

# 콘크리트 도로포장 미생물 탐색

## Investigation of Microorganisms on Concrete Pavement

홍동성\* · 한상현\*\* · 소재성\*\*\* · 정진훈\*\*\*\*

Hong, Dong Seong · Han, Sang Hyun · So, Jae Seong · Jeong, Jin Hoon

### 1. 서 론

건설재료로 널리 사용되고 있는 콘크리트에 미생물의 탄산칼슘 형성 작용(Microbial Calcium Carbonate Precipitation)을 이용하여 콘크리트의 균열보수(Tittelboom 외, 2010), 균열 자가 회복(Jonkers 외, 2010), 시멘트 모르타르 압축강도 증진(이강훈 외, 2010) 및 염해 저항성 증진(김화중 외, 2010)에 대한 연구들이 알려지고 있다. 이러한 콘크리트 환경에서의 미생물의 작용은 Gollappudi 외(1995)에 의해 처음 소개되었으며 기존의 에폭시, 시멘트 페이스트를 이용한 균열보수 방법보다 친환경적이며, 투수성 감소효과로 인하여 수분 및 화학물질의 침투를 막을 수 있다고 알려지고 있다.(Bang 외, 2001).

미생물의 탄산칼슘 형성작용은 요소(Urea)의 가수분해에 기초를 두는 메카니즘으로 발생하며, 요소의 가수분해시 발생하는 탄산염 이온( $CO_3^{2-}$ )과 칼슘이온( $Ca^{2+}$ )이 결합하여 형성된다. 현재 국외에서는 *Bacillus*종을 주로 사용하여 연구를 수행하고 있으며, 국내에서는 국내 자연환경에서 탄산칼슘 형성작용을 하는 미생물을 탐색하여 연구를 수행 중에 있다.(김화중 외, 2010) 현재 탄산칼슘 형성작용을 하는 미생물은 서해안에서 *Halomonas* 종이 발견되어 콘크리트 염해저항성 증진 효과를 보인다는 연구가 진행되었으며(김화중 외, 2010), 독도에서도 이같은 미생물 종을 발견하여 모르타르 압축강도 증진 효과를 보였다(박성진 외, 2010). 하지만 현재 도로 환경에서 서식하는 미생물에 대한 연구는 전무한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 미생물을 이용한 친환경적 도로재료의 개발을 최종 목적으로 현재 공용되고 있지 않은 원주 만중분기점 부근의 이전 영업소로 사용되는 콘크리트 페도로 현장에서 탄산칼슘 형성작용을 하는 미생물을 탐색하였다.

### 2. 시료 채취

#### 2.1 시료채취 장소 및 구역

콘크리트 시료 채취를 위해 원주 만중분기점 부근 광장영업소 콘크리트 페도로 현장을 대상으로 하였다. 그림 1은 채취장소의 위성사진을 나타내고 있으며, 채취장소의 위치정보를 표 1에서 보여주고 있다. 그림 2와 같이 시료채취 위치는 4개의 구간에 걸쳐 실시하였고, 시료채취는 도로환경별 콘크리트 포장 단부의 배수 시설과 접해있는 2군데, 차로의 차량 바퀴 접촉빈도가 높은 휠패스 구간 2군데, 차로의 차량 바퀴 접촉빈도가 높지 않은 구간 1군데, 절토부 옹벽 상부의 흙과 접해 있는 부분 1군데에서 채취하여 총 네 곳의 위치에서 24개 시료를 채취하였다. 또한 절토부 옹벽 상부의 흙 2군데, 콘크리트 포장 스폴링 구역 1군데를 채취하여 총 27개의 시료를 채취하였다. 그림 3에 시료채취 위치를 도식화하였으며, 그림 4에 각 채취구역의 사진을 보였다. 각 시료는 미생물을 탐색하는 부족함이 없도록 대략 3cm<sup>2</sup> 부피만큼 채취하였다.

\* 학생회원 · 인하대학교 토목공학과 석사과정(E-mail : astroe@nate.com)

\*\* 비 회원 · 인하대학교 생명공학과 박사과정(E-mail : 1528222@hanmail.net)

\*\*\* 비 회원 · 인하대학교 생명공학과 교수 · 공학박사(E-mail : sjaeseon@inha.ac.kr)

\*\*\*\* 정 회원 · 인하대학교 토목공학과 부교수 · 공학박사(E-mail : jhj@inha.ac.kr)



그림 1. 채취장소의 위성사진

표 1. 채취장소의 위치정보

지역	구간 (STA.)	채취 위치 (STA.)
고속도로순찰대 제 7지구대 전방 구 광장영업소	5+820~6+300	5+900~6+100 (50m 간격 4 곳)

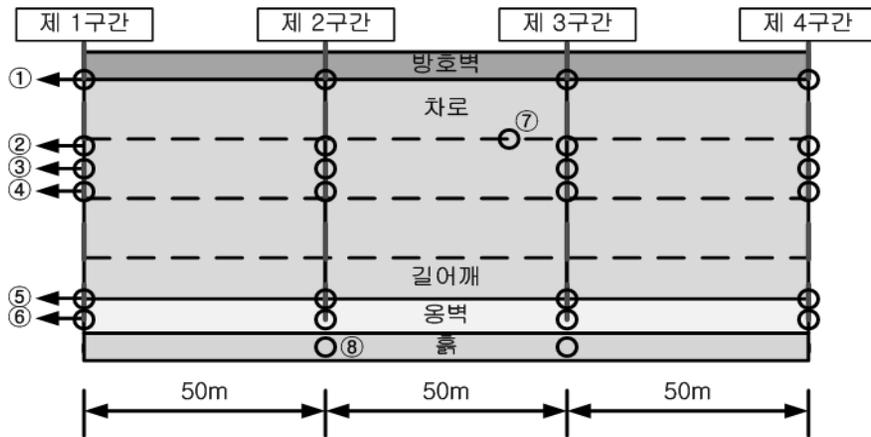


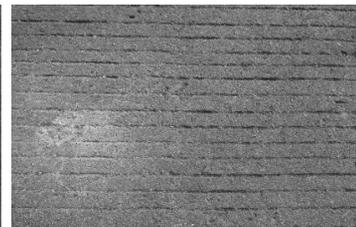
그림 2. 시료채취 위치



(a) 채취구간 전경



(b) 배수시설1 (①위치)



(c) 철판스1 (②위치)

&lt;그림 계속&gt;

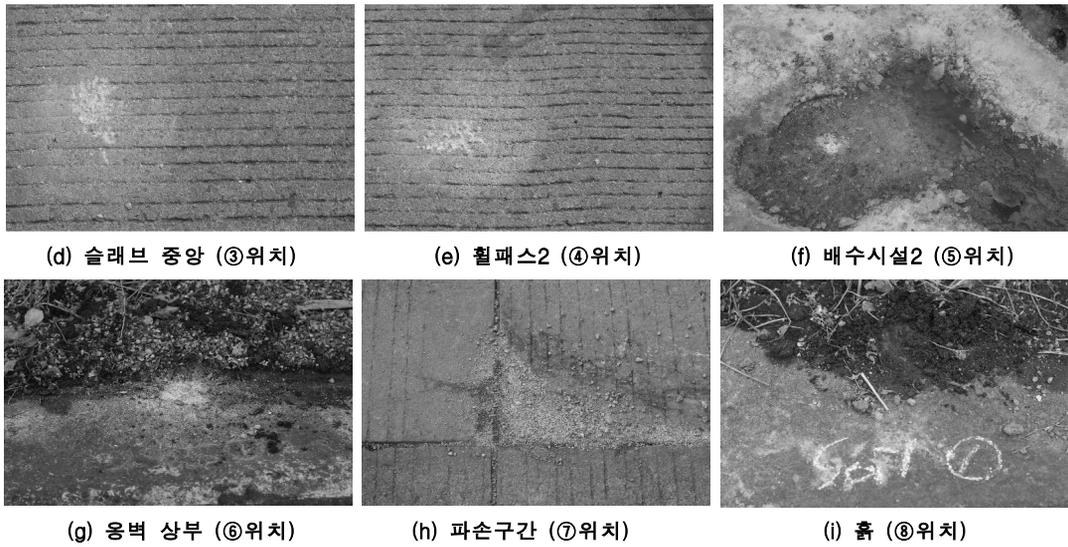


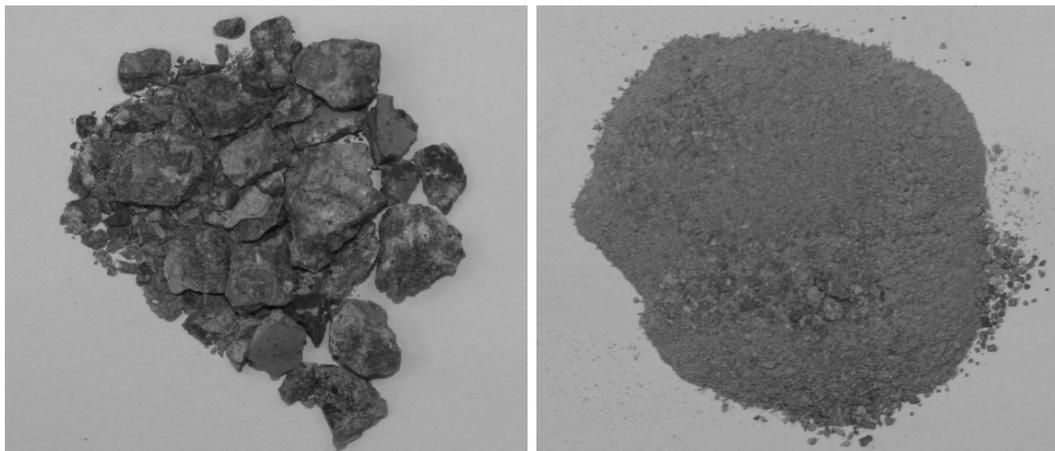
그림 3. 채취구간 전경 및 각 채취구역

### 3. 미생물의 선택 및 배양

콘크리트 도로 포장 환경에서 서식하는 미생물 중 탄산칼슘 침전반응을 하는 특정 미생물을 탐색하기 위해 채취한 시료로부터 미생물을 선택, 배양하여 반응여부를 확인하였다.

#### 3.1 실험 전처리

박테리아를 얻기 위해 증류수 등의 용액에 회석시키는 과정에서 좀 더 많은 박테리아를 부유시키기 위하여 그림 4와 같이 채취한 시료를 막자사발을 이용하여 분말화 하였다.



(a) 채취한 원시료

(b) 용액에 회석시키기 위한 분말 시료

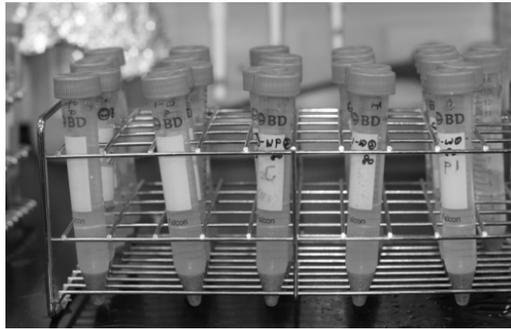
그림 4. 채취한 원시료와 분말 시료

### 3.1 미생물 배양

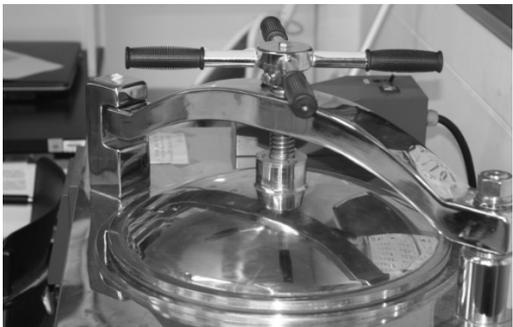
일반적으로 시료를 용기에 담은 과정에서 낙하균이 발생한다. 따라서 실험 전 클린 벤치(clean bench)내에 자외선을 30분 이상 작동시켜 살균을 하고 그림 6(a)와 같이 알코올 랩프를 용기 주변에 두어 살균 후 존재 할지 모르는 낙하균의 침투를 방지하였다. 시료가 용기 내에서 균질하게 섞이도록 강하게 위아래 방향으로 충분히 혼든 후 1g 계량하여 용액에 부유하는 미생물을 검출하기 위해 5ml 증류수(또는 완충용액)에 넣었다. 그 후 계량하여 용기에 넣은 용액을 바이브레이터를 이용하여 잘 섞어, 박테리아의 부유작용을 촉진시켰다. 잘 섞은 용기는 포자형성 미생물을 검출하기 위해 80℃, 100℃에서 10분 살균을 실시하여 액체배지(Beef extract: 3g/L, Peptone: 5g/L, Urea: 20g/L, PH: 8.3)에 접종시켰다. 마지막으로 200rpm, 30℃의 진탕배양기에 서 배양을 실시하였다. 그림 6은 미생물을 검출하기 위한 배양 과정을 나타내고 있다.



(a) 낙하균 제거



(b) 증류수에 담긴 시료



(c) 80℃, 100℃ 살균



(d) 박테리아의 배지 접종



(e) 배양

그림 6. 실험 방법

### 3.2 침전반응 시료

배양기에서 미생물의 충분한 성장을 위해 1주일간 배양을 하였고, 육안분석을 통해 생성된 colony, 즉 미생물을 확인할 수 있었다. 그림 7(a), 7(b)는 colony가 생성된 시료와 생성되지 않은 시료의 모습을 보여주고 있다. 분리된 colony의 미생물학적 광물 침전을 확인하기 위해 34mM  $CaCl_2$  멸균 수용액 100 $\mu$ l를 첨가하고 육안으로 침전물의 발생을 확인할 수 있었다(그림 7(c)).

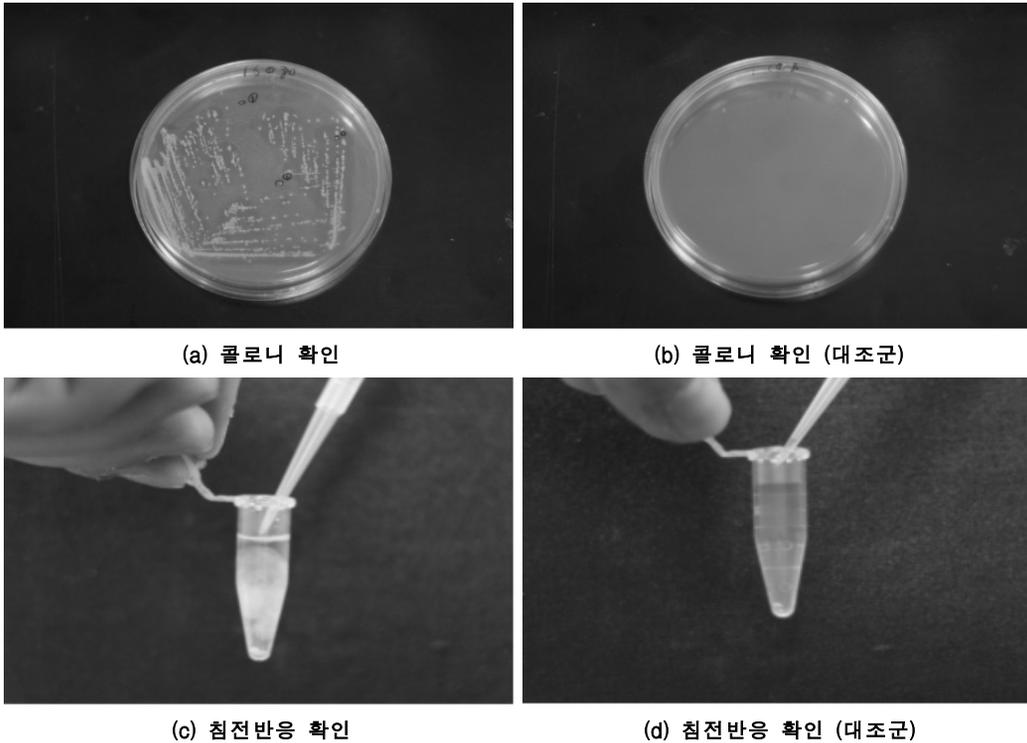


그림 7. 콜로니, 침전반응 확인

상기 서술한 바와 같이 시료는 총 27 곳에서 채취하여, 80℃, 100℃의 온도에서 살균하였다. 시험군은 채취장소별, 살균온도별로 총 54개의 시료로 채취한 장소에 따라 이름을 지정하였다. 표 2에 채취장소 별 시료이름을 나타내었다.

표 2. 채취장소 별 시료이름

채취장소	방호벽 하부 배수시설	옹벽 하부 배수시설	휠패스 구간 ①	휠패스 구간 ②	슬래브 중앙 구간	옹벽상부 토양과의 경계구간	옹벽상부 토양	파손 구간
시료이름	W①	W②	WP①	WP②	C	S	Soil	Failure

표 3에는 시험군중  $CaCl_2$  멸균 수용액에서 침전물을 형성하는 시험군을 나타낸 것으로 콘크리트 도로포장 내에서 미생물학적 침전물을 형성하는 미생물을 탐색할 수 있었다.

표 3. 침전반응 시료

시험군	1-W①	1-S①	1-S①	2-WP①	2-WP②	2-S①	2-S①	3-S①
살균온도	80	80	100	80	80	80	100	80
시험군	3-S①	4-WP②	4-S①	4-S①	Soil①	Soil②	Soil①	Soil②
살균온도	100	80	80	100	80	80	100	100

#### 4. 결론 및 향후계획

본 연구는 미생물을 이용한 친환경적 도로 포장 재료의 개발을 최종 목적으로 콘크리트 도로환경 내에서 서식하는 미생물을 대상으로 미생물학적 침전반응을 일으키는 미생물을 탐색하였다. 그 결과는 다음과 같다.

원주 만종분기점 부근 고속도로순찰대 제 7지구대 전방의 광장영업소 폐 콘크리트 도로 현장을 답사하여 도로환경별 다양한 지점의 시료를 채취하였다. 채취시료로부터  $CaCl_2$  멸균 수용액에서 침전반응을 일으키는 미생물의 존재를 확인하였고, 추후 현미경 촬영과 Scanning Electron Microscope(SEM), X-Ray Diffraction(XRD) 방법을 통해 침전물의 성분을 확인할 것이다. 또한 침전반응을 일으키는 미생물의 동정(Identification)을 통한 식별과정을 실시할 것이다.

#### 참고 문헌

- [1] 김화중, 김성태 (2010) “서해안 미생물의 탐색과 미생물 콘크리트의 염해저항성 평가”, 대한건축학회, 제 26권, 제 7호, pp. 85-92.
- [2] 이강훈, 한상현, 홍동성, 소재성, 정진훈 (2010) “친환경 도로포장을 위한 시멘트 모르타르 내 미생물학적 침전 반응에 관한 초기 연구”, 한국도로학회 2010년도 학술대회논문집, pp. 203-210.
- [3] 박성진, 이나영, 김화중, 김사열 (2010) “독도산 탄산칼슘형성세균에 의한 모르타르 균열보수와 압축강도 증진”, 한국미생물·생명공학회, 제 38권, 제 2호, pp. 216-221.
- [4] Bang, S. S., Galinat, J. K. and Ramakrishnan, V. (2001) “Calcite precipitation induced by polyurethane - immobilized *Bacillus pasteurii*”, *Enzyme and Microbial Technology* 28, pp. 404-409.
- [5] Gollapudi, U. K., Knutson, C. L., Bang, S. S. and Islam, M. R. (1995) “A new method for controlling leaching through permeable channels”, *Chemosphere* 30, pp. 695-705.
- [6] Jonkers, H. M. and Schlangen, E.(2008) “Development of a bacteria-based self healing concrete”, *Proc. int. FIB symposium 1*, pp. 425-430.
- [7] Jonkers, H. M., Thijssen, A., Muyzer, G., Copuroglu, O., and Schlangen, E. (2010) “Application of bacteria as self-healing agent for the development of sustainable concrete”, *Ecological Engineering* 36, pp. 230-235.
- [8] Tittelboom, K. V., Belie, N. D., Muynck, W. D. and Verstraete W. (2010) “Use of bacteria to repair cracks in concrete”, *Cement and Concrete Research* 40, pp. 157-166.