Korean Journal of Life Science
Vol. 13. No. 4. 421~427, 2003

Enterobacter intermedious KH410의 중금속 흡착 특성

김영희* · 정영기 · 김광현 · 김병우 · 정경태 · 김병석 · 박지원[1] · 이동준 · 신현철 · 이승기

동의대학교 생명응용과학과
[1]부산대학교 대학원 제약학과

Characteristics of Heavy Metal Biosorption by *Enterobacter intermedious* KH410

Young-Hee Kim*, Yong-Kee Jeong, Kwang-Hyeon Kim, Byung-Woo Kim, Kyung-Tae Chung, Byung-Suk Kim, Ji-Won Park[1], Dong-Jun Lee, Hyun-Chul Shin and Seung-Gee Lee

Department of Life Science and Biotechnology, Dong-Eui University, Busan 614-714, Korea
[1]College of Pharmaceutical, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

Abstract

A natural habitat bacterium, *Enterobacter intermedious* KH410 was isolated from freshwater plant root and identified. Adsorption of heavy metals such as lead, cadmium, and copper by this strain was examined. The minimal inhibitory concentrations(MIC) for each metal were 1.78 mM for lead, 0.17 mM for cadmium and 1.39 mM for copper, respectively. Maximum production of dried cell was 2.56 g/ℓ in LB medium containing 0.5% NaCl, 1% yeast extract and 1% of lactose. Optimal conditions for adsorption were 0.6 dry g-biomass, at pH 4.0 and the temperature of 20℃. Adsorption equilibrium reached maximum after 30 min in 400 ㎎/ℓ metal solution. The adsorption capacity (K) of copper was 1.5 times higher than that of cadmium and lead was 1.1 times higher than that of cadmium. From the results obtained in this study, Freundlich adsorption model was applicable for all metals. Adsorption strength (1/n) of heavy metal ions were in the order of cadmium>copper>lead. The adsorption of dried cell for lead, cadmium, and copper was 56.2, 58.0, 55.8 ㎎/g-biomass, respectively. Pretreatment to increase ion strength was the most effective with 0.1 M NaOH whereas slight difference was found both KOH and $CaCl_2$ upon same concentration. Effective desorption was induced by 0.1 M EDTA for lead and 0.1 M HNO_3 for cadmium and copper.

Key words – adsorption, Cd, Cu, Pb, Enterobacter intermedious KH410

서 론

중금속에 의한 환경오염의 심각성은 산업 폐수로 인한 수질의 오염에서 기인한다[13,19]. 중금속 함유 폐수처리에서 화학적 침전법이 많이 이용되는 것은 운전의 용이와 저렴한 비용 때문이다. 그러나 이 방법은 2차 오염의 발생과 100 ㎎/ℓ 이하의 저농도에서 중금속 제거율이 낮으며 중금속이 동시에 존재할 때 처리효율이 떨어진다는 단점을 가지고 있다[3].

따라서 이러한 단점을 보완하기 위한 새로운 처리법으로서 생물체(biomass)[20]를 이용하여 중금속이나 방사성

*To whom all correspondence should be addressed
Tel : 051-890-1535, Fax : 051-890-1532
E-mail : yhkim@hyomin.dongeui.ac.kr

물질을 제거하는데 이용하고 있는데 지금까지 알려진 미생물 흡착제로는 세균[1,12,16], 진균[2,8,18], 조류[17] 등이 알려져 있다. 어떤 미생물도 이온 흡착 가능한 많은 부위가 있으며 어느 한 형태의 분자나 기능 group 만이 금속 흡착에 관여하는 것은 아니다[18]. 생물흡착의 주요기전은 크게 세포벽 성분에의 흡착, 세포외 고분자와의 표면 결합(surface binding), 효소 분비물에 의한 불활성화와 표면 침전(surface precipitation), 세포내 단백질과의 화합물 형성, 세포내에서의 중금속의 변화, sidophores에 의한 내부축적(intracellular accumulation)으로 나누고 있으나 현재 세포 표면 흡착이 주로 연구되고 있으며 넓은 미생물의 표면에 흡착시켜 제거하는 생물 흡착법이 주목 받고 있다[2-7, 9,15,18].

본 실험에서는 우리나라 자연계 미생물의 자정력을 조사하기 위하여 담수 식물의 근계에 부착한 토착 미생물을 분리하고[4,10], 분리된 균주 중 중금속에 대한 영향을 비교[11,14] 조사하기 위하여 분리된 균종인 *Enterobacter intermedious* KH410을 이용하여 독성 중금속인 납과 카드뮴, 구리를 이용하여 최저 생육 저지 농도, 최적 조건에서의 중금속 흡착효율을 파악함으로써 분리 균주의 중금속간의 특성에 대한 기초 연구를 수행하여 보다 효율적인 중금속 제거기반을 마련하고자 하였다.

재료 및 방법

사용균주 및 배양

우리나라 남부지역의 담수에 서식하는 수초의 뿌리에서 분리된 균[10]을 미생물 자동 동정시스템 분석기 (E-10136, Biolog Microstation, Biolog, USA)를 사용하여 동정하고 similarity 값 0.5 이상을 신뢰도 값으로 하여 중금속에 대한 저항성을 나타내는 균주를 선별하여 사용하였다. 사용균주를 선별하기 위한 배지로는 일정량의 중금속과 0.5% NaCl을 첨가한 Nutrient broth를 사용하였으며, 균체 회수를 위한 배지로는 LB(Luria-Bertani)배지를 사용하였으며 최대 균체 생산량을 유도하기 위하여 최적 pH, 온도의 설정 및 탄소원, 질소원 등을 첨가하여 생산 균체량을 비교하였다.

균체 건조법

중금속 흡착을 위한 균체의 준비를 위하여 배양액을 원심분리(3,000×*g*, 30분)한 후 멸균수로 현탁 및 세척과정을 거쳐서 다시 원심분리 하였다. 이 과정을 2회 더 반복한 다음 20 ㎖의 멸균수에 현탁하고, 동결건조기(Freeze dryer FD-1, Eyela, Japan)내에서 진공이 된 상태에서 72 시간 급속 동결한 후 건조과정을 거쳐 수분을 제거하고 분말화하여 사용하였다.

중금속 용액 제조 및 정량

사용 중금속으로는 질산염인 $Pb(NO_3)_2$, $Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_20$, $Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_20$를 사용하였으며, 이것을 3차 탈 이온수에 녹여 일정한 농도로 맞춘 후 멸균하여 사용하였다. 혼합 중금속은 각각의 중금속을 동일한 비율로 섞어 3차 탈 이온수에 녹여 일정한 농도로 맞춘 후 멸균하여 사용하였다. 중금속 정량을 위해 원자흡광광도계(Atomic adsorption spectrometry, Shimazu AA6500 series, Japan)을 사용하였다. 각각의 중금속 표준용액을 적정 농도로 희석한 후 표준 검량선을 작성하였고, 예비 측정을 거쳐 검량선의 측정 가용 농도 범위를 정하였으며, 시료도 검량선의 범위에 들어가도록 희석하여 측정, 정량하였다

최저 생육 저지 농도 (MIC)

적정 농도의 단일, 혼합 중금속을 함유한 최적조건 배지(500 ㎖, 200 ㎖)의 전 배양액을 접종 후 배양하였으며, 배양액에서 4 ㎖을 취하여 분광광도계(Shimazu, UV-160A, Japan)를 사용하여 600 nm에서 배양상태를 확인하였다. MIC의 결과에 따라 실험에 적용할 중금속 농도를 정하였다. 전 실험의 모든 결과는 4번이상의 반복과정을 거쳤다.

흡착관련 계산식

흡착에 관련된 모든 계산식은 다음과 같다[6].

$$q = \frac{V(Ci - Cf)}{M}$$: 흡착량의 단순계산 (1)

q : 중금속의 흡착량

V : 반응 용액의 부피 (ℓ)

Ci, Cf : 초기, 최종 상등액의 중금속량 (㎎/ ℓ)

M : 흡착제의 건조무게 (g biomass)

$$\ln q = (\frac{1}{n}) \ln Ceq + \ln K$$: 매개변수를 구하기 위한 선형식 (2)

K : 흡착 용량

$\frac{1}{n}$:흡착강도

$q = K \times Ceq^{\frac{1}{n}}$: Freundlich, Langmuir 상수식 (3)

q : 흡착제 무게당 중금속의 흡착량 (㎎/g biomass)

Ceq : 잔류 중금속 평형농도 (㎎/ℓ)

K, $\frac{1}{n}$: 흡착제의 특성에 따라 결정되는 매개변수

$\ln q = \frac{bQmaxCeq}{1+bCeq}$: 단분자 흡착을 전제로 하여 얻어진 Langmuir 흡착 등온식 (4)

q : 흡착제 무게당 중금속의 흡착량 (㎎/g biomass)

b : 흡착으로 인한 자유도 감소와 에너지 상태의 차이를 반영하는 평형 상수

Qmax : 최대 흡착량 (㎎/g biomass)

Ceq : 용액의 평형 농도 (㎎/ℓ)

$\frac{1}{q} = \frac{1}{bQmax} \times \frac{1}{Ceq} + \frac{1}{Qmax}$: (4)식의 선형화식 (5)

균체 생산을 위한 배양 최적화 조건

실험균주의 배양과 균체의 최대 생산을 위해 배지, 탄소원, 질소원, NaCl농도, 온도(20℃, 28℃, 38℃), pH(2-8)별로 달리하여 배양상의 생육정도를 검토하였으며, 전배양액(1%)을 접종한 배지에서 일정량을 채취하여 분광광도계로 생육도(600 nm)를 측정하였다.

흡착실험 및 최적 흡착조건

중금속 이온에 대한 균체의 흡착력과 흡착 평형에 필요한 시간을 확인하기 위해 표준 중금속 시료(100 ㎎/ℓ, 100 ㎖)에 0.6 g 건조 균체를 가한 후 진탕배양기(28℃, 140 rpm)에서 교반시키며 일정 시간별로 1 ㎖의 시료를 채취하였고, 원심분리(10,000 × *g*, 10분)한 후 상등액만을 취하여 중금속 농도를 희석하여 원자 흡광광도계를 사용하여 각각의 잔존 중금속 이온의 농도를 측정하였다. 흡착 최적조건을 위하여 각각의 중금속 시료에 0.2 g, 0.4 g, 0.6 g, 0.8 g, 1.0 g, 1.2 g의 건조균체를 첨가한 후 일정 시간별로 반응을 관찰하여 흡착 정도를 확인하였다. 또한 최적 균체량에 대해 반응 온도를 20℃, 30℃, 40℃로 변화시켜 흡착 평형정도를 비교하였으며 최적 균체량과 온도의 조건에서 pH를 2-7의 범위로 조절 후 시간별로 흡착평형의 결과를 검토하였다.

전처리 및 탈착

중금속의 양이온과 균체의 음이온 결합의 강도를 높이기 위하여 0.1 M의 NaOH, KCl, $CaCl_2$의 전처리제를 조제하고 건조 균체를 현탁한 후 4시간 정도 반응시킨 후 균체를 회수하고 탈 이온수로 세척한 상태에서 유리 column (18×130 mm)에 충진한 후 흡착 평형에서 제거된 중금속량을 정량하였다. 한편 중금속 회수를 위한 탈착제의 성능을 0.1 M농도의 HCl, HNO_3, EDTA를 이용하여 1000 ㎎/ℓ 농도의 용액중 100 ㎖을 취하여 0.6 g biomass로 흡착시킨 후 상등액에서 잔존 중금속량을 정량하여 제거된 중금속량을 계산하여 기준값으로 하고 탈착제를 처리하고 난 후의 상등액의 동일 부피내의 중금속 농도를 측정하여 탈착율을 측정하여 가장 효율적인 탈착제를 확인하였다.

결과 및 고찰

사용균주 선별 및 균체 생산

담수에 서식하는 수초의 뿌리에서 분리된 균종중[10]에서 단위 농도별 중금속에 대한 상대적인 저항성이 높은 특성을 나타내는 균주를 선별하여 미생물 자동동정기로 분석하여 *Enterobacter intermedious*를 선정하고 이를 *Enterobacter intermedious* KH410로 명명하여 실험에 사용하였다. 분리된 균주를 대상으로 생육 최적 조건을 검토한 결과는 Table 1에 나타내었으며 흡착에 최종적으로 사용될 균체 생산은 LB 배지에 1%의 lactose, 1%의 yeast extract, 0.5% NaCl를 첨가하고 배양 온도는 20℃에서 24시간 배양하였으며 이러한 조건에서 생산된 최대 균체 생산량은 2.56 g/ℓ-biomass이었으며 실험의 전 과정에 사용하였다.

최저 생육 저지 농도(MIC)

미생물마다 중금속에 대한 저항[13]은 각기 다르므로 중금속과의 반응시 미생물의 생육 가능한 농도의 설정 및 중금속과의 반응에서 침전을 최소화할 수 있는 최저농도의 결정은 매우 중요하다[6]. 실험 대상의 단일 중금속에 대한 최저 생육 저지 농도는 Table 2에 나타내었다. 본 균은 단일 중금속의 경우에는 납에 대한 저항성이 가장 큰 것으로

Table 1. Optimal growth conditions of *E. intermedious* KH410 for biomass production

Growth Condition	Results
Medium	Luria-Bertani
Nitrogen source	1% Yeast extract
Carbon source	1% Lactose
Temperature (℃)	20
NaCl (%)	0.5
pH	7.0
Incubation time (hrs)	24
Biomass production	2.56g-DCW/ ℓ - medium

DCW : dry cell weight.
Bacteria were grown in LB broth at 20℃ for 24 hr. (n=4)

Table 2. Minimal inhibitory concentration of heavy-metals on *E. intermedious* KH410

Heavy-metal ions	MIC (mM)
Pb^{2+}	1.78
Cd^{2+}	0.17
Cu^{2+}	1.39
Mixed ions	1.64

나타났으며 카드뮴에 대한 저항성은 다른 세균에 비하여 10배 정도 낮은 것으로 나타났다[6]. 혼합 중금속의 경우에는 중금속간의 경쟁적인 흡착으로 세포벽의 구조 및 통과 농도의 확산에 의하여 차이가 크며 다양한 양상을 나타낸다고 보고되었으며[11,19] 본 결과에서는 최저 생육 저지 농도가 1.64 mM로 단일 중금속보다 비교적 높게 나타났다.

최적흡착조건

세균과 중금속과의 반응은 각각의 세균별 특성 및 중금속별로 다양한 특성을 나타낸다. 생흡착제로서 사용 가능한 균주중에서는 흡착정도나 양상 또한 다르다. 사용균주에 대한 균체량별로 중금속 흡착에 따른 결과는 Fig. 1에 나타내었다. 균체량별 흡착량은 균체량이 증가할수록 흡착률 역시 증가함을 보였지만, 그 효율을 비교하였을 때 0.6 g에서 가장 우수한 흡착 효율을 확인할 수 있었으며 이 양은 앞서 행한 *Pseudomonas*[14]의 경우인 1 g보다는 적은 량으로 흡착에 소량의 균체를 적용 시킬 수 있음을 알 수 있었다.

중금속 흡착량은 온도의 영향을 받는데 온도가 20℃ 이

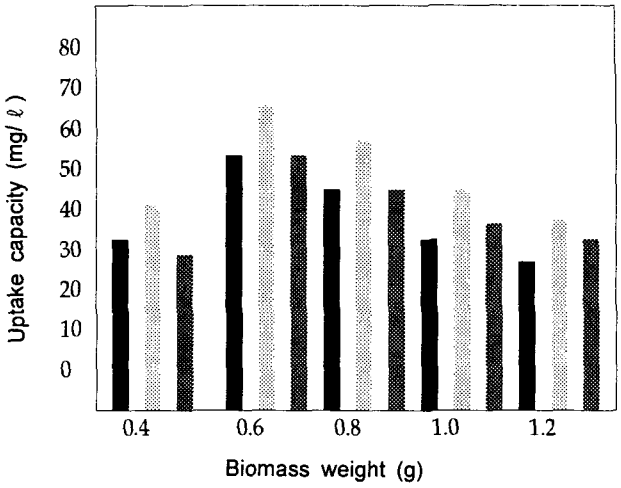

Fig. 1. Uptake capacity of heavy-metals by increasing biomass of *E. intermedious* KH410. Initial concentration, 100 mg/ ℓ. (n=4)
Pb^{2+} Cd^{2+} Cu^{2+}

상에서 흡착율이 높은 것으로 나타났으며 그 중에서도 카드뮴의 흡착이 가장 높은 흡착을 나타내었으며 구리와 납은 비슷한 양상을 나타내었다. 흡착에 관여하는 인자로 pH가 큰 영향을 미치는 것으로 알려져 있는데 급격한 pH의 변화는 용액내의 다량의 수소이온이 흡착을 저해하고 강산의 조건에서 중금속이 흡착할 수 있는 작용기의 파괴 때문이다[17]. 산성 pH 범위내에서 대체적으로 높은 흡착율이 보고되고 있는데 본 과정에서도 pH의 변화에 따라 흡착량이 변화하지만 급격한 변화는 나타나지 않았으며, pH 4.0의 경우 흡착량이 조금 더 높은 것으로 나타났다(Fig. 2).

흡착등온식

흡착제에 의하여 제거되는 특정물질은 수용액내에서 결정되며 제거되는 정도는 Freundlich 흡착등온식 또는 Langmuir 흡착등온식의 적용을 받는다[19]. 따라서 각각의 중금속에 대한 흡착평형 model을 적용하고자 반응용액 농도별 흡착의 평형반응을 유도한 결과는 Fig. 3에 나타내었다. 균체표면의 중금속이온에 대한 흡착의 시간경과나 농도증가에 따른 흡착평형은 세 중금속 모두 30분대에 최고에 이르렀고 그후 평형을 이루었으며 구리가 카드뮴이나 납에 비하여 약간의 흡착율이 낮은 결과를 보였다. 본 균에 의한 최대 흡착은 납이 56.2, 카드뮴은 58.0, 구리는 55.8 ㎎/g-biomass 로서 세 중금속별로는 큰 차이를 나타내지

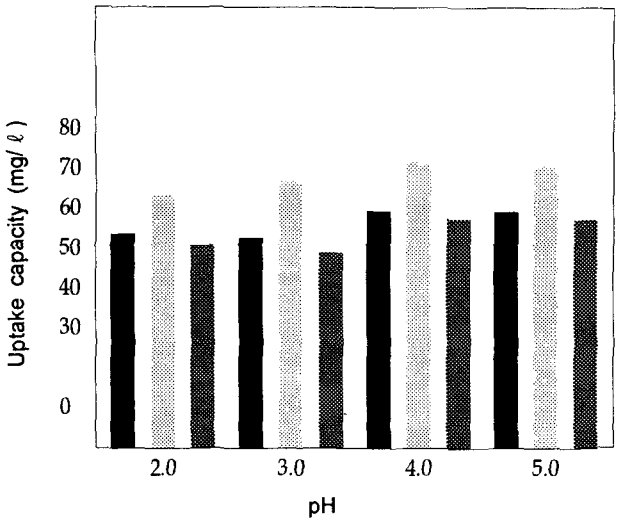

Fig. 2. Effect of pH on uptake capacity of heavy-metals by *E. intermedious* KH410. Initial concentration, 100 mg/ ℓ. (n=4)
■ Pb^{2+} ▒ Cd^{2+} ■ Cu^{2+}

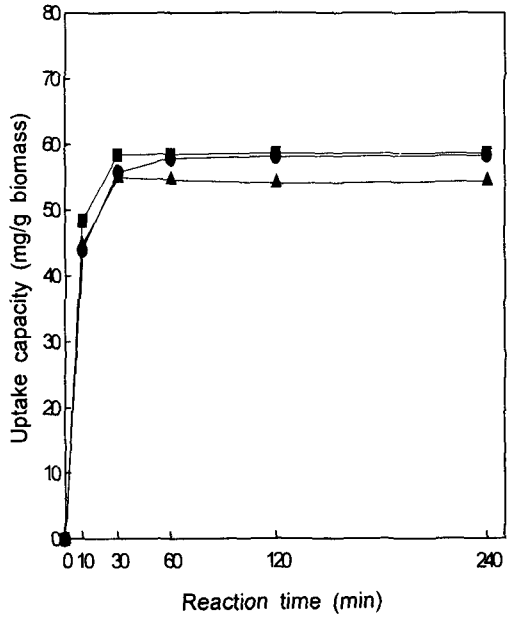

Fig. 3. Time course of heavy-metals biosorption by *E. intermedious* KH410. (n=4)
● Pb^{2+} ■ Cd^{2+} ▲ Cu^{2+}

않는 것을 볼 수 있었다. 평형농도에 의한 흡착율은 중금속이 균체에 흡착된 후 세포내로 침투하는 것에 따른 결과로 Fig. 4에서 보는 바와 같이 같은 시간대일지라도 약간의 차이는 나타났으나 400 ㎎/ ℓ 에서는 평형을 나타내었다.

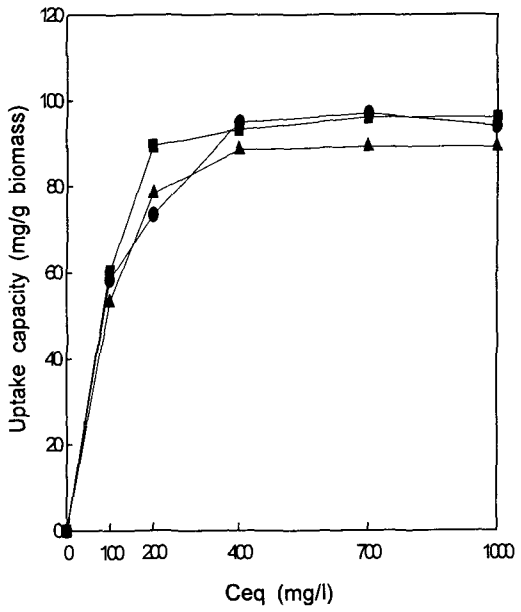

Fig. 4. Biosorption isotherm of heavy-metals by *E. intermedious* KH410. (n=4).
● Pb^{2+} ■ Cd^{2+} ▲ Cu^{2+}

이 같은 결과는 다른 종류의 흡착제를 대상으로 한 결과에서도 균체를 이용시 시간별, 반응용액별로 영향을 받는다는 결과와도 비슷한 결과로 볼 수 있다[9]. 본 실험균주의 흡착평형 도달 시간이 30분이고 이후의 최대 흡착량 역시 일정한 것으로 보아 균체에 의한 흡착반응이 지금까지 밝혀진 다른 흡착제의 흡착반응에 비해 아주 신속한 것을 확인할 수 있었다. 한편 본 균에 대한 흡착용량(K)은 Table 3에 나타내었는데 구리가 카드뮴의 1.5배, 납은 카드뮴의 1.1배로 구리가 가장 크고, 흡착강도(1/n)는 카드뮴이 구리에 비해 1.3배, 납에 대해서는 1.2배로서 카드뮴이 가장 큰 것을 알 수 있었다. 이는 앞서 얻은 결과[14]와 비교시에중금속 별로 다른 양상의 결과로 보여졌으며 본 균에 의한 흡착 등온식의 적용은 납이나, 카드뮴, 구리 모두가 Freun-

Table 3. Freundlich model parameters of uptake capacity of heavy-metals by *E. intermedious* KH410 biomass

Heavy metals	K	1/n	r^2
Pb^{2+}	0.73	0.49	0.95
Cd^{2+}	0.62	0.54	0.87
Cu^{2+}	0.92	0.40	0.97

dlich 흡착등온식이 적합하다는 것을 알 수 있었다.

전처리 및 탈착

중금속의 양이온과 균체의 음이온 결합의 강도를 높여 흡착율을 높이기 위한 전처리 시험에서는 화학적 처리법으로 KOH, NaOH, $CaCl_2$를 사용하였는데 세가지 전처리제 중 NaOH가 가장 적합한 것으로 나타났으며 중금속별로는 카드뮴의 흡착이 납이나 구리에 비하여 약간 높게 나타났다. 이 결과로 미생물 균주의 흡착력에는 전처리에 의한 차이를 나타낸다는 것을 다른 균주와의 비교에서도[8,14] 볼 수 있으므로 전처리제가 미생물별로 흡착의 차이를 유도한다는 것을 알 수 있었다. 전처리의 효과는 세포벽 함유물의 화학적 구조의 변경을 유도하거나 세포벽에 금속이온이 부착될 수 있도록 하는 것으로[15,19] 전체적으로 전처리를 하였을 때가 하지 않았을 때보다 카드뮴만이 약간의 흡착율이 증가하는 것으로 보아 본 균의 흡착율을 높이기 위하여서는 다른 화학적 전처리제의 시도 및 열을 가하는 물리적 방법도 병행되어져야 할 것으로 보여졌다. 한편 중금속 회수를 위한 탈착에 대한 효율성 검증에는 0.1 M의 EDTA와 같은 농도의 HNO_3가 사용되었고 그 결과는 Fig. 5에 나타내었다. 납은 0.1 M EDTA처리에 의하여 탈착율이 증가되었고 카드뮴과 구리는 0.1 M의 HNO_3 처리에서 탈착률이 높아졌다. 중금속 흡착제로서의 조건중 재 이용율을 검토하기 위해 탈착제에 의한 탈착율을 검토한 결과 HNO_3가 가장 효과적인 것을 확인할 수 있었으며, 앞서 행한 다른 균주[14]와의 비교에서는 본 균의 재 이용율이 약간 차이가 나는 것으로 나타났는데 이는 균간의 특성으로 볼 수 있으며 각각의 중금속별로 적용 가능한 탈착제의 비교를 통하여 효율성이 높은 탈착제의 선택이 필요하며 다양한 중금속에 대한 비교자료가 있어야 할 것으로 보인다. 이후에도 지속적인 균주별로 흡착 실험을 통해 흡착시의 효율성 증대와 재 사용율을 검토한 후, 중금속 흡착의 효율성을 증가시킬 수 있다면, 미생물 세포가 단일의 중금속 흡착제로서 산업적 이용에 보다 나은 효과를 가져올 것이다.

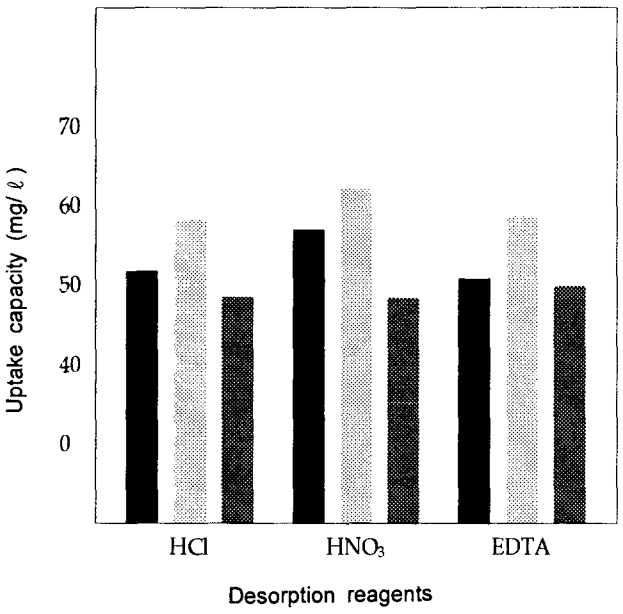

Fig. 5. Desorption efficiency of heavy-metals by desorption reagents on *E. intermedious* KH410. (n=4)
Pb^{2+} Cd^{2+} Cu^{2+}

요 약

담수 식물 뿌리에 부착하는 미생물의 중금속 흡착력을 조사하기 위하여 *Enterobacter intermedious* KH410을 분리하여 이 균주에 대한 납과 카드뮴, 구리에 대한 생흡착 특성을 조사하였다. 각각의 중금속에 대한 최저 생육 저지 농도는 납은 1.78 mM, 카드뮴은 0.17 mM, 구리는 1.39 mM 이었다. 흡착에 이용하기 위한 최대 균체 생산은 최적 조건하에서 2.56 g DCW/ℓ-medium이었다. 최적 흡착조건은 0.6 g-biomass, pH 4, 온도는 20℃일 때이었다. 흡착평형은 30분에서, 반응용액은 400 ㎎/ℓ이었다. 흡착용량(K)은 구리가 카드뮴의 1.5배, 납은 카드뮴의 1.1배로 구리가 가장 높았으며 흡착강도(1/n)는 카드뮴>구리>납의 순 이었다. 흡착강도에 따른 등온식 적용은 세가지 중금속 모두 Freundlich 흡착등온식이 적합하였다. 건조 균체를 이용한 최대 흡착은 납과 카드뮴, 구리에 대하여 각각 56.2, 58.0, 55.8 ㎎/g-biomass 이었다. 흡착강도를 높이기 위한 전처리제로는 0.1 M NaOH가 적합하였으며 중금속 별로는 큰 차이를 나타내지 않았다. 한편 중금속 회수를 위한 탈착 시험에서는 납은 0.1 M EDTA에서, 카드뮴과 구리는 0.1 M HNO_3에서 높은 탈착율을 나타내었다.

감사의 글

이 논문은 2003학년도 동의대학교 교내 연구비의 지원

에 의하여 수행되었음.

참 고 문 헌

1. Ahn, K. H. and K. H. Suh. 1998. Removal of lead by *Arthrobacter* sp. *The Korean Environmental Sci. Soci.* **7(1)**, 57-61.
2. Ahn, K. H. and K. H. Suh. 1995. Biosorption of Heavy metals by *Saccharomyces uvarum*. *J. Korean Environmental Sci. Soci.* **4(5)**, 527-534.
3. Bitton, G. 1994. Wastewater Microbiology. pp.296-303. John Wiley & Sons, New York.
4. Dunigan, E. P. 1974. Some preliminary observations on the nitrogen-utilizing microorganisms on the roots of water hyacinth. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **37**, 22-24.
5. Gadd, G. M. 2001. Microbial metal transformations. *The J. of Microbiology* **39(2)**, 83-88.
6. Hassen, A., N. Saidi, M. Cherif and A. Boudabous. 1998. Effects of heavy metals on *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus thuringiensis*. *Bioresource Technol.* **65**, 73-82.
7. Holger, H., E. Ralf and R. D. Wilken. 1993. Accumulation of Mercury (II) and Methyl mercury by microbial biofilms. *Wat. Res.* **27(2)**, 237-242.
8. Kapoor, A. and T. Viraraghavan. 1998. Biosorption of heavy metals on *Aspergillus niger* : Effect of pretreatment. *Biosource Technology* **63**, 109-113.
9. Kim, D. S., J. H. Suh and S. K. Song. 2000. A Variation of Microorganisims by the biosorption of Pb^{2+} *J. of the Korean Environmental Science Society* **9(4)**, 331-337.
10. Kim, Y. H. 1999. Isolation of bacteria from freshwater plant roots. *Korean J. of Life Science* **9**, 525-530.
11. Kim, Y. H. 2002. Effects of lead, copper, and cadmium on *Pseudomonas cepacia* KH410 isolated from freshwater plant root. *The Korean J. of Microbiology* **38(1)**, 26-30.
12. Mullen, M. D., D. C. Wolf, F. G. Ferris, T. J. Beveridge, C. A. Flemming and G . W. Bailey. 1989. Bacterial sorption of heavy metals. *Appl. Environ. Microbiol.* **55**, 3143-3149.
13. Nies, D. H. 1999. Microbial heavy-metal resistance. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **51**, 730-750.
14. Park, J. W. and Y. H. Kim. 2001. Characteristics of heavy metal biosorption by *Pseudomonas cepacia* KH410. *The Korean J. of Microbiology* **37(3)**, 197-203.
15. Parker, D. l., L. C. Rai, N. Mallick, P. K. Rai and H. D. Kumar. 1998. Effects of cellular metabolism and viability on metal ion accumulation by cultured biomass from a bloom of the Cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Appl. Environ. Microbiol.* **64(4)**, 1545-1547.
16. Rho, J. Y. and J. H. Kim. 2002. Heavy metal biosorption and its significance to metal tolerance of Streptomycetes. *The Journal of Microbiology* **40(1)**, 51-54.
17. Suh, K. H., K. H. Ahn and M. C. Cho. 1999. Biosorption of Pb^{2+} and Cr^{3+} by using *Sargassum horneri*. *J. of the Korean Environmental Science Society* **8(3)**, 387-391.
18. Tobin, J. M., D. G. Cooper and R. J. Neufeld. 1984. Uptake of metal ions by *Rhizopus arrhizus* biomass. *Appl. Environ. Microbiol.* **47(4)**, 821-824.
19. Vazquez M. D., J. Lopez, and A. Carballeira. 1999. Uptake of heavy metals to extracellular and intracellular compartment in three species of aquatic bryophyte. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **44**, 12-24.
20. Volesky, B. and Z. R. Holan. 1995. Biosorption of heavy metals. *Biotechnol. Prog.* **11**, 235-250.

(Received April 3, 2003; Accepted July 31, 2003)