

## 담수식물 근계로부터 분리된 *Pseudomonas cepacia* KH410 균주에 대한 납, 구리, 카드뮴의 영향

김영희

동의대학교 미생물학과

담수식물 수초의 근계(根界)에 부착하는 미생물의 자정력을 탐색하기 위하여 분리된 세균인 *Pseudomonas cepacia* KH410을 대상으로 중금속인 납과 구리, 카드뮴이온에 대한 영향을 조사하였다. 이 균의 최적 배지로 Nutrient 기본배지를 사용하였고 최대 균체 생산을 위하여 yeast extract, soytone을 각각 1%씩 첨가하였고, NaCl은 0.5%, 초기 pH는 7.0 그리고 배양은 28°C에서 24 시간 진탕 배양하였다. 이러한 배양 조건하에서 얻어진 최대 균체는 2.72 g DCW//medium이었다. 각각의 100 mg/l 중금속 첨가에 따른 균체 생산은 납은 1.98 g/l, 구리는 1.58 g/l, 카드뮴은 0.2 g/l로 세가지 중금속 첨가에 따른 균체 생산이 낮아졌으며 중금속별로 균체 생산량에 차이를 나타내었다. 균의 생육에 영향을 미치는 각각의 중금속 농도를 비교하여 본 결과 최저생육저지농도(MIC)가 납은 1.3 mM, 구리는 0.8 mM, 카드뮴은 0.4 mM로써 카드뮴이 균체에 미치는 영향이 가장 높게 나타났다. 동일 농도인 100 mg/l 용액 내에서의 세가지 중금속에 대한 균체의 변화는 균체끼리의 응집 현상이 광학현미경하에서 1 일에서 4 일 사이에 관찰되었고 전자현미경하에서는 각각의 중금속을 10 분 노출시킨 후부터 세포벽 쪽으로 이온들이 이동되는 것이 관찰되었고 2 시간 후에는 세포외피, 원형질분리 및 세포내부로 침적된 양상이 각각 다르게 나타났으며 균체의 손상은 카드뮴이 가장 높았고 그 정도는 카드뮴>구리>납의 순이었다.

**Key words** □ cadmium, copper, heavy metal, lead, *Pseudomonas cepacia* KH410

미생물과 중금속과의 상호작용에 관한 관심은 오래 전부터 있어 왔다. 중금속은 종류도 다양하고 미량원소로 생화학 반응에 매우 중요한 역할을 하며 고농도의 중금속은 세포내에서 독성을 발휘하나 저농도 일 때는 세포내의 생리적 기능을 수행한다.

최근에는 환경내의 이러한 중금속을 제거하기 위하여 미생물이 이용되고 있으며 미생물이 어떤 다른 물질보다 중금속을 잘 축적할 수 있으므로 중금속 제거에 이들을 이용한 다양한 방법이 주목받고 있는데(1,4,12), 특히 미생물은 자연적인 물질순환에서의 분해자로서 진화과정에서 여러 물질을 비독화 하거나 휘발성 물질로 변환 또는 분해하는 능력을 발달시켜 왔으므로 오늘날에는 이들을 이용하여 환경 내에 있는 중금속을 제거하고자 하는 노력이 진행 중이다(7,18,20,26).

미생물에 의한 중금속 이온의 제거는 물리, 화학 및 생물학적 상호작용은 물론 음전하를 가지는 세포벽 성분이나 점액질로 구성된 세포외벽으로의 흡착, 세포내 단백질과 화합물 합성, 세포내 효소에 의한 불용화, 산화환원등으로 인한 중금속의 변환등으로 가정하고 있으며 미생물종류나 중금속에 따라서 각기 다른 흡착능을 가진다(8,13-15,19). 또한 중금속은 여러 화학적, 물리적 혹은 생물학적 과정에 의하여 소비되며 제거 작용은 미생물의 기전이나 금속의 종류에 따라 차이가 있으므로 특정 중금속의 제거에는 선택적인 미생물이 필요하다(1,4,7,17,18). 자연계에 분

포하는 많은 미생물들 중에는 각종 금속에 대한 저항성이 매우 다양하므로 이들의 역할을 밝혀 이용 가능성을 높여야 할 필요가 있으며(5,9,11,21,22) 미생물을 이용한 생물학적 중금속 제거 방법은 고효율성과 저비용의 목적으로 환경보호에 적용할 수 있는 가능성이 매우 높다(20,24-26).

지금까지 담수에 서식하는 식물들이 수질 정화능이 매우 높으며 이들 식물의 정화능(3,23)은 식물 자체 외에 식물의 뿌리에 부착한 미생물의 활동에 의한 결과라는 보고(3,10)가 나온 이래로 이들 미생물의 정화능에 대한 관심이 높아졌다. 식물의 생장이 계절적인 영향을 받으므로 이들 식물의 뿌리에 부착하는 우리나라 토착 미생물이 환경오염물질의 제거에 관여하는지를 탐색하고자 미생물 분리를 시도하고 이미 자연계에서 분포도가 큰 것으로 알려진 *Pseudomonas cepacia*를 선택하여 이 세균을 대상으로 중금속인 납과 구리, 카드뮴에 대한 균체량 생산과 최저생육저지농도, 시간별로 세포에 미치는 영향등을 파악하고자 하였다.

### 재료 및 방법

#### 사용균주 및 배양

실험의 전 과정에 사용된 균주는 우리나라 남부 지역의 담수에 서식하는 수초의 근계(根系)에서 분리하였으며 미생물자동 측정 시스템 분석기(E-10136, Biolog Microstation, Biolog, USA)로 동정한 후 *P. cepacia* KH410으로 명명하여 사용하였다. 사용 균

\*To whom correspondence should be addressed.  
Tel: 051-890-1535, Fax: 051-890-1532  
E-mail: yhKim@hyomin.dongueui.ac.kr

주를 배양하기 위한 기본 배지로는 Nutrient broth를 사용하였으며 대량 균체 생산을 유도하기 위하여 1% yeast extract, 1% soytone, 0.5% NaCl을 첨가하였고 초기 pH는 7.0으로 하였으며 모든 배양온도는 28°C로 조절하고 24 시간 진탕 배양하였다.

**건조 균체**

균체생산과 중금속과의 상호작용을 비교하기 위한 건조 균체의 준비는 중금속의 농도를 100 mg/l로 첨가하고 최적 배양을 유도 한 후 배양액을 원심분리(3000×g, 30 분)하여 균체를 회수 한 후 멸균수로 현탁하고 다시 원심분리하는 과정을 3번 반복한 후 20 ml정도의 멸균수에 현탁하여 동결건조기(Freeze Dryer FD-1, EYELA, Japan)내에서 진공이 된 상태에서 72 시간동안 동결건조 하였다.

**사용 중금속 및 정량**

이 실험에 사용된 중금속의 종류는 Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> · 9H<sub>2</sub>O 및 Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> · 3H<sub>2</sub>O 의 질산염으로 2차 탈이온수에 적정농도로 녹여 사용하였다. 세균 오염을 막기 위하여 여과(0.2 μm)하여 사용하였으며 사용 초자기구는 금속오염을 막기 위하여 1N HNO<sub>3</sub>에 담근 후 여러 번 증류수로 세척한 후 사용하였다. 한번 만들어진 용액은 4°C에 보관하면서 1 달 이내에 사용하였다. 정량을 위하여서는 각각의 중금속 표준용액을 적당한 희석배수로 희석하여 표준 검량선을 작성하여 예비측정을 거쳐 검량선의 측정가용농도범위를 정하여 실험에 사용하였다. 중금속의 정량은 원자흡광광도계(Atomic adsorption spectrometry, Shimadzu AA 6500 series, Japan)를 사용하였다.

**최저생육저지농도**

생육에 영향을 미치는 중금속이온의 농도를 측정하기 위하여 각각의 단일 중금속을 단계별 농도로(0.05-5.0 mM) 2차 탈이온수에 녹여 배양배지에 일정농도로 첨가한 후 전 배양액 1%를 배지 200 ml에 첨가하여 생육도를 관찰하였다. 이때 최저생육저지농도(MIC)는 균체 접종후 배지 내에서의 응집이 일어나지 않는 농도를 기준으로 하였으며 균의 생육은 균을 본 배양배지에 1%의 전 배양액을 접종하여 배양을 하면서 배양 시간에 따라 배양액 3 ml을 취하여 분광광도계(Shimadzu, UV-160A, Japan)를 사용하여 600 nm의 파장에서 흡광도를 측정하여 균의 생육 정도를 비교하였다. 모든 과정은 같은 조건으로 3번이상 반복하여 시행하였다.

**균체 변화 관찰**

균체에 중금속이 미치는 영향을 직접적으로 관찰하기 위한 광학 및 전자 현미경 시료의 준비는 먼저 건조 균체의 일정량(1 g/l)을 중금속 100 mg/l 용액에 현탁 시킨 후 일정시간 반응시킨 후 사용하였다. 광학 현미경 관찰은 세포들간의 특징적인 변화를 1000× 배율에서 1 일, 2 일, 3 일, 4 일, 5 일까지 관찰하였다. 한편 전자현미경을 통한 세포변화의 관찰은 TEM (JEM 1200EX-II, Jeol, Japan)을 이용하였다. 우선 준비된 시료를 세절

과정을 거쳐 1차, 2차의 고정 과정을 거치고 수세과정 및 탈수 과정과 치환과정을 거쳐 침투과정과 포매, 열 중합과정을 거친 후 ultrathin section 상태로 시료를 만들어 최종 전자염색을 거친 후 전자현미경으로 관찰하였다. 이때 세포외 흡착과 세포내 축적 시의 세포내 단면을 관찰하여 중금속 이온에 의해 일어날 수 있는 세포의 특징적인 변화를 비교하였다.

**결과 및 고찰**

담수 식물의 뿌리에 부착하는 미생물의 자정력을 조사하고 우리나라 토착 미생물의 활용가능성을 탐색하여 생흡착제로서의 개발 가능성을 알아보기 위하여 담수식물의 뿌리에서 미생물을 분리하여 본 결과 다양한 균집의 세균들을 볼 수 있었으며(2,6) 이들 중 우점종의 하나인 *P. cepacia* KH410을 선택하여 납, 카드뮴, 구리에 대한 영향을 조사하였다.

균체에 대한 중금속의 영향을 판단하기 위한 최대 균체 생산을 위한 배양 최적조건은 nutrient broth배지를 사용하고 최대 균체생산을 위하여 각각 1% yeast extract, 1% soytone, 0.5% NaCl을 첨가하였으며 최적 pH는 7.0, 배양온도는 28°C, 배양시간은 24 시간이었다. 이러한 최적 조건하에서 생산되는 1 l당 건조균체량(DCW)은 2.72 g 이었다. 동시에 각각의 중금속이온의 농도를 100 mg/l로 첨가시의 건조 균체 생산량은 Table 1에 나타내었으며 중금속별로 건조 균체량은 다르게 나타났다. 균체 생산은 납이 1.98 g/l로 가장 높았으며 그 다음으로 구리가 1.58 g/l 그리고 카드뮴이 0.2 g/l의 순으로 나타나 카드뮴이 납에 비해 1/10 정도 균체 생산량을 저하시키는 것으로 나타났다. 생흡착제로 사용시에는 건조균체를 많이 사용하므로 균체 생산량은 매우 중요한데 함유된 중금속에 따른 균체량에는 차이를 나타내는 것을 볼 수 있었으며 이는 세포의 흡착기전 또는 세포표면의 침전 때문이거나 배지내의 성분과 복합체를 형성시에도 차이가 나타날 수 있는데 이들을 생 흡착제로 개발 시에는 영향을 미칠 것으로 사료되었다(12,26).

미생물의 중금속에 대한 기전은 유전적으로도 다양하며 저항성을 가지는 것도 있다(5,11,18,20,21). 세균의 세포벽은 구조적으로 복잡한 양상을 가지고 있으며(8,19) 특히 Hoyle와 Beveridge는 모든 세균의 표면은 음이온을 띄고 있으므로 양이온인 금속이온이 쉽게 흡착할 수 있다고 보고 하였고(13,14), 또한 구성성분이 명확하지 않은 미생물이 분비하는 세포의 고분자 물질이 세포내 침투를 방지 함으로써 중금속 이온에 대한 보호막과 같은 역할을 한다는 보고도 있었다(1). 본 실험에서는 세가지 중금

**Table 1.** Minimal inhibitory concentration of heavy metals and dry weight of *P. cepacia* KH410 coupling with heavy metals

	Control	Pb	Cd	Cu
MIC (mM)		1.3	0.4	0.8
Dry weight (g/l)	2.72	1.98	0.20	1.58

Bacteria were cultured in nutrient broth with or without heavy metals at 28°C for 24 hr.

속을 사용하여 실험대상 균주에 대한 영향을 검토한 결과 생육에 영향을 미치는 최소농도는 각 중금속마다 다르게 나타났는데 Table 1에서 나타난 바와 같이 납은 1.3 mM, 카드뮴은 0.4 mM, 구리는 0.8 mM로 카드뮴이 세포에 대한 영향이 가장 큰 것으로 나타났다. 반대로 납이 본 균의 생육에는 가장 적은 영향을 나타내었는데 납은 용해도가 낮으므로 생물학적으로 유용한 농도가 낮으며 미생물에 대한 독성이 특별히 높은 것은 아니라는 보고와 유사한 결과를 나타내었다(21). 본 균의 최저생육에 영향을 미치는 납의 농도가 1.3 mM로 나타났는데 이는 *E. coli*의 5.0 mM에 비하여는 매우 낮으며 본 균은 납에 대한 저항성이 낮은 것으로 보여졌다. 미생물세포와 중금속 이온간의 관계는 여러 기전(9,22)과 외부 환경인자(18,22)에 영향을 받으므로 자연계에서 분리된 더 많은 분리 균주를 대상으로 납이 미생물 생육에 미치는 농도는 비교해 보아야 할 것으로 보인다.

한편 원자번호가 높은 카드뮴의 경우엔 가장 잘 알려진 독성 중금속이나 미생물과의 기작은 단백질 변성이나 thiol-binding이 일반적으로 알려져 있고 칼슘대사에 상호 관여하여 다른 금속의 흡수시에 세포내로 들어가 막의 손상을 초래하고 세포 내에서는 SH그룹과 결합하려는 경향이 강하며 이로 인하여 금속은 민감한 효소의 활성을 방해한다고 하였다(21,22,27). 본 균의 생육에 대한 카드뮴의 MIC 농도는 구리나 납에 비하여 2-3배 낮은 농도로서 가장 생육에 큰 영향을 나타내었다. 또 다른 중금속의 하나

인 구리는 산소와 쉽게 결합하고 radical을 형성하여 독성을 발휘하는데 여러 생물체가 대장균 보다 구리에 대하여 민감하게 되는 이유가 이 때문이라고 하였으며 본 균에 대한 구리의 영향은 *E. coli*와 유사하였는데 두 균주 모두 Gram 음성균으로 구리와의 친화성이 큰 것으로 보여졌다(12,20,21). 미생물 세포들은 필요할 때 즉 기아상태나 특별한 신진대사의 필요성이 요구될 때 유도적으로 세포질 막을 가로지르는 농도기울기를 이용하여 재빨리 중금속을 흡수하거나 느리지만 에너지를 이용하여 높은 기질 특이성을 가진 흡착계를 이용하여 중금속을 흡착한다. 균체에 대한 중금속 용액 내에서의 영향을 직접 관찰하기 위해 광학현미경을 사용하여 시간별로 비교하여 본 결과 시간이 경과함에 따라 세포들끼리 응집되는 경향을 1 일에서 4 일 사이에 보였다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 중금속 이온별로는 동일농도에 노출시 시간경과에 따른 미생물의 변화를 감지 할 수 있었는데 납은 3-4 일 사이에 응집현상이 관찰되었고 카드뮴은 2 일째부터 천천히 응집되는 양상을 나타내었으며 구리는 2 일과 3 일 사이에 급격한 응집 현상을 나타내는 차이를 보였다. 납 이온에 의한 응집현상을 김 등(1)은 납 이온이 세포표면에 존재하는 기능기 또는 배위자와 착물을 형성하고 또 세포 외부 표면에만 흡착 및 축적이 일어남으로써 착물 상호간의 결합이 보다 원활하게 이루어지기 때문이라고 설명하였다. 동량의 혼합 중금속내에서도 응집 현상이 일어났는데 이때는 각각의 단일 중금속에 대한 노출

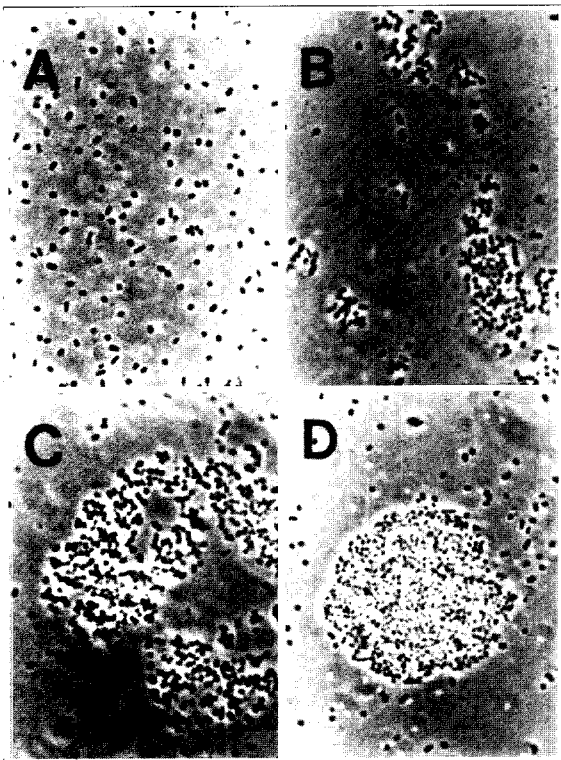


Fig. 1. The variations of *P. cepacia* KH410 in mixed heavy metal solution. Initial conc. 100 mg/l. A, Control; B, 1 day; C, 2 days; D, 3 days. Magnification, X 1000.

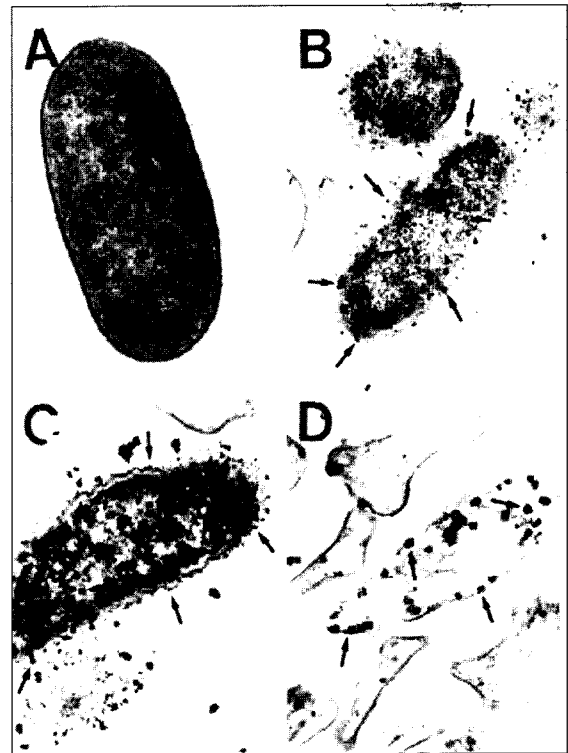


Fig. 2. Electron photomicrograph of 2 hr exposure of heavy metals on *P. cepacia* KH410. Initial conc. 100 mg/l. A, Control; B, Lead; C, Copper; D, Cadmium. Magnification, X 40000. Arrows indicate heavy metals.

보다 빠른 양상을 나타내는 것으로 보아 중금속이온들의 경쟁적인 흡착 때문인 것으로 보여졌다.

생물흡착에 사용되는 미생물 중 세균의 이용 가능성은 세균이 용액 내에서 금속이온을 흡착할 수 있는 세포벽의 탁월한 능력과 표면적 때문이며(6) 또한 이들 세포벽이 carboxyl 기나 phosphoryl group같은 음 전하를 띠고 있어 중금속의 양이온과의 반응을 용이하게 하며 어느 형태의 한 분자나 functional group이 금속흡착에 관여하는 것이 아니라 이온흡착에는 여러 potential site가 있어(16,21) 흡착이 용이하다는 점등이다. 전자현미경으로 중금속이온에 대한 세포변화를 비교하였을 때 중금속이온에 노출된 10 분 후부터 균체의 외벽으로 중금속 이온이 이동하는 것이 관찰되었고 노출 2 시간 후에는 Fig. 2에 나타난 바와 같이 각기 다른 양상이 관찰되었다. 납의 경우 노출 10 분 경과시에는 세포벽에만 흡착되었다가 2 시간 경과 후에는 세포의 구조가 어느 정도 유지된 상태에서 납이온들이 세포 내에 골고루 퍼지면서 균체 내부로 침적되는 것이 관찰되었고 동시에 세포벽의 손실 또한 관찰되었다. 그러나 납은 구리만큼의 세포벽 주위 변화는 관찰되지 않는 대조를 보였다. 구리는 10 분 후부터 변화가 생기기 시작하여 세포벽에 흡착되는 과정을 나타내었으나 납보다는 흡착되는 이온의 양이 적은 것으로 나타났다. 그러나 2 시간 후에는 세포벽이 변화되어 세포 구조물에 영향을 미쳐 납 보다 더욱 손상된 형상을 나타내었다. 시간별로 세가지 중금속에 대한 균체의 변화가 달리 관찰되었는데 특히 카드뮴의 경우에 2 시간 경과시에는 완전한 원형질분리에 의한 극심한 균체의 손상과 세포막과 세포벽 사이에 카드뮴이온이 침적된 세포 구조물만이 남아있는 양상을 관찰 할 수 있었다. 이상의 결과로 본 균주는 중금속 이온 노출시간이 제한적이라는 것을 확인 할 수 있었으며 각기 다른 양상으로 세포 구조물에 영향을 미치는 것으로 나타났다. 이같은 결론은 다른 미생물을 대상으로 한 결과에서도 볼 수 있는데(27) 미생물의 경우 사균이든 생균이든 모두 생흡착제로서의 가능성은 있다고 볼 수 있음으로 각 균의 특성 및 다른 중금속 농도에 따른 변화는 비교해 보아야 할 것으로 보이며(20,25,26) 흡착제로서의 사용에는 세포를 고정화하여야 할 필요가 있을 것으로 사료되어 졌다.

이상과 같이 미생물에 대한 중금속의 영향이 그 농도와 종류에 따라 각기 다르므로 특정 오염원의 경우 최대의 제거력을 가진 미생물을 선택하여 적용할 필요가 있으므로 각기 다른 미생물의 특성을 분석하는 노력이 하나의 중요한 과제로 볼 수 있다. 앞으로도 자연계에서 분리된 더 많은 균주를 대상으로 다른 중금속에 대한 영향도 검토되어야 할 것으로 보이며 균주별 및 분포된 금속의 종류, 농도에 따른 차이점을 밝혀 새로운 생흡착제로서의 개발 및 산업적인 이용가능성에 대한 비교자료를 제시하여야 할 것으로 보인다.

### 감사의 글

이 논문은 2001학년도 동의대학교 학술연구비 지원의 일부로 수행되었음

### 참고문헌

1. 김동석, 서정호, 송승구. 2000. 납 이온의 생물흡착에 따른 미생물들의 변화. 한국환경과학회지. 9, 331-337.
2. 김영희. 1999. 담수식물 뿌리로부터 세균의 분리. 생명과학회지 9, 525-530.
3. 심우섭, 한인섭. 1998. 울산지역에서 자생하는 갈대, 부들, 갈풀을 이용한 reed-bed의 생활하수 정화능력연구. 한국환경과학회지 7, 117-121.
4. 안갑환, 서근학. 1995. *Saccharomyces uvarum*에 의한 중금속 생체 흡착에 관한 연구. 한국환경과학회지 4, 527-534.
5. 유관희, 이호용. 1992. *Serratia marcescens* strain P 성장에 미치는 중금속 내성. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 20, 693-698.
6. 이동훈, 김상중. 1997. 수계 생태계에서의 세균군집구조의 분자생물학적 분석. 한국미생물학회지 33, 55-65.
7. Ahn, K.H. and K.H. Suh. 1998. Removal of lead by *Arthrobacter* sp. J. Korean Environ. Sci. Soc. 7, 57-61.
8. Beveridge, T.J. and W.S. Fyfe. 1985. Metal fixation by bacterial cell walls. Can. J. Earth Sci. 22, 1893-1898.
9. Brown, N.L., J.R. Lloyd, K. Jakeman, J.L. Hobman, I. Bontidean, B. Mattiassont and E. Croregt. 1998. Heavy metal resistance genes and proteins in bacteria and their application. Biochem. Soc. Trans. 26, 218-211.
10. 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.
11. Gadd, G. 2001. Microbial metal transformations. Microbiol. 39, 83-88.
12. 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.
13. Hoyle, B. and T.J. Beveridge. 1983. Binding of metallic ions to the outer membrane of *Escherichia coli*. Appl. Environ. Microbiol. 46, 749-752.
14. Hoyle, B. and T.J. Beveridge. 1984. Metal binding by the peptidoglycan sacculus of *Escherichia coli* K-12. Can. J. Microbiol. 30, 204-211.
15. Kapoor, A. and T. Viraraghavan. 1997. Heavy metal biosorption sites in *Aspergillus niger*. Bioresource Technol. 61, 221-227.
16. Kotrba, P., L. Doleckova, V.D. Lorenzo, and T. Ruml. 1999. Enhanced bioaccumulation of heavy metal ions by bacterial cells due to surface display of short metal binding peptides. Appl. Environ. Microbiol. 65, 1092-1098.
17. Lynne, E.M. and A.C.R. Dean. 1984. Cadmium accumulation by a *Citrobacter* sp. J. Gen. Microbiol. 130, 53-62.
18. Mago, R., S. Srivastava. 1994. Uptake of zinc in *Pseudomonas* sp. strain UDG26. Appl. Environ. Microbiol. 60, 2367-2370.
19. Marquis, R.E., K. Mayzel and E.L. Carstensen. 1976. Cation exchange in cell walls of gram-positive bacteria. Can. J. Microbiol. 22, 975-982.
20. 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.
21. Nies, S.H. 1999. Microbial heavy-metal resistance. Appl. Microbiol. Biotechnol. 51, 730-750.
22. Panichev, N.A., A.O. Diakov and K.V. Kvitko. 1997. Biotransformation of cadmium species by microorganism. Can. J. Analytical Sci. Spect. 42, 16-20.

23. Reddy, K.R. and D.E. Busk. 1985. Nutrient removal potential of selected aquatic macrophytes. *J. Environ. Qual.* 14, 459-462.
24. Sag, Y. and T. Kutsal. 1996. Fully competitive biosorption of chromium (VI) and iron (III) ions from binary metal mixtures by *R. arrhizus*: Use of the competitive Langmuir model. *Proc. Biochem.* 31, 573-585.
25. Tobin, J.M., D.G. Cooper and R.J. Neufeld. 1984. Uptake of metal ions by *Rhizopus arrhizus* biomass. *Appl. Environ. Microbiol.* 47, 821-824.
26. Volesky, B. and Z.R. Holan. 1995. Biosorption of heavy metals. *Biotechnol. Prog.* 11, 235-250.
27. Yu, T.S. and H.I. Song. 1981. Cultural conditions of heavy metal-ion tolerant microorganisms and accumulation of heavy metal-ion into the cells. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* 9, 59-64.

(Received December 26, 2001/Accepted February 18, 2002)

---

**ABSTRACT: Effects of Lead, Copper and Cadmium on *Pseudomonas cepacia* KH410 Isolated from Freshwater Plant Root**

**Young-Hee Kim** (Department of Microbiology, Dong-Eui University, Pusan 614-714, Korea)

A ubiquitous bacterium, *Pseudomonas cepacia* KH410 was isolated from freshwater plant root and interactions of lead, copper and cadmium with this strain was studied. Mass production of dry cell weight 2.72 g-DCW/l-medium was obtained by cultivation in a nutrient medium containing 1% yeast extract, 1% soytone and 0.5% NaCl, pH 7.0, at temperature of 28°C for 24 hrs under aeration. The mass of dry cell produced after exposure with 100 mg/l of heavy metal was 1.98 g/l for lead, 1.58 g/l for copper and 0.20 g/l for cadmium, respectively. The minimal inhibitory concentrations (MIC) for each heavy metal was 1.3 mM for lead, 0.8 mM for copper and 0.4 mM for cadmium, respectively. Cell aggregation occurred by each heavy metal exposure was observed from 1 day to 4 days by an optical microscope. Entrapment, precipitation effects on cell by heavy metals between 10 min and two hours were examined by an electron microscopy. Cadmium appeared to be the most toxic on cells and the order of toxicity was cadmium>copper>lead.