



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0096979
(43) 공개일자 2020년08월14일

- | | |
|---|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C02F 3/34 (2017.01) C02F 101/32 (2006.01)
C02F 101/34 (2006.01) C02F 101/38 (2006.01)
C02F 103/36 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
C02F 3/341 (2013.01)
C02F 2101/322 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2020-7020488</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2018년12월12일
심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2020년07월15일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/EP2018/084479</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2019/121201
국제공개일자 2019년06월27일</p> <p>(30) 우선권주장
17208358.6 2017년12월19일
유럽특허청(EPO)(EP)</p> | <p>(71) 출원인
코베스트로 도이칠란트 아게
독일 51373 레버쿠젠 카이저-빌헬름-알리 60</p> <p>(72) 발명자
헤크로트, 하이케
독일 51519 오펜탈 춤 하넨베르크 30
헤르비크, 크리스토프
오스트리아 1130 빈 엔바흐가세 73/2
(뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인
양영준, 이상영</p> |
|---|--|

전체 청구항 수 : 총 16 항

(54) 발명의 명칭 **호염성 고세균에 의한 유기 오염물의 생분해**

(57) 요약

본 발명은 고염분 폐수의 니트로벤젠, 포르메이트, 페놀, 4,4'-메틸렌디아닐린(MDA) 및 아닐린으로 이루어진 군 으로부터 선택된 적어도 하나의 오염물의 함량을 감소시키는 방법으로서, (a) 고염분 폐수, 및 상기 적어도 하나 의 오염물을 포함하는 조성물 A를 제공하는 단계, 및 (b) 조성물 A를 할로페락스 메디테라네이 세포와 접촉시키 며, 이로써 상기 조성물 A 및 상기 적어도 하나의 호염성 미생물 균주의 세포를 포함하는 조성물 B를 생성하는 단계를 포함하는 방법에 관한 것이다. 본 발명은 추가로 염소 및 수산화나트륨의 제조 방법에 관한 것이다. 고 염분 폐수, 상기 적어도 하나의 오염물, 및 할로페락스 메디테라네이 세포를 포함하는 조성물이 또한 본 발명에 포괄된다.

(52) CPC특허분류

C02F 2101/34 (2013.01)

C02F 2101/345 (2013.01)

C02F 2101/38 (2013.01)

C02F 2103/36 (2013.01)

(72) 발명자

캄라파마네쉬, 도뉘아

오스트리아 1220 빈 오구가세 5/2/12

말러, 니콜레

오스트리아 1050 빈 슈팽게르가세 33/8

명세서

청구범위

청구항 1

하기 단계를 포함하는, 고염분 폐수 중의 니트로벤젠, 포르메이트, 페놀, 메틸렌디아닐린, 특히 4,4'-메틸렌디아닐린 (MDA), 및 아닐린으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 오염물의 함량을 감소시키는 방법:

- (a) 고염분 폐수, 및 상기 적어도 하나의 오염물을 포함하는 조성물 A를 제공하는 단계, 및
- (b) 조성물 A를 할로페락스 메디테라네이(*Haloflex mediterranei*) 세포와 접촉시키며, 이로써 상기 조성물 A 및 할로페락스 메디테라네이 세포를 포함하는 조성물 B를 생성하는 단계.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 조성물 B가 NaCl을, 조성물 또는 폐수 (예를 들어 조성물 B)의 총 부피를 기준으로 하여, 적어도 6% (w/v), 바람직하게는 적어도 7% (w/v), 보다 바람직하게는 적어도 10% (w/v), 보다 더 바람직하게는 적어도 12% (w/v), 가장 바람직하게는 적어도 15% (w/v)의 농도로 포함하는 것인 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 조성물 B가 적어도 0.5 mg/l 포르메이트 및/또는 0.5 mg/l 페놀 및/또는 0.5 mg/l 니트로벤젠 및/또는 0.5 mg/l 4,4'-메틸렌디아닐린 (MDA) 및/또는 0.5 mg/l 아닐린을 포함하는 것인 방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 고염분 폐수가 디아릴 카르보네이트의 제조, 폴리카르보네이트의 제조, 또는 디페닐메탄 시리즈의 디아민 및 폴리아민의 제조로부터 유래되는 것인 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물 B가 할로페락스 메디테라네이 세포의 성장을 가능하게 하는 기질을 추가로 포함하며, 특히 여기서 상기 기질은 조성물 B에 첨가된 것이며, 바람직하게는 상기 기질은 탄수화물, 특히 글리세롤, 당, 예컨대 글루코스 또는 수크로스 또는 유기 산, 예컨대 아세트이트, 락테이트, 말레이트, 숙시네이트 또는 시트레이트인 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 방법이, 조성물 B를 인큐베이션하며, 이로써 상기 적어도 하나의 오염물의 함량을 감소시키는 단계 (c)를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 7

제6항에 있어서, 단계 (c)에서의 인큐베이션을 18℃ 내지 55℃의 온도에서 수행하고/거나 단계 (c)에서의 인큐베이션을 6.0 내지 8.2 범위, 바람직하게는 6.2 내지 7.6 범위의 pH 값에서 수행하는 것인 방법.

청구항 8

제6항 또는 제8항에 있어서, 상기 단계 (c)에서의 인큐베이션을 호기성 조건 하에 수행하는 것인 방법.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 할로페락스 메디테라네이 세포가 할로페락스 메디테라네이 DSM.1411 세포인 방법.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 오염물의 총 함량이 적어도 30%, 적어도 50%, 적어도 70% 또는 특히 적어도 90% 또는 적어도 95%만큼 감소하는 것인 방법.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법이, 조성물 B로부터 세포를 분리하며, 이로써 조성물 C를 얻는 것을 추가로 포함하고, 임의로 방법이, 조성물 C를 농축시키며, 이로써 조성물 C*를 얻는 것을 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 방법이 조성물 C 또는 C*로부터의 무기 성분, 특히 미량 원소 및/또는 배지 성분의 염의 제거를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 13

하기 단계를 포함하는, 염소 및 수산화나트륨의 제조 방법:

(i) 제11항 또는 제12항의 방법에 따른 조성물 C 또는 C*를 제공하는 단계, 및

(ii) (a)에 따른 조성물을 염화나트륨 전기분해 공정에 적용하며, 이로써 염소 및 수산화나트륨 및 임의로 수소를 생성하는 단계.

청구항 14

제13항에 있어서, 염화나트륨 전기분해가 염화나트륨의 멤브레인 셀 전기분해, 특히 산소 소비 전극을 사용한 멤브레인 전기분해 및 염화나트륨의 다이어프램 셀 전기분해로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 15

고염분 폐수 중의 니트로벤젠, 포르메이트, 페놀, 메틸렌디아닐린, 특히 4,4'-메틸렌디아닐린 (MDA), 및 아닐린으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 오염물의 함량을 감소시키기 위한 할로페락스 메디테라네이 세포의 용도.

청구항 16

고염분 폐수, 니트로벤젠, 포르메이트, 페놀, 메틸렌디아닐린, 특히 4,4'-메틸렌디아닐린 (MDA), 및 아닐린으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 오염물, 및 할로페락스 메디테라네이 세포를 포함하는 조성물 B.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 고염분 폐수 중의 니트로벤젠, 포르메이트, 페놀, 4,4'-메틸렌디아닐린 (MDA) 및 아닐린으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 오염물의 함량을 감소시키는 방법으로서, (a) 고염분 폐수, 및 상기 적어도 하나의 오염물을 포함하는 조성물 A를 제공하는 단계, 및 (b) 조성물 A를 할로페락스 메디테라네이 (*Haloflex mediterranei*) 세포와 접촉시키며, 이로써 상기 조성물 A 및 할로페락스 메디테라네이 세포를 포함하는 조성물 B를 생성하는 단계를 포함하는 방법에 관한 것이다. 본 발명은 추가로 염소 및 수산화나트륨의 제조 방법에 관한 것이다. 고염분 폐수, 상기 적어도 하나의 오염물, 및 할로페락스 메디테라네이 세포를 포함하는 조성물이 또한 본 발명에 포함된다.

배경 기술

[0002] 산업 공정은 수백만 리터의 고염분 잔류수를 생성한다. 전세계 배출물의 5%가 고염분인 것으로 추정되고 있다.

[0003] 예를 들어, 폴리우레탄 제조를 위한 주요 중간체인 디페닐메탄 시리즈로부터의 디아민 및 폴리아민의 제조는 다량의 고염분 폐수의 생성을 수반한다 (US2009240076 참조). 디페닐메탄 시리즈의 디- 및 폴리아민은 통상적으로 아닐린 및 포름알데히드를 염산 등의 산 촉매의 존재 하에 반응시킴으로써 제조된다. 디페닐메탄 시리즈로부터의 디아민 및 폴리아민의 제조 후, 산 촉매는 염기, 전형적으로 수성 수산화나트륨의 첨가에 의해 중화된다. 일반적으로, 중화제의 첨가는 생성된 중화 혼합물이 디페닐메탄 시리즈의 폴리아민 및 과량의 아닐린을 함유하는 유기 상 및 잔류 유기 구성성분과 함께 염화나트륨을 함유하는 수성 상 (즉, 고염분 폐수)으로 분리될 수 있도록 수행된다. 과거에, 고염분 폐수는 흔히 물리적 및/또는 화학적 방법, 예를 들어 흡착, 오존

화 및 전기화학적 처리에 의한 유기 구성성분의 제거 후에 처분되었다 (US2009240076 참조).

- [0004] 그러나, 유기 화합물을 함유하는 잔류수의 처리에 사용되는 물리적 및/또는 화학적 방법은 종종 염분 함유 잔류 스트림 중의 총 유기 탄소 함량을 요구되는 최대 수준까지 낮게 감소시키지 못한다. 잔류수 (예컨대 디페닐메탄 시리즈의 디- 및 폴리아민의 제조로부터의 폐수)는 종종 포르메이트, 페놀, 아닐린, 니트로벤젠 및 4,4'-메틸렌디아닐린 (MDA) 등의 유기 오염물을 포함하고, 담수로의 상당한 희석 후 환경으로 도입되거나, 또는 이들은 물리-화학적 방법에 의해 처리된다. 따라서, 고염분 폐수에 대한 대안적 처리 옵션이 요구된다.
- [0005] 호기성 및 혐기성 생물학적 처리에 의한 유기 물질의 처리를 위한 대안적 시스템이 현재 주요 연구 초점이다. 종래의 비-극한성 미생물은 높은 염 농도에서의 유기 오염물의 제거를 수행하지 못한다. 염 스트레스가 오염 스트레스에 중첩되는 경우 높은 염 농도의 존재 하에 상이한 유기 오염물을 분해하거나 또는 변형시키는 호염성 박테리아의 능력이 매우 중요하다. 따라서, 높은 염 농도에서 성장할 수 있고 고염분 폐수 중의 상이한 유기 오염물을 분해 또는 변형시킬 수 있는 미생물이 매우 필요하다.
- [0006] 고염분 폐수에서 나타나는 전형적인 유기 오염물은 포르메이트, 페놀, 아닐린, 니트로벤젠 및 4,4'-메틸렌디아닐린 (MDA)이다. 이들 화학적 중간체는 종종 제초제, 현상제, 퍼프, 의약, 고무 및 염료의 제조에서 사용된다.
- [0007] 산업에서의 이들의 확장된 사용으로 인해, 토양 및 수역으로 방출되는 이들 화합물의 양이 증가하며, 이는 환경적 위험 및 살아 있는 유기체에 대한 건강 위험을 부여한다.
- [0008] 또한, 고염분 용액은 염화나트륨 (NaCl)의 전기분해를 위한 산업 공정인 클로르알칼리 공정에서 중요한 물질이다. 이는 염소 및 수산화나트륨의 제조에 사용되는 기술이다. 그러나, 매우 순수한 고염분 용액이 필요하다. 따라서, 클로르알칼리 공정에 재순환 고염분 폐수를 사용하는 것은 어렵다. 예를 들어, 메틸렌 디아민 제조로부터의 고염분 폐수는 포르메이트, 페놀, 아닐린, 니트로벤젠 및 4,4'-메틸렌디아닐린 (MDA) 등의 유기 오염물을 함유하며, 이는 폐수를 클로르알칼리 공정에 적용하기 전에 제거된다. 예를 들어, 포르메이트가 제거되어야 하고, 그렇지 않으면 염소가 CO₂로 오염될 것이다.
- [0009] 포르메이트 또는 아닐린 등의 유기 화합물의 생분해에 대한 이전 연구는 온건한 조건 하에서의 단일 화합물의 분해 또는 변형에 초점을 두었다. 그러나, 높은 염 농도, 예를 들어 최대 2000 mg/l NaCl의 존재 하에 포르메이트, 페놀, 아닐린, MDA 및 니트로벤젠 등의 다양한 유기 화합물을 동시에 분해할 수 있는 미생물은 현재 알려져 있지 않다.
- [0010] 예를 들어, 아닐린 및/또는 포르메이트의 생분해는 온건한 조건 하에 슈도모나스(Pseudomonas), 코마모나스(Comamonas), 아시네토박터(Acinetobacter), 로도코쿠스(Rhodococcus), 프라테우리아(Frateuria), 모락셀라(Moraxella), 델프트리아(Delftia), 노카르디아(Nocardia) 및 디에치아(Dietzia)의 다양한 박테리아 종에 의해 분해된다고 이전에 보고된 바 있다. 그러나, 아닐린 및/또는 포르메이트 및 가능하게는 추가의 유기 오염물, 예컨대 니트로벤젠, 페놀 및/또는 MDA를 함유하는 잔류 스트림은 흔히 상승된 염도를 갖고, 높은 염 농도는 통상적 생물학적 처리 시스템에 존재하는 박테리아 대사를 붕괴시키기 때문에 고염분 잔류 스트림의 처리는 도전이 된다. 또한, 고염분 잔류 스트림을 위한 통상적 박테리아의 사용은 이용가능한 경우 담수로 염도를 감소시키는 사전 희석을 필요로 한다.
- [0011] WO 2013/124375에는 특정 호염성 및/또는 호염알칼리성 미생물에 의한 총 유기 탄소의 감소가 개시되어 있다.
- [0012] 울라드(Woolard) 및 어빈(Irvine) (1995)은 순차적 배치 반응기에서의 고염분 폐수의 처리를 개시한다 (Woolard and Irvine. Treatment of hypersaline wastewater in the sequencing batch reactor. Water Research 29.4 (1995): 1159-1168).
- [0013] 로드리구에즈-발레리아(Rodriguez-Valeria) 등 (1983)은 탄수화물-활용 극호염체의 새로운 종인 할로박테리움 메디테라네이(*Halobacterium mediterranei*)의 확인을 보고하였다. 할로박테리움 메디테라네이는 탄소 및 에너지의 단독 공급원으로서 많은 상이한 화합물을 사용할 수 있는 것으로 나타났고, H₂S를 생성하지 않는다.
- [0014] 캄포(Campo) 등 (2011)의 문헌은 방향족 화합물로 오염된 토양으로부터의 활성화된 슬러지에 관한 것이다. 아닐린 및 MDA 등의 아민의 호기성 생분해가 5 mg/l 아닐린까지 나타났다 (Campo, P, et al. Aerobic biodegradation of amines in industrial saline wastewaters. Chemosphere 85.7 (2011): 1199-1203).
- [0015] 안톤(Anton) 등 (1988)은 할로페락스 메디테라네이에 의한 세포외 폴리사카라이드의 제조를 보고하였다. 저자는 할로페락스 메디테라네이가 콜로니에게 전형적인 점액 특징을 제공하는 세포외 중합체 물질, 특히 주성분의

로서 만노스를 함유하는 헤테로폴리사카라이드를 생성할 수 있음을 보여주었다. 물질은 검정된 여러 조건 및 기질 하에 제조되었지만, 최고 수율은 탄소 및 에너지 공급원으로서 당, 특히 글루코스 사용시 얻어졌다 (Anton, J et al., Production of an extracellular polysaccharide by *Haloferax mediterranei*. Applied and Environmental Microbiology 54.10 (1988): 2381-2386).

[0016] 오렌(Oren) (2000)은 호염성 박테리아를 다룬다. 저자는 폴리-베타 히드록시알카노에이트 또는 세포의 폴리사카라이드의 제조를 위한 할로페락스 종의 가능한 사용을 언급하였다. 특히, 생분해성 플라스틱 물질의 공급원으로서, 베타-히드록시알카노에이트가, 호염성 고세균 할로페락스 메디테라네이로부터 고수율로 얻어질 수 있음이 보고되었다. 또한, 할로페락스 메디테라네이는 랄스토니아(*Ralstonia*)만큼 많은 베타-히드록시알카노에이트를 축적할 수 있고, 저렴한 탄소 및 에너지 공급원으로서 전분을 사용할 수 있다 (Oren, A. Diversity of halophilic microorganisms: environments, phylogeny, physiology, and applications. "Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology 28.1 (2002): 56-63).

[0017] 오렌 등 (2014)은 또한, 할로페락스 메디테라네이가 대사적으로 매우 다양하고 폭넓은 내염성을 갖는다고 보고하였다. 저자에 따르면, 할로페락스 메디테라네이는 임의의 다른 유사한 극호염체보다 빠르게 성장하고, 내염성에 대한 폭넓은 윈도우를 갖고, 단순 기질 뿐만 아니라 복합 기질 상에서 성장하고 중합체 물질을 분해할 수 있고, 상이한 방식의 혐기성 성장을 갖고, 저장 중합체를 축적할 수 있고, 기포를 생성하고, 다른 고세균을 죽일 수 있는 할로신을 분비하는 고세균이다 (Oren, A et al. Microbial weeds in hypersaline habitats: the enigma of the weed-like *Haloferax mediterranei*. FEMS microbiology letters 359.2 (2014): 134-142).

[0018] 방향족 화합물의 미생물 분해에 관한 많은 보고에도 불구하고, 높은 염 농도에서의 유기 오염물의 분해는 여전히 제한적이다. 따라서, 염 스트레스가 오염 스트레스에 중첩되는 경우 높은 염 농도의 존재 하에 유기 오염물을 분해하거나 또는 변형시키는 미생물이 매우 중요하다. 특히, 고염분 폐수에서 니트로벤젠, 포르메이트, 페놀, 4,4'-메틸렌디아닐린 (MDA) 및/또는 아닐린의 함량을 감소시키는 수단 및 방법이 매우 필요하다.

[0019] 대사 다양성에 대해 고세균 균주 할로페락스 메디테라네이 DSM.1411이 보고되어 있으며, 이는 아마도 다양한 범위의 단일 탄소 공급원을 사용할 것이다. 할로페락스 메디테라네이 DSM.1411은, 단독 탄소 공급원으로서 존재하는 경우 바이오매스 성장을 촉진시키는 기질로서 폭넓은 범위의 당, 유기 산 및 글리세롤 뿐만 아니라 일부 아미노산을 사용할 수 있음이 보고되었다. 균주는 또한, 물 생물복원 공정을 위한 니트레이트 및 니트라이트의 제거에 사용되어 왔다. 그러나, 이 균주가 고염분 폐수에서 성장하는 능력이나, 높은 염분 조건 하에 기질 포르메이트, 페놀, 아닐린, 니트로벤젠 및/또는 4,4'-메틸렌디아닐린 (MDA)의 분해에 대해서는 단일 보고가 존재하지 않는다.

발명의 내용

[0020] 본 발명의 기초가 되는 기술적 과제는 상기 언급된 필요사항을 준수하기 위한 방법의 제공으로서 나타날 수 있다. 기술적 과제는 청구범위 및 하기에서 특성화되는 실시양태에 의해 해결된다.

[0021] 유리하게, 할로페락스 메디테라네이 DSM.1411은 고염분도의 조건 하에 상이한 오염물을 효율적으로 분해한다는 것이 본 발명의 연구에서 밝혀졌다. 특히, 포르메이트, 페놀, 니트로벤젠, 아닐린 및 4,4'-메틸렌디아닐린 (MDA) 등의 오염물이 할로페락스 메디테라네이 DSM.1411에 의해 분해될 수 있는 것으로 나타났다.

[0022] 본 발명의 발견은 놀라운 것이다. 예를 들어, 지금까지, 염도에서의 니트로벤젠의 생물학적 분해에 대한 보고는 존재하지 않는다. 따라서, 이 성분이 염의 존재 하에 생분해성인 것으로 나타난 것은 최초이다. 또한, 할로페락스 메디테라네이 DSM.1411의 세포는 이들의 고염분 환경으로부터 상기 언급된 화합물 모두를 동시에 분해할 수 있는 것으로 나타났다. 본 발명의 이들 발견은 천연 및 산업 잔류 스트림에 적용될 수 있다.

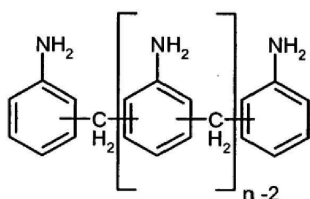
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0023] 따라서, 본 발명은 하기 단계를 포함하는, 폐수 중의 니트로벤젠, 포르메이트, 페놀, 메틸렌디아닐린 (MDA), 특히 4,4'-메틸렌디아닐린 (MDA), 및 아닐린으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 오염물의 함량을 감소시키는 방법에 관한 것이다:

[0024] (a) 폐수, 및 상기 적어도 하나의 오염물을 포함하는 조성물 A를 제공하는 단계, 및

[0025] (b) 조성물 A를 할로페락스 메디테라네이 세포와 접촉시키며, 이로써 상기 조성물 A 및 할로페락스 메디테라네이 세포를 포함하는 조성물 B를 생성하는 단계.

- [0026] 본 발명의 방법의 단계 (a)에 따르면, 폐수를 포함하는 조성물 A가 제공된다. 상기 조성물 A는 상기 폐수, 및 니트로벤젠, 포르메이트, 페놀, 4,4'-메틸렌디아닐린 (MDA) 및 아닐린으로 이루어진 군으로부터 선택된 상기 적어도 하나의 오염물을 포함하는 용액이다. 폐수는 고염분 폐수, 즉 하기에 정의되는 바와 같은 고농도의 NaCl을 갖는 폐수이다. 특히, 폐수는 산업 염수와 같은 상기 적어도 하나의 오염물을 포함하는 산업 폐수이다.
- [0027] 본 발명의 방법의 단계 (b)에 따르면, 조성물 A를 할로페락스 메디테라네이 세포와 접촉시킨다. 이로써, 조성물 A (및 그에 따른 폐수 및 상기 적어도 하나의 오염물) 및 할로페락스 메디테라네이 세포 (즉, 이 균주의 세포)를 포함하는 조성물 B가 생성된다. 본 발명의 방법의 실시양태에서는, 조성물 A를 세포와 혼합함으로써 조성물 A를 세포와 접촉시킨다.
- [0028] 균주 할로페락스 메디테라네이는 호염성 균주이고, 그에 따라 성장을 위해 고농도의 NaCl을 필요로 한다. 따라서, 조성물 B는 NaCl을 고농도로 포함한다. 이는 폐수의 회석 없이 고염분 폐수의 처리 (즉, 본원에서 언급되는 바와 같은 오염물의 감소)를 가능하게 한다.
- [0029] 따라서, 조성물 B, 및 그에 따른 고염분 폐수는 NaCl을 고농도로 포함한다. 본원에서 언급되는 바와 같은 NaCl의 고농도는, 폐수 또는 조성물의 총 부피를 기준으로 하여, 적어도 6% (w/v)의 농도이다. 본 발명의 기초가 되는 연구에서 예를 들어 아닐린 함량이 심지어 20.0% (w/v)의 NaCl 농도에서도 감소한 것으로 나타났기 때문에, 폐수, 조성물 A 또는 B는 NaCl을 NaCl의 포화 농도까지의 농도로 포함할 수 있다. 따라서, 농도의 상한은, 원칙적으로, NaCl의 포화 농도이다. 따라서, NaCl의 고농도는, 폐수 또는 조성물의 총 부피를 기준으로 하여, 적어도 6% (w/v) 내지 25% (w/v)이다. 따라서, 폐수는 보다 낮은 농도의 NaCl을 갖는 기수 또는 해수가 아니다.
- [0030] 바람직하게는, NaCl의 고농도는, 조성물 또는 폐수 (예를 들어 조성물 B)의 총 부피를 기준으로 하여, 적어도 7% (w/v), 보다 바람직하게는 적어도 10% (w/v), 보다 더 바람직하게는 적어도 12% (w/v), 가장 바람직하게는 적어도 15% (w/v)의 NaCl의 농도이다.
- [0031] NaCl의 고농도의 상한은, 원칙적으로 NaCl의 포화 농도이지만, 폐수, 조성물 A 또는 B는 NaCl을 포화 농도 미만의 농도로 포함하는 것이 고려된다. 바람직하게는, 폐수, 조성물 A, 또는 조성물 B 중의 NaCl 농도는, 조성물 또는 폐수의 총 부피를 기준으로 하여, 23% (w/v) 미만, 보다 바람직하게는 22% (w/v) 미만, 보다 더 바람직하게는 20% (w/v) 미만이다.
- [0032] 본 발명의 기초가 되는 연구에서는, 최적 처리가 약 17% (w/v)의 NaCl의 농도에서 달성된 것으로 나타났다. 따라서, 폐수, 조성물 A, 또는 B는 바람직하게는 NaCl을, 또한 조성물 또는 폐수의 총 부피를 기준으로 하여, 12% 내지 22% (w/v)의 농도로, 보다 바람직하게는 12% 내지 20% (w/v)의 농도로, 보다 더 바람직하게는 15% 내지 20% (w/v)의 농도로, 가장 바람직하게는 16% 내지 18% (w/v)의 농도로 포함한다.
- [0033] 최적 NaCl 농도는 오염물에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, 아닐린에 대하여, 폐수, 조성물 A, 또는 B는, 바람직하게는 NaCl을, 조성물 또는 폐수의 총 부피를 기준으로 하여, 12% 내지 25% (w/v)의 농도로 포함한다. 또한, 최적 NaCl 농도는 폐수/조성물 중의 오염물의 농도에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 기초가 되는 연구에서는, 아닐린 농도가 높은 경우 (예를 들어 20 mg/l 초과), 보다 높은 농도의 NaCl이 아닐린의 개선된 감소를 가능하게 하는 것으로 나타났다.
- [0034] 고농도의 NaCl은 다양한 산업 폐수에서 나타날 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 고염분 폐수는 메틸렌 디아민 제조로부터 단리된 것이다 (폴리우레탄의 예비생성물로서). 따라서, 본 발명의 방법의 단계 a)는 메틸렌 디아민 제조로부터의 고염분 폐수의 단리를 포함할 수 있다.
- [0035] 특히, 폐수는, 디페닐메탄 시리즈의 디아민 및 폴리아민의 제조로부터 유래되고, 즉 그로부터 단리된 것이다. 용어 "디페닐메탄 시리즈의 디아민 및 폴리아민"은 하기 유형의 아민 및 아민의 혼합물을 지칭한다:



[0036]

[0037] 여기서 n은 2 또는 2 초과인 정수이다.

- [0038] 본원 다른 부분에 기재된 바와 같이, 디페닐메탄 시리즈의 디아민 및 폴리아민은 폴리우레탄의 예비생성물이고 널리 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다. 상기 디페닐메탄 시리즈의 디아민 및 폴리아민의 바람직한 제조 방법은, 예를 들어 그 전문이 본원에 참조로 포함되는 EP 1 813 598 A1에 개시되어 있다.
- [0039] 실시양태에서, 디페닐메탄 시리즈의 디- 및 폴리아민의 제조는, 아닐린 및 포름알데히드를 산 촉매의 존재 하에 반응시킴으로써 수행된다. 실시양태에서는, 염산이 산 촉매로서 사용된다. 디페닐메탄 시리즈로부터 디아민 및 폴리아민의 제조 후, 수산화나트륨의 첨가에 의해 산 촉매를 중화시킨다. 바람직하게는, 중화제의 첨가는, 생성된 중화 혼합물이 디페닐메탄 시리즈의 디아민 및 특히 폴리아민 및 과량의 아닐린을 함유하는 유기 상 및 수성 상으로 분리될 수 있도록 수행된다. 수성 상은 상기에 기재된 바와 같은 적어도 하나의 오염물을 함유하는 고염분 폐수이다.
- [0040] 본 발명의 또 다른 실시양태에서, 고염분 폐수는 디아릴 카르보네이트의 제조로부터 단리된 것이고, 즉 그로부터 유래된다. 디아릴 카르보네이트, 또한 보다 특히 디페닐 카르보네이트의 제조는, 일반적으로 연속적 공정에 의해, 포스겐의 생성 또는 도입 및 반응 계면에서 알칼리 및 질소 촉매의 존재 하에 불활성 촉매 중에서의 모노페놀 및 포스겐의 후속 반응에 의해 수행된다. 디아릴 카르보네이트의 제조는 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 바람직한 제조 방법은 그 전체 내용이 본원에 참조로 포함되는 US2008053836에 기재되어 있다.
- [0041] 본 발명의 또 다른 실시양태에서, 고염분 폐수는 폴리카르보네이트의 제조로부터 단리된 것이고, 즉 그로부터 유래된다.
- [0042] 고염분 폐수는 단계 a)의 수행 전에 하나 이상의 정화 단계(들)에 적용된 것일 수 있다. 하나 이상의 정화 단계는 폐수 중의 용매 잔류물의 양의 감소를 가능하게 한다. 이는, 예를 들어, 용액을 스트림으로 스트리핑하고/거나 흡착제, 특히 활성탄으로 처리함으로써 달성될 수 있다. 또한, 폐수는 여과된 것일 수 있다. 또한, 고염분 폐수는 오존을 사용한 폐수의 처리 (오존화)에 의해 정화된 것일 수 있다. 오존화 (또한 오존처리로서 언급됨)는 물 중으로의 오존의 주입에 기초한 화학적 수 처리 기술이다 (예를 들어 W02000078682 참조).
- [0043] 또한, 폐수의 NaCl 농도가 본 발명의 방법의 단계 a)의 수행 전에, 예를 들어 멤브레인 증류 공정, 삼투 증류 또는 역-삼투에 의해 농축되는 것이 고려된다. 또한, NaCl을 포함하는 조성물의 바람직한 농축 방법은 본원 다른 부분에 기재된다.
- [0044] 유리하게, 본 발명과 관련하여, 군주 할로페락스 메디테라네이의 세포는 고염분 염수 중의 본원에서 언급되는 바와 같은 적어도 하나의 오염물 (니트로벤젠, 포르메이트, 페놀, 메틸렌디아닐린, 특히 4,4'-메틸렌디아닐린 (IUPAC 명칭: 비스(4-아미노페닐)메탄) 및 아닐린으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 오염물)의 함량을 감소시킬 수 있는 것으로 나타났다. 따라서, 고염분 폐수, 조성물 A, 및 조성물 B가 상기 적어도 하나의 오염물을 포함하는 것이 고려된다.
- [0045] 본 발명에 따르면, 니트로벤젠, 포르메이트, 페놀, 메틸렌디아닐린, 특히 4,4'-메틸렌디아닐린 (MDA) 및 아닐린으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 오염물의 함량이 감소하고, 즉 고염분 폐수 및 그에 따른 조성물 A 및 B 중의 상기 적어도 오염물의 함량이 감소한다.
- [0046] 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "적어도 하나의 오염물"은 하나 또는 하나 초과를 의미한다. 따라서, 1, 2, 3, 4 또는 5종의 오염물의 함량이 감소할 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 1종의 오염물의 함량이 감소한다. 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 방법에 따라 언급된 바와 같은 4종의 오염물: 포르메이트, 페놀, 메틸렌디아닐린, 특히 4,4'-메틸렌디아닐린 (MDA), 및 아닐린의 함량이 본 발명의 방법에 의해 감소한다. 또 다른 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 방법에 따라 언급된 바와 같은 5종의 오염물 모두의 함량이 본 발명의 방법에 의해 감소한다. 특히, 상기 함량이 동시에 감소한다.
- [0047] 따라서, 고염분 폐수, 조성물 A 및 B는 상기 적어도 하나의 오염물, 바람직하게는 적어도 0.5 mg/l 포르메이트, 0.5 mg/l 페놀, 0.5 mg/l 니트로벤젠, 0.5 mg/l 4,4'-메틸렌디아닐린 (MDA) 및/또는 0.5 mg/l 아닐린, 보다 바람직하게는 3 mg/l 포르메이트, 3 mg/l 페놀, 3 mg/l 니트로벤젠, 3 mg/l 4,4'-메틸렌디아닐린 (MDA) 및/또는 3 mg/l 아닐린을 포함한다.
- [0048] 하기 사항이 오염물 아닐린에 적용된다:
- [0049] 바람직하게는, 고염분 폐수, 조성물 A 및/또는 조성물 B는 아닐린을 적어도 0.5 mg/l의 양으로, 보다 바람직하게는 적어도 2 mg/l의 양으로, 가장 바람직하게는 적어도 5 mg/l의 양으로 포함한다. 또한, 조성물 A (또는 B)가 아닐린을 적어도 10 mg/l의 양으로, 특히 적어도 20 mg/l의 양으로 포함하는 것이 고려된다.

- [0050] 또한 바람직하게는, 고염분 폐수, 조성물 A 및/또는 조성물 B는 아닐린을 1 내지 100 mg/l의 양으로, 보다 바람직하게는 2 내지 50 mg/l의 양으로, 가장 바람직하게는 2 내지 20 mg/l의 양으로 포함한다. 또한, 이것이 아닐린을 2 내지 12 mg/l의 양으로 포함하는 것이 고려된다.
- [0051] 하기 사항이 오염물 포르메이트에 적용된다:
- [0052] 바람직하게는, 고염분 폐수, 조성물 A 및/또는 조성물 B는 포르메이트를 적어도 10 mg/l의 양으로, 보다 바람직하게는 적어도 30 mg/l의 양으로, 가장 바람직하게는 적어도 100 mg/l의 양으로 포함한다.
- [0053] 또한 바람직하게는, 고염분 폐수, 조성물 A 및/또는 조성물 B는 포르메이트를 10 mg/l 내지 10 g/l의 양으로, 보다 바람직하게는 30 mg/l 내지 1 g/l의 양으로, 가장 바람직하게는 50 내지 500 mg/l의 양으로 포함한다.
- [0054] 하기 사항이 오염물 니트로벤젠에 적용된다:
- [0055] 바람직하게는, 고염분 폐수, 조성물 A 및/또는 조성물 B는 니트로벤젠을 적어도 1 mg/l의 양으로, 보다 바람직하게는 적어도 5 mg/l의 양으로, 가장 바람직하게는 적어도 10 mg/l의 양으로 포함한다.
- [0056] 또한 바람직하게는, 고염분 폐수, 조성물 A 및/또는 조성물 B는 니트로벤젠을 1 내지 100 mg/l의 양으로, 보다 바람직하게는 2 내지 50 mg/l의 양으로, 가장 바람직하게는 2 내지 20 mg/l의 양으로 포함한다.
- [0057] 하기 사항이 오염물 4,4'-메틸렌디아닐린에 적용된다:
- [0058] 바람직하게는, 고염분 폐수, 조성물 A 및/또는 조성물 B는 4,4'-메틸렌디아닐린을 적어도 0.25 mg/l의 양으로, 보다 바람직하게는 적어도 0.5 mg/l의 양으로, 가장 바람직하게는 적어도 1 mg/l의 양으로 포함한다. 또한, 이것이 4,4'-메틸렌디아닐린을 적어도 3 mg/l의 양으로 포함하는 것이 고려된다.
- [0059] 또한 바람직하게는, 고염분 폐수, 조성물 A 및/또는 조성물 B는 4,4'-메틸렌디아닐린을 0.25 내지 30 mg/l의 양으로, 보다 바람직하게는 1 내지 10 mg/l의 양으로, 가장 바람직하게는 2 내지 7 mg/l의 양으로 포함한다. 또한, 이것이 4,4'-메틸렌디아닐린을 0.5 내지 20 mg/l의 양으로 포함하는 것이 고려된다.
- [0060] 하기 사항이 오염물 페놀에 적용된다:
- [0061] 바람직하게는, 고염분 폐수, 조성물 A 및/또는 조성물 B는 페놀을 적어도 1 mg/l의 양으로, 보다 바람직하게는 적어도 5 mg/l의 양으로, 가장 바람직하게는 적어도 10 mg/l의 양으로 포함한다. 또한, 이것이 페놀을 적어도 20 mg/l의 양으로 포함하는 것이 고려된다.
- [0062] 또한 바람직하게는, 고염분 폐수, 조성물 A 및/또는 조성물 B는 페놀을 1 내지 500 mg/l의 양으로, 보다 바람직하게는 5 내지 100 mg/l의 양으로, 가장 바람직하게는 5 내지 50 mg/l의 양으로 포함한다. 또한, 이것이 페놀을 5 내지 20 mg/l의 양으로 포함하는 것이 고려된다.
- [0063] 바람직하게는, 조성물 A는 50 mg/l 초과, 보다 바람직하게는 60 mg/l 초과, 보다 더 바람직하게는 60 mg/l 초과, 가장 바람직하게는 65 mg/l 초과의 총 유기 탄소 ("TOC") 함량을 갖는다. 또한, 조성물 A가 70 mg/l 초과, 특히 70 mg/l 초과의 TOC (총 유기 탄소) 함량을 갖는 것이 고려된다. 바람직하게는, 조성물 A는 최대 1000 mg/l 이상의 총 유기 탄소 ("TOC") 함량을 가질 수 있다.
- [0064] 본 발명에 따르면, 고염분 폐수의 적어도 하나의 오염물의 함량 및 그에 따른 조성물 A 및 조성물 B의 상기 적어도 하나의 오염물의 함량이 각각 감소한다 (용어 "함량", "양" 및 "농도"는 본원에서 상호교환가능하게 사용됨). 상기 적어도 하나의 오염물은 니트로벤젠, 포르메이트, 페놀, 메틸렌디아닐린, 특히 4,4'-메틸렌디아닐린 (MDA), 및 아닐린으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "감소"는 고염분 폐수의 오염물 함량 (즉, 적어도 하나의 오염물)의 현저한 감소를 지칭한다. 바람직하게는, 상기 용어는, 각각, 고염분 폐수, 조성물 A 및 조성물 B 중에 존재하는 상기 오염물의 총 함량의 적어도 30%, 적어도 50%, 적어도 70% 또는 특히 적어도 90% 또는 적어도 95%의 상기 오염물의 감소를 나타낸다. 따라서, 조성물 B (또는 조성물 A) 중의 본원에서 언급되는 바와 같은 오염물의 총 함량은 적어도 30%, 적어도 50%, 적어도 70% 또는 특히 적어도 90%, 적어도 95%만큼 감소한다.
- [0065] 생성된 조성물 C, 즉 처리 폐수는, 바람직하게는 아닐린을 5 mg/l 미만의 양으로 포함한다. 보다 바람직하게는, 이는 아닐린을 1 mg/l 미만, 가장 바람직하게는 0.2 mg/l 미만의 양으로 포함한다.
- [0066] 또한 바람직하게는, 본 발명의 방법이 수행된 후, 처리 폐수는 포르메이트를 15 mg/l 미만, 보다 바람직하게는 10 mg/l 미만, 가장 바람직하게는 5 mg/l 미만의 양으로 포함한다.

- [0067] 또한 바람직하게는, 본 발명의 방법이 수행된 후, 처리 폐수는 니트로벤젠을 15 mg/l 미만, 보다 바람직하게는 10 mg/l 미만, 가장 바람직하게는 5 mg/l 미만의 양으로 포함한다.
- [0068] 또한 바람직하게는, 본 발명의 방법이 수행된 후, 처리 폐수는 4,4'-메틸렌디아닐린을 15 mg/l 미만, 보다 바람직하게는 10 mg/l 미만, 가장 바람직하게는 5 mg/l 미만의 양으로 포함한다.
- [0069] 또한 바람직하게는, 본 발명의 방법이 수행된 후, 처리 폐수는 페놀을 15 mg/l 미만, 보다 바람직하게는 10 mg/l 미만, 가장 바람직하게는 5 mg/l 미만의 양으로 포함한다.
- [0070] 또한, 상기 적어도 하나의 오염물이 완전히 제거되는 것이 고려된다.
- [0071] 본 발명의 방법을 수행함으로써, TOC 함량이 또한 (즉, 적어도 하나의 오염물의 함량에 추가로) 감소할 것이다. 바람직하게는, 처리 폐수는 40 mg/l 미만, 보다 바람직하게는 30 mg/l 미만, 가장 바람직하게는 20 mg/l 미만의 TOC 함량을 갖는다 (특히 본원 다른 부분에 기재된 바와 같이 조성물 B로부터의 세포의 분리 후).
- [0072] 바람직하게는, 본원에서 언급되는 바와 같은 적어도 하나의 오염물의 함량은 본원에서 언급되는 바와 같은 할로페락스 메디테라네이 세포의 존재에 의해, 또한 그에 따라, 그의 활성에 의해 감소한다. 바람직하게는, 상기 함량은 상기 세포에 의한 오염물의 분해에 의해 감소한다. 폐수, 또는 조성물 A 또는 B의 회석에 의한 적어도 하나의 오염물의 농도의 감소는 상기 적어도 하나의 오염물의 함량의 감소로서 고려되지 않는다. 따라서, 용어 "적어도 하나의 오염물...의 함량의 감소"는 회석 효과에 의한 (예를 들어 고염분 폐수 또는 조성물 A 또는 B의 회석에 의한) 상기 적어도 하나의 오염물의 농도 감소를 포함하지 않는다.
- [0073] 본 발명에 따라 사용되는 세포는 할로페락스 메디테라네이 세포이다. 바람직하게는, 상기 세포는 DSM (도이체 잠룡 폰 마이크로오르가니즘 언트 쉐쿨투렌 게엠베하(Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen), 독일 브라운슈바이크)에 DSM 번호 1411로 기탁된 균주 할로페락스 메디테라네이로부터의 세포이다. 따라서, 균주 할로페락스 메디테라네이 DSM 1411로부터의 세포 (본원에서 HFX로 약칭됨)가 사용되는 것으로 고려된다. 균주는 문헌 [Rodriguez-Valera, F., Juez, G., Kushner, D. J. (1983). *Halobacterium mediterranei* sp. nov., a new carbohydrate-utilizing extreme halophile. *Syst.Appl.Microbiol.* **4** : 369-381]에 기재되어 있다. 상기 문헌은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.
- [0074] 이 균주를 배양하는 방식은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 적합한 배양 조건은 예를 들어 이 균주에 대한 DSMZ 데이터베이스로부터 평가될 수 있다. 이 균주에 대한 적합한 배지 조성물은 실시예 섹션의 실시예 1에 기재되어 있다.
- [0075] 단계 b)에서 조성물 A와 접촉되는 (즉, 조성물 A와 혼합되는) 세포는 생존가능, 즉 살아 있는 세포이다. 세포가 생존가능하지 아닌지의 여부를 평가하는 방식은 널리 공지된 방법에 의해 평가될 수 있다. 물론, 조성물 A와 혼합되는 세포의 특정 백분율은 생존가능하지 않을 수 있다. 그러나, 이것이 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 고려된다.
- [0076] 실시양태에서, 할로페락스 메디테라네이의 세포의 현탁액을 조성물 A와 혼합한다. 세포는 바람직하게는 각각의 균주의 세포의 사전-배양으로부터 유래된다. 현탁액은 적합한 기질 (즉, 탄소 공급원)을 포함한다. 필수적인 것은 아니지만, 세포의 사전-배양은 본원에서 언급되는 바와 같은 적어도 하나의 오염물의 존재 하에 수행될 수 있다.
- [0077] 조성물 A와 혼합되는, 즉 접촉되는 본원에서 언급되는 바와 같은 할로페락스 메디테라네이의 세포의 양은 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 결정될 수 있다. 혼합되는 세포 양은 고염분 폐수 중의, 또한 그에 따른 조성물 A 및 B (고염분 폐수를 포함함) 중의 본원에서 언급되는 바와 같은 적어도 하나의 오염물의 충분한 감소를 가능하게 한다. 양은 예를 들어 본 발명의 방법에 의해 처리되는 조성물 A의 부피에 따라 달라진다. 일반적으로, 처리되는 조성물 A의 부피가 클수록, 사용되는 세포의 양이 많다. 이는 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 고려될 것이다.
- [0078] 혼합은 적합한 컨테이너 내에서 수행될 수 있다. 실시양태에서, 혼합은 생물반응기 내에서 수행된다. 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "생물반응기"는 본원에서 언급되는 바와 같은 적어도 하나의 오염물의 함량의 감소를 허용하도록 조건이 엄밀히 제어되는 시스템을 지칭한다. 실시양태에서, 상기 생물반응기는 교반식 탱크 반응기이다. 바람직하게는, 생물반응기는 비-부식 물질, 예컨대 스테인레스 스틸로 제조된다. 생물반응기는 이것이 조성물 B의 인큐베이션에 유용한 한 임의의 크기를 가질 수 있다. 바람직하게는, 생물반응기는 상기 적어도 하나의 오염물의 함량의 대규모 감소를 가능하게 한다. 따라서, 생물반응기가 적어도 1, 10, 100, 500,

1000, 2500, 또는 5000 리터 또는 임의의 중간 부피를 갖는 것이 고려된다. 그러나, 또한, 본 발명의 방법을 낮은 규모, 예컨대 5 내지 100 ml의 조성물 B로 수행하는 것도 고려된다.

[0079] 조성물 B는 할로페락스 메디테라네이 세포에 의한 상기 적어도 하나의 오염물의 함량의 감소를 가능하게 하는 배지 성분을 추가로 포함할 수 있다. 이러한 배지 성분은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 예를 들어 NH_4Cl , KH_2PO_4 , Na_2SO_4 , MgCl_2 (예를 들어 $\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$), FeCl_3 , MgSO_4 , CaCl_2 (예를 들어 $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$), KBr 및 KCl 을 포함한다. 실시양태에서, 조성물 B는 인 공급원, 질소 공급원, 황 공급원, 칼륨 공급원 및/또는 마그네슘 공급원 (배지 성분으로서)을 포함한다. 조성물 B는 철, 구리, 아연 및 코발트 등의 미량 원소를 추가로 포함할 수 있다. 실시양태에서, 배지 성분은 조성물 A와 세포의 접촉, 즉 조성물과 세포의 혼합 (단계 (b)에 기재된 바와 같음) 후에 조성물 B에 첨가된다.

[0080] 적합한 배지 성분의 선택은 추가의 어려움 없이 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 수행될 수 있다. 또한, 관련 기술분야의 통상의 기술자는 추가의 어려움 없이 배지 성분의 적합한 농도를 결정할 수 있다.

[0081] 예를 들어, 하기 배지 성분에 대한 하기 농도 범위 및 농도가 적합한 것으로 고려된다. 그러나, 본 발명은, 상기에 언급된 배지 성분 및 하기 농도 범위로 제한되지 않는다.

[0082] 조성물 B 중의 농도:

[0083] • NH_4Cl : 0.5 내지 3 g/l, 예를 들어 1.5 g/l

[0084] • KH_2PO_4 : 0.05 내지 0.5 g/l, 예를 들어 0.15 g/l

[0085] • $\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$: 0.5 내지 3 g/l, 예를 들어 1.3 g/l

[0086] • $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$: 0.1 내지 2 g/l, 예를 들어 0.55 g/l

[0087] • KCl : 0.5 내지 3 g/l, 예를 들어 1.66 g/l

[0088] • $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 0.5 내지 3 g/l, 예를 들어 1.15 g/l

[0089] • FeCl_3 : 0.001 내지 0.1 g/l, 예를 들어 0.005 g/l

[0090] • KBr : 0.1 내지 2 g/l, 예를 들어 0.5 g/l

[0091] • $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$: 0.001 내지 0.1 g/l, 예를 들어 0.003 g/l

[0092] 배지 성분에 대한 추가의 바람직한 농도는 실시예 섹션의 표 1에 특정되어 있다. 또한, 조성물은 미량 원소를 포함할 수 있다.

[0093] 본 발명의 바람직한 실시양태에서, 조성물 B는 기질을 추가로 포함한다. 상기 기질은 할로페락스 메디테라네이 세포의 성장을 가능하게 한다. 기질이 균주의 성장을 가능하게 하는지 아닌지의 여부는, 추가의 어려움 없이 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 평가될 수 있다.

[0094] 실시양태에서, 오염물은 단지 분해되고 기질로서 사용되지 않음에 따라, 상기 기질은 니트로벤젠, 포르메이트, 페놀, 메틸렌디아닐린, 특히 4,4'-메틸렌디아닐린 (MDA) 및 아닐린으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 오염물에 추가로 존재한다. 따라서, 기질은 상기 적어도 하나의 오염물이 아니고, 즉 니트로벤젠, 포르메이트, 페놀, 메틸렌디아닐린, 특히 4,4'-메틸렌디아닐린 (MDA) 및 아닐린이 아닌 것으로 고려된다. 따라서, 기질은 본원에서 또한 공동-기질로서 언급된다.

[0095] 바람직하게는, 상기 기질의 존재는 예를 들어 아닐린 및 포르메이트의 함량의 개선된 감소를 가능하게 한다 (실시예 섹션 참조). 예를 들어, 글리세롤의 첨가는 모든 오염물 (포르메이트, 아닐린, MDA, 니트로벤젠 및 페놀)의 분해율을 현저히 증가시킨다 (또한 실시예 및 도 1 참조).

[0096] 기질은 바람직하게는 조성물 B에 첨가된다. 따라서, 기질이 조성물 A 중에 존재하지 않거나 또는 본질적으로 존재하지 않는 것이 고려된다. 바람직하게는, 상기 기질은 탄수화물 (할로페락스 메디테라네이 세포의 성장을 가능하게 함)이고, 보다 바람직하게는 상기 기질은 글리세롤, 유기 산, 또는 당 (할로페락스 메디테라네이 세포

의 성장을 가능하게 함)이고, 보다 바람직하게는 기질은 글리세롤, 아세테이트, 글루코스, 수크로스, 락테이트, 말레이트, 숙시네이트, 및 시트레이트로부터 선택된다. 특히 바람직한 실시양태에서, 기질은 글리세롤이다.

- [0097] 바람직하게는, 인큐베이션이 연속적 공정으로서 수행되는 경우, 조성물 B는 기질을 포함한다. 기질은 연속적 방식으로 분해의 안정성을 달성하기 위해 느린 속도의 바이오매스 성장을 가능하게 한다. 유리하게, 예를 들어 아nil린의 함량은, 추가의 기질, 글리세롤이 조성물 B, 즉 조성물 B를 함유하는 반응기에 연속적으로 첨가될 때, 세포가 이들의 최대 성장률로 성장하면 연속적으로 감소할 수 있는 것으로 나타났다.
- [0098] 기질에 대한 적합한 농도 또는 농도 범위는 추가의 어려움 없이 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 결정될 수 있다. 폐수 (조성물 A) 중의 본원에서 언급되는 바와 같은 상기 적어도 하나의 오염물의 함량의 감소 및 그에 따른 본원에서 언급되는 바와 같은 인큐베이션은 바람직하게는 탄소 제한 하에 수행된다. 따라서, 성장과 같은 기질의 농도가 느린 속도로 바이오매스 성장을 가능하게 하는 것이 고려된다. 이로써 신선한 바이오매스가 생성되며, 이는 연속적 방식으로 상기 적어도 하나의 오염물의 함량의 감소를 가능하게 한다. 바람직하게는, 기질은 세포에 의해 완전히 흡수되는 양으로 조성물 B에 첨가된다. 따라서, TOC 함량이 기질의 첨가에 의해 증가하지 않는 것이 고려된다.
- [0099] 예를 들어, 조성물 B 중의 기질, 특히 상기에 언급된 기질의 농도가 0.5 g/l 내지 10 g/l, 특히 0.5 g/l 내지 5 g/l인 것이 고려된다.
- [0100] 본 발명의 실시양태에서, 추가의 배지 성분 및/또는 적합한 기질은, 특히 조성물 A와 할로페락스 메디테라네이 세포의 혼합 후에 조성물 B에 첨가된다. 예를 들어 추가의 배지 성분 및/또는 적합한 기질은 조성물 B의 인큐베이션 개시시에 또는 조성물 B의 인큐베이션 동안 (예를 들어 연속적으로 또는 펄스로서) 첨가될 수 있다.
- [0101] 물론, 기질은 특정 속도로 조성물 B에 포함된 세포에 의해 대사될 것이기 때문에, 기질의 농도는 인큐베이션 동안 변할 것이다. 따라서, 기질 농도는 일정하지 않을 수 있다. 그럼에도 불구하고, 기질 함량의 감소를 보상하기 위해 인큐베이션 동안 추가의 기질이 첨가될 수 있다.
- [0102] 본 발명의 방법에 따르면, 단계 (b)에서의 조성물 A와 세포의 접촉은 생성된 조성물 B의 부피를 (조성물 A의 부피에 비해) 유의하게 증가시키지 않는 것이 고려된다. 따라서, 조성물 B의 주성분은 조성물 A이다. 따라서, 단계 (b)는 조성물 A를 유의하게 희석시키지 않는다. 희석 인자는 바람직하게는 1.2 미만, 보다 바람직하게는 1.1 미만, 가장 바람직하게는 1.05 미만이다. 또한, 희석 인자가 1.03 또는 1.02 미만인 것이 고려된다. 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "희석 인자"는 바람직하게는 조성물 A의 부피에 대한 조성물 B의 부피의 비율을 지칭한다. 다시 말해서, 조성물 B는, 조성물 B의 총 중량을 기준으로 하여, 적어도 80 중량%, 보다 바람직하게는 적어도 90 중량%, 가장 바람직하게는 적어도 95 중량%의 조성물 A를 포함한다 (특히 이것으로 이루어짐). 또한, 조성물 B가, 조성물 B의 총 중량을 기준으로 하여, 적어도 97 중량% 또는 98 중량%의 조성물 A를 포함하는 것 (특히 이것으로 이루어지는 것)이 고려된다. 희석 인자는 무시할 만하기 때문에, 조성물 A가 조성물 B와 동일한, 또는 실질적으로 동일한 함량의 상기 적어도 하나의 오염물 및 NaCl을 포함하는 것이 고려된다. 따라서, 조성물 A 또는 고염분 폐수에 대해 제공된 NaCl 및 적어도 하나의 오염물의 농도는 바람직하게는 또한 조성물 B 중의 NaCl 및 적어도 하나의 오염물의 농도이다. 물론, 조성물 B 중의 상기 적어도 하나의 오염물의 농도는 할로페락스 메디테라네이 세포의 활성으로 인해 시간에 따라 감소할 것이다.
- [0103] 조성물 A와 세포의 접촉 후, 할로페락스 메디테라네이에 의한 적어도 하나의 오염물의 감소를 가능하게 하기 위해 생성된 조성물 B를 인큐베이션한다. 따라서, 본 발명의 방법은 바람직하게는 조성물 B를 인큐베이션하는 추가의 단계 (c)를 포함한다. 이러한 인큐베이션 단계에서, 상기 적어도 하나의 오염물의 함량이 감소한다.
- [0104] 따라서, 본 발명은 특히, 고염분 폐수 (즉, 고염분 폐수를 포함하는 조성물)의, 니트로벤젠, 포르메이트, 페놀, 메틸렌디아nil린, 특히 4,4'-메틸렌디아nil린 (MDA), 및 아nil린으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 오염물의 함량을 감소시키는 방법을 고려하며, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다:
- [0105] (a) 고염분 폐수 및 상기 적어도 하나의 오염물을 포함하는 조성물 A를 제공하는 단계,
- [0106] (b) 조성물 A를 할로페락스 메디테라네이 세포와 접촉시키며, 이로써 상기 조성물 A 및 상기 할로페락스 메디테라네이 미생물 군주의 세포를 포함하는 조성물 B를 생성하는 단계, 및
- [0107] (c) 조성물 B를 인큐베이션하며, 이로써 상기 조성물의 상기 적어도 하나의 오염물의 함량을 감소시키는 단계.
- [0108] 조성물 B의 인큐베이션은 적합한 조건 하에, 즉 본원에서 언급되는 바와 같은 상기 할로페락스 메디테라네이 군주의 세포에 의한 상기 적어도 하나의 오염물의 함량의 감소를 가능하게 하는 조건 하에 수행된다. 바람직하게

는, 인큐베이션은 생물반응기 내에서 수행된다.

- [0109] 바람직하게는, 조성물 B의 인큐베이션 (및 그에 따른 상기 적어도 하나의 오염물의 함량의 감소)은 6.0 내지 8.2 범위, 보다 바람직하게는 6.2 내지 7.6 범위, 가장 바람직하게는 6.8 내지 7.4 범위의 조성물 B의 pH 값에서 수행된다. 최적 pH 값은 7.2이다.
- [0110] 또한, 인큐베이션을 바람직하게는 18℃ 내지 55℃의 온도에서, 보다 바람직하게는 25℃ 내지 45℃의 온도에서, 보다 더 바람직하게는 30℃ 내지 40℃의 온도에서, 가장 바람직하게는 35℃ 내지 40℃의 온도에서 수행하는 것이 고려된다. 최적 온도는 37℃이다.
- [0111] 감소를 일정한 온도에서 수행하는 것이 고려된다. 그러나, 온도가 인큐베이션 동안 변할 수 있음이 또한 고려된다. 본 발명의 바람직한 실시양태에서는, 조성물 B의 온도를 인큐베이션 동안 모니터링한다.
- [0112] 본 발명의 방법의 바람직한 실시양태에서는, 조성물 B를 (인큐베이션 동안) 교반한다.
- [0113] 인큐베이션은 호기성 조건 하에 수행된다. 바람직하게는, 호기성 조건은 공기 또는 정제 산소를 조성물 B에 연속적으로 첨가함으로써 유지된다.
- [0114] 바람직하게는, 조성물 B는 5.8 내지 8.5, 보다 바람직하게는 6.0 내지 8.0 범위, 가장 바람직하게는 6.2 내지 7.5 범위의 pH 값을 갖는다. 따라서, 인큐베이션은 바람직하게는 5.8 내지 8.5 범위, 바람직하게는 6.2 내지 7.5 범위의 pH 값에서 수행된다. 바람직한 실시양태에서는, 조성물 B의 pH 값을 인큐베이션 동안 모니터링한다. pH 값이 배양 동안 일정하게 유지되는 것이 고려된다. 이는 예를 들어 HCl 첨가에 의해 달성될 수 있다.
- [0115] 인큐베이션 단계에서 세포의 바이오매스의 농도는 상기 적어도 하나의 오염물의 함량의 감소를 가능하게 하는 임의의 농도일 수 있다. 예를 들어, 바이오매스 농도는 0.2 내지 10 g/l의 범위, 특히 0.5 내지 4.5 g/l의 범위일 수 있다. 예를 들어 250 mg/l 아닐린에 대한 최적 바이오매스 농도는 1.6 g/l이다. 따라서, 바이오매스 농도가 1.3 내지 1.9 g/l의 범위인 것이 또한 고려된다.
- [0116] 상기에 기재된 바와 같이, 본 발명의 방법은 바람직하게는 대규모로 수행된다. 따라서, 조성물 B는 바람직하게는 적어도 1, 10, 100, 500, 1000, 2500, 또는 5000 리터 또는 임의의 중간 부피의 부피를 갖는다. 그러나, 보다 작은 부피, 예컨대 적어도 5 ml 또는 100 ml의 부피도 본 발명에 의해 고려된다 (예를 들어 시험을 위해).
- [0117] 본 발명의 방법, 특히 본 발명의 방법의 단계 (c)에서의 본원에서 언급되는 바와 같은 인큐베이션은, 바람직하게는 배치식, 페드-배치식 또는 연속적 공정, 특히 세포 보유 하에 배치식, 페드-배치식 또는 연속적 공정으로서 (바람직하게는 생물반응기 내에서) 수행된다. 따라서, 조성물 B는 배치식, 페드-배치식 또는 연속적 조건 하에 인큐베이션된다. 용어 "배치식 공정"은 바람직하게는, 기질 및 추가의 배지 성분, 조성물 A 뿐만 아니라 세포 자체를 포함하는 세포의 인큐베이션에 궁극적으로 사용되는 모든 성분이 인큐베이션 공정의 개시시에 제공되는 세포의 인큐베이션 방법을 지칭한다. 배치식 공정은 바람직하게는 일부 시점에 중단되고, 처리된 고염분 폐수가 분리된다. 본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "페드-배치식 공정"은, 추가의 배지 성분 및/또는 기질과 같은 추가 성분이 배양 공정의 개시 후 어느 시점에 배양물에 첨가되는 세포의 인큐베이션 공정을 지칭한다. 페드-배치식 배양은 바람직하게는 일부 시점에 중단되고, 배지 중의 성분 및/또는 세포가 수확되고, 처리된 고염분 폐수가 분리된다.
- [0118] 특히 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 방법, 및 그에 따른 본원에서 언급되는 바와 같은 인큐베이션은, 상기에 언급된 바와 같은 기질 (예컨대 글리세롤 또는 아세테이트)을 사용하는 혼합 공급 시스템으로 연속적 배양으로 수행된다.
- [0119] 본 발명의 상기 언급된 방법의 바람직한 실시양태에서, 방법은, 조성물 B로부터 할로페락스 메디테라네이 세포를 분리하며, 이로써 조성물 C를 얻는 단계를 추가로 포함한다. 조성물 B로부터 세포의 분리는, 조성물 B의 인큐베이션 후, 즉 상기 적어도 하나의 오염물의 함량의 감소 후, 단계 (d)로서 수행된다.
- [0120] 생성된 조성물 C (이는 본원에서 또한 "처리 폐수"로서 언급됨)는 할로페락스 메디테라네이 세포를 본질적으로 갖지 않는다. 다시 말해서, 조성물 C는 세포를 포함하지 않는다.
- [0121] 조성물 B로부터 세포의 분리는 적절한 것으로 여겨지는 모든 세포 보유 수단에 의해 달성될 수 있다. 예를 들어, 세포의 분리는 원심분리, 여과, 또는 디캔팅에 의해 달성될 수 있다. 바람직하게는, 세포는 여과에 의해 조성물 B로부터 분리된다.

- [0122] 또한, 세포를 비드 또는 고체 지지체 상에 부동화시키며, 이로써 조성물 B로부터 세포의 분리를 가능하게 할 수 있다.
- [0123] 연속적 공정이 수행되는 경우, 분리된 세포가 다시 폐수로 공급되는 것이 고려된다. 따라서, 분리된 세포는 조성물 A 또는, 특히 조성물 B와 접촉된다.
- [0124] 방법이 생물반응기 내에서 수행되는 경우, 생물반응기는 바람직하게는 세포 보유 수단을 포함한다. 바람직하게는, 생물반응기는 여과에 의해 조성물 B로부터 세포를 분리하기에 적합한 멤브레인을 포함한다.
- [0125] 조성물 C는 바람직하게는 40 mg/l 미만, 보다 바람직하게는 30 mg/l 미만, 가장 바람직하게는 20 mg/l 미만의 TOC 함량을 갖는다.
- [0126] 본 발명의 바람직한 실시양태에서, 방법은, 조성물 C를 농축시키며, 이로써 조성물 C*를 얻는 것을 추가로 포함한다.
- [0127] 이 단계는 처리 폐수의 NaCl 농도를 증가시킬 것이고, 즉 NaCl이 조성물 중에서 농도-상승된다. 바람직하게는, 농축된 조성물 C*는 NaCl을, 조성물 A의 총 부피를 기준으로 하여, 20.0% (w/v) 초과 농도로, 특히 22% (w/v) 초과 농도로 포함한다. 이들 NaCl 농도는 클로르알칼리 공정의 공급 스트림에서 사용시 이상적인 농도이다.
- [0128] 본 발명에 따르면, 조성물 C의 농도-상승은 적절한 것으로 여겨지는 임의의 방법에 의한 농축일 수 있다. 바람직한 방법은 역삼투, 한외여과 및 나노여과이다. 이들 방법에서, 여과 멤브레인의 한쪽 측면에 대하여 양의 삼투압이다. 또한, 농도-상승은 증발에 의해 달성될 수 있다.
- [0129] 상기에 기재된 바와 같이, 조성물 A 및 B는, 상기 조성물의 총 부피를 기준으로 하여, NaCl을 20% (w/v) 초과 농도로 포함할 수 있다. 이들 농도가 사용되는 경우, 처리 폐수를 클로르알칼리 공정에 적용시, 농축 단계는 원칙적으로 생략될 수 있다.
- [0130] 그러나, 조성물 C 및 C*는 추가의 정화 단계에 적용될 수 있다. 본 발명의 방법의 실시양태에서, 방법은 상기 조성물로부터의 무기 성분의 제거를 추가로 포함한다. 상기 무기 성분은 바람직하게는 미량 원소 및/또는 배지 성분의 염을 포함한다. 제거는 조성물 C 또는 C*를 염화나트륨 전기분해에 적용하기 전에 수행된다.
- [0131] 본원에서 제공되는 정의 및 설명은 필요시 변경되어 본 발명의 하기 주제, 특히 염소 및/또는 수산화나트륨의 제조를 위한 본 발명의 하기 방법, 본 발명의 조성물, 본 발명의 생물반응기, 및 본 발명의 용도에 적용된다.
- [0132] 본 발명은 또한 하기 단계를 포함하는, 염소 및 수산화나트륨의 제조 방법에 관한 것이다:
- [0133] (i) 본 발명의 방법에 따른 조성물 C 또는 본 발명의 방법에 따른 조성물 C*를 제공하는 단계, 및
- [0134] (ii) (a)에 따른 조성물을 염화나트륨 전기분해에 적용하며, 이로써, 염소 및 수산화나트륨을 생성하는 단계.
- [0135] 상기 언급된 방법의 단계 (i), 즉, 본 발명의 방법에 따른 조성물 C 또는 본 발명의 방법에 따른 조성물 C*의 제공은, 바람직하게는 고염분 용액의 니트로벤젠, 포르메이트, 페놀, 4,4'-메틸렌디아닐린 (MDA) 및 아닐린으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 오염물의 함량을 감소시키는 방법의 단계를 포함한다.
- [0136] 실시양태에서, 조성물 C는 하기 단계에 의해 제공된다:
- [0137] (a) 고염분 폐수 및 상기 적어도 하나의 오염물을 포함하는 조성물 A를 제공하는 단계,
- [0138] (b) 조성물 A를 할로페락스 메디테라네이 세포와 접촉시키며, 이로써 상기 조성물 A 및 상기 세포를 포함하는 조성물 B를 생성하는 단계, 및
- [0139] (c) 조성물 B를 인큐베이션하며, 이로써 조성물의 상기 적어도 하나의 오염물의 함량을 감소시키는 단계, 및
- [0140] (d) 조성물 B로부터 할로페락스 메디테라네이 세포를 분리하며, 이로써 조성물 C를 제공하는 단계.
- [0141] 조성물 C*가 제공되는 경우, 단계 ii)는 바람직하게는 조성물 C를 농축시키며, 이로써 조성물 C*를 얻는 추가의 단계 (e)를 포함한다.
- [0142] 염화나트륨의 전기분해는 관련 기술분야에 널리 공지된 방법에 의해 수행될 수 있다. 멤브레인 전기분해 공정은, 예를 들어, 염화나트륨을 함유하는 용액의 전기분해를 위해 통상적으로 사용된다 (이와 관련하여, 문헌 [Peter Schmittinger, CHLORINE, Wiley-VCH Verlag, 2000] 참조). 여기서는, 둘로 분할되고 애노드를 갖는 애노드 공간 및 캐소드를 갖는 캐소드 공간을 포함하는 전기분해 셀이 사용된다. 애노드 공간 및 캐소드 공간은

이온-교환 멤브레인에 의해 분리된다. 염화나트륨을 함유하고 통상적으로 300 g/l 초과 염화나트륨 농도를 갖는 용액이 애노드 공간으로 도입된다. 애노드에서, 클로라이드 이온이 염소로 산화되며, 이는 고갈된 염화나트륨 용액 (약 200 g/l)과 함께 셀로부터 배출된다. 나트륨 이온은 전기장의 작용 하에 이온-교환 멤브레인을 통해 캐소드 공간으로 이동한다. 이 이동 동안, 멤브레인에 따라, 나트륨 1 mol은 그와 함께 3.5 내지 4.5 mol의 물을 운반한다. 이는 애노드액에서 물이 고갈되게 한다. 애노드액과 달리, 물은 물의 전기분해에 의해 캐소드 측면에서 소비되어 히드록시드 이온 및 수소를 형성한다. 나트륨 이온과 캐소드액으로 운반되는 물은, 30%의 유입구 농도 및 4 kA/m²의 전류 밀도에서, 산출물 중의 수산화나트륨 농도를 31-32 중량%로 유지하기에 충분하다. 캐소드 공간에서, 물은 전기화학적으로 환원되어 히드록시드 이온 및 수소를 형성한다.

[0143] 대안적으로, 산소가 전자와 반응하여 히드록시드 이온을 형성하고 수소는 형성되지 않는 가스 확산 전극이 캐소드로서 사용될 수 있다. 이온-교환 멤브레인을 통해 캐소드 공간으로 이동한 나트륨 이온과 함께 히드록시드 이온은 수산화나트륨을 형성한다. 30 중량%의 농도를 갖는 수산화나트륨 용액은 통상적으로 캐소드 챔버 내로 공급되고, 31-32 중량%의 농도를 갖는 수산화나트륨 용액은 배출된다. 수산화나트륨은 통상적으로 50% 농도 용액으로서 저장되거나 또는 수송되기 때문에 매우 높은 농도의 수산화나트륨을 달성하는 것이 목표이다. 그러나, 현재 상업적인 멤브레인은 32 중량% 초과 농도를 갖는 알칼리 용액에 대하여 저항성이 아니고, 따라서 수산화나트륨 용액은 열 증발에 의해 농축되어야 한다.

[0144] 염화나트륨의 전기분해의 경우, 추가의 물이 염화나트륨을 함유하는 이 용액을 통해 애노드액으로 도입되지만, 물은 단지 멤브레인을 통해 캐소드액으로 배출된다. 캐소드액으로 수송될 수 있는 것보다 많은 물이 염화나트륨을 함유하는 용액을 통해 도입되는 경우, 애노드액에서 염화나트륨이 고갈되고, 전기분해가 연속적으로 작동될 수 없다. 매우 낮은 염화나트륨 농도의 경우, 산소 형성의 이차 반응이 일어날 것이다.

[0145] 본 발명의 방법의 바람직한 실시양태에서, 전기분해는 염화나트륨의 멤브레인 셀 전기분해, 특히 산소 소비 전극을 사용한 멤브레인 전기분해, 염화나트륨의 다이어프램 셀 전기분해 또는 염화나트륨의 수은 셀 전기분해이다.

[0146] 본 발명은 추가로, 본 발명의 방법과 관련하여 상기에 정의된 바와 같은 조성물 B에 관한 것이다. 따라서, 본 발명은 고염분 폐수, 니트로벤젠, 포르메이트, 페놀, 4,4'-메틸렌디아닐린 (MDA) 및 아닐린으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 오염물, 및 할로페락스 메디테라네이 세포를 포함하는 조성물 B에 관한 것이다.

[0147] 상기 적어도 하나의 오염물의 바람직한 함량/농도 또는/및 추가의 바람직한 NaCl 농도가 아닐린 및/또는 포르메이트 함량의 감소를 위한 본 발명의 방법과 관련하여 개시된다. 추가로, 조성물은 상기에 기재된 바와 같은 성분 (예컨대 추가의 배지 성분 및/또는 적합한 기질 등)을 포함할 수 있다.

[0148] 또한, 본 발명은 적어도 1 l의 본 발명의 조성물 B를 포함하는 생물반응기에 관한 것이다.

[0149] 또한, 본 발명은, 고염분 폐수의 니트로벤젠, 포르메이트, 페놀, 4,4'-메틸렌디아닐린 (MDA) 및 아닐린으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 오염물의 함량을 감소시키기 위한 할로페락스 메디테라네이 세포의 용도에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 조성물 B의 상기 적어도 하나의 오염물의 함량을 감소시키기 위한 상기 세포의 용도에 관한 것이다.

[0150] 따라서, 상기 적어도 하나의 오염물의 함량을 감소시키는 본 발명의 방법과 관련하여 상기에 제공된 정의 및 설명이 상기 언급된 용도에 적용된다. 따라서, 상기 언급된 용도에 따라, 상기 적어도 하나의 오염물의 함량이 본 발명의 방법과 관련하여 상기에 기재된 바와 같이 바람직하게 감소한다.

[0151] 도는 하기와 같다:

[0152] **도 1.** 그래프는, 호염성 박테리아 할로페락스 메디테라네이의 세포를 사용한 공동-기질로서 1.4 g/L 글리세롤의 첨가 후 실제 염수 (15% w/v NaCl) 중의 포르메이트 분해를 나타낸다. 포르메이트는 글리세롤 (삼각형으로 나타냄)과 동시에 분해된다. 세포를 함유하지 않는 진탕 플라스크에서의 대조군 실험에서는 (별표로 나타냄) 글리세롤과 포르메이트 모두 분해되지 않았다.

[0153] **도 2.** 그래프는, 15% w/v NaCl을 함유하는 모델 배지에서 할로페락스 메디테라네이 세포를 사용한 아닐린 (5 및 10 mg/l)의 분해를 나타낸다. 240시간의 인큐베이션 및 모니터링 후, 단지 기질로서의 아닐린에서는 바이오매스 성장이 나타나지 않는다. 제2 기질 (50 mg/l 페놀)의 존재 하에 아닐린 및 페놀 감소와 함께 바이오매스 농도의 증가가 나타난다. 아닐린 분해율은 초기 아닐린 농도에 따라 달라진다. 박테리아 세포가 없는 대조군 실험에서는 아닐린 또는 페놀 농도에서 유의한 변화가 검출되지 않는다.

- [0154] 도 3. 계수 플롯은 균주 할로페락스 메디테라네이에서의 아닐린 분해에 대한 2개 인자 초기 아닐린 농도 및 pH의 중요성을 나타낸다. NaCl 농도는 아닐린 제거에 대해 중요성을 갖지 않는 것으로 보이며, HFX에 의한 아닐린 분해가 모든 NaCl 농도에서 나타난다.
- [0155] 도 4. 반응 컨투어 플롯은, 최적 아닐린 분해가 균주 할로페락스 메디테라네이에서 보다 낮은 초기 아닐린 농도에서 나타날 수 있음을 보여준다.
- [0156] 도 5. 그래프는, 호염성 박테리아 할로페락스 메디테라네이의 세포를 사용한 다양한 염 농도 (0 내지 20% w/v NaCl)에서의 아닐린 분해를 나타낸다. 아닐린 분해율은 보다 높은 염 농도에서 더 높다.
- [0157] 도 6. 그래프는, 호염성 고세균 할로페락스 메디테라네이의 세포를 사용한 15% w/v 염 농도에서의 니트로벤젠 분해를 나타낸다. 총 니트로벤젠 함량의 80%가 인큐베이션의 최초 24시간 내에 분해된다. 30 ppm 니트로벤젠으로의 대조군 실험에서는 니트로벤젠 함량의 유의한 감소가 나타나지 않는다.
- [0158] 도 7. 할로페락스 메디테라네이의 5 g/L 바이오매스를 사용한 0.3 g/L 포르메이트를 함유하는 산업 염수의 연속적 가공처리. 포르메이트가 분해되었다. 잔류 포르메이트 농도의 양은 회석물에 따라 달라진다. 바이오매스 성장을 위해 공동-기질 글리세롤이 필요하며, 이는 정상 상태 조건에서 완전히 흡수된다.
- [0159] 본 명세서에서 인용된 모든 참고문헌은 그 전체 개시내용 및 본 명세서에서 구체적으로 언급된 개시 내용과 관련하여 본원에 참조로 포함된다.
- [0160] 본 발명을 하기 실시예에 의해 단지 예시할 것이다. 언급된 실시예는, 어떠한 경우에도, 본 발명의 범위를 제한하는 방식으로 해석되지 않는다.
- [0161] **실시예**
- [0162] **실시예 1: 진탕 플라스크에서의 분해 실험**
- [0163] **균주 및 배지**
- [0164] 할로페락스 메디테라네이 (*DSM 1411*) (이 연구에서는 *HFX*) 야생형 균주를 DSMZ (독일의 미생물 및 세포 배양물 수집 센터)로부터 구입하였다. 접종물 제조를 위한 진탕-플라스크 배양물을, 하기 조성 (g/l)을 갖는 DSMZ에 의해 제안된 배지 no. 97에서 약간의 변경 하에 실험실 인큐베이터 (인포스(Infors), 스위스)에서 180 rpm 및 37°C 하에 성장시켰다: NaCl 250, MgSO₄ · 7H₂O 20.0, KCl 2.0, Na-시트레이트 3.0, FeSO₄ · 7H₂O 0.05, MnSO₄ · H₂O, 효모 추출물 10.0 및 글루코스 5.0; pH 7.0. 500 ml 에rlenmeyer 플라스크 및 배지는 항상 멸균시켰다.
- [0165] **분석정보**
- [0166] 세포 성장에 대한 지시자로서의 탁도를, 다양한 시간 간격으로 600 nm에서 시마즈(Shimadzu) UV/Vis 분광광도계를 사용하여 측정하였다.
- [0167] 배양 상청액 중의 잔류 포르메이트, 아세테이트 및 글리세롤 농도를 HPLC를 사용하여 측정하였다. HPLC (써모-피셔(Thermo-Fisher)) 방법을, 30°C에서 바이오-라드(Bio-Rad)로부터의 아미넥스(Aminex) HPX-87H 칼럼, 0.5 ml/min의 유동 하에 MQ 물 중 0.1% TFA의 등용매 용리액으로 수행한 후, 210 nm에서 UV 검출을 수행하였다. 20 µl의 주입 부피에서 정량화 한계는 포르메이트 및 아세테이트에 대해 5 mg/l였다. 정량화에 사용되는 표준물을 샘플과 동일한 염분 함유 매트릭스에서 제조하였다.
- [0168] 배양 상청액 중의 잔류 아닐린, 페놀, 니트로벤젠 및 MDA 농도를 HPLC를 사용하여 측정하였다. HPLC (써모-피셔) 방법을, 아클레임(Acclaim) PA C-16 3 µm 칼럼 (써모-피셔)으로 수행하였다. 아세토니트릴, 25 mM KH₂PO₄ pH 3.5 완충제 및 MQ를 이동 상으로서 사용하였고, 검출은 190 nm에서 UV로 수행하였다. 5 µl의 주입 부피에서 정량화 한계는 아닐린에서 1 ppm, 페놀에서 0.5 mg/l, 니트로벤젠에서 1 ppm, 또한 4,4'-MDA에서 0.1 mg/l였다. 또한 보다 낮은 농도가 검출가능하였다.
- [0169] **진탕 플라스크 실험에서의 포르메이트 분해**
- [0170] 할로페락스 메디테라네이 (*DSM 1411*)는 성장을 위해 적어도 10% (w/v) NaCl을 필요로 하는 극호염성 고세균이다. 최적 성장은 20 - 25% NaCl (w/v)의 농도에서 보고되어 있다.
- [0171] 포르메이트 연구를 위해 세포를 0.37 g/L 포르메이트 및 15% (w/v) NaCl을 함유하는 실제 산업 염수에서 배양하였다. 염수의 pH를 7.0으로 조정된 후 표 1에 따라 배지 성분을 보충하였다. 배지는 발효 전에 멸균되지 않았

다.

[0172] 배지 D는 표 2에 나타낸 조성을 갖는 합성 배지이다.

조성	양 g/l
탄소 공급원: A) 글리세롤 또는 B) 아세테이트 또는 C) 포르메이트	A) 1.4 g/L B) 3.5 g/L C) 6.0 g/L
NH ₄ Cl	1.50
KH ₂ PO ₄	0.15
FeCl ₃	0.005
MgCl ₂ ·6H ₂ O	1.30
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1.10
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.55
KCl	1.66
KBr	0.50
MnCl ₂ ·4H ₂ O	0.003
미량 원소 (표 3)	1ml

[0173]

[0174] 표 1. 배지 A, B 및 C에 대한 pH 7.0에서 염수에 첨가된 배지 성분.

[0175] 진탕-플라스크를 임의의 복합 탄소 또는 질소 공급원을 함유하지 않는 예비배양물로 접종하였다. 접종물은 임의의 잔류 탄소 공급원을 갖지 않았다. 진탕 플라스크를 접종하여 200 ml의 총 부피에서 0.25의 출발 OD를 달성하였다. 500 ml 진탕 플라스크를 사용하여 180 rpm 및 37°C로 실험실 인큐베이터 (인포스, 스위스)에서 세포를 성장시켰다.

[0176] 실험을, 배지만을 갖고 세포가 없는 대조군 실험과 함께 이중으로 수행하였다.

조성	양 g/l
NaCl	150
포르메이트	6.0 g/L
NH ₄ Cl	1.50
KH ₂ PO ₄	0.15
FeCl ₃	0.005
MgCl ₂ ·6H ₂ O	1.30
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1.10
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.55
KCl	1.66
KBr	0.50
MnCl ₂ ·4H ₂ O	0.003
미량 원소 (표 3)	1ml

[0177]

[0178] 표 2. 합성 배지 D에 대한 배지 성분 (pH 7.0).

조성	양 mg/100ml
FeSO ₄ ·7H ₂ O	139
CuSO ₄ ·5H ₂ O	100
MnCl ₂ ·4H ₂ O	78
CoCl ₂ ·2H ₂ O	62
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	86

[0179]

[0180] 표 3. 미량 원소 스톡 용액의 조성.

[0181] HFX가 포르메이트를 분해하는 능력을 진탕 플라스크 실험에서 조사하였다. A) 글리세롤, B) 아세테이트 및 C) 포르메이트를 첨가하여 3종의 상이한 배지를 제조하였다. A 및 B는 HFX가 공동-기질의 존재 하에 포르메이트를 흡수할 수 있는지를 나타내어야 하며, 시험용 C는 포르메이트가 HFX의 성장을 지지하는지를 나타내어야 한다. 세포 성장 및 포르메이트 분해 둘 다를 많은 샘플링에 의해 모니터링하였다.

[0182] 제2 기질 (예를 들어 글리세롤 또는 아세테이트)이 존재하는 경우 포르메이트가 빠르게 분해됨이 검출될 수 있었다. 이들 실험에서 포르메이트 및 공동-기질은 동시에 흡수되었다.

[0183] 산업 염수에 추가의 포르메이트를 보충함으로써 (배지 C), 포르메이트가 흡수되고 바이오매스로 전환될 수 있는지를 조사하였다. 결과는 포르메이트가 분해되었지만 성장은 검출가능하지 않은 것으로 나타났으며, 이는 포르메이트가 바이오매스 생성이 아니라 에너지 공급원으로서 HFX에 의해 사용됨을 나타낸다.

[0184] 추가의 실험은, HFX가 포르메이트의 분해를 위해 제2 탄소 공급원을 필요로 함을 나타내었다. 아닐린, MDA 및 니트로벤젠과 같은 유기 오염물을 함유하는 것으로 공지된 산업 폐 스트림인 배지 C와 달리, 배지 D는 단지 탄소 공급원으로서 포르메이트를 함유하였다. 이 배지에서는 포르메이트의 성장과 분해 둘 다가 검출될 수 없었다.

[0185] **실시예 2: 진탕 플라스크에서의 아닐린 및 페놀 흡수 연구**

[0186] 아닐린 흡수 연구를 위해 합성적으로 정의된 배지를 제조하였다. 배지 조성을 하기에 기재하였다:

조성	양 g/l
NaCl	150
NH ₄ Cl	1.50
KH ₂ PO ₄	0.15
FeCl ₃	0.005
MgCl ₂ ·6H ₂ O	1.30
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1.10
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.55
KCl	1.66
NaHCO ₃	0.20
KBr	0.50
MnCl ₂ ·4H ₂ O	0.003
미량 원소	1ml
아닐린 99%	5- 100 mg
페놀	50 내지 100 mg

L

미량 원소 조성	양 mg/100ml
FeSO ₄ ·7H ₂ O	136
CuSO ₄ ·5H ₂ O	100
MnCl ₂ ·4H ₂ O	50
CoCl ₂ ·2H ₂ O	44
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	86

표 4. 할로페락스 메디테라네이에 의한 페놀 및 아닐린 흡수 연구를 위한 합성 정의된 배지 및 미량 원소 조성

균주를 아닐린 흡수에 대해 연구하였다. 복합 배지 상에서 이전에 성장한 세포를 5분 동안 3000 rpm으로 원심 분리에 의해 수확하였다. 세포를 세척하고, 단일 탄소 공급원으로서 아닐린과 함께 100 ml의 각각의 합성 정의된 배지 및 15% w/v NaCl을 함유하는 진탕-플라스크 중에 용해시키고, 37℃의 온도에서 교반하며 인큐베이션하였다. 0시간에 OD600을 측정하고, 1 ml 샘플을 기준물로서 HPLC 분석을 위해 저장하였다. 아닐린에서의 성장 및 잔류 아닐린 농도를 모니터링하였다. 균주 할로페락스 메디테라네이는 성장을 위한 공급원으로서 아닐린을 사용하지 못하지만, 시간에 따른 잔류 아닐린 농도는 아닐린이 합성 배지 상에서, 또한 실제 염수 상에서 초기 아닐린 농도에 따라 배지로부터 완전히 제거되었음을 보여준다. 제2 기질 (이 경우 페놀 50 내지 100 mg/l)의 존재 하에 바이오매스 농도 증가 및 보다 우수한 아닐린 분해가 검출되었다. 페놀의 성장이 아닐린의 부재 하에 또한 검출되었다. 다른 공정 파라미터를 제어할 수 있도록 아닐린 및 페놀의 분해를 진탕 플라스크 뿐만 아니라 생물반응기에서의 추가 실험에서 보다 상세히 조사하였다.

실시예 3: 아닐린 분해를 위한 최적 배양 조건

다변수 디자인의 실험을 사용한 아닐린 연구

HFX에 의한 아닐린 분해에 대한 최적 조건을 찾기 위해, 다변수 디자인의 실험을 사용하였다. 부분 인자 디자인의 실험을 수행하여 3개 파라미터 (델타 바이오매스, 잔류 아닐린 농도 및 pH)에 대한 3개 인자 (pH, 아닐린 농도 및 NaCl 농도)의 영향을 평가하였다. 이 실험에서 연구된 인자를 각각의 범위와 함께 기재하였다 (표 5).

인자 명칭	범위
pH	6.2 내지 8.2
아닐린 농도	15 내지 50 mg/l
NaCl	12 내지 18 % w/v

표 5. HFX에 의한 아닐린 분해에 대해 연구된 인자 및 반응

[0196] 이 연구에 대해 통계 도구, 모데(Modde)에 의해 11개 실험이 제안되었다. 실험을 37℃ 및 170 rpm 스트로크에서 합성 정의된 배지 상에서 진탕 플라스크 내에서 수행하였다. 바이오매스 농도, pH 변화 및 잔류 아닐린 농도를 24시간 간격으로 결정하였다. 144시간 후에 얻어진 측정치를 모데에 의해 분석하였다.

[0197] 델타 아닐린에 대해 유효 모델이 얻어졌다. 모든 실험에서 아닐린이 분해되었다. 계수 플롯은 아닐린 분해에 대한 초기 아닐린 농도 및 pH의 중요성을 나타내었다. HFX 세포에 의한 최선의 아닐린 분해는 pH 6.2, 12% w/v NaCl 및 15 mg/l 아닐린에서 나타났고, 여기서 144시간 후에 94% 아닐린이 분해되었다.

[0198] 다양한 염 농도에서의 아닐린 분해

[0199] 아닐린의 분해를 진탕 플라스크 실험에서 탄소 공급원으로서 30 mg/l 아닐린을 함유하는 합성 배지 내에서 0 내지 20% w/v의 다양한 염 농도에서 연구하였다. 잔류 아닐린 농도를 24시간 간격으로 HPLC에 의해 결정하였다. 균주 HFX에 대해, 14% w/v 초과와 보다 높은 NaCl 농도에서 보다 우수한 아닐린 분해가 나타났고, 여기서 최선의 분해는 20% w/v NaCl에서 나타났다.

[0200] 실시예 4: 할로페락스 메디테라네이에 의한 니트로벤젠 분해

[0201] 니트로벤젠에서의 1차 진탕 플라스크 실험

[0202] 니트로벤젠 흡수 연구를 위해 합성 정의된 배지를 제조하였다. 사용된 배지 조성은 기재되어 있고 (표 1), 여기서 아닐린 대신에, 30 및 50 ppm 니트로벤젠을 단지 기질로서 사용하였다. 복합 배지 상에서 이전에 성장한 세포를 5분 동안 3000 rpm으로 원심분리에 의해 수확하였다. 세포를 세척하고, 단지 탄소 공급원으로서 니트로벤젠과 함께 100 ml의 각각의 합성 정의된 배지 및 15% w/v NaCl을 함유하는 진탕-플라스크 중에 용해시키고, 37℃의 온도에서 170 rpm으로 교반하며 인큐베이션하였다. 0시간에 OD600을 측정하고, 1 ml 샘플을 기준물질로서 HPLC 분석을 위해 저장하였다. 니트로벤젠에서의 성장 및 잔류 니트로벤젠 농도를 모니터링하였다. 균주 할로페락스 메디테라네이는 성장을 위한 공급원으로서 니트로벤젠을 사용하지 않았지만, 시간에 따른 잔류 니트로벤젠 농도는 이것이 합성 배지 상에서, 또한 실제 염수 상에서 배지로부터 완전히 제거되었음을 보여준다. 최고 분해율은 최초 24시간 동안 나타났다. 다른 공정 파라미터를 제어할 수 있도록 니트로벤젠의 분해를 진탕 플라스크 뿐만 아니라 생물반응기에서의 추가 실험에서 보다 상세히 조사하였다.

[0203] 다변수 디자인의 실험을 사용한 니트로벤젠 연구

[0204] HFX에 의한 니트로벤젠 분해에 대한 최적 조건을 찾기 위해, 다변수 디자인의 실험을 사용하여 이를 연구하였다. 부분 인자 디자인의 실험을 수행하여 3개 파라미터 (델타 바이오매스, 잔류 니트로벤젠 농도 및 델타 pH)에 대한 3개 인자 (pH, 아닐린 농도 및 NaCl 농도)의 영향을 평가하였다. 이 실험에서 연구된 인자들 각각의 범위와 함께 기재하였다 (표 6).

인자 명칭	범위
pH	6 내지 8
니트로벤젠 농도	5 내지 25 mg/l
NaCl	15 내지 20 % w/v

[0205]

[0206] 표 6. HFX에 의한 니트로벤젠 분해에 대해 연구된 인자 및 반응

[0207] 이 연구에 대해 통계 도구, 모데에 의해 11개 실험이 제안되었다. 실험을 37℃ 및 170 rpm 스트로크에서 합성 정의된 배지 상에서 진탕 플라스크 내에서 수행하였다. 바이오매스 농도, pH 변화 및 잔류 니트로벤젠 농도를 24시간 간격으로 결정하였다. 72시간 후에 얻어진 측정치를 모데에 의해 분석하고, 이를 표 7에 나타내었다.

실험	pH	니트로벤젠	NaCl % w/v	Δ OD600	분해 %
N1	6	5	15	-0.099	60.1
N2	8	5	15	-0.098	80
N3	6	25	15	-0.093	81
N4	8	25	15	-0.08	64.5
N5	6	5	20	-0.117	80.4
N6	8	5	20	-0.136	80.4
N7	6	25	20	-0.124	89.3
N8	8	25	20	-0.128	87.7
N9	7	15	17.5	-0.106	100
N10	7	15	17.5	-0.094	100
N11	7	15	17.5	-0.108	100
대조군	7	15	17.5	0.01	13

[0208]

[0209] 표 7. HFX에 의한 니트로벤젠 분해에 대해 얻어진 결과를 보여줌.

[0210] 표 7은 실험 매트릭스 및 얻어진 결과를 나타낸다. 니트로벤젠은 거의 모든 실험에서 분해되었다. 바이오매스 농도의 감소가 모든 실험에서 나타났다. 세포를 갖지 않는 대조군 실험에서는 13% 니트로벤젠 산화가 나타나고, 그에 비해 실험 N9 내지 11에서는 100% 제거가 나타나며, 이는 HFX 세포의 존재 하에 87% 더 높은 분해를 나타낸다. HFX 세포에 의한 최선의 니트로벤젠 분해는 pH 7.0, 17.5% w/v NaCl 및 15 mg/l 니트로벤젠을 사용한 센터포인트 실험에서 나타나고, 여기서는 72시간 후에 100% 니트로벤젠이 분해되었다.

[0211] **실시예 5: 배치 방식에서 실제 염수에서의 아닐린, 페놀, 니트로벤젠 및 4,4'MDA의 분해**

[0212] 산업 잔류수에 대한 실제 공정에서의 균주의 분해 응용성을 검토하기 위해 생물반응기에서 배양을 확립하였다. 이 실험을 위해, 15% w/v NaCl을 함유하는 실제 염수를 사용하는 공정에 HFX 세포를 사용하였다. 이 경우, 공정 파라미터 및 배양 조건을 제어하였고, 실험을 고염분 환경에서의 배양에 적합한 특수 내식성 생물반응기 장비에서 수행하였다.

[0213] 특수 비-부식성 랩포스(Labfors) PEEK (인포스, 아게, 스위스) 반응기를 하기 사양으로 활용하였다:

[0214] 보로실리케이트 유리 배양 용기: 1 L 부피

[0215] 보로실리케이트 유리 배기 가스 냉각

[0216] 특수 내식성 중합체 (PEEK) 생물반응기 상단 뚜껑

[0217] 특수 내식성 중합체 (PEEK) 온도계 홀더

[0218] 보로실리케이트 유리 샘플링 튜브 및 가스 유입구 튜브

[0219] 특수 내식성 교반기

[0220] 반응기 용기 상의 보로실리케이트 유리 채킷

[0221] 하기의 온라인 분석정보:

[0222] 배기 가스 CO₂

[0223] 배기 가스 O₂

[0224] 유리 pH 프로브

[0225] 하스텔로이 클라크(Hastelloy Clark) pO₂ 및

[0226] 공기에 대한 열 질량 유동 제어기

[0227] 하기 배지 성분을 염수에 첨가하였다: KCl 0.66 g/l, NH₄Cl 1.5 g/l, KH₂PO₄ 0.15 g/l, MgCl₂·6H₂O 1.3 g/l, MgSO₄·7H₂O 1.1 g/l, FeCl₃ 0.005 g/l, CaCl₂·2H₂O 0.55 g/l, KBr 0.5 g/l, Mn 스톱 3 ml 및 미량 원소 1

ml.

- [0228] 온도: 37℃
- [0229] pH: 7.2 (0.5 M HCl 및 0.5 M NaOH를 사용하여 pH 제어)
- [0230] 이 연구에서 방향족 화합물이 거의 분해되고 바이오매스 성장을 촉진시키는 기질로서 사용되지 않음에 따라, 생물반응기 내의 바이오매스 농도를 증가시키기 위해, 배지 성분 및 성장을 위한 기질로서의 글리세롤의 첨가와 함께 염수에 대해 배치식 배양을 수행하였다 (표 1). 충분한 바이오매스가 얻어지면 (약 3 g/l), 아닐린 5 mg/l, 페놀 5 mg/l 및 4,4'-MDA 3 mg/l를 함유하는 마스터 믹스를 펄스로서 반응기에 첨가하였다. 배치식 배양 동안 방향족 화합물의 완전한 분해는 96시간이 걸렸다.
- [0231] **실시예 6: 세포 보유 시스템을 사용하는 연속적 생물-가공처리에서 실제 잔류수 중의 포르메이트, MDA, 니트로벤젠, 아닐린 및 페놀의 분해**
- [0232] **세포 보유 하의 생물반응기 셋업**
- [0233] 세포 보유 시스템을 사용하여 실제 염수 중의 오염물의 연속적 분해를 수행하였다. 산업 염수를 표 1에 제공된 배지 성분 및 공동-기질로서의 글리세롤로 보충하였다. 0.026 h⁻¹의 비성장률을 달성하는 방식으로 배지 중의 글리세롤의 양을 조정하였다. 진탕 플라스크 실험에 대해 기재된 바와 같이 생물반응기에서 배양을 확립하였다. 생물반응기에서의 발효를 450 rpm 교반 및 37℃에서 수행하였다. 420 cm²의 면적 및 0.2 μm의 기공 크기를 갖는 폴리술폰 (PSU) 중공 섬유 정밀여과 멤브레인 카트리지를 사용하여 생물반응기에 세포 보유 시스템을 셋팅하였다. 130 내지 610 g/h의 공급물 유동은 0.1 내지 0.6 h⁻¹의 회석률을 제공하였다. 세포 함유 블리드 유동 및 세포 무함유 수확물과 관련하여 공급물 유동을 조정함으로써, 발효기 내의 일정한 바이오매스가 달성될 수 있었다.
- [0234] 세포 밀도에 대한 지시자로서의 탁도 및 잔류 포르메이트, 아세테이트 및 글리세롤의 HPLC 분석정보를 전체 공정 동안 측정하였다.
- [0235] 잔류 MDA, 니트로벤젠, 아닐린 및 페놀을 또한 HPLC에 의해 측정하였다.
- [0236] **발효**
- [0237] 약 0.3 g/L 포르메이트의 연속적 유동 하에 염수 중의 오염물을 분해하기 위해 HFX를 1 L 생물반응기 내에서 배양하였다. 실험에서 2개 파라미터 바이오매스 농도 (g/L) 및 회석률 (h⁻¹)을 각각 2-5 g/L 및 0.1 - 0.6 h⁻¹의 범위에서 변화시켰다.
- [0238] 모든 연속적 배양에서 현저한 포르메이트 분해를 관찰할 수 있었다. 보다 높은 바이오매스 농도로의 실험은 보다 낮은 잔류 포르메이트 농도를 제공하였다. 보다 높은 유량으로의 실험에서는 보다 높은 잔류 포르메이트 농도가 측정될 수 있었다.
- [0239] 반응기로부터 샘플링된 배양 상청액의 분석정보는, MDA 및 아닐린의 양이 또한 생물가공처리 동안 감소될 수 있음을 보여주었다. 페놀 및 니트로벤젠은 검출 한계 미만의 농도로 분해되었다. HFX는 배치식 뿐만 아니라 연속적 방식에서 포르메이트, MDA, 아닐린, 페놀 및 니트로벤젠을 분해할 수 있다. 언급된 오염물의 분해율은 바이오매스 농도, 회석률 및 염수 중의 오염물의 농도에 따라 달라진다.
- [0240] **요약 - 결론:**
- [0241] 고염분 폐수는 흔히 포르메이트 아닐린, 페놀, 니트로벤젠 및 4,4'-메틸렌디아닐린 등의 유기 오염물을 포함한다. 유기 화합물을 함유하는 잔류수를 처리하기 위해 여러 물리적 및 화학적 방법, 예를 들어 흡착, 오존화 및 전기화학적 처리가 사용된다. 그러나, 언급된 처리의 대부분은 염분 함유 잔류 스트림 중의 총 유기 탄소 함량을 요구되는 최대 수준까지 낮게 감소시키지 못한다.
- [0242] 본 발명에서는, 할로페락스 메디테라네이 DSM.1411이 독성 유기 오염물을 200 g/l 염도까지의 이들의 고염분 환경으로부터 활발히 분해할 수 있음이 발견되었다. 또한, 할로페락스 메디테라네이 DSM.1411은 고염분 환경으로부터 포르메이트 아닐린, 페놀, 니트로벤젠 및 4,4'-메틸렌디아닐린을 분해할 수 있음이 발견되었다.
- [0243] 본 발명은 총 유기 탄소 함량의 감소를 의도하는 하기 성분: 포르메이트, 페놀, 니트로벤젠, 4,4'-메틸렌디아닐린 (MDA) 및 아닐린 중 임의의 것 또는 조합을 함유하는 임의의 고염분수의 최적의 효율적 처리에 관한 것일 수

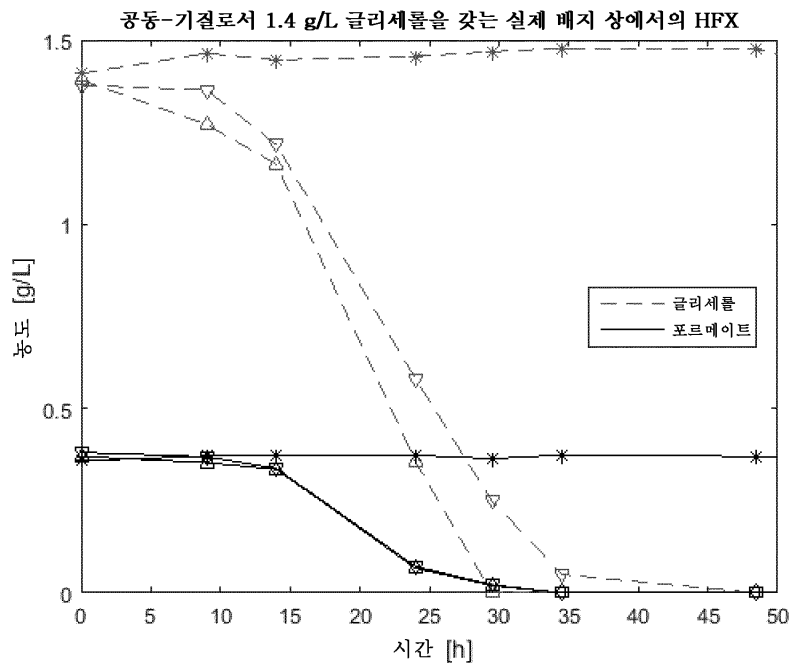
있다.

[0244]

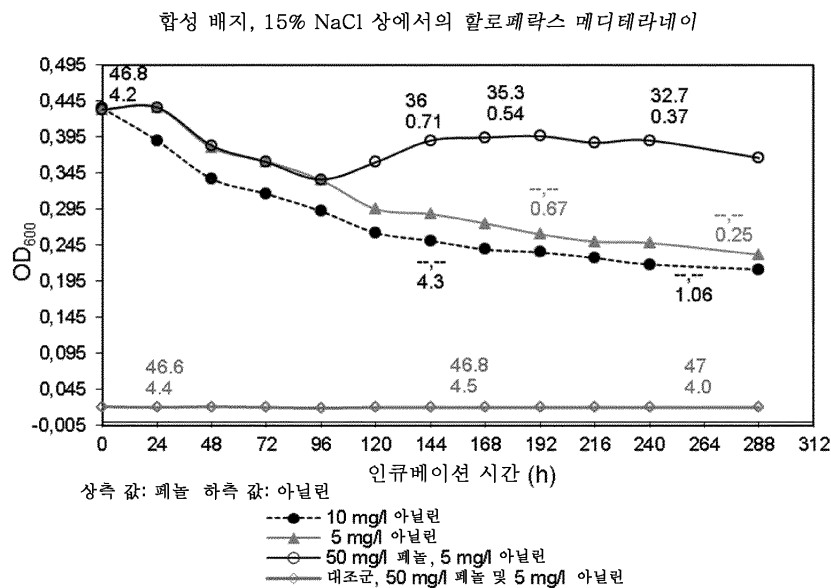
본 발명의 다른 측면은 가치에 대한 잔류물의 개념을 포함한다. 한편으로는 상당량의 원치않는 유기 오염물질로 풍부화된 고염분 잔류 스트림에 의해 야기되는 환경적 문제, 또한 다른 한편으로는 멤브레인 전기분해와 같은 다른 산업 공정을 위한 전구체로서의 고품질 염수의 필요성은, 이들 고염분 잔류 스트림의 전처리를 절대적으로 중대한 것으로 만든다. 본 발명은 처리 염수로부터 염소 가스 및/또는 수산화나트륨을 생성하기 위해 멤브레인 전기분해에 대한 요건을 충족시키도록 이러한 저렴하고 빠르고 효율적인 전처리를 달성하는 것을 돕는다.

도면

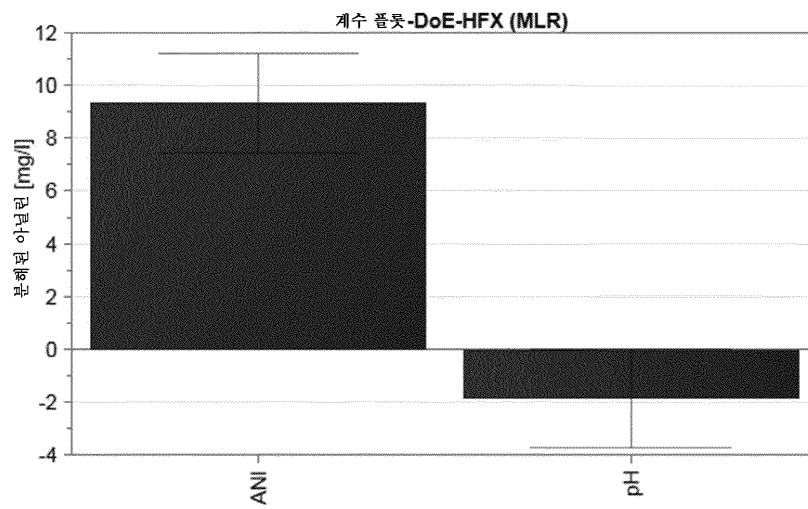
도면1



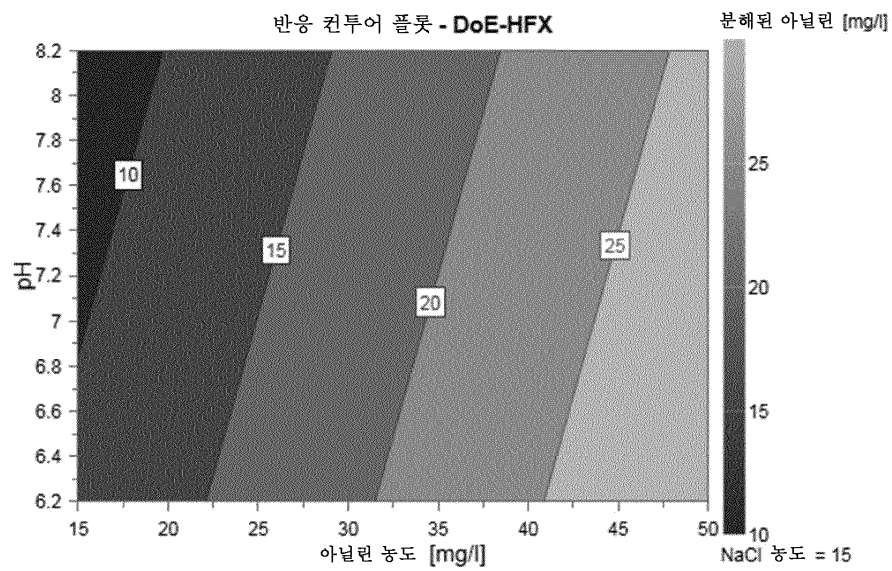
도면2



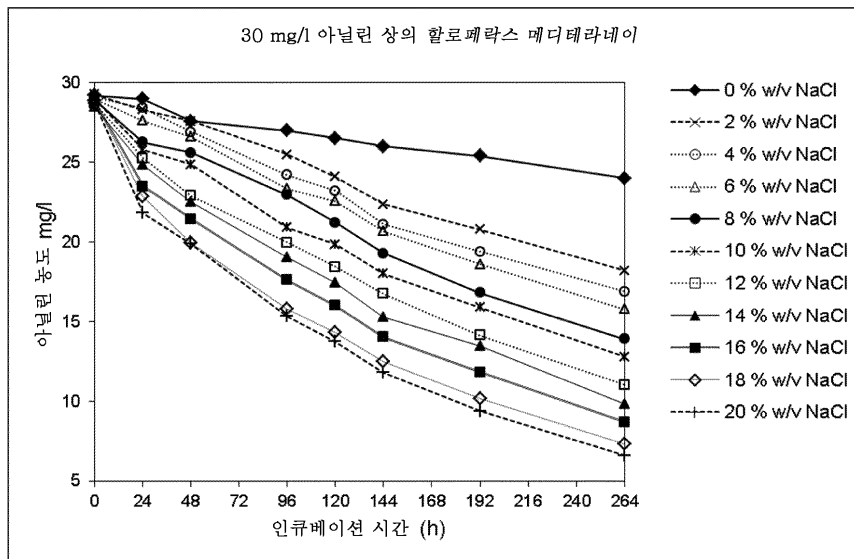
도면3



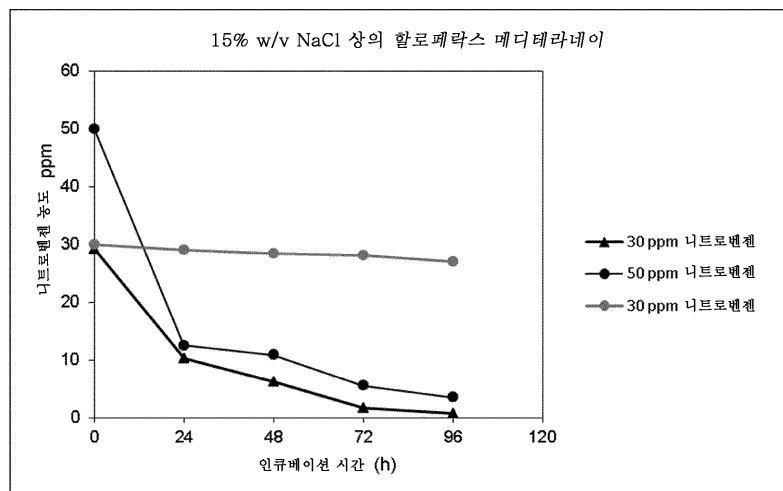
도면4



도면5



도면6



도면7

