

계면활성제 생분해도 측정방법에 관한 연구

김영환·정해권*·김은기*·윤태일
인하대학교 공과대학 생물공학과*, 환경공학과

Studies on the Biodegradation Test Method of Surfactant

Yong Hwan Kim, Hae Kwon Chung,* Eun Ki Kim* and Tai Il Yoon

Department of Biological Engineering*, Environmental Engineering, Inha University

ABSTRACT

The biodegradability of some anionic surfactants were investigated using biological oxygen consumption measurement at different temperatures. As test surfactants, soap, alkyl sulfate(AS), alpha olefin sulfonate (AOS), alkyl polyoxyethylene sulfate (AES), linear alkylbenzene sulfonate(LAS), microbial surfactants such as sophorose lipid(sopholipid) and spiculisporic acid (S-acid), were used. The test solution were incubated at 5°C, 18°C and 32°C, respectively. The comparative rates of biodegradation were in accordance with the results obtained from the surface tension measurement and methylene blue method. The results of comparative biodegradabilities of the surfactants were as follows; soap, AS > AES > AOS > LAS at 18°C and 32°C. However, at 5°C, the biodegradation rate of soap was better than other surfactants. Considering the actual environment of the river, it was concluded that the biological oxygen consumption rate method at lower temperature was more practical than the current method such as methylene blue assay with adapted shaking flask culture at 25°C

서 론

국내에서 사용되고 있는 세제는 91년 기준, 약 30만톤이 세탁용 세제와 주방용 세제로 사용되고 있으며 이는 세탁기 보급의 증가로 매년 약 20% 정도 증가하는 추세이다(1). 세제의 주요성분으로 계면활성제를 들 수 있으며 국내에서 주로 사용된 성분으로는 LAS(Linear Alkyl Benzene Sulfonate), AOS(Alpha Olefin Sulfonate), AS(Alkyl Sulfate), AES(Alkyl polyoxyEthylene Sulfate) 및 비누(soap)를 들 수 있다.

합성세제의 성분 중 환경오염과 관련되는 물질은 주로 계면활성제 성분이다. 예전에는 경수연화제로 사용되던 인산염이 부영양화의 주요 원인이 되어 인

의 사용이 금지되면서 최근에는 제올라이트 등으로 대체되었다. 가정에서 사용된 후 배출된 합성세제는 수질을 오염시켜 하천의 BOD원으로 작용할 뿐더러 많은 거품 등을 발생시켜서 하천수의 가치를 저하시키고 하천 내에서의 분해가 늦어질 경우 하수 처리장의 처리비용을 증가시킨다. 따라서 세제의 경우 높은 생분해도는 환경오염을 줄일 수 있는 최소한의 방지책으로 최근 민간단체의 환경오염에 대한 관심도의 증대와 함께 생분해도 측정방법에 대한 토론이 계속되고 있다.

세제의 생분해도(Biodegradability)란 미생물에 의해서 세제가 분해되는 정도를 의미하는 것으로 측정하는 방법도 여러 종류가 있으며 이에 대한 많은 연구가 수행되어 많은 자료가 축적되어 있다(2-5).

국내에서도 1992년에 개정된 한국공업규격(KS-2714)으로 세제의 생분해도를 측정하는 방법을 정해 놓았으며 생분해도가 어느 정도 이상이 되어야 허가를 내어 주는 것으로 되어 있다. 그러나 규정된 실험방법으로는 실제 배출된 계면활성제의 생분해도를 측정하기에는 실험방법 등이 실제상황과 거리가 먼 점 등 문제점을 제기하고 있다. 예를 들면 음이온 계면활성제의 대표적인 측정방법인 methylene blue 법으로는 대표적인 음이온 세제인 비누의 생분해도를 측정할 수가 없다. 또한 실제 세제에는 음이온계와 비이온계가 동시에 포함되어 있는데도 음이온계와 비이온계를 동시에 측정할 수는 없고 각 성분을 분리해서 측정해야 하는 등 비현실적인 점 등이 있다. 또한 분해도 측정온도가 25°C이나 실제 한강물의 온도는 25°C 이상인 경우는 1년 내에 두 달 미만이고 겨울철 5개월간은 1~4°C밖에 되지 않는 등 실제 상황과 다른 점을 들 수 있다(6).

따라서 본 실험에서는 현재 사용되고 있는 생분해도 검사방법을 보완, 발전시킬 목적의 일환으로 용존산소 소비속도 측정법을 사용하여 비누를 포함한 계면활성제의 생분해도를 측정하였으며 실험조건 등 온도 및 배양조건에 대한 영향을 살펴보았다.

실험재료 및 방법

계면활성제

세제에 첨가되는 원료를 국내 세제 회사에서 획득, 사용하였으며 비누성분은 시중에 시판되는 빨래 비누를 알코올에 가용화시키고 다시 알코올을 증발시킨 건조분말을 사용하였다. Sophorose lipid와 Spiculisporic acid는 *T. bombiocola*와 *P. spiculisporum*을 배양, 생산하였다(7, 8).

Methylene blue법에 의한 생분해도 측정

한국공업규격에 표시된 방법은 다음과 같다. 하수처리장의 오니를 100ml 배양용액(500ml 플라스틱)에 1ml를 접종한다. 배양액의 성분은 탄소원으로 계면활성제 30ppm, 질소, 인 및 무기염 등이 포함되어 있다. 접종된 배양액을 25°C에서 3일간 150~200rpm으로 진탕, 순양배양한다. 이 순양배양을 2회 반복한다. 순양배양액을 같은 방법으로 접종, 7일 후의 계면활성제의 농도를 methylene blue 적정법을 이용, 측정 후 분해율을 %로 표시한다.

용존산소 소비측정에 의한 생분해도

BOD 측정방법과 동일하게 시료를 준비하였으며

세제를 각각 100ppm씩 첨가하여 동일 시료병을 여러 개 만든 후 한 개씩 측정하였다(9). 용존산소는 적정법을 이용 측정하였으며 산소전극을 이용한 방법도 병행하였다. 희석수 내에는 근처 하천에서 채취한 도시하수를 희석하여 첨가하였다.

표면장력 측정

500ml flask에 100ml씩 배양액을 (2)에서와 같이 준비하였으며, 도시하수를 직접 접종하여 (2)에서와 같은 조건으로 진탕배양 후, 표면장력계(Fisher Tensiomet Model 20, USA)를 이용, 측정하였다.

결과 및 고찰

온도의 영향

실제 한강물의 온도가 겨울철 5개월 동안 1~5°C이고 일 년 평균기온이 13.5°C이며 25°C를 넘는 기간은 여름철 두 달밖에 되지 않기 때문에 공업규격에 규정된 25°C의 배양온도는 현실과 동떨어진 상황이다. 따라서 실제 분해가 일어나는 하천의 온도효과를 조사하기 위해 배양온도를 5°C, 18°C 및 32°C로 변화시켜 산소 소비곡선을 조사하였다(Fig. 1a, 1b, 1c). 온도가 낮아질수록 분해속도는 급격히 저하하였으며 특히 LAS, AES의 경우에는 5°C에서 11일이 지난 후에도 거의 분해가 되지 않았다(Fig. 1a). 반면 비누 및 AS는 약 4일 후 분해가 시작되었으며 비누의 경우는 배양 시작 후 6일째에 약 80%, 9일째에는 95%의 산소소비를 보이고 있어서 낮은 온도에서도 다른 계면활성제에 비하여 쉽게 산소를 소비, 분해함을 알 수 있다. 18°C의 경우 비누, AS는 하루만에 산소가 소비되어서 2일 혹은 4일이 소요된 AES와 AOS 보다는 빠른 산소 소비속도를 보이고 있다.(Fig. 1b). 온도가 하강할수록 산소 소비속도가 늦어지는 것은 낮은 온도에서 미생물의 활동도가 감소하는 것을 감안할 때 당연한 현상이다. 그러나 비누의 경우 낮은 온도에서도 다른 것에 비해 빨리 분해되어 산소 소비가 빠르다는 것을 알 수 있다.

본 실험에서 사용한 방법은 용존산소의 양을 측정하는 방법으로서 계면활성제가 미생물에 의해 섭취, 분해되면서 수중에 녹아 있는 산소를 소비하는 것을 측정하는 방법이다. 즉, 계면활성제의 탄소원이 미생물의 성장과 이산화탄소로 전환되는 것을 측정하는 즉, 완전분해되는 과정을 측정하는 방법이다. 이에 비해서 현재 한국공업규격에 규정되어 있는 methy-

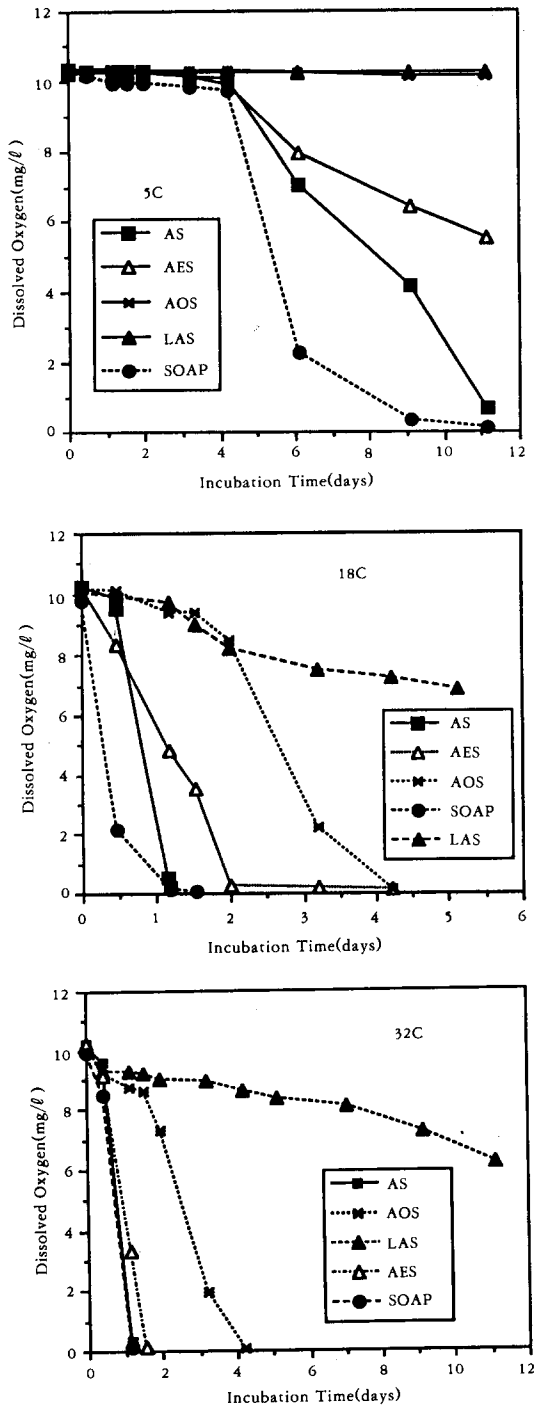


Fig. 1. Biological oxygen consumption at (a) 5°C, (b) 18°C and (c) 32°C.

lene blue법은 methylene blue가 (+)전하를 띠고 음이온 계면활성제의 (-)전하에 달라붙은 성질을 이용한 것으로 낮은 농도에서도 측정이 가능한 장점이 있다. 그러나 계면활성제가 분해되어 (-)전하가 없는 작은 분자형태로 될 경우는 methylene blue가 흡착되지 않아서 계면활성제가 완전 분해해서 이산화탄소로 전환되는 것을 측정하기 보다는 (-)전하를 잃는 경우를 측정하는 것이 더 의미가 있다. 따라서 유기물질이 분해되어 이산화탄소로 전환되는 것이 오염물질의 완전분해라고 볼 때 methylene blue 법보다는 용존산소 소비 측정방법이 생분해도 측정의 뜻에 좀 더 가깝다고 하겠다.

현재 한국공업규격에는 비누의 생분해도 측정방법이 명시되어 있지 않다. 비누는 methylene blue와 거의 흡착하지 않는 특징을 가지고 있어서 이 방법으로는 불가하다. 문헌에서는 COD 및 TOC(Total Organic Carbon) 방법을 사용해서 남아 있는 계면활성제의 유기탄소를 측정하는 방법이 보고되어 있다 (10). 이 문헌에서는 TOC 측정을 위해 1,000ppm의 계면활성제를 사용하였다. 그러나 본 실험에서 처럼 실제 배출농도와 유사하도록 100ppm의 계면활성제를 사용한 경우, 미생물이 성장하면서 배출되는 유기물에 의한 TOC값이 약 50~100ppm으로 측정되어 실험의 정확성을 기할 수가 없었다. 다른 방법으로는 가스크로마토그래피에 의한 비누(지방산)의 검출방법을 들 수 있다. 그러나 실제 실험결과 지방산의 농도가 높을 경우는 지방산을 메틸화하여 측정이 가능하나 수용액상의 비누를 지방산으로 전환, 회수하여 추출하기에는 실험농도가 너무 낮아서 실제 이 방법은 거의 불가능하였다.

따라서 간접적인 측정방법이기는 하나 용존산소 소비속도에 의한 비누의 분해속도는 생분해도의 의미에서 좀 더 근접한 의미를 가지는 방법이고 쉽고 정확하게 측정된다는 장점이 있다. 비누뿐만 아니라 다른 모든 계면활성제에도, 예를 들면 측정방법이 어려운 비이온성 계면활성제도 적용될 수 있는 방법이다. 이 방법을 기존의 methylene blue방법과 비교하기 위해서, 이 방법을 적용할 수 없는 비누를 제외한 다른 계면활성제를 공업규격 방법으로 실시하였다(Fig. 2). 분해되는 순서는 산소 소비속도에서 보여준 경향과 일치하고 있어서 산소 소비 측정방법이 비누를 포함하는 다른 계면활성제의 생분해 측정에 사용될 수 있음을 보여주고 있다. 다만 산소 소비속도 측정법은 계면활성제의 양을 직접 측정하는 것이 아니기 때문에 Fig. 2와는 직접 비교가 되지 않고

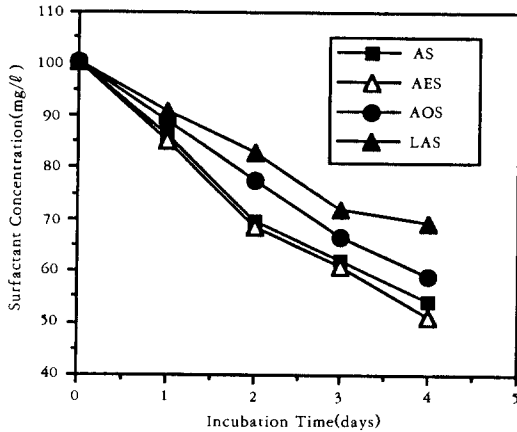


Fig. 2. Biodegradation of surfactants measured by methylene blue method.

Experimental conditions were same as in Figure 3. No further aeration was performed after initial aeration of sample solution in the BOD bottle.

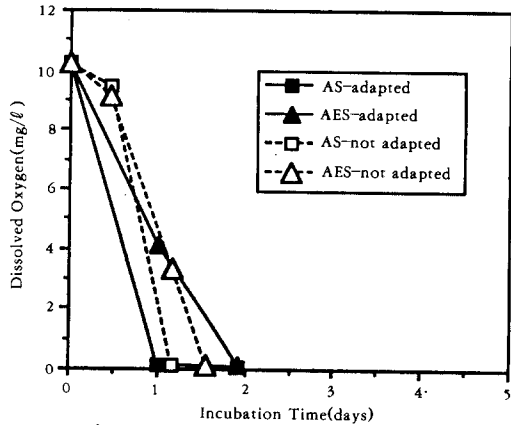


Fig. 3. Effects of adaption cultivation on the surfactant biodegradation.

Experimental conditions were same as in Figure 1. Adapted inoculum culture was prepared as described material and method (2). Unadapted culture was prepared by directly inoculating the sewage water.

상대적인 속도비교가 가능하다 하겠다. Kazuki 등이 MBAS법과 산소 소비속도 측정법을 TOC방법에 의한 결과를 기준으로 비교한 결과, 산소 소비속도 측정법이 MBAS법보다 TOC방법에 유사한 결과를 보이고 있으며, 이에 반해 MBAS법은 TOC 측정결과보다 빨리 분해되는 것처럼 보이고 있어 methylene blue가 흡착이 안된다고 해서 완전분해가 된 것은 아님을 보여주고 있다. 이 그룹의 실험결과, 20℃, River-dieaway방법을 사용하였을 때, 분해되는 순서는 soap, AOS>LAS>>ABS의 결과를 보이고 있어서, 본 실험과 유사한 결과를 보이고 있다(11).

공업시험방법에는 두 번에 걸쳐 계면활성제에 순양 활성화된 균을 사용, 진탕배양을 하여 25℃, 7일 동안에 90% 이상 분해되는 것을 허가기준으로 하고 있다. 그러나 실제 하천에서는 실험조건인 진탕배양만큼의 충분한 산소공급과 교반이 부족한 정치상황이며 체류기간도 짧으며 수온도 낮은 상황이다. 따라서 위와 같은 점을 고려할 때 현재의 시험방법보다는 정지된 상태에서 순양을 하지 않고 산소 소비속도를 측정하는 방법이 현재상황에 좀 더 적합하다고 하겠다.

순양배양의 효과

생분해도를 측정하기 위해서는 약 6일에 걸쳐 두 차례의 순양 배양을 통해서 계면활성제를 분해할 균을 활성화시킨 후 식중독 하도록 공업규격에 규정되어 있다. 하지만 대부분의 하천에는 늘 계면활성제

가 유입되기 때문에 이를 분해하는 균이 존재할 것으로 판단하여 두 차례의 순양배양을 거친 후와 직접 도시하수를 사용할 경우를 비교하였다(Fig. 3). AS와 AES의 경우 두 방법 모두 유사한 산소 소비속도를 보이고 있다. 이는 도시하수를 직접 사용해도 생분해도 측정에 별 영향을 미치지 않음을 보여 주고 있을 뿐만 아니라 이 방법이 오히려 실제 하천에 계면활성제가 유입된 경우가 유사하리라고 볼 수 있다. 다만 국지적인 도시하수의 상태가 시간, 장소에 따라 일정하게 유지된다고 보기가 힘든 상황이므로 재현성을 위해서도 도시하수집수조(원수조)에서 채취, 집중하는 것이 재현성을 위해서는 적당하다고 하겠다.

표면장력 측정에 의한 계면활성제 분해속도

Fig. 4는 계면활성제의 분해에 따라 표면장력이 상승하는 것을 보여주고 있으며, 산소 소비속도를 이용해서 측정된 결과와 유사한 경향을 보여주고 있다. 이 표면장력 측정방법은 비누를 포함한 모든 계면활성제의 분해속도를 비교할 수 있는 간단한 방법이다. 그러나 이 방법은 다른 문헌에서 보고된 바와 같이, 정확한 CMC(Critical Micelle Concentration)를 매 번 측정해서 농도를 계산해야 하고, 여러 계면활성제가 섞여 있을 경우 각각의 CMC가 다르기 때문에 정량적인 비교를 할 수 없고, 낮은 농도에

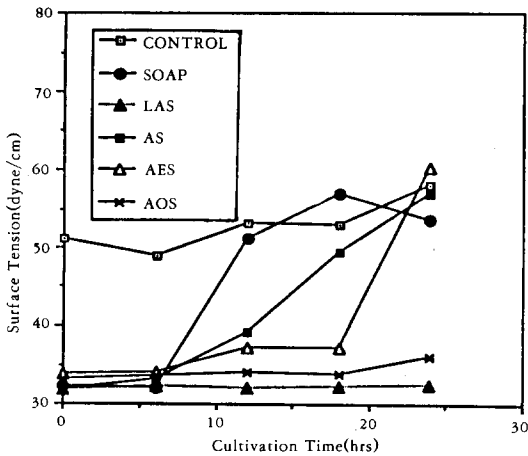


Fig. 4. Time course increase in the surface tension during biodegradation test.

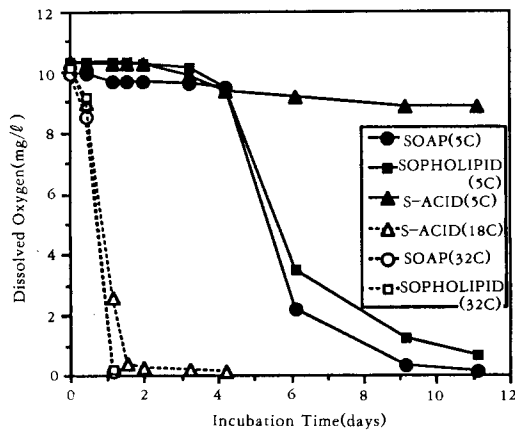


Fig. 5. Biodegradation pattern of sopholipid and S-acid at various temperatures.

서의 측정이 부정확한 점 등의 단점이 있다(12). 그러나 이러한 단점에도 불구하고 다른 유기물이 존재하는 경우의 비누의 분해도를 측정할 때, 산소 소비 속도 측정법을 적용할 수 없으므로 유일한 방법이라 할 수 있다. 또한 시료 내에 methylene blue와 흡착하는 음이온물질, 특히 단백질이 존재할 경우에는 표면장력을 측정하는 방법을 이용할 수 있다. 따라서 이 방법은 비이온 계면활성제의 분해를 측정할 다른 문헌에서 발표된 것처럼 정량적인 방법보다는 정성적인 방법으로 사용될 수 있으리라 본다(13).

미생물 계면활성제의 분해

효모에서 생산한 Sophorose lipid와 곰팡이에서 생산한 Spiculisporic acid 등의 생분해성을 기존의 계면활성제와 비교하였다(Fig. 5). 그림에서와 같이 비누, AS 등과 유사한 양호한 분해 경향을 보였다. Sophorose lipid는 당인 Sophorose와 lipid의 결합체로서 화장품의 원료로 개발중에 있으며 높은 생산량, 쉬운 분리 등으로 기존 계면활성제에 비해 가격 면에서 불리하지 않은 미생물 계면활성제로서 생분해에 대한 구체적인 연구자료가 없다. 이 실험에서는 미생물 계면활성제의 공통적인 특징인 높은 생분해도를 입증하였다.

결론

본 실험에서 계면활성제 생분해도 측정시험법인 진탕배양에 의한 methylene blue법보다는 좀 더 실제 하천상황에 유사한 정치상태에서의 산소 소비 속도에 의해서 계면활성제의 분해속도를 측정하였다. 18°C 및 32°C에서 비누, AS > AES > AOS > LAS가 생분해도가 높은 순서였다. 그러나 하천의 낮은 수온(4°C)에서는 비누가 가장 분해가 잘 되었다. 반면 합성세제 및 주방세제의 주성분인 LAS는 32°C의 높은 온도에서도 낮은 생분해도를 보여주고 있었다. Methylene blue방법 및 표면장력을 이용한 측정방법도 동일한 결과를 보여주고 있어서 산소 소비 속도 측정에 의한 생분해도 측정방법이 methylene blue법이 적용될 수 없는 비누를 포함한 다른 모든 계면활성제에 광범위하게 적용될 수 있는 방법이라고 할 수 있다.

감사

본 연구는 1992년도 교내연구비에 의해 수행되었습니다. 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 세계협동조합(1992).
2. R. D. Swisher(1987), Surfactant Biodegradation (Surfactant Science Series 18, 751-898, Marcel Dekker, New York).
3. S. Itoh, S. Setsuda, A. Utsunomiya and S. Natio(1979), 유헤학, 28, 59.
4. K. Oba, Y. Yoshida and S. Tomiyama(1967),

- 유화학, 16, 27.
5. H. Sekiguchi, K. Kimura and K. Oba(1975), 유화학, 24, 25.
 6. 한국환경연감(1990).
 7. 김원경, 김은기(1992), 한국생물공학회지, 7, 102.
 8. T. Tabuki, I. Nakamura and T Kobayashi (1977), *J. Ferm. Technol.*, 55, 37.
 9. Standard methods (1979), 4th ed. Washington, American Public Health Association.
 10. Larson (1979), *Appl. Env. Microbiol.*, 38, 153.
 11. K. Mirura, K. Yamanaka and N. Hayashi (1979), 유화학, 28, 43.
 12. Blankership(1963), *Soap. Chem. Specialties*, 39, 75.
 13. P. C. Koppe(1966), *Gas-wasserfach* 107, 1311.