



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년01월20일  
(11) 등록번호 10-2491592  
(24) 등록일자 2023년01월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
B01D 65/08 (2006.01) B01D 63/10 (2006.01)  
C01B 32/184 (2017.01) C02F 1/44 (2006.01)  
C02F 1/467 (2006.01) C02F 1/72 (2006.01)  
C02F 5/00 (2006.01) C08G 73/10 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
B01D 65/08 (2022.08)  
B01D 63/10 (2022.08)  
(21) 출원번호 10-2018-7036411  
(22) 출원일자(국제) 2017년05월16일  
심사청구일자 2020년05월13일  
(85) 번역문제출일자 2018년12월14일  
(65) 공개번호 10-2019-0002709  
(43) 공개일자 2019년01월08일  
(86) 국제출원번호 PCT/IL2017/050545  
(87) 국제공개번호 WO 2017/199247  
국제공개일자 2017년11월23일  
(30) 우선권주장  
62/336,794 2016년05월16일 미국(US)  
62/454,811 2017년02월05일 미국(US)  
(56) 선행기술조사문헌  
KR1020150140823 A\*  
WO2015175060 A2\*  
KR101585780 B1\*  
\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자  
비.지. 네게브 테크놀로지스 앤드 애플리케이션스  
리미티드, 옛 벤-구리온 유니버시티  
이스라엘 8410501 비어-쉐바 피.오. 박스 653  
윌리엄 마쉬 라이스 유니버시티  
미국 텍사스주 휴스턴 메인 스트리트 6100  
(72) 발명자  
아르누쉬 크리스토퍼 존  
이스라엘 84990 미드레세트 벤구리온 네브 진 23  
싱 스와탄트라 프라탑  
이스라엘 84990 미드레세트 벤구리온 스테 보커  
캠퍼스 46.9  
(뒷면에 계속)  
(74) 대리인  
김진희, 김태홍

전체 청구항 수 : 총 12 항

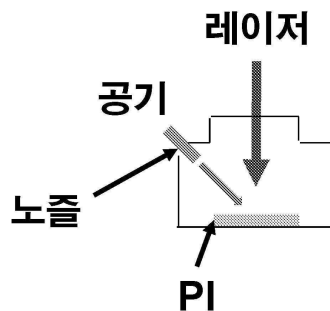
심사관 : 김경미

(54) 발명의 명칭 **항생물질 및 항미생물 기능성 멤브레인 스페이서**

(57) 요약

액체 매체에서 적어도 하나의 레이저 유도 그래핀(LIG) 층으로 코팅된 표면을 제공함으로써 액체, 예를 들어 수성 매체에서 생물부착을 방지하는 방법이 본원에 개시된다. 특히, 적어도 하나의 LIG 층으로 코팅된 적어도 하나의 스페이서가 구비된 멤브레인 모듈에 수류를 통과시키는 단계, 및 경우에 따라 적어도 하나의 LIG 층에 전위를 (뒷면에 계속)

대표도 - 도1a



인가하여 수류에서 살균 효과를 달성하는 단계를 포함하는, 수처리 방법 및 장치가 본원에 개시된다. 특히, 수처리 적용에서 멤브레인 모듈의 스페이서로서 사용하기에 적합한 폴리머 메쉬로서, 적어도 부분적으로 LIG로 코팅된 폴리머 메쉬가 본원에 개시된다.

(52) CPC특허분류

*C01B 32/184* (2017.08)

*C02F 1/44* (2013.01)

*C02F 1/467* (2013.01)

*C02F 1/72* (2013.01)

*C02F 5/00* (2013.01)

*C08G 73/10* (2013.01)

*B01D 2313/143* (2013.01)

*C02F 2305/023* (2013.01)

(72) 발명자

**사르구나라즈 프랭클린**

이스라엘 84990 미드레세트 벤구리온 스테 보커 캠퍼스 82

**오렌 요람**

이스라엘 8453247 베르세바 베레드 스트리트 20

**투어 제임스 미첼**

미국 77401 텍사스주 벨레르 스포루스 스트리트 4625

**리 이론**

미국 77042 텍사스주 휴스턴 웨스트 샘 휴스턴 파크웨이 사우스 680 아파트먼트 1714

**명세서**

**청구범위**

**청구항 1**

수성 매체에 적어도 하나의 레이저 유도 그래핀(LIG) 층으로 코팅된 표면을 제공하는 단계 및 상기 LIG 층에 전위를 인가하는 단계를 포함하며, 상기 전위가 1.5 V 내지 2.5 V의 범위인, 수성 매체에서 생물부착을 방지하거나 미생물을 구제하는 방법.

**청구항 2**

제1항에 있어서, 생물막 형성이 쉬운 표면을 적어도 하나의 LIG 층으로 코팅하는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 3**

제2항에 있어서, 상기 생물막 형성이 쉬운 표면이 파이프, 선박, 연료 저장 탱크, 또는 수처리 장치의 구성 요소의 표면인 방법.

**청구항 4**

제3항에 있어서, 수처리 장치의 상기 구성 요소가 멤브레인 스페이서인 방법.

**청구항 5**

제1항에 있어서, 코팅된 표면이 적어도 하나의 스페이서의 표면이고, 적어도 하나의 LIG 층으로 코팅된 적어도 하나의 스페이서가 구비된 멤브레인 모듈에 수류를 통과시키는 것을 포함하는 수처리 방법을 포함하는 방법.

**청구항 6**

제5항에 있어서, 적어도 하나의 LIG 층에 전위를 인가하여 수류에서 살균 효과를 달성하는 단계를 더 포함하는 방법.

**청구항 7**

제1항에 있어서, 코팅된 표면이 멤브레인 스페이서의 표면인 방법.

**청구항 8**

삭제

**청구항 9**

삭제

**청구항 10**

삭제

**청구항 11**

제1항에 있어서, 상기 전위가 적어도 1초의 기간 동안 연속적으로 인가되는 것인 방법.

**청구항 12**

수처리 적용에서 멤브레인 모듈의 스페이서로서 사용하기에 적합한, 수성 매체에서 생물부착을 방지하거나 미생물을 구제하기 위한 폴리머 메쉬로서, 레이저 유도 그래핀(LIG) 층으로 적어도 부분적으로 코팅되고, 상기 LIG 층은 1.5 V 내지 2.5 V의 범위로 상기 LIG 층에 인가된 전위를 갖는 전극으로서 기능하는 것인, 폴리머 메쉬.

**청구항 13**

제12항에 있어서, 폴리이미드를 포함하는 폴리머 메쉬.

**청구항 14**

멤브레인 모듈 및 그 내부에 배치된 스페이서를 포함하는 수처리 장치로서, 상기 스페이서가 제12항의 폴리머 메쉬를 포함하고, 폴리머 메쉬가 LIG를 포함하는 전극 재료를 포함하는 것인 수처리 장치.

**청구항 15**

제14항에 있어서, 상기 전극 재료가 상기 스페이서 상에 배치되어 2개의 이격된 전극을 형성하는 것인 수처리 장치.

**청구항 16**

삭제

**청구항 17**

삭제

**청구항 18**

삭제

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 본 발명은 일반적으로 액체 매체에서, 예를 들어 수처리 기술에서 표면의 파울링(오염)을 방지하는 것에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은, 예를 들면 고체 표면 상에서, 예를 들어 수처리 장치, 예를 들어 멤브레인 또는 스페이서에서, 파울링, 생물부착 및 세균 또는 미생물 성장의 방지 방법, 이들 적용에서, 그래핀, 예를 들어 레이저 유도 그래핀의 용도, 및 그 중에서도, 반응성 중, 예를 들어 활성 염소 중 및 반응성 산소 중의 생성을 위해, 및 전기적 효과, 또는 그래핀 표면과의 접촉을 통한 미생물의 직접 살상을 위해, 예를 들어 전류를 인시츄로 제공함으로써, 상기 파울링을 방지하도록 추가로 적합화될 수 있는 항미생물 및/또는 항생물막 스페이서 부재에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0002] 플랫 시트 멤브레인이 정밀여과, 한외여과, 나노여과 및 역삼투를 포함한 다수의 수처리 적용에 현재 사용된다. 이들 플랫 시트 멤브레인은 종종 나선형으로 권취된 요소로 구성된다. 나선형으로 권취된 모듈 요소의 중요한 부재 중 하나는 직조 또는 부직 네트 스페이서(기능성 스페이서)이며, 이는 멤브레인에 대한 중요한 기계적 지지를 제공하고, 권취된 멤브레인 시트와 부재 간에 물리적 분리를 제공하며, 볼텍스 및 다른 유동 패턴을 촉진함으로써 공급 채널에서 용액의 혼합을 향상시킨다. 질량 이동 및 기계적 에너지 소산의 관점에서 성능 최적화를 위해 스페이서 지오메트리를 연구하기 위해 많은 노력을 기울여 왔지만; 아직 다루어지지 않은 중요한 문제는 스페이서 상의 또는 스페이서 부근의 멤브레인 상의 생물막 형성이다. 이에, 낮은 파울링 스페이서의 개발은 멤브레인의 현장 세정 절차의 횟수와 빈도를 줄임으로써 멤브레인 모듈 요소의 수명을 크게 증가시키고, 운영 비용을 절감하고 멤브레인 생산성을 증가시켜, 에너지 비용 및 멤브레인 교체 비용을 전반적으로 줄일 것이다.

[0003] 그래핀은 많은 주목할 만한 기계적 및 전기적 특성을 갖는다. 이는 동일 치수의 스틸보다 실질적으로 더 강하고 신축가능하다. 열 및 전기 전도성이 매우 높아 이는 플렉시블한 도체로서 사용될 수 있다 ("Scientific Background on the Nobel Prize in Physics 2010, GRAPHENE". 왕립 스웨덴 과학 아카데미). 전형적으로, 그래핀은 10개 이하의 탄소층을 함유한다. 그래핀은, 예를 들어 미국 특허 출원 20160023167에서와 같이, 수-여과 멤브레인 코팅 성분으로서 제안되어졌다. 마찬가지로, 탄소 나노튜브가, 예를 들어 미국 특허 출원 20120234694에서와 같이, 수-여과 성분으로서 개시되었고, 이들의 용도가 또한 예를 들어 PCT 공보 WO 2015/079442에서와 같이 잉크젯 프린팅에 의한 멤브레인 코팅에 제안되어졌다. 부가적으로, PCT 공보 WO 2013/050595는 20 Hz에서 10분간 100 V의 10-밀리초전도 펄스에 의해 탄소 나노튜브로 코팅된 멤브레인 표면 상의 생물막의 전기천공을 기재하며, PCT 공보 WO 2014/117255는 이블빙 가스(evolved gas)에 의한 탄소 나노튜브-코팅된 멤브레인의 세

정을 기재한다.

- [0004] 레이저 유도 그래핀(LIG)이 예를 들어 W02015/175060에 개시되어 있다. LIG는 레이저 커팅 장비를 사용하여 폴리머 표면, 예를 들어 폴리이미드 시트 상에 생성될 수 있다. 이 방법을 위한 장비의 특성으로 인해, LIG가 패턴으로 적용될 수 있다. 이러한 그래핀의 박층은 도전성이며 전기화학 반응을 위한 전극으로 사용될 수 있다 (Jian Lin et al. 2015. Laser-induced porous graphene films from commercial polymers. Nat. Commun.; 5: 5714. doi:10.1038/ncomms6714).
- [0005] 생물부착을 효과적으로 방지하는 수처리 시스템에 대한 스페이서 부재를 제공하는 것에 대한 니즈가 당업계에 존재한다. 수처리 멤브레인의 세정 방법을 제공하는 것에 대한 니즈가 또한 당업계에 존재한다. 생물부착 미생물층 부근에 충분한 양의 활성 염소 또는 반응성 산소 중 예를 들어 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 생성하여, 멤브레인 자체를 분해하지 않고 생물부착을 제거하거나 저해하는 방법을 제공하는 것에 대한 니즈가 또한 당업계에 존재한다.
- [0006] 레이저 유도 그래핀(LIG)이 항미생물 및 항생물막 특성을 갖는다는 것을 본 발명자들에 의해 확인되었다. LIG는 하나 이상의 층, 예를 들어 평균적으로 대략 3개의 층을 함유한다. 이것은 일반적으로 터보스트라틱(turbostratic)이며, 이는 층들 간에 순서가 없음을 의미한다. LIG는 폴리머 시트, 예를 들어 폴리이미드 시트의 폴리머 표면 상에 형성될 수 있으며, 제조 조건에 따라 LIG 나노섬유 또는 스크롤된 그래핀 구조(LIG)를 비롯한 다양한 모양과 형태를 지닐 수 있다. 용어 "LIG"는 이러한 형상 및 형태 모두를 포괄한다. 일반적으로, LIG는 다결정 탄소층(들), 예를 들어 10개 미만의 층의 단일 또는 수개 시트이며, 원자가 복수의 다각형 구성, 예를 들어 오각형, 육각형 및 칠각형 구조로 배열되며, 이는 sp<sup>2</sup>-혼성화 탄소 육각형으로만 이루어진 "클래식" 그래핀과 대조적이다. 따라서 용어 "레이저 유도 그래핀" 및/또는 "LIG"는 임의의 형상 또는 형태로, 오각형, 육각형 및 칠각형 구성으로 배열된, 다결정 터보스트라틱 탄소층으로 구조화된 분자를 포괄한다. 본 발명자들은 LIG의 존재하에 또는 LIG-코팅된 부재 상에 세균이 부착되지도 생물막을 형성하지도 않고, 또한, LIG 표면과의 세균 접촉이 세포 불활성화를 야기하는 점을 밝혀내었으며, 이는 LIG 코팅에 의한 "수동적 항생물부착"으로 불릴 수 있다.
- [0007] 본 발명자들은 수처리 장치의 부재, 예를 들어 스페이서 부재의 표면 상의 유치 전극에, 예를 들어 LIG-코팅된 부재의 표면에 전류를 인가하면, 효율적인 생물부착 제어를 제공하는 것을 부가적으로 확인했다. 이론에 구속됨이 없이, 예를 들면, 해수 또는 바닷물에 존재하는 이온, 예를 들어 클로라이드 이온의 존재하에, 전류가 이화에 정의된 바와 같은 활성 염소 및 반응성 산소 중을 제어가능한 방식으로 생성하고/거나 미생물을 LIG-코팅된 부재의 부근으로 유인하는 것으로 생각된다. 이러한 양태는 "능동적 항생물부착"으로 불릴 수 있다.

**발명의 내용**

- [0008] 본 발명의 일부 양태에서는 액체 매체에서 레이저 유도 그래핀을 포함하는 적어도 하나의 표면을 제공함으로써, 액체 매체에서, 예를 들어 수성 또는 비-수성 매체에서 생물부착을 방지하는 방법이 제공된다. 레이저 유도 그래핀을 포함하는 표면은 적어도 하나의 레이저 유도 그래핀(LIG) 층으로 코팅된 표면일 수 있다. 일부 실시양태에서, 레이저 유도 그래핀을 포함하는 표면은 LIG-피복 이전에 생물막 형성을 일으키기 쉬운 표면일 수 있다.
- [0009] 때때로, 상기 표면은 폴리머 재료를 포함한다. 이러한 실시양태들에서, 상기 방법은 LIG 층을 상기 폴리머 재료에 적용하여, 예를 들어 상기 폴리머 재료에 적어도 하나의 LIG 층을 코팅하여, 그 위에 LIG 층을 형성하는 단계를 포함한다. 부가적으로 또는 대안으로, 상기 방법은 상기 표면에 레이저 빔을 방사(조사)하여 그 위에 LIG 층을 형성하는 단계를 포함한다.
- [0010] 일부 실시양태에서, 생물막 형성이 쉬운 표면은 파이프, 선박, 연료 저장 탱크, 또는 수처리 장치의 구성 요소의 표면이다. 일부 특히 바람직한 실시양태에서, 수처리 장치의 표면은 멤브레인 스페이서이다.
- [0011] 추가 실시양태들에서, 상기 방법은 전위를 상기 LIG 층에 인가하는 단계를 포함한다. 바람직하게는, 상기 전위는 0.5 V 내지 5 V, 예를 들어 1.1 V 내지 4.5 V의 범위, 또는 더 바람직하게는, 1.1 V 내지 3.5 V, 예를 들어 1.5 V 내지 3.5 V의 범위에 있을 수 있다. 전위는 정해진 기간 동안 연속적으로 인가될 수 있다. 기간은 바람직하게는 적어도 1초간이다.
- [0012] 또 다른 양태에서는, 수처리 방법이 본원에 제공된다. 이 방법은 적어도 하나의 LIG 층으로 코팅된 적어도 하나의 스페이서가 구비된 멤브레인 모듈에 수류(water stream)를 통과시키는 단계를 포함한다. 이 방법은 전위를 적어도 하나의 LIG 층에 인가하여 수류에서 살균 효과를 달성하는 단계를 더 포함한다.
- [0013] 추가 양태에서는, 수처리 적용의 멤브레인 모듈에 사용하기 적합한 폴리머 메쉬 스페이서가 본원에 제공된다.

메쉬 스페이서는 레이저 유도 그래핀(LIG)으로 적어도 부분적으로 코팅된다. 메쉬 스페이서는 폴리머, 바람직하게는 폴리이미드를 포함하고, 예를 들어 메쉬 스페이서는 폴리-(4,4'-옥시디페닐렌-피로멜리트이미드)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 메쉬 스페이서는 적어도 2개의 별개의 이격된 LIG 패턴으로 코팅된다.

[0014] 일부 추가의 실시양태들에서, 메쉬는 LIG 층들을 전기적으로 접속하기 위한 수단을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 상기 층들은 적어도 하나의 전원에 전기적으로 접속된다.

[0015] 추가 양태에서는, 수처리 장치가 본원에 제공된다. 수처리 장치는 멤브레인 모듈 및 그 내부에 배치된 스페이서, 예를 들어 멤브레인 스페이서를 포함할 수 있다. 바람직하게는, 스페이서는 전극 재료를 포함할 수 있고, 더 바람직하게는 전극 재료는 LIG로 이루어질 수 있다. 일부 실시양태에서, 전극 재료는 스페이서 상에 배치되어 적어도 2개의 이격된 전극을 형성할 수 있다.

**도면의 간단한 설명**

[0016] 도 1a는 가스 어시스트를 이용한 LIG의 제작을 도시한다. 도 1b는 가스 박스를 이용한 LIG의 제작을 도시한다.

도 2는 다양한 가스 분위기하에 제작된 LIG 샘플의 탐부 SEM 이미지를 도시한다. 노즐을 통한 블로잉: (a) 공기, (b) 3% H<sub>2</sub>/Ar; 가스 박스를 통한 흐름: (c) O<sub>2</sub>, (d) 공기, (e) Ar (아르곤), (f) H<sub>2</sub> (수소 가스). 스케일 바: 2 μm. 삽입 사진은 LIG 표면 상에 스프레딩되거나 놓여있는 수적(water droplet)이다.

도 3은 다양한 가스 분위기하에 제작된 LIG의 탐부 (a-f) 및 사이드뷰 (g-1) SEM 이미지를 도시한다. 이들 샘플에 대해 2% 레이저 듀티 사이클이 사용되었다.

도 4는 다양한 가스 분위기하에 제작된 LIG의 TEM 이미지를 도시한다. 이들 샘플에 대해 2% 레이저 듀티 사이클이 사용되었다. (a-f) 스케일 바 200 nm. (g-1) 스케일 바 20 nm.

도 5는 다양한 레이저 듀티 사이클에서 다양한 가스 분위기하에 제작된 LIG 샘플의 접촉각을 도시한다. 150° 에서 파선, 초소수성에 필요한 최소 접촉각임.

도 6은 분광분석 특징규명을 도시한다. 다양한 가스 분위기하에 제작된 LIG 샘플에 대한 (a,b) XPS 및 (c) 라만 스펙트럼. 이들 샘플에 대해 2% 레이저 듀티 사이클이 사용되었다; 다양한 가스 분위기하에 제작된 LIG 샘플에 대한 (a) 표준화된 C 1s 스펙트럼, (b) O 1s 스펙트럼, (d) 접촉각, O 함량, 및 C-O 결합 함량(총 O 함량의) 사이의 관계. (e) 다양한 가스 분위기하에 제작된 LIG 샘플에 대한 접촉각, D/G 비, 및 2D/G 비 사이의 관계. (d) 및 (e)는 (a-c)로부터 계산된다.

도 7은 a) 레이저 플루엔스(fluene)의 함수에 따른 LIGNF 카펫 높이를 도시한다. 이하의 플루엔스에 따른 LIGNF 카펫의 SEM 이미지: b) 43 J/cm<sup>2</sup>; c) 53 J/cm<sup>2</sup>; d) 69 J/cm<sup>2</sup>; e) 78 J/cm<sup>2</sup>; f) 78 J/cm<sup>2</sup>; 스케일 바: b, c, d, e: 100 μm; f: 10 μm.

도 8은 30 내지 200 nm로 변하는 폭에 따른 LIGNF의 HRTEM 이미지를 제공한다. 스케일 바: a. 200 nm; b 및 c: 10 nm.

도 9는 이하의 것들을 도시한다: a) D, G 및 2D 피크를 도시한 LIGNF의 라만 스펙트럼; b) XRD 현저한 피크는 대략 26° 에서 보이며, (002) 그래파이트 결정면을 나타냄; c) PI, LIG 및 LIGNF의 XPS 조사 스펙트럼은 원자 백분율로 표시된 이들의 상대적 C, N 및 O 함량을 나타냄; d) PI, LIG 및 LIGNF의 C 함량의 XPS; e) PI, LIG 및 LIGNF의 N 함량의 XPS; f) PI, LIG 및 LIGNF의 O 함량의 XPS.

도 10은 폴리이미드, LIG 및 LIGNF 상에서 생존하는 세균의 백분율(폴리이미드로 표준화된 값)을 도시한다.

도 11은 생물막 성장 검정을 위한 플로우 셀의 셋업을 도시한다.

도 12는 PI, LIG, 및 LIGNF에 대한 피. 에루지노사(*P. aeruginosa*) 생물막 파라미터를 도시한다.

도 13은 PI 및 그래파이트와 비교하여 LIG 표면 상에서의 4일 후 생물막 성장(피. 에루지노사)을 도시한다.

도 14는 PI 및 LIG 샘플에 대한 에스. 위티치이(*S. wittichii*) 생물막 바이오매스 비교를 도시한다.

도 15는 PI와 LIG 샘플 간의 에스. 위티치이 생물막 두께를 도시한다.

도 16은 PI 및 그래파이트와 비교하여 LIG 표면 상에서의 14일 후 생물막 성장(에스. 위티치이)을 도시한다.

- 도 17은 PI 및 그래파이트와 비교하여 LIG 표면 상에서의 36시간 후 생물막 성장(이. 페칼리스)을 도시한다.
- 도 18은 바이오매스 및 평균 두께를 도시하는, 피. 에루지노사에 의한 PI, 그래파이트, 및 LIG 표면 상에서의 생물막 성장의 그래프를 제공한다.
- 도 19는 PI 및 그래파이트와 비교하여 LIG 스페이서 상에서 이차 처리된 폐수로부터 생물막 성장을 도시한다.
- 도 20은 침적된 LIG 분말을 갖는 혼합 셀룰로스 멤브레인 표면과 비교하여 PI, 및 LIG 표면 상에서의 부착된 피. 에루지노사의 저해율을 도시한다. 분말-LIG-대형 입자 (P-LIG-B); 분말-LIG-소형 입자 (P-LIG-S); 분말-LIG-소형 입자, 산화됨 (P-LIG-SO).
- 도 21은 분말-LIG-소형(P-LIG-S) 및 분말-LIG-대형(P-LIG-B)의 현탁물을 이용하여 용액 중에서의 피. 에루지노사를 사용한 항균 작용의 비교를 도시한다. LIG가 없는 용액이 대조(control)로 사용되었다.
- 도 22는 폴리이미드 시트(a) 및 레이저 유도 그래핀(LIG) 제작된 스페이서(b)의 이미지를 제공한다.
- 도 23은 활성 염소 및/또는 반응성 산소 종의 발생을 위한 IV 곡선 및 스페이서 시험을 위한 실험 장치를 도시한다.
- 도 24는 (a) 2.0% 레이저 출력(75W)(본원에서 "2.0% LIG"로서 식별됨); 및 (b) 2.5% 레이저 출력(75W)(본원에서 "2.5% LIG"로서 식별됨)을 사용하여 공기 중에서 사각형 패턴의 양측 상의 폴리이미드 시트에 적용되는 LIG 스페이서에 대한 IV 곡선을 제공한다.
- 도 25는 벌크 활성 산화 종(oxidative species)을 도시하며, 이는 "2% LIG"(a), 및 "2.5% LIG"(b)에 의한 1.5V의 인가 전압시 발생된 "산화 종"으로서 표시된다.
- 도 26은 벌크 용액에서 측정된 1.5, 2.0 및 2.5 V에서의 LIG 전극에 의한 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 발생을 도시한다.
- 도 27은 초고(ultra-high) 세균 집단(a) 및 초고 세균 집단을 이용한 1.5V에서의 "2.5% LIG"에 의한 사멸율%(b)을 도시한다.
- 도 28은 저(low) 세균 집단(a) 및 저 세균 집단을 이용한 1.5V에서의 "2.5% LIG"에 의한 사멸율%(b)을 도시한다.
- 도 29는 저 세균 집단을 이용한 1.5V에서의 "2.5% LIG"에 의한 "산화 종"으로 표시된 활성 산화 종을 도시한다.
- 도 30은 전압 의존적 실험에서, (a 및 b) 낮은  $\sim 10^4$  CFU mL<sup>-1</sup> 및 (c 및 d) 높은  $\sim 10^6$  CFU mL<sup>-1</sup> 세균 부하 (loading)로 상이한 전압(2.5, 2.0 및 1.5 V)에서 용액 중에서의 (a 및 c) 저해율%로서 표시된 피. 에루지노사의 저해율 및 (b 및 d) 로그 감소를 도시한다. 2% LIG가 사용된다.
- 도 31은 상이한 시간 때에 2% LIG로 제조된 전극 상에서 에피형광 현미경검사를 이용하여 GFP-태깅된 피. 에루지노사를 관찰한 결과를 도시한다. 전압(1.5-2.5 V)을 적용하고 이미지를 30초("30s")까지 캡처했다. 각 이미지에서, 애노드(상부)를 캐소드(하부)로부터 100  $\mu$ m 채널에 의해 분리했다. GFP 태깅된 피. 에루지노사는 밝은 점으로 관찰되었다.
- 도 32는 실시예 4에 기재된 바와 같이, 30s 동안 1.5 V의 인가 후 SEM을 이용하여 2% LIG 전극 상에서 피. 에루지노사 시각화를 도시한다. (a) PI 표면(전기 없이)에서의 세균; (b) LIG 전극들 사이의 PI 채널에서 보여진 세균 세포. (c-d) 애노드에서 손상된 세균 세포 (늘어남); (e-f) 캐소드에서 손상된 세균 세포; 화살표는 세균을 나타낸다.
- 도 33은 혼합-배양 생물막의 저해율을 도시하며, 실시예 6에 기재된 바와 같이, 이차 처리된 폐수로부터, 및 낮은( $\sim 10^4$  CFU mL<sup>-1</sup>) 및 높은( $\sim 10^6$  CFU mL<sup>-1</sup>) 세균 부하에 따른 저해율%로 표시된다.
- 도 34는 LIG-코팅된 스페이서 및 전극을 갖는 나선형-권취 멤브레인 구성을 개략적으로 도시한다.
- 도 35는 실시예 7의, 교차 흐름 구성의 ESPA 멤브레인 및 2.5V 인가 전극으로 구성된 2% LIG 코팅된 공급 스페이서를 사용하여 시간 경과에 따른 플럭스 변화를 기술하는 그래프를 도시한다.
- 도 36은 실시예 7에 기재된 바와 같은 실험의 기간에 걸쳐 재순환 공급 용액에서의 세균 집단을 도시한다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0017] LIG는, 예를 들면, Kapton®, 폴리이미드(PI)(폴리-(4,4'-옥시디페닐렌-피로멜리트이미드)), 또는 폴리(에테르 이미드), 또는 다른 적합한 폴리머 상에서 제작될 수 있다. 폴리머는 시트 형태일 수 있으며, 롤-투-롤(roll-to-roll) 공정에 추가로 사용될 수 있어 스케일업을 능률화할 수 있다. 이후, 예를 들면, Universal X-660 레이저 커터 플랫폼, 예를 들어 XLS10MWH와 같은 CO<sub>2</sub> 레이저 커터 시스템으로 수행되는 레이저 스크라이빙을 이용하여, 폴리머, 예를 들어 PI, 표면이 LIG로 전환될 수 있다. 레이저 유도 그래핀(LIG)은 1.50-2.25 W 범위(75W에서 2%-3% 포함)의 레이저-고유 출력에서 100% 공기, 또는 수소(H<sub>2</sub>), 또는 아르곤(Ar), 또는 산소(O<sub>2</sub>) 분위기(이에 한정되지 않음)와 같은 가스 박스 설계에 기초한 다양한 가스 하에 제조될 수 있다. 최종 레이저 출력은 변할 수 있고 듀티 사이클은 달라졌다. 예를 들면, 하나는 2% 출력, 또는 듀티 사이클에서 75 W 레이저를 사용할 수 있으며, 이는 레이저가 시간의 2%만 "온(on)"인 것을 의미한다. 듀티 사이클은, 사용된 레이저의 와트 수, 및 또한 플루언스에 따라 LIG를 생성하는 폴리머, 예를 들면 PI 기재를 가로지르는 레이저 펄스들 사이의 스텝 크기 또는 플루언스(예를 들어, 영역당 펄스 밀도 및 래스터링 속도)에 의존한다.
- [0018] LIG의 특징규명은, 당업계에 공지된 바와 같이, 주사형 전자 현미경(SEM, 예를 들면 FEI Quanta 400 고분해능 전계 방출 장비)에 의해, 투과형 전자 현미경(TEM, 예를 들면 80 KeV JEOL ARM200F)에 의해, X-선 광전자 분광 분석(XPS, 예를 들면 PHI Quantera)에 의해, 및 푸리에 변환 적외선 분광분석(FT-IR, 예를 들면 Nicolet 적외선 분광기)에 의해 수행될 수 있다.
- [0019] LIG의 살균 특성은 LIG 표면 상에서의 세균 인큐베이션 후 세균 생존력을 측정하는 검정법을 사용하여 검사될 수 있다. 대조의 비처리 폴리머 표면과 대조적으로, LIG 샘플은 매우 살균성인 것으로 확인되었다. LIG의 항생물 부착 및 항생물막 특성은, 그람 음성 균주 슈도모나스 에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*), 및 스프링고모나스 위티치이(*Sphingomonas wittichii*), 및 그람 양성 균주 엔테로코커스 페칼리스(*Enterococcus faecalis*) 둘 모두에 대한 LIG 샘플의 생물막 내성을 보여주는 플로우 셀 실험에서 및 복수 세균문의 혼합 배양물을 함유한 이차 처리된 폐수에서 관찰되었다. 따라서, 본 발명의 일 양태는 미생물을 구제함에 있어 레이저 유도 그래핀(LIG)의 용도에 관한 것이다. 이는 LIG의 수동적 항미생물 용도를 나타내며, 이는 LIG가 다른 영향을 미치지 없이 항미생물성을 의미한다. 추가 양태에서 본 발명은 생물부착을 억제함에 있어 레이저 유도 그래핀(LIG)의 용도에 관한 것이다. 이는 LIG의 수동적 항-생물부착 용도를 나타내며, LIG가 다른 영향을 미치지 없이 항-생물부착성을 의미한다.
- [0020] 본원에서 사용시 용어 "미생물 구제", "항미생물" 등은 폴리머 표면에 부착하는 미생물의 감소 또는 제거를 의미한다. LIG는 세균을 구제하는데 유용함이 하기 본원에 기재된 접촉 사멸 검정을 이용하여 밝혀졌다. LIG는 나아가, 다른 미생물, 예를 들면 진균, 조류, 원생동물 및 바이러스를 유사한 방식으로 구제하는데 유용할 것으로 예측된다.
- [0021] 본원에서 사용시, 용어 "생물부착(biofouling)"은 액체에서, 예를 들어, 물에서 사는 유기체 또는 미생물의, 표면에, 특히 인공의 표면에의 부착 및/또는 생물막 형성을 기술하기 위해 사용된다. 이러한 유기체의 비제한적인 예는 세균, 조류, 진균, 및 따개비류를 포함한다.
- [0022] 본 발명은 수처리 장치 및 시스템에서 사용하기 위한, 레이저 유도 그래핀(LIG) 표면을 갖는 폴리머 재료를 기재한다. 이러한 폴리머 재료는 본 발명의 또 다른 양태를 형성한다. 폴리머 재료는 단일 폴리머 또는 2 이상의 폴리머의 블렌드 또는 2 이상의 세그먼트의 블록 코폴리머를 포함할 수 있으며, 하나가 상기 폴리머 또는 코폴리머의 세그먼트가 레이저 방사 시에 LIG로 전환될 수 있다. 부가적으로, 폴리머 재료는 레이저 방사 시에 LIG로 전환될 수 있는 폴리머인 최외층을 갖는 라미네이트의 형태일 수 있다. LIG로 전환될 수 있는 적합한 폴리머의 예는 비닐 폴리머(또는 더 일반적으로 쇠 성장 폴리머) 또는 축합 폴리머(또는 더 일반적으로 스텝 성장 폴리머), 예컨대 폴리이미드(PI), 폴리에테르이미드(PEI)를 포함한다. 폴리이미드가 특히 바람직하다. 특히 바람직한 폴리이미드는 폴리-(4,4'-옥시디페닐렌-피로멜리트이미드)이다. 폴리머 재료는 예를 들면, 필름, 섬유, 패브릭, 쿠폰, 블록, 로그, 펠릿, 또는 이들로부터 제조된 특징의 물품의 형태로 제공될 수 있으며, 필름이 특히 바람직하다.
- [0023] 레이저 유도 그래핀(LIG)은 적합한 레이저원, 예를 들어 파장, 예를 들어 10.6 마이크론의 파장을 갖는 CO<sub>2</sub> 레이저를 사용하여 적합한 표면 상에 생성될 수 있다. 일반적으로, 레이저 빔의 출력은 0.5 내지 5 W일 수 있으며, 예를 들어 1.5W, 1.875 W 또는 2.25 W의 출력에서, 75 W 소스의 레이저 출력의 2, 2.5, 또는 3%이다. 레이저 유도 그래핀은, 견고하고, 바람직하게는 도전성인 한, 임의의 수의 화학적 또는 물리적 변화를 가질 수 있으며, 예를 들어 산화될 수 있다. 일반적으로, 이렇게 얻어진 LIG는 70% 초과, 예를 들어 85% 초과, 87% 초과, 또는



90% 초과인 탄소를 포함할 수 있고, 산소 및/또는 질소를 또한 포함할 수 있다. LIG는 다양한 두께 및 다공도의 다공성 층으로 얻어질 수 있다. 용어 "건고한"은, 본원에서 LIG 층과 관련하여 사용될 때, 사용 전반에 걸쳐 도전성에 대한 최소한의 변화 및 코팅의 10% 미만의 손실로 제조 물품에의 폴리머 재료의 취급을 견디는 탄력성으로 해석될 수 있다. 건고함은 코팅 위에 스크린-유사 또는 다른 필름을 라미네이팅함으로써 증가될 수 있다. 일반적으로, 용어 "도전성"은 본원에서 LIG 층과 관련하여 사용될 때 적어도 500 옴/평방 시트 저항, 바람직하게는 100 옴/평방 시트 저항 이하 및 가장 바람직하게는 50 내지 15 옴/평방 시트 저항의 LIG 층의 최소 도전율을 갖는 것으로 해석될 수 있다.

[0024] 레이저 유도 그래핀은 또한, 이것이 얻어지는 폴리머로부터 수집될 수 있으며 적합한 표면 상에 코팅될 수 있다. 코팅은 당업계에 공지된 바와 같이, 예를 들어 폴리머 표면을 가열하고 그 위에 LIG 분말을 적용함으로써, 또는 LIG를 포함하는 바니시 또는 페이스트를 적용함으로써 수행될 수 있다.

[0025] 그 표면 상에 레이저 유도 그래핀(LIG)을 갖는 폴리머 재료는 항미생물 및/또는 방오 특성을 요구하는 응용 분야에 대한 각종 제품 및 장치에 사용될 수 있다. 이러한 적용을 위해 폴리머 재료(제품/장치)의 전체 표면 또는 표면의 일부에 방사될 수 있다. 방사될 부분/특정 표면 영역은 제품/장치의 의도된 사용에 기초하여 결정될 수 있다. 이러한 제품 및 장치의 비제한적인 예는 의료용 장치, 예컨대 임플란트, 치과용 장치, 예를 들어 식품 및 의약품에 대한 포장재, 수 유치 장치, 예컨대 배 및 다른 선박의 파이프 및 선체, 연료 저장 탱크, 수용액의 정제를 위한 장치, 예를 들면 수처리 시스템, 가스의 정제를 위한 장치, 등을 포함한다. 수담수화 시스템 및 수처리 시스템, 특히 이들의 일부 구성에 사용되는 멤브레인 스페이서가 특히 바람직하다.

[0026] 수처리 시스템에서, 특히 멤브레인-기반 시스템에서, 그 표면 상에 레이저 유도 그래핀을 갖는 폴리머 재료는 기능성 스페이서에 사용될 수 있다. LIG의 항균 효과 이외에, 클로라이드 이온의 존재하에, 스페이서 부재의 표면 상의 유치 전극에, 예를 들어 LIG-코팅된 부재의 표면에 전류를 인가하면 활성 염소 중, 반응성 산소 종을 발생시키고, 이하에 정의된 바와 같이 제어가능한 방식으로 전기적 효과에 기인하여 미생물을 유인 및 사멸시켜, 효율적인 생물부착 억제제를 제공한다. 이 양태는 능동적 항생물부착을 위한 LIG의 용도를 구성한다. LIG 이외에, 전극은 다른 도전성 재료, 예컨대 클래식 그래핀, 그래파이트, 및 금속, 예컨대 은 또는 구리를 포함할 수 있다. 재료의 어느 것이든 애노드(a) 또는 캐소드(c)일 수 있다. 전극 커플은 그래핀(a) - 그래핀(c), 그래핀(a) - 은(Ag)(c), 그래핀(a) - 구리(Cu)(c), 그래파이트(a) - 그래파이트(c), 그래파이트(a) - Ag(c), 그래파이트(a) - Cu(c), 그래파이트(a) - 그래핀(c), 그래핀(a) - 그래파이트(c)를 포함할 수 있고, LIG 전극은 임의의 다른 전극 대신에 상기 쌍들 중 어느 것에 사용될 수 있다. 금속 또는 금속-합유 또는 그래파이트 합유 에폭시 또는 다른 접착제가 전원 와이어를 LIG 필름에 부착시키는데 특히 유용하다. LIG를 전극으로 사용하는 것은 현재 설명된 항균 및/또는 방오 효과로 인해 특히 바람직하다.

[0027] 바람직하게는, 두 전극, 즉 캐소드 및 애노드가 스페이서 상에 놓일 수 있다. 부가적으로, 회로가 폐쇄될 때 활성 염소 및/또는 산소 종이 발생하고, 미생물이 전극 가까이로 유인되도록, 오직 단일 전극이 애노드로서 또는 캐소드로서 스페이서 부재 상에 놓일 수 있다. 제1 전극은 제2 전극과 액체 연통되는 임의의 위치에, 바람직하게는 근접하여 배치될 수 있다. 대안으로, 단 하나의 전극이 스페이서 상에 놓일 수 있으며, 예를 들어 스페이서의 일측이 LIG로 코팅될 수 있고, 제2 전극, 예를 들어 그래파이트 전극이 공급 스트림 유입구에 놓일 수 있다.

[0028] 따라서, 본 발명의 일 양태는 그 표면 상에 레이저 유도 그래핀을 갖는 폴리머 재료를 포함하는 기능성 스페이서에 관한 것이다. 당업계에 공지된, 예를 들어 이하의 실시예 섹션에 기재된 바와 같은 통상의 구성으로 제작된 레이저 유도 그래핀(LIG)을 갖는 폴리머로 구성된 폴리머 메쉬를 포함하는 기능성 메쉬 스페이서가 특히 바람직하다. 본원에서 사용시 문맥상 명확히 달리 나타내지 않는다면, 용어 "스페이서", "스페이서 부재", "멤브레인 스페이서", "폴리머 메쉬", "메쉬 스페이서" 등은 본원에서 상호 교환적으로 사용되며, 특히 나선형-권취 구성의, 수처리 시스템의 멤브레인 모듈 내의 스페이서로서 사용하기 적합한, 폴리머 재료로 제조된 메쉬를 지칭한다. 메쉬는 통상 멤브레인 외피의 연속된 권취 사이에 배치되어 이들 사이의 접촉을 방지한다. 메쉬는 수성 스트림 흐름이 멤브레인 표면을 가로질러 멤브레인을 통과하도록 한다. 이 용어는 네트와 같은 상호 엮여 짠 스트랜드의 구성을 지칭할 수 있거나, 또는 다양한 메쉬 사이즈, 시트 구성에 있어 재료의 나머지 부분의 폭, 스트랜드 두께, 및 스트랜드 밀도에 의해 특징규명되는, 다수의 개구를 포함하는 시트의 패턴을 나타낼 수 있다. 전형적으로, 메쉬는 배치된 전체 멤브레인 영역을 커버한다. 메쉬는 균일한 또는 변화하는 두께를 가질 수 있으며, 전형적으로 0.4 mm 내지 1.2 mm일 수 있다. 메쉬는 천공된 시트 구성에 있어서 1.2 내지 2.6 mm의 라인의 균일한 또는 변화하는 폭을 더 가질 수 있다. 메쉬는 메쉬 10 cm당 20 내지 70개의 스트랜드, 예를 들어 35 내지 63개의 스트랜드를 더 포함할 수 있다. 스트랜드는 70° 내지 110°, 예를 들어 80° 내지 90° 로 변화하

는 각도로 직조될 수 있다. 스페이서 메쉬는 폴리이미드 폴리머를 포함할 수 있고, 그 위에 LIG 층을 더 가질 수 있다.

[0029] LIG 층은 이 구성에서 복수의 기능을 가질 수 있다. 첫째는 이것이 전극으로서 기능하는 것이다. LIG가 폴리이미드 폴리머 메쉬의 양측의 표면 상에 제작될 수 있기 때문에, 폴리이미드 스페이서 재료의 박층은 이들 LIG 패턴을 분리한다. 분리로 인해, LIG 패턴은 이격된 전극으로서 사용될 수 있다. LIG 전극은 적합한 전위를 갖는 전원에 이들을 연결하기 위한 적합한 수단을 사용하여 전기적으로 접속될 수 있다. 적합한 수단은 예를 들어 전극에 도전성 글루를 통한 와이어의 부착을 포함하지만 이에 한정되지는 않는다. 와이어는 그래파이트 스테드로 이루어질 수 있다.

[0030] 염화나트륨(NaCl) 또는 다른 염을 함유하는 식염수에서 전극에 직류(DC), 교류(AC), 또는 혼합-패턴 전류 전압을 인가함으로써, 기능성 스페이서가 반응성 산소 종 및 염소 함유 요소를 포함한 활성 항미생물 및 항생물막 성분을 발생시켜, 생물부착 미생물을 LIG 표면으로 유인한다. 활성 염소 요소는 염소(Cl<sub>2</sub>), 차아염소산(HOCl), 및 차아염소산 이온(ClO<sup>-</sup>)(본원에서 "활성 염소 종"으로 불림, 이에 한정되지 않음), 및 "반응성 산소 종"으로서 과산화수소(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), 및 히드록실 라디칼 (HO<sup>·</sup>)(이에 한정되지 않음)을 포함한다. 활성 종은 도전성 이온 함유 용액, 예를 들어 용액 중의 클로라이드 함유 염, 예를 들어 염수, 및 전류를 발생시키는 부재의 전위차(전압)로부터 발생되며; 일부 경우에 LIG는 전류 캐리어일 수 있다. 활성 종은 스페이서 상 또는 부근에서의 미생물 오염을 없앨 수 있으며 이에 멤브레인 상의 미생물의 생물부착을 방지할 수 있지만, 전류는 미생물을 적극적으로 끌어당겨 LIG, 또는 LIG 부근에 접촉시킬 수 있으며, 여기서 전기적 효과 또는 LIG와의 접촉은 세포에 대한 물리적 파괴를 야기한다.

[0031] 예를 들어 활성 염소 및 산소 종의 생성을 위해 인가되는 전압은, 0.05 V 내지 5 V, 바람직하게는 0.1 V 내지 3.5 V(예를 들어 0.5 내지 3.0 V 포함)의 범위일 수 있다. 바람직하게는, 상기 전위는 0.5 V 내지 5 V, 예를 들어 1.1 V 내지 4.5 V, 또는 더 바람직하게는, 1.1 V 내지 3.5 V, 예를 들어 1.5 V 내지 3.5 V의 범위일 수 있다. 일반적으로, 전압 및 전류의 지속시간은 생물부하, 및/또는 염소 및 다른 활성 종에 대한 멤브레인의 감도에 따라 조정될 수 있다. 전기는 지속적으로 또는 요구에 따라 제공될 수 있다. 전기는 적어도 1초의 기간 동안, 예를 들어 적어도 10초 동안, 또는 적어도 30초 동안, 또는 적어도 60초 동안, 또는 적어도 5분 동안, 또는 적어도 15분 동안, 또는 지속적으로 제공될 수 있다. 전류는 시스템 모니터링 신호, 예를 들어 총 유기 탄소(TOC)의 상승, 임계 콜로니 형성 단위(CFU) 계수 이상의 계내의 미생물종의 출현, 시스템 성능 예컨대 투과 플럭스의 저하 등에 반응하여 공급될 수 있거나; 또는 생물부착 예방으로서 주기적으로 제공될 수 있다.

[0032] 이론에 구속됨이 없이, 스페이서 상에 인시츄로 활성 염소 종 및 또는 반응성 산소 종의 공급은, 멤브레인에서의 노출을 최소화하면서, 높은 국지적 농도가 세균에 전달될 수 있도록 하며, 특히 전류에 의해 상기 종으로 향하게 하는 것으로 생각된다. 생물막이나 유기물 부하가 높은 용액의 경우 더 높은 농도가 필요할 수 있지만 0.1 백만분율(ppm)을 초과하는 활성 염소 종의 농도가 살균에 효과적인 것으로 알려져 있으며; 또한 스테이플 필터 멤브레인은 그 성능의 상당한 저하없이 약 300시간 동안 30 ppm의 염소 셀린지에 견딜 수 있는 것으로 알려져 있다. 따라서 사용시 스페이서는 활성 종을 농도가 매우 낮은 수준으로 유지되도록 제공될 수 있다. 예를 들면, 약 0.1 mg/l의 일정한 과잉 염소 용량에서 조차, 스테이플 멤브레인은 90,000시간 동안 (30 ppm \* 300 h = 9000 ppm.h; 9000 ppm.h/0.1 ppm = 90,000시간), 즉 10년에 걸쳐 정상적으로 기능할 것이다. 게다가, 실시예 섹션에서 입증된 결과로부터 알 수 있는 바와 같이, 세균 부하가 높은 경우, 생성된 활성 종은 세균에 의해 흡수되며, 이에 이들이 폴리머 멤브레인을 공격할 수 없게 된다.

[0033] 활성 종의 양은 전압을 조정함으로써(전압이 높을수록 더 많은 활성 종을 발생시킴) 또는 전압을 교대로 인가하고 인가하지 않음으로써(교대로, 활성 종을 발생시키고 발생을 중단시킴) 제어될 수 있다. 활성 종의 인시츄 생성 및 이들의 양의 제어 능력은 생존 미생물, 생물부착 또는 생물막 성장의 형성을 없애거나 최소화하기에 충분한 항미생물 성분을 제공한다. 전극의 표면으로 미생물을 전기적으로 유인하고, 활성 종, 예를 들어 활성 염소 종 및 또는 반응성 산소 종의 양을 제어하는 능력은, 또한 인근의 멤브레인 재료의 분해를 제한한다.

[0034] 스페이서 상의 LIG의 제2 기능은 LIG가 항미생물성이며, 항생물막 기능을 나타내는데 있다. 이는 또한 스페이서 상의 파울링, 생물막 성장 및 세균 부착을 방지한다. LIG-코팅된 스페이서 성분과의 접촉 후 세균 생존은 일반적으로 25% 미만이고, 바람직하게는 0.1% 미만이다. 따라서, 또 다른 양태에서 본 발명은 수처리 시스템의 기능성 스페이서, 멤브레인 및 다른 구성 요소 상에서의 파울링, 생물막 성장 및/또는 세균 부착을 방지 또는 감소 또는 최소화하는 방법에 관한 것이다.

[0035] 본원에서 사용시 용어 "수처리 시스템" 또는 "수처리 장치"는 특정 용도의 정제수 또는 수성 생성물을 가공, 처리 또는 발생하기 위한 시스템 또는 장치를 지칭한다. 수처리 시스템은 순도, 도전을 등과 같은 특성, 품질, 또는 성질의 소정의, 원하는, 또는 바람직한 세트를 갖는 물을 생성하는데 사용될 수 있다. 예를 들면, 수처리 시스템은 대중에게 음용수를 생성 및 분배하기 위한 수처리 설비, 제조 공정을 위해 물을 생성하도록 설계된 시스템, 중앙 폐수 처리 플랜트와 같은 환경으로 배출될 수 있는 생성물로 수성 물질을 가공 또는 처리하는데 사용되는 시스템, 등을 포함할 수 있다. 예를 들면, 수처리 시스템은 고도의 분리, 여과, 투석, 이온 교환 공정, 또는 예를 들어 개개 가정 또는 수원(water source)의 사용을 위한 적절한 파라미터에 따른 물을 가공, 처리, 검출, 정제, 단리, 분리 등을 위한 임의의 다른 기초, 기술, 또는 메커니즘에 기초한 장비를 사용하는 임의의 시스템, 플랜트 또는 설비를 포함할 수 있다.

[0036] 수처리 장치는 전형적인 나선형-권취 멤브레인 구성으로 어셈블리될 수 있다. 일반적으로, 멤브레인 및 공급 채널 스페이서와 투과물 수집 경계층의 적층이 제공된다. 스페이서는 본원에 기술된 바와 같이 LIG 코팅을 제공하기 위해 레이저로 양측에 사전 방사처리될 수 있거나, 또는 LIG를 포함하는 코팅 또는 바니시로 코팅될 수 있다. 이에, 절연 전극이 공급 채널 스페이서의 어느 표면 상에 제공될 수 있다. 라미네이트는 축을 따라 권취되어 하우징 내에 배치될 수 있다. 투과물 수집기는 투과물 수집 공간과 액체 연통하며, 공급물 유입구는 공급 채널 스페이서 및 멤브레인과 액체 연통한다. 절연 전극 와이어들이 스페이서의 LIG 층의 어느 것과 각각 전기적으로 접속될 수 있고 공급수로부터 절연되며; 스페이서 상의 도전층에 전기적으로 접속된 전극은, 경우에 따라 스위치, 릴레이 및/또는 컨트롤러를 포함한 전기 회로에 의해 전원에 전기적으로 접속된다. 신호, 예를 들어 외부 신호 또는 릴레이 사이클에 반응하여, 회로가 폐쇄되고 전기가 전극을 통해 스페이서 부재의 LIG 코팅에 공급된다. 전극에 공급된 전기는 이후에, 예를 들어 세균을 전극 표면으로 유인함으로써 세균을 죽이고, 전기적 효과 및/또는 LIG와의 접촉에 의해, 공급수에 존재하는 클로라이드 이온을 활성 염소로 부분적으로 변환시킴으로써 그리고 스페이서 부재 상에서 또는 부근에서 반응성 산소 종을 생성함으로써 유치 세균에 국지적으로 고농도로 전달되도록 하여 미생물을 사멸시키며, 이에 따라, 세균 파울링을 제거한다.

[0037] 이하의 실시예는 본 발명을 제한없이 구체적으로 예시하기 위한 의도이다.

[0038] 실시예

[0039] 레이저 유도 그래핀(LIG)의 제작

[0040] LIG를 위해, 레이저 유도는, 10.6  $\mu\text{m}$  CO<sub>2</sub> 펄스 레이저(75 W)가 갖춰진, XLS10MWH (Universal Laser Systems) 레이저 플랫폼을 이용하여 시판용 PI 필름(Kapton®, 두께 0.005 인치, McMaster-Carr에서 구입, Cat. 2271K3 (폴리(4,4'-옥시디페닐렌-피로멜리트이미드) 상에서 수행되었다. 여러 샘플을 준비하였다. 이하 보다 상세히 기재되는 EL 3-117 및 EL 3-146으로 명명된 샘플을, 별도의 언급이 없는 한 모든 실험에 대해 동일한 이미지 밀도 8(1000 펄스/인치), 레이저 듀티 사이클 2% 및 스캔 속도(래스터링 속도) 5%(15 cm/s)를 사용하여 준비했다.

[0041] 도 1a에서 예시된 가스 어시스트(공기 또는 3% H<sub>2</sub>/Ar 혼합물)로 제조된 LIG의 경우, 레이저 플랫폼 내의 일반적인 분위기가 정제 공기(1기압)이도록 하면서 노즐을 사용하여 선택된 가스를 레이저 스폿 쪽으로 블로잉시켰다. 용어 "레이저"는 레이저 빔을 나타내고, 용어 "공기"는 공기로 예시되는 가스의 공급을 나타내며, 용어 "노즐"은 공기로 예시되는 가스의 공급을 위한 노즐을 나타내고, 용어 "PI"는 폴리이미드로 예시되는 기재를 나타낸다. 도 1b에 예시된, 가스 박스(O<sub>2</sub>, 공기, Ar, 또는 H<sub>2</sub>)로 제조된 LIG의 경우, 가스 박스를 사용하여 다양한 가스가 박스를 통해 흐르도록 하고, ZnSe 윈도우(두께 6 mm)를 박스의 상부에 실장하여 CO<sub>2</sub> 레이저가 PI 필름에 방사되도록 했다. 용어 "레이저" 및 "PI"는 도 1a에 도시된 바와 같고, 용어 "ZnSe 윈도우"는 ZnSe 윈도우를 나타내며, "가스 라인"은 가스 라인을 나타내고, "가스"는 가스 공급을 나타내며, "벤트"는 배기를 나타내고, "박스"는 가스 박스를 묘사한다. 가스 박스를 사용하는 경우, 사용된 유량은 O<sub>2</sub>의 경우 ~140 표준 입방 센티미터/분(sccm), 공기의 경우 ~140 sccm, Ar의 경우 ~125 sccm, H<sub>2</sub>의 경우 ~175 sccm이며, 모두 1 기압에서의 값이다. 일반적으로, 달리 언급이 없다면 시험된 모든 샘플에 대해 2% 레이저 듀티 사이클이 사용되었다.

[0042] LIG 샘플에 대한 특징규명(SEM, TEM, 라만, 접촉각, XPS, 등)이 도 2-6에 도시된다. 하기의 샘플을 준비하여 시험하였다: EL 3-117 I: 공기 어시스트를 이용한 LIG(도 2-6에서 "공기"로 명명됨), EL 3-117 III: 3% H<sub>2</sub>/Ar 어시스트를 이용한 LIG(도 2-6에서 "3% H<sub>2</sub>/Ar"로 명명됨), EL 3-117 IV: H<sub>2</sub>(박스)를 이용한 LIG(도 2-6에서 "H<sub>2</sub>(박스)"로 명명됨), EL 3-117 V: Ar(박스)를 이용한 LIG(도 2-6에서 "Ar (박스)"로 명명됨), EL 3-117 VI: 공기(박스)를 이용한 LIG(도 2-6에서 "공기 (박스)"로 명명됨), 및 EL 3-146: I (LIG: 100% 공기 어시스트), IV

(LIG Ar: 박스 내 Ar), V (LIG H<sub>2</sub>: 박스 내 H<sub>2</sub>), VII (LIG O<sub>2</sub>: 박스 내 O<sub>2</sub>) (도 2-6에서 "O<sub>2</sub> (박스)"로 명명됨).

[0043] 도 2는 다양한 가스 분위기 하에서 제조된 LIG 샘플의 탐부 SEM 이미지를 도시한다. 노즐을 통한 블로잉: (a) 공기, (b) 3% H<sub>2</sub>/Ar; 가스 박스를 통한 흐름: (c) O<sub>2</sub>, (d) 공기, (e) Ar (아르곤), (f) H<sub>2</sub> (수소 가스). 스케일 바: 2 μm. 삽입 사진은 LIG 표면 상에 스프레딩되거나 놓여있는 수적이다. 도 3은 다양한 가스 분위기 하에 제조된 LIG의 탐부(도 3a-3f) 및 사이드뷰(도 3g-3l) SEM 이미지를 도시한다. 도 4는 다양한 가스 분위기 하에 제조된 LIG의 TEM 이미지를 도시하고, 도 4(a-f)는 200 nm의 스케일 바를 사용하고, 도 4(g-l)는 20 nm의 스케일 바를 사용한다. 도 5는 상이한 레이저 듀티 사이클에서 상이한 가스 분위기 하에서 제조된 LIG 샘플의, 그래프의 종축에 "접촉각(°)"으로 나타낸 접촉각을 도시한다. "레이저 듀티 사이클(%)"로 표시된 횡축은 표본 준비에 사용된 레이저 듀티 사이클의 값이다. 150°에서 파선, 초소수성에 필요한 최소 접촉각임.

[0044] 그래핀의 특성을 보여주는, ~1350 cm<sup>-1</sup>에서의 D 피크, ~1580 cm<sup>-1</sup>에서의 G 피크 및 ~2700 cm<sup>-1</sup>에서의 2D 피크를 포함하는 라만 스펙트럼. 2D 피크의 존재는 단일층 그래핀 시트의 존재를 지지한다. LIG의 XPS 스펙트럼은 주로 탄소 및 산소의 원소 조성을 보여준다. SEM 이미지는 FEI Quanta 400 ESEM으로 촬영되었다. 투과형 전자 현미경(TEM) 특징규명은 200-kV JEOL 2100 Field Emission Gun TEM을 사용하여 실시되었다. 라만 스펙트럼은 633 nm 레이저를 이용한 Renishaw Raman RE01 스톱프로 기록되었다. XPS는 200μm 빔 사이즈 및 45° 이륙각을 갖는 PHI Quantera SXM 주사형 X-선 마이크로프로브에서 실시되었고, 284.5 eV에서 C 1s를 사용하여 보정되었다. 데이터가 도 6(a-e)에 요약되어 있다. 도 6a 및 6b에서, 명명은 앞서 기재한 바와 같으며, 곡선의 순서는 하기와 같다 (상부에서 아래로): 공기 - 3% H<sub>2</sub>/Ar - O<sub>2</sub> (박스) - 공기 (박스) - Ar (박스) - H<sub>2</sub> (박스). 도 6d에서, 채워진 원형은 O 함량의 백분율을 나타내며, "O 함량(%)"로 명명되고, 빈 원형은 C-O 함량의 백분율을 나타내며, "C-O 함량(%)"로 명명된다. 도 6e에서, 채워진 원형은 D/G 라만 피크 비를 나타내고, "D/G"로서 표시되며, 빈 원형은 2D/G 라만 피크 비를 나타내고, "2D/G"로서 표시된다.

[0045] 레이저 유도 그래핀(LIG) 나노섬유의 제작

[0046] LIGNF를 위해, 레이저 유도는, 10.6 μm CO<sub>2</sub> 펄스 레이저(75 W)가 갖춰진, XLS10MWH (Universal Laser Systems) 레이저 플랫폼을 이용하여 시판용 PI 필름(Kapton®, 두께 0.005 인치, McMaster-Carr에서 구입, Cat. 2271K3) 상에서 수행되었다. 모든 실험에 대해 동일한 이미지 밀도 6(500 펄스/인치) 및 스캔 속도 10%(30 cm/s)가 사용되었다. 다른 길이를 갖는 LIGNF를 얻기 위해 1% 내지 5% 레이저 듀티 사이클이 사용되었다. 플루엔스는 많은 펄스를 평균하고 열량계를 사용하여 평균 출력을 측정하여 계산되었다.

[0047] LIGNF 샘플에 대한 특징규명(SEM, TEM, 라만, XPS, 등)은 도 7-9에 도시된다. 도 7은 하기를 도시한다: a) "플루엔스 (J/cm<sup>2</sup>)"로 표시된 레이저 플루엔스의 함수에 따른 "높이(μm)"로 표시된 LIGNF 카펫 높이. b) 43 J/cm<sup>2</sup>; c) 53 J/cm<sup>2</sup>; d) 69 J/cm<sup>2</sup>의 플루엔스를 이용한 LIGNF 카펫의 100 μm의 스케일 바를 갖는 SEM 이미지; 및 e) 플루엔스 78 J/cm<sup>2</sup>를 이용한 10 μm의 스케일 바를 갖는 LIGNF 카펫의 SEM 이미지. 도 8은 30 내지 200 nm의 다른 폭을 갖는 LIG의 고분해능(HR)-TEM 이미지를 제공한다. 스케일 바: a. 200 nm; b 및 c: 10 nm. 도 9는 하기를 도시한다: a) D, G 및 2D 피크를 보여주는 LIGNF의 라만 스펙트럼, "파수 (cm<sup>-1</sup>)"로 표시된 파수에 대한 "강도"로 표시된 피크 강도; b) "강도"로 표시된 XRD 피크 강도, 종축 "2θ(도)"로 표시된, 2θ ~26°에서의 현저한 피크, (002) 그래파이트 결정면을 나타냄; c) PI, LIG 및 LIGNF의 XPS 조사 스펙트럼은 원자 백분율로 표시된 이들의 상대적인 C, N 및 O 함량을 나타냄, "결합 에너지 (eV)"로 표시된 결합 에너지에 대한 "강도"로 표시된 피크 강도; d) PI, LIG 및 LIGNF의 C 함량의 XPS; e) PI, LIG 및 LIGNF의 N 함량의 XPS; e) PI, LIG 및 LIGNF의 O 함량의 XPS; 동일하게 명명됨.

[0048] 실시예 1: 폴리이미드 상에 제작된 레이저 유도 그래핀의 접촉 살균.

[0049] 접촉 사멸 검정은 다양한 제작 조건하에 형성된 LIG의 살균 특성을 조사하기위해 채택되었다. 이 검정은 세균을 표면 상에서 인큐베이션한 후 세균 생존율을 측정했다. 예를 들면, 이러한 방법은 이전에 문헌(Castrillon et al., 2015, Environ. Sci. Technol. Lett., 2015, 2 (4), pp 112-117, Interaction of Graphene Oxide with Bacterial Cell Membranes: Insights from Force Spectroscopy)에서 보고된 산화 그래핀의 항미생물 활성을 해명하는데 사용되었다.

[0050] 시험된 샘플은 하기 표 A에 요약되어 있다.

**표 A**

샘플 ID	진공 박스	가스	접촉각	주석
EL 3-117 I LIG/공기 어시스트	없음	공기	<sup>†</sup> 134°	친수성
EL 3 -117 III LIG/3%H <sub>2</sub> /Ar 어시스트	없음	3% H <sub>2</sub> / Ar	<sup>†</sup> 147°	친수성
EL 3 117 IV LIG/ H <sub>2</sub> (박스)	있음	H <sub>2</sub>	<sup>†</sup> 139°	소수성
EL 3 117 V LIG/ Ar (박스)	있음	Ar	<sup>†</sup> 140°	소수성
EL 3 117 VI LIG /공기 (박스)	있음	공기	<sup>†</sup> 146°	친수성

<sup>†</sup> - 수적에 의해

<sup>‡</sup> - 포획 버블에 의해

[0051]

[0052]

슈도모나스 에루지노사의 단일 콜로니를 50 ml 팔콘 튜브에서 LB 브로쓰(20 - 45 ml) (용원성 브로쓰/Luria Bertani 배지 - 효모 추출물, 트립톤 및 NaCl로 구성됨)에 첨가했다. 배양물을 30°C에서 교반하면서 밤새 성장시키고, 세균을 4,000 rpm에서 원심분리에 의해 펠릿화하고 무균 PBS(2x)(인산 완충 생리식염수 - NaCl, KCl, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 및 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>를 포함함)로 세척했다. 광학 밀도(OD<sub>600nm</sub>)는 분광광도계를 사용하여 1.236인 것으로 확인되었다. 현탁액을 9ml의 PBS에 이 샘플 1ml를 첨가하여 10배 희석시켰으며, 이후 OD가 약 0.1로 측정되었다. 폴리이미드(PI)(대조), EL 3 117- IV (LIG/H<sub>2</sub>(박스), 상기 표 A에 기재된 바와 같음), EL 3 117- III (LIG/3% H<sub>2</sub>/Ar 어시스트, 상기 표 A에 기재된 바와 같음), 및 LIGNF (레이저 유도 그래핀 4%, Nanofiber, 앞서 기재된 바와 같음)를 포함한 4개의 샘플을 시험했다. 100 μl의 희석된 세균 현탁액을 약(ca.) 1 cm<sup>2</sup>의 샘플 표면의 각각에 두고, 30°C에서 3시간 동안 인큐베이션했다. 이후, 샘플을 4 ml 무균 PBS에서 세척하고, 10 μl의 분취량을 취해(LB) 아가 플레이트 상에 스프레딩했다. 18시간 후 CFU(콜로니 형성 단위)를 수작업으로 계산했으며, 아가 플레이트 각각에 대해 4개의 상이한 샘플을 나타낸다. 생존율을 제공하기 위해 콜로니의 수를 폴리이미드 대조 샘플로 표준화했다. 결과가 표 1 및 도 10에 제시되며, 종축을 따라 생존율이 "생존율%"로서 명명된다.

**표 1: 상이한 샘플에 대한 세균 콜로니 계수 값**

샘플명	콜로니 계수	
	18 시간	생존율%
대조 폴리이미드 - (PI)	64	100
EL 3 117- IV - LIG (H <sub>2</sub> 박스)	0	0
EL 3 117 - III - LIG (3% H <sub>2</sub> /Ar 어시스트)	15	23
LIGNF	3	4

[0053]

- [0054] 레이저 유도 그래핀(LIG 및 LIGNF) 샘플은 대조 폴리이미드와 비교했을 때 매우 살균성임을 알 수 있다.
- [0055] **실시예 2: 폴리이미드 상에 제작된 레이저 유도 그래핀의 생물막 성장 검정, 단기 및 장기 연구.**
- [0056] LIG의 항생물부착 및 항생물막 특성은 플로우 셀 실험에서 관찰되었다. 이 실험을 위한 셋업은 도 11에 도시되며, 영양 배지, 펌프("플로우 셀 펌프"로 명명됨) 및 유리 슬라이드에 부착된 샘플을 함유하는 플로우 셀 챔버("샘플이 접종된 플로우 셀"로 명명됨)를 포함한다.
- [0057] 대조 폴리이미드, 및/또는 그래파이트, 및 LIG 샘플을 양면 테이프를 사용하여 유리 슬라이드에 부착시키고 플로우 셀 내부에 배치했다. 일반적으로, 샘플은, 50 ml 세균 배양물을 2.5 ml/min으로 플로우 셀을 통해 흘러 넣고, 이후, 96시간까지 및 14일까지 영양 배지를 흐르게 하여 접종되어졌다. 후술하는 약간 상이한 차이를 갖는 3종류의 다른 세균을 이용하여 상이한 실험을 수행하였다.
- [0058] 1. 슈도모나스 에루지노사를 상기 실시예 1에서와 같이 배양하였다. OD<sub>600nm</sub> 0.1을 갖는 LB 브로쓰 내 이들 세균의 50 ml 배양물을 2.5 ml/min으로 챔버 내로 흘러들어 나오게 했다. 이후에 최대 96시간 동안 카르베니실린 150 mg/L를 함유한 LB 배지의 2.5 ml/min의 연속 플럭스가 뒤따랐다. 카르베니실린은 임의의 간접 세균 종의 성장을 저해하는데 사용되었다.
- [0059] 2. 스프링고모나스 위티치이를 50 ml 박토-웍톤, 비프 추출물, 및 영양 브로쓰에서 배양시켰다. 세균을 2.5 ml/min으로 챔버 내로 흘러들어 나오게 했으며, 그 후에, 미량의 박토-웍톤(12.5 mg/l) 및 비프 추출물(7.5 mg/l)이 첨가된 멤브레인 생물 반응기에서 나온 폐수를, 1-1.5 ml/min에서 약 96시간 및 최대 14일 동안 흐르게 했다. 스트렙토마이신을 150 mg/L의 농도로 첨가했다.
- [0060] 3. 엔테로코커스 페칼리스를 상기 피. 에루지노사와 마찬가지로 처리했다. OD<sub>600nm</sub> 0.1을 갖는 LB 브로쓰 내 이들 세균의 50 ml 배양물을 2.5 ml/min으로 챔버 내로 흘러들어 나오게 했다. 이후 최대 36시간 동안 LB 배지의 2.5 ml/min의 연속 플럭스가 뒤따랐다.
- [0061] 세균의 염색은, 1.5  $\mu$ l 프로피디움 요오드화물 - 죽은 세균(사균) 세포를 염색하기 위한 것, 1.5  $\mu$ l Syto 9 - 살아있는 세균(생균) 세포를 염색하기 위한 것, 및 100  $\mu$ l 형광성 큰카나발린 A, 세균에 의해 분비되는 EPS(세포외 폴리머 물질)에 부착하는 탄수화물 결합 단백질(렉틴)을 897  $\mu$ l의 0.1 M NaCl에 첨가함으로써 라이브/데드 키트(Invitrogen)를 이용하여 수행되었다. 샘플은 염색 혼합물의 2-3 방울을 표면 상에 첨가함으로써 염색되었으며, 그후 이들을 0.1 M NaCl로 세척하고, (환경으로부터 빛에 의한 어떠한 상호작용을 방지하기 위해) 알루미늄 호일 하에 덮고 CLSM(공초점 레이저 주사 현미경검사)을 이용하여 이미지화했다. 생물막을 Z 스캐닝을 사용하여 이미지화했다. 샘플의 복수 영역을 관찰했고 결과를 평균했다. 평균 바이오매스 및 생물막 두께는 COMSTAT라 불리는 생물막 이미지 정량화를 위한 사전 작성 프로그램과 함께 MATLAB를 사용하여 정량화되었다. IMARIS 소프트웨어를 사용하여 CLSM 이미지를 시각화하고 처리하여 z-스캔의 여러 현미경검사 이미지에서 3-D 이미지를 재구성했다. 생균, 사균 및 EPS는 이미지에서 녹색, 적색 및 회색으로 착색된다.
- [0062] 피. 에루지노사 생물막은 PI 상에서는 쉽게 생성되지만, LIG, 및 LIGNF 상에서는 그러하지 않은 점이 용이하게 관찰되었다. 도 12는 PI, LIG, 및 LIGNF의 기재 상에서 피. 에루지노사 생물막 파라미터를 도시한다. "바이오매스 ( $\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$ )"로 명명된 바이오매스는 좌측에서 보다 열은 컬럼으로 도시되고, "두께 ( $\mu\text{m}$ )"로 명명된 생물막 두께는 우측에서 보다 짙은 컬럼으로 표시된다. 사균, 생균 및 EPS는 각각 "Dead", "Live" 및 "EPS"로 표시된다.
- [0063] 에스. 위티치이 생물막은 PI 상에서 쉽게 생성되었지만, LIG 샘플 상에서는 생물막이 보다 적은 정도로 또는 전혀 생성되지 않은 점이 또한 용이하게 관찰되었다. 도 14 및 15는 피. 에루지노사 생물막과 유사한 명칭으로 PI 및 LIG 샘플 간의 에스. 위티치이 바이오매스 및 두께 비교를 도시한다.
- [0064] **PI, LIG 또는 LIGNF 상의 피. 에루지노사 바이오매스 및 생물막 두께 - 96시간:**
- [0065] 3개 샘플 - 대조 폴리이미드(PI), LIG(레이저 유도 그래핀), 및 LIGNF(레이저 유도 그래핀 나노섬유)를 이용하여 예비 실험을 수행하였다. 본 발명자들은 폴리이미드가 고밀도의 사균 세포(적색), EPS(회색), 및 생균 세포(녹색)를 가지는 반면에, LIG 및 LIGNF는 생균 및 사균 세포가 거의 없고, EPS가 적은 점을 관찰했다 (표 2, 및 도 12).

표 2: 생물막 파라미터 - PI, LIG 및 LIGNF 상의 바이오매스 및 두께

	PI			LIG			LIGNF		
	Dead	Live	EPS	Dead	Live	EPS	Dead	Live	EPS
바이오매스 ( $\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$ )	33.12	34.64	52.80	0	0	1.28	0	0	5.72
두께 ( $\mu\text{m}$ )	47.56	47.41	70.53	0	0	6.69	0	0	27.86

[0066]

표 3: 생물막 파라미터 - 바이오매스 및 두께

		바이오매스 ( $\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$ )	평균 두께 ( $\mu\text{m}$ )
PI (n=9)	Dead	0.97	2.74
	EPS	0.19	0.11
	Live	11.50	27.11
그래파이트 (n=9)	Dead	0.16	0.21
	EPS	18.00	31.61
	Live	7.43	14.99
LIG Ar (n=9)	Dead	0.86	1.29
	EPS	0.04	0.02
	Live	5.23	8.62
LIG H2 (n=9)	Dead	0.02	0.00
	EPS	0.02	0.01
	Live	0.08	0.04
LIG 공기 (n=10)	Dead	0.02	0.00
	EPS	0.00	0.00
	Live	0.09	0.06
LIG O2 (n=9)	Dead	0.02	0.01
	EPS	1.45	2.44
	Live	0.21	0.37

[0067]

[0068]

대조 폴리이미드(PI), 그래파이트 시트(PAPYEX-SR, Merson Germany), 및 4종류의 LIG(레이저 유도 그래핀) EL 3-146 I, IV, V, 및 VII를 사용하여 피. 에루지노사에 대해 또 다른 실험을 수행했다. 샘플 3-146 I(공기 어시스트) 및 V(박스 내 수소)에서는 세포 또는 EPS가 관찰되지 않았다. 약간의 세포 부착이 IV(Ar) 샘플에서 관찰되었고, 약간의 EPS가 VIII (산소) 샘플에서 관찰되었다. PI 및 그래파이트 기재 둘 모두는 상당한 양의 살아있는 세포를 함유했으며, 그래파이트는 또한 높은 양의 EPS를 함유했다. 데이터가 상기 표 3에 요약되어 있고, 도 13에 도시된다.

[0069]

**PI 및 LIG 샘플 상의 에스. 워티치이 바이오매스 및 생물막 두께 - 96시간:**

[0070]

제2의 실험은 대조 폴리이미드 및 5가지 상이한 LIG 샘플에 대해 에스. 워티치이로 수행되었고, 이들이 작제된 조건은 앞서 제시되어있다 (표 A). 본 발명자들은 CLSM 이미지 분석을 통해 LIG 샘플과 비교하여 폴리이미드가 생균 및 사균과 EPS가 더 많은 것을 확인했다. CLSM 이미지는 MATLAB를 사용하여 생물막 파라미터 바이오매스 및 평균 두께에 대해 정량화되었고 결과가 각각 도 14 및 15, 및 표 4에 제시된다.

표 4: 산술 평균의 표준 오차(SEAM)를 갖는 에스. 위티치이 바이오매스

샘플	타입	바이오매스 ( $\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$ )	SEAM	평균 두께 ( $\mu\text{m}$ )	SEAM
대조 -PI (n=13)	Dead	2.70	1.47	8.67	4.59
	EPS	4.28	2.29	9.42	4.57
	Live	0.83	0.83	2.73	2.73
EL 3-117 I (n=3)	Dead	0.01	0.00	0.00	0.00
	EPS	0.11	0.10	0.24	0.24
	Live	0.02	0.02	0.00	0.00
EL 3-117 III (n=3)	Dead	0.02	0.01	0.01	0.01
	EPS	0.01	0.00	0.00	0.00
	Live	0.00	0.00	0.00	0.00
EL 3-117 IV (n=3)	Dead	0.01	0.00	0.00	0.00
	EPS	0.01	0.00	0.00	0.00
	Live	0.00	0.00	0.00	0.00
EL 3-117 V (n=2)	Dead	0.05	0.03	0.093	0.075
	EPS	1.46	1.37	3.89	3.84
	Live	0.03	0.03	0.037	0.036
EL 3-117 VI (n=2)	Dead	0.07	0.03	0.10	0.04
	EPS	0.05	0.02	0.05	0.02
	Live	0.00	0.00	0.00	0.00

[0071]

[0072] PI 및 LIG 샘플 상의 에스. 위티치이 바이오매스 및 생물막 두께 - 14일:

[0073]

제3의 실험은 대조 폴리이미드, 그래파이트 시트(PAPYEX-SR, Merson Germany) 및 4종류의 LIG(레이저 유도 그래핀) EL 3-146 I, IV, V, 및 VII에서 14일간 에스. 위티치이에 대해 수행되었다. 샘플 3-146 I(공기 어시스트), V(박스 내 수소), 및 IV (Ar) 샘플에서는 세포 또는 EPS가 관찰되지 않은 반면에, 약간의 EPS가 VIII (산소) 샘플에서 관찰되었다. PI 및 그래파이트 기체는 모두 상당한 양의 살아있는 세포 및 높은 양의 EPS를 함유했다. 데이터가 표 5, 도 16에 요약되어 있다. 도면에서의 명명은 앞서 설명한 바와 같다.

표 5: 생물막 파라미터 - 바이오매스 및 두께

		바이오매스 ( $\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$ )	평균 두께 ( $\mu\text{m}$ )
PI (n=7)	Dead	1.86	5.37
	EPS	3.11	6.42
	Live	15.19	30.08
그래파이트 (n=4)	Dead	0.69	0.77
	EPS	7.54	8.67
	Live	14.15	14.22
LIG Ar (n=5)	Dead	0.01	0.00
	EPS	0.01	0.01
	Live	0.08	0.05
LIG H2 (n=4)	Dead	0.01	0.00
	EPS	0.00	0.00
	Live	0.04	0.00
LIG 공기 (n=4)	Dead	0.01	0.00
	EPS	0.03	0.02
	Live	0.04	0.01
LIG O2 (n=6)	Dead	0.02	0.00
	EPS	0.67	0.76
	Live	0.17	0.12

[0074]



[0075] **PI 및 LIG 샘플 상의 이. 페칼리스 바이오매스 및 생물막 두께 - 1.5일:**

[0076] 또 다른 실험이 대조 폴리이미드(PI), 그래파이트 시트(PAPYEX-SR, Merson Germany) 및 상기와 동일한 4종류의 LIG (레이저 유도 그래핀): EL 3-146 I, IV, V, 및 VII을 사용하여 이. 페칼리스에 대해 수행되었다. 샘플 3-146 I (공기 어시스트) 및 VIII (산소) 샘플에서는 세포 또는 EPS가 관찰되지 않았다. 약간의 EPS가 샘플 IV (Ar) 샘플 V(박스 내 수소)에서 관찰되었다. PI 및 그래파이트 기체는 모두 살아있는 세포를 함유했고, 그래파이트는 또한 높은 양의 EPS를 함유했다. 데이터는 표 6, 도 17에 요약되어 있다. 도면에서의 명명은 앞서 설명한 바와 같다.

표 6: 생물막 파라미터 - 바이오매스 및 두께

		바이오매스 ( $\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$ )	평균 두께 ( $\mu\text{m}$ )
PI (n=12)	Dead	0.63	0.88
	EPS	0.02	0.00
	Live	0.39	0.56
그래파이트 (n=10)	Dead	0.22	0.33
	EPS	2.55	5.34
	Live	0.17	0.23
LIG Ar (n=10)	Dead	0.02	0.01
	EPS	0.21	0.07
	Live	0.01	0.01
LIG H2 (n=10)	Dead	0.00	0.00
	EPS	0.32	0.19
	Live	0.00	0.00
LIG 공기 (n=11)	Dead	0.00	0.00
	EPS	0.01	0.00
	Live	0.00	0.00
LIG O2 (n=10)	Dead	0.01	0.00
	EPS	0.01	0.00
	Live	0.00	0.00

[0077] **PI, 그래파이트, LIG 스페이서상의 피. 에루지노사 바이오매스 및 생물막 두께:**

[0079] LIG 스페이서에 대해 사용된 것과 동일한 LIG를 하기와 같이 1 cm x 1 cm 정방형으로 준비했다. 스페이서 그리드에 대해 동일한 셋팅을 갖는 LIG를 만들기 위해 2% 레이저 듀티 사이클이 사용되었다. 모든 실험에 대해 이미지 밀도 8(1000 펄스/인치), 스캔 속도(래스터링 속도) 10%(30cm/s), 및 100% 공기 어시스트가 사용되었다.

[0080] LIG 스페이서, 그래파이트 표면 및 비처리 PI를 시험했다. 간단히 설명하면, 피. 에루지노사(PA01) 야생형 배양물을 30°C에서 Luria-Bertani(LB) 브로쓰에서 성장시키고, 채취하여 LB 브로쓰로 세척하고 LB 브로쓰에서 600 nm에서 OD 0.1로 희석시켰다. LIG 코팅된 PI 샘플, 그래파이트 샘플 및 비처리 PI 필름을 양면 테이프로 유리 슬라이드에 부착시키고 플로우 셀에 수직으로 넣었다. 50 mL의 세균 현탁액을 플로우 셀을 통해 2.5 mL min<sup>-1</sup>의 속도로 흐르게 한 다음, 영양 배지(10% LB)를 2.0 mL min<sup>-1</sup>로 36시간 동안 흐르게 함으로써 피. 에루지노사의 표면 접종이 이루어졌다.

[0081] 프로피디움 요오드화물(1.5  $\mu\text{l}$ , 20 mM), 및 SYTO 9(1.5  $\mu\text{l}$ , 3.34 mM)을 사균 및 생균 각각을 염색시키기 위해 0.997 mL의 150 mM 염화나트륨에 첨가했다. Alexa Fluor 633 염료에 컨주게이션된 콘카나발린 A(ConA)가 세포 외 폴리머 물질(EPS)의 염색을 위해 사용되었다. ConA- Alexa Fluor 633 (50  $\mu\text{l}$  mL<sup>-1</sup>)은 150 mM 염화나트륨 중의 5 mg mL<sup>-1</sup> 스톱 용액의 희석에 의해 준비되었다. 표면을 페이퍼 티슈(Kimwipe)로 주의깊게 블롯팅하여 여분의 전해질을 제거한 다음, 100  $\mu\text{l}$ 의 염색 용액을 첨가하여 생물막 표면을 덮고 빛으로부터 보호된 상태로 20분간 보관했다. 0.25 mL의 염화나트륨 용액(150 mM)을 표면에 첨가하고 흡수 페이퍼로 가장자리를 만져 조심스럽게 여분의 전해질을 제거하여 표면을 부드럽게 세척했다 (3회).

[0082] 생물막의 평가는 Zeiss 건식 대물렌즈 플랜 - NeoFluar (20X 배율 및 개구 수 0.5)를 사용하여 공초점 레이저

주사 현미경검사(CLSM)(Zeiss LSM 510, META)에 의해 수행되었다. 488 nm의 여기 파장이 SYTO 9 및 PI 둘 모두에 대해 사용되었고, 633 nm가 Alexa Fluor 633에 대해 사용되었다. 생물막 이미지는 Imaris 3D 이미징 소프트웨어(Bitplane, 스위스 취리히)에 의해 준비되었고, 정량적 분석(생물막 부피 및 평균 두께)은 Matlab 2015b 상의 COMSTAT를 사용하여 계산되었다.

[0083] 본 발명자들은 LIG가 어떠한 다른 영향없이 생물막 성장의 형성에 내성이 있음을 관찰했으며 생물막이 거의 관찰되지 않았다. 반면에, PI 및 그래파이트 대조 둘 모두는 다량의 생균 및 세포의 폴리머 물질(EPS)과, 보다 적은 양의 사균을 보여주었다. 결과가 도 18에 요약되어 있다. PI는 "폴리이미드"로 명명되고, 그래파이트 페이퍼는 "그래파이트"로 명명되었다. 다른 명명은 앞서 설명한 바와 같다.

[0084] 가장 큰 바이오볼륨은 그래파이트에서 관찰되었으며 최대 26  $\mu\text{m}$ 의 두께가 관찰되었다. IMARIS-Bitplane 소프트웨어를 이용한 생물막의 3D 시각화는 사균이 PI 및 그래파이트 재료의 표면 부근의 생물막 아래에 존재하는 것을 보여주었다. 이러한 사균 층은 위에 놓인 두꺼운 생물막 층이 상기 표면 부근에서 비선호적인 성장 조건 예컨대 영양분 결핍을 야기했음을 시사한다. 한편 LIG 표면은 매우 낮은 양의 부착된 생균, 사균 또는 EPS를 보여주었고, 항생물막 표면 코팅으로서 사용하기 위한 잠재력; 수처리 및 폐수처리 기술을 위한 원하는 특징을 분명히 보여주었다. LIG 표면과 PI 기재 사이의 대조적인 생물막 성장은 재료들 사이의 경계 영역의 이미지에서 특히 관찰되었다.

[0085] LIG, PI 및 그래파이트 페이퍼의 소수성을 확인해 보았으며 상당한 차이가 있는 것을 밝혀내었다. 접촉각 측정에 따르면, 그래파이트( $61.3^\circ \pm 6.6$ ) 및 PI ( $74.5^\circ \pm 3.3$ )와 비교하여, LIG는 EL 3-117 I에 대해 앞서 결정된 것과 마찬가지로, 가장 친수성( $45.3^\circ \pm 3.8$ )인 것으로 나타났다. 이론에 구속됨이 없이 보다 높은 친수성 표면은 소수성 EPS 성분 또는 용해된 유기 물질과 같은 소수성 성분을 용액으로부터 현저히 적게 흡착할 수 있으며, 이는 향상된 세균 부착을 위한 표면을 컨디셔닝할 수 있다고 생각된다. 본 발명자들은 EPS가 LIG 표면 상에 존재하지 않는 것을 관찰했다.

[0086] **이차 처리 폐수에 대한 PI, 그래파이트, LIG 스페이서 상의 바이오매스 및 생물막 두께**

[0087] 이차 처리 폐수를 이스라엘의 Kibbutz Sde Boker에 위치한 폭기 연못으로부터 수집했다. 이 물은 하기 표 7에 상술된 조성을 가졌으며,  $1.6 \pm 0.2 \times 10^4 \text{ CFU mL}^{-1}$ 의 세균문 액티노박테리아(*Actinobacteria*), 박테로이데테스(*Bacteroidetes*), 피미큐티스(*Firmicutes*), 프로테오박테리아(*Proteobacteria*), 및 후보 문 TM6을 함유했다. 농도는 스프레드 플레이트 법을 사용하여 결정되었다. 또한, 1 mL의 이차 처리 폐수를 50 mL LB 배지에 첨가한 후 30°C에서 24시간 동안 인큐베이션하고 세균 농도를 희석에 의해 조정했다.

표 7: 이차 처리 폐수의 조성

	값 (ppm)
BOD <sub>5</sub>	55
TOC	122
질소	20
인산염	15

[0088]

[0089] LIG 스페이서 제조, 생물막 염색 및 공초점 현미경검사를 상술한 바와 같이 수행했다. 생물막을 폴리이미드 시트, 그래파이트 및 LIG 스페이서 상에 성장시켰다. 바이오매스( $\mu\text{g}/\mu\text{m}^2$ ) 및 생물막 두께( $\mu\text{m}$ )의 결과가 하기 표 8에 요약되어 있고, 도 19에서 입증되고 있다. 도 19에서, 바이오매스 컬럼은 청색이고 쌍의 왼쪽에 놓이며, 오렌지색의 두께 컬럼은 쌍의 우측에 놓이며, 명명은 상술한 바와 같다.

표 8: 이차 폐수 생물막 파라미터 - 바이오매스 및 두께

	폴리이미드			그래파이트			그래핀		
	Dead	EPS	Live	Dead	EPS	Live	Dead	EPS	Live
바이오매스 ( $\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$ )	5.51	0.95	5.45	4.58	1.89	18.26	2.25	1.07	0.37
평균 두께 ( $\mu\text{m}$ )	11.08	0.21	12.16	10.31	3.36	44.35	1.12	2.25	0.02

[0090]

[0091]

**실시예 3: LIG 입자의 세균 독성**

[0092]

독성 검정은, PI 표면 상에 제작된 스페이서 그리드로 제조된 LIG(이미지 밀도 8(1000 펄스/인치), 스캔 속도 (래스터링 속도) 10%(6 인치/s), 2% 출력, 및 100% 공기 어시스트가 사용되었다)를 사용하여 수행되었고, 표면으로부터 동일한 LIG 층을 스크랩함으로써 제조된 LIG 분말과 비교하였다. 작은 및 큰 입자 크기를 갖는 LIG 분말은, 스크랩된 LIG의 음파처리에 의해 준비되었고, AFM을 사용하여 각각 0.09 및 0.55  $\mu\text{m}^2$ 의 평균 입자 시트 영역을 형성했다.

[0093]

LIG 분말은 PI 표면으로부터 LIG를 스크랩함으로써 제조되었다. 스크랩된 LIG의 프로브 음파처리에 의해 다양한 LIG 분말 사이즈 분포가 얻어졌다. 간단히 설명하면, 배쓰-소니케이터(D-74224, Elma Singen)에서의 30분간 침지에 의해 LIG 분말의 안정한 현탁액(DI 수 중의 2.0 mg mL<sup>-1</sup>)을 제조했다. 이 현탁액을 이후에 보다 작은 크기를 위해 얼음욕에서 고강도(VCX130, Sonics Vibra-cell)로 120분간 프로브 음파처리했다.

[0094]

작은 크기의 LIG 분말의 샘플을 KMnO<sub>4</sub>를 사용하여 추가 산화시켰으며 이는 XPS를 사용하여 측정시 LIG 분말의 산소 함량을 4%에서 31%로 증가시켰다. 120분의 프로브 음파처리 후, 50 mL의 현탁액을 12000 x g에서 30분간 원심분리했다. LIG 분말(100 mg)을 5 mL의 진한 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>에 넣었다. 이후, KMnO<sub>4</sub>(0.75 g)를 얼음욕에 서서히 첨가했다. 용액을 2.5시간 동안 35°C로 가열하고, 이후, DI 수(10 mL)를 현탁액에 서서히 첨가했다. 2시간 후, DI 수(30 mL) 및 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(30%, 5.5 mL)를 현탁액에 서서히 첨가했다. 용액을 실온에서 2일간 유지하고 침전물을 원심분리(12000 x g, 30 min)에 의해 모아 HCl(10% vol, 3x) 및 DI 수(3x)로 세척하여 화학 잔사를 제거했다. 여러 종류의 준비된 LIG 분말을, 5 mL(DI 중 2.0 mg L<sup>-1</sup>)의 현탁액을 멤브레인 필터 상에서 여과한 후 공기 건조시킴으로써 멤브레인 표면(혼합 셀룰로스 에스테르, 0.025  $\mu\text{m}$ , MF-Millipore 멤브레인 필터) 상에 침적시켰다.

[0095]

PI의 표면 상에 제조된 LIG의 항균 효능을 측정하고 혼합 셀룰로스 필터 상에 침적된 LIG 분말과 비교하였다 (도 20). 피. 에루지노사의 용액과의 표면 접촉 6시간 후, 상대적으로 미미한 효과가 LIG 표면 및 큰 입자 크기를 갖는 LIG 분말에서 확인되었다. 보다 작은 입자 크기 분포를 갖는 샘플은 부착된 세포의 사멸율에 있어 증가 (~23%)를 보여주었고, 산화된 작은 크기를 갖는 LIG 분말이 부착된 세포에 대해 가장 큰 항미생물성을 나타내었다 (~41% 사멸율). 도 20은 침적된 LIG 분말을 갖는 혼합 셀룰로스 멤브레인 ("멤브레인") 표면과 비교하여 PI, 및 LIG 표면 상에서 부착된 피. 에루지노사의 저해율을 보여준다. 분말-LIG-대형 입자는 (P-LIG-B)로; 분말-LIG-소형 입자는 (P-LIG-S)로; 산화된, 분말-LIG-소형 입자는 (P-LIG-SO)로 표시된다.

[0096]

표면은 표면과 접촉하지 않은 세포("침적된 세포"와 반대되는 "플랑크톤 세포")에 독성이 없었다. 그래핀의 보다 작은 입자 크기가 증가된 표면적 및 작은 가장자리 특징으로 인해 보다 큰 입자와 비교하여 세균에 보다 독성이 강할 수 있지만, 보다 높은 산소 함량은 보다 큰 산화 스트레스를 야기할 수 있다. 이에, PI 필름 상의 현재 제조된 LIG 표면의 형태 및 낮은 산소 함량은 낮은 수동적 항미생물 특성에 기여할 수 있었다. 레이저 출력 및 합성 분위기를 포함한 가변 LIG 제조 조건은 LIG의 형태와 산소 함량에 영향을 미칠 수 있으므로, 수동 항미생물 활성은 다른 유형의 LIG에서 향상될 수 있다.

[0097]

LIG 분말의 항미생물 활성이 또한 플랑크톤 세균에 대한 이들의 효과에 대해 용액 중에서 조사되었다. 피. 에루지노사 세포 현탁액을 다양한 크기의 LIG 분말 300  $\mu\text{g}/\text{L}$ 에 6시간 동안 노출시키고, 세균 생존율을 스프레드 플레이트 법을 사용하여 관찰하였다. 음파처리 단계없이 실시된 실험에서, 보다 큰 사이즈를 가진 LIG 분말은 보다 작은 입자와 비교하여 초기에 보다 독성인 것으로 나타났다 (도 21). 도 21은 분말-LIG-소형(P-LIG-S) 및 분말-LIG-대형(P-LIG-B)의 현탁액을 이용한 용액 중에서 피. 에루지노사를 이용한 항균 작용의 비교를 도시한다. LIG가 없는 용액은 대조로서 사용되었다. 그러나, 아가 플레이트 상에 접종 이전에 샘플에 대해 음파처리하여 실험한 경우(각각 "음파처리 이후" 및 "음파처리 이전"으로 명명됨), 명백한 항미생물 활성이 상실되었다. 이는

LIG 분말이 세균 세포를 덮거나 트래핑하여, 이들의 증식을 방지했음을 시사한다. 세균 세포는 불활성화되지 않았지만 그 성장이 단지 저해되었다. 항미생물 활성의 가시적 확인은, Syto9/프로피디움 요오드화물 라이브/데드 키트를 이용한 염색 및 CLSM을 이용한 이미징에 의해 알 수 있었다. 세균 세포는, 현탁액 중에 작은 또는 큰 LIG 분말과 함께, 대부분 생균을 나타내었다. 세균 세포 및 LIG 분말은 응집체를 형성하는 것으로 관찰되었으며 LIG 시트에서 세균 세포의 포획이 가능하다는 것을 시사했다. 혼합 셀룰로스 멤브레인 표면 상에 침적된 분말 LIG는 생균 및 사균 세포 모두를 나타내었고, 분말 LIG(소형, 산화된)가 가장 높은 항미생물 활성을 나타내었다.

[0098] 실시예 4: 폴리이미드 스페이서 메쉬 재료 및 75 W 레이저, 공기 중 2% 또는 2.5% 레이저 출력을 사용하여 생성된 폴리이미드의 양면에 LIG 코팅을 사용하여 스페이서 제작 및 1.5-2.5 V의 DC 전압을 이용하여 시험

[0099] 레이저 유도 그래핀 제작된 스페이서:

[0100] 이 작업에 사용된 Kapton® 폴리이미드 (PI) (두께: 0.005 인치) 폴리머 시트를 McMaster-Carr(Cat. 2271K3)로부터 구입했다. 폴리머 시트 상의 레이저 스크라이빙을 10.6  $\mu\text{m}$  CO<sub>2</sub> 펄스 레이저(75 W)가 구비된 XLS10MWH (Universal Laser Systems) 레이저 플랫폼으로 수행했다. 모든 실험에 대해 이미지 밀도 8(1000 펄스/인치), 스캔 속도 (래스터링 속도) 10% (30 cm/s), 및 100% 공기 어시스트를 사용했다. LIG 스페이서를 제조하기 위해, 우선 12% 레이저 듀티 사이클을 사용하여 PI 시트 상에 홀의 그리드를 제작하고(홀의 크기는 3 mm x 3 mm이고, 홀 간의 간격은 중심에서 중심까지 6 mm이다), 이후, 2% 또는 2.5% 레이저 듀티 사이클을 사용하여 홀 사이의 동일한 PI 시트 상에 LIG 네트워크(선폭 1 mm)를 생성했다. 제조된 그대로의 스페이서의 사진이 도 22b에 도시되어 있다.

[0101] LIG 스페이서:

[0102] 도시된 (도 22a) 폴리이미드 시트가 LIG 제작된 스페이서에 사용되었다. LIG는 도 22b와 같이 PI 시트(10 x 10cm)의 양면에 컴퓨터 제어 CO<sub>2</sub> 레이저를 사용하여 직접 작성되었다. 이러한 도전성 LIG 코팅이 전극으로 사용되었다. 실험을 위해, 도전성 글루에 의해 와이어를 전극(양면)에 부착시켰다. 이 전극들은 전기 배선으로 확장된 후 도 23에 도시된 바와 같이 전기화학 워크스테이션에 연결된다. 도 23에서: 용어 "자기 교반기"는 자기 교반기를 나타내고, "NaCl sol."은 NaCl의 용액을 나타낸다.

[0103] LIG 전극에 대한 전류 및 전압 특성은 도 23에 도시된 실험 장치를 사용하여 특징규명되었다. 가변 전압을 갖는 직류(DC) 전원이 본 연구에 사용되었다. LIG 스페이서는, 와이어 및 도전성 글루가 공기에 노출되도록 하면서 비이커에서 900 ml의 0.08 M NaCl 용액 중에 부분적으로 침지시켰다. 전압을 켜고 0-2.5 V로 변화시켰으며, 멀티-미터를 사용하여 전류 및 전압을 측정했다. LIG 전극의 어느 쪽이 캐소드 및 애노드로 사용되었다.

[0104] "2.0% LIG" 및 "2.5% LIG" 스페이서에 대한 전류-전압(IV) 곡선이 각각 도 24a 및 24b에 도시된다. 1.5 V에서 전극 작동 12시간 후 Set-1(갈은 채워진 원형) 및 Set-2(밝은 채워진 원형)를 반복 측정했다.

[0105] LIG 스페이서에 의한 산화 화학 종의 발생:

[0106] LIG에 의한 활성 염소 또는 반응성 산소 종 생성의 평가를 도 25에 도시된 것과 동일한 장치에서 상기 방법에 기재된 바와 같이 수행했다. 총 산화 화학 종 농도는 DPD 비색법에 의해 측정되었다. DPD(*N,N'*-디에틸-1,4 페닐렌디아민 설페이트)는 산화 종과의 반응 후 색을 나타내는 지시자이다. DPD 키트는 0.05 내지 5.0 mg/L 범위의 산화 종을 측정할 수 있는 타블렛을 포함하며, Sigma-Aldrich(이스라엘)로부터 구입했다. 실험을 위해, 새로운 NaCl 수용액(0.08M)을 비이커에 첨가했다. 1.5 V가 2.0 및 2.5% 레이저 출력(각각 도 25a 및 25b)으로 제작된 LIG 스페이서에 인가되었다. 총 산화 종 생성은 용액으로부터 취한 5 ml 샘플에 대해 측정되었다. 두 경우 모두에서, 농도가 시간에 따라 증가했다. "2.0% LIG"를 이용한 최대 활성 산화 종 농도는 실험 30시간 후 0.34 mg/L 였다. 반면에 "2.5% LIG"를 이용한 경우, 36시간 작동 후 0.47 mg/L 총 산화 종이 측정되었다. 문헌에 따르면, 일반적으로 0.1 내지 0.2 mg/L 총 염소 농도가 항미생물 활성에 필요하고 용액의 무균화를 완성한다.

[0107] LIG 스페이서에 의한 활성 산소의 생성:

[0108] 마찬가지로, LIG에 의한 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 종 생성의 평가를 수행했다. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 농도는 약간 더 희석된 0.05 M NaCl의 순수한 용액 중에서 1.5 내지 2.5 V 범위의 각 전압에서 2% LIG에 대해 측정되었다. 작동 9시간 후, 단지 0.3-0.9 mg L<sup>-1</sup>의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 측정되었다. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 생성은 캐소드에서 1.23 V에서 일어나고, 1.35 V에서 염소 형성이 일어난다. 실험

동안 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 검출된 반면에, Cl<sub>2</sub>는 검출되지 않았다. 형성된 염소 가스는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 빠르게 반응하여 지배적인 종의 존재를 야기한다. 결과가 도 26에 제시되며, 1.5(빈 원형), 2.0(빈 사각형) 및 2.5 V(빈 삼각형)에서 벌크 용액 중의 LIG 전극에 의한 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 생성을 측정하며, 과산화수소의 농도가 종축에 주어지며 "H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (mg/L)"로서 명명되고, 시간(h)이 횡축에 주어지며 "시간 (h)"으로서 명명된다.

[0109] **LIG 스페이서의 항균 효과:**

[0110] 스페이서의 항균 효과를, 도 23에 도시된 장치에서 높은 세균 부하(~10<sup>8</sup> CFU/ml) 또는 낮은 세균 부하(~10<sup>4</sup> CFU/ml)의 피. 에루지노사의 세균 배양물의 첨가에 의해 측정되었다. 세균은 상술한 바와 같은 액체 배지 LB에서 성장시켰다. 배양물을 30℃에서 교반하면서 밤새 성장시키고, 세균을 4,000 rpm에서 원심분리에 의해 펠릿화하고 무균 PBS(2x)로 세척한 다음 세균을 무균 PBS에 현탁시켰다. 세균을 높은 세균 부하(~10<sup>8</sup> CFU/ml) 또는 낮은 세균 부하(~10<sup>4</sup> CFU/ml)의 LIG 스페이서를 함유한 NaCl(0.08 M, 900 ml)의 수용액에 첨가했다. 1.5 V의 전위를 인가하고 스프레드 플레이트 법을 사용하여 CFU를 시간에 따라 모니터링했다. 30℃에서 24시간 인큐베이션 후 콜로니를 카운팅했다.

[0111] **초고 세균 부하 실험:**

[0112] 미생물 집단의 변화 및 사멸율%이 각각 도 27a 및 27b에 도시된다. 도 27a에서, 채워진 원형은 대조 세균 계수를 나타내고, 채워진 사각형은 LIG 반응기 세균 계수를 나타낸다. 24시간 작동 후 초고 부하에서 2 로그 감소가 나타났다. 총 산화 중 농도를 또한 실험 동안 측정했으며 산화 화학 종은 키트의 검출 한계(0.05 mg/L) 이하에서 관찰되었다.

[0113] **세균의 낮은 부하:**

[0114] 낮은 부하 세균의 실험 결과가 도 28에 도시되며, 대조 세균 계수가 짙은 적색의 채워진 원형으로 도시되며, LIG 스페이서 세균 계수는 옅은 청색의 채워진 사각형으로 도시된다. 작동 12시간 후, 99.99%의 미생물 개체가 LIG 스페이서의 복잡한 살상 메커니즘에 의해 사멸되었다. 총 산화 화학 종이 실험 중에 측정되었으며 도 29에서 염소 농도 당량으로 도시된다.

[0115] **LIG 스페이서의 항균 효과 - 전압의 효과:**

[0116] 마찬가지로, LIG 스페이서의 항미생물 활성은 1.5-2.5V 범위의 전압이 가해진 전극 쌍으로 사용될 때 관찰되었다. 그리드 패턴으로 3 mm 분리된 사각형 홀(3 mm x 3 mm)을 레이저 커팅함으로써 상술한 바와 같이 천공된 PI 시트 10 cm x 7 cm를 제작하였다. LIG(1 mm 폭, 2% 레이저 출력 75W, 1000 펄스/인치, 30 cm/s)를 20 cm<sup>2</sup>의 총 전극 표면적에 대해 사각형 홀들 사이의 PI 시트의 양면에 프린팅했다. 구리 와이어를 탄소계 글루를 사용하여 각 전극에 연결하고 DC 전원에 연결했다.

[0117] 전극 시트를 NaCl(1 L, 0.05 M)의 수용액을 함유한 비이커에 현탁시켰다 (도 23 참조). 0.9% NaCl 용액 중의 피. 에루지노사 세포(10<sup>8</sup> CFU mL<sup>-1</sup>)를 상술한 바와 같이 제조하고 실온에서 일정한 교반하에 ~10<sup>4</sup> CFU mL<sup>-1</sup>(낮은 부하) 및 ~10<sup>6</sup> CFU mL<sup>-1</sup>(높은 부하)의 최종 농도를 위해 비이커에 첨가했다. 출력을 0, 1.5, 2.0 또는 2.5 V로 조정하고, 1 mL 샘플을 반응기로부터 회수하여 CFU 계수 또는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/활성 염소 중 결정에 사용했다. 부가적으로, 0 V에서, 0.05 M NaCl 용액 중의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 1.0 mg L<sup>-1</sup>의 초기 농도에 대해 외부적으로 첨가된 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 존재 또는 부재하에 실험을 실시했다. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 농도를 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/과옥시다제 검정 키트(Amplicon® Red, Thermo Fisher) 및 구리(II) 이온 및 2,9-디메틸-1,10-페난트롤린(DMP) 방법에 의해 측정했다. 활성 염소 종은 상술한 바와 같이 측정했다.

[0118] 본 발명자들은 인가된 최고 전압(2.5 V)이 시험 용액으로부터 생균을 제거함에 있어 가장 효과적인 것을 관찰했다. 작동 4시간 이내에 99%를 넘는 사멸이 관찰되었다. 1.5 및 2.0 V가 인가되었을 때는 보다 낮은 활성이 관찰되었으며; 그러나, 이들 LIG 전극은 2.5 V에서 희석 세균 용액을 완전히 오염제거했다 (4 로그 감소). 마찬가지로, ~3.5 로그 감소가 농축된 세균 용액에서 관찰되었다. 결과는 실험의 낮은 세균 부하 아암의 경우 도 30a-30b에서, 그리고 실험의 높은 세균 부하 아암의 경우 도 30c-30d에서 제시된다.

[0119] H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 농도는 전압 의존적이며 희석 세균 용액을 이용한 실험에서 작동 6시간 후 0.3-0.7 범위였다. 그러나, 측정된 모든 전압에서, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>는 농축된 세균 용액을 이용한 실험에서 검출 한계 이하였다. 다량의 세균 및 관련 유기

물질이 유리의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 가장 많이 소비했다. 피. 에루지노사 배양물에 외부적으로 첨가된 1 mg L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 독성을 0 V(개방 회로 전압)에 존재하는 LIG 전극으로 평가했다. 생존율은 세균의 희석액 또는 농축액에서 영향을 받지 않았다. 이론에 구속됨이 없이 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 포함한 활성 종이 전극에 의해 생성되면, 전극 표면 근처의 국부적 농도가 측정된 벌크 농도보다 훨씬 더 높을 것으로 예상되는 것으로 생각된다.

[0120] **실시예 5: LIG 전극의 활성 항미생물 활성 - 에피형광 현미경검사 연구**

[0121] 전기적 효과는 현미경 하에서 사용하도록 구성된 특수 LIG 전극을 사용하여 평가되었다. LIG 제작을 위한 조건은 스페이서 LIG와 동일했다. 캐소드 및 애노드 모두가 동시에 관찰될 수 있도록 전극들(0.4 cm x 1 cm) 사이에 100 μm의 채널이 설계되었다.

[0122] GFP 발현 피. 에루지노사의 현탁액을 전극의 상부에 첨가하고 상이한 전압에서 시간의 함수에 따라 모니터링했다 (도 31). 전압이 가해지지 않았을 때, 세균은 영향을 받지 않고 용액에 잔류하였다. 그러나, 1.1 V를 초과하는 전압이 인가되었을 때, 애노드를 향하는 세균의 이동이 관찰되었고, 세포의 후속적 소실이 1.5-2.5 V에서 관찰되었다. 1.1 V에서, 세균의 소실은 30초 후에는 나타나지 않았지만, 세균의 소실은 점점 더 두드러지고 1.5에서 2.5V까지의 전압 증가와 관련이 있었다. 예를 들면, 1.5 V에서, 세균은 1초 후에 애노드 측에서 사라지기 시작했고, 세균은 2초 후에 캐소드 측에서 사라지기 시작하여, 30초에 세균이 거의 완전히 사라졌다. 세균 세포의 보다 빠른 소실은 2.0V와 2.5V의 높은 전압에서 관찰되었으며, 1초 후에 세균의 거의 완전한 소실이 관찰되었다.

[0123] 이론에 구속됨이 없이 세균이 LIG 표면을 향하여 이동하고 그 이후에 사라지는 것은 전기적 효과, 예를 들어, 비가역적 전기천공이 표면 독성 효과 및 국지적 활성 화학 종 생성과 함께 LIG 표면의 항균 작용의 "능동적" 모드에 대한 가장 합리적인 설명일 수 있는 것으로 생각된다. 피. 에루지노사 세포는 세포막에 존재하는 음으로 하전된 생분자 예컨대 인지질 및 다당류로 인해 음의 표면 전하를 가지며, 이것은 애노드를 향해 유인될 수 있다. 세포의 입증된 순간 파괴는 세포벽 또는 세포막 성분의 빠른 물리적 파괴를 시사한다. 이는 도 32a-32f에 제시된 전극 상에서 촬영된 SEM 이미지에 의해 지지된다.

[0124] 동일한 방식으로 구성된 그래파이트 전극과 비교하여, 세균 세포의 이동은 2.3 V에서만 시작되었고, 세균의 소실은 2.6 V를 초과해서만 관찰되었다.

[0125] **실시예 6 - 폐수에 대한 LIG 전극의 능동적 항미생물 활성**

[0126] 이차 처리 폐수가 실시예 2에 사용되었다.

[0127] 희석된 이차 폐수는 폐수를 탈염소 수돗물로 1:10으로 희석하여 제조하였다. 폐수 배양물은, 해당 농도가 달성 될 때까지 30°C에서 이차 처리 폐수를 인큐베이팅함으로써 10<sup>4</sup> 및 10<sup>6</sup> CFU mL<sup>-1</sup>로 조정되었다.

[0128] LIG 스페이서 및 실험 장치는 실시예 4에 기재된 바와 같았다. 2.5 V의 전압을 9시간 동안 인가했으며, 모든 경우에서 >99.9% 세균 저해율이 관찰되었다. "시간 (h)"으로서 명명된 시간에 대한 "저해율%"로서 명명된 저해율의 결과가 도 33에 제시된다. 제시된 컬럼은 좌측에서 우측으로 하기와 같다: 10% 폐수 (가장 짙은 컬럼), 10<sup>4</sup> CFU/mL (보다 밝은 컬럼), 및 10<sup>6</sup> CFU/mL (가장 밝은 컬럼).

[0129] **실시예 7 - 항생물부착 스페이서를 갖는 교차-흐름 RO 어셈블리**

[0130] RO 멤브레인(ESPA 타입 DHR, Hydranautics에서 입수)은 10 bar의 일정한 압력에서 도 34에 개략적으로 도시된 교차-흐름 구성에서 측정되었다. 공급수는 피. 에루지노사의 ~10<sup>6</sup> CFU/mL의 초기 세균 농도를 함유하는 0.1 % Luria-Bertani(LB)를 갖는 합성 폐수로 이루어졌다. 합성 폐수는 이하의 염 조성을 가졌다: 1.16 mM 시트르산나트륨, 0.94 mM 염화암모늄, 0.45 mM 인산이수소칼륨(KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), 0.5 mM 염화칼슘 이수화물(CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O), 0.5 mM 중탄산나트륨(NaHCO<sub>3</sub>), 2.0 mM 염화나트륨(NaCl), 및 0.6 mM 황산마그네슘 칠수화물(MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O), 모두 탈이온 (DI)수에 용해됨. 공급물의 초기 pH는 7.4였고 이온 강도는 14.6 mM이었다.

[0131] Herzberg 등의 문헌[Herzberg, M.; Elimelech, M. Biofouling of Reverse Osmosis Membranes: Role of Biofilm-Enhanced Osmotic Pressure. *J. Memb. Sci.* **2007**, *295*, 11-20]에 기재된 바와 같이 실험실 규모의 교차-흐름 시스템이 사용되었다. 상기 셀은 잔류물 및 투과물 모두가 공급 용액 탱크로 재순환될 수 있는 교차-흐름 구성의 RO 멤브레인을 측정하는 데 사용되었다. 공급 스페이서는 실시예 4에서 앞서 기재한 바와 같은 천공

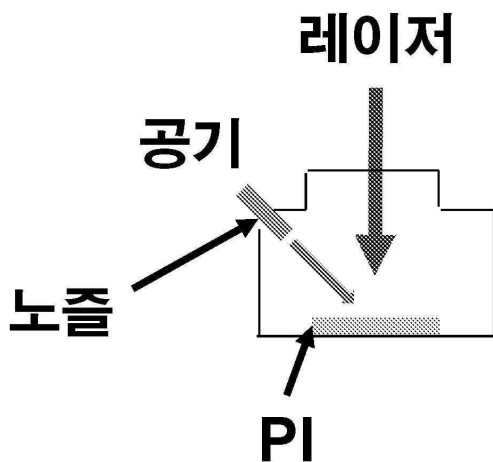
된 PI 시트로 이루어졌다. LIG는 듀티 사이클 2%에서, 두 축에서 1,000 펄스/인치의 이미지 밀도와 30 cm/초의 래스터링 속도로, 노즐을 통해 공기를 분사하면서, 사각형 홀들 사이에 PI 시트의 양면에 프린팅되었으며, 시스템은 주위 압력에서 정체 공기에서 유지되었다. 탄소 글루를 사용하여 그래파이트 스테드를 LIG 스페이서의 각 측에 접착시켰다. 그래파이트 스테드는 셀에서 나와 스위치와 2.5V의 전위에 연결되었다. 스페이서를 9.0 x 2.0 cm의 사이즈로 컷팅하고 2개의 표준 시판용 스페이서 네트(폴리 프로필렌, R0 모델로부터 취함) 사이의 공급 채널 측에 배치하였다.

[0132] 투과물 및 잔류물을 공급물 저장소(10 L)로 재순환시켰다. 실험은 10 bar(145.0 psi)에서 105 L/h 유량으로 행해졌고, 멤브레인의 사전 압축은 DI 수를 사용하여 24시간 동안 15 bar(217.5 psi)에서 수행되었다. 크로스 플로우 어셈블리에서의 온도는 온도 제어 시스템이 갖춰진 칠러를 통해 25°C로 조절되었다. 플럭스의 변화를 시간에 따라 측정하고 세균 집단을 스프레드 플레이트 법을 사용하여 특징구명했다. 실험을 완료한 후 멤브레인 표면에 대한 공초점 현미경검사를 수행했으며 대조 멤브레인과의 차이를 보여주었다.

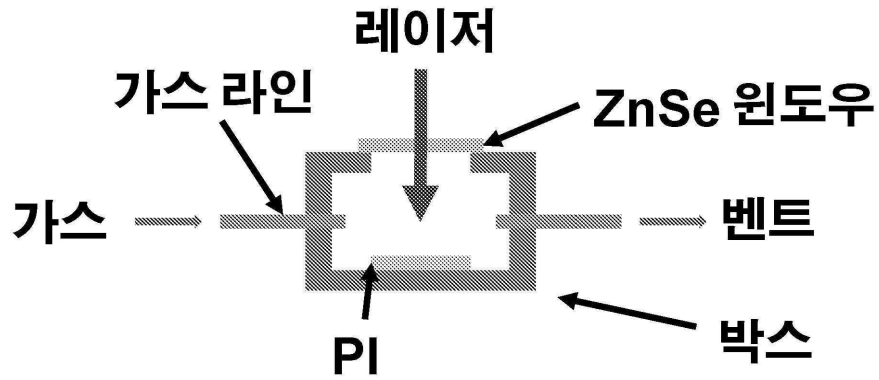
[0133] 플럭스의 감소뿐만 아니라 재순환된 공급 용액 중의 생존 가능한 세균의 양을 모니터링했으며, 각각 도 35 및 36에 제시된다. 상기 도면에서, 채워진 원형은 대조의 플럭스 및 생존 가능 계수를 나타내고, 채워진 사각형은 2.5 V 전위의 플럭스 및 생존 가능 계수를 나타낸다. 알 수 있는 바와 같이, 0 V(개방 회로 전위) 및 2.5 V에서 LIG 스페이서를 함유한 두 대조 실험에서 최초 약 10시간에 걸쳐 플럭스가 감소했다(도 35). 이론에 구속됨이 없이 이것은 공급 용액 중의 영양분으로부터의 유기 파울링에 기인하거나, 또는 단순히 멤브레인과 공급 용액과의 추가 평형에 기인하는 것으로 생각된다. 그러나, 10시간 후, 2.5 V에서 LIG 스페이서는 추가 플럭스 감소를 방지했다. 개방 회로 전위(0 V)가 인가되었을 때, 플럭스는 실험의 종점일 때까지 계속 감소했다. 이것은 멤브레인 표면의 생물막 성장에 기인할 수 있으며, 멤브레인 저항을 증가시킨다. 또한 주목할 만한 점은 2.5 V에서 LIG 스페이서가 재순환된 공급 용액 중의 세균 부하를 2 로그 단위로 감소시켰다는 것이다(도 36). 48시간 후, 0 V에서의 공급 스페이서를 이용한 세균의 양은, 2.5 V가 인가되었을 때의  $10^5$  CFU/mL와 비교하여 약  $10^7$  CFU/mL였다. 10시간 후 시스템에서 플럭스 감소가 없다는 것은 2.5 V에서의 LIG 스페이서가 멤브레인 상에서 생물막 성장을 크게 억제했음을 의미한다.

**도면**

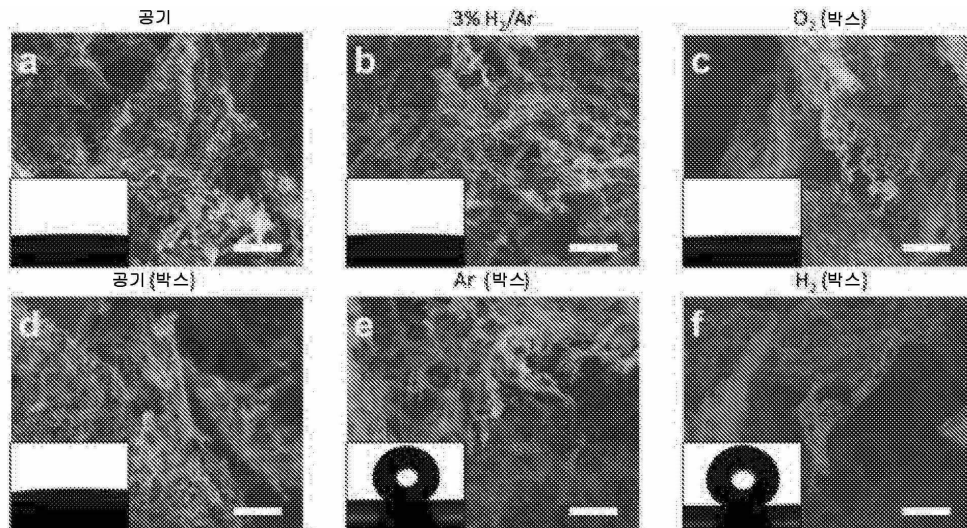
**도면1a**



도면1b

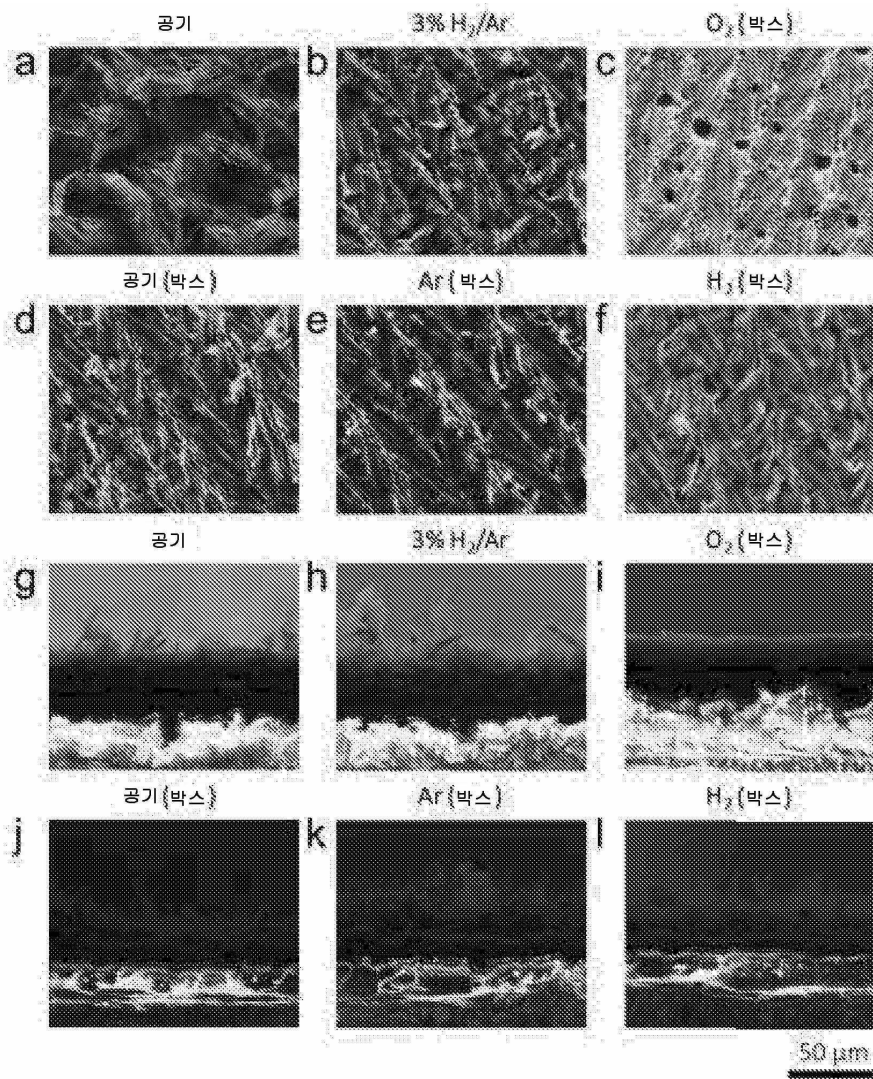


도면2

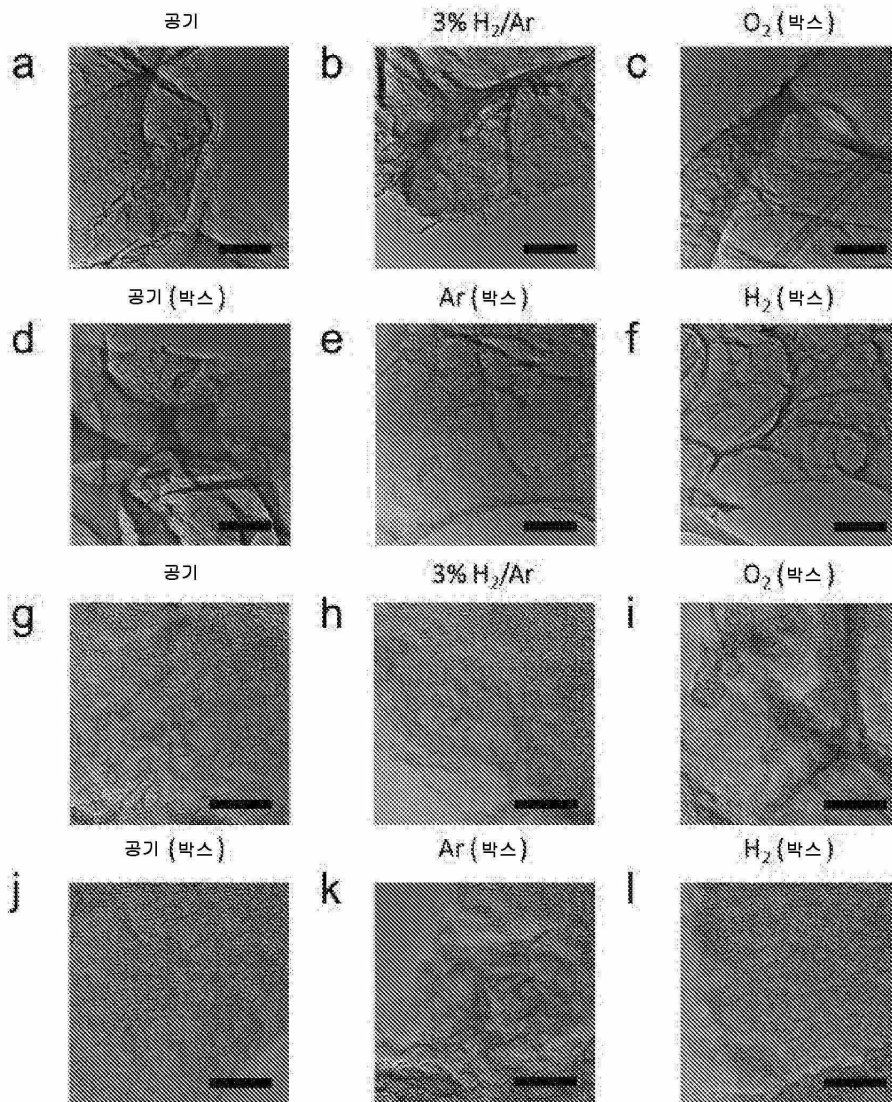




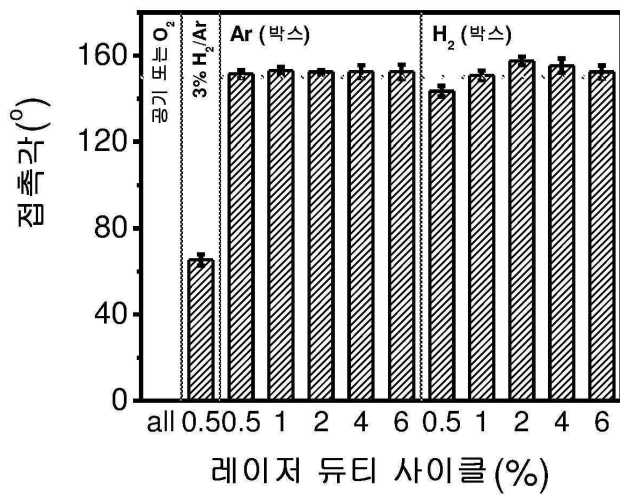
도면3



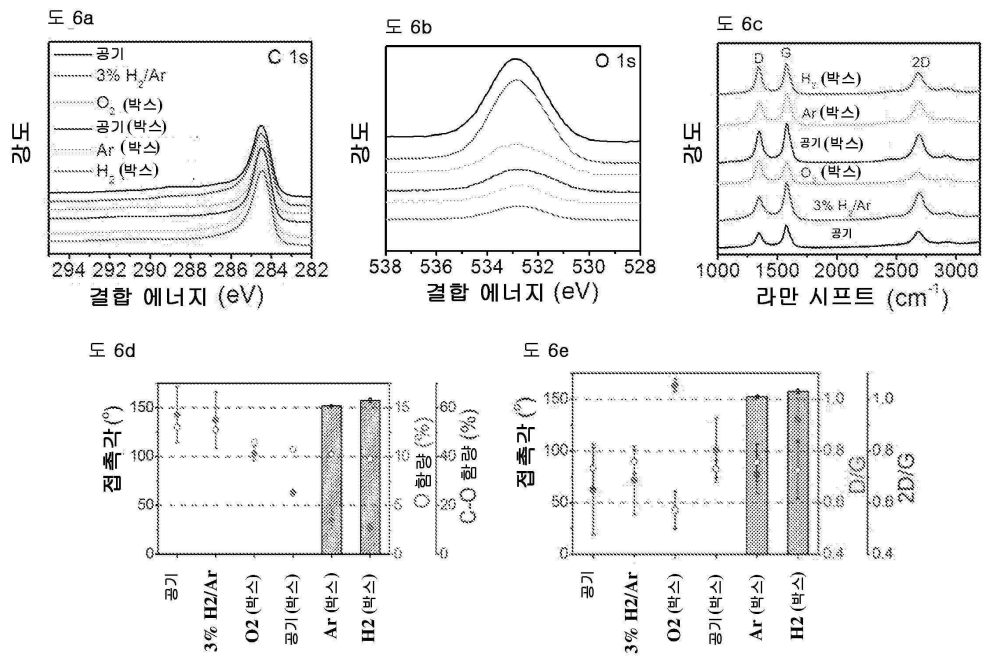
도면4



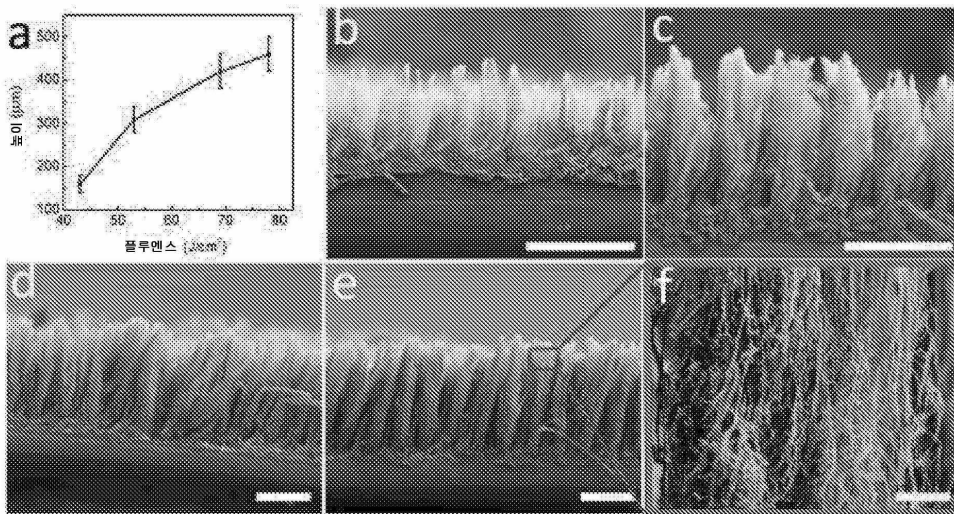
도면5



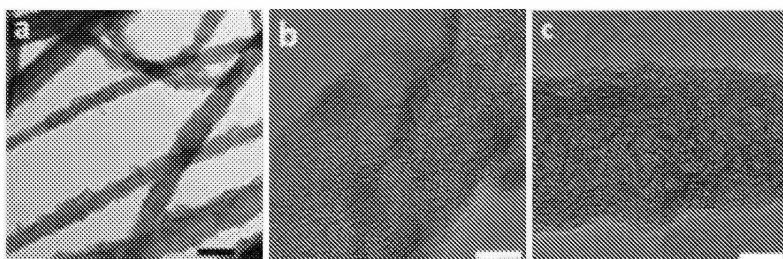
도면6



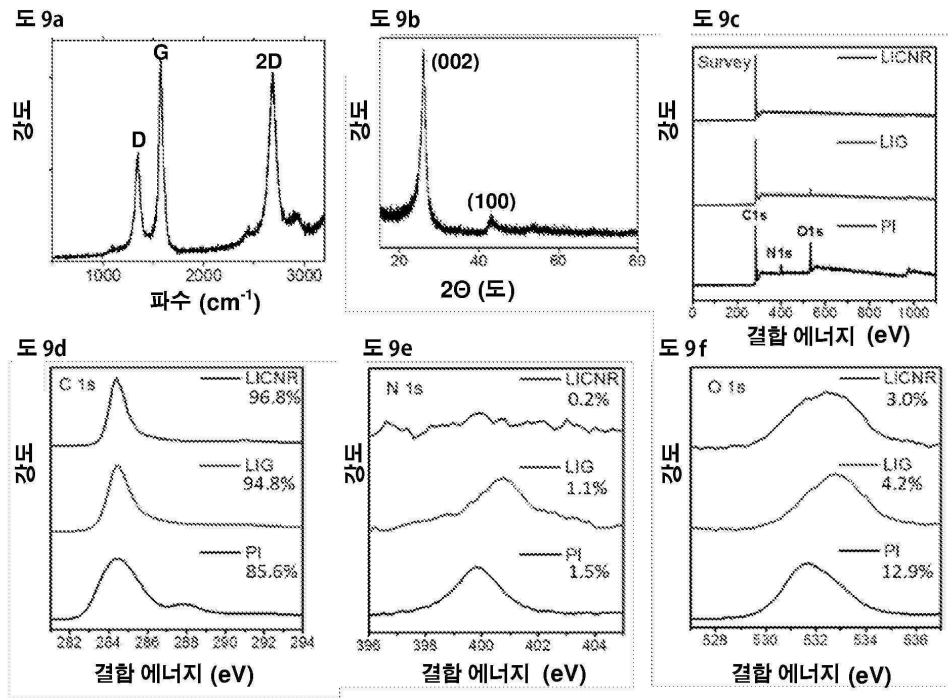
도면7



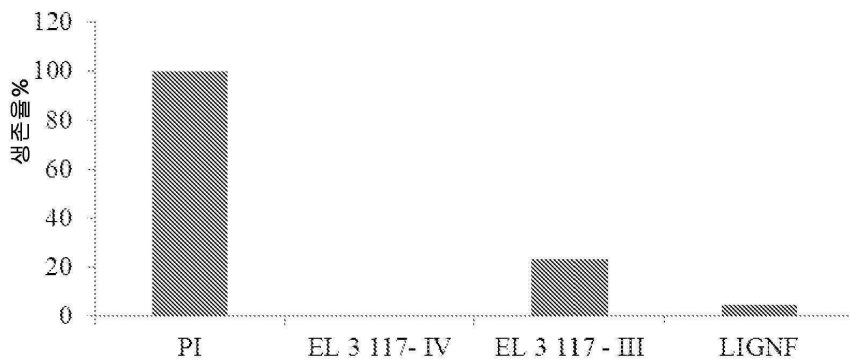
도면8



도면9



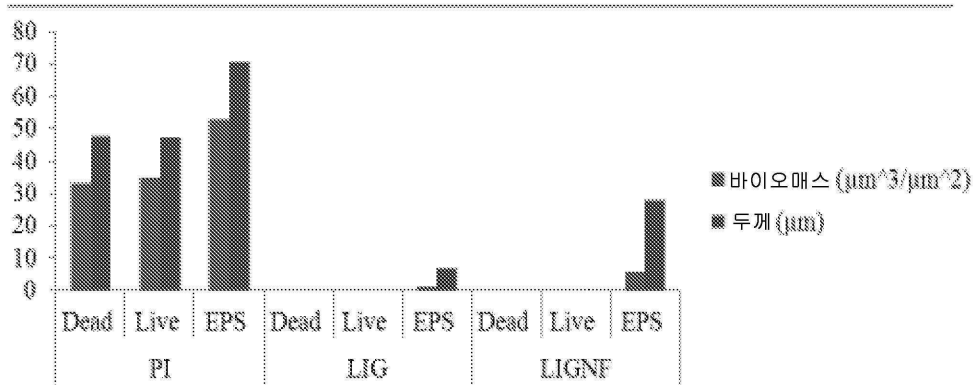
도면10



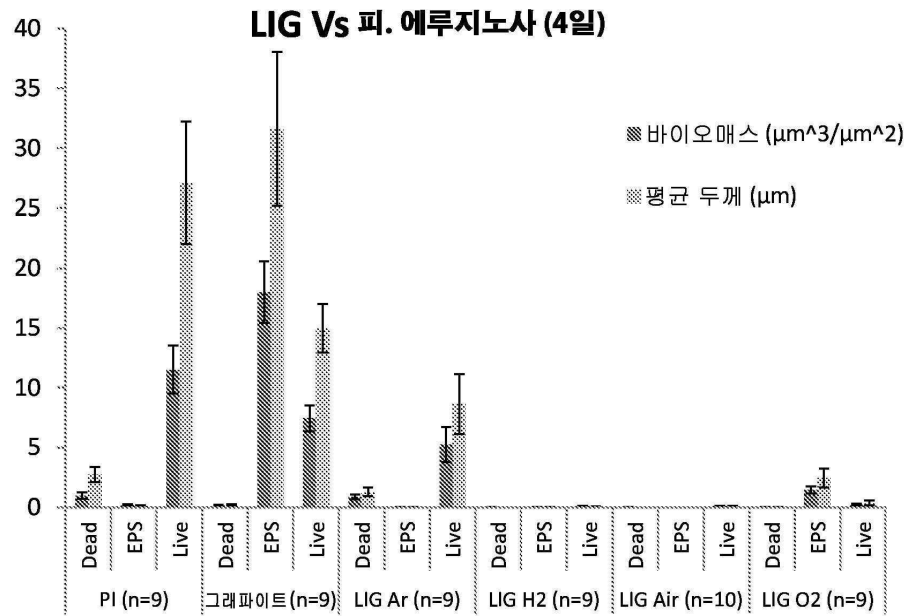
도면11



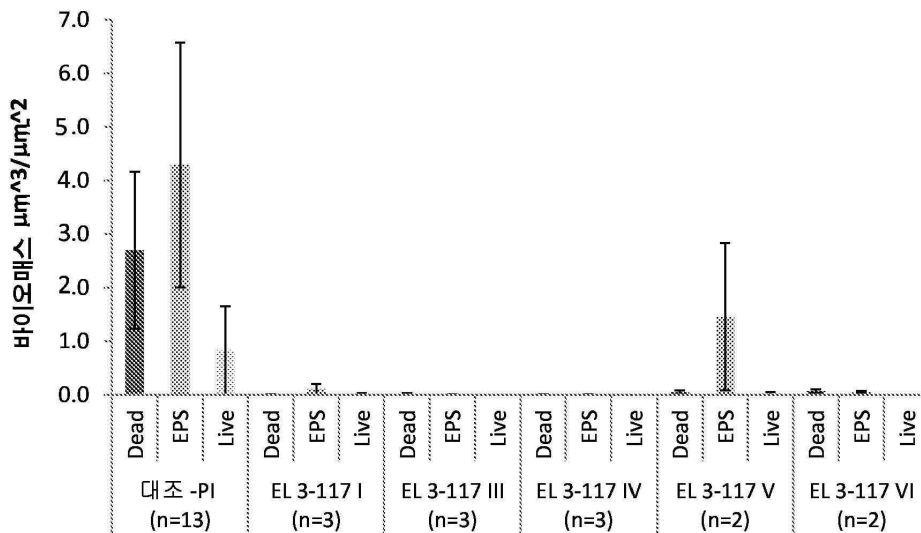
도면12



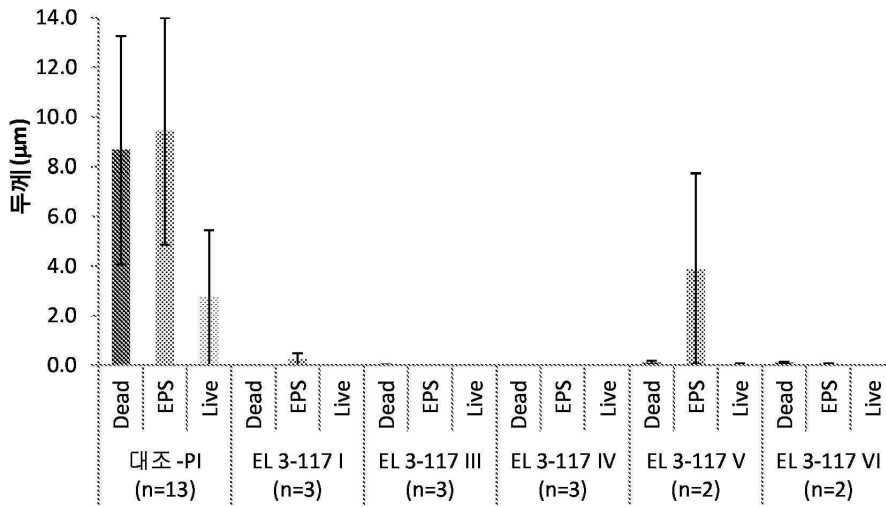
도면13



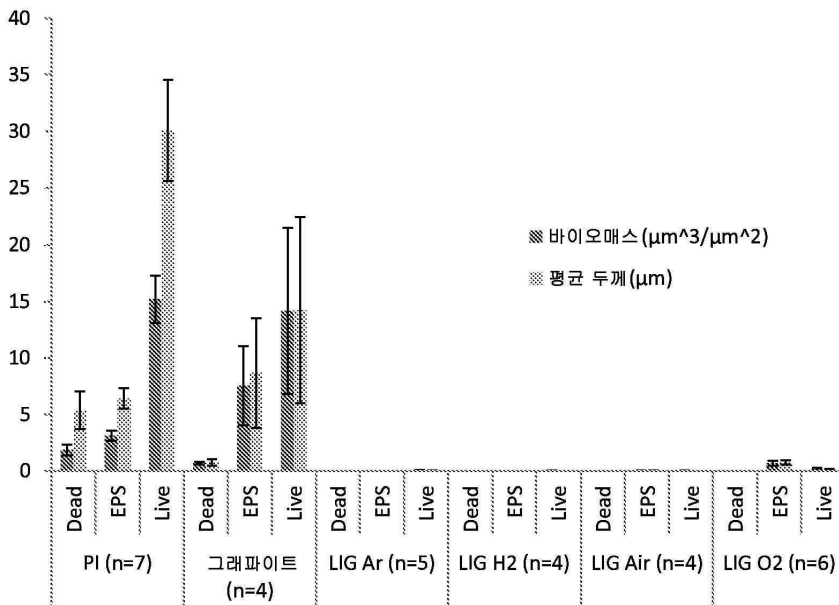
도면14



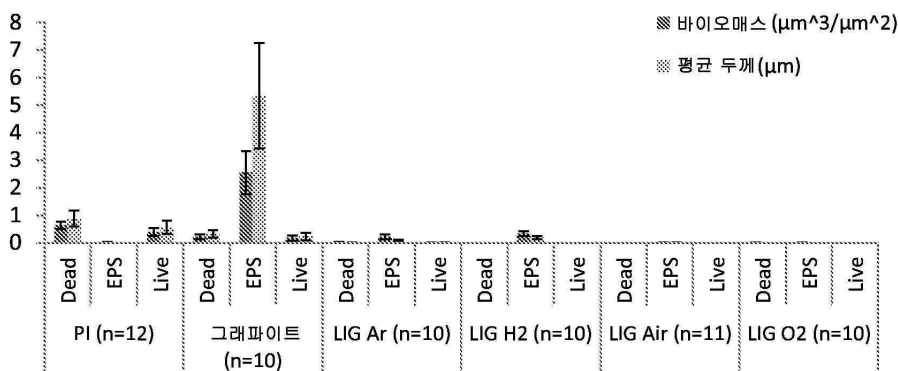
도면15



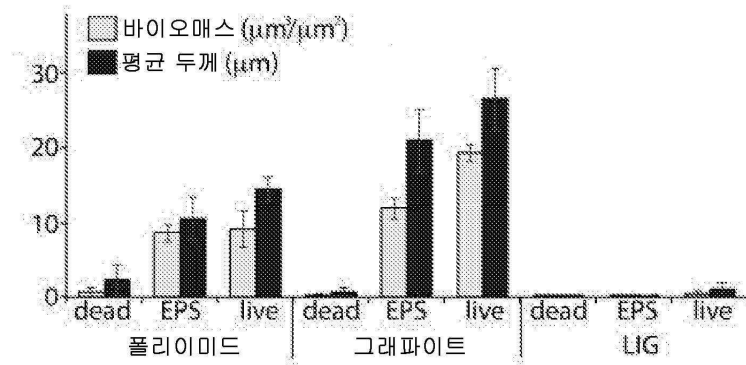
도면16



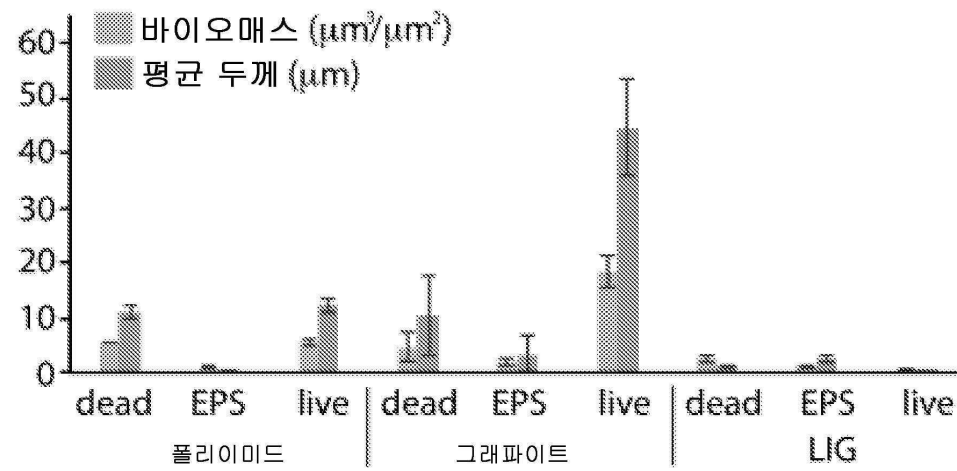
도면17



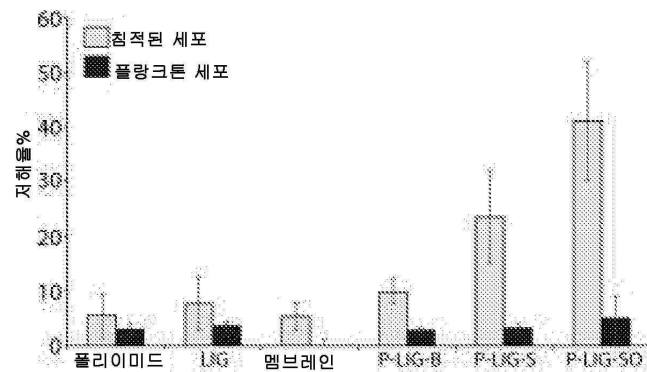
도면18



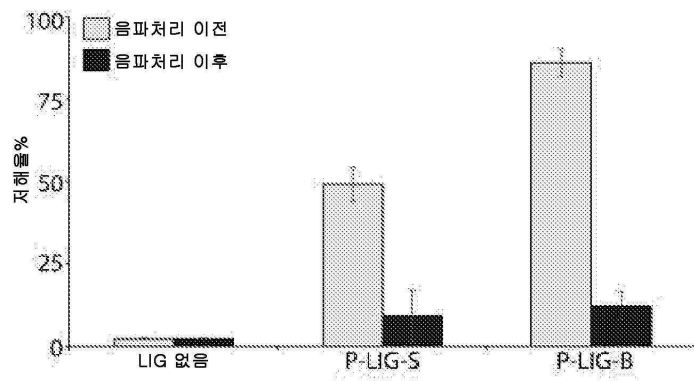
도면19



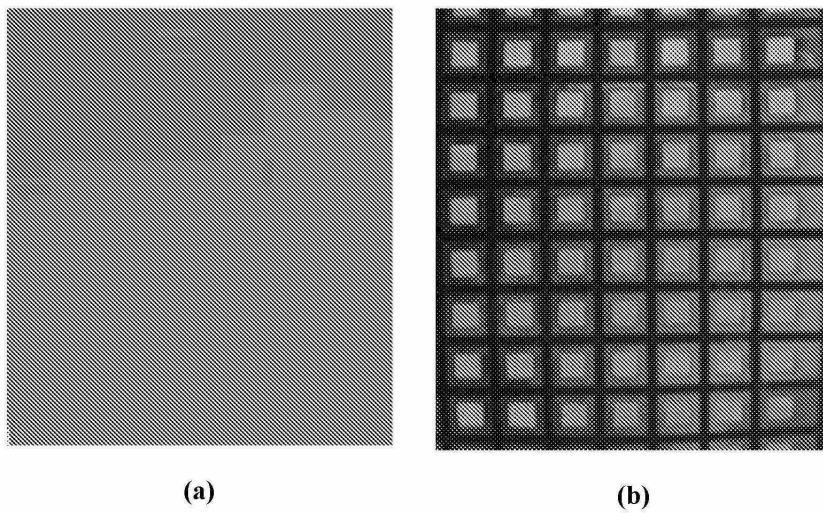
도면20



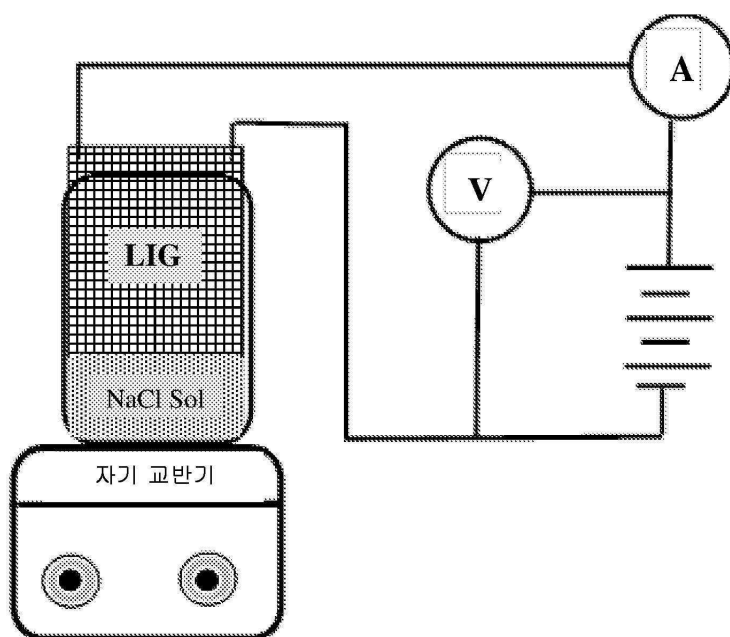
도면21



도면22

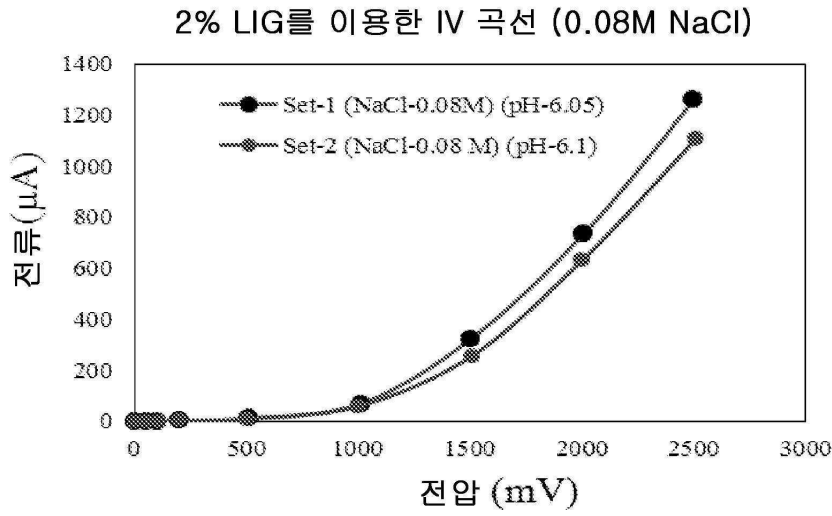


도면23

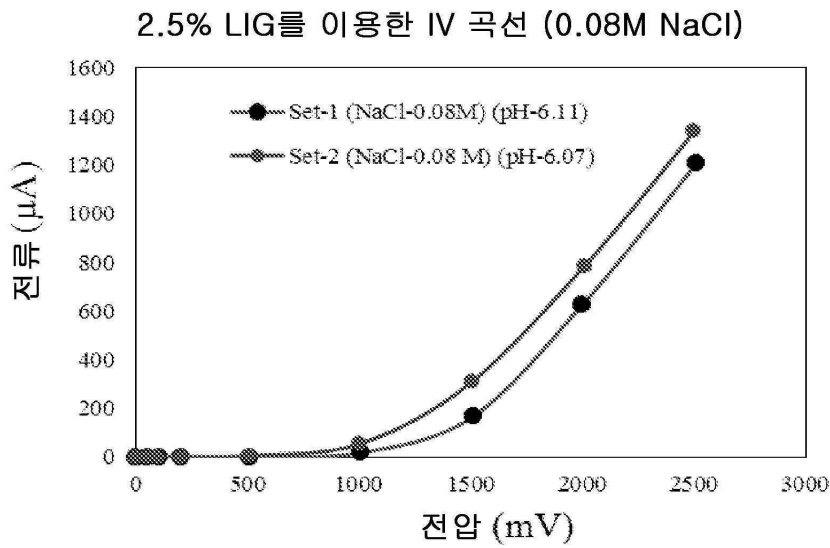




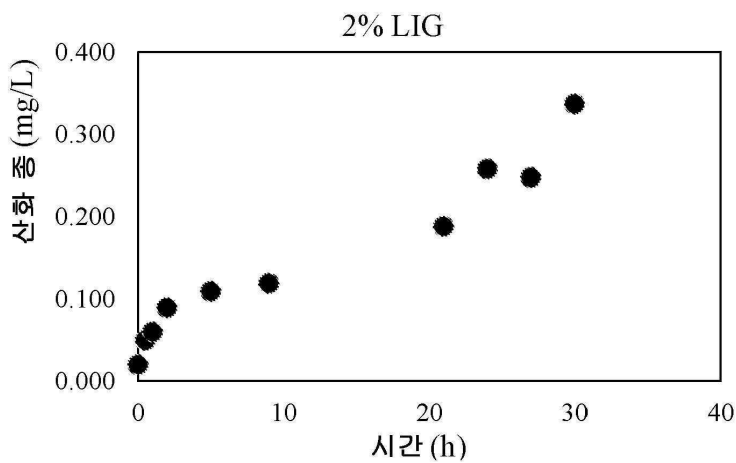
도면24a



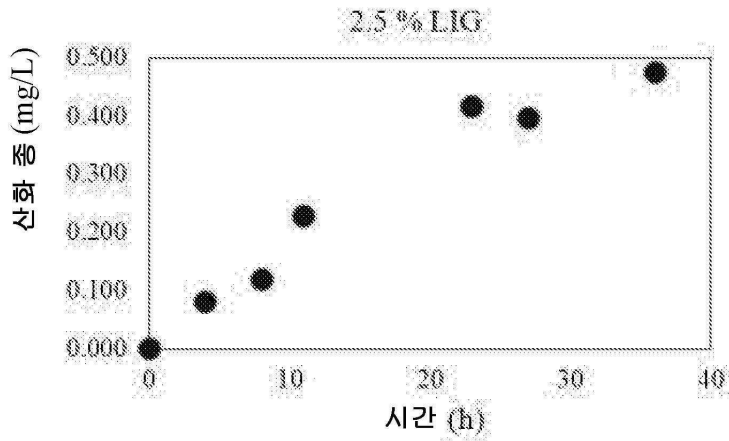
도면24b



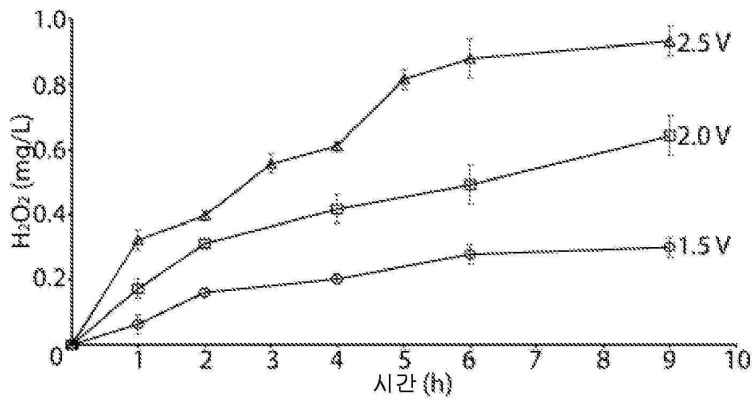
도면25a



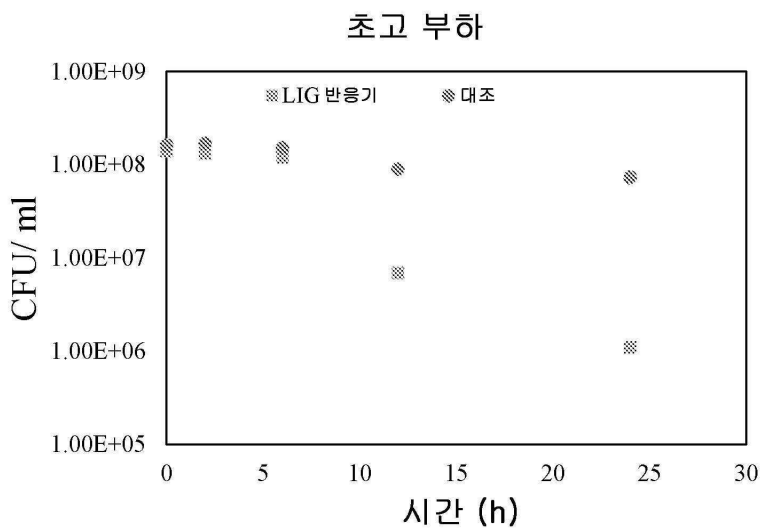
도면25b



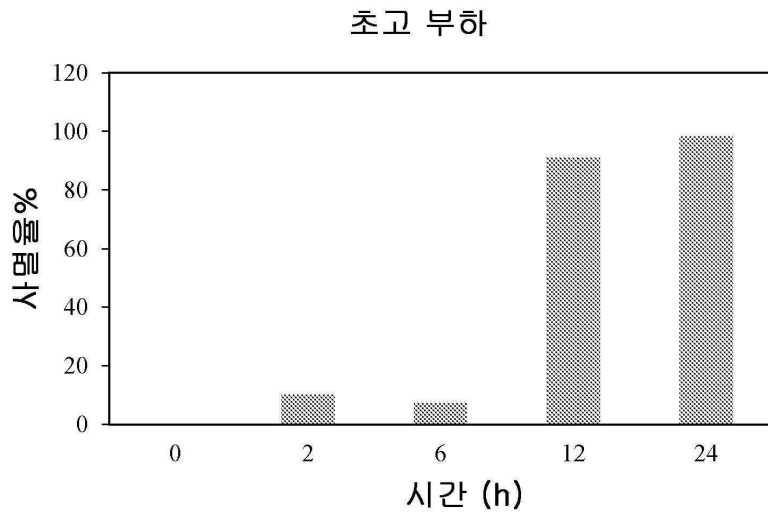
도면26



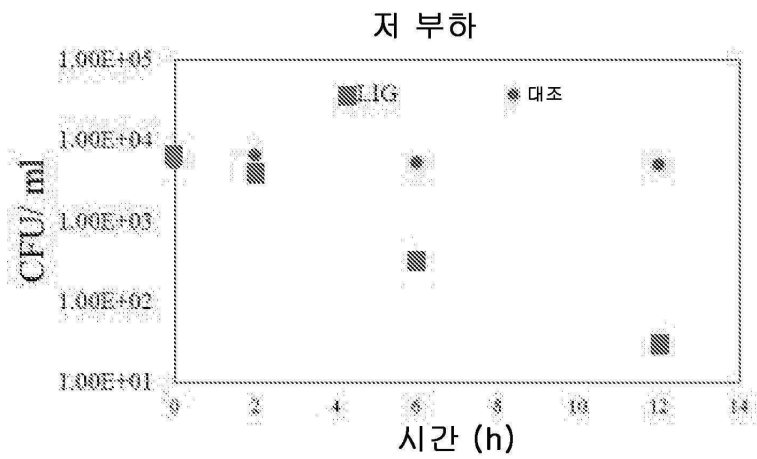
도면27a



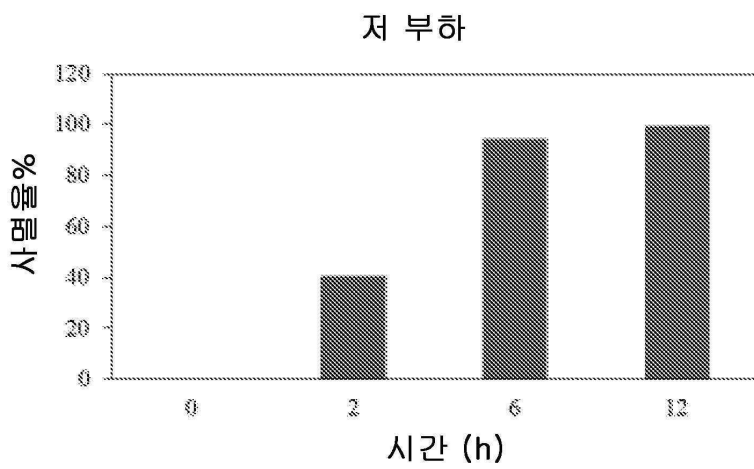
도면27b



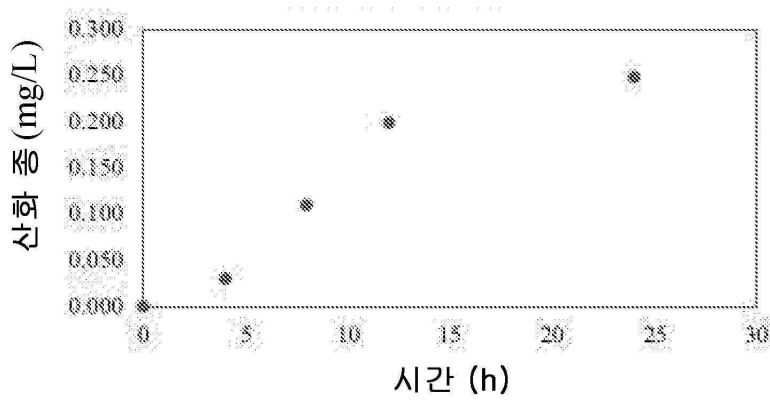
도면28a



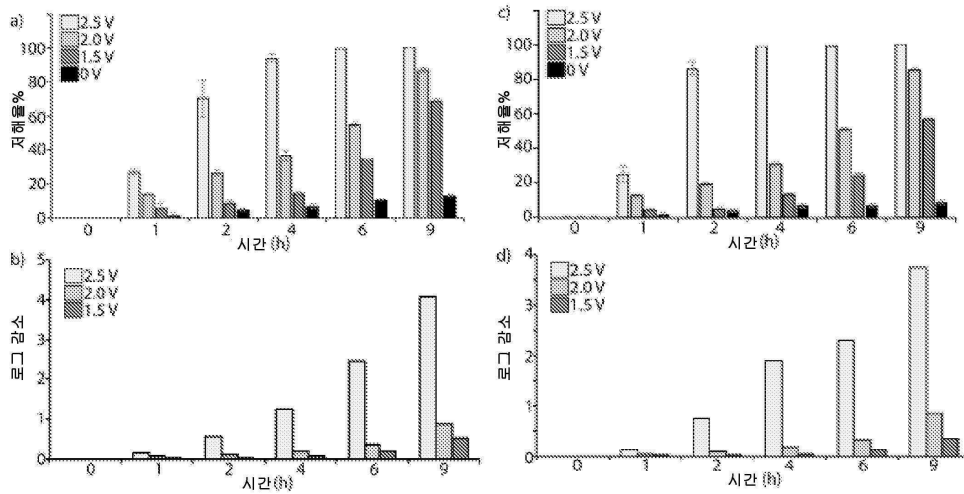
도면28b



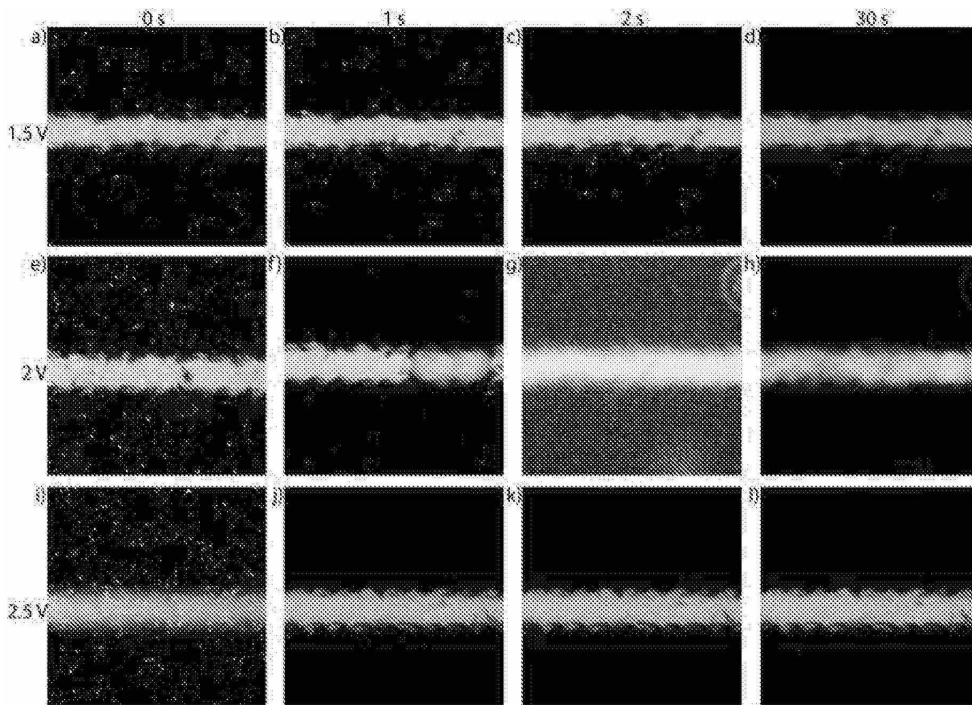
도면29



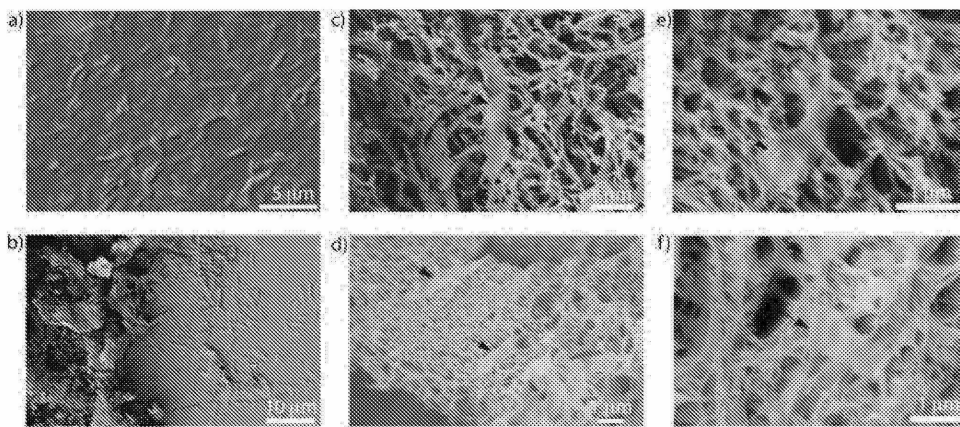
도면30



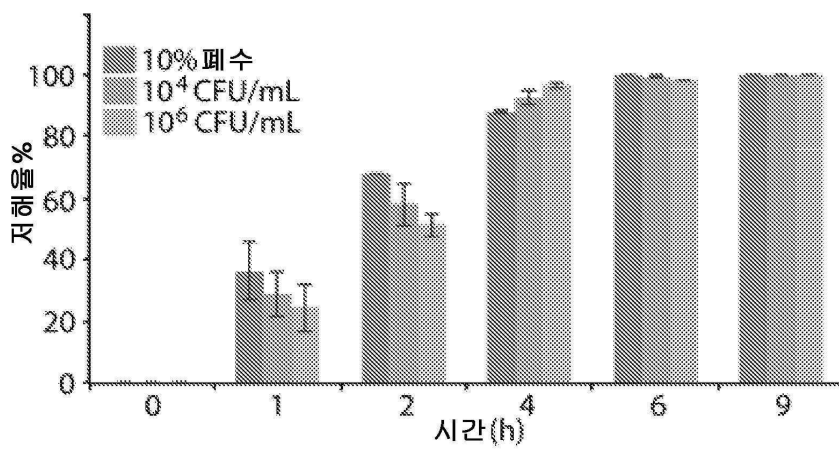
도면31



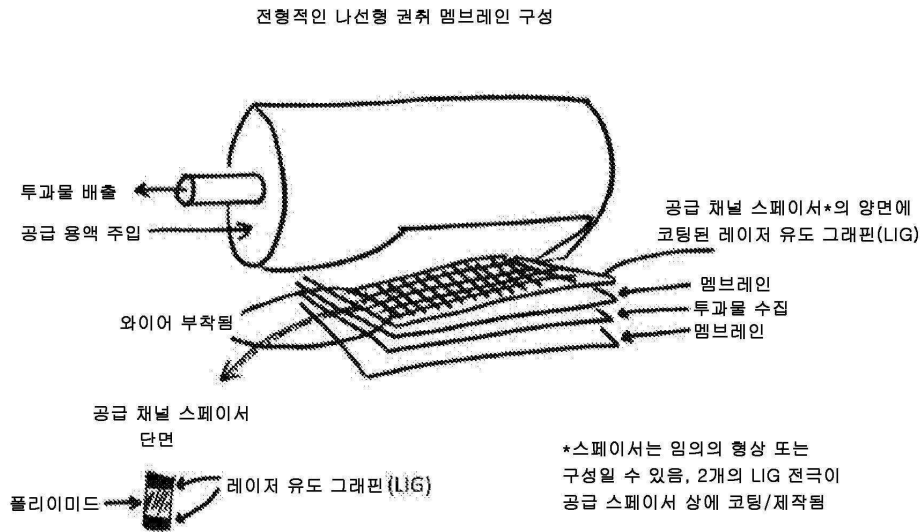
도면32



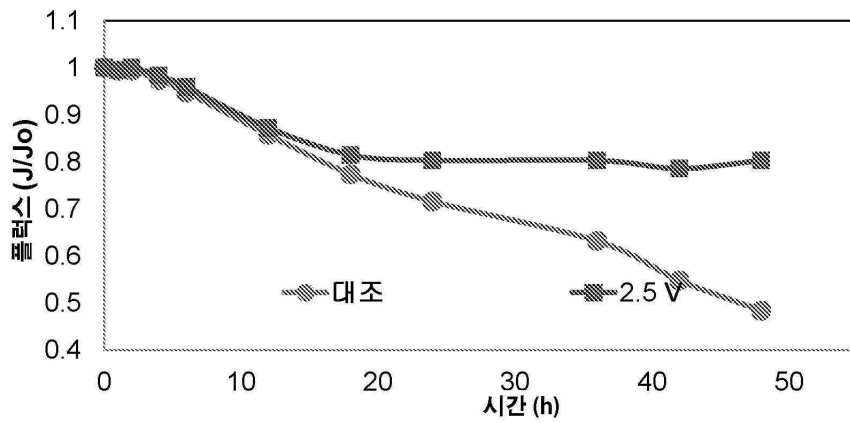
도면33



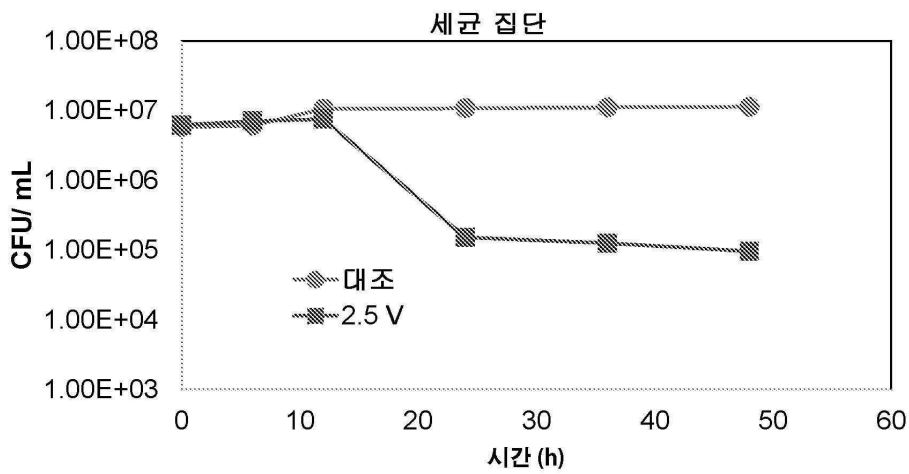
도면34



도면35



도면36



【심사관 직권보정사항】

【직권보정 1】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 13

【변경전】

제12항에 있어서, 폴리이미드를 포함하는 메쉬.

【변경후】

제12항에 있어서, 폴리이미드를 포함하는 폴리머 메쉬.