(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0113539
(43) 공개일자 2019년10월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
B01D 65/02 (2006.01) *B01D 65/08* (2006.01)
(52) CPC특허분류
B01D 65/022 (2013.01)
B01D 65/08 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-0012432
(22) 출원일자 2019년01월31일
심사청구일자 2019년01월31일
(30) 우선권주장
1020180035222 2018년03월27일 대한민국(KR)

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
김중배
서울특별시 강남구 역삼로 309, 101동 1501호 (역삼동, 래미안펜타빌아파트)
김상우
서울특별시 동대문구 무학로26길 30, 103동 1107호(용두동, 신동아아파트)
(74) 대리인
특허법인이룸리온

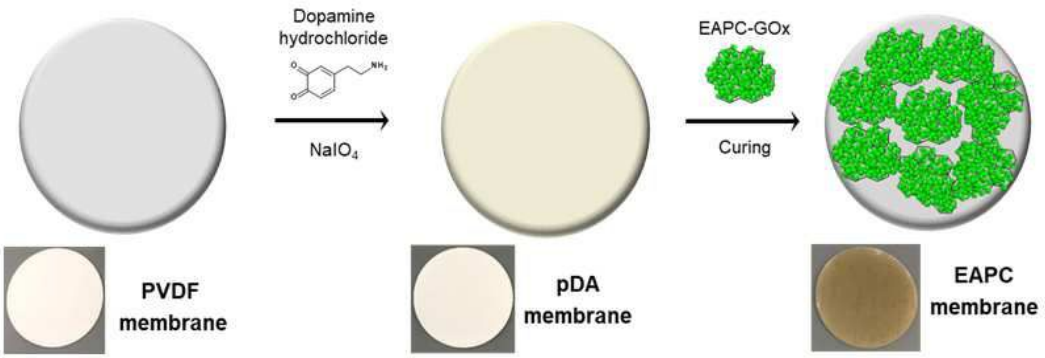
전체 청구항 수 : 총 14 항

(54) 발명의 명칭 **표면 항균 활성을 갖는 효소기반 수처리용 멤브레인 및 이의 제조방법**

(57) 요 약

본 발명은 수처리용 멤브레인에 대한 것이며, 보다 구체적으로는 미생물 오염 제거 활성(biocidal activity)을 가지는 표면 항균 활성을 갖는 수처리용 멤브레인 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

대 표 도 - 도2



(52) CPC특허분류
B01D 2325/48 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 2014K1A1A2043032
부처명 과학기술정보통신부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 글로벌연구실사업
연구과제명 미생물 오염 방지 및 제거를 위한 나노바이오촉매 소재 개발
기 여 율 1/1
주관기관 고려대학교 산학협력단
연구기간 2018.05.01 ~ 2019.02.28

명 세 서

청구범위

청구항 1

다공성 여재;

상기 다공성 여재의 표면 적어도 일부에 피복된 폴리도파민 코팅층; 및

상기 폴리도파민 코팅층을 통해 상기 다공성 여재에 고정된 항균효소-구조물 복합체;를 포함하는 항균활성을 갖는 수처리용 멤브레인.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 다공성 여재는 상기 다공성 여재는 평균공경이 0.1 ㎚ ~ 10 ㎛인 것을 특징으로 하는 항균활성을 갖는 수처리용 멤브레인.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 다공성 여재는 폴리비닐리덴 플루오라이드 (polyvinylidene fluoride), 폴리비닐알코올 (polyvinylalcohol), 폴리비닐아세테이트 (polyvinylacetate), 폴리메틸메타클릴레이트 (polymethylmethacrylate), 폴리아크릴로니트릴 (polyacrylonitrile), 폴리비닐피롤리돈 (polyvinylpyrrolidone), 폴리테트라플루오로에틸렌 (polytetrafluorethylene), 폴리이미드 (polyimide), 폴리에틸렌옥사이드 (polyethylene oxide), 폴리술폰(polysulfone), 폴리 에테르 술폰(poly ether sulfone), 셀룰로오스 아세테이트 (cellulose acetate), 셀룰로오스 아세테이트 부틸 레이트 (cellulose acetate butyrate), 셀룰로오스 아세테이트 프로피오네이트 (cellulose acetate propionate), 산화 알루미늄(Al_2O_3), 탄화규소 (Silicon Carbide), 질화규소(silicon nitride), 산화 지르코늄(ZrO_2) 및 산화 타이타늄(TiO_2)로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 화합물로 형성된 것을 특징으로 하는 항균활성을 갖는 수처리용 멤브레인.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 항균효소-구조물 복합체는 구조물의 표면 혹은 내부에 항균효소가 고정화된 것을 특징으로 하는 항균활성을 갖는 수처리용 멤브레인.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 구조물은 탄소나노튜브, 그래핀, 그래핀옥사이드, 활성탄, 고분자나노섬유, 나노세공성입자, 실리카입자, 알루미늄입자, 은나노입자, 금나노입자, 자성나노입자 및 제올라이트로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는 것을 특징으로 하는 항균활성을 갖는 수처리용 멤브레인.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 항균효소-구조물 복합체는 상기 다공성 여재 어느 일면의 외부 표면부에 고정되도록 구비된 것을 특징으로 하는 항균활성을 갖는 수처리용 멤브레인.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 구조물의 크기는 0.001 ~ 100㎛인 것을 특징으로 하는 항균활성을 갖는 수처리용 멤브레인.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 항균효소는 글루코스 산화효소, 피라노스 산화효소, 헥소스 산화효소, 갈락토스 산화효소, 콜레스테롤 산화효소, 잔틴 산화효소, 알코올 산화효소, 아릴 알코올 산화효소, 바닐릴 알코올 산화효소, 베라트릴 알코올 산화효소, NAD(P)H 산화효소, 굴로노락톤 산화효소, 피리독신 산화효소, 히드록시 산화효소, 콜린 산화효소, 글리세롤-3-포스페이트 산화효소, 아라비노-락톤 산화효소, 글리옥살 산화효소, 알데히드 산화효소, 옥살레이트 산화효소, 아릴 알데히드 산화효소, L-아미노산 산화효소, L-글루타메이트 산화효소, 폴리아민 산화효소, 히드록실아민 산화효소, 티올 산화효소, 글루타치온 산화효소, 시토크롬 C 산화효소, 알코올 탈수소효소 및 셀로비오스 탈수소효소로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 항균효소를 포함하는 것을 특징으로 하는 항균활성을 갖는 수처리용 멤브레인.

청구항 9

제1항에 있어서,

단위면적(㎡) 당 상기 항균효소-구조물 복합체의 구조물이 0.004 ~ 14 g의 함량으로 구비된 것을 특징으로 하는 항균활성을 갖는 수처리용 멤브레인.

청구항 10

제4항에 있어서,

상기 항균효소-구조물 복합체는 항균효소들이 가교결합되어 구비된 것을 특징으로 하는 항균활성을 갖는 수처리용 멤브레인.

청구항 11

제4항에 있어서,

상기 항균효소-구조물 복합체는 석출화제를 통해 석출된 항균효소들이 가교결합되어 구비된 것을 특징으로 하는 항균활성을 갖는 수처리용 멤브레인.

청구항 12

(1) 다공성 여재 상에 도파민 용액을 처리하여 폴리도파민 코팅층을 형성시키는 단계; 및

(2) 폴리도파민 코팅층이 형성된 다공성 여재 상부에 항균효소-구조물 복합체를 포함하는 용액을 처리하여 항균효소-구조물 복합체를 폴리도파민 코팅층에 고정시키는 단계;를 포함하는 항균활성을 갖는 수처리용 멤브레인 제조방법.

청구항 13

제12항에 있어서,

상기 (2)단계는 상기 용액이 폴리도파민 코팅층이 형성된 다공성 여재를 일방향으로 통과하는 흐름이 형성되도록 수행되는 감압여과 공정을 포함하는 것을 특징으로 하는 항균활성을 갖는 수처리용 멤브레인 제조방법.

청구항 14

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 따른 항균활성을 갖는 수처리용 멤브레인을 포함하는 수처리 모듈.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 수처리용 멤브레인에 대한 것이며, 보다 구체적으로는 미생물 오염 제거 활성(biocidal activity)을

가지는 표면 항균 활성을 갖는 수처리용 멤브레인 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 멤브레인 여과 (membrane filtration) 기술은 수처리의 핵심공정으로 다양한 산업에서 광범위하게 적용되고 있다. 그러나 멤브레인 운전이 진행됨에 따라 멤브레인 여과표면에서 미생물들이 점착성 체외 고분자 물질(Extracellular Polymeric Substances, EPS)을 분비하면서 부착성장(attached growth)을 시작하여 최종적으로는 수십 마이크로미터 내외의 두께를 가지는 생물막(biofilm)을 형성함에 따라서 멤브레인 표면을 덮게 되고(biofouling), 이는 투수도 감소, 멤브레인 수명 단축, 여과에 필요한 에너지 소비량 증가 등의 문제를 야기하여, 멤브레인 공정의 성능 및 경제성을 악화시키는 문제가 있다.

[0003] 이러한 문제를 해결하기 위하여 종래에는 형성된 생물막을 물리적으로 제거 (aeration, backflushing)하는 방식과, 화학약품(산, 염기, 산화제)을 이용하여 멤브레인을 세정하는 방식을 활용하였다.

[0004] 그러나 종래의 멤브레인 물리적, 화학적 항균 및 살균 기술은 생물막 제거에 한계점을 가지고 있다. 구체적으로 미생물들은 점착성 체외 고분자 물질을 통해 멤브레인에 부착되는데, 상기 점착성 체외 고분자 물질 층이 외부로 가해지는 물리적 충격에 대한 배리어(barrier)로 작용하여 물리적 방법을 통한 제거를 어렵게 하는 문제가 있다. 또한, 화학약품을 통한 방식의 경우 화학약품의 과다사용이나 오사용으로 인해 수처리 설비의 부식을 야기하거나 환경오염, 약품사용에 의한 작업자 안전을 저해하는 문제가 있다.

[0005] 이에 최근에는 효소를 이용해서 생물막 형성에 관여하는 다양한 미생물의 생리작용을 선택적으로 제어함으로써, 높은 항균 혹은 살균 효과를 달성하는 방식이 연구되고 있다. 이러한 방식은 효소의 친환경성으로 인해 환경오염을 방지할 수 있고, 작업자 안전 등에도 무해한 이점이 있다.

[0006] 위와 같은 효소를 실제 여과시스템에 적용 가능한 양태를 살펴보면 효소 또는 효소를 생산하는 미생물이 고정화된 담체(carrier)를 여과 시스템에 주입하는 방법을 고려해볼 수 있으나, 효소 또는 미생물이 고정화된 담체가 분산된 상황에서 이를 분리, 회수하여 재사용하기가 어렵다는 문제가 있다.

[0007] 다른 양태로서, 효소를 멤브레인의 여과표면에 고정화하는 방법을 고려해볼 수 있다. 이 방법은 여과 표면에서 미생물 오염을 직접 제어하여 항균 혹은 살균 효율을 극대화 시킬 수 있고, 기존 여과 시스템의 변경이나 추가처리하지 않고 그대로 사용가능 하다는 이점이 있다.

[0008] 그러나 현재까지 공지된 효소 고정화/안정화 기술을 통해서는 멤브레인 여과 표면에 항균효소를 부착하는데 어려움이 있다. 구체적으로 상업적으로 이용 가능한 멤브레인 소재는 항균효소를 고정시킬 수 있는 결합을 위한 화학적 작용기가 없다.

[0009] 또한, 만일 멤브레인 소재에 작용기 형성을 위한 개질로서 추가 코팅 및 플라즈마 처리는 멤브레인 투과저항 증가 및 멤브레인 구조 손상을 야기할 수 있다.

[0010] 나아가, 항균효소가 고정될 수 있는 멤브레인의 표면적에는 제한이 있어서 종래의 방법을 통한 고정으로는 멤브레인 여과표면에 형성되는 생물막의 제거가 역부족이다.

[0011] 더불어 여과목적 상 멤브레인은 유로가 형성된 기재여야 하는데, 항균효소와 결합하는 방법에 따라 멤브레인의 기공구조의 변경을 야기해 기공이 좁아지거나 막힘으로써 멤브레인의 여과능이 현저히 떨어질 수 있다.

[0012] 더 나아가, 장기 연속 운전에 의한 항균효소의 활성저하가 불가피하다.

[0013] 이에 따라서, 친환경적인 항균효소를 이용하면서도 상술한 종래의 효소 고정화/안정화 기술의 문제를 해결하는 새로운 방안에 대한 연구가 시급한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0014] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허공보 제10-2000-0036726호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0015] 본 발명은 상기와 같은 점을 감안하여 안출한 것으로, 투과저항 증가를 최소화 또는 방지하는 동시에 멤브레인 여과면적당 항균효소 부착량과 안정성을 최대화하여 높은 살균성능이 부가된 멤브레인 및 이의 제조방법을 제공하는데 목적이 있다.

과제의 해결 수단

[0016] 상술한 과제를 해결하기 위하여 본 발명은 다공성 여재, 상기 다공성 여재의 표면 적어도 일부에 피복된 폴리도파민 코팅층, 및 상기 폴리도파민 코팅층을 통해 상기 다공성 여재에 고정된 항균효소-구조물 복합체를 포함하는 항균활성을 갖는 수처리용 멤브레인을 제공한다.

[0017] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 다공성 여재는 평균공경이 0.01 ~ 10㎛ 일 수 있다.

[0018] 또한, 상기 다공성 여재는 폴리비닐리덴 풀루오라이드 (polyvinylidene fluoride), 폴리비닐알코올 (polyvinylalcohol), 폴리비닐아세테이트 (polyvinylacetate), 폴리메틸메타클릴레이트 (polymethylmethacrylate), 폴리아크릴로니트릴 (polyacrylonitrile), 폴리비닐피롤리돈 (polyvinylpyrrolidone), 폴리테트라플루오로에틸렌 (polytetrafluorethylene), 폴리이미드 (polyimide), 폴리에틸렌옥사이드 (polyethylene oxide), 폴리술폰(polysulfone), 폴리 에테르 술폰(poly ether sulfone), 셀룰로오스 아세테이트 (cellulose acetate), 셀룰로오스 아세테이트 부틸 레이트 (cellulose acetate butyrate), 셀룰로오스 아세테이트 프로피오네이트 (cellulose acetate propionate), 산화 알루미늄(Al_2O_3), 탄화규소 (Silicon Carbide), 질화규소(Silicon Nitride), 산화 지르코늄(ZrO_2) 및 산화 타이타늄(TiO_2)로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 화합물로 형성된 것일 수 있다.

[0019] 또한, 상기 항균효소-구조물 복합체는 상기 다공성 여재 어느 일면의 외부 표면부에 고정되도록 구비된 것일 수 있다. 일예로, 상기 항균효소-구조물 복합체는 구조물을 둘러싸도록 항균효소 가교결합체가 배치된 것일 수 있다. 또한, 바람직하게는 상기 항균효소 가교결합체는 석출화제를 통해 석출된 항균효소들이 가교결합된 것일 수 있다.

[0020] 또한, 상기 구조물은 탄소나노튜브, 그래핀, 그래핀 옥사이드, 활성탄, 고분자나노섬유, 나노세공성입자, 실리카입자, 알루미늄입자, 은나노입자, 금나노입자, 자성나노입자 및 제올라이트로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있다.

[0021] 또한, 상기 구조물은 판상일 수 있고, 일예로 그래핀, 그라파이트, 그래핀 옥사이드 또는 환원된 그래핀 옥사이드 일 수 있다.

[0022] 또한, 상기 항균효소는 글루코스 산화효소, 피라노스 산화효소, 헥소스 산화효소, 갈락토스 산화효소, 콜레스테롤 산화효소, 잔틴 산화효소, 알코올 산화효소, 아릴 알코올 산화효소, 바닐릴 알코올 산화효소, 베라트릴 알코올 산화효소, NAD(P)H 산화효소, 굴로노락톤 산화효소, 피리독신 산화효소, 히드록시 산화효소, 콜린 산화효소, 글리세롤-3-포스페이트 산화효소, 아라비노-락톤 산화효소, 글리옥살 산화효소, 알데히드 산화효소, 옥살레이트 산화효소, 아릴 알데히드 산화효소, L-아미노산 산화효소, L-글루타메이트 산화효소, 폴리아민 산화효소, 히드록실아민 산화효소, 티올 산화효소, 글루타치온 산화효소, 시토크롬 C 산화효소, 알코올 탈수소효소 및 셀로비오스 탈수소효소로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 항균효소를 포함할 수 있다.

[0023] 또한, 상기 구조물의 크기는 0.001 ~ 100㎛일 수 있다.

[0024] 또한, 단위면적(㎡) 당 상기 항균효소-구조물 복합체의 구조물이 0.004 ~ 14g의 함량으로 구비될 수 있다.

[0026] 또한, 본 발명은 (1) 다공성 여재 상에 도파민 용액을 처리하여 폴리도파민 코팅층을 형성시키는 단계, 및 (2) 폴리도파민 코팅층이 형성된 다공성 여재 상부에 항균효소-구조물 복합체를 포함하는 용액을 처리하여 항균효소-구조물 복합체를 폴리도파민 코팅층에 고정시키는 단계를 포함하는 항균활성을 갖는 수처리용 멤브레인 제조방법을 제공한다.

[0027] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 (2)단계는 상기 용액이 폴리도파민 코팅층이 형성된 다공성 여재를 일방향으로 통과하는 흐름이 형성되도록 수행되는 감압여과 공정을 포함할 수 있다.

[0029] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 항균활성을 갖는 수처리용 멤브레인을 포함하는 수처리 모듈을 제공한다.

발명의 효과

[0030] 본 발명에 의하면, 상술한 항균효소-구조물 복합체는 멤브레인 표면에서 미생물 오염을 억제하여 최종적으로 여과성능을 개선시킬 수 있음에 따라서 종래의 수처리용 멤브레인에 비하여 장기간 안정적인 수처리 장치의 운전이 가능하며, 특히 수처리 계통의 미생물오염 방지가 생산성에 직결되는 산업용 엔지니어링 시스템에 적합하게 사용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0031] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 포함되는 항균효소-구조물 복합체의 제조 과정을 나타낸 모식도이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 수처리용 멤브레인의 제조공정을 나타낸 모식도이다.

도 3은 본 발명의 일실시예에 포함되는 항균효소-구조물 복합체의 효소활성 측정결과 그래프이다.

도 4는 멤브레인의 항균성능 평가 방법을 나타낸 모식도이다.

도 5 및 도 6은 실시예1에 따른 멤브레인(EAPC(0.1)) 및 비교예1에 따른 멤브레인(PVDF)에 대해 도 4의 방법으로 6시간 배양 후, 멤브레인 표면에 부착된 *P.aeruginosa* 세균의 생존도(viability)를 공초점레이저주사현미경(CLSM)으로 관찰한 이미지이다.

도 7은 정유량 (Constant flux) 운전에서의 막간 차압(trans-membrane pressure, TMP)을 통해 멤브레인의 항균성능을 평가하는 방법과 장치를 나타낸 모식도이다.

도8 및 도 9는 본 발명의 일 실시예 및 비교예에 따른 수처리용 멤브레인에 대한 항균성능을 정유량 (Constant flux) 운전에서의 막간 차압(trans-membrane pressure, TMP)을 측정하여 정량적으로 대비한 그래프로서, 도 8은 *P.aeruginosa*에 기인한 생물막의 형성이 유도된 후 6시간 경과 후 멤브레인을 대상으로 측정된 막간차압을 나타낸 그래프이고, 도 9는 *S.aureus*에 기인한 생물막의 형성이 유도된 후 6시간 경과 후 멤브레인을 대상으로 측정된 막간차압을 나타낸 그래프이다.

도 10은 본 발명의 일 실시예 및 비교예에 따른 수처리용 멤브레인 일 표면에 대한 주사전자현미경 사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0032] 이하, 본 발명의 실시예에 대하여 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 상세히 설명한다. 본 발명은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며 여기에서 설명하는 실시예에 한정되지 않는다.

[0034] 본 발명의 일 실시예에 의한 항균활성을 갖는 수처리용 멤브레인은 다공성 여재, 상기 다공성 여재의 표면 적어도 일부에 피복된 폴리도파민 코팅층, 및 상기 폴리도파민 코팅층을 통해 상기 다공성 여재에 고정된 항균효소-구조물 복합체를 포함하여 구현된다. 항균활성을 갖는 수처리용 멤브레인은 미생물에 의해서 멤브레인 표면에 오염물질이 부착 및 성장하는 것을 생물학적 항균 작용을 통해 방지할 수 있는 멤브레인을 의미한다. 또한, 항균성능을 발현하기 위하여 항균효소를 멤브레인에 구비하되, 항균효소를 항균효소-구조물 복합체 형태로 다공성 여재에 도입함을 통해 멤브레인 단위면적당 도입되는 항균효소 함량을 현저히 증가시키고, 안정적으로 장시간 효소활성을 유지시키기 유리하다. 나아가, 항균효소를 다공성 여재에 고정시키기 위해서 다공성 여재에 작용기 생성 등의 별도의 개질 처리 없이도 폴리도파민 코팅층을 매개로 항균효소-구조물 복합체를 다공성 여재의 표면에 매우 용이하게 도입시킬 수 있다.

[0036] 상기 다공성 여재는 원수에 포함된 타겟된 여과물질을 걸러내기 위한 것으로서, 원수가 통과할 수 있는 유로가 형성된 다공성의 공지된 필터기재인 경우 제한 없이 사용될 수 있다.

[0037] 상기 다공성 여재는 공지된 필터의 제조에 사용되는 고분자화합물의 경우 제한 없이 사용될 수 있으나, 일예로 폴리비닐리덴 플루오라이드 (polyvinylidene fluoride), 폴리비닐알코올 (polyvinylalcohol), 폴리비닐아세테

이트 (polyvinylacetate), 폴리메틸메타클릴레이트 (polymethylmethacrylate), 폴리아크릴로니트릴 (polyacrylonitrile), 폴리비닐피롤리돈 (polyvinylpyrrolidone), 폴리테트라플루오로에틸렌 (polytetrafluorethylene), 폴리이미드 (polyimide), 폴리에틸렌옥사이드 (polyethylene oxide), 폴리술폰 (polysulfone), 폴리 에테르 술폰(poly ether sulfone), 셀룰로오스 아세테이트 (cellulose acetate), 셀룰로오스 아세테이트 부틸 레이트 (cellulose acetate butyrate), 셀룰로오스 아세테이트 프로피오네이트 (cellulose acetate propionate), 산화 알루미늄(Al_2O_3), 탄화규소(Silicon Carbide), 질화규소(Silicon Nitride), 산화 지르코늄(ZrO_2) 및 산화 타이타늄(TiO_2)로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 화합물로 형성된 것일 수 있다.또한, 상기 다공성 여재는 상기 예시된 화합물과 기공형성제를 통해 구현된 매트릭스에서 기공형성제를 제거함을 통해 다공성 구조가 구현된 것이거나, 상기 예시된 화합물로 제조된 섬유들이 축적되어 제조된 것으로서 일예로 부직포와 같은 섬유집합체일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.

[0038] 또한, 상기 다공성 여재는 타겟하는 여과물질의 크기, 유량, 멤브레인의 기계적 강도를 고려하여 적절한 공경과 기공도를 가질 수 있으며, 일예로 평균공경이 0.01 ~ 10㎛, 보다 바람직하게는 0.01 ~ 5㎛, 보다 더 바람직하게는 0.01 ~ 2㎛일 수 있고, 이를 통해 후술하는 항균효소-구조물 복합체가 도입되는 경우에도 우수한 유량과 항균성능을 동시에 발현하기 유리할 수 있다.

[0039] 또한, 상기 다공성 여재는 두께가 10 ~ 1000㎛이고, 평량이 10 ~ 50g/㎡ 일 수 있는데 이에 제한되는 것은 아니며, 유량, 기계적 강도 등을 고려하여 적절히 변경할 수 있다.

[0041] 다음으로 상술한 다공성 여재에 도입되는 항균효소-구조물 복합체에 대해 설명한다.

[0042] 아무 처리되지 않은 유리(free) 상태의 항균효소(antifouling enzyme)를 멤브레인에 결합하여 사용하게 되면 도입되는 항균효소의 양이 크게 감소해서 항균 성능이 현저하게 낮거나, 항균성능이 발생하지 못할 수 있다. 또한, 외부환경 변화에 따른 효소 구조에 변화에 의해 효소 활성 손실이 급격하게 진행되어 단시간 내에 효소 안정성이 급격히 떨어져 항균 성능을 잃게 될 수 있다.

[0043] 그러나 항균효소-구조물 복합체는 항균활성을 발현할 수 있을 정도로 멤브레인 단위면적당 도입되는 항균효소의 양을 현저히 증가시킬 수 있고, 동시에 도입된 항균효소의 안정성을 현저히 향상시켜 장시간 수처리 운영에도 항균효소의 활성 손실을 방지할 수 있는 이점이 있다.

[0044] 상기 항균효소-구조물 복합체는 구조물의 표면 혹은 내부에 방오효소가 고정화된 것일 수 있다. 일예로 상기 항균효소-구조물 복합체는 구조물의 표면에 항균효소가 2차원적으로 고정된 형태일 수 있다. 이때 상기 고정은 흡착과 같은 물리적 결합이거나(일예로 도 1의 EA), 구조물 상에 구비된 작용기와 효소 간의 화학적 결합일 수 있다.

[0045] 또는, 다른 일예로 상기 항균효소-구조물 복합체는 구조물의 표면에 항균효소가 3차원적으로 고정된 형태일 수 있는데, 구체적으로 항균효소 가교결합체가 구조물을 둘러싸도록 배치된 것일 수 있다. 이때, 상기 항균효소 가교결합체는 구조물의 표면에 항균효소가 2차원적으로 고정된 상태에서 가교결합제를 통해 비고정 상태의 항균효소 간 및 구조물에 고정된 항균효소와 비고정 상태의 항균효소 간 결합으로 형성된 것일 수 있다(일예로 도 1의 EAC). 상기 가교결합제는 비제한적인 예로써, 디이소시아네이트, 디안히드라이드, 디에폭사이드, 디알데하이드, 디이미드, 1-에틸-3-디메틸 아미노프로필카보디이미드, 글루타르알데하이드, 비스(이미도 에스테르), 비스(석신이미딜 에스테르) 및 디애시드 클로라이드로 구성되는 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 화합물을 포함할 수 있다.

[0046] 또한, 가교결합되는 상기 비고정 상태의 항균효소의 양을 현저히 증가시켜 항균활성을 발현하기에 충분한 양의 항균효소를 구비하기 위하여 석출화제가 사용될 수 있으며, 이를 통해 석출된 항균효소들이 항균효소 가교결합체를 형성할 수 있다(일예로 도 1의 EAPC). 이때, 상기 석출화제는 효소를 석출시키는 공지의 물질의 경우 제한없이 사용할 수 있고, 이에 대한 비제한적인 예로써, 메탄올, 에탄올, 1-프로판올, 2-프로판올, 부틸알콜, 아세톤, PEG, 암모늄 설페이트, 소듐 클로라이드, 소듐 설페이트, 소듐 포스페이트, 포타슘 클로라이드, 포타슘 설페이트, 포타슘 포스페이트 및 이들의 수용액이 단독 또는 혼합된 혼합액일 수 있다. 이때 상기 석출화제는 일예로 글루코오스 산화효소를 석출시키기 위해 처리되는 경우 처리 후 최종농도 기준 0.28g/㎖ ~ 0.62g/㎖, 보다 바람직하게는 0.38g/㎖ ~ 0.62 g/㎖, 보다 더 바람직하게는 0.48 ~ 0.52g/㎖으로 처리될 수 있고, 이를 통해 구현된 항균효소 가교결합체가 효소활성이 매우 우수하며, 멤브레인에 도입된 후에도 우수한 항균활성을 발현하기

에 유리할 수 있다. 만일 석출화제 농도가 바람직한 범위를 벗어날 경우 효소 활성의 현저한 저하가 유발될 수 있다(도 3 참조).

[0047] 한편, 가교결합제를 통해 항균효소가 3차원의 가교결합체를 형성하는 경우에도 멤브레인 표면 또는 표면 부근에 위치하는 미생물을 죽이기에 충분한 항균활성을 발현하기 어려울 수 있다. 이에 따라서 바람직하게는 상기 항균효소-구조물 복합체는 석출화제를 통해 석출된 항균효소들이 가교결합제를 통해 가교결합체를 형성한 것이 보다 유리할 수 있다.

[0048] 또는, 상기 항균효소-구조물 복합체는 다공성이나 중공형의 구조물 내부 및 및/또는 외부에 항균효소가 고정된 것일 수 있다.

[0050] 상기 항균효소(biocidal enzyme)는 생물막을 발생시키는 미생물오염의 원인이 되는 미생물의 사멸을 직접적으로 유도하여 생물학적 살균 작용을 통해 물질의 표면에 오염물질이 부착 및 성장하는 것을 방지할 수 있는 효소를 의미한다. 상기 항균효소는 생물막을 발생시키는 미생물오염의 원인이 되는 공지된 미생물의 사멸을 직, 간접적으로 유도하는 공지된 효소의 경우 제한없이 사용할 수 있다.

[0051] 바람직하게는 상기 항균효소는 글루코스 산화효소, 피라노스 산화효소, 헥소스 산화효소, 갈락토스 산화효소, 콜레스테롤 산화효소, 잔틴 산화효소, 알코올 산화효소, 아릴 알코올 산화효소, 바닐릴 알코올 산화효소, 베라트릴 알코올 산화효소, NAD(P)H 산화효소, 굴로노락톤 산화효소, 피리독신 산화효소, 히드록시 산화효소, 콜린 산화효소, 글리세롤-3-포스페이트 산화효소, 아라비노-락톤 산화효소, 글리옥살 산화효소, 알데히드 산화효소, 옥살레이트 산화효소, 아릴 알데히드 산화효소, L-아미노산 산화효소, L-글루타메이트 산화효소, 폴리아민 산화효소, 히드록실아민 산화효소, 티올 산화효소, 글루타치온 산화효소, 시토크롬 C 산화효소, 알코올 탈수소효소 및 셀로비오스 탈수소효소로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 항균효소를 포함할 수 있고, 일예로 글루코스 산화효소 일 수 있고, 상기 글루코오스 산화효소는 글루오코오스 산화를 촉매하여 과산화수소를 생성시키는데, 생성된 과산화수소는 생명체 내의 유전물질, 단백질, 지질 등과 반응하여 미생물의 사멸을 유도할 수 있다.

[0053] 상기 구조물은 항균효소를 고정화할 수 있는 불용성 지지체를 의미한다. 상기 구조물의 재질은 통상의 지지기능을 하고 효소활성을 억제, 저해하지 않는 경우라면 제한이 없고, 형상은 비드형, 로드형, 섬유형, 판형 등 특별한 제한이 없으나, 판형을 사용함으로서 멤브레인에서의 막저항 증가를 최소화할 수 있는 장점을 제공할 수 있다. 또한, 다공성, 중공형과 같은 구조를 가질 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 일예로 상기 구조물은 탄소, 실리카, 알루미늄, 은, 금 및 고분자로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상의 화합물을 포함할 수 있다. 이때, 상기 탄소로 구성된 구조물은 탄소나노튜브, 그래핀, 그래핀 옥사이드, 환원된 그래핀 옥사이드, 활성탄 및 그라파이트로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있고, 일예로 막저항 증가를 최소화할 수 있는 얇은 두께를 가지면서 높은 기계적 강도를 가진 그래핀, 그래핀 옥사이드 또는 환원된 그래핀 옥사이드 일 수 있다. 또한, 상기 고분자화합물은 폴리비닐알콜, 폴리아크릴로니트릴, 나일론, 폴리에스테르, 폴리우레탄, 폴리염화비닐, 폴리스티렌, 셀룰로오스, 키토산, 폴리락틱산, 폴리락틱-co-글리콜산, 폴리글리콜산, 폴리카프로락톤, 콜라겐, 폴리아닐린 및 폴리(스티렌-co-무수말레산)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있다.

[0054] 상기 구조물은 크기가 형상에 따라서 그 정도가 상이할 수 있다. 여기서 구조물의 크기란, 구형인 경우 직경, 구형이 아닌 비정형의 경우 표면의 서로 다른 두 점을 연결한 선분의 길이 중 최대길이를 의미한다. 또한, 로드형인 경우 길이를 의미하고, 판형인 경우 윗면이나, 아랫면에 포함된 선분의 길이 중 최대길이를 의미한다. 일예로 섬유형을 제외한 비드형, 로드형, 판형 등은 구조물의 크기가 0.01 ~ 100㎛, 보다 바람직하게는 0.1 ~ 30㎛일 수 있다. 만일 구조물의 크기가 0.01㎛ 미만일 경우 구조물 간 응집 경향이 증가함에 따라서 한 개의 구조물에 도입시킬 수 있는 항균효소의 함량이 현저히 감소할 수 있고, 응집된 구조물이 다공성 여재의 기공을 폐쇄시켜 유량을 현저히 감소시킬 수 있다. 또한, 구조물의 작은 크기로 인해 항균효소-구조물 복합체가 다공성 여재의 기공을 통해 이동하여 다공성 여재의 하부 방향 내부 표면이나, 하부면 표면에 고정될 수 있다. 이 경우 다공성 여재의 하부 방향 내부 표면이나, 하부면에 고정된 항균효소-구조물 복합체에서 미생물을 사멸시킬 수 있는 물질이 생성되더라도 다공성 여재 내 원수의 흐름을 고려할 때 상기 물질이 다공성 여재 상부면에 도달할 수 없기 때문에, 다공성 여재 상부면 부근에는 미생물을 사멸시킬 수 있을 정도로 충분한 농도로 상기 물질이

존재하기 어려울 수 있고, 결국 항균활성이 크게 저하될 우려가 있다. 또한, 만일 구조물의 크기가 100㎛를 초과할 경우 교반 등의 외부환경의 변화에 따라 상기 다공성 여재로부터 구조물이 용액상으로 쉽게 떨어져 누출될 수 있고, 구조물이 다공성 여재의 기공을 폐쇄시켜 유량을 현저히 감소시키거나 다공성 여재에 도입시킬 수 있는 항균효소의 함량이 크게 감소할 수 있다.

[0055] 구체적인 일예로 구조물이 탄소나노튜브와 같은 로드형인 경우 길이가 0.1㎛ ~ 10㎛, 폭에 해당하는 직경이 0.5 ㎚ ~ 100㎚일 수 있다. 한편, 구조물이 섬유형일 경우 길이는 0.1㎛ 이상인 것일 수 있고, 직경은 10 ㎚ ~ 10 ㎛일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.

[0056] 다음으로 다공성 여재의 표면에 형성되는 폴리도파민 코팅층에 대해 설명한다. 상기 폴리도파민 코팅층은 다공성 여재에 상술한 항균효소-구조물 복합체를 도입 및 고정시키기 위한 것으로서, 다공성 여재에 항균효소-구조물 복합체를 고정시키기 위한 별도의 작용기가 없거나, 다공성 여재가 소수성이 강해 항균효소-구조물을 포함하는 용액에 쉽게 젖지 않는 경우에도 용이하게 다공성 여재에 이들을 도입 및 고정시킬 수 있는 이점이 있다. 여기서 다공성 여재의 표면이란 다공성 여재의 외부면을 비롯하여 다공성 여재 내부에 존재하는 기공 벽에 해당하는 내부면도 포함한다.

[0058] 상술한 항균효소-구조물 복합체는 폴리도파민 코팅층을 매개로 다공성 여재의 표면에 고정되며, 이때 표면의 일부 또는 전부에 고정될 수 있다. 또한, 다공성 여재의 외부면 표면을 비롯하여 내부면의 전부 또는 일부에도 고정될 수 있다. 한편, 수처리용 멤브레인이 생물막의 생성을 방지하거나 최소화할 정도로 미생물을 사멸시킬 수 있는 항균활성을 가지기 위해서는 항균활성을 갖는 물질이 멤브레인의 표면부에 집중해서 존재하는 것이 바람직하다. 이에 본 발명의 바람직한 일 실시예에 의하면, 상기 항균효소-구조물 복합체는 상기 다공성 여재 어느 일면의 외부 표면부에 고정되도록 구비될 수 있다. 여기서 상기 외부 표면부란 다공성 여재 일면의 표면에서부터 두께방향으로 전체두께의 1/4이 되는 두께 지점까지의 영역을 의미한다. 항균효소-구조물 복합체가 다공성 여재의 어느 일 표면부에 집중되어 구비시키는 여러 방법이 있을 수 있으나 일예로서, 상기 항균효소-구조물 복합체에서 구조물의 크기를 다공성 여재의 평균공경보다 크도록 조절시킬 수 있다. 한편, 일 표면부에 복합체가 집중하여 배치되는 경우 일표면의 전면에 골고루 고정되거나, 군데군데 부분적으로 일부에만 고정될 수도 있다.

[0060] 상기 항균효소-구조물 복합체가 다공성 여재 상에 고정되는 함량은 다공성 여재의 수투과저항을 증가시키지 않으면서 동시에 항균효과를 발현하는 수준으로 구비되는 것이 좋다. 다공성 여재에 고정되는 항균효소-구조물 복합체의 함량은 구조물의 재질, 내부구조(다공성 등)에 따라서 밀도가 상이함에 따라서 함량을 일률적으로 한정하기 어려우나 바람직하게는 단위면적(㎡) 당 상기 항균효소-구조물 복합체의 구조물 함량을 기준으로 멤브레인 단위면적 당 0.004 ~ 14g/㎡의 함량으로 포함될 수 있다. 일예로 상기 구조물이 그래핀옥사이드일 경우 멤브레인 단위면적당, 0.04 ~ 1.4g/㎡, 보다 바람직하게는 0.08 ~ 1.0g/㎡의 함량으로 구비될 수 있다. 만일 항균효소-구조물 복합체가 구조물 함량을 기준으로 0.004g/㎡ 미만의 함량으로 구비되는 경우 항균성능이 현저히 저하될 수 있다. 또한, 만일 항균효소-구조물 복합체가 구조물 함량을 기준으로 14g/㎡를 초과하여 구비되는 경우 항균성능의 향상 폭은 미미한 반면 투과저항이 현저히 증가하여 목적하는 수준의 유량을 확보할 수 없을 수 있다.

[0062] 이하, 상술한 본 발명에 따른 항균활성을 갖는 수처리용 멤브레인 제조방법에 대해 설명한다. 본 발명의 일 실시예에 따른 항균활성을 갖는 수처리용 멤브레인은 도 2에 도시된 것과 같이 (1) 다공성 여재 상에 도파민 용액을 처리하여 폴리도파민 코팅층을 형성시키는 단계 및 (2) 폴리도파민 코팅층이 형성된 다공성 여재 상부에 항균효소-구조물 복합체를 포함하는 용액을 처리하여 항균효소-구조물 복합체를 폴리도파민 코팅층에 고정시키는 단계를 포함하여 제조될 수 있다.

[0063] 먼저, 본 발명에 따른 (1) 단계는 다공성 여재 표면 상에 폴리도파민 코팅층을 형성시키는 단계이다.

[0064] 상기 도파민 용액은 도파민 또는 이의 염을 포함하는 용액으로서, 용매는 일예로 인산염 완충용액, Tris 완충용액과 같이 pH 유지가 가능한 어떠한 용액군에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있다. 상기 도파민 용액은 도파민 또는 이의 염을 0.1 ~ 5㎎/㎖로 포함할 수 있는데, 만일 도파민 또는 이의 염이 0.1㎎/㎖ 미만으로 구비되는 경우 고정된 항균효소-구조물 복합체를 목적하는 수준으로 고정시키지 못할 수 있고, 고정된 경우에도 반복되는 수처리 공정에서 탈리될 우려가 있다. 또한, 상기 도파민 용액은 도파민을 중합시키기 위한 개시제를 더 포함할 수 있다. 상기 개시제는 도파민을 중합시키기 위한 공지된 개시제의 경우 제한 없이 사용될 수 있으며, 일예로

과요오드산나트륨염($NaIO_4$)일 수 있다. 상기 도파민 용액이나 개시제가 다공성 여재에 처리되는 방법은 공지된 코팅방법의 경우 제한 없이 사용될 수 있으며, 일예로 함침, 스크린 프린팅, 콤마코터 등 일 수 있다. 또한, 폴리도파민코팅층의 형성은 pH 7.0 ~ 8.0의 조건 하에서 수행될 수 있다.

[0065] 상기 도파민 용액이 처리된 후 폴리도파민 코팅층이 형성되도록 하기 위하여 상온에서 10분 이상, 일예로 10 ~ 60분 간 방치할 수 있으나 이에 제한되지는 않는다.

[0066] 한편, 도 2에는 폴리도파민 코팅층이 PVDF 다공성 여재의 상부면에만 형성된 것으로 도시되었으나, 폴리도파민 코팅층은 다공성 여재의 내부면 및 하부면에도 형성될 수 있음을 밝혀둔다.

[0068] 다음으로 본 발명에 따른 (2) 단계로서, 폴리도파민 코팅층이 형성된 다공성 여재 상부에 항균효소-구조물 복합체를 포함하는 용액을 처리하여 항균효소-구조물 복합체를 폴리도파민 코팅층에 고정시키는 단계를 수행한다.

[0069] 상기 항균효소-구조물 복합체는 예시적으로 도 1의 공정을 통해 제조될 수 있다. 이하 구조물은 그래핀옥사이드(GRO), 항균효소는 글루코오스 산화효소(glucose oxidase, GOx)를 예시로 하여 설명한다.

[0070] 먼저, GRO 표면에 항균효소인 GOx가 2차원적으로 고정된 형태의 복합체의 경우 GRO와 GOx를 혼합 및 교반하여 수득할 수 있다. 이때, 두 물질의 혼합은 pH 5.5 ~ 8.0인 인산 완충용액에서 수행될 수 있다. 이를 통해 GRO 표면에 GOx가 2차원적으로 흡착된 복합체(EA)를 수득할 수 있다. 한편, 교반 후 GRO에 미부착된 GOx를 제거하기 위한 세척공정을 1회 ~ 수회 더 수행할 수 있다.

[0071] 다음으로 GRO 표면에 항균효소인 GOx가 3차원적으로 고정된 형태의 복합체를 제조하는 경우로서, 먼저 가교결합제가 사용되어 GOx가 가교결합체를 형성하여 GRO를 둘러싸는 형태의 복합체(EAC)의 제조방법에 대해 설명하면, 상술한 EA 복합체 제조과정 중 두 물질의 혼합 및 교반 후에 가교결합제, 일예로 글루타르알레히드 용액을 투입하여 EAC 복합체가 수득될 수 있다. 이 경우에도 GRO에 고정되지 않거나 가교결합체를 형성하지 않은 GOx를 제거하기 위한 세척공정을 1회 ~ 수회 더 수행할 수 있다.

[0072] 또한, 석출화제 및 가교결합제가 사용되어 GOx가 가교결합체를 형성하여 GRO를 둘러싸는 형태의 복합체(EAPC)의 제조방법은 상술한 EA 복합체 제조과정 중 두 물질의 혼합 및 교반 후에 석출화제, 일예로 황산 암모늄 용액을 첨가하여 10 ~ 60분 동안 혼합한 후 가교결합제, 일예로 글루타르알레히드 용액을 첨가하여 수득할 수 있다. 이 경우에도 CNTs에 미부착된 아실라아제를 제거하기 위한 세척공정을 1회 ~ 수회 더 수행할 수 있다. 이 경우에도 GRO에 고정되지 않거나 가교결합체를 형성하지 않은 GOx를 제거하기 위한 세척공정을 1회 ~ 수회 더 수행할 수 있다.

[0073] 이를 통해 수득된 항균효소-구조물 복합체(EAC, EAPC)는 보관액 예를 들어 인산완충액 또는 Tris 완충용액에 보관될 수 있고, 보관액에 포함된 용액 상태로 (1) 단계를 통해 준비된 폴리도파민 코팅층이 구비된 다공성 여재 상부에 처리될 수 있다. 이때 상기 처리는 상술한 것과 같은 통상적인 코팅방법일 수 있다.

[0075] 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르면, 상기 (2)단계는 폴리도파민 코팅층이 형성된 다공성 여재 상부에서 하부방향으로 상기 항균효소-구조물 복합체를 포함하는 용액의 흐름이 형성되도록 감압여과 공정이 수행될 수 있고, 상기 감압여과 공정은 일예로 진공여과일 수 있다. 감압여과 공정을 수행하지 않을 경우 상기 용액에 포함된 항균효소-구조물 복합체의 농도가 높은 경우에도 높은 함량으로 다공성 여재에 도입시키지 못할 수 있다. 그러나 감압여과 공정의 수행으로 상기 용액에 포함된 항균효소-구조물 복합체를 충분한 함량으로 다공성 여재 상에 도입시킬 수 있는 이점이 있다.

[0076] 진공여과 후 폴리도파민 코팅층에 항균효소-구조물 복합체를 결합시키기 위한 에이징 단계를 더 수행할 수 있다. 상기 에이징 단계는 상온, 일예로 25℃에서 10분 이상의 시간으로 방치함을 통해 수행될 수 있으나 이에 제한되지는 않는다.

[0077] 진공여과 후 항균효소-구조물 복합체가 결합되지 않은 폴리도파민 코팅층을 비활성화시키기 위한 단계를 더 수행할 수 있다. 이때 폴리도파민을 비활성화시키기 위해 Tris 완충용액이 사용될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0079] 상술한 제조방법을 통해 구현되는 항균활성을 갖는 수처리용 멤브레인은 수처리 모듈로 구현될 수 있다. 상기 수처리 모듈은 수처리용 멤브레인이 장착되고, 원수를 수용할 수 있는 내부공간이 구비된 하우징과, 상기 하우징의 일측으로 원수를 유입시키기 위한 각종 도관과, 밸브 및 상기 하우징의 타측으로 여과된 여과액을 배출시킬 수 있는 각종 도관과 밸브 등 공지된 수처리 모듈에 포함된 각종 부품을 더 포함할 수 있다. 이들 부품은 공지된 형상, 크기 및 기능을 가질 수 있으며, 본 발명은 이에 대해서는 특별히 한정하지 않는다.

[0081] 이하 본 발명을 실시예를 통하여 구체적으로 설명한다. 다만 본 실시예에 의하여 본 발명의 범위가 제한되는 것은 아니다.

[0083] <준비예1> - 구조물에 항균효소가 2차원적으로 고정된 복합체 제조 (EA 복합체)

[0084] 인산 완충액(100 mM pH 7.0)에 준비한 그래핀옥사이드(GROs) 용액(1 mg/mL)과 글루코오스 산화효소(Glucose oxidase, GOx) 용액(10 mg/mL)을 2대1 부피비로 혼합한 후, 1시간 200 rpm으로 교반하였다. 이 과정을 통해 글루코오스 산화효소를 그래핀옥사이드의 표면에 흡착시켰다. 이후 그래핀옥사이드에 미부착된 GOx를 제거하고 트리스 완충액으로 30분동안 200 rpm으로 교반하여 반응하지 않은 작용기를 캡핑(capping) 하였다. 원심분리 후 상등액을 제거하고 인산완충액으로 세척 후 4℃에 보관하였다.

[0086] <준비예2> - 가교결합제로 구조물에 항균효소가 3차원적으로 고정된 복합체 제조(EAC 복합체)

[0087] 인산 완충액(100 mM pH 7.0)에 준비한 그래핀옥사이드(GROs) 용액(1 mg/mL)과 글루코오스 산화효소(Glucose oxidase, GOx) 용액(10 mg/mL)을 2대1 부피비로 혼합한 후, 1시간 200 rpm으로 교반하였다. 이 과정을 통해 글루코오스 산화효소가 그래핀옥사이드의 표면에 흡착된 EA 복합체를 제조하였다. 이후 글루타르알데히드 용액을 최종 농도 0.5% (w/v)가 되도록 첨가하였다. 그 뒤 충분하게 가교결합 시키기 위하여 4℃에서 12시간 동안 50 rpm으로 교반하였다. 이 후, 트리스 완충액으로 30분동안 200 rpm으로 교반하여 반응하지 않은 알데히드 그룹을 캡핑(capping)하였다. 원심분리 후 상등액을 제거하고 인산완충액으로 세척 후 4 ℃에 보관하였다.

[0089] <준비예3> - 석출화제 및 가교결합제로 구조물에 항균효소가 3차원적으로 고정된 복합체 제조(EAPC 복합체)

[0090] 인산 완충액(100 mM pH 7.0)에 준비한 그래핀옥사이드(GROs) 용액(1 mg/mL)과 글루코오스 산화효소(Glucose oxidase, GOx) 용액(10 mg/mL)을 2대1 부피비로 혼합한 후, 1시간 200 rpm으로 교반하였다. 이 과정을 통해 글루코오스 산화효소가 그래핀옥사이드의 표면에 흡착된 EA 복합체를 제조하였다. 이후 황산 암모늄 용액을 최종 농도 0.5g/㎖로 첨가하여 30분 동안 혼합한 후, 글루타르알데히드 용액을 최종 농도 0.5%w/v%가 되도록 첨가하였다. 그 뒤 충분하게 가교결합시키기 위하여 4℃ 에서 12시간 동안 50rpm으로 교반하였다. 이 후, 트리스 완충액으로 30분동안 200rpm으로 교반하여 반응하지 않은 알데히드 그룹을 캡핑(capping)하였다. 원심분리 후 상등액을 제거하고 인산완충액으로 세척 후 4 ℃에 보관하였다.

[0092] <준비예4 ~ 8> - 석출화제의 농도를 달리하여 제조된 EAPC 복합체

[0093] 준비예3과 동일하게 실시하여 제조하되, 하기 표 1과 같이 석출화제의 농도를 변경하여 EAPC 복합체를 제조하였다.

표 1

[0094]

	준비예4	준비예5	준비예6	준비예7	준비예8
석출화제 농도	0.1g/㎖	0.2g/㎖	0.3g/㎖	0.4g/㎖	0.6g/㎖

[0095] <실시예1> - 항균효소-구조물 복합체(EAPC 복합체) 고정된 멤브레인(EAPC membrane)

[0096] 평균공경이 0.45㎛이고, 두께가 100㎛이고, 평량이 70g/㎡인 PVDF 다공성 여재를 준비했다. 이후 농도가 2㎎/㎖인 도파민 하이드로 클로라이드와, 1㎎/㎖인 과요오드산 나트륨염($NaIO_4$)을 포함하는 도파민 용액을 PVDF 다공

성 여재에 도포한 뒤 25℃에서 30분간 방치하여 폴리도파민(polydopamine, pDA) 코팅층을 형성시켰다. 인산완충액으로 세척하여 미코팅된 도파민 성분들을 제거했다. 이후 준비예3에서 제조된 EAPC 복합체를 포함하는 인산완충액을 진공여과법(vacuum filtration)으로 폴리도파민 코팅층이 형성된 다공성 여재 상부에 균일하게 도포한 후, 인산완충액(100 mM, pH 7.5)에 1시간 침지하여 폴리도파민코팅층과 항균효소-구조물 복합체(EAPC 복합체)와의 결합을 유도하였다. 이때 도포한 EAPC 복합체의 양은 EAPC 복합체가 GRO의 중량을 기준으로 막 단위면적당 0.1g/㎡의 함량으로 고정되도록 처리했고, 이후 트리스 완충액으로 처리하여 미반응된 작용기를 캡핑(capping)하여 항균활성을 갖는 멤브레인을 제조하였다.

[0098] <실시예2 ~ 6> - EAPC 복합체 함량을 달리한 EAPC 멤브레인

[0099] 실시예1과 동일하게 실시하여 제조하되, 인산완충액 내 제조된 EAPC 복합체의 양을 달리하여 EAPC 복합체가 GRO의 중량을 기준으로 막 단위면적당 각각 0.02g/㎡(실시예2), 0.04g/㎡(실시예3), 0.06g/㎡(실시예4), 0.08g/㎡(실시예5), 0.14g/㎡(실시예6) 및 0.20g/㎡(실시예7)의 함량으로 고정된 항균활성을 갖는 멤브레인을 제조하였다.

[0101] <비교예1> - PVDF 멤브레인

[0102] 폴리도파민 코팅과 항균효소-구조물 복합체 고정 등 어떠한 처리도 하지 않은 실시예1에서 사용된 PVDF 다공성 여재를 수처리용 멤브레인으로서 준비하였다.

[0104] <비교예2> - 폴리도파민 코팅층 형성 PVDF 멤브레인

[0105] 실시예1과 동일하게 실시하여 제조하되, 폴리도파민 코팅층만 형성하고, 항균효소-구조물 복합체를 고정시키지 않은 수처리용 멤브레인을 제조하였다.

[0107] <실험예 1> 항균효소-구조물 복합체의 효소활성 측정

[0108] 글루코오스 산화효소(Glucose oxidase, GOx)는 세균의 원형질막에 손상을 가하여 항균활성을 발현한다. 준비예1 내지 8에 따른 항균효소-구조물 복합체의 항균활성은 포도당의 가수분해로 생성되는 과산화수소가 퍼옥시다아제(horseradish peroxidase, HRP) 하에서 TMB와 반응하여 나타나는 흡광을 이용하여 측정하였다. 도 4 및 하기 표 1에 도시된 바와 같이 준비예1의 EA 복합체 및 준비예2의 EAC 복합체의 초기 효소 활성은 준비예3 내지 8의 EAPC 복합체에 대비하여 항균활성이 현저히 낮은 것을 확인할 수 있다.

표 2

[0109]

	준비예1	준비예2	준비예3	준비예4	준비예5	준비예6	준비예7	준비예8
초기 효소활성(unit/min/mg-GRO)	0.034	0.044	168	15	11	106	138	139

[0110] <실험예 2> - 멤브레인 항균 성능 평가 1

[0111] 도 4는 멤브레인의 항균성능 평가 방법을 나타낸 모식도이다. 실시예1과 비교예1에 따른 멤브레인 여과면에 모델 세균인 *Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*)를 부착한 후, 합성 하수 배지상에서 배양하여 세포 증식을 유도하였다. 6 시간 배양 후, SYTO® 9과 프로피디움 요오드화물 (propidium iodide, PI) 염색을 한 후 공초점 레이저 주사현미경 (confocal laser scanning microscopy, CLSM)을 통하여 *P.aeruginosa* 세균의 원형질막 손상을 확인하였다.

[0112] 도 5 및 도 6은 6시간 배양 후, 멤브레인 표면에 부착된 *P.aeruginosa* 세균의 활성도를 CLSM 으로 관찰한 이미지이다. 활성을 유지하는 세균(live cell)은 SYTO® 9으로 염색되어 녹색형광을 나타낸다. 반면에 세포원형질막이 손상된 세균(damaged cell)은 PI로 염색되어 적색형광을 나타낸다. PVDF 멤브레인 대비 EAPC 멤브레인 표면에서 적색 형광을 보이는 세균의 개체수가 증가되어, EAPC 멤브레인의 현저히 우수한 항균성을 확인할 수 있다.

특히 도 6에서 확인할 수 있듯이 비교예1에 따른 멤브레인(PVDF) 표면에 생성된 생물막의 두께가 실시예1에 따른 멤브레인(EAPC(0.1)) 표면에 생성된 생물막 두께의 약 9.4배이었고, 비교예1에 따른 멤브레인에 형성된 생물막은 조밀하고 성숙한 구조임에 대비해 실시예1에 따른 멤브레인에 형성된 생물막은 성긴 구조의 생물막이 관찰되어, 세균의 원형질막 손상으로 인한 생물막의 형성이 억제되었음이 확인되었다.

[0114] <실험예 3> - 멤브레인 항균 성능 평가 2

[0115] 도 7은 멤브레인의 항균활성을 평가하는 다른 방법으로서, 정유량 (Constant flux) 운전에서의 막간 차압(trans-membrane pressure, TMP)을 통해 멤브레인의 항균성능을 평가하는 방법과 장치를 나타낸 모식도이다.

[0116] 도 7과 같은 장치에 멤브레인을 장착 후 각각에 20 L/㎡/h 정유량 운전조건으로 막간 차압(TMP)을 측정하였다. 구체적으로 항균처리가 되지 않은 PVDF 멤브레인에서 측정되는 TMP 값을 기준 (baseline)으로 대비해서 항균 멤브레인에서 측정되는 TMP가 낮을수록 막오염 항균 성능이 우수한 것으로 평가할 수 있다.

[0118] * 실험예 3-1(모델 세균 *Pseudomonas aeruginosa* 사용)

[0119] 비교예1(PVDF 멤브레인), 실시예1 내지 실시예3에 따른 멤브레인에 도 4의 방법을 통해 모델 세균인 *Pseudomonas aeruginosa*(*P.aeruginosa*)를 부착한 후, 합성 하수 배지상에서 6시간 배양하여 세포 증식을 유도한, 생물막이 이미 형성된 멤브레인을 도 7의 장치에 장착하였고, *P.aeruginosa* 에 의한 생물막이 형성된 멤브레인에 따른 TMP 결과를 도 8에 나타내었다.

[0120] 도 8을 통해 확인할 수 있듯이, 비교예1에 따른 멤브레인은 10시간 경과 후 막간 차압이 5kPa에 도달했으나, 실시예1 및 실시예3에 따른 멤브레인은 각각 65시간, 30시간 경과 후 막간차압이 5kPa에 도달함을 통해 항균활성이 매우 우수하고, 장시간 운전해도 생물막에 따른 차압발생이 최소화됨을 알 수 있다.

[0122] * 실험예 3-2(모델 세균 *Staphylococcus aureus* 사용)

[0123] 비교예1(PVDF 멤브레인) 및 실시예1(EAPC 멤브레인)에 따른 멤브레인에 도 4의 방법을 통해 그람 양성균인 모델 세균 *Staphylococcus aureus(S.aureus)*를 부착한 후, 합성 하수 배지상에서 6시간 배양하여 세포 증식을 유도한, 생물막이 이미 형성된 멤브레인을 도 7의 장치에 장착하였고, *S.aureus*에 의한 생물막이 형성된 멤브레인에 따른 TMP 결과를 도 9에 나타내었다.

[0124] 도 9를 통해 확인할 수 있듯이, 17시간 연속 여과 후 비교예1의 PVDF 멤브레인의 TMP는 30kPa에 도달한 반면, EAPC 멤브레인의 TMP는 0.5kPa로 운전초기에 비해 그 증가가 미미하여, 현저히 우수한 항균활성이 발현되고 있음을 확인할 수 있다.

[0126] <실험예 4> - 멤브레인 수투과도 평가

[0127] 비교예1, 실시예 1 내지 6에 따른 멤브레인에 대해 이하의 방법으로 수투과도를 측정하여 이를 하기 표 3 및 도 10에 나타내었다.

[0128] 이때, 다양한 유량 조건에서 정유량 (Constant flux) 운전에서의 막간 차압(trans-membrane pressure, TMP)을 측정하고, 유량에 따른 막간 차압의 변화량을 측정하여 수투과 저항값을 도출하였다. 구체적으로, 비교예 및 실시예에 따른 수처리용 멤브레인을 수처리 모듈에 장착하고 증류수를 채운 뒤, 펌프를 통해 유량을 변화시키면서 TMP를 측정하였고 수투과도 저항은 다음과 같은 식으로 계산하였다.

[0129] [식]

$$R_m = \frac{\Delta P}{\mu \times Flux}$$

[0130]

[0131] 여기서 R_m = 수투과도 저항, △P= TMP, μ: 증류수의 점성=1, Flux: 유량)

[0132] 비교예1에 따른 PVDF 멤브레인을 기준으로 했을 때 측정된 수투과도 저항의 증가정도가 적을수록 다공성 여재에 도입된 항균효소-구조물 복합체에 기인한 수투과도 영향이 적다고 평가할 수 있다.

표 3

[0134]

	실시예1	실시예2	실시예3	실시예4	실시예5	실시예6	실시예7	비교예1
고정된 EAPC함량 (g/m^2)	0.1	0.02	0.04	0.06	0.08	0.14	0.20	0
수투과 저항($\times 10^{10}$ m^{-1})	1.37	1.18	1.12	1.42	1.34	1.57	6.07	1.18

[0135] * 고정된 EAPC 함량은 GRO 중량 기준임.

[0136] 구체적으로 표 3과 도 10을 통해 확인할 수 있듯이, 비교예1에 따른 PVDF 멤브레인과 대비 시 항균효소-구조물 복합체가 다공성 여재에 도입된 경우에도 수투과에 따른 저항의 증가가 적다는 것을 확인할 수 있다. 다만, 항균효소-구조물 복합체가 도입된 함량이 과도한 실시예 7의 경우 실시예6에 대비해서 수투과저항이 증가한 것을 확인할 수 있다.

[0138] <실험예 5> - 멤브레인 표면관찰

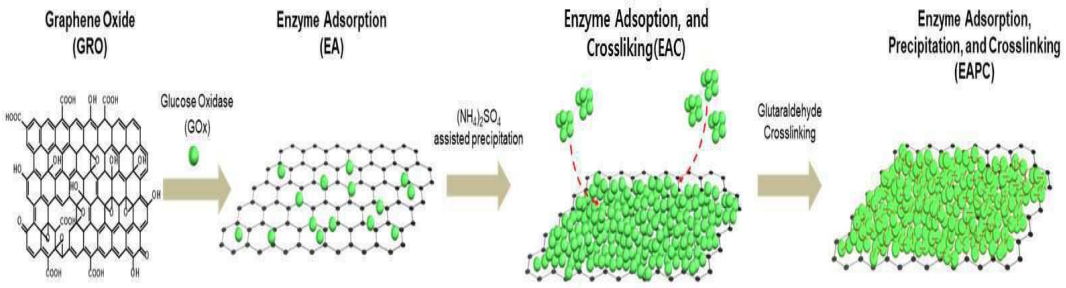
[0139] 비교예1 ~ 2 및 실시예1 ~ 5에 따른 수처리용 멤브레인에 대해 주사전자현미경을 통해 멤브레인 상부면의 표면 사진을 촬영하였고, 그 결과를 도 10에 나타내었다.

[0140] 도 10을 통해 확인할 수 있듯이 비교예1~2에 따른 멤브레인과 대비시 실시예 1 ~ 5에 따른 수처리용 멤브레인 표면에는 항균효소-구조물 복합체가 도입되어 고정되어 있는 것을 확인할 수 있다.

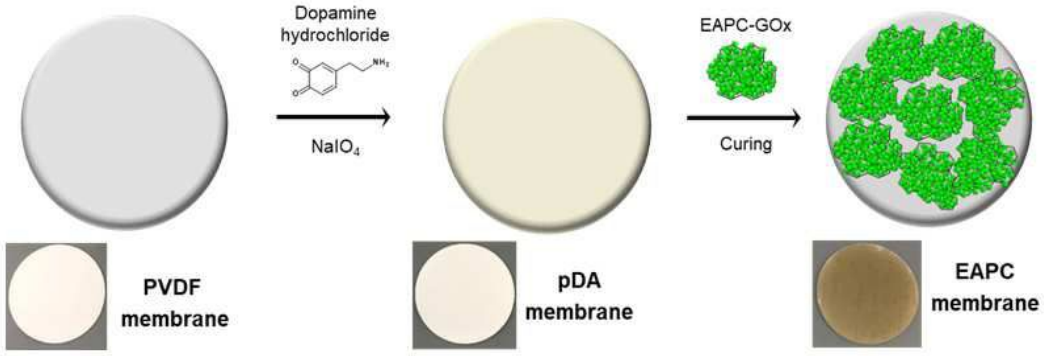
[0142] 이상에서 본 발명의 일 실시예에 대하여 설명하였으나, 본 발명의 사상은 본 명세서에 제시되는 실시 예에 제한되지 아니하며, 본 발명의 사상을 이해하는 당업자는 동일한 사상의 범위 내에서, 구성요소의 부가, 변경, 삭제, 추가 등에 의해서 다른 실시 예를 용이하게 제안할 수 있을 것이나, 이 또한 본 발명의 사상범위 내에 든다고 할 것이다.

도면

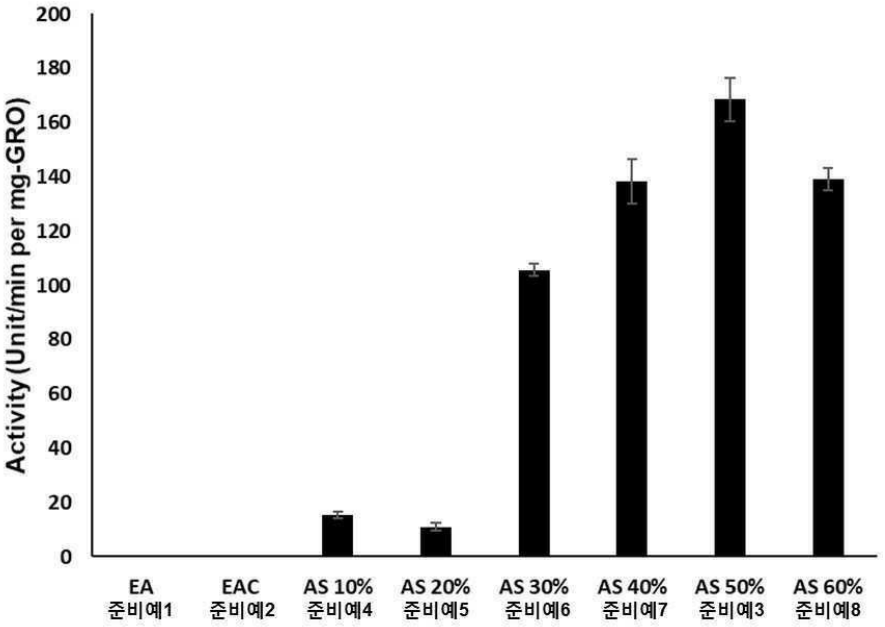
도면1



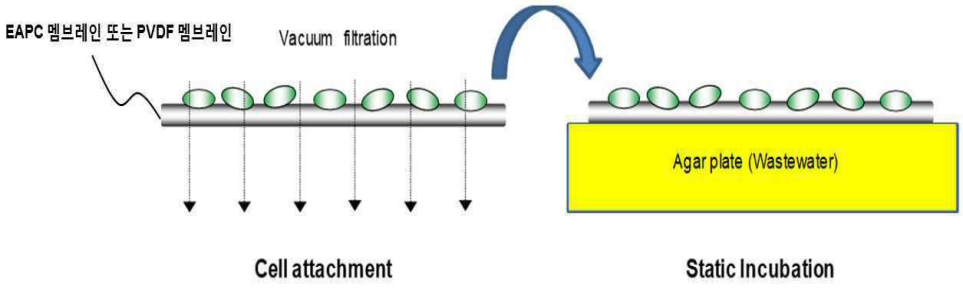
도면2


Dopamine hydrochloride
NaIO4
EAPC-GOx
Curing
PVDF membrane
pDA membrane
EAPC membrane

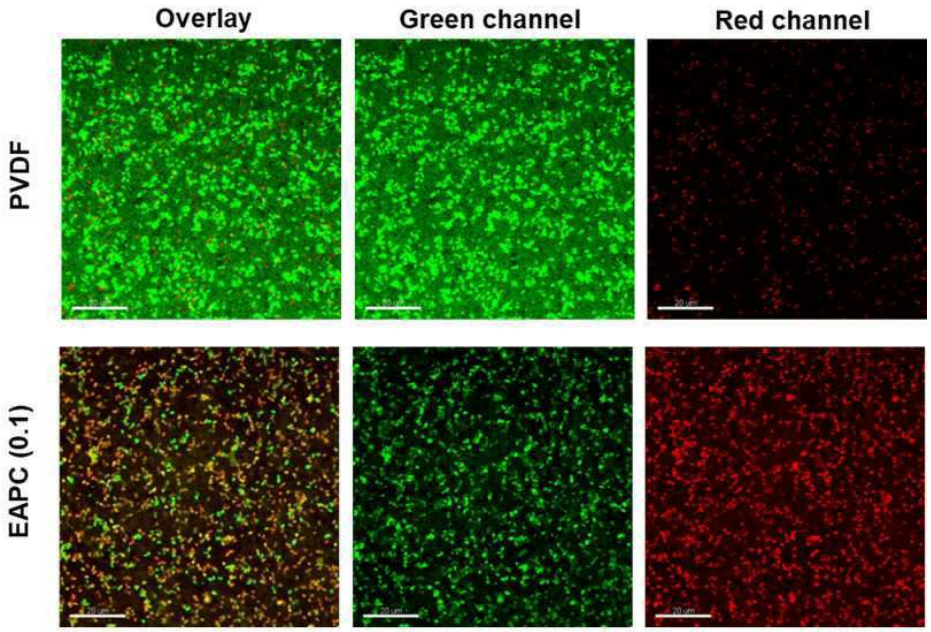
도면3


Activity (Unit/min per mg-GRO)
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
EA 준비예1
EAC 준비예2
AS 10% 준비예4
AS 20% 준비예5
AS 30% 준비예6
AS 40% 준비예7
AS 50% 준비예3
AS 60% 준비예8

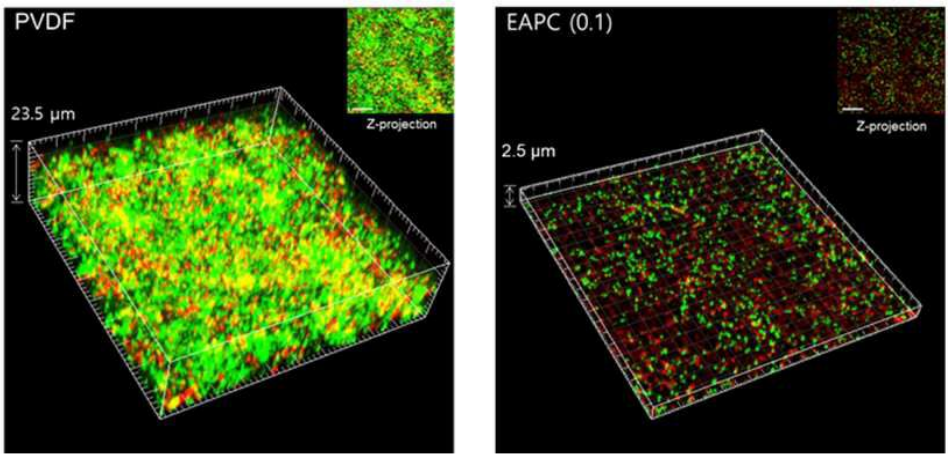
도면4


EAPC 멤브레인 또는 PVDF 멤브레인
Vacuum filtration
Agar plate (Wastewater)
Cell attachment
Static Incubation

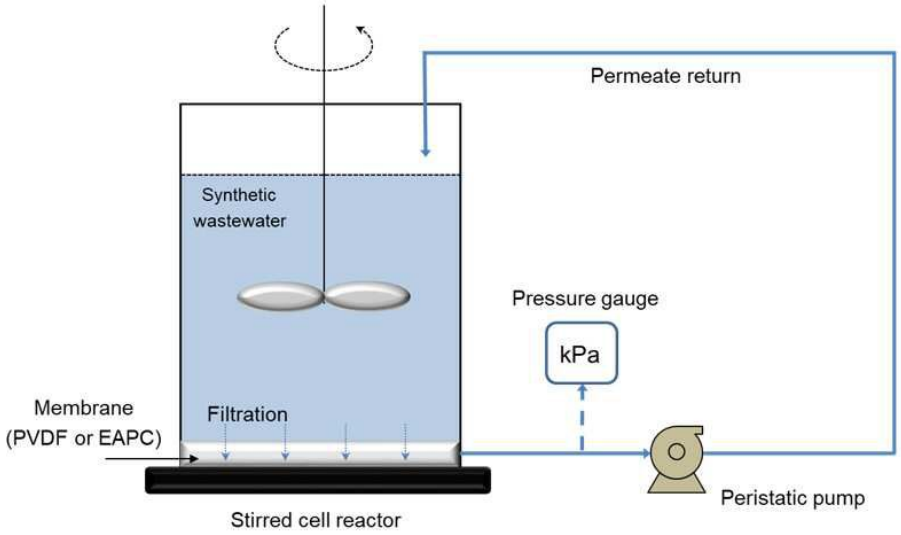
도면5


Overlay
Green channel
Red channel
PVDF
EAPC (0.1)

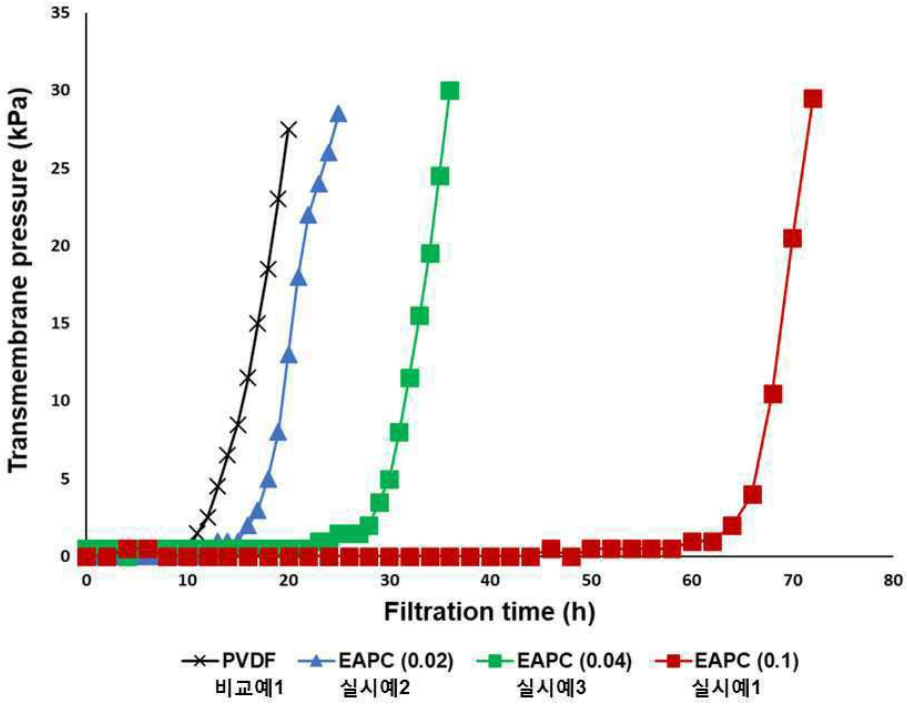
도면6


PVDF
23.5 μm
Z-projection
EAPC (0.1)
2.5 μm
Z-projection

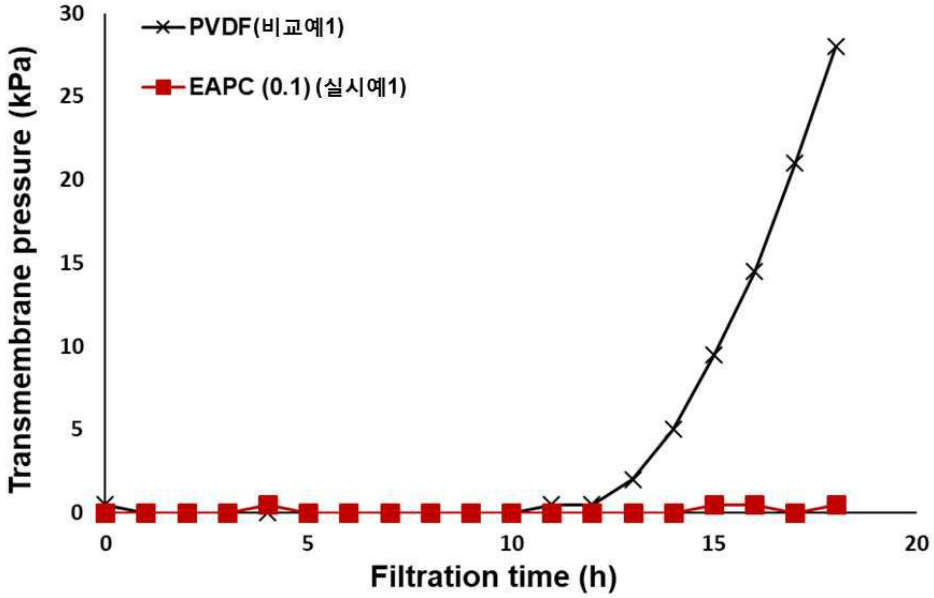
도면7


Permeate return
Synthetic wastewater
Pressure gauge
kPa
Membrane (PVDF or EAPC)
Filtration
Peristatic pump
Stirred cell reactor

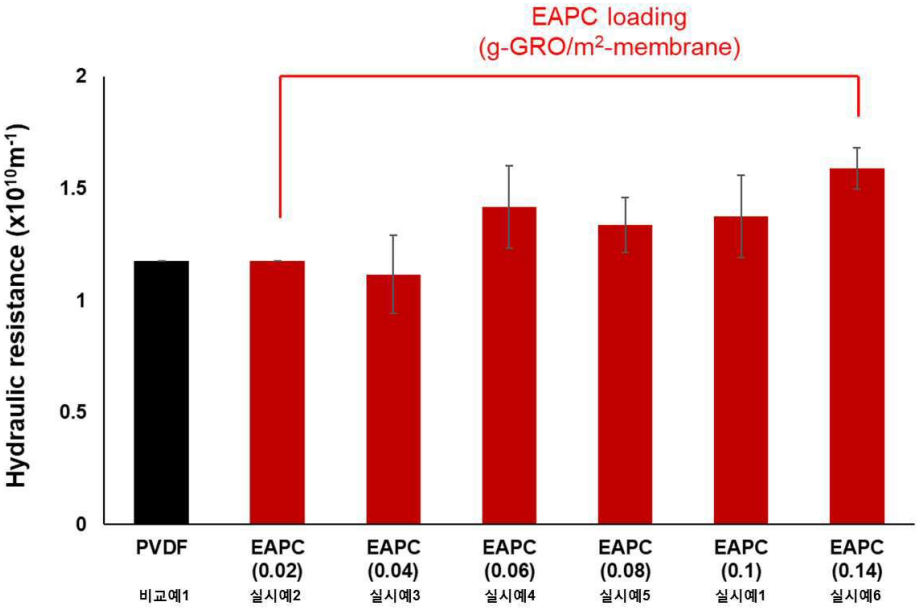
도면8


Transmembrane pressure (kPa)
35
30
25
20
15
10
5
0
0
10
20
30
40
50
60
70
80
Filtration time (h)
PVDF 비교예1
EAPC (0.02) 실시예2
EAPC (0.04) 실시예3
EAPC (0.1) 실시예1

도면9


PVDF(비교예1)
EAPC (0.1) (실시예1)
Transmembrane pressure (kPa)
30
25
20
15
10
5
0
0
5
10
15
20
Filtration time (h)

도면10


EAPC loading
(g-GRO/m2-membrane)
Hydraulic resistance (x10^10m^-1)
2
1.5
1
0.5
0
PVDF
비교예1
EAPC (0.02)
실시예2
EAPC (0.04)
실시예3
EAPC (0.06)
실시예4
EAPC (0.08)
실시예5
EAPC (0.1)
실시예1
EAPC (0.14)
실시예6

도면11

