

떫은감 껍질로부터 분리한 탄닌을 이용한 폐수처리 효과

조영제[†] · 천성숙¹

상주대학교 식품공학과, ¹영남대학교 식품가공학과

Effect of Wastewater Treatment with Tannins from Peel of Astringent Persimmon Fruits

Young-Je Cho[†] and Sung-Sook Chun¹

Department of Food Engineering, Sangju National University, Sangju 742-711, Korea

¹Department of Food Science & Technology, Yeungnam University, Gyeongsan 712-749, Korea

Abstract

The two major tannins were separated by Sephadex LH-20 and MCI-gel CHP-20 from peel of astringent persimmon fruits. Purified tannins were identified to (+)-catechin and (+)-gallocatechin by NMR, IR spectrum and FAB-mass spectrum. The removal rate of turbidity, T-N, T-P and CODcr in wastewater with lime and (+)-gallocatechin was higher than those of (+)-catechin because (+)-gallocatechin has more hydroxyl groups. As increasing concentration of tannins from peel of astringent persimmon fruits, the removal rate of turbidity, T-N, T-P and CODcr were increased. Synergistic activity by mixed tannins(catechin+gallocatechin) was also observed.

Key words : astringent persimmon fruits, peel tannin, wastewater

서 론

산업용수 및 폐수, 하수처리에 사용되는 응집제는 여러 종류가 있으나 이들은 무기물이거나 단일 유기물로 형성된 것이기 때문에 물속의 이 물질을 응집 침강시키는 효과가 좋지 못하다고 알려져 있다. 따라서 응집 침강효과를 높이기 위해서 고가의 응집 보조제를 사용하여야 하나 이는 경제적 부담이 매우 커서 대부분의 기업들이 응집 보조제의 사용을 기피하고 있으며(1,2), 특히 상하수도 폐수 처리시의 부산물로서 침전되는 오니를 농축, 탈수하려면 첨가제인 소석회(3,4)나 고분자 응집제인 아크릴 아마이드를 대량 사용해야하고 여과포의 세척에 많은 세척수가 필요한 점 등으로 인해 사용이 용이하지 못하였고 탈수율이 미미하여 생성되는 케익량이 증가되는 폐단이 있었다.

감나무 잎과 감 과육 및 감 껍질에 많이 함유되어 있는 polyphenol성 물질 중 탄닌의 성상은 가장 최근에 알려졌는데 그 중에서도 탄닌의 특징인 단백질 및 금속이온과의

결합에 관한 연구가 진행되어 왔다(5-8). 탄닌은 가수분해형 탄닌과 축합형 탄닌으로 분류되며, 축합형 탄닌의 구성 단위로는 flavan-3-ol 유도체로서 (-)-epicatechin, (+)-catechin 등이 가장 많으며 이 유도체들의 결합은 4위치와 8위치, 4위치와 6위치에서 C-C 결합과 2와 5, 7번 위치의 OH가 ether 결합한 2당체, 3당체, 4당체 등이 있다. 최근 이들 축합형 탄닌들의 중금속 이온과의 결합능력에 대한 연구가 일부 보고되었으며(9), 이들 성질을 친환경 폐기물 처리에 이용하는 연구도 병행이 되어야 할 것으로 판단된다.

현재 상주 지방의 주 수입원은 떫은 감을 가공한 곶감 제조이고, 곶감제조 시 대량의 감 껍질이 발생하고 있다. 현재 상주시가 재배, 생산하는 떫은 감이 연간 약 3,864 톤으로, 이중 약 70%가 곶감으로 가공되고, 10% 이상이 껍질로 제거된다고 보면, 발생되는 감 껍질은 연간 약 270 톤으로 상당히 많은 양이 버려지지만, 일부만 사료로 이용되고 상당량의 감 껍질은 길가에 방치되어 썩으면서 악취를 발생시키는 등 환경을 오염시키고 있는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 상주지방에서 곶감제조를 위해 떫은 감을 깎은 후 발생하는 감 껍질로부터 tannin을 분리하고 이를

*Corresponding author E-mail : yjcho@sangju.ac.kr,
Phone : 82-54-530-5265, Fax : 82-54-530-5269

응집보조제로 활용하는 방안을 연구하여 폐자원을 이용한 환경 친화적인 폐수처리를 위한 자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 재료는 상주지방에서 떫은감을 이용한 곶감 가공 시 발생하여 폐기되는 감껍질을 수거하여 사용하였다.

기기

본 실험에 사용된 시약은 Sephadex LH-20 (Pharmacia, Co. Sweden), MCI gel CHP 20(75-150 μm, Mitusbish Chemical. Co., Japan), Tannase(Sigma Co., USA) 등이고 기타 시약은 특급 시약을 사용하였다. 기기는 IR (PERKIN-ELMER IR-1330, USA)은 KBr 정제법으로, ¹H-NMR(BRUKER AM-300, Japan)은 TMS[Tetramethylsilane; (CH₃)₄Si]를 기준 물질로 하여 측정 용매 CDCl₃+DMSO- D₆+D₂O를 이용하여 측정하였으며, MS(JEOL JMX-DX 300, Japan)는 negative ion FAB-Mass system에 의해 분자량을 측정하였다.

폐놀의 정량

폐놀의 정량은 Duval과 Shetty의 방법(10)에 준하여 측정하였다. 즉, 시료액 1 mL에 95% ethanol 1 mL와 중류수 5 mL를 가하여 잘 흔들어 주고 5% Na₂CO₃ 용액 1 mL와 1 N Folin ciocalteu reagent 0.5 mL를 가한 후 실온에서 60분간 발색시킨 다음 725 nm에서 흡광도를 측정하였으며, gallic acid를 사용한 표준곡선에서 양을 환산하였다.

탄닌의 분리

Matsuo 등(11)의 방법에 따라 떫은감 껍질에 60 % acetone을 가하여 실온에서 24 시간 추출한 후 원심분리 (5000 x g, 30 min) 하여 상정액과 침전물을 얻었고 같은 추출과정을 3 회 반복하여 각각의 상정액을 모아 rotary evaporator로 농축한 후 동결 건조하여 탄닌 시료로 사용하였다.

Thin layer chromatography

분리된 탄닌은 silica-gel thin layer plate(5X5 cm)에 spot하고 전개용매 benzene : ethylformic acid : formic acid = 1:7:1의 용매를 사용하여 전개한 후 anisaldehyde : EtOH : H₂SO₄=1:1:18의 발색시약을 분무해 확인하였다(12).

탄닌의 정제

Nonaka 등(13)의 방법에 따라 탄닌시료를 Sephadex LH-20 column에 loading하고 EtOH:H₂O(1:0→0:1)을 용출

용매로 하여 분획하였다. 분획물을 다시 Sephadex LH-20과 MCI-gel CHP 20 등의 column chromatography로 용출용매 EtOH:H₂O(1:0→0:1), H₂O:MeOH(1:0→0:1)를 사용하여 gradient로 용출하였으며, 분획물은 TLC로 분리 정도를 확인하면서 반복 정제하였다.

응집실험

시료 : 응집실험에 사용한 원수는 상주소재 S대학의 기숙사에서 배출되는 하수와 M아파트 단지에서 배출되는 생활하수를 사용하였으며 원수의 성상은 Table 1과 같다.

Table 1. Water quality of the raw wastewater

Sample	Turbidity (NTU)	T-N (mg/L)	T-P (mg/L)	CODcr (mg/L)
Wastewater of apartment	31	45.6	3.1	182.4
Wastewater of dormitory	42	51.5	4.2	221.6

*T-N Total nitrogen.

*T-P Total phosphorus

응집제 : 응집제로는 성과 윤(1)의 보고에 따라 생활하수의 응집최적 pH 9.0으로 조절하기 위하여 소석회(Lime. Ca(OH)₂)를 50 mg/L의 농도로 원수에 첨가하여 주 응집제로 사용하였고, 황산알루미늄(Alum. Al₂(SO₄)₃18H₂O)과 염화제이철(FeCl₃) 및 탄닌을 각각 100-500 mg/L의 농도 범위에서 보조응집제로 사용하였다.

실험방법 : 모든 실험은 jar-test로 수행되었으며(4), 비이커에 하수 1000 mL를 취하여 응집제와 보조응집제를 주입하고 120 rpm에서 1분간 급속교반 시킨 후 곧이어 40 rpm으로 15분간 완속교반을 실시하였다. 완속교반이 끝난 후 30분간 정치시켜 침전시킨 후 상등액 300 mL를 취하여 탁도는 Hach turbidimeter를 이용하여 분석하였으며, COD_{Cr}은 수질공정 시험법에 준하여 중크롬산칼륨(K₂Cr₂O₇)법을 사용하여 측정하였고, T-P는 potassium peroxide sulfate로 산화 시킨 후 ascorbic molybdate 시약을 첨가하고 880 nm에서 흡광도를 측정하였다(14). T-N은 spectrophotometer를 사용하여 220 nm에서 자외선 흡광도법(5)으로 측정하여 응집효율을 조사하였다.

결과 및 고찰

폐놀성 물질의 함량

Table 2는 감파실의 총폐놀성 물질과 가용성 탄닌의 함량을 측정한 결과이다. 총폐놀성 물질의 함량은 1.72±0.34%, 가용성 탄닌의 함량은 0.69±0.15%이었다.

Table 2. Content of total phenolic material and soluble phenol in peel of persimmon fruits

Content of phenol (%)	
Total phenolic material	Soluble phenol
1.72±0.34	0.69±0.15

*Percent of catechin equivalent by vanillin method

*Values are mean±SD

탄닌의 정제

탄닌시료를 Sephadex LH-20 및 MCI-gel CHP 20 column에 loading하고 EtOH:H₂O(1:0→0:1) 및 H₂O:MeOH (1:0→0:1)를 사용하여 gradient로 용출한 결과, 4개의 탄닌 분획을 얻을 수 있었으며, 이들 중 2개의 major 탄닌 분획에 대하여 본 연구를 진행하였다. 이들의 순수정제 여부는 TLC chromatography로 확인하였다.

탄닌의 spectrum

Compound A : 무색침상형 결정체(H₂O), mp; 172~175 °C, [α]_D; +9.4° (C=1.0, acetone), IR V_{max} cm⁻¹; 3440 (OH), 1620 (arom, C=C), FAB-MS m/z; 289[M-H]⁻, C₁₅H₁₄O₆; C=62.06%, H=4.86%, O=33.70%, ¹H-NMR δ; 2.55(1 H, dd, J=16 Hz, 8 Hz, 4-H), 2.91(1 H, dd, J=16 Hz, 6 Hz, 4-H), 4.01(1 H, s, 3-H), 4.59(1 H, d, J=8 Hz, 2-H), 5.95, 6.04(each 1 H, d, J=2 Hz, 6,8-H), 6.75~6.94(3 H, m, B-ring H).

Compound B : 무색침상형 결정체(H₂O), mp; 186~189 °C, [α]_D; +2.4°(C=1.0, acetone), FAB-MS m/z; 305[M-H]⁻, C₁₅H₁₄O₇; C=59.22%, H=4.88%, O=35.90%, ¹H-NMR δ; 2.56(1 H, dd, J=16 Hz, 8 Hz, 4-H), 2.75(1 H, dd, J=16 Hz, 6 Hz, 4-H), 4.13(1 H, s, 3-H), 4.74(1 H, d, J=6 Hz, 2-H), 5.86, 5.99(each 1 H, d, J=2 Hz, 6,8-H), 6.52(2 H, s, 2',6'-H).

정제 탄닌의 동정

Compound A : A물질은 negative FAB-MS에서 분자량이 289였으며, IR spectrum 3440에서 OH기가 1620에 aromatic의 C=C 결합을 알 수 있었고, ¹H-NMR에서 alipatic 영역의 2.55 ppm(dd), 2.91 ppm(dd) spectrum의 분열 형태 및 배열에 의해 C-링의 4-H 위치에 1 H 분의 귀속이 가능하였고 4.01(m), 4.59 ppm(d)의 spectrum도 분열 형태로 보아 각각 C-링의 3-H, 2-H로 귀속 할 수가 있었다. Aromatic 영역에서 6.75 ppm(dd), 6.82 ppm(d) 및 6.94 ppm(d)의 signal의 분열 양상은 catechol 환의 6'-H, 5'-H와 2'-H의 signal로 추정할 수 있었다. 이러한 IR 및 ¹H-NMR의 결과들은 안 등(15)의 결과와도 일치하였으므로 (+)-catechin으로 동정하였다.

Compound B : B물질은 negative FAB-MS에서 305의 분자량을 얻었고, 이런 결과는 (-)-epicatechin 및 (+)-catechin

에 산소 분자 1개가 더 결합한 물질임을 알 수 있었다. Compound B는 ¹H-NMR spectrum에서 2.56 ppm(dd), 2.75 ppm(dd)는 alipatic 영역의 4-H를 의미하고 4.13 ppm(s), 4.74 ppm(d)은 catechol의 전형적인 signal로써 3,2-H를 확인할 수 있었다. 또한 5.86, 5.99 ppm spectrum은 doublet의 분열 양상으로 6,8-H임을 시사하였고 6.52 ppm의 2 H분의 singlet는 2',6'-H로서 (+)-galloatechin으로 동정하였다. 이러한 결과는 Sakanaka 등(16)의 결과와 일치하였다.

서 등(17)은 떫은감 과육에서 HPLC로 탄닌을 분리한 결과 탄닌의 종류가 catechin, galloatechin, catechin-3-O-gallate, galloatechin-3-O-gallate 등 이었다고 보고하였으며 본 실험 결과와 유사하였다.

소석회를 사용한 폐수 처리실험

Table 3은 하수시료에 소석회를 주입하여 응집처리 하였을 때 얻어진 결과를 나타내었다. 탁도, T-N, T-P, COD_{cr}의 제거율은 아파트 생활하수의 경우 각각 19.3%, 37.2%, 35.6%, 18.4% 정도의 제거율을 나타내었고, 기숙사하수의 제거율은 탁도와 T-N이 21.4%와 38.7%였고, T-P, COD_{cr}의 경우는 각각 33.2%, 19.3%이었다. 이러한 결과는 소석회로 도시하수를 처리한 Stemberg(18)와 성과 윤(1)의 결과와 유사하였다.

Table 3. The removal efficiency of lime on the raw wastewater

Sample	Turbidity (NTU)	T-N (mg/L)	T-P (mg/L)	COD _{cr} (mg/L)
Wastewater of apartment	25	28.6	2.0	148.8
Wastewater of dormitory	33	31.6	2.8	178.8

*T-N Total nitrogen

*T-P Total phosphorus

정제 탄닌의 폐수 처리실험

소석회와 보조응집제로 정제탄닌을 처리할 때 얻어진 탁도 제거율을 Fig. 1과 2에 나타내었다. 아파트생활하수의 경우 Fig. 1에서와 같이 탄닌 첨가량을 100-500 mg/L로 늘림에 따라 탁도 제거율이 29.1-88.6%로 계속 증가하는 경향을 나타내었고 galloatechine이 catechin보다 탁도 제거율이 높은 것을 알 수 있었다. 이는 탄닌 분자의 -OH기가 타 물질과의 반응성이 높아 하수속의 부유 물질과 결합을 하게 되는데 분자구조에 이러한 -OH기가 많을수록 응집 침전하는 능력이 더 우수한 것으로 판단되었다(15,16). 또한 단일 탄닌을 첨가하는 것보다 탄닌을 섞은 실험군(mix)의 탁도 제거율이 다소 높은 것으로 나타나, 물질 간 synergy 효과도 다소 있는 것으로 생각되었다. 기숙사 하수의 경우도 Fig. 2에서와 같이 탄닌 첨가량을 100-500 mg/L로 늘림에 따라 탁도 제거율이 33.1-89.4%로 계속 증가하는 경향을 나타내었고 탄닌 종류간 탁도 제거양상은 아파트생활하수의 경우

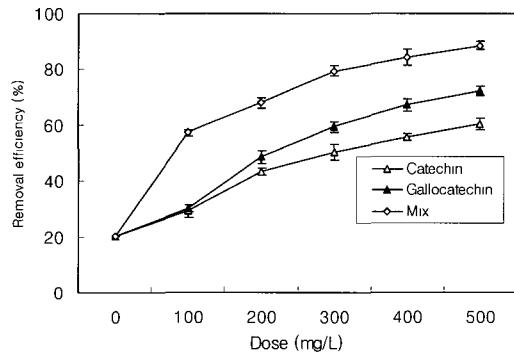


Fig. 1. Turbidity removal efficiency as combined dose of lime and tannins in wastewater of apartment.

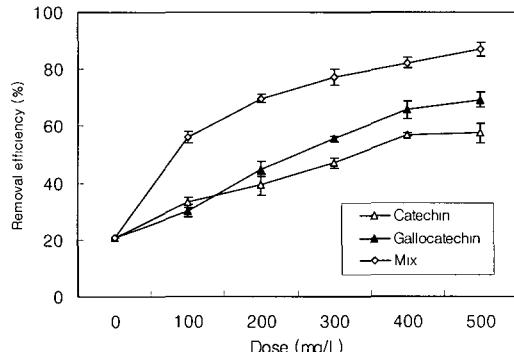


Fig. 2. Turbidity removal efficiency as combined dose of lime and tannins in wastewater of dormitory.

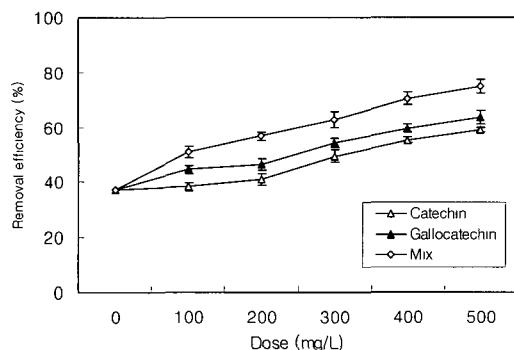


Fig. 3. T-N removal efficiency as combined dose of lime and tannins in wastewater of apartment.

와 같은 경향을 나타내었다.

소석회와 보조응집제로 정제 탄닌을 처리할 때 얻어진 T-N 제거율을 Fig. 3과 4에 나타내었다. 아파트생활하수의 경우 Fig. 3에서와 같이 탄닌 첨가량을 100-500 mg/L로 늘림에 따라 T-N 제거율이 38.4-74.9%로 계속 증가하는 경향을 나타내었고 역시 gallicatechine○ catechin보다 T-N 제거율

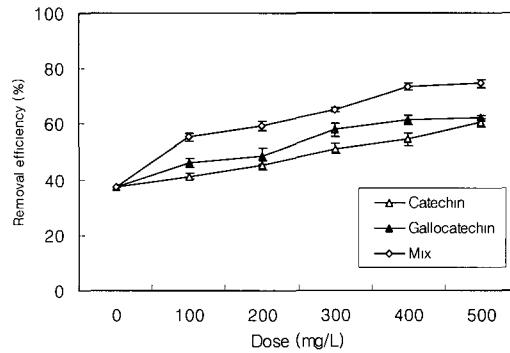


Fig. 4. T-N removal efficiency as combined dose of lime and tannins in wastewater of dormitory.

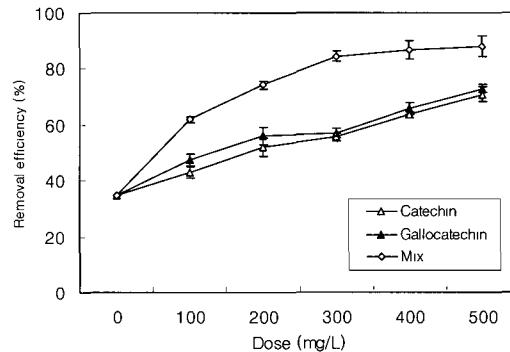


Fig. 5. T-P removal efficiency as combined dose of lime and tannins in wastewater of apartment.

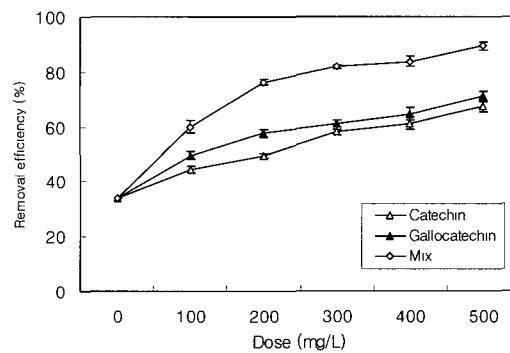


Fig. 6. T-P removal efficiency as combined dose of lime and tannins in wastewater of dormitory.

이 높아지는 것을 알 수 있었으며, 분자구조에 -OH기가 많을수록 T-N 제거 능력이 더 우수한 것으로 판단되었다. 또한 혼합탄닌 실험군이 T-N 제거율이 다소 높은 것으로 나타나, 물질 간 synergy 효과도 나타내었다. 기숙사 하수의 경우도 Fig. 4에서와 같이 탄닌 첨가량을 100-500 mg/L로 늘림에 따라 T-N 제거율이 41.2-74.6%로 계속 증가하는

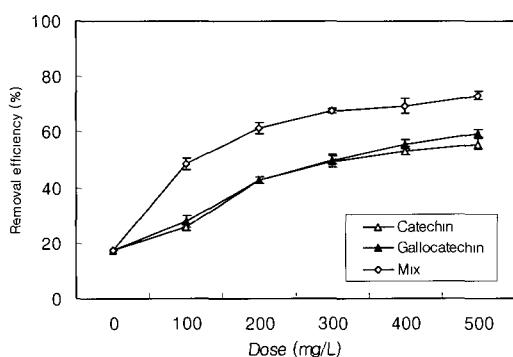


Fig. 7. CODcr removal efficiency as combined dose of lime and tannins in wastewater of apartment.

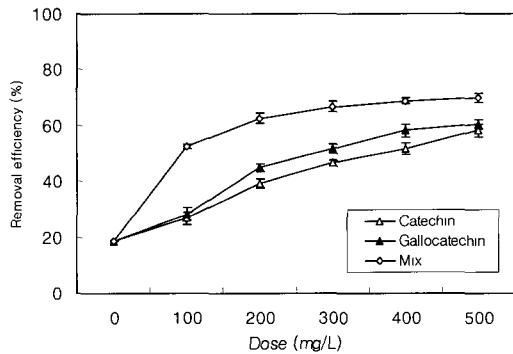


Fig. 8. CODer removal efficiency as combined dose of lime and tannins in wastewater of dormitory.

경향을 나타내었고 탄닌종류간 T-N 제거양상은 아파트생활하수의 경우와 같은 경향을 나타내었다. 소석회와 보조응집제로 정제탄닌을 처리할 때 얻어진 T-P 제거율을 Fig. 5와 6에 나타내었다. 아파트생활하수의 경우 Fig. 5에서와 같이 탄닌 첨가량을 높임에 따라 T-P 제거율이 계속 증가하는 경향을 나타내었고 gallocatechne이 catechin보다 T-P 제거율이 높았으며, 탄닌 물질 간 synergy 효과가 큰 것으로 나타났다. 기숙사 하수의 경우도 Fig. 6에서와 같이 탄닌 첨가량에 따라 T-P 제거율이 44.4-89.7%로 증가하는 경향을 나타내었고 탄닌 종류간 T-P 제거양상은 아파트생활하수의 경우와 같은 경향을 나타내었다. 소석회와 보조응집제로 정제탄닌을 처리할 때 얻어진 COD_{Cr} 제거율을 Fig. 7과 8에 나타내었다. 아파트생활하수 및 기숙사 하수 모두 탄닌 첨가량을 높임에 따라 COD_{Cr} 제거율이 25.6-73.2%로 계속 증가하는 경향을 나타내었으며 gallocatechin의 COD_{Cr} 제거율이 더 높았고, 탄닌 물질 간 synergy 효과가 큰 것으로 판단되었다.

성과 윤(1)은 소석회는 응집처리 후 많은 양의 슬러지를 발생시키는 특징이 있으나, 슬러지의 비저항이 작고, 털수 특성이 좋으며, 무기응집제와 조합 주입하면 생성되는 슬

러지의 부피를 현저히 감소시킬 수 있다고 하였다. 따라서 응집보조제로서 폐기 감 껌질로부터 탄닌을 추출하여 소석회와 조합하여 이용할 경우 응집효율을 더 높이 증가 시킬 수 있고, 하수에 잔존하더라도 기타 무기응집보조제와 달리 환경오염을 시킬 염려가 없어 하수 처리에 매우 유용하게 활용 될 수 있을 것이며 폐기, 방치되어 악취 등 환경공해를 일으키는 폐기 감 껌질의 이용도도 증가 시킬 것으로 판단된다.

요약

감 껌질 추출물을 Sephadex LH-20 및 MCI-gel CHP 20 column을 이용하여 2개의 주요 탄닌을 분리할 수 있었으며, NMR, IR, FAB-mass 등을 이용한 구조 동정 결과 (+)-catechin, (+)-gallocatechin으로 확인되었다. 소석회와 보조응집제로 정제 탄닌을 처리할 때 얻어진 탁도, T-N, T-P 및 COD_{Cr} 제거율은 gallocatechin이 catechin보다 우수한 것으로 나타났으며, 이는 탄닌 분자의 -OH기가 타 물질과의 반응성이 높아 하수속의 물질과 결합을 하게 되는데 분자구조에 이러한 - OH기가 많을수록 응집 침전하는 능력이 더 우수한 것으로 판단되었다. 또한 단일 탄닌을 첨가하는 것보다 혼합 탄닌 실험군이 탁도, T-N, T-P 및 COD_{Cr} 제거율이 다소 높은 것으로 나타나, 물질 간 synergy 효과도 있는 것으로 확인되었다.

감사의 글

본 연구는 “경북지역 환경기술개발센터에서 시행한 환경기술 연구개발 사업”의 연구결과이며 연구비 지원에 감사드립니다.

참고문헌

- Sung, D.M. and Yoon, T.I. (1999) A study on the municipal wastewater treatment by alkaline coagulation. J. KSWQ., 15, 79-88
- Park, S.K. and Ryu, J.K. (1998) A study on the comparison and analysis of COD results by various water samples. J. KSWQ., 14, 197-208
- Jun, H.B., Kim, B.K., Seo, I.S. and Lee, S.H. (2000) COD and nitrogen removal from sewage in a modified intermittent aeration process. J. KSWQ., 16, 57-64
- Park, H.S. and Cho, Y.K. (1997) Chemical upgrading of primary municipal wastewater treatment plant. J.

- KSEE., 19, 529-540
5. Eom, M.S. and Kim, N.C. (2003) Application of fermented chip of a pine tree to wastewater treatment. J. Kor. Soc. Envir. Anal., 6, 21-28
 6. Swain, T. (1979) Tannins and lignins, in *Herbivores: Their interaction with secondary plant metabolites*. Rosental, G.A. and Janzen, D.H.(eds.). Academic Press, New York, p.657-682
 7. Martin, J.S. and Martin, M.M. (1983) Tannin assay in ecological studies. J. Chem. Ecology, 9, 285-294
 8. Okuda, T., Yoshida, T., Mori, K. and Hatano, T. (1981) Tannins of medicinal plants and drugs. Heterocycles, 15, 1323-1348
 9. Nonaka, G.I., Nishioka, I., Nagasawa, T. and Oura, H. (1981) Tannins and related compounds. Chem. Pharm. Bull., 29, 2862-2870
 10. Dural, B. and Shetty, K. (2001) The stimulation of phenolics and antioxidant activity in pea(*Pisum sativum*) elicited by genetically transformed anise root extract. J. Food Biochem., 25, 361-377
 11. Matsuo, T. and Ito, S. (1978) The chemical structure of kaki-tannin from immature fruit of the Persimmon(*Diospyros kaki* L.). Agric. Biol. Chem., 42, 1637-1643
 12. Ahn, B.J., Bae, M.J. and Choi, C. (1998) Chemical structure and isolation of glucosyltransferase inhibitor from the Korean persimmon. Food Sci. Biotechnol., 7, 23-27
 13. Nonaka, G.H. (1989) Isolation and structure elucidation of tannins. Pure Appl. Chem., 61, 357-363
 14. Kwak, J.W. and Gillberg, L. (1995) Influences of basicity of prepolymerized coagulant on removing phosphorus in sewage wastewater. J. KTSWT. 3, 57-67
 15. Ahn, B.J., Choi, J.Y., Kwon, I.B., Nishioka, I. and Choi, C. (1992) Structure and isolation of glucosyltransferase inhibitor from Jack Fruit. Kor. Biochem. J., 25, 347-352
 16. Sakanaka, S., Kim, M.J. and Yamamoto, T. (1989) Antibacterial substances in Japanese green tea extract against *Streptococcus mutans* a cariogenic bacterium. Agric. Biol. Chem., 53, 2307-2312
 17. Seo, J.H., Jeong, Y.J., Shin, S.Y., Kim, J.N. and Kim K.S. (1999) Changes in pattern of tannin isolated from astringent persimmon fruits. Kor. J. Postharvest Sci. Technol., 6, 328-332
 18. Stemberg, J.B. (1970) Lime precipitation in municipal wastewater. Chemical engineering progress symposium series. 107, 310-316

(접수 2005년 3월 14일, 채택 2005년 5월 27일)