

*Absidia coerulea*와 *Thraustochytrium* sp.에 의한 납과 코발트의 생물흡착

이무열 · 양지원*

동경공업대학 국제개발공학전공
*한국과학기술원 화학공학과

(2000년 6월 15일 접수, 2000년 10월 13일 채택)

Biosorption of Lead and Cobalt by *Absidia coerulea* and *Thraustochytrium* sp.

Moo-Yeal Lee · Ji-Won Yang*

Department of International Development Engineering, Tokyo Institute of Technology
**Department of Chemical Engineering, Korea Advanced Institute of Science and Technology*

ABSTRACT

Nonliving *Absidia coerulea* and *Thraustochytrium* sp. were used as biosorbents to remove lead and cobalt that are one of representative pollutant in wastewater and radioactive liquid waste. The optimum pH range for maximum lead and cobalt removal was increased 6.5~11.4 and 8.6~12.0 for *Absidia coerulea* and 4.2~10.5 and 8.9~11.6 for *Thraustochytrium* sp. to compared to biosorbent-free control, pH of 8.4~11.2 and 10.5~11.5, respectively. With 1 g biosorbent/L at initial solution pH 5.0, *Absidia coerulea* and *Thraustochytrium* sp. took up lead from aqueous solutions to the extent of 104 and 125 mg/g biomass, respectively, whereas *Absidia coerulea* and *Thraustochytrium* sp. at initial pH 6.0 took up only 2 and 20 mg/g biomass of cobalt, respectively. For initial 500 mg Pb/L at initial pH 5.0, optimum amount of biosorbent for maximum lead uptake was 0.2 g/L for *Absidia coerulea* and *Thraustochytrium* sp., whereas optimum 3.0 g biosorbent/L was needed for initial 200 mg Co/L at initial pH 6.0. *Absidia coerulea* and *Thraustochytrium* sp. had higher adsorption capacity for lead than that of cobalt.

Key Words : *Absidia coerulea*, *Thraustochytrium* sp., Biosorption, Lead, Cobalt

요 약 문

중금속 폐수 및 방사성 폐액 속에 포함된 납과 코발트를 제거하기 위해 생물흡착제로 *Absidia coerulea*와 *Thraustochytrium* sp.를 사용하여 흡착실험을 진행하였다. 납과 코발트 제거의 최적 pH 영역은 blank의 경우 각각 8.4~11.2, 10.5~11.5, *Absidia coerulea*는 6.5~11.4, 8.6~12.0, 그리고 *Thraustochytrium* sp.는 4.2~10.5, 8.9~11.6이었다. 초기 pH 5.0에서 1 g/L의 생물흡착제를 투입했을 때 *Absidia coerulea*와 *Thraustochytrium* sp.는 104와 125 mg/g dry biomass의 납을 제거할 수 있었으며, 초기 pH 6.0에서 코발트는 단지 2와 20 mg Co/g dry biomass만을 제거할 수 있었다. 초기 500 mg Pb/L, pH 5.0에서 최적 생물흡착제 투입량은 *Absidia coerulea*와 *Thraustochytrium* sp.가 각각 0.2 g/L이었으며, 초기 200 mg Co/L, pH 6.0에서는 3.0 g/L이었다. *Absidia coerulea*와 *Thraustochytrium* sp.는 납에 대해서 높은 흡착능을 보였으나 코발트에 대해서는 비교적 낮은 흡착능을 보였다.

주제어 : *Absidia coerulea*, *Thraustochytrium* sp., 생물흡착, 납, 코발트

1. 서 론

중금속이나 방사성 핵종 중의 금속 이온은 유기물 질과는 달리 자연계에서 미생물에 의해서 분해되지 않기 때문에 환경에 미치는 영향이 더욱 크고 길다. 현재 도금공정이나 금속의 표면처리 공정에서 배출되는 폐수의 처리에 있어서 일반적으로 많이 사용되는 공정은 가성소다나 소다회애 의한 화학적 침전법이다.^{1,2)} 이러한 처리 방법은 고농도의 금속 이온 함유 폐수 및 폐액 처리에 적합하고 1차 처리로는 비용이 비교적 저렴하며, 설치가 용이하고 에너지 비용이 낮은 장점을 가지고 있다. 하지만 저농도에서 제거율이 낮고 pH의 변화에 매우 민감하여 여러 가지 금속 이온들이 동시에 존재할 때 처리효율이 떨어진다. 그리고 화학물질 및 응집제 과다 투입으로 슬러지가 다량 발생하고 탈수능이 나쁘므로 매립시 추가비용이 발생한다. 또한, 시안, 불소, EDTA와 같은 음이온이 존재할 때 처리능이 급격히 감소하며, H₂S, HCN, HF와 같은 유독성 가스 발생의 위험이 있다.^{1,2)} 한편, 원자력 발전소에서 발생하는 액체 폐기물 중의 방사성 핵종은 주로 증발법, 이온교환법, 여과법, 역삼투압법 등의 전처리 과정과 시멘트, 아스팔트, 폴리머 등을 이용한 고화 과정을 거쳐 처리, 보관된다.³⁻⁵⁾ 지금까지는 주로 증발 농축법이 이용되어 왔으나 에너지의 과다한 사용 및 감용의

한계 등으로 다른 공정으로 바뀌어가고 있는 추세이다.⁵⁾ 금속 이온 함유 폐수의 다른 처리 방법으로는 이온교환법, 흡착법, 전기화학법, 역삼투막법 등이 있으나 마찬가지로 여러 가지 장단점을 가지고 있다.^{1,2)} 예를 들어, 이온교환법은 저농도의 금속 이온 함유 폐수처리에 적합하고 재생 및 재사용도 가능하지만, 이온교환수지가 비교적 고가이며 Ca²⁺, Mg²⁺와 같은 알카리 금속 이온이 존재할 때 처리 효율이 떨어진다. 그리고 비교적 이온 교환량이 적고 pH의 변화에 민감하며, 음이온 존재시 처리능이 상당히 감소한다. 흡착법은 저농도의 중금속 폐수처리에 적합하고 재생 및 재사용도 가능하지만, 활성탄, 실리카겔, 활성알루미나와 같은 흡착제가 비교적 고가이며 흡착량 또한 적은 편이다. 그리고 pH의 변화에 민감하고 음이온 존재시 역시 처리능의 감소가 높다. 전기화학법은 반응속도가 비교적 느리므로 소규모 처리에 적합하며 운영비가 과다하고 슬러지 발생량이 많다. 역삼투막법은 플럭스(flux)가 적으므로 소규모 처리에 적합하고 막 오염, 고가 및 운영비 과다, 잦은 고장, 막 세척의 필요성 등의 문제점이 있다.

그러므로 기존의 금속 이온 함유 폐수 처리법이 가진 단점 중에서도 특히, 좁은 pH 영역에서만 제거 가능한 점과 낮은 농도에서 처리능 저하를 극복할 수 있는 새로운 방법의 폐수 처리법을 연구하게 되었다. 이 중에서도 생물흡착법(biosorption)은 바이

오매스(biomass)를 이용하여 중금속 또는 방사성 핵종을 축적, 흡착 또는 침전시켜 제거시키는 방법으로 많은 연구자들에 의해 연구가 진행되고 있다.⁶⁻⁸⁾ 이러한 생물흡착제는 기존의 이온 교환수지나 활성탄과 같은 흡착제보다도 훨씬 뛰어난 흡착능을 가지고 있을 뿐만 아니라 가격도 저렴하게 생산할 수 있다. 생물흡착법에 있어서 가장 중요한 것은 금속 이온에 대한 흡착능이 뛰어난 생물흡착제를 분리하는 것이며, 선별된 생물흡착제로 기본적인 금속의 제거 특성을 연구하거나 제거 효율을 높이기 위해 화학적 표면처리, 비드(bead) 형태로 제작하여 폐수를 연속적으로 처리할 수도 있다.

본 연구는 중금속과 방사성 핵종에 대해 뛰어난 흡착능을 가진 생물흡착제를 선별하고 이의 특성에 대한 기초 연구를 수행하여 기존의 흡착 공정 보다도 안전하고 경제적으로 폐수를 처리하는데 있다. 중금속과 방사성 핵종의 대표로는 납과 코발트가, 생물흡착제로는 *Absidia coerulea*와 *Thraustochytrium sp.*가 각각 선정되었다. 그리고 각각의 이온에 대해서 용액 pH의 영향, 최대 흡착능, 생물흡착제 투입량의 영향 등에 관한 연구를 수행하였다.

2. 재료 및 실험방법

2.1. 시약 및 재료

실험에 사용된 납과 코발트 용액은 lead nitrate ($Pb(NO_3)_2$, Aldrich chemical)와 cobalt chloride hexahydrate ($CoCl_2 \cdot 6H_2O$, Aldrich chemical)를 각각 3차 증류수에 녹인 후 약간의 산을 가하여 pH를 3.0으로 맞추어 stock solution을 만든 후 사용하였다. 이 용액들의 농도는 원자흡광분석기(atomic absorption spectroscopy, AAS)로 검증하였으며 필요시마다 일정량을 희석하여 사용하였다. 그 외에 pH의 조정을 위해서 Sigma Chemical의 sodium hydroxide(NaOH)와 hydrochloric acid(HCl)를 사용하였다.

생물흡착제는 *Absidia coerulea*와 *Thraustochytrium sp.*가 각각 사용되었다. *Absidia coerulea*는 곰팡이의 일종으로 복합 유기물을 탄소원으로 해서

자라며, 한국과학기술원 생물공정연구센터(BPERC)에서 제공받았다. 균주 배양시 사용된 탄소원은 Yeast-Malt(YM, Difco) 배지로 1 L의 증류수에 각각을 넣고 잘 녹인 후 멸균시켰다. 액체 배양은 500 mL의 플라스크에서 실시하였으며, 30°C, 150 rpm의 진탕 배양기(shaking incubator)에서 시작하였다. YM 한천배지는 1 L의 증류수에 YM 배지를 각각 넣은 후 추가로 Gum agar를 20 g/L 넣고 녹인 다음 멸균시켰다. *Thraustochytrium sp.*는 직접 배양하지 않고 (주)대상에서 헥산(hexane)으로 docosahexaenoic acid(DHA)를 추출하고 남은 폐기물을 구입하였다. 생물흡착제를 준비하기 위해서 완전히 배양한 *Absidia coerulea*의 배양액을 15,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 균주들을 침전시켰다. 배지 성분들을 없애기 위하여 상등액은 버리고 침전된 균주들을 증류수에 다시 분산시킨 다음 원심분리하여 재침전시켰다. 상등액은 다시 버리고 침전된 균주들을 모았으며, 균주의 표면의 기능기들의 변성을 막기 위해서 동결 건조시켰다. *Absidia coerulea*는 곰팡이로서 배양시 등갈게 뭉쳐서 자라기 때문에 미세하게 분쇄하여 사용하였다. *Thraustochytrium sp.*는 DHA의 추출을 위해 이미 분쇄되어 있어서 다시 분쇄할 필요가 없었으나 남아있는 유기용매를 휘발시키기 위해서 동결 건조 과정을 거쳤다.

2.2. 흡착실험 및 분석방법

용액의 pH에 따른 납과 코발트의 침전능 및 생물흡착제에 의한 흡착능을 알아보기 위하여 3차 증류수로 stock solution을 희석하여 50 mg/L의 용액을 각각 만들었다. 이때 이온강도는 맞추지 않았으며, pH를 3.0으로 맞추고 질소 가스를 불어넣어 용존되어 있는 이산화탄소를 날려보냈다. 먼저 50 mg/L의 납과 코발트 용액을 각각 100 mL 플라스크 10개에 넣은 후 생물흡착제를 1 g/L씩 넣고 HCl과 NaOH로 pH를 2~12로 맞추었다. 이 플라스크를 30°C 항온 교반조에서 200 rpm으로 교반하면서 24시간 방치하였다. 그 후 플라스크 속의 용액을 40 mL 취하여 고속 원심분리기에서 15000 rpm, 30분 가량 원심분리하여 상등액만을 취한 후 최종 pH를 측정하고 AAS로 분석하였다. Blank 실험으로 생물흡착제

를 넣지 않고 유사한 실험을 진행하였다. pH는 각각 2~12까지 맞추었으며, 마찬가지로 30℃ 항온 교반조에서 200 rpm으로 교반하면서 24시간 동안 방치하였다. 그 후 침전물을 원심분리기에서 분리한 다음, 상등액을 취해서 AAS로 잔존 납과 코발트의 양을 분석하였다.

평형상태에서 단위 생물흡착제 당 납의 최대 제거능을 확인하기 위해서 200, 400, 600, 800, 1,000 mg/L의 납 stock solution을 제조한 다음 pH를 각각 3.0과 5.0으로 조정하였다. 코발트의 최대 제거능을 확인하기 위해서는 50, 100, 200, 300, 400 mg/L의 코발트 stock solution을 제조한 다음 pH를 각각 4.0과 6.0으로 조정하였다. 납은 pH 5.0 이하에서 침전되지 않기 때문에 흡착실험에서는 5.0과 보다 낮은 pH 3.0을 기준으로 stock solution을 제조하였으며, 코발트의 경우는 pH 7.5 이하에서는 침전되지 않기 때문에 pH 6.0과 보다 낮은 pH 4.0을 기준으로 stock solution을 제조하였다. 플라스크에 pH를 조정한 각각의 stock solution을 100 mL씩 넣은 후 생물흡착제를 각각 1 g/L씩 넣었다. 이것을 항온 교반조에서 반응시킨 다음, 마찬가지로 원심분리기에서 생물흡착제를 침전시켰다. 그 후 상등액의 pH를 측정하고 다음 AAS로 분석하였다. 단위 생물흡착제 당 금속 이온의 제거능은 평형상태에서 생물흡착제에 흡착되어 제거된 금속 이온의 양과 액상 중에 남아있는 양의 비로서 표시하였다.

생물흡착제의 투입량에 따른 납과 코발트의 제거능을 알아보기 위해서 pH 3.0과 5.0의 납 용액 1000 mg/L와 pH 4.0과 6.0의 코발트 용액 400 mg/L를 각각 제조하였다. 그 후 플라스크에 100 mL씩 넣은 후 생물흡착제를 각각 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 g/L씩 넣었다. 이것을 항온 교반조에서 반응시킨 다음, 마찬가지로 원심분리하고 상등액의 pH와 납, 코발트 농도를 각각 측정하였다.

침전 및 흡착시키고 난 후 상등액 속에 잔존하는 납과 코발트의 최종 농도를 분석하기 위해서 PERKIN-ELMER 3100 AAS를 사용하였다. 사용된 가스는 air와 acetylene이었으며, 납과 코발트에 대해서 각각 wave length 283.3, 240.7 nm, slit 0.7, 0.2 nm에서 분석을 진행하였다. 표준 용액은 linear range 농도와 3배, 6배 진한 농도를 각각 사용하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 생물흡착제에 의한 금속 이온의 제거시 고려 사항

생물흡착법은 미생물과 같은 바이오매스를 이용하여 금속 이온을 제거하는 방법으로서 세포벽에 존재하는 카르복실기와 같은 기능기나 세포외로 분비된 고분자에 금속 이온을 흡착시켜 제거하는 표면 흡착(surface binding), 세포내 효소 분비물에 의해서 생성되는 인산염과 같은 음이온에 의해 제거하는 표면 침전(surface precipitation), 그리고 세포내 단백질과 복합체 형성, siderophoes 등에 금속 이온이 불활성화되어 축적되는 내부 축적(intercellular accumulation)으로 나눌 수 있다(Fig. 1).⁶⁻⁸⁾ 중금속이나 방사성 핵종을 제거하기 위한 생물흡착제를 선별하기 위한 기준은 사용 목적에 따라 다르겠지만 대략 다음과 같은 기준으로 고려하였다. 첫째, 넓은 pH의 영역에서 중금속 또는 방사성 핵종을 흡착할 수 있어야 한다. 만약 좁은 pH 영역에서만 높은 흡착능을 보인다면 특정한 금속 이온만을 선별할 때는 유리하지만 여러 가지 금속 이온들이 함께 존재하는 일반적인 운전 조건에서는 많은 어려움을 야기할 수 있다. 둘째, 단위 생물흡착제 당 중금속 및 방사성 핵종에 대한 높은 흡착능을 가지고 있어야 한다. 아

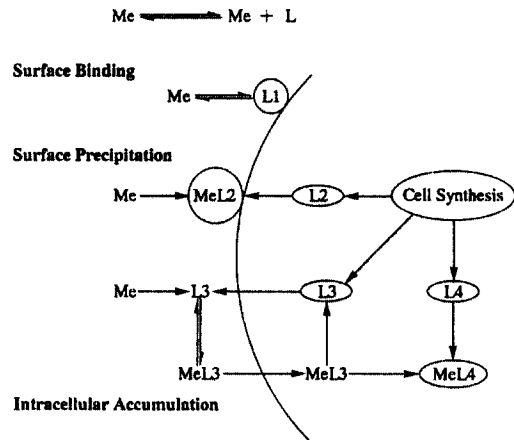


Fig. 1. Mechanism of biosorption (Me: metal ion, L: ligand and MeL: metal ligand complex).

무리 넓은 pH 영역에서 금속 이온을 흡착할 수 있어도 단위 흡착제 당 매우 적은 양 밖에 흡착할 수 없다면 흡착제로서는 부적절하다고 볼 수 있다. 그러나 대개 넓은 pH 영역에서 높은 흡착능을 보이는 생물흡착제가 많은 양의 금속 이온을 흡착할 수 있다. 그 외에도 특정한 금속 이온에 대해 특이적인 흡착능을 보인다면 유용하게 응용될 수 있다. 예를 들어, 여러 가지 금속 이온들이 혼합되어 존재할 때, 이러한 생물흡착제를 이용한다면 원하는 금속 이온만을 추출할 수 있다. 마지막으로 값싸게 생물흡착제를 생산할 수 있어야 한다. 목적에 따라 어느 정도의 단가를 감수할 수도 있겠지만 흡착제는 대용량으로 사용되므로 가격 또한 중요하다. 특히 생물흡착제는 주로 미생물을 이용하므로 배양하는데 있어서 너무 높은 비용이 소요되어서는 안된다. 따라서 기존의 발효 공정이나 식품 공장에서 생성되는 폐기물을 이용하여 생물흡착제를 제조할 수 있다면 좋다. 본 실험에서는 두 가지의 균주를 각각 선택하여 납과 코발트에 대하여 흡착실험을 진행하였다. 첫번째로 선택한 *Absidia coerulea*는 곰팡이의 일종으로 금속 이온에 대해 높은 흡착능을 보이는 키틴이 세포벽에 다량 존재하므로 선택되었다. 앞서 비슷한 종류인 *Absidia orchidis*로 Holan과 Volesky가 납과 니켈에 대해서 흡착실험을 진행하여 각각 351 mg Pb/g과 5 mg Ni/g을 제거하였다고 보고하였다.⁶⁾ 그 외에 *Thraustochytrium sp.*는 조류의 일종으로 다량의 DHA를 세포 내에 축적하는 것으로 알려져 있다.⁹⁾ 이 균주는 원래 DHA가 뇌세포 성분으로 건강 식품에 이용될 수 있기 때문에 (주)대상에서 분리한 균주로서 식품 폐기물로 쉽게 얻을 수 있기 때문에 값싼 생물흡착제의 원료가 될 수 있는 균주이다. 실험에 사용한 것은 DHA를 추출하고 난 다음의 폐기물로서 (주)대상에서 구입하여 사용하였다.

3.2. pH에 따른 생물흡착제의 납과 코발트 흡착 제거능

평형상태에서 pH에 따른 *Absidia coerulea*와 *Thraustochytrium sp.*에 의한 납과 코발트의 제거능에 대해서 각각 살펴보았다. 초기 납과 코발트의 농도는 각각 50 mg/L이었고 투입된 생물흡착제의 양은 1 g/L씩이었다. 흡착 반응이 평형에 이르는 시

간은 기존의 많은 실험에서 일반적으로 알려진 24시간을 기준으로 수행되었고 생물흡착제를 투입한 경우와 투입하지 않은 blank 실험을 동시에 병행하였다.

납의 blank 실험에서 납의 용해도는 pH에 매우 민감하였으며, 좁은 범위의 최적 pH 범위를 벗어날 경우에는 침전되었던 납이 다시 용출되어 나왔다 (Fig. 2). 물 속에서 금속 이온의 거동을 보는 MINTEQA2/PRODEFA2의 계산에 의하면, 납은 카보네이트(carbonate)나 산소가 없는 경우에 낮은 pH에서 Pb^{2+} 의 형태로 존재하고 pH의 증가와 함께 OH^- 이온과 결합하여 $Pb(OH)_2$ 형태의 침전물을 형성하며 높은 pH에서는 다시 $Pb(OH)_3^-$ 형태로 재용해된다(data not shown). 결과에서 납은 pH 5 이상에서 침전이 일어나기 시작하여 pH가 11 이상이 되면 흰색으로 침전되었던 대부분의 납이 재용출되었다. 그리고 90% 이상의 납을 제거할 수 있는 최적의 pH 영역은 8.4~11.2로 좁은 편이다. 그러나 생물흡착제인 *Absidia coerulea*와 *Thraustochytrium sp.*를 각각 1 g/L씩 넣어주었을 경우 생물흡착제를 사용하지 않은 blank 실험에 비해 납 제거의 최적 pH가 더 넓어졌다. *Absidia coerulea*의 최적 납 제거 pH는 약 6.5~11.4이었고 평균 납 제거능은 94%인데 비해, *Thraustochytrium sp.*의 경우는 최적 제거 pH가 4.2~10.5이었고 평균 제거능도

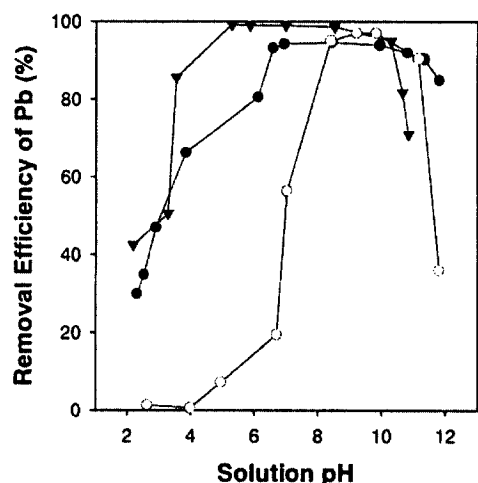


Fig. 2. Removal efficiency of lead for initial 50 mg/L with 1 g dry biosorbent/L at various pH values: (●) *Absidia coerulea*, (▼) *Thraustochytrium sp.* and (○) without biosorbent.

98%로 더 높았다(Table 1). 그러므로 침전이 일어나지 않는 낮은 pH에서는 생물흡착제의 표면에 존재하는 기능기에 납이 흡착되어 제거된 것으로 볼 수 있고, 높은 pH에서는 납이 침전되어서 제거된 것으로 사료된다. *Absidia coerulea*와 *Thraustochytrium* sp.의 납 제거를 위한 pH의 경향이 상당히 유사하였으나 낮은 pH에서 납의 제거능은 곰팡이의 일종인 *Absidia coerulea*보다 조류의 일종인 *Thraustochytrium* sp.가 더 높았다. 문헌에 의하면 물 속에서 금속 이온은 양전하를 띠므로 전자가 많은 리간드(ligand)나 세포벽의 기능기(functional group) 쪽으로 가서 결합하는 경향이 있다. 그러므로 키틴이나 키토산의 oxygen 및 acetamido 그룹 중 nitrogen은 리간드로 작용하여 금속을 흡착할 수 있는 능력이 있어서 여러 가지 금속에 대해서 폭넓은 흡착능이 있다고 한다.^{10,11)} 따라서 세포벽에 키틴을 다량으로 함유하고 있는 *Absidia coerulea*는 넓은 영역에서 중금속을 잘 제거할 수 있었으며 높은 pH에서도 제거능의 저하가 비교적 크지 않았다. 한편, *Thraustochytrium* sp.는 더 넓은 pH에서 높은 제거능을 보였으나 높은 pH에서는 제거능이 급하게 떨어지는 단점이 있었다. 이것은 아마도 추출되지 않고 남아 있던 DHA가 높은 pH에서 해리되기 때문인 것으로 사료된다. 실제로 흡착실험을 진행시켜 보면 24시간 후 상등액이 주황색에 가깝게 변해 있음을 알 수 있다. 그러므로 해리된 DHA와 납이 결합하여 침전되지 않고 물 속에 용존되는 것으로 사료된다. 따라서 *Thraustochytrium* sp.는 생물흡착제로 사용하기 위해서 추가적인 세척과정이 필요한 것으로 판단된다.

코발트의 흡착실험은 납과 동일한 조건에서 *Absidia coerulea*와 *Thraustochytrium* sp.를 투입

한 경우와 투입하지 않은 blank 실험으로 나누어 진행하였다. 결과에서 보는 바와 같이 blank 실험에서 코발트는 pH 8 부근에서 침전이 일어나기 시작하였으며, 최적의 pH 영역은 10.5~11.5로 매우 좁은 편이었다(Fig. 3). 방사성 폐액 속에 포함되어 있는 코발트의 동위원소는 주로 Co⁵⁸과 Co⁶⁰이며, 탄산이온이 없는 경우 pH 6.5 이하에서 침전이 일어나기 시작하여 pH가 10 이상이면 대부분 청색이나 연분홍색의 침전물 형태를 이룬다.¹²⁾ 그리고 생물흡착제인 *Absidia coerulea*와 *Thraustochytrium* sp.를 투입한 경우에는 blank 보다 코발트 제거의 최적 pH가 각각 8.6~12.0과 8.9~11.6으로 더 넓어졌다. 그러나 pH 6 이하의 낮은 pH 영역에서는 여전히 낮은 제거능을 나타내었다. *Absidia coerulea*와 *Thraustochytrium* sp.의 코발트 제거를 위한 최적

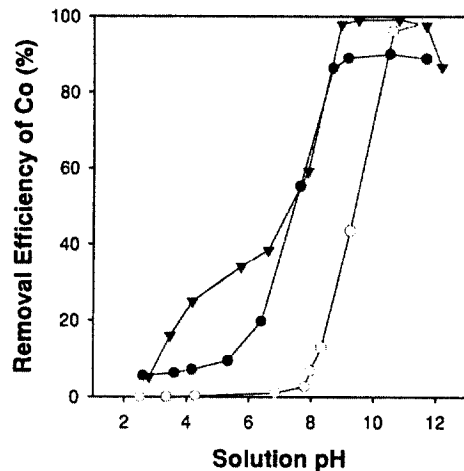


Fig. 3. Removal efficiency of cobalt for initial 50 mg/L with 1 g dry biosorbent/L at various pH values: (●) *Absidia coerulea*, (▼) *Thraustochytrium* sp. and (○) without biosorbent.

Table 1. Removal efficiency of lead and cobalt at various pH values

Metal	Biosorbent	Biosorbent amount (g/L)	Initial metal concentration (mg/L)	Optimum pH	Average metal removal (%)
Pb	blank	-	50	8.4~11.2	96
	<i>Absidia coerulea</i>	1	50	6.5~11.4	94
	<i>Thraustochytrium</i> sp.	1	50	4.2~10.5	98
Co	blank	-	50	10.5~11.5	98
	<i>Absidia coerulea</i>	1	50	8.6~12.0	90
	<i>Thraustochytrium</i> sp.	1	50	8.9~11.6	98

pH 조건은 상당히 비슷하였지만 pH에 따른 코발트의 제거능은 *Thraustochytrium* sp.가 약간 더 우수하였다. 또한 *Absidia coerulea*는 높은 pH에서 평균 제거능이 90%로 *Thraustochytrium* sp.의 98%보다 상당히 낮았다. 흡착 반응 후 *Absidia coerulea*의 상등액이 노랗게 변해 있는 것으로 보아 세포벽 중의 성분이 해리되어 나와서 코발트가 결합하여 침전되지 않고 제거능을 저하시키는 것으로 사료된다. Blank로 사용된 침전법은 높은 pH 영역에서만 일어나므로 첨가되는 화학물질의 양이 많고 최적 pH의 영역이 비교적 좁았다. 그런 점에서 생물흡착법에 의한 제거는 여러번 사용이 가능하고 금속 이온을 제거하기 위한 최적의 pH가 넓은 측면에서 유리하다. 특히 낮은 pH에서도 비교적 제거능이 높으므로 약산성 영역에서 방출되는 납 이온을 함유한 폐수 처리에 적절할 것으로 사료되었다.

3.3. 평형상태에서 단위 생물흡착제 당 납과 코발트의 최대 제거능

실험은 액상에서 납이 침전되는 것을 막기 위해서 초기 pH 3.0과 5.0에서 각각 1 g/L의 *Absidia coerulea*와 *Thraustochytrium* sp.를 투입하여 수행하였으며, 24시간이 지난 후에 납의 제거량과 물속에 남아 있는 양을 비교하여 그림으로 나타내었다 (Fig. 4). 결과에 의하면 *Absidia coerulea*와 *Thraustochytrium* sp.는 거의 동일한 흡착능을 보였다. 초기 용액의 pH가 3.0과 5.0일 때 *Absidia coerulea*의 최종 pH는 2.8과 3.7에 도달했으며 이때의 최고 흡착능은 각각 91과 104 mg Pb/g dry biomass이었다 (Table 2). 한편, 동일한 초기 pH에서 *Thraustochytrium* sp.의 최종 pH는 각각 3.3과 4.5에 이르렀으며 이때의 최고 흡착능은 각각 93과 125 mg Pb/g dry biomass이었다. *Thraustochytrium* sp.의 경우 초기 pH 보다도 최종 pH가 약간 증가하는 것으로 보아 세포 내의 DHA가 조금 용출되어 나온 것으로 사료된다. 그리고 생물흡착제의 기능기에 H⁺ 이온과 Pb²⁺ 이온이 서로 경쟁적으로 흡착되기 때문에 초기 용액 pH가 낮을수록 흡착능이 떨어짐을 알 수 있었다. 즉, 이와 같은 결과는 pH가 낮아질수록 H⁺ 이온의 수가 급격히 증가하

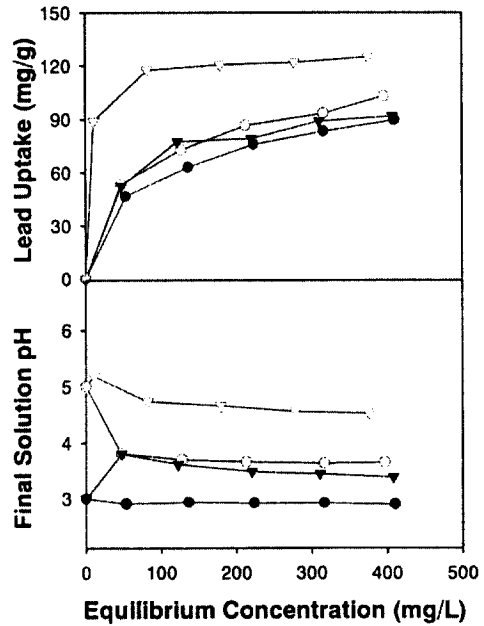


Fig. 4. Maximum uptake of lead with 1 g dry biosorbent/L at various final pH values: *Absidia coerulea* at initial pH 3.0 (●) and 5.0 (○) and *Thraustochytrium* sp. at initial pH 3.0 (▼) and 5.0 (▽).

Table 2. Maximum uptake of lead and cobalt by biosorbent

Metal	Biosorbent	Final pH	Biosorbent amount (g/L)	Maximum metal uptake (mg/g)
Pb	<i>Absidia coerulea</i>	2.8	1	91
		3.7		104
	<i>Thraustochytrium</i> sp.	3.3	1	93
		4.5		125
Co	<i>Absidia coerulea</i>	3.6	1	1
		3.9		2
	<i>Thraustochytrium</i> sp.	4.7	1	16
		5.8		20

로 세포벽의 기능기에서 Pb²⁺ 이온을 밀어내고 대신 흡착된 것에 기인한다. *Absidia coerulea*와 같은 곰팡이의 세포벽은 박테리아와는 달리 여러 층으로 구성되어 있는데 주로 다당(최대 90%), 지질, 단백질 등이며, 음이온 특성을 보이는 성분은 carboxyl 그룹, phosphodiester 등으로 알려져 있다.¹³⁾ 그에

비해 *Thraustochytrium* sp.와 같은 조류의 세포벽은 박테리아보다는 곰팡이의 세포벽과 유사하며 세포벽의 음이온 특성은 주로 carbonyl 그룹, alginic acid 등에 의해서 영향을 받는 것으로 알려져 있다.¹³⁾ 지금까지 알려진 바로는 금속 이온의 흡착에는 생물흡착제의 세포벽 성분이 가장 중요한 역할을 하며, 세포벽의 성분은 각 미생물들이 가진 독특한 성질이기에 때문에 흡착능이 높은 생물흡착제를 선별하는 것이 무엇보다도 중요하였다(Table 3). Holan과 Volesky 외에 여러 연구자에 의한 지금까지의 연구 결과에 의하면 표면을 처리하지 않은 생물흡착제의 경우에는 대개 50~300 mg Pb/g dry biomass 정도임을 알 수 있다.⁶⁻⁸⁾ 또한 여러 가지 생물흡착제 중에서 우수한 흡착능을 가진 것들은 대부분 곰팡이류와 조류였다. 본 실험에서의 *Absidia coerulea*나 *Thraustochytrium* sp.도 납 제거에 있어서

는 상당히 우수한 생물흡착제라고 볼 수 있다.

코발트에 대한 생물흡착은 갈조류의 일종인 *Ascophyllum nodosum*을 이용한 Kuyucak와 Volesky의 보고와¹⁴⁾ 효모의 일종인 *Saccharomyces cerevisiae*를 이용한 Brady와 Duncan 등의 연구를¹⁵⁾ 제외하고는 다른 금속 이온에 비해 적은 편이다(Table 3). 실험은 액상에서 코발트가 침전되는 것을 막기 위해서 초기의 용액 pH 4.0과 6.0에서 1 g/L의 생물흡착제로 수행되었다(Fig. 5). 24시간이 지난 후의 코발트의 제거량과 물 속에 남아 있는 양을 비교해 보면 *Absidia coerulea*와 *Thraustochytrium* sp. 모두 그다지 높은 흡착능을 가지지 못한 것을 알 수 있으며, 초기 용액의 pH가 낮을수록 흡착능이 떨어짐을 알 수 있다. 이와 같은 결과는 납의 경우와 동일한 이유 때문인 것으로 사료된다. Kuyucak와 Volesky는 *Ascophyllum nodosum*을

Table 3. Recent studies for the biosorption of lead and cobalt

Metal	Microorganism	References
Pb	<i>Aspergillus niger</i>	17
	<i>Brevibacterium</i> sp.	18
	<i>Chlorella fusca</i>	19
	<i>Citrobacter</i> strain MCM B-181	20
	<i>Cladophora crispata</i>	21
	<i>Durvillaea potatorum</i> & <i>Ecklonia radiata</i>	22
	<i>Fucus vesiculosus</i> & <i>Ascophyllum nodosum</i> , crosslinked	23
	<i>Myxococcus xanthus</i>	24
	<i>Penicillium chrysogenum</i>	25
	<i>Phellinus badius</i>	26
	<i>Phormidium laminosum</i>	27
	<i>Polyporus versicolor</i> & <i>Phanerochaete chrysosporium</i>	28
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PU21	29
	<i>Rhizopus oligosporus</i>	30
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> & <i>Aureobasidium pullulans</i>	31
	<i>Saccharomyces uvarum</i>	32
	<i>Sargassum fluitans</i> & <i>Ascophyllum nodosum</i>	33
	<i>Sargassum sagamianum</i>	34
	<i>Streptoverticillium cinnamomeum</i> & <i>Penicillium chrysogenum</i>	35
	<i>Undaria pinnatifida</i> , <i>Hizikia fusiformis</i> & <i>Sargassum fulvellum</i>	36
Co	<i>Myxococcus xanthus</i> & brewery yeast	37
	<i>Neurospora crassa</i>	38
	<i>Oscillatoria angustissima</i>	39
	<i>Pseudomonas halodenitrificans</i>	40
	<i>Spirulina platensis</i>	41
	<i>Ulva lactuca</i>	42

이용한 실험에서 160 mg Co/g biomass를 흡착하였으며, *Saccharomyces cerevisiae*를 이용한 Brady와 Duncan의 연구에서는 불과 4.7 mg Co/g biomass를 제거할 수 있었다.^{14,15)} 그리고 코발트에 대해서 특히 제거능이 높은 양이온교환수지인 Duolite C20는 88 mg Co/g, 일반적인 이온교환수지인 IRA-400은 30 mg Co/g, 무기물질 및 유기물질에 대해서도 높은 흡착능을 보이는 Calgon 활성탄은 75 mg Co/g의 흡착능을 각각 보였다.^{14,16)} 그에 비해 *Absidia coerulea*는 최종 pH 3.9에서 2 mg Co/g, *Thraustochytrium* sp.는 최종 pH 5.8에서 20 mg Co/g을 보였기 때문에 코발트에 대해서는 그다지 높은 흡착능을 보이지 않음을 알 수 있었다 (Table 2).

3.4. 생물흡착제의 투입량에 따른 납과 코발트의 제거능

일정 농도의 금속 이온에 대한 생물흡착제 투입량

에 따른 제거능을 알아보기 위해서 평형상태에서 단위 생물흡착제 당 납의 제거능 실험을 수행하였다. 이때 납의 초기 농도는 500 mg/L였으며 pH는 각각 3.0과 5.0이었다(Fig. 6). 일반적으로 생물흡착제의 투입량이 증가함에 따라 제거되는 총 납의 양은 증가한다. 그러나 이것을 단위 생물흡착제의 질량으로 나누어서 계산해보면 반드시 생물흡착제의 양이 증가한다고 해서 흡착량이 비례적으로 증가하는 것이 아님을 알 수 있었다. *Absidia coerulea*나 *Thraustochytrium* sp.의 경우는 일정 초기 납 농도에서 생물흡착제의 양이 증가함에 따라 납의 흡착량이 조금씩 감소함을 알 수 있었다. 이것은 초기의 납 농도와 매우 관련이 많은데, *Thraustochytrium* sp.의 경우에는 초기 pH 5.0, 납 농도 500 mg/L에서 0.2 g/L를 투입하면 약 162 mg/g의 납을 제거할 수 있었다(Table 4). 동일한 조건에서 *Thraustochytrium* sp.를 3 g/L 투입하면 제거능이 90 mg Pb/g으로 떨어졌다. 그러나 이것을 역으로 환산해보면 0.2 g/L를 투입했을 때 실제로 제거된 납의 양은

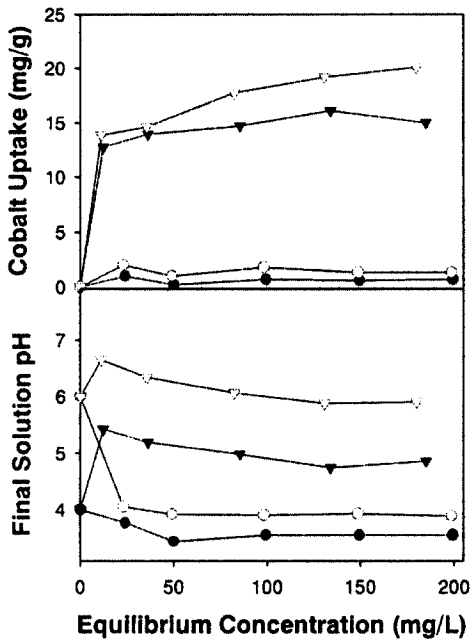


Fig. 5. Maximum uptake of cobalt with 1 g dry biosorbent/L at various final pH values: *Absidia coerulea* at initial pH 4.0 (●) and 6.0 (○) and *Thraustochytrium* sp. at initial pH 4.0 (▼) and 6.0 (▽).

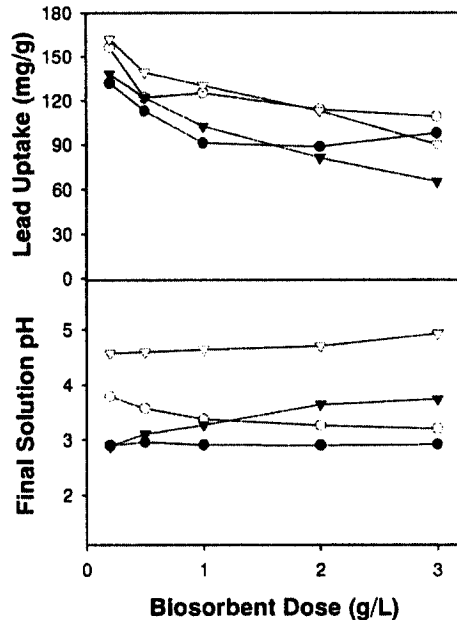


Fig. 6. Effects of biosorbent dose for 500 mg/L of lead: *Absidia coerulea* at initial solution pH 3.0 (●) and 5.0 (○) and *Thraustochytrium* sp. at initial solution pH 3.0 (▼) and 5.0 (▽).

32.4 mg이고 3.0 g/L의 경우는 270 mg의 납이 제거되었음을 의미한다. 그러므로 초기 납의 농도에 따라서 최적의 생물흡착제의 투입량이 존재함을 알 수 있었다.

코발트의 경우도 납과 마찬가지로 초기 농도 200 mg Co/L에서 pH 4.0과 6.0에서 최적 투입량을 결정하는 실험을 진행하였다. 결과에 의하면 *Absidia coerulea*와 *Thraustochytrium* sp. 모두 생물흡착제의 투입량이 증가함에 따라 제거되는 총 코발트의 양이 많아졌다(Fig. 7). 일반적으로 초기 일정 농도의 금속 이온 용액 속에 흡착능이 높은 생물흡착제를 투입했을 때, 흡착제 투입량의 증가에 따라서 용액 속의 잔존 금속 이온의 양이 급속히 감소하므로 단위 흡착제의 질량으로 나누어서 계산해보면 흡착제의 양이 증가함에 따라서 흡착량이 감소하는 경향이 있다(Fig. 6). 그러나 코발트의 경우는 초기 pH 6.0에서 *Absidia coerulea*와 *Thraustochytrium* sp.는 각각 4.8과 20.4 mg Co/g dry biomass 정도의 비교적 낮은 흡착능을 나타내었기 때문에 잔존 금속 이온의 양이 생물흡착제의 투입량에 별다른 영향을 미치지 못함을 알 수 있었다(Table 4).

본 실험을 통해서 사용된 생물흡착제 중 *Thraustochytrium* sp.는 잔존 DHA로 인해 추가적인 세척 과정이 필요한 것으로 사료된다. 그리고 *Absidia coerulea*나 *Thraustochytrium* sp.는 납의 제거능이 문헌과 비교하여 우수하였지만, 코발트에 대해서는 비교적 낮은 흡착능을 나타내었다. 따라서 *Absidia coerulea*나 *Thraustochytrium* sp.를 코발트의 제거에 이용하기 위해서는 흡착능을 높이기 위한 추가적인 세포벽의 화학적 모사가 필요한 것으로 판단된다.

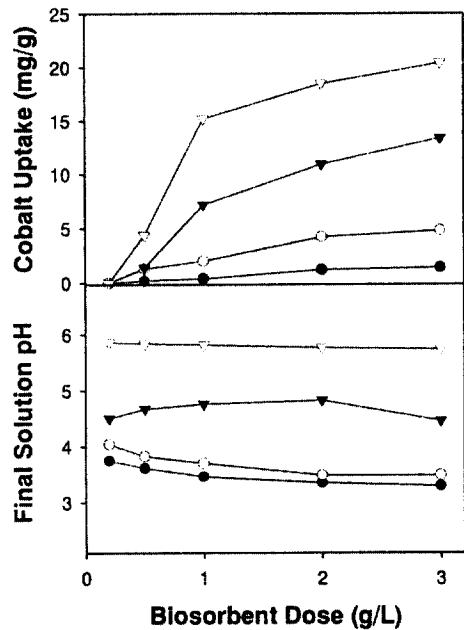


Fig. 7. Effects of biosorbent dose for 200 mg/L of cobalt: *Absidia coerulea* at initial solution pH 4.0 (●) and 6.0 (○) and *Thraustochytrium* sp. at initial solution pH 4.0 (▼) and 6.0 (▽).

4. 결 론

중금속 폐수 및 방사성 폐액 속에 포함된 납과 코발트를 제거하기 위해 생물흡착제로 *Absidia coerulea*와 *Thraustochytrium* sp.를 사용하여 흡착 실험을 진행하였다. 주로 고려한 것은 평형상태에서 생물흡착제를 투입했을 때 pH에 따른 납과 코발트

Table 4. Maximum uptake of lead and cobalt by biosorbent addition

Metal	Biosorbent	Initial pH	Initial metal concentration (mg/L)	Optimum biosorbent amount (g/L)	Maximum metal uptake (mg/g)
Pb	<i>Absidia coerulea</i>	3	500	0.2	132
		5		0.2	154
	<i>Thraustochytrium</i> sp.	3	500	0.2	138
		5		0.2	162
Co	<i>Absidia coerulea</i>	4	200	3.0	1.4
		6		3.0	4.8
	<i>Thraustochytrium</i> sp.	4	200	3.0	13.3
		6		3.0	20.4

의 제거능, 단위 생물흡착제 당 납과 코발트의 최대 제거능, 생물흡착제의 투입량에 따른 납과 코발트의 제거능이었으며, 고려 인자는 pH, 생물흡착제의 종류 및 투입량이었다. 납과 코발트 제거의 최적 pH 영역은 blank의 경우 각각 8.4~11.2, 10.5~11.5. *Absidia coerulea*는 6.5~11.4, 8.6~12.0, 그리고 *Thraustochytrium sp.*는 4.2~10.5, 8.9~11.6으로 *Thraustochytrium sp.*가 가장 넓은 영역을 가지고 있었다. 생물흡착제에 의한 납과 코발트의 제거능은 용액 pH에 의존하였으나 blank보다는 덜했다. 단위 생물흡착제 당 최대 제거능은 초기 pH 5.0에서 1 g/L의 생물흡착제를 투입했을 때 *Absidia coerulea*는 104 mg Pb/g dry biomass, *Thraustochytrium sp.*는 125 mg/g의 납을 제거할 수 있었으며, 초기 pH 6.0에서 *Absidia coerulea*는 2 mg Co/g dry biomass, *Thraustochytrium sp.*는 20 mg/g으로 납의 경우가 보다 높은 흡착능을 보였다. 생물흡착제의 투입량에 따른 제거능은 초기 500 mg Pb/L, pH 5.0에서 최적 0.2 g/L의 생물흡착제를 투입했을 때 *Absidia coerulea*가 154 mg Pb/g dry biomass, *Thraustochytrium sp.*는 162 mg/g로 거의 비슷함을 알 수 있었으며, 초기 200 mg Co/L, pH 6.0에서 최적 3.0 g/L을 투입했을 때 *Absidia coerulea*는 4.8 mg Co/g dry biomass, *Thraustochytrium sp.*는 20.4 mg/g으로 비교적 낮은 흡착능을 보였다. 전반적으로 *Absidia coerulea*와 *Thraustochytrium sp.*는 납에 대해서 높은 흡착능을 보였으나 코발트에 대해서는 비교적 낮은 흡착능을 보였다.

사 사

본 논문은 한국과학기술원 생물공정연구센터 "생물학적 중금속 제거 및 회수" 사업, 한국과학기술원 신형원자로연구센터 "신형원자로의 핵주기 및 방사선 관리 연구"의 연구비 지원에 의해 이루어졌으며 이에 감사드립니다. 또한 실험에 많은 도움을 주신 전진숙 연구원께 진심으로 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. Grosse, D. W., "A review of alternative treatment processes for metal bearing hazardous waste streams," *J. Air Pollut. Control Assoc.*, **36**(5), 603~614(1986).
2. Janson, C. E., Kenson, R. E., and Tucker, L. H., "Treatment of heavy metals in wastewaters," *Environ. Prog.*, **1**(3), 212~216(1982).
3. IAEA, Treatment of low- and intermediate-level liquid radioactive wastes, Technical report services, No. 236(1984).
4. EPRI, Pretreatment and selective materials for improved processing of PWR radioactive waste, EPRI-5786(1988).
5. Kim, J. H., Technology development for the treatment of radioactive waste, KAERI-NEMAC/RR-62/92(1992).
6. Volesky, B. and Holan, Z. R., "Biosorption of heavy metals, review," *Biotechnol. Prog.*, **11**, 235~250(1995).
7. Volesky, B., "Biosorbents for metal recovery," *Trends Biotechnol.*, **5**(4), 96~101(1987).
8. Ashley, N. V. and Roach, D. J. W., "Review of biotechnology applications to nuclear waste treatment," *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **49**(4), 381~394(1990).
9. Michael, K., Nokihara, K., and Matsunaga, T., "Purification of docosahesanoic acid (DHA) produced by marine microalga, *Isochrysis galbana*," *J. Marine Biotech.*, **2**, 117~125(1995).
10. Onsoyen, E. and Skaugrud, O., "Metal recovery using chitosan," *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **49**, 395~404(1990).
11. Tsezos, M., "The role of chitin in uranium adsorption by *Rhizopus arrhizus*," *Biotechnol. Bioeng.*, **25**, 2025~2040(1983).

12. Park, S. M., Park, J. K., Kim, J. B., and Song, M. J., "Experimental study on liquid radioactive waste treatment process using inorganic ion exchanger," *J. Environ. Sci. Health, Part A*, **34**(4), 767~793(1999).
13. Volesky, B., *Biosorption of Heavy Metals*, CRC Press (1990).
14. Kuyucak, N. and Volesky, B., "The mechanism of cobalt biosorption," *Biotechnol. Bioeng.*, **33**, 823~831(1989).
15. Brady, D. and Duncan, J. R., "Bioaccumulation of metal cations by *Saccharomyces cerevisiae*," *Minerals, Metals & Materials Soc.*, **2**, 711~724(1993).
16. Kuyucak, N. and Volesky, B., "Accumulation of cobalt by marine alga," *Biotechnol. Bioeng.*, **33**, 809~814(1989).
17. Kapoor, A., Viraraghavan, T. and Cullimore, D. R., "Removal of heavy metals using the fungus *Aspergillus niger*," *Bioresour. Technol.*, **70**(1), 95~104(1999).
18. Vecchio, A., Finoli, C., Di, S. D., and Andreoni, V., "Heavy metal biosorption by bacterial cells," *J. Anal. Chem.*, **361**(4), 338~342(1998).
19. Wehrheim, B. and Wetter, M., "Biosorption of cadmium, copper and lead by isolated mother cell walls and whole cells of *Chlorella fusca*," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **41**(6), 725~728(1994).
20. Puranik, P. R. and Paknikar, K. M., "Biosorption of lead, cadmium, and zinc by *Citrobacter* strain MCM B-181: Characterization studies," *Biotechnol. Prog.*, **15**(2), 228~237(1999).
21. Ozer, D., Aksu, Z., Kutsal, T., and Caglar, A., "Adsorption isotherms of lead(II) and chromium(VI) on *Cladophora crispata*," *Environ. Technol.*, **15**(5), 439~448(1994).
22. Matheickal, J. T. and Yu, Q. M., "Biosorption of lead(II) and copper(II) from aqueous solutions by pre-treated biomass of Australian marine algae," *Bioresour. Technol.*, **69**(3), 223~229(1999).
23. Holan, Z. R. and Volesky, B., "Biosorption of lead and nickel by biomass of marine algae," *Biotechnol. Bioeng.*, **43**(11), 1001~1009(1994).
24. Merroun, M. L., Ben, O. N., Gonzalez-Munoz, M. T., and Arias, J. M., "*Myxococcus xanthus* biomass as biosorbent for lead," *J. Appl. Microbiol.*, **84**(1), 63~67(1998).
25. Niu, H., Xu, X. S., Wang, J. H., and Volesky, B., "Removal of lead from aqueous solutions by *Penicillium* biomass," *Biotechnol. Bioeng.*, **42**(6), 785~787(1993).
26. Matheickal, J. T. and Yu, Q., "Biosorption of lead(II) from aqueous solutions by *Phellinus Badius*," *Miner. Eng.*, **10**(9), 947~957(1997).
27. Sampedro, M. A., Blanci, A., Llama, M. J., and Serra, J. L., "Sorption of heavy metals to *Phormidium laminosum* biomass," *Biotechnol. Appl. Biochem.*, **22**(3), 355~366(1995).
28. Yetis, U., Ozcengiz, G., Dilek, F. B., Ergen, N., Erbay, A. and Dolek, A., "Heavy metal biosorption by white-rot fungi," *Water Sci. & Tech.*, **38**(4-5), 323~330(1998).
29. Chang, J. S., Huang, J. C., Chang, C. C., and Tarn, T. J., "Removal and recovery of lead fixed-bed biosorption with immobilized bacterial biomass," *Water Sci. & Tech.*, **38**(4-5), 171~178(1998).
30. Ariff, A. B., Mel, M., Hasan, M. A., and Karim, M. I. A., "The kinetics and mechanism of lead (II) biosorption by powdered *Rhizopus oligosporus*," *World J. Microbiol. & Biotech.*, **15**(2), 255~260(1999).
31. Suh, J. H., Yun, J. W., Kim, D. S., and Song, S. K., "A comparative study on Pb²⁺

- accumulation between *Saccharomyces cerevisiae* and *Aureobasidium pullulans* by SEM and EDX analyses," *J. Biosci. Bioeng.*, **87**(1), 112~115(1999).
32. Ashkenazy, R., Gottlieb, L., and Yannai, S., "Characterization of acetone-washed yeast biomass functional groups involved in lead biosorption," *Biotechnol. Bioeng.*, **55**(1), 1~10(1997).
 33. Leusch, A., Holan, Z. R., and Volesky, B., "Solution and particle effects on the biosorption of heavy metals by seaweed biomass," *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **61**(3), 231~249(1997).
 34. Suh, K. H., Ahn, K. H., Lee, H. S., Lee, H. G., Cho, J. K., and Hong, Y. K., "Biosorption of Pb and Cr by using *Sargassum sagamianum*," *Bull. Korean Fisheries Soc.*, **32**(4), 399~403(1999).
 35. Puranik, P. R. and Paknikar, K. M., "Influence of co-cations on biosorption of lead and zinc - A comparative evaluation in binary and multimetal systems," *Biore-sour. Technol.*, **70**(3), 269~276(1999).
 36. Lee, M. Y., Kam, S. K., and Lee, D. H., "Lead biosorption by biosorbent materials of marine brown algae *U. pinnatifida*, *H. fusiromis* and *S. fulvellum*," *Bull. Korean Fisheries Soc.*, **30**(6), 936~943(1997).
 37. Ben, O. N., Larbi, M. M., Arias, J. M., and Gonzalez-Munoz, M. T., "Comparative heavy metal biosorption study of brewery yeast and *Myxococcus xanthus* biomass," *Chemosphere*, **35**(10), 2277~2283(1997).
 38. Karna, R. R., Sajani, L. S., and Mohan, P. M., "Bioaccumulation and biosorption of Co^{2+} by *Neurospora crassa*," *Biotechnol. Lett.*, **18**(10), 1205~1208(1996).
 39. Ahuja, P., Gupta, R., and Saxena, R. K., "Sorption and desorption of cobalt by *Oscillatoria angustissima*," *Curr. Microbiol.*, **39**(1), 49~52(1999).
 40. Ginisty, P., Besnainou, B., Sahut, C., and Guezennec, J., "Biosorption of cobalt by *Pseudomonas halodenitrificans*: Influence of cell wall treatment alkali and alkaline-earth metals and ion-exchange mechanisms," *Biotechnol. Lett.*, **20**(11), 1035~1039(1998).
 41. Singh, Y. and Kumar, H. D., "Adaptation of a strain of *Spirulina platensis* to grow in cobalt and iodine-enriched media," *J. Appl. Bacteriol.*, **76**(2), 149~154(1994).
 42. Webster, E. A., Murphy, A. J., Chudek, J. A., and Gadd, G. M., "Metabolism-independent binding of toxic metals by *Ulva lactuca*: Cadmium binds to oxygen-containing groups, as determined by NMR," *BioMetals*, **10**(2), 105~117(1997).