

전기장하 토양내에서 미생물 이동특성과 동전기 생물학적복원의 효과

김 상 준 · ¹박 지 연 · ²이 유 진 · † 양 지 원
특허청, ¹한국에너지기술연구원, ²한국과학기술원 생명화학공학과
(접수 : 2005. 12. 23., 게재승인 : 2006. 6. 20.)

Bacterial Behavior in Soil under Electric Field and its Effect on Electrokinetic Bioremediation

Sang-Joon Kim, Ji-Yeon Park¹, You-Jin Lee², and Ji-Won Yang[†]
The Korean Intellectual Property Office, ¹Korea Institute of Energy Research
²Department of Chemical and Biomolecular Engineering, KAIST
(Received : 2005. 12. 23., Accepted : 2006. 6. 20.)

In this study, it could be found that the microbial movement in soil under electric field mainly occurred by electrophoresis and electroosmosis. The contribution of electrophoresis on the microbial mobility and flux was generally higher than that of electroosmosis. In the electrokinetic (EK) bioremediation of a pentadecane-contaminated soil, the microbial population increased simultaneously at anode and cathode regions of the soil specimen because both electrophoresis and electroosmosis affected on the microbial movement. After initial operation, the microbial population was high in order of anode, middle, and cathode regions due to their negatively-charged surface and oxygen generation at anode. However, the uniform contaminant removal was achieved by the microbial movement with two-directionality.

Key Words : Electric field, microbial movement, electrokinetic bioremediation, electrophoresis, electroosmosis

서 론

지중 생물학적복원법 (in situ bioremediation)은 안전함과 비용효율적인 이유로 매력적인 기술로 인식되어 왔으며 토양특성을 변형시키지 않을 뿐 아니라 이차오염을 유발하지 않는 장점을 가지고 있다(1). 하지만 처리를 완료할 때까지 수개월에서 수년이 걸리는 장기간의 처리를 단점으로 있다. 이와 같이 느린 복원속도에 영향을 미치는 인자로는 낮은 토양온도, 불량한 영양원 공급, 낮은 미생물 활성 등이 있지만, 지하조건에서 유기물과 미생물간의 매우 제한된 상호접촉 빈도가 주요원인이라고 알려져 있다(2, 3).

지하에서 유기 오염물, 특히 소수성 화합물은 토양표면에 흡착, 토양 유기물에 분배, 토양 공극에 끼임 혹은 NAPLs (non aqueous phase liquids)에 용해되어 존재한다(4, 5). 한편 미생물의 경우 토양표면에 부착되어 성장 혹은 비성장상의 생물막 (biofilm)을 형성한다(6). 그 결과 유기

오염물과 미생물 사이의 이동성은 매우 작으며 다시 말해 둘의 물질 전달과 상호작용의 기회가 매우 제한된다.

토양내의 생분해 반응은 주로 토양 용액에서 일어나므로 유기물 탈착 혹은 미생물의 탈 리를 위한 방법이 복원 공정을 가속화하는 유용한 전략이 된다. 예를 들어 계면활성제를 도입하여 유기물을 토양 용액으로 용해시키거나 수리경사를 이용하여 유기물과 미생물을 이동시키는 것이 이 분야의 일반적 방식이다(5, 7, 8). 하지만 대부분의 경우 토양매질에서 이러한 방법은 그리 효과적이지 않다.

동전기 기술 (electrokinetic)은 비교적 최근에 환경공학에 적용된 기술이며 수행방법은 전극을 토양에 삽입하고 전기장을 형성했을 때 나타나는 동전기 이동 현상 (EK transport phenomena)을 이용하여 토양 오염물질은 전극쪽으로 이동시켜 토양 밖으로 제거하는 것이다(9-12).

전기장하 토양 내에서 일어나는 동전기 이동 현상으로는 주로 세 가지가 있다. 첫째, 전기이동 (electromigration)은 암모늄염, 황산염, 중금속 이온과 같은 무기 이온이 자신의 반대 극성의 전극으로 이동하는 것을 말한다. 둘째, 전기삼투 (electroosmosis)는 토양표면의 이중층에 존재하는 양이온이 전기이동에 의해 음극으로 이동하면서 형성된 운동량이 토양공극수를 같은 방향으로 끌고 가는 것이며 따라서 전기삼투는 미생물과 유기물을 음극으로 이동시킬

† Corresponding Author : Department of Chemical and Biomolecular Engineering, KAIST, Korea

Tel : +82-42-869-3964, Fax : +82-42-869-3910

E-mail : jwyang@kaist.ac.kr

수 있다. 마지막으로 전기영동 (electrophoresis)은 전하를 띤 입자가 전기적으로 이동하는 것으로 표면이 음전하를 띠는 미생물 및 미세토양입자 또한 이러한 원리로 이동될 수 있다.

이와 같이 동전기 기술을 지중 생물학적복원법과 결합한 새로운 복합 기술을 지중 동전기 생물학적복원 (in situ EK bioremediation)이라고 부른다(3, 13, 14). 따라서 동전기로 유발된 오염물 혹은 미생물의 강제적 이동현상이 더 많은 상호작용 기회를 제공하여 복원속도를 크게 향상시킬 수 있다.

이제까지 연구에서 전기장하 토양내의 미생물 이동에 관해서는 전기영동이 일반적인 지배 인자라고 알려져 있다(8). 왜냐하면 미생물 세포벽의 인산염, 탄산염, 황산염과 같은 기능기가 미생물표면에 음전하를 띠게 하므로 양극으로 전기적 인력이 작용하기 때문이다. 한편 미생물은 표면의 전하특성은 매질의 pH, 이온세기, 영양원 등과 같은 요인에 의해 영향을 받으며 때에 따라서 군체 (aggregate)를 이루기도 하는데 이때 미생물 군체의 표면전하밀도는 개개의 것일 때 보다 작아지게 된다. 이 경우 전하의 세기에 민감한 전기영동보다 증가된 표면적과 질량에 의한 전기삼투의 영향 또한 토양내 미생물 이동의 주요수단이 될 수 있음을 예상할 수 있다.

본 연구에서는 미생물의 크기 분포를 측정하고 결과에 따라 전기삼투와 전기영동이 토양내 미생물 이동에 미치는 비중을 관찰하였으며 전기력의 영향을 조사하였다. 또한 유기 오염물로 오염된 토양에 대한 동전기 생물학적복원에서 미생물 이동특성과 관련한 복원특징을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

토양시료 및 동전기장치

미생물을 이동시킬 토양매질은 경남 산청에서 생산되는 고령토 (kaolin)이며 건조 뒤 분쇄하여 입경 300 μm 이하의 것을 사용하였다. 입자분포별 분류로 양토 (loam)에 속하였으며 이 밖의 토양특성은 Table 1과 같다. 450 g 고령토에 3차 증류수 150 ml를 혼합하여 초기함수율을 25%로 조절하였고 동전기 반응기의 가운데 구역 (4 cm 가로 × 4 cm 세로 × 20 cm 길이)에 충전하였다(Fig. 1). 미생물을 토양내로 주입하거나 토양 용액을 채취하기위해 양극으로부터 각각 4, 10, 16 cm 떨어진 지점에 지름 1 cm, 깊이 3 cm의 세 개의 채취구를 만들었으며 1 mm 유리비드를 채워 전기삼투의 흐름에 의해 토양 용액이 스며들게 하였다.

음극의 재질은 스테인리스 강, 양극은 내화학성을 유지하기 위해 백금을 도금한 스테인리스 강이며 전극전해조 (4 cm 가로 × 4 cm 세로 × 2.5 cm 길이)에 위치하게 하였다. 생물반응기는 1 L의 전해액을 포함하며 토양에 균일한 이온공급과 물의 전기분해에 의한 갑작스런 pH 변화를 조절하기위해 생물반응기와 양극/음극전해조 사이를 같은 유량으로 순환시켰다. 미생물의 이동속도 (mobility)를 측정하기위한 전해질은 미생물 활성이 유지될 수 있도록 인산염

완충용액으로 제조하였으며 조성 (g/l)은 4.4 KH₂PO₄과 7.2 Na₂HPO₄이다.

Table 1. Property of model soil

Particle size distribution (%)			Organic matter (%)	Soil pH (distilled water)
sand	silt	clay		
43	46	11	0.13	7.4

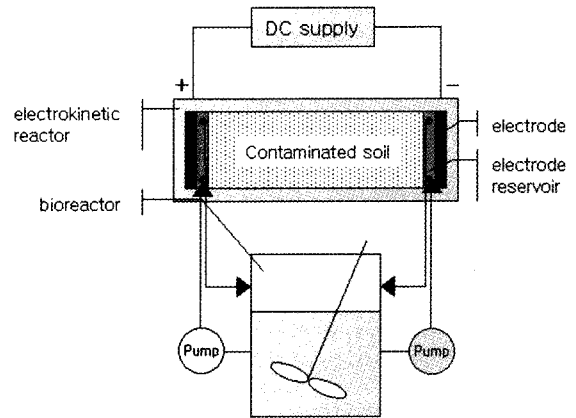


Figure 1. Schematic diagram of the experimental EK process.

미생물의 이동속도측정

대상미생물은 난분해성 독성화합물인 phenanthrene에 대해 높은 분해능이 있는 Sphingomonas sp. 3Y (SP) 단일종과 알칸류에 대해 분해능을 가지는 혼합 미생물 (mixed bacteria, MB)을 각각 선택하였다. 토양에 주입할 균체를 준비하기 위해 영양배지 (nutrient broth)로 하루 동안 배양한 후 미생물의 입자크기분포를 측정하였다.

배양된 미생물의 주입시기는 정전류를 토양에 도입한 뒤 전해질이 토양에 일정하게 공급되어 일정한 농도와 전압경사 (electrical potential gradient)로 유지되고 있을 때이며 토양시료의 가운데 지점 즉 양극으로부터 10 cm 떨어진 곳에 주입하였다. 이때 미생물 배양액 (0.3~1.2 × 10⁸ CFU/ml) 0.5 ml를 주사기로 주입하였으며 미생물의 전기장하 거동은 토양 용액 50 μl을 중앙으로부터 6 cm떨어진 채취구 (양극에서 4, 16 cm 지점)에서 주기적으로 채취하여 미생물 농도를 측정하여 관찰하였다.

동전기 생물학적복원

대표오염물로 pentadecane을 선택하였으며 디젤의 주요성분인 긴 사슬 알칸류의 하나이다. TPH에 대한 우리나라의 토양오염 우려기준과 대책기준은 각각 2,000과 5,000 mg/kg이므로 이를 고려하여 인위적으로 초기 pentadecane의 농도를 5,000, 2,000, 1,000 mg/kg으로 오염시켰다. 오염물의 분해를 위해 MB를 이용하였으며 전해질의 조성 (g/l)은 미생물 생장에 적합해야 하므로 4.4 KH₂PO₄, 7.2 Na₂HPO₄, 5.0 KNO₃, 0.4 MgSO₄ · 7H₂O, 0.1 NH₄Cl, 5 KNO₃, 10 glucose으로 제조하였다.

전류를 공급하기 전에 MB를 생물반응기에 접종한 후 0.5 (OD600) 이상으로 성장시킨 후 전해질을 전해조와 순환시키고 전류를 공급하여 동전기 생물학적복원을 시작하였다. 기초 실험의 결과에서 0.63 mA/cm²의 직류전류를 공급했을 때 최저 26℃, 최고 29℃의 토양온도를 나타냈고 미생물 성장에 적절하므로 동전기 생물학적복원에서도 0.63 mA/cm²의 일정한 직류전류를 공급하였다. 한편 생물반응기는 30℃, 250~300 rpm의 조건으로 운전하였다.

기준 실험 (control)은 pentadecane 5,000 mg/kg에 대하여 0.63 mA/cm²에서 실시하였으며 이때 생물반응기에는 미생물을 접종시키지 않으므로 오염물 제거는 생물학적복원이 아닌 전기삼투에 의한 물리적 세척효과에 의해서만 나타나게 하였다. 위의 실험조건을 Table 2에 요약하였다.

Table 2. Experiment condition

Experiment number	Initial pentadecane concentration (mg/kg dry soil)	Treatment period (day)
1	5,000	14
2	2,000	7
3	1,000	9
4	1,000	14

분석

토양 중의 pentadecane의 농도는 C18 symmetry column과 RI detector를 장착한 HPLC (Waters, USA)로 분석하였다. 동전기 생물학적복원이 끝나면 토양 시료를 동전기 반응기에서 즉시 분리하여 균일한 두께로 5 내지 10등분하였다. 각 토양 부분을 실내온도에서 4일간 건조한 후 분쇄하여 일부를 취해 약 1 g의 시료를 10 ml 노말 헥산과 섞어 밀봉하였다. 추출은 25℃, 180 rpm의 교반기에서 이틀간 실시하였다. 추출이 끝나면 상등액의 부유 토양을 6,000 rpm에서 10분간 원심분리하고 맑은 부분을 HPLC 시스템에 주입하였다. 이때 이동상은 acetonitrile과 에탄올 (3 : 2, v/v)로 구성하였으며 유속은 1.0 ml/min이었다.

배양된 미생물 군체의 입경에 따른 부피와 개수의 함량비는 입자분석기 (light scattering particle size analyzer, Beckman Coulter, USA)를 이용하여 측정하였다. 전해액 중

미생물 농도 (colony forming unit, CFU)는 Profile™ (New Horizons, USA)으로 측정된 상대광도단위 (relative light unit)로 계산하였다.

결과 및 고찰

미생물의 크기 분포

Fig. 2는 영양배지로 배양한 SP와 MB를 대상으로 군체의 직경에 따른 부피와 개수의 함량비를 보여주고 있다. SP 군체의 크기는 대체로 10 μm 이하였으나 군체량의 대부분이 입경이 큰 덩어리 상태로 존재하였다(Fig. 2(a)). 보통 박테리아 개개의 크기가 보통 1-1.5 μm이고 수십 μm를 훨씬 넘는 군체는 토양 공극을 통과하기 어려우므로 대부분의 군체량은 토양 내부를 통과하기 어려울 것이다. 수십 μm의 군체의 이동에 대해서는 개개의 것보다 표면전하밀도의 감소가 있을 것이므로 전기영동보다 전기삼투에 의한 영향이 더 있을 것이라 생각되었다. MB의 경우 1 μm 이하의 작은 크기가 많이 분포하였으며 이 범위에서 군체량 또한 SP보다 많았다(Fig. 2(b)). 따라서 전기영동이 미생물의 이동량 (flux)에 미치는 영향은 SP보다 우세할 것이라 생각되었다.

전기장하 미생물의 이동

Fig. 3은 전기장하 토양에서 SP에 대한 두 가지 구동력 (driving force: electrophoresis & electroosmosis)의 이동특성을 보여주고 있다. 토양의 중간위치에서 주입된 미생물은 양극 (전기영동의 영향)과 음극 (전기삼투의 영향)으로 이동되어 양쪽의 채취구에서 미생물이 관찰되었다. 0.63 mA/cm²에서는 두 구동력에 의한 미생물의 이동속도가 동일한 것으로 나타났으며 미생물의 이동량은 전기영동이 2.1배 우세하였다(Table 3). 이것은 토양 공극을 통과할 수 없는 수백 μm의 군체가 과도하게 많고 이 부분을 제외하면 높은 표면전하밀도를 갖는 개개의 미생물이 많이 존재하므로 전기영동의 영향이 더 크게 작용하기 때문이다. 전류밀도가 세 배 (1.88 mA/cm²)일 때는 채취구에서 양방향 모두 이동속도가 네 배 이상 증가하였으며 마찬가지로 전

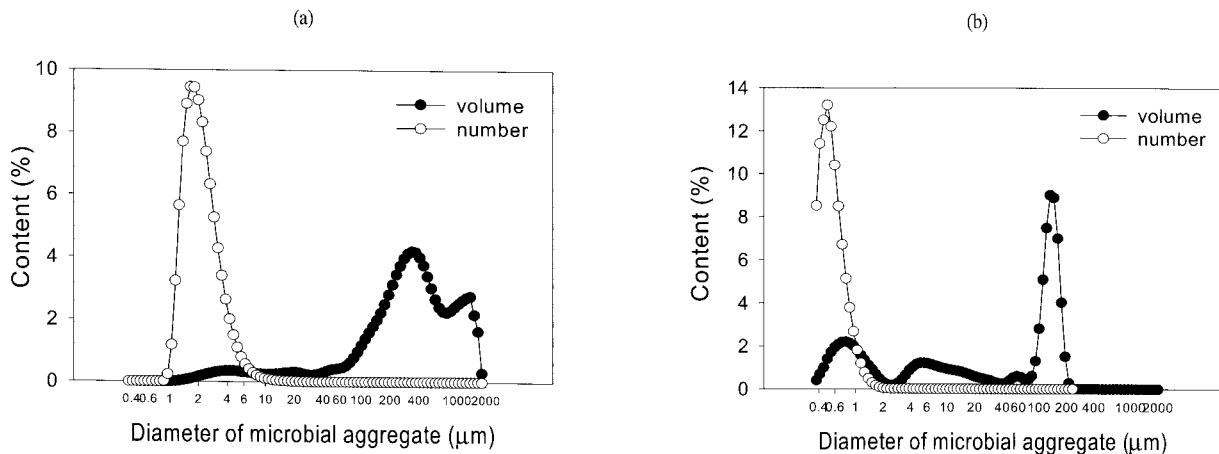


Figure 2. Volume and number contents of microbial aggregate for (a) SP and (b) MB.

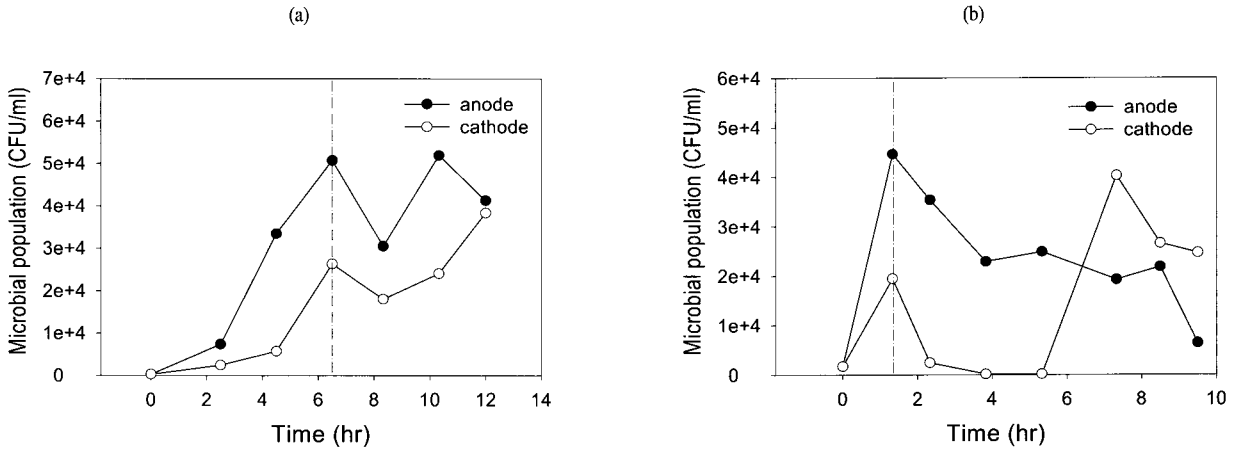


Figure 3. Electrical transport of SP at (a) 0.63 and (b) 1.88 mA/cm².

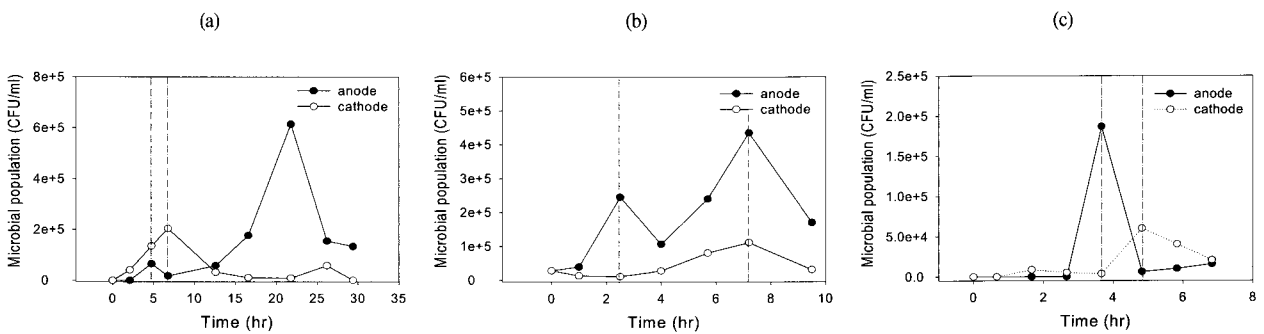


Figure 4. Electrical transport of MB at (a) 0.63, (b) 1.88, and (c) 3.13 mA/cm².

기영동에 의한 이동량이 전기삼투보다 높게 나타났다. 다만 토양 용액 중 미생물 농도가 처음에 주입한 것보다 매우 적게 나타났는데 이것은 대부분의 균체량이 100 μm 이상의 크기를 가지고 있으며 이 경우 끼임 (clogging)에 의해 토양공극을 통과하기 어려워 일부 적은 양만이 이동하였기 때문이다. 또한 이러한 이유로 미생물의 이동이 지연되므로 최초 최대 농도가 나타난 이후에도 지속적인 미생물 이동이 관찰되었다.

Fig. 4는 MB의 이동특성을 보여주고 있다. 두 채취구에서 관찰된 토양 용액의 미생물 농도는 SP보다 높게 나타났다. 이것은 SP와 비교하여 보다 많은 미생물이 1 μm 이하의 작은 크기를 가지므로 토양 공극을 쉽게 통과하기 때문이다. 구동력에 따른 이동속도는 SP와 다른 경향을 나타냈다. 0.63 mA/cm²의 경우 전기영동에 의한 이동이 전기삼투보다 다소 높게 나타났다. 이것은 1 μm 이하의 미생물 함량이 높으므로 질량에 비해 표면적의 전하밀도가 높아 전기영동의 영향이 더욱 강하기 때문이다. 같은 이유로 미생물 이동량 또한 전기영동과 전기삼투의 공헌도비가 SP에 비해 1.5배 높게 나타났다. 1.88 mA/cm²에서는 전기영동에 의한 이동속도는 증가되었으나 전기삼투는 거의 변화지 않았다. 이점에서 SP와 다른 경향을 나타내는데 그 이유에 대해서는 추가적인 연구가 필요하다. 3.13 mA/cm²의 높은 전류밀도에서는 미생물 농도가 상대적으로 낮았으며 전기영동에 의한 이동속도도 감소되었다. 이것은 과도한 전기분해에 의해 양극에 인접한 토양에 산전선 (acid front)이 발달하여 미생물 수를 감소시킬 뿐 아니라 토양

온도가 45°C 이상으로 상승하여 미생물 활성을 저해하기 때문이라 생각된다.

Table 3. Microbial mobility and flux ratio of electroosmosis and electrophoresis

Microorganism	Current density (mA/cm ²)	EP* (cm/hr)	EO** (cm/hr)	Avg. flux ratio (EP/EO ⁻¹)
SP	0.63	0.91	0.91	2.07
	1.88	4.62	4.62	1.76
MB	0.63	1.20	0.86	3.01
	1.88	1.71	0.83	4.31
	1.33	1.63	1.24	1.70

* EP: electrophoresis **EO: electroosmosis

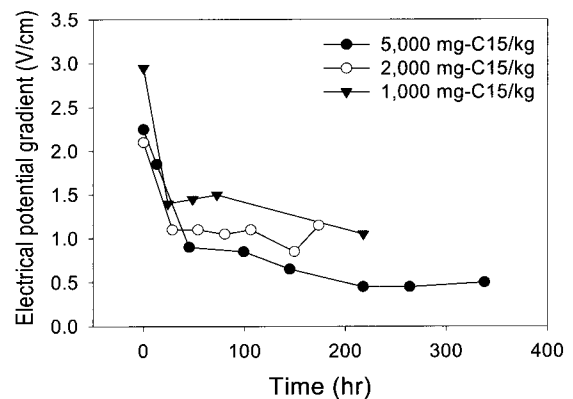
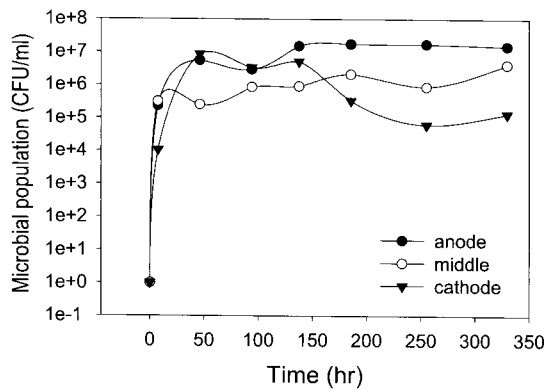


Figure 5. Change of electrical potential gradient during EK bioremediation.

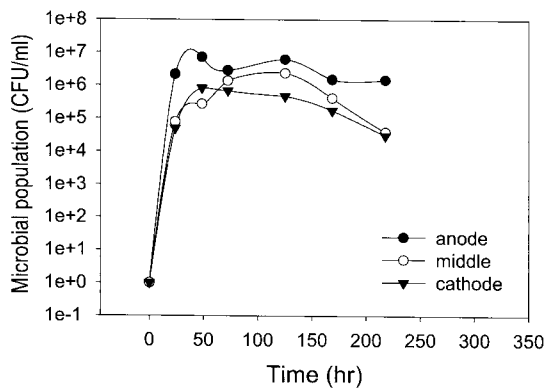
동전기 생물학적복원과 미생물 분포

Fig. 5는 pentadecane-오염토양의 동전기 생물학적복원에서 전압경사의 변화를 보여주고 있다. 이온이 토양내로 전기이동하면서 전압경사가 지속적으로 감소하다가 이온 농도가 정상 상태에 이르러서 감소폭이 매우 작았다. 일반적으로 초기오염물 농도가 높을수록 토양내 이온의 이동을 방해하므로 전압경사는 증가하나 본 실험에서는 반대의 경향으로 나타났다. 그 이유에 대해서는 미생물의 전해질소모 (동화작용), 토양표면 생물막 형성, 토양용액 pH 등이 전압경사에 영향을 미칠 수 있으나 앞으로 자세한 연구가 필요하다.

Fig. 6은 초기 오염농도 5,000과 1,000 mg/kg에 대해 토양 위치에 따른 미생물 농도의 변화를 보여주고 있다. 양극과 미생물 표면 사이에는 전기적 인력이 작용하고 산소가 발생되어 미생물의 생장을 빠르게 유도하므로 CFU가 토양의 양극, 중간, 음극의 높은 순서로 나타났으며 초기 오염농도에 따른 차이점은 거의 없었다(15). 일반적으로 직류 전기장 하에서 미생물의 이동은 전기영동에 의한다고 알려져 있으나 본 연구에서는 토양의 세 위치 모두에서 미생물 농도가 동시에 증가되었는데 이것은 전기영동 뿐 아니라 전기삼투 또한 미생물 이동의 주요 구동력이라는 것을 확인할 수 있었다(13).



(a)



(b)

Figure 6. Change of microbial population with soil location during EK bioremediation of (a) 5,000 and (b) 1,000 mg/kg pentadecane-contaminated soils.

Fig. 7에서 오염물은 토양의 모든 위치에서 골고루 제거되었는데 이것은 전기삼투와 전기영동에 의해 미생물이 양방향으로 이동하여 오염물과 접촉하기 때문이다. 특히 1,000 mg/kg과 같은 낮은 농도에서는 토양 표면에 강하게 결합한 비율이 높아 토양의 위치에 따라 분해 정도에 차이를 잘 나타냈으며 그 결과 2,000 mg/kg 이상의 경우와 달리 처리기간 9일째에 높은 미생물 농도와 산소발생이 유리한 양극에 인접한 토양에서 많이 제거되다가 14일 후에는 모든 위치에서 완전히 제거되는 것을 관찰할 수 있었다.

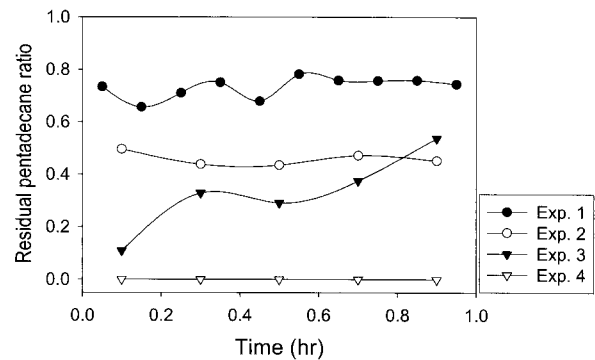


Figure 7. Residual pentadecane ratio after EK bioremediation.

Table 1에서 5,000 mg/kg은 14일 동안 33.3%, 2,000 mg/kg은 7일 동안 96.4%가 제거되었다. 1,000 mg/kg의 경우 9일 동안 67.2%, 14일 후에는 완전히 제거되었다. 한편 비점중 비교실험에서는 2주 동안 단지 320 mg/kg (6.4%)가 제거되었으므로 위의 오염물 제거의 대부분이 미생물 분해임을 알 수 있었다. 공정이 끝난 후 생물반응기내에서는 오염물이 발견되지 않았으므로 전해질의 2차 처리가 불필요하였다.

Boopathy와 Hess는 초기 오염 550 and 1100 mg/kg의 디젤-오염토양을 실험실 규모로 하여 기존의 생물학적복원을 실시한 결과 각각 310, 96일동안 81 (445.5 mg/kg), 31% (341 mg/kg)의 제거율을 보고하였다. 이 결과는 본 연구의 제거속도와 비교하여 매우 느린 것이었다. 결과적으로 본 연구의 동전기 생물학적복원은 기존의 생물학적복원과 비교할 때 비슷한 오염물에 대하여 같은 양을 제거한다면 미생물의 전기적 이동을 이용하여 운전기간을 상당히 줄일 수 있음을 알 수 있었다. 공정기간의 단축은 실제 복원 기술을 적용할 때 비용효율의 측면에서 매우 중요하다(16, 17).

Table 4. Summary of pentadecane removal after EK bioremediation at 0.63 mA/cm²

Experiment number	Removal amount (mg/kg dry soil)	Removal efficiency (%)
1	1665	33.3
2	1928	96.4
3	672	67.2
4	1000	100

요 약

전기장하 토양 내에서 미생물 이동은 주로 전기영동과 전기삼투에 의해 일어나며 미생물의 이동속도와 유속에 대한 전기영동의 공헌도가 전기삼투보다 대체로 높게 나타났다. Pentadecane-오염토양에 대해 동전기 생물학적복원을 실시한 결과 토양내 미생물 농도는 전기영동과 전기삼투가 함께 작용하여 양극과 음극의 인접 토양에서 동시에 증가하였으며 초반 공정이후에는 미생물의 표면전하특성과 양극의 산소발생에 의하여 미생물 농도가 양극, 중간, 음극의 순서로 나타났다. 하지만 미생물의 양방향 이동으로 토양의 모든 위치에서 오염물이 균일하게 제거될 수 있었다. 미생물의 전기적 이동을 이용한 동전기 생물학적복원은 기존의 생물학적복원의 단점인 낮은 분해속도와 낮은 제거효율의 단점을 극복할 수 있었다.

감 사

본 연구는 국가지정연구실사업 (M1-0203-00-0001)의 연구비 지원에 의해 수행되었습니다.

REFERENCES

- Cookson, J. T. (1995), Bioremediation Engineering, McGraw-Hill Inc., USA.
- Mohammed, N. (1996), State-of-the-art review of bioremediation studies, *J. Environ. Sci. Hlth.* **A31**(7), 1547-1574.
- Luo, Q., Zhang, X., Wang, H., and Qian, Y. (2005), The use of non-uniform electrokinetics to enhance in situ bioremediation of phenol-contaminated soil, *J. Hazard. Mater.* **B121**, 187-194.
- Chu, W. and Chan, K. H. (2003), The mechanism of the surfactant-aided soil washing system for hydrophobic and partial hydrophobic organics, *Sci. Total Environ.* **307**, 83-92.
- Yang, J. W., Lee, Y. J., Park J. Y., Kim, S. J., and Lee, J. Y. (2005), Application of APG and Calfax 16L-35 on surfactant-enhanced electrokinetic removal of phenanthrene from kaolinite, *Eng. Geol.* **77**(3-4), 243-251.
- Seneviratne, G. and Jayasinghearachchi, H. S. (2005), A rhizobial biofilm with nitrogenase activity alters nutrient availability in a soil, *Soil Bio. Biochem.* **37**, 1975-1978.
- Rabbi, M. F., Clark, B., Gale, R. J., Ozsü-Acar, E., Pardue, J., and Jackson, J. (2000), In situ TCE bioremediation study electrokinetic cometabolite injection, *Waste Manage.* **20**, 279-286.
- DeFlaun, M. F. and Condee, C. W. (1997), Electrokinetic transport of bacteria, *J. Hazard. Mater.* **55**, 263-277.
- Shapiro A. P. and Probststein, R. F. (1993), Removal of contaminants from saturated clay by electroosmosis, *Environ. Sci. Technol.* **27**(2), 283-291.
- Acar, Y. B. and Alshawabkeh, A. N. (1996), Electrokinetic remediation. 1. Pilot-scale tests with lead spiked kaolinite, *J. Geotec. Eng.*, **122**, 173-185.
- Pamukcu, S., Weeks, A., and Wittle, J. K. (1997), Electrochemical extraction and stabilization of selected inorganic species in porous media, *J. Hazard. Mater.* **55**(1-3), 305-318.
- Acar, Y. B. and Alshawabkeh, A. N. (1993), Principles of electrokinetic remediation, *Environ. Sci. Technol.* **27**(13), 2638-2647.
- Kim, S. J., Park, J. Y., Lee, Y. J., Lee, J. Y., and Yang, J. W. (2005), Application of a new electrolyte circulation method for ex situ electrokinetic bioremediation of a laboratory-prepared pentadecane contaminated kaolinite, *J. Hazard. Mater.* **B118**, 171-176.
- Clarke, R. L., Lageman, R., Pool, W., and Clarke S. R., Electrochemically-aided biodigestion of organic materials, US Patent 5,846,393 (1998).
- Millacheruvu, K. and Alshawabkeh, A. N. (1999), Emerging Technologies in Hazardous Waste Management, Vol. VIII, Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- Boopathy, R. (2004), Anaerobic biodegradation of no. 2 diesel fuel in soil: a soil column study, *Biotechnol. Technol.* **94**(2), 143-151.
- Hess, A., Hohener, P., Hunkeler, D., and Zeyer, J. (1996), Bioremediation of a diesel fuel contaminated aquifer: Simulation studies in laboratory aquifer columns, *J. Contam. Hydrol.* **23**(4), 329-345.