

Bacteria/Fungi 혼합토를 이용한 현장 Bio-barrier 형성 In Situ Bio-barrier Formation using Bacteria/Fungi-Soil Mixture

김건하¹⁾, Kim, Geon-Ha, 송영우²⁾, Song, Young-Woo, 구동영³⁾, Ku, Dong-Young,

¹⁾ 한남대학교 공과대학 토목환경공학과 조교수

²⁾ 한남대학교 공과대학 토목환경공학과 교수

³⁾ 한남대학교 대학원 토목환경공학과 석사

개요(SYNOPSIS) : When microorganisms such as bacteria and fungi are injected into porous medium such as soils along with appropriate substrate and nutrients, biomass retained in the soil pore. Soil pore size and shape are varied from the initial condition as a result of biofilm formation, which make hydraulic conductivity reduced. In this research, hydraulic conductivity reduction was measured after microorganism are inoculated and cultured with synthetic substrates and nutrients. Biomass-soil mixture was evaluated its applicability to the field condition as an alternative liner material in landfill by measuring hydraulic conductivity change after repetitive freeze-thaw cycles.

주요어(Keywords) : hydraulic conductivity, biofilm, landfill, alternative cover material.

1. 서 론

인구증가 및 도시화에 따라 빈번하게 발생하는 토양오염을 처리하기 위한 여러 가지 공법이 개발되고 있다. 비위생매립장 또는 위생매립장의 유지관리 부적절에 의한 침출수의 유출, 주유소의 유류 저장탱크에서의 휘발성 물질의 유출 등 여러 가지 경우에 있어서 토양오염이 심각하며 따라서 이러한 오염물질을 처리하여야 할 필요성이 있다. 이러한 토양오염은 pump and treat이나 excavate and dump 등의 공법으로 처리하는데 대부분의 경우에 있어서 토양오염을 처리하기에 앞서 추가적인 토양오염물질의 확산을 방지하기 위하여 cut-off wall을 설치하여야 하는 경우가 빈번하다. 이러한 cut-off wall의 종류로는 sheet pile, soil-bentonite slurry, concrete, concrete-polymer 혼합물질을 재료로 사용한다. Grouting도 오염물질 차수막으로 사용할 수 있다. 이때 강우가 cut-off wall 내로 침투하는 것을 방지하기 위하여 복토를 할 필요성이 있을 경우도 있다. 또한 주유소의 유류저장 탱크에는 유류 누출 등으로 인한 토양 오염의 확산을 방지하기 위하여 차수벽을 설치하고 있다. 그러나 국내에서 사용되고 있는 차수재들은 천공이나 균열 등의 손상이 발생하면 침출수의 누수를 제어할 수 없기 때문에 폐기물 매립장에서 유출되는 침출수는 토양을 오염시키는 주요오염원으로 문제시 되고 있으며 공사비용이 막대할 뿐만 아니라 설치가 완료된 후에도 완전 차수가 되었다는 보장을 할 수 없고 차수벽 설치 심도이하에서 이루어지는 오염물질의 이동에 대하여는 그 효과가 미미하다.

외국에서는 이러한 기존 차수재들의 문제점 보완과 경제성을 고려한 새로운 종류의 차수재에 관한 연구들이 진행 중에 있는데 특히 토양에 미생물을 주입, 성장시켜 토양공극의 폐색을 유도하여 투수성을 저하시키는 공법도 그 중의 하나이다. 오염된 토양에 적절한 특성의 bacteria와 영양분을 주입하면 bacteria의 성장에 의해 바이오필름이 형성되어 토양의 투수성이 감소되며, 생물학적 환경오염처리 능력을 가지고 있어 토양오염물질을 분해시키고, 오염물질의 확산을 방지하는 역할을 한다(Cunningham,

1993; Rijnaarts와, 1997). 이런 bacteria의 생장에 따른 투수성의 감소와 생물학적 환경오염처리에 대한 연구 결과는 다수 보고된 바가 있는데, Shaw 등(1985)과 Stoodley 등(1994)은 유리구슬을 유리관에 균일하게 채운 후 바이오필름을 형성시켰을 때의 유속과 전단강도를 측정하였는데 실험 결과 바이오필름의 퇴적이 공극수 이동속도를 상당히 저하시킨다는 것을 알 수 있었다. Brough 등(1997)은 3개의 column에 모래를 채운 후 미생물과 영양분을 공급하여 미생물 군체가 토양내 퇴적되는 동안 바이오필름의 퇴적과 화학적 산소요구량 감소를 측정하였다. 투수계수는 평균 60.6% 감소하였으며, COD 농도가 90% 감소하여 바이오필름을 이용한 차수재 사용과 오염물질의 생물학적 분해 효과를 증명하였다.

이와 같이 현재까지 보고된 연구들은 모래나 유리구슬등 비교적 균질한 매질에 bacteria를 주입하여 EPS가 공극을 폐색시킴에 따라 발생하는 투수계수의 감소에 초점을 두었기 때문에 이러한 공법의 사용 가능성에 대한 초기 연구라 할 수 있다. 따라서 본 연구는 위생매립장 주변 토사에 bacteria와 fungi를 주입, 배양하여 바이오필름을 생성시킨 후 차수재료 또는 복토재료의 사용 가능성을 조사하였으며, 차수재나 복토재로 장기간 사용 시 발생할 수 있는 환경의 변화 즉, 산성/염기성 화학물질의 유입 및 동결·융해 과정 등에 의한 투수성의 변화를 관찰함으로써 바이오필름으로 처리한 토사의 차수재료 사용에 대해 평가하고자 하였다.

2. 실험 방법

2.1 토양

본 연구에 사용된 화강풍화토는 D시의 위생매립장에 반입된 토사로 바이오필름 형성에 따른 투수계수 변화와 바이오필름이 형성된 시료의 물리·화학적 특성을 실험하는데 사용하였다. 화강풍화토의 기본 물성 값은 Table 1에 나타나 있다.

Table 1. Basic Property of Poorly Graded Sand Used for the Test

Basic Property	Test Method	Test Result
D ₅₀ Grain Size	KS F2309	0.63 (mm)
Liquid Limit	KS F2303	30.0 (%)
Plastic Limit	KS F2303	24.3 (%)
Plasticity Index	KS F2303	5.8 (%)
Specific Gravity	KS F2308	2.67
Optimum Moisture Content	KS F2312	15.75 (%)
Maximum Dry Unit Weight	KS F2312	1.68 (t/m ³)

2.2 미생물 군체

토양 내에는 약 100만종의 bacteria가 성장하고 있으며 이러한 bacteria는 여러 가지 성장조건에 맞게 살 수 있다. bacteria가 성장할 때에는 여러 가지의 기질을 섭취하므로 적절한 bacteria를 선택한다면 토양내의 오염물질을 제거할 수 있다. 본 연구에 사용된 bacteria와 fungi는 각각 *Azotobacter chroococcum*과 *Aureobasidium pullulans*이다. *Azotobacter chroococcum*은 호기성 질소고정 세균으로, 성장에 필요한 pH 범위는 5.5~8.55이며, 세포내 폴리-β-히드록시부티산을 축적하는데 이들은 외부에 다량의 다당류를 생성하기 때문에 고체배지에서 배양시 점액성 외관을 나타낸다(Stainer와, 1986). 또한

이 bacteria는 친온성(mesophilic)으로 약 5°C~35°C에서 생장이 가능하며 온도가 10°C 증가함에 따라 성장속도는 약 2배정도 증가하므로, 실험기간 중 생길 수 있는 온도차이는 큰 문제가 없을 것으로 생각된다(Atlas와 Bartha, 1992). 따라서 토양에 미생물을 접종한 후의 모든 실험은 실험실 온도인 25°C±3°C에서 수행하였다. *Aureobasidium pullulans*는 불완전균류에 속하는 fungi로 성장동안 exopolysaccharide pullulan을 생성하여 film-wrap을 만드는데 이용되기도 한다. 또한 fungi는 세균에 비해 pH 영역과 온도 범위가 넓은 특성이 있다.

2.3 배양

Azotobacter chroococcum bacteria의 배양을 위한 기질은 KH₂PO₄ 200mg, K₂HPO₄ 800mg, MgSO₄ 200mg, CaSO₄ 100mg, 미소량의 FeSO₄와 Na₂MoO₄, Yeast extract 500mg, Mannitol 20g 등을 증류수 1 l에 혼합하여 제조하였다. *Aureobasidium pullulans* fungi는 diced potatoes 200g, glucose 20g, agar 15g으로 구성된 potato dextrose agar 39g을 증류수 1 l에 혼합하여 제조한 plate에 도말한 다음 25°C 배양기에서 2일간 성장시킨 후 potato dextrose broth 24g을 증류수 1 l에 혼합하여 제조한 배지에 접종한 후 25°C 배양기에서 3일정도 성장시킨 후 시험에 사용하였다. 배양과정은 bacteria와 동일한 방법으로 수행하였다.

2.4 Bio-barrier의 차수능 및 내구성 실험

Bacteria와 fungi를 접종한 각각의 시료에 대해 bio-barrier의 차수능 및 내구성 변화를 관찰하기 위하여 수행한 실험은 Table 2에 나타나 있다. Test 1은 20일 동안 영양분을 공급했을 경우 bacteria와 fungi의 성장에 따른 시료의 투수계수 변화를 시간에 따라 측정하여 바이오필름이 시료의 투수계수에 미치는 영향을 관찰하였다. Bacteria와 fungi로 배합한 시료의 다짐 시험은 직경 10cm, 높이 12.7cm의 몰드를 사용하였으며, 이때의 다짐에너지는 5.64kg/cm²로 표준다짐에너지 5.63kg/cm²와 비슷하였다. 투수시험은 변수두 시험으로 ASTM D5856-95에 따라 수행하였다.

Test 2는 바이오필름이 형성된 시료에 화학용액을 침투시켰을 경우 바이오필름의 손상에 따른 투수계수 변화를 알아보기 위해 실험하였다. *Azotobacter chroococcum* bacteria와 *Aureobasidium pullulans* fungi의 적정 pH 농도가 5~8임을 감안하여 증류수에 HCl을 혼합한 pH 3인 산성용액과 NaOH를 혼합한 pH 11인 염기성용액으로 투수시험을 수행하였다.

Test 3은 바이오필름에 의하여 투수계수가 감소된 시료에 온도 변화를 주었을 경우 발생할 수 있는 투수계수 변화와 그에 따른 간극비를 측정함으로써 바이오필름의 손상 가능성을 조사하였다. 시험에 사용된 몰드는 각각 4개로 같은 시간동안 영양분 용액을 공급한 후, 그중 한 개는 동결·융해 시험을 수행하면서 투수계수를 관찰하였고, 나머지 세 개는 동결·융해 시험에 따른 간극비 변화 관찰에 이용하였다. 간극비와 투수계수 측정에 사용된 시료를 달리한 것은, 함수비 측정을 위해 샘플을 채취하면 시료의 교란으로 인해 투수계수가 증가할 수 있기 때문이다. 또한 4개 몰드의 간극비는 미생물 균체의 성장에 따라 서로 다르게 측정될 수 있으나, 배합 함수비와 다짐에너지를 같게 하였으므로 간극비가 동일한 것으로 가정하였다. 시료는 토양내 수분이 동결하는 온도를 고려하여 -4°C로 고정시켜 24시간 동안 완전히 동결시킨 후(Moo Young과 Zimmie, 1996), 48시간 동안 15°C에서 융해시켜 수돗물을 침투시키며 투수계수와 간극비를 측정하였다.

Table 2. Test Program and Concentration of Bacteria and Fungi Used for the Test

Test	Specimen	Microorganism	Test Program		
			Bacteria of Concentration (cell/ml)	Description	
1	SP (Poorly Graded Sand)	<i>Azotobacter chroococcum</i>	Plate Count Method	$5 \times 10^6 \sim 3 \times 10^7$	permeated with nutrient solution followed by tap water (2 Specimens)
		<i>Aureobasidium Pullulans</i>		-	
2		<i>Azotobacter chroococcum</i>		2×10^6	permeated with nutrient solution followed by chemical solution (2 Specimens)
		<i>Aureobasidium Pullulans</i>		-	
3		<i>Azotobacter chroococcum</i>		8×10^6	permeated with nutrient solution followed by three freeze-thaw cycles (4 Specimens)
		<i>Aureobasidium Pullulans</i>		-	

3. 결과 및 토론

Fig. 1은 bacteria와 fungi의 영양분 공급 시간에 따른 화강풍화토의 투수계수 변화를 측정된 값이다. *Azotobacter chroococcum*으로 배합한 화강풍화토의 투수계수는 $1.1 \times 10^{-4} \text{cm/s} \sim 1.05 \times 10^{-4} \text{cm/s}$ 에서 각각 15일과 20일 동안 영양분 용액을 공급한 후 침투용액을 수돗물로 바꿔 침투시키면 시료의 투수계수는 $2.1 \times 10^{-6} \text{cm/s} \sim 1.7 \times 10^{-6} \text{cm/s}$ 로 감소하였다. 이것은 수돗물의 침투 이후에도 간극 속에 그대로 퇴적되어 있는 바이오필름과 시료 속에 남아있는 bacteria와 수돗물 속에 존재하는 bacteria에 의해 바이오필름의 퇴적이 증가되어 다시 감소한 후 일정 값을 유지하게 되었다. *Aureobasidium pullulans* fungi로 배합한 시료의 투수계수는 $7 \times 10^{-5} \text{cm/s} \sim 1.25 \times 10^{-4} \text{cm/s}$ 였으나, 시료에 각각 15일과 20일 동안 영양분을 공급한 결과 시료의 투수계수는 $1.9 \times 10^{-6} \text{cm/s} \sim 3.2 \times 10^{-6} \text{cm/s}$ 로 감소하였다. Fig. 1에서 기질공급을 중단할 경우 투수계수가 증가하는 경향을 보이는 것은 호기성 미생물의 증식시 발생하는 CO₂의 감소에 따른 포화도의 감소와 영양분이 공급되지 않아 biomass의 체적이 감소했기 때문으로 사료된다.

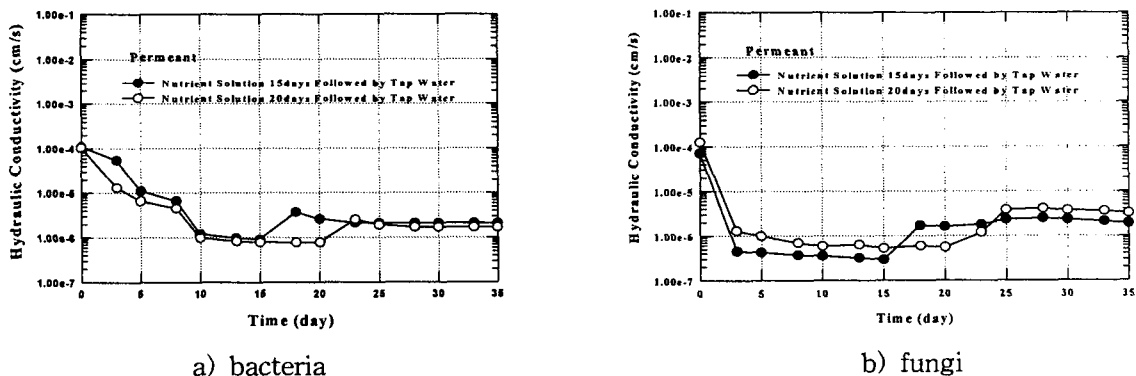
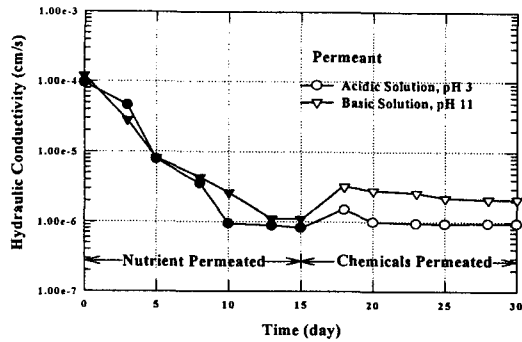
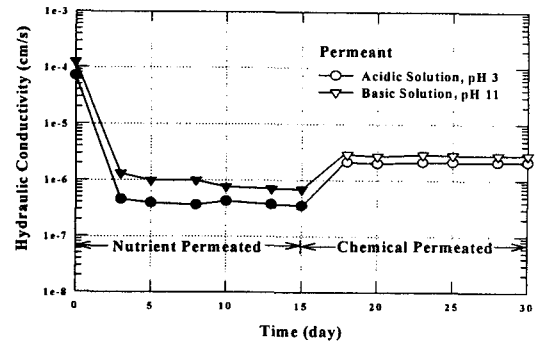


Fig. 1 Hydraulic Conductivity Change of Specimens Permeated with Permeant

Fig. 2는 15일 동안 영양분을 공급한 후에 화학용액을 침투시켜 투수계수 변화를 측정된 값이다. *Azotobacter chroococcum* bacteria로 접종했을 경우 투수계수가 각각 $9.5 \times 10^{-5} \text{cm/s} \sim 1.2 \times 10^{-4} \text{cm/s}$ 인 시료에 영양분 용액을 공급한 후 침투용액을 산성용액(HCl)과 염기성용액(NaOH)으로 바꿔 침투시킨 결과 투수계수는 $9.5 \times 10^{-7} \text{cm/s} \sim 2.1 \times 10^{-6} \text{cm/s}$ 의 감소를 나타냈다. *Aureobasidium pullulans* fungi로 배합한 시료의 투수계수는 각각 $7 \times 10^{-5} \text{cm/s} \sim 1.25 \times 10^{-4} \text{cm/s}$ 에서 화학용액 침투 결과 $2.1 \times 10^{-6} \text{cm/s} \sim 2.8 \times 10^{-6} \text{cm/s}$ 까지 감소한 후 일정 값을 유지했다. 실험 결과, 화학용액을 침투시킨 이후에도 투수계수는 수돗물을 침투시켜 측정된 값과 비슷한 값을 유지했다. 이것은 bacteria와 fungi를 접종하여 형성된 바이오필름이 화학 용액에 대한 내구성을 보여주는 것이다.



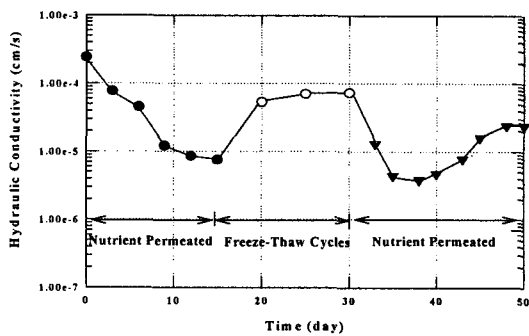
a) bacteria



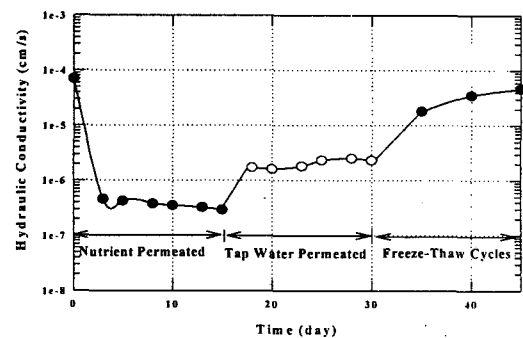
b) fungi

Fig. 2 Hydraulic Conductivity Change of Specimens Permeated with Permeant

온도변화에 따른 바이오필름의 내구성을 평가하기 위해 동결·융해 시험을 하여 측정된 투수계수 변화는 Fig. 3에 나타나 있다. *Azotobacter chroococcum* bacteria로 접종했을 경우 투수계수가 $2.4 \times 10^{-4} \text{cm/s}$ 인 시료에 영양분 공급하면 투수계수는 $7.5 \times 10^{-6} \text{cm/s}$ 까지 감소한다. 그러나 내생성장으로 인한 투수계수의 증가를 Fig. 1의 경우와 같이 45%로 가정한다면 바이오필름 형성에 따른 시료의 투수계수는 $7.5 \times 10^{-6} \text{cm/s}$ 에서 $1.7 \times 10^{-5} \text{cm/s}$ 로 감소하게 될 것이다. 그런 다음 3회의 동결·융해 시험동안 시료의 투수계수는 Fig. 3과 같이 $7.3 \times 10^{-5} \text{cm/s}$ 까지 증가해 바이오필름 집합체가 손상될 수 있음을 알 수 있다. 그러나 영양분을 다시 공급하면 biomass의 체적 증가로 인해 투수계수는 동결·융해 시험전의 $1.7 \times 10^{-5} \text{cm/s}$ 와 유사한 $2.4 \times 10^{-5} \text{cm/s}$ 의 안정된 값을 회복하였다. *Aureobasidium pullulans* fungi로 접종한 시료의 투수계수는 $1.25 \times 10^{-4} \text{cm/s}$ 에서 영양분의 공급과 수돗물 침투이후 $2.3 \times 10^{-6} \text{cm/s}$ 까지 감소하였으며, 3회의 동결·융해 시험 결과 $4.6 \times 10^{-5} \text{cm/s}$ 로 감소하였다. 동결·융해 시험이후 fungi의 투수계수는 bacteria의 경우와 같이 약 1/10 정도의 감소를 나타냈으나 영양분을 재 공급하면 이전의 값을 회복할 수 있을 것으로 생각된다.



a) bacteria



b) fungi

Fig. 3 Hydraulic Conductivity Changes with Freeze-Thaw Cycles

Fig. 4는 투수계수 변화에 따른 간극비의 변화를 측정된 값으로 일반적인 흙의 투수계수와 간극비와의 상관 관계처럼 투수계수가 증가할수록 간극비도 커지는 경향을 보인다(Mitchell, 1993). Fig. 4의 간극비 측정 결과, 투수계수가 $2.4 \times 10^{-4} \text{cm/s}$ 인 *Azotobacter chroococcum* bacteria로 배합한 시료의 간극비는 0.63에서 영양분 공급 후 0.58로 감소하였다. 그러나 3회의 동결·융해 시험 동안 바이오필름의 손상으로 인해 투수계수가 $7.3 \times 10^{-5} \text{cm/s}$ 일 때 간극비는 0.59로 증가하였다. 간극비의 증가 역시 앞서 언급한 것처럼, 바이오필름 집합체가 동결·융해 후에도 간극 속에 남아있기 때문에 큰 영향을 받지 않았다. 또한 동결·융해 시험이 끝난 후 영양분 용액을 재공급하면 간극비는 투수계수 감소와 함께 다시 감소하였다. 투수계수가 $1.25 \times 10^{-4} \text{cm/s}$ 인 *Aureobasidium pullulans* fungi로 배합한 시료의 간극비

는 0.497에서 영양분 공급 후 0.494로 감소하였다. 그러나 수돗물의 공급과 3회의 동결·융해 시험 동안 바이오필름의 손상으로 인해 투수계수가 $4.6 \times 10^{-5} \text{cm/s}$ 일 때 간극비는 0.495로 증가하였다. 하지만 간극비는 거의 동일한 값을 나타내고 있어 투수계수와 간극비에 대한 상세한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

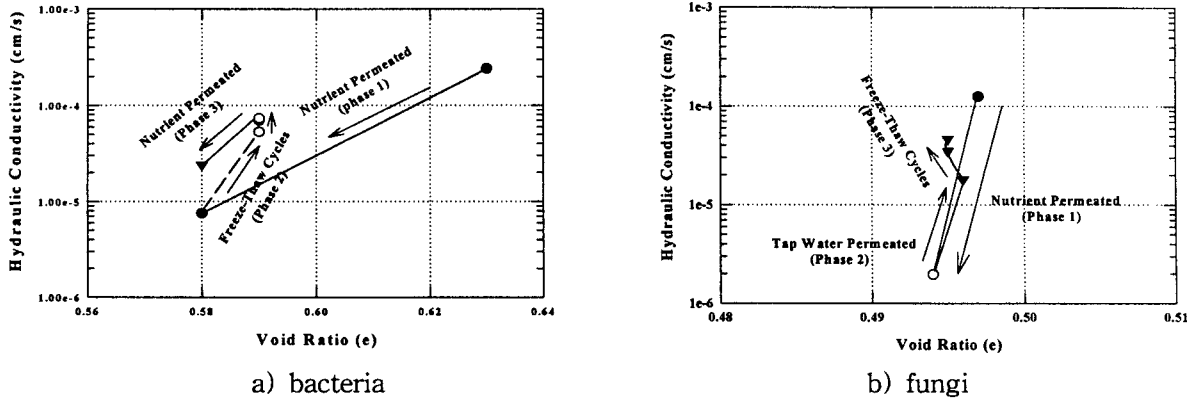


Fig. 4 Effects of Freeze-Thaw Cycles on Hydraulic Conductivity vs. Void Ratio Relationship

4. 결론

투수성이 높은 화강풍화토에 *Azotobacter chroococcum* bacteria와 *Aureobasidium pullulans* fungi를 접종하고, 영양분 용액을 공급하여 일정기간 동안 배양한 후 투수시험을 한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 투수계수가 $1.6 \times 10^{-4} \sim 1 \times 10^{-4} \text{cm/s}$ 인 화강풍화토에 *Azotobacter chroococcum* bacteria를 접종·배양한 결과 투수계수는 각각 $5.7 \times 10^{-6} \sim 1.7 \times 10^{-6} \text{cm/s}$ 까지 1/10~1/100 정도 감소한 후 일정 값을 유지하였다.
2. Fungi를 화강풍화토에 접종·배양한 결과 시료의 투수계수는 $7 \times 10^{-5} \text{cm/s} \sim 1.25 \times 10^{-4} \text{cm/s}$ 에서 $1.9 \times 10^{-6} \text{cm/s} \sim 3.2 \times 10^{-6} \text{cm/s}$ 까지 1/10~1/100 정도 감소한 후 일정 값을 유지하였다.
3. 투수시험 결과 시료의 투수계수는 차수재 투수기준을 만족하지 못했지만, 투수계수가 $1 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-6} \text{cm/s}$ 인 토양에 bacteria와 fungi를 접종하면 $1 \times 10^{-7} \text{cm/s}$ 이하로 감소시킬 수 있으므로 대응 차수재 사용이 가능할 수 있을 것이다.
4. 산성용액(HCl) 또는 염기성용액(NaOH)을 침투시켜도 bacteria와 fungi를 접종·배양한 시료의 투수계수는 일정 값을 유지하였다. 이것은 바이오필름 집합체가 화학용액의 침투에 잘 저항함을 보여주는 것이다.
5. *Azotobacter chroococcum* bacteria로 배양한 시료에 영양분을 공급하면 $2.4 \times 10^{-4} \text{cm/s}$ 에서 $1.7 \times 10^{-5} \text{cm/s}$ 까지 감소한 시료의 투수계수는 동결·융해 시험동안 $7.3 \times 10^{-5} \text{cm/s}$ 로 감소했으며, 간극비 또한 0.58에서 0.59으로 증가해 바이오필름 집합체가 손상되었음을 확인할 수 있었다. 그러나 영양분의 재공급하면 투수계수와 간극비는 다시 회복되었다.
6. *Aureobasidium pullulans* fungi를 배양한 시료에 영양분과 수돗물을 공급하면 $1.25 \times 10^{-4} \text{cm/s}$ 에서 $1.9 \times 10^{-6} \text{cm/s}$ 까지 감소한 시료의 투수계수는 동결·융해 시험동안 $4.6 \times 10^{-5} \text{cm/s}$ 로 감소했으나, 간극비는 거의 동일한 값을 유지하였다. 따라서 투수계수와 간극비의 상관관계에 대한 상세한 연구가 선행되어야 할 것으로 생각된다.
7. 본 연구를 현장에 적용할 경우 미생물 성장 기작에 관한 연구, 다른 화학용액 침투에 따른 바이오필름의 내구성, 영구적인 바이오필름층 형성에 대한 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Atlas, R.M., and Bartha, R. (1992) *Microbial ecology; Fundamentals and applications*. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., Redwood City, Ca.
2. Brough, J.M., Al-Tabbaa, A., and Martin, R.J. (1997) "Active biofilm barriers for waste containment and bioremediation; laboratory assessment." *Fourth International In Situ and On-site Bioremediation Symposium*, Vol. 4, pp.233~238.
3. Cunningham, A.B. (1993) "Influence of biofilm accumulation on porous media hydrodynamic properties." *Manipulation of groundwater Colloids for Environmental Restoration*. Mc Carthy, S.F., and Wobber, F.J. ed. Lewis Publisher, Boca Raton, pp.103~109.
4. Mitchell, J.K. (1993) *Foundamentals of soil behavior*. John Wiley & Sons. Inc., New York, N.Y.
5. Moo-Young H.K. (1996) "Effects of Freezing and thawing on the hydraulic conductivity of paper mill sludges used as landfill covers." *Can. Geotech. J.*, Vol. 33, pp.783~792.
6. Rijnaarts, H. M., Brunia, A., and Van Aalst, M. (1997) "In situ bioscreens." *Fourth International In Situ and On-Site Bioremediation Symposium*, Vol. 4, pp.203~208.
7. Sharma, H.D., and Lewis, S.P. (1994) *Waste containment systems, waste stabilization, and landfill; Design and evaluation*. John Wiley & Sons Inc., New York, N.Y.
8. Shaw, J.C., Wardlaw, N.C., Bramhill, B., and Costerton, J.W. (1985) "Bacterial fouling in a model core system." *Appl. and Environ. Microbiol.*, Vol. 49, No. 3, Mar., pp.693~701.
9. Stanier, R.Y., Ingraham, J.L., Painter, P.R., and Wheelis, M.L. (1986) *The microbial World*. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.
10. Stoodley, P., de Dirk, B., and Lewandowski, Z. (1994) "Liquid flow in biofilm systems." *Appl. and Environ. Microbiol.*, Vol. 60, No. 8, Aug., pp.2711~2716.