

Trametes versicolor KCTC 16781에 의한 다양한 염료의 색도제거 특성

박철환 · 이유리 · 김탁현 · 이명구 · 이병환 · ¹이진원 · †김상용
한국생산기술연구원 청정설계기술팀, ¹광운대학교 화학공학과
(접수 : 2003. 7. 10. 게재승인 : 2003. 10. 25.)

Enzymatic Decolorization of Various Dyes by *Trametes versicolor* KCTC 16781

Chul Hwan Park, Yu Ri Lee, Tak Hyun Kim, Myung Gu Lee, Byung Hwan Lee, Jin Won Lee¹, and Sang Yong Kim†
Cleaner Production Design Technology Team, Korea Institute of Industrial Technology (KITECH),
ChonAn 330-825, Korea

¹Department of Chemical Engineering, Kwangwoon University, Seoul 139-710, Korea
(Received : 2003. 7. 10. Accepted : 2003. 10. 25.)

Due to the low biodegradability of dyes, conventional biological wastewater treatment systems are inefficient in treating dye wastewater. Various white-rot fungi were investigated for the decolorization of six industrial dyes (reactive blue 5, reactive blue 16, reactive black 5, acid black 52, reactive orange 16, and acid violet 43). Among ten fungi, *T. versicolor* KCTC 16781 was selected as a testing strain because this had the best performance of decolorization for six dyes from the results of the solid culture experiments. In liquid culture medium, *T. versicolor* KCTC 16781 decolorized over 96% of six dyes for 48 hrs. Laccase started to produce in the early stage of the culture, and showed the highest peak value of 2.3 U/mL in 24 hrs. Enzyme activity remained constant until the end of culture. Fungal decolorization is a promising alternative to replace or supplement present treatment process.

Key Words : White-rot fungi, synthetic dyes, decolorization, laccase, enzyme

서 론

합성염료는 가시광선을 선택적으로 흡수하여 고유한 색을 갖는 물질이며, 섬유 및 그 외의 소재에 친화성을 갖고 물이나 다른 매체로부터 선택적으로 흡수되어 염착하는 성질을 가지고 있다(1). 염료는 다양한 염색의 목적으로 응용되고 있으며, 고무, 플라스틱, 종이, 피혁, 유지, 모발 및 그 외 잡화 등의 염색 또는 착색과, 식품, 의약품, 화장품 등의 착색 또는 생체염색 등에서부터, 잉크, 도료, 지시약, 컬러사진과 문방용품까지 우리들의 생활문화에 필수불가결한 광범위한 용도로 활용되고 있다(2-3).

염료의 사용은 유출물 중 색도유발에 가장 큰 비중을 차지

하며, 경우에 따라 염료의 50% 이상이 목적물질에 고착되고, 나머지는 세척공정에서 폐수로 배출되어 폐수내 색도 및 오염부하를 유발하게 된다. 분자구조상 치환기가 아조(azo), 니트로(nitro) 또는 술포(sulpho) 등의 그룹들을 포함하고 있어 분해되기가 어렵고, 발암성 물질인 독성 방향족 아민(amine)의 형성을 야기하여 환경오염과 인체건강에 유해한 물질로 알려져 있다(4). 염료·염색 관련 산업폐수는 성분이 복잡할 뿐만 아니라, 공장규모에 비해 용수의 사용량도 많고, 폐수의 발생량도 많은 실정인으로서 근본적으로 오염물질의 양을 감소시키거나 효율이 우수한 공정의 마련이 시급한 실정이다. 물리·화학적 처리방법으로 흡착, 침전, 여과, 산화 등이 사용되고 있지만, 낮은 경제성과 넓은 정상범위를 가지는 염료·염색 폐수처리에 부적합한 단점을 가지고 있다(5-8).

오래전부터 생물학적 폐수처리에 관한 다양한 연구들이 꾸준히 진행되고 있으나, 전통적인 방법은 염료·염색 폐수처리 방법으로는 비효율적이며, 이를 극복하기 위하여 최근 특정 미생물이나 효소를 이용한 연구들이 활발히 진행되고 있는 실정이다. 특히, *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes*

† Corresponding Author : Cleaner Production Design Technology Team, Korea Institute of Industrial Technology (KITECH), ChonAn 330-825, Korea

Tel : +82-41-589-8356, Fax : +82-41-589-8330

E-mail : sykim@kitech.re.kr

versicolor, *Funalia trogii*, *Aspergillus niger*, *Pleuteous ostrea* 등에 의한 염료제거는 비특이적인 효소의 작용과 미생물흡착에 의해 이루어진다고 보고된 바 있다(9-12). 또한, 담자균류에 속하는 백색부후균은 각종 난분해성 물질을 비특이적으로 분해할 수 있는 리그닌 분해효소를 생산하는 것으로 보고되어 있으며, 이러한 리그닌 분해효소로는 lignin peroxidase (LiP; E.C.1.11.1.14), Mn(II)-dependent peroxidase (MnP; E.C.1.11.1.13), laccase (β -diphenol oxidase; E.C.1.10.3) 등이 알려져 있다(13-15). 이와 같은 효소는 염료분해에 관여하는 경우와 관여하지 않는 경우가 모두 존재하는 것으로 알려져 있다(16-18). *P. chrysosporium*에 의한 아조, 트리페닐메탄 (triphenyl methane), 헤테로환 (heterocyclic)과 고분자 (polymeric) 염료의 색도제거의 경우, 이러한 염료의 분해에 LiP가 주요한 역할을 한 반면, MnP는 관여하지 않았다는 연구결과가 보고되었다(16). *T. versicolor*에 의한 아조, 안트라퀴논 (anthraquinone), 금속착염 (metal complex), 인디고 (indigo)의 색도제거 연구에서는 이러한 염료분해에 MnP는 관여하지 않은 반면, ligninase-catalyzed oxidation이 염료의 80% 이상을 제거하였다고 보고되었다(17). 그러나, Zhang 등은 확인되지 않은 백색부후균에 의한 면섬유표백 유출액의 색도제거 과정에서 MnP가 중요한 역할을 한 반면, LiP의 명확한 역할은 없었다고 보고하였다(18). *T. versicolor*에 의한 안트라퀴논, 아조, 인디고 염료의 색도제거에 관한 주요기작 연구에서 세포의 효소인 laccase의 활성화와 염료분해와의 관계에 대한 해석이 이루어졌고(19), 이외에도 다양한 효소의 기작과 해석을 위한 활발한 연구들이 지속적으로 진행 중에 있다.

본 연구에서는 염료의 분해율이 우수하다고 알려진 10가지 백색부후균을 이용하여 국내의 다양한 산업적 염료에 적용하고, 고체배양을 통하여 염료분해능이 우수한 균주를 선별하였다. 또한, 액체배양을 통하여 선별된 고활성 균주에 의한 각각의 염료에 대한 색도제거 경향 및 생산된 효소와 염료의 분해특성과의 상관관계를 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

균주

본 연구에서는 *Neurospora crassa* KCTC 6124, *P. chrysosporium* KCTC 6147, *T. versicolor* KCTC 16781, *P. chrysosporium* KCCM 60256, *A. niger* KCCM 60317, *N. crassa* KCCM 60456, *T. versicolor* ATCC 12679, *P. ostreatus* ATCC 34675, *P. ostreatus* ATCC 9427, *Sclerotium rolfisii* ATCC 200224의 다양한 균주를 국내의 기관으로부터 분양받았다. 각각의 균주들은 PDA (potato dextrose agar)를 이용하여 3개월마다 계대배양하여 냉장상태에서 보관하였고, 고체배양균은 일정한 크기로 절단하여 glycerol liquid stock (15% glycerol)에 넣어 -80℃에서 냉동보관하였다.

배지 및 배양방법

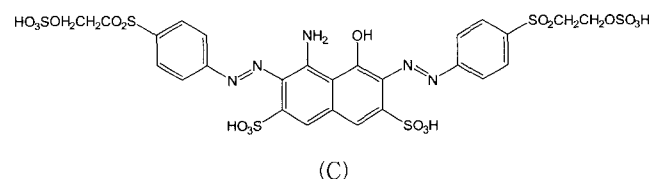
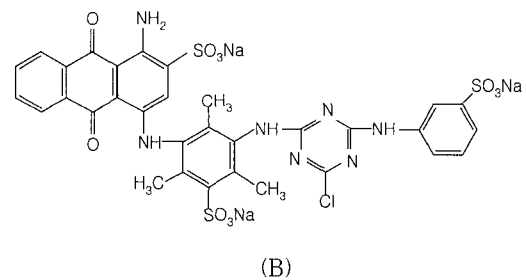
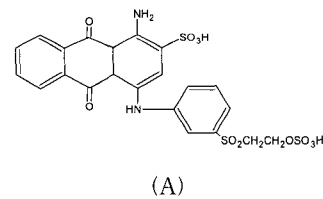
고체배양 실험을 위하여 PDA에서 배양하여 활성화된 균주를 약 1 cm² 크기로 절단한 후, 100 mg/L의 염료를 함유한 고체배지에 접종하여 28℃에서 배양하였다.

액체배양 실험은 성장배지 (PDB, potato dextrose broth)에서 4일간 배양하고, 활성화된 증배양액을 균질기 (Nissei AM-8 homogenizer, Japan)를 이용하여 2000 rpm에서 15초간 균질화시킨 후, 10%를 접종하여 28℃, 100 rpm에서 진탕배양하였다. 사용된 배지조성은 5 g/L glucose, 0.22 g/L ammonium tartarate, 0.2 g/L KH₂PO₄, 0.05 g/L MgSO₄ · 7H₂O, 0.01 g/L CaCl₂, 1 mg/L thiamine과 10 mL trace elements였으며, 배지의 pH는 2,2-dimethyl succinic acid를 이용하여 4.5로 조절하였다(20). Trace elements의 성분은 0.08 g/L CuSO₄, 0.05 g/L H₂MoO₄, 0.07 g/L MnSO₄ · 4H₂O, 0.043 g/L ZnSO₄ · 7H₂O와 0.05 g/L Fe₂(SO₄)₃였다.

염료 및 염료의 색도제거율

곰팡이를 활용한 다양한 염료의 색도제거율을 확인하기 위하여 대표적인 산업적 염료인 reactive blue 19, reactive blue 49, reactive black 5, acid black 52, reactive orange 16, acid violet 43 등을 사용하였다. 이들은 아조계, 안트라퀴논계와 금속착염계의 염료이며, 구조식을 Fig. 1에 나타내었다.

시간에 따른 염료의 색도제거 경향은 일정량의 시료를 취하여 200 nm에서 800 nm 범위에서 분광광도계 (Bio-Tek Instruments, Milano, Italy)를 이용하여 측정하였고, 각각의 염료의 색도제거율은 최대파장에서 흡광도의 변화를 측정하여 계산하였다.



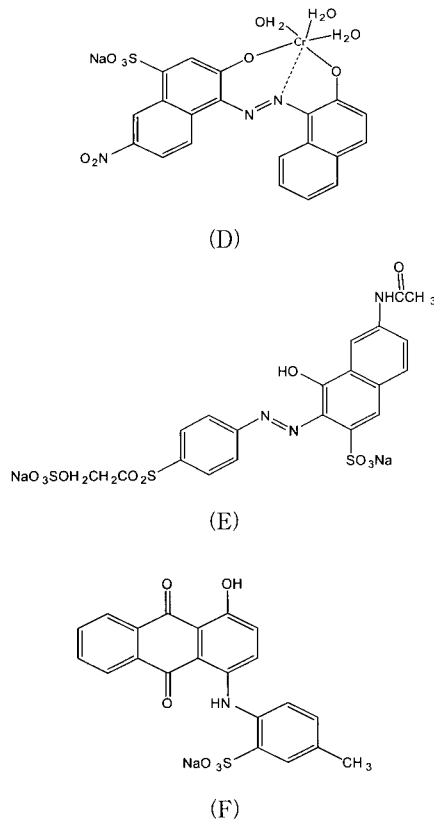


Figure 1. Chemical structure of six dyes: (A) reactive blue 19, (B) reactive blue 49, (C) reactive black 5, (D) acid black 52, (E) reactive orange 16, and (F) acid violet 43.

Laccase의 효소활성도 측정

플라스크에서 배양한 배양액을 10분간 원심분리한 후 상등액을 효소원으로 하여 반응액과 반응시킨 다음 분광광도계를 이용하여 laccase의 활성도를 측정하였다. 효소 반응액은 Mellvaine (pH 4.6) 완충액 2.5 mL와 배양 상등액 0.5 mL를 혼합하여 40°C에서 5분간 예열한 후, 4.47 mM syringaldazine 10 µL를 첨가하여 1분간 반응시켜 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소활성 1 Unit는 분당 1.0의 흡광도를 증가시키는 효소의 양으로 정의하였다(21).

결과 및 고찰

다양한 염료에 대한 10종 균주의 염료분해 경향을 확인하고, 그 중 우수 균주를 선별하고자 고체배양을 수행하였으며, 선별된 고활성 균주의 염료분해 특성파악 및 효소와의 상관관계를 파악하기 위하여 액체배양을 수행하였다.

먼저, 고체배양을 통하여 산업적 염료 6가지에 대하여 10종 균주의 염료분해 경향을 확인하였다(Table 1). 본 연구에서는 안트라퀴논 염료 (acid violet 43, reactive blue 49, reactive red 19)와 아조염료 (reactive black 5, reactive orange 16), 금속착염산성염료 (acid black 52, 1:1)를 적용하였다. *P. chrysosporium* KCTC 6147과 *P. chrysosporium* KCCM 60256

은 모든 염료의 색도를 부분적으로 제거하였으며, 특히, *P. chrysosporium* KCCM 60256은 reactive blue 49와 reactive black 5의 색도를 완전히 제거시켰다. *N. crassa* KCTC 6124과 *N. crassa* KCCM 60456은 reactive blue 49, reactive black 5와 acid black 52 염료의 색도를 부분적으로 제거하였다. *T. versicolor* KCTC 16781은 6가지의 염료를 다른 9종의 균주와 비교하여 색도를 더 효율적으로 제거하였으며, 배양 10일이 지난 후에는 모든 염료의 색도를 완전히 제거시켰고, *T. versicolor* 12679의 경우, reactive black 5를 제외하고 다른 염료의 색도를 부분적 또는 전체적으로 제거시켰다. 그러나, *P. ostreatus* ATCC 9427과 *S. rofsill* ATCC 200224는 대부분의 염료에 대한 색도제거율이 낮았다. 10종의 균주 중, 모든 염료를 효율적으로 분해한 고활성 균주 *T. versicolor* KCTC 16781을 선정하여 좀더 다양한 분해경향과 효소활성도를 조사하고자 액체배양 실험을 수행하였다.

Table 1. Dye decolorization by ten fungi by the solid culture experiments

Strains	Decolorization					
	Reactive blue 19	Reactive blue 49	Reactive black 5	Acid black 52	Reactive orange 16	Acid violet 43
<i>N. crassa</i> KCTC 6124	+	+	+	+	-	-
<i>P. chrysosporium</i> KCTC 6147	+	+	+	+	+	+
<i>T. versicolor</i> KCTC 16781	+++	+	+++	++	+++	+++
<i>P. chrysosporium</i> KCCM 60256	+	+++	+++	+	+	+
<i>A. niger</i> KCCM 60317	-	-	-	-	-	-
<i>N. crassa</i> KCCM 60456	-	+	+	+	-	-
<i>T. versicolor</i> ATCC 12679	+	+	-	+	+	+++
<i>P. ostreatus</i> ATCC 34675	+	+	-	+	-	++
<i>P. ostreatus</i> ATCC 9427	-	-	-	-	-	-
<i>S. rofsii</i> ATCC 200224	-	-	-	-	-	-

***Complete decolorization within 10 days, **Complete decolorization within 15 days, *Partial decolorization, and No decolorization

Table 2. Decolorization rate with and without homogenizing pretreatment

Dyes	Pellet type		Homogenizing type	
	Decolorization (%)	Final pH	Decolorization (%)	Final pH
Reactive yellow	60.2	4.04	88.3	4.30
Reactive red	77.1	3.55	99.1	4.03
Dispersed yellow	86.4	4.12	90.1	4.19

균집중시 전처리가 색도제거율에 미치는 영향을 확인하기 위해서 *T. versicolor* KCTC 16781을 성장배지에서 배양한 후, 균질화한 종배양액을 접종한 경우와 펠렛 (pellet) 상태의 종배양액을 접종하는 경우의 두 가지 형태에 따른 색도제거율을 비교하여 Table 2에 나타내었다. 배양액의 최종 pH는 4.0±0.5로 큰 차이가 없었으며, 색도제거율의 경우, 균주의

균질화 전처리를 수행하여 15-20% 향상된 높은 색도제거율을 보여주었다. 이는 미생물을 파쇄함으로써 표면적이 넓어지고, 세포 내에 있던 효소로 인해 향상된 색도제거 결과를 보이는 것으로 판단된다. 세포내와 세포외 효소의 차이점을 연구한 결과에 따르면 세포내 효소의 활성 비율이 5.9%였다. 이는 리그닌 분해 효소가 주로 세포외 효소이지만, 백색 부후균의 세포내에도 존재하는 것으로 보고되었으며, 이와 같이 laccase도 세포내에 존재함을 확인한 결과가 보고되었다(22).

고체배양을 통해 선별된 고활성 균주 *T. versicolor* KCTC 16781의 결과와 균질화 전처리 실험을 통해 얻은 결과를 활용하여, 성장배양액을 균질화한 후 6가지 염료의 색도제거 특성과 효소활성도를 파악하기 위하여 액체배지에서 염료제거 실험을 수행하였다. 안트라퀴논 염료인 reactive blue 19와 reactive blue 49의 색도제거율과 효소활성을 Fig. 2에 나타내었다. Reactive blue 19와 reactive blue 49는 분광광도 측정결과 최대파장이 각각 594 nm와 586 nm였다. 두 염료 모두 균주 배양 8시간 내에 색도가 급격히 감소하였으며, 균주의 성장기간동안 laccase의 생산이 시작됨을 확인하였다. 또한, Reactive blue 19와 reactive blue 49는 배양 8시간 이내에 80% 이상 색도가 제거되었고, 8시간 이후 남아있던 염료는 서서히 제거되어 16시간 이후 색도제거율이 93%에 도달하였다. Reactive blue 19의 분해실험에서 효소활성은 52시간에 최대 값인 2.5 U/mL를 나타내었으며, 시간이 경과하여도 효소활성을 유지하였다. Reactive blue 49 분해실험에서는 reactive blue 19보다 3배 빠른 16시간에 최대 효소활성 2.5 U/mL에 도달하였고, 배양 종료시점까지 효소활성이 유지되

었다.

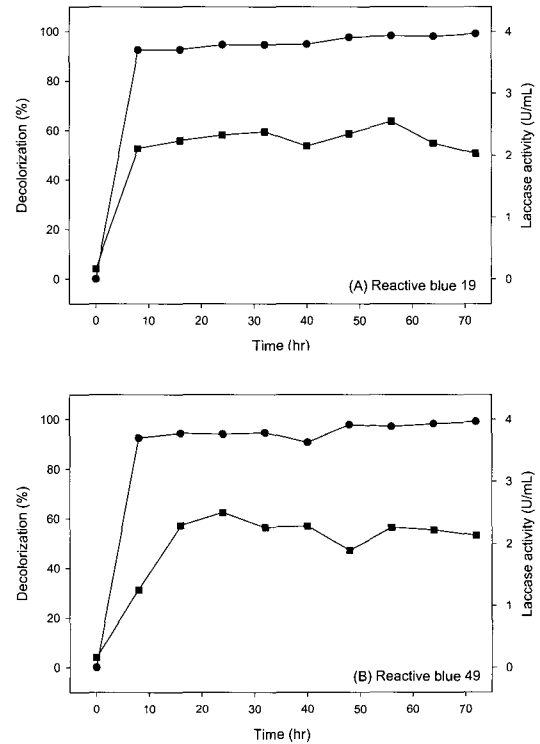


Figure 2. Decolorization and laccase activity of (A) reactive blue 19 and (B) reactive blue 49 by *T. versicolor* KCTC 16781 (●: decolorization, ■: laccase activity).

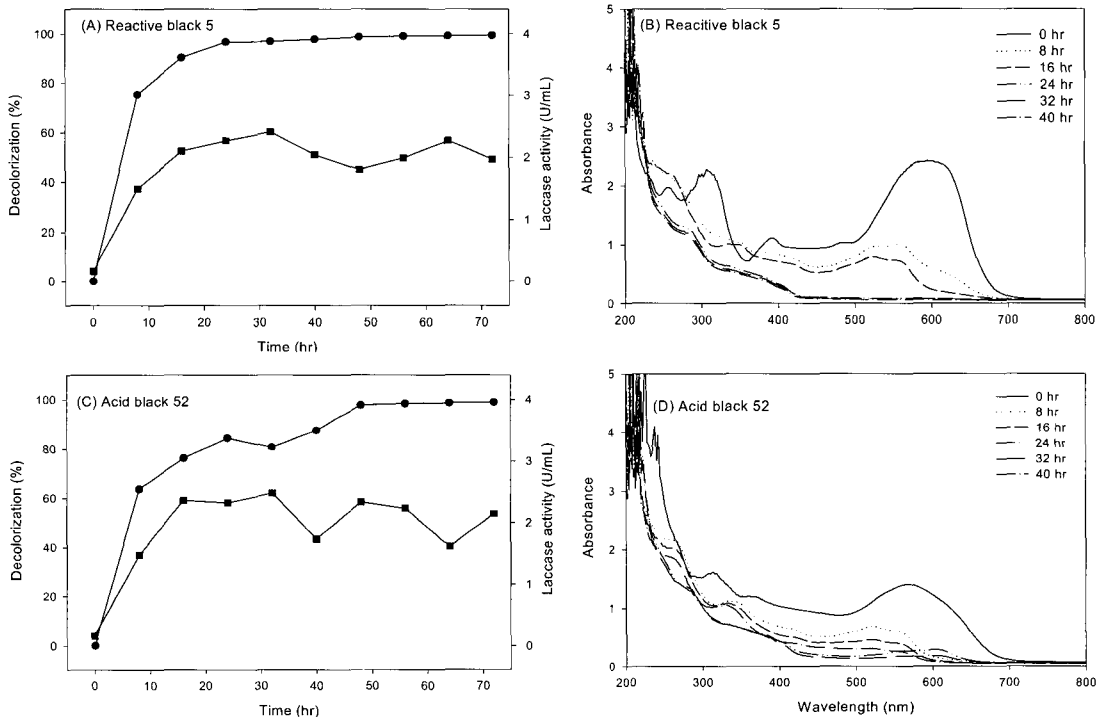


Figure 3. Decolorization and laccase activity of (A) reactive black 5 and (C) acid black 52, and absorption spectra of (B) reactive black 5 and (D) acid black 52 by *T. versicolor* KCTC 16781 (●: decolorization, ■: laccase activity).

Reactive black 5는 아조계, acid black 52는 금속착염계 구조를 가지는 염료이며, 각각에 대하여 시간에 따른 색도제거율, 색도제거 스펙트라 및 효소활성을 Fig. 3에 나타내었다. Reactive blue 19와 reactive blue 49는 시간이 지남에 따라 본래의 색이 사라지면서 완전하게 제거되는 반면, reactive black 5와 acid black 52는 색이 전이되는 현상을 보였다. Reactive black 5의 제거 실험에서, 600 nm의 최대파장이 배양 8시간, 16시간에 각각 556 nm와 524 nm로 전이되었으며, 배양 16시간 이후에는 남아있던 염료가 빠르게 분해되면서 파장 600 nm에서의 흡광도가 0에 접근하였다. 최대파장인 600 nm에서의 흡광도 변화로부터 계산된 색도제거율은 우수하게 보이나, 검은색이 오렌지색으로 변하여 시각적인 감소는 미약하였다. 그러나 배양 24시간 이후에 오렌지색도 사라지면서 색도제거율이 100%에 도달하였다. Acid black 52 또한 최대파장의 위치가 배양 8시간 후에 568 nm에서 522 nm로 전이되었다. 이러한 최대파장의 변화로부터 염료가 다른 중간물질로 변환된 것을 알 수 있었다. *Geotrichum sp.* CCMI 1019균주에 의한 reactive black 5의 색도제거에서도 본 연구의 결과와 유사하게 두개의 최대파장이 이동하였으며, 다른 색을 띠는 미지의 중간물질이 생성된 연구결과가 보고된 바 있다(23).

Reactive black 5의 분해실험에서, 색도제거율은 초기 8시간만에 약 80%, 24시간에 99%에 도달하여 빠른 제거속도를 보였다. 효소활성은 점차적으로 증가하여 32시간에 최대값(2.3 U/mL)에 도달한 후, 1.8 U/mL에서 2.0 U/mL 사이의 미미한 효소활성도 변화를 보였다. Acid black 52의 분해실험에서는 반응 초기에 60%의 색도제거율에서 서서히 증가하여 48시간내에 제거율 98%에 도달하였다. Reactive black 5에 비해 색도제거 속도는 2배정도 느렸으며, 효소활성은 큰 차이 없이 32시간 반응 후 2.5 U/mL를 나타내었다.

안트라퀴논계인 acid violet 43과 아조계 reactive orange 16의 시간에 따른 색도제거율과 효소활성을 Fig. 4에 나타내었다. 두 염료의 초기 반응은 대조적인 경향을 보여주었다. Acid violet 43의 분해실험에서는 접종후 색도제거 속도가 매우 빨랐다. 이는 중배양액에 함유된 적은 양의 효소가 acid violet 43의 색도제거에 두드러진 영향을 미친것으로 판단되며, acid violet 43은 다른 염료에 비해 적은 효소활성도로도 색도제거 반응이 쉽게 일어나는 것을 알 수 있었다. 그러나, reactive orange 16은 초기 반응속도가 느리고, 서서히 염료가 분해되는 경향을 보였다. 다른 염료들은 8시간이나 16시간내에 거의 90% 이상의 색도제거율을 보여주었으나, reactive orange 16은 색도제거율이 8시간에 22%, 16시간에 45%였고, 24시간에 90%를 나타내었다.

Young과 Yu도 *T. versicolor*를 사용하여 염료의 색도제거에 관한 연구를 수행하였는데, indigo carmine (92.8%), reactive blue 15 (91.4%), acid violet 7 (12.4%), reactive black 5 (11.3%), acid green 27 (0.2%)의 매우 다양한 분해결과를 보여주었다(17). Indigo carmine과 reactive blue 15는 90% 이상의 색도제거율에 도달하기 위해서 9일이 소모되었고, 일부 염료는 9일 이후에도 20% 이하의 낮은 색도제거율을 보였다. 특히, reactive black 5의 경우, 본 연구에서는 배양 3일 이내에 색도제거율이 100%에 도달한 반면, Young과

Yu의 연구에서는 단지 11.3%만 색도가 제거됨으로써 상당한 색도제거 결과의 차이를 보였다.

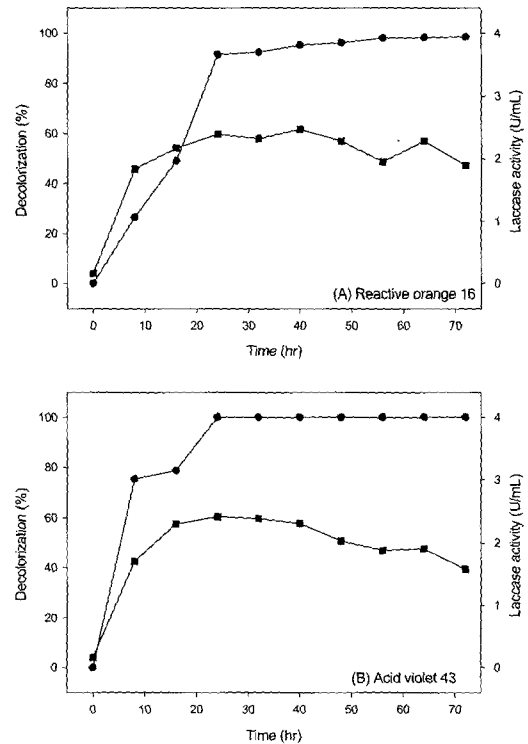


Figure 4. Decolorization and laccase activity of (A) reactive orange 16 and (B) acid violet 43 by *T. versicolor* KCTC 16781 (●: decolorization, ■: laccase activity).

요약

고체배양을 통해 10종의 균주 중에서 선별된 고효율 균주인 *T. versicolor* KCTC 16781은 100 mg/L의 6가지 염료 (reactive blue 19, reactive blue 49, reactive black 5, acid black 52, reactive orange 16, and acid violet 43)를 15일 이내에 효율적으로 분해하였다. *T. versicolor* KCTC 16781은 액체배양에서 반응 2-3일 이내에 6가지 염료의 색도를 100% 제거시켰으며, 배양 초기에 빠른 속도로 효소를 생산하여 높은 활성을 보였다. 이로 인해 색도제거 속도가 기존의 연구에 보고된 결과들보다 우수함을 입증하였다. 서로 다른 종류의 염료분해 실험에서, 효소활성이 반응 초기에 작은 차이를 보였지만, 최대 효소활성에 도달한 후의 값이 2.0 ± 0.5 U/mL의 범위에 들어 염료의 종류에 관계없이 비슷한 범위의 활성을 보이는 것을 확인할 수 있었다. 염료의 색도제거가 완벽하게 이루어진 후에도 효소활성은 감소하지 않았으며, 배양 말기까지 2.0 U/mL 이상의 효소활성을 유지하여 고농도의 염료를 제거할 수 있는 가능성을 보였다.

감사

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

REFERENCES

1. O'Neil, C., F. R. Hawkes, D. L. Hawkes, N. D. Lourenco, H. M. Pinheir, and W. Delee (1999), Colour in textile effluents-sources, measurement, discharge consents and simulation: a review, *Chem. Technol. Biotechnol.* **74**, 1009-1018.
2. Donmez, G. (2002), Bioaccumulation of the reactive textile dyes by *Candida tropicalis* growing in molasses medium, *Enzyme Microb. Technol.* **30**, 363-366.
3. Kapdan, I. K., F. Kargi, G. McMullan, and R. Marchant (2000), Effect of environmental conditions on biological decolorization of textile dyestuff by *C. versicolor*, *Enzyme Microb. Technol.* **26**, 381-387.
4. Fu, Y. and T. Viraraghavan (2001), Fungal decolorization of dye wastewaters: a review, *Biores. Technol.* **79**, 251-262.
5. Lin, S. H. and F. C. Peng (1994), Treatment of textile wastewater by electrochemical methods, *Water Res.* **2**, 277-282.
6. Kim, S., C. Park, T.-H. Kim, J. Lee, and S.-W. Kim (2003), COD reduction and decolorization of textile effluent using a combined process, *J. Biosci. Bioeng.* **95**, 102-105.
7. Calabro, V., E. Drioli, and F. Matera (1991), Membrane distillation in the textile wastewater treatment, *Desalination.* **83**, 209-224.
8. Ramakrishna, K. and T. Viraraghavan (1997), Dye removal using low cost adsorbents, *Water Sci. Technol.* **30**, 189-196.
9. Benito, G. G., M. P. Miranda, and D. R. D. L. Santos (1997), Decolorization of wastewater from an alcoholic fermentation process with *Trametes versicolor*, *Biores. Technol.* **61**, 33-37.
10. Shahvali, M., M. M. Assadi, and K. Rostami (2000), Effect of environmental parameters on decolorization of textile wastewater using *Phanerochaete chrysosporium*, *Bioprocess Eng.* **23**, 721-726.
11. Panswad, T. and W. Luangdilok (2000), Decolorization of reactive dyes with different molecular structures under different environmental conditions, *Water Res.* **34**, 4177-4184.
12. Swamy, J. and J. A. Ramsay (1999), The evaluation of white rot fungi in the decoloration of textile dyes, *Enzyme Microb. Technol.* **24**, 130-137.
13. Rodriguez, E., M. A. Pickard, and R. Vazquez-Duhalt (1999), Industrial dye decolorization by laccase from ligninolytic fungi, *Curr. Microbiol.* **38**, 27-32.
14. Kirby, N., R. Marchant, and G. McMullan (2000), Decolourisations of synthetic textile dyes by *Phlebia tremillosa*, *FEMS Microbiol. Lett.* **188**, 93-96.
15. Robinson, T., B. Chandran, and P. Nigam (2001), Studies on the production of enzymes by white-rot fungi for the decolorization of textile dyes, *Enzyme Microb. Technol.* **29**, 575-579.
16. Ollikka, P., K. Alhonmaki, V. Leppanen, T. Glumoff, T. Rajola, and I. Suominen (1993), Decolorization of azo, triphenyl methane, heterocyclic, and polymeric dyes by lignin peroxidase isoenzymes from *Phanerochaete chrysosporium*, *Appl. Environ. Microbiol.* **59**, 4010-4016.
17. Young, L. and J. Yu (1997), Ligninase-catalyzed decolorization of synthetic dyes, *Water Res.* **31**, 1187-1193.
18. Zhang, F.-M. and J. S. Knapp, and K. N. Tapley (1999), Decolourisation of cotton bleaching effluent with wood rotting fungus, *Water Res.* **33**, 919-928.
19. Wong, U. and J. Yu (1999), Laccase-catalyzed decolorization of synthetic dyes, *Water Res.* **33**, 3512-3520.
20. Kapdan, I., F. Kargi, G. McMullan, and R. Marchant (2000), Comparison of white-rot fungi cultures for decolorization of textile dyestuffs, *Bioprocess Eng.* **22**, 347-351.
21. Criquet, S., S. Tagger, G. Vogt, G. Iacazio, and J. L. Petit (1999), Laccase activity of forest litter, *Soil Biol. Biochem.* **31**, 1239-1244.
22. Oh, K.-K., H.-S. Kim, J.-H. Lee, and Y.-J. Jeon (1999), Production of laccase by *Trametes sp.* CJ-105, *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **27**, 477-483.
23. Maximo, C., M. T. P. Amorim, and M. Costa-Ferreira (2003), Biotransformation of industrial reactive azo dyes by *Geotrichum sp.* CCMI 1019, *Enzyme Microb. Technol.* **32**, 145-151.