

## 방사선을 조사(照射)한 *Bacillus subtilis*에 의한 석영 용해

이 종 문\*

전남대학교 공과대학 에너지자원공학과

### Quartz Dissolution by Irradiated *Bacillus Subtilis*

Jong-Un Lee\*

Department of Energy and Resources Engineering, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

The effects of bacterial lysis on the rate of quartz dissolution were investigated under pH 7 condition using *Bacillus subtilis* cells which were either irradiated or non-irradiated with gamma ray. The amount of dissolved organic carbon (DOC) which resulted from bacterial lysis increased in slurries of quartz and bacteria mixture over experimental period. Lysis of non-irradiated bacteria led to the elevated concentration of dissolved silicon when compared with abiotic control. Concomitant increase in the amounts of DOC and dissolved silicon over time indicated that lixiviation of silicon from quartz was due to bacterial lysis. Higher amounts of DOC and dissolved silicon were present in the irradiated bacterial slurries than those of non-irradiated bacteria. The enhancement of quartz dissolution in the irradiated bacterial slurries was likely attributed to disruption of organic molecules in the bacterial cells by gamma ray and formation of effective ligands for quartz dissolution. The results suggest that the effects of bacterial lysis on mineral weathering rate should be considered for prediction of time for released radionuclides to migrate to surface biosphere in high level radioactive waste disposal site.

**Key words :** bacteria, quartz dissolution, lysis, radioactivity, dissolved organic carbon

감마선을 조사(照射)하거나 조사하지 않은 두 경우의 *Bacillus subtilis*를 대상으로 하여 박테리아 세포 붕괴(lysis)를 유도한 후 방출된 유기 분자가 pH 7 조건에서 석영 용해 속도에 미치는 영향을 조사하였다. 시간이 경과하며 석영과 박테리아 혼합 슬러리에서 용존 유기탄소(dissolved organic carbon; DOC) 함량이 증가하였으며 이는 박테리아 투입량과 대체적으로 비례하는 것으로 보아 박테리아 세포 붕괴의 결과인 것으로 판단되었다. 방사선을 조사하지 않은 박테리아를 투입하였을 경우, 시간이 경과하며 박테리아를 투입하지 않은 화학적 비교 슬러리에 비해 높은 함량의 규소가 용출되어 나왔다. DOC 함량과 용해되어 나온 규소 함량 간에 나타난 좋은 상관관계는 규소 용출의 원인이 박테리아 세포 붕괴에 의해 방출된 DOC에서 비롯되었음을 나타낸다. 한편 방사선을 조사한 박테리아의 세포 붕괴 산물은 방사선을 조사하지 않은 경우에 비하여 단위 DOC 함량당 매우 높은 농도의 규소를 용출시켰다. 이 때 관찰되는 규소 용출은 방사선이 조사되었을 때 교란된 박테리아 내부의 유기 분자가 방사선을 조사하지 않은 박테리아에 비하여 석영을 보다 효과적으로 용해할 수 있는 유기 분자로 변화하였기 때문으로 판단된다. 이 결과는 고준위 방사성 폐기물 처분장에서 누출된 핵종이 지표 생태계에 도달하는데 소요되는 시간을 예측할 때 처분장 주변 대수층 암석의 풍화 속도 측정에 미치는 박테리아 세포 붕괴의 영향을 고려해야 함을 나타낸다.

**주요어 :** 박테리아, 석영 용해, 세포 붕괴, 방사능, 용존 유기탄소

### 1. 서 론

국제적으로 에너지 수요가 급증하며 각국은 안정적

인 에너지원 공급체계 수립에 부심하고 있다. 또한 교도의정서 발효에 따라 온실가스 배출에 제약이 걸림에 따라 보다 환경친화적인 에너지원을 개발하려는 노력

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

도 활발해지고 있다. 이에 따라 다양한 발전용 신재생 에너지 개발이 급속도로 이루어지고 있으나 현재로서는 기존의 대규모 에너지 공급원인 화석에너지를 대체할 정도의 실용·보급화는 요원한 실정이다. 현재 세계 각국에서는 이러한 난관을 타개할 대안으로서 원자력에너지를 고려하고 있다(EESC, 2004). 그간 몇 회의 대규모 원전 사고로 인하여 그 성장률이 둔화된 바 있지만, 최근 북미 및 유럽 등 선진국을 비롯한 각국에서 반(反)원전 추세가 줄어드는 것이 관찰되고 있다(EPRI, 2009). 신규 원전 건설을 중지했던 국가들이 연이어 새 원전 건설에 나서고 있고, 급속하게 증가하는 전력 수요를 충족시키기 위하여 아시아 각국은 매우 활발한 원전건설 현상이 되고 있다(JoongAng Ilbo, 2008). 현재 우리나라는 세계 6위에 해당하는 총 20기의 원자로 가동을 통하여 국내 전체 전력생산의 약 40%에 이르는 막대한 양을 원자력에 의존하고 있다(KNEF, 2009). 사실상 뚜렷한 에너지원이 없어 거의 전량을 외국으로부터 수입해야 하는 국내의 실정으로는, 발전단가, 연료수입액, 에너지 밀도, 온실가스 배출 등의 측면에 있어서 타 에너지원에 비해 탁월한 원자력에너지에 의존할 수 밖에 없는 실정이다.

원자력에너지 이용에 관한 반대 의견 중 하나는 발전 후 폐기물의 처분(disposal)에 관한 우려에서 비롯된다. 방사능 정도가 상대적으로 낮은 중·저준위 방사성 폐기물의 경우, 독일 몰스레벤, 일본 로카쇼무라, 스웨덴 포스마크, 프랑스 로브 등지에서 성공적으로 처분되고 있고 우리나라도 현재 경주에 건설 중이다. 그러나 매년 적체되어 가는 고준위(high-level) 방사성 폐기물의 경우, 여전히 막대한 양의 방사성원소를 포함하고 있을 뿐만 아니라 대부분 핵종의 반감기는 최장  $10^9$  년에 이를 정도로 길다(Krauskopf, 1988). 따라서 처분 후 예기치 못한 핵종 누출 및 그로 인한 방사능 오염에 관한 우려 때문에 아직 고준위 방사성 폐기물을 영구적으로 처분하고 있는 국가는 한 군데도 없다.

현재까지의 기술 수준으로는 이들 방사성 폐기물의 처분 방식으로 심부 지중(地中) 처분이 가장 안전한 것으로 여겨진다(Krauskopf, 1988). 고준위 방사성 폐기물 처분의 일차적인 목표는 핵종이 봉쇄되어 안전한 수준으로 낮아질 때까지 길게는 수십만 년에 이르는 장구한 기간 동안 지표 생태계로 누출되지 않게 하는 것이다. 따라서 처분장에 공학적 방벽(barrier) 및 지질학적 방벽을 다중으로 설계하여 안전성을 확보하며, 혹시 핵종이 지질학적 방벽까지 통과하더라도 처분장 압반 내 절리 등에 의해 지표로 도달하는 시간을 산정하

여 핵종 봉쇄에 이르는 충분한 기간을 갖도록 설계한다.

이러한 과정에는 처분장 압반 내 일차 광물(주로 알루미늄규산염 광물)의 자연적 풍화(용해) 속도 예측이 포함되어야 할 것이다. 용해가 진행되면 핵종이 이동하는 공간이 확장되어 투수성이 증가하므로 그만큼 신속한 핵종 이동이 예상되기 때문이다. 이 때 일차 광물의 용해 속도 산정에 있어 기존의 물리·화학·광물학적 요인 이외에 미생물학적 영향이 반드시 고려되어야 한다.

지질학적 환경에서 박테리아는 양이온 흡착 및 광물 생성, 이화적(dissimilatory) 금속환원, 바이오필름(biofilm) 형성 등과 더불어 광물 용해속도 촉진을 유도한다(Lee and Chon, 2000). 이 때 박테리아에 의한 규산염 광물 용해속도 촉진은 도양 형성과 식물 영양, 건축 구조물의 안정, 지하수 화학과 오염물의 이동, 방사성 폐기물 지중 처분의 장기적 안정성, 지질학적 시간 범위에서 기후에 미치는 광물 풍화 효과 등의 분야에 심각한 영향을 미친다(Barker *et al.*, 1997). 따라서 고준위 방사성 폐기물의 지중 처분을 설계할 때, 박테리아에 의한 지하 암반층 구성 광물의 용해 속도 증가를 고려하지 않는다면 혹시 누출될 수도 있는 방사성 핵종이 산정 기간보다 훨씬 빠르게 지표 생태계로 유입될 위험이 있는 것이다.

여기서 박테리아에 의한 광물 용해속도 촉진은 철산 화균 및 황산화균 등 특별한 환경에서 성장하는 미생물에 의한 용출(bioleaching)을 말하는 것은 아니며 자연 환경에서 널리 분포하는 일반 박테리아에 해당하는 것이다. 박테리아는 대사작용(metabolism) 결과 유기산을 분비하는데 이들 유기산은 pH 효과가 억제된 동일한 pH 조건에서도 광물의 용해 속도를 크게 증가시키는 것으로 알려져 있다(Welch and Ullman, 1993; Bennett *et al.*, 1996; Ullman *et al.*, 1996). 또한 박테리아는 유기산 이외에 고분자량의 extracellular polysaccharides(EPS)를 분비하는데 이들 EPS는 광물 표면을 외부 리간드(ligand)와 접촉하지 못하게 차단함으로써 용해를 지연시키기도 하지만 그 종류에 따라 광물 용해를 촉진하기도 한다(Welch and Vandevivere, 1994). 한편 박테리아는 proton-motive force에 의해 수소이온을 외부로 방출하여 용액의 pH를 감소시켜 광물 용해를 촉진한다(Urrutia *et al.*, 1992).

유기산을 분비하는 살아 있는 박테리아의 대사작용 뿐만 아니라 박테리아가 죽은 후 발생하는 세포 붕괴(lysis)가 광물 용해에 미치는 연구 결과도 있다. Lee and Fein(2000)은 동일한 pH 조건에서 박테리아의 세포 붕괴에 의해 방출되는 여러 유기 분자들에 의해 김

사이트(gibbsite) 용해가 촉진됨을 밝힌 바 있다. 일반적으로 자연 환경은 영양분이 부족한 빈영양(oligotrophic) 상태가 대부분이므로 박테리아 세포 붕괴는 흔하게 발생하는 과정일 것이다. 최근 많이 연구되는 금속환원(metal-reducing) 박테리아에 의한 철 산화물의 환원성 용해(reductive dissolution)는 무산소 환경에서만 발생하는데 비하여 일반 박테리아의 광물 용해는 호기·혐기 조건에 관계없이 이루어질 수 있으므로 원소의 지구화학적 거동에 미치는 영향이 더 광범위하다고 할 수 있다.

민약의 경우 고준위 방사성 폐기물 처분장으로부터 핵종이 누출된다면 주변의 지질학적 매질에 존재하는 박테리아 역시 강한 방사능으로 인해 죽은 후 세포 붕괴 단계를 거치게 될 것이다. 이 때 방사선 조사(照射; irradiation)는 DNA 같은 긴 사슬 구조의(long-chained) 유기 분자를 파괴하므로 박테리아 내부에 존재하는 유기 분자들은 다른 형태로 변화될 것으로 예상되며, 이들이 세포 붕괴를 거쳐 방출되었을 때 방사능의 영향을 받지 않은 유기 분자와는 상이한 광물 용해 능력을 지니게 될 것으로 예상된다. *Bacillus subtilis*를 대상으로 수행된 Lee and Fein(2000)의 연구에 의하면 실제로 방사선 조사 여부에 따라 죽은 박테리아로부터 방출된 유기물질이 상이하였으며 방사선을 조사하지 않은 박테리아의 세포 붕괴 산물이 깃사이트 용해를 더 촉진한 것으로 나타난 바 있다. 따라서 지하 환경에서 방사성 핵종의 이동에 큰 영향을 미치는 광물 풍화 속도를 정확히 예측하기 위해서는 방사능에 의해 죽은 박테리아의 세포 붕괴 산물이 광물 용해에 미치는 영향을 규명할 필요가 있다.

이 연구에서는 방사선 조사 여부에 따른 *B. subtilis*의 세포 붕괴 산물이 석영( $\text{SiO}_2$ )의 용해 속도에 미치는 영향을 실험적으로 관찰하였다. 이를 통하여 미생물의 세포 붕괴 산물이 무생물적인 비교 실험에 비하여 석영의 용해 속도에 영향을 미치는지, 또한 방사선을 조사한 미생물의 경우 그렇지 않은 미생물에 비하여 어떠한 용해 속도 차이를 나타내는지를 파악하려 하였다.

## 2. 실험 방법

이 실험에서는 토양 및 대수층 등 자연 환경에 널리 분포하는 그람양성균인 *B. subtilis*를 선택하여 실험하였다. 이 박테리아는 여러 연구자들에 의하여 세포벽 구조 및 세포벽에 분포하는 흡착점의 열역학적 특징

등이 잘 연구된 바 있다(Beveridge and Murray, 1980; Fein *et al.*, 1997).

박테리아는 0.5%의 효모 추출물(yeast extract)이 첨가된 TSB(trypticase soy broth)에서 24시간 배양하였다. 배양 후 15분간 6,000 rpm의 원심분리를 거쳐 회수하고 탈이온수로 2회 세척하였다. 이를 다시 0.1 N 질산 용액에 1시간 가량 침지하고 탈이온수로 1회 세척한 후 0.001 N EDTA 용액에 약 15시간 침지하였다. 최종적으로 회수된 박테리아를 다시 탈이온수로 5회 세척하였다. 이처럼 철저한 표면 세척 과정을 거친 이유는 배양액인 TSB 및 배양액 내 금속 양이온을 완전히 세척, 제거하기 위해서였다. 세척 과정을 거친 박테리아는 7,500 rpm에서 60분간 원심분리하여 회수하였고 젖은 상태의 질량을 측정 후 0.1 M  $\text{NaClO}_4$  용액에 투입하여 석영 용해 실험을 수행하였다. 이렇게 투입한 박테리아는 여전히 생존 가능한 것으로 나타났다(Fein *et al.*, 1997), 별도의 영양분을 공급하지 않음으로써 세포 붕괴를 유도하였다. 용해 실험 전 철저한 세척 과정을 거쳤음에도 불구하고 소량 남아있는 영양분 또는 세포 붕괴 산물인 유기물질을 이용하여 살아 있는 박테리아가 대사작용을 할 가능성도 있으나 그 영향은 미미할 것으로 판단하였다. 한편 박테리아의 방사선 조사에 이용된 방사선은 미국 Notre Dame 대학교 Radiation Laboratory 소재 감마선 조사 장치를 통하여 Cs-source의 감마선을 이용하였으며 이를 35,000 rads/h의 강도로 1.5시간 조사하였다. 이러한 과정을 거치면 세포벽 구조의 교란없이 90% 이상의 박테리아가 죽는 것으로 보고된 바 있다(Urrutia *et al.*, 1992).

실험에 사용된 석영 분말(Fisher Scientific)의 입도 분포는 125~250  $\mu\text{m}$ 이며, 실험 초기에 신속히 용해되는 분말을 제거하기 위하여 10%  $\text{HNO}_3$ , 탈이온수, 1.0 M  $\text{NaOH}$ , 탈이온수의 순서로 세척하였다. 최종적인 탈이온수 세척은 상등액의 pH가 7에 근사할 때까지 수행하였으며 세척 후 60°C에서 건조하여 최종 석영 분말을 준비하였다.

석영 용해 실험은 25°C, pH 7 조건에서 회분식(batch-type)으로 진행하였다. 실험은 테프론(Teflon) 용기 내 250 mL의 배경 용액에서 수행하였고 배경 용액의 이온 강도는  $\text{NaClO}_4$ 를 이용하여 0.1 M로 조절하였다. 준비된 배경 용액에 정량한 박테리아와 석영 분말 1g을 투입하여 반응시켰다. 용해 실험 동안 autoburette(model ABU91, Radiometer, Denmark) 장치를 이용하여 pH 7로 일정하게 유지하였으며 이 때 pH 조절용 적정액은

각각 0.1 M HNO<sub>3</sub>와 0.1 M NaOH를 사용하였다. 박테리아와 석영이 투입된 슬러리는 테프론 코팅된 자석 교반기를 이용하여 교반하였다.

최장 300시간에 이르는 실험 기간 동안 주기적으로 슬러리를 채취하여 0.45 µm 필터를 통과시킨 후 용존 규소(Si)를 분석함으로써 석영 용해 속도를 모니터링하였다. 채취한 시료 중 일부는 농염산을 가한 후 용존 유기탄소(dissolved organic carbon, DOC)를 정량하여 세포 붕괴 결과 방출되는 유기 물질의 함량을 측정하였다.

용존 규소는 Carlson and Banks(1952)에 의거, molybdosilicic acid를 형성한 후 환원 과정을 거쳐 푸른색의 중합체(heteropoly blue complex)를 만들고 이를 불산에 용해하여 시료를 제작하는 molybdenum blue method를 이용하여 분석하였다. 발현한 푸른색은 UV-vis spectrophotometer(CARY 3, Varian)를 이용, 815 nm 파장에서 측정하였으며 이 때 검출 한계는 0.11 mg/L이었다. DOC 분석은 total organic carbon analyzer(Shimadzu, Japan)를 이용하여 수행하였다.

결과의 비교를 위해 용해 실험은 박테리아를 투입하지 않은 비교 실험, 감마선을 조사하지 않은 박테리아를 투입한 실험, 감마선을 조사한 박테리아를 투입한 실험으로 나누어 수행하였으며 이를 제외한 다른 실험 조건은 모두 동일하였다.

### 3. 결과 및 토론

방사선을 조사하지 않은 박테리아의 경우 시간이 경과하며 DOC를 방출하는 것으로 나타났다(Fig. 1; 박테리아 투입량 0.72 g). 슬러리 내 DOC 함량은 시간 경과

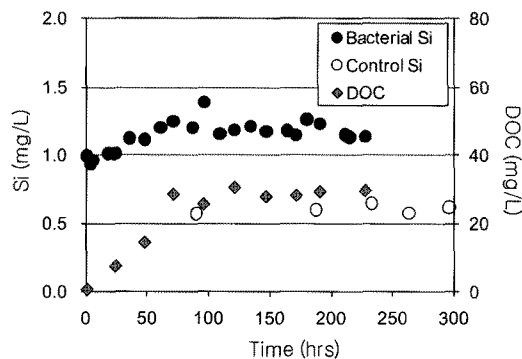


Fig. 1. Silicon and DOC concentrations over time from quartz dissolution experiments in 0.1 M NaClO<sub>4</sub> with 0.72 g of non-irradiated *B. subtilis*.

에 따라 점차 증가하여 약 100시간 경과 후 29 mg/L 까지 증가하였고 그 후에는 증가 속도가 매우 완만해져서 거의 평형 상태에 이른 듯이 보였다. 이 때 박테리아를 투입한 슬러리에서는 투입하지 않은 슬러리에 비해 DOC 증가 추이와 유사하게 높은 함량의 규소가 용출됨을 관찰할 수 있었다. 즉 박테리아를 투입한 경우 용출되어 나온 규소 함량은 약 100시간 경과 후 거의 평형 상태에 도달하였으며(1.2 mg/L) 이는 박테리아를 투입하지 않은 화학적 비교 슬러리에 비하여 0.6 mg/L가 높은 값이었다. 실험 중 pH를 철저히 7로 고정하여 석영 용해에 미치는 pH 영향을 배제한 점을 감안할 때, 시간에 따른 규소 용출 추이가 DOC 용출과 거의 일치하는 결과는 박테리아의 세포 산물인 유기물질이 석영 입자로부터 규소를 용출시켰음을 나타낸다.

석영 용해의 원인이 DOC에서 비롯되었음을 방출된 DOC 함량이 높을수록 용해되어 나온 규소 함량 역시 증가하는 결과에서도 확인할 수 있었다(Fig. 2). 초기에 박테리아를 Fig. 1에 비하여 많은 1.12 g을 투입한 경우, 슬러리 내 DOC 함량은 급속한 증가 추세가 둔화된 100시간 이후 62 mg/L의 평균값을 나타냈으며 이 때 용출되어 나온 규소 농도는 평균 1.6 mg/L의 값을 보였다(Fig. 2(a)). 반면 박테리아를 0.51 g 투입하였을 때 100시간 이후 DOC는 평균 22 mg/L 가량 방출되었고 규소는 0.6 mg/L 용출되어 화학적 비교 시료와 큰 차이를 보이지 않았다(Fig. 2(b)).

투입한 박테리아의 양에 따라 슬러리 내에 존재하는 DOC 함량이 다르게 나타난 것은 DOC의 기원이 박테리아의 세포 붕괴임을 나타내는 것이다. 또한 Fig. 1과 2에서 모두 DOC 함량 증가와 규소 용출의 추이가 동일하게 나타난 것은 세포 붕괴 결과 방출된 DOC가 석영의 용해 속도를 조절하는 주요 요인임을 지시한다.

한편 감마선을 조사한 경우의 박테리아 세포 붕괴 산물은 조사하지 않은 경우에 비하여 훨씬 높은 농도의 DOC와 규소를 용출시킨 것을 볼 수 있었다(Fig. 3). 0.84 g의 감마선 조사 박테리아를 투입한 경우, 약 250시간 경과하였을 때 44 mg/L의 DOC가 방출되었으며 이 때 용출된 규소 농도는 3.5 mg/L이었다. 이 값은 방사선을 조사하지 않은 박테리아를 비슷한 양으로 투입하였을 경우(Fig. 1의 0.72 g), 약 230시간 경과하였을 때 나타난 30 mg/L의 DOC, 1.1 mg/L의 규소 농도에 비해 월등히 높은 값이었다. 투입한 초기 박테리아 양이 다소 많은 것을 감안하더라도 방사선을 조사한 박테리아에 의한 규소 용출 함량이 더 높음을 알 수 있었다.

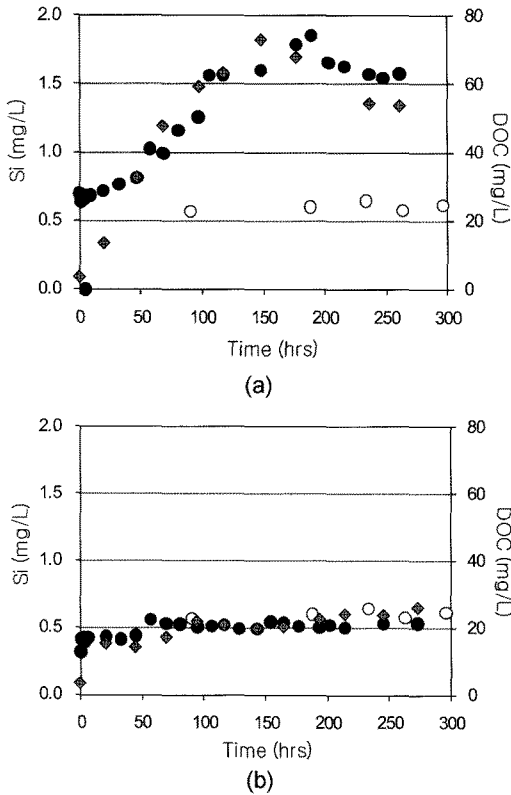


Fig. 2. Silicon and DOC concentrations over time from quartz dissolution experiments in 0.1 M NaClO<sub>4</sub> with (a) 1.12 g and (b) 0.51 g of non-irradiated *B. subtilis*. The symbols have the same meanings as in Fig. 1.

한 가지 특기할 만한 것은 감마선을 조사한 박테리아에 의한 높은 규소 용출이 단순히 방출된 DOC 함량이 높기 때문만은 아니라는 것이다. 감마선을 조사하지 않은 Fig. 2(a)의 경우 방출된 DOC 함량은 62 mg/L로서 감마선을 조사한 Fig. 3의 44 mg/L에 비하여 매우 높지만 이 때 용출된 규소 함량은 도리어 약 2.2배나 낮은 결과가 이를 입증한다. 이는 초기에 슬러리에 투입한 박테리아 양을 증가시켰을 때 더욱 확실하게 나타났다(Fig. 4). 즉 1.06 g의 감마선 조사 박테리아를 투입하였을 때 약 260시간 경과 후 83 mg/L의 DOC가 용출되었고 이 때 6.7 mg/L의 규소가 용출되었다. 이는 비슷한 양의 방사선을 조사하지 않은 박테리아 1.12 g을 투입하였을 때 나타난 1.6 mg/L의 규소 용출 농도와 비교하였을 때 매우 높은 값이다. 이러한 사실은 방사선 조사 여부에 따라 방출된 DOC의 조성에 큰 차이가 있음을 나타내는 것으로서, 감마선을 조사함으로써 변화된 박테리아 내부 유기물질이 세포 붕괴

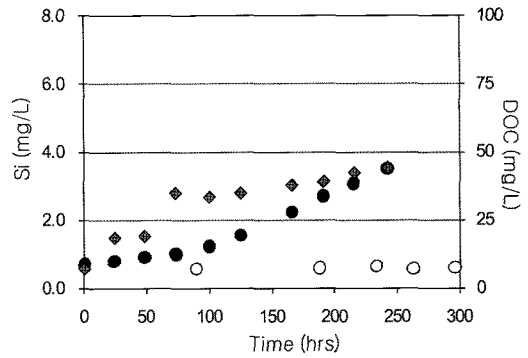


Fig. 3. Silicon and DOC concentrations over time from quartz dissolution experiments in 0.1 M NaClO<sub>4</sub> with 0.84 g of irradiated *B. subtilis*. The symbols have the same meanings as in Fig. 1.

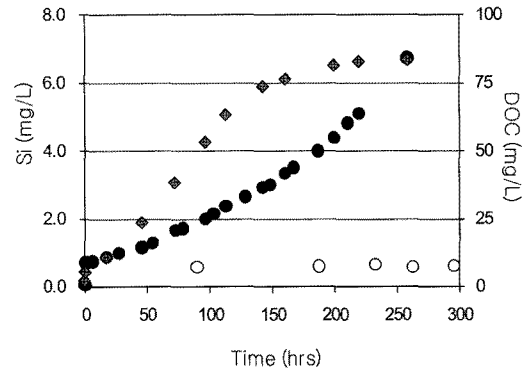


Fig. 4. Silicon and DOC concentrations over time from quartz dissolution experiments in 0.1 M NaClO<sub>4</sub> with 1.06 g of irradiated *B. subtilis*. The symbols have the same meanings as in Fig. 1.

후 방출되었을 때 감마선을 조사하지 않은 경우에 비하여 석영을 보다 효과적으로 용해하였음을 의미한다.

이처럼 박테리아에 감마선을 조사한 경우 방출되는 DOC의 특성 변화와 더불어, 감마선을 조사하지 않은 경우 용존 규소 농도가 시간이 경과함에 따라 평형상태를 보이는 것과 대조적으로 감마선을 조사한 경우에는 슬러리 내 용존 규소 함량이 계속 점진적으로 증가하고 있는 점도 특징적이다. 만약 실험 기간을 연장하였다면 더욱 높은 함량의 규소가 용출되었을 가능성이 있다.

앞에서 언급했듯이 DOC 단위 질량당 규소 용출 속도가 증진된 것은 감마선 조사에 의해 박테리아 내부의 유기 성분이 변화하였기 때문인 것으로 판단된다. 슬러리 내 존재하는 DOC는 박테리아의 세포 붕괴 결과 방출된 것이므로 감마선 조사 여부에 관계없이 시

간에 따른 DOC 증가 추이는 대체적으로 유사하게 나타났다(Fig. 1~4). 그러나 감마선을 조사하였을 때 더욱 높은 농도의 규소가 용출되어 나오는 것은 감마선을 조사한 박테리아에서 비롯된 DOC가 석영 용해에 있어 더욱 효과적임을 지시한다.

이 연구에서는 용해 실험 후 최종 슬러리 내에 존재하는 DOC에 대한 성분 분석을 수행하지 않았다. 그러나 감마선을 조사한 박테리아와 조사하지 않은 박테리아를 이용하여 깃사이트 용해 실험을 한 후 최종 슬러리를 대상으로 ion chromatography(IC)와 gas chromatography-mass spectrometry(GC-MS) 분석을 한 결과, 두 슬러리 내 DOC 성분이 전혀 상이하게 나타난 것이 보고된 바 있다(Lee and Fein, 2000). 이 연구에서는 최종 슬러리의 IC 분석 결과를 옥살산(oxalic acid), 구연산(citric acid), 초산(acetic acid), 프로피온산(propionic acid), 포름산(formic acid), 호박산(succinic acid), 아스코르빈산(ascorbic acid) 등의 표준 피크와 비교하였다. 이 때 나타난 IC 분석 결과는, 감마선 조사 여부에 관계없이 위에 언급한 어느 유기산과도 일치하지 않았지만, 방사선을 조사하지 않은 박테리아의 경우 5종류의 성분을 보인 반면, 방사선을 조사한 박테리아의 경우 이들과는 전혀 다른 2종류의 성분이 함유되어 있는 것으로 나타났다. 또한 보다 고분자량의 유기물질을 대상으로 하여 100~1,000 g/mol 범위에서 GC-MS 분석을 한 결과, 방사선을 조사하지 않은 미생물은 117, 219, 257 g/mol의 분자량을 갖는 유기 분자가 95% 이상을 차지하고 있는 반면, 방사선을 조사한 미생물은 이외에도 371, 473, 639 g/mol 등의 분자량을 갖는 유기 분자가 존재하는 것으로 밝혀졌다.

방사능에 의해 박테리아 내부 유기물질의 물리적·화학적 조성이 변화한 경우 그 산물은 방사능에 피폭되지 않은 박테리아에 비해 더욱 향상된 석영 용해 능력을 보이는 것으로 나타났다. 이를 통하여 누출된 방사성 핵종에 의해 변화된 박테리아 세포 내 유기물질이 세포 붕괴에 의해 지하수로 배출되었을 경우 단순한 무생물적(화학적) 반응이나 또는 방사선 조사를 받지 않은 경우에 비하여 석영 용해 속도 및 정도를 상당량 증진시킬 가능성이 있는 것으로 판단된다.

덧붙여 특기할만한 사실은 깃사이트를 대상으로 동일한 실험을 수행한 Lee and Fein(2000)의 연구에서는 감마선을 조사하지 않은 박테리아의 세포 붕괴 산물이 오히려 깃사이트로부터 알루미늄 용출을 촉진시킨 점이다. 이는 석영을 대상으로 용해 실험을 수행한 이 연구에서 나타난 결과와 상이한 것으로서 박테리아

로부터 방출된 DOC가 광물 종류에 따라 서로 다른 용해 능력을 보인 점이 특이하다. 현재 이에 대한 정확한 해석을 하기는 어렵지만, 이는 아마도 수산화물인 깃사이트와 산화물인 석영의 광물학적 차이 또는 규소와 알루미늄의 용존 상태 차이에 기인한 것으로 여겨진다. 일반적인 pH 조건에서 규소의 용존 상태는  $H_4SiO_4^0$ 로서 중성이거나 드물게  $H_3SiO_4^-$ 로서 음이온 형태인데 반해 알루미늄의 경우 pH 5 이하에서는  $Al^{3+}$ , 중성 조건에서는  $Al(OH)^{2+}$  또는  $Al(OH)_2^+$  등 주로 양이온 상태를 띤다. 유기 리간드가 광물 용해 속도를 촉진하는 메커니즘은 광물 표면의 이온과 직접 결합하여 금속-산소 결합을 약화시키거나 또는 용존 이온과 착화합물을 형성함으로써 용액 내 용존 이온의 활동도(activity)를 낮춤으로써 결과적으로 광물 용해도를 증가시키게 된다. 따라서 방사능에 피폭된 *B. subtilis*에서 방출된 DOC는 산화물과 쉽게 반응하거나 또는 음전하를 띤 이온과 결합할 수 있는 종류인 것으로 추측된다. 향후 석영 및 깃사이트가 동시에 존재할 경우 또는 화강암질암의 대부분을 구성하고 있는 알루미늄 규산염 광물에 대한 미생물학적 광물 용해 속도 연구가 필요하다.

방사성 핵종이 누출될 경우 처분장 주변에 분포하는 미생물들은 방사능의 영향을 받게 된다. 이 연구 결과에 의하면 방사선을 조사받은 미생물들은 대사작용이 멈추고 그 결과 방출되는 세포 붕괴 산물이 주변 지하수로 유입될 것이다. 이러한 유기 분자들은 미생물이 없는 조건에서의 화학적 용해 속도는 물론이고 방사선을 조사받지 않은 박테리아의 세포 붕괴 산물에 의한 용해 속도에 비해 더욱 신속하게 많은 양의 석영을 용해할 것이다. 이러한 과정은 고준위 방사성 폐기물 처분장 주변 암석의 풍화 속도를 증가시킬 것이며 따라서 미생물의 용해 효과를 감안하지 않고 산정한 누출 핵종의 이동 시간에 비해 훨씬 신속하게 생태계로 이동시킬 수 있으므로 안전한 처분장 부지 선정, 건설 및 운영을 위해서 이에 대한 철저한 고려가 있어야 할 것이다.

#### 4. 환경지구화학적 의의

미생물에 의한 광물 용해 속도 촉진은 환경지구화학적으로도 큰 의미를 갖는다. 이는 특히 최근 들어 환경지구화학자들의 가장 큰 관심을 받고 있는 연구 주제인 동남 및 남부 아시아의 지하수 비소 오염 문제와도 밀접하게 연관된다.

금세기 들어 방글라데시 지역 지하수의 심각한 비소 오염으로 인하여 수천만 명이 비소 중독에 노출되어 있는 현상이 발견되었다(Das *et al.*, 1996; Nickson *et al.*, 1998; Chowdhury *et al.*, 1999). 이에 관한 수많은 연구가 계속되고 있는 가운데, 특히 지하수를 자연적으로 오염시킨 비소의 기원에 관한 연구가 많이 수행되고 있다. 그간 발표된 학설을 거론하면, 합비소 황철석의 산화성 용해(Chowdhury *et al.*, 1999), Fe(III)-(수)산화물의 환원성 용해(Nickson *et al.*, 1998; Harvey *et al.*, 2002), 비산염(arsenate)의 환원(Malarsan *et al.*, 2004; Zobrist *et al.*, 2000), 산화환원전위 순환에 의한 비소 부화 황화물의 용해(Polizzotto *et al.*, 2005) 등 매우 다양하다. 이러한 산화환원전위 변화와 연관된 과정에는 모두 미생물이 깊이 관여할 수 있다. 그 중 현재까지 가장 널리 받아들여지는 것은 Fe(III)-(수)산화물의 용해에 의한 비소 용출로서, 철환원 박테리아에 의한 Fe(III)-(수)산화물의 환원성 용해는 물리·화학적 용해 속도에 비해 이들 (수)산화물 용해 속도를 매우 향상시킨다. 한편 Fe(III)-(수)산화물의 환원성 용해의 원인으로서는 McArthur *et al.*(2001)은 이탄(peat) 등 원지성(autochthonous) 유기물질, Harvey *et al.*(2002)은 관개수 내의 유기물 등 이지성(allochthonous) 유기물질을 들기도 하였다.

그러나 최근 들어 이러한 산화환원전위 변화에 의한 비소 부화 이외에 합비소 광물의 직접적인 용해를 비소 오염의 메커니즘으로 보는 주장이 대두되고 있다. 예를 들어, Itai *et al.*(2008) 및 Seddique *et al.*(2008)은 홀로세 대수층 내의 흑운모 등 비소를 포함한 염기성 광물의 용해를 지하수 중 비소 부화의 일차적인 원인으로 보았다. 특히 최근에는 빈영양 상태인 자연 환경에서 영양분을 얻기 위한 미생물의 적극적 용해에 의하여 광물 용해 속도가 촉진된다는 연구 결과가 발표되고 있어 박테리아에 의한 광물 용해 작용이 다시 주목을 받고 있는 실정이다. 즉 Rogers and Bennett(2004)은 생장에 필요한 인(P) 또는 암모니아 등의 성분을 얻기 위하여 박테리아가 규산염 광물을 용해한다고 하였고, 방글라데시 비소 오염 지역의 시료를 대상으로 한 Mailloux *et al.*(2009)의 연구 결과, 영양물질인 인이 부족한 환경에서 인을 획득하기 위하여 박테리아가 인회석을 용해하는 과정 중에 광물 내에 존재하던 비소가 용출되는 것이 관찰되었다. 박테리아가 죽은 후 발생하는 세포 붕괴 산물에 의한 광물 용해 속도 촉진 역시 지하수 중 자연적인 비소 부화에 어느 정도 기여를 하였을 가능성이 있다.

## 4. 결 론

박테리아가 죽은 후 발생하는 세포 붕괴가 석영의 용해 속도에 미치는 영향을 조사하였다. 자연 환경에 흔히 존재하는 *B. subtilis*를 대상으로 하였으며 이 때 방사선 조사의 영향을 파악하기 위하여 일부 박테리아에 Cs-source의 감마선을 조사하였다. 실험은 pH 7 조건에서 수행되었으며 철저한 표면 세척 과정을 거친 박테리아에 별도의 영양분을 투여하지 않아 박테리아 세포 붕괴를 유도하였다. 0.1 M의 이온 강도를 가진 용액에 박테리아와 석영 분말을 혼합하여 슬러리를 만든 후 300시간 동안 반응시키며 주기적으로 시료를 채취해 용존 규소와 DOC 함량을 측정하였다. 박테리아를 투입한 경우 시간이 경과하며 용액 중 DOC 함량이 증가하였으며 이는 투입한 박테리아의 양에 대체적으로 비례하는 것으로 보아 박테리아 세포 붕괴의 산물인 것으로 판단되었다. 감마선을 조사하지 않은 박테리아를 투입한 경우 박테리아를 투입하지 않은 화학적 비교 슬러리에 비하여 높은 규소 용출이 발생하였다. DOC 함량과 용해되어 나온 규소 함량 간에 좋은 상관관계를 보이므로 규소 용출의 원인이 박테리아 세포 붕괴에 의해 방출된 DOC에서 비롯된 것을 알 수 있었다. 한편 감마선을 조사한 경우의 박테리아 붕괴 산물은 조사하지 않은 경우에 비하여 훨씬 높은 농도의 DOC와 규소를 용출시켰다. 그러나 이 때 용출되는 높은 규소 함량은 단순히 방출된 DOC 함량이 높기 때문만은 아니었으며 감마선 조사에 의하여 변화한 박테리아 내부 유기물질이 감마선을 조사하지 않은 유기물질에 비하여 석영을 보다 효과적으로 용해할 수 있는 성분이었기 때문에 판단된다. 이러한 결과는 고준위 방사성 폐기물 처분장 주변 암석의 풍화 속도 예측 및 누출 핵종의 효과적 제어를 위해 미생물학적 요소가 반드시 고려되어야 함을 의미한다.

## 사 사

이 연구는 환경부 “토양·지하수오염방지기술개발 사업”의 일환으로 수행되었습니다.

## 참고문헌

- Barker, W.W., Welch, S.A. and Banfield, J.F. (1997) Biogeochemical weathering of silicate minerals. In Banfield, J.F. and Nealson, K.H. (eds.) Geomicrobiology: Interactions between microbes and minerals. Min-

- erological Society of America, Washington, D.C., p. 391-428.
- Bennett, P.C., Hiebert, F.K. and Choi, W.J. (1996) Microbial colonization and weathering of silicates in a petroleum-contaminated groundwater. *Chem. Geol.*, v. 132, p. 45-53.
- Beveridge, T.J. and Murray, R.G.E. (1980) Sites of metal deposition in the cell wall of *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.*, v. 141, p. 876-887.
- Carlson, A.B. and Banks, C.V. (1952) Spectrophotometric determination of silicon in the presence of zirconium, beryllium, aluminum, and calcium. *Anal. Chem.*, v. 24, p. 472-477.
- Chowdhury, T.R., Basu, G.K., Mandal, D.K., Biswas, B.K., Samanta, G., Chowdhury, U.K., Chanda, C.R., Lodh, D., Roy, S.L., Saha, K.C., Roy, S., Kabir, S., Quamruzzaman, Q. and Chakraborti, D. (1999) Arsenic poisoning in the Ganges delta. *Nature*, v. 401, p. 545-546.
- Das, D., Samanta, G., Mandal, B.K., Chowdhury, T.R., Chanda, C.R., Chowdhury, P.P., Basu, G.K. and Chakraborti, D. (1996) Arsenic in groundwater in six districts of West Bengal, India. *Environ. Geochem. Hlth.*, v. 18, p. 5-16.
- EESC (2004) Press release: February plenary session - EESC to debate future of nuclear power in EU. European Economic and Social Committee, EU.
- EPRI (2009) <http://www.epri.com> (accessed in 2009.08.09). Electric Power Research Institute, USA.
- Fein, J.B., Daughney, C.J., Yee, N. and Davis, T. (1997) A chemical equilibrium model for metal adsorption onto bacterial surfaces. *Geochim. Cosmochim. Acta*, v. 61, p. 3319-3328.
- Harvey, C.F., Swartz, C.H., Badruzzaman, A.B., Keon-Blute, N., Yu, W., Ali, M.A., Jay, J., Beckie, R., Niedan, V., Brabander, D., Oates, P.M., Ashfaq, K.N., Islam, S., Hemond, H.F. and Ahmed, M.F. (2002) Arsenic mobility and groundwater extraction in Bangladesh. *Science*, v. 298, p. 1602-1606.
- Itai, T., Masuda, H., Seddique, A.A., Mitamura, M., Maruoka, T., Li, X., Kusakabe, M., Dipak, B.K., Farooqi, A., Yamanaka, T., Nakaya, S., Matsuda, J. and Ahmed, K.M. (2008) Hydrological and geochemical constraints on the mechanism of formation of arsenic contaminated groundwater in Sonargaon, Bangladesh. *Appl. Geochem.*, v. 23, p. 3155-3176.
- JoongAng Ilbo (2008) Article in 2008.01.24.
- KNEF (2009) <http://www.knef.or.kr> (accessed in 2009.08.09). Korea Nuclear Energy Foundation.
- Krauskopf, K.B. (1988) Radioactive waste disposal and geology. Chapman and Hall, p. 145
- Lee, J.-U. and Chon, H.-T. (2000) Bacterial effects on geochemical behavior of element: An overview on recent geomicrobiological issues. *Econ. Environ. Geol.*, v. 33, p. 353-365. (in Korean)
- Lee, J.-U. and Fein, J.B. (2000) Experimental study of the effects of *Bacillus subtilis* on gibbsite dissolution rates under near-neutral pH and nutrient-poor conditions. *Chem. Geol.*, v. 166, p. 193-202.
- Mailloux, B.J., Alexandrova, E., Keimowitz, A.R., Wovkulich, K., Freyer, G.A., Herron, M., Stolz, J.F., Kenna, T.C., Pichler, T., Polizzotto, M.L., Dong, H., Bishop, M. and Knappett, P.S.K. (2009) Microbial mineral weathering for nutrient acquisition releases arsenic. *Appl. Environ. Microbiol.*, v. 75, p. 2558-2565.
- Malasarn, D., Saltikov, C.W., Campbell, K.M., Santini, J.M., Hering, J.G. and Newman, D.K. (2004) *arrA* is a reliable marker for As(V) respiration. *Science*, v. 306, p. 455.
- McArthur, J.M., Ravenscroft, P., Safiullah, S. and Thirlwall, M.F. (2001) Arsenic in groundwater: Testing pollution mechanism for sedimentary aquifers in Bangladesh. *Water Resour. Res.*, v. 37, p. 109-117.
- 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.
- Polizzotto, M., Harvey, C., Sutton, S. and Fendorf, S. (2005) Processes conducive to the release and transport of arsenic into aquifers of Bangladesh. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 102, p. 18819-18823.
- Rogers, J. R. and Bennett, P.C. (2004) Mineral stimulation of subsurface microorganisms: release of limiting nutrients from silicates. *Chem. Geol.*, v. 203, p. 91-108.
- Seddique, A.A., Masuda, H., Mitamura, M., Shinoda, K., Yamanaka, T., Itai, T., Maruoka, T., Uesugi, K., Ahmed, K.M. and Biswas, D.K. (2008) Arsenic release from biotite into a Holocene groundwater aquifer in Bangladesh. *Appl. Geochem.*, v. 23, p. 2236-2248.
- Ullman, W.J., Kirchman, D.L., Welch, S.A. and Vandevivere, P. (1996) Laboratory evidence for microbially mediated silicate mineral dissolution in nature. *Chem. Geol.*, v. 132, p. 11-17.
- Urrutia, M.M., Kemper, M., Doyle, R. and Beveridge, T.J. (1992) The membrane-induced proton motive force influences that metal binding ability of *Bacillus subtilis* cell walls. *Appl. Environ. Microbiol.*, v. 58, p. 3837-3844.
- Welch, S.A. and Ullman, W.J. (1993) The effect of organic acids on plagioclase dissolution rates and stoichiometry. *Geochim. Cosmochim. Acta*, v. 57, p. 2725-2736.
- Welch, S.A. and Vandevivere, P. (1994) Effect of microbial and other naturally occurring polymers on mineral dissolution. *Geomicrobiol. J.*, v. 12, p. 227-238.
- Zobrist, J., Dowdle, P.R., Davis, J.A. and Oremland, R.S. (2000) Mobilization of arsenite by dissimilatory reduction of adsorbed arsenate. *Environ. Sci. Technol.*, v. 34, p. 4747-4753.