



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0069828
(43) 공개일자 2022년05월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12N 1/20 (2006.01) C04B 22/10 (2006.01)
C04B 40/06 (2006.01) C04B 41/45 (2006.01)
C12N 1/14 (2018.01) C04B 103/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C12N 1/20 (2021.05)
C04B 22/10 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2021-0155811

(22) 출원일자 2021년11월12일

심사청구일자 2021년11월12일

(30) 우선권주장

1020200156650 2020년11월20일 대한민국(KR)

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

박우준

서울특별시 강남구 언주로 420, 101동 2105호 (역삼동, 역삼자이아파트)

홍민영

서울특별시 성북구 정릉로26길 20 (정릉동)

장인동

서울특별시 중구 동호로11마길 48 (신당동, 신일맨션)

(74) 대리인

특허법인 남앤남

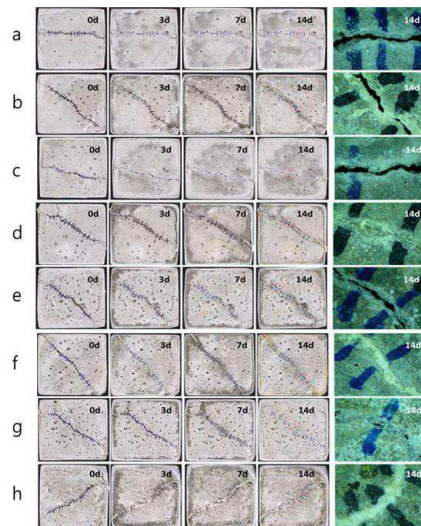
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 친환경 폐자원을 활용한 박테리아 자기치유 콘크리트 조성물 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 친환경 폐자원을 활용한 박테리아 자기치유 콘크리트 조성물 및 이의 용도에 관한 것으로, 구체적으로 본 발명은 깻묵을 포함하는 배지에서 박테리아를 배양한 배양물; 및 굴 폐각에 산성 용액을 처리하여 추출한 무기염류;를 포함하는 박테리아를 이용한 자기치유 콘크리트 또는 시멘트 조성물, 상기 조성물을 포함하는 박테리아를 이용한 자기치유 콘크리트 또는 시멘트 충전용 조성물, 지반 보수 또는 지반 강화용 조성물 및 상기 조성물을 시멘트 또는 콘크리트 구조물의 균열 부위에 도말하는 단계를 포함하는, 시멘트 또는 콘크리트 구조물의 균열 보수 방법에 관한 것이다. 또한 본 발명은 친환경 폐자원인 깻묵을 이용한 자기치유 콘크리트 또는 시멘트 제조용 박테리아 배양배지에 관한 것이다.

대표도 - 도7



(52) CPC특허분류

C04B 40/0675 (2013.01)

C04B 41/45 (2013.01)

C12N 1/14 (2021.05)

C04B 2103/0001 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2015906701
과제번호	20SCIP-C159067-01
부처명	국토교통부
과제관리(전문)기관명	국토교통과학기술진흥원
연구사업명	건설기술연구사업
연구과제명	박테리아 활용 자기치유 콘트리트 실용화 기술 개발
기 여 율	1/1
과제수행기관명	성균관대학교
연구기간	2020.07.06 ~ 2020.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

갯목을 포함하는 배지에서 박테리아를 배양한 배양물; 및 굴 패각에 산성 용액을 처리하여 추출한 무기염류;를 포함하는,

박테리아를 이용한 자기치유 콘크리트 또는 시멘트 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 갯목을 포함하는 배지는 갯목을 증류수에 첨가하고 고압멸균 시킨 후, 탄산나트륨 용액으로 pH 10이 되도록 조정된 배지인 것을 특징으로 하는, 박테리아를 이용한 자기치유 콘크리트 또는 시멘트 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 갯목은 참갯목 또는 콩갯목인 것을 특징으로 하는, 박테리아를 이용한 자기치유 콘크리트 또는 시멘트 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 박테리아는 바실러스 미스칸시(*Bacillus miscanthi*) 속 균주인 것을 특징으로 하는, 박테리아를 이용한 자기치유 콘크리트 또는 시멘트 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 배양물은 상기 배지에서 박테리아를 배양한 배양물, 상기 배양물의 농축물, 상기 배양물의 건조물 및 이들의 조합으로 이루어진 군 중에서 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는, 박테리아를 이용한 자기치유 콘크리트 또는 시멘트 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 무기염류는 칼슘이온을 함유하고 있는 것을 특징으로 하는, 박테리아를 이용한 자기치유 콘크리트 또는 시멘트 조성물.

청구항 7

갯목을 증류수에 첨가하고 고압멸균 시킨 후, 탄산나트륨 용액으로 pH 10이 되도록 조정된, 자기치유 콘크리트 또는 시멘트 제조용 박테리아 배양배지.

청구항 8

제1항의 조성물을 유효성분으로 포함하는, 박테리아를 이용한 자기치유 콘크리트 또는 시멘트 충전용 조성물.

청구항 9

제1항의 조성물을 유효성분으로 포함하는, 지반 보수 또는 지반 강화용 조성물.

청구항 10

제1항의 조성물을 시멘트 또는 콘크리트 구조물의 균열 부위에 도말하는 단계를 포함하는, 시멘트 또는 콘크리트 구조물의 균열 보수 방법.

청구항 11

제10항에 있어서,

갯목을 증류수에 첨가하고 고압멸균 시킨 후, 원심분리하여 수득한 상층액을 상기 균열 부위에 추가로 도말하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는, 시멘트 또는 콘크리트 구조물의 균열 보수 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 친환경 폐자원을 활용한 박테리아 자기치유 콘크리트 조성물 및 이의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 자기치유 콘크리트란 인간의 개입 없이도 매트릭스에 발생한 균열을 스스로 메울 수 있는 콘크리트를 말한다. 콘크리트는 시공성과 내구성, 강도가 우수하여 세계적으로 가장 많이 사용되는 건축 재료이지만, 높은 압축강도에 비해 상대적으로 취약한 인장강도를 갖는 특징 등으로 인해 콘크리트 내 미세한 균열은 필연적으로 발생하게 된다. 콘크리트 구조물에 균열이 발생하면 외부로부터 염화이온 (Cl^-), 탄산염 (CO_3^{2-}), 황산염 (SO_4^{2-}) 등의 오염물질이 콘크리트 매트릭스 내부로 침투하게 되고, 그 결과 중성화, 철근 부식 등 부정적인 영향을 끼치게 된다.

[0003] 이를 방지하기 위해 콘크리트 구조물 제작 시 배합 및 비빔 단계에서 박테리아를 혼입해 넣고, 균열 발생 시 박테리아의 대사작용을 통한 탄산칼슘 석출 작용을 이용하여 균열을 자동으로 메우게 할 수 있는데 이를 박테리아 콘크리트 (bacterial concrete) 혹은 바이오콘크리트 (bio-concrete)라고 한다.

[0004] 박테리아의 대사작용에 의한 탄산칼슘 석출은 미생물적 탄산칼슘 석출 (MICP; microbial calcium carbonate precipitation) 현상의 일종이다. 박테리아 활용 자기치유 콘크리트 연구에 주로 쓰이는 *Bacillus*, *Lysinibacillus*, *Sporosarcina* 속 박테리아는 그람양성이고, 세포벽 표면은 테이코산 등으로 인해 음전하를 띠고 있어서 주위 칼슘이온과 전기적으로 결합할 수 있다. 이 칼슘이온이 주변의 탄산염과 결합하여 탄산칼슘을 형성하게 되는 것인데, 이때 탄산염은 박테리아의 호흡을 통해 방출된 이산화탄소 (CO_2)가 콘크리트와 같은 알칼리성 환경에서 산화됨으로써 형성된다.

[0005] MICP 현상을 촉진시키는 요인으로는 용존 무기탄소(dissolved inorganic carbon) 농도, 칼슘이온 농도, 높은 pH, 결정핵 (nucleation site)의 밀도 등이 있다. 박테리아는 알칼리 환경인 콘크리트 내부에 수분과 양분, 칼슘이온이 존재할 시 생장 및 호흡하여 용존 무기탄소 농도를 증가시키고, 박테리아의 세포외 중합체 물질 (extracellular polymeric substances) 등은 탄산칼슘이 형성될 결정핵 역할을 하게 된다. 따라서 바이오콘크리트를 제작하기 위해서는 박테리아뿐만 아니라 박테리아의 생장과 대사작용을 촉진할 양분과 칼슘원이 추가로 투입되어야 한다.

[0006] 또한 이때 굴 패각 (oyster shell)은 기존의 칼슘 제공원 (calcium source)인 젖산칼슘, 아세트산칼슘, 질산칼슘 등을 대체할 경제적인 칼슘이온 제공원이 될 수 있다. 한국의 남해안은 굴 양식에 적합한 환경이고, 매년 수십만 톤의 굴이 생산된다. 그러나 굴 양식 산업의 부산물인 굴 패각은 이용 가치가 작아 상당량이 버려지거나 방치되고, 악취를 유발하는 등 사회문제를 일으키고 있다.

[0007] 굴 패각은 성분의 90% 이상이 탄산칼슘으로 이루어져 있는데, 탄산칼슘을 산과 반응시키면 칼슘이온을 얻어낼 수 있다. 이때 분리된 칼슘이온은 콘크리트에 혼입되어 균열 자기치유를 촉진할 수 있다. 그러나 현재까지 굴 패각 자체는 콘크리트에 잔골재 (fine aggregate)로서 투입해본 예가 있을 뿐이다.

[0008] 이에 본 발명자들은 박테리아를 사용한 자기치유 콘크리트의 개발 단가를 낮출 수 있는 농수산 부산물의 이용 가능성을 연구하던 중, 농업부산물을 활용하여 박테리아 영양세포 및 포자를 저렴하게 생산할 수 있고, 굴 패각에서 수득한 칼슘이온을 박테리아 포자와 함께 콘크리트 제작에 사용할 경우, 박테리아에 의한 균열 자기치유가

우수한 콘크리트의 제조가 가능함을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0009] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 10-2020-0101023
(특허문헌 0002) 대한민국 등록특허 10-2300665

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0010] 본 발명의 목적은 친환경 폐자원을 활용한 자기치유 콘크리트 또는 시멘트 조성물에 관한 것으로, 깃목을 포함하는 배지에서 박테리아를 배양한 배양물; 및 굴 껍각에 산성 용액을 처리하여 추출한 무기염류;를 포함하는, 박테리아를 이용한 자기치유 콘크리트 또는 시멘트 조성물을 제공하는 것이다.
- [0011] 본 발명의 다른 목적은 깃목을 증류수에 첨가하고 고압멸균 시킨 후, 탄산나트륨 용액으로 pH 10이 되도록 조정한, 자기치유 콘크리트 또는 시멘트 제조용 박테리아 배양배지를 제공하는 것이다.
- [0012] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 본 발명의 조성물을 유효성분으로 포함하는, 박테리아를 이용한 자기치유 콘크리트 또는 시멘트 충전용 조성물을 제공하는 것이다.
- [0013] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 본 발명의 조성물을 유효성분으로 포함하는, 지반 보수 또는 지반 강화용 조성물을 제공하는 것이다.
- [0014] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 본 발명의 조성물을 시멘트 또는 콘크리트 구조물의 균열 부위에 도말하는 단계를 포함하는, 시멘트 또는 콘크리트 구조물의 균열 보수 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0015] 그러므로 본 발명은 깃목을 포함하는 배지에서 박테리아를 배양한 배양물; 및 굴 껍각에 산성 용액을 처리하여 추출한 무기염류;를 포함하는, 박테리아를 이용한 자기치유 콘크리트 또는 시멘트 조성물을 제공한다.
- [0016] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 깃목을 포함하는 배지는 깃목을 증류수에 첨가하고 고압멸균 시킨 후, 탄산나트륨 용액으로 pH 10이 되도록 조정한 배지일 수 있다.
- [0017] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 깃목은 참깃목 또는 콩깃목일 수 있다.
- [0018] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 박테리아는 바실러스 미스칸시(*Bacillus mitscanthi*) 속 균주일 수 있다.
- [0019] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 배양물은 상기 배지에서 박테리아를 배양한 배양물, 상기 배양물의 농축물, 상기 배양물의 건조물 및 이들의 조합으로 이루어진 군 중에서 선택되는 어느 하나일 수 있다.
- [0020] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 무기염류는 칼슘이온을 함유하고 있는 것일 수 있다.
- [0021] 또한 본 발명은 깃목을 증류수에 첨가하고 고압멸균 시킨 후, 탄산나트륨 용액으로 pH 10이 되도록 조정한, 자기치유 콘크리트 또는 시멘트 제조용 박테리아 배양배지를 제공한다.
- [0022] 또한 본 발명은 본 발명의 박테리아를 이용한 자기치유 콘크리트 또는 시멘트 조성물을 유효성분으로 포함하는, 박테리아를 이용한 자기치유 콘크리트 또는 시멘트 충전용 조성물을 제공한다.
- [0023] 또한 본 발명은 본 발명의 박테리아를 이용한 자기치유 콘크리트 또는 시멘트 조성물을 유효성분으로 포함하는, 지반 보수 또는 지반 강화용 조성물을 제공한다.
- [0024] 나아가 본 발명은 본 발명의 박테리아를 이용한 자기치유 콘크리트 또는 시멘트 조성물을 시멘트 또는 콘크리트 구조물의 균열 부위에 도말하는 단계를 포함하는, 시멘트 또는 콘크리트 구조물의 균열 보수 방법을 제공한다.
- [0025] 본 발명의 일실시예에 있어서, 깃목을 증류수에 첨가하고 고압멸균 시킨 후, 원심분리하여 수득한 상층액을 상기 균열 부위에 추가로 도말하는 단계를 더 포함할 수 있다.

발명의 효과

[0026] 본 발명은 친환경 폐자원을 활용하여 경제적으로 박테리아 자기치유 콘크리트 또는 시멘트를 제조할 수 있는 콘크리트 또는 시멘트 조성물에 관한 것으로, 산업 부산물인 깻묵을 포함하는 배지에서 콘크리트 또는 시멘트 제조용 박테리아를 배양할 경우, 기존 합성배지(synthetic media) 및 상업배지(commercial media)에 비해 훨씬 저렴한 단가로 박테리아 및 포자를 효율적으로 생산할 수 있으며, 굴 폐각을 이용한 무기염류의 사용으로 콘크리트 또는 시멘트의 균열 치유를 효과적으로 촉진할 수 있으며, 기존 박테리아 활용 자기치유 콘크리트 제작 시 사용되던 칼슘 화합물(젖산칼슘, 아세트산칼슘 등)을 경제적으로 대체할 수 있는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0027] 도 1은 본 발명의 일실시예에서 경제적 배지를 제작한 후 바실러스 미스칸시 AK13 균주를 접종하여 배양하고, 포자 형성을 유도한 결과를 1a에 나타내었고, 해당 배양액 내에서의 AK13 균주의 형성 및 형성된 포자를 1b에 나타내었다.

도 2는 굴폐각 투입양에 따른 1M 질산 용액과의 반응 결과를 나타낸 것으로, 2a는 굴폐각 분말을 나타낸 것이고 2b는 굴폐각 투입양에 따른 질산 용액과의 반응 결과를 나타낸 것이다.

도 3은 굴 폐각 유래 칼슘이온을 이용하여 석출할 수 있는 탄산칼슘의 양을 확인한 결과를 나타낸 것이다.

도 4는 굴 폐각에서 분리된 칼슘이온을 이용하여 AK13 균주의 탄산칼슘 석출능을 확인한 결과로, 4a는 주사전자 현미경 사진을 나타낸 것이고, 도 4b를 AK13 표면 및 그 주변에 형성되어 있는 탄산칼슘을 EDX 분석으로 확인한 결과이다.

도 5는 굴 폐각 유래 칼슘이온 등 무기염류를 모르타르에 혼입하였을 시 양생 초기 압축강도의 증가를 확인한 결과를 나타낸 것이다.

도 6은 AK13 균주 포자 및 굴 폐각 유래 무기염류의 혼입 여부 및 영양액 투입 여부에 따른 균열 치유율을 비교한 분석 결과를 나타낸 것이다.

도 7은 균열 치유 확인용 모르타르 시편에 대해 UVPColonyDoc-It Imaging station (Analytik Jena)를 이용하여 균열 사진을 치유 시작 후 0, 3, 7, 14일 차에 촬영한 결과를 나타낸 것이다. 또한 마지막 14일 차 균열은 추가로 실체현미경 (Carl Zeiss)을 이용하여 촬영한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0028] 본 발명은 친환경 폐자원을 이용하여 경제적이면서 균열 치유 효과가 우수한 박테리아를 이용한 자기치유 콘크리트 또는 시멘트 조성물을 제공함에 특징이 있다.

[0029] 구체적으로 본 발명은, 깻묵을 포함하는 배지에서 박테리아를 배양한 배양물 및 굴 폐각에 산성 용액을 처리하여 추출한 무기염류를 포함하는, 박테리아를 이용한 자기치유 콘크리트 또는 시멘트 조성물을 제공함에 특징이 있다.

[0030] 본 발명에서 상기 콘크리트 또는 시멘트 조성물이란 시멘트 구조물 또는 콘크리트 구조물의 제조에 이용되는 조성물을 말하며, 상기 콘크리트는 시멘트에 물, 모래 자갈을 더 혼합한 것을 의미한다.

[0031] 박테리아의 대사작용으로 석출된 탄산칼슘으로 콘크리트에서 발생하는 균열을 자동으로 치유하는 기술은 최근 10여 년간 연구개발이 이루어져 왔다. 그러나 여전히 높은 제작 단가는 실용화의 큰 제약이 되고 있다. 박테리아를 활용한 자기치유 콘크리트를 제작하기 위해서는 박테리아를 배양해야 하고, 콘크리트 내부에서 탄산칼슘 침적을 촉진하기 위한 미네랄 전구체(칼슘이온)가 필요하며, 박테리아가 콘크리트 내부에서도 대사작용 및 증식을 할 수 있도록 영양분을 투입해야 하는데, 이 모든 과정이 경제적 부담이 되고 있다.

[0032] 이에 본 발명자들은 저렴한 비용으로 박테리아를 배양할 수 있고 포자를 생산하기 위해 기존 합성배지 성분을 대체할 기질로서 농업부산물을 이용하였는데, 농업부산물(친환경 폐자원)은 농산물을 생산 및 가공하는 단계에서 부수적으로 발생하는 물질로, 기본적으로 농산물보다 더 저렴한 가격에 구할 수 있다.

[0033] 특히 본 발명에서는 상기 농업부산물로서 깻묵을 선택하여 사용하였다. 깻묵(또는 유박)은 식물의 종자에서 기름을 짜고 남은 것으로, 주된 용도는 비료, 사료로 사용되고 있는데, 본 발명에서는 새로운 용도로서 자기치유 콘크리트 또는 시멘트 제조를 위해 사용되는 박테리아의 배양 배지의 용도로 최초로 사용하였다.

- [0034] 따라서 본 발명은 깻묵을 증류수에 첨가하고 고압멸균 시킨 후, 탄산나트륨 용액으로 pH 10이 되도록 조정한, 자기치유 콘크리트 또는 시멘트 제조용 박테리아 배양배지를 제공할 수 있다.
- [0035] 본 발명에서 사용할 수 있는 상기 깻묵은 참깻묵 또는 콩깻묵일 수 있으며, 본 발명의 일실시예에서는 참깨에서 기름을 추출하고 남은 부산물인 참깻묵을 사용하였다.
- [0036] 상기 깻묵은 증류수의 부피 기준으로 1~5%(w/v)의 양으로 첨가할 수 있으며, 상기 고압멸균은 121℃ 및 1.2 기압에서 20분 동안 멸균 처리하였다.
- [0037] 또한 본 발명의 깻묵을 포함하는 배지에서 배양할 수 있는 상기 박테리아는 자기치유 콘크리트 또는 시멘트 제조를 위해 사용할 수 있는 박테리아라면 모두 적용이 가능하며, 바람직하게는 바실러스 미스칸시(*Bacillus miscalanthi*) 속 균주일 수 있다.
- [0038] 본 발명의 일실시예에서는, 바실러스 미스칸시 AK13 균주를 이용하였는데, 상기 AK13 균주는 본 발명자들이 서울시 성북천(37° 34' 44.9"N 127° 01' 28.8"E)의 물억새(*Miscanthus sacchariflorus*) 근권(rhizosphere)의 토양으로부터 분리하였으며, 이를 '바실러스 속 AK13' 이라 명명하고, 2018년 3월 28일자로 기관에 기탁하여 2018년 8월 23일자 기탁번호 KACC 81070BP를 부여받은 균주이다(대한민국 등록특허 10-2300665).
- [0039] 상기 바실러스 미스칸시 AK13 균주를 참깻묵으로 제조한 배지로 배양하였고, 포자 형성을 유도하였는데, 그 결과, 본 발명의 참깻묵으로 제조한 배지에서의 균주 및 생성된 포자가 합성배지를 이용한 군과 거의 유사한 수준인 것으로 확인되었다. 이를 통해 본 발명의 깻묵으로 제조한 배지를 이용할 경우, 종래 합성배지를 이용할 경우에 비해 약 10배 이상 저렴한 비용으로 박테리아 및 포자의 생산이 가능함을 확인하였다.
- [0040] 따라서 본 발명에 따른 박테리아를 이용한 자기치유 콘크리트 또는 시멘트 조성물은 깻묵을 포함하는 배지에서 박테리아를 배양한 배양물을 포함할 수 있으며, 상기 배양물은 상기 배지에서 박테리아를 배양한 배양물, 상기 배양물의 농축물, 상기 배양물의 건조물 또는 이들의 조합일 수 있다.
- [0041] 또한, 본 발명의 박테리아를 이용한 자기치유 콘크리트 또는 시멘트 조성물에는 굴 폐각에 산성 용액을 처리하여 추출한 무기염류를 유효성분으로 포함한다.
- [0042] 이때 상기 무기염류는 칼슘이온을 함유하고 있는 것일 수 있다.
- [0043] 본 발명자들은 기존에 콘크리트 또는 시멘트의 균열 치유 촉진을 위해, 콘크리트 배합 시 함께 추가로 첨가되던 칼슘 화합물인 젖산칼슘 (calcium lactate), 아세트산칼슘 (calcium acetate), 질산칼슘 (calcium nitrate) 등에 대한 경제적 대체재로 굴 폐각을 선택하였다. 그러나 굴 폐각의 주성분인 탄산칼슘은 불용성이므로, 분말화된 굴 폐각에 질산 (nitric acid)을 처리하여 칼슘이온을 해리시킨 후 콘크리트 제조에 사용하였다.
- [0044] 본 발명의 일실시예에서는, AK13 균주를 굴 폐각 유래 칼슘이온과 효모추출물 (yeast extract)을 섞어 제작한 액체 배지에 배양한 후 주사전자현미경 (Scanning electron microscopy; 이하 SEM) 촬영 및 에너지 분산 X선 분광 분석 (Energy-dispersive X-ray spectroscopy, 이하 EDX) 분석을 시행하였다. 그 결과, 상기한 배지에서 탄산칼슘을 주성분으로 하는 광물이 형성된 것을 확인하였다.
- [0045] 또한, 기존에 사용되던 칼슘 화합물인 젖산칼슘과 그에 대한 경제적 대체재인 굴 폐각을, 같은 질량으로 투입하여 같은 방식으로 각각 배지를 제작하고 AK13 균주를 접종, 배양한 뒤 탄산칼슘 석출량을 비교해본 결과, 본 발명의 굴 폐각을 사용한 군에서 더 많은 양의 탄산칼슘이 석출된 것을 확인할 수 있었다.
- [0046] 이러한 결과를 통해 본 발명자들은 굴 폐각에 산성 용액을 처리하여 추출한 무기염류를 콘크리트의 자기치유를 촉진하기 위한 경제적이고 효율적인 칼슘의 공급원으로 사용할 수 있음을 알 수 있었다.
- [0047] 본 발명의 또 다른 실시예에서는, 굴 폐각 유래 무기염류가 콘크리트의 강도 및 균열 자기치유에 미치는 영향을 확인하기 위해 굴 폐각 유래 무기염류가 혼합된 모르타르를 제작하였고, 압축강도를 측정 및 균열 유도 후 시간에 따른 균열 너비 변화를 관찰하였다. 그 결과, 굴 폐각에서 분리된 칼슘이온이 혼입된 모르타르는 초기 압축강도가 증가하고, 박테리아 혼입에 의한 압축강도 저하를 완화해주며, 균열 치유율을 향상시키는 것으로 나타났다.
- [0048] 이러한 결과를 통해 본 발명자들은, 깻묵을 포함하는 배지에서 박테리아를 배양한 배양물 및 굴 폐각에 산성 용액을 처리하여 추출한 무기염류를 포함하는 조성물을 박테리아를 이용한 자기치유 콘크리트 또는 시멘트 충전용 조성물로 사용할 수 있음을 알 수 있었고, 또한 지반 보수 또는 지반 강화용 조성물로도 사용할 수 있음을 알

수 있었다.

- [0049] 상기 콘크리트 또는 시멘트 충전용 조성물은 시멘트 또는 콘크리트 구조물에 생긴 균열을 채우기 위하여 처리하는 조성물로서, 균열이 충전되고, 구조물의 강도를 증진시킬 수 있다.
- [0050] 또한 상기 지반 보수 또는 지반 강화용 조성물은 지반의 공극, 공동, 갈라진 틈 등이 채워져 연약지반을 강화시키고, 구조물의 입자를 견고화시켜 토양 또는 지반의 강도를 증진시킬 수 있다.
- [0051] 나아가 본 발명은 깻묵을 포함하는 배지에서 박테리아를 배양한 배양물 및 굴 껍각에 산성 용액을 처리하여 추출한 무기염류를 포함하는 조성물을 시멘트 또는 콘크리트 구조물의 균열 부위에 도말하는 단계를 포함하는, 시멘트 또는 콘크리트 구조물의 균열 보수 방법을 제공할 수 있다.
- [0052] 또한 상기 방법은 깻묵을 증류수에 첨가하고 고압멸균 시킨 후, 원심분리하여 수득한 상층액을 상기 균열 부위에 추가로 도말하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0053] 본 발명의 일실시예에 따르면, 콘크리트 매트릭스 내부에서 AK13 균주의 성장을 촉진하고, 모르타르의 균열 치유율을 더욱 향상시킬 수 있는 방안으로, 기름을 추출하고 남은 부산물인 깻묵을 이용하여 영양액을 제조하였다.
- [0054] 여기서 상기 영양액은 깻묵을 증류수에 첨가하고 고압멸균 시킨 후, 원심분리하여 수득한 상층액을 말하며, 상기 깻묵은 참깻묵 또는 콩깻묵을 사용할 수 있다.
- [0055] 분석 결과, 깻묵 성분을 함유한 영양액을 균열 부위에 도말한 모르타르 시편들은 균열 치유 속도가 더 향상되는 것으로 나타났다.
- [0056] 따라서 깻묵을 증류수에 첨가하고 고압멸균 시킨 후, 원심분리하여 수득한 상층액은 박테리아를 이용한 자기치유 콘크리트 또는 시멘트의 균열 보수용 조성물로 사용할 수 있다.
- [0057] 이상 기술된 바와 같이, 친환경 폐자원을 활용하여 개발된 본 발명의 박테리아를 이용한 자기치유 콘크리트 또는 시멘트 조성물을 이용할 경우, 매우 경제적이면서 자기치유 효과가 우수한 콘크리트 또는 시멘트를 제조할 수 있다.
- [0058]
- [0059] 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.

[0061] **<실시예 1>**

[0062] **농업부산물을 활용한 박테리아 배양배지의 제조 및 이를 이용한 박테리아의 포자 형성 확인**

- [0063] 본 발명자들은 박테리아 자기치유 콘크리트의 제조에 사용 가능한 박테리아를 보다 경제적으로 배양할 수 있는 방안으로, 농업부산물을 이용한 박테리아 배양배지를 다음과 같이 제조하였다.
- [0064] 이를 위해, 농업부산물로서, 참기름 생산 공정의 부산물인 참깻묵을 믹서기로 갈아서 입자의 크기가 균일하도록 분쇄한 뒤 증류수에 1%(w/v) 농도로 넣고, 고압증기멸균기 (autoclave)를 이용하여 121℃ 온도 및 1.2기압에서 20분간 멸균시켰다. 이후 멸균된 참깻묵을 호알칼리성인 AK13 균주가 성장할 수 있도록 탄산나트륨 (sodium carbonate)을 이용하여 pH 10인 배양배지를 제조하였다.
- [0065] 또한 평판배지 상에서 보관 중이던 바실러스 미스칸시 AK13 균주의 군집 (colony)을 접종 칩으로 일부 채취한 뒤 pH 8 Luria-Bertani (LB) 브로스(broth)에 접종하였고, 30℃, 220 rpm 조건에서 18시간 동안 배양하였다. 그 후 AK13 균주의 배양액 1 ml를 원심분리 (14,600 rpm, 30초)한 후 인산염 완충 식염수 (phosphate-buffered saline, PBS, pH 7.5)로 세척하는 과정을 2회 진행하였고, 이 AK13 균주 현탁액을 상기에서 제조한 참깻묵을 이용한 배양배지에 접종하였다.
- [0066] AK13 균주를 접종한 참깻묵 배지는 30℃ 온도 및 220 rpm 조건에서 3일간 배양하였다. 배양액 내 포자량은 연속 희석법을 이용하여 측정하였으며, 해당 배양액 내 포자 형성을 확인하기 위하여 광학현미경 (Carl Zeiss)으로 관찰하였다.

[0068] 그 결과, 배양 3일 차에 본 발명의 참깨묵 배지를 이용하여 배양한 AK13 균주의 포자 형성 정도는 고가의 합성 배지로 배양한 균과 거의 유사한 수준의 포자가 형성된 것을 확인할 수 있었으며(1a), 본 발명의 참깨묵 배지의 배양액 내에서 AK13 균주의 포자 형성을 확인할 수 있었다(1b).

[0069] 따라서 이러한 결과를 통해 본 발명자들은 본 발명의 참깨묵 배지를 이용할 경우, 종래의 합성배지에 비해 약 10배 이상 저렴한 가격으로 박테리아 자기치유 콘크리트 제조에 사용할 수 있는 박테리아 및 포자를 효율적으로 생산할 수 있음을 알 수 있었다.

[0071] <실시예 2>

[0072] 굴 폐각의 산 처리 및 칼슘이온의 분리

[0073] 일정 농도의 산성 용액으로 녹일 수 있는 굴 폐각의 적정 투입량을 확인하기 위해, 1M 질산 용액에 분말화된 굴 폐각(도 2a)을 조금씩 양을 늘려가며 0~25%까지 총 8가지 다른 농도로 투입하였고, 8시간 동안 교반배양기에서 180 rpm으로 진탕하여 거의 모든 탄산칼슘이 산과 반응할 수 있도록 해주었다. 이후 용액별 탄산칼슘 반응 정도를 알기 위해 pH 미터기(Thermo Scientific)로 pH를 측정하였다.

[0075] 그 결과, 도 2b에 나타낸 바와 같이, 1M 질산 수용액에 굴 폐각을 25% 농도로 첨가하였을 시 pH가 가장 높게 나타났다. 이는 초기 1M 질산 수용액의 수소이온이 굴 폐각의 탄산칼슘과 거의 모두 반응하였다는 것을 의미하며, 따라서 굴 폐각을 25% 이상으로 투입하는 것은 비경제적이라는 것을 확인하였다.

[0076]

[0077] <실시예 3>

[0078] 굴 폐각 유래 칼슘이온과 젖산칼슘에서의 탄산칼슘 석출량 비교

[0079] 다음으로 본 발명자들은 상기 실시예 2의 방법으로 굴 폐각을 산 처리하여 분리한 칼슘이온을 이용하여 AK13 균주가 탄산칼슘을 석출할 수 있는지를 확인하기 위해, 0.1M 질산 수용액에 분말화된 굴 폐각을 0.4%(w/v)의 농도로 투입하고, 180 rpm에서 8시간 동안 진탕하였다. 이후 산에 녹지 않은 고형물을 제거하기 위해 용액을 공극 크기 (pore size)가 5 μm 인 필터에 통과시켰다. 고형물을 걸러낸 칼슘이온 용액에 효모 추출물을 0.4%의 농도로 첨가한 배지를 제작하였고, 고압증기멸균기를 이용해 멸균시켰다. 멸균 후 AK13 균주를 접종하였고, 4일간 30°C, 220 rpm 조건에서 진탕 배양하였다.

[0080] 또한 상기 배양을 통해 배지 내에서 석출된 탄산칼슘 함량을 확인하기 위해, 배지를 80°C에서 10분간 중탕하고, 전자레인지에서 30초씩 2회 전자기파에 노출시켜 박테리아를 용균시켰다. 이후 탄산칼슘 및 박테리아 세포 잔여물들을 7830 rpm에서 10분간 원심분리하여 배지로부터 분리하였고, 증류수로 2회 세척하였다. 상기 과정으로 석출된 탄산칼슘은 50°C에서 2일간 건조시켰고, 석출된 탄산칼슘의 무게는 전자저울을 이용하여 측정하였다.

[0081] 상기 과정으로 굴 폐각 유래 칼슘이온을 이용하여 석출할 수 있는 탄산칼슘의 양을 확인하였고, 마찬가지로 방법으로 기존의 칼슘 화합물 중 하나인 젖산칼슘을 이용했을 때의 탄산칼슘 석출량도 확인하였다. 이때 배지 제작 시 칼슘 제공원은 상기 굴 폐각과 동일하게 0.4%의 농도로 사용하였고, 효모추출물도 0.4%로 투입하였다. 각각의 다른 칼슘원으로 석출할 수 있는 탄산칼슘의 양을 비교한 결과는 도 3에 나타내었다.

[0083] 그 결과, 칼슘 제공원으로서 굴 폐각에서 분리한 칼슘이온을 이용한 군이 젖산칼슘을 이용한 군에 비해 더 많은 탄산칼슘이 침적된 것을 확인할 수 있었다(도 3).

[0085] <실시예 4>

[0086] 굴 폐각 유래 칼슘이온으로 형성된 탄산칼슘의 SEM, EDX 분석

[0087] 본 발명자들은 굴 폐각으로부터 수득한 칼슘이온을 이용하여 상기 실시예 3을 통해 형성된 탄산칼슘에 대한 SEM 촬영 및 EDX 분석을 수행하였다. 이를 위해 굴 폐각에서 분리된 칼슘이온과 효모추출물로 조성한 배지에서 AK13 균주를 배양한 후, 배양액 1 ml를 1.7 ml 튜브에 담고 5,000 rpm에서 2분간 원심분리하였다. 튜브에서 상층액을

버린 후, 4℃에서 2시간 동안 카르노프스키 고정 (Karnovsky's fixation: 2% paraformaldehyde, 2.5% glutaraldehyde, 0.1 M phosphate buffer, pH 7.2)을 진행하였다. 이후 5,000 rpm에서 2분간 원심분리한 후 상층액을 따라내었고, 0.01M 인산칼륨 (potassium phosphate) 수용액으로 2회 세척하였다. AK13 균주를 포함하는 시료를 다시 원심분리한 후 상층액을 따라내었고, 2% 사산화오스뮴 (osmium tetroxide)을 넣고 4℃에서 2시간 동안 두었다. 이후 다시 원심분리한 후 멸균된 증류수로 2회 세척하였고, 상층액을 따라낸 후 남아있는 시료를 30%, 50%, 70%, 100%의 에탄올에 각각 10분씩 재현탁하여 탈수시켰다. 상기 과정이 완료된 시료는 알루미늄 스테브 (aluminium stub)에 올려 4일간 건조하였고, SEM 촬영 직전에는 Pt 코팅을 5분간 진행하였다.

[0089] 분석 결과, 본 발명의 굴 패각에서 분리된 칼슘이온을 이용해서도 AK13 균주가 탄산칼슘을 석출할 수 있다는 것을 주사전자현미경 관찰을 통해 확인할 수 있었고(도 4a), AK13 표면 및 그 주변에 형성되어 있는 광물질이 칼슘 (Ca), 탄소 (C), 산소 (O)를 주성분으로 하는 탄산칼슘임을 EDX 분석을 통해 확인할 수 있었다(도 4b).

[0091] <실시예 5>

[0092] 굴 패각 유래 무기염류 및 참깨묵 배지로 배양된 AK13 균주의 포자를 이용한 모르타르 시편 제조 및 압축강도 분석

[0093] 나아가 본 발명자들은 굴 패각 유래 무기염류 및 참깨묵 배지로 배양한 바실러스 미스칸시 AK13 균주의 포자를 이용하여 모르타르 시편을 제조하였고, 모르타르 시편에 대한 압축강도를 분석하였다.

[0094] 구체적으로, 1종 보통 포틀랜드 시멘트와 ISO 표준 모래 및 수돗물을 사용하여 하기 표 1의 배합비로 모르타르 시편을 제조하였다. 표 1에서 '박테리아 포자'란 상기 실시예 1의 참깨묵 배지에 AK13 균주를 접종한 후 3일간 배양 후, 원심분리하여 취득한 것으로, 남아있는 참깨묵 잔여물의 무게를 포함하고 있으며, 1g당 박테리아 포자 약 10^{10} 개가 포함되어 있다. 또한 '무기염류 수용액'이란 3M 질산 수용액에 분말화된 굴 패각을 25%(w/v)의 양으로 투입하고 8시간 동안 진탕시킨 후, 5 μ m 공극 크기를 갖는 필터에 통과시킨 액체를 1/2로 희석한 것을 말한다.

[0095] 모르타르 시편은 AK13 균주의 포자와 굴 패각 유래 칼슘이온을 모두 포함하지 않은 군(Ref), 칼슘이온만 포함한 군(Oys), 포자만 포함한 군(Spo), AK13 균주의 포자와 굴 패각 유래 칼슘이온을 모두 포함한 군(Mix)으로 총 4가지 시편을 제작하였다. 모르타르의 비빔은 KS L 5109 방법에 따라 수행하였다. 모르타르 비빔 즉시 (압축강도 측정용 시편의 경우) 가로 40 mm, 세로 160 mm, 높이 40 mm의 주형 (mold)에 타설하고 대기온도 23℃, 대기습도 50% 환경에서 1일간 기건양생한 후 탈형하였다. 탈형한 시편은 압축강도 측정 시까지 23℃에서 수중양생하였다.

[0096] 압축강도 측정은 양생 3, 7, 28일차에 ASTM C109를 준용하여 시행되었다. 1회 측정 시 각 시편 종류 당 압축강도는 6번씩 측정되었다.

표 1

종류	시멘트 (g)	모래 (g)	물 (g)	무기염류 수용액 (g)	박테리아 포자 (g)
Ref	1350.0	4050.0	625.0	0	0
Oys	1350.0	4050.0	312.5	312.5	0
Spo	1350.0	4050.0	622.5	0	2.5
Mix	1350.0	4050.0	310.0	312.5	2.5

[0098] 분석 결과, 도 5에 나타난 바와 같이, 굴 패각 유래 칼슘이온 등 무기염류를 모르타르에 혼입하였을 시 양생 초기 압축강도가 증가한 것을 확인하였다. 이러한 효과는 칼슘이온이 박테리아와 함께 모르타르에 혼입되었을 때 도 나타나는 것을 확인할 수 있었다. 28일차 압축강도를 보면, 굴 패각 유래 무기염류를 박테리아와 함께 혼입할 시 박테리아로 인한 압축강도 저하가 상쇄되는 것을 알 수 있었다.

[0100] <실시예 6>

[0101] **모르타르 시편의 균열 치유율 변화 분석**

[0102] 본 발명자들은 상기 실시예 5에서 모르타르 시편을 제작할 때 압축강도 측정용 시편을 제작한 후, 남은 모르타르를 가로세로 40 mm, 높이 10 mm 크기의 주형에 타설하여 균열 치유 실험을 위한 시편(이하 치유시편)을 제작하였다. 치유시편은 타설 1일째에 탈형하였고, 이후 23℃에서 수중양생 하였다. 양생 7일 차 치유시편에 0.3 mm 너비의 균열을 유도하였다. 모르타르 둘레는 파라필름 (parafilm)으로 감아 고정하였다.

[0103] 시편 종류는 상기 실시예 5와 같이 각각 4가지를 제작하였고, 4가지 모두는 영양액 투입 여부에 따라 다시 2개의 군으로 나누었다. 영양액은 박테리아의 성장 및 대사를 촉진하기 위해 투입한 것으로, 농업부산물인 콩깻묵을 활용한 것으로, 콩깻묵을 0.5%의 농도로 증류수에 투입한 뒤 고압멸균하였고, 7830 rpm에서 원심분리하여 고형물을 가라앉힌 뒤 상층액만을 영양액으로 사용하였다. 영양액은 1일 1회 균열 위로, 시편 당 1 ml를 분주하였다. 치유 기간 동안 시편은 24시간 내내 수돗물에 절반만 잠기게 두었다.

[0105] 모르타르의 균열 치유 분석 결과, AK13 균주 포자 및 굴 패각 유래 무기염류의 혼입 여부 및 영양액 투입 여부에 따른 균열 치유율 결과는 도 6에서 확인할 수 있는데, 영양액을 투입하지 않았을 때와 투입하였을 때 모두, AK13 균주 포자와 굴 패각 유래 칼슘이온이 모두 혼입된 모르타르 시편에서 균열이 가장 빠르게 치유되는 것으로 나타났다. 또한 모든 시편에서 조금씩이나마 탄산칼슘이 침적되었지만, AK13 균주 포자와 굴 패각 유래 칼슘이온이 모두 포함된 시편에서, 영양액까지 투입했을 때 가장 견고한 형태의 탄산칼슘이 형성되어 있는 것을 확인할 수 있다(도 7h). 또한 도 6 및 도 7에서 a~h의 결과는 하기 표 2에 기재된 성분들의 투입 여부에 따른 균열 치유 결과를 나타낸 것이다(투입함: 0, 투입하지 않음: X).

표 2

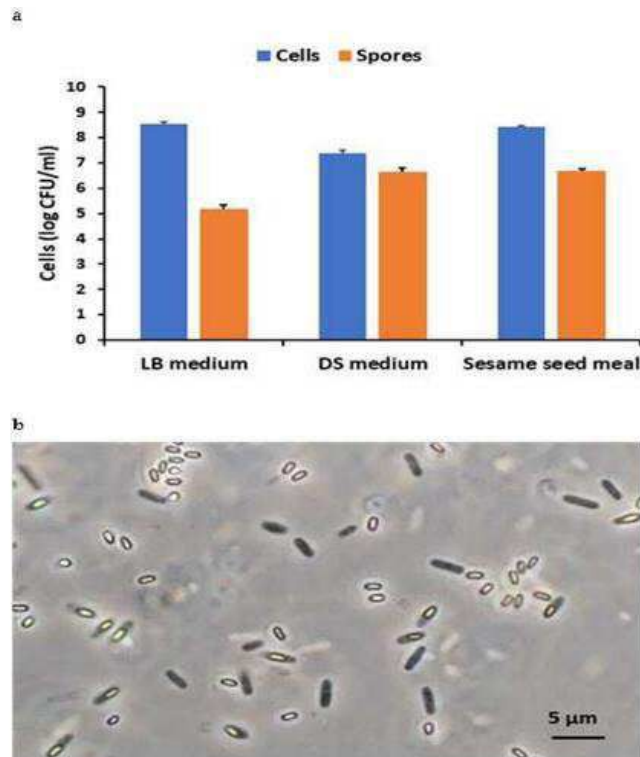
[0106]

도 6 및 도 7	투입 여부		
	AK13 포자	굴패각 유래 탄산칼슘	영양액
a	X	X	X
b	X	X	0
c	X	0	X
d	X	0	0
e	0	X	X
f	0	X	0
g	0	0	X
h	0	0	0

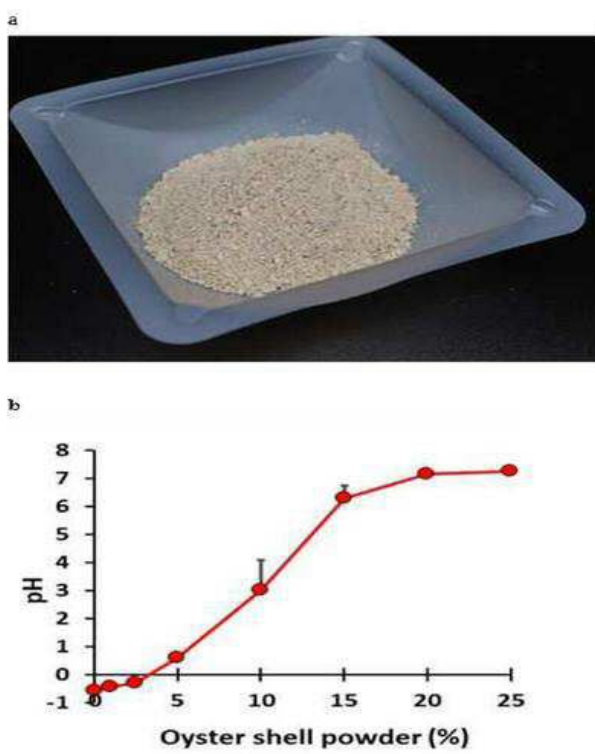
[0108] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시 예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시 예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허 청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

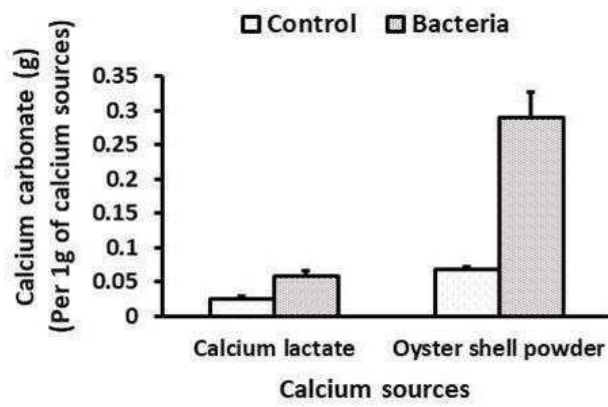
도면1



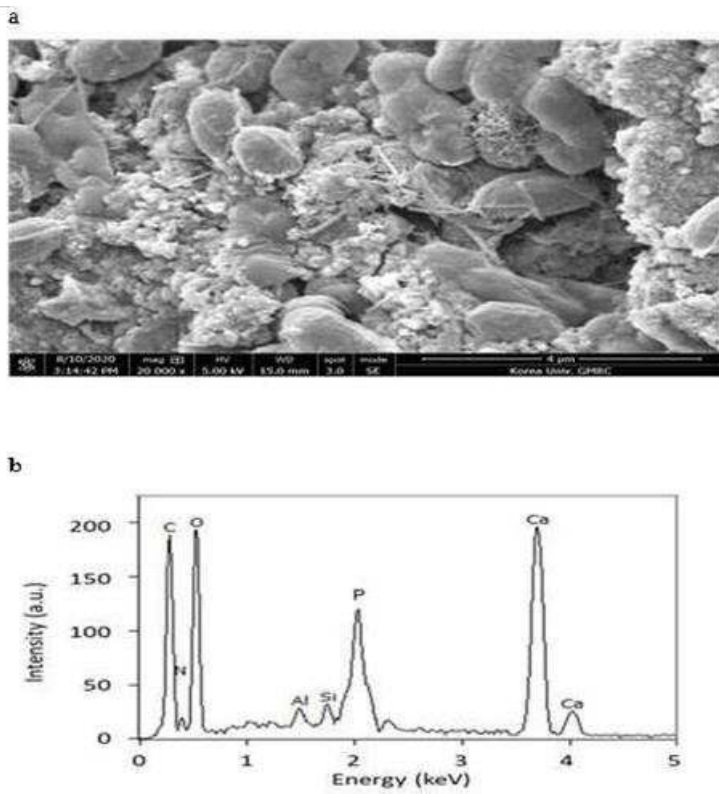
도면2



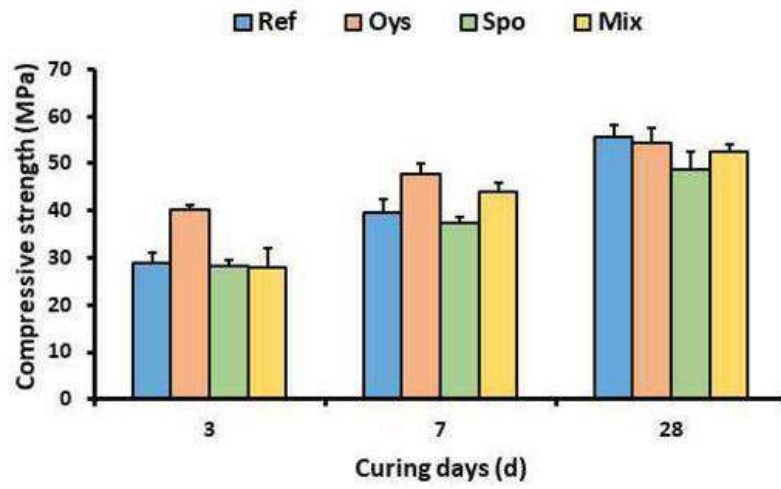
도면3



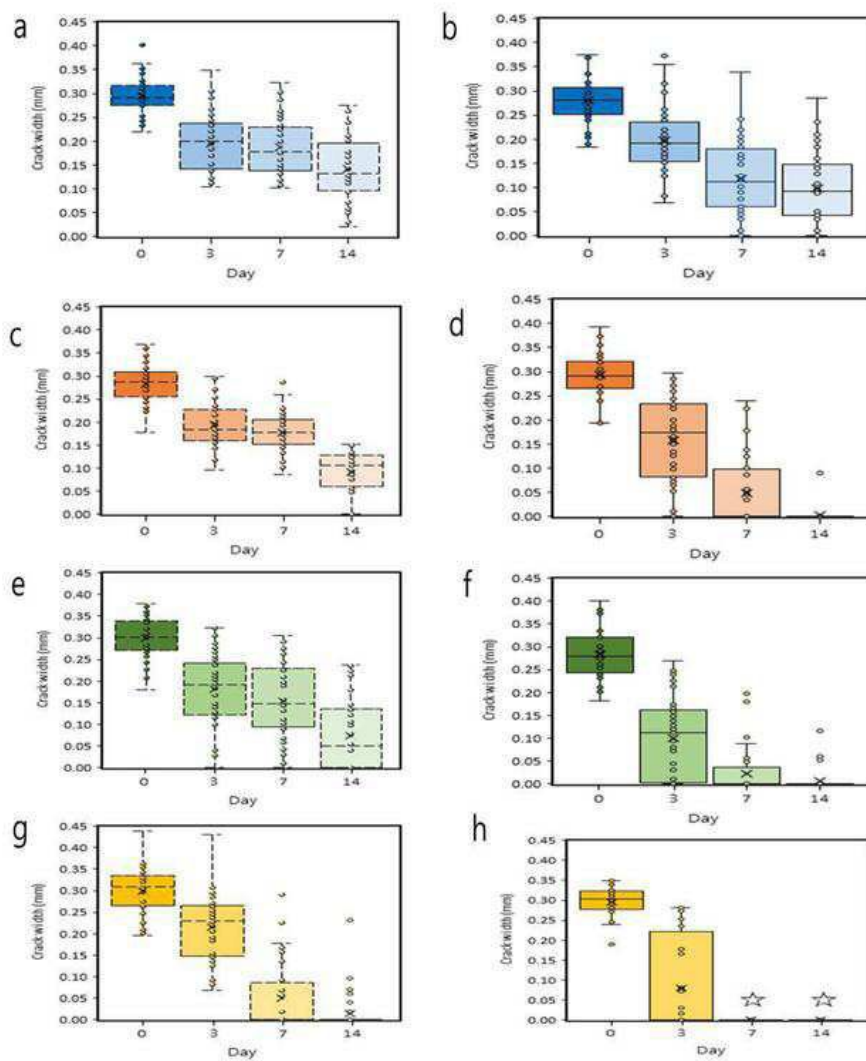
도면4



도면5



도면6



도면7

