

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2019-0113538
(43) 공개일자 2019년10월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
B01D 65/08 (2006.01) *C02F 1/44* (2006.01)
 (52) CPC특허분류
B01D 65/08 (2013.01)
C02F 1/44 (2013.01)
 (21) 출원번호 10-2019-0012430
 (22) 출원일자 2019년01월31일
 심사청구일자 2019년01월31일
 (30) 우선권주장
 1020180035218 2018년03월27일 대한민국(KR)

(71) 출원인
 고려대학교 산학협력단
 서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
 (72) 발명자
 김중배
 서울특별시 강남구 역삼로 309, 101동 1501호 (역삼동, 래미안펜타빌아파트)
 김태희
 서울특별시 동대문구 정릉천동로 36, 102동 1707호 (용두동, 래미안허브리츠)
 이인선
 경기도 용인시 수지구 만현로 79, 504동 804호 (상현2동, 만현마을 아이파크5단지)
 (74) 대리인
 특허법인이름리온

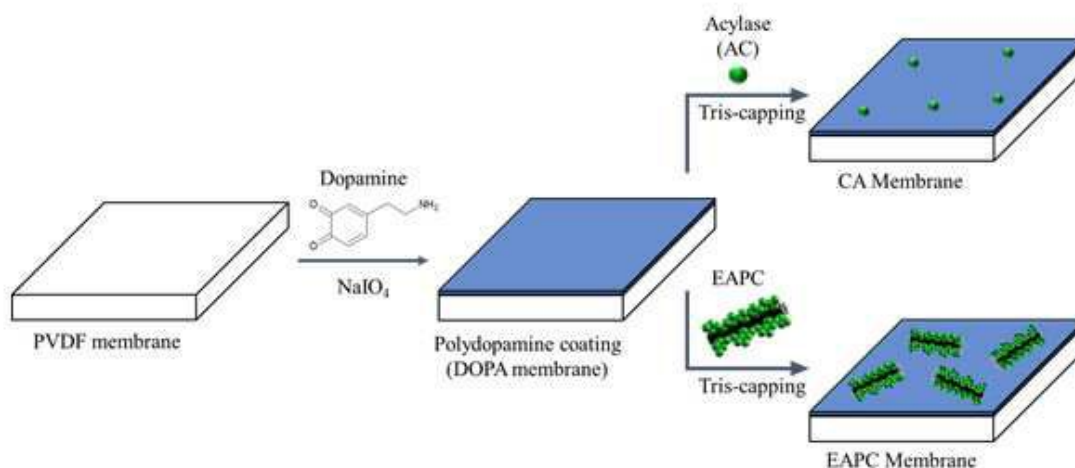
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 방오 활성을 가지는 효소기반 수처리용 멤브레인 및 이의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 수처리용 멤브레인에 대한 것이며, 보다 구체적으로는 미생물 오염 방지 활성(antifouling activity)을 가지는 멤브레인 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

대표도 - 도5



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

명세서

청구범위

청구항 1

다공성 여재;

상기 다공성 여재의 표면 적어도 일부에 피복된 폴리도파민 코팅층; 및

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

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 다공성 여재는 평균공경이 0.1 nm ~ 10 μ m인 것을 특징으로 하는 방오활성을 갖는 수처리용 멤브레인.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 다공성 여재는 폴리비닐리덴 플루오라이드 (polyvinylidene fluoride), 폴리비닐알코올 (polyvinylalcohol), 폴리비닐아세테이트 (polyvinylacetate), 폴리메틸메타크릴레이트 (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)으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 화합물로 형성된 것을 특징으로 하는 방오활성을 갖는 수처리용 멤브레인.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 방오효소-구조물 복합체는 구조물의 표면 혹은 내부에 방오효소가 고정화된 것을 특징으로 하는 방오활성을 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 방오활성을 갖는 수처리용 멤브레인.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 나노구조물의 크기는 0.001 ~ 100 μ m인 것을 특징으로 하는 방오활성을 갖는 수처리용 멤브레인.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 방오효소는 아실레이즈, 락토네이즈, 프로테이즈, 펩티다제, 아미노펩티다제, 포스파타제, 트랜스

아미네이즈, 세린-엔도펩티데이즈, 시스테인-엔도펩티데이즈 및 메탈로엔도펩티데이즈로 구성되는 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 효소를 포함하는 것을 특징으로 하는 방오활성을 갖는 수처리용 멤브레인.

청구항 8

제1항에 있어서,

단위면적(m^2) 당 상기 방오효소-나노구조물 복합체의 구조물이 0.009 ~ 12 g 의 함량으로 구비된 것을 특징으로 하는 방오활성을 갖는 수처리용 멤브레인.

청구항 9

제1항에 있어서,

유압저항(hydraulic resistance)이 $2.0 \times 10^{10} \text{ m}^{-1}$ 이하인 것을 특징으로 하는 방오활성을 갖는 수처리용 멤브레인.

청구항 10

제4항에 있어서,

상기 방오효소-구조물 복합체는 항균효소들이 가교결합되어 구비되는 것을 특징으로 하는 방오활성을 갖는 수처리용 멤브레인.

청구항 11

제4항에 있어서,

상기 방오효소-구조물 복합체는 석출화제를 통해 석출된 항균효소들이 가교결합되어 구비되는 것을 특징으로 하는 방오활성을 갖는 수처리용 멤브레인.

청구항 12

제1항에 있어서,

상기 방오효소-구조물 복합체는 다공성 여재의 어느 일면의 외부 표면부에 고정되도록 구비된 것을 특징으로 하는 방오활성을 갖는 수처리용 멤브레인.

청구항 13

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

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

청구항 14

제13항에 있어서,

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

청구항 15

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 따른 방오활성을 갖는 수처리용 멤브레인을 포함하는 수처리 모듈.

발명의 설명

기술 분야

본 발명은 수처리용 멤브레인에 대한 것이며, 보다 구체적으로는 미생물 오염 방지 활성(antifouling activit

[0001]

y)을 가지는 멤브레인 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

- [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 방오 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 방오 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 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 방오 혹은 살균 효율을 극대화 시킬 수 있고, 기존 여과 시스템의 변경이나 추가 처리하지 않고 그대로 사용가능 하다는 이점이 있다.
- [0008] 그러나 현재까지 공지된 효소 고정화/안정화 기술을 통해서는 멤브레인 여과표면에 방오효소를 부착하는데 어려움이 있다. 구체적으로 상업적으로 이용 가능한 멤브레인 소재는 방오효소를 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, 방오효소가 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, 방오효소와 결합하는 방법에 따라 멤브레인의 기공구조의 변경을 야기해 기공이 좁아지거나 막힘으로써 멤브레인의 여과능이 현저히 떨어질 수 있다.
- [0012] 더 나아가, 장기 연속 운전에 의한 방오효소의 활성저하가 불가피하다.
- [0013] 이에 따라서, 친환경적인 방오효소를 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 방오효소 담지량과 안정성을 최대화하여 높은 방오 성능이 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 방오효소-구조물 복합체;를 포함하는 방오활성을 갖는 수처리용 멤브레인을 제공한다.

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

[0018] 또한, 상기 다공성 여재는 폴리비닐리덴 플루오라이드 (polyvinylidene fluoride), 폴리비닐알코올 (polyvinylalcohol), 폴리비닐아세테이트 (polyvinylacetate), 폴리메틸메타크릴레이트 (polymethylmethacrylate), 폴리아크릴로니트릴 (polyacrylonitrile), 폴리비닐피롤리돈 (polyvinylpyrrolidone), 폴리테트라플루오로에틸렌 (polytetrafluorethylene), 폴리이미드 (polyimide), 폴리 에틸렌옥사이드 (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 방오효소-구조물 복합체는 구조물의 표면 혹은 내부에 방오효소가 고정화된 것일 수 있다.

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

[0021] 또한, 상기 구조물의 크기는 0.001 ~ 100 μ m일 수 있다.

[0022] 또한, 상기 방오효소는 아실레이즈, 락토네이즈, 프로테이즈, 펩티다제, 아미노펩티다제, 포스파타제, 트랜스아미네이즈, 세린-엔도펩티다제, 시스테인-엔도펩티다제 및 메탈로엔도펩티다제로 구성되는 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 효소를 포함할 수 있다.

[0023] 또한, 단위면적(m^2) 당 상기 방오효소-구조물 복합체의 구조물은 0.009 ~ 12g의 함량으로 구비될 수 있다. 일례로 상기 구조물이 탄소나노튜브일 경우 0.09 ~ 1.2g, 보다 바람직하게는 0.2 ~ 1.2g의 함량으로 구비될 수 있다.

[0024] 또한, 유압저항(hydraulic resistance)이 $2.0 \times 10^{-10} m^{-1}$ 이하일 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 방오효소-구조물 복합체를 포함하는 용액을 처리하여 방오효소-구조물 복합체를 폴리도파민 코팅층에 고정시키는 단계를 포함하는 방오활성을 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 에 따른 방오활성을 갖는 수처리용 멤브레인을 포함하는 수처리 모듈을 제공한다.

발명의 효과

[0030] 본 발명에 의하면, 상술한 방오효소-구조물 복합체는 멤브레인 표면에서 미생물 오염을 억제하여 최종적으로 여

과성능을 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. 또한, 우수한 미생물오염 방지효과에도 불구하고 투과저항 증가에 따른 유량감소가 방지됨에 따라서 수처리 분야에 널리 응용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0031]

도 1은 본 발명의 일 실시예에 포함되는 방오효소-구조물 복합체 합성 과정을 나타낸 모식도이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 포함되는 방오효소-구조물 복합체의 SEM 사진으로서, 좌측 사진은 구조물로서 탄소나노튜브(CNTs)에 대한 사진이고, 중간 사진은 탄소나노튜브(CNTs) 표면에 방오효소로서 아실레이즈(Acylase, AC)가 흡착 고정된 복합체(ADS) 사진이며, 우측 사진은 ADS를 둘러싸도록 방오효소 가교결합체가 고정된 방오효소-구조물 복합체(EAPC)의 사진이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 포함되는 방오효소-구조물 복합체(ADS 및 EAPC)의 초기 효소활성을 측정한 값을 나타낸 그래프이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 포함되는 방오효소-구조물 복합체(ADS 및 EAPC)의 효소 안정성을 200 rpm 교반조건에서 200일간 측정한 그래프이다.

도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 수처리용 멤브레인과 비교예에 따른 수처리용 멤브레인을 제조하는 방법에 대한 모식도로서, 다공성 여재인 PVDF 멤브레인 표면에 형성된 폴리도파민 코팅층에 유리된 아실레이즈(Free AC)가 고정된 CA 멤브레인(비교예1) 및 상기 폴리도파민 코팅층에 아실레이즈가 방오효소-구조물 복합체 형태로 고정된 EAPC 멤브레인(실시예2)의 제조방법 모식도이다.

도 6은 본 발명에서 멤브레인의 방오성능 평가 방법과 장치를 나타낸 모식도이다.

도7은 생물막의 형성이 유도된 후 12시간 경과 후 본 발명에 따른 실시예 및 비교예에 따른 수처리용 멤브레인의 방오성능을 정유량 (Constant flux) 운전에서의 막간 차압(trans-membrane pressure, TMP)을 측정하여 정량적으로 대비한 그래프이다.

도 8은 생물막의 형성이 유도된 후 12시간 경과 후 본 발명의 실시예 및 비교예에 따른 수처리용 멤브레인 표면의 생물막(Biofilm)의 구조를 공초점 주사 레이저 현미경 (confocal laser scanning microscopy, CLSM)을 통해 관찰한 결과 이미지를 나타낸 것이다.

도 9는 생물막의 형성이 유도된 후 24시간 경과 후 본 발명에 따른 실시예 및 비교예에 따른 수처리용 멤브레인의 방오성능을 정유량 (Constant flux) 운전에서의 막간 차압(trans-membrane pressure, TMP)을 측정하여 정량적으로 대비한 그래프이다.

도 10은 본 발명의 실시예들 및 비교예들에 따른 멤브레인의 수투과 저항을 측정하여 대비한 그래프이다.

도 11은 본 발명의 일 실시예 및 비교예에 따른 수처리용 멤브레인 일 표면에 대한 주사전자현미경 사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0032]

이하, 첨부한 도면을 참고로 하여 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 방오활성을 갖는 수처리용 멤브레인은 다공성 여재, 상기 다공성 여재의 표면 적어도 일부에 피복된 폴리도파민 코팅층, 및 상기 폴리도파민 코팅층을 통해 상기 다공성 여재에 고정된 방오효소-구조물 복합체를 포함하여 구현된다. 방오활성을 갖는 수처리용 멤브레인은 생물학적 방오 작용을 통해 물질의 표면에 오염물질이 부착 및 성장하는 것을 방지할 수 있는 멤브레인을 의미한다. 본 발명의 일 실시예에 의한 수처리용 멤브레인은 방오성능을 발현하기 위하여 방오효소를 구비하되 방오효소를 방오효소-구조물 복합체 형태로 다공성 여재에 도입함을 통해 멤브레인 단위면적당 도입되는 방오효소 함량을 현저히 증가시킬 수 있는 이점이 있다. 또한, 방오효소를 다공성 여재에 고정시키기 위한 작용기 생성 등의 별도의 개질 처리 없이도 폴리도파민 코팅층을 매개로 방오효소-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 필터인 경우 제한 없이 사용될 수 있다.
- [0037] 상기 다공성 여재는 공지된 필터의 제조에 사용되는 고분자화합물의 경우 제한 없이 사용될 수 있으나, 일례로 폴리비닐리덴 플루오라이드 (polyvinylidene fluoride), 폴리비닐알코올 (polyvinylalcohol), 폴리비닐아세테이트 (polyvinylacetate), 폴리메틸메타크릴레이트 (polymethylmethacrylate), 폴리아크릴로니트릴 (polyacrylonitrile), 폴리비닐피롤리돈 (polyvinylpyrrolidone), 폴리테트라플루오로에틸렌 (polytetrafluorethylene), 폴리아미드 (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.
- [0038] 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 일례로 부직포와 같은 섬유집합체일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0039] 또한, 상기 다공성 여재는 타겟하는 여과물질의 크기, 유량, 멤브레인의 기계적 강도를 고려하여 적절한 공경과 기공도를 가질 수 있으며, 일례로 평균공경이 $0.01 \sim 10\mu m$, 보다 바람직하게는 $0.01 \sim 5\mu m$, 보다 더 바람직하게는 $0.01 \sim 2\mu m$ 일 수 있고, 이를 통해 후술하는 방오효소-구조물 복합체가 도입되는 경우에도 우수한 유량과 방오성능을 동시에 발현하기 유리할 수 있다.
- [0040] 또한, 상기 다공성 여재는 두께가 $10 \sim 1000\mu m$ 이고, 평량이 $10 \sim 50g/m^2$ 일 수 있는데 이에 제한되는 것은 아니며, 유량, 기계적 강도 등을 고려하여 적절히 변경할 수 있다.
- [0042] 다음으로 상술한 다공성 여재에 도입되는 방오효소-구조물 복합체에 대해 설명한다.
- [0043] 아무 처리되지 않은 유리(free) 상태의 방오효소(antifouling enzyme)를 멤브레인에 결합시켜 사용하게 되면 도입되는 방오효소의 양이 크게 감소해서 초기 방오 성능이 현저하게 낮을 뿐 아니라, 외부환경 변화에 따라서 효소 구조가 변화되어 효소 활성 손실이 급격하게 진행될 수 있고, 단시간 내에 효소 안정성이 급격히 떨어져 방오 성능을 잃게 될 수 있다(도 4 및 표 1 참조).
- [0044] 그러나 방오효소-구조물 복합체는 멤브레인 단위면적당 도입되는 방오효소의 양을 현저히 증가시킬 수 있고, 동시에 도입된 방오효소의 안정성을 현저히 향상시켜 장시간 수처리 운영에도 방오효소의 활성 손실을 방지할 수 있는 이점이 있다.
- [0045] 상기 방오효소는 생물학적 방오 작용을 통해 물질의 표면에 오염물질이 부착 및 성장하는 것을 방지할 수 있는 효소를 의미하며, 이와 같은 기능을 발현할 수 있는 공지된 효소는 본 발명의 방오효소로 제한없이 사용될 수 있다. 일례로 상기 방오효소는 아실레이즈, 락토네이즈, 프로테이즈, 펙옥시데이트, 아미노캡티데이즈, 포스파테이즈, 트랜스아미네이즈, 세린-엔도캡티데이즈, 시스테인-엔도캡티데이즈 및 메탈로엔도캡티데이즈로 구성되는 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 효소를 포함할 수 있다.
- [0046] 상기 구조물은 방오효소를 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 없다. 또한, 다공성, 중공형과 같은 구조를 가질 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0047] 또한, 일례로 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 있다. 또한, 상기 고분자는 폴리비닐알코올, 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.

- [0048] 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. 일례로 섬유형을 제외한 비드형, 로드형, 판형 등은 구조물의 크기가 0.001 ~ 100 μm , 보다 바람직하게는 0.01 ~ 30 μm 일 수 있다. 만일 구조물의 크기가 0.001 μm 미만일 경우 구조물 간 응집 경향이 증가함에 따라서 한 개의 구조물에 도입시킬 수 있는 방오효소의 함량이 현저히 감소할 수 있고, 응집된 구조물이 다공성 여재의 기공을 폐쇄시켜 유량을 현저히 감소시킬 수 있다. 또한, 만일 구조물의 크기가 100 μm 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.
- [0049] 또한, 일례로 구조물이 탄소나노튜브와 같은 로드형인 경우 길이가 0.1 μm ~ 10 μm , 폭에 해당하는 직경이 0.5nm ~ 100nm일 수 있고, 이를 통해 방오효소를 목적하는 함량으로 구조물에 도입시키기에 보다 유리하며, 응집을 방지할 수 있는 등의 이점이 있다.
- [0050] 한편, 구조물이 섬유형일 경우 길이는 0.1 μm 이상인 것일 수 있고, 직경은 10 nm ~ 10 μm 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0051] 상기 방오효소-구조물 복합체는 구조물의 표면 혹은 내부에 방오효소가 고정된 것일 수 있다. 일례로 상기 방오효소-구조물 복합체는 구조물의 표면에 방오효소가 2차원적으로 고정된 형태일 수 있다. 이때 상기 고정은 흡착과 같은 물리적 결합(일례로 도 2의 ADS)이거나, 구조물 상에 구비된 작용기와 효소 간의 화학적 결합일 수 있다.
- [0052] 또는, 다른 일례로 상기 방오효소-구조물 복합체는 구조물의 표면에 방오효소가 3차원적으로 고정된 형태일 수 있는데, 구체적으로 방오효소 가교결합체가 구조물을 둘러싸도록 배치된 것일 수 있다. 이때, 상기 방오효소 가교결합체는 구조물의 표면에 방오효소가 2차원적으로 고정된 상태에서 가교결합체를 통해 비고정 상태의 방오효소 간 및 구조물에 고정된 방오효소와 비고정 상태의 방오효소 간 결합으로 형성된 것일 수 있다. 상기 가교결합체는 비제한적인 예로써, 디이소시아네이트, 디안히드라이드, 디에폭사이드, 디알데하이드, 디이미드, 1-에틸-3-(3-디메틸 아미노프로필카보디이미드), 글루타르알데하이드, 비스(이미도 에스테르), 비스(석신이미딜 에스테르) 및 디에시드 클로라이드로 구성되는 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 화합물을 포함할 수 있다.
- [0053] 한편, 가교결합 되는 상기 비고정 상태의 방오효소의 양을 현저히 증가시키기 위하여 석출화제가 사용될 수 있으며, 이를 통해 석출된 방오효소들이 방오효소 가교결합체를 형성할 수 있다. 이때, 상기 석출화제는 효소를 석출시키는 공지의 물질의 경우 제한 없이 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.
- [0054] 상술한 가교결합체를 통해 형성되거나 또는 가교결합체 및 석출화제를 통해 형성된 방오효소-구조물 복합체는 내부에 다양한 유료가 형성된 다공성 여재의 여과면에 고정되는 경우에 있어서도 다공성 여재의 기공구조를 변경시키거나 기공을 폐쇄하지 않으면서도 한정된 여과 면적 내 고밀도로 효소를 집적시킬 수 있어서 여과성능, 유량은 유지하면서 미생물의 증식에 따른 바이오 필름의 생성을 제어할 수 있는 이점이 있다.
- [0055] 또는, 상기 방오효소-구조물 복합체는 다공성이나 중공형의 구조물 내부 및 및/또는 외부에 방오효소가 고정된 것일 수 있다.
- [0057] 다음으로 다공성 여재의 표면에 형성되는 폴리도파민 코팅층에 대해 설명한다. 상기 폴리도파민 코팅층은 다공성 여재에 상술한 방오효소-구조물 복합체를 도입 및 고정시키기 위한 것으로서, 다공성 여재에 방오효소-구조물 복합체를 고정시키기 위한 별도의 작용기 등이 없거나, 다공성 여재가 소수성이 강해 방오효소-구조물을 포함하는 용액에 쉽게 젖지 않아서 방오효소-구조물 복합체를 도입시키기 어려운 경우에도 용이하게 다공성 여재에 이들을 도입 및 고정시킬 수 있는 이점이 있다. 여기서 다공성 여재의 표면이란 다공성 여재의 외부에 노출되는 표면을 비롯하여 다공성 여재 내부에 존재하는 기공 벽에 해당하는 내부면도 모두 포함한다.

- [0059] 상술한 방오효소-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, 본 발명의 일 실시예에 의하면 상기 방오효소-구조물 복합체는 보다 향상된 방오효과를 발현하기 위해서 원수가 유입되는 멤브레인 일면의 표면부쪽에 집중하여 배치 및 고정될 수 있다. 여기서 상기 표면부란 다공성 여재 일면의 표면에서부터 두께방향으로 전체두께의 1/4이 되는 두께 지점까지의 영역을 의미한다. 방오효소-구조물 복합체가 다공성 여재의 일 표면부에 집중되어 구비시키는 여러 방법이 있을 수 있으나 일례로서, 상기 방오효소-구조물 복합체에서 구조물의 크기를 다공성 여재의 평균공경보다 크도록 조절시킬 수 있다. 한편, 일 표면부에 복합체가 집중하여 배치되는 경우 일표면의 전면에 골고루 고정되거나, 균데균데 부분적으로 일부에만 고정될 수도 있다.
- [0060] 상기 방오효소-구조물 복합체가 다공성 여재 상에 고정되는 함량은 다공성 여재의 수투과저항을 증가시키지 않으면서 동시에 방오효과를 발현하는 수준으로 구비되는 것이 좋다. 다공성 여재에 고정되는 방오효소-구조물 복합체의 함량은 구조물의 재질, 내부구조(다공성 등)에 따라서 밀도가 상이함에 따라서 함량을 일률적으로 한정하기 어려우나 바람직하게는 단위면적(m^2) 당 상기 방오효소-구조물 복합체의 구조물은 0.009 ~ 12g의 함량으로 구비될 수 있다. 일례로 상기 구조물이 탄소나노튜브일 경우 구조물 함량을 기준으로 멤브레인 단위면적 당 0.09 ~ 1.2g/ m^2 의 함량, 보다 바람직하게는 0.2 ~ 1.2g/ m^2 , 보다 더 바람직하게는 0.2 ~ 0.5g/ m^2 의 함량으로 구비될 수 있다. 만일 방오효소-구조물 복합체가 구조물 함량을 기준으로 0.009g/ m^2 미만의 함량으로 구비되는 경우 방오성능이 현저히 저하될 수 있다. 또한, 만일 방오효소-구조물 복합체가 구조물 함량을 기준으로 12g/ m^2 를 초과하여 구비되는 경우 방오성능의 향상폭은 미미한 반면 투과저항이 현저히 증가하여 목적하는 수준의 유량을 확보할 수 없을 수 있다.
- [0061] 상술한 본 발명에 따른 방오활성을 갖는 수처리용 멤브레인은 유압저항(hydraulic resistance)이 $2.0 \times 10^{10} \text{ m}^{-1}$ 이하, 보다 바람직하게는 $1.5 \times 10^{10} \text{ m}^{-1}$ 이하일 수 있으며, 이러한 수치는 방오효소-구조물 복합체가 도입되기 전 다공성 여재의 유압저항, 일례로 $1.3 \times 10^{10} \text{ m}^{-1}$ ~ $1.4 \times 10^{10} \text{ m}^{-1}$ 의 유압저항을 갖는 다공성 여재와 대비해 방오효소-구조물 복합체 도입 후에도 유압저항의 증가가 최소화된 것으로서 방오성능을 달성하면서도 충분한 유량을 수득할 수 있다.
- [0063] 이하, 상술한 본 발명에 따른 방오활성을 갖는 수처리용 멤브레인 제조방법에 대해 설명한다. 본 발명의 일 실시예에 따른 방오활성을 갖는 수처리용 멤브레인은 도 5에 도시된 것과 같이 (1) 다공성 여재 상에 도파민 용액을 처리하여 폴리도파민 코팅층을 형성시키는 단계 및 (2) 폴리도파민 코팅층이 형성된 다공성 여재 상부에 방오효소-구조물 복합체를 포함하는 용액을 처리하여 방오효소-구조물 복합체를 폴리도파민 코팅층에 고정시키는 단계를 포함하여 제조될 수 있다.
- [0064] 먼저, 본 발명에 따른 (1) 단계는 다공성 여재 표면 상에 폴리도파민 코팅층을 형성시키는 단계이다.
- [0065] 상기 도파민 용액은 도파민 또는 이의 염을 포함하는 용액으로서, 용매는 일례로 인산염 완충용액, Tris 완충용액과 같이 pH 유지가 가능한 용액인 경우 본 발명의 용매로서 사용될 수 있다. 상기 도파민 용액은 도파민 또는 이의 염을 0.1 ~ 5mg/ml로 포함할 수 있는데, 만일 도파민 또는 이의 염이 0.1mg/ml 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, 일례로 과요오드산나트륨염(NaIO_4)일 수 있다. 상기 도파민 용액은 다공성 여재에 처리되는 방법은 공지된 코팅방법의 경우 제한 없이 사용될 수 있으며, 일례로 함침, 스크린 프린팅, 콤팩터 등 일 수 있다. 또한, 폴리도파민코팅층의 형성은 pH 7.0 ~ 8.0의 조건 하에서 수행될 수 있다.
- [0066] 상기 도파민 용액이 처리된 후 폴리도파민 코팅층이 형성되도록 하기 위하여 상온에서 10분 이상, 일례로 10 ~ 60분 간 방치할 수 있으나 이에 제한되지는 않는다.
- [0067] 한편, 도 5에는 폴리도파민 코팅층이 PVDF 다공성 여재의 상부면에만 형성된 것으로 도시되었으나, 폴리도파민 코팅층은 다공성 여재의 내부면 및 하부면에도 형성될 수 있음을 밝혀둔다.

- [0069] 다음으로 본 발명에 따른 (2) 단계로서, 폴리도파민 코팅층이 형성된 다공성 여재 상부에 방오효소-구조물 복합체를 포함하는 용액을 처리하여 방오효소-구조물 복합체를 폴리도파민 코팅층에 고정시키는 단계를 수행한다.
- [0070] 상기 방오효소-구조물 복합체는 예시적으로 도 1의 공정을 통해 제조될 수 있다. 이하 구조물은 탄소나노튜브(CNTs), 방오효소는 아실라아제(Acylase, AC)를 예시로 하여 설명한다.
- [0071] 먼저, CNTs 표면에 방오효소인 아실라아제가 2차원적으로 고정된 형태의 복합체의 경우 CNTs와 아실라아제를 혼합 및 교반하여 수득할 수 있다. 이때, 두 물질의 혼합은 pH 5.5 ~ 8.0인 인산염 완충용액에서 수행될 수 있다. 이를 통해 CNTs 표면에 아실라아제가 2차원적으로 흡착된 복합체(ADS)를 수득할 수 있다. 한편, 교반 후 CNTs에 미부착된 아실라아제를 제거하기 위한 세척공정을 1회 ~ 수회 더 수행할 수 있다. 이때 사용된 CNTs의 크기는 일예로 직경이 $30 \pm 15\text{nm}$, 길이가 $1 \sim 5\mu\text{m}$ 인 것일 수 있다.
- [0072] 다음으로 CNTs 표면에 방오효소인 아실라아제가 3차원적으로 고정된 형태의 복합체 경우 상술한 ADS 복합체 제조과정 중 교반 후에 석출화제, 일예로 황산 암모늄 용액을 첨가하여 10 ~ 60분 동안 혼합한 후 가교결합제, 일예로 글루타르알데히드 용액을 첨가하여 수득할 수 있다. 이 경우에도 CNTs에 미부착된 아실라아제를 제거하기 위한 세척공정을 1회 ~ 수회 더 수행할 수 있다.
- [0073] 이를 통해 수득된 방오효소-구조물 복합체(ADS, EAPC)는 보관액 예를 들어 인산염 완충용액 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.
- [0074] 본 발명의 바람직한 실시예에 따르면, 상기 (2)단계는 폴리도파민 코팅층이 형성된 다공성 여재 상부에서 하부방향으로 상기 방오효소-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 방오효소-구조물 복합체의 농도가 높은 경우에도 높은 함량으로 다공성 여재에 도입시키지 못할 수 있다. 그러나 감압여과 공정의 수행으로 상기 용액에 포함된 방오효소-구조물 복합체를 단축된 시간 하에서 충분한 함량으로 다공성 여재의 내부를 비롯하여 하부면에도 도입시킬 수 있는 이점이 있다.
- [0075] 진공여과 후 폴리도파민 코팅층에 방오효소-구조물 복합체를 결합시키기 위한 에이징 단계를 더 수행할 수 있다. 상기 에이징 단계는 상온, 일예로 25°C 에서 10분 이상의 시간으로 방치함을 통해 수행될 수 있으나 이에 제한되지는 않는다.
- [0076] 진공여과 후 방오효소-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.
- [0078] 상술한 제조방법을 통해 구현되는 방오활성을 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.
- [0080] 이하 본 발명을 실시예를 통하여 구체적으로 설명한다. 다만 본 실시예에 의하여 본 발명의 범위가 제한되는 것은 아니다.
- [0082] <준비에 1> - 구조물에 방오효소가 2차원적으로 고정된 복합체 제조 (ADS)
- [0083] 인산 완충액(100 mM pH 7.0)에 직경이 $30 \pm 15\text{nm}$, 길이가 $1 \sim 5\mu\text{m}$ 인 탄소나노튜브(CNTs) 용액(8mg/mL)과 아실라아제(Acylase, AC) 용액(40 mg/mL)을 동일 부피비로 혼합한 후, 1시간 동안 200 rpm으로 교반하였다. 이후 CNTs에 미부착된 AC를 제거하고 트리스 완충액으로 30분 동안 200rpm으로 교반하여 반응하지 않은 작용기를 캡핑(capping)하였다. 원심분리 후 상등액을 제거하고 인산완충액으로 세척 후 4°C 에 보관하였다.

- [0085] <준비에 2> - 구조물에 방오효소가 3차원적으로 고정된 복합체 제조(EAPC)
- [0086] 인산 완충액(100 mM pH 7.0)에 준비한 탄소나노튜브(CNTs) 용액(8mg/mL)과 아실라아제(Acylase, AC) 용액 (40 mg/mL)을 동일 부피비로 혼합한 후, 1시간 동안 200 rpm으로 교반하였다. 이후 황산 암모늄 용액을 최종 농도 0.2g/mL로 첨가하여 30분 동안 혼합한 후, 글루타르알데히드 용액을 최종 농도 0.5% (w/v)가 되도록 첨가하였다. 그 뒤 가교결합의 충분한 반응을 위하여 4℃에서 12시간 동안 50 rpm으로 교반하였다. 이 후, 트리스 완충액으로 30분동안 200 rpm으로 교반하여 반응하지 않은 알데히드 작용기를 캡핑 (capping)하였다. 원심 분리 후 상등액을 제거하고 인산완충액으로 세척 후 4℃ 에 보관하였다.
- [0088] <실시에 1> - ADS 고정된 방오활성을 갖는 멤브레인
- [0089] 평균공경이 0.45 μ m이고, 두께가 100 μ m이고, 평량이 70g/m²인 PVDF 다공성 여재를 준비했다. 이후 농도가 2mg/mL 인 도파민 하이드로 클로라이드와, 1mg/mL인 과요오드산 나트륨(NaIO₄)을 포함하는 도파민 용액을 PVDF 다공성 여재에 도포한 뒤 25℃에서 30분간 방치하여 폴리도파민(polydopamine, pDA) 코팅층을 형성시켰다. 인산완충액으로 세척하여 미코팅된 도파민 성분들을 제거했다. 이후 준비예1에서 제조된 ADS 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 방오효소-구조물 복합체와의 결합을 유도하였다. 이때, 처리된 ADS 복합체의 양은 CNT 중량을 기준으로 막 단위면적당 0.40g/m²의 함량으로 고정되도록 처리했다. 이후 트리스 완충액으로 처리하여 미반응된 작용기를 캡핑(capping)하여 최종 ADS 고정된 방오활성을 갖는 멤브레인을 제조하였다.
- [0091] <실시에 2 ~ 8> - EAPC 고정된 방오활성을 갖는 멤브레인
- [0092] 실시예 1과 동일하게 실시하여 제조하되, ADS 복합체 대신에 준비예2의 EAPC 복합체를 투입하여 EAPC 고정된 방오활성을 갖는 멤브레인을 제조하였다. 이때, 투입되는 EAPC 복합체의 양을 조절하여 멤브레인에 부착되는 방오효소-구조물 복합체의 함량을 하기 표 1과 같이 구현되도록 하였다.
- [0094] <비교예 1> - Free AC를 이용한 방오활성을 갖는 멤브레인 제조(CA membrane)
- [0095] 실시예 1과 동일하게 실시하여 제조하되, ADS 복합체 대신에 Free AC 용액을 투입하여 유리상태의 Free AC가 폴리도파민 코팅층에 고정된 방오활성을 갖는 멤브레인을 제조하였다.
- [0097] <비교예 2> - 무처리된 PVDF 다공성 여재
- [0098] 폴리도파민 코팅층이나 방오효소가 부착되지 않은 무처리 상태의 실시예 1에서 사용된 것과 동일한 PVDF 다공성 여재를 준비하였다.
- [0100] <비교예 3> - 폴리도파민 코팅된 PVDF 다공성 여재
- [0101] 실시예1과 동일하게 실시하여 제조하되, 폴리도파민 코팅층까지만 형성시키고, 방오효소가 부착되지 않은 멤브레인을 제조하였다.
- [0103] <실험예 1> 방오효소-구조물 복합체 및 유리상태 방오효소의 효소활성 및 안정성 측정
- [0104] 방오효소로 세균의 정족수 감지 신호물질을 분해하는 아실라아제(Acylase, AC)를 사용하였다. AC 활성은 N-아세틸-L-메티오닌의 가수분해로 생성되는 L-메티오닌이 α -프탈알데히드(OPA)와 반응하여 나타나는 형광을 이용하여 측정하였다. 도 3에 도시된 바와 같이 준비예1인 ADS-CNTs 와 준비예2인 EAPC-CNTs의 초기 효소 활성은 40 및 72 unit/ μ g CNT로 측정되었다.
- [0105] 효소 안정성(stability)은 인산 완충액상에 샘플을 분산시킨 후, 200rpm 교반을 계속하면서 효소활성 감소를 측

정하여 평가하였다. 구체적으로는 Free AC, 준비예 1에 따른 방오효소-구조물 복합체인 ADS, 준비예2에 따른 방오효소-구조물 복합체인 EAPC 샘플의 상대활성(relative activity)을 200일 간 대비하였다. 도 4를 통해 확인할 수 있듯이, Free AC는 19일 이내에 비활성화 되는 반면, 준비예1의 ADS와 준비예2의 EAPC는 200일 경과 시점에서 각각 23% 및 66%의 상대활성을 유지하였다. 구체적으로는 준비예1에 따른 방오효소-구조물 복합체는 초기 40일 동안 상대활성이 23% 수준으로 저하된 이 후, 200일 경과 시까지 상대활성을 22% 수준으로 안정적으로 유지하였다. 준비예2에 따른 방오효소-구조물 복합체도 유사하게 초기 11일 동안 상대활성이 73%로 저하되었으나, 이 후, 200일 경과 시까지 66%의 상대활성을 안정적으로 유지하였다. 한편, 준비예1에 따른 방오효소-구조물 복합체와 준비예2에 따른 방오효소-구조물 복합체의 초기 활성 손실은 AC 효소의 누출 혹은 구조적 변성에 기인한 것으로 예상된다. 도 4의 결과를 통해 방오효소가 구조물인 CNTs에 단순 흡착된 고정상태에서도 안정화될 수 있음을 확인할 수 있다.

[0107] <실험예 2> - 멤브레인의 단위 여과면당 방오효소 및 구조물 부착량 측정

[0108] 비교예1에 따른 CA 멤브레인 방오효소 부착량은 고정화 전후의 Free AC의 농도변화를 단백질 정량법으로 측정하여 계산하였다. 또한, 실시예1에 따른 ADS 멤브레인 및 실시예2에 따른 EAPC 멤브레인 내 방오효소 부착량은 원소분석(elemental analysis)을 통하여 CNTs에 고정화된 AC의 질량을 측정한 후, CNTs 도포량을 이용하여 계산하였고, 이를 하기 표 1에 나타내었다.

[0109] 또한, 구조물인 CNTs의 부착량은 가스 크로마토그래피 기반의 원소분석법을 통해 측정하였다.

표 1

	방오효소(AC) 부착량(g/m ²)	CNTs 부착량(g/m ²)
비교예1	0.035	0.40
비교예2	0	0.00
실시예1	0.15	0.40
실시예2	0.84	0.40
실시예3	0.042	0.02
실시예4	0.21	0.10
실시예5	0.42	0.20
실시예6	1.26	0.60
실시예7	2.1	1.00
실시예8	4.2	2.00

[0111] 표 1을 통해 확인할 수 있듯이, 비교예1에 따른 CA 멤브레인의 방오효소 부착량은 0.035g/m²로 측정되었다. 반면 실시예1에 따른 ADS 멤브레인 및 실시예2에 따른 EAPC 멤브레인의 효소 부착량은 각각 0.15g/m² 및 0.84g/m²로 측정되어, 비교예1에 따른 CA 멤브레인 대비 효소 부착량이 각각 4.3 배 및 24배로 현저하게 증가한 것을 확인할 수 있다.

[0113] <실험예 3> - 멤브레인의 방오성능 평가

[0114] 도 6은 멤브레인의 방오성능 평가 방법을 나타낸 모식도이다. 구체적으로 비교예2에 따른 PVDF 다공성 여재, 비교예1에 따른 CA 멤브레인, 실시예1에 따른 ADS 멤브레인 및 실시예2에 따른 EAPC 멤브레인 여과면에 모델 세균인 *Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*)를 부착한 후, LB 배지상에서 배양하여 생물막 형성을 유도하였다. 37℃에서 12 시간 배양 후, 여과장치를 이용해서 멤브레인 여과면에 형성된 생물막에 따른 막간 차압(trans-membrane pressure, TMP, kPa)을 측정했고, 그 결과를 도 7에 나타냈다. 결과를 통해 멤브레인별 방오성능을 정량적으로 대비하였으며 막간차압(TMP)이 높아진다는 것은 바이오필름 형성에 의해 멤브레인의 시간당 유량이 감소되었다는 것을 의미하며, 막간차압이 낮게 유지된다는 것은 바이오필름 형성이 방지되어 방오성능이 우수함을 의미한다.

[0116] 도 7은 비교예2(PVDF 다공성여재), 비교예1(CA 멤브레인), 실시예1(ADS 멤브레인) 및 실시예2(EAPC 멤브레인)에 따른 멤브레인 각각에 20 L/m²/h 정유량 운전조건으로 막간 차압(TMP)을 측정하여 정량적으로 비교한 그래프이

다. 구체적으로 방오처리가 되지 않은 비교예2에 따른 PVDF 다공성 여재에서 측정되는 TMP 값을 기준(baseline)으로 했을 때 다른 멤브레인에서 측정되는 TMP가 낮을수록 막오염 억제 성능이 우수하다고 평가할 수 있다.

[0117] 도 7을 통해 확인할 수 있듯이 비교예1에 따른 CA 멤브레인의 방오효과는 비교예2에 따른 PVDF 다공성 여재와 유사수준으로서 방오효과가 미미하였다. 반면에, 실시예1에 따른 ADS 멤브레인과 실시예2에 따른 EAPC 멤브레인은 모두 비교예2에 따른 PVDF 다공성 여재에 비해 정유량 조건에서 TMP가 각각 72% 및 84% 감소하여, 여과면에 효과적으로 방오활성이 부가되었음을 확인할 수 있었다.

[0119] 또한, 도 8은 멤브레인 표면에 형성된 생물막의 구조를 공초점 레이저 주사 현미경 (confocal laser scanning microscopy, CLSM)을 통해 관찰한 결과 이미지이다. CLSM 관찰을 위하여 생물막 내부의 *P.aeruginosa* 세균은 녹색형광을 발하는 Carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester (CFDA-SE)로 염색하였다. 녹색형광을 발하는 부분이 많고 진할수록 생물막의 형성이 조밀하고 성숙한 것이며, 결국 방오성능이 약하거나 없음을 의미한다.

[0120] 구체적으로 도 8을 통해 확인할 수 있듯이, 비교예2에 따른 PVDF 다공성 여재와 비교예1에 따른 CA 멤브레인에서는 조밀하고 성숙한 구조의 생물막이 형성되었다. 반면 실시예1에 따른 ADS 멤브레인 및 실시예2에 따른 EAPC 멤브레인에서는 생물막의 형성이 억제되었음을 알 수 있다.

[0122] <실험예4> - 방오성능 평가

[0123] 실험예3과 동일하게 방오성능을 평가하되, 비교예1~2, 실시예2 ~ 6에 따른 LB 배지상에서 37℃에서 24시간으로 시간을 2배 연장하여 배양하여 생물막 형성을 유도한 멤브레인 별로 막간차압을 측정하여 그 결과를 하기 표 2 및 도 9에 나타내었다.

[0125] <실험예5> - 수투과 저항

[0126] 비교예1~2, 실시예2~5, 실시예 7, 8에 따른 멤브레인에 대해 이하의 방법으로 수투과도를 측정하여 이를 하기 표 2 및 도 10에 나타내었다.

[0127] 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.

[0128] [식]

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

[0129]

[0130] 여기서 R_m = 수투과도 저항, ΔP = TMP, μ : 증류수의 점성=1, Flux: 유량)

[0131] 비교예2에 따른 PVDF 멤브레인을 기준으로 했을 때 측정된 수투과도 저항의 증가 정도가 적을수록 다공성 여재에 도입된 방오효소-구조물 복합체에 기인한 수투과도 영향이 적다고 평가할 수 있다.

표 2

[0133]

	방오효소(AC) 부착량(g/m ²)	CNTs 부착량(g/m ²)	TMP(@20 L/m ² /h,)	수투과 저항
비교예1	0.035	0.40	19.1	1.2
비교예2	0	0.00	19.3	1.2
실시예2	0.84	0.40	3.3	1.4

실시예3	0.042	0.02	15.8	1.3
실시예4	0.21	0.10	11.6	1.3
실시예5	0.42	0.20	3.5	1.4
실시예6	1.26	0.60	5.0	미측정
실시예7	2.1	1.00	미측정	1.9
실시예8	4.2	2.00	미측정	2.7

[0134] 표2, 도 9 및 도 10을 통해 확인할 수 있듯이비교예1, 비교예2에 따른 수처리용 멤브레인에 대비해 실시예 2 ~ 8에 따른 수처리용 멤브레인이 수투과 저항의 증가가 최소화 되는 동시에 우수한 방오성능을 발현하는 것을 확인할 수 있다. 다만, 실시예 8에 따른 수처리용 멤브레인은 실시예 7에 대비해 수투과 저항이 증가한 것을 확인할 수 있다.

[0136] <실험예 6> - 수처리용 멤브레인 표면관찰

[0137] 비교예1 ~ 3 및 실시예2에 따른 수처리용 멤브레인에 대해 주사전자현미경을 통해 멤브레인 상부면의 표면 사진을 촬영하였고, 그 결과를 도 11에 나타내었다.

[0138] 도 11을 통해 확인할 수 있듯이 비교예1~3에 따른 멤브레인과 대비시 실시예 2에 따른 수처리용 멤브레인에는 방오효소-구조물 복합체가 도입되어 고정되어 있는 것을 확인할 수 있다.

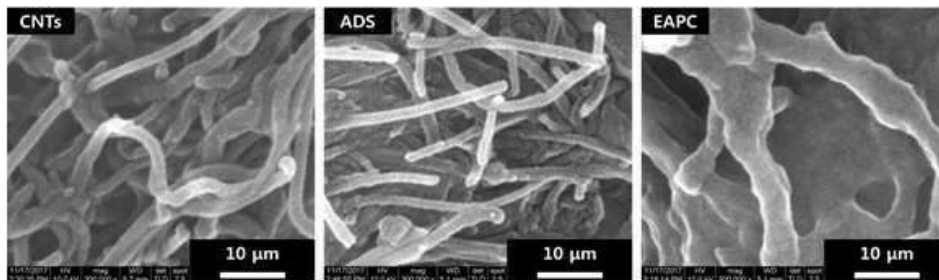
[0140] 이상에서 본 발명의 일 실시예에 대하여 설명하였으나, 본 발명의 사상은 본 명세서에 제시되는 실시 예에 제한되지 아니하며, 본 발명의 사상을 이해하는 당업자는 동일한 사상의 범위 내에서, 구성요소의 부가, 변경, 삭제, 추가 등에 의해서 다른 실시 예를 용이하게 제안할 수 있을 것이나, 이 또한 본 발명의 사상범위 내에 든다고 할 것이다.

도면

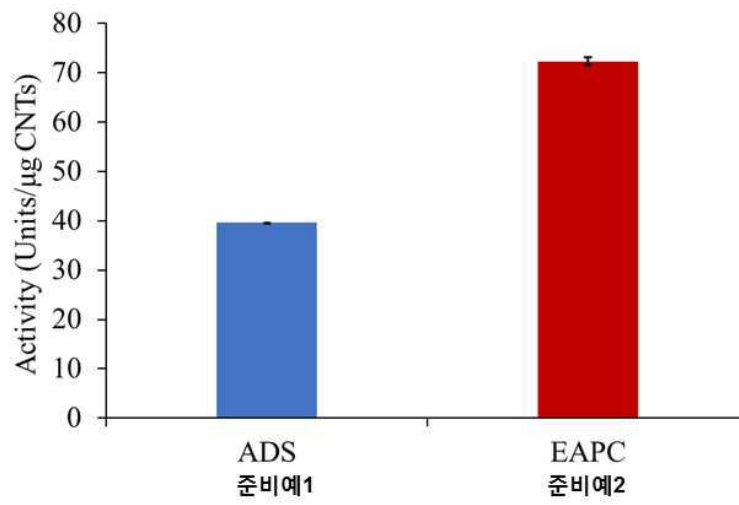
도면1



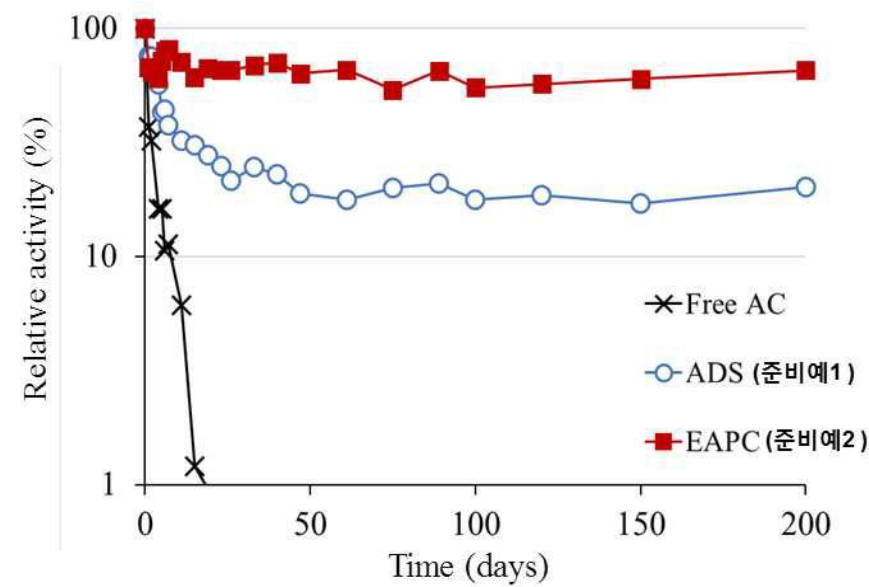
도면2



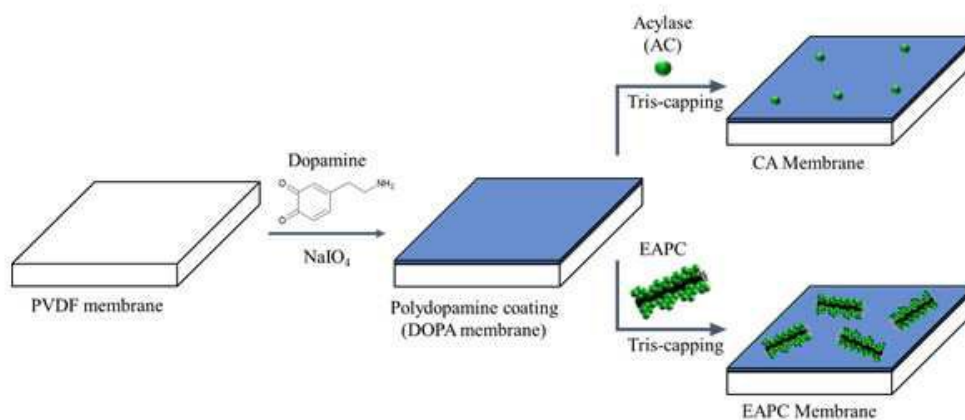
도면3



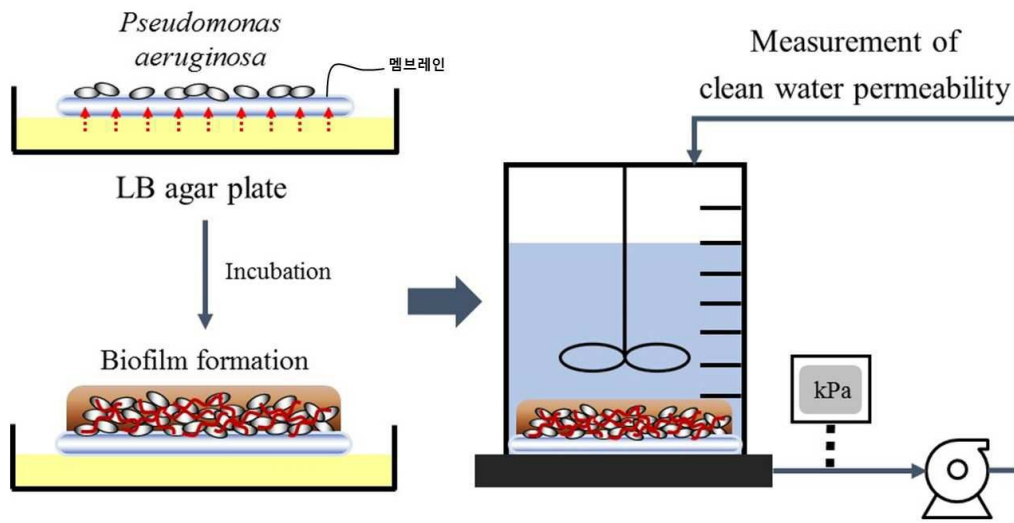
도면4



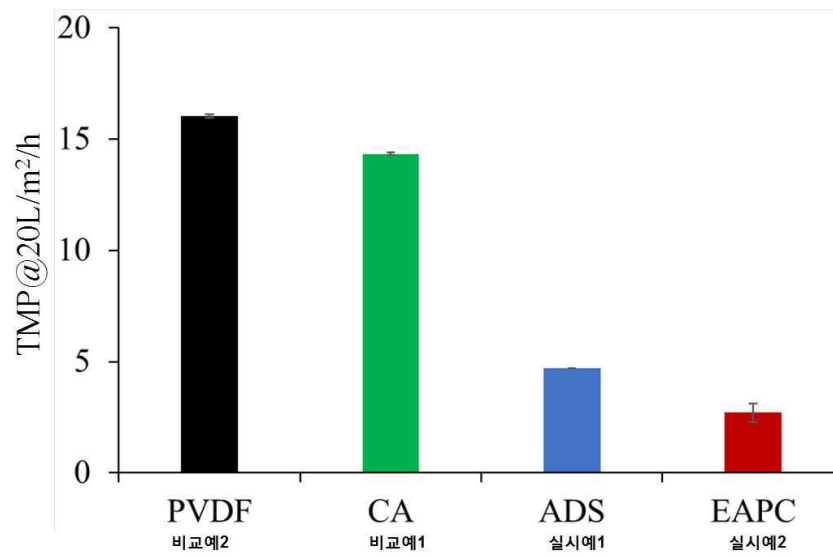
도면5



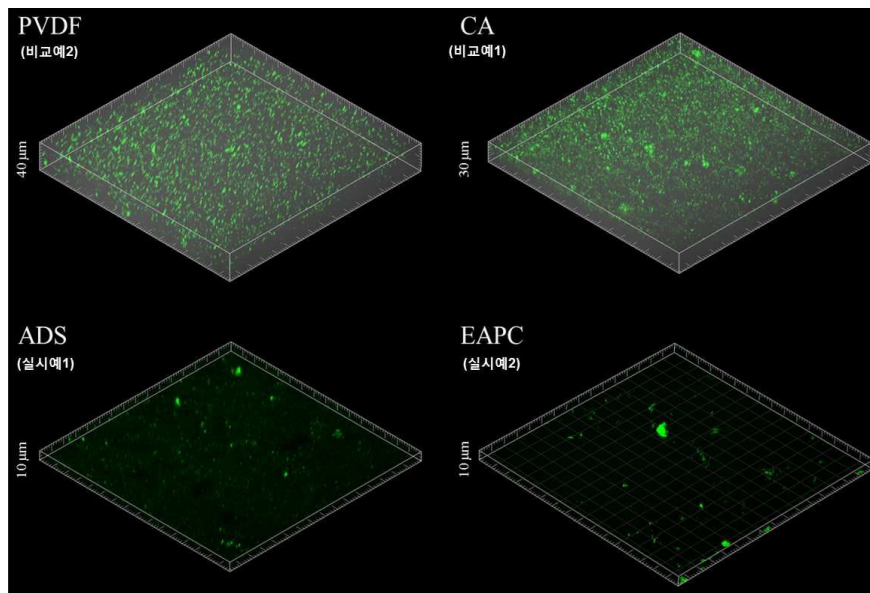
도면6



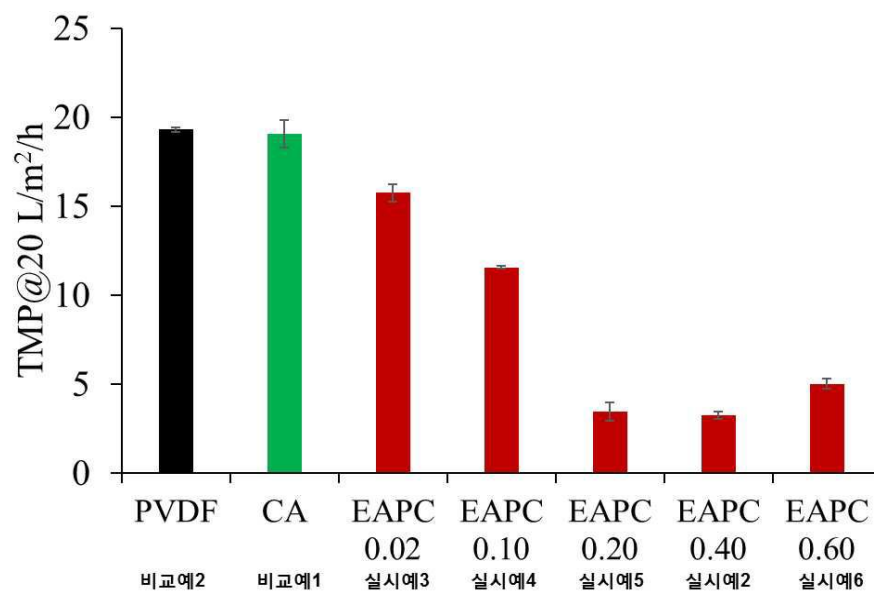
도면7



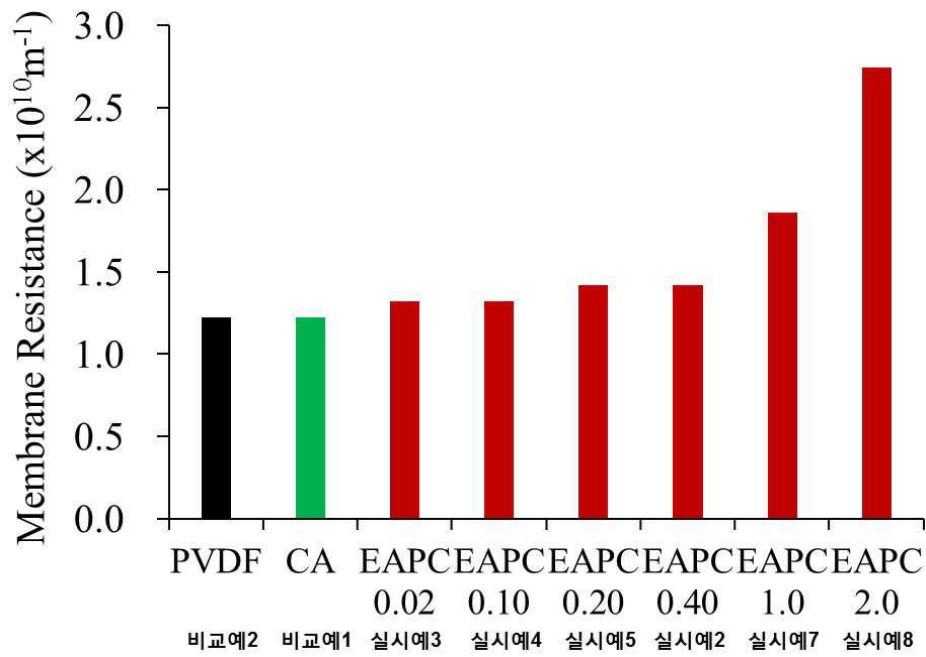
도면8



도면9



도면10



도면11

