

〈研究論文(學術)〉

미생물 고정화를 이용한 산성염료의 처리

김정목·조무환*·양용운**

대경대학 환경공업과
*영남대학교 화학공학 및 공업화학부
**계명문화대학 환경공학과
(1998년 12월 10일 접수)

Treatment of Acid dye Using Microbial Immobilization

Jeong Mog Kim, Moo Hwan Cho*, and Yong Woon Yang**

Dept. of Environmental Industry, Taekyeung College, Kyungsan, 712-850, Korea

**School of Chemical Engineering and Technology, Yeungnam University, Kyungsan, 712-749, Korea*

***Dept. of Environmental Engineer, Keimyung College, Taegu, 705-701, Korea*

(Received December 10, 1998)

Abstract— Strains degrading and decolorizing acid dyes, Nylosan red E-BL 150% were isolated from natural system, was named as ARK3. The optimal culture conditions of temperature and pH were 35°C, 7.0, respectively. Growth rate of cells in conditions of aerobic shaking more than standing culture conspicuously increased, and optical density of those to strain ARK3 were found as 1.38 and 0.25 after 42 hrs. Decolorization efficiency in batch culture which used as immobilization media to natural zeolite was 15% after 6 hrs, while suspension culture was 5%, also its of immobilization and suspension culture were 90% and 85% after 48 hrs, respectively. Decolorization efficiency of air-lift bioreactor was more than 90% to a dilution rate of 0.038hr⁻¹, but that was decreased as 70%, when the dilution rate was 0.05hr⁻¹. Even though at maximum dilution rate of this study, there was not appeared “wash out” phenomenon of biomass. Decolorization efficiency was 97.7% at a dilution rate of 0.025hr⁻¹, when influent dye concentration was 100mg/ℓ. But if influent dye concentration increased as 150mg/ℓ, even though MLVSS increased, that of treatment water decreased as 93%. Also, when influent dye concentration increased as 200mg/ℓ and 300mg/ℓ, decolorization efficiencies of treatment water abruptly decreased as 85% and 63%, respectively. Decolorization efficiency was more than 92% to the limit volumetric loading rate of 3.75mg/ℓ·hr, without regard to variation of influent dye concentration or hydraulic retention time. if volumetric loading rate was more than 3.80mg/ℓ·hr, at same condition, decolorization efficiency was lower decrease of retention time than increase of influent dye concentration.

1. 서 론

현재 전세계에는 3,000여종의 염료가 시판되고 있으며, 해마다 60,000톤 이상이 폐수에 용해되어 방출된다¹⁾. 특히 섬유의 염색과 마감공정에서 발생하는 폐수는 다양한 염료와 다량의 유기물을 포함하고 있어 염색폐수의 오염 문제도 날로 심각해 지고 있다.

상업적으로 생산된 염료 중 가장 널리 사용되는 azo계 염료는 미생물에 의한 생분해가 어렵고 자연 생태계로 방류될 때 광선을 차단하여 광합성 생물의 생육을 저해하여 심각한 환경오염원 중의 하나로 인간에게 큰 영향을 미치는 것으로 알려져 있다²⁻³⁾.

염료의 미생물에 대한 생육저해의 연구는 Churchman⁴⁾과 Kline⁵⁾에 의해 처음 연구된 이래 많은 연구가 발표되었다. 또한 염료의 생분해는 White-rot fungi인 *Phanerochaete Chrysosporium*과 *Tinctoporia* sp.⁶⁻⁸⁾에 의한 리그닌을 함유한 펄프와 종이 폐수의 생물학적 탈색은 착색된 물질이 생물학적으로 분해가 된다는 것을 입증하였다. 그 후 Belsare 등⁹⁾은 white-rot fungi인 *Schizophyllum Commune*을 이용한 펄프공장 폐수의 색도제거를 보고하였고 최근에는 Groff와 Kim¹⁰⁾은 *Rhodococcus*, *Bacillus Cereus*, *Plesiomonas*, *Achromobacter* 등이 용해된 염료, 적색의 산성염료 및 azo염료 등을 각각 분해하는 것으로 보고하였다. 많은 연구자들은 Azo염료의 분해 mechanism에 관하여 발표하였으며, Azo화합물은 aromatic amine을 거쳐 단분자가 되고 그 다음 azo reductase에 의하여 azo결합이 분해되는 것으로 보고하였다¹¹⁻¹³⁾.

일반적으로 생물학적 활성슬러지법은 염색폐수의 COD와 BOD를 제거하는데 매우 유용하다는 것이 보고 되었으며, 이는 염료가 활성슬러지에 흡착되고 흡착이 생물학적 탈색에 중요한 역할을 한다고 보고하였다¹⁴⁾. 따라서 염색폐수를 처리하기 위하여 활성슬러지 공법이 사용되어 왔으나 염료의 제거효율은 높지 않았다¹⁵⁾.

염색폐수의 처리를 위해 몇가지 방법이 개발되어 있으나 생물학적 처리법이 간단하고 저렴하기 때문에 많이 사용되어 왔다¹⁾.

많은 연구자들이 생물학적 탈색에 관하여 연구를 하였으나¹⁶⁻¹⁹⁾ 아직 실험실적인 모델시스템이고 실제적인 응용이나 고농도 염료폐수의 처리를 위한

것은 제한되었다.

미생물 고정화에 의한 폐수처리의 장점은 고농도 배양이 가능하고, 고체와 액체의 분리가 용이하며, 성장속도가 느린 미생물도 이용할 수 있다. 또한 특정폐수에 적합한 미생물을 이용할 수 있으며, 독성물질과 각종 부하에 대한 내성이 강한 이점이 있기 때문에 고정화에 의한 생물학적 폐수처리는 1970년을 시작으로 활발히 진행되어 왔다.

본 연구에서는 염색폐수 중 산성염료의 색도를 제거하기 위해서 이를 분해·자화하는 균주를 자연계에서 순수분리 하였으며, 그 중 분해능이 우수한 균주를 선정하여 연속실험을 위한 공시균으로 사용하였다. 또한 고정화 담체로 우리 나라에 매장량이 풍부한 천연 zeolite를 사용한 air-lift형의 반응기를 사용하여 반응기의 성능 특성을 조사하였다.

2. 실험재료 및 방법

균주 및 배지조성

본 연구에 사용된 염료는 (주)K방직에서 사용되고 있는 산성염료 중 가장 많이 사용되고 있는 Nylosan red E-BL 150%이다. 이를 분해하는 균주를 자연계에서 순수분리하기 위하여 (주)K방직 폐수처리장의 반응슬러지, D도시 염색공업공단 종합폐수처리장의 방류수가 방류되는 지점의 셋강과 경계지점의 토양, 셋강과 금호강 합류지점의 저니 및 정원의 토양을 시료로 사용하였다.

균주의 순수분리 및 배양을 위하여 사용된 배지는 Table 1과 같다.

Table 1. Composition of culture medium for acid dyes

Components	Concentration(g/l)
Peptone	6.0
Glucose	10.0
KH ₂ PO ₄	1.0
NaCl	0.4
KCl	0.2
CaCl ₂	0.2
Na ₂ HPO ₄	0.16
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.14
dye	0.1~0.3

고정화 담체

본 실험에 사용된 고정화 담체는 천연 zeolite이며, (주)왕표화학의 1차처리(분쇄)된 분말을 사용하였다. Zeolite는 알칼리 및 알칼리 토금속을 함유하면서 물 분자가 결정수 형태로 구조중에 존재하는 함수 알루미늄 규산염으로 비표면적이 크고 이온교환능이 우수한 광물이다. Zeolite의 물리적 특성을 Table 2에 나타내었다.

Table 2. Physical properties of natural zeolite

Partical size (μm)	Bulk density (g/cm ³)	Wet density (g/cm ³)	pH (1% solution)
0~45	0.47	1.15	8.1

회분실험

분리한 균주의 최적 성장 및 탈색조건을 조사하기 위하여 초기 pH를 6, 6.5, 7, 7.5, 8, 9로 배양온도를 20℃, 25℃, 30℃, 35℃, 40℃로 각각 변화시켜 탈색율을 조사하였다. 또한 정치배양과 진탕배양을 실시하여 산소공급의 영향을 조사하였다. 이때 배양기의 온도는 35℃, 초기 pH는 7.0, rpm 180으로 조정하였다.

고정화 담체로 사용한 천연 zeolite의 흡착특성과 미생물 고정화에 의한 염료의 생분해를 조사하기 위하여 회분실험을 실시하였다. 250ml 삼각 플라스크에 Table 1의 합성배지 100ml를 투입한 후 전배양액을 각각 5ml 투입하였다. 이 때 한쪽 플라스크에는 zeolite의 농도가 500mg/l되도록 하고 회분배양기에서 배양하여 각각의 탈색율을 조사하였다. 또한 회분배양이 끝난 후 배양액을 100ml mass cylinder에 투입하여 7분 동안 침전시킨 후 660nm에서 상등수의 optical density(O.D.)를 측정하여 zeolite 첨가에 따른 고정화 효과를 조사하였다.

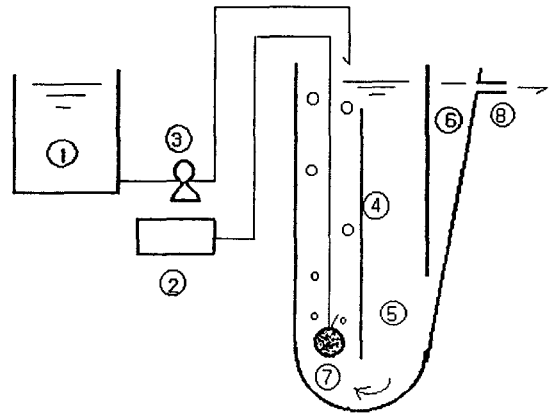
이 때 회분배양의 조건은 최적 상태를 유지하였다.

실험장치

본 연구에 사용된 실험장치를 Fig. 1에 나타내었다.

반응기는 air-lift형 폭기조이며, 반응기의 부피는 1.3ℓ이고 가로 5.3cm, 세로 7.5cm, 높이 7.5cm의 아크릴 수지로 제작하였다. 반응기의 중간에 격벽을 두어 air-lift를 형성시키고 담체에 부착된 미생물을 회전시킨다. 반응기내의 온도는 온도 조절기를 사용하여 35℃를 유지하였으며 반응기내의 DO는 2ppm이상을 유지하였다. 유입수의 pH를 조절하여 반응기내의 pH를 7.0으로 일정하게 유지하였다. 합성폐수는 Table 1의 배지를 사용하여 반응기의 상부에서 micro tube 펌프를 이용하여 공급하였고 공기는 반응기의 하부에서 공급하였다.

그림에서 보는 바와 같이 zeolite에 고정화된 미생물 floc이 침전되는 것을 방지하기 위하여 반응기의 하부를 등글게 하였으며, 반응기와 10°의 경사를 두고 침강분리부를 설치하여 반응기내 미생물의 고농도 배양이 가능하도록 하였다.



- 1. Feed Tank
- 2. Air Pump
- 3. Micro tube Pump
- 4. Baffle
- 5. Reactor
- 6. Settling Zone
- 7. Air Spazer
- 8. Effluent

Fig. 1 Schematic diagram of air-lift bioreactor.

연속실험

회분배양에 의하여 색도가 80% 이상 제거된 액체 배양액 1,200ml와 분말 zeolite 1%를 반응기에 함께 투입하였다. 분리한 균주를 담체에 부착시키기 위하여 염료 농도가 100 mg/l로 조절된 Table 1의 배지를 미량공급하여 반응기내의 염료 제거율이 98%, floc의 침강성이 양호한 SVI 100 이하가 되도록

록 하였다. 그 후 염료의 농도를 100mg/ℓ로 일정하게 유지하고 체류시간을 58hrs에서, 48, 40, 34, 30, 26, 24, 20hrs로 각각 변화시켜 회색율을 조절하였다. 즉 회색율은 체류시간의 역수로 0.017hr⁻¹에서 0.05hr⁻¹까지 변화하여 회색율의 변화에 따른 반응기의 성능을 조사하였다.

분석방법

UV-visible spectrophotometer를 사용하여 400~700nm까지 scanning하고 가장 큰 peak를 나타내는 파장 512nm를 선정하였고, 이 파장에서 검량선을 작성하여 염료농도를 정량하였다. 염료의 분해율은 시료를 채취 후 2,000rpm에서 10분간 원심분리한 후 상등수의 흡광도를 측정하여 정량하였으며, 초기 흡광도와 비교하여 염료의 제거율을 나타내었다.

균체의 성장은 2,000rpm에서 10분간 원심분리하여 증류수로 3회 씻은 후 vortex로 균체를 분산시켜 즉시 흡광도를 측정하여 건조 균체량과의 표준곡선을 작성한 뒤 이를 이용하여 정량하였다.

3. 결과 및 고찰

균주의 순수분리 및 성장특성

산성염료 Nylosan red E-BL 150%를 분해하는 균주 3종류를 자연계에서 순수분리하였다. 분리된 균주의 탈색율을 Fig. 2에 나타내었다. 탈색율이 가장 우수한 균주인 ARK3를 선정하여 실험을 위한 공시균으로 사용하였으며, 동정결과 *Pseudomonas* sp.로 동정되었다. 균주 ARK3의 경우 42hr 후 82%의 탈색율을 나타내었다.

균주 ARK3의 최적 성장조건을 조사하여 Fig. 3, 4에 각각 나타내었다. 25℃와 35℃의 범위에서 대체로 양호한 탈색율을 나타내었으며, 최적 탈색율은 35℃로 배양 42hrs 후 83%의 탈색율을 나타내었다. 또한 pH는 중성범위에서 탈색율이 우수하였으며, pH7.0에서 42hrs 후 흡광도가 0.21로 나타났다.

분리균주의 생육에 있어서 산소의 영향을 조사하였으며, 그 결과를 Fig. 5에 나타내었다. 35℃에서 정치배양의 경우보다 180rpm으로 진탕배양하였을 때 균주의 증식 속도가 현저히 증가하였으며, 배양

42hrs 후 진탕배양의 경우 O.D.가 1.38, 정치배양의 경우 0.25로 나타났다. 이와 같은 결과로부터 정치배양의 경우보다 진탕배양의 경우가 공기와의 접촉이 우수하기 때문인 것으로 사료된다.

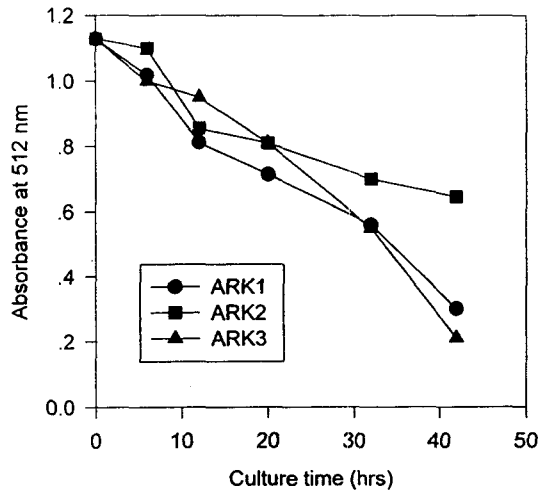


Fig. 2 Decolorization efficiencies of isolated strains, ARK1, ARK2, ARK3.(culture conditions : temp. 35℃, initial pH 7.0, shaking 180 rpm).

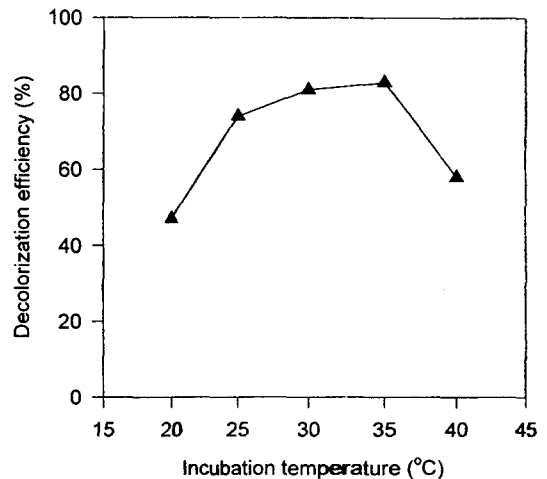


Fig. 3 Effect of incubation temperature on the decolorization efficiencies.(culture conditions : dye conc. 100 ppm, initial pH 7.0, shaking 180 rpm).

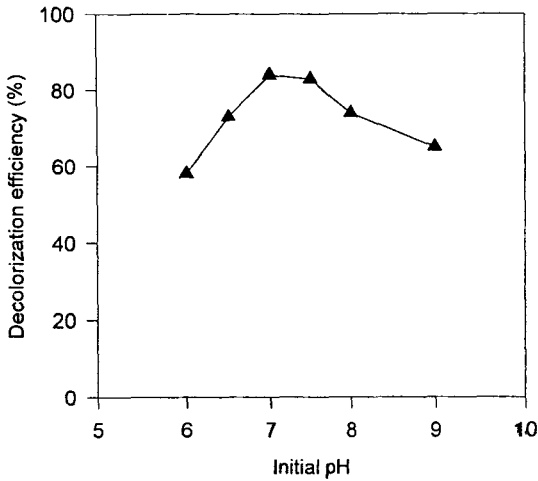


Fig. 4 Effect of initial pH on the decolorization efficiencies. (culture conditions : dye conc. 100 ppm, shaking 180 rpm).

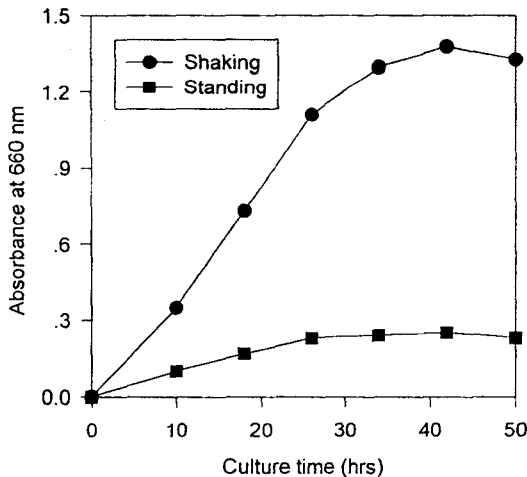


Fig. 5 Effect of shaking on the decolorization efficiencies. (culture conditions : dye conc. 100 ppm, shaking 180 rpm, temp. 35°C, initial pH 7.0).

회분실험

천연 zeolite를 연속 반응기의 고정화 담체로 사용하기 위하여 250ml 삼각 플라스크에 합성배지 100 ml와 zeolite 500mg/l를 투입하여 회분배양 하였으며, 현탁배양과의 탈색율을 비교 조사하였다. 그 결과를 Fig. 6에 나타내었다.

배양 6hrs 후 zeolite를 투입하였을 경우 탈색율이 15%, 현탁배양의 경우 5%로 나타났다. 또한 배양 48hrs 후 탈색율은 고정화의 경우 90%, 현탁배양의 경우 85%로 각각 나타났다. Zeolite를 첨가할 경우 염료성분의 흡착에 의하여 초기 탈색율이 높은 것으로 나타났으며, 배양시간의 경과에 따라서 흡착 평형에 도달하면 탈색율에는 큰 영향을 미치지 못하는 것으로 나타났다.

위의 배양액을 100ml mass cylinder에 투입하여 7분 동안 침전시킨 후 상등수의 O.D.를 측정된 결과를 Table 3에 나타내었다.

고정화와 현탁배양의 경우 상등수의 O.D.는 0.32, 1.25로 각각 나타나 zeolite를 첨가할 경우 흡착에 의한 탈색효과 뿐만 아니라 상등수의 청정성이 현저히 개선되는 것을 알 수 있다.

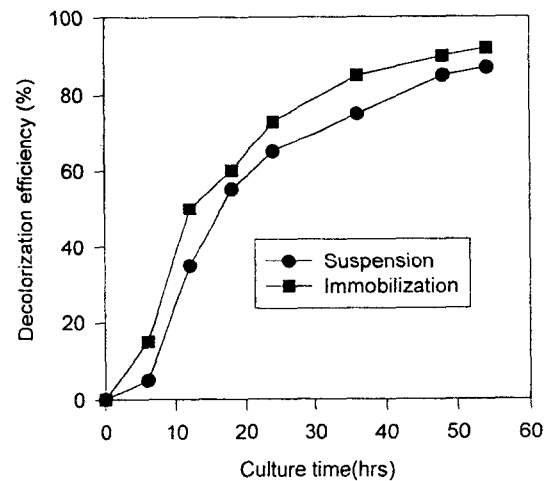


Fig. 6 Effect of immobilization culture on the decolorization efficiencies. (culture conditions : temp. 35°C, initial pH 7.0, shaking 180 rpm).

Table 3. Effect of addition of zeolite on the settling and decolorization efficiencies.

Culture types	O.D. (660 nm)	Decolorization efficiency (%)
Suspension	1.25	87
Immobilization	0.32	92

연속실험

회분배양액 1,200ml와 분말 zeolite 1%를 반응기에 함께 투입하고 반응기내의 MLVSS의 농도가 3,000mg/l 될 때 까지 Table 1의 합성폐수를 미량 투입하여 반응기가 정상상태로 도달한 후 회색율을 변화하여 실험하였다.

회색율의 변화에 따른 탈색율과 반응기내의 MLVSS 농도를 Fig. 7에 나타내었다. 회색율 0.017hr⁻¹에서 0.038hr⁻¹까지 탈색율은 90% 이상을 나타내었다. 그러나 회색율이 0.042 hr⁻¹로 증가하면 탈색율은 84%로 낮아지고, 회색율이 0.05hr⁻¹일 때 탈색율은 현저히 감소하여 70%로 나타났다. 그러나 반응기내의 MLVSS의 농도는 계속 증가하였으며, 본 실험의 최대 회색율에서도 미생물의 "wash out"현상은 발생하지 않았다.

Fig. 8은 일정한 회색율 0.025hr⁻¹에서 유입수의 염료농도를 50mg/l에서 300mg/l까지 단계적으로 변화시키면서 반응기의 성능을 조사한 결과를 나타내었다.

회색율 0.025hr⁻¹에서 유입수의 염료농도가 100mg/l일 때 탈색율은 97.7%를 나타내었으나 염료농도가 150mg/l로 증가하면 MLVSS의 증가에도 불구하고 처리수의 탈색율은 93%로 낮아졌다. 뿐만 아니라 유입수의 염료 농도가 200mg/l, 300mg/l으로 증가함에 따라 처리수의 염료농도는 급격히 증가하여 탈색율이 85%, 63% 등으로 각각 나타났다.

이와 같은 결과는 염료농도의 증가에 비례하여 MLVSS 농도의 증가비율이 상대적으로 감소했기 때문인 것으로 사료된다.

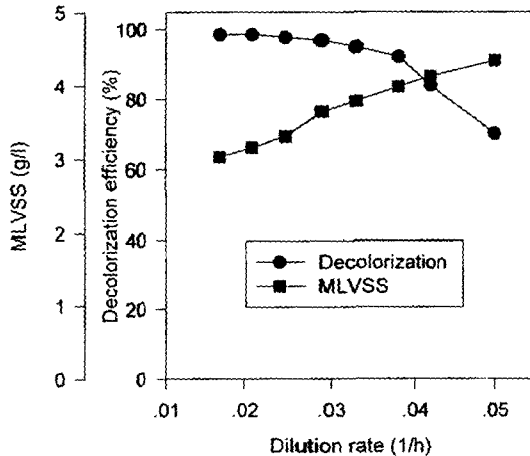


Fig. 7 Variation of decolorization efficiencies and MLVSS concentration according to dilution rate at constant inlet dye concentration.

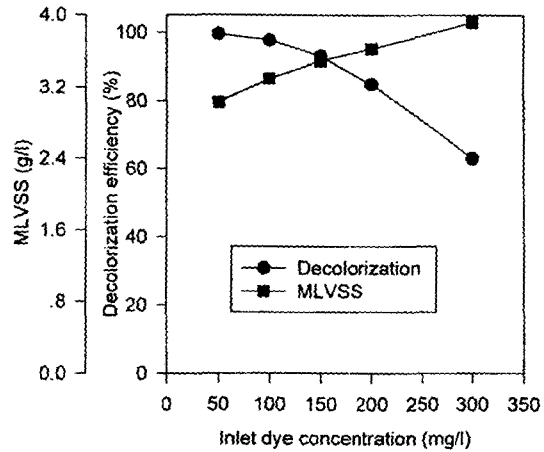


Fig. 8 Variation of decolorization efficiencies and MLVSS concentration according to inlet dye concentration at constant dilution rate.

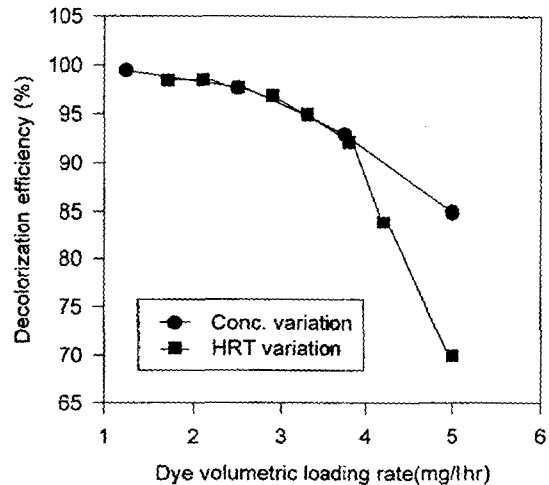


Fig. 9 Variation of decolorization efficiencies according to dye volumetric loading rate.(dye concentration variation at constant HRT 40hrs : 50mg/l, 100mg/l, 150mg/l, 200mg/l, HRT variation at constant dye concentration 100mg/l : 58 hrs, 48hrs, 40hrs, 34hrs, 30hrs, 26hrs, 24hrs, 20hrs)

Fig. 9는 염료의 용적부하율의 변화에 따른 처리수의 탈색율을 나타내었다. 그림에서 보는 바와 같이 용적부하율 3.75mg/l·hr까지는 농도나 체류시간 변

화에 관계없이 탈색율은 92% 이상을 나타내었다. 그러나 용적부하율 3.80mg/ℓ·hr 이상에서 동일한 용적부하율일 경우 체류시간의 감소가 유입수의 염료 농도 감소보다 처리수의 탈색율이 낮은 것으로 나타났다. 이와 같은 결과로부터 용적부하율 3.80mg/ℓ·hr 이상에서 염료의 분해를 위해서는 일정한 체류시간이 필요하며, 또한 효과적인 탈색율을 얻기 위해서 동일한 용적부하율에서 체류시간의 감소보다는 염료 농도의 증가가 유리하다.

4. 결 론

1. 산성염료 Nylosan red E-BL 150%를 분해·탈색하는 균주를 자연계에서 순수분리하여 이를 ARK3로 명명하였으며, 최적 성장조건은 35°C, pH7.0로 나타났다. 정치배양보다 진탕배양의 경우 균주의 증식속도가 현저히 증가하였으며, 배양 42hrs 후 진탕배양의 경우 O.D.가 1.38, 정치배양의 경우 0.25로 나타났다.

2. 천연 zeolite를 고정화 담체로 사용한 회분배양에서 배양 6hr 후 zeolite를 투입하였을 경우 탈색율이 15%, 현탁배양의 경우 5%로 나타났다. 또한 배양 48hrs 후 탈색율은 고정화의 경우 90%, 현탁배양의 경우 85%로 각각 나타났다.

3. Air-lift형 연속반응기에서 회석율 0.038hr⁻¹까지는 탈색율이 90% 이상을 나타내었으나 회석율이 0.05hr⁻¹일 때 탈색율은 현저히 감소하여 70%로 나타났다. 본 실험의 최대 회석율에서도 미생물의 "wash out" 현상은 발생하지 않았다.

4. 회석율 0.025hr⁻¹에서 유입수의 염료농도가 100mg/ℓ일 때 탈색율은 97.7%를 나타내었으나 염료농도가 150mg/ℓ로 증가하면 MLVSS의 증가에도 불구하고 처리수의 탈색율은 93%로 낮아졌다. 뿐만 아니라 유입수의 염료 농도가 200mg/ℓ, 300mg/ℓ로 증가함에 따라 처리수의 염료농도는 급격히 증가하여 탈색율이 85%, 63% 등으로 각각 나타났다.

5. 용적부하율 3.75mg/ℓ·hr까지는 농도나 체류시간 변화에 관계없이 탈색율은 92% 이상을 나타내었으나 용적부하율 3.80mg/ℓ·hr 이상에서 동일한 용

적부하율일 경우 체류시간의 감소가 유입수의 염료 농도감소보다 처리수의 탈색율이 낮은 것으로 나타났다.

감사의 글

이 논문은 1996년 한국학술진흥재단의 공모과제 연구비에 의하여 연구되었으며, 이에 감사를 표시합니다.

참고문헌

1. Liu Jinqi and Liu Houtian, *Environmental Pollution*, 75, 273(1992).
2. Wuhrmann, K., K. Mechsner, and T. Kappeler, *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 9, 325(1980).
3. Chung, K. T., Fulk, G. E. and Egan, M., *Appl. and Environ. Microbiol.*, 35, 558(1978).
4. Churchman, J. W., *J. Exp. Med.*, 16, 221(1912).
5. Kline, E. K., *Amer. J. Pub. Health*, 24, 314 (1935).
6. 吉田高年, 太田洋, *水處理技術*, 30(10), 575(1989).
7. Fukuzumi, T., *microbiology, chemistry and potential applications*, vol. II, CRC Press(1980).
8. Jeffrey K. Glenn and Michael H. Gold, *Applied and Environmental Microbiology*, 45(6), 1741 (1983).
9. Belsare, D. K., and Prasad, D. Y., *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 28, 301(1988).
10. Groff, K. A., and Kim, B. R., *J. Water Pollution Control Federation*, 61(6), 872(1989).
11. Pagga, U. and Brown, D., *Chemosphere*, 15, 479 (1986).
12. Brown, D., *Chemosphere*, 12, 404(1983).
13. Brown, D. and Hamburger, B., *Chemosphere*, 16, 1539(1987).
14. Duen-Gang Mou, Kim Kee Lim, and Hweiping

- Shen, *Biotech.* xxx, vol. 9, pp. 613-622(1991).
15. Kimura, M., *J. Soc. Fiber Sci. Technol. Jpn.*, 36, 69(1980).
 16. Jack T. Spadaro, Michael H. Gold, and V. Renganathan. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(8), 2397(1992).
 17. Ryu, B. H. and Y. D. Weon., *J. of Microbiology and Biotechnology*, 2(3), 215(1992).
 18. Toshihiko Ogawa, Chizuko Yatome, and Eichi Idaka. *JSDC* 97, 435(1981).
 19. 이제혁, 황규대, 조동욱, 전억한, *한국생물공학 회지*, 8(2), 150(1993).