



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0128712
(43) 공개일자 2014년11월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 1/14 (2006.01) C02F 1/28 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-0047470
(22) 출원일자 2013년04월29일
심사청구일자 2013년04월29일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
김규혁
서울 강남구 남부순환로395길 30, 3동 703호 (대치동, 국제아파트)
김재진
서울 강남구 선릉로 423, 1308호 (역삼동, 동부센트레빌아파트)
김민지
서울 강서구 화곡로13길 107, 134동 504호 (화곡동, 화곡푸르지오)
(74) 대리인
한양특허법인

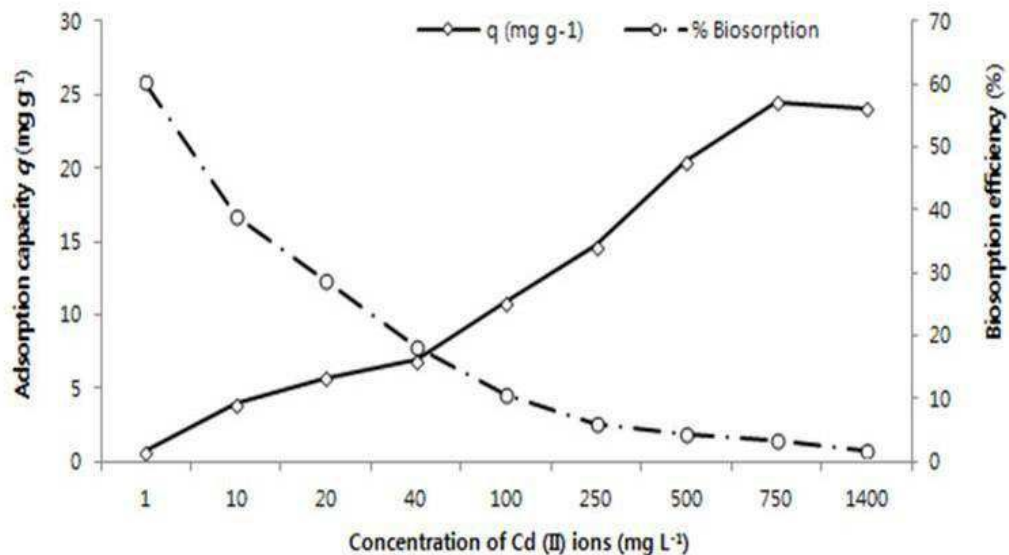
전체 청구항 수 : 총 4 항

(54) 발명의 명칭 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주, 상기 균주의 바이오매스 분리방법 및 이를 이용한 카드뮴 제거 방법

(57) 요약

본 발명은 카드뮴을 흡착할 수 있는 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주에 관한 것으로, 상기 균주의 바이오매스 분리 방법과 이를 이용하여 수용액의 카드뮴을 제거하기 위한 방법에 관한 것이다.

대표도 - 도5



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 S121012L110110

부처명 산림청

연구관리전문기관 연구지원부

연구사업명 산림과학기술개발사업

연구과제명 [세부] 국내 수집 목재미생물의 mycoremediation 특성조사

기 여 율 1/1

주관기관 고려대학교 산학협력단

연구기간 2012.04.01 ~ 2013.03.31

특허청구의 범위

청구항 1

카드뮴을 흡착할 수 있는 것을 특징으로 하는 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주(KACC93174P).

청구항 2

(a) 맥아추출물 배지에 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주의 펙글 디스크(fungal disk)를 접종하여 배양시키는 단계;

(b) 상기 (a)단계의 배양액으로부터 균사를 분리하고 균질화하는 단계;

(c) 상기 (b)단계의 균사를 접종하여 배양하는 단계; 및

(d) 상기 (c)단계의 균사를 건조하여 분말로 만든 후 체를 이용하여 바이오매스를 분리하는 단계를 포함하는 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주의 바이오매스 분리방법.

청구항 3

청구항 2의 방법으로 분리된 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주의 바이오매스를 카드뮴이 포함된 수용액에 첨가하여 수용액으로부터 카드뮴을 제거하는 방법.

청구항 4

청구항 3에 있어서, 상기 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주의 바이오매스는 0.2 내지 1g/L인 것을 특징으로 하는 카드뮴이 포함된 수용액에 첨가하여 수용액으로부터 카드뮴을 제거하는 방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주, 상기 균주의 바이오매스 분리방법 및 이를 이용한 카드뮴 제거 방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 카드뮴은 전기 도금이나 아연도금에 주로 이용되며, 페인트나 플라스틱의 색소, 니켈-카드뮴 전지 등에 다양한 산업에 이용되고 있다. 그러나 이 중금속은 독성을 지닌 중금속으로 잘 알려져 있어 이를 함유한 폐수가 어떠한 처리 없이 자연계로 방출될 경우 환경오염 및 생물체에 악영향을 끼치게 된다. 국내에서는 환경부에서 카드뮴을 취급제한금지물질로 지정하여 카드뮴이나 이를 0.1% 이상 함유한 혼합물질의 취급을 제한하여 금속 장신구 용도로 제조하는 것은 물론 수입이나 판매, 보관, 저장, 사용을 제한하고 있다. 뿐만 아니라 취급 또는 생산하고 있는 산업 현장에서는 반드시 발생하는 폐수를 처리하여 일정 농도 이하일 경우에만 배출이 가능하도록 허용하고 있다. 이를 처리하는 방법으로는 현재까지 다양한 방법이 이용되고 있으며, 화학침전법, 이온교환법, 용매추출법, 역삼투법 및 흡착법 등이 있다.

[0003] 흡착법 중에서도 생물흡착(biosorption)은 생물체를 흡착제로 이용하여 중금속 이온을 흡착하는 방법으로 이온교환, 흡착, 미세침전 등의 메커니즘에 의해서 일어나는 현상이다. 흡착제 종류에 따라서 금속을 선택적으로 흡착할 수 있으며, 가격 측면에서도 차이가 난다. 현재는 주로 활성탄을 이용하고 있으나 흡착 효율이 좋은 것에 비하여 비용이 고가이기 때문에 대부분의 연구들은 효율이 좋으면서 경제적인 흡착제를 찾는데 초점을 맞추고 있다. 이를 위해서 최근 미생물을 흡착제로 이용하여 다양한 중금속을 제거하는 연구가 진행되고 있으며, 미생물은 세포벽 내에 중금속과 결합할 수 있는 다양한 결합기를 지니고 있어 중금속을 제거할 수 있다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0004] (특허문헌 0001) 대한민국 공개 특허 10-2012-0074942
(특허문헌 0002) 대한민국 공개 특허 10-2012-0124529

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0005] 본 발명은 카드뮴 흡착 능력이 있는 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주의 바이오매스를 이용하여 수용액 내의 카드뮴을 제거하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

- [0006] 상기의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 카드뮴을 흡착할 수 있는 것을 특징으로 하는 세리포리아 락세라타 KUC8111(KACC93174P) 균주를 제공한다.
- [0007] 또한, (a)맥아추출물 배지에 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주의 펄그디스크(fungal disk)를 접종하여 배양시키는 단계;
- [0008] (b)상기 (a)단계의 배양액으로부터 군사를 균질화하는 단계;
- [0009] (c)상기 (b)단계의 군사를 접종하여 배양하는 단계; 및
- [0010] (d)상기 (c)단계의 군사를 건조하여 분말로 만든 후 체를 이용하여 바이오매스를 분리하는 단계를 포함하는 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주의 바이오매스 분리방법을 제공한다.
- [0011] 또한, 상기 방법으로 분리된 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주의 바이오매스를 카드뮴이 포함된 수용액에 첨가하여 수용액으로부터 카드뮴을 제거하는 방법을 제공한다.

발명의 효과

- [0012] 본 발명은 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주를 이용하여 수용액 내의 카드뮴을 제거할 수 있다. 상기 제거 방법은 저농도의 카드뮴을 선택적으로 제거할 수 있고, 넓은 pH 영역에서 사용 가능하며, 온도의 영향을 거의 받지 않는 장점이 있다. 또한, 슬러지 발생이 적어 비용이 절약되고 공정 비용이 저렴하여 경제적 측면에서 유리한 장점을 지니고 있다.

도면의 간단한 설명

- [0013] 도 1은 pH에 따른 카드뮴 흡착율을 나타낸 그래프이다.
도 2는 반응 시간에 따른 카드뮴 흡착율을 나타낸 그래프이다.
도 3은 반응 온도에 따른 카드뮴 흡착율을 나타낸 그래프이다.
도 4는 바이오매스양에 따른 카드뮴 흡착율을 나타낸 그래프이다.
도 5는 초기금속농도에 따른 카드뮴의 흡착율과 단위 무게당 흡착 효율을 나타낸 그래프이다.
도 6은 서열 번호 1의 염기 서열을 가지는 세타포리아 락세라타 KUC8111균주의 염기서열을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0014] 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.
- [0015] 본 발명은 카드뮴을 흡착할 수 있는 것을 특징으로 하는 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주에 관한 것이다. 본 발명의 상기 균주는 국립농업과학원 농업유전자원센터에 기탁하여 KACC93174P로 명명 받았다.
- [0016] 특히, 본 발명은 상기 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주로부터 수득된 바이오매스(biomass)가 카드뮴을 제거하는 효과가 있다는 놀라운 연구 결과에 기초한 것이다.

- [0017] 본 발명의 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주는 버섯균의 일종이다. 상기 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주는 카드뮴에 대하여 우수한 흡착력을 나타내는 균 종으로, 서열번호 1(도 6)로 나타내는 균주일 수 있으며, 수탁번호 KACC93174P로 나타내는 균주일 수 있다.
- [0018] 또한, 동일한 작용, 및 효과를 나타내는 범위 내에서, 상기 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주의 유사체 또는 변이체 역시 본 발명의 범위에 포함된다.
- [0019] 본 발명의 바이오매스(biomass)는 특정 생물체의 양을 중량 또는 에너지량으로 나타낸 것으로 생물량 또는 생물체량을 의미한다. 본 발명은 체를 이용하여 분리한 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주의 살아있는 상태 또는 죽어있는 상태 모두를 포함하며, 죽어있는 바이오매스인 것이 더욱 바람직한데, 이는 살아있는 상태보다 죽어있는 바이오매스를 이용하는 것이 반응 공정에 제어가 쉽고 흡착 효율이 높기 때문이다.
- [0020] 특히, 본 발명에서 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주의 바이오매스는 하기와 같은 과정을 통해 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주로부터 수득한 것을 의미한다.
- [0021] 상기 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주로부터 바이오매스를 분리하기 위해서는
- [0022] (a) 맥아추출물 배지에 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주의 펄프 디스크(fungal disk)를 접종하여 배양시키는 단계;
- [0023] (b)상기 (a)단계의 배양액으로부터 균사를 분리하고 균질화하는 단계;
- [0024] (c)상기 (b)단계의 균사를 접종하여 배양하는 단계; 및
- [0025] (d)상기 (c)단계의 균사를 건조하여 분말로 만든 후, 체를 이용하여 바이오매스를 분리하는 단계를 수행할 수 있다.
- [0026] 상기 (a) 단계에서 맥아추출물은 맥아분을 물에 넣고 50 내지 60℃로 유지하며 수 시간 방치하여 당화가 일어난 것을 여과한 액으로, 당분 외에 펩톤이나 여러 가지 세균, 효모균, 사상균 등에 대한 발육인자로서의 물질을 함유하고 있어 천연배지로 사용할 수 있으며, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0027] 상기 펄프 디스크(fungal disk)은 고체 배지상에서 균주 core를 획득하여 접종원으로 사용하는 것을 의미하며, 상기 균주 core는 직경 5mm일 수 있다.
- [0028] 상기 (c)단계에서, 균사의 접종 온도는 20 내지 35℃인 것이 바람직한데, 상기 온도 범위에서 생장률이 좋기 때문이다. 또한, 100 내지 300rpm으로 배양하는 것이 바람직하며, 균주 생장에 있어 산소를 원활하게 공급해주는 진탕배양을 이용하는 것이 바람직하다.
- [0029] 상기 (d) 단계에서, 상기 체는 분말의 크기를 일정하게 하고자 사용하였다.
- [0030] 또한, 상기 방법으로 분리된 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주의 바이오매스를 카드뮴이 포함된 수용액에 첨가하여 수용액으로부터 카드뮴을 제거할 수 있다.
- [0031] 상기 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주의 바이오매스는 0.2 내지 1g/L가 바람직하며, 더욱 바람직하게는 0.25g/L이다.
- [0032] 바이오매스가 1g/L 초과하면 카드뮴의 흡착율이 감소하는 경향을 보였고, 바이오매스가 감소할수록 높은 흡착율을 보였다. 또한, 카드뮴이 포함된 수용액의 pH는 4 내지 8이 바람직하며, pH가 4 미만일 경우 카드뮴이 낮은 흡착율을 보이며, pH 6이상일 때 일정한 흡착율을 보였다. 또한, 1시간 이상의 반응 시간에서 충분한 카드뮴 흡착율을 보였다.
- [0033] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다.

[0034] 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0035] 실시예 1. 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주의 분리 및 배양

[0036] 250mL 삼각플라스크에 100mL의 2차 증류수에 2g의 맥아추출물 분말을 첨가하여 2% 맥아추출물 배지를 제작하고 멸균하여 준비하였다. 실험에 이용할 접종원은 다음의 방법으로 준비하였다. 600mL의 2차 증류수에 2g 맥아추출물 분말과 1.5%의 한천 분말을 첨가하여 멸균한 후 90 X 15mm petri dish에 분주하여 2% 고체 맥아추출물 배지를 제작하고 균주를 접종하였다. 배양 후 군사가 생장하면 군사의 최외각 활성이 높은 곳을 직경 5mm의 사이즈의 fungal disk로 제작하고 접종원으로 사용하였다. 상기 맥아추출물에 fungal disk를 접종하여 배양시킨 후, filtering을 통해 배양액을 제외하고 생성된 군사의 형태가 pellet으로 나타난 군사 pellet만을 획득하였다. 획득한 군사 pellet은 균질기로 5분간, 400rpm으로 균질화 시켜준 다음 접종원으로 이용하였다.

[0037] 상기 균질화한 군사의 총량을 2% 맥아추출물 배지를 포함한 bioreactor에 접종하여 27℃에서 150rpm으로 7일 동안 배양하였다. 7일 동안 생성된 바이오매스는 군사만 분리하여 90℃에서 6시간 건조시키고, 막자사발을 이용하여 분말상으로 제조하였다. 상기 분말을 40mesh 체를 이용하여 분리하여 카드뮴 흡착 실험에 사용할 바이오매스를 분리하였다.

[0038] <세리포리아 락세라타 KUC8111 균주의 카드뮴 흡착 조건>

[0039] 실험예 1. pH에 따른 카드뮴 흡착율

[0040] 카드뮴(Kanto chemical co.) 1000ppm 표준용액을 이용하여 10mg/L의 카드뮴 수용액을 제조한 후 수산화나트륨과 질산을 이용하여 표준용액의 pH를 1부터 8까지 변화시켰다. pH가 조절된 각각의 카드뮴 표준용액에 상기 실시예 1에서 제조한 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주의 바이오매스 0.1g를 첨가하여 진탕배양기에서 27℃의 온도로 24시간 동안 진탕하였다. 그 후 상등액을 0.45μm 여과지를 이용하여 여과한 후 ICP-OES를 이용하여 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주에 흡착된 카드뮴의 양을 측정하였다. 측정된 값은 하기 식에 따라 구하였다.

$$Q = \frac{[(C_0 - C) * V]}{Mb}$$

[0041]

[0042] 이때 Q는 바이오매스 단위 무게당 금속 흡착량(mg/g)을, Co와 C는 흡착 반응 전후에 용액 내 금속 이온 농도(mg/L)를, V는 반응 용액의 양(L)을, Mb는 반응시킨 바이오매스의 무게(g)를 의미한다.

[0043] 상기 식에 따라 pH 1~3에서는 1mg/g의 값을 보였으며, pH가 4로 증가하였을 때 4mg/g이상의 값을 보였다. pH가 높아질수록 서서히 증가하였고, pH 6에서 높은 흡착율을 보이며, 일정한 값이 나타났다. pH 7이상에서는 카드뮴의 미세한 침전이 발생할 수 있으므로, pH 6에서 가장 높은 흡착율을 보인다고 할 수 있다. (도 1)

[0044] 실험예 2. 반응 시간에 따른 카드뮴 흡착율

[0045] 10mg/L의 카드뮴 표준용액을 pH 6으로 고정시킨 후, 상기 용액에 상기 실시예 1에서 제조한 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주의 바이오매스 0.1g를 첨가하여 27℃의 온도로 진탕하였다. 10, 20, 30, 60, 120, 1200분 간격으로 상등액을 채취하여 0.45μm 여과지를 이용하여 여과한 후 ICP-OES를 이용하여 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주에 흡착된 카드뮴의 양을 측정하였다. 반응시간 60분에서 최대 흡착율에 도달하였고, 이 후 흡착 평형을 유지하였다. 또한, 시간이 경과함에 따라 탈착에 대한 손실 염려도 나타나지 않았다. 따라서, 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주의 바이오매스가 카드뮴을 흡착하는 최적의 반응 시간은 2시간인 것을 알 수 있었다. (도 2)

[0046] 실험예 3. 온도에 따른 카드뮴 흡착율

[0047] 10mg/L의 카드뮴 표준용액을 pH 6으로 고정시킨 후, 상기 용액에 상기 실시예 1로부터 수득된 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주의 바이오매스 0.1g를 첨가하여 반응 온도를 각각 20, 25, 30, 35, 40℃로 다르게 하여 반응

이 충분히 일어날 수 있도록 2시간 동안 진탕하였다. 그 후 상등액을 0.45 μm 여과지를 이용하여 여과한 후 ICP-OES를 이용하여 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주에 흡착된 카드뮴의 양을 측정하였다. 측정한 모든 온도에서 흡착율은 5mg/g값을 보였다. 따라서, 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주는 온도에 관계 없이 일정한 양의 카드뮴을 흡착한다는 것을 알 수 있었다. (도 3)

[0048] 실험예 4. 바이오매스 양에 따른 카드뮴 흡착율

[0049] 10mg/L의 카드뮴 표준용액을 pH 6으로 고정시킨 후, 상기 용액에 상기 실시예 1로부터 제조한 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주의 바이오매스를 각각 0.25, 0.5, 1, 2.5, 5, 10g/L 첨가하였다. 30℃의 온도로 2시간 진탕하였다. 그 후 상등액을 0.45 μm 여과지를 이용하여 여과한 후 ICP-OES를 이용하여 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주에 흡착된 카드뮴의 양을 측정하였다. 바이오매스의 양이 0.25g/L에서 가장 높은 카드뮴 흡착율을 보였다. 또한, 바이오매스의 양이 많아질수록 흡착율이 점점 감소하는 경향을 보였다. 따라서, 한정된 금속 무게에 대하여 더 많은 바이오매스 양을 첨가할 때에는 점진적으로 단위 무게당 흡착 효율이 떨어진다는 것을 알 수 있었다. (도 4)

[0050] 실험예 5. 초기 금속 농도에 따른 카드뮴 흡착율

[0051] 1, 10, 20, 40, 100, 250, 500, 750, 1400mg/L의 각각의 카드뮴 표준용액을 pH 6으로 고정시킨 후, 상기 용액에 상기 실시예 1로부터 제조한 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주의 바이오매스 0.1g를 첨가하여 30℃의 온도에서 2시간 동안 진탕하였다. 그 후 상등액을 0.45 μm 여과지를 이용하여 여과한 후 ICP-OES를 이용하여 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주에 흡착된 카드뮴의 양을 측정하였다. 초기 금속 농도가 200mg/L까지 증가할수록 수용액의 농도 대비 일정한 양의 바이오매스에 의해 흡착되는 카드뮴 제거율은 낮아질지라도 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주의 바이오매스 단위 무게당 흡착 효율은 증가하였다. 따라서, 200mg/L 초과 카드뮴 수용액의 카드뮴을 제거할 때, 카드뮴 농도를 고려하여 바이오매스의 투입량을 조절한다면 세리포리아 락세라타 KUC8111 균주의 단위 무게 당 흡착 효율은 극대화되고, 흡착율 또한 증가할 수 있다. (도 5)

수탁번호

[0052]

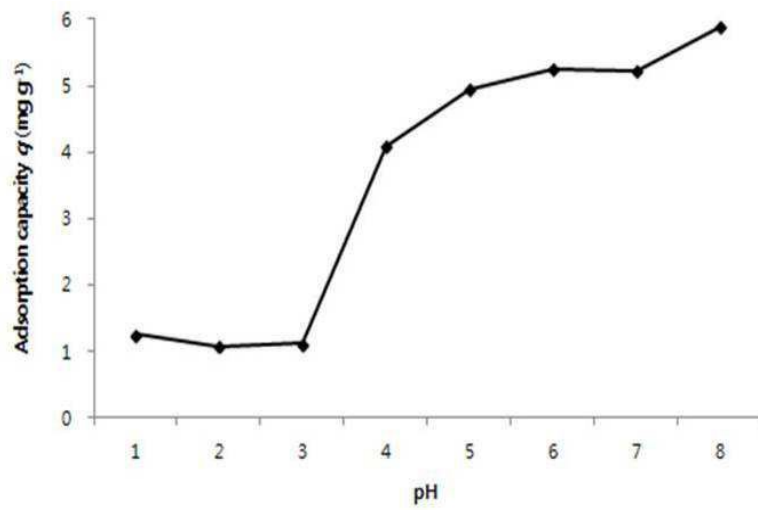
기탁기관명 : 국립농업과학원 농업유전자원센터

수탁번호 : KACC93174P

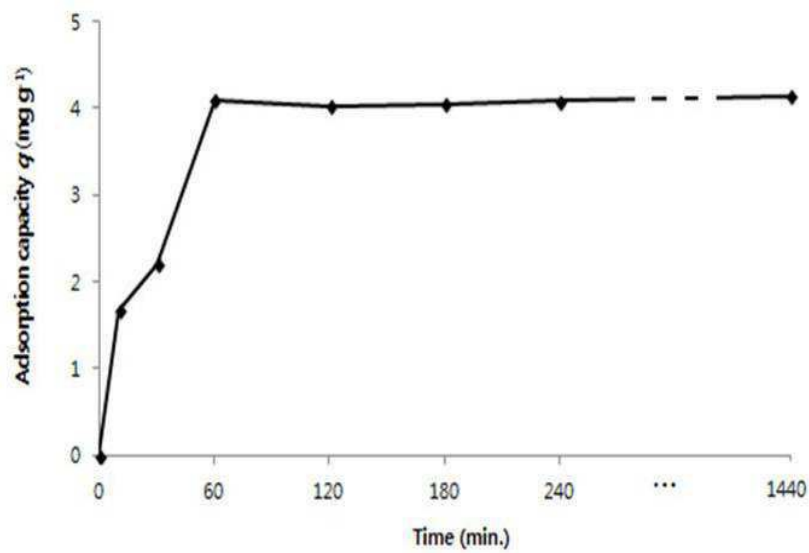
수탁일자 : 20130416

도면

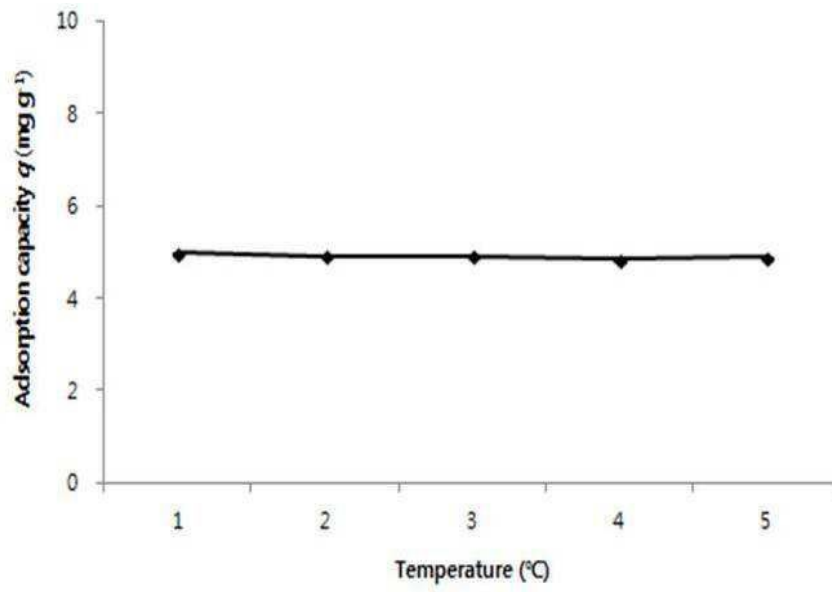
도면1



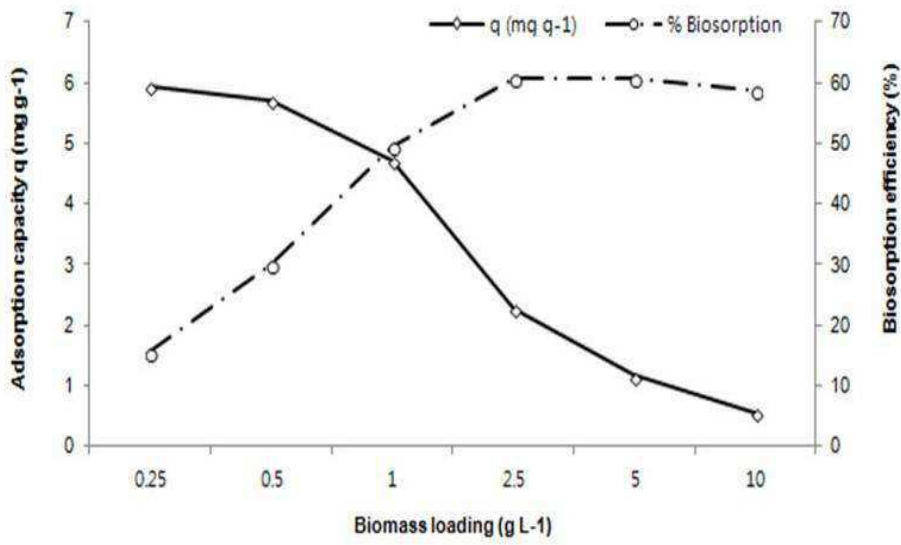
도면2



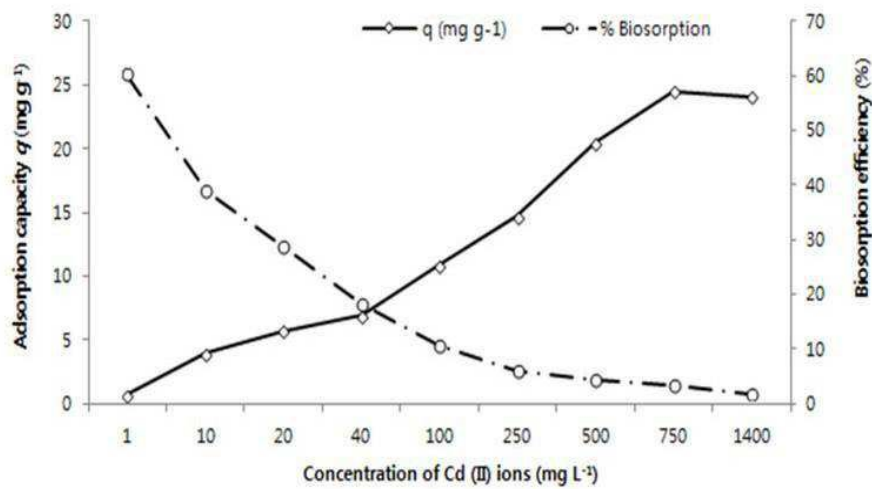
도면3



도면4



도면5



도면6

TAACAAGGATTCCCCTAGTAACTGCGAGTGAAGCGGGAAAAGCTCAAATT
TAAATCTGGCGGCTTTGGTCGTCGAGTTGTATCCTAGAGAAGTGTTTT
CCGCGTTGGACCGTGTATAAGTCTCTTGGAACAGAGCATCATAGAGGGTG
AGAATCCCGTCTTTGACACGGACTACCAATGCTTTGTGATACTCTCAA
AGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCAAAATGGGTGGTAAATTCCATC
TAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACCGTGAGGGA
AAGATGAAAAGCACTTTGGAAAGAGAGTTAAACAGTACGTGAAATTGCTG
AAAGGGAAACGATTGAAGTCAGTCGCGTTAGCTAGAACTCAACCAGGCTT
GCTTGGCGTATTTCTAGTTAACGGGCCAGCATCAGTTTTGACCGCAGGA
AAAAGGCCAGGGAAATGTGGCACCTTCGGGTGTGTTATAGTCTTTGGTCA
TATACTGCGATTGGGACTGAGGTTTCGCAGCACGCGCAAGCTGTGCTTAGG
ATGCTGGCGT

서열목록

- <110> Korea University Research and Business Foundation
- <120> Ceriporia Lacerata KUC8111, method for isolating biomass from the
microorganism and method for removing of cadmium using the same
- <130> DP-2013-0110
- <160> 1
- <170> Kopatent In 2.0
- <210> 1
- <211> 560
- <212> DNA

<213> Ceriporia Lacerata KUC8111

<400> 1

taacaaggat tcccctagta actgcgagtg aagcgggaaa agctcaaatt taaaatctgg	60
cggcttttggc cgiccgagtt gtatcctaga gaagtgtttt ccgcgttgga ccgtgtataa	120
gtctcttgga acagagcatc atagagggtg agaatcccg ttttgacacg gactaccaat	180
gctttgtgat acactctcaa agagtcgagt tgtttgggaa tgcagctcaa aatgggtggt	240
aaattccatc taaagctaaa tattggcgag agaccgatag cgaacaagta ccgtgagga	300
aagatgaaaa gcactttgga aagagagtta aacagtacgt gaaattgctg aaagggaac	360
gattgaagtc agtcgcgtta gctagaactc aaccaggctt gcttggcgta ttttctagtt	420
aacgggccag catcagtttt gaccgcagga aaaaggccag ggaaatgtgg caccttcggg	480
tgtgttatag tcttttgtca tatactgcga ttgggactga ggttcgcagc acgcgcaagc	540
tgtgcttagg atgctggcgt	560