

납 이온의 생물흡착에 따른 미생물들의 변화

김 동 석·서 정 호·송 승 구**

대구효성가톨릭대학교 환경과학과·울산과학기술대학교 환경공업화학과의 부산대학교 화학공학과*
(2000년 1월 31일 접수)

A Variation of Microorganisms by the Biosorption of Pb²⁺

Dong-Seog Kim, Jung-Ho Suh* and Seung-Koo Song**

Dept. of Environ. Sci., Catholic University of Taegu-Hyosung, Kyungbuk 712-702

*Dept. of Industrial Chemistry, Ulsan College, Ulsan 680-749

**Dept. of Chem. Eng., Pusan National University, Pusan, 609-735, Korea

(Manuscript received 31 January, 2000)

The variation of microorganisms (activated sludge, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aureobasidium pullulans*) caused by the biosorption of Pb²⁺ was observed by TEM and microscope. By the TEM observation of *S. cerevisiae*, the plasmolysis and lysis of cell wall or cell membrane were occurred by the penetration of Pb²⁺ into the inner cellular region. However, in the case of *A. pullulans*, the plasmolysis and lysis of cell wall or cell membrane were not occurred because of the prevention of Pb²⁺ penetration by the extracellular polymeric substances (EPS). A flocculation of microorganisms, in the case of *A. pullulans*, was observed by the Pb²⁺ accumulation after 3~4 h and the color was changed from white to black after 1 day. The flocculation of activated sludge was improved by the accumulation Pb²⁺ after 1 h, however, the floc was broken up and the settling efficiency decreased after 1 day.

Key words : biosorption, bioaccumulation, Pb²⁺, activated sludge, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aureobasidium pullulans*, EPS

1. 서 론

최근 들어 국내외적으로 미생물을 이용하여 산업폐수 중에 함유되어 있는 중금속 이온과 방사성 물질을 제거하거나 회수하기 위한 기술에 대하여 많은 연구가 이루어지고 있다. 높은 약품비와 에너지를 요구하거나 까다로운 제거를 필요로 하는 독성 슬러지나 부산물을 만들어 내는 기존의 중금속 제거기술들(화학적 침전, 역삼투, 용매추출)에 비해 미생물을 이용한 중금속 제거(생물흡착)기술은 충분한 대안으로 인식되고 있다. 여러 유해 중금속들 중 납은 채광, 금속제련, 염료, 발전, 석유화학 산업 등에서 주로 발생하는 중금속으로서, 먹이연쇄에 의해 축적될 경우 생태계에 치명적인 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.¹⁾

국내외적으로 미생물을 이용한 중금속 제거에 많은 관심을 가지고 있으나, 이러한 연구의 대부분은 세균,²⁾ 조류,³⁾ 균류^{4,5)} 등의 순수한 미생물을 이용하여 중금속 제거에 대한 응용가능성, 중금속 제거 메커니즘의 규명 및 중금속 제거효율을 증진시킬 수 있는 균주의 개발 등에 한정되어 있는 실정이다.

미생물을 이용한 중금속 제거기술을 실용화시키기 위

해서는 연속처리에 관한 문제가 우선적으로 해결되어야 하고, 연속처리를 실현하기 위해서는 처리수와 미생물과의 분리방법에 대한 문제 해결이 가장 중요한 관건이다. 그러므로 최근 효과적으로 처리수와 미생물을 분리할 수 있는 방법에 대해 많은 연구가 이루어지고 있는 데, 이러한 방법으로는 미생물 고정화 방법이나 균집을 잘 형성하는 미생물을 이용하는 방법 등이 있다. 대체적으로 미생물 고정화를 이용하는 방법에 대하여 많은 연구가 이루어지고 있으며,^{6,7)} 이 방법은 실용화 단계를 고려하면 고정화에 소요되는 경비와 노력이 상당하며, 중금속의 흡착과 탈착 처리공정을 반복할 경우 제거효율이 급격하게 감소하고 고정화된 입자가 해체되어 연속적인 운전이 불가능하게 되는 문제점들이 있어, 이에 대한 보완적인 연구가 계속적으로 이루어지고 있다. 고정화 방법에 대한 보완책으로 고정화를 하지 않아도 될 정도로 균집을 잘 이루는 특징을 가지고 있는 미생물을 이용하는 연구가 최근 이루어지고 있으나,⁸⁾ 이러한 미생물의 개발이나 획득이 쉽지 않고 실제 실용화 단계에서는 어떠한 문제가 발생할 지에 대해서는 아직 미지수이다.

연속처리공정을 성공적으로 수행하기 위해서는 경우

에 따라 장기간의 운전이 필요할 때가 많다. 이러한 경우 장기적인 중금속 흡착에 따라 미생물의 상태가 변화할 수 있으며, 이에 따른 중금속 제거효율의 변화는 필연적이라 할 수 있다. 그러나 이러한 중금속 흡착에 따른 미생물의 상태 변화에 대한 연구는 거의 없는 실정이다. 그러므로 본 연구에서는 우리나라의 생물학적 폐수 처리 공정의 약 80% 이상을 차지하고 있는 활성슬러지 공정에서 배출되는 활성슬러지와 알콜 발효공정에서 폐기되는 *Saccharomyces cerevisiae*, 제당공장에서 폐기되는 *Aureobasidium pullulans*를 이용하여 납 이온을 제거시킬 경우, 미생물이나 활성슬러지 플록의 변화를 관찰하여 실용화를 위한 연속처리공정의 기초자료로 제공하고자 한다.

2. 실험재료 및 방법

2.1. 실험재료

본 실험에서는 활성슬러지, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aureobasidium pullulans*와 같은 3종류의 생물체료를 사용하였다. 활성슬러지는 K시 수질환경사업소에서 배출되는 2차 처리 공정의 반송 슬러지가 이용되었으며, 순수 미생물은 알코올 발효공정에서 가장 많이 이용된 후 폐기되는 *Saccharomyces cerevisiae* KCTC 1199과 제당 공정에서 사용되고 폐기되는 *Aureobasidium pullulans* KFCC 10245가 이용되었다. *S. cerevisiae*는 배양상의 장점과 이용가능성 및 뛰어난 중금속 흡착능 등으로 생물 흡착제로서 가장 많이 연구되고 있으며,⁹⁾ *A. pullulans*는 중금속에 대한 내성이 탁월한 것으로 보고된 바 있다.¹⁰⁾

활성슬러지는 실험에 사용되기 전에 40mesh의 체를 사용하여 슬러지에 존재하는 여러 협잡물들을 제거하였으며, 슬러지 내에 존재하는 유기물질 및 기타 중금속 제거실험에 영향을 미칠 수 있는 오염물질들을 제거하기 위하여 원심분리(3,000 x g) 시킨 후 초순수 증류수로 세척하는 과정을 3회 반복하였다.

순수 미생물 중 *S. cerevisiae*의 배양을 위해 glucose 100g/l, yeast extract 8.5g/l, NH₄Cl 1.32g/l, MgSO₄ 0.11g/l, CaCl₂ 0.06g/l의 배지조성으로 100ml의 배지를 제조하여 300ml의 삼각플라스크에서 사용하였으며, 진탕 배양기에서 30℃, 72시간 배양하였다. *A. pullulans*는 sucrose 200g/l, yeast extract 20g/l, K₂HPO₄ 5g/l, MgSO₄ · 7H₂O 2g/l, NaNO₃ 15g/l의 배지조건에서 *S. cerevisiae*와 같은 방법으로 배양하였다. 미생물을 회수하기 위하여 20분간 원심분리(3,000 x g)시킨 후, 상정액은 버리고 균체는 같은 양의 초순수 증류수로 재현탁시켜 다시 원심분리시키는 과정을 3회 반복하였다. 회수된 균체는 초순수 증류수에 재현탁시켜 중금속 제거실험에 사용되기 전까지 4℃에서 냉장 보관되었다. 또한, 필요에 따라 미생물의 생육능을 조사하기 위해 평판배양 방법을 사용하였다.

실험에 사용된 중금속은 납 이온으로서, 다른 중금속에 비해 미생물에 의해 제거가 잘 되고,³⁾ 외부 환경에 방출될 경우 생태계에 미치는 악영향이 큰 것으로 알려져 있다.¹⁾ 사용된 시약은 Pb(NO₃)₂으로서 2M의 모액을

만들어 필요에 따라 일정한 농도로 희석하여 사용하였다.

2.2. 납 이온 제거실험

모든 납 이온 제거실험은 30℃의 진탕배양기 안에서 회분식으로 이루어졌으며, pH를 임의로 조절하지는 않았다. 다만, 모든 실험의 pH 범위는 수중에서 존재하는 납 이온의 형태가 Pb²⁺로 존재하고 납 이온의 침전이 발생되지 않는 pH 5이하로 유지되었다. 생물체료 현탁액(50ml)과 실험에서 원하는 농도의 2배가 되도록 준비한 납 이온 용액(50ml)을 300ml 삼각 플라스크에서 1:1로 섞은 후, 30℃의 진탕배양기에서 150rpm으로 교반하였다. 일정한 시간 간격으로 1.8ml의 시료를 채취하여 10분 동안 원심분리(10,000 × g)한 후 상정액을 회석하여 원자흡광광도법(Perkin Elmer 3300)을 이용하여 납 이온 농도를 측정하고, 원심분리된 미생물은 적절한 처리를 한 다음 TEM 또는 위상차현미경으로 관찰하였다.

2.3. TEM (transmission electron microscopy) 관찰

균체내 축적된 중금속, 중금속의 균체내 축적 현상 및 미생물들의 상태 변화를 조사하기 위하여 TEM에 의한 관찰을 실시하였다. TEM으로 중금속이 흡착된 미생물을 관찰하기 위해, 원심분리(10,000 × g, 20분)에 의해 미생물을 회수한 다음 멸균된 초순수 증류수를 이용하여 3회 세척하고, 2.5% glutaraldehyde로 실온에서 2시간 전고정시킨 후 1% osmium tetroxide로 24시간 후고정시켰다. 이 때 사용된 모든 시약의 희석은 0.1M 인산완충용액(pH 7.0)으로 하였고 동일한 완충용액으로 세척하였다. 미생물의 균체를 연속적으로 60, 70, 80, 90 및 100%의 ethanol로 탈수시키고 propylene oxide로 조직을 치환시킨 다음 Epon 812에 포매(embedding)하고 건조기(60℃)에서 24시간 중합시킨 다음, ultramicrotome (ULTRACUT, Reicher-Jung)을 이용하여 0.35μm 크기로 잘라서 탄소포복된 200mesh 니켈판 또는 구리 눈금판 위에 고정시켜 TEM(Hitachi H-600)으로 80kV에서 관찰하였다.

활성슬러지의 경우에는 단일 미생물만으로 구성이 되어 있지 않아 TEM에 의한 측정이 무의미하였으므로 일반 사진을 이용하여 활성슬러지 플록의 변화를 관찰하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 납의 생물흡착에 따른 *S. cerevisiae*와 *A. pullulans*의 변화

초기 납 이온 농도와 미생물 농도를 각각 0.5 M과 1 g/l로 일정하게 유지한 상태에서 납 이온의 흡착 시간에 따른 *S. cerevisiae*와 *A. pullulans*의 변화를 TEM을 이용하여 관찰하였다(Fig. 1).

*S. cerevisiae*의 경우, 3시간 정도 경과되자(Fig. 1의 A-2) 납 이온은 *S. cerevisiae* 균체 내에 축적되기 시작하고, 24시간이 지나면서(Fig. 1의 A-3) 많은 양의 납 이온이 균체 내에 축적되는 것과 동시에 균체의 원형질 분리가 일어나기 시작하였으며, 3일이 지난 후(Fig. 1의

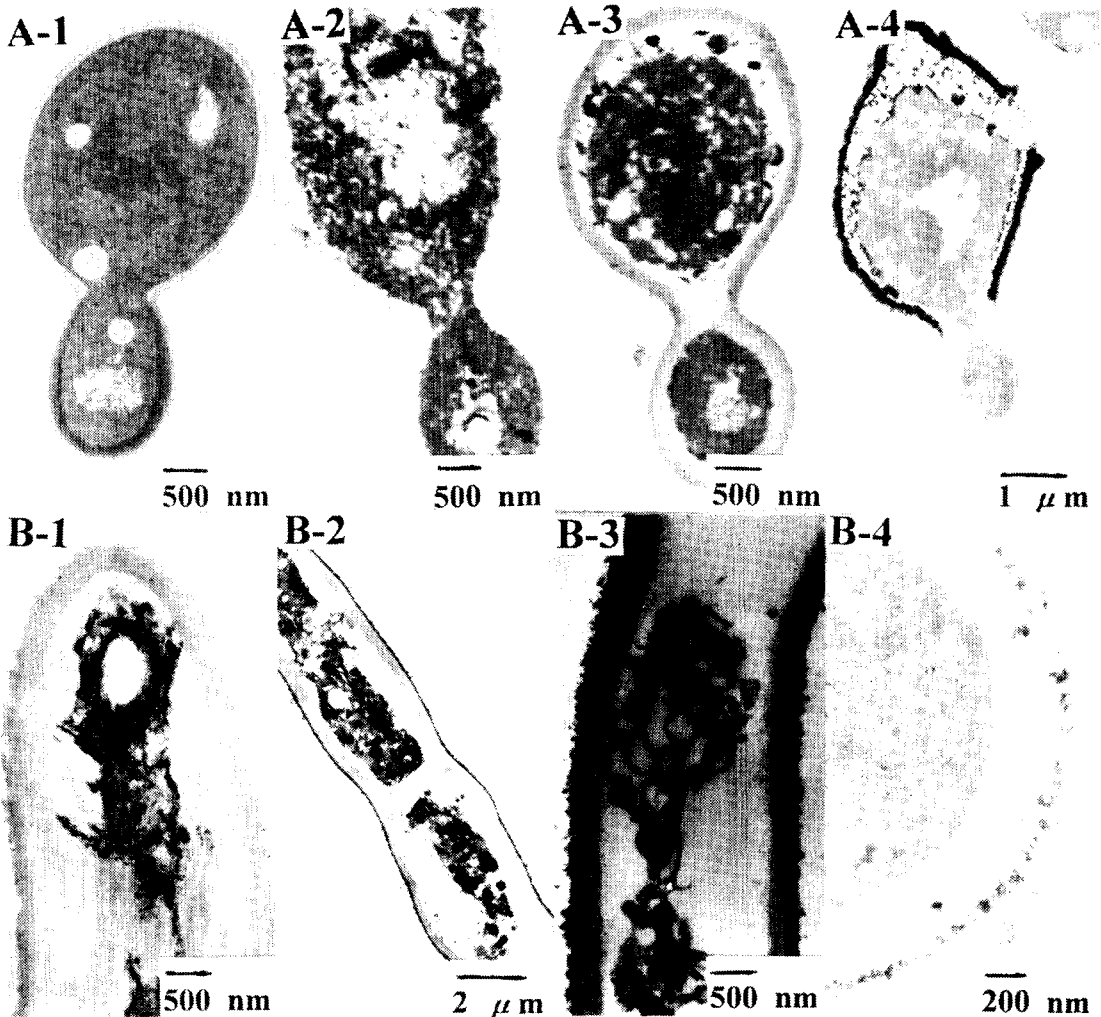


Fig. 1. Transmission electron microphotographs comparing the Pb^{2+} accumulation in (A) *S. cerevisiae* and (B) *A. pullulans*: (1) untreated, (2) after 3h, (3) after 24h, (4) after 3days.

A-4) 대부분의 균체에서 완전한 원형질 분리가 관찰되었다. 또한, *S. cerevisiae*의 전 과정에서 납 이온의 균체 내 이동 및 축적이 관찰되었으며, 특히 3일이 경과된 후의 결과에서도 비록 세포벽이나 세포막 외부에서 많은 양의 납 이온 축적이 관찰되었으나, 세포 내로의 납 이온 이동을 확인할 수 있었으며 이 상태에서 미생물은 완전히 사멸된 상태인 것으로 조사되었고 균체의 붕괴도 관찰할 수 있었다. Suh et al.¹¹⁾의 연구발표에 의하면, *S. cerevisiae*을 이용한 납 이온 축적의 경우, 시간이 경과됨에 따라 미생물의 생육율은 급격하게 감소하고 24시간이 경과되면 대부분의 미생물이 사멸하는 것으로 알려져 있다. 일반적으로 *S. cerevisiae*는 2가지의 명확한 중금속 축적 단계가 있는 것으로 알려져 있다. 첫 번째는 물질대사나 온도에 무관한 단계로서 중금속의 흡착이 매우

빠르게 일어나는 단계이고, 연속적으로 두 번째 단계로서 물질대사에 의존하는 매우 느린 단계가 발생한다. 이 두 번째 단계가 중금속 이온을 세포 내부로 이동시키는 것으로 알려져 있다.^{12,13)} 이러한 두 번째 단계에서부터 미생물의 사멸은 시작되는 것으로 판단되며, Suh et al.¹¹⁾에 의하면 대부분의 *S. cerevisiae*가 사멸되는 24시간 이후에도 *S. cerevisiae*에 의한 납 이온의 축적은 계속되는 데, 이를 세 번째 단계로서 물질대사에 무관하게 축적되는 단계로 정의하고 있다. 이러한 연구보고들로 판단해 볼 때, *S. cerevisiae*는 중금속의 연속적인 흡착과 탈착이 어려울 것으로 판단된다. 왜냐하면, 연속적인 흡착과 탈착이 일어날 경우, 미생물의 사멸로 인한 균체의 붕괴가 발생하여 계속적인 중금속의 흡착 및 축적이

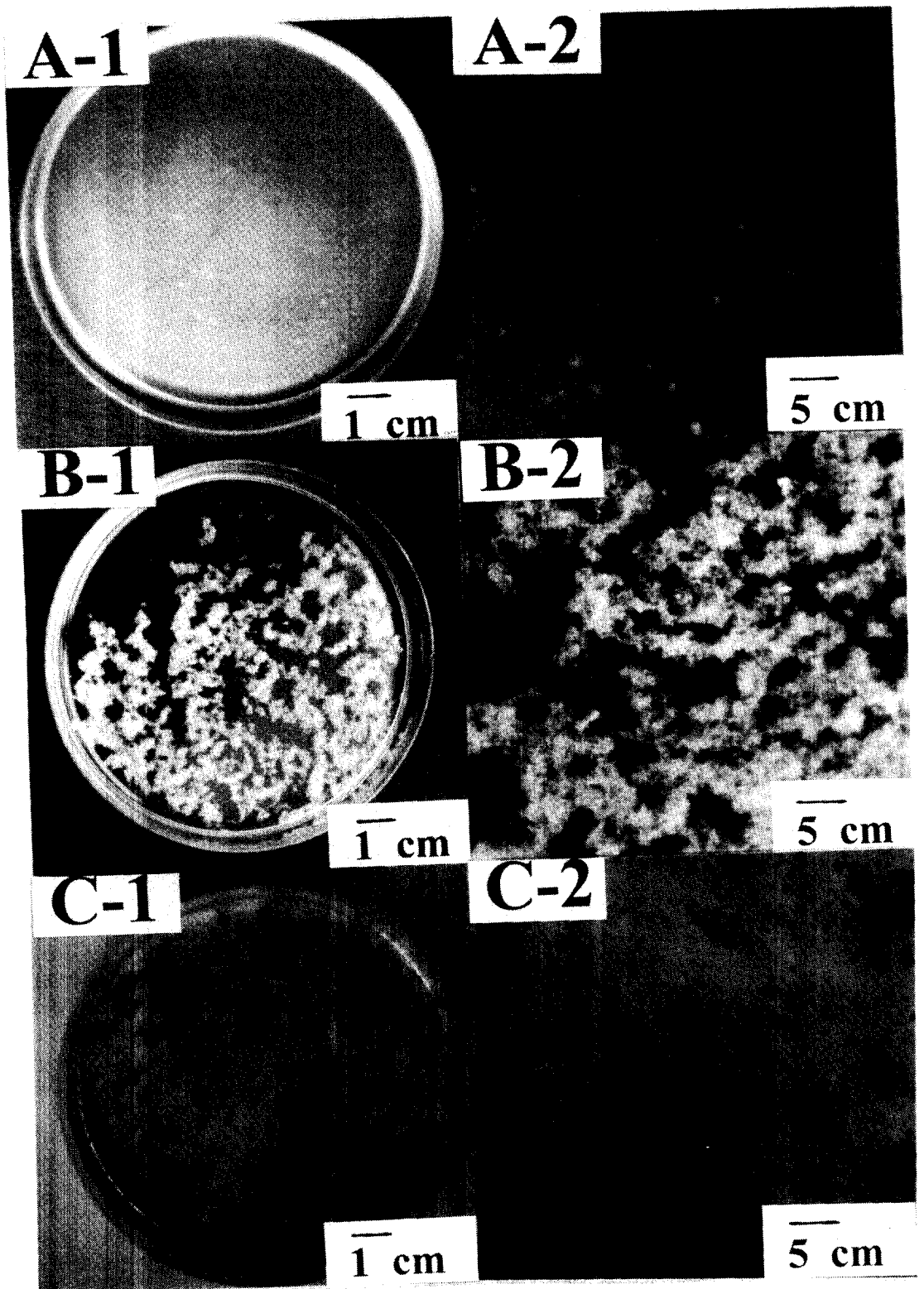


Fig. 2. Photographs of *A. pullulans* in Pb^{2+} accumulation: (A) untreated, (B) after 3h, (C) after 3days.

어려워지기 때문이다.

이에 비해, *A. pullulans*의 경우, 시간이 경과하여도 납 이온의 축적은 세포의 고분자 물질과 같은 외부 표면에서만 발생하는 경향을 나타내었다(Fig. 1의 B-1, -2, -3, -4). 미생물이 분비하는 세포외 고분자 물질의 정확한 구성 성분을 파악하는 것은 매우 복잡하지만 분비된 세포외 고분자 물질에 의해 납 이온의 축적은 세포 외부 표면에서만 일어나는 것을 쉽게 알 수 있었다. 그러므로 이러한 세포외 고분자 물질이 중금속 이온에 대한 보호막과 같은 역할을 한다는 것을 알 수 있었다. 그럼에도 불구하고 약간의 납 이온은 세포 내부로 침투되고(Fig. 1의 B-4), 이 미생물의 경우에서도 3일이 경과되고 나면 대부분의 미생물이 사멸하는 경향을 나타내었다. 그러나 균체의 전체적인 붕괴 현상은 관찰되지 않았다.

*S. cerevisiae*와 *A. pullulans*의 납 이온 축적특성을 비교해 보면, *S. cerevisiae*의 경우에는 납 이온이 세포 내부까지 침투하고 장기적인 납 이온의 축적이 일어날 경우 미생물의 사멸을 비롯한 원형질 분리 및 균체의 붕괴가 초래되나, *A. pullulans*에서는 납 이온의 축적에 의해 미생물의 사멸은 발생하였으나 세포외 고분자 물질에 의해 납 이온의 세포 내 침투가 방지됨으로써 원형질 분리 및 균체의 붕괴가 발생하지 않았다. 이는 두 미생물의 명확한 구조적인 차이일 뿐만 아니라, 중금속의 제거 공정에 대한 적용에 있어서도 매우 중요한 차이를 나타내게 될 것이다. *S. cerevisiae*는 균체의 붕괴에 의해 계속적인 이용이 곤란하나, *A. pullulans*는 중금속 축적에 따른 균체의 붕괴가 발생하지 않아 비교적 연속적이고 계속적인 이용이 가능할 것으로 판단된다.

3.2. 납의 생물흡착에 따른 *A. pullulans*의 색변화

*A. pullulans*는 납 이온이 세포 내에 축적되어 감에 따라 세포의 색이 변화되는 재미있는 현상을 나타내었다(Fig. 2). Figure 2의 A는 납 이온을 축적하기 전 *A. pullulans*의 현탁된 모습을 촬영한 것으로 백색의 아주 작은 점으로 표시되는 것들이 *A. pullulans* 균집을 나타내고 있다. *A. pullulans*에 납 이온의 축적이 계속되어 3~4시간 정도 경과되면 Fig. 2의 B와 같은 미생물 균집간의 응집 현상을 관찰할 수 있다. 이는 납 이온이 세포 표면에 존재하는 기능기 또는 배위자와 착물을 형성할 뿐만 아니라 세포 외부 표면에만 납 이온의 흡착 및 축적이 발생함으로써 착물 상호간의 결합도 보다 원활하게 이루어져서 이러한 응집이 일어난 것으로 판단된다. 계속적인 납 이온의 축적이 발생하여 3일 정도 경과되면, 미생물간의 응집은 최대에 도달하고 미생물의 색이 백색에서 흑색으로 변화하는 현상을 관찰할 수 있었다(Fig. 2C). 이는 납의 독성에 의해 *A. pullulans*의 멜라닌 색소가 변형되었기 때문인 것으로 생각된다. Gadd¹⁴⁾는 다른 많은 중금속과 마찬가지로 카드뮴도 *A. pullulans*내에서 멜라닌 색소의 형성을 유도하거나 촉진시킨다고 보고한 바 있다.

3.3. 납의 생물흡착에 따른 활성슬러지 플록의 변화 납 이온을 흡착함에 따라 변화해 가는 활성슬러지 플

록의 모양을 Fig. 3에 나타 내었다. 1~2시간 정도 납 이온을 흡착시킨 활성슬러지의 플록은 초기 원 활성슬러지의 플록에 비해 플록간의 응집이 많이 발생하였으며 그에 따라 슬러지의 침전효과도 향상된 것으로 나타났다(Fig. 3B).

Figure 3B의 결과는 *A. pullulans*의 결과와 유사한 것으로 표면에 존재하는 기능기와 납 이온이 착물을 형성하여 응집이 원활하게 발생한 것으로 생각된다.

*A. pullulans*와 활성슬러지의 경우에는 납을 흡착시킨 후, 1~2 시간 정도 경과되면 미생물 또는 슬러지의 응집현상을 관찰할 수 있었는데 반해, *S. cerevisiae*의 경우에는 이러한 응집현상을 관찰할 수 없었다. 이러한 차이는 미생물에 의한 납 이온 제거 메커니즘의 차이에 기인하는 것으로 볼 수 있다. *S. cerevisiae*의 경우에는 납 이온이 짧은 시간 내에 미생물 표면에서 납 이온이 흡착된 후 세포내부로 납 이온의 침투가 발생하므로¹¹⁾ 응집을 유발시킬 수 있는, 즉 가교의 역할을 수행하는 물질의 형성이 이루어 질 수 없기 때문인 것으로 판단된다.

이에 비해, *A. pullulans*의 경우에는 세포 외부에 존재하는 세포외 고분자 물질(EPS)에 의해 납 이온이 빠르게 흡착되며 세포 내부로의 납 이온 침투는 발생하지 않아 납 이온의 착물이 미생물의 표면에 계속적으로 잔존하여 응집을 유발시키는 가교의 역할을 수행할 수 있기 때문인 것으로 생각된다. 김과 서¹⁵⁾에 의한 연구보고에서 납 이온이 제거되는 양상을 비교해 볼 때, 활성슬러지의 납 이온 제거특성이 *A. pullulans*와 유사한 특징을 나타내는 것으로 보아 세포내의 납 이온 침투는 거의 없는 것으로 생각해 볼 수 있으며, 이러한 유사점은 납 이온의 흡착에 의해 응집이 촉진되는 현상을 통하여서도 유추할 수 있었다.

그러나 활성슬러지는 미생물만으로 구성되어 있는 것이 아니라, 여러 미생물이 분비하는 세포외 고분자물질 및 플록에 의해 복잡하게 구성되어 있고 TEM에 의한 관찰도 곤란하여, 활성슬러지와 *A. pullulans*가 같은 납 이온 제거특성을 나타낸다고 단정하기는 곤란할 것으로 생각된다. 그러므로 이 부분에 대해서는 좀 더 세심하고 체계적인 연구가 이루어져야 할 것으로 판단된다.

Figure 3C의 결과를 보면, 활성슬러지가 납 이온에 노출된 상태에서 1일 정도 경과되면 오히려 슬러지의 플록이 해체되는 현상을 나타내었고, 그에 따라 슬러지의 침전효율도 감소되는 것으로 나타났다. 이는 *S. cerevisiae*와 *A. pullulans*의 경우와 마찬가지로 중금속의 독성에 의한 영향으로 생각되었다.

그러므로 미생물을 이용하여 중금속을 제거하고자 할 경우, 중금속에 대한 과도한 노출시간은 미생물의 사멸이나 응집의 방해 및 플록의 해체를 초래하여 운전상의 상당한 문제를 초래할 수 있을 것으로 판단된다.

4. 결 론

활성슬러지, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aureobasidium pullulans*를 이용한 납 이온의 생물흡착 실험에서, 납 이온

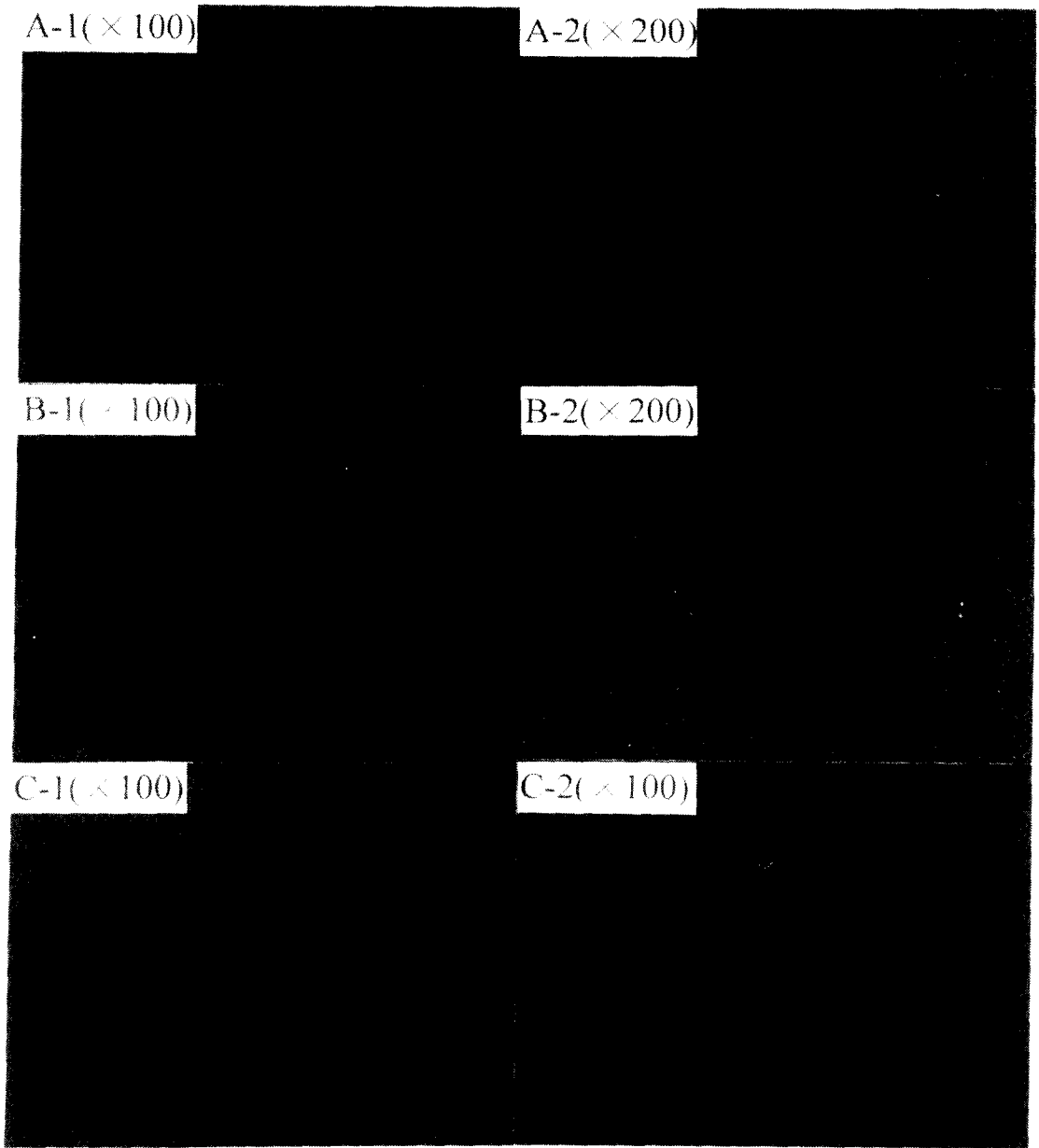


Fig. 3. Microphotographs of activated sludge in Pb^{2+} accumulation: (A) untreated, (B) after 1h, (C) after 1day.

의 생물흡착에 따른 미생물들의 상태변화를 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

첫째, *S. cerevisiae*는 장기적인 납의 축적이 일어날 경우 납 이온이 세포 내부까지 침투하고 미생물의 사멸을 비롯한 원형질 분리와 균체의 붕괴가 초래되나, *A. pullulans*에서는 납 이온의 축적에 의해 미생물의 사멸은 발생하였으나 세포외 고분자 물질에 의한 납 이온의 세포 내 침투를 방지함으로써 원형질 분리 및 균체의 붕괴

가 발생하지 않았다. 그러므로 *S. cerevisiae*는 세포의 붕괴에 의해 지속적인 사용이 곤란하나, *A. pullulans*는 중금속 축적에 의한 세포의 붕괴가 방지되어 비교적 연속적이고 지속적인 이용이 가능할 것으로 판단되었다.

둘째, *A. pullulans*에 납 이온의 축적이 계속되어 3~4 시간 정도 경과되면 미생물 군집간의 응집 현상을 관찰할 수 있었으며, 지속적인 납 이온의 축적이 발생하여 3일 정도 경과되면, 미생물간의 응집은 최대에 도달하고

미생물의 색이 백색에서 흑색으로 변화하는 현상을 관찰할 수 있었다.

셋째, 납 이온 흡착시 1~2시간 정도 납 이온을 흡착시킨 활성슬러지의 플록은 초기 원 활성슬러지의 플록에 비해 플록간의 응집이 많이 발생하였으며 그에 따라 슬러지의 침전효과도 향상된 것으로 나타났으나, 활성슬러지가 납 이온에 노출된 상태에서 1일 이상 경과되면 오히려 슬러지의 플록이 해체되는 현상을 나타내었고, 그에 따라 슬러지의 침전효율도 감소되는 것으로 나타났다.

참 고 문 헌

- 1) Orlov, M. M., N. M. Mladinic, P. I. Kulic, D. Z. Dolinac, M. N. Dubravcic, and L. B. Kurakica, 1991, Health effects of the workers exposed to airborne lead, p. 219-227, Vernet, J. P. (ed.), Heavy metals in the environment, Elsevier Science Publishers Inc., New York.
- 2) Sag, Y., D. Ozer and T. Kutsal, 1995, A comparative study of the biosorption of lead(II) ions to *Z. ramigera* and *R. arrhizus*, Process Biochemistry, 30(2), 169-174.
- 3) Wehrheim, B. and M. Wettern, 1994, Biosorption of cadmium, copper and lead by isolated mother cell walls and whole cells of *Chlorella fusca*, Appl. Microbiol. Biotechnol., 41, 725-728.
- 4) Blackwell, K., I. Singleton and J. M. Tobin, 1995, Metal cation uptake by yeast: a review, Appl. Microbiol. biotechnol., 43, 579-584.
- 5) Gadd, G. M., 1983, Use of solid medium to study effect of cadmium, copper and zinc on yeasts and yeast-like fungi: applicability and limitations, J. Appl. Bacteriol., 54, 57-62.
- 6) Nestle, N. and R. Kimmich, 1996, NMR microscopy of heavy metal absorption in calcium alginate beads, Appl. Biochem. Biotechnol., 56, 9-17.
- 7) Veglio, F., F. Beolchini and L. Toro, 1998, Kinetic modeling of copper biosorption by immobilized biomass, Ind. Eng. Chem. Res., 37, 1107-1111.
- 8) Huang, C. and C. P. Huang, 1996, Application of *Aspergillus oryzae* and *Rhizopus oryzae* for Cu(II) removal, Wat. Res., 30(9), 1985-1990.
- 9) Engl, A. and B. Kunz, 1995, Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: Effect of nutrient conditions, J. Chem. Tech. Biotechnol., 63, 257-261.
- 10) Smith, W. H., 1977, Influence of heavy metal leaf contaminants on the *in vitro* growth of urban tree phylloplane fungi, Microbial Ecology, 3, 231-239.
- 11) Suh, J. H., D. S. Kim, J. W. Yun and S. K. Song, 1998, Process of Pb²⁺ accumulation in *Saccharomyces cerevisiae*, Biotechnol. Lett., 20(3), 153-156.
- 12) Norris, P. R. and D. P. Kelly, 1977, Accumulation of cadmium and cobalt by *Saccharomyces cerevisiae*, J. Gen. Microbiol., 99, 317-324.
- 13) Brady, J. M. and J. M. Tobin, 1995, Binding of hard and soft metal ions to *Rhizopus arrhizus* biomass, Enzyme Microb. Technol., 17, 791-796.
- 14) Gadd, G. M., 1981, Mechanism implicated in the ecological success of polymorphic fungi in metal-polluted habitats, Environ. Technol. Lett., 2, 531-536.
- 15) 김동석, 서정호, 1998, 수용액중 납이온 제거를 위한 활성슬러지의 이용가능성에 관한 연구, 한국환경과학회, 7(5), 697-705.