매립지 복토용 슬러지 고화물내 이산화탄소 생광물화 고정균 분석 및 생광물화능 평가

Characterization of CO₂ Biomineralization Microorganisms and Its Mineralization Capability in Solidified Sludge Cover Soil in Landfill

안창민 · 배영신* · 함종현* · 천승규* · 김창균†

Chang-Min Ahn · Young-Shin Bae* · Jong-Heon Ham* · Seung-Kyu Chun* · Chang-Gyun Kim†

인하대학교 환경공학과 · *수도권매립지관리공사
Department of Environmental Engineering, Inha University
*SUDOKWON Landfill Site management corporation

(2013년 2월 6일 접수, 2013년 8월 29일 채택)

Abstract : This study was performed to determine whether biomineralization microbes were actively present underneath landfill cover soil producing biocalcification. From this, various types of microbes were observed. Among them, two species were dominantly found; *Bacillus megaterium* and *Alkaliphilus metalliredigens* that were known as biomineralization bacteria. With those microbes, CO₂ was more highly consumed than without bacteria. In response, the calcium carbonate mineral was produced at 30% (wt) greater than that of the control. At the same time, TG-DTA was successfully used for quantification of CO₂ consumed forming calcium carbonate minerals resulting from biocalcification. It was decided that the presence of solidified sewage sludge cake utilized as a cover soil in the landfill could efficiently contribute to possible media adaptably and naturally sequestering CO₂ producing from the landfill.

Key Words : Biocalcification, Bacteria, 16S rDNA, Solidified Sewage Sludge, CCS (Carbon Capture & Sequestration)

요약 : 본 연구에서는 실제 매립장에 매립되어 있는 슬러지 고화물을 대상으로 생광물화 미생물 종분석을 위한 기초 연구를 수행 하였고, 또한 분석된 미생물을 배양하여 일반적으로 알려진 생광물화균과의 대조 실험을 통해 토착 미생물의 carbonate 생성능을 기기분석을 통해 비교 평가하였다. 시료내 미생물 종분석을 16S rDNA 시퀀스 분석을 통해 수행해본 결과, 다양한 미생물종이 관찰되었으며, 특히 생광물화 기작에 관여한다고 알려진 호기성 토양 미생물의 한종인 *Bacillus megaterium*과 급속을 환원시켜 미네랄염 상태로 전환시키는 *Alkaliphilus metalliredigens*의 근연종을 확인 하였다. 복토재에서 분리 배양한 균주를 이용하여 실험을 수행한 결과, 생광물화 균주가 주입된 실험군에서 미생물이 주입되지 않은 대조군보다 이산화탄소의 감소량이 더 컸다. 이와 연계하여 반응후 열중량분석기(TG-DTA)를 이용하여 탄산염(carbonate minerals)을 정량한 결과, 미생물이 주입된 실험군에서 대조군에 비해 약 30% 정도 더 생성된 것을 확인 하였다. 이러한 실험 결과로 비취 볼 때 열중량분석법(TG-DTA)은 이산화탄소의 생물학적 전환에 의해 생성된 탄산염물의 정량적 분석에 적합할 것으로 판단된다. 이를 종합해 보면 복토재로 현장 매립된 슬러지 고화물은 매립장에서 표면 발산되는 이산화탄소의 자연적인 탄산염 전환 매체로서 적용이 가능할 것으로 판단된다.

주제어 : 생광물화, Bacteria, 16S rDNA, 슬러지 고화물, TG-DTA, CCS (Carbon Capture & Sequestration)

1. 서론

매립지에서 발생하는 주요 온실가스인 이산화탄소는 매립지 발생 가스 중 약 30~40%에 달하고, 지구온난화를 일으키는 대기 중의 이산화탄소(약 380 ppm) 중 약 7%를 차지하고 있다. 이는 고 배출 산업(석유화학, 발전소 등)에 비해 적은 비중을 점유하고 있지만 자연적인 배출량이라는 점을 감안하면 무시할 수 없는 수준이다. 따라서 매립가스 중 이산화탄소에 대한 관리대책이 필요하다.¹⁾

최근 이산화탄소를 저장하기 위한 기술(CCS : Carbon Capture & Storage)로써 폐자원을 이용하여 이산화탄소를 물리화학적 흡착 처리하는 이산화탄소 격리 기술의 개발이 활발히 진행되고 있으며, 실제 현장 적용시에도 이산화탄소 저감이 가능한 기술로 평가되고 있다. 그러나 이러한 물리화학적 이산화탄소 저장 기술은 높은 에너지가 소요되며 2차

환경문제가 발생될 가능성이 있다.^{1,3)} 반면에 생광물화(bio-mineralization) 기술은 미생물의 신진대사 작용을 통해 이산화탄소를 금속이온과 결합시켜 광물로 고정시키는 기작을 이용하는 것으로, 자연계에서 광범위하게 발생하는 광물화(mineralization) 과정을 모사한 것이다.⁴⁾ 따라서 생광물화는 물리화학적 흡착과 더불어 생물학적 수단을 이용하기 때문에 경제성이 있으며 물리화학적 흡착 기술보다 이산화탄소의 제거 효율이 높다. 이러한 생광물화 미생물들은 다양한 환경에서 발견되는데, 특히 생광물화 미생물의 일종인 *Bacillus megaterium*과 *Bacillus pasteurii*는 호기성 토양 조건에서 광범위하게 발견된다.⁵⁾ 따라서 이러한 미생물들을 이용한 이산화탄소의 탄산염화 및 각종 광물화 형태로의 전환 연구가 큰 관심을 받고 있다.^{4,6)}

이산화탄소의 생광물화 과정에서는 반응 매체로 석탄회, 조개껍질, 슬러지 고화물 등 물리화학적 광물화 공정에서

† Corresponding author E-mail: cgk@inha.ac.kr Tel: 032-860-7561 Fax: 032-865-1425

응용되는 유사 폐자원을 이용할 수 있다.⁷⁾ 이 중 슬러지 고화물은 Ca 함량이 높은 매체로 매립지 반입 슬러지에 첨가하여 생산된 것으로 매립지 복토재 대체용으로 활용이 가능하다.⁸⁾

따라서 본 연구에서는 실제 슬러지 고화물이 복토재로 사용된 매립복토층을 대상으로 생광물화 미생물의 존재 유무를 평가하고 기복토층 토양시료를 대상으로 생광물화 가능성을 평가하고자 하였다.

2. 실험 재료 및 방법

2.1. 대상 시료 채취 및 분석

S매립지 내 위치한 제2매립장 상부 슬러지 고화물 시험포설 지점(Fig. 1의 3B)의 포설시기는 2010년 9월이었으며 전체 복토층은 50 cm 깊이로, 하부에 슬러지 고화토를 포설하고 그 상부에 일반토사를 시공하였다. 중간 복토층 포설 현장은 2가지 방식으로 슬러지 고화토가 매립되어 있는데, Area 1은 하부 20 cm에 슬러지 고화토를 포설하고 그 위로 30 cm를 일반토사로 구성하였고, Area 2는 하부 15 cm에 슬러지 고화토를 포설하고 그 위 35 cm를 일반토사로 구성하였다. 포설 넓이는 두 지점 모두 가로 30 m, 세로 30 m 크기로 준설되었다. 2012년 8월 슬러지 고화물 시험포설 지점의 블록 상부로부터 50 cm 깊이, 너비와 폭은 각각 2 m로 정방형 형태의 호를 판 후 호의 측면 50 cm 내부 수직면을 따라 10 cm 깊이별로 멸균한 모종삽을 이용해 토양 시료를 각각

Fig. 1. Locality of solidified sludge cover soil placed in 2nd site (at S landfill).

500 g을 편취해 멸균된 PP 시료백(Autoclavable Polypropylene Bags, w60 × h80 cm, Daihan Science)에 담아 실험실까지 냉장 보관하여 이송하였다. 채취한 토양 시료의 물리화학적 특성을 평가하기 위하여 Standard Methods에 따라 3성분 및 pH를 분석하였다.⁹⁾ pH는 탁상용 JENWAY 3510 pH METER를 사용하여 분석하였다.

2.2. 슬러지 고화토내 칼슘 이온 분석

매립전후 슬러지 고화토 내 잔류 칼슘 이온 농도를 Standard Methods에 따라 EDTA 적정방법을 이용하여 정량하였다.⁹⁾ 이를 위하여 분석대상 시료 5 g을 취하여 멸균증류수 50 mL를 가한 후 shaking incubator (Vision, VS-8480)에 넣고 30℃, 200 rpm에서 1시간 진탕하였다. 진탕 후 시료를 3,000 rpm에서 15분간 원심분리(Hanil, HA-1000-3)한 후 상징액 30 mL를 취하여 분석에 사용하였다. 상징액은 5 N NaOH를 사용하여 pH를 12~13으로 조정하였다. 그 후 Calcon (KANTO, 0.4% w/v solution in ethanol) 1 mL와 Polyvinyl Alcohol Dispersing Agent (HACH®) 두 방울을 넣고 밝은 파란 종말점이 나타날 때까지 0.01 N EDTA로 적정하였다.

2.3. 매립지 복토 유래 토착 미생물 농화 배양 방법

멸균된 280 mL serum bottle (Wheaton)에 채취해온 토양 시료 10 g과 멸균 조제한 NH₄ - YE medium 100 mL를 각각 주입한 후 마개(Gray butyl stopper, Wheaton)로 밀폐하였다. 그 후 serum bottle의 head space를 호기성 조건으로 유지시키기 위해 인공 Air 가스(N₂ : O₂ = 79% : 21%, v/v%)를 1.5 L/min의 유량으로 1분간 주입하였다. 이와 같이 준비된 serum bottle을 shaking incubator (Vision, VS-8480)에 넣고 30℃, 200 rpm에서 24시간 진탕 배양하였다. 1차 배양 후 10분간 중력침강시켜 침전한 토양입자를 제외한 후 상징액 10 mL를 멸균된 피펫으로 취해 NH₄ - YE medium 100 mL에 주입하여 1차 배양과 같은 조건으로 2차 배양하였다. 동일한 조건으로 3차까지 미생물을 농화 배양하였다. 농화배양된 미생물은 3,000 rpm에서 15분간 원심분리(Hanil, HA-1000-3)한 후 상징액은 버리고 침전물만 취한 후 밀봉하여 4℃ 냉장보관 하였으며, 실험 시작 전 24시간 동안 NH₄ - YE medium에서 다시 배양하여 OD₆₀₀으로 미생물 농도를 측정 후 실험에 이용하였다.

2.4. 매립지 복토재 유래 토착 미생물의 종 분석 방법

매립지 복토 토양 유래 토착 미생물의 종 분석을 위해 농화 배양된 토착 미생물을 16S rRNA gene cloning을 이용하여 종 분석을 실시하였다. 배지와 미생물 현탁액을 10~100 mL 취하여 3,000 rpm에서 15분간 원심분리(Hanil, HA-1000-3)하였으며 농축분리된 침전물은 미생물 균집분석을 위한 시료로 사용하였다. 침전물로부터 cell을 분리하기 위하여 Fast-Prep® Instrument (Q-Bio gene)를 이용해 Speed 4에서 5초간 bead beating하였다. 그 후 FastDNA® SPIN Kit (Bio101 system,

Q-Bio gene)를 사용하여 침전물의 총 genomic DNA를 추출하였다. 추출한 총 genomic DNA에서 미생물 종을 확인하기 위하여 16S universal primer (27F-5'AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG 3' 및 1492R-5' TAC GCY TAC CTT GTT ACG ACT T 3')로 PCR 증폭(PCR Machine, Techgene)하였다. PCR 증폭 산물을 대상으로 SolgTM Gel과 PCR Purification System (Solgent Co., Ltd.)을 사용하여 반응 후 잔류하는 primer-dimer를 제거하였다. 이와 같이 전처리된 PCR 증폭산물은 agarose gel에 주입(loading)하고 Power gel extraction kit (Dyne Bio Inc., Korea)를 사용하여 정제하였다. 정제된 증폭산물은 T-Blunt cloning vector (SolGent, Cat No. SOT01-K020)로 ligation시키고 숙주세포 (host cell : E.coli XL1-Blue)로 형질전환(Transformation)하였다. 그 후 X-Gal과 IPTG로 처리된 LB (Luria-Bertani) 배지에 형질전환된 세포를 배양한 후 시료별로 10~20개의 균주와 접합된 콜로니를 Wizard[®] Plus Minipreps DNA Purification System (Promega, USA)을 이용해 플라스미드로 회수하였다. 이어서, 1% agarose gel에 loading하여 plasmid와 PCR 산물이 조합된 시료만을 대상으로 16S rRNA 염기서열을 결정하였다. 미생물 염기서열은 NCBI (National Center for Biotechnology Information : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) Gene Bank에 등록된 데이터베이스와 비교하여 분석하였다. 이와 같이 도출된 미생물 종 별 염기서열 정보를 근거로 CLUSTALW ([\[genomic.jp/\]\(http://genomic.jp/\)\)를 이용하여 관련 미생물에 대한 계통수\(phylogenetic tree\)를 작성하고 미생물 종간 유근관계를 도출하였다.](http://clustalw.</p>
</div>
<div data-bbox=)

2.5. 실험실 규모 Lysimeter 실험

2.5.1. 실험 개요

매립지 복토층을 대상으로 이산화탄소 생광물화능을 실험실 규모로 모사하기 위해서 Fig. 2와 같이 column type 형태의 반응 장치인 lysimeter를 제작하였다. 반응기는 직경 20 cm로 높이 50 cm의 충전부와 그 상부에 높이 10 cm의 환기부로 이루어져 있다. 이와 같은 반응기를 3개 제작하여 2개는 Control (Control 1: 1% NaN₃처리, Control 2: 복토재) 나머지는 1개는 Test로 동시 운전을 하였다. 반응기의 전체 재질은 아크릴(acryl)로 제작하였고 시료 채취구와 반응기의 연결부위는 가스누출을 막기 위해 고무 패드로 밀폐하였다. 반응기의 하부에는 스테인리스 재질의 다공판을 설치하였고, 이 판과 토양복토층 사이에는 하부에서 유입되는 인공 매립가스의 균일한 확산을 위하여 10 mm 직경의 유리 구슬 (Glass Bead, SI 5016, 10 mm, Daihan Science)을 10 cm 높이로 충전하였다. 또한 유리 구슬 충전층 상부에 직경 20 cm의 다공성 부직포를 설치하여 그 상부 토양복토층과 구분하였다. 반응기 수직 벽면을 따라 10 cm 간격으로 배치된 시료채취구에는 gas-tight valve를 설치하였고 그 출구에 GC 분석용 septum (Inlet septa 4213, Agilent)을 끼워서 가스 시

Fig. 2. Schematic diagram of laboratory lysimeter to simulate biomineralization in depth cover soil placed.

Table 1. Monitoring parameters for lysimeter operated in the laboratory

	Range	Condition
Soil moisture (% v/v)	40	Soil moisture was kept at lower than set value → distilled water (after sterilized) was added on lysimeter automatically
Soil pH	7.0~8.5	
Soil ORP (mV)	65~100	Only monitoring conducted
Soil temp. (°C)	20~25	

료채취 시 반응기내 가스 누출을 방지하였다. 반응기 상부에는 carrier gas로서 인공 Air ($N_2 : O_2 = 79\% : 21\%$, mol)를 200 mL/min의 유량으로 계속 통기하여 매립지 상부의 대기층에 의해 영향을 받는 자연적인 토양복토층의 산화환원능(redox gradient)을 모사하였다. 매립지 발생 매립가스의 조성 및 농도는 55% CH_4 와 45% CO_2 를 혼합한 합성가스를 사용하여 10 mL/min의 유량으로 반응기 하부에서 상부로 통기하였다. 이는 실제 매립지에서 20 m 깊이의 매립층으로부터 발생되는 매립가스의 전형적인 가스 flux를 모사한 것이다.¹⁰⁾ 또한 실험시작 전 반응기에 복토토양을 충전 후, 24시간 동안 인공 Air 가스를 하부에서 상부로 주입하여 복토토양 공극내 가스 조건을 동일하도록 한 후 25°C의 항온실에서 실험을 수행하였다.

또한 Control 1로 사용한 복토토양층 모사 반응기에는 토양 충전전에 NaN_3 solution (1%, v/v)와 토양을 고르게 혼합하여 원시료내에 존재하는 미생물의 간섭을 차단하였다. 그리고 실험기간 동안 반응기 내부 토양층의 미생물 활성 변화 특성을 평가하기 위해 모니터링 시스템(Campbell® Scientific, Data Logger System)을 구축하여 실시간으로 관찰하였다. 모니터링 시스템에는 pH (SCHOTT Instruments, BL® 21-pH), ORP (SCHOTT Instruments, BL® 31-Rx), 온도와 수분(Campbell® Scientific, HS2 soil water content measurements) 센서를 연결하여 사용하였다. 구체적인 반응기 운전 모니터링 조건은 Table 1에 기술하였다.

2.5.2. Lysimeter 내부 가스농도 변화 분석

반응기 운전 시간에 따른 메탄, 이산화탄소, 산소 및 질소 가스의 농도는 packed column (Alltech 403412-1417) 및 TCD가 장착된 가스 크로마토그래피(HP 6890 series GC system, U.S.A.)를 이용하여 측정하였다. 이 때 온도 조건은 Inlet 110°C, Oven 50°C, 그리고 Detector 210°C이었다. 분석용 시료는 반응 용기의 가스시료채취구로부터 GC 가스 분석용 syringe (HAMILTON, GASTIGHT® # 1002)를 이용하여 0.5 mL 분취하여 사용하였다.

2.5.3. 생광물화 반응산물 특성 분석

생광물화 반응전후의 $CaCO_3$ 를 포함한 탄산염광물의 생성 여부 및 정량을 위해서, 열중량 분석기(TGA : Thermogravimetric analysis, Diamond TG/DTA Lab System, Perkin Elmer)

를 이용하여 분석하였다. 이 때 carrier gas는 N_2 gas였고 10°C/min의 승온 조건으로 1,000°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 인공 N_2 gas (purity 99.0%)를 1.5 L/min의 유량으로 2분간 purging하였다. 뒤이어 곧바로 멸균한 가스 bag (10 L, 2 Stopcock type, Tedlar®)에 인공 N_2 gas를 채운 후 데시케이터와 연결하여, 0.5 L/min의 유량으로 순환시키면서 지속적으로 시료를 건조한 후 분석에 이용하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 복토층 깊이별 성상분석 결과

복토토양 시료의 기초 삼성분 성상 및 pH의 측정 결과는 Table 2와 같다. 슬러지고화토는 50 cm의 복토층 하부 20 cm 깊이에 포설되어 있었다. 슬러지고화토가 시험 포설된 2매립장내 3B 블록의 Area 1의 지표하부 50 cm 지점 pH는 7.97, 수분 42.2%, 가연분 13.7%, 회분 44.2%이었으며, Area 2의 지표하부 50 cm 지점의 pH는 7.79, 수분 38.9%, 가연분 14.6%, 회분 46.4%로 나타났다. 두 지점간의 pH는 큰 차이가 없었고, 3성분 분석치도 큰 차이를 보이지 않았다. 다만, 수분 함량의 경우 두 지점 모두 지표로부터 심도가 깊어질수록 증가하였는데 이는 호기성 미생물인 생광물화균의 산소 이용효율이 깊은 심도에서 감소하는 요인이 될 것으로 보고되었다.^{6,9)} 그러나 다른 한편으로 수분함량이 높을 경우 이산화탄소의 생광물화 기작의 초기 단계인 이산화탄소의 수화반응에 의한 bicarbonate (HCO_3^-)으로의 전환을 증가시

Table 2. Physical property on the cover soil sample taken in depths from the 3B block

Depth below ground surface	Location	Moisture content (%)	Ash (%)	Combustibles (%)	pH
10 cm	Area 1	13.8	79.7	6.5	8.12
	Area 2	12.6	81.2	6.3	7.79
20 cm	Area 1	14.8	78.4	6.8	7.92
	Area 2	13.3	80.3	6.4	7.99
30 cm	Area 1	15.6	76.9	7.5	8.06
	Area 2	13.8	79.5	6.6	7.83
40 cm	Area 1	29.2	59.3	11.5	8.34
	Area 2	21.2	68.6	10.2	8.2
50 cm	Area 1	42.2	44.2	13.7	7.97
	Area 2	38.9	46.4	14.6	7.79

*% wt, wet basis

켜 결과적으로 생광물화 반응을 촉진시키는 기폭제가 된다.¹⁰⁾ pH는 모든 시료가 7.8~8.0의 값을 나타내고 있었다. 매립지에 복토재로 사용되기 전 슬러지 고화토 시료의 경우, Ca^{2+} 농도는 22.7% wt.이고 pH는 11~12로써 상당히 높은 수준의 알칼리영역의 pH를 보였지만, 복토재로 사용 후 Ca^{2+} 농도는 매립전과 비교했을 때 다소 감소한 16.7% wt.로 분석되었다. 매립시간 경과에 따라 Ca^{2+} 이온이 감소하는 이유는 매립지 하부 발생 이산화탄소와 접촉시, 물리화화학적 흡착에 의해 일부가 탄산염광물화에 이용되었기 때문이다. 한편 시간이 경과함에 따라 매립지 하부로부터 발생하는 이산화탄소와의 접촉에 의해 고화토의 pH가 감소하여 중성 범위의 값을 나타냈다.

3.2. 농화 배양 후의 매립지 복토 유래 토착 미생물 종 분석 결과

슬러지 고화토 복토재가 포설된 3B블록의 2개 지점에서 지표층 상부로부터 하부로 10 cm 깊이별로 총 10개 시료에 대해 미생물 군집 분석을 수행하였으며 이를 위해 각 시료별로 20개의 colony를 배양하여 미생물 종을 결정하였다. Fig. 3과 같이 3B 블록의 Area 1의 슬러지 고화토 포설 깊이 (심도 30~50 cm)에서는 20개의 colony 중 5개의 colony에서 *Bacillus megaterium* (Identity : 92%)과 *Bacillus* sp. (Identity : 92%)의 근연종이 관찰되었다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 Area 2(심도 30~50 cm)의 경우도 마찬가지로 20개의 colony 중 12개의 colony에서 *Bacillus megaterium* (Identity : 94%)

Fig. 3. Phylogenetic tree of Area 1 cover soil in 3B block from 2nd site (at S landfill, Depth 30~50 cm).

Fig. 4. Phylogenetic tree of Area 2 cover soil in 3B block from 2nd site (at S landfill, Depth 30~50 cm).

와 *Bacillus* sp. (Identity : 91~96%)의 근연종이 관찰 되었다. 뿐만 아니라 Area 2의 50 cm 심도에서는 금속을 환원시켜 미네랄을 형성하는 *Alkaliphilus metalliredigens* (Identity : 88%)가 관찰되었다.¹¹⁾ 이와 같이 고화토가 복토재로 사용된 지표면 부근의 천부 심도에서는 호기성 조건이 형성되어 생광물화균인 호기성미생물에 의해 고화토에 함유된 칼슘염이 효율적으로 이용되어 생광물화가 활발히 진행될 수 있었음을 확인하였다.

3.3. Lysimeter 높이별 내부 환경 및 가스변화 분석 결과

매립지 현장 복토층을 모사한 lysimeter 내부의 반응 시

간별 운전인자 변화 추이를 Fig. 5에 나타내었다. pH의 경우 Test와 Control 모두 반응이 진행됨에 따라 pH 변화는 크게 나타나지 않았다. ORP의 경우 Control 2를 제외하곤 모든 반응기에서 그 산화환원 전위 상태가 거의 일정한 값을 나타냈다. Control 2의 경우 초기 반응시 ORP가 90.5 mV를 나타내다가 반응 종료 후 시점에는 78.0 mV까지 감소하였다. 즉, 반응기를 통하여 하부에서 공급된 매립가스가 Control 1의 경우 NaN_3 에 의하여 환원되어 ORP의 변화에는 큰 영향을 미치지 못했다. 한편 Test의 경우 생광물균의 활성화에 의해 분해되어 ORP가 거의 변화가 없었으나 Control 2의 경우 공급된 매립가스에 의해 산화환원 조건이 직접 영향을 받

Fig. 5. Temporal variation of pH, ORP, temperature and soil moisture content during the operation of lysimeter in the temperature controlled laboratory at 25°C.

아 초기보다 상대적인 환원상태로 그 전위가 감소하였다.
매립지의 환경을 모사한 실험을 위하여 55% CH₄와 45%

CO₂ (v/v)의 혼합가스를 반응기의 하부에서 상부로 주입하였
다. 반응기의 수직층을 통한 gas 농도 분포를 Fig. 6에 각각

Fig. 6. Depth profiles of methane, oxygen, nitrogen and carbon dioxide during the operation of lysimeter in the temperature controlled laboratory at 25°C.

나타내었다. 그림에서 보는 바와 같이 모든 반응기에서 가스가 하단에서 상단으로 올라갈수록 그 농도가 감소하였다. 이것은 반응기 상부에 대기 중 공기를 모사하기 위해 공급된 N₂ 및 O₂의 혼합가스가 200 mL/min으로 유량으로 반응기 상부를 연속적으로 통과하는 데이와 동시에 반응기 하부에서 매립가스가 10 mL/min으로 통기되어 상부에 도달하면서 물리적으로 희석되는 효과에 기인한 것으로 판단되었다. 이 때 N₂의 농도는 주입된 인공 Air가 상부에서 하부로 침투하면서 그 농도가 증가하였지만 O₂ 농도는 증가하지 않았다. 이는 N₂는 매우 불활성의 가스로서 화학적으로 안정이 되어 있어 반응기내부 인자에 의해 아무런 영향을 받지 않았다. 그러나 O₂의 경우 대부분 호기성 미생물(생광물화 균주)의 대사작용에 주로 이용되는 동시에 반응기 내부에 불특정의 환원성물질을 산화시키는 데 이용되어 O₂가 반응기 매립층 상부에서 일정한 농도로 환기되더라도 그 농도는 반응기 내부에서 인공매립가스의 농도의 감소와 유사한 패턴으로 저감되었다. 미생물이 주입된 반응기(Test)의 경우, Control 1, 2 반응기에 비해 이산화탄소 농도의 감소폭이 1~2% 높았다. 이는 모든 반응기에서 발생된 물리적 희석 효과와 더불어 Control과 달리 Test에서 생광물화가 그 차만큼 발생된 것임을 의미하는 것이다. 이것을 좀 더 정확하게 평가하기 위해 반응전후의 생성물(탄산염물)의 변화량을 확인하고자 하였다.

3.4. 생광물화 생성물 정량분석 결과

일반적으로 탄산염화 반응은 먼저 식 (1)~(3)과 같이 용액 내에 용해되어 있는 이산화탄소가 중탄산(bicarbonate)으로 전환되며 식 (4)~(5)반응을 통하여 탄산(carbonate)으로 해리된 후 Ca²⁺와 반응하여 CaCO₃로 침전되는 것으로 알려

져 있다.^{5,14,15)}

식 (5)와 같이 형성된 탄산염 광물의 정량은 열중량분석 (TGA : Thermal Gravimetry Analysis) 장치를 이용하여 이산화탄소를 고온에서 열로 해리시켜 발생하는 질량차로 결정하였으며 그 결과를 Fig. 7에 나타내었다. 정량 분석 결과, 1% NaN₃로 멸균한 Control 1은 초기 2.35 mg에서 2.73 mg으로, 그 증가량이 크지 않았다. Control 2의 경우 탄산염은 초기 2.58 mg에서 3.02 mg으로 증가하였고 Control 1과 큰 차이를 보이지 않았다. 반면에 Test의 경우, 초기 2.73 mg에서 반응 종료 후 약 48%가 증가한 4.03 mg으로 나타났다. 이는 명확하게 미생물에 의해 생광물화가 진행되었음을 의미한다. 대조군의 경우 생성물의 농도가 다소 증가한 것은 lysimeter 내부에 충전된 복토제와 주입된 인공 매립가스가 접촉하면서 물리화화학적 흡착에 의해 일정량의 탄산염이 생성이 되었기 때문이다.¹⁶⁾ 그러나 미생물이 주입된 Test의 경우 Control 1에 비해 31.6%, Control 2에 비해 30.6%로 각각 탄산염이 더 증가하는 것을 확인 할 수 있었다. 이는 물리화학적 흡착과 동시에 미생물의 대사작용에 의한 생광물화가 활발히 진행되었음을 나타내는 것이다.

Fig. 7. The comparison of the amount of carbonate minerals produced between controls and test (before and after lysimeter test ended).

4. 결론

본 연구에서는 매립지에 복토재로 사용된 고화토 포설지점의 이산화탄소 생광물화 균의 존재 가능성과 실제적으로 관련 미생물이 생광물화에 기여하는지를 평가하고자 하였으며 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 매립지 고화토 포설지점의 토양시료의 3성분과 pH 분석결과 미생물의 생장에 적합한 환경을 유지하는 것을 확인하였다. 고화토의 pH는 11~12이었지만 매립시간이 경과하면서 pH가 중성영역으로 감소함을 보여 매립하부 발생 이산화탄소에 의해 크게 영향을 받는 것을 알 수 있었다.

2) 고화토 내 미생물 중분석 결과 *Bacillus megaterium*과 알칼리금속환원균인 *Alkaliphilus metalliredigens* 등이 우점종으로 존재하였다. 이와 같은 생광물화균의 존재는 고화토에 포함된 칼슘염이 매립지 하부에서 발생하는 이산화탄소를 탄산염광물로 활발하게 전환시킬 수 있는 환경이 될 수 있음을 의미하는 것이다.

3) 생광물화 모사 반응 실험 종료 후 Test에서 Control에 비해 약 30% 이상 탄산염 광물의 생성이 증가하였다. 이는 슬러지 고화시 고농도로 사용되는 칼슘염이 고화토에 존재하면서 미생물에 의한 이산화탄소의 생광물화가 촉진되어 탄산염 광물의 생성이 증가하였기 때문이다.

4) 따라서 매립지의 복토재로 활용되는 슬러지 고화토는 매립지 하부 발생 이산화탄소의 생광물화에 기여하는 중요한 매체로 이용될 수 있음을 확인하였다.

사 사

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

KSEE

참고문헌

- Wang, S. K., “Geological carbon sequestration : Now and after,” *KIC*, **12**(2), 1~10(2009).
- Chae, G. T., Yun, S. T., Choi, B. Y., Kim, K. J. and Shevailer, M., “Geochemical concept and technical development of geological CO₂ sequestration for reduction CO₂,” *J. KSEEG*, **38**(1), 1~2(2005).
- Kim, J., “Status and prospect of carbon dioxide storage technologies,” *KIC*, **12**(2), 31~41(2009).
- Hammes, F. and Verstraete, W., “Key roles of pH and calcium metabolism in microbial carbonate precipitation” *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.*, **1**, 3~7(2002).
- Achal, V. and Pan, X., “Characterization of urease and carbonic anhydrase producing bacteria and their role in calcite precipitation,” *Curr. Microbiol.*, **62**(3), 894~902(2011).
- Lian, B., Hu, Q., Chen, J., Ji, J. and Teng, H. H., “Carbonate biomineralization induced by soil bacterium *Bacillus megaterium*,” *Geochim. Cosmochim. Acta*, **70**(22), 5522~5535 (2006).
- Mari, V., Yoon, Y. I., Nam, S. C., Baek, I. H. and Jeong, S. K., “CO₂ conversion to CaCO₃ by immobilized carbonic anhydrase,” *J. KSEIC*, **15**(2), 32~40(2012).
- Min, D.-H., “CO₂ biomineralization characteristics and its applicability for solidified sludge,” Master of science dissertation, Inha University, Incheon, Korea.(2011).
- Sánchez-Román, M., Romanek, C. S., Fernández-Remolar, D. C., Sánchez-Navas, A., McKenzie, J. A., Pibernat, R. A. and Vasconcelos, C., “Aerobic biomineralization of Mg-rich carbonates: Implications for natural environments.” *Chem. Geol.*, **281**, 143~150(2011).
- Dupraz, C., Pamela, R. R., Braissant, O., Decho, A. W., Norman, S. R. and Visscher, P. T., “Processes of carbonate precipitation in modern microbial mats,” *Earth-Sci. Rev.*, **96**(3), 141~162(2008).
- Roh, Y., Chon, C. M. and Moon, J. W., “Metal reduction and biomineralization by an alkaliphilic metal-reducing bacterium, *Alkaliphilus metalliredigens* (QYMF),” *Geosci. J.*, **11**(4), 415~423(2007).
- Clesceri, L. S., Greenberg, A. E. and Eaton, A. D., Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20 ed., American Public Health Association: Washington D.C. (1998).
- Spokas, K. A. and Bogner, J. E., “Limits and dynamics of methane oxidation in landfill cover soils,” *Waste Manage.*, **31**, 823~832(2011).
- Bond, G. M., Stringer, J., Brandvold, D. K., Simsek, F. A., Medina, M. G. and Egeland, G., “Development of integrated system for biomimetic CO₂ sequestration using the enzyme carbonic anhydrase,” *Energy Fuels*, **15**(2), 309~316(2001).
- Mirjafari, P., Asghari, K. and Mahinpey, N., “Investigating the application of enzyme carbonic anhydrase for CO₂ sequestration purposes,” *Ind. Eng. Chem. Res.*, **46**(3), 921~926 (2007).
- Gunning, P. J., Hills, C. D. and Carey, P. J., “Accelerated carbonation treatment of industrial wastes,” *Waste Manage.*, **30**(6), 1081~1090(2010).