

Linear Alkylbenzene Sulfonate의 생분해에서 Cd(II), Cu(II) 및 Zn(II)의 저해효과에 대한 연구

선 일 식 · 정 일 현

단국대학교 화학공학과

A Study of the Inhibiton Effect of Cd(II), Cu(II) & Zn(II) to the Biodegradation of Linear Alkylbenzene Sulfonate

Sun, Yle - Shik · Jung, Il - Hyun

Dept. of Chem. Engineering, Dankoon University

(Recieved Sep., 25, 1992)

ABSTRACT

The standardized activated sludge for the biodegradation test of anion surfactants has been produced from the collected microorganisms in the soil and the wastewaters treatment plant.

The activated sludge was kept under control of the pH, dissolved oxygen, microorganisms and inoculated the basal medium flasks with LAS and LAS mixed with heavy metals [Cd(II), Cu(II), Zn(II)].

Based of results, the inhibition effect(%) of heavy metals in LAS biodegradation were

1. All 1% when LAS 30mg/l - Cd(II), Cu(II) and Zn(II) 0.1mg/l, respectively
2. All 1~10% when LAS 30mg/l - Cd(II), Cu(II) and Zn(II) 1mg/l, respectively
3. All 10~40% when LAS 30mg/l - Cd(II), Cu(II) and Zn(II) 10mg/l, respectively
4. All 30~65% when LAS 30mg/l - Cd(II), Cu(II) and Zn(II) 100mg/l, respectively

And toxicity order of heavy metals to the microorganisms in LAS biodegradation were Cd > Cu > Zn in low concentration(0.1~1mg/l) and Cd > Zn > Cu in high concentration(10~100mg/l).

I. 서 론

산업활동의 다양화와 특성화에 따라 공장에서 배출되는 중금속 폐수, 합성세제가 다량 포함된 생활하수, BOD(Biological Oxygen Demand) 부하가 큰 농축산물폐수, 농약 등 난분해성 유기독성 물질이 포

함된 골프장 하수 등 각종 폐수가 하천으로 유입되면서 자연환경과 인간의 생활환경은 심각한 문제에 직면해 있다.

특히 부유물질(suspended solid)의 배출원이 각 지점에 따라 변화가 심하고 도시 하천은 인위적인 생활에 의해 유기성 오염물질, 각종 공장의 폐하수가 직접 유입 되기도 한다.

최근 페놀 등 유독물질의 하천유출로 문제화된 폐수 및 생활하수와 더불어 합성 세제가 수질오염에 미치는 영향에 대해 논란이 고조되고 있으며 합성세제의 주원료로 사용되고 있는 석유계 계면활성제인 LAS(Linear Alkylbenzene Sulfonate)에 대한 독성과 생분해성에 대해서도 의문을 제기하고 있는 실정이다.

합성세제는 재래식 고풍세탁비누의 원료문제를 대신하기 위해 석유화학 공업의 발달로 1950년대 미국으로부터 합성세제의 주원료 중의 하나인 ABS(Alkylbenzene Sulfonate)의 대량 생산이 가능해지면서 그 사용량은 선진국의 척도로 자리잡게 되었고, ABS의 생분해성과 독성을 향상시켜 대체 생산된 LAS는 전 세계적으로 세제 및 세척제로 사용되는 합성세제의 60% 이상을 차지하고 있다.¹⁾

우리나라에서도 1980년도부터 LAS가 합성세제의 주계면활성제로 사용된 이래 1990년 현재 약 6만톤의 생산실적을 나타내고 있으나 석유계 계면활성제인 LAS의 생분해성 논란에 따라 1일만에 90% 이상의 생분해를 나타내는 식물성계 계면활성제와 비누의 사용량도 증가하고 있다.

LAS가 하천수에 유입되면 생물학적 처리에 있어 미생물에 노출되어 순화과정을 거친 다음 분해되는데 최초에는 Benzene핵과 연결되어 있는 alkyl 직쇄의 말단 메틸기에 공격이 일어나 ω 산화에 의한 초기 생분해가 나타나고 효소반응에 의한 β 산화로 분해하게 된다.²⁾

그러나 우리나라의 대도시처럼 인구밀도가 높고 하수처리율이 낮으며 하수가 하천을 거쳐 해역에 도달하는 시간이 짧은 곳에서는 합성세제의 소비량 증가에 따른 하수처리장에서 충분한 처리가 이루어지지 못하고 계면활성제의 발포성이나 미생물에 대한 독성³⁾, 축적성으로 수처리를 어렵게 하는 원인으로 지적되고 있다.⁴⁾

또한 합성세제가 포함된 폐수와 중금속이 포함된 폐수를 공동처리하는 경우 유기물의 제거능력은 단독으로 처리했을 때보다 훨씬 저하되게 된다.

따라서 본 연구에서는 동식물과 자연환경에 오염을 주는 것으로 알려진 합성세제의 주계면활성제인 LAS에 대해, 미생물에 의한 분해 및 중금속에 의한 생분해도 저해 효과를 관찰하기 위하여 먼저 LAS의

생분해도 시험에 주안점을 두고 시험에 사용되는 미생물원인 활성오니를 각 하수처리장에서 채집, 혼합 배양하여 활성오니의 활성도를 점검관리하고 표준화된 활성오니를 제조한 다음, 혼합폐수 중의 LAS의 생분해성을 평가하기 위해 LAS와 중금속이 공존할 때 배양플라스크에 활성오니를 호기성 조건으로 접종하여 LAS가 생분해 되는 경우 중금속 종류와 농도에 대한 저해효과를 살펴보았다.

II. 실험

1. 장치 및 기구

LAS의 생분해에서 중금속의 저해효과 시험에 사용된 장치는 Fig. 1과 같이 진탕배양기(Shaking Machine)를 이용하여 진폭 8cm, 분당 150회의 회전속으로 배양하고 장치내 온도는 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 를 유지하였다.

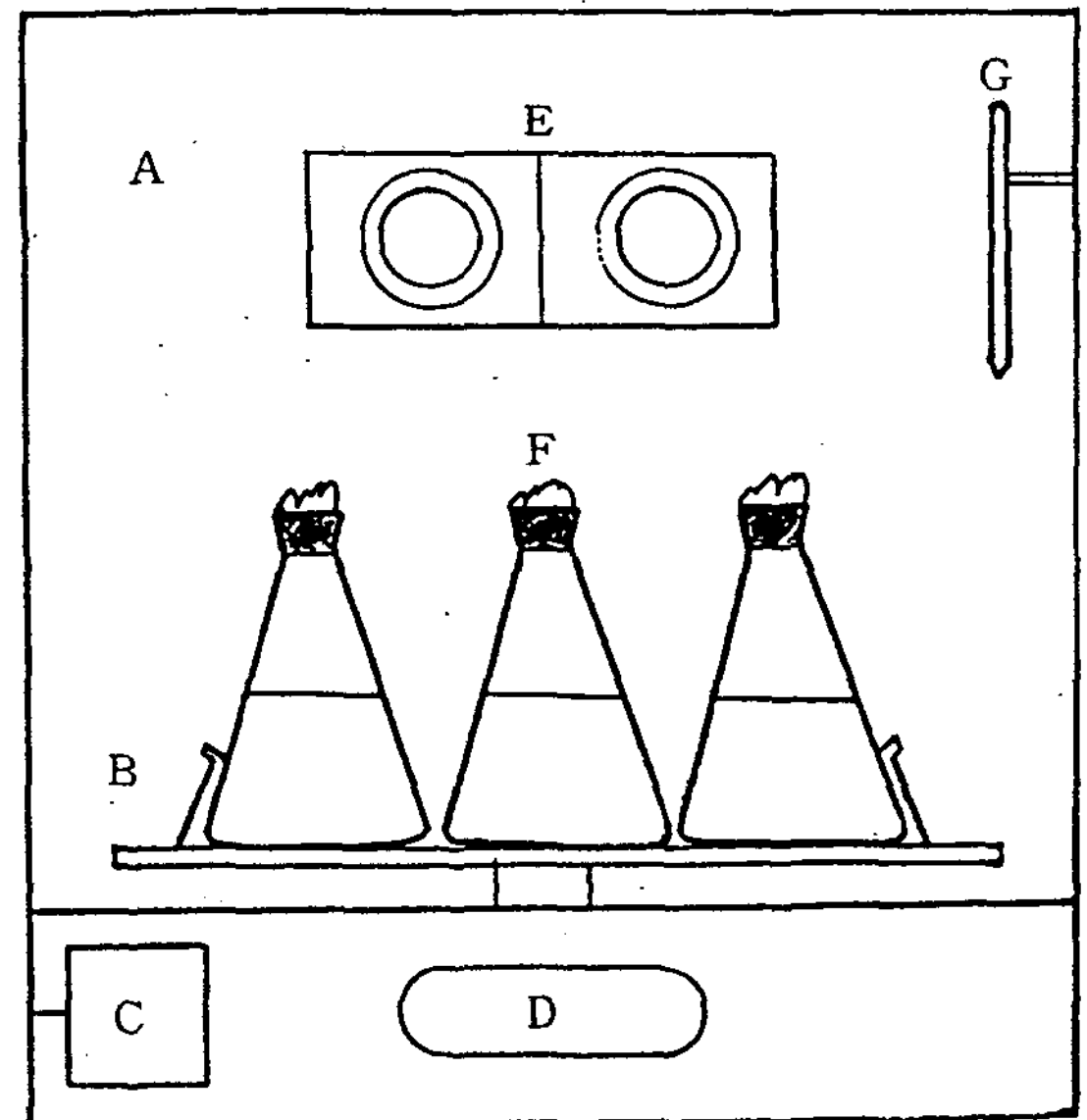


Fig. 1. Shaking machine for L. A. S. biodegradation test.

- A. Methyl meta acrylate box
- B. Rotary agitator (150 cycle/min)
- C. Power supply (110V/1.5kw)
- D. Digital thermometer
- E. Hot & freeze wind blower
- F. Incubation flask with cotton stopper
- G. Thermo couple (25°C. Set)

배양플라스크는 강압멸균기 내에서 170℃, 2시간 멸균한 후 사용하였고 사용된 활성오니의 활성도 점검을 위해 미생물 현미경(Olympus, BH2)으로 미생물 활성 지표인 Protozoa의 종류를 관찰하였고 생분해 후의 LAS는 MBAS(Methylene Blue Active Substances) 분석방법에 따라 전처리한 후 Shimadzu UV-160A로 정량하였다.^{5,6)}

2. 실험방법

계면활성제의 생분해도 시험에 있어 가장 중요한 요소는 계면활성제의 종류 분석방법, 미생물이다.

계면활성제의 분해에 관여하는 주미생물은 박테리아이며 이는 자연환경이나 하수 및 폐수처리장에서 얻어질 수 있으나 생화학적 양상을 고려할 때 실제적인 사용에는 제한성이 포함되어 있다. 그러나 기질의 낮은 농도 조건과 미생물 밀도가 낮은 극도의 조건하에서 발생하는 여러 환경적인 인자를 최소화하고, 합성세제의 주원료인 LAS가 자연환경이 받아 들일 수 있는 만족스러운 화합물의 적합여부를 예측하기 위해 먼저 미생물을 혼합배양 하였는데 도시하수 처리장과 정원토양에서 채집된 활성오니 및 토양추출액을 연속혼합 배양법에 의한 활성오니 제조방법에 따라 반연속 폭기조에 합성하수와 함께 넣고 폭기하였다.⁷⁾

활성도가 일정한 활성오니를 얻기 위해 폭기조내 활성오니를 pH 7.0±0.5, 용존산소 7mg/l 이상, Protozoa가 많은 것을 생분해 시험에 사용하였다.⁸⁾

Fig. 2는 중량천 하수처리장, 난지도 하수처리장, 안양천 하수처리장 및 토양추출액에서 채집된 미생물원을 혼합하고 연속배양하여 LAS의 생분해도에 사용되는 활성오니를 제조하는 과정을 나타낸 것으로⁹⁾ 시간에 따른 미생물 분포 등의 변동인자를 고려하기 위해 폭기조 내의 활성오니와 새로운 활성오니의 혼합배양, 조정 및 사용기간을 표시한 것이다.

LAS의 생분해도 시험에 사용된 미생물원은 Fig. 2로부터 얻어진 표준화된 활성오니를 사용하였고, 생분해도 저해효과 시험을 위해 사용한 중금속은 CdCl₂, CuCl₂ 및 ZnCl₂로서 산업활동에 널리 사용되는 무기화합물로 미생물에 대해 독성이 강한 중금속을 선택하여 표준원액을 제조한 후 농도에 따라 투입하였다.

LAS는 일본 Wako Co.에서 제조한 Sodium linear-dodecylbenzene sulfonate(M.W 348.48, 97%)로서 배양액내의 농도가 30mg/l가 되도록 조정하였다.

이상과 같이 LAS와 중금속(Cd, Cu, Zn)을 혼합한 배양액에 미생물원으로서 활성오니를 접종하여 중금속 농도구배(0.1, 1, 10 and 100mg/l)에 따라 생분해시험을 하였는데 미생물에 대한 LAS 및 중금속의 독성과 최초 접촉시의 충격(Shocking) 등의 변동을 예방하기 위해 25℃에서 회전식으로 진탕배양 시키면서 72시간씩 2회 순화배양한 후, 7, 8일간의 생분해 시험을 하고 각각의 시료 플라스크에서 얻어진 LAS의 분석 값으로부터 바탕시험용 배양플라스크

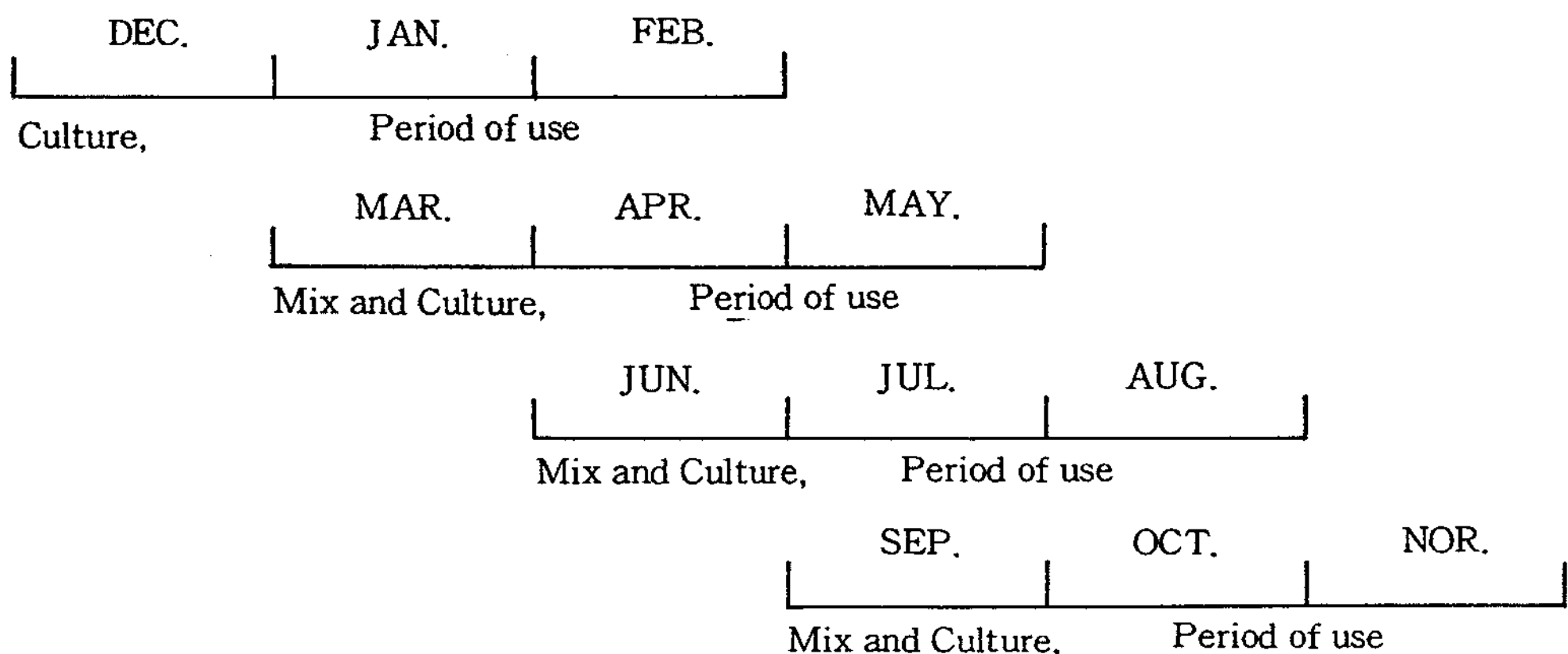


Fig. 2. Example of preparation of activated sludge samples and period of use.

4 선일식·정일현

에서 얻어진 측정값을 빼는 방법으로 LAS의 농도를 구한 다음, 최초의 LAS의 농도와 t일 후의 LAS 농도차로부터 LAS의 생분해도를 계산하였다.

$$D = \frac{\{(S_0 - B_0) - (S_t - B_t)\}}{S_0 - B_0} \times 100$$

여기서, D : t일 후의 LAS 생분해도(%)

S₀ : 시험초기의 LAS 농도(mg/l)

B₀ : 시험초기의 바탕시험 값(mg/l)

S_t : t일 후의 LAS의 농도(mg/l)

B_t : t일 후의 바탕시험 값(mg/l)

III. 결과 및 고찰

1. 활성오니 중의 미생물 분포

LAS의 생분해도 시험을 위해 미리 사용할 활성오니의 활성도를 점검하였다.

폭기조내 활성오니의 MLSS농도 16,000mg/l, DO 농도 8.2mg/l, pH 7.1 수온은 25.2℃였으며, 활성오니의 Floc을 현미경으로 관찰하였을 때 보통 하수처리장에서 활성오니가 정상일 때 발견되는 Vorticella, Epistylis, Aspidica, Opercularia 등의 원생동물(Protozoa)과 1×10⁷개 정도(평판배양법)의 박테리아 농도를 갖고 있었다(Photo 1)

그러나 1차 순화배양 후(Photo 2), 2차 순화배양 후(Photo 3) 및 7, 8일간의 생분해 시험 후(Photo 4)에는 Protozoa는 거의 관찰되지 않았는데, 이는 LAS 및 중금속의 독성 및 기타 배양플라스크계(system) 내의 급격한 환경변화로 인해 대부분 사멸한 것으로 보였고, LAS는 배¹⁰ 등이 보고한 Pseudomonas, Acromobacter 등의 혼합 박테리아 군에 의해 지배적으로 분해되는 것으로 추정되었다.

2. 중금속에 의한 LSA 생분해도의 저해효과

관리조정되어 표준화된 제조활성오니를 이용하여 LAS와 중금속이 혼합된 배양액 중에서 LAS의 생분해도를 측정하였다.

여기에서 사용된 중금속원 중에서 Cu(II)(CuCl₂)는 석유공업, 염색공업, 금속정련 등에 많이 이용되고 있으며, Cd(II)(CdCl₂)는 사진, 염색, 도금 및 전기공업에, Zn(II)(ZnCl₂)는 살균, 내화, 제지 및 합성 등의 화학공업에 널리 사용되고 있는 것들로서¹¹⁾

공업적으로 사용된 후 미처리 되어 수질환경에 배출되면 생체 세포내에 축적되거나 인간환경에 위해를 줄 수 있는 독성물질들이다.

이 실험에서는 각각의 중금속 농도를 0.1~100 mg/l로 조정된 후 LAS 30mg/l 과 함께 혼합하여 각각의 중금속에 대한 농도별 LAS 생분해 저해효과를 측정하였다. 이 때 LAS의 정량은 KSM 2714에 따라 MBAS 분석법으로 측정하였다.

생분해도 시험과정 중 배양초기인 0일부터 8일까지 배양플라스크내 pH 변화는 Fig. 3과 같이 중금속 투입농도에 따라 최초 pH는 6.7~7.4 사이였으나 LAS가 정상적인 분해를 보이는 시료들은 생분해도 시험이 진행되는 동안 pH는 7.2 부근으로 접근하였고 Zn(II)이 100mg/l 첨가된 배양플라스크는 6.7~6.8의 범위 내에 있었다.

Fig. 5~8은 각각의 배양플라스크에서 시간에 따른 pH변화를 나타낸 그림이다.

LAS가 단독으로 포함된 배양플라스크내에서 생분해도 시험을 한 결과 5일 이내에 90% 이상의 생분해도를 나타냈고 Cd(II), Cu(II) 및 Zn(II)이 0.1mg/l 공존하는 경우에도 저해효과는 크게 관찰되지 않았다(Table 2~5).

그러나 중금속 농도가 1mg/l 이상에서는 생분해도 감소효과를 뚜렷하게 나타냈는데, Cd(II) 1mg/l는 10%, 10mg/l는 36% 100mg/l에서 70%, Cu(II) 1mg/l는 5%, 10mg/l는 18%, 100mg/l에서 35%, Zn(II) 1mg/l는 1%, 10mg/l는 12% 100mg/l는 65%의 생분해도 감소효과를 나타냈다.

Fig. 4는 Cu(II), Cd(II), Zn(II), 0.1~100ppm이 공존할 때 LAS 30ppm에 대한 일별 생분해도로써 생분해도에 대한 시간 Exp(day)의 함수로 나타낸 그림이며, Table 6에 LAS 및 중금속이 혼합된 LAS가 미생물에 노출되어 생분해 될 때 산출된 반응속도 상수 k'를 나타내었다.

일반적으로 계면활성제는 고립된 계(system) 내에서 미생물에 의해 노출되면 산화되어 분해되는데 이 분해속도를 소멸되는 반감기로 표현하지만 계면활성제의 생분해도에서는 반감기의 시간이 일정하지 않다.¹²⁾

따라서 계면활성제의 분해속도는 반감기로 표현하기 보다는 일반 다른 유기화합물과 같이 소멸되어 가



Photo.1. Activated sludge and microorganisms in semicontinuous aeration chamber. (15×20)

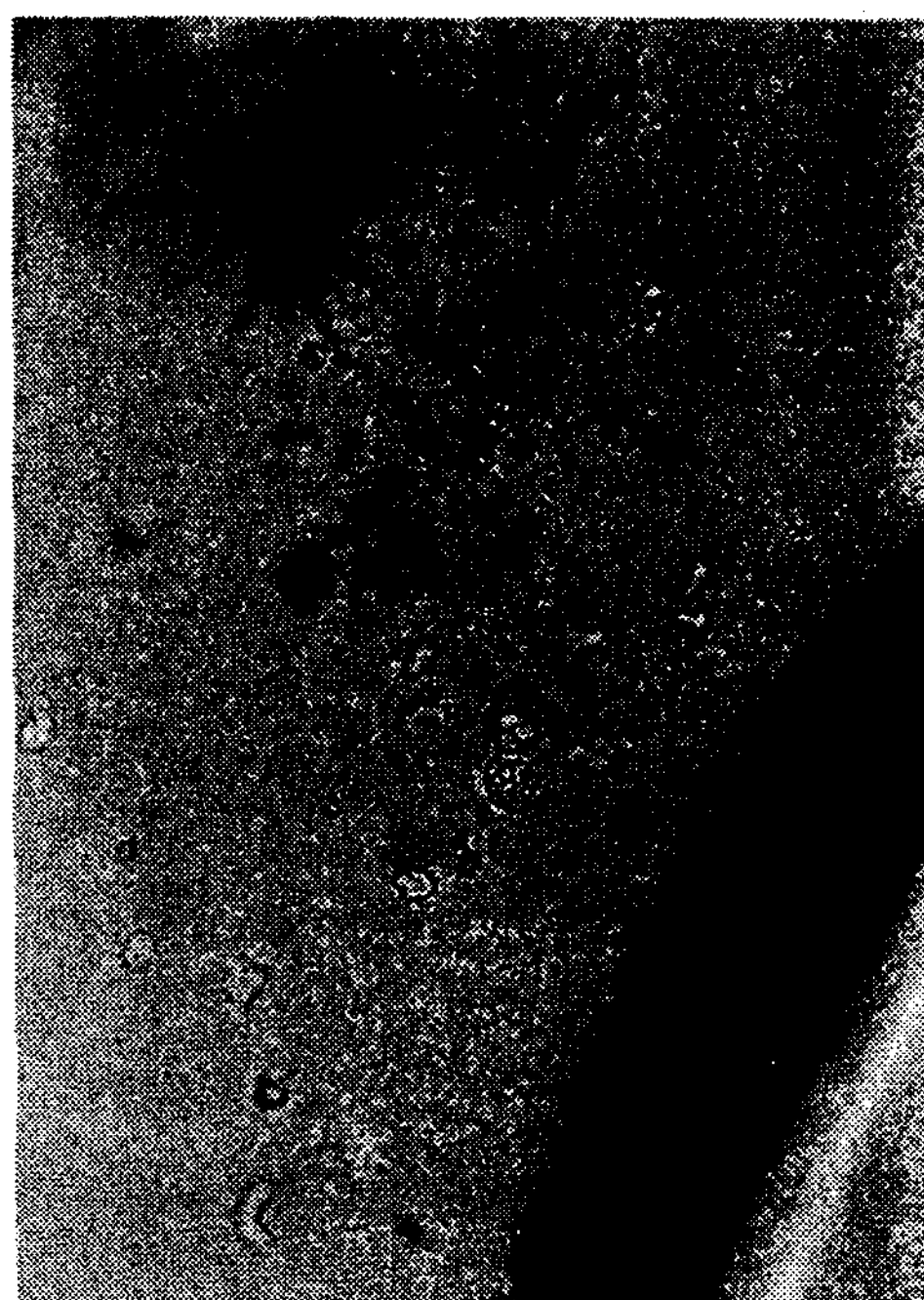


Photo. 2. Activated sludge in flask after 1st. 72hr adaptation.(15×20)

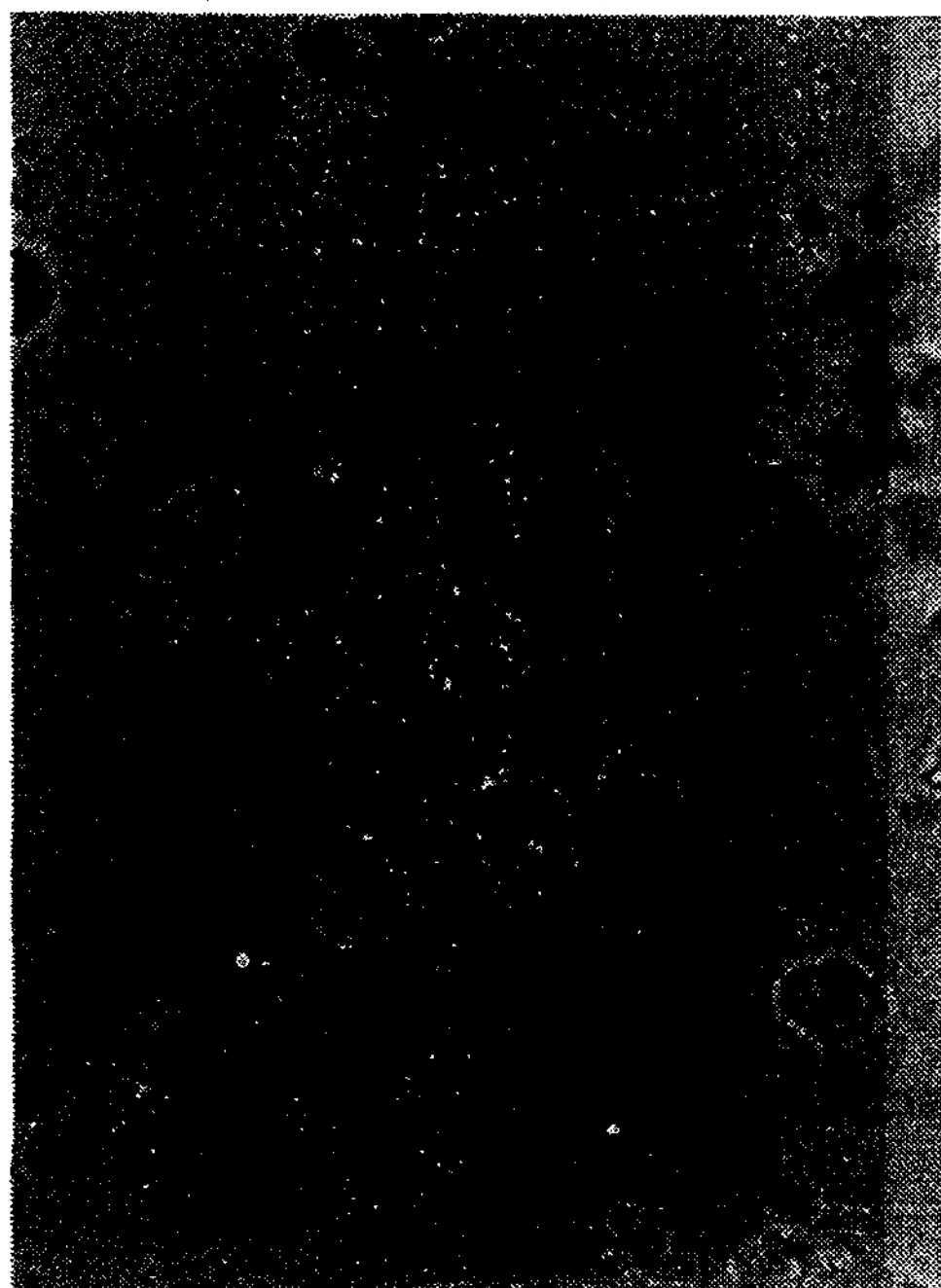


Photo. 3. Activated sludge in flask after 2nd. 72hr adaptation.(15×20)

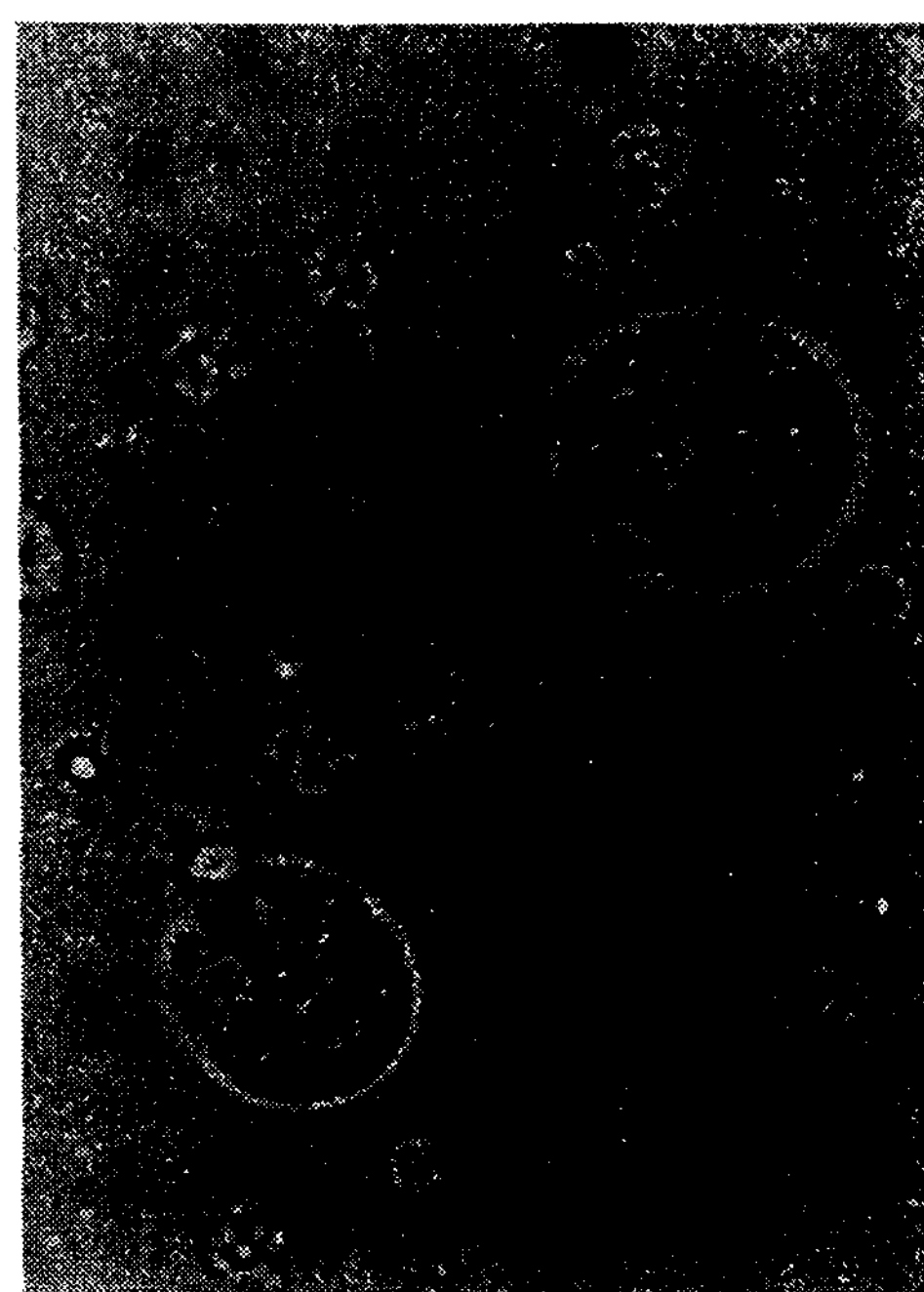


Photo. 4. Activated sludge in flask after 7, 8day-biodegradation.(15×20)

는 차원으로 해석되며 1차 반응식으로 묶을 수 있는데 LAS의 반응속도식은 Larson^{13, 14)}이 제시한 O₂ 흡수 및 CO₂ 방출식 보다는, 변수인자가 없는 1차 반응에서의 반응속도로 표현하여 어떠한 시간에서나 반응속도에 비례한다고 보았을 때 LAS의 초기농도 C_{AO}와 분해 후의 농도차 C_A로부터 $1 - C_A/C_{AO} =$

$[1 - \text{EXP}(-k't)]$ 로 표현할 수 있다.

따라서 Liu¹⁵⁾가 제시한 1차 형태의 생분해도로 나타내기 위해 $\ln C_A/C_{AO}$ 의 직선으로 plot된 평균 기울기로부터 k'을 구하였다.

배양플라스크내에서 LAS만 존재하는 경우 미생물에 의한 분해 반응속도 상수, k'은 0.78day⁻¹였고

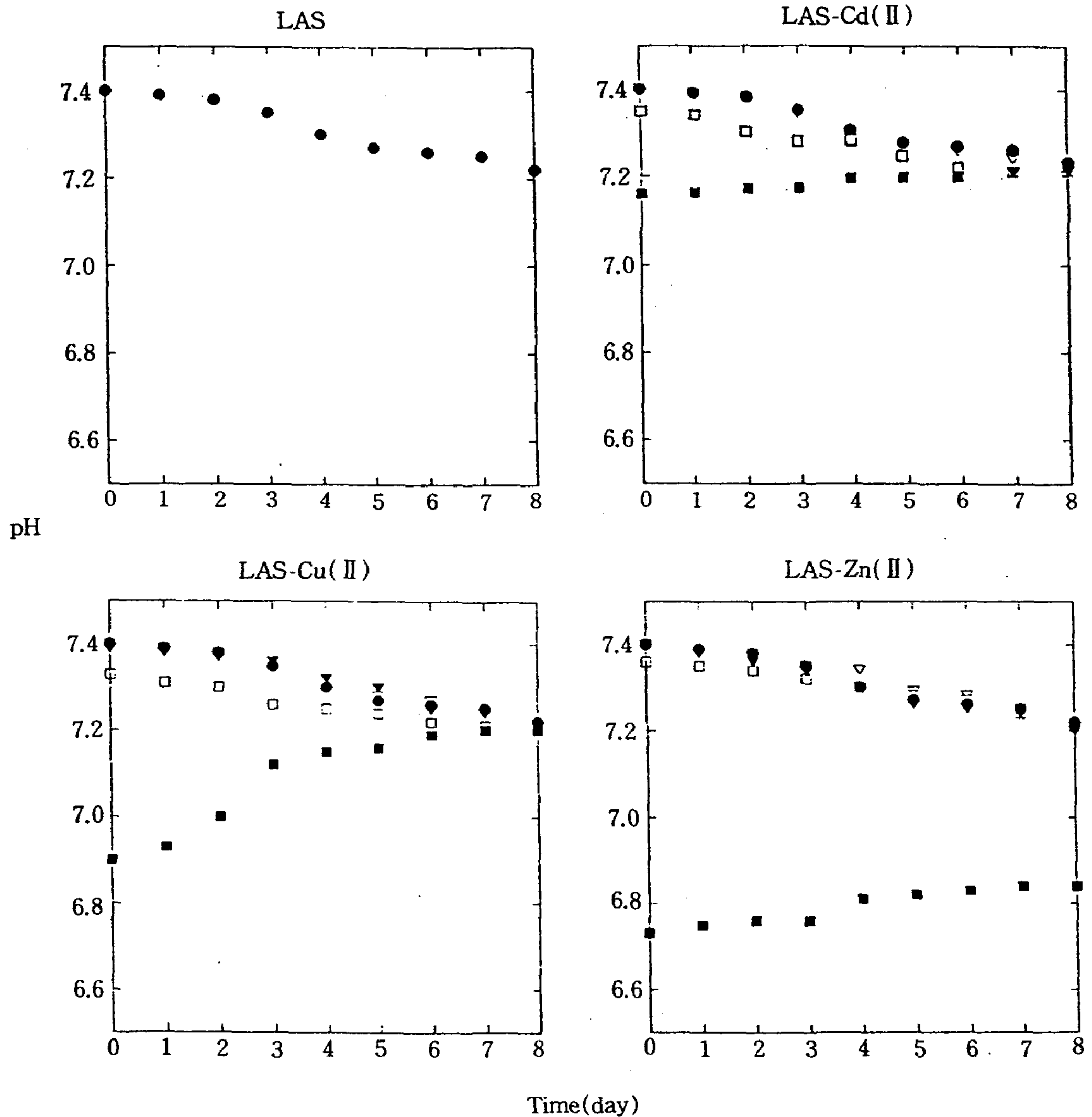


Fig. 3. pH variaion in shaking incubation flask.

- : LAS 30mg/l
- ▽ : LAS 30mg/l + Cd(II), Cu(II), Zn(II), 0.1mg/l, respectively
- ▼ : LAS 30mg/l + Cd(II), Cu(II), Zn(II), 1mg/l, respectively
- : LAS 30mg/l + Cd(II), Cu(II), Zn(II), 10mg/l, respectively
- : LAS 30mg/l + Cd(II), Cu(II), Zn(II), 100mg/l, respectively

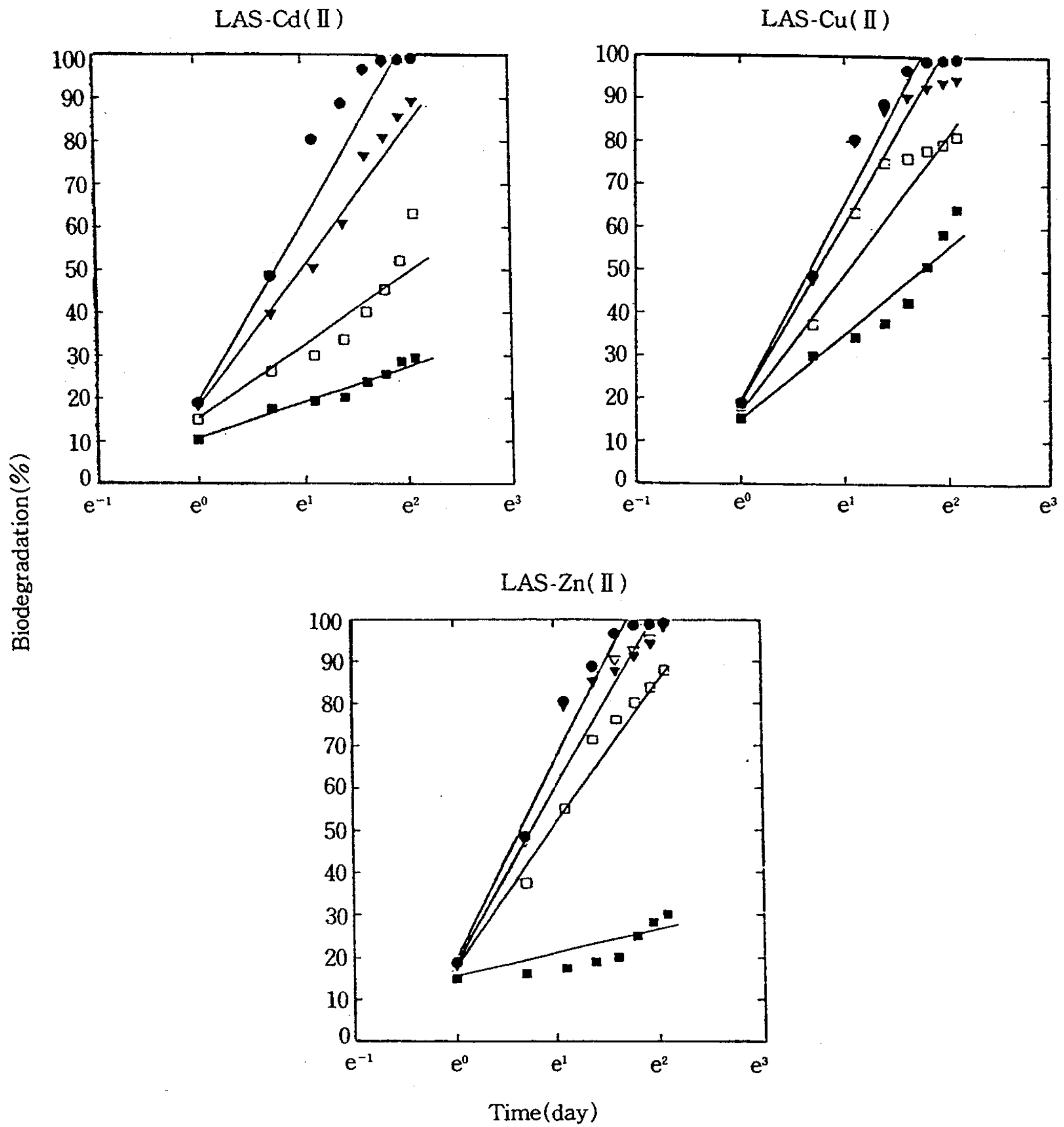


Fig. 4. Inhibition effect of the heavy metals in LAS biodegradation.

- : LAS 30mg/l
- ▽ : LAS 30mg/l+Cd(II), Cu(II), Zn(II), 0.1mg/l, respectively
- ▼ : LAS 30mg/l+Cd(II), Cu(II), Zn(II), 1 mg/l, respectively
- : LAS 30mg/l+Cd(II), Cu(II), Zn(II), 10mg/l, respectively
- : LAS 30mg/l+Cd(II), Cu(II), Zn(II), 100mg/l, respectively

Table 2. LAS biodegradation in shaking flask

day	0	1	2	3	4	5	6	7	8
(%)									
Biodegradation	0	18.8	48.5	80.4	88.7	96.6	98.7	99.0	99.2

Table 3. LAS biodegradation in shaking flask mixed with Cd(II)

	mg/l	day									
		(%)	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Biodegradation	0.1	0	18.5	48.6	80.0	87.2	96.1	98.0	98.9	99.0	
	1	0	18.0	39.4	50.2	60.4	76.3	80.5	85.3	88.9	
	10	0	15.1	26.3	29.9	33.7	40.1	45.3	52.1	63.1	
	100	0	10.4	17.5	19.3	20.1	23.7	25.6	28.5	29.3	

Table 4. LAS biodegradation in shaking flask mixed with Cu(II)

	mg/l	day									
		(%)	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Biodegradation	0.1	0	18.6	48.0	80.0	87.9	95.7	98.4	98.9	99.0	
	1	0	18.5	47.4	79.7	87.0	90.1	92.5	93.5	94.2	
	10	0	18.0	37.2	63.3	75.0	76.1	78.0	79.4	81.2	
	100	0	15.2	29.9	34.3	37.5	42.3	50.9	58.4	64.2	

Table 5. LAS biodegradation in shaking flask mixed with Zn(II)

	mg/l	day									
		(%)	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Biodegradation	0.1	0	18.0	47.0	79.1	86.4	90.1	92.3	95.1	99.0	
	1	0	17.8	46.2	78.3	85.2	88.9	90.1	94.2	98.8	
	10	0	18.2	37.3	54.1	70.8	74.4	78.3	81.5	90.0	
	100	0	10.6	20.5	25.4	27.7	30.8	32.6	33.8	34.9	

Cd(II), Cu(II) 및 Zn(II)은 투입농도가 증가할수록 반응속도 상수, k'은 0.78에서 0.47day⁻¹까지 감소하였다.

또한 8일간 배양 후 배양플라스크내의 시험용액 내의 flocc을 유리필터로 제거한 후 배양액 중의 중금속 농도를 측정하였다.

Table 7과 같이 Cu(II), Zn(II)은 투입농도의 90% 이상이 침전되어 flocc을 형성하고 있었고 Cd(II)는 투입농도의 50% 이상이 flocc이 형성되지 않고 용액 중에 포함되어 LAS의 생분해를 저해하거나 미생물에 대한 독성을 지속적으로 유지하고 있는 것으로 판단되었는데 이는 폐수에 금속이온이 함유되어 있는 경우 pH가 높아질수록 금속의 수산화물이 형성되어 유기물의 flocc과 함께 침전이 일어나며 Cu(II), Zn(II)은 pH 6 부근에서, Cd(II)는 pH 8 부근에서 지배적으로 침전이 형성되므로 배양용액 내의 pH가

Table 6. Reaction rate constant, k' of LAS biodegradation

Sample	k' (day ⁻¹)	
LAS*	0.78	
LAS+Cd	0.1mg/l	0.78
	1mg/l	0.76
	10mg/l	0.63
	100mg/l	0.47
LAS+Cu	0.1mg/l	0.78
	1mg/l	0.75
	10mg/l	0.73
	100mg/l	0.64
LAS+Zn	0.1mg/l	0.78
	1mg/l	0.76
	10mg/l	0.75
	100mg/l	0.52

* LAS concentration was 30mg/l

Table 7. After 8days biodegradation, the concentration of heavy metals in solution removed floc

Heavy metal	Concentration(mg/l)	
	Initial	Terminal
Cd(II)	0.1	Tr.*
	1	Tr.
	10	6.1
	100	50.2
Cu(II)	0.1	Tr.
	1	Tr.
	10	3.3
	100	9.0
Zn(II)	0.1	Tr.
	1	0.1
	10	2.0
	100	3.4

* Trace

7.2인 Cd(II)의 용해도는 미생물의 독성과 상관관계에 있음을 알 수 있었다.

IV. 결 론

이 연구의 목적은 활성오니내 미생물 Floc Linear Alkylbenzene Sulfonate(LAS)가 생분해 될 때 독성물질로서 공존하는 중금속이 생분해도에 저해효과를 주는 농도를 연구하는데 있다.

이러한 목적을 위해 먼저 생분해 실험에 적용되는 미생물원 즉, 활성오니를 검토하였는데 계절적, 시간적 분포의 다양성으로 변동인자가 많은 하수처리장의 활성오니를 사용하는 대신 각 하수처리장의 오니 및 자연토양에서 채집한 미생물원을 이용하여 이를 혼합배양하고 관리조정된 제조오니로부터 LAS에 대한 생분해 시험을 수회 실시하여 생분해도 데이터를 수집한 결과 LAS의 생분해도가 안정되어 있음을 확인하였다.

연구결과에 따르면,

1. 제조오니로부터 LAS 및 중금속이 혼합된 LAS에 대한 생분해도를 측정하였을 때 중금속은 배양 플라스크 내에 독성물질로 존재하여 미생물의 활성에 영향을 끼쳐 유기물 분해의 저해요인으로 작용하였

다.

2. 7일간의 LAS의 생분해도에서 LAS가 단독 존재할 경우 99%의 생분해도를 보인 반면, Cd(II), Cu(II) 및 Zn(II)이 각각 1mg/l 포함된 경우 1~10%, 10mg/l 포함된 경우 10~40%, 100mg/l 포함된 경우 30~65%의 생분해도 감소효과를 가져왔다.

3. LAS의 생분해에서 측정된 반응속도 상수 k'는 LAS는 30mg/l에서 0.78이며 LAS 30mg/l와 혼합된 Cd(II) 0.1~100mg/l에서 0.78~0.47, Cd(II) 0.1~100mg/l에서 0.78~0.64, Zn(II) 0.1~100mg/l에서 0.78~0.41이었다.

4. LAS의 생분해에 있어 중금속이 공존할 경우 생분해도에 저해효과를 주는 독성의 세기는 중금속 농도가 저농도인 경우(0.1~1mg/l)에서 Cd>Cu>Zn, 중금속 농도가 고농도인 경우(10~100mg/l)에는 Cd>Zn>Cu의 순서였다.

문 헌

1. 합성세제의 원료와 환경, Chemical Journal, 1 (10), 23 (1991)
2. L. Kravetz, H. Chung, and J. C. Rapean Jour, J. Am. Oil. Chem. Soc., 59(29) (1982)
3. Korea soap & detergent association 1991 report, Korea soap & detergent union, 6~7 (1991)
4. 권수표·정 용·윤연하, 비이온 계면활성제를 주제로한 세제의 성분, 연세대학교 환경공해연구소 (1981)
5. KSM 2714-90
6. Americal Standard Test Method D 2667
7. OECD, Guideline for testing of chemicals, Ready biodegradation, 301C (1981)
8. Banichi Tomita, and Norikatsu Hammamura, 합성세제의 간이 생분해 시험방법, 용수와 폐수, 19(11) 1341~1345 (1977)
9. 선일식·정일현, Linear Alkylbenzene Sulfonate의 생분해에 이용되는 활성오니의 표준화에 관한 연구, 한국유화학회, 9(1), 31~40 (1992)
10. 배경옥·하영철·홍순우, 서울지역 한강수계에 서의 합성세제 분해균의 분리 및 동정, 한국미생

- 물학회지, 20(2), 98~104 (1982)
11. Merck Index, 11th Ed.
 12. R. D. Swisher, Surfactant biodegradation, Revised & expanded, 2nd Ed, 294~295 Dekker (1987)
 13. Larson, R. J., Evaluation of biodegradation potential of xenobiotic organic chemicals, *Appl. Env. Microbiol.* 38, 1153~1161 (1979)
 14. Larson, R. J., R. L. Perry, Use of the electrolytic respirometer to measure biodegradation in natural waters, *Water Res.*, 15, 697~702 (1981)
 15. Liu. D., W. M. J. Strachan, K. Thomson & Kwasniewska, Determination of the biodegradability of organic compounds, *Env. Sci. Technol.*, 15, 788~793 (1981)