

## 중금속내성균의 중금속 축적에 미치는 경쟁이온 및 대사저해제의 영향

조주식 · 이홍재<sup>1)</sup> · 허종수<sup>1)</sup>

경상대학교 공동실험실습관, <sup>1)</sup>경상대학교 농화학과

### Influence of Competing Ions and Metabolic Inhibitors on Heavy Metal Accumulation in the Cell of Heavy Metal-Tolerant Microorganisms

Ju-Sik Cho, Hong-Jae Lee<sup>1)</sup> and Jong-Soo Heo<sup>1)</sup> (Central Laboratory, Gyeongsang National University, Chin Ju 660-701, Korea; <sup>1)</sup>Dept. of Agricultural Chemistry, Gyeongsang National University, Chin Ju 660-701, Korea)

**Abstract :** This study was performed to develop the biological treatment technology of wastewater polluted with heavy metals. Heavy metal-tolerant microorganisms, such as *Pseudomonas putida*, *P. aeruginosa*, *P. chlororaphis* and *P. stutzeri* possessing the ability to accumulate cadmium, lead, zinc and copper, respectively, were isolated from industrial wastewaters and mine wastewaters polluted with various heavy metals. The effect of competing ions and metabolic inhibitors on heavy metal accumulation in the cells was investigated.

Heavy metal accumulation into cells was drastically decreased in the presence of competing cation,  $Al^{3+}$ , and also decreased, at a lesser extent, in the presence of competing anions,  $CO_3^{2-}$  and  $PO_4^{2-}$ . But heavy metal accumulation was not influenced generally in the presence of the other cations and anions.

The accumulation of Cd, Zn or Cu by Cd-, Zn- or Cu-tolerant microorganism was remarkably decreased in the presence of metabolic inhibitors, but the accumulation of Pb by Pb-tolerant microorganism was little affected in the presence of metabolic inhibitors. These results suggested that the accumulation of Cd, Zn or Cu by Cd-, Zn- or Cu-tolerant microorganism was concerned with the biological activity depending on energy, and the accumulation of Pb by Pb-tolerant microorganism depended on not the biological activity but the physical adsorption on the cell surface.

Each heavy metal-tolerant microorganism also exhibited some ability to accumulate the other heavy metals in solution containing equal concentrations of cadmium, lead, zinc and copper, when measured at 48 hours after inoculation of the microorganisms, but the accumulation rates were somewhat low as compared to the accumulation rates of heavy metal fitting to each tolerance. These results suggested that the accumulation of each heavy metal by each heavy metal-tolerant microorganism was a selective accumulation process.

## 서 론

중금속등이 함유되어 있는 특정폐수의 현행 처리방법은 응집침전법, 이온교환법, 흡착법, 산화환원법, 전기분해법, 중화법 및 추출법등 주로 물리화학적처리 방법으로 처리하고 있으며, 이중 응집침전법과 이온교환수지를 이용한 이온교환법이 가장 널리 이용되고 있다.<sup>1)</sup> 응집침전법은 설치가 용이하고 유지비용과 에너지소모가 상대적으로 낮은 장점을 지니고 있으나 처리효율이 낮고 처리부산물로 다량의 슬러지가 발생되므로 슬러지의 폐기처리가 큰 문제가 되고 있으며, 이온교환수지법은 응집침전법에 비하여 중금속 처리율이 높고 저농도의 중금속 이온을 선택적으로 제거할 수 있는 장점을 지니고 있으나 고가의 수지를 사용하여야 하므로 물질의 회수 및 재사용이 병행되지 않을 경우 다른 방법에 비하여 비경제적인 것으로 알려져 있다.<sup>2)</sup>

자연계에는 수계로부터 여러가지 중금속 이온들을 선택

적으로 흡착 또는 흡수할 수 있는 능력을 지닌 미생물들이 존재하는 것으로 알려져 있으며, 이러한 미생물들은 자연으로 부터 유용한 금속의 회수와 환경오염의 조절 차원에서 큰 관심을 끌여 왔다. 또한 최근에는 중금속오염폐수의 처리법으로 이용되고 있는 물리화학적 처리법의 단점을 보완하기 위하여 미생물을 이용하여 중금속을 처리하려는 연구가 활발히 진행되고 있으며, 그 결과 이온교환 수지 혹은 활성탄에 비하여 중금속 처리효율이 더 높은 미생물들이 발견되고 있다.<sup>3,4)</sup>

미생물을 이용한 생물학적 처리방법은 저렴한 비용으로 다량의 biomass를 얻을 수 있고<sup>4,5)</sup>, 미생물에 의한 중금속의 흡수와 탈착반응이 단시간내에 이루어지며<sup>6,7)</sup>, 고정화된 미생물은 재사용할 수 있을 뿐만 아니라<sup>8,9)</sup>, 미생물 군체의 폐기처리가 크게 문제되지 않으므로 현행 물리화학적 처리방법보다 훨씬 더 효과적인 방법이라 할 수 있으며<sup>10)</sup>, 실제 하수슬러지중의 중금속처리시 화학적 처리방법에 비하여

생물학적 처리방법은 비용을 80% 절감한다는 보고도 있다<sup>11)</sup>. 따라서 현행 중금속 등 독성오염물질의 처리 방법인 물리·화학적 처리방법을 대체할 수 있는 생물학적 처리방법에 의한 고효율의 중금속 등 독성오염물질의 처리 및 회수에 관한 기술개발은 중요한 일이라 아니할 수 없다.

따라서, 본 연구는 중금속오염폐수처리에 미생물의 이용 가능성을 검토하기 위한 기초실험으로서 본인들이 이미 분리한 중금속 내성균의 균체내 중금속 축적기작을 밝히기 위하여 전보<sup>12)</sup>에 이어서 competing ion, 대사저해제 등 외부요인에 따른 균체내 중금속 축적변화를 조사하였다.

재료 및 방법

공시 중금속 내성균주 및 배지

본 실험에 사용한 중금속 내성균주는 본인들이 광산폐수 및 산업폐수로부터 이미 분리한 Cd, Pb, Zn 및 Cu 내성 균주인 *Pseudomonas putida*, *P. aeruginosa*, *P. chlororaphis* 및 *P. stutzeri*를 사용하였으며<sup>13)</sup>, 균주의 배양은 basal medium(glucose 10g, polypepton 10g, yeast extract 5g, NaCl 5g, D.W 1000ml, pH 6.0)에 중금속을 필요한 농도로 첨가한 액체배지를 사용하였다.

균체의 수확 및 중금속처리

균체는 Cho 등<sup>14)</sup>과 같은 방법으로 수확하였으며, 균체의 중금속 처리는 각 중금속 화합물(CdCl<sub>2</sub>, Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, ZnCl<sub>2</sub>, CuSO<sub>4</sub>)을 중금속 이온 농도로서 10,000mg/l이 되게 조제한 표준용액을 다시 일정한 농도가 되도록 멸균증류수로 희석 조제하여 처리하였다.

중금속 분석

균체내에 축적된 중금속 축적량과 용액중에 남아있는 중금속 잔존량은 Cho 등<sup>14)</sup>과 같은 방법으로 시료를 전처리한 다음, atomic absorption spectrophotometer (Shimadzu AA-680, Japan) 및 inductively coupled plasma spectrometer(ICP, Atomscan25, TJA, U.S.A.)로 정량하였다.

균체내 중금속 축적에 미치는 competing ion의 영향

중금속을 포함한 다른 양이온들과 음이온들이 용액내에 competing ion으로 존재할 경우의 균체내 중금속 축적 변화는 Nakajima 등과 Tobin 등의 방법<sup>15-17)</sup>에 따라 중금속이 100mg/l의 농도로 첨가된 용액에 competing ion으로서 양이온(Na<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>,

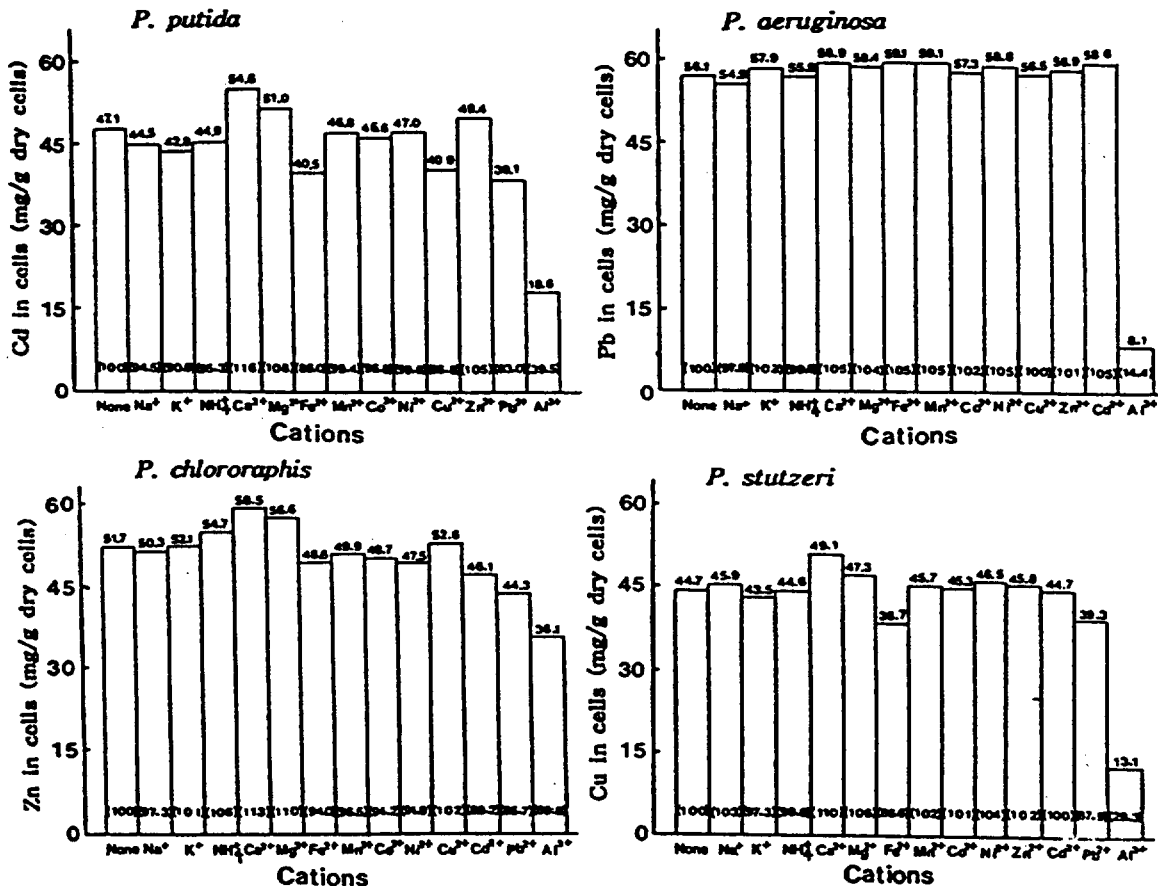


Fig. 1. Effect of various cations on accumulation of each heavy metal by each heavy metal-tolerant microorganism. The precultured microorganism cells(dry weight ; *P. putida* 160mg, *P. aeruginosa* 180mg, *P. chlororaphis* 150mg or *P. stutzeri* 180mg) were suspended in 100ml of each solution treated with 100mg/l of each heavy metal and 50mg/l of each cation.

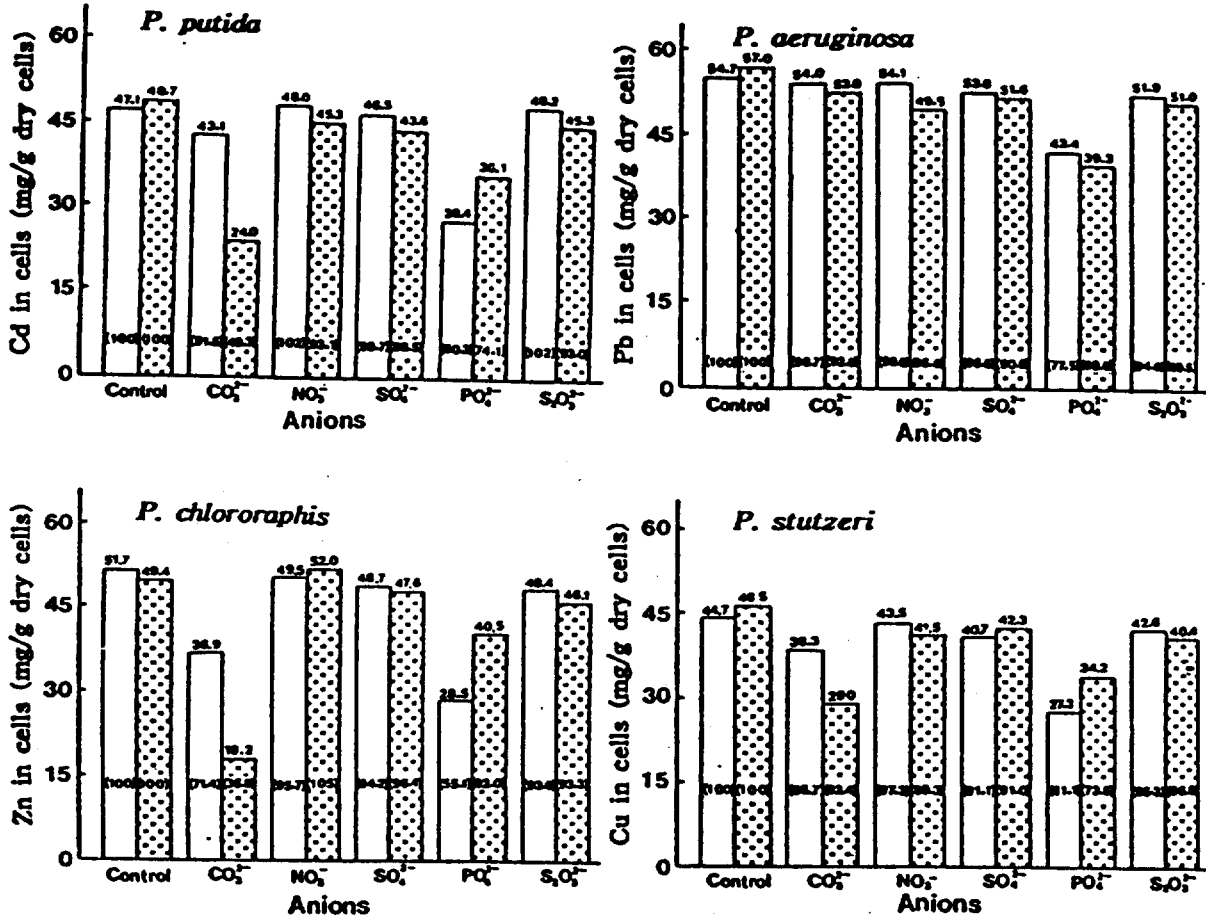


Fig. 2. Effect of various anions and pH on accumulation of each heavy metal by each heavy metal-tolerant microorganism. The precultured microorganism cells(dry weight ; *P. putida* 160mg, *P. aeruginosa* 180mg, *P. chlororaphis* 150mg and *P. stutzeri* 180mg) were suspended in 100ml of each solution treated with 100mg/l of each heavy metal or 50mg/l of each anion (applied as sodium) at pH 6.0 and pH 8.0.

□ : pH 6    ▤ : pH 8

Cd<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup>)들과 음이온(CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>)들을 50mg/l의 농도가 되도록 첨가한 다음 준비된 균체를 접종하여 30℃에서 진탕시켜 처리 48시간 후의 중금속축적량을 조사하였다.

### 균체내 중금속 축적에 미치는 대사저해제의 영향

대사저해제 처리에 따른 중금속 축적변화는 준비된 건조 균체 100mg을 dinitrophenol(DNP), 2,4-D 및 NaN<sub>3</sub>가 1mM 및 0.1mM 농도로 첨가된 용액 50ml에 접종하여 실온에서 30분동안 교반시킨 다음 균체를 회수하여 멸균증류수로 세척한 후 각 중금속을 100mg/l 농도로 첨가한 용액 100ml에 접종하여 처리 48시간 후의 중금속 축적량을 조사하였다.

### 타 중금속 축적 능력

공시균주들의 해당 중금속의 타 중금속들의 축적능력은 중금속이 첨가되지 않은 기본배지에서 배양한 균체를 원심분리기로 회수하여 각 중금속(Cd, Pb, Zn, Cu)들이 100mg/l의 농도가 되게 각각 단독적으로 첨가된 용액에 접종하였을

경우와 각 중금속 농도가 100mg/l이 되도록 복합처리(Cd + Pb + Zn + Cu)된 용액에 접종하였을 경우의 각 중금속 축적량을 서로 비교하여 조사하였다.

### 결과 및 고찰

#### 균체내 중금속 축적에 미치는 competing ion의 영향

중금속이 100mg/l 농도로 첨가된 용액(pH 6.0) 100ml에 competing ion으로서 -chloride(Cl) group을 가지고 있는 양이온들과 sodium(Na)- group을 가진 음이온들을 50mg/l 농도가 되도록 각각 첨가한 다음, 각 중금속 내성균체를 처리하여 처리 48시간 후의 균체내 중금속 축적양상을 조사한 결과는 Fig. 1 및 2와 같다.

양이온들이 용액내에 competing ion으로 존재할 경우 Fig. 1에서 보는 바와 같이 Ca<sup>2+</sup> 이온이 competing ion으로 존재할 경우에는 Cd, Pb, Zn 및 Cu 내성균주에 의한 각중금속 축적량은 각각 약 15.9, 5.0, 13.2 및 9.8%씩 증가되었으나 Al<sup>3+</sup> 이온이 competing ion으로 존재할 Cd은 약 60.6%, Pb은

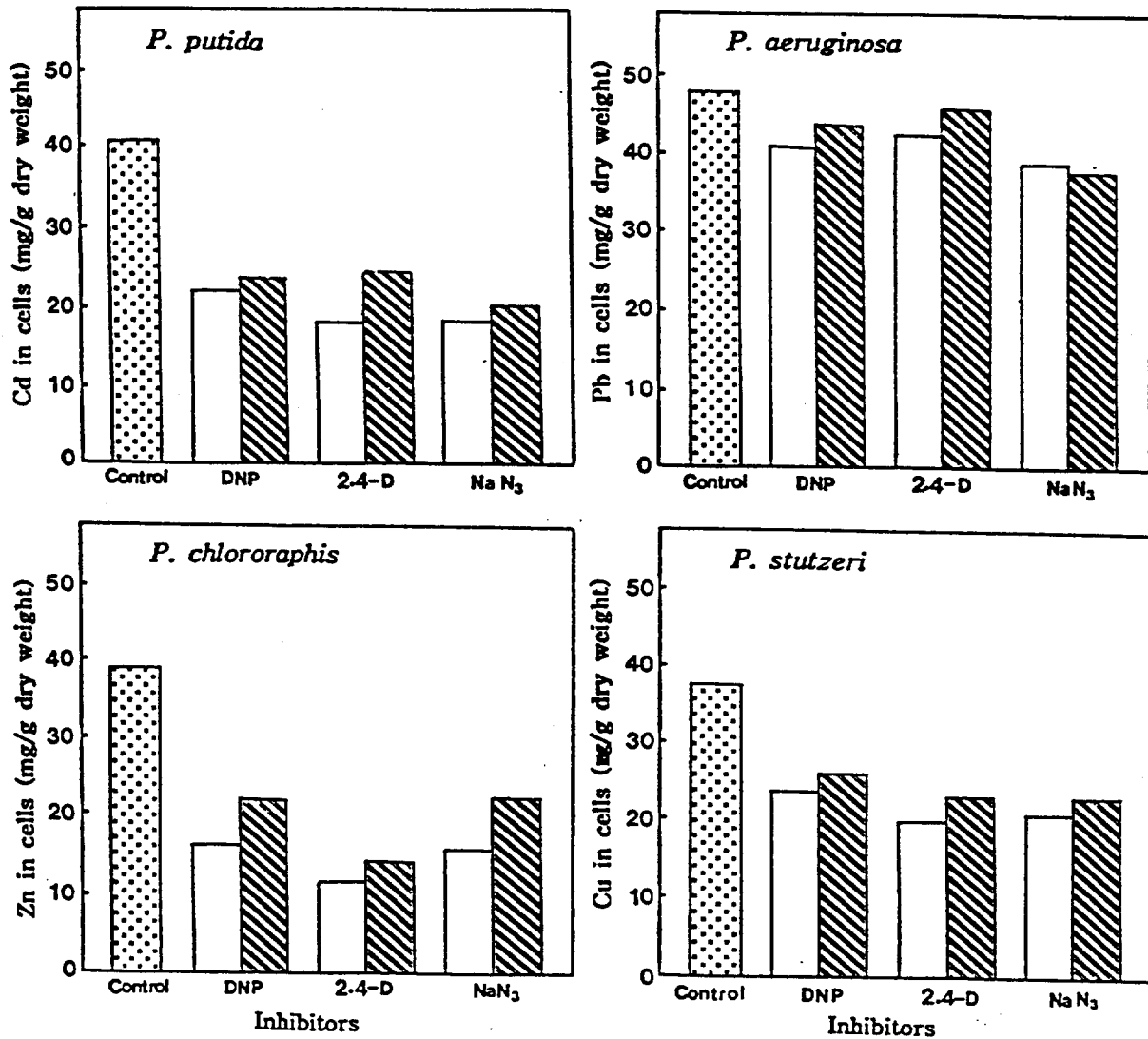


Fig. 3. Effect of metabolic inhibitors on the uptake of heavy metals by heavy metal-tolerant microorganisms. The precultured heavy metal-tolerant microorganism cells(100mg/dry cell) were treated with inhibitors by suspending the cells in 50ml of a solution containing DNP, 2,4-D or NaN<sub>3</sub>(103M or 104M) with continuous stirring for 48 hours.

□ : 1.0 × 10<sup>-3</sup>M    ▨ : 1.0 × 10<sup>-4</sup>M

약 85.6%, Zn은 약 30.2%, Cu는 70.7%씩 감소되어 Al<sup>3+</sup>이온이 존재하지 않을 경우에 비하여 중금속 축적량이 크게 감소되었으며, 그외의 양이온들에 대해서는 큰 영향을 받지 않았다.

그리고 음이온들이 용액내에 competing ion으로 존재할 경우에는 Fig. 2에서 보는 바와 같이 Cd, Zn 및 Cu 내성균주의 경우 CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>이온과 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>이온이 존재할 경우 축적량이 크게 감소되었으며, Pb 내성균주의 경우에는 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>이온이 존재할 경우 약간 감소되었으나, 그외의 음이온들에 대해서는 큰 영향을 받지 않았다. 이러한 결과는 Nakajima 등<sup>15)</sup>이 *Chlorella regularis*에 의한 uranium 축적에 양이온과 음이온이 미치는 영향을 조사한 결과와 비슷한 경향이였다.

본 실험에서 Ca<sup>2+</sup>이온에 의해서 중금속 축적량이 약간씩 증가되었는데, 이러한 이유는 미생물 생육에 필수원소인

Ca과 중금속 이온간의 양이온 치환반응, 또는 Ca을 carrier로 이용하여 중금속이 균체내에 빠르게 흡수 이동되어 미생물 체내에서 생성된 물질들과 금속복합체를 형성함으로써<sup>8,16,18)</sup> 증가되는 것으로 생각되었다. Tobin 등<sup>16,17)</sup>은 *Rhizopus arrhizus*를 대상으로 10종류의 이온에 대한 흡수력을 조사한 결과 이온의 반경이 커지면 흡수정도가 증가하고 수화물의 반경이 커지면 흡수정도가 감소된다고 하였으며, Norberg 등<sup>4)</sup>은 *Zoogloea ramigera*에 의한 Cu<sup>2+</sup>이온의 흡수에 있어서 Mg<sup>2+</sup>이온 혹은 Na<sup>+</sup>이온보다 3가인 Al<sup>3+</sup>이온에 의하여 더 크게 감소되었다고 하였다. 본 실험에서도 Al<sup>3+</sup>이온에 의해서 중금속 축적량이 크게 감소되었는데, 이러한 결과는 Norberg 등<sup>4)</sup>의 결과와 유사한 경향으로서 Al<sup>3+</sup>이온은 원자가가 크므로 세포내 중금속 이온이 결합되는 부위에 우선적으로 Al<sup>3+</sup>이 결합되어 중금속의 결합을 경쟁적으로 방해하기 때

문인 것으로 생각되었다.

그리고 Tobin 등<sup>16,17)</sup>은 수용액내에 EDTA(ethylenediamine tetraacetate), sulfate, chloride, phosphate, carbonate 등과 같은 음이온이 존재할 경우, 미생물 체내의 중금속 이온 결합부위에 이들 음이온이 중금속 양이온과 경쟁적으로 결합하므로 중금속 흡수율은 감소하게 된다고 하였으며, 본 실험에서도 음이온인  $CO_3^{2-}$  이온과  $PO_4^{3-}$  이온이 용액내에 존재할 경우 중금속 축적량이 크게 감소되었는데, 이러한 결과는 용액내에 존재하는  $CO_3^{2-}$  이온과  $PO_4^{3-}$  이온이 중금속 이온과 우선적으로 결합되어  $-(H_2PO_4)^{3-}$ ,  $-(H_2PO_4)_2^{2-}$  또는  $-CO_3$ ,  $-(CO_3)_2^{2-}$ ,  $-(CO_3)_3^{4-}$  등의 안정한 화합물 형태로 되어

미생물 체내로 흡수될 수 없었기 때문인 것으로 생각되었다.<sup>16~17)</sup>

**균체내 중금속 축적에 미치는 대사저해제의 영향**

균체내 중금속 축적이 세포표면에 흡착되는 물리적인 과정에 의한 것인지 미생물 대사작용에 의해 세포내부로 흡수되는 것인지를 조사하기 위하여 대사저해제인 DNP, 2,4-D 및  $NaN_3$ 를 1mM 및 0.1mM 농도로 처리하여 균체내 중금속 축적양상을 조사한 결과 Fig. 3에서 보는바와 같이 Pb 내성균주에 의한 Pb 축적은 거의 영향을 받지 않는 것으로

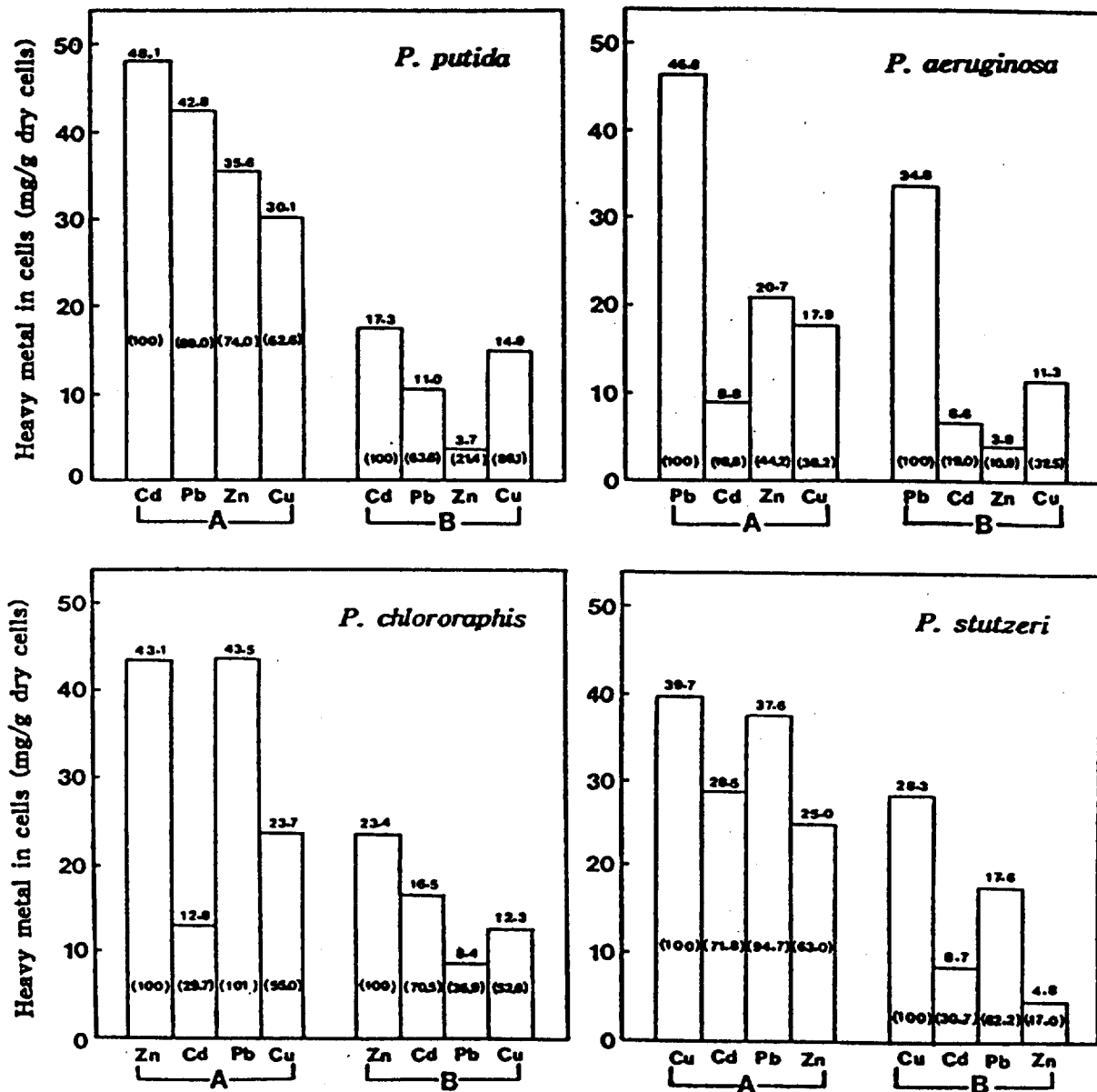


Fig. 4. Accumulation of heavy metals by each heavy metal-tolerant microorganism in solution treated with 100mg/ℓ of each heavy metal or mixed heavy metals.

The precultured microorganism cells(dry weight ; *P. putida* 160mg, *P. aeruginosa* 180mg, *P. chlororaphis* 150mg or *P. stutzeri* 180mg) were suspended in 100ml of solution(pH 6.0) treated with 100mg/ℓ of each heavy metal or mixed heavy metals. A : Treated with each heavy metal B : Treated with mixed heavy metals

나타으나, Cd, Zn 및 Cu 내성균주의 Cd, Zn 및 Cu 축적은 대사저해제에 의하여 크게 감소되었으며, 대사저해제의 농도가 높을수록 더 크게 감소되었다.

이러한 결과들은 전보<sup>12)</sup>에서의 온도 및 pH에 따른 균체내 중금속 축적양상을 조사한 결과에서 Cd, Zn 및 Cu 내성균주에 의한 각 중금속 축적은 온도와 pH에 크게 영향을 받았으나, Pb 내성균주에 의한 Pb 축적은 온도와 pH에 별로 영향을 받지 않는 것으로 나타난 결과들과 비슷한 경향을 나타내었으며, 따라서 Cd, Zn 및 Cu 내성균주의 Cd, Zn 및 Cu 축적은 물질대사와 관련되어 있는 에너지 의존적인 과정에 의하여 축적되는 것으로 생각되었으며, Pb 내성균주의 Pb 축적은 에너지 비의존적인 과정으로서 물질대사와 관련이 별로 없는 물리적인 과정에 의하여 축적되는 것으로 생각되었다.

### 타 중금속 축적능력

중금속 내성균주들의 해당 중금속의 타 중금속들의 축적능력을 조사하기 위하여 여러가지 중금속(Cd, Pb, Zn, Cu)들이 100mg/l 농도가 되게 각각 단독적으로 첨가된 용액에 각 균체를 처리하였을 경우와 각 중금속 농도가 100mg/l씩 되도록 동시에 복합처리(Cd+Pb+Zn+Cu)된 용액에 각 균체를 처리하였을 경우의 중금속 축적량을 조사한 결과는 Fig. 4에서 보는바와 같다.

각 중금속 내성균주들은 해당 중금속들의 축적능력에 비하여는 낮았지만 다른 중금속들에 대해서도 축적능력이 있는 것으로 나타났으며, 각 중금속을 단독 처리하였을 때 중금속 축적량은 Cd 내성균주의 경우 Cd>Pb>Zn>Cu의 순이었고, Pb 내성균주의 경우에는 Pb>Zn>Cu>Cd순이었으며, Zn 내성균주의 경우 Zn>Pb>Cu>Cd순, 그리고 Cu 내성균주의 경우에는 Cu>Pb>Cd>Zn순으로 해당 중금속의 축적 능력이 가장 높았으며, 여러가지 중금속들을 동시에 복합적으로 처리(Cd+Pb+Zn+Cu)하였을 경우에도 해당 중금속의 축적량은 중금속을 단독적으로 처리하였을 경우에 비하여 감소되었으나 타 중금속들에 비하여 매우 높은 축적능력을 나타내었다.

Tobin 등<sup>16,17)</sup>은 *Rhizopus arrhizus*를 대상으로 10종류의 이온에 대한 흡수력을 조사한 결과 이온의 반경이 커지면 흡수정도가 증가하고 수화물의 반경이 커지면 흡수정도가 감소된다고 하였으며, Norberg 등<sup>4)</sup>은 Cu<sup>2+</sup> 이온의 흡수에 있어서 Mg<sup>2+</sup> 이온 혹은 Na<sup>+</sup> 이온보다 3가의 Al<sup>3+</sup> 이온이 더 크게 흡수를 저해한다는 실험결과로부터 원자가가 중금속 이온의 흡수에 영향을 미친다고 보고하였다. 또한, Nakajima 등<sup>19)</sup>은 *Pseudomonas*속과 *Streptomyces*속 균체가 중금속 이온들을 선택적으로 흡수함을 보고하였으며, Gadd 등<sup>20)</sup>은 미생물에 의한 중금속이온의 선택적 흡수는 금속이온들간의 상호 경쟁에 의해 결정된다고 하였다. 그리고 Nakajima 등<sup>20)</sup>은 uranium 축적 능력이 있는 *Chlorella regularis*에 의한 여러가지 중금속들에 대한 축적능력을 조사한 결과 UO<sub>2</sub><sup>2+</sup>

>>Cu<sup>2+</sup>>>Mn<sup>2+</sup>>Ba<sup>2+</sup>>Zn<sup>2+</sup>>>Co<sup>2+</sup>>Cd<sup>2+</sup>>Ni<sup>2+</sup>>Sr<sup>2+</sup>의 순으로 축적능력을 나타내어 *Chlorella regularis*에 의한 U 축적은 선택적인 흡수에 의한 것이라고 하였으며, 본 실험에서도 여러가지 중금속들을 단독 또는 복합처리하였을 경우 해당 중금속들의 축적량이 다른 중금속들에 비하여 매우 높게 나타났으므로 공시균주들에 의한 해당 중금속들의 축적은 선택적인 과정에 의하여 축적되는 것으로 생각되었다.

### 적 요

중금속오염폐수처리에서의 미생물 이용 가능성을 검토하기 위하여 중금속에 강한 내성을 지닌과 동시에 균체내 중금속 축적능력이 우수한 중금속 내성균을 분리하여 competing ion, 대사저해제 등과 같은 외부 요인에 따른 균체내 중금속 축적변화를 조사한 결과는 다음과 같다.

중금속을 처리한 용액중 양이온인 Al<sup>3+</sup> 이온과 음이온인 CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> 및 PO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 이온이 competing ion으로 존재할 경우 중금속 내성균의 균체내 중금속 축적은 크게 감소되었으나, 그의 다른 양이온들과 음이온들에 대해서는 거의 영향을 받지 않았다.

Cd, Zn 및 Cu 내성균주의 Cd, Zn 및 Cu 축적은 대사저해제에 의하여 크게 감소되었으나, Pb 내성균주에 의한 Pb 축적은 거의 영향을 받지 않는 것으로 나타나 Cd, Zn 및 Cu 내성균주의 Cd, Zn 및 Cu 축적은 에너지 의존적인 과정으로서 물질대사와 관련되어 있는 것으로 생각되었으며, Pb 내성균주의 Pb 축적은 에너지 비의존적인 과정으로서 물질대사와 관련이 별로 없는 물리적인 과정에 의하여 축적되는 것으로 생각되었다.

각 중금속 내성균주들은 해당 중금속 축적능력에 비하여 낮았으나 타 중금속들의 축적능력도 있었으며, 여러가지 중금속들을 동일 농도로 복합처리 하였을 경우 해당 중금속들의 축적능력이 타 중금속들에 비하여 매우 높게 나타나 각 중금속 내성균주들의 해당 중금속 축적은 선택적인 과정에 의하여 축적되는 것으로 생각되었다.

### 참고문헌

1. 조순행, "물리화학적처리", 유해폐기물 관리기술 심포지움, 1988. 한국과학기술원.
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. Norberg, A.B. and H. Persson, 1984. Accumulation of heavy metal ions by *Zoogloea ramigera*. *Biotechnol. Bioeng.* 26 : 239~246.
5. Kuyucak, N. and B. Volesky, 1989. Accumulation of

- cobalt by marine alga. *Biotechnol. Bioeng.* **33** : 809~814.
6. 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.
  7. Tsezos, M., 1984. Recovery of uranium from biological adsorbents-desorption equilibrium. *Biotechnol. Bioeng.* **26** : 973~981.
  8. Treen-Sears, M.E., B. Volesky, and R.J. Neufeld, 1984. Ion exchange/complexation of the uranyl ion by *Rhizopus* bio-sorbent. *Biotechnol. Bioeng.* **26** : 1323~1329.
  9. 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.
  10. 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.
  11. 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.
  12. Cho, J.S., H.J. Lee and J.S. Heo, 1996. Effect of external factors on heavy metal accumulation in the cell of heavy metal-tolerant microorganisms. *Kor. J. Environ. Agric.* **16**(2) : 144~150.
  13. 허종수 외. 1996. 난분해성 독성 오염물질 분해 미생물의 수처리 이용에 관한 연구(IV). 농촌진흥청 보고서.
  14. 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*, *J. Korean Environ. Sci. Soc.*, **5**(3) : 317~327.
  15. Nakajima. A., T.Horikoshi, and Sakaguchi. 1979. Ion effects on the uptake of uranium by *Chlorella regularis*. *Agric. Biol. Chem.* **43**(3) : 625~629.
  16. Tobin, J.M., D.G. Cooper, and R.J. Neufeld. 1988. The effect of cation competition on metal adsorption by *Rhizopus arrhizus* biomass, *Biotech. Bioeng.* **31** : 282~286.
  17. Tobin, J.M., D.G. Copper, and R.J. Neufeld. 1987. Influence of anions on metal adsorption by *Rhizopus arrhizus* biomass. *Biotech. Bioeng.* **30** : 882~886.
  18. Marquis, R., K. Mayzel and E.L. Carstensen, 1976. Cation exchange in cell walls of gram-positive bacteria. *Can. J. Microbiol.* **22** : 975~982.
  19. Nakajima, A. and T. Sakaguchi, 1986. Selective accumulation of heavy metals by microorganisms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **24** : 59~64.
  20. Gadd, G.M. and C. White, 1989. Removal of thorium from simulated acid process streams by fungal biomass. *Biotechnol. Bioeng.* **33** : 592~597.