KOR. JOUR. MICROBIOL. 7, 57~62 (1969)

微生物에 依한 空氣의 SO_2 汚染防除에 關한 硏究

李培咸・李丙晁・全英淵・李正根・崔泰鎬・丁聖九
(建國大學校 應用微生物硏究所)

Studies on the determination of atmospheric sulfur dioxide and elimination of sulfur in kerosene by thiobacilli.

Bae Ham LEE, Byung Joe LEE, Young Yun JUN, Chung Gun LEE,
Tae Ho CHOE, and Sung Koo JUNG
(The Institute of Applied Microbiology, Kon-Kuk University)

ABSTRACT

The experiments attempted to basic studies on the atmospheric dioxide in Korea and on the elimination of sulfur in oil by *Thiobacilli* in order to control of atmospheric sulfur dioxide. The results of experiments are following as:

1) Content of atmospheric sulfur dioxide in industrial zone which used kerosene for fuel was 0.092 ppm(average) and 0.16 ppm(maximum).

2) Content of sulfur dioxide at room air which used briquet for stove fire was 0.44 ppm (average) and 0.50 ppm(maximum).

3) Thirteen strains of *thiobacilli* were isolated from Korean soil and sewage and they were identified with *T. thiooxidans*(5 strains), *T. thioparus*(3 strains), *T. ferrooxidans*(3 (strains), *T. denitrificans*(1 strain), and *T. concretivorus*(1 strain) in accordance with Waksman's observation and the description in Bergey's manual.

4) Two promising strains, one of *T. thiooxidans* and one of *T. ferooxidans*. were selected for elimieation of in kerosene.

緖 論

昨今 우리 나라에서 推進되고 있는 經濟開發 및 燃料轉換政策에 따라 生産工場들과 日常生活에 各種 燃料 特히 炭化水素系 燃料油의 使用量이 急增되고 있으며, 그 使用量에 比例하여 空氣의 汚染도 增加되고 있다.

都市나 工場地帶의 大氣中에는 石炭과 石油의 燃燒時 生成되는 炭素의 微粒子, 亞黃酸가스, 酸素鋼爐에서 나오는 酸化鐵의 微粒子, 自動車나 航空機等의 內燃機關에서 排氣되는 炭酸가스, 一酸化炭素, 酸化窒素, 未燃燒炭化水素가스, 알데하이드類, 有機酸 또는 개소린의 안티녹劑로 쓰이는 4에칠鉛(TEL), TEL의 分解로 생기는 酸化鉛等과 石油精留所에서 나오는 黃化水素, 멜캅탄等의 有害物質이 含有되어 있다. 이들은 勿論 工場의 種類에 따라 그 地帶의 空氣汚染物質이 다를것이나 特히 問題되는 點은 炭化水素系油의 燃燒에 依하여 생기는 亞黃酸 gas(SO_2)이다.

1952年 12月에 London에서 있었던 smog 事件(Terabe, 1960)은 4,000名의 死亡者를 낸바 있고 그 當時의 空氣中의 SO_2 含量은 最高 0.7 ppm였다고 한다. 日本의 四日市는 1次大戰後 石油붐—을 타고 石油콤비나트가 建設되므로 因하여 空氣汚染이 크게 問題가 되었다. 四日市衛生部調査(Shoji, 1963)에 依하면 1963年 7月 그 當時의 SO_2 汚染度는 最高 1.1 ppm에 達하여 日本에서도 가

장 空氣汚染度가 큰 都市가 되었다. 世界 主要都市의 SO_2 汚染度(Shoji, 1963)를 보면 아래와 같다.

美國 로스엔젤스 平均 0.1ppm 最高 0.6ppm
英國 런 던 平均 0.13ppm 最高 1.23ppm
日本 東 京 平均 0.15 ppm
韓國 서 울 平均 0.04ppm (1968年 韓國保社部調査)

正常人은 1.0~5.0 ppm의 SO_2 含有汚染空氣를 數分間 吸入하면 氣管이 刺激받아 收縮하고 結局 慢性氣管支炎의 原因이 된다고(石橋多聞, 西脇仁一, 1966)한다. 그러므로 各國에서는 SO_2의 空氣汚染上限을 定하고 있다. 美國은 1959年 칼리포니아州에서 環境空氣基準으로 1 ppm으로 1時間 또는 0.3 ppm으로 8時間을 有害濃度, 5 ppm으로서 1時間을 危險濃度(氣管支收縮을 일으킨다) 10 ppm으로 1時間을 緊急濃度(強한 苦痛을 준다)로 定하고 있다.

우리나라도 大都市와 工場地帶의 空氣汚染의 成分 및 含量에 對한 分析調査와 汚染防除를 위한 方策이 時急히 硏究되어야 할 것으로 생각되는바 本 硏究所에서는 韓國에 分布되고 있는 硫黃細菌에 關한 硏究의 一環으로서 空氣中의 SO_2 含量의 調査와 SO_2 gas源의 하나인 石油에서의 硫黃除去에 微生物的 方法을 活用할 수 있는가 與否를 調査硏究한 바를 報告하는 바이다.

實驗材料 및 方法

A. 空氣中 SO_2 汚染測定

① 材料蒐集地域

A 地域; 工場과 住宅이 併立하고 있는 서울特別市 城東區 聖水洞 1~2街 一帶의 3個地域

B 地域; 煉炭스토브를 피운 좁은 室內.

② 材料蒐集方法

A 地域은 impin jar 그리고 B 地域에서는 glass filter를 가진 gas 吸收裝置로 直接吸引하였다.

③ 材料採取日時

材料採取日時는 Table 1 및 Table 2와 같다.

Table 1. Samplied date for A-plot

Period	Date		
1	Dec.	16,	1968
2	Dec.	20,	1968
3	Jan.	10,	1969
4	Jan.	12,	1969
5	Jan.	17,	1969

Note; The samples were taken twice each date at 11.00 A.M and 3.00 P.M.

Table 2. Samplied date for B-plot.

Period	Date		
1	Dec.	18,	1968
2	Dec.	19,	1968
3	Dec.	23,	1968
4	Jan.	20,	1969
5	Jan.	21,	1969

Note; The samples were taken twice each date at 11.00 A.M. and 3.00 P.M.

④ 定量方法

A 地域의 材料에 대한 SO_2 定量은 $HgCl_2$와 NaCl 混液 20 ml에 1.5 l/min. 流速으로 400 l의 空氣를 通過하여 吸收시킨 SO_2를 fuchsine-formalin method(岡宗次郎, 石橋多聞, 1961, 1966)로 測定함.

B 地域에서는 3% H_2O_2 水溶液 150 ml에 1.7 l/min. 流速으로 400 l 吸收시킨것으로 hydrogen peroxide method(平野四藏, 1961)로 測定함.

B. 硫黃細菌의 分離同定 및 脫黃能調査

① 菌株蒐集

全國의 溫泉地帶를 包含한 10個地域에서 蒐集한 soil 16點과 sewage 6點의 合計 22點을 供試하였다.

② 菌分離 및 同定方法

菌의 分離用 培養基로는 Starkey(1935) Waksman(1922), Temple(1951) 그리고 Nathansohn(1902)氏의 培養基를 使用하였다. 菌分離는 soil은 1 g을 그리고 sewage는 1 ml를 각기 5 ml의 滅菌蒸溜水에 넣고 振湯하

여 이현탁액 1 ml 를 液體狀態의 各培養基에 接種하여 30°C 의 incubator 에 靜置培養하였다. 分離된 菌의 同定은 Waksman 의 硫黃細菌 分類表(Waksman, 1922) 및 Bergeys(1957)의 manual 을 對照하였는데 다음 Table 3 과 같다.

Table 3. The key of the *Thiobacilli* by Waksman and Bergey.

	T.thioparus	*T.ferrooxidans*	*T.denitrficans*	*T.concretivorus*	*T.thiooxidans*
Enrgy source	$S^{2-}, S^0, S_2O_3^{2-}$	$S_2O_3^{2-}, Fe^{2+}$	$S^{2-}, S^0, S_2O_3^{2-}$	$S^{2-}, S_2O_3^{2-}$	$S^0, S_2O_3^{2-}$
Size (μ)	3×0.5	0.5×1.0	0.5×1~3	0.5×1.5~2	.0×0.5
Accumulation of sulfur outside cell	##	None	##	+	None
Pellicle formation	+	+	+	None	None
Carbon source	CO_3^{2-}, HCO_3^-	CO_2 from air	CO_3^{2-}, HCO_3^-	CO_2 from air	CO_2 from air
Nitrogen source	nitrate ammonium salt	ammonia	nitrate	nitrate ammonium salt	ammonia
Aerobism	aerobic	aerobic	anaerobic	aerobic	aerobic
Growth on agar medium	+	−	+	+	±
Motility	+	+	+	−	+
Acid accumulation	active	strong	active	very strong	very strong

③ 燈油에 對한 脫黃試驗方法

市販하고 있는 燈油(0.028%硫黃含有)를 250 ml容 三角 flask 에 25 ml式 넣고 綿栓하여 15 Lbs. 15分 蒸氣滅菌한 후 여기에 위에서 分離되는 菌의 濃현탁액 0.5 ml式 接種하여 30°C 의 incubator 에서 5日 培養後 centrifuge(3,000 rpm/min)에서 硫黃 및 菌體를 沈澱시켜 上澄液을 硫黃의 含量 分析標本으로 供하였다.

實驗結果 및 考察

A. 空氣中 SO_2 汚染測定

① A 地域의 가, 나, 다地區에 對한 SO_2 含量은 Table 4 와 같고, B 地域의 SO_2 含量은 Table 5 와 같이 調査되었다.

A 地域의 境遇 採取時期는 冬季이며 가장

Table 4. Content of atmospheric sulfur dioxide of A-Plot (unit; ppm)

Area \ Times	1	2	3	4	5	Average	Maximum
가	0.08	0.13	0.11	0.05	0.12	0.10	0.13
나	0.13	0.11	0.10	0.16	0.10	0.11	0.16
다	0.05	0.07	0.06	0.09	0.09	0.068	0.09

Table 5. Content of sulfur dioxide in room which used briquet for fuel (unit; ppm)

Times	1	2	3	4	5	Average	Maximum
B-plot	0.45	0.42	0.50	0.46	0.37	0.44	0.50

燃料를 많이 使用하고 있는 때라고 생각되며 比較的 含有量이 높은 便이라고 볼 수 있다. B 地域의 境遇는 密閉된 室內에 設置된 스토브는 煙通은 直經 16 cm, 길이 6 m 그리고 外部로 1 m 뻗은 것이었다. 이 結果는 危險水準이라고 볼 수 있다.

B. 硫黃細菌의 同定 및 脫黃能試驗

① Soil 및 sewage 標本으로부터 分離된 *Thiobacilli* 는 13株였고, 이들을 Waksman 과 Bergey 의 分類表에 依하여 다음 5種으로 區分되었다. 即 *Thiobacills thioparus*……3株, *T. ferrooxidans*……2株, *T. denitrificans*……

1株, *T. concretivorus*……1株, *T. thiooxidans* ……5株였다.

② 위의 13株에 依한 燈油의 脫黃能調査結果는 Table 6과 같다.

Table 6. Content of sulfur in oil after treated by *Thiobacilli*.

Strain No.	Residual sulfur
T. thioparus-1	0.028
T. thioparus-2	0.020
T. thioparus-3	0.023
T. ferrooxidans-1	0.016
T. ferrooxidans-2	0.026
T. ferrooxidans-3	0.022
T. denitrificans	0.028
T. concretivorus	0.024
T. thiooxidans-1	0.027
T. thiooxidans-2	0.027
T. thiooxidans-3	0.010
T. thiooxidans-4	0.018
T. thiooxidans-5	0.024

Note; 1) Content of sulfur in untreated control oil=0.028%.
2) Residual sulfur were measured after incubation at 30°C for 5 days.

위의 結果에서 脫黃能이 높은 菌株 *T. thiooxidan*-3와 *T. ferrooxidans*-1에 對한 몇 가지 生理的 性質은 다음과 같다.

T. thiooxidans-3 菌株; 크기는 0.5~1.2 μ 이며 끝이 둥글게 굽은 短桿菌으로 運動性이다. Gram-negative이고 agar media에서 잘 생육하며 Waksman media에서 2~3日頃부터 *p*H가 低下되며 약간의 溷濁도 認定된다. 約 10日頃이면 *p*H는 1.0으로 低下하고 溷濁도 뚜렷하게 나타난다(Table 7). 培養溫度 및 時間에 따른 溷濁度比較는 Table 8과 같다. 이 菌의 燈油에 대하여 培養日에 따른 脫黃은 Table 9와 같이 나타났다.

T. ferrooxidans-1 菌株; 크기는 0.5~1.2 μ 이고, 끝이 둥글게 굽은 Gram-negative인 運動性의 短桿菌이다. Temple media에서 잘자라고 培養 1日부터 急速한 *p*H의 低下가 나타나고 溷濁도 뚜렷하다(Table 7). 그리고 培地表面에 褐色의 pellicle이 形成되고 8日頃에는 *p*H 2.0으로 低下되었다(Table 7).

이 균의 oil media에서의 性狀은 培養 4日頃에 극미한 溷濁이 생기고 flask 底面에 灰白色의 斑點이 생긴다. Temple media에서 培養溫度 및 時間에 따른 溷濁度는 Table 8과 같았다. 또 燈油에 對한 培養日數에 따른 脫黃은 Table 9와 같다.

Table 7. Variation of *p*H and growth of two strans, *T. thiooxidans*-3 and *T. ferrooxidans* on Temple and Waksman media.

Strain	*T. thiooxidans*-3		*T. ferrooxidans*-1	
Time (days)	*p*H	turbidity	*p*H	turbidity
0	5.0	−	5.0	−
1	5.0	−	4.6	±
2	4.7	±	4.1	±
3	4.0	±	3.8	+
4	3.5	±	3.1	+
5	3.1	+	2.7	++
6	2.4	+	2.4	++
7	2.1	++	2.3	+++
8	1.5	++	2.2	+++
9	1.2	++	2.0	+++

Note; 1) Temple media for *T. thiooxidans*.
Waksman media for *T. ferrooxidans*.

Table 8. Effect of temperature on growth of two strains, *T. thiooxidans*-3 and *T. ferrooxidans*-1.

Strain	*T. thiooxidans*-3			*T. ferrooxidans*-1		
Temperature / Time(days)	25°C	30°C	35°C	25°C	30°C	35°C
1	−	±	−	−	−	−
2	+	+	±	−	±	±
3	+	++	+	±	±	±
4	+	++	++	±	+	±
5	+	++	++	±	+	±

Note: 1) Initial *p*H; 5.0.
2) Temple media for *T. thiooxidans*.
Waksman media for *T. ferooxidans*.

위의 실험結果에서 *Thiobacillus thiooxidans*-3과 *Thiobacillus ferrooxidans*-1은 燈油培地에서의 生育도 매우 良好하였으며 30°C에서 4~5日培養으로 脫黃의 反應이 完了되었다. 그리고 이 菌들의 生育 및 脫黃의 最適溫度는 30°C라고 생각된다.

Table 9. Growth of two strains, *T.thiooxidans*-3 and *T. ferrooxidans*-1 and content of residual sulfur on oil media.

Strain / Character (days period)	*T. thiooxidans*-3			*T. ferrooxidans*-1		
	Turbidity	Colony	Content of residual sulfur (%)	Turbidity	Colony	Content of residual sulfur(%)
1	−	−	0.024	−	−	0.026
2	−	±	0.020	−	−	0.024
3	−	+	0.017	−	±	0.021
4	−	+	0.015	±	+	0.018
5	−	+	0.010	±	++	0.016
6	−	+	0.010	±	++	0.016

Note; ① colony; growth on the flask bottom.
− ; colony diameter, none.
± ; colony diameter, 1 mm below.
+ ; 〃 1～2 mm.
++; 〃 2 mm above.
② Content of reducing sulfur: Determined after incubation at 30°C on oil media.

摘 要

우리나라에 있어서도 漸次 工業化되어가는데 따라 空氣中 SO_2 汚染이 甚해 가므로 그 汚染度를 調査하고 또 이 除去方法을 硫黃細菌으로 할 수 있는가를 調査한바 다음과 같은 結果을 얻었다.

1. 炭化水素系燃料를 使用하고 있는 工場地帶의 SO_2 汚染度는 平均 0.09 ppm 였고 最高 0.16 ppm 였다.

2. 煉炭스토브를 使用하고 있는 室內空氣의 SO_2 汚染度는 平均 0.44 ppm 였고 最高 0.50 ppm 였다.

3. 韓國內에서 分離된 硫黃細菌 13 株를 Waksman 및 Bevgey 의 分類表에 依하여 分類同定한 結果 5 株는 *T. thiooxidans*, 3 株는 *T. thioparus*, 3 株는 *T. ferrooxidans*, 1 株는 *T. denitrificans* 그리고 1 株는 *T. concretivorus* 로 同定되었다.

4. 위의 13 株中 *T. thiooxidans* 에서 1 株, *T. ferrooxidans* 에서 1 株 合計 2 株는 脫黃能이 매우 우수하며 燈油에서 30°C. 5 日間 배양하여 各各 64.3% 및 42.9%式 脫黃할수 있었다.

REFERENCES

1. 岡宗次郎, 1961. 分析化學便覽, p. 1253. 丸善株式會社刊, 東京
2. 石橋多聞, 西脇仁一, 1966. 公害衛生工學大系 Ⅱ. 大氣汚染 p. 108-112. 日本評論社, 東京
3. 平野四藏, 1961. 化學分析 Hand Book p. 109-113. 產業圖書株式會社刊, 東京.
4. Japan Industrial Standard 編, 1966. 炭化水素の全黃分析. JIS 2262
5. Japan Industrial Standard 編, 1966. 炭化水素の全黃分析을 爲한 Lamp Method. JIS 2263
6. Kolthoff, I.M., 1959. Text book of Quantitative Inorgan, Ananl, p 322. MacMillan C., N.Y.
7. Starkey, R.L., 1922. Studies on the biochemistry of-the Thiobacilli. *J. Gen. physiol.*, **18**; 325
8. Waksman, S.A., 1922. Isolation and identification of the Thiobacilli. *J, Bacteriol*, **7**; 239
9. Temple K.L. Colmer, A.R., 1951. Studies on the Thiobacilli. *J. Bacteriol* **62**; 605
10. Nathansohn, A., 1902. Isolation and Identification of the Thiobacilli. *Mitt, Zool, Sta, Neapel*, **15**, 655
11. Breed, R.S. *et al.*, 1957. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 7 th ed.
12. Parker, C.D.& Prisk J. 1953. The oxidation of inorganic compounds of sulfur by various sulfur bacteria., *J.Gen, Microbiol*, **8**, 344-364
13. Suzuki, I. 1965. Oxidation of elemental sulfur by an enzyme system of T. thiooxidans. *Bioch-*

im, Biophys. Acta., **104**, 349-371
14. Murata, T, 1967. 重油脫黃技術の現狀と將來性. *Chem. Ind.*(Japan) **18**(2); 19-25
15. Nakano, T., 1966. 科學技術廳資源調査會報第36號 (Japan)
16. Nemoto, J., 1961. 自然 **16**(9); 36-42
17. Terabe, K., 1960. 科學讀賣 **12**(13); 38-44
18. Shoji, H., 1963. 自然 **18**(12) 42-48
19. Sakikawa, N., 1962. 自然 **17**(12) 23-27