

Surface characterization and evaluation of biofouling inhibition of reverse osmosis membranes coated with Epigallocatechin gallate(EGCG)/vanillin

EGCG/바닐린 코팅 RO분리막의 표면 특성과 미생물막 억제능

Jaehyun Jung¹ · Youngjin Kim² · Haewook Nam³ · Yunjung Kim³ · Eunsu Lee³ · Younil Lee² · Jihyang Kweon^{1*}

정재현¹ · 김영진² · 남해욱³ · 김윤중³ · 이은수³ · 이윤일² · 권지향^{1*}

¹Konkuk University · ²Catholic University of Daegu · ³POSCO E&C

¹건국대학교 · ²대구가톨릭대학교 · ³포스코건설

Abstract : Biofouling in brackish water reverse osmosis (RO) membranes still needs extensive research to understand cause and mechanism and to obtain methods for reduction of its impact on RO applications. Natural compounds with biofilm formation inhibitory properties are being investigated. Two compounds, vanillin and Epigallocatechin gallate (EGCG), were selected due to their great potential on biofilm formation inhibition. Vanillin shows inhibition on quorum sensing mechanisms of biofilm formation. EGCG has potential to inactivate microbial activity. The two compounds were incorporated in typical polyamide reverse osmosis membranes and evaluated on flux behaviours and biofilm formation potential. The surface properties of membrane coated with vanillin were changed tremendously compared to those with EGCG. As a result, the flux was reduced substantially. The biofilm formation seems hindered with EGCG coated membranes compared to the virgin membranes. More research is needed to optimize coating methods applicable to RO membranes and to enhance biofouling reduction.

Key words : biofouling, membrane, Biofouling inhibition Compounds, Vanillin, Epigallocatechin gallate

주제어 : 바이오파울링, 멤브레인, 미생물 억제제, 바닐린, 에피갈로카테킨 갈레이트

1. 서론

RO막여과 공정은 고품질의 여과수를 생산할 수 있는 효과적인 수 처리 공정 중의 하나로 고도 정수, 하폐수재이용, 해수담수화 등의 주요공정으로 부각되고 있다 (Belfer et al., 2005; Chen et al., 2004). 하지만 RO 막여과 공정은 운전이 지속되면서 막오염이 발생하는 단점이 존재한다. 특히 미생물은 소량이 유입되어도 막표면에 흡착되어 생물막을 형성하게 되고, 생성된 생물막에 의한 바이오파울링은 제거가 어려워 가장 심각

한 막오염 중의 하나로 알려져 있다 (Lee et al., 2002; Lee et al., 2007).

바이오파울링을 저감하기 위해 다양한 물리·화학적 처리 방법이 도입되어왔다. 스크러빙 (scrubbing), 플러싱 (flushing), 역세척 (back-washing) 등과 같은 물리적 세척 방법은 오염물을 제거하고, 막의 분리 특성과 투수율을 회복하는 중요한 과정이다. 그러나 물리적 세척은 바이오파울링에 의한 생물막 제거는 어려울 뿐만 아니라 세척 시 분리막에 물리적인 손상을 가할 수 있다. 유입수에 염소를 주입하여 박테리아를 제거하는 방법, 그리고 수중에서 박테리아가 성장하는데 필요한 영양분의 함유량을 줄임으로써 미생물

• Received 21 May 2014, revised 10 December 2014, accepted 12 December 2014.

* Corresponding author: Tel : +82-2-450-4053, Fax : +82-2-454-4056 E-mail : jhkweon@konkuk.ac.kr

의 생물학적 성장을 제어하는 방법도 있다. 그러나 이러한 물리화학적 처리는 공정도입에 따른 추가적 비용이 발생한다(Kim et al., 2007; Kim et al., 2008). 또한 분리막 선택층이 염소와 반응하여 막내구성이 감소하는 등 막소재의 비가역적 변화를 초래하는 단점도 있으며 더욱이 바이오파울링을 궁극적으로 방지하지는 못하는 실정이다. 따라서 세척 시 화학약품을 거의 사용하지 않고 바이오파울링을 최소화할 수 있는 저오염성 분리막 소재 연구가 필요한 실정이다.

앞서 서술한 물리 화학적 처리에 의한 생물막 오염 제어 공정의 단점을 보완하기 위하여 미생물막의 형성 자체를 제어하는 연구가 최근 활발히 이루어지고 있다. 그중에 하나로 미생물의 특정 유전자 발현으로 진행되는 미생물간 정족수 감지(quorum sensing, QS)를 차단하는 연구가 있다(March et al., 2004). QS는 미생물간의 독립 신호체제로 미생물 밀도가 높을 때 발현되는 기작이다. 미생물은 신호분자를 생산하여 인간의 언어처럼 미생물간 대화에 사용한다. 이때 생산된 물질은 autoinducer(AI)라 지칭한다. 미생물 개체수가 많아지면서 생성되는 생물막의 형성에 AI를 생산하고 감시하는 QS기작이 작용하는 것이다(Dong et al., 2005). 정족수 감지를 차단하는 방법에는 교란물질을 이용한 방법이 존재한다. 이때 사용되는 교란물질은 수 처리에 사용되는 것이므로 인체에 무해하면서도 자연생태 환경에 영향을 미치지 않는 물질이어야 한다. 또한 비교적 값이 싸서 경제적이어야 한다. 콩에서 추출한 바닐린은 대표적인 QS 교란물질 중에 하나이며 식용 향신료로 안전성을 확보하고 있다(Kappachery et al., 2010). 녹차잎 추출물인 Epigallocatechin gallate(EGCG)는 카테킨의 일종으로 항산화능력이 탁월한 것으로 알려져 다이어트 식품으로 이용되며 미생물 내 지방질 대사를 저해하는 능력이 있다(Lim et al., 2008; Kim et al., 2009). 또한 *B. cepacia*의 미생물막을 억제하

는 것으로 알려져 있다(Huber et al., 2003). QS를 어떻게 교란하는 지에 대한 명확한 기작은 파악되고 있지 않으나, 세포내로 투과되어 저해 역할을 할 수도 있고, 미생물 단백질 구조에 존재하는 sulfhydryl group(-SH) 등의 작용기 혹은 비 특정 단백질과 저해제에 존재하는 수산(-OH)기와의 반응으로 미생물의 기능을 억제할 수도 있다고 밝혀져 있다(Galloway et al., 2011; Cowan., 1999).

수용액상의 EGCG나 바닐린이 미생물막 저해 효과가 존재하는 것이 밝혀져 있으므로 본 연구에서는 고체 표면에 저해제를 코팅 시에도 그 효과가 유지되는 지, 어느정도의 효과가 있을지 등을 파악하고자 하였다.

QS 기작을 보이는 생물막 오염을 저감하기 위하여 분리막을 개질하는 선행연구가 진행되어왔다. Khan et al. (2010)은 RO분리막 표면 작용기인 aromatic group과 aliphatic group을 개질한 후 미생물막 형성능을 평가하면서 막투과도, 막표면의 미생물막 특성, 막표면 화학종의 안정성, 그리고 재질의 소수성 등이 미생물막 형성에 영향을 미친다고 밝혔다.

Belfer et al. (2005)은 여러 가지 monomer를 grafting하는 방법으로 NF막을 개질하여 생물막 형성물질인 EPS 등의 흡착이 감소하는 것을 밝혔다. 위 연구들은 표면의 특성변화에 초점을 맞추어 연구가 진행되었으며 미생물막 형성능을 억제하는 천연물질을 이용하지는 않았다.

따라서 본 연구에서는 천연 항균 물질 즉 바닐린과 EGCG를 코팅한 RO막을 제조하여 미생물막 억제제 효과를 파악하고자 하였다. 미생물 억제제의 코팅로 인한 RO멤브레인 막표면의 변화를 고찰하고, 미생물 반응조에 멤브레인을 침지시켜 바이오파울링의 저감 효과를 정량적으로 평가하였다. 그리고 억제제가 코팅된 RO 멤브레인의 표면 공극 변화를 투과수량 실험을 통해 확인하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 RO막의 특성

본 연구에 활용된 RO막 (RE8040-BE, Toray Chemical, Korea)은 방향족 폴리아미드 재질로서, 제조사로부터 샘플을 제공받아 사용하였다. 미생물 억제제 코팅시에는 8.5 cm×5cm로 잘라서 사용하였고, 유효면적은 0.014 m²이다. 미생물막 형성 실험 시에는 1 cm×3 cm를 잘라서 사용하였다. 멤브레인의 자세한 내용은 Table 1에 나타내었다.

Table 1. Specification of RO membranes

Specification	RO membrane
Membrane type	Thin-film composite
Membrane material	Polyamide(PA)
Membrane surface charge	Negative
Operating temperature	20°C (±2)
CWF(L/m ² /hr) ^a	110(±8)

^aanalyzed from this study

2.2 미생물 활성도 억제능 회분식 실험

선택된 바닐린과 EGCG의 항균성을 확인하고자 바닐린은 표준 활성슬러지를 이용하여 EGCG는 특정미생물을 이용하여 회분식 실험을 진행하였다. 바닐린 실험의, 표준 활성슬러지는 시화하수처리장에서 채취하였다. 표준 활성슬러지의 활성도를 유지하기 위해 화학적 산소요구량 약 550 mg/L의 인공하수를 조제하여 넣었다. 인공하수의 조성은 Glucose, 400; yeast extract, 14; bactopectone, 115; (NH₄)₂SO₄, 104.8; KH₂PO₄, 21.75; MgSO₄, 32; FeCl₃, 0.075; CaCl₂, 2.525; MnSO₄, 2.65; and NaHCO₃, 255.5 (단위 : mg/L)이다 (Oh et al., 2012). 인공하수를 넣은 6개의 시험관에 바닐린의 농도를 0, 67.5, 125, 250, 375, 500 (단위 : mg/L)로 주입하였다. 표준 활성슬러지는 UV-spectrophotometer(UV-2900, Hitachi, Tokyo, Japan)의 파장 625 nm에서 흡

광도가 0.09정도 되도록 희석하였다. 희석된 시료를 Voltex(KMC-1300V, Vision scientific Co, Korea)를 이용하여 군집이 해체 되도록 한 후 다시 10배 희석을 하였다. 희석한 슬러지 1 μl를 각각의 시험관에 주입한 뒤 35°C에서 50시간까지 배양하고 12시간 간격으로 5번씩 OD값을 측정하였다.

EGCG를 코팅한 RO막의 항균성을 한국섬유개발원에 의뢰하여 KS KO693-2003 방법에 따라 실험하였다. RO막 시료는 5 cm×10 cm 크기이었고, 황색포도상구균(Staphylococcus)과 폐렴균(Klebsiella pneumonia) 두개의 시험균으로 실험하였다.

2.3 미생물막 억제제 전처리

미생물막 억제제로 선정된 EGCG (Sigma Aldrich, MO, USA)와 바닐린 (Sigma Aldrich, MO, USA)은 친수성이 강해 RO막에 코팅 하더라도 공정 운영시 액상으로 방출되는 문제점이 발생한다. 이를 방지하고자 EGCG와 바닐린을 Amino propylisobutyl polyhedral oligomeric silsesquioxane(POSS, Hybrid plastics)와 반응시켜 소수성을 부여하였다(Fig. 1).

먼저 EGCG를 POSS와 결합시켜 합성물을 제조하는 과정은 다음과 같다. POSS 0.175 g을 tetrahydrofuran (99%THF, Duksan, Korea) 10 ml에 녹여 0.2 mM 농도의 POSS 용액을 제조하였다. 그 다음 EGCG 0.183 g을 isopropyl alcohol(99.5% IPA, OCI Co, Korea)/H₂O(1:1) 15 ml에 녹여 0.4mM EGCG 용액을 제조하였다. 그 후 제조된 2개 용액을 2:3 비율로 섞어주었다. POSS와 EGCG의 결합반응을 위해 horseradish peroxidase(HRP, Sigma aldrich, USA) 4 mg을 deionized water(Diamind D11911, Banstead Co, USA) 1ml에 녹인 용액을 혼합용액에 첨가하였다. HRP에 의한 페놀기의 탈수소반응을 촉진시키

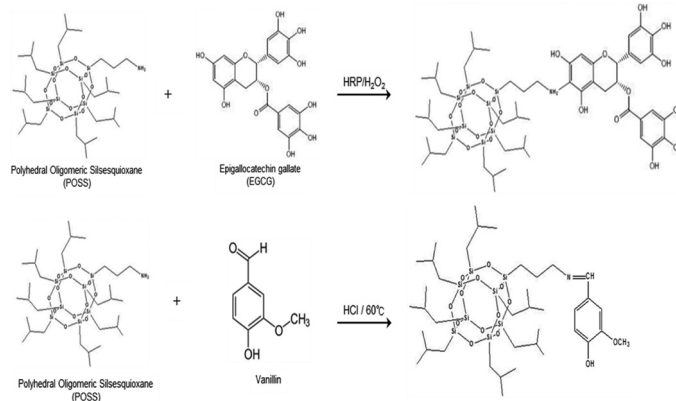


Fig. 1. Manufacturing POVA and POEA.

기 위해 5% H₂O₂ 용액 6 ml를 2 ml/h 속도로 3 시간 동안 떨어뜨려 주었다. 그 후 4시간 이상 방치하면서 반응시켜 분말입자를 생성하였다. 생성된 입자를 evaporator(N-1000S, Rikakikai Co. Tokyo, Japan)를 이용하여 용적이 30% 이하가 되도록 1시간 농축 하였다. 농축 된 용액에 200 ml의 deionized water를 첨가하여 초음파 세척(5510E-DTH, Branson Co, USA)을 진행한 후 입자물질 회수를 위해 4000rpm에서 15분간 원심분리(VS-550, Vision scientific Co, Korea)를 수행하였다. 이러한 세척은 반응하지 않는 EGCG와 HRP를 없애기 위한 것으로써 200 ml deionized water 첨가, 초음파 세척, 그리고 원심분리 순으로 총3회 실시하였다. 그 후 상온에서 48시간 동안 진공건조 후 분말상태의 POSS/EGCG Agent (POEA)를 만들었다.

다음은 바닐린을 POSS와 결합시키는 과정이다. 0.2 mM의 POSS용액을 전술한 방법과 동일하게 제조하였다. 바닐린 60.9 mg을 IPA/H₂O(1:1) 10 ml에 녹여 0.4 mM 바닐린용액을 제조하였다. 그 후 제조된 2개 용액을 섞어 1:1 비율로 섞어주었다. POSS의 NH₂ 작용기와 바닐린의 CHO⁻ 작용기가 반응하는 친핵성 첨가반응(nucleophilic addition)을 위해 1N HCl 100 μl를 혼합용액에 첨가하여 주었다. 60°C에서 3시간 이상 반응 시켜 분말 입자를 생성하였다. 그 후 분말 POEA를 만드는 과정과 동일한 방법으

로 분말상태의 POSS/Vanillin Agent (POVA)를 만들었다. POSS와 바닐린 혹은 EGCG의 결합도를 POEA와 POVA 분말의 UV 스펙트럼(UV-2900, Hitachi, Tokyo, Japan)을 이용하여 확인하였다.

2.4 미생물막 억제제 코팅방법

분말 상태의 POEA와 POVA를 1 w/v%(g/ml) 농도가 되도록 THF:IPA를 1:19 비율로 섞은 용매액에 녹여 충분한 양을 제조하였다. 그 후 미생물막 억제제 용액에 RO막을 완전히 침지시켰다. Shaking incubator에서 온도 40°C, 100 rpm이하로 천천히 흔들어주었다. 2시간 이상 코팅한 후 완전히 건조하였다. 건조된 샘플은 5분간 초음파 세척 후 다시 완전히 건조하여 POEA와 POVA가 각각 코팅된 RO막을 제조하였다. RO막과 천연물질의 상호작용을 ATR-FTIR(Nicolet 5700, Thermo Electron Co.)을 이용하여 조사하였다. 또한 코팅된 미생물막 억제제가 수중에서 장기간 사용시 효과를 지속할 수 있는지 파악하고자 억제제 방출 실험을 시행하였다. Dulbecco's Phosphate Buffered Saline(DPBS, without CaCl, MgCl, Welgene, Daegu, Korea) 용액에 POEA-RC와 POVA-RO는 1 cm²만큼 잘라서 완전히 침지하였다. 30일간 용액상의

POEA와 POVA 억제제의 방출량 UV-Visible Spectrometer(UV-2900, Hitachi, Tokyo, Japan)를 사용하여 주기적으로 측정하였다.

2.5 RO막의 표면 분석 및 투과 특성

미생물 억제제를 코팅 한 RO막의 표면을 field emission scanning electron microscope(JSM-6335F, Jeol, Tokyo, Japan)를 이용하여 분석하였다. 또한 atomic force microscope(Nano-R2TM AFM, Pacific Nanotechnology, USA)를 이용하여 막 표면의 거칠기의 특성을 파악하였다. 막투과 성능은 평판형의 막모듈(Taerang Engineering, Korea)을 사용하여 측정하였다. 고압펌프(Wanner Engineering, MN, USA)로 막간차압(Trans-membrane pressure, TMP)을 약 3500kPa로 유지하여 여과하는 정압여과 방식이었다. 초순수를 300분간 투과하여 여과수량을 전자저울(AND electronic balance, Cole-Parmer International, USA)을 이용하여 실시간으로 측정하였다.

2.6 미생물막 형성 실험

개발된 RO막에서의 미생물막 형성 억제 정도를 파악하기 위해 Fig. 2와 같은 3 L의 미생물막 형성 반응조를 구성하였다. 집종 슬러지는 시화하수처리장에서 채취하였다. 인공하수는 화학적 산소요구량이 미생물 억제제 항균 실험에서와 같이 550 mg/L이 되도록 제조하여 주입하였다. 하수는 미생물 활성도 실험에 사용했던 방법과 같이 조제하였다. 조제된 원수를 펌프를 이용하여 반응조에 유입시켜주고 브로워를 붙여주어 미생물이 잘 살 수 있는 환경을 만들어 주었다. 슬러지 체류시간(SRT, solids retention time)는 10일, 수리학적 체류시간(HRT, hydraulic retention time)는 8시간, MLSS는 6000(±500) mg/L로 유지시켜주었다. 반응조 안에 POEA, POVA를 코팅한 두 종류의 RO멤브레인과 Vir-

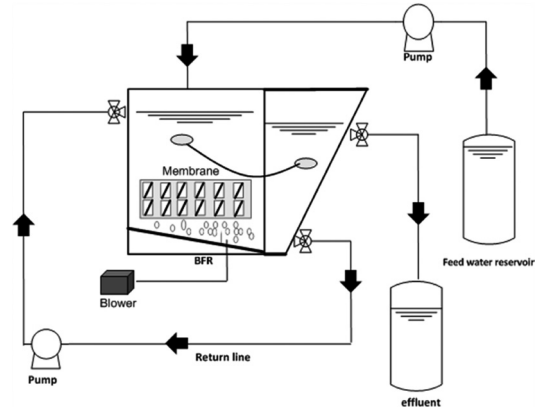


Fig. 2. Schematic diagram of biofouling formation reactor (BFR).

gin 멤브레인을 1 cm × 3 cm로 잘라 아크릴판에 부착하여 미생물 반응조에 넣었다. 멤브레인 종류 당 5개의 멤브레인을 침지시켜 총 5주 동안의 미생물 부착 정도를 살펴보았다.

2.7 미생물막 탈리 및 정량 방법

일정시간 후 채취한 멤브레인 시편에서의 생물막을 탈리하여 탈리된 미생물 총량을 결합성 EPS의 단백질 양과 Optical density(OD)값으로 측정하였다.

미생물막의 탈리 방법은 다음과 같다. 우선 30 ml의 0.9% NaCl로 막 시편 표면을 세척하여 느슨하게 붙어있는 미생물을 떨어뜨린다. 그 후 20 ml 0.9% NaCl이 담긴 시험관에 멤브레인 시편을 절단하여 넣은 후 Vortex(KMC-1300V, Vision scientific Co, Korea)로 강하게 5분간 교반 후 초음파로(5510E-DTH, Branson Co, USA)을 60분간 시행하여 모든 미생물막을 탈리하였다. 그 후 막에서 탈착된 미생물의 결합성 EPS의 단백질을 다음과 같은 방법으로 측정하였다. EPS는 탄수화물과 단백질이 주요 구성성분이고, 전체 EPS량 변화와 각 구성성분의 변화영향이 동일하므로 단백질량만 측정하였다(Liu et al., 2002). 시료를 5000 rpm에서 25분간 원심분리(1736MGR, Gyrozen, Seoul, Korea)하여 상등액을 떨어내고, 떨어진 상등액

과 같은 액량은 0.9% NaCl을 첨가하였다. 내열 초자로 용액을 옮겨 100℃에서 1시간 반응 시켰다. 1시간 방냉시킨 후 튜브로 옮겨 5000 rpm에서 25분간 원심분리 하였다. 탈착된 미생물의 총량을 흡광도 595 nm에서 측정하였다. 상등액을 0.45 μm 필터로 여과하여 단백질을 측정하였다. Protein은 Bradford법으로 측정하였다. Protein의 정량은 흡광도로 측정하기 때문에 2 mg/ml의 bovine serum albumin(BSA) stock 용액을 0-10 μg/ml이 되도록 단계별로 희석하여 표준용액을 만들었다. Protein Assay Kit (BR500, Bio-rad)를 5배 희석한 protein 염색약 1ml씩을 micro cuvette에 넣어 10분간 정지한 후 595nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 표준 용액 흡광도 data로부터 일차회귀 직선식을 구하여 미지시료에 적용하였다. 흡광도 측정 시에는 UV-Visible Spectrometer(UV-2900, Hitachi, Tokyo, Japan)를 사용하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 미생물막 억제제의 항균성

미생물막 억제제의 항균성을 확인하기 위하여 바닐린의 주입농도를 달리하여 50시간 동안의 OD값의 변화를 살펴보았으며 그 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 시간이 경과함에 따라 모든 조건에서 미생물량이 증가하는 것을 관찰할 수 있었다. 특히 10시간이 지나면서부터 미생물이 급격하게 증가하는 모습을 모든 조건에서 나타내

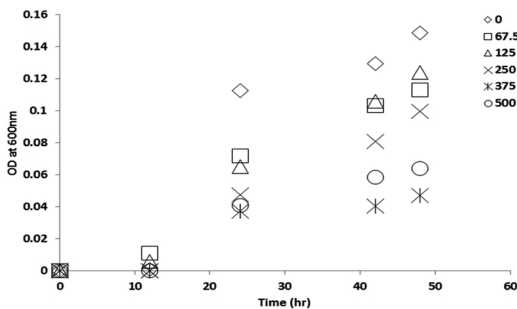


Fig. 3. Inhibition of microbial activity of vanillin.

었다. 하지만 20시간이 지나면서부터 바닐린을 넣었을 경우와 그렇지 않은 경우의 모습이 대조적으로 나타났다. 바닐린을 넣지 않은 것과 비교하여 바닐린농도를 375 mg/L까지 증가시킬수록 미생물의 양이 현저하게 줄어드는 것을 알 수 있었다. 그러나 500 mg/L의 농도의 경우 항균 효과가 조금 낮아지는 결과를 보였다. 이는 기존 연구 (Ponnusamy et al., 2009)의 결과에서 밝혀졌듯이 미생물억제제의 적정 주입량이 존재한다는 것을 의미한다.

KS K0693-2003방법을 이용하여 POVA-RO와 POEA-RO의 황색포도상구균(Staphylococcus)과 폐렴균(Klebsiella pneumonia)에 대한 항균 특성을 조사 하였다. 그 결과는 Table 2에 나타내었다. POVA는 포도상구균에 대해 100%의 항균성을 보였고 폐렴균에 대해서는 43.6%의 항균성을 나타내었다. POEA의 경우 POVA와 마찬가지로 포도상구균에 대해 98.6%의 균감소율을 나타내었지만 폐렴균에 대해서는 항균성을 전혀 나타내지 않았다. EGCG는 세균(methicillin-resistant Staphylococcus aureus)에 대하여 항균효과를 나타내며, 처리한 EGCG의 농도가 높을수록 세균의 수가 감소한

Table 2. Antimicrobial activities of POVA-RO and POEA-RO

Sample	POVA-RO	POEA-RO
Staphylococcus	100%	98.6%
Klebsiella pneumonia	43.6%	0%

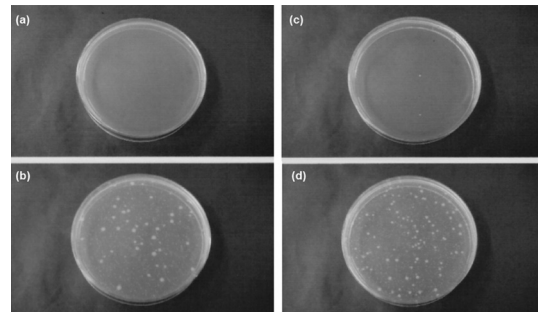


Fig. 4. Antimicrobial activities of POVA-RO on (a)Staphylococcus (b)Klebsiella pneumonia and POEA-RO on (c)Staphylococcus (d)Klebsiella pneumonia.

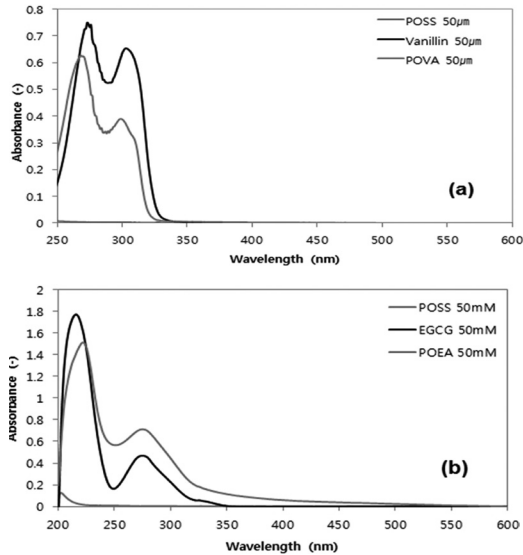


Fig. 5. UV spectrum of each biofouling inhibitors (a)POVA (b) POEA.

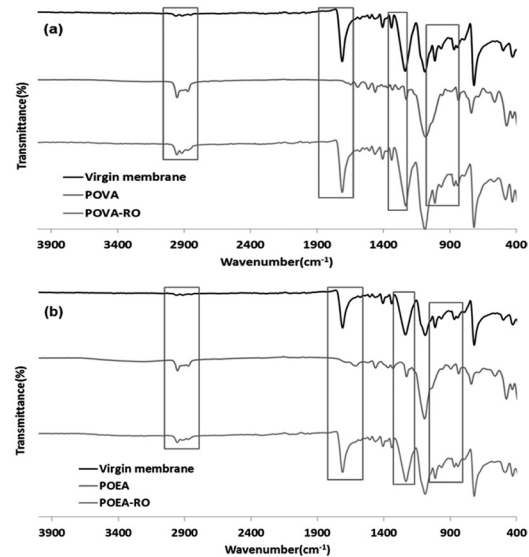


Fig. 6. FTIR spectrum (a) POSS, POVA-RO and virgin membrane (b) POSS, POEA-RO and virgin membrane.

다는 기존연구 결과와 일치하는 것을 알 수 있었다.(Hu et al., 2002)

3.2 미생물 억제제 전처리 결과

미생물막 억제제인 바닐린과 EGCG에 소수성을 부여하기 위해 POSS와의 결합물을 생성하였다. 결합정도를 파악하기 위해 POSS와 바닐린, 결합물인 POVA의 흡광도 그리고, EGCG와 결합물인 POEA의 흡광도를 분석하였다.(Fig. 5) POSS의 경우 피크를 나타내지 않았고 바닐린은 약 275 nm와 310 nm에서 높은 파장을 나타내었다. POSS의 낮은 파장으로 인해 바닐린과의 결합 시 고유의 성질이 소멸되지 않을까 우려되었지만 POVA의 경우 바닐린과 유사한 파장을 나타내었다. POEA 역시 EGCG와 비슷한 파장을 나타내어 EGCG의 활성도가 유지된 상태로 POEA가 제조되었음을 확인할 수 있었다.

3.3 미생물막 억제제의 RO막 코팅 결과

3.3.1 RO막의 FTIR 결과

RO막에 미생물 억제제인 POVA와 POEA가

효과적으로 코팅되었는지를 FT-IR로 확인하였다. Fig. 6에 나타난바와 같이 새막에서는 존재하지 않는 피크가 미생물 억제제의 코팅으로 인해 나타났으며 그 피크는 미생물 억제제의 피크와 동일하여 코팅이 잘 진행되었다는 것을 알 수 있었다. 파장 2900-2800 cm^{-1} 와 1710 cm^{-1} 에 존재하는 알데히드 작용기(CHO)부분과 파장 1236 cm^{-1} 에 존재하는 아민결합(C-N), 파장 870 cm^{-1} 에 존재하는 방향족기(C-H, out of plane)가 제조된 막에 나타났음을 알 수 있다.

3.3.2 미생물막 억제제 방출실험

미생물 억제제가 용액상으로 얼마나 방출되는지에 대한 실험 결과는 다음 Fig. 7에 나타내었다. 바닐린과 EGCG가 용액상에서 미생물 억제능을 가지고 있는 것은 이미 밝혀진바 있다. 본 연구에서는 바닐린과 EGCG가 분리막 표면에 결합되어 있는 상황에서 미생물막 억제에 주요한 역할을 하는 작용기가 활성을 유지할 수 있다는 것을 파악하고자 하였다.

POEA와 POVA가 코팅된 RO막을 침지하여 미생물막 억제제가 방출되는 비율을 30일동안

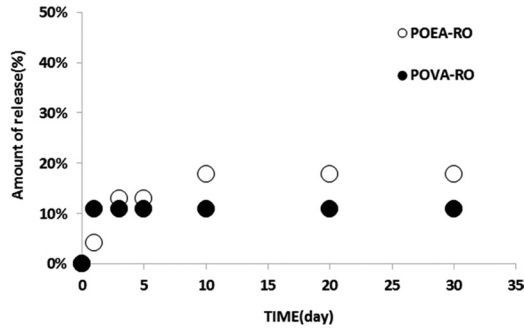


Fig. 7. Amount of released POEA and POVA from RO membranes.

알아보았다. POEA의 경우 10일에 도달 하였을 때 약18%에 가까운 방출량을 나타내었지만 그 후로는 시간이 지나도 방출량이 늘어나지 않았다. POVA 역시 초기 방출량이 10%에 이르렀지만 2일 이후로는 전혀 방출이 일어나지 않았다.

따라서 약 90%의 바닐린과 72%의 EGCG는 상대적으로 안정하게 분리막 표면과 결합되어 있음을 알 수 있다. 결합된 바닐린과 EGCG의 미생물막 억제능은 침지된 막을 이용한 바이오 파울링 형성 실험을 통해 확인 하였다.

3.3.3 RO막 표면변화

미생물 억제제로 코팅 된 막을 FE-SEM으로 측정하여 Fig. 8에 나타내었다. 새막과 비교했을 때 막표면 구조변화가 크게 변화 했음을 확인 할 수 있었다. POEA로 코팅된 막의 경우는 2차원 구조를 확인할 수 있었으나 특히 POVA로 코팅된 막의 경우는 그 구조변화가 상당히 전 혀 다른 이미지를 보였다.

개질된 RO막의 3차원 구조 변화를 AFM으로 분석하였다(Fig. 9). Table 3에는 AFM을 통한 막의 거칠기를 정량적인 방법으로 수치화한 값

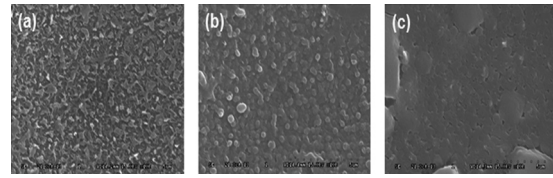


Fig. 8. FE-SEM of RO surface (a)Virgin membrane, (b)POEA-RO, (c)POVA-RO.

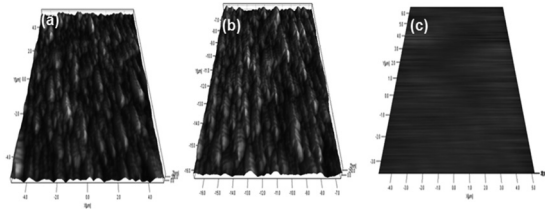


Fig. 9. AFM image of RO membranes (a) virgin membrane, (b) POEA-RO, (c)POVA-RO.

을 정리하였다. SEM 이미지와 비슷하게 새막과 POEA를 코팅한 RO는 비슷한 구조를 보였으나 POVA는 3차원이 아닌 1차원 구조를 보였다. 새막의 경우 평균적으로 56.3 nm의 거칠기를 나타내었고 POEA의 경우 막표면 거칠기가 약간 증가하여 66.2 nm를 나타내었다. 또한 POVA를 코팅한 RO의 경우 막의 표면이 거칠기가 전혀 나타나지 않았다. 3차원 구조를 정량한 평균값과 피크-피크 값 그리고 돌출부의 밀도 등에 대한 수치도 평균 거칠기와 비슷한 양상을 보였다.

RO막의 표면구조 변화는 코팅된 RO막의 투과성능에 크게 영향을 미칠 것이라 예상된다. POVA와 POEA를 코팅하는 과정에서 발생한 표면구조 변화를 용매종류나 코팅시간 등 코팅 방법의 개선으로 최소화할 필요가 있다고 사료 된다.

Table 3. Surface characteristics by AFM measurement of virgin membrane, POEA-RO, POVA-RO membrane

Sample	Roughness average, S_a (nm)	Root mean square, S_q (nm)	Peak to peak, S_y (nm)	Density of summits, S_{ds} ($1/\mu m^2$)
Virgin membrane	56.3	74.9	452.9	6.9
POEA-RO	66.1	85.7	545.4	5.8
POVA-RO	1.0	1.3	22.2	41.8

3.3.4 미생물 억제제 코팅에 따른 RO 투과성능 변화

개질된 RO막과 새막을 이용하여 초순수 투과수량 실험을 실시하였다. 막간차압을 약 3500 kPa로 유지하며 5시간 진행한 후 평균 투과수량을 다음 Fig. 9에 나타내었다. 새막의 경우 약 110 L/m²h로 측정되었다. 바닐린으로 코팅된 막은 7 L/m²h, EGCG로 코팅된 막은 8 L/m²h로 새막에 비해 매우 낮은 투과수량을 나타내었다.

또한 POEA와 POVA를 코팅하기 위해 사용한 용매액(THF/IPA, 1:19)만을 코팅한 막으로 실험을 진행한 결과 약 32 L/m²h로 새막 대비 약 80 L/m²h 투과수량 차이를 나타내었다. 다시 말해 미생물억제제 코팅시 사용하는 용매액에 의한 투과수량 감소가 전체 감소량의 72%를 차지하고 있음을 알 수 있었다. 따라서 용매액이 막의 공극 구조를 심하게 변형시킨 요인으로 분석되었다. 막여과에서 생산수량 감소는 막여과 공정의 경제성을 떨어뜨리는 요인으로 작용한다. 따라서 플럭스를 유지할 수 있는 표면 개질 방법을 강구할 필요가 있다. 본 연구에서는 코팅 방법의 개선이 필요함을 알 수 있고, 특히 용매액의 종류나 농도 등에 대한 최적값을 찾는 연구가 필요하다고 사료된다.

3.4 미생물막 억제제의 생물막 제어효과

미생물막 억제제의 생물막 제어 특성을 관찰하기 위하여 미생물막 억제제를 코팅한 막의 결합성 EPS의 단백질량과 OD값을 분석하여 Fig. 11에 나타내었다. 1주일 간격으로 측정된 결과로서 시간이 지남에 따라 생물막이 생성되는 것을 알 수 있었다. 이는 단백질량으로 측정된 값과 OD값 모두 동일한 경향을 보였다. 미생물막 억제제를 코팅 하지 않은 새막은 35일이 지났을 때 다른 막에 비하여 가장 높은 생물막 값을 나타내었다. POEA-RO막과 POVA-RO막의 경우도 시간이 경과함에 따라 미생물량이 증가하였으나

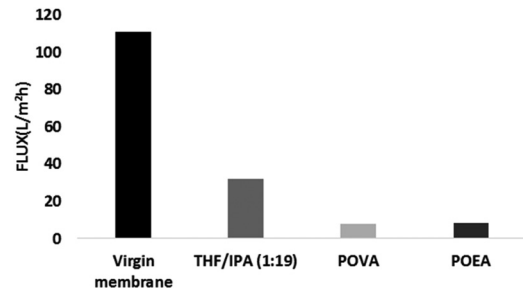


Fig. 10. Clean water flux of virgin, THF/IPA solvent, POVA-RO, and POEA-RO.

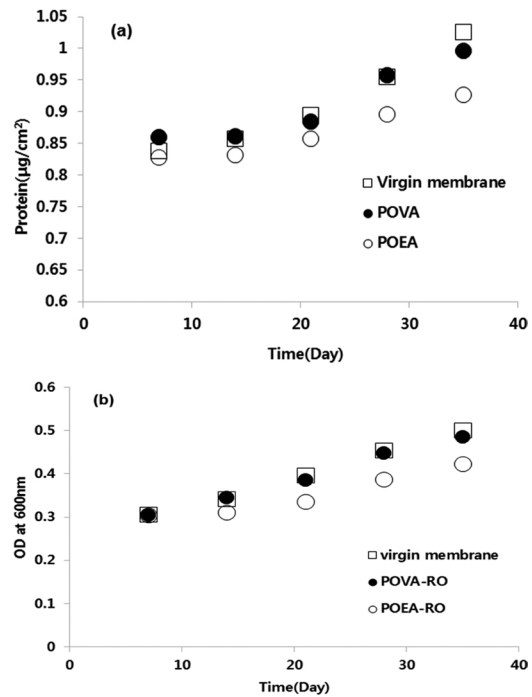


Fig. 11. Biofilm formation of virgin, POVA-RO and POEA-RO (a) protein (b) optical density.

POEA는 POVA보다 낮은 수치를 보여 미생물막 억제제 코팅 시 상대적으로 좋은 효율을 나타낸 것으로 판단되어진다. 초기 방출된 바닐린이나 EGCG가 용액상에 존재(Fig. 7)하여 초기 미생물막 억제에 영향을 미칠 수 있으나 실험기간이 35일로 장기간이었으므로 미생물막 억제는 초기 방출에 의한 영향 보다는 코팅되어 있는 미생물 억제제 효과라고 판단된다.

실 플랜트에서는 미생물막 억제를 위해 염소

를 이용하여 화학적 세정을 사용한다. 하지만 궁극적으로 바이오파울링을 억제하지 못하고 있으며, 세정제와 배출수 문제 및 탈염소 공정 추가와 같은 문제점이 존재한다. 천연항균물질 코팅 RO로 미생물막이 억제되는 것을 본 연구에서 파악하였고, 코팅 방법 개선 등을 통해 효율을 높인다면 염소처리나 화학세정 등에 의해 발생하는 문제를 저감할 수 있을 것으로 사료된다.

4. 결론

수처리 시설로서 RO막의 이용은 꼭 필요한 공정이 되었다. 하지만 바이오파울링에 대한 문제가 높아져만 가는데 그 해결방법에 대한 연구는 미미한 상태이다. 본 연구에서는 바이오파울링 저감을 위해 항균성이 있는 EGCG/바닐린을 RO막에 코팅한 후 그 표면특성 및 미생물의 억제능을 관찰하였다.

1. 바닐린과 EGCG의 항균성 분석 결과 바닐린은 실험농도에서 OD값을 70% 이상 감소시킨 것으로 나타난다. 하지만, 높은 농도는 오히려 미생물막의 저감효과를 감소시킬 수 있으므로 적정 주입량이 존재한다는 것을 파악할 수 있었다. EGCG 항균성 테스트 결과 포도상구균에 대해서는 100%에 가까운 항균성을 나타내었다.
2. 바닐린과 EGCG에서 소수성을 부여하기 위해 POSS와 결합시키는 전처리 결과 POVA와 POEA에서 바닐린/EGCG와 비슷한 파장을 나타낸 것으로 보아 제도가 잘 되었음을 알 수 있었다.
3. 미생물막 억제제인 POEA와 POVA가 10일 이후로는 방출량이 20% 이하로 나타난 것으로 보아 코팅이 상당기간 동안 판단하였다.
4. 미생물막 억제제를 코팅한 RO막의 표면 변화가 나타나 투과성능 변화에 영향을 미칠 것으로 예상되나 향후 코팅방법의 변화로 인해 개선할 수 있다고 판단된다.

5. 미생물 억제제 코팅에 따른 투과성능 변화의 경우 새막과 비교 시 POVA와 POEA의 막 투과수량이 약 90% 저감된 결과를 나타냈다. 이는 용매액에 의한 투과수량 감소의 비율이 전체 감소량의 72%를 차지하는 것으로 밝혀져 향후 용매액에 대한 최적값을 찾아야 한다고 판단된다.
6. 단백질량과 OD값은 10일 이후부터 각각의 억제제별로 미생물량이 점차 차이가 나기 시작했다. 35일이 지나면서 새막과 POEA의 단백질량은 약 $0.1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 의 차이를 보였다. 또한 POEA는 POVA보다 낮은 수치를 보여 미생물막 억제제 코팅 시 상대적으로 좋은 효율을 나타내었다.

사 사

본 연구는 2013년 “포스코건설 기술연구소”의 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다(2013-A012-0043).

RO막을 공급해준 도레이케미칼(주) 에도 감사드립니다.

References

Belfer, S., Gilron, J., Daltrophe, N., Oren, Y. (2005) Comparative study of biofouling of NF modified membrane at SHAFDAN. *Desalination*, 184, pp. 13 - 21.

Chen, K. L., Song, L., Ong, S.L, Ng, W.J. (2004) The development of membrane fouling in full-scale RO processes. *Journal of Membrane Science*, 232, pp. 63 - 72.

Cowan, M. M. (1999) Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 12, pp. 564-582.

Dong, Y. H., Zhang, L. H. (2005) Quorum sensing and quorum-quenching enzymes. *Journal of Microbiology*, 43, pp. 101-109.

Galloway, W. R. J. D., Hodgkinson, J. T., Bowen, S. D., Welch, M., Spring, D. R. (2011) Quorum Sensing in Gram-Negative Bacteria: Small-Molecule Modulation of AHL

- and AI-2 Quorum Sensing Pathways. *American Chemical Society*, 111, 28-67
- Huber, B., Eberl, L., Feucht, W., Polster, J. (2003) Influence of Polyphenols on Bacterial Biofilm Formation and Quorum-sensing. *Journal of physical sciences.*, 58c, pp. 879-884.
- Hu, Z. Q., W. H. Zhao., N. Asano, Y. Yoda, Y. Hara, T. Shimamura. (2002) Epigallocatechin gallate synergistically enhances the activity of carbapenems against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46, pp. 558-560
- Khan, M. M., Stewart, P. S., Moll, D. J., Mickols, W. E., Burr, M. D., Nelson, S. E., Camp-er, A. K. (2010) Assessing biofouling on polyamide reverse osmosis (RO) membrane surfaces in a laboratory system. *Journal of Membrane Science.*, 349, pp. 429-437
- Kim, N. W., Shin, D. Ho., Lee, Y. T. (2007) Effect of silane coupling agents on the performance of RO membrane. *Journal of Membrane Science.*, 300, pp. 224-231
- Kim, N. W., Kim, C. S., Lee, Y. T. (2008) Preparation and characterization of polyethersulfone membranes with p-toluenesulfonic acid and polyvinylpyrrolidone additives. *Desalination*, 233, pp. 218-226.
- Kim, Y. J., Kim, S. A., Kwon, O. K., Park, M. R., Kang I. K., Lee, S. G. (2009) Preparation and characterization of electrospun nanofibers containing natural antimicrobials. *Polymer(Korea)*, 33, pp. 307-312.
- Kappachery, S., Paul, D., Yoon, J. Y., Kweon, J. H. (2010) Vanillin, a potential agent to prevent biofouling of reverse osmosis membrane. *The journal of biodhesion and biofilm research*, 26, pp. 667-672.
- Lee, J. C., Kim, J. S., Kang, I. J., Cho, M. H., Park, P. K. Lee, C. H. (2002) Potentials and limitation of alum or zeolite addition to improve the performance of submerged membrane bioreactor. *Water Sci Technol.*, 43, pp. 59-66.
- Lee, W. N., Chang, I. S., Hwang, B. K., Park, P. K., Lee, C. H., Huang, X. (2007) Changes in biofilm architecture with addition of membrane fouling reducer in a membrane bioreactor. *Process Biochemistry.*, 42, pp. 655-661.
- Liu, H., Fang H, P. (2002) Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) of sludges. *Journal of Biotechnology.*, 95, pp. 249-256
- Lim, Y. C., Park, H. Y., Hwang, H. S., Kang, S. U., Pyun, J. H., Lee, M. H., Choi, E. C., Kim, C. H. (2008) (-)-Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) inhibits HGF-induced invasion and metastasis in hypopharyngeal carcinoma cells. *Cancer letters*. 271, pp. 140-152.
- March, J. C., Bentley, W. E. (2004) Quorum sensing and bacterial cross-talk in biotechnology. *Current Opinion Biotechnol.*, 15, pp. 495-502.
- Oh, H. S., Yeon, K. M., Yang, C. S., Kim, S. R., Lee, C. H., Park, S. Y., Han, J. Y., Lee, J. K. (2012) Control of Membrane Biofouling in MBR for Wastewater Treatment by Quorum Quenching Bacteria Encapsulated in Microporous Membrane. *Environ. Sci Technol.* 46, pp. 4877-4844.
- Ponnusamy, K., Paul, D., Kweon, J. H. (2009) Inhibition of quorum sensing mechanism and aeromonas hydrophila biofilm formation by vanillin. *Environmental Engineering Science*. 26, pp. 1359-1363.