

미생물을 이용한 절삭유제의 부패성능 평가에 관한 연구

김영운[†] · 홍광민* · 정근우 · 박찬조

한국화학연구원 신화학연구단 유체화학연구센터
305-600 대전시 유성구 장동 100

*충북전산기계고등학교

361-823 충북 청주시 흥덕구 분평동 1257
(2006년 5월 29일 접수, 2006년 6월 28일 채택)

The Study on Decomposition of Metal-working Fluids Against Microbes

Young-Wun Kim[†], Kwang Min Hong*, Kunwo Chung and Chan-Jo Park

Surfactant & Lubricant Research Team, New Chemistry Division, Korea Research Institute of Chemical Technology,
100, Jang-dong, Yuseong-gu, Daejeon 305-600, Korea

*Chungbuk Mechatronics High School, 1257, Bun-pyeong-dong, Heungduk-gu, Cheongju, Chungbuk 361-823, Korea
(Received 29 May 2006; accepted 28 June 2006)

요 약

절삭유제의 미생물에 대한 부패능을 평가하기 위하여 미생물의 성장 유형을 조사하고 조절된 균을 절삭유제에 접종하여 부패능을 실험하였다. 미생물의 성장곡선 실험 결과, 균의 대수성장기는 균의 종류에 따라 다르게 나타났으며 *E. coli* 균의 대수 성장기는 배양 후 2시간, *K. pneumoniae* 균은 3시간, *P. aeruginosa* 균은 4시간, *P. oleovorans* 균은 3시간이었다. OD 값을 0.5로 조절한 접종액의 *E. coli* 균수는 $4.4 \sim 10.0 \times 10^5$ CFU/mL, *K. pneumoniae* 균수는 $1.8 \sim 9.5 \times 10^7$ CFU/mL이었다. 미생물의 부패에 대한 pH의 영향을 살펴본 결과, pH 6~8에서 부패가 왕성하게 진행되었고 pH가 4 이하, 10 이상에서는 균이 성장하지 못함을 알 수 있었다. pH를 중성으로 유지하고 내마모제의 구조에 따른 부패능을 실험한 결과, 에스테르형 내마모제가 에틸렌글리콜형 내마모제 보다 부패가 빠르게 진행되어 구조에 따라 부패능의 차이를 나타내었다.

Abstract – Growth curves of microbes were examined to evaluate decomposition of metal-working fluids and decomposition properties of metal-working fluids were experimented using controlled microbes such as *E. coli* and *K. pneumoniae*. According to the results of growth curve of microbes, the growth period depended on species of microbes, 2 h of *E. coli*, 3 h of *K. pneumoniae*, 4 h of *P. aeruginosa* and 3 h of *P. oleovorans* after incubation. The colony count of *E. coli* and *K. pneumoniae* controled to OD of 0.5 ranged from $4.4 \sim 10 \times 10^5$ CFU/mL and $1.8 \sim 9.5 \times 10^7$ CFU/mL, respectively. The decomposition of metal-working fluids was excellently progressed in the range of pH 6~8 than below pH 4 and above pH 10. In the case of controled fluids to pH 6~8, the decomposition of the fluid containing ester group was more accelerated than that of the fluid containing ethylene glycol.

Key words: Microbes, Metal-working Fluids, *E.coli*, *K. pneumoniae*, Colony

1. 서 론

여러 가지 금속재료의 불필요한 부분을 절삭이 요구되는 형상으로 가공하는 금속가공 분야에서, 가공능률이나 가공정밀도를 높이기 위하여 절삭유제라고 불리는 액상의 물질이 사용되고 있다. 절삭유제는 공업규격에 따라 비수용성과 수용성으로 구분되고, 현재 비수용성 절삭유제가 절삭성능과 부식방지성이 우수하여 주로 사용되고 있다. 그러나 최근에 비수용성 절삭유제에 대하여 가공작업과

정과 폐유처리과정에서 유독성과 환경공해상의 문제가 제기됨에 따라 각 나라마다 ‘환경마크’ 인증제도를 실시하여 환경친화적인 수용성 절삭유의 개발과 이들의 사용이 점차 증가하고 있다. 지금까지 개발된 수용성 절삭유제는 비수용성 절삭유제에 비교하여 절삭성능 저하, 거품 생성 및 미생물 증식에 의한 부패 문제 등이 제기되어 이들을 해결하려는 연구가 활발히 진행되고 있다. 지금까지 절삭성능을 향상시키기 위하여 수용성 내마모 첨가제를 합성하여 첨가제로 사용하려는 연구가 주류를 이루고 있다. 수용성 내마모제로 폴리알킬렌글리콜의 지방산 에스테르[1], 폴리알킬렌글리콜 에테르[2], 폴리알킬렌글리콜과 경계윤활향상제인 지방산의 혼합물[3]인 에

[†]To whom correspondence should be addressed.
E-mail: ywkim@pado.kRICT.re.kr

틸렌옥사이드와 프로필렌옥사이드의 에스테르[4], 이염기산의 모노 에스테르[5], 히드록시스테아린산의 에스테르[6] 등이 있고, 이들을 첨가한 절삭유제의 절삭성능에 관한 논문이 최근에 발표되고 있다. 그러나 수용성 절삭유제의 부패 정도를 평가할 수 있는 공인된 부패능 실험방법은 알려진 것이 없고 오일의 생분해도[7] 및 수용성 유제의 생분해도[8]를 평가하는 방법은 알려져 있다. 특히, 수용성 내마모제와 경계윤활특성을 향상시키기 위한 첨가제 등의 미생물에 의한 부패능에 관한 연구 논문은 거의 발표된 바 없다. 절삭유제의 부패액에서 출현하는 주요 미생물은 *Escherichia coli* (*E. coli*), *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*), *Paracolabactrum* sp (*P. sp.*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), *Pseudomonas oleovorans* (*P. oleovorans*), *Proteus vulgaris* 등의 호기성 균임이 밝혀져 있으며 [9] 본 연구에서는 위에서 언급한 여러 가지 호기성 균 중에서 *E. coli* 와 *K. pneumoniae* 균을 사용하여 폴리에틸렌글리콜(PEG), 지방산 에스테르 및 절삭유제(비교 대상으로 A사의 부패방지제가 처방되지 않은 제품)의 부패능을 시험하였다.

2. 실험

2-1. 실험재료

부패실험에 사용된 PEG600은 동양화학사의 시약급, P6A는 아디프산과 PEG600을 축합 반응하여 합성한 폴리에스테르[10], 절삭유제는 부패방지제를 처방하지 않은 A사의 제품을 사용하였다. 부패 평가 방법을 확립하기 위하여 부패실험에 사용하는 호기성 균은 다음과 같이 일정하게 조절하여 접종하였다[11].

- ① Nutrient broth 배지를 제조한 후 고압 증기 멸균(121 °C, 15 min)한다.
- ② 멸균된 배지에 미리 배양한 고체 평판 배양의 colony를 접종하여 37 °C에서 하루 동안 진탕 배양한다.
- ③ 600 nm의 파장에서 O.D(optical density)값이 0.19가 되도록 배양액 적당량을 취해 멸균된 새로운 배지에 접종한다.
- ④ 37 °C의 배양기에서 배양하면서 일정한 시간 간격으로 시료를 채취하여 O.D 값을 측정하고 그래프에 표시한다.
- ⑤ 위 실험결과로 작성된 미생물 성장곡선으로부터 각 균의 대수성장기에 해당하는 배양시간을 확인한다.
- ⑥ ①~⑤의 과정을 통해 대수성장기의 균을 배양한다.
- ⑦ 배양액을 원심분리(2,000 rpm, 10 min)한 후 생성된 pellet을 O.D 값이 0.5가 되도록 완충용액(sodium phosphate)으로 용해한다.
- ⑧ O.D 값이 조절된 균액을 시험 유제에 접종한 후 시간에 따른 균수를 평판 배양법에 의해 측정하고 이것으로 각 시료의 미생물에 대한 부패도를 평가한다.

2-2. 미생물 성장곡선

일반적으로 미생물의 성장기는 유도기, 대수기, 정지기, 사멸기 등의 4단계로 구분되는데 각 단계마다 균의 특성이 다르므로 같은 상태의 균을 선택하기 위하여 미생물의 성장곡선 실험을 행하였다. 미생물의 성장속도를 살펴보기 위하여 *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *P. oleovorans* 균주를 영양배지에서 배양하여 colony 상태로 냉장보관 하였다가 멸균되어 있는 broth에 접종하여 37 °C에서 24시간 동안 배양한 후(overnight culture), 새로운 broth에 일정농도(600 nm에서 Optical Density ≈ 0.19)를 접종하여 배양하면서 배양시간별로 분광기를 이용하여 OD 값을 측정하고 배양시간에 따

른 OD 값의 상관관계 그래프를 그렸다. 그래프를 통하여 대수성장기의 균을 부패실험에 사용하였다.

2-3. 균주조절 및 부패도 시험

대수성장기까지 배양한 균을 2차 배양(subculture)을 행한 후, broth를 원심분리기(2,000 rpm, 10 min)로 분리하여 분리된 pellet을 sodium phosphate 완충용액(10 mM)으로 용해시켜 반복하여 원심 분리하고 완충용액으로 OD 값을 일정하게 조절하였다(약 0.5). 조절된 액을 10 n(n=0~10) 배율로 희석하여 petri dish에 도말하여 37 °C에서 48 시간 동안 배양기에서 배양하여 생긴 colony를 count 하여 접종액의 균수를 조절한 다음대상유제(PEG 600, PEG-ester, A사 절삭유제)에 접종하여 부패시간에 따른 colony의 수로 유제의 부패 정도를 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3-1. 미생물 성장곡선

E. coli 및 *K. pneumoniae* 균을 사용하여 2-1항에서 서술한 ①~④의 실험과정을 통하여 배양시간에 따른 OD 값을 측정한 결과 다음 Fig. 1과 같았다. Fig. 1에서와 같이 배양 시간에 따른 *E. coli* 균의 OD 값은 완만하게 증가하여 배양 4시간 이후에 0.6으로 거의 일정하게 유지되었고, *K. pneumoniae* 균의 OD 값은 배양 5시간까지 거의 선형적으로 증가하였고 *E. coli* 균에 비해 2.5배의 OD 값을 나타내었다. 배양 5시간 이후부터는 OD 값이 일정하게 유지되어 감소 성장기로 진입함을 알 수 있었다. 이와 같은 결과로부터 *K. pneumoniae*가 *E. coli*보다 성장속도가 빠르고 대수성장기도 길게 나타남을 알 수 있었다. 또한, 균의 종류에 따라 최대 대수성장기(max ΔOD)가 다르게 관찰되었다. 최대 대수성장시간대를 찾기 위하여 Fig. 1에서 시간에 따른 균의 성장폭의 차이를 나타내는 ΔOD 값을 구하여 보면, *E. coli*의 경우는 배양 후 2시간대, *K. pneumoniae*의 경우는 3시간대로 나타났다. 따라서 접종액의 균수 조절실험에서 overnight culture 후 subculture 시간을 *E. coli*는 배양 후 2시간

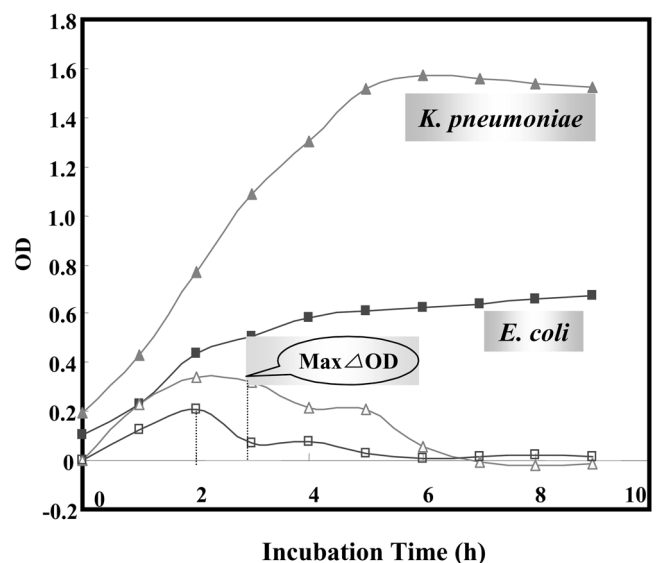


Fig. 1. Growth curve graphs of *E. coli* and *K. pneumoniae* in the flask using basal medium (Incubation temperature: 37 °C).

의 균을, *K. pneumoniae*는 3시간으로 하여 가장 활동적인 상태의 균을 원심 분리하여 얻은 후 본 실험에 접종액으로 사용하였다. Subculture는 overnight culture에 비하여 매우 중요하다. 왜냐하면, overnight culture는 일정하게 colony를 취하지 않아도 24시간 동안 충분히 배양하면 broth의 균들은 증식과 사멸을 반복하므로 더 자라지 않고 일정수준에 머물러있는 반면에 subculture는 정확한 OD 값과 최대 대수 성장기를 맞추지 않으면 균의 양과 상태가 달라지므로 결과 값에 많은 오차를 유발하기 때문이다.

Fig. 2와 3에 OD 값에 따른 *E. coli*와 *P. aeruginosa*의 성장곡선을 나타내었다. *E. coli*의 경우, subculture시 초기 접종한 균의 OD 값(0.091 vs 0.194)에 따라 대수성장기의 차이는 크지 않아 $\max \Delta OD$ 값은 약 1시간의 차이를 나타내었다. 한편, Fig. 3의 *P. aeruginosa* 균의 성장곡선은 subculture시 초기 접종한 균의 OD 값(0.025 vs

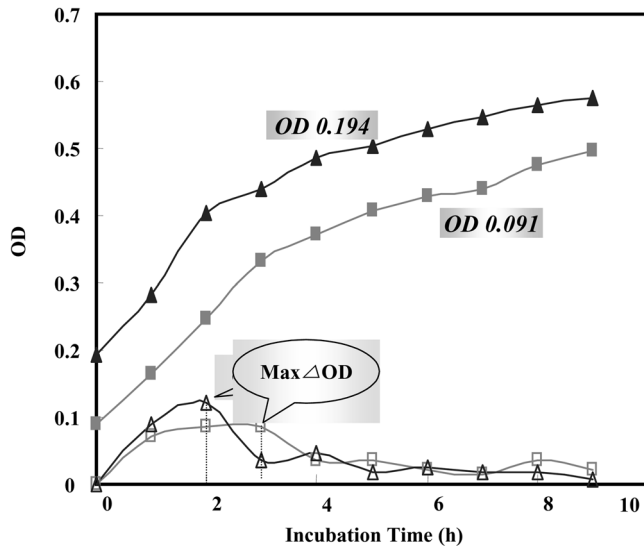


Fig. 2. Growth curve graphs of *E. coli* (Incubation temperature: 37 °C).

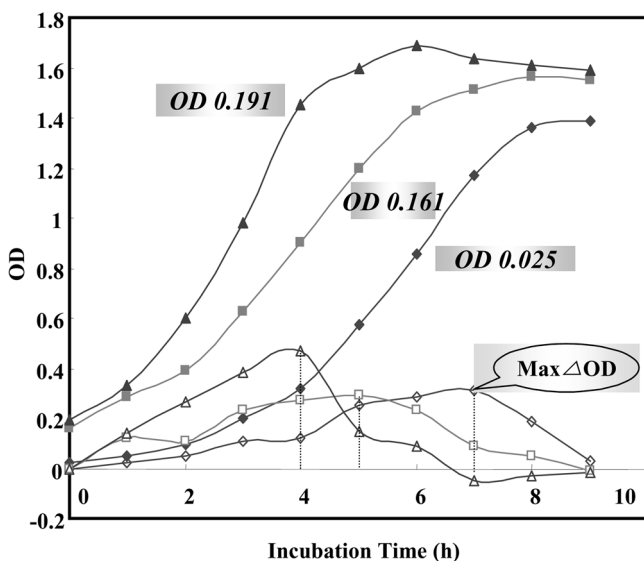


Fig. 3. Growth curve graphs of *P. aeruginosa* (Incubation temperature: 37 °C).

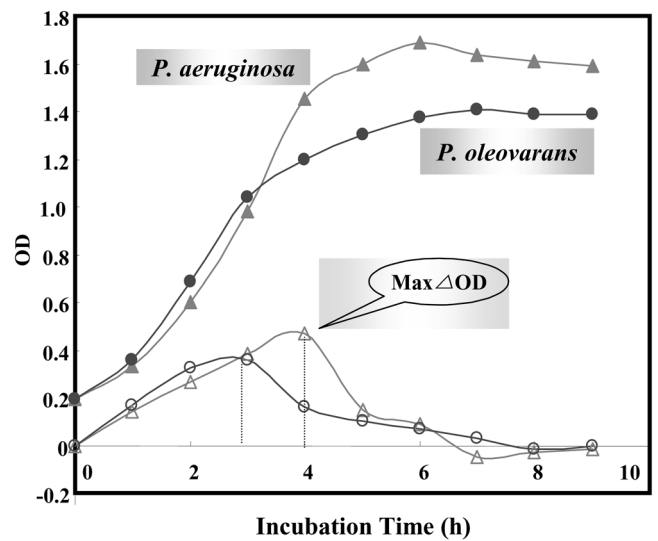


Fig. 4. Growth curve of *P. aeruginosa* and *P. oleovorans* in the flask using basal medium (Incubation temperature: 37 °C).

0.161 vs 0.191)의 차이에 따라 성장패턴이 크게 달라져서 OD 값이 클수록 미생물 성장속도와 대수성장기가 빨라짐을 알 수 있었으며 $\max \Delta OD$ 값은 배양 후 7시간, 5시간, 4시간대에 나타났다. 즉, 초기 배양 균수가 많아 OD 값이 크면 대수 성장기에 세포분열로 인하여 균수가 배가적으로 증가하고 OD 값도 균수에 정비례하여 높아진다. Fig. 4에서 보는 바와 같이, *P. oleovorans*의 성장곡선은 *P. aeruginosa*의 패턴과 비슷하였으나 대수성장기와 감소 성장기가 빨라짐을 알 수 있었다. 즉, 미생물 군종에 따라 각기 다른 성장 곡선 특성을 나타냄을 알 수 있었다.

3-2. 접종액의 균주 조절 실험(inoculum control test) 및 부패평가 실험 결과

*E. coli*와 *K. pneumoniae*의 균을 사용하여 대수성장기까지 배양한 후 균수를 조절한 결과 Fig. 5와 같았다. Fig. 5에서 보는 바와

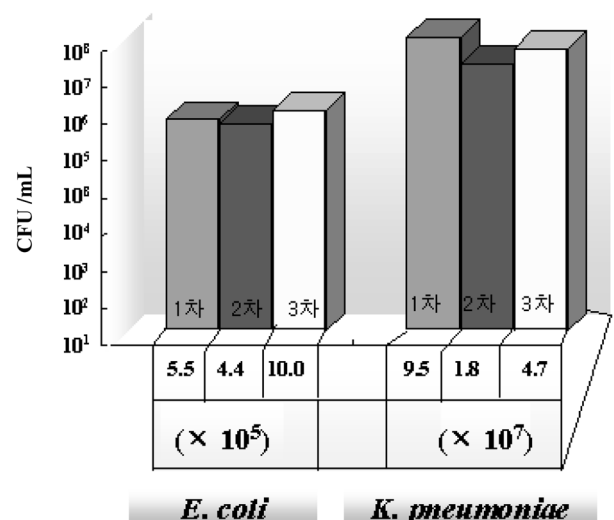


Fig. 5. Colony count control of *E. coli* and *K. pneumoniae* (Incubation temperature: 37 °C).

같이 *E. coli* 균은 $4.4 \sim 10.0 \times 10^5$ CFU/mL의 범위를 나타내었으며 *K. pneumoniae* 균은 $1.8 \sim 9.5 \times 10^7$ CFU/mL이었다. *K. pneumoniae* 균이 *E. coli*에 비해 102배 많음을 알 수 있었고 이 결과는 미생물 성장곡선 실험에서 OD 값의 차이와 같은 현상으로 해석할 수 있었다. 또한, *E. coli*와 *K. pneumoniae* 균의 접종액의 OD 값은 약 0.5로 같지만 균수는 현저한 차이를 보이고 있으며 균종에 따라 흡광 정도가 다를 수 있었다.

이상의 결과로부터 CFU가 조절되어 그 균수를 알고 있는 접종액(*E. coli*와 *K. pneumoniae*)을 실험 대상유제인 PEG 600 50 wt% 수용액(이하 P6라 약함, pH 7.2), PEG-Ester 50 wt% 수용액(이하 P6A라 약함, 본 연구실에서 합성한 PEG 600과 아디프산을 반응하여 합성, pH 3.3) 및 A사의 절삭유제(부패방지제를 처방하지 않음, pH 9.9)에 접종하여 부패능 실험을 행하였다. 각 유제의 pH를 조절하지 않고 *E. coli* 균에 의한 부패능 실험결과, Fig. 6에서와 같이 유

제의 pH가 3.3인 P6A와 pH가 9.9인 A사의 유제에서는 균이 적응하지 못하여 부패가 일어나지 않음을 알 수 있었다. pH가 중성인 P6 유제는 부패시간이 경과하여도 균수는 거의 일정하게 유지되는데 이는 P6 유제가 *E. coli* 균의 발육을 억제하지 않고 오히려 영양의 공급원으로 작용하고 있다고 보이며 시간이 경과할수록 부패가 일어나리라 예측할 수 있다. 즉, 미생물의 성장은 유제의 pH 6~8에서 가장 활발하였는데 일반적으로 거의 모든 미생물은 발육이 가능한 최적 pH 조건을 가진다고 알려져 있다[12]. P6A와 A사의 유제는 균 성장에 부적당한 산성과 염기성이므로 성장이 거의 되지 못하고 사멸됨을 알 수 있었다. 따라서, 절삭유를 사용하는 현장에서도 유제의 pH를 일정하게 유지하는 것이 사용 수명을 연장할 수 있는 방법일 것이다. 그러나 절삭유의 사용 중에 pH가 감소하는 이유 역시 부패로 인해 생성되는 부산물이 산성을 띠기 때문이며 결국 미생물에 안정하여 부패가 잘 일어나지 않는 유제를 사용하는 것이 중요하다.

pH의 영향을 배제하여 유제의 구조적 차이에 의한 부패능을 평가하기 위하여 pH를 중성으로 조절하여 미생물이 잘 배양하는 조건에서 *E. coli* 및 *K. pneumoniae*에 의한 부패능을 실험하였다. 그 결과, Fig. 7에서와 같이 균이 유제에 잘 적응하는 것을 확인할 수 있었으며 pH를 조절하지 않았을 때와 다르게 P6A는 일정수준까지 균이 증식한 후 일정하게 유지되면서 부패가 진행되었고 P6와 A사 유제는 균의 수가 조금 감소하는 경향이 관찰되었으나 시간이 경과할수록 일정수준을 유지하며 부패가 진행되었다. P6A와 P6를 비교하여 보면, P6A 유제에서 균수가 많은 것으로 관찰되었으며 이와 같은 이유는 P6A가 균의 증식에 유리한 에스테르형 구조이어서 부패가 빠르게 진행되기 때문으로 사료된다. 유제에 대한 균의 성장 정도를 비교하기 위하여 pH를 조절하지 않아도 중성인 P6A 유제에 대하여 *E. coli*와 *K. pneumoniae*의 성장 유형을 시험한 결과, 성장 유형이 거의 유사함을 알 수 있었다. 즉, 초기 접종균수는 다르지만 시간이 경과할수록 *E. coli* 균수는 일정하고 *P. pneumoniae*의 균수는 감소하여 8일이 경과하면 거의 일정하게 유지되었다. 이와 같은 이유는 균이 성장 및 사멸을 반복하면서 영양원을 이용하며 스스로 내성과 적응 환경을 유제로부터 얻어 미생물의 대사작용에 사용하므로 그 유제가 점차 분해되어 유제의 pH 등의 물성이 균이 성장하기에 맞춘 조건으로 유지되어 가는 것으로 생각된다. 또한, 균수는 시간이 경과함에 따라 같은 유형으로 변화하는 것을 알 수 있는데 이것은 각 균이 부패에 작용하는 유형이 같음을 의미하는 것이다. 즉, 구조적으로 약한 부분에 먼저 균이 작용하여 분해됨을 알 수 있었다.

일반적으로 절삭유제는 pH가 염기성으로 제조되고 부패방지제를 처방하여 사용되지만 현장에서는 가공칩의 오염, 사용온도의 변화 등으로 인하여 부패가 일어나고 있다. 따라서, pH에 상관없이 절삭유제를 부패평가하기 위하여 기존의 방법(100배 희석한 유제 45 mL에 접종액 5 mL를 넣고 밀봉하여 37°C 인큐베이터에서 배양을 하면서 생균 수 측정)의 조건을 다음과 같이 변화하여 부패실험을 행하였다. 즉, 기존의 방법에 주철칩(FC 20) 2 g과 mineral substrate 5 mL를 넣고 여러 가지 조건을 바꿔가면서 실험을 행하였다. 실험 대상 유제로 A사의 절삭유제(부패방지제를 처방하지 않음, pH 9.9)를 사용하였으며 접종액으로는 *E. coli*와 *K. pneumoniae*의 균을 사용하였다. 그 결과를 Table 1에 나타내었다. Table 1에서 보는 바와 같이 기존의 실험 방법에서는 생장하지 않았던 균이 주철칩과

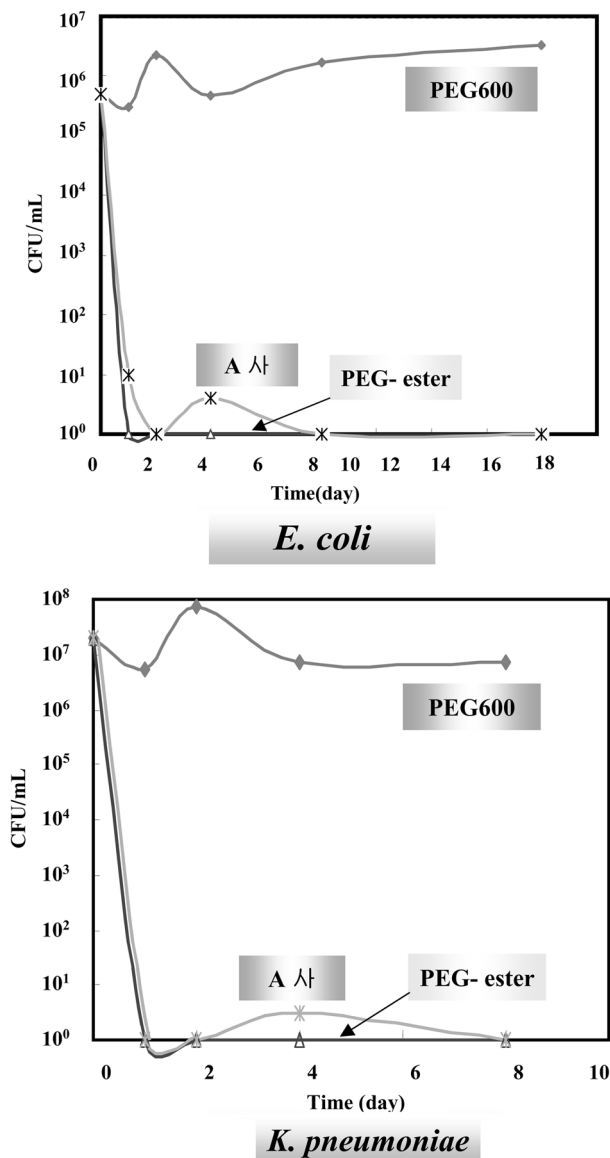


Fig. 6. Influence of pH on the decomposition against *E. coli* (upper) and *K. pneumoniae* (bottom) of metal-working fluids (Incubation temperature: 37 °C).

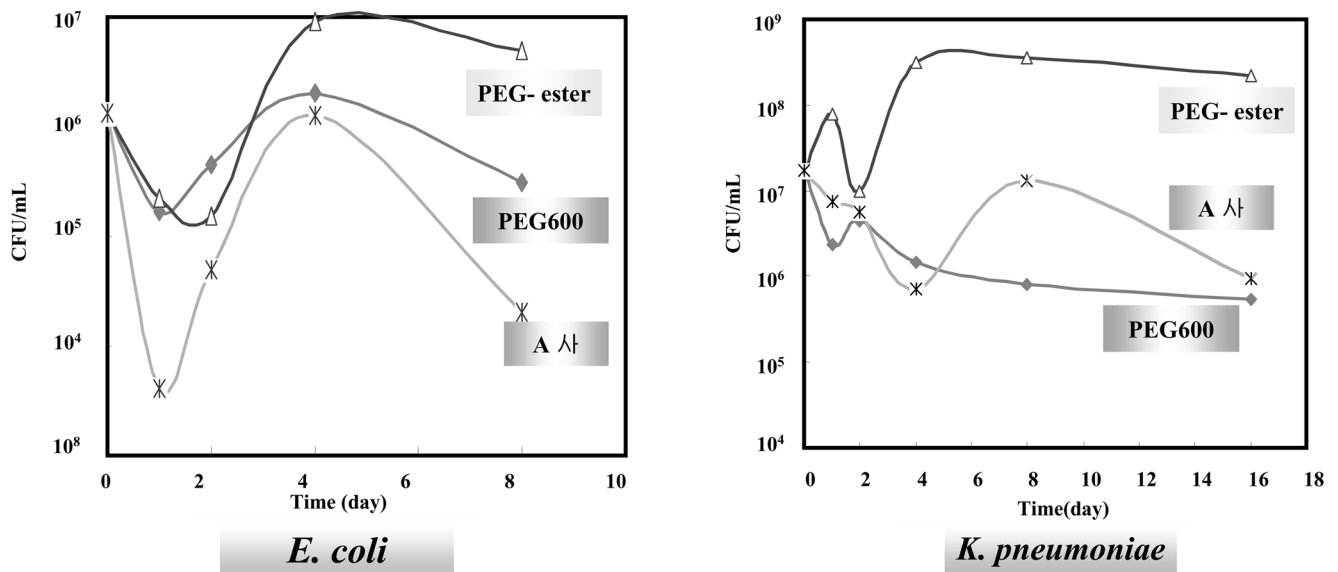


Fig. 7. Decomposition against *E. coli* (upper) and *K. pneumoniae* (bottom) of metal-working fluids after pH adjustment (Incubation temperature: 37 °C).

mineral substrate를 첨가한 유제에서는 상온에서 개봉하여 실험하였을 때 균이 생장함을 알 수 있었다. 따라서, 이 조건을 바탕으로 *E. coli*와 *K. pneumoniae*의 균을 간헐적으로 접종하면서 상온에서 개봉하여 부패능을 실험하여 생균 수를 측정하였으며 그 결과를 Table 2에 나타내었다. Table 1에서 보는 바와 같이 시간이 경과하면서 부패가 일어남을 알 수 있었으며 *E. coli* 균 보다는 *K. pneumoniae* 균이 부패에 더 큰 영향을 미침을 알 수 있었다. 또한, *E. coli*와

*K. pneumoniae*의 균을 각각 접종한 경우보다는 두 균을 같이 접종한 경우에 그 균수가 더 많이 나타남을 알 수 있었다. 이는 두 균 사이의 상호작용에 의한 것으로 생각되어지며 이와 같은 결과로부터 앞으로 절삭유제의 부패액에서 출현하는 다른 미생물도 이와 같이 접종하여 실험을 행하면 더 좋은 결과를 얻을 수 있을 것으로 생각된다. 하지만, 접종하고 시간이 경과함에 따라 균이 계속 성장해나가지 못하고 사멸되어 간헐적으로 균을 새로이 접종을 해야

Table 1. Decomposition results of metal-working fluid solution containing iron chip and mineral substrate against microbes

Inoculum			<i>E. coli</i> (5 mL)		<i>K. pneumoniae</i> (5 mL)		<i>E. coli</i> (2.5 mL) + <i>K. pneumoniae</i> (2.5 mL)	
Exp. Condition	Temp.	Sealing state	OD 0.5	OD 1.5	OD 0.5	OD 1.5	OD 0.5	OD 1.5
Rust substrate	37 °C	Close	×	×	×	×	×	×
		Open	×	×	×	×	×	×
	RT	Close	×	×	×	×	×	×
		Open	×	×	△	△	△	△
Cost iron chip + M*	37 °C	Close	×	×	×	×	×	×
		Open	×	×	×	×	×	×
	RT	Close	×	×	×	×	×	×
		Open	△	△	○	○	○	○

※ M*: mineral substrate, ○; good, △; normal, ×; bad

Table 2. Colony count of metal-working fluid solution decomposed with *E. coli* and *K. pneumoniae*

Detection time(day)		1st inoculum			2nd inoculum			3rd inoculum			4th inoculum			5th inoculum		
Inoculum		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
<i>E. coli</i> (5mL)	OD 0.5	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0
	OD 1.5	0	0	0	2	0	0	4	0	0	10	7	0	20	16	3
<i>K. pneumoniae</i> (5mL)	OD 0.5	52	0	0	48	0	0	54	0	0	72	9	0	60	7	0
	OD 1.5	90	38	1	159	47	2	192	60	22	359	242	48	1,000	272	168
<i>E. coli</i> (2.5 mL) + <i>K. pneumoniae</i> (2.5 mL)	OD 0.5	96	1	1	125	3	0	127	10	0	201	31	0	258	22	0
	OD 1.5	346	44	10	369	52	13	514	227	38	727	127	87	2,000	1,000	392

하는 문제점이 있었다. (주)로터스 엔지니어링에서 연구한 물리적 처리방법을 이용한 수용성절삭유 부패방지기술에 관한 연구보고서[13]에 의하면 미생물의 살균효과를 판단하기 위하여 절삭유를 순환시스템으로 부패시켜 부패한 절삭유를 표준액으로 사용하여 간이 미생물 kit로 부패도를 평가하였다. 실험결과, 부패 절삭유에 존재하는 균주는 *Bacillus thuringiensis*로 판명되었으며 보다 정확한 절삭유의 평가방법을 확립하기 위해서는 절삭유에 다양하게 기생하는 균주를 배양하여 평가하는 것이 바람직하다고 사료되었다.

4. 결 론

절삭유제의 미생물에 대한 부패능을 평가하기 위하여 미생물의 성장 유형을 조사하고 조절된 균을 유제에 접종하여 부패능을 실험한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

(1) 미생물의 성장곡선 실험 결과, 균의 대수성장기는 균의 종류에 따라 다르게 나타났으며 *E. coli* 균의 대수 성장기는 배양 후 2시간, *K. pneumoniae* 균은 3시간, *P. aeruginosa* 균은 4시간, *P. oleovorans* 균은 3시간이었다.

(2) OD 값을 0.5로 조절한 접종액의 *E. coli* 균수는 $4.4 \sim 10.0 \times 10^5$ CFU/mL, *K. pneumoniae* 균수는 $1.8 \sim 9.5 \times 10^7$ CFU/mL이었다.

(3) 미생물의 부패에 대한 pH의 영향을 살펴본 결과, pH 6~8에서 부패가 왕성하게 진행되었고 pH가 4 이하, 10 이상에서는 균이 성장하지 못함을 알 수 있었다.

(4) pH를 중성으로 유지하고 내마모제의 구조에 따른 부패능을 실험한 결과, 에스테르형 내마모제가 에틸렌글리콜형 내마모제 보다 부패가 빠르게 진행되어 구조에 따라 부패능의 차이를 나타내었다.

참고문헌

1. Riddle, B. L. and Kipp, E. M., "Friction and Wear Properties of PEG Ester in the Presence of a Complex Phosphate Ester," *Lub. Eng.*, **47**(12), 991-997(1991).
2. Schottenberg, A. D., "Lubricating Additives," European Patent No. 183, 050(1986).
3. Yong, W., Qunji, X. and Lili, C., "Tribological Properties of Some Water-Based Lubricants Containing Polyethylene Glycol under Boundary Lubrication Conditions," *J. of Synthetic Lubrication*, **13**(4), 375-380(1997).
4. Canter, N. M., Chaloupka, J. J. and Fischesser, G. J., "The Use of Ethylene Oxide/Propylene Oxide (EO/PO) Esters as Additives in Semi-Synthetic Metalworking Formulations," *Lub. Eng.*, **44**(3), 257-261(1987).
5. Watanabe, S., Nakagawa, H. and Ohmori, Y., "New Cutting Fluid Additives Derived from Half Esters of Dimer Acids," *Tribologist*, **42**(1), 81-84(1997).
6. Nakagawa, H., Ohmori, Y., Watanabe, S., Fujita, T. and Sakamoto, M., "New Cutting Fluid Additives Derived from Esters of Higher Hydroxy Fatty Acids," *Tribologist*, **43**(5), 436-439(1997).
7. CEC-L-33-A-93 Method.
8. OECD 301C Method.
9. MPI, "Cutting Fluids and Grinding Fluids," pp.228.
10. Yoon, Y.-J., Kim, Y.-W., Chung, K. and Hwang, D.-H., "Synthesis and Solution Properties of Water Soluble Polyester for Metal-Working Fluids(II)," *J. Korean Ind. Eng. Chem.*, **16**(6), 834-841 (2005).
11. Shafer, W. M., "Radical Diffusion Assay," 175, Section 3.1.
12. Kim, M.-S., et al, "Environmental Microbiology," Dong-Jong Sa, **97**, 170-171.
13. Research Report of Rotus Engineering, "Development of the Decomposition Prevention of Water Soluble Cutting Fluids Using Physical Treatment Method," (2005).