

## 연속회분식반응조 공정에서 슬러지 체류시간과 중금속 독성의 관계

김금용 · 조영철 · 이상일<sup>†</sup>

충북대학교 공과대학 환경공학과

(2007년 1월 30일 접수, 2007년 2월 22일 채택)

## Relationship between Toxicity of Heavy Metals and Sludge Retention Time in Sequencing Batch Reactor Process

Keum-Yong Kim · Young-Cheol Cho · Sang-Ill Lee<sup>†</sup>

Department of Environmental Engineering, Chungbuk National University

**ABSTRACT :** In order to elucidate the relationship between the sludge retention time(SRT) and the toxicity of heavy metals, such as copper (Cu), cadmium(Cd), and zinc(Zn), in sequencing batch reactor(SBR) process, IC<sub>50</sub> was estimated with measuring of INT-dehydrogenase activity in variable SRTs. When the concentrations of heavy metals were increased, the activity of INT-dehydrogenase was gradually decreased indicating the heavy metals inhibit bacterial activity. Cu showed higher toxicity than Zn and Cd. IC<sub>50</sub> of Cu, Cd, and Zn ranged from 0.37~1.96 mg/L, 15.4~16.9 mg/L, and 9.70~23.4 mg/L, respectively. The toxicity of Cu and Zn was reversely proportional to the length of SRT. It is probably caused by the increased concentration of extracellular polymeric substances in longer SRT which absorb heavy metals. Therefore, the operation of SBR with increased SRT is desirable in treatment of industrial wastewater containing heavy metals.

**Key Words :** Sequencing Bach Reactor, Sludge Retention Time, Heavy Metals, INT-dehydrogenase Activity, Extracellular Polymeric Substances

**요약 :** 연속회분식반응조(SBR) 공정에서 슬러지 체류시간(SRT)에 따른 중금속의 독성도 변화를 측정하였다. 중금속은 구리(Cu), 카드뮴(Cd) 및 아연(Zn)을 사용하였고, SRT는 2~30일로 변화시켰으며, 독성도는 INT-dehydrogenase 활성도의 변화로 측정하였다. 중금속의 농도가 증가함에 따라 독성도가 증가하였으며, Cu가 Zn 및 Cd 보다 독성도가 높았다. SRT를 변화시켰을 때 IC<sub>50</sub> 값이 Cu의 경우 0.37~1.96 mg/L의 범위를 나타내었으며, Cd의 경우는 15.4~16.9 mg/L를 나타내었다. 또한 Zn의 경우는 9.70~23.4 mg/L의 범위를 나타내었다. Cu와 Zn의 경우, SRT가 증가함에 따라 독성이 감소하였으며, 이는 긴 SRT에서 세포의 중합체의 농도가 증가하기 때문인 것으로 판단된다. 따라서 중금속을 포함한 산업폐수를 처리하는 SBR 공정에서 SRT를 길게 운영하는 것이 바람직할 것으로 판단된다.

**주제어 :** 연속회분식반응조 공정, 슬러지 체류시간, 중금속 독성, INT-dehydrogenase 활성도, 세포의 중합체

### 1. 서 론

산업폐수 중에 포함된 독성물질은 크게 중금속과 유기화합물질로 나누어진다. 수생태계로 유입된 중금속은 생물체 내에 축적되어 생태계를 파괴하고 수질 악화를 초래하기 때문에, 폐수에 포함된 중금속은 처리과정에서 반드시 제거되어야 한다. 그러나 중금속과 같은 독성물질은 폐수처리에 관여하는 미생물의 활성을 저해하여 생물학적 처리효율을 떨어뜨리기 때문에,<sup>1~3)</sup> 중금속이 포함된 산업폐수를 적절히 처리하기 위하여 중금속에 의한 독성을 저감시키는 공정 운전 조건의 확립에 대한 연구가 필요하다.<sup>4)</sup>

생물학적 폐수 처리에서 산화-환원 반응에 관여하는 효소들이 유기물 분해에 주로 관여하며, 중금속은 미생물의 효소작용을 손상시킴으로써 미생물에 독성을 나타낸다. 따라서 산

화-환원 효소의 활성 변화를 측정하여 중금속에 의한 독성을 평가할 수 있다. Dehydrogenase는 산화-환원 효소 중 대표적인 것으로 이의 활성을 측정하는 방법이 간단하고 비용이 적기 때문에 많은 연구자들에 의해 사용되었다.<sup>5~7)</sup> 효소를 이용한 물질의 독성평가 방법은 미생물의 활성을 이용한 다른 방법, 예를 들어 발광미생물법이나 미생물 호흡률 측정법에 비해 배양조건의 변화에 민감하지 않으며 반응이 빨라 단시간에 측정할 수 있다는 장점이 있어 널리 사용되고 있다.

INT[2-(p-iodophenyl)-3-(p-nitrophebyl)-5-phenyl tetrazolium chloride]는 에너지 생성과정인 전자전달계(ETS, electron transport system)에 관여하는 효소에 의해 환원되면 불용성이고 적색을 띠는 INT-formazan을 생성한다. 많은 연구 결과에 따르면 INT를 사용하여 측정한 전자전달계의 활성도와 미생물 호흡률 간에 양의 상관관계가 있으며, 이것과 dehydrogenase 활성도와는 직선적 상관관계가 있는 것으로 알려져 있다.<sup>6)</sup> 따라서 INT의 변환정도를 통하여 미생물의 활성도

<sup>†</sup> Corresponding author

E-mail: gatorlee@chungbuk.ac.kr

Tel: 043-261-2469

Fax: 043-272-2469

를 측정할 수 있으며, 역으로 물질의 독성도를 평가할 수도 있다. 즉 미생물이 독성물질에 피해가 적어 호흡률이 높을 경우에 INT-formazan을 많이 생성하며, 독성물질에 크게 피해를 받은 경우에는 호흡에 저해를 받아 INT-formazan이 적게 생성된다.

본 연구에서는 산업폐수에서 발견되어지는 유해한 유기성 오염물질을 처리하는데 경제적인 것으로 알려져 있는 연속회분식반응조(SBR, sequencing batch reactor) 공정에서 이 공정의 중요한 운전조건인 슬러지 체류시간(SRT, sludge retention time)의 변화에 따른 중금속의 독성도의 변화를 측정하였다. 독성은 INT-dehydrogenase의 활성도 변화로 측정하였으며, 독성물질은 산업폐수 중에 있는 대표적인 중금속인 구리(Cu), 카드뮴(Cd) 및 아연(Zn)을 사용하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 연속회분식반응조 공정의 운영

본 연구에서는 SBR 공정을 사용하였으며, C시 환경사업소의 도시하수를 유입수로 사용하였다(Table 1). 크기가 10 L인 반응조를 5조 운영하였으며, 각각의 SRT를 2, 5, 9, 14 및 30일로 설정하였다. 회분식 공정에서 수리학적 체류 시간(HRT, hydraulic retention time)을 6시간으로 운영하였다. 유입수의 주입(fill)-호기성 반응(aerobic)-침전(settle)-유출(decant)의 단계별 시간은 각각 30분-40분-30분-10분(1시간 50분)이었으며, 나머지 4시간 10분 동안은 공폭기를 시키는 방법으로 운전하였다. 호기성 조건에서 용존산소(DO)의 농도는 2-3 mg/L를 유지하였다. 시스템이 안정화 된 이후 각 반응조의 MLSS(mixed-liquor suspended solids)는 SRT 2, 5, 9, 14 및 30일에서 각각 850, 1,400, 2,200, 2,810 및 3,670 mg/L로 나타났으며, 독성 실험시 동일한 개체수가 존재하는 상태에서 분석을 하기 위하여 반응조에서 채취한 미생물을 임의로 1,000 mg/L의 농도로 맞추어서 분석을 하였다.

### 2.2. 독성 실험 방법

SRT가 다른 5개의 공정을 3개월 운영하여 각 공정이 정상상태(steady-state)에 도달한 후 슬러지를 채취하여 독성 실험을 실시하였다. 독성실험은 슬러지 용액(4.5 mL), 기질 용액(1.0 mL), 중금속 용액(0.5 mL)을 섞어 만든 반응용액을 사용하여 실시하였다. 활성슬러지 용액은 각 공정에서 취한 슬러지를 1,000( $\pm 100$ ) mg/L이 되도록 희석하고 pH를 7.6으로 조정한 후 사용하였다. 활성슬러지의 기질은 아세트산(acetate) 용액(150 mg-COD/L)을 사용하였다. 실험에 사용한 중금속은 아연(Zn), 구리(Cu) 및 카드뮴(Cd)이었다. 반응용액 중 중금속의 최종농도는 Cu의 경우 0, 0.5, 1.5, 2.5, 3.5 mg/L를 사용하였으며, Cd의 경우에는 0, 1, 2, 4, 8, 16, 32 mg/L를 사용하였다. 또한 Zn의 최종농도는 0, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 50 mg/L이었다.

중금속에 의한 활성슬러지의 활성도 저해 정도는 INT를 사용하여 측정하였다. 활성슬러지와 중금속을 섞은 반응용액을 25°C에서 30분간 배양한 후, INT 용액(0.2%, w/v) 1 mL를 넣고 흔들어 주면서 20분간 반응을 시켰다. 반응을 중단시키기 위해 진한 염산 1 mL를 넣고 흔들어 준 다음 원심분리(10분, 2,500×g)하였다. 상정액을 버리고 6 mL의 DMSO(dimethyl sulfur oxide)를 넣어 혼탁시킨 후, 15분 동안 흔들어 주어 세포 내에 있는 INT-formazan을 용출시켰다. 용액을 다시 원심분리(10분, 2,500×g)한 후, 상등액을 취하여 465 nm에서 흡광도를 측정함으로써 INT-formazan을 정량하였다.

### 2.3. 중금속의 독성도 산정

미생물의 대사활성도와 INT-formazan의 생성 정도가 비례하기 때문에, INT-formazan이 감소되는 정도를 측정하여 물질의 독성도를 계산할 수 있다. 각 독성물질에 의한 미생물의 대사저해율은 식 (1)을 사용하여 구하였다.

$$R_e = \frac{C_i - C_x}{C_i} \times 100 \quad (1)$$

여기서,  $R_e$ 는 독성물질에 의한 미생물의 대사저해율(%)이며,  $C_i$ 는 독성물질을 침가하지 않은 대조시료에서의 흡광도이고,  $C_x$ 는 독성물질을 처리한 시료에서의 흡광도이다.

독성물질의 농도에 따른 대사저해율의 변화를 그래프를 그리면 hyperbola 형태를 나타내는데, 이들의 관계를 직선화시키면  $IC_{50}$ 을 쉽게 구할 수 있다. 독성물질의 농도는 log 값으로 변형하고, 대사저해율은 식 (2)를 사용하여 log<sub>y</sub>로 변환시켰다.

$$\log \gamma = \log \left( \frac{R_e}{100 - R_e} \right) \quad (2)$$

독성물질의 농도와 log<sub>y</sub>의 관계식은 최소자승법(least of square)을 통한 회귀분석으로 구하였다. 이 식에서 log<sub>y</sub>=0일 때의 독성물질의 농도가  $IC_{50}$  값이 된다.  $IC_{50}$  값이 작은 것은 독성도가 높음을 의미하며,  $IC_{50}$  값이 큰 물질은 독성도가 상대적으로 낮은 것을 의미한다.

Table 1. Characteristics of Municipal Wastewater used in this study

Parameter	Concentration
pH*	7.2
Total Suspended Solid(TSS)	85~170
BOD	135~275
COD	200~350
Total Kjehldahl Nitrogen(TKN)	39~52
Total Phosphorus	5~8.8
Alkalinity(as CaCO <sub>3</sub> )	170~240

\* unit : mg/L except pH

### 3. 결과 및 고찰

실험에 사용된 Cu, Cd 및 Zn을 활성슬러지에 첨가하였을 때, 미생물의 활성이 저해되었으며 저해되는 정도는 중금속의 농도와 비례하는 것으로 나타났다. 중금속의 농도가 0~10 mg/L의 범위에서는 대사저해율이 급격히 증가하였으나 10 mg/L 이상의 범위에서는 완만하게 증가하였다. 이러한 현상은 Cu, Cd 및 Zn에서 모두 관찰되었다(Fig. 1). 각 독성물질의 농도 변화에 대한 대사 저해율을 이용하여 logy을 구한 후 독성물질의 농도와 logy과의 관계식으로부터 IC<sub>50</sub> 값을 구하였다. IC<sub>50</sub> 값으로 비교하였을 때 Zn과 Cd에 비해 Cu의 독성이 큰 것으로 나타났다(Table 2). Zn과 Cd는 SRT에 따라 독성의 강도가 다른 것으로 나타났는데, SRT가 작을 때에는 Zn의 독성이 Cd보다 크며 SRT가 클 때에는 Cd의 독성이 큰 것으로 측정되었다. 중금속에 의해 슬러지에 있는 미생물의 활성이 저해되는 것은 여러 연구자들에 의해 보고되었다.<sup>1~4)</sup> 본 연구에서 나타난 것과 같이, 중금속의 종류에 따라 독성의 강도가 다르며 Cu의 독성이 Zn에 비하여 강한 것으로 알려져 있다.<sup>2,8)</sup>

본 연구에서 사용한 Zn의 농도는 0~50 mg/L이었으며, 1 mg/L의 낮은 농도일 때에도 미생물에 대한 독성을 나타내었다(Fig. 1). 이러한 결과는 Zn이 40 mg/L 이상에서만 독

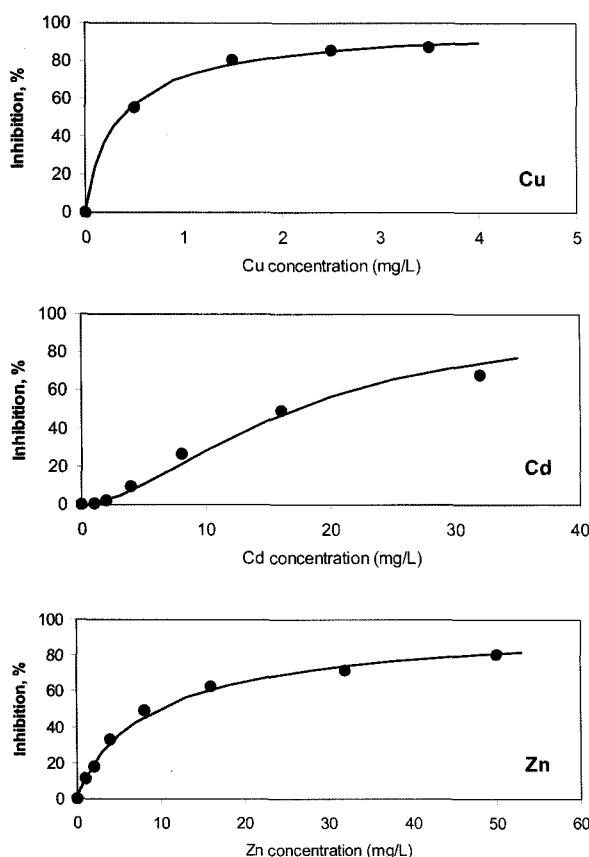


Fig. 1. Heavy metal concentration and inhibition of bacterial activity measured with INT-dehydrogenase activity(SRT was 2 days).

Table 2. The half maximal inhibitory concentration(IC<sub>50</sub>) of Cu, Cd, and Zn at different sludge retention time

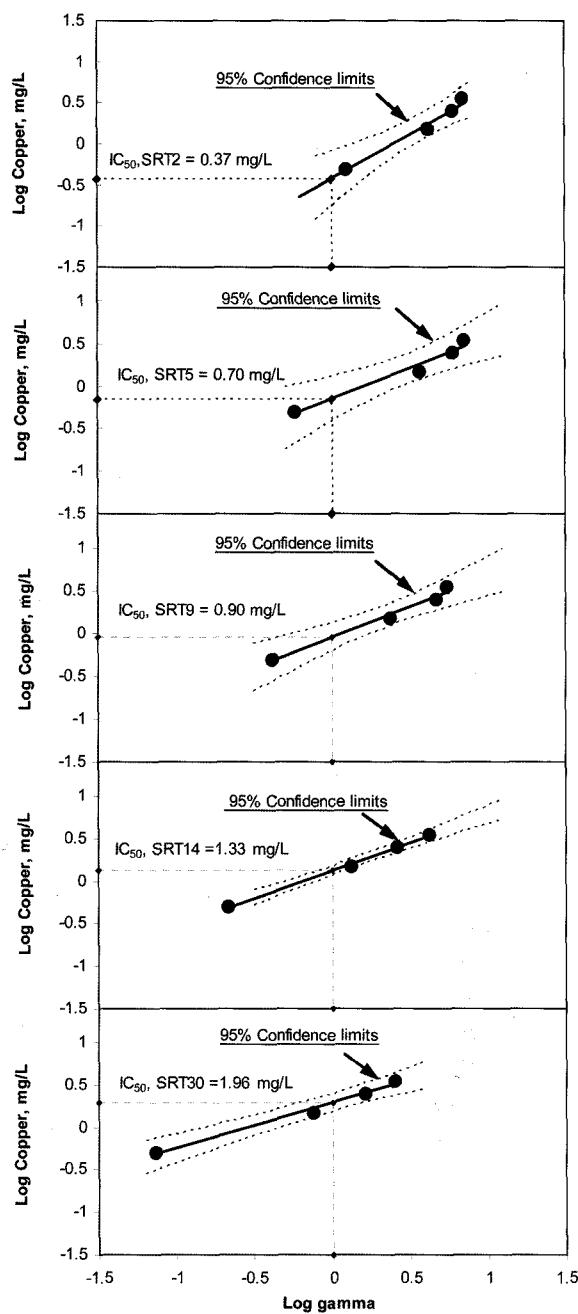
Heavy metals	SRT	Correlation statistics		IC <sub>50</sub>	
		n	r <sup>2</sup>	value	95% C.I.
Cu	2	5	0.98	0.37	0.17~0.80
	5	5	0.97	0.70	0.38~1.29
	9	5	0.98	0.90	0.62~1.32
	14	6	0.99	1.33	1.17~1.51
	30	6	0.99	1.96	1.55~2.48
Cd	2	8	0.93	16.9	13.2~21.6
	5	8	0.91	16.5	10.5~25.9
	9	8	0.95	15.4	12.1~19.5
	14	8	0.95	16.4	12.8~21.1
	30	8	0.99	16.8	15.8~18.0
Zn	2	8	0.99	9.70	8.59~11.0
	5	8	0.98	15.0	11.8~18.9
	9	8	0.99	17.8	15.7~20.2
	14	8	0.96	21.2	14.4~31.2
	30	8	0.99	23.4	19.2~28.6

\* C.I. is confidence interval

성효과를 나타내며 이 농도 이하에서는 활성슬러지에 있는 미생물의 성장을 촉진한다는 Lin 등의 연구 결과<sup>1)</sup>와 다르다. 이와 같이 같은 중금속의 독성효과가 달리 나타난 것은 두 실험에서 사용된 폐수처리공정 또는 독성평가 방법이 다르기 때문인 것으로 보인다.

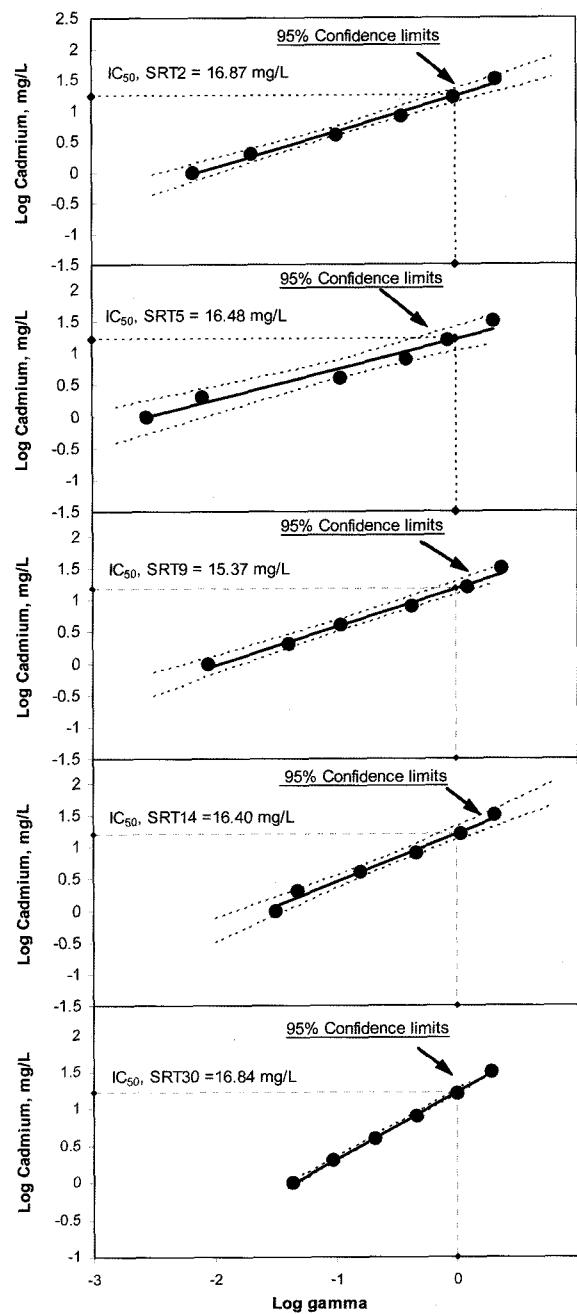
폐수 처리 과정에서 유입수의 종류 및 처리 공정에 따라 미생물의 종류 및 조성이 달라지며,<sup>9)</sup> 미생물의 종류에 따라 중금속에 대한 내성 정도가 다른 것으로 알려져 있다.<sup>10,11)</sup> Lin 등<sup>1)</sup>은 활성슬러지에서 분리한 미생물을 포도당을 기질로 공급하여 회분배양하면서 Zn의 독성 효과를 관찰한 반면, 본 실험에서는 복합 기질이 들어 있는 하수에 포함된 미생물을 대상으로 중금속에 의한 독성 효과를 평가한 것이기 때문에 다른 결과가 나타난 것으로 사료된다.

동일한 중금속에 대해 다른 결과가 나타난 또 다른 원인으로 두 실험에서 사용한 독성평가방법의 차이를 들 수 있다. Lin 등<sup>1)</sup>은 Zn을 첨가한 후 배양시간에 따른 MLSS의 농도 변화를 측정하여 비성장속도(specific growth rate)를 구함으로써 Zn의 독성효과를 평가하였다. 널리 알려진 바와 같이, Zn은 여러 효소의 활성을 유지시키는데 필요한 필수 영양소이기 때문에<sup>12,13)</sup> 미생물의 성장을 촉진하며, 이는 Lin 등의 연구 결과와 일치한다. INT-dehydrogenase의 활성도 변화로 독성도를 평가한 본 연구의 결과에 따르면, Zn에 의해 dehydrogenase의 활성이 저해되었기 때문에 독성 효과가 있는 것으로 판단되었다. 즉 본 실험에서 사용된 효소 저해법은 어떤 농도에서 생물의 성장을 촉진하지만 특정 효소의 활성도에 영향을 주는 물질은 독성이 있는 것으로 평가될 수 있다는 것이다. 물질이 독성이 있는지 판단할 때, 한 종류의 효소 활성에 미치는 영향을 측정하는 것보다 생물의 성장을 저해하는 정도를 측정하는 것이 타당하다. 하지만, 어떤 조건에서



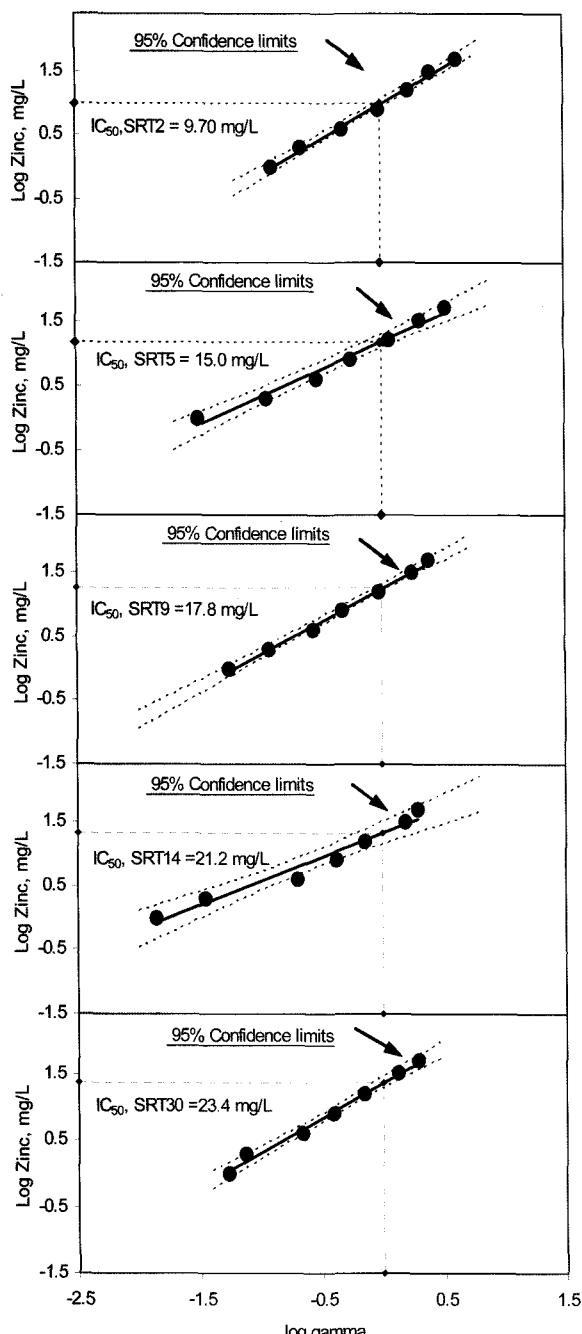
**Fig. 2.** Relationship between log copper concentration and log gamma(see Eq. 2) at different sludge retention time. The concentration of copper when log gamma equals 0(zero) is the half maximal inhibitory concentration(IC<sub>50</sub>).

특정 효소의 활성을 억제하는 물질은 또 다른 조건에서 독성물질로 작용할 개연성이 있기 때문에 특정 효소의 활성도 변화를 통한 독성측정이 의미가 있으며, 또한 이 방법이 생물의 사멸 정도를 측정하는 것보다 빠르기 때문에<sup>5,6)</sup> 독성물질의 효과를 실시간으로 평가하는 목적으로 사용하기에 적합하다. Zn의 독성 효과에 대한 연구 결과의 차이로부터, 같은 물질이라고 하더라도 독성을 평가하는 방법에 따라 다른 결과가 도출될 수 있기 때문에, 평가하고자 하는 목적에 따라 독성평가방법을 신중히 선택할 필요가 있다고 판단하였다.



**Fig. 3.** Relationship between log cadmium concentration and log gamma(see Eq. 2) at different sludge retention time. The concentration of cadmium when log gamma equals 0(zero) is the half maximal inhibitory concentration(IC<sub>50</sub>).

중금속의 농도가 같은 조건에서 SRT가 낮을 때 상대적으로 대사저해율이 높으며, SRT가 증가할수록 중금속에 의해 미생물의 활성이 적게 영향을 받는 것으로 관찰되었다(Fig. 2~4). 예를 들어, SRT가 2, 5, 9, 14 및 30일로 운영되는 공정에서 채집한 활성슬러지를 사용하였을 때 Zn에 대한 IC<sub>50</sub> 값은 각각 9.70, 15.0, 17.8, 21.2 및 23.4 mg/L로 측정되어, SRT가 증가할수록 독성도는 감소하는 것으로 나타났다. SRT를 달리 하였을 때, IC<sub>50</sub> 값이 Cu의 경우 0.37~1.96



**Fig. 4.** Relationship between log zinc concentration and log gamma(see Eq. 2) at different sludge retention time. The concentration of zinc when log gamma equals 0 (zero) is the half maximal inhibitory concentration( $IC_{50}$ ).

mg/L의 범위를 나타내었으며, Cd의 경우는 15.4~16.9 mg/L를 나타내었다. 또한 Zn의 경우는 9.70~23.4 mg/L의 범위를 나타내었다(Table 2). Zn 및 Cu는 슬러지의 SRT가 증가함에 따라 독성 정도가 크게 감소하지만, Cd은 슬러지의 SRT의 변화에 크게 영향을 받지 않는 것으로 관찰되었다.

슬러지의 SRT가 증가함에 따라 중금속에 의한 독성이 감소하는 것은 세포의 중합체(EPS, extracellular polymeric substances)의 농도 차이에 기인하는 것으로 판단된다. EPS는

미생물의 floc 형성 및 독성물질의 흡착에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.<sup>6,14~16)</sup> 활성슬러지를 대상으로 SRT에 따른 EPS의 변화를 측정한 결과, SRT가 3일에서 18일로 증가함에 따라 EPS는 약 3.5배가 증가하였으며, 중금속의 흡착량도 상대적으로 증가하는 것으로 보고되었다.<sup>14)</sup> 따라서 본 실험에서 SRT가 증가함에 따라 중금속의 독성이 감소하는 것은 EPS가 독성물질과 전기적 결합을 통해 무독화시키기 때문인 것으로 판단된다.

#### 4. 결 론

연속회분식반응조 공정에서 SRT의 변화에 따른 중금속(Zn, Cu 및 Cd)의 독성도를 평가한 연구에서 얻은 결론은 다음과 같다.

- 1) 중금속의 농도가 증가됨에 따라 미생물에 대한 독성이 증가하였으며, 중금속의 농도가 10 mg/L 이하에서는 급격히 증가하다가 이후 증가속도가 둔화되는 양상을 보여주었다.
- 2) 중금속의 독성도는 Cu가 가장 강하며, Cd와 Zn의 독성 강도는 SRT에 따라 다른데, 짧은 SRT에서는 Zn의 독성이 크며 SRT가 길 때에는 Cd의 독성이 큰 것으로 나타났다.
- 3) Cu와 Zn의 경우 SRT가 증가함에 따라 독성이 감소하였으며, Cd의 경우에는 큰 차이가 나타나지 않았다. 활성슬러지의 SRT가 증가함에 따라 독성이 감소하는 것은 흡착을 통하여 독성물질을 제거하는 세포의 중합체(EPS)의 농도가 증가하기 때문인 것으로 판단된다.
- 4) 중금속을 포함한 독성물질이 포함된 폐수를 처리할 때 SRT가 중요한 인자로 작용하기 때문에, 폐수 처리 시 최적의 SRT로 운영한다면 갑작스런 독성물질 유입에 의한 처리 공정 내 미생물의 활성 저하를 방지할 수 있을 것으로 사료된다.

#### 사 사

본 연구는 충청북도 첨단산업 연구 개발사업 및 충북대학교 자원순환형 환경도시기술개발사업단(2단계 BK21 사업)의 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

#### 참 고 문 헌

1. Lin, Y. M., Yang, X. F., and Liu, Y., "Kinetic responses of activated sludge microorganisms to individual and joint copper and zinc," *J. Environ. Sci. Health A*, **38**(2), 363~360(2003).
2. Kelly, C. J., Tumsarot, N., and Lajoie, C. A., "Assessing wastewater metal toxicity with bacterial bioluminescence in a bench-scale wastewater treatment system," *Water Res.*, **38**(2), 423~431(2004).
3. Principi, P., Villa, F., Bernasconi, M., and Zanardini, E., "Metal toxicity in municipal wastewater activated sludge

- investigated by multivariate analysis and in situ hybridization," *Water Res.*, **40**(1), 99~106(2006).
4. Sin, S. N., Chua, H., Lo, W., and Yu, P. H., "Effects of trace levels of copper, chromium, and zinc ions on the performance of activated sludge," *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **84-86**, 487~500(2000).
  5. Kim, C. W., Koopman, B., and Bitton, G., "INT-dehydrogenase activity test for assessing chlorine and hydrogen peroxide inhibition of filamentous pure cultures and activated sludge," *Water Res.*, **28**(5), 1117~1121(1994).
  6. Caravelli, A., Giannuzzi, L., and Zaritzky, N., "Effect of chlorine on filamentous microorganisms present in activated sludge as evaluated by respirometry and INT-dehydrogenase activity," *Water Res.*, **38**(9), 2394~2404 (2004).
  7. Yin, J., Tan, X. J., Ren, N. Q., Cui, Y. B., and Tang, L., "Evaluation of heavy metal inhibition of activated sludge by TTC and INT-electron transport system activity tests," *Water Sci. Technol.*, **52**(8), 231~239(2005).
  8. Sorour, M. T., Sayed-Ahmed, A. M., "Combined effects of cadmium and zinc on both sequencing batch reactor and continuous activated sludge," *Environ. Technol.*, **26**(9), 963~974(2005).
  9. Braam, F. and Klapwijk, A., "Effect of copper on nitrification in activated sludge," *Water Res.*, 15~1903(1981).
  10. 박종용, 이영옥, 고준혁, 라원식, 임옥민, 박지은, "혐기-무산소-호기 반응조내 질화세균의 변화," 대한환경공학회지, **27**(2), 138~144(2005).
  11. Liu, W. T., Linning, K. D., Nakamura, K., Mino, T., Matsuo, T., and Forney, L. J., "Microbial community changes in biological phosphate-removal systems on altering sludge phosphorus content," *Microbiology*, **146**, 1099~1107(2000).
  12. Korkhin, Y., Kalb, A. J., Peretz, M., Bogin, O., Burshtein, Y., and Frolow, F., "NADP-dependent bacterial alcohol dehydrogenases: crystal structure, cofactor-binding and cofactor specificity of the ADHs of *Clostridium beijerinckii* and *Thermoanaerobacter brockii*," *J. Mol. Biol.*, **278**(5), 967~981(1998).
  13. Schilling, O., Wenzel, N., Naylor, M., Vogel, A., Crowder, M., Makaroff, C., and Meyer-Klaucke, W., "New insights into the metal selectivity of the metallo-β-lactamase domain: glyoxalase II binds iron, manganese, and zinc in vivo at various ratios with equal catalytic activities," *Biochemistry*, **42**, 11777~11786(2003).
  14. Brown, M. J. and Lester, J. N., "Role of bacterial extracellular polymers in metal uptake in pure bacterial culture and activated sludge-II. Effects of mean cell retention time," *Water Res.*, **16**, 1549~1560(1982).
  15. Flemming, H. C., "Sorption sites in biofilms," *Water Sci. Technol.*, **32**(8), 27~33(1995).
  16. 류홍덕, 민경국, 이상일, "SBR 형태의 접촉 안정형 공정에서 축산폐수의 용존 유기물 흡착 특성," 대한환경공학회지, **25**(12), 1504~1510(2003).