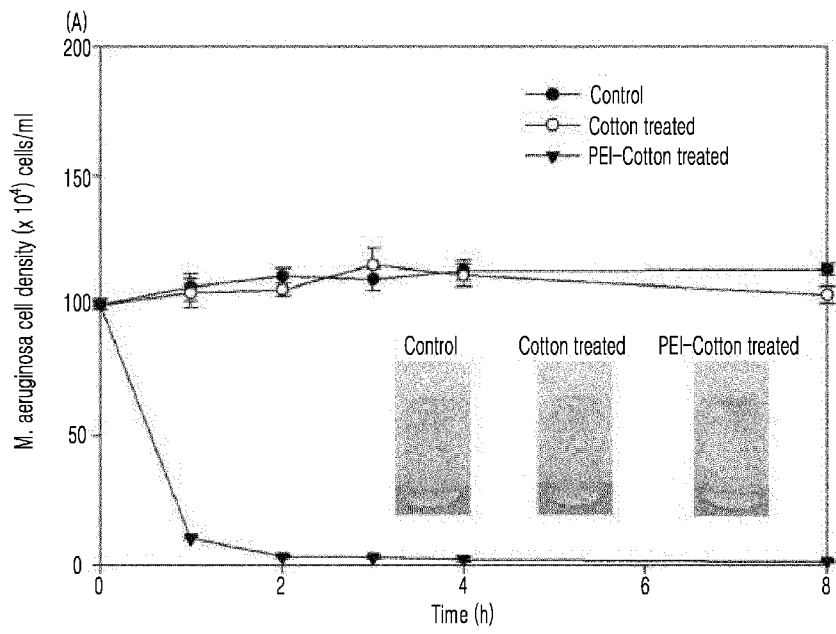
[131]

[132] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 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.

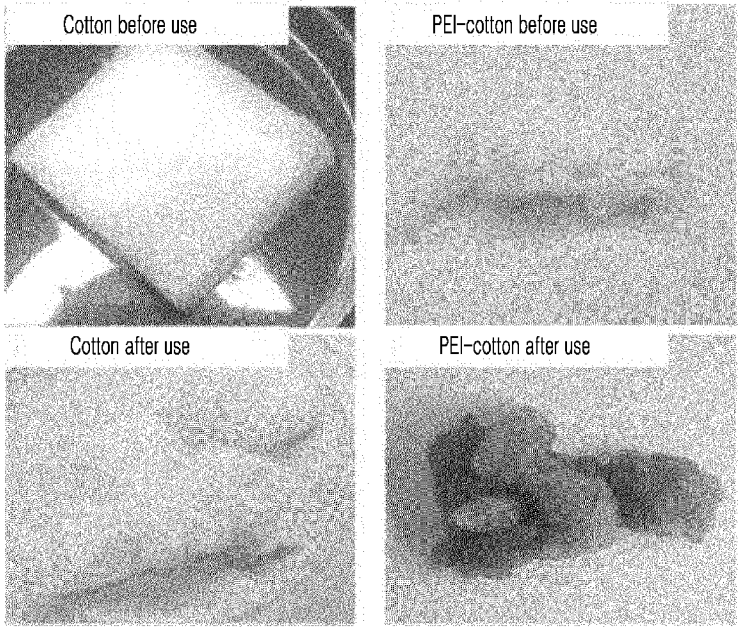
청구범위

- [청구항 1] 표면이 양이온성 고분자로 개질된 남세균 제거용 면 흡착제.
- [청구항 2] 제1항에 있어서,
상기 양이온성 고분자는 아민기-함유 양이온성 폴리머인 것을 특징으로 하는, 남세균 제거용 면 흡착제.
- [청구항 3] 제2항에 있어서,
상기 아민기-함유 양이온성 폴리머는 폴리에틸렌이민,
아민-터미네이티드 폴리에틸렌옥사이드, 아민-터미네이티드
폴리에틸렌/프로필렌 옥사이드, 디메틸 아미노 에틸 메타크릴레이트의
폴리머 및 디메틸 아미노에틸 메타크릴레이트와 비닐피롤리돈의
코폴리머, 에피클로로히드린과 디메틸아민의 선형 폴리머,
폴리디알릴디메틸암모늄 클로라이드,
폴리에탄올아민/메틸클로라이드 및 개질된 폴리에틸렌이민으로
구성되는 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는, 남세균 제거용 면 흡착제.
- [청구항 4] 제1항에 있어서,
상기 남세균 제거용 면 흡착제는 a) 면 섬유를 가수분해하는 단계; b)
가수분해된 면 섬유를 1% 내지 3% w/v 농도의
폴리에틸렌이민(polyethyleneimine) 용액에 혼합한 후 반응시킴으로써
표면을 개질시키는 단계; 및 c) 표면이 개질된 면 섬유를
글루타르알데하이드(glutaraldehyde) 용액에 넣은 후 가교 반응을
진행시키는 단계를 포함하는 과정을 통해 제조되는 것을 특징으로 하는,
남세균 제거용 면 흡착제.
- [청구항 5] 제4항에 있어서,
상기 a) 단계는 면 섬유를 3M 농도의 수산화나트륨 용액에 넣어 1-3시간
동안 가수분해시키는 것을 특징으로 하는, 남세균 제거용 면 흡착제.
- [청구항 6] 제1항에 있어서,
상기 남세균은 녹조를 유발하는 마이크로시스티스 에루지노사(*Microcystis aeruginosa*)인 것을 특징으로 하는, 남세균 제거용 면 흡착제.
- [청구항 7] 제1항 내지 제6항 중 어느 한 항의 흡착제를 녹조 발생 수역 또는
발생징후가 관찰된 수역에 처리하는 단계를 포함하는, 녹조 제거방법.

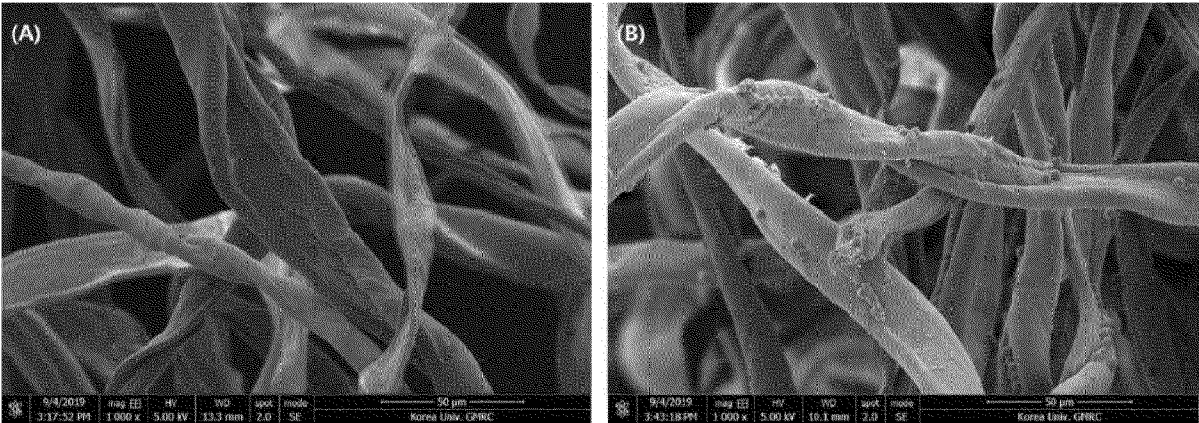
[도1]



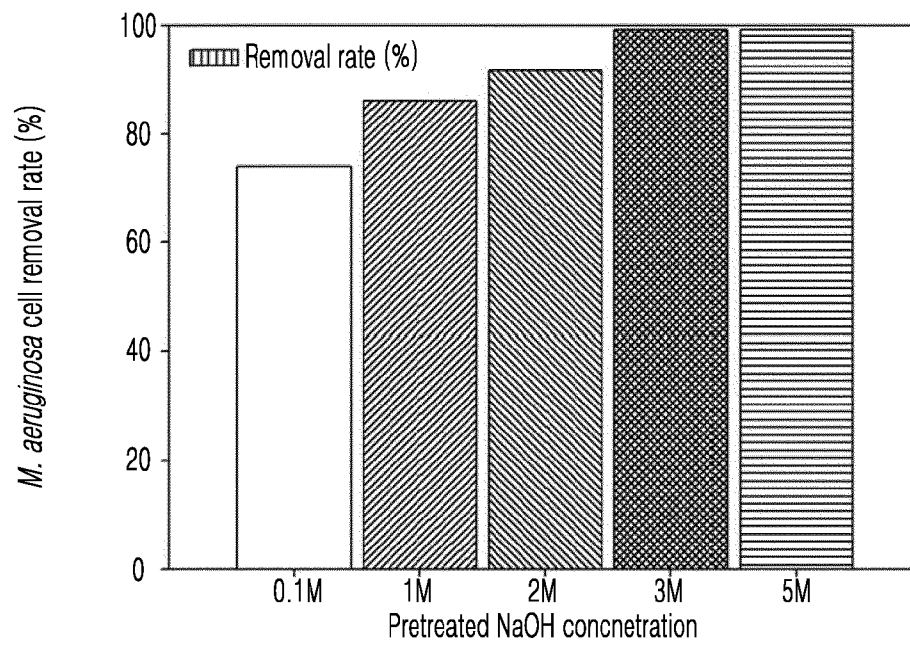
(B)



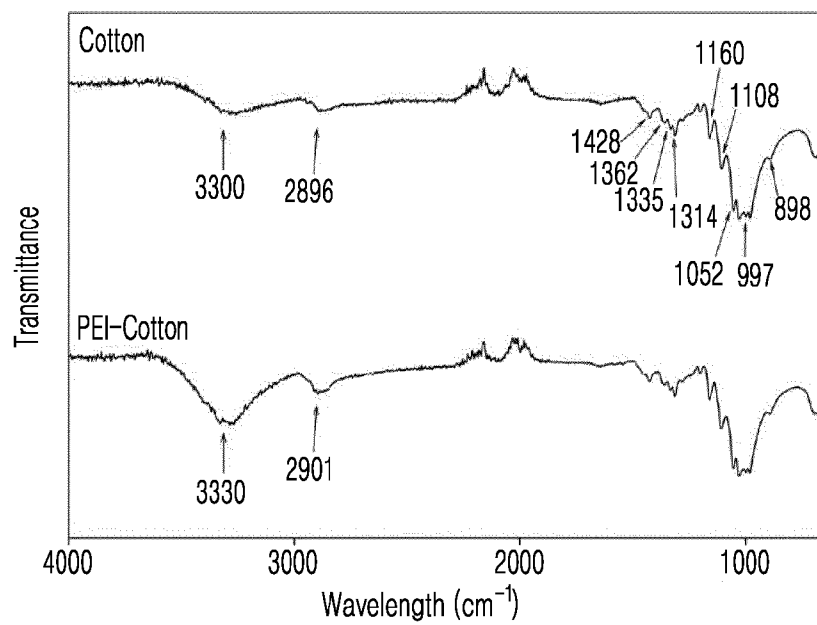
[도2]



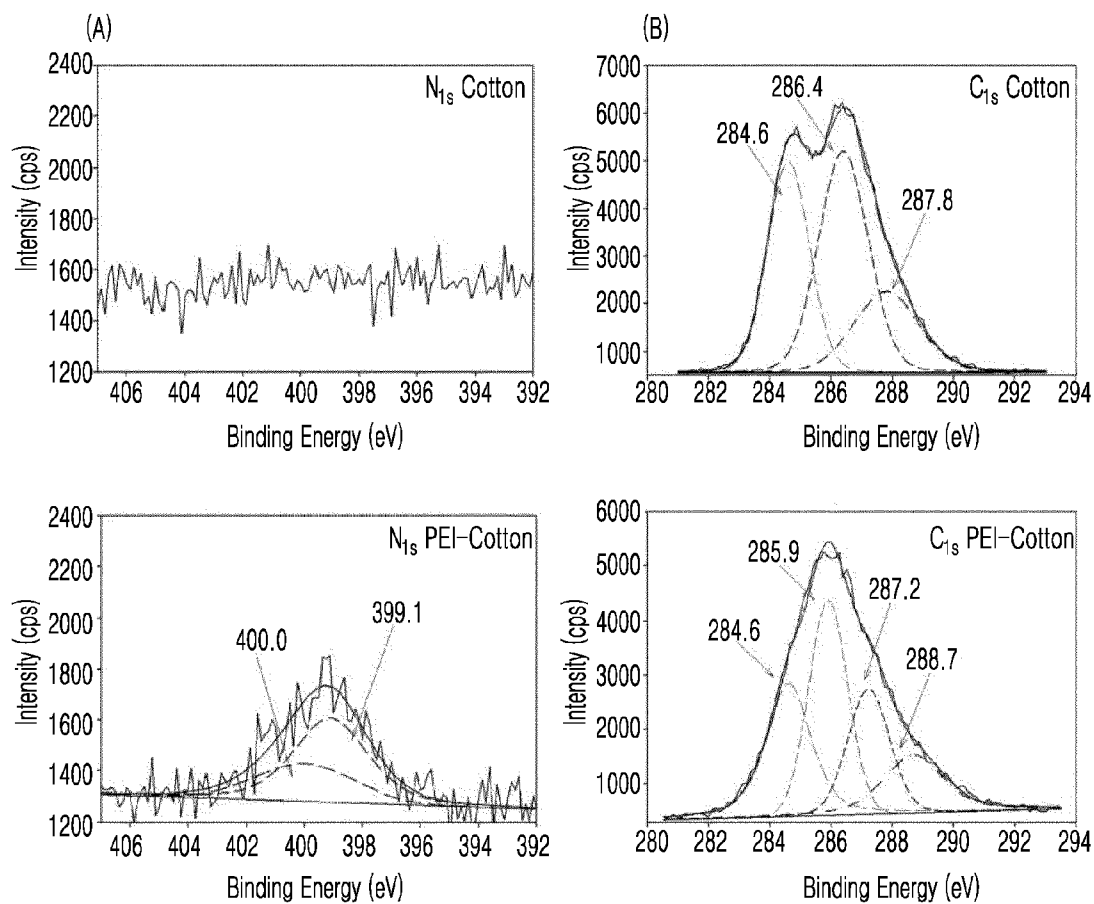
[도3]



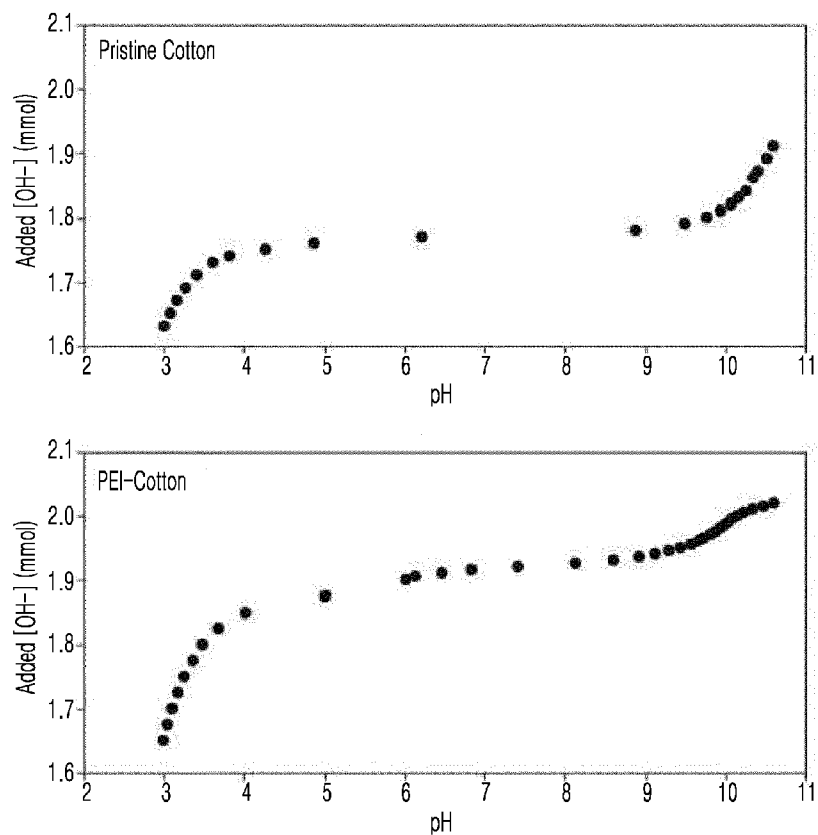
[도4]



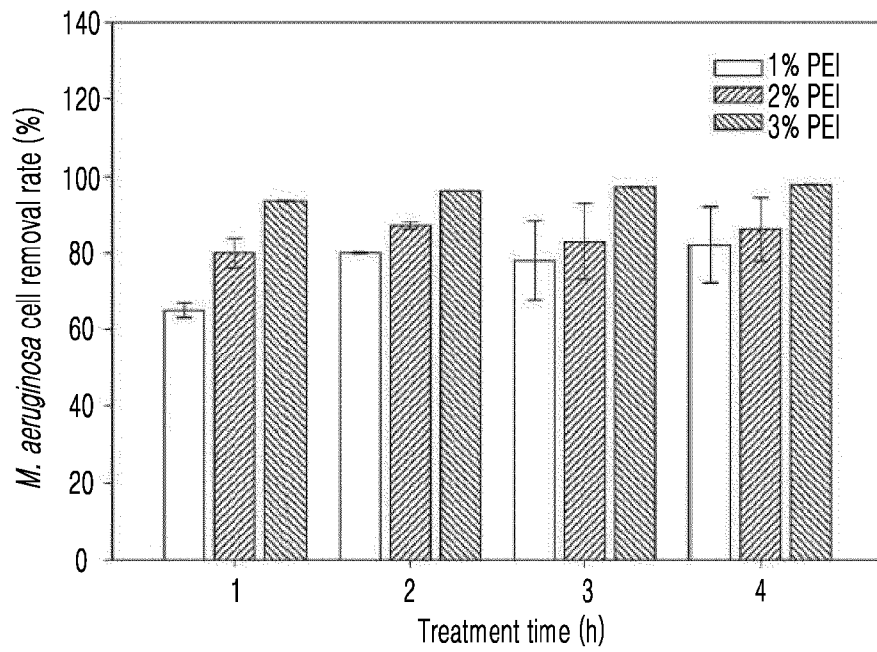
[도5]



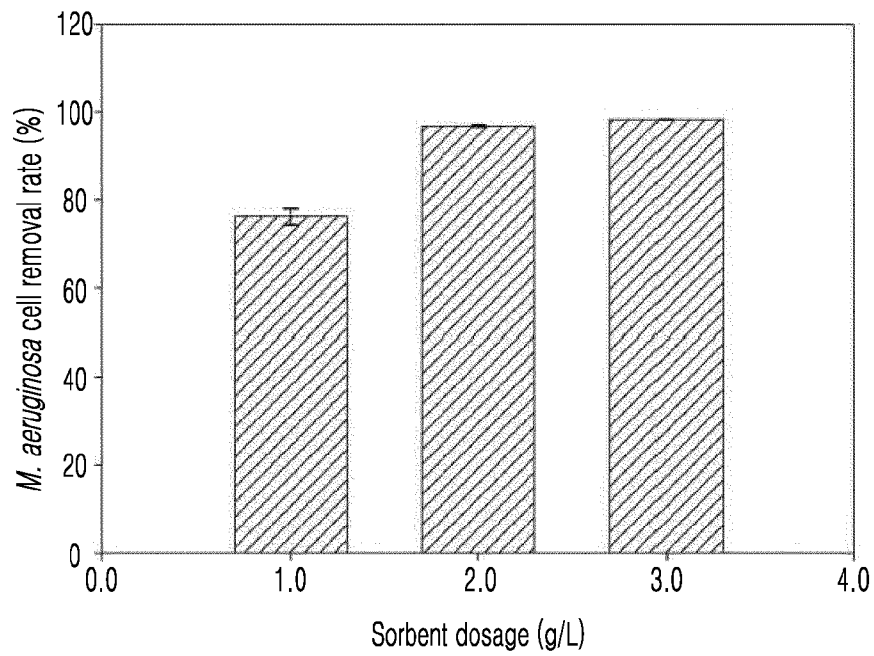
[도6]



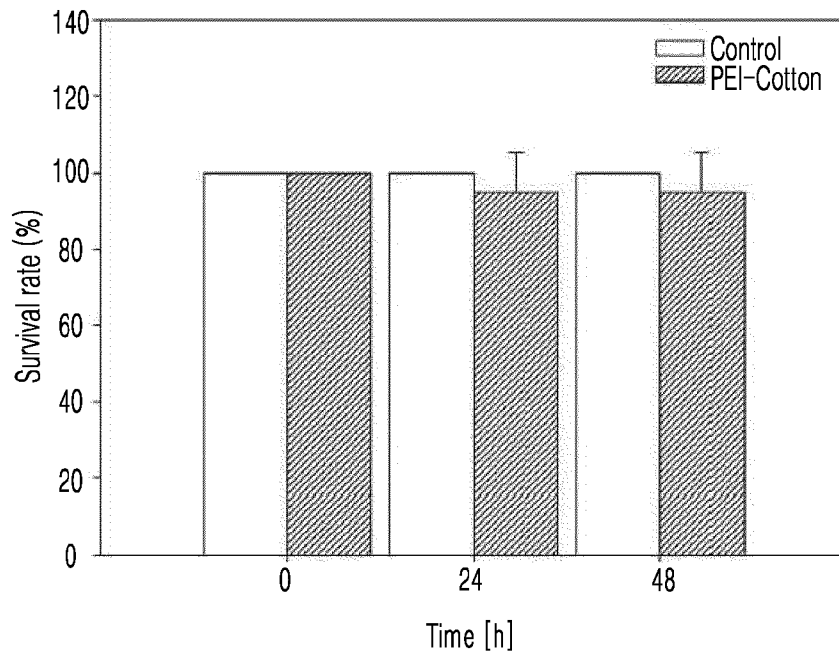
[도7]



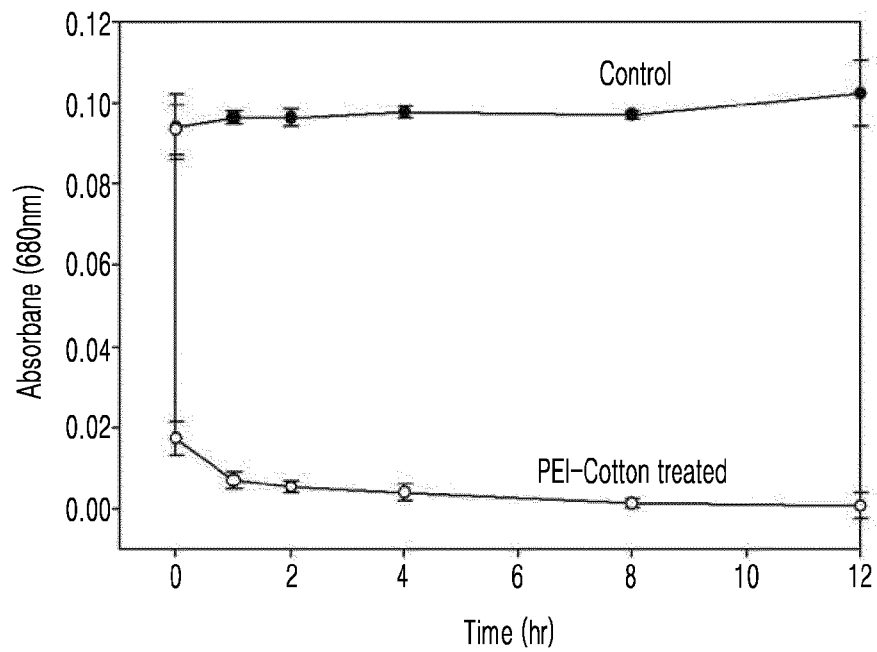
[도8]



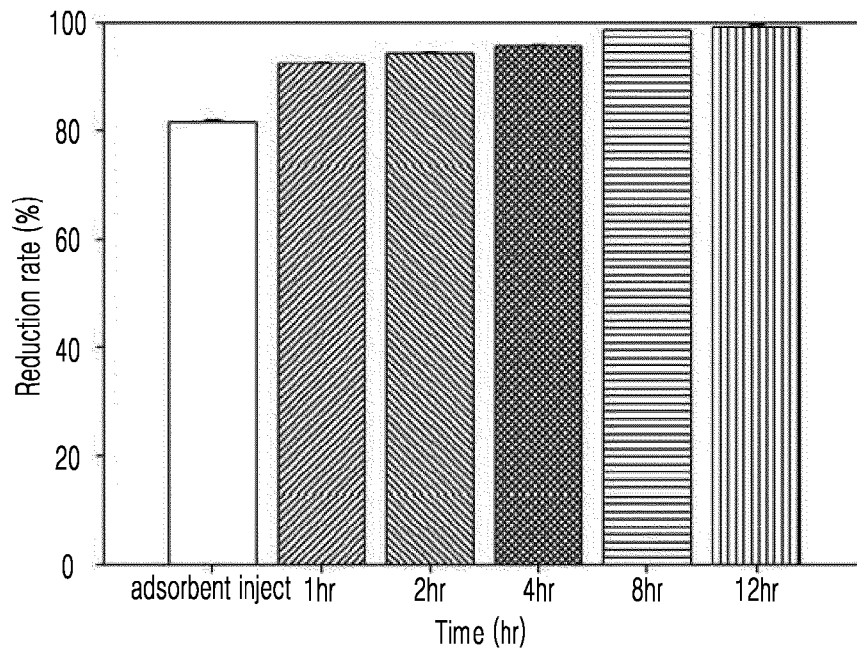
[도9]



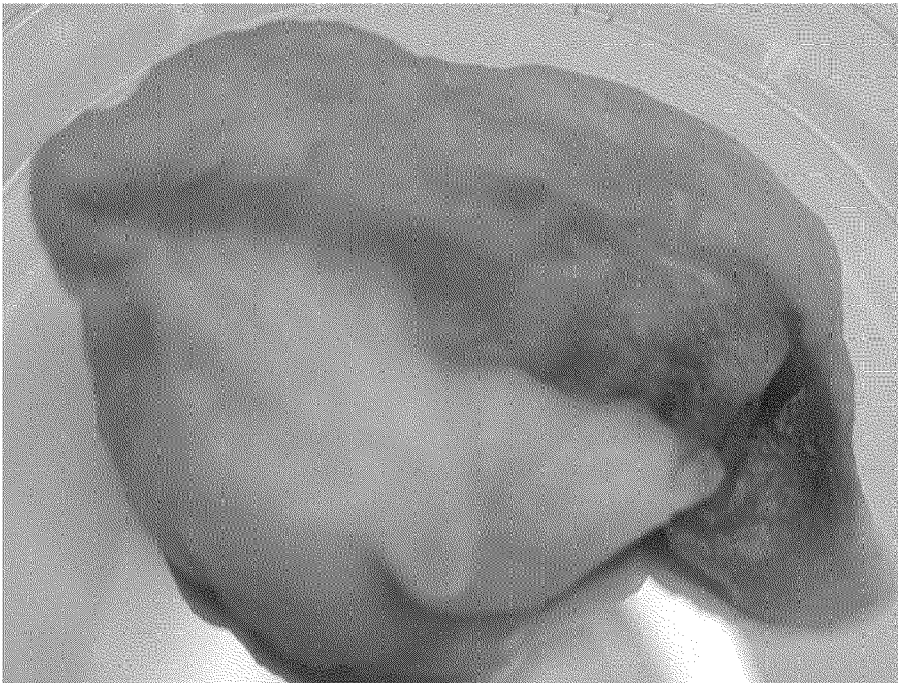
[도 10a]



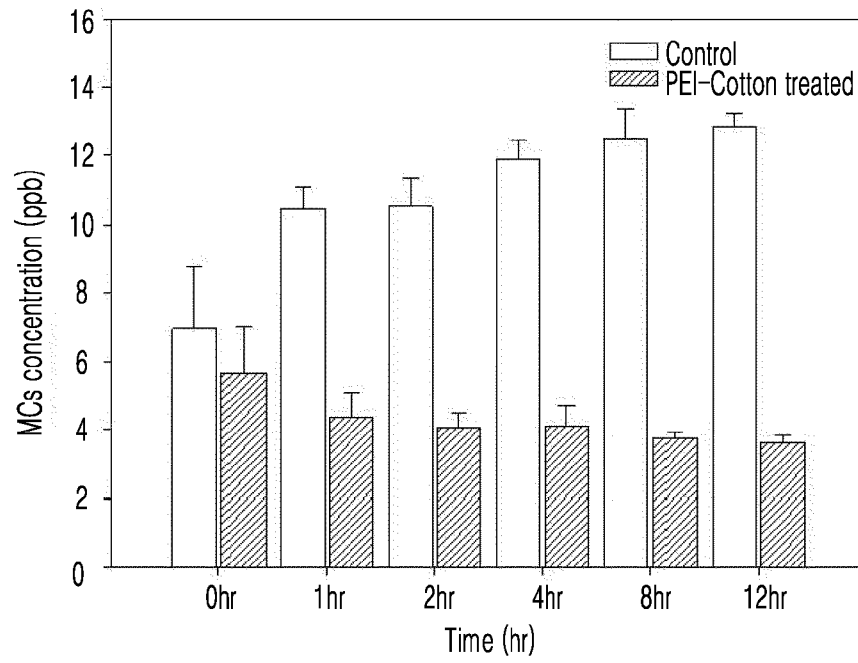
[도10b]



[도10c]



[도11]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2022/017349

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**B01J 20/24**(2006.01)i; **B01J 20/28**(2006.01)i; **B01J 20/30**(2006.01)i; **C02F 1/28**(2006.01)i; **C02F 1/40**(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

B01J 20/24(2006.01); B08B 9/032(2006.01); F24H 1/00(2006.01)

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean utility models and applications for utility models: IPC as above

Japanese utility models and applications for utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & keywords: 먼 흡착제(cotton absorbent), 남세균 제거(cyanobacteria removal), 양이온성 고분자(cationic polymer), 가수분해(hydrolysis), 표면개질(surface modification), 가교반응(cross-linking reaction)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KIM, Sok et al. Adsorptive removal of harmful algal species <i>Microcystis aeruginosa</i> directly from aqueous solution using polyethylenimine coated polysulfone-biomass composite fiber. Biodegradation. 2018, vol. 29, pp. 349-358. See pages 349-356.	1-7
A	BAI, Hongjuan et al. Single and binary adsorption of dyes from aqueous solutions using functionalized microcrystalline cellulose from cotton fiber. Korean Journal of Chemical Engineering. 2020, vol. 37, pp. 1926-1932. See pages 1927-1932.	1-7
A	JP 2017-142000 A (EAST:KK) 17 August 2017 (2017-08-17) See entire document.	1-7
X	KIM, Ho Seon et al. Amination of cotton fiber using polyethyleneimine and its application as an adsorbent to directly remove a harmful cyanobacterial species, <i>Microcystis aeruginosa</i> , from an aqueous medium. Environmental Research. 2021 (online publication date: 29 April 2021), vol. 197, pp. 1-8. See pages 1-3. *This document is a known document declaring exceptions to lack of novelty by the applicant.	1-7



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“D” document cited by the applicant in the international application

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 February 2023

Date of mailing of the international search report

14 February 2023

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsaro, Seo-gu, Daejeon 35208

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2022/017349

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	PARK, Yun Hwan et al. Direct removal of harmful cyanobacterial species by adsorption process and their potential use as a lipid source. Chemical Engineering Journal. 2021 (online publication date: 12 August 2021), vol. 427, pp. 1-5. See pages 1-4. ※This document is a known document declaring exceptions to lack of novelty by the applicant.	1-7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2022/017349

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
JP 2017-142000 A	17 August 2017	JP 6022095 B1	09 November 2016

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) B01J 20/24(2006.01)i; B01J 20/28(2006.01)i; B01J 20/30(2006.01)i; C02F 1/28(2006.01)i; C02F 1/40(2006.01)i																	
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) B01J 20/24(2006.01); B08B 9/032(2006.01); F24H 1/00(2006.01) 조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 면 흡착제(cotton absorbent), 남세균 제거(cyanobacteria removal), 양이온성 고분자(cationic polymer), 가수분해(hydrolysis), 표면개질(surface modification), 가교반응(cross-linking reaction)																	
C. 관련 문헌 <table border="1"> <thead> <tr> <th>카테고리*</th> <th>인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재</th> <th>관련 청구항</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>KIM, SOK 등, "Adsorptive removal of harmful algal species <i>Microcystis aeruginosa</i> directly from aqueous solution using polyethylenimine coated polysulfone-biomass composite fiber." <i>Biodegradation</i>, 2018, 29권, 페이지 349-358 페이지 349-356 참조.</td> <td>1-7</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>BAI, HONGJUAN 등, "Single and binary adsorption of dyes from aqueous solutions using functionalized microcrystalline cellulose from cotton fiber." <i>Korean Journal of Chemical Engineering</i>, 2020, 37권, 페이지 1926-1932. 페이지 1927-1932 참조.</td> <td>1-7</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>JP 2017-142000 A (EAST:KK) 2017.08.17 전체 문헌 참조.</td> <td>1-7</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>KIM, HO SEON 등, "Amination of cotton fiber using polyethyleneimine and its application as an adsorbent to directly remove a harmful cyanobacterial species, <i>Microcystis aeruginosa</i>, from an aqueous medium." <i>Environmental Research</i>, 2021(온라인 공개일: 2021.04.29), 197권, 페이지 1-8 페이지 1-3 참조. ※위 문헌은 출원인이 신규성 상실의 예외로서 선언한 공지문헌임.</td> <td>1-7</td> </tr> </tbody> </table>			카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항	X	KIM, SOK 등, "Adsorptive removal of harmful algal species <i>Microcystis aeruginosa</i> directly from aqueous solution using polyethylenimine coated polysulfone-biomass composite fiber." <i>Biodegradation</i> , 2018, 29권, 페이지 349-358 페이지 349-356 참조.	1-7	A	BAI, HONGJUAN 등, "Single and binary adsorption of dyes from aqueous solutions using functionalized microcrystalline cellulose from cotton fiber." <i>Korean Journal of Chemical Engineering</i> , 2020, 37권, 페이지 1926-1932. 페이지 1927-1932 참조.	1-7	A	JP 2017-142000 A (EAST:KK) 2017.08.17 전체 문헌 참조.	1-7	X	KIM, HO SEON 등, "Amination of cotton fiber using polyethyleneimine and its application as an adsorbent to directly remove a harmful cyanobacterial species, <i>Microcystis aeruginosa</i> , from an aqueous medium." <i>Environmental Research</i> , 2021(온라인 공개일: 2021.04.29), 197권, 페이지 1-8 페이지 1-3 참조. ※위 문헌은 출원인이 신규성 상실의 예외로서 선언한 공지문헌임.	1-7
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항															
X	KIM, SOK 등, "Adsorptive removal of harmful algal species <i>Microcystis aeruginosa</i> directly from aqueous solution using polyethylenimine coated polysulfone-biomass composite fiber." <i>Biodegradation</i> , 2018, 29권, 페이지 349-358 페이지 349-356 참조.	1-7															
A	BAI, HONGJUAN 등, "Single and binary adsorption of dyes from aqueous solutions using functionalized microcrystalline cellulose from cotton fiber." <i>Korean Journal of Chemical Engineering</i> , 2020, 37권, 페이지 1926-1932. 페이지 1927-1932 참조.	1-7															
A	JP 2017-142000 A (EAST:KK) 2017.08.17 전체 문헌 참조.	1-7															
X	KIM, HO SEON 등, "Amination of cotton fiber using polyethyleneimine and its application as an adsorbent to directly remove a harmful cyanobacterial species, <i>Microcystis aeruginosa</i> , from an aqueous medium." <i>Environmental Research</i> , 2021(온라인 공개일: 2021.04.29), 197권, 페이지 1-8 페이지 1-3 참조. ※위 문헌은 출원인이 신규성 상실의 예외로서 선언한 공지문헌임.	1-7															
☒ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. ☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.																	
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: "A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 "D" 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌 "E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 "L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 "O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 "P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 "T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 "X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. "Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. "&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌																	
국제조사의 실제 완료일 2023년02월13일(13.02.2023)		국제조사보고서 발송일 2023년02월14일(14.02.2023)															
ISA/KR의 명칭 및 우편주소 대한민국 특허청 (35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-481-8578		심사관 허주형 전화번호 +82-42-481-5373															

C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	PARK, YUN HWAN 등, "Direct removal of harmful cyanobacterial species by adsorption process and their potential use as a lipid source." Chemical Engineering Journal, 2021(온라인 공개일: 2021.08.12), 427권, 페이지 1-5 페이지 1-4 참조. ※위 문헌은 출원인이 신규성 상실의 예외로서 선언한 공지문헌임.	1-7

국제출원번호