

토양 내 호기성 생물벽체(Biobarrier)의 형성에 의한 투수계수의 제어

배범한^{1*} · 오재일²

¹경원대학교 토목환경공학과, ²중앙대학교 건설환경공학과

Reduction of Hydraulic Conductivity in the Subsurface by the Formation of Aerobic Biobarrier

Bumhan Bae^{1*} · Jeill Oh²

¹Department of Civil & Environmental Engineering, Kyungwon University

²Department of Civil & Environmental Engineering, ChungAng University

ABSTRACT

A series of batch and column experiments were conducted for the development of biobarrier technology which can be applied to containment and reduction of contaminants in soil and ground waters. The growth kinetic constants of *Pseudomonas fluorescens* on glucose or molasses were determined using batch experiments. The maximum specific growth rate (V_{max}) of *P. fluorescens* at 23°C on glucose or molasses were 0.246 hr⁻¹ and 0.073 hr⁻¹, respectively. However, molasses was selected as carbon source due largely to the absence of lag phase of *P. fluorescens* growth on molasses and economic reason. In constant head column experiments, the hydraulic conductivity of the column soil reduced by 6.8×10^{-3} times from 4.1×10^{-2} cm/sec to 2.8×10^{-4} cm/sec after the inoculation of *P. fluorescens* and administration of carbon source and nutrients. The biomass concentration was observed highest in the column inlet. Measurements of carbon source and electron acceptor (dissolved oxygen) concentration showed that the growth of *P. fluorescens*, which is the main reason for hydraulic conductivity reduction, was limited not by the concentration of carbon source but by the concentration of electron acceptor.

Key words : Aerobic biobarrier, Electron acceptor, Hydraulic conductivity, *Pseudomonas fluorescens*

요 약 문

토양 및 지하수의 오염 확산을 방지하면서 오염물을 처리할 수 있는 생물벽체(Biobarrier)에 적용하기 위해 회분식 실험과 칼럼 실험을 실시하였다. 회분식 실험에서는 순수 호기성 미생물 *Pseudomonas fluorescens*의 글루코즈와 당밀에 대한 동역학 상수를 산정하였다. *P. fluorescens*의 최대비성장속도(V_{max})는 글루코즈와 당밀을 사용하였을 때 23°C에서 각각 0.246 hr⁻¹, 0.073 hr⁻¹로 글루코즈의 비성장속도가 빠르지만, *P. fluorescens* 성장 시 당밀에 대한 지체기가 없으며, 경제성을 고려하여 당밀을 칼럼실험의 탄소원으로 사용하였다. 일정수두 칼럼실험에서 *P. fluorescens*를 접종하고 영양원을 주입하면서 칼럼 내 토양의 투수계수 감소를 측정하고 영양원 주입 6일 만에 투수계수는 4.1×10^{-2} cm/sec에서 2.8×10^{-4} cm/sec로 6.8×10^{-3} 배 감소하였고, 미생물량은 유입부에서 최대값을 나타냈다. 그러나 투수계수의 감소를 야기하는 미생물의 성장은 탄소원이 아닌 전자수용체(용존산소)의 농도에 의하여 제한되었다.

주제어 : 호기성 생물벽체, 전자수용체, 투수계수, *Pseudomonas fluorescens*

*Corresponding author : bhbae@kyungwon.ac.kr

원고접수일 : 2006. 6. 29 게재승인일 : 2006. 12. 6

질의 및 토의 : 2007. 6. 30 까지

1. 서 론

생태계의 보전과 인간의 건강 증진을 위해 오염된 토양과 지하수를 처리하는 다양한 토양 및 지하수의 복원공법이 개발되어 왔으나, 오염물질들의 물리화학적 성질 및 생물학적 특성이 각기 다르고 오염물질을 포함하는 토양의 불균일성으로 인하여 매질 내에서의 오염물질의 거동이 매우 복잡하므로, 모든 오염지역의 복원에 효과적이고 신속한 해결공법을 제시하는 것은 매우 어렵다. 현재에도 소규모 오염지역의 치유에 사용되는 굴토 후 매립법은 단순히 오염물을 한 지역에서 다른 지역으로 옮기는 것이며(U S EPA, 1996), 소각은 난분해성 유기물의 처리에 효과적이기는 하지만 비용이 많이 들고, 2차 오염이 발생한다(Manahan, 1996). 생물학적 복원공법은 물리화학적 공법에 비하여 상대적으로 환경친화적이고 경제적이지만, 빠른 시간 내의 복원이 요구되거나 난분해성 혹은 독성 오염물질의 처리와 기온이 낮은 지역에서는 적용하기가 힘든 단점이 있다(Thomas and ward, 1989). 또한 대상 오염물질을 분해하는 미생물의 존재 혹은 성장 여부와 지속적인 전지수용체의 공급이 요구된다.

생물벽체(Biobarrier) 공법은 상기의 단점을 보완할 수 있는 공법으로, 지하수의 흐름 및 오염원에 연직방향으로 설치된 투수성 반응벽체 혹은 불투수성의 차단벽체를 일컫으며, 생물벽체를 투수성으로 구성하여 오염 Plume이 통과하면서 생물학적으로 처리될 경우 투수성 생물반응벽체(Permeable reactive biological barrier), 불투수성으로 구성할 경우 Biobarrier 혹은 Biocontainer로 정의한다. 생물벽체공법은 경제적이며 오염물의 확산차단 및 제거의 동시수행, 특정 미생물 주입으로 다양한 오염물질처리, 유지관리의 용이성 및 건물하부 적용가능성 등의 다양한 장점을 가지고 있다(Griand staff, 1998). 생물벽체는 오염물질의 종류에 따라 탄소원과 전지수용체를 변화시킬 수 있고, 분해미생물의 선택적 배양이 가능하여 유류 및 BTEX 화합물, Phenanthrene, TCE, PCE 및 CCl_4 등의 염소계 유기용매, MTBE와 같은 유기물 이외에도 Cr^{6+} , Acid mine drainage, Selenite 등의 무기물과 같은 다양한 오염물질의 처리가 보고된 바 있다(Thomas and ward, 1989; Yeru shalmi et al., 1999). 이상과 같은 생물벽체의 경제성 및 설치 편이성, 15 m 이하의 심부 설치가능성, 다양한 오염물질 처리 능 등으로 인하여, 오염된 토양 및 지하수의 처리 외에도 오염가능지역의 예방조치 및 오염의 확산차단용으로 적용할 수 있다(Filz et al., 2001). 따라서 지금까지의 처리위주의 토양오염대책에서 사전오염 예

방차원으로 변화할 수 있을 것이다.

생물벽체 내 미생물에 의한 투수계수 감소는 초기에는 유전의 채유를 위하여 물을 주입하는 작업에서 주입정의 발달에 생성된 미생물의 제어를 위해 물을 주입하는 속도를 변화시키는 연구에서 시작되었으나, 역으로 이용하여 투수성이 매우 높은 토양의 투수성을 감소시켜 오염물질 이동을 억제하는 방법으로 사용되기 시작하였다(James et al., 1997). 생물벽체에 의한 투수성감소의 주요소는 점액성(Mucoid) 미생물의 증식과 이에 따른 Exopolysaccharide(EPS) 생산 및 분비이며, EPS는 Mannose, Glucose 및 Galactose 등의 탄수화물이 주성분으로 부착 표면의 물성, 생성미생물에 따라 다소 변화한다(Beech et al., 1991). EPS는 증식된 미생물의 탈리 방지, 유·무기물의 여과 및 축적 등의 기작에 의하여 공극을 메우고(James et al., 1997). 그 결과 토양의 투수계수가 현저히 감소한다.

특히, 생물벽체는 주입된 기질, 전지수용체, 접종된 미생물종 및 미생물군의 구성에 따라 안정성이 변화하므로(Komlos et al., 1998), 투수계수의 감소를 정확히 평가하고 부수적인 오염물질의 저감효과를 확인하기 위해서는 단일 미생물로 생성된 생물막의 발달에 의한 투수계수의 감소 및 지속적 유지 실험이 필요하다. 이에 본 연구에서는 단일 미생물을 이용하여 기초적 생물학적 동역학 상수를 산정하고 탄소원을 선택한 후, 이를 비탕으로 실험실 규모의 수두변화 측정이 가능한 칼럼 반응조에 적용하여 단일미생물에 의한 생물막의 초기생성 시 기질과 전지수용체 주입에 따른 투수계수의 감소와 미생물량 및 기질의 소모율 변화를 관측하였다.

2. 실험장치 및 실험방법

토양 내 미생물막의 성장에 의한 투수계수 감소 및 미생물량의 측정을 수행하기 위해 칼럼 반응조를 고안하였다. 칼럼 실험 장치를 운영하는 방법은 크게 직렬과 병렬 연결로 구분할 수 있는데, 본 연구에서는 필요에 따라 직렬 혹은 병렬로 조립하여 칼럼 본체의 큰 변경 없이 쉽게 두 가지 방식으로 실험을 수행할 수 있도록 Unit 칼럼을 고안하여 사용하였다.

2.1. 칼럼 실험 장치

실험에 사용한 아크릴 Unit 칼럼은 Fig. 1과 같이 높이 240 mm, 내경 100 mm이며, 측면에 양단으로부터 40 mm, 내부 간격 80 mm가 되는 3곳의 위치에 원둘레를

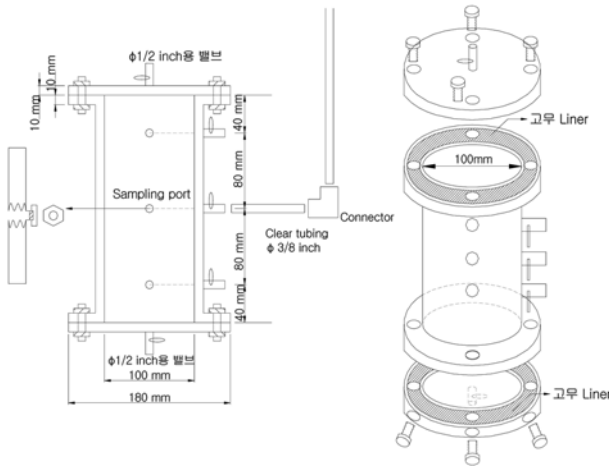


Fig. 1. Detailed schematics of unit column reactor.

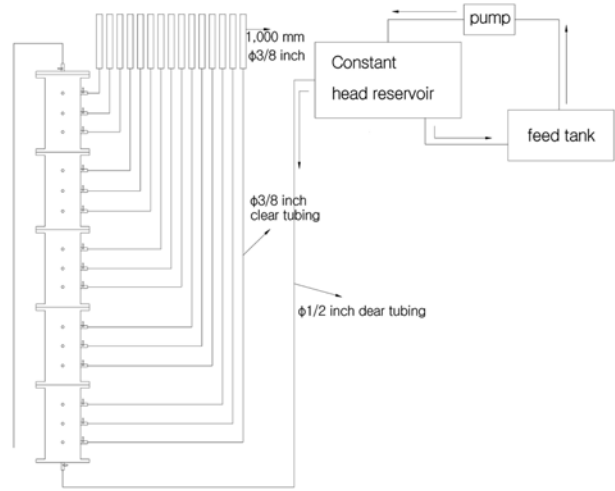


Fig. 3. Detailed schematics of constant flow column reactor.

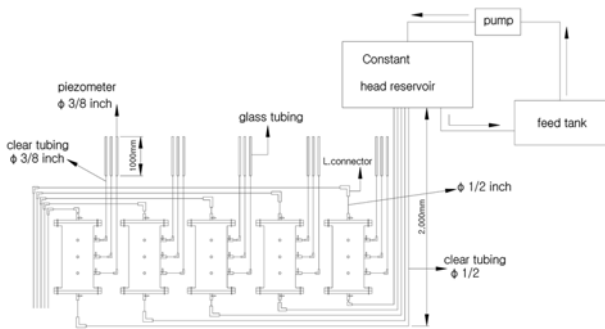


Fig. 2. Detailed schematics of constant head column reactor.

따라 90도 간격으로 내경 3/8' 원형 Hole 4개를 설치하였다. 이 원형 Hole은 시료채취, Probe 혹은 Piezometer에 연결하여 수압을 측정할 수 있도록 3방향 밸브를 설치하였고, Unit 칼럼의 양단 덮개와 본체의 연결 부위에는 수압에 의한 유출을 방지하기 위해서 고무 라이너를 설치하고 플랜지 접합으로 연결하였다.

미생물을 접종하지 않고 모래로만 채운 칼럼에서의 투수계수는 Fig. 2와 같이 병렬로 연결하여 짧은 시간 내 많은 실험을 수행하였고, 미생물 막에 의한 투수계수 감소를 측정할 일정수두 실험(2.0 m)은 Fig. 3과 같이 Unit 칼럼을 직렬로 배치하여 실험하였다. 부수장치로 칼럼내로 기질과 영양액을 유입시키는 Constant head reservoir와 이 Reservoir에 물을 공급하기 위한 펌프 장치, 마지막으로 영양액을 저장하는 Feed tank는 별도로 구성하였다. Constant head reservoir내에는 높이 150 mm의 월류벽을 설치하여 여분의 영양액이 월류하여 다시 Feed tank로 유해되어 일정한 수두를 유지한다. 또한 미생물의 오염 및 미생물 증식을 방지하기 위하여 Air filter(Whatman社 polycap 36 TF, pore size 0.2 μm)를

Table 1. Composition of nutrients for the growth of *Pseudomonas fluorescens*

Nutrient	Concentration (g/L)
K ₂ HPO ₄	1.23
KH ₂ PO ₄	0.40
NaCl	1.00
NaNO ₃	3.00
NH ₄ NO ₃	2.00
Yeast extract	0.05
Carbon source (glucose or molasses)	10.0

설치하였다. 동일한 Air filter를 20L Feed tank(Nalgene Co.)에 설치하고 오염이 있더라도 미생물의 성장을 최소화하기 위하여 Feed tank는 냉장고 내부에 설치하였다. 그리고 실험시작 전에 오염을 방지하기 위하여 모든 실험장치를 80% 에탄올로 살균 혹은 Autoclave 멸균을 하여 사용하였다. 일정수두 실험에서는 각 칼럼 수두변화는 칼럼반응조의 측면에 연결된 Piezometer로 측정하였다.

2.2. 회분식 실험

본 연구에서 선정한 미생물은 유류분해능이 있다고 보고된 호기성미생물 *Pseudomonas fluorescens*이며, 이는 생물막 형성이외에도 부가적인 오염물질 분해효과를 확인하기 위한 것이다(Komlos et al., 1998). *P. fluorescens*는 한국미생물보존센터(KCCM)에서 분양받은 동결·건조된 균주를 생리식염수(0.8% NaCl)로 재생시킨 후, Table 1의 조성을 갖는 평판배지에 접종하여 25°C 저온배양기에서 배양하였다. 평판배지에서 120시간 동안 배양된 *P. fluorescens*에 오염이 없음을 확인한 후 다른 평판배지로

움겼으며, 실험기간동안 매주 계대 배양하였다.

회분식 실험은 칼럼 실험에 필요한 미생물의 동역학상수 측정을 위해 실시하였다. 250 mL 삼각플라스크에 2종의 탄소원(글루코즈와 당밀)의 농도를 각각 0.5, 1, 2, 5, 10 g/L로 변화하였고, 영양액 조성(Table 1)도 동일한 비율로 희석하였다. *P. fluorescence*를 접종한 반응조는 상온($23 \pm 2^\circ\text{C}$)에서 Shaker table(150 rpm)로 교반하면서, 2시간 간격으로 Optical density(OD)의 변화를 600 nm에서 측정하였다. 그러나 당밀 반응조에서 OD를 측정할 때, 당밀에 의해 간섭이 되어 당밀 반응조에서는 VSS(Volatile suspended solids) 농도를 직접 측정하였다. VSS의 측정은 Gelman社의 Glass fiber filter(pore size $0.45 \mu\text{m}$)로 시료를 여과한 후, Standard Methods 2540 D(APHA-AwwA-WPCF, 1995)에 의해 측정하였다. 오염 방지를 위하여 실험 장치는 모두 Autoclave로 멸균한 뒤 사용하였으며, *P. fluorescence*의 접종은 Clean bench에서 실시하고, 접종 후 통기가 가능한 멸균 Plug를 장착하여 오염을 방지하였다.

2.3. 칼럼 실험 방법

미생물막 발달에 의한 통한 투수계수의 변화, 기질의 소모 및 미생물량의 변화는 일정수위 투수 시험으로 측정하였다. 투수계수의 단기변화측정을 위해 탈이온수로 깨끗이 씻은 일반 모래를 체(눈목 0.42 mm)로 거른 후, 체에 잔류한 모래 시료와 통과한 모래의 비를 다양한 비율로 혼합하여 칼럼에 충전하였다. 2개의 Column을 직렬로 연결한 칼럼반응조(높이 480 mm)의 최하단부에 미생물 접종액 30 mL을 주입한 후 미생물의 Washout을 방지하기 위하여 24시간 동안 지체기를 둔 후 통수하였다. 이때 시간의 경과에 따른 투수계수의 변화를 관측함과 동시에 유입수와 유출수 시료를 채취하여 DO, pH, 온도 및 CODcr을 측정하였다. 실험 5일 후, Column을 해체하고 각 Sample port위치에서 토양시료 10~15 g을 채취하여 VSS(Volatile Suspended Solids)를 측정하였다. 칼럼실험에 사용된 영양액은 Table 1 농도의 1/10배로 기질(당밀 1 g/L)을 별도로 첨가하고 저장소에 넣기 전 Filter($0.2 \mu\text{m}$)로 멸균하였다. 칼럼의 양단(유입구 및 유출구)에서 시료를 채취하여 CODcr, pH 및 DO를 측정하였으며, 칼럼 실험기간 동안에는 칼럼 외부에 열선을 감아 온도를 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 로 유지하였다. DO와 온도는 DO meter(YSI社 model 5100)를, pH는 pH meter(ORION社 model 550)로, CODcr은 Standard Methods의 Closed reflux-colorimetric method로 측정하였다.

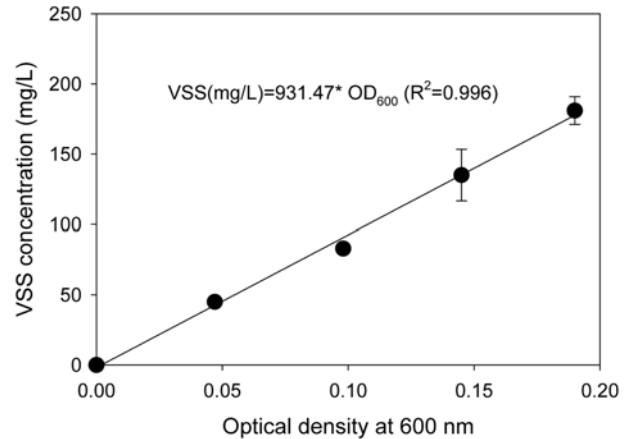


Fig. 4. Linear relationship between volatile suspended solid concentration and optical density at 600 nm.

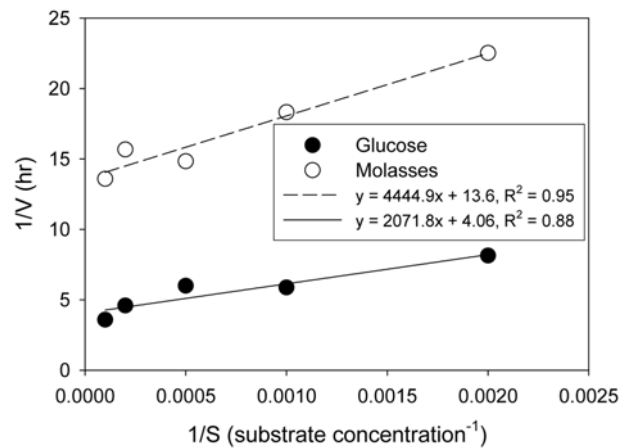


Fig. 5. Lineweaver-Burk double-reciprocal plot of *P. fluorescence* in glucose or molasses medium.

3. 실험 결과 및 분석

3.1. *Pseudomonas fluorescence*의 동역학 상수 측정

회분식 반응조에 접종한 *P. fluorescens*의 성장은 기질의 종류에 따라 상이하게 나타났다. 글루코즈를 탄소원으로 하는 영양액에 접종한 경우, 초기 약 10~18시간의 지체기를 거친 후 대수성장기를 나타냈고 기질의 농도가 낮을수록 지체기도 증가하였다. 반면에 당밀을 탄소원으로 하는 영양액에 접종한 경우에는 고농도(5~10 g/L)에서는 지체기가 없이 곧바로 대수성장기를 보였고, 저농도에서도 지체기가 10시간 이내로 매우 짧은 것으로 관측되었다. 상기에서 기술한 바와 같이 Glucose 주입 반응조에서는 Fig. 4에서와 같이 OD_{600} 값과 VSS가 선형관계를 보였으므로, OD_{600} 을 측정하여 대수성장기에서의 기질의 농도(S)

Table 2. Kinetic constants (V_{max} and K_s) of *P. fluorescence* determined under different carbon source

	V_{max} (hr^{-1})	K_s (mg/L)
Glucose	0.246	509.9
Molasses	0.073	326.6

에 따른 미생물 성장속도(V)를 관측하고, Monod식(Eqn. 1)의 제 변수를 Fig. 5에서와 같이 Lineweaver-Burk식(Eqn. 2)으로 산정하였다.

$$V = \frac{V_{max} \cdot S}{(K_s + S)} \quad (1)$$

$$\frac{1}{V} = \frac{K_s}{V_{max}} \cdot \frac{1}{S} + \frac{1}{V_{max}} \quad (2)$$

여기서, V_{max} = 최대 비성장율 (hr^{-1})

V = 성장률 (hr^{-1})

K_s = 반속도상수로 최대성장율이 1/2일 때의 기질의 농도 (mg/L)

S = 성장제한 기질의 농도 (mg/L)

그 결과, 글루코즈와 당밀반응조의 상관계수가 0.95 및 0.88로 비교적 높은 선형관계를 보였으며, 산정된 미생물 동역학 상수는 Table 2에서와 같이 글루코즈의 경우 V_{max} 0.246, K_s 509.9이며, 당밀의 경우 V_{max} 0.073, K_s 326.6로 각각 산정되었다.

실험결과에 따르면 글루코즈가 당밀에 비해 최대비성장속도는 3.4배로 높았으나, 당밀은 반속도상수가 작아 미생물의 기질친화력이 크고, 미생물 접촉시 지체기가 짧거나 거의 없었다. 더불어, 당밀에 탄소원이 풍부하여 오염물질의 분해시 에너지원으로 적절하며, 유류 및 염소계 유기용매의 탈염소반응시 충분한 탄소를 제공하며 글루코즈에 비하여 저렴하므로(Kao et al., 2003; Komlos et al., 1998) 현장 적용시에 이점으로 작용할 것으로 판단되어 당밀을 생물벽체 실험시의 탄소원으로 선정하였다. 칼럼 실험시 주입할 당밀의 농도는 K_s 값 326.6 mg/L의 2배 이상에 해당하는 1.0 g/L로 선정하였으며, 이 농도에서는 주입 탄소원의 농도를 최소화하면서 *P. fluorescence*의 당밀에 대한 최대비성장율 0.073 hr^{-1} 에 근접하고 있다.

3.2. 일정수두 칼럼실험

일정 수위 투수시험 시작 전, 40번체(눈목 0.42 mm)를 통과시킨 모래와 40체에 잔류한 모래의 비율을 변화하면서 칼럼에 충전하고 미생물을 접종하지 않은 채로 공시험

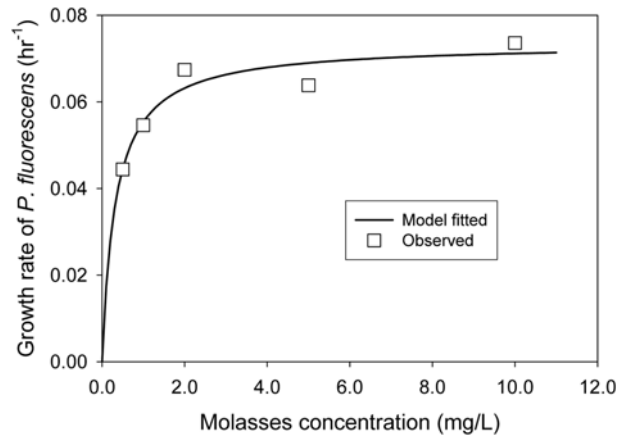


Fig. 6. Observed and Monod model fitted growth rate of *P. fluorescence* in molasses.

Table 3. Initial values of hydraulic conductivity in the constant head column under different packing conditions

잔류량 : 통과량 무게비 (No. 40번체)	투수계수 (cm/sec)		
	No.1	No.2	Average
1 : 0	0.051	0.049	0.0500 ± 0.0010
1 : 0.5	0.043	0.039	0.0410 ± 0.0020
1 : 1	0.020	0.019	0.0195 ± 0.0005

을 실시하였다. 그리고 각각의 경우에 대한 투수계수 K (cm/sec)를 Eqn. 3의 Darcy 법칙에 대입하여 산출하였다.

$$K = \frac{Q \cdot L}{A \cdot t \cdot \Delta h} \quad (3)$$

여기서, Q = 일정시간동안의 유출수량

L = column 길이

A = column 단면적

h = 수두차

t = 시간

Table 3에서와 같이 40번체를 통과한 작은 모래의 양이 증가할수록 공시험에서의 투수계수는 감소하였으며, 투수계수의 변화값을 고려하여 본 실험에서는 충전한 모래의 40번체 잔류량 : 통과량의 비를 1 : 0.5(투수계수 0.041 cm/sec)로 결정하였다.

반응조(480 mm)에 모래를 충전하고 *P. fluorescence*를 접종하고 24시간동안 지체기를 둔 후 영양액을 통수하며 투수계수의 일변화를 관찰한 결과는 다음의 Fig. 7과 같다. 영양액을 주입한 초기부터 약 3일간 투수계수는 4.1×10^{-2} cm/sec에서 8.0×10^{-3} cm/sec로 1.9×10^{-1} 배

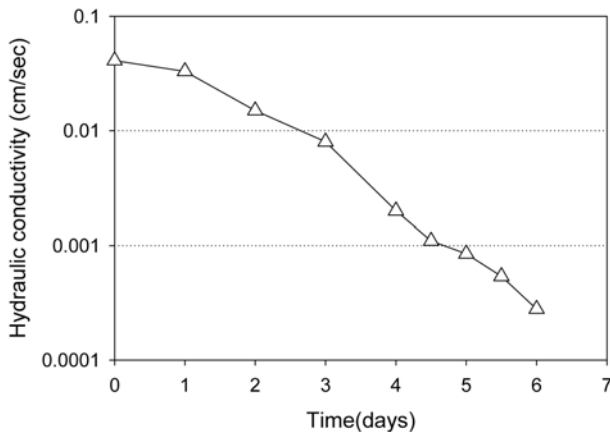


Fig. 7. Temporal hydraulic conductivity changes in the constant head column reactor.

Table 4. Spatial distribution of biomass measured as volatile suspended solids in the column reactor

Sampling port No.	VSS(g/kg)
No. 1	3.143 ± 0.63
No. 2	2.621 ± 0.59
No. 3	2.782 ± 0.63
No. 4	2.454 ± 0.60
No. 5	1.597 ± 0.68
No. 6	2.155 ± 0.44

감소하였다. 그 후에 투수계수의 감소속도가 점차 느려져서 통수 6일 후에는 투수계수가 2.8×10^{-4} cm/sec로 초기 투수계수 값에 비해 6.8×10^{-3} 배 감소하였지만, 이 때부터는 2 m의 수두로는 더 이상 영양액과 기질을 주입할 수 없었다. 이와 같이 투수계수가 초기에는 급격히 감소하다가 완만한 형태로 변화하는 것은 *Azotobacter* 혹은 탈질 미생물을 이용한 생물벽체 생성 실험에서도 보고된 바 있다(김건하 등, 2000; 최영화, 2003).

Table 4는 실험 종료 후 Column을 해체하면서 각 Sampling port (Sampling port의 번호는 최하단부 No.1, 최상단부 No. 6) 위치의 시료를 채취하여 VSS를 측정된 결과이다. 이 결과에서는 기존에 보고된 바와 같이 기질과 전자수용체(산소)가 고농도로 존재하는 유입되는 유입부 인근 (1번 위치)에서의 미생물량이 3.143 mg/Kg-soil로 가장 높고, 상부로 이동할수록 미생물량이 감소하는 것을 보여주고 있다. 그 이유는 초기에 주입된 기질 및 전자수용체에 의하여 주입정 인근부터 미생물이 성장하고, 성장과정에서 미생물이 배출하는 EPS가 공극을 매움으로써 투수계수의 감소가 발생하지만, 생물벽체 내부로의 기질이동을 감소시켜 벽체내부에서의 미생물 증식을 제한하

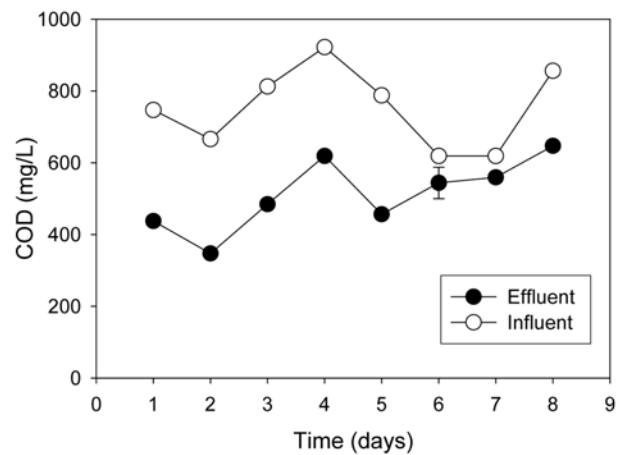


Fig. 8. Temporal COD_{Cr} concentration change in the column reactor.

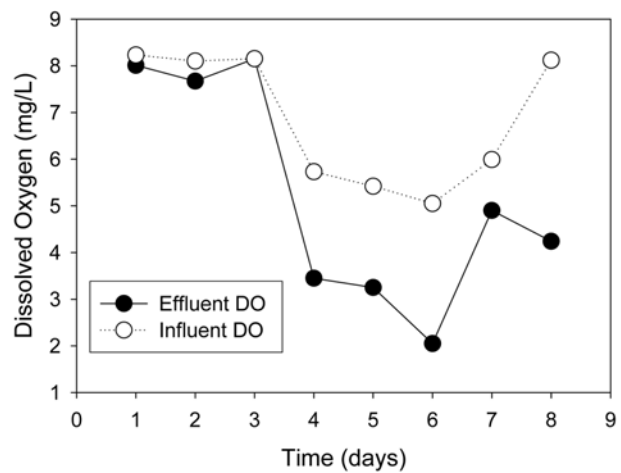


Fig. 9. Temporal DO concentration in the column reactor.

는 요인이 되는 것으로 보고되고 있다(Kim et al., 2006; Komlos et al., 1998). 그러나 컬럼반응조의 최상단부근에도 2.1 g/Kg-soil의 많은 양의 미생물이 존재하는 것은 호기성 조건에서 생성되는 Biobarrier의 두께가 매우 두터운 것을 반증하는 것으로 판단된다.

컬럼반응조 유입수 및 유출수의 기질(COD_{Cr})과 DO 농도를 측정된 결과에 의하면(Fig. 8, Fig. 9) 기질은 반응조 유출수에서 여전히 높은 농도를 보이고 있으나 투수계수의 감소가 0.001 cm/sec 이하로 감소되는 4일째부터는 전자수용체인 산소의 농도가 크게 낮아지는 것을 알 수 있다. 미생물 EPS는 표면전하, 친유성과 같은 물리화학적 특성에 영향을 주어 부착성을 조절하지만, EPS 생산은 환경여건, 기질의 양과 종류, 성장률 및 성장단계 등의 많은 변수에 영향을 받는다. 진균류인 *Ganoderma applanatum*의 경우에는 중온에서 기질의 농도가 높을수록, 배양기간

이 짧을수록 EPS 생산이 증가하였다(Lee et al., 2007). Sheng and Yue (2006) 등에 의하면, *Rhodopseudomonas acidophila*는 C/N비가 낮을수록, 탄소원의 종류에 따라 benzoate > acetate > butylate > propionate > succinate 순으로 EPS 생산량은 증가지만, benzoate를 사용한 경우에는 성장률이 가장 낮은 것으로 나타났다(Sheng et al., 2006). Weiner et al.(1995)은 EPS를 미생물이 주변환경에서 받는 스트레스에 대한 방어장벽으로 표현하였다(Weiner et al., 1995). 따라서 본 연구에서 탄소원과 질소원이 충분한 상태에서 산소부족이 환경스트레스로 작용하고 EPS 생산을 유도할 수도 있으나, 그 결과인 투수계수의 급격한 감소가 발생하지는 않았다. 그러므로 투수계수의 감소는 미생물 증식이 더욱 중요한 요인이 되며, 반응벽체 내 미생물의 증식은 산소 농도에 제한된 것으로 추정된다. 따라서 지속적인 미생물 성장과 두터운 반응벽체의 발달을 유도하기 위해서는 산소보다 공급이 용이한 질산성 질소를 전자수용체로 사용하거나(최영화, 2003), 생물벽체 설치 시 기질과 함께 MgO와 같은 Oxygen releasing compounds(ORCs)를 충분히 매설하는 방법을 고려할 수 있다(Komlos et al., 1998).

4. 결 론

호기성 조건하에서 순수미생물에 의한 생물벽체의 형성 조건을 파악하기 위하여, 순수미생물 *Pseudomonas fluorescens*를 분양받아 두 가지 탄소원(글루코스와 당밀)에 대한 동역학 상수를 산정하고, 동역학 상수 값에 따라 칼럼반응조 유입수의 기질농도를 결정한 후, 칼럼실험을 실시하였다. 실험 결과에 의하면 호기성 조건하에서의 투수계수 감소속도는 초기 3일간 급격하였으나, 3일 이후부터는 완만하게 변화하였다. 기질 농도와 전자수용체 농도를 측정하여 그 원인을 살펴본 결과, 기질의 농도보다는 전자수용체의 농도가 미생물 성장의 제한 조건이 되는 것으로 판단하였다. 그러나 6일 만에 투수계수가 다른 조건에 비하여 매우 빨리 일어났으나, 6.8×10^{-3} 배 감소하여 문헌상에 보고된 탈질조건에서의 투수계수 감소보다는 빠른 것으로 나타났다. 그러므로 생물벽체를 오염물질의 확산 방지용으로 사용하기 위해서는 통기성 생물막 형성 미생물을 이용하여 초기에는 투수계수의 신속한 감소를 위하여 호기성 조건으로 운영하다가 생물막이 형성된 다음에는 질산성 질소를 전자수용체로 사용하는 2단 생물벽체가 필요할 것으로 판단된다. 이에 상기의 두 조건에 대한 생물벽체 형성 및 투수계수 감소 실험을 수행하고 있다.

참 고 문 헌

- 김건하, 송영우, 구동영, 2000, 미생물 토양 주입을 통한 Biobarrier 형성, 대한환경공학회 논문집, **22**, 927-938.
- 최영화, 오재일, 배범한, 이태호, 류희욱, 2003, 탈질환경에서 투과매질 내 생물벽체 형성, 대한환경공학회논문집, **25**, 616-623.
- APHA-AWWA-WPCF, 1995, Standard Methods, 19th Edition, American Public Health Association.
- Beech, I.B., Gaylarde, C.C., Smith, J.J., and Geesey, G.G., 1991, Extracellular polysaccharides from *Desulfovibrio desulfuricans* and *Pseudomonas fluorescens* in the presence of mild and stainless steel, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **35**, 65-71.
- Filz, G.M., M.A. Widdowson, and Little, J.C., 2001, Barrier-controlled monitored natural attenuation, *Environ. Sci. Technol.*, **35**, 3225-3230.
- Grindstaff, Megan, 1998, Bioremediation of Chlorinated Solvent Contaminated Groundwater, U.S. EPA.
- James, G.A., Warwood, B.K., Cunningham, A.B., Sturman, P.J., Hiebert, R., 1997, Evaluation of subsurface biobarrier formation and persistence, *Proceedings of the 10th Annual Conference on Hazardous Waste Research*, Manhattan, USA.
- Kao, C.M., Chen, Y.L., Chen, S.C., Yeh, T.Y., and Wu, S.C., 2003, Enhanced PCE dechlorination by biobarrier systems under different redox conditions, *Wat. Res.*, **37**, 4885-4894.
- Kim, G., Lee, S., and Kim, Y., 2006, Subsurface biobarrier formation by microorganism injection for contaminant plume control, *J. Bioscience and Bioeng.*, **101**, 142-148.
- Komlos, J., Cunningham, A.B., Warwood, B.B., and James, G., 1998, Biofilm biobarrier formation and persistence in variable saturated zones, *Proceedings of the 1998 Conference on Hazardous Waste Research*, Manhattan, USA, 200-208.
- Lee, W.Y., Park, Y., Ahn, J.K., Ka, K.H., and Park, S.Y., 2007, Factors influencing the production of endopolysaccharide and exopolysaccharide from *Ganoderma applanatum*, *Enzyme and Microbial Technology*, **40**, 249-254.
- Manahan, S.E., 1990, Hazardous Waste Chemistry, Toxicology and Treatment, Lewis Publisher, Chelsea, Michigan, USA.
- Sheng, G.P., Yu, H.Q., and Yue, Z., 2006, Factors influencing the production of extracellular polymeric substances by *Rhodopseudomonas acidophila*, *International Biodeterioration & Biodegradation*, **58**, 89-93.
- Thomas, J.M. and Ward, C.H., 1989, In situ bioremediation of organic contaminants in the subsurface, *Environ. Sci. Technol.*, **23**, 760-768.
- U. S. EPA, 1995, How to Evaluate Alternative Cleanup Technologies for Underground Storage Tank Sites, EPA 510/B/95/007.

Weiner, R., Langille, S., and Quintero, E., 1995, Structure, function and immunochemistry of bacterial exopolysaccharides, *J. Ind. Microbiol.*, **15**, 339-346.

Yerushalmi, L., Manuel, M.F., and Guiot, S.R., 1999, Biodegradation of gasoline and BTEX in a microaerophilic biobarrier, *Biodegradation*, **10**, 341-352.