

# INT-Dehydrogenase 시험법에서 슬러지 일령이 Cr<sup>6+</sup>, Zn<sup>2+</sup> 및 Cd<sup>2+</sup> 독성에 미치는 영향

류홍덕 · 이상일\* · 김종수<sup>1)</sup>

충북대학교 공과대학 환경공학과, <sup>1)</sup>선문대학교 공과대학 토목공학과  
(2008년 9월 1일 접수, 2008년 11월 18일 수리)

## Effect of Sludge Age on the Toxicity of Cr<sup>6+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, and Cd<sup>2+</sup> in INT-Dehydrogenase Assay

Hong-Duck Ryu, Sang-Il Lee\*, and Jong-Soo Kim<sup>1)</sup> (Department of Environmental Engineering, Chungbuk National University, <sup>1)</sup>Department of Civil Engineering, Sunmoon University)

**ABSTRACT:** This study was initiated to elucidate the relation between the toxicity of Cr<sup>6+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, and Cd<sup>2+</sup> and sludge age (Solids retention time, SRT). The effect of SRT on the toxicity of Cr<sup>6+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, and Cd<sup>2+</sup> in activated sludge system was investigated with INT-dehydrogenase assay. Experimental results showed that the inhibitory effects of Cr<sup>6+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, and Cd<sup>2+</sup> were reduced as the sludge age increased from SRT 5 d to SRT 25 d. It is noteworthy that the experimental results enabled to determine the relative toxicity of the tested metals depending on the sludge age. At the SRT of 5 and 9 days, the order of toxicity of the three metals to the activated sludge was Cr<sup>6+</sup> > Zn<sup>2+</sup> > Cd<sup>2+</sup> (the IC<sub>50</sub> value of Cr<sup>6+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, and Cd<sup>2+</sup> was 16.15, 25.90, and 32.49 mg/L, respectively) and Zn<sup>2+</sup> > Cr<sup>6+</sup> > Cd<sup>2+</sup> (the IC<sub>50</sub> value of Cr<sup>6+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, and Cd<sup>2+</sup> was 39.12, 27.93, and 42.31 mg/L, respectively), respectively. However, the toxicity of three metals was almost same at the SRT of 14 and 25 days (the range of IC<sub>50</sub> in SRT 14 and 25 days was from 49.80 mg/L to 53.44 mg/L among three heavy metals). This results would be explained by that the quantity of biopolymer formed in short SRT was small, whereas that in long SRT was large. Consequently, it is recommended that sludge age be maintained at long SRT in order to avoid the toxicity inhibition of heavy metals such as Cr<sup>6+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, and Cd<sup>2+</sup>.

**Key Words:** Cd<sup>2+</sup>, Cr<sup>6+</sup>, INT-dehydrogenase, Relative toxicity, Sludge age, Zn<sup>2+</sup>

## 서론

중금속이 함유된 폐수를 활성슬러지를 이용하여 처리할 때 중금속이 처리 효율에 악 영향을 미친다는 사실은 많은 연구자들에 의해 기존에 널리 알려져 있다<sup>1-3)</sup>. 중금속이 미량으로 존재할 경우 미생물의 활성도를 증진시킨다는 연구 결과가 여러 논문에서 보고된 바 있지만<sup>4,6)</sup> 고농도로 존재할 경우 미생물의 활성도 저하와 폐수처리장에서 활성슬러지 군집 구조 변화 및 활성슬러지 플록을 해체시켜 결과적으로 생물학적 공정의 처리 효율이 감소하게 된다.<sup>7-12)</sup>

활성슬러지에 대한 이러한 중금속 독성은 중금속의 종류,

중금속 농도, 활성슬러지를 구성하고 있는 미생물 종뿐만 아니라 pH, 온도, 용존산소, 다른 금속이온의 존재 유무, 이온 강도와 같은 여러 환경요인, 그리고 활성슬러지 공정에서는 슬러지 일령 및 수리학적 체류시간과 같은 운영인자의 영향을 받는 것으로 보고되고 있다<sup>13)</sup>. 이중 슬러지 일령(Solids retention time, SRT)과 중금속 독성과의 관계는 슬러지 일령이 증가 할수록 중금속 독성 영향이 감소한다는 것이 기존 일부 연구자들의 연구 결과를 통해 일반적으로 알려져 있다<sup>14,15)</sup>. 하지만 기존 연구의 경우 조사 대상 물질이 일부 중금속 물질에 국한되어 있으며 독성 평가 방법 역시 특정 방법에 의해 제한되어졌기 때문에 슬러지 일령과 중금속 독성에 관한 포괄적 이해가 부족한 실정이다. 예를 들면 Stasinakis 등<sup>14)</sup>의 경우 미생물의 산소 섭취율(Oxygen uptake rate, OUR)을 통해 슬러지 일령과 Cr<sup>6+</sup>의 독성 영향에 대해 실험한 결과 슬러지 일령의 증가가 Cr<sup>6+</sup> 독성을 감소시킨다는 연구결

\*연락처:

Tel: +82-43-261-2469 Fax: +82-43-272-2469  
E-mail: gatorlee@chungbuk.ac.kr

과를 발표하였지만 이러한 연구 결과는 산소 섭취율 실험을 통한 Cr<sup>6+</sup>에 국한되어 있을 뿐이지 만약 Microtox<sup>®</sup> 법이나 기존에 알려진 다른 독성 측정법을 사용하였을 경우 다른 결과가 도출될 수도 있기 때문이다. 같은 독성 물질이라 하더라도 측정방법을 달리하였을 때 서로 다른 독성 결과를 얻는다는 사실은 주지할 만하다<sup>1,16,17</sup>.

본 연구자의 사전 조사에 따르면 SRT와 중금속 독성과의 관계에 있어 SRT가 증가함에 따라 활성슬러지의 중금속 독성에 대한 저항이 증가한다는 연구결과가 있음에도 불구하고 INT-Dehydrogenase(INT-DHA) 측정법을 통한 평가는 전무한 것으로 판단된다. INT-DHA 측정법은 유기물 분해 과정에서 환원을 촉진시키는 dehydrogenases(DHA) 농도를 측정하는 방법으로 미생물 활성도를 평가하는 방법이다. INT-DHA 측정법은 Bitton 등<sup>18</sup>)으로부터 개발되었는데 방법이 간단하고 민감도가 뛰어나기 때문에 많은 연구자들이 이 방법을 이용해 미생물 활성도를 측정하고 있다<sup>19-22</sup>.

본 연구에서는 INT-DHA 방법을 통해 5, 9, 14 및 25일의 SRT에 적용된 활성슬러지를 이용하여 슬러지 일령에 따른 여러 중금속(Cr<sup>6+</sup>, Zn<sup>2+</sup> 및 Cd<sup>2+</sup>) 독성에 대한 세부적인 정보 제공을 목적으로 한다.

## 연구 방법

### SBR 공정 운영

슬러지 일령에 따른 중금속 독성 실험을 위해 5 L 부피의 원통형 아크릴 SBR 반응조 3 set를 실험실 규모로 제작하였다. 활성슬러지 배양 시 초기 슬러지 식종은 C시 N면 축산폐수처리장의 활성슬러지를 사용하여 2 L를 식종하였으며 SRT에 따른(SRT 5, 9, 14, 25일) 각 SBR 공정 운영은 2 L의 축산폐수를 일시주입 하여 Fig. 1과 같이 운영하였다. Fig. 1과 같이 공정을 운영한 이유는 집축안정형 공정 운영 기법을 본 연구의 SBR 공정에 도입함으로써 유기물의 생분해 효율을 극대화하기 위해서이다.

SRT 조정을 위한 활성슬러지 인발은 혐기(anaerobic) 구

간이 끝나고 슬러지 침전(settling)이 시작되기 전 구간에서 수행하였으며, 공정 운영에 사용된 유입 축산폐수의 성상은 Table 1과 같다. 본 연구에서 사용된 축산폐수의 중금속 Cr<sup>6+</sup>, Zn<sup>2+</sup> 및 Cd<sup>2+</sup>의 농도가 매우 낮은 것으로 볼 때 축산폐수에 함유된 자체 중금속 농도로 인한 독성 실험 오차가 발생하지는 않을 것으로 사료 된다.

본 실험에서는 SBR 공정 운영 시 SRT를 5, 9, 14 및 25 일로 하였으며, 이는 생물학적인 축산폐수 처리 공정 운영 시 SRT를 보통 30일 미만에서 운영하기 때문이다. 독성 실험을 위한 활성슬러지는 80일 이상을 운전하여 각 SBR 공정의 MLSS (mixed liquor suspended solid) 및 MLVSS(mixed liquor volatile suspended solid) 농도가 일정 수준을 유지하였을 때 각 반응조로부터 인발하였다. 이때 SRT 5, 9, 14 및 25일에서의 평균 MLSS 농도는 각각 4581, 6394, 7749 및 8581 mg/L 였으며, MLVSS 농도는 3939, 5333, 6310 및 6955 mg/L였다(Fig. 2). 각 SRT에서 인발된 슬러지는 독성 실험 시 슬러지 자체에 함유된 중금속 영향을 최소화하기 위해 증류수로 3차례 수세 한 후 사용 하였다.

### 실험에 사용된 중금속

실험에 사용된 중금속으로는 K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>(potassium dichromate), ZnCl<sub>2</sub>(zinc chloride), CdCl<sub>2</sub>(cadmium chloride)을 이용하였으며 Cr<sup>6+</sup>, Zn<sup>2+</sup> 및 Cd<sup>2+</sup> 농도가 1000 mg/L인 표준용액을 제조하여 이를 희석하여 실험에 사용하였다.

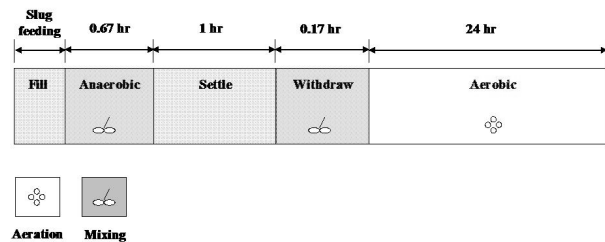


Fig. 1. Operational system of each SBR.

Table 1. Characteristics of raw swine wastewater used in this study

Items	Range of concentration (mg/L)
Total suspended solid (TSS)	1,000 ~ 10,000
Total chemical oxygen demand (TCOD)	3,400 ~ 7,400
Soluble chemical oxygen demand (SCOD)	750 ~ 3,800
Total kjeldahl nitrogen (TKN)	728 ~ 1,363
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	550 ~ 1,220
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> -P	20 ~ 60
Cr <sup>6+</sup>	0.017
Zn <sup>2+</sup>	0.257
Cd <sup>2+</sup>	n.d.
n.d., not detected	

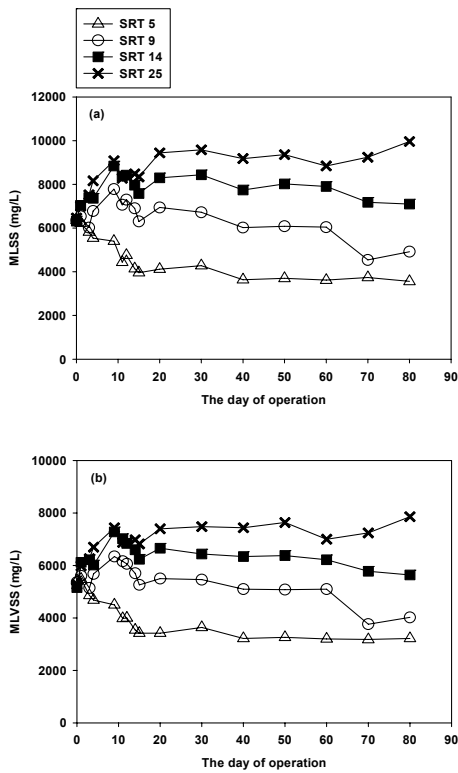


Fig. 2. The concentration of MLSS (a) and MLVSS (b) in SBR reactor depending on SRT.

INT-dehydrogenase (INT-DHA) 시험법

활성슬러지에 대한 중금속 독성을 측정하기 위해 본 연구에서는 INT-DHA 시험법이 사용되었다. INT-DHA 시험법의 구체적인 절차는 Anderson 등<sup>19)</sup>이 제시한 방법을 따랐으며, 중금속에 의한 활성도 저해 정도(% inhibition)는 아래 식을 이용하여 계산하였다.

$$\% Inhibition = \frac{ABS_{control} - ABS_{heavy\ metal}}{ABS_{control}} \times 100 \quad (1)$$

여기에서,  $ABS_{control}$ 은 대조군의 흡광도를 나타내며,  $ABS_{heavy\ metal}$ 은 중금속에 노출된 활성슬러지의 흡광도를 나타낸다. (1) 식과 아래의 (2) 식을 이용하여 감마( $\Gamma$ ) 값을 계산하였으며, 이때 박테리아 활성도의 50% 저해를 의미하는  $IC_{50}$  값은  $\Gamma$  값이 1일 경우이다.

$$\Gamma = \frac{\% inhibition}{100 - \% inhibition} \quad (2)$$

결과 및 고찰

슬러지 일령의 영향

SRT에 따른  $Cr^{6+}$ ,  $Zn^{2+}$  및  $Cd^{2+}$ 의  $IC_{50}$  값을 식 (1) 및 (2)의 계산과정을 통해 Fig. 3, 4, 5에 나타내었다. 모든 경우

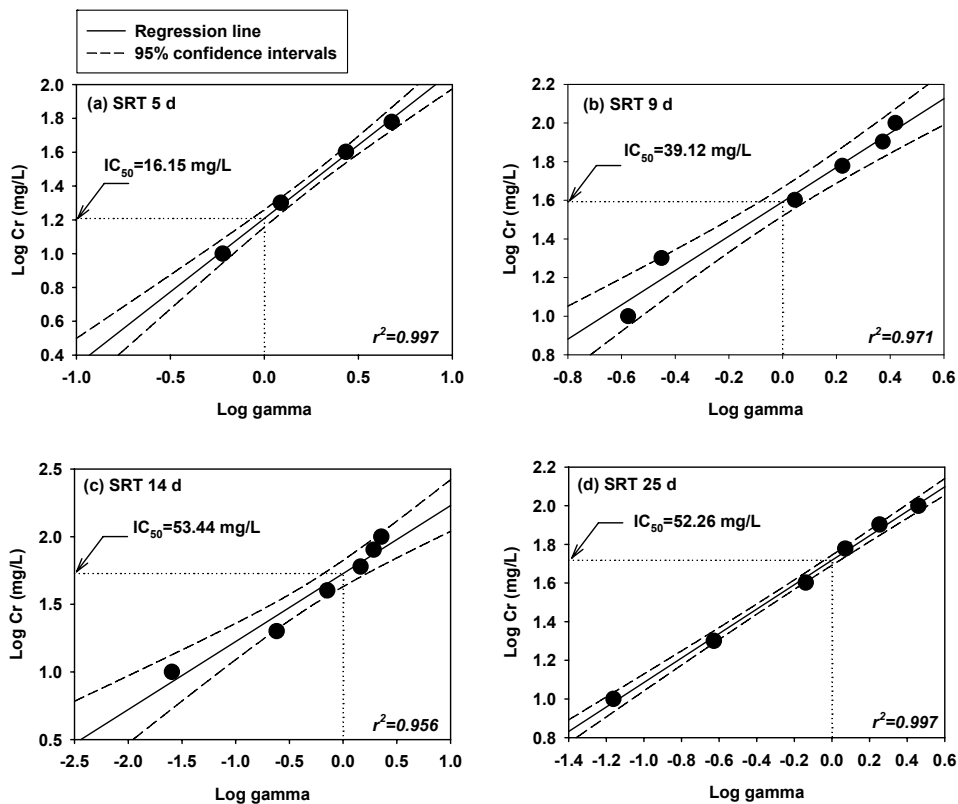


Fig. 3.  $IC_{50}$  results of chromium (VI) by INT-DHA at the SRT of 5 d (a), 9 d (b), 14 d (c) and 25 d (d), respectively.

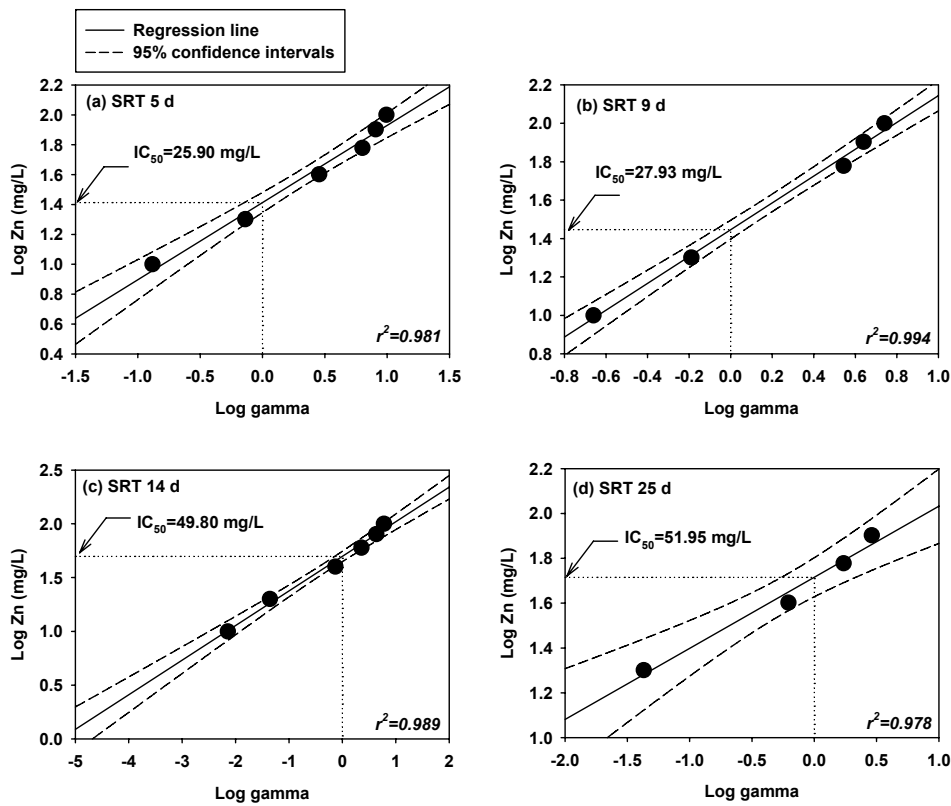


Fig. 4. IC<sub>50</sub> results of zinc by INT-DHA at the SRT of 5 d (a), 9 d (b), 14 (c) and 25 d (d), respectively.

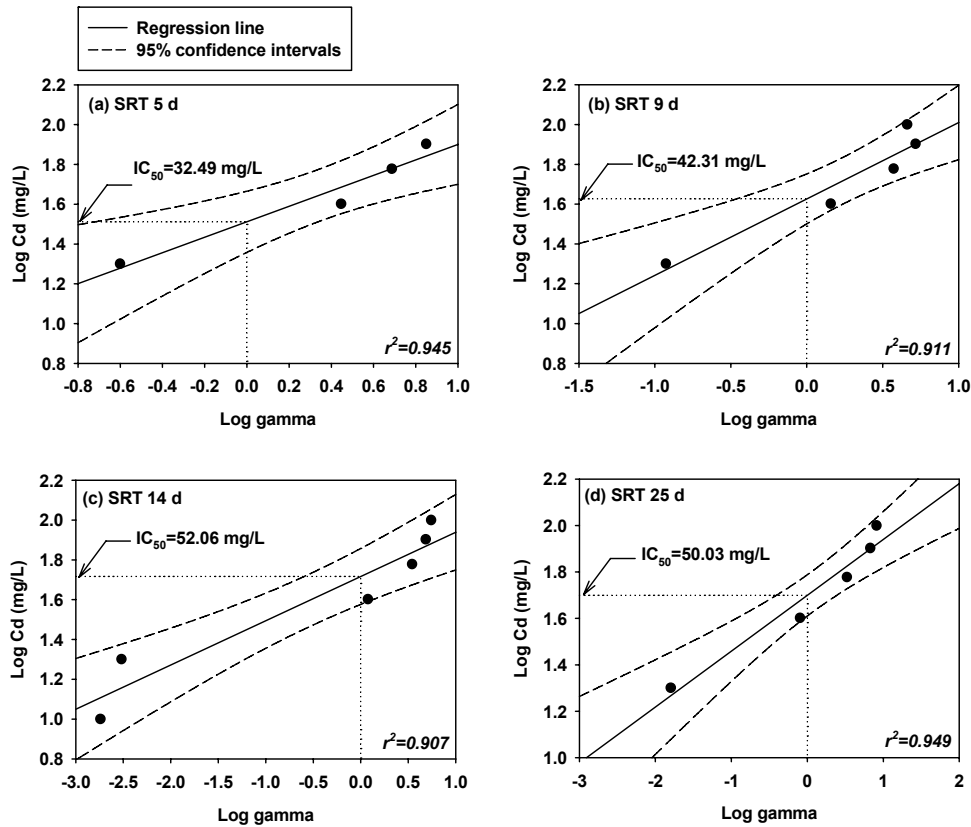


Fig. 5. IC<sub>50</sub> results of cadmium by INT-DHA at the SRT of 5 d (a), 9 d (b), 14 d (c) and 25 d (d), respectively.

에 있어서 독성물질의 농도와 감마값에 로그를 취한 후 그들의 상관관계를 나타내는 1차 회귀선은 95% 신뢰구간(95% confidence intervals)에서 높은 상관도( $r^2 > 0.9$ )를 보였다.

계산된  $Cr^{6+}$ ,  $Zn^{2+}$  및  $Cd^{2+}$ 의  $IC_{50}$  값과 슬러지 일령과의 관계는 Fig. 6에 나타내었다. SRT가 5일에서 25일로 증가함에 따라 세 중금속 모두 활성슬러지에 대한 독성도가 감소 ( $IC_{50}$  값의 증가)하는 것을 관찰할 수 있었으며 그 상관관계가 매우 높음을 알 수 있었다. 이러한 상관관계는 산소 섭취율 시험법을 이용한 Stasinakis 등<sup>14)</sup>의 연구에서도 비슷하게 도출되었는데  $Cr^{6+}$ 의 경우 SRT가 2.5일에서 20일로 증가함에 따라  $Cr^{6+}$ 의 독성 저해 효과가 감소하는 것으로 나타났다. SRT가 증가함에 따라 중금속 독성으로 인한 활성슬러지의 활성도 저해 현상이 감소하는 원인은 Rossin 등<sup>23)</sup>이 제안한 바와 같이 슬러지 일령이 증가할수록 MLSS 농도가 증가할 뿐만 아니라 세포의 폴리머(extracellular polymeric substances) 양 및 성분 조성이 변하기 때문인 것으로 판단된다. Fig. 6에서 주목할 점은 INT-DHA 시험법을 통해서도 산소 섭취율

시험법과 같은 결과를 얻을 수 있다는 점이다. 본 연구자의 사전 조사에 따르면 서론에서도 언급한 바와 같이 INT-DHA 시험법을 통해 SRT와 중금속 독성과의 상관관계에 대해 규명한 연구는 현재까지 전무한 것으로 판단된다.

**슬러지 일령과 중금속의 상대 독성**

Fig. 7은 SRT에 따른 중금속 종류별 상대 독성을 보여주고 있다. SRT 5일과 9일에서는  $Cr^{6+} > Zn^{2+} > Cd^{2+}$  및  $Zn^{2+} > Cr^{6+} > Cd^{2+}$  순으로 독성이 강한 것으로 나타났으며, SRT 14일과 25일에서는 SRT나 중금속 종류에 따라 독성 차이가 거의 나지 않는 것으로 관찰되었다. SRT 5일과 9일에서 중금속 종류별로 독성 차이가 나타나는 것은 낮은 슬러지 일령에서는 세포의 보호막 역할을 하는 세포외 폴리머(extracellular polymeric substances) 생성량이 적기 때문에<sup>24)</sup> 세포의 폴리머에 흡착되는 중금속량이 적고 이에 따라 실질적으로 독성을 미칠 수 있는 이온 상태의 중금속 농도가 높아져 중금속 종류별로 독성의 강도에 따라 상대적인 독성이 작용하였기 때문인 것으로 판단된다. 반면 상대적으로 높은 슬러지 일령인 14일과 25일에서는 세포외 폴리머 생성량이 많아지고 두꺼워지기 때문에 중금속 종류별 상대 독성 차이가 크지 않은 것으로 사료된다.

중금속의 상대 독성에 대한 연구는 연구자 마다 서로 다른 결과들이 보고되고 있는데 Dalzell 등<sup>25)</sup> 및 Gutiérrez 등<sup>16)</sup>이 각각 ATP luminescent bioassay 법 및 OUR 시험법을 통해  $Cr^{6+}$ 이  $Zn^{2+}$ 보다 독성이 강하다는 결과를 발표 한 바 있으며, Gutiérrez 등<sup>16)</sup> 및 Kelly 등<sup>14)</sup>이 각각 Microtox<sup>®</sup> 및 Bioluminescence 시험 법을 통해  $Zn^{2+}$ 이  $Cd^{2+}$ 보다 독성이 강함을 보고한 바 있다. 이들의 연구 결과들은 모두 본 연구에서 나타난 결과와 일치하지만 일부 다른 연구논문에서는 본 연구 결과와 상반된 결과들이 보고되고 있다. 예를 들면 Gutiérrez 등<sup>16)</sup>의 연구에서 산소 섭취율 법과 Microtox<sup>®</sup>법을 비교한 경우 산소 섭취율 시험법에서는  $Cr^{6+}$ 이  $Zn^{2+}$ 보다 독성이 강한 것으로 관찰되었지만 Microtox<sup>®</sup>법의 경우  $Zn^{2+}$

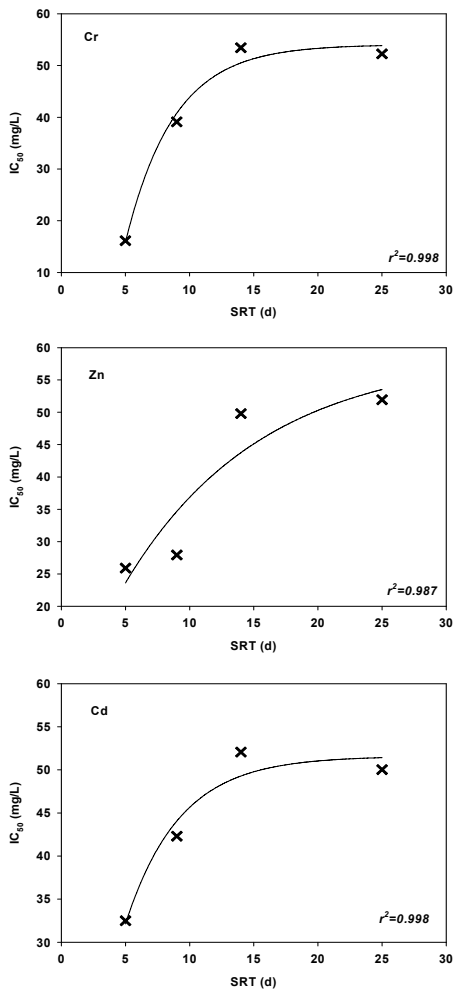


Fig. 6. Effect of SRT on toxicity of chromium (VI) (a), zinc (b) and cadmium (c) in activated sludge.

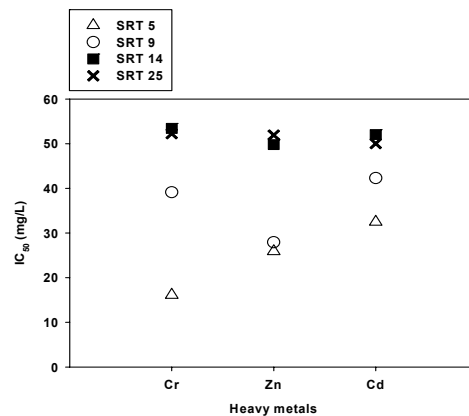


Fig. 7. Relative toxicity of heavy metals depending on SRT.

이  $\text{Cr}^{6+}$ 보다 더 독성이 강한 것으로 관찰되었다. 또한 Ren 등<sup>26)</sup> 및 Madoni 등<sup>1)</sup>의 연구에서는  $\text{Cd}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Cr}^{6+}$  순으로 독성이 강한 것으로 나타나 본 연구 결과와 완전히 상반됨을 알 수 있다. Kelly 등<sup>14)</sup>의 연구에서도 sludge source와 독성 시험법에 따라  $\text{Cd}^{2+}$ 이  $\text{Zn}^{2+}$ 보다 독성이 더 높게 나타나는 경우가 있었으며, Wong 등<sup>10)</sup> 및 Ghosh 등<sup>27)</sup>의 연구 결과에서도 각각  $\text{Zn}^{2+}$ 이  $\text{Cr}^{6+}$ 보다,  $\text{Cd}^{2+}$ 이  $\text{Cr}^{6+}$ 보다 더 독성이 높은 것으로 나타났다. 이렇게 같은 독성물질을 대상으로 서로 다른 결과가 보고된 원인은 독성시험법의 종류 및 군집을 구성하고 있는 미생물의 종류, 특정 중금속 물질에 적응(순화)된 미생물 사용 여부 등 여러 환경 요인에 기인하는 것으로 판단 된다<sup>28,29)</sup>.

따라서 실제 현장에서 활성슬러지 공정을 운전할 시에는 슬러지 일령을 고려하는 것이 매우 중요하며, 슬러지 일령이 낮을 경우  $\text{Cr}^{6+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  및  $\text{Cd}^{2+}$  독성에 대한 주의가 요망된다. 독성 영향을 최소화하기 위해서는 슬러지 일령을 길게 유지하는 것이 바람직 할 것으로 판단된다.

## 결 론

INT-DHA 시험법을 이용하여 슬러지 일령과  $\text{Cr}^{6+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  및  $\text{Cd}^{2+}$  독성의 상관관계에 대해 연구한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1)  $\text{Cr}^{6+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  및  $\text{Cd}^{2+}$  모두 SRT가 5일에서 25 일로 증가함에 따라 활성슬러지에 대한 독성 저해가 감소하는 것으로 나타났다.
- 2)  $\text{Cr}^{6+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  및  $\text{Cd}^{2+}$ 의 상대 독성은 SRT에 따라 서로 다른 것으로 나타났다. SRT 5일 및 9일의 비교적 짧은 SRT에서는  $\text{Cr}^{6+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Cd}^{2+}$  및  $\text{Zn}^{2+} > \text{Cr}^{6+} > \text{Cd}^{2+}$  순으로 중금속 종류별로 독성 차이가 뚜렷한 것으로 나타났으며, 상대적으로 긴 슬러지 일령인 SRT 14일 및 25일에서는  $\text{Cr}^{6+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  및  $\text{Cd}^{2+}$ 의 독성도 차이가 거의 나지 않는 것으로 관찰되었다. 따라서 활성슬러지공정 운영 시  $\text{Cr}^{6+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  및  $\text{Cd}^{2+}$ 의 독성 영향을 최소화하기 위해서는 긴 슬러지 일령에서 공정을 운영하는 것이 바람직 할 것으로 판단된다.

## 사 사

본 연구는 농림수산식품부 농림기술개발사업(106134-03-2-HD110) 및 2007년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비 지원에 의하여 이루어진 것임.

## 참고문헌

1. Madoni, P., Davoli, D., Gorbi, G. and Vescovi, L. (1996) Toxic effects of heavy metals on the activated

- sludge Protozoan community, *Water Res.* 30(1), 135-141.
2. Leduc, J. G., Ferroni, G. D. and Trevors, J. T. (1997) Resistance of heavy metals in different strains of *Thiobacillus ferrooxidans*, *World J. Microb. Biotechnol.* 13, 453-462.
3. Principi, P., Villa, F., Bernasconi, M. and Zanardini, E. (2006) Metal toxicity in municipal wastewater activated sludge investigated by multivariate analysis and in situ hybridization, *Water Res.* 40, 99-106.
4. Gokcay, C. F. and Yetis, U. (1991) Effect of chromium (VI) on activated sludge, *Water Res.* 25(1), 65-73.
5. Yetis, U., Demirer, G. N. and Gokcay, C. F. (1999) Effect of Cr(VI) on the biomass yield of activated sludge, *Enzyme Microb. Technol.* 25, 48-54.
6. Bruins, M. R., Kapil, S. and Oehme, F. W. (2000) Microbial resistance to metals in the environment, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 45, 198-207.
7. Ghosh, M. M. and Zügger, P. D. (1973) Toxic effect of mercury on the activated sludge process, *J. Water. Pollut. Control Fed.* 45, 424-429.
8. Zarnovsky, L., Dercó, J., Kuffa, R. and Drtil, M. (1994) The Influence of cadmium on activated sludge activity. *Water Sci. Technol.* 30, pp. 235-242.
9. Beyenal, N. Y., Ozbelge (Baser), T. A. and Ozbelge, H. O. (1997) Combined effects of  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  on activated sludge process, *Water Res.* 31(4), 699-704.
10. Wong, K., Zhang, M., Li, X. and Lo, W. (1997) A luminescence-based scanning respirometer for heavy metal toxicity monitoring, *Biosens. Bioelectron.* 12, 125-133.
11. Arican, B. and Yetis, U. (2003) Nickel sorption by acclimatized activated sludge culture, *Water Res.* 37, 3508-3516.
12. Gikas, P. and Romanos, P. (2006) The effect of tri-valent (Cr(III)) and hexa-valent (Cr(VI)) on the growth rate of activated sludge, *J. Hazard. Mater. B.* 133, 212-217.
13. Dilek, F. B., Gokcay, C. F. and Yetis, U. (1998) Combined effects of Ni(II) and Cr(VI) on activated sludge, *Water Res.* 32(2), 303-312.
14. Stasinakis, A. S., Mamais, D., Thomaidis, N. S. and Lekkas, T. D. (2002) Effect of chromium (VI) on bacterial kinetics of heterotrophic biomass of activated sludge, *Water Res.* 36, 3341-3349.
15. Pamukoglu, M. Y. and Kargi, F. (2007) Mathematical modeling of copper(II) ion inhibition on COD removal in an activated sludge unit, *J. Hazard.*

- Mater.* 146, 372-377.
16. Gutiérrez, M., Etxebarria, J. and Fuentes, L. (2002) Evaluation of wastewater toxicity: comparative study between Microtox<sup>®</sup> and activated sludge oxygen uptake inhibition, *Water Res.* 36, 919-924.
  17. Kelly, C. J., Tumsaroj, N. and Lajoie, C. A. (2004) Assessing wastewater metal toxicity with bacterial bioluminescence in a bench-scale wastewater treatment system, *Water Res.* 38, 423-431.
  18. Bitton, G. and Koopman, B. (1982) Tetrazolium reduction-malachite green methods for assessing the viability of filamentous bacteria in activated sludge, *Appl. Environ. Microbiol.* 43, 964-966.
  19. Anderson, K., Koopman, B. and Bitton, G. (1998) Evaluation of INT-dehydrogenase assay for heavy metal inhibition of activated sludge, *Water Res.* 22(3), 349-353.
  20. Kim, C. W., Koopman, B. and Bitton, G. (1994) INT-dehydrogenase activity test for assessing chlorine and hydrogen peroxide inhibition of filamentous pure cultures and activated sludge, *Water Res.* 28(5), 1117-1121.
  21. Wuertz, S., Pfeleiderer, P., Kriebitzsch, K., Späth, R., Griebel, T., Coello-Oviedo, D., Wilderer, P. A. and Flemming, H. C. (1998) Extracellular redox activity in activated sludge, *Water. Sci. Technol.* 37(4-5), 379-384.
  22. Hongwei, Y., Zhanpeng, J., Shaoqi, S. and Tang, W. Z. (2002) INT-dehydrogenase activity test for assessing anaerobic biodegradability of organic compounds, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 53, 416-421.
  23. Rossin, A. C., Sterritt, R. M. and Lester, J. N. (1982) The influence of process parameters on the removal of heavy metals in activated sludge, *Water Air Soil Poll.* 17, 185-198.
  24. Bitton, G. (1999) *Wastewater Microbiology*, A John Wiley & Sons, Inc., New York.
  25. Dalzell, D. J. and Christofi, N. (2002) An ATP luminescence method for direct toxicity assessment of pollutants impacting on the activated sewage sludge process, *Water Res.* 36, 1493-1502.
  26. Ren, S. and Frymier, P. D. (2003) Kinetics of the toxicity of metals to luminescent bacteria, *Adv. Environ. Res.* 7, 537-547.
  27. Ghosh, S. K., Doctor, P. B., Derasari, A. and Amin, R. J. (2004) Toxicity screening of metals with special reference to quantitative approach, *Toxicol. Mech. Method* 14(4), 223-226.
  28. Nweke, C. O., Alisi, C. S., Okolo, J. C. and Nwanyanwu, C. E. (2007) Toxicity of zinc to heterotrophic bacteria from a tropical river sediment, *Appl. Ecol. Environ. Res.* 5(1), 123-132.
  29. Vaňková, S., Kupec, J. and Hoffmann, J. (1999) Toxicity of chromium to activated sludge. *Ecotox. Environ. Safe.* 42, 16-21.
-