

납 내성균의 균체내 납 축적 특성

조주식* · 이홍재** · 허종수**

Characteristics of Lead Accumulation in Lead-Tolerant *Pseudomonas aeruginosa*

Ju-Sik Cho*, Hong-Jae Lee** and Jong-Soo Heo**

Abstract

This study was performed to develop the biological treatment technology of wastewater polluted with heavy metals. The lead-tolerant microorganism, *Pseudomonas aeruginosa* which possessed the ability to accumulate lead, was isolated from the industrial wastewater polluted with various heavy metals. The characteristics of lead accumulation in the cells and the recovery of the lead there from were investigated.

Removal rate of lead from the solution containing 100mg/l of lead by the lead-tolerant microorganism was more than 97% at 48 hours after inoculation with the microorganism.

A large number of the electron-dense granules were found mainly on the cell wall and cell membrane fractions, when determined by transmission electron microscopy. Energy dispersive X-ray spectroscopy revealed that the electron-dense granules were lead complex with the substances binding heavy metals.

The lead accumulated into cells was not desorbed by distilled water, but more than 87% of the lead accumulated was desorbed by 0.1M-EDTA. The residues of the cells after combustion at 550°C amounted to about 30% of the dry weight of the cells. EDS analysis showed that the residues were relatively pure lead compounds containing more than 86% of lead.

*경상대학교 공동실험실습관(Central Laboratory, Gyeongsang National University, Chin Ju 660-701, Korea)

**경상대학교 농화학과(Dept. of Agricultural Chemistry, Gyeongsang National University, Chin Ju 660-701, Korea)

서 론

중금속 등이 함유되어 있는 특정폐수의 현행 처리방법은 응집침전법, 이온교환법, 흡착법, 산화환원법, 전기분해법, 중화법 및 추출법 등 주로 물리화학적방법으로 처리하고 있으나, 이러한 방법들은 에너지소모가 많고 유지관리 경비가 과다할 뿐만 아니라 처리효율이 낮으며 처리부산물로 다량의 슬러지가 발생되므로 슬러지의 폐기처리가 큰 문제가 되고 있다.¹⁾ 이들 처리방법의 단점을 보완하기 위하여 최근에는 미생물을 이용하여 중금속을 처리하려는 연구가 활발히 진행되고 있으며, 그 결과 이온교환 수지 혹은 활성탄을 이용한 흡착법에 비하여 중금속 처리효율이 더 높은 것으로 보고 되고 있다.^{2,3)}

폐수중 중금속처리시 미생물의 이용 가능성을 시사한 것은 1949년 Ruchloff⁴⁾가 황성슬러지에 의해서 plutonium이 효과적으로 제거되는 것을 관찰하면서 젤라틴 성분을 가지고 있는 미생물균이 탁월한 중금속 처리능력을 갖는다고 한 이후부터 였으며, 그 후 도시 및 산업폐수로부터 생물학적 처리방법에 의한 중금속 처리에 관한 연구가 진행되어 왔으며, Gale 등⁵⁾의 광산폐수중 Pb, Zn, Cu, Mn 등 중금속을 처리하기 위한 광합성 생물의 이용, Schumate 등⁶⁾의 잔류 우라늄 제거를 위한 *Pseudomonas*속 세균을 이용한 유동층 형태의 bioreactor개발, Norberg 등⁷⁾의 중금속처리에 응집성 미생물인 *Zoogloea ramigera*를 이용한 연속적 처리공정 개발 등을 들 수 있다.

미생물을 이용한 생물학적 처리방법은 저렴한 비용으로 다량의 biomass를 얻을 수 있고^{7,8)}, 미생물에 의한 중금속의 흡수와 탈착반응이 단시간내에 이루어지며^{9,10)}, 고정화된 미생물은 재사용할 수 있을 뿐만 아니라^{11,12)}, 미생물 균체의 폐기처리가 크게 문제되지 않으므로 현행 물리화학적인 처리방법에 비하여 훨씬 더 효과적인 방법이라 할 수 있으며¹³⁻¹⁶⁾, 실제 하수슬러지중의 중금속처리시 화학적 처리방법에 비하여 생물학적 처리방법은 비용을 80

% 절감한다는 보고도 있다.¹⁷⁾ 따라서 현행 중금속 등 독성오염물질의 처리방법인 물리화학적 처리방법을 대체할 수 있는 생물학적 처리방법에 의한 고효율의 중금속 등 독성오염물질의 처리 및 회수에 관한 기술개발은 중요한 일이라 아니할 수 없다.

따라서 본 연구는 중금속오염폐수처리에서의 미생물 이용 가능성을 검토하기 위하여 납에 강한 내성을 지닌과 동시에 균체내 납 축적능력이 우수한 납 내성균을 분리하여 균체내 납 축적 특성, 축적형태 및 균체내에 축적된 납의 회수방법 등을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 사용 균주 및 배지

본 실험에 사용한 납 내성균주는 본인들이 분리 동정한 납 내성균주 *Pseudomonas aeruginosa*를 사용하였으며, 균주의 배양은 basal medium(glucose 10g, polypeptone 10g, yeast extract 5g, NaCl 5g, 증류수 1000ml, pH 6.0)에 납을 일정한 농도로 처리한 액체배지를 사용하였다.

2. 균체의 수확 및 납 처리

균체는 Cho 등¹⁸⁾과 같은 방법으로 수확하였으며, 균체의 납 처리는 $Pb(NO_3)_2$ 을 Pb^{2+} 농도로서 10,000 mg/l이 되게 조제한 표준용액을 이용하여 일정한 농도가 되도록 멸균증류수로 희석 조제하여 처리하였다.

3. 균체량 및 납 정량

균체내에 축적된 납 축적량과 용액중에 남아있는 납 잔존량은 Cho 등¹⁸⁾과 같은 방법으로 전처리하여 atomic absorption spectrophotometer (Shimadzu AA-680, Japan)를 이용하여 납 함량을 정량하였다.

4. 납에 대한 내성

납을 처리하지 않은 배지와 납을 100, 500, 1,000, 2,000mg/l 되게 농도별로 처리한 액체배지에 각각 공시균주를 접종한 다음, 30°C에서 진탕배양하면서 시간별로 Spectrophotometer(Spectronic 21D, Milton Roy, U.S.A.)의 흡광도로서 성장도를 비교함으로써 공시균주의 납에 대한 내성 정도를 조사하였다.

그리고 공시균주와 *E. coli*, *Xanthomonas citri* 및 activated sludge로부터 분리한 mixed microorganism을 납이 200mg/l 처리된 기본배지에 각각 접종하여 배양하면서 성장도를 비교함으로써 공시균주의 납에 대한 내성 정도를 다른 미생물들과 비교하였다.

5. 납 축적 능력

납이 100mg/l 농도로 처리된 기본배지에 공시균주를 접종하여 30°C에서 4일간 진탕배양하면서 배양시간에 따른 납 축적량을 조사하였으며, 또한 납이 처리되지 않은 기본배지에 공시균주를 접종하여 48시간 배양한 다음, 원심분리로 회수한 균체를 납이 100 및 200mg/l의 농도로 처리된 용액(pH 6.0) 100ml에 처리하여 30°C에서 진탕시키면서 처리시간에 따른 균체내 납 축적량과 용액내 납 잔존량을 조사하였다.

그리고 공시균주와 *E. coli*, *Xanthomonas* 및 activated sludge로부터 분리한 mixed microorganism을 납이 100mg/l 처리된 용액(pH 6.0) 100ml에 건조균체량으로서 100mg되게 각각 처리하여 처리시간에 따른 납 처리율을 조사함으로써 공시균주의 납 축적능력을 다른 미생물들과 비교하였다.

6. 납 축적 균체의 전자현미경 관찰 및 EDS분석

균체내 축적된 납의 외형적인 축적형태는 Cho 등¹⁸⁾과 같은 방법으로 시료를 전처리하여 carbon coated 200 mesh nickel 또는 copper grid에 고정시켜 전자현미경(TEM, Hitachi H-600) 75KV에서 관찰하였

으며, 무기원소의 분석은 TEM에 부착된 energy dispersive X-ray spectroscope (EDS, Serial II, Noran, U. S. A.)로 분석하였다.

7. 균체내 축적된 납의 회수

납이 축적된 균체를 증류수, 0.1M-HCl 및 0.1M-EDTA용액으로 각각 처리 세척하여 세척 횟수에 따른 균체내 축적된 납의 탈착율을 조사하였다.

그리고 납이 축적된 균체를 550°C회화로에서 12시간 회화시킨 후 납은 작열잔류화합물을 EDS분석하여 작열잔류화합물중의 납 함량을 조사하였고 균체내 축적된 납을 분석 정량함으로써 회수방법의 효율성을 비교 검토하였다.

결과 및 고찰

1. 납에 대한 내성

납 내성균의 납 농도에 따른 내성 정도를 조사한 결과는 Fig. 1에서 보는 바와 같이 납을 처리하지 않았을 경우와 납을 처리했을 경우의 성장도를 비

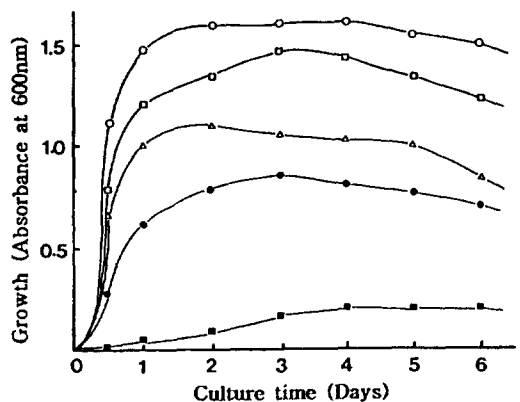


Fig. 1. Growth curves of *P. aeruginosa* at the various Pb concentrations according to culture time.

○ : Without Pb □ : 100mg/l of Pb
 △ : 500mg/l of Pb ● : 1000mg/l of Pb
 ■ : 2000mg/l of Pb

교해 볼때 납을 100mg/l 농도로 처리했을 경우에는 생장이 서로 별 차이가 없었다. 그러나 납 농도가 500, 1,000 및 2,000mg/l로 높아질수록 생장에 저해를 받았으나 500 및 1,000mg/l에서도 비교적 양호한 성장을 나타냈으며, 배양액중 납 농도가 높을수록 유도기가 연장될 뿐만 아니라 성장도 저해되는 것으로 나타났다.

그리고 납 내성균주의 납 내성을 다른 미생물들의 납 내성과 비교해 본 결과는 Fig. 2에서 보는 바와 같이 *E. coli*와 mixed microorganism은 어느 정도 성장하였으나 납 내성균에 비하여 생장이 낮았으며, *Xanthomonas*는 거의 성장하지 못하였다. 따라서 중금속에 의한 미생물의 생육저해 정도는 미생물 종류와 중금속 종류에 따라 각각 다르게 나타나는 것으로 생각되었으며, 이러한 결과는 Abbas 등¹⁹⁾과 Lester 등²⁰⁾이 토양 미생물의 일종인 *Streptomyces* species들과 중금속에 내성을 지니고 있는 *Alcalige-*

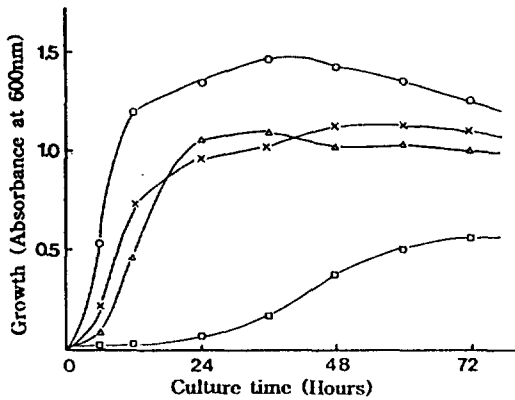


Fig. 2. Growth curves of *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Xanthomonas* and mixed microorganisms isolated from activated sludge.

Cultivation was carried out in 100ml of the basal medium with 200mg/l of Pb with shaking at 30°C or 37°C for 72 hours.

- : *P. aeruginosa* △ : *E. coli*
- : *Xanthomonas*
- × : mixed microorganisms

nes sp., *Pseudomonas* sp. 및 *Brevibacterium* sp.의 여러가지 중금속들에 대한 생육저해 정도를 조사한 결과, 중금속 종류와 미생물 종류에 따라 생육저해 정도가 다르게 나타났다는 결과와 비슷한 경향이었으며, 본 실험에 사용한 납 내성균주는 납에 대하여 상당히 강한 내성을 지니고 있는 것으로 생각되었다.

2. 납 축적능력

공시 납 내성균주를 납이 100mg/l 처리된 기본배지에 접종하여 배양시간에 따른 납 축적량을 조사한 결과는 Fig. 3에서 보는 바와 같이 배양액내 균체량이 증가됨에 따라 축적량도 증가되었고, 이때 배양 3일 후의 납 제거량은 약 69mg/l이었다. 이러한 균체들의 세포형태를 전자현미경으로 관찰한 결과 Photo. 1에서 보는바와 같이, 세포표면에 많은 electron-dense granule들이 형성되어 있는 것이 관찰되었으며, 이것은 세포내 중금속 결합능력이 있는 물질들에 납이 결합된 lead complex인 것으로 생각되었다.

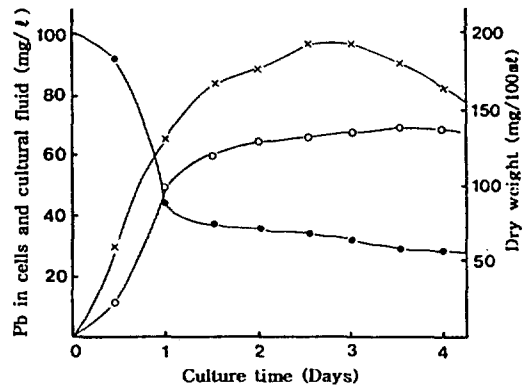


Fig. 3. Changes of Pb accumulation in the cell according to culture time.

Cultivation was carried out in 100ml of the basal medium with 100mg/l of Pb with shaking at 30°C for 4 days.

- × : Dry weight of cells ○ : Pb in cells
- : Pb in cultural fluid

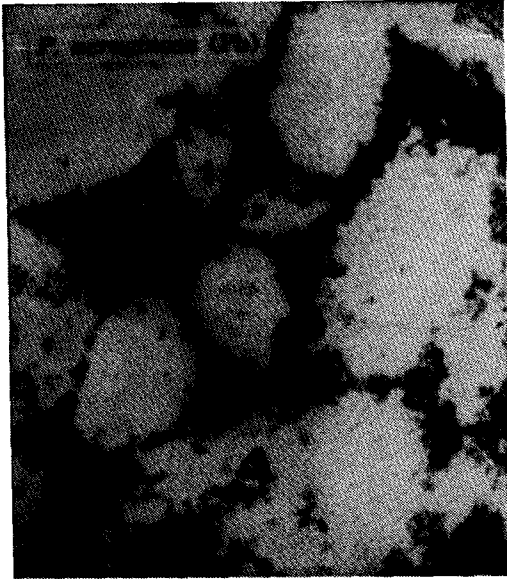


Photo. 1. Scanning electron microscopic observation of the cell surface of *P. aeruginosa*.

그리고 납이 처리되지 않은 배지에서 완전히 성장한 균체를 원심분리기로 회수하여 멸균증류수에 납을 100 및 200mg/l 농도로 처리한 용액(pH 6.0) 100ml에 처리하여 처리시간에 따른 용액내 납 제거율을 조사한 결과는 Fig. 4에서 보는바와 같이 처리 1시간 이내에 매우 높은 납 제거율을 나타내었고, 그 이후 처리시간이 경과함에 따라 별차이가 없었으며, 처리 72시간 후 100 및 200mg/l 농도에서 각각 약 97% 및 90% 이상의 높은 납 제거율을 나타내어 납이 처리된 배지에서 배양하였을 경우(Fig. 3)와 비슷한 축적양상을 나타내었다.

Cheng 등²¹⁾의 activated sludge에 의한 중금속 흡착실험과 Tsezos 등^{22,23,24)}의 *Rhizopus arrhizus*를 이용한 중금속 흡착실험에서 미생물에 의한 중금속의 흡착은 2단계 반응메카니즘에 의해 일어나며, 1단계 흡착은 중금속 유입 직후부터 30~60분 사이의 빠른 시간안에 흡착반응이 일어나며, 이 시간은 평형단계에 거의 도달하는 속도 결정단계로서 주로 미생물 세포간의 생성물질에 의한 중금속의 물리적인 흡착과 세포표면에서의 이온 교환에 의해서 일

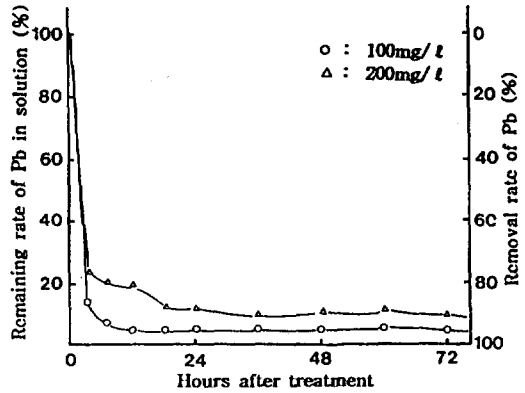


Fig. 4. Removal rates of Pb in solution treated with Pb by *P. aeruginosa*. The precultured *P. aeruginosa* cells(dry weight ; 215mg) were suspended in 100 ml of solution (pH 6.0) treated with 100 or 200mg/l of Pb.

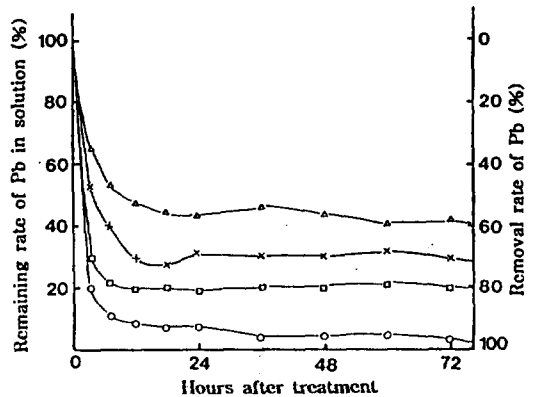


Fig. 5. Removal rates of Pb in solution treated with 100mg/l of Pb by *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Xanthomonas* and mixed microorganisms isolated from activated sludge.

The precultured cells(dry weight 100mg) were suspended in 100ml of a solution (pH 6.0) treated with 100mg/l of Pb.
 ○ : *P. aeruginosa* △ : *E. coli*
 □ : *Xanthomonas*
 × : mixed microorganisms

어나며, 2단계 흡착은 미생물 대사활성 또는 증식에 따른 흡착으로서 세포의 성장율에 의해서 결정된다는 보고를 미루어 볼때 공시균주에 의한 납 축적은 처리 1시간 이내에 대부분이 흡착되고 그 이후로는 축적량에 별차이가 없는 것으로 보아 주로 물리적인 흡착과정에 기인하는 것으로 생각되었다.

공시 납 내성균주의 납 축적능력을 다른 미생물들과 비교해 본 결과 Fig. 5와 같이 납 내성균주의 납 축적능력은 다른 미생물들에 비하여 대단히 높은 것을 알수 있었다. 특히 납에 대하여 가장 약한 내성을 지닌 것으로 나타난 *Xanthomonas*(Fig. 2)의 납 제거율이 *E.coli*나 mixed microorganism에 비하여 높게 나타났으며, 이러한 결과는 미생물에 의한 중금속의 흡착은 중금속에 대한 내성과는 상관없이 세포외부에 존재하는 polysaccharide와 같은 미생물 대사산물 등에 결합되는 물리적인 흡착과정에 의하여 균체내에 축적될 수 있는 것^{21,22,23,25)}으로 생각되었다.

3. 납 축적 균체의 전자현미경 관찰 및 EDS분석

납이 처리되지 않은 배지에서 성장한 균체와 납이 200mg/l 처리된 배지에서 성장한 균체의 세포형태 변화 및 중금속 축적형태를 전자현미경(TEM)으로 관찰한 결과는 Photo. 2에서 보는 바와 같이, 납이 처리되지 않은 배지에서 성장한 균체는 정상적인 세포형태를 이루고 있었으나 납이 처리된 배지에서 성장한 균체는 주로 세포표면에 많은 electron-dense granule들이 형성되어 있는 것이 관찰되었으며, 이러한 electron-dense granule들을 EDS 분석한 결과 Fig. 6에서 보는 바와 같이 상당량의 납이 함유되어 있는 것으로 나타났으며, 미생물의 중금속 축적에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 인과 유황의 함량이 다른 원소들에 비하여 높게 함유되어 있는 것으로 나타나 metallothionein이 존재할 가능성이 있는 것으로 생각되었으며, 납이 처리되지 않은 배지에서 성장한 균체에 비하여 납이 처리된 배지에서 성장한 균체의 인 함량이 더 높게 나타났으나,

다른 원소들은 납이 처리되지 않은 배지에서 성장한 균체와 별다른 차이가 없었다.

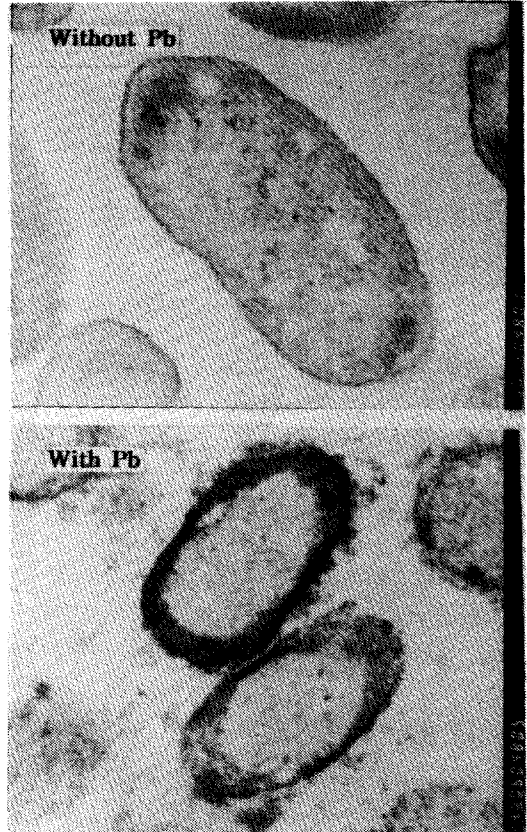


Photo. 2. Electron microphotograph of *P. aeruginosa* treated without or with Pb (40,000X).

따라서 납 처리균체에서 관찰된 electron-dense granule들은 납 결합능력이 있는 세포물질과 납이 complex를 이루고 있는 것으로 생각되었다. 이러한 결과들은 납 처리시간에 따른 납 축적양상(Fig. 4)과 중금속 축적능력이 있는 미생물의 가상적인 polyphosphate : heavy metal complex는 불용성의 colloidal suspension 상태로 세포내에 혹은 세포 표면에 존재하며, 불용성 heavy metal : S complex는 세포 표면에 존재한다고 이미 보고된 연구 결과들^{22,23,26,27,28)}과 비교해 볼때, 공시균주에 의한 납 축적은 주로 미생물 세포간의 생성물질에 의한 물리

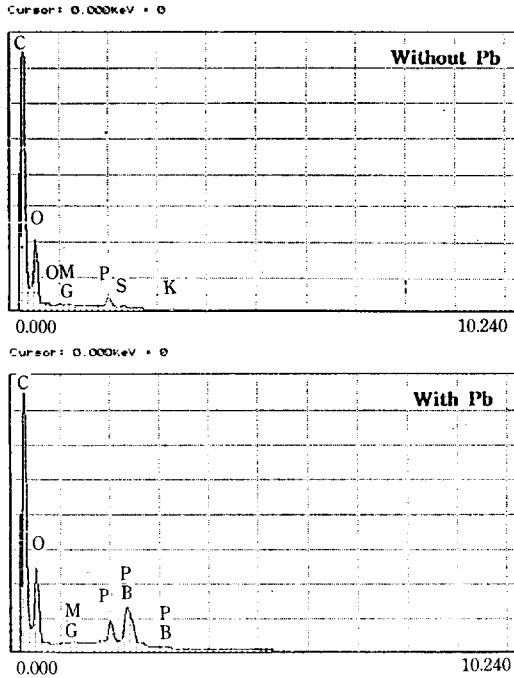


Fig. 6. X-ray energy dispersion spectra of *P. aeruginosa* treated without or with Pb.

적인 흡착과 세포표면에서의 이온교환에 의하여 매우 빠른 시간내에 세포표면에 주로 흡착되는 것으로 생각되었다.

4. 균체내 축적된 납의 회수

납이 축적된 균체를 증류수, 0.1M-HCl 및 0.1M-EDTA 용액으로 처리하여 세척 횟수에 따른 납 탈착율, 그리고 납이 축적된 균체를 550°C 회화로에서 12시간 회화시킨 후 납은 작열잔류화합물을 EDS 분석하여 작열잔류화합물중 납 함량을 조사하여 균체내에 축적된 납의 회수방안을 검토한 결과는 Fig. 7, 8 및 Table 1, 2, 그리고 Photo. 3에서 보는바와 같다.

납이 축적된 균체를 증류수, 0.1M-HCl 및 양이온 킬레이트제인 0.1M-EDTA 용액으로 처리하여 세척 횟수에 따른 균체내에 축적된 납의 탈착율을 조사한 결과, Fig. 7에서 보는바와 같이 증류수에 의해서는

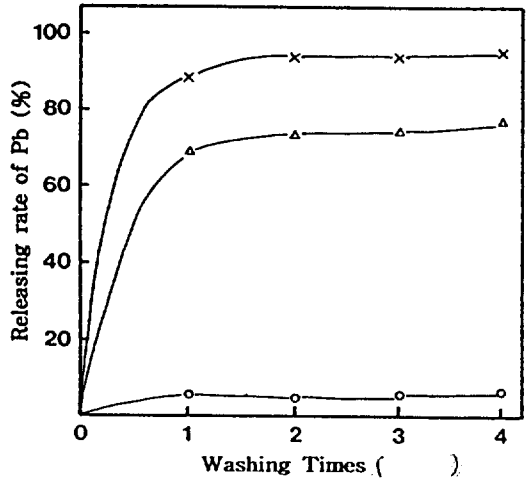


Fig. 7. Release of Pb from Pb-accumulated cells treated with distilled water, HCl or EDTA according to washing times. ○ : Distilled water △ : HCl × : EDTA

납이 거의 탈착되지 않았으며, 0.1M-HCl 용액에 의해서는 약 70% 정도가 탈착되었고, 양이온 킬레이트제인 EDTA에 의해서는 약 87% 탈착되어 EDTA 용액에서 높은 탈착율을 나타내었다. 그리고 세척 횟수에 따른 탈착율은 1회(1h) 이후 큰 차이가 나지 않았으며, 이러한 결과는 Nakajima 등²⁹⁾의 *Streptomyces albus*를 이용한 탈착실험에서 흡착된 UO_2^{2+} 의 탈착이 1시간 이내에 완료되었다는 결과와 유사한 경향을 나타내었다.

납 내성균주의 납 축적전과 축적후의 균체량 변화 및 납이 축적된 균체를 550°C 회화로에서 12시간 회화시킨 후 납은 작열잔류화합물을 조사한 결과, Table 1에서 보는바와 같이 납 축적전에 비하여 축적후에 공시균주의 균체량은 약 38.5% 증가되었으며, 이때 증가된 균체량은 초기 용액내에서 제거된 납의 양과 거의 비슷함을 알 수 있었다. 그리고 납이 축적된 균체를 550°C 회화로에서 12시간 회화시켰을 경우 균체량의 30%에 해당하는 작열잔류화합물이 생성되었다.

Photo. 3은 이때 생성된 작열잔류화합물의 외형적인 구조를 전자현미경으로 관찰한 것이며, 작열

Table 1. Dry weights of cells after Pb accumulation and residues after combusting the cells.

Dry weight of cells		Residues after combusting the cells	
Native (mg)	After heavy metal accumulation (mg)	mg	mg/g
1976 (100)	2736 (138.5)	812 (29.7)	296.8

() : Index

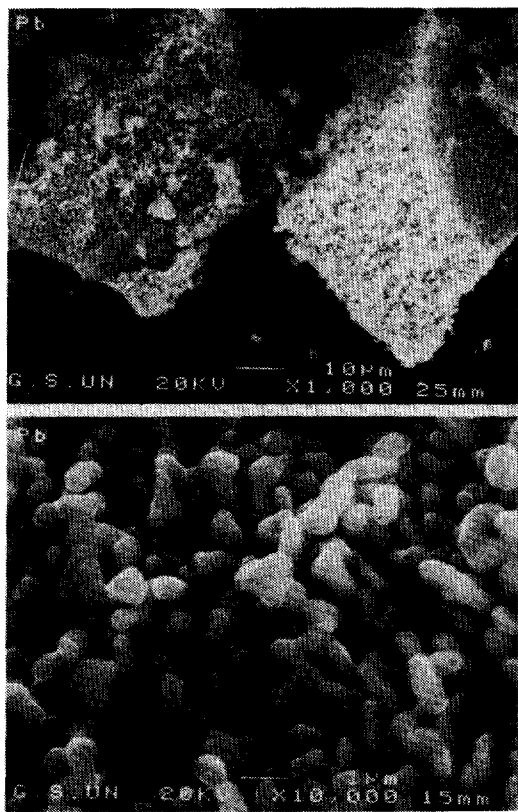


Photo. 3. Electron microphotographs of residues after combusting the *P. aeruginosa* cells accumulating Pb at 550°C.

잔류화합물들 중의 원소성분을 EDS로 분석한 결과, Fig. 8에서 보는바와 같이 상당히 많은 양의 납이 함유되어 있었으며, 특히 중금속 축적에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 인의 함량이 약 11%로서 납 이외의 다른 원소들에 비하여 매우 높게 함유되어 있었으며, 유황은 균체를 그대로 EDS 분석하였을 경우(Fig. 6)에는 검출되었으나, 회화시킨 잔열잔류화합물에서는 검출되지 않았다.

잔열잔류화합물을 EDS분석하였을 경우 검출된 원소들과 납의 상대적인 함량을 비교해 본 결과, Table 2에서 보는바와 같이 납 함량이 약 86%로서 납 함량이 매우 높은 화합물인 것으로 판명되었다.

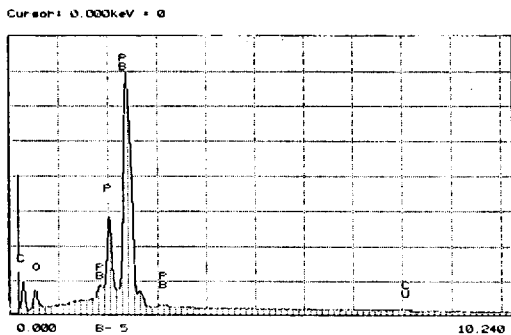


Fig. 8. X-ray energy dispersion spectra of residues after combusting the *P. aeruginosa* cells accumulating Pb at 550°C.

Table 2. Elemental composition of residues after combusting the cells accumulating Pb at 550°C.

Elements	Content of elements in residues (%)
C	1.36
O	0.94
Cl	—
Mg	—
Fe	—
P	10.71
Pb	86.49
Cu	0.12
Total	100.00

적 요

납 내성균인 *P. aeruginosa*의 균체내 납 축적 특성, 축적형태 및 균체내에 축적된 납의 회수 방법을 조사한 결과는 다음과 같다.

납 농도가 100mg/l인 용액중에서 처리 48시간 후 납 내성균주의 납 처리율은 약 97% 이상이었다.

납이 축적된 균체를 전자현미경으로 관찰한 결과, 균체의 cell wall과 cell membrane에 많은 electron-dense granule들이 형성되어 있었으며, electron-dense granule들을 EDS로 분석한 결과, 이 granule들은 lead complex인 것으로 확인되었다.

공시균주의 균체내 축적된 납은 증류수에 의해서는 거의 탈착이 되지 않았으나 EDTA 처리에 의해서는 약 87% 이상 탈착되었다. 납이 축적된 균체를 550°C에서 회화시켰을 때 건조균체량의 약 30%에 해당하는 작열잔류화합물들이 생성되었으며, 이 작열잔류화합물들을 EDS로 분석한 결과, 납이 약 86% 이상 함유되어 있는 비교적 순수한 납 화합물인 것으로 확인되었다.

참고문헌

1. 조순행, "물리화학적처리", 유해폐기물 관리기술 심포지움, 1988. 한국 과학기술원.
2. Friis, N. and P. Myers-Keith. 1986. Biosorption of uranium and lead by *Streptomyces longwoodensis*. *Biotechnol. Bioeng.* **28** : 21-28.
3. Heo, J.S. and J.S. Cho, 1994. Utilization of microorganisms for treating wastewater polluted with heavy metals. *Kor. J. Environ. Agric.* **13** : 386-395.
4. Ruchloft, C.C., 1949. The possibilities of disposal of radioactive wastes by biological treatment methods. *Sewage Works, J.* **21** : 877-887.
5. Gale, N.L. and B.G. Wixon, 1979. Removal of heavy metals from industrial effluents by algae. *Dev. Ind. Microbiol.* **20** : 259-273.
6. Shumate, S.E., et al., 1980. Separation of heavy metals from aqueous solution using biosorbents-development of contacting devices for uranium removal. *Biotechnol. Bioeng. Symp.* **10** : 27-38.
7. Norberg, A.B. and H. Persson, 1984. Accumulation of heavy metal ions by *Zoogloea ramigera*. *Biotechnol. Bioeng.* **26** : 239-246.
8. Kuyucak, N. and B. Volesky, 1989. Accumulation of cobalt by marine alga. *Biotechnol. Bioeng.* **33** : 809-814.
9. Flemming, C.A., F.G. Ferris, T.J. Beveridge and G.W. Bailey, 1990. Remobilization of toxic heavy metals adsorbed to bacterial wall-clay composites. *Appl. Environ. Microbiol.* **56**(10) : 3191-3203.
10. Tsezos, M., 1984. Recovery of uranium from biological adsorbents-desorption equilibrium. *Biotechnol. Bioeng.* **26** : 973-981.
11. Treen-Sears, M.E., B. Volesky, and R.J. Neufeld, 1984. Ion exchange/complexation of the uranyl ion by *Rhizopus* biosorbent. *Biotechnol. Bioeng.* **26** : 1323-1329.
12. Michel, L.J., L.E. Makaskie and A.C.R. Dean, 1986. Cadmium accumulation by immobilized cells of a *Citrobacter* sp. using various phosphate donors. *Biotechnol. Bioeng.* **28** : 1358-1365.
13. Nakajima, A., T. Horikoshi, and T. Sakaguchi. 1981. Studies on the accumulation of heavy metal elements in biological systems. XVII. Selective accumulation of heavy metal ions by *Chlorella regularis*. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **12** : 76-83.
14. 이상은 외, 폐수처리 시스템 개발현황 조사 연구, 1985. 한국 건설 기술 연구소.
15. 정윤철 외, 응집제 생산을 위한 생물공정기술개발 (I), 1989. 과기처 보고서.
16. 최의소, 폐기물 처리와 자원화, 1985. 청문각.
17. Jain, D.K. and R.D. Tyagi, 1992. Leaching of heavy metals from anaerobic sewage sludge by sulfur-oxidizing bacteria. *Enzyme. Microb. Technol.* **14** : 376-383.
18. Cho, J.S., M.G. Han, H.J. Lee, and J.S. Heo, 1996. Zinc accumulation in the cell of zinc-tolerant

- bacteria, *Pseudomonas chlororaphis*, and recovery of zinc from the cells accumulating zinc. *J. Korean Environ. Sci. Soc.*, **5**(3), 317-327.
19. Abbas, A. and C. Edwards. 1989. Effects of metals on a range of *Streptomyces species*. *Appl. Environ. Microbiol.* **55**(8):2030-2035.
 20. Lester, J.N., R.Perry and A.H.Dado. 1979. The influence of heavy metals on a mixed bacterial population of sewage origin in the chemostat. *Water Res.* **13** : 1055-1063.
 21. Cheng, M.H., J.W.Patterson, and R.A.Minear. 1975. Heavy metals uptake by activated sludge. *J. Water Pollut Control Fed.* **47** : 362-376.
 22. Tsezos, M. and B.Volesky. 1982. The mechanism of uranium biosorption by *Rhizopus arrhizus*. *Biotech. Bioeng.* **24** : 385-401.
 23. Tsezos, M. and B.Volesky. 1982. The mechanism of thorium biosorption by *Rhizopus arrhizus*. *Biotech. Bioeng.* **24** : 955-969.
 24. Tsezos, M. 1983. The role of chitin in uranium adsorption by *R. Arrhizus*. *Biotech. Bioeng.* **25** : 2025-2040.
 25. Brown, M.J. and J.N.Lester. 1979. Metal removal in activated sludge : The role of bacterial extracellular polymer. *Water Res.* **13** : 817-837.
 26. Standberg, G.W., S.E.Shumate II and J.R.Parrott, JR. 1981. Microbial cell as biosorbents for heavy metals : Accumulation of uranium by *Saccharomyces cerevisiae* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl. Environ. Microbiol.* **41**(1) : 237-245.
 27. Aiking, H., K.Kok, H.van Heerikhuizen and J. van't Riet, 1982. Adaptation to cadmium by *Klebsiella aerogenes* growing in continuous culture proceeds mainly via formation of cadmium sulfide. *Appl. Environ. Microbiol.* **44**: 938-944.
 28. Cunningham, D.P. and L.L. Lundie, JR., 1993. Precipitation of cadmium by *Clostridium thermoaceticum*. *Appl. Environ. Microbiol.* **59**(1) : 7-14.
 29. Nakajima, A. and T.Sakaguchi, 1986. Selective accumulation of heavy metals by microorganisms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **24** : 59-64.