

## 버섯균에 의한 염료의 탈색

Sandesh Sancheti<sup>1</sup> · Shruti Sancheti<sup>1</sup> · 서승엽<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>공주대학교 자연과학대학, <sup>2</sup>(주) 약용자원콜렉션

## Decoloration of Polycyclic Aromatic Dyes by Mushroom Fungi

Sandesh Sancheti<sup>1</sup>, Shruti Sancheti<sup>1</sup> and Sung-Yum Seo<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>College of Natural Science, Kongju National University, Kongju 314-701

<sup>2</sup>Korean Collection of Herbal Extracts Inc., Kongju 314-701

(Received March 20, 2009. Accepted June 19, 2009)

**ABSTRACT:** As waste-water disposal plants and oxidative biodegradation for the removal of waste polyaromatic dyes are proved to be ineffective due to the chemical stability of dyes, we studied various strains of mushroom fungi for the removal of these dyes. 100 fungi were isolated from the mushroom samples of 230 species collected in Korea. The growth medium containing a dye (Bromophenol Blue, Congo Red, or Methylene Blue) was inoculated to 10% and incubated for 7 days without shaking. The six strains which removed dyes effectively were selected for further studies with respect to removal of polycyclic aromatic dyes. For all strains, the rate of decoloration of dyes was increasing with Methylene Blue, Bromophenol Blue and Congo Red. The rate of decoloration was higher with stationary culture than with shaking culture. Adsorption of the dyes was the highest with Congo Red.

**KEYWORDS:** Dyes, Fungi, Mushroom, Polycyclic aromatics

염료는 섬유산업(Gupta *et al.*, 1992), 가죽산업(Kabadasil *et al.*, 1999), 제지산업(Ivanov *et al.*, 1996), 광(light)산업(Wagenr and Lindsey, 1996), 모발염색(Scarpi *et al.*, 1998) 등 다양한 분야에 사용되며, 잔존 염료를 측정하여 하수(Morgan-Sagastume *et al.*, 1997)나 폐수처리시설(Hsu and Chiang, 1997)의 효율을 조사하기도 한다.

합성염료는 화학적으로 아주 다양하며, 산업적으로 사용되는 염료는 아조, 안트라퀴논, 황, 인디고, 트리페닐메틸(triphenylemthyl), 프탈로시아닌(phthalocyanine) 유도체 등이 있으며 이중에 아조 염료가 가장 흔히 사용된다(Forgacs *et al.*, 2004).

전 세계적으로 생산되는 염료의 정확한 양은 알려지지 않았지만 연간 10,000톤 이상이라고 추정되고 있다. 이런 염료 중에서 환경 속으로 방출되는 염료의 양에 대한 정확한 데이터는 없지만 생산 시에 1-2%, 사용 시 1-10%가 손실되는 것으로 추산되고 있다(Forgacs *et al.*, 2004).

대량 생산 시나 이용 시에 합성염료는 환경오염을 야기하고 심각한 건강 위험이 되고 있어 이런 문제를 감소시키기 위하여 환경친화적인 기술을 개발하여 염료를 제거하려는 노력이 계속되고 있다(Desphande, 2001). 그러나 전통적인 폐수처리시설은 염료의 처리에 아주 비효율적이

며, 여러 가지 처리에도 분해가 되지 않고 잔존하는 경우가 아주 빈번하다(Shaul *et al.*, 1991).

염료를 제거하기 위한 방법은 흡착, 광분해나 산화를 통한 탈색, 미생물이나 효소를 이용한 분해가 있다(Hao *et al.*, 2000). 흡착방법에는 탄소기반의 무기지지체나 그 외 다른 무기지지체를 사용하는 경우와(Roy *et al.*, 1993) 산업폐기물이나 산업부산물 등의 유기지지체를 이용하는 경우가 있다(Namasivayam and Yamunda, 1992). 광촉매 탈색반응이나 산화반응에서는 과산화수소(Kuo, 1992), 오존(Tang and An, 1995), TiO<sub>2</sub>(Reutergardh and Iangpashuk, 1997) 등을 이용하여 염료를 제거한다. 또한 다양한 미생물을 이용하여 염료를 분해하는 방법이 아주 활발하게 연구되고 있다(Stolz, 2001). 이 생물학적 염료제거 방법에는 여러 미생물을 혼합하여 이용하여 혐기적(Delee *et al.*, 1998) 혹은 호기적(An *et al.*, 1996)으로 염료를 분해하는 방법이 있으며, 순수하게 분리된 백색부후균을 사용하여 분해하는 경우가 있다(Young and Yu, 1997).

목재를 부식시키는 백색부후균류는 목재의 주성분인 섬유소와 lignin을 분해 한 후 이를 이용하는 능력을 가진다. 백색부후균은 laccase, 리그닌 퍼옥시데이즈, 페놀옥시데이즈, 망간 의존 혹은 비의존 퍼옥시데이즈 등의 다양한 세포외 효소를 분비하여(Young and Yu, 1997) 리그닌, 헤미셀룰로스, 셀룰로스 등을 분해하는데 이들의 높은 분해

\*Corresponding author <E-mail:dnalove@kongju.ac.kr>

능을 이용하여 아주 다양한 화학물질을 분해하는 연구가 활발하게 진행되고 있다(Cripps *et al.*, 1990). 리그닌은 Phenylpropane의 random polymer구조로 이루어졌으며 백색부후균은 이를 분해하는 효소군을 분비하여 방향족 고리(aromatic ring) 구조를 분해시킨다(Orth *et al.*, 1993). 리그닌 분해효소는 리그닌뿐만 아니라 다른 방향족 화합물을 파괴할 수 있는데 1980년대에 *Phanerochaete chrysosporium*을 이용하여 리그닌 모델 화합물(Kirk *et al.*, 1983) 및 페놀 화합물(phenolic compound)의 분해에 대한 보고가 있었고(Leathan *et al.*, 1983), 다염화이페닐화합물(polychlorinated biphenyl), 다환 방향족(polycyclic aromatic carbon), 아조 염료(azo dye), 이종고리식 염료(heterocyclic dye), 고분자염료(polymeric dye) 등의 각종 난분해성 물질의 분해에 대한 보고가 있었다(Ollikka *et al.*, 1993). 현재까지 *P. chrysosporium* (Cripps *et al.*, 1990)과 *Trametes versicolor* (Wang and Yu, 1998), *Pycnoporus cinnabarinus*(Schliephage and Lonergan, 1996), *Trametes hirsuta* (Abaldulla *et al.*, 2000)을 포함한 여러 백색부후균이 염료분해에 연구되고 있다.

본 논문에서는 한국산 야생버섯에서 분리 배양된 버섯 균들 중에서 염료탈색에 가장 우수한 균주를 선발하여 이들에 의한 염료의 탈색을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 버섯의 채집

버섯 균은 1997년 7월부터 1998년 10월까지 충청남도의 여러 지역, 강원도 연습림과 전남 지리산에서 여러 차례에 걸쳐서 230 종을 채집하였다. 버섯은 채집한 뒤 바로 자르기 전후 여러 각도에서 사진촬영을 하고 버섯의 특징을 기술한 후 45°C에서 건조시켰다. 건조표본은 휴지로 싸 후 작은 봉지에 넣고 실온에서 건조 보관하였다.

### 버섯 균의 분리 및 보관

버섯 균을 얻기 위하여 버섯의 갓과 대를 분리한 후 오염되지 않은 조직에서 조직절편을 떼어서 감자설탕 한천 배지(PDA, potato dextrose agar, 설탕 2%)에 이식한 후 실온에서 배양하였다. 순수하게 분리된 것으로 판단된 균류는 PDA 배지에서 배양한 후 글리세롤을 15%로 첨가한 후 -90°C에서 냉동보관 하였다.

### 균주 배양

분리 보관된 균류들을 감자 설탕배지(설탕 2%)에서 진탕 배양한 후 접종원으로 이용하였다. 접종시 접종원의 양은 배지량의 10%가 되도록 접종하였다.

### 염료

Azo 염료로는 Congo Red 와 Bromophenol Blue, 이종고리식 방향족(heterocyclic aromatic) 염료로는 Methylene

Blue를 여과지(filtraton size, 0.22  $\mu\text{m}$ )를 사용하여 여과멸균한 후 최종농도를 50 mM로 하였다.

### 버섯의 동정

버섯의 동정은 버섯의 갓과 대의 모양, 주름살의 모양, 턱받이의 유무 등을 참조로 하여(Pacioni, 1981) 일차적으로 동정하였으며 서울대학교 정학성교수 연구실의 임영운 박사를 초빙하여 최종적으로 동정하였다.

### 염료의 분해 조사

채취된 230종의 버섯 중에서 감자한천 배지상(PDA)에서 버섯 균이 얻어진 100개의 버섯 균은 감자 배지(PDB, 1 ml), 위에서 언급한 염료 (45 mM), 버섯 균(0.1 ml)을 각각 시험관에 넣은 후 정치배양을 하여 육안으로 염료의 탈색을 조사하여 1차로 40개의 버섯 균을 선발하였다. 이렇게 선발된 40개 버섯 균을 대상으로 다시 한번 정치배양 하여 염료의 탈색 정도를 조사하여 최종적으로 6종의 버섯 균을 선발하여 염료의 탈색의 변화를 조사하였다. 염료의 탈색조사는 선발한 6종의 버섯 균을 대상으로 일정한 간격으로 시험관 1개씩을 꺼내어 원심분리한 후 상등액의 흡광도를 분광광도계를 이용하여 각 화합물의 흡수파장에 따라 Congo Red는 490 nm에서 Methylene Blue는 660 nm에서 Bromophenol Blue는 590 nm에서 각각 측정하였다(Windholz *et al.*, 1983).

### 흡착된 염료량 조사

버섯균에 의한 염료의 제거가 염료의 분해에 의한 경우와 세포에 흡착되어 제거되는 경우가 있어서 균사체에 흡착된 염료량을 조사하기 위해서, 배양액은 원심분리 하여(3000 g, 10분) 상등액을 제거한 후 남아있는 침전물에 0.1N NaOH 3 ml를 시험관에 가하고 1 분간 vortex한 후 원심분리(18,700 g, 5 분간)하여 상등액의 흡광도를 측정하였다.

## 결과

### 탈색능이 우수한 버섯 균의 선발

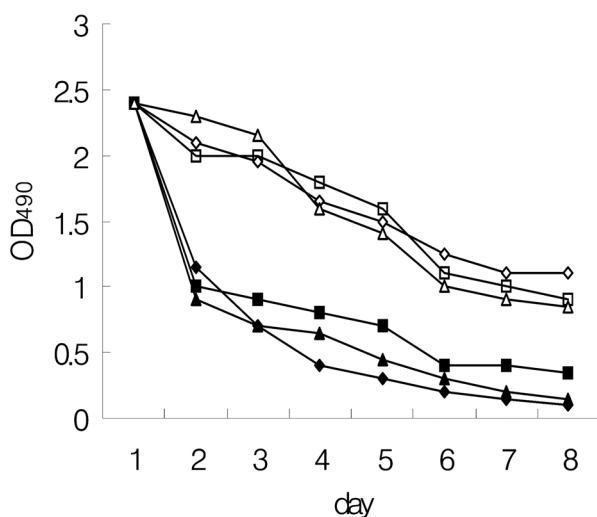
본 실험에서는 한국의 야산에서 채취한 230 종의 버섯으로부터 조직분리 하여 100 종의 버섯균을 얻어 이들을 대상으로 염료 제거능이 우수한 균주를 선발하였다. 염료를 함유한 배지에 버섯 균을 접종한 후 정치배양과 진탕배양을 동시에 진행시키며 24시간 간격으로 탈색정도를 관찰하였다. 탈색 정도는 진탕배양시보다 정치배양시 탈색이 더 빠르게 진행되었으며 정치배양시 빨리 탈색되는 균주의 경우에는 48시간 후부터 탈색정도를 느낄 수 있었다. 정치배양한 균은 7일 동안 관찰해가며 탈색이 잘되는 40 종의 균을 1차적으로 선발하였다. 이 버섯 균을 대상으로 다시 한번 더 정치배양하면서 탈색정도를 조사하여 최종적으로 6종의 버섯 균을 선발하였다(Table 1).

**Table 1.** Fungi used in this experiment

Scientific name	Korean name	Collected date	Collected site
<i>Amanita phalloides</i> (Fr.) Link	알광대버섯	July, 1998	Jiri Mt., Jeonnam
<i>Agaricus</i> sp.	주름버섯속	July, 1998	Gyeongong Mt., Chungnam
<i>Boletellus russellii</i> (Frost) Gilb.	털밤그물버섯	July, 1998	Gyeongong Mt., Chungnam
<i>Amanita rubescens</i> Pers. : Fr.	붉은점박이광대버섯	July, 1998	Gyeongong Mt., Chungnam
<i>Boletellus</i> sp.	밤그물버섯속	July, 1998	Gyeongong Mt., Chungnam
<i>Russula delica</i> Fr.	푸른주름무당버섯	July, 1998	Gyeongong Mt., Chungnam

### 배양방법에 따른 탈색속도의 변화

선발된 6개의 버섯 균에 의한 Congo Red의 탈색 정도를 조사하였다. 3종의 버섯 균을 대상으로 8일 동안 염료의 탈색으로 조사한 결과 진탕배양시보다 정치배양시 염료의 탈색이 더 빠르게 진행되었다(Fig. 1). 8일 후 잔존 염료의 양을 조사한 결과, 정치배양 시에는 4-16%가 남았고 진탕배양 시에는 40-50% 이었다. 각 균주별로 분석하면 진탕배양시보다 정치배양시 3-10 배 탈색이 되었다. 그림에는 나타나 있지 않지만 다른 버섯균에서도 동일하게 진탕시보다 정치배양 시 더 탈색이 잘 되었으며, 다른 염료를 사용해도 동일하게 정치배양 시에 진탕배양 시보다 염료의 분해가 빠르게 진행되었다. 진탕시배양 시보다 정치배양 시 여러 화합물의 분해에 관여하는 효소들(Manganese peroxidase, Lignin peroxidase 및 laccase)의 발현이 증대되고 진탕에 의한 효소의 파괴가 덜 일어나기 때문에 사료된다.

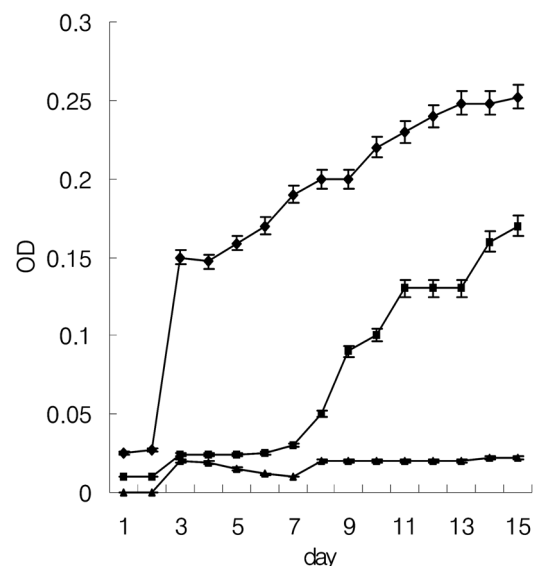


**Fig. 1.** Comparative decoloration of Congo Red by static and shaking cultures. Absorbance of the supernatants was measured at various time intervals after centrifuging the cultures at 18,700 g for 5 min. Each experiment was done in triplicates. Static culture ◆ *Amanita phalloides*, ■ *Agaricus* sp., ▲ *Boletellus russellii*, Shaking culture ◇ *Amanita phalloides*, □ *Agaricus* sp., △ *Boletellus russellii*.

### 버섯 균에 의한 염료의 흡착

염료를 제거하는데 버섯 균을 사용한다면, 버섯 균은 두 가지 방법으로 염료를 제거할 것이다. 버섯 균 표면에 염료가 흡착되어 제거되거나 버섯 균이 분비한 효소에 의하여 염료가 분해되어 제거될 것이다. 따라서 버섯 균에 염료가 흡착되어 제거 정도를 조사하기 위하여 이 버섯 균에 의한 염료의 흡착정도를 조사하였다.

염료를 함유한 배지에서 버섯 균을 배양한 후 원심분리하여 상등액을 버리고 침전된 버섯 균을 얻어서 이를 NaOH로 처리하여 막을 분해하여 막에 붙어 있던 염료를 분리시켜 흡착된 염료의 양을 조사하였다. 가장 흡착이 가장 많이 일어나는 버섯 균(*Boletellus russellii*)을 대상으로 15일 동안 염료의 흡착을 조사한 결과 Methylene Blue, Bromophenol Blue, Congo Red 순으로 높은 흡착을 보였다(Fig. 2). Methylene Blue의 경우, 전 배양기간 동안 흡착이 완만하게 증가하여 결과적으로 흡착은 매우 미미하였다. Bromophenol



**Fig. 2.** Removal of dyes by Adsorption. Cells (*Boletellus russellii*) collected at various time intervals after centrifugation (18,700 g for 5 min.) were disrupted by NaOH. After cell debris was removed by centrifugation using same conditions, absorbance of dyes was measured. Each experiment was done in triplicates. ◆ Congo Red, ■ Bromophenol Blue, ▲ Methylene Blue.

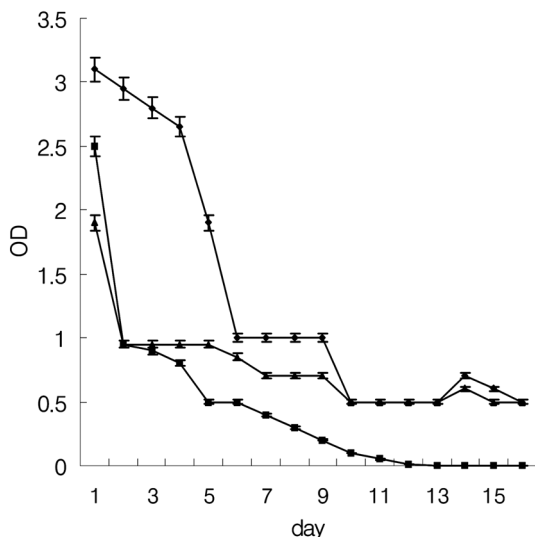
Blue는 처음 7 일까지는 흡착이 미미하였지만 그 후 빠르게 증가하였고, Congo Red의 경우 2-3일 흡착이 빠르게 증가하여 그 후에는 완만하게 증가하였다. 흡착에 의한 염료의 제거정도를 15일 후 측정 한 결과 Congo Red 경우에는 총염료의 10%, Bromophenol Blue 경우에는 6%, Methylene Blue 경우에는 1% 이하로 제거되었다. 다른 버섯균도 흡착정도는 낮았지만 비슷한 양상을 보였다.

**상등액에서의 버섯 균에 의한 염료의 탈색**

최종적으로 선발한 6개의 버섯 균을 대상으로 세 가지 염료에 대해 시기별로 염료의 탈색을 조사하여 염료탈색 패턴을 Fig. 3에서 Fig. 8에 표시하였다. 조사된 모든 균에서 공통적으로 Bromophenol Blue의 분해가 가장 천천히 그리고 적게 일어났지만, Congo Red 와 Methylene Blue 분해는 빨리 일어났다.

버섯 균 각각의 염료분해 패턴을 비교하면, 털밤그물버섯 (*Boletellus russellii*)은 Methylene Blue에서 2일 까지는 빠르게 분해되고 그 후에는 아주 천천히 진행되어 16일 후에도 16%가 잔존하였다. Bromophenol Blue의 경우, 6일까지 빠르게 분해가 진행되고 그 후에는 아주 천천히 분해가 진행되어 16일 후에도 잔존 양이 15%이상이었다. Congo Red의 경우에, 2일까지는 분해가 빠르게 진행되었고 그 후에도 꾸준히 분해가 계속적으로 일어나 12일 후에는 거의 잔존량이 1% 이하였다(Fig 3).

알광대버섯(*Amanita phalloides*)에서는 세 염료의 분해가 6일 까지는 분해가 빠르게 일어나 잔존량이 Congo Red는 5% 이었고 Methylene Blue의 경우에는 25%이었고 Bromophenol Blue의 경우에는 12%이었고 그 후에도 분해가 꾸준히



**Fig. 3.** Removal of three dyes in supernatants by strain *Boletellus nussellii*. Absorbance of the supernatants was measured at various time intervals after centrifugation. Each experiment was done in triplicates. ◆ Bromophenol Blue, ■ Congo Red, ▲ Methylene Blue.

계속되어 Congo Red는 8일째에 거의 분해가 완료되었고 Bromophenol Blue는 13일에 분해가 완료되었고 Methylene blue는 16일 후에 1.5%가 잔존하였다(Fig 4).

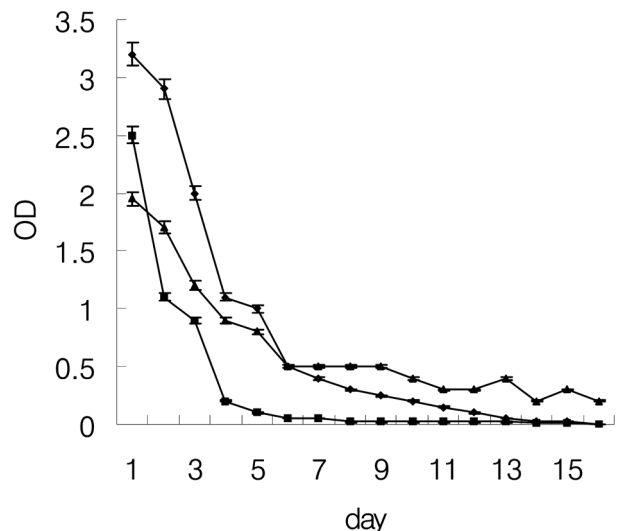
*Bolletus sp.*에서는 Congo Red는 4일까지 빠르게 분해되었고 8일 후에는 잔존량이 거의 없었다. Bromophenol Blue와 Methylene Blue는 3일까지는 빠르게 분해가 진행되었고 꾸준히 계속적으로 분해가 일어나 16일 후에는 잔존량이 2% 이하였다(Fig. 5). 이외의 버섯 균은 Fig. 6에서 Fig. 8까지의 분해패턴이 보였다.

본 연구에서 연구된 균 중에서 알광대버섯(*Amanita phalloides*)와 푸른주름무당버섯(*Russulla delica*)이 세 염료를 16일 후에는 거의 다 제거할 수 있었다(Fig. 4, 8). 여러 버섯 균을 염료의 제거에 사용한 결과, 다음과 같은 경향을 찾을 수 있었다. 시간이 지남에 따라 처음에는 빠르게 그 후에는 느리게 탈색반응이 진행되었다. Congo Red와 Methylene Blue가 Bromophenol Blue보다 빨리 상등액에서의 탈색반응이 빠르게 진행되어지는 것을 알 수 있었다. 그리고 앞에서 언급한 것과 같이 균사체의 흡착에 있어서 Congo Red, Bromophenol Blue, Methylene Blue순으로 Azo 염료가 이종고리식 방향족 염료(Heterocyclic aromatic dye)보다 더 잘 흡착되었다. 또한 흡착에 의해서 염료가 제거되는 정도는 최대 10%이하로 상등액에서 염료가 분해되는 것에 비하여 적은양이었다.

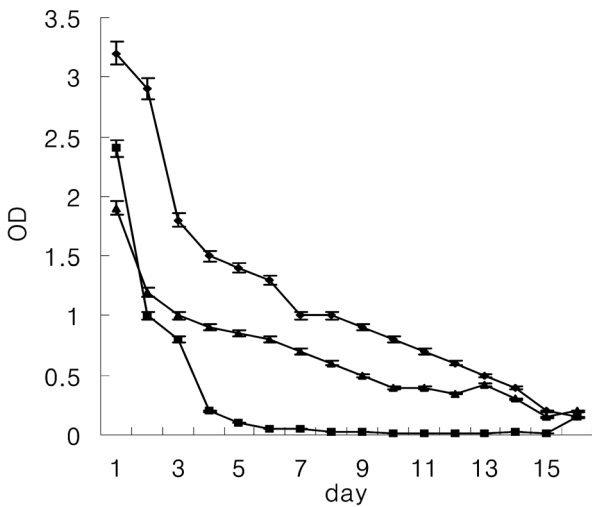
**고찰**

**흡착에 의한 염료의 제거**

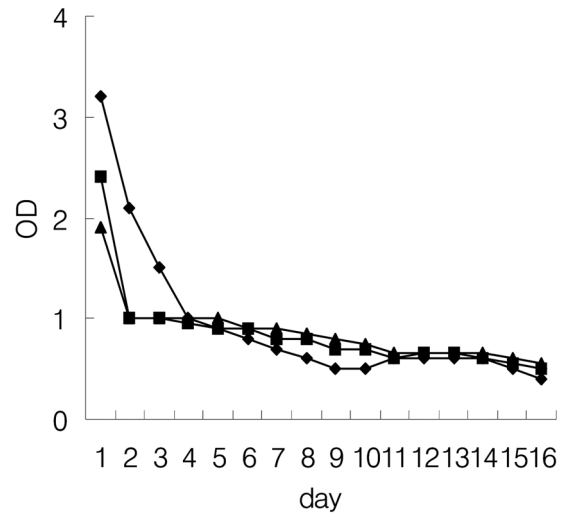
염료는 전통적인 폐수처리시설에 의해서 효율적으로 제



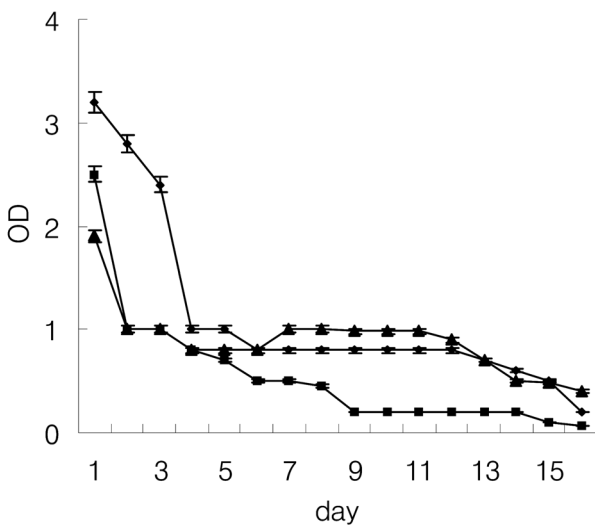
**Fig. 4.** Removal of three dyes in supernatants by strain *Amanita phalloides*. Absorbance of the supernatants was measured at various time intervals after centrifugation. Each experiment was done in triplicates. ◆ Bromophenol Blue, ■ Congo Red, ▲ Methylene Blue.



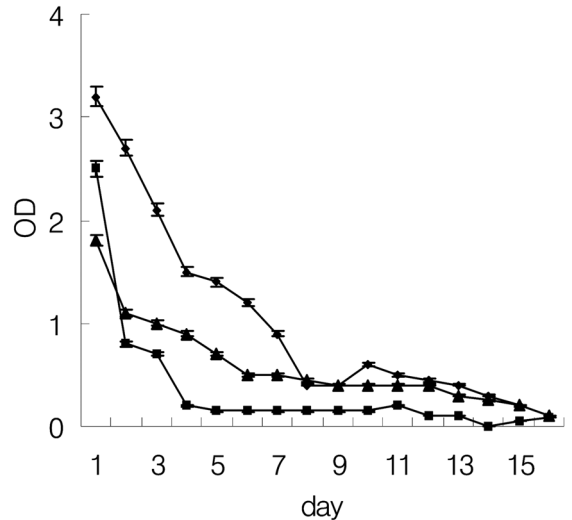
**Fig. 5.** Removal of three dyes in supernatants by strain *Boletellus* sp. Absorbance of the supernatants was measured at various time intervals after centrifugation. Each experiment was done in triplicates. ◆ Bromophenol Blue, ■ Congo Red, ▲ Methylene Blue.



**Fig. 7.** Removal of three dyes in supernatants by strain *Amanita rubesens*. Absorbance of the supernatants was measured at various time intervals after centrifugation. Each experiment was done in triplicates. ◆ Bromophenol Blue, ■ Congo Red, ▲ Methylene Blue.



**Fig. 6.** Removal of three dyes in supernatants by strain *Agaricus* sp. Absorbance of the supernatants was measured at various time intervals after centrifugation. Each experiment was done in triplicates. ◆ Bromophenol Blue, ■ Congo Red, ▲ Methylene Blue.



**Fig. 8.** Removal of three dyes in supernatants by strain *Russula delica*. Absorbance of the supernatants was measured at various time intervals after centrifugation. Each experiment was done in triplicates. ◆ Bromophenol Blue, ■ Congo Red, ▲ Methylene Blue.

거되지 않아서, 염료를 값싸고 능률적인 고체 지지체에 흡착시켜 제거하는 방법이 이용되고 있다. 매우 다양한 무기 혹은 유기 지지체의 흡착특성이 조사되고 염료 제거 능이 분석되었다. 무기 지지체는 현장에서는 기계적이고 화학적 안정성이 우수하며 비표면적(specific surface area)이 크며 미생물에 의한 변형에 저항성이 강하기 때문에 널리 사용되고 있다. 또한 생물체를 지지체로 사용한

경우에는 거대균인 *Fomitopsis carnea*를 분쇄하여 흡착제로 사용한 예가 있다. 분쇄된 거대균이 염료를 잘 흡착하였으며 염료의 흡착은 pH가 증가할수록 증가하였다 (Maurya *et al.*, 2006). 그러나 무기 혹은 유기 지지체 중 어떤 것을 사용하던지 매우 중대 결함을 가지고 있는데 흡착이 특이적이지 않아서 물속의 다른 물질이 흡착할 수 있으며 다른 물질이 염료와 경쟁적으로 흡착하여 염료 흡

작능의 예측을 어렵게 한다. 지지체를 재생하여 사용해야 할 경우 지지체에 높은 농도로 집적된 염료를 제거하는 것이 문제가 될 수 있다. 지지체 표면에서의 염료의 분해가 일어나지 않아서 이 방법을 큰 규모로 적용하기에 많은 문제점이 있다(Forgacs *et al.*, 2004). 본 연구에서 조사된 버섯 균에서 흡착에 의한 염료의 제거는 분해에 의한 염료의 제거에 비해 미미하였다(총염료의 10%이하). 이외에도 버섯균사체는 생장하지 않는 조건에서에서는 자가분해가 일어나 빠르게 분해가 일어난다. 또한 버섯균사는 지지체로서는 기계적이고 화학적인 안정성이 낮고 다른 미생물에 의한 분해가 쉽게 일어나 버섯균은 흡착지지체로서 효용성은 낮을 것으로 사료된다.

### 정치배양과 염료분해

본 실험에서는 진탕배양시보다도 정치배양시에 염료의 제거 속도가 빨랐다. 이런 현상은 다른 실험자에 의한 연구에서도 동일하게 관찰되었으며 그 원인은 아래와 같이 정리할 수 있을 것이다. 버섯균은 균사로 자라고 진탕배양 시에는 peroxidase를 잘 생산하지 못한다. 진탕은 peroxidase의 생산뿐만 아니라 안정성에도 큰 영향을 미치며(Venkatadri and Irvine, 1990; Jger *et al.*, 1985), 진탕은 리그닌 퍼옥시다제(lignin peroxidase)뿐만 아니라 여러 이차대사산물의 생산에도 영향을 미친다(Shimada *et al.*, 1981). 진탕 시에 리그닌 퍼옥시다제가 활성을 잃는 것은 진탕 시에 생기는 전단력이 리그닌 퍼옥시다제를 파괴하기 때문이다(Podgronik *et al.*, 2001). 진탕속도가 높으면 리그닌 퍼옥시다제가 변성되어 이 효소가 활성을 잃는다(Venkatadri and Irvine 1990). 또한 진탕 시 플라스크의 크기가 커지면 전단력이 커져서 효소가 더 심하게 활성을 잃는다(Venkatadri and Irvine 1990). 진탕 시 리드닌 퍼옥시다제가 활성을 잃는 또 다른 이유는 가용산소가 증가하여 이 효소복합체가 손상 되는데 아마도 독성이 심한 산소 자유기가 이 효소를 산화시키고 조각내고 또한 단백질과 탄수화물과 지질 및 핵산을 교차연결 시키기 때문이다(Wolff *et al.*, 1986). Leisola 등(1984)은 높은 농도의 산소는 포도당의 농도가 낮을 때에는 균독소로 작용하지만 포도당의 농도가 높을 때에는 그렇지 않다고 보고하였다.

### 생물체에 의한 염료의 제거

염료의 분해에 미생물을 이용하는 것은 아주 매력적이며 간단한 방법이다. 그러나 생물학적 기작은 복잡할 수 있다. 여러 염료의 탈색과 분해에 아주 많은 균이 조사되었지만 대부분의 염료는 화학적으로 아주 안정하여 미생물의 공격을 당하지 않는다(Forgacs *et al.*, 2004) 새로운 균주를 분리하거나 이미 있는 균을 적응시켜 우수한 염료 분해능을 가지도록 하는 연구가 활발하게 진행되고 있다. 염료의 분해에 미생물을 사용하는 방법은 값이 싸고 운영경비가 저렴하고 완전한 분해산물은 독성이 없어서 생물

학적 제거의 다양한 면들이 많이 연구되었다(Stolz, 2001). 전통적인 폐수처리 기술뿐만 아니라 생물학적인 염료제거 방법에서는 새로운 방법들이 시도되는데 예를 들면 활성슬러지 프로세스가 개발되어 여러 염료를 제거하는 연구가 시도되었다(Kanekar and Sarnaik, 1991). 여러 염료가 바이오필름에서 잘 분해되었다(Zhang *et al.*, 1995).

진균 그 중에서도 백색부후 담자균류를 이용한 다양한 화합물의 분해가 시도되어 상당한 결과를 얻었다. 본 연구에서 선발된 버섯균을 이용한 염료의 분해에 대한 연구에서 이 버섯균들이 효과적으로 염료를 제거하는 것을 관찰할 수 있었다. 염료분해를 더욱 잘하게 하는 배지, 배양조건, 환경요인들에 대한 연구가 진행되어 분해를 최적화하면 더욱 빠른 속도로 염료를 분해할 수 있을 것이다. 염료의 분해에 관여할 것으로 사료되는 laccase, 리그닌 퍼옥시다제, 페놀옥시다제, 망간 의존 혹은 비의존 퍼옥시다제 등의 다양한 세포외 효소의 발현을 촉진하는 배지와 배양조건에 대한 차후의 연구들 통해서 염료를 효과적으로 분해시킬 수 있는 조건을 찾을 수 있을 것으로 사료된다. 또한 이들 균들을 이용하여 자연상태에서 잘 분해되지 않은 polychlorinated biphenyl, polycyclic aromatic carbon, azo dye, heterocyclic dye, polymeric dye 등의 여러 가지 물질의 분해를 연구하는 것도 의미가 있을 것으로 사료된다.

### 적요

화학적으로 안정한 다환 방향족 염료를 폐수처리시설이나 천연적인 분해에 통해서 제거시키는 것이 비효율적인 것으로 알려져 있다. 다환 방향족 염료를 제거를 위하여 우리는 여러 버섯균류의 조사하였다. 한국의 야산에서 채집된 230종의 버섯으로부터 조직분리를 통하여 100개 버섯 균을 분리하였다. 염료(Bromophenol Blue, Congo Red, 혹은 Methylene Blue)를 함유한 배지에 분리된 버섯 균을 10%로 접종한 후 7일 동안 정치배양 혹은 진탕배양하여 염료제거능이 우수한 6 종의 버섯 균을 선발하였다. 이렇게 선발된 버섯 균을 대상으로 다환방향족 염료를 제거하는 능력을 조사하였다. 모든 버섯 균이 진탕배양 시보다 정치배양 시 더 우수한 염료제거 능을 보였다. 염료에 따른 염료제거능은 대부분의 경우에서 Methylene Blue, Bromophenol Blue, Congo Red 순으로 증가하였다. 위 세 염료 중에서 Congo Red가 가장 많이 흡착되었다.

### 참고문헌

- Abadulla, E., Tzanov, T., Costa, S., Robra, K. H., Cavaco-Paulo, A. and Gubitzi, G. M. 2000. Decoloration and detoxification of textile dyes with a laccase from *Trametes hirsuta*. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 3357-3362.

- An, H., Qian, Y., Gu, X. and Tang, W. Z. 1996. Biological treatment of dye wastewaters using an anaerobic-oxic system. *Chemosphere* 33: 2533-2542.
- Cripps, C., Bumpus, J. A. and Aust, S. D. 1990. Biodegradation of azo and heterocyclic dyes by *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 1114-1118.
- Delee, W., O'Neill, C., Hawkes, F. R. and Pinheiro, H. M. 1998. Anaerobic treatment of textile effluents: a review. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 73: 323-335.
- Desphande, S. D. 2001. Ecofriendly dyeing of synthetic fibres. *Ind. J. Fibre Text. Res.* 26: 136-142.
- Forgacs, E., Cserhati, T., and Oros, G. 2004. Removal of synthetic dyes from wastewaters: a review. *Environment International* 30: 953-971.
- Gupta, G. S., Shukla, S. P., Prasad, G. and Singh, V. N. 1992. China clay as an adsorbent for dye house wastewaters. *Environ. Technol.* 13: 925-936.
- Hao, O. J., Kim, H. and Chiang, P. C. 2000. Decolorization of wastewater. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 30: 449-502.
- Hsu, T. C and Chiang, C. S. 1997. Activated sludge treatment of dispersed dye factory wastewater. *J. Environ. Sci. Health. Part A, Environ. Sci. Eng. Toxic Hazard. Substance Control A.* 32: 1921-1932.
- Ivanov, K., Gruber, E., Schempp, W. and Kirov, D. 1996. Possibilities of using zeolite as filler and carrier for dye stuffs in paper. *Das Papier* 50: 456-460 [in German].
- Jger, A., Croan, S. and Kirk, T. K. 1985. Production of ligninases and degradation of lignin in agitated submerged cultures of *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* 50: 1274-1278.
- Kabadasil, I., Tnay, O. and Orhon, D. 1999. Wastewater control and management in a leather tanning district. *Water Sci. Technol.* 40: 261-267.
- Kanekar, P. and Sarnaik, S. 1991. An activated sludge process to reduce the pollution load of a dye-industry waste. *Environ. Pollut.* 70: 27-33.
- Kirk, T. K., Nakatsubo, F. and Reid, I. D. 1983. Further study discounts role for singlet oxygen in fungal degradation of lignin model compounds. *Biochem Biophys Res Commun.* 111: 200-204.
- Kuo, W. G. 1992. Decolorizing dye wastewater with Fenton's reagent. *Water Res.* 26: 881-886.
- Leatham, G. F., Crawford, R. L. and Kirk, T. K. 1983. Degradation of Phenolic Compounds and Ring Cleavage of Catechol by *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* 46: 191-197.
- Leisola, M. S., Kozulic, B., Meusdoerffer, F. and Fiechter, A. 1987. Homology among multiple extracellular peroxidases from *Phanerochaete chrysosporium*. *J. Biol. Chem.* 262: 419-424.
- Maurya, N. S., Mittal, A. K., Cornel, P. and Rother, E. 2006. Biosorption of dyes using dead macro fungi: effect of dye structure, ionic strength and pH. *Bioresour Technol.* 97: 512-521.
- Morgan-Sagastume, J. M., Jimenez, B. and Noyola, A. 1997. Tracer studies in a laboratory and pilot scale UASB reactor. *Environ. Technol.* 18: 817-826.
- Namasivayam, C. and Yamuna, R. T. 1992. Removal of rhodamine-B by biogas waste slurry from aqueous solution. *Water Air Soil Pollut.* 65:1 01-109.
- Ollikka, P., Alhoniemi, K., Leppnen, V. M., Glumoff, T., Rajjola, T. and Suominen, I. 1993. Decolorization of Azo, Triphenyl Methane, Heterocyclic, and Polymeric Dyes by Lignin Peroxidase Isoenzymes from *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 4010-4016.
- Orth, A. B., Royse, D. J. and Tien, M. 1993. Ubiquity of lignin-degrading peroxidases among various wood-degrading fungi. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 4017-23.
- Pacioni. 1981. *Simon and Schuster's Guide to Mushrooms*. Simon and Schuster Inc. New York, USA.
- Podgronik, H., Podgronik, A., Milavec, P. and Perdih, A. 2001. The effect of agitation and nitrogen concentration on lignin peroxidase (LiP) isoform composition during fermentation of *Phanerochaete chrysosporium*. *J. Biotechnol.* 88: 173-176.
- Reutergrath, L. B. and Inganpashuk, M. 1997. Photocatalytic decolorization of reactive azo dye: a comparison between TiO<sub>2</sub> and CdS photocatalysis. *Chemosphere* 35: 585-596.
- Roy, D., Wang, G. T. and Adrian, D. D. 1993. A simplified solution technique for carbon adsorption model. *Water Res.* 27: 1033-1040.
- Scarpi, C., Ninci, F., Centini, M. and Anselmi, C. 1998. High-performance liquid chromatography determination of direct and temporary dyes in natural hair colourings. *J. Chromatogr. A.* 796: 319-325.
- Schliephage, K. and Lonergan, G. T. 1996. Laccase variation during dye decolorisation in a 200 L packed-bed bioreactor. *Biotechnol. Lett.* 18: 881-886.
- Shaul, G. M., Holdsworth, T. J., Dempsey, C. R. and Dostal, K. A. 1991. Fate of water soluble azo dyes in the activated sludge process. *Chemosphere* 22: 107-119.
- Shimada, M., Nakatsubo, F., Higuchi, T. and Kirk, T. K. 1981. Biosynthesis of the secondary metabolite veratryl alcohol in relation to lignin degradation in *Phanerochaete chrysosporium*. *Arch. Microbiol.* 129: 321-324.
- Stolz, A. 2001. Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 56: 69-80.
- Tang, W. Z. and An, H. 1995. UV/TiO<sub>2</sub> photocatalytic oxidation of commercial dyes in aqueous solutions. *Chemosphere* 31: 4158-4170.
- Venkatadri, R. and Irvine, R. L. 1990. Effect of agitation on ligninase activity and ligninase production by *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 2684-2691.
- Wagner, R. W. and Lindsey, J. S. 1996. Boron-dipyromethane dyes for incorporation in synthetic multi-pigment light-harvesting arrays. *Pure Appl. Chem.* 68: 1373-1380.
- Wang, X. Y. and Yu, J. 1998. Adsorption and degradation of synthetic dyes on the mycelium of *Trametes versicolor*. *Water Sci. Technol.* 38: 233 - 238.
- Windholz, M., Budavari S., Blumettiet R. F., and Otterbein. E. S. 1983, *The Merck Index*. Rahway N. J., U. S. A.
- Wolff, S. P., Garner, A. and Dean, R. T. 1986. Free radicals, lipids and protein degradation. *Trends Biochem. Sci.* 11: 27-31
- Young, L. and Yu, J. 1997. Ligninase-catalysed decolorization of synthetic dyes. *Water Res.* 31: 1187-1193.
- Zhang, T. C., Fu, Y. C. and Bishop, P. L. 1995. Transport and biodegradation of toxic organics in biofilms. *J. Hazard Mater* 41: 267-285.