



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

공 학 석 사 학 위 논 문

천연응집제를 이용한 미세조류의
응집특성



2017년 02월

부 경 대 학 교 대 학 원

U-Eco City 협동과정

김 요 한

공 학 석 사 학 위 논 문

천연응집제를 이용한 미세조류의
응집특성

지도교수 이 병 현

이 논문을 공학석사학위논문으로 제출함.

2017년 02월

부 경 대 학 교 대 학 원

U-Eco City 협동과정

김 요 한

김요한의 공학석사 학위논문을 인준함.

2017년 2월



위 원 장 공학박사 강 임 석



위 원 공학박사 이 태 윤



위 원 공학박사 이 병 헌



목 차

목 차	i
List of Tables	iii
List of Figures	iv
Abstract	vi
제 1 장 서 론	1
제 2 장 문 헌 연 구	3
2.1 조류, 미세조류	3
2.2 응집의 정의 및 매커니즘	6
2.2.1 이중층 압축	7
2.2.2 흡착과 전하중화	9
2.2.3 체거름 응집	11
2.3 응집제	13
2.4 반응표면법	15
제 3 장 실험재료 및 방법	20
3.1 실험재료 및 장치	20
3.2 천연 응집제를 이용한 조류응집 실험설계	23
3.3 실험방법 및 조류의 분석	25
3.3.1 조류의 응집실험 방법	25
3.3.2 Sedgewick Rafter Chamber를 이용한 cell count	26

3.3.3 미세조류 측정을 위한 UV/VIS-spectrophotometer	27
3.4 OD ₆₆₀ 과 조류수의 상관관계	28
제 4 장 결과 및 고찰	31
4.1 Chitosan을 이용한 조류제거	31
4.1.1 Chitosan 주입량 및 pH에 따른 OD ₆₆₀ 변화	31
4.1.2 Chitosan 주입량 및 pH에 따른 OD ₆₆₀ 반응모델추정	35
4.2 Polyglutamin을 이용한 조류제거	40
4.2.1 Polyglutamin 주입량 및 pH에 따른 OD ₆₆₀ 변화	40
4.2.2 Polyglutamin 주입량 및 pH에 따른 OD ₆₆₀ 반응모델추정	43
4.3 천연응집제에 의한 조류제거 최적화	48
4.3.1 반응표면분석 모델을 이용한 천연응집제의 조류제거 최적화	48
제 5 장 결론	50
참고문헌	51

List of Tables

Table 2.1 Analysis of variance.....	19
Table 3.1 Experiment condition of Chitosan coagulation.....	24
Table 3.2 Experiment condition of Polyglutamin coagulation.....	24
Table 3.3 SCINCO Mega - 2100 Specifications.....	27
Table 3.4 Calculated algae cell count and OD ₆₆₀ spectrum.....	28
Table 3.5 Calculated algae cell count and OD ₆₆₀	29
Table 3.6 Regression Analysis algae cell count(cell/mL) versus FS	29
Table 4.1 OD ₆₆₀ (cm ⁻¹) and OD ₆₆₀ removal efficiency of micro-algae in Chitosan flocculant process on each case.....	33
Table 4.2 Estimated regression coefficients for Chitosan algae removal efficiency (predicted and experimented).....	36
Table 4.3 Analysis of variance for Chitosan algae removal(OD ₆₆₀) efficiency(%)	36
Table 4.4 Analysis of variance of Chitosan algae removal efficiency (predicted and experimented).....	37
Table 4.5 OD ₆₆₀ (cm ⁻¹) and OD ₆₆₀ removal efficiency of micro-algae in Chitosan flocculant process on each case.....	41
Table 4.6 Estimated regression coefficients for Polyglutamin algae removal efficiency	44
Table 4.7 Analysis of variance for algae removal(OD ₆₆₀) efficiency(%) of Chitosan.....	44
Table 4.8 Analysis of variance for algae removal efficiency of Chitosan (predicted and experimented).....	45

List of Figures

Figure 2.1	Extraction process of useful substances using microalgae	4
Figure 2.2	Schematic picture of the overall organization of the membranes in the chloroplast	5
Figure 2.3	Structure of the electrical double layer (source: Louis Ravina, 1993)	7
Figure 2.4	Potential Energy diagram For The Interaction of Particle.	8
Figure 2.5	Charge Neutralization	10
Figure 2.6	Sweep Flocc: Colloids become enmeshed in the growing precipitate.	11
Figure 2.7	Three processes of Coagulation/Flocculation	12
Figure 2.8	The Alum Coagulation Diagram And Its Relationship To Zeta Potential	12
Figure 2.9	Basic concept of RSM	15
Figure 3.1	Algae seen with microscope	20
Figure 3.2	Algae cultivation reactor	21
Figure 3.3	Test equipment	22
Figure 3.4	Sedgewick Rafter Chamber	26
Figure 3.5	OD scan result for algae	28
Figure 3.6	Algae as OD ₆₆₀ regression analysis	30
Figure 4.1	Contour plots of interactions of variables Chitosan (mg/L) and pH and its effect on OD ₆₆₀ removal efficiency (%) of micro-algae.	34
Figure 4.2	Three-dimensional response surface plots of Chitosan (mg/L) and pH and its effect on OD ₆₆₀ removal efficiency (%) of micro-algae.	34
Figure 4.3	Regression analysis of Chitosan algae removal efficiency (predicted and experimented)	38
Figure 4.4	Main Effects Plot for algae removal efficiency of Chitosan coagulant	39
Figure 4.5	Contour plots of interactions of variables Polyglutamin(mg/L) and pH and its effect on OD ₆₆₀ removal efficiency (%) of micro-algae.	42
Figure 4.6	Three-dimensional response surface plots of Polyglutamin(mg/L) and pH and its effect on OD ₆₆₀ removal efficiency (%) of micro-algae.	42
Figure 4.7	Regression analysis of Polyglutamin algae removal efficiency(predicted and experimented)	46
Figure 4.8	Main Effects Plot for algae removal efficiency of Polyglutamin coagulant	47

Figure 4.9 Optimization of response to algae removal efficiency of Chitosan · 49

Figure 4.10 Optimization of response to algae removal efficiency of Polyglutamin · 49



Coagulation Characteristics of Microalgae By Using Natural Coagulants

Yo-Han Kim

Department of U-Eco City, The Graduate School,
Pukyong National University

Abstract

Although coagulation-flocculation is effective and widely used, existing metal based coagulants have negative effects on the environment and human body. This study tries to reveal the possibility of using plant based natural coagulants to replace the metal based coagulants such as Alum.

Chitosan and Polyglutamin coagulants were chosen as natural coagulants for this study and the experiments. Response Surface Methodology(RSM) was used for the design of this research and the dose of coagulant and a range of pH were determined for the experiments by RSM.

The experiments using Chitosan was carried out with a range of pH 4.95~10.0 and coagulant dose 40~160mg/L. Through the optimization process by using RSM, it was found that the optimum condition was when the coagulant dose of 105mg/L at pH 7.3, and the micro-algae removal efficiency(as OD₆₆₀) was 79.2%.

The other experiments using Polyglutamin was conducted with a range of pH 4.5~9, coagulant dose 10~150mg/L. The optimum condition of Polyglutamin coagulation/flocculation was when the coagulant dose of 115mg/L at pH 7.5, and the micro-algae removal efficiency(as OD₆₆₀) was almost 100%.

Key word: coagulation/flocculation, Chitosan, Polyglutamin, OD₆₆₀, pH, coagulant dose

제 1 장 서 론

최근 기후변화의 영향으로 인하여 전 세계적으로도 녹조의 발생이 증가하는 현상이 나타났다(정선아 등, 2015). 낙동강 수계의 조류의 대발생 강도 및 발생 기간이 증가하는 현상이 나타나게 되었는데 조류의 대량 증식은 수중의 CO₂를 감소시켜 pH를 상승하게 하면서 응집제의 용해도를 증가시키게 되고 floc 형성을 저해시킨다. 또한 조류자체의 밀도가 매우 낮기 때문에 응집된 조류가 floc의 침강성이 떨어지고 침전된 플러크이 쉽게 재부상하기도 한다(이상윤, 2001). 따라서, 조류의 증식으로 인해 수중정화작용이 제대로 이루어 지지 않게 된다.

이를 개선하기 위해 다양한 응집제들이 개발되었지만, 응집공정에서는 응집제 주입량이 민감하기 때문에 응집제 양이 적정하지 않다면 입자의 불안정화가 효과적으로 이루어 지지 않고 응집제의 양이 과다하면 재안정화, 과도한 슬러지 생산 및 부식등과 같은 부정적인 효과를 발생시킬 수 있다(US EPA, 2014).

현재 쓰이고 있는 주요 응집제들은 황산알루미늄(Alum)이나 PACl(Polyaluminum Chloride) 같은 화학무기물을 사용하고 있는데, 이는 수생태계에 영향을 미칠 수 있어 응집처리 시 수계 내에서 직접 처리하기엔 한계가 있다(김석구 등, 2013). 환경에 대한 영향을 최소화하기 위해서, 본 연구에서는 자연 응집제인 키토산과 폴리글루타민을 사용하였다.

키토산은 천연 유기 고분자 물질로써 갑각류껍질에서 추출된 키틴을 탈아세틸화 하여 얻어지고 수용액상에서 양이온성을 나타내고 생분해성, 안정성, 탈수성이 우수하여 천연고분자 응집제로 활용할 수 있다(이혜인 등, 2011)

Polyglutamin은 고도의 수용성과 생분해성을 가진 음이온성 폴리머로써 수처리 분야에서 이용이 증대되고 있다(박청 등, 2009)

반응표면분석법은 독립변수와 반응변수 사이의 함수관계에 대한 통계적 모형을 가정하고, 독립변수의 조건에서 실험을 수행하여 얻어진 데이터를 회기 분석을 실시하여 실험독립변수를 결정할 수 있게 해주는 통계학적 기법이다 (Lee.S.H., 2008). 본 논문에서는 응집공정에서 조류제거를 위한 응집실험을 반응표면분석법-중심합성 계획으로 설계하여 응집공정에서의 천연 유기응집제인 Chitosan 응집제와 Polyglutamin응집제 주입량과 pH를 산정하였다.



제 2 장 문 헌 연 구

2.1 조류(Algae), 미세조류(Microalage)

조류(Algae)는 뿌리, 줄기, 잎이 체계적으로 분화되지 않은 하등식물 중에서 엽록소로 광합성을 하는 식물을 가리키며, 식물플랑크톤(Phytoplankton)이라고도 한다. 일반적으로 클로로필을 가지며 광합성에 의하여 산소 및 유기물을 생산하는 독립영양생물이다. 구성요소가 간단한 생물로 수중에서 생육하는 것도 많다. 구성요소는 단세포부터 분체를 형성하는 것과 식물체형태의 다세포 형태를 띠는 것도 있다. 조류는 다시 미역, 다시마와 같이 단단한 구조물에 부착하여 서식하는 해조류(Seaweeds)와 육안으로 볼 수 없어 현미경으로만 확인 가능하며 물속에서 자유로이 부유하여 살아가는 미세조류(Microalage)로 구분된다. 미세조류는 크기가 50 μm 이하의 단세포 조류이다(강영희, 2008).

조류는 크기뿐만 아니라, 세포 구조, 다세포성 조체를 형성하기 위한 세포의 배열 방식, 광합성 색소들도 종류에 따라 매우 다양하고, 그 체제 또한 박테리아에서 육상식물의 영역에 이를 정도로 매우 복잡하다(Philip, 2003).

그중에서도 미세조류는 지구상에 존재하는 주요 광합성 생산 공정의 절반을 차지하는 생물이며(F. Camacho Rubio et al, 2003) 태양광을 이용하여 잠재적으로 유용한 물질들을 다양하게 만들어내는 생물학적 공장으로도 비유된다(최승필 등, 2012).

미세조류는 생존에 있어서는 다른 미생물들과는 달리 높은 포용능력을 지니는데 개체군의 성장이 수 환경의 여러 물리, 화학적 조건 중에서 특히 수온, 빛, pH와 질소, 인 등과 같은 영양염류에 의해 높은 생물 군집의 특성을 나타낸다(공와 Nakajima Toshiuki, 2001).

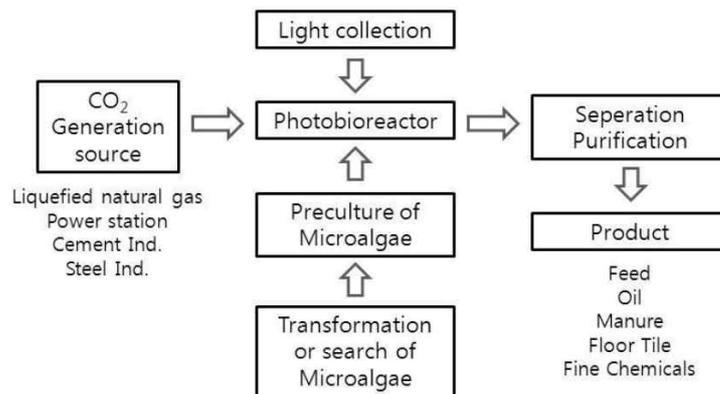


Figure 2.1 Extraction process of useful substances using microalgae
(최승필 등, 2012).

미세조류에는 원핵생물(prokaryote)과 진핵생물(eucaryote)이 있다. 원핵생물은 남조류로서 핵막에 의해 구분되는 핵과 엽록체, 미토콘드리아, 골지체, 소포체 등 다소 정교한 세포소기관(organelle)들이 없다. 원핵성 조류는 세포벽, 리보솜, 염색체 구조 등이 진정세균과 유사하지만, 2개의 광계를 가지고 산소를 발생시킨다는 점에서 광합성 세균과 구별된다. 남조류의 엽록소 색소(또한 카로키노이드 색소)는 틸라코이드라고 불리는 납작하게 된 소포의 안쪽 막에 있고, 피코빌리단백질은 피코빌리솜(색소단백질체, phycobilisome)으로 불리는 과립상의 구조로 틸라코이드의 막 바깥 표면에 있다(Philip, 2003).

또한, 광합성을 하는 진핵생물에는 엽록체(Chloroplasts)라고 하는 별도의 세포 소기관이 있어 여기에서 광합성이 이루어 진다. 엽록체의 내부에서는 납작한 주머니처럼 생긴 것이 틸라코이드(Thylakoid)이다. 틸라코이드가 여러 층으로 쌓인 것을 그라나(grana)라고 한다. 틸라코이드(Thylakoid)의 막은 세포막과 마찬가지로 인지질을 주성분으로 하는 이중막으로 이루어져 있다(Masaharu Takemura, 2009).

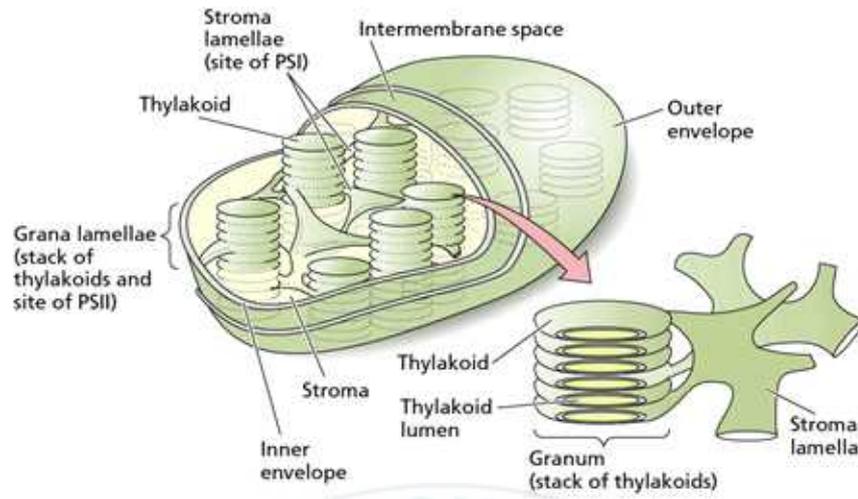


Figure 2.2 Schematic picture of the overall organization of the membranes in the chloroplast (source: Taiz L., Zeiger E., 2010)

2.2 응집의 정의 및 메커니즘

응집이란 수중에 개개로 흩어져 분산되어 있는 콜로이드 성분에 대한 흡착
가고 작용을 통해 큰 입자로 성장시켜 나가는 작용이다(상수도사업본부, 2008)
일반적으로 자연수중에 존재하는 탁질성분 표면이 음극으로 하전되어 있어서
전기적 반발력에 의해 서로 평형을 이루고 분포하고 있다(조관형 외, 2008).
이들은 서로간의 반발력에 의하여 일정한 거리를 유지하면서 충돌하지 않고
안정된 상태로 부유하게 된다. 응집(Coagulation)이란 이렇게 안정한 부유상태
를 유지하고 있는 물질에 입자와 반대로 양의 전하를 띤 응집제를 주입하여
입자간의 결합이 되는 불안정화(Destabilization)를 시켜 서로 충돌을 시켜서
뭉치게 하는 과정(Flocculation)을 포괄하는 개념이다(김인정, 2011).

입자의 불안정화가 일어나는 메커니즘은 다음과 같다.

1. 이중층 압축(Double Layer Compression)
2. 흡착과 전하중화(Adsorption and Charge Neutralization)
3. Sweep Flocculation

2.2.1 이중층 압축(Double Layer Compression)

이중층 압축 이론이란 유사한 전하를 띤 입자들 사이간에 발생하는 정전기적 반발력에 기반한 것으로, 입자와 성질이 다른 반대 이온들이 증가하게 되면 입자의 분산층(diffuser layer) 주위에 그 반대이온들이 모여들게 되고 정전기적 반발력이 감소하면서 분산층이 압축되어지게 된다. 이렇게 정전기적 반발력이 감소되기 때문에 입자의 표면전위차는 감소하고 상대적으로 vander waals 인력이 강하게 작용함으로써 입자들이 서로 끌어당겨 뭉쳐지게 된다(김인정, 2011).

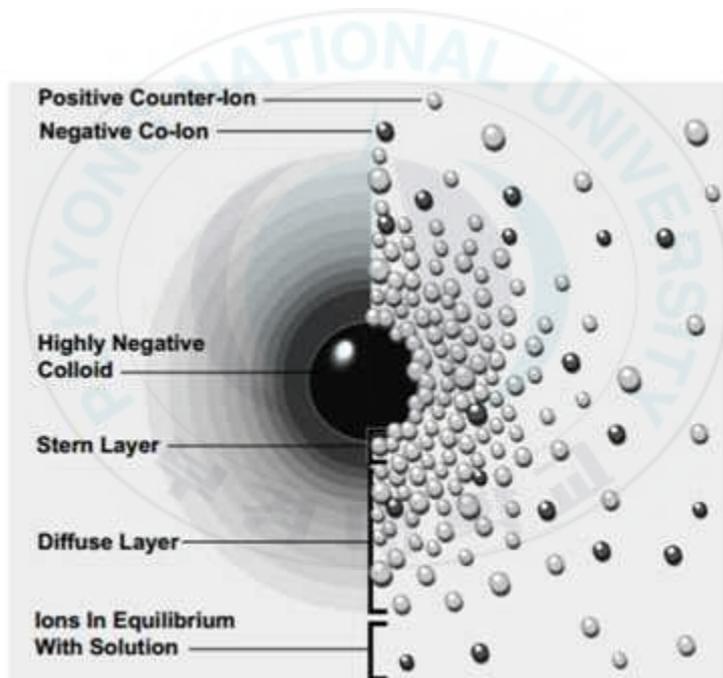


Fig 2.3 Structure of the electrical double layer (source: Louis Ravina, 1993)

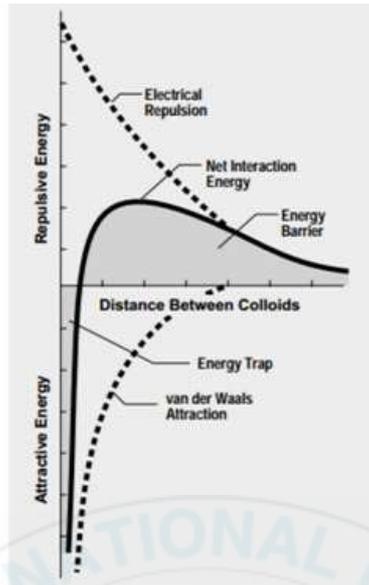


Figure 2.4 Potential Energy diagram For The Interaction of Particle.
(source: Louis Ravina, 1993)

이같은 불안정화(Destabilization) 과정은 이중층의 압축으로 인해 이루어지고 NaCl 같은 전해질을 첨가해서 발생할 수 있다. 이중층을 압축하기 위해 사용하는 금속염 전하수에 비례해서, 그리고 그에 대한 효율은 Schultz-Hardy 법칙에 따라서 아래와 같이 변하게 된다(김인정, 2011).

$$CCC \propto \frac{1}{(\text{charge})^6} \quad \text{eq(1)}$$

$$Na^+, Ca^{2+}, Al^{3+} \rightarrow 1 : \frac{1}{2^6} : \frac{1}{3^6} = 100 : 1.6 : 0.14 \quad \text{eq(2)}$$

그렇지만 이같은 반응은 아주 천천히 일어나기에 실제적인 수처리과정에서 쓸 수 있는 주요 방식은 아니라고 본다.

2.2.2 흡착과 전하중화 (Adsorption and Charge Neutralization)

전하중화로 인한 불안정화(Destabilization)는 입자들 표면의 전하를 감소시켜 일어나는데, 이것은 두 가지 과정에 의해 이루어진다.

우선, 응집제 성분 중 입자와 상반되는 전하를 가진 성분은 입자 표면에 흡착되어진다. 특히 유기 고분자 전해질 또는 금속염 응집제로부터 형성되어지는 가수분해 생성물은 반대전하를 띠는 입자표면에 흡착하려는 강한 성질을 가지고 있다. 이러한 응집제의 입자표면에 흡착하려는 성질은 입자표면에 대한 응집제와 용매의 상호작용, 응집제와의 화학적 친화력, 응집제 표면의 화학적 특성에 기인한다. 이러한 응집제의 흡착은 입자의 표면 전하가 역전되어 재 안정화가 이루어질 때까지 입자표면에 흡착된다. 일반적으로 가수분해되는 다가 금속이온의 모든 형태는 가수 분해되지 않은 이온보다 콜로이드 경계면에서의 흡착이 더 효율적이며, 흡착된 표면에서의 전하역전의 원인이 되기도 한다(김인정, 2011).

둘째로, 이질응집(heterocoagulation)은 반대전하를 가진 가수분해종의 흡착에 의한 표면 전하중화과정과 유사한 불안정화 매커니즘이지만, 이 경우에는 하나의 입자가 다른 반대전하 표면에 축적되는 것이 포함된다. 예를 들어, 높은 음의 표면전하를 가지고 있는 큰 입자들은 비교적 낮은 양의 전하를 가진 더 작은 입자들과 결합할 수 있다. 이 때 입자들은 반대전하를 가지게 되고 전기적 인력은 입자간의 상호작용을 증가시킨다. 음의 전하를 가진 더 큰 입자들의 안정화는 축적된 양전하를 띤 입자들에 의해 감소되고 더 큰 입자들의 부유 상태는 불안정화 된다(김인정, 2011).

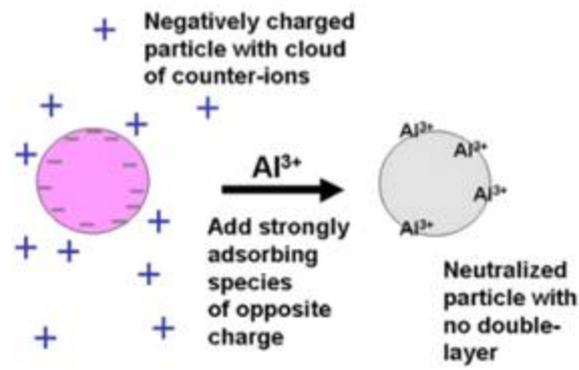
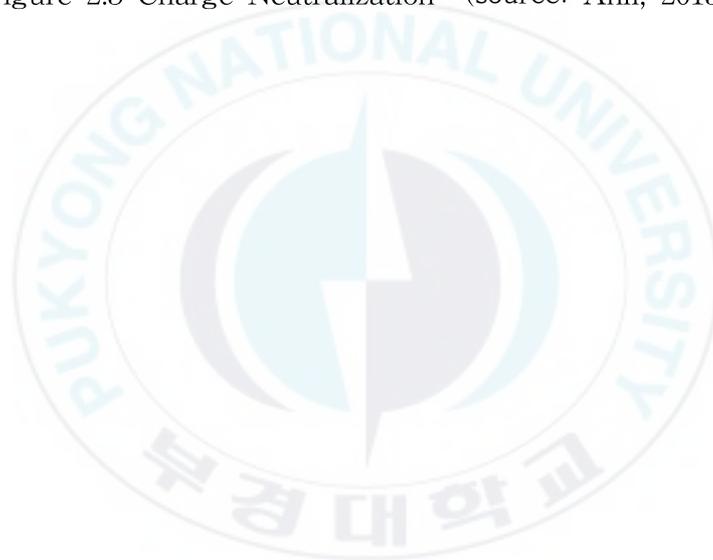


Figure 2.5 Charge Neutralization (source: Anil, 2013)



2.2.3 체거름 응집

Alum이나 철염과 같은 금속염이 수중에 고농도로 용해되면, 적정 pH 범위에서 금속 수산화 침전물 형성된다. 이때 수중의 콜로이드성 입자들은 이들의 금속 수산화 침전물들에 의해 둘러싸이게 되며 이들 간의 상호충돌에 의해 플러를 형성한다(Amirharajah et al 1990). 즉, 침전물이 충분히 형성되어질 때 거대한 제료가 같은 금속 수산화 침전물에 의해 체거름 되는 입자들이 집합하는 과정을 “Sweep 응집” 이라고 한다. 이러한 체 거름에 의한 sweep 응집의 형태 및 과정을 Figure 2.6와 Figure 2.7에서 볼 수 있고, 그 과정을 Figure 2.4와 같이 도식화할 수도 있다. Amirharajah and O'Melia(1982)는 Alum을 이용하여 탁도 제거에 대한 응집 모식도를 Figure 2.4와 같이 나타내었다. 수산화알루미늄의 낮은 용해도($K_{so}=10^{-32}$)를 고려하면 실제 처리공정에 이용되는 Al(III)의 주입량은 Al(OH)₃에 관하여 과포화 상태를 일으킨다. 하지만 이러한 과포화 상태가 금속 수산화물의 침전물 형성을 반드시 일으키지는 않는다(김인정, 2011).



Figure 2.6 Sweep Flocc: Colloids become enmeshed in the growing precipitate. (source: Anil, 2013)

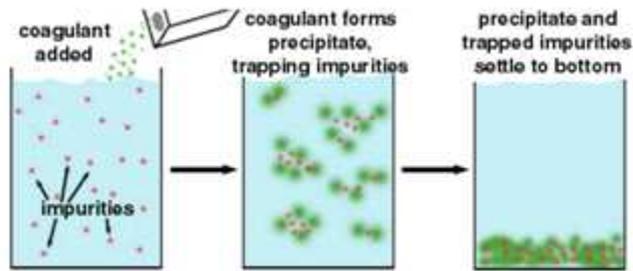


Figure 2.7 Three processes of Coagulation/Flocculation

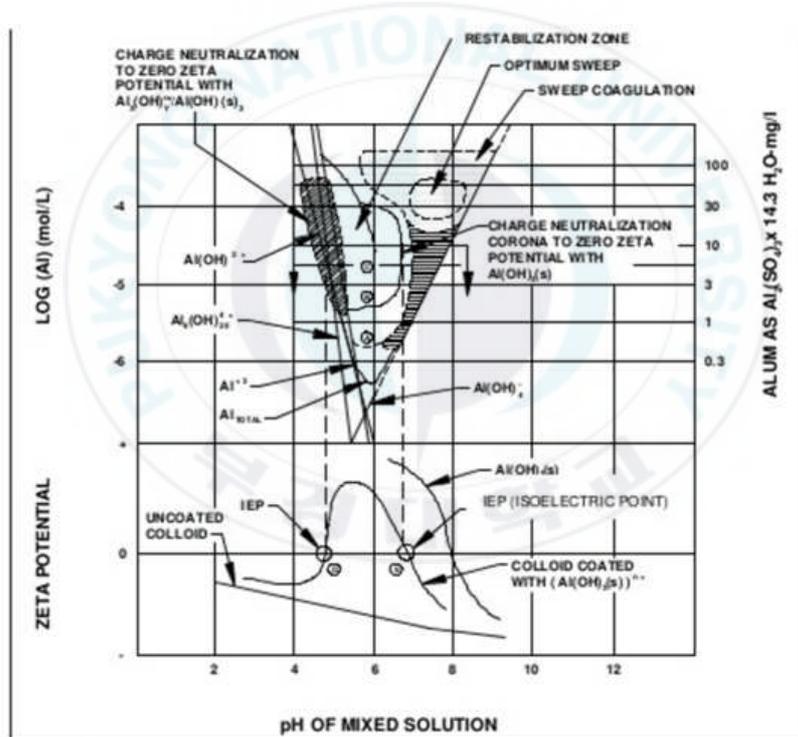


Figure 2.8 The Alum Coagulation Diagram And Its Relationship To Zeta Potential (source: AWWA and ASCE, 1990)

2.3 응집제

수처리 방법 중에서 응집(Coagulation and Flocculation: CF)이 가장 일반적으로 쓰이는 이유는, 비용이 저렴하고, 간단하고, 신뢰할 수 있고, 적은 에너지를 필요로 하기 때문이다. 왜냐하면 응집 공정은 비싸거나 복잡한 기계장치가 필요하지 않고 응집제가 첨가된 후 에너지 소비도 필요로 하지 않기 때문이다(Nurudeen, 2015). 응집 공정은 용존물, 콜로이드, SS 등을 효율적으로 제거할 뿐만 아니라 색도, 유기물, 미세물질, 기름과 지방까지 다양한 오염원들을 제거하는데 적용될 수 있다는 점에서 널리 사용된다(Valquiria et al., 2016).

국내 정수장의 대부분이 이용하는 응집제는 Al(Aluminium)계열의 무기응집제이다(한진호, 2011). 그러나 Al은 사람의 중추신경계와 유전자 등에 악영향을 주고 심한 경우는 알츠하이머와 같은 뇌질환을 유발하게 된다(S. Maya, 2016). 일반적으로 사용하는 무기응집제로 응집처리하여 방류한다면 처리수에 Al계열이 잔존할 가능성이 크다. 천연 추출물인 폴리글루타민산(Polyglutamin Acid: Polyglutamin)과 키토산(Chitosan) 등은 환경적으로 안전하고 효율적인 대체 응집제로서 활용성이 확대되고 있다.

천연 유기응집제중 폴리글루타민산(Polyglutamin)은 글루타민산 분자의 감마레벨의 아미노기와 카르복시기가 아미노 결합한 고분자의 폴리머이다. 환경과 생물에 대해 안정성이 높고, 생분해성이기 때문에 친환경적이다. 폴리글루타민산은 식품의 유래로 천연소재이다. 원천적으로 안정성이 확보되어 있고 구조적인 특징으로 음이온성 고분자로 분류된다. 이는 분자량이 커짐에 따라 카르복실기수가 커짐으로 인하여 반응성이 커져 효과적인 전달체의 역할을 수행할 수 있다(박청 등, 2009).

Polyglutamin이 우수한 생물 응집제로 여겨지는 이유는 넓은 범위의 유기물과 무기물을 응집할 수 있는 능력 때문이다(Ishwar Bajaj et al, 2011). Polyglutamin은 몇 가지 금속 이온들(Ni^{+2} , Cu^{+2} , Mn^{+2} , Al^{+3})을 흡착하는 능력이 있어 산업폐수로부터 중금속을 제거할 수 있는 생물 흡착제이다 (Bhattacharyya et al., 1998). 구리와 수은에도 뛰어난 흡착력을 증명하였다 (Bodnar et al., 2008).

천연 유기응집제중 키토산은 키틴(chitin)을 탈 아세틸화 하여 얻는 것이다. 탈아세틸화는 키틴을 알칼리 용액으로 고열처리하여 아세틸 분자를 제거 하는 과정이다. 응집제는 천연 고분자이기 때문에 2차 환경오염의 염려가 없다. 또한, 키토산은 셀룰로스 다음으로 지구상에서 가장 풍부하게 존재하는 바이오 폴리머이다. 새우, 게 같은 갑각류에서 주로 얻을 수 있다. 주요 아미노 그룹과 셀룰로스에 비해 높은 질소를 포함하고 있어 상업적으로도 가치 있는 물질이다(Roberts, 1992; Nurudeen, 2015). 수처리에 있어 뛰어난 응집제로서의 가치 뿐 아니라 비독성, 생분해성, 우수한 킬레이트화 성질을 가지고 있어 다양한 유출물들을 처리하는데 활용된다(F. Renault et al, 2009).

키토산을 사용한 다양한 응집 처리를 한다. 우유가공 공장에서의 폐수처리 (F,H Chi et al, 2006), 맥주 양조장 폐수처리(Cheng et al., 2005), 펄프와 제지 공장 폐수처리(Rodrigues et al., 2008; Wang et al., 2007), 양식장 폐수처리 (Chung, 2006), 부분 정화 하수(Zeng et al., 2008) 하수처리공정(Zeng et al., 2008) 및 상수처리공정(Rizzo et al., 2008)에 활용 되었다.

2.4 반응표면법

반응표면법은 설계변수와 응답간의 관계를 찾아 구하고, 관측된 자료를 사용하여 통계적인 근사방법을 통해 최적 시스템 응답을 찾아낸다. 관측된 자료를 사용하여 통계적인 근사방법을 통해 최적 시스템 응답을 찾아낸다. 반응표면법은 어떤 공정이나 시스템으로부터 관측된 자료를 근거로 실제 응답 y 와 k 개의 설계 변수들 사이의 인과 관계를 통계적인 방법으로 찾아낸다.

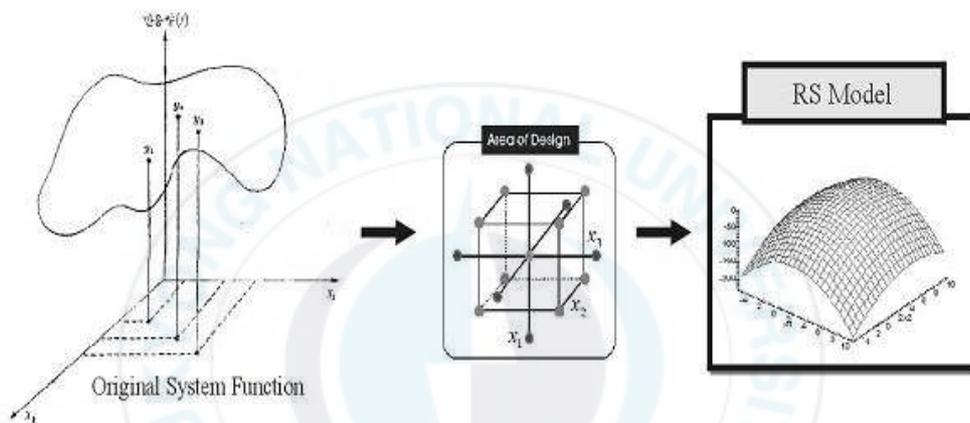


Figure. 2.9 Basic concept of RSM

여기서, 설계변수에 대응되는 출력 값은 일반적으로 실제 실험이나 컴퓨터에 의한 시뮬레이션을 통해 얻어지고, 이 실제 응답 y 는 기댓값 혹은 평균값이다. 따라서 본 논문에서는 설계변수와 출력 값의 대응관계를 MINITAB프로그램을 이용하여 관측 자료를 확보하였으며, k 개의 설계변수에 대한 실제응답 y 는 eq(3)과 같이 가정한다.

$$y = f(X, \theta) \quad \text{eq(3)}$$

식 a-1에서 변수($x_1, x_2, x_3, \dots, x_k$)는 자연변수이고, 실제의 측정 단위를 가진다. 실제 응답함수 f 의 근사함수인 y 는 Taylor 급수 전개를 기본으로 하여 1차 또는 2차 다항 모형으로 근사하게 된다. 본 논문에서 선택한 연구대상의 반응 표면이 곡면으로 표현될 것이라며 예측할 수 있으므로 근사함수를 2차 모형으로 사용하였다. 따라서 실제 응답함수 f 와 근사함수 y 와의 관계는 eq(4)와 같이 표현할 수 있다.

$$y = b_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i \leq j}^k \beta_{ij} X_i X_j \quad \text{eq(4)}$$

ϵ 은 응답의 오차항이고, 변수($x_1, x_2, x_3, \dots, x_k$)는 코드 변수이다.

여기서 ϵ 을 통계적인 오차로 다루고, 일반적으로 평균이 0이고 분산 σ^2 을 가지는 정규분포로 가정한다. 따라서 근사함수로부터 n 개의 샘플 자료에서 추정된 출력값 y 는 행렬의 형태로서 eq(5)와 같이 정리할수있다.

$$y = X\beta + \epsilon \quad \text{eq(5)}$$

여기서 X 는 설계변수 레벨의 행렬, β 는 회귀계수의 벡터, ϵ 은 임의의 오차의 벡터이다. 한편 식-3에서 회귀계수의 벡터는 임의의 오차의 제곱합을 최소로 하는 최소자승법을 이용하여 추정한다. 최소자승함수는 eq(6)과 같다.

$$L = \sum_{i=1}^n \epsilon_i^2 = \epsilon' \epsilon = (y - X\beta)' (y - X\beta) \quad \text{eq(6)}$$

여기서 기호 $\hat{\cdot}$ 는 추정값을 나타낸다. 추정된 $\hat{\beta}$ 벡터에 의하여 근사함수로 추정된 함수 \hat{y} 는 eq(7)을 만족해야 하며, 그 값은 eq(8)과 같이 표현된다. 또한 추정된 $\hat{\beta}$ 벡터에 의해 근사함수로 추정된 함수의 식은 eq(9)와 같다.

$$\frac{\delta L}{\delta \beta} |_{\beta} = -2X'y + 2X'X\hat{\beta} = 0 \quad \text{eq(7)}$$

$$\hat{\beta} = (X'X)^{-1}X'y \quad \text{eq(8)}$$

$$\hat{y} = X\hat{\beta} \quad \text{eq(9)}$$

여기서 행렬 X' 는 행렬 X 의 전치행렬이다. 통계적인 근사방법인 반응표면법은 항상 오차를 포함하고 있으므로 추정된 근사함수의 정도를 확인해야만 한다. 본 논문에서 추정된 근사함수의 정도를 확인하기 위해 분산분석을 이용하였다. table 2.4에서 n 은 실험의 총계이고 k 는 적합한 모델에 대한 설계 변수의 수를 나타낸 것이다. 여기서, 자유도는 주어진 조건하에서 자유롭게 변화할 수 있는 점의 수를 나타낸다. 기호로는 DF라고 표시한다. 총 편차의 제곱합을 총 변동이라 부르고, 총 변동은 eq(10)과 같다.

$$S_{yy} = \sum (y_i - \bar{y})^2 \quad \text{eq(10)}$$

여기서, 하나의 측정값 y_i 과 y_i 들의 평균 \bar{y} 와의 차이를 총 편차라 하면 다음과 같이 두 개의 편차의 합으로 eq(11)과 같다. 하나는 회귀선에 의하여 설명되지 않는 편차이고, 또 하나는 설명되는 편차이다.

$$(y_i - \bar{y}) = (y_i - \hat{y}_i) + (\hat{y}_i - \bar{y}) \quad \text{eq(11)}$$

그러므로 회귀선에 의하여 설명되지 않는 잔차제곱합과 설명이 되는 회귀제곱합으로 나눌 수 있다. 그리고 회귀제곱합은 eq(12)와 같다.

$$SS_R = \sum (\hat{y}_i - \hat{y})^2 \quad \text{eq(12)}$$

또한 잔차 제곱합은 eq(13)과 같이 나타낸다.

$$SS_E = \sum (y_i - \bar{y}_i)^2 \quad \text{eq(13)}$$

결정계수 R^2 은 S_{yy} 와 SS_R 로 eq(14)과 같다.

$$R^2 = \frac{SS_R}{S_{yy}} \quad \text{eq(14)}$$

결정계수는 총변동중에서 회귀선에 의하여 설명되는 변동이 차지하는 비율을 말한다. R^2 을 수정하기 위한 결정계수는 eq(15)와 같다.

$$R_A^2 = 1 - \frac{SS_E/n - k - 1}{S_{yy}/n - 1} \quad \text{eq(15)}$$

Table.2.1에서 보는 것과 같이 평균제곱은 제곱합을 자유도로 나눈 것이다. 총 평균 제곱에 이용되는 오차분산 추정된 값의 잔차 평균제곱에 의하여 제공된 오차분산 추정된 값의 측도 비율을 말한다. F_0 는 F-검정을 위한 검정통계량으로 회귀방정식이 데이터의 성질을 설명하는데 유의 한가 아닌가를 검정한다. 유의수준에서 만약 F_0 의 값이 $F_0 > F(k, n - k - 1; \alpha)$ 이면 회귀방정식이 유의한 것이며, 회귀변동(R)이 상대적으로 잔차변동(E)보다 유의하게 크다. 그러므로 회귀선의 타당성은 의하여 결정된다(A.I Khuri and J.A Comell, 1996).

Table. 2.1 Analysis of variance

요인 Source of Variation	자유도 Degree of Freedom, DF	제곱합 Sum of squares, SS	평균제곱 Mean Squares, MS	Fo	F(α)
회귀	$k - 1$	SS_R	$SS_R/k = MS_R$	MS_R/MS	$F(k, n - k - 1)$
잔차	$n - K - 1$	SS_E	$SS_E/n - k - 1$ $= MS_E$		
총	$n - 1$	S_{yy}			



제 3 장 실험재료 및 방법

3.1 실험 재료 및 장치

본 연구에서 사용된 조류는 거제도에 위치한 (주)클로랜드 회사에서 배양하고 있는 클로렐라를 분양 받아 실험실에서 배양하여 실험을 진행하였다. 실험실 배양은 삼각플라스크를 사용하였으며 용존산소공급을 위하여 공기 주입기를 이용하였다. 조류 배지는 JM배지를 이용하였으며 실험에 사용된 미세조류는 클로렐라로서 배양조에서 10 배 희석하여 실험에 사용한 조류의 OD₆₆₀와 조류를 계수한 값은 각각 0.1602 /cm, 331,333 cell/mL이었다. 현재 우리나라 조류경보제 발령 기준은 5000cell이고 낙동강에서 조류가 가장 심한 경우에는 181,202~ 663,781cell/mL로써 현장 농도와 가깝게 실험을 하였음(한혜진 등 ,2014).

광학 현미경을 400배로 조정하여 관찰한 클로렐라의 모습은 Figure 3.1 과 같고 Figure 3.2는 조류 배양조의 사진이다.



Figure 3.1 Algae observed with microscope



Figure 3.2. Algae cultivation reactor

본 연구에서 사용된 Polyglutamin은 안양시에 있는 H사의 Polyglutamin응집제를 제공받아 실험에 사용되었고, 키토산 응집제는 진주시에 있는 A사의 키토산 응집제를 제공받아 실험에 사용되었다.

천연응집제인 Polyglutamin와 키토산응집제를 이용한 조류의 응집효과를 $OD_{660}(/cm)$ 의 처리효율로 측정하였다. 응집운전 시 Magnetic Stirrer와 Magnetic bar를 이용하여 교반을 하였고, 반응 용기는 250mL의 비커를 사용하였다.

실험 장치 사진은 Figure 3.3과 같다.



Figure 3.3 Test equipment

3.2 천연 응집제를 이용한 조류응집 실험설계

응집 실험 조건으로 pH와 천연 응집제 주입량을 독립변수로 하여 반응표면 분석법에 의하여 실험설계된 pH 조건과 응집제 주입량으로 실험하였다.

키토산 응집제를 이용한 응집실험은 pH 4.95~10.0, 응집제 주입량은 15~60 mg/L으로 주입하여 실험 하였고, 폴리글루타민 응집제를 이용한 응집실험에서는 pH 4.5~9, 응집제 주입량 10~150 mg/L으로 주입하여 실험 하였다.

표 3.1은 반응표면분석법을 이용하여 설계된 키토산응집제의 실험설계조건을 나타내었고, 표3.2는 반응표면분석법을 이용하여 설계된 Polyglutamin 응집제의 실험설계조건을 나타내었다.

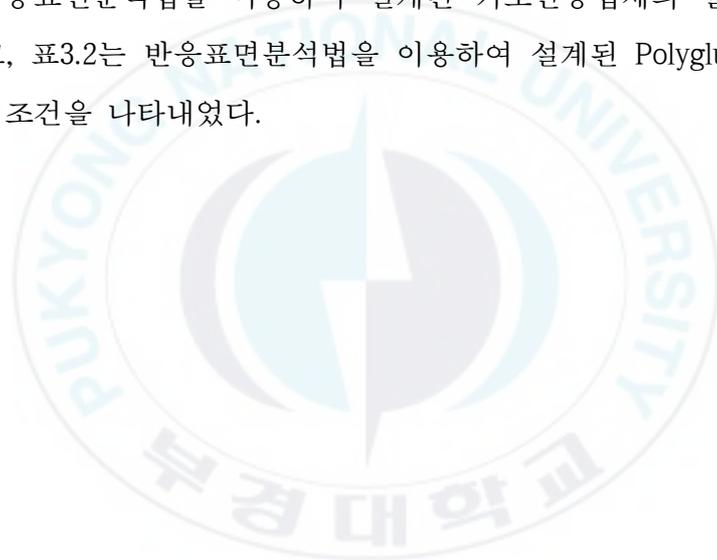


Table 3.1 Experiment condition of Chitosan coagulation

Case	Chitosan	pH
1	37.5	7.50
2	37.5	7.50
3	37.5	10.05
4	60	7.50
5	37.5	4.95
6	52.5	5.80
7	37.5	7.50
8	22.5	5.80
9	22.5	9.20
10	37.5	7.50
11	37.5	7.50
12	15	7.50
13	52.5	9.20

Table 3.2 Experiment condition of Polyglutamin coagulation

Case	Polyglutamine	pH
1	80.0	6.75
2	33.3	5.25
3	80.0	6.75
4	80.0	6.75
5	80.0	6.75
6	80.0	6.75
7	10.0	6.75
8	126.7	5.25
9	150.0	6.75
10	33.3	8.25
11	126.7	8.25
12	80.0	4.50
13	80.0	9.00

3.3 실험 방법 및 조류의 분석

3.3.1 조류의 응집실험 방법

교반은 급속혼합 250RPM 3분, 완속혼합 30RPM 12분, 침전 45분후 오토피펫을 이용하여 채수 하였고 채수 후에는 OD₆₆₀을 측정하였다.

본 실험에서 실시한 응집실험의 실시과정은 다음과 같다.

1. 비커에 시료를 채운다.
2. 실험 조건에 맞는 pH를 0.1N HCL, 0.1N NaOH로 맞추어 준다.
3. 실험 조건에 맞는 응집제를 미리 준비해둔다.
4. 응집제를 주입하고 3분 동안 급속교반한다.
5. 13분 동안 완속교반을 실시한다.
6. 45분 침전이 끝나면 오토피펫을 이용하여 시료를 채수한다.

3.3.2 Sedgewick Rafter Chamber를 이용한 Cell Count

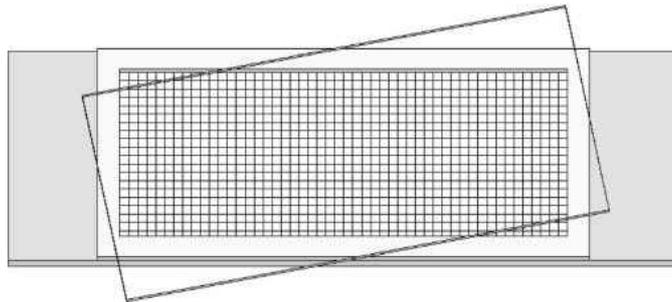


Figure 3.4 Sedgewick Rafter chamber

1. 원수로 사용되는 샘플을 50배 희석한다
2. Sedgewick-Rafter chamber 위에 샘플을 마이크로 피펫을 이용하여 25uL를 올린다
3. 역상현미경을 이용하여 샘플이 마르기전에 계수를 한다
4. 계산식에 넣어서 밀도당 조류의 개수를 계산한다

계산식은 다음과 같다

$$Cell/mL = C \times A \times \frac{1000uL}{sample XuL} \quad eq(16)$$

C : 조류 계수

A : 희석배수

X : Sedgewick-Rafter chamber위에 올려놓은 sample의 양

3.3.3 미세조류 측정을 위한 UV/VIS-Spectrophotometer

본 연구에서 분석된 OD₆₆₀을 이용하여 응집특성을 분석하였다.

태양광은 약 100~2500nm까지의 파장대를 포함하고 있는데 이중 절반이하의 파장이 광합성에 이용된다. 또한 미세조류 광합성에 사용되는 파장은 약 400~700 nm 파장대로 알려져 있기 때문에(최창규, 2015) OD 660nm에서 조류의 cell개수의 제거율을 간접적으로 측정하는데 사용되었다. Spectrophotometer는 SCINCO Mega-2100 Spectrophotometer를 사용하였고 사양은 Table 3.3 과 같다.

Table 3.3 SCINCO Mega -2100 Specifications

SCINCO Mega -2100 Specifications	
Lamp Sources	Deuterium and Tungsten Lamp
Wavelength Range	190 nm ~ 1100 nm
Spectral Bandwidth	Variable(0.5,1.0,2.5,5.0,10,20 nm)
Photometric Range	-4.0 to 4.0 Abs.

3.4 OD₆₆₀ 과 조류수의 상관관계

Figure 3.5는 OD scan을 한 그림이고, OD₆₆₀에서 0.1038 /cm로 측정된 조류 sample 1의 cell 개수는 212,300 cell/mL이고, OD₆₆₀에서 0.0515 /cm로 측정된 조류 sample 2의 cell 개수는 105,300cell/mL로 sample.1을 sample.2로 나누어준 Cell 계수값, OD₆₆₀ 값이 각각 2.0155, 2.0161로써 거의 같은 값으로 측정되어 조류의 수와 OD₆₆₀을 측정을 하여 회귀분석을 하였다. Table 3.4은 임의로 희석이 된 샘플 1, 2의 OD scan 값을 나타낸 표이다.

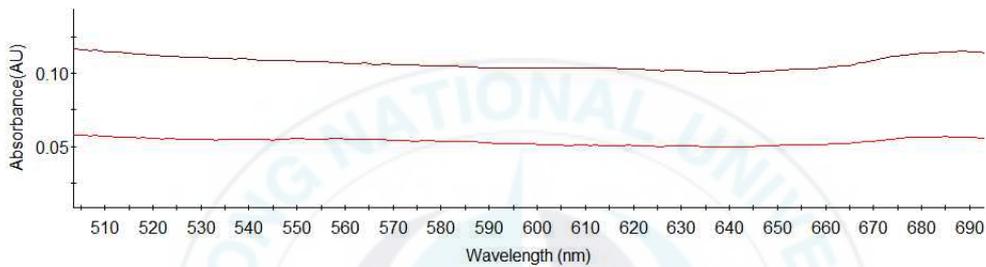


Figure 3.5 OD scan result for algae

Table 3.4 Calculated algae cell count and OD₆₆₀ spectrum

	440nm	465nm	590nm	660nm	algae cell count (cell/mL)
sample.1	0.1333	0.1265	0.1038	0.1038	212,300
sample.2	0.065	0.0624	0.0524	0.0515	105,300
sample1/sample 2	2.0507	2.0272	1.9809	2.0155	2.0161

Figure 3.6 에 분석한 모델에 대한 관측치의 변동성 분포를 파악하기 위하여 95 % 예측구간(PI, Predict Interval)과 95% 신뢰구간(CI, Confidence Interval)이 적용된 적합선 그래프를 나타내었으며, 조류계수와 OD₆₆₀ 값에 대한 실측치의 값은 0.998로 예측치의 높은 적합도를 보여주었고, Figure 3.6의 회귀식은 eq. (17)과 같다. Table.3.5는 측정된 OD₆₆₀ 값을 조류 계수한 표이다.

Table 3.5 Calculated algae cell count and OD₆₆₀

cell/mL	OD ₆₆₀
33133	0.0175
66267	0.0363
99400	0.0501
132533	0.0655
165667	0.0814
198800	0.1009
231933	0.1160
265066	0.1325
298200	0.1413
331333	0.1620

$$\text{조류수(cell/mL) predicted} = -6001 + 2083394 \text{ OD}_{660} \text{ experimented} \quad \text{eq(17)}$$

Table 3.6 Regression Analysis algae cell count(cell/mL) versus OD₆₆₀

	Source	DF	SS	MS	F	P
OD ₆₆₀	Regression	1	8.98843E+10	8.98843E+10	1048.99	<0.000
	Error	8	6.85489E+08	8.56861E+07		
	Total	9	9.05698E+10			

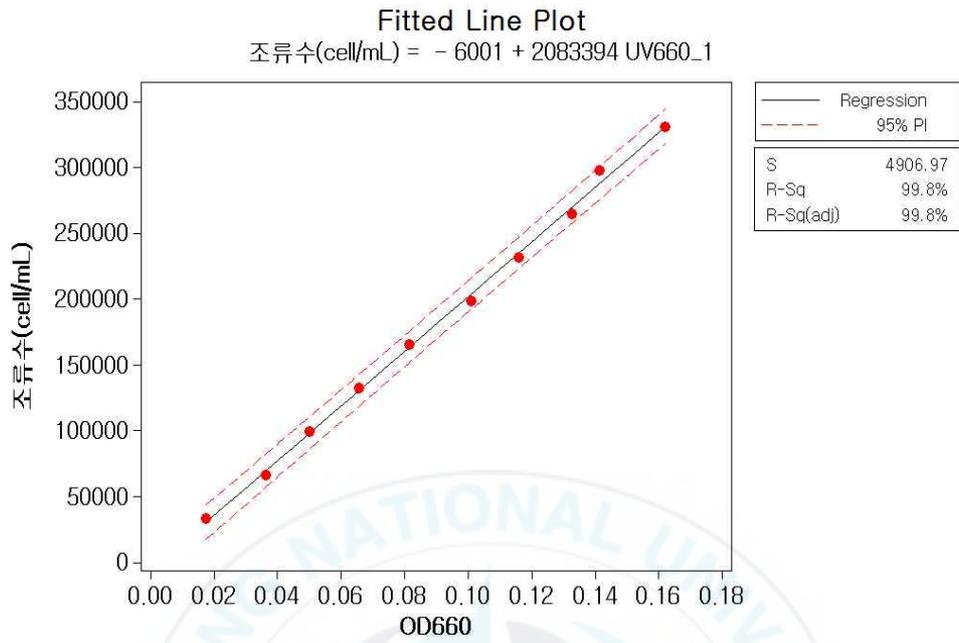


Figure 3.6 Algae as Cell Counts vs OD₆₆₀ regression analysis

제 4 장 결과 및 고찰

4.1. Chitosan을 이용한 조류 제거

4.1.1 Chitosan 주입량 및 pH에 따른 OD₆₆₀ 변화

키토산 응집제를 이용한 응집을 통해 키토산 응집제 주입량과 pH의 변화에 따른 OD₆₆₀ 제거율의 관계는 통계 프로그램인 Minitab의 반응표면분석법-중심합성계획을 통하여 구하였으며, 결과는 Table 4.1에 나타내었다. 초기 OD₆₆₀ 값은 0.16 cm⁻¹이었으며, 최대 78.5%, 최소 0.87%의 제거율을 나타내었다.

pH가 7일 때 키토산응집제 주입량에 따른 OD₆₆₀ 제거율을 비교하였을 키토산 응집제 주입량에 따라 점차적으로 증가하다 37.5mg/L 부근에서 75%로 최적의 제거율을 보이고 응집제 주입량이 49mg/L을 넘어가자 다시 감소하는 추세를 나타내었고, pH와 응집제 주입량에 따른 처리 효율이 변화하는 것을 확인할 수 있었고, 응집제 주입량 30~49 mg/L, pH 4.7 ~ 7.85에서 OD₆₆₀ 75%이상의 제거 되는 것을 확인할 수 있었다.

실험에 사용된 조류의 농도는 OD₆₆₀ 값으로 0.16 cm⁻¹이었으며, Case 9(pH 9.2, 키토산응집제 주입량 22.5mg/L)에서 가장 높은 값인 0.1586 cm⁻¹로 측정되었고 이때의 처리효율은 0.87 %로 거의 처리 되지 않았다. 반면 case 1, 2, 7, 10, 11(pH 7.5, 키토산응집제 주입량 37.5 mg/L)에서 가장 낮은 값인 0.0343으로 측정되었다, 이때의 처리효율은 78.5%로 나타났다. 이처럼 pH가 7~8일 때 가장 높은 처리효율을 보이고 7이하 8이상에서는 응집효율이 20% 이하로 낮은 처리효율을 보였는데 이는 키토산 응집제를 이용한 응집실험에서

pH 7~8에서 높은 처리효율을 보인다는 연구 결과와 잘 일치한다(Sara ann et al., 2014). 따라서 pH 7~8에서의 응집제의 양을 충분히 고려할 필요가 있을 것으로 사료된다.

Figure 4.1은 응집제 주입량과 pH에 따른 OD₆₆₀의 제거 효율 변화를 나타낸 등고선이며, Fig4.2는 Fig4.1을 3차원으로 표현한 표면도이다.



Table 4.1 $OD_{660}(cm^{-1})$ and OD_{660} removal efficiency of micro-algae in Chitosan flocculant process on each case

Case	Chitosan	pH	OD_{660} (cm^{-1})	OD_{660} Removal Efficiency(%)
1	37.5	7.50	0.0343	78.5
2	37.5	7.50	0.0343	78.5
3	37.5	10.05	0.1566	2.12
4	60	7.50	0.0495	69.0
5	37.5	4.95	0.1362	14.8
6	52.5	5.80	0.1350	15.6
7	37.5	7.50	0.0343	78.5
8	22.5	5.80	0.0791	50.5
9	22.5	9.20	0.1586	0.87
10	37.5	7.50	0.0343	78.5
11	37.5	7.50	0.0343	78.5
12	15	7.50	0.1576	1.5
13	52.5	9.20	0.1554	2.9

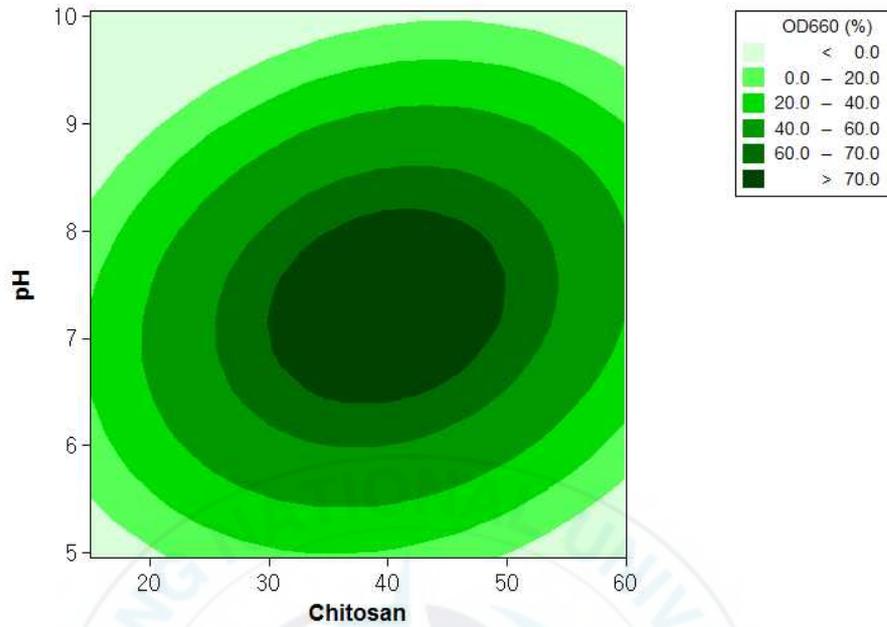


Figure 4.1 Contour plots of interactions of variables Chitosan (mg/L) and pH and its effect on OD₆₆₀ removal efficiency (%) of micro-algae.

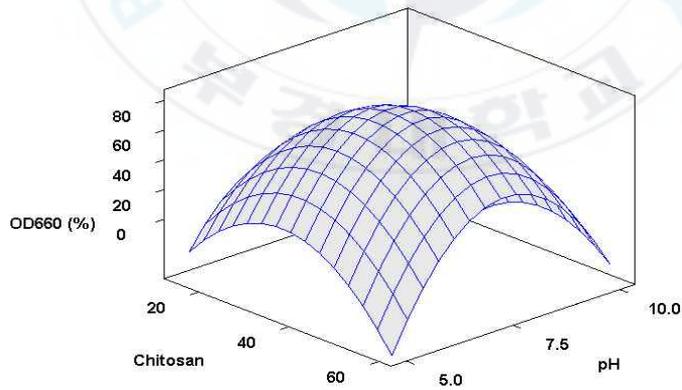


Figure 4.2 Three-dimensional response surface plots of Chitosan (mg/L) and pH and its effect on OD₆₆₀ removal efficiency (%) of micro-algae.

4.1.2 Chitosan 및 pH에 따른 OD₆₆₀ 반응모델 추정

Table 4.1은 통계 프로그램인 Minitab을 이용하여 pH, 키토산응집제 주입량의 변화에 따른 조류의 OD₆₆₀ 제거율에 미치는 영향을 파악하기 위해 반응표면분석법-중심합성계획을 통하여 구하였다.

Table. 4.3은 분산분석(ANOVA, Analysis of Variance)을 통하여 회귀반응의 적절성을 검토하였다. 선형방정식과 선형상관방정식의 유의성을 나타낼 때는 T값은 클수록, P값은 작을수록 높은 중요도임을 알 수 있다(Mahsa et al., 2014). P값은 각 계수의 중요성을 확인하는 도구로써 95%의 신뢰수준으로 설정하였을 때 P값이 0.05보다 작은 값을 가져야 유효하다.

관측 값과 예측 값 사이의 상관관계를 나타내는 결정계수(R²)는 1에 가까울수록 상관관계가 있음을 나타낸다. 결정계수(R²)는 0.8354로 83.54 %의 상관관계가 있는 것으로 나타났다. Table. 4.2에 나타난 독립변수들의 기본단위가 다르기 때문에 변수들을 코드화하여 상관계수를 산출하였다. 실제독립변수인 Chitosan 주입량(mg/L)과 pH변화에 따른 반응변수인 조류제거 y를 구하기 위하여 코드화 되지 않은 독립변수를 사용하여 Chitosan 주입량(X₁,mg/L), pH(X₂)에 따른 조류제거율을 구하였다. 식은 eq(18)과 같다.

$$y = -578.569 X_1 + 153.369 X_2 - 0.0133439 X_1^2 - 11.5063 X_2^2 + 0.135800 X_1 * X_2 \quad \text{eq.(18)}$$

Table 4.2 Estimated regression coefficients for Chitosan algae removal efficiency

Term	Coef	SE_Coef	T	P
Constant	78.034	8.480	9.202	0.000
Chitosan	8.048	6.522	1.234	0.257
pH	-9.596	6.522	-1.471	0.185
Chitosan*Chitosan	-21.350	6.606	-3.232	0.014
pH*pH	-33.253	6.606	-5.033	0.002
Chitosan*pH	9.234	9.507	0.971	0.364

S = 19.0145 PRESS = 18205.4
R-Sq = 83.54% R-Sq(pred) = 0.00% R-Sq(adj) = 71.78%

Table 4.3 Analysis of variance for Chitosan algae removal(OD₆₆₀) efficiency(%)

Source	DF ^a	Seq SS ^b	Adj SS ^c	Adj MS ^d	F-value	P-value
Regression	5	12841.2	12841.2	2568.24	7.1	0.011
Linear	2	1333.2	1333.2	666.58	1.84	0.227
Square	2	11166.9	11166.9	5583.46	15.44	0.003
Interaction	1	341.1	341.1	341.09	0.94	0.364
Residual Error	7	2530.9	2530.9	361.55		
Lack-of-Fit	3	2530.9	2530.9	843.62	*	*
Pure Error	4	0	0	0		
Total	12	15372.0				

^a Degree of freedom ^b Sequential sums of squares ^c Adjust sums of squares ^d Adjust mean squares

또한 Figure 4.3에 분석한 모델에 대한 관측치의 변동성 분포를 파악하기 위하여 95% 신뢰구간(CI, Confidence Interval)이 적용된 적합선 그래프를 나타내었으며, 조류의 OD660 제거율과 조류계수의 제거율에 대한 실측치 대비 예측치의 높은 적합도를 보여주었다. Figure 4.4의 회귀식은 eq. (19) 같으며 회귀분석에 대한 분산분석(ANOVA, Analysis of Variance)을 통하여 회귀반응의 적절성을 검토한 것이다.

$$OD_{660} \% \text{ predicted} = 6.970 + 0.8354 OD_{660}(\%) \text{ experimented} \quad \text{eq.(19)}$$

Table 4.4 Analysis of variance of Chitosan algae removal efficiency (predicted and experimented)

	Source	DF	SS	MS	F	P
OD ₆₆₀	Regression	1	10727.0	10727.0	55.81	<0.000
	Error	11	2114.2	192.2		
	Total	12	12841.2			

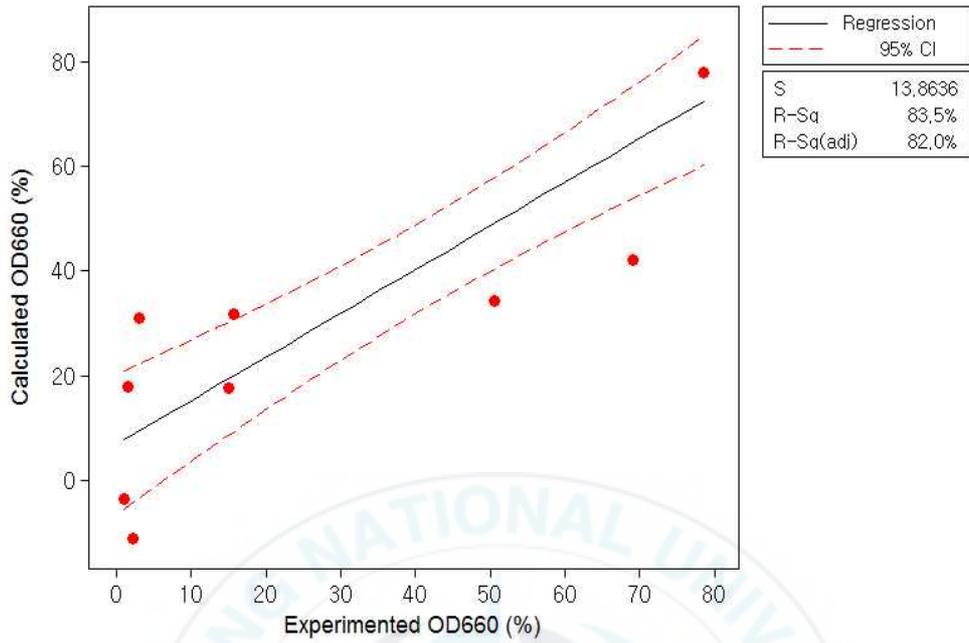


Figure. 4.3 Regression analysis of Chitosan algae removal efficiency(predicted and experimented)

Figure. 4.4는 각 독립변수의 주효과도를 나타낸 그래프로써, 주효과도의 기울기가 클수록 주효과가 큰 것을 나타낸다(오태협, 2016). 분석 결과 OD₆₆₀ 제거율에서 키토산보다 pH의 영향이 더 큰 변수로 작용하는 것으로 나타났다.

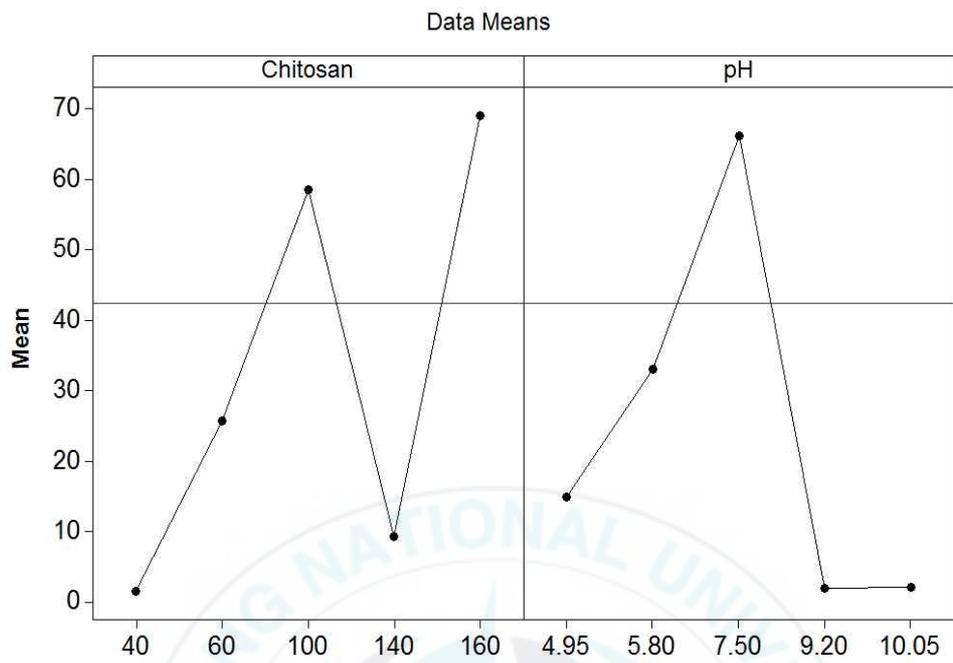


Figure. 4.4 Main Effects Plot for algae removal efficiency of Chitosan coagulant

4.2. Polyglutamin을 이용한 조류제거

4.2.1 Polyglutamin 및 pH 농도에 따른 OD₆₆₀ 변화

폴리글루타민 응집제를 이용한 응집을 통해 폴리글루타민 응집제 주입량과 pH 변화에 따른 제거율의 관계를 통계 프로그램인 Minitab의 반응표면분석법-중심합성계획을 통하여 구하였으며, 결과는 Table 4.5으로 나타내었다.

pH가 6일 때 키토산응집제 주입량에 따른 OD₆₆₀ 제거율을 비교하였을 폴리글루타민 응집제 주입량에 따라 점차적으로 증가하다 80mg/L 부근에서 98%로 최적의 제거율을 보이고 응집제 주입량이 125mg/L을 넘어가자 다시 감소하는 추세를 나타내었고, pH 와 응집제 주입량에 따른 처리 효율이 변화 하는 것을 확인 할수 있었다.

원수인 조류의 OD₆₆₀ 값은 0.16/cm이었으며, Case 7(pH 6.75, 폴리글루타민 응집제 주입량 10mg/L)에서 가장 높은 값인 0.0857cm⁻¹로 측정 되었고 이때의 처리효율은 46.66%로 처리되었다. 반면 case 1 ,3 ,4 ,5 ,6 (pH 7.5 , 폴리글루타민 응집제 주입량 100mg/L)에서 가장 낮은 값인 0.0026으로 측정되었다, 이때의 처리효율은 98.38%로 나타났다. pH가 9에서 5로 내려갔을 때 응집제의 양이 100mg/L에서 70mg/L로 내려가도 100%의 처리효율을 나타내는데 이는 pH가 낮아질수록 응집이 잘되는 연구결과와 잘 일치한다(Makoto Taniguchi et al,2005). 응집제 주입량을 70~140mg/L으로 조정한다면 pH에 상관없이 90%이상의 제거효율을 얻을 수 있을 것으로 사료되지만 낮은 pH일수록 좀더 높은 효율을 나타낼 것으로 사료된다. Figure 4.5는 폴리글루타민 응집제 주입량과 pH에 따른 OD₆₆₀의 제거율을 나타낸 등고선이며, Fig4.6은 Fig4.5를 3차원으로 표현한 표면도이다.

Table 4.5 OD₆₆₀(cm⁻¹) and OD₆₆₀ removal efficiency of micro-algae in Chitosan flocculant process on each case

Case	Polyglutamine	pH	OD ₆₆₀ (cm ⁻¹)	OD ₆₆₀ Removal Efficiency(%)
1	80.0	6.75	0.0026	98.38
2	33.3	5.25	0.0114	92.88
3	80.0	6.75	0.0026	98.38
4	80.0	6.75	0.0026	98.38
5	80.0	6.75	0.0026	98.38
6	80.0	6.75	0.0026	98.38
7	10.0	6.75	0.0857	46.44
8	126.7	5.25	0.0066	95.86
9	150.0	6.75	0.0042	97.38
10	33.3	8.25	0.0548	65.74
11	126.7	8.25	0.0023	98.54
12	80.0	4.50	0.0059	96.31
13	80.0	9.00	0.0177	88.94

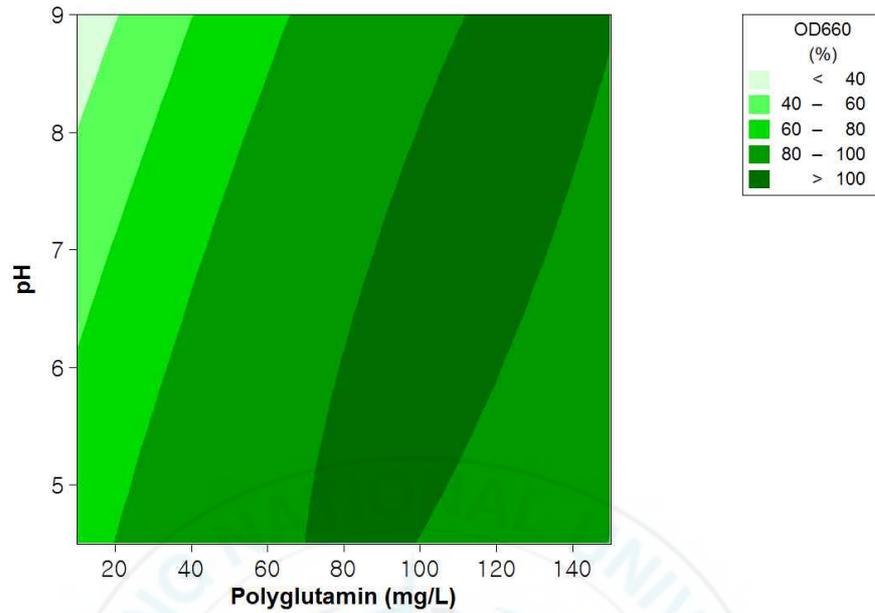


Figure 4.5 Contour plots of interactions of variables Polyglutamin(mg/L) and pH and its effect on OD₆₆₀ removal efficiency (%) of micro-algae.

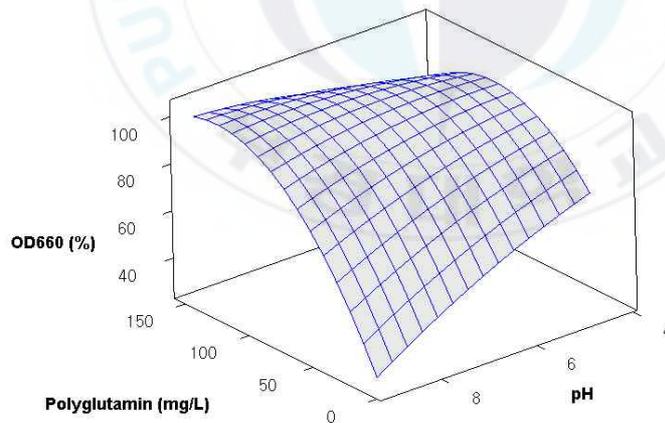


Figure 4.6 Three-dimensional response surface plots of Polyglutamin(mg/L) and pH and its effect on OD₆₆₀ removal efficiency (%) of micro-algae.

4.3.2 Polyglutamin 및 pH 농도에 따른 OD₆₆₀ 반응모델추정

Table 4.6은 통계 프로그램인 Minitab을 이용하여 pH, 폴리글루타민응집제 주입량의 변화에 따른 조류의 OD₆₆₀ 제거율에 미치는 영향을 파악하기 위해 나타내었다. Table. 4.7는 분산분석(ANOVA, Analysis of Variance)을 통하여 회귀반응의 적절성을 검토하였다. 선형방정식과 선형상관방정식의 유의성을 나타낼 때는 T값은 클수록, P값은 작을수록 높은 중요도임을 알 수 있다 (Mahsa et al., 2014). P값은 각 계수의 중요성을 확인하는 도구로써 95%의 신뢰수준으로 설정하였을 때 P값이 0.05보다 작은 값을 가져야하고 90%의 신뢰수준으로 설정하였을 경우에는 0.1 보다 작은 값을 가져야 유효하다 할 수 있다.

조류의 OD₆₆₀ 제거율에 관한 선형방정식의 독립변수와 독립변수의 제곱 및 교차항의 P-value가 Polyglutamin 주입량은 0.05보다 작은 값을 가지기 때문에 본 모델은 95 %의 신뢰수준에서 폴리글루타민응집제 주입량의 변화에 따른 조류의 OD₆₆₀ 제거율에 영향을 미치는 인자라고 할 수 있고, P-value가 Polyglutamin 주입량은 0.1보다 작은 값을 가지기 때문에 본 모델은 90 %의 신뢰수준에서 pH의 변화에 따른 조류의 OD₆₆₀ 제거율에 영향을 미치는 인자라고 할 수 있다. OD₆₆₀ 제거율을 나타내기 적합한 것으로 판단된다. 또한 관측 값과 예측 값 사이의 상관관계를 나타내는 결정계수(R²)는 1에 가까울수록 상관관계가 있음을 나타낸다. 결정계수R²은 0.8354로 83.54 %의 상관관계가 있는 것으로 나타났다. Table. 4.6에 나타난 독립변수들의 기본단위가 다르기 때문에 변수들을 코드화하여 상관계수를 산출하였다. 실제독립변수인 Polyglutamin 주입량(mg/L)과 pH변화에 따른 반응변수인 조류제거 y를 구하기 위하여 코드화 되지 않은 독립변수를 사용하여 조류제거율을 구하였다. 식은 eq(20)과 같다.

$$y = 85.1896 + 0.367044 X_1 - 0.947050 X_2 - 0.00501925 X_1^2 - 0.767422 X_2^2 + 0.106501 X_1 X_2 \quad \text{eq.(20)}$$

Table 4.6 Estimated regression coefficients for Polyglutamin algae removal efficiency

Term	Coef	SE_Coef	T	P
Constant	98.582	2.409	40.917	0.000
Polyglutamin	13.200	1.853	7.124	0.000
pH	-4.181	1.853	-2.256	0.059
Chitosan*Chitosan	-10.932	1.877	-5.825	0.001
pH*pH	-1.727	1.877	-0.920	0.388
Polyglutamin*pH	7.456	2.701	2.760	0.028

S = 5.40221 PRESS = 1467.71
R-Sq = 93.30% R-Sq(pred) = 51.83% R-Sq(adj) = 88.51%

Table 4.7 Analysis of variance for algae removal(OD₆₆₀) efficiency(%) of Chitosan

Source	DF ^a	Seq SS ^b	Adj SS ^c	Adj MS ^d	F-value	P-value
Regression	5	2842.73	2842.73	568.546	19.48	0.001
Linear	2	1629.71	1629.71	814.855	27.92	0.000
Square	2	990.67	990.67	495.337	16.97	0.002
Interaction	1	222.34	222.34	222.345	7.62	0.028
Residual Error	7	204.29	204.29	29.184		
Lack-of-Fit	3	204.29	204.29	68.096	*	*
Pure Error	4	0.00	0.00	0.000		
Total	12	3047.02				

^a Degree of freedom ^b Sequential sums of squares ^c Adjust sums of squares ^d Adjust mean squares

또한 Figure 4.7 에 분석한 모델에 대한 관측치의 변동성 분포를 파악하기 위하여 95% 신뢰구간(CI, Confidence Interval)이 적용된 적합선 그래프를 나타내었으며, 조류의 OD660 제거율과 조류계수의 제거율에 대한 실측치 대비 예측치의 높은 적합도를 보여주었다. Figure. 4.7 의 회귀식은 eq(21) 이며 회귀분석에 대한 분산분석(ANOVA, Analysis of Variance)을 통하여 회귀반응의 적절성을 검토한 것이다.

The regression equation is
 $OD_{660} (\%) \text{ predicted} = 6.055 + 0.9330 OD_{660} (\%) \text{ experimneted}$ eq(21)

Table. 4.8 Analysis of variance of Polyglutamin algae removal efficiency (predicted and experimented)

	Source	DF	SS	MS	F	P
OD ₂₅₄	Regression	1	2652.12	2652.12	153.06	0.000
	Error	11	190.60	17.33		
	Total	12	2842.72			

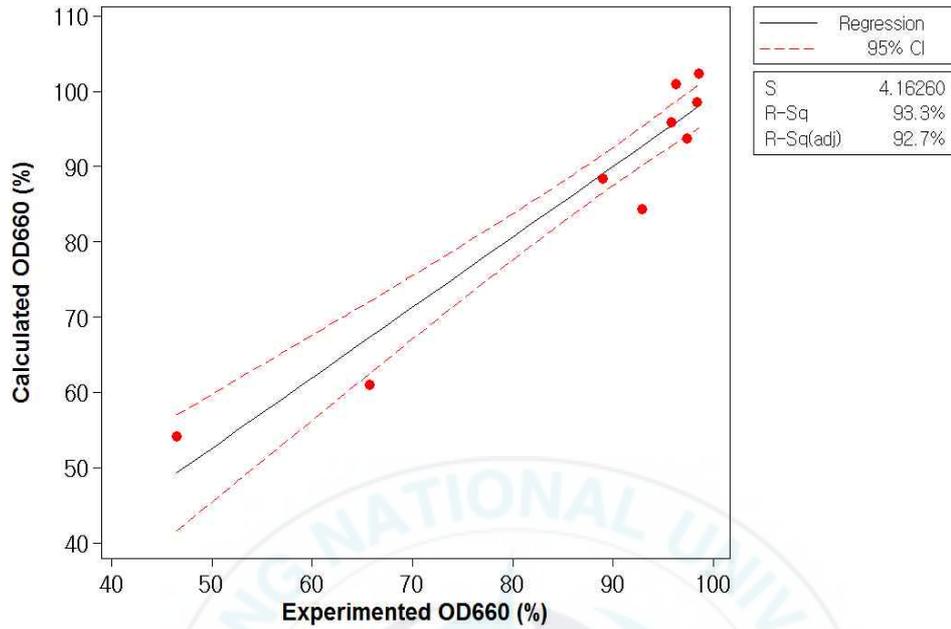


Figure 4.7 Regression analysis of Polyglutamin algae removal efficiency(predicted and experimented)

Fig. 4.8은 각 독립변수의 주효과도를 나타낸 그래프이다. 주효과도는 기울기가 클수록 주효과가 큰 것을 나타낸다(오태협, 2016). 분석 결과 OD₆₆₀ 제거율에서 pH의 영향보다 Polyglutamin 응집제 주입량이 더 큰 영향을 가지는 것으로 보여진다.

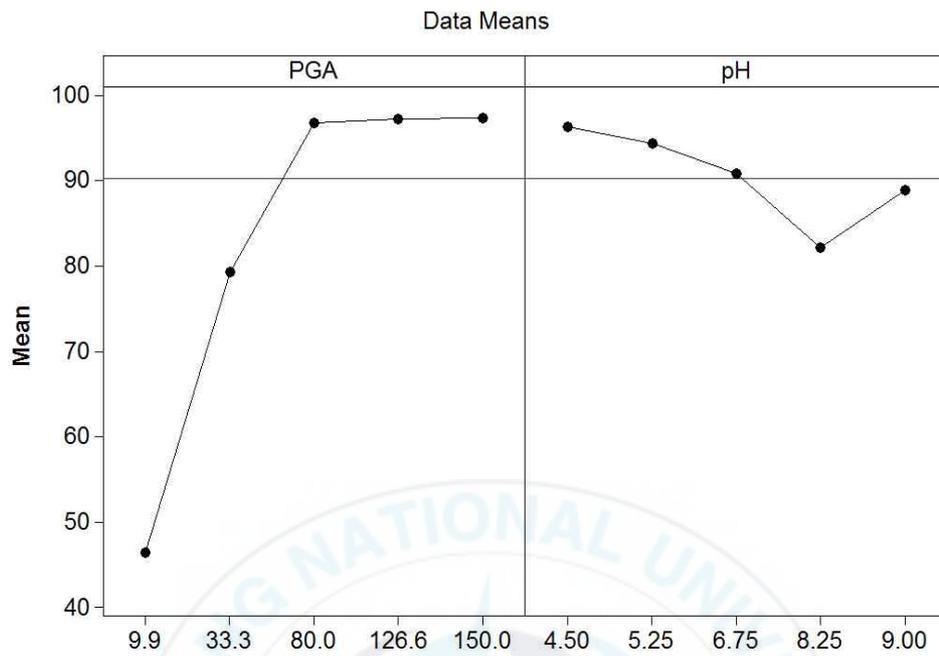


Figure 4.8 Main Effects Plot for algae removal efficiency of Polyglutamin coagulant

4.3. 천연응집제에 의한 조류제거 최적화

4.4.1 반응표면분석 모델을 이용한 천연응집제의 조류제거 최적화

실험의 반응 변수가 하나 또는 여러 개일 경우 이들의 반응 변수의 목표 값을 만족시키는 인자의 최적 조합을 찾아내는 것을 반응 최적화 도구(Response Optimizer)라고 한다. 각각의 반응변수에 대한 개별 만족도(d)를 구한 후 결합 또는 합성된 만족도(D)를 구하기 위하여 개별 만족도(d)를 결합한다. 합성된 만족도(D)를 최대화하고, 인자의 최적 조건을 확인하는 방법이다. 여기서 만족도(Desirability)란 반응 최적화에서 솔루션이 모든 반응에 대한 목표를 전체적으로 만족하는 정도를 측정하는 측도를 말한다(이레테크, 2005).

본 연구에서는 조류응집의 pH와 응집제 주입량을 이용한 조류응집 제거율에 대한 반응 최적화 그래프를 통하여 Figure 4.9 과 같이 키토산 응집제에 대한 인자의 최적 조건을 확인했으며, Figure 4.10 과 같이 Polyglutamin응집제 또한 동일한 방법으로 pH와 응집제 주입량의 제거율에 대한 최적 조건을 확인하였다. 키토산 응집제와 Polyglutamin 응집제 각각 최적 조건을 확인 하였다.

Chitosan의 경우 키토산 응집제 주입량 40mg/L, pH 7.3으로 최적 조건을 확인 하였고, Polyglutamin의 경우 Polyglutamin 응집제 주입량 115mg/L, pH 7.5으로 최적 조건을 확인 하였다.

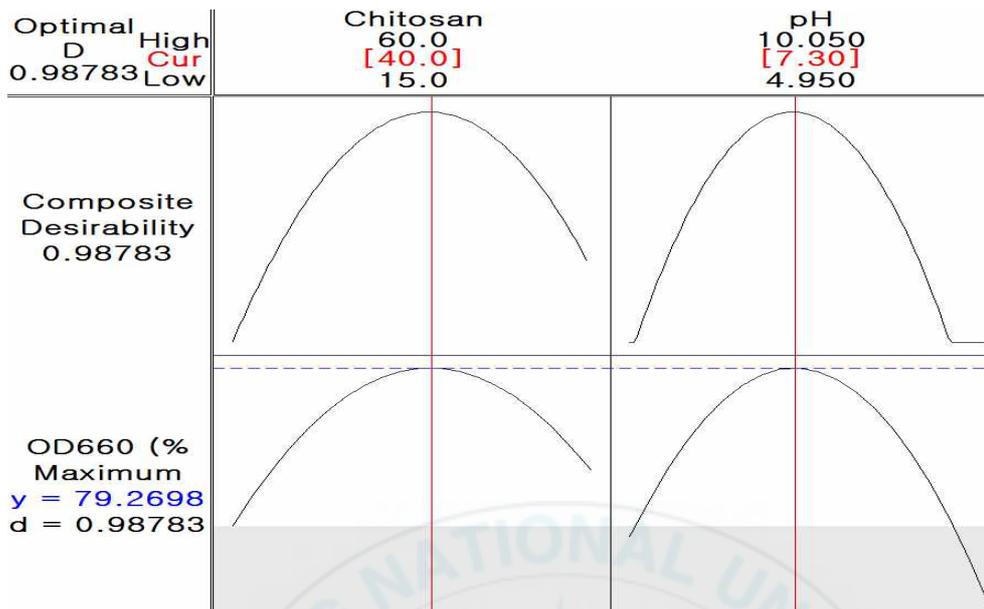


Figure 4.9 Optimization of response to algae removal efficiency of Chitosan

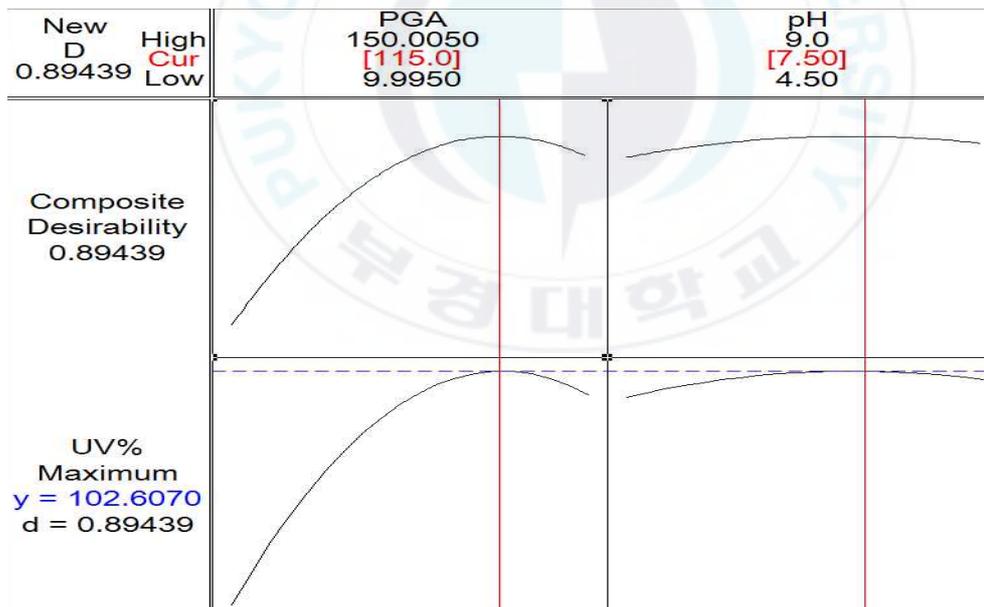


Figure 4.10 Optimization of response to algae removal efficiency of polyglutamine

제 5 장 결 론

조류의 응집공정에서 천연응집제인 Polyglutamin와 Chitosan을 주입하여 응집제 주입량과 pH를 변화 시키며 반응표면분석법에 의하여 실험을 진행하고 모형을 선정 한 뒤 운전인자의 최적화를 진행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 조류의 수가 2배 차이를 보이는 두 시료를 spectrophotometer로 scan 한 결과 두 시료의 OD₆₆₀ 값에서 2배 차이를 보여 OD₆₆₀ 값에서 2배의 차이를 보여 OD₆₆₀ 값이 조류의 수를 나타내는 지표로 사용할 수 있음을 확인하였다.
2. OD₆₆₀과 조류의 수를 후기분석한 결과 R²의 값은 99.8%이며 P는 0.001 이하로써 높은 상관관계를 보여 OD₆₆₀ 값(X)을 통해 다음식과 같이 $y = -6001 + 2083394 X$ 조류의 수(y, cell/mL)의 변화 예측이 가능하였다.
3. 천연응집제인 Chitosan과 Polyglutamin 주입량(X₁, mg/L)과 pH(X₂)에 따른 조류 제거효율(y, %) 모델의 R² 값은 Chitosan의 경우 83.5%, Polyglutamin의 경우 93.3%로 나타났으며 조류의 제거효율 모델식은 다음과 같이 도출되었다.
Chitosan에 의한 조류제거효율
$$y = -578.5 + 1.851X_1 + 153.4X_2 - 0.013X_1^2 - 11.51X_2^2 + 0.136X_1X_2$$

Polyglutamin에 의한 조류제거 효율
$$y = -85.18 + 0.367X_1 - 0.947X_2 - 0.00501X_1^2 - 0.767X_2^2 + 0.106X_1 * X_2$$
4. 주 효과도 분석결과 Chitosan의 경우는 주입량과 pH가 유사한 영향을 주었으며, Polyglutamin의 경우는 Polyglutamin 주입량이 pH의 영향보다 컸다.
5. 반응 최적화 도구를 통하여 Chitosan을 사용한 응집공정에서 Chitosan 주입량 40mg/L와 pH7.3에서 최대효율 79.2%를 얻을 수 있었다. 또한 Polyglutamin을 사용한 응집공정에서는 Polyglutamin 주입량을 115mg/L와 pH 7.5에서 최대효율 100%를 얻을 수 있었다.

참 고 문 헌

- A.C.Rodrigues, M.Boroski, N.S.Shimada, J.C.Garcia, J.Nozaqi, N.Hioka (2008) Treatment of paper pulp mill wastewater by coagulation–flocculation followed by heterogenous photocatalysis, *J.Photochem.Photobiol. A Chem.*, 194, 1–10
- Anil Kumar (2013) Sedimentation Aided With Coagulation Methods Of Purification Of Water
- AWWA and ACSE (1990) Water Treatment Plan Design, Second Edition, *ASCE and AWWA McGraw-Hill*, Inc., New York.
- Bhattacharyya, D., Hestekin, J.A., Brushaber, P., Cullen, L., Bachas, L.G., Sikdar, Sk.K. (1998) Novel polyglutamic acid functionalized
- Bodnar,M., Kjonikse,A.L., Molnar,R.M., Hartmann,J.F., Daroczi,L., Nystromb,B., Borbely,J. (2008) Nanoparticles formed by complexation of poly-gamma-glutamic acid with lead ions.*J.Hazard.Mater*, 153, 1185–1192
- D.Zeng, J.Wu, J.F.Kennedy (2008) Application of a chitosan flocculant to water treatment, *Carbohydr. Polym.*71, 135–139
- F. Camacho Rubio, F. Garcí a Camacho, J. M. Ferná ndez Sevilla, Y. Chisti, E. Molina Grima (2003) A Mechanistic Model of Photosynthesis in Microalgae, *Biotechnology and Bioengineering*, 81(4), pp 459–473
- F. Renault, B. Sancey, P.M. Badot, G. Crini, Chitosan for coagulation/flocculation processes An eco-friendly approach, *Eur.Polym.J.* 45(2009), 1337–1348
- F.H.Chi, W.P.Cheng (2006) Use of chitosan as a coagulant to treat wastewater from milk processing plant, *J.Polym.Envirón.*,13, 411–417
- G.A.F. Roberts (1992) Chitin Chemistry, MacMillan, London, UK, 192, Ch.4
- Ishwar Bajaj, Rekha Singhal (2011) Poly (glutamic acid) – An emerging biopolymer of commercial interest, *Bioresource Technology*

- J.P.Wang, Y.Z.Chen, X.W.Ge, H.Q.Yu (2007) Optimization of coagulation–flocculation process for a paper–recycling wastewater treatment
- Khuri, A.I. and Cornell, J.A., 1996, Response surface, Design and analysis, 2nd ed. Marcel Dekker Inc., New York.
- Lee, S.H (2008) engineering statistics using Minitab analysis, *Jireh Tech corp.*
- Louis Ravina (1993) Everything You Want To Know About Coagulation & Flocculation, 4th Edition, Zeta–Meter, Inc.
- Mahsa, M., Farshid, G. (2014) Application of response surface method for coagulation process in leachate treatment as pretreatment for fenton process : Biodegradability improvement, *Journal of Water Process Engineering*, 4, pp.67–73.
- Masaharu Takemura (2009) Bio Chemistry, Japanese Edition
- Maya S., Prakash T., Madhu KD., Goli D. (2016) “Multifaceted effects of aluminium in neurodegenerative diseases; review” *Biomedicine & Pharmacotherapy* vol83, p 746–754
- Nurudeen Abiola Oladoja (2015) Headway On Natural Polymeric Coagulants In Water And Wastewater Treatment Operations, *Journal of Water Process Engineering*
- Philip Sze (2003) A Biology of the Algae, 3rd Edition
- Sara ann Fast, Bahareh Kokabian, Veera Gnaneswar Gude (2014) Chitosan enhanced coagulation of algal turbid waters– Comparison
- Seung Phill Choi, Sang jun Sim (2012) Microalgal Bioconversion to Organic Resources form CO₂, *KIC News*, 15(2).
- Surk Key Kong, Nakajima Toshiuki (2001) Effect of Bacterial and Algal Symbiotic Reaction on the Removal of Organic Carbon in River
- TAIZ, L. and ZEIGER, E. (2010) Plant Physiology, 5th Edition. The Benjamin Cummings Publishing Company, Redwood City - California.
- US EPA(2014) conventional treatment, drinking water treatability data base

- Valquiria Campos, Ana R.A.C. Fernandes, Thales. A.M. Medeiros, Erik L. Andrade (2016) Physiochemical Characterization And Evaluation Of Polyglutamin Bioflocculant In Coagulation-Flocculation And Sedimentation Processes, *Journal of Environmental Chemical Engineering*
- W.P.Cheng, F.H.Chi, R.F.Yu, Y.C.Lee, (2005) Using Chitosan as a coagulant in recovery of organic matters from the mash and lauter wastewater of brewery, *J.Polym.EnvIRON*,13, 383-388
- Y.C.Chung (2006) Improvement of aquaculture wastewater using chitosan of different degrees of deacetylation, *Environ.Technol.*27, 1199-1208
- 강영희(2008) 생명과학대사전, 아카데미서적
- 김석구, 김동관, 강성원, 안재환, 김일호, 윤상린, 이상협, 이원태(2013) 천연 무기 응집제를 이용한 조류 제거, 한국건설기술연구원
- 김인정(2011) “PAC와 alum을 이용한 하수 인 제거 응집공정의 최적화를 위한 반응표면분석법의 적용”부경대학교 대학원 석사학위 논문
- 박청, 성문희(2009) Bacillus subtilis(chungkookjang)이 생산하는 아미노산 고분자 폴리감마글루탐산의 용도개발을 통한 바이오 신소재 산업의 창출, *Polymer Science and Technology* Vol.20, No.5, 440-446
- 상수도사업본부(2008) 상용 응집제의 응집 특성 연구
- 오태협, 이한욱, 박성직, 박재우(2016) 수중 유기물처리를 위한 광펜톤반응의 최적 조건 도출 *J soil Groundw.Environ* Vol.21(1),p 86-93
- 이레테크 미니탭사업팀 (2005) 새 MINITAB 실무완성, 이레테크.
- 이상윤(2001) “정수공정에서 고도응집에 의한 유기물 제거연구” 박사학위논문
- 이혜인, 박철휘(2011) 목초액과 키토산을 결합한 천연고분자응집제의 응집특성과 준설오탁수의 적용성 평가
- 정선아, 이희숙, 이혜숙, 남세희, 신미화, 천소영, 박연정, 이승재, 정세웅(2015) 낙동강 수계 이취미 물질의 발생특성 분석 및 예측 모형 개발
- 조관형, 권지향, 김태근, 박기영, 손인식, 우달식, 이순홍, 이원호(2008) 최신 상하수도, 신광문화사, 136-139

한진호(2011), “약품 역세 및 DAF 후처리를 통한 MBR 공정에 대한 연구” 성균
대학교 과학기술 대학원 석사학위 논문

한혜진, 이병현, 김호정(2014), “물환경 및 기후변화를 고려한 유해녹조 대응체계
및 정책 개선방안 연구” 연구보고서

