

## *Aspergillus sojae* B-10에 의한 反應性 染料의 脫色條件

류병호 · 김동석 · 안성만 · 원용돈\* · 정중순\*\*

경성대학교 공과대학 식품공학과, \*부산공업대학교, \*\*부산시 장림하수처리관리소

## Continuous Biodegradation of Reactive Dyes by *Aspergillus sojae* B-10

Beung Ho Ryu, Dong Suk Kim, Syeung Rok Jin, Eung Yeol Park,  
Sung Man An, Yong Don Won\*, Jong Soon Jung\*\*

Department of Food Science and Biotechnology, Kyungshung University

\*Pusan National University of Technology, \*\*Jang Lim Sewage Treatment Plant, Pusan,

### ABSTRACT

Dyes are released into the environment from industrial wastewater. They are considered to be a pollution problem because of the wide spread into environment with a variety of colors.

In order to biological treatment of industrial dyes waste water, biodegradation of reactive dyes such as Rifacion Red H-3EB, Rifazol Blue BT, Rifacion Yellow P-4G and Rifacion Brown RT were carried out decolorized by *Aspergillus sojae* B-10.

*Aspergillus sojae* B-10 showed the almost completely biodegradation ability when it was cultivated in a 2.0% glucose, 0.06% sodium nitrite, 0.1%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0.5%  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  containing each reactive dyes (500 ppm) under the optimal conditions of 32C and pH 5. The mycelium of *Aspergillus sojae* B-10 was produced extracellular enzyme which has concerned responsible for dyes biodegradation.

Under optimal conditions, reactive dyes started being decolorized within 24 hr and its was almost decolorized completely after 5 days incubation.

Rifazol blue RT was not completely decolorized until 5 days of cultivation. Rafacion Red BT, Rifasol blue BT and Rifacion yellow P-4G were completely decolorized after 5 days cultivation.

**Keywords :** Biodegradation, reactive dyes, *Aspergillus sojae*

### I. 서 론

합성유기 색소는 약 40,000여종으로 알려져 있으나 산업적으로 사용되는 염료는 3,500여종에 이르며 염색원료 및 섬유의 염색재료로서 주로 사용되고 있다.<sup>1)</sup> 이러한 색소는 비생물 유기체(Xenobiotics)로 미생물에 의한 분해가 곤란하여 색소 합성 공장 및 염색공장에서의 염색폐수의 처리는 문제점으로 지적되고 있다.<sup>2,3,4)</sup> 지금까지의 염색 폐수의 처리는 활성탄, 활성백토 등의 염료를 흡착시키는 물리적 방법, 응집제에 의한 침전, 오존에 의한 산화 탈색 등 화학적인 방법이 사용되었을 뿐이다.<sup>5)</sup> 그러나 이러한 폐수의 처리방법은 그 처리 효과가 한계가

있고 또한 처리비용이 부담이 되고 있기 때문에 생물학적인 처리의 응용이 기대되고 있다.<sup>6)</sup>

일반적으로 폐수의 생물학적 처리는 혐기성 및 호기적 방법을 산업적으로 활용하고 있으나<sup>6)</sup> 염색 폐수의 경우에는 효율적으로 처리가 되지 않고 있으며 그 중에서도 처리수의 색도는 큰 과제로 남아 있고, 최근에 급격하게 보급되고 있는 반응성 염료의 경우에는 그 효율이 매우 낮은 것으로 알려지고 있다. 지금까지의 염색 폐수의 처리는 호기성 또는 혐기성 조건하에서는 미생물에 의하여 부분적으로 처리가 이루어졌다.<sup>7)</sup> 염색폐수의 생물학적 처리는 리그닌 분해 및 종이 공장 폐수의 탈색에 사용되는 *Phanerochaete chrysosporium*으로 색소의 제거를 효

율적으로 처리를 할 수 있었다.<sup>8,9,10</sup> 최근에는 *Rhodococcus*, *Bacillus cereus*, *Plesiomonas*, *Achromobacter*로 수용성 염료, 산성 염료 및 5종의 azo색소를 탈색한다고 보고하였다.<sup>11</sup> 이러한 각종 균에 의하여 색소가 탈색되는 메카니즘을 알아보기 위한 연구가 이루어지고 있으며 반응성 색소의 경우 탈색시 질소 제한 기질을 사용하였을 때 효과적이었고,<sup>12,13</sup> Tiehm and Kirk<sup>14,16</sup> 및 Fasion과 Kirk<sup>17</sup>는 염료를 탈색하는 균주에서 분리하는 peroxidase 또는 ligninase에 의하여도 탈색된다고 보고되고 있다. 그리고 *Pseudomonas* sp.<sup>18</sup>에 의한 azo색소의 탈색은 azoreductase에 의하여 이루어지며 류 등<sup>19</sup>은 *Aspergillus sojae*에 의한 azo색소의 탈색을 효과적으로 처리할 수 있었다.

따라서 본 연구에서는 반응성 염료의 탈색을 효과적으로 처리하기 위하여 우선 *Aspergillus sojae* B-10을 이용하여 탈색에 필요한 배양조건을 검토하여 약간의 결과를 보고하고자 한다.

## II. 재료 및 실험방법

### 1. 균주와 배지

본 연구에 사용된 균주는 *Aspergillus sojae* B-10을 사용하였다.<sup>19</sup> 본 실험에 사용된 배지는 20.0 g의 glucose, 2.0 g의 NaNO<sub>3</sub>, 1.0 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 및 5.0 g의 MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O를 증류수 1l에 녹이고 pH 5.0으로 조절한 후 멸균하여 사용하였다.

### 2. 사용된 색소

본 실험에서는 Rifacion Red H-E3B(No. 0376), Rifazol Blue BT(No. 8395), Rifacion Yellow P-4G(No. 959) 및 Rifacion Brown RT(No. 10497)을 Rifa Industrial Co. (Seoul)에서 구입하여 사용하였다.

### 3. 균주의 최적 탈색 조건

균주의 염료에 대한 탈색 최적 조건은 pH 3~11, 온도 20~40℃에서 각종 탄소원 및 질소원을 첨가하여 탈색을 조사하였다. 탈색은 시간별로 반응액을 채취하여 millipore filter(0.45 μm)로 여과한 후 spectrophotometer로 흡광도를 측정하였다. 이때 처음 염료의 O.D.를 최종 분해된 염료의 O.D.을 뺀 값을 백분율로 나타내었다.

### 4. 탈색 반응의 검토

*Aspergillus sojae* B-10을 1.0×10<sup>6</sup>/ml까지 배양한 후 원심분리(10,000×g)하여 균체를 회수한 후 멸균

증류수를 배양액만큼 희석한 다음 실험에 사용된 각종의 염료를 500 ppm농도가 되게 주입한 후 이를 2개의 플라스크에 분주하고 하나의 플라스크에는 질소가스를 통기시켜 무균상태를 만들고 다른 하나는 앞의 같은 방법으로 진탕배양하면서 염료의 분해를 시간 경과에 따라 탈색 여부를 측정하였다.

## 5. 효소 반응의 확인

탈색의 메카니즘을 조사할 목적으로 염료의 탈색이 배양중 분비되는 효소가 균체내 또는 균체외에 존재하는지를 확인하기 위하여 균주를 배양한 다음 원심분리한 후 균체와 상징액에 대하여 실험하였다. 즉, 상징액에 염료를 500 ppm이 되도록 첨가한 후 30℃에서 배양하여 탈색 여부를 관찰하였다.

또한 석영사를 균체의 10배 가량 넣은 후 ball mill로 균질화하여 균체를 파쇄하였다. 균체 파쇄 추출액(효소액)을 멸균 증류수로 추출한 다음 원심분리하여 상징액을 멸균 여과(0.45 μm)한 후 이 조효소액에 각종 염료를 500 ppm씩 각각 넣은 후 30℃에서 배양하면서 분해 과정을 관찰하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. 염료의 화학구조와 흡수 영역

염료의 탈색능을 검토하기 위하여 각종 염료의 최대 흡광도를 측정하였다. 실험에 사용된 각종 염료의 구조식은 Fig. 1에, 염료의 최대 흡수파장은 Fig. 2에 나타내었다. 이들 색소중 Rifacion Red H-E3B(적색)은 524 nm에서 Rifacion blue BT(청색)은

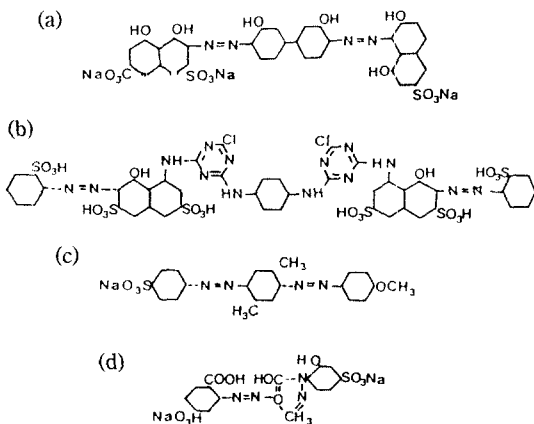
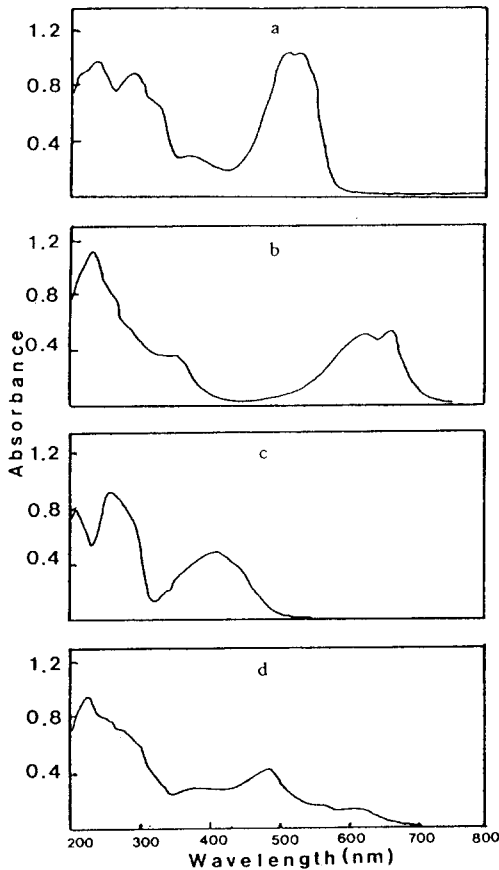


Fig. 1. Chemical Structure of Rifacion Red H-E3B(a) Rifazol Blue BT(b), Rifacion Yellow P-4G(C) and Rifacion Brown RT(d).



**Fig. 2.** Spectra of the dyes, Rifacion Red M-E3B (a), Rifazol Blue BT (b), Rifacion Yellow P-4G (c), Rifacion Brown RT (d). Spectra of the dyes in basal medium were measured by spectrophotometer (Shimadzu, UV-160A).

664 nm 및 625 nm, Rifacion Yellow P-4G(황색)은 407 nm에서 그리고 Rifacion Brown RT(갈색)은 348 nm 및 402 nm에서 최대 흡광도를 나타내었다.

**2. 탈색의 최적 조건**

**(1) 탄소원의 영향 :** 기본배지인 2.0% glucose, 0.5% sodium nitrate, 0.2% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 및 0.1% MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 배지에서 탄소원인 glucose대신 각종 탄소원을 2.0%씩 첨가하고 총배양액을 1.0%되게 집중하여 72시간 동안 배양하여 탈색에 대한 영향을 조사한 결과를 Table 1에 나타내었다. Glucose를 첨가하였을 때 Rifacion Red M-E3B(적색)는 95.6%, Rifacion blue BT(청색)는 95.0% 및 Rifacion Yellow P-4G(황색)는 94.3%, Rifacion Brown RT(갈색)은 95.3%

**Table 1.** Effects of various carbon sources on the decolorization of dyes by *Aspergillus sojae* B-10

Carbon sources	Decolorization(%)			
	Rifacion Red M-E 3B	Rifazol Blue BT	Rifacion Yellow	Rifacion Brown RT
Glucose	95.6	95.0	94.3	95.3
Fructose	80.4	80.0	78.3	80.2
Galactose	76.2	76.0	74.3	78.6
Maltose	76.3	78.2	74.0	76.2
Sucrose	92.1	93.0	91.6	90.6
Sorbitol	63.0	64.8	62.1	66.0
Manitol	60.0	62.3	61.2	62.8

\* Each carbon sources(2%) was added in the basal medium.

**Table 2.** Effects of glucose concentration on the decolorization of dyes by *Aspergillus sojae* B-10

Glucose(%)	Decolorization			
	Rifacion Red H-E 3B	Rifazol Blue BT	Rifacion Yellow	Rifacion Brown RT
1.0	93.0	92.4	93.4	92.8
2.0	96.0	94.8	94.0	94.8
3.0	90.1	92.1	90.9	91.0
4.0	81.2	80.3	83.7	81.6

\* Nitrogen sources(1%) was added in the basal medium.

로 탈색 효과가 가장 좋았으며 sucrose 첨가시에도 색소의 탈색률은 Rifacion Red M-E3B(적색)는 92.1%, Rifacion blue BT(청색)는 93.0%, Rifacion Yellow P-4G(황색)는 91.6% 및 Rifacion Brown RT(갈색)는 90.6%이었다. 그 외 fructose, galactose, maltose, sorbitol 및 monnitol 등의 당류를 첨가하였을 때의 탈색 효과는 60~78% 정도의 탈색률을 나타내고 있다.

따라서 본 실험에서는 glucose의 첨가에 의한 탈색효과가 우수하므로 glucose의 최적 농도를 알아보기 위하여 1.0~5.0%의 범위내에서의 색소의 탈색의 영향을 조사한 결과는 Table 2와 같다. Glucose의 농도별 탈색율은 전반적으로 2.0%가 가장 좋았으며 Rifacion Red M-E3B(적색)는 96.0%, Rifacion blue BT(청색)는 94.8%, 그리고 Rifacion Yellow P-4G(황색)는 94.0% 및 Rifacion Brown RT(갈색)은 94.8%의 높은 탈색율을 나타내고 있다.

그리고 glucose를 1.0% 및 3.0% 첨가했을 때도

**Table 3.** Effects of nitrogen sources on the decolorization of dyes by *Aspergillus sojae* B-10

Nitrogen sources	Decolorization(%)			
	Rifacion Red	Rifazol H-E 3B	Rifacion Blue BT	Rifacion Yellow Brown
Yeast extract	53.4	55.1	52.1	50.3
Malt extract	50.1	48.9	49.0	50.0
Peptone	48.1	47.0	48.0	47.6
Beef extract	45.1	46.2	44.8	45.0
Sodium nitrate	94.3	94.6	94.0	94.8
Ammonium sulfate	80.2	80.0	79.4	80.1
Ammonium tartrate	78.9	79.1	78.8	80.0
Ammonium chloride	75.1	74.3	75.6	74.9

2.0% 첨가시보다는 약하였으나 높은 탈색률을 나타내었다. 탄소원인 glucose을 이용하였을 때 반응성 색소의 탈색력은 94~96% 정도로 높게 나타났다. 류와 원<sup>10)</sup>은 *Aspergillus sojae* B-10으로 azo색소를 탈색시 탄소원으로서 glucose가 가장 좋았고, 2.0%의 농도가 가장 탈색률이 나타난다고 하였다. 따라서 본 실험에서도 4종의 반응성 색소 모두 2% glucose를 배지에 첨가하여 탈색력이 가장 높게 나타났으므로, 이들의 결과와 유사한 경향을 보여주었다.

**(2) 질소의 영향 :** 기본 배지에 polypeptone 등 유기 질소원과 ammonium sulfate 등의 무기 질소원을 각각 1.0% 첨가한 다음 배양하였을 때의 탈색의 영향을 살펴본 결과는 Table 3과 같다. Polypeptone 등 각종 유기 질소원은 60~70% 정도의 탈색률을 보였다. 그러나 무기질소원은 sodium nitrate 첨가시 탈색 효과가 각종 유기질소원 보다 탈색력이 높았으며, 질소원중에서 가장 좋았다. *Phanerochaete chrysosporium*<sup>8,9)</sup> 및 *Aspergillus sojae*<sup>19)</sup>에 의한 탈색 시험에서 질소원으로서 sodium nitrate가 좋았다고 하였다.

질소원으로서 sodium nitrate가 가장 좋은 것으로 알려졌으므로 첨가농도를 0.02%, 0.04%, 0.06%, 0.08%, 0.2%, 0.4%, 0.6% 및 0.8%로 조절하여 각각 들어있는 배양액에 넣어 실험한 결과 0.06%일 때 탈색력이 가장 우수하였다. 그러나 0.4%~0.8%의 범위에서 질소원이 풍부한 배양액에서는 탈색력이 훨씬 낮았다.

**Table 4.** Effects pH on the decolorization of dyes by *Aspergillus sojae* B-10

pH	Decolorization(%)			
	Rifacion Red	Rifazol H-E 3B	Rifacion Blue BT	Rifacion Yellow Brown RT
3	64.6	63.3	64.0	63.2
5	94.1	94.8	94.2	93.0
7	92.1	93.6	92.0	92.0
8	43.1	42.6	41.0	40.8

**Table 5.** Effects of phosphate and inorganic salts on the decolorization of dyes by *Aspergillus sojae* B-10

Sources	Rifacion Red	Rifazol M-E Blue	Rifacion BT	Rifacion Yellow	Rifacion Brown RT
Phosphates (0.1%, w/v)					
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	96.0	95.3	97.0	96.3	96.3
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	90.5	92.0	92.3	92.8	92.8
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	88.0	87.8	90.2	89.3	89.3
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	85.3	86.0	84.9	85.8	85.8
Inorganic salts (0.05, w/v)					
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	84.3	83.1	84.0	82.7	82.7
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	53.4	54.2	53.6	52.8	52.8
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	51.9	52.0	52.7	50.8	50.8
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	64.0	64.4	62.0	63.1	63.1
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	95.8	94.3	96.2	95.8	95.8
MnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	50.6	51.6	52.0	50.2	50.2

**(3) pH의 영향 :** 배양액을 pH 3, 5, 7 및 9의 범위로 각각 조절하여 각종 염료를 500 ppm씩 배양액에 넣어 30℃에서 3일간 배양한 결과는 Table 4와 같다. 탈색률은 각종 염료 모두 pH 5에서 93.0~94.8%로 가장 좋았고 pH 7에서 92.0~93.6%로 그 다음이었고, pH 3에서 63.2~64.6% 및 pH 9에서는 40.8~43.1%로 가장 낮은 탈색률을 보여 주고 있다. pH 영역의 탈색력으로 보아 최적 pH는 5.0 정도임을 알 수 있었다. 한편 pH가 3.0일 때에 균체에 의한 염료의 흡착의 성질을 보여주고 있는데 이는 이들 염료가 우선적으로 균체에 흡착이 되고 다음 단계에서 균체에서 분비하는 효소에 의하여 분해되는 것으로 사료된다.

**(4) 인삼염 및 무기질의 효과 :** Table 5에서 보는 바와 같이 염료의 탈색에 미치는 인삼염의 효과는

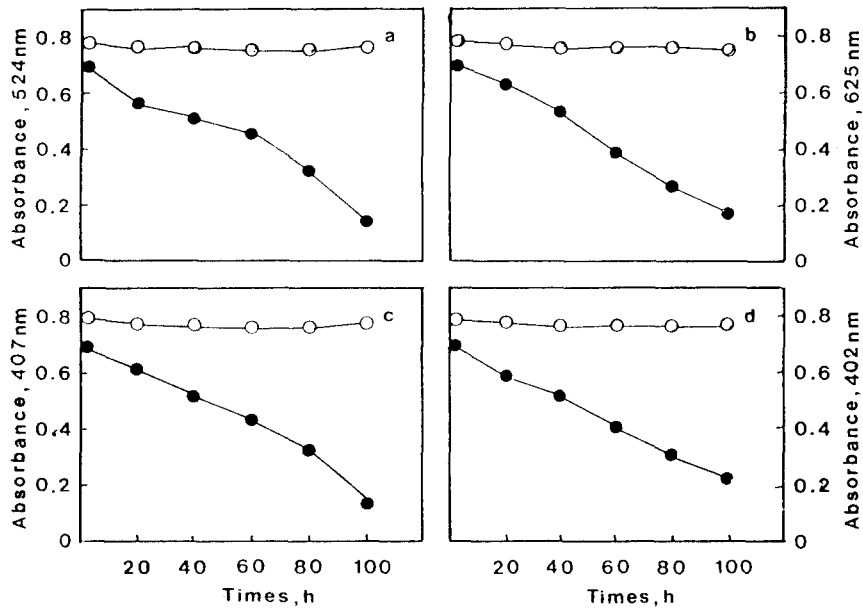


Fig. 3. Effects of oxygen on degradation of each dyes: a; Rifacion Red H-E3B, b; Rifazol blue BT, c; Rifacion Yellow, d; Rifacion Brown RT.  
 ● : oxygen. ○ : N<sub>2</sub> gas.

배양액에  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 의 첨가가 가장 좋았으며  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 를 0.1%에서 0.5% (w/v)까지 변화시키면서 조사한 결과 0.1%에서 최대의 탈색 효과를 볼 수 있었다.

그리고 염료의 탈색에 미치는 무기염의 영향을 알아보기 위하여  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  등의 무기염을 기본 배지에 0.001%(w/v)에서 0.05%(w/v)첨가하여 실험한 결과  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 를 제외한 무기염들은 탈색을 저해하였다. 따라서  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 를 0.01~0.05%까지 변화시켜 탈색을 조사한 결과 0.05%에서 최대의 효과를 나타내었다.

### 3. 탈색반응 기전

*Aspergillus sojae* B-10의 탈색의 반응기전을 알아보기 위하여 산소공급을 제어하여 실시한 결과는 Fig. 3과 같다. 2개의 배양액중 한개의 플라스크는 질소를 공급하면서 배양하면 염료의 탈색이 이루어지지 않았고, 다른 배양 플라스크에 산소를 공급하면서 배양하면 염료의 분해가 일어나는 것을 볼 수 있었다.

질소 공급에서는 분해가 일어나지 않고 산소 공급시에만 분해가 일어나는 것으로 보아 이 균주는 산화반응에 의하여 염료를 분해시키는 것으로 사료된다.

### 4. 탈색균주의 효소 반응의 검토

*Aspergillus sojae* B-10이 효소 반응에 의하여 분해 활성이 있는지 여부를 확인하기 전에 분해 활성이 체외 분비효소인지 체내 분비효소인지를 확인하기 위하여 균을 배양하여 균체를 원심분리하여 상정액을  $0.45 \mu\text{m}$  여과지로 여과한 액과 균체에 각종 염료를 첨가하여 탈색 여부를 조사하였다.

Fig. 4에서와 같이 배양액에서는 염료의 탈색이 약간 생겼으나 균체에서는 상당한 탈색을 보여 주고 있어 균체에서 분비하는 효소가 작용하는 것으로 추정된다. 이러한 결과에 따라 *Aspergillus sojae* B-10을 배양한 균체를 파쇄하여 얻은 상정액의 탈색 여부를 확인한 결과 얻은 추출액은 Fig. 3과 같이 균체를 파쇄하여 얻은 상정액이 효소 활성이 상당히 있음을 알 수 있다. 이러한 결과는 염료의 탈색에 관여하는 균은 균체의 효소의 분비에 의하여 탈색된다는 보고<sup>14,17)</sup>와 비교해 볼 때 거의 유사한 염료의 탈색의 메카니즘을 알 수 있다.

이상의 결과로 보아 염료의 탈색의 메카니즘은 균이 먼저 염료를 흡착한 후 균체의 효소가 분비되어 산화되었음을 알 수 있다.

### 5. *Aspergillus sojae* B-10에 의한 색소의 분해

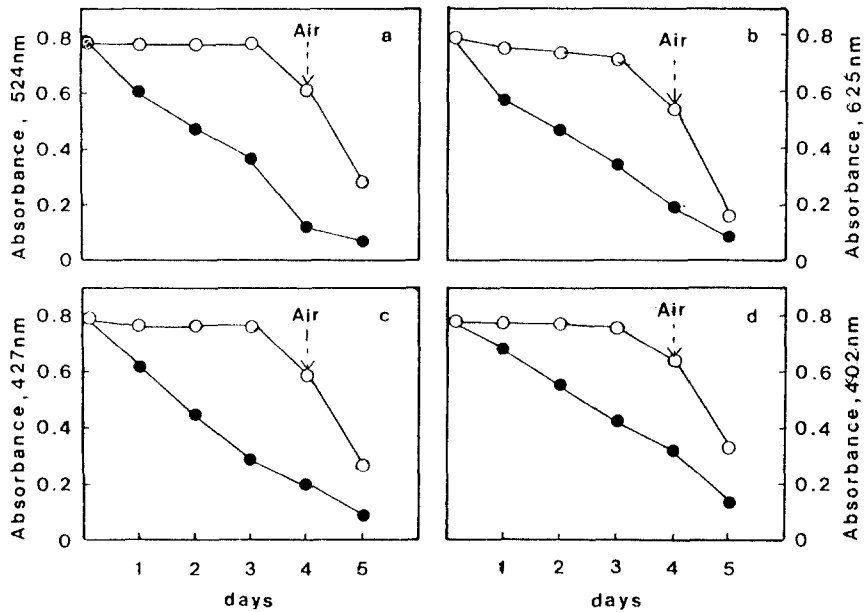


Fig. 4. Effects of degradation of dyes by cell free broth and cell suspension dyes: a; Rifacion Red H-E3B, b; Rifazol blue BT, c; Rifacion Yellow, d; Rifacion Brown RT.  
●-●: Cell suspension, ○-○: Cell free broth.

Table 6. Time courses for reactive dyes decolorization by cultivation of *Aspergillus sojae* B-10

Time courses (days)	Decolorization(%)			
	Rifacion Red H-E3B	Rifazol Blue BT	Rifacion Yellow	Rifacion Brown
1	20.8	20.6	18.7	19.8
2	39.0	38.5	40.0	39.0
3	74.6	70.0	71.4	70.5
4	95.3	92.4	95.0	95.8
5	97.6	94.4	96.7	96.6

*Aspergillus sojae* B-10에 의한 반응성 색소인 Rifacion Red H-E3B, Rifazol blue BT, Rifacion yellow 및 Rifacion Brown RT에 대하여 시간 경과에 따른 탈색률을 조사 하였다.

본 실험에서는 앞에서 실험하여 얻은 2.0% glucose, 0.06% NaNO<sub>3</sub>, 0.1% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 및 0.05% MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, pH 5.0으로 37℃에서 5일간 배양하였다. Table 4에서 보는 바와 같이 시간 경과에 따른 반응성 색소의 탈색은 배양 후 1일이 경과한 후에 반응성 색소 모두 탈색이 일어나기 시작하였고, 배양 4일 후에는 반응성 색소 모두 94.4~95.8%의 높은 탈색률로 거의 탈색이 되는 것을 볼 수 있었고, 배양

5일 후에는 완전히 탈색되는 것을 볼 수 있었다.

이러한 결과는 *Aspergillus sojae* B-10이 배양 시간이 경과함에 따라 생육되는 균사체에 의하여 색소가 흡착이 된 후, 균사체에서 분비되어 나오는 효소에 의하여 분해되는 것으로 추정할 수 있었다.

#### IV. 결 론

*Aspergillus sojae* B-10을 이용하여 공업 염색 폐수 중에서 반응성 염료인 Rifacion Red H-E3B, Rifazol blue BT, Rifacion yellow P-4G 및 Rifacion Brown RT에 대한 생물학적 탈색을 시도하였다.

이들 반응성 염료의 생분해의 최적조건은 2.0% glucose, 0.06% NaNO<sub>3</sub>, 0.1% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.05% MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, pH 5.0의 배지에 반응성 색소를 각각 500 ppm씩 첨가한 배양액은 37℃에서 탈색률이 가장 높았다. 반응성 염료의 탈색은 *Aspergillus sojae* B-10에서 분비하는 균체의 효소에 의하여 탈색이 되었다.

위와 같은 최적조건하에 시간의 경과에 따른 반응성 염료의 탈색은 배양 24시간 후에 20% 정도로부터 탈색이 이루어지기 시작하여 배양 4일 후에는 거의 완전히 탈색이 되었다. 그러나 Rifazol

blue RT는 배양 5일 경과 후에도 완전히 탈색하지 못하였으나 그외의 염료는 5일 경과후에 완전히 탈색됨을 볼 수 있었다.

### 참고문헌

- 1) Schonbron, W. : Biotechnology, Edited by Rehm, H. J. and Reed, G., Vol. 8. p. 496. VCH Weinheim, 1986.
- 2) Meyer, U. : Biodegradation of synthetic organic colorants *FEMS/Symp.* **12**, 371-385, 1981.
- 3) Leisinger, T. and W. Brunner : Poorly degradable substance, p. 497-498. In H. S. Rehm and G. Reed (ed), Biotechnology, a comprehensive treaties in eight volumes, Microbial degradation, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, Federal Republic of Germany, 1986.
- 4) Joice, M. C., Chol, E., Yamasaki, E., Ames, B. N. : Detection of carcinogens in the salmonella/microsome test: Assay of 300 chemicals. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* **72**, 5135-5139, 1975.
- 5) Jonhnson, R. F., A. Zenhausern and H. Zollinger : Azo dyes, p. 868-910. In H. F. Mark, J. J Macketta, Jr., D. F. Othmer and A. Standen(ed), Kirk-othmer encyclopedia of chemical techonlogy, 2nd ed., Vol. 2. John Wiley & Sons, Inc., New York, 1978.
- 6) Brown, D., H. R. Hitz and L. Schafer : The assessment of the possible inhibitory effect of dye-stuffs on aerobic wastewater bacteria: experience with a screening test. *Chemosphere* **10**, 215-261, 1981.
- 7) Michaels, G. B. and D. L. Lewis : Sorption and Toxicity of azo and triphenylmethane dyes to aquatic microbial populations. *Environ Toxicol, Chem.* **4**, 45-50, 1985.
- 8) Glenn, J. K. and M. H. Gold : Decolorization of several polymeric dyes by the lignin-degrading Basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium* *Appl. Environ. Microbiol.* **45**, 1741-1747, 1983.
- 9) Bumpus, J. A. and S. D. Aust : Biodegradation of environmental pollutants by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*: involvement of the lignin degrading system. *Bio Essays.* **6**, 166-170, 1983.
- 10) Bumpus, J. A. and B. J. Brock : Biodegradation of crystal violet by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* **54**, 1143-1150, 1988.
- 11) Groff, K. A. and Kim, B. R. : Textile wastes, *Journal Water Pollution Control Federation*, **61**(6), 872, (1989) Fukuzumi, T., Microbial decolorization and defoaming of pulping waste liquors, in Lignin biodegradation: microbiology, chemistry and potential applications, Vol. 11, CRC Press, 1980.
- 12) Jeffries, T. W., S. Choi and T. K. Kirk : Nutritional regulation of lignin degradation by *Phanerochaete chrysosporium*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **42**, 290-296, 1981.
- 13) Cripps, C., John, A. B. and Steven, D. A. : Biodegradation of azo and heterocyclic dyes by *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* **56**(4), 1114-1118, 1990.
- 14) Tien, M., and T. K. Kirt : Lignin-degrading enzyme from *Phanerochaete chrysosporium*: purification, characterization and catalytic properties of a unique H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> requiring oxygenase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **81**, 2280-2284, 1984.
- 15) Tien, M., and T. K. Kirt : Lignin peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium*. *Methods Enzymol.* **161**, 238-249, 1988.
- 16) Tien, M., and T. K. Kirt : Lignin-degrading enzyme from *Phanerochaete chrysosporium*: purification, characterization and catalytic properties of a uniqueness. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **81**, 2280-2284, 1984.
- 17) Fasion, B. D. and T. K. Kirk : Factors involved in the regulation of a ligninase activity in *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* **49**, 299-304, 1985.
- 18) Yatome, C. T., Ogawa, D. Koga, and E. Idaka : Biodegradability of azo and tirphenylmethane dyes by *Pseudomonas* sp. 13NA. *J. Soc. Dyers Colour.* **97**, 166-169, 1981.
- 19) Ryu, B. H. and Weon, Y. D. : Decolorization of azo dyes by *Aspergillus sojae* B-10. *J. Microbiol. Biochem.*, **2**, 215-219, 1992.