

論 文

반응성 염료의 색도제거를 위한 균주의 분리 및 성장 특성

Isolation and Culture Characteristics of Strains for Color Removal of Reactive Dyes

김정목* · 한명호** · 임학상***

Jeong-Mog Kim* · Myung-Ho Han** · Hak-Sang Lim**

Abstract

Strains degrading and decolorizing reactive dyes, Procion blue HEGN and Procion red HE7B were isolated from water system, are named as RBK1 and RRK, the growth characteristics of which were investigated. Decolorization efficiencies after 42 hrs in batch culture were 95% and 77%, respectively, and the optimal culture conditions of temperature and pH were 30°C, 7.0. Decolorization efficiencies in condition of aerobic shaking culture by strains RBK1 and RRK conspicuously increased, and culture by strain RBK1 was found as 95% after 42 hrs, while standing culture was 64%. Optimum nitrogen source was peptone, and It was found that decolorization efficiencies by strains RBK1 and RRK increased up to 4,000 mg/l of peptone concentration as nitrogen source, but peptone concentration did' nt influence the decolorization efficiency in above 4,000 mg/l. When the concentration of dyes were more than 800 mg/l and 400 mg/l respectively, the strains RBK1 and RRK, which degrade Procion blue HEGN and Procion red HE7B, showed a sharply decreased decolorization efficiencies; then the specific growth rate were 0.25 hr⁻¹ and 0.09 hr⁻¹.

1. 서 론

반응성염료는 분산염료, 산성염료와 더불어 염색공업에서 가장 보편적으로 사용되는 염료

이다. 반응성염료는 주로 azo계 염료이나 anthraquinone, formazan 및 phthalocyanine계 염료가 섬유산업, 염색공업 및 인쇄공업에 광범위하게 사용되고 있다. 이렇게 사용되는 염료의 상당량은 산업폐수에 함유되어 환경을 오염시키고 있다(1). 합성염료는 폐수처리과정에서 쉽게 제거되지 않는 생물학적 난분해성 물질로 알려져 있어 흡착, 응집·침전, 여과 및 산화와 같은 물리·화학적인 방법이 사용되어 왔다(2-4). 그러나 이와 같은 처리법에 의하여

* 대경대학 환경공업과 교수

** 경일대학교 공업화학과 교수

***세명대학교 환경공학과 교수

생성되는 화학 슬러지는 양이 많을 뿐만 아니라 처리에 많은 문제점을 가지고 있다. 또한 산화처리는 고가의 오존이 필요하고 환원제나 sulphur염료가 함유된 폐수의 처리는 매우 어렵다. 따라서 염료가 함유된 폐수의 물리·화학적 처리의 단점을 보완하기 위하여 최근에는 생물학적인 처리에 관한 연구가 주목을 받고 있다(5).

White-rot fungi인 *Phanerochaete Chrysosporium*과 *Tinctporia* sp. (6-8)를 이용한 리그닌 함유 펄프와 종이 폐수의 생물학적 탈색은 착색된 물질이 생물학적으로 분해가 된다는 분명한 증거이다. 많은 연구자들이 생물학적 탈색에 관하여 연구를 하였으나(9-12) 아직 실험실적인 규모이고 실제적인 응용이나 고농도 염료폐수의 처리를 위한 것은 제한되어 왔다. 현재 널리 실용화된 생물학적 활성슬러지 방법이 염색폐수내의 COD와 BOD를 제거하는데 유용하며, 이와 같은 것은 염료가 폐수처리장의 슬러지에 흡착되어 처리되고 흡착이 미생물에 의한 생분해에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.

따라서 본 연구에서는 염색폐수의 색도를 제거하기 위하여 염색공업에서 보편적으로 사용되는 반응성염료의 색도 제거를 위해서 이를 분해·자화하는 균주를 분리하며, 성장특성을 조사하고 그 중 분해능이 우수한 균주를 선정하여 염색폐수의 색도를 제거하기 위한 반응기와 처리공정을 개발하기 위한 기초연구이다.

II. 실험재료 및 방법

균주의 분리

반응성 염료의 상품명은 Remalan(모), Cibalan Brillant(모), Remalan Fast E(모), Procion M or H(섬유소), Cibacron(섬유소), Remazol(섬유소), Drimaren(섬유소), Reacton(섬유소) 등 여러 종류가 있다. 그 중에서도 현재 K방직에서 가장 널리 사용되는 Procion계 염료 2종류를 사용하였다. 자연계로부터 반응성 염료를 분해·자화하는 균주를 분

리하기 위하여 대구염색공업공단내에 위치한 K방직 폐수처리장의 반응슬러지와 대구염색공업공단 종합폐수처리장의 방류수가 방류되는 샛강의 시료를 사용하였다. 실험에 사용한 배지의 조성을 Table 1에 나타내었다.

채취한 시료를 증류수로 희석하고 액체배지에 배양한 후 고체배지에 도말하여 형성된 colony를 다시 액체배양 하였다. 이와 같은 조작을 여러번 되풀이 하여 색도 제거율이 가장 우수한 균주를 순수분리 하였다. 이때 배양온도와 pH는 30°C, 7.0을 유지하였다.

분석방법

UV-visible spectrophotometer를 사용하여 400~700 nm까지 scanning하고 가장 큰 peak를 나타내는 파장을 선정하여 검량선을 작성하여 염료농도를 정량하였다. Table 2에 사용한 염료의 C. I. 번호와 최대 peak를 나타내었다. 염료의 분해율은 시료를 채취 후 2,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상등수의 흡광도를 측정하여 정량하였으며, 초기 흡광도와 비교하여 염료의 제거율을 나타내었다.

균체의 성장은 2,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 증류수로 3회 씻은 후 vortex로 균체를 분산시켜 즉시 흡광도를 측정하여 건조 균체량과의 표준곡선을 작성한 뒤 이를 이용하여 정량하였다.

Table 1. Composition of culture medium for reactive dyes

Components	Concentration(g/l)
Peptone	6.0
Glucose	10.0
KH ₂ PO ₄	1.0
NaCl	0.4
KCl	0.2
CaCl ₂	0.2
Na ₂ HPO ₄	0.16
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.14
dye	0.1-1.5

Table 2. Characteristics of reactive dyes solution

Commercial name	Max. peak(nm)	C.I. No.
Procion blue HEGN	625	blue 198
Procion red HE7B	531	red 141

온도 및 pH의 영향

분리된 균주의 최적 성장 및 염료분해 조건을 조사하기 위하여 pH를 7.0에서 배양온도를 20°C에서 40°C까지 단계적으로 변화하여 염료 분해능을 조사하였다. 최적 pH를 조사하기 위하여 최적 배양온도에서 pH를 6에서 9까지 변화하여 실험하였다. 이때 pH의 변화는 H₂SO₄ 0.1N, NaOH 0.1N을 사용하여 조정하였다. 아울러 균주의 성장에 따른 pH변화를 조사하였다.

교반에 따른 영향

산소의 공급이 분리된 균주의 탈색능에 영향을 미치는지 조사하기 위하여 shaking을 했을 경우와 shaking을 하지 않았을 경우 균주의 염료 제거율을 조사하였다. 이때 shaking incubator는 회전형이며, 회전수는 1분간 180을 유지하였다. 또한 온도는 30°C로 조절된 incubator를 사용하였으며, 배지의 초기 pH는 7.0을 유지하였다.

질소원에 따른 영향

질소원의 영향을 조사하기 위하여 Table 1의 배지에 사용된 peptone 대신 유·무기 질소원인 yeast extract, urea, ammonium sulfate 등을 각각 6 g/l 사용하여 분리한 균주의 염료 제거 특성을 조사하였다. 그외 다른 배양조건은 상기와 동일한 조건을 유지하였다. 아울러 최적 질소원을 선정한 뒤 peptone의 농도를 변화시켜 최적 농도를 조사하였다.

염료농도에 따른 영향

분리한 염료 분해균주가 고농도의 염료를 분해할 수 있는지를 조사하기 위하여 배지의 초기 염료 농도를 각각 변화시켜 액상 배양하였

다. 염료의 초기농도를 100 mg/l, 200 mg/l, 400 mg/l, 800 mg/l 및 1,500 mg/l로 각각 변화하여 RBK₁, RBK₂ 및 RRK의 탈색율과 비성장속도를 조사하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

균주의 분리

순수분리 결과 염료 Procion blue HEGN과 Procion red HE7B를 각각 분해하는 균주 2종류와 1종류를 얻었다. 염료 Procion blue HEGN를 분해하는 균주를 RBK₁, RBK₂로 Procion red HE7B를 분해하는 균주를 RRK로 각각 명명하였으며, 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 이들 중 성장과 색도 제거율이 우수한 균주인 RBK₁, RRK를 선정하여 실험을 위한 공

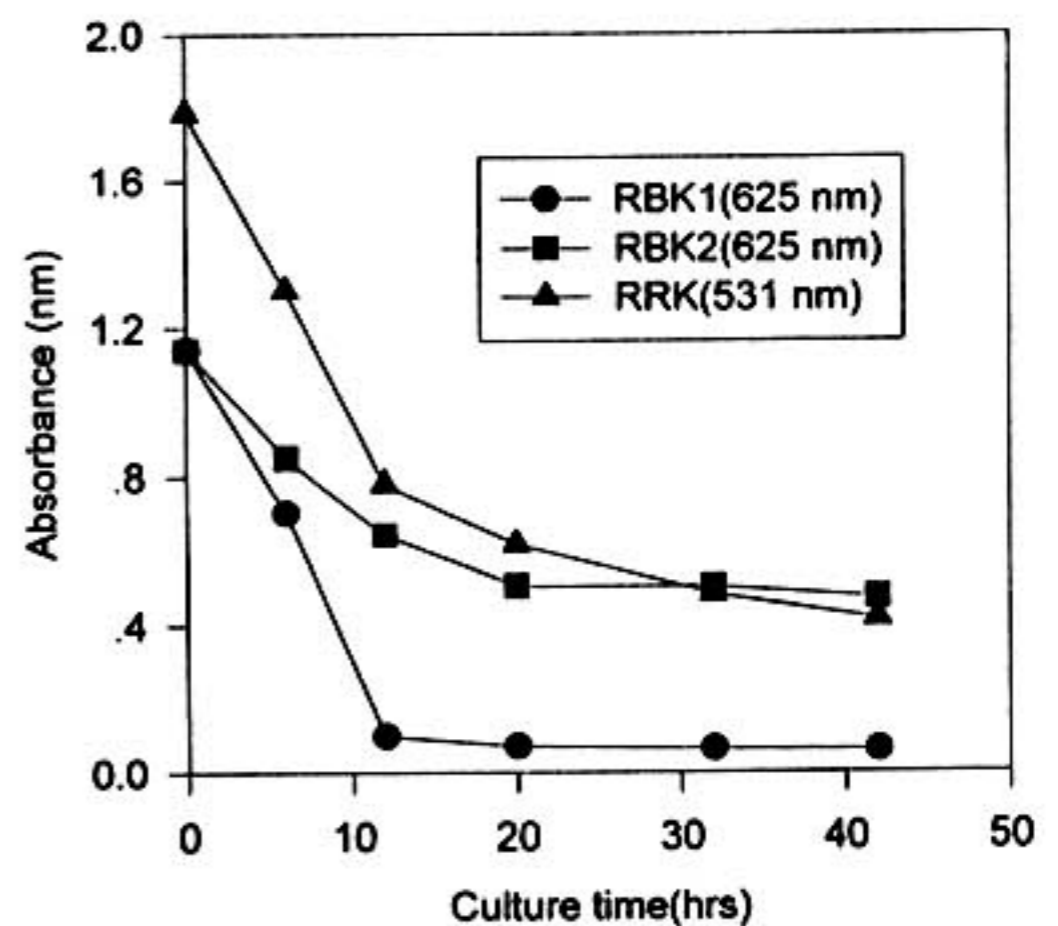


Fig. 1. Decolorization of Procion blue HEGN dye and Procion red HE7B by strains, RBK₁, RBK₂ and RRK, respectively. (culture conditions : dye conc. 100 ppm, temp. 30°C, initial pH 7.0, shaking 180 rpm)

시균으로 사용하였다.

균주 RBK1은 배양 42 hrs 후 흡광도 1.141에서 0.061로 감소하여 95%의 제거율을 나타내었으며, RRK 배양 42 hrs 후 흡광도 1.786에서 0.415로 감소하여 77%의 제거율을 나타내었다.

성장특성

최적 성장조건을 구하기 위하여 배양온도를 20, 25, 30, 35, 40°C 등으로 변화하여 온도의 변화에 따른 염료의 탈색율을 조사하였다. 결과를 Fig. 2에 나타내었으며, 분리한 균주 RBK1, RRK 모두 30°C와 35°C에서 대체로 성장 및 탈색율이 높았다. 배양 32 hrs 후 RBK1의 경우 95%의 탈색율을 나타내었으며, RRK의 경우 동일시간에 65%의 탈색율을 나타내었다. 따라서 두 균주 모두 배양의 최적온도는 30°C로 나타났다.

또한 분리된 균주의 최적 pH를 조사하기 위하여 pH를 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 9.0등으로 변화하여 염료의 탈색율을 조사하였다. 그 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 대체로 약산성 영역보다는 중성에서 약알칼리성 영역까지 양

호한 탈색율을 보였으며, 최적 pH는 7.0으로 나타났다. 배양 30 hrs 후 RBK1, RRK는 pH 7.0에서 88%, 72%의 탈색율을 각각 나타내었다.

분리된 균주의 성장과 염료의 탈색에 따른 용액의 pH변화를 조사하였으며, Fig. 4, 5에 각각 나타내었다. 균주 RBK1의 경우 초기 pH 7.0에서 배양 6 hrs까지 급격히 감소하여 pH 3.9를 나타내었으나 그 후로는 큰 변화가 없었다. 배양 12 hrs까지의 탈색율은 77%이며, 이때 pH는 4.2로 나타나 미생물의 자화보다는 급격한 성장으로 흡착에 의한 탈색으로 사료된다.

균주 RRK의 경우도 역시 배양초기에는 미생물의 급격한 성장에 따라 pH가 감소하였으나 시간의 경과에 따라서 서서히 감소하였다. 배양 32 hrs 후에 탈색율은 73%를 나타내었고 pH는 6.2로 나타났다.

산소의 영향

산소의 공급에 따른 분리된 균주의 염료 분해특성을 조사하기 위하여 배양온도 30°C, 초기 pH 7.0으로 한후 180 rpm으로 진탕배양과 정지배양 했을 경우 배양시간의 경과에 따른 탈색율을 Fig. 6에 나타내었다. 균주 RBK1,

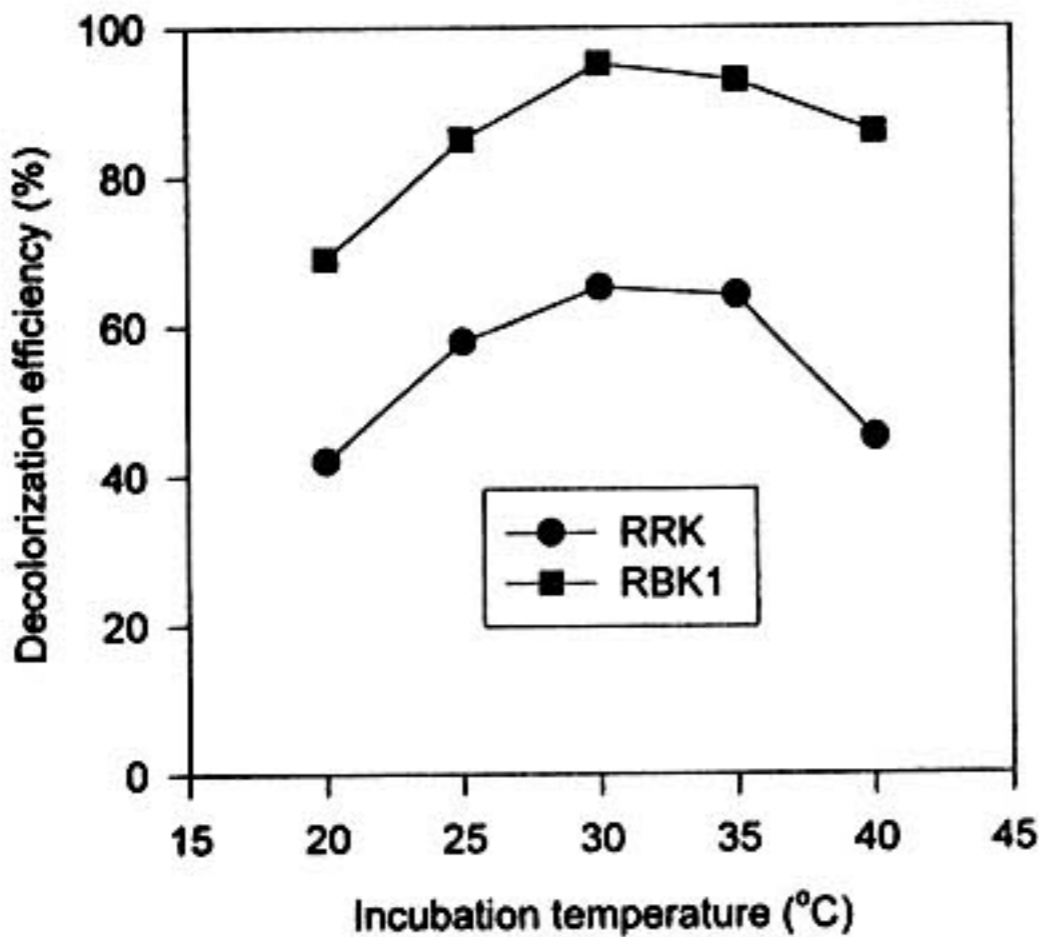


Fig. 2. Effect of incubation temperature on the decolorization of dyes. (culture conditions : dye conc. 100 ppm, initial pH 7.0, shaking 180 rpm)

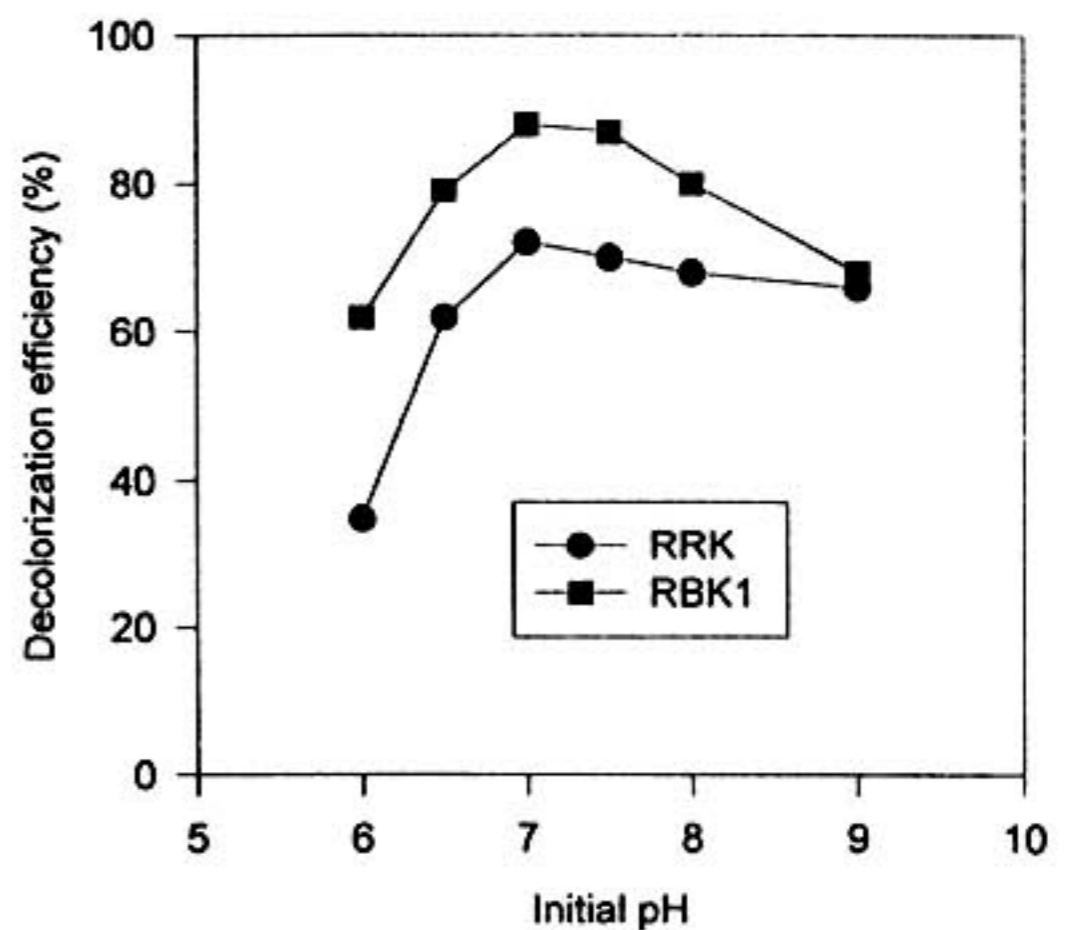


Fig. 3. Effect of initial pH on the decolorization of dyes. (culture conditions : dye conc. 100 ppm, shaking 180 rpm)

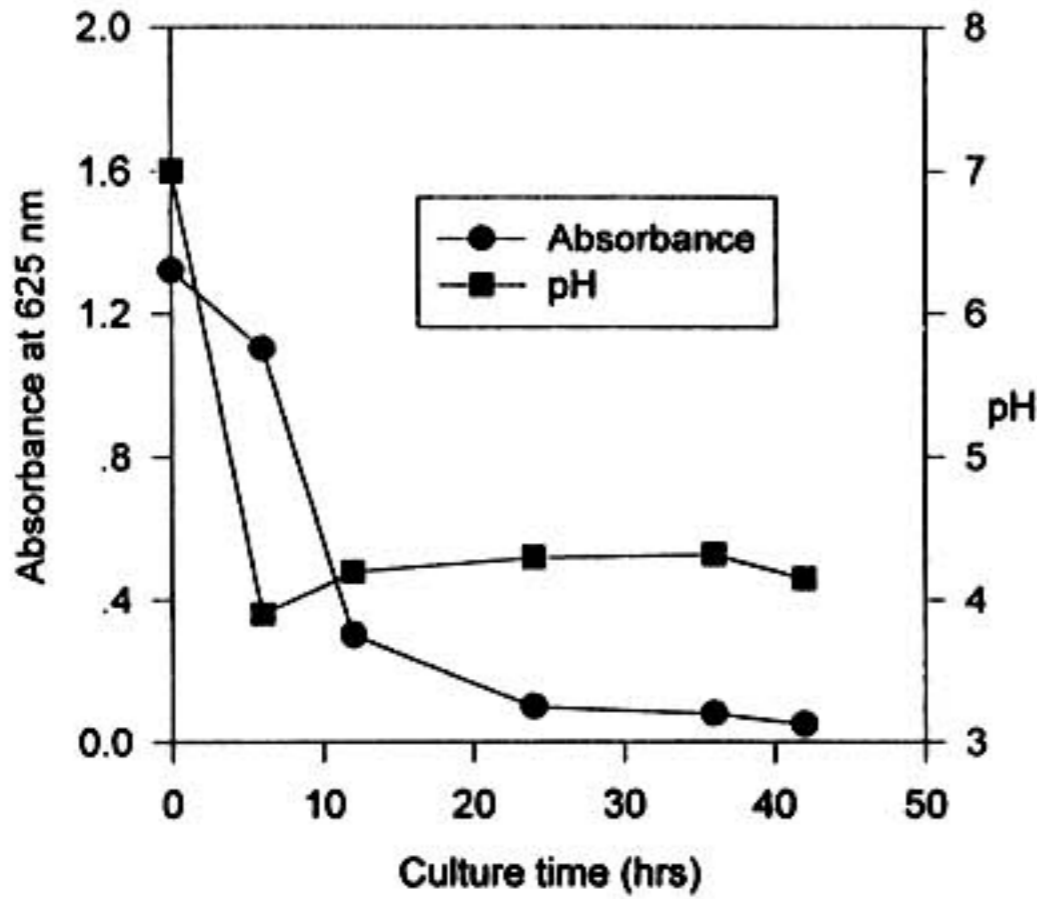


Fig. 4. Growth characteristics of strains, RBK1.(culture conditions: dye conc. 100 ppm, Temp. 30°C, initial pH 7.0, shaking 180 rpm)

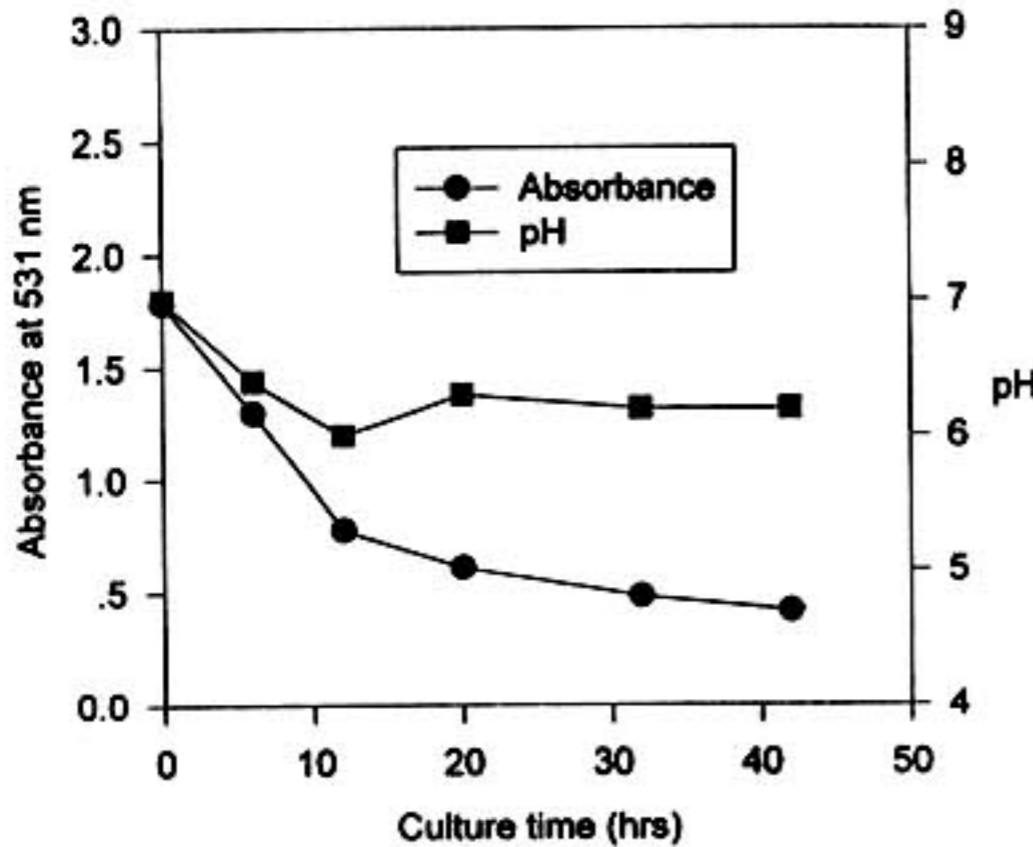


Fig. 5. Effect of initial pH on the decolorization of dyes. (culture conditions : dye conc. 100 ppm, shaking 180 rpm)

RRK는 진탕했을 경우 배양 42 hrs 후에 95%와 77%의 탈색율을 각각 나타내었으나 정지배양의 경우 배양 동일시간에 64%와 24%의 낮은 탈색율을 나타내었다. 이와 같은 결과로부터 염료의 분해 mechanism이 산소전달에 민감하며, 효과적인 탈색을 위해서는 산소를 공급하는 호기성 조건이 바람직하다.

질소원에 따른 영향

사용된 유·무기 질소원은 peptone, yeast extract, urea, ammonium sulfate 등이며, 그 결과를 Table 3에 나타내었다.

Peptone과 yeast extract를 질소원으로 사용하였을 때 균주 RBK1과 RRK 모두 배양 40 hrs 후 94.4%, 69.0%의 높은 염료의 제거 특성을 나타내었으나 다른 질소원은 대체로 낮게 나타났다. 특히 질소원을 첨가하지 않았을 경우 각각의 균주는 10%와 6.3%의 제거율을 나타내어 질소원이 탈색에 중요한 영양소임을 알 수 있다.

또한 최적의 질소원인 peptone의 농도를 0 mg/l에서 10,000 mg/l까지 단계별로 변화시켜 분리한 균주 RBK1과 RRK의 염료의 제거 특성을 Fig. 7에 나타내었다.

Peptone의 농도가 4,000 mg/l까지는 첨가농도에 비례하여 균주 RBK1과 RRK 모두 탈색율이 증가 하였으나 그 이상의 농도는 분리한 균주의 탈색율에는 영향을 미치지 못하였다.

여료농도에 따른 영향

회분 배양시 염료 초기농도에 따른 탈색율과

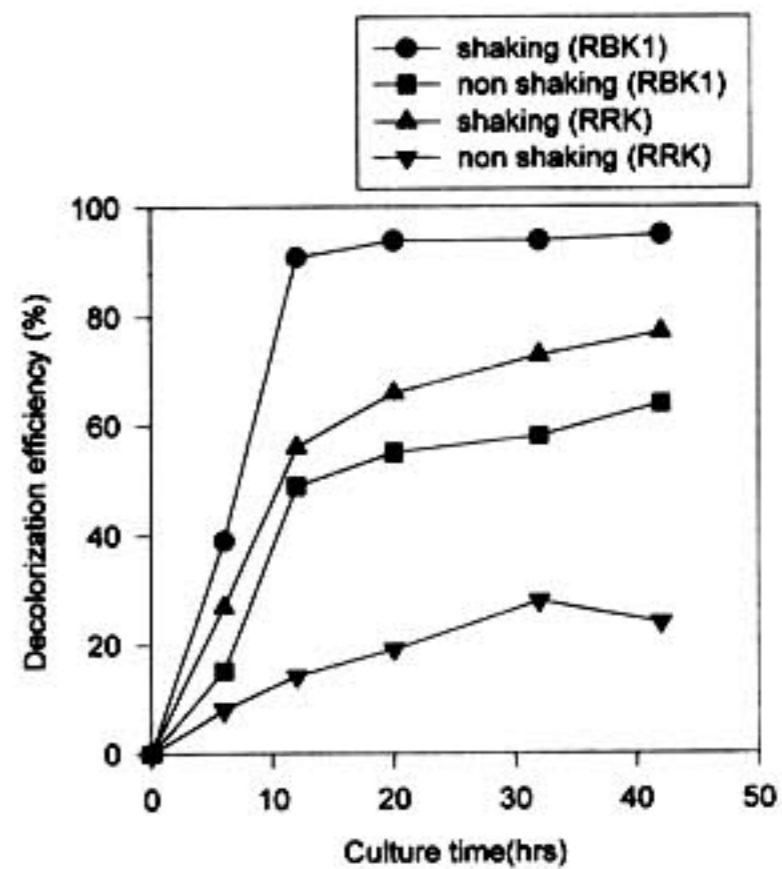


Fig. 6. Effect of shaking on the decolorization of dyes. (culture conditions : dye conc. 100 ppm, shaking 180 rpm, temp. 30°C, initial pH 7.0)

Table 3. Effect of nitrogen sources on the decolorization of strains, RBK1 and RRK.(culture conditions : nitrogen source 6g/l, temp. 30°C, initial pH 7.0, shaking 180 rpm, culture time 40hrs)

Nitrogen sources	Decolorization efficiencies(%)	
	RBK1	RRK
none	10	6.3
Peptone	94.4	69.0
Yeast extract	88.5	67.2
Urea	39.8	22.3
Ammonium sulfate	29.0	26.0

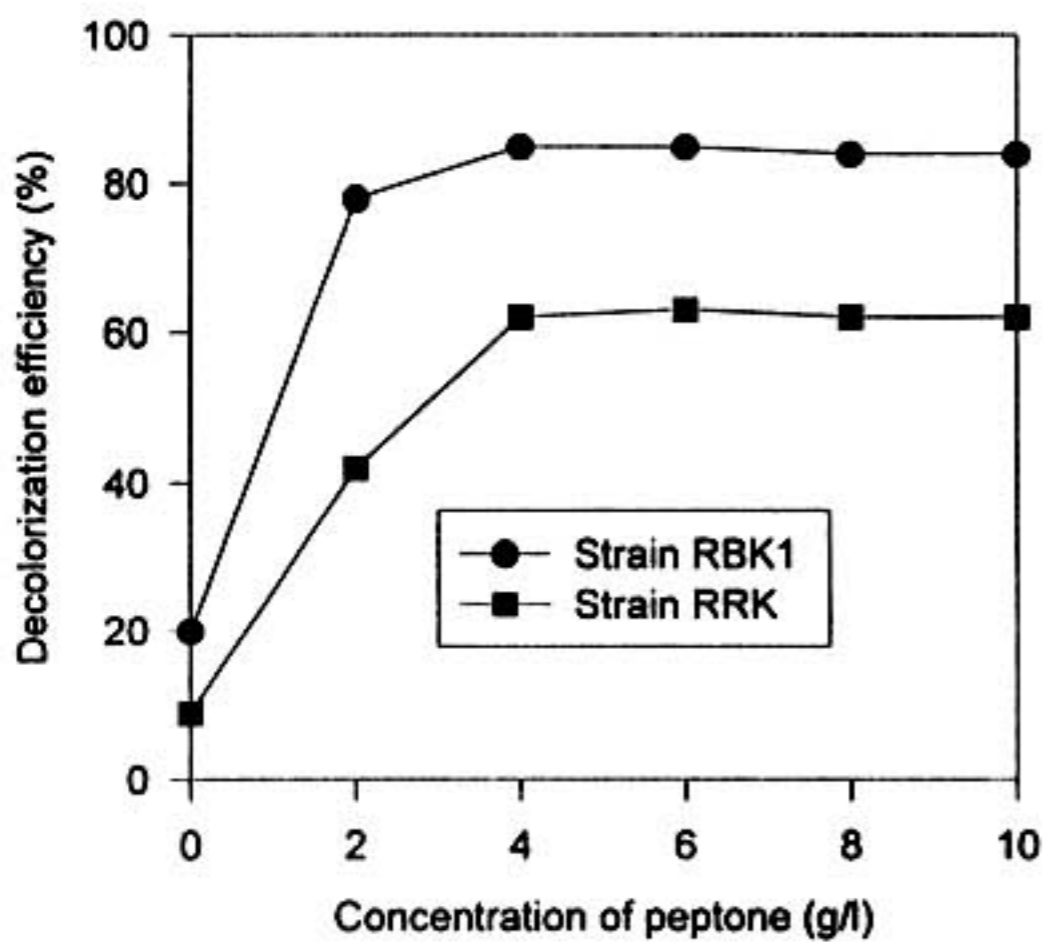


Fig. 7. Effect of peptone concentration on the decolorization of strains, RBK1 and RRK.(culture conditions : temp. 30°C, initial pH 7.0, shaking 180 rpm)

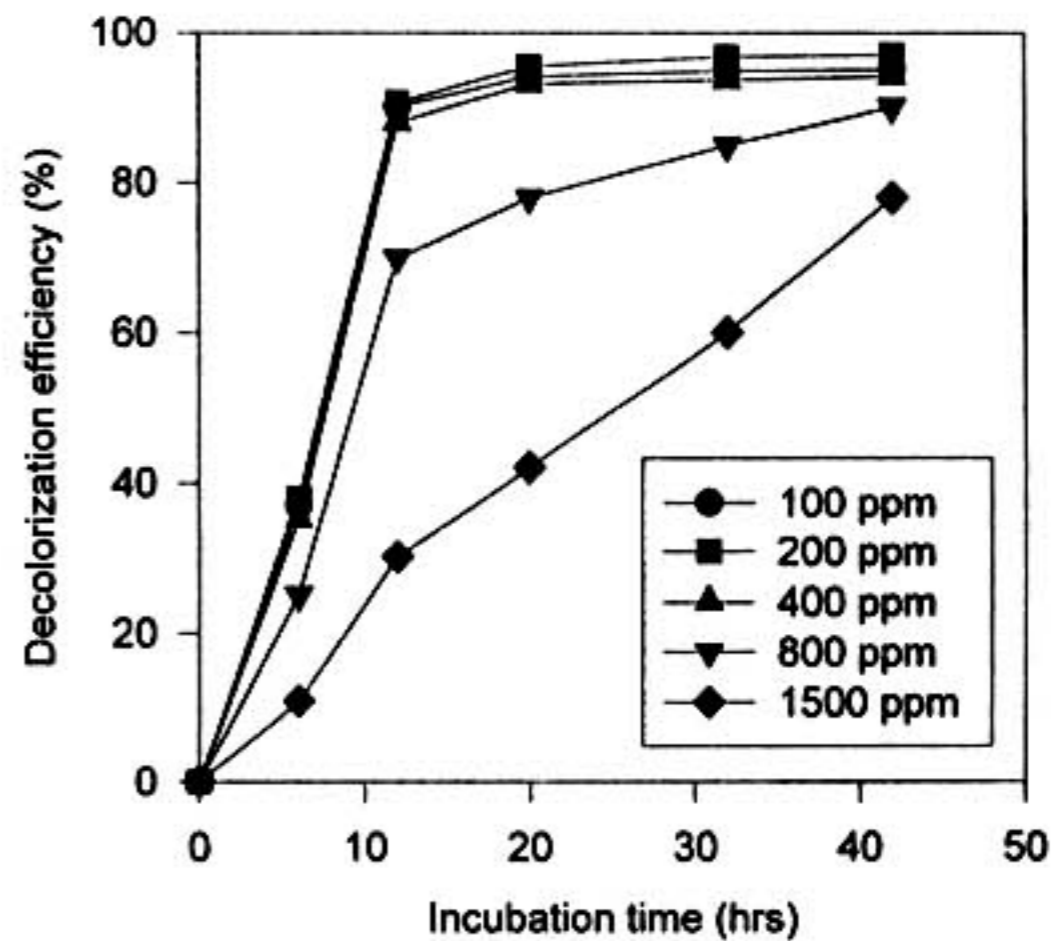


Fig. 8. Effect of dye concentration on the decolorization of strains, RBK1.(culture conditions: temp. 30°C, initial pH 7.0, shaking 180 rpm)

비성장속도를 조사 하였으며, Fig. 8, 9와 Fig. 10에 나타내었다. Fig. 8에서 RBK1은 초기염료의 농도 100 mg/l에서 400 mg/l까지는 탈색율이 매우 높으며, 염료의 농도가 800 mg/l 이상일 때는 탈색속도가 느리고 탈색율이 현저히 낮아졌다. 초기 염료농도가 400 mg/l일 때 12 hrs후 88 %의 제거율을 나타내었으나 800 mg/l일 때는 70%의 탈색율을 나타내었다. 또한 Fig. 10에서 보는 바와 같이 염료의 농도가 800 mg/l일 때 분해균주의 비성장속도가 0.25 hr⁻¹로 감소하고 1,500 mg/l일때는 급격히 감소하여 0.08 hr⁻¹로 나타났다.

Fig. 9에서 염료 분해균 RRK의 경우 초기 염료농도 400 mg/l이상에서 탈색율이 감소하였으며, 염료농도 100 mg/l일 때 12 hrs 후 55 %의 제거율을 나타내었고 400 mg/l일 때는 42%의 탈색율을 나타내었다. 균의 비성장속도를 나타내는 Fig. 10에서도 염료의 농도가 400 mg/l일때는 0.09 hr⁻¹까지 감소하여 염료 분해균 RBK1보다도 낮은 농도에서 저해가 일어날 수 있다. 따라서 고농도 염료는 미생물의 성장에 저해를 일으켜 성장속도와 탈색율이 감소되는 것으로 사료된다.

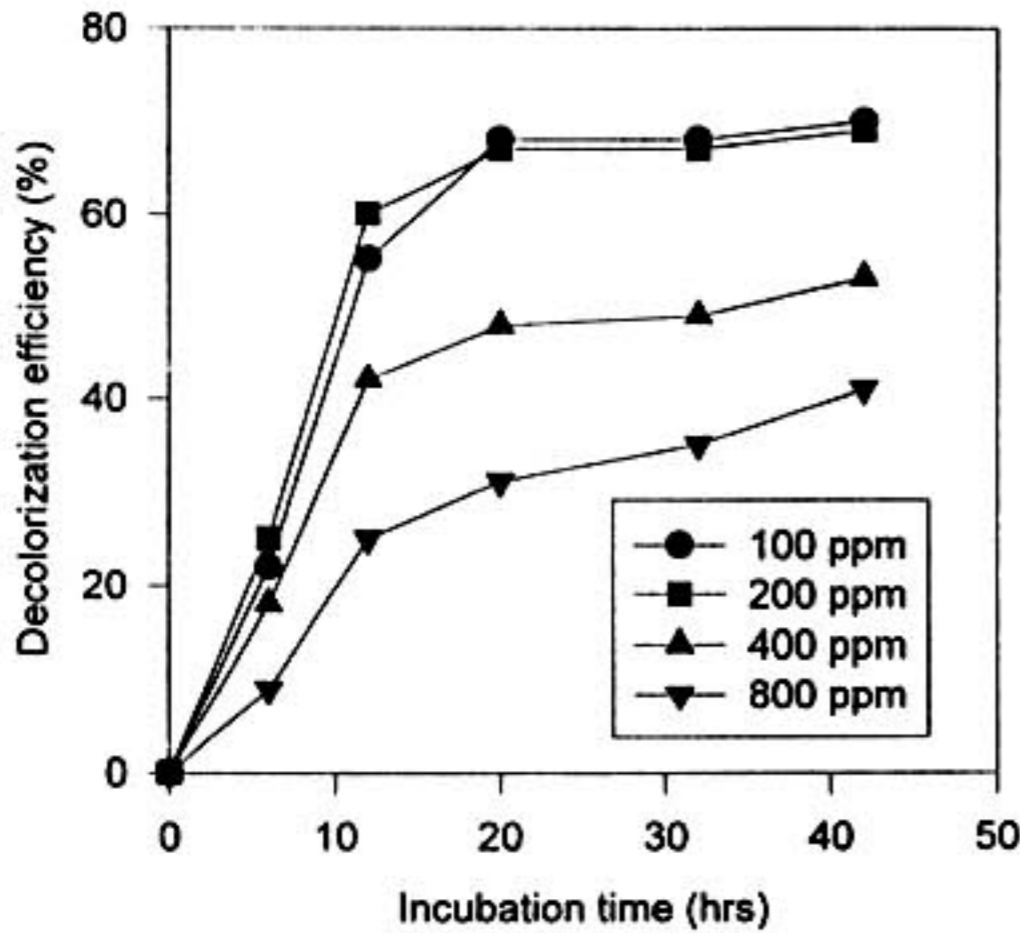


Fig. 9. Effect of dye concentration on the decolorization of strains, RBK1.(culture conditions : temp. 30°C, initial pH 7.0, shaking 180 rpm)

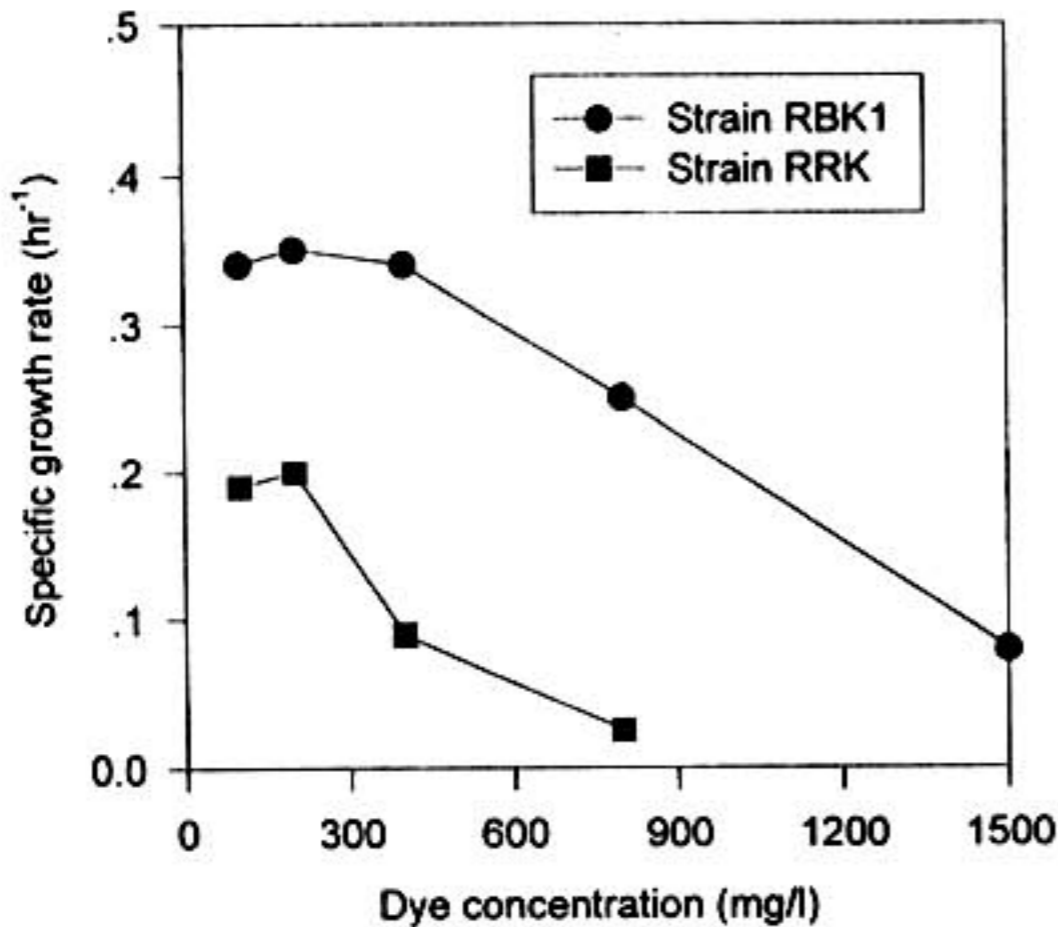


Fig. 10. Effect of dye concentration on the specific growth rate of strains, RBK1 and RRK.(culture conditions : temp. 30°C, initial pH 7.0, shaking 180 rpm)

결 론

수계로부터 반응성 염료 Procion blue HEGN 과 Procion red HE7B를 분해·탈색하는 균주를

분리하여 RBK1, RRK로 각각 명명하고 성장특성을 조사하였다. 회분배양시 분해균주 RBK1 과 RRK는 배양 42 hrs 후 95%와 77%의 탈색율을 각각 나타내었으며, 최적 배양온도와 pH는 30°C, 7.0으로 나타났다. 분해균주 RBK1, RRK는 호기적 진탕배양의 조건에서 양호한 탈색율을 보였으며, 배양 42 hrs 후 RBK1의 경우 진탕배양은 95%, 정지배양은 64%의 탈색율을 각각 나타내었다. 최적 질소원은 peptone으로 나타났으며, peptone의 농도가 4,000 mg/l까지는 분해균주 RBK1, RRK 모두 탈색율이 증가 하였으나 그 이상의 농도에서는 탈색율에 영향을 미치지 못하였다. 염료 Procion blue HEGN과 Procion red HE7B를 분해하는 균주인 RBK1, RRK의 경우 염료의 농도가 각각 800 mg/l, 400 mg/l이상일 때 탈색율이 현저히 낮아지고 비성장속도가 0.25 hr⁻¹, 0.09 hr⁻¹로 각각 나타났다.

감사의 글

이 논문은 1996년 한국학술진흥재단의 공모 과제 연구비에 의하여 연구되었으며, 이에 감사를 표시합니다.

참고문헌

1. Weichang Zhou and Wolfgang Zimmermann: "Decolorization of industrial effluents containing reactive dyes by actinomycetes", FEMS Microbiology Letters, 107, p157-162, 1993.
2. Rafii, F., W. Franklin, and C. E. Cerniglia: "Azoreductase activity of anaerobic bacteria isolated from human intestinal microflora", Appl. Environ. Microbiol., 56, p2146-2151, 1990.
3. Wuhrmann, K., K. Mechsner, and T. Kappeler: "Investigation on rate-determining factors in microbial reduction of azo dyes", Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 9, p325-338, 1980.
4. Groff, K. A., and Kim, B. R., "Textile Wastes", J. Water Pollution Control Federation, 61(6), p872, 1989.
5. Eaton, D., H. M. Chang, and D. K. Kirk:

- Decolorization of Kraft bleach plant effluents", TAPPI, 63, 103, 1980.
6. 吉田高年, 太田洋: "染色廢水處理", 水處理技術, 30(10), p.575, 1989.
 7. Fukuzumi, T.: "Microbial decolorization and defoaming of pulping waste liquors", in Lignin biodegradation: microbiology, chemistry and potential applications, vol. I, CRC Press, 1980.
 8. Jeffrey K. Glenn and Michael H. Gold: "Decolorization of Several Polymeric Dyes by the Lignin-Degrading Basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*", Applied and Environmental Microbiology, 45(6), p1741-1747, 1983.
 9. Jack T. Spadaro, Michael H. Gold, and V. Renganathan: "Degradation of azo dyes by the lignin-degrading fungus *Phanerochaete chrysosporium*". Applied and Environmental Microbiology, 58(8), p2397-2401, 1992.
 10. Ryu, B. H. and Y. D. Weon: "Decolorization of azo dyes by *Aspergillus sojae* B-10". Journal of Microbiology and Biotechnology, 2(3), p215-219. 1992.
 11. Toshihiko Ogawa, Chizuko Yatome, and Eiichi Idaka: "Biodegradation of Paminoazobenzene by continuous cultivation of *Pseudomonas pseudomallei* 13NA". JSDC 97, p435-438, 1981.
 12. 이제혁, 황규대, 조동욱, 전억한: "Pseudomonas속의 균주를 이용한 Azo계와 Reactive 계 Dye의 생분해", 한국생물공학회지, 8(2), pp.150-155, 1993.