

## 陰이온系 合成洗劑의 微生物分解

金 永培 · 李 瑞來

韓國原子力研究所 農業生化學研究室

### Microbial Degradation of Anionic Synthetic Detergents

Young-Bae Kim and Su-Rae Lee

Agricultural Biochemistry Laboratory, Korea Atomic

Energy Research Institute, Seoul, Korea

(Received June 30, 1976)

#### Abstract

A microbial strain capable of degrading ABS (alkyl benzene sulfonate) was isolated and identified as *Pseudomonas caryophylli*. During the incubation of the isolated bacterium in a synthetic effluent containing 10 ppm of ABS, the extents of removal of ABS, BOD and COD were 40%, 89% and 71%, respectively. The degradability of ABS by pure culture with the isolated strain was twice higher than that of mixed culture with natural microflora. The biodegradability of some commercial detergents in Korea by the isolated organism was as follows: Hiti 46.2%, Kleenup 37.5%, No. 1 29%, and OK 27.9%.

#### 서 론

合成洗劑(synthetic detergent)는 그 화합물의 이온성에 따라 음이온계, 양이온계 및 비이온계로 분류된다. 합성세제는 비누의 결점을 보완할 수 있으며 경제적으로 유리하기 때문에 1966년 우리나라에 처음 도입된 후 급속히 그의 생산량이 증가되어 1973년에는 41,000톤에 이르고 있다.

ABS (alkyl benzene sulfonate)는 음이온계 합성세제의 대표적인 것으로 국내에서 소비되는 합성세제의 대부분을 차지하고 있다. 그러나 ABS는 자연계에서 쉽게 분해되지 않는 안정한 화합물로서 낮은 농도(0.5ppm)에서도 거품을 일으키며 또한 廢水처리중 凝集과정과 曝氣효율을 저하시키는 등의 문제를 일으키며 淡水魚에도 유해한 것으로 알려져 있다<sup>(1)</sup>. 따라서 최근에는 生分解性 합성세제(LAS)로의 전환이 시도되고 있다.

邊 및 鄭<sup>(2)</sup>은 서울 시내의 下水를 조사한 결과

한강 支流는 모두 허용한계를 넘는 ABS를 함유하고 있었고 또한 林등<sup>(3)</sup>과 황등<sup>(4)</sup>도 한강水域의 ABS오염이 地域과 季節에 따라 허용한계를 넘는 경우가 있음을 보고 하였으며 합성세제의 소비증가 추세로 미루어 볼 때 그 오염도는 더욱 심화될 것으로 전망되고 있다. 합성세제의 제거와 미생물적 분해에 관한 외국에서의 연구<sup>(5-13)</sup>에 의하면 ABS는 일반적인 폐수처리로는 완전제거가 어려우며 그의 화학구조와 처리방법에 따라 분해율이 다른 것으로 알려져 있다. 그러나 국내에서는 이와 관련된 보고를 아직 찾아볼 수 없다.

Bogan and Sawyer<sup>(5-7)</sup>는 폐수처리과정중 합성세제의 제거를 연구한 결과 그의 종류에 따라서 분해정도가 다르며 특히 alkyl chain의 branch가 문제된다고 보고하였으며 McKinney등<sup>(8-9)</sup>은 活汚泥에 존재하는 대다수의 미생물이 합성세제를 糞化할 수 있으나 4급 탄소때문에 활성오니법으로는 75% 이상의 분해가 불가능하다고 보고 하였다. McGauhey and Klein<sup>(10)</sup>은 재래의 침전법으로

는 2~4%의 ABS밖에 제거되지 않으며 single-stage 활성오니법으로는 50~60%, two-stage의 경우에는 70~75%까지 분해될 수 있다고 하였다. Swisher<sup>(11)</sup>는 ABS의 구조에서 sulfonate group과 alkyl chain 끝의 거리가 길수록 분해가 쉬우며 open end chain이 없이 terminal quaternary group이 존재하면 분해가 현저히 지연된다고 보고하였다. Sweeney and Foote<sup>(12~13)</sup>은 tetrapropylene ABS는 65~69%가 생분해 될 수 있으며 2~3%만이 흡착에 의해 제거되고 LAS는 99%까지 분해가 가능하다고 보고한 바 있다.

따라서 본 연구는 폐수중의 합성세제 분해율을 높이기 위한 방법을 모색하기 위하여 착수되었으며 우선 ABS 분해능이 우수한 미생물을 자연계에서 분리하여 同定하였고 이들 미생물에 의한 ABS의 분해과정을 실험하였으므로 이에 그 결과를 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. ABS 分解菌株의 分離 및 同定

시판 합성세제 (Kleenup) 2 g,  $(\text{NH}_4)_2 \text{HPO}_4$  1.3 g, 한천 15 g, 및 수도수 1,000 ml로 만든 한천 평판배지 위에 가정하수를 도말하여 37°C에서 24시간 배양한 후 발생하는 colony를 취하여 순수분리하였고 sodium dodecylbenzene sulfonate 100 ppm을 함유하는 배지에서의 성장도와 20 ppm에서의 ABS 분해율로부터 우수균주를 선발하였다.

선발된 균주는 *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*<sup>(14)</sup>와 *A Guide to the Identification of Genera of Bacteria*<sup>(15)</sup>에 의하여 同定하였다.

### 2. 合成廢水의 調製 및 微生物 培養

합성폐수는 포도당 300 mg, nutrient broth 300 mg,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  300 mg, sodium dodecylbenzene 10 mg 및 수도수 1000 ml로 제조하였다.

분리균주에 의한 ABS분해 실험에서는 上記한 합성폐수에 분리균주를 접종하여 30°C에서 진탕 배양하였으며 자연미생물군에 의한 ABS 분해실험에서는 가정하수를 합성폐수에 접종하여 30°C에서 1일간 진탕배양하면서 3회 계대할 것을 사용하였다.

### 3. 合成洗劑 및 分析方法

ABS는 methylene blue법<sup>(16)</sup>으로 sodium dodecylbenzene sulfonate ( $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{Na}$ , 米山藥品化

學株式會社, 日本, 大阪)을 표준화합물로 사용하여 정량하였고 BOD, COD는 常法<sup>(17)</sup>에 의하여 측정하였으며 세균수는 平板塗抹培養法<sup>(18)</sup>으로 측정하였다.

또한 市販合成洗劑로서는 음이온계 분말합성세제인 Hiti(주식회사 립키), Kleenup(愛敬油脂공업주식회사), No.1(무궁화 油脂 공업사), 그리고 O.K.(三興油脂공업주식회사)를 사용 하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 分離微生物의 同定

분리, 선발한 미생물의 形態, 培養 및 生理의 特性은 Table 1, 2와 같다. 즉 Gram 음성의 鞭毛 運動性의 短桿菌으로서 Hugh & Leifson 배지에서 酸酵하지 않았으며, 生育因子를 요구하지 않았다. 또한 窒素缺乏배지에서 DL- $\beta$ -hydroxybutyrate를 유일 탄소원으로 하여 성장하였으며 denitrification 능력이 있고 starcr와 gelatin의 분해능이 없는 점, 41°C에서의 성장과 arginine dihydrolase의 존재, 그리고 D-glucose, D-ribose, D-rhamnose, 및 L-alanine을 유일 탄소원으로 資化하는 점등을 고려하여 *Pseudomonas caryophylli*로 同定하였다. 그러나 maltose의 資化性등은 *Bergey's manual*<sup>(14)</sup>과 일치하지 않았다.

### 2. 分離微生物의 培養중의 변화

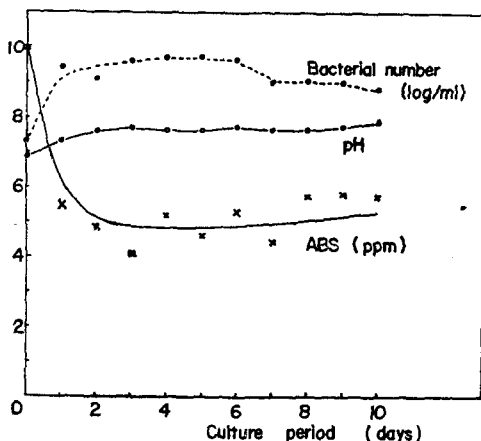
분리균주를 합성폐수에 배양중 변화는 Fig. 1과 같다. 세균수는 배양 1일까지 증가하여 6일후

Table 1. Morphological and cultural characteristics of the isolated microorganism

A. Morphological characters	
1. Gram stain:	negtive
2. Shape and size:	short rod, 0.6 by 1.5 $\mu$ m
3. Motility:	motile
4. Flagella:	polar
5. Endospore:	not produced
6. Growth:	aerobic
7. Acid fast stain:	negative
B. Cultural characters	
1. Agar plate	
a) Form:	circular
b) Elevation:	flat
2. Agar stroke:	
filiform	
3. Agar stab:	
filiform	
4. Broth culture:	
turbid	

**Table 2.** Physiological characteristics of the isolated microorganism

1. Gelatin: not liquefied
2. Indole: not produced
3. Catalase: produced
4. Voges-Proskauer reaction: positive
5. Methyl red test: negative
6. Starch: not hydrolyzed
7. Filter paper: not digested
8. Growth factor: not required
9. Diffusible pigments: not produced on iron deficient media
10. Poly- $\beta$ -hydroxybutyrate: accumulated in nitrogen deficient media
11. Arginine dihydrolase: present
12. Growth at 41°C: grown
13. Denitrification: capable
14. Egg yolk reaction: positive
15. Acid production in Hugh and Leifson's medium: aerobically
16. Carbon sources for growth
Acetate : +            L-Rhamnose: +
L-Alanine : +        D-Ribose : +
L-Arabinose : +      Sodium dodecylbenzene sulfonate: +
L-Arginine : +        Succinate : +
D-Cellobiose : +     Sucrose : +
D-Fructose : +       Tartarate : -
D-Glucose : +        Trehalose : +
Maltose : +           D-Xylose : +



**Fig. 1.** Changes of pH, bacterial count, and ABS content during the shaking culture at 30°C of synthetic ABS-containing effluent with the isolated *Pseudomonas sp.*

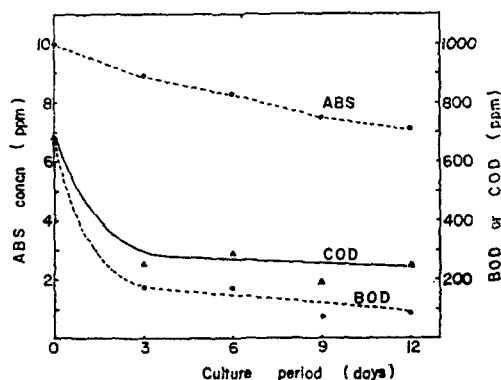
감소할 때까지 일정한 수준을 보였으며 pH는 배양 2일까지 약간 높아져서 그 이후에는 큰 변화가 없었다. ABS는 배양 1일후 초기 농도의 60% 이하로 감소하여 10일까지에도 비슷한 수준을 유지하고 있으나 그 사이 보여준 심한 변화는 methylene blue법으로 정량할 때 ABS 분해산물에 기인하는 오차가 아닌가 생각된다<sup>(8)</sup>.

### 3. ABS, BOD 및 COD의 변화

합성세제의 분해과정중 잔류하는 ABS를 측정하기 위하여 Allred등<sup>(10)</sup>은 물리적, 화학적 및 생물학적 방법을 검토하였으나 각각 한계가 있음을 보고하였다. Fig. 2는 합성폐수가 分離菌에 의하여 분해되는 과정을 methylene blue법, BOD 및 COD로 측정된 결과이다. Methylene blue법에 의하면 ABS가 서서히 계속적인 감소를 보이는 반면 BOD와 COD는 배양 3일까지 급속히 감소하여 그 이후는 거의 감소하지 않는 것으로 나타났다. 이것은 합성폐수중의 ABS 이외의 유기물이 처음 3일 동안 거의 분해되었기 때문이고 그이후 ABS의 분해가 BOD와 COD에 큰 영향을 미치지 못하였음은 다른 유기물에 비하여 ABS는 비교적 소량이며 또한 완전산화에 필요한 이론적 산소요구량<sup>(5,6)</sup>에 비하여 실제로 산화되는 비율이 낮기 때문이라고 생각되며 McGahey and Klein<sup>(12)</sup>도 BOD가 88~97% 제거되는 동안 ABS는 17~77% 제거될 수 있어 ABS의 분해와 BOD의 감소가 반드시 함께 나타나지는 않는다고 보고하였다.

### 4. 분리균주와 자연미생물군의 ABS 분해능

합성폐수중의 ABS분해를 분리균주에 의한 순수



**Fig. 2.** Changes of ABS, BOD and COD contents during the shaking culture at 30°C of synthetic ABS-containing effluent with the isolated *Pseudomonas sp.*

배양과 천연하수에 의한 혼합배양에 의하여 비교한 결과는 Fig. 3과 같다. 혼합배양에 의한 ABS의 분해가 배양 1일 이후부터 시작되는데 비하여 순수배양에 의한 것은 배양 즉시 분해가 시작되며 전체적으로 2배 이상의 분해율을 보여주었다. 그리고 어느 경우이나 8일째에 급속히 감소하는 결과를 나타내었는 바 그 이유는 methylene blue법으로 검출되지 않는 상태로의 ABS의 2차적 분해에 의한 것인지 또는 ABS 분해효소의 誘導生成에 의한 것인지 알 수 없으므로 이것은 앞으로 追究되어야 할 과제라 생각한다. Mckinney & Symons (9)는 그들이 분리한 ABS 분해균들이 자연계에 널리 분포하는 것이므로 순수배양이 불필요하다고 주장하였으나 본 실험 조건하에서는 혼합배양의 경우 ABS의 30%까지 분해된대 비하여 순수배양의 경우는 60% 수준까지 분해되었다. 따라서 우수균주의 선정과 배양조건 개선에 의하여 ABS의 보다 높은 분해율을 기대할 수 있다고 생각된다.

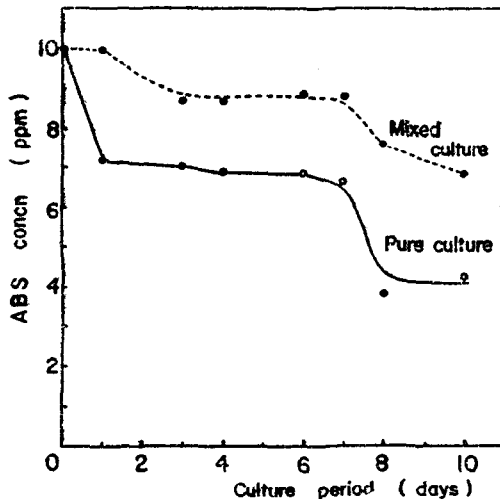


Fig. 3. Comparison of ABS degradabilities during the shaking culture at 30°C of synthetic ABS-containing effluent with the isolated bacteria and natural microflora

### 5. 市販 合成洗劑의 分解率

현재 우리나라에는 ABS를 주성분으로 하는 여러 商標의 합성세제가 市販되고 있다. 이들중 비교적 소비량이 많은 4종류를 선택하여 분리균에 의한 분해율을 조사한 결과는 Fig. 4와 같다. 이때 methylene blue법으로 측정된 합성세제 함유폐수의 初期 ABS농도는 각각 Hiti 9.5 ppm, Kleenup

8.7 ppm, OK 8.8 ppm, 그리고 No. 1 9.9 ppm, 이었다.

조사한 4종의 합성세제는 모두 어느정도의 분해는 가능하지만 그 분해정도에 있어서는 많은 차이가 있어서 12일 후의 분해율을 보면 Hiti 46.2%, Kleenup 37.5%, OK 27.8%, No. 1 29%이었다. 또한 Kleenup은 3일까지에 대부분의 분해가 이루어져 그 분해속도가 빠른 편이며 다른 합성세제는 6일이상 걸리는 것으로 나타났다. 이는 alkyl chain의 길이, sulfonate group 및 4급탄소의 위치등과 같은 ABS의 화학구조상의 차이에 따라서 분해한도와 분해속도가 각각 다르기 때문인 것으로 생각되었다(6,11). 따라서 구조적으로 분해가 빠르며 용이한 합성세제의 개발로 ABS에 의한 환경오염을 줄일 수 있으리라 생각된다.

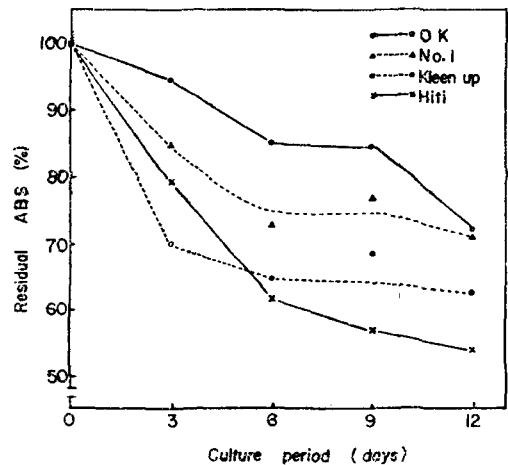


Fig. 4. Degradation of some commercial anionic detergents during the shaking culture at 30°C with the isolated *Pseudomonas sp.*

### 요 약

음이온계 合成洗劑인 ABS (alkyl benzene sulfonate)의 분해능이 우수한 균주를 자연계에서 분리하여 *Pseudomonas caryophylli*로 同定하였다. ABS 10 ppm을 함유한 人工廢水에서 분리균주를 배양시 ABS는 40% 이상, BOD는 89%, COD는 71% 감소되었으며 ABS分解能은 自然微生物群에 의한 혼합배양시의 2배 이상이었다. 분리균주에 의한 市販 합성세제의 분해율은 Hiti 46.2%, Kleenup 37.5%, No. 1 29%, OK 27.8%이었다.

## 참 고 문 헌

- (1) 用水廢水便覽編集委員會編：用水廢水便覽，改訂二版，丸善株式會社，東京 p.595 (1973).
- (2) 邊光燠，鄭文植：公衆保健雜誌，10, 297 (1973).
- (3) 林中基，洪思煥，尹水弘：한국육수학회지，5, 3 (1972).
- (4) 황영식，백남훈，김종택：국립보건연구원보，10, 285 (1973).
- (5) Bogan, R. H. and Sawyer, C. N.: *Sewage Ind. Wastes*, 26, 1069 (1954).
- (6) Bogan, R. H. and Sawyer, C. N.: *Sewage Ind. Wastes*, 27, 917 (1955).
- (7) Bogan, R. H. and Sawyer, C. N.: *Sewage Ind. Wastes*, 28, 637 (1956).
- (8) Mckinney, R. E. and Symons, J. M.: *Sewage Ind. Wastes*, 31, 549 (1959).
- (9) Mckinney, R. E. and Donovan, E. J.: *Sewage Ind. Wastes*, 31, 690 (1959).
- (10) McGauhey, P. H. and Klein, S. A.: *Sewage Ind. Wastes*, 31, 877 (1959).
- (11) Swisher, R. D.: *J. Water Pollut. Control Fed.*, 35, 877 (1963).
- (12) Sweeney, W. A. and Foote, J. K.: *J. Water Pollut. Control Fed.*, 36, 14 (1964).
- (13) Sweeney, W. A.: *Water Pollut. Control Fed.*, 38, 1023 (1966).
- (14) Buchanan, R. E. and Gibbon, N. E.: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th ed., Williams & Wilkins Co., Baltimore, Md. (1974).
- (15) Skerman, V. B. D.: *A Guide to the Identification of the Genera of Bacteria*, 2nd ed., Williams & Wilkins Co., Baltimore, Md. (1967).
- (16) 日本分析化學會關東支部編：公害分析指針 5, 水土壤編2-i, 共立出版株式會社，東京 (1972).
- (17) 眞柄泰基：環境汚染分析法13, DO·BOD·OC, 大日本圖書株式會社，東京 (1973).
- (18) 京都大學農學部食品工學教室編：食品工學實驗書 下卷，養賢堂，東京 (1972).
- (19) Allred, R. C., Setzkorn, E. A. and Huddleston, R. L.: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, 41, 13 (1964).