

화학적 변형에 의한 활성오니 고정화용 담체 개발

양대창 · 김지현 · 유영제*

서울대학교 공과대학 화학공학과
(1996년 6월 28일 접수, 1996년 10월 15일 채택)

Development of Support by Chemical Modification for the Immobilization of Activated Sludge

Dae Chang Yang, Ji Hyeon Kim and Young Je Yoo*

Department of Chemical Engineering, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea
(Received 28 June 1996; accepted 15 October 1996)

요 약

플라스틱 담체(PVC) 표면을 화학적으로 전처리하여 활성오니의 부착을 촉진시키고자 하였다. 고정화된 미생물량을 근거로 여러 전처리 방법들의 효율을 비교한 기초 실험에서는 chlorosulfonic acid에 의한 chemical etching과 PEI(polyethylenimine) 처리를 병행하는 것이 다른 방법에 비해 2-5배의 부착 촉진 효과를 보였다. 이때 측정된 부착량은 2.5 g/m^2 이며, 전처리를 하지 않은 담체에서는 부착이 거의 일어나지 않았다. 전처리된 담체를 이용하여 PEI의 농도, 부유 미생물의 농도(MLSS), 기질의 농도 등이 활성오니의 부착에 미치는 영향을 고찰하였다. 결정된 각 인자들의 최적치를 연속 반응기에 응용하여 미생물의 부착실험을 수행한 결과 정상상태의 생물막 형성기간을 기존의 공정에 비해 2-3배 단축할 수 있었다.

Abstract—This study was performed to improve the biofilm formation on the plastic support(PVC) through chemical modification of its surface. The method using chlorosulfonic acid and PEI(polyethylenimine) showed 2-5 times higher attached biomass than the results obtained with other treatments. In this test, the amount of attached dry cell weight was 2.5 g/m^2 , while that from the untreated support was negligible. Effects of several factors such as PEI concentration, suspended cell mass, substrate concentration on the biofilm formation were investigated. It was confirmed that the time required for the biofilm formation on the new plastic support could be shortened 2-3 times compared to that of conventional systems.

Key words: Plastic Support, Chemical Modification, Immobilization, Activated Sludge

1. 서 론

대표적인 생물학적 폐수처리법인 활성슬러지 공정을 효율적으로 운영하기 위해서는 폭기조내의 미생물을 고농도로 유지하면서 유체 체류시간(hydraulic residence time: HRT)과 슬러지 체류시간(sludge residence time: SRT)을 분리운전할 수 있어야 한다[1-3]. 그 한 방법인 고정화 미생물법에는 생물막법이 가장 널리 이용되고 있는데, 그 장점으로는 방법이 간단하고 독성이나 물질전달의 문제가 작다는 점과 생물막내에 다양한 종의 미생물이 존재하여 고도의 수처리가 가능하고 슬러지의 발생량이 적다는 점을 들 수 있다[4, 5]. 생물막을 이용한 기존의 폐수처리법으로는 살수여상법(trickling filter), 회전원판법(rotating biological contactor) 등이 있으며 최근에는 compact한 형태의 유동상 담체를 이용한 유동층반응기(fluidized-bed reactor), 공기부상반응기(air-lift reactor) 등의 turbulent bed system에 대한 연구의 필요성이 증가되고 있다[6]. 생물막을 이용한 생물학적 폐수처리 분야에서 과거에는 담체로 모래 등의 자연석이나 활성탄 등의 microcarrier(직경 0.6 mm 이하)를 많이 이용하였으나 현재는 특성이

보다 우수한 것으로 알려진 플라스틱을 이용한 연구가 진행되고 있다. 플라스틱 담체는 자연석에 비해 습윤성(wettability), 소수성(hydrophobicity), 강도(strength), 반영구성 등에서 생체적합성(biocompatibility)과 경제성이 보다 우수한 장점을 갖고 있으며, 최근에는 synthetic fiber 등의 고정상이나 polyurethane foam pad 등의 유동상 microcarrier의 형태로 이용하려는 연구가 진행되고 있다[3, 7]. 현재 고체 표면에 자연적으로 부착하려는 미생물의 성질을 이용하는 생물막에 의한 폐수처리 특히 플라스틱 담체를 사용하는 경우에는 수 개월에 걸쳐 생물막을 형성하고 이를 유기물 처리에 이용하는 등 대부분 경험적인 방법에 의존하고 있다[8, 9]. 일반적으로 플라스틱(polyethylene, polypropylene, polyvinylchloride 등)은 표면 자유 에너지(surface free energy)가 작고 소수성(hydrophobicity)이 강하다. 또한 중성 영역에서는 음전하(negative charge)의 표면전하를 갖는다[10, 11]. 따라서 중성에서 표면전하가 음성이고 친수성(hydrophilicity)이 강한 미생물의 흡착이 용이하지 않으며[12-14], 플라스틱 담체는 활성탄 등에 비해 생물막 형성 기간이 길다. 그러나 현재까지 Lamotta와 Hickey[15]가 특수 합성된 양이온 중합체를 회전원판에 피복(coat-

ing)시켜 미생물의 초기 부착을 촉진시킨 연구를 제외하고는 부착 촉진에 관한 연구는 거의 없는 실정이다.

이에 본 연구에서는 상업화된 플라스틱 중에서 비교적 표면 자유 에너지가 큰 PVC를 담체로 사용하였으며, 미생물의 부착 특성을 향상시키기 위해 담체의 화학적 표면 전처리법을 도입하였다. 이를 위해 소수성이 강한 플라스틱 표면에 친수성을 부여하고 표면전하를 증가시켜 정전기적인 반발력을 감소시킴으로써 미생물 부착의 친화성(affinity)을 증가시킬 수 있는 방법으로 양이온(cation) 처리법을 도입하여 미생물 부착 효율을 비교·고찰하였다. 여러 방법 중에서 넓은 pH 영역에서 비교적 높은 효율을 보인 polycation 처리를 시도하였고, 담체와 polycation 사이의 강한 공유결합을 유도하기 위해 chemical etching을 이용하였다. 본 연구에서 도입한 chemical etching법은 담체 표면의 자유 에너지, roughness, 공극률, 표면적 등을 동시에 증가시켜 미생물 부착에 유리한 조건을 제공하는 장점이 있다. 이 방법을 이용하여 담체와 polycation간의 amide결합을 유도하였고 처리된 담체를 이용하여 미생물 부착 실험을 수행하였다.

2. 실험

2-1. 실험재료

고정화에 사용된 미생물은 활성오니(activated sludge)를 이용하였고 이는 탄천하수종말처리장에서 채취하였다. 활성오니를 250 ml flask에 넣고 실온에서 합성폐수와 공기를 계속 공급시켜 주면서 적응시켰다. 담체의 재질로는 PVC 판을 원판 모양(0.6 cm ϕ × 0.3 cm H)으로 만들어 사용하였다. Table 1에 합성폐수의 조성을 나타내었다.

2-2. 실험방법

2-2-1. 담체 표면의 화학처리

(1) 담체 표면의 전처리

10 mM ferric chloride 용액에 담체를 넣고 30 °C에서 3시간 동안 강하게 교반하였다. 담체를 꺼내어 증류수로 세척한 후 1시간 동안 건조시켰다.

(2) Polycation 처리

Chitosan 처리 용액은 1 M acetic acid solution으로 0.5 % (w/v) chitosan solution (pH 3.1)을 제조하였고 PEI 처리 용액은 5 % PEI 수용액 (pH 7)에 10 % trimethylamine 용액을 같은 부피로 혼합하여 처리 용액을 제조하였다. 이 용액에 전처리된 담체를 넣고 30 °C에서 강한 교반하에 30시간 동안 반응시켰다. 담체를 꺼내어 세척한 후 1시간 동안 건조시켰다.

(3) 담체 표면의 chemical etching

Chromic acid 처리는 담체를 처리 용액 [$K_2Cr_2O_7 : H_2O : H_2SO_4 = 4.4 : 7.1 : 88.5$ (w/w)]에 넣고 60-70 °C를 유지하면서 교반하에 1시간 동안 반응시켰다. Chlorosulfonic acid 처리는 처리용액 [$ClSO_3H : CCl_4 = 2 : 1$ (w/w)]에 담체를 넣고 실온에서 교반하에 4시간 동안 반응시켰다. 반응 후 담체를 꺼내어 증류수로 세척하였다.

Table 1. Composition of synthetic wastewater

Composition	Concentration(g/L)
Glucose [$C_6H_{12}O_6$]	1
Ammonium chloride [NH_4Cl]	0.1
Magnesium sulfate [$MgSO_4 \cdot 7H_2O$]	0.05
Ferrous sulfate [$FeSO_4 \cdot 7H_2O$]	0.0005
Manganese sulfate [$MnSO_4 \cdot H_2O$]	0.005
Calcium chloride [$CaCl_2$]	0.00375
0.1 M phosphate buffer	18 ml

2-2-2. 미생물 고정화

용액에 담체를 넣고 강한 교반으로 표면을 전처리한 후에 미생물 고정화를 수행하였고 모든 실험에서 PVC 판은 사용전에 methanol로 세척하였으며 이 담체를 control로 간주하였다. 미생물 고정화 실험은 저장조에서 적응된 미생물을 침전 및 원심분리시킨 후 phosphate 완충용액에 재현탁시켰다. 이때 완충용액의 pH는 각각 6.2(chitosan 처리의 경우), 6.5(PEI 처리의 경우)이다. 세포 현탁액에 처리된 담체를 넣고 30 °C, 100 rpm에서 접촉시켰다. 전처리를 하지 않은 담체(control)에 대해서도 이 실험을 수행하여 처리효율을 비교하였다.

2-3. 분석방법

2-3-1. 부착된 미생물량의 측정

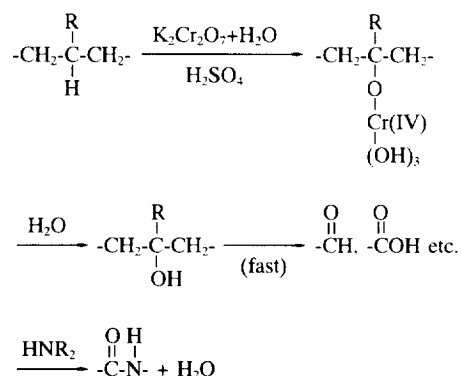
담체를 0.85 % (w/v) NaCl 용액으로 세척하고 100-105 °C에서 1시간 건조시킨 후 50 % (v/v) ethylene glycol 용액이나 0.5 N NaOH 용액을 이용하여 부착된 세포를 탈착시켰다. 세포를 건조시킨 후 건조무게를 측정하고 이를 담체의 단위표면적당 무게(g/m^2)로 환산하였다.

3. 결과 및 고찰

3-1. 담체 표면의 화학처리

이 방법은 담체 표면에 강한 흡착을 하는 양이온 고분자(cationic polymer)가 음전하 표면과의 정전기적 인력을 증가시키는 원리를 이용하는 것이다[16, 17]. 또한 이 고분자는 흡착에 관여하지 않는 free cation site를 갖고 있으므로 이들에 의한 세포 표면의 음전하와 결합이 가능하다. 본 처리에 사용되는 chitosan, DEAE-dextran, PEI 등은 polymer 형태로 존재하며, monomer unit에는 amine기($-NH_2$)를 갖고 있다. 그리고 이들 amine기는 pH에 따라 $-NH_3^+$ 의 형태로 존재하여 polycation을 형성하기 때문에 적정 pH에서 cation으로서의 특성이 아주 강하다. 본 연구에서는 이 중에서 chitosan, PEI를 이용하여 담체표면을 전처리하였고 미생물 고정화 실험을 통해 그 효율을 비교하였다.

먼저 polycation을 담체에 흡착시킨 후 6시간 동안 미생물의 고정화 실험을 행하였다. Fig. 1에서와 같이 부착된 미생물량은 아주 적었는데, 이는 polycation이 담체 표면에 약하게 흡착되어 세포와의 접촉이나 증류수로 세척하는 과정에서 많은 양이 탈착되었기 때문이라고 판단된다. 따라서 polycation을 담체 표면에 강하게 흡착시키기 위하여 polycation 흡착 이전에 담체 표면을 전처리하였다. 전처리의 방법으로는 처리강도가 오래 지속되는 chemical etching의 chromic acid와 chlorosulfonic acid를 사용하였다. 부착된 건조무게를 살펴보면 chromic acid로 전처리한 담체가 polycation을 처리한 담체의 경우에 비해 약 2배의 향상을 보이고 있으나 부착량은 상당히 작다. 이러한 현상은 다음의 반응 메커니즘[18]과 Fig. 2의 IR 스펙트럼으로 설명할 수 있다.



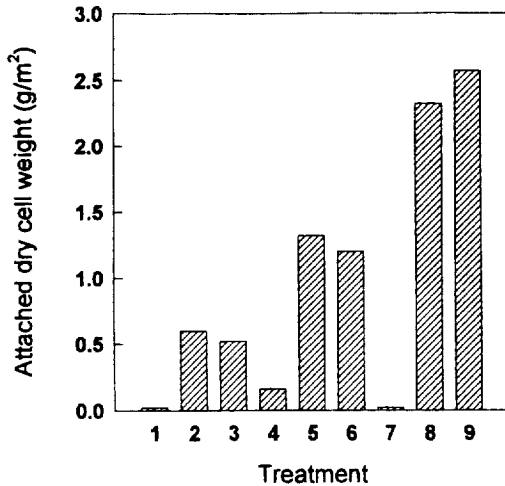


Fig. 1. Effect of various chemical modification methods on the biomass attachment on the plastic surface. Initial MLSS(mixed liquor suspended solid) concentration was 20 g/l and the incubation time was 6 hrs.

- | | |
|---------------------------|---|
| 1. Control | 6. Chromic acid and PEI treatment |
| 2. Chitosan treatment | 7. Chlorosulfonic acid treatment |
| 3. PEI treatment | 8. Chlorosulfonic acid and chitosan treatment |
| 4. Chromic acid treatment | 9. Chlorosulfonic acid and PEI treatment |

위의 반응단계에 의해 최종적으로 얻어지는 것은 amide bond이다. Fig. 2(b)를 살펴보면 -NH peak는 3500 cm^{-1} 근처에서 나타나며 또한 -OH peak도 존재하는 영역이다. -OH peak는 Fig. 2(a)의 control에서는 나타나지 않지만 chromic acid 처리에 의해 담체표면에 생기므로 -NH와 -OH의 중첩이 일어났다는 해석이 가능하다. 따라서 다른 peak에 의한 확인이 필요하다. 일반적으로 amide bond가 형성되면 carbonyl group($\text{C}=\text{O}$)의 peak 오른쪽에 -NH bonding이 나타난다. 그러나 Fig. 2(b)에서는 이 peak가 아주 약하다. 즉, amide bond는 형성되지 않은 것으로 판단된다. 이러한 이유로 첫째는, carboxyl기의 반응성이 작아 본 실험과 같은 완전한 조건에서는 amide 결합의 형성이 어렵다는 것, 둘째는 carboxyl기와 amine기 사이의 반응이 일어나도 결합 형성시에 생성되는 물을 제거해야 반응이 지속되는데 반응이 수용액 상에서 진행되기 때문에 수분의 제거가 불가능하다는 점을 들 수 있다. 결국 polycation의 초기흡착은 상당히 진행되지만 결합력이 약해 polycation 처리와 마찬가지로 세척 단계에서 과량이 탈착되어 처리효율이 그다지 향상되지 못했다. 그리고 부착량의 향상은 surface roughness의 증가 등 surface etching의 간접적인 효과에 의한 것으로 판단된다. 따라서 처리효율의 향상을 위해서는 담체와 polycation 사이에 강한 흡착을 유도해야 하는데, 그 방법의 하나는 carboxyl기를 반응성이 보다 강한 acid-halide group($-\text{COCl}$)으로 전환시키는 것이다. 하지만 이 경우는 과정이 복잡하고 사용되는 시약의 독성이 강하며 형성된 acid-halide가 물과 잘 반응하여 다시 carboxyl기로 전환되는 문제점이 있다[19]. 따라서 본 연구에서는 그 대안으로 chlorosulfonic acid를 사용하였다. 이 처리법의 반응단계는 다음과 같다[20].

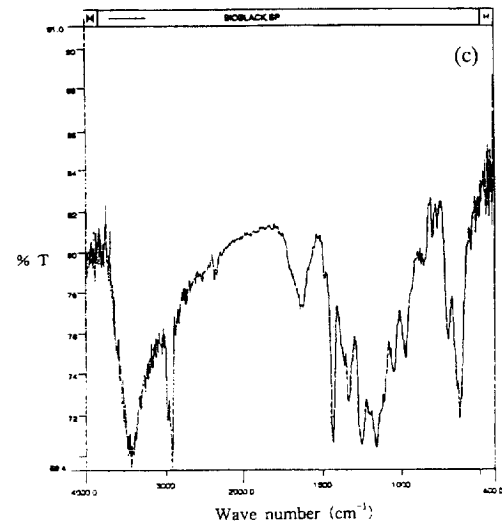
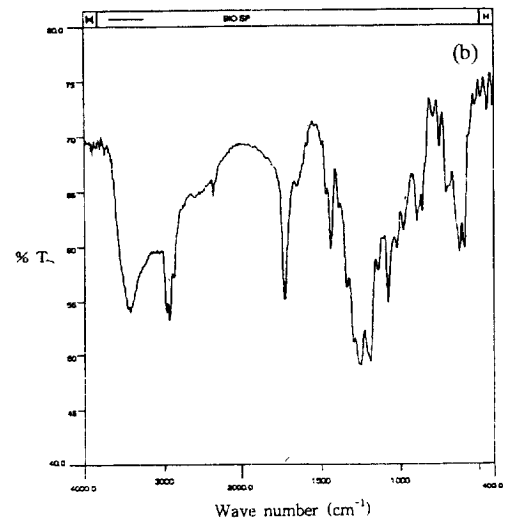
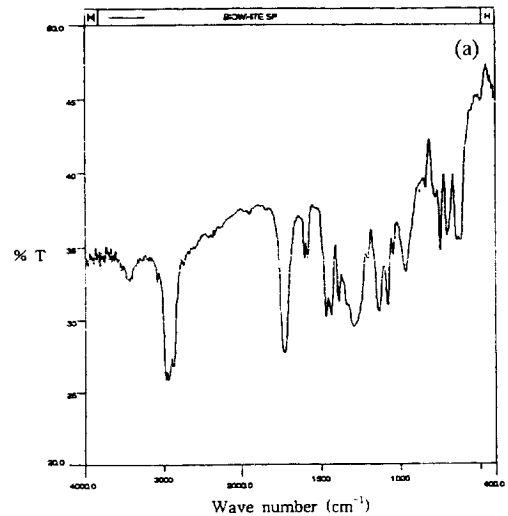
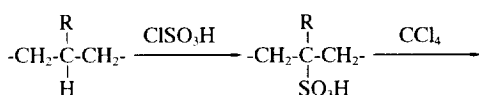
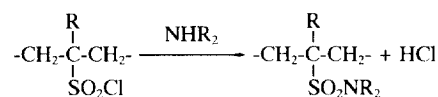


Fig. 2. IR spectrum of the support (a) untreated (control), (b) treated by chromic acid and PEI, (c) treated by chlorosulfonic acid and PEI.



이 반응은 chlorosulfonic acid에 담체 표면에 생긴 sulfonyl기($-SO_2-Cl$)가 polycation의 amine기와 반응하여 안정한 acid-amide 결합을 형성하는 반응으로, 최종 단계에서 발생하는 HCl은 tertiary amine을

첨가하여 제거하였다.

실제 위의 반응단계에 따라 polycation(PEI)이 담체 표면에 흡착되었는지를 IR spectrum으로 확인하였다. Fig. 2(c)의 3500 cm^{-1} 근처에서 나타나는 peak는 $-OH$ 와 $-NH$ 의 중첩이 일어나는 영역이다. 하지만 Fig. 2(a)와 같이 control에는 $-OH$ 가 존재하지 않고 반응과정에서 $-OH$ 의 발생이 없으므로 이 peak는 $-NH$ 에 의한 것으로 분석된다. 또한 free amine의 경우에는 이 영역에서 약한 peak가 존재하지만 aromatic이나 sulfonamide(RSO_2NH_2)에서는 강한 peak를 보이므로 acid-amide bond의 형성도 확인할 수 있다. 그리고 $1300-1100\text{ cm}^{-1}$ 에서의 강한 peak로 $S=O$ 의 존재도 확인되었다. 또한 Fig. 1에서 부착된 미생물 양을 비교해 보면 chlorosulfonic acid로 전처리한 경우가 polycation만 처리한 경우에 비해 약 5배 정도의 향상을 보이고 있다. 이는 앞에서의 분석처럼 chlorosulfonic acid 처리에 의해 polycation이 강하게 담체에 흡착되었기 때문으로 해석된다. 한편 사용된 polycation에서는 PEI 처리가 chitosan 처리보다 약간 높지만 차이는 그다지 크지 않았다. 따라서 본 연구에서는 반응성 등의 물성에서 보다 적합하고 pH에 덜 민감한 quaternary amine을 갖는 PEI를 택하였고[4, 23, 24], 이후의 실험에서는 chlorosulfonic acid와 PEI로 처리된 담체를 이용하였다.

Chlorosulfonic acid에 의해 chemical etching된 담체의 표면 특성과 미생물 부착을 SEM(scanning electron micrograph)으로 확인하였다. Fig. 3(b)에서와 같이 담체 표면의 거칠기가 상당히 증가되었음을 알 수 있었고, Fig. 3(c)에서 미생물이 담체 표면에 고르게 부착되어 있음을 볼 수 있었다.

3-2. 고정화에 영향을 주는 인자들

본 연구에서는 생물막 형성에서 중요한 요인으로 작용하는 polycation(PEI)의 농도, 부유 미생물의 농도(MLSS), 기질(substrate)의 농도 등이 미생물 부착에 미치는 영향을 고찰하였다. 먼저 미생물의 부착량은 Fig. 4에서와 같이 PEI의 농도가 증가함에 따라 증가하다가 다시 감소하는 경향을 보이고 있으며 최적 PEI 농도는 약 0.5 (wt%)로 나타났다. 이는 PEI의 구조(structure)에 의한 것으로 판단된다. 즉, PEI 분자내에 존재하는 amine기는 적정 pH에서 $-NH_3^+$ 의 형태를 취하기 때문에 이들간의 정전기적 반발력으로 인해 free amine 형태로 존재할 때보다 상당히 부풀어 있는 구조이다[23, 24]. 따라서 저농도에서는 담체의 active site로의 흡착이 증가하지만 고

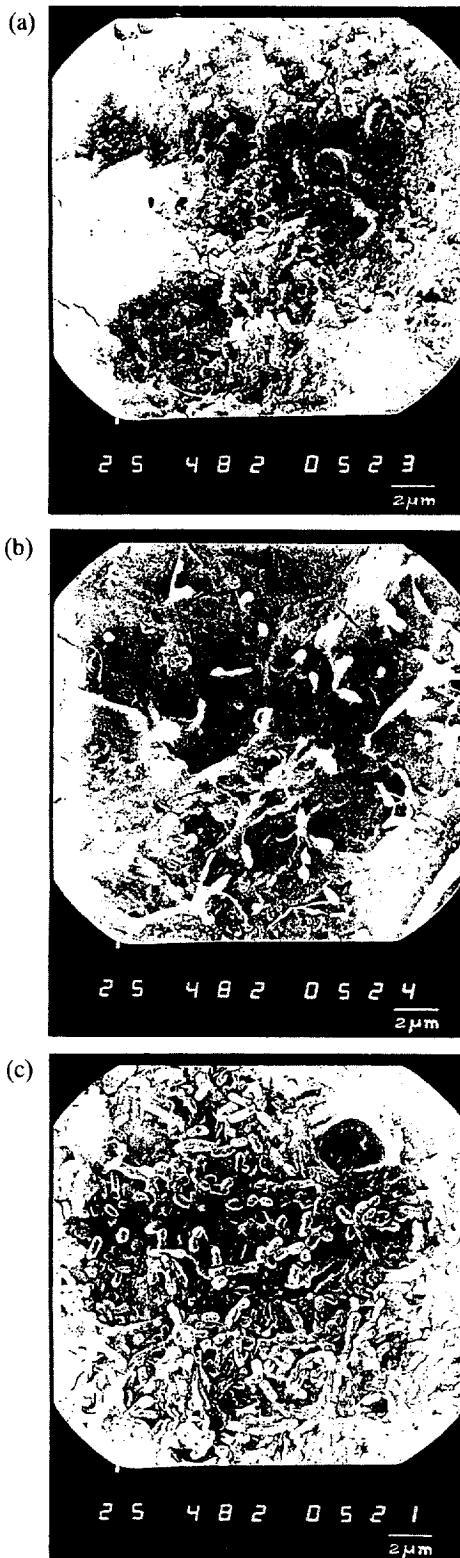


Fig. 3. Time course of scanning electron micrograph of the attached microorganisms on the support. Support was treated by chlorosulfonic acid.

(a) initial state, (b) 1 hr, (c) 5 hrs.

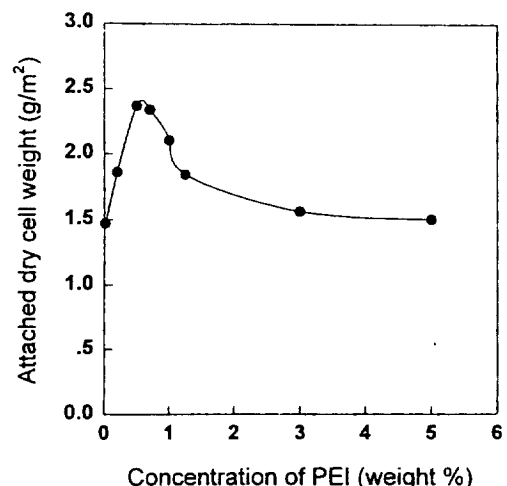


Fig. 4. Effect of PEI concentration on the attachment of activated sludge.

(MLSS: 15 g/l, contact time: 6 hrs).

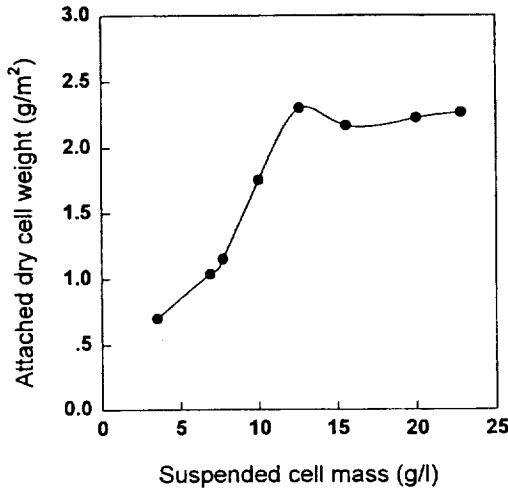


Fig. 5. Effect of suspended cell mass on the attachment of activated sludge.
(contact time: 6 hrs).

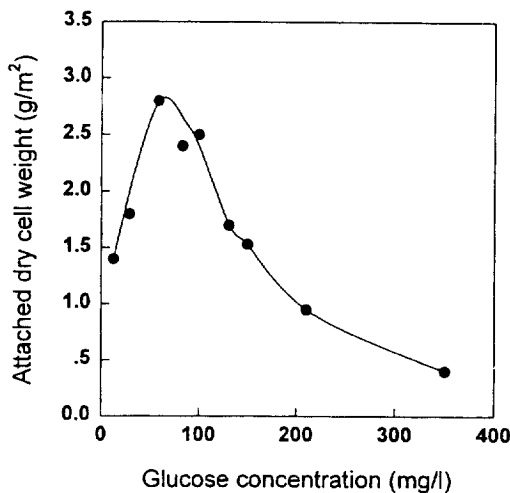


Fig. 6. Effect of glucose concentration on the attachment of activated sludge.
(MLSS: 7 g/l, contact time: 12 hrs).

분자의 농도가 높을 때는 bulk한 polycation 분자간에 반발력이 작용하여 오히려 흡착량이 떨어지는 것으로 판단되었다. 둘째, 앞에서 결정된 최적 PEI 농도를 이용하여 부유 미생물의 농도(MLSS)에 따른 부착량을 고찰하였다. Fig. 5에서와 같이 미생물의 농도가 증가함에 따라 부착 미생물의 양은 증가하였고 약 15 g/l 이상의 고농도에서는 미생물 건조 중량 약 2.3 g/m²으로 일정한 결과를 보였다. 셋째, 기질(substrate)의 농도가 미생물의 부착에 미치는 영향을 탄소원인 포도당 농도 변화를 이용하여 살펴보았다. Fig. 6에서 보는 바와 같이 포도당의 농도가 증가함에 따라 미생물의 부착은 점차 증가하지만 고농도가 되면 오히려 감소하는 경향을 보이고 있고 포도당의 최적 농도는 약 70 mg/l이다. 그러나 이는 절대치가 아니라 현탁 미생물량에 따른 상대적인 수치라고 판단되며, 이 수치는 MLSS 1 g/l 당 포도당 10 mg/l로 상당히 낮은 농도이다. 이러한 분포는 이용가능한 기질이 충분하면 미생물의 부착이 느리고, 미생물의 starvation 및 담체 표면에서 기질의 농축 효과가 클 때 부착이 잘 진행됨을 의미한다.

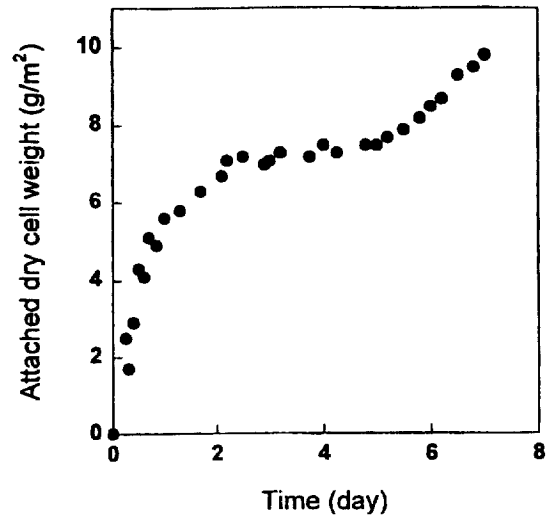


Fig. 7. Time course of the attachment of activated sludge in the continuous operation.
(Dilution rate: 0.1 h⁻¹, initial glucose concentration: 50 mg/l).

3-3. 시간의 경과에 따른 미생물 부착량의 변화

각 요인들의 최적치를 이용하여 합성 폐수에서 미생물 부착량의 시간에 따른 변화를 조사하였다. 먼저 MLSS 15 g/l와 glucose 150 mg/l을 초기 농도로 하여 flask내에서 담체와의 접촉을 시도하였으며, glucose의 농도가 50 mg/l 이상으로 유지되도록 fed-batch 형식으로 운전하였으나 pH가 초기의 6.5에서 2-3으로 급격히 감소하였다. 따라서 원만한 부착을 유도하기 위해서는 초기에 pH의 control이 요구되므로 이를 위해 연속조업으로 전환하였다. Fig. 7에서와 같이 5일 후에는 미생물 형성에서 가장 느리게 진행되는 induction 단계가 종료되었는데 이때의 부착량은 약 7.5 g/m²이다. 현재 플라스틱 담체를 사용하고 있는 공정의 생물막량은 최대 20-40 g/m²이다. 그러나 이 양은 1개월 이상의 운전을 통해 얻어진 것이고 생물막의 형성 단계에서 induction 단계에서는 정상상태의 값에 비해 상당히 작은 부착량을 갖기 때문에 7.5 g/m²는 상당히 높은 양이다. 또한 induction 단계는 일반적으로 생물막이 정상상태에 도달하는 기간의 1/2-1/3의 시간이 소요되는데 본 연구에서 5일 동안에 이 단계에 도달했다는 것은 생물막 형성 기간을 기존 공정보다 2-3배 단축할 수 있음을 시사한다. 6일 이후에는 log accumulation 단계에 접어들어 계속 부착량이 증가하였다.

지금까지 화학적인 담체의 표면 처리를 통해 활성오니의 초기 부착 속도를 상당히 증가시킬 수 있음을 확인하였으나 보다 효율적인 공정을 위해서는 담체의 표면을 더 효율적으로 처리할 수 있는 방법으로 본 연구의 처리법 이외의 화학적 처리나 물리적 처리법(plasma discharge, electronic discharge 등)에 대한 고찰이 필요하다.

4. 결 론

장시간의 생물막 형성기간이 요구되는 플라스틱 담체의 단점을 보완하기 위해 표면을 화학적으로 처리하는 방법을 도입하였으며 부착된 미생물량을 근거로 다음의 결과를 얻었다.

- (1) 고찰된 polycation 처리, chromic acid 처리, chlorosulfonic acid 처리 중에서 chlorosulfonic acid와 PEI를 병행하여 처리하는 방법이 다른 방법에 비해 2-5배의 처리 효율을 보였다.
- (2) 처리된 담체를 이용하여 고정화에 영향을 주는 요인들을 고찰

하였고 이들의 최적치를 결정하였다. 각 인자들의 최적치를 이용하여 반응기내에서 부착 실험을 수행한 결과 induction 단계를 5일 이내에 유도할 수 있었고 이때 약 7.5 g/m^2 의 부착량을 얻었다. 이는 본 연구에서 도입한 담체의 표면 처리법에 의해 생물막 형성기간을 기존의 공정보다 2-3배 단축할 수 있음을 보여준다.

참고문헌

1. Gray, N. F.: "Activated Sludge", Oxford University Press, New York, NY(1990).
2. Melo, L. F., Bott, T. R., Fletcher, M. and Capdeville, B.: "Biofilms-Science and Technology", Kluwer Academic Publishers(1992).
3. Tyagi, R. D. and Vembu, K.: "Wastewater Treatment by Immobilized Cells", CRC Press, Boston(1982).
4. 정재춘 역: "미생물 고정화법에 의한 배수처리", 동화기술, 서울 (1991).
5. Frieda, D. and Kolot, B.: *Process Biochem.*, **Aug./Sep.**, 2(1981).
6. Frieda, D. and Kolot, B.: *Process Biochem.*, **Oct./Nov.**, 30(1981).
7. van Loosdrecht, C. M. and Heijnen, J.: *TIBTECH*, **Apr.**, 12(1993).
8. 정재춘: *J. of KSEE*, **16**, 1(1994).
9. Bitton, G. and Marshall, K. C.: "Adsorption of Microorganisms to Surfaces", John Wiley and Sons, New York, NY(1980).
10. van Haecht, J. L., Bolipombo, M. and Rouxhet, P. G.: *Biotechnol. Bioeng.*, **37**, 217(1985).
11. Kinloch, A. J.: "Adhesion and Adhesives", Prentice Hall, New York, NY(1986).
12. Baker, J. H.: *Can. J. Microbiol.*, **30**, 511(1984).
13. van Loosdrecht, C. M., Lyklema, J., Norde, W. and Zehender, J. B.: *Microbial Ecology*, **17**, 1(1989).
14. Mozes, N., Marchal, F., Hermesse, M. P., van Haecht, J. L., Reuliaux, L., Leonard, A. J. and Rouxhet, P. G.: *Biotechnol. Bioeng.*, **30**, 439(1987).
15. La Motta, E. J. and Hickey, R. F.: "Factors Affecting Attachment and Development of Biological Films on Solid Media", First Nat. Symp. Workshop on Rot. Biol. Contact., 803(1987).
16. Aomard, A., Rinavdo, M. and Terassin, C.: *J. Appl. Polymer Sci.*, **38**, 1799(1989).
17. Guogiang, D., Kaul, R. and Mattiasson, B.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **37**, 305(1992).
18. Blais, P., Carlsson, D. J., Csullog, G. W. and Wiles, D. M.: *J. of Colloid and Interface Science*, **47**, 636(1974).
19. D'Souza, S. F. and Melo, J. S.: *Enzyme Microb. Technol.*, **13**, 508 (1991).
20. Sata T. and Izuo, R.: *J. Appl. Polymer Sci.*, **41**, 2349(1990).