

한천-아크릴아마이드 미생물 고정화법에 의한 폐수 중 폴리비닐알콜의 분해

김 재 훈 · 김 정 목 · † 조 무 환
영남대학교 화학공학과

Degradation of Polyvinyl Alcohol in Dye-Processing Wastewater by Agar-Acrylamide Microbial Immobilization Method

Jae-Hoon Kim, Jeong-Mog Kim and Moo-Hwan Cho[†]

Department of Chemical Engineering, Yeungnam University, Kyongsan 712-749, Korea

ABSTRACT

For the treatment of poorly biodegradable polyvinyl alcohol (PVA) in dye-processing wastewater, immobilized microbial beads were prepared by using agar-acrylamide method. PVA removal efficiency for the synthetic wastewater was 85% at the PVA volume loading rate of 3.1g/ℓ · day. In case of real desizing wastewater, PVA removal efficiency was 81.3% at the PVA volume loading rate of 3.25g/ℓ · day. In observation of cross section of immobilized bead passed 5 months with diameter of 2.4mm, the growth of cell was limited by the resistance of substrate and oxygen transfer for the inner region of more than 48% of bead radius from the surface. It was estimated that 70% of total removed PVA was degraded by the immobilized cells in the continuous immobilized reactor. Substrate utilization rate in the suspended reactor was decreased with increasing dilution rates above 0.083 hr⁻¹, but that in the immobilized reactor was increased with increasing dilution rates up to 0.125hr⁻¹. The substrate removal efficiency of immobilized reactor was much superior to that of suspended reactor with increasing dilution rates. Saturation constant of substrate utilization rate equation, K_s was 6.6 g PVA/ℓ, and maximum specific substrate utilization, k was 0.175g PVA/g cell · hr

서 론

염색가공 공장에서 배출되는 호발폐수는 호제의 종류에 따라 성분이 각각 다르며, 널리 사용되는 호제는 polyvinyl alcohol (PVA), starch 및 acrylic acid esters 등이다. 특히 PVA는 사용할 수 있는 원단의 종류가 다양하므로 널리 사용되며, 다른 호제와 함께

호발공정에서 폐수에 함유되어 전량 배출된다.

PVA는 생물학적 난분해성 물질로 알려져 있으며, 전형적인 수용성 고분자 물질이다. 崎本 등(1-3)은 활성오니법으로 PVA가 함유된 폐수를 처리한 바 있으나 분해시간이 상당히 요구되며, 처리공정의 관리가 어려운 점으로 지적되었다. Shimao 등(4-6)은 이미 연구되어진 Suzuki 등(7, 8)의 *Pseudomonas* 0-3에 의한 PVA 분해에서 그 colony가 단일 균주에 의한 pure culture가 아니라 mixed culture

† Corresponding Author

임을 밝혔다. 즉 *Pseudomonas putida*와 *Pseudomonas* sp. 의 공생관계에 의해 PVA가 분해되며, *Pseudomonas* sp. 가 PVA 분해를 일으킨다고 보고하였다. 기존의 활성오니법에서는 PVA를 여러 폐수와 혼합하여 처리하고 있으나 성상이 각각 달라 효과적 처리가 어렵다. 또한 분해시간이 상당히 요구되며, 잉여 슬러지가 많이 발생하고 장치가 대형화하여 많은 비용이 요구된다. 이에 반하여 미생물의 고정화법에 의한 폐수처리는 특정 미생물을 고농도로 고정화하므로 물질을 효과적으로 분해할 수 있으며, 처리시간을 단축하고 잉여오니를 줄일 수 있다.

포괄 고정화법을 이용한 폐수처리는 아직 실용화되어 있지 않지만 실험적으로는 고농도의 BOD처리가 가능하다.

현재 각종 고정화제를 이용한 포괄 고정화법이 고안되고 있으며, 생물공학의 진보로 급속히 발전하였다. 지금까지 보고된 고정화제로는 polyacrylamide, k-carrageenan, calcium alginate, agar 등이 있다 (9-11).

한천-acrylamide 고정화법은 성형 고정화한 한천과 미생물 gel중에 acrylamide monomer를 침투시킨 후 중합을 행하는 고정화 방법으로 강도가 약한 고정화 한천 bead가 acrylamide monomer에 의해 보강된다. 한천에 의해 미생물 세포가 보호되어 acrylamide의 독성이 감소되는 이점이 있으므로 향후 이 방법에 의한 미생물 고정화가 활발히 진행될 것으로 생각된다(12). 따라서 본 연구에서는 한천-acrylamide를 이용하여 미생물을 고정화하였다.

본 연구의 목적은 한천-acrylamide를 이용하여 미생물을 고정화한 bead를 제조한 후 air-lift reactor를 사용하여 호발폐수 중의 PVA를 제거함에 있다. 따라서 회분실험을 통하여 균주의 최적 pH와 온도를 조사하였고 이러한 결과를 바탕으로 합성폐수와 실제 호발폐수를 이용하여 체류시간과 유입수의 농도변화에 따른 처리수의 PVA, COD농도와 각각의 제거효율을 조사하였다.

실험재료 및 방법

균주 및 배지조성

본 실험에 사용한 PVA 분해균은 김, 조 등(13)이 순수분리 동정한 PVA 분해균인 *Pseudomonas*속의 두 균주(G_5Y , PW)를 사용하였으며, PVA는 두 균주의 공생관계에 의해서만 분해됨을 확인한 바 있다.

Table 1. Component of synthetic wastewater.

Components	Concentration(g/l)
PVA	1-5
(NH ₄) ₂ SO ₄	1.0
KH ₂ PO ₄	1.0
K ₂ HPO ₄	8.0
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.2
NaCl	0.1
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.01
CaCl ₂ · 2H ₂ O	0.02
pH	7.5

실험에 사용된 배양배지는 분리용배지(13)를 사용하였으며, 합성폐수의 조성은 Table 1과 같다. 합성폐수의 농도를 충분히 증가시킨 후 반응기내 미생물 농도가 정상상태에 도달했을 때 합성폐수를 공급하여 연속실험을 수행하였다.

분석방법

합성폐수 및 처리수는 GF/C 여과지(Pore size 1 μm)로 여과하여 이것을 분석용 시료로 사용하였다. PVA의 정량은 Finley 방법(14)에 준하여 측정하였다.

COD는 산성 KMnO₄법으로 측정하였으며, 세포농도는 spectrophotometer를 사용하여 660nm에서 흡광도를 측정하고 미리 구한 표준곡선으로부터 계산하였다. 균체량은 원심분리와 증류수 세척을 3회 한 후 100℃에서 무게가 일정하게 될 때까지 건조하여 무게를 측정하였다.

포괄 고정화 방법

한천-acrylamide 포괄 고정화법은 미생물을 한천으로 고정화하여 구형으로 bead를 성형한 다음 acrylamide로 중합시키는 방법이다.

Table 1의 배지를 이용하여 배양한 PVA 분해균을 4000rpm에서 원심분리하였으며, 이때 균체량은 약 8g/l이었다. 생리식염수로 세척한 다음 농축오니 300ml와 5% 한천용액 300ml를 50℃ 항온조에서 중합비 1:1로 혼합시킨 후 60ml 주사기로 액체 paraffin에 적하하여 직경 1~3mm의 bead로 성형하였다. 성형된 한천 bead내의 미생물 활성을 증가시키고 세포증식과 CO₂ 생성으로 한천에 의한 투과저항을 감소시키기 위하여 기질중에 투입하여 35℃ 항온조 내에서 48hr동안 활성화시켰다.

충분히 물기를 제거한 후 질소가스로 15분간 탈기시킨 acrylamide(ACAM, 단량체, 7.5%) NN'-

methylenebisacrylamide(DMAPN, 중합촉진제, 0.5%)의 배양액 중에 한천 bead를 투입하여 25분간 정치시킨 후 bead를 재빨리 질소가스로 탈기시킨 0.5% $K_2Cr_2O_8$ 용액에 투입시켜 30분간 완속 교반시켰다. 한천-acrylamide bead를 증류수로 충분히 세척하여 중합되지 않은 성분들을 제거한 후 반응조 내에 투입하여 실험을 행하였다.

회분실험

한천-acrylamide 포괄 고정화시 최적 배양조건을 찾기 위하여 배양배지를 사용하여 온도를 25°C에서 40°C까지 pH는 6.5에서 8의 범위에서 변화시켜 조사하였으며, 20%(V/V)의 bead를 투입하여 COD 및 PVA 분해율을 각각 조사하였다. 이때 shaking incubator의 회전수는 180rpm을 유지하였다.

또한 최적 배양조건에서 고정화 미생물의 성장상태를 조사하였다.

연속실험

본 실험에 사용된 반응기는 김, 조 등(15)이 고정화에 사용한 반응기를 사용하였다. 외부온도는 water jacket을 설치하여 항상 35°C를 유지하였으며, 공기유속을 0.6ℓ/min로 하여 반응기 내의 DO는 0.5ppm 이상을 유지하였다. 유입수는 미량 정량 펌프를 사용하여 반응기의 상부에서 공급하였으며, 공기는 반응기의 하부에서 공급하였다. 반응기 가운데 격벽을 설치하고 바닥을 등글게 하여 bead의 회전을 원활하게 하였다. 유입되는 폐수의 반대편에 처리수가 유출되며, controller를 사용하여 pH를 자동 조절하였다.

PVA 분해균주가 고정화된 bead를 반응기에 450ml 충전시킨 후 미생물의 활성을 증가시키기 위하여 배양지를 사용하여 초기 PVA농도 2,000mg/ℓ에서 70% 이상 제거되었을 때 배지의 농도를 3,000~5,000mg/ℓ로 변화시키면서 반복회분식으로 30일간 배양시킨 후 합성폐수를 공급하였다. PVA의 제거효율을 조사하기 위하여 유입 합성폐수의 COD농도를 950mg/ℓ, 2,800mg/ℓ 및 5,700mg/ℓ로 각각의 농도에서 체류시간을 18hr, 24hr, 36hr로 변화시키면서 실험하였다. 반응기내 온도는 35°C, pH는 7.5로 유지하였다.

PVA 생분해 속도론

현탁배양기에서 PVA의 생분해 속도론을 조사하였다. 먼저 PVA 비제거속도는 미생물에 의한 비기

질 제거속도이므로 Monod식에서 미생물의 비증식속도와 기질의 농도 PVA와의 관계식으로 나타내면 식(1)과 같이 된다.

$$q = \frac{1}{x} \frac{dS}{dt} = \frac{k \cdot S}{K_s + S} \quad (1)$$

여기서, q는 비기질 이용속도(g substrate/g cell · hr), S는 기질농도(g substrate/ℓ), k는 최대 비기질 제거속도이다. 식(1)에서 기질인 PVA 농도가 높을 경우, $K_s \ll S$ 가 되며 PVA의 제거속도는 PVA의 농도와 관계가 없으며, 이때 최대 기질 이용속도(최대 분해속도)로 분해되며 식(2)와 같이 된다.

$$q \cong k \quad (2)$$

이와 반대로 기질인 PVA 농도가 낮을 경우, $K_s \gg S$ 가 되며 비기질 제거속도는 기질의 농도(PVA 농도)와 비례하는 1차 식이 된다.

$$q \cong \frac{k}{K_s} S = KS \quad (3)$$

여기서, K(비기질 제거속도상수) = k/K_s (ℓ/g cell · hr)이다.

연속 반응기에서 유입수의 농도 S_0 를 일정하게 두고 체류시간을 변화시키면서 유출수의 농도 S와 cell농도 X(g cell/ℓ)를 측정하여 물질수지식을 세우면 식(4)와 같다.

$$q = \frac{(S_0 - S)}{X(HRT)} \quad (4)$$

식(1)을 정리하면 다음과 같이 쓸 수 있다.

$$\frac{1}{q} = \frac{K_s}{k} \frac{1}{S} + \frac{1}{k} \quad (5)$$

고정화 반응기에서 PVA의 생분해 속도론은 다음과 같이 나타낼 수 있다.

고정화 반응기에서는 반응기 내의 free cell과 bead내의 고정화된 active cell에 의해 기질이 제거된다. 따라서 전체 기질 제거속도 Q는 식(6)과 같이 된다.

$$Q = -\frac{dS}{dt} = \frac{k \cdot S}{K_s + S} (X_f + X_E) \quad (6)$$

$$Q = \frac{S_0 - S}{HRT} = \frac{k \cdot S}{K_s + S} (X_f + X_E) \quad (7)$$

여기서, Q는 $Q = Q_f + Q_E = q(X_f + X_E)$ 로 정의하

며, Q 는 총괄 기질 제거속도(g substrate/ $\ell \cdot hr$), Q_f 는 free cell에 의한 기질 제거속도, Q_E 는 bead 내에 고정화된 cell에 의한 기질 제거속도, X_f 는 free cell농도(g free cell/ ℓ), X_E 는 free cell과 같은 activity를 가진 bead내의 equivalent cell농도이다.

결과 및 고찰

회분실험

포괄고정화시켰을 때의 배양시간에 따른 현탁세포의 성장곡선과 PVA, COD농도 변화를 Fig. 1에 나타내었다. 배양 2일 후부터 세포의 성장이 활발하였고, 농도 변화가 뚜렷함을 알 수 있다. 이와 같은 결과는 고정화된 세포의 유리화 고정화 세포의 성장에 기인하는 것으로 사료된다. 포괄고정화시켰을 때의 최적 배양조건을 찾기 위하여 반복 회분식 실험에 의한 결과 35°C에서 높은 분해율을 보였으며, PH는 7.5와 8 사이에서 대체로 높은 분해율을 나타내었으며, 최적 pH는 7.5로 나타났다. 이는 현탁배양 때의 최적조건과 동일하였다(13).

연속공정

합성폐수의 PVA 및 COD 제거효율

Fig. 2에 나타난 바와 같이 체류시간이 증가할수록 유입수의 PVA농도에 관계없이 제거효율은 증가하였다.

유입수의 PVA농도가 3,100mg/ ℓ , 1,060mg/ ℓ 일 때는 체류시간 36hr에서 18hr로 변화함에 따라 유출수의 PVA농도와 제거효율은 크게 변하지 않았으

나 유입수의 PVA농도가 6,330mg/ ℓ 일 때는 체류시간이 감소함에 따라 유출수의 PVA농도가 현저히 증가하여 체류시간 18hr에서 2,330mg/ ℓ 이며, 제거효율은 63.1%로 나타났다. 따라서 유입수의 PVA농도가 3,100mg/ ℓ 일 때 체류시간 24hr에서 유출수의 수질은 450mg/ ℓ 의 PVA농도로 제거효율은 85% 이상을 유지할 수 있는 것으로 사료된다.

COD도 PVA 제거율과 비슷한 경향을 나타내었으나 전반적으로 제거효율이 낮으며, 이는 미생물의 대사과정에서 생산되는 고분자물질과 PVA 분해에 의해 생성된 oligomer의 영향으로 사료된다.

유입수 COD농도 2,800mg/ ℓ 일 때 체류시간 36hr, 18hr에서 유출수의 COD농도는 480mg/ ℓ , 1,080mg/ ℓ 이며, 83%와 61%의 제거효율을 보였다. 또한 저농도인 900mg/ ℓ 일 때는 각각의 체류시간에서 유출수의 농도는 140mg/ ℓ , 345mg/ ℓ 로 85%, 64%의 제거율을 나타내었다.

실제 호발폐수의 PVA 및 COD 제거효율

실제 호발폐수의 PVA 및 COD농도는 각각 3,253mg/ ℓ , 4,500mg/ ℓ 이며, 체류시간을 48hr, 36hr, 24hr, 12hr로 변화시켜 실험한 결과는 Fig. 3과 같다.

실험결과와 합성폐수와 비슷한 경향을 나타내었다. 각각의 체류시간에서 유출수의 COD농도(제거효율)는 300mg/ ℓ (93.3%), 425mg/ ℓ (90.5%), 840mg/ ℓ (81.3%) 및 1,320mg/ ℓ (70.6%)이며, 유

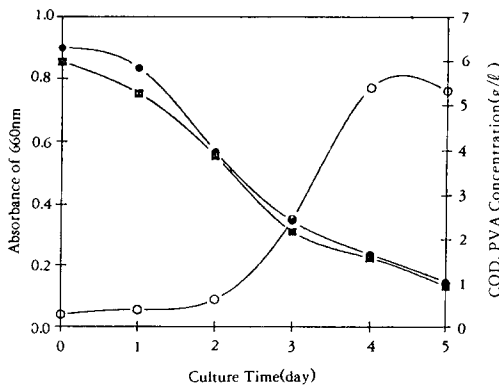


Fig. 1. Profiles of cell growth and biodegradation by immobilized cell(○: abs., ●: COD conc., ■: PVA conc.).

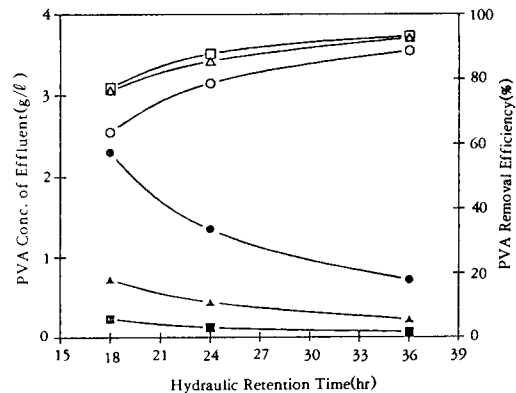


Fig. 2. Variation of effluent PVA concentration and removal efficiency with hydraulic retention time for synthetic wastewater(Influent PVA conc.: ■: 1.06g/ ℓ , ▲: 3.10g/ ℓ , ●: 6.33g/ ℓ , removal eff.: □: 1.06g/ ℓ , △: 3.10g/ ℓ , ○: 6.33g/ ℓ).

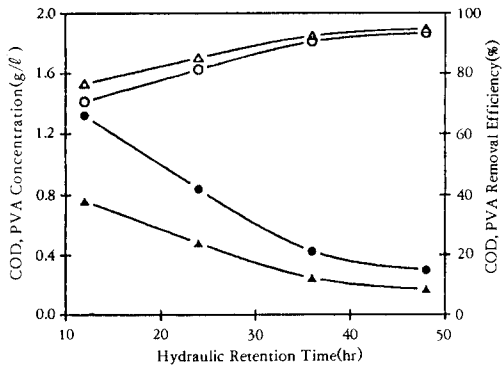


Fig. 3. Variation of effluent COD and PVA concentration, and removal efficiency with hydraulic retention time for real wastewater (effluent conc.: ●: COD, ▲: PVA, removal eff.: ○: COD, △: PVA).

출수의 PVA 농도 (제거효율)는 각각 172mg/l (94.7%), 247mg/l (92.4%), 480mg/l (85.2%) 및 762mg/l (76.6%)로 나타났다.

실제 호발폐수에서 유입수의 PVA 농도에 비해서 COD 농도가 높은 것은 starch와 같은 다른 호제의 영향에 의한 것으로 사료된다.

Bead 내부 관찰

Fig. 4의 A, B, C는 bead 제조 직후 단면의 전자현미경 사진을 나타낸 것이다. 직경은 1.5mm이며, A의 한 부분을 각각의 비율로 확대하였다. 표면 또는 내부에 고정화된 cell이 균일하게 다수 존재하고 있음을 보여준다.

Bead 내부의 기질과 산소전달의 저항을 확인하기 위하여 반응기에서 5개월 경과된 bead를 절단하여 단면을 전자현미경에 의해 관찰한 결과를 Fig. 5에 나타내었다.

Bead 외부표면은 polymer가 코팅된 것으로 사료되며, bead의 직경이 1mm일 때는 내부로의 물질전달에 저항을 받지 않으나 직경이 2mm일 때는 bead 내부로의 물질전달저항으로 인하여 내부에는 세포의 성장이 활발하지 못하였다. 이와 같은 결과에서 각 bead의 PVA 제거효율을 증대시키기 위해서는 직경을 작게 만드는 것이 중요한 인자이다.

Fig. 6은 반응기에서 5개월이 경과된 직경 3mm인 bead의 외부단면을 나타낸 것이다. 보는 바와 같이 군체가 colony를 형성하여 담체의 표면과 내부에

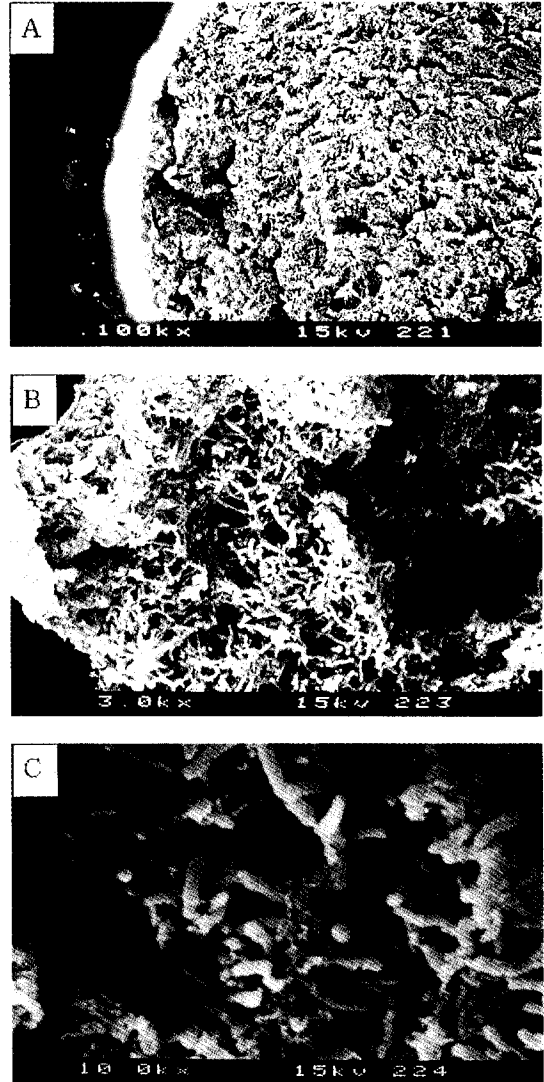


Fig. 4. Scanning electron micrographs of immobilized bead at initial time (bead diameter: 1.5mm, A=100, B=3,000, C=10,000 folds of magnification).

부착고정화되어 다수 존재하고 있으나 내부는 bead의 제조 초기와 변화가 거의 없음을 알 수 있다. 또한 표면은 영양원의 확산과 배설물의 외부방출이 용이하기 때문에 군체가 증식하기 쉽다.

PVA 생분해 속도론

현탁배양기에서 연속실험을 통하여 PVA의 생분

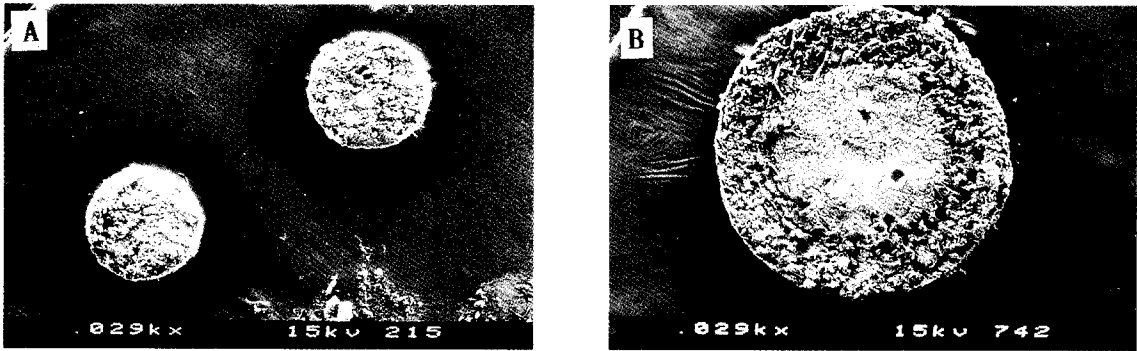


Fig. 5. Scanning electron micrographs of immobilized beads after 5 months (bead diameter: A: 1mm, B: 2mm).

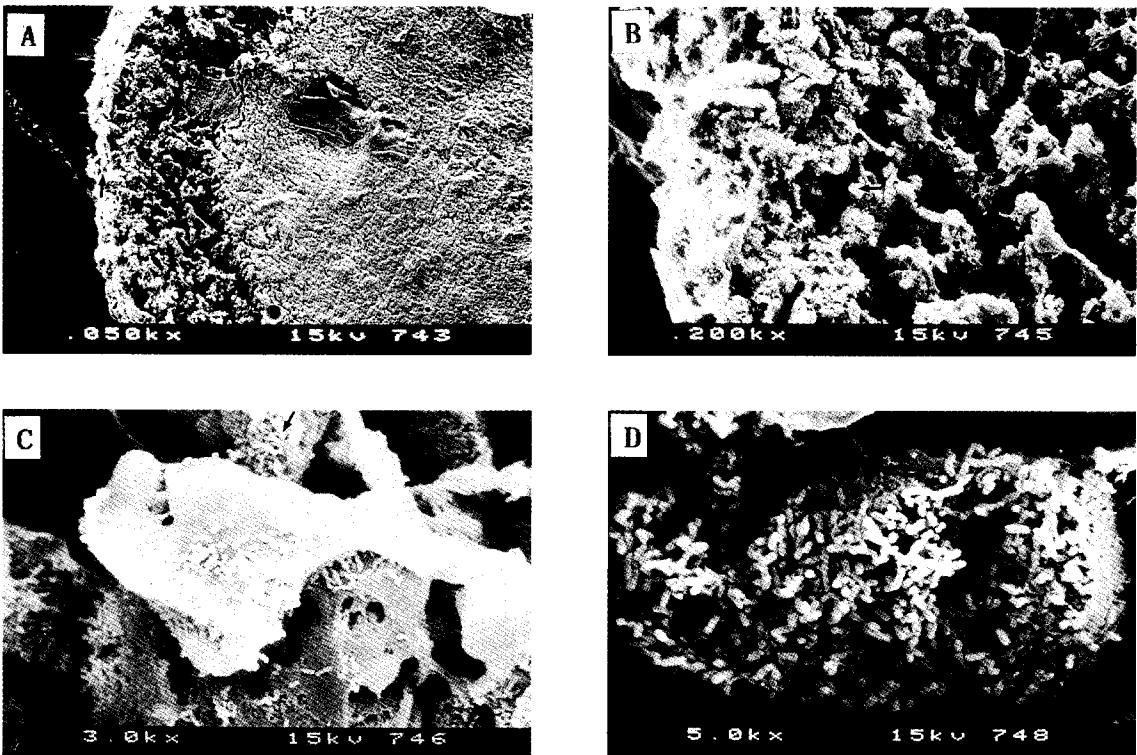


Fig. 6. Scanning electron micrographs of immobilized beads after 5 months (bead diameter: 3mm).

해 속도를 조사하였다.

Fig. 7은 현탁반응기에서 연속실험의 결과로 PVA의 비기질 이용속도에 대한 기질농도와와의 관계를 나타내고 있다.

Fig. 8은 PVA 연속실험 결과를 plot한 것으로

식(5)가 성립되고 있음을 보여주고 있다. 여기서 포화상수 $K_s=6.60(\text{g PVA}/\ell)$ 이고, 최대 비기질 이용속도 $k=0.175(\text{g PVA}/\text{g cell} \cdot \text{hr})$ 를 구할 수 있다.

현탁 연속반응기에서 S, X_f 를 측정하며, K_s, k 는

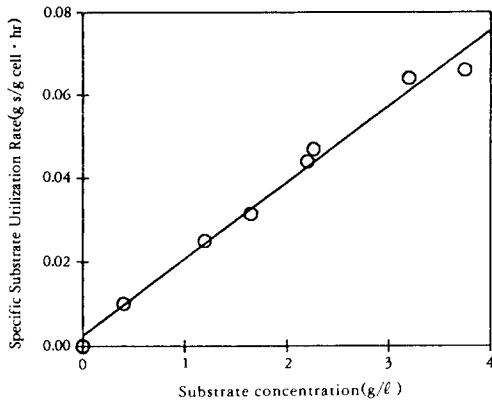


Fig. 7. Effect of substrate concentration on specific substrate utilization rate.

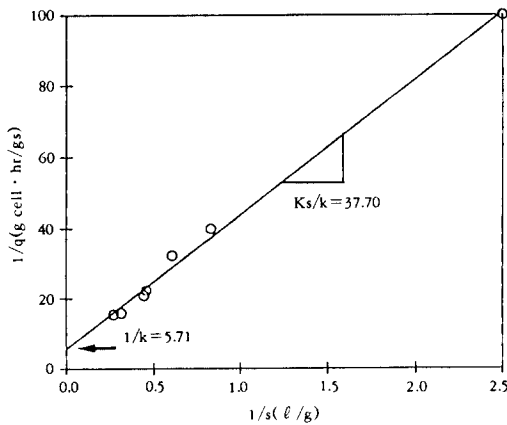


Fig. 8. Plot of $1/q$ vs. $1/S$.

현탁 반응기에서 구한 것을 사용하여 X_E 를 얻을 수 있다.

Fig. 9는 고정화 배양기에서 전체 제거속도 중 bead 내의 고정화된 cell에 의한 제거분율(R)과 X_E , X_E 를 희석율의 변화에 따라 나타내었다. 전체 제거속도 중 bead 내의 고정화 cell의 제거분율이 약 70% 정도 됨을 알 수 있다.

Fig. 10은 고정화 반응기와 현탁반응기에서 희석율 변화에 따른 기질 이용속도를 나타내었다. 고정화 반응기는 희석율이 0.125hr^{-1} 까지 거의 선형적으로 증가하였으나 현탁반응기에서는 희석율 0.083hr^{-1} 이상에서는 기질이용 속도가 감소하였다. 이는 고정화 반응기에서는 희석율이 증가하더라도 bead

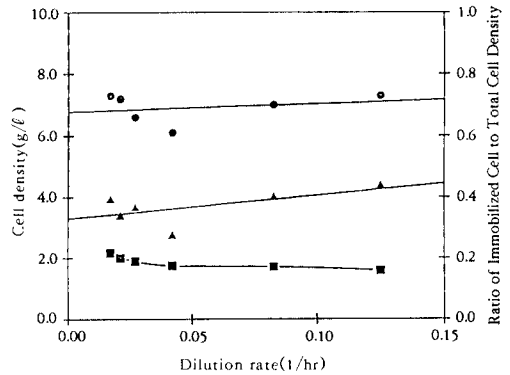


Fig. 9. Effect of dilution rate on the ratio of effective immobilized cell density to total cell density in immobilized reactor(■: free cell density, ▲: immobilized cell density, ●: ratio of immobilized cell density to total cell density).

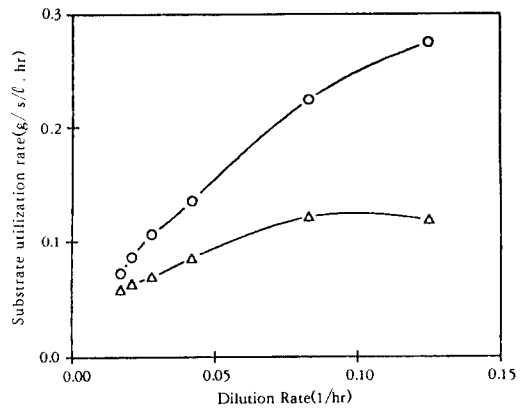


Fig. 10. Effect of dilution rate on substrate utilization rate(○: total cell in immobilized reactor, △: suspended cell in suspended reactor).

내에 고정화된 cell농도가 높게 유지되므로 총괄 기질 이용속도가 희석율 증가에 따라서 비례적으로 증가하나 현탁반응기에서는 cell농도가 희석율 증가에 따라서 감소하므로 기질이용속도는 완만하게 증가하다가 희석율 0.083hr^{-1} 이상에서는 Washout 현상이 나타나는 것으로 사료된다. 따라서 고정화 반응기가 현탁반응기에 비하여 희석율의 증가에 따라 기질 제거효율이 우수함을 알 수 있다.

요 약

염색가공 폐수 중 난분해성 물질인 PVA를 처리하기 위하여, 한천-acrylamide를 이용한 bead를 제조한 후 air-lift 반응기에서 연속실험을 행하였다.

합성폐수의 PVA농도가 3,100mg/ℓ. 체류시간 24hr일 때 유출수의 농도는 450mg/ℓ 이며, 제거효율은 85% 이상을 나타내었다.

실제 호발폐수의 경우 PVA 및 COD농도가 3,253mg/ℓ, 4,500mg/ℓ 일 때, 체류시간 24hr에서 유출수의 농도는 840mg/ℓ, 480mg/ℓ 이며, 제거효율은 81.3%와 85.2%로 각각 나타났다.

bead의 지름이 1mm일 때는 내부의 미생물 성장이 양호하였으나 bead의 지름이 2mm일 때는 기질과 산소전달저항에 의하여 반지름의 48% 이상은 미생물의 성장이 저해를 받았다. 고정화 반응기에서 전체 기질 제거속도 중 bead 내 고정화 cell의 제거분율은 평균 70%로 나타났다.

현탁 반응기에서 회석율 0.083hr^{-1} 이상에서는 기질 이용속도가 감소하였으나 고정화 반응기에서는 회석율 0.125hr^{-1} 까지 거의 선형적으로 증가하였다.

PVA 제거속도식에서 포화상수 $K_s=6.60(\text{g PVA}/\ell)$ 와 최대 비기질 이용속도 $k=0.175(\text{g PVA}/\text{g cell} \cdot \text{hr})$ 를 얻었다.

참 고 문 헌

1. 嶋本, 尾崎 (1980), 下水道 協會誌, 17(189), 28.
2. 嶋本, 尾崎 (1980), 下水道 協會誌, 17(191), 30.
3. 嶋本, 尾崎 (1980), 下水道 協會誌, 17(195), 24.
4. M. Shima, Y. Nishimura, N. Kato and C. Sakajawa (1985), *Appl. Environ. Microbiol.*, **49**(1), 8.
5. M. Shima, I. Fujita, N. Kato and C. Sakajawa (1985), *Appl. Environ. Microbiol.*, **49**(6), 1389.
6. M. Shima, I. Fujita, N. Kato and C. Sakajawa (1988), *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**(2), 275.
7. T. Suzuki (1976), *Agric. Biol. Chem.*, **40**(3), 497.
8. T. Suzuki, Y. Ichihara, M. Yamada and K. Tonomura (1973), *Agric. Biol. Chem.*, **37**(4), 747.
9. B. Gosmann and H. J. Rhem (1986), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **23**, 162.
10. W. Hartmeier and A. Heinrichs (1986), *Biotechnol. Lett.*, **8**(8), 567.
11. A. L. Dainty, K. H. Goulding, P. K. Robinson, I. Simpkins and M. D. Trevan (1986), *Biotechnol. Bioeng.*, **28**, 210.
12. 정재춘 (1991), 미생물 고정화법에 의한 배수처리, 동화기술, 서울.
13. 김정목, 조무환, 조운래, 정선용 (1991), 한국생물공학회지, **6**(4), 363.
14. J. H. Finley (1961), *Anal. Chem.*, **33**, 1925.
15. 김정목, 조무환, 조운래, 정선용 (1991), 한국생물공학회지, **6**(4), 395.