

Quinone profile과 PCR-DGGE를 이용한 정수장 침전지에서의 부착조류 및 미생물군집의 계절적 변화해석

Analysis of the Seasonal Change in Attached Algae and Microbial Community Structure in Sediment Basin Trough of Water Treatment Plant By Using Quinone Profile and PCR-DGGE

유현선 · 임병란^{2,*} · 안규홍

Hyun-Sun Yu · Byung-Ran Lim^{2,*} · Kyu-Hong Ahn

1 한국과학기술연구원 수질환경 및 복원 연구센터

2 명지대학교 환경생명공학부

(2006년 5월 2일 논문 접수: 2006년 6월 8일 최종 수정논문 채택)

Abstract

The seasonal change in attached algae and microbial community structure at sedimentation basin of water treatment plant was investigated by using quinone profiles and denaturing gel gradient electrophoresis (DGGE). The photosynthetic bacteria and algae contains PQ-9 and VK-1 as major quinone are major component of the total quinone fraction in attached algae and microorganisms on sedimentation basin trough. The microorganisms containing menaquinones appear to be sensitivity to the change in temperature than those containing ubiquinones. The plot of the mole fraction of dominant quinone species (f_d) to the DQ values showed higher sensitivity to the seasonal change in the microbial community structure. The results indicated that quinone and DGGE are useful tool for the evaluation of the changes in the microbial community structure.

Key words: Attached algae, DGGE, microbial community structure, quinone profile, sedimentation basin

주제어: 부착조류, DGGE, 미생물군집구조, 퀴논프로파일, 침전지

1. 서 론

점오염원과 비점오염원에서 발생되는 영양염류 성분들이 충분히 처리되지 않고 축적되어 수계에서 조

류의 대량번식현상이 빈번히 발생되고 있다. 이러한 원수내 조류는 정수장에서 전염소, 전오존 처리를 거치면서 대부분 사멸하나 미처리된 조류 및 조류유래 유기물질인 AOM(Algogenic Organic Matter)에 의해 응집저해를 일으키고 침전공정에서 조류체를 포함하

*Corresponding author Tel: +82-31-330-6820, FAX: +82-31-336-6336, E-mail: limbr@hotmail.com (B.-R. Lim)

고 있는 플럭은 비중이 낮아 침강성이 저하되어 침전 효율을 감소시키고, 여과지 막힘 현상을 유발시켜 여과수 생산능력을 급격히 감소시키며 정수에서 맛, 냄새를 유발하는 원인이 되기도 한다. 응집·침전공정을 통해 미처리된 조류는 5~10% 이상으로 이들 조류는 여과공정으로 유입되어 동력비 증가 및 탁수의 원인이 되기도 하나 원수에 함유된 조류와는 별도로 침전지 벽면 및 수로(trough), 여과지, 역세척 반송지의 벽면 등에 부착조류가 자생적으로 발생하고 있다. 특히 국내 정수장은 대부분 침전지가 개방형으로 각종 이물질이 들어갈 수 있고 햇빛에 노출되어 있을 뿐 아니라 원수 내 풍부한 영양염으로 인하여 정수장 내 부착조류의 발생량과 그 빈도가 높다. 이러한 부착조류는 정수공정외에서 제거해야 하므로 수시로 정수공정을 멈추고 인력을 투입하여 청소를 빈번하게 해야 하는 문제 등이 있다. 그러나 기존의 연구들은 응집공정의 개선관련 연구(Paralkar et al., 1996, 이 등, 2001)가 대부분이며 조류에 의한 이취미 발생연구(김 등 2000) 등에 관한 연구가 많이 선행되고 있으나 정수장 내 부착조류 및 미생물의 군집에 관한 연구는 전무한 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 정수장 침전지의 배수로에서 부착 성장하는 조류 및 미생물의 군집 구조 해석에 Quinone profile과 PCR-DGGE를 병행하여 계절별 특성을 비교 분석하였으며 효율적인 정수처리를 위한 기초 자료를 제공하고자 하였다.

2. 실험방법

2.1. 시료채취 및 조류배양

조사지점은 서울 소재의 T정수장을 대상으로 하였으며 이 정수장은 취수관로 유입부에 전염소를 투입하고 PAC를 응집제로 사용하고 있으며 응집 침전지와 급속 여과방식으로 운영하는 곳이다. 침전지 벽면 및 배수로는 시멘트로 만들어져 있으며 에폭시코팅이 되어 있지 않았다. 침전지 배수로의 벽면 및 바닥면에 부착하여 증식하는 이끼, 조류 및 미생물 등을 계절별로 채취하여 실험실로 운반한 다음 주요 부착조류를 현미경으로 검경하였다. 침전지 배수로의 벽면 등에 부착 성장한 미생물 및 조류의 군집구조 분석에는 quinone profile(Hu et al., 1999a) 및 PCR-DGGE

(Muyzer et al., 1993)을 이용하여 군집의 분포특성을 비교 분석하였다.

조류 종별로 함유하고 있는 quinone type 분포 파악과 순수 조류종의 DNA 추출을 위하여 Table 1에 나타낸 바와 같이 녹조류 2종, 남조류 4종, 규조류 6종을 국립환경과학원에서 분양받아 주기적으로 배양하여 실험에 사용하였다. 녹조류와 남조류는 CB 배지에 규조류는 M Chu No.10 배지에 순수배양 시켰고, 실제 자연광과 가장 비슷한 5과장 램프를 광원으로 사용하였다.

2.2. Quinone 분석

침전지 월류부와 수로 벽면에 부착 성장한 조류 및 미생물의 퀴논(Quinone) 분석은 Hu 등(1999a)이 개량한 방법을 이용하여 분석하였다. 컬럼내의 활성탄을 습증량 1.4g 취해 클로로폼:메탄올(2:1, v/v) 혼합액을 넣어 초음파 처리 후 30분간 진탕하여 하층의 지용성 성분을 여과지로 여과하여 flask에 회수하였다. 플라스크에 회수한 추출물을 헥세인으로 재추출하여 농축한 다음 Sep-Pak® Plus Silica cartridges에 흡착시킨 다음 2% 디에틸에터/헥세인(diethylether/hexane)으로 menaquinone(MK)을 플라스크에 회수하고, 10% 디에틸에터/헥세인으로 ubiquinone(UQ)을 분리 회수하였다. 회수한 퀴논을 질소로 증발 건조시킨 다음 아세톤으로 최종 액량을 조절하여 PDA(Photo Diode Array) detector가 부착되어 있는 HPLC(10ADvp, SHIMADZU)로 분석하였다. 컬럼은 ODS(Dupont, 4.6(I.D) x 250mm, Shimadzu, Japan)을 이용하였으며 UQ는 흡수파장을 275nm, PQ는 260nm, MK는 270nm로 설정한 다음 이동상은 메탄올/이소프로필에테르(9:2, v/v)를 혼합하여 유량 1.0ml/min으로 공급하였다. 각종의 미생물로부터 추출한 UQ와 MK 등의 혼합액의 용출시간과 비교하는 것에 의해 퀴논 분자종을 결정하였으며 UQ-10과 VK1은 각각 UQ와 MK를 정량화하기 위한 표준물질로 사용하였다.

2.3. 시료의 genomic DNA 추출

시료는 채수 후 pellet만을 회수하여 pH를 8.5로 조절한 sucrose-lysis buffer(0.3M sucrose, 0.7M NaCl, 40mM EDTA, 50mM Tris-HCl)를 시료와 1:1로 냉

Table 1. Pure cultured algae species and Interference in water treatment plant

	Strain number	Scientific name	Interference
Green-algae	NIER-3	<i>Chlorella vulgaris</i>	Coagulation & sedimentation interference Taste & odor
	NIER-60	<i>Scenedesmus</i> sp.	Coagulation & sedimentation interference Taste & odor
Blue green-algae	NIER-1	<i>Microcystis</i> sp.	Filter clogging, Toxic, Taste & odor
	NIER-42	<i>Oscillatoria</i> sp.	Filter clogging, Toxic, Taste & odor
	NIER-83	<i>Phormidium</i> sp.	Filter clogging, Taste & odor
Diatom	NIER-33,63	<i>Melosira</i> sp.	Filter clogging, Taste & odor
	NIER-66	<i>Cyclotella</i> sp.	Coagulation & sedimentation interference Taste & odor
	NIER-89	<i>Asterionella formosa</i>	Filter clogging
	NIER-90	<i>Fragillaria</i> sp.	Filter clogging
	NIER-91	<i>Synedra</i> sp.	Coagulation & sedimentation interference Filter clogging
	NIER-107	<i>Nitzschia</i> sp.	Filter clogging

어 30초 이상 초음파를 하였다. 37°C에 1시간 동안 incubation하고 12000rpm에서 15분간 원심분리 후 상등액을 취해 SDS(sodium dodecyl sulfate 1%), proteinase K, CTAB(hexadecyltrimethyl ammonium bromide 5%)를 넣고 60°C에 1시간 동안 incubation 하였다. 실온에서 5분 경과 후 P:C:I(Phenol:Chloroform:Isoamylalcohol = 25:24:1)를 동량으로 넣고 5~10분 동안 천천히 혼합하여 원심분리 후 상등액에 C:I를 동량으로 넣은 다음 천천히 혼합한다. 원심분리 후 -20°C에 보관되어 있던 100% 에탄올과 3M sodium acetate를 넣고 -20°C에서 하루 동안 DNA를 침전 시켰다. 원심 분리한 pellet을 70% 에탄올로 세척 후 다시 원심분리 하였다. pellet을 상온에서 건조 후 멸균된 증류수로 녹이고 RNase A를 첨가하여 36°C에서 한 시간 동안 incubation하고 O.D 값(260nm & 280nm)을 측정하여 농도를 계산하고 전기영동으로 확인하였다.

2.4. Primer 준비 및 PCR 증폭

실험에 사용된 primer는 Euk-GC(5'-CGCCCGC CGCGCGCGGCGGGCGGGGCGGGGCACGG GTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGG-3') (Kowalchuk et al., 1997)와 Euk-r(5'-GCGGTG TGTACAAAGGGCAGGG-3') (Hannen et al., 1998)을 사용하여 녹조류와 규조류를 detection 할 수 있는 모든 eukaryotic SSU(Small Ribosomal Subunit) rRNA을 증폭하였다. 증폭 반응 시 조성은 template 100ng, 10 × buffer(500mM KCl, 100mM Tris-HCl(pH 9.0),

1% Triton X-100), 2.5units *ExTaq* DNA polymerase (Takara.), 200μM dNTPs, 2mM MgCl₂, 양 방향 primer 10pmol로 하였고 전체 반응용액이 50 μL가 되도록 증류수로 채웠다. PCR을 이용하여 (FTGENE2U, UVItec, United Kingdom) 95°C에서 15분간 predenaturation 시킨 후, 95°C에서 1분간 denature, 58°C에서 60초간 annealing하고, 72°C에서 1분간 extension시키는 반응을 35cycles 반복한 뒤 72°C에서 10분간 최종 extension을 실시하였다.

이렇게 증폭된 DNA는 1.5% agarose gel에서 4 V/cm로 전기영동 하여 EtBr(0.5 μg/ml)로 염색한 후 UV transilluminator 상에서 확인하였다.

2.5. DGGE 분석

DGGE는 DNA 이중나선 구조의 변화로 전기영동 시 이동속도가 달라지는 원리를 이용한 것으로 DNA의 농도에 따라 band의 명도가 달라지며, 이 band는 미생물이 갖고 있는 고유의 염기서열에 의해 각기 다른 위치에서 검출된다.

PCR로 증폭한 product를 DGGE(Denaturing Gradient Gel Electrophoresis, Dcode™ Universal Mutation Detection system, Bio-Rad Ltd. Co.)하기 위해서 8%(wt/vol) polyacrylamide gel 농도로 40% formamide(v/v: deionised, Sigma F9037), 7M urea, 37.1%(wt/vol) acrylamide(acrylamide-*N,N'*-methylene bisacrylamide, 37.5:1)를 이용하여 조건에 맞는 running gel을 만들고, PCR product를 같은 위치에서 이동시키기 위해 0%의 gradient를 가지는 stacking gel

을 만들었다. 1 × TAE buffer(0.004M Tris acetate, 0.001M EDTA) 내에서 stacking gel은 200V, 60°C에서 15min 동안, Running gel은 50V, 60°C에서 16시간 동안 전기영동을 실시하였다. 전기영동 후에 denaturing gradient gel은 EtBr로 20분간 염색한 후, D.W로 10분간 destaining 한 후 band profile을 확인하였다.

진한 DGGE band는 slice하게 cutting하여 멸균된 새 tube에 넣은 후, 멸균수 100 μ L(MilliQ-purified, autoclave)를 주입하고 4°C에서 하루 동안 암소에 보관하였다가 이 cutting한 band를 새로운 template로 하여 GC clamp를 제외한 Primer로 PCR하였다. Gel extraction Kit(Qiagen Inc.)을 이용하여 정제한 PCR 산물을 Applied Biosystems model 373S DNA sequencer로 auto sequencing을 수행하였다.

3. 실험결과 및 고찰

3.1. 수질특성

정수장의 응집공정 후 침전지의 유출수를 채취하여 분석하였으며 계절별 평균치를 정리하여 Table 2에 나타내었다. 사계절에 걸쳐서 pH와 DOC는 일정하였으며 암모니아성 및 아질산성 질소는 거의 검출되지 않았으나 질산성 질소의 농도는 1-2mg/L의 범위에서 검출되었다. 인의 농도는 봄과 겨울에 미량 검출되었으며 여름과 가을에는 검출되지 않았다.

3.2. 우점 조류 현미경 관찰

정수장 침전지에서 봄부터 겨울까지 출현하는 조류를 현미경으로 관찰한 결과 대체적으로 녹조류인 *Scenedesmus* sp., *Closterium* sp., 등이 관찰되었고, 규조류 종으로는 *Synedra* sp., *Stepanodiscus* sp., *Fragilaria* sp., *Melosira* sp., *Asterionella* sp., *Cyclotella* sp., 등이 관찰되었으며, *Oscillatoria* sp., *Phormidium* sp., *Microcystis* sp. 등의 남조류가 검출되었다. 이들 우점 조류는 응집·침전 장애, 여과지 폐쇄, 이취미 유발, 독소 생성의 원인이 되는 종으로서 계절적 분포를 살펴보면 늦은 봄부터 초여름까지는 녹조류와 남조류가 우점하였으나 기온이 상승하는 여름철에는 남조류의 분포가 크게 늘어났으며, 늦가을부터 겨울철까지는 낮은 온도에서도 성장 가능한 규조류가 대량 발생하였다.

Table 2. Water qualities of flocculation process effluent in T water treatment plant

Items	Spring	Summer	Autumn	Winter
pH (-)	6.7	6.8	7.2	6.8
DOC (mg/L)	1.8	1.9	1.8	2.0
NH ₄ -N (mg/L)	ND	ND	0.02	ND
NO ₂ -N (mg/L)	ND	ND	ND	ND
NO ₃ -N (mg/L)	1.44	1.85	1.51	1.89
PO ₄ -P (mg/L)	0.05	ND	ND	0.29
SS (mg/L)	1	1	1	1
Turbidity (NTU)	0.7	0.9	1.6	0.5

3.3. 부착조류 및 미생물의 군집구조 해석

정수장 침전조의 배수로에서 부착 서식하고 있는 조류 및 미생물의 군집 구조를 살펴보기 위한 방법으로 퀴논(Quinone)을 사용하였는데 퀴논은 에너지를 얻는 대사형식에 따라 4가지로 분류할 수 있다. 호기 및 질산염호흡을 통해 에너지를 획득하는 미생물에 함유되어 있는 ubiquinone(UQ)과 혐기 및 통기성 호흡을 하는 미생물에 함유되어 있는 menaquinone(MK)이 있으며, 광합성을 통해 에너지를 획득하는 plastoquinone(PQ)과 Vitamin K1(VK)은 조류 및 광합성 미생물들에 함유되어 있는 quinone type이다.

정수장 응집 침전지 배수로에서 채취한 시료의 quinone을 분석하여 월별로 Fig. 1에 나타내었다. 남조류, 규조류 및 녹조류 등 각각의 대표적인 균주를 순수 배양하여 퀴논을 분석한 결과, 남조류(*Mycrocystis*, *Oscillatoria*, *Phormidium*)는 VK1을 우점으로 함유하고 있었으며, 규조류(*Achnanthes*, *Anabena*) 및 녹조류(*Selenastrum*, *Scenedesmus*)는 PQ-9를 우점으로 함유하는 것으로 나타났다. 그리고 대부분의 계절에서 조류 및 광합성 미생물에 함유된 quinone type인 VK1+PQ-9가 45% 이상을 차지하고 있었으며, 3월의 경우는 VK1+PQ-9보다 UQ-10이 약간 더 높게 나타났다. 1월과 10월에는 PQ-9의 존재비가 70% 이상을 차지하였으며 특히 10월에는 VK1의 존재비가 높게 나타난 것으로 보아 사상체 남조류중의 일부가 침전지 벽면에 부착 성장하는 양이 증가한 것으로 사료된다. Lee 등(2004)이 침전지 벽면의 부착조류를 조사한 결과에 의하면 남조류중 *Oscillatoria*는 9월과 10월에 주로 나타났으며 일부 *Phormidium*과 *Lyngbya*는 6-11월까지 주로 발생하였다고 유사한 보고를 한

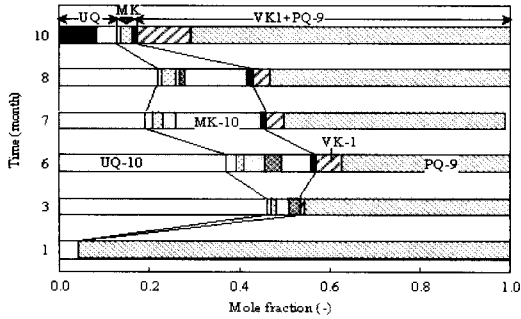


Fig. 1. Seasonal quinone composition of attached algae and microorganisms in water treatment plant.

바 있다. 이에 반해, MK는 1월에는 검출되지 않았으나 3-8월에 MK의 존재비가 약간 상승하였으며 10월에는 다시 감소하여 5% 미만을 차지하고 있었다. 이는 조류나 호기성 미생물들이 침전지 월류부와 수로 벽면에 부착 성장하여 군집을 형성하므로 바깥쪽과는 달리 안쪽 부분까지는 산소 전달이 용이하지가 않으므로 혐기성화가 일어나 이와 같은 quinone type이 검출된 것으로 사료된다.

또한 ubiquinone과 menaquinone profile을 지표로 하여 미생물 혼합 배양계의 다양성을 나타내는 지표인 미생물 다양성지표(DQ, Hu et al., 1999b)를 다음과 같이 계산하였다.

$$DQ = (\sum f_k^{1/2})^2 \quad (1)$$

단, f_k 는 quinone 분자 중 k 의 존재 비(-)로서, n 은 존재비가 0.001 이상의 퀴논 분자종의 수이다. DQ값은 퀴논 분자종의 수가 많을수록 크게 되며, 전부의 분자종이 평등하게 존재할 때 퀴논 분자종의 수와 동등하다. 즉 DQ값이 분자종의 수와 대응하고 있는 것으로부터 DQ를 이용해서 객관적으로 다양성을 평가할 수 있다. 상기의 식을 이용하여 유비퀴논과 메나퀴논을 포함한 총 퀴논으로부터 계산한 미생물의 다양성(DQ_q)과 우점퀴논의 존재비(f_i)와의 관계를 Fig. 2에 나타내었다.

그림에 나타낸 바와 같이 plot은 월변화에 따라 왼쪽위에서 오른쪽아래로 움직이는 것을 알 수 있었다. 즉, 겨울에서 봄으로 갈수록 우점퀴논종의 존재비는 감소하고 DQ값은 증가하는 경향을 나타내었다. 그리고 6월 이후부터는 오른쪽 아래에 위치하던 plot가

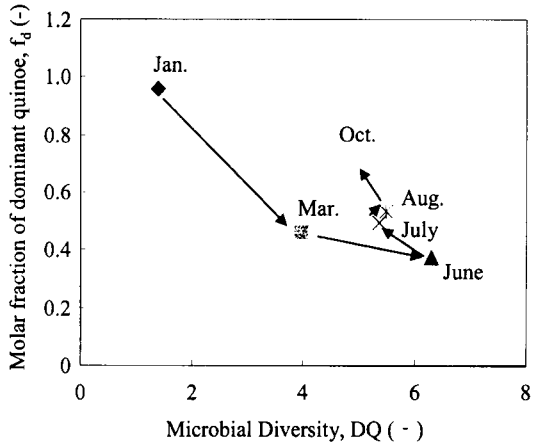


Fig. 2. Analysis of the change in microbial community structure in attached microorganism using DQ-fd plot.

다시 왼쪽 위로 움직이고 있는 것을 알 수 있었다. 이 상으로부터 DQ- f_d 의 plot을 이용하여 미생물군집구조의 변화를 명확하게 파악할 수 있었다.

3.3. Cluster 분석에 의한 미생물군집구조의 분류

퀴논프로파일의 변화를 정량적으로 표시하기 위한 목적으로 dissimilarity(비유사도, D)가 이용되고 있다. 각기 다른 2개의 미생물 군, i 와 j 의 퀴논프로파일간의 비유사도 $D(i, j)$ 를 다음의 식으로 정의하여 계산하였다(Hiraishi et al., 1991).

$$D(i, j) = (1/2) \sum |f_{ki} - f_{kj}| \quad (2)$$

여기서, f_{ki} 와 f_{kj} 는 i 와 j 군집내에 퀴논종 k 의 molar 분율을 나타낸 것이다. D값이 0.1 이하를 나타내는 것은 두 시료 간에 거의 차이가 없는 것을 나타내며, D가 0.2 이상이면 두 시료의 미생물군집간의 미생물상이 서로 다르다고 할 수 있다. 비유사도 값을 이용하여 cluster 해석을 한 결과 Fig. 3에 나타내었다. 봄, 여름, 가을과 겨울로 3그룹화 되었으며, 그 중 7월과 8월의 미생물 및 조류의 분포가 가장 유사한 것으로 나타났다. 그리고 봄(3-6월)이 다른 계절과 비교하여 비유사도(D)가 0.4 이상으로 미생물 및 조류의 종 분포가 크게 다른 것을 알 수 있었다. 이는 현미경 관찰 결과와 DGGE 분석 결과에서도 마찬가지로 유사한 경향을 나타내고 있음을 확인할 수 있었다.

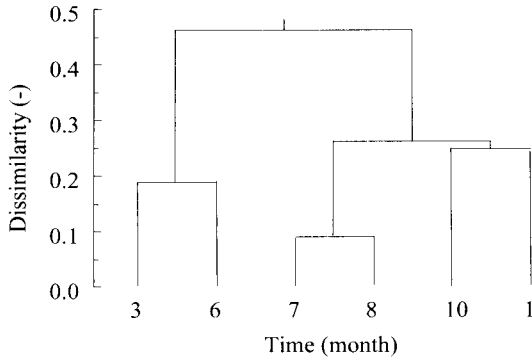


Fig 3. Classification of the microbial community structure based on the dissimilarity of quinone profiles.

3.4. DGGE의 분석

DGGE band profile을 이용하면 전체적인 군집구조를 파악하거나 이미 알고 있는 미생물의 DNA를 가지고 DGGE를 수행하여 전체적인 환경 시료의 band pattern과 비교 분석도 가능하다. 본 연구에서는 현미경 관찰과 Quinone profile에서 우점을 나타낸 조류를 대상으로 광합성 미생물의 DNA 증폭시 사용되는 primer를 이용하여 DGGE를 수행한 결과 Fig. 4에 나타내었다.

1월부터 10월까지 채취한 샘플과 이미 알고 있는 녹조류 2종, 규조류 6종에 대해 DGGE를 수행한 결

과 대체적으로 겨울인 1월의 band 수보다 봄과 여름인 3~8월까지의 band 수가 훨씬 많이 검출된 것으로 나타났고, 특히 8월에는 순수종 DGGE band profile과 일치하는 band가 많았으며 계절별로 우점하는 종에 대해서는 각기 다른 위치에 선명한 band를 확인할 수 있었다. 그러나 남조류의 경우는 그 존재하는 양이 다른 조류보다 적어 band가 명확하게 나타나지 않아 현재 재검토중이다.

4. 결론

정수장 침전지에서 계절별 부착 성장하는 조류 및 미생물 군집구조를 현미경, Quinone profile과 PCR-DGGE 등을 병행하여 분석한 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. 현미경 관찰 결과 정수장 침전지 벽면이나 배수로 등에 군집을 이루고 있는 조류중 대부분은 남조류로써 군체를 형성하는 *Phormidium* sp.과 *Oscillatoria* sp. 등이고, 대량 증식으로 문제를 일으키는 규조류중에서는 *Melosira* sp. 등이 검출되었다.
2. 대부분의 계절에서 조류 및 광합성 미생물에 함유된 quinone type인 VK1+PQ-9가 45% 이상을 차지하고 있었으며, 3-8월 사이에서는 MK류의 존재비도 증가하는 것을 알 수 있었다.

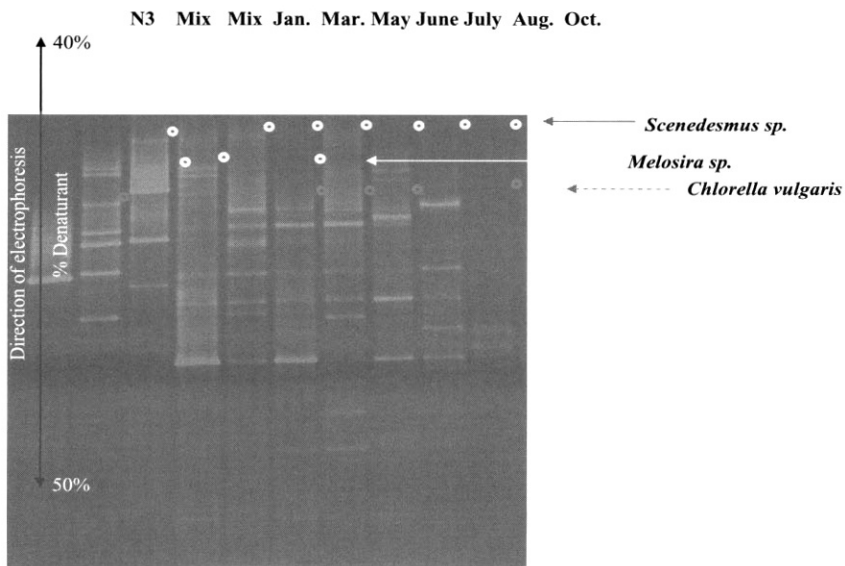


Fig. 4. DGGE profiles of 16S rDNA fragment(N-3: *Chlorella vulgaris*).

3. Cluster를 이용하여 미생물군집구조를 해석한 결과, 봄(3-6월)이 다른 계절에 비하여 비유사도(D) 값이 0.4 이상으로 미생물 및 조류의 종 분포가 크게 다른 것을 알 수 있었다. 또한 DQ-f₀의 plot을 이용하여 미생물군집구조의 변화를 명확히 파악할 수 있었다.

4. DGGE 분석 결과를 보면 quinone 분석결과와 마찬가지로 유사한 결과를 나타내었으며 겨울철에는 band 수가 적게 나타난 것은 온도의 영향으로 미생물 및 조류의 분포가 타 계절보다 감소하는 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2002 차세대 핵심환경기술개발사업에 의하여 수행되었으므로 이에 감사를 드립니다.

참고문헌

1. 김영웅, 손희중, 유명호, 이춘식, 조인철, 김은호, 성낙창 (2000) 정수처리공정중 침전지 부착조류 특성과 이취미 발생에 관한 연구, *대한환경공학회지*, **22**(5), pp.887-894.
2. 이지영, 최수경, 조경제 (2004) 정수장 침전지에서 부착조류의 이취미 물질 발생, *한국물환경학회 대한상하수도학회 공동춘계학술발표회 논문집*, pp.129-132
3. 이철우, 정철우, 한승우, 강임석 (2001) 산화와 응집공정을 이용한 조류제거, *대한환경공학회지*, **23**(9), pp.1527-1536.
4. Hannen, E. J., Agterveld, M. P., Gons, H. J. and Laanbroek, H. J. (1998) Revealing genetic diversity of eukaryotic microorganisms in aquatic environments by denaturing gradient gel electrophoresis. *J. Phycol.*, **34**, pp.206-213.
5. Hiraishi, A., Morishima, Y., and Takeuchi, J. (1991) Numerical analysis of lipoquinone patterns in monitoring bacterial community dynamics in wastewater treatment system. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **37**, pp.57-70.
6. Hu, H.-Y., Fujie, K. and Urano, K. (1999a) Development of a novel solid phase extraction method for the analysis of bacterial quinones in activated sludge with a higher reliability. *J. Biosci. Bioeng.*, **87**(3), pp.378-382.
7. Hu, H.-Y., Fujie, K., Nakagome, H., Urano, K. and Katayama, A. (1999b) Quantitative analyses of the change in microbial diversity in a bioreactor for wastewater treatment based on respiratory quinones. *Wat. Res.*, **33**(15), pp.3263-3270.
8. Kowalchuk, G. A., Gerards, S., and Woldendorp, J. W. (1997) Detection and characterization of fungal infections of *Ammophila arenaria* (Marram Grass) roots by denaturing gradient gel electrophoresis of specifically amplified 18S rDNA. *Appl. Environ. Microbiol.*, **63**(10), pp.3853-3865.
9. Muyzer, G. F., Waal, D. De and Uitterlinden, A. G. (1993) Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl. Environ. Microbiol.*, **59**, pp.695-700.
10. Paralkar, A. and Edzwald, J.K. (1996) Effect of ozone on EOM and Coagulation, *J. AWWA*, **88**(4), pp.143-154.