한국생물공학회지 제 15권 제 1호
Korean J. Biotechnol. Bioeng.
Vol. 15, No. 1, 66-71(2000)

*Geotrichum candidum*을 이용한 염색 염료의 색도제거

고 동 욱 · [1]이 진 원 · [2]유 영 제 · †김 의 용
서울시립대 화학공학과, [1]광운대 화학공학과, [2]서울대 화학공학과
(접수 : 2000. 1. 12., 게재승인 : 2000. 2. 19.)

Decolorization of Textile Dyes by *Geotrichum candidum*

Dong Wook Ko, Jin Won Lee[1], Young Je Yoo[2], and Eui Yong Kim†
Dept. of Chemical Engineering, University of Seoul, Seoul 131-743, Korea
[1]Dept. of Chemical Engineering, Kwangwoon University, Seoul 139-701, Korea
[2]Dept. of Chemical Engineering, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea
(Received : 2000. 1. 12., Accepted : 2000. 2. 19.)

The results for decolorization of various dyes by *Geotrichum candidum* (KCTC 6195) showed that optimal initial pH, temperature and glucose concentration were 6, 30℃, and 30 g/L. Light had no effect on the cell growth and decolorization efficiency. All the dyes - dispersive dyes, acid dyes and reactive dyes - used on the solid medium were also decolorized in a liquid medium, although the decolorizing rates varied depending on the dye structure. An energy source was essential for cell growth or decolorization because textile dyes did not support growth. The percentage of decolorization of Acid orange 10 was shown to be 91% for initial conc. 100ppm and 84% for initial conc. 500ppm. The biomass could adsorb the dyes such as Acid red 1; 19.8%, Acid red 88; 73%, Acid orange 10; 12.1%, Reactive blue 19; 14.6%. The dye removal was due to the sorption of dye to the fungal biomass as well as some extracellular enzymes. Color removal was enhanced up to 97% within 3 days by the addition of glucose after 2 days incubation.

Key Words : *Geotrichum candidum*, decolorization, biosorption, biodegradation, dye

서 론

인류의 문명발달과 함께 자연에 대한 파괴가 시작되었으며, 최근 그 피해 정도가 심각한 상태에 이르렀다. 합성염료의 이용은 섬유, 종이, 화장품, 식품, 그리고 최근에는 액정, 컬러 필름용 색소 등 전자기기 관련 분야로 폭 넓게 확산되고 있다. 특히 섬유산업과 염색공업은 의생활 개선과 함께 앞으로도 지속적으로 발달될 것이므로 이에 따라 폐수 발생량과 특성 면에서 염색폐수는 환경에 매우 큰 영향을 줄 것으로 판단된다. 염색공업 관련 업체는 폐수배출 총 업체의 약 6%로 폐수배출량의 4.5%에 불과하지만, 처리 전 BOD농도로 비교해 보면 오염 부하량의 약 24%에 달한다. 현재 국내의 염료 생산고는 연간 약 7만 톤으로, 염료공업에서 배출되는 1차 폐수는 약 100만 톤으로 추산된다(1).

염색폐수는 섬유질에 따른 염색법이 다르고 같은 섬유질이라 할지라도 각 공장에서 사용하는 염색법과 색조마다 사용하는 염료의 종류와 매염제가 다르므로 성분과 조성이 다양하며, 그에 따른 폐수의 조성도 다양하다. 또한 계절에 따라, 하루중의 작업공정 가동시간에 따라 수질의 변동이 매우 크고 난분해성 물질이 많이 포함된 것이 큰 특징이다. 배출되는 염색폐수는 아직까지도 대부분 사업장에서 효율이 낮은 미생물 슬러지에 의한 처리방법을 사용하고 있다. 최근 폐수의 양을 줄이고자 하는 노력과 함께 물리-화학적 처리 기술을 개발하고 있지만, 성분조성이 복잡하고 수질변동이 커 처리비용과 효율면에서 만족할만한 수준은 아니며 따라서 기존의 처리 시설을 대부분 그대로 유지하고 있다. 하지만 각종 국제기구의 환경오염에 대한 제한, 환경에 관한 법률 강화와 환경보전 인식의 확산으로 효율적인 폐수처리 시스템이 요구되고 있다. 현재 사용되는 기존의 처리시설은 효율적이지 못한 운용과 관리 소홀로 많은 부분 기능을 발휘하지 못하고 있으며 폐수의 양과 질 변동에 적합한 시스템을 운용하지 못하고 있는 실정이다(2).

본 연구에서는 기존의 시설을 이용하면서도 염색폐수 배출에서 문제시되고 있는 색도를 제거하기 위한 시스템에 대해 고찰하였다. 색도제거에 대해 최근 많은 연구가 이루어지고 있지만, 용해성 염료는 일반적으로 응집-침전 처리가 어렵다. 따라서 산화-환원 공정에 의해 발색단 자체를 파괴, 활성탄을 이용한 흡착, 미생물에 의한 염색폐수의 색도제거에 관한 연구가 이루어지고 있다. 이중에서 미생물에 의한 염색폐수의 색도제거 방법은 물리-화학적 방법에 비해 처리비용이 저렴하고 처리한 후의

† Corresponding author : Dept. of Chemical Engineering, University of Seoul, Seoul 131-743, Korea
Tel : 02-2210-2530, Fax : 02-2216-0570
E-mail : eykim@uoscc.uos.ac.kr

2차 오염을 방지할 수 있는 장점이 있다. 미생물에 의한 탈색은 *Phanerochaete chrysosporium*을 이용하여 많은 연구가 진행되고 있다. 이 균은 리그닌을 분해하는 균으로 알려져 있는데 아조(Azo)계 염료를 체외효소에 의하여 분해하는 것으로 보고되었다(3). 이밖에도 *Pleurotus ostreatus*(4), *Coriolus versicolor*(5), *Streptomyces* spp.(6), *Proteus* spp.(7), *Streptococcus* spp.(8), *Enterococus* spp.(9), *Bacillus cereus*(10) 등이 염료분해를 위하여 연구되었다. 이러한 미생물에 의한 분해뿐 아니라 *B. subtilis*(11), *Actinomyces*(12) 등의 흡착에 의해 염료를 제거한 연구도 보고되었다. *Geotrichum candidum*은 스크리닝을 통해 탈색연구에 이용되었는데 아조(Azo)계 및 안스라퀴논(Anthraquinone)계 등 다양한 염료를 분해하는 활성이 있음이 보고되었다(13,14). 최근 염색폐수 중에서도 색도를 제거하는 연구가 활발히 이뤄지고 있으며, 색도제거는 기존의 연구를 바탕으로 미생물에 의한 흡착(15,16)과 효소(17,18)를 이용하여 염색폐수의 색도를 처리한 연구가 보고되었다. 본 연구에서는 *Geotrichum candidum*을 이용한 색도제거에 대하여 연구하였는데 색도제거의 효율을 최대로 하는 배양조건의 최적화와 실제 염색폐수처리에 대한 응용가능성을 검토하기 위하여 색도제거 효율에 대해 연구하였다. 흡착에 의한 색도제거와 효소에 의한 색도제거에 대하여 조사해 각각의 특성과 색도제거 성능을 관찰하여, 그 효율을 최대로 하는 시스템에 대하여 연구하였다.

재료 및 방법

균주 및 배지조성

본 연구에서는 색도제거 능력이 있는 peroxidase를 생산하는 *Geotrichum candidum*(KCTC 6195)을 유전자은행(Korean Collection for Type Cultures, KCTC)으로부터 분양받아 사용하였다. 동결 건조 상태의 균주를 증류수에 30분 이상 현탁시킨 후에 potato extract 200 g/L, glucose 20 g/L, agar 15 g/L로 구성된 고형배지 위에 도말한 후, 25℃에서 배양하였다. 균주의 활성을 유지하기 위해 2주마다 계대배양을 하고 4℃의 냉장고에서 보관하였다. *Geotrichum candidum*은 진균류로 실 모양의 균사체를 가진 사상곰팡이로 포자의 크기는 5~15 μm이었다(Figure 1). 실험을 위해 YMA배지로 glucose 30 g/L, peptone 5 g/L, malt extract 3 g/L, yeast extract 3 g/L, agar 20 g/L로 구성된 고형배지를 사용했으며 액체배양시에는 agar를 제외하였다. 질소제한에 의한 색도제거 효율을 관찰하기 위해 YM배지에 glucose 10 g/L, $(NH_4)_2SO_4$ 1 g/L를 첨가하여 사용하였으며 pH 조정을 위해 2 N HCl, 2 N NaOH를 사용하였다.

시약 및 분석

실험을 위한 시약으로 Acid red 1(Amido Naphthol Red G, Azophloxine, C.I. 18050, max = 502, 506 nm, Aldrich Co.), Acid red 88(C.I. 15620, max = 506 nm, Aldrich Co.), Acid orange 10(Orange G, C.I. 16230, max = 475 nm, Aldrich Co.), Disperse red 1(C.I. 11110, max = 502 nm, Aldrich Co.), Disperse red 13(C.I. 11115, max = 503 nm, Aldrich Co.), Disperse orange 11 (C.I. 60700, max = 478 nm, Aldrich Co.), Reactive blue 19 (Remazol Brilliant Blue R, C.I. 61200, max = 592 nm, Sigma Co.)를 사용하였다. 이들 성분은 UV/VIS Spectrophotometer(HP 8452, Hewlett Packard)를 이용하여 정량분석하였다

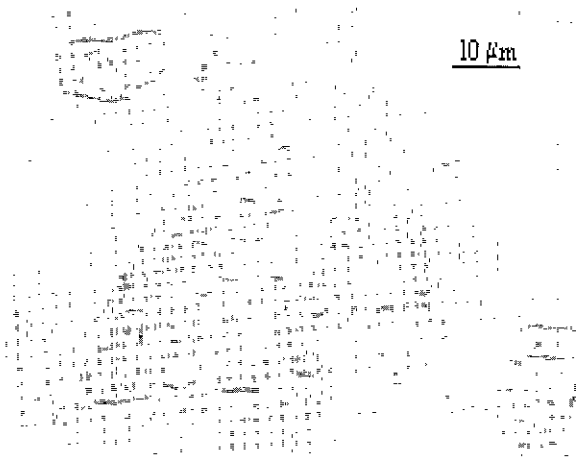

Figure 1. Photograph of *Geotrichum candidum*.

색도제거를 위한 배양조건의 최적화

200 ppm 농도로 각각의 염료를 넣은 YMA배지에 접종하여 30℃에서 7일간 배양한 후, 미생물에 의한 색도제거 범위를 관찰하였다. 색도제거 범위를 정확히 관찰하기 위하여 알코올로 세척하여 균체를 제거한 후 배지의 색도제거 부분을 측정하였다.

500 mL 삼각 플라스크에 초기 pH가 4, 5, 6, 7, 8로 조정된 YM배지(glucose 30 g/L, peptone 5 g/L, malt extract 3 g/L, yeast extract 3 g/L) 150 mL에 종배양액 5 mL을 접종하여 25℃에서 3일간 배양한 후 미생물의 농도를 측정하여 pH가 미생물의 성장에 미치는 영향을 살펴보았다. 또한 pH가 6의 YM배지에서 20, 25, 30, 35℃로 온도를 변화시켜 3일간 배양한 후 미생물의 농도를 측정하였다. 미생물의 농도는 균체 건조 중량과 흡수분광도의 관계를 이용하였다. 150 rpm조건에서 빛이 있는 조건과 빛이 차단된 조건에서 3일간 배양하여 미생물의 농도와 염료농도를 측정함으로 빛의 염료분해에 대한 영향을 고찰하였다. YM배지와 100 ppm의 Acid orange 10염료를 포함하는 YM배지에 glucose의 농도를 0, 10, 20, 30, 40, 50 g/L로 변화시킴으로써 미생물이 성장할 때와 염료를 분해할 때 각각 glucose의 최적농도를 측정하였다.

흡착과 효소에 의한 색도제거

YM배지에 각각의 염료를 100 ppm되게 조정하여 원심분리한 후 상등액을 채취하여 각각 염료의 최대 흡수파장에서 흡광도를 측정하였다. 한편, 이와 비교하기 위해 500 mL 플라스크에 150 mL의 YM배지에 종배양액 5 mL넣고 30℃, 150 rpm으로 3일간 배양한 후 배양액을 4℃, 12000 rpm으로 원심분리해 상등액을 제거한 후 증류수로 세척하였다. 세척을 2회 반복한 후 세척된 균체는 농도가 0, 5, 10, 15, 20 g/L되게 조정되어 100 ppm농도의 염료배지에 넣어 혼합하였다. 혼합액을 원심분리하여 상등액을 채취하고 염료의 최대 흡수파장에서 흡광도를 측정하였다. 세포 내 효소의 영향을 배제하기 위하여 시료를 85℃에서 15분간 중탕 가열한 후 반복 실험하였다.

균체량 감소가 색도제거에 미치는 관계를 관찰하기 위하여 초기 Acid red 88 농도가 200 ppm으로 조정된 YM배지에 종배양

액 5 mL을 접종하여 2일간 배양한 후 균체량과 염료농도를 측정하였다. 배양액의 pH를 10으로 조정하여 4일간 추가 배양한 후 균체량과 염료농도를 측정하였다.

YM배지에 종배양액 5 mL넣고 30℃, 150 rpm으로 3일간 배양한 후 배양액을 4℃, 12000 rpm으로 원심분리해 상등액을 취한 후 ammonium sulfate 80%되게 넣으며 천천히 혼합하였다. 1시간 정치 후 12000 rpm으로 10 min동안 원심분리한 후 상등액을 제거한 후 침전물은 citric acid buffer로 pH 5되게 조정된 후 투석하여 ammonium sulfate를 제거한 후 세포외효소 용액으로 사용하였다. 여기에 Acid orange 10 염료를 100 ppm되게 넣은 후 pH 4.5에서 H_2O_2를 0.1 mM되게 첨가하여 30분간 반응시켰다.

Fed-batch 배양

초기 *Acid orange 10* 농도가 200 *ppm*으로 조정된 4개의 YM 배지 150 mL에 종배양액 5 mL을 접종한 후 2일간 배양 후 질소원과 탄소원의 영향을 알아보기 위하여 *glucose 10 g/L*, $(NH_4)_2SO_4$ 1 g/L를 첨가한 시료와 첨가하지 않은 시료를 4일간 추가 배양하여 균체량과 염료농도를 측정하였다.

YM배지 150 mL에 종배양액 5 mL을 접종하고 30℃, 150 *rpm*으로 2일간 배양한 후 200 *ppm*되게 *Acid orange 10* 염료를 넣고 4개의 시료로 나눈 후 $(NH_4)_2SO_4$ 1 g/L, glucose 10 g/L, *glucose 10 g/L*와 $(NH_4)_2SO_4$ 1 g/L를 각각 첨가하고 남은 한가지 시료는 그대로 배양하였다. 4개의 시료는 1일간 추가 배양한 후 각각의 균체량과 염료농도가 측정되었다.

결과 및 고찰

색도제거에 영향을 주는 인자들

각각의 염료를 200 ppm 농도로 조정한 YMA배지에서 30℃로 7일간 배양한 후, 미생물에 의한 색도제거를 관찰하였다. 고체배지에서 각각의 염료와 pH, 온도에 따라 차이는 있지만 실험에 사용된 모든 시료에 대하여 색도가 제거됨을 알 수 있었다. 7일간 고체배지에서 배양한 후 색도제거된 부분의 지름을 측정하였다. Acid orange 10 염료의 경우 색도제거된 지름은 7.4 cm로 다른 산성염료(Acid red 1; 6.8 cm, Acid red 88, 7 cm)뿐만 아니라 분산염료(Disperse red 1; 6.5 cm, Disperse red 13, 6.8 cm, Disperse orange 11; 6.5 cm)와 반응염료(Reactive blue 19; 6.5 cm)의 경우 색도제거된 지름보다 컸다(Figure 2).

미생물 성장에 대한 pH의 영향을 연구하기 위해 pH를 제외한 같은 조건에서 플라스크 배양을 하였다. 미생물의 균체 건조 중량이 최대인 배양 시작 후 3일이 되는 배양액을 기준으로 실험하였다. 각각의 pH에 대해 미생물의 균체량이 최대로 되는 pH를 고찰한 결과, 초기 pH가 5~6일 때 최고의 성장을 보였고 초기 pH가 4이하일 때와 8이상에서는 미생물의 성장이 저조하였다. 이상의 결과로부터 미생물 배양에 대한 최적 pH는 6으로 하여 이후의 모든 실험에 적용하였다. 같은 조건에서 암실과 빛이 있는 곳에서 배양하여 색도제거와 미생물 성장에 대하여 비교하여 보았으나 *Geotrichum candidum*(KCTC 6195)은 균체 건조 중량과 색도제거에서 동일한 결과가 얻어졌다. 빛에 의한 미생물의 성장과 색도제거에 미치는 영향은 없었다. 또한 25℃에서 미생물은 최고의 성장률을 보였으며 20℃에서나 35℃에서는 미생물이 극히 저조한 성장률을 보였다. 그러나 색도제거는 30℃에서 배양하였을 때 25℃에서 보다 우수한 색도제거 능력을 보였다. 온도에 따른 색도제거량을 Figure 3에 도시한 결과 미생물 성장에 필요한 최적 온도는 25℃이었고 색도제거 최적 온도는 30℃이었다. 따라서 본 실험에서 효율적인 색도제거를 위해 30℃에서 미생물을 배양하여 실험하였다(Figure 3).

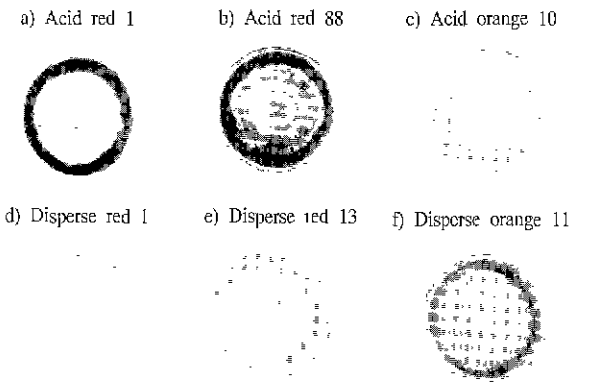

Figure 2. Decolorization of various dyes on solid media.

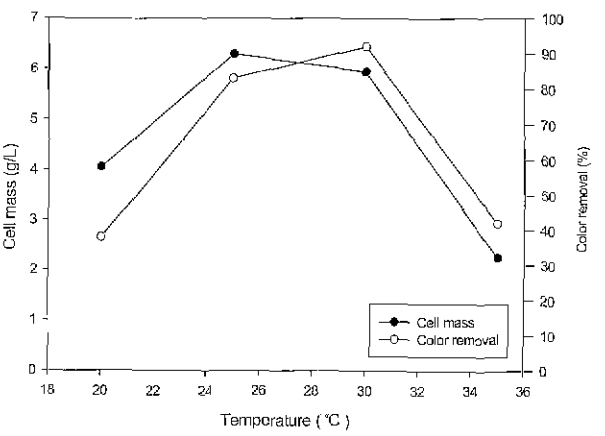

Figure 3. Effect of temperature on the cell growth and decolorization of Acid orange 10. Initial concentration of Acid orange 10 was 100 ppm

Glucose의 농도가 세포의 성장과 색도제거에 미치는 영향을 평가하기 위해 초기 glucose 농도에 따른 균체량과 색도제거를 고찰하였다. Glucose 농도가 30 g/L까지는 glucose 농도가 높을수록 균체량의 증가를 보였다. 30 g/L이상의 glucose 농도에서는 거의 비슷한 균체량 증가를 나타냈다. 배양초기에 낮은 성장률을 보였지만 배양후기에는 30 g/L 미만의 glucose 농도에 비해 높은 균체량을 나타냈다. 10 g/L이하의 glucose 농도일 때 배양초기에 빠른 균체량 증가를 보였다. 2일간 배양시 초기 glucose 농도가 30 g/L 이상에서는 10 g/L에 비하여 상대적으로 낮은 균체량에도 불구하고 거의 비슷한 색도제거가 가능했다. 이것은 균체량의 증가가 색도제거량과 반드시 정비례하지 않았다는 것을 나타냈으며, glucose의 투여량이 많을 때 배양초기에 낮은 균체량에도 불구하고 높은 색도제거율을 나타냈다. 또한 30 g/L의 glucose 농도에서 10 g/L에 비하여 6일간 배양한 후에 높은 균체량과 색도제거 능력을 보였다. 본 연구에서는 높은 색도제거 효율을 얻기 위해 초기 glucose 농도 30 g/L이 최적의 농도임을 알 수 있었다(Table 1).

미생물이 염료를 분해하여 성장원으로 사용하는지 아니면 생

Table 1. Cell mass and Acid orange 10 decolorization

Glucose Conc. (g/L)	After 2 days incubation		After 6 days incubation	
	Cell mass (g/L)	Conc. of Acid orange 10 (ppm)	Cell mass (g/L)	Conc. of Acid orange 10. (ppm)
10	4.0	52.0	4.5	52.4
20	3.8	43.7	4.8	36.3
30	3.3	41.2	6.0	12.7
40	3.4	39.3	6.0	11.0
50	3.4	39.8	5.5	13.1

[a] Initial concentration of Acid orange 10 was 200 ppm.

명을 유지하기 위한 에너지원으로 쓰이는지를 관찰하기 위해 21일간 배양한 같은 조건의 염료를 포함한 두 배양액에 한쪽에는 glucose를, 다른 한쪽에는 염료만을 넣은 후 3일간 추가 배양하였다. Glucose를 넣은 시료에서는 미생물이 성장하였고, 염료만을 넣은 시료에서는 미생물의 성장이 없었다. 이것으로 미생물이 염료만을 성장원으로 사용하지는 못한다는 것을 추정할 수 있었고 색도제거를 위해 미생물의 성장원(glucose)이 필수적임을 알았다. 위의 두 배지에 염료를 다시 첨가했을 때 glucose를 넣어준 배지에서만 색도가 제거되었다. 최고성장기 이후 glucose를 첨가해 줌으로 효율적인 색도제거가 가능했다. 반면 2회에 걸쳐 염료만을 넣어준 배지에서는 미생물 성장이 없었을 뿐 아니라 색도도 제거되지 않았다. 이 실험을 통해 미생물이 성장원으로 염료를 이용하는 것이 아니며 색도제거의 효율을 높이기 위해서는 미생물 성장에 필수적인 탄소원을 최고성장기 이후에 공급해 줌으로써 색도제거 효율을 높일 수 있었다.

색도제거

미생물에 의한 염료의 색도제거는 효소에 의한 분해와 균체에 의한 흡착으로 분류할 수 있다. 색도제거가 미생물로부터 나오는 효소에 의한 분해인지, 균체 자체의 염료 흡착에 의한 제거인지 확인하기 위해 흡착실험과 효소분해 실험이 수행되었다. 산성염료와 반응염료가 20 ppm으로 조정된 YM배지는 원심분리되어도 염료의 침전이 없었고 색도가 제거되지 않았다. 같은 시료에 배양액으로부터 채취한 건조 균체(0.02 g/mL)를 첨가하여 혼합한 후 원심분리 시키면 Acid red 1; 19.8%, Acid red 88; 73%, Acid orange 10 12.1%, Reactive blue 19, 14.6%가 세포 자체에 흡착되어 상등액에서 제거되었다. 85℃에서 15분간 중탕 가열하여 세포내 효소의 영향을 배제한 균체에 대해서도 색도제거 능력은 거의 동일하였다. 따라서 색도제거가 흡착에 의한 것임을 알 수 있었다. Acid red 88의 색도제거 경우 흡착에 의해 73%까지 색도가 제거되어 실험에 사용된 염료 중 흡착에 의해 색도가 가장 잘 제거되는 염료였다. 분산염료도 흡착에 의해 색도가 제거되었지만 원심분리 과정에서 염료자체가 침전되어 정확한 흡착량을 측정하기는 곤란하였다. 염료의 종류에 따라 흡착되는 염료의 양은 달랐지만 실험에 사용된 모든 종류의 염료에 대해 흡착에 의한 색도제거가 가능했다(Figure 4). 또한 Acid red 88의 초기농도가 200 ppm로 조정된 배지에서 *Geotrichum candidum*(KCTC 6195)을 2일간 배양했을 때 염료의 농도는 135 ppm으로 감소했지만 pH를 10으로 조정하여 4일간 더 배양하면 균체 농도가 3.59 g/L에서 1.85 g/L로 감소함에 따라 염료의 농도는 178 ppm으로 다시 증가하였다. 이 실험은 균체량과 제거된 색도량의 관계를 관찰하기 위해 시행되었으며 흡착에 의해 제거된 색도는 균체량이 감소함에 따라 다시 증가했다. 이것은 염료가 완전히 분해되어 제거되었던 것이 아니라 균체에 흡착되었다가 균체가 감소하면서 다시 배지로 용해된 것으로 사료됐다.

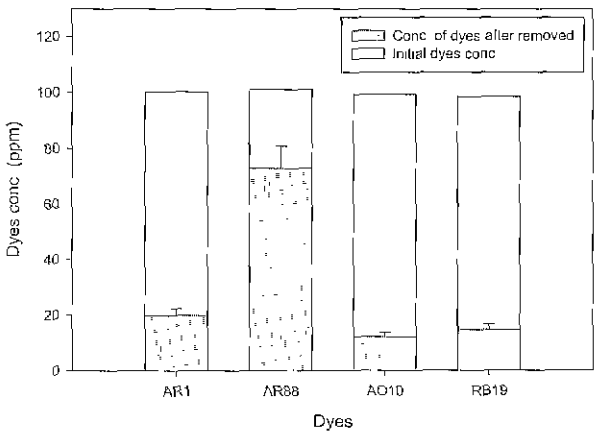

Figure 4. Removal of dyes by microbial adsorption and coagulation

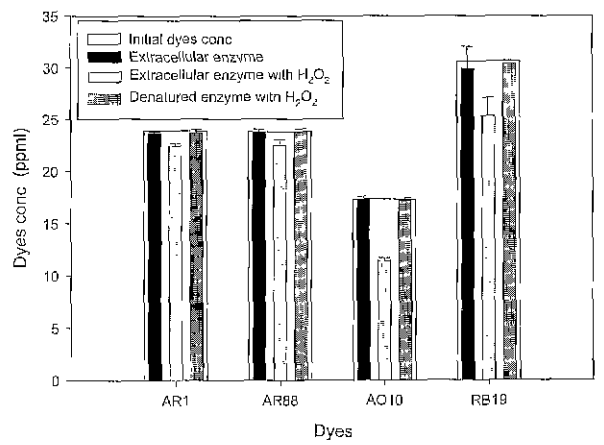

Figure 5. Decolorization of dyes by extracellular crude enzyme solution.

효소에 의한 염료분해를 연구하기 위하여 배양액에서 세포외 효소를 회수, 분리하여 H_2O_2(0.1 mM)를 첨가한 후 효소에 의한 색도제거를 관찰하였다. H_2O_2를 첨가하지 않은 세포외효소 용액에서는 거의 색도변화를 관찰할 수 없었으며, 85℃에서 15분간 중탕 가열한 후 사용한 효소용액은 색도가 제거되지 않았다. 이 실험을 통해 *Geotrichum candidum*(KCTC 6195)의 배양액에 염료를 분해할 수 있는 효소가 존재함을 알 수 있었고 배양액에 존재하는 효소를 이용하기 위해서는 H_2O_2가 필요했다(Figure 5).

미생물에 의한 색도제거는 온도와 초기 pH, 배지의 조성, 염료의 종류 등에 의하여 효율이 다르지만 실험에 사용된 모든 염료에 대하여 색도제거가 가능하였으며 Acid orange 10은 세포외 효소에 의해 색도제거가 가장 잘 되는 염료였다. 염료가 세포에 흡착되는 비율이 가장 낮은 Acid orange 10이 총 색도제거율에서 가장 높게 나타난 것을 고려한다면 가장 효소에 의해 잘 분해되는 염료는 Acid orange 10임을 확인할 수 있었다. 또한 초기의 색도제거율은 빨랐으며 점차 색도제거율이 느려지는 것을 알 수 있었다. 각 염료의 100 ppm과 500 ppm에 대한 색도제거 실험을 통해 Acid orange 10 염료의 경우 배양 후 120시간 후에

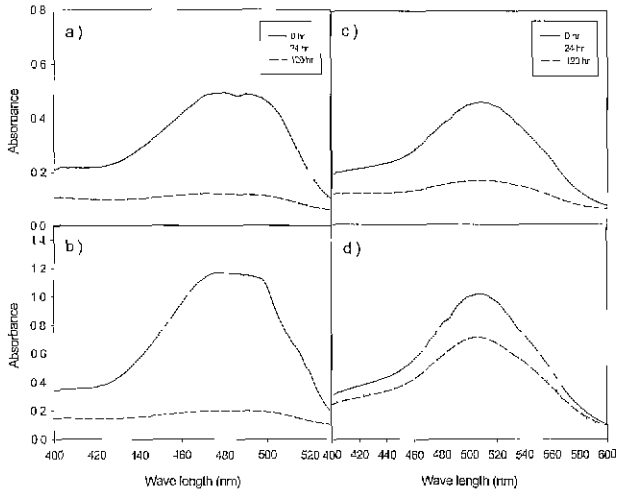

Figure 6. Time changes of the spectra of dyes in medium. Initial conc (a) Acid orange 10; 100 ppm, (b) Acid orange 10, 500 ppm, (c) Acid red 1, 100 ppm, (d) Acid red 1, 500 ppm

는 초기 100 ppm에서 9 ppm(제거율 91%)으로, 초기 500 ppm에서 81 ppm(제거율 84%)까지 색도가 제거되는 것을 알 수 있었다 Acid orange 10 염료는 100 ppm뿐만 아니라 500 ppm의 농도에서도 120시간 이후까지 색도가 제거되었다. 반면에 Acid red 1염료는 100 ppm의 농도는 120시간 배양후 36 ppm(제거율 64%)으로 색도가 제거되었지만 500 ppm일 때는 176 ppm(제거율 64.8%)으로 색도가 상당부분 남아있는 것을 확인할 수 있었다(Figure 6). 이것은 위의 모든 실험을 토대로 하여 볼 때 *Geotrichum candidum*(KCTC 6195)이 염료를 세포에 흡착한 후, 염료를 대사하는 과정에서 Acid orange 10 염료의 경우에는 계속 효소에 의해 분해하는 것으로 추정되며, Acid red 1의 경우에는 흡착에 의해 색도가 제거될 수 있으나 균체의 양이 더 이상 증가하지 않으면 그 흡착되는 양이 더 이상 증가되지 않는 것을 볼 수 있었다. 이것은 대사가 이루어진다고 하여도 그 대사속도가 느리거나 완전대사가 아닌 중간대사과정까지 진행되어 세포내 대사물질 축적으로 더 이상의 색도제거가 되지 않는 것으로 추정됐다 또한 염료가 흡착과 효소에 의한 분해 중 어느 한가지에 의한 것이 아니라 두 가지 과정 모두를 통해 색도가 제거됨을 알 수 있었다.

Glucose와 $(NH_4)_2SO_4$의 첨가에 따른 색도제거

질소원과 탄소원의 영향을 알아보기 위해 2일간 배양한 배양액에 Acid orange 10을 200 ppm되게 조정한 후 glucose 10 g/L와 $(NH_4)_2SO_4$ 1 g/L를 첨가하여 1일간 추가 배양한 염료농도를 Figure 7에 나타내었다. 초기에 197 ppm이었던 염료농도는 위 배지에 아무 것도 첨가하지 않은 배지의 경우 39 ppm(제거율 80%), $(NH_4)_2SO_4$만을 첨가한 배지의 경우 56 ppm(제거율 71%), glucose만을 첨가한 배지의 경우 5.2 ppm(제거율 97%), glucose, $(NH_4)_2SO_4$를 첨가한 배지의 경우 9 ppm(제거율 95%)으로 감소하였다. Glucose만을 첨가한 경우와 glucose. $(NH_4)_2SO_4$를 첨가한 배지의 경우를 비교해 보면 균체량은 비슷하지만 색도제거에 있어서는 $(NH_4)_2SO_4$를 첨가하지 않고 glucose만을 첨가한 경우가 더 높은 색도제거 효율을 나타냈다. 이것은 질소원을 제한해 준 배지의 경우가 미생물이 더 많은 효소를 분비할 환경을 만들어 주어서 질소원이 풍부한 배지의 경우보다 색도제거에서 효과적이었음을 알 수 있었다. 또한 $(NH_4)_2SO_4$만을 첨가한 배지의 경우에 아무 것도 첨가하지 않은 배지의 경우보다 색도제거가 미흡했다는 것이 이러한 추정과 상통했다. 따라서 색도제거에 있어 미생물을 배양하면서 최고성장기 이후에 glucose만을 첨가해 주면 균체의 성장을 계속 유지하면서 질소원을 제한하는 효과를 가지게 되어 색도제거의 효율이 높았다.

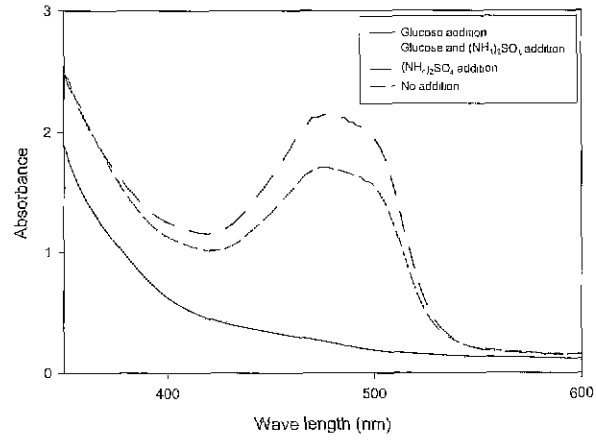

Figure 7. Fed-batch culture (Addition of glucose and $(NH_4)_2SO_4$ after 2days incubation).

요 약

Geotrichum candidum(KCTC 6195)를 이용하여 색도제거를 위한 최적조건은 초기 pH 6, 30℃, glucose 농도 30 g/L이었으며 빛은 세포성장과 색도제거에 영향을 주지 않았다. 한편, 세포성장과 색도제거를 위해서는 세포의 성장원(glucose)이 필수적이었다. 염료의 종류에 따라 색도제거량과 속도는 차이가 있지만 분산염료, 산성염료, 반응염료에 대해 색도제거가 고체배지와 액체배지에서 가능했으며 Acid orange 10 염료의 경우 배양 후 120시간 후에는 초기 100 ppm에서 91%로, 초기 500 ppm에서 84%까지 색도제거되는 것을 알 수 있었다. 색도제거에서 Acid red 1: 19.8%, Acid red 88, 73%, Acid orange 10; 12.1%, Reactive blue 19; 14.6%가 흡착으로 제거되었다. 이로서 효소에 의한 색도제거뿐만 아니라 흡착에 의해 색도제거됨을 알 수 있었다. 2일간 배양하고 glucose를 첨가하여 1일간 추가 배양한 경우 97%까지 색도제거 되었다

감 사

이 논문은 1998년 한국학술진흥재단의 학술연구비(생물화학공학 연구)에 의하여 지원되었으므로 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. 환경부 (1997), 환경통계연감, **11**, pp. 112-113, 환경부(환경처), 서울.
2. 문성명 (1995), 산업폐수처리의 신기술, pp. 82-83, 산업자료센타, 서울.
3. Ollikka, P., T. Harjunpaa, P Mantsala, and I. Suominen

(1998), Oxidation of crocein orange G by lignin peroxidase isoenzymes kinetics and effect of H_2O_2, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **75**, 307-320.

4. Platt, M. W., Y. Hadar, and I. Chet (1985), The decolorization of the polymeric dye poly-blue by lignin degrading fungi, *Appl. Microbial. Biotechnol.*, **21**, 349-396.
5. Livernoche, D., L. Jurasek, M. Desrochers, and J. Dorica (1983). Removal of colot from kraft mill wastewaters with cultures of white-rot fungi and immobilized mycelium of *Coriolus versicolor*, *Biotechnol. Bioeng.*, **25**, 2055-2065.
6. Pasti, M. B. and D. L. Crawford (1991), Relationship between the abilities of *Streptomycetes* to decolorize three anthron-type dyes and degrade lignocellulose, *Can. J. Microbiol.*, **37**, 902-907.
7. Roxon. J. J., A. J. Ryan, and S. E. Wright (1966), Reduction of tartrazine by a *Proteus* species isolated from rats, *Food Cosmet Toxicol.*, **5**, 645-656.
8. Scheline, R. R., R. T. Nygaard, and B. Longberg (1970). Enzymatic reduction of azo dye, acid yellow, by extracts of *Streptococcus faecalis* isolated from rat intestine, *Food Cosmet Toxicol.*, **8**, 55-58.
9. Scheline, R R. and B Longberg (1965), The adsorption, metabolism, and excretion of sulphonated azo dye, acid yellow, by rat, *Acta. Pharmacol. Toxicol.*, **23**, 1-14.
10. Zimmerman, T., H. G. Kulla, and T. Leisinger (1982), Properties of purified orange II azo reductase, the enzyme initiating azo dye degradation by *Pseudomonas* KF46, *J. Biochem.*, **129**, 197-203.
11. Michaels, G. B. and D. L. Lewis (1985), Sorption and toxicity of azo and triphenylmethane dyes to aquatic microbial popuations, *Environ. Toxicol. Chem.*, **4**, 45-50.
12. Zhou, W. and W. Zimmerman (1993), Decolorization of industrial effluents contacting reactive dyes by Actinomycetes, *FEMS Microbiol Lett*, **107**, 157-162.
13. Phae, C. G., K. W. Bae,k and M. Shoda (1993), Biodegradation and decolorization of reactive dye by fungus Deco11. *J. of KSEE*, **15**, 517-525.
14. Kim, S. J. and M. Shoda (1999), Decolorization of molasses and a dye by a newly isolated strain of the fungus *Geotrichum candidum* Dec 1, *Biotechnol. Bioeng.*, **62**, 114-119.
15. 김만구, 류원률, 조무환 (1997), 미생물 흡착/응집에 의한 염색폐수 중 Anthraquinone계 염료의 제거, 한국생물공학회지, **12**(1), 1-7.
16. Lee, J. H. and U. H. Chun (1999), Removal of dyes by the biosorption using biomass of *Pemcillium janthinellum*, *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **14**(1), 31-35.
17. Nigam, P., I. M. Banat, D. Singh, and R. Marchant (1996), Microbial process for the decolorization of textile effluent containing azo, diazo and reactive dyes, *Process Biochemistry*, **31**(5), 435-442.
18. Zhang, F. M., J. S. Knapp, and K. N. Tapley (1999), Development of bioreactor systems for decolorization Orange II using white rot fungus, *Enzyme and microbial Technol.*, **24**, 48-53.