

생분해성 윤활제품의 생분해성 평가 방법 최적화 연구

한승욱, 조대행¹, 신종화, 김의용*
 서울시립대학교 화학공학과, ¹서울시립대학교 산업기술연구소
 (eykim@uos.ac.kr*)

A Study On The Biodegradability Test optimization Method of Biodegradable Lubricating Oil Product

Seung Wook Han, Dae Haeng Cho¹, Jong Hwa Shin, Eui Yong Kim*
 Department of Chemical Engineering, The University of Seoul
¹Institute of Industrial Technology, The University of Seoul
 (eykim@uos.ac.kr*)

I. Introduction

최근 수많은 종류의 다양한 유기화합물이 합성되고 이에 의한 환경오염이 우려됨에 따라 생분해도 측정방법에 대한 표준화에 관심이 높아지고 있다. 현재 전 세계적으로 사용되는 90% 이상이 석유로부터 유래된 직쇄형 탄화수소와 방향족 탄화수소로 이루어진 윤활유이다. 이러한 석유계 윤활유 중 차량용 오일, 농업용 기계류에 사용되는 오일 등이 사고나 오작동에 의해 환경에 누출될 가능성이 있으며, 누출되었을 경우 동-식물계 등의 생태계에 미치는 영향이 크다. 따라서 석유계 윤활유를 대체하려는 친환경성 윤활유의 개발에 많은 노력을 기울이고 있다.

유기물이 미생물에 의해 분해되는 정도를 생분해도(Biodegradation)라고 하는데, 예를 들어 세계 대부분의 국가들의 경우 생분해도 세제의 허가 기준치로서 '사용한 후 7일째 생분해도가 90% 이상 되는 것'으로 정하여 수질오염을 최소화 하고 있다. 환경 친화성 제품이 21세기 전략상품으로 부상함에 따라 각 기업들은 생분해가 잘되는 윤활제품을 개발하고 있다. 따라서 윤활 제품 또한 그 기준이 필요하다.

생분해란 효소의 작용에 의해 유기물질이 분해되어 본질의 분자구조가 없어지고, 이들 중의 일부는 세포의 이화작용에 직접 사용될 수 있는 분자량이 작은 유기물질로 되어 이산화탄소와 물로 변화되는 것을 말한다. 유기물 분자, 산소와 미생물에 의해 이산화탄소와 바이오메스가 생성된다. 이러한 과정을 무기물화(mineralization)라고 한다.

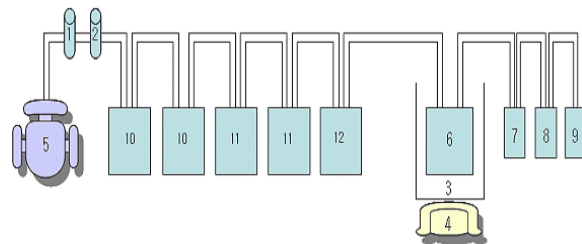
생분해성 유기물질의 분해도에 영향을 주는 요인으로는 크게 두 가지로 나눌 수 있다. 즉, 물성에 의한 영향(물질의 입체구조 및 분자구조, 분자량, 결정도, 사슬의 형태 등)과 환경조건에 의한 영향(미생물의 종류, 온도, 습도, pH, 산소 존재여부 등)으로 나뉘어진다. 생분해성 기준으로 어떤 물질이 28일 동안 60% 이상의 생분해도를 갖을 경우 실제 환경 조건하에서 최종적으로 완벽한 생분해도가 된다고 가정한다. 이때 이 물질을 최종 생분해성 물질이라고 판정한다. 이러한 생분해성 윤활제품에 대한 기준 시험방법이 아직까지 국내에는 없기 때문에 ISO 9439 및 OECD 301B의 방법에 근거하여 국내 실정에 맞게 기준 시험 방법을 개발하고자 한다.

II. Experiment method and material

1. 실험 장치 및 방법

생분해 실험 장치는 Fig.1과 같다. 시험용기 내에 mineral salt medium(1.19L)과 유일

탄소원인 시험 대상 물질(15mg-C/L), Inoculum(10mL)을 총 1.2L 부피가 되게 하여 일정한 공기(30~50mL/min)를 실험 종료 시까지 주입한다. 이때 주입되는 공기에는 이산화탄소가 없어야 하기 때문에 10N NaOH를 담은 CO₂ trap(10)에서 유입 공기 중에 포함되는 이산화탄소를 포집한 후 0.0125M Ba(OH)₂ trap(11)을 이용하여 이산화탄소를 흡수하는데 사용하였다. Blank bottle(12)은 액체가 지나는 것을 막는 용도이다. 이산화탄소를 정량하기 위하여 일정한 간격을 두어 포집 용기(7-9)를 차례대로 분리하여 phenolphthalein 지시약 용액을 소량 첨가한 후 0.1M HCl 수용액으로 적정하여 이산화탄소를 정량하였다. 실험 환경은 빛이 차단된 어두운 곳이며 실험 온도는 20~25℃ 정도를 유지하였다.



1. Moisture removal filter
2. Oil removal filter
3. Water bath(constant temperature-20~25℃)
4. stirrer
5. Air compressor
6. Test vessel(1.2 L)
7. First Carbon dioxide trap 100mL(Ba(OH)₂-0.0125mol/L)
8. Second Carbon dioxide trap 100mL(Ba(OH)₂-0.0125mol/L)
9. Third Carbon dioxide trap 100mL(Ba(OH)₂-0.0125mol/L)
10. Carbon dioxide trap (NaOH-10mol/L)
11. Carbon dioxide indicator (Ba(OH)₂-0.0125mol/L)
12. Blank vessel (Liquid removal)

Fig 1. experiment equipment(1)

2. Inoculum

호기성 생분해도 실험을 위하여 한국화학시험연구원에서 제공한 표준활성슬러지 배양법에 따라 접종원을 제조하였다. 중량하수처리장, 한강, 경기 포천(산정호수)에서 활성슬러지를 채취하여 접종원의 최종 농도 10⁴~10⁵cfu/mL로 하기 위하여 채취 한 날로 25일간 배양하였다. 배양 조건은 최종 실험 조건과 맞추어 22℃의 온도를 유지시키며 30mL/min공기를 주입하였다. 사용 한 합성배지로는 5% Glucose, Peptone, Potassium phosphate로 만들어 배양 시작 후 1주간은 1회/1일 1mL/L 첨가 하였고 이후 3일마다 0.5mL씩 증량하여 최종 약 6mL 정도가 되게 하였다. table 2.1은 실험 결과이다.

<table 2.1 표준활성슬러지 >

Time(days)	생균수(cfu/mL)	ss(mg/L)	DOC(mg/L) - 100배 희석	pH
1	2*10 ³	500	1.5	7.1
25	5*10 ⁶	1200	3.2	7.3

2. mineral salt medium

<table 2.2 mineral salt medium>

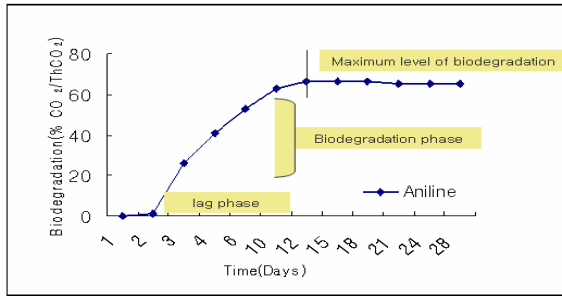
	ISO 9439			ASTM 5864		
(a) buffer solution	KH ₂ PO ₄ 8.5g	K ₂ HPO ₄ 21.75g		KH ₂ PO ₄ 8.5g	K ₂ HPO ₄ 21.75g	
	Na ₂ HPO ₄ 2H ₂ O 33.4g	NH ₄ Cl 0.5g		Na ₂ HPO ₄ 2H ₂ O 33.4g	NH ₄ Cl 1.7g	
(b)		CaCl ₂ 2H ₂ O 36.4g			CaCl ₂ 2H ₂ O 36.4g	
(c)		MgSO ₄ 7H ₂ O 22.5g			MgSO ₄ 7H ₂ O 22.5g	
(d)		FeCl ₃ 6H ₂ O 0.25g			FeCl ₃ 6H ₂ O 0.25g	
(e)		X			(NH ₄) ₂ SO ₄ 40g	
pH		7.4			7.4	
조제방법 (per 1L)	10 ml (a), 1 ml (b)-(c), 4 ml (d)			10 ml (a), 1 ml (b)-(c),(e), 4 ml (d)		

III. Result and Conclusion

1. Activity test of inoculum

접종원으로 사용한 표준활성슬러지의 활성도를 측정하기 위하여 시험 대상물질로서

Aniline의 생분해도를 측정하였다. 분석 결과는 Fig 3.1과 같다. 60% 이상 생분해도를 보여 접종원으로 적합하였다.

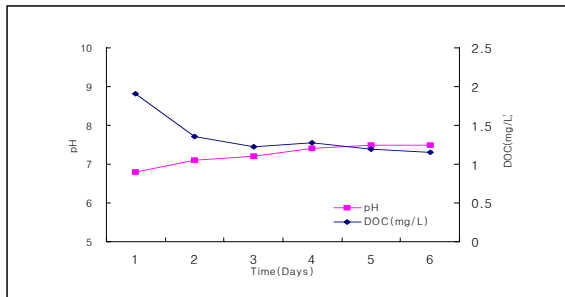


분석 조건 및 결과	
유기탄소 농도(mg/L)	15
mineral salt medium	ASTM 5864
균수(cfu/mL)	1.2×10^5
SS(mg/L)	20
pH	7.2 ± 2
생분해도(%)	65

fig 3.1 Activity test of inoculum

2. Pre-conditioning

최종 시험 조건에 맞게 미생물의 순화에 의해 시험 성능 및 접종원의 능력 향상 목적으로 화학물질 및 유기물 없이 시험배지와 함께 7일 정도 사전 배양하였다. 7일간 배양 중 농도변화 및 DOC를 측정하였다. 접종액에서 발생된 DOC의 양이 시험 화합물의 유기탄소의 초기 농도의 10%이하로 맞추기 위하여 Pre-Conditioning 중 DOC의 감소되는 정도를 테스트 하였다. 또한 pH 및 생균수(cfu)를 테스트하여 상관관계를 보았다. Fig 3.2은 7일간의 Preconditioning중 DOC 및 pH의 실험 결과이다. 30% 이상의 DOC가 감소하였고 pH는 2일 정도 지난 후에 7.4정도를 유지하였다. SS 및 생균수 측정된 결과 초기에는 증가하였지만 많은 변화는 없었다. 이처럼 용존 유기탄소(DOC) 및 무기탄소(IC)의 감소로 바탕시험의 오차를 최대한 줄일 수 있었다. 접종원의 DOC 분석은 증류수로 100배 희석하여 Sievers 900 TOC Analyzer로 분석하였고 생균수 측정은 희석 배수($10^3 \sim 10^5$)를 고려하여 NA(Nutrient agar)배지에 도마하여 균수를 측정하였다.



day	cfu/mL	SS(mg/L)	Inorganic carbon(mg/L)
1	1.18×10^6	100	0.0800
2		130	0.0386
3	5.0×10^6	160	0.0366
4	1.3×10^7	140	0.0312
5		140	0.0301
6	6.8×10^6	125	0.0270

fig 3.2 pH and DOC change amount of Pre-conditioning

3. 생분해도 측정

본 실험의 시험화합물로서 (주)하우톤, (주)광우파카, (주)범우화학에서 제공받아 실험하였다. 모든 실험에 있어 유일 탄소원(시험화합물, 표준물질)으로 15~20mg/L 넣어주었다. Fig 3.3은 시험 화합물에 대한 생분해 결과로서 모두 28일 후 60% 이상의 생분해도를 보여 시험평가 방법에 있어 유효성을 가질 수 있었다. fig 3.4의 접종액의 농도에 따른 생분해도는 10^2 cfu/mL에서는 60% 미만의 생분해도를 보여 실험 기준에 적합하지 않았으며 10^5 cfu/mL의 생분해도가 85%로 가장 좋은 생분해도를 보였다. fig 3.5는 배지 조성에 따른 생분해도 결과이며 fig 3.6는 표준물질에 대한 시험화합물의 독성 테스트 결과이다. ASTM 5864에서 제시한 배지 조성이 약 5% 좋은 생분해도 결과가 나왔으며, 독성테스트 또한 60% 이상의 생분해도를 보이며 타당성 기준에 적합하게 분석되었음을 입증할 수 있었다.

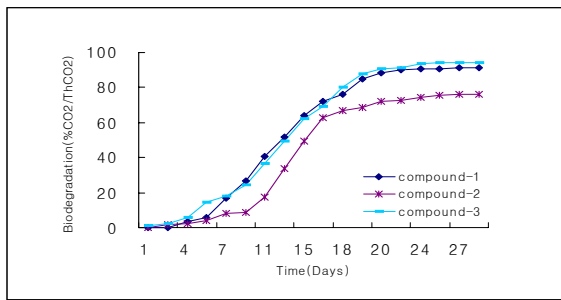


fig 3.3 Biodegradation of test compound

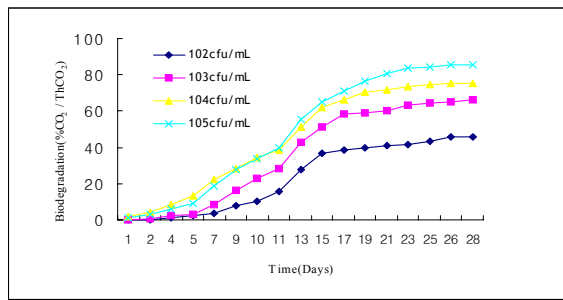


fig 3.4 Biodegradation of microorganism concentration

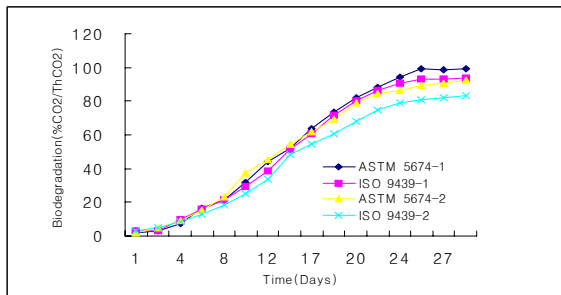


fig 3.5 Biodegradation by mineral salt medium composition

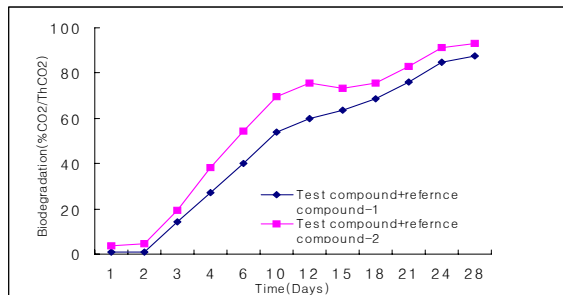


fig 3.6 Inhibition control test

4. Conclusion

본 연구는 호기성 미생물(표준활성슬러지)을 이용하여 생분해도 시험평가 방법에 있어서 최적의 조건을 찾아보고자 실험을 수행하였다. 우선 모든 실험에 있어 28일 동안 60% 이상의 생분해도, 실험 결과의 오차범위 20% 이내 등 실험 결과에 있어 유효성 및 재현성을 가질 수 있었다. 또한 접종원을 시험 배지와 함께 7일간 Pre-conditioning 한 결과 DOC 및 IC의 감소로 인하여 바탕시험의 오차를 최대한 줄일 수 있었다.

결론적으로 접종액의 DOC는 시험화합물의 10% 미만, SS는 30mg/L 이하로 하여야 하며 균수는 $10^4 \sim 10^5$ cfu/mL이 최적 조건이라고 생각된다.

IV. Reference

1. OECD(1992). Ready biodegradability. 301B CO₂ evolution(modified stum test). OECD Guideline for testing of Chemicals. Organisation for Economic Co-operation and Development : Paris.
2. Struis, J.,and Stoltenkamp-Wouterse, M.J. and Dekkers, A.L.M. A rationale for the appropriate amount of inoculum in ready biodegradation tests. Biodegradation,6,1995,pp.319-327
3. Weytjens, D., Van Gimmiken, I.and painter, H.A. The recovery of carbon dioxide in the Stum test for ready biodegradability. Chemosphere, 28, 1994, pp.801-812
4. ASIM D5864-00. Standard Test Method for Determining Aerobic Aquatic Biodegradation of Lubricants or Their Components
5. 302 B Zahn-WellensiEMPA Test, OECD guideline for testing of chemicals, Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris (1992).
7. Water quality - Evaluation in ultimate aerobic biodegradability of organic compounds in aqueous medium - carbon dioxide evolution test ,International Organization for Standardization 9439(1999).
8. Water quality - Evaluation in an aqueous medium of the ultimate aerobic biodegradability of organic compounds - Method by analysis of inorganic carbon in sealed vessels (CO₂ headspace test), International Organization for Standardization, Draft International Standard ISO/DIS 14533 (1997).