

# Linear Alkylbenzene Sulfonate의 생분해에 이용되는 활성오니의 표준화에 관한 연구

선 일 식 · 정 일 현\*

단국대학교 대학원 화학공학과

\* 단국대학교 화학공학과

## A Study on the Standardization of Activated Sludge Use to Biodegraded Linear Alkylbenzene Sulfonate

Sun, Yle-Shik · Jung, Il-Hyun\*

*Dept. of Chemical Engineering, Dankook University*

\* *Dept. of Chemical Engineering, Dankook University*

(Recieved May, 20, 1992)

### ABSTRACT

This study is on the biodegradability of the activated sludge, which used to biodegrade Linear Alkylbenzene Sulfonate(LAS), synthetic detergents and sufactants.

The activated sludge in waste water treatment plant is used to the test of biodegradation of anionic surfactants and nonionic surfactants, but it have the periodic change of the biological propety to the lapse of the time.

For the pupose of controlling and adjusting of the activated sludge in biodegradation test, we collected microorganisms from the sewage plant and the soil, and then, made the activated sludge in semicontinuous aeration chamber.

From determined biodegradation data, and the degree of biodegradability to the LAS, we confirmd the standardized synthetic activated sludge which have more stable biodegradability than the sewage activated sludge.

In continuous biodegradation test, LAS(dodecene-1) was biodegraded more than 99%, In 7days by the standardized activated sludge.

### I. 서 론

재래식 고품 세탁비누의 대용으로 사용되는 합성세제는 1831년, E. Frémy에 의해 올리브 및 아몬드 유를 황합(Sulfonation)시켜 최초의 합성계면활성제로서 제품화된 이후 2차대전중 석탄공업에서 석유공업

으로 전환된 공업구조를 바탕으로 그 생산량과 소비량은 증가되고 있다.

합성세제(Syndets : Synthetic detergents) 또는 넓은 의미로서 계면활성제(Surfact active agent)는 최초로 석유에서 나온 Naphtha가 Alkyl benzene으로 제조되어 황합시킨 ABS(Alkyl Benzene Sulfonate)를 주 원료로 사용했으나 이 제품은 Benzene

에 결합되어 있는 Alkyl(Dodecyl)기가 측쇄상 4급 탄소를 갖고 있어 이를 주 계면활성제로 포함한 합성세제는 미생물에 의한 생분해가 곤란하고 수중에 장시간 체류되어 하천, 호수, 해양에 발포효과를 나타내 수질 자체를 오염시키거나 물의 자정작용을 방해하며 계면활성제 자체의 독성으로 인한 어류의 피해도 크다.<sup>1)</sup>

그 후 ABS는 n-파라핀을 탈수 소화시킨 n-올레핀을 제조하고 불산을 촉매로 한 알킬화법에 의해 제조된 LAS(Linear Alkylbenzene Sulfonate)로 개량하여 사용하고 있는데 이는 미생물에 의한 생분해가 쉬운 것으로 인정되어 그 사용을 권장해 왔다.<sup>2)</sup>

우리나라에서는 1967년 합성세제가 처음 소개된 이후 1990년 현재 내수용으로 약 29만톤이 출고되었는데 이는 세제전체(합성세제+비누)의 62%에 해당한다.<sup>3)</sup>

현재 합성세제의 주 계면활성제인 LAS는 다른 계면활성제와 배합하여 가장 널리 사용되고 있는데 가정 및 산업용으로 사용된 이 계면활성제는 하수 및 폐수중에 포함되어 자연환경에 노출될 때 미생물의 접촉으로 단계적인 분해를 보인다.

제1차 생분해에서는, 물질자체를 변화하는데 필요한 최소한의 생분해로서 Alkyl기의  $\omega$  및  $\beta$  산화가 일어나며 환경 정도에 따른 생분해에서는 수중발포 및 수생생물의 영향을 보이지 않을 때까지 분해되는 것으로 Benzene 고리의 개환(Benzene Ring Cleavage)이 일어나 계면활성제로서의 성능을 잃게 되는 과정을 거친 다음 최종 생분해 과정으로서  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  및 무기황산화물을 생성하는 탈술폰화(Desulfonation) 과정을 거친다.<sup>4, 8)</sup>

이와 같이 LAS는 생물학적 처리에 있어 활성오니층의 미생물에 의해 분해된다. 그러나 우리나라의 대도시처럼 인구밀도가 높고 하수처리율이 낮으며 하수가 해역에 도달하는 시간이 짧은 곳에서는 합성세제의 소비량 증가에 따른 하수처리장 및 하천 등에서 발포 및 축적현상을 일으켜 폐수처리를 어렵게 하거나 수질오염을 가속화 시킨다.

따라서 본 연구는 인체와 환경을 오염시키는 합성세제로부터 오염을 제어하기 위해 규정된 생분해도 시험에 주안점을 두고 이의 시험에 사용되는 활성오니를 각 하수처리장에서 채집 후 비교검토하고, 이로

부터 제조오니를 생산하여 조정 관리의 단계를 거친 후 직접 생분해도 시험에 이용함으로써 시험상 예상되는 환경적 변동인자를 최소화하고 시험데이터의 신뢰도 향상 및 활성오니의 채집에 따르는 시간과 경비 절감 그리고 시험의 표준화에 접근하려는데 그 목적을 두었다.

## II. 실험

### 1. 활성오니의 제조

#### 1) 활성오니원의 채집 및 배양

실험에 사용한 활성오니는 각 장소에서 채집된 하수처리장의 반송오니, 하수, 토양 등을 균질하게 혼합한 후 여과하고 반 연속식 폭기조에 넣어 합성하수와 함께 폭기하여 배양 하였다.<sup>5)</sup>

#### ① 활성오니 채집장소

- 중랑천 하수처리장 반송오니 1l
- 안양천 하수처리장 방류수 1l
- 난지도 하수처리장 방류수 1l
- 정원 토양 1kg

#### ② 채집 횟수<sup>6, 7)</sup>

연간 4회로 3, 6, 7, 12월에 채집 하였다.

#### ③ 조 정

각 장소에서 채집한 오니, 하수, 토양을 5l 용기내에 담아 혼합하고 정치시킨 후 위에 뜨는 이물질을 제거했다.

상등액을 No. 2(5A) 여과지로 거른 후 NaOH 또는  $\text{H}_3\text{PO}_4$ 로 pH를  $7.0 \pm 0.1$ 으로 조절하고 Fig. 1과 같이 반 연속식 활성오니 폭기조에 넣었다.

#### ④ 배 양

조정된 액을 30분간 통기후 정치시키고 전량(약 1.5l) 중 1/3을 상등액에서 제거시킨 후 같은 양의 합성하수\*)를 넣고 다시 통기시켰다.

\*) 합성하수(Synthetic sewage stock solution):  
Glucose 13.0g, Nutrient Broth 13.0g, Beef Extract 13g, Dipotassium hydrogen phosphate 13.0g, Ammonium Sulfate 2.5g

이 조작을 매일 1회 반복 하였다.

#### ⑤ 활성오니의 관리

pH는  $7.0 \pm 1.0$ 으로 유지하고 온도는  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , 배

양조내 용존산소는 7.0ppm 이상이었으며, 현미경으로 다수의 protozoa가 관찰되었고, 정치시 Floc의 침전성이 양호하였다.

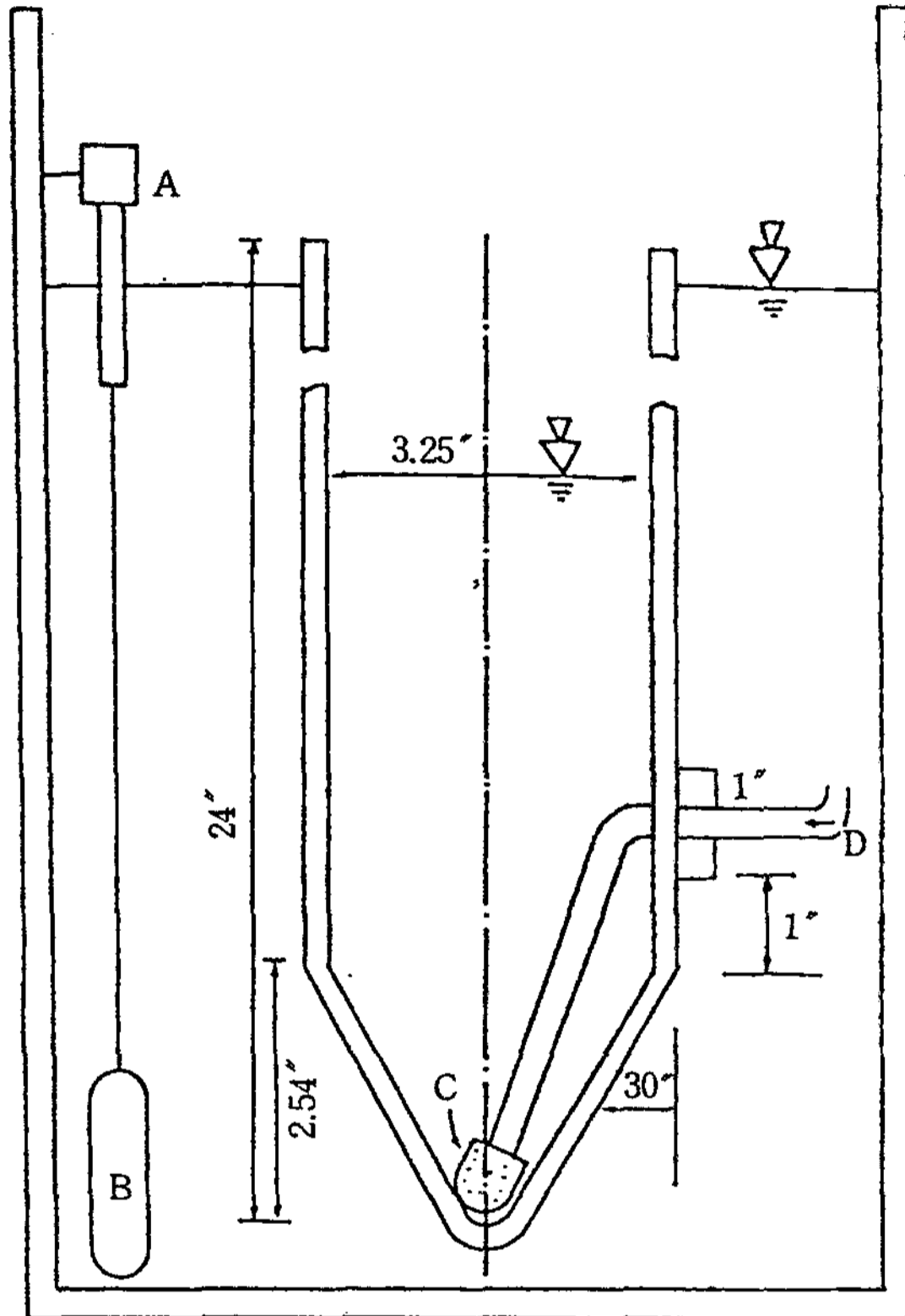


Fig. 1. Semicontinuous activated sludge aeration chamber.

- A : Thermocouple
- B : Thermoheater
- C : Air Diffuser
- D : Air in let

2. 생분해도 실험

1) 실험

각각의 활성오니를 현탁물질의 농도가 15,000 ± 100mg/l 되도록 조제한 후 170℃에서 2시간 건열멸균 한 배양 플라스크내의 기초배양액 500ml에 5ml 씩 접종하고 이 시험용액중 LAS\*\*의 농도는 30mg/l 가 되도록 첨가하였다.<sup>9)</sup>

\*\* ) LAS(Dodecene-1 derived LAS : 97%, MW : 348.48

같은 방법으로 배양 플라스크내에 기초 배양액과

LAS가 첨가되지 않은 공시험도 같은 조건하에서 시험을 실시한다.

진탕배양기에 넣은 배양 플라스크의 온도는 25 ± 1℃로 유지하고 진폭 8cm, 분당 180회, 회전식으로 진탕배양시켜 1차 순화배양 72시간을 한 후, 새로운 배양 플라스크에 접종시키고 2차 순화배양 72시간을 다시 실시하고 같은 방법으로 새로운 배양플라스크에 접종한 후 7일간의 생분해시험을 하였다.

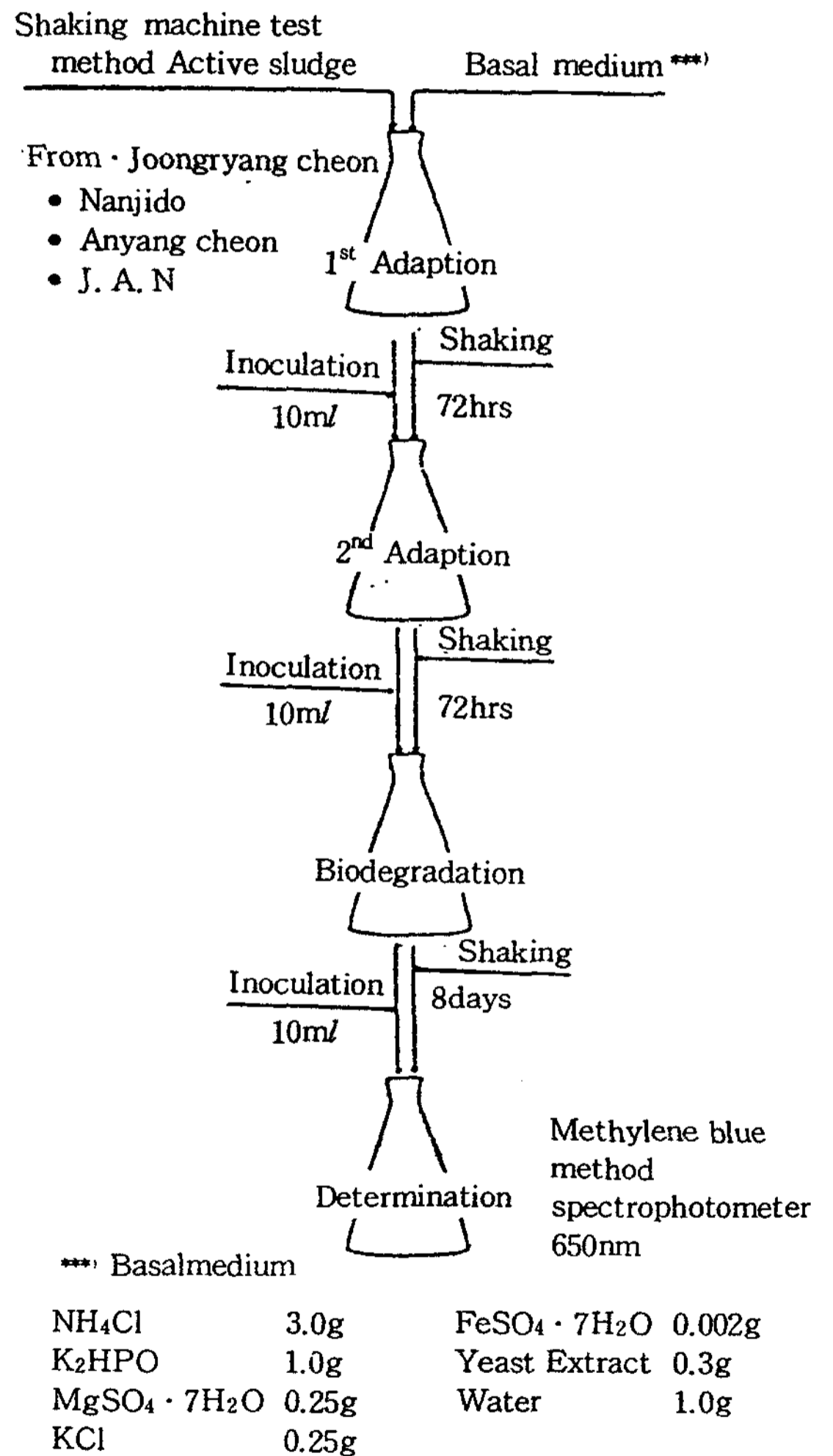


Fig. 2. Biodegradation scheme of the shaking machine test method.

3. LAS의 분석

음이온 계면활성제인 LAS와 MB(Methylene Blue, Tetrahydrate : C<sub>6</sub>H<sub>18</sub>N<sub>3</sub>ClS 4H<sub>2</sub>O)가 만드는

복합체를 Chloroform층에서 추출한 후 광전 분광 광도계로 650nm에서 측정하는 것으로서 시료중의 MBAS(Methylene Blue Active Substances)는 Fig. 4와 같은 과정으로 Separate funnel을 사용하여 소량의 Chloroform으로 먼저 추출한 후 묽은 황산으로 세척한 것을 시험용액으로 하였다.

Fig. 5는 UV-Vis로 MBAS를 Scanning했을 때 나타난 흡광도대 파장의 Spectrophotogram이다.

이 실험에서 나타난 MBAS의 최대흡수 파장은 653 nm였다.

미량 음이온 계면활성제의 정량분석 방법인 MBAS 측정 시험법은 Jones<sup>10)</sup>에 의해 제시된 후 Longwell, Maniece<sup>11)</sup>, Abbott<sup>12)</sup> 등에 의해 연구되었는데 MBAS법은 분석강도가 높아 음이온 계면활성제(LAS, AS, AOS AES 등) 분석 및 생분해도 시험법에 많이 사용되고 있다.

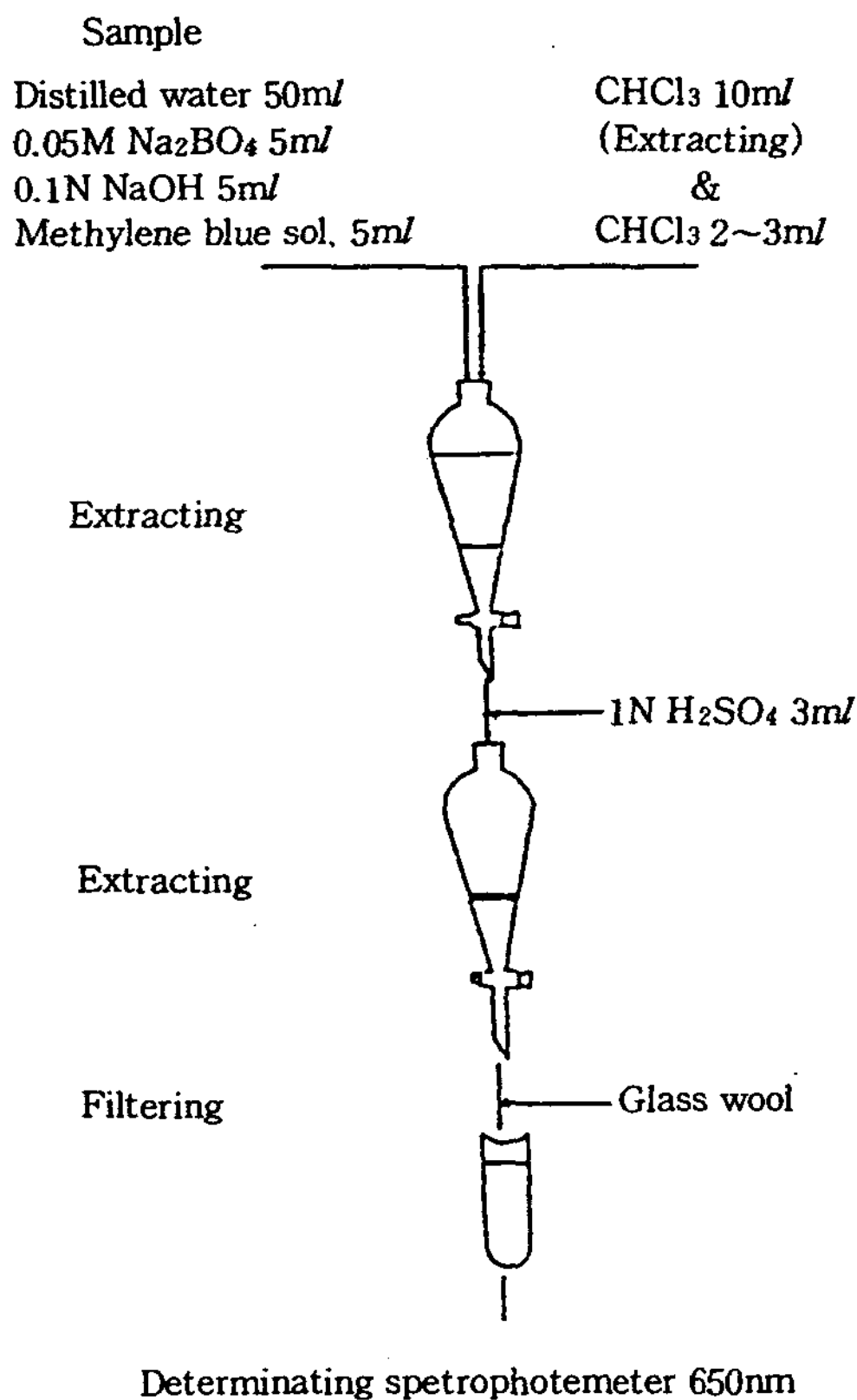
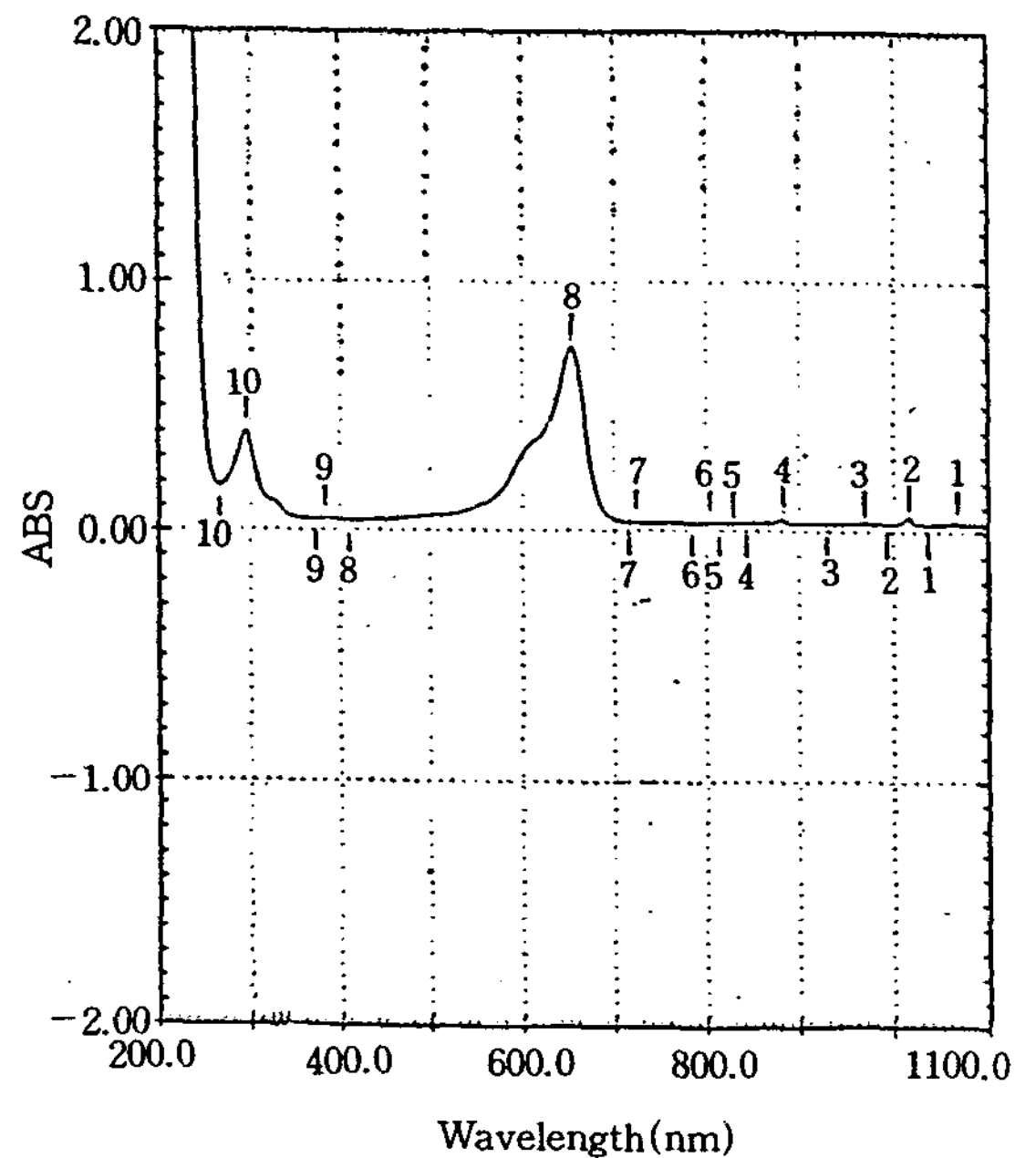


Fig. 3. Analysis process of MBAS(LAS).

A : Water layer B : Chloroform layer

물에 난용성인 Methylene Blue는 음이온 계면활성제와 1:1로 결합하여 Complex를 형성하고 클로로포름상에서 청색을 나타낸다.

Fig. 6은 LAS에 대한 적외선 분광 분석한 Spectrum을 나타낸 것으로 Sulfon산 염의 최대흡수 파장이 1,200cm<sup>-1</sup>에서 나타나고<sup>13)</sup> 1,130 및 1045cm<sup>-1</sup>에서 LAS와 같은 방향족 음이온 계면활성제의 특징인 방향족 핵 Benzene기를 나타내고 있다.



Peak-pick				
No.	Peak		Valley	
	$\lambda$	ABS	$\lambda$	ABS
1	1067.0	0.039	1037.0	0.031
2	1016.0	0.067	992.0	0.031
3	967.0	0.034	929.0	0.031
4	883.0	0.052	843.0	0.031
5	828.0	0.033	813.0	0.031
6	803.0	0.033	784.0	0.031
7	723.0	0.035	716.0	0.034
8	653.0	0.739	410.0	0.037
9	382.0	0.047	372.0	0.044
10	295.0	0.396	265.0	0.182

UV-160A, Shimadzu, Japan

Fig. 4. Maximum absorbance of MBAS by UV-Vis spectrophotometer.

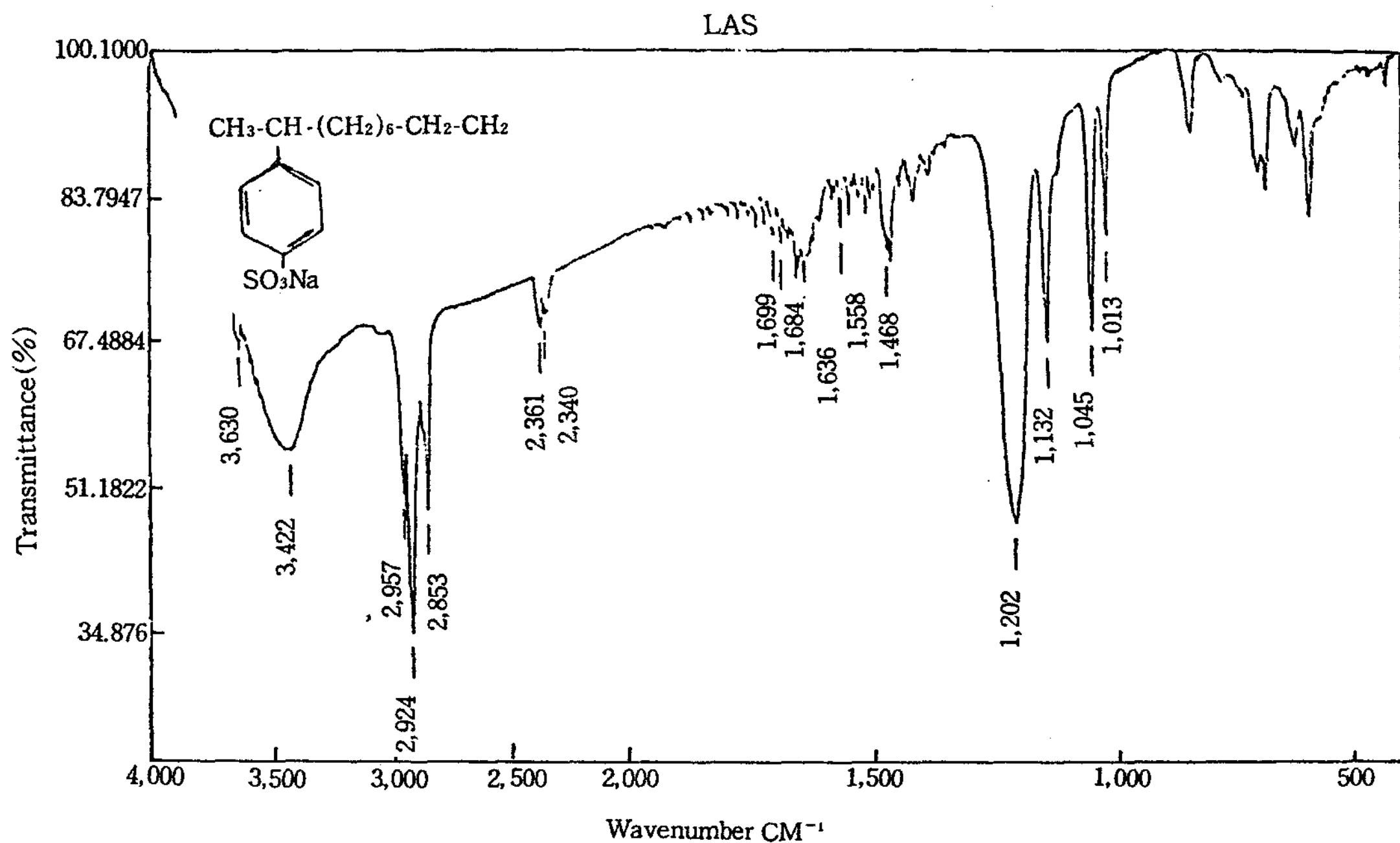


Fig. 5. FT-IR Spectrum of linear alkylbenzene sulfonate(LAS).

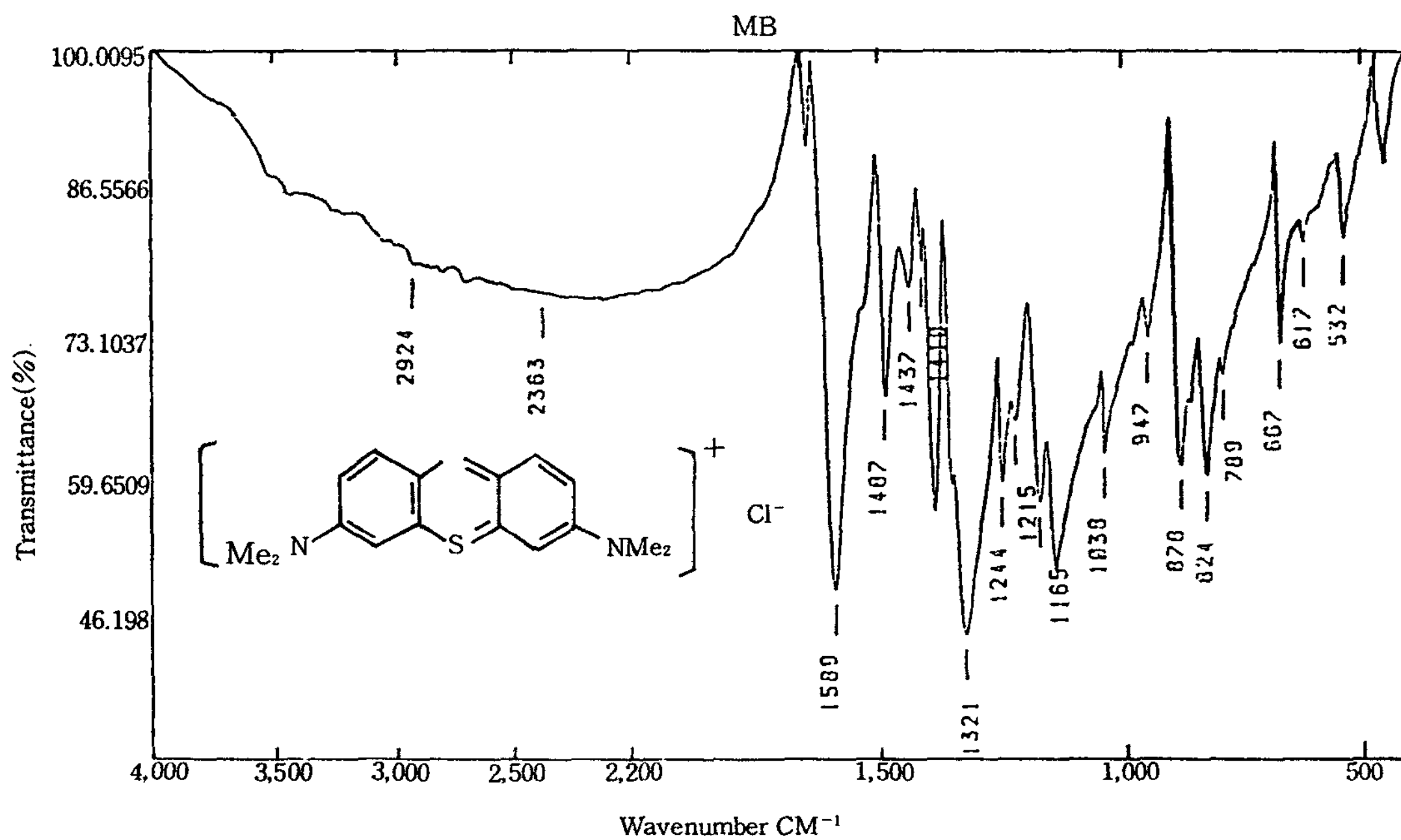


Fig. 6. FT-IR Spectrum of Methylene blue.

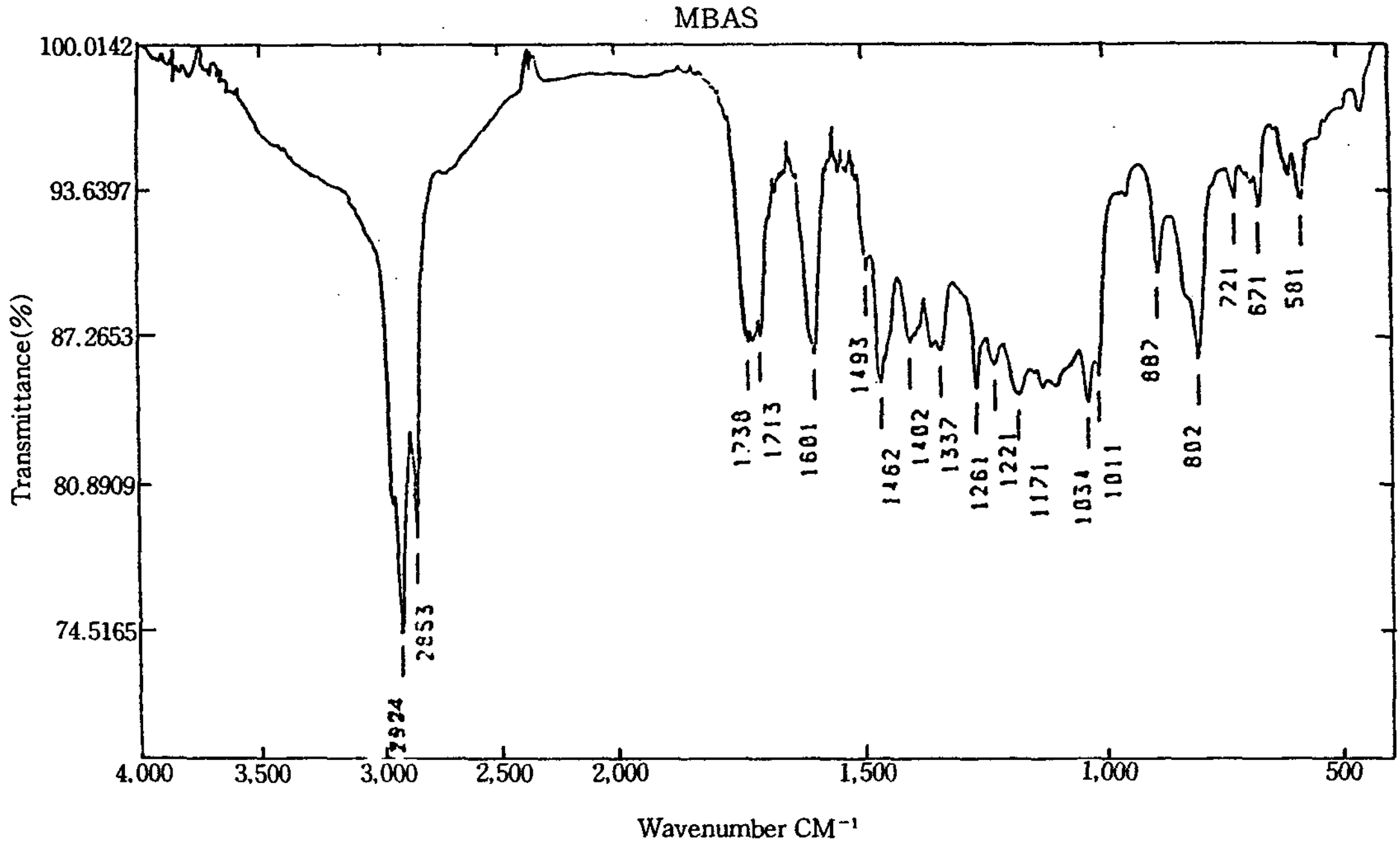


Fig. 7. FT-IR Spectrum of MB-LAS complex compound.

Fig. 7의 Methylene Blue(MB) IR Spectrum에서  $880\text{cm}^{-1}$  peak MB중의 C-S 결합을 나타내는데 이는 Fig. 8의  $880\text{cm}^{-1}$ 에서 MB-MBAS가 Complex 되는 경우에도 C-S 결합이 존재하는 것으로 분석되었다.

### III. 결과 및 고찰

#### 1. 활성오니 중의 미생물 분포

생분해도 시험을 진행하기 전에 먼저 관리 및 조정된 폭기조에서 채취된 제조 활성오니를 관찰했을 때 원생동물(Protozoa)로서 Vorticella가 지배적으로 많이 관찰되었고 겨울철에는 Operculia, Aspidica, Epistylis, Zoothaminum sp. 등이, 여름철에는 겨울철에 관찰된 protozoa 외에 Amoeba 및 환형동물 등이 출현하였는데 이 원생동물과 박테리아 등은 높은 Population을 유지하고 있었다.

그러나 LAS가 30ppm 혼입된 배양 플라스크내에 활성오니를 접종시켜 1차 순환배양시켰을 때 원생동물이 유입된 독성물질의 충격(Shock)으로 거의 사멸한 것으로 보였고 박테리아만이 활동하는 것으로 나

타났는데 이는 2차 순화배양 및 7, 8일간의 생분해 실험결과의 미생물 분포와 같은 현상이었다.

제조된 활성오니의 최초 박테리아 농도는 한천배지상의 평판도말법에 따라 배양했을 때  $2.0 \times 10^6$ 개였으나 LAS가 포함된 배양플라스크를 8일간 배양시켰을 때는 박테리아수가 다소 늘어난  $2.0 \times 10^7$ 개였다.

합성세제의 분해는 주로 Bacteria에 의해 이루어지는데, 이 미생물들의 분포와 그 우점군 세균을 알아보기 위해서는 합성세제에 주로 사용하고 있는 LAS만을 함유한 액체 최소 배지에서 순화배양 후 콜로니(Colony)를 단일 분리시켜 얻은 최종 균주를 이용하여 동정한다.

동정은 API Profile Recognition System에 의거 분리된 균주의 종과 속을 우선 결정하고 이것을 판정하는 데에는 25가지의 실험결과에 따르는데 이 동정은 ONPG, ADH, DLC, ODC, CIT, HS, URE, TDA, VP, GLV, MAN, INO, SOR, RHA, SAC, MEL, ARA, OXI, NO, N Gas MOT, OF/O, OF/F에 의한 Negative, Positive 반응으로 판정하는 것으로 95~100%의 적중율을 갖는 것으로 알려져 있다.<sup>14)</sup>

Table 3에서는 이미 보고된 계면활성제 및 LAS의

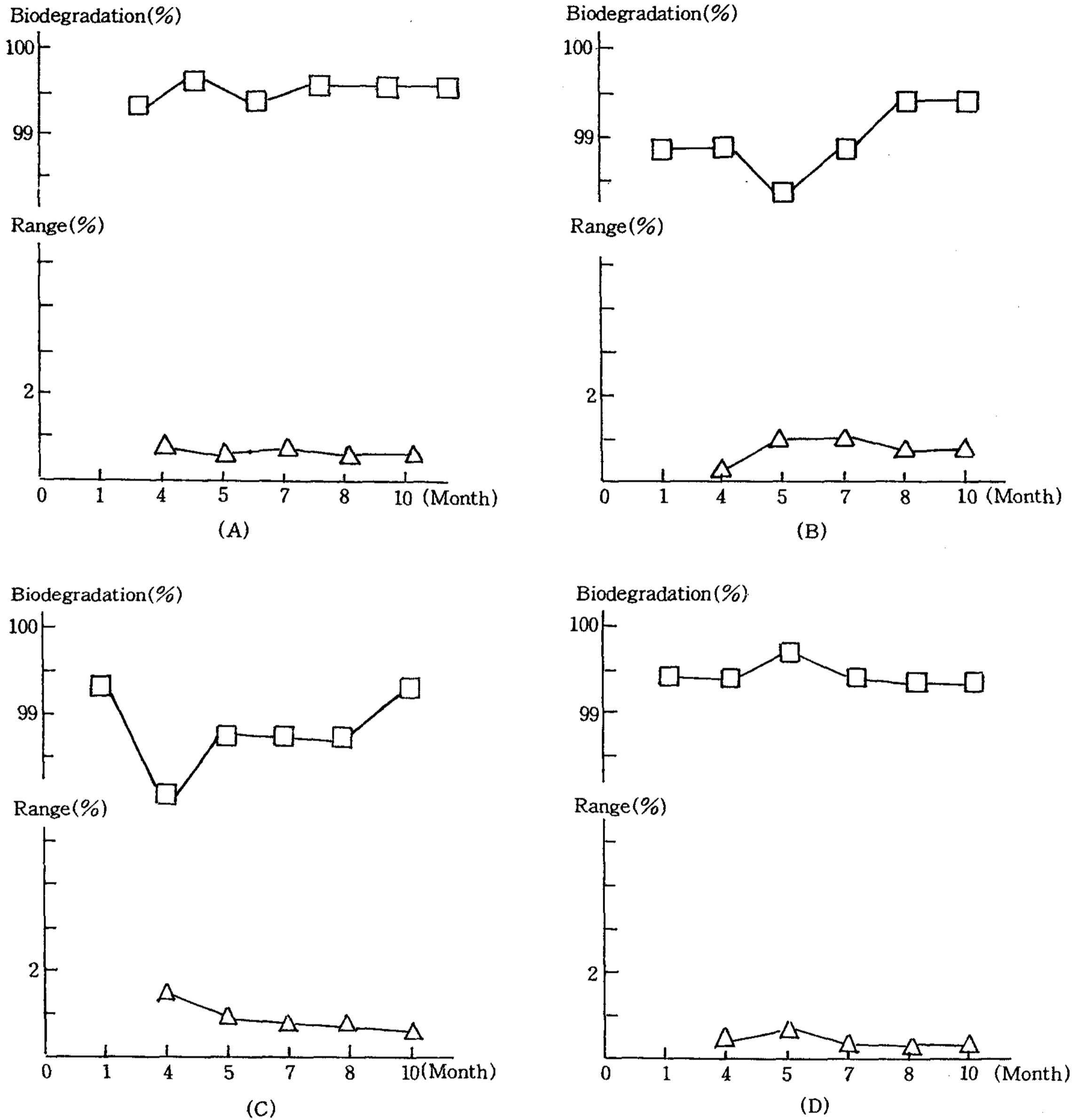


Fig. 8. Seasonal mean biodegradation and its range to the LAS biodegradation by the acitivated sludges.

Where, A ; Joongrang cheon activated sludge  
 B : Anyang cheon activated sludge

C : Nanjido activated sludge  
 D : JAN Activated sludge

분해 박테리아를 조사 비교 하였는데 Washington et al<sup>15)</sup>은 합성세제 분해균으로서 *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Pseudomonas* 등을 보고하였고 국내에서는 배<sup>14)</sup> 등이 한강에서 LAS의 분해

에 관여하는 우점종으로서 *Pseudomonas*속과 준우점종으로서 *Aeromonas*속과 *Enterobacteriaceae*속 등을 분리동정하여 보고하였다.

계면활성제의 생분해는 단일 박테리아 속에 의한

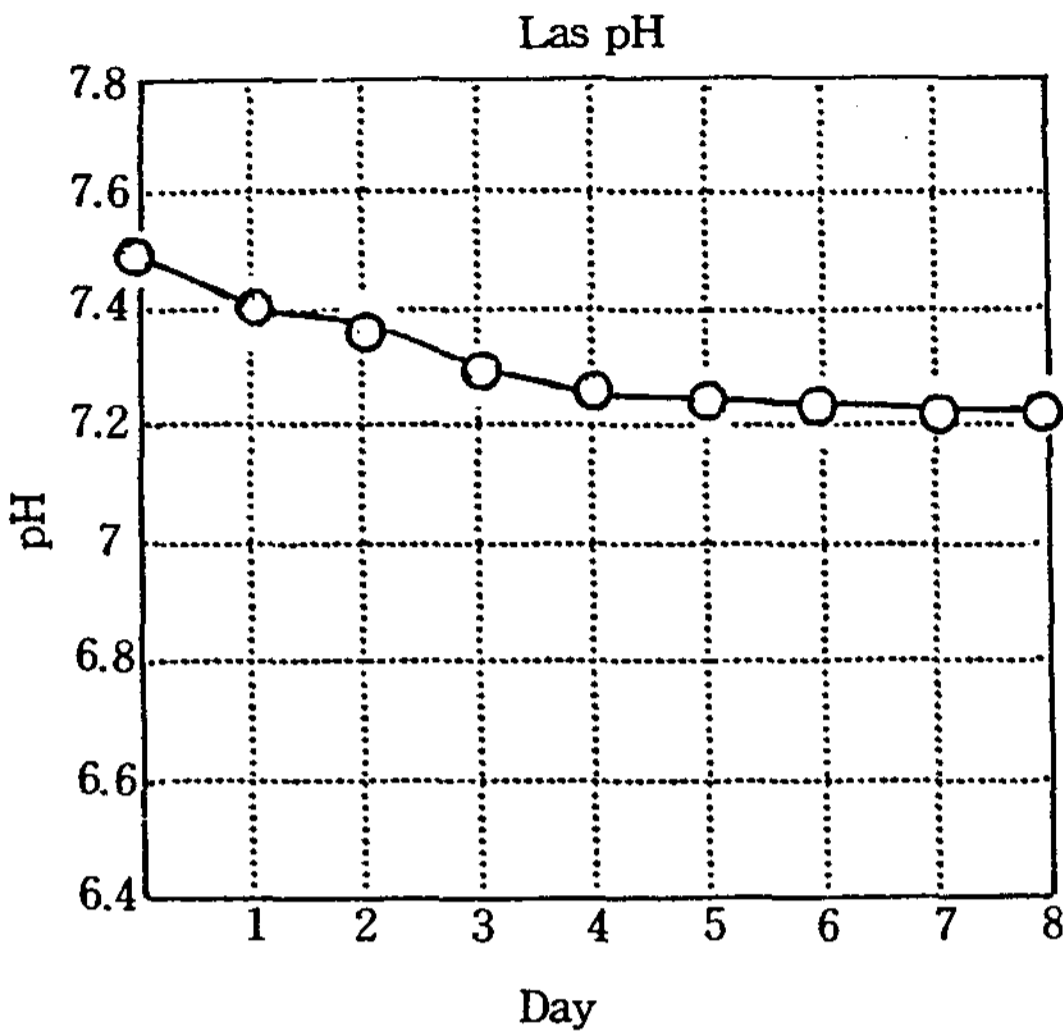


Fig. 9. pH variation in shaking cultivation flask.

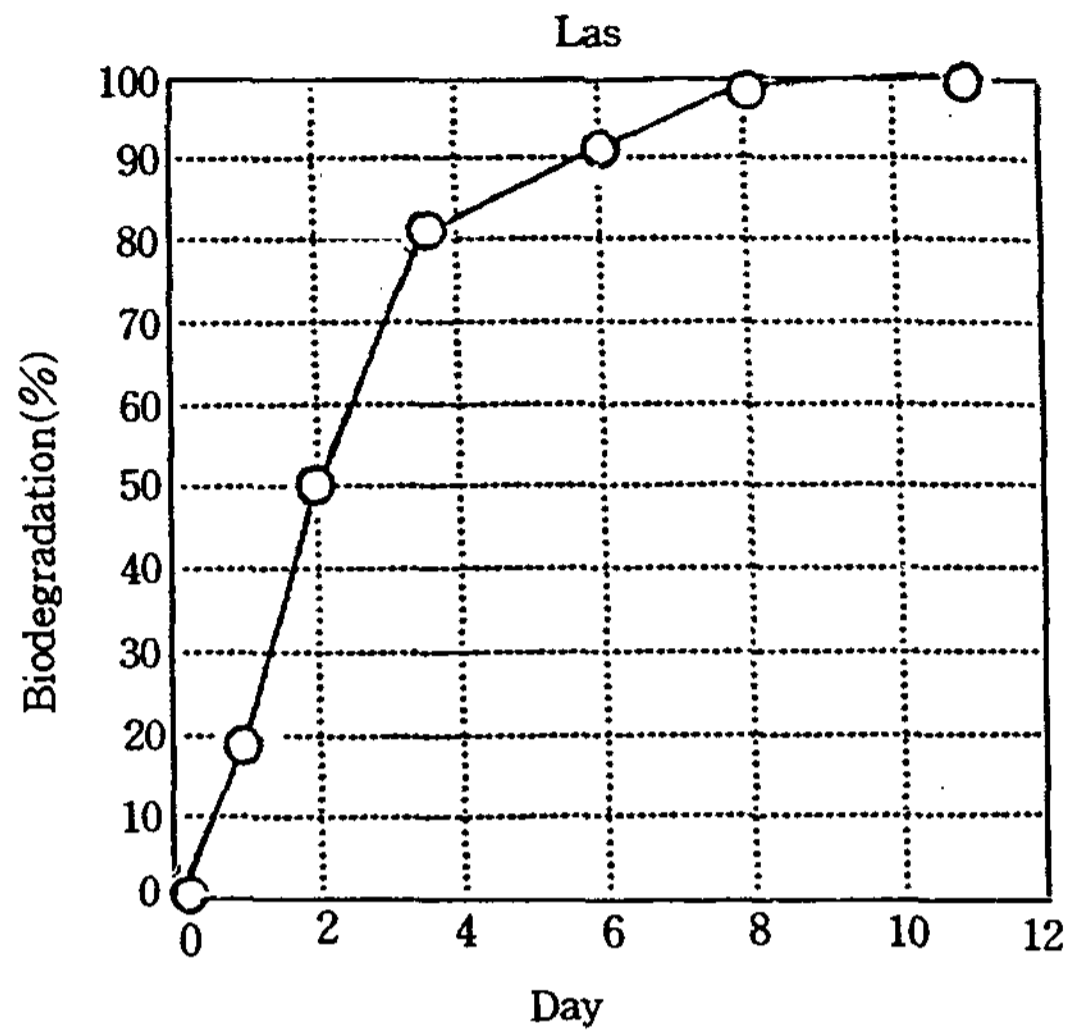


Fig. 10. Linear alkylbenzene sulfonation biodegradation.

분해가 이뤄진 것보다는 다종의 박테리아가 혼합된 상태에서 분해되는 것으로 추정된다.

2. LAS의 생분해도

음이온 계면활성제의 표준물질인 LAS에 대한 7, 8 일간의 평균 생분해도를 측정하기 위해 각 하수처리장에서 채취된 오니와 실험실에서 제조된 오니를 활성화시킨 후 생분해 능력을 검토하였다.

실험에 따르면 JR활성오니와 제조 오니(JAN) LAS(Dodecene-1 derived LAS)<sup>16)</sup>의 생분해도가 무효로 판정되는 97.5% 이하의 생분해도를 나타내지 않아 계면활성제를 분해시키기 위한 미생물 접종용 활성오니로서 적절함을 보인 반면 AY 활성오니 및 NJ 활성오니는 각각 1회의 97.5% 이하 생분해도를 보였고 평균 분해도에 있어서도 JR오니와 제조오니보다 낮은 분해율을 나타내었는데 이것은 계절적 또는 시간적 변화에 따른 이상분해 현상을 보인 것으로 활성오니의 지표 생물인 원생동물의 농도가 낮고 박테리아의 활성도가 저하된 것으로 추정되며 월별 평균 생분해도 범위가 각각 1.8%, 2.3%로서 데이터의 재현성에도 문제가 있을 것으로 판단되었다.

각 하수처리장에서 채취된 오니 및 제조오니에 의한 LAS의 월별 생분해도는 Table 2와 같이  $\bar{x}$ -R 데이터로 나타내었고 그외 대표적인 음이온 계면활성제인  $\alpha$ -Olefin sulfonate(AOS), 그리고 LAS가 주계면

활성제인 국내 L사의 합성세제와 AOS가 주계면활성제인 국내 A사의 합성세제를 비교시험하였다.

이중 표준음이온 계면활성제인 LAS에 시험결과는 Fig. 9와 같이  $\bar{x}$ -R Chart로 도시하였다.

Fig. 9에 따르면 JR활성오니와 제조오니(JAN)는 LAS에 대한 연간 평균 생분해도가 99.1%를 나타냈고 오차의 범위는 0.8% 이하였다.

그러나 AY활성오니 및 NJ 활성오니는 데이터의 오차범위가 약 2.0%로서 활성오니원으로 사용하기에는 부적합한 것으로 추정되었다.

따라서, 관리 및 조정된 활성오니를 제조하여 LAS에 대한 생분해도 시험에 이용할 수 있었으며 계절 및 시간의 변화에 관계없이 표준화된 활성오니를 배양할 수 있었다.

Fig. 10은 배양 플라스크내에 LAS 30ppm이 첨가된 후 생분해 될 때 나타나는 pH의 변화로서 배양 초기 7.5에서 7,8일 후에는 7.2로 접근하면서 안정된 pH를 보였다.

Fig. 11은 LAS가 미생물에 노출되어 분해되어 갈 때 측정된 생분해도로써 24시간만에 20%가 분해되고 6일째에 90%, 7일째에 9%의 분해수준을 나타냈다.

IV. 결 론

LAS의 생분해도 시험에 사용되는 활성오니를 제



Table 2. Monthly biodegradation of surfactants and detergents to the activated sludge

Activated Sludge	Surfactant and Deterfent	Month						SUM	$\bar{X}$	R	
		1	4	5	7	8	10				
JR	S	AOS	98.8	99.5	99.0	99.7	99.2	99.4	595.6	99.3	0.9
		LAS	98.3	99.3	99.3	99.3	99.4	99.5	594.5	99.1	0.8
	D	A* <sup>3</sup>	99.6	99.1	99.3	99.3	99.6	99.7	596.6	99.4	0.5
		L* <sup>4</sup>	98.9	98.4	99.7	98.9	99.0	99.1	594.0	99.0	0.7
AY	S	AOS	98.0	98.7	97.7	98.0	99.0	98.8	590.2	98.4	1.3
		LAS	98.0	98.0	97.0 <sup>+</sup>	98.0	98.8	98.8	588.6	98.1	1.8
	D	A	98.2	98.8	98.0	98.0	98.5	98.9	590.4	98.4	0.9
		L	98.2	98.2	98.0	98.3	99.0	98.9	590.0	98.4	1.0
NY	S	AOS	98.1	96.6	98.6	98.3	98.8	98.8	589.2	98.2	2.2
		LAS	98.8	96.5 <sup>+</sup>	98.0	97.9	98.0	98.4	587.6	97.9	2.3
	D	A	98.4	98.7	98.7	98.0	98.7	99.2	591.7	98.6	1.2
		L	98.5	98.4	98.3	98.0	99.0	99.0	591.2	98.5	1.0
JAN	S	AOS	99.1	99.1	99.6	99.4	99.6	99.2	596.1	99.4	0.5
		LAS	98.7	99.0	99.5	99.0	99.0	99.1	594.3	99.1	0.7
	D	A	99.6	99.5	99.5	99.3	99.2	99.2	596.5	99.4	0.4
		L	99.4	99.4	99.3	98.8	99.1	99.1	595.1	99.2	0.5

\*<sup>3</sup> : Main surfactant of this deterfent is  $\alpha$ -olefin sulfonate

\*<sup>4</sup> : Main surfactant of this deterfent is linear alkylbenzene sulfonate

+ : Biodegradation os 97.5% below

JR : Joongrang cheon activated sludge

AY : Anyang cheon activated sludge

NJ : Nanjido activated sludge

JAN : JAN Activated sludge

Table 3. Biodegradation and growth studies with pure cultured on surfactants & LAS biodegradation

Surfactant Biodegradation bacteria		Bacteria in Han river	
Achromobacter	Flavobacterium	Arthobacter	Acinetobacter
Acinetobacter	Klebsiella	Achromobacter	Enterobacter
Actinobacter	Pasteurella	Bacillus	Salmonella
Aeromonas	Proteus	Citrobacter	Serrartia
Alcaligens	Pseudomonas	E. coli	Streptococcus
Citrovacter	Salmonella	Flavobacterium	Vibrio
Enterobacter	Serratia	Micrococcus	Yersinia

조하기 위하여 정원 토양 및 각 하수처리장에서 채집된 미생물과 활성오니를 반 연속폭기조에 혼합 배양하였다.

이 활성오니는 pH, 용존산소(Dissolved oxygen), 박테리아의 농도 등을 관리 조정한 후 LAS의 생분해

도 시험에 사용하였으며 오니의 활성도와 7, 8일간의 LAS생분해도 데이터를 분석 검토한 결과, LAS의 생분해도는 미생물원인 활성오니의 활성도에 의존하는 것으로 나타났다.

따라서 이 연구에서는 LAS가 미생물에 노출되어

생분해될 때 실험과정에서 예상되는 환경적 변성 인자를 최소화하기 위한 방법을 제시하고자 하였다.

실험결과에 따르면,

1. 토양 및 하수처리장에서 채집된 미생물원과 활성오니를 이용하여 LAS에 대한 생분해도를 측정하였을 때 오니의 활성도 및 시간의 변화에 따라 데이터의 재현성에 많은 오차를 나타냈다.

2. 제조된 활성오니를 LAS 생분해도 시험에 사용하여 활성오니의 표준화 가능성을 제시하였으며 반연속 폭기조에 의해 쉽게 제조되어 실험과정에서 예상되는 환경적 변동인자를 제어함과 동시에 연속적인 생분해도를 측정할 수 있었다.

3. LAS는 반연속 폭기조에서 제조된 활성오니에 의해 평균 분해율이 99% 이상이었다.

4. 표준화된 활성오니를 이용하여 기타 유기화합물 질 및 독성물질의 생분해 시험에의 응용이 기대된다.

## 문 헌

- 권수표, 정용, 윤연하, 비이온 계면활성제를 주제로 한 세제의 성분, 연세대학교 환경공해연구소, (1981)
- 합성세제의 원료와 환경, *Chemical journal*, 1 (10), 23(1991)
- Korea soap & detergent association 1991 report, Korea soap & detergent union, 6~7(1991)
- L. Kravetz, H. Chung, and J. C. Rapean *Jour. J. Am. Oil Cham. Soc.*, 59(29)(1982)
- American Standard Test Method D 2667
- Banichi Tomita, and Norikatsu Hammamura, 합성세제의 간이 생분해 시험방법, 용수와 폐수, 19(11), 1341~1345(1977).
- OECD, Guideline for testing of chemicals, Ready biodegradability, 301C(1981)
- R. D. Swisher, Surfactant Bildegradation, Revised & expanded, 2nd Ed, 13, Dekker(1987)
- KS M 2714
- Jones. J. H., *J. Aassoc. Off. Chemists*, 28, 398(1945)
- Longwell. J., Maniece, W. D., *Analyst* 80, 167~171(1955)
- Abbott, D. C., *Analyst* 87, 286~293(1963)
- 계면활성제 분석 연구회편, 계면활성제의 IR Spectrum, 23~24, 일본행서방, 1987
- 배경옥, 하영칠, 홍순우, 서울지역 한강수계에서의 합성세제 분해균의 분리 및 동정, 한국미생물학회지, 20(2), 98~104(1982)
- Washington, J. A., P. K. W. Yu, and W. J. Marin, Ecaluation of accuracy of multitest micromethod system for identification of enterobacteriaceae, *Appl, Microbiol*, 22, 267~269(1971)
- Merck Index 11th. Ed.