



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년11월21일

(11) 등록번호 10-2468996

(24) 등록일자 2022년11월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12P 7/62 (2022.01) C02F 3/12 (2006.01)
C02F 3/34 (2017.01)

(52) CPC특허분류
C12P 7/625 (2022.01)
C02F 3/1221 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2016-7034348

(22) 출원일자(국제) 2015년05월22일

심사청구일자 2020년05월21일

(85) 번역문제출일자 2016년12월07일

(65) 공개번호 10-2017-0005840

(43) 공개일자 2017년01월16일

(86) 국제출원번호 PCT/EP2015/061428

(87) 국제공개번호 WO 2015/181083

국제공개일자 2015년12월03일

(30) 우선권주장

14169905.8 2014년05월26일

유럽특허청(EPO)(EP)

(56) 선행기술조사문헌

WO2011073744 A1

KR1020130048248 A

US20130029388 A1

(73) 특허권자

파크 아이.피. 비.브이.

네덜란드 8561 이엘 바크 잘크 드 보에스트리지트 24

(72) 발명자

디이크만, 헨드릭

네덜란드 에이에이 에이이스트 엔엘-8651 기우카 데 19

지앙, 양

네덜란드 엘티 텔프트 엔엘-2614 모우트모렌 9
(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인씨엔에스

전체 청구항 수 : 총 15 항

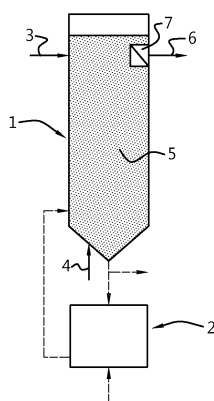
심사관 : 한지혜

(54) 발명의 명칭 미생물 저장 화합물의 제조방법

(57) 요약

본 발명은, 미생물 저장 화합물(microbial storage compound)을 제조하는 방법, 특히 이러한 미생물 저장 화합물을 축적할 수 있는 미생물들을 사용하는 폴리하이드록시알카노에이트를 제조하는 방법에 관한 것이며, 여기서 이러한 미생물들은 선택되고, 상기 미생물 저장 화합물은 동일 반응기에서 선택된 미생물들에서 미생물 저장 화합물의 선택 단계 및 축적의 소위 피스트 상(feast phase)을 수행함으로써 그리고 별도의 더욱 작은 반응기에서 선택 단계의 소위 페민 상(famine phase)을 수행함으로써 축적된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C02F 3/1263 (2013.01)

C02F 3/34 (2013.01)

C02F 2203/004 (2013.01)

(72) 발명자

타미스, 젤머

네덜란드 피더블유 텔프트 엔엘-2613 그라스원켈스
트라아트 4

마랑, 레오니

네덜란드 엠케이 텐 호른 엔엘-2635 아크테르디이
크쇼른 27

클리레베젬, 로베르트

네덜란드 비에이치 텐 하그 엔엘-2498 겔레 리스
136

반 루스드레흐트, 마리누스 코넬리스 마리아

네덜란드 에이제이 텐 하그 엔엘-2548 토마텐라안
14

명세서

청구범위

청구항 1

- a) 용이하게 생분해 가능한 COD(Readily Biodegradable COD)(RBCOD)를 포함하는 폐수의 스트림을, PHA를 축적할 수 있는 미생물들을 포함하는 활성화된 슬러지를 함유하는 제 1 반응기에 공급하고, 혼합물에서 용존 산소의 존재 및 적어도 10 mg/l의 용이하게 생분해 가능한 COD의 존재를 포함하는 PHA-축적 반응 조건들에 제 1 반응기에서의 슬러지를 0.25 내지 5 h의 제 1 기간 동안 가하여서, 슬러지의 건조된 중량을 기준으로 적어도 30중량%의 수준으로 PHA를 포함하는 활성화된 슬러지를 얻는 단계; 및
 - b) PHA를 포함하는 활성화된 슬러지의 일부를 제 1 반응기로부터 제 2 반응기까지 전달하고, PHA를 포함하는 활성화된 슬러지의 일부를 제 1 반응기에서 보유하는 단계;
 - c) PHA를 포함하는 활성화된 슬러지의 일부를 함유하는 제 1 반응기에, RBCOD를 포함하는 폐수의 스트림을 공급하고, 용존 산소의 존재 및 적어도 10 mg/l의 용이하게 생분해 가능한 COD의 존재를 포함하는 PHA-축적 조건들에, 슬러지를 2 내지 24 h의 제 2 기간 동안 가하여서, 슬러지의 건조된 중량을 기준으로 적어도 60중량%의 수준까지 PHA가 더욱 풍부한 활성화된 슬러지 및 처리된 폐수를 얻는 단계; 및
 - d) PHA가 더욱 풍부한 활성화된 슬러지를 제 1 반응기로부터 생성물 스트림으로서 인출하는 단계;
 - e) 용존 산소의 존재를 포함하는 폐민(famine) 반응 조건들에, 액체 반응 매질 중 제 2 반응기에서 PHA를 포함하는 활성화된 슬러지를 2 내지 24 시간의 제 3 기간 동안 가하여서, PHA를 축적할 수 있는 미생물이 풍부한 활성화된 슬러지를 얻는 단계; 및
 - f) 단계 e)에서 얻어진 PHA를 축적할 수 있는 미생물이 풍부한 활성화된 슬러지를 제 1 반응기에 전달하여서, 단계 a)에서 PHA를 축적할 수 있는 미생물들을 포함하는 활성화된 슬러지를 형성하는 단계를 포함하는
- 폴리하이드록시알카노에이트(PHA)를 제조하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서,
미생물은 박테리아인 방법.

청구항 3

제1항에 있어서,
폐수의 스트림 중의 용이하게 생분해 가능한 COD의 농도는 0.5 내지 50 그램/리터, 또는 1 내지 20 그램/리터인 방법.

청구항 4

제3항에 있어서,
폐수의 스트림은 휘발성 지방산을 0.5 내지 50 그램/리터, 또는 1 내지 20 그램/리터의 범위의 농도로 포함하는 방법.

청구항 5

제1항에 있어서,
단계 c) 및 e)는 동시에 수행되는 방법.

청구항 6

제1항에 있어서,
단계 a)에서의 제 1 기간은 0.5 내지 2 시간의 범위인 방법.

청구항 7

제1항에 있어서,
단계 c)에서의 제 2 기간은 4 내지 12 시간의 범위인 방법.

청구항 8

제1항에 있어서,
단계 e)에서의 제 3 기간은 4 내지 12 시간인 것인 방법.

청구항 9

제1항에 있어서,
폐수의 스트림은 단계 a) 및 c) 동안 연속적으로 제 1 반응기에 공급되고, 처리된 폐수의 스트림은 단계 a) 및 c) 동안 제 1 반응기로부터 연속적으로 인출되는 방법.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서,
단계 b), d) 및 f)는 각각 제 1, 제 2 및 제 3 기간의 완료 후에 수행되는 방법.

청구항 11

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서,
단계 b), d) 및 f) 중 하나 이상은 연속적으로 수행되는 방법.

청구항 12

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서,
단계 b)에서, 전달된 부분은 적어도 40중량%이고, 보유된 부분은 PHA를 포함하는 활성화된 슬러지의 적어도 30%인 방법.

청구항 13

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서,

단계 b)에서 제 1 반응기로부터 제 2 반응기까지 전달된 PHA를 포함하는 활성화된 슬러지의 일부는 제 2 반응기에 공급되기 전에 농축되는 방법.

청구항 14

제13항에 있어서,

제 1 반응기로부터 제 2 반응기까지 전달된 PHA를 포함하는 활성화된 슬러지의 일부는 제 1 반응기로부터 인출되기 전에 제 1 반응기에서 농축되는 방법.

청구항 15

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서,

제 2 반응기의 부피는 제 1 반응기의 부피의 50% 이하인 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 발명의 분야

[0002] 본 발명은 미생물 저장 화합물을 제조하는 방법, 구체적으로는 미생물 저장 화합물(microbial storage compound)을 축적하는 미생물들을 사용하여 폴리하이드록시알카노에이트(polyhydroxyalkanoate)(PHA)를 제조하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 배경

[0004] 호기성 폐수 처리에 사용되는 슬러지에서 발견되는 일부 미생물은 예비(reserve) 화합물로서 미생물 저장 화합물, 예컨대 폴리(하이드록시알카노에이트)(PHA)를 제조할 수 있는 것으로 알려져 있다. 최근, 바이오플라스틱(bioplastic)에서의 용도와 같이 박테리아로부터 폴리하이드록시알카노에이트를 회수하기 위하여, PHA-축적 박테리아에서의 폴리하이드록시알카노에이트의 축적이 최대화되어 있는 폐수 처리 방법들에 대한 관심이 있다.

[0005] PHA 또는 다른 저장 화합물들을 제조할 수 있는 미생물들을 선택하기 위한 방법들은 당해 분야에 공지되어 있으며, 전형적으로는 기질이 박테리아로부터 저지되어 있는(withhold) 소위 폐민 상(famine phase)과, PHA-축적 화합물을 포함하는 슬러지가 용이하게 생분해 가능한 유기 화합물들(소위 용이하게 생분해 가능한 화학적 산소 요구(readily biodegradable chemical oxygen demand) 또는 RBCOD)을 포함하는 기질과 함께 공급되는 소위 피스트 상(feast phase)을 교호하고 있는 일부 사이클들을 포함한다. 피스트 상에서, PHA-축적 박테리아는 휘발성 지방산과 같은 RBCOD를 PHA로 변환시킨다. 폐민 상에서, 박테리아에서 축적된 PHA는 공급물(feed)로서 사용되며, 이로 인해 PHA 또는 다른 박테리아 저장 화합물들을 축적할 수 있는 이들 박테리아의 선택의 결과로 이어진다.

[0006] 예를 들어, W000/52189에서는, 기질이 첨가되는 상(피스트 상) 및 기질이 저지되는 상(폐민 상)에 교호적으로 미생물들을 가함으로써 제 1 단계에서 PHA를 축적할 수 있는 미생물들이 선택되는 폴리하이드록시알카노에이트의 제조를 위한 방법을 개시하고 있다. 축적 단계에서, PHA는 제 1 단계에서 기질에 대하여, 바람직하게는 지방산-포함 스트림에 대하여 선택된 미생물의 일부를 가함으로써 축적된다. W000/52189의 방법에서, 피스트 및 폐민 상들이 교호하는 선택 단계는 제 1 반응기에서 수행되고, 축적 단계는 별도의 제 2 반응기에서 수행된다.

[0007] W02011/073744는 또한 바이오매스를 피스트 및 폐민 조건들에 교호적으로 가함으로써 PHA를 생산할 수 있는 미생물들(바이오매스)을 선택하는 방법을 개시하고 있다. W02011/073744의 방법에서, 피스트 및 폐민 조건들은

동일 반응기에서 또는 별도의 반응기들에서 순차적으로 적용될 수 있다. 선택 방법으로부터 인출된(withdraw) 슬러지(바이오매스)는 별도의 단계에서의 추가 축적에 또는 PHA의 추출에 가해질 수 있다.

[0008] W02012/023114에서는, 피스트 조건들에서 용이하게 생분해 가능한 화학적 산소 요구(Readily Biodegradable Chemical Oxygen Demand)(RBCOD) 공급 속도를 사용하는 순차 회분식 반응기(Sequencing Batch Reactor)(SBR) 시스템에서 피스트-폐민 조건들의 반복 사이클들에 바이오매스를 가함으로써 폐수의 처리에서 사용된 바이오매스의 PHA-축적 포텐셜을 증가시키기 위한 W02011073744와 유사한 방법을 개시하고 있다. 2014년 7월 17일자에 공개된 W02014/108864에서는 연장된 보조 폐민 공정을 포함하는 유사한 방법을 다시 기재하고 있다. 이들 모든 방법에서, 임의의 축적 단계가 별도의 반응기에서 수행된다.

[0009] W02013/022874는 폐민-피스트 체제(famine-feast regime)가 동일한 에어레이션 바신(aeration basin)에 제공되는 방식으로 에어레이션 바신에서 반송(return) 슬러지를 이용하는 PHA의 제조방법을 개시하고 있다. 반송 슬러지는 상대적으로 낮은 식품-바이오매스 비율이 적용되는 반송 스트림 반응기에서 처리될 수 있다. 축적에 대해서는 전혀 개시되거나 또는 제안되고 있지 않다.

[0010] 세라핌(Serafim) 등의 *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **81** (2008) 615-628 및 벵트손(Bengtsson) 등의 *Bioresource Technology* **99** (2008) 509-516에서는, 피스트 및 폐민 사이클들이 단일(선택) 반응기에서 수행될 수 있는, 순차 회분식 또는 연속 반응기들에서 혼합 배양액들을 이용한 PHA의 제조를 위한 방법들을 개시하고 있다. 그러나, 축적 사이클은 항상 별도의 반응기에서 수행되고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0011] (특허문헌 0001) W000/52189
(특허문헌 0002) W02011/073744
(특허문헌 0003) W02012/023114
(특허문헌 0004) W02014/108864
(특허문헌 0005) W02013/022874

비특허문헌

- [0012] (비특허문헌 0001) 세라핌(Serafim) 등의 *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **81** (2008) 615-628
(비특허문헌 0002) 벵트손(Bengtsson) 등의 *Bioresource Technology* **99** (2008) 509-516

발명의 내용

해결하려는 과제

[0013] 발명의 요약

[0014] PHA-제조할 수 있거나 또는 다른 미생물 저장 화합물들을 제조할 수 있는 미생물의 선택 방법 및 선택된 미생물의 미생물 저장 화합물의 추가 축적은, 동일한 반응기에서 선택된 미생물들에서 미생물 저장 화합물의 선택 단계 및 축적의 소위 피스트 상을 수행함으로써, 그리고 별도의 반응기에서의 선택 단계의 소위 폐민 상을 수행함으로써 개선될 수 있음이 현재 밝혀졌다.

[0015] 따라서, 발명은 하기 단계들을 포함하는, 미생물 저장 화합물을 제조하는 방법을 제공한다:

[0016] a) RBCOD를 포함하는 유기 화합물들을 포함하는 폐수의 스트림을, 미생물 저장 화합물을 축적할 수 있는 미생물들을 포함하는 활성화된 슬러지를 함유하는 제 1 반응기에 공급하여서, 폐수에서의 활성화된 슬러지의 혼합물을 형성하고, 용존 산소의 존재를 포함하는, 미생물 저장 화합물을 제조하는(즉, 축적하는) 반응 조건들에 제 1 반응기에서의 슬러지를 제 1 기간("피스트 상") 동안 가하여서, 처리된 폐수에서의 미생물 저장 화합물을 포함하

는 활성화된 슬러지를 얻는 단계;

- [0017] b) 미생물 저장 화합물을 포함하는 활성화된 슬러지의 일부를 제 1 반응기로부터 제 2 반응기까지 전달하고, 미생물 저장 화합물을 포함하는 활성화된 슬러지의 일부를 제 1 반응기에서 보유하는 단계;
- [0018] c) 미생물 저장 화합물을 포함하는 활성화된 슬러지의 일부를 함유하는 제 1 반응기에, RBCOD를 포함하는 유기 화합물들을 포함하는 폐수의 스트림을 공급하고, 용존 산소의 존재를 포함하는 축적 조건들에 슬러지를 제 2 기간("축적 상") 동안 가하여서, 미생물 저장 화합물이 더욱 풍부한 활성화된 슬러지 및 처리된 폐수를 얻는 단계;
- [0019] d) 미생물 저장 화합물이 더욱 풍부한 활성화된 슬러지를 제 1 반응기로부터 생성물 스트림으로서 인출하는 단계;
- [0020] e) 용존 산소의 존재 및 감소된 기질 공급을 포함하는 페민 반응 조건들에, 액체 반응 매질 중 제 2 반응기에서 미생물 저장 화합물을 포함하는 활성화된 슬러지를 제 3 기간("페민 상") 동안 가하여서, 미생물 저장 화합물을 축적할 수 있는 미생물이 풍부한 활성화된 슬러지를 얻는 단계; 및
- [0021] f) 단계 e)에서 얻어진 미생물 저장 화합물을 축적할 수 있는 미생물이 풍부한 활성화된 슬러지를 제 1 반응기에 전달하여서, 단계 a)에서 미생물 저장 화합물을 축적할 수 있는 미생물들을 포함하는 활성화된 슬러지를 형성하는 단계.

과제의 해결 수단

- [0022] 발명의 상세한 설명
- [0023] 본 발명에 따른 방법은 미생물 저장 화합물을 제조하는 방법이다. 방법에서, 용이하게 생분해 가능한 화학적 산소 요구(readily biodegradable chemical oxygen demand)(RBCOD)를 포함하는 유기 화합물들을 포함하는 폐수의 스트림은, 목적하는 미생물 저장 화합물을 축적할 수 있는 미생물들을 포함하는 활성화된 슬러지를 함유하는 제 1 반응기에 공급된다.
- [0024] 본 발명과 관련하여, 하기 정의들이 적용된다:
- [0025] - "미생물 저장 화합물(microbial storage compound)"은 박테리아, 곰팡이 및 조류와 같은 미생물들에 의해 그들의 잉여 에너지를 저장하기 위해 생산된 화합물들이다. 화합물들은 에스테르, 폴리에스테르, 트라이글리세라이드, 다른 지방 및 오일, 및 글라이코겐과 같은 다당류를 포함한다. 하이드록시-카복실산의 분자간 에스테르 화로부터 제조된 폴리에스테르는 미생물 저장 화합물의 중요한 부류이며, 가장 두드러진 것들로는 폴리-하이드록시알칸산 에스테르, 특히 폴리-β-하이드록시알칸산 에스테르, 예컨대 하기 식을 갖는 폴리-β-하이드록시뷰티레이트(PHB) 및 폴리-β-하이드록시발레레이트(PHV), 뿐만 아니라 이들의 공중합체를 포함하되, 여기서, n은 수십 내지 수백 또는 심지어는 수천까지의 범위일 수 있다.
- [0026]
$$[-O-CH(CH_3)-CH_2-CO-]_n,$$
 PHB
- [0027]
$$[-O-CH(C_2H_5)-CH_2-CO-]_n,$$
 PHV
- [0028] 폴리-하이드록시알칸산 에스테르(또는 폴리-옥시알카노에이트)는 통상적으로(그리고 본원에서) 폴리하이드록시알카노에이트(PHA)로서 지칭된다.
- [0029] - "화학적 산소 요구(Chemical oxygen Demand)"(COD)는 더욱 작은 분자들로, 궁극적으로는 이산화탄소 및 물로 산화될 수 있는 유기 물질을 지칭하며, 상기 용어는 폐수의 리터당 유기 물질을 산화시키는 데 필요한 산소의 양을 표기한다.
- [0030] - "생분해 가능한 COD(Biodegradable COD)"는 바이오매스 성장을 위해 동화될 수 있는(assimilate) 폐수에서의 유기 물질을 지칭한다.
- [0031] "기질(Substrate)"은 미생물에 의해 그들의 성장을 허용하는 동화를 위한 기질, 즉 생분해 가능한 COD와 동등한 것을 위한 기질을 의미한다.
- [0032] "용이하게 생분해 가능한 화학적 산소 요구(Readily Biodegradable Chemical Oxygen Demand)(RBCOD)"는 이후 추가로 예시되는 바와 같이 미생물들에 의해 신속하게 동화될 수 있는 상대적으로 작은 유기 분자들을

지칭한다.

- [0033] "기타 생분해 가능한 화학적 산소 요구(Other Biodegradable Chemical Oxygen Demand)(OBCOD)"는 RBCOD 이외의 생분해 가능한 COD를 지칭하는 데, 즉 더욱 복잡하고 덜 접근 가능한 유기 화합물들, 예컨대 복합 다당류, 지방 및 단백질, 뿐만 아니라 상대적 적은 산소-함유 기들 및 상대적 큰 탄화수소 기들을 갖는 유기 화합물들, 예컨대 장쇄 지방산들을 지칭한다.
- [0034] "폐수(Wastewater)"는 그것이 환경으로 재사용되거나 또는 배출될 수 있기 전에 처리될 필요가 있는 COD를 포함하는 수성 스트림을 지칭한다. 용어 폐수는 예컨대 바이오-기반 또는 다른 산업들로부터의 공정 수, 부산물 또는 중간생성물 스트림들, 예컨대 당 주스(sugar juice) 또는 리커(liquors), 도시 폐수, 농업 폐수 및 고체 생분해 가능한 폐기물, 예컨대 도시 고체 폐기물 및 농업 고체 잔류물(residue)을 포함한다.
- [0035] 앞서 한정된 바와 같이, RBCOD는 미생물의 성장을 위해 동화될 수 있고 혼히는 가수분해를 필요로 하지 않고서 저장 화합물에 신속하게 용해되어(take up) 변환될 수 있는 상대적으로 간단한 유기 분자들을 지칭한다. 이러한 RBCOD의 예들로는 단쇄 지방산으로서도 지칭되는 휘발성 지방산, 즉 6개의 탄소 원자를 갖는 것들, 예컨대 폼산, 아세트산, 프로피온산, 뷰티르산, 아이소뷰티르산, 발레르산, 아이소발레르산 및 카프로산, 하이드록시산, 예컨대 락트산, 탄수화물, 예컨대 다당류 및 이당류, 우론산, 알코올, 케톤, 및 6개 이하의 탄소 원자를 갖는 알데히드, 및 이들의 2개 이상의 조합들이 포함된다. 즉, RBCOD는 분자당 6개 이하의 탄소 원자를 갖고 분자당 적어도 하나의 하이드록실(C-OH) 또는 케톤(C=O) 산소 원자를 가지며 4개의 탄소 원자당 적어도 하나의 산소 원자를 갖는 유기 화합물, 바람직하게는 탄소, 수소 및 산소 원자들만을 갖는 유기 화합물, 뿐만 아니라 이당류를 포함한다. RBCOD의 농도는, 분취량의 폐수가 특정된 양의 바이오매스와 함께 제어된 조건들 하에서 기질로 펄스-공급되는 경우(pulse-feed) 신속하게 사용되는 폐수 COD의 비율을 결정하는 호흡률(respirometry)의 표준화된 방법들에 의해 결정될 수 있다. 호흡률의 적합한 표준화된 방법의 일례는 헨즈(M. Henze) 등의 *Activated Sludge Models ASM1, ASM2, ASM2d and ASM3*, IWA Publishing, London, 2000, p. 16-17; ISBN 1900222248에 개시되어 있다.
- [0036] 폐수 스트림은 a) 단계에서 회분식으로 또는 연속적으로 제 1 반응기에 공급될 수 있다. 폐수 스트림은 RBCOD를 포함하는 임의의 폐수 스트림일 수 있다. 이러한 폐수 스트림들의 예들로는, 도시, 산업 또는 농업 폐수 또는 고체 생분해 가능한 폐기물의 침출수를 포함한다. 스트림은 이와 같이 도시, 산업 또는 농업 폐수 또는 공정 스트림 또는 잔류 스트림일 수 있거나, 또는 소위 OBCOD를 RBCOD로 변환시키기 위해 사전 처리된, 예컨대 사전 가수분해된, 및/또는 당 또는 다른 화합물들을 카복실산, 바람직하게는 휘발성 지방산 또는 락트산으로 변환시키기 위하여 사전 산성화되거나 또는 발효된 도시, 산업 또는 농업 폐수일 수 있다. 따라서, 본 발명의 방법은, 분리된 반응기에서, 예컨대 부분 발효(가수분해, 산발효(acidogenesis), 아세트산발생(acetogenesis))가 달성되는 혐기성 형성 반응기에서 미가공 폐수가 가수분해 및/또는 발효에 가해지는 선행 단계를 포함할 수 있다.
- [0037] 단계 a)에서 제 1 반응기에 공급된 폐수의 스트림은 OBCOD를 추가로 포함할 수 있다. 바람직하게는, 폐수의 스트림은 OBCOD보다 더 많은 RBCOD를 포함한다. 바람직하게는, 폐수의 스트림은 RBCOD를 리터당 0.5 내지 50 그램, 더욱 바람직하게는 리터당 1 내지 20 그램의 범위로 포함한다. 폐수의 스트림은 바람직하게는 휘발성 지방산들을 더욱 바람직하게는 리터당 0.5 내지 50 그램의 범위로, 더욱더 바람직하게는 리터당 1 내지 20 그램의 범위로 포함한다.
- [0038] 활성화된 슬러지는 목적하는 미생물 저장 화합물을 제조할 수 있는 미생물들을 포함한다. 바람직하게는, 미생물 저장 화합물은 PHA이고, 방법은 PHA를 제조하는 공정이다. 이 경우, 활성화된 슬러지는 PHA-축적 미생물들, 바람직하게는 PHA-축적 박테리아를 포함한다. 공정이 정상 상태로(steady state) 작동되면, 활성화된 슬러지는 폐민 단계 e)에서 얻어진 축적 미생물들이 더욱 풍부한 활성화된 슬러지이며, 단계 f)에서 제 1 반응기로 전달된다. 공정의 시작에서, 제 1 반응기는 이러한 축적 미생물을 포함하는 활성화된 슬러지 또는 다른 샘플들로, 또는 목적하는 미생물 저장 화합물, 특히 PHA를 축적할 수 있는 미생물들의 균주들로 접종될 수 있다(inoculate). 제 1 반응기에 공급된 폐수의 스트림이 목적하는 미생물 저장 화합물을 축적할 수 있는 미생물들을 포함하는 경우, 공정은 슬러지로 또는 이러한 미생물로 제 1 반응기를 접종하지 않고서 시작될 수 있다.
- [0039] 미생물 저장 화합물을 축적할 수 있는 PHA-축적 박테리아 및 다른 미생물들은, 전형적으로 오일, 천연수 또는 혼합된 바이오매스 샘플들에서 발견되는 것과 같은 미생물들의 비무균 배양액(non-axenic culture)에서 존재한다. 이들은 또한 통상의 도시 폐수 플랜트들로부터 격리되거나 또는 이들로부터 풍부해질 수 있다. PHA-축적 박테리아는 알칼리게네스(*Alcaligenes*)(예컨대, *A. latus*), 랄스토니아(*Ralstonia*)(예컨대, *R. eutropha*), 쿠프리아비두스(*Cupriavidus*)(예컨대, *C. necator*), 크로마티움(*Chromatium*)(예컨대, *C. vinosum*) 미코박테리움

(*Mycobacterium*), 바실루스(*Bacillus*), 슈도모나스(*Pseudomonas*) 등과 같은 다양한 속(genus)에 속할 수 있다. 이들은 다양한 탄소 공급원, 예컨대 글루코스, 메탄올, 에탄올, 아세테이트 및/또는 다른 지방산들에 대하여 특이적으로 또는 비특이적으로 성장할 수 있다. 예컨대, 탄(Tan GY.A.) 등의 *Polymers* **2014**, 6, 706-754; 후양(Huang Y-T.) 등의 *J. Microbiol. Biotechnol.* **2012**, 22, 1141-47을 참고한다. 속 플라스틱이쿠물란스(*Plasticicumulans*), 예컨대 피 액시디보란스(*P. acidivorans*)(아세테이트-소비) 및 피 락카타티보란스(*P. lacatativorans*)(락테이트-소비)의 박테리아가 특히 유용하며, 예컨대 타미스(Tamis J.) 등의 *J. Biotechnology* **2014**, 192, 161-169를 참조한다.

- [0040] 단계 a)에서 제 1 반응기에 폐수를 공급함으로써, 폐수에서의 활성화된 슬러지의 혼합물은 제 1 반응기에서 형성된 후, 혼합물은 제 1 기간 동안 미생물 예비 화합물을 축적하는 반응 조건들, 특히 PHA-축적 반응 조건들에 가해져서, 처리된 폐수에서 미생물 저장 화합물을 포함하는 활성화된 슬러지를 얻었다. 시간의 기간은 회분식 작업의 경우에 혼합물에 적용된다. 폐수가 간헐적으로 또는 연속적으로 첨가된다면(따라서 처리된 폐수가 간헐적 또는 연속적으로 배출된다면), 시간의 기간은 (연속적으로) 배출된 처리된 폐수와 함께 배출되지 않는 슬러지의 보유 기간에 적용되거나, 또는 (반)연속적 슬러지 교환의 경우 평균 보유 시간에 적용된다.
- [0041] 미생물 예비 화합물을 제조하는 반응 조건들, 특히 PHA-제조 반응 조건들은, 소위 피스트 조건들이며, RBCOD의 형태인 기질의 존재 및 용존 산소의 존재를 포함한다. 본원에서 용존 산소를 참조하는 경우, 이것은 달리 지적되지 않는 한 용존 산소 분자를 의미한다. 용존 산소를 갖기 위해, 바람직하게는 산소-분자-포함 기체, 더욱 바람직하게는 공기가 제 1 반응기에 공급된다. 이것은 단계 a) 동안 연속적으로 또는 불연속적으로, 바람직하게는 연속적으로 수행될 수 있다.
- [0042] RBCOD의 그리고 용존 산소의 양들은 이들이 미생물 저장 화합물의 제조를 제한하지 않도록 존재한다. 최소 농도의 RBCOD 및 용존 산소는 반응기에서 존재하는 미생물 저장 화합물을 축적할 수 있는 미생물들의 양, 제조되는 미생물 저장 화합물 및 다른 공정 조건들, 예컨대 반응기에서의 혼합물의 온도 및 pH에 좌우될 것으로 이해할 것이다. 바람직하게는, 용존 산소 농도는 리터당 적어도 0.32 mg, 더욱 바람직하게는 적어도 0.5 mg O₂/일 것이다. RBCOD의 농도는 바람직하게는 적어도 10 mg/L일 것이다.
- [0043] 미생물 저장 화합물이 PHA이고 공정이 PHA를 제조하는 공정인 경우, 단계 a)에서의 PHA-축적 반응 조건들은 바람직하게는 4 내지 10, 더욱 바람직하게는 6 내지 8 범위의 pH, 10 내지 50 °C, 더욱 바람직하게는 20 내지 40 °C 범위의 온도, 0 내지 20 mS/cm 범위의 전도도를 포함한다.
- [0044] 피스트 단계 a) 동안, 미생물 저장 화합물을 축적할 수 있는 미생물들은, RBCOD를 미생물 저장 화합물로 변환시킴으로써 미생물 저장 화합물을 제조한다. 이렇게 형성된 미생물 저장 화합물은 미생물들에서 전형적으로 과립의 형태로 저장된다. 따라서, 미생물 저장 화합물을 포함하는 활성화된 슬러지는 처리된 폐수에서 형성된다. 단계 a)에서의 미생물 저장 화합물 축적 반응 조건들은 제 1 기간 동안 유지된다. 제 1 기간은 시간의 사전 결정된 기간, 바람직하게는 0.25 내지 5 시간, 더욱 바람직하게는 0.5 내지 2 시간의 범위의 시간의 사전 결정된 기간일 수 있다. 대안적으로, 특정한 최소 농도의 RBCOD가 달성될 때(폐수의 회분식 공급 및 이것과 함께 기질의 공급의 경우), 특정 양의 미생물 저장 화합물이 제조될 때, 또는 산소 소비가 감소될 때, 제 1 기간은 종료된다. 대안적으로, 단계 a) 동안 제 1 반응기에서 혼합물에서의 RBCOD 농도는 폐수의 스트림의 공급을 조정함으로써 일정하게 유지될 수 있다. 그 다음, 폐수 공급의 유량이 특정 값 이하로 떨어질 때 제 1 기간은 종료될 수 있다.
- [0045] 미생물 저장 화합물이 PHA인 경우, 제 1 기간은 활성화된 슬러지에서의 PHA-축적 박테리아가 단계 a)의 말단에서 슬러지의 건조 중량에 기초하여 적어도 30중량%의 PHA, 예컨대 30 내지 50중량%, 또는 심지어 적어도 50%의 PHA, 예컨대 80중량% 이하의 PHA를 축적하도록 하는 것이 바람직하다. 바람직하게는, 제 1 기간은, 사전 결정되거나 또는 그렇지 않은 지에 따라, 0.25 내지 5 시간, 더욱 바람직하게는 0.25 내지 2 시간, 또는 심지어는 0.5 내지 2 시간의 범위이다. 폐수가 피스트 상에서 반연속적으로 또는 연속적으로 제 1 반응기에 공급되는 경우, 시간의 기간들은, 폐수의 것이 아닌, 슬러지의 (평균) 보유 시간들을 지칭한다.
- [0046] 제 1 기간 후, 즉 피스트 상 후, 미생물 저장 화합물을 포함하는 활성화된 슬러지의 일부는 제 1 반응기로부터 제 2 반응기까지 전달되고, 미생물 저장 화합물을 포함하는 활성화된 슬러지의 일부는 제 1 반응기에서 보유된다(단계 b)). 이는 단계 a)의 말단에서 제 1 반응기에 함유되는 활성화된 슬러지와 처리된 폐수의 혼합물의 일부를 제 2 반응기에 전달함으로써 수행될 수 있다. 바람직하게는, 단계 a)의 말단에서 제 1 반응기에 함유된 혼합물은 고체에서, 즉 제 2 반응기로 전달되기 전에 미생물 저장 화합물을 포함하는 활성화된 슬러지에서 농축된다. 고체들의 농도는 바람직하게는 인자(factor) 2 이상이고, 더욱 바람직하게는 인자 4 이상이다. 이러한

농도는 당해 분야에 공지된 수단에 의해, 예컨대 제 1 반응기의 내부 또는 외부에서 슬러지의 침강(sedimentation)에 의해, 또는 제 1 반응기의 내부 또는 외부에서 고체-액체 분리기에 의해 수행될 수 있다. 적합한 고체-액체 분리기들은 당해 분야에 공지되어 있으며, 침강기(settler), 하이드로사이클론, 원심분리, 멤브레인 및 벨트 필터를 포함한다. 바람직하게는, 이러한 농도는 제 1 반응기의 내부에서 침강기에서, 더욱 바람직하게는 침강에 의해 수행된다. 이러한 침강은 단계 a)의 종료에서 제 1 반응기에 대한 폐수 및 공기의 공급을 중단시킴으로써 달성될 수 있다.

[0047] 이러한 슬러지를 제 2 반응기에 전달하기 전에 활성화된 슬러지를 농축하는 장점은, 더욱 작은 제 2 반응기가 사용될 수 있다는 것이다. 단계 e)에서 제 2 반응기에서 수행된 폐민 상이 단계 a)에서 제 1 반응기보다 더욱 높은 고체(슬러지) 대 액체 비율에서 작동될 수 있기 때문에, 슬러지를 선택적으로 제 2 반응기에 전달하는 것이 유리하다. 액체 상을 더욱 적게 제 1 반응기로부터 제 2 반응기까지 전달하는 추가의 장점은, 더욱 적은 OBCOD를 제 2 반응기에 전달되며, 따라서 목적하지 않는 부가적 집단들(side population), 즉 원하지 않는 OBCOD-산화 바이오매스의 성장을 최소화시키는 것이다. 더욱이, 목적하는 바이오매스 축적 저장 화합물이 목적하지 않는 바이오매스보다 무겁기 때문에, 이러한 슬러지를 제 2 반응기에 전달하기 전의 활성화된 슬러지의 농도는, 전달되는 활성화된 슬러지에서 목적하는 축적 미생물들로부터 분리되도록 수행되는 것이 유리할 수 있다.

[0048] 바람직하게는, 처리된 폐수의 일부는, 제 1 반응기로부터 제 2 반응기까지, 전형적으로는 폐민 단계 e)에서 액체 반응 매질로서 제공하도록 슬러지와 처리된 폐수의 (농축된) 혼합물과 함께 전달된다. 대안적으로, 처리된 폐수는 우선 내부 또는 외부 분리기에서 고체 슬러지로부터 분리된 후, 분리된 처리된 폐수의 일부는 폐민 단계 e)에서 액체 반응 매질로서 제공하도록 제 2 반응기에 전달될 수 있다. 일부 상황들에서, 예컨대 폐수의 스트림이 상대적으로 높은 염 농도를 갖고 제 2 반응기에서의 폐민 상(단계 e))이 바람직하게는 더욱 낮은 염 농도에서 작동되는 경우, 처리된 폐수는 제 2 반응기에 전달되지 않거나 또는 최소량으로 전달되고, 폐민 단계 e)에서 액체 반응 매질로서 제공하도록 새로운 수성 액체가 제 2 반응기에 공급된다.

[0049] 미생물 저장 화합물을 포함하는 활성화된 슬러지의 일부는 제 1 반응기에서 보유된다. 바람직하게는, 적어도 30중량%, 더욱 바람직하게는 40 내지 60중량%의 범위의 슬러지가 단계 a) 후에 제 1 반응기에서 보유된다. 잔여물, 바람직하게는 적어도 30중량% 내지 70중량%, 더욱 바람직하게는 40 내지 60중량%가 제 2 반응기에 전달된다.

[0050] 바람직하게는, 처리된 폐수의 상당한 양은 단계 a) 후에 그리고 단계 b) 동안 제 1 반응기에서 보유되어서, 축적 단계 c)의 시작에서 제 1 반응기를 충전하기 위해 큰 완충 부피의 액체가 필요하지 않게 된다.

[0051] 단계 c)에서, 미생물 저장 화합물을 포함하는 활성화된 슬러지의 일부가 보유되어 있는 제 1 반응기에, RBCOD를 포함하는 유기 화합물을 포함하는 폐수의 스트림이 공급되어서, 폐수에서 이러한 활성화된 슬러지의 혼합물을 형성한다. 그 다음, 이 혼합물은 제 2 기간 동안 미생물 저장 화합물 축적 조건들에 가해진다(축적 상). 이러한 조건들 하에서, 슬러지에서의 축적 미생물들은 RBCOD를 미생물 저장 화합물로 변환시키면서 미생물 저장 화합물을 추가로 축적시킨다. 이와 같이, 미생물 저장 화합물이 더욱 풍부한 활성화된 슬러지가 얻어진다. 다시, (반)-연속 모드에서, 즉 폐수가 간헐적으로 또는 연속적으로 첨가된다면, 시간의 기간은 이와 같이 혼합물에 적용되지 않고 슬러지에 적용되며, 이는 (연속적으로) 배출된 처리된 폐수와 함께 배출되지 않는 데; 이는 시간의 기간이 슬러지의 (평균) 보유 시간을 지칭하는 것을 의미한다.

[0052] 축적 조건들은 RBCOD의 존재 및 용존 산소의 존재를 포함한다. 축적 단계 c)에서 제 1 반응기에서 혼합물에서의 RBCOD 및 용존 산소의 양들은, 이들이 미생물 저장 화합물의 축적을 제한하지 않도록 하는 것이다. RBCOD 및 용존 산소의 최소 농도들은 반응기에서 존재하는 축적 미생물들의 양, 제조된 미생물 저장 화합물 및 다른 공정 조건들, 예컨대 반응기에서 혼합물의 온도 및 pH에 의존할 것이다. 바람직하게는, 용존 산소 농도는 리터당 적어도 0.5 mg O₂/일 것이다. RBCOD의 농도는 바람직하게는 적어도 10 mg/L일 것이다. 미생물 저장 화합물이 PHA이고 공정이 PHA를 제조하는 공정인 경우, 단계 c)에서의 PHA-축적 반응 조건들은 바람직하게는 4 내지 10, 더욱 바람직하게는 6 내지 8 범위의 pH, 10 내지 50 °C, 더욱 바람직하게는 20 내지 40 °C 범위의 온도, 0 내지 20 mS/cm 범위의 전도도를 포함한다.

[0053] 축적 조건들은 바람직하게는 단계 a)에서 미생물 저장 화합물을 축적하는 반응 조건들과 동일하다. 피스트(단계 a) 및 축적(단계 c) 동안 성장을 최소화하기 위하여, 제 1 반응기에 공급된 폐수에서는 바람직하게는 하나 이상의 영양물질들, 예컨대 질소(중량에 기초하여 300 대 1 초과와 생분해 가능한 COD 대 N 비율)이 제한되거나, 또는 인(중량에 기초하여 1500 대 1 초과와 생분해 가능한 COD 대 P 비율)이 제한된다.

- [0054] 바람직하게는, 축적 단계 c)에서 제 1 단계에 공급되는 폐수의 스트림은, 피스트 단계 a)에서 제 1 반응기에 공급된 폐수의 스트림과 동일하다. 바람직한 실시양태에서, 미생물 저장 화합물을 포함하는 활성화된 슬러지가 제 1 반응기에서 침강되도록 하기 위하여, 제 1 반응기로의 산소 분자 및 폐수의 연속적인 공급이 단계 a) 후에 일시적으로 중단된다. 그 다음, 침강된 슬러지의 일부는 단계 b)에서 전형적으로 처리된 폐수의 일부와 함께 제 2 반응기에 전달된다. 그 다음, 제 1 반응기로의 산소 분자 및 폐수의 공급은 축적 단계 c)를 시작하도록 다시 시작된다. 제 1 반응기로의 산소 분자 및 폐수의 연속적인 공급을 갖는 이러한 실시양태에서, 산소 및 폐수의 공급의 유량은 단계 a) 및 c)의 실시시간(runtime) 동안 변할 수 있다.
- [0055] 단계 c)는 제 2 기간 동안 수행된다. 제 2 기간은 시간의 사전 결정된 기간, 바람직하게는 2 내지 24 시간의 범위, 더욱 바람직하게는 4 내지 24 시간, 또는 심지어 4 내지 12 시간의 범위의 사전 결정된 기간일 수 있다. 대안적으로, 특정 최소 농도의 RBCOD가 달성될 때(폐수 및 이와 함께 기질의 회분식 공급의 경우), 특정 양의 미생물 저장 화합물이 제조될 때, 또는 산소 소비가 감소될 때, 제 2 기간은 종료된다. 대안적으로, 단계 c) 동안 제 1 반응기에서 혼합물에서의 RBCOD 농도는 폐수의 스트림의 공급을 제어함으로써 일정하게 유지할 수 있다. 그 다음, 제 2 기간은 폐수 공급의 유량이 특정 값 미만으로 떨어질 때 종료될 수 있다. 제 2 기간, 즉 축적 상의 길이는 바람직하게는 제 1 기간, 즉 피스트 상보다 길다. 특히, 제 2 기간은 제 1 기간보다 적어도 2배, 예컨대 24배 이하면만큼 길고, 더욱 특히는 4 내지 20배 길다.
- [0056] 미생물 저장 화합물이 PHA인 경우, 제 2 기간은 바람직하게는 활성화된 슬러지에서의 PHA-축적 박테리아가 단계 c)의 종료시 슬러지의 건조 중량에 기초하여 적어도 60중량%, 더욱 바람직하게는 적어도 70중량%, 더욱더 바람직하게는 적어도 80중량%의 PHA, 예컨대 90중량% 이하의 PHA를 축적하도록 한다.
- [0057] 처리된 폐수는 단계 a) 및/또는 c) 동안 또는 단계 a)의 종료시 또는 단계 b) 도중 회분식으로 제 1 반응기로부터 연속적으로 인출될 수 있다. 처리된 폐수가 단계 a) 및/또는 c) 동안 제 1 반응기로부터 연속적으로 인출되는 경우, 제 1 반응기는 바람직하게는 슬러지가 제 1 반응기에서 보유되도록 처리된 폐수로부터 임의의 슬러지를 분리하기 위해 침강기를 포함한다. 이러한 침강기는 처리된 폐수를 위해 반응기의 내부에, 바람직하게는 출구 직전 반응기의 상부에서, 또는 분리된 슬러지의 제 1 반응기로의 재순환과 함께 반응기의 외부에 위치할 수 있다. 처리된 폐수의 연속적 인출과 함께 제 1 반응기로부터 슬러지가 인출되지 않도록 방지하기 위한 침강기는, 단계 b)에서 제 2 반응기에 전달되는 활성화된 슬러지를 농축하는 데 사용될 수 있는 침강기와 다른 침강기임을 이해할 것이다.
- [0058] 축적 단계 c)의 종료시, 즉 제 2 기간 후, 미생물 저장 화합물이 더욱 풍부한 활성화된 슬러지는 단계 d)에서 생성물 스트림으로서 제 1 반응기로부터 인출된다. 미생물 저장 화합물은 예컨대 바이오플라스틱에서의 용도를 위한 하나 이상의 추가 단계들에서 이 생성물 스트림으로부터 회수될 수 있다. 이러한 단계들은 당해 분야에 잘 공지되어 있으며, 미생물 저장 화합물을 수확하기 위한 미생물 세포들의 파괴(disruption) 및 추가의 정제 단계들을 전형적으로 포함한다.
- [0059] 단계 e)에서, 제 2 반응기에서 미생물 저장 화합물을 포함하는 활성화된 슬러지는 액체 반응 매질에서, 전형적으로 제 1 반응기로부터 처리된 폐수의 액체 반응 매질에서 제 3 기간 동안 소위 페민 조건들에 가해져서, 미생물 저장 화합물을 축적할 수 있는 미생물들이 풍부한 활성화된 슬러지를 얻는다. 페민 조건들은 용존 산소의 존재 및 기질 공급의 부재, 즉 BCOD의 첨가 없이, 또는 단계 a)의 피스트 상 동안에서보다 낮은 평균 수준에서의 기질의 존재를 포함하여서, 단계 e) 동안 RBCOD 공급은 미생물들에 의한 흡수율(rate of uptake)보다 상당히 낮다. 따라서, 단계 e)는, 성장을 위해 저장 화합물을 사용하여 미생물들이 시작하는 단계에서, RBCOD 농도가 저장 화합물(예컨대, PHA)을 축적하는 미생물들에 의해 반응되어 제거되는(react away) 것을 의미하는 RBCOD의 고갈을 포함한다. 특히, 기질의 공급은 실질적으로 0이다. 목적하지 않는 미생물들은 존재하는 OBCOD를 소비함으로써 페민 상에서 성장할 수 있다. 이는 앞서 기재된 바와 같이 OBCOD 공급이 바람직하게 최소화되는 이유이다.
- [0060] 이러한 페민 조건들은 당해 분야에 잘 공지되어 있으며, 당해 분야에 공지된 적합한 페민 조건들이 적용될 수 있다. 페민 단계 e)에서, 액체 반응 매질에서 생분해 가능한 COD(RBCOD 및 OBCOD)의 농도는 피스트 단계 a)에서의 생분해 가능한 COD의 농도보다 바람직하게는 0.1배 미만, 더욱 바람직하게는 0.02배 미만이다. 즉, 이것은 페민 단계 e)의 초기 단계에서 이들 더욱 낮은 수준에 도달한다. 특히, 단계 e)의 액체 반응 매질에서 RBCOD 단독의 농도는 바람직하게는 피스트 단계 a)에서의 RBCOD의 농도보다 바람직하게는 0.1배 미만, 더욱 바람직하게는 0.02배 미만에 도달한다. 용존 산소의 농도는 바람직하게는 미생물 저장 화합물을 축적할 수 있는 미생물들의 성장을 제한하지 않도록 하는 것이다. 바람직하게는, 단계 e)에서 제 2 반응기에서의 용존 산소의

농도는 액체 반응 매질 리터당 적어도 0.32 mg, 적어도 0.5 mg이다.

- [0061] 단계 e)는 목적하는 미생물의 성장이 발생하는 단계이기 때문에, 이러한 성장에 필수적인 영양물질들이 액체 반응 매질에서 존재하는 것이 중요하다. 필수 영양물질들의 농도가 제 1 반응기로부터 제 2 반응기까지 전달되는 처리된 폐수에서 이러한 미생물들의 성장을 제한하는 경우, 단계 e) 직전 또는 도중 이러한 영양물질들을 제 2 반응기에 첨가하는 것이 바람직하다. P의 공급원, 예컨대 포스페이트, N의 공급원, 예컨대 암모니아, 암모늄, 유레아 또는 나이트레이트, 기타 매크로 원소들 또는 미량 원소들, 또는 이들의 조합들을 포함하는 영양물질들이 첨가될 수 있다.
- [0062] 단계 e) 후, 미생물 저장 화합물을 축적할 수 있는 미생물들이 풍부한 활성화된 슬러지는 제 2 반응기로부터 인출되고, 제 1 반응기에 전달되어서, 단계 a)에서 미생물 저장 화합물을 축적할 수 있는 미생물들을 포함하는 활성화된 슬러지를 형성한다.
- [0063] 제 3 기간은 바람직하게는 사전 결정된 시간의 기간, 더욱 바람직하게는 2 내지 24 시간, 더욱 바람직하게는 4 내지 24 시간 범위의 사전 결정된 시간의 기간, 더욱더 바람직하게는 4 내지 12 시간의 범위이다. 이것은 특별히 제 2 반응기에서 슬러지의 보유 시간에 적용되거나, 또는 (반)연속적 슬러지 교환의 경우 평균 보유 시간에 적용된다.
- [0064] 발명의 바람직한 실시양태에서, 축적 단계 c) 및 폐민 단계 e)는 동시에 수행되며, 바람직하게는 상당한 길이를 갖는다. 즉, 제 2 및 제 3 반응 시간은 대략 동일하다. 따라서, 제 3 기간은 바람직하게는 제 1 기간보다 적어도 2배, 예컨대 24배 이하만큼 길며, 더욱 특히는 4 내지 20배 길다. 제 2 기간(축적 단계)보다 실질적으로 더 긴 제 3 기간(폐민 상)을 갖는 것이 요구되는 경우, 하나 초과와 제 2 반응기들과 함께, 바람직하게는 2개의 제 2 반응기들과 함께 본 발명에 따른 공정을 작동시키는 것이 바람직하다. 그 다음, 2개의 제 2 반응기들의 경우, 공정의 앞선 사이클의 피스트 상(단계 a))에서 얻어진 활성화된 슬러지를 사용하는 폐민 상(단계 e))에서 목적하는 축적 미생물들이 풍부한 활성화된 슬러지는, 단계 f)에서 제 1 반응기에 전달된다. 이 방식으로, 각각의 제 2 반응기에서의 체류 시간은 제 1 기간의 1배 플러스 제 2 기간의 2배만큼 길 수 있다. 따라서, 폐민 상에서의 체류 시간은 축적 단계에서의 체류 시간보다 약 2배이며, 제 1 기간의 길이의 40배 이하일 수 있다(피스트 상).
- [0065] 축적 단계 c)의 종료시, 활성화된 슬러지는 생성물 스트림으로서 제 1 반응기로부터 인출된다(단계 d)). 바람직하게는, 필수적으로 모든 활성화된 슬러지는 단계 d)에서 제 1 반응기로부터 인출된다. 바람직하게는, 활성화된 슬러지는 제 1 반응기로부터 선택적으로 인출되는 데, 즉 반응기에서 액체 상의 대부분을 보유하면서 이루어진다. 슬러지의 선택적 인출의 하나의 장점은, 펌핑 및 완충 액체를 덜 필요로 한다는 것이다. 이러한 선택적 인출은 당해 분야에 공지된 수단에 의해, 예컨대 침강된 슬러지를 인출하기 전에 제 1 반응기에서 슬러지가 침강되도록 우선 허용함으로써 수행될 수 있다. 대안적으로, 제 1 반응기의 내부 또는 외부에서 적합한 고체/액체 분리기, 예컨대 침강기, 원심분리, 하이드로사이클론, 필터 또는 멤브레인이 사용될 수 있다. 제 1 반응기의 외부에서 고체/액체 분리가 발생되면, 이것은 재순환 루프에서 수행되는 것이 바람직하며, 분리된 액체의 대부분은 제 1 반응기에 재순환된다.
- [0066] 제 1 반응기에서 축적 단계 및 제 2 반응기에서의 폐민 상의 체류 시간들을 정렬시킴으로써, 최적의 사용은 제 1 및 제 2 반응기에서 이루어진다. 더욱이, 산소 및 기질 공급에 비추어 피스트 상 및 축적 단계에 대한 요건들이 견줄만한 한편, 폐민 상의 것은 상이하기 때문에, 피스트 및 축적 단계들 이외의 여러 반응기에서 폐민 단계를 수행함으로써 반응기 치수화(dimensioning)가 최적화될 수 있다. 따라서, 통상적으로 피스트 및 폐민 상들이 단일 반응기에서 수행되는 종래 기술 공정들에서의 경우인 반응기의 과치수화(over-dimensioning)가 회피된다.
- [0067] 제 1 반응기에서의 단계 a) 및 c)에서 그리고 제 2 반응기에서의 단계 e)에서 목적하는 용존 산소 농도들은, 이들 단계 동안 제 1 반응기 또는 제 2 반응기에 산소 분자 또는 다른 산소-포함 산화제를 공급함으로써, 바람직하게는 공기의 스트림을 관련 반응기에 연속적으로 공급함으로써 유지된다.
- [0068] 제 2 반응기의 부피는 전형적으로 제 1 반응기의 부피보다 작다. 바람직하게는, 제 2 반응기의 부피는 제 1 반응기의 부피의 5% 내지 많아야 50%, 더욱 바람직하게는 제 1 반응기의 부피의 10% 내지 20%의 범위로 존재한다. 이것은 제 1 반응기에서 단계 a) 및 c)에서보다 더욱 큰 슬러지 대 액체 반응 매질 비율이 사용될 수 있는 단계 e)(폐민 상)에서의 사실에 주로 기인한다. 바람직하게는, 단계 e)에서 슬러지 대 액체 반응 매질의 비율은 단계 a) 및 c)에서보다 2 내지 10배의 범위로, 더욱 바람직하게는 5 내지 8배 더 큰 범위로 존재한다.

[0069] 발명의 방법의 바람직한 실시양태에서, 단계 a) 및 c)는 공급 폐수에 대하여 회분식 또는 연속적으로 수행되고, 단계 b), d) 및 f)는 전달 슬러지에 대해 회분식으로 수행된다. 즉, 앞서 추가로 설명된 바와 같이, 각각의 제 1, 제 2 및 제 3 기간들의 완료 후에 이루어진다. 발명의 다른 실시양태에서, 단계 b), d) 및 f) 중 하나 이상은 연속적으로 또는 반-연속적으로(간헐적으로), 즉 각각 단계 a), c) 및 e) 동안 수행된다. 이러한 완전하게 연속적인 모드에서, 피스트, 축적 및 폐민 조건들에 다양한 슬러지들을 가하기 위한 제 1, 제 2 및 제 3 기간들은 각각 제 1 반응기에서 그리고 제 2 반응기에서 평균 슬러지 보유 시간들에 적용되고; (이들은, 슬러지가 제 2 반응기에 반송되기 전(단계 a)), 생성물 슬러지가 제 1 반응기로부터 배출되기 전(단계 c)), 그리고 성장된 슬러지가 제 1 반응기에 반송되기 전(단계 e))의 시간들임).

발명의 효과

[0070] 본 발명에 따른 방법의 바람직한 실시양태의 중요한 장점은, 바이오매스(슬러지)의 배분된 보유 시간과 같이 연속 처리의 전형적인 단점들 없이, 선택 단계 및 축적 단계의 피스트 상이 연속 반응기에서 수행될 수 있으며, 여기서 폐수는 기질과 함께 연속적으로 공급되고, 처리된 폐수는 반응기로부터 연속적으로 인출되는 것이다. 축적 단계 c) 후에 제 1 반응기로부터 슬러지를 배출시킴으로써 그리고 폐민 상 e) 후에 제 2 반응기로부터 슬러지를 배출시킴으로써, 각 단계 a), c) 및 e)에서의 바이오매스 보유 시간은 좁게 한정된다. 따라서, 공정은 연속 반응기의 장점들과 순차 회분식 반응기의 장점들을 합친 것이며, 즉 대형 펌프 및 완충 부피 용량(buffer volume capacity)에 대한 요건이 없고 상대적으로 짧은 시간에 액체를 대량으로 수송할 필요가 없다. 추가 장점은 별도의 축적 반응기가 필요없다는 것이다.

도면의 간단한 설명

[0071] 도 1 내지 7은 본 발명에 따른 방법의 실시양태의 순차적인 단계들에서 제 1 및 제 2 반응기 및 고체 및 유체 스트림들을 개략적으로 제시한다. 도 1 내지 7은 함께 공정의 전체 사이클을 제시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0072] 도면에서의 동일한 참조 숫자들은 동일한 의미를 갖는다. 점선들은 스트림이 흐르지 않는 도관들을 제시하고, 정상적인 선들은 공정의 지적된 단계 동안 스트림이 흐르는 도관들을 제시한다.

[0073] 도 1은 발명에 따른 공정의 소위 피스트 상(단계 a))을 나타낸다. 도 1에서, 제 1 반응기(1) 및 제 2 반응기(2)가 제시된다. 휘발성 지방산들을 포함하는 폐수의 스트림은 도관(3)으로 제 1 반응기(1)에 연속적으로 공급되고, 공기는 도관(4)으로 제 1 반응기(1)에 연속적으로 공급된다. 제 1 반응기(1)는 (처리된) 폐수에 분산된 PHA-축적 박테리아를 포함하는 활성화된 슬러지의 혼합물(5)을 함유한다. 반응기는 소위 피스트 조건들(PHA-제조 반응 조건들) 하에서 작동된다. 이들 조건 하에서, 휘발성 지방산들은 활성화된 슬러지에서 PHA-축적 박테리아에 의해 PHA로 변환된다. 따라서, PHA-포함 활성화된 슬러지가 얻어진다. 처리된 폐수는 도관(6)을 통해 반응기(1)로부터 연속적으로 인출된다. 침강기(7)는 처리된 폐수로부터 슬러지를 분리시키고, 이와 함께 슬러지는 제 1 반응기(1)에서 보유된다.

[0074] 도 2는 공정에서 후속적인 침강 단계를 제시한다. 각각 도관(3 및 4)을 통해 폐수 및 공기의 공급을 중단시킴으로써, PHA-포함 활성화된 슬러지는 침강이 허용되고, 농축된 PHA-포함 활성화된 슬러지의 층(8)이 형성된다. 층(8) 위에, 처리된 폐수에 분산된 PHA-포함 활성화된 슬러지의 더욱 희석된 혼합물(11)이 존재한다.

[0075] 도 3은 공정의 후속적인 단계 b)를 제시하며, 여기서 농축된 PHA-포함 활성화된 슬러지는 도관(9)을 통해 제 2 반응기(2)에 전달된다(층(8)의 대략 절반이 제 2 반응기(2)에 전달된다). 현재 제 2 반응기(2)는 처리된 폐수에서 PHA-포함 활성화된 슬러지의 농축된 혼합물(12)을 함유한다.

[0076] 도 4는 제 1 반응기(1)에서의 후속적 축적 단계 c) 및 제 2 반응기(2)에서의 폐민 단계 e)를 제시한다. 단계 c) 및 e)는 동시에 수행된다. 도관(3 및 4)을 통한 제 1 반응기(1)로의 폐수 및 공기의 공급은 다시 시작되며, 처리된 폐수는 라인(6)을 통해 반응기(1)로부터 연속적으로 인출된다. 단계 c) 동안의 조건들은 단계 a)에서의 것과 필수적으로 동일하다. 단계 c) 동안, PHA는 PHA-축적 박테리아에서 추가로 축적되며, 처리된 폐수에 분산된 PHA가 더욱 풍부한 활성화된 슬러지의 혼합물(13)이 얻어진다.

[0077] 동시 단계 e)에서, 공기는 도관(14)을 통해 제 2 반응기(2)에 공급된다. 제 2 반응기(2)에는 기질이 공급되지 않는다. 이들 소위 폐민 조건들 하에서, 즉 기질의 농도가 제한되는 조건들 하에서, 단계 a)에서 PHA를 제조하고 저장하는 박테리아가 선택적으로 성장하고, PHA-축적 박테리아가 더욱 풍부한 활성화된 슬러지(15)가 얻어진다.

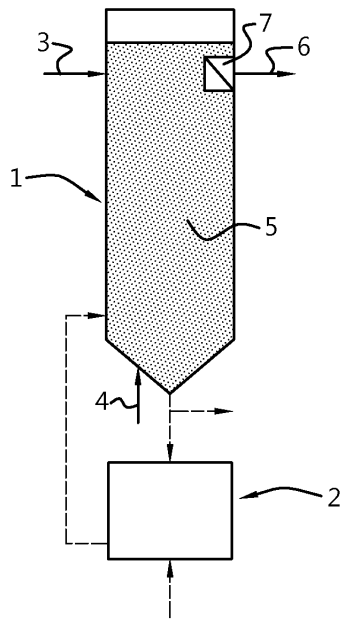
다.

- [0078] 도 5는 공정에서 후속적인 침강 단계를 제시한다. 각각 도관(3 및 4)을 통한 폐수 및 공기의 공급을 중단시킴으로써, 제 1 반응기(1)에서 PHA가 더욱 풍부한 활성화된 슬러지는 침강이 허용되고, PHA가 더욱 풍부한 농축된 슬러지의 층(16)이 형성된다.
- [0079] 도 6은 후속적인 단계 d)를 제시하며, 여기서 PHA가 더욱 풍부한 농축된 슬러지는 생성물 스트림으로서 도관(17)을 통해 제 1 반응기(1)로부터 인출된다.
- [0080] 도 7은 후속적인 단계 f)를 제시하며, 여기서 PHA-축적 박테리아가 더욱 풍부한 활성화된 슬러지는 도관(18)을 통해 제 2 반응기(2)로부터 제 1 반응기(1)까지 전달되어서, 후속적인 단계 a)에서, 즉 공정의 후속적인 사이클의 제 1 단계에서 사용되는 PHA-축적 박테리아를 포함하는 활성화된 슬러지를 형성한다. 도 1 내지 7에서 제시된 바와 같이 공정의 사이클들을 반복함으로써, PHA-축적 박테리아에 대한 선택 압력(selection pressure)이 달성된다.
- [0081] 실시예
- [0082] 이후 추가로 정제될 수 있는 높은 PHA 함량을 갖는 바이오매스로의 폐수에서 존재하는 RBCOD의 변환은 2개의 단계들을 필요로 한다:
- [0083] 첫번째, 목적하는 PHA-축적 박테리아의 가능한 높은 함량을 갖는 바이오매스의 요구된 양을 제조하기 위해 효율적인 선택 공정이 요구된다. 전형적으로 이것은 박테리아가 짧은 시간으로 RBCOD를 PHA로 전환시키고, PHA를 바이오매스로 변환시킴으로써 더욱 긴 시간으로 성장시키는 피스트-페민 체제(Feast-Famine regime)로 수행된다. 페민 시간은 전형적으로 피스트 시간보다 10배 초과 더 길다.
- [0084] 두번째, 이 바이오매스는 세포들에서 PHA 함량을 최대화하기 위하여 높은 양의 RBCOD-함유 폐수와 접촉시킬 필요가 있다(축적 단계).
- [0085] 약 85중량% PHA를 함유하는 바이오매스를 제조하기 위하여, 바이오매스 제조를 위해 약 20%의 RBCOD-함유 폐수가 사용되고, 축적 단계에서 PHA 제조를 위해 약 80%가 사용된다.
- [0086] 종래 기술은 별도의 단계들로서 선택 및 축적을 고려한다. 본 발명은 선택과 축적이 합쳐지는 통합된 시스템의 장점들을 제시한다.
- [0087] 실시예(비교)
- [0088] 이 실시예는, 모든 반응기들을 위해 전달된 최대 1 kg/m³.h 산소 추정되는 합쳐진 피스트/축적 반응기 및 별도의 페민 반응기와 비교되는, 별도의 선택(피스트-페민) 순차 회분식 반응기(Sequencing Batch Reactor)(SBR) 및 별도의 축적 반응기를 사용하여 예측된 바이오리액터 사이징(Bioreactor sizing)을 제시한다. 피스트 및 축적 상에서 산소 요건은 PHA로 변환된 kg 아세테이트당 약 0.3 kg O₂인 것으로 밝혀졌다. 페민 상에서 요구된 산소의 절대량은 피스트 상과 필적할만하지만, 페민 시간이 피스트 상보다 10배 초과 더 많아짐에 따라, 요구된 산소 전달률은 SBR 셋업(set-up)의 경우에서와 같이 피스트 및 페민 상들을 위해 동일한 반응기 부피가 사용되는 경우보다 10배 초과 작아진다. 따라서, 피스트 상에서 요구된 산소 전달률은 산소 전달이 제한하는 반응기 부피를 결정한다. 이는 정상적으로는 상승된 RBCOD 농도들에서의 경우일 것이다.
- [0089] 허용 가능한 전체 폐수:
- [0090] RBCOD 농도 : 4 g/l (kg/m³) 아세테이트
- [0091] 시간-평균 폐수 흐름 : 100 m³/h
- [0092] 하나의 (피스트-페민) 순차 회분식 반응기에서의 선택:
- [0093] 선택에 대한 시간-평균 폐수 흐름: 20 m³/h
- [0094] 시간-평균 아세테이트 적재: 20 x 4 = 80 kg/h
- [0095] 피스트 + 페민 사이클: 12 h, 여기서 피스트 시간 : 40 분(0.667 h) 및 페민 시간 : 11 h 20 m (11.333 h)
- [0096] 오직 피스트 상 도중의 아세테이트 흡수(uptake): 80 x 12 h / 0.667 h = 1440 kg/h 아세테이트

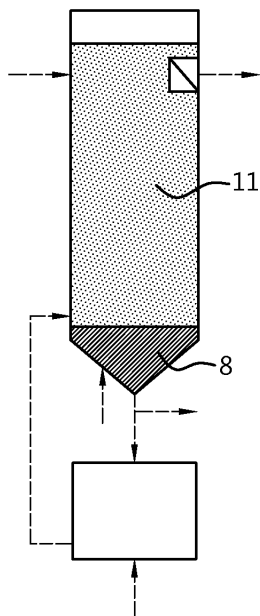
- [0097] 피스트 상에서의 산소 요건 = $1440 \times 0.3 = 432 \text{ kg/h O}_2$.
- [0098] 최대 $1 \text{ kg/m}^3 \cdot \text{h}$ 및 평균 $1 \text{ kg/m}^3 \cdot \text{h}$ O_2 전달률에 기초한 반응기 부피 = $432 \text{ kg/h} : 1 \text{ kg/m}^3 \cdot \text{h} = 432 \text{ m}^3$.
- [0099] **축적 반응기:**
- [0100] 축적에 대한 시간-평균 폐수: $80 \text{ m}^3/\text{h}$.
- [0101] 시간-평균 아세테이트 적재: $80 \times 4 = 320 \text{ kg/h}$ 아세테이트.
- [0102] 축적 반응기에서의 시간 평균 산소 요건 = $320 \times 0.3 = 96 \text{ kg/h O}_2$.
- [0103] 최대 $1 \text{ kg/m}^3 \cdot \text{h}$ O_2 및 평균 $0.5 \text{ kg/m}^3 \cdot \text{h}$ O_2 전달률에 기초한 부피 = $96/0.5 = 192 \text{ m}^3$. → 요구되는 전체 반응기 용량: $432 + 192 = 624 \text{ m}^3$
- [0104] 이 셋업의 주요 단점들:
- [0105] - 선택 반응기에서의 허용 가능한 산소 전달 용량은 오직 피스트 상 도중 시간의 약 5 내지 10%에 대하여 사용된다. 잔여 시간에 대하여, 산화 용량의 90% 초과가 사용되지 않는다.
- [0106] - 피스트 후의 침강이 OBCOD를 제거하기 위해 적용되는 경우, 반응기는 시간의 90% 초과에 대해 절반보다 많게 빈 상태로(empty) 작동될 것이다. 더욱 낮은 효율 이외에, 이것은 또한 에어레이션 장치들을 선택하는 데 기술적 문제점들을 제공한다.
- [0107] - 선택에서의 매 사이클 $12 \text{ h} \times 20 \text{ m}^3/\text{h} = 240 \text{ m}^3$ 물은 사이클의 시작 및 종료시 짧은 시간에 저장되고 펌핑될 필요가 있다.
- [0108] **실시예(발명)**
- [0109] 본 발명에 따르면, 이러한 문제들은 축적을 위해서도 동일한 부피의 제 1 반응기를 사용함으로써 그리고 별도의 축적 반응기 대신에 더욱 작은 폐민 반응기를 적용함으로써 극복될 수 있음이 밝혀졌다.
- [0110] **합쳐진 피스트 및 축적 반응기:**
- [0111] 선택에 대한 시간-평균 폐수: $100 \text{ m}^3/\text{h}$
- [0112] 시간-평균 아세테이트 적재: $100 \times 4 = 400 \text{ kg/h}$
- [0113] 시간-평균 산소 요건 = $400 \times 0.3 = 120 \text{ kg/h O}_2$
- [0114] 최대 $1 \text{ kg/m}^3 \cdot \text{h}$ O_2 및 평균 $0.277 \text{ kg/m}^3 \cdot \text{h}$ O_2 전달률에 기초한 부피 = $120/0.277 = 433 \text{ m}^3$.
- [0115] **폐민 반응기**
- [0116] 별도의 폐민 반응기는 더욱 낮은 산소 요건의 결과로서 그리고 피스트 상 후 슬러지 농후화로 인한 유압(hydraulic) 유량을 최소화함으로써 제 1 반응기와 비교하여 10배 더 작을 수 있다: 45 m^3 .
- [0117] → 요구된 전체 반응기 용량: $436 + 45 = 481 \text{ m}^3$
- [0118] 더욱 낮은 전체 반응기 부피 및 설치된 에어레이션 용량 및 에너지의 더욱 많은 효율적 사용 이외에, 제 2 반응기로부터 제 1 반응기까지 짧은 시간으로 펌핑되는 물의 총량이 사이클당 45 m^3 미만이기 때문에, 더욱 적은 유압 폐수 완충 용량이 또한 요구된다.

도면

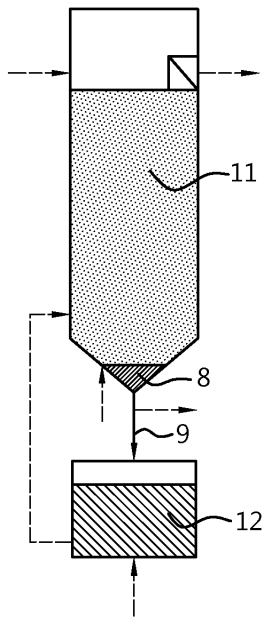
도면1



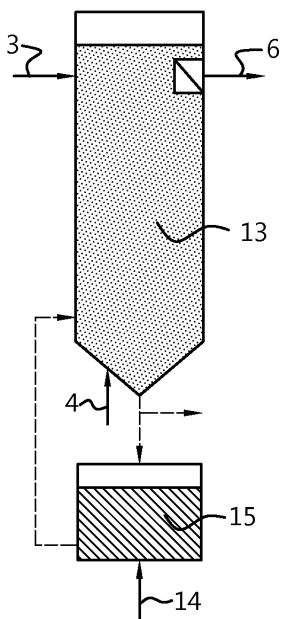
도면2



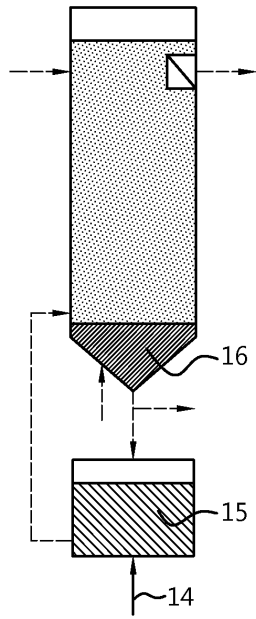
도면3



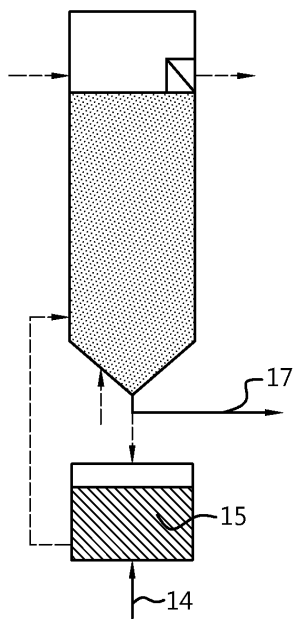
도면4



도면5



도면6



도면7

