

염색가공 공정폐수에서 반응성 염료 분해 균주의 분리 및 배양 최적화

신중철, 최광근, 진중화, 전현희, 김상용*, 이진원
광운대학교 화학공학과 생명공학연구실, 한국생산기술연구원*
전화 (02) 940-5172, FAX (02) 909-0701

Abstract

Hundreds of microbial species were isolated and collected from dye-processing wastewater. Among them three species (named as RA1, RA2, and YA1) showed excellent ability of dye degradation. Especially, YA1 species could remove 53% of dye in 24 hours. To find optimal growth conditions for the isolated species, further research is going on.

서 론

최근 산업폐수에는 난분해성 물질이나 색도유발물질의 발생비율이 점차로 증가하고 있는데, 이러한 물질들이 함유된 폐수를 배출하는 공장 중 가장 대표적이고 영향이 큰 것은 염색공장 폐수라고 말할 수 있으며, 이러한 염색 공장 폐수의 일반적인 특징을 살펴보면 색도, pH, 알칼리도, 유기물의 농도가 높고 고온이며 염료에 따라 독성을 함유하고 있기 때문에 높은 부하를 나타내며, 다변성이 있는 난분해성 폐수라고 할 수 있다. 또한 염색가공 공정에 있어서 섬유에 부착되어 있는 호제와 불순물을 제거한 후 각종 염료 및 보조약품을 첨가하여 가공하는 공정에서 많은 물을 사용하고 있고, 폐수의 양과 질이 계절, 일, 시간에 따라서 크게 변동한다.¹⁾ 이러한 난분해성 염색폐수를 처리하는 방법은 크게 화학적 처리, 물리적 처리, 생물학적 처리 등으로 나눌 수 있다. 물리화학적 처리 방법으로는 염색폐수 속에 색상을 가지는 물질 즉 염료의 분해, 탈색을 유도하기 위하여 고가의 응집제 겸 탈색제를 사용하고 있으나, 경제성 때문에 적극적으로 사용을 하지 못하고 있는 실정이다.²⁾ 또한 산화, 흡착, 여과 등의 처리 방법은 생성되는 슬러지의 양이 많을 뿐만 아니라 2차 처리에 많은 문제점이 있기에 생물학적 처리 방법에 대한 연구가 주목 받고 있는 실정이다. 생물학적 처리를 이용한 방법 중 보고된 것들을 살펴보면 리그닌을 분해할 수 있는 백색 부후 곰팡이를 이용한 탈색을 예로 들 수 있는데 이 백색 부후 곰팡이는 *Phanerochaete chrysosporium*으로 리그닌 산화촉매효소(LiP), 망간 의존 산화촉매효소

(MnP) 등과 같은 효소를 사용해서 염료를 분해할 수 있다. 이 목적을 위해 사용되는 다른 효소로는 글루코오스-1-산화제 및 글루코오스-2-산화제와 같은 과산화수소 생성 효고, 그리고 락카제(laccase)와 페놀산화제 효소 등이 있다. 이것들은 리그닌 분해에 사용되는 것들과 동일한 것 들이다.³⁾ 또한 *Hirschioporus larincinus*, *Inonoius hispidus*, *Phlebia tremellosa* 및 *Coriolus versicolor* 등의 곰팡이 또한 염료 함유 폐수를 탈색시킬 수 있다고 보고되었다.⁴⁾ Nigam 등은 자유 성장환경에서 혹은 여러 지지체 위에서의 생물막 형성을 통해 혐기성 처리로 24 ~ 30 시간 후 염료 혼합물을 탈색시켰다고 보고하였다.⁵⁾ 또한 섬유 염료는 그 화학적 특성들에서 매우 다양하고 미생물과의 상호작용은 특정 염료의 화학적 특성과 미생물의 화학적 특성에 영향을 받는다고 보고 된 바 있다.⁶⁾

본 연구에서는 염색폐수의 생물학적 처리를 위한 우선적 과제인 염색가공 공정에서의 염료 분해 균주를 분리함으로써 난분해성 폐수인 염색폐수 처리의 적용을 모색함과 동시에 분리된 균주의 최적 온도 조건을 도출하기 위한 연구를 수행하고자 한다.

재료 및 방법

1. 염료

본 연구에서 사용한 염료의 종류는 반응성 염료로 K사에서 구입한 Red BB라는 붉은색 염료를 사용하였으며, 염료의 색도 제거 실험 시 기준으로 사용하기 위하여 염료만의 최대 흡수 파장을 측정하였다. 또한 미생물의 최대 흡수 파장과 유사한 점을 감안, 원심분리를 통해 미생물을 침전시킨 후 상등액만을 취해 최대 흡수 파장을 측정한 결과 515 nm에서 최대 흡수 파장이 나타나 이를 실험에 적용하였다.

2. 사용 배지 및 배지조성

균주의 분리와 보관을 위해 본 실험에서 사용한 배지는 다음과 같다. 액체 배지를 만들기 위해 peptone 5 g, NaCl 5 g, yeast extract 2 g, beef extract 1 g을 증류수 1 L에 사용하였으며, 고체 배지를 만들기 위해서는 상기 액체 배지에 1.5%의 agar를 첨가하였다. 각 배지 및 실험 시 사용되는 실험 재료는 살균기를 사용하여 121℃, 1.5기압으로 20분간 살균한 후 사용하였다.

3. 사용기기

분리하여 보관된 미생물을 배양하기 위해 진탕 배양기를 사용하여 30℃, 150 rpm으

로 조정한 후 배양을 실시하였으며, 미생물을 제거한 상층액만을 사용하기 위해서 원심분리기(4,000 rpm, 10분)를 사용하였다. 또한 미생물의 농도 및 염료의 최대 흡수 파장을 측정하기 위해서 UV spectrophotometer(UV mini 1240, Shimadzu)를 사용하였다.

4. 우수 균주의 선별 및 보관

염색가공 공정에서 반응성 염료의 색도 제거를 위한 고효성 미생물 균주를 분리하기 위하여 염색폐수와 염료폐수 등을 균원 시료로 사용하였다. 활성이 높은 미생물을 분리하기 위해서 2 L 삼각플라스크에 폭기를 진행하면서 7일 간격으로 시료를 100 mL씩 채취하고 반응성 염료인 Red BB의 농도를 500 ppm 하여 배지와와의 비율을 1:1로 100 mL씩 넣어주면서 반연속 배양을 실시하였다. 채취된 시료를 희석하여 염료가 첨가된 Agar plate에 도말하고 투명하게 된 colony를 분리하여 배양 배지 80 mL가 담겨진 250 mL 플라스크에 접종하였고, 미생물의 순수분리를 위해서 여러 차례의 교대 배양을 거쳤다.

미생물의 장기 보관을 위해서 최대 활성을 지낼 때까지 배양시킨 미생물 0.5 mL와 살균된 glycerol 0.5 mL를 혼합하여 냉동 보관하였다. 실험 시에는 살균한 루프(loop)를 사용하여 저장된 미생물을 1백금이 씩 취하여 전배양 후 배지에 접종하여 사용하였다.

5. 분리 미생물을 이용한 색도 제거

사용 염료의 정량 분석을 위해서 standard curve를 UV spectrophotometer를 이용하여 염료의 최대 흡수 파장에서 측정된 흡광도를 사용하여 작성하였다. 염료의 농도는 10 ppm에서 100 ppm까지 10 ppm 범위로 10개의 sample 용액을 제조하여 사용하였다.

분리된 균주를 전배양 한 후 배양액 5%를 염료가 포함된 합성폐수에 접종하여 색도제거 실험을 진행하였다. 실험 진행 시 살균된 합성폐수를 500 mL의 삼각플라스크에 150 mL씩 넣고 30°C, 150 rpm하에서 24시간 동안 실험을 진행하였고 6시간마다 색도를 측정하였다. 또한 온도에 대한 영향을 살펴보기 위해서 같은 조건으로 10, 20°C에서도 실험을 실시하여하였고, 분리된 균주가 염료에 대한 분해 능력이 있는지를 조사하기 위하여 작성된 standard curve를 이용하여 합성폐수 내에 존재하는 염료의 양을 측정하였다.

결과 및 고찰

균원 시료로부터 분리된 미생물 중 염색폐수 색도 제거 능력이 뛰어난 균주 3종을

선별하여 각각의 이름을 RA1, RA2, YA1이라 명칭하고 이를 실험에 응용하였다. 실험은 각 균주를 이용하여 30°C, 150 rpm하에서 색도 제거 실험을 실시하여 색도 제거율이 가장 우수한 균을 찾고자 하였다. 살균된 합성폐수를 같은 조건으로 24시간 동안 실험하였으며, 6시간마다 시료를 채취하여 UV spectrophotometer를 사용하여 구해진 최대 흡수파장에서 색도를 관찰하였다. 실험결과는 그림 1, 2에 나타내었다.

실험결과 같은 조건에서 YA1이라 명명한 균의 색도 제거율은 24시간 경과 후 약 53%로 가장 높았으며, RA1, RA2라 명명한 균의 색도제거율은 같은 시간에서 각각 15%, 22%로 나타나 30°C에서 YA1이라 명명한 균의 색도 제거율이 두 배 이상으로 더 크게 나타났다.

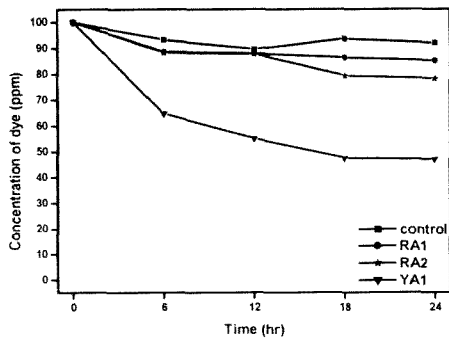


그림 1. 분리된 미생물의 색도제거

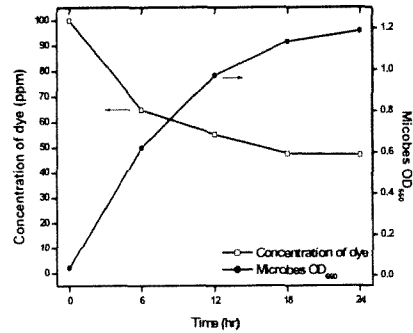


그림 2. 균주 YA1의 색도제거율과 미생물 농도

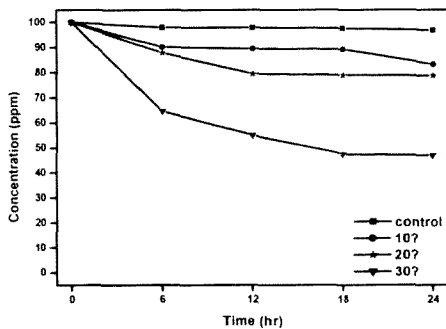


그림 3. 각각의 온도에서 YA1 균주의 색도 제거율

또한 분리된 3종의 균주 중 색도제거율이 높은 YA1이라 명명한 균을 이용하여 온도에 대한 영향을 살펴보고자 10, 20℃에서 동일한 조건으로 실험을 실시하였다. 10℃의 경우 색도 제거율이 24시간 경과한 후 17%, 20℃의 경우 같은 시간에서 22%로 나타났으며, 이를 그림 3에 나타내었다. 실험 결과 YA1이라 명칭한 균주의 경우 온도가 높을수록 색도 제거율이 현저하게 높게 나타남을 알 수 있었다.

요 약

분리된 미생물 중 염색폐수의 색도 제거능이 우수한 3균주(RA1, RA2, YA1)을 선별하여 실험에 이용하였다. 동일한 조건에서 실험한 결과 YA1이라 명명한 균주가 약 53%의 색도제거율을 보여 가장 우수한 균주로 판명되었고, 최적의 배양조건을 탐구하는 연구를 수행하였다.

참고문헌

1. 서승교, "염색폐수성분을 분해하는 세균의 혼합배양에 의한 염색폐수의 처리"(2001), 한국위생학회지 7(1), 55 ~ 61
2. 배재근, 김혜경, "Geotrichum Candidum Deco 11에 의한 염색폐수의 미생물 탈색"(1996), 대한환경공학회지, 18(9), 1103 ~ 1114
3. Reddy, C. A., "The potential for white rot fungi in the treatment of pollutants"(1995), *Curr. Opt. Biotechnol.* 6, 320 ~ 328
4. Banat, I. M., Nigam, P., Singh, D., Marchant, R., "Microbial decolorization of textile-dye-containing effluents: a review"(1996), *Bioresour. Technol.*, 58, 217 ~ 227
5. Nigam, P., Banat, I. M., Singh, D., Marchant, R., "Microbial process for the decolorization of textile effluent containing azo, diazo and reactive dyes"(1996), *Process Biochem.*, 31, 435 ~ 442
6. Robinson, T., McMullan, G., Marchant, R., Nigam, P., "Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative"(2001), *Bioresour. Technol.*, 77, 247 ~ 255