

ORIGINAL ARTICLE

## 염색공단폐수의 색도처리를 위한 염료분해 균주의 분리와 특성

김정태 · 박근태<sup>1)</sup> · 이 건<sup>2)</sup> · 강경환<sup>3)</sup> · 김종균<sup>3)</sup> · 이상준<sup>4)</sup>\*

부산대학교 환경시스템학과, <sup>1)</sup>부산대학교 산학협력단, <sup>2)</sup>(주) 동창, <sup>3)</sup>부경대학교 생물공학과, <sup>4)</sup>부산대학교 미생물학과

### Isolation and Charaterization of Dye-Degrading Microorganisms for Treatment of Chromaticity Contained in Industrial Dyeing Wastewater

Jung Tae Kim, Guen Tae Park<sup>1)</sup>, Geon Lee<sup>2)</sup>, Kyeong Hwan Kang<sup>3)</sup>, Joong Kyun Kim<sup>3)</sup>, Sang Joon Lee<sup>4)</sup>\*

Department of Environmental System, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

<sup>1)</sup>Institute for Research & Industry Cooperation, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

<sup>2)</sup>Research Department, Dongchang Corporation, 370-115 Shinpyeong-dong, Saha-gu, Busan 604-836, Korea

<sup>3)</sup>Department of Biotechnology and Bioengineering, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

<sup>4)</sup>Department of Microbiology, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

#### Abstract

To treat chromaticity contained in effluents of dyeing wastewater efficiently, potent dye-degrading microorganisms were isolated from influent water, aeration- tank sludge, recycle water and settling-tank sludge located in leather and dyeing treatment plant. Six potent strains were finally isolated and identified as *Comamonas testosteroni*, Methylobacteriaceae bacterium, *Stenotrophomonas* sp., *Kluyveromyces fragilis*, *Ascomycetes* sp. and *Basidiomycetes* sp. When *Basidiomycetes* sp. was inoculated into ME medium containing basal mixed-dyes, 93% of color was removed after 8 days incubation. In the same experiment, the 1:1 mixed culture of *Basidiomycetes* sp. and photosynthetic bacterium exhibited 88% of color removal; however, it showed better color removal for single-color dyes. The aeration-tank and settling-tank samples revealed higher color removal (95-96%) for black dyes. The settling-tank sample also revealed higher color removal on basal mixed-dyes, which resulted in 90% color removal after 6-h incubation. From the above results, it is expected to achieve a higher color removal using the mixed microorganisms that were isolated from aeration-tank and settling-tank samples.

**Key words** : Dyeing wastewater, Biodegradation, Dye-degrading microorganisms, Chromaticity removal

#### 1. 서 론

전 세계적으로 염색 산업의 발전과 더불어, 염색산업에서 발생하는 합성염료에 의한 수질과 토양의 오

염도가 증가하고 있다(Pandey et al., 2007). 현재까지 개발되고 연구된 다양한 하 · 폐수 처리시스템에서는 생물학적으로 분해가 쉬운 유기물질은 잘 처리되고 있으나, 염색 산업에서 발생하는 염료 폐수의 경우, 물

Received 13 August, 2013; Revised 9 December, 2013;

Accepted 18 December, 2013

\*Corresponding author : Sang Joon Lee, Department of Microbiology, Pusan National University, Busan 609-735, Korea  
Phone: +82-51-510-2268  
E-mail: sangjoon@pusan.ac.kr

© The Korean Environmental Sciences Society. All rights reserved.  
© This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

리, 화학적 그리고 생물학적으로도 매우 처리하기 어려운 난분해성 물질로 색도를 유발하고 수계 생태계에 오염부하를 크게 야기시킨다(Dhanve et al., 2008; Srinivasan and Viraraghavan, 2010; Saratale et al., 2011).

염료폐수를 처리하기 위하여 물리·화학적 방법으로는 펜톤 산화, 오존 산화, 전기 분해, 흡착, 여과, 산화, 고가의 응집제 및 탈색제의 사용 등이 있으나(Banat et al., 1996), 이런 방법은 낮은 경제성과 넓은 정상범위를 가지는 염료 폐수 처리에 부적합한 단점을 가지고 있고, 생물학적 처리에 악영향을 주는 경우가 자주 발생하고 있다. 따라서 물리·화학적 방법의 문제점을 보완할 수 있는 생물학적 처리에 대한 연구에 더욱 주목하고 있다. 염료폐수의 생물학적 처리에는 곰팡이, 효모, 조류, 식물과 세균 등을 이용하는데(Saratale et al., 2011), 이러한 생물학적 처리는 친환경적이고 경제적이며, 슬러지 발생이 적으며 최종 산물의 독성이 없고, 물리, 화학적 처리 방법에 비해 물을 적게 사용한다는 점에서 장점을 가지고 있다(Banat et al., 1996; Rai et al., 2005).

염료폐수의 처리를 위해 마그네슘염과 철염을 배합한 혼합물을 이용한 염색폐수의 탈색 및 응집, 침전 방법을 통한 COD와의 동시 제거 방법(Sung and Ryu, 2002), 부유성 담체가 충전된 moving-bed bioreactor를 이용한 생물학적 처리 방법(Kim et al., 2005), 혐기-호기 바이오필터와 오존 후처리 공정을 통한 처리방법(Kanf and Song, 2010), 오존에 의한 산화반응과 부유메디아 생물반응기, 정밀여과, 분리막 생물반응기를 적용하여 결합시킨 시스템에 의한 처리방법(Lee et al., 2012), 그리고 laccase (Mukhopadhyay et al., 2012; Kalme et al., 2009), lignin peroxidase (Parshetti et al., 2012), NADH-DCIP reductase (Bhosale et al., 2006), alcohol oxidase (Phugare et al., 2011)와 hexane oxidase (Saratale et al., 2007) 등 정제된 효소를 이용하는 방법 등이 보고되었다. 미생물을 사용한 보고들을 살펴보면, *Bacillus cereus* KWLC1과 *Bacillus cereus* KWLC2를 이용한 아조계 분산 염료 함유 염색폐수에 의해 유발되는 색도의 83% 및 COD 42%의 제거(Shin et al., 2006), 아조계 염료를 탄소원과 질소원으로 하는 *Bacillus* sp.의 분리 및 색도 제거(Dubey

et al., 2010), *Bacillus fusiformis* KMK5에 의한 disperse blue 79와 acid orange 10 염료의 분해 (Kolekar et al., 2008), 글루코스의 존재 하에 *Aeromonas hydrophila*에 의한 copper-phthalocyanine dye인 RTB(Reactive Blue 21)의 분해, 제거 등이 있다(Fu et al., 2002).

최근, 전기화학적 산화와 UV 투사방법을 사용한 전처리공정으로 염색배출수의 색도 및 할로젠 화합물을 효과적으로 제거하는 방법이 보고되었고, COD와 색도를 동시에 효율적으로 제거하기 위한 'Hybrid anaerobic baffled microbial reactor'에 있어서의 운전파라미터들의 최적화 연구가 이루어 졌으며(Chen et al., 2011), 혐기성 소화조의 슬러지를 이용한 two-phase UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) 형태의 파이롯트 단위 실험에서 안정적 색도와 COD 제거 결과가 발표되었다(Senthilkumar et al., 2011). 또한, 복합 미생물을 이용한 염색 폐수 처리의 필요성이 인지되어, 염색 폐수 중에 함유되어 있는 nitroaniline 화합물의 제거를 위하여 복합미생물을 이용한 처리가 시도되었으며(Khalid et al., 2009), 복합 미생물이 사용된 full-scale 염색폐수처리 시스템에서의 미생물군집의 변화에 대한 조사가 이루어졌고(Yang et al., 2012), 대규모 염색폐수 처리를 위한 파이롯트 단위에서의 PEMT 유동상 담체를 이용한 생물막 공정이 보고된 바 있다(Park et al., 2011). 그러나 보다 높고 안정적인 염료분해 능력을 확보하기 위해서는 담체 내 우수 미생물체계 구성과 염료분해균주의 정착화를 위한 기술 개발 및 이를 통한 민원해결 등을 목적으로 하는 친환경적, 경제적 색도제거에 관한 기술 개발이 필요하다. 그러므로 염료분해 효율 증가, 수처리 미생물 확보, 염료분해능 균주의 우점화, 색도분해미생물의 활성도 조사 및 수처리 효율, 색도처리 안정화에 관한 연구개발의 필요성이 대두된다.

따라서 보다 높고 안정적인 염료 분해능을 가진 미생물을 확보하기 위해, 난분해성 리그닌 구조를 분해할 수 있는 우수한 미생물과 색도를 유발 하는 발색단과 조색단을 분해하는 미생물을 포함하는 복합미생물 체계를 구성하여 염색공단 배출수에 함유되어 있는 색도를 분해하고자, 본 연구에서는 염색폐수처리 현장으로부터 우수 분해 미생물들을 분리하고 그 특성을 조사하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 실험재료

염료분해 미생물을 분리하기 위한 분리용 시료는 피혁 폐수 처리장(S company)과 염색 폐수 처리장(B company)의 유입원수, 폭기조 및 침전지 슬러지를 사용하였다(Fig. 1). 분해 실험에 사용된 염료는 산업용 염료 총 21종으로 red, orange, blue 및 black 계열로 나누어 사용하였고, 우수 염료분해 미생물을 분리하기 위하여 총 4종의 배지를 사용하였는데, Bacto-pepton과 sucrose가 주가 되는 배지(이후 BSM 배지라 칭함)는 Bacto-peptone 0.188 g/l,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.318 g/l, sucrose 0.563 g/l,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  0.344 g/l,  $\text{MgSO}_4$  0.049 g/l,  $\text{FeCl}_3$  0.011 g/l, yeast extract 1 g/l, mineral sol. 1 ml/l, 및 vitamin sol. 1 ml/l(초기 pH 6.8)으로 구성되었고, malt extract가 주가 되는 배지(이후 ME 배지라 칭함)는 malt extract 20 g/l, mineral sol. 1 ml/l, 및 vitamin sol. 1 ml/l(초기 pH 5.6)으로 구성되었다. 그리고 glucose, yeast extract 및 polypeptone이 추가되는 배지(이후 GYP 배지라 칭함)는 glucose 10 g/l, yeast extract 5 g/l, polypeptone 5 g/l,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.4 g/l,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  10.2 g/l 및  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.2 g/l(초기 pH 9.0)으로 구성되었고, 위의 3종의 배지와 달리 유기 영양분을 포함하지 않는 기본 배지(이후 Basal 배지라 칭함)는  $\text{NH}_4\text{Cl}$  0.28 g/l,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.25 g/l,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.1 g/l,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.1 g/l, trace element 1ml/l(초기 pH 7.0)로 구성하여 실험에 사용하였다.

### 2.2. 실험방법

#### 2.2.1. 염료분해능 균주 분리

시료로부터 염료분해능이 있는 균주를 분리하기 위해 먼저 vortex를 이용하여 분리용 시료를 충분히 혼합시킨 후에 1 ml을 채취하여, 멸균된 9 ml 0.1% NaCl 용액에 첨가하였다. 10배 희석된 용액을 vortex를 이용하여 충분히 혼합시킨 후, 염료가 포함된 한천 평판 배지 상에서 평판도말과 획선도말한 것을 30℃에서 12일간 정치배양하면서, 한천평판배지 위에 색도가 제거되어 투명환을 형성한 colony를 염료분해 미생물로서 선정·분리하고, 분리된 colony로부터 새로운 한천평판배지로 반복 계대·배양하여 염료분해 미생물들을 순수분리 하였다. 실험에는 BSM배지, ME배지, Basal배지와 GYP배지 모두 사용하였다.

실험에 사용된 염료는 총 21종으로 red, orange, blue 및 black 계열로 나누어 사용하였다. 그 중에서 Red계열은 7종(Disperse red 73, Disperse Red 60, Comacid Red F-GS, Acid Red 336, Acid red 361, Acid Red 57, Acid Red 138), Black계열은 5종(Kemachrome black T, Mordant Black 11, Sinarcio Black BFG, Disperse Black EX-NS 및 Acid Black 172), Orange계열은 4종(Disperse orange 30, Acid Orange 67, Direct orange 26 및 Acid Orange 7) 그리고 Blue계열은 5종(Comasol blue 3G, Acid Blue 62, Acid Blue 185, Disperse Blue 60 및 Disperse Blue 354)의 혼합액을 각각 0.01% 농도로 만들어 실험에 사용하였고, 또한 임의로 각 계열마다 하나씩(Disperse

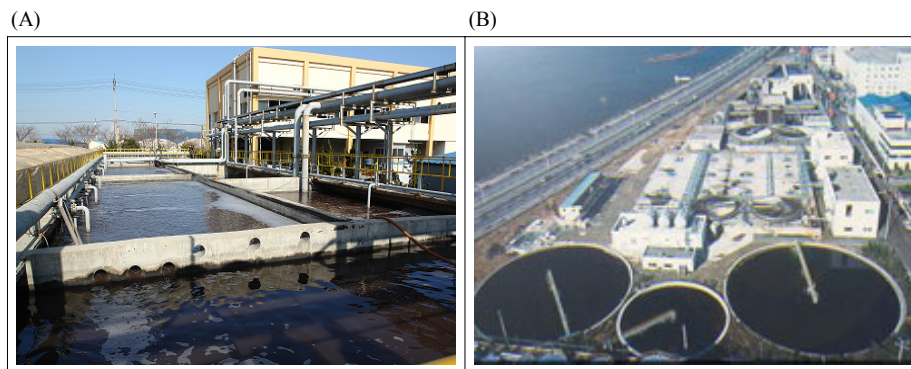


Fig. 1. Plant for the treatment of leather wastewater (A) and dyeing wastewater (B).

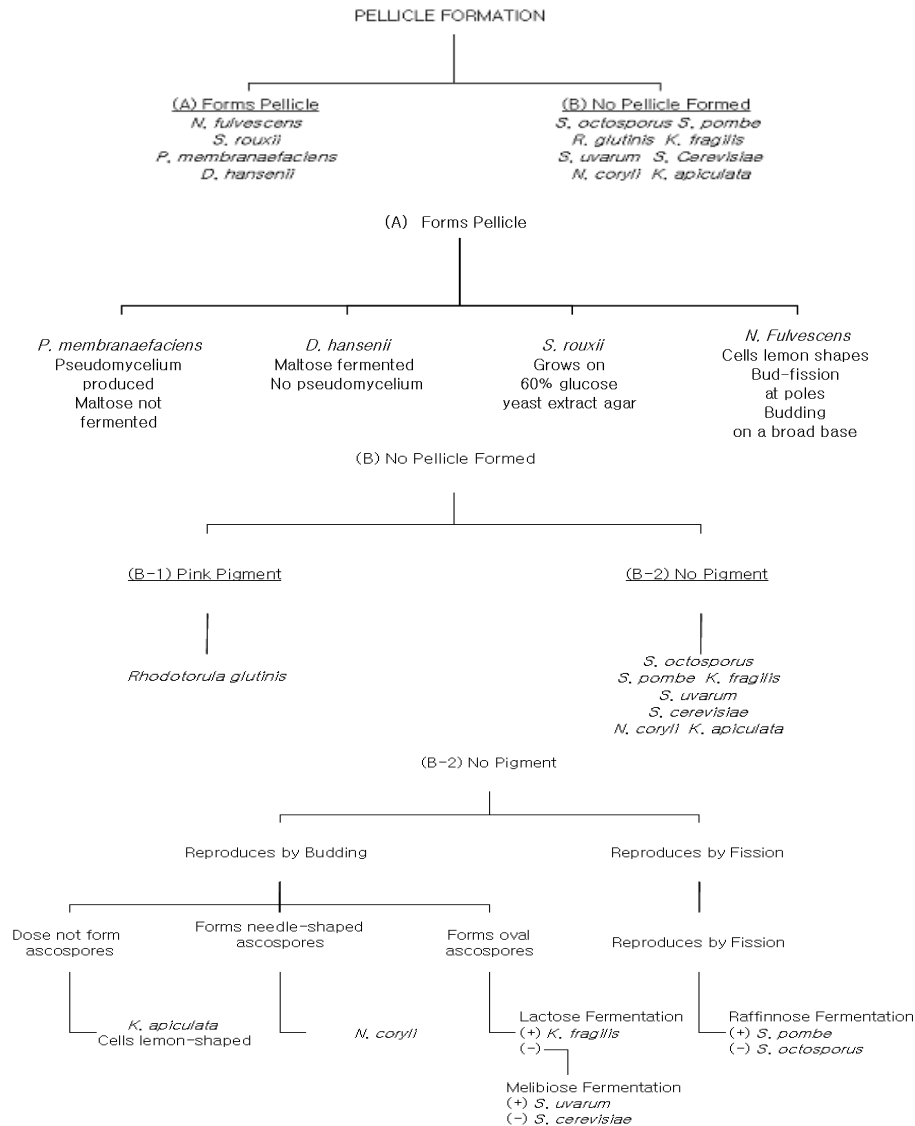


Fig. 2. Standard for yeast identification.

red 73, Kemachrome black T, Disperse orange 30 및 Comasol blue 3G)을 선정한 다음 이 4 가지염료를 1:1:1:1 비율로 섞어 기본 혼합염료로 사용하였다.

2.2.2. 분리 균주의 동정

순수분리 된 염료분해능이 높은 미생물들에 대한 동정은 다음과 같이 실시하였다.

2.2.2.1. 박테리아 동정

순수 분리된 각 미생물 중 원핵세포는 DNA extraction

kit(Bioneer, Korea) 를 사용하여 전체 유전자를 추출하였고, 16S-rRNA gene의 conserved region을 이용하여 eubacteria primer를 디자인한 후 (sense primer: 5'-ACGCTGGCGGCAGGCCTAACAG-3', antisense primer: 5'- ATTACTAGCGATTCCGCTTC-3'), 추출된 DNA 1 µg을 주형(template)로 하여 PCR을 실시하였고, 전기영동을 하여 단편 밴드(fragment band)를 확인하였다. Gel extraction을 실시하여 목적 유전자

단편(fragment)을 분리하였고, 이를 TOPO TA cloning kit의 플라스미드에 삽입하고 competent cell에 형질 전환(transformation)을 실시한 후, X-gal 배지에서 흰 콜로니를 나타내는 형질전환된 세포를 얻은 다음, 이를 배양하여 재조합 플라스미드를 분리하였다. 분리된 재조합 플라스미드는 Big-dye DNA sequencer에서 M13 primer를 이용하여 부분적인 16S rDNA의 염기 배열을 결정하는데 사용하고, 5' end와 3' end의 염기서열을 유전자 데이터베이스 사이트인 GenBank+EMBL+DDBJ+PDB sequence를 통해 비교·분석하였다(Hall, 1999).

2.2.2.2. 효모 동정

순수분리된 미생물들 중 효모는 다음의 분류 기준(Fig. 2)에 의하여 동정하였다(Kockova-Kratochvilova, 1990).

2.2.2.3. 곰팡이 동정

순수분리된 미생물들 중 곰팡이류의 동정은 샘플을 슬라이드 위에 설치하고, 현미경(x400)을 이용하여 균사의 격벽 유무, 집락의 형태와 색깔, 포자의 구조를 관찰한 후, 기존에 알려진 종과 비교하여 실시하였다(Mishra, 2005).

2.2.3. 시험관 단위에서의 색도변화 실험

시험관 단위 색도제거 실험에서는 BSM 배지와 ME 액체배지를 사용하였고, 사용된 염료는 red, orange, blue 및 black 계열 각 혼합액과 기본 혼합액 총 5 종류로 5개의 10 ml 시험관에 각각 0.01% 농도로 첨가하여 실험하였다. 배양 조건은 30°C에서 150 rpm으로 진탕배양 하였다.

2.2.3.1. 곰팡이를 이용한 실험

S company의 피혁 폐수처리장 반송수를 ME배지에 희석 도달한 후 분리한 곰팡이를 염료별로 0.01% 농도로 첨가된 10 ml screw cap 시험관 액체배지에 접종하여 8일 동안 교반 배양한 후, spectrophotometer 상에서 흡광도를 측정하여 염료분해미생물에 의한 색도 감소를 알아보았다. 또한 타 균과의 친화력이 높은 광합성세균의 영향을 알아보기 위해, 분리한 곰팡이와 광합성세균(*Rhodobacter capsulatus*)을 1:1 비율로 혼합 접종하였다. 각 시험관은 10일 동안 진탕배양한 후, 흡광도를 측정하였다.

또 B company에서 채취한 폭기액과 침전조 처리수를 10 ml screw tube 염료액체배지에 각각 9%(v/v) 접종하여 30°C에서 12일 동안 진탕배양한 후, 흡광도를 측정하여 폭기조수와 침전조수 중에 존재하는 염료분해미생물들에 의한 색도 감소를 알아보았다.

2.2.4. 삼각플라스크 단위에서의 색도변화 실험

B company의 침전조 처리수를 원심분리(7,000 rpm, 10분)한 다음 100 ml 삼각플라스크의 염료액체배지에 침전조 내의 수분함유 sludge를 10%(w/v) 접종하였다. 실험에서는 BSM 배지와 ME 배지를 사용하였고, 배지에 사용된 각 염료는 0.01%의 red, orange, blue, black 계열 혼합액 및 기본 혼합액이었으며, 30°C에서 150 rpm으로 진탕배양 하였다. 일정 시간마다 삼각플라스크내의 미생물들에 의한 색도변화를 관찰하기 위해 사진 촬영을 하였고, 색도분해의 정도는 UV-VIS spectrophotometer(OPRON-3000, Hanson Technology Co., Ltd)로 각 염료별 최대 흡수파장영역의 흡광도로 측정하였다.

2.2.5. 흡광도 측정

배양액 시험관 실험인 경우 1 ml 배양액을, 삼각플라스크 실험인 경우에는 5 ml 배양액을 원심분리(4,000 rpm, 10분)한 다음 상등액을 0.2 μm 여과필터를 통해 여과한 후, 증류수에 다시 10배 희석한 다음 흡광도를 측정하였다. 각 염료의 최대 흡수파장영역은 파장별 흡광도 scanning을 통하여 구하였으며, 아래 Table 1과 같다.

Table 1. Maximal absorption wave length for each color

Color of commercial dyes	$\lambda_{opt}$ (nm)
Red	515
Blue	621
Orange	490
Black	535
Mixture	591

실험 후 샘플의 측정된 흡광도 값은 초기 배지를 대조구로 정하고, 배양후 색도를 측정하여 배지 내에 포함되어있던 염료의 감소량을 계산하였는데, 혼합염료

(Mixture) 시험구의 경우는 이 것의 최대흡광도 파장인 591nm에서 시험 전·후의 흡광도 차이로 염료분해능을 조사하였다. 또한 염료 내의 색도 제거 능력은 다음의 식을 사용하여 염료 분해균에 의한 색도제거 정도(%)로서 나타내었다.

$$\text{Decolorization (\%)} = \frac{(I - F)}{I} \times 100 \quad \text{식(1)}$$

여기서 I는 초기배기의 흡광도이고, F는 탈색된 배지의 흡광도이다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. 염료분해능 균주 분리

##### 3.1.1. 세균

S company사로부터 채취한 샘플을 10배 희석하여 0.01%의 기본 혼합염료가 포함된 평판배지에 도말한 후 10일간 배양 하였더니, S company의 폭기조수, 침전조수, 반송수와 B company의 폭기조수1, 폭기조수 2 및 침전조수를 이용한 실험에서 염료분해 미생물에 의한 전체적인 색도 변화를 확인할 수 있었고, 이러한 염료분해 능력을 가지는 미생물은 BSM agar plate 상에서 colony 주위의 색깔이 보라색으로 변화하였다. 또한 B company 샘플에서는 BSM agar plate 상에 독립

된 단일 colony를 형성하였지만 색도제거 능력은 관찰하기 힘들었다, 그러나 10배 희석 샘플에서는 colony 주위의 색이 옅은 보라색을 나타내는 colony도 관찰되었다.

그리하여 S company 유입원수로부터 순수 분리된 4종은 OW1-OW4로, 폭기조수로 부터 순수 분리된 4종은 AT1-AT4, 침전조수로부터 순수 분리된 7종은 ST1-ST7, 반송수로부터 순수 분리된 8종은 RW1-RW8로 임의로 명명하였고, B company의 폭기조수1에서는 분리된 6종은 AT11-AT16로, 폭기조수2로부터 분리된 7종은 ATS11-ATS17, 침전조수로부터 분리된 6종은 ST11-ST16로 명명하였다. 이 균주 중 색도제거 능력이 뛰어난 것으로 보이는 3종의 균주들을 따로 agar plate에 streaking하고 5일 배양한 결과는 Fig. 3(A)와 같이 OW1, RW8 및 ATS3로 세 가지 균주였고, 1,000배 현미경 관찰 사진은 Fig. 3(B)이다.

##### 3.1.2. 효모

Black 혼합 염료가 섞인 BSM 배지를 이용한 플라스크 단위 실험에서 뚜렷한 색도 변화가 있었기 때문에 이 배지로부터 미생물을 취해 BSM 평판배지에 순수분리를 하였다. 30℃에서 5일 배양 후 15종의 순수 균주를 얻을 수 있었고, Bla1-Bla15까지 임의적으로 명명하였다. 15종의 균주들 중 Bla5 colony 주변의 색도 변화를 확인할 수 있었다. 현미경 관찰 결과

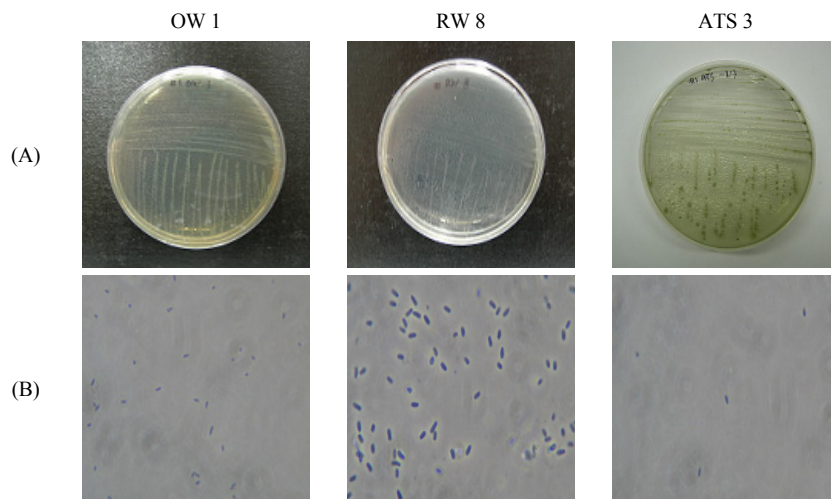


Fig. 3. Isolated strains of OW1, RW8 and ATS3 formed on BSM agar plates (A) and their observation under microscope (B).



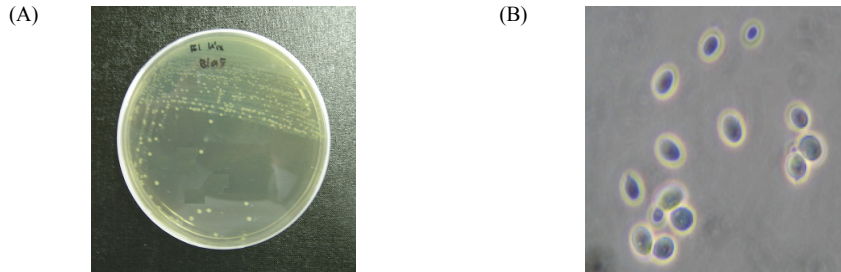


Fig. 4. Isolated Bla5 strain formed on agar plate (A) and its observation under microscope (B).

Bla5가 길이 3~4  $\mu\text{m}$ 의 타원형인 효모임을 알 수 있었다(Fig. 4).

### 3.1.3. 곰팡이

상기의 BSM 배지에서 배양하여 분리한 균주 중 Bla10 균주는 현미경 관찰 결과 균사(hyphal structure)에서 포자가 자라는 것을 확인하여 이 균주가 곰팡이임을 알 수 있었다(Fig. 5).

또한 S社 유입원수, 폭기조수, 반송수 및 침전조수 샘플을 10배 희석하여 기본 혼합염료가 포함된 BSM 배지, ME 배지, Basal 배지 와 GYP 고체배지에 30℃에서 12일 동안 배양한 결과, ME 배지의 반송조수에서 현저한 색도제거 colony를 관찰 할 수 있었다. 이 미생물은 배양 3~4일 후에 colony 주위의 색이 변하기 시작하였으며, 배양 12일 후에는 육안으로 확인하게 식별할 수 있을 정도의 색상의 변화를 나타내었다. 실험에 사용한 4가지 배지 중에서 Basal 배지와 GYP 고체배지에서는 염료를 분해시킨 colony가 발견이 되지 않았고, 또한 BSM 배지, ME 배지에 비하여 형성된 colony 수 또한 적었다. 이 실험결과로 이후 실험에서는 BSM 배지 또는 ME 배지에만 염료를 첨가하여

실험에 사용하였다.

이러한 결과를 보인 미생물을 순수 분리한 결과, 실험과 같은 스포충치를 만드는 곰팡이의 특성을 가진 미생물이었고, 현미경 관찰결과, 균사에 격벽이 있는 담자균류(*Basidiomycetes*)로 판단되어 졌다.

## 3.2. 분리 균주의 동정

### 3.2.1. 세균

3종의 균주(ATS-3, OW1 및 RW8)에 대한 동정결과는 아래 Table 3과 같다. 이중 ATSN-3은 그람 음성균이며 토양에서 발견되고 3-chloroaniline를 처리하기 위한 bioaugmentation 미생물체제로 알려진 *Comamonas testosteroni* 이었다(Boon et al., 2000). *Methylobacteriaceae* 과의 세균은 질소고정을 하는 *Rhizobiales* 목의 일종이고, *Stenotrophomonas* 종은 그람 음성균으로 토양 인체에서 발견되는데, *Methylobacteriaceae* bacterium의 염료폐수 처리에 관한 보고는 아직까지 없으나 *Stenotrophomonas* 균주의 경우, 아조계 염색 처리 시스템 내에 존재하는 다양한 미생물 중의 하나인 것으로 보고된 바 있다(Fors et al, 2012).

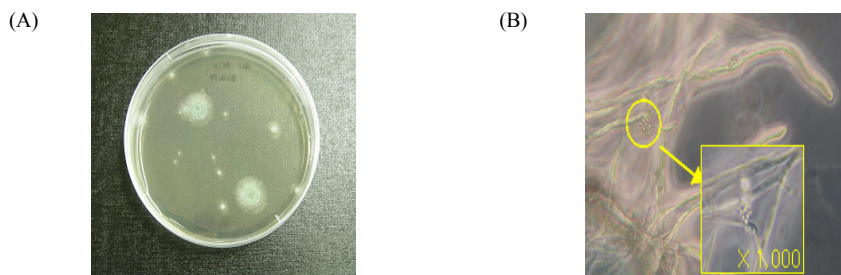


Fig. 5. Isolated Bla10 strain formed on agar plate (A) and its observation under microscope (B).

**Table 3.** Identification by 16S-rDNA sequencing

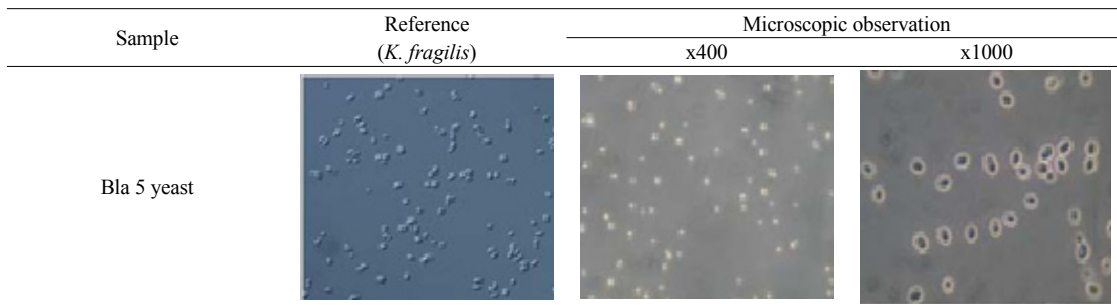
Isolates	GenBank	Identification	Similarity
ATS-3	AB021342	<i>Comamonas testosteroni</i>	96%
OW1	FJ193149	<i>Stenotrophomonas</i> sp.	99%
RW8	AY360526	Methylobacteriaceae bacterium	99%

3.2.2. 효모

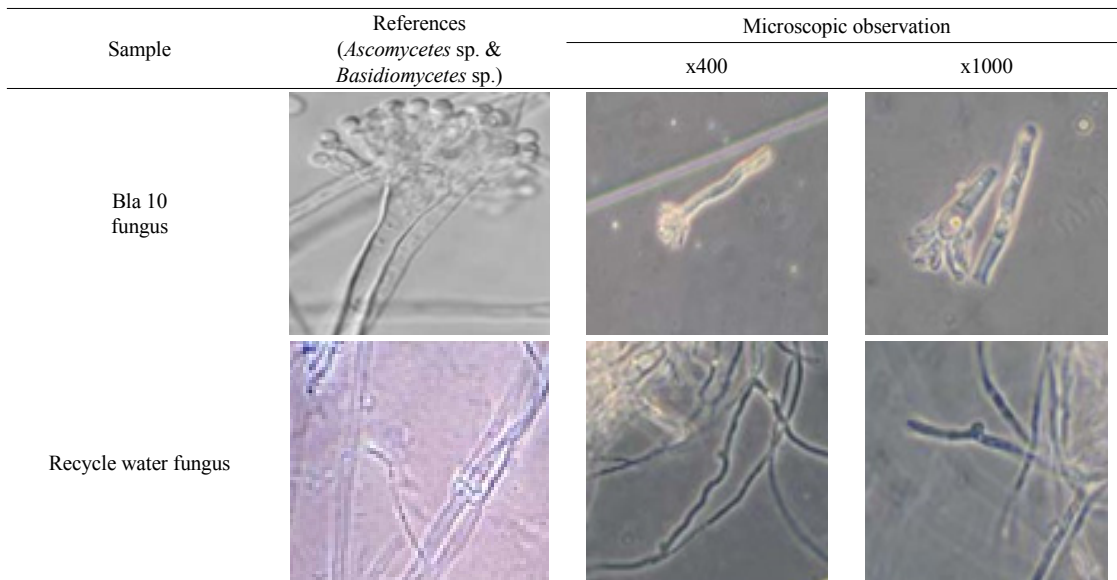
1종의 효모균에 대한 동정은 Fig. 2에 따라 이루어 졌으며, 동정결과 *Kluyveromyces fragilis*로 밝혀졌다 (Fig. 6). 이 효모는 yeast extract가 포함된 배지에서 pellicle과 색소를 생산하지 않았고, oval형의 자낭포자(ascospore)를 형성하였으며, lactose를 발효하는 특성을 보였다.

3.2.3. 곰팡이

현미경 관찰을 통한 2종의 곰팡이균에 대한 형태를 기존에 알려진 곰팡이의 특징적 morphology와 비교한 결과, Bla 10은 *Ascomycetes* 중의 형태와 일치하였고, 반송수에서 샘플링한 곰팡이는 *Basidiomycetes* 중의 형태와 일치하였다(Fig. 7).



**Fig. 6.** Micrograph of yeast under microscope (x400 and x1000).



**Fig. 7.** Micrographs of two fungi under microscope (x400 and x1,000).



3.3. Tube 단위에서의 색도변화 실험

3.3.1. S company 샘플에서 분리된 곰팡이를 이용한 실험

ME 배지 위에 S company 반송조수를 희석 도말한 평판배지에서 분리한 곰팡이를 염색 혼합액에 접종한 후, 8일 동안 배양한 결과, 0.1%염료농도를 가진 모든 액체배지에서 색도 변화를 관찰 할 수 없었고, 0.01% 염료농도를 가진 액체배지에서는 기본 염료혼합액 및 black 혼합액에서는 뚜렷한 색도 변화를 관찰할 수 없었지만, 0.01%의 blue, red와 orange 염료 혼합액의 tube에서는 배양시간에 따라 색도가 점차 얼어지면서 맑아지는 변화를 관찰할 수 있었다. 눈으로 뚜렷이 색도 변화를 관찰할 수 있었던 샘플들에 대한 흡광도 측정 결과 기본 염료혼합액은 81%의 높은 제거율이 나타났지만, 그 외 나머지 염료 혼합액은 20-30% 정도의 낮은 제거율을 보였다(Fig. 8).

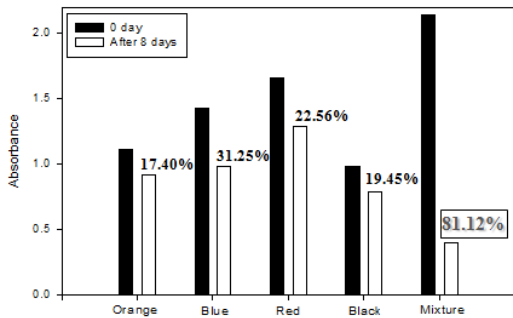


Fig. 8. Absorbances on various colors with 10-fold diluted samples. Reaction was carried out on the ME medium containing orange, blue, red, black or mixture. Each sample absorbance was measured at its maximal absorption wave length.

다른 미생물과의 친화력이 높은 광합성세균의 염료 분해에 대한 효과를 알아보기 위하여, 광합성세균을 순수 분리한 곰팡이와 1:1로 접종하여 염료 색도 변화를 실험하였다. 이때, 염료분해 능력을 비교할 수 있게 단일 광합성세균 및 단일 곰팡이를 각각 다른 tube에 접종하여 동시에 실험하였다. 30℃에서 10일 동안 배양한 결과(Fig. 9), 단일 곰팡이는 기본 염료혼합액에서 93%의 제거율을 나타내었고, 단일 광합성세균은 곰팡이와의 혼합에 의한 결과(약 88%)와 거의

비슷한 결과를 얻을 수 있었다. 그러나 red 계열 염료 혼합액에서 곰팡이와 광합성세균을 1:1로 접종한 tube에서 55.7% 제거율을 얻을 수 있었는데, 단일 곰팡이의 32.7%, 단일 광합성세균 35.4% 결과들보다 좋은 결과를 나타내었는데, 이러한 결과는 Hong과 Otaki (2003)의 실험 결과와 일치하였다. 또한 black 계열 염료 혼합액에서도 81.8%의 제거율을 얻을 수 있었는데, 단일 곰팡이의 31.5%, 단일 광합성세균의 63.5%보다 높은 수치이었다. 결론적으로 보면, 기본 염료혼합액에서는 두 균의 1:1 혼합이 가장 좋은 결과를 나타내지 못했으나, 샘플과 곰팡이, 광합성세균의 단일적인 샘플에서는 비슷한 결과가 나왔지만, 각 색깔별 염료 혼합액에서는 두 균의 1:1혼합이 더 좋은 결과를 가져왔다.

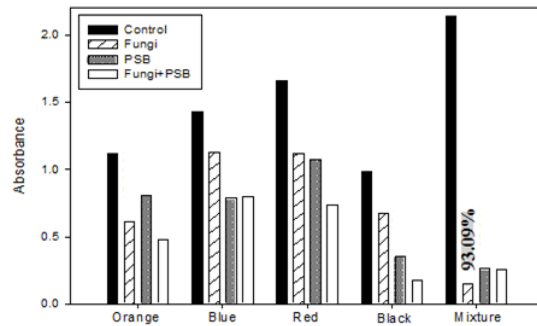


Fig. 9. Percentages of dye decolorization on the ME medium containing basic mixed dye solution after 10 days incubation by fungus or/and photosynthetic bacteria. Values of absorbances were obtained with 10-fold diluted samples.

3.3.2. B company 샘플을 BSM 액체 배지에 접종한 실험

B company에서 샘플링한 폭기조수와 침전조수를 BSM 배지에 9%(v/v) 접종하여 폭기조수와 침전조수 내에 있는 슬러지 내 미생물이 어떤 색 계열의 염료에 탈색능력을 보이는지 조사해 보았다. 배양 2일째부터 침전조수나 폭기조수를 접종한 모든 시험관에서 가스가 발생하는 것을 확인 할 수 있었는데, 특히 black 계열 염료혼합액과 기본 염료혼합액에서 많이 발생하였다. 폭기조수가 접종된 시험관에서는 불쾌한 냄새가 나지 않았지만, 침전조수가 접종된 black 계열 혼합

염료액 경우에는 우유부패와 같은 불쾌한 냄새가 발생했고, 색도는 검은색에서 짙은 갈색으로 변하는 것을 확인 할 수 있었다. 배양 7일째에는 침전조수가 접종된 5개의 시험관에서 달걀 썩은 냄새 또는 하수구 악취 같은 냄새가 났고, red, orange, black 계열 염료 혼합액에 색도 변화를 확인 할 수 있었다. 특히 black 계열 염료 혼합액 경우는 짙은 갈색에서 옅은 갈색으로 뚜렷한 색도 변화를 보였고, 기본 염료 혼합액 경우는 청록색으로 색도 변화가 나타났다. 또한, 폭기조수가 접종된 시험관에서도 색도 변화를 확인할 수 있었는데, 기본 염료 혼합액인 경우, 청록색으로 색도 변화가 있었고 black 계열 염료 혼합액은 짙은 갈색으로 변했음을 확인할 수 있었다.

원심분리로 sludge가 제거된 샘플은 배양 7일 이후 색도가 제거되는 것을 더 명확히 알 수 있었으며, 배양 12일째에는 black 계열 염료 혼합액의 변화뿐만 아니라 침전조수가 접종된 red 계열 염료 혼합액 시험관에

서도 높은 색도제거를 확인 할 수 있었다. Black 계열 염료 혼합액 및 기본 염료 혼합액에서만 눈으로 색도 변화를 확인할 수 있었지만, 원심분리로 슬러지가 제거된 샘플에서는 배양 7일 이후의 색도 제거를 더 명확히 볼 수 있었다. 이상의 결과를 계산한 각 염료 혼합액에 대한 색도제거율의 결과는 Fig. 10에 나타내었다. 폭기조수에 비해 침전조수가 접종된 시험관에서 더 높은 제거율을 나타내었는데, 폭기조수가 접종된 경우, 배양 7일 후에 black 계열 염료 혼합액에서 80%의 제거율이 나왔지만, 다른 색 염료 혼합액은 50~60%의 제거율만 나타났다. 그러나, 침전조수가 접종된 경우에는 전체적으로 65% 이상의 제거율이 나타났고, 그 중에서 특히 black 계열 염료 혼합액에서는 96%의 높은 색도 제거율을 나타냄으로써 폭기조수와 마찬가지로 black 계열 염료 혼합액에서 높은 제거율이 나타남을 알 수 있었다.

### 3.3.3. B company 샘플을 ME 액체 배지에 접종한 실험

B company에서 샘플링한 폭기조수와 침전조수를 ME 배지에 9%(v/v) 접종하여 폭기조수와 침전조수 내에 있는 염료분해미생물이 어떤 색 계열의 염료에 탈색능력을 보이는지 조사해 보았고 색도제거율도 구하였다. 배양 2일째부터 샘플이 있는 모든 시험관에서 가스가 발생하는 것을 확인 할 수 있었고, 특히 black 계열 염료 혼합액과 기본 염료 혼합액에서 가스가 많이 발생하였다. 폭기조수가 접종된 시험관에서는 악취와 같은 불쾌한 냄새가 나지 않았지만, 침전조수가 접종된 시험관중 black 계열 염료 혼합액 경우는 우유부패와 같은 불쾌한 냄새가 났다. 배양 5일 이전에는 대부분의 시험관에서 색도의 변화가 일어나지 않았으나, 5일 이후부터 색도의 변화가 일어나는 것을 확인 할 수 있었는데, 침전조수가 접종된 tube 중 black 계열 염료 혼합액의 경우에는 옅은 갈색으로 변하였다. 배양 7일 이후에는 침전조수가 접종된 black 계열 염료 혼합액 시험관과 기본 염료 혼합 시험관에서 색도 변화가 뚜렷이 일어나는 것을 눈으로 확인할 수 있었다. 기본 염료 혼합액의 경우, BSM 배지 실험 때와 같이 염료분해 미생물에 의해 청록색으로 변하였다. 또한, 원심분리로 슬러지가 제거된 샘플에서는 배양 7일 이후에 색도

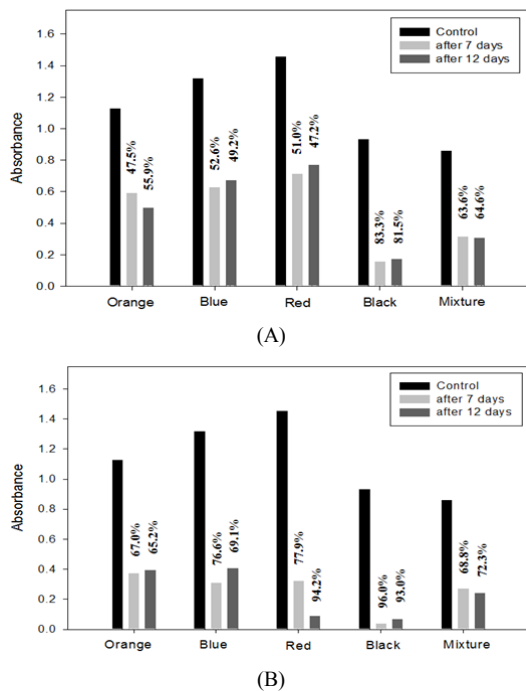


Fig. 10. Absorbances on various colors with 10-fold diluted samples. Reactions were carried out on the BSM medium using the samples of aeration-tank water(A) and Settling-tank water (B).

가 제거되는 것을 더 명확히 볼 수 있었다.

이상의 결과를 계산한 각 염료혼합액에 대한 색도 제거율의 결과는 Fig. 11에 나타내었다. 폭기조수를 접종한 시험관에서의 색도제거율은 대부분 낮았으나, black 계열 염료혼합액의 경우에는 배양 12일 이후 84% 이상 제거되었다. 침전조수를 접종한 tube에서는 폭기조수를 접종한 시험관의 결과보다 나은 결과를 보였는데, 배양 7일 이후 orange 계열 염료혼합액 시험관을 제외하고는 약 60% 이상의 제거율을 보였다. 특히, black 계열 염료혼합액의 경우, 배양 12일 이후 95% 이상의 색도가 제거되었는데, 이는 *Phanerochaete chrysosporium* 균주를 사용한 Reactive Black 5의 분해실험(Enayatzamir et al., 2011)에서의 90.3% 제거율 보다 높았다. 결론적으로 black 계열의 혼합염료인 경우, 폭기조수 및 침전수 내에 존재하는 염료분해미생물들에 의해 좋은 분해반응이 일어났음을 알 수 있었고, 기본 염료혼합물인 경우는 침전조수 내에 존재하는 미생물들에 의해 잘 분해됨을 알 수 있었다. 이는 폭기조보다는 침전조에 염료분해 미생물의 분포가 더 좋음(우점 되었음)을 알 수

있다. 또한, ME 배지보다는 BSM 배지에서의 실험에서 전체적으로 더 높은 제거율을 확인 할 수 있어 ME 배지가 염료분해미생물들에게 더 나은 영양분을 공급 하는 것으로 보인다.

### 3.4. Flask 단위에서의 색도변화 실험

시험관 단위에서의 시험결과에서 보면, 폭기조수 보다는 침전조수에 존재하는 염료분해미생물들이 더 높은 색도 제거능력이 있다는 것을 확인 할 수 있었으므로, 플라스크 단위실험에서는 침전조수를 원심분리한 후의 슬러지를 10%(w/v) 접종하여 혼합 염료의 분해반응을 살펴보았다. 플라스크 단위에서의 염료분해 실험은 3일간만 진행되었는데, 이는 시험관 단위 실험에서 배양 7일 이후에는 색도제거율에 큰 차이가 나지 않았고, 배양 2일 이후에 색도 변화를 눈으로 확인할 수 있었기 때문이다. 배양 24시간 후, 플라스크에 든 액체배지에서 미생물량의 증가로 인하여 색도 변화를 육안으로 확인하기가 쉽지 않았다. 따라서 플라스크 배양기의 샘플들을 원심분리 하여 슬러지를 제거하고, 10배 희석 된 샘플의 흡광도를 측정 하였다. 대부분의 혼합염료의 경우, 배양 6시간 만에 색도가 뚜렷이 제거되는 것을 눈으로 확인 할 수 있는데, blue 및 orange 계열 염료혼합액 경우 배양 6시간 만에 색도가 제거가 되었지만, 그 이후 배양 시간에 따른 색도 변화가 별로 없음을 알 수 있었다. Red 계열 염료혼합액도 배양 6시간 이후에 차이 나게 색도 변화가 없었지만 ME 배지를 사용한 경우에는 확연한 차이를 관찰 할 수 있었다. 특히, BSM 또는 ME 배지를 사용한 black 계열 염료혼합액과 기본 염료혼합액 같은 경우는 거의 색도가 제거됐음을 확인할 수 있었다. 이는 네가지 다른 아조계 염료가 섞인 배지에 염색폐수 처리 activated sludge 공정에서 얻은 *Klebsiella sp.* 균주를 접종한 후 실험하여(Franciscan et al., 2009) 94% 이상의 제거 효율을 얻은 결과와 비슷하였다.

이상의 결과를 계산한 각 염료혼합액에 대한 색도 제거율의 결과는 Fig. 12에 나타내었다. 여러 계열의 혼합염료를 사용한 모든 플라스크 단위 실험에서는, 배양 6시간 안에 전체적으로 85% 이상의 색도 제거를 확인 할 수 있었는데, 특히 기본 염료혼합액의 경우 90% 이상의 색도제거율을 나타내었다. 평판배지에서

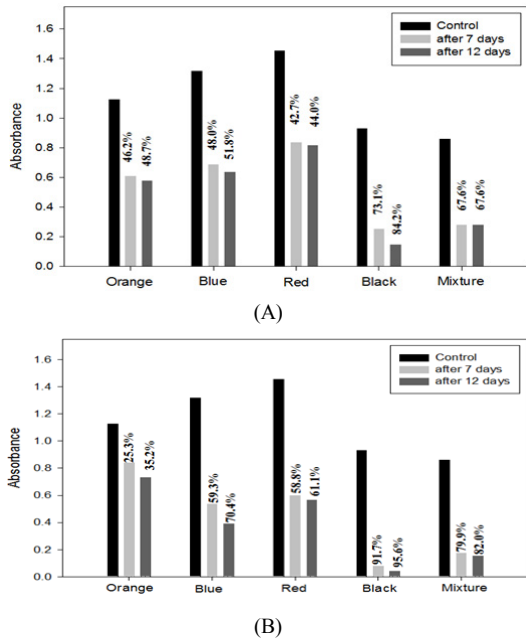


Fig. 11. Absorbances on various colors with 10-fold diluted samples of aeration-tank water (A) and Settling-tank water (B).

분리된 단일 colony에서는 염료분해능이 있는 colony를 분리하기 힘들었는데, 침전조수 sludge가 접종된 BSM와 ME 배지 모두에서 높은 색도 제거율을 확인함으로써 단일 균주가 아닌 혼합 균주를 이용해야 됨을 확인 할 수 있었다.

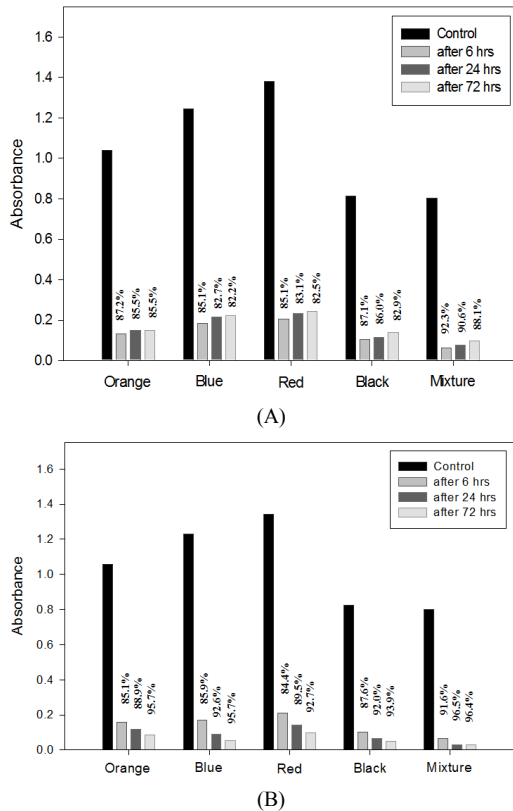


Fig. 12. Absorbances on various colors with 10-fold diluted samples. Reactions were executed on BSM medium (A) and ME medium (B).

#### 4. 결론

염색폐수의 색도처리 기술개발을 위해 부산시 피혁 폐수 처리장과 및 염색 폐수 처리장에서 유입원수, 폭기조수, 반송수, 침전조수를 샘플링하여 균주 순수 분리에 사용하였다. 염료분해능 균주 순수분리 후, 염료분해능을 확인하기 위해 tube와 flask 단위 실험을 수행하였다.

1. 피혁 유입원수, 폭기조수, 침전조수, 반송수에서 염료분해능이 뛰어난 6종의 미생물을 순수분리 하였는데, 3종의 세균은 *Comamonas testosteroni*, *Methylobacteriaceae bacterium* 및 *Stenotrophomonas sp.*으로 동정되었고 1종의 효모균은 *Kluyveromyces fragilis*로, 2종의 곰팡이균은 *Ascomycetes*와 *Basidiomycetes* 종류로 밝혀졌다.

2. 염색폐수처리장 반송수에서 분리된 곰팡이를 염료가 포함된 ME 액체배지에서 8일 동안 배양하고 흡광도를 측정된 결과, 기본염료혼합액은 93%의 색도 제거율이 나타났고, 광합성 세균과 1:1 혼합에서는 기본염료혼합액에서 약 88%의 염료제거율을 확인 할 수 있었다. 기본염료혼합액에서는 두 균의 1:1 혼합이 가장 좋은 결과를 나타내지 못했으나, 샘플과 곰팡이, 광합성세균의 단일적인 샘플에서는 비슷한 결과가 나왔으며, 각 색깔별 염료 혼합액에서는 두 균의 1:1 혼합이 더 좋은 결과를 가져왔다.

3. 염색처리장에서 받은 폭기조수와 침전조수를 BSM 배지에 접종할 결과, 폭기조수에 비해 침전조수가 접종된 tube에서 더 높은 제거율을 나타내었는데, 침전조수가 접종된 경우에는 모든 혼합염료액에서 65% 이상의 제거율이 나타났고, 그 중에서 특히 black 계열 염료혼합액에서는 96%의 높은 색도 제거율이 나타남을 알 수 있었다.

4. 염색처리장에서 채취한 침전수와 폭기조수를 ME 배지에 접종한 실험의 결과는 침전조수를 접종한 tube에서는 폭기조수를 접종한 tube의 결과보다 나은 결과를 보였는데, 특히, black 계열 염료 혼합액의 경우, 배양 12일 이후 95% 이상의 색도가 제거되었음을 확인할 수 있었다. 결론적으로 black 계열의 혼합염료인 경우, 폭기조수 및 침전수 내에 존재하는 염료분해미생물들에 의해 좋은 분해반응이 일어났음을 알 수 있었고, 기본 염료혼합물인 경우는 침전수 내에 존재하는 미생물들에 의해 잘 분해됨을 알 수 있었다.

5. 염색처리장의 침전조수를 100 ml flask에 실험한 결과, 여러 계열의 혼합염료를 사용한 모든 flask 실험에서 배양 6시간 안에 85% 이상의 색도 제거를 확인 할 수 있었는데, 특히 기본 염료 혼합액의 경우 90% 이상의 색도제거율을 나타내었다. Agar plate에서 분리된 단일 colony에서는 염료분해능이 있는 colony를 분리하기 힘들었는데, 침전조수 sludge가 접종된 BSM와 ME 배지 모두에서 높은 색도 제거율을 확인함으로써 단일 균주가 아닌 혼합 균주를 이용해야 됨을 확인 할 수 있었다.

이상의 결과를 볼 때, 염색처리장에서 채취한 폭기조수와 침전조수의 sludge에서 배양 6시간 안에 90% 이상의 염료분해능을 확인할 수 있었고, 단일 균주가 아닌 혼합 균주를 이용하고 충분히 활성화 시켜준다면 더 높은 색도분해를 기대할 수 있다고 사료된다.

#### 참 고 문 헌

- Banat, I.M., Nigam, P., Singh, D., Marchant, R., 1996, Microbial decolorization of textile-dye containing effluents: A review, *Bioresour. Technol.* 58(3), 217-227.
- Bhosale, S., Saratale, G., Govindwar, S., 2006, Biotransformation enzymes in *Cunninghamella blacksleeana* (NCIM-687), *J. Basic Microbiol.*, 46(6), 444-448.
- Boon, N., Goris, J., De Vos, P., Verstraete, W., Top, E.M., 2000, Bioaugmentation of activated sludge by an indigenous 3-chloroaniline-degrading *Comamonas testosteroni* strain, I2gfp, *Appl. Environ. Microbiol.*, 66(7), 2906-2913.
- Chen, K.C. Wu, J.Y. Huang, C.C. Liang, Y.M. and Hwang, S.C., 2003, Decolorization of azo dye using PVA-immobilized microorganisms, *J. Biotechnol.*, 101(3), 241-252.
- Chen, Z.B., Cui, M.H., Reu, N.Q., Cheu, Z.Q., Wang, H.C., Nie, S.K., 2011, Improving the simultaneous removal efficiency of COD and color in a combined HABMR-CFASR system based MPDW. Part 1: Optimization of operational parameters for HABMR by using response surface methodology, *Bioresour. Technol.*, 102(19), 8839-8847.
- Dhanve, R.S., Shedbalkar, U.U., Jadhav, J.P., 2008, Biodegradation of diazo reactive dye navy blue HE2R (reactive blue 172) by an isolated *Exiguobacterium* sp. RD3, *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, 13(1), 53-60.
- Dubey, A., Mishra, N., Singh N., Deb, A., Verma, S., 2010, Isolation of dye degrading microorganism. *Elect. J. Environ. Agric. Food Chem.*, 9(9), 1534-1539.
- Enayatizamir, N., Tabandeh, F., Rodriguez-Couto, S., Yakhchali, B., Alikhani, H.A., Mohammadi, L., 2011, Biodegradation pathway and detoxification of the diazo dye Reactive Black 5 by *Phanerochaete chrysosporium*. *Bioresour. Technol.*, 102(22), 10359-10362.
- Forss, J., Pinhassi, J., Lindh, M., Welander, U., 2012, Microbial diversity in a continuous system based on rice husks for biodegradation of the azo dyes Reactive Red 2 and Reactive Black 5, *Bioresour. Technol.*, 130, 681-688.
- Franciscon, E., Zille, A., Frantinatti-Garboggini, F., Silva, I.S., Cavaco-Paulo, A., Durrant L.R., 2009, Microaerophilic-aerobic sequential decolorization/biodegradation of textile azo dyes by a facultative *Klebsiella* sp. strain VN-31. *Process Biochem.*, 44(4), 446-452.
- Fu, L.Y. Wen, X.H. Xu, L.J. and Qian, Y., 2002, Removal of a copper-phthalocyanine dye from wastewater by acclimated sludge under anaerobic or aerobic conditions. *Process. Biochem.*, 37(10), 1151-1156.
- Hall, T.A., 1999. Bioedit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT, *Nucleic Acid Symp. Ser.*, 41, 95-98.
- Hong, J., Otaki, M., 2003, Effect of photocatalysis on biological decolorization reactor and biological activity of isolated photosynthetic bacteria, *J. Biosci. Bioeng.*, 96(3), 298-303.
- Kalme, S., Jadhav, S., Jadhav, M., Govindwar, S., 2009, Textile dye degrading laccase from *Pseudomonas desmolyticum* NCIM 2112, *Enz. Microbial Technol.* 44(2), 65-71.
- Kang, Y.T., Song, G.G., 2010, Apparatus and method for treatment of textile wastewater using anaerobic-aerobic biofilter and post ozone process., *KOR Patent: 10-2010-0093433*.
- Khalid, A., Arshad, M., Crowley, D.E., 2009, Bio-

- degradation potential of pure and mixed bacterial cultures for removal of 4-nitroaniline from textile dye wastewater, *Wat. Resour.*, 43(4), 1110-1116.
- Kim S.Y., Lee, J.W., Park, C.H., Choi, G.G., 2005, A mixed strains for wastewater treatment, and a method for biological treatment of textile wastewater., KOR Patent: 10-0512790-0000.
- Kolekar, Y.M., Pawar, S.P., Gawai, K.R., Lokhande, P.D., Shouche, Y.S., Kodam, K.M., 2008, Decolorization and degradation of disperse blue 79 and acid orange 10, by *Bacillus fusiformis* KMK5 isolated from the textile dye contaminated soil, *Bioresour. Technol.* 99(18), 8999-9003.
- Kockova-Kratochvilova, A., 1990. Yeasts and yeast-like organisms. VCH, New York.
- Lee, S.H., Park, I.H., Ryu, C.K., Park, W.S., Lee, S.H., Ryu S.H., Shin D.H., Park, J.H., 2012, Method for treating waste water, KOR Patent:10-1214991.
- Mishra, S.R., 2005. Morphology of fungi. Discovery Publishing House, New Delhi.
- Mukhopadhyay, A., Dasgupta A.K., Chakrabarti, K. 2012, Thermostability, pH stability and dye degrading activity of a bacterial laccase are enhanced in the presence of Cu<sub>2</sub>O nanoparticles, *Bioresour. Technol.* 127, 25-36.
- Pandey, A., Singh, P. Iyengar, L., 2007, Bacterial decolorization and degradation of azo dyes. *Int. Biodet. biodeg.* 59(2), 73-84.
- Park, D.H., Park, H.H., Kim, J.H., Ahn, S.G., 2011, Development of full scale plant for dyeing wastewater treatment using PEMT moving bed bio-film reactor, Report for ministry of environment, 071-091-142, Busan fashion color industry cooperative, Busan.
- Parshetti, G.K., Parshetti, S., Kalyani D.C., Doong R.A., Govindwar, S.P., 2012, Industrial dye decolorizing lignin peroxidase from *Kocuria rosea* MTCC 1532, *Ann. Microbiol.*, 62(1), 217-223.
- Phugare, S.S., Waghmare, S.R., Jadhav, J.P., 2011, Purification and characterization of dye degrading veratryl alcohol oxidase from *Pseudomonas aeruginosa* strain BCH, *World J. Microbiol. Biotechnol.* 27(10), 2415-2423.
- Rai, H., Bhattacharya, M., Singh, J., Bansal, T.K., Vats, P., Banerjee, U.C., 2005, Removal of dyes from the effluent of textile and dyestuff manufacturing industry: A review of emerging techniques with reference to biological treatment, *Crit. Rev. Environ. Microbiol.* 35(3), 219-238.
- Saratale, G.D., Bhosale, S.D., Kalme, S.D., Govindwar, S.P., 2007a, Biodegradation of kerosene in *Aspergillus ochraceus* (NCIM 1146), *J. Basic Microbiol.*, 47(5), 400-405.
- Saratale, R.G., Saratale, G.D., Chang, J.S., Govindwar, S.P., 2011, Bacterial decolorization and degradation of azo dyes: A review, *J. Taiwan Ins. Chem. Eng.* 42(1), 138-157.
- Senthilkumar, M., Gnanapragasam, G., Arutchelvan, V., Nagarajan, S., 2011, Treatment of textile dyeing wastewater using two-phase pilot plant UASB reactor with sago wastewater as co-substrate, *Chem. Eng. J.*, 166(1), 10-14.
- Shin, W.S., Jeong, Y.G., Shin, D.H., Kim, Y.H., Hyun, B.W., 2006, Biological treatment of dye waste-water using moving-bed bioreactor., KOR Patent: 10-0614561-0000.
- Srinivasan, A., Viraraghavan, T., 2010, Decolorization of dye wastewater by biosorbents: A review, *J. Environ. Manage.* 91(10), 1915-1929.
- Sung, G.D., Ryu, W.R., 2002, Removal method of color and COD on dyeing wastewater, KOR Patent: 10-2002-0023270.
- Yang, Q., Wang, J., Wang, H., Chen, X., Ren, S., Li, X., Xu, Y., Zhang, H., Li, X., 2012, Evolution of the microbial community in a full-scale printing and dyeing wastewater treatment system, *Bioresour. Technol.*, 117, 155-163.