

홍색 비황 광합성 세균 *Rhodospseudomonas* sp. KH4의 Extracellular polysaccharide의 중금속 흡착

정정화 · 서필수¹ · 공성호² · 이종렬³ · 이상섭*

경기대학교 생명공학과, ¹경기대학교 생물자원 특성화 사업단, ²한양대학교 화학공학과, ³이름디순환환경건설(주)

본 연구에서는 경기도 안양에 있는 하천에서 분리한 홍색 비황 광합성 세균 *Rhodospseudomonas* sp. KH4에서 생성된 extracellular polysaccharide (EPS)의 중금속 흡착특성에 대해 연구하였다. 100 mg/L의 Cd과 Cu의 최적 흡착 조건(온도 40°C, Cd; pH 8, Cu; pH 5)에서 1.0 g/L의 EPS를 첨가하였을 때, Cd의 경우 30분 동안 84.2 mg/L, Cu의 경우 10분 동안 70.0 mg/L가 흡착되었다. 또한 Cd과 Cu가 각각 100 mg/L씩 공존되어 있는 경우, pH 5, 25°C에서 EPS 1.0 g/L첨가하였을 때 Cd과 Cu가 각각 16.8 mg/L, 48.7 mg/L가 흡착되었다. 또한 Langmuir등은 흡착식으로부터 EPS 1.0 g/L, pH 5, 25°C에서 Cd과 Cu의 흡착량은 각각 76.9 mg/L, 67.1 mg/L로 실제 경험치와 큰 차이를 보이지 않았다. 에탄올 침전법으로 정제된 KH4 strain으로부터 생성된 EPS는 gas-liquid chromatography (GLC)분석에 의한 중성당 분석 결과, arabinose, glucose, mannose가 각각 2.4%, 7.1%, 90.5%로 mannose가 대부분을 구성하였다.

Key words □ biosorption, cadmium, copper, EPS (extracellular polysaccharide), heavy metal

도금 · 제련공장, 안료, 도자기 제조업체 및 농약공장, 피혁가공, 약품제조업체 등에서 배출하는 산업폐수와 폐광이나 갭내의 수중에 함유되어 있는 중금속이 하천에 유입됨으로써 하천수 뿐만 아니라 인근 지하수 및 토양을 오염시키는 등 큰 문제가 되고 있다(19). 유해 중금속 제거 기술로는 흡착법, 침전법, 이온교환법, 역삼투법 등의 대부분 물리 화학적 방법을 사용하고 있다(6). 물리, 화학적 처리 방법들은 에너지 소모가 많고 유지관리 경비가 과다할 뿐만 아니라, 처리 효율이 낮으며 처리 부산물로 다량의 슬러지가 발생되므로 큰 문제가 되고 있다. 이들 처리 방법의 단점을 보완하기 위하여 최근에 미생물을 이용하여 중금속을 처리하려는 연구가 활발히 진행되고 있다(6). 미생물에 의한 중금속 처리 방법 중 경제적이고, 안정적이고, 효율적인 방법으로 박테리아, 효모, 곰팡이, 조류 등에서 생성되어지는 extracellular polysaccharide (EPS)에 의한 중금속 흡착법이 주목 받고 있다(7, 28, 30). EPS에 의한 중금속 흡착은 대사과정에 의한 반응이 아니며, 중금속의 양이온과 EPS의 음이온 사이에서의 상호 작용에 의하여 일어난다고 보고되고 있다(15). 미생물에서 생산된 EPS가 크게 주목 받는 이유는 연속배양에 의한 대량생산이 가능하며, 생산된 다당류의 분리 및 회수가 용이하고, 넓은 pH 범위에서도 사용할 수 있다는 장점을 가지고 있기 때문이다(18, 21). 이러한 장점 때문에 최근 미생물로부터 새로운 생물 흡착제(biosorbent) 개발이 급속히 진행되고 있으나 기술개발은 아직 초기 단계이다.

따라서 본 연구에서는 홍색 비황 광합성 세균 *Rhodospseudo-*

monas sp. KH4에서 생성된 EPS에 따른 중금속 흡착 특성(pH, 온도, 중금속의 종류 및 초기 중금속 농도)을 연구함으로써 향후 중금속 제거의 수처리제로 사용하는데 있어서 기초 자료를 제공하는데 목적이 있다.

재료 및 방법

균주 분리 및 등점

경기도 안양에 위치한 하천(pH; 6.8~7.2, 온도; 8.5~15.5°C, 수심; 10~15 cm)에서 바닥의 흙과 함께 채취하여 분리하였다. 배양 조건은 0.1% (v/v)의 균을 액체 배지에 접종하여 통성 혐기 조건 하에 조도 2,000 lux, 30°C에서 7일 동안 배양하였다. 배지 조성은 리터당 yeast extract 1.0 g, disodium succinate hexahydrate 1.0 g, absolute ethanol 0.5 ml, ferric citrate solution (0.5%) 1.0 ml, KH₂PO₄ 0.5 g, MgSO₄·7H₂O 0.4 g, NaCl 0.4 g, NH₄Cl 0.4 g, CaCl₂·2H₂O 0.05 g, trace element solution SL-6 1.0 ml와 같고, 1 N NaOH에 의하여 pH 6.8로 조정하였다. Yeast extract는 Scharlau사, absolute ethanol는 J.T. Baker사, ferric citrate는 Kanto사의 시약을 사용하였으며, 그 외의 시약은 Daejung사의 시약을 사용하였다.

분리 균주의 16S rDNA 염기서열 분석은 universal primer인 27F; 5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3'와 1492R; 5'-TACGGYTACCTTGTACGACTT-3'를 사용하여 염기서열을 분석하였다. 분리균의 DNA 염기서열은 basic local alignment search tool (BLAST)를 이용하여 GenBank database의 염기서열과 비교 분석하여 동정하였다.

*To whom correspondence should be addressed.
Tel: 031-249-9568, Fax: 031-251-4721
E-mail: sslee@kyonggi.ac.kr

EPS 분리

배양액을 6,500 × g에서 30분 동안 원심 분리하여 얻어진 상등액을 에탄올과 1:1부피로 넣고, 4°C에서 12시간 이상 침전시켜 EPS를 분리하였다. 침전된 EPS는 회수하여 중금속(Cd, Cu, Pb, Ni, Zn, Co) 흡착 실험에 사용하였고, EPS의 구성 성분 분석을 위하여 동결건조(MODULYOD-115, Thermo, USA)시켰다.

EPS에 의한 Cd과 Cu의 흡착

EPS에 의한 Cd과 Cu의 최적 흡착 조건을 알아보기 위하여 pH (Cd pH 2~8, Cu pH 2~5), 온도(10, 20, 30, 40°C), 초기 농도(20, 40, 60, 80, 100, 200, 300 mg/L) 변화에 따른 흡착 실험을 수행하였다. Cd과 Cu의 농도는 CdSO₄ · nH₂O (Junsei, Japan), CuCl₂ · 2H₂O (Shinyo, Japan) 시약을 사용하여 각각 100,000 mg/L 과 20,000 mg/L의 고농도 용액을 만들어 적정 농도로 희석하여 사용하였으며, pH는 0.1 N의 NaOH와 HCl를 사용하여 조정하였고, 온도는 항온 수조를 사용하여 조절하였다. Cd과 Cu의 초기 농도에 따른 중금속 흡착은 Lanmuir 등은 흡착식에 적용하였다. 또한 Cd과 Cu가 함께 공존할 경우 흡착 양상을 확인하기 위하여 Cd과 Cu를 각각 100 mg/L씩 총 200 mg/L 오염시켜 pH 5, 25°C에서 Cd과 Cu의 흡착량을 각각 확인하였다. 모든 중금속 흡착 실험은 중금속으로 오염된 수용액 50 ml에 0.05 g (wet-weight)의 EPS를 접종하여 5분 동안 교반하고, 시간에 따라 상등액을 2 ml 취하여 ICP (Vista-PRO, Varian, USA)로 분석하였다.

EPS에 의한 Cd, Cu 이외의 중금속(Ni, Co, Zn, Pb) 흡착

Cd과 Cu 이외의 EPS에 의한 중금속(Ni, Co, Zn 및 Pb) 흡착량을 조사하기 위하여 각각의 NiCl₂·6H₂O (Junsei, Japan), Co(NO₃)₂·6H₂O (Junsei, Japan), ZnSO₄·7H₂O (Daejung, Korea), Pb(NO₃)₂ (Daejung, Korea)의 시약을 사용하여 Ni 10,000 mg/L, Co 20,000 mg/L, Zn 2,500 mg/L, Pb 100,000 mg/L의 농축액을 만들었다. 그리고 각각의 중금속을 100 mg/L로 희석하여 pH 5, 25°C에서 EPS 1.0 g/L로 첨가하여 중금속 흡착량을 조사하였다.

EPS의 구성성분 분석

중금속 실험에 사용된 EPS 내의 중성당 함량은 galactose (Sigma, USA)를 표준물질로 하여 phenol-sulfuric법(11)으로, 산성당 함량은 β-D-galacturonic acid (Sigma, USA)를 표준물질로 하여 m-hydroxybiphenyl법(8)으로 단백질 함량은 bovine albumin (Sigma, USA)을 표준물질로 하여 Bradford법(9)으로 각각 분석하였다. 그리고 구성당 분석은 Jones법(14)을 변형하여 분석하였다. 즉, 10 mg의 EPS에 2 M의 TFA (trifluoroacetic acid) (Sigma, USA) 1 ml를 넣고 테프론 테이프를 밀봉한 다음, 121°C에서 1.5시간 동안 가수분해하였으며, 잔존 TFA는 50°C에서 질소 가스로 휘발시켜 제거하였다. 그리고 1 M의 NH₄OH (Junsei, Japan)용액 1 ml를 첨가한 후, sodium borohydride (NaBH₄) (Sigma, USA)를 넣어 alditol로 환원시켰다. 과잉의 sodium borohydride는 acetic acid (Daejung, Korea) 1 ml로 분해시킨 후

50°C에서 질소 가스로 건조시켰다. Methanol 2 ml 첨가하여 건조시키는 과정을 3회 반복하여 잔존하는 boric acid를 제거하였고, acetic anhydride[(CH₃CO)₂O] (Junsei, Japan) 1 ml와 pyridine (Junsei, Japan) 0.1 ml를 첨가하여 121°C에서 30분 반응 시킨 후, toluene (Daejung, Korea) 1 ml를 첨가하여 50°C에서 질소 가스로 건조시켰다. 그리고 chloroform (Daejung, Korea)과 증류수를 각각 2 ml 첨가하여 원심분리 후, chloroform 층을 뽑아 건조하여 gas-liquid chromatography (GLC) (Young-Lin, Korea)로 구성당을 분석하였다. 검출기는 flame ionization detector (FID) (Young-Lin, Korea), 컬럼은 SP-2380 capillary column (30 m × 0.25 mm × 0.2 μm) (Supelco, USA)을 사용하였다. GC 조건은, 주입구와 검출기 온도는 모두 250°C를 유지하였으며, 오븐의 온도는 초기 60°C에서 1분간 대기 후, 분당 30°C씩 220°C까지 승온하여 12분간 대기하고, 다시 분당 8°C씩 250°C까지 승온하여 15분간 대기하였다. 그리고 표준 구성당(rhamnose, fucose, arabinose, xylose, manose, galactose, glucose) (Sigma, USA)과 시료(EPS)의 retention time을 비교하여 시료중의 구성당을 분석하였다. 구성당의 mole%는 각 peak들의 면적비와 각 구성당의 alditol acetate 유도체의 분자량으로부터 계산하였다.

결과 및 고찰

균주 분리 및 동정

경기도 안양에 위치한 하천에서 시료를 채취하고 분리하여 slime이 많이 생성되는 균주를 본 실험에서 선택하였다. 선별된 균주의 16S rDNA를 GenBank database의 염기서열과 비교한 결과 *Rhodospseudomonas* sp.와 99%의 높은 유사도를 보여 *Rhodospseudomonas* sp. KH4로 명명하였다.

pH 조건에 따른 EPS의 Cd과 Cu의 흡착

pH에 따른 중금속 흡착량을 알아보기 위하여 Cd의 경우 pH 2부터 pH 8까지, Cu의 경우 pH 2부터 pH 5까지 EPS 1.0 g/L로 첨가하여 실험을 수행하였다. 그 결과, Cd의 경우 pH 2부터 pH 8까지 각각 1.5, 12.2, 47.8, 52.9, 58.3, 67.0, 71.1 mg/L의 Cd이 흡착되었고, Cu의 경우 pH 2에서 pH 5까지 각각 2.5, 25.7, 44.3, 62.0 mg/L의 Cu가 흡착되었다(Fig. 1). 낮은 pH에서는 높은 농도로 존재하는 H⁺ 이온이 중금속 이온과 흡착제의 흡착부위에 대해 경쟁적으로 반응하고, 높은 pH에서는 OH⁻ 이온이 중금속에 배위되어 존재하기 때문에 흡착질 자체의 활성도가 감소되어 흡착 정도가 큰 것으로 사료된다(5, 12).

온도 조건에 따른 EPS의 Cd과 Cu 흡착

100 mg/L의 Cd과 Cu의 수용액에 1.0 g/L의 EPS를 첨가하여 온도가 미치는 영향을 조사한 결과, 10, 20, 30, 40°C에서 Cd의 경우 30분 동안 75.5, 76.7, 82.1, 84.2 mg/L가 흡착되었으며, Cu의 경우 10분 동안 64.1, 65.9, 66.1, 70.0 mg/L가 흡착되었다(Fig. 2). Cd과 Cu 모두 온도가 높을수록 흡착이 다소 증가하는 경향을 보여주었다. Sag 등(27)의 연구에 따르면 물리적 흡착반

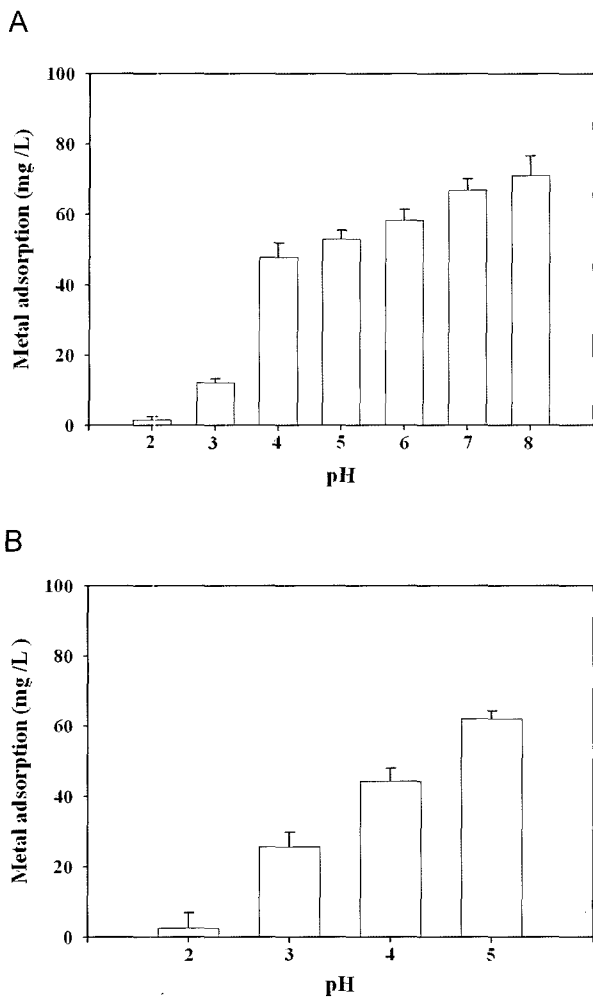


Fig. 1. Effect of pH changes on metal adsorption with EPS produced by *Rhodospseudomonas* sp. KH4 at 25°C. (A); Cd, (B); Cu.

응은 발열반응으로서 온도가 낮아지면서 흡착 정도가 증가하지만, 화학 흡착반응은 흡열반응으로서 온도가 높아질수록 흡착 정도가 증가한다고 보고되었다. 본 연구에서 *Rhodospseudomonas* sp. KH4에서 생성된 EPS는 10~40°C의 광범위한 온도 변화에서도 안정된 흡착을 보이며 이런 흡착능은 중금속으로 오염된 하·폐수처리에 중금속 흡착제로 매우 유용할 것으로 생각된다. 그리고 시간에 따른 흡착량을 확인해 본 결과, Cd의 경우 30분에 Cu의 경우 10분에 흡착 평형을 이루었다(Fig. 2). 이는 Ozdemir 등(22)의 연구에서 *Chryseomonas luteola* TEM05로부터 생성된 EPS를 사용한 EPS-alginate bead가 64.1 mg/L의 Cd과 55.25 mg/L의 Co를 흡착하는데 60분이 소요되었으나 본 연구에서 사용된 *Rhodospseudomonas* sp. KH4에서 생성된 EPS의 경우, Cd은 30분, Cu는 10분으로 더 빠른 흡착평형을 나타내었다.

EPS에 의한 Cd과 Cu의 상호 경쟁적 흡착

두 종류의 중금속을 혼합한 경우에 특정 이온이 잘 흡착되던 나머지 한 종류의 이온은 흡착이 저조해지는 것이 일반적 경향

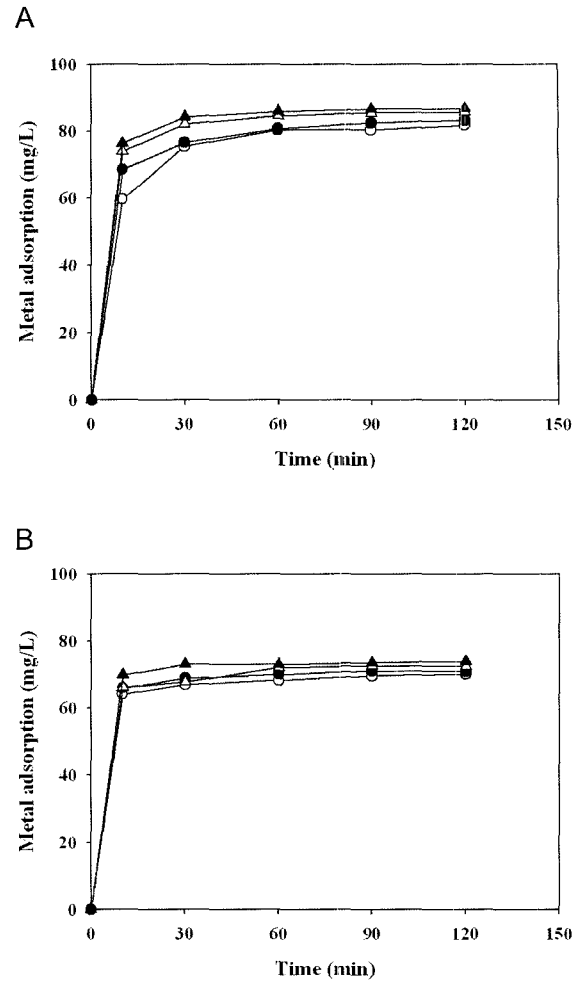


Fig. 2. Effect of temperature changes on metal adsorption with EPS produced by *Rhodospseudomonas* sp. KH4. (a); Cd (pH 8), (b); Cu (pH 5), (○); 10°C, (●); 20°C, (▽); 30°C, (▼); 40°C.

이라고 보고된 바 있다(2). 본 실험에서도 단일 물질로 존재할 경우 Cd이 Cu보다 더 많은 흡착을 보인 반면, Cd과 Cu가 각각 100 mg/L가 공존 할 경우, Cu가 48.7 mg/L, Cd이 16.8 mg/L를 흡착하여 Cu가 Cd보다 흡착 경쟁에서 뛰어난을 확인하였다(Fig. 3). Sabadell 등(24)에 따르면 Pb 이온과 Cu 이온이 혼합될 경우 Cu 이온의 흡착은 양호 하나 Cd 이온은 흡착이 저조하다는 보고된 바 있다. 또한 복합 중금속의 형태로 존재할 경우, Cu와 Pb은 다른 중금속들에 대한 저해 영향을 적게 받아 제거가 잘 되는 편이고, Co와 Cd은 중금속들의 저해효과를 많이 받는 것으로 알려져 있다(3, 23). 중금속의 복합적인 오염에서 Cu가 흡착 경쟁에서 뛰어난 이유는 본 연구에서는 설명할 수 없지만 앞으로 연구가 더 진행되어야 한다고 생각된다.

Langmuir 등은 흡착

Cd과 Cu의 초기 농도에 따른 흡착 실험을 Lanmuir 등은흡착식에 적용하였다.

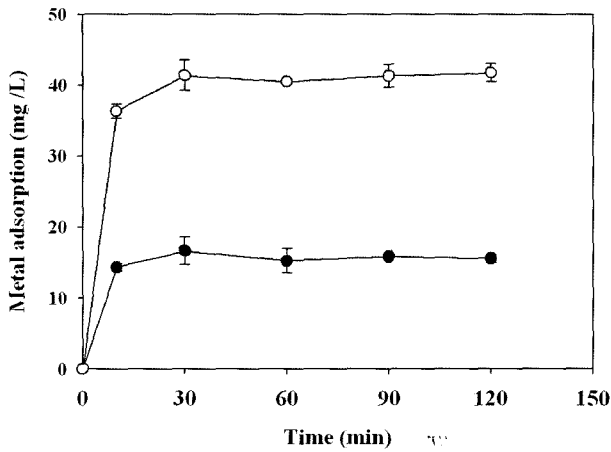


Fig. 3. Comparison of uptake for Cd and Cu at 25°C and pH 5. (metal concentration: 100mg/L for each ion), (○); Cu, (●); Cd.

Langmuir 등온흡착 식

$$C_{eq} / q = C_{eq} / Q_{max} + 1 / (Q_{max} b)$$

q: 흡착제 무게당 흡착된 중금속 이온의 질량(mg/g)

C_{eq} : 잔류 중금속 이온의 평형 농도(mg/L)

b: 흡착 enthalphy 관련된 상수(cm^3 of adsorbent/mg of adsorbate)

Q_{max} : 단층의 흡착제에 완전히 흡착된 중금속 이온의 질량(mg/g)

그 결과 Cd과 Cu의 적합할 확률(R^2) 이 모두 99.9%로 Langmuir 등온 흡착에 잘 부합됨을 알 수가 있었다. Cd과 Cu의 pH가 8과 5, 온도 25°C, EPS 1.0 g/L 에서 Langmuir 등온 흡착에서 계산된 Q_{max} 값은 Cd의 경우 76.9 mg/g, Cu의 경우 67.1 mg/g으로 실제 경험치(Cd; 71.1 mg/g, Cu; 62.0 mg/g)와 큰 차이를 보이지 않았다. 또한 평형 상수 b값이 Cd의 경우 2.15, Cu의 경우 1.23로(Table 1) 농도 변화에 따른 흡착률 변화가 작다는 결과를 얻었다(1, 17). 따라서 *Rhodospseudomonas* sp. KH4에서 생성된 EPS는 다양한 결합부위가 존재하지 않은 단층 흡착으로 EPS전체에 중첩되어 흡착하지 않고 균일하게 흡착되며, 농도 증가에 따라 흡착제의 결합부위의 친화도에 변화 없이 안정되는 것으로 생각된다(1, 4).

Table 1. Langmuir isotherm model constants for adsorption of Cd and Cu on *Rhodospseudomonas* sp. KH4

Heavy metal	Langmuir		
	Q_{max}	b	R^2
Cd	76.92	2.25	0.999
Cu	67.11	1.23	0.999

Q_{max} : Maximum adsorption capacity,
b; Langmuir adsorption constant,
 R^2 : Correlation coefficient.

EPS에 의한 Cd, Cu 이외의 중금속(Ni, Co, Zn, Pb) 흡착

Cd과 Cu 이외에 다른 중금속(Ni, Co, Zn, Pb)에 대한 흡착량도 알아보기 위하여 100 mg/L의 Ni, Co, Zn, Pb에 pH 5, 25°C에서 EPS 1.0 g/L를 첨가하여 흡착량을 조사한 결과, Pb이 82.7 mg/L으로 가장 많은 흡착을 보였으며, Zn, Co, Ni은 각각 54.2, 30.4, 19.7 mg/g으로 Cd보다 낮은 흡착을 보여 Ni < Co < Zn < Cd < Cu < Pb의 순으로 흡착능 차이를 나타내었다(Fig. 4). 이와 같이 여러 가지 중금속에 대한 생물흡착제의 중금속 흡착 능력은 금속 이온의 전기 화학적 특성에 기인하는 것으로 보고 있다(20). Brady 등(10)은 균류인 *Rhizopus arrhizus*에 의하여 여러 가지 금속들에 대한 중금속 제거능을 조사한 결과, $Sr^{2+} < Mn^{2+} < Zn^{2+} < Cd^{2+} < Cu^{2+} < Pb^{2+}$ 의 순으로 나타났다고 보고 하였다. 또한, 남세균인 *Phormidium laminosum*을 이용한 중금속 제거 실험에서는 $Ni^{2+} < Cr^{3+} < Zn^{2+} < Cu^{2+} < Cd^{2+} < Pb^{2+}$ 의 순으로 나타났다고(29). 따라서 본 연구에서 나타난 중금속 제거 결과와 다른 연구자들의 연구 결과를 종합해 보면 생물 흡착제의 종류에 따라 약간의 상이한 결과를 나타내지만, 대체적으로 Pb, Cd, Cu, Zn은 다른 중금속에 비해 제거가 잘되는 중금속에 속하고, Ni, Co은 제거가 잘 되지 않는 중금속에 속함을 알 수 있었다.

EPS의 화학적 구성성분 분석

KH4로부터 생성된 EPS의 일반적인 화학적 성분 분석을 위하여 중성당, 산성당, 단백질 함량 등을 분석하였다. 그 결과 천연 EPS의 경우 중성당과 단백질의 경우 각각 43%, 26%이었으며, 산성당의 함량은 검출되지 않았다. 또한 alditol acetate 유도체를 만들어 중성당의 구성 성분을 GLC분석을 통해 살펴본 결과, arabinose, glucose, mannose가 각각 2.0, 7.3, 90.7%로 mannose가 대부분을 차지하고 있었다(Fig. 5). 녹조류에서 생성된 EPS의 구성성분은 전형적으로 mannose를 구성하고 있는데(25, 26), Kaplane 등(16)은 녹조류인 *Chlorella*에서 생성된 EPS에 의한

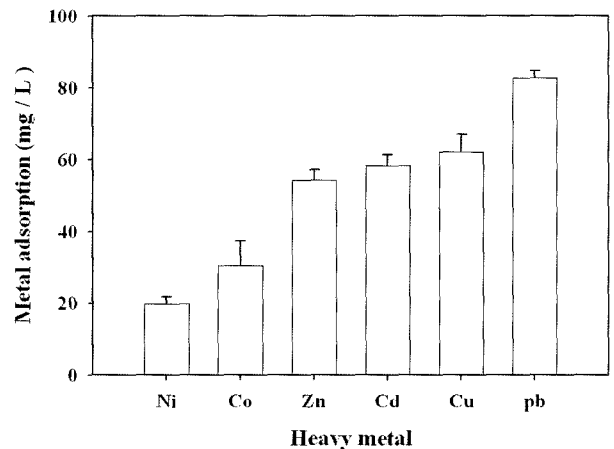


Fig. 4. Adsorption of various heavy metals onto EPS produced by *Rhodospseudomonas* sp. KH4 at 25°C and pH 5.

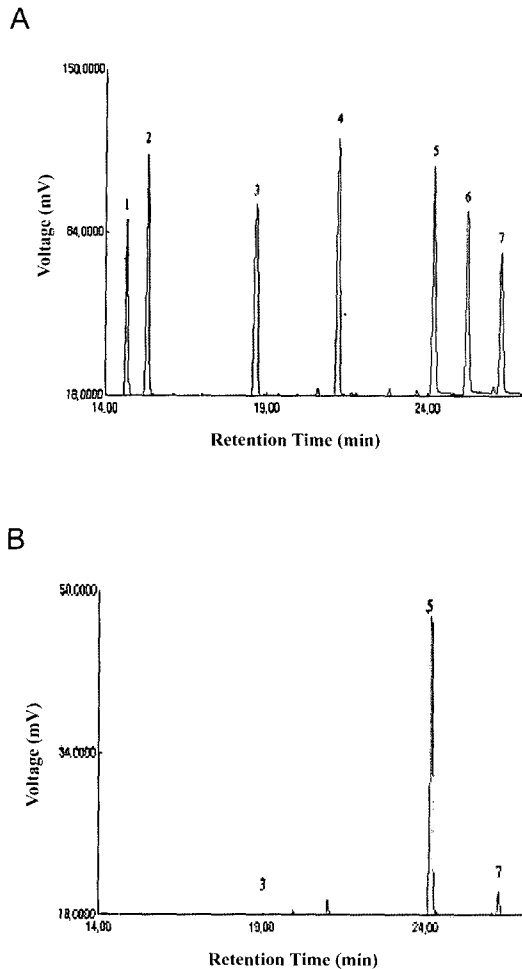


Fig. 5. Gas chromatograms of (A) seven neutral monosaccharides (1) rhamnose, (2) fucose, (3) arabinose, (4) xylose, (5) mannose, (6) galactose, (7) glucose and (B) EPS produced by *Rhodospseudomonas* sp. KH4.

Cu의 흡착에 대해 연구하였고, 다당류와 일부분의 acid의 복합체와 관련이 있다고 보고하였다. 그리고 Geesey 등(13)은 pyruvate, phosphates, hydroxyl, succinyl과 uronic acids를 포함한 exo-polymer의 음전하 functional groups이 양이온의 중금속 이온과 흡착한다고 보고하였다. *Rhodospseudomonas* sp. KH4에서 생성된 EPS의 당 분석 결과 기존의 보고를 토대로 볼 때 mannose로 구성된 다당류에 음전하를 띠는 functional group이 서로 복합적으로 결합되어 중금속 흡착에 관여할 것으로 추정되며, 앞으로 이 부분에 관한 연구가 더 필요하다고 생각된다.

본 연구에서 *Rhodospseudomonas* sp. KH4에서 생산된 EPS는 분리 및 회수가 용이하고, 짧은 시간에 중금속의 흡착이 이루어지며, 많은 양을 흡착 할 수 있고, 경제적으로 비용을 감소할 수 있으므로 유용한 중금속 흡착제로서의 이용 가능성을 본 논문에서 제시하였다.

감사의 글

본 연구는 환경부 차세대 핵심환경기술개발사업과 과학기술부 기초과학연구사업의 연구비로 수행되었으며, 이에 감사 드립니다.

참고문헌

1. 배우철, 장승욱, 정육진, 정병철. 1997. 미생물을 이용한 Cd 제거. *명지대학교 자연과학논문집* 15, 84-90.
2. 백기현, 김동호, 최돈하. 1997. 수피에 의한 중금속 흡착 시 경금속의 영향과 중금속간의 흡착 경쟁. *한국환경농학회지* 16, 115-118.
3. 서정호, 오상진, 박영식, 김동석, 송승구. 1997. *Saccharomyces cerevisiae*와 *Aureobasidium pullulans*의 납 흡착. *대한환경공학회지* 19, 745-754.
4. 안갑환, 서근학. 1995. *Saccharomyces uvarum*에 의한 중금속 생체흡착에 관한 연구. *한국환경과학회지* 4, 527-534.
5. 이종은. 1995. 천연 고령토의 폐수 중 납 흡착에 관한 연구. *한국환경위생학회지* 21, 77-86.
6. 이희부, 이장순, 이종복. 2001. 토양에서 분리된 아연내성균의 아연흡착에 관한 연구. *환경연구 논문집* 1, 55-66.
7. Bender, H., S. Rodriguez, U. Ekanemesang, and P. Phillips. 1994. Characterisation of metal-binding biofloculants produced by the cyanobacterial component of mixed microbial mat. *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 2311-2315.
8. Blumenkrantz, N. and G. Asboe-Hansen. 1973. New method for quantitative determination of uronic acid. *Anal. Biochem.* 54, 484-489.
9. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248-254.
10. Brady, J.M. and M. Tobin. 1995. Binding of hard and soft metal ions to *Rhizopus arrhizus* biomass. *Enzyme and Microbial Technol.* 17, 791-796.
11. Dubois, M., A.K. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers, and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugar related substances. *Anal. Chem.* 28, 350-356.
12. Fourest, E. and J.C. Roux. 1992. Heavy metal biosorption by fungal mycelial by-products: mechanisms and influence of pH. *Microbiol. Biotechnol.* 37, 399-403.
13. Geesey, G.G., L. Jang, J.G. Jolley, M.R. Hankins, T. Iwaoka, and P.R. Griffiths. 1989. Binding of metal ions by extracellular polymers of biofilm bacteria. *Water Sci. Technol.* 20, 161-166.
14. Jones, T.M. and P.O. Albersheim. 1972. A gas chromatographic method for the determination of aldose and uronic acid constituents of plant cell wall polysaccharide. *Plant Physiol.* 49, 926-936.
15. Kim, S.Y., J.H. Kim, C.I. Kim, and O.K. Oh. 1996. Metal adsorption of the polysaccharide produced from *Methylobacterium organophilum*. *Biotechnol. Lett.* 18, 1161-1164.
16. Kaplan, D., D. Christiaen, and S.M. Arad. 1988. Binding of heavy metals by algal polysaccharides. p. 179-187. In T. Stadler, J. Mollion, M.C. Verdus, Y. Karamanos, H. Morvan, D. Christiaen (Eds.), *Algal Biotechnology*, Elsevier Applied Sciences.
17. Kratochvil, D., E. Fourest, and B. Volesky. 1995. Biosorption of copper by *Sargassum fluitans* biomass in fixed bed column. *Biotech. Lett.* 17, 777-782.

18. Lee, J.H., I.Y. Lee, K.K. Kim, and Y.H. Park. 1999. Optimal pH control of batch processes for production of curdlan by *Agrobacterium* species. *J. Industrial Microbial. Biotechnol.* 23, 143-148.
19. Manahan, S. E. 1990. Environmental chemistry, p. 146-157. Lewis publishers. Inc.
20. Mattuschka, B. and G. Straube. 1993. Biosorption of metals by a waste biomass. *J. Chem. Tech. Biotechnol.* 58, 57-63.
21. Norberg, A.B. and S. O. Enfors. 1982. production of Extracellular polysaccharide by *zoogloea ramigera*. *Appl. Environ. Microbial.* 44, 1231-1237.
22. Ozdemir, G., N. Ceyhan, and E. Manav. 2005. Utilization of an exopolysaccharide produced by *Chryseomonas luteola* TEM05 in alginate bead for adsorption of cadmium and cobalt ions. *Biores. Technol.* 96, 1677-1682.
23. Puranik, P. and K.M. Paknikar. 1999. Influence of co-cations on biosorption of lead and zinc-a comparative evaluation in binary and multimetal systems. *Biores. Technol.* 70, 269-276.
24. Sabadell, J.E. and R.J. Krack. 1975. Adsorption of heavy metals from wastewater and sludge on forest residuals and forest produce wastes, 2th ed., P. 234-240. on Complete Water Reuse, Chicago.
25. Painter, T.J. 1983. Algal polysaccharides, p. 195-285. In Aspinal, G. (Ed.), Polysaccharides. Academic Press, Orlando, Florida, USA.
26. Paulsen, B.S., T. Aslaksen, C.S. Freire-Nordi, and A.A.H. Vieira. 1998. Extracellular polysaccharide from *Ankistrodesmus densus* (Chlorophyceae). *J. Phycol.* 34, 638-641.
27. Sag, Y. and T. Kutsal. 1995. Biosorption of heavy metal by *zoogloea ramigera*: use of adsorption isotherms and a comparison of biosorption characteristics. *Biochem. Eng. J.* 60, 181-188.
28. Salehizadeh, H. and S.A. Shojaosadati. 2001. Extracellular biopolymer flocculants: recent trends and biotechnological importance. *J. Biotechnol. Adv.* 19, 371-385.
29. Sampedro, M.A., A. Blanco, M.J. Liama, and J.L. Serra. 1995. Sorption of heavy metals to *Phormidium laminosum* biomass. *Biotechnol. Appl. Biochem.* 22, 355-366.
30. Volesky, B. and Z.R. Holan. 1995. Advances in biosorption of metals: selection of biomass types. *Biotechnol. Prog.* 11, 235-250.

(Received November 9, 2006/Accepted December 22, 2006)

ABSTRACT : Adsorption of Heavy Metal onto the Extracellular Polysaccharide Produced by the Purple Nonsulfur Photosynthetic Bacteria *Rhodospseudomonas* sp. KH4

Jeong-Hwa Jeong, Pil-Soo Seo¹, Sung-Ho Kong², Jong-Yeol Lee³, and Sang-Seob Lee*

(Department of Biological Engineering, Kyonggi University, Suwon 443-760, Korea,

¹Department of Korea biological resource center, Kyonggi University, ²Department of Chemical Engineering, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea, ³Beautiful Environmental Construction Co., Ltd, Seoul 135-080, Korea)

In the present study, we examined biosorption characteristics of heavy metals onto the extracellular polysaccharide (EPS) produced by the purple nonsulfur photosynthetic bacteria *Rhodospseudomonas* sp. KH4, which was isolated from a stream in Anyang, Kyonggi-Do. When Cd (100 mg/L) and Cu (100 mg/L) were added to EPS (1.0 g/L) in the optimal condition (Cd; pH 8, Cu; pH 5, 40°C), 84.2 mg/L of Cd and 70.0 mg/L of Cu were adsorbed within 30 min and 10 min, respectively. When 100 mg/L of Cd and Cu were present as mixture, 16.8 mg/L of Cd and 48.7 mg/L of Cu were adsorbed at 25°C, pH 5. The maximum adsorption capacity determined by fitting Langmuir isotherms model was suitable for describing the biosorption of Cd (76.9 mg/g) and Cu (67.1 mg/g) by EPS. The neutral monosaccharide in the EPS determined by GC consisted of arabinose (2.4%), glucose (7.1%) and mannose (90.5%).