

다양한 염료의 탈색이 가능한 목재부후균 분리

류희욱*

숭실대학교 환경·화학공학과

Isolation of a Wood-rotting Fungus to Decolorize a Wide Range of Structurally Different Synthetic Dyes. Ryu, Hee Wook. Department of Chemical and Environmental Engineering, Soongsil University, Seoul 156-743, Korea – Twenty-one different fungi were tested for their ability to decolorize a wide range of structurally different dyes. Twenty fungal strains were isolated from fruiting bodies which were collected at the Kwangneung National Arboretum, Korea. One fungal strain was isolated from a rotting wood at Soongsil University, Korea. Nine kinds of dyes were used: three anthraquinone dyes and six azo dyes. The five fungal strains, *Laetiporus sulphureus*, *Polyporus arcularius*, *Auricularia polytricha*, *Stereum ostrea*, and *Bjerkandera* sp. UK-1 showed decolorization ability. Except *Auricularia polytricha*, the four fungal strains were wood rotting fungi, and belonged to Aphyllophorales. *Bjerkandera* sp. UK-1, which was a white rot fungus, could decolorize all kinds of dyes tested in this study, indicating this fungus is one of candidates for applying in biological methods of dye waste treatment.

Key Words: Decolorization, wood-rotting fungus, aphyllophorales, anthraquinone dye, azo dye

염색 가공업은 다른 어느 산업보다 환경오염 물질 배출량이 많은 산업이며 최근 들어서는 단위 염색물당 용수사용비가 적은 조건에서 염색가공하는 추세이므로 난분해성 염료 물질의 농도가 높아져 염색 폐수의 수질은 더욱 악화되어 가고 있다. 염색 가공 폐수 중에 함유된 염료는 생물에 급성 혹은 만성독성을 야기 시킬 수 있는 유독물질이다 [1, 3]. 이들 폐수가 하천, 강 등의 수생태계에 방류되는 경우 확산성이 매우 높아서 기시적, 심리적 악영향을 가져올 뿐만 아니라, 빛을 흡수하여 광합성 작용을 방해하고 수생태계의 먹이사슬에 영향을 미치고, 미생물에 의한 자연정화작용을 방해하여 하천의 오염도를 증가시킬 우려가 있다[19].

일반적으로 염색 가공 폐수는 물리·화학적 방법과 생물학적 방법으로 처리된다. 물리적 염색 가공 폐수 처리방법은 침전법(coagulation, flocculation, sedimentation), 흡착법(activated carbon, silikagel), 여과법 및 역삼투법 등이 이용된다[19]. 화학적 처리방법은 H_2O_2 -Fe(II) salts (Fenton's reagent), H_2O_2 -ozone, H_2O_2 -UV radiation, H_2O_2 -peroxidase, NaOCl 등을 이용하는 산화법 및 이온교환법 등이 있다[19]. 생물학적 염색 가공 폐수 처리 방법은 활성슬러지를 이용하는 호기적 방법, 안정화 리군(lagoon)을 이용하는 협기적 방법, 및 특수 곰팡이를 이용한 생분해법으로 크게 3가지 방법으로 구분 된다[19]. 그런데, 물리·화학적 처리 방법은

과도한 약품 사용에 따른 2차 오염 문제 발생, 조업 비용 증가 등의 부가적인 문제가 발생한다. 따라서 경제적이고 환경친화적인 염색 가공 폐수 처리 방법인 생물학적 처리방법이 부각되고 있는데[1, 23], 그 중 백색부후균과 같은 특수 곰팡이를 이용한 염색 가공 폐수의 탈색 방법이 주목 받고 있다[5, 11, 24].

곰팡이 중에서 버섯균류는 종래에는 식용이나 약용의 목적으로 이용되었나, 최근들어 염료, PAH, 리그린, 셀룰로오스 등과 같은 난분해성 물질의 분해능이 우수함이 밝혀짐에 따라 이에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다[2, 5, 8, 9, 11, 12, 18~24]. 특히, 버섯균류를 이용한 염색 가공 폐수의 탈색이 각광받고 있는데, 대부분의 연구가 백색 부후균인 *Phanerochate chrysosporium* 중심만 수행되고 있어[5, 13, 15, 20, 21], 염색가공 폐수 탈색을 위한 신규 미생물 자원의 개발이 필요하다. 따라서, 본 연구는 우리나라에서 서식하는 버섯균류 21종을 채집하여 9종의 염료에 대한 탈색능을 조사하여 탈색능이 우수한 신규의 버섯균류를 선별하였다.

2002년 6월 광릉국립수목원에서 20종의 버섯균류를 자실체 상태로 채집하였고, 한 종은 숭실대학교 교내에서 채집하였다. 채집한 버섯균류 자실체의 색, 형태, 서식지 특성 등을 고려하여 버섯균류 동정 전문가의 도움을 받아 동정하였다. 탈색실험에 사용하기 전까지 모든 버섯균류는 냉장고 ($4^{\circ}C$)에 보관하였다. 본 연구에서 채집한 21종의 버섯균류의 동정결과를 Table 1에 정리하였다. 채집한 버섯균류는 18종의 민주름목(code no: 1~7, 9~14, 16~18, 21), 1종의 흰목이목(Code no: 8), 목이목(Code no: 15) 및 1종의 주름버섯

*Corresponding author
Tel: 82-2-820-0611, Fax: 82-2-821-4190
E-mail: hwryu@ssu.ac.kr

목(code no: 19)이었다. 동정된 민주름목 버섯군류 중 구멍장이버섯과는 총 8종으로 잔나비걸상(*Elfvingia appplanata*), 턱다리버섯(*Laetiporus sulphureus*), 대합송편버섯(*Trametes gibbosa*), 좀벌집버섯(*Polyporus arcularius*), 간버섯(*Pycnoporus coccineus*), 부채매꽃버섯(*Microporus flabelliformis*), 말굽버섯(*Fomes formentarius*), 송곳니구름버섯(*Coriolus brevis*) 및 줄버섯(*Bjerkandera* sp.)이고, 턱수염 버섯과로는 검댕이

버섯(*Phellodon nigra*), 꽃구름 버섯과는 2종으로 배착꽃구름버섯(*Stereum ochraceoflavum*)과 갈색꽃구름버섯(*Stereum ostrea*), 소나무비닐버섯과는 2종으로 진흙버섯속(*Phellinus tuberculosus*)과 적황색소나무비닐버섯(*Hymenochaete cinnamomea*), 아교버섯과는 아교버섯(*Merulius tremellosus*), 고약버섯과는 3종으로 돌기고약버섯(*Grandinia granulosa*), 가는주름버섯(*Phlebia rufa*), 가미가와버섯(*Phlebiopsis*

Table 1. Fungal strains collected from The Kwangneung National Arboretum and Soonsil University.

Code no.	Fungal strains	Code no.	Fungal strains	Code no.	Fungal strains
1	<i>Elfvingia appplanata</i> (잔나비걸상)	8	<i>Tremella fuciformis</i> (흰목이버섯)	15	<i>Auricularia polytricha</i> (털목이버섯)
2	<i>Phellodon nigra</i> (검댕이버섯)	9	<i>Polyporus arcularius</i> (좀벌집버섯)	16	<i>Fomes formentarius</i> (말굽버섯)
3	<i>Stereum ochraceoflavum</i> (배착꽃구름 버섯)	10	<i>Grandinia granulosa</i> (돌기고약 버섯)	17	<i>Coriolus brevis</i> (송곳니 구름버섯)
4	<i>Laetiporus sulphureus</i> (턱다리버섯)	11	<i>Phlebia rufa</i> (가는구름 버섯)	18	<i>Hymenochaete cinnamomea</i> (적황색 소나무비닐 버섯)
5	<i>Trametes gibbosa</i> (진흙버섯)	12	<i>Pycnoporus coccineus</i> (간버섯)	19	<i>Crepidotus mollis</i> (젤리귀버섯)
6	<i>Phellinus tuberculosus</i> (아교버섯)	13	<i>Microporus flabelliformis</i> (부채매꽃 버섯)	20	<i>Stereum ostrea</i> (갈색꽃구름 버섯)
7	<i>Merulius tremellosus</i> (흰목이버섯)	14	<i>Phlebiopsis gigantea</i> (가미가와 버섯)	21	<i>Bjerkandera</i> sp. UK1 (줄버섯속)

gigantea)이었다. 그 외에 동정된 버섯들은 주름버섯목인 제리퀴버섯(*Crepidotus mollis*), 흰목이목인 흰목이버섯(*Hymenochaete cinnamomea*), 목이목인 텔목이버섯(*Auricularia polytricha*)이었다.

동정된 버섯군류 중 갈색부후균(brown rot: 목질이 섬유소를 분해하여 목질부를 갈색으로 변화시키는 군류)은 덕다리버섯 1종(*Laetiporus sulphureus*)이고, 백색부후균(white rot: 목질이 섬유소를 분해하여 목질부를 백색으로 변화시키

는 군류)은 14종으로 잔나비걸상(*Elvingia applanata*), 배작꽃구름버섯(*Stereum ochraceofluam*), 대합송편버섯(*Trametes gibbosa*), 진흙버섯속(*Phellinus tuberculosus*), 아교버섯(*Merulius tremellosus*), 좀별집버섯(*Polyporus arcularius*), 간버섯(*Pycnoporus coccineus*), 부채메꽃버섯(*Microporus flabelliformis*), 가미가와버섯(*Phlebiopsis gigantea*), 말굽버섯(*Fomes formentarius*), 송곳니구름버섯(*Coriolus brevis*), 적황색소나무버닐버섯(*Hymenochaete cinnamomea*), 갈색꽃

Table 2. Property of dyes used in this study.

Color index of dyes	Chromophore	Molecular weight	Maximum absorbance wavelength (nm)
I. Reactive blue 5	Anthraquinone	774.2	602
II. Remazol Brilliant BlueR (blue 19)	Anthraquinone	626.5	601
III. Drimarene Brilliant Blue K-BL (blue 114)	Anthraquinone	684.0	614
IV. Reactive black 5	Azo	991.8	598
V. Reactive orange 14	Azo	631.4	431
VI. Reactive brown 10	Azo	551.9	513
VII. Remazol brilliant violet5R (violet 5)	Azo	769.1	559
VIII. Reactive red 120	Azo	1470.0	514
IX. Reactive green 5	Azo	1384.7	624

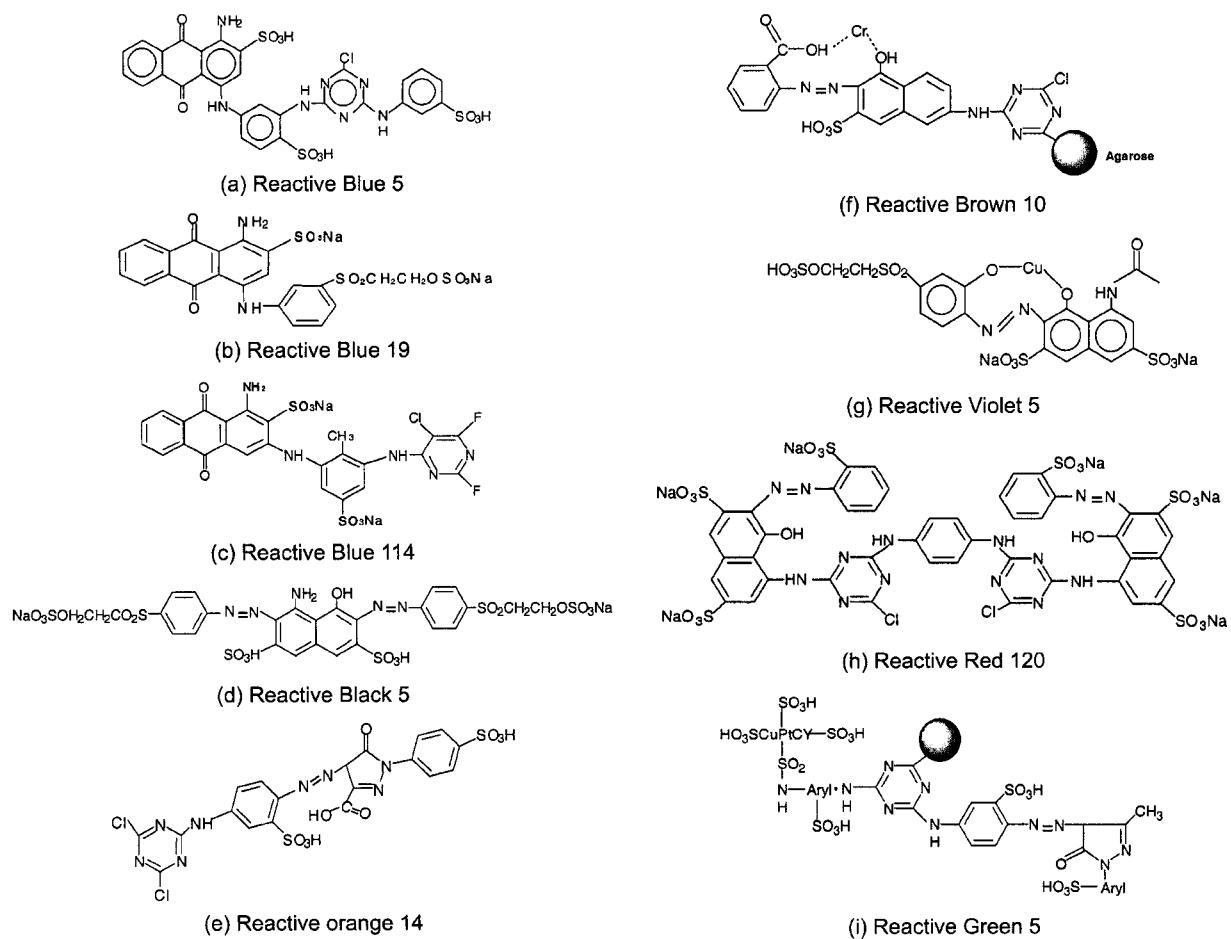


Fig. 1. Chemical structure of dyes.

구름버섯(*Stereum ostrea*), 및 줄버섯(*Bjerkandea* sp.)이다. 즉, 본 연구에서 채집한 버섯균류의 대부분은 탈색균이 많이 속하는 백색부후균에 속하였다.

국내자생 버섯균류 중에서 우수한 탈색능을 가진 생물자원을 확보하기 위하여 21종의 채집한 버섯균류들의 탈색능을 조사하였다. 본 연구에서 사용한 염료는 3종류의 anthraquinone 염료와 6종류의 azo 염료를 대상으로 조사하였다(Table 2). 사용염료는 파란색, 검정색, 갈색, 오렌지색, 보라색, 초록색, 적색 등의 다양한 색상을 선정하였다. 각 염료의 화학적 구조 특성을 Fig. 1에 도시하였다. 채취한 21종의 버섯균류의 탈색능은 각 버섯균류의 자실체를 0.8 cm × 0.8 cm 크기로 멀균한 칼을 이용하여 절단하여 PDA plate 중앙에 옮겨 놓은 후 26°C에서 10일 동안 배양하였다. 배양된 각 버섯균류의 균사체가 생육한 PDA plate를 직경 0.5 cm인 원형으로 절단하여 각각의 염료가 300 mg/L 함유된 PDA plate의 중앙에 접종하고 26°C에서 10일 동안 배양한 후 탈색된 부위를 관찰함으로써 탈색능을 평가하였다. PDA 배지의 조성은 potato 200 g/L, bacto extract 20 g/L, bactoagar 15 g/L이고 pH는 5.6이다. 채취한 버섯균주들의 9개 염료에 대한 탈색능 조사결과를 Table 3에 정리하였다. 탈색능을 보인 버섯균주는 5종이었다. 탈색능을 가진 버섯류들은 텔목이버섯을 제외하고는 모두 부후균들 이었다. 갈

색부후균인 덕다리버섯(*Laetiporus sulphureus*)은 3 종류의 염료(blue 114, black 5, violet 5)에 대한 탈색능이 있었고, 백색부후균 중에서는 좀별집버섯(*Polyporus arcularius*)이 blue 114 만을 탈색할 수 있었던 것에 반하여 갈색꽃구름버섯(*Stereum ostrea*)과 줄버섯속(*Bjerkandea* sp.)은 연구에 사용된 9종의 염료 모두에 대해 탈색능을 보였다. 한편, 식용 버섯인 털목이버섯(*Auricularia polytricha*)이 경우 violet 5 와 red 120에 대한 탈색능을 보였다. 결과적으로 부후균류 들이 탈색능을 가진 버섯균류들이 많음이 확인 되었고, 국내자생 버섯류 중에서 갈색꽃구름버섯(*Stereum ostrea*)과 줄 버섯속(*Bjerkandea* sp.)이 다양한 염료를 탈색시킬 수 있는 우수한 탈색균주임을 확인하였다.

탈색능 평가에 사용된 염료 9종을 모두 탈색 할 수 있는 2 종류의 버섯균주 중에서 *Bjerkandea* sp.이 가장 우수한 탈색균주로 선발하였다. *Bjerkandea* sp. UK-1 균주의 균사체가 생육한 직경 0.5 cm인 원형시편을 각각의 염료가 300 mg/L 함유된 PDA plate의 중앙에 접종하고 26°C에서 9일 동안 배양하면서 하루에 한번씩 각 plate에서 생육한 균사체의 직경과 탈색된 부위의 직경을 측정하였다. Anthraquinone 계열의 염료와 Azo 계열의 염료에서의 균사체의 생장과 탈색정도를 Fig. 2와 3에 도시하였다.

염료종류에 따른 균사체의 생장과 탈색정도는 상대값으로

Table 3. Comparison of decolorization activities.

나타내었다. 상대값은 agar plate의 표면에 증식한 균사체의 직경 또는 탈색부위의 직경을 plate 직경(8.4 cm)로 나누어 백분율로 표현하였다. *Bjerkandea* sp. UK-1의 염료존재 하에서의 생장속도는 염료첨가여부 및 염료 종류에 상관없이 거의 유사하였다. *Bjerkandea* sp. UK-1의 균사체가 PDA plate 표면 8.4 cm를 모두 도포하는데 소요되는 시간은 염료가 첨가되지 않은 대조군의 경우 약 7일이 소요되었고, 염료가 첨가된 경우에는 약 6~8일이 소요되었다. 이러한 결과는 본 연구에서 *Bjerkandea* sp. UK-1의 생장이 거의 저해 받지 않음을 의미한다. PDA plate에서 균사체의 생장하는 과정에서 탈색부위는 약 6~7일 경과 후에는 100% 탈색되었다. Anthraquinone 계열의 염료 탈색이 상대적으로 빠르게 진행되었으며, Azo 계열의 염료중에서 red와 orange가 다소 탈색이 늦게 진행되는 것으로 평가되었다. 그러나, PDA plate의 탈색직경 측정을 통해 평가한 염료간의 탈색능의 차이는 유사한 것으로 평가되었다. 결과적으로 본 연구에서 분리한 *Bjerkandea* sp.은 염료에 의해 생장저해를 받지 않을 뿐만 아니라 다양한 탈색 spectrum을 가진 우수한 탈색 균주임을 알 수 있다.

지금까지 밝혀진 탈색능을 가진 미생물은 대부분 제한된 구조의 염료만을 탈색 가능한 것으로 보고되고 있다. *P. chrysosporium*과 *Streptomyces* spp.는 일부 azo dye만 탈색 가능하고[16], *P. chrysosporium*는 3종류의 polymeric

dye[6]와 4종류의 azo, heterocyclic dye를 탈색하는 것으로 보고되었다[5]. *P. ostreatus*는 한 종류의 polymeric dye[17]를, *Coriolus* sp.는 melanoidin[22]을, 그리고 streptomycetes는 anthron-type dye를 탈색할 수 있었다[14]. 다양한 구조의 염료를 분해할 수 있는 미생물로는 효모와 유사한 균류인 *Georichum candidum* Dec 1이 보고되고 있다[10]. 그러나 본 연구에서 분리한 꽃구름 버섯(*Stereum ostrea*) 및 줄버섯과 같이 목재부후균이면서 다양한 구조의 염료를 탈색 가능한 버섯균류는 거의 보고되지 않았다.

G. candidum Dec 1의 경우 파란색 계열의 anthraquinone과 azo 염료의 탈색 속도에 비해 적색, 오렌지색 및 노란색 계열의 azo 염료의 탈색속도가 약 1/2 정도 느렸다[10]. 그러나, 본 연구에서 분리한 줄버섯속(*Bjerkandera*)에 속하는 UK-1 균주는 발색단의 종류(anthraquinone 혹은 azo) 및 색상 종류(파란색, 적색, 오렌지색, 초록색, 보라색 등)에 상관없이 조사한 9종의 염료를 거의 유사한 속도로 탈색할 수 있는 특성을 보였다. 백색부후균이나 갈색부후균과 같은 목재부후균은 균체 외부에 peroxidase를 분비하여 lignin을 분해하는 것으로 알려져 있다[4]. Manganese-dependent peroxidase (MnP)는 대표적인 lignin 분해 peroxidase인데, 이 체외분비 효소에 의해 염료의 탈색반응이 진행되는 것으로 보고되고 있다[7]. 본 연구에서 분리한 *Bjerkandera* sp. UK-1에 의한 염료의 탈색반응도 이와 같은 peroxidase에 의한 효소반응으

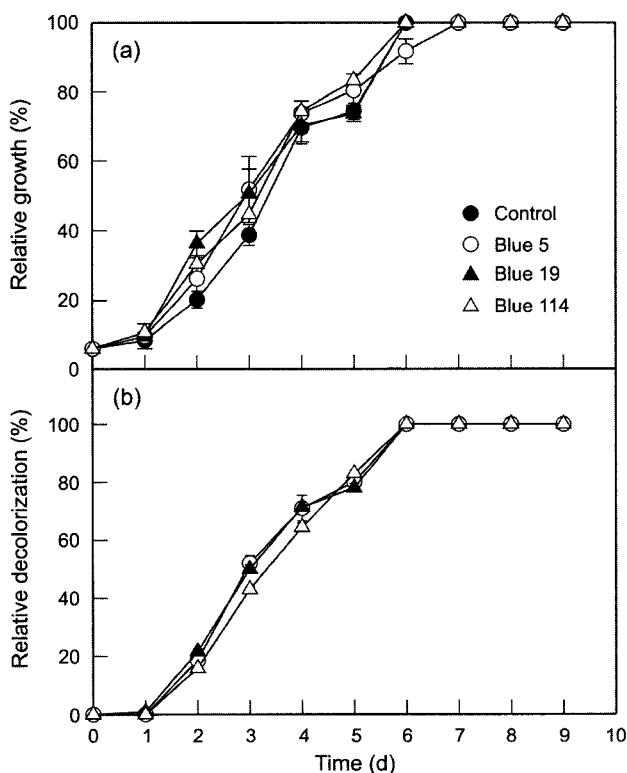


Fig. 2. Decolorization of anthraquinone dyes by *Bjerkandera* sp. UK-1. (a) Relative growth and (b) Relative decolorization.

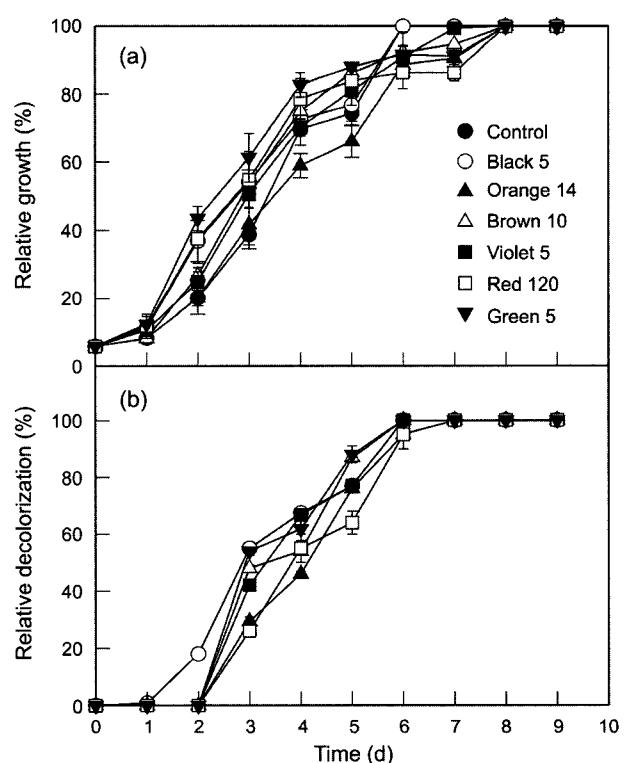


Fig. 3. Decolorization of azo dyes by *Bjerkandera* sp. UK-1. (a) Relative growth and (b) Relative decolorization.

로 사료되지만, 향후 탈색기작에 대한 효소학적 연구가 필요하다. 일반적으로 염색 가공 폐수에는 다양한 종류의 염료가 혼합되어 존재하므로, 다양한 염료를 동시에 탈색할 수 있는 *Bjerkandera* sp. UK-1 균주는 향후 생물학적 염색 가공 폐수 처리 공정에 유용하게 활용할 수 있는 우수 균주로 사료된다.

감사의 글

이 연구는 2003년도 숭실대학교 교내연구비에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다. 버섯균류 채집과 탈색실험에 도움을 주신 이화여자대학교 조경숙 교수님과 홍지다, 버섯균류 동정에 도움을 주신 임업연구원 김교수 선생님께 감사드립니다.

REFERENCES

1. Banat, I. M., P. Nigam, D. Singh, and R. Marchant. 1996. Microbial decolourization of textile-dye-containing effluents: a review. *Biores. Technol.* **58**: 217-227.
2. Bumpus, J. A., M. Tien, D. Wright, and S. D. Aust. 1985. Oxidation of persistent environmental pollutants by a white rot fungus. *Science* **228**: 1434-1436.
3. Chung, K. T. and C. E. Cerniglia. 1992. Mutagenicity of azo dyes: structure-activity relationships. *Mutat. Res.* **77**: 201-220.
4. Chung, N., I. S. Lee, H. S. Song, and W. G. Bang. 2000. Mechanisms used by white-rot fungus to degrade lignin and toxic chemicals. *J. Microbiol. Biotechnol.* **10**: 737-752.
5. Cripps, C., J. A. Bumpus, and S. A. Aust. 1990. Biodegradation of azo and heterocyclic dyes by *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* **56**: 1114-1118.
6. 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.
7. Heinfling, A., M. J. Martinez, A. T. Martinez, M. Bergbauer, and U. Szewzyk. 1998. Transformation of industrial dyes by manganese peroxidases from *Bjerkandera adusta* and *Pleurotus eryngii* in a manganese-independent reaction. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**: 2788-2793.
8. Higson, F. K. 1991. Degradation of xenobiotics by white-rot fungi. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* **122**: 111-151.
9. Hwang, S. S. and H. G. Song. 2000. Biodegradation of pyrene by the white rot fungus, *Irpex lactus*. *J. Microbiol. Biotechnol.* **10**: 344-348.
10. Kim, S. J., K. Ishikawa, M. Hirai, and M. Shoda. 1995. Characteristics of a newly isolated fungus, *Geotrichum candidum* Dec 1, which decolorizes various dyes. *J. Ferment. Bioeng.* **79**: 601-607.
11. Knapp, J. S., P. S. Newby, and L. P. Reece. 1995. Decolorization of wood-rotting basidiomycete fungi. *Enzyme Microbiol. Technol.* **17**: 664-668.
12. Muncnerova, D. and J. Augustin. 1994. Fungal metabolism and detoxification of polycyclic aromatic hydrocarbons: a review. *Biores. Technol.* **48**: 97-106.
13. Ollikka, P., K. Alhonmaki, V.-M. Leppanen, T. Glumoff, T. Rajola, and I. Suominen. 1993. Decolourisation of azo, triphenyl methane, heterocyclic and polymeric dyes by lignin peroxidase isoenzymes from *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* **59**: 4010-4016.
14. Pasti, M. B. and D. L. Crawford. 1991. Relationship between the abilities of streptomycetes to decolorize three anthrone-type dyes and to degrade lignocellulose. *Can. J. Microbiol.* **37**: 902-907.
15. Paszczynski, A. and R. L. Crawford. 1991. Degradation of azo compounds by ligninase from *Phanerochaete chrysosporium*: involvement of veratryl alcohol. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **178**: 1056-1063.
16. Paszczynski, A., M. B. Pasti-Grigsby, S. Goszczynski, R. L. Crawford, and D. L. Crawford. 1992. Mineralization of sulfonate azo dyes and sulfanilic acid by *Phanerochaete chrysosporium* and *Streptomyces chromofuscus*. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**: 3598-3604.
17. Platt, M. W., Y. Hadar, and I. Chet. 1985. The decolorization of the polymeric dye poly-blue(polyvinalamine sulfonate-anthraquinone) by lignin degrading fungi. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **21**: 394-396.
18. Reddy, C. A. 1995. The potential for white-rot fungi in the treatment of pollutants. *Curr. Biol.* **6**: 320-328.
19. Slokar, Y. M. and M. L. Marechal. 1998. Methods of decoloration of textile wastewaters. *Dyes and Pigments* **37**: 335-356.
20. Spadaro, J. T., M. H. Gold, and V. Renganathan. 1992. Degradation of azo dyes by the lignin-degrading fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**: 2397-2401.
21. Tatarko, M. and J. A. Bumpus. 1998. Biodegradation of congo red by *Phanerochaete chrysosporium*. *Wat. Res.* **32**: 1713-1717.
22. Watanabe, Y., R. Sugi, Y. Tanaka, and S. Hayashida. 1982. Enzymatic decolorization of melanoidin by *Coriolus* sp. no. 20. *Agric. Biol. Chem.* **46**: 1623-1630.
23. Waters, B. D. 1984. Treatment of dyewaters. pp.193-233. In D. Barnes, C. F. Forster, and S. E. Hrudey (eds.). *Surveys in industrial waste water treatment*, vol 2. Pitman Advanced Publishing, Boston, Mass.
24. Yesilada, O. 1995. Decolourization of crystal violet by fungi. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **11**: 601-602.

(Received May 14, 2003/Accepted Sep. 2003)