

바이오디젤 유래 펜타에리쓰리톨계 윤활유 베이스의 생분해성 테스트

정해영 · 김의용 · 채희정

호서대학교 식품생물공학전공 및 벤처전문대학원, ¹서울시립대학교 화학공학과

(접수 : 2004. 1. 7., 게재승인 : 2004. 4. 25.)

Biodegradability Tests of Biodiesel-derived Pentaerythritol Lubricant Oil Bases

Haeyoung Jung, Eui Yong Kim¹, and Hee Jeong Chae[†]

Department of Food and Biotechnology and Department of Innovative Industrial Technology,
Hoseo University, Asan 336-795, Korea

¹Department of Chemical Engineering, The University of Seoul, Seoul 130-743, Korea

(Received : 2004. 1. 7., Accepted : 2004. 4. 25.)

Biodegradability test for various synthetic lubricant oil bases derived from biodiesel was carried out. The biodegradability was estimated under aerobic aqueous condition, according to the method by OECD 301 B, which is based on CO₂ evolution test. The ultimate biodegradability of pentaerythritol methyl esters were estimated as 61.1~80.3%, at 28 day with which the test compounds were indicated as ultimately biodegradable. Among the tested samples, biodiesel showed the highest biodegradability (83.5%). The validation with several criteria, regarding relative errors of test results, toxicity control and procedure control, was performed through the biodegradability test. The test procedure was validated for all the tested lubricant oil bases and biodiesel, except for petroleum diesel.

Key Words : Biodegradability, biodiesel, pentaerythritol methyl esters

서론

현재 전 세계적으로 사용되는 윤활유의 91%가 석유로부터 유래된 직쇄형 탄화수소와 방향족 탄화수소로 이루어진 윤활유이다. 유럽에서는 환경오염 문제의 심각성을 고려하여 석유계 윤활유의 사용을 제한하기 시작하였다. 유럽의 경우 550만톤의 사용 윤활유 중 약 20% (110만톤)가 생태계에 유출되어 오염문제를 유발하므로 석유계 윤활유를 대체하려는 친환경성 생분해 윤활유의 개발에 많은 노력을 기울이고 있다(1). 국가적 정책 추진에 힘입어 많은 전문기업들 (Robde/Novauce, Fina, Mosil, Tecnal, BP Amoco, Igol 등)이 이미 70여종의 고성능 생분해성 윤활유 생산개발에 성공하여 이를 판매하고 있다. 국내의 경우 좁은 국토와 많은 차량, 열악한 수거 시스템에도 불구하고 환경보존에 대한 관심의 증대에 따라 최근 들어 일부 윤활유 제

조회사에서는 고급 자동차를 위한 판매전략의 일환으로 적지 않은 양의 친환경성 윤활유 베이스를 수입하여 첨가제로 사용하고 있다. 친환경적 윤활유는 기계 성능의 향상과 연료 절감, 공해 방지, 식품, 섬유 등 보건과 관련된 산업에서 사용할 수 있는 장점이 있다.

바이오디젤 (biodiesel, BD)은 폐식용유, 대두유, 쌀겨 등 식물성 오일을 알코올에 반응시켜 만드는 분자 내 산소를 포함하고 있는 친환경 제품이다. 이처럼 식물성 오일을 이용한 바이오디젤은 재생가능한 바이오매스로부터 생산되어 자원 고갈의 문제가 없으며, 연료 사용에 의해 발생한 이산화탄소는 바이오매스의 생산 과정에서 회수되므로 지구 온난화 문제에 대응 가능한 연료이다(2). 또한 친환경적 화학 소재의 생산에 이용될 수 있는 연료 및 원료로서 환경친화적 청정 발전에 기여할 수 있다.

최근 수많은 종류의 다양한 유기화합물이 합성되고 이에 의한 환경오염이 우려됨에 따라 생분해도 측정방법에 대한 표준화에 관심이 높아지고 있다. 생분해성 유기물질의 분해도에 영향을 주는 요인으로는 크게 두 가지로 나눌 수 있다. 즉, 물성에 의한 영향 (물질의 입체구조 및 분자구조, 분자량, 사슬의 형태, 결정도, 조성비 등)과 환경조

[†] Corresponding Author : Department of Food and Biotechnology, Hoseo University, Asan 336-795, Korea
Tel : +82-41-540-5642, Fax : +82-2-6280-6346
E-mail : hjchae@office.hoseo.ac.kr

건에 의한 영향 (물성에 의한 영향과 분해 미생물의 종류, 온도, 습도, pH, 산소 존재 여부 등)으로 나뉘어진다. 이에 따른 유기화합물의 생분해성 시험에 대하여 여러 가지 다른 방법들이 행해지고 있다. 대표적으로 세가지 주요 시험 방법들이 있다. 첫째, 토양 속에서의 생분해를 측정하는 방법이 있는데 실제 조건에 가깝지만 여러가지 복합적인 이유로 인하여 재현성이 나쁘다. 둘째, 곰팡이나 세균을 이용한 방법은 일정 기간 동안 배양시킨 미생물의 세포 성장에 의해 발생한 이산화탄소 (CO₂)를 측정하여 정량화 (CO₂ evolution test) 시키는 것으로 재현성이 있는 방법이다. 셋째, 분리정제된 효소를 이용한 방법으로 생분해성 시험을 더욱 빨리 진행시킬 수 있으며 생분해에 대한 포괄적인 연구를 할 수 있다.

여러가지 유기화합물 중 poly (hydroxy butyrate)와 같은 생분해성 고분자의 경우, 시료가 갖는 유기탄소에 의해 발생하는 CO₂의 양을 측정하여 생분해성을 평가한다(3). 계면활성제의 생분해도도 용존산소의 농도를 기준으로 측정한다. 즉, 계면활성제가 미생물에 의해 섭취, 분해되면서 수중에 녹아 있는 산소를 소비하는 것을 이용하는 방법(4)이다. 셀룰로오스 섬유의 생분해 방법(5)으로는 토양 매립법, 활성하수슬러지법과 셀룰레이즈 효소 가수분해 방법 등이 제시되어 있다. 방청유의 생분해도 분석법으로는 미생물에 의한 생분해와 infrared spectrophotometer (IR) 분석에 의존한다(6). 이 방법에서는 밀폐된 플라스크에 시료 오일과 박테리아 접종원을 가하고 21일간 배양한다. 배양액을 용매추출한 후 IR로 측정된 CH₃CH₂의 최대 흡수띠로부터 시료와 표준물질 간의 잔류 오일량을 백분율로 나타냄으로써 생분해도를 구한다. 기체크로마토그래피를 이용하여 활성슬러지에 의한 산소와 이산화탄소를 측정하는 방법(7) 등도 보고된 바 있다.

본 연구에서는 생분해성 윤활유의 품질 평가에서 가장 중요한 지표인 수질 속에서의 생분해성 평가를 위한 국내의 규격 및 여러 문헌을 비교 검토하였다. 대두유 (soybean oil)를 원료를 하여 생산된 바이오디젤 유래의 여러가지 합성 윤활유 베이스를 분석대상으로 하여 CO₂ evolution test에 의하여 생분해도를 분석평가하였다. 또한 석유 디젤, 바이오디젤과 디젤엔진오일의 생분해도를 함께 비교 검토하였다.

재료 및 방법

재료 및 장치

에스테르계 윤활유 베이스와 바이오디젤은 ㈜신한에너지로부터 제공받아 사용하였으며, 석유디젤은 ㈜ LG의 제품을, 디젤유 윤활유는 ㈜ S-oil의 제품 (CF 15W-40)을 사용하였다. 생분해도 측정을 위한 미생물 접종원 (inoculum)은 천안시 환경사업소 폐수처리장의 활성오니 (activated sludge)를 제공받아 사용하였다. 검토한 국내의 규격 중 본 연구에서 분석절차로 채택한 규격인 OECD 301 B에 근거한 생분해도 분석장치의 개략적인 표시는 Fig. 1과 같다. 암실조건에서 22~25°C의 온도로 조절이 되는 항온수조 내에 시험용기로 총 7세트를 설치하였다. 공기압축기 (air

compressor)를 통하여 공기를 공급하였는데 로타미터 (rotameter)로 공기 유속량을 시험용기내 배지 1 L 당 30~50 mL/min의 속도로 조절하였다. 10 N NaOH를 담은 CO₂ trap에서 유입 공기 중에 포함되는 이산화탄소를 포집한 후 수산화바륨용액 (0.0125 M Ba(OH)₂)을 이산화탄소의 포화된 상태를 표시하는 지시약으로 사용하였다. 발생한 이산화탄소를 포함하는 공기는 각 시험용기에 연결된 포집병에 포집하였다. 3개의 포집병에는 0.0125 M Ba(OH)₂를 각각 넣어서 직렬로 연결하였다. 시험용기를 자석교반기로 교반하면서 분석시료와 미생물 접종원을 넣고 28일 동안 생분해 시험을 수행하였다(8-11).

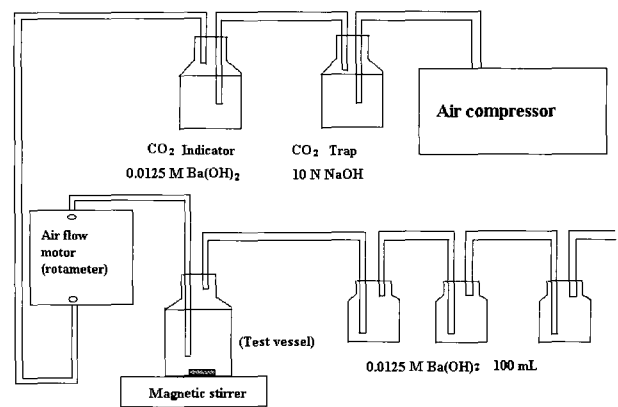


Figure 1. Schematic diagram of the equipment for aerobic and aquatic biodegradation test.

배지

생분해도 시험을 위한 최소배지 (mineral media)의 조성은 다음과 같다. (a) KH₂PO₄ 8.5 g/L, K₂HPO₄ 21.75 g/L, Na₂HPO₄·12H₂O 134.3 g/L, NH₄Cl 0.5 g/L, pH 7.4, (b) CaCl₂ 27.5 g/L, (c) MgSO₄ 22.5 g/L, (d) FeCl 0.25 g/L의 stock solution을 제조하여 (a)는 10 mL/L, (b), (c)와 (d)는 각각 1 mL/L씩 시험용기 (test vessel)에 넣고, 분석 시료를 유일 탄소원으로 하여 배양 실험을 하였다.

접종원

접종원은 가동 중인 폐수처리장으로부터 확보한 신선한 활성오니를 체 (2~3 mm)로 거른 다음 최소배지로 세척한 후 원심분리하였다. 부유물 (suspended solid)의 함량 분석 (12)을 위해 상등액을 버리고 침전물을 최소배지로 2~3회 세척한 다음 여과지 (Whatman GS-25)로 여과하였다. 여과된 슬러지를 건조오븐에서 105~110°C에서 2시간 건조시킨 후 부유물 농도가 30 mg/L 이하가 되도록 희석하였다(9). 희석액 1 mL를 취해서 증류수로 10배 희석하여 nutrient agar (NA) 배지 (beef extract 3 g/L, peptone 5 g/L, agar 20 g/L, pH 6.8)에서 24°C에서 3~5일간 배양한 후 콜로니수가 10⁷~10⁸ / L이 되도록 증류수로 희석하였다. 접종원을 어두운 장소에서 22~24°C에서 5~7일간 공기를 주입 (30~100 mL/min)하며 pre-conditioning하여 실험 조건에 적응시켰다. 적응시킨 접종물과 최소배지를 시험용기에 담아 24시간

동안 Fig. 1의 CO₂ trap을 거친 공기를 통과시켜 집종원에 남아 있는 잔존 이산화탄소를 방출시켰다.

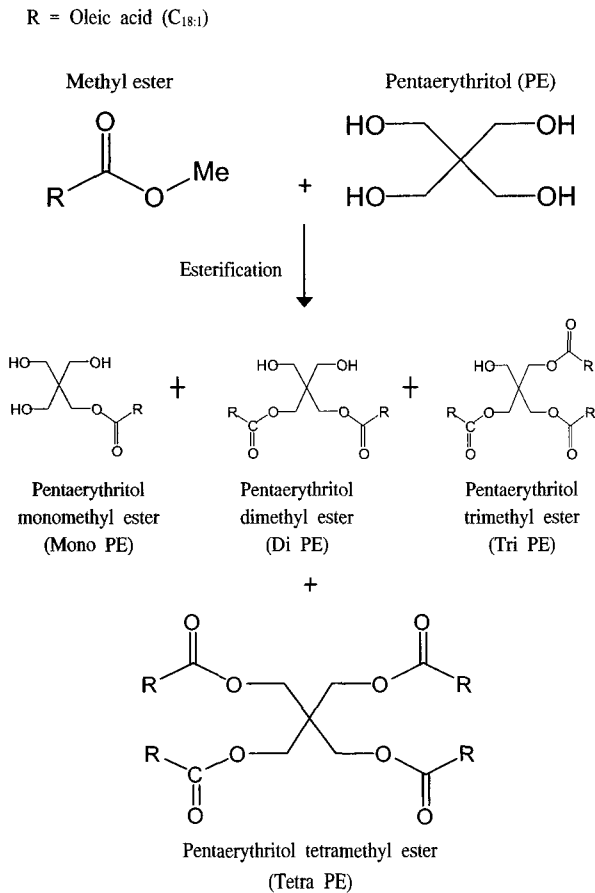


Figure 2. Manufacturing process for PE methyl ester lubricant oil bases.

분석시료 및 대조군

본 실험에서의 분석대상 물질인 윤활유베이스는 pentaerythritol (PE)과 메틸에스테르가 금속촉매 (NaOMe) 하에 150℃에서 oil bath에 장착된 압력반응기에서 제조하였다(Fig. 2). 메틸에스테르계 윤활유로서 PE I [85% Tetra PE (C₇₇H₁₄₀O₈), 8% Tri PE (C₅₉H₁₀₈O₇)와 7% methyl ester (C₁₉H₃₆O₂)의 혼합물], PE II [75% Tetra PE (C₇₇H₁₄₀O₈), 1% Tri PE (C₅₉H₁₀₈O₇)와 24% methyl ester (C₁₉H₃₆O₂)의 혼합물], PE III [96% Tetra PE (C₇₇H₁₄₀O₈)와 4% methyl ester (C₁₉H₃₆O₂)의 혼합물]과 바이오디젤 (BD, C₁₉H₃₆O₂)을 분석하였다. 비교 분석을 위해 석유디젤 petroleum diesel (PD, C₂₀H₄₂O₅)과 디젤유 윤활유 (lubricant oil for diesel engine, LOD)를 비교 분석하였다. 윤활유 분석 물질의 조성과 분자량을 기준으로 유기탄소 (organic carbon)농도를 계산하였다. 모든 분석 물질의 유기탄소 농도를 30 mg/L가 되도록 분석시료를 칭량하였다. 동일 분석시료를 2개의 시험용기에 각각 넣었다(Table 1). 생분해성이 높은 것으로 알려져 있는 물질을 이용하여 분석절차대조군 (procedure control)으로 사용하는 것이 일반적인데, 본 실험에서는 대조군으로서 aniline을 사용하였다. 독성대조군 (toxicity control)으로

서 분석 물질과 함께 aniline (38 mg/L, 유기탄소 기준으로 30 mg/L)을 넣고 시험하였다

Table 1. Vessels for biodegradability test

Vessel	Mineral medium	Test compound	Reference compound	Inoculum
Test compound 1,2	O	O		O
Blank (inoculum blank) 1,2	O			O
Procedure control	O		O	O
Toxicity (optional)	O	O	O	O
Abiotic control (optional)	O (Sterilised)	O		

이산화탄소 정량

공기압축기로부터 발생한 공기를 유입시켜 최소배지에 분석시료와 집종원을 넣고 28일간 배양하며 발생한 이산화탄소를 0.0125 M Ba(OH)₂이 100 mL씩 담겨진 직렬로 연결된 3개의 포집병에 포집하였다. 시험기간 중 일정시간 간격으로 배양기에서 가장 가까운 순서로 포집병을 제거한 후 포집병에 phenolphthalein (1%)을 2~3 방울 떨어뜨렸다. 적정에 소요되는 HCl (0.0558 M)의 부피로 흡수된 이산화탄소의 양을 정량하였다. 발생한 이산화탄소의 양은 이산화탄소와 반응하고 남은 수산화바륨 [식(1)~(2)]를 기지 농도의 HCl 용액으로 적정함으로써 식(3)~(6)의 계산 과정을 거쳐 계산된다.

$$\text{CO}_2 + \text{Ba(OH)}_2 \rightarrow \text{BaCO}_3 + \text{H}_2\text{O} \quad (1)$$

$$\text{Ba(OH)}_2 + 2\text{HCl} \rightarrow \text{BaCl}_2 + 2\text{H}_2\text{O} \quad (2)$$

$$\text{HCl consumed (mmol)} = 0.0558 \times V_{\text{HCl}} \quad (3)$$

여기서 V_{HCl} : 적정에 사용된 HCl 용액의 부피 (mL)

$$\text{Remaining Ba(OH)}_2 \text{ (mmol)} = 0.0558 \times V_{\text{HCl}}/2 \quad (4)$$

$$\text{Reacted Ba(OH)}_2 \text{ (mmol)} = 0.0125 \times 100 - 0.0558 \times V_{\text{HCl}}/2 \quad (5)$$

CO₂ production

$$\begin{aligned} \text{CO}_2 \text{ produced (mg)} &= \text{reacted Ba(OH)}_2 \text{ (mmol)} \times 44 \\ &= 1.1 \times (50 - V_{\text{HCl}}) \end{aligned} \quad (6)$$

생분해도 계산

분석시료로부터 발생할 수 있는 이론적인 총 이산화탄소의 양과 생분해도의 계산은 식 (7)과 같다.

$$\text{ThCO}_2 = \rho C \times V_L \times \frac{44}{12} \text{ (mg)} \quad (7)$$

여기서 ρC : 분석물질의 유기탄소 농도 (mg/L)
V_L : 시험용액의 부피 (L)

생분해도 계산은 다음 식 (8)과 같다.

$$D_m = \frac{\sum mTt - \sum mBt}{ThCO_2} \times 100 \quad (8)$$

여기서 D_m : 생분해도 (%)

$\sum mTt$: 일정 시간까지 용기에서
방출된 CO_2 의 평균량 (mg)

$\sum mBt$: Blank test에서 방출된 CO_2 의 평균량 (mg)

기타 분석

미생물의 생육을 측정하기 위해 각각의 시험 용기에서 반응액을 증류수로 일정량 취해 10배 희석한 용액 (10 μl)을 NA 배지에 도달하고 24°C에서 2~3일 배양한 후 콜로니 수를 측정하였다. 윤활유의 유기탄소는 total organic carbon (TOC) analyzer (Phenix 8000, Tekmar Dohrmann, USA)를 사용하였다. 시료를 10배 희석한 뒤 총 유기탄소량을 측정하였다.

결과 및 고찰

국내외 규격 검토

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. 유기탄소 변화를 고려하면 유기성 물질의 생분해는 다음과 같다. 유기물 분자, 산소와 미생물에 의해 이산화탄소와 바이오매스가 생성된다. 이러한 과정을 무기물화 (mineralization)라고 한다. 유기탄소가 산화되었다는 가장 직접적인 증거는 생분해 과정 중에 화학물질이 이산화탄소가 발생한다는 것이다. 이러한 원리가 이산화탄소 발생시험 (CO_2 evolution test)의 기초가 되고 있다(13,14).

본 연구에서는 바이오디젤 유래의 생분해성 윤활유의 생분해도를 측정하기 위해 혐기성 미생물에 의한 수용성 유기 화합물의 생분해성 측정법에 대한 국내외 규격을 검토하였다. 국내에 표준화되어 있는 생분해성 시험에 관한 규격으로 “생분해성 평가에 대한 유기화합물의 조제 및 지침” (KS M-9178)은 물에 잘 녹지 않는 유기 화합물을 조제하여 액상배지에서 생분해성을 시험하는 방법을 제시하고 있다(15). 또한 “혐기성 생분해 평가의 생화학적 산소요구량 분석” (KS M-9188)에서 최종 생분해성을 생화학적 산소요구량 분석에 의해 측정하는 방법이 규격화되어 있다(16). 또한 “혐기성 생분해에 대한 생물 기체량의 평가” (KS M-9192)에서 혐기성 미생물에 의해 유기 화합물의 생분해도를 평가 선별하는 규정이 규격화(17)되어 있는데, 이들 규격 중 본 실험과 관련된 규격으로 “액상 배지에서 유기 화합물의 혐기성 생분해 측정 방법” (KS M-9178)이 있다. 이 규격은 ISO 9439의 규격(10)을 인용하여 국내에서 규격화되었다. 국외 생분해성에 관한 규격으로 OECD 301B, ISO 9439와 ASTM D 5864의 규격이 있다(9-11). 이

규격들은 미생물이 생분해성 물질을 분해하는데 소요되는 이산화탄소의 양으로 생분해도를 결정한다. 이산화탄소의 발생시험은 다음과 같은 장점을 가지고 있다. 첫째, 불용성 물질을 취급할 수 있다. 둘째, 시험에 있어서 산소의 양이 제한인자가 되지 않는다. 셋째, 포집기를 자주 적정해 주기 때문에 28일 동안 생분해도를 측정할 수 있으며 이에 따라 주어진 기간 내에 생분해도 그래프를 작성할 수 있다(18). 국내외 규격간의 차이점으로는 테스트 물질과 분석절차 대조군에 대한 탄소농도의 규정이 다르다. OECD 301 B는 유기 탄소 농도가 30 mg/L 이하이며, ISO 9439, ASTM D 5864은 각각 10~40 mg/L와 10~20 mg/L의 농도를 규정하고 있다. 시험방법의 표준화를 위하여 국제적 노력이 지속적으로 수행되고 있으며 ISO, OECD, EPA와 ASTM 등의 표준화 관련 기구에 의해 표준화 방법 등이 설정되어 있다. 국외 규격 중에서 OECD는 화학물질에 대한 국제적 상호 인증의 시발점이라 할 수 있다. 우리나라를 비롯하여 대부분의 경제선진국들이 OECD 시험지침을 공인하고 있어 본 실험에서는 OECD 301B를 채택하여 실험하였다. 이 실험에서의 호기적인 상태에서 생분해성 테스트를 결정한 이유는 호기적 산화 반응과 비교하여 혐기성 분해는 흔히 분해가 불완전하게 일어나며 분해 속도도 느리기 때문이다(19).

CO_2 evolution test에서 어떤 물질이 28일만에 60% 이상의 생분해도를 갖을 경우 실제 환경 조건하에서 최종적으로 완벽한 생분해도가 된다고 가정한다. 이때 이 물질을 최종 생분해성 물질 (ultimately biodegradable substance)이라고 판정한다(20).

Table 2. Biodegradation test for lubricant oil and biodiesel oil

Test compound	Average molecular weight (Da)	Total organic carbon (mg/L)	ThCO ₂ (mg)	Solubility (mg/L)	Bio-degradation (%)
PE I	1,108	38.8	284.8	140	64.3
PE II	974	38.7	284.5	120	64.1
PE III	1,156	38.7	284.1	130	80.3
BD	296	39.0	285.8	110	83.5
PD	362	45.2	383.5	20	53.3
LODE	NA*	38.6	283.3	60	46.9

*NA : not available

생분해도 측정

OECD 301 B에 의하면 분석시료들의 용해도는 100 mg/L 이상이어야 한다. Table 2에서 보는 바와 같이 합성 윤활유 베이스와 바이오디젤의 용해도는 110~140 mg/L의 용해도를 보였으나 석유디젤과 디젤 엔진 윤활유는 각각 20 mg/L와 60 mg/L의 용해도를 보였다. 따라서 바이오디젤과 합성윤활 유베이스는 OECD 301 B 규격의 분석조건에 부합하였다. 석유디젤과 디젤유 윤활유의 용해도는 분석조건에 충족되지 않아 원칙적으로 분석대상이 아니었으나 비교 분석을 위하여 분석시료로 사용하였다. 윤활유 베이스와 동일한 윤활유 베이스에 첨가물이 추가된 윤활유 완제품 간의 생분해도의 차이는 윤활유 베이스의 종류와 함량에 따라 달라지는 생분해도의 차이에 비하여 작은 것

으로 알려져 있다. Eisentraeger 등(7)의 보고에 의하면 에스 테르계 윤활유의 생분해성은 주로 베이스 (base fluids)의 특성에 의존하고 윤활유 배합에 사용되는 첨가제 (additives)의 영향을 받지 않는 것으로 나타났다.

본 실험에 사용한 접종원의 생균수는 $10^7 \sim 10^8$ /L이 되도록 희석하였다. 화학물질의 생분해 속도와 범위는 접종물에 존재하는 특정한 분해 미생물의 숫자에 달려 있다. 접종물로 사용한 미생물종은 경쟁에 있어서 열등할 수도 있고 실제 자연상태에서 효소의 특이성 (specificity)을 나타내지 못할 우려가 있으며 생분해도 결과는 야외에서의 결과와 무관할 수가 있다(21). 유기물의 생분해 과정상의 경과는 다음과 같다(10). 초기 생분해도는 미생물 활동의 결과로, 무기화가 아닌 시험 화합물이 구조적 변화를 일으킬 때의 분해 수준이라 하며 이 시기를 준비기 (lag phase)라고 한다. 미생물이 유기물에서 적응하게 되면 급격하게 생분해를 일으키며 이를 생분해기 (degradation phase)라고 한다. 분석말기에서는 생분해가 일어나지 않는 상태 (maximum level of degradation), 즉 이산화탄소, 물, 무기염 및 새로운 미생물 세포 구성 물질이 생산되는 시기에 도달한다. 이 상태는 시험 화합물이 미생물에 의해 완전히 사용되었을 때의 분해 수준이라 말한다. 이 생분해 최고점을 지난 시기를 정체기 (plateau phase)라고 한다. 호기적 상태에서는 미생물이 생분해성 윤활유를 탄소원과 에너지원으로 이용하는데, 이때 배출되는 이산화탄소의 양으로 생분해도를 결정하게 된다. Scholz(20)는 phthalate monoester의 생분해성을 CO₂ evolution test에 의거하여 분석한 결과 90% 이상의 생분해도를 보였으며 분석한 시료 모두 readily biodegradable substance로 판정할 수 있었다.

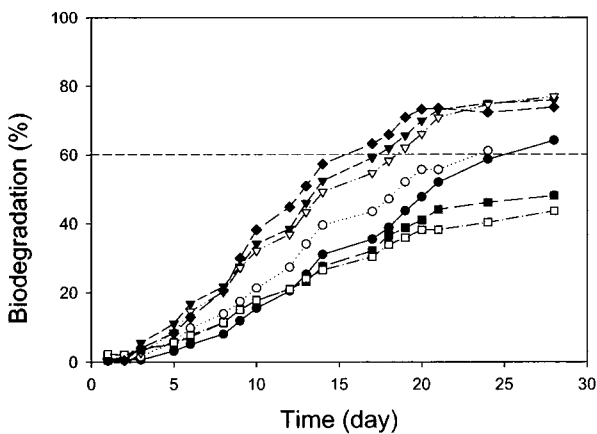


Figure 3. Time courses of biodegradation test for lubricant oil bases, biodiesel, petroleum diesel and LOD (●) PE I, (○) PE II, (▼) PE III, (▽) BD, (■) PD, (□) LOD, (◆) procedure control).

분석시료에 대한 시간에 따른 생분해도의 경과는 Fig. 3과 같다. 모든 시험분석에서 aniline을 사용한 분석절차대조군은 분석 초기부터 가장 높은 생분해도를 보였다(Fig 3). 독성대조군은 분석 대상 시료와 분석절차대조군보다 생분해도 값이 낮았는데(데이터 제시 생략), 이는 aniline이 생분해가 용이한 물질이라는 점과 분석대상 시료인 에스 테

르 화합물이 독성을 갖아 나타나는 결과로 해석된다. 28일 경과 후 바이오디젤 유래 윤활유 베이스들의 생분해도는 61.1%~80.3%의 값을 나타내었다(Table 2). 따라서 28일 동안의 60% 이상의 생분해도를 나타내므로 분석대상인 윤활유 베이스들은 생분해성을 지닌 물질로 추정되었다. 테스트한 시료들 중 바이오디젤은 가장 높은 생분해도 83.5%를 보였다. 반면에 LOD는 가장 낮은 생분해도 (46.9%)를 나타냈다. 생분해도와 미생물 생육과의 상관관계를 검토하고자 28일간 시험 용기에서의 미생물 생육을 측정하였다 (Fig. 4). 독성대조군이 낮은 생분해도를 보인 것은 독성대조군의 경우 미생물 증식이 현저히 저해되었기 때문으로 판단되며 미생물의 생육은 blank test와 비슷한 수준으로 나타났다.

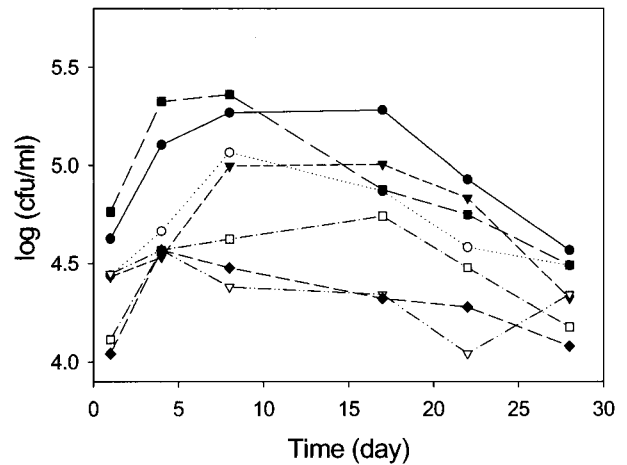


Figure 4. Colony forming unit (CFU) of test media during the biodegradability test (●) BD, (○) PD, (▼) LOD, (▽) blank, (■) procedure control, (◆) toxicity control for petroleum diesel, (□) toxicity control for biodiesel).

Fig. 4에서 보는 바와 같이 aniline을 분석시료로 한 분석절차대조군이 생분해 초기에 가장 높은 미생물 증식을 보였으며 바이오디젤, 디젤유 윤활유, 석유디젤 독성대조군, blank test 순으로 미생물의 생육이 왕성하였으며 분석시료에 따른 미생물의 생육정도는 시료별 생분해도의 차이와 연관되어 있음을 알 수 있었다. 이상으로 바이오디젤이 석유디젤보다 생분해도가 높으며 바이오디젤 유래의 윤활유 베이스들 (PE I, PE II와 PE III)도 또한 생분해도가 높음을 확인할 수 있었다(Table 2).

테스트의 타당성 (test validation)

이상의 생분해성 시험결과를 실제적인 분석치로 활용하고자 할 때는 시험분석법이 적절한 타당성을 갖고 시험되었는지 확인하는 절차가 필요하다. 이러한 타당성 조사의 방법은 OECD 301 B에 의하면 다음과 같다. 첫째, 분석시료가 담겨진 두 시험용기로부터 계산된 생분해도 데이터 간의 상대 오차가 20%를 넘지 않아야 한다. 둘째, 분석절차대조군은 14일에 60%의 분해도를 나타내야 한다. 셋째, 독성대조군에서 분해율이 14일에 25% 이상이어야 한다. 독성 화합물의 시험농도는 존재하는 미생물을 억제할 수

있는 농도 이하로 되어야 한다(21). 그러나 이 경우에도 부유물 농도는 30 mg/L를 넘지 않아야 한다. Table 3에서 보는 바와 같이 시료들을 동일한 조성과 농도로 준비하여 두 개의 시험용기에서 동시에 분석하였을 때 시험 용기 간의 최종 생분해도의 상대오차는 7.8~16%이었고, 14일째 분석절차대조군의 생분해도는 60.7~ 71.4%이었다. 독성대조군은 생분해가 용이한 aniline과 분석 물질을 함께 넣어 줌으로써 aniline의 생분해에 대한 분석물질의 독성을 테스트하는 과정이다. PE I, PE II, PE III와 BD의 분석에 있어서 독성대조군의 분해율은 각각 40.4%, 41.2%, 36.7%와 36.3%이었으며, 이 또한 셋째 조건을 만족시키는 결과이었다. 이상으로 PE계 윤활유 베이스의 생분해성 테스트에서 분석절차상의 오류가 없었음을 확인하였다. 그러나 석유디젤에서 독성대조군의 분해율은 23.3%로서 석유디젤은 용해도 기준 (100 mg/L)을 만족시키지 못할 뿐만 아니라 OECD 301 B에 제시되어 있는 셋째 validation 기준을 만족시키지 못하였다.

Table 3. Validation criteria and validation result

Validation criteria	PE I	PE II	PE III	BD	PD	LODE
Relative error (%) < 20 %	7.8	8.7	10.2	16	14.9	NA*
Biodegradability of procedure control at 14 day > 60%	70.7	71.4	61.9	60.7	62.6	62.6
Biodegradability of toxicity control at 14 day > 25%	40.4	41.2	36.7	36.3	23.3	NA*

* NA : not available

요 약

생산된 바이오디젤 (지방산 메틸에스테르)을 기반으로 한 여러가지 합성윤활유 베이스를 분석대상으로 하여 생분해도를 분석평가하였다. 또한 기존 석유디젤과 바이오디젤의 생분해성을 함께 비교 검토하였다. 호기적인 조건하에 생분해성 윤활유의 수상에서는 생분해성을 이산화탄소 발생량을 기준으로 생분해성을 조사하는 OECD 301 B에 근거하여 윤활유를 분석한 결과 펜타에리스리톨계 윤활유 베이스들의 28일째의 최종 생분해도는 61.1~80.3%로서 모두 생분해도가 있음을 알 수 있었으며, 바이오디젤은 생분해도가 가장 높았다 (83.5%). 분석의 상대오차, 독성대조군, 분석절차대조군과 관련된 규정에 의해 석유디젤을 제외하고 모두 타당한 절차에 의해 분석되었음을 입증할 수 있었다.

감 사

본 연구는 산업자원부 청정생산기술사업의 연구지원 (과제번호: 10006873, 2002~2003년도)에 의하여 수행된 연구 결과이며, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Park, K., H. Jung, and H. J. Chae (2004), Microbiological stability test of biodiesel, *Kor. J. Acad. Ind. Soc.* (in press).
2. NREL (1998), Life cycle inventory of biodiesel and petroleum diesel for use in an urban bus, NREL/SR-580-24089, National Renewable Energy Laboratory.
3. Kim, I. B., M. C. Lee, I. S. Seo, and P. K. Shin (1995), The effects of properties on the biodegradation of biodegradable polymers, *Polymer* **19**, 727-733.
4. Kim, Y. H., H. K. Chung, E. K. Kim, and T. I. Yoon (1993), Studies on the biodegradation test method of surfactant, *Kor. J. Biotechnol.* **8**, 364-369.
5. Kang, Y. K., C. H. Park, and S. S. In (2002), Biodegradabilities of cellulose fibers, *Kor. J. Fiber Soc.* **39**, 274-281.
6. Kim, Y. S., H. J. Joo, and B. H. Cha (2003), Development of preparation technology for biodegradable rust preventive and research for biodegradable analysis, *Kor. J. Soc. Environ. Admin.* **9**, 277-284.
7. Eisentraeger, A., M. Schmidt, H. Murrenhoff, W. Dott, and S. Hahn (2002), Biodegradability testing of synthetic ester lubricants - effects of additives and usage, *Chemosphere* **48**, 89-96.
8. Seo, I. S., M. C. Lee, B. H. Kim, and P. K. Shin (1994), Characteristics of municipal sewage sludge affecting the biodegradation of a plastic material under aerobic condition, *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **22**, 436-442.
9. OECD (1993), OECD 301: Guidelines for the testing of chemicals: 301 B CO₂ evolution test, Organisation for Economic Cooperation and Development.
10. ISO (1990), ISO 9439: Water quality-evaluation of ultimate aerobic biodegradability of organic compounds aqueous medium-carbon dioxide evolution test, International Organization for Standardization (ISO).
11. ASTM (1995), ASTM D 5864: Test method for determining the aerobic aquatic biodegradation of lubricants or their components, American Society for Testing and Materials (ASTM).
12. ISO (1990), ISO 11923: Water quality - determination of suspended solids by filtration through glass-fibre filters, International Organization for Standardization (ISO).
13. Sturm, R. (1973), Biodegradability of nonionic surfactants: screening for predicting rate and ultimate biodegradation, *JAOCs* **50**, 159-167.
14. Ryu, K. E. and Y. B. Kim (1998), Biodegradation of polymers, *Polymer Sci. Technol.* **9**, 464-472.
15. KS (1998), KS M 9178: Water quality-evaluation of the aerobic biodegradability of organic compounds in an aqueous medium - static test (zahn - wellens method), Korean Agency for Technology and Standards.
16. KS (1998), KS M 9188: Water quality - evaluation in an aqueous medium of the "ultimate" aerobic biodegradability of organic compounds - method by analysis of biochemical oxygen demand (closed bottle test), Korean Agency for Technology and Standards.
17. KS (1998), KS M 9192 : Water quality - evaluation of the "ultimate" anaerobic biodegradability of organic compounds in digested sludge - method by measurement of the biogas production, Korean Agency for Technology and Standards.
18. Larson, R. J. (1979), Estimation of the biodegradation potential of xenobiotic organic chemical, *Appl. Environ. Microbiol.* **38**, 1153-1161.
19. Van Leeuwen, C. J. and J. L. M. Hermens (2001), Risk assessment of chemical: an introduction, pp128-132, DongHwa Technology, Seoul.
20. Scholz, N. (2003), Ecotoxicity and biodegradation of phthalate monoesters, *Chemosphere* **53**, 921-926.
21. Nam, K., E., H. De Henau, and J. C. Chung (1994), Characteristics of some biodegradation tests, *J. Korea Organic Waste Recycling Soc.* **2**, 129-160.