



미생물의 생체광물형성작용을 이용한 자기치유 스마트 콘크리트 개발에 관한 기초연구

김화중¹⁾ · 김성태¹⁾ · 박성진²⁾ · 김사열²⁾ · 천우영^{1)*}

¹⁾경북대학교 건축토목공학부 ²⁾경북대학교 미생물학과

A Study on the Development of Self-Healing Smart Concrete Using Microbial Biomineralization

Wha-Jung Kim,¹⁾ Sung-Tae Kim,¹⁾ Sung-Jin Park,²⁾ Sa-Youl Ghim,²⁾ and Woo-Young Chun^{1)*}

¹⁾School of Architecture and Civil Engineering, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

²⁾Dept. of Microbiology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

ABSTRACT This study was conducted to develop self-healing ability of concrete so that inspection could be available even in the event of minute cracks without complex works at any time for more economic concrete structure maintenance and longevity. A completely different method has been carried out in comparison with many of similar researches on self-healing concrete. This is a basic study on the development of self-healing concrete using microbial biomineralization. Compounds were generated except for cells by precipitation reaction of CaCO_3 during the microbial metabolism and we examined the use as a binder that hardens the surface of sand using biomineralization that *Sporosarcina pasteurii* precipitates CaCO_3 . In result, the formation of new mineral and hardening of sand surface could be verified partly, and it was available for cracks to be repaired by calcite with organic (micro-organism) and inorganic (CaCO_3) complex structure through the basic experiment a little bit. Therefore the use of biomineralization by this sort of microbial metabolism for concrete structure helps to develop absolute repair-concrete like this concrete with micro-organism. The effect of microbial application will be one of the most important research tasks having influence on not only repair for concrete structure but also development of new materials able to reduce environmental problems.

Keywords : concrete crack, micro-organism, biomineralization, calcite(CaCO_3), self-healing

1. 서 론

1.1 연구의 배경 및 목적

현재 미생물을 이용한 광물로부터 나노소재의 원료 물질 추출과 생체광물형성작용을 이용한 나노물질의 합성은 초기 연구단계에 있다. 생물학적으로 생성된 나노 소재(생물 생성 나노 소재 : Biologically produced nano material)는 생물체가 환경 적응과 종족 보존을 위한 진화과정에서 생체 내외에 생성된 1~100 nm 범위로 정의할 수 있는 크기와 규칙성을 가진 입자를 생물체로부터 그대로 추출하거나 물리·화학적인 방법으로 변형하여 생물학적, 물리적, 화학적 기능을 가지는 기능성 나노소재로 이용할 수 있는 가능성이 제안되고 있다.¹⁾ 한편 콘크리트구조물의 유지관리 및 보전활동의 절력화(節力化)

와 장기 수명화는 지속 가능한 사회를 구축하는 관점에서 볼 때 매우 중요한 과제중의 하나이며, 현재 국내외 대규모 구조물의 경우 검사를 실시하는 것만으로 막대한 비용과 기술력이 요구됨에 따라 유지관리 활동상 많은 어려움이 있다.

따라서 이 연구는 Fig. 1의 콘크리트구조물에 발생한 균열의 심각성을 인식하여 콘크리트구조물의 장기 수명화를 목적으로 변잡한 검사나 보수작업을 필요로 하지 않고, 콘크리트에 발생하는 미세한 균열에도 수시의 점검 등이 필요 없이 미생물의 생체광물형성작용을 이용하여 콘크리트 그 자체에 자기치유(自己治癒) 기능을 부여하는 것이 목적이다.

1.2 연구의 진행 및 범위

현재 콘크리트에 자기치유 기능을 부여하는 연구 동향으로는 (1) 콘크리트에 접착제 공급용 파이프의 매설 방법, (2) 콘크리트 내부에 접착제를 갖는 단섬유의 혼입 방법, (3) PP섬유를 혼입하여 부식 환경 하에서 균열의

*Corresponding author E-mail : cwu@knu.ac.kr

Received March 5, 2009, Revised May 18, 2009

Accepted June 1, 2009

©2009 by Korea Concrete Institute



Fig. 1 Seriousness of the crack which occurred in the concrete structure

치유방법, (4) 형상 기억합금 철근을 사용한 균열의 복원 방법, (5) 균열 내부에 물을 공급하여 균열의 표면부 재수화를 통한 균열의 제어 방법, (6) 조립시멘트, 플라이 애쉬, 팽창재의 이용 방법, (7) 전기적수화역학 방법 및 추가 디바이스의 이용 방법 등이 있으나, 여기에서는 지금까지와는 완전히 다른 방법으로 자기치유 콘크리트의 가능성을 찾는 기초연구로서 미생물의 생화학 반응을 이용한 새로운 시도를 행하고자 한다. 이러한 시도는 국내에는 예가 없고 해외에서의 여러 국외 전문 학술지를 통해 그 가능성만 소개되었다. 따라서 이 연구에서는 생물이 자신의 몸 내외에 광물(biomineral)을 만들어 내는 작용 즉 생체광물형성작용(biomineralization)을 이용하여 콘크리트의 개질(改質) 및 성능향상을 목적으로 한 새로운 가능성에 대해 소개하고, *Sporosarcina pasteurii* 등의 미생물이 탄산칼슘을 석출시키는 biomineralization을 이용한 새로운 발상으로부터의 콘크리트 역학적 성능 및 내구성의 향상, 균열의 보수 등의 가능성에 대한 검토 및 기초적 실험을 통해 향후 행해져야 할 연구의 방향성이나, 자기치유 콘크리트의 발전 가능성에 대해 고찰하였다.

2. 생물생성나노소재(Biologically produced nano material)의 이용

2.1 생체광물형성작용(Biomineralization)

미생물은 지구의 지표에서 발생하는 암석의 풍화, 토양의 형성은 물론 광물의 용해 및 형성 등 여러 가지 지구화학적 과정에 있어서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며, 철을 포함한 다양한 금속의 침출 그리고 유기물 순환 등과 같은 다양한 생지구화학적 과정에 참여할 뿐만 아니라, 직접 또는 간접적인 조절작용을 통해 지구화학조절인자와 영향을 주고받는 것으로 알려져 있다.²⁾ 생물이 자신의 몸 내외에 광물을 만들어 내는 작용 즉, 생체광물형성작용은 익숙하지 않은 단어처럼 들리지만 일상 어디에서나 볼 수 있는 현상이며, 이러한 biomineralization은 생물제어와 생물유발에 의한 것으로 크게 분류된다. 생물제어는 생물체의 생화학적 반응에 의해 광물체, 경조직이 형성되는 현상을 말하는데, 이것은 인위적인 것이 아니라 미리 계획된 것이다. 한편 생물유발은 생물체의 활동에 의해 생물체 표면의 내외로 광물을 형성하는 것을 말한다.³⁾ 대부분의 미생물에 의한

biomineralization은 생물유발에 의한 것이며, 이러한 biomineral의 특징은, mineral(무기 성분)이 생체 고분자(단백질이나 다당류 등의 유기 성분)에 의해 복합화 되고, 정밀한 질서를 가진 구조를 만들어 낼 수 있다는 점이다.⁴⁾

여기서 보여지는 Fig. 2의 *Sporosarcina pasteurii*는 생물자원센터(BRC)에서 균주를 분양받아 한국기초과학지원연구원(KBSI)에 의뢰, SEM을 이용하여 관찰한 것이며, Fig. 3은 현재 연구 중에 있는 부분으로 *Sporosarcina pasteurii*라는 미생물에 의한 생물유발 biomineralization이다.

이러한 biomineralization의 대표적인 예를 들면, 패각은 1 μm 이하 정도의 무기물인 탄산칼슘 단결정(결정의 방향이 일정한 형태)과 수십 nm 정도의 유기물의 적층 복합 구조로 되어 있어 적으로부터 자신의 몸을 보호하며, 조개는 자신의 내부에 우연히 침입된 모래와 같은 이물질에 딱딱한 탄산칼슘(무기질)을 분비할 수 있는 멀러스크 (mullusc)라고 하는 연체동물의 분비물이 피막 되어 생성된 유기질 보석인 진주를 만들어 낸다. 뿐만 아니라 주로 칼슘과 그 외의 미네랄(mineral)이 결합된 hydroxylapatite를 주성분으로 하는 뼈와 이빨은 체내에 다량의 칼슘을 저축해 뼈와 이빨의 강도나 밀도에 영향을 준다. 이러한 탄산칼슘을 주성분으로 하는 패각이나 진주, hydroxylapatite를 주성분으로 하는 뼈와 이빨은 우리 일상생활에서 쉽게 보여지는 생체광물형성작용의 대표적인 사례이다. 따라서 자연계가 만들어 내는 정밀한 유기·무기 복합 구조의 형성 프로세스를 모방해 콘크리트에 적용하여 자기 조직적으로 만들 수 있다면, 새로운 환경 저부하성을 가지는 차세대 스마트 재료로서의 개발로 이어져 향후 더욱 더 중요한 연구주제의 하나가 될 것으로 사료된다.

2.2 미생물에 의한 탄산칼슘(CaCO₃)의 석출

미생물을 이용하여 모래의 표면에 탄산칼슘을 석출하

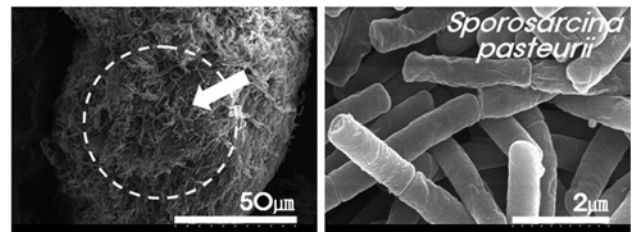


Fig. 2 SEM photographing: *Sporosarcina pasteurii*

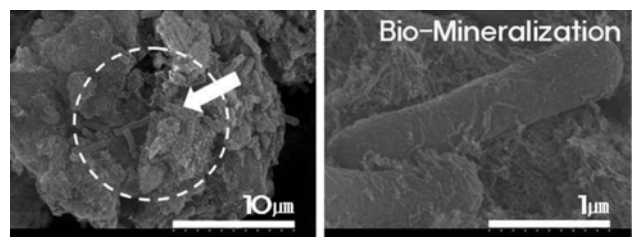


Fig. 3 SEM photographing : Inducible biomineralization by *Sporosarcina pasteurii*

는 기술은 지중에 매장되어 있는 석유를 효율적으로 획득하기 위해 이용되고 있는 기술에서 유래 되었다. 현재 미생물에 의한 모래 표면에서의 탄산칼슘 석출에 관한 기술은 해외에서 여러 전문 학술지를 통해 소개되고 있다. 이 기술을 이용하여 화강암에 인공적으로 생성시킨 균열을 충전하는 것이 가능했던 것도 확인되고 있다.⁵⁾

여기서 보여지는 Fig. 4는 모래의 환경에서 *Sporosarcina pasteurii*를 배양하여 촬영한 사진이며, Fig. 5는 일반적인 자연환경에서의 탄산칼슘 석출과정 중 생물학적 반응이 동반되는 것을 응용한 것으로 모래에 *Sporosarcina pasteurii*를 배양하여 염화칼슘수용액에 침지시켜 모래의 주위에 탄산칼슘 석출을 유도한 것으로서 SEM을 이용하여 모래의 표면 변화를 관찰한 사진이다.

2.3 생화학적 탄산칼슘 석출 메커니즘

자연환경에서의 생화학적인 탄산칼슘의 석출은 앞에서 언급한 biomineralization과 병행해서 생기는 경우가 많다. 토양 중에 생식하고, 아포를 형성하는 *Sporosarcina pasteurii*는 urease 효소의 환경 하에서 탄산칼슘 석출 반응에 기여한다.⁶⁾ 이러한 생화학적 탄산칼슘 석출의 메커니즘은 매우 복잡하므로 미생물의 농도, 이온강도(수용액 중에 포함된 이온량의 총합), 수용액의 pH에 영향을 받을 수 있다고 한다. *Sporosarcina pasteurii*의 표면은 (-) 전하를 띠며, 주위에서 Ca^{2+} 를 포함한 카치온(나트륨, 칼륨, 칼슘 등의 원소)을 유인해서, 자신의 표면에 탄산칼슘을 석출 시킨다. Fig. 6에서처럼 *Sporosarcina pasteurii* 표면의 내외에 탄산칼슘을 생성 시키는 과정의 생화학적인 개요는 $Ca^{2+} + Cell \rightarrow Cell \cdot Ca^{2+} + CO_3^{2-} \rightarrow Cell \cdot CaCO_3 \downarrow$ ⁷⁾이다.

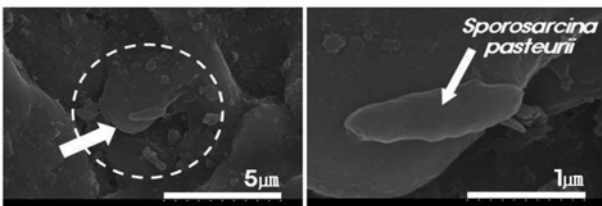


Fig. 4 SEM photographing: *Sporosarcina pasteurii* in sand environment

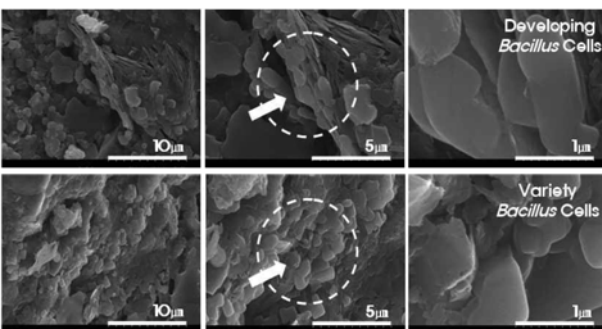


Fig. 5 SEM photographing: Change of sand surface by *Sporosarcina pasteurii*

2.4 미생물을 이용한 균열의 보수 메커니즘

Fig. 7은 콘크리트구조물의 미세균열을 SEM으로 촬영한 것으로 콘크리트 균열부의 미수화시멘트 입자를 확인할 수 있다. 한편 콘크리트 균열부의 미수화 시멘트에 의한 균열의 보수는 어느 정도 가능한 것으로 일반적으로 알려져 있는 내용이지만 영원히 지속 가능한 것은 아니다. 따라서 콘크리트구조물에 앞에서 언급한 미생물의 신진대사 작용에 따른 생체광물형성작용을 이용하여 미생물과 같이 완성된 자기치유 시스템을 구축한다면 진정한 의미의 자기치유 콘크리트가 될 것으로 사료되며, 이러한 미생물을 이용한 균열 보수의 단계별 메커니즘은 Fig. 8과 같다.

3. 미생물을 이용한 탄산칼슘 석출 실험

Table 1의 구성에 따라 *Bacillus subtilis* 168 미생물은

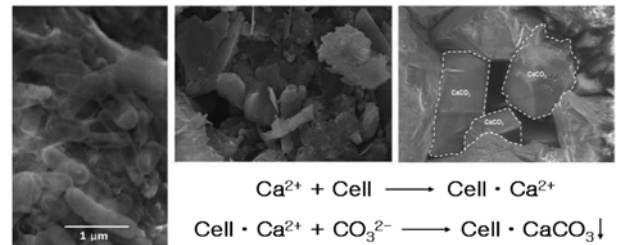


Fig. 6 $CaCO_3$ precipitation mechanism by *Sporosarcina pasteurii*

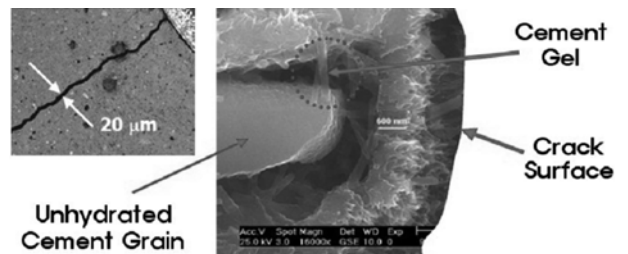


Fig. 7 SEM photographing: Hair crack of concrete structure⁸⁾

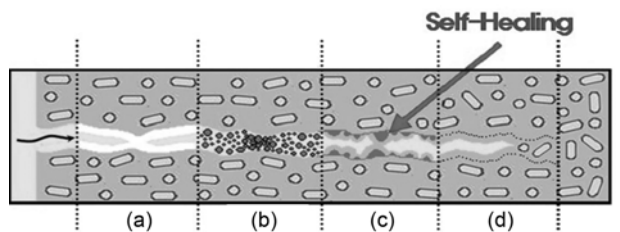


Fig. 8 The repair mechanism of crack using *Sporosarcina pasteurii*

Table 1 Composition of the medium

B4 medium composition (<i>Bacillus subtilis</i> 168)	Urea-CaCl ₂ medium composition (<i>Sporosarcina pasteurii</i>)
[Distilled water 1 L]	[Distilled water 1 L]
Yeast extract 0.4%	NB(nutrient broth) 0.3%, NH ₄ Cl 1%,
Dextrose 0.5%	NaHCO ₃ 2.12g, Urea(CO(NH ₂) ₂) 2%,
Calcium acetate 0.25%	CaCl ₂ 3.70g(Ca ²⁺ 25.2mM)

B4 medium에 접종 · 배양, *Sporosarcina pasteurii* 미생물은 Urea-CaCl₂ medium에 접종 · 배양하여 관찰한 결과 전체적으로 둥근 결정의 생성 광물 결정이 확인되었다.

Bacillus subtilis 168을 접종한지 4일이 지난 후 관찰한 결과 Fig. 9처럼 colony가 있는 부위에서는 생성광물 결정이 관찰 되었으나, medium 부위에서는 결정을 확인할 수 없었다. *Sporosarcina pasteurii*의 경우 접종한지 4일이 지난 후 관찰한 결과 Fig. 10처럼 비교적 colony가 짙은 부위에 결정들이 더 조밀하고 크게 분포하는 것을 확인할 수 있었으며, 또한 Urea-CaCl₂ medium 전체적으로 보이는 결정이 *Sporosarcina pasteurii*에 의한 결과임을 확인하기 위해 medium의 끝부분에 작은 크기로 접종을 실시한 결과 균 주변에만 생성광물 결정들이 형성되어짐을 확인할 수 있었다.

B4 medium에서는 *Sporosarcina pasteurii*가 잘 자라지 않아 생성광물 결정을 확인할 수 없었지만, B4 medium에 urea를 첨가해 준 결과 배지 전체적으로 결정이 형성 되는 것을 확인할 수 있었다. 이 실험을 통해 *Sporosarcina pasteurii*가 urea의 환경에서 CaCO₃ 석출을 촉진 시키는 것을 간접적으로 알 수 있었다.

Fig. 11의 실험에서는 영양이 풍부한 Urea-CaCl₂ medium

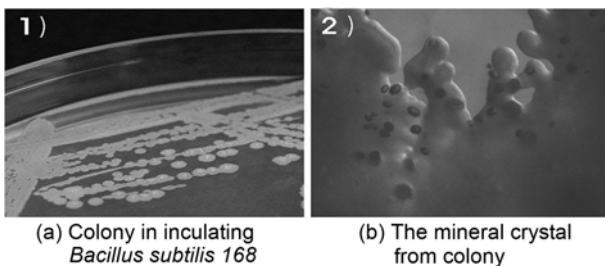


Fig. 9 Qualitative analysis of mineral generated by *Bacillus subtilis* 168

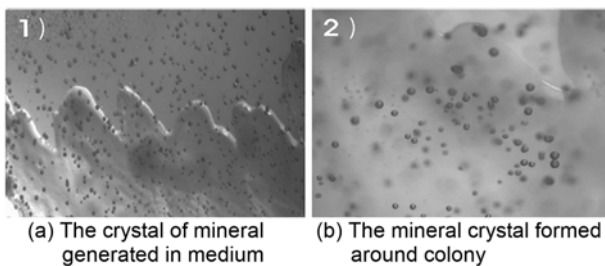


Fig. 10 Qualitative analysis of mineral generated by *Sporosarcina pasteurii*

에 각각의 *Bacillus*균을 배양하고, phenol red(pH indicator)를 이용하여 urease에 의한 urea 분해 과정에서의 pH 상승을 확인하기 위해 urea activity test를 실시하였다. 이 실험에서는 *Bacillus*균 주변의 pH가 상승하면 배지 표면이 점차 붉은색을 띄게 되는데, 10시간 정도 관찰한 결과 *Bacillus subtilis* 168이나 *Escherichia coli* DH5a, *Paenibacillus pabuli*와는 달리 *Sporosarcina pasteurii*의 경우 다른 *Bacillus* 균들에 비해 확산속도가 매우 빠를 뿐 아니라 배지 전체의 pH가 증가하는 양상을 보였으며, 이때의 pH는 당초 6.8에 비해 8.9~9.7 정도로 다른 미생물들에 비해 *Sporosarcina pasteurii*가 알칼리성이 가장 높은 것으로 나타났다. 또한 이 실험을 통해 *Sporosarcina pasteurii*에 의한 생성광물의 축진이 urease에 의한 pH상승에 따른 결과임을 간접적으로 알 수 있었다.

Fig. 12는 현미경으로 10시간 동안 촬영한 영상을 캡처한 사진으로 *Sporosarcina pasteurii*에 의한 CaCO₃ 결정의 성장과정을 나타내며, *Sporosarcina pasteurii*에 의한 CaCO₃ 형성 과정을 확인할 수 있다. *Sporosarcina pasteurii*에 의해 생성된 광물은 여러 가지 형태로 관찰되어지는데 이러한 CaCO₃ 결정들은 시간이 지남에 따라 점차 변화하여 발전된 형태로 진화 되어간다.

Fig. 13은 앞에서 언급한 Urea-CaCl₂ medium에서 *Bacillus*

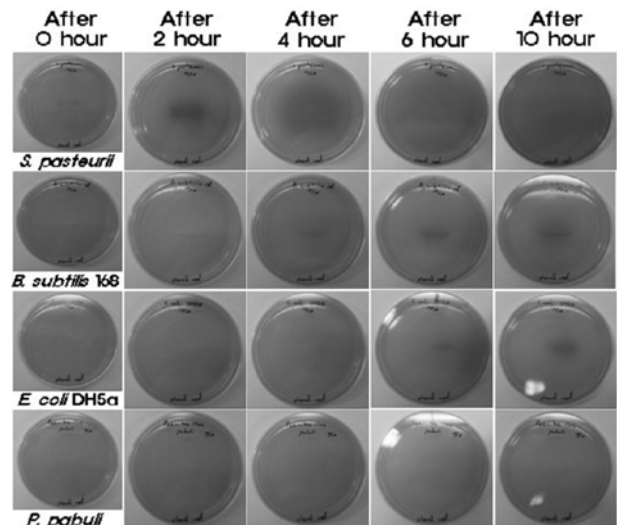


Fig. 11 Urease activity test for micro-organism

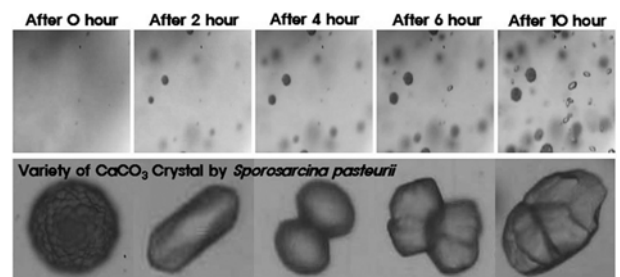


Fig. 12 The maturation of CaCO₃ crystal by *Sporosarcina pasteurii*

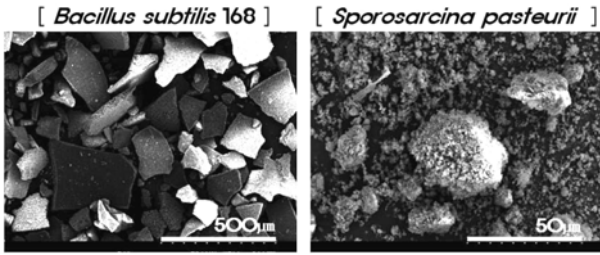


Fig. 13 SEM photographing : Crystals of *Bacillus* induced mineral

균에 의해 생성된 광물을 추출하여 SEM으로 관찰한 사진으로서, *Bacillus subtilis* 168과 *Sporosarcina pasteurii*에 의한 생성광물의 결정모양이나 크기에서 많은 차이를 보이는 것을 알 수 있다.

이러한 *Bacillus*균에 의해 생성된 광물의 성분을 알아보자 XRD 분석을 실시하였다. *Bacillus subtilis* 168의 경우 Fig. 14와 같이 전체 시료 중 Ca를 주성분으로 하고 뼈와 이빨의 강도나 밀도에 영향을 주는 hydroxylapatite가 다량으로 검출되었으나, 미생물 배양배지 성분 중 NB (nutrient broth)에 hydroxylapatite 성분이 있으므로 미생물에 의한 생성광물로 보기는 어려우며, Fig. 15의 SEM을 통해 추출한 광물을 확인한 결과 hydroxylapatite 결정과 미생물이 결합된 형태로 굳어있는 것이 확인되었다.

*Sporosarcina pasteurii*의 경우 Fig. 16과 같이 전체 시료 중 CaCO_3 를 주성분으로 하는 calcite(65%)와 Vaterite

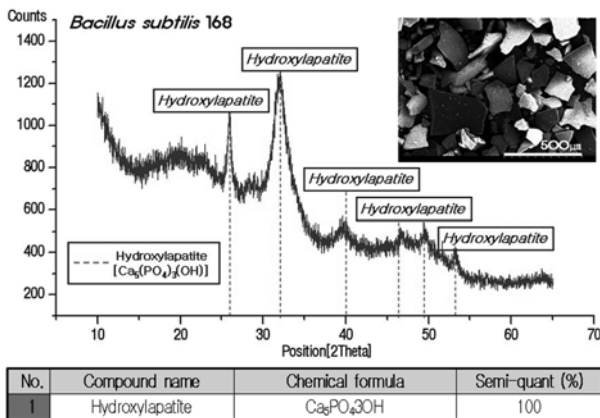


Fig. 14 SEM & XRD analysis: Mineral induced by *Bacillus subtilis* 168

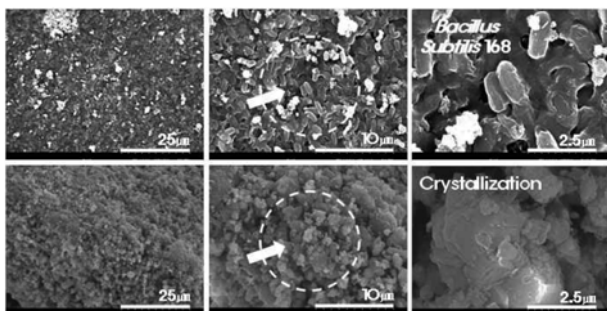


Fig. 15 SEM photographing: Change of crystal generated by *Bacillus subtilis* 168

(7%), 결정수(水) 형태인 calcium carbonate hydrogen(28%)의 생성광물들이 검출되었으며, 그 중 calcite(CaCO_3) 결정들은 Fig. 17에서처럼 미생물과 합성되어 발전된 형태로 진화되어 가는 것을 확인할 수 있다.

4. 모래에 배양한 미생물의 탄산칼슘 석출 실험

1차 실험에서는 일반적인 자연환경에서의 탄산칼슘 석출과정 중 생물학적 반응이 동반되는 것을 응용한 것으로 모래와 *Sporosarcina pasteurii*를 염화칼슘수용액에 7일간 침지시켜 모래의 주위에 탄산칼슘 석출을 유도한 것으로 실험 인자 수준은 Table 2와 같으며, 세부적인 시료 처리 사항은 Tables 3, 4와 같다.

실험의 분석은 XRD를 이용, X선 회절각도 (2θ)는 10-65°로 설정하여 각각의 시료를 측정 한 결과 SiO_2 , Al_2O_3 , Fe_2O_3 , K_2O , CaO_2 , TiO_2 등의 여러 가지 화학성분들이 검출되었으나 이 실험에서는 *Sporosarcina pasteurii*에 의한 모래의 카치온(나트륨, 칼륨, 칼슘 등의 원소)을 유인하여 미생물에 의한 탄산칼슘의 석출에 따른 광물 형성이 목적이므로 모래의 주성분 SiO_2 를 포함한 Na, K, Ca을 중심으로 분석을 실시하였다.

Fig. 18의 XRD 분석 결과 A군 시료의 *Sporosarcina pasteurii*를 혼입하지 않은 시료의 경우 주로 석영(SiO_2),

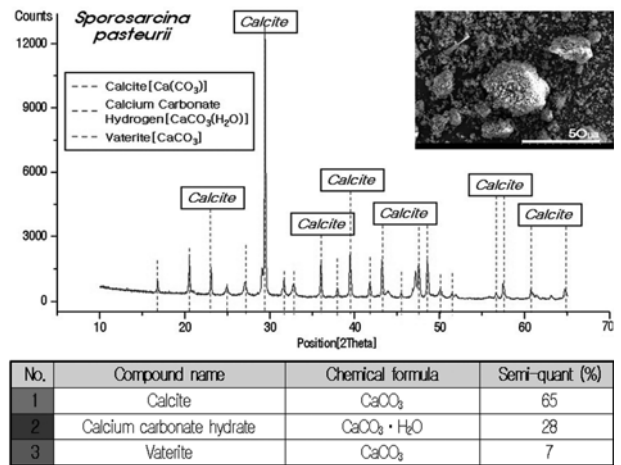


Fig. 16 SEM & XRD analysis: Minerals induced by *Sporosarcina pasteurii*

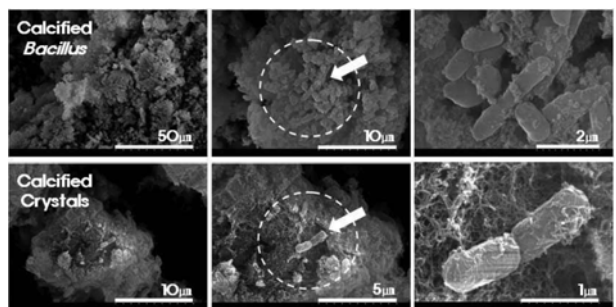


Fig. 17 SEM photographing: Change of crystal generated by *Sporosarcina pasteurii*

Table 2 The 1st experimental factors and variables

Index	Sand type	<i>S. Pasteurii</i> (7.6×10^3 [cells/cm ³]) mix	Nutrient (urea) supply	Culture environment
Factor	Standard, Natural	Yes, No	Yes, No	Incubation 30°C, Normal temp.
Piece	2	2	2	2
Sign	A, B	<i>B_y, B_n</i>	Y, N	1, 2

Table 3 The 1st experiment A group sample list

A group sample : Standard sand	
Control group	A-W : Standard sand + Distilled water
	A-N : Standard sand + CaCl ₂ solution
	A-Y : Standard sand + CaCl ₂ solution + Urea
Experimental group	A-N-1 : A-N sample + <i>S.Pasteurii</i> (Incubation 30°C)
	A-Y-1 : A-Y sample + <i>S.Pasteurii</i> (Incubation 30°C)
	A-N-2 : A-N sample + <i>S.Pasteurii</i> (Normal temp.)
	A-Y-2 : A-Y sample + <i>S.Pasteurii</i> (Normal temp.)

정장석(KAlSi₃O₈), 조장석(NaAlSi₃O₈)으로 구성되어 있는 것으로 확인되었으며, *Sporosarcina pasteurii*를 혼입한 시료의 경우 석영, 정장석, 조장석 이외에도 바테라이트(CaCO₃), 아라곤나이트(CaCO₃), 칼사이트(CaCO₃)가 미량

Table 4 The 1st experiment B group sample list

B group sample : Natural sand	
Control group	B-W : Natural sand + Distilled water
	B-N : Natural sand + CaCl ₂ solution
	B-Y : Natural sand + CaCl ₂ solution + Urea
Experimental group	B-N-1 : B-N sample + <i>S.Pasteurii</i> (Incubation 30°C)
	B-Y-1 : B-Y sample + <i>S.Pasteurii</i> (Incubation 30°C)
	B-N-2 : B-N sample + <i>S.Pasteurii</i> (Normal temp.)
	B-Y-2 : B-Y sample + <i>S.Pasteurii</i> (Normal temp.)

이지만 추가적으로 검출된 점으로 볼 때 미생물에 의한 생성광물에 차이가 있음을 알 수 있다.

Fig. 19의 XRD 분석 결과 B군 시료의 *Sporosarcina pasteurii*를 혼입하지 않은 시료의 경우 A군 시료와는 특별한 성분 차이는 없지만 석영, 정장석, 조장석의 조성광물비율에 따른 검출 양에 다소 차이를 나타내고 있으며, *Sporosarcina pasteurii*를 혼입한 시료의 경우 A군 시료와 마찬가지로 석영, 조장석, 정장석을 제외한 바테라이트, 아라곤나이트, 칼사이트가 검출된 것으로 보아 미생물에 의한 생성광물임이 확인되어진다.

A군(표준사) 시료와 B군(일반모래) 시료의 *Sporosarcina pasteurii* 혼입 유무에 따른 각각의 시료들은 모래를 pH

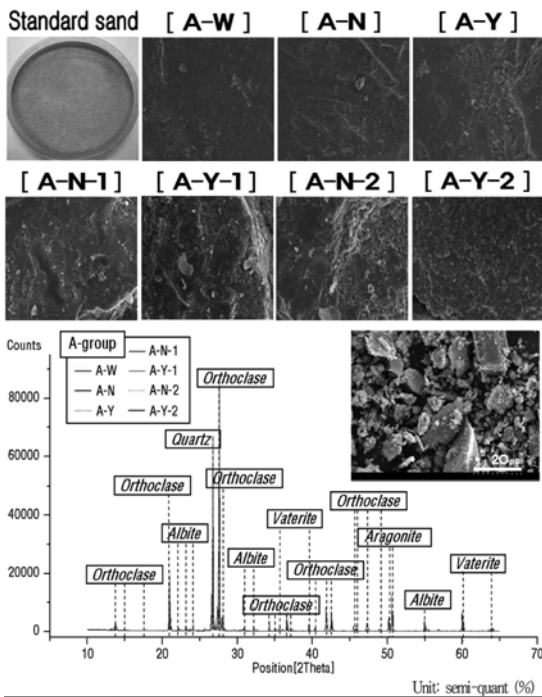


Fig. 18 SEM & XRD analysis : The element analysis of A group samples

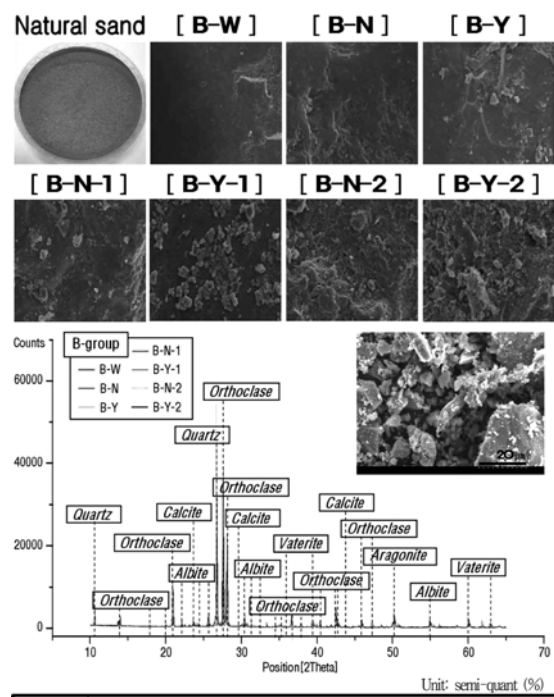


Fig. 19 SEM & XRD analysis : The element analysis of B group samples

6.8 정도인 염화칼슘수용액에 침지하여 미생물을 투입, 7 일간 관찰한 것으로 모래 표면의 고화(固化)가 어느 정도 가능한 것을 확인할 수 있었으며, *Sporosarcina pasteurii* 라는 미생물에 의한 모래의 카치온(나트륨, 칼륨, 칼슘 등의 원소)을 유인하여 탄산염 광물인 바테라이트(vaterite), 아라고나이트(aragonite), 칼사이트(calcite) 등이 추가적으로 검출된 것이 확인되었다. 또한 A군 시료에 비해 B군 시료에서 좀 더 많은 탄산염 광물들이 검출된 것을 확인할 수 있으며, 이러한 모래 환경에서의 배양재령별 탄산염 광물의 생성량은 모래에 함유하고 있는 구성 인자, 침지시킬 당시 수용액에 포함되어 있는 이온량의 총합, 미생물의 농도와 생성광물의 석출 당시 주변 환경 및 시간에 따른 pH변화에 따라 생성량에 많은 차이가 있을 수 있으며, 모래라는 환경이 자연환경과 유사한 점을 미루어 볼 때 명확한 생성량은 현재로서는 확인이 불가능하지만, XRD분석을 통해 미생물 혼입 유무에 따른 생성광물의 차이는 확인할 수 있다. 따라서 미생물 작용에 따른 여러 가지 주요 활성인자 및 *Sporosarcina pasteurii* 의 혼입 농도를 변화시킨다면 이러한 탄산염 광물 석출량의 조절이 가능할 것으로 사료된다.

5. 시멘트 환경에서의 미생물에 의한 탄산칼슘 석출 실험

2차 실험은 미생물에 의한 탄산칼슘 석출이 시멘트 환경에서 어떠한 차이를 보이는지 확인하기 위해 실험을 실시한 것으로서, 실험 방법은 *Sporosarcina pasteurii* 혼입 유무에 따라 앞에서 언급한 Table 1의 Urea-CaCl₂ medium 조성에 의거하여 실시하였으며, 세부적인 실험 샘플의 처리 사항은 Table 5와 같다.

Fig. 20은 Urea-CaCl₂ medium을 24시간 동안 교반하여 석출된 결정들을 추출, XRD와 SEM을 통해 분석한 결과 배지조성 중 NB(nutrient broth)에 있는 hydroxylapatite 성분 100%가 그대로 검출되었다.

Fig. 21은 Urea-CaCl₂ medium에 *Sporosarcina pasteurii* 를 투입하여 24시간 동안 교반, 배양하여 석출된 결정들을 추출, XRD와 SEM을 통해 분석한 결과 calcite 성분 100%가 검출된 것으로 확인되었으며, 이는 순수 미생물 작용에 따른 생성 광물임이 확실하다고 할 수 있다.

Fig. 22는 미생물 적용에 있어서의 순수 시멘트의 주요 광물 성분 및 결정을 XRD와 SEM을 통해 분석한 결과 calcium silicate: 65%, calcium magnesium aluminum iron silicate: 27%, 석고(gypsum): 8%로 calcite 성분은 전혀 검출되지 않았다

Fig. 23은 Urea-CaCl₂ medium에서 CaCl₂ 3.70g를 제외한 urea-medium에 시멘트 3.70 g를 첨가하여, 24시간 동안 교반하여 석출된 결정들을 추출, XRD와 SEM을 통해 분석한 결과 calcium magnesium aluminum iron silicate: 74%, calcite: 26%로 검출된 것이 확인되었으며, 여기서 검출된 calcite는 시멘트에 있는 칼슘성분이 배양액과 반

Table 5 The 2nd experiment sample list

No.	Composition	<i>Sporosarcina pasteurii</i> (7.6 × 10 ³ [cells/cm ³])mix
No.1	Urea-CaCl ₂ medium	X
No.2		O
No.3	Cement 3.70 g	
No.4	Urea-Cement medium	X
No.5		O

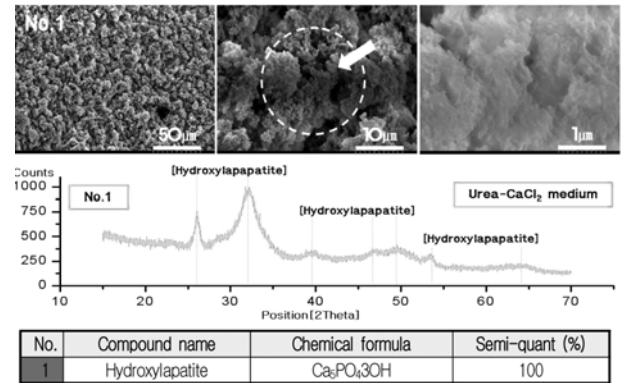


Fig. 20 SEM & XRD analysis: The element analysis of No.1 sample

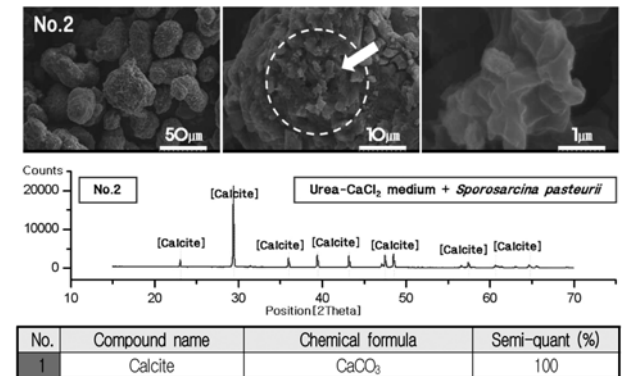


Fig. 21 SEM & XRD analysis: The element analysis of No.2 sample

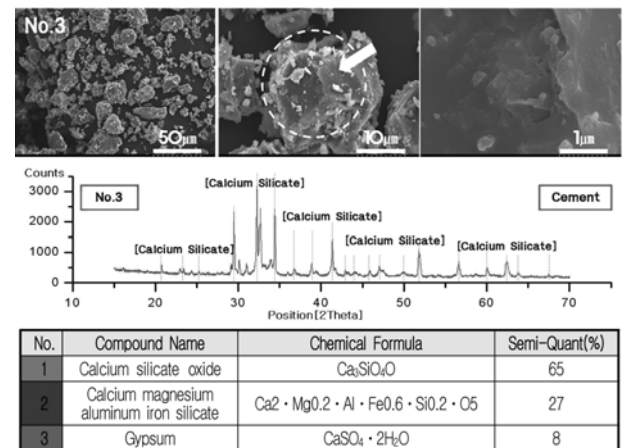


Fig. 22 SEM & XRD analysis: The element analysis of No.3 sample

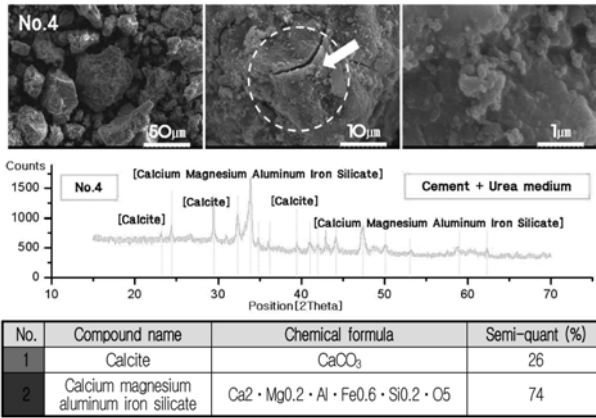


Fig. 23 SEM & XRD analysis: The element analysis of No.4 sample

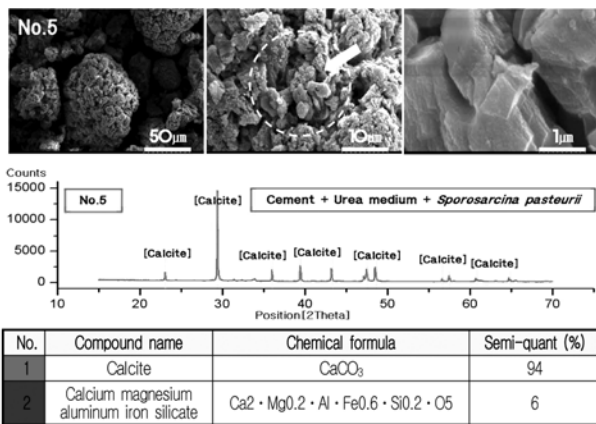


Fig. 24 SEM & XRD analysis: The element analysis of No.5 sample

응하여 결정화 또는 유리화된 것으로 판단된다.

Fig. 24는 No.4의 실험과 동일한 방법으로 urea-medium에 시멘트 3.70 g를 첨가, *Sporosarcina pasteurii*를 투입하여 24시간 동안 교반, 배양하여 석출된 결정들을 추출, XRD와 SEM을 통해 분석한 결과 calcite: 94%, calcium magnesium aluminum iron silicate: 6%로 미생물에 의한 calcite 결정화가 활발히 이루어 졌음을 알 수 있다. 각각의 시료들은 SEM 사진을 통해 결정들을 확인 할 수 있으며, 다른 시료에 비해 No.5의 시료가 결정성이 가장 우수한 것으로 확인되었다.

6. 미생물의 탄산칼슘 석출에 따른 균열의 충전성 검토

3차 실험은 미생물의 생체광물형성작용을 이용하여 콘크리트에 미생물과 같이 완성된 자기치유 기능의 부여에 따른 충전 가능성에 대한 기초 실험으로 C : S = 1 : 3으로 하고, 미생물의 서식환경을 조성하고자 인산완충액의 첨가율에 따른 물+인산완충액(배합수)을 시멘트에 60%로 하여 모르타르 시험체를 제작하였다. 모르타르 시험체는 3일간 수중양생을 실시, 절건 상태에서 임의의 균

열(틈)을 만들어 균열부에 *Sporosarcina pasteurii*을 투입, 그 주위에 탄산칼슘 석출을 유도하였다. 3차 실험 인자 수준은 Table 6과 같으며, 미생물 투입 당시 시험체의 총 재량은 5일이며, 각 시험체의 배합은 Table 7과 같다.

이 실험에서는 미생물의 탄산칼슘 석출에 따른 균열의 충전 및 보수 가능성에 대한 기초 실험인 만큼 시험체 제작시 강도적인 문제는 구체적으로 언급하지 않았다. 다만, C : S = 1 : 3 일반 모르타르 시험체 강도와 pH 6.8인 인산완충액을 첨가하여 제작한 시험체를 비교하였을 때 인산완충액의 첨가율이 증가할수록 일반 모르타르 시험체에 비해 경화속도에서는 다소 늦어지는 결과를 보였으나, 일반 모르타르 시험체 압축강도 7일: 14.6 MPa, 14일: 17.8 MPa, 28일: 20.5 MPa, 휨강도 7일: 4.3 MPa, 14일: 5.6 MPa, 28일: 6.7 MPa에 비교하면 비슷한 결과를 보였다.

실험 방법은 Fig. 25와 같이 콘크리트 시험체에 임의의 균열을 만들어 그 균열사이에 urea를 포함한 pH 6.8의 수용액상태인 *Sporosarcina pasteurii*을 투입시켜 콘크리트 주위의 탄산칼슘 석출을 유도하였다. 투입 방법은 용량 10 mL주사기를 이용, 각각의 시험체 균열부를 중심으로 1 mL씩 30분 간격으로 1일 기준 총10회 투입하였으며, 이를 3일 동안 반복 실시하였다. 투입한지 7일이 지난 후 관찰한 결과 Fig. 26과 같이 표면부와 균열부에 탄산칼슘의 석출을 확인할 수 있었다.

이러한 *Sporosarcina pasteurii*를 투입시킨 콘크리트 시험체의 표면부와 균열부에 생성된 광물의 성분을 알아보고자 시료를 채취하여 XRD 분석을 의뢰한 결과 표면부의 경우 Fig. 27과 같이 전체 시료 중 calcite[CaCO₃]: 13%, 모래의 주성분인 quartz[SiO₂]: 41%, 콘크리트에 포함되어 있는 기타 성분인 microline intermediation: 33%, albite[NaAlSi₃O₈]: 12%가 검출된 것이 확인되었다. 균열부의 경우 Fig. 28과 같이 전체 시료 중 calcite[CaCO₃]: 29%, 모래의 주성분인 quartz[SiO₂]: 24%, 콘크리트에 포함되어 있는 기타 성분인 microline intermediation: 34%, albite[NaAlSi₃O₈]: 13%가 검출된 것을 확인할 수 있었다. 전

Table 6 The 3rd experimental factors and variables

Index	<i>S. Pasteurii</i> (7.6×10 ³ [cells/cm ³]) injection in crack	(W/C+phosphate buffer/C)%	Phosphate buffer ratio (phosphate buffer/C)%
Factor	<i>S. Pasteurii</i>	60	15, 30, 45, 60
Piece	1	1	4
Sign	SP	-	15, 30, 45, 60

Table 7 The 3rd experiment recipe Unit: g/(256 cm³ × 3 EA)

Name	Cement	Sand	Water	Phosphate buffer/C	Target flow (mm)
SP-15	390	1229	175.5	58.5	180 ± 10
SP-30	390	1229	117	117	
SP-45	390	1229	58.5	175.5	
SP-60	390	1229	0	234	

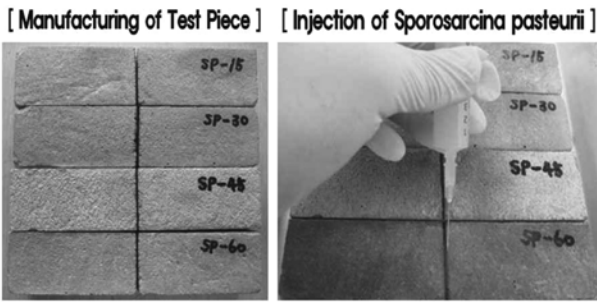


Fig. 25 The experiment of crack repairing using *Sporosarcina pasteurii*

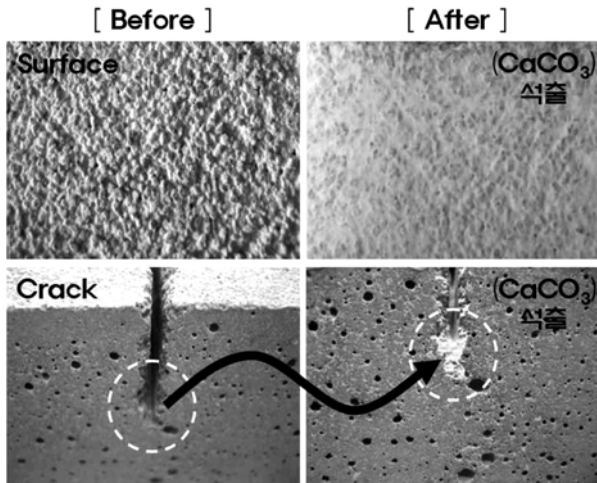


Fig. 26 The repair of crack by *Sporosarcina pasteurii*

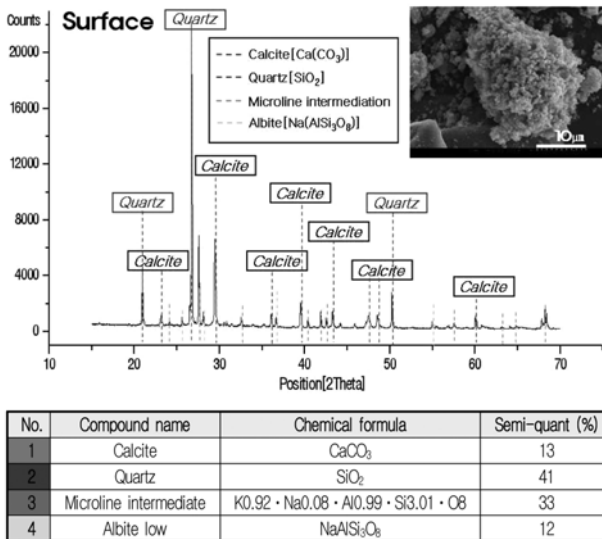


Fig. 27 SEM & XRD analysis: Minerals generated by *Sporosarcina pasteurii* on the surface

반적인 분석 결과 표면부에 비해 균열부에서 calcite성분이 약 2.23배정도 많이 검출된 것을 확인할 수 있으며, 공기 중에 인접한 부위 중 균열부와 표면부의 거친 부위에서 좀 더 왕성하게 calcite가 생성되는 것을 실험을 통해 확인할 수 있었다. 또한 표면부와 균열부에 생성된 calcite의 결정을 확인하고자 SEM 분석을 실시한 결과

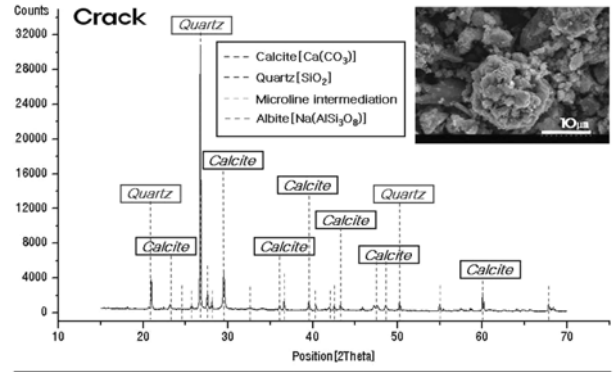


Fig. 28 SEM & XRD analysis: Minerals generated by *Sporosarcina pasteurii* on the crack

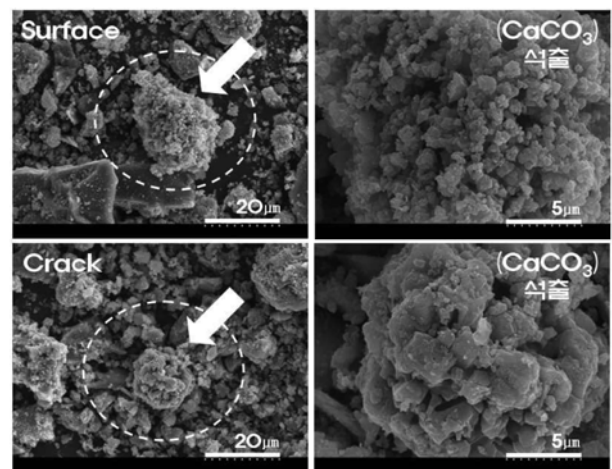


Fig. 29 SEM photographing: Forms of mineral by *Sporosarcina pasteurii* on the surface and in the crack

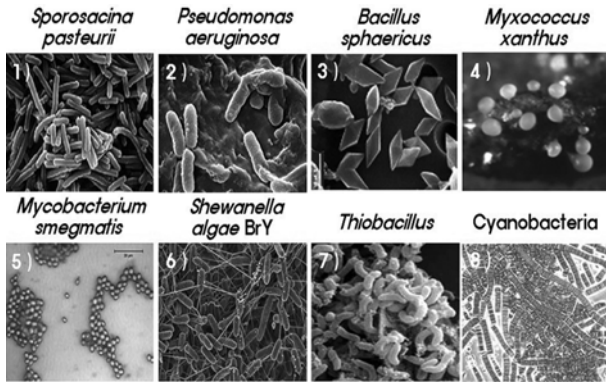
Fig. 29와 같이 유기(미생물)·무기(CaCO₃) 복합 구조의 형상을 이루고 있는 것을 확인할 수 있었다.

따라서 콘크리트구조물에 이러한 미생물의 신진대사 작용에 따른 생체광물형성작용의 이용은 미생물과 같이 완성된 진정한 의미의 자기치유 콘크리트로 발전되어갈 것으로 사료되며, 한층 검토가 필요한 부분이다.

7. 결론 및 향후 과제

이 연구에서는 *Sporosarcina pasteurii*가 탄산칼슘을 석출시키는 biomineralization을 이용하여 미생물이 신진대사 작용을 할 때의 탄산칼슘 석출에 따른 실험을 실시한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1차 실험인 모래에 배양한 미생물의 탄산칼슘 석출 실험에서는 모래표면을 고화시켜 모래의 입자를 접촉하는 바인더로서의 이용을 검토하였다. 그 결과 *Sporosarcina pasteurii*외에 다른 화합물의 생성, 탄산염광물의 석출 및 미생물 작용에 의한 모래표면



- 1) Concrete hair crack healing and requirement performance improvement investigation by CaCO₃ precipitation
- 2) Concrete mechanical performance and durability improvement investigation by CaCO₃ precipitation
- 3) Concrete requirement performance and durability improvement investigation by CaCO₃ precipitation
- 4) Repair and reinforcement effective investigation of concrete structure by CaCO₃ precipitation
- 5) Mechanical performance and durability improvement investigation from using it as concrete admixture
- 6) The mineral precipitation and improvement investigation for concrete performance using metal-forming bacteria
- 7) The elimination effect investigation for occurred moss and uncleanness of concrete structure surface
- 8) The effect investigation of temperature humidity control power and environmental purification action

Fig. 30 Expected effects from various micro-organisms

의 고화를 확인할 수 있었다.

- 2) 2차 실험인 시멘트 환경에서의 미생물에 의한 탄산칼슘 석출 실험에서는 *Sporosarcina pasteurii*가 시멘트 환경에서도 calcite 석출 반응에 많은 기여를 한다는 것을 확인할 수 있었다.
- 3) 3차 실험인 탄산칼슘 석출에 따른 균열의 충전성 검토에서는 유기(미생물)·무기(CaCO₃) 복합 구조를 가진 calcite에 의해 균열의 충전이 어느 정도 가능한 것이 기초실험을 통해 확인되었다.

이러한 *Sporosarcina pasteurii*의 적용에 따른 기대효과는 보수 기능뿐만 아니라 환경 문제를 배려한 새로운 재료로서의 개발로 이어져 향후 중요한 연구주제의 하나가 될 것이라고 사료되며, 이 논문에 소개된 *Sporosarcina pasteurii* 외에도 미생물을 직접 콘크리트구조물에 적용한 사례로서 표면에 발생한 이끼 등에 의한 더러움을 *Thiobacillus* 라는 미생물을 이용해 제거하는 방법,⁹⁾ 다공질의 석조 문화재에 *Myxococcus xanthus*라는 미생물을 이용해 탄산칼슘을 석출시켜 밀실하게 보수를 실시하는 방법,¹⁰⁾ 또한 일본에서는 유용 미생물군(effective micro-organisms)을 혼화재로서 이용해 콘크리트의 압축강도나 내구성의 개선을 검토¹¹⁾하고 있는 연구가 문헌을 통해 확인되어지고 있다. 현재 Fig. 30에서 보여지는 *Sporosarcina pasteurii* 외에도 콘크리트의 역학적 성능 및 내구성 향상에 기여가 가능한 미생물인 *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus sphaericus*, *Myxococcus xanthus*, *Mycobacterium smegmatis*, 철환원균으로 널리 알려져 있으며 금속광물을 생산하는 *Shewanella algae* BrY, 콘크리트구조물 표면의 오염을 정

화하는 능력을 가진 *Thiobacillus*, 습기 및 온도를 조절하는 능력 및 환경정화 작용을 하는 Cyanobacteria 등의 많은 미생물 작용에 의한 효과 또한 검토 중에 있다. 또한 콘크리트구조물에서 서식하는 23종의 미생물 중 4종의 탄산칼슘 석출 미생물을 확인하였으며, 후속연구가 진행 중에 있다. 이러한 미생물들의 향후 콘크리트 배합 및 강도, 내구성 문제는 향후 보고할 예정이다.

감사의 글

이 논문은 2008년도 한국학술진흥재단 상반기 이공분야 기초연구과제지원사업(과제번호: KRF-2008-314-D00463)인 “친환경 콘크리트를 위한 가시광선 반응형 나노 광촉매와 박테리아를 이용한 고정화 기술 개발”(산학연구지원02)의 일부로서 실시되었다. 또한 일부 재정적 지원을 해주신 스마트사회기반시설연구센터(과제번호: R11-2002-101-01002-0)에도 깊은 감사를 드립니다.

참고문헌

1. Han, C. S., Lee, H. Y., and Roh. Y., “On Biologically Produced Nanomaterials,” *Int. J. Nanotechnol.*, 3(2/3), 2006, pp. 236~252.
2. Roh, Y., Gao, H., Vali, H., Gao, W., Kennedy, D. W., Yang, Z., Gao, W., Dohnalkova, A. C., Stapleton, R. D., Moon, J. W., Phelps, T. J., Fredrickson, J. K., and Zhoe, J., “Metal Reduction and Iron Biomineralization by a Psychrotolerant Fe(III)-Reducing Bacterium, *Shewanella* sp. Strain PV-4,” *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 72, No. 5, 2006, pp. 3236-3244.
3. 渡部哲光, 바이오ミネ랄리ゼ이션 - 生物が鉱物を作ることの不思議, 東海大學出版會, 1997, pp. 1~8.
4. Ramakrishnan, V., Panchalan, R. K., and Bang, S. S., “Improvement of Concrete Durability by Bacterial Mineral Precipitation,” *Proceedings of ICF*, 11, Torino, Italy, 2005, pp. 1~6.
5. Gollapudi, U. K., Knutson, C. L., Bang, S. S., and Islam, M. R., “A New Method for Controlling Leaching through Permeable Channels,” *Chemosphere*, Vol. 30, No. 4, 1995, pp.695~705.
6. Bang, S. S., Galinat, J. K., and Ramakrishnan, V., “Calcite Precipitation Induced by Polyurethane-Immobilized *Bacillus Pasteurii*,” *Enzyme and Microbial Technology*, Vol. 28, 2001, pp. 404~409.
7. Ramachandran, S. K., Ramakrishnan, V., and Bang, S. S., “Remediation of Concrete Using Micro-Organisms,” *ACI Material Journal*, Vol. 98, No. 1, 2001, pp. 3~9.
8. Breugel, K. v. and Guang, Y., “Multi-Scale Modelling: The Vehicle for Progress in Fundamental and Practice-Oriented Research,” 2nd International Symposium Nanotechnology in Construction, Bilbao, 2005, pp. 38.
9. Graef, B. D., Windt, W. D., Dick, J., Verstraete, W., and Belie, N. D., “Cleaning of Concrete Fouled by Lichens with

the Aid of Thiobacilli,” *Material and Structure*, Vol. 38, RILEM, 2005, pp. 875~882.

10. Rodriguez-Navarro, C., Rodriguez-Gallego, M., Chekroun, K. B., and Gonzalez-Munoz, M. T., “Conservation of Ornamental Stone by *Myxococcus Xanthus*-Induced Carbonate

Biomining,” *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 69, No. 4, 2003, pp. 2182~2193.

11. 藤卷一志, 杉田修一, 庄谷征美, “EM(有用微生物群)を用いたコンクリートの一實驗,” 土木學會東北支部技術研究發表會講演概要(平成16年度), 2005, pp. 708~709.

요약 이 연구는 콘크리트구조물의 유지관리 및 보전활동의 절력화와 콘크리트구조물의 장기 수명화를 목적으로 번잡한 검사나 보수작업을 필요로 하지 않고, 콘크리트에 발생하는 미세한 균열에도 수시의 점검 등이 필요 없이 미생물의 생체광물형성작용을 이용하여 콘크리트 그 자체에 자기치유 기능을 부여하는 것에 관한 내용이다. 이 논문은 콘크리트에 자기치유 기능을 부여하는 것에 관한 연구 중 지금까지와는 완전히 다른 방법으로 미생물의 생체광물형성작용(biomineralization)을 이용한 자기치유 콘크리트 개발에 관한 기초적 연구로서, *Sporosarcina pasteurii*가 탄산칼슘을 석출시키는 biomineralization을 이용하여 미생물이 신진대사 작용을 할 때의 탄산칼슘 석출 반응에 의한 세포 외에 다른 화합물의 생성, 탄산염광물의 석출 및 모래표면을 고화시켜 모래의 입자를 접착하는 바인더로서의 이용을 검토 하였다. 그 결과 새로운 광물 형성 및 모래표면의 고화가 어느 정도 가능한 것이 확인되었으며, 또한 유기(미생물)·무기(CaCO₃) 복합 구조를 가진 calcite에 의해 균열의 보수도 어느 정도 가능한 것이 기초실험을 통해 확인할 수 있었다. 따라서 콘크리트구조물에 이러한 미생물의 신진대사 작용에 따른 생체광물형성작용의 이용은 미생물과 같이 완성된 진정한 의미의 자기치유 콘크리트가 될 것으로 사료되며, 이러한 미생물의 적용에 따른 효과는 보수 기능뿐만 아니라 환경 문제를 배려한 새로운 재료로서의 개발로 이어져 향후 더욱 더 중요한 연구주제의 하나가 될 것이다.

핵심용어 : 콘크리트 균열, 미생물, 생체광물형성작용, 방해석(탄산칼슘), 자기치유