

비소의 지구화학적 거동에 미치는 미생물의 영향: 예비결과

이종운¹⁾, 김경용, 이상우, 고일원, 안주성

1. 서론

비소는 유비철석 (FeAsS), 계관석 (AsS), 응황 (As₂S₃) 등 자연적으로 존재하는 합비소광물의 용해에 의해 수계로 유입되나, 다양한 인위적 원인에 의한 유입량은 자연적 유입량의 약 4배에 이른다. 비소는 그 산화상태에 따라 자연계에서 arsenate (As(V)), arsenite (As(III)), arsenic metal (As⁰), arsine (As(-III))의 형태로 존재하나, 이 중 As⁰와 As(-III)는 일반적 자연조건에서 전기화학적으로 매우 불안정하다. 비소의 주된 용존종인 As(V)와 As(III)는 모두 매우 독성이 강하나 특히 As(III)는 As(V)에 비해 약 200배나 강한 독성을 띤다. 또한, 중성의 pH에서 As(V)는 철산화물 등에 흡착되거나 공침전되는데 비하여 As(III)는 이보다 높은 이동도를 보인다.

지난 20 여년 동안, 비소의 지구화학적 순환에 대한 연구를 통해 박테리아가 자연조건에서의 비소 species 결정 및 순환에 있어 중요한 역할을 한다는 것이 밝혀졌다. 미생물학적 비소 순환의 주요 기제는 비소환원을 통한 해독작용 (detoxification; Rosen et al., 1994) 및 에너지 생성 (산화)과 호흡 (환원; Newman et al., 1998)의 세 가지로 구분된다.

현재까지 알려진 박테리아에 의한 비소 해독작용으로는 As(V)를 흡수한 후 As(III)로 환원시켜 세포 밖으로 배출하는 기체만이 알려져 있다. 이외에 일부 미생물 (예를 들면, *Alcaligenes faecalis*, *Pseudomonas arsenitoxidans*, *Thiobacillus ferrooxidans* 등)은 용존 As(III) 또는 합비소광물 내의 비소 및 황 등을 산화시킴으로써 이를 에너지원으로 사용한다. 비소 해독에 의한 As(V) 환원 이외에 일부 박테리아는 호흡과정 중 As(V)를 전자수용체로 사용하는 것으로 밝혀졌으며 현재까지 As(V)를 호흡하여 성장하는 4 종류의 박테리아가 다음과 같이 분리되었다; *Chrysiogenes arsenatis* strain BAL-1^T (Macy et al., 1996), *Sulfurospirillum arsenophilus* strain MIT-13 (Ahmann et al., 1994), *Sulfurospirillum barnesii* strain SES-3 (Oremland et al., 1994; Laverman et al., 1995), *Desulfotomaculum auripigmentum* strain OREX-4 (Newman et al., 1997).

비소의 용존종 결정에 미생물의 작용이 지대한 영향을 미친다는 사실은 비소의 지구화학적 순환 중 무생물적 모델만으로는 설명할 수 없었던 부분이 생물학적 역할을 고려한다면 규명될 수 있다는 것을 의미한다. 또한 미생물에 의한 비소의 전기화학적 변환 특성은 비소로 오염된 환경의 복구에 이들 미생물이 유용하게 이용되어질 수 있음을 시사한다.

이 연구의 목적은 각각 호기성 및 혐기성 환경에서 비소에 내성을 가지고 있는 미생물 - 주로 박테리아 -을 분리한 후, 이들이 용존 As(V) 및 As(III)의 speciation에 미치는 영향과 그 기제를 조사하는 것이다. 이러한 일차적 연구의 결과를 통해 실제 비소로 오염된 지하수, 토양 및 퇴적물에서의 비소 거동을 규명할 수 있고, 나아가 이들 환경에 대하여 보다 공격적이고 효율적인 생물학적 비소 저감 기술을 수립할 수 있을 것으로 기대된다.

2. 연구방법

전남 보성 명봉 폐금광산과 충남 부여 임천 폐금은광산의 광미와 퇴적물을 채취하여 중금속 함량을 조사하였다. 이들 시료로부터 미생물을 분리하기 위하여 농질산으로 pH를 5.0으로 조정된 0.1M (NH₄)₂ · HPO₄ 완충액에 1:3 w/v의 비로 시료와 완충액을 혼합하여 25°C에서 120rpm으로 30분간 진

탕시켰다. 진탕시킨 후 상등액 100 μ L를 각각 As(V) ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 로써) 5mM과 As(III) (NaAsO_2 로써) 1mM을 첨가한 tryptic soy agar (TSA) plate에 도말하여 25°C 호기성조건 및 35°C 혐기성조건에서 24시간 배양하였다. 상이한 형태로 형성된 각 colony들을 분리하여 앞에서 기술한 As-spiked TSA plate에 각각 5회 연속 배양하여 순도를 높였다. 분리된 각 colony들 중 특히 호기성 As(V) 및 As(III) 조건에서 배양된 미생물들을 대상으로 각각 As(V)가 5, 10, 20, 30, 50, 100, 150, 200mM 함유된 tryptic soy broth (TSB)에, As(III)가 1, 5, 10, 20, 50mM 함유된 TSB에 접종하여 25°C에서 24 시간 배양한 후, UV-vis spectrophotometer를 이용하여 optical density 600nm에서 탁도를 측정, 각 비소 농도에 따른 미생물의 성장 정도를 관찰하였다.

3. 결과 및 토론

임천광산 광미의 경우 주어진 As 농도 조건에서 미생물이 전혀 분리되지 않은 반면, 명봉광산의 경우 광미와 퇴적물에서 각각 호기성 As(V) 조건에서 10개, As(III) 조건에서 3개, 혐기성 As(V) 조건에서 3개, As(III) 조건에서 6개의 colony type이 분리되었다. 임천광산의 광미에서 미생물이 분리되지 않은 원인으로서는 광미에 함유되어 있는 높은 중금속 농도가 주된 원인이 될 것이다. 즉, 명봉광산의 광미의 경우 Cd 4-5 ppm, Cu 16-17 ppm, Pb 362-866 ppm, Zn 40-58 ppm의 낮은 함유량을 보이고 있는데 반하여, 임천광산의 경우 Cd 26-50 ppm, Cu 140-772 ppm, Pb 1301-1567 ppm, Zn 1804-3003 ppm으로 매우 높은 중금속 함량을 나타내므로 (미발표 자료) 명봉광산에 비하여 미생물에게 더욱 독성을 나타낼 수 있다. 한편 분리된 혐기성세균은 계속 배양 중이며 이 연구에서는 우선 호기성세균만을 대상으로 한 실험결과를 다룰 것이다.

동일한 호기성조건 하에서 As(V)와 As(III)가 미생물에 미치는 독성은 차이를 보여 As(III)의 경우 As(V)에 비해 한층 높은 독성을 나타내었다. As(III) 1mM 조건에서 분리된 미생물들은 5mM의 농도에서는 성장하나 10mM 이상의 농도에서는 거의 성장하지 못 했다. 대부분의 As(V) 조건에서 분리된 미생물은 100mM 이상의 농도에서 24시간 배양한 결과, 거의 성장할 수 없었으나 strain S-10의 경우 거의 그 생존율에 변화가 없는 모습을 보여 비소에 대한 내성이 매우 강함을 알 수 있었다 (Fig. 1). 그러나 명봉광산 광미의 경우 약 6343-7448 ppm의 비소 함량을 나타내므로 100mM (약 7492 ppm) 이하에서 활발히 생존하는 것으로 관찰된 다른 미생물들도 비소의 용존종 변화에 크게 영향을 미칠 것으로 예상된다. 또한 동일 조건에서 약 4일 배양한 결과 모든 분리된 미생물들이 성장한 결과를 나타냄으로써 용존 비소에 미치는 미생물들의 영향이 장기적으로 상당히 높을 수 있음을 나타낸다. 위에서 언급한 이화적 비소환원반응의 경우 무산소 상태에서 발생하므로 이 실험처럼 호기성조건에서 분리된 미생물이 비소의 지구화학에 미칠 수 있는 가능한 영향은, As(V)의 경우 해독작용에 의한 것, As(III)의 경우 산화에 의한 에너지 획득 등을 들 수 있다. 이러한 특성을 규명한다면 비소로 심하게 오염된 지역에서의 비소 거동을 보다 정확히 규명할 수 있을 것이며 이를 이용하여 비소로 오염된 지하수, 토양 및 퇴적물의 처리에도 이용할 수 있을 것이다.

4. 참고문헌

- Ahmann, D., Roberts, A.L., Krumholz, L.R., and Morel, F.M.M. (1994) Microbe grows by reducing arsenic. *Nature* **371**, 750.
- Laverman, A.M., Blum, J.S., Schaefer, J.K., Phillips, E.J.P., Lovley, D.R., and Oremland, R.S. (1995) Growth of strain SES-3 with arsenate and other diverse electron acceptors. *Appl. Environ. Microbiol.* **61**, 3556-3561.

- Macy, J.M., Nunan, K., Hagen, K.D., Dixon, D.R., Harbour, P.J., Cahill, M., and Sly, L.I. (1996) *Chrysiogenes arsenatis* gen. nov., sp. nov., a new arsenate-respiring bacterium isolated from gold mine wastewater. *Int. J. Sys. Bacteriol.* **46**, 1153-1157.
- Newman, D.K., Kennedy, E.K., Coates, J.D., Ahmann, D., Ellis, D.J., Lovley, D.R., and Morel, F.M.M. (1997) Dissimilatory arsenate and sulfate reduction in *Desulfotomaculum auripigmentum* sp. nov. *Arch. Microbiol.* **168**, 380-388.
- Newman, D.K., Ahmann, D., and Morel, F.M.M. (1998) A brief review of microbial arsenate respiration. *Geomicrobiol.* **15**, 255-268.
- Oremland, R.S., Blum, J.S., Culbertson, C.W., Visscher, P.T., Miller, L.G., Dowdle, P., and Strohmaier, F.E. (1994) Isolation, growth, and metabolism of an obligately anaerobic, selenate-respiring bacterium, strain SES-3. *Appl. Environ. Microbiol.* **60**, 3011-3019.
- Rosen, B.P., Silver, S., Gladysheva, T.B., Ji, G., Oden, K.L., Jagannathan, S., Shi, W., Chen, Y., and Wu, J. (1994) The arsenite oxyanion-translocating ATPase: Bioenergetics, functions, and regulation. In: A. Torriani-Gorini, E. Yagil, and S. Silver (Eds.), *Phosphate in microorganisms*. Washington, D.C., ASM Press, p. 97-107.

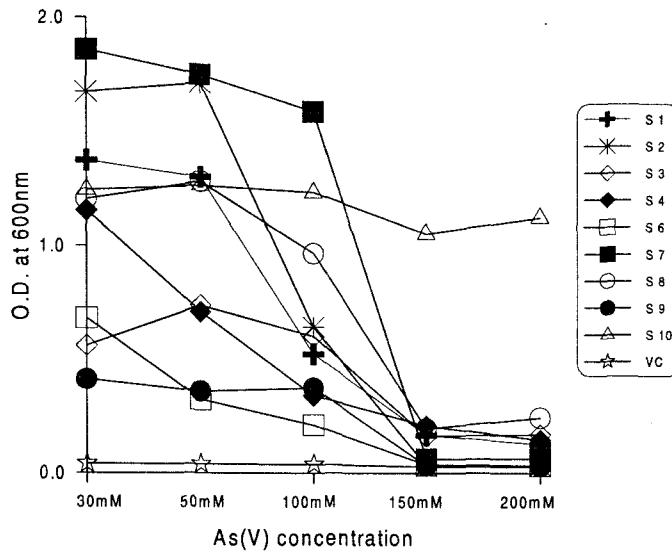


Fig.1 Growth of microbes isolated from Myungbong tailings and sediments under the conditions of various concentrations of As(V). VC means an abiotic control.

주요어: 비소, 미생물, 지구화학적 순환, 생물학적 비소 저감기술

1) 광주과학기술원 환경공학과