

반응성 염료의 색도 제거를 위한 균주 분리 및 최적화

신 종 철 · 최 광 근 · 전 현 희 · ¹김 상 용 · † 이 진 원
광운대학교 화학공학과, ¹한국생산기술연구원
(접수 : 2004. 2. 20., 게재승인 : 2004. 6. 24.)

Microbe Isolation and Optimization for the Decolorization of Reactive Dye

Jong Chul Shin, Kwang Keun Choi, Hyun Hee Jeon, Sang Young Kim¹, and Jinwon Lee†
Department of Chemical Engineering, Kwangwoon University, Seoul 139-701, Korea
¹Korea Institute of Industrial Technology, Chonan, ChungNam 330-825, Korea
(Received : 2004. 2. 20., Accepted : 2004. 6. 24.)

For decolorization of various reactive dyes, 13 species of microbes were isolated from dyeing wastewater collected from Banweol industrial complex, Korea. Two strains among them showed good ability for removing colority during the decolorization test with 5 different reactive dyes. And the optimal growth conditions were pH 7, 35°C, yeast extract as nitrogen source, glucose as carbon source, and facultative anaerobic condition. As results, when Reactive Red 180 was used, 89 and 87% of decolorization efficiency were able to be obtained by using *Bacillus anthracis* and *Bacillus cereus*, respectively. Especially, *Bacillus cereus* showed good ability for decolorization of Reactive Blue 21, and the ratio was 76%. Finally, it was considered that these two strains isolated in this study will be showed high decolorization ability to treat dyeing wastewater.

Key Words : Anaerobic condition, biological treatment, decolorization, microbe isolation, reactive dye

서 론

반응성 염료는 사용 빈도가 가장 큰 비중을 차지하고 있는 염료로 섬유 염색 가공 공장과 종이의 염색, 화장품 산업 등에 가장 일반적으로 사용되는 합성염료다(1). 특히, 염색 공정에서 배출되는 폐수는 난분해성 물질이나 색도유발물질이 함유되어 있으며, 색도, pH, 유기물의 농도가 높고 고온인 난분해성 폐수라고 할 수 있다. 특히, 섬유의 가공 공정에서 배출되는 폐수는 섬유의 염색, 연마, 표백 등의 공정을 거치면서 많은 양의 화학물과 물을 사용함으로써 많은 양의 폐수를 발생한다(2).

이러한 염색 가공 공정에서 배출되는 난분해성 염색폐수를 처리하는 방법은 크게 화학적 처리, 물리적 처리, 생물학적 처리 등으로 나눌 수 있다. 화학적 처리 방법으로는 펜톤산화법, 오존산화, 전기화학적 처리 등의 방법이 있다. 그러나 이러한 화학적 처리 방법의 단점은 사용되는 시약과 염료 분

자들의 플럭 형성으로 슬러지가 생성되며, 오존산화의 경우 오존의 반감기가 너무 짧고, 전기화학적 처리를 할 경우 비용이 매우 높다는 것이다(3-5). 물리적 처리 방법으로는 흡착을 이용하는 방법이 대표적이라고 할 수 있는데 이러한 흡착을 이용한 방법은 효과적이며, 경제성이 있는 공정이라고 할 수 있으나 염료와 흡착제와의 상호작용, 흡착제 표면적, 입자 크기, 온도, pH 및 접촉 시간 등과 같은 여러 물리화학적 요인들에 영향을 받는다(6).

이러한 물리·화학적 방법에 많은 문제점이 있기에 생물학적 처리방법에 대한 연구가 주목받고 있다. 일반적인 생물학적 처리 방법으로 미생물들을 이용하여 호기적 또는 혐기적 조건에서 아조 염료를 분해할 수 있다고 보고 되었으며(7), *Pseudomonas cepacia* 13NA는 아조계 염료의 생물학적 분해가 가능하다고 보고된 바 있다(8). 또한 혼합 미생물을 이용하여 디아조 염료의 색도제거가 가능하며(9), *Bacillus subtilis*를 사용하여 *p*-amin-azobenzene을 분해할 수 있다고 보고되었다(10). 곰팡이를 이용한 방법 중 보고된 것들을 살펴보면 리그닌을 분해할 수 있는 백색 부후 곰팡이를 이용한 탈색을 예로 들 수 있다(11). Nigam 등은 자유 성장환경에서 혹은 여러 지지체 위에서의 생물막 형성을 통해 혐기성 처리로 2~4~30시간 후 염료 혼합물을 탈색시켰다고 보고하였다(12).

† Corresponding Author : Department of Chemical Engineering,
Kwangwoon University, Seoul 139-701, Korea
Tel : +82-2-940-5172, Fax : +82-2-909-0701
E-mail : jwlee@daisy.kw.ac.kr

또한 섬유 가공 공정에서 사용되는 염료는 그 화학적 특성이 매우 다양하여 미생물과의 상호작용은 특정 염료의 화학적 특성과 미생물의 화학적 특성에 영향을 받는다고 보고된 바 있다(13).

이에 본 연구에서는 염색폐수의 생물학적 처리를 위해 염료 분해 균주를 분리하고자 하였으며, 선별된 균주를 염색폐수 처리에 적용하여 염료의 색도제거를 위한 최적 조건을 탐색하고자 하였다.

재료 및 방법

균주 선별 및 보관

균주 선별을 위해서 사용된 균원 시료로는 반월공단에서 채취한 염색폐수와 염료폐수를 사용하였으며, 활성이 높은 미생물을 분리하기 위해 2 L 삼각플라스크에 폭기를 진행하면서 7일 간격으로 시료를 100 mL 씩 채취하고 Reactive Red 180의 농도를 500 ppm으로 하여 배지와의 비율을 1 : 1로 100 mL씩 넣어주면서 반연속 배양을 실시하였다. 채취된 시료를 희석하여 염료가 첨가된 고체 배지에 도말한 후 투명한 지역이 보이는 곳의 콜로니를 떼어내어 배양 배지 80 mL가 담겨진 250 mL 플라스크에 접종하였으며, 분리된 균주의 순수분리를 위해서 여러 차례의 고대 배양을 실시하였다.

미생물의 장기 보관을 위해서 최대 활성을 지닐 때까지 배양시킨 미생물 0.5 mL와 살균된 glycerol 0.5 mL를 혼합하여 냉동 보관하였다. 실험 시에는 살균한 루프(loop)를 사용하여 저장된 미생물을 1백금이씩 취하여 전배양 후 MGPM (Modified Glucose Peptone Medium) 배지에 접종하여 사용하였다.

사용배지

균주의 분리와 보관을 위해 본 실험에서 사용한 배지는 다음과 같다. 균주 배양을 위해서 MGYM (Modified Glucose Yeast Extract Medium)을 사용하였으며, 그 조성은 증류수 1 L에 2.0 g glucose, 1.0 g yeast extract, 0.14 g MgSO₄ · 7H₂O, 0.5 g KH₂PO₄, 1.0 g K₂HPO₄, 0.4 g NaCl이었으며, 합성폐수의 제조를 위해 각 염료를 상기배지에 0.1 g을 첨가하였다. 각 배지 및 실험 시 사용되는 실험 재료는 살균기를 사용하여 121℃, 1.5기압으로 20분간 살균한 후 사용하였다.

균주 동정

염색폐수에 포함된 색도의 제거를 위해 최종 분리한 서로 다른 두 종의 균주 동정을 위해 api kit 중 api 50 CHB를 사용하여 동정하였다. Kit를 사용한 동정을 위해 24시간의 전배양을 거친 균주 배양액을 사용하였으며, 동정 전 형태학적 특성을 알아보기 위하여 gram stain을 실시하였다.

사용 염료

본 연구에서 사용한 염료의 종류는 반응성 아조계 및 안트라퀴논 염료로써 reactive blue 19, reactive blue 21, reactive red 180, reactive red 195, reactive yellow 145를 사용하였으며(Fig. 1), 염료의 색도 제거 실험시 기준으로 사용하기 위하여 각각의 염료들의 최대 흡수 파장을 측정하였다. 또한 원

심분리를 통해 미생물을 침전시킨 후 상등액을 취해 측정된 최대 흡수 파장에서의 흡광도를 측정하여 이를 정량분석하였다.

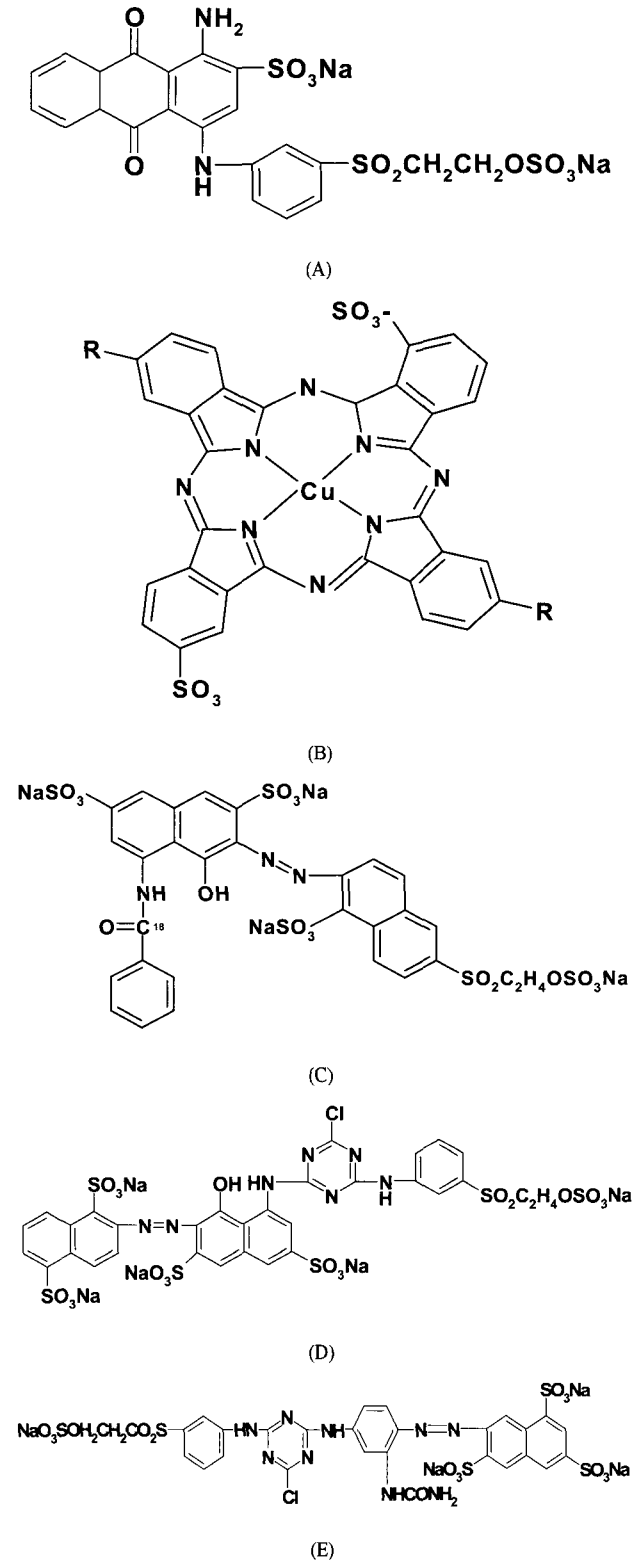


Figure 1. Chemical structure of five reactive dyes : (A) reactive blue 19, (B) reactive blue 21, (C) reactive red 180, (D) reactive red 195, (E) reactive yellow 145.

사용기기 및 염료의 정량 분석

균주의 농도 및 염료의 최대 흡수 파장을 측정하기 위해서 UV/VIS spectrophotometer (UV mini 1240, Shimadzu)를 사용하였다. 또한 균주가 염료의 흡광도에 영향을 미치는 것을 방지하기 위하여 균주를 제거한 상층액만을 사용하기 위해서 원심분리기 (3,000 rpm, 10 min)를 사용하였다.

사용 염료의 정량 분석을 위해서 standard curve를 UV/VIS spectrophotometer를 이용하여 염료의 최대 흡수 파장에서 측정된 흡광도를 사용하여 작성하였다. 염료의 농도는 10 ppm에서 100 ppm까지 10 ppm 범위로 10개의 sample 용액을 제조하여 사용하였다. 균주는 진탕 배양기를 사용하여 35℃, 130 rpm으로 조정된 후 배양을 실시하고, 배양액 5%를 염료가 포함된 합성폐수에 접종하여 색도제거 실험을 진행하였다. 실험 진행시 살균된 합성폐수를 250 mL의 삼각플라스크에 80 mL씩 넣고 35℃에서 교반을 하지 않은 상태로 5일 동안 실험을 진행하였으며 24시간마다 색도를 측정하였다.

결과 및 고찰

균주 동정

본 연구에서 염색폐수의 색도 제거를 위해 최종 분리한 서로 다른 두 종의 균주를 동정한 결과 각각 *Bacillus anthracis*와 *Bacillus cereus*로 판명되었으며, 그 결과를 Table 1에 보았다.

교반유무에 따른 색도 제거율

균원시료로부터 분리된 균주는 총 13종이었으며, 분리된 균주들의 산소농도에 따른 색도제거율을 알아보기 위하여 교반을 진행한 경우와 정치상태에서 실험을 진행하였다. 교반을 진행한 경우에는 교반속도를 130 rpm으로 하였고, 삼각플라스크의 마개를 공기가 통과할 수 있는 셀룰로오즈 마개를 사용하였다. 정치상태의 경우에는 교반을 진행하지 않고, 실리콘 마개를 사용하여 공기의 흐름을 차단하였다. 실험 조건은 두 가지 모두 35℃, pH 7에서 5일간 실험을 진행하였고, 사용한 염료는 반응성 아조계 염료인 Reactive Red 180을 사용하였다(Table 2). 실험결과 분리된 13종의 미생물 중 9종이 정치상태에서의 색도제거율이 더 높게 나타났으며, 특히 RA2라 명명한 균주의 경우에는 5일 경과 후 82%의 높은 색도제거율을 보여 교반을 진행하면서 실험한 경우의 색도제거율보다 매우 높은 효율을 얻을 수 있었다. 또한 NR7 균주의 경우 정치상태에서 5일 경과 후에 55%의 색도 제거율을 보였다.

실험 결과 분리된 균주 중 RA2, NR7이라 명명한 두 균주가 정치상태의 제한적 산소조건에서 높은 효율을 가진 균주라 사료되며, 이러한 실험 결과와 비슷한 사례로는 *Pseudomonas luteola*, *Escherichia coli* strain NO3을 이용하여 정치상태에서 염료의 효율적인 색도제거가 보고된 바 있다(14-17). 실험 결과를 토대로 분리된 두 가지 균주는 색도제거율의 효율적 측면에서는 교반을 진행하지 않는 경우 더 높은 효율을 보이는 균주라고 사료된다.

Table 1. Identification of two different strains for decolorization of dyeing wastewater

	profile	abbreviation	result	
			<i>B. cereus</i>	<i>B. anthracis</i>
0	Control	control	-	-
1	Glycerol	GLY	-	-
2	Erythritol	ERY	-	-
3	D-Arabinose	DARA	-	-
4	L-Arabinose	LARA	-	-
5	Ribose	RIB	+	+
6	D-Xylose	DXYL	-	+
7	L-Xylose	LXYL	-	-
8	Adonitol	ADO	-	-
9	β Methyl-D-xyloside	MDX	-	-
10	Galactose	GAL	-	-
11	Glucose	GLU	+	+
12	Fructose	FRU	+	+
13	Manose	MNE	-	-
14	Sorbose	SBE	-	-
15	Rhamnose	RHA	-	-
16	Dulcitol	DUL	-	-
17	Inositol	INO	-	-
18	Mannitol	MAN	-	-
19	Sorbitol	SOR	-	-
20	α Methyl-D-mannoside	MDM	-	-
21	α Methyl-D-glucoside	MDG	-	-
22	N Acetyl glucosamine	NAG	+	+
23	Amygdalin	AMY	-	-
24	Arbutin	ARB	+	+
25	Esculin	ESC	+	+
26	Salicin	SAL	-	-
27	Cellobiose	CEL	-	-
28	Maltose	MAL	+	+
29	Lactose	LAC	-	-
30	Melibiose	MEL	-	-
31	Sucrose	SAC	+	+
32	Trehalose	TRE	+	+
33	Inulin	INU	-	-
34	Melezitose	MLZ	-	-
35	Raffinose	RAF	-	-
36	Starch	AMD	-	-
37	Glycogen	GLYG	-	-
38	Xylitol	XLT	-	-
39	Gentiobiose	GEN	-	-
40	D-Turanose	TUR	-	-
41	D-Lyxose	LYX	-	-
42	D-Tagatose	TAG	-	-
43	D-Fucose	DFUC	-	-
44	L-Fucose	LFUC	-	-
45	D-Arabitol	DARL	-	-
46	L-Arabitol	LARL	-	-
47	Gluconate	GNT	-	-
48	2 keto-gluconate	2KG	-	-
49	5 keto-gluconate	5KG	-	-

염료의 종류에 따른 색도제거율

염료의 종류에 따른 색도제거율을 알아보기 위하여 분리된 13종의 균주를 사용하여 실험을 진행하였다. 사용된 균주 중 동정된 두 가지 균주를 제외한 11종의 균주의 명칭은 실험 편의 상 임의 명명한 후 사용하였다. 사용된 염료는 Reactive

Blue 19, Reactive Blue 21, Reactive Red 180, Reactive Red 195, Reactive Yellow 145 등 총 5종의 염료를 사용하여 실험을 실시하였다(Table 3).

율이 높게 나타났으나, Reactive Yellow 145 염료를 사용하여 실험을 진행한 경우에는 분리된 13종의 균주 모두 색도제거율이 거의 나타나지 않았다.

Table 2. Effect of experimental conditions on decolorization

Microbes	decolorization (%)	
	Shaking condition	Static condition
RA1	5.62	23.02
<i>Bacillus anthracis</i>	4.02	81.75
YA1	4.19	20.98
NR1	4.17	18.93
NR2	29.55	19.82
NR3	15.52	30.02
NR4	35.11	29.84
NR5	43.36	16.87
NR6	34.53	13.65
<i>Bacillus cereus</i>	42.55	55.14
NR8	17.16	26.30
NAR3A	6.17	21.14
NBY3A	6.20	20.85

실험은 5일만에 걸쳐 이루어졌으며, sample 채취는 24시간에 한번씩 하였고 온도는 35℃, pH 7에서 교반을 실시하지 않은 상태로 진행하였다. 실험결과 Reactive Blue 21 염료를 사용한 경우 NR7 균주가 5일 경과 후 76%의 색도 제거율로 가장 높게 나타났으며, RA2 균주의 경우 50%의 색도 제거율을 보여 NR7 균주보다 낮게 나타났다. 또한 Reactive Red 180 염료를 사용하여 같은 조건에서 실험한 결과 NR7 균주의 경우 55%, RA2 균주의 경우 82%의 색도 제거율을 보여, RA2 균주를 사용할 경우 Reactive Red 180 염료의 분해 효율이 가장 높은 것으로 나타났다. Reactive Red 180 염료를 사용할 경우 높은 색도제거율을 보인 이유는 처음 균주를 분리하기 위하여 사용된 반응성 염료가 Reactive Red 180 염료였기 때문에 분리된 균주가 그 염료에 선택적으로 작용되었기 때문이라고 사료된다. 그 밖에 다른 염료들을 사용하여 실험한 결과를 살펴보면, Reactive Blue 21 염료를 사용한 경우 NR1, NR2, NAR3A라 명명된 균주들이 비교적 색도제거

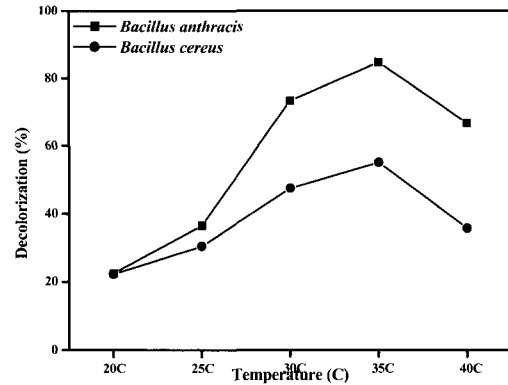


Figure 2. Effect of temperature on decolorization of reactive red 180 by (A) *Bacillus anthracis* and (B) *Bacillus cereus* under static condition after 5 days cultivation (■ : *Bacillus anthracis*, ● : *Bacillus cereus*).

색도제거율에 미치는 온도 및 초기 pH의 영향

여러 가지 염료와 균주들을 사용한 실험 결과를 토대로 하여 높은 색도제거율을 보인 *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus* 균주와 Reactive Red 180 염료를 사용하여 온도 및 초기 pH에 대한 색도제거율 실험을 진행하였다. 염료의 초기 농도는 100 mg/L로 하였으며, 온도는 20~40℃의 범위에서 5℃ 간격으로 조정하였으며, 초기 pH에 대한 영향을 살펴보기 위하여 1 N HCl, NaOH를 사용하여 pH 3~10까지 pH 1 간격으로 변화를 주어 5일 동안 진행하였다. 실험결과 온도에 따른 색도제거율은 *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus* 균주 모두 35℃에서 가장 높은 색도제거율이 나타났으며, 48시간이 경과 할 때까지는 시간에 따른 색도제거율이 크게 증가하였으나, 72시간이 경과할 때부터는 색도제거율이 크게 나타나지 않았다(Fig. 2). 이러한 원인은 온도에 따른 균주의 활성이 실험 개시 후 48시간이 경과할 때까지 최대로 증가하고

Table 3. Decolorization of reactive dyes by various bacteria at static condition

Microbes	Decolorization (%)				
	Reactive blue 19	Reactive blue 21	Reactive red 180	Reactive red 195	Reactive yellow 145
RA1	31.12	34.87	23.02	11.41	11.41
<i>Bacillus anthracis</i>	27.89	50.27	81.75	13.79	13.79
YA1	28.00	31.28	20.98	10.02	10.02
NR1	33.25	48.21	18.93	12.95	12.95
NR2	22.39	41.03	19.82	10.02	10.02
NR3	29.28	33.03	30.02	15.77	15.77
NR4	11.11	21.54	29.84	3.21	3.21
NR5	9.23	31.03	16.87	4.73	4.73
NR6	41.69	31.88	13.65	2.25	2.25
<i>Bacillus cereus</i>	39.04	76.42	55.14	10.02	10.02
NR8	26.52	32.56	26.30	10.96	10.96
NAR3A	30.42	53.21	21.14	14.40	14.40
NBY3A	29.77	38.99	20.85	10.25	10.25

그 후 72시간부터는 균주의 활성이 점차 떨어지면서 염료의 색도제거율이 감소하는 것이라 사료된다(자료는 제시하지 않았다). 초기 pH 영향에 대한 실험결과 pH 7에서 높은 색도제거율을 보였으며, 초기 pH 7에서 *Bacillus anthracis*가 82%, *Bacillus cereus*가 55%의 색도제거율을 보였다(Fig. 3).

색도제거율에 대한 탄소원 · 질소원의 영향

분리된 균주의 탄소원에 따른 색도제거율을 알아보기 위하여 MGYM 배지의 탄소원으로 첨가하였던 glucose를 같은 양의 acetate, lactate, pyruvate, succinate로 바꿔 실험을 진행하

였다. 사용한 균주는 *Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis*를 사용하였으며, 사용된 염료는 Reactive Red 180을 사용하였다. 실험결과 *Bacillus anthracis*의 경우 탄소원으로 glucose를 사용했을 때 5일 경과 후에 색도제거율이 79%로 가장 높은 효율을 보였으며 그 다음으로 lactate를 사용한 경우에 73%의 높은 색도제거율을 보여, glucose를 사용한 경우와 큰 차이를 보이지 않았다(Fig. 4). *Bacillus cereus*를 사용한 경우에는 glucose를 탄소원으로 사용했을 때 55%의 색도제거율을 보였으며, *Bacillus anthracis*와 달리 pyruvate를 탄소원으로 사용한 경우 lactate를 탄소원으로 사용했을 때 보다 색도제거율

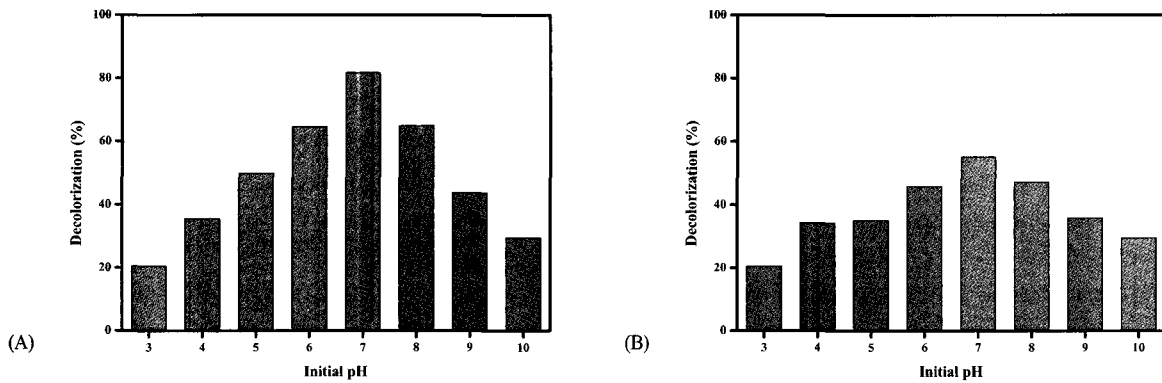


Figure 3. Effect of initial pH on decolorization of reactive red 180 by (A) *Bacillus anthracis* and (B) *Bacillus cereus* at 35°C under static condition.

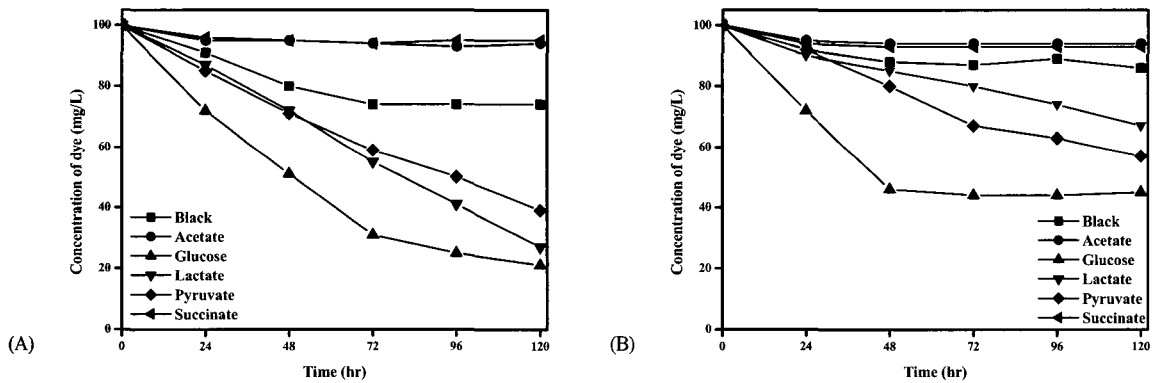


Figure 4. Effect of various carbon sources on decolorization of reactive red 180 by (A) *Bacillus anthracis* and (B) *Bacillus cereus* at 35°C under static condition (■ : Control, ● : Acetate, ▲ : Glucose, ▼ : Lactate, ◆ : Pyruvate, ◄ : Succinate).

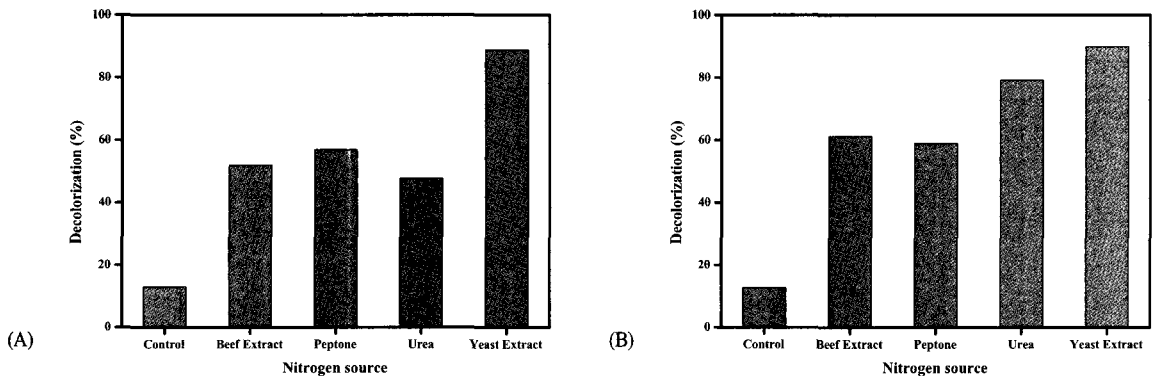


Figure 5. Effect of various nitrogen sources on decolorization of reactive red 180 by (A) *Bacillus anthracis* and (B) *Bacillus cereus* at 35°C under static condition.

이 더 높게 나타났다. 그러나 두 균주 모두 탄소원을 acetate와 succinate를 각각 사용하여 실험했을 경우에는 색도제거율이 낮게 나타났다.

질소원에 따른 염료의 색도제거율을 알아보기 위하여 질소원을 beef extract, peptone, urea, yeast extract로 하여 실험을 진행하였다. 실험 결과 *Bacillus anthracis*를 사용한 경우, 질소원을 첨가하지 않은 control과 urea를 제외한 대부분의 질소원들이 5일 경과한 후에 50% 이상의 색도제거율을 보였고 특히, yeast extract를 사용한 경우에는 같은 시간에서 89%의 가장 높은 색도제거율을 보였다.

*Bacillus cereus*를 사용하여 실험을 진행하였을 경우에는 질소원을 yeast extract를 사용한 경우 86%의 색도제거율을 보였다. 또한, *Bacillus anthracis*와는 달리 urea를 질소원으로 사용하였을 경우에도 5일 경과 후 79%의 높은 색도제거율을 보였다(Fig 5). 이러한 결과로 *Bacillus anthracis*보다는 *Bacillus cereus*가 다양한 질소원에 대한 색도제거율이 높은 것을 알 수 있으며, 두 가지 균주 모두 yeast extract가 최적의 질소원이라 사료된다.

요 약

반월공단의 염색폐수와 염료폐수를 균원시료로 하여 반응성 염료의 색도제거능이 나타난 13종의 균주를 분리하고, 산소농도에 따른 영향을 살펴보기 위하여 교반에 따른 색도제거율을 살펴 본 결과, 교반을 진행하지 않은 경우 효율이 더 높은 효율을 얻을 수 있었다. 또한, 5가지 반응성 염료(reactive blue 19, reactive blue 21, reactive red 180, reactive red 195, reactive yellow 145)를 가지고 색도제거 실험을 진행한 결과 2종의 균주가 높은 효율을 보였다. 이 2종의 균주를 동정한 결과 *Bacillus anthracis*와 *Bacillus cereus*로 판명되었다. 최적 조건을 살펴보기 위하여 온도와 초기 pH 영향에 따른 색도 제거율을 알아보기 위하여 실험을 진행한 결과 35°C, pH 7에서 높은 색도제거율을 보였다. 또한 탄소원과 질소원에 따른 영향을 살펴보기 위하여 *Bacillus anthracis*로 실험한 결과 glucose, yeast extract를 사용한 경우 89%의 높은 색도제거율을 얻을 수 있었다.

이러한 결과로 미루어 볼 때 분리된 두 균주는 염색폐수의 색도제거에 효과적인 균주라고 사료된다.

감 사

본 연구는 과학기술부에서 지원한 국가지정연구실사업 (과제번호 M1-0203-00-0055)의 결과이며, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Koichi, H., W. Yoshio, and N. Kazunori (2003), Decolorization of azo dye by the white-rot basidiomycete *Phanerochaete sordida* and its manganese peroxidase, *J. Biosci. Bioeng.* **95**, 455-459.
- Banat, I. M., P. Nigam, D. Singh, and R. Marchant (1996), Microbial decolorization of textile-dye-containing effluents: a review, *Biores. Technol.* **58**, 217-227.
- Pak, D. and W. Chang (1999), Decolorization dye wastewater with low temperature catalytic oxidation, *Water Sci. Technol.* **40**, 115-121.
- Slokar, Y. M. and A. M. Le Marechal (1997), Methods of decolorization of textile wastewater, *Dyes Pigments.* **37**, 335-356.
- Pelegrini, R., P. Reralto-Zamora, A. R. Andrade, J. Reyers, and N. Duran (1999), Electrochemically assisted photocatalytic degradation of reactive dyes, *App. Catal B - Environ.* **22**, 83-90.
- Nigam, P., G. Armour, I. M. Banat, D. Singh, and R. Marchant (2000), Physical removal of textile dyes and solid state fermentation of dye-adsorbed agricultural residues, *Bioresour. Technol.* **72**, 219-226.
- Tan, N. C. G., G. H. Lettinga, and J. A. Field (1999), Reduction of the azo dye mordant orange 1 by methanogenic granular sludge exposed to oxygen, *Biores. Technol.* **67**, 35-42.
- Ogawa, T. and C. Yatome (1990), Biodegradation of azo dyes in multistage rotating biological contractor immobilized by assimilating bacteria, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **44**, 561-566.
- Knapp, J. S. and P. S. Newby (1995), The microbiological decolorization of an industrial effluent containing a diazo-linked chromophore, *Water Res.* **7**, 1807-1809.
- Zissi, W., G. Lyberatus, and S. Pavlou (1997), Biodegradation of *p*-aminoazobenzene by *Bacillus subtilis* under aerobic conditions, *J. Ind. Microbiol. Biot.* **19**, 49-55.
- Reddy, C. A. (1995), The potential for white rot fungi in the treatment of pollutants, *Curr. Opt. Biotechnol.* **6**, 320-328.
- Nigam, P., I. M. Banat, D. Singh, and R. Marchant (1996), Microbial process for the decolorization of textile effluent containing azo, diazo and reactive dyes, *Process Biochem.* **31**, 435-442.
- Robinson, T., G. McMullan, R. Marchant, and P. Nigam (2001), Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative, *Bioresour. Technol.* **77**, 247-255.
- Hu, T. L. (1994), Decolorization of reactive azo dyes by transformation with *Pseudomonas luteola*, *Biores. Technol.* **49**, 47-51.
- Hu, T. L. (1994), Degradation of azo dye RP₂B by *Pseudomonas luteola*, *Water Sci. Technol.* **38**, 299-306.
- Chang, J. S. and T. S. Kuo (2000), Kinetics of bacterial decolorization of azo dye with *Escherichia coli*. *Biores. Technol.* **75**, 107-111.
- Chang, J. S., B. Y. Chen, and Y. S. Lin (2004), Stimulation of bacterial decolorization of an azo dye by extracellular metabolites from *Escherichia coli* strain NO3, *Biores. Technol.* **91**, 243-248.