

## 미생물 토양 주입을 통한 Bio-barrier 형성

김건하 · 송영우 · 구동영

한남대학교 토목 · 환경공학과

(1999년 11월 12일 접수, 2000년 3월 8일 채택)

## Bio-barrier Formation by Biomass Injection into Soil

Geon-Ha Kim · Youngwoo Song · Dongyoung Gu

*Department of Civil and Environmental Engineering, Hannam University*

### ABSTRACT

When microorganism is 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. Resistance of biofilm to chemical solution and degree of biodegradation were measured through column test.

---

Key Words : Hydraulic Conductivity, Biofilm, Landfill, Alternative Liner Material

## 요약문

박테리아를 토양과 같은 다공성 매질에 주입시키고 적절한 기질과 영양분을 공급시키면 박테리아는 매질의 표면에 부착하여 성장한다. 그 결과 바이오필름이 생성되어 공극의 크기가 감소하여 매질의 투수계수가 감소되며, 오염물질을 분해시키는 생물학적 오염분해 능력을 갖게 된다. 본 연구는 투수계수가 비교적 큰 모래와 화강풍화토에 박테리아를 접종, 배양한 후 토양의 투수계수의 변화를 측정하였으며, 배양된 바이오필름의 화학물질에 대한 저항성 및 온도변화에 대한 내구성 실험을 통해 대용 차수재로의 가능성을 평가하였다. 또한 bio-barrier의 유기물질 분해능 및 bio-barrier의 두께에 따른 미생물의 성장도를 column test를 통하여 측정하여 bio-barrier 내에서의 기질의 이동 및 생분해와 박테리아 농도의 분포 변화간의 관계를 제시하였다.

주제어 : 투수성, 바이오필름, 매립장, 대용 차수재

## 1. 서론

산업의 발달과 인구 증가에 따라 발생하는 많은 산업 및 도시 폐기물, 그리고 폐기물 소각재의 최종 처리는 매립에 의존하게 되므로 매립 후 침출수로 인한 2차적인 환경오염이 발생되지 않도록 하여야 한다. 그러나 국내에서 사용되고 있는 차수재들은 천공이나 균열 등의 손상이 발생하면 침출수의 누수를 제어할 수 없기 때문에 폐기물 매립장에서 유출되는 침출수는 토양을 오염시키는 주요오염원으로 문제되고 있다. 또한 주유소의 유류저장 탱크에는 유류 누출 등으로 인한 토양 오염의 확산을 방지하기 위하여 차수벽을 설치하고 있다. 그러나 이런 차수벽의 설치에 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 많은 연구들이 진행중에 있고, 특히 토양속에 존재하는 미생물의 성장으로 인한 토양공극의 폐색현상을 이용한 차수재가 개발되고 있다. 미생물을 이용한 차수벽을 bio-barrier라 하는데 토양내의 박테리아 생장은 투수계수의 감소뿐만 아니라 비교적 경제적이고 빠르게 오염물질을 정화시키는 효과를 볼 수 있다.<sup>1,2)</sup>

오염된 토양에 적절한 특성의 박테리아와 영양분을 주입하면 박테리아의 성장에 의해 바이오필름이

형성되어 토양의 투수성이 감소된다. 바이오필름이란 박테리아가 다공성 매질에 흡착되어 성장하는 동안 주요 성분이 다당류로 구성된 점착성 물질(slime)인 EPS(Extracellular Polymeric Substances)를 생성해 다른 무기 미립자들과 함께 퇴적되어 형성된 집합체를 말하며, 낮은 투수성, 큰 비표면적, 강한 친수성 등의 특징을 나타낸다. 특히 EPS는 바이오필름에 중요한 역할을 하는데, 바이오필름을 구성하는 박테리아와 기층간의 상호작용에 영향을 주며, 바이오필름을 보호하는 역할을 한다.<sup>3)</sup> 바이오필름은 이런 EPS성분으로 인해 유체로 인한 전단력과 같은 힘에 의해 변형되었을 때 빠르게 회복하는 점·탄성체의 표면으로 되어있어 유체의 마찰저항을 증가시키고, 시료의 투수계수를 감소시킨다. 또한 박테리아는 생물학적 환경오염처리 능력을 가지고 있어 토양오염물질을 분해시키고, 오염물질의 확산을 방지하는 역할을 한다.

이런 박테리아의 성장에 따른 투수성의 감소와 생물학적 환경오염처리에 대한 연구 결과는 다수 보고된 바가 있는데, Shaw 등<sup>4)</sup>과 Stoodley 등<sup>5)</sup>은 유리구슬을 유리관에 균일하게 채운 후 바이오필름을 형성시켰을 때의 유속과 전단강도를 측정하였다. 실험 결과 바이오필름의 퇴적이 유속과 전단강도에 큰 영향을 줄 수 있다는 것을 알 수 있었다. Brough 등<sup>6)</sup>은 3개의 column에 모래를 채운 후 미생물과 영양분을 공급하여 bio-barrier가 형성되는 동안 바이오필름의 퇴적과 화학적 산소요구량 감소를 측정하였다.

투수계수는 평균 60.6% 감소하였으며, COD 농도는 90% 감소하여 바이오필름을 이용한 차수제 사용과 오염물질의 생물학적 분해 효과를 증명하였다. Abou-Rizk 등<sup>7)</sup>은 오염된 매립지의 추가적인 오염 확산방지와 오염물질의 분해 촉진을 위한 방안으로 산소 주입 및 영양분 주입을 통한 실험실 연구를 수행하였다. 산소 주입 결과 오염물질의 생분해 속도가 증가하여 오염농도가 감소하였지만, 영양분의 주입은 생분해 속도 증가에 큰 영향을 주지 못함을 증명하였다.

본 연구는 우리나라의 대표적 토양인 화강풍화토에 특정 미생물체를 주입, 배양하여 바이오필름을 생성시킨 후 차수재료로 사용 가능성을 조사하였으며, 차수제로 장기간 사용시 발생할 수 있는 환경의 변화, 즉 오염물질의 유입, 동결·용해 등으로 인한 bio-barrier 내구성 변화를 관찰하였다. 또한 bio-barrier의 유기물 분해능 및 미생물 군체의 성장을 여러 운전인자별로 측정하여 bio-barrier의 현장 적용성을 검토하였다.

## 2. 실험 방법

### 2.1. 토 양

본 연구에서는 토양시료로 모래와 화강풍화토를 사용하였다. 모래는 박테리아 접종 후의 투수계수 변화와 바이오필름의 생성 및 형태 관찰에 이용했으며, column test를 통해 시료의 오염물질 분해치를 실험하는데 사용하였다. 체분석시험에 따라 실험한 모래의 균등계수는 1.58, 곡률계수는 1.03, D<sub>50</sub>은 0.47 mm이었다. 화강풍화토는 D시의 위생매립장에 반입된 토사로 바이오필름 형성에 따른 투수계수 변화와 바이오필름이 형성된 시료의 물리·화학적 특성을 실험하는데 사용하였다. 화강풍화토의 통일 분류법에 따른 성상은 SP였으며, ASTM(1999)에 따라 실시한 기본 물성값은 Table 1에 나타나 있다.

### 2.2. 박테리아

*Azotobacter chroococcum*은 *Azotobacter Beij-*

Table 1. Basic property of poorly graded sand used for the test

Basic Property	Test Method	Test Result
D <sub>50</sub> Grain Size	ASTM D422-63	0.63 (mm)
Liquid Limit	ASTM D4318-98	30.0 (%)
Plastic Limit	ASTM D4318-98	24.3 (%)
Plasticity Index	ASTM D4318-98	5.8 (%)
Specific Gravity	ASTM D854-98	2.67 (-)
Optimum Moisture Content	ASTM D698-91	15.75 (%)
Maximum Dry Unit Weight	ASTM D698-91	1.68 (t/m <sup>3</sup> )

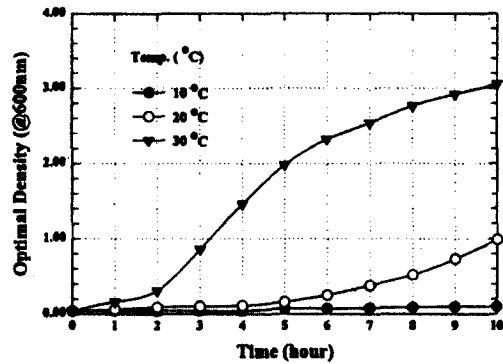


Fig. 1. Temperature effect on bacterial growth versus time.

*erinck* 속에 속하는 균으로 질소를 고정할 수 있으며, 낮은 산소압에서도 성장할 수 있다. 생장에 필요한 pH는 5.5~8.5이며 세포내 폴리-β-히드록시부티산을 축적하는데 이들은 외부에 다량의 다당류를 생성하기 때문에 고체배지에서 배양시 점액성 외관을 나타낸다.<sup>8)</sup> Fig. 1은 박테리아의 최적 생장온도를 예측하기 위해 배양온도를 각각 10, 20, 30°C로 유지하여 일정 시간마다 측정된 증식곡선이다. 세균 세포가 성장하면 탁도를 변화시키므로, 분광광도계를 사용하여 600 nm 부근의 투광도를 측정하여 증식곡선을 작성하였다. 실험 결과 박테리아는 30°C에서는 생장이 활발하였으나, 20°C에서는 생장이 느리게 진행되었다. 토양에 미생물을 접종한 후의 모든 실험은 실험실 온도인 25±3°C에서 수행하였다.

### 2.3. 배 양

미생물의 배양을 위한 기질은 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 200 mg.

K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 800 mg, MgSO<sub>4</sub> 200 mg, CaSO<sub>4</sub> 100 mg, 미소량의 FeSO<sub>4</sub>와 Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>, Yeast extract 500 mg, Mannitol 20 g 등을 증류수 1ℓ에 혼합하여 제조하였다. 배지 분말은 증류수와 잘 섞이도록 저어주고 가열하여 완전히 녹였으며, 완전히 녹은 배지의 pH는 pH Meter를 이용하여 산성인 경우 1N NaOH로, 염기성인 경우 1N HCl을 혼합하여 최적 pH인 7.6으로 조정하였다. 영양분 용액에 존재하는 모든 미생물을 완전히 사멸시키거나 제거하기 위해 배양액을 고압멸균기에 넣고, 121℃의 온도에서 1.5 kgf/cm<sup>2</sup>의 압력으로 15분 동안 가압하여 멸균하였다. 이렇게 만든 액체배지에 박테리아를 접종하여 30℃ 배양기에서 3일 동안 성장시켜 실험에 사용하였다. 배양이 끝난 박테리아 혼합액은 토양시료와 혼합하기 전에 평판 계수법을 이용하여 다음과 같은 방법<sup>9)</sup>으로 박테리아 수를 측정하였다. 박테리아를 영양분 용액에 접종하여 성장시킨 후 시료에 배합하기 전의 용액을 취해 10배로 희석시켜 삼각 유리봉을 이용하여 교체배지에 도말하고, 30℃의 배양기에서 3일 정도 배양해 교체배지 상에 나타난 집락(colony)을 측정하였다.

2.4. Bio-barrier의 차수능 및 내구성 실험

박테리아를 접종한 각각의 시료에 대해 bio-barrier의 차수능 및 내구성 변화를 관찰하기 위하

여 수행한 각종 실험은 Table 2에 나타나 있다.

Test 1은 박테리아를 접종한 모래의 투수계수 변화와 전자주사현미경을 이용하여 바이오필름이 형성된 시료의 단면을 관찰하였다. 모래의 투수시험은 정수두 투수시험으로 직경 10 cm, 높이 12.4 cm인 강성벽 원형 몰드를 사용하였다. 실험은 3×10<sup>7</sup> cell/mL 농도의 박테리아를 6ℓ의 영양분 용액에 접종하여 단위중량이 1.6 kg/cm<sup>3</sup>인 모래에 침투시켰고, 시료를 통과한 혼합액은 펌프를 사용하여 다시 유입조로 흘러 보내 10일동안 재순환시켰다.

Test 2는 20일 동안 영양분을 공급했을 경우 박테리아 생장에 따른 시료의 투수계수 변화를 시간에 따라 측정하여 바이오필름이 시료의 투수계수에 미치는 영향을 관찰하였다. 박테리아로 배합한 시료의 다짐 시험은 직경 10 cm, 높이 12.7 cm의 몰드를 사용하였으며, 이때의 다짐에너지는 5.64 kg/cm<sup>2</sup>로 표준다짐에너지 5.63 kg/cm<sup>2</sup>과 비슷하였다. 투수시험은 변수두 시험으로 ASTM D5856-95에 따라 수행하였다.

Test 3은 바이오필름이 형성된 시료에 화학용액을 침투시켰을 경우 바이오필름의 손상에 따른 투수계수 변화를 알아보기 위해 실험하였다. 일반적으로 매립장 침출수의 pH는 4~8.5이나,<sup>10)</sup> *Azotobacter chroococcum*의 적정 pH 농도가 5.5 ~8.5임을 감안하여 증류수에 HCl을 혼합한 pH 3인 산성용액과 NaOH를 혼합한 pH 11인 염기성용액으로 투수시

Table 2. Test program and concentration of bacteria used for the test

Test	Specimen	Test Program			
		Bacteria of Concentration (cell/mL)	Permeability Test	Description	
1	Sand	Plate Count Method	3×10 <sup>7</sup>	CH, DF	permeated with nutrient solution followed by tap water (1 Specimen)
2	SP (Poorly Graded Sand)		5×10 <sup>6</sup> ~3×10 <sup>7</sup>	VH, DF	permeated with nutrient solution followed by tap water (4 Specimens)
3			2×10 <sup>6</sup>	VH, DF	permeated with nutrient solution followed by chemical solution (2 Specimens)
4			8×10 <sup>6</sup>	VH, DF	permeated with nutrient solution followed by three freeze-thaw cycles (4 Specimens)
5	Sand		8×10 <sup>6</sup>	CH, UF	permeated with nutrient solution measure inflow/outflow COD concentrations (4 Specimens)

CH: Constant Head Permeability Test, VH: Variable Head Permeability Test, DF: Downflow, UF: Upflow

험을 수행하였다.

Test 4는 바이오필름에 의하여 투수계수가 감소된 시료에 온도 변화를 주었을 경우 발생할 수 있는 투수계수 변화와 그에 따른 간극비를 측정함으로써 바이오필름의 손상 가능성을 조사하였다. 시험에 사용된 4개의 물드는 같은 시간동안 영양분 용액을 공급한 후, 그중 한 개는 동결·용해 시험을 수행하면서 투수계수를 관찰하였고, 나머지 세 개는 동결·용해 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 물드의 간극비는 박테리아의 성장에 따라서 다르게 측정될 수 있으나, 배합 함수비와 다짐 에너지를 같게 하였으므로 간극비가 동일한 것으로 가정하였다. 실제 다짐 후 바로 측정된 4개 물드의 간극비는 0.63~0.65의 범위에 있었다. 시료는 토양내 수분이 동결하는 온도를 고려하여 -4℃로 고정시켜 24시간 동안 완전히 동결시킨 후,<sup>11)</sup> 48시간 동안 5℃에서 용해시켜 수돗물을 침투시키며 투수계수와 간극비를 측정하였다.

### 2.5. Bio-barrier의 기질분해 및 미생물 개체 증가 실험

Test 5는 박테리아 접종액으로 혼합한 모래를 column에 충전시킨 후 일정기간동안 기질을 공급하

며 배양했을 경우 column 길이에 따른 화학적 산소 요구량(COD)과 토양내 유기물질의 농도 및 투수계수 변화를 측정하여 column내에서의 미생물의 성장 및 기질의 이동을 알고자 하였다. Column은 내경 15 cm, 높이 25 cm의 아크릴 재질의 투명 파이프 2개를 플랜지로 조립하여 연결하였고, 각 연결부위는 고무 O-ring과 테프론 재질 테이프를 사용하여 누수의 발생이 없도록 하였다. 투수시험은 ASTM D2434-68의 방법으로 정수두 투수시험을 하였으며, 이때 투수액의 흐름 방향은 upflow로 하였다. 기질은 정량펌프를 사용하여 저수조까지 공급한 다음 column으로 통과시켰고, 저수조의 상부에는 파이프를 연결하여 수두 이상의 기질은 다시 기질 저장 탱크로 보내 정수위를 유지하였다. Column의 측면에는 6개의 3 way-valve를 6.9 cm 간격으로 설치하여 한쪽 방향으로는 manometer와 연결하여 투수계수 변화를 관찰할 수 있도록 하였으며, 다른 방향으로는 column의 각 port 위치를 통과하는 기질을 채취할 수 있도록 하였다. 또한 column의 양끝에는 종이필터와 다공판을 설치해 upflow로 인해 column 상부에서 발생할 수 있는 토양시료 유실이 없도록 하였다. Fig. 2는 Test 5에 사용한 column test 장치의 개략도이다. 각 포트에서 채취한 시료의 COD<sub>m</sub>의 측정은 Standard Methods의 Closed Reflux법<sup>12)</sup>으로 시간에 따라 측정하였고, 토양내 유기물 함량은 column test가 종료된 후 아크릴 파이프를 분해하여 시료를 추출한 다음 균등한 두께로

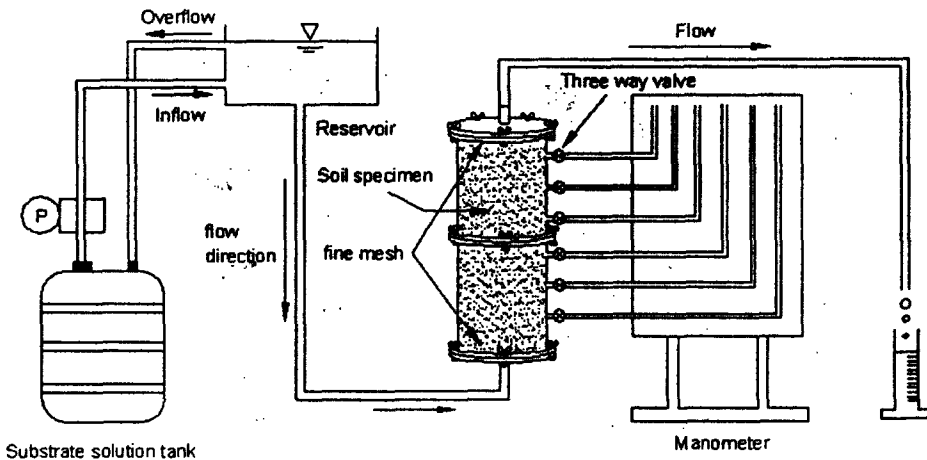


Fig. 2. Schematic diagram of column test apparatus.

자른 후 ASTM D2974-87의 방법으로 측정하였다.

### 3. 결과 및 토론

투수계수가  $4.3 \times 10^{-2}$  cm/s인 모래시료에 10일 동안 기질을 공급한 후 침투액을 수돗물로 바꿔 15일 동안 침투시킨 결과 시료의 투수계수는  $2.6 \times 10^{-3}$  cm/s로 감소하였다. 이런 투수계수의 감소현상을 규명하기 위해 전자주사현미경(Scanning Electron Microscopy)을 이용하여 박테리아 접종 전과 바이오필름이 형성된 후의 단면을 관찰하였다. Fig. 3(a)는 박테리아를 함유한 영양분 용액을 침투시키기 전의 시료 단면이며, Fig. 3(b)~(d)는 투수시험이 끝난 시료의 상단부분에서 샘플을 채취해 각각 150배, 700배, 1000배 확대한 것이다. Fig. 3(b)의 SEM 관찰 결과, 바이오필름이 모래 표면과 모래

입자간의 간극사이를 폐색시켰음을 확인할 수 있었다. Taylor 등<sup>13)</sup>은 불투수성의 바이오필름이 입자의 표면에 퇴적되어 입자의 두께가 증가됨에 따라 투수성이 감소한다는 모델을 제시하였다. 그러나 토양공극에 형성된 바이오필름은 Fig. 3(c)와 (d)의 경우처럼 모래의 표면에서만 퇴적되어 간극을 막는 것이 아니라, 입자와 입자간을 서로 연결하는 mesh 형태의 바이오필름을 형성하여 간극을 보다 협소하게 만들었고, 형성된 mesh는 단일 층이 아닌 여러 층으로 이루어져 투수계수를 보다 효율적으로 감소시켰음을 관찰할 수 있었다. 따라서 Taylor 등<sup>13)</sup>이 제시한 기존의 모델은 수정되어야 할 것으로 생각된다.

함수비에 따른 화강풍화토의 투수특성을 파악하기 위해 수돗물을 이용하여 여러 함수비에서 다진 후 측정된 투수계수 값은 Fig. 4에 나타나 있다. 투수계수는 함수비가 11.8%일 때  $2.85 \times 10^{-4}$  cm/s 부터 함수비가 23.1%일 때  $3.6 \times 10^{-7}$  cm/s까지 감

Fig. 3. Comparison of SEM images of pore sand before and after biofilm formation.

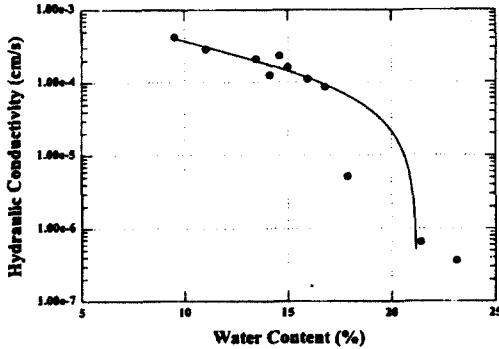


Fig. 4. Hydraulic conductivity of poorly graded sand versus water content.

소하였다. 이것은 시료를 높은 함수비에서 다지면 충분히 낮은 투수계수를 얻을 수 있어 바이오필름의 처리 없이도 차수재 사용이 가능할 수 있음을 나타낸다. 그러나 높은 함수비의 시료는 현장에서 다짐 작업을 할 수 없기 때문에 투수시험은 배합 함수비가 15~17%의 범위에서 수행하였다. 일반적으로 다진 점토차수재나 복토재의 경우 소요 강도와 전단 강도, 그리고 건조수축에 따른 균열 가능성 등을 고려한 최저 투수계수는 최적함수비의  $\pm 2\%$ , 최대건조단위중량의 96~98%의 범위에서 다짐을 해야 얻을 수 있다.<sup>14)</sup>

Fig. 5는 영양분 공급 시간에 따른 화강풍화토의 투수계수 변화를 측정된 값이다. 투수계수가  $2.1 \times 10^{-5}$  cm/s인 시료는 영양분을 공급하지 않고 바로 수돗물을 침투시켜 투수계수를 측정했으나, 투수계수는  $1.1 \times 10^{-5}$  cm/s로 거의 감소하지 않았다. 이것은 박테리아가 성장하는데 있어 영양분 공급이 일정기간 필요함을 보여준다. 투수계수가  $1.6 \times 10^{-4}$  cm/s인 시료에 영양분 용액을 10일 동안 공급한 후 25일 동안 수돗물을 침투시켜 측정된 투수계수는  $5.7 \times 10^{-6}$  cm/s까지 감소한 후 일정 값을 유지하였다. Fig. 5에서 기질공급을 중단할 경우 투수계수가 증가하는 경향을 보이는 것은 호기성 미생물의 증식 시 발생하는 CO<sub>2</sub>의 감소에 따른 포화도의 감소와 영양분이 공급되지 않아 biomass의 체적이 감소했기 때문으로 사료된다. 영양분용액을 각각 15~20일 동안 공급한 후 투수액을 수돗물로 바꾸면 투수계수는  $9.1 \times 10^{-7}$ ~ $7.8 \times 10^{-7}$  cm/s에서  $2.1 \times 10^{-6}$ ~ $1.7 \times 10^{-6}$  cm/s로 43%, 46% 증가하였다. 투수

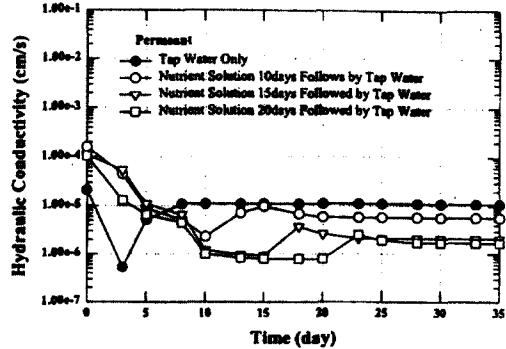


Fig. 5. Hydraulic conductivity change of specimens permeated with nutrient solution and tap water.

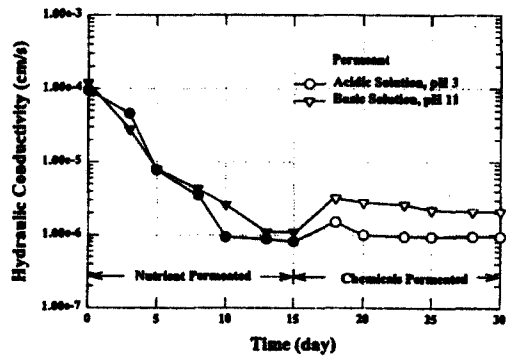


Fig. 6. Hydraulic conductivity change of specimens permeated with nutrient solution and chemical solution.

시험 결과 시료는 1/10~1/100 정도의 투수계수 감소를 나타냈는데, 특히 영양분 공급 15일 이후에 최저 투수계수 값을 보였다. 이것은 수돗물의 침투 이후에도 간극 속에 그대로 퇴적되어 있는 바이오필름과 시료 속에 남아있는 박테리아와 수돗물 속에 존재하는 박테리아에 의해 바이오필름의 퇴적이 증가되어 다시 감소한 후 일정 값을 유지하게 되었다. 위 실험 결과 박테리아를 접종한 3개의 시료는 매립지 차수재 투수기준( $1 \times 10^{-7}$  cm/s 이하)을 만족하지 못했지만, 투수계수가  $1 \times 10^{-5}$ ~ $1 \times 10^{-6}$  cm/s 정도인 토양에 박테리아를 접종하면 시료의 투수계수를  $1 \times 10^{-7}$  cm/s 이하로 감소시킬 수 있으므로 대용차수재 사용이 가능할 수 있을 것으로 생각된다.

Fig. 6은 15일 동안 영양분을 공급한 후에 화학용액을 침투시켜 투수계수 변화를 측정된 값이다. 투

수계수가 각각  $9.5 \times 10^{-5} \sim 1.2 \times 10^{-4}$  cm/s인 시료에 영양분 용액을 공급한 후 침투용액을 산성용액(HCl)과 염기성용액(NaOH)으로 바꿔 침투시킨 결과 투수계수는  $9.5 \times 10^{-7} \sim 2.1 \times 10^{-6}$  cm/s의 감소를 나타냈다. 실험 결과, 화학용액을 침투시킨 이후에도 투수계수는 수돗물을 침투시켜 측정된 값과 비슷한 값을 유지했다. 이것은 바이오필름이 화학 용액에 대한 내구성을 보여주는 것이다. 아울러 다른 화학용액의 침투에 따른 바이오필름의 내구성에 대한 연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다.

온도변화에 따른 바이오필름의 내구성을 평가하기 위해 동결·융해 시험을 하여 측정된 투수계수 변화는 Fig. 7에 나타나 있다. 투수계수가  $2.4 \times 10^{-4}$  cm/s인 시료에 영양분을 공급하면 투수계수는  $7.5 \times 10^{-6}$  cm/s까지 감소한다. 그러나 동결·융해 시험을 하기 이전에 침투용액을 수돗물로 바꾸면 시료의 투수계수는 Fig. 5의 경우처럼 증가한 후 일정 값을 유지하게 될 것이다. 따라서 biomass의 내생성장으로 인한 체적 감소에 따른 투수계수 증가와 동결·융해 시험으로 인한 투수성의 증가를 구분해야 한다. 즉 내생성장으로 인한 투수계수의 증가를 Fig. 5의 경우와 같이 45%로 가정한다면 바이오필름 형성에 따른 시료의 투수계수는  $7.5 \times 10^{-6}$  cm/s에서  $1.7 \times 10^{-5}$  cm/s로 감소하게 될 것이다. 그런 다음 3회의 동결·융해 시험동안 시료의 투수계수는 Fig. 7과 같이  $7.3 \times 10^{-5}$  cm/s까지 증가해 바이오필름 집합체가 손상될 수 있음을 알 수 있다. 그러나 이 값은 다진 점토로 동결·융해 시험을 했을 경우  $10^{-1} \sim 10^{-3}$  cm/s 정도의 투수계수 증가보다는 크지 않았다.<sup>15)</sup> 이것은 흙 입자 표면에 견고하게 부착하여 성장한 바이오필름의 표면이 EPS 성분으로 인해 빠르게 회복하는 점·탄성체로 되어있어, 동결·융해 시험 동안 큰 영향을 받지 않은 것으로 생각할 수 있다. 그러나 영양분을 다시 공급하면 biomass의 체적 증가로 인해 투수계수는 동결·융해 시험전의  $1.7 \times 10^{-5}$  cm/s와 유사한  $2.4 \times 10^{-5}$  cm/s의 안정된 값을 회복하였다.

Fig. 8은 투수계수 변화에 따른 간극비의 변화를 측정된 값으로 일반적인 흙의 투수계수와 간극비와의 상관관계처럼 투수계수가 증가할수록 간극비도 커지는 경향을 보인다.<sup>16)</sup> Fig. 8의 간극비 측정 결

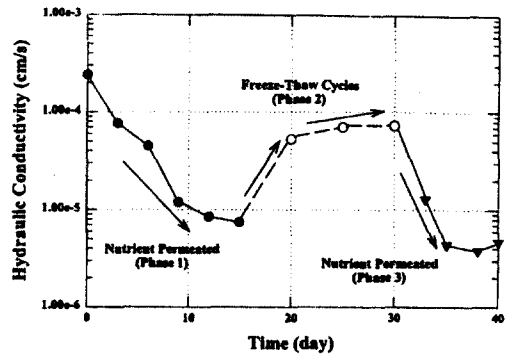


Fig. 7. Hydraulic conductivity changes with freeze-thaw cycles.

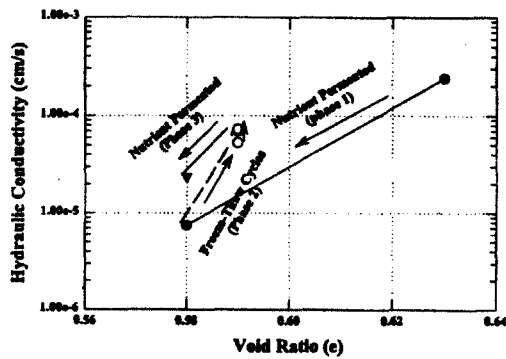


Fig. 8. Effects of freeze-thaw cycles on hydraulic conductivity versus void ratio relationship.

과, 투수계수가  $2.4 \times 10^{-4}$  cm/s인 시료의 간극비는 0.63에서 영양분 공급 후 0.58으로 감소하였다. 그러나 3회의 동결·융해 시험 동안 바이오필름의 손상으로 인해 투수계수가  $7.3 \times 10^{-5}$  cm/s일 때 간극비는 0.59으로 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.

시간에 따른 column의 구간별 투수계수 변화는 column에 연결된 6개의 manometer를 이용하여 측정하였다. 각 구간에 대한 투수계수  $k$ 는 유출수의 유출 누적량을  $Q$ , 포트간의 거리를  $x$ , column의 단면적을  $A$ , 유출 누적량이 1000 mL일 때의 경과시



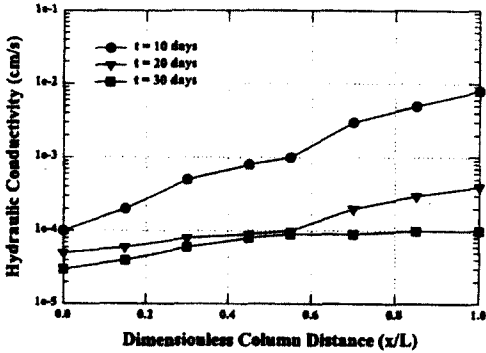


Fig. 9. Hydraulic conductivity changes as function of distance and time for column.

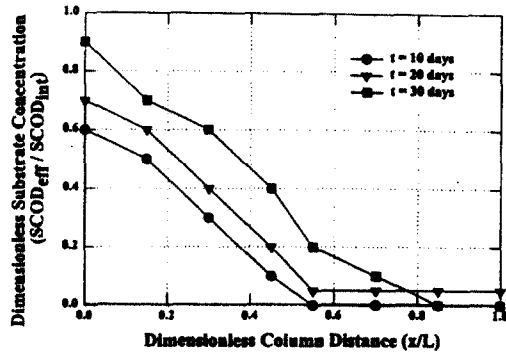


Fig. 10. SCOD<sub>eff</sub> concentration change as function of distance and time for column.

간을  $t$ , manometer의 수두차를  $h_1, h_2$ 로 표시하여 다음의 식으로 구할 수 있다.<sup>17)</sup>

$$k(cm/s) = \frac{Qx}{At(h_1 - h_2)} \quad (1)$$

Fig. 9는 column의 길이에 따른 투수계수 변화를 시간에 따라 측정된 값으로 기질이 유입되는 column의 하부에서 유출되는 column의 상부로 갈수록 시료의 투수성은 증가하는 경향을 보이고, 시간이 경과할수록 전체적인 column의 투수성은 감소하는 추세를 보이고 있다. 하부의 투수계수가 상부보다 낮은 이유는 박테리아의 성장에 의해 보다 많은 바이오필름이 효과적으로 형성되어 간극이 폐색되었기 때문으로 생각된다. 또한 시간에 따른 전체 column의 투수계수 변화는 투수계수가 column내에서 가장 낮은 구간, 즉 기질의 유입부근에 의해 결정되고 있음을 알 수 있다. 이것은 기질의 유입부근에 바이오필름이 집중적으로 형성됨에 따라 간극이 폐색되어 시료의 투수성이 감소되었음을 나타내고 있다.

Column내 기질의 농도 변화는 column에 연결된 6개의 유출구에서 COD<sub>cr</sub>의 측정을 통해 관찰하였으며 그 결과는 Fig. 10에 나타나 있다. COD<sub>cr</sub>의 농도는 기질의 유입부근에서 급격히 감소하였는데, 이것은 Fig. 9의 경우에서처럼 column내 박테리아의 성장에 의한 기질의 이용이 상대적으로 column 하부에서 많이 이루어지기 때문이다. 또한 시간에 따른 기질의 농도 감소는 column 하부에서 상부로

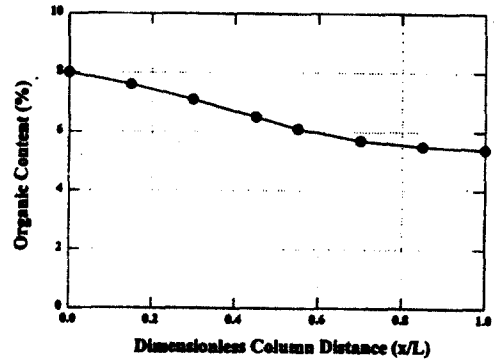


Fig. 11. Organism content change as function of distance from substrate inlet.

이동하고 있음을 알 수 있다. 이것은 기질의 유입부근은 비활성의 바이오필름 집합체가 완성되어 박테리아 생장이 크게 이루어지지 않고, 상대적으로 박테리아의 활성화 구간이 유출부 부근으로 이동함을 뜻한다.

Column test 동안은 시료의 채취가 불가능하므로 박테리아 개체수의 분포를 파악하기 위한 유기물 함량 실험은 column test가 끝난 후 column을 분해하여 수행하였다. 아크릴 파이프의 하부와 상부, 그리고 각 포트 부근의 시료를 채취하여 유기물 함량 실험을 한 결과는 Fig. 11에 나타나 있다. Column의 길이에 따른 유기물 함량은 기질 유입부에서 유출부로 갈수록 감소하였는데, 이것은 미생물 군체의 생장이 기질의 유입부근에서 활발하게 이루어졌기 때문이다. 그러나 column의 길이가 상대적으로 짧고,<sup>13)</sup> 앞서 언급한 것처럼 미생물의 활성화

구간에 기질의 유출부근으로 이동함에 따라 유기물 함량은 큰 차이를 보이지 않았다.

Table 3은 모래와 화강풍화토에 박테리아를 접종하여 측정 한 투수계수 변화를 요약한 것이다.

### 4. 결 론

투수성이 높은 모래와 화강풍화토에 *Azotobacter chroococcum* 박테리아를 접종하고, 영양분 용액을 공급하여 일정기간 동안 배양한 후 투수시험을 한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1) 수돗물이나 박테리아 혼합액으로 다짐실험을 했을 경우 다짐 특성은 변하지 않았으며, 이것은 현장 다짐시 수돗물로 측정한 최적 함수비로 다짐을 해도 무관함을 보여주는 것이다.
- 2) SEM 관찰 결과, 입자 표면층 뿐만 아니라 입자와 입자 사이에 mesh 형태의 바이오필름이 형성되어 보다 효과적으로 간극을 폐색시키고

있음을 관찰할 수 있었다.

- 3) 투수계수가  $4 \times 10^{-2}$  cm/s인 모래와  $1.6 \times 10^{-4} \sim 1 \times 10^{-4}$  cm/s인 화강풍화토에 박테리아를 접종, 배양한 결과 투수계수는 각각  $2.6 \times 10^{-3}$  cm/s와  $5.7 \times 10^{-6} \sim 1.7 \times 10^{-6}$  cm/s까지 1/10 ~ 1/100 정도 감소한 후 일정값을 유지하였다. 특히 영양분 공급 15일 이후에 최저 투수계수 값을 보였는데, 이것은 바이오필름이 간극의 형태를 보다 협소하게 만들었기 때문이다.
- 4) 투수시험 결과 시료의 투수계수는 차수재 투수기준을 만족하지 못했지만, 투수계수가  $1 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-6}$  cm/s인 토양에 박테리아를 접종하면  $1 \times 10^{-7}$  cm/s이하로 감소시킬 수 있으므로 대응 차수재 사용이 가능할 것이다.
- 5) 산성용액(HCl) 또는 염기성용액(NaOH)을 침투시켜도 시료의 투수계수는 일정값을 유지하였다. 이것은 바이오필름 집합체가 화학용액의 침투에 잘 저항함을 보여주는 것이다.
- 6) 영양분 공급 후  $2.4 \times 10^{-4}$  cm/s에서  $1.7 \times$

Table 3. Hydraulic conductivity changes of specimens

Test	Specimen	Permeant	Water Content (%)	Hydraulic Conductivity (cm/s)	
				Initial	Final
1	Sand	nutrient solution for 10 days followed by tap water	-	$4.3 \times 10^{-2}$	$2.6 \times 10^{-3}$ (6%) <sup>*1</sup>
2	SP (Poorly Graded Sand)	tap water only	18.7	$2.1 \times 10^{-5}$	$1.1 \times 10^{-5}$ (5.2%)
		nutrient solution for 10 days followed by tap water	14.9	$1.6 \times 10^{-4}$	$5.7 \times 10^{-6}$ (3.6%)
		nutrient solution for 15 days followed by tap water	15.4	$1.1 \times 10^{-4}$	$2.1 \times 10^{-6}$ (1.9%)
		nutrient solution for 20 days followed by tap water	16.1	$1 \times 10^{-4}$	$1.7 \times 10^{-6}$ (1.7%)
3	SP (Poorly Graded Sand)	nutrient solution for 15 days followed by acidic solution	16.4	$9.5 \times 10^{-5}$	$9.5 \times 10^{-7}$ (1%)
		nutrient solution for 15 days followed by basic solution	15.4	$1.2 \times 10^{-4}$	$2.1 \times 10^{-6}$ (1.8%)
4	SP (Poorly Graded Sand)	nutrient solution for 15 days followed by three freeze-thaw cycles	16.0	$1 \times 10^{-4}$	$3 \times 10^{-6}$ (3%)
5	Sand	nutrient solution for 15 days measure COD <sub>cr</sub> and organic content	-	$3 \times 10^{-2}$	$1 \times 10^{-3}$ (3.3%)

\* 1 =  $\frac{\text{Final } k}{\text{Initial } k} \times 100$

$10^{-5}$  cm/s까지 감소한 시료의 투수계수는 동결·융해 시험동안  $7.3 \times 10^{-5}$  cm/s로 감소했으며, 간극비 또한 0.58에서 0.59으로 증가해 바이오필름 집합체가 손상되었음을 확인할 수 있었다. 그러나 영양분의 공급을 통해 투수계수와 간극비는 다시 회복되었다.

- 7) Column의 길이에 따른 COD와 유기물 함량은 기질의 유입 부근에서 가장 높았으며, 박테리아의 활성 구간은 시간이 경과할수록 기질의 유출 부근으로 이동하였다. 따라서 시료내에서의 바이오필름 형성에 따른 투수계수의 감소는 기질이 유입되는 부근에서 결정될 수 있음을 알 수 있었다.
- 8) 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.

## 참 고 문 헌

1. Cunningham, A. B., "Influence of biofilm accumulation on porous media hydrodynamic properties," *Manipulation of ground-water Colloids for Environmental Restoration*, McCarthy, S. F., and Wobber, F. J. (Eds.), Lewis Publisher, Boca Raton, pp. 103~109(1993).
2. Rijnaarts, H. M., Brunia, A., and Van Aalst, M., "In situ bioscreens," *Fourth International In Situ and On-Site Bioremediation Symposium*, 4, pp. 203~208 (1997).
3. Characklis, W. G. and Marshall, K. C., *Biofilm*, John Wiley & Sons, Inc., New York, N.Y.(1990).
4. Shaw, J. C., Wardlaw, N. C., Bramhill, B., and Costerton, J. W., "Bacterial fouling in a model core system," *Appl. and Environ. Microbiol.*, 49(3), 693~701(1985).
5. Stoodley, P., de Dirk, B., and Lewandowski, Z., "Liquid flow in biofilm systems," *Appl. and Environ. Microbiol.*, 60(8), 2711~2716(1994).
6. Brough, J. M., Al-Tabbaa, A., and Martin, R. J., "Active biofilm barriers for waste containment and bioremediation: laboratory assessment," *Fourth International In Situ and On-site Bioremediation Symposium*, 4, pp. 233~238(1997).
7. Abou-Rizk, J. A. and Leavitt, M. E., "Natural attenuation and a microbial fence: Reengineering corrective action," *Fourth International In Situ and On-Site Bioremediation Symposium*, 4, pp. 169~174(1997).
8. Stanier, R. Y., Ingraham, J. L., Painter, P. R., and Wheelis, M. L., *The Microbial World*, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey(1986).
9. Atlas, R. M. and Bartha, R., *Microbial ecology: Fundamentals and applications*, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., Redwood City, Ca(1992).
10. Sharma, H. D. and Lewis, S. P., *Waste containment systems, waste stabilization, and landfill: Design and evaluation*, John Wiley & Sons Inc., New York, N.Y.(1994).
11. Moo-Young H. K., "Effects of Freezing and thawing on the hydraulic conductivity of paper mill sludges used as landfill covers," *Can. Geotech. J.*, 33, 783~792(1996).
12. AWWA, APHA, and WPCF, *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 19th Ed., American Public Health Assoc., Washington, D.C(1997).
13. Taylor, S. W., Milly, P. C. D., and Jaffe, P. R., "Biofilm growth and the related changes in the physical properties of a porous medium. 2: Permeability," *Water Resour.*, 26(9), 2161~2169(1990).

14. Daniel, D. E. and Benson, C. H., "Water content-density criteria for compacted soil liner," *J. of Geotech. Engrg.*, **116**(12), 1811~1830(1990).
15. Othman, M., Benson, C. H., Chamberlain, E. J., and Zimmie, T. F., "Laboratory testing to evaluate changes in hydraulic conductivity of compacted clays caused by freeze-thaw State-of-the-Art," *Hydraulic conductivity and waste contaminant transport in soils*. ASTM. STP., 1142., Daniel, D. E., and Trautwein, S. J., (Eds.), ASTM. Pa., pp. 227~254(1995).
16. Mitchell, J. K., *Foundamentals of soil behavior*, John Wiley & Sons. Inc., New York, N.Y(1993).
17. Head, K. H., *Manual of soil laboratory testing*, Vol. 2: Permeability, shear strength and compressibility tests, 2nd Ed., Pentech press, London(1997).