

工場廢水中 有毒成分의 微生物學的 處理方法에 關한 研究

水銀含有量과 微生物의 生育과의 關係(第1報)

李址烈* · 張賢基**

* 서울女子大學 食品科學科

** 三岡産業株式會社 開發部

Studies on the Microbiological Treatment of Hazardous Compounds in Waste Waters from Chemical Plants

(I) Relationship between the Content of Mercury Compound and Microbial Growth

Ji Yul Lee*, Hyun Ki Chang**

* Department of Food Science, Seoul Woman's College, Seoul, Korea

** Department of Development, Samkang Industrial Co. LTD., Seoul, Korea

Abstract : This is a study to determine the content of the mercury compound and the distribution of microorganisms in the waste waters flowing from the chemical plants in the Ulsan area (at 4 stations). The summary of the result of this study is as follows :

1. The content of the mercury compound has ranged from non-detection to 0.075 ppm with an average of 0.03 ppm. The highest content has been detected from the water at station A.
2. As for the distribution of the microorganisms, one species each of bacteria, *Mucor*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, and *Trichothecium* (*T. roseum*); 4 species of *Penicillium*; and 3 species of Sterile hyphae; a total of 12 species have been isolated
3. The following results have been found with regard to the growth of these microorganisms in terms of the content of the mercury compound. In the case of an inorganic mercury compound, most of the microbes can grow in water with a content of up to 10 ppm. *Pe. sp* No. 1 particularly can grow even in 50 ppm. In the case of an organic mercury compound, the growth of the microbes seems to be somewhat restrained even in 2 ppm.

緒 論

最近急速하게 近代工業이 發展함에 따라서 各種工場들의 廢水에 依한 環境汚染問題가 世界的인 關心事로 되고 있다. 廢水中의 有毒成分中 特히 中毒性 重金屬成分이 排水에 混入되어서 바다로 흘러 들어 가면 그곳에서 水中棲息生物의 食品連鎖現像(Food chain)에 依하여 段階的으로 濃縮 蓄積된다. 이것은 工場地域에

對하여만 局限된 問題가 아니라는 點에서 더욱 深刻性을 띠고 있다.

이와 같은 實例들은 이미 1953~1960년에 日本國 熊本縣 米奈米타(水俣)市에서 發生한 米奈米타병을 비롯하여 1964~1965年 日本國 新潟縣 아가노가와(阿賀野川)流域에서 發生한 메탈水銀化合物의 慢性中毒에서도 잘 指摘되고 있다(1966) (Matsuda, 1966). 또한 有機水銀劑를 비롯한 各種農藥使用量(1970)이 每年 增加함에 따

라 우리 나라에서도 이에 對한 關心이 높아지고 있다. 卽 李(1967)는 水稻에 對한 有機水銀劑의 殘留性에 關하여 報告하였고, 權等(1972)의 農藥으로 因한 重金屬의 環境汚染問題와 노等(1972)의 食品中 有毒性農藥의 殘留量等 數篇의 研究報告가 發表된 바 있으나, 이러한 汚染物質을 處理하는 方案에 對하여서는 아직 報告된 바 없다. 그러므로 著者들은 國內에서 操業中에 있는 數個所의 化學工場에 對하여 排水가 흐르고 있는 關連水域의 물을 採取하여 그 有毒成分 特히 水限含有量을 調查하고, 이들을 주로 微生物에 依하여 分解 또는 同化시켜서 無毒化하던가, 淨化시키는 方案의 開發에 關한 一連의 研究를 試圖하고 研究에 着手하였던 바, 우선 基礎的인 몇가지 資料를 얻었으므로 이를 報告한다.

材料 및 方法

水銀化合物을 排出할 수 있는 工場은 水銀劑農藥製造工場, 水銀을 觸媒로 쓰는 各種製造工場, 電氣بات데리製造工場, 重化學工業品製造工場 및 製鍊工場等을 생각할 수 있다.

1973年 7月 18日에 慶尙南道 蔚山市 여천동 1番地와 同 666番地의 各種工場廢水가 흐르고 있는 곳의 4地點(A,B,C,D)의 물을 滅菌한 유리병에 各 1l 씩, 비닐봉에 各 5갤론(Gallon)씩 採取하여 實驗室로 옮겨 왔다 (Fig. 1, Fig. 2).

1. 廢水의 成分分析

가. pH의 測定 : Beckman Zeromatic pH meter를 使用하였다.

나. 水銀含有量의 測定

水銀의 定量方法은 Dithizone과의 착염생성에 의한 比色法이 一般的으로 쓰이고 있다. 그러나 對象



Fig. 1. Sampling at A station

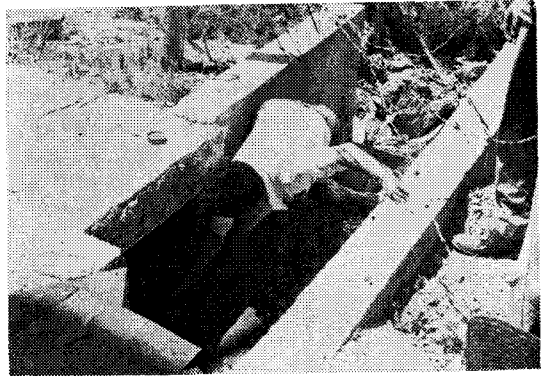


Fig. 2. Sampling at B station

試料의 性狀이나 特殊性에 따라서 試料의 分解法, 抽出溶媒等 여러가지 條件이 달라진다.

그러므로 著者들은 JIS工場排水試驗方法(1971)(KOI OZ 44)과 AOAC方法(1970)을 使用하여, 工場排水中의 總水銀含有量을 測定하여 滿足할만한 結果를 얻었다.

1) 試驗溶液의 調製

試料 250ml를 分解플라스크에 取하고 HNO_3 40ml, $KMnO_4$ (6W/V%) 20ml를 加하여 有機物灰化用裝置에 連結, 2時間 가열分解하였다. 이 사이에 $KMnO_4$ 溶液의 紫色이 消失되면 液溫을 約 $60^{\circ}C$ 로 낮추고, $KMnO_4$ 溶液 2ml를 加하여 다시 자비하고 $KMnO_4$ 의 색이 約 10分間 지속할 때까지 반복조작하였다. 分解가 끝난 다음 10% Urea溶液 30ml를 加하여 約 10分間 가열하여 아질산을 分解시키고, 냉각한 다음, 묽은 H_2SO_4 (1+100) 및 물로 장치를 잘 세척하였다. 분해액에 $NH_2OH \cdot HCl$ (20W/V%) 溶液을 滴加하여 殘存하는 過剩의 $KMnO_4$ 를 분해시키고 NH_4OH 로 約 1N의 酸性溶液으로 中和시킨 다음 濾過하여 500ml로 만들었다.

2) 抽出 및 定量方法

試驗溶液 100ml 또는 200ml를 500ml분액깔대기에 取하고 0.1M EDTA 1ml, 20% $NH_2OH \cdot HCl$ 5ml, Dithizone- $CHCl_3$ 溶液($5\mu g/ml$) 10ml를 加하여 1分間 잘 진탕하였다. 정지후 분리된 $CHCl_3$ 층을 0.1N HCl 50ml와 20% $NH_2OH \cdot HCl$ 5ml가 들어 있는 제 2분액 깔대기에 옮기고, 수층은 Dithizone- $CHCl_3$ 의 綠色이 남을 때까지 반복추출하였다. $CHCl_3$ 층을 모두 제 2분액 깔대기에 혼합하고 1分間 잘 흔들어 $CHCl_3$ 층을 0.1N HCl 50ml가 들어 있는 제 3의 분액깔대기에 옮겼다. 1.5% $Na_2S_2O_3$ 溶液 2ml를 加하여 1分間 잘 흔든 후 분액하여 $CHCl_3$ 층을 버리고 수층에 대하여 $KMnO_4$ 溶

液 5ml를 加하여 2分間 靜置하였다. 繼續하여 20% NH₂OH·HCl 5ml를 加하여 과잉의 KMnO₄를 分解시키고 30% Acetic Acid 3ml 및 Dithizone—CHCl₃溶液 10.0ml를 加하여 1分間 잘 혼든 다음 분리된 Dithizone—CHCl₃層을 건조여과지로 여과하고 490mμ에서 吸光度를 測定하여, 미리 作成된 檢量線에 依하여 Hg含有量을 算出하였다.

3) 回收試驗

分解플라스크에 Hg標準溶液 10ml (20 μg상당)를 加하고 以下 定量方法 1), 2)와 같이 試驗溶液을 調製하고 그 20ml를 取하여 定量하였다. 그 結果는 表 1에서 보는 바와 같이 96.0%로서 定量的이었다.

Table 1. Hg Recovery test of HgCl₂ Solution

Test No.	Absorbancy	Hg found(a)	Recovery(%)
1	0.17	19.25	
2	0.16	18.00	
3	0.17	19.25	
4	0.18	20.25	
	mean 0.17	mean 19.19	96.0

(a) The figure was calculated by multiplying a factor. 500/200 to the determined value. Added HgCl₂ was 20μg as Hg.

2. 廢水中的 微生物調查方法

가. 分離 및 培養에 使用한 培地

麥芽浸出寒天培地(MEA), 감자덱스트로오스 寒天培地(PDA=Potato Dextrose Agar), 酵母抽出덱스트로오스寒天培地(YDA), 부이온寒天培地(BEA), 짜펙독스寒天培地(CzDA).

나. 平板法(Plate method)

各地點에서 採取한 廢水 1ml를 滅菌피펫으로 멸균 페트리접시에 注入하고, pH를 調整한 上記各種培地를 녹여 50°C程度인 때에 各 10ml씩 注入하여 냉각시켜 平板으로 만들었다.

다. 定溫培養

32°C의 배양실온에 두었다가 5日後 純粹分離, 移植하여 계속 배양 끝에 同定하였다.

3. 各種水銀濃度와 微生物의 生育과의 관계조사

Hg含有量을 0.3, 0.5, 1, 3, 10, 50ppm으로 調製한 HgCl₂ 水溶液과 Phenyl Mercuric Acetate 2ppm의 水溶液을 pH를 調整한 各培地에 넣고, 微生物을 接種하여 5日後에 集落(Colony)의 生育量을 直徑測定比較로서 表示하였다.

結 果

1. 廢水分析

가. pH

Stations	pH Values
A	9.69
B	8.65
C	4.65
D	4.69

나. 總水銀含有量

Stations	Mercury contents (ppm)
A	0.075
B	ND
C	0.050
D	ND

ND : Not detected

2. 分離微生物菌株

Stations	Isolated strains
A	<i>Penicillium</i> sp. No.1 <i>Cladosporium</i> sp. No.1
B	<i>Trichothecium roseum</i> Sterile hypha No.1 Bacteria No.1
C	<i>Aspergillus</i> sp. No.1 <i>Penicillium</i> sp. No.2 <i>Pe.</i> sp. No.3 <i>Mucor</i> sp. No.1 Sterile hypha No.2 Sterile hypha No.3
D	<i>Pe.</i> sp. No.4
	Total 12

3. 各種水銀濃度 및 pH와 微生物의 生育과의 관계
表 2와 같다

考 察

蔚山工業地域의 工場廢水가 흐르고 있는 곳의 4地點의 물을 제 1차로 採水하여 總水銀含有量을 測定한 結果는 不檢出된 것부터 0.075ppm 程度인데, 아오기等(1970)이 1966年 日本化學工場의 排水中 含有되어 있는 總水銀含有量이 0.25~6.05ppm程度라는 報告와 瀧澤等(1967)이 아가노川流域에서 發生한 水銀中毒症의 原因을 규명하던 중, 원인이 된 공장의 배수구 주변에서 生育하는 물이끼중의 總水銀含有量은 131.0~461.8ppm이라는 높은 含有量을 報告하였는데, 이와 比較하면 大端이 낮은 水準으로 생각된다. 그러나 이러한 결과

Table 2. Relative growth rate^{a)} of microorganisms isolated from waste water on solid media of various pH and mercury concentrations.

Stations	pH	Isolated strains	Mercury concn. (ppm) ^{b)} in different media ^{c)}						
			HgCl ₂				PMA ^{d)}	HgCl ₂	
			0.3	0.5	1.0	2.0	2.0	10.0	50.0
		PDA	YDA	MEA	BEA	PDA	YDA	CzDA	
A	9.69	<i>Pe. sp.</i> No.1	+	+	+	+	△	+	+
		<i>Clado. sp.</i> No.1	+	+	+	+	+	+	+
B	8.65	<i>Tri. roseum</i>	+	-	+	+	+	△	+
		<i>Ste. hy.</i> No.1	+	+	+	△	-	+	-
		Bacteria No.1	+	+	+	+	+	+	+
C	4.65	<i>As. sp.</i> No.1	(L) ^{e)} -	△	△	△	(L)-	-	-
		<i>Pe. sp.</i> No.2	(L)-	△	+	+	(L)-	-	-
		<i>Pe. sp.</i> No.3	(L)-	△	△	-	(L)-	-	-
		<i>Mu. sp.</i> No.1	(L)-	+	+	+	(L)-	-	-
		<i>Ste. hy.</i> No.2	(L)-	-	-	-	(L)-	-	-
D	4.69	<i>Ste. hy.</i> No.3	(L)-	-	-	-	(L)-	-	-
		<i>Pe. sp.</i> No.4	+	+	+	+	+	+	-

- a) Relative growth rate of microorganisms
+ : Good growth △ : Half growth + ' : A little growth
- : No growth
- b) Mercury concentrations of different mercuric compounds
- c) PDA=Potato dextrose agar, YDA=Yeast extract dextrose agar,
MEA=Malt extract agar, BEA=Bouillon agar
CzDA=Czapek-dox agar
- d) Phenyl Mercuric Acetate (an organic mercuric compound)
- e) (L) : Agar medium was liquefied

는 總排水量과 密接한 관계가 있는데. 계속해서 水銀이 河底 또는 海水중에 蓄積된다는 것을 고려할 때 重要性은 크다고 하겠다.

全地域에 걸쳐 *Bacteria*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Trichothecium roseum*이 各 1種씩, 그리고 *Penicillium* 4種, Sterile hyphae가 3種으로 合計 12種의 菌株가 分離되었다. 이들의 水銀濃도와 培地別 生育程度는 HgCl₂ 0.3, 0.5, 1, 2 ppm농도에서는 大體로 자라고 있으나, 농도가 높아짐에 따라 生育이 低下하였다. C地點(pH 4.65)의 PDA培地는 HgCl₂含有量 0.3 ppm에서도 培地가 液體상태이고 全然 자라지 않았다. 또한 Hg含有量 2ppm으로 Phenyl Mercuric Acetate의 水溶液을 첨가한 PDA培地에서도 培地가 굳지 않고 微生物은 전혀 자라지 않았다. 이것은 pH의 영향이 큰 것으로 생각된다. 또 같은 0.3ppm의 水銀濃度일지라도 有機水銀(PMA)의 경우가 無機水銀(HgCl₂)보다 生育이 좋지 못하였다.

한편 HgCl₂의 10, 50ppm농도의 培地에서의 生育은 C地點에서 分離된 菌類는 전혀 生育이 없었고 A,B,D地點의 微生物들은 10ppm에서는 자라나 50ppm농도에서는 거의 자라지 않던가 소량의 生育을 보였다. 그 중에서도 가장 잘 生育하는 것은 *Penicillium sp.* No.1

이었다.

앞으로 여러번 같은 곳에서 工場排水를 採取하여 高濃度水銀에 견딜 수 있는 細菌類와 菌類를 찾아 내고 또 그들의 菌體속에 水銀이 蓄積되었는가를 추적하려고 한다.

이것과는 별도로 水銀含有培地에서 잘 生育하는 微生物들을 찾아 내어 이들에 水銀化合物의 同化, 分解에 어떤 役割을 하는가를 調査할 예정이다.

摘 要

蔚山地域의 化學工場들의 廢水가 흐르고 있는 곳의 4個地點(four stations)의 水中總水銀含有量 및 微生物 分布를 각각 조사하였다. 이 調査의 結果를 要約하면 다음과 같다.

- 1) 總水銀含有量은 不檢出로부터 0.075ppm이고, 평균 0.03ppm인데 A地點이 가장 많았다.
- 2) 微生物의 分布로는 *Bacteria*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Trichothecium* (*T. roseum*) 各 1種, *Penicillium* 4種, Sterile hyphae 3種等 12種을 分離하였다.
- 3) 이들 微生物의 生育程度와 水銀含有量과의 관계

를 조사한 결과, 無機水銀에 있어서는 10ppm까지에서 대부분 生育하였으며, 그중 *Pe. sp. No.1*은 50ppm에서도 生育하였다. 有機水銀에 있어서는 2ppm에서 어느정도 生育에 阻害를 받는데 같이 보였다.

References

- Aoki(青木 弘) (1970) : 水銀による環境汚染に関する研究, 日本衛生學會誌 24, 第5-6號 p.536.
- Assoc. Offic. Anal. Chemists (1970) : Official method of Analysis of the AOAC 11th ed. p.418.
- Bessey, E. A. (1965) : Morphology and taxonomy of fungi, Hafner.
- Breed, R. S., E. G. D. Marry and N. S. Smith (1974) Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Eighth ed., The Williams & Wilkins Co.
- Cooke, W.B. (1957) : Check list of Fungi isolated from polluted water and Sewage, Sydowia, Annales Mycologici, Beiheft I:146~175, Austria.
- Cooke W.B. (1961) : Pollution Effects on the Fungus Population of Stream. *Ecology* 42 (1) : 1~18
- Cooke W.B. (1967) : Populations of Bear River *Utah-Academy Proceedings*. 44(1) : 298~315
- 韓國農藥工業協同組合(1970) : 農藥年報, 서울, 12月
- 金章亮(1972) : 韓國産主要食用海藻中の水銀, 카드뮴, 납 및 구리의含量, 韓國水産學會誌, 5(3) : 1~9
- 熊本大學醫學部水俣病研究班(1966) : 水俣病
- 權숙표, 윤명조, 김정현, 정용, 임창국(1972) : 農藥으로 인한 環境汚染과 그 被害對策에 관한 研究(第1報) 中央醫藥 22(5) : 573~592.
- 이동석(1967) : 水稻에 處理된 有機水銀劑의 残留性에 관한 研究第1報, 浸漬用有機水銀劑로 處理된 水稻 種子中の 水銀殘畜量에 關하여, 農化學會誌 8(4) : 87~93
- Matsuda(마쓰다신이찌1966)의 : 新潟阿賀野川沿岸部落に發生した 有機水銀中毒症に關する研究報告書
- 日本工業標準調査會審議, 日本規格協會(1971) : JIS 工場排水試驗方法, JISKO 102-1971, 44 水銀 124-131, 東京
- 日本藥學會編(1965) : 衛生試驗法註解, (10)有毒性金屬試驗法 4, 水銀 309~313, 金原出版, 東京
- 노정배, 송철, 김기경, 윤공덕, 권혁희, 김영호, 강신복(1969) : 食品에 있어서 有毒性 農藥의 殘畜量測定 研究(第2報) 國立保健研究院報 6, 237
- Raper, K. B. and D.I. Fennell (1965) The genus *Aspergillus*, The Williams & Wilkins Co. Baltimore.
- Raper, K. B., C. Thom and D. I. Fennel. (1968) : A Manual of the Penicillia, The Williams & Wilkins
- 外村健二(1970) : 8月 20日號特許公報, 昭45-25155. 54. 微生物に依る 水銀化合物の除去法.
- 瀧澤行雄, 菅井隆, 北野博一, 河路明夫, 篠川至, 關口忠吉(1967) : 阿賀野川有機水銀中毒症の 原因探究 日本衛生學會誌 22, 第4號 p.469.
- 元鍾勳(1973) : 韓國産魚介類中の 水銀, 카드뮴, 납, 구리의含量, 韓國水産學會誌 6 (1.2) : 1~20.
- Zycha, H. (1935) Pilze II. Mucorineae 264pp. Leipzig.