

## Azo 염료의 분해를 위한 호알카리성 균주의 분리 및 배양조건의 최적화

†김정목·<sup>1</sup>정현채·<sup>1</sup>권오진  
대경대학 환경공업과, <sup>1</sup>호텔제과제빵과  
(접수 : 1999. 12. 2., 개재승인 : 1999. 12. 16.)

## Isolation and Optimization of Cultivating Conditions of Alkalophilic Strains for Biodegradation of Azo Dye

Jeong-Mog Kim<sup>†</sup>, Hyun-Chae Chung<sup>1</sup>, and Oh-Jin Kwon<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Department of Environmental Industry, Taekyeung College, Kyeungsan 712-850, Korea  
<sup>1</sup>Department of Hotel Baking Technology, Taekyeung College, Kyeungsan 712-850, Korea  
(Received : 1999. 12. 2., Accepted : 1999. 12. 16.)

In order to treat of alkaline dye-processing wastewater, alkalophilic strains biodegrading azo dye, Acid red 1, is isolated from natural system, and optimal culture conditions are examined using response surface analysis, statistical analysis system program. 15 different species which grow in alkaline culture media are isolated from the effluent and river soil discharged from wastewater treatment plant in dye industrial complex. One strain which has the best decolorization efficiency is chosen, and named as AR-1. The result of the examination of carbon, nitrogen and phosphorus sources which have influence on growth and decolorization reveals that optimum carbon, nitrogen and phosphorus sources are 1.0% fructose, 1.0% polypeptone, 1.0% yeast extract and 0.5%  $K_2HPO_4$ , respectively. In order to optimize of biodegradation conditions of dye by response surface analysis, the characteristics of decolorization and cell growth according to culture temperature and time are monitored. The result shows that the one is optimum 34.77°C for 12.97 hours; the other at 34.73°C for 12.96 hours. While, optimal conditions of culture that satisfy both cell growth and decolorization are the temperatures from 32.86°C to 36.36°C and the period of 10.96 to 15.75 hours, respectively.

**Key Words :** isolation, optimization, alkalophilic strain, azo dye

### 서 론

1970년 후반부터 polyester 직물류의 딱딱한 촉감을 개선하기 위하여 알카리 감량가공을 하고 있다. 알카리에 의하여 중량이 감소되는 현상은 polyester 섬유가 가수분해되어 TPA(Terephthalic acid)-2Na염과 Ethylene glycol(EG)이 NaOH와 함께 생성되기 때문이다(1, 2). 이와 같은 폐수는 염색가공공장에서 호발, 정련, 감량가공 및 염색가공을 연속적으로 행하기 때문에 여러 염료와 계면활성제, 표백제 및 염들이 혼합된 고농도, 강알카리(pH 13)의 상태로 배출되고 있다(3, 4). 염색폐수의 처리방법은 물리화학적 방법(5, 6)과 생물학적 방법(7-11)으로 나눌 수 있다. 그러나 물리화학적 방법은 운전비용이 많이 소요될 뿐 아니라 2차적인 오염 문제가 있어, 상대적으로 운전비용이 저렴한 생물학적 방법

에 의한 염색폐수처리가 바람직하다. 염색폐수처리에 사용되는 미생물은 대부분 pH 7 부근의 중성균이며, 적정온도는 25°C 부근으로 알려져 있으므로 고온의 알카리성인 염색폐수를 중성균에 의하여 처리하기 위해서는 냉각탑의 부대적인 설비 보완과 알카리 폐수의 중화를 위하여 산의 투입이 필요하다(12). 그러나 자연계에서는 일반적인 개념의 환경조건에서 벗어나 존재하는 미생물이 많으며 최근에는 이런 극한 환경에서 존재하는 미생물을 여러 산업에 이용하려고 연구가 활발히 진행되고 있다(13-16). 염색가공공장에서 발생하는 고온, 고농도, 강알카리의 폐수도 고온에서 잘 성장할 수 있는 호알카리성 미생물을 이용할 수 있다면 시설 투자비와 운전비의 절약을 기대할 수 있을 뿐 아니라 2차 오염을 유발하지 않고 염색폐수의 색도를 제거할 수 있다.

현재 보고된 호알카리성 미생물의 특성은 미생물 자체가 성장하는데 적합한 환경의 pH로 전환하는 능력을 가지고 있으며 성장에  $Na^+$  이온이 필요하고 호열성인 것으로 나타났다(17). 이와 같은 호알카리성 미생물의 특성을 염색폐수의 특성과 비교해 볼 때 이의 이용은 여러면에서 매우 유용하다 할 것이다. 즉 pH 9 이상의 염색폐수에서 중성미생물은 대부분 사멸하나 호알카리성

<sup>†</sup> Corresponding Author : Dept. of Environmental Industry, Taekyeung College, Kyungsan, Kyongpook, 712-850, Korea  
Tel : 053-850-1382, Fax : 053-850-1325  
E-mail : jmkim@tk.ac.kr

미생물은 pH에 따른 적응력이 뛰어나 알카리성 염색폐수를 중심으로 조절할 필요가 없어진다. 또한  $\text{Na}^+$  이온은 염색폐수에 풍부하게 존재하고 고온이므로 호알카리성 미생물의 성장에 유리하다. 한편, 산업체에서 염색폐수처리 공정의 개발을 위해 여러 가지 변수의 최적화가 요구되고 있으며, 특히 최근에 와서는 실험설계와 컴퓨터 프로그램을 이용한 반응표면 분석방법의 응용 연구가 진행되고 있다(18-21).

따라서 본 연구는 염색폐수의 색도제거를 위하여 아조계 염료를 분해하는 호알카리성 균을 자연계로부터 분리하여 그 특성을 조사하고 반응표면분석법(response surface methodology, RSM)으로 염료의 탈색 및 균성장에 미치는 배양조건(시간 및 온도)을 최적화하고자 중심합성계획에 의해 설계된 반응조건별에 따라 배양한 후 SAS program으로 분석하였다.

## 재료 및 방법

### 시료의 채취 및 분리 선별

염색폐수가 배출되는 D도시 하천 주위의 물과 토양시료를 20여점 채취하여 균 분리원으로 사용하였다. 균 분리용 시료는 아조염료인 Acid Red 1이 250 ppm 첨가된 분리용 배지(polypeptone 0.5%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.1%, yeast extract 0.5%,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  1.0%,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.02%, dye 250 ppm, pH 10.0) 10 mL에 접종하여 30°C에서 3일간 중균을 배양한 후 탈색여부를 육안으로 확인하여 1차 선별하였다. 선별된 접종관은 그 배양액 0.1 mL를 200 ppm의 염료가 첨가된 평판배지에서 생성된 집락을 순수분리하여 2차 선별하였다. 순수분리된 균들은 재차 100 ppm의 염료가 첨가된 액체배지에서 균성장과 탈색율로 최종 1 균주를 선별하여 본 실험에 사용하였다. 모든 실험은 염료가 첨가되지 않은 대조구와 병행하였으며 아조염료는 Acid Red 1(Aldrich사)을 사용하였으며, stock solution(dye:distilled water=1:100)을 여과(0.2 μm)시킨 후 냉장고에 보관하면서 실험에 사용하였다.

### 균의 배양과 혼탁액의 조제

균을 분리용 사면배지에 24시간 수회 계대배양 후 이것을 동일한 액체배지 100 mL에 1 백금이를 접종하여 30°C에서 24시간 중균을 배양한 다음, 배양액 1 mL를 다시 새로운 액체배지 100 mL에 접종하고 16시간 정치배양시켰다. 정치배양액을 4°C에서 10분간 원심분리(9,000×g)하여 얻은 균체를 멸균증류수로 2회 세척, 원심분리한 후 10배 회석하여 균 혼탁액으로 사용하였다.

### 균성장 및 염료의 탈색율

균성장은 균 혼탁액을 Spectrophotometer를 사용하여 660 nm에서 측정한 O.D.값으로 나타내었다. 염료의 탈색율은 염료를 첨가한 증식배지에 균을 배양하여 시간별로 샘플링한 후, 10,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 나온 상동액을 염료의 최고 흡광치를 나타내는 과정에서 흡광도를 측정하여 대조군에 대한 감소율(%)로 나타내었다.

### 염료농도에 따른 탈색도

염료가 100, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600 ppm 및 750 ppm 첨가된 10 mL의 분리용 배지에 균 혼탁액을 0.3 mL

접종한 후 37°C에서 17시간 동안 배양하면서 균의 성장에 따른 탈색에 소요되는 시간을 조사하였고, 탈색의 판단은 95% 이상 탈색되었을 때를 기준으로 하였다.

### 각종인자에 의한 영향

분리용 배지에 염료를 250ppm 첨가한 배지를 기본배지로 하여 탄소원은 sucrose, fructose 및 galactose를 1.0%(w/v)의 농도로, 질소원은 polypeptone과 yeast extract의 농도를 0~2.0%(w/v)로 각각 조절하고 분리균을 접종한 후, 16시간 배양하여 균성장 및 탈색율을 조사하였고  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ 는 0~0.5%(w/v)의 농도로 하여 조사하였다.

### 반응표면분석에 의한 최적화

배양온도 및 시간을 달리하여 분리균의 증식과 염료분해에 미치는 영향을 monitoring하고자 실험계획으로서 중심합성계획을 사용하였으며, 반응표면회귀분석을 위해 SAS(statistical analysis system) program을 사용하였다. 균의 배양시 2가지 요인(독립)변수는 배양온도( $X_1$ ) 및 배양시간( $X_2$ )이며 각 요인변수들은 -1, 0, 1의 세단계로 부호화하였고 실험조건들은 Table 1에 나타내었다. 균의 배양조건과 관련된 반응변수( $Y_n$ )는 균성장( $Y_1$ ) 및 탈색율( $Y_2$ )로 하였다. 이때 2가지 반응조건에 따른 2차 회귀모형식은 식(1)과 같다. 그리고 회귀분석 결과 임계점이 최대점과 최소점이 아니고 안장점일 경우에는 능선분석을 하여 최적점을 구하였다.

$$Y_n = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_{12} X_1 X_2 + b_{11} X_1^2 + b_{22} X_2^2 \dots \dots \dots (1)$$

여기서  $Y_n$ 는 균의 증식 및 탈색율,  $X_1$  및  $X_2$ 는 독립변수,  $b_0$ 는 절편,  $b_n$ 은 회귀계수이다.

균성장은 균 배양액을 660 nm에서 측정한 O.D.값으로 나타내었고 색소의 탈색율은 염료를 첨가한 증식배지에 분리균을 배양하여 시간별로 샘플링한 후, 원심분리(10,000 rpm, 15분)하여 나온 상동액의 흡광치를 측정하여 대조군에 대한 감소율로 나타내었다.

Table 1. Levels of independent variables in experimental design for cell growth and decolorization.

$X_i$	Independent variables	Levels		
		-1	0	1
$X_1$	Temp.(°C)	25	35	45
$X_2$	Time(hr)	6	12	18

## 결과 및 고찰

### 염료농도에 따른 균성장 및 탈색도

알카리성 염색가공폐수를 처리하기 위하여 아조염료인 Acid Red 1을 분해하는 호알카리성 균을 염색공단 폐수처리장에서 배출되는 방류수 및 하천토양을 시료로 하여 알카리성(pH 10.0) 배지에 성장하는 균 15종을 순수분리하였다. 그 중 탈색능이 가장 우수한 균주 하나를 선별하여 AR-1로 명명하고 실험을 위한 공시균으로 사용하였다. AR-1의 탈색율을 측정하기 위해 최고

흡광치를 조사한 결과, 505 nm로 나타났으며 이 과정에서 흡광도를 측정하여 탈색율을 조사하였다. Figure 1에서 보는 바와 같이 각 농도별로 염료가 첨가된 접종관은 17시간 이내에 모두 탈색되었고 특히, 100 ppm의 농도에서는 3시간만에 탈색되었으며 탈색관에서의 균성장은 배양시간이 경과됨에 따라 비례적으로 높게 나타났다. Cripps 등(14)은 *P. chrysosporium* 균으로 16~76  $\mu\text{M}$ 의 아조염료를 24시간 이내에 90% 이상을 분해시켰다고 보고하였다. 한편, 300~550 ppm에서는 농도에 상관없이 탈색은 7시간으로 동일하게 나타났으며 이러한 결과는 일정농도에서는 균성장이 탈색에 영향을 미치지 못하였음을 시사하고 있어 균수 이외에 또 다른 factor가 탈색에 관여하고 있음을 추측할 수 있었다.

#### 각종인자에 의한 영향

염료가 250 ppm 첨가된 분리용 배지를 기본배지로 하여 탄소원, 질소원 및  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ 가 균성장 및 탈색율에 미치는 영향을 살펴본 결과는 Figure 2~5와 같다. 1.0%의 sucrose, fructose 및 galactose를 첨가하여 균성장과 탈색율을 측정한 결과(Figure 2), 첨가한 탄소원에서 균성장은 매우 낮았으나 탈색율은 40~95%로 나타났고 fructose에서 가장 좋았다. 이와 같은 결과는 Figure 1의 분리용 배지에서 염료농도 250 ppm에서 5시간 내에 탈색된 것과 비교해 보면 탄소원 첨가가 균성장과 염료의 탈색율의 증

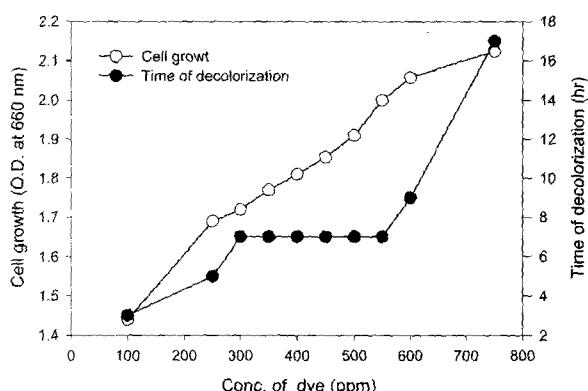


Figure 1. Effect of the concentration of azo dye on cell growth and time of decolorization.

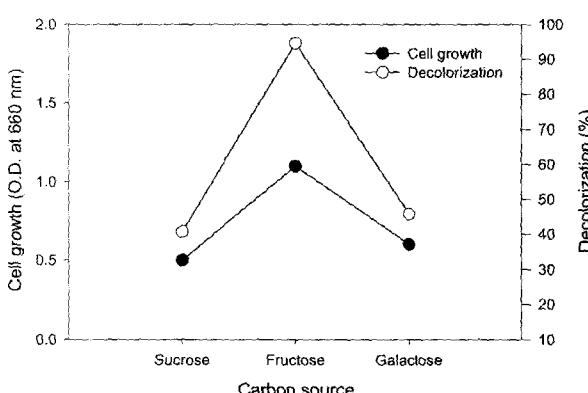


Figure 2. Effect of carbon sources on cell growth and decolorization(%) after 16 hr of reaction in batch culture. The concentrations of carbon sources are 1.0%(w/v).

가에 크게 영향을 미치지 않는 것으로 판단되었다. Polypeptone 을 0~2.0%로 조정하여 첨가한 결과(Figure 3), 균성장은 1.0%에서 가장 우수하였으며 탈색율은 농도에 비례하여 높을수록 좋았고 2.0%의 농도에서는 95%의 탈색율을 나타내었다. Yeast extract는 1.0% 농도에서 탈색율과 균성장이 가장 우수하였고 그 이상의 농도에서는 급격하게 균성장과 탈색율이 저하되었으며, 이를 무첨가와 비교해 보면 yeast extract는 탈색율을 높히기 위한 필수성분으로 나타났다. Cripps 등(14)은 질소원을 제한하여 *P.*

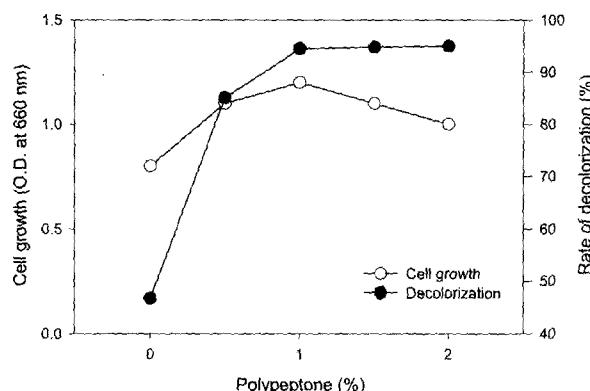


Figure 3. Effect of polypeptone concentration on cell growth and decolorization after 16 hr of reaction in batch culture.

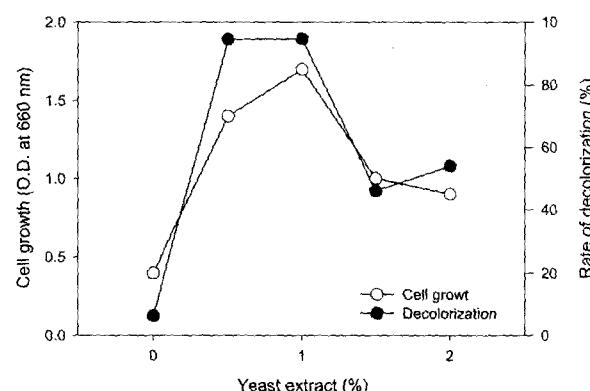


Figure 4. Effect of yeast extract concentration on cell growth and decolorization after 16 hr of reaction in batch culture.

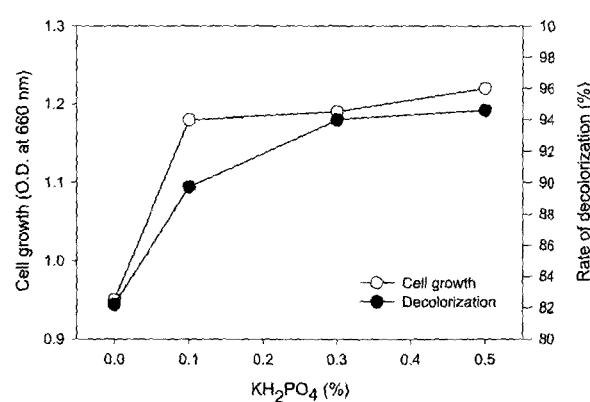


Figure 5. Effect of  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  concentration on cell growth and decolorization after 16 hr of reaction in batch culture.

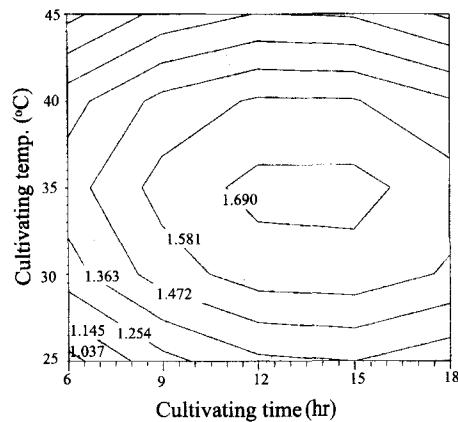
*chrysosporium* 균주로 염료들을 분해시킨 결과, Azure B와 Tropeolin O의 분해에는 영향이 없었으나 Congo red는 질소원이 충분한 배지에서만 분해하였다고 보고하였다. 영양원으로서 배양액의 원충액으로 사용되는 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>는 첨가한 0.5% 농도까지 균성장과 탈색율이 농도에 비례해서 높게 나타났다(Figure 5).

이상의 결과로 분리용 배지에 polypeptone 2.0%, yeast extract 1.0%, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.5%를 첨가한 후 염료분해를 위한 최적배지로 하였으며 다음 실험부터 이를 적용하였다. Fung와 Miller(12)는 tryptic soy agar에 52종의 염료들을 첨가하여 30균주(그람양성 16주, 그람음성 14주)의 성장에 미치는 영향을 보고하였다.

#### 반응표면 분석에 의한 최적화

여러 가지의 배양조건에서 균성장과 탈색율에 미치는 영향을 모니터링하고자 각 요인변수에 따른 반응변수의 값(Table 2)을 반응표면분석법에 의하여 이들의 contour map과 response surface를 Figure 6, 7에 각각 나타내었다. 2가지 요인변수인 배양온도(25~45°C) 및 시간(6~18시간)이 변환될 때 반응변수인 균성장 및 염료의 탈색율에 대한 반응표면 회귀계수는 Table 3와 같고 이를 반응표면 회귀식으로 나타내면 다음의 식(2)~(3)과 같다. 이 때 R<sup>2</sup>은 Y<sub>1</sub>은 0.8992(P<0.05), Y<sub>2</sub>는 0.9044(P<0.05)로서 유의성이 인정되었다.

(A)



$$Y_1 = -11.459375 + 0.643100X_1 + 0.234310X_2 - 0.001783X_1X_2 - 0.009062X_1^2 - 0.004950X_2^2 \quad (2)$$

$$Y_2 = -684.644167 + 37.683000X_1 + 15.795556X_2 - 0.100000X_1X_2 - 0.531900X_1^2 - 0.398056X_2^2 \quad (3)$$

Table 2. Experimental data for cell growth and decolorization under different conditions of cultivating temperature and time.

No.	Independent variables		Dependent variables	
	Temp. (°C)	Time (hr)	Cell growth (O.D.)	Decolorization (%)
1	25(-1) <sup>1)</sup>	6(-1)	0.081	0
2	25(-1)	18( 1)	0.716	29
3	45( 1)	6(-1)	0.083	0
4	45( 1)	18( 1)	0.190	5
5	35( 0)	12( 0)	1.356	79.13
6	35( 0)	12( 0)	1.356	79.13
7	25( 1)	12( 0)	0.501	24
8	45(-1)	12( 0)	0.166	3
9	35( 0)	6( 1)	0.327	20
10	35( 0)	18(-1)	1.860	84.72

<sup>1)</sup>Parenthesises are the coded symbols of levels of independent variables.

배양온도 및 시간이 균성장과 탈색에 미치는 영향을 보면 Figure 6, 7에서 보는 바와 같이 균성장과 탈색율은 비례하며 배

(B)

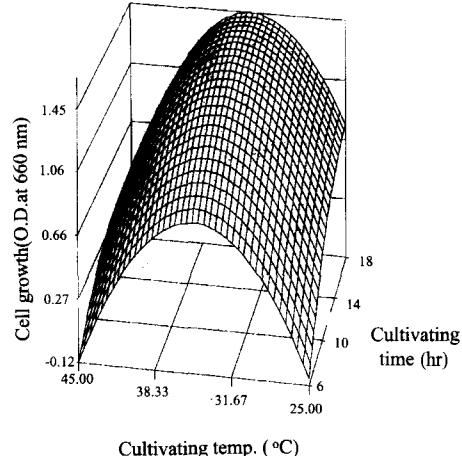
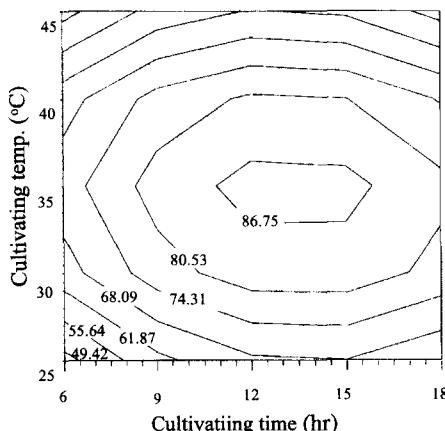


Figure 6. Contour map (A) and response surface (B) for the effect of cultivation time and temperature on cell growth.

(A)



(B)

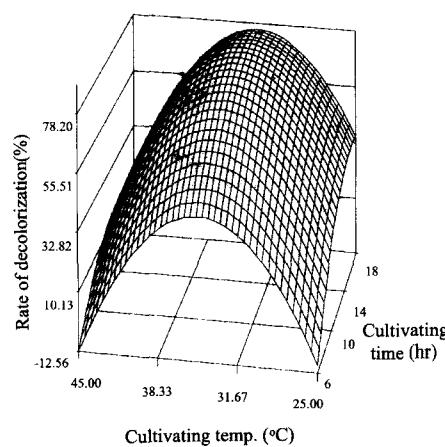


Figure 7. Contour map (A) and response surface (B) for the effect of cultivation time and temperature on decolorization.

Table 3. Regression coefficients of the second order polynomials<sup>1)</sup> for three response variables.

Coefficient	Cell growth Y <sub>1</sub>	Decolorization Y <sub>2</sub>
b <sub>0</sub>	-11.459375***	-684.644167***
Linear	0.643100***	37.683000***
b <sub>1</sub>	0.234310	15.795556
Interactions		
b <sub>12</sub>	-0.001783	-0.100000
Quadratic		
b <sub>11</sub>	-0.009062***	-0.531900***
b <sub>22</sub>	-0.004950	-0.398056
% Variability explained(R <sub>2</sub> )	0.8992	0.9044
Probability of F	0.0401	0.0362

<sup>1)</sup>Model on which X<sub>1</sub>=temperature of cultivation, X<sub>2</sub>=time of cultivation is:

$$Y_n = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_{12} X_1 X_2 + b_{11} X_1^2 + b_{22} X_2^2$$

(Y<sub>n</sub> : dependent variables, b<sub>0</sub>:intercept, b<sub>n</sub> : regression coefficients)

Significant at \*10% level, \*\*5% level, \*\*\*1% level.

양온도 35°C, 배양시간 18시간 내외에서 균의 성장과 탈색율이 우수하였다. 배양온도 및 시간에 대하여 변수분석을 하여 본 결과, Table 4와 같으며 배양온도에 대한 F-ratio가 균성장이 8.358, 탈색율이 8.936으로서 유의성이 5% 이내의 수준에서 인정되었다. 배양시간은 균성장이 2.959, 탈색율이 2.835로서 10% 이내의 유의수준에서 유의성이 인정되지 않았다. 이러한 결과로 볼 때 분리균의 성장 및 탈색율은 배양온도에 영향을 받고 있는 것으로 나타났다. Chung 등(22)은 triphenylmethane계 염료를 10~50°C의 온도에서 각각 생분해율이 10~100%로 온도에 따라 매우 차이가 있었음을 보고하였다.

Table 4. Analysis of variables for the overall effect of process variables on the responses.

Cultivation conditions	F-ratio	
	Cell growth	Decolorization
Temp.(°C)	8.359**	8.936**
Time(hr)	2.959	2.835

Significant at \*10% level, \*\*5% level, \*\*\*1% level.

#### 변수상호간의 상관관계

배양온도 및 시간 등의 요인변수와 균성장 및 탈색율을 나타내는 반응변수 각각의 상관계수를 구해 본 결과는 Table 5와 같다. 배양온도에 대한 균성장과 탈색율의 상관계수는 -0.17472, -0.18278로서 부(負)의 상관관계로 나타났다. 특히 균성장과 탈색율과의 상관계수는 0.98132로서 1%의 유의수준에서 유의성이 인정되었고 배양온도와 시간과의 상관관계는 없었다. 이와 같은 상관관계로 볼 때 배양온도에 따라 분리균의 성장과 탈색율에 유의적인 영향을 미치게 됨을 알 수 있었다.

Table 5. Pearson correlation matrix among variables.

Variables	Temp.	Time	Decolorization
Decolorization	-0.17472	0.38331	
Cell growth	-0.18278	0.48408	0.98132***

Significant at \*10% level, \*\*5% level, \*\*\*1% level.

#### 최대성장 및 탈색율에 대한 배양조건 예측

각 반응변수에 대한 회귀분석을 실시해 본 결과, 모두 안장점을 나타내고 있었으므로 다시 능선분석을 한 결과를 Table 6에 나타내었다. 분리균의 최대성장을 나타내는 배양조건은 온도 34.77°C 및 시간 12.97시간이었으며 또한, 탈색율은 온도 34.7°C 및 12.96시간에서 각각 최대가 될 것으로 예측되었다.

Table 6. Predicted levels of optimum cultivating conditions for responses variables by the ridge analysis.

Cultivation conditions	Levels for optimum responses	
	Cell growth	Decolorization
Temp.(°C)	34.77	34.73
Time(hr)	12.97	12.96
Morphology	maximum	maximum

#### 배양조건의 최적화

균성장 및 탈색율에 관련된 2 가지 반응변수들의 높은 값을 다 같이 충족시킬 수 있는 최적조건을 얻기 위하여 2개의 contour map을 모두 겹쳐서 superimposed contour map을 작성하여 보았다. 예측된 배양조건의 최적범위는 Figure 8의 빛금친 부분이 얻어졌으며 그 값을 Table 7에 나타내었다. 균성장 및 염료의 탈색을 최대화시킬 수 있는 배양조건의 최적범위는 배양온도 32.86~36.36°C, 배양시간 10.96~15.75시간으로 각각 나타났고 이를 특성은 반응기에서의 실험수 적용시 응용될 수 있을 것으로 사료된다.

Table 7. The range of optimum cultivating conditions for response variables yielding maximizes responses by the superimposed contour maps<sup>1)</sup>.

Cultivating conditions	Range of optimum conditions	
	Temp.(°C)	32.86~36.36
Time(hr)	10.96~15.75	

<sup>1)</sup> Contour maps for cell growth and decolorization overall acceptability.

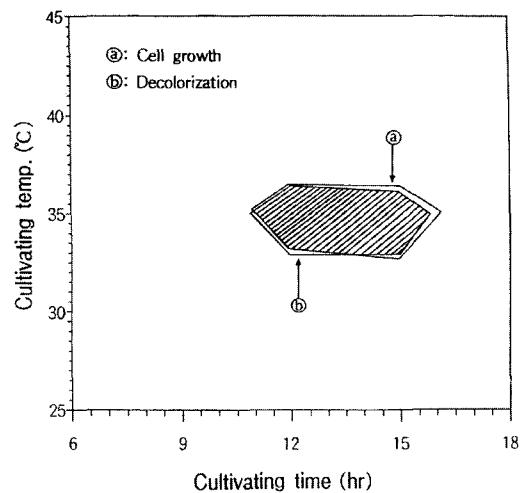


Figure 8. Superimposed contour map for optimization of temperature and time in cell growth and decolorization.

## 요 약

알카리성 염색가공폐수를 처리하기 위하여 아조염료인 Acid Red 1을 분해하는 호알카리성 균을 자연계에서 분리하였으며, 반응표면분석법인 SAS(statistical analysis system)프로그램을 이용하여 최적배양조건을 조사하였다. 염색공단 폐수처리장에서 배출되는 방류수 및 하천토양을 시료로 하여 알카리성(pH 10.0) 배지에 성장하는 균 15종을 순수분리하였다. 그 중 탈색율이 가장 우수한 균주 하나를 선별하여 AR-1로 명명하였다. 탄소원(sucrose, fructose, galactose), 질소원(polypeptone, yeast extract) 및 인산원( $K_2HPO_4$ )이 분리균의 성장 및 탈색율에 미치는 영향을 조사한 결과, 1.0% fructose, 1.0% polypeptone, 1.0% yeast extract, 0.5%  $K_2HPO_4$ 이 최적의 조건으로 나타났다. 반응표면분석에 의하여 염료의 생분해조건을 최적화하고자 배양온도와 배양시간에 따른 탈색율과 균성장의 특성을 모니터링하였다. 탈색율은 34.73°C에서 12.96시간, 균성장은 34.77°C에서 12.97시간 배양시 각각 최적인 것으로 나타났다. 한편, 균성장과 탈색율을 다같이 만족할 수 있는 최적배양조건은 32.86~36.36°C, 10.96~15.75시간으로 각각 나타났다.

## 감 사

본 연구는 1997년 한국학술진흥재단의 자유공모과제 연구비에 의하여 이루어졌으며, 이에 감사를 드립니다.

## REFERENCES

1. Maria B., A. P., M. B., Pasti-grigsby, S. Goszynski, R. L. Crawford and D. L. Crawford(1992), Mineralization of sulfonated azo dyes and sulfamic acid by *Phanerochaete chrysosporium* and *Streptomyces chromofuscus*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**, 3598-3604.
2. Glenn, J. K. and M. H. Gold(1983), Decolorization of several polymeric dyes by the lignin-degrading basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **45**, 1741-1747.
3. Michaels, G. B. and D. L. Lewis(1986), Microbial transformation rates of azo and triphenylmethane dyes, *Environ. Toxicol. Chem.*, **5**, 161-166.
4. Ogawa, T., E. Idaska and Y. Yamada(1974), Treatment of basic dyes by microbial populations in activated sludge, *J. Soc. Fiber Sci. Technol.*, **30**, T516-T522.
5. Porter, J. J. and E. H. Snider(1976), Long-term biodegradability of textile chemicals, *J. Water Pollut. Control Fed.*, **48**, 2198-2210.
6. Cammarota, M. C. and G. L. Sant'Anna Jr.(1992), Decolorization of kraft bleach plant E<sub>1</sub> stage effluent in a fungal bioreactor, *Environ. Technolol.*, **13**, 65-71.
7. Yatome, C., T. Ogawa, D. Koga and E. Idaka(1981), Biodegradability of azo and triphenylmethane dyes by *Pseudomonas pseudomallei* 13NA, *J. Soc. Dye. Colour.*, **97**, 166-169.
8. Paris, D. F., W. C. Steen, G. L. Baughman and J. T. Barnett, Jr.(1981), Second-order model to predict microbial degradation of organic compounds in natural waters, *Appl. Environ. Microbiol.*, **41**, 603-609.
9. Brown, J. P.(1981), Reduction of polymeric azo and nitro dyes by intestinal bacteria, *Appl. Environ. Microbiol.*, **41**, 1283-1286.
10. Wuhrmann, K., K. Mechsner and T. Kappeler(1980), Investigation on rate-determining factors in the microbial reduction of azo dyes, *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **9**, 325-338.
11. Horitsu, H., M. Takada, E. Idaka, M. Tomoyeda and T. Ogawa(1977), Degradation of p-aminoazobenzene by *Bacillus subtilis*, *Eur. J. Appl. Microbiol.*, **4**, 217-224.
12. Fung, D. Y. C. and R. D. Miller(1973), Effect of dyes on bacterial growth, *Appl. Microbiol.*, **25**, 793-799.
13. Michaels, G. B. and D. L. Lewis(1985), Sorption and toxicity of azo and triphenylmethane dyes to aquatic microbial populations, *Environ. Toxicol. Chem.*, **4**, 45-50.
14. Cripps, C., J. A. Bumpus and S. D. Aust(1990), Biodegradation of azo and heterocyclic dyes by *Phanerochaete chrysosporium*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**, 1114-1118.
15. Passczynski, A., M. M. Pasti, S. Gosczyński, D. L. Crawford and R. L. Crawford(1991), New approach to improve degradation of recalcitrant azo dyes by *Streptomyces* spp. and *Phanerochaete chrysosporium*, *Enzyme Microbiol. Technol.*, **13**, 378-384.
16. Kulla, H. G., F. Klausener, U. Meyer, B. Ludeke and T. leisinger(1983), Interference of aromatic sulfo groups in microbial degradation of azo dyes Orange I and Orange II, *Arch. Microbiol.*, **135**, 1-7.
17. Horikshi, K.(1991), *Microorganism in Alkaline Environments*, p. 6, pp. 187-246, Kodansha Press, Tokyo.
18. Holt, S. D., A. V. A. Resurreccion and K. H. Mcwatts (1992), Formulation, evaluation and optimization of tortillas containing wheat, cowpea and peanut flours using mixture response surface methodology, *J. Food Sci.*, **57**, 101-107.
19. Floros, J. D. and M. S. Chinnan(1988), Seven factor response surface optimization of a double stage lye(NaOH) peeling process for pimento peppers, *J. Food Sci.*, **53**, 631-638.
20. Guzman-Maldonado, H., O. Paredes-Lopez and J. Dominguez (1993), Optimization of an enzymatic procedure for the hydrolytic depolymerization of amaranth starch by response surface methodology, *Wiss. U-Technol.*, **26**, 28-33.
21. Mudahar, G. S., R. T. Toledo, J. D. Floros and J. J. Jen(1989), Optimization of carrot dehydration process using response surface methodology, *J. Food Sci.*, **54**, 714-719.
22. Chung, Y. G., W. D. Ji, M. S. Jeung, K. H. Kim and D. J. Kwak(1995), Isolation and characteristics of triphenylmethane dry-degrading microorganism, *J. Kor. Soc. Hyg. Sci.*, **1**, 9-15.