

막생물반응기(MBR)에 의한 염료용액의 처리연구

이유리* · 김현*** · 박철환* · 이병환* · 김상*†

*한국생산기술연구원 청정시스템팀 우)330-825 충남천안시 입장면 홍천리 35-3

**경희대학교 환경응용화학대학 우)130-701 서울특별시 동대문구 회기동 1번지

(접수일자 : 2004. 6. 24 / 채택일자 : 2004. 8. 2)

Decolorization of dye solution using membrane bioreactor (MBR) by *Trametes versicolor*

Yuri Lee¹, Hyun-Gi Kim^{1,2}, Chulhwan Park¹, Byunghwan Lee¹, Sangyong Kim^{1*}

¹Cleaner Production System Team, Korea Institute of Industrial Technology (KITECH)

²College of Environment and Applied Chemistry, KyungHee University

요 약

오래 전부터 생물학적 폐수처리 방법에 대한 다양한 연구들이 꾸준히 진행되고 있으나, 전통적인 염료·염색 폐수처리 방법들은 다소 비효율적이다. 최근 들어 이를 극복하기 위하여 특정 미생물이나 효소를 이용한 연구들이 활발히 진행되고 있다. 본 연구에서는 백색부후균이 생산하는 리그닌 효소에 의한 생물처리 방법으로, 아조계(azo) 염료인 Reactive black 5를 적용하였으며, 다양한 농도에 따른 분해경향을 확인하였다. 미생물 재이용과 장기간 운전, 효율적인 유기물 제거의 가능성을 확인하기 위해 i) 생물학적 처리와 ii) 분리막 처리 공정과 iii) 이 두 가지를 결합한 공정의 처리 효율을 비교하였다. 결합공정을 사용하였을 때 색도제거율이 100%였으며, 총유기물(TOC) 제거율은 70% 이상으로 각 단위공정만으로 처리하였을 때보다 더 효율적인 결과를 보였다. 또한, 생물반응에서 배양말기까지 유지된 효소활성(40 U/ml laccase and 300-600 U/ml MnP)을 통해 미생물 재이용의 가능성을 확인하였다.

ABSTRACT : Due to the low biodegradability of dyes, conventional biological wastewater treatment systems are inefficient in treating textile wastewater. In this study, white rot fungus, *Trametes versicolor* KCTC 16781, were investigated for the decolorization of Reactive black 5 solutions. This fungus was able to degrade the dye solutions by the ligninolytic enzymes (laccase and MnP) produced. The enzyme activity remained constant until the end of reaction. The combined process of biological treatment and ceramic membrane showed better efficiency for decolorization and TOC removal than each single process.

Keywords: Textile wastewater, Dye, *Trametes versicolor* KCTC 16781, Ceramic membrane, Membrane bioreactor (MBR)

1. 서 론

현재 국내의 염료 생산량은 연간 약 7만 톤으로 전세계 생산량의 10%를 차지하고 있으며, 이들 합성 염료는 섬유를 비롯하여 제지, 문방구, 화장품, 식품 및 액정, 컬러 필름용 색소 등의 전자기기 관련분야에 이르기까지 폭넓게 사용되고 있다[1]. 폐수 발생량 및 폐수 특성 면에서 우리나라의 대표적인 오염 산업으로 분류되는 염색공업 관련 업체는 총 폐수 배출업체 중 약 6%를 차지하고 있으며, 오염 부하량은 전체 부하량의 약 24%를 차지하여 공공 수역에 미치는 영향이 매우 크다[2]. 염색 산업에서 사용되는 염료 가운데 아조계 염료는 전체 사용량의 50% 이상을 차지하는 대표적인 염료로서 폐수의 색도를 증가시켜 시각적인 거부감을 줄 뿐만 아니라, 아조계 화합물이 동물내의 환원효소와 반응하여 독성이 강한 발암물질인 방향족 아민 화합물을 생성하여 큰 문제로 대두되고 있다[3]. 또한 폐수 배출기준의 강화로 인하여 수질 기준을 만족시키는 것 외에 염색 폐수의 색도 제거가 필요한 실정이다. 이를 위하여 흡착, 침전, 여과, 산화 등의 전통적인 물리·화학적 처리방법이 사용되고 있지만, 낮은 경제성과 넓은 정상범위를 가지는 염색폐수 처리에 부적합하다[4].

최근, 염색폐수의 생물학적 처리 방법에 특정 균주를 이용하는 연구들이 활발히 진행되고 있으며, 특히, 담자균류(basidiomycetes)에 속하는 백색부후균(white rot fungi; WRF)은 각종 난분해성 물질을 비특이적으로 분해할 수 있는 효소와 산을 생성하는 것으로 보고되고 있다[5, 6]. *Phanerochete chrysosporium*, *Trametes versicolor*, *Funalia trogii*, *Pleurotus ostrea* 등에 대한 연구가 주로 이루어지고 있으며, 리그닌 분해효소군(ligninolytic enzymes)의 작용에 의하여 다양한 난분해성 물질을 분해할 수 있는 것으로 보고되고 있다[2, 7]. 이러한 리그닌 분해효소로는 lignin peroxidase (LiP; E.C.1.11.1.14), Mn(II)-dependent peroxidase (MnP; E.C.1.11.1.13), laccase (ρ -diphenol oxidase; E.C.1.10.3) 등이 알려져 있다[8].

한편, 막분리 공정은 응용범위와 시장규모가 증가함에 따라 최근 다양한 막소재 개발 및 응용에 대한 많은 연구가 시도되고 있다. 고분자와 같은 종래의 유기

질막으로 기대할 수 없는 내열성, 내화학성을 지닌 세라믹 분리막의 산업적 수요가 급증하여 분리막 공정에서 상당한 비중을 점유하게 될 것으로 예상된다. 또한 세라믹 막의 잠재적 응용성이 높이 평가되어 이들에 대한 상업적인 활동과 연구 개발이 활발히 이루어졌고, 1980년대부터 정밀여과(microfiltration, MF) 공정에서 부분적으로 세라믹 분리막의 사용이 본격화되었다[9]. 세라믹 분리막은 Alumina(Al_2O_3), Zirconia (ZrO_2), Carbon, Silicone Carbide, Stainless steel 등의 무기재료를 이용하여 제조된 다공성 구조로 이루어져 있으며, 대부분이 특징적인 두 개 또는 세 개의 균일한 층으로 구성된 복합막이다[10]. 4 nm영역에서부터 15 μm 의 영역까지의 기공크기를 갖는 분리막은 현재 상업적 생산단계에 있다. 세라믹 분리막은 2차 오염발생을 최소화하기 위하여 재생 공정시에 역세척(backflushing), 고압세척(highpressure pushing), 고온살균(steam sterilization), 고농도 화학제에 의한 세척 등 다양한 세정 방법을 통하여 막효율을 향상시킬 수 있다는 장점을 지닌다[11].

생물학적 처리와 분리막 공정을 결합한 형태의 막생물반응기(membrane bioreactor, MBR)를 이용한 처리방법은 비용절감, 간편한 반응기 작동과 제어, 균활성 연장, 대량시스템으로 수월한 전환 등의 이점을 기대할 수 있어 최근 주목받는 시스템으로 인식되고 있다. 이러한 긍정적인 측면에서 막생물반응기는 고갈되지 않고 무한정 이용할 수 있는 지속적인 기술력을 가져올 수 있다. 본 연구에서는 균주를 이용한 생물학적 처리 공정과 분리막 공정을 결합한 막생물반응기를 이용하여 염료 용액 내 색도 및 유기물 제거능을 조사하였다. 또한, 염료용액의 농도, 조업압력 등이 복합시스템의 처리 성능에 미치는 영향에 대해 연구하고자 하였다.

2. 재료 및 실험 방법

2.1. 균주 및 염료

본 연구에서는 *Trametes versicolor* KCTC 16781을 국내기관으로부터 분양받아 사용하였다. 균주배양을 위

한 배지로 PDA(potato dextrose agar)를 이용하여 3개월마다 계대배양하여 냉장상태에서 보관하였고, 고체 배양균은 일정한 크기로 절단하여 glycerol liquid stock (15% glycerol)에 넣어 -80°C에서 저장하였다. 처리 대상 물질은 아조계 염료인 Reactive black 5(RB5)를 사용하였으며, 농도범위 100 mg/L-300 mg/L에 대해 실험하였다.

2.2. 실험방법

본 연구에서는 염료용액을 3가지 방법을 적용하여 그 결과를 비교하였다. 첫째, 생물반응기에서 미생물에 의한 염료분해와 효소활성을 확인하였고, 둘째, 세라믹 분리막 장치를 이용하여 투과 플럭스, 염료와 유기물 제거율을 조사하였다. 셋째, 생물학적 처리와 분리막공정을 결합한 형태의 막생물 반응기를 이용한 공정에서 염료폐수의 분해 효율성을 확인하였다.

고체배지에서 배양한 *T. versicolor* KCTC 16781을 약 1 cm² 크기로 절단한 후 5-10개를 액체배지가 담긴 페트리디쉬에 접종하여 5일간 정치 배양하였다. 배지 위로 형성된 순수한 균사를 수거하여 성장배양액 PDB(potato dextrose broth)를 넣고 균질기(Nissei AM-8 homogenizer, Japan)를 이용하여 2500 rpm에서 30초간 균질화 시킨 후, 성장배지 PDB에 10%를 접종하여 28°C, 120 rpm에서 진탕 배양하여 증배양액을 준비하였다. 성장배양 후 염료와 생산배지가 들어있는 5L-생물반응기(코바이텍, 한국)에 접종하여 색도제거의 경향성과 효소생산성을 확인하였다. 이때 온도는 28°C, 교반속도 150 rpm, 공기유속은 1 vvm (volume of air/volume of fluid/min)으로 유지하였다. 그리고, 거품을 제거하기 위해 PPG (polypropylene glycol 2000)를 사용하였다. 사용된 생산배지 조성은 2 g/L glucose, 0.22 g/L ammonium tartrate, 0.2 g/L KH₂PO₄, 0.05 g/L MgSO₄ · 7H₂O, 0.01 g/L CaCl₂, 1 mg/L thiamine과 10 mL trace elements였으며, 배지의 pH는 2,2-dimethyl succinic acid를 이용하여 4.5로 조절하였다. Trace elements의 성분은 0.08 g/L CuSO₄, 0.05 g/L H₂MoO₄, 0.07 g/L MnSO₄ · 4H₂O, 0.043 g/L ZnSO₄ · 7H₂O와 0.05 g/L Fe₂(SO₄)₃였다.

분리막 실험은 Membralox® XLAB3 pilot 장치

(Pall Co., 미국)를 이용하였다. 실험에 사용된 세라믹 분리막은 길이 250 mm, 내경 7 mm, 투과표면적 50 cm²의 튜브형(US filter T1-70, 미국)으로 기공크기는 0.05 μm를 사용하였다. 처리 흐름은 염료용액이 담긴 공급조에서 펌프에 의해 일정 압력과 유속으로 막모듈에 염료용액을 공급하면 세라믹 분리막에 의해 투과수와 배제수로 분리되고 배제수는 다시 공급조로 재순환하도록 구성하였다. 유입수 압력은 2 bar로 유지하였으며 세정을 위한 역세척 주기는 120 초, 역세척 시간은 2초로 하였다. 일반적으로 역세척을 장시간 동안 가할 경우 세라믹 분리막 기공구조에 영향을 끼칠 우려가 있으므로 2초 이하로 가해주는 것이 일반적이다[12]. 공급조는 항온순환기를 이용하여 20°C로 유지하였다.

2.3. 분석방법

시간에 따른 염료의 색도제거 경향은 일정량의 시료를 취하여 분광광도계(Bio-Tek Instrument, Milano, Italy)를 이용하여 200에서 800 nm 범위에서 흡광도를 측정하였고, 최대파장에서의 흡광도 감소 또는 두 파장에서의 흡광비율(ratio)의 감소를 비교하여 색도제거효율을 판정하였다. Laccase의 활성도는 Mellvaine (pH 4.6) 완충액 2.5 ml와 시료 0.5 ml를 혼합하여 40°C에서 5분간 예열한 후, 4.47 mM syringaldazine 10 μl를 첨가하여 1분간 반응시키면서 525 nm에서 흡광도의 차이를 측정하였다(molar extinction coefficient= 36,000 M-1cm-1). 효소의 활성단위는 분당 1 μmol의 syringaldazine을 산화시키는 효소의 양을 1 unit로 정하였다[13]. Mn(II)-dependent peroxidase의 효소활성도는 50 mM Sodium lactate (pH 4.5)완충액에 80 μg/mL ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate), 0.2 mM MnSO₄와 시료를 혼합한 후 0.1 mM H₂O₂를 첨가하여 1분간 반응시키면서 415 nm에서 흡광도 차이를 측정하였다(molar extinction coefficient = 65,000 M-1cm-1). 효소의 활성단위는 분당 1 μmol의 ABTS를 산화시키는 효소의 양을 1 unit로 정하였다[14]. 분리막 공정의 처리성능은 투과 플럭스와 색도 등을 측정하였고, TOC(총유기물)는 TOC analyzer (Multi N/C 3000, 독일)를 이용하여 분석하

였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 생물반응 공정

TOC는 폐수에 존재하는 유기물질의 양을 측정하는 지표로 사용되고, 이로부터 폐수내의 유기물질에 의한 오염 정도를 간접적으로 판단할 수 있다. 미생물 성장의 영양분으로 첨가되는 각종 유기물질의 농도는 높은 TOC의 원인으로 여겨졌다. 초기의 높은 당 농도와 배지 성분의 농도들은 TOC 제거율을 감소시키므로 최소한의 영양분으로 색도제거가 가능한 범위를 선정하기 위한 실험을 실시하여 그 결과를 Table 1에 나타내었다. 당농도를 일정하게 유지하고 염료농도를 100 mg/L에서 300 mg/L까지 증가시켰을 때, TOC 제거율은 4.7-15%의 차이를 보여주었으며, 염료만 단독으로 용해시켜 TOC를 측정한 결과에서도 비슷한 값을 확인할 수 있었다. 반면, 염료 농도 300 mg/L의 경우 당농도를 1 g에서 5 g까지 증가시켰을 때 TOC 제거효율은 31.9% 차이를 보였다. 주어진 농도에서 색과 유기물을 제거하는데 필요한 최소량의 당농도는 2g/L로 결정되었으며, 이때 약 70%의 TOC 제거율을 보여주었다. 모든 당농도 범위에서 실험에 사용된 염료 용액에 대해 90-97%의 높은 색도제거율을 나타내었고, glucose를 첨가하지 않은 경우에도 약 80%의 색도제거율을 보여주었다. 당을 첨가하지 않아 효소생산은 이루어지지 않았지만 균체의 흡착으로 인한 제거현상이 관찰되었다.

Table 1. TOC removal in the biological treatment of RB 5 solutions by *T. versicolor* KCTC 16781 with different concentration of glucose

| Dye (mg/L) Glucose (g/L) | TOC removal (%) | | |
|-----------------------------|-----------------|------|------|
| | 100 | 200 | 300 |
| 1 | 61.6 | 68.5 | 67.5 |
| 2 | 71.8 | 70.5 | 57.3 |
| 3 | 54.7 | 47.9 | 43.9 |
| 4 | 44.7 | 42.4 | 35.6 |
| 5 | 37.1 | 33.9 | 38.6 |

본 연구에서는 색도 제거효율이 낮은 RB 5에 대해 농도 200 mg/L와 300 mg/L의 염료용액을 준비하였고, 5L-생물반응기에서 *T. versicolor*를 사용하여 색도 및 TOC를 제거하여 그 결과를 Fig. 1에 나타내었다. RB 5의 색도제거효율은 배양 24시간에 70-80%에 도달하였고, 배양 96시간에는 약 85%이상의 색도가 제거되었다. 이와 같은 결과는 Young과 Yu 등이 *T. versicolor*와 *P. chrysosporium*에 의한 RB 5(40-50 mg/L)의 색도제거에서 배양 9일에 약 11.3%의 낮은 제거율을 보고한 결과에 비해 상대적으로 높은 색도 제거효율을 보여주고 있다[15]. TOC는 생물반응 동안 50% 이상의 제거효율을 나타내었다.

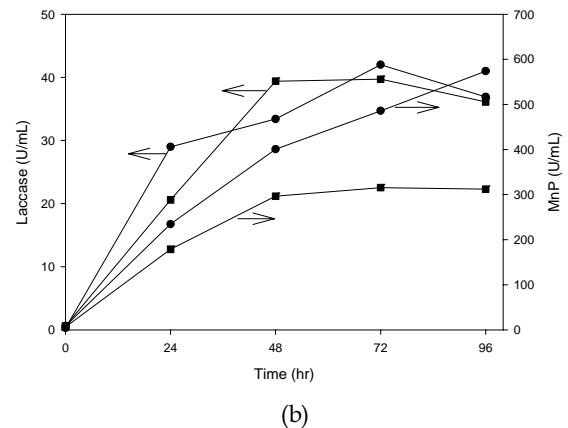
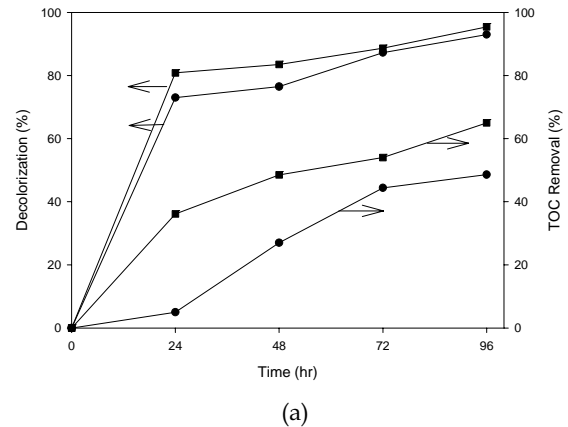


Fig. 1. Decolorization and TOC removal (a), and activity of laccase and MnP (b) in the decolorization of RB 5 solutions by *T. versicolor* KCTC 16781. (●) 200 mg/L; (■) 300 mg/L.

이는 미생물이 성장하면서 폐수 내에 용해되어 있는 유기물을 이용한 것으로 판단된다. 당농도를 측정하여 감소하는 정도와 균체의 무게를 측정하여 증가하는 정도를 통해 확인할 수 있었다. 효소활성은 배양 초기에 서서히 증가하여 배양 말기까지 높은 효소활성을 유지하였다. Laccase의 경우에는 염료농도 200 mg/L와 300 mg/L에 대해 각각 배양 48시간과 72시간에 약 40 U/mL의 최대효소활성을 보여주었고, MnP는 200 mg/L의 염료농도의 경우에 배양말기까지 지속적으로 증가한 반면 300 mg/L의 경우에는 48시간까지 증가하다가 효소활성이 배양말기까지 변화없이 유지되었다. 다양한 염료의 색도제거와 효소의 상관성은 기존의 연구에서 이미 보고된 바 있다 [16].

3.2. 분리막 공정

세라믹 분리막 공정에 의한 투과 플럭스의 변화를 Fig. 2에 나타내었다. 상대적으로 200 mg/L의 저농도 염료용액의 처리에서 초기에 높은 투과 플럭스를 얻을 수 있었다. 이는 농도가 증가할수록 염료에 의해 분리막 표면에 보다 빠르게 케이크층이 형성됨으로써 투과 저항이 상대적으로 증가함에 기인한다. 분리막 공정에 의한 염료용액의 처리결과는 80%이상의 색도제거가 이루어졌지만 TOC 제거율은 저조하였다.

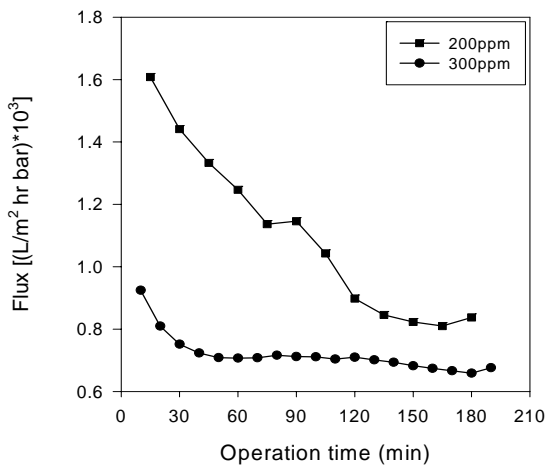


Fig. 2. Effect of dye concentration on the permeate flux. (●) 200 mg/L; (■) 300 mg/L.

3.3. 막생물반응기(MBR) 처리공정

염료용액을 균주에 의한 생물학적 처리와 세라믹 분리막 공정을 결합한 형태의 막생물 반응기를 이용한 처리 결과와 단독 세라믹 분리막 공정에 의한 색도 및 TOC 제거 효율을 비교하여 Fig. 3에 나타내었다.

MBR 공정에서 염료용액은 생물처리를 거친 후 분리막 공정을 통해 연속적으로 처리되어 최종적으로 배출된다. Fig. 3(a)에 보인 바와 같이 색도제거 성능

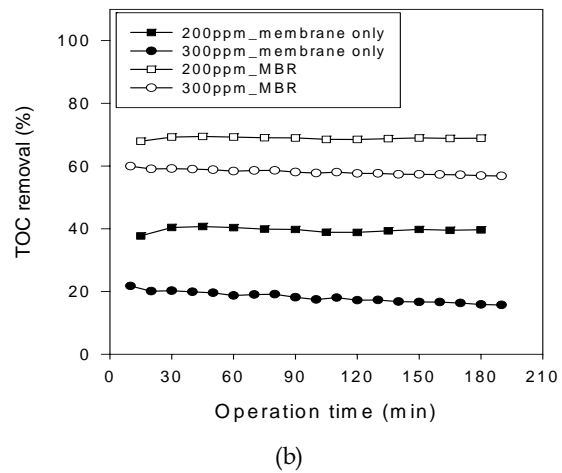
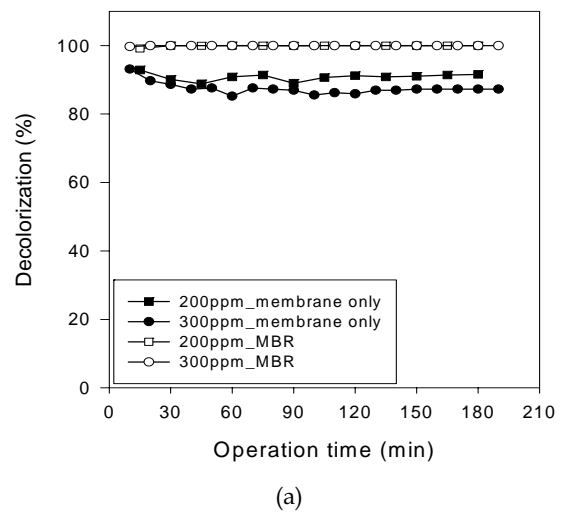


Fig. 3. Comparison of decolorization (a) and TOC removal (b) between ceramic membrane filtration (filled symbols) and combined MBR process (open symbols). (●, ○) 200 mg/L; (■, □) 300 mg/L.

은 200 mg/L, 300 mg/L의 각각의 다른 농도에 대해 높은 제거 성능을 얻을 수 있었으며, 세라믹 분리막 공정 처리에 비해 다소 높은 처리 효율을 얻을 수 있었다. 폐수에 존재하는 유기물질의 양(TOC)은 막분리 공정만을 사용한 경우보다 결합공정(MBR)의 경우가 20-30% 더 효율적인 처리결과를 보였다. 염료용액의 생물학적 처리와 분리막 공정 그리고 결합공정(MBR)의 처리결과를 비교 정리하여 Table 2에 나타내었다. 결합공정(MBR)의 경우, 각각의 단위공정에 비해 다소 높은 제거 효율을 보여주었다. 색도 제거에 있어서 단위 공정에서 모두 90%이상의 제거율을 보여주었으나 완벽한 제거를 이루지 못했다. 그러나, 결합공정을 통해 남아있던 염료를 100% 제거할 수 있는 효과를 얻을 수 있었다. 각 단위공정에 의한 유기물질의 제거율은 염료 300 mg/L의 경우에 생물학적 처리(65%)와 분리막 공정(23%)에서 낮은 반면, 결합공정에서는 약 76%로 비교적 높은 제거효율을 나타내었다. 이 결과는 생물처리 후 NF와 RO 막을 이용한 공정에서도 확인할 수 있었다[17].

Table 2. TOC and dye removal efficiencies of biological treatment, ceramic membrane filtration, and MBR process

| RB 5 (mg/L) | Biological degradation using fungus (at 96h) | | Ceramic membrane treatment | | MBR | |
|----------------|--|-------------|----------------------------|-------------|---------|-------------|
| | TOC (%) | Decolor (%) | TOC (%) | Decolor (%) | TOC (%) | Decolor (%) |
| 200 | 48 | 92.0 | 41 | 92.4 | 61 | 100 |
| 300 | 65 | 93.5 | 23 | 91.6 | 76 | 100 |

4. 결 론

염색 산업에서 사용되는 전체 염료 중에 50% 이상을 차지하는 아조계 염료폐수의 처리 및 처리수의 재이용을 위한 방법으로, 생물학적 처리와 세라믹 분리막 공정을 결합한 공정기술에 대한 연구가 시도되어지고 있다. 본 연구에서는 다양한 농도의 염료용액을 특정 균주에 의한 생물학적 처리와 세라믹 분

리막 공정을 결합한 형태의 막생물 반응기를 이용한 처리뿐만 아니라 각각의 단위 공정에 의한 처리 실험을 수행하여 결과들을 비교분석하였다. 생물반응에서 배양말까지 높은 효소활성이 유지되었으므로 막생물반응기를 이용한 미생물의 재사용 가능성을 확인할 수 있었다. 그리고 각각의 단위 공정에 의한 장점들을 보완한 결합공정을 이용하여 염료용액의 완벽한 색도제거와 유기물의 효율적인 제거가 이루어졌다. 또한 일정한 공급농도와 압력 하에서 장기간 운전이 가능한 잠재력을 확인하였다. 현재 본 공정을 기반으로 연속회분식 반응 또는 연속반응을 통해서 좀더 효율적인 공정시스템이 마련될 예정이다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부에서 지원한 국가지정연구실 사업(과제번호 M10203000055-03J0000 -03010)의 결과이며, 이의 재정적 지원에 감사드립니다.

참고문헌

- [1] Pagga, U. and Brown, K.: *Chemosphere*, 15, 395-396(1986).
- [2] 권혁민, 이범규, 권대영, 방기연, 정병철, 정육진: *대한환경공학회지* 24(4), 591-598(2002).
- [3] Banat, I. M., Nigam, P., Singh, D. and Marchant, R.: *Bioresource Technol.* 58, 217-227 (1996).
- [4] Fu, Y. and Viraraghavan, T.: *Bioresource Technol.* 79, 251-262(2001).
- [5] Nagai, M., Sato, T., Watanabe, H., Saito, K., Kawata, M., and Enei, H.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 60, 327-335(2002).
- [6] Tekere, M., Mswaka, A. Y., Zvaunya, R., and Read, J. S.: *Enzyme and Microbial Technol.* 28, 420-426(2001).
- [7] Zhang, F. M., Knapp, J. S., and Tapley, K. N. *Water Res.* 33, 919-928(1999).

- [8] Sayadi, S. and Ellouz, R.: *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 1098-1103(1995).
- [9] Goldsmith, R. L.: *J. Membr. Sci.* 39, 197-201 (1988).
- [10] 현상훈 외: 막분리 기초, 자유아카데미(1996).
- [11] Anderson, M. A., Gieselman, M. J., and Xu, Q.: *J. Membr. Sci.* 39, 243-258(1988).
- [12] Niina, L., Antero, L. Erkki, L., and Marianne, N.: *Sep. purif. Technol.* 25 323-331 (2001).
- [13] Criquet, S., Tagger, S., Vogt, G., Iacazio, G. and Petit, J. L.: *Soil. Biol. Biochem.* 31, 1239-1244 (1999).
- [14] Hofricheter, M., Vares, K., Scheibner, K., Galkin, S., Sipila, J. and Hatakka, A.: *J. Biotechnol.* 67, 217-228(1999).
- [15] Young, L. and Yu, J.: *Water Res.* 33, 919-928 (1997).
- [16] 박철환, 이유리, 김탁현, 이명구, 이병환, 이진원, 김상용: *한국생물공학회지*. 18, 398-403(2003).
- [17] Kim, T.-H., Lee, Y., Yang, J., Lee, B., Park, C., and Kim, S.: *Desalination.* 168, 287-293(2004).