

## 박테리아 세포외 중합체(EPS)에 의한 비소, 크롬, 우라늄의 흡착 및 산화상태 변화

박현성<sup>1</sup> · 고명수<sup>2</sup> · 이종운<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>한국광해관리공단 광해기술연구소, <sup>2</sup>광주과학기술원 환경공학과, <sup>3</sup>전남대학교 에너지자원공학과

### Adsorption and Redox State Alteration of Arsenic, Chromium and Uranium by Bacterial Extracellular Polymeric Substances (EPS)

Hyun-Sung Park<sup>1</sup>, Myoung-Soo Ko<sup>2</sup> and Jong-Un Lee<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>R&D Team, Mine Reclamation Corporation, Seoul 110-727, Korea

<sup>2</sup>Department of Environmental Science and Engineering, Gwangju Institute of Science and Technology(GIST), Gwangju 500-712, Korea

<sup>3</sup>Department of Energy and Resources Engineering, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

The effects of extracellular polymeric substances (EPS) of *Pseudomonas aeruginosa* on adsorption and redox state alteration of dissolved As, Cr and U were investigated through batch experiments. Surfaces of bacterial cells were either vigorously washed or unwashed. Solutions of As(V), Cr(VI) and U(VI) were inoculated with the bacterial cells under no nutrient condition, and total aqueous concentrations and redox state alteration were monitored over time. No As adsorption occurred onto bacteria or EPS; however, unwashed bacteria reduced about 60% As(V) to As(III). Unwashed bacteria also led to removal of 45% total dissolved Cr and reduction of 64% Cr(VI). About 80% U(VI) was removed from solution with unwashed bacteria as well. Such electrochemical reduction of the elements was likely due to reducing capacity of EPS itself or detoxifying reduction of the bacteria which kept their viability under protection of EPS. The results indicated that bacterial biofilm may significantly control the redox state and subsequent mobility of As, Cr and U in natural geologic settings.

**Key words** : bacteria, extracellular polymeric substances (EPS), arsenic, chromium, uranium

세포외 중합체(EPS)의 존재 유무에 따라 *Pseudomonas aeruginosa*가 용존 비소, 크롬, 우라늄의 흡착 및 산화상태의 변화에 미치는 영향을 회분식 실험을 통해 조사하였다. 배양한 미생물의 표면을 세척한 것과 세척하지 않은 것으로 구분하여 무영양 상태에서 1.1 mg/L의 As(V)와 Cr(VI), 0.5 mg/L의 U(VI)와 반응시키며 시간에 따라 각각의 총 용존 함량과 산화상태 변화를 측정하였다. As(V)의 경우 EPS 존재 여부와 관계없이 흡착은 발생하지 않았으나 EPS가 보존된 박테리아는 As(V)의 약 60%를 As(III)로 환원하였다. 표면을 세척하지 않은 박테리아는 총 용존 크롬의 45%를 제거하였으며 잔류된 용존 크롬의 64%를 Cr(III)로 환원하였다. 우라늄의 경우, 박테리아 표면을 세척하지 않았을 때 U(VI)의 약 80% 이상이 용액으로부터 제거되었다. 이러한 원소 환원은 박테리아가 분비한 EPS 자체의 환원 능력 또는 EPS로부터 보호받아 생육성이 보존된 박테리아의 해독성 환원에 의한 것으로 여겨진다. 이 연구 결과는 자연 환경에서 대부분 바이오필름 상태로 존재하는 미생물이 비소, 크롬, 우라늄의 산화상태 및 이동도 조절에 지대한 영향을 미칠 수도 있음을 의미한다.

**주요어** : 박테리아, 세포외 중합체, 비소, 크롬, 우라늄

## 1. 서 론

비소, 크롬, 우라늄은 대표적인 환경독성 물질로서

기준치 이상의 농도에서 장기간 인체에 노출되었을 때 암, 돌연변이, 기형, 피부 조직의 손상 등을 유발하는 원소들이다(US EPA, 1998, 2000). 비소 오염의 경우,

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

광업 및 제련활동, 석탄연소, 피혁·염료·목재산업, 농업활동, 무기제조, 가금류 사육 등의 산업활동을 통해 인위적으로 발생하기도 하지만, 지질학적 기원으로 해양 세일 또는 화성암 중 유비철석, 계관석, 옹황 등 황화물이나 철광석 형태로 존재하며 배태된 모암의 풍화로 인해 발생하기도 한다(Oremland and Stolz, 2003). 크롬은 제련, 철강, 피혁처리, 염색공업, 무기화학 등의 다양한 산업분야에서 이용되며, 이러한 산업활동을 통해서 많은 양의 크롬을 함유한 폐수 및 폐기물들이 발생한다(Wang and Shen, 1995). 방사성원소인 우라늄은 우라늄 추출 및 제련활동이 있던 지역의 지하수를 오염시킨 것으로 보고된다(Riley *et al.*, 1992).

토양 및 지하수 환경에서 비소, 크롬, 우라늄의 지구 화학적 거동에 중요한 영향을 미치는 것은 산화상태(oxidation state)이다. 비소는 -3, 0, +3, +5의 산화상태로 존재하지만 일반적인 지각 조건에서 +3가인 arsenite(As(III))와 +5가인 arsenate(As(V))가 가장 안정된 형태로 대부분을 차지한다. As(V)는 주로  $H_2AsO_4^-$ ,  $HAsO_4^{2-}$  등의 형태로 존재하고 As(III)는  $H_3AsO_3^0$  (<pH 9.2 조건에서),  $H_2AsO_3^-$  등의 형태로 존재한다. As(V)는 산화환경인 호기성 조건에서 안정적인 형태로 존재하고 있고 지하수와 같은 혐기성 환경에서는 As(III)가 주를 이루고 있다. 이들은 모두 독성이 강하나 특히 As(III)가 As(V)에 비해 약 200배나 더 독성이 강하고 (Williams and Silver, 1984) 이동도가 높다. 자연수에서 비소의 오염은 전 세계적으로 크게 주목받고 있으며 특히 최근 들어서는 갠지스 삼각주, 몽고, 베트남, 호주, 북미 등 지질학적으로 최근에 형성된 전 세계 각지의 충적층 대수층에서 심각한 자연 기원의 비소 오염이 보고되고 있다(예를 들면, Burkel and Stoll, 1999; Nickson *et al.*, 2000; Berg *et al.*, 2001; Smedley and Kinniburgh, 2002; Smedley *et al.*, 2002; Smedley, 2003; Bhattacharya *et al.*, 2006).

크롬은 +2, +3, +6의 산화상태로 존재하지만 +2가의 형태는 매우 불안정하여 지질학적 매체에서 거의 존재하지 않는다. 일반적인 자연계에서 +6가인 chromate(Cr(VI))와 +3가인 chromite(Cr(III))가 가장 안정된 형태로서 대부분을 차지하고 있다. Cr(VI)은 용존 상태에서  $CrO_4^{2-}$ ,  $HCrO_4^-$ ,  $Cr_2O_7^{2-}$ 의 형태로 존재하며 낮은 pH에서는  $Cr_2O_7^{2-}$ 의 형태가, 6.5보다 높은 pH에서는  $CrO_4^{2-}$ 의 형태가 주를 이루고 있다. Cr(VI)는 물에 대한 용해도가 커서 이동도와 독성이 높고 강력한 산화제이기 때문에 암을 유발할 수 있다(Yassi and

Niebor, 1988). 이에 반해 Cr(III)는 독성과 이동도가 낮고 주로 중성의 pH에서 불용성 수산화물의 형태인 침전물로 존재한다. 따라서 크롬에 의한 지질매체의 오염을 방지하는 방법으로써 Cr(VI)을 Cr(III)로 환원시켜 침전물을 형성하게 하여 폐수로부터 제거하는 방법이 주로 이용된다.

환원상태의 우라늄인 U(IV)는 용해도가 매우 낮아 보통  $UO_2(s)$ 의 형태로 존재하는 반면 산화상태인 U(VI)는 용해도가 높아 우라닐이온( $UO_2^{2+}$ ) 또는 탄산이온과 결합된 형태인 용존 상태로 존재한다. 따라서 우라늄으로 오염된 지하수의 처리에 있어 크롬과 마찬가지로 환원성 침전 방식을 택한다(LBNL, 2003).

비소, 크롬, 우라늄은 일반적인 자연수의 산화환원전위 환경에서 서로 상이한 거동 특성을 나타낸다. 즉 크롬과 우라늄은 환원상태에서 이동도가 낮아지는 반면, 비소는 산화상태에서 주변의 철 산화물 등에 쉽게 흡착하는 등 상대적으로 낮은 이동도를 보인다(Gulens and Champ, 1979). 따라서 토양, 퇴적물, 대수층 내에서 비소, 크롬, 우라늄의 산화상태를 정확히 파악하고 이를 조절하는 다양한 메커니즘을 이해하는 것은 이들 원소의 순환 및 환경 위태도를 파악하는데 있어 매우 중요하다.

지구미생물학의 발전과 더불어 미생물-지질매체-독성원소 간 상호작용에 관한 수많은 연구 결과가 누적되고 있다. 국내에서도 미생물의 대사작용에 의한 비소, 크롬, 우라늄의 산화상태 변화에 관한 연구는 다수 수행된 바 있다(Lee *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 2005; Ha *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2006(a), (b); Park *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2008(a), (b); Lee *et al.*, 2009; Ko *et al.*, 2009; Jang *et al.*, 2009). 반면 박테리아 표면에 대한 비소와 크롬 흡착에 관한 연구는 드문 실정이다(예를 들면, Kang *et al.*, 2007). 이는 박테리아 표면에 분포하는 작용기와 비소 및 크롬의 전기화학적 상호관계 때문이다. 박테리아의 세포벽에 분포하는 카르복실기(COO<sup>-</sup>), 인산기(PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>), 수산기(OH) 등 다양한 화학적 반응기에 의해 세포벽 표면은 음전하를 띠게 되고 결과적으로 납, 아연, 구리, 카드뮴 등등 다양한 용존 양이온을 효과적으로 흡착한다(Beveridge and Murray, 1980; Fein *et al.*, 1997). 그러나 비소나 크롬의 경우 용존 상태에서 산화음이온(oxyanion) 또는 비전하 상태로 존재하므로 이론적으로 박테리아 표면에 분포하는 음전하 반응기와 정전기적 결합(electrostatic complexation)이 발생할 가능성이 없다. 실제로 Lee and Park(2005)은 *Pseudomonas aeruginosa* 표

면에 대한 비소 흡착 실험 결과, 비소가 박테리아 표면에 흡착되지 않음을 보고한 바 있다. 우라늄 역시 산화환경에서 높은 수용성의  $UO_2^{2+}$  상태로 존재하나 이 실험 조건과 같은 pH 5 이상의 중성 환경에서는 중성 또는 음전하를 띠는 다양한 형태의 uranyl-carbonates 또는 uranyl-hydroxides를 형성하게 되므로 고체 표면에 대한 흡착 정도가 크게 감소하게 된다(예를 들면, Hsi and Langmuir, 1985).

대부분의 박테리아는 영양분이 풍족하지 않은 자연 환경에서 광물 또는 토양 입자를 피막한 바이오필름(biofilm) 형태로 존재한다. 바이오필름은 미생물과 이들의 분비물로서 세포 주변을 둘러싸고 있는 점액질의 수화된 세포외 중합체(extracellular polymeric substances; 이하 EPS)를 말하며, 대부분의 경우 EPS는 다당류로 이루어져 있다(Costerton *et al.*, 1994). 자유유형(planktonic) 상태의 박테리아 뿐만 아니라 바이오필름을 구성하는 박테리아와 EPS 역시 다양한 용존 양이온을 효과적으로 흡착하는 것으로 알려져 있다(예를 들면, Kim *et al.*, 2009; Ko *et al.*, 2010).

대부분의 자연 환경에서 박테리아는 바이오필름을 형성하며 존재하므로 바이오필름이 흡착 이외에 철, 망간, 비소, 크롬, 우라늄, 셀레늄 등 산화환원전위에 민감한(redox-sensitive) 원소들의 산화상태 변화에 미치는 영향을 파악하는 것은 자연 상태에서의 이들 원소들의 거동을 규명하는데 있어 중요하다(Fein *et al.*, 2002). 이 중 바이오필름에 의한 철의 산화상태 변화에 관해서는 Lee and Beveridge(2001)의 연구 결과가 보고된 바 있으나 비소, 크롬, 우라늄 등에 관해서는 체계적인 연구가 수행된 바 없다.

이 연구에서는 호기성 박테리아인 *P. aeruginosa*를 이용하여 박테리아 표면을 피막하고 있는 EPS 존재 여부에 의한 As(V), Cr(VI), U(VI)의 표면 흡착 특성과 산화상태 변화를 확인하고자 하였다. 이를 통하여 실험실 환경이 아닌 자연 토양 및 수환경에 존재하는 미생물이 비소, 크롬, 우라늄의 지구화학적 거동에 미치는 영향을 실제적으로 규명하는데 필요한 자료를 제공할 것으로 기대하였다.

## 2. 실험방법

### 2.1. 박테리아 배양 및 세척

실험에 사용된 *P. aeruginosa* PAO1은 캐나다 Guelph 대학의 Beveridge 교수에게 분양받았으며, TSA(trypti-

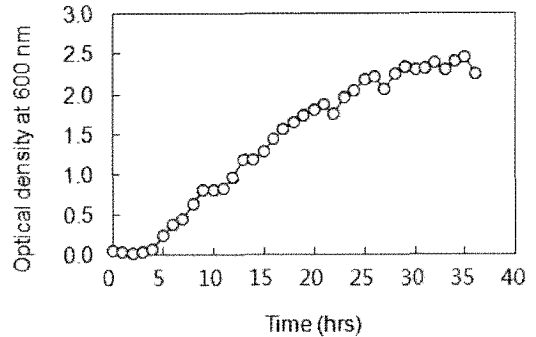


Fig. 1. Growth of *Pseudomonas aeruginosa* in TSB (37°C) over time.

case soy agar; Difco, U.S.A.) 배지 상에서 수 회의 계대배양을 통해 활성도(activity)를 증가시켰다. 계대배양 후 TSB(trypticase soy broth; Difco, U.S.A.)에 배양하였을 때, 37°C에서 약 5시간 경과시 대수기(exponential phase)를 나타내었고 약 30시간이 지나면 정지기(stationary phase)를 보이는 것으로 나타났다(Fig. 1).

TSA 상에서 배양된 집락(colony)을 5 mL의 TSB에 접종한 후, 37°C, 16시간, 200 rpm 조건으로 배양시키고 이를 다시 1 L의 TSB에 접종하여 동일 조건 하에서 정지기까지 대량 배양하였다. 배양된 박테리아는 고속 원심분리기(VS-21SMT, Vision, Korea)를 이용하여 9000 rpm에서 60분간 원심분리한 후 배양액과 분리된 biomass를 회수하였다. 회수된 박테리아는 세포 표면 상태에 따른 비소, 크롬, 우라늄의 흡착과 산화상태 변화를 관찰하기 위해 표면을 세척한 박테리아와 세척하지 않은 박테리아로 구분하여 흡착 실험 전까지 4°C에서 보관하였다.

박테리아의 표면 세척 과정은 고압멸균기(autoclave)에서 멸균한 탈이온수(deionized water)로 10분 동안 2회 세척하고, 0.03 M  $HNO_3$  용액에 1시간 동안 침지시킨 후 다시 멸균 탈이온수로 10분 동안 5회 세척하였다. 세척 과정 후 고속 원심분리기를 사용하여 박테리아와 상등액을 다시 분리하였다. 원심분리 후 표면을 세척한 박테리아는 세척하지 않은 박테리아에 비하여 한층 탈색된 특징을 나타내었다(Fig. 2). 원심분리와 세척과정을 겪은 박테리아는 살아있는(viable) 상태이지만 전자공여체(electron donor)나 탄소원과 같은 에너지를 주입하지 않는 한 에너지를 획득하여 성장할 수는 없다.

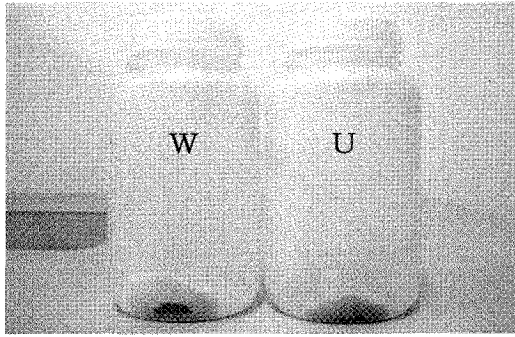


Fig. 2. Comparison of the washed and unwashed bacteria after centrifuge.

W: washed bacteria; U: unwashed bacteria

## 2.2. 박테리아에 의한 As(V), Cr(VI), U(VI)의 흡착 및 화학종 변화

비소 용액은  $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (Aldrich, USA)의 As(V) 시약을 이용하여 멸균된 탈이온수로 제조하였으며, 이때 As(V) 용액의 초기농도는 1.1 mg/L이었다. 제조한 As(V) 용액 250 mL을 폴리프로필렌 용기(Nalgene, USA)에 넣은 후 표면 세척한 박테리아와 세척하지 않은 박테리아를 각각 4.8 g/L(젖은 상태 기준)씩 투입하였다. 반응액의 pH는 초기 7로 조정하였고 실온에서 교반기를 이용하여 반응시켰다. pH 7을 유지하기 위하여 주기적으로 pH를 측정, 차이가 발생할 경우 0.1 M  $\text{HNO}_3$  또는 0.1 M NaOH를 이용하여 실험 기간 내내 원하는  $\text{pH} \pm 0.05$ 를 유지하였다.

총 48시간에 걸친 실험 중 주기적으로 반응액을 채취하였다. 채취된 시료는 0.2  $\mu\text{m}$  필터를 통과시켜 박테리아와 용액을 완전분리한 후 용존 비소의 총 함량을 측정하였다. 또한 음이온교환카트리지(anion exchange cartridge; LC-SAX, Supelco, USA)를 통과시킴으로써 용액 중의 As(III)만 분리한 후 정량하였으며, As(V) 함량은 총 비소 함량과 As(III) 함량 간의 차이로 계산하였다. 한편 채취한 시료의 경우, 용액뿐만 아니라 교반에 의해 균일한 농도로 부유하고 있는 박테리아도 채취하였으므로 전체 용액의 감량에 따른 비소함량 보정은 수행하지 않았다. 박테리아의 영향과 무관한 화학적 반응으로 비소의 함량이 변할 수 있는지를 파악하기 위하여, 다른 조건들은 모두 위의 조건과 동일하게 하는 대신 박테리아를 첨가하지 않은 비교시료(control)를 동시에 운영하였다.

크롬 용액은  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  (Sigma, USA)의 Cr(VI) 시약을 이용하여 멸균된 탈이온수로 제조하였고, 초기

Cr(VI)의 함량은 1.1 mg/L가 되도록 하였다. 비소 실험과 동일하게 250 mL을 용기에 넣은 후 표면 세척한 박테리아와 세척하지 않은 박테리아를 각각 4.4 g/L(젖은 상태 기준)씩 투입하여 초기 pH 7에서 48시간 동안 반응시켰다. pH는 위에서 기술한 방법과 동일하게 유지하였고, 동일한 조건하에 박테리아가 첨가되지 않은 비교시료를 동시에 운영하였다. 크롬은 diphenylcarbazide(이하 DPC) 방법(Clesceri *et al.*, 1998)을 통해 Cr(VI)를 염색하여 정량하였다. 용액 중에 용존된 Cr(III)는 총 크롬 함량에서 DPC 방법을 통해 정량된 Cr(VI) 함량의 차이로 계산하였다.

우라늄 용액은  $\text{UO}_2(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (MV Laboratories, USA) 시약을 멸균된 탈이온수에 용해하여 제조하였으며 초기 U(VI) 함량은 0.5 mg/L이 되도록 하였다. 실험 방법은 상기한 비소 및 크롬과 동일하였으나 반응 시간은 24시간이었다.

한편, 반응 전과 24시간 경과 후에 비소, 크롬, 우라늄 용액에서 반응액을 각각 채취하였다. 멸균 탈이온수를 이용하여 채취된 시료를 순차적으로 10배씩 희석하였으며, 각각의 희석 시료에서 0.1 mL씩 취하여 TSA에 접종하였다. 이후 16시간 배양, 형성된 집락을 계수하여 집락형성단위(colony-forming unit)를 구하였다.

## 2.3. 박테리아 삼출물(exudates) 추출 및 As(V)와 Cr(VI)의 산화상태 변화

용존 비소와 크롬의 산화 상태 변화가 박테리아 또는 EPS의 존재 조건에서만 일어나는지 또는 박테리아가 없더라도 박테리아로부터 분비된 용존 유기 삼출물(exudates)에 의해서 발생하는지의 여부를 알아보기 위한 실험을 수행하였다(Fein *et al.*, 2002). *P. aeruginosa*의 삼출물을 추출하기 위해 신선한 TSA에서 배양된 균체를 5 mL TSB에 접종하여 30°C, 200 rpm 조건에서 16시간 동안 배양하였다. 배양한 박테리아를 1 L TSB로 옮겨 32시간 동안 동일한 조건으로 대량 배양한 후 원심분리(10000 rpm, 60분)하여 박테리아를 분리하였다. 회수된 박테리아는 멸균된 탈이온수 500 mL에 넣고 지속적으로 성장할 수 없는 20°C 조건에서 250 rpm으로 24시간 동안 두었으며 이 때 박테리아가 영양분으로 이용할 수 있는 어떠한 물질도 넣지 않았다. 추출된 삼출물은 원심분리를 통해 박테리아와 분리하였고, 0.2  $\mu\text{m}$  필터를 2번 통과시켜 순수한 삼출물 용액만 남도록 하여 4°C에서 보관하였다.

박테리아 삼출물이 As(V)와 Cr(VI)의 산화상태 변화에 어떠한 영향을 미치는지 확인하기 위하여 추출된

삼출물 250 mL에 위에서 서술한 As(V)와 Cr(VI) 시약을 각각 첨가하여 1.1 mg/L의 농도가 되도록 하였고 실온에서 48시간 동안 반응시켰다. 상기한 실험들과 동일하게 pH는 7로 조정하였고 주기적으로 용액을 채취하여, 비소의 경우 총 As의 함량과 음이온교환카트리지를 통과시킨 As(III)의 함량을 각각 측정하고, 크롬의 경우 총 Cr의 함량과 DPC 방법을 통한 Cr(VI)의 함량을 각각 측정하였다.

2.4. 분석방법

용액의 pH는 Orion사의 720A pH meter에 연결된 전극을 이용하여 측정하였다. 용존된 총 비소의 함량과 음이온교환카트리지를 통과한 As(III)의 함량은 광주과학기술원 환경분석센터에 의뢰하여 ICP-MS(Agilent, 7500ce)를 이용하여 측정하였다. Cr(VI)는 DPC 방법으로 측정하였는데 DPC 용액은 50 mL acetone에 1,5-diphenylcarbazide(Sigma-Aldrich, USA) 0.25 g을 용해시켜 제조하였다. Cr(VI)의 함량은 채취된 시료 1 mL에 0.02 mL H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>와 증류수 4 mL를 첨가한 후 DPC 용액 0.1 mL와 10분 동안 반응시켜 착색한 후 UV-vis(Shimadzu, UV-MINI-1240)를 이용하여 540 nm에서 측정하였다. 총 용존 크롬과 우라늄은 ICP-MS(Agilent, 7500ce)를 이용하여 정량하였다.

서술된 모든 실험은 중복실험(duplicate)을 통해 재현성을 평가하였으며 두 실험의 결과값의 차이는 그림 중에 오차막대로 표시하였다.

3. 결과 및 토의

3.1. 박테리아에 의한 As(V)의 흡착 및 화학종 변화

실제 지질 매체 내에서 대부분의 박테리아는 자유유영 상태로 존재하기 보다는 EPS를 분비하여 고체 표면에 부착된 바이오필름 상태로 존재한다. 따라서 실제적으로 자연 상태에서 원소 거동에 대한 박테리아의 영향을 규명하려면 미생물 표면에 발생한 물질을 제거하지 않은 상태에서의 효과를 조사하는 것이 필요하다고 할 수 있다. 이를 위하여 표면을 강하게 세척하여 EPS를 제거한 *P. aeruginosa*와 세척 과정을 거치지 않은 *P. aeruginosa*에 1.1 mg/L의 As(V)를 가한 후 흡착과 산화상태의 변화를 관찰하였다.

시간에 따른 총 용존 비소의 함량 변화를 살펴 본 결과, 표면 세척한 박테리아, 세척하지 않은 박테리아, 박테리아가 첨가되지 않은 비교시료 모두 반응 기간 내내 초기 1.1 mg/L의 총 용존 비소 함량을 유지하였

다. 박테리아를 투입한 경우, 표면 세척 여부와 관계없이 비교시료와 매우 흡사한 양상을 보임으로써 박테리아에 의한 두드러진 비소 흡착은 발생하지 않은 것으로 나타났으며, 특히 박테리아가 분비하는 EPS 역시 용존 비소의 흡착에 지대한 영향을 미치지 못 하였다. 이러한 결과는 5 mg/L의 비소 용액을 사용한 Lee and Park(2005)과 동일하게 나타난 것이며, 이는 용존 상태에서 양전하를 띠는 다른 중금속 이온의 경우 미생물 표면에 의하여 효과적으로 흡착, 제거되는 것과는 매우 대조적인 것이다(예를 들면, Vecchio *et al.*, 1998; Klimmek *et al.*, 2001). 앞서 언급하였듯이 용존 상태에서 As(V)는 산화음이온으로 존재하고 박테리아의 표면에는 COO<sup>-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, OH<sup>-</sup> 등 음전하 반응기들이 분포하고 있으므로 상호 정전기적 인력이 작용하지 않아 As(V)의 흡착이 발생하지 않은 것으로 판단된다.

그러나 세척하지 않은 박테리아는 용존 비소의 산화상태에 큰 변화를 유도하였다. 용존 As(V)의 산화상태 변화 여부를 관찰하기 위해 As(III)의 함량을 측정된 결과, 표면을 세척한 박테리아의 경우 비교시료와 동일하게 As(V) 환원이 전혀 나타나지 않은 반면, 세척하지 않은 박테리아는 시간이 경과함에 따라 As(V)가 As(III)로 환원되어 48시간이 경과할 때 총 용존 비소의 함량 중 약 60%가 As(III)로 존재하였다(Fig. 3). 이는 상기한 Lee and Park(2005)의 결과에서도 동일하게 나타난 바 있다.

비소 흡착 여부와 관계없이 표면을 세척하지 않은 박테리아에 의해 비소의 산화상태가 변화한다는 사실은 매우 주목할 만하다. 이는 토양, 대수층 광물입자 표면 및 인위적으로 설치한 생물학적 반응벽체(biobarrier) 등에 부착된 바이오필름에 의해 일반 비금

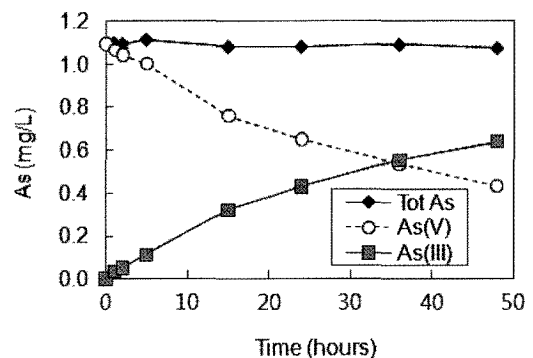


Fig. 3. The concentrations of total As, As(V) and As(III) in their aqueous phase over time after 1.1 mg/L of As(V) solution was reacted with unwashed *P. aeruginosa* at pH 7.

속(base metals)의 흡착 제거가 용이한 반면, As(V)는 이동도 및 독성이 더욱 큰 As(III)로 환원될 위험이 있음을 의미한다. 특히 이러한 비소 환원반응이 호기성 환경에서 발생한 것은 주목할 만하며 이는 표토 부근의 호기성 토양 또는 산소가 함유된 지하수의 대수층에 형성된 바이오필름에 의하여 비소의 지구화학적 거동이 조절될 수 있음을 의미하는 것이다.

### 3.2. 박테리아에 의한 Cr(VI)의 흡착 및 화학종 변화

As(V) 용액을 이용한 상기 실험과 동일한 조건 하에서 Cr(VI) 용액에 대해 표면을 세척한 박테리아와 세척과정을 거치지 않은 박테리아에 의한 흡착과 산화상태의 변화를 관찰하였다.

실험 결과, 표면을 세척한 박테리아는 비교시료에 비해 실험 시작 후 1시간 만에 약 20% 정도의 총 용존 크롬을 제거하였고 초기 제거가 이루어진 후 크롬의 함량은 실험 종료까지 유지되었다(Fig. 4). 이는 비소의 경우에 박테리아 표면 세척 여부와 관계없이 뚜렷한 흡착 양상이 보이지 않았던 것과 대비되는 것이다. 표면을 세척한 *Bacillus subtilis*를 이용한 Fein *et al.* (2002)의 크롬 제거 실험에서도 유사한 결과가 보고된 바 있으며, 이들은 크롬이 단지 흡착과정에 의하여 제거된 것이 아니라 박테리아 세포 표면에 존재하는 특정 유기분자가 Cr(VI) 환원의 전자공여체 역할을 함으로써 대사작용과 관계없이 오직 표면 특성에 의해 크롬 환원 및 침전이 발생하였다고 보고하였다.

박테리아 표면을 세척하지 않은 경우, 시간이 경과하며 총 용존 크롬의 함량이 더욱 감소하였으며 48시간이 지난 후에는 반응액 내에서 약 50%의 용존 크롬

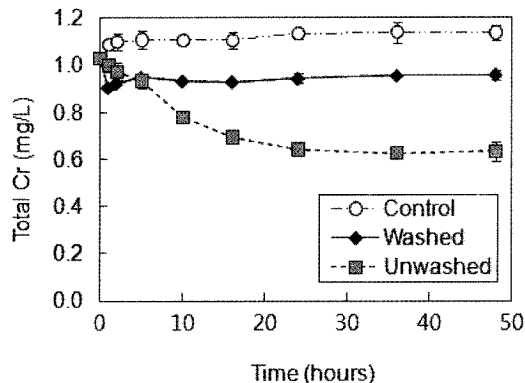


Fig. 4. The concentrations of total aqueous Cr over time after 1.1 mg/L of Cr(VI) solution was reacted with *P. aeruginosa*, surfaces of which were washed or unwashed.

이 제거되었다(Fig. 4). 특히 미생물 표면에 대한 비금속(base metals) 흡착은 대부분 실험 초기에 발생하나(예를 들면, Akar and Tunali, 2005; Kiran *et al.*, 2005), 크롬의 흡착은 시간이 경과하며 지속적으로 발생하는 양상을 보였다. 이는 박테리아 또는 EPS 표면과 크롬의 정전기적 결합에 의한 흡착이 아니라 박테리아의 대사작용이나 EPS 특성에 의한 환원성 침전(reductive precipitation)에 기인한 것이라 여겨진다.

EPS가 보존된 박테리아와 표면이 세척된 박테리아 간에 Cr(VI) 산화상태의 변화를 관찰하기 위해 총 용존 크롬 및 Cr(VI) 함량을 비교하였다. *P. aeruginosa*의 표면을 세척한 경우, Cr(VI)의 함량이 총 용존 크롬에 비하여 약 0.1 mg/L 정도 감소한 것으로 나타났다. 그러나 미생물을 투입하지 않은 비교시료에서도 이와 동일한 결과를 보였으므로 박테리아에 의해 크롬 환원이 발생하였다고 볼 수 없었다. 반면, 세척을 하지 않아 EPS가 보존된 박테리아의 경우에는 시간에 따른 총 용존 크롬 함량의 지속적 감소와 동일한 양상으로 Cr(VI) 함량이 감소하였다(Fig. 5). 즉 반응 후 24시간 경과하였을 때 총 용존 크롬 제거와 Cr(VI) 함량 감소의 경향이 동일하게 중시되었다. 48시간 경과 후 크롬은 반응액으로부터 약 45% 정도 제거되었으며, 제거되지 않고 잔류한 총 용존 크롬의 64%는 환원 상태인 Cr(III)로 존재하는 것으로 나타났다.

앞에서 언급한 비소의 경우, 박테리아의 표면 상태와 관계없이 흡착이 발생하지 않았으며 다만 세척과정을 거치지 않아 EPS가 보존된 박테리아에서 As(V)가

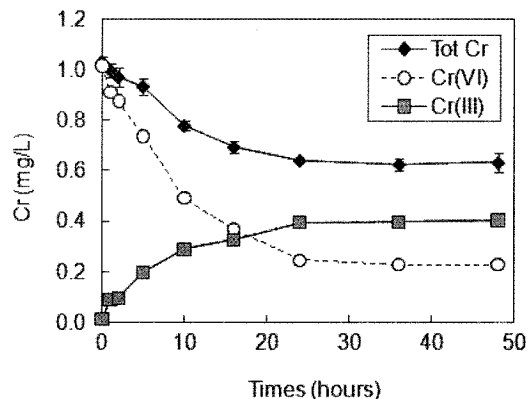


Fig. 5. The concentrations of total Cr, Cr(VI) and Cr(III) in their aqueous phase over time after 1.1 mg/L of Cr(VI) solution was reacted with unwashed *P. aeruginosa* at pH 7. The values of Cr(III) from total Cr.

As(III)로 환원되었다. 반면, 크롬의 경우에는 EPS가 보존된 박테리아에서 용존 크롬의 제거와 Cr(VI) 환원이 동시에 발생하였다. 이는 아마도 비소와 달리 크롬의 경우 환원산물인 Cr(III)가 쉽게 불용성 수산화물을 형성하며 침전하기 때문에 용액으로부터 제거된 것으로 생각된다. 비소와 마찬가지로 호기성 환경에서 Cr(VI)가 환원된 것은 주목할 만하다. 자연적인 지질매체에서 박테리아는 주로 표면이 세척된 상태가 아니라 EPS와 함께 존재하고 있으므로 EPS가 보존된 박테리아에 의한 크롬의 산화상태 변화는 지구화학적 환경에서 크롬의 거동 및 순환에 큰 영향을 미칠 수 있다. 특히 오염 처리의 측면에서 본다면 이러한 크롬 환원(Cr(VI)→Cr(III))은 크롬의 이동도를 저감시키는 좋은 효과를 유도할 것으로 보인다.

### 3.3. 박테리아에 의한 U(VI)의 제거

*P. aeruginosa*에 의한 용존 U(VI)의 거동을 보기 위하여 위의 실험과 동일한 조건에서 표면을 세척한 박테리아와 세척과정을 거치지 않은 박테리아에 의한 U(VI) 함량 변화를 관찰하였다. 이 때 초기 공급한 U(VI) 함량은 0.5 mg/L이었으며 반응 시간은 24시간이었다. 또한 반응 용액 중의 U(VI) 함량을 별도로 분석하지 않고 ICP-MS를 이용하여 용존 상태의 총 우라늄을 정량하였다.

비교시료의 경우, 반응 기간 동안 다소간의 변이는 있으나 대체로 초기 농도에서 크게 변하지 않은 총 용존 우라늄 함량을 나타낸 반면, 박테리아가 존재한 경우 대폭적인 우라늄 함량의 감소가 관찰되었다(Fig. 6). 박테리아 표면의 세척 여부와 관계없이 반응 시작 1일 만에 약 80%의 우라늄이 용액으로부터 제거되었으며, 이후 시간이 경과하며 EPS가 보존된 박테리아는 제거량이 완만하게 증가한 반면, 표면 세척한 박테리아는 우라늄이 다시 점진적으로 용출되어 24시간 경과 후 약 0.28 mg/L의 우라늄이 용존 상태로 존재하였다.

U(VI)와 U(IV)를 구분하여 분석하지 않아 용존 우라늄의 정확한 산화상태를 알기는 어려우나, 용액으로부터 제거된 우라늄은 흡착 또는 환원성 침전에 의해 제거된 것으로 여겨진다. 서론에서 밝혔듯이 산화환경에서 우라늄은  $UO_2^{2+}$ 의 양이온 상태로 존재하나 pH 5 이상의 환경에서는 중성 또는 음전하를 띠는 다양한 형태의 uranyl-carbonates 또는 uranyl-hydroxides를 형성하므로 박테리아 표면에 대한 정전기적 인력에 의한 흡착을 기대하기 어려운 것으로 알려져 있다. 그러나 *Bacillus subtilis*를 이용한 최근 연구 결과에 의하

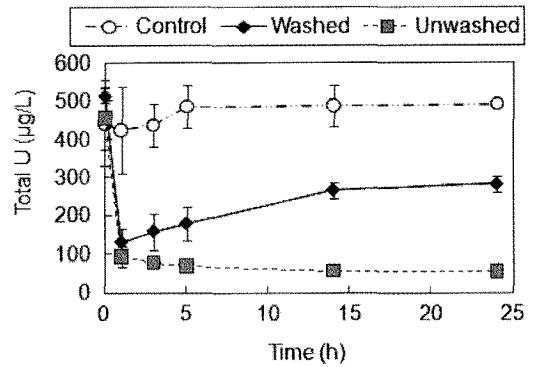


Fig. 6. The concentrations of total aqueous U over time after 0.5 mg/L of U(VI) solution was reacted with *P. aeruginosa*, surfaces of which were washed or unwashed. (a) As in bacterial exudate; (b) Cr in bacterial exudate

면, pH 8까지에 이르는 중성 및 약알칼리성 환경에서도 uranyl-carbonates 및 uranyl-hydroxides가 박테리아 표면에 흡착되는 것으로 밝혀졌으며, 저자들은 이를 공유결합 등 정전기적 인력 이외의 다른 힘에 의한 것으로 추정할 바 있다(Gorman-Lewis *et al.*, 2005). 이 실험에서도 중성 또는 음전하를 띠는 산화상태의 우라늄이 음전하로 하전된 박테리아 또는 EPS의 표면에 정전기적 인력 이외의 다른 결합에 의하여 흡착이 가능했던 것으로 여겨진다.

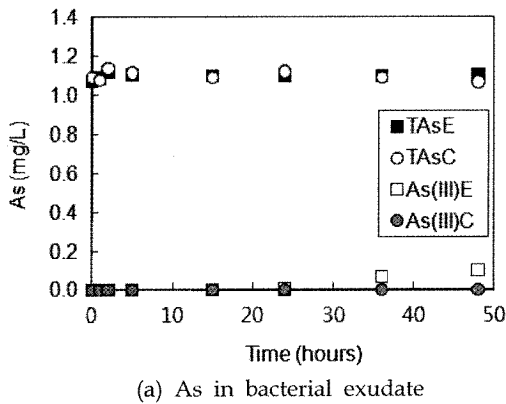
또한 위의 예에서 보듯이 호기성 조건에서도 표면을 세척하지 않은 박테리아에 의해 비소와 크롬 환원이 발생하므로 우라늄 역시 환원이 발생하였을 가능성이 있으며 환원상태의 우라늄은  $UO_2(s)$ 로서 침전되므로 역시 용액으로부터 제거가 가능하다. 표면을 세척한 박테리아의 경우 초기 흡착 이후 시간이 경과하며 다시 점진적으로 탈착되는 현상에 대한 설명은 현재로서 규명하기 어려우나 아마도 영양분 공급이 없는 상태에서 우라늄 독성에 의해 생육성(viability)이 저하되고 일부 세포붕괴(lysis) 과정을 거치며 흡착되었던 우라늄이 다시 탈착된 것으로 생각된다. 표면을 세척하지 않은 박테리아의 경우 EPS에 의해 상당 기간 보호되는 한편 EPS에 잔류한 TSB를 이용하여 소규모로나마 대사작용 수행이 가능하였을 것이다.

비소나 크롬과 마찬가지로 우라늄의 경우에도 EPS가 보존되었을 때 용액으로부터 용존 우라늄이 제거되며 이러한 결과의 일부는 U(VI) 환원에 기인하는 것으로 추측된다. 이는 역시 혐기성 뿐만 아니라 산소를 함유하고 있는 대수층 내에서도 바이오필름을 형성하는 미생물에 의해 용존 우라늄의 거동이 조절될 수 있

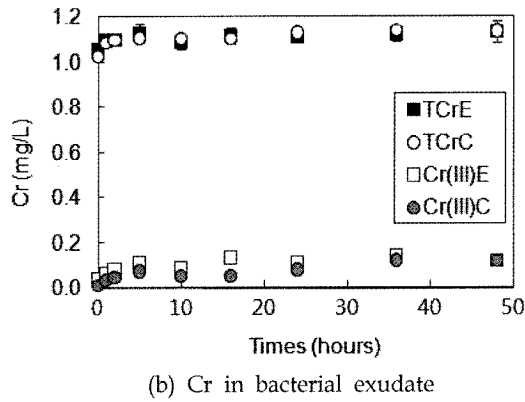
음을 의미한다고 할 수 있다.

3.4. 박테리아 삼출물(exudates) 추출 및 As(V)와 Cr(VI)의 산화상태 변화

EPS를 세척하지 않은 박테리아에서 나타나는 As(V)와 Cr(VI) 환원이 저분자량의 용존 박테리아 삼출물에 의한 것인지 또는 박테리아 및 EPS가 반드시 존재할 때만 나타나는 것인지를 확인하기 위하여 멸균된 탈이온수를 이용해 *P. aeruginosa*로부터 24시간 동안 추출한 삼출물에 As(V)와 Cr(VI) 1.1 mg/L를 첨가한 후



(a) As in bacterial exudate



(b) Cr in bacterial exudate

Fig. 7. The concentrations of (a) aqueous total As and As(III) and (b) aqueous total Cr and Cr(III) over time after 1.1 mg/L of As(V) and Cr(VI) were reacted with bacterial exudate solutions extracted from *P. aeruginosa*. The values of Cr(III) were calculated by subtraction of Cr(VI) from total Cr.

TAsE: Total As in exudate solution; TAsC: Total As in abiotic control solution; As(III)E: As(III) in exudate solution; As(III)C: As(III) in abiotic control solution; TCrE: Total Cr in exudate solution; TCrC: Total Cr in abiotic control solution; Cr(III)E: Cr(III) in exudate solution; Cr(III)C: Cr(III) in abiotic control solution

기존의 실험과 동일한 조건으로 반응시켰다.

As(V)와 *P. aeruginosa* 삼출물 용액을 반응시킨 결과 초기의 총 용존 비소 함량인 1.1 mg/L를 계속 유지하여 비교시료와 동일하였다(Fig. 7(a)). 삼출물 용액 내 As(III) 함량의 경우, 반응 초기에는 거의 나타나지 않았으나 36시간이 경과 후 다소 증가하기 시작하여 48시간 경과 후 약 0.1 mg/L에 이르렀다. EPS로 둘러싸인 *P. aeruginosa*에서 용존 As(V)의 약 60%가 As(III)로 환원되었는데(Fig. 3 참조) 이 때 박테리아 삼출물이 약 17%의 As(V) 환원에 영향을 미친 것으로 나타났다. 그러나, 중복실험 결과 편차가 겹치는 부분이 없을 정도로 명확하기는 하나, 비교시료와의 차이가 워낙 미미하므로 현 단계에서는 박테리아 삼출물이 As(V) 환원에 기여하였다고 확실히 단언하기 어렵다. 한편 크롬과 반응한 삼출물 용액에서도 총 용존 크롬 함량에 변화가 보이지 않았으며, 반응 후 24시간 전까지 비교시료에 비하여 다소 향상된 Cr(VI) 환원 능력을 보이는 듯 하나 이것 역시 그 차이가 매우 미미하게 나타났다(Fig. 7(b)). 이러한 결과는 위에서 보고한 비소 및 크롬의 대폭적인 환원이 발생하기 위해서는 박테리아 또는 EPS가 반드시 존재해야 함을 나타내는 것이다.

3.5. 비소, 크롬, 우라늄의 산화상태 변화 메커니즘

표면을 세척하지 않은 *P. aeruginosa*에 의한 As(V), Cr(VI), U(VI) 환원의 가능한 원인으로서의 다음의 세 가지를 들 수 있다.

1) 박테리아가 분비한 EPS에 의한 환원: 박테리아가 분비하는 EPS의 화학적 조성은 박테리아 종, 영양물질, 성장단계, 환경적 요인 등에 의해 매우 다양하게 변화한다(Konhauser, 2007). 현재로서는 실험에 사용한 *P. aeruginosa*가 분비한 EPS의 조성을 파악하는 것은 어려우나 동일한 PAO1 종이 조성한 바이오필름을 사용한 Lee and Beveridge(2001)의 연구에서 Fe<sup>3+</sup>을 환원한 예가 보고되어 있으므로 비소, 크롬, 우라늄 등 산화환원전위에 민감한 원소의 환원도 충분히 가능할 것으로 여겨진다.

2) 표면 세척과정을 거치지 않음으로 해서 일부 남아있는 TSB에 의한 화학적 영향: TSB 배양액 자체가 비소 및 크롬의 환원을 일정 부분 유도한 실험 결과가 있으므로(미발표 자료), 미생물 배양을 위해 사용한 TSB의 일부가 잔류하여 비소, 크롬, 우라늄의 화학적 환원을 유도하였을 가능성도 있다. 그러나 표면을 세척하지 않은 경우에도 배양 후 원심분리를 통해 TSB



**Table 1.** Colony-forming units of washed and unwashed *P. aeruginosa* before and after reaction in As(V), Cr(VI) and U(VI) solutions

	As(V)		Cr(VI)		U(VI)	
	Washed	Unwashed	Washed	Unwashed	Washed	Unwashed
Before incubation	$8.5 \times 10^4$	$1.4 \times 10^8$	$8.5 \times 10^4$	$1.4 \times 10^8$	$1.4 \times 10^5$	$1.4 \times 10^8$
After incubation	$8.2 \times 10^4$	$1.6 \times 10^7$	$1.8 \times 10^4$	$2.5 \times 10^7$	$3.6 \times 10^4$	$9.1 \times 10^7$

상등액을 제거하였으므로 반응액 내에 잔류한 TSB 함량은 그리 높지 않았을 것으로 판단된다. 이에 관해서는 추가 연구가 필요하다.

3) 표면 세척과정을 거치지 않은 박테리아는 상대적으로 살아 있는 개체수가 많았으며 이들이 EPS에 소량 남아 있는 TSB를 이용하여 대사작용을 하는 중에 환원효소(reductase)를 이용하여 해독성(detoxifying) 환원한 경우: 집락형성단위(CFU)를 측정 한 결과, 반응 전에는 표면을 세척하지 않은 경우 세 원소에서 모두 약  $10^8$  단위의 CFU를 보인 반면 표면을 세척한 박테리아의 경우 약  $10^4$  단위의 CFU를 보임으로써 격렬한 표면 세척과정을 거치며 *P. aeruginosa*의 생육성이 많이 저하된 것을 알 수 있었다(Table 1). 표면 세척 여부에 관계없이 이러한 CFU는 반응 후 24시간 경과 시까지 큰 증감없이 대체적으로 유지되었다. 아마도 주어진 농도 조건에서 비소, 크롬, 우라늄은 박테리아의 생육성을 크게 저하할만한 독성은 나타내지 않았던 것으로 여겨진다.

일반적으로 박테리아의 금속환원은 혐기적 환경에서 이화적(dissimilatory) 금속환원 박테리아에 의해 비소, 크롬, 우라늄 등을 전자수용체(electron acceptor)로 이용하며 환원이 발생하나, 이 실험에 사용된 *P. aeruginosa*는 호기성 박테리아로서 주로 해독적 기제(detoxification)에 의해 환원하는 것으로 판단된다. 박테리아는 강력한 독성 물질인 As(V)를 해독하기 위하여 효소를 사용하여 As(III)로 환원시킨다. As(III)는 As(V)에 비하여 독성이 강하지만 이동도가 높기 때문에 박테리아가 환원한 As(III)는 배출되어 세포로부터 멀리 이동한다. As(V)를 환원시키는 효소로 알려진 것은 *ArsC*로서 박테리아는 As(V)가 세포 내부로 유입되었을 때 *ArsC* 효소를 분비하여 세포벽 내외부에서 As(III)로 환원시키고, *ArsB* 또는 *ArsA*를 이용하여 As(III)를 세포막을 통해 외부로 분출한다(Silver, 1996; Messens and Silver, 2006).

*P. aeruginosa*에서 Cr(VI)의 환원은 주로 해독적 기제에 의해 발생하는데 Cr(VI)는 이동도가 높기 때문에 세포막을 거쳐 쉽게 세포 내부로 침투할 수 있다. 이

때 박테리아는 크롬환원 효소를 분비하여 세포막 내부 혹은 외부에서 Cr(VI)를 Cr(III)로 환원시키고 세포막을 통해 외부로 분출하며, 이 때 이동도가 낮은 Cr(III)는 세포벽에 재침전되는 것으로 보고된다(Silver, 1996; McLean and Beverage, 2001; Fein *et al.*, 2002).

현재로서는 관찰된 비소, 크롬, 우라늄의 환원 및 침전이 EPS 자체에 의한 것인지 또는 EPS에 의해 보호받는 박테리아의 해독성 환원 메커니즘에 기인한 것인지 밝히기 어렵다. 그러나 어떠한 메커니즘이 주를 이루던 간에 EPS가 보존된 경우에 원소 환원이 촉진된다는 것은 매우 중요한 환경지질학적 의의를 지니는 것으로 보이며, 대부분의 일반 자연환경에서 서식하는 박테리아가 바이오필름을 형성하고 있음을 감안할 때 심지어 산소가 함유된 호기성 토양 및 대수층 내에서도 비소, 크롬, 우라늄의 미생물학적 환원 및 원소 이동도 증감에 크게 기여할 수 있음을 나타낸다.

#### 4. 결 론

EPS 존재 유무에 따라 박테리아가 비소, 크롬, 우라늄의 흡착 및 산화상태의 변화에 미치는 영향을 실험을 통해 확인하였다. 다양한 지질 매체에 흔하게 서식하는 호기성 박테리아 *P. aeruginosa*에 대하여 표면 세척 여부에 따른 As(V), Cr(VI), U(VI)의 흡착 및 산화상태 변화를 관찰하였다.

As(V)의 경우 표면 세척 여부와 관계없이 흡착은 발생하지 않았으나 EPS가 보존된 박테리아 반응액에서 As(V)의 약 60%가 As(III)로 환원되었다. Cr(VI)는 EPS가 보존된 박테리아에서 Cr(VI)의 약 45%가 제거되었고 잔류된 용존 크롬의 약 64%가 Cr(III)로 환원되었다. 박테리아 표면을 세척하지 않았을 때 U(VI)의 약 80% 이상이 용액으로부터 제거되었다. 이러한 원소 환원은 박테리아가 분비한 EPS 자체의 환원 능력 또는 EPS로부터 보호받아 생육성이 보존된 박테리아의 해독성 환원에 의한 것으로 여겨진다.

최근 다양한 중금속으로 오염된 지하수를 처리할 경우, 오염원(contaminant plume)의 전면에 미생물을 포

한한 벽체(barrier)를 설치하는 방안이 많이 거론되고 있다. 박테리아는 고농도의 중금속 조건에서도 생존할 수 있으므로 이러한 미생물 반응 벽체 방법의 효율성을 기대할 수 있고, 특히 구리, 납, 아연처럼 수용액 상태에서 양이온으로 존재하는 원소들은 음전하를 띤 미생물 벽체에 쉽게 흡착되어 제거될 수 있다. 그러나 이 실험 결과에 의하면, 비소와 크롬의 경우 수용액 상태에서 산화음이온으로 존재하므로 반응 벽체와 정전기적인 결합이 이루어지지 않고 비소는 오히려 As(V)의 일부를 As(III)로 환원시켜 독성과 이동도를 높이게 될 것이다. 또한 크롬도 일부는 반응 벽체에 침전되어 제거될 수 있지만 그 효율은 낮을 것이며 비금속(base metal)의 정전기적 흡착과는 달리 벽체에 침전되는데 시간이 요구되므로 유속이 빠른 곳은 그 효율이 더 낮아질 것이다.

이 연구의 결과는 지질학적 매체에서 비소, 크롬, 우라늄 등 산화환원전위에 민감한 원소의 지구화학적 거동에 박테리아가 미치는 영향이 크다는 것을 의미한다. 실제 빈영양 상태인 자연적 지질 환경에서 박테리아는 독립된 개체로서 자유유형 형태로 존재하기보다 EPS를 분비하여 바이오필름 형태로 군집을 이루고 있다. 크롬 및 우라늄은 바이오필름 형태의 박테리아에서 일부가 환원되어 이동도가 저감되는 효과를 기대할 수 있지만, 비소의 경우 As(III)로 환원됨으로써 오히려 독성과 이동도를 증가시켜 생물권에 직간접적으로 영향을 미칠 가능성이 있다.

## 사 사

이 연구는 한국광해관리공단의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Akar, T. and Tunali, S. (2005) Biosorption performance of *Botrytis cinerea* fungal by-products for removal of Cd(II) and Cu(II) ions from aqueous solutions. *Miner. Eng.*, v.18, p.1099-1109.
- Berg, M., Tran, H.C., Nguyen, T.C., Pham, H.V., Schertenleib, R. and Giger, W. (2001) Arsenic contamination of groundwater and drinking water in Vietnam: a human health threat. *Environ. Sci. Technol.*, v.35, p.2621-2626.
- Beveridge, T.J. and Murray, R.G.E. (1980) Sites of metal deposition in the cell wall of *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.*, v.127, p.876-887.
- Bhattacharya, P., Claesson, M., Bundschuh, J., Sracek, O., Fagerberg, J., Jacks, G., Martin, R.A., del Stornio, A.R. and Thir, J.M. (2006) Distribution and mobility of arsenic in the Rio Dulce alluvial aquifers in Santiago del Estero Province, Argentina. *Sci. Tot. Environ.*, v.358, p.97-120.
- Burkel, R.S. and Stoll, R.C. (1999) Naturally occurring arsenic in sandstone aquifer water supply wells of North Eastern Wisconsin. *Ground Water Monit. Remed.*, v.19, p.114-121.
- Clesceri, L.S., Greenberg, A.E. and Eaton, A.D. (1998) Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th ed. American Public Health Association, American Water Work Association, and Water Environment Federation, Washington, DC. p.59-126.
- Costerton, J.W., Lewandowski, Z., DeBeer, D., Caldwell, D., Korber, D. and James, G. (1994) Biofilms, the customized microniche. *J. Bacteriol.*, v.176, p.2137-2142.
- Fein, J.B., Daughney, C.J., Yee, N. and Davis, T.A. (1997) A chemical equilibrium model for metal adsorption onto bacterial surfaces. *Geochim. Cosmochim. Acta*, v.61, p.3319-3328.
- Fein, J.B., Fowle, D.A., Cahill, J., Kemner, K., Boyanov, M. and Bunker, B. (2002) Nonmetabolic reduction of Cr(VI) by bacterial surfaces under nutrient-absent conditions. *Geomicrobiol. J.*, v.19, p.369-382.
- Gorman-Lewis, D., Elias, P.E. and Fein, J.B. (2005) Adsorption of aqueous uranyl complexes onto *Bacillus subtilis* cells. *Environ. Sci. Technol.*, v.39, p.4906-4912.
- Gulens, J. and Champ, D.R. (1979) Influence of redox environments on the mobility of arsenic in groundwater. In: Jenne, E.A. (ed), *Chemical modelling in aqueous systems*. ACS Press, Washington, DC., p.81-95.
- Ha, W.-K., Lee, J.-U. and Jung, M.C. (2006) Study on geomicrobiological reductive precipitation of uranium and its long-term stabilization. *Econ. Environ. Geol.*, v.43, p.331-338. (in Korean)
- Hsi, C.K.D. and Langmuir, D. (1985) Adsorption of uranyl onto ferric oxyhydroxides: application of the surface complexation site-binding model. *Geochim. Cosmochim. Acta*, v.49, p.1931-1941.
- Jang, H.-Y., Chon, H.-T. and Lee, J.-U. (2009) In-situ precipitation of arsenic and copper in soil by microbiological sulfate reduction. *Econ. Environ. Geol.*, v.42, p.445-455. (in Korean)
- Kang, S.-Y., Lee, J.-U. and Kim, K.-W. (2007) Biosorption of Cr(III) and Cr(VI) onto the cell surface of *Pseudomonas aeruginosa*. *Biochem. Eng. J.*, v.36, p.54-58.
- Kim, S.-H., Chon, H.-T. and Lee, J.-U. (2009) Removal of dissolved heavy metals through biosorption onto indigenous bacterial biofilm developed in soil. *Econ. Environ. Geol.*, v.42, p.435-444. (in Korean)
- Kiran, I., Akar, T. and Tunali, S. (2005) Biosorption of Pb(II) and Cu(II) from aqueous solutions by pretreated biomass of *Neurospora crassa*. *Process Biochem.*, v.40, p.3550-3558.
- Klimmek, S., Stan, H.-J., Wilke, A., Bunke, G., and Buchholz, R. (2001) Comparative analysis of the biosorption of cadmium, lead, nickel, and zinc by algae. *Environ. Sci. Technol.*, v.35, p.4283-4288.

- Ko, M.-S., Lee, J.-U., Park, H.-S., Shin, J.-S., Bang, K.-M., Chon, H.-T., Lee, J.-S., and Kim, J.-Y. (2009) Geomicrobiological behavior of heavy metals in paddy soil near abandoned Au-Ag mine supplied with carbon sources. *Econ. Environ. Geol.*, v.42, p.413-426. (in Korean)
- Ko, M.-S., Park, H.-S., Kim, K.-W. and Lee, J.-U. (2010) Experimental study on stabilization of heavy metals by biofilm developed on soil particle surface. *J. Korean Soc. Geosys. Eng.*, v.47, in print. (in Korean)
- Konhauser, K. (2007) Introduction to geomicrobiology. Blackwell, MA, USA, 425p.
- LBNL (2003) Bioremediation of metals and radionuclides, 2nd ed. Lawrence Berkeley National Laboratory, LBNL-42595, 78p.
- Lee, J.-U. and Beveridge, T.J. (2001) Interaction between iron and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms attached to Sepharose surfaces. *Chem. Geol.*, v.180, p.67-80.
- Lee, J.-U., Lee, S.-W. and Kim, K.-W. (2001) Microbial effects on geochemical behavior of arsenic under aerobic condition and their applicability to environmental remediation. *Econ. Environ. Geol.*, v.34, p.345-354. (in Korean)
- Lee, J.-U. and Park, H.-S. (2005) Arsenic adsorption onto *Pseudomonas aeruginosa* cell surfaces. *Econ. Environ. Geol.*, v.38, p.525-534.
- 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. Health*, v.27, p.159-168.
- Lee, S.E., Lee, J.-U., Lee, J.S. and Chon, H.T. (2006(a)) Effects of indigenous bacteria on Cr(VI) reduction in Cr-contaminated sediment with industrial wastes. *J. Geochem. Explor.*, v.88, p.41-44.
- Lee, J.-U., Lee, S.-W., Kim, K.-W., Lee, J.-S. and Chon, H.-T. (2006(b)) Geomicrobiological effects on arsenic behavior in anaerobic sediment from abandoned gold mine area. *J. Korean Soc. Geosys. Eng.*, v.43, p.448-457. (in Korean)
- Lee, S.E., Lee, J.-U., Chon, H.T. and Lee, J.S. (2008(a)) Reduction of Cr(VI) by indigenous bacteria in Cr-contaminated sediment under aerobic condition. *J. Geochem. Explor.*, v.96, p.144-147.
- Lee, S.-E., Lee, J.-U., Chon, H.-T. and Lee, J.-S. (2008(b)) Microbiological reduction of hexavalent chromium by indigenous chromium-resistant bacteria in sand column experiments. *Environ. Geochem. Health*, v.30, p.141-145.
- Lee, J.-U., Lee, S.-W., Chon, H.-T., Kim, K.-W. and Lee, J.-S. (2009) Enhancement of arsenic mobility by indigenous bacteria from mine tailings as response to organic supply. *Environ. Int.*, v.35, p.496-501.
- McLean, J. and Beveridge, T.J. (2001) Chromate reduction by a *Pseudomonad* isolated from a site contaminated with chromated copper arsenate. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.67, p.1076-1084.
- Messens, J. and Silver, S. (2006) Arsenate reduction: thiol cascade chemistry with convergent evolution. *J. Mol. Biol.*, v.362, p.1-17.
- Nickson, R.T., McArthur, J.M., Ravenscroft, P., Burgess, W.G. and Ahmed, K.M. (2000) Mechanism of arsenic release to groundwater, Bangladesh and West Bengal. *Appl. Geochem.*, v.15, p.403-413.
- 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.
- Riley, R.G., Zachara, J.M. and Wobber, F.J. (1992) Chemical contaminants on DOE lands and selection of contaminant mixtures for subsurface science research. Department of Energy, DOE/ER-0547T, US DOE, Washington, DC.
- Silver, S. (1996) Bacterial resistances to toxic metal ions - a review. *Gene*, v.179, p.9-19.
- Smedley, P.L. (2003) Arsenic in groundwater - south and east Asia, In: Welch, A.H. and Stollenwerk, K.G. (eds.), Arsenic in groundwater - geochemistry and occurrence. Kluwer, Boston, p.179-209.
- Smedley, P.L. and Kinniburgh, D.G. (2002) A review of the source, behavior, and distribution of arsenic in natural waters. *Appl. Geochem.*, v.17, p.517-568.
- Smedley, P.L., Nicolli, H.B., Macdonald, D.M. Barros, A.J. and Tullio, J.O. (2002) Hydrogeochemistry of arsenic and other inorganic constituents in groundwaters from La Pampa, Argentina. *Appl. Geochem.*, v.17, p.259-284.
- US EPA (1998) Toxicological review of hexavalent chromium. US EPA, Washington, DC.
- US EPA (2000) Arsenic treatment technology evaluation handbook for small system. EPA 816-R-03-014. US EPA, Washington, DC.
- Vecchio, A., Finoli, C., Di Simone, D. and Andreoni, V. (1998) Heavy metal biosorption by bacterial cells. *Fresenius J. Anal. Chem.*, v.361, p.338-342.
- Wang, Y.T. and Shen, H. (1995) Bacterial reduction of hexavalent chromium. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, v.14, p.159-163.
- Williams, J.W. and Silver, S. (1984) Bacterial resistance and detoxification of heavy metals. *Enz. Microb. Technol.*, v.6, p.530-537.
- Yassi, A. and Niebor, E. (1988) Carcinogenicity of chromium compounds, In: Nriagu, J.O. and Nieboer, E. (eds.), Chromium in the natural and human environments. John Wiley and Sons, NY, p.514-530.