

『산학연 공동기술개발전시사업』 개발결과의견서

◆ 주관기관(대학/연구기관) : 신라대학교

개발과제명	Nano Fresh water reducer를 이용한 적조제어 적용기술개발							
사업비	과제개발비	집행 내역						
주관기관 과제책임자	소속 : 신라대 직위(급) : 조교수 성명 : 손재학							
개발결과 (과제책임자 작성)	가) 공정개선 실적(개선내용 요약 작성) ○ 적조생물의 파괴 및 점질다당의 제어 가능성 확인 ○ 고농도의 점질성 다당의 제거를 위한 최적조건 확립 예정 나) 특허(실용신안, 의장 등)출원 및 등록 : 건 ① 출원(등록)명 및 번호(출원일자) : ② 출원(등록)명 및 번호(출원일자) : - 특허출원 예정 1건(을 하반기) ※ 지적재산권명 및 출원, 등록 구분은 명확히 하고 건별로 모두 작성 다) 시제품 제작 및 상품화 실적 ○ 모의실험용 시제품제작 ○ ※ 시제품(또는 상품화) 제작현황을 요약 작성하고, <u>관련사진 및 카탈로그 첨부</u> 라) 기타 실적(신기술로 인정될 수 있는 각종 품질인증 마크 획득건수 및 내용) ○ ○							
◎ 개발목표 달성을 위한 종합의견(참여기관 대표가 작성)								
개발목표	○ Nano Fresh water reducer를 이용한 적조제어 적용기술개발 ○ 적조제어 물질의 적용성 검토 ○ 어류를 통한 안전성 확보							
개발목표달성을 대한 종합의견 (□에 V로 표기 하고 의견 작성)	<input type="checkbox"/> 매우 만족 <input checked="" type="checkbox"/> 만족 <input type="checkbox"/> 보통 <input type="checkbox"/> 미흡 <input type="checkbox"/> 불만족 - Nano Fresh water reducer를 통한 적조제어 가능성과 조건의 확립에 대한 증빙자료 확보 - 작년 장비의 제작이 늦어져 적조발생시기에 예비현장적용실험만을 실시하였으며 올해 적조발생시기에 현장자료를 통한 특허기술확보가 가능할 것으로 판단되며 사업이 끝났지만 관련 제반비용을 기업이 부담하여 추진할 계획임							
확인	업체명 : (주)성신수산 직위(급) : 대표 성명 : 김 일 성 (인)							

※ 주의사항) 1. 확인은 참여기관 대표가 수행하고 법인인 경우 직인을 날인

『산학연 공동기술개발천소사업』
최종 보고 요약서(초록)

과제명	Nano Fresh water reducer를 이용한 적조제어 적용기술개발			주관기관명	신라대학교 산학협력단	
참여기업명	(주)성신수산			대표자	김일성	
전화번호				E-mail		
과제책임자	소속	직위	성명	전화		
	신라대	조교수	손재학	E-mail		
협약기간	2007년 7월 1일 ~ 2007년 12월 31일					
사업비	과제개발비	집행 내역				
		계	현금	현물		

1. 최종목표

- 나노프레워터리듀서를 이용한 적조제어 적용기술개발

2. 개발내용 및 결과

- 나노프레워터리듀서의 적용성 평가
 - 베블에 의한 적조생물제어효과보다는 순환방식에 의한 효과검증
 - : 1분이내 50%사멸, 3분이후 100%살조효과 검증
 - 적조생물의 점질성다당류의 경우 1분 이내 점질특성 감소
- 적조제어물질의 효과
 - 0.01mg/L에서 30분이내 100%사멸효과 검증
 - 나노프레워터리듀서를 이용할 경우 제어물질의 부상으로 제형의 보안이 필요
- 어류안전성 실험 진행 중

3. 사업성과

- 기술적 성과
 - 기존 적조제어기술은 적조생물의 사멸에 촛점이 맞추어졌으나 본 기술을 이용할 경우 적조원인물질인 점질성다당의 물리적 특성을 저감하는 효과가 밝혀짐
 - 적조제어물질을 본 기술에 적용시 살조효과는 유의한 것으로 판정되었으나 적용시 물질의 부상하여 적용효과가 떨어짐. 따라서 물질의 변형/추출방법의 개선이 필요
 - : 산성조건에서 적조제어물질 추출기술 확보

○ 경제적 성과

- 국내에서 발생되는 *Cochlodinium polykrikoides*에 의한 적조발생시 어류의 패사를 예방함으로서 50억 이상의 경제적 부담효과 발생
- 본 기술의 현장적용에 따른 어민의 경제적 부담을 줄이기 위한 최소적용비용 산출
- 적조제어효과 외에 환경개선효과의 검증을 통하여 가두리양식장 환경개선장비로 활용함으로서 국가비용부담을 위한 자료제공하고 어민의 비용부담을 줄이기 위한 노력이 필요
- 국외적조발생지역에 수출을 위한 외화획득 방안모색

○ 활용성과

- 현장검토가 완료되는 10월에 장비 및 적조제어기술적용에 따른 특허출원예정

4. 향후추진계획

- 어류안전성실험(고농도 적조발생시기에 안전성 검증)
- 금년 적조발생기간동안 참여기업, 기술제공기업과 공동으로 현장실험수행
- 비용절감을 위한 적용모델 및 system 개발

[작성방법] 1. 초록분량은 2쪽 내외로 작성하되, 3, 4항을 위주로 작성할 것.

2. 과제개발비는 공동운영비를 제외한 총 금액 입력

『산학연 공동기술개발전시업사업』
사업비 사용실적보고서

1. 과제별 비목집계 총괄표

(단위: 원)

비 목	세 부 항 목					계
인건비	◦ 내부인건비					
	◦ 외부인건비					
직접비	◦ 과제수행 직접비					
	– 기자재 임차료					
	– 재료비 및 전산처리·관리비					
	– 시작품 제작비					
	– 여비					
	– 수용비 및 수수료					
	◦ 연구활동비					
	– 연구활동진흥비					
간접비	– 기술정보활동비					
	– 과제관리비					
	– 연구홍보비					
	◦ 기술혁신 지도비					
소 계						
위탁연구 개발비	◦ 간접경비					
	◦ 지적재산권 출원·등록비					
계	총 사업비(내부인건비 미포함)					

※ 현물을 포함한 금액으로 작성

2. 공동운영비 세부 집행내역

I. 총괄

가. 조성내역

(단위 : 원)

총 계	직접비	간접비	
	연구활동비	간접경비	지적재산권 출원·등록비

나. 이자

(단위 : 원)

총 계	이월금	이 자

II. 집행내역

(단위 : 원)

비 목	세부항목	계획	집 행	잔 액	집행비율 (%)
간접비	연구활동비				
	-기술정보활동비				
	-과제관리비				
	-연구홍보비				
간접비	간접경비				
	지적재산권 출원·등록비				
합 계					

III. 세부 집행내역

1. 직접비

(단위 : 원)

세부항목	내역 (품명, 규격)	단가	수량	금액
연구활동비				
-기술정보활동비				
-과제관리비				
-연구홍보비				
합 계				

2. 간접비

(단위 : 원)

세부항목	내역 (품명, 규격)	단가	수량	금액
간접경비	간접경비			
지적재산권 출원·등록비				
합 계				

3. 과제별 세부 집행내역

I. 조성 금액

(단위 : 원)

정부 출연금	지자체 지원금	기업부담금			총 계		
		현 금	현 물	소 계	과제개발비	공동운영비	계

II. 과제개발비 집행내역

가. 세부 집행내역 요약표

(단위 : 월)

나. 과제 · 비목별 세부 집행내역

1) 인건비

(단위 : 원)

구분	소속기관	성명	직급	기본급	참여율 (%)	참여기간 (월)	금액
내부	신라대학교	손재학	책임				
:							
외부	신라대학교	서찬곤	연구보조원				
	신라대학교	김나영	연구보조원				
	신라대학교	최윤혁	연구보조원				
	신라대학교	전보경	연구보조원				
:							
합계	—	—	—				

※ 직급은 책임, 선임, 연구원, 연구보조원으로 구분

2) 직접비

(단위 : 원)

세부항목	내역 (품명, 규격)	단가	수량	금액		
				현금	현물	계
기자재 임차료	—					
재료비 및 전산처리관리비	Methanol외 66종					
시작품 제작비	네가트론					
여비	거제도출장외 5건					
수용비 및 수수료						
연구활동진흥비	연구활동진흥비					
기술정보활동비	회의비(식대)					
기술혁신지도비						
합계						

3) 위탁연구개발비

(단위 : 원)

세부항목	내역 (품명, 규격)	단가	수량	금액		
				현금	현물	계
인건비						
직접비	재료비					
	:					
합계						

※ 컨소시엄 외부기관과의 위탁연구수행개발비를 기재(해당 되는 경우만 기재)

제 1 장 서론

제1절 개발대상기술의 개요

- 어류폐사의 주원인은 유독성물질이 아닌 *Cochlodinium polykrikoides*종으로부터 생산되는 점질성 다당류가 아가미 세포의 가스교환능력을 감소시킴으로서 발생되는 질사로 밝혀져 있으며 사멸속도는 일시적으로 대량폐사되는 것으로 알려져 있다.
- 나노프레쉬내에서 발생하는 50,000 ~ 120,000cc/ℓ의 음이온과 미약에너지인 전자파 4 ~ 14미크론의 육성광선은 물의 분자를 강력하게 여기 · 진동상태를 만들고, 104.5°였던 물의 분자 각도를 95° 또는 180°로 변화시켜 5 ~ 6개정도의 잘은 클러스터 형태로 만들어 자화음이온수를 풍부하게 만들어 주어 산소결핍으로 인한 환경을 개선하는 효과를 제공



< Nano Fresh water reducer를 이용한 자화음이온수 생산모식도>

- 기계적으로 유입구로 입수된 물은 빠른 속도로 이동함으로 물분자가 이온화되며 주변 입자들을 나노화로 전환되는 특성을 가지고 있음.
- Nano Fresh water reducer를 이용한 적조제어 적용기술개발
 - 적조생물 및 그로부터 생성된 점질물질의 파괴로 어류폐사를 방지
 - 미생물로부터 생산된 살조물질을 나노분사화함으로서 제어효율 극대화 및 적용방법 개발
 - 현장적용을 통한 적용기술검증

제2절 기술개발의 필요성 및 중요성

□ 기술적 중요성

- 최근 국내에서 유해성적조로 인한 어류폐사의 원인종인 *Cochlodinium polykrikoides*는 8~10월사이에 전남나라도 근방에서부터 남해 및 동해안에 이르기까지 광범위하게 발

생하여 막대한 경제적 피해를 제공하고 있다.

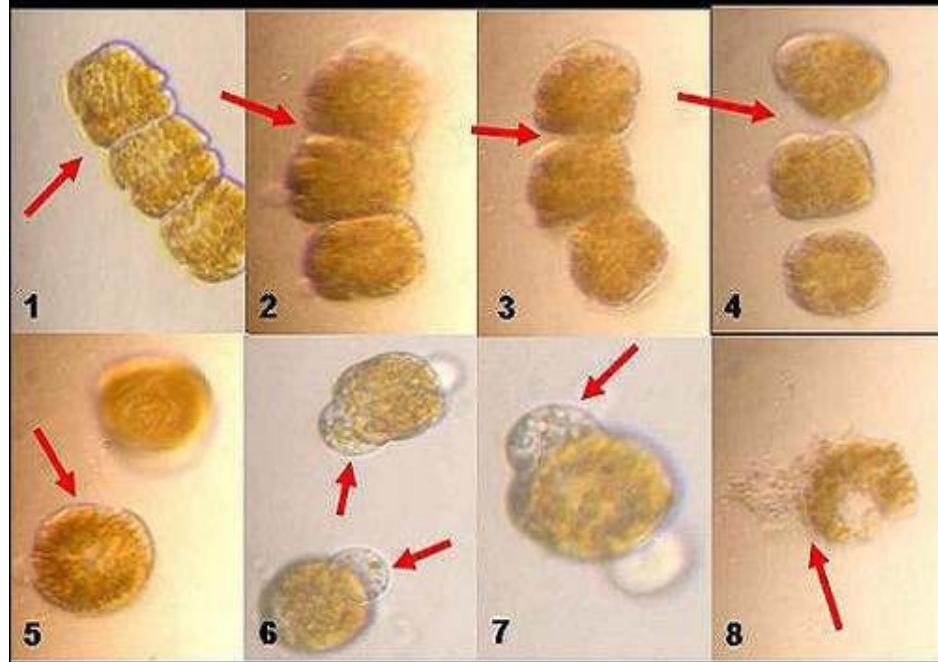
- 어류폐사의 주원인은 유독성물질이 아닌 *Cochlodinium polykrikoides*종으로부터 생산되는 점질성 다당류가 아가미 세포의 가스교환능력을 감소시킴으로서 발생되는 질사로 밝혀져 있으며 사멸속도는 일시적으로 대량폐사되는 것으로 알려져 있다.
- 적조의 피해를 경감하기 위한 방법은 물리, 화학 및 생물학적인 방법을 들 수 있는데 실질적으로 현장에서는 환경오염 등의 문제점이 지적되고 있음에도 불구하고 대체적용 기술의 미확보로 황토살포법이 사용되고 있다. 황토살포로 인하 경비만 해도 매년 70~100억원이 소요되고 있어 보다 경제적인 저감기술의 개발이 시급히 요청된다.
- 나노프레쉬내에서 발생하는 50,000~120,000 cc/ℓ의 음이온과 미약에너지인 전자파 4~14미크론의 육성광선은 물의 분자를 강력하게 여기·진동상태를 만들고, 104.5°였던 물의 분자 각도를 95° 또는 180°로 변화시켜 5~6개정도의 잘은 클러스터 형태로 만들어 자화음이온수를 만들어 줌
- 기계적으로 유입구로 입수된 물은 빠른 속도로 이동함으로 물분자가 이온화되어 풍부한 산소를 제공하고 유입수내 입자를 나노입자로 전환되는 특성을 가지고 있어 적조에 의한 어류폐사의 원인생물의 파괴 및 물질특성의 변환을 통한 폐사를 최소화
- 미생물로부터 생산된 적조제어물질을 나노입자로 전환, 적조제어효율을 극대화하기 위한 적용기술 및 적조제물질의 상용화방법개발

□ 경제·산업적 중요성

- 국내 어류생산량은 2003년 477만톤으로 이중 24%가 양식산업이 차지하고 있어(2004, 해양수산부 어업생산통계) 적조발생 및 양식어류의 폐사는 양식어민들의 경제적 및 심리적인 부담이 가중되고 있다.
- 적조발생으로 인한 어류폐사는 1995년 764억원을 2000년에는 200억원의 피해를 발생하고 있으며 최근 5년간 평균 피해액은 75억원으로 나타났으며 매년 적조방제를 위한 황토살포의 경제적 부담은 100억원을 상회하고 있다.
- 적조발생으로 인한 어민 및 국가경제적인 부담은 매년 170억원을 상회하고 있어 어류 폐사로 인한 비용을 최소화할 수 있는 기술개발이 절실히 요구된다.

제3절 국내·외 관련 기술의 현황

- 적조를 저감하기 위한 기술은 일본과 한국에서 황토살포법만이 이용되고 있으며 미국 등 선진국에서는 피해를 최소화하기 위한 저감기술의 개발이 없는 실정이다.
- 적조피해를 최소화하기 위한 방법으로 국외에서는 적조발생의 원인현상중의 하나인 해양의 부양양화를 최소화하기 위한 수처리 정화시설의 구축에 초점을 두고 있다. 또한 연구개발부분에서는 생물학적인 방법인 천적생물을 이용한 적조저감기술과 미생물인 살조세균 및 바이러스를 이용한 연구개발이 진행되고 있으나 산업적으로 적용한 예는 없는 실정이다.
- 국내에서도 한국해양연구원(김상진박사팀), 극지연구소(이홍금박사팀), 군산대(정해진교수팀), 부경대(이원제교수팀)이 관련연구를 진행하고 있으나 상용화되지는 않았다.
- 특히 개발에서 Nano Fresh water reducer를 이용한 나노화기술에 적용하려는 살제조어물질은 극지연구소 이홍금박사팀이 개발한 해양미생물인 *Hahella chejuensis*로부터 생산된 “프로디지오신”으로 현재 국내·외에서 개발된 미생물유래 살조물질 중 적조생물인 *Cochlodinium polykrikoides*의 살조능력이 가장 뛰어난 것으로 알려져 있다.



< *Hahella chejuensis*로 유래 색소 프로디지오신의 살조효과>

제 2 장 과제개발 내용 및 방법

제1절 적조제어 효율 및 물리화학적 특성

1. 적조제어효율

가. 적조생물의 대량배양 확립

1) 적조생물의 확보

적조생물인 *Cochlodinium polykrikoides*는 국립수산과학원 유해적조생물팀(NFRDI cp-3)으로부터 확보하였다. 분자생물학적인 분류방법으로 18S rRNA 염기서열을 partial(410 bp)로 분석한 결과 NCBI에서 *Cochlodinium polykrikoides*로 나타났으며 기존 보고된 *Cochlodinium polykrikoides*종들과 계통학적 분석결과 99%이상의 유사도를 나타내 동일 clad에 속함을 확인하였다



Fig 1. Photographs of *Cochlodinium polykrikoides*

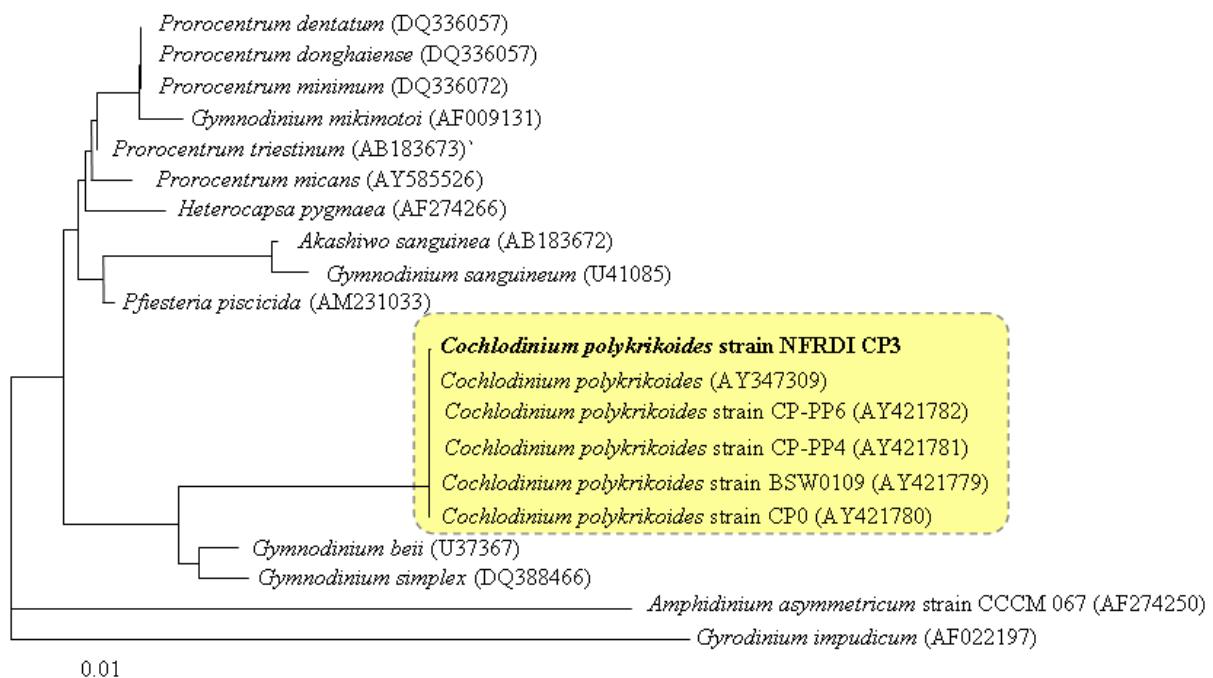


Fig.2. Rooted neighbour-joining tree based on partial 18S rDNA sequences showing relationships between the isolated strain and family of the *Gymnodinium*

2) 적조생물의 생장조건 확립

2종의 적조생물을 대상으로 온도, pH, NaCl 요구성, 광요구성에 따른 성장조건을 다음과 같이 조사하였다. 온도는 22°C로 보정한 후 3,000 Lux, pH 8.0 조건에서 배양하였으며 세포수는 2일 간격으로 배양병으로부터 분주하고 Rugol's solution으로 고정한 후 현미경 하에서 계수하였다. pH는 6, 7, 8, 9, 10로 보정한 후 22°C, 3,000 Lux 조건에서 배양하였으며 세포 수는 2일 간격으로 배양 병으로부터 분주하고 Rugol's solution으로 고정한 후 현미경 하에서 계수하였다. NaCl 농도에 따른 성장조건은 해수를 이용하여 1% NaCl이 되도록 희석한 후 NaCl을 각각 2, 2.5, 3, 3.5%로 첨가한 후 22°C, 3,000 Lux, pH 8.0 조건에서 배양하였으며 세포수는 2일 간격으로 배양 병으로부터 분주하고 Rugol's solution으로 고정한 후 현미경 하에서 계수하였다. 광 조건은 광도계를 이용하여 1000, 2000, 4000, 6,000, 8000 lux로 배양위치를 조정한 후 22°C, pH 8.0 조건에서 배양하였으며 세포수는 2일 간격으로 배양 병으로부터 분주하고 Rugol's solution으로 고정한 후 현미경 하에서 계수하였다. 배양 중 L:D 순환을 14:10으로 하였다.

8일간의 배양결과로 살펴본 결과, 온도인 22°C에서 성장은 초기 600cells/ml에서 6일째에 2,000 cell/ml로 성장하였다. 그러나 일반적으로 해양의 조건에서 적조생물의 최적성장 온도가 24~25°C내인 것으로 보고되어져 있다. pH는 초기농도를 기준으로 설정된 값이나 배양과정 중에 적조생물에 의한 pH 상승으로 본 실험에서는 유의한 차이를 발견할 수 없었다. 다만 향후 배양 중에 pH를 유지할 수 있도록 고안하여 최적 pH조건은 확립되어야 할 것으로 판단된다. 그러나 pH는 배양 초에 유의한 지표가 되지는 않는 것으로 판단된다. NaCl 요구성은 성장제한요인으로 작용하지 않는 것으로 나타났다. 임(2002)의 보고에서 *Cochlodinium* 적조발생시에 함께 성장하는 *Gyrodinium impudicum*의 경우 일반적인 해수보다 고 염분조건에서 유의한 성장을 보인바 있다. 광요구성은 4,000 lux 이상에서 광량의 증가에 의존하고 있음을 알 수 있었다. 본 연구에서 최대광량인 8,000 lux에서 최대성장을 나타내었다. 따라서 최적 배양시 4000 lux 이상을 유지할 수 있도록 조건을 확립하여야 할 것으로 판단된다.

3) 대량배양을 위한 배양

실험실내에서 대량배양을 위해 팔룸타입의 배양기를 선정하였다, 그 이유는 배양시 과대한 혼합을 방지하고 또한 배양기간동안 공기주입의 용이성을 고려였다. 배양용기는 유리로 제작되어지기 때문에 2L와 최대 10L를 기준으로 용기를 선정하였으며 그림은 7에 나타내었다.

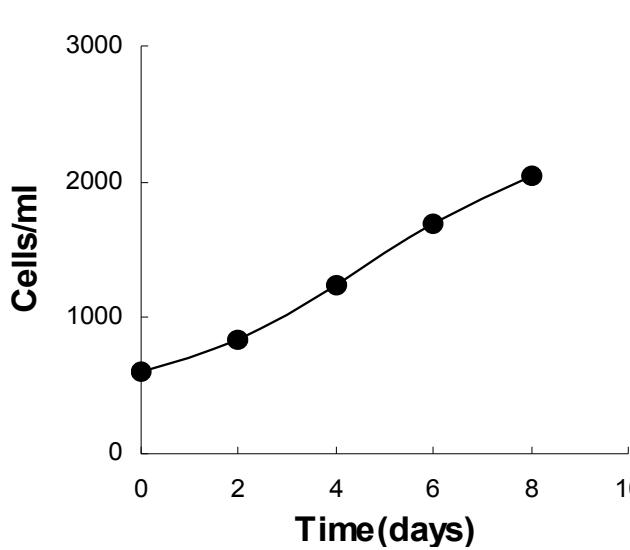


Fig. 3. The temperature effects of *C. polykrikides* in 22°C, 3000Lux, L:D cycle (14:10)

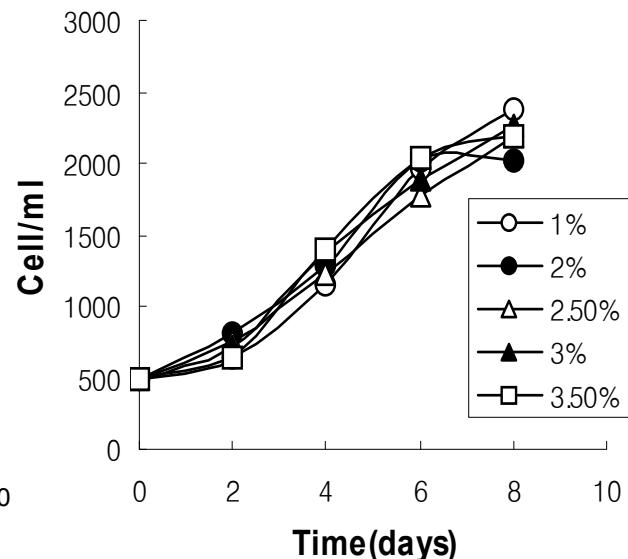


Fig. 4. The NaCl requirements of *C. polykrikides* in 22°C, 3000Lux, L:D cycle (14:10)

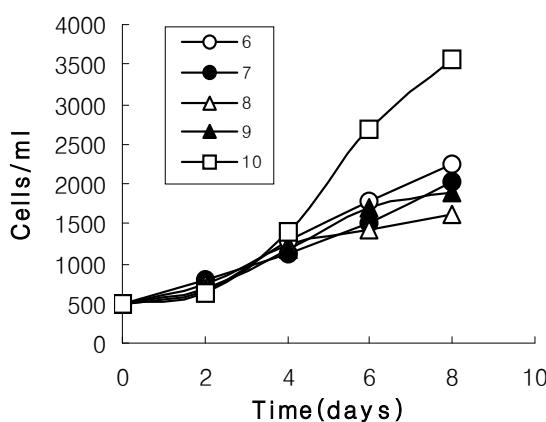


Fig. 5. The pH effects of *C. polykrikides* in 2 2°C, 3000Lux, L:D cycle (14:10)

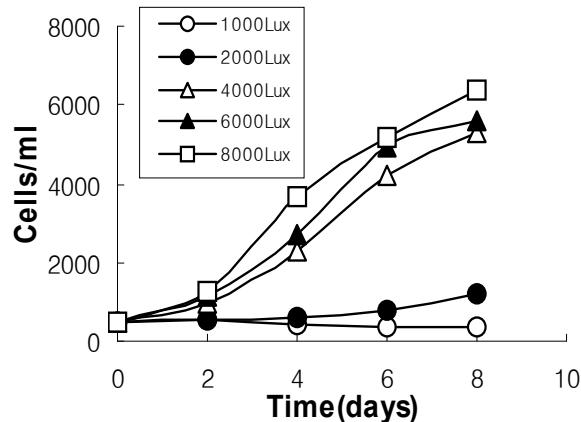


Fig. 6. The light effects of *C. polykrikides* in 22°C, L:D cycle (14:10)



그림 7. 배양용기 사진 (A; 2L 용량, B, 10L용량)

나. 적조생물농도별 제거효율검토 및 극대화조건 확립

1) 나노프레쉬의 제작

나노프레쉬는 (주)네가트론사의 협조 하에 Lab scale로 제작하였으며 그림 8과 같다.



그림 8. 나노프레쉬워터리듀서의 제작모형도

2) 적조생물의 제거효율검토

네가트론에 의한 적조생물의 제거율을 알아보기 위해 2가지 관점에서 검토를 하였다. 우선 네가트론으로부터 생성되는 나노버블에 의한 살조효과를 검토한 결과는 그림 9과 같이 버블에 의한 살조효과는 대조구와 비교하여 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다, 그 이유는 형성된 나노버블이 예상외로 쉽게 제거되기 때문에 충분한 반응이 이루어지지 않은 것으로 판단된다. 반면에 순환식으로 적용하였을 경우 실험결과는 그림 10과 같다. 결과적으로 1분 이내에 50%이상의 살조효과를 나타내었으며 5분 이후 적조생물은 거의 검출되지 않았다.

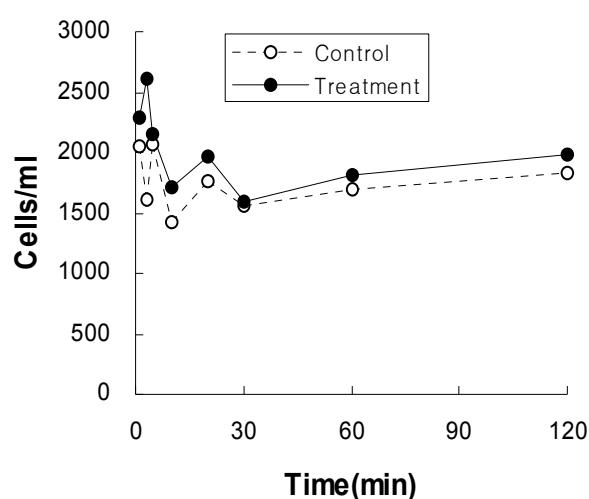


그림 9. 나노버블에 의한 적조생물의 살조효과에 미치는 영향

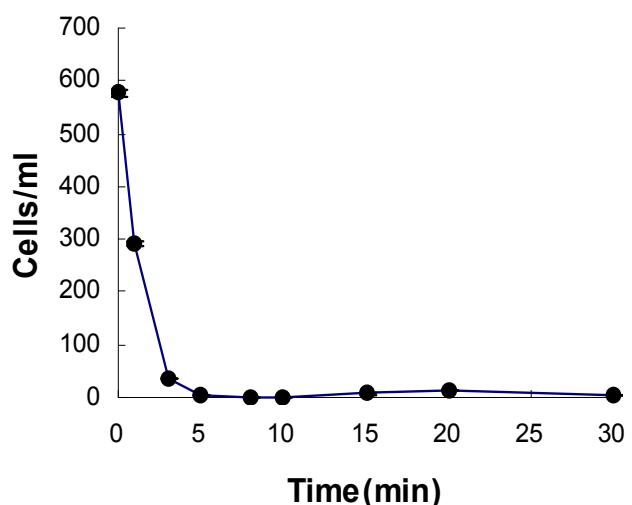


그림 10. 나노프레쉬워터리듀서를 이용한 순환방식이 적조생물의 살조효과에 미치는 영향

다. 적조생물로부터 생성된 점성물질의 분해효율 극대화조건 확립

나노프레쉬어를 이용한 적조배양액의 순환적용시 적조생물의 제거와 함께 적조생물인 *Coclodinium polykrikoides*로부터 생성되어 질식에 의한 어류사멸 원인물질인 다당성분의 농도와 점성도의 변화는 그림 11과 같다.

점도의 경우 1분 이내에 4에서 3 brix(%)로 감소한 후 유의한 변화가 나타나지 않고 있어 초기 네가트로에 의한 순환동안 점성이 감소되었음을 알 수 있다. 이러한 결과는 적조생물의 사멸과정과 동일한 결과를 나타내었다.

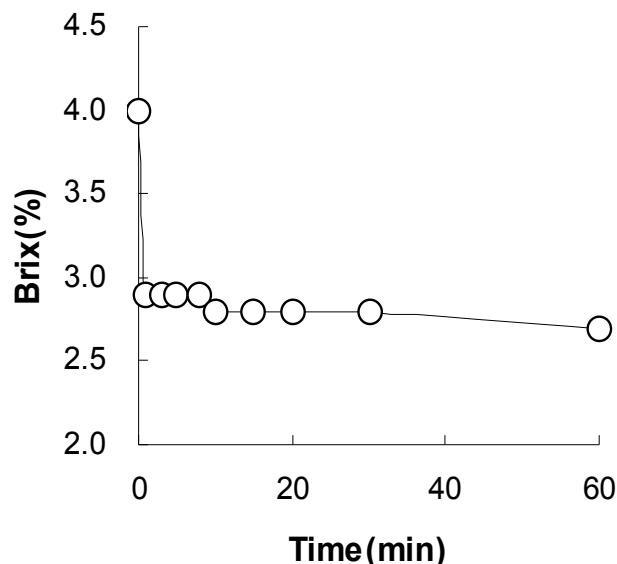


그림 11. 나노프레쉬워터리듀서를 이용한 순환방식이
점성물질의 특성변화에 미치는 효과

라. 적조제어물질의 나노화 및 살조효율 검토

1) 적조제어물질의 생산조건 확립

적조제어물질을 생산하는 *Hahella chejuensis*(RP10356)의 살조물질인 prodigiosin의 생성 조건을 검토하였다. 시험균주는 한국해양연구원 극지연구소 이홍금 박사님으로부터 분양받았다. 본 실험에 이용된 *Hahella chejuensis*의 배지성분은 표 1과 같으며 jar fermenter를 이용하여 배양시간별 prodigiosin이 포함된 색소의 생성을 측정한 결과 그림 12와 같다. Prodigiosin은 40시간째에 최적생산율을 나타내었으며 이후 140시간까지 일정농도이상 증가하지 않았다. 따라서 향후 실험시 48시간 배양후 prodigiosin을 농축하여 실험에 사용하였다.

Table 1. Optimal culture medium for Prodigiosin production

Medium components	Concentration (g/l)
Sucrose	10.0
Peptone	4.0
Yeast extract	1.0
NaCl	23.0
Na ₂ SO ₄	9.0
CaCl ₂	1.7115
NaHCO ₃	0.45
KCl	0.4
H ₃ BO ₃	0.01
KBr	0.05
Na ₂ SiO ₃	0.0045
NH ₄ NO ₃	0.0045
NaF	0.002
D.W.	1000 ml
pH	7.0

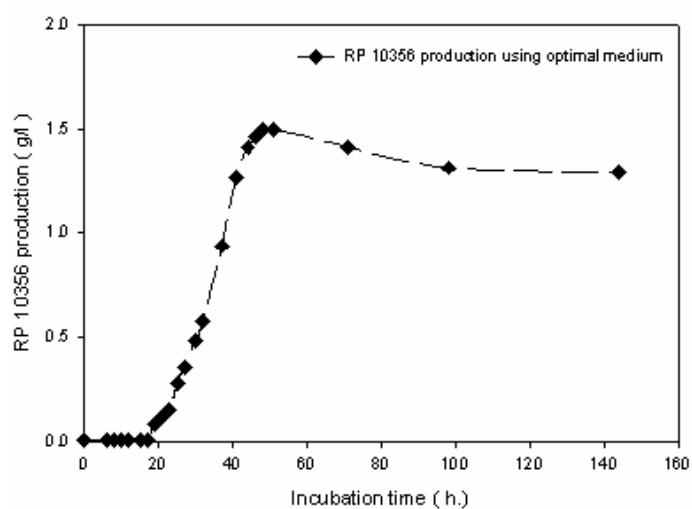


그림 12. 최적생산배지를 이용한 *Hahella chejuensis*로부터 prodigiosin의 생산

2) 살조물질의 추출과 문제점개선

살조물질인 prodigiosin이 포함된 색소는 세포 내물질로 이를 추출하기 위해 에탄올을

이용하고 농축시 살조추출물이 비극성을 띠기 때문에 추출단계에서 수용성추출방법의 적용가능성을 검토한 결과 표 2와 같다. 에탄올(20%와 100%), pH 1 및 pH 3으로 추출하였을 때 추출물간의 구별되는 차이는 보이지 않았으나 prodigiosin의 흡광도를 이용하여 조사한 결과 100%에탄올을 기준으로 하였을 때 pH 3이 다음 순으로 71.2%가 추출되었음을 보여준다. 그러나 pH 3용액을 이용한 추출은 기준 에탄올 추출물의 무게와 현저한 차이를 보였다.

표 3. 추출조건에 따른 추출물의 농도, prodigiosin의 흡광도 및 생산효율

	Weight (w/ 200ml)	Optical density of prodigiosin	yield(%)
20% EtOH	48.0	4.47	51.0
100% EtOH	49.2	8.77	100.0
pH 1 H ₂ O	47.4	1.29	14.7
pH 3 H ₂ O	50.7	6.24	71.2

3) 적조제어물질에 의한 *C. polykrikoides*의 살조효과

적조제어물질을 추출한 후 그림 13과 같은 방법에 의해 살조효과를 측정하였다. 그결과 그림 14와 같이 반응시간을 2시간으로 하였을 때 적조생물인 *C. polykrikoides*의 최적 살조농도는 0.05 mg/L로 97.4%의 살조효과를 나타내었다. 또한 30분을 기준으로 하였을 때는 0.1 mg/L로 나타내었다. 따라서 적조의 밀도에 따라

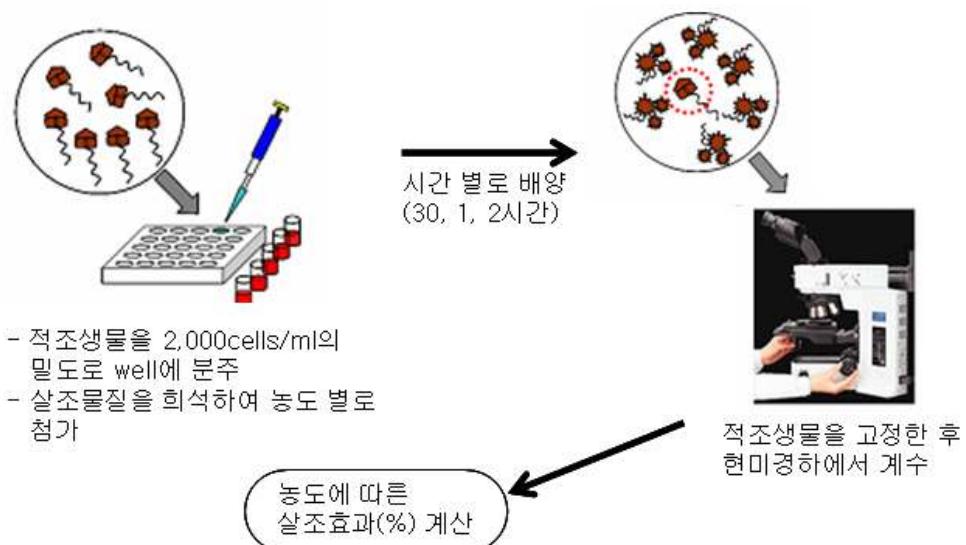


그림 13. 살조효과검증을 위한 실험과정도

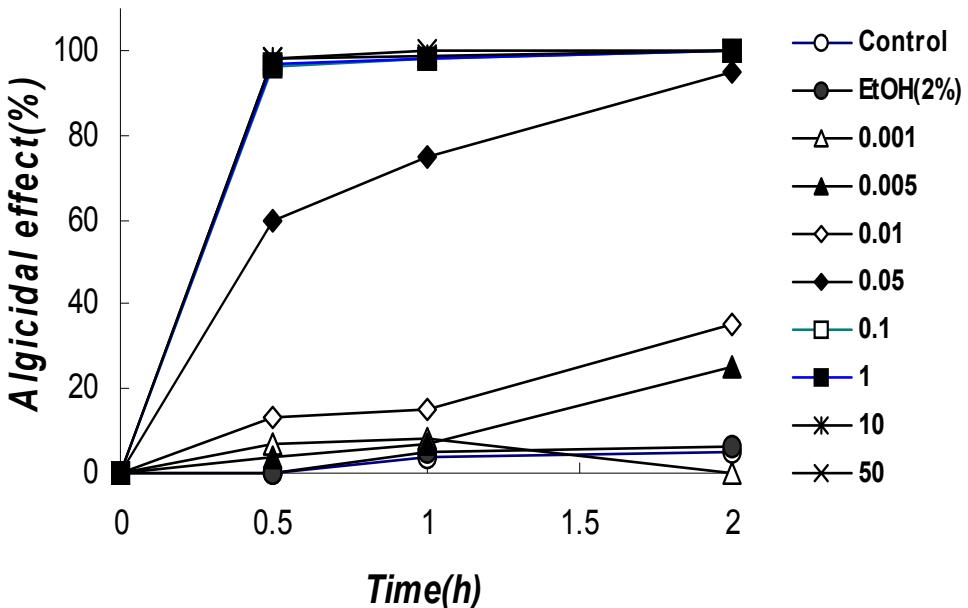


그림 14. 살조물질에 의한 *Cochlodinium polykrikoides*의 살조효과

제2절 실험실모의실험(실험진행 중)

1. 실험과정

가. 적조생물배양

나. 적조생물을 이용한 어류의 효과검증실험

: 대상어종은 넙치(치어)를 이용하고 실험구당 10마리를 대상으로 수행하고 3회반복 수를 같도록 준비한다. 시험구의 설치는 다음과 같다.

적조생물 밀도	대조구	나노프레쉬어		비고
		미처리구	처리구	
2000 cell/ml				
5000 cell/ml				

다. 72시간 관찰을 통하여 사멸유무를 판독할 예정임.

2. 문제점

: 적조생물의 대량배양에서 적조생물의 밀도가 2000 cell/ml을 넘기 전에 사멸을 하여 시험이 지연되고 있어 필요시 적조발생시에 추진도 계획하고 있음

제3절 현장실험

1. 모의실험용 산소발생기제작

현장실험을 위한 장비의 제작(나노프레쉬어는 주관기업과 (주)네가트론사의 지원)을 하여 현장에 설치(A)하였으며 수중에서 나노버블의 발생실험을 검토하였다.

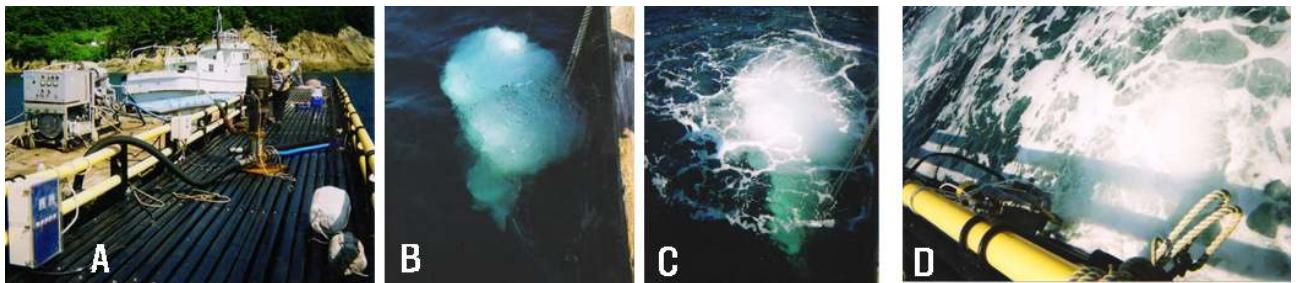


그림 15. 현장규모의 나노프레쉬워터리듀서 system(A)과 수중에서 기포발생과정(B, C, D)

2. 현장실험용 나노프레쉬어의 제작 및 운영예비실험

현장실험용 나노프레쉬어는 주관기업과 개발자인 네가트론사의 협조를 얻어 현장에 설치하였으며 1차적인 실험으로 적조발생현장에서의 예비가동과 가두리보호를 위한 설치방법의 모색을 위해 수행하였다.

1) 나노프레쉬어의 운영방법

: 가두리양식장을 대상으로 추진할 계획이며 가두리양식장내 순환방식을 구상하고 있음

2) 적용을 위한 설치모델구상

: 현재 장비의 설치 및 운영에 따른 비용의 문제로 비용을 절감하기 위한 방법을 구상 중임

3) 적조물질의 적용을 위한 예비실험

2007년 9월 말 적조가 발생된 욕지도에서 나노프레쉬어를 이용한 적조제어물질의 분산 효과를 검증해본 결과 분사기에서 ETOH로 추출한 *prodigiosin* 추출물은 분사와 함께 상층부로 부상하는 현상을 보였다. 이는 당초에 기대한 바닷물 내로 나노입자화를 통한 균질화는 나타나지 않았다. 이러한 결과는 *prodigiosin*물질 자체가 비극성을 띠고 있어 물리적 특성변화가 나타나지 않았다. 따라서 *prodigiosin*의 추출을 에탄올이 아닌 물을 용매로 한 추출방법의 개선이 필요할 것으로 판단된다.

제 3 장 사업성과

제1절 기술적 성과

1. 적조생물의 최적 배양조건 확립

- 실험실 규모의 현장 실험을 위해 적조생물인 *Cochlodinium*의 배양을 위한 최적 조건 확립하였으며 10L 규모의 배양 방법을 고안(그림 1~7)

2. 나노프레쉬어를 이용한 적조제어

가. 나노버블에 의한 적조생물의 제어

- 나노버블이 직접적으로 적조생물인 *Cochlodinium polykrikoides*에 대하여 직접적으로 사멸을 유도하는 현상은 관찰되지 않았다(그림 9). 그러나 지속적인 노출에 의한 적조생물의 성장 제어는 관찰하지 못하였다.
- 특히 현장에서 적조생물의 농도가 2000 cells/ml 이상으로 존재시 어류의 폐사에 직접적으로 노출되기 때문에 지속적인 나노버블의 노출은 유의하지 않아 더 이상 진행하지 않았다.

나. 나노프레쉬어의 순환을 통한 적조제어

- 나노프레쉬어를 이용한 밀폐된 공간 내에서 1분 이내에 50% 이상의 적조생물을 직접적으로 파괴하였으며 3분 정도 소요되면 대부분의 세포가 사멸됨을 확인하였다(그림 10).
- 나노프레쉬어를 이용한 밀폐된 공간 내에서 적조생물에 의한 어류의 폐사에 직접적인 영향을 미치는 점질다당류의 점도가 1분내에 급격히 감소시키는 현상을 관찰하였다(그림 11).
- 따라서 가두리 양식장에서 나노프레쉬어 가동에 의한 적조생물을 파괴하고 적조생물의 제어에 따른 점질다당의 물리적 특성을 감소시킴으로서 어류의 폐사를 예방할 수 있는 가능성을 보였다.

다. 적조제어 물질에 의한 나노프레쉬어 적용

- 적조제어 물질의 생산 조건 확인 및 살균효과 검증
 - 0.05mg/L의 적조제어 추출물은 2시간 내에 적조생물을 약 100% 제어하였으며 0.1mg/L의 농도에서는 30분 이내에 100%를 제어하였다(그림 14).
- 적조제어 물질을 나노프레쉬어에 적용하였을 때 적조제어 추출물의 나노입자화 및 분산의 유의한 효과는 관찰하지 못하였다.
- 바닷물에 대한 용해도를 증가시키기 위한 정제 방법의 개선이 필요함

3. 어류에 의한 모의실험

- 현재 적조생물의 대량배양에 문제점이 발생하여 추진이 지연되고 있으나 현장실험전에 적조생물의 농도에 따른 어류의 사멸과 밀도에 따른 나노프레쉬어 처리에 따른 점질다당의 물리적 특성변화 및 사멸효과에 미치는 영향을 검증한 후 올 9월 적조발생시기에 현장실험을 추진할 계획이다.
- 적조발생시기의 밀도에서도 어류의 사멸을 예방할 경우 어민의 경제적인 피해를 최소화하고 기존 황토살포법을 대체할 수 있을 것으로 판단됨

제 2 절 경제적 성과

1. 적조제어기술개발을 통한 양식어류보호로 어민경제 활성화

- 적조발생으로 인한 방제비용은 매년 50억이상이 지자체에 배정되고 어류폐사에 따른 국가보조비용까지 포함하면 적조발생정도에 따라 차이는 있지만 100억이상이 소요될 것으로 예상
- 본 기술을 통한 초기설치비용을 제외할 경우 방제비용과 보상비용을 최소화할 수 있을 것으로 판단

2. 적조로 인한 양식어류의 피해를 최소화함으로서 국내 양식산업보전 및 국가적인 방제비용을 최소화

- 본 기술이 양식어류보호에 효과가 있다하더라도 실제적으로 방제장비의 설치에 따른 경제성을 갖추어야한다. 따라서 나노프레쉬어의 적용에 따른 어민경제성을 고려한 시스템의 구축을 위한 연구가 별도로 추진되어야 함
- 타 방제기술에서처럼 효과는 있으나 기계설치 및 운영에 따른 비용부담이 높을 경우 어민들은 설치를 거부하고 어류폐사에 따른 국가보상비용요구가 더 어민에게 유리하게 작용할 수 있음

3. 적조발생 전에는 해양양식장 수질개선을 위한 제품활용

- 어민 및 지자체에서는 적조방제만의 목적만으로 설치하기에는 비용적인 부담을 가지므로 적조발생시기 외에도 양식장의 수질개선 및 오염물질제거를 위한 부가적인 활용성을 제공하여야 한다.
- 현재까지 나노프레쉬어는 담수의 수질개선에 미치는 효과가 높은 것으로 알려져 있어 향후 적조발생시기 외에도 해양환경개선을 위한 부가적인 연구와 검증이 필요

4. 적조제어의 극대화를 위한 적조제어물질 별도판매(적조물질은 기존 개발품이므로 본 개발에서는 활용기술로 산업화함)

제 4 장 결론

제1절 적조제어를 위한 나노프레쉬어 기술의 적용성

- 나노버블을 통한 적조제어
 - 나노버블에 의한 적조제어는 나타나지 않는 것으로 판단됨
- 나노프레쉬어를 이용한 순환방식
 - 나노프레쉬어를 이용한 순환방식으로 적용시 1분이내 50%가 사멸되며 3분이 경과한 후에는 100% 적조생물이 사멸함을 관찰하여 적용 가능성을 시사
 - 또한 적조생물의 사멸에 직접적인 원인으로 작용하는 점질성다당의 경우 나노프레쉬어를 이용한 순환방식을 적용시 1분이내에 점질성이 현저히 감소되는 것을 확인
- 추후 현장에서와 같이 고농도의 적조생물배양체를 이용한 어류실험 확인이 필요
 - 현재로 실험실 규모의 대량배양(100L)에서 2,000 cell/ml이상 배양이 되지 않아 배양기술 확립 중
 - 배양기술이 확립되지 않을 경우 적조발생시기에 현장시료를 이용하여 확인계획
- 적조제어물질을 적용한 신속제거기술 적용
 - 미생물을 이용한 적조제어물질의 효능검증
 - 적조제어물질을 이용하여 나노프레쉬어를 이용한 순환방식에 적용시 제어물질이 부상하는 특성을 가지고 있어 현재로는 물질의 특성변화연구가 필요

제2절 향후 계획

- 어류실험과 현장실험
 - 어류실험과 현장실험을 통하여 현장적용가능성 검토
 - : 과제와는 별도로 참여업체인 (주)성신수산 및 장비개발자인 (주)네가트론과 적용실험을 추진할 계획임
 - 현장적용실험실 장비설치에 따른 경제성을 고려한 최소비용산정계획
 - 경제성분석 외에 수질환경개선효과를 검증하여 적조발생시기외에 가두리양식장의 환경개선을 위한 부가적인 장비활용성을 높여 어민의 부담을 경감하고 국가적인 해양환경 관리적인 측면을 고려한 국비지원방안을 모색할 계획임