

백색부후균에 의한 매립지 침출수의 색도 제거

김현영 · 송홍규*

강원대학교 자연과학대학 미생물학과

여러 가지 난분해성 물질에 대한 생분해능을 지닌 백색부후균에 의한 매립지 침출수의 탈색을 조사하였다. 국내에서 분리한 *Coriolus versicolor* KR-11W와 *Irpex lacteus* KR-39W가 이제까지 주로 연구되어 온 *Phanerochaete chrysosporium*보다 높은 탈색능을 나타내었는데 *I. lacteus* KR-39W는 산소공급시 10%의 침출수가 함유된 YMG 배지의 진탕배양에서 85%의 색도제거율을 나타내었으며 최소배지에서도 80%의 탈색율을 보였다. *P. chrysosporium*에 의한 리그닌 분해능 및 분해효소 생성 보고들과 달리 진탕배양이 정처배양보다 탈색능이 높았으며 산소공급은 색도제거에 증가효과가 있었다. 균체 접종량(10-30%)과 온도(25, 37°C)는 탈색에 큰 차이를 보이지 않았으나 탄소원과 질소원의 농도는 상당한 영향을 나타내었다. 리그닌 분해효소군의 여러 가지 inducer와 cofactor를 *C. versicolor* KR-11W 배양에 첨가한 결과 많은 경우 균집중 대조군보다 2배 이상의 탈색율과 lignin peroxidase 활성의 증가를 보였으며 FeSO₄ 첨가시에는 최대 2.9배의 증가를 나타내었다. 탈색에 관여하는 효소군은 접종물에 이미 어느 정도 존재할 수 있으며 배지 및 배양조건에 따라 그 생성이 변화할 수 있으므로 이런 조건들을 잘 맞출 경우 보다 높은 탈색능이 기대된다.

KEY WORDS □ White-rot fungi, landfill leachate, decolorization, ligninolytic enzymes

우리나라에서 생활폐기물 및 일반산업폐기물은 거의 대부분이 단순매립처리되고 있으며 이로부터 발생하는 침출수가 수계로 유입되어 수환경에 커다란 영향을 미치고 있다. 침출수는 다량의 유해물질을 함유하고 있기 때문에 자연계에 유출될 경우 주변 환경에 존재하는 생물체들에 많은 피해를 유발할 수 있다. 침출수에 함유된 유해 물질의 종류와 농도는 매립된 쓰레기의 종류와 매립 후 경과기간에 따라 변화하며 강우량과 온도에 따른 계절적 변화를 보이는데 대부분의 침출수는 다량의 난분해성 유기물과 중금속을 함유하고 있으며 성분도 매우 다양하여(2) 통상적인 생물학적 2차처리가 효율적으로 일어나지 않는 경우가 많다. 한편 침출수는 여러 가지 발색단으로 인해 색도를 띄게 되며 이 역시 생물학적 처리 후에도 잘 제거되지 않아 수환경에 영향을 줄뿐만 아니라 시각적으로도 큰 문제가 되고 있다. 이러한 침출수 색도는 다양한 유기물 성분에 의해서 나타날 수도 있으나 humic acid, fulvic acid와 같은 리그닌 분해 산물들과 폐기물로부터 비롯된 각종 염료 성분 등에 의해 나타나는 것으로 추정된다(22). 이런 종류의 물질들은 담자균류(basidiomycetes)에 속하는 백색부후균(white-rot fungi)에 의해 분해될 수 있는데 *Phanerochaete chrysosporium*이 지니고 있는 리그닌 분해 효소군에 의해 여러 가지 종류의 염료가 탈색 및 분해된다는 연구결과가 보고된 바 있다(7, 9, 13, 19, 24).

백색부후균이 리그닌을 분해하는 능력은 오래 전부터 알려져 왔으나 리그닌 분해기작 및 분해 효소군들은 비교적 근래에 밝혀졌다(26, 27). 1980년대 중반부터 백색부후균이

여러 가지 난분해성 물질들을 분해할 수 있다는 것이 보고되기 시작하였으며(8, 14) 그 이후에 백색부후균에 의한 염료의 탈색과 분해에 관한 연구가 시작되었으나 *P. chrysosporium* 이외의 다른 백색 부후균에 대한 연구는 그다지 많지 않은 실정이다(10, 12, 17). 그러나 다른 백색부후균 또한 리그닌 분해 효소군을 지니고 있다고 보고되었으며 실제로 난분해성 유기물이나 염료 등의 분해능이 뛰어난 백색부후균들이 존재할 수 있으므로(20) 본 연구에서는 한국에서 분리, 동정된 각종 염료 탈색능이 우수한 여러 백색부후균들이(1) 매립지 침출수의 색도 제거능을 나타내는지를 조사하였으며 외국에서 활발히 연구되고 있는 *P. chrysosporium*과 비교하고 색도제거능을 향상시킬 수 있는 조건들을 찾아내 고자 시도하였다.

재료 및 방법

균주 및 배양준비

본 실험에 사용된 균주 중 *Phanerochaete chrysosporium* IFO 31249, *Pleurotus ostreatus*, *Microporus vernicipes*는 서울대학교 분자미생물학 연구센터로부터 분양받았으며 *Coriolus versicolor* KR-11W, *C. versicolor* KR-65W와 *Irpex lacteus* KR-39W는 강릉대 생물학과 균학연구실로부터 분양받은 균주로 ATCC 균주인 *P. chrysosporium* IFO 31249를 제외하고는 모두 상기 연구실들에서 분리, 동정되었다. 이 균주들은 모두 PDA(potato dextrose agar, Difco) 사면배지에 접종하여 25°C에서 배양한 후 냉장고에 보관하였다. PDA 평판배지에 배양된 각 균주의 균사체를 cork borer(#1)로 7개씩 떼어 내어 150 ml YMG 액체배지(yeast extract 4 g,

*To whom correspondence should be addressed

malt extract 10 g, glucose 4 g, distilled water 1 liter)에 접종하고 15일간 진탕배양(130 rpm) 후 homogenizer로 파쇄하여 이를 접종원으로 사용하였다.

침출수 탈색 및 배양조건의 영향

본 실험에 사용한 침출수는 춘천시 외곽에 있는 동면 배림지에서 채수하여 membrane filter(pore size 0.45 μm , Millipore)로 여과멸균하여 cold room(4°C)에 보관하여 사용하였다. YMG 액체배지에서 진탕배양된 백색부후균들을 100 ml 삼각 플라스크에 들어있는 멸균된 20 ml의 YMG 배지 또는 최소액체배지(glucose 10 g, KH_2PO_4 1 g, K_2HPO_4 1 g, $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$ 3 g, MgSO_4 0.3 g, CaCl_2 0.1 g, distilled water 1 liter)에 접종하고(접종량: 10% v/v) 침출수를 10% 첨가하였다. 배양액의 pH를 6.0으로 맞추는 후 25°C에서 진탕배양(130 rpm) 및 정치배양을 시행하였다. 배양 중 침출수의 탈색정도를 측정하기 위하여 일정시간 간격마다 replicate sample flask 2개씩을 꺼내어 배양액을 원심분리(22,800 g, 20 min)한 후 상등액의 흡광도를 분광광도계를 사용하여 침출수의 최대 흡수 파장(YMG 배지: 360 nm; 최소배지: 320 nm)에서 측정하였다. 이와 동시에 균류의 성장 정도를 알아보기 위하여 배양액을 pre-weighed filter paper(Whatman No. 5)에 여과하고 균사체를 증류수로 2회 세척한 다음 80°C에서 12시간 건조하여 중량을 측정하였다.

침출수 탈색에 대한 산소공급의 효과를 분석하기 위하여 배양 5일째에 정치배양에 1회 30초간 여과멸균된 순수산소를 공급하고 균배양 상등액의 흡광도를 측정하여 산소를 공급하지 않은 시료와 색도제거율을 비교하였으며, 또한 균류를 접종한 날부터 2일 간격으로 정치배양과 진탕배양에 산소를 15초간 공급하여 산소를 공급하지 않은 시료와 색도제거율을 비교하였다.

균류 접종량에 의한 영향을 측정하기 위하여 균류 접종시 inoculum size를 10, 20 그리고 30%(v/v)로 하여 진탕배양하였으며 또한 배양온도에 따른 침출수의 색도제거율을 알아보기 위하여 10% 접종한 균류를 25°C와 37°C에서 각각 배양하여 잔존색도를 측정하였다.

탄소원과 질소원 농도에 따른 침출수의 색도제거 효과

최소액체배지의 탄소원인 glucose의 농도를 각각 0.5, 1.0, 1.5, 그리고 2.0%로 맞추어 배양한 후 배양 7일째 시료내에 남아있는 침출수의 색도를 측정하였으며, 질소원인 ammonium phosphate의 농도를 각각 0, 0.3, 0.6, 0.9, 그리고 1.2%로 하여 배양 6일에 시료내에 남아있는 침출수의 색도를 측정하였다.

Inducer와 cofactor 첨가에 의한 침출수 색도제거 효과

Ligninolytic enzymes 생성의 inducer 또는 cofactor로 알려진 FeSO_4 , MnSO_4 , veratryl alcohol, 그리고 hydrogen peroxide(H_2O_2)의 효과를 분석하기 위하여 YMG 액체배지에 FeSO_4 , MnSO_4 , veratryl alcohol, 또는 hydrogen peroxide를 각각 1 mM씩 접종시 배지에 첨가하였다. 한편 tween 80을 10 μl , FeSO_4 와 veratryl alcohol을 함께 1 mM, 그리고 vera-

tryl alcohol과 hydrogen peroxide를 함께 1 mM씩 각각 첨가하였다. 모든 시료는 배양 7일에 1회 침출수의 잔존색도를 측정하였는데 탈색정도의 측정은 위와 동일한 방법을 사용하였다.

Lignin peroxidase activity 측정

침출수의 탈색에 관여할 것으로 추정되는 대표적인 효소인 lignin peroxidase의 activity(veratryl alcohol oxidase activity)는 lignin peroxidase에 의한 veratryl alcohol로부터 veratraldehyde로의 전환율을 측정하여 결정하였다. 측정방법은 220 mM sodium tartrate 그리고 3.33 mM veratryl alcohol을 tartaric acid로 pH 3.0으로 보정한 solution B 450 μl 와 시료 500 μl 를 섞은 후, 10 mM H_2O_2 를 첨가하여 반응시켜 분광광도계로 310 nm에서 흡광도를 측정하였다(27). 시료당 3번씩 측정하여 평균값을 얻어 환산하여 활성도 값을 얻었다. 단위는 U/l로서 ligninase activity one unit가 1분당 1 μM veratryl alcohol의 veratryl aldehyde로의 전환율을 의미한다.

결과 및 고찰

매립지 침출수의 색도제거

처리하지 않은 침출수 원액으로 실험할 경우 침출수 함유 물질들의 독성 등으로 인해 균류의 생장이 일어나지 않아 탈색이 되지 않으므로 침출수를 희석하였다. 배지에 침출수를 10-50% 정도 첨가하여 배양한 결과 10% 첨가한 시료에서 탈색이 비교적 빠르게 이루어지는 것을 관찰하여 모든 실험에서 침출수를 10%로 첨가하여 실험하였다. 백색부후균에 의한 염료탈색(1) 때 높은 탈색능을 보였던 6가지 균류를 대상으로 하여 침출수에 대한 탈색을 측정하였으나 일부 균류들의 탈색능은 매우 저조했으며 *P. chrysosporium* IFO 31249, *Coriolus versicolor* KR-11W와 *I. lacteus* KR-39W가 상대적으로 높은 탈색능을 나타내었다. 먼저 단순희석한 침출수의 탈색을 알아보기 위하여 멸균증류수로 희석한 침출수에서 *I. lacteus* KR-39W를 배양한 결과 탈색정도는 진탕배양에서 50%, 정치배양에서는 40% 정도로 나타났다(Fig. 1-a). 많이 연구되고 있는 *P. chrysosporium* IFO 31249의 YMG 배지를 이용한 침출수 탈색시 배양 11일에 정치배양에서는 40%, 진탕배양에서는 45%의 탈색율을 나타냈다(Fig. 1-b). *I. lacteus* KR-39W는 YMG 진탕배양에서 80%의 탈색율을 보인 반면 정치배양에서는 40%의 탈색율을 나타냈다(Fig. 1-c). *P. chrysosporium* IFO 31249와 *I. lacteus* KR-39W에 의한 침출수의 전반적인 탈색정도를 보면 배양 초기 3일까지는 동일하게 빠른 탈색능(최종탈색율의 70% 이상)을 보이는데 이러한 결과는 균류접종물에 첨가된 배양상등액에 이미 존재하고 있는 리코닌 분해 효소군에 의한 것으로 추정된다. *I. lacteus* KR-39W에 의한 증류수에서의 침출수 탈색정도는 3일 이후로는 그다지 크게 증가하지 않는데 이러한 결과는 비록 희석되었지만 침출수 내에 존재하는 다양한 물질을 탄소원이나 영양원으로 이용하기가 어렵다는 것을 암시하고 있다. YMG 배지에서 *I. lacteus* KR-39W에 의한

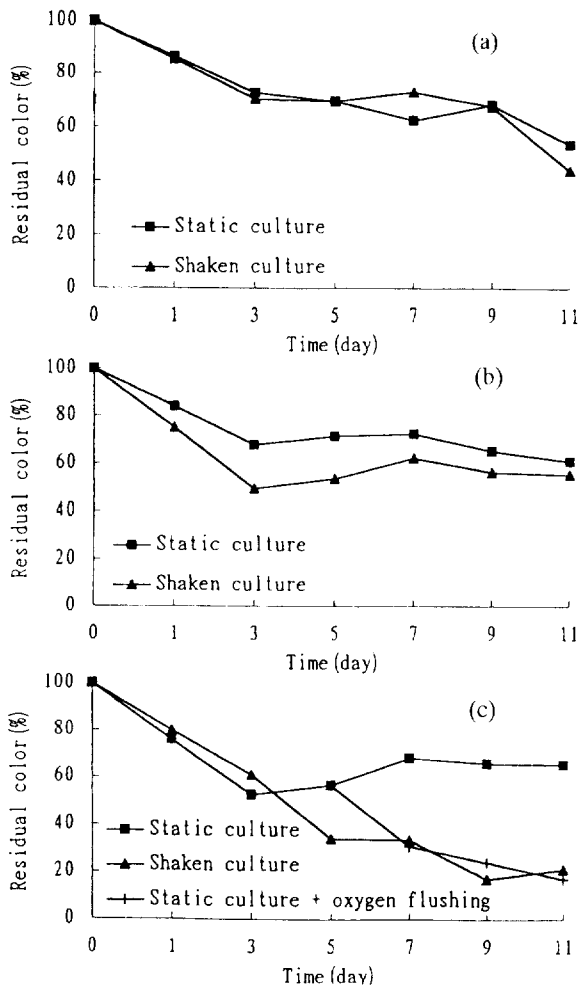


Fig. 1. Decolorization of leachate by white rot fungi. (a) *I. lacteus* KR-39W(leachate : distilled water=1:9), (b) *P. chrysosporium* IFO 31249(leachate : YMG medium=1:9), (c) *I. lacteus* KR-39W(leachate : YMG medium=1:9). The O₂ flushing was done into static culture media on the fifth day.

침출수 탈색 실험시(Fig. 1-c) 정지배양 시료에 여과된 산소를 공급해 주었을 때 배양 최종일에 진탕배양과 동일한 탈색정도를 나타내었다. 이와 같은 결과는 백색부후균류가 호기성균류이지만 진탕배양보다는 정지배양시 더 많은 lignin 분해 효소균을 생성하여 불질을 분해한다는 보고(28)와는 상이한 결과이다. 본 연구에서의 결과는 침출수 내에 존재하는 다양한 독성물질과 배양시 생성되는 대사산물들이 균류의 성장을 억제하여 생장율이 진탕배양보다 느린 정지배양에서 침출수의 탈색능이 낮아진 것으로 추정할 수 있으며 이는 균체량 측정에 의해 확인할 수 있었다. 또한 백색부후균의 생장에 산소공급이 매우 중요하므로 용존산소가 거의 없는 침출수 침가시 진탕배양이 오히려 더 나은 조건이 될 수도 있다(22, 23). 비록 *I. lacteus* KR-39W의 정지배양에서 효과적으로 침출수를 탈색시키지는 못했지만 다른 경우에는 침출수의 색도가 제거되는 것으로 보아 이 현상을 더 확인할 필요가 있다.

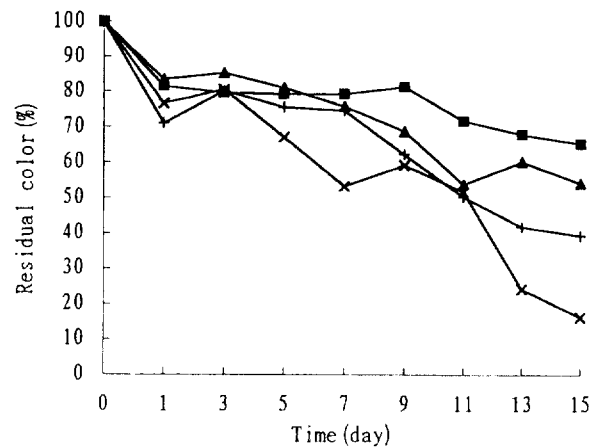


Fig. 2. Decolorization of leachate by *Irpex lacteus* KR-39W in minimal medium. The O₂ flushing was done on every two days. -■- static culture, -▲- static culture + oxygen flushing, -+- shaken culture, -x- shaken culture + oxygen flushing

침출수 탈색에 미치는 배양조건들의 영향

I. lacteus KR-39W를 침출수가 혼합된 최소 액체배지에서 배양하면서 산소를 2일 간격으로 공급하여 탈색율을 측정하였다(Fig. 2). 최소배지에서 침출수의 탈색정도는 배양 최종일에 진탕배양에서는 60% 정도의 탈색율을 나타낸 반면 정지배양에서는 30% 정도만의 탈색율을 나타내었다. 산소를 공급해준 시료에서의 탈색율은 진탕배양에서 85%, 정지배양의 경우는 40%로 산소를 공급하지 않은 시료보다 배양기간 동안 높은 탈색율을 나타낸 것을 관찰할 수 있었다. 이는 산소공급이 리그닌 분해와 염료 탈색율을 증가시킨다는 보고와 일치하는 경향이였다(3). 최소배지에서 YMG 배지보다 더 높은 탈색율을 나타낸 것은 lignin 분해효소균이 영양분이 고갈되는 stationary phase에서 생성되는 경향과 유사하며(26) 실제 응용면에서 nutrient-rich media보다 훨씬 현실성이 높은 것임을 보여준다.

*P. chrysosporium*을 37°C에서 배양하면 보다 높은 리그닌 분해 효소균의 활성도가 나타난다고 보고된 바(11) 배양온도 및 균주접종량의 영향을 조사하였다. 균주접종시 증류수로 세척하여 배양상등액을 완전히 제거한 접종량의 농도를 배지에 10, 20, 그리고 30%(v/v)로 각각 맞추어 접종하고 배양하여 침출수의 색도제거율을 조사한 결과(Fig. 3) 균주 접종량에 따른 차이는 그다지 크지 않았다. 한편 모든 시료에서 동일하게 5일 이전에 침출수의 탈색이 나타나지 않았는데 이러한 결과는 접종물에 배양상등액이 존재하였던 이전의 결과(Fig. 1과 2)와는 일치하지 않는 것으로 배양 초기의 침출수의 탈색이 배양상등액에 이미 존재하는 리그닌 분해 효소균에 의해 상당한 정도로 이루어질 수 있는 것으로 추정된다(4). 한편 접종량 10%의 시료를 25와 37°C에서 각각 배양하여 침출수의 색도제거율을 조사한 결과 배양온도는 *I. lacteus* KR-39W에 의한 침출수 탈색에 그다지 큰 영향을 미치지 못하였는데 37°C에서 높은 성장율과 활성을 나타내는 *P. chrysosporium*과 달리 경우에 따라 25°C에서 오히려

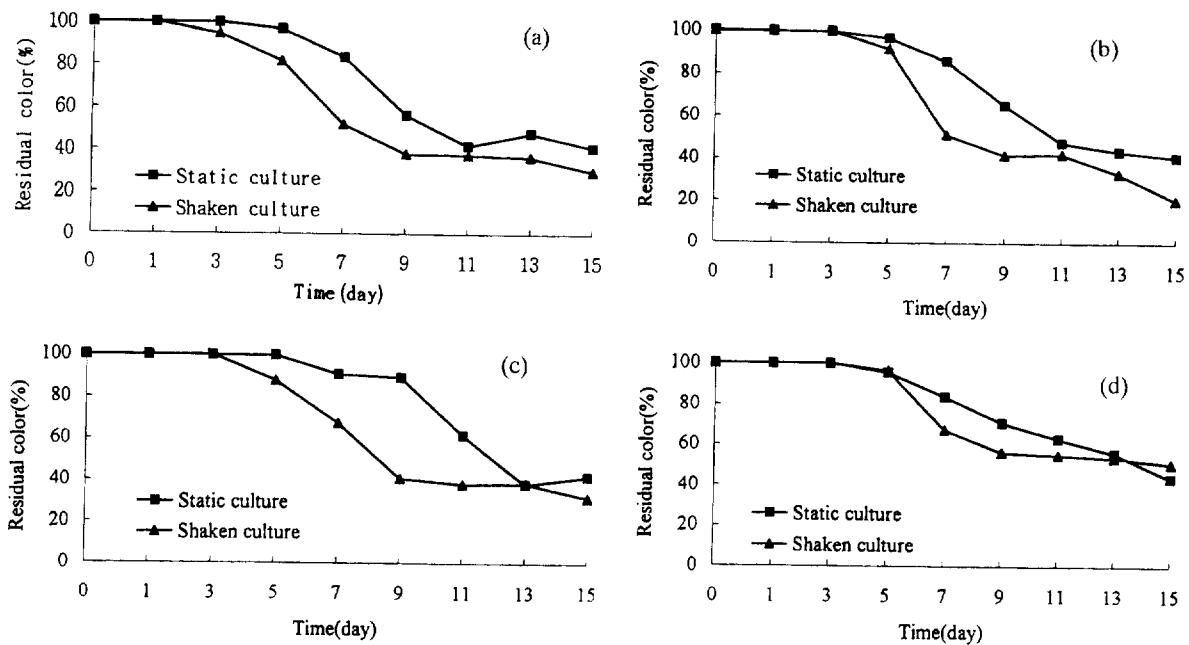


Fig. 3. Effect of inoculum size and incubation temperature for decolorization of leachate by *Irpex lacteus* KR-39W in YMG medium. (a) inoculum size 30%(v/v) and incubation temperature 25°C, (b) inoculum size 20%(v/v) and incubation temperature 25°C, (c) inoculum size 10%(v/v) and incubation temperature 25°C, (d) inoculum size 10%(v/v) and incubation temperature 37°C.

더 높은 탈색율을 나타내기도 하였다.

탄소원과 질소원 농도의 영향

리그닌 분해 효소군은 이차대사 산물(secondary metabolites)로 탄소, 질소, 그리고 황이 고갈되었을 때 생성되는 것으로 알려져 있으나 이들이 존재하는 경우에도 그 활성들이 나타나기도 하므로(6, 13) 탄소원과 질소원의 농도에 따른 침출수 색도제거 효과를 관찰하였다. 탄소원으로는 glucose를 2.0%까지 첨가하였는데 glucose 농도가 높아질수록 탈색율이 증가하는 것으로 나타났는데(Table 1) 이는 기질이 많을수록 생체량도 따라서 증가하고 이에 비례하여 탈색능도 증가된 것으로 판단된다. 실제로 균체의 건조중량이 glucose 농도에 따라 증가한 것을 볼 수 있었다. Bergbauer 등(5)은 pulp-mill effluent 내 chlorinated lignin derivatives의 백색부후균류에 의한 탈색에 여러 가지 co-substrate가 필수적이라고 보고하였으며 또한 윤(3)은 poly R-478 염료의 탈색 실험에서 가장 효과적인 탄소원이 glucose와 mannose라고 보고하였다. 따라서 침출수 탈색시에도 탄소원을 다양하게 하여 실험할 필요가 있다. *P. chrysosporium*은 일반적으로 nitrogen-limited condition에서 리그닌 분해효소들을 분비하며 염료를 탈색시킬 수 있는 것으로 알려져 있으나(24) nitrogen-sufficient culture에서 crystal violet을 분해하는 것도 보고되었다(6). 또한 다른 종류의 백색부후균류들은 nitrogen-sufficient condition에서 lignin peroxidase를 생성하기도 하며 bleach plant effluent를 실제로 탈색시키기도 하였다(5). 이에 본 실험에서는 배지의 질소원인 ammonium phosphate 농도를 0에서 1.2%까지 다양하게 하여 균류를 배양한 결과 0.3%일 때 47.3%의 가장 높은 탈색율이 나타났으나 질소원 농도에 따른 상대적 차이가 그리 크지는 않았다. 특이하게 질소원

Table 1. Effects of glucose and nitrogen concentration on decolorization of leachate in *Irpex lacteus* KR-39W in minimal medium

Glucose conc. (%)	Decolorization (%)	Dry weight (mg/ml) ^a
0.5	32.4	1.53
1.0	42.6	2.09
1.5	51.8	2.44
2.0	62.2	2.54

Ammonium phosphate conc.(%)	Decolorization (%)	Dry weight (mg/ml) ^b
0.0	47.1	1.83
0.3	47.3	2.41
0.6	42.4	2.49
0.9	44.7	3.78
1.2	37.5	3.39

a: increased dry weight of mycelium during 7 days of incubation.
 b: increased dry weight of mycelium during 6 days of incubation.

을 넣지 않은 배지에서도 탈색율이 높게 나타났는데 이것은 균류접종시 상등액에 존재하는 질소원에 의한 것이나 또는 매립지 침출수에 존재하는 영양원을 이용한 것으로 추정된다. Glucose 첨가시와 같이 질소원의 농도 증가에 따라 균체량도 증가하였지만 탈색율은 오히려 감소하는 경향을 보였다. 이는 침출수 탈색에 관여하는 효소들이 어느 정도 질소원이 고갈될 때 생성되는 경향과 유사한 것을 나타낸 것으로 보인다. 따라서 앞의 glucose 첨가의 영향을 고려하여 적절한 탄소 및 질소원 존재시 더 높은 탈색율을 얻을 수 있을 것으로 기대된다.

Inducer와 cofactor 첨가의 영향

Table 2. Effects of FeSO₄, MnSO₄, veratryl alcohol, hydrogen peroxide and tween 80 of decolorization of leachate by *Coriolus versicolor* KR-11W in YMG medium

Sets ^a	Decolorization (%)	Lignin peroxidase activity(U/l)	Dry weight (mg/ml) ^b
1	0	nd ^c	nd
2	23.5	13.7	2.95
3	67.7	38.1	4.86
4	17.3	14.3	3.28
5	24.3	10.6	1.53
6	49.3	9.1	2.56
7	65.8	133.5	5.19
8	47.2	34.0	3.18
9	56.8	22.2	4.57
10	40.7	16.7	3.71
11	44.2	30.9	3.44

a: 1; control, 2; *C. versicolor* KR-11W(Cv11), 3; Cv11+1 mM FeSO₄, 4; Cv11+1 mM MnSO₄, 5; Cv11+1 mM ZnSO₄, 6; Cv11+1 mM veratryl alcohol, 7; 1 mM FeSO₄+1 mM veratryl alcohol, 8; Cv11+O₂ flushing per two day, 9; Cv11+10 μl tween 80, 10; Cv11+1 mM veratryl alcohol+1 mM hydrogen peroxide, 11; Cv11+1 mM hydrogen peroxide. b: increased dry weight of mycelium during 7 days of incubation. c: nd; not determined.

Ligninolytic enzymes 생성의 inducer 또는 cofactor로 알려진 여러 가지 물질들의 첨가에 따른 영향을 조사하였는데 FeSO₄, MnSO₄, veratryl alcohol, hydrogen peroxide 및 tween 80을 첨가한 시료에서 첨가하지 않은 시료보다 높은 색도제거율을 나타냈다(Table 2). Lignin peroxidase(LiP)와 manganese peroxidase(MnP) 모두 heme protein으로(26) cofactor인 Fe 첨가에 의한 영향을 보기 위해 FeSO₄를 1 mM 첨가하였을 때 침출수의 색도제거가 단순 균주점종시보다 2.9배 이상 높게 나타나며 LiP activity도 상당히 증가하였다. LiP의 inducer인 veratryl alcohol을 FeSO₄와 같이 투여하였을 때에는 탈색율은 FeSO₄만을 첨가하였을 때와 유사하였으나 LiP의 활성은 최대치를 보였다. 이와 같은 결과는 탈색에 LiP 이외의 리그닌 분해효소군이 같이 작용한 것이거나 또는 외부에서 첨가한 Fe²⁺와 균류에 의해서 생성된 hydrogen peroxide가 침출수의 발색단과 결합한 침전(Fenton's reagent reaction)에 의한 결과(16)로 추측된다. 그러나 Fenton's reagent reaction이 pH 3.5 이하에서 효과적인데 시료의 실질적인 pH는 4.0 이상으로 측정되었다. 따라서 상등액에 존재하는 다른 리그닌 분해 효소군에 대한 조사 및 pH 변화 등에 대한 연구가 더 필요하다. MnP 생성의 cofactor인 Mn 첨가시 veratryl alcohol 생성을 억제하여 간접적으로 LiP activity를 억제한다고 보고되었는데(18) 본 연구에서 MnSO₄ 1 mM 첨가시 LiP activity가 억제되는 것을 확인하였으며 또한 침출수 색도제거율이 감소하는 것으로 보아 *C. versicolor* KR-11W의 경우 침출수의 색도제거에 있어서 MnP보다 다른 효소의 관련성을 추정할 수도 있다. Veratryl alcohol은 lignin peroxidase에 의한 염료 탈색을 촉진하며(21) veratryl alcohol과 hydrogen peroxide는 ligninase 생성을 촉진한다고 보고되었는데(25) 본 연구에서도 이와 일치

하는 결과를 확인할 수 있었다. Tween detergents는 ligninase의 물리적 불활성화를 막는 역할을 하는 것으로 알려져 있는데(28) Tween 80의 첨가시 침출수의 색도제거율이 높아졌으며 이는 진탕배양시 tween detergent를 첨가하면 ligninase와 리그닌 분해가 증가한다는 보고(15)와 유사하였다.

이와 같이 lignin 분해효소군의 inducer 및 cofactor로 알려진 여러 가지 물질들이 YMG 배지에서 *C. versicolor* KR-11W에 의한 침출수의 탈색에 상당한 효과가 있는 것으로 나타났으나 이런 현상이 최소배지 또는 원액이나 희석된 침출수에서도 나타나는지에 대한 후속연구가 필요하다. 또한 앞서 밝힌 여러 배양 조건들을 고려하여 보다 효율적인 탈색도 가능할 것으로 기대되며 이를 실용화하기 위해서는 백색부후균에 적합한 bioreactor 체제를 개발하는 등의 연구가 뒤따라야 할 것이다.

감사의 말

본 연구에 사용된 백색부후균을 제공하여주신 서울대 정학성 교수님과 강릉대 김규중 교수님께 감사드립니다. 본 연구는 한국과학재단 특정기초연구(No. 94-0600-04-01-3) 지원에 의해 수행되었습니다.

참고문헌

- 김현영, 임영은, 최형태, 송홍규. 1995. 백색부후균에 의한 염료의 탈색. *균학회지*, **23**, 298-304.
- 박배경, 박석순, K.M. Erstfeld and K.R. Cooper. 1996. 송사리 알의 초기 발생과정을 이용한 매립지 침출수 특성도 평가. *환경생물학회지*, **14**, 55-61.
- 윤경하. 1994. 구름버섯(*Coriolus versicolor* IFO 30388)에 의한 Poly R-478 염료의 탈색. *미생물학회지*, **32**, 182-185.
- Armenate, P., L. Pal and G. Lewansdowski. 1994. Role of mycelium and extracellular protein in the biodegradation of 2,4,6-trichlorophenol by *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* **60**, 1711-1718.
- Bergbauer, M., C. Eggert and G. Kraepelin. 1991. Degradation of chlorinated lignin compounds in a bleach plant effluent by the white-rot fungus *Trametes versicolor*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **35**, 105-109.
- Bumpus, J. and B. Brock. 1988. Biodegradation of azo and heterocyclic dyes by *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* **54**, 1143-1150.
- Bumpus, J. and S. Aust. 1990. Biodegradation of azo and heterocyclic dyes by *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* **56**, 1114-1118.
- Bumpus, J., M. Tien, D. Wright and S. Aust. 1985. Oxidation of persistent environmental pollutants by a white rot fungus. *Science* **228**, 1434-1436.
- Cripps, C., J. Bumpus and S.D. Aust. 1990. Biodegradation of azo and heterocyclic dyes by *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* **56**, 1114-1118.
- Dey, S., T. Maiti and B. Bhattacharyya. 1994. Production of some extracellular enzymes by a lignin peroxidase-producing brown rot fungus, *Polyporus ostreiformis* and its comparative abilities for lignin degradation and dye decolorization. *Appl. Environ. Microbiol.* **60**, 4216-4218.

11. Dhawale, S., S. Dhawale and D. Dean-ross. 1992. Degradation of phenanthrene by *Phanerochaete chrysosporium* occurs under ligninolytic as well as nonligninolytic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**, 3000-3006.
12. Eggert, C., U. Temp and K.L. Eriksson. 1996. The ligninolytic system of the white rot fungus *Pycnoporus cinnabarinus*: Purification and characterization of the laccase. *Appl. Environ. Microbiol.* **62**, 1151-1158.
13. Glenn J. and H. Gold. 1983. Decolorization of several polymeric dyes by lignin-degrading fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* **45**, 1741-1747.
14. Hammel, K., B. Kalyamaman and T. Kirk. 1986. Oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons and dibenzo(p) dioxins by *Phanerochaete chrysosporium* ligninase. *J. Biol. Chem.* **261**, 16948-16952.
15. Jäger, A., S. Croan and T. Kirk. 1985. Production of ligninases and degradation of lignin in agitated submerged cultures of *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* **50**, 1274-1278.
16. Kuo, W.G. 1992. Decolorization of dye wastewater with fenton's reagent. *Wat. Res.* **26**, 881-886.
17. Leontievsky, A., N. Myasoedova and L. Golovleva. 1994. Production of ligninolytic enzymes of the white rot fungus *Panus Tigrinus*. *J. Biotech.* **32**, 299-307.
18. Mater, T., E. de Jong and J. Field. 1995. Manganese regulation of veratryl alcohol in white rot fungi and its indirect effect on lignin peroxidase. *Appl. Environ. Microbiol.* **61**, 1881-1887.
19. Ollikka, P., K. Alhonenmaki, V. Leppanen, T. Glumoff, T. Rajjola and I. Suoninen. 1993. Decolorization of azo, triphenyl methane, heterocyclic and polymeric dyes by lignin peroxidase isoenzymes from *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* **59**, 4010-4016.
20. Orth, A., D. Royse and M. Tien. 1993. Ubiquity of lignin-degrading peroxidases among various wood-degrading fungi. *Appl. Environ. Microbiol.* **59**, 4017-4023.
21. Paszcynski, A. and R. Crawford. 1991. Degradation of azo compounds by ligninase from *Phanerochaete chrysosporium*: Involvement of veratryl alcohol. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **178**, 1056-1064.
22. Senior, E. and S. Shibani. 1990. Landfill leachate, p. 81-111. In E. Senior (ed.), *Microbiology of landfill sites*. CRC Press, Boca Raton.
23. Smith, J., N. Claydon, M. Love, M. Allen and D. Wood. 1989. Effect of substrate depth on extracellular endocellulase and laccase production of *Agaricus bisporus*. *Mycol. Res.* **93**, 292-296.
24. Spadaro, J., M. Gold and V. Renganathan. 1992. Degradation of azo dyes by the lignin-degrading fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**, 2397-2401.
25. Tonon, F. and E. Odier. 1988. Influence of veratryl alcohol and hydrogen peroxide in ligninase activity and ligninase production by *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* **54**, 466-472.
26. Tien, M. 1987. Properties of ligninase from *Phanerochaete chrysosporium* and their possible applications. *CRC Crit. Rev. J. Microbiol.* **15**, 141-168.
27. Tien, M. and T. Kirk. 1984. Lignin-degrading enzyme from *Phanerochaete chrysosporium*: Purification, characterization and catalytic properties of a unique H₂O₂-requiring oxygenase. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **81**, 2280-2284.
28. Venkatadri, R. and R. Irvine. 1990. Effect of agitation on ligninase activity and ligninase production by *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* **56**, 2684-2291.

(Received February 6, 1997/Accepted March 24, 1997)

ABSTRACT: Decolorization of Landfill Leachate by White-Rot Fungi

Hyeon-Young Kim and Hong-Gyu Song*(Dept. of Microbiology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea)

Decolorization of landfill leachate was investigated using the white-rot fungi which have high biodegrading capability of various recalcitrants. *Coriolus versicolor* KR-11W and *Irpex lacteus* KR-39W which had been isolated and identified in Korea, showed higher decolorization rate than *Phanerochaete chrysosporium* on which most studies had been focused. *I. lacteus* KR-39W removed 85% of residual color in oxygen-flushed YMG shaken culture containing 10% of leachate. It also showed 80% of decolorization in the minimal medium. The shaken culture was better than static culture for color removal of leachate and oxygen flushing could increase it. There were no significant differences of decolorization among different inoculum size (10-30%) and temperature (25, 37 °C), however the concentrations of carbon and nitrogen could affect the fungal decolorization of leachate. The addition of inducers and cofactors for ligninolytic enzymes enhanced the color removal and lignin peroxidase activity of *C. versicolor* KR-11W. The addition of FeSO₄ could increase the decolorization rate at 2.9 times higher than control sample.

— 호수 생태계에서 미생물의 역할 —

우리 나라는 강우특성상 여름 장마시기에 집중되는 수자원을 모아 1년내내 사용하여야 한다. 이러한 목적으로 소양호를 비롯한 많은 대형 인공호가 건설되었으며, 이들 인공호에 의하여 호수와 가뭄을 조절함으로써 인명과 재산 피해를 막을 수 있었으며, 경제 발전의 밑받침이 되었다. 그러나, 그동안 수자원을 양적인 개념에서만 관리하였고, 호수를 경제적 이익을 제공하는 곳으로 보았으며, 호수가 가진 특성을 무시한 채 하천 관리 방법을 그대로 호수에 적용하여 우리 나라의 많은 호수들은 수질이 날로 악화되고 있는 실정이다. 소양호의 경우, 1988년부터 호수 심층부에서 무산소층이 발견되고, 심층부에서 용존 산소량이 낮은 전형적인 부영양화 상태를 나타내고 있다. 또, 저질토부근에서 인산염의 농도가 높아, 저질토가 인산염을 용출하는 것으로 나타났으며, 부영양화 호수에서 전형적으로 나타나는 Cyanobacteria가 우점종으로 나타나고 있다. 이러한 현상은 소양호에만 국한된 것이 아니고 대청호 등 대형인공호의 대부분에서 일어나고 있다. 호수의 수질 악화는 그 영향이 자연과학적인 면보다는 오히려 사회적인 영향이 더 크다. 그 대표적인 예로 시화호를 들 수 있다. 이 거대한 인공호의 수질 악화가 사회적인 관심사가 되고 있는 것은 우리가 맑고 풍족한 물을 떠나서는 풍요로운 삶을 유지할 수 없기 때문이다.

호수의 수질, 특히 대형호수의 수질은 호수 생태계와 밀접한 관계를 갖는다. 호수에 식물플랑크톤이 많아지면 궁극적으로 유기물이 증가하며, 이 유기물이 미생물에 의하여 분해되면서 산소를 소모하게 된다. 또, 동물플랑크톤과 물고기는 포식작용으로 먹이 연쇄를 이루어 식물플랑크톤을 조절하고 있다. 이러한 생태학적 기능과 각 구성원들의 역할을 정확히 파악하는 것이 호수의 수질을 개선하는데 꼭 필요한 선행 조건이다. 이러한 생태학적 기능과 역할은 지금까지는 관찰하기 쉬운 동식물플랑크톤과 수서동물 위주로 연구되어 왔으나, microbial loop 이론이 제기되면서 미생물, 특히 세균의 역할이 매우 중요함을 인식하게 되었다. 세균은 매우 낮은 농도의 유기물과 영양염류를 이용하여 성장하고, 이 과정에서 체내에 유기물과 영양염류를 고농도로 농축하게 된다. 세균의 몸체는 동물플랑크톤과 원생동물의 먹이가 되고, 이들은 또 상위 먹이 연쇄로 연결된다. 이러한 과정을 microbial loop라고 하며, 생태계의 가장 기본적인 기능이다. 따라서 호수에서 미생물의 동태와 기능을 파악하는 것은 기초 학문으로서 뿐만 아니라 호수 수질을 개선하는 첫 단계로서 매우 중요한 의미를 가지고 있다. 세균이 성장하면서 이용하는 유기물은 식물플랑크톤이 광합성하면서 용출되는, 주로 저분자 물질로 구성된 exudate와 동물플랑크톤의 포식과정과 사체에서 흘러나오는 고분자 물질로 나뉘게 된다. 세균들은 이 유기물을 이용하여 위하여 체외효소를 분비하게 되고, 이들 효소에 의한 유기물의 분해과정에서 생체에서 일어나는 조절, 유도 등의 생화학적 현상이 자연생태계에서도 연쇄적으로 나타나게 된다. 또, 세균군집의 구조는 전자현미경으로 그 형태를 파악한 바로는 시간, 공간에 따라 형태가 변하고 있음을 알게 되었으나, 군집 구조를 밝히기는 아직 어려운 문제가 많다. 즉, 살아있으나, 배양이 되지 않는 세균(viable but unculturable bacteria)이 전체 군집의 95% 이상을 차지하는 만큼 이 부분에 대한 조사와 연구가 없이는 세균의 기능 파악은 불가능한 형편이다. 따라서 형광 현미경으로 직접 계수하는 방법이 도입되었으며, 세균의 활성도와 체외 효소의 활성도, 생리적 활성도, 성장률 등을 생화학적, 유전학적 방법을 동원하여 분석하여 왔다. 이러한 방법을 사용함으로써 기존의 방법으로는 얻을 수 없었던 많은 정보들, 즉, 호수 생태계에서 미생물의 기능을 파악할 수 있었다.

이번 호에서는 새로운 방법으로 호수생태계를 분석한 연구결과들을 모아 특집으로 꾸몄다. 호수의 부영양화, 먹이 연쇄를 이용한 수질 개선 가능성, 호수 생태계의 생화학적 분석 그리고 세균군집의 유전학적 분석이 주된 주제이다. 앞으로 이 분야의 발전을 기대한다.

편집자: 안 태 석 (강원대학교 환경학과)
배 경 숙 (생명공학연구소)