

## 국내 일부 오염 토양 및 퇴적물 내 토착 미생물에 의한 중금속의 지구화학적 거동 연구

송대성<sup>1</sup> · 이종운<sup>1\*</sup> · 고일원<sup>2</sup> · 김경웅<sup>2</sup>

<sup>1</sup>전남대학교 지구시스템공학과, <sup>2</sup>광주과학기술원 환경공학과

### Study on Geochemical Behavior of Heavy Metals by Indigenous Bacteria in Contaminated Soil and Sediment

Dae-Sung Song<sup>1</sup>, Jong-Un Lee<sup>1\*</sup>, Il-Won Ko<sup>2</sup> and Kyoung-Woong Kim<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Microbial Geochemistry Lab. (MIGEL), Department of Geosystem Engineering, Chonnam National University

<sup>2</sup>Department of Environmental Science and Engineering, Gwangju Institute of Science and Technology (GIST)

Microbial control of the geochemical behavior of heavy metals (Cd, Cu, Pb, and Zn) and As in contaminated subsurface soil and sediment was investigated through activation of indigenous bacteria with lactate under anaerobic condition for 25 days. The results indicated that dissolved Cd, Pb and Zn were microbially removed from solutions, which was likely due to the formation of metal sulfides after reduction of sulfate by indigenous sulfate-reducing bacteria. Soils from the Dukeum mine containing a large amount of sulfate resulted in complete removal of dissolved As after 25 days by microbial activities, while there were gradual increases in dissolved As concentration in soils from the Hwabuk mine and sediments from the Dongducheon industrial area which showed low  $SO_4^{2-}$  concentrations. Addition of appropriate carbon sources and sulfate to contaminated geological media may lead to activation of indigenous bacteria and thus in situ stabilization of the heavy metals; however, potential of As release into solution after the amendment should be preferentially investigated.

**Keywords :** Soil, Sediment, Heavy metals, Arsenic, Indigenous bacteria, In situ stabilization

지하 심부 토양 및 퇴적물 내 토착 미생물의 활성화에 따른 중금속 거동을 이해하기 위하여, 독성 중금속으로 오염된 국내 일부 지역의 시료를 대상으로 혐기적 환경에서 유산염(lactate)을 탄소원으로 투입한 후 약 25일간에 걸친 비소 및 중금속(카드뮴, 구리, 납, 아연) 함량 변화를 관찰하였다. 실험 결과, 미생물이 투입된 시료의 경우 미생물이 투입되지 않은 비교시료에 비하여 용존 카드뮴, 납, 아연이 효과적으로 제거되었으며, 이는 토착 황산염 환원(sulfate-reducing) 박테리아의 활성화로 인해 생성된 환원상태의 황이 이들 중금속과 황화물을 형성하며 침전시켰기 때문으로 여겨진다. 비소의 경우, 미생물을 투입한 시료 중 황산염의 함량이 높은 덕음 토양에서는 제거율이 높은 반면 황산염의 함량이 상대적으로 낮은 화북 토양, 동두천 퇴적물에서는 지속적으로 그 함량이 증가하였다. 적절한 탄소원 및 황산염을 투입해 독성 중금속으로 오염된 지질 매체 내의 토착 미생물을 활성화시킨다면 이들 중금속의 원위치(in situ) 고정화를 통한 이동도 감소의 효과를 볼 수 있을 것으로 여겨지나, 비소로 동시에 오염된 경우 발생할 수 있는 비소 용출 가능성에 대한 고려가 필요하다.

**주요어 :** 토양, 퇴적물, 중금속, 비소, 토착 미생물, 원위치 고정화

#### 1. 서 론

과거 중금속의 분산 및 독성에 대한 인식이 빈약한

상태에서 개발위주로 진행된 다양한 산업활동의 결과, 여러 가지 독성 중금속이 먹이사슬을 통하여 생물권을 심각하게 오염시켰으며, 이는 궁극적으로 인간의 건강

\*Corresponding author: jongun@chonnam.ac.kr

과 생명에 위협을 가하고 있다. 특히 적절한 방어체계 없이 무방비로 유기된 광산 및 제련활동의 부산물은 주변 수계, 퇴적물, 토양 등을 통한 심각한 중금속 오염의 점오염원으로 작용하여 인간을 비롯한 유기생명에 치명적인 피해를 미친다(Thornton, 1983; Alloway, 1990). 현재 알려진 독성 중금속들은 비소, 카드뮴, 구리, 크롬, 수은, 납, 셀레니움, 몰리브덴, 우라늄, 아연 등을 들 수 있다. 이들 중금속들은 다양한 이동매체를 통해 지질학적 매질에 축적되어 영양분 결핍, 생태계 파괴, 지하수 오염, 생물학적 다양성 감소 등의 피해를 야기하며(Liu *et al.*, 2007) 최종적으로 동식물의 성장과 인간의 건강에 악영향을 미친다. 특히 빈약한 수자원 및 토지자원을 집약적이고 효율적으로 이용해야 하는 우리나라의 경우, 지질매체의 청정성 확보는 국가의 지속적인 발전에 필수적인 요소가 되므로 중금속에 의한 지질환경 오염의 피해는 상대적으로 매우 크다고 할 수 있다.

미생물에 의하여 분해되는 성질을 가지는 유기화합물과는 달리 중금속은 비분해성이므로 지질학적 매질을 오염시킨 중금속의 처리문제는 아직 일반적 해결책이 정립되지 못한 실정이다(Seidel *et al.*, 2004). 따라서 중금속에 의한 환경오염이 중요한 환경문제로 인식된 이래, 오염된 토양, 퇴적물, 지하수로부터 중금속을 효과적이고 경제적으로 처리하는데 필요한 새로운 기술개발이 중요시되고 있다.

일반적인 용존 중금속 처리방법으로 화학적 침전법, 화학적 산화 및 환원법, 이온교환법, 여과법, 역삼투법 등을 들 수 있지만, 이들 방법은 중금속의 용존 부하량이 1-100 mg/L일 경우 비효과적이거나 매우 많은 비용이 소요되며(Nourbakhsh *et al.*, 1994) 독성 화학적 슬러지를 생성하는 등 비환경친화적이라는 단점이 있다. 또한 이들 기술들은 대부분 산업폐수 처리공정에 적용된 반면 자연 상태의 오염 토양, 퇴적물, 지하수 등의 처리에는 극히 드문 실정이다.

지질학적 매질 내에 오염 수준이 상대적으로 낮거나 오염물이 지하에 너무 넓고 깊게 분포하거나 오염물이 매우 복잡한 형태로 존재할 경우, 기존의 굴착 또는 양수처리(pump and treat) 기법 등을 적용하는 것은 경제성 측면에서 불가능하다. 따라서 현재 미국 에너지성(US DOE)에서 운영하는 ERS(Environmental Remediation Sciences Program)에서는 독성 원소 및 방사성원소로 오염된 심부 대수층을 처리하기 위한 방법으로 이들 원소의 이동도를 저하시켜 대수층 내에 원위치 고정화(in situ stabilization)시킴으로써 생물권 내에서 완전히 격리하는 방법을 중요한 연구 분야 중

하나로 설정하고 있다(US DOE, 2007).

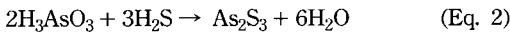
경제적이고 운전이 용이한 중금속 고정화 기술의 한 예로 철산화물을 이용한 중금속 고정화 기법이 연구되고 있으나(Kim *et al.*, 2003), 이 경우도 고정화에 쓰이는 화학물질의 비용이 높고 접근이 불가능한 심부의 토양 또는 대수층 오염에 대하여는 적용하기 어려운 단점이 있다. 따라서 최근 들어 지구미생물학적(geomicrobiological) 원위치 고정화 처리방법이 경제적이고 효율적인 대안으로 인식되고 있다(Lee and Chon, 2000). 이 기술의 장점은 처리 후 배출된 독성 물질의 재처리과정 없이 안정적으로 장기간에 걸쳐 지질매체 내에 독성물질을 포획한다는 데 있다.

지하 심부 혐기적 조건에서 박테리아는 진행생물과는 달리 산소 대신에 질산염( $\text{NO}_3^-$ ), 아질산염( $\text{NO}_2^-$ ), 산화상태의 황( $\text{S}^0$  및  $\text{SO}_4^{2-}$ ), 철( $\text{Fe}^{3+}$ ), 망간( $\text{Mn}^{4+}$ ) 등의 무기물을 전자수용체(electron acceptor)로 사용하여 호흡하며(Nelson and Stahl, 1997), 일부 박테리아는 비소(Oremland and Stolz, 2003), 우라늄(Lovley *et al.*, 1991), 셀레니움(Macy *et al.*, 1989), 크롬(Tebo and Obraztsova, 1998) 등 산화환원전위에 민감한 독성 금속 및 준금속을 이용하여 호흡한다. 위에서 언급한 원소들은 그 산화환원 상태에 따라 매우 상이한 지구화학적 거동을 나타내므로 미생물학적 산화 또는 환원은 전 지구적 규모에서 원소들의 순환에 지대한 영향을 미친다.

황산염 환원(sulfate-reducing) 박테리아의 호흡작용 결과 형성된 환원산물인  $\text{HS}^-$  또는  $\text{S}^{2-}$  등은 납, 아연, 구리, 카드뮴 등 금속이온을 비롯한 비소 등 용존 물질과 결합력이 매우 강하여 쉽게 황화물을 형성, 침전한다(예를 들면, Uhrie *et al.*, 1996). 또한 철환원(Fe(III)-reducing) 박테리아에 의해 환원된  $\text{Fe}^{2+}$ 는 그 자체가 강력한 환원제로서 주변의 우라늄, 크롬, 셀레니움, 테크네슘 등의 환원성 침전(reductive precipitation)을 유도한다. 황산염 및 철은 지질 매체 중에 가장 많이 분포하고 있는 성분 중 하나이다. 따라서 미생물의 활성도를 증진시킬 경우 심부의 오염된 토양 및 지하수에 존재하는 철산화물 및 황산염이 먼저 환원된 후 환원된 철 및 황이 연속적으로 다양한 독성 원소와 결합하거나 환원시킴으로써 금속을 원위치에 침전시키는 것이 기대된다. 특히 토양 및 대수층에 주성분으로 분포하는 철의 양(일반 토양 중 0.7-4.2%; Huebers, 1991)을 감안할 때 이들이 일부만 환원되어도 대부분의 독성 원소를 환원시킬 수 있을 것으로 예상된다. 자연적인 지질 매체 내에 황산염 함량이 부족한 경우, 심부 오염

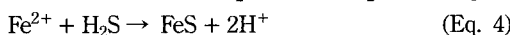
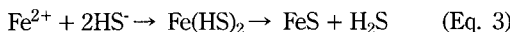
토양의 토착 황산염 환원 박테리아를 인위적으로 활성화시키는 방안을 고려할 수 있으며, 이 때 투입하는 인위적인 화학물은 전자공여체(electron donor) 겸 탄소원(carbon source)으로 사용되는 유기물과 황산염에 불과하므로 이 방법은 기존의 물리·화학적 처리 방법에 비해 가장 환경친화적인 방법이라 할 수 있다.

호기성 조건에서 비소로 오염된 퇴적물 내 토착 박테리아는 무생물적 비교시료에 비하여 더욱 많은 양의 비소를 퇴적물로부터 용출시키나, 용출된 As(III)를 As(V)로 산화시킴이 보고된 바 있다(Lee *et al.*, 2005). 한편, 혐기성 조건에서 Newman *et al.*(1997)은 *Desulfotomaculum auripigmentum*이 비소와 황산염을 환원한 후 환원된 As(III)와 HS가 삼황화비소(arsenic trisulfide)를 형성하며 침전한 결과를 보고한 바 있으며(Eq. 1-2), Lee *et al.*(2006)은 미생물학적 황산염 환원에 의한 비소의 심부 원위치 고정화를 통한 비소 오염 복구 가능성을 제기한 바 있다.



특히 미생물 표면의 작용기에 의한 비소 흡착은 발생하지 않으며 도리어 바이오필름을 형성하는 세포외 중합체(EPS; extracellular polymeric substances)에 의해 As(V)가 As(III)로 환원될 가능성이 제기되었으므로(Lee and Park, 2005), 황화물 형성을 통한 비소의 침전 기술 개발이 더욱 중요하다고 할 수 있다. 특히 비소로 오염된 퇴적물에 대한 토착 미생물의 혐기적 활성화 결과, 비소 용출량이 무생물적 비교 시료에 비하여 크게 높아진 Park *et al.*(2006)의 결과는 오염 토양 내 자연적으로 존재하는 황산염 농도 규명이 반드시 필요함을 나타낸다.

예기치 않은 환경 변화 즉, 산소의 유입이나 산화상태의 지하수 유입에 따른 환원 상태 황화물의 재산화(reoxidation) 가능성은 미생물이 유도하는 금속 황화물 형성에 의한 독성 원소 고정화의 장기적 안정성에 문제점으로 지적되어 왔다. 그러나 Abdelouas *et al.*(2000) 및 Ha *et al.*(2006)은 함우라늄 퇴적물의 혐기성 미생물 활성화 결과 mackinawite(FeS)를 형성함으로써(Eq. 3-4) 급작스런 산화 지하수가 유입되어도 장기 안정성을 확보할 수 있다는 것을 밝힌 바 있다.



토착 미생물에 의한 중금속의 지구화학적 거동을 이

해하고 이를 오염 환경 복원에 적용하기 위해서는 위에서 언급한 여러 연구 결과를 정리할 뿐만 아니라 보다 심도있는 추가 연구 수행이 요구된다. 이러한 연구의 성공적 수행을 통해 지하 심부의 혐기적 환경에 복합적으로 오염된 독성 원소에 대한 고효율, 저비용, 환경친화적인 기술개발과 미생물지구화학 연구 분야와 연계된 다양한 환경복원 사업에 필수적인 정보를 획득할 수 있을 것이다.

이 연구에서는 중금속으로 오염된 다양한 지역의 토양 및 퇴적물 내의 토착 미생물을 활성화함으로써 독성 중금속의 거동을 이해하고 장기간에 걸친 지구미생물학적 중금속 거동에 미치는 황산염의 영향에 대한 기본 정보를 구하고자 하였다.

## 2. 실험방법

### 2.1. 토양시료 채취 및 화학분석

국내 토양오염과 관련되어 오염 대표성을 갖는 지역 및 기존 자료의 접근이 가능한 지역을 고려, 다음의 3개 지역을 선정하여 시료를 채취하였다.

- ① 화북 토양: 경북 군위군 화북댐 건설부지인 고로 폐아연광산 주변 토양
- ② 덕음 토양: 전남 나주시 덕음 폐금은광산 광미적 치장 부근 토양
- ③ 동두천 퇴적물: 경기 동두천시 공단 주변 퇴적물

시료는 지구화학적 및 미생물학적 대표성을 나타내기 위하여 여러 개의 지점에서 채취하여 하나의 혼합 시료로 하였으며, 토착 박테리아를 유지하기 위해 습윤한 상태로 폴리에틸렌 봉지에 담아 4°C에서 보관하였다. 미생물 접종용 시료는 젖은 상태로 남겨두고 나머지 시료에 대해 역(pebble) 및 식물잔해를 제거한 후 휘발성 원소의 손실을 방지하기 위해 건조기에서 35°C로 건조하였다. 건조된 시료(-80 mesh)에 대하여 pH, 작열감량(LOI; loss-on-ignition), 양이온교환능력(CEC; cation exchange capacity) 등의 물리·화학적 특성을 측정하였다. 또한 채취된 시료에 자연적으로 함유되어 있는 중금속의 함량을 알아보기 위해서 중복시료(duplicate)를 마련한 후 왕수로 분해하여 용존 알루미늄, 비소, 카드뮴, 크롬, 구리, 철, 망간, 납, 아연 등을 정량하였다.

### 2.2. 토착 미생물 활성화를 통한 중금속 거동 실험

토양 및 퇴적물 내 존재하는 토착미생물 집단의 활

성화가 독성 중금속의 거동에 어떠한 영향을 미치는지 여부를 알아보기 위하여 다음과 같은 실험을 수행하였다. 건조된 토양과 퇴적물 시료(-10 mesh) 18 g을 각각 serum bottle에 담아 고압멸균기를 통해 멸균한 후 (121°C, 15분) 멸균 증류수를 540 mL씩 채웠다. 이에 0.2 µm 여과(filtering)를 통해 멸균된 50 mM 유산염을 탄소원으로서 60 mL씩 첨가함으로써 총 탄소원 농도를 5 mM로 조정하였다.

토착미생물을 접종물(inoculum)로 이용하기 위해 0.1 M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 완충용액을 토양과 10:1의 비율로 혼합하고 1시간 동안 150 rpm으로 교반한 후 자연 침강시키고 그 상등액 10 mL를 접종물로 이용, 위의 준비된 용기에 접종하였다. 또한 미생물의 영향에 따른 효과를 파악하기 위하여 미생물을 접종하지 않은 비교시료(control)도 포함시켜 그 결과를 비교하였다. 미생물을 접종하지 않은 비교시료에는 동일한 양의 멸균된 증류수를 접종하였다. 미생물 접종 실험과 무생물적 실험은 각각 중복실험(duplicate)을 수행하여 정확도와 정밀도를 확보하였다.

지하 심부에서의 오염을 가정하기 위해 혐기성 조건에서 실험하였으며 혐기 조건은 멸균된 N<sub>2</sub>:CO<sub>2</sub>(4:1) 혼합가스를 멸균 바늘을 이용해 주입, purging하여 유지하였다. 약 25일간의 반응 기간 중 일정한 간격으로 멸균된 주사기와 바늘을 이용하여 시료를 채취한 후 pH, 용존 철, As(III), 양이온 및 음이온을 측정하였다. 이 때 As(III)는 음이온교환카트리지(anion exchange cartridge; LC-SAX, Supelco, USA)를 통과시킴으로써 분리하였다(Le *et al.*, 2000).

### 2.3. 분석방법

토양 및 퇴적물 시료에 대해 왕수를 이용해 추출한 중금속 함량은 한국기초과학지원연구원 광주센터에 의뢰하여 ICP-AES(OPTIMA 4300 DV, Perkin Elmer, USA)를 이용하여 측정하였다.

용액의 pH는 pH meter(720A, Orion, USA)에 연결된 전극을 이용하여 측정하였으며, 용존 Fe<sup>2+</sup> 농도는

ferrozine(Aldrich, USA)을 이용, 착색한 후 UV-vis(UV-MINI-1240, Shimadzu, Japan)를 이용하여 562 nm에서 측정하였다(Stokey, 1970). 한편 용존 알루미늄, 비소, 카드뮴, 크롬, 구리, 철, 망간, 납, 아연 함량은 ICP-MS(7500ce, Agilent, USA)를 이용하여 측정하였으며 용액 중의 음이온은 IC (ICS-2000 AS 40 with autosampler, Dionex, USA)를 이용하여 정량하였다.

## 3. 결과 및 토론

### 3.1. 토양 및 퇴적물의 물리·화학적 특성

토양 및 퇴적물 시료의 pH, LOI, CEC와 왕수 분해 후 측정된 중금속의 농도를 Table 1에 정리하였다. pH는 모두 중성(6.9-7.5)의 범위를 나타내었고 덕음 토양에서 가장 낮은 CEC 및 LOI 값을 보였다. 화북 및 덕음 토양의 원소 함량을 살펴본 결과, 크롬과 구리를 제외한 모든 중금속이 일반 토양의 평균 함량 및 범위에 비하여 높게 나타났으며, 특히 덕음 토양(비소 23 mg/kg)에 비교하여 화북 토양(비소 373 mg/kg)에서 비소의 함량이 16배나 더 높게 나타나는 등 분석된 모든 중금속 함량에 있어 수 배 이상의 높은 함량을 보여 오염이 심각함을 보였다. 환경부 토양오염공정시험법에 의해 왕수 분해한 시료를 대상으로 기준 값이 설정되어 있는 아연의 경우, '대책기준 나' 값은 2,000 mg/kg인데 반해 화북 토양은 2,665 mg/kg으로써 이를 초과하는 것으로 나타났다. 한편 동두천 퇴적물의 경우, 미국 환경청(US EPA)이 제시한 퇴적물 기준 중 probable effects level(비소 41.6, 카드뮴 4.21, 크롬 160, 구리 108, 납 112, 아연 271; 단위는 mg/kg)에 비하여 크롬과 구리를 제외하고 모든 중금속이 심하게 오염된 것으로 나타났다.

### 3.2. 토착미생물에 의한 중금속 거동

급속한 미생물 관련 기술의 발달에도 불구하고 현재 그 특성이 확인된 종은 4500 여종에 불과하며, 미생물

**Table 1.** The physical and chemical properties of the studied samples. The elements were determined after aqua-regia digestion.

Samples	pH	CEC (meq/100g)	LOI (%)	Al (%)	Fe (%)	Mn (mg/kg)	As (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Cr (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Pb (mg/kg)	Zn (mg/kg)
Hwabuk	6.9	18.9	0.6	1.4	4.6	2382	373	24.1	24	44	674	2665
Dukeum	7.5	2.8	0.3	0.3	1.3	3271	23	6.5	9	40	399	736
Dong- ducheon	7.3	16.7	2.0	1.5	5.5	3750	2690	73.4	25	98	1831	4312

의 존재는 확인되나 배양할 수 없는(unculturable) 종이 전체의 99.9%에 이르고 있다(Amann *et al.*, 1996; Torsvik *et al.*, 2002). 따라서 이 실험에서는 특정 기능을 가진 박테리아를 분리하여 이용하기 보다는 집단 구조(community structure)를 이루고 있는 다양한 토착 박테리아 자체를 활성화시킴으로써 이들이 중금속의 거동에 미치는 영향을 파악하려고 하였다(Grandlic *et al.*, 2006). 공통적이지 않은 오염원으로 오염된 다양한 지역을 대상으로 한 실험이므로 이러한 접근방법이 더욱 현실에 근접한 결과를 얻을 수 있을 것으로 사료된다.

### 3.2.1. pH 변화

용액의 pH는 시스템 내의 모든 구성 요소의 거동을 조절하는 가장 중요한 요인 중의 하나이다. 실험 시작 후, 초기 pH는 모든 시료에 걸쳐 4.8-5.5의 범위를 보였으나 시간의 경과에 따라 점진적으로 증가하여 5.5-5.9의 범위를 나타내었다(Fig. 1). 이러한 특징은 미생물을 접종한 시료와 접종하지 않은 비교시료에서 함께 나타난 결과이며 약 25일 경과 후 최종 pH는 두 조건에서 유사한 값을 나타내었다. 따라서 이후의 실험 결과에 나타나는 두 조건, 즉 미생물 시료와 비교시료 간의 차이는 전적으로 pH 차이에 의하여 유도된 것이 아님을 나타낸다.

### 3.2.2. 용존 철 및 망간 함량 변화

일반적인 혐기적 조건에서는 토양 및 퇴적물에 존재하는 토착 철환원 박테리아의 활동으로 인해 ferrihydrite 등 철(수)산화물의 환원성 용해(reductive dissolution)가 발생한다. 이로 인해 용존 철의 증가와 함께 특히 철산화물과 밀접하게 관련되어 존재하는 비소의 후속적인 탈착으로 인한 용존 부하량의 증가가 이루어지기도 한다(Jones *et al.*, 2000; Herbel and Fendorf, 2006). 특히 철 및 망간은 지질 매체 내에 대규모로 존재하므로(일반 토양 중 철 함량 0.7-4.2% (Huebers, 1991), 망간 함량 20-10,000 mg/kg(Bowen, 1979)) 이들의 지구화학적 거동 변화는 기타 미량 중금속의 거동에 지대한 영향을 미칠 가능성이 높다.

용존 철 및 망간의 함량 변화를 관찰한 결과, 시간에 따라 그 함량이 증가함을 알 수 있었으며(Fig. 2), 이는 앞서서도 기술했듯이 철(수)산화물과 망간산화물의 환원성 용해에 기인한 것으로 판단된다. Ferrozine 착색법에 의해 용존 철의 산화상태를 조사한 결과, 15일 경과 후 총 용존 철에 대한  $Fe^{2+}$ 의 비는 회복

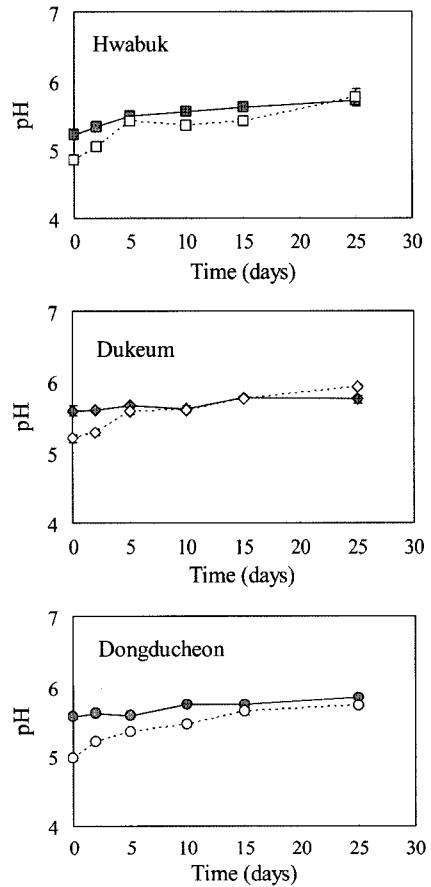


Fig. 1. pH variation of the anaerobic soil and sediment slurries over time. Solid: microbial, open: abiotic control.

71.6%, 덕음 100%, 동두천 38.6%로서 동두천 퇴적물을 제외하고는 대부분  $Fe^{2+}$  형태로 존재하는 것으로 나타났다. 특히 미생물을 주입한 덕음 토양의 경우, 15일 경과시까지 무생물적 비교시료에 비하여 많은 철이 용액 중으로 공급되고 있는 것이 관찰되었다.

그러나 이를 제외한 대부분의 경우, 토착 박테리아의 활성화에 따른 철 및 망간의 용출량 증가와 미생물을 접종하지 않은 비교시료에서의 증가량 간에 큰 차이가 없는 것으로 나타났다(Fig. 2). 이는 연구 대상 토양 및 퇴적물 내에 철·망간 환원 박테리아의 분포가 극히 미미하거나, 탄소원으로 공급한 유산염의 미생물학적 이용도가 낮거나, 철 및 망간의 존재 형태가 미생물에 의해 쉽게 이용될 수 있는 상태 - 예를 들면 결정질 또는 비정질의 철산화물 등 - 가 아니라 결정 구조 내에 단단히 존재하기 때문일 것으로 여겨진다. 특히 다소간의 변이가 있지만, 시간이 지남에 따라 오

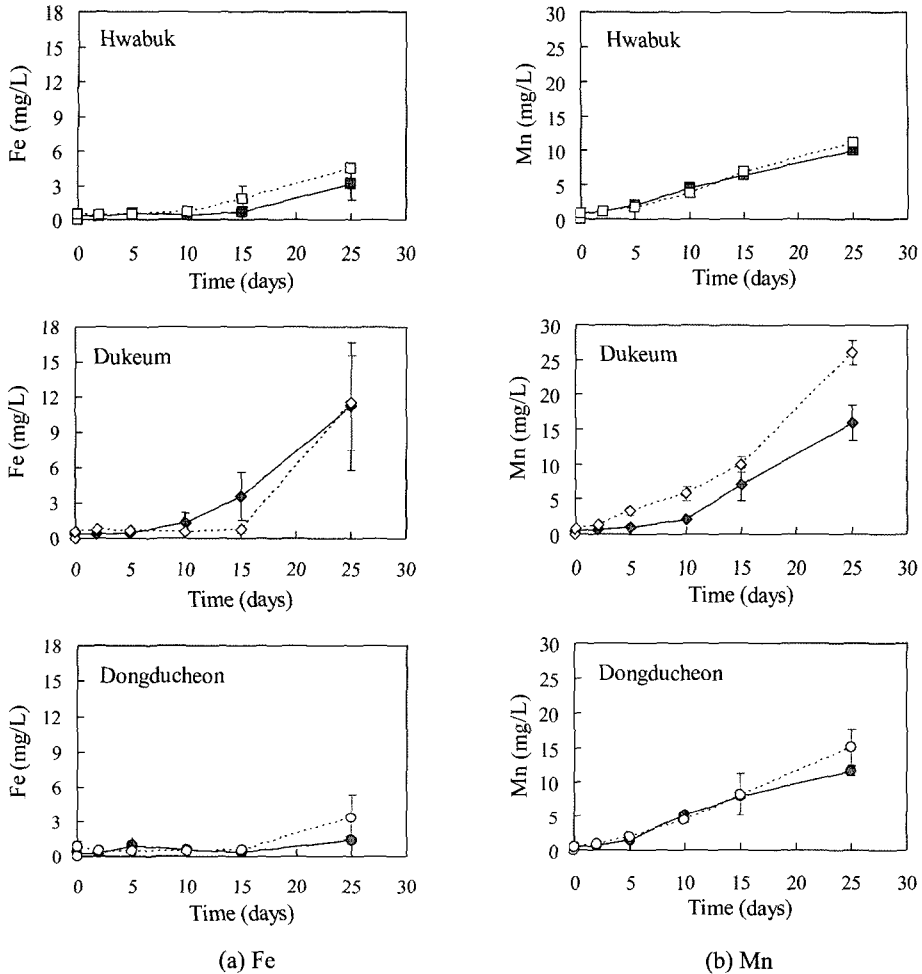


Fig. 2. Variation in dissolved total (a) Fe and (b) Mn concentrations in the studied soil and sediment slurries over time. Solid: microbial, open: abiotic control.

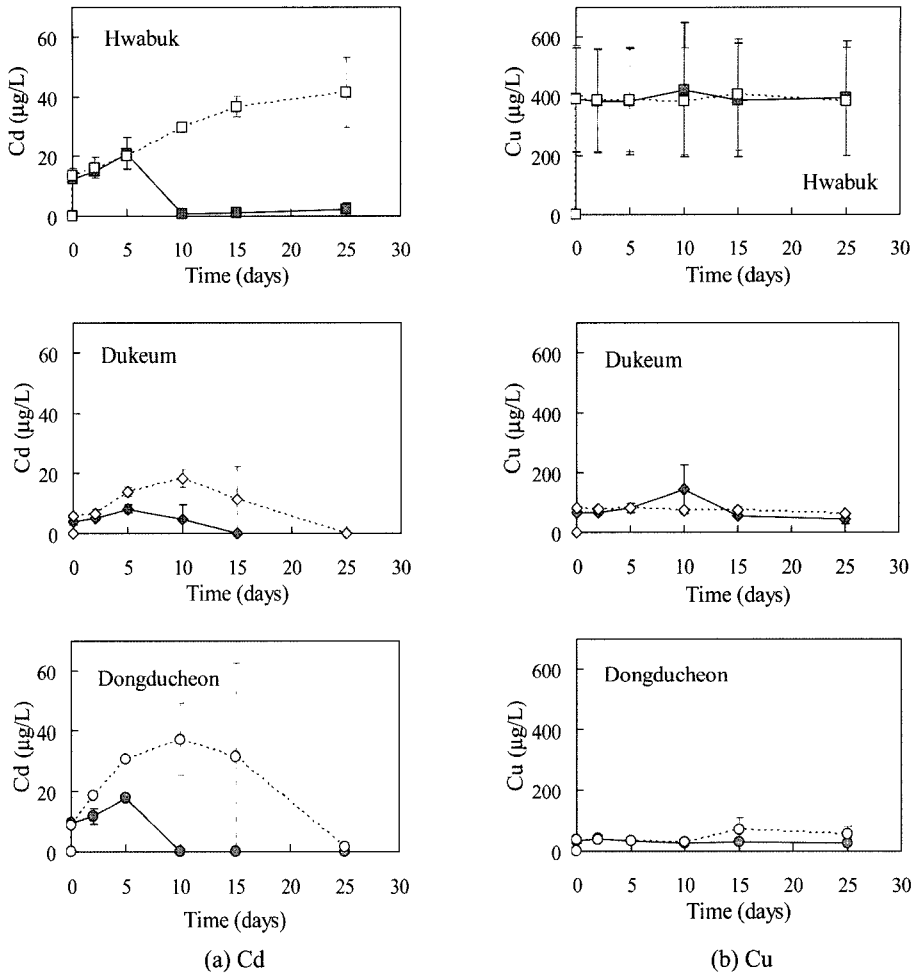
히려 미생물 시료 내의 철 및 망간 함량이 더욱 감소하는 것은 용출된  $Fe^{2+}$ 가 반응 도중 미생물학적 철 제거 메커니즘에 의해 용액으로부터 제거되었을 가능성을 제시한다. 앞에서도 설명했듯이 가장 가능성이 높은 것은 황산염 환원에 의한 HS와의 결합을 통한 광물상 침전일 것이다. 이에 관해서는 이미 Ha *et al.*(2006)이 흑색 세일을 대상으로 한 토착미생물 활성화 실험 결과, 침전물에서 mackinawite( $FeS$ )가 형성되었음을 확인한 바 있다.

### 3.2.3. 용존 중금속 함량 변화

혐기적 조건에서 미생물의 활성화에 따른 용존 중금속의 시간에 따른 함량 변화를 관찰한 결과, 용존 상태에서 대부분 +2가로 존재하는 카드뮴, 구리, 납, 아

연 중 구리를 제외한 나머지 금속의 용존 함량은 무생물적 비교 시료에 비해 미생물을 투입한 시료에서 월등하게 많은 양이 용액으로부터 제거됨을 알 수 있었다(Fig. 3). 예를 들면, 화북 토양의 경우 25일의 반응 기간 후 비교 실험에서는  $41 \mu\text{g/L}$ 의 카드뮴 농도가 관찰된 반면 미생물을 투입한 실험에서는  $2 \mu\text{g/L}$ 만이 검출됨으로써 약 20배의 차이를 보이기도 하였다. 미생물을 투입한 실험에서는 급격한  $SO_4^{2-}$ 의 환원성 제거가 관찰된 것으로 미루어 볼 때(Fig. 6 참조), 실험 결과 나타난 중금속의 제거는 미생물에 의한 황산염 환원 산물인 HS에 의한 황화물 형성 및 후속적인 침전에 의한 제거인 것으로 판단된다.

이상의 결과로 미루어 볼 때, 토착 박테리아의 활성화를 통하여 카드뮴, 납, 아연 등의 독성 중금속을 침



**Fig. 3.** Concentrations of (a) Cd, (b) Cu, (c) Pb, and (d) Zn in the studied soil and sediment slurries over time. Solid: microbial, open: abiotic control.

전시켜 원위치에 고정화 시키는 기술의 개발이 가능할 것으로 판단된다. 중금속의 독성, 이동도, 생물학적 이용 가능성 등은 중금속의 화학종에 따라 좌우되며, 이러한 특징은 특히 산화환원전위에 민감한 원소에서 잘 나타난다. 예를 들어 산화 상태의 U(VI)는 환원 상태의 U(IV)에 비해 물에 잘 용해되어 이동도가 크며, 반면 산화 상태의 As(V)는 환원 상태의 As(III)보다 이동도와 독성이 더 작은 특성을 보인다. 또한 일반 비금속(base metal)의 경우, 반응성이 좋은 HS<sup>-</sup> 등과 쉽게 결합하여 화합물을 형성하기도 한다. 최근 수많은 연구를 통해 이러한 중금속의 화학종 변화에 미생물이 주요한 역할을 한다는 것이 밝혀지고 있다(예를 들면, Sani *et al.*, 2004). 반면 이 실험에서 나타난 구리의 거동은 미생물학적 실험과 무생물적 비교 실험 간의

차이가 없어 이에 대한 구체적인 연구가 필요하다.

용존 총 비소 함량은 비금속(base metal)의 거동과는 다른 양상을 보였다. 즉 퇴적 토양을 제외한 나머지 시료에서의 비소 함량은 시간에 따라 지속적으로 증가하였으며 또한 미생물을 투입한 시료가 그렇지 않은 시료에 비해 월등히 많은 양이 용출되었다(Fig. 4).

일반적으로 비소는 철(수)산화물과 공침전 및 흡착 등을 통해 밀접하게 연관되어 나타나므로(예를 들면, Nickson *et al.*, 1998) 혐기적 조건에서의 철(수)산화물의 환원성 용해 결과 비소가 용액 중으로 용출될 수 있다(Park *et al.*, 2006). 특히 화석 토양 및 동두천 퇴적물에서 이러한 비소 용출이 뚜렷이 관찰되고 있다. 그러나 두 시료에서 용존 철의 함량 차이가 크지 않은 반면(Fig. 2 참조), 용존 비소의 함량은 무생물적 비교

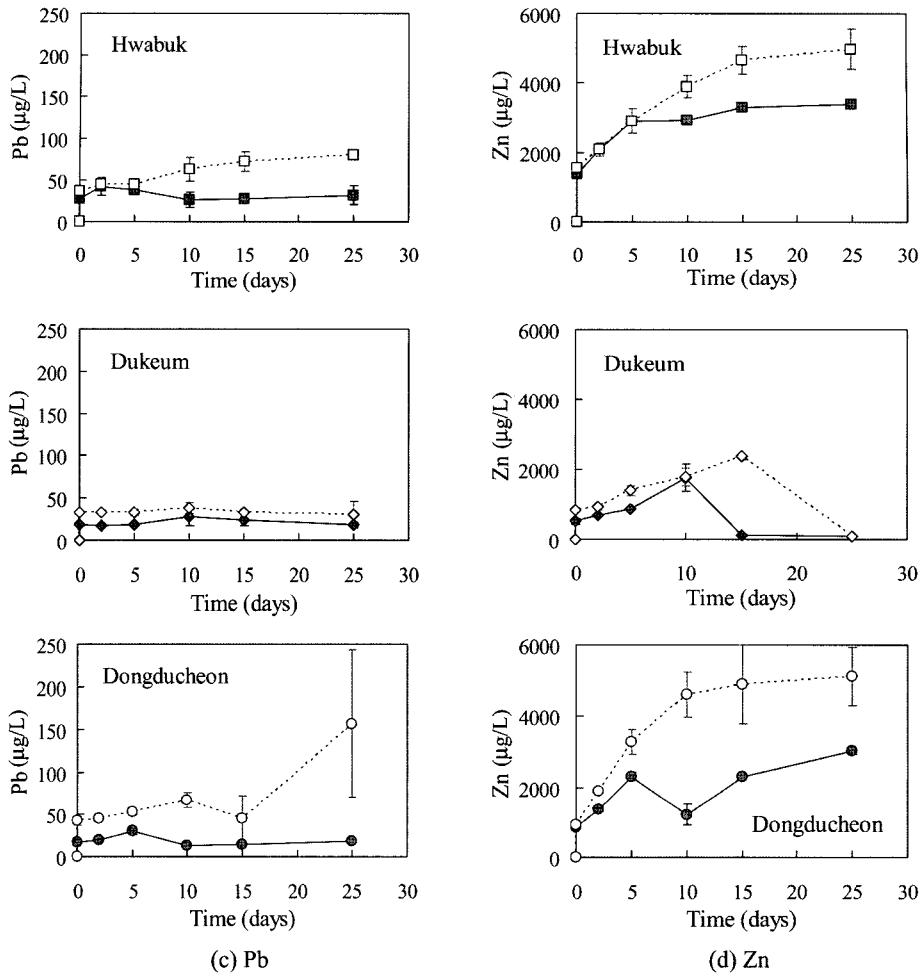


Fig. 3. (Continued)

시료에 비하여 미생물을 접종한 시료에서 한층 높은 값을 보였다. 따라서 단순히 철(수)산화물의 용해로 인하여 이들에 공침전 또는 흡착되어 있던 비소가 용출된 것 이외의 다른 메커니즘이 존재하고 있을 가능성이 크다고 할 수 있으며, 이러한 원인의 일부는 용존 비소의 산화 상태를 조사한 결과로서 설명할 수 있다 (Fig. 5). 즉 화북 토양의 경우, 미생물을 접종한 시료에서는 반응 시작 5일만에 용존 비소의 88%가 As(III) 상태로 환원된 반면, 무생물적 비교 시료에서는 매우 느린 속도로 환원된 결과를 보였다. 환원상태인 As(III)는 As(V)에 비해 그 이동도가 매우 크다는 점을 감안할 때 (Kim *et al.*, 2005; Williams and Silver, 1984; Chatain *et al.*, 2005), 미생물에 의한 As(III)로의 환원이 총 용존 비소 함량의 증가를 유도한 것으로 판단된다.

한편 Lee *et al.* (2006)은 명봉 폐금광산 주변 퇴적물을 대상으로 한 연구에서 환원된 비소가 HS와 결합하여 침전하는 가능성을 제시한 바 있으나 이 연구에서는 그와 같은 결과는 나타나지 않았다. 이는 아마도 토양 내 존재하는  $SO_4^{2-}$  함량이 상대적으로 낮기 때문으로 여겨진다 (Fig. 6 참조). 즉 용존 비소가 감소한 명봉 퇴적물 (Lee *et al.*, 2006) 및 덕음 토양에서는 실험 초기 20-40 mg/L의  $SO_4^{2-}$ 가 관찰된 반면, 용액으로부터 비소가 제거되지 않은 화북 토양 및 동두천 퇴적물의 초기 황산염 농도는 단지 3 mg/L 이하로 나타났다.

미생물을 접종한 덕음 토양의 경우, 초기 비소의 농도가 6.5 µg/L에서 점차 증가하여 20 µg/L까지 상승한 후 약 25일째에는 거의 관찰되지 않았다 (Fig. 4). 또한 반응 후 15일까지 비소의 존재 형태도 대부분 As(V)



로 존재하였다(Fig. 5). 이러한 결과는 화북 토양 및 동두천 퇴적물과는 상이한 것으로서, 덕음 토양의 경우 이들과 비교하여 용존 비소 함량(초기 함량 6.5 µg/

L; Fig. 4 참조)이 낮고 용존 황산염 함량(초기 함량 18.6 mg/L; Fig. 6 참조)이 매우 높다는 화학적 차이 점을 나타낸다. 자연 상태의 토양을 대상으로 한 실험 이므로 직접 비소와 결합한 황화물을 현미경으로 확인 할 수는 없었으나, 황산염의 농도가 급격히 감소한 15 일째에(Fig. 6 참조) 총 용존 비소 함량도 동시에 감소 한 점으로 미루어 황산염의 거동과 밀접한 연관이 있 음을 추정할 수 있다. Lee *et al.*(2006)에서 관찰된 황 화물 형성 후 침전 메커니즘이 덕음 토양에도 동일하 게 작용했는지의 여부는 알 수 없으나 높은 황산염 농 도가 비소 제거와 관련된 점으로 미루어 볼 때 인위적 황산염 투입을 통한 비소의 원위치 고정화 기술의 개 발 가능성을 나타낸다고 할 수 있다.

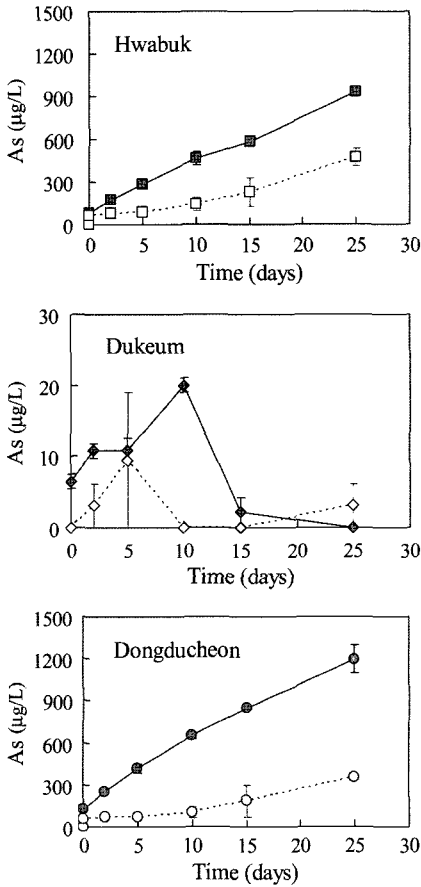


Fig. 4. Variation in dissolved total arsenic concentration in the studied soil and sediment slurries over time. Solid: microbial, open: abiotic control.

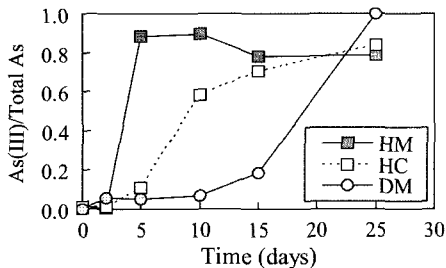


Fig. 5. Variation in the ratio of As(III) to total dissolved As in the studied slurries of Hwabuk and Dukeum soils over time. HM: Hwabuk-microbial, HC: Hwabuk-control, DM: Dukeum-microbial. Dukeum-control (DC) sample was excluded since most values of dissolved As concentration were under detection limit.

### 3.2.4. 황산염(SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) 함량 변화

화북 토양, 덕음 토양, 동두천 퇴적물 시료 모두에서

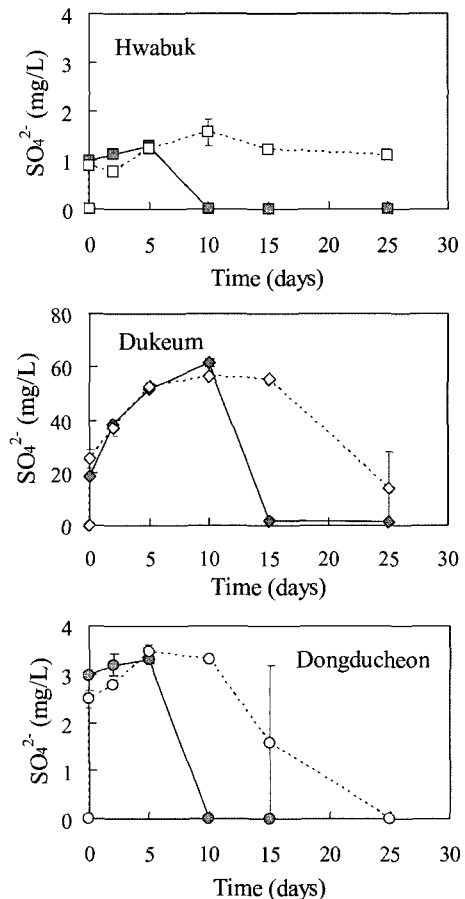


Fig. 6. Concentrations of sulfate ion over time. Solid: microbial, open: abiotic control.

황산염( $\text{SO}_4^{2-}$ )은 미생물 시료와 무생물적 비교시료 모두 일정 기간까지 그 함량이 증가하다 시간의 경과에 따라 함량이 유지되거나 대폭 감소하였다(Fig. 6). 특히 미생물이 접종된 경우 그 환원속도가 무생물적 비교시료에 비하여 월등히 빨랐으며 이는 토착 황산염 환원 박테리아의 활동에 기인한 것이다. 혐기성 박테리아 그룹에 속하는 황산염 환원 박테리아는 용존 황산염을  $\text{S}^{2-}$ 나  $\text{HS}^-$  등 반응성이 매우 좋고 지구화학적으로도 중요한 환원된 황을 형성하는 것으로 알려져 있다. 또한 이들은 지하 심부의 혐기적 조건에서 지하수 또는 토양 간극수 등에 용존 되어 있는 금속 이온과 쉽게 결합하여 황화물을 형성, 침전시킨다(McLean *et al.*, 2002).

위에서 보았듯이 이 실험에서도 황산염 환원 박테리아가 독성 중금속의 침전·제거에 지대한 영향을 미쳤다고 판단된다. Fig. 3에 나타난 용존 카드뮴, 납, 아연의 감소도 황산염 환원 박테리아가 황산염을 전자수용체로 사용함으로써 생성된 환원된 황을 통해 금속 황화물을 형성했을 것으로 여겨진다. 특히 회복 토양이나 동두천 퇴적물에 비해 약 10배 가량 높은 황산염 농도를 보이는 덕음 토양의 경우 다른 두 시료에서는 나타나지 않은 비소의 제거까지 보였으며(Fig. 4 참조), 이는 비금속 뿐만 아니라 비소 등 산화환원전위에 민감한 원소의 거동까지 조절하기 위해서는 지질 매체 내 황산염 함량이 부화되어야 함을 나타낸다. 중금속에 의한 지하 심부 오염을 처리하기 위해서는 적절한 탄소원 및 황산염 등을 인위적으로 주입하여 토착 황산염 환원 박테리아를 활성화시켜야 하며, 이를 통해 독성 중금속을 침전시켜 원위치에 고정화시킬 수 있을 것으로 판단된다. 추가적으로 유전자 분석 등을 통하여 토양 및 퇴적물 내 생존하는 토착 박테리아를 확인하고, 이 중 오염지역에서 특징적으로(site-specific) 황산염 환원 반응을 주도적으로 유도하는 박테리아를 규명하는 절차가 수행된다면 한층 효과적인 원위치 고정화 결과를 볼 수 있을 것으로 예상된다.

#### 4. 결 론

비금속(base metals) 및 산화환원전위 변화에 민감한 원소의 거동에 중요한 영향을 미치는 황산염 환원 박테리아의 특성을 환경지구화학적으로 이용함으로써 오염된 지하 심부 토양 및 대수층을 지구미생물학적 원위치 고정화 방법으로 처리할 수 있을 것이다. 이러한 방법은 생태계에 미치는 영향을 최소화하는 효율적, 경제적, 자

연친화적인 처리방법으로서, 토착 박테리아에 의한 금속의 산화·환원을 통하여 원소의 독성 또는 이동도를 저감함으로써 이들 독성 원소들이 생물권에 유입되는 것을 방지할 수 있다.

이 실험에서는 오염된 토양 및 퇴적물 내에 집단구조를 이루고 있는 다양한 토착 미생물 자체를 배양하여 독성 중금속 제거 여부를 확인하였다. 실험 결과 오염 지역에 적절한 탄소원을 주입하여 토착 미생물을 활성화시키면 토양수 및 지하수 내 주성분 이온으로 함유되어 있는 황산염의 환원으로 독성 금속과의 결합을 통해 원위치에 고정화하여 생물권 내 유입을 방지할 수 있음을 관찰하였다.

그러나 황산염이 결핍된 상태에서 탄소원을 주입하여 미생물을 활성화시킨다면 오히려 비소의 독성과 이동도가 증가함을 알 수 있었으며, 반면 황산염이 충분히 존재할 경우(예를 들면 덕음 토양) 비소의 용출량은 감소하여 기대한 제거 효과를 얻을 수 있었다. 이러한 결과는 미생물에 의한 독성 원소의 원위치 고정화를 위해서는 반드시 해당 오염 부지에 대한 지구화학적·광물학적·미생물학적 사전 조사가 필요함을 의미한다.

#### 사 사

이 연구는 환경부 토양오염확산방지연구사업의 토양오염확산 거동 예측 및 오염평가기법 개발 연구과제 연구비 지원(과제 번호 02140010008)으로 수행되었습니다. 논문을 위하여 중요한 지적을 해 주신 전남대 노열 교수님, 세종대 정명채 교수님, 한국지질자원연구원 안주성 박사님과 시료 분석에 도움을 주신 광주과학기술원 이근영 씨에게 감사드립니다.

#### 참고문헌

- Abdelouas, A., Lutze, W., Gong, W., Nuttall, E.H., Strietelmeir, B.A. and Travis, B.J. (2000) Biological reduction of uranium in groundwater and subsurface soil. *Sci. Total. Environ.*, v. 250, p. 21-35.
- Alloway, B.J. (1990) *Heavy Metals in Soils*. Blackie and Son.
- Amann, R., Snaidr, J. and Wagner, M. (1996) In situ visualization of high genetic diversity in a natural microbial community. *J. Bacteriol.*, v. 178, p. 3496-3500.
- Bowen, H.J.M. (1979) *Environmental Chemistry of the Elements*. Academic Press, New York, 333 p.
- Chatain, V., Bayard, R., Sanchez, F., Moszkowicz, P. and Gourdon, R. (2005) Effect of indigenous bacterial activity on arsenic mobilization under anaerobic conditions. *Environ. Int.*, v. 31, p. 221-226.

- Grandic, C.J., Geib, I., Pilon, R. and Sandrin, T.R. (2006) Lead pollution in a large, prairie-pothole lake (Rush Lake, WI, USA): Effects on abundance and community structure of indigenous sediment bacteria. *Environ. Pollut.*, v. 144, p. 119-126.
- Ha, W.K., Lee, J.-U. and Jung, M.C. (2006) Study on geomicrobiological reductive precipitation of uranium and its long-term stabilization. *J. Kor. Soc. Geosystem Eng.*, v. 43, p. 331-338.
- Herbel, M. and Fendorf, S. (2006) Biogeochemical processes controlling the speciation and transport of arsenic within iron coated sands. *Chem. Geol.*, v. 228, p. 16-32.
- Huebers, H.A. (1991) Iron. In: Merian, E. (Ed.) *Metals and Their Compounds in the Environment: Occurrence, Analysis, and Biological Relevance*. VCH, Weinheim, Germany, p.945-958.
- Jones, C.A., Langner, H.W., Anderson, K., McDermott, T.R. and Inskeep, W.P. (2000) Rates of microbially mediated arsenate reduction and solubilization. *Soil. Sci. Soc. Am. J.*, v. 64, p. 600-608.
- Kim, J.Y., Davis, A. and Kim, K.W. (2003) Stabilization of available arsenic in highly contaminated mine tailings using iron. *Environ. Sci. Technol.*, v. 37, p. 189-195.
- Kim, J.Y., Choi, Y.H., Kim, K.W., Ahn, J.S. and Kim, D.W. (2005) Removal of As(III) in contaminated groundwater using iron and manganese oxide-coated materials. *Econ. Environ. Geol.*, v. 38, p. 571-577.
- Le, X.C., Yalcin, S. and Ma, M. (2000) Speciation of sub-microgram per liter levels of arsenic in water; On-site species separation integrated with sample collection. *Environ. Sci. Technol.*, v. 4, p.2342-2347.
- Lee, J.-U. and Chon, H.T. (2000) Bacterial effects on geochemical behavior of elements : An overview on recent geomicrobiological issues. *Econ. Environ. Geol.*, v. 33, p.3 353-365.
- Lee, J.-U., Lee, S.-W., Kim, K.-W. and Yoon, C.-H. (2005) The effects of different carbon sources on microbial mediation of arsenic in arsenic-contaminated sediment. *Environ. Geochem. Hlth.*, v. 27, p. 159-168.
- Lee, J.-U. and Park, H.S. (2005) Arsenic adsorption onto *Pseudomonas aeruginosa* cell surface. *Econ. Environ. Geol.*, v. 38, p. 525-534.
- Lee, J.-U., Lee, S.W., Kim, K.W., Lee, J.S. and Chon, H.T. (2006) Geomicrobiological effects on arsenic behavior in anaerobic sediment from abandoned gold mine area. *J. Kor. Soc. Geosystem Eng.*, v. 43, p. 448-457.
- Liu, Y.G., Zhou, M., Zeng, G.M., Li, X., Xu, W.H. and Fan, T. (2007) Effects of solids concentration on removal of heavy metals from mine tailings via bioleaching. *J. Hazard. Mater.*, v. 141, p.202-208.
- Lovley, D.R., Phillips, E.J.P., Gorby, Y.A. and Kanda, E.R. (1991) Microbial reduction of uranium. *Nature*, v. 350, p.413-416.
- Macy, J.M., Michel, T.A. and Kirsch, D.G. (1989) Selenate reduction by a *Pseudomonas* species: a new mode of anaerobic respiration. *FEMS Microbiol. Lett.*, v. 61, p. 195-198.
- McLean, J.S., Lee, J.-U. and Beveridge, T.J. (2002) Interactions of bacteria and environmental metals, fine-grained mineral development and bioremediation strategies. In: Huang, P.M., Bollag, J.-M. and Senesi, N. (Eds.) *Interactions between Soil Particles and Microorganisms: Impact on the Terrestrial Ecosystem*. John Wiley and Sons, Chichester, England, p. 227-261.
- Nealson, K.H. and Stahl, D.A. (1997) Microorganisms and biogeochemical cycles: what can we learn from layered microbial communities? In: Banfield, J.F. and Nealson, K.H. (Eds.) *Geomicrobiology: Interactions between Microbes and Minerals*. pp. 5-34. Mineralogical Society of America, Washington, D.C.
- Newman, D.K., Beveridge, T.J. and Morel, F.M.M. (1997) Precipitation of arsenic trisulfide by *Desulfotomaculum auripigmentum*. *Appl. Environ. Microbiol.*, v. 63, p. 2022-2028.
- Nickson, R., McArthur, J., Burgess, W., Ahmed, K.M., Ravenscroft, P. and Rahman, M. (1998) Arsenic poisoning of Bangladesh groundwater. *Nature*, v. 395, p. 338.
- Nourbakhsh, M., Sag, Y., Ozer, D., Aksu, Z., Katsal, T. and Calgar, A. (1994) A comparative study of various biosorbents for removal of chromium(VI) ions from industrial wastewater. *Process Biochem.*, v. 29, p. 175.
- Oremland, R.S. and Stolz, J.F. (2003) The ecology of arsenic. *Science*, v. 300, p. 939-944.
- Park, J.M., Lee, J.S., Lee, J.-U., Chon, H.T. and Jung, M.C. (2006) Microbial effects on geochemical behavior of arsenic in As-contaminated sediments. *J. Geochem. Explor.*, v. 88, p. 134-138.
- Sani, R.K., Peyton, B.M., Amonette, J.E. and Geesey, G.G. (2004) Reduction of uranium(VI) under sulfate-reducing conditions in the presence of Fe(III)-(hydr)oxides. *Geochim. Cosmochim. Acta.*, v. 68, p. 2639-2648.
- Seidel, H., Löser, C., Zehndorf, A., Hoffmann, P. and Schmerold, R. (2004) Bioremediation process for sediments contaminated by heavy metals: Feasibility study on a pilot scale. *Environ. Sci. Technol.*, v. 38, p. 1582-1588.
- Stookey, L.L. (1970) Ferrozine: a new spectrophotometric reagent for iron. *Anal. Chem.*, v. 42, p. 779-781.
- Tebo, B.M. and Obraztsova, A.Y. (1998) Sulfate-reducing bacterium grows with Cr(VI), U(VI), Mn(IV), and Fe(III) as electron acceptors. *FEMS Microbiol. Lett.*, v. 162, p. 193-198.
- Thornton, I. (1983) *Applied Environmental Geochemistry*. Academic Press, London, 501p.
- Torsvik, V., Øvreås, L. and Thingstad, T.F. (2002) Prokaryotic diversity - magnitude, dynamics, and control factors. *Science*, v. 296, p. 1064-1066.
- Uhrie, J.L., Drever, J.I., Colberg, P.J.S. and Nesbitt, C.C. (1996) In situ immobilisation of heavy metals associated with uranium leach mines by bacterial sulphate reduction. *Hydrometallurgy*, v. 43, p. 231-239.
- US DOE (2007) Internet ref. <http://www.ibl.gov/ERSP>.
- Williams, J.W. and Silver, S. (1984) Bacterial resistance and detoxification of heavy metals. *Enz. Microb. Technol.*, v. 6, p. 530-537.