

Strain YG-02가 생산하는 생물응집제의 성분 분석

정연곤^a · 고준일^b · 정선용^{c,*}

전남대학교 환경에너지공학과

The Component Analysis of the Bioflocculant Produced by Strain YG-02

Yeon-Gon Jung^a · Joon-Il Ko^b · Seon-Yong Chung^{c,*}

Department of Environment and Energy Engineering, Chonnam National University
(Received 14 February 2019, Revised 2 April 2019, Accepted 9 April 2019)

Abstract

In this study, we analyzed composition of the bioflocculant, which strain YG-02 produces. First, supernatant and suspension from centrifugation of culture fluid of the strain, were used in the flocculation experiment. As a result, the SVI(sludge volume index) added with the suspension, was 182 mL/g, same as the control group with no additive, and the SVI added with supernatant, was 164 mL/g. So, the result above showed that flocculation capacity of the bioflocculant, was dependent on the substance which strain YG-02 produces, not on factors such as the body of germs. As a result of the thermostability test on substances that cause flocculation, the flocculation effect was significantly reduced, compared to the result of the flocculation test, before applying heat to the culture fluid, and it was able to assume that the substance that causes flocculation, was damaged by heat. Additionally, to understand the component of the bioflocculant, analyzation of sugar composition and fatty acid, was conducted. As a result, sugar composition was the polysaccharide consisting of glucose: lactose with molar ratio of 90.75:9.25. Fatty acid content was detected, as 0.0012 g/100g, showing that it contained glycolipid in the bioflocculant. Such results show that the bioflocculant which strain YG-02 produces, is the new bioflocculant, different from bioflocculant studied to date.

Key words : Bioflocculant, Glycolipid, Molar ratio, Polysaccharide.

^a 박사과정(Ph.D. Student), yeongonjn@hanmail.net, <https://orcid.org/0000-0002-3742-5657>

^b 박사(Ph.D.), kobown@hanmail.net, <https://orcid.org/0000-0002-6387-4165>

^{c,*} Corresponding author, 교수(Professor), sychung@jnu.ac.kr, <https://orcid.org/0000-0001-8664-9625>

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

1. Introduction

산업화의 진행과 생활하수로 인한 수질오염은 심각한 상태이며 고도의 수질정화방법이 요구되고 있다. 이러한 현실에서 응집제는 콜로이드성 물질의 침전과 제거를 위해 사용되고 있으며 상·하수의 처리와 발효공정 등 다양한 분야에서 유기물, 부유 물질, 세균, 조류, 색소, 콜로이드 등 탁도를 나타내는 콜로이드 상태의 불순물 제거를 위해서도 광범위하게 이용되고 있다(Lee, 2000). 응집제의 종류는 무기응집제(inorganic flocculant), 고분자 응집제(Polymeric Coagulant), 생물응집제(bioflocculant) 등이 있으며, 산업의 다양화와 발달로 인하여 증가하는 폐수에 의한 수질오염을 예방하기 위하여 폐수처리에 음이온·비이온성 고분자 응집제가 광범위하게 사용되어 왔으며 하수와 분뇨 등의 도시폐수 처리 중 발생하는 슬러지의 탈수제로서 양이온성 고분자응집제가 많이 사용되고 있다(Kim, 2009). 수처리에 주로 사용되는 무기응집제는 알루미늄염($Al_2(SO_4)_3$)과 철(III)염($Fe_2(SO_4)_3$) 등이 있으며 비교적 가격이 저렴하여 다양한 분야에서 사용되고 있으나, 수소이온농도(pH) 조절을 위해 많은 양의 약품 첨가가 필요하며 슬러지 발생양이 많다는 단점이 있는 반면에, 유기응집제는 약품의 첨가율이 낮고 슬러지 발생량이 적으며 빠른 시간 내에 첨가가 가능하며, floc 형성이 빠르고, 강도가 높으며 넓은 pH 범위에서 사용이 가능하다는 장점이 있다(Takagi and Kadowaki, 1985a; Toeda and Kurane, 1991). 그러나 이러한 화학응집제(무기, 유기응집제)는 생분해가 어려워 처리 후 2차 오염의 원인이 되고, 일부 분해 과정에서 발생하는 단량체들은 신경독이 있으며 발암물질로 작용한다는 보고가 있어(Kurane and Nohata, 1991; Kurane et al., 1986) 점차 사용에 대한 규제가 강화되고 있다.

따라서 화학응집제에 대한 이러한 문제점들을 해결할 수 있는 응집제인 천연고분자 응집제에 대한 관심이 높아지고 있다. 천연고분자 응집제로는 alginate, chitosan, guar gum, gelatin 등(Bough, 1975; Bough et al., 1975)이 해당되며 생산수율이 낮고 생산비용이 높아 현장에 적용하기가 어려워 미생물이 생산하는 생물응집제에 관한 연구가 진행되고 있다. 생물응집제는 천연유기고분자 응집제로서 수중의 부유물질, 세포 및 콜로이드성 고형물과 같은 입자를 응집시킬 수 있다(Salehizadeh and Shojaosadati, 2001). 응집작용을 하는 주요 성분은 폴리사카라이드(polysaccharide), 지질(lipid), 단백질(protein), 당단백질(glycoprotein), 펩티드(peptide), 핵산(nucleoprotein) 등으로 구성되어 있다(Giri et al., 2015; Jun-ichi and Minoru, 1991; Parker and Munn, 1984). 생물응집제는 거대분자로서 응집기작을 살펴보면 다당류 유래의 응집제는 점액물질로 이루어져 있으며 히드록시기(-OH)와 카르복실기(-COOH)들이 Fe^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} 등의 2가 이온들과 함께 matrix나 gel을 형성하여 가교작용으로 응집을 일으킨다(Takagi and Kadowaki, 1985b). 이러한 종류의 응집제는 균체의 세포벽 주변에 캡슐(capsule)을 형성하거나 점액물(slime)과 같이 균체 외로 생성되며 pH는 중성영역의 음이온성 또는 비이온성의 특성을 가지고 있다(Seo, 2011). 단

백질 유래 응집제는 glucosamine, galactosamine과 같은 amino sugar가 결사슬로 치환된 고분자 전해질(polyelectrolyte) 물질과 carboxyl group 또는 phosphate group의 기능이 음(-) 전하를 띠는 부유물질과 흡착하게 되어 전하를 중화시켜서 응집된다(Parker and Munn, 1984; Takagi and Kadowaki, 1985b). 지질(lipid) 유래 응집제는 lipid성 응집제들이 배양체를 이루고 있으며 methylene 사슬로 구성되어 있는 것으로 알려져 있으며 전형적인 양성화합물로서 계면활성제의 작용과 같이 양전하를 띠는 부유물질 등 처리 대상물질의 제타 포텐셜(ζ -potential)을 감소시켜 하전 중화가 일어나 응집을 일으킨다(Kurane, 1994).

생물응집제는 인체에 해가 없으며, 생태계 내에서 쉽게 분해되므로 난분해성 물질로 인한 2차 환경오염을 예방할 수 있고, 가축의 사료 및 작물의 비료로 재활용하는 등의 부수적인 효과를 거둘 수 있다(Kurane et al., 1986; Takagi and Kadowaki, 1985b; Zajic and Leduy, 1986).

본 연구에서는 화학응집제를 대체하는 친환경적인 생물응집제를 찾기 위하여 이전의 실험(Jung et al., 2018)에서 분리·동정한 strain YG-02가 생산하는 생물응집제의 응집력에 영향을 미치는 성분을 알아보기 위하여 해당 균주의 배양액을 원심 분리하여 침전물과 상등액으로 응집 실험을 실시하였으며, 응집 성분의 내열성 실험도 진행하였다. 또한, 생물응집제를 구성하는 성분을 조사하기 위하여 당 조성과 지방산 분석을 실시하였다.

2. Materials and Methods

2.1 실험 재료

2.1.1 균주의 배양

실험에 사용된 균주는 이전의 실험(Jung et al., 2018)에서 분리하여 보관 중인 strain YG-02이며, neighbor-joining 계통수를 Fig. 1에 나타내었다. 배지는 R2A-medium을 사용하였고, 조성은 Table 1에 정리하였다. 각 조성성분을 투입하여 1 N NaOH 수용액을 사용하여 pH를 7.0으로 조정하였고 121 °C에서 30분간 멸균하여 배지로 사용하였다. 배양 온도는 22 °C에서 8일(192시간) 동안 배양하였다.

Table 1. Composition of R2A

Component	Amount
Yeast extract	0.6 g
Protease peptone no.3	0.5 g
Casamino Acids	0.6 g
Soluble starch	0.5 g
Sodium pyruvate	0.3 g
K_2HPO_4	0.2 g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.05 g
Deionized water	1000 mL
pH	.0

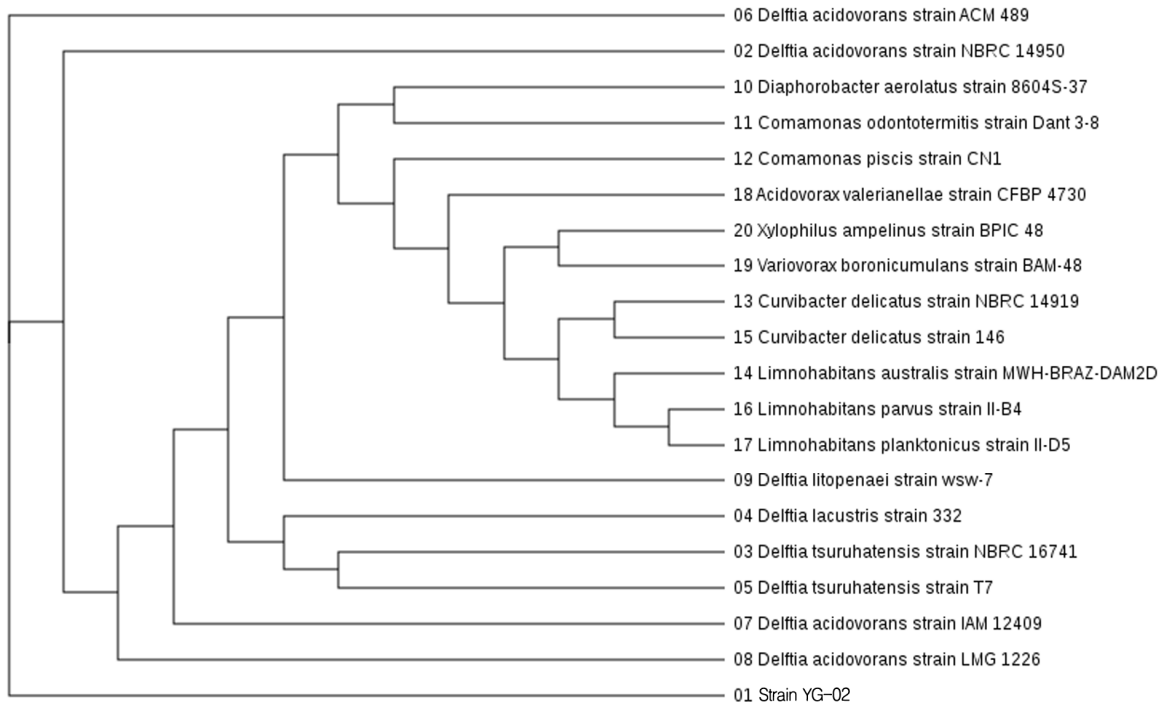


Fig. 1. Phylogenetic neighbor-joining tree of strain YG-02.

2.2 Strain YG-02가 생산하는 생물응집제의 구성성분 분석

생물응집제의 응집 성분을 조사하기 위하여 원심 분리된 배양액에 대한 응집 실험과 응집 성분의 내열성 실험을 진행하였다. 또한, 생물응집제를 구성하는 성분을 알아보기 위해 당 조성과 지방산을 분석하였다.

2.2.1 배양액에 대한 응집 실험

22 °C에서 8일(192시간) 동안 배양된 strain YG-02의 배양액 20 mL을 5,000 rpm으로 30분 동안 원심 분리하여 상등액을 취하였다. 그리고 침전된 물질에는 0.85 % 생리식염수를 가하여 20 mL가 되게 한 후 다시 5,000 rpm으로 30분 동안 원심 분리하여 상등액은 제거하고 0.85 % 생리식염수를 가하여 20 mL의 양이 되게 한 후 교반하여 현탁액으로 취하였다.

응집 실험에 사용한 슬러지는 전남 D군 하수종말처리장의 정상운영 중에 있는 산화구에서 채취하였으며 MLSS 농도는 5,000 mg/L이다. 대조군 슬러지 1 L에는 어떠한 물질도 첨가하지 않고 자연 침전도록 하였으며, 2개의 실험군(현탁액, 상등액)에는 슬러지 각 980 mL에 현탁액 20 mL, 원심 분리하여 취한 상등액 19 mL를 각각 첨가한 후 충분히 교반하여 1,000 mL 메스실린더(measuring cylinder)에 부은 후 30분 동안 침전시켜서 슬러지 침강 깊이를 측정하여 $SV_{30}(mL/L)$ 을 구하였다. SVI(Sludge Volume Index)는 MLSS 농도와 SV_{30} 을 이용하여 아래 식 (1)에 의해 계산하였다(APHA, AWWA and WEF, 1998).

$$SVI(mL/g) = \frac{SV_{30}(mL/L) \times 1000(mg/g)}{MLSS(mg/L)} \quad (1)$$

2.2.2 응집 성분의 내열성 실험

응집 실험에서와 같은 조건으로 배양된 strain YG-02의 배양액을 5,000 rpm으로 30분간 원심 분리하여 상등액을 취한 후 온도 121 °C에서 45분간 가열 처리하였다. 실험에 사용하는 배양액에 대한 응집 실험에서와 같은 조건의 슬러지를 사용하여 응집 성분의 내열성 실험을 진행하였다. 대조군 슬러지 1 L에는 어떠한 물질도 첨가하지 않았으며, 실험군 슬러지 980 mL에 원심 분리하여 취한 상등액 20 mL를 첨가한 후 충분히 교반하여 1,000 mL 메스실린더(measuring cylinder)에 담아서 30분 동안 침전시킨 후 슬러지 침강 깊이를 측정하여 $SV_{30}(mL/L)$ 을 구하였다.

2.2.3 당 조성 분석

Strain YG-02의 배양액을 5,000 rpm으로 30분간 원심 분리한 후 상등액 100 mg을 취하여 2 N TFA(trifluoroacetic acid) 용액 20 mL를 첨가하여 121 °C 온도에서 45분간 가열 처리한 후, 5,000 rpm으로 30분간 원심 분리하여 침전물을 제거한 뒤 syringe filter(0.2 μm pore size)로 여과하고 TFA를 제거하기 위해 50 °C에서 20배 감압 농축하였다. 완전히 농축한 후 0.4 %의 배양액에 증류수 5 mL를 첨가하여 1.6 % 농도로 만들어서 HPLC (Shiseido Nanospace 3023 SI-2)를 이용하여 구성성분을 분석하였으며, 이때 column은 waters WAT044355, carbohydrate High performance 4 μm, 4.6*250 mm를 사용하여 column chamber의 온도를 40 °C로 조절한 뒤, mobile phase는 water와 Acetonitrile을 30 : 70으로 혼합한 용액으로 하였으며, flow rate는 1 mL/min으로 하여 HPLC grade water를 용매로 분당 10 μL씩 용출시켜 표준당과 비교하여 다당류가 함유하는 당류의 조성을 분석하였다. 이때, detector는 Shodex RI-501을 사용하였다.

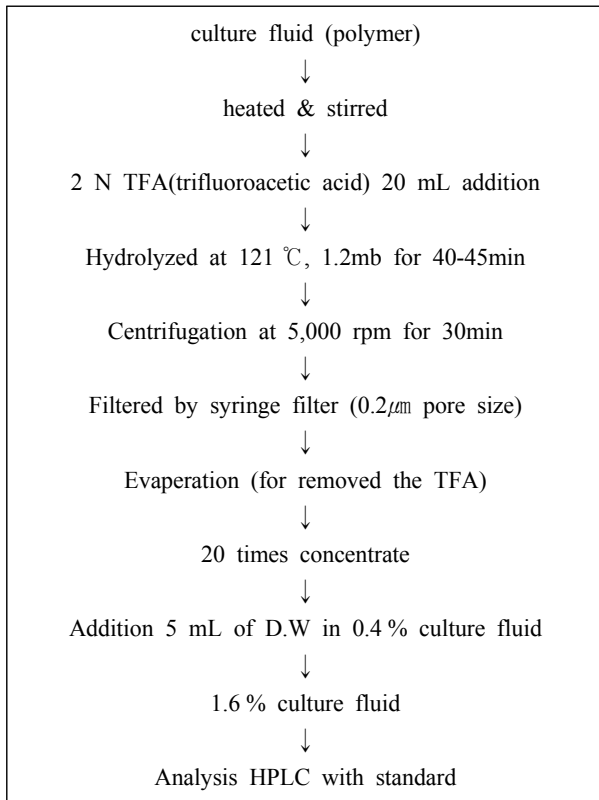


Fig. 2. Preparation of culture fluid hydrolysate.

2.2.4 지방산 분석

Strain YG-02의 배양액을 5,000 rpm으로 30분간 원심 분리한 후 상등액 200 mg을 취하여 Mojonnier관에 넣고 Pyrogallol 100 mg 첨가한 후, 2 mL의 내부표준용액을 첨가하였다. 내부표준용액은 36종의 지방산 Methyl ester와 내부표준물질(undecanoic acid methyl ester)을 Hexane에 용해시켜 각각 1 mg/mL가 되도록 조제하였다. Ethanol 2 mL을 첨가한 후 충분히 혼합하여 8.3 M의 염산용액 10 mL을 첨가하여 잘 섞었다. Mojonnier관의 마개를 밀봉하여 70 °C의 수조에서 교반하면서 40분간 분해하였다. Mojonnier관을 10분마다 교반기로 혼합하여 입자들이 잘 혼합될 수 있도록 하였다. 실온으로 냉각한 후 Mojonnier관 아래부분에 Ethanol로 채운 후 혼합하였다. Diethyl ether 25 mL을 첨가한 후 5분간 진탕하여 추출하였다. 무수 석유 Ether 25 mL을 첨가하여 5분간 진탕 추출하고 상층이 맑아질 때까지 1시간 방치하여 분리하였다. 농축수기에 Ether층을 분액한 후 40 °C에서 감압 농축시켰다. 3 mL Chloroform과 3 mL Diethyl ether로 농축수기의 지방을 녹여 시험관으로 옮겨 담아 40 °C의 수조에서 질소 농축하여 7% Trifluoroborane Methanol 용액 2.0 mL와 Toluene 1.0 mL을 첨가하였다. 100 °C Heating Block에서 45분간 가열한 후 실온

으로 냉각하였다. 증류수 5.0 mL와 Hexane 1.0 mL, 무수 황산나트륨 1.0 g을 첨가한 후 진탕하여 정치하였다. 그리하여 분리된 상등액을 취하여 무수 황산나트륨 1.0 g을 담은 Vial에 넣고 탈수하여 시험 용액으로 하였다.

조제된 시험 용액을 GC(S/N CN10643022, Agilent Technologies)를 이용하여 분석하였으며, column은 SP-2560(100 m × 0.25 mm × 0.2 µm)을 사용하였고 주입부 온도는 225 °C로 하였다. 오븐 온도는 100 °C에서 4분간 유지한 후 1분 간격으로 3 °C씩 240 °C까지 가온하였고 이후 20분 동안 유지하였다. 검출기 온도는 285 °C로 하였고 캐리어 가스는 질소가스를 사용하였다. flow rate는 1.0 mL/min으로 하였고 주입량은 1 µL(split 50:1)씩 하였다. 지방산 함량은 식품의약품안전처의 고시인 「식품의 기준 및 규격」에 의하여 구하였다.

3. Results and Discussion

3.1 배양액의 응집 성분

배양액을 원심 분리하여 침전물질에 0.85% 생리식염수를 가하여 만든 현탁액과 상등액을 응집제로 사용하여 전남 D군 하수종말처리장의 정상가동 중인 산화구에서 채취한 슬러지를 이용한 응집 실험을 진행하였다. 그 결과 Fig. 3에서와 같이 응집되었으며 SV₃₀과 SVI(Sludge Volume Index)를 식(1)에 의하여 구하여 Table 2에 나타내었다.

이러한 결과에서 보듯이 현탁액을 첨가한 실험군의 슬러지 용적지수는 어떤 물질도 첨가하지 않은 대조군과 같은 182 mL/g였고, 상등액을 첨가한 실험군의 슬러지 용적지수는 164 mL/g이었으며, strain YG-02를 첨가하였을 때 슬러지 용적지수는 161 mL/g이었다. 이러한 실험 결과로 보았을 때 생물응집제의 응집능은 침전물질인 균체 등의 요인에 의해서가 아니고 strain YG-02가 생성하는 물질에 의한 기작임을 알 수 있었다.

3.2 응집 성분의 내열성

배양액을 5,000 rpm으로 30분간 원심 분리하여 상등액을 취하여 121 °C로 45분간 가열 처리한 후, 배양액의 응집 실험에서와 같은 조건의 슬러지를 사용하여 응집 성분의 내열성 실험을 진행하였다. 실험 결과 Fig. 4에서와 같이 응집되었으며 SV₃₀과 SVI(Sludge Volume Index)를 식(1)에 의해 구한 결과를 Table 3에 표기하였다.

위의 결과에서와 같이 상등액을 첨가한 실험군의 슬러지 용적지수는 180 mL/g였고, 대조군의 슬러지 용적지수는 184 mL/g이었다. 이처럼 대조군과 열처리된 상등액의 슬러지 용적지수가 비슷하고, Table 2의 가열하지 않은 상등액의 응집 실험과 비교할 때 응집 효과가 현저히 감소한 것은 응집 성

Table 2. SV₃₀ and SVI, obtained from the flocculation experiment

Classification	Control	Strain YG-02	The sludge added with the suspension	The sludge added with the supernatant
SV ₃₀ (mL/L)	910	805	910	820
SVI(mL/g)	182	161	182	164

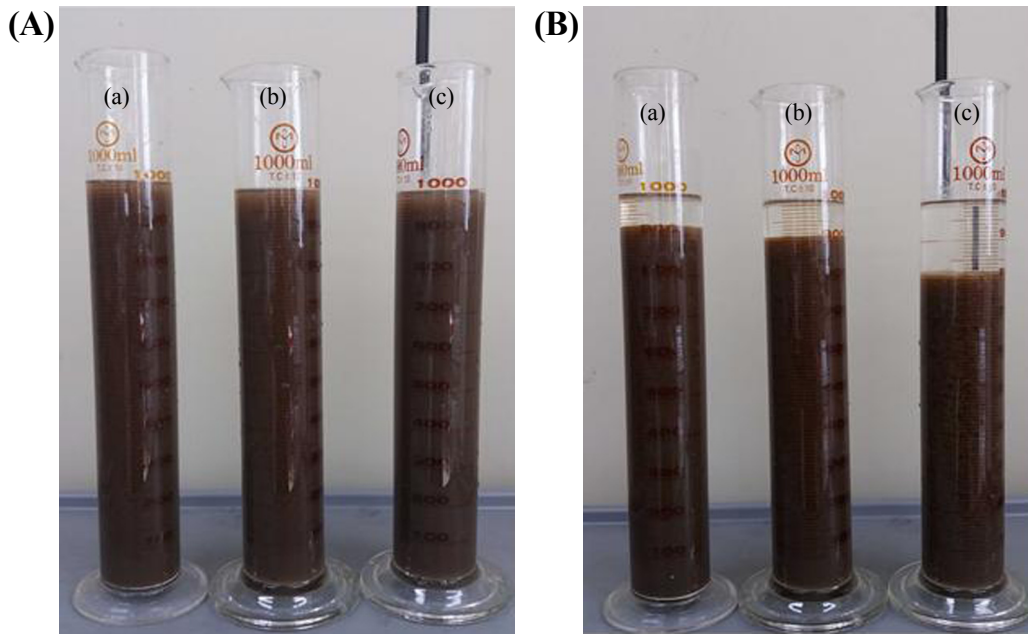


Fig. 3. Comparison of sludge flocculation, added with centrifugated culture fluid.

(A : Start, B : 30 minutes later, a : Control, b : The sludge added with the suspension, c : The sludge added with the supernatant)

Table 3. SV_{30} and SVI, obtained from the flocculation experiment.

Classification	Control	The sludge added with the supernatant
$SV_{30}(\text{mL/L})$	920	900
$SVI(\text{mL/g})$	184	180

분이 열에 의하여 파괴되었음을 의미한다. 또한 대조군에 비하여 응집효율이 약간 좋은 것은 응집 성분의 일부가 잔존함을 알 수 있었다.

3.3 당 조성 분석 결과

분리된 strain YG-02가 생산하는 생물응집제의 당 조성을 알아보기 위하여 2N TFA를 사용하여 산 가수분해한 응집제 시료를

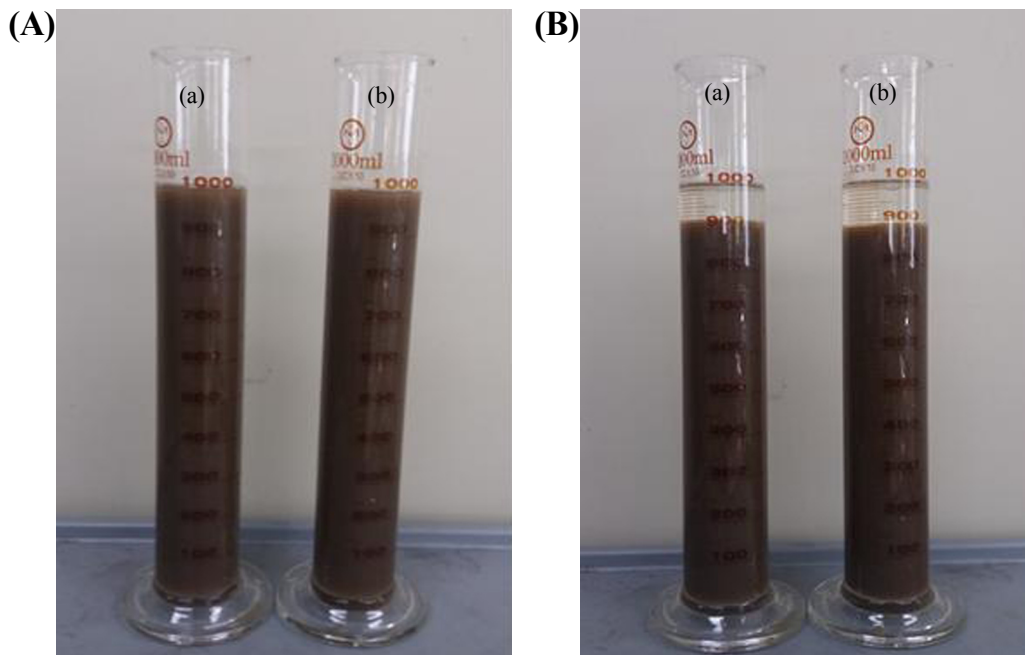


Fig. 4. Comparison of sludge flocculation, added with heated culture fluid.

(A : Start, B : 30 minutes later, a : Control, b : The sludge added with the supernatant)

Table 4. Comparison table of component sugars of flocculants produced by microorganisms

Strain	Component	Reference
Strain YG-02	glucose : lactose 90.75 : 9.25	This study
<i>Zoogloea ramigera</i> 115	glucose : galactose : pyruvate 11 : 3.1 : 1.5	Ikeda et al., 1982
<i>Alcaligenes cupidus</i> KT201	glucose : galactose : glucuronic acid 6.34 : 5.55 : 1.0	Toeda and Kurane, 1991
<i>Bacillus polymyxa</i> KS-1	galactosamine : mannos : glucose : galactose 55 : 51 : 50 : 18	Kwon, 1992
<i>Bacillus</i> sp. DP-152	glucose : mannos : galactose : fucose 86 : 42 : 27 : 16	Suh, 1995
<i>Pestalotiopsis</i> sp. KCTC 8637P	glucose : glucosamine : glucuronic acid : rhamnose 100 : 3.5 : 1.6 : 1.3	Kwon et al., 1996
<i>Bacillus</i> sp. KF0317	glucosamine : glucuronic acid : glucose : galactose : fucose 45.35 : 2.55 : 4.17 : 2.4 : 1.0	Byun, 1999

HPLC(Shiseido Nanospace 3023 SI-2)를 이용하여 구성성분을 분석하였으며, detector는 Shodex RI-501을 사용하고 column은 waters WAT044355, carbohydrate High performance 4 μ m, 4.6*250 mm을 사용하여 표준시료와의 용출시간을 비교하였다.

Strain YG-02의 배양액을 원심 분리한 후 상등액을 산 가수분해하여 20배 농축한 후 HPLC를 이용하여 구성성분을 분석한 결과, 생물응집제가 함유하고 있는 구성 성분은 단당류인 glucose는 439.76 mg/L, 이당류인 lactose는 85.07 mg/L의 농도로 검출되었으며, glucose : lactose가 90.75 : 9.25의 몰비로 구성된 polysaccharide임을 확인할 수 있었다.

당 조성의 분석과 관련하여 다른 연구 내용을 조사하여 Table 4에 정리하였다. 이러한 결과에서 보듯이 strain YG-02가 생산하는 생물응집제의 구성당 함유 비율과 성분이 기존에 보고된 생물응집제와는 다르기 때문에 새로운 특성의 신규 생물응집제로 사료된다.

3.4 지방산 분석 결과

Strain YG-02의 배양액을 원심 분리하여 취한 상등액에 대하여 GC(S/N CN10643022, Agilent Technologies)를 이용하여 분석하였다. 지방산 함량은 식품의약품안전처의 고시인 「식품의 기준 및 규격」에 의하여 구하여 Table 5에 표기하였다.

이러한 결과에서 보듯이 strain YG-02가 생산하는 생물응집

제는 Hexadecanoic acid($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$), Palmitoleic acid ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$), Oleic acid($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$) 등의 지방산을 포함하고 있음이 확인되었고, 지방산 함량은 0.0012 g/100 g이었다. 이로써 당 조성 분석 결과 다당류로 확인되었으므로 그와 관련하여 당류를 포함하는 당지질(glycolipid)을 함유하고 있음을 알 수 있었다.

3.5 생물응집제 적용 시 슬러지 처리비용 검토

화학응집제를 사용하였을 경우 응집 반응 후 분해되지 않은 잔류물질로 인한 2차 수질오염 문제와 일부 합성응집제는 강한 발암성 물질의 생성과 치명적인 신경독소 등의 문제점이 있다. 본 연구에서는 이러한 문제를 해결하기 위하여 생물응집제에 관한 연구를 하였다. 생물응집제는 생분해가 가능하여 무해하고 그러한 이유로 사용한 후 발생하는 슬러지는 가축의 사료와 작물의 비료로 재활용할 수 있다. 또한 슬러지를 유기질 비료로 사용할 경우 다양한 미생물이 포함된 친환경 비료는 토양환경의 개선을 도울 수 있다. 현재 수처리 과정에서 발생된 슬러지는 대부분 소각 또는 매립에 의존하고 있으나 퇴비로 재활용할 경우 슬러지 처리에 관한 경제성을 검토해 보았다.

전남 D군의 하수처리장 운영 시 발생하는 슬러지는 소각 처리하고 있으며 구체적인 처리 현황은 Table 6에 정리하였

Table 5. Result of fatty acid analysis.

Classification	Fatty acid content (g/100g)	Classification	Fatty acid content (g/100g)
C _{10:0}	0.0001	C _{12:0}	0.0001
C _{16:0}	0.0005	C _{16:1}	0.0002
C _{18:1n-9,Cis}	0.0002	C _{18:2n-6,Cis}	0.0001
Total	0.0012		

Table 6. Status of sludge treatment in D Gun, Jeollanam-do (2018)

Emission quantity	Rate of moisture content	Treatment cost	Disposal method
3,684.9 ton/year	82 %	582,210 thousand won/year	Incineration

Table 7. Compost production status using sludge generated in D Gun, Jeollanam-do (2018)

Output quantity	Rate of moisture content	Manufacturing cost	Sales amount	Profit
1,105.5 ton/year	40 %	110,550 thousand won/year	187,935 thousand won/year	77,385 thousand won/year

※ Market Research (C company, S company located in D Gun, Jeollanam-do)

다. 또한, 발생된 슬러지를 전량 퇴비화 하여 판매하였을 경우를 Table 7에 나타내었다.

전남 D군에서 연간 발생된 슬러지를 퇴비로 제조할 경우 생산량은 함수율 40%로 가정 시 1,105.5톤/년을 생산할 수 있다. 시장조사 결과 퇴비 제조비용은 100천원/톤(유기물 첨가 등 재료비 및 인건비, 일반관리비 등)이며 판매금액은 170천원/톤이다. 연간 수익금을 산출하여 보면 77,385천원/년이다.

따라서 현재 화학응집제를 사용하는 전남 D군에서 생물응집제를 사용하여 발생된 슬러지를 전량 퇴비로 재활용할 경우(2018년 기준) 이익금은 슬러지 처리 비용 582,210천원/년과 판매 수익금 77,385천원/년을 합한 659,595천원/년이었다.

4. Conclusion

본 연구는 상·하수 등의 오염물질 제거 및 제조공정에서 유용물질의 분리·회수에 사용되는 화학응집제의 유해성과 2차 오염 등으로 인한 문제점을 해결할 수 있는 친환경적인 생물응집제를 찾기 위하여 진행되었다. 응집활성이 높은 미생물을 분리·동정하여 응집기작에 영향을 미치는 성분을 조사하기 위하여 해당 균주 배양액을 원심 분리하여 침전물과 상등액으로 응집 실험을 실시하였으며, 응집 성분의 내열성 실험도 진행하였다. 또한, strain YG-02가 생산하는 생물응집제를 구성하는 성분을 알아보기 위하여 당 조성 및 지방산 분석을 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 배양액에 대한 응집 실험 결과 현탁액을 첨가한 실험군의 슬러지 용적지수는 응집제를 첨가하지 않은 대조군과 같은 182 mL/g였고, 상등액을 첨가한 실험군의 슬러지 용적지수는 164 mL/g이었다. 여기에서 생물응집제의 응집능은 침전물질인 균체 등의 요인에 의해서가 아니고 strain YG-02가 생성하는 물질에 의한 기작임을 알 수 있었다.

2. 응집 성분의 내열성 실험 결과 실험군의 슬러지 용적지수는 180 mL/g였고, 대조군의 슬러지 용적지수는 184 mL/g이었다. 이와같이 대조군과 열처리된 상등액의 슬러지 용적지수가 비슷한 것은 응집 성분이 열에 의하여 파괴되었음을 의미한다.

3. HPLC를 이용하여 당 조성을 비교 분석한 결과, strain YG-02가 생산하는 생물응집제의 구성당은 glucose와 lactose 등이 90.75 : 9.25의 몰비로 함유되어 있는 polysaccharide임을 확인할 수 있었다. 또한 strain YG-02가 생산하는 생물응집제는 구성당 함유 비율과 성분이 기존의 연구에서 보고된 생물응집제와는 전혀 다른 새로운 특성의 신규 생물응집제로 사료된다.

4. Strain YG-02가 생산하는 생물응집제는 Hexadecanoic acid ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$), Palmitoleic acid ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$), Oleic acid($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$) 등의 지방산을 포함하고 있으며, 지방산 함량은 0.0012g/100g으로 분석되어 glycolipid를 함유하고 있음을 알 수 있었다.

5. 전남 D군을 모델로 하수처리장에 생물응집제를 적용할 경우 슬러지 처리 비용을 검토한 결과 생물응집제를 사용하여 발생된 슬러지를 전량 퇴비로 재활용할 경우(2018년 기준) 이익금은 슬러지 처리 비용 582,210천원/년과 수익 77,385천원/년을 합한 659,595천원/년이었다.

이러한 연구 결과를 종합해 보았을 때 strain YG-02가 생산하는 생물응집제는 polysaccharide와 glycolipid 등으로 구성된 새로운 생물응집제인 것으로 사료되며, 화학응집제를 대체할 수 있는 가능성을 보여 주었다. 그러나 응집제를 수처리 공정에 적용하기 위해서는 현장에 경제적으로 공급할 수 있는 생물공정 기술개발이 필요하므로 이에 관한 연구가 점진적으로 이루어져야 할 것이다.

References

- American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Environment Federation (APHA, AWWA and WEF). (1998). *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 20th ed., 2710D Sludge Volume Index, APHA, AWWA and WEF.
- Bough, W. A. (1975). Reduction of suspended solids in vegetable canning waste effluents by coagulation with chitosan, *Journal of Food Science.*, 40, 297-301.
- Bough, W. A., Shewfelt A. L., and Salter. W. A. (1975). Use of chitosan for the reduction and recovery of solids in poultry processing waste effluents, *Poultry Science*, 54, 992-1000.
- Byun, B. K. (1999). *Characterization of bioflocculant produced by Bacillus sp. KF0317A*, Master Dissertation, Graduate School of Andong National University. [Korean Literature]
- Giri, S. S., Harshiny, M., Sen, S. S., Sukumaran, V., and Park, S. C. (2015). Production and characterization of a thermostable bioflocculant from *Bacillus subtilis* F9, isolated from wastewater sludge, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 121, 45-50.
- Ikeda, F., Shuto, H., Fukui, T., and Tomita, K. (1982). An extracellular polysaccharide produced by *Zoogloea ramigera* 115, *The FEBS Journal*, 123, 437-445.
- Jun-ichi, K. and Minoru, T. (1991). Synergistic flocculating of the bioflocculant fix extracellularly produced by *Nocardia* sp., *The Journal of General and Applied Microbiology*, 37, 447-454.
- Jung, Y. G., Ko, J. I., and Chung, S. Y. (2018). Isolation and

- characterization of bioflocculant producing strain YG-02, *Journal of the Korean Society of Urban Environment*, 18(3), 251-260. [Korean Literature]
- Kim, T. W. (2009). *A study on the comparison of coagulation characteristics between CHITOSAN(natural polymer coagulant) and PAC*, Master's Thesis, Chonbuk National University. [Korean Literature]
- Kurane, R. (1994). Purification and characterisation of lipid bioflocculant produced by *Rhodococcus erythropolis*, *Bioscience, Biotechnology, Biochemistry*, 58(11), 1977-1982.
- Kurane, R. and Nohata, Y. (1991). Microbial flocculation of waste liquids and oil emulsion by a bioflocculant from *Alcaligenes latus*, *Agricultural and Biological Chemistry*, 55, 1127-1129.
- Kurane, R., Takeda, K., and Suzuki, T. (1986). Screening for and characteristics of microbial flocculants, *Agricultural and Biological Chemistry*, 50, 2301-2307.
- Kwon, G. S. (1992). *Characteristics of exopolysaccharide KS-1 produced by Bacillus polymyxa as a mutant*, Ph. D. Dissertation, Graduate School of Kon-Kuk University. [Korean Literature]
- Kwon, G. S., Moon, S. H., Hong, S. D., Lee, H. M., Kim, H. S., Oh, H. M., and Yoon, B. D. (1996). A novel flocculant biopolymer produced by *Pestalotiopsis* sp. KCTC 8637P, *Biotechnology Letters*, 18(12), 1459-1464.
- Lee, S. H. (2000). *Studies on the bioflocculant from the microorganism Strain TS-49*, Ph. D. Dissertation, Pusan National University. [Korean Literature]
- Parker, D. D. and Munn, C. B. (1984). Increased cell surface hydrophobicity associated with possession of an additional surface protein by *Aeromonas* sp., *FEMS Microbiology Letters*, 21(2), 233-237.
- Salehizadeh, H., and Shojaosadati, S. (2001). Extracellular biopolymeric flocculants: recent trends and biotechnological importance, *Biotechnology advances*, 19, 371-385.
- Suh, H. H. (1995). *A study on the bioflocculant from Bacillus sp. DP-152*, Ph. D. Dissertation, Graduate School of Kon-Kuk University. [Korean Literature]
- Seo, H. C. (2011). Purification and characterization of bioflocculant producing from *Lactobacillus jensenii* YW-33, *Korean Journal of Environmental Biology*, 29(4), 305-311. [Korean Literature]
- Takagi, H. and Kadowaki, K. (1985a). Flocculant production by *Paecilomyces* sp. Taxonomic studies and culture condition for production, *Agricultural and Biological Chemistry*, 49, 3151-3157.
- Takagi, H. and Kadowaki, K. (1985b). Purification and chemical properties of a flocculant produced by *Paecilomyces* sp., *Agricultural and Biological Chemistry*, 49, 3159-3164.
- Toeda, K. and Kurane, R. (1991). Microbial flocculant from *Alcaligenes cupidus* KT201, *Agricultural and Biological Chemistry*, 55(11), 2793-2799.
- Zajic, J. E. and Leduy, A. (1973). Flocculant and chemical properties of a polysaccharide from *Pullularia pullulans*, *Applied Microbiology*, 25(4), 628-635.