

수용성 금속가공유 폐액의 생물학적 처리

차미선 · 한창민 · 박근태 · 조순자 · 손흥주¹ · 이상준*

*부산대학교 미생물학과

¹밀양대학교 생물공학과

Biological Treatment on Wastewater of Soluble Metal Working Fluids

Mi-Sun Cha, Chang-Min Han, Geun-Tae Park, Sun-Ja Cho,
Hong-Joo Son¹ and Sang-Joon Lee*

*Department of Microbiology, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

¹Department of Biotechnology, Miryang National University, Miryang 627-702, Korea

Abstract

The present investigation was conducted to determine the chemical oxygen demand (COD) removal efficiency by *Pseudomonas aeruginosa* EMS1. The COD removal efficiency in the medium containing 1% metal working fluid (MWF) was 12% after cultivation of 4 days. The composition of optimum medium for the COD removal efficiency of 1% MWF by *P. aeruginosa* EMS1 were NH_4Cl 0.3%, K_2HPO_4 0.05%, KH_2PO_4 0.04%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.03%, and $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.04% at initial pH 7.0 and 30°C. Under this condition, the highest the COD removal efficiency was observed after 4 days.

Key words – metal working fluid, COD, biodegradation, *Pseudomonas aeruginosa*

서 론

기계공업의 발달을 위해서는 정밀금속가공 기술의 발달이 필수적이다. 이와 같은 정밀금속가공에 있어 절대적으로 필요한 것이 절삭유(metal working fluid; MWF)인데, 절삭유는 1900년대 초부터 이미 금속가공장비의 수명을 연장하기 위해서 사용되어 왔다[1,2,4,6,12]. 현재, 금속가공의 특성에 따라 많은 종류의 절삭유들이 제조되고 있고, 절삭

유 효율 향상을 위하여 각종 첨가제가 사용되고 있다. 절삭유는 원유(crude oil)를 정제한 기유(base oil)에다 공정특성에 맞는 첨가제를 혼합함에 따라 비수용성 절삭유(straight or insoluble oil), 수용성 절삭유(water-soluble oil), 합성 절삭유(synthetic oil) 및 준합성 절삭유(semi-synthetic oil)로 구분한다[5].

최근, 환경적 측면에서 비수용성 절삭유의 작업중과 작업후에 발생하는 오일 미스트로 인한 유독성 문제가 제기됨에 따라 수용성 절삭유의 사용이 점차 증가하고 있는 실정인데, 이에 따라 국내 절삭유 소비량의 60%를 수용성 절삭유가 차지하고 있다.

*To whom all correspondence should be addressed

Tel : +82-51-510-2268, Fax : 051-514-1778

E-mail : sangjoon@pusan.ac.kr

수용성 절삭유로 대표적인 것이 에멀전형 절삭유(emulsifiable oil)이다. 이들의 정확한 화학성분은 각 제조사에 따라 다르며, 모두 기밀로 유지하고 있다. 그러나 일반적으로 대부분의 절삭유는 50~80% 정도의 미네랄 오일과 함께 기계의 수명 연장과 생산성 향상을 위하여 20 여종 이상의 각종 첨가제(glycols, amines, amides, esters, fatty acids 등)가 함유되어 있는 복합 유기물 용액이다[9].

오일 함유 폐수로는 선박 충돌이나 침몰, 유류 저장시설의 부식으로 인한 유류의 누출과 더불어 산업체에서 사용하는 절삭유 폐액, 자동차의 폐엔진 오일 등을 대표적으로 들 수 있다. 이중 산업폐기물중의 하나인 절삭유 폐기물의 발생량은 기계, 철강, 자동차 등 금속산업의 발달에 따라 매년 약 13.8%씩 증가하고 있는데, 1995년 현재 폐절삭유의 발생량은 연간 140만 톤을 상회하는 것으로 알려져 있다[7]. 폐절삭유는 COD_{cr}가 약 3,000~100,000 ppm 정도인 난분해성 폐수로서, 재사용이 어렵다. 이러한 오일을 함유한 폐액을 적당한 처리없이 자연계에 방류할 경우, 폐유의 산화에 따른 유기산의 형성으로 토양의 황폐화, 지하수의 오염 등을 비롯한 각종 환경오염 문제를 일으킬 수 있다[11].

폐절삭유를 처리하는 기존의 방법으로는 활성탄을 이용하여 흡착한 후, 매립하거나 evaporation, 역삼투압 및 UV/TiO₂ 등의 방법을 이용하여 제거하는 물리화학적 처리가 있으나 생물학적 처리에 비하여 과도한 에너지 사용 및 복잡한 처리공정으로 인한 처리비용의 상승 및 잔유 폐기물로 인한 2차 오염이 유발되는 등의 문제점을 가지고 있다[8].

본 연구는 아직까지 폐절삭유의 생물학적 분해에 관련된 연구가 거의 없다는 배경 하에 시도되었으며, 폐절삭유의 처리를 위하여 많은 비용이 소요되고 있는 현재의 물리화학적 처리에 대한 제반 문제점을 개선하기 위하여 물리화학적 처리 시스템의 후속 공정으로 적절한 생물학적 처리 시스템을 개발하여 비용 절감의 경제적 효과와 폐절삭유 내의 복합 화합물의 제거 효율 향상을 최종 목적으로 한다. 따라서, 먼저 국내 소비량이 가장 많은 수용성 절삭유를 대상 절삭유로 선정하고, 이에 대한 분해능이 있는 것으로 확인된 *Pseudomonas aeruginosa* EMS1의 기초적인 생리적 특성을 조사·검토함으로써 절삭유내의 COD 유발물질을 제거하기 위한 최적조건 등의 기초지식을 확립하였다.

재료 및 방법

사용균주

하수처리장의 활성슬러지로부터 폐기질(폐식용유, 폐윤활유, 유청, 주정폐액)을 이용하여 생물계면활성제를 생산할 수 있는 미생물들을 분리하였으며, 분리군 중 유화활성이 가장 우수한 균주를 공시균주로 선정하고 이의 배양적, 형태학적, 생화학적 특성 및 16S rDNA sequence를 비교하여 분류 동정한 결과, *Pseudomonas aeruginosa*로 동정되었다. 따라서 본 실험에 사용된 균주를 *P. aeruginosa* EMS1으로 명명하고 실험에 사용하였다. 본 균주는 olive oil 등의 식이성 오일, Bunker 오일, crude oil 및 *n*-hexadecanes 등의 alkane 화합물을 이용하여 생육할 수 있었으며, 다양한 기질로부터 생물계면활성제를 생산할 수 있는 능력을 가지고 있었다[3].

배지

P. aeruginosa EMS1의 절삭유 분해능 확인을 위해 nutrient broth에 1% 절삭유를 첨가한 배지를 사용하였다. *P. aeruginosa* EMS1에 의한 절삭유 분해최적조건을 조사하기 위하여 사용된 기본 무기염배지의 조성은 NH₄NO₃ 0.2%, KH₂PO₄ 0.03%, K₂HPO₄ 0.03%, MgSO₄·7H₂O 0.02%, CaCl₂·2H₂O 0.025%(pH 7)이었으며, 실험에 따라 적당량의 절삭유를 첨가하였다. 사용 절삭유는 H사의 수용성 절삭유이었다. 수용성 절삭유 원액은 흑갈색을 띄고 있었으나, 원액을 1%의 농도로 증류수에 현탁했을 때, 맑은 우유빛을 띄었다.

절삭유 분해 최적조건 검토

절삭유 분해 최적조건을 검토하기 위하여 질소원, 인산염, 마그네슘, 칼슘 등의 배지성분 및 초기 pH, 배양온도, 통기량, 종균 접종량 등의 배양조건에 따른 실험을 실시하였다. 단, 배지성분 최적화 실험 중 절삭유 농도에 따른 COD 제거효과에 대한 실험을 제외하고는 1%의 절삭유를 첨가하여 실험하였으며, 배지 50 ml가 첨가된 300 ml 삼각플라스크에 전배양액을 접종한 후, 30℃, 200 rpm에서 4일 동안 회전진탕배양하였다. 상기에서 결정된 최적배지에서 COD 제거에 미치는 절삭유 농도의 영향을 알아보기 위해 1~5%의 절삭유를 첨가하여 균체 생육도와 COD 제거율

을 조사하였다.

분석방법

본 균주의 생육도는 생균수 측정법으로 조사하였다. 각 시료를 무균적으로 1 ml 채취하여 9 ml의 멸균 증류수에 1개의 petri dish에 15~300개의 colony를 얻을 수 있도록 시료를 희석한 다음, Nutrient agar plate에 접종하여 30℃에서 24h 배양한 후, 생성된 colony의 수를 측정하였다. 생균수는 CFU/ml로 표시하였다. 질삭유의 분해정도는 Standard methods¹³⁾에 준하여 COD 감소량을 이용하여 조사하였다. 이때, 세포 자체가 COD 유발물질이 되므로 배양액을 원심분리하여 균체를 제거한 후 COD를 측정하였다. 1% 질삭유가 함유된 기본배지의 COD는 약 2,800 ppm이었으며, 결과는 relative COD(%)로 나타내었다.

결과 및 고찰

P. aeruginosa EMS1의 질삭유 분해능 확인

본 균주에 의한 질삭유 분해능을 확인하기 위하여 질삭유 1%가 함유된 nutrient broth에 균주 1 백금이를 접종하여 30℃, 200 rpm에서 10일 동안 배양하면서 배양시간에 따라 육안으로 질삭유 분해유무를 확인하였다. 그 결과, 배양시간 경과에 따라 배지의 우유빛이 소실됨을 관찰할 수 있었다(Fig. 1). 이에 따라 본 균주가 질삭유 분해능이 있음

을 확인하였다.

본 실험에 사용된 질삭유는 수많은 유기물 및 무기물을 함유한 복합용액이었다. 따라서 먼저 질삭유속에 함유된 각종 성분을 이용한 *P. aeruginosa* EMS1의 생육 및 질삭유 분해 가능성을 검토하기 위하여 증류수에 질삭유를 1% 농도로 첨가하여 멸균한 후, 균주를 OD 1.0이 되게 접종하여 균체 생육도 및 COD 제거율을 조사하였다. 그 결과, 1% 질삭유 용액에서 본 균주의 생육도는 극히 미약하였으며, 약 12%의 COD 제거능을 가지고 있었다. 이것은 본 균주의 생육과 효율적인 COD 제거를 위하여 질삭유 속에 함유된 성분 외의 다른 일반적인 배지성분이 필요함을 시사한다. 따라서, 전술한 기본 무기염배지에 본 균주를 접종하여 균체 생육도 및 COD 제거율을 조사하였다. 그 결과, Table 1에서 보는 바와 같이 기본배지에서 균체 생육이 나타났으며, 배양 4일 후, 약 45%에 해당하는 COD 제거율을 나타내었다. 이후, 기본배지를 대상으로 COD 제거율 향상을 위한 각 배지성분 및 배양조건 최적화 실험을 실시하였다.

P. aeruginosa EMS1에 의한 질삭유 분해 최적 배지 조성

질삭유 분해 최적 질소원을 선정하기 위하여 탄소원으로 질삭유 1%가 첨가된 기본배지에 각종 유기 및 무기질소원을 각각 0.2%씩 첨가하여 균체 생육도 및 COD 제거율을 조사한 결과는 Table 2에서 보는 바와 같다. 질소원의 첨가는 질삭유 분해를 크게 증가시킴을 알 수 있었다. 대부분의 유기질소원에서 relative COD(%)가 높았다. 그러나, 무기질소원의 경우 NH₄Cl과 NH₄H₂PO₄에서 낮은 relative COD(%)를 보여 주었다. 그중 균체 생육도에 대한 COD 제거율이 높은 NH₄Cl을 최적 질소원으로 선정하였다. 질소원의 농도에 따른 영향을 알아보기 위하여 최적 질소원으로 선정된 NH₄Cl의 농도를 0.1~0.5%로 조절하여 균체 생

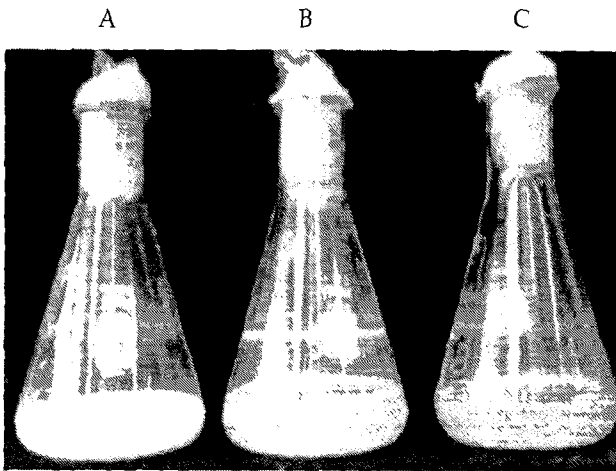


Fig. 1. Degradation of MWF by *P. aeruginosa* EMS1 in nutrient broth containing 1% MWF. (A: First day, B: second day, C: third day)

Table 1. COD removal of basal medium containing 1% MWF by *P. aeruginosa* EMS1

Culture time (days)	1	2	3	4	5	6
COD removal (%)	8	22	31	45	45	46

Table 2. Effect of nitrogen source on COD removal efficiency

Nitrogen source (0.2%)	Relative COD (%)	Growth (CFU/ml)
KNO ₃	60	34×10 ⁸
NaNO ₂	64	2×10 ⁸
NaNO ₃	53	40×10 ⁸
NH ₄ NO ₃	50	42×10 ⁸
NH ₄ Cl	41	50×10 ⁸
NH ₄ H ₂ PO ₄	44	43×10 ⁸
(NH ₄) ₂ SO ₄	50	40×10 ⁸
(NH ₄) ₂ HPO ₄	50	41×10 ⁸
Yeast extract	52	80×10 ⁸
Malt extract	62	36×10 ⁸
Beef extract	50	40×10 ⁸
Tryptone	48	50×10 ⁸
Polypeptone	47	75×10 ⁸
None	62	2×10 ⁸

육도 및 relative COD(%)를 조사한 결과 0.3%의 NH₄Cl이 첨가되었을 때 가장 낮은 relative COD(%)를 나타내었다.

절삭유 분해에 영향을 미치는 인산염의 영향을 알아보기 위하여 K₂HPO₄와 KH₂PO₄의 농도를 각각 달리하여 배양하면서 균체 생육도 및 COD 제거율을 조사하였다. K₂HPO₄의 농도는 0.05%일 때 가장 낮은 relative COD(%)를 보여주었으며, KH₂PO₄의 경우 0.04%의 농도일 때 가장 낮은 relative COD(%)를 보였다.

MgSO₄ · 7H₂O의 최적 농도를 알아보기 위하여 실시한 실험결과는 Fig. 2에 나타내었다. MgSO₄ · 7H₂O를 첨가하지 않았을 경우, relative COD(%)가 59%로 높은 결과를 보여주었지만 MgSO₄ · 7H₂O를 0.05% 첨가할 경우 23%의 낮은 relative COD(%)를 보여주었다. 이것은 마그네슘이 절삭유 분해를 향상에 필수적인 중요한 성분임을 시사한다. 최적농도는 0.05%로 결정하였다.

CaCl₂ · 2H₂O의 최적농도를 조사하기 위한 실험결과는 Fig. 3과 같다. MgSO₄ · 7H₂O와 마찬가지로 blank와 비교했을 때, CaCl₂ · 2H₂O를 첨가시 상당한 효과가 있음을 알 수 있었으며, 최적농도는 0.03%로 결정하였다.

기본 무기염 배지에 함유되어 있지 않았던 FeSO₄ · 7H₂O 및 NaCl의 첨가에 따른 COD 제거율을 알아보기 위하여 각 무기염을 농도별로 조정하여 배양하면서 각각의

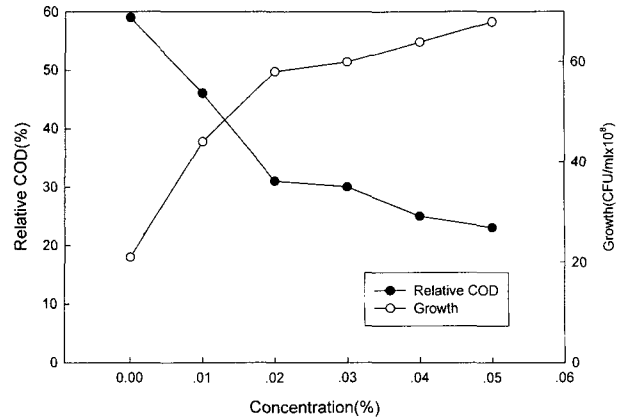


Fig. 2. Effect of MgSO₄ · 7H₂O concentration on COD removal efficiency.

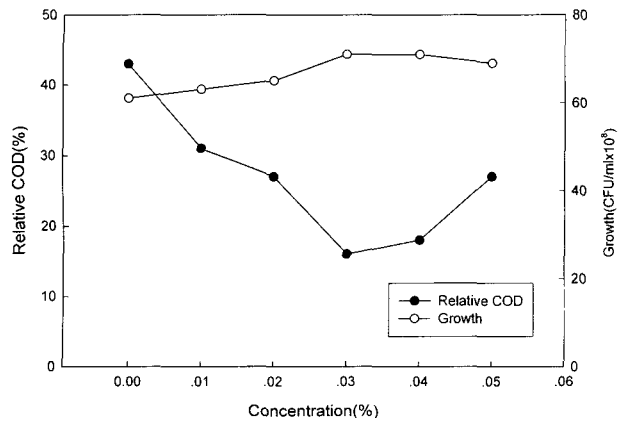


Fig. 3. Effect of CaCl₂ · 2H₂O concentration on COD removal efficiency.

균체 생육도 및 COD 제거율을 조사하였다. FeSO₄ · 7H₂O의 경우, blank와 비교했을 때 COD 제거에 뚜렷한 효과는 없었지만 0.04% 첨가 시 relative COD(%)가 13%이므로 약간의 COD 제거효과가 있는 것으로 사료된다. 그러나 NaCl의 경우, 첨가 시나 첨가하지 않았을 때 COD 제거에는 별다른 차이가 없었다.

P. aeruginosa EMS1에 의한 절삭유 분해 최적 배양 조건

상기에서 최적화된 배지를 이용하여 COD 제거에 미치는 배양온도에 대한 영향을 조사하였다. 즉, 배지의 배양온도를 20℃ ~ 35℃까지 각 단계별로 조정하여 배양하면서 균체 생육도 및 COD 제거율을 조사한 결과는 Fig. 4에서 보는 바와 같이 30℃일 때, relative COD(%)가 14%로 가장

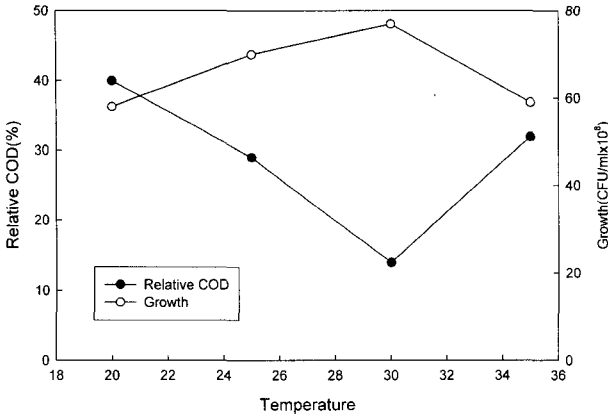


Fig. 4. Effect of culture temperature on COD removal efficiency.

낮았으며, 균체 생육도 또한 가장 높았으므로 30°C를 최적 온도로 결정하였다.

또한, COD 제거에 미치는 배지의 초기 pH에 대한 영향을 조사하기 위하여 배지의 초기 pH를 pH 4.0에서 pH 9.0까지 각 단계별로 조정하여 배양하면서 균체 생육도 및 COD 제거율을 조사한 결과, pH 7~8일 때, 낮은 relative COD(%)를 보였지만 균체 생육도가 다소 높은 pH 7을 최적 pH로 결정하였다(Fig. 5).

COD 제거에 미치는 통기량의 영향에 관한 결과는 Table 3에 나타내었다. 결과에서 보듯이 300 ml 삼각 플라스크내 배지량에 따라 결과가 다를 수 있었다. 즉, 배지량이 50~75 ml일 때 비슷한 결과를 보였으며, 이보다 배지량이 많거나 적을 경우 relative COD(%)가 높음을 알 수 있었다. 따라서 최적 배지량을 50 ml/300 ml-flask로 선정하였다.

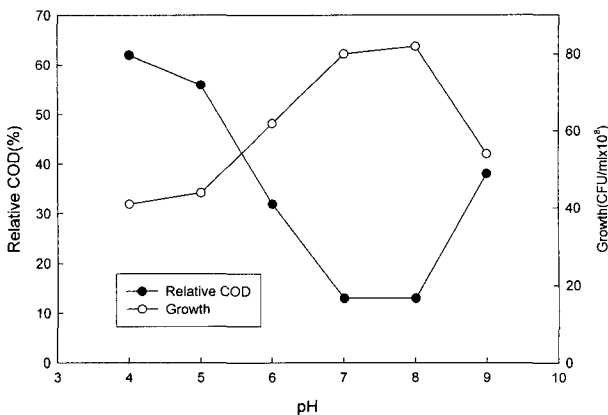


Fig. 5. Effect of initial pH on COD removal efficiency.

Table 3. The effect of aeration on COD removal efficiency

Medium volume (ml)	Relative COD (%)	Growth (CFU/ml)
25	30	74 × 10 ⁸
50	13	81 × 10 ⁸
75	14	79 × 10 ⁸
100	43	68 × 10 ⁸

*Medium volume(ml) in 300 ml shaking flask.

중균 접종량이 COD 제거율에 미치는 영향을 알아보기 위하여 전배양액을 1%, 3%, 5~9%(V/V)로 각각 조절하여 배양하면서 각각의 균체 생육도 및 COD 제거율을 조사한 결과, 중균 접종량이 5~9%일 때 거의 비슷한 결과를 보였지만 relative COD(%)와 균체 생육도에 의해 최적 접종량을 5%로 선정하였다.

최적조건에서의 COD 제거율과 균체생육도

상기 실험 결과에 의하여 *P. aeruginosa* EMS1에 의한 1% 절삭유의 COD 제거 최적조건은 0.3% NH₄NO₃, 0.05% K₂HPO₄, 0.04% KH₂PO₄, 0.05% MgSO₄ · 7H₂O, 0.03% CaCl · 2H₂O, 0.04% FeSO₄ · 7H₂O(pH 7, 30°C)이었다. 최적조건에서 본 균주의 생육도 및 COD 제거율을 경시적으로 조사하여 그 결과, 배양 96시간째부터 대수증식기에 들어갔으며 균체의 증식과 함께 배양액의 pH가 저하되었고 약 87%의 COD제거율을 보였다(Fig. 6).

절삭유 농도에 따른 COD 제거율

결정된 온도와 pH 조건으로 조절한 최적배지를 이용하

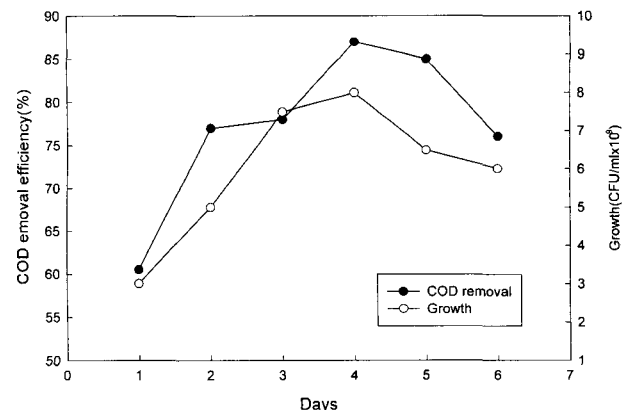


Fig. 6. Cell growth and COD removal efficiency by *P. aeruginosa* EMS1 under the optimal condition.

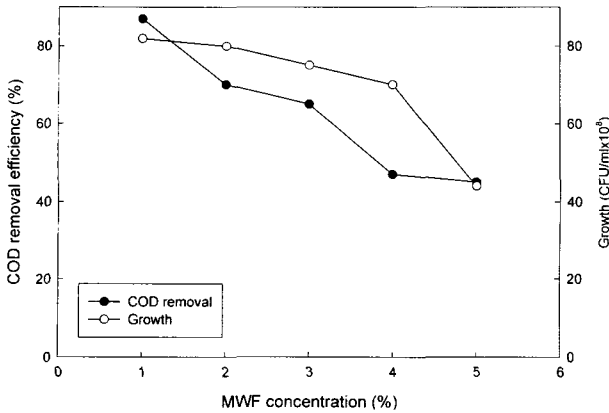


Fig. 7. Effect of MWF concentration on COD removal efficiency.

여 COD 제거에 미치는 절삭유 농도의 영향을 알아보기 위해 1~5%의 절삭유 농도 범위에서 4일간 배양한 후, 균체 생육도와 COD 제거율을 조사한 결과는 Fig. 7과 같이 절삭유 농도가 낮을수록 relative COD(%)가 낮았으며, 균체 생육도가 높음을 알 수 있었다.

요 약

P. aeruginosa EMS1에 의한 수용성 절삭유의 생물학적 처리를 위한 환경요인과 최적조건을 검토한 결과는 다음과 같다. 절삭유속에 함유된 각종 성분을 이용한 *P. aeruginosa* EMS1의 생육 및 절삭유 분해 가능성을 검토하기 위하여 증류수에 절삭유를 1% 농도로 첨가하여 멸균한 후, *P. aeruginosa* EMS1를 접종하여 균체 생육도 및 COD 제거율을 조사한 결과, 균주의 생육도는 극히 미약하고 약 12%의 COD 제거능을 가지고 있었다. 이것은 균주의 생육과 효율적인 COD 제거능을 위하여 절삭유 속에 함유된 성분 외의 다른 일반적인 배지성분이 필요함을 시사한다. *P. aeruginosa* EMS1에 의한 1% 수용성 절삭유의 COD 제거율과 균주 생육도 향상을 위한 최적 배지 조성은 0.3% NH_4NO_3 , 0.05% K_2HPO_4 , 0.04% KH_2PO_4 , 0.05% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.03% $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.04% $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 이었고, 최적배양 조건은 pH 7, 30°C, 50 ml/300 ml flask이었다, 이 조건에서 배양 4일 후, 87%의 COD가 제거되었다. 최적배지에서 COD 제거에 미치는 절삭유 농도의 영향을 조사한 결과, 절삭유 농도가 낮을수록 relative COD(%)가 낮았으며, 균체 생육도가 높음을 알 수 있었다.

따라서 본 연구의 결과를 바탕으로 하여 현재 폐절삭유의 처리를 위해 시행되고 있는 물리화학적 처리 시스템의 후속 공정으로 생물학적 처리시스템을 구축하고, 표준 균주로서 *P. aeruginosa* EMS1이 사용될 경우, 잔여 절삭유의 완전 분해가 가능할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2001년도 한국학술진흥재단의 지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다 (KRF-2001-002-D00225). 또한 이 논문은 2003년도 Brain Busan 21사업의 지원을 받아 수행되었으므로 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Bennett, E. O. 1972. The biology of metal-working fluids. *Lubricate Engineering* **28**, 237-249.
- Bennett, E. O. 1974. The deterioration of metal cutting fluids. *Progress in Industrial Microbiology* **13**, 121-149.
- Cha, M. S., M. J. Kim, K. M. Lee, H. J. Son, E. H. Park, and S. J. Lee. 2001. Production of biosurfactant by *Pseudomonas aeruginosa* EMS1 from soybean Oil and Whey. *Environmental sciences* **10**, 41-45.
- Chater, K. W. A. and J. L. Shennan. 1984. The philosophy and compatibility of biocide additions. p. 113-130. In K. W. A. Chater and E. C. Hill (ed.), *Monitoring and maintenance of aqueous metal-working fluids*, John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Cookson, J. O. 1977. An introduction to cutting fluids. *Tribology International* **10**, 5-7.
- Deepak, D., K. V. Anand and R. Bhargava. 1994. Biodegradation kinetics of metal cutting oil: evaluation of kinetic parameters. *The Chemical Engineering Journal and the biochemical engineering journal* **56**, B91-B96.
- Kim, J. S. and J. S. Kim. 1997. Oily wastewater treatment of the metalworking fluid. *Journal of Nakdong Environmental Research Institute* **2(1)**, 13-30.
- Kim, J. S. and J. S. Kim. 1998. Oily wastewater treatment of the metalworking fluid by use of ultrafiltration. *Journal of Korea Solid Wastes Engineering Society* **15**, 454-470.
- Lee, C. H. and S. H. Kim. 1998. Decomposition of the cutting oil using UV/TiO₂/H₂O₂ system. *Applied Chemistry* **2**, 21-213.

10. Lenore S. Cleserl, Arnold E. Greenberg and Andrew D. Eaton. 1998. Standard Methods for the examination of water and wastewater, 20th ed., APHA-AWWA-WPCP.
11. Paik, N. W., D. W. Kim, C. S. Yoon, S. W. Kim, S. B. Kim and K. S. Kim. 1998. Control and investigation for hazardous characteristics of metalworking fluids used in Korea. *Korean Society of occupational and Environmental Hygiene* **8(1)**, 67-75.
12. Rios, G., C. Pazos and J. Coca. 1998. Destabilization of cutting oil emulsion using inorganic salts as coagulants. *Colloida and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **138**, 383-389.

(Received August 7, 2003; Accepted November 21, 2003)