

Clostridium beijerinckii Donker 1926을 이용한 혐기성 소화공정에서 체류시간 변화에 의한 수소 생산과 동력학적 특성

정태영 · 차기철 · 최석순*†

연세대학교 환경공학부, *세명대학교 바이오환경공학과
(2007년 2월 1일 접수, 2007년 2월 28일 채택)

Effect of Hydraulic Retention Time (HRT) on the Hydrogen Production and Its Dynamic Characteristics in the Anaerobic Digestion Process Using *Clostridium beijerinckii* Donker 1926

Tae-Young Jeong, Gi-Cheol Cha, and Suk Soon Choi*†

Division of Environmental Engineering, Yonsei University, Wonju 220-710, Korea

*Department of Biological and Environmental Engineering, Semyung University, Jecheon 390-711, Korea

(Received February 1, 2007; accepted February 28, 2007)

본 연구에서는 *Clostridium beijerinckii* Donker 1926을 이용한 연속식 혐기성 소화공정에서 수소 생산과 동력학적 특성을 고찰하였다. 기질은 glucose를 사용하였고, 0.5, 0.25, 0.125일의 체류시간 (hydraulic retention time, HRT)에서 실험이 이루어졌으며, 모든 HRT의 조건에서 탄산화물은 99% 이상의 제거효율을 나타내었다. 체류시간이 짧을수록, COD 제거율은 낮은 반면에, 전체 가스 중에서 수소 가스 함량과 수소 발생량이 높게 나타났다. 또한, 정상상태에서, 증식 수율과 수소가스 생성 수율은 각각 0.27 g-VSS/g-glucose, 0.26 L/g-glucose로 나타났다. 본 실험에 사용된 균주를 glucose와 같이 당 성분이 함유된 폐수처리에 적용하면 수소를 생산할 수 있으며, 이러한 실험 결과들을 잘 활용하면 대체에너지로서, 실제적인 수소가스 생산 시스템에 적용할 수 있을 것이다.

Hydrogen production and its dynamics were investigated in the continuous anaerobic digestion process using *Clostridium beijerinckii* Donker 1926. In this work, glucose was used as a substrate and hydraulic retention times (HRT) were 0.5, 0.25 or 0.125 day. The removal efficiency of carbohydrate was over 99% under all of HRT conditions. As HRT was shorter, COD removal efficiency became lower while hydrogen content in the total gas and hydrogen production rate became higher. The cell growth yield and hydrogen production yield were 0.27 g-VSS/g-glucose and 0.26 L/g-glucose, respectively, at the steady state. It is expected that the microorganism is able to produce hydrogen when used in the wastewater treatment containing carbohydrate such as glucose. Also, the results in this study could be applied to the actual hydrogen gas production, a promising alternative energy.

Keywords: hydrogen production, hydraulic retention time (HRT), glucose, cell growth yield, hydrogen production yield

1. 서 론

장래의 에너지고갈 문제가 대두되면서 대체에너지의 개발에 관한 많은 연구가 이루어지고 있으며, 특히, 폐수 또는 폐기물로부터 처리효율 향상과 처리의 안정성을 유지하면서, Biogas를 획득하고자 하는 주요 정책과제가 선진국가에서는 활발히 수행되었다. 이러한 연구 과제들은 메탄가스를 발생시키는 혐기성소화법이 주종을 이루었지만[1], 최근 들어 메탄 등과 같이 단순한 가스의 생산보다는 지구 환경적 측면에서 고부가가치의 청정에너지인 수소 가스의 생산에 주안점을 두는 연구가 진행되고 있다[2]. 수소의 생성은 물의 전기분해 방법과 미생물을 이용한 방법 등이 있으며, 최근에는 유기성 폐기물로부터 수

소 생성 연구가 활발히 진행되고 있는 추세이다. 그러나 수소발효세균을 이용한 기초적 연구사례가 일본을 비롯한 선진국가에서는 일부 진행되고 있는 상황이지만, 실용화를 위한 자료는 아직까지 부족한 실정이다.

혐기성 대사과정을 통하여 수소를 생성하는 미생물은 조류, 광합성과 비광합성 세균 등이 있으며, *Clostridium* sp. 등의 비광합성 세균은 증식에서 빛이 필요하지 않으므로 경제적이고, 수소의 연속생성이 가능하다는 장점을 가지고 있다. 그리고, Fumiaki 등[3]은 회수형 폐기물 처리기술의 중심적 역할을 하는 수소 생성 세균에 관한 연구에서는 흰개미의 장내에서 분리한 *Clostridium beijerinckii* AM21B를 이용하여 수소생성능력과 기질의 이용 특성을 검토하였으며[3], Yokoi 등[4]은 토양에서 분리되는 통성혐기성세균인 *Enterobacter aerogen*

† 주 저자 (e-mail: sschoi@semyung.ac.kr)

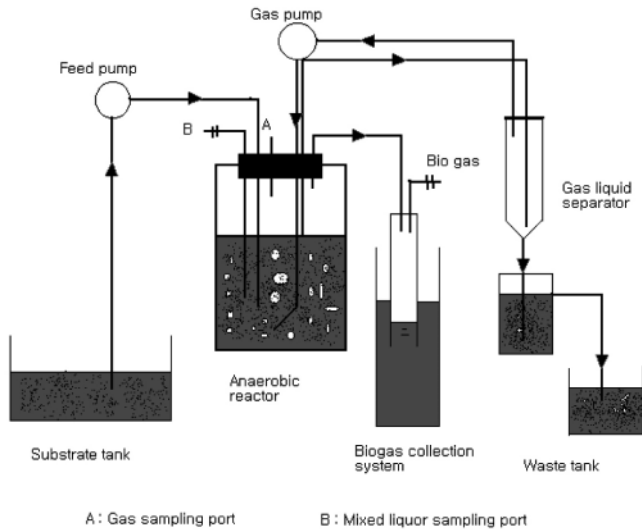


Figure 1. Schematic diagram of continuous experimental apparatus.

Table 1. Component of Influent Substrate

Component	Concentration (mg/L)
Glucose	10000
NH ₄ HCO ₃	4740
NaHCO ₃	2000
K ₂ PO ₄	125
MgCl ₂ · 6H ₂ O	100
FeSO ₄ · 7H ₂ O	25
MnSO ₄ · 5H ₂ O	15
CuSO ₄ · 5H ₂ O	5
CoCl ₂ · 6H ₂ O	0.1

strain HO-39를 이용하여, 수소 생산의 기본적인 자료로 활용되고 있다. 또한, 수소 세균을 이용하여 pH, 온도, 등의 배양조건에 관한 연구가 진행되어 왔으며[5-8], *Clostridium*속과 *Enterobacter*속의 세균이 수소 회수가 유력한 세균으로서 알려져 있다[4]. 국내에서는 발효 공정에 의한 수소 생산의 연구가 일부 대학과 연구소에서만 수행되고 있으며, 실제적으로 이를 에너지로 사용하는데 필요한 연구가 매우 미흡한 것으로 알려졌다.

본 연구에서는 대체 에너지로서 수소 가스 생산에 필요한 실험적인 자료를 구하고자, *Clostridium beijerinckii* Donker 1926을 이용한 연속 공정에서 체류시간(hydraulic retention time)에 변화에 의한 수소 생산과 동력학적 특성을 검토하였다.

2. 실험

2.1. 사용균주

본 연구에서 사용된 수소발효 세균은 국내 KCCM사에서 배양된 *Clostridium* sp.의 일종인 *Clostridium beijerinckii* Donker 1926이며, 35 °C 중온에서 glucose를 기질로 하여 혐기적 조건에서 배양하였다. 배양된 균주는 혐기성 반응조로 옮긴 후, 약 3개월 이상 glucose를 이용하여 순응시켰으며, 수소가스의 함량이 60% 이상을 확인한 후 연속식 반응조에 사용하였다.

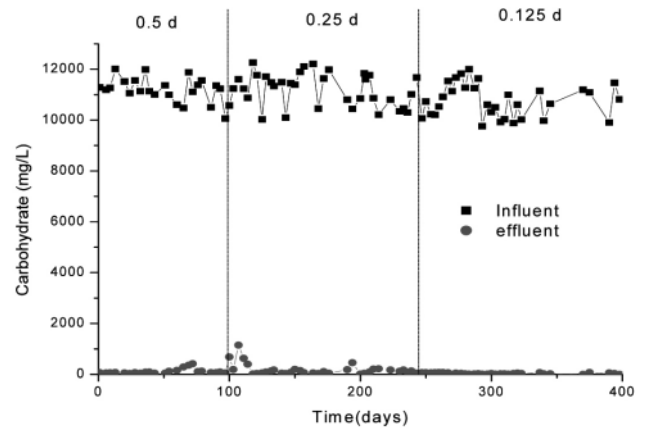


Figure 2. Variation of carbohydrate at each HRT conditions.

2.2. 실험장치 및 분석방법

본 연구에 사용된 장치는 Figure 1에 나타냈었다. 반응조 온도는 35±1 °C로 일정하게 유지하였으며, 이 반응조에서 발생하는 가스는 펌프를 통하여 혼합 및 교반시켰고 또한 동시에 혼합액은 연속적으로 유출시켰다. 여기서, 유입 성상의 균일함을 유지하기 위하여 교반봉을 설치하여 일정한 속도로 교반하여 주었으며, 냉각장치를 이용하여 기질의 변질을 방지하기 위하여 기질탱크내의 온도를 3 ± 1 °C로 유지하였다. 실험에 사용된 기질조성은 Table 1에 나타내었다.

본 연구에서 MLSS, MLVSS 및 CODcr는 수질공정시험법[9]을 사용하였으며, 탄수화물은 Anthron-황산법[9]으로 분석하였다. 혐기소화조내에서 발생된 가스는 수중에 용해되지 않도록 하기 위하여, 산성의 포화식염수(H₂SO₄ · 2% vol)에 의한 수상치환법[10]을 이용하여 포집하였다. 유기산은 FID gas-chromatograph (GC 8A, SHIMADZU)를 이용하여 분석하였다. 이때 carrier gas는 He를 사용하였고, column과 Detector 온도는 140 °C의 조건에서 분석이 이루어졌다. 또한, 가스 조성(H₂, CH₄, CO₂) 분석은 TCD gas-Chromatograph (SHIMADZU GC 14A)를 이용하였으며, carrier gas는 Ar, column 온도는 50 °C, Detector 온도는 150 °C의 조건에서 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 기질 분해 및 수소 생성

Clostridium beijerinckii Donker 1926 (이하 수소발효세균)을 이용하여 체류시간 변화에 의한 기질 분해율과 수소 생성 및 동력학적인 변수를 산출하기 위하여 연속적인 실험이 수행되었다. Figure 2에 나타낸 것과 같이, 탄수화물은 체류시간에 관계없이 99% 이상의 분해율을 나타내었다. 따라서, 수소발효세균은 glucose와 같이 당을 함유한 폐수에서의 기질 섭취율이 매우 뛰어난 것을 알 수 있었다.

Figure 3에서는 체류시간의 변화에 의한 COD 제거효율과 대사 생성물로서 유기산에 대한 결과를 나타낸 것이다. 여기서 생성된 유기산은 주로 초산, 프로피온산, 뷰틸산이고, 기타 유기산은 극히 미량으로 분석되었기에 실험 data로 나타내지 않았다. 체류시간이 낮은 0.125 day의 조건에서는 초산의 생성율이 낮았지만, 0.25과 0.5 day에서는 비슷한 생성율을 나타내었다. 그러나, 체류시간이 짧을수록 뷰틸산은 높은 생성율을 나타내었다. 이러한 현상은 모든 체류시간의 운전조건에서 탄수화물의 분해가 빠르게 진행되고 있으며, 체류시간이 길어짐에 따라 뷰틸산이 초산으로 분해되었기 때문이라고 판단되었

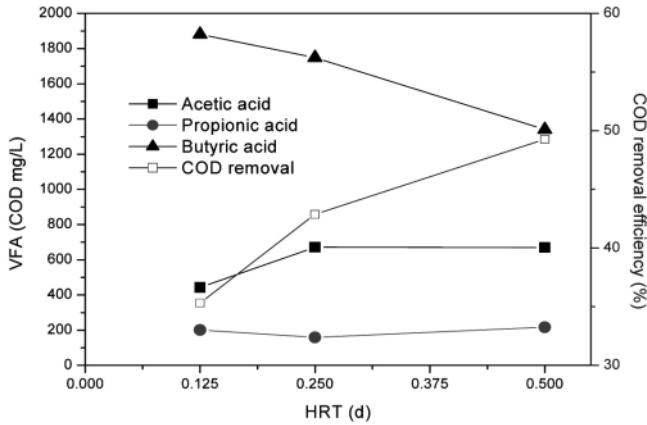


Figure 3. Variation of VFA concentration and COD removal efficiency at each HRT conditions.

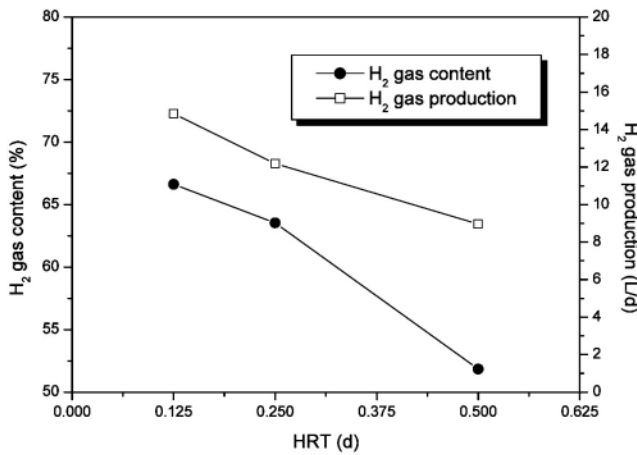


Figure 4. Variation of H₂ gas production and content.

다. 또한, Naoaki 등[11]은 glucose의 혐기성 발효공정에서 수소에 관한 물질수지를 살펴본 결과, 체류시간이 짧을수록 부틸산 농도가 높게 나타났으며, 초산의 농도는 큰 차이를 보여주지 않았다고 보고하였다. 그러나, 본 연구에서는 Naoaki 등[11]의 연구결과와 달리, 체류시간이 짧을수록 초산이 적게 생성됨을 나타내었다. Figure 4에 나타난 것과 같이, 체류시간이 짧을수록 수소생성은 높게 나타나고 있음을 보여주고 있는데, 이것은 glucose로부터 수소생성 전환이 활발히 진행되었다고 판단되었다. 그리고, 프로피온산 경우에는 체류시간에 상관없이 큰 변화를 보이지 않고 있으며, 수소 생성에 큰 영향을 주지 않음을 알 수 있다. 한편, 체류시간에 따른 COD의 제거율은 약 35~50%로서 체류시간이 짧을수록 제거율이 낮게 나타났으며, 이러한 결과는 Naoaki[11]의 연구와 유사한 경향을 보였다. 그리고, Figure 4에서 보인 것과 같이, 수소 가스 함량은 약 52~67%로 나타났으며, 순수 수소가스량은 약 8~15 L/d로 나타내었으며, 전체적으로 체류시간이 짧을수록 수소가스함량과 수소가스량은 높게 나타남을 알 수 있었다. Naoaki 등[11]은 두부에서 채취한 *Clostridium*속을 이용하여 glucose, lactose, sucrose, starch을 기질로 사용하고, 체류시간을 3~24 h으로 변화시켜서 운전한 결과, 모든 체류시간에서 수소 함량이 전반적으로 약 45%로 나타났으며, 수소 가스량은 각각 4.5~12, 4.7~10, 4~10, 4~15 L/d 정도가 생성되고, 체류시간이 짧을수록 수소 생산이 높다고 보고하였다. 또한, Fumiaki 등[3]은 흰개미에서 추출한 균주를

Table 2. Comparison of Hydrogen Production[3]

Hydrogen Producing Bacteria	Hydrogen Production (ml)	
	Bacteria Number	Glucose
<i>C. butyricum</i>	31	518
<i>C. difficile</i>	13	213
<i>C. sporogenes</i>	2	145
<i>C. beijerinckii</i>	1	740
<i>C. spp</i>	2	170
<i>E. coli</i>	2	100

이용하여 수소 생성량 비교를 Table 2에 나타내었다. 따라서 본 연구에서 이용한 *C. beijerinckii* 종은 Naoaki 등이 보고한 *Clostridium* 속과 비교해 보았을 때, 유사하거나 약간 높은 수소생성율을 나타내었다 (Figure 4 참조).

Glucose의 수소 생산에 대한 물질 흐름을 검토하기 위하여, 유입 COD를 100%로 설정하고, 각각 운전조건에서 생성 물질과 잔존 기질을 회수하여 COD의 물질수지를 검토하였다(Table 3). 여기서, 유입 기질인 glucose를 통하여 반응조 내의 생성되는 물질 중 측정 가능한 탄수화물과 단백질(SVS) 및 그 외의 물질을 Others로 규정되었다. Others의 성분은 glucose가 혐기성 대사과정에 생성되어지는 부탄올, 아세트, 젖산, 글리세롤과 같은 물질로 사료되었다. 또한, 본 연구에서의 VFA들은 Hac, Hpr, i-Hbu, n-Hbu, i-Hval, n-Hval으로 6가지로 구분되었다. Table 3과 같이 물질유입 기질인 glucose은 체류시간이 길어질수록 세균중식(VSS)이 이루어지고 있으며, 체류시간이 짧을수록 반응조내 SVS와 Others가 증가하고 있음을 나타냈다. 이러한 현상은 체류시간이 짧을수록 생성물질이 축적됨에 따라서 체류시간이 긴 것보다 높은 값을 나타내었다고 사료된다. 그리고, 대사 생성물(VFA)은 각 조건과는 관계없이 약 23.5~26.6% 정도로서 큰 변화가 없이 일정하게 생성됨을 보여주었다. 반응조의 생성물중 수소 가스는 6.4~10.6%로 체류시간이 짧을수록 높은 전환율을 나타냈다.

3.2. 동력학적 전개

정상상태에 있어서 완전혼합연속 반응조내 미생물의 비증식속도(μ)와 비기질소비속도(v)는 다음 식으로 표현된다[12,13]. 반응조내 미생물의 증식과 비기질소비속도의 관계는 아래 식 (1)로 표현된다.

$$\mu = (Y \cdot v) - k_d = 1/SRT \tag{1}$$

여기서, Y: 증식수율계수(mg MLVSS/mg substrate), k_d : 자기분해계수(1/day), SRT (Solids Retention Time): 고형물 체류시간(day)이다. 일반적으로, 제한기질농도와 비기질소비속도와의 관계는 Monod식 [14]에 관하여 표현할 수 있지만, 본 연구에서 얻을 수 있는 자료는 Monod식보다는 Contois식에 적합하였다. 이러한 관계에서, 비기질 소비속도는 아래 식 (2)로 표현된다.

$$v = \frac{v_{max} \cdot (S/X)}{K_s v + (S/X)} \tag{2}$$

식 (2)에서, v 가 최대비기질소비속도(v_{max})이면, 식 (1)은 다음 식 (3)으로 표현된다.

Table 3. COD Mass Balance

HRT (d)	Influent COD (%)	Effluent COD (%)						
		VSS	VFA			SVS*	Others**	H ₂
			Acetate	Propionate	Butyrate			
0.5	100	42.6	7.1	2.3	14.1	1.3	24.6	6.4
0.25	100	38.2	6.9	1.6	18.0	2.2	26.5	8.7
0.125	100	35.7	4.5	2.0	19.0	2.7	28.3	10.6

* SVS: soluble carbohydrates + soluble protein

** Others: SCOD - (soluble carbohydrates + soluble protein + VFA)

Table 4. Comparison of Kinetics Parameters

Kinetic Parameters	This Study	Naoaki[11]	Fumiaki[3]
Used Species	<i>Clostridium beijerinckii</i> Donker 1926	<i>Clostridium</i> . sp.	<i>Clostridium beijerinckii</i> AB21B
μ_{max} (1/d)	0.56	0.55	-
v_{max} (mg-glucose/g-VSS/d)	2.5	2.3	-
$K_{s,v}$ (mg/L)	0.05	0.10	-
k_d (1/d)	0.117	0.049	-
Y (g-VSS/g-glucose)	0.27	0.26	0.27
SRT _{min} (d)	1.78	-	-
G _{min} (d)	1.23	-	-
Y _{H2} (L/g-glucose)	0.26	0.22	0.24
Y _{Hac} (g/g-glucose)	0.06	0.13	-
Y _{Hbu} (g/g-glucose)	0.16	0.30	-

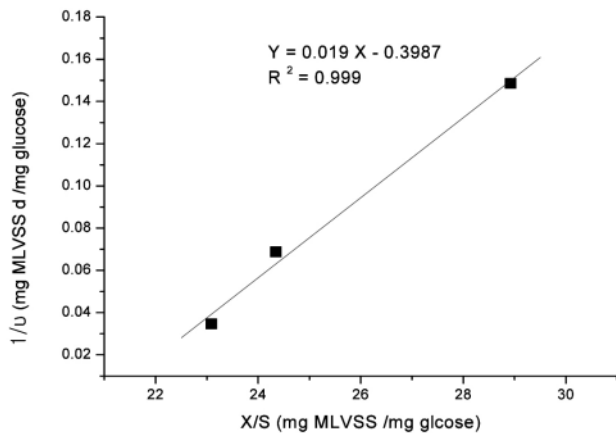


Figure 5. Relationship of specific substrate consumption rate and yields.

$$\mu_{max} = (Y \cdot v_{max}) - k_d \quad (3)$$

여기서, v_{max} : 최대비기질소비속도(1/d), $K_{s,v}$: 포화정수이다. 또한, 식 (3)을 식 (1)에 대입하면 식 (4)를 얻을 수 있다.

$$1/SRT = Y \cdot \frac{v_{max} \cdot (S/X)}{K_{s,v} + (S/X)} - K_d \quad (4)$$

세균의 SRT가 최대비기질속도보다 짧은 경우, 증식보다 계외로 배출된다. 따라서 만일 임계체류시간이 최소균체체류시간(SRT_{min})이라면, 아래 식 (5)로 표현된다.

$$SRT_{min} = 1/\mu_{max} \quad (5)$$

비기질속도와 같다면, 세균의 증식속도를 나타내기 위해 사용되는 값은 배가시간이며, 이것은 세균의 증식이 2배 이상을 요구하는 최소 시간(G_{min})이다. 이러한 값은 다음 식을 이용하여 구할 수 있으며[15], 아래 식 (6)으로 표현된다.

$$G_{min} = \ln 2 \cdot (1/\mu_{max}) \quad (6)$$

그리고, 기질에 대한 대사산물의 생성수율(P)은 식 (7)과 같이 나타낼 수 있다.

$$\frac{1}{X} \cdot \frac{dP}{dt} = \frac{1}{X} \cdot Y_{p/s} \cdot \frac{dS}{dt} = Y_{p/s} \cdot v \quad (7)$$

따라서, 기질 소비에 따른 H₂, Hac 및 Hbu의 생성수율은 각각 Y_(H2/S), Y_(Hac/S) 및 Y_(Hbu/S)로 표현할 수 있다. 또한, 비기질 소비속도인 식 (3)은 Lineweaver-Burk[16] 형으로 전환시키면 식 (8)과 같이 표현할 수 있으며, 여기서 실험자료를 통해 v_{max} 와 $K_{s,v}$ 를 산출할 수 있다.

$$1/v = (K_{s,v}/v_{max}) \cdot (X/S) + (1/v_{max}) \quad (8)$$

Figure 5는 체류시간에 따른 비기질 소비속도와 미생물과 관련된 기질과의 관계를 도식화한 것을 나타냈으며, 매우 높은 상관관계를 보여주었다. 위의 식들을 통해 산출한 값과 Naoaki 등[11]이 두부속에 수소 발효균을 배양한 *Clostridium*속을 이용하여 당류인 glucose를 기질로 이용하여 HRT를 변화시켜 산출한 변수값들을 Table 4에 비교하여 나타냈다. 본 연구에서 얻은 증식수율(Y)과 기질 소비에 따른 수소 가스 수율(Y_{H2}), 초산 수율(Y_{Hac}) 그리고 뷰틸산 수율(Y_{Hbu})이 각각

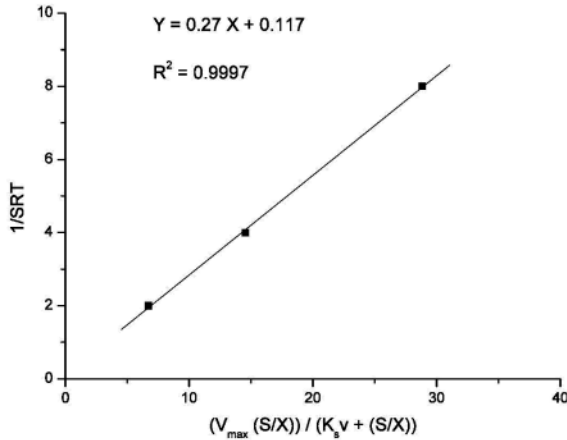


Figure 6. Relationship of solids retention time (SRT) and specific substrate consumption rate.

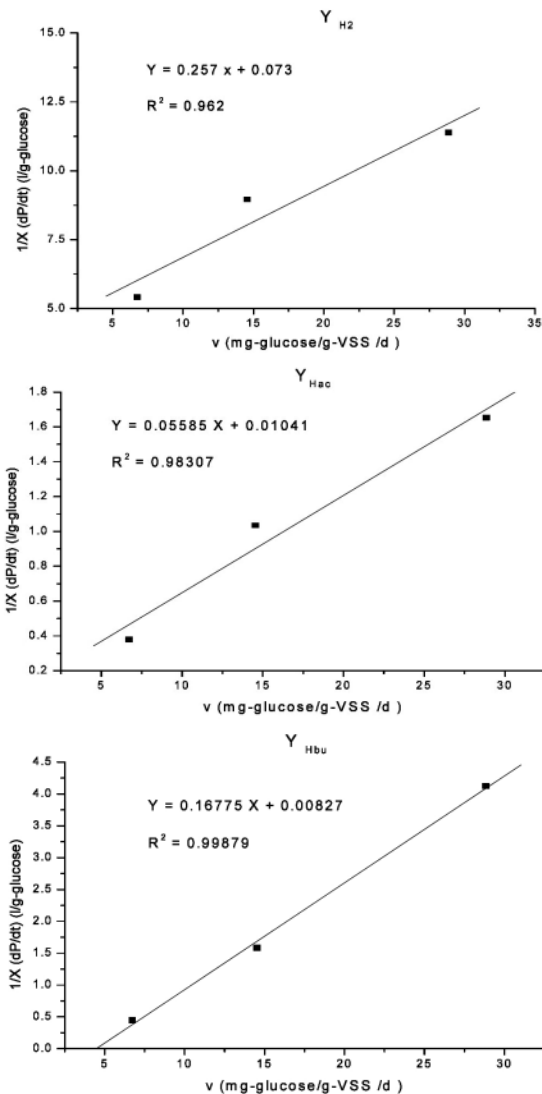


Figure 7. Relationship of metabolism production and specific substrate consumption rate (equation 7). (Y_{H_2} : hydrogen production yield, Y_{HAc} : acetic acid production yield, Y_{Hbu} : butyric acid production yield).

0.27 g- VSS/g- glucose, 0.26 L/g-glucose, 0.06 g/g-glucose, 0.16로 나타났으며, 각각의 수율값은 식 (7)을 이용하여 계산하였다. Figure 6과 7에서 나타난 것과 같이, 증식수율(Y)과 기질 소비에 따른 생성수율 (Y_{H_2} , Y_{HAc} , Y_{Hbu})은 매우 높은 상관성($R^2 = 0.999$)을 보여주었다. Naoaki 등[11]의 연구 결과는 증식수율과 수소가스 수율이 각각 0.26 g-VSS/g-glucose, 0.22 L/g-glucose로 보고하였으며, Fumiaki 등[3]은 흰 개미에서 채취한 *Clostridium beijerinckii* AM21B종을 이용하여 증식수율과 수소 가스 수율 역시, 비슷한 범위의 0.27 g-VSS/g-glucose 및 0.24 L/g-glucose가 보고되었다. 또한, 본 연구에서 구한 초산과 뷰틸산 생성수율은 기존의 Naoaki 등[11]의 연구와 비교하여 약 2배 적은 값을 보였다. 이러한 현상은 대사과정에서 생성되는 수소 가스 및 초산 및 뷰틸산 수율이 같은 *Clostridium*속일지라도 종에 따라서 수소 생성에 차이가 있으며, 같은 기질을 이용할지라도 종에 따라서 생성되는 대사산물의 차이가 있음을 나타낸 것이다. 따라서 본 연구에서 수행한 수소생산 세균은 기질 분해에 의한 대사 생성물로의 전환보다는 수소 가스의 전환이 매우 활발히 진행되었다고 추론할 수 있으며, 당 성분이 포함된 폐수처리에 효과적으로 적용한다면 대체 에너지로서 생물학적 수소 생산에 활용될 수 있을 것으로 판단되었다.

4. 결 론

Clostridium beijerinckii Donker 1926를 이용하여 연속식 혐기소화 공정에서 수소 생성의 특성을 살펴본 결과, 아래와 같은 결론을 얻을 수 있었다.

- 1) 실험이 이루어진 모든 조건의 체류시간에서 탄수화물은 99% 이상 제거율을 나타냈으며, 체류시간이 짧을수록, COD의 제거율이 낮은 반면 유기산의 농도는 높게 생성되었다.
- 2) 수소 가스 함량은 전체가스함량 중 약 52~67%로 나타났으며, 순수 수소가스량은 약 8~15 L로 나타났다. 전반적으로 체류시간이 짧을수록 수소가스함량과 수소 가스량은 높게 나타났다.
- 3) COD 물질 수지에서 세균 증식은 20.4~42.6%로 가장 크게 나타났으며, 대사 생성물인 유기산은 23.5~26.6%로 생성됨을 알 수 있었다.
- 4) 정상상태에서의 증식수율과 수소가스 생성수율은 각각 0.27 g-VSS/g-glucose, 0.26 L/g-substrate로 나타났다.
- 5) *Clostridium beijerinckii* Donker 1926는 glucose와 같이 당 성분을 이용한 수소 생성의 효과는 매우 뛰어났으며, 이러한 수소 생성균은 당 성분이 함유되어 있는 폐수에 적용된다면 대체에너지로서 수소 가스 생산에 유용한 자료로 활용될 수 있을 것이다.

참 고 문 헌

1. T. W. Jeffries, D. R. Omstead, R. R. Cardenas, and H. P. Gregor, *Biotech. Bioeng. Symp.*, **9**, 37 (1979).
2. A. M. Breue and J. G. Andel, *Applied Microbiol. Biotech.*, **20**, 40 (1984).
3. T. Fumiaki, J. D. Chang, N. Mizukami, S. T. Tatsuo, and H. Katsushige, *Can. J. Microbiol.*, **39**, 726 (1993).
4. H. Yokoi, T. Ohkawa, J. Hirose, S. Hayashi, and Y. Takasaki, *J. Ferment. Bioeng.*, **80**, 571 (1995).
5. A. M. Gibson, N. Bratchell, and T. A. Roberts, *J. Appl. Bacteriol.*, **62**, 479 (1987).

6. F. Taguchi, J. D. Chang, S. Takiguchi, and M. Morimoto, *J. Ferment. Bioeng.*, **73**, 244 (1992).
7. P. Perego, B. Fabiano, G. P. Ponzano, and E. Palazzi, *Bioproc. Eng.*, **19**, 205 (1998).
8. J. J. Lay, Y. Y. Li, and T. Noike, *J. Environ. Eng.*, **124**, 730 (1998).
9. APHA, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 17th ed., American Public Health Association, Washington, DC (1989).
10. V. A. Vavilin, S. V. Rytov, and L. Ya. Lokshina, *Bioresource Technology*, **56**, 229 (1996).
11. K. Naoaki, M. Akiko, and K. Koichi, *Water Science and Technology*, **36**, 41 (1997).
12. S. Ghosh and F. G. Pohland, *J. Water Poll. Control Fed.*, **46**, 748 (1974).
13. P. L. McCarty, *Adv. Chem. Ser.*, **105** (1971).
14. J. Monod, *Ann. Rev. Microbiol.*, **3**, 371 (1949).
15. M. H. Zwietering, I. Jongenburger, F. M. Rombouts, and K. V. Riet, *Applied and Environmental Microbiology*, **56**, 1875 (1990).
16. A. L. Lehninger, *Biochemistry*, Worth Publishers Inc., New York (1970).