

키토산의 분자량에 따른 유해녹조의 응집 및 살조 효과

이현수[#] · 정경원[#] · 최창용* · 나재운[†]

순천대학교 공과대학 고분자공학과, *한영대학교 석유화학공정과
(2017년 3월 8일 접수, 2017년 5월 8일 수정, 2017년 5월 8일 채택)

Flocculation and Algicidal Effect of Harmful Green-Tide according to Molecular-weight of Chitosan

Hyun-Su Lee[#], Gyeong-Won Jeong[#], Changyong Choi*, and Jae-Woon Nah[†]

Department of Polymer Science and Engineering, Suncheon National University,
255 Jungang-ro, Suncheon, Jeonnam 57922, Korea

*Department of Petrochemical Process Engineering, Hanyeong College, 18-43 JangkunSan-Gil, Yesou 59720, Korea

(Received March 8, 2017; Revised May 8, 2017; Accepted May 8, 2017)

초록: 온난화 현상과 하천의 부영화에 의해 녹조가 심각하게 발생하고 있다. 국내에서는 이러한 녹조를 제거하기 위해 황토 및 화학응집제를 주로 사용하고 있지만, 화학물질로 인한 2차 오염 및 낮은 제거 효율 등의 문제점을 갖고 있다. 본 연구에서는 이러한 문제점들을 해결하기 위해 천연 물질이며 강한 양전하를 가지고 있는 키토산을 이용하여 키토산의 분자량에 따른 녹조의 응집 및 살조 효과를 확인하였다. 녹조 응집효율은 영산강(전남) 지류에서 유해녹조를 채취한 후 개체수를 2×10^6 cells/mL로 조절하여 키토산의 최적 응집 농도 및 녹조 응집 효율을 규명하였고, 최적 농도는 5 mg/mL임을 확인하였다. 또한 녹조의 응집 및 살조 메커니즘 분석은 표면전하 및 형태학적 특성을 이용하여 분석하였다. 이 결과 키토산이 처리되었을 때 녹조의 표면전하가 음전하에서 양전하로 바뀌는 것을 확인하였다. 아울러 형태학적 관찰 결과 키토산이 녹조 생물의 표면을 감싸면서 녹조생물의 성장을 억제하는 것을 확인하였다. 키토산의 생태계 안정성 평가는 녹조 환경에서 담수 생물의 생존율로 규명하였다. 이 결과 키토산이 처리된 실험군에서 담수 생물의 생존율이 증가하는 것을 확인하였다. 이러한 결과를 통해 항녹조 물질인 키토산이 생태계에 영향을 주지 않고, 유해녹조만을 살조할 수 있는 효과적인 물질임을 확인하였다.

Abstract: The serious occurrence of green-tides is attributed to global warming and eutrophication. In South Korea, the red clay and chemical-coagulant agent are used to remove these green-tide but these methods have a problem with low removal efficiency and secondary pollution by chemical substance. In this study, to solve these problems, we confirmed flocculation and algicidal efficacy of green-tide using various molecular-weight chitosan which is natural polymer and has a strong positive charge. We investigated the optimal concentration and flocculation efficacy of chitosan against green-tide. The green-tide was harvested from Yongsan river (Jeonnam) and number of green-tide was adjusted to 2×10^6 cells/mL. The optimal concentration of chitosan was 5 mg/mL. The surface charge and morphological property were analyzed to confirm mechanism of flocculation and algicidal effect between chitosan and green-tide. These result confirmed that green-tide of negative charge was changed to positive charge when chitosan put into green-tide. In addition, morphological observation showed that growth of green-tide was inhibited by treated chitosan which was covered to surface of green-tide. The evaluation of ecosystem stability of chitosan by survival rate of limnobios with green-tide indicated that survival rate of limnobios increased by chitosan treatment. These results suggest that chitosan is a beneficial algicide with no adverse effects on ecosystem health.

Keywords: chitosan, green-tide, flocculation, algicidal effect.

[#]These authors contributed equally to this work.

[†]To whom correspondence should be addressed.

E-mail: jwnah@sunchon.ac.kr

©2017 The Polymer Society of Korea. All rights reserved.

서 론

산업의 발달, 인구 증가, 지구의 온도상승, 생활하수 및 산업폐수의 증가와 농촌의 과다한 비료 사용으로 인하여 많은 양의 질소원과 인원이 강, 하천으로 흘러들어 부영양화를 일으키고 있다.¹ 하천의 부영양화는 담수 생태계에 유해한 남조류의 발생을 심각한 수준으로 촉진시키고 있다.^{2,3} 전 세계적으로 보고되어진 유해한 남조류는 최소 46종이며 이 중 국내에서는 주로 *microcystis aeruginosa*가 우점종을 이루고 있다. 이러한 남조류는 척추동물에게 유독한 독성을 가지고 있으며, 특히 국내 우점종인 *microcystis aeruginosa*는 신경독소인 마이크로시스틴을 함유하고 있다. 마이크로시스틴은 치사량 이상 섭취하면 급성 간 손상에 의해서 몇 시간 또는 며칠 이내에 사망에 이르게 만드는 위험한 독소 중 하나이다.^{4,5}

현재 유해 남조류를 제거하기 위하여 국내에서는 물리적, 화학적, 생물학적 방법들이 사용되고 있다. 물리적 방법은 물을 강제 순환시키고 심층증폭기를 이용하여 물 속에 계속 산소를 공급해 주는 방법이 있지만 초기 설치비용이 많이 들고 사후 관리 또한 복잡하고 고비용이라는 단점을 가지고 있다.⁶ 화학적 방법에는 황토, 화학응집제, 살조제 등을 남조류 발생 지역에 직접 살포하는 방법이 있다.^{7,8} 그러나 남조류를 효과적으로 처리하기 위해서는 황토 또는 화학응집제가 다량 살포되어야만 한다. 이 경우 담수 생물에 영향을 미치게 되고 물을 다시 정수해야 한다는 단점이 있다. 또한 황토와 함께 바닥에 쌓이게 되는 녹조 생물들이 부패되어 녹조 생물 내에 존재하는 독소가 빠져나와 2차 오염을 유발시킬 수 있다는 문제점이 있다.⁹⁻¹¹ 생물학적 방법으로 원생동물을 이용하여 살조된 녹조류의 포식하는 방법이 주로 사용되고 있다. 그러나 이 방법은 실용성이 낮다는 문제점을 갖고 있다.¹² 본 연구에서는 기존 사용된 녹조 제어 기술의 문제점을 보완하고 효과적으로 녹조류를 제거하기 위하여 항균활성이 우수하고 생체적합성을 갖고 있는 천연고분자인 키토산을 이용하여 녹조 제어 효율을 규명하고자 하였다.

키토산은 게나 새우 등의 갑각류, 오징어 연골 연체류 등에 분포되어 있는 천연 고분자인 키틴을 농축 알칼리로 처리하여 얻어지는 물질로서 $\beta(1,4)$ -glycosidic 결합으로 연결된 *D*-glucosamine과 *N*-acetyl *D*-glucosamine 두 단위체로 구성된 생분해성 천연 다당류이다.¹³ 키토산은 항암효과, 콜레스테롤 감소, 면역 활성 및 항균성 등 우수한 생리활성을 갖는 것으로 잘 알려져 있다.^{14,15} 키토산을 이용한 응용 분야로는 화장품, 수처리, 의약품, 식품, 바이오산업 등이 있으며 최근에는 의료용 분야로의 연구가 확대되고 있다.¹⁶ 또한 생체적합성이 우수하고, 독성이 낮으며 강한 양전하를 띠고 있어 생체적합성 고분자로 다양하게 활용되고 있다.^{17,18} 최근에는 키토산의 아민(-NH₂)이 수용액상에서 양전하를 나타내고, 이는 표면전하가 음전하인 녹조와 정전기적 상호작용을 일으켜 녹

조 방제에 효과가 있다고 보고하고 있다.¹⁹ 또한 이러한 특성을 갖는 키토산을 황토, 점토 또는 철 등과 물리적으로 혼합하여 녹조 억제 효과를 규명하는 연구가 진행되고 있다.²⁰ 하지만, 이들은 녹조의 세포막을 파괴하고, 수중으로 가라앉히는 방식으로 이러한 방법은 세포 안의 독소가 유출될 뿐만 아니라, 가라앉은 녹조로 인해 제2차 생태계오염을 유발하는 더 큰 문제를 발생하게 된다.^{21,22}

본 연구에서는 기존의 사용된 녹조 제어 방법에서 발생할 수 있는 문제점을 보완하고자 키토산의 분자량에 따른 유해 녹조류의 응집 및 살조 효율을 규명하였다. 키토산의 분자량에 따른 녹조 제어 및 응집에 있어서 최적 농도를 규명하였으며, 키토산 처리 전후의 녹조생물의 표면전하 및 형태학적 특성을 분석함으로써 키토산의 녹조류에 대한 응집 및 살조의 메커니즘을 분석하였다. 또한 *in-vivo* 시험을 통해 항녹조 물질이 담수생물에 대한 독성 유무 및 녹조로부터 담수생물의 생존율을 확인하였다. 이러한 결과를 바탕으로 항녹조 물질 키토산이 생태계에 영향을 주지 않고, 유해 녹조만을 응집 및 살조할 수 있는 효과적인 물질임을 제시하고자 하였다.

실 험

재료. 본 연구에서 사용된 키토산은 키토라이프(주)에서 (KITTO LIFE Co. Korea) 세 종류의 불용성 키토산(30, 190, 780 kDa)을 구매한 후 크기배제크로마토그래피(gel permeation chromatography equipped with multi-angle laser light scattering detector, GPC-MALLS, 18angle detector, Wyatt, USA)를 이용하여 분자량을 재분석하여 연구에 사용하였으며 재분석한 키토산 분자량은 각각 50, 100, 200 kDa임을 확인하였다. 불용성 키토산을 수용화하기 위하여 사용된 젯산(lactic acid)은 Sigma-Aldrich(USA)사에서 구입하였다. 실험에 사용된 녹조류는 영산강 죽산보 인근 지류에서 발생한 녹조(2016년 7월 발생)를 채취하여 냉장 보관하여 본 연구에 사용하였다. 기타 실험에 사용된 용매 및 시약 등은 일급 시약을 구입하여 정제하지 않고 사용하였다.

키토산 용액 제조. 본 연구에서는 자연발생 녹조의 응집 및 제어 효율을 규명하기 위하여 키토산 수용액을 다음의 방법으로 제조하여 사용하였다. 세 종류의 키토산 150 g을 정제수(deionization water; DW) 15 L에 첨가하여 교반시켜 충분히 팽윤되게 한다. 계속해서 키토산 질량의 44%의 젯산(66 mL)을 첨가하여 완전히 용해되도록 12시간 동안 교반하였다. 제조된 용액은 필터 하여 냉장보관하면서 실험에 사용하였다.

유해 녹조에 대한 키토산의 응집 최적농도 및 살조 효과 분석. 본 연구에서 사용된 자연발생 녹조는 영산강 죽산보 인근 지류에서 채취하여 4 °C에 보관하여 사용하였다. 채취한 녹조의 현미경 관찰을 통하여 녹조 생물의 종류 및 개체수를

확인하였다. 채취한 녹조에는 *microcystis aeruginosa*가 우점종이었으며, 개체수는 6.5×10^6 cells/mL로 조류 대발생 경보의 개체수(1×10^6 cells/mL)보다 약 6배 많았다. 본 연구에서는 조류 대발생 개체수의 2배 많은 2×10^6 cells/mL이 되도록 녹조 개체수를 조절하여 실험에 사용하였다.

본 연구에서 키토산의 녹조 응집 효과를 규명하기 위하여 영산강 죽산보 인근 지류에서 채취한 녹조를 이용하여 최적의 농도를 결정하였다. 녹조의 응집현상 관찰은 채취한 녹조를 4 mL 시험관에 각각 3 mL씩 분주하고 제조된 키토산의 최종 농도가 각각 0.3125, 0.625, 1.25, 2.5, 5 mg/L가 되도록 처리하였다. 이후 1시간 동안 녹조의 응집현상을 관찰하여 최적 농도를 결정하였다. 또한 키토산에 의한 녹조의 성장 억제 효과를 규명하기 위하여 최종농도가 동일하도록 96 well 플레이트에 각각 200 μ L를 분주한 후 하루 간격으로 5일 동안 microplate reader(Molecular Devices, USA)를 사용하여 파장 680 nm에서 optical density(OD)값을 측정하였다. 또한 chlorophyll α 는 다음의 방법으로 측정하였다. 개체수가 조절된 녹조 10 mL을 페이퍼 필터를 이용하여 여과한 후 필터를 잘 분쇄하여 90% 아세톤 10 mL에 첨가한 후 4 $^{\circ}$ C 암실에서 24시간 동안 보관한다. 이 용액을 원심분리하여 상등액을 취하여 UV/Vis(ultra violet visible spectroscopy, Shimadzu, JAPAN)를 이용하여 파장 663, 645, 630, 750 nm에서 흡광도를 측정하여 식 (1)을 이용하여 Chlorophyll α 농도를 계산하였다.

$$\text{Chlorophyll } \alpha \text{ (mg/m}^3\text{)} = \frac{(11.64X_1 - 2.16X_2 + 0.10X_3) \times V_1}{V_2} \quad (1)$$

여기에서, V_1 은 상층액의 양(mL), V_2 는 여과한 시료의 양(L)이며, X_1 , X_2 , X_3 는 각각 식 (2)로부터 계산된 값을 사용하였다.

$$\begin{aligned} X_1 &= OD_{663 \text{ nm}} - OD_{750 \text{ nm}}, X_2 = OD_{645 \text{ nm}} - OD_{750 \text{ nm}}, \\ X_3 &= OD_{630 \text{ nm}} - OD_{750 \text{ nm}} \end{aligned} \quad (2)$$

유해 녹조에 대한 키토산의 응집 효율 측정. 개체수가 2×10^6 cells/mL이 되도록 조절된 녹조 50 mL을 시험관에 넣은 후 세 종류의 키토산의 최종 농도가 5 mg/L가 되도록 처리한 후 교반시킨 후 정지시켰다. 이 후 5분 간격으로 수면으로부터 5 cm 지점에서 샘플을 취하여 UV/Vis spectrophotometer를 이용하여 680 nm에서 흡광도를 측정하였다. 키토산 처리에 따른 응집 효율은 식 (3)으로부터 계산하였다.

$$\text{Flocculation efficiency (\%)} = \frac{1-A}{B} \times 100 \quad (3)$$

여기에서, A 는 응집 후의 흡광도이고, B 는 응집 전의 흡광도이다.

유해 녹조에 대한 키토산의 응집 및 살조 메카니즘 분석. 키토산의 녹조 응집 메카니즘은 녹조의 제타 전위와 키토산 처리 후 제타 전위 값의 변화 및 형태학적 특성 분석을 이용하여 규명하였다. 세 종류의 키토산의 최종 농도가 5 mg/L가 되도록 녹조 개체수가 2×10^6 cells/mL로 조절된 녹조에 처리한 후 zeta potential(Malvern, UK)을 이용하여 키토산의 처리 전후의 녹조류의 표면 전위를 측정하였다.

키토산이 처리된 녹조의 형태학적 특성은 주사전자현미경(filed emission scanning electron microscopy; FE-SEM, HITACHI S-4800, Japan)을 이용하여 관찰하였다. FE-SEM 분석을 위하여 키토산이 처리된 녹조를 동결 건조한 시료를 백금으로 30초 동안 코팅하였다. 이후 표면의 형태를 가속전압 3 kV에서 다양한 배율로 관찰하여 이미지를 얻었다.

담수생물에 대한 키토산의 안정성 및 유해 녹조 환경에서 생존을 평가. 녹조 발생 환경과 키토산 처리 후 담수 환경에 대한 생태계 안정성은 각각의 그룹에서 민물 어류의 생존율을 관찰하여 제시하였다. 담수 환경과 비슷한 5 L 수조에 2×10^6 cells/mL의 농도가 유지되도록 녹조 발생 환경을 만들었다. 이 후 담수 어류 5마리를 각각 그룹에 넣은 후 30분 동안 방치하였다. 계속해서 키토산의 최종농도가 5 mg/L가 되도록 세 종류의 키토산을 처리하고 시간에 따른 담수 생물의 생존율을 확인하였다.

결과 및 토론

유해 녹조에 대한 키토산의 응집 및 살조 효과 규명. 영산강에서 자연 발생된 녹조를 채취하여 키토산의 분자량에 따른 녹조 응집 및 살조 효과를 확인하였다. Ch50K, Ch100K, Ch200K를 최종농도가 0.3125~5 mg/L 범위에서 조절하여 녹조에 처리한 후 1시간 동안 관찰하였으며 그 결과는 Figure 1에 나타났다. 결과에서 볼 수 있듯이 Ch50K와 Ch100K에서는 1.25 mg/L에서 약한 응집을 보이기 시작하여 5 mg/L에서 완벽한 응집을 보였다. 또한 Ch200K는 0.625 mg/L 농도에서부터 약한 응집 효과가 나타나기 시작하여 2.5 mg/L부터 완벽한 응집을 보였다. 이러한 결과는 Table 1에 요약하였다.

Figure 2(A)~(C)는 영산강에서 채취한 녹조가 분자량에 따라 키토산이 처리되었을 때 성장 억제 효율을 microplate reader를 이용하여 680 nm에서 흡광도(optical density; OD)를 측정하여 규명하였다. 결과에서 볼 수 있듯이 키토산이 처리되지 않은 경우 녹조가 계속해서 OD 값이 증가하는 것을 볼 수 있다. 그러나 키토산을 처리하였을 때 OD 값은 키토산의 농도가 증가함에 따라 초기 값에 비해 줄어들었다. 이러한 결과는 키토산이 처리되었을 때 녹조의 성장을 억제하기 때문에 나타나는 것으로 사료된다. 특히 육안으로 녹조 응집 효과를 관찰한 키토산의 최적 농도(5 mg/L)의 경우, 녹조의 성장이 현저히 억제되는 것을 알 수 있었다. 녹조의 응집 효율

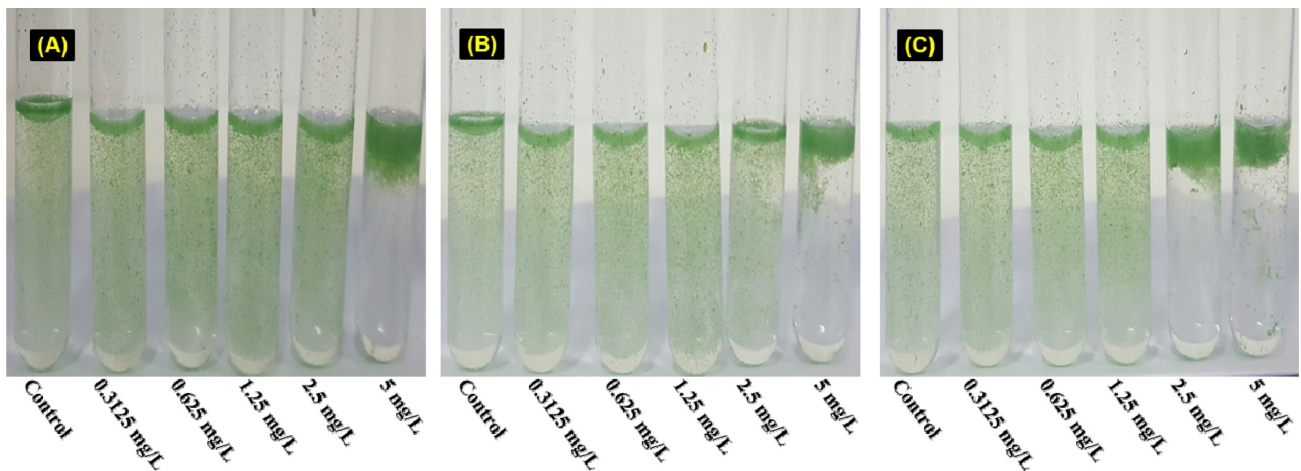


Figure 1. Naturally occurring green-tide in the branch of Yongsan river flocculation efficiency of Ch50K (A); Ch100K (B); Ch200K (C) according to the concentration (Dominant species: *microcystis aeruginosa*, number of cell unit: 2×10^6 cells/mL).

Table 1. Optimization of Chitosan Concentration for the Flocculation Forming against to Naturally Occurring Green-tide in the Branch of Yongsan River by Visual Observation

Sample	Final concentration of chitosan (mg/L)					
	Control	0.3125	0.625	1.25	2.5	5
Ch50K	×	×	×	△	○	◎
Ch100K	×	×	×	△	○	◎
Ch200K	×	×	△	○	◎	◎

×: Dispersion (same as control), △: Weak flocculation forming (floating), ○: Medium flocculation forming (floating), ◎: Strong flocculation forming (floating), *Dominant species: *microcystis aeruginosa*, **Number of cell unit: 2×10^6 cells/mL.

결과와 비교하였을 때 동일한 결과를 보여주고 있다. 키토산의 분자량이 높을수록 최적 농도가 낮아졌으나, 분자량에 따른 녹조 제거 시간 등의 규명을 위하여 모든 키토산에서 최적 농도를 5 mg/L로 고정하고 다음 실험을 진행하였다. 이러한 키토산의 분자량에 따른 녹조 성장 억제 효율을 규명하기 위해 chlorophyll α 를 측정하였다. Chlorophyll α 는 녹조내의 엽록체로서 개체수가 많을수록 높게 나타난다. 따라서 chlorophyll α 의 감소는 동일 시료에서 녹조의 개체수가 감소한다는 것을 의미한다. Figure 2(D)는 최적농도의 키토산을 처리한 후 chlorophyll α 를 측정한 결과이다. OD 값 측정 결과와 동일하게 분자량이 클수록 chlorophyll α 값이 감소하는 것을 확인하였다. 분자량이 증가할수록 녹조의 성장을 억제하는 결과는 키토산의 경우 단량체에 하나의 아민 그룹을 갖고 있는 양이온성 천연고분자이기 때문에 키토산의 분자량이 증가할수록 표면의 양전하 값이 증가하게 되고 이로 인하여 음전하를 갖는 녹조와의 콤플렉스 형성이 쉬어지기 때문에 나타나는 현상으로 사료된다. 이러한 결과를 토대로 녹조의 개체수가 2×10^6 cells/mL일 때 녹조의 응집 및 성장억제에 필요한 최적 농도는 5 mg/L임을 확인하였다. 최적농도에서 녹조 응집 시간을 측정하기 위하여 동일 조건으로 키토산을

처리한 후 시간에 따른 녹조 응집 효율을 계산하였다. 이 결과는 Figure 3(A)에 나타났다. 키토산의 분자량이 상대적으로 높은 Ch200K는 20분 후에 80% 이상의 응집 효율을 보였다. 또한 가장 낮은 분자량을 갖고 있는 Ch50K의 경우 약 30분 후에 80% 정도의 응집 효율을 보였다. 좀 더 나아가, 키토산 처리 후 60분 이 경과한 시점에서는 모든 키토산에서 100%의 응집 효율을 보였다. 이러한 결과는 분자량이 높을수록 키토산 구조 내의 아민에 의한 양전하 값이 높아지고 이로 인하여 녹조와 전기적 인력이 강해지기 때문이다. 그리고 Figure 3(B)는 키토산 처리 60분 후 녹조 응집된 현상을 관찰한 결과이다. 키토산의 분자량이 높을수록 응집의 크기가 커졌음을 알 수 있다. 이는 빠른 시간에 응집됨으로써 좀 더 큰 응집을 보이는 것으로 보인다. 이러한 응집의 형태는 키토산 처리 후 녹조의 회수 등이 용이하여 추후 자원 재활용 등에 광범위하게 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

응집된 녹조의 표면 특성 분석. 키토산의 최적 농도를 녹조에 처리한 후 이들의 표면 특성은 zeta potential과 FE-SEM을 이용하여 분석하였다. Figure 4는 2×10^6 cells/mL의 개체수를 갖는 녹조에 키토산을 처리한 후 분자량에 따른 제타 전위 값을 나타낸 결과이다. 결과에서 볼 수 있듯이 키토산

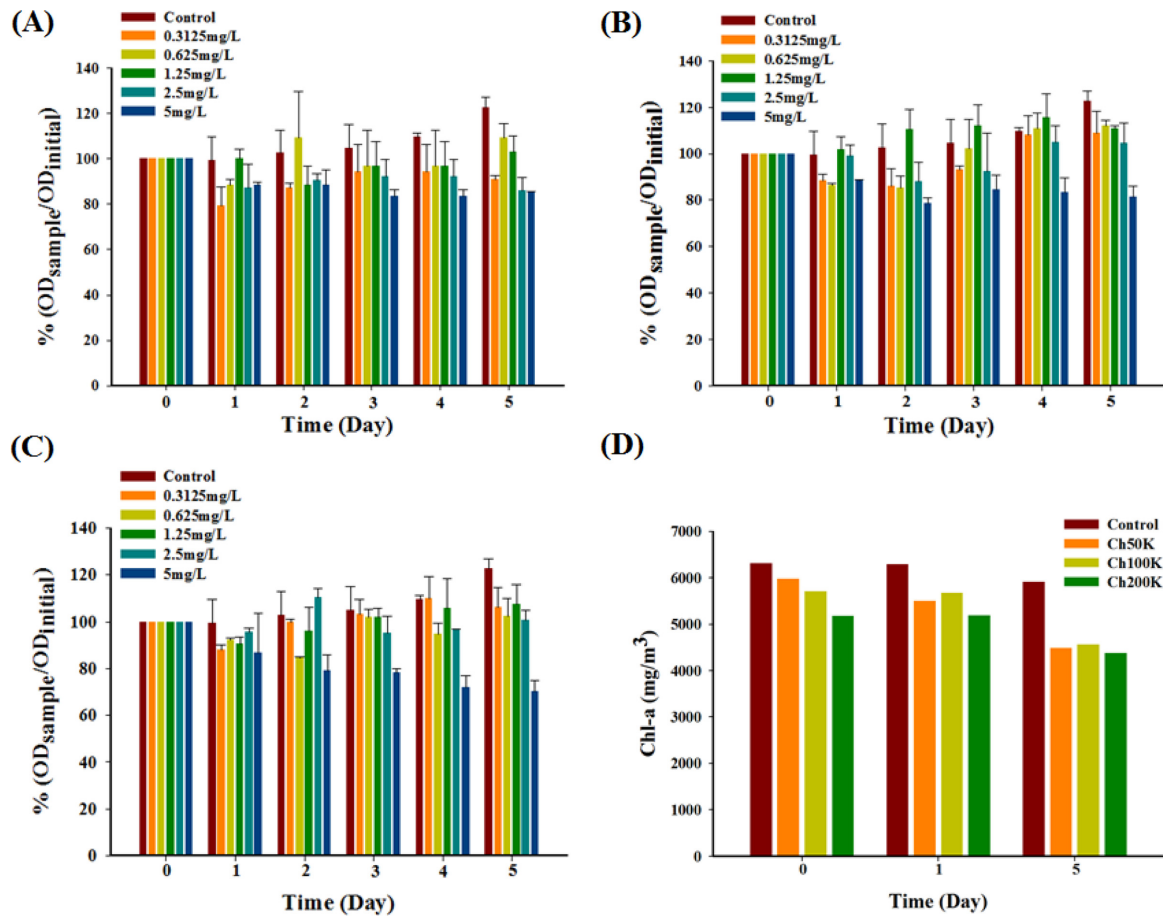


Figure 2. Algicidal effect of various molecular-weight chitosan against harmful green-tide. Optical density value of naturally occurring green-tide in the branch of Yongsan river according to the concentration with (A) Ch50K; (B) Ch100K; (C) Ch200K. (D) Chlorophyll α value of naturally occurring green-tide in the branch of Yongsan river after treated chitosan at concentration of optimal chitosan (5 mg/L).

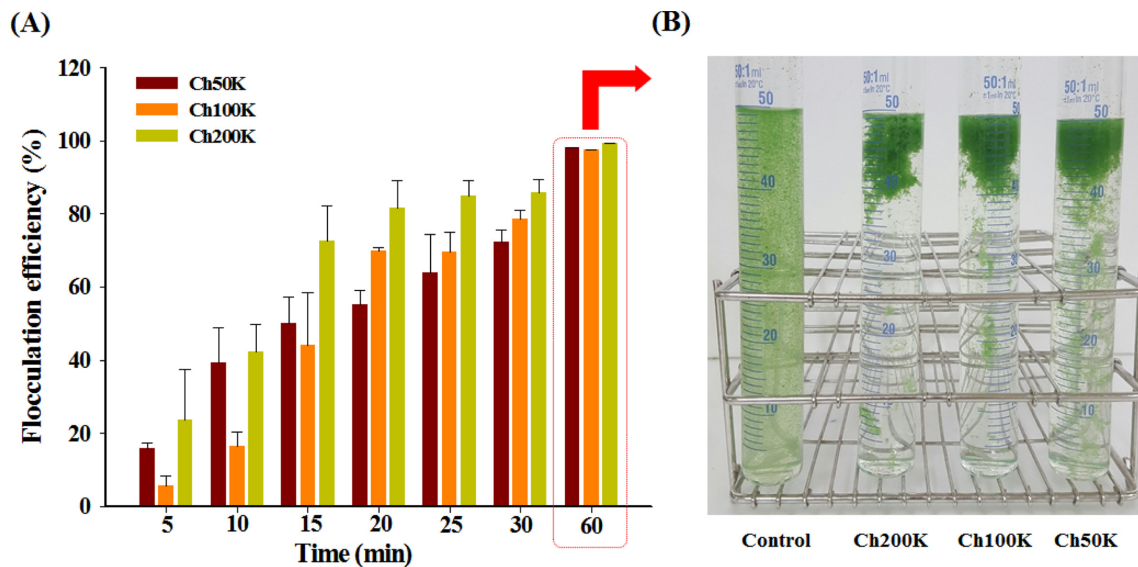


Figure 3. Flocculation efficiency according to treated time at concentration of optimal chitosan. (5 mg/L): (A) flocculation efficiency; (B) image of flocculation forming.

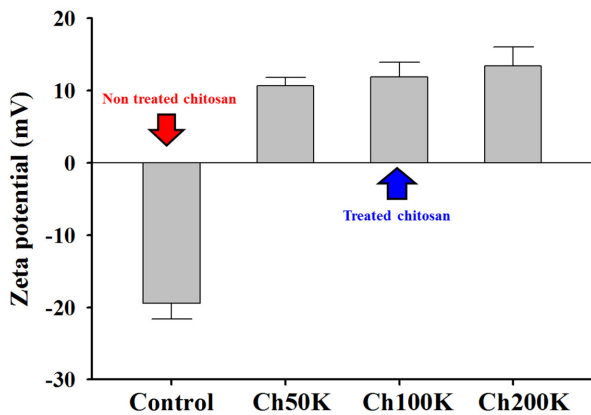


Figure 4. Change of zeta potential value after treated chitosan at concentration of optimal chitosan (5 mg/L).

을 처리하지 않은 경우 표면 전위가 -20 mV로 음전하를 띠고 있는 것을 알 수 있다. 그러나 키토산을 처리한 경우 10 mV 이상의 양전하 값을 나타냄을 확인할 수 있었다. 또한 분자량이 증가할수록 표면 전위가 증가하는 것을 확인하였다. 제타 전위 결과 녹조 표면 전하는 음전하를 갖고 있으며, 양전하 물질과 전기적 상호 작용에 의해 응집될 수 있다. 키토산

의 경우 단량체에 하나의 아민 그룹을 갖고 있는 양이온성 천연고분자이다. 따라서 음전하를 갖는 녹조와 쉽게 콤플렉스를 형성할 수 있다. 아울러 분자량이 높을수록 이러한 양전하 값이 증가하여 녹조와의 응집이 빠른 시간 내에 일어나게 된다. 이러한 zeta 전위, 녹조 응집 및 성장 억제 결과를 고려하였을 때 키토산의 분자량이 높을수록 녹조의 제거 효율이 증가될 것으로 사료된다. 키토산 처리 후 표면 전하의 측정을 통하여 녹조와 키토산간의 전기적 상호 작용으로 인하여 응집되는 것을 확인하였다. 또한 이들의 형태학적 특성을 규명하기 위하여 FE-SEM 이용하여 표면 형태를 관찰하였다. 이 결과는 Figure 5에 나타났다. 키토산이 처리된 경우 녹조 표면에 키토산이 응집되는 현상을 관찰할 수 있었으며, 시간이 지남에 따라서 녹조의 형태의 변형을 관찰할 수 있었다. 또한 키토산의 분자량이 증가할수록 이러한 현상이 더 심해지는 것을 알 수 있었다. 좀 더 나아가 녹조의 표면에 위치한 키토산은 녹조 성장을 차단하는 역할을 하는 것으로 보이며, 이로 인하여 녹조가 괴사되는 것으로 사료된다. 이러한 결과로부터 키토산에 존재하는 아민 그룹이 녹조와의 콤플렉스 형성, 이로 인한 녹조의 응집 및 성장에 관여하는 것으로 사료된다.

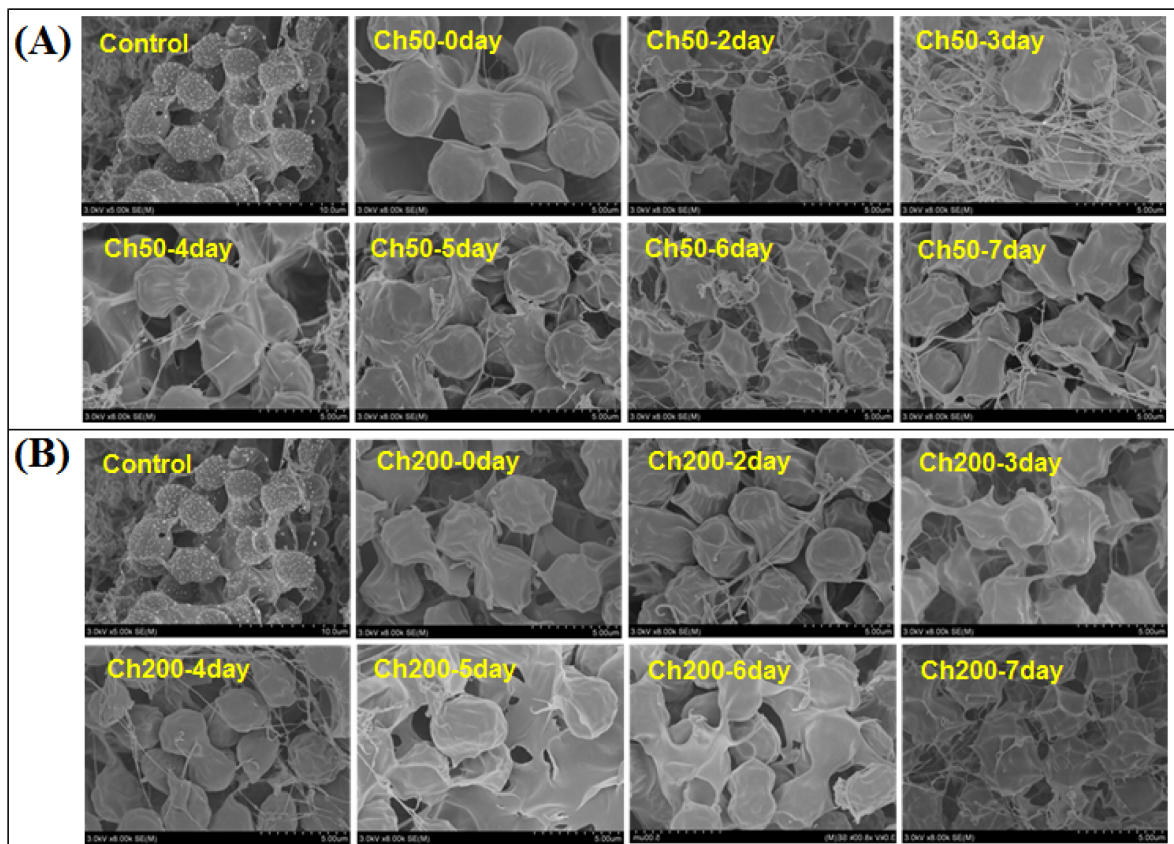


Figure 5. Change of morphology according time after treated chitosan at concentration of optimal chitosan (5 mg/L): Ch50K (A); Ch200K (B).

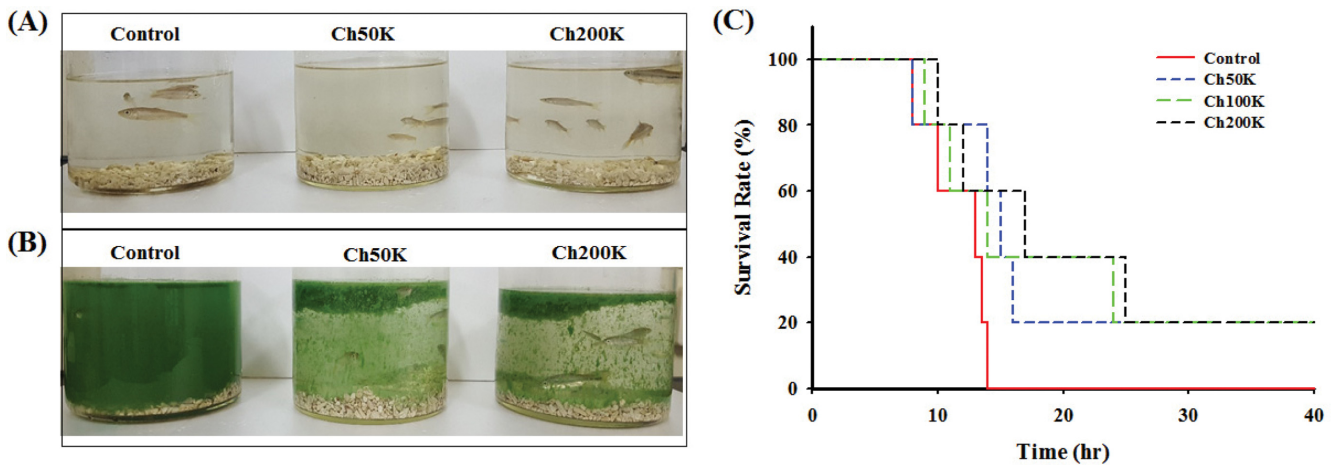


Figure 6. Survival test against fish at concentration of optimal chitosan (5 mg/L): (A) fresh water; (B) green-tide water. (C) Survival rate against fish at concentration of optimal chitosan (5 mg/L).

담수생물에 대한 키토산의 안정성 평가. 키토산의 안정성 시험은 녹조가 발생되지 않은 환경과 발생된 환경에서 담수 생물에 대한 생존율로 규명하였다. 이 결과는 Figure 6(A)~(C)에 나타났다. Figure 6(A)는 녹조가 발생하지 않은 환경에서 키토산의 녹조 제어 최적 농도로 처리하였을 때이다. 이 경우 담수 생물은 대조군과 비교하여 같은 생존율을 보였다. 이러한 결과로 본 연구에서 제시한 키토산 최적 농도는 담수 생태환경에 아무런 영향을 미치지 않을 것으로 기대된다. 또한 Figure 6(B)는 녹조 환경에서 키토산을 처리한 결과이다. 키토산을 처리하지 않은 경우 담수 생물이 죽는 것을 확인하였으나, 키토산을 처리한 경우 담수 생물이 오랜 시간 동안 생존함을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 키토산을 처리하였을 때 녹조의 응집 효과에 의해 녹조가 수면 위로 떠오르고, 이로 인해 담수 생물이 녹조의 영향을 받지 않기 때문이다. Figure 6(C)은 키토산 처리 후에 시간에 따른 담수 생물의 생존을 나타낸 결과이다. 키토산을 처리하지 않은 경우 담수 생물이 10시간부터 죽기 시작했으며, 14시간 후에는 모든 생물이 죽은 것을 확인할 수 있었다. 반면에, 키토산을 처리한 경우, 처리하지 않은 경우에 비하여 생존 시간이 길어지는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과를 통해 키토산을 현장에 적용하여 담수생물에는 영향을 주지 않고 녹조만을 응집 및 살조시킬 수 있음을 확인하였다.

결론

본 연구에서 녹조의 응집 및 성장 억제를 위하여 생체적합성 천연고분자인 키토산을 이용하여 키토산의 분자량에 따른 녹조 방제 효과를 규명하고자 하였다. 키토산의 분자량에 따른 녹조 응집의 최적 농도를 규명한 결과 5 mg/L에서 최적 농도를 보였으며, 키토산 처리 후 녹조 응집 시간에서 키토

산의 분자량이 증가하면 상대적으로 빠른 시간 내에 녹조가 응집되며, 또한 응집 크기가 크다는 것을 확인할 수 있었다. 또한 키토산 처리 후 녹조의 표면 전위 및 미세이미지 관찰 결과 키토산의 양전하와 녹조의 음전하 사이의 전기적 상호작용에 의해 녹조가 응집된다는 것을 확인하였다. 또한 FE-SEM 결과에서 녹조 표면에 키토산이 응집되어 녹조의 성장을 억제하는 것을 확인하였다. 녹조 처리 최적 농도에서 담수 생물에 대한 안정성 시험 결과 키토산은 전혀 독성이 없었으며, 녹조에 처리한 경우 녹조를 효과적으로 응집시켜서 담수 생물의 생존율을 높이는 결과를 보였다. 이러한 결과로부터 본 연구에서 사용된 키토산은 분자량에 따라 녹조의 응집 속도 및 응집 모양 등이 차이가 있었으며 이러한 결과는 녹조 현장 상황에 따라서 선택적으로 다양하게 사용될 수 있을 것으로 사료된다. 아울러, 생태계에 대한 안정성 확보를 통한 녹조 방제 재처리에 따른 2차 오염 문제를 해결할 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글: 이 논문은 2014년도 정부(미래창조과학부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(NRF-2014R1A2A1A10053027).

참고문헌

1. H. W. Paerl and J. Huisman, *Environ. Microbiol. Rep.*, **1**, 27 (2009).
2. B. H. Kim and S. O. Hwang, *Wonkwang Journal of Environmental Science*, **10**, 9 (2001).
3. G. Herath, *J. Environ. Manage.*, **51**, 217 (1997).
4. S. Pouria, A. De Andrade, J. Barbosa, R. L. Cavalcanti, V. T. S. Barreto, C. J. Ward, W. Preisner, G. K. Poon, G. H. Neild, G. A. Codd, *Lancet*, **352**, 21 (1998).

5. I. J. Lee, C. G. Lee, S. N. Heo, and J. G. Lee, *Anal. Sci. Technol.*, **24**, 225 (2011).
6. R. M. Dawson, *Toxicon*, **36**, 953 (1998).
7. S. O. Hwang, M. S. Han, and B. H. Kim, *Korean J. Limnol.*, **39**, 257 (2006).
8. D. H. Jeong, J. J. Lee, K. Y. Kim, D. H. Lee, S. H. Hong, J. H. Yoon, S. Y. Hong, and T. S. Kim, *Environ. Impact. Asses.*, **20**, 915 (2011).
9. H. J. Chio, B. H. Kim, J. D. Kim, and M. S. Han, *Biol. Control.*, **33**, 335 (2005).
10. M. H. Park, S. J. Lee, B. D. Yoon, and H. M. Oh, *Korean J. Environ. Biol.*, **19**, 129 (2001).
11. B. J. Lim, S. H. Kim, and S. O. Jun, *Korean J. Limnol.*, **35**, 123 (2002).
12. M. Yamamoto, H. Mural, A. Takeda, S. Okunishi, and H. Morisaki, *Microbes. Environ.*, **20**, 14 (2005).
13. L. Hu, X. Meng, R. Xing, S. Liu, X. Chen, Y. Qin, H. Yu, and P. Li, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **26**, 4548 (2016).
14. J. Y. Je, *J. Chitin Chitosan*, **20**, 245 (2015).
15. A. Zimoch-Kirzycka, L. Bobak, and A. Jarmoluk, *Int. J. Mol. Sci.*, **17**, 1436 (2016).
16. L. Fan, S. Zou, H. Ge, Y. Xiao, H. Wen, H. Feng, M. Liu, and M. Nie, *Int. J. Biol. Macromol.*, **93**, 636 (2016).
17. T. H. Kim, J. K. Park, C. Y. Choi, M. K. Jang, and J. W. Nah, *J. Chitin Chitosan*, **17**, 37 (2012).
18. G. W. Jeong, S. C. Park, C. Y. Choi, J. P. Nam, T. H. Kim, S. K. Choi, J. K. Park, and J. W. Nah, *Int. J. Pharm.*, **488**, 165 (2015).
19. L. Li, H. Zhang, and G. Pan, *J. Environ. Sci.*, **28**, 47 (2015).
20. H. Zou, G. Pan, H. Chen, and X. Yuan, *Environ. Pollut.*, **141**, 201 (2006).
21. R. Divakaran and V. N. S. Pillai, *J. Appl. Phycol.*, **14**, 419 (2002).
22. H. Li and G. Pan, *Environ. Sci. Technol.*, **49**, 6249 (2015).

*이 연구논문의 결과물은 주저자 이현수의 석사학위 논문에서 일부 발취하여 사용되었습니다.