

重金屬 耐性菌株의 微生物學的 性質*

俞 大 植

啓明大學校 理工大學

(1979년 7월 2일 수리)

Microbiological Characteristics of Heavy Metal Ion-Tolerant Microorganisms.

Tae Shick Yu

College of Science and Engineering,

Keimyung University,

Daegu 634, Korea

(Received July 2, 1979)

ABSTRACT

Cadmium ion-tolerant microorganisms were isolated from the sludge and soil of a cadmium ion-polluted area, a zinc mineralized area, in Kyung Sang Pook Do, Korea.

A strain, C-7, which showed the highest tolerance to cadmium ion was selected by screening from 18 cadmium tolerant microorganisms.

By the taxonomical characteristics of this strain, it was identified as a variant of *Erwinia* sp.. The strain grew in a medium cadmium ion up to a concentration of 2,800 $\mu\text{g/ml}$ and the maximum intercellular accumulation of Cd^{2+} was measured to be 28.60 mg/g dried cells(57.2%) during incubation in medium containing 50 $\mu\text{g/ml}$ under aerobic condition at 28 °C for 24 hour.

緒 論

高度 産業社會의 부산물인 重金屬에 의한 環境 汚染은 심각한 사회 문제로 대두 되고있다. 특히 重金屬에 의한 환경오염은 自然의 生態界를 변화 시켜 우리의 生活圈까지 위협을 주고 있어서 더욱 문제시 되고 있다.

현재 미생물에 대한 水銀(Hg)의 毒性和 그의 耐性機構에 이르기까지 상당한 연구가 진행되고 있으며¹⁻⁸⁾ 銅(Cu)⁹⁾ 및 鉛(Pb)¹⁰⁾에 관한 연구도 진행

되고 있다. 그러나 公害病人 Itai itai 病의 原因物 質인 cadmium이 미생물에 대한 毒性은 잘 알려져 있지 않다.^{11,12)}

1817년 cadmium이 발견된 이래 1968년 cadmium의 生體影響에 대한 연구가 시작되어 Novik¹³⁾, Peyru¹⁴⁾ 및 Chopra¹⁵⁾ 등에 의하여 연구된 바 있으나 미생물학적인 측면에서 연구된 바는 극히 최근의 일이다. 1974년 Horitsu¹⁶⁾에 의하여 1,500 ppm Cd^{2+} 의 耐性菌株를 분리 했으며 1978년 Oda¹⁷⁾는 Cd^{2+} 耐性菌을 분리하여 乾燥菌體 重量(g)當 27.3 mg의 cadmium을 축적한다는 사실을 보고 했다.

우리 나라에서는 金¹⁸⁾ 및 崔¹⁹⁾에 의하여 Cd^{2+}

* 本 研究는 1978年度 産學 協同 財團 學術 研究費에 의한 研究論文임.

耐性菌株에 대한 연구를 한 바 있다. 그러나 cadmium에 대한 생화학적 연구는 찾아 볼 수 없다. 따라서 cadmium의代謝 및 균체내의 축적등을 규명하고 더욱이 重金屬으로 汚染된 廢水를 淨化, 改善할 意圖로 본 연구를 시작했다.

著者は 高濃度の cadmium이 汚染될 가능성이 높은 亞鉛 鑛山 地域으로 부터 高濃度の cadmium에 대한 耐性菌을 多數 分離하여 微生物學的 性質과 菌株內의 Cd²⁺ 蓄積에 대하여 검토한 결과를 보고하고자 한다.

實驗方法

1. Cadmium 耐性菌의 分離

Cadmium 耐性菌의 분리는 포도당 10g, pepton 10g, 酵母 抽出物 5g, 食鹽 5g을 ion 交換水 1,000 ml에 녹혀 pH를 7.5로 교정하여 살균 한 후 cadmium nitrate (Cd (NO₃)₂ · 4H₂O; Hayashi pure chemical industries, Ltd, Japan)로서 cadmium의 농도가 500 ppm 되게 첨가 한 액체 배지에 수집한 시초의 일정량을 첨가 하여 振盪培養 (reciprocal shaker, 120 rpm) 했으며 cadmium의 농도를 1,000 ppm 되게 첨가 한 한천 고체 배지로써 平板 塗抹培養을 반복하여 현미경 관찰로 순수한 耐性菌을 分離했다.

Cadmium의 첨가는 10,000 ppm의 cadmium ion 용액을 조제하여 살균 냉각시킨 培地에 所定의 농도로, 사용 바로 전에 無菌의으로 첨가하여 使用했다.

2. Cadmium 耐性 試驗

試料로 부터 순수 분리한 cadmium 耐性菌의 cadmium 耐性を 검토 하기 위하여 Table 1의 培地組成의 액체 배지를 살균 한 후 10,000 ppm의 Cd²⁺ 용액을 첨가하여 所定의 농도로 했으며 500

ppm 이상의 Cd²⁺ 농도에서는 Cd²⁺ 이 培地成分과 錯鹽을 形成하여 침전하므로 固體培地 稀釋法^{20,17)}으로 耐性を 측정했다.

液體培地에서의 耐性측정은 28°C에서 1분간 120회 진탕 배양한 배양액을 spectrophotometer (Shimadzu UV-100-01)를 가용하여 660 nm의 흡광도로서, 固體培地 稀釋法은 균의 生育을 肉眼으로, 배양 24시간 마다 經時的으로 7일간 관찰하여 판정했다.

3. Cadmium의 分析

Cadmium의 정량은 原子 吸光法에 의하여 정량했다.²¹⁾

배양균체를 원심분리(3,000rpm, 20min)하여 550°C의 電氣爐에서 약 8시간 乾式灰化한 후 N-HCl로 녹이고 Fig. 1과 같이 APDC (Ammonium pyrrolidine-dithio-carbamate) chelation법²²⁾으로 處理하여 MIBK (Methyl isobutyl ketone)로 抽出후

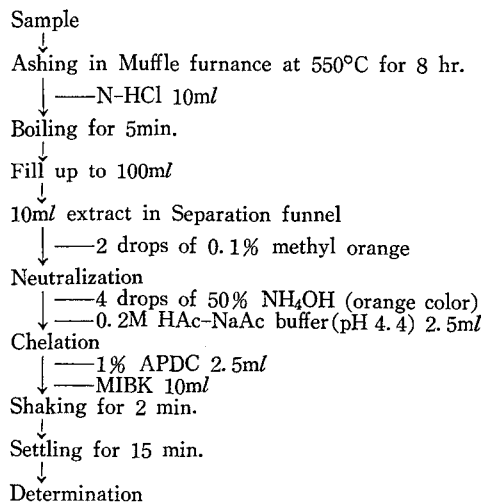


Fig. 1. Procedure for Determination of Cadmium using APDC-Chelation Method.

Table 1. Composition of Cultural Medium.

| | |
|---------------------------------------|---------|
| Glucose | 20 g |
| Peptone | 15 g |
| Yeast extract | 5 g |
| NaCl | 1 g |
| MgSO ₄ · 7H ₂ O | 300 mg |
| KH ₂ PO ₄ | 100 mg |
| Distilled deionization water | 1000 ml |
| Adjust initial pH | 6.5 |

Table 2. Conditions for Determination of Cadmium using Atomic Absorption Spectrophotometer.

| | |
|---------------|-------------|
| Lamp current | 4 mA |
| Wave length | 2.288 Å |
| Slit width | 2.0 Å |
| Burner height | 1 cm |
| Acetylene | 6.5 cc/min. |
| Air | 5.8 l/min. |

Table 2의 조건으로 Unicam (Model SP 1900) atomic absorption spectrophotometer 로 原子 吸光 分析했다.

實驗 結果

1. Cadmium 耐性菌의 분리

Cadmium 耐性菌의 분리는 고농도의 cadmium 에 汚染될 가능성이 큰 지역을 선정하여 행했다 (Fig. 2)

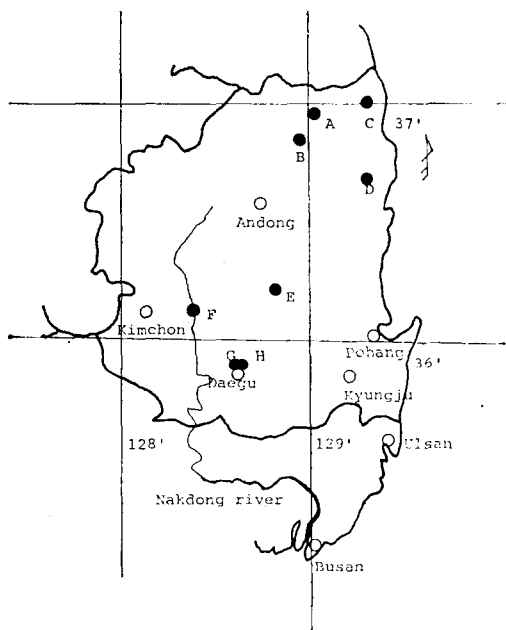


Fig. 2. The Relational Map Isolated Cadmium Ion-Tolerant Microorganisms, Kyung Sang Pook Do, Korea.

Samling sites;

- A : Boungwha-kun sochen-myun daewhaen-ri, an area of Waenwha mining company,
- B : Boungwha-kun zaesan-myun kalsan-ri, an area of Sanmak mining company,
- C : Ulchin-kun pook-myun daekku-ri, an area of Ulchin minig company,
- D : Ulchin-kun on jung-myun seunggu-ri, an area of Kumzaung minig company,
- E : Kunwee-kun koro-myun seksan-dong, an area Kunwee zinc mining company,
- F : Kumi-city, a brook in the Kumi electronic industrial complex,
- G : Daegu-city sue-gu, a Dalsue-brook,
- H : Daegu-city sue-gu, a brook in the third industrial complex.

Table 3. Numbers of Cadmium Ion-Tolerant Microorganisms Isolated from Sampling Sites.

| Sampling site | Cadmium ion-tolerant microorganisms | |
|---------------|-------------------------------------|---------------------------|
| | 1, 000ppm Cd ²⁺ | 2, 000ppmCd ²⁺ |
| A | 3 | 0 |
| B | 6 | 1 |
| C | 3 | 1 |
| D | 3 | 0 |
| E | 2 | 0 |
| F | 0 | 0 |
| G | 0 | 0 |
| H | 0 | 0 |
| Total | 17strains | 2strains |

Cadmium 은 亞鉛 鑛石에 0.01~0.5% 含有되어 있어²³⁾ 亞鉛 精鍊을 주로 하는 5個所의 鑛山 地域의 53개 sampling site와 工場 廢水로 汚染된 3個所의 7개 sampling site의 土壤, 鑛山水, 정화 탱크水 및 工場廢水の 汚泥와 廢水를 1978年 8月에 採集하여 試料로 사용했다.

試料로서 8個所의 60개 sampling site로부터 採集하여 Cd²⁺ 500 ppm 含有培地에서 30°C에서 3일간 진탕 培養하여 生育한 菌을 Cd²⁺ 1,000 ppm 含有 固體 培地에서 平板 塗抹培養法을 反復하여 1,000 ppm 이상의 Cd²⁺ 에 耐性을 나타내는 17군주를 현 미경적 관찰로서 순수하다고 믿는 耐性菌을 單離 固定했다.

Table 3에 나타난 바와 같이 1,000ppm cadmium 에 내성을 갖는 내성균 17군주를 분리 고정 했다.

2. 耐性 試驗

Table 3에 나타난 바와 같이 1,000 ppm 에 대한 耐性菌, 17菌株를 순수 분리하여 이 군에 대한 cadmium 耐性을 측정했다. 본 분리 군주는 1,000 ppm 이상의 cadmium 에 대하여 耐性을 나타내므로 固體 培地 稀釋法²⁰⁾으로 측정한 결과 경상북도 봉화군 재산면 갈산리 산막鑛業所 지역에서 分離한 B-7 은 2,500ppm 의 cadmium 에 내성을 나타냈으며 경상북도 울진군 북면 덕구리 울진 鑛業所 地域에서 분리한 C-7 군주는 2,800 ppm 의 cadmium 에 耐性을 나타내었다(Fig 3). C-7 군은 高度cadmium 耐性菌이라 판단하여 供試菌으로 사

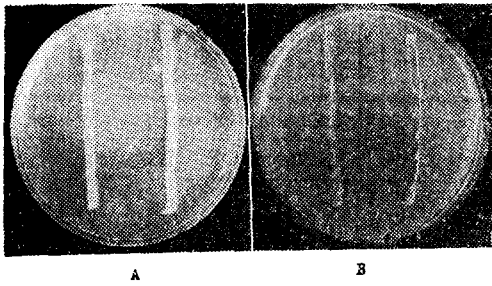


Fig. 3. Growth of Isolated Cadmium Ion-Tolerant Microorganism to Different Cadmium Ion Concentration.

Dilution method in solid media was used for determining the degree of tolerance.

A : Media containing $100\mu\text{g/ml}$ of cadmium ion.
B : Media containing $2,750\mu\text{g/ml}$ of cadmium ion.

용하여 微生物學的 性質과 菌體의 cadmium의 蓄積能力을 檢討했다.

3. 耐性菌의 微生物學的 性質

亞鉛 鑛山의 地表水로 부터 單離, 固定한 高度 cadmium 耐性菌인 C-7 菌의 微生物學的 特性을 檢討했다.

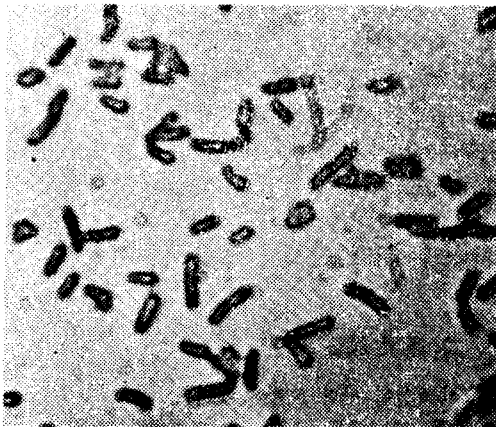


Fig. 4. Micrograph of the Isolated Cadmium Ion-Tolerant Microorganism.

形態의 觀察, C-7 菌의 현미경적 형태는 Fig. 4에 명시했다. 즉 공시균은 운동성을 가지며 크기는 $0.4\sim 1.0\times 1.0\sim 1.5\mu\text{m}$ 의 단간균이다. 분리균에 대하여 平板培養, 斜面培養, 液體培養 및 穿刺培養을 행하여 생육상태를 Table 4에 정리했다. Gram 음성, 통성 혐기성, catalase 양성, 포도당으로부터 酸을 生成시키며 O-F test가 醱酵性으로

Table 4. Morphological and Cultural Characteristics of the Isolated Microorganism C-7.

A. Morphological properties

1. Shape and size : short rods, $0.4\sim 1.0$ by $1.0\sim 1.5\mu\text{m}$
2. Motility : motile
3. Endospore : not formed
4. Growth : aerobic
5. Gram stain : negative

B. Cultural properties

1. Nutrient gelatine and agar stab culture : filiform
2. Nutrient agar plate
 - a. Form : irregular
 - b. Elevation : raised
 - c. Margin : undulate
 - d. Surface : contoured
3. Broth culture : after flocculent, sediment
4. Sediment : flaky
5. Amount of growth : moderate

生理的 性質. 본 耐性菌의 生理的 特性은 Table 5에 정리했다.

형태적 관찰과 生理的 性質을 要約하면 短桿菌,

Table 5. Physiological Characteristics of the Isolated Microorganism C-7.

| | |
|------------------------------------|--------------------------------------|
| 1. Catalase | : positive |
| 2. Nitrate reduction | : negative |
| 3. Methyl red test | : positive |
| 4. Voges-Proskauer reaction | : negative |
| 5. Gelatine hydrolysis | : negative |
| 6. Indol production | : after negative for 4days, positive |
| 7. Urea hydrolyzation | : negative |
| 8. O-F test | : fermentation |
| 9. Simmons's citrate | : positive |
| 10. Growth at 37°C | : good growth |
| 11. Oxygen demand | : facultative anaerobic |
| 12. Optimum temperature | : $26\sim 28^{\circ}\text{C}$ |
| 13. Optimum pH | : 6.0 |
| 14. Acid from carbohydrates | |
| a. Glucose | : + |
| b. Fructose | : + |
| c. Galactose | : + |
| d. Sucrose | : + |
| e. Lactose | : + |
| f. Maltose | : + |
| g. Mannose | : + |
| h. Inositol | : - |
| i. Xylose | : + |
| j. Melibiose | : + |
| k. Arabinose | : + |
| l. Raffinose | : - |

서 Enterobacteriaceae 라 추측되며 Voges-Proskauer 반응 음성, 硝酸鹽 還元性음성, urease 음성 및 生育 最適溫度가 26~28°C 로서 Erwiniae 중의 Erwinia 로 추정 할 수 있다. 더우기 본분리균은 당으로 부터 다량의 gas 를 발생시키며 탄소원으로 서 glucose 와 sucrose 를 이용하며 특히 methanol 과 ethanol 을 잘 이용했다.

4. 耐性菌의 生育最適溫度 및 pH

본 耐性菌의 生育 最適溫度는 Table 5 에 나타 난 바와 같이 26~28°C 였으며 生育 最適pH 는 6.0 이었다(Fig. 5).

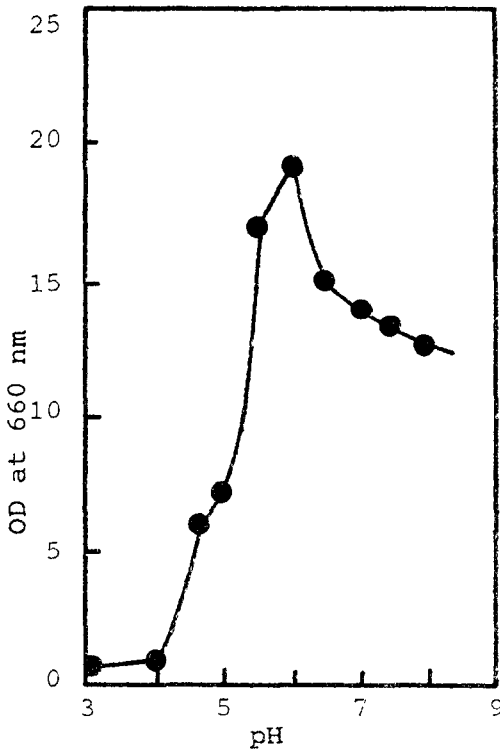


Fig. 5. Growth Rate of the Cadmium Ion-Tolerant at Various pH.

5. 振盪의 效果

. 耐性菌의 生育에 미치는 振盪의 效果를 검토 하기 위하여 50ppm의 Cd²⁺ 함유 배지에서 振盪培養과 靜置培養을 동시에 행하여 그의 生育도를 Cd²⁺ 무첨가 배지에서의 生育도와 비교 검토했다.

본 耐性菌은 振盪培養하므로 靜置培養보다 菌의 증식이 약 15% 촉진 되었다. cadmium의 존재 유 무에 관계없이 같은 경향을 나타내며 Cd²⁺의 존재가 더욱 진탕효과를 크게 했다.

6. 耐性菌의 生育에 미치는 Cadmium의 影響

本 耐性菌을 50 ppm, 100 ppm, 500 ppm 및 1,000 ppm의 Cd²⁺ 을 함유한 배지와 Cd²⁺ 을 함유하지 않은 배지에서의 生育도를 660 nm의 흡광도를 經時的으로 측정하여 비교한 결과는 Fig. 6 과 같다.

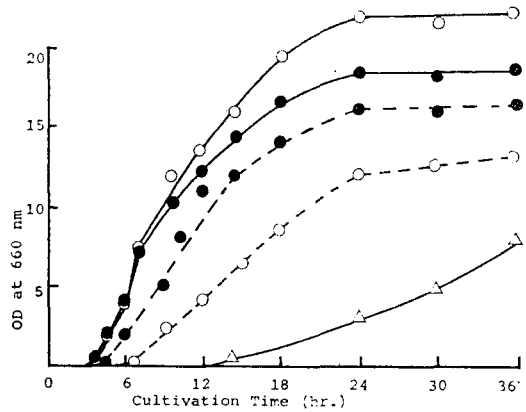


Fig. 6. Time Course of the Cadmium Tolerant in the Various Cd²⁺ Concentration.

- : in the absence of Cd²⁺,
- : at 50µg/ml of Cd²⁺,
- : at 100µg/ml of Cd²⁺,
- : at 500µg/ml of Cd²⁺,
- △-△ : at 1,000µg/ml of Cd²⁺

Cadmium이 함유 되지 않은 배지에서는 배양 15 시간에 最大生長에 도달하였으며, 50 ppm와 100 ppm 에서는 각각 15시간, 20시간의 배양으로 最大에 도달하여 cadmium이 본 耐性菌의 生育에는 큰 영향을 미치지 못했다. 그러나 고농도 Cd²⁺인 500 ppm과 1,000 ppm에서는 각각 28시간과 36시간으로 최대에 도달했다. Cadmium 50ppm에서의 生育은 對照區에 비하여 오히려 20%의 生育을 촉진시켰으며 100 ppm에서는 약 18%의 生育을 阻止하는 결과를 나타냈다. Cadmium의 무첨가와 50 ppm 및 100 ppm의 배지에서는 4시간의 誘導期를 지나 500 ppm과 1,000 ppm에서는 6시간과 13시간의 유도기를 가져 cadmium 농도에 따라 유도기가 연장 될 뿐 아니라 生育에 미치는 阻害度 역시 농도에 비례했다.

7. 耐性菌의 生育에 미치는 Cadmium 이외의 重金屬의 影響

본 耐菌性이 cadmium 이외의 重金屬에 대한 耐

성을 검토하기 위하여 7 종류의 重金屬 ion ($CdCl_2 \cdot 2\frac{1}{2}H_2O$, $HgCl_2$, $ZnCl_2$, $PbCl_2$, $CuCl_2 \cdot 2H_2O$, $SnCl_2 \cdot 2H_2O$, $CrCl_3 \cdot 6H_2O$)을 各各 50 ppm 함유한 배지와 重金屬 무첨가 培地에서의 生育度を 측정하여 비교 검토했다.

이미 前述한 바와 같이 Cd^{2+} 50 ppm 첨가는 重金屬 무첨가 培地에서의 生育에 비하여 약 20%의 生育을 촉진하여 Hg^{2+} 를 제외한 다른 重金屬은 本耐性菌의 生育에 아무런 영향을 미치지 못했다. 다만 Hg^{2+} 는 약 10~13% 정도의 生育을 저지시켰다.

8. 耐性菌의 生育에 미치는 Cadmium의 種類에 따른 影響

Cadmium鹽의 종류가 本耐性菌의 生育에 미치는 영향을 검토하기 위하여 4 종류의 Cadmium鹽 ($CdCl_2 \cdot 2\frac{1}{2}H_2O$, $Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, $Cd(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$, $3CdSO_4 \cdot 8H_2O$)을 各各 50 ppm 함유한 培地에서의 菌의 生育度を 측정하여 cadmium chloride 添加培地에서의 菌의 生育도와 比較하여 Table 6에 정리했다.

Table 6. Bacteriostatic Activity on the Defferent Cadmium Compounds.

| Cadmium salt | Relative growth(%) |
|--------------|--------------------|
| Cd-chloride | 100 |
| Cd-nitrate | 110 |
| Cd-acetate | 103 |
| Cd-sulfate | 98 |

Table 6에 표시된 바와 같이 여러 종류의 cadmium鹽이 本耐性菌의 生育에는 아무런 영향을 미치지 못했다.

9. Cadmium

本分離 耐性菌을 cadmium 함유培地에서 배양하였을때 培地중의 cadmium이 菌체內에 얼마나 축적 되는 가를 알기 위하여 50 ppm 및 100 ppm의 Cd^{2+} 함유 培地에 $28^\circ C$, 24시간 振盪培養하여 菌體內의 cadmium을 原子吸光法에 의하여 精량한 結果를 Table 7에 정리했다. 菌體內에 축적된 cadmium은 50ppm Cd^{2+} 함유 培地에 배양한 乾燥菌體 重量(g)當 28.60mg을 축적하여 培地중의 cadmium을 57.2% 축적했으나 100 ppm Cd^{2+} 함유 培地에서는 23.23 mg의 cadmium을 축적하여 23.2

Table 7. Accumulation of Cadmium Uptake by the Isolated Microorganism.

| Cadmium conta. | Accumulation (mg/g dry cell) |
|----------------|------------------------------|
| 50ppm | 28.60 |
| 100ppm | 23.23 |

%의 cadmium을 培地中에서 菌體內로 蓄積시켰다.

考 察

산업이 고도로 발전함에 수반하여 生活環境은 현저히 汚染되고 있다. 汚染源中 重金屬, 특히 cadmium, 水銀(Hg), 鉛(Pb) 및 6價 chromium 등에 의한 건강의 이상 현상은 커다란 사회 문제로 대두되고 있다. 특히 cadmium이 生體에 침입하는 경로로서는 칼슘(Ca)과 같이 小腸에서 흡수되어²⁴⁾ 흡수된 cadmium은 肝臟과 腎臟에 50~70%가 축적된다고 推定하고 있다.²⁵⁾ 日本 神通川流域에서 發生한 怪疾은 腎性的 骨軟化症이며²⁶⁾ 그 원인이 cadmium이라고 추측했다.²⁷⁾ 특히 1968년 5월 그의 怪疾인 Itai-itai病은 慢性 Cd^{2+} 中毒에 의한 腎臟障害의 結果 칼슘과 磷의 平衡에 變化를 일으켜 骨軟化症의 症狀인 Fanconi 症候群이라고 日本 厚生省의 견해²⁸⁾가 발표되어 公害病으로 認定되었다. 이와같이 cadmium의 毒性 發現機構를 추론할 수 있었으며, 미생물 생태계에도 커다란 영향을 미치리라 본다. 즉 cadmium이 저농

Table 8. Bacteriostatic Activity of Cadmium Ion.

| Strain | Cd^{2+} (ppm) | Accumulation of Cd^{2+} (mg/g dry cell) |
|---|-----------------|---|
| Microorganism isolated C-7 | 2,800 | 28.6 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> * | 1,500 | 23.0 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO 3445 ¹⁶⁾ | 750 | — |
| <i>Escherichia coli</i> ¹⁶⁾ | 500 | — |
| <i>Bacillus subtilis</i> ¹⁶⁾ | 0 | — |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ¹⁸⁾ | 1,500 | 7.8 |
| <i>Klebsiella rhinoscleromatis</i> C-8 ¹⁷⁾ | 1,000 | 27.3 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ¹⁹⁾ | 500 | — |

* Microorganism isolated by H. Horitsu¹⁶⁾.

도로 부터 고농도로 함량이 증가함에 따라 생육 가능한 菌數는 減少되어 극히 制限된다^{18,19)}는 결과와 동일하게 亞鉛광산지역에서 생존하는 Cd²⁺ 耐性菌은 극히 制限되어 1,000ppm Cd²⁺에 耐性을 나타내는 菌이 광범위한 지역과 많은 sampling site 에서 17군주로 극히 制限 되었다고 할 수 있다. 小田¹⁷⁾에 의하면 Cd²⁺ 내성균의 分布를 미생물의 生育 限界 濃度로부터 Cd²⁺ 感受性菌(<5~5μg/ml), 中程度 Cd²⁺ 耐性菌(50~400μg/ml) 및 強度 Cd²⁺ 耐性菌(700~1,000μg/ml)의 3群으로 나누어 볼 수 있다고 한다. 본 분리 耐性菌과 他 研究者들에 의하여 분리된 cadmium 耐性菌의 耐性시험 및 菌體內 蓄積能과를 비교하면 Table 8 과 같다.

Table 8에 비교한 바와 같이 본 耐性菌인 *Erwinia* sp. C-7 菌은 2,800 ppm Cd²⁺ 耐性菌이므로 強度 Cd²⁺ 耐性菌보다 耐性이 높은 高度 Cd²⁺ 耐性菌이라 할 수 있다. *Pseudomonas aeruginosa*¹⁶⁾ 와 *Enterobacter cloacae*¹⁸⁾은 1,500 ppm의 Cd²⁺ 耐性菌이며 본 耐性菌은 他耐性菌보다 높은 Cd²⁺ 耐性을 나타낼 뿐만 아니라 28.6 mg/g dry cell 이란 높은 농도로 cadmium 을 菌체내에 축적하여 菌체내 蓄積能 역시 대단히 양호한 菌임이 입증 되었다. 공시균인 *Erwinia* sp. C-7 이 Cd²⁺ 耐性이 특히 강한 이유를 他 연구자와 비교하여 고찰 해 보면 타 연구자는 耐性菌의 분리에 사용한 시료가 工場 廢水¹⁹⁾, 土壤¹⁸⁾, cadmium 汚染지역의 廢水溝底의 汚泥¹⁷⁾ 및 活性汚泥¹⁶⁾이므로 cadmium 에 2次 汚染지역의 시료 였다고 할 수 있으나 본 供試菌은 cadmium 이 源泉의으로 존재하는 亞鉛 光산지역으로부터 분리했으므로 환경에 適應된 菌이 아니라 이미 適應이상의 變異가 일어난 菌일 가능성이 크므로 耐性이 높다고 추측된다. 더욱이 본 耐性菌은 고농도의 cadmium(1,000ppm)에서의 生育 樣狀은 誘導期가 13시간으로 저농도 cadmium (50 ppm)에서 보다 약 10시간 연장되며 증식속도 및 最大菌數도 감소했다. 이와같은 결과는 이미 많은 연구자^{18,19)}의 결과와 동일했다. *Staphylococcus aureus*¹⁹⁾는 cadmium 이외에 重金屬類에 대하여는 耐性이 낮은 cadmium 特異 耐性菌이나 본 耐性菌은 Hg²⁺ 에 대하여 약 10~13% 정도의 生育 阻止 現象이 나타났으나 다른 重金屬에 대해서는 cadmium 과 같이 대단히 耐性이 높은 特徵的인 菌이었다. 이와 같은 特性으로 重金屬으로 汚染된 廢水處理에 多目的으로 사용이 가능하리라 믿는다.

더욱이 생육 최저온도가 26~28°C 로서 이미 발표된 다른 耐性菌에 비하여 낮아 實用性이 높다고 하겠다. Cadmium 蓄積能에 있어서도 Table 8 에서 보는 바와 같이 가장 높은 蓄積能을 나타냈다.

*Enterobacter cloacae*¹⁸⁾는 10 ppm의 cadmium 含有培地에서 최대 50%, *Pseudomonas aeruginosa*¹⁶⁾는 100 ppm에서 41%, *Krebsiella rhinoscleromatis*¹⁷⁾는 50 ppm에서 53%의 蓄積能을 나타냈으며 본 耐性菌 *Erwinia* sp. C-7 은 50 ppm의 cadmium 含有培地에서 24 시간 振盪培養하므로 거의 57.2%, 28.60 mg/g dry cell의 cadmium 을 축적시켰다. 이와같은 特性은 *Staphylococcus aureus*¹⁹⁾의 70% 에는 미치지 못하지만 높은 蓄積能을 가지고 있어 보다 낮은 농도에서 배양하면 補強되리라 믿는다. 본 耐性菌의 蓄積能은 Table 7 에서와 같이 50 ppm으로 배양시 28.60 mg/g dry cell에서 cadmium의 농도를 100 ppm으로 증가 시키므로 23.23 mg/g dry cell로 蓄積能이 低下되고 있다.

이상의 결과로서 重金屬의 蓄積能은 저농도 일수록 蓄積能이 증가된다.

*Staphylococcus aureus*¹⁹⁾는 10 ppm의 Cd²⁺ 含有培地에서의 蓄積能이므로 본 耐性菌을 저농도에서 배양하면 더욱 높은 蓄積能을 나타내리라 믿는다.

Cadmium은 강한 SH 阻害劑^{29,30)}이며 oxidative phosphorylation의 uncoupler³¹⁾ 작용등의 阻害作用이 알려져있다. 그러나 耐性菌은 이와같은 阻害作用에 대한 感受性이 낮은가 cadmium의 膜 透過性的 低下에 의하여 Cd²⁺ 耐性을 나타낸다고 추측할 수 있으나 세균의 종류에 따라 耐性이 다른 원인과 아직 많은 의문점들은 남는다.

본 耐性菌 *Erwinia* sp. C-7 이 고도 cadmium 耐性菌으로서 高濃度 cadmium 을 함유하는 環境下에서 生育할 수 있는 가에 대한 生理學的 性狀은 흥미 깊은 연구과제로서 보다 많은 연구가 필요하다고 믿는다.

要 約

亞鉛 鑛山 地域의 汚泥와 土壤으로부터 cadmium 耐性菌의 분리를 시도하여 強度 cadmium 耐性菌인 17 군주를 순수 분리했다. 強度 cadmium 耐性菌인 C-7 군주에 대하여 미생물학적 성질과 세포내의 cadmium 축적에 대하여 검토했다.

本 耐性菌, C-7 은 *Erwinia* sp. 로 固定되었으며 2,800 ppm의 cadmium 에 耐性을 나타내는 高度 cadmium 耐性菌이었다.

本 耐性菌은 cadmium 100 ppm 의 농도에 무침가시의 생육과 거의 같은 증식을 나타냈으나 500ppm 이상의 농도에서는 誘導期가 연장되며 1,000 ppm 이상의 농도에서는 増殖이 阻止되었다. 本 耐性菌은 cadmium 이외의 重金屬에 대해서도 耐性을 나타냈다.

고도 cadmium 耐性菌인 *Erwinia* sp. C-7 균은 50 ppm 의 Cd²⁺ 함유 배지에 28°C, 24시간 振盪培養 하므로 培地中의 cadmium 을 57.2%, 28.60 mg /g dry cell 의 cadmium 을 菌體內에 蓄積하였다.

謝 辭

이 論文을 완성함에 있어서 cadmium 의 定量을 도와주신 曉星女子大學 崔閔壽 教授님에게 심심한 感謝를 表하는 바 입니다.

參 考 文 獻

- 1) Tonomura, K., Nakagami, T., Futai, F. and Maeda, K. : *J. Ferment. Technol.*, 46, 506 (1968).
- 2) Tonomura, K., Maeda, K. and Futai, F. : *ibid.*, 46, 685 (1968).
- 3) Suzuki, T., Furukawa, K. and Tonomura, K. : *ibid.*, 46 1048 (1968).
- 4) Beppu, T. and Arima, K. : *J. Bacteriol.*, 98, 888 (1969).
- 5) Komura I. and Izaki, K. : *J. Biochem.*, 70, 885 (1971).
- 6) Komura, I., Funada, T. and Izaki, K. : *ibid.*, 70, 895 (1971).
- 7) Tomoyeda, M., Horitsu, H. and Kuchimaru, K. : *日農化*, 47(1), 45(1973).
- 8) Tomoyeda, M., Horitsu, H. and Azuma, T. : *ibid.*, 47(1), 51 (1973).
- 9) 友枝幹夫, 掘津浩章, 小川 清司 : *日農化 大會要旨*, p.417 (1973).
- 10) 김인식, 홍순덕 : *韓國産微秋季大會要*, p.24 (1978).
- 11) Morris, E. O. : "The Chemistry and Biology of Yeasts", Academic Press, New York, p.251 (1958).
- 12) Ashida, J., Higashi, N. and Kikuchi, T. : *Protoplasma*, 57, 27 (1963).
- 13) Novick, R. P. and Roth : C., *J. Bacteriol.* 95, 1335 (1968).
- 14) Peyru, G., Wexler, L. F. and Novick, R. P. : *ibid.*, 98, 215 (1969).
- 15) Chopra, I. : *J. Gen. Microbiol.*, 63, 265 (1971).
- 16) Horitsu, H., Maeda, T. and Tonoyeda, M. : *日農工*, 52(1), 14 (1974).
- 17) Oda, M. and Minami, M. : *ibid.*, 56 (1), 1 (1978).
- 18) 金永培, 李瑞來 : *韓國産微誌*, 4(3), 111(1976).
- 19) 崔慶浩, 朴燦性 : *韓國營食誌*, 8(1), 25(1979)
- 20) 梅澤 純夫 : "抗菌性物質", 培風館, 東京, p.171 (1963).
- 21) 武内次夫, 鈴木正己 : "原子吸光分光分析", 南江堂, 東京, (1969)
- 22) Snodin, D. J. : *Assoc. Public. Anal.*, 11(4), 112 (1973).
- 23) 掘口博 : "公害食品"三共社, 東京, p.32(1975).
- 24) Schachter, D., Dowdle, E. B. and Schenker, H. : *Am. J. Physiol.*, 198, 263 (1960).
- 25) 小泉直子 : *日衛誌*, 30(2), 300(1975).
- 26) 武内重五郎, 篠田晤, 小林一到, 中本安, 高澤至, 黒崎正夫 : *日内科*, 21, 876 (1968).
- 27) 石崎有信, 福島匡昭 : *日衛誌*, 23, 271(1968).
- 28) 厚生省 : 富山県におけるイタイイタイ病に奥する厚生省の見解(1968).
- 29) Hewitt, E. J. and Nicholas, D. J. D. : "Metabolic Inhibitor, Vol. 2", Academic Press, New York and London, p. 372 (1963).
- 30) Goodman, I. and Hiatt, R. B. : *Biochem. Pharmacol.*, 13, 871 (1963).
- 31) Jacobs, E. E., Jacobs, M., Sanadi, D. R. and Bradley, L. B. : *J. Biol. Chem.*, 223, 147 (1956).