

《原著》

## 생물학적 칼슘화에 의해 생성된 CaCO<sub>3</sub> 광물의 정량분석 방법 비교 평가

안창민<sup>1</sup> · 배영신<sup>2</sup> · 함종현<sup>2</sup> · 천승규<sup>2</sup> · 김창균<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>인하대학교 환경공학과

<sup>2</sup>수도권매립지관리공사 녹색기술연구센터

## Comparative Assessment of Quantitative Methods determining the Amount of Calcium Carbonate Minerals derived from Biocalcification

Chang-Min Ahn<sup>1</sup> · Young-Shin Bae<sup>2</sup> · Jong-Heon Ham<sup>2</sup> · Seung-Kyu Cheon<sup>2</sup> · Chang-Gyun Kim<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Environmental Engineering, Inha University

<sup>2</sup>SUDOKWON Landfill Site management corporation

### ABSTRACT

This study was performed to develop a method for quantitative analysis obtaining the amount of calcium carbonate minerals formed when Ca salts biomimetically reacted with carbon dioxide. There were two methods compared; 1) volumetric calcimeter method that determining the amount of released carbon dioxide after calcium carbonate minerals were acidified by 4N HCl and 2) Thermogravimetry-Differential Thermal Analysis (TG-DTA) adopting differential decomposition temperature breaking-up the structural link within calcium carbonate minerals. The comparisons were made by batch experiment (i.e., biocalcification process) along with control (i.e., nominal concentration of CaCO<sub>3</sub> prepared). For the control, TG-DTA took a minor root mean square deviation (RMSD) of 1.1~5.9 mg, whereas volumetric calcimeter exposed a greater RMSD of 28.3 mg. For the biocalcification, the amount of CaCO<sub>3</sub> was more precisely obtained for TG-DTA rather than that of volumetric calcimeter. It was decided that TG-DTA was more successfully used for quantitative analysis to observe the amount of calcium carbonate minerals derived from biocalcification.

**Key words :** Biocalcification, Carbonate minerals, Volumetric calcimeter, TG-DTA, CCS (Carbon Capture & Sequestration)

### 1. 서 론

탄산염광물의 생성은 자연계에서 탄소순환 과정 중에 여러 경로를 통해 생성된다. 그 중 물리화학적 반응에 의해 생성되는 탄산염화광물(carbonate mineralization)과 생물학적 광물화(biomineralization)는 공통적으로 대기 중 이산화탄소를 탄산염으로 전환할 때 크게 기여하는 것으로 알려져 있다(Dupraz et al., 2008). 특히 생광물화는 미생물의 신진대사 과정 중에 미생물의 활성효소와 미생물 대사산물간의 작용에 의해 2가 이온(Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>)과 탄산이온(CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>)이 결합하여 탄산염광물(carbonate minerals)을 생성하는 기작을 통칭한다(Dupraz et al., 2008;

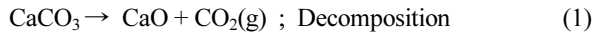
Hammes and Verstraete, 2002; Stocks-Fischer et al., 1999).

특히 이러한 탄산염광물은 자연계에 여러 가지 형태로 존재하는데, 이것을 분석하는데 X선회절분석법(X-Ray Diffraction), 주사전자현미경(Scanning Electron Microscopy), 적외선분광광도계(Fourier Transform Infrared Spectroscopy) 등의 기기분석법이 많이 이용되고 있다(Peters et al., 2000). 그러나 이러한 방법들은 시료의 정성적인(qualitative) 분석에 국한되어 있어, 실제 시료 내 존재하는 탄산염광물의 정량적인(quantitative) 분석에는 한계를 드러내고 있다. 이러한 분석적인 한계를 극복하기 위해 여러 가지 정량적 방법들이 고안되었다(Lamas et al., 2005). 그 중에

\*Corresponding author : cgk@inha.ac.kr

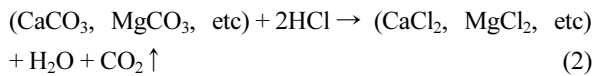
원고접수일 : 2013. 2. 6 심사일 : 2013. 8. 20 게재승인일 : 2013. 9. 4  
질의 및 토의 : 2013. 12. 31 까지

서 열중량분석법(TG-DTA)은 시료 주변 환경을 통제된 상태에서 온도를 일정비율로 변화시켜 시료 내 특정 물질의 분해(decomposition)에 의한 질량 변화를 감지하여 그 물질의 농도를 역으로 산출하는 분석방법이다(Morgan, 1977). 예를 들면, 탄산칼슘( $\text{CaCO}_3$ )의 열분해 원리는 식 (1)과 같다.



일반적으로  $\text{CaCO}_3$ 는  $600^\circ\text{C}$  부근에서  $\text{CaO}$ 와  $\text{CO}_2$ 로 해리되는 것으로 알려져 있다. 따라서 열중량분석법 (TG-DTA)을 이용하게 되면 시료의 질량변화를 역산하여 탄산염광물(carbonate minerals, ex.  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{MgCO}_3$  등)의 정량적 측정이 가능하다.

탄산염광물의 정량을 위한 방법 중 시료에 염산을 가한 후 탄산염으로부터 해리 되는  $\text{CO}_2$ 의 양을 측정하여 역으로 탄산염을 정량하는 Volumetric calcimeter법도 있다 (Sparks et al., 1996). 이 분석법의 원리는 탄산염이 산과 반응해서  $\text{CO}_2$ 로 해리되는 것에 착안하여 고안된 방법이다. 이와 같은 기본 원리에 의한 반응으로부터  $\text{CO}_2$ 는 식 (2)와 같이 생성된다.



즉 1 mol의 탄산염광물이 2 mol의 염산과 반응하여 1 mol의  $\text{CO}_2$ 를 생성하는 데, 이 때 발생한  $\text{CO}_2$ 의 농도를 직접 측정함으로써 실제 시료 내 존재하는 탄산염광물의 양을 정량적으로 산출할 수 있다.

따라서 본 연구에서는 앞서 언급한 생칼슘화에 의해 생성된  $\text{CaCO}_3$  광물을 대상으로 생칼슘화에 의해 소모된  $\text{CO}_2$ 의 농도를 산정하여 역으로  $\text{CaCO}_3$ 의 농도를 정확하게 정량하기 위한 방법을 도출하고자 하였다. 이를 위하여 2 종류의 정량적 분석법(TG-DTA, Volumetric calcimeter)을 비교 평가 하였다.

## 2. 실험 방법

### 2.1. 균주 및 배양 조건

#### 2.1.1. *Bacillus pasteurii*(ATCC® 6453<sup>TM</sup>) 배양 방법

생칼슘화 관련 미생물인 *Bacillus pasteurii*(ATCC® 6453<sup>TM</sup>)를 미국 ATCC(American Type Culture Collection) 사로부터 구매하였다. 균주 구매 시 제공된 절차에 따라  $\text{NH}_4\text{-YE}$  medium을 조제하여 280 mL serum bottle (Wheaton)에 주입 후 균주를 접종하고 200 rpm으로 회전

**Table 1.** Chemical composition and concentration of  $\text{NH}_4\text{-YE}$  medium for the incubation of *Bacillus pasteurii*

Composition	
Components	Conc. (g/L)
Yeast extract	20.0
$(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$	10.0
Tris buffer (pH 9.0)	15.7
Agar (if needed)	20.0

교반하는 shaking incubator(Vision, VS-8480)에 넣어  $30^\circ\text{C}$ 에서 배양하였다. 이 때 배양액의 부피는 100 mL로 하였고 배지의 조성은 Table 1에 나타내었다. 한편, 배양 용기 내 호기성 조건을 유지하기 위하여 인공 Air 가스( $\text{O}_2$  21% +  $\text{N}_2$  79%, v/v%)를 1.5 L/min의 유량으로 1분간 주입하였다. 이와 같이 배양된 균주를 생칼슘화 실험에 이용하였다.

### 2.2. 실험 구성 및 조건

우선 각 분석방법별로 각각 검량선을 작성하였다. 검량선 작성을 위하여  $\text{CaCO}_3$  10, 50, 100, 250, 500 mg의 농도에 대하여 분석을 수행하였고,  $R^2$  값은 열중량분석법이 0.997, Volumetric calcimeter법이 0.989로 계산되었다. 열중량분석법과 Volumetric calcimeter법으로 비교 정량 분석을 위해 첫 번째는  $\text{CaCO}_3$  500 mg을 대상으로 각각 분석하여 그 측정오차를 결정하였고, 두 번째는  $\text{CaCO}_3$  250 mg과  $\text{SiO}_2$  250 mg을 혼합하여 그 총량이 500 mg이 되도록 한 후  $\text{CaCO}_3$ 를 분석하여 그 오차를 비교분석하였다.

또한 생칼슘화를 통해 생성된  $\text{CaCO}_3$ 를 두 분석방법을 통해 비교 분석하기 위해 *Bacillus pasteurii*를 이용하여 bottle 실험규모의 생칼슘화 실험을 진행하였다. 이 때 사용된 serum bottle(Wheaton)은 Fig. 1과 같이 준비하였다. 열중량분석법(TG-DTA)과 Volumetric calcimeter 법간의 비교 정량 시험의 검량선 작성을 위하여  $\text{CaCO}_3$ (purity > 98.5%, Duchefa, Germany)와  $\text{SiO}_2$ (Silicon dioxide, 99%, Sigma-aldrich®)를 적정 농도로 제조하여 사용하였다.

생칼슘화 실험은 280 mL 용량의 serum bottle에 NB-NaCl 배지 100 mL를 가하고 요소(urea, 20 g/L)와  $\text{CaCl}_2$  25 mM을 넣고 미생물 성장에 필요한 산소를 공급하기 위하여 인공 Air gas( $\text{O}_2$  21% +  $\text{N}_2$  79%, v/v%)를 1.5 L/min의 유량으로 1분간 주입하였다. 그 후 *Bacillus pasteurii*( $\text{OD}_{600}$ , 0.8)와 4 mmol(v/v)의  $\text{CO}_2$ (99.9%)를 주입한 후 shaking incubator에 넣어  $30^\circ\text{C}$ , 200 rpm을 유지하면서 72시간 동안 배양하였다. NB-NaCl 배지의 조성

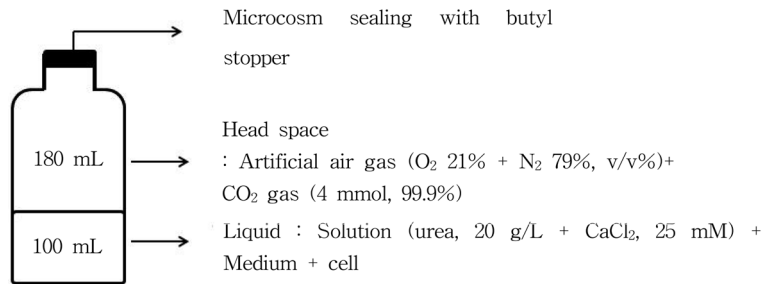


Fig. 1. Schematics of microcosm of batch experiment for biomineralization induced by *Bacillus pasteurii*.

Table 2. Chemical composition and their concentrations in NB-NaCl medium for batch experiment

Composition	
Components	Conc. (g/L)
Nutrient broth	8.0
NaCl	5.0

은 Table 2에 나타내었고 멸균 전 배지의 pH는 6.5로 조절하였고, urea와 각 용액은 pore size 0.2 μm 멤브레인 필터(Adventec®, Toyo Roshi Kaisha, Ltd.)로 멸균해서 사용하였다. 실험대상 균주는 3,000 rpm에서 15분간 원심분리(Hanil, HA-1000-3)한 후 상정액은 버리고 침전물만 5%(v/v)의 NaCl(99%, Duchefa, Germany)용액으로 두 번 세정 후 사용하였다.

### 2.3. 시료 분석

#### 2.3.1. pH 및 미생물 활성도 분석

pH 측정은 탁상용 pH meter(JENWAY 3510 pH METER)를 이용하여 Standard Methods에 따라 분석하였다(Clesceri et al., 1998). 미생물 활성도 분석은 600 nm의 파장에서 UV-spectrophotometer(Sinco S-3100)로 흡광도(Optical Density, OD<sub>600</sub>)를 측정하여 결정하였다(Bundeleva et al., 2012).

#### 2.3.2. Bottle 내 가스 농도 분석

배양 시간에 따른 반응기 head space의 CO<sub>2</sub>, 산소 및 질소의 농도를 분석하기 위하여 packed column(Alltech 403412-1417) 및 TCD가 장착된 가스 크로마토그래피(HP6890 series GC system, U.S.A.)를 이용하였다. 이때 온도 조건은 Inlet 110°C, Oven 50°C, 그리고 Detector 210°C이었다. 분석용 시료는 반응 용기의 head space로부터 GC 가스 분석용 syringe(HAMILTON, GASTIGHT® # 1002)를 이용하여 0.5 mL 분취하여 사용하였다.

### 2.4. 생칼슘화 생성물 정량을 위한 분석

#### 2.4.1. 열중량분석법(TG-DTA)

생칼슘화 반응전후의 CaCO<sub>3</sub> 광물의 생성여부 및 정량을 위해서, 열중량 분석기(TGA : Thermogravimetric analysis, Diamond TG/DTA Lab System, Perkin Elmer)를 이용하였다. 이 때 mood gas는 N<sub>2</sub> gas였고 유량은 100 mL/min를 유지하였다. 시료가 탑재된 기기 내 전자저울의 온도를 10°C/min의 승온조건으로 1000°C까지 상승시켰다. 분석대상 시료를 멸균한 진공데시케이터(DURAN® vacuum desiccator 2478266, Duran Group, Germany)에 넣은 후 이것을 50°C로 유지되는 오븐(Drying Oven, Vision Scientific Co., LTD)에서 48시간 이상 건조 하였다. 데시케이터 하부에는 시료에서 증발한 수분 흡수를 위해 실리카겔(Silicagel 60, 70-230 mesh, Duksan Chemicals)을 위치 시켰다. 또한 데시케이터 내부에 잔류하는 공기를 제거하기 위해서 N<sub>2</sub> gas(purity 99.0%)를 1.5 L/min의 유량으로 2분간 주입하였다. 뒤이어 곧바로 멸균한 Tedlar bag(10 L, 2 Stopcock type, Tedlar®)에 N<sub>2</sub> gas를 채운 후 데시케이터와 연결하여, 0.5 L/min의 유량으로 순환시키면서 지속적으로 시료를 건조한 후 분석에 이용하였다.

#### 2.4.2. Volumetric calcimeter법

Calcimeter의 가스 측정부에 주입되는 용액(filling solution)은 증류수 100 mL에 CaCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O(Duchefa, Germany) 200 g을 녹인 후, 메틸오렌지(Daejung Chemicals & Metals CO., LTD) 2 mL를 가하여 제조하였다. 시료의 적정에 사용된 염산은 증류수 1 L에 HCl(99%, Duksan Chemicals) 340 mL를 가하여 4 N 농도로 제조하여 사용하였다. 실험에 사용된 시료는 각각 표준망체(<2 mm)로 거른 후 fume hood에서 자연 건조시킨 후 시료별로 2 g씩 시료주입부에 주입하였다. 염산 주입 시 급격한 반응을 방지하기 위해서 멸균증류수 20 mL를 시료주입부에 주입한 후 실험을 진행 하였다.

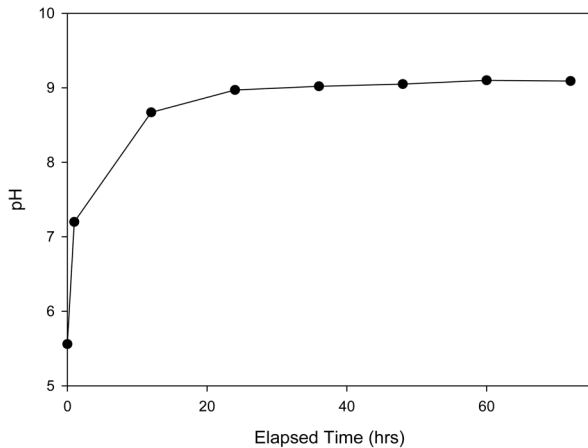


Fig. 2. Temporal variation of aqueous pH in the batch experiment incubating *Bacillus pasteurii*.

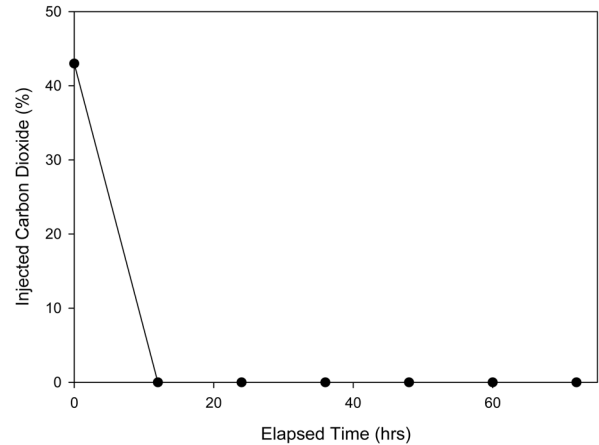


Fig. 3. Temporal variation of injected CO<sub>2</sub> gas depletion from the head space in the batch experiment incubating *Bacillus pasteurii*.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. 생칼슘화 회분식(batch) 실험

총 72시간의 배양시간 동안 12시간 간격으로 시료를 채취하여 pH 변화 및 미생물 활성도 (OD<sub>600</sub>)를 측정하였다. 또한, serum bottle의 head space에 존재하는 가스를 채취하여 배양시간에 따른 CO<sub>2</sub>의 농도 변화를 관찰하였다. 배양시간에 따른 serum bottle 내 pH 변화를 Fig. 2에 나타내었다. pH의 경우 생칼슘화가 진행됨에 따라 pH가 5.5에서 9 이상까지 증가하는 것을 볼 수 있었다. 이는 urea가 미생물의 효소작용에 의해 암모늄과 수산화이온으로 분해되어 수산화기의 농도가 증가하였기 때문으로 판단되었다. 즉, 미생물에 효소 기작에 의해 야기되는 CaCO<sub>3</sub> 침전은 pH 8.3 ± 1.0에서 시작해서 9.0에서 완료되므로 이는 주입된 생칼슘화 미생물의 대사 작용에 의해 pH가 상승한 것으로 판단할 수 있다(Stocks-Fischer et al., 1999). 한편 주입된 4 mmol의 CO<sub>2</sub>는 12시간 내에 모두 head space에서 제거되었다(Fig. 3). 이는 요소(urea) 분해에 의해 증가된 pH로 인해 용액 내 이산화탄소의 용해도가 높아졌기 때문으로 보고되었다(Michell et al., 2010). Fig. 4는 배양시간에 따른 미생물 활동도(OD<sub>600</sub>) 변화를 나타낸 것이다. 미생물 활성도는 배양 초기 미생물의 신진대사가 증가하다가 시간이 경과함에 따라 그 활성이 감소하는 경향을 나타내고 있다.

#### 3.2. 생성물 정량 실험

CaCO<sub>3</sub>로 조제한 표준시료 및 회분식(batch) 실험에서 생성된 생칼슘화 광물을 대상으로 열중량분석법과

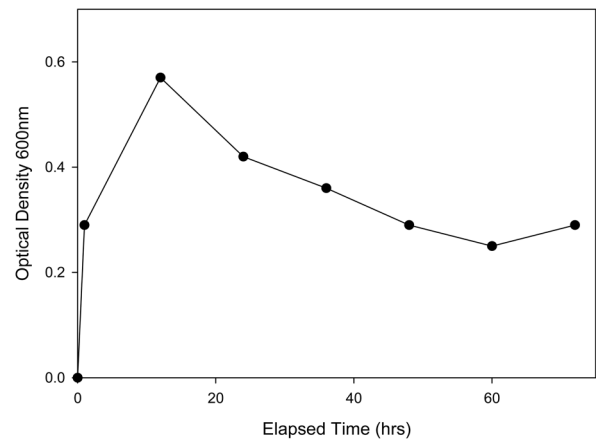


Fig. 4. Temporal variation of OD<sub>600</sub> value observed during the batch experiment incubating *Bacillus pasteurii*.

Volumetric calcimeter법으로 분석을 3회씩 각각 반복 시행하여 그 평균값과 오차를 산정하였다. 생칼슘화 회분식 실험간 생성된 광물의 비교정량 실험 결과를 Table 3에 나타내었다. 먼저 분석 방법 간 비교 정량 실험결과를 보면, 열중량분석법의 경우 평균제곱근편차가 Volumetric calcimeter법에 비해 상당히 낮은 것을 알 수 있다. 열중량분석법을 이용해 500 mg의 CaCO<sub>3</sub>를 분석한 결과 평균 501.9 mg으로 측정되었는데, 이를 평균제곱근편차로 환산해 보면 1.13 mg 임을 알 수 있었다. 반면에 Volumetric calcimeter법을 이용해 동일한 시료를 분석한 결과, 평균 460 mg으로 측정되었다. 이는 평균제곱근편차 값이 28.3 mg에 해당하는 것으로서 열중량분석법에 비해 약 25배 이상 오차가 크게 나타나는 것이다.

한편 250 mg CaCO<sub>3</sub>와 SiO<sub>2</sub> 250 mg을 혼합물을 대상으로 하여 그 총량이 500 mg이 되도록 하여 그 중

**Table 3.** Comparison of quantitative analysis of CaCO<sub>3</sub> between TG-DTA and volumetric calcimeter

Sample	Weighted mass (mg)	TG-DTA (mg)	Volumetric calcimeter (mg)	RMSD* (mg)	
				TG-DTA	Calcimeter
CaCO <sub>3</sub> from amended sample	500	501.9	460.0	1.13	28.28
	250	241.7	290.2	5.87	28.28
CaCO <sub>3</sub> from biocalcification in batch test	-	478.3	510.6	-	-

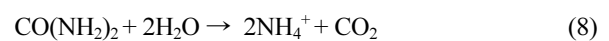
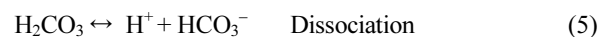
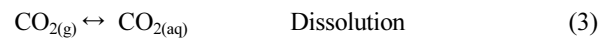
\*RMSD : Root Mean Square Deviation

\*\*Numbers represents an average of weight values obtained from each quantitative analysis

CaCO<sub>3</sub>의 농도를 열중량분석법으로 분석한 결과 평균 241.7 mg의 측정치(평균계급근편차 5.9 mg)를 나타냈으나, Volumetric calcimeter법은 평균 290.2 mg(평균계급근편차 28.3 mg)으로 분석되었다. 이 결과를 보았을 때, 열중량분석법은 평균편차율이 Volumetric calcimeter법에 비해 상당히 낮고, 보다 더 정확한 분석결과를 나타내는 것으로 판단되었다. 따라서 실제 생칼슘화에 의해 생성된 CaCO<sub>3</sub>의 정량적 분석은 열중량 분석법이 좀 더 정확한 결과를 얻을 수 있었다.

일반적으로 CaCO<sub>3</sub>생성 반응은 먼저 식 (3)~(7)과 같이 용액 내에 용해되어 있는 CO<sub>2</sub>가 중탄산(bicarbonate)으로 전환되며 그 후 탄산(carbonate)이온으로 해리된 후 Ca<sup>2+</sup>와 반응하여 CaCO<sub>3</sub>로 침전되는 것으로 알려져 있다(Al-Thawadi, 2011; Jahns, 1999). 즉, 이론적으로 식 (7)과 같이 용액 내 Ca<sup>2+</sup> 이온 1 mol은 CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> 이온 1 mol과 반응하여 1 mol의 CaCO<sub>3</sub>를 형성한다. 실제 본 연구에서 회분식(batch) 실험 시 bottle에 주입된 이산화탄소는 4 mmol이었고, 주입된 CO<sub>2</sub>가 실험 시작 후 12시간 이내에 bottle의 head space에서 전량 검출되지 않아 bottle 내 액상 배지로 모두 용해되어 생칼슘화에 이용된 것으로 나타났다(Fig. 3). 따라서 이때 결과적으로 약 400 mg의 CaCO<sub>3</sub>가 이론적으로 생성 될 수 있다. 또한 식 (8)과 같이 회분식 실험에 주입된 urea는 미생물의 대사작용에 의해 가수분해 되면 urea 1 mol당 1 mol의 CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>가 발생한다(Burbank et al., 2011). 즉 실제 회분식 실험에 주입된 urea는 33.3 mmol(20 g/L)이었고 미생물에 의해 전부 가수분해 된다면 33.3 mmol의 CO<sub>2</sub>를 발생시킨다. 그러나 생칼슘화 기작에 이용되기 위해서는 생물학적 효소인 carbonic anhydrase에 의해, 식 (4)~(6)의 과정을 거쳐 CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> 이온 형태로 전환이 이루어져야 한다(Achal and Pan, 2010). Fig. 4에서 보는 바와 같이 생칼슘화 미생물 생장이 12시간까지 증가한 후 감소하는 경향을 보였으므로, 그에 따른 carbonic anhydrase의 활성도도 감소하게 되어 배지 용액 내 생성되는 가용 CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> 이온도 감소하

게 된다. 또한 배지 용액 내 존재하는 Ca<sup>2+</sup> 이온 농도가 임계점 이상을 초과할 경우 생광물화 기작의 저해제(inhibitor)로 작용 하는 것으로 알려져 있다(Stocks-Fischer et al., 1999; Mirchell et al., 2010). 또한, urea 20 g/L 주입 시 Ca<sup>2+</sup> 이온 농도가 19 mM일 때 생광물화에 의한 탄산염광물이 가장 많이 생성되는 것으로 알려져 있고, Ca<sup>2+</sup> 이온 1 mM 증가 시 urea 가수분해에 의해 생성되는 CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> 이온이 약 4.1 mM 이하까지 감소한다고 알려져 있다 (Mitchell et al., 2010). 이와 같은 선행 연구에서 얻은 결과를 본 연구에서 수행된 bottle 실험 결과와 비교해 보면, urea 33.3 mM 분해 시 생성 가능 CaCO<sub>3</sub>는 약 87 mg임을 알 수 있다. 따라서 회분식 실험을 통해 생성되는 생광물화 유래 CaCO<sub>3</sub>의 이론적인 생성량은 주입된 이산화탄소 가스에 의해 생성된 양(400 mg)과 urea의 분해에 의해 생성된 양(약 87 mg)의 합인 487 mg임을 알 수 있다. 회분식(batch) 실험의 생성물을 본 연구에서 지정한 2가지 정량 실험법으로 측정해본 결과, 열중량분석법의 정확도는 높으나 분석 시간 및 비용이 Volumetric calcimeter법보다 더 많이 소요되어 다량의 시료 분석 시에는 다소 제약을 받을 가능성이 있다. 따라서 시차열분석법과에 비해 정확도는 다소 떨어지지만 분석의 편이성이 높은 Volumetric calcimeter법과의 상관관계를 유추해 낸다면 그 효용성이 증대 될 것으로 판단된다.



이와 같이 산정된 이론적인 CaCO<sub>3</sub>의 생성량을 실험군

(biocalcification)에 의해 실제 생성된  $\text{CaCO}_3$  양과 분석방법별로 비교해보면, 먼저 열중량분석법의 경우 478.3 mg  $\text{CaCO}_3$ 로 측정되어 -1.7%의 오차를 나타냈으나, Volumetric calcimeter법의 경우에는 510.6 mg  $\text{CaCO}_3$ 으로 분석되어 +4.8%의 오차를 보여 그 오차가 열중량 분석의 경우가 더 이론값에 근사치를 나타냄을 알 수 있었다.

#### 4. 결 론

본 연구에서는 생광물화에 의해 생성된 탄산염(carbonate) 생성물을 대상으로 소모된 이산화탄소의 농도를 정확하게 정량하기 위한 방법을 도출하고자 하였다. 이를 위하여 Volumetric calcimeter법과 열중량분석법을 비교 평가 하였다.

1) 생광물화 미생물을 이용한 회분식(batch) 실험 결과, pH는 초기 5.5에서 9까지 변화하는 것을 확인하였고, 주입된 이산화탄소는 모두 소모되어 생칼슘화가 활발히 진행된 것임을 알 수 있었다.

2)  $\text{CaCO}_3$  정량 실험 분석 결과, 대조군의 경우 열중량 분석법은 1.1~5.9 mg의 평균계급근편차를 보이는 반면 Volumetric calcimeter법은 28.3 mg의 다소 큰 평균계급근편차를 보였다. 또한 실제 생칼슘화균에 의해 생성된  $\text{CaCO}_3$ 의 정량분석 결과, 열중량 분석법이 Volumetric calcimeter법에 비해 그 측정 오차가 더 낮으므로 분석 신뢰도가 높은 측정법임을 알 수 있었다.

3) 그러나 열중량분석법은 그 분석의 정확도는 높으나 분석 시간 및 비용이 Volumetric calcimeter법보다 더 많이 소요되어 다량의 시료 분석 시 시차열분석법과의 상관관계를 이용한 Volumetric calcimeter법의 효용성을 높이는 방안도 고려할 필요가 있을 것으로 사료된다.

#### 사 사

본 연구는 수도권매립지관리공사의 “온실가스 무배출형 매립지 복토시스템 개발(공동연구)” 과제 지원으로 수행되었습니다. 이에 감사드립니다.

#### 참 고 문 헌

Achal, V. and Pan, X., 2010, Characterization of urease and carbonic anhydrase producing bacteria and their role in calcite precipitation, *Curr. Microbiol.*, **62**(3), 894-902.

Al-Thawadi, S.M., 2011, Ureolytic bacteria and calcium carbonate formation as a mechanism of strength enhancement of sand, *J. Adv. Sci. Eng. Res.*, **1**(1), 98-114.

Bundeleva, I.A., Shirokova, L.S., Bénézeth, P., Pokrovsky, O. S., Kompantseva, E.I., and Balor, S., 2012, Calcium carbonate precipitation by anoxygenic phototrophic bacteria *Chem. Geol.* **291**, 116-131.

Burbank, M.B., Weaver, T.J., Green, T.L., Williams, B.C., and Crawford, R.L., 2011, Precipitation of calcite by indigenous microorganisms to strengthen liquefiable soils, *Geomicrobiol. J.*, **28**, 301-312.

Clesceri, L.S., Greenberg, A.E., and Eaton, A.D., 1998, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20 ed., American Public Health Association: Washington D.C., 2-37 p.

Dupraz, C., Pamela, R.R., Braissant, O., Decho, A.W., Norman, S.R., and Visscher, P.T., 2008, Processes of carbonate precipitation in modern microbial mats, *Earth-Sci. Rev.*, **96**(3), 141-162.

Hammes, F. and Verstraete, W., 2002, Key roles of pH and calcium metabolism in microbial carbonate precipitation, *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.*, **1**, 3-7.

Jahns, T., 1999, Ammonium/urea-dependent generation of a proton electrochemical potential and synthesis of ATP in *Bacillus paterii*, *J. Bacteriol.*, **178**(2), 403-409.

Lamas F., Irigaray C., Oteo C., and Chacón J., 2005, Selection of the most appropriate method to determine the carbonate content for engineering purposes with particular regard to marls, *Eng. Geol.*, **81**, 32-41.

Mitchell, A.C., Dideriksen, K., Spangler, L.H., Cunningham, A.B., and Gerlach, R., 2010, Microbially enhanced carbon capture and storage by mineral-trapping and solubility-trapping, *Environ. Sci. Technol.*, **44**(13), 5270-5276.

Morgan, D.J., 1977, Simultaneous DTA-EGA of minerals and natural mixtures, *J. Therm. Anal.*, **12**, 245-263.

Peters, F., Schwarz, K., and Epple, M., 2000, The structure of bone studied with synchrotron X-ray diffraction, X-ray absorption spectroscopy and thermal analysis, *Thermochim. Acta.*, **361**, 131-138.

Sparks, D.L., Page, A.L., Helmke, P.A., Loeppert, R.H., Soltanpour, P.N., Tabatabai, M.A., Johnston, C.T., and Sumner, M.E., 1996, Methods of Soil Analysis part 3 - chemical methods, Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin, USA, 451-455 p.

Stocks-Fischer, S., Galinat, J.K., and Bang, S.S., 1999, Microbiological precipitation of  $\text{CaCO}_3$ , *Soil Biol. Biochem.*, **31**(11), 1563-1571.