

## 칼럼 반응조에서 Phosphate Solubilizing Microorganism(PSM)과 EDTA에 의한 납 오염토양의 식물상 복원 증진에 관한 비교연구

남윤선 · 박영지\* · 이인숙 · 배범한<sup>†,\*</sup>

이화여자대학교 에코과학부 · \*경원대학교 토목환경공학과

(2008년 3월 11일 접수, 2008년 4월 10일 채택)

### A Comparative Study on Enhanced Phytoremediation of Pb Contaminated Soil with Phosphate Solubilizing Microorganism(PSM) and EDTA in Column Reactor

Yoon-Sun Nam · Young-Ji Park\* · In-Sook Lee · Bumhan Bae<sup>†,\*</sup>

Division of Ecoscience, Ewha Womans University · \*Department of Civil & Environmental Engineering, Kyungwon University

**ABSTRACT** : Enhanced phytoremediation with EDTA or PSM(Phosphate solubilizing microorganism) was studied using green foxtail (*Setaria viridis*) in columns packed with 1,200 mgPb/kg contaminated soil to investigate the effects of EDTA or PSM on the plant uptake and vertical migration of Pb. EDTA, equimolar amount of total Pb in the column soil, was administered in two methods: the one was treated with 1/6 aliquots of the equimolar EDTA every week for 6 weeks and the other was treated with single dose of the equimolar EDTA before 14 days of harvest. The results showed that higher concentrations of Pb accumulated in the biomass of green foxtail after the chemical or biological treatment. The plant-root Pb concentration in PSM treatment(M), EDTA aliquot treatment(ES), and single dose treatment(E) was 2.6, 3.0, and 3.3 times higher, respectively, than that in the plant-root of control(164.7 mg/kg). The plant-stem Pb concentration in the M, ES and E treatment was 27, 37, and 40 times higher than that in the stem of control(8.1 mg/kg). The translocation factor, the ratio of shoot/root Pb concentration, was 0.6 in the two EDTA treatment, 0.5 in the M treatment, and 0.05 in the control, respectively. The largest amount of Pb was phyto-extracted in the E treatment whereas vertical migration of EDTA was significant in the ES treatment. This result showed that a single large dose of EDTA before harvest serves better for enhanced phytoremediation of Pb. Although, treatment with PSM showed less Pb phytoextraction by the plant but enhanced both the growth of plants in the column and microbial dehydrogenase activity in the soils. Therefore, enhanced phytoextraction of Pb with PSM treatment can be an alternative option for EDTA treatment, which is toxic to plants and soil ecosystem.

**Key Words** : EDTA, Pb, Phytoremediation, Phosphate Solubilizing Microorganism, *Setaria viridis*, Soil Column Reactor

**요약** : 토양칼럼반응조에서 Pb 오염토양(1,200 mg/kg)에 강아지풀로 식물상복원공법을 적용하였을 때 EDTA 혹은 인용출미생물(Phosphate solubilizing microorganism) 주입이 식물의 Pb 섭취 및 연직이동에 주는 영향을 연구하였다. EDTA 주입량은 Pb 오염총량과 동일한 mol수이었으며, 6회에 걸쳐 분할 주입하는 방법과 1회에 일괄적으로 처리하는 2가지 방법을 적용하였다. 그 결과 뿌리에 축적된 Pb의 농도는 control(164.7 mg/kg)에 비하여 PSM 처리구(M)는 2.6배, EDTA 분할처리구(ES)는 3.0배, EDTA 일괄처리구(E)는 3.3배가 증가하였고, 줄기에서는 control(8.1 mg/kg)에 비하여 M 처리구는 27배, ES 처리구는 37배, E 처리구 40배가 증가하였다. 뿌리로부터 지상부로 이동한 납의 비율은 control에서 0.06이지만, E 및 ES 처리구는 0.6, M 처리구는 0.5로 큰 차이가 없었다. Pb 제거량은 E 처리구가 많았고, EDTA의 연직이동은 ES 처리구에서 큰 것으로 나타나, 식물수확기 전에 EDTA를 일괄주입하는 방안이 효율적인 것으로 판명되었다. PSM 처리는 EDTA보다 Pb 제거량은 낮았지만 Pb의 식물섭취가 증가하였고, 식물의 성장 및 토양 내 미생물 활성도를 증진하는 장점이 있어 유독한 EDTA를 대체할 수 있을 것으로 판단된다.

**주제어** : 강아지풀, 납, 식물상복원공법, 인용출미생물, 토양칼럼반응조, 킬레이트

## 1. 서론

중금속 오염은 자연 상태에서 물과 토양을 오염시키고 먹이사슬을 따라 생태계에 유해한 영향을 미칠 뿐 아니라 일단 오염이 되면 자연계의 자정능력으로는 복구가 거의 불가능하다.<sup>1)</sup> 그러므로 여러 가지 정화 방법들이 이용되는

데 그 중 식물상복원공법(Phytoremediation)은 식물체를 이용하여 오염토양으로부터 유해한 오염물질을 제거하는 경제적이고 친환경적인 공법으로, 환경교란을 최소화 할 수 있으며 오염원위치(*in situ*)에서 오염물질을 처리할 수 있고, 심미적이며, 2차 오염물질이 발생하지 않는 장점이 있다.<sup>2,3)</sup> 그러나 복원기간이 최소 10년 정도로 길고 오염물질의 제거가 근권에 국한되어 있으며, 오염물질의 제거에 사용할 식물을 찾기가 어려울 뿐 아니라 물질전달(특히 중금속)이 제한적이라는 단점도 있다.<sup>4)</sup> 따라서 식물상복

<sup>†</sup> Corresponding author

E-mail: bhbae@kyungwon.ac.kr

Tel: 031-750-5429

Fax: 031-750-5344

원공법의 효율을 증대시키기 위해 과축적종 및 chelator에 대한 연구가 수행되어 왔다.<sup>5)</sup> ‘과축적종’이란 높은 함량의 금속 이온을 흡수하여 체내에 축적하는 식물로, 납의 경우 1,000 µg/g 이상을 축적하는 식물을 말한다. 과축적종은 중금속을 뿌리로 흡수하고 지상부로 이동시켜서 액포로 저장하는데, 일반적으로 중금속의 용해도가 낮아 뿌리의 흡수가 제한요소로 작용한다. 특히 납은 pH 5.5~7.5의 일반적 토양에서 인산염 또는 탄산염침전물에 의해 용해도가 제어되어 최고활성도가 10<sup>-8.5</sup> M(0.06 ppb)로 매우 낮아<sup>6)</sup> 식물체 내로의 이동이 다른 금속에 비해 제한적이고, 납 과축적종이 발견되지 않아<sup>7)</sup> chelator의 적용이 필수적인 것으로 알려지고 있다.

화학적 인자로 가장 널리 활용된 EDTA(Ethylenedinitrilotetraacetic acid)와 같은 합성 chelator를 토양에 살포하면 중금속의 이동성이 증가하여 식물상 복원의 효율이 높아진다는 결과가 많이 보고되었다.<sup>8~13)</sup> 그러나 EDTA는 생물학적 분해율이 낮으며<sup>14)</sup> 식물, 토양미생물, nematodes 등에 독성을 야기한다.<sup>13,15)</sup> Blaylock<sup>6)</sup> 등의 연구에 의하면 Indian mustard에 4종의 chelator와 citric acid를 0.1-10 mmol/kg의 농도로 살포한 경우 chelator 농도 증가에 따라 식물체내 중금속(Pb) 농도는 크게 증가하였으나 식물의 건량은 최대 57%가 감소하였다.<sup>6)</sup> 또한, 합성 chelator는 낮은 생분해율로 인해 토양 내 오래 잔류하면서 중금속의 지하수 유출을 일으키는 단점이 있다.<sup>5,16)</sup> 이렇게 화학적 인자에 의한 토양생태계에 미치는 악영향과 중금속 이동성 증가에 대한 우려로 인해 생물학적 인자에 의한 중금속의 식물상복원공법 증진 방안도 연구되고 있다. 초기에는 식물 뿌리가 분비하는 유기산에 의한 근권 미생물 활성도 증진으로 유기오염물질의 분해를 높이는 방안에 대하여 많이 연구되었으나,<sup>17)</sup> 중금속 오염토양에서는 미생물이 배출하는 유기산 및 효소에 의하여 금속의 이동성이 증가하여 식물에 의한 중금속 흡수가 증가한다.<sup>18,19)</sup> 이와 같이 식물과 상승작용을 하는 미생물로는 PGPR(Plant Growth Promoting Rhizobacterium), PSM(Phosphate Solubilizing Microorganism), MHB(Mycorrhizal-helping bacteria), AMF(Arbuscular mycorrhizal fungi) 등 매우 다양하다.<sup>21)</sup> 그 중 PGPR은 질소고정, phytohormone 생산, 특정 효소 활성화, 항생제 등의 생산에 의한 병원균 활성 감소 등의 방법으로 식물의 성장을 증진한다. PGPR의 일종인 PSM은 저분자 유기산 혹은 acid phosphatases를 생성하여 각각 불용성의 무기인 및 유기인을 용해성으로 변화시켜 식물의 인 흡수를 증진시키는 근권 미생물이다.<sup>21)</sup> PSM이 생산하는 유기산은 토양의 중금속도 용해할 수 있다. Saravanan et al.(2007)은 *Gluconacetobacter diazotrophicus*이 glucose를 탄소원으로 하여 생산하는 5-kotogluconic acid에 의해 ZnO, ZnCO<sub>3</sub> 및 Zn(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>가 용해된다는 것을 보고하였고<sup>22)</sup> Abou-Shanab et al.은 중금속오염 산업용지에서 자생하는 일년생 식물 바다새(*Diplachne fusca*)의 중금속 함량과 근권 미생물종의 상관성을 조사한 결과, sideropore 생산미생물,

PSM 및 유기산생성미생물과의 상관관계가 각각 95, 81 및 64%인 것으로 보고하였다.<sup>23)</sup> 그러므로 식물상복원시 근권미생물(PSM 등)의 활성을 인위적으로 강화시켜 식물에 의한 중금속 제거를 증진시킬 수 있다면, 생태계에 유해한 EDTA를 대체할 수 있을 것이다. 이에 본 연구에서는 폐광산 인근 오염토양에서 분리한 PSM(*Enterobacter* sp.)과 EDTA를 토양칼럼반응조에 식재한 강아지풀에 각각 적용한 다음, 식물의 성장, 식물의 중금속(Pb)섭취량 및 Pb의 칼럼내 연직이동 등을 비교하였다. 그 결과, PSM에 의하여 강아지풀의 성장이 촉진되었으며 납의 용해성이 증가하여 식물상복원공법의 속도가 증진되는 것이 확인되었다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 칼럼 실험

PSM과 EDTA에 의한 식물체내 납 흡수량 증가 및 EDTA에 의한 납의 수직이동을 연구하기 위하여 폐광지의 우점종 중 하나인 강아지풀을 적용한 칼럼 실험을 다음과 같이 준비하였다. 실험에 사용한 칼럼 장치는 Fig. 1과 같이 직경 15 cm, 높이 105 cm의 원통형 PVC관으로 최상단에는 5 cm의 여유고를 두었고, 깊이별 시료채취와 뿌리 길이 측정을 위해 20 cm 간격으로 나누어 실험 종료 후 토양시료채취에 용이하게 하였다. 칼럼의 하부 80 cm에는 비오염 토양을 채우고 나머지 상단부에는 화성 삼보광산에서 채취한 토양을 납 1,000 mg/kg으로 인공 오염시켜 채웠다. 납 오염은 1,200 mg Pb<sup>2+</sup>/kg soil이 되도록 계산하여 Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>를 첨가하였고, 1주일 동안 aging 시킨 후 사용하였다. 각 칼럼의 처리구는 무식물구 Blank (B), 무처리구인 Control(C), EDTA 분할 처리구(ES), EDTA 일괄 처리구(E), PSM 처리구(M)로 구분하였고 모든 처리구는 3배수로 실험하였다. 각 칼럼 당 식물은 3개체를 적용하였는데, 10개의 씨앗을 뿌리고 발아 후 솟아내어 3개체만 남도록 하였다. 이는 좁은 칼럼 단면적(176.6 cm<sup>2</sup>)에서 많은 식물을 재배하면 뿌리가 서로 엉키고 잘 자라지 않기 때문이다. 실험은 약 18주 동안 야외 온실에서 진행하였고, 칼럼 상부에서 공급하는 물의 양은 식물의 성장 및 국내 강수량 변화를 고려하여 조절하면서, 칼럼 하부로 물이 유출되지 않게 유의하였다. 본 실험에서는 발아 전에는 흙 표면이 충분히 젖도록 물 50 mL을, 식물 뿌리가 잘 정착되고 나면 물 100 mL을, 지상부가 견고하게 세워지고 무성해지면 물 200 mL을 주는 것이 적당하였다. 또한 식물의 성장을 위하여 비료를 주입하였다. 질소는 Ammonium nitrate 16.8 g/m<sup>2</sup>(34% N), 칼륨은 Potassium sulfate 16.8 g/m<sup>2</sup>(45% K), 인은 Triple super phosphate 1.68 g/m<sup>2</sup>을 사용하여 주입했으며, 인 성분은 납과 결합하여 불용성의 염을 형성하기 때문에 토양에 직접 주입하지 않았고 식물의 잎맥에 용액을 분무하는 foliar application을 사용하였다.<sup>24)</sup>

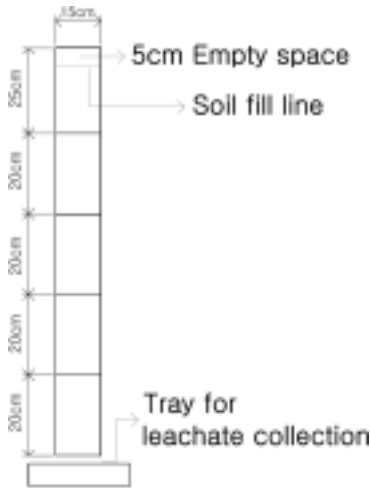


Fig. 1. Schematic design of the column reactor.

2.2. 토양의 물리화학적 특성

pH는 토양 5 g에 증류수 25 mL을 넣고 1시간 진탕 후 pH meter로 측정하였다. 토양의 수분 함량(Moisture Content, MC)은 토양 5 g을 100~110°C 건조기에서 항량이 될 때까지 말린 후 건조량 당 백분율로 환산하였다. 용수량(Water Holding Capacity, WHC)은 건조시킨 토양과 이를 물로 포화시켜서 중력수가 빠진 후 토양의 무게차를 백분율로 계산하였다. 유기물 함량(Organic Matter, OM)은 건조시킨 토양을 도가니에 담아 Furnace(MAS 7000; CEM, NC, USA)에서 700°C에서 1시간 동안 회화시킨 후 건조량 당 백분율로 계산하는 작열 소실법에 의해 결정하였다. 토양의 미생물 활성도는 DeHydrogenase Activity(DHA)로 측정하였으며, INT assay를 사용하였다. 토양 3 g에 0.1% INT(iodonitrotetrazolium chloride) solution 1 mL과 멸균수 1.5 mL을 넣고 37°C에서 24시간 동안 진탕 배양한 후 에탄올을 첨가하여 추출한 뒤 485 nm 파장에서 INT-formazan을 비색 정량하였다. 양이온치환능력(Cation Exchange Capacity, CEC)는 EPA method 9081(sodium acetate, US)에 의해 측정하였다. 토성은 Pipette method를 이용한 삼각 토성표에 의해 결정하였다.

실험에 사용한 비오염 토양 토성은 pH 5.85, 수분함량 10%, 용수량 22.5%, 유기물함량 3%, CEC 10 meq/100 g, DHA 10 µg/g인 사질식양토였고, 납 오염토양은 대략 pH 6.5, 수분함량 18%, 용수량 27.8%, 유기물함량 4%, CEC 25 meq/100 g, DHA 40 µg/g인 양토였다.

2.3. PSM 처리

칼럼실험에 사용한 PSM은 삼보광산 인근의 중금속 농 오염 토양에서 분리하였으며, cell wall fatty acid 분석결과 *Enterobacter* sp.로 판명되었다. PSM은 500 mL 삼각플라스크에 P 제한 배지인 NBRIP(National Botanical Research Institute's Phosphate) 배양액 250 mL을 넣고 멸균한 뒤, PSM을 접종하고 150 rpm으로 5일간 상온에서 진탕 배양하였다. 그 후 Whatman NO. 4 filter paper로 여과해서 불

용성의 Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>를 제거한 후, 칼럼 당 600 mL씩 주입하였다. 납은 인(P)과 결합하여 불용성 염을 형성하기 때문에 인이 제한된 상태에서 PSM을 배양하였으며, 칼럼에 주입하기 전에 NBRIP 배지에 접종하여 배양과정에서의 오염여부를 확인하고 PSM량을 O.D.(optical density) 혹은 TSS 및 CFUs로 측정하여 주입미생물량을 계산하였다. PSM 주입은 6월 27일부터 600 mL씩 약 한달 간격으로 4회 주입하였다. 칼럼에 주입한 PSM의 TSS는 약 261.5 mg/L의 농도였으며, CFUs로 환산하면 약 2.3 × 10<sup>9</sup> CFUs/mL이었다. 따라서 실험 기간 동안 주입한 총 PSM량은 한 칼럼 당 2,400 mL로, 627.6 mg-TSS, 5.52 × 10<sup>12</sup> CFUs에 해당한다.

2.4. EDTA 처리

EDTA는 TriPotassium EDTA(K<sub>3</sub>EDTA)를 사용하였고, 농도는 납 오염총량과의 몰비가 1:1이 되도록 주입였다. 칼럼 당 오염토양의 총 납은 4.8 g이었고 몰수는 0.023 mol이었다. 따라서 EDTA도 칼럼 당 0.023 mol을 처리하기 위하여 EDTA 9.35 g을 처리하였다. EDTA 주입은 분할주입(ES)과 일괄주입(E)으로 구분하였으며, EDTA 분할주입은 0.023 mol/1.2 L 용액을 8월 8일부터 약 2주 간격으로 200 mL씩 6회에 나누어 주입하였고, EDTA 일괄주입은 0.023 mol/200 mL 용액을 10월 10일에 한꺼번에 모두 주입하였다. 너무 많은 양의 EDTA를 한꺼번에 주입하면 식물에 의한 흡수율보다 심부로의 침투율이 클 수 있기 때문에 EDTA의 주입속도를 적절히 조절하여 토양 내 용출된 중금속을 식물이 전량 흡수할 수 있도록 하는 것이 중요하다. 이를 위하여 고안한 장치는 일반적인 60 mL 1 회용 주사기의 입구에 기저 형태의 철사를 넣은 상태로 토양에 매몰한 것으로, 토사에 의하여 주입구가 막히는 현상 없이 용액이 표면장력에 의해 철사 표면을 따라 천천히 토양으로 이동하였으며, 50 mL의 용액주입에 9시간이 걸렸다. 이와 같은 방법으로 칼럼에 EDTA 용액을 천천히 주입하였다.

토양 내의 EDTA 측정 방법은 다음과 같다. 토양 5 g에 증류수 25 mL을 넣고 150 rpm의 진탕기로 한 시간 동안 혼합한 뒤 Whatman 0.2 µm syringe filter(PTFE)를 사용하여 여과한 다음 여액을 영린 HPLC(high-pressure liquid chromatography, pump; M930, UV Detector; M720)로 분석하였다. 분석 이동상은 1 L 증류수에 100 mL ACN(ace-tonitrile) + 20 mM TBABr(Tetrabutylammonium-bromide) + 50 mM CH<sub>3</sub>COONa + 2 mL CH<sub>3</sub>COOH을 첨가하여 pH를 5.0으로 조정하고, 역상칼럼(SHISEIDO CAPCELL PAK C18 MG, 4.6 × 250 mm, 5 µm)에서 유량 1.0 mL/min로 용리하였다. 분석시료의 주입량은 5 µL이며, 274 nm에서 검출하였다.

2.5. 토양 및 식물의 중금속

채취한 토양을 70°C 건조기에서 2일 동안 건조 후 왕수 분해법(aqua regia : 65% HCl 3 mL + 37% HNO<sub>3</sub> 1 mL)

으로 중금속을 추출하였다. 토양 0.2 g에 왕수 4 mL을 가한 후, microwave(MSD-2000, CEM, NC, USA)에서 분해시켜 Whatman filter paper No. 44로 여과하고 3차 증류수로 20 mL로 희석한 뒤 총(total) 납 농도를 측정하였다. 치환성(exchangeable) 납의 농도는 토양 1 g에 1 N Ammonium acetate 25 mL을 가하고 1시간 동안 진탕 후 Whatman filter paper No. 2로 여과해서 측정하였다. 토양 2.5 g에 0.01 M KNO<sub>3</sub> 25 mL을 가하고 2시간 동안 진탕 후 Whatman filter paper No. 2로 여과해서 가용성(soluble) 납 농도를 측정하였다.<sup>25)</sup>

채집한 식물은 3차 증류수로 세 번 이상 깨끗이 세척하여 오염토양을 제거하고, 70°C 건조기에서 건조시킨 후 뿌리, 지상부 두 부분으로 나누어 막자사발에서 갈았다. 0.05 g 시료에 37% HNO<sub>3</sub> 5 mL을 가하여 microwave(MSD-2000, CEM, NC, USA)에서 분해시킨 후 Whatman filter paper No. 44로 여과하고 3차 증류수를 이용해 최종부피 10 mL로 희석해서 중금속 농도를 측정하였다.<sup>26)</sup>

중금속 농도는 Atomic Flame Absorption Spectrophotometer(AAnalyst 100, Perkin Elmer, USA)로 측정하였고, 중금속 분석방법의 신뢰도는 미국의 NIST(National Institute of Standards and Technology)에서 공인된 표준물질인 2711 Montana Soil(Pb-Recovery 97%)과 1573a Tomato leaves(Pb-not detected)의 분석을 통해 확인하였다. 실험에 사용한 모든 화학약품은 최소한 ACS급이었다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. 처리에 따른 식물의 성장

처리구별 강아지풀의 평균 지상부 길이를 Fig. 2에 나타내었다. 식물이 성장하는 칼럼반응조 토양에 PSM을 파종 후 21일부터 약 한달 간격으로 4회 분할 주입한 결과, 식물의 지상부 길이가 Control보다 파종 49일 10%, 63일 16%, 77일 10%, 91일 12%, 105일 12%로 증가하였다. 또한 EDTA를 파종 63일부터 약 2주 간격으로 6회 분할 주입한 경우에도, 식물의 지상부 길이가 Control보다 파종 77일 19%, 91일 19%, 파종 105일 15%, 119일에는 6%가 증가하였다. 따라서 식물성장촉진미생물인 PSM을 주입해 주면 Control보다 빠른 성장속도 및 높은 생체량을 보이며, EDTA를 분할 주입하면 중금속 대량용출에 의한 독성 효과가 나타나지 않고 식물이 정상적으로 자라는 것을 확인하였다. PSM 처리구(M)과 EDTA 분할 처리구(ES)에서 식물의 생장이 증가한 것은, 중금속 뿐 아니라 식물의 성장에 필요한 영양염류도 같이 용해되어 식물섭취가 용이해졌기 때문으로 판단된다. EDTA를 1회 일괄 주입한 처리구(E)에서는 Control과 거의 동일한 성장결과를 얻었다. 이 결과는 EDTA 처리시기가 식물의 씨앗이 생기고 성장이 둔화된 파종 후 119일(추수 14일전)에 주입하였기 때문에 EDTA의 주입이 식물의 성장에 영향을 미치지 않았기 때문이다.

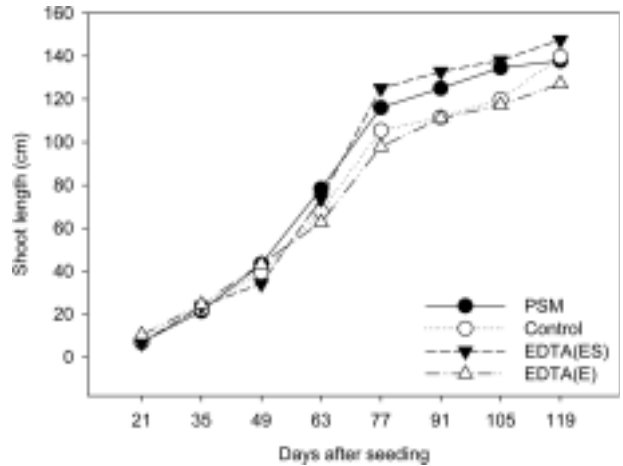
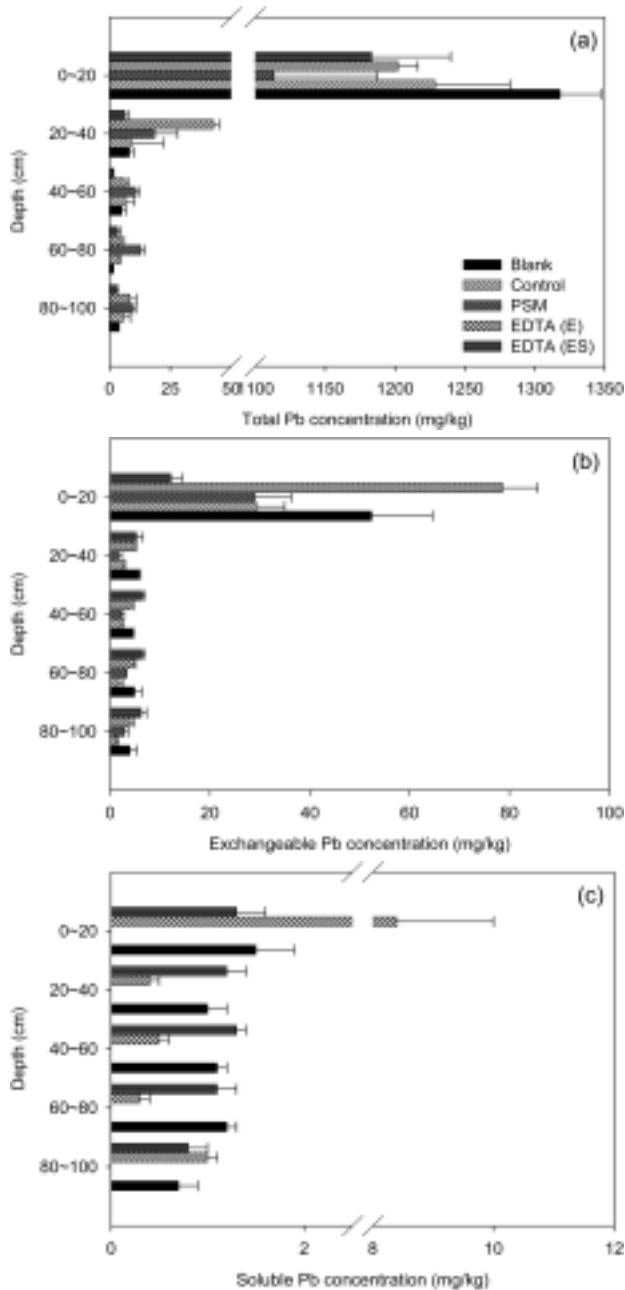


Fig. 2. Effects of EDTA or phosphate solubilizing microorganism treatment on the shoot length of green fox tail grown in the soil column for 14 weeks.

#### 3.2. 처리에 따른 토양의 변화

##### 3.2.1. 납 농도 변화

칼럼반응조의 심도별 T-Pb(Total Pb) 농도를 Fig. 3(a)에 도식하였다. 납으로 오염된 최상부(심도 0~20 cm)의 T-Pb는 Blank와 Control에서 각각 1317.9 ± 29.4 mg/kg, 1228.5 ± 53.7 mg/kg으로 초기농도 1273.2 mg/kg과 큰 차이가 없었으나, M 처리구는 약 13%, E 처리구는 약 6%, 그리고 ES 처리구는 약 7% 감소하였다. 심도 20~40 cm에서는 ES 처리구의 T-Pb가 42.7 mg/kg으로 Control의 8.9 mg/kg에 비해 4.8배의 납이 검출되었고, M 처리구는 18.6 mg/kg으로 2.1배가 검출되었다. 그러나 ES 처리구는 T-Pb가 6.4 mg/kg으로 오히려 감소하였다. M 처리구의 심도 40~60, 60~80 및 80~100 cm에서 T-Pb가 각각 10.9, 12.9 및 9.8 mg/kg으로 높게 나타나, 표토에서 심토로의 중금속 이동이 발생하였다. 그러나 E 처리구 80~100 cm에서 T-Pb가 8.4 mg/kg이 검출된 것을 제외하고 모든 처리구에서 T-Pb농도는 5 mg/kg을 넘지 않았다. 이 결과는 M 처리구에서 PSM이 생산한 유기산의 영향으로 배양액 pH 3.8 정도로 상당히 낮았고, PSM 처리가 4개월 이상 장기간 지속적으로 일어나 중금속이 심부까지 이동할 수 있었던 반면 ES 처리구와 E 처리구는 처리기간이 짧거나, EDTA양이 심부용출을 야기할 만큼 많지 않았기 때문인 것으로 판단된다. 이 결과는 치환성(exchangeable) 및 용해성(soluble) Pb의 농도에서도 잘 나타난다. 치환성 Pb는 0~20 cm의 최상부에서 Blank 52.4 mg/kg, Control 29.3 mg/kg, M 처리구 29.0 mg/kg, ES 및 E 처리구가 각각 12.2 및 78.6 mg/kg로 나타났다. 심도 20 cm 이하에서는 Control과 M 처리구가 거의 비슷하게 검출되었으며 E 처리구에서는 Control의 2배 이상, ES 처리구에서는 Control의 약 0.4배가 검출되었다. 또한 E 처리구의 최상부에서는 ES 처리구의 6배 이상의 Soluble Pb가 검출되었고 M 처리구와 Control에서는 Soluble Pb가 검출되지 않았다. 이상과 같은 결과를 종합해보면, E 처리구에서는 충분한 양의 EDTA



**Fig. 3.** Concentration changes of total Pb(a), exchangeable Pb(b), and soluble Pb(c) in soils of each column. No soluble Pb concentration was detected in the Control and the PSM column.

와 짧은 처리기간으로 용해성 및 치환성 Pb 농도가 높으며, ES 처리구에서는 상대적으로 긴 처리기간이지만 납과 반응하는 EDTA의 양이 부족하며, M 처리구는 유기산 및 미생물에 의한 중금속 용해능이 EDTA에 비해 상대적으로 낮기 때문에 판단된다. 식물의 성장 초반기에 EDTA를 주입하면 EDTA의 독성에 의해 식물의 성장이 저해되고, 생산하는 건량이 감소하기 때문에,<sup>6,27,28)</sup> 본 실험에서는 성장 후반기에 다량의 EDTA를 주입한 결과 토양의 생물학적이용가능 Pb를 증진시켜 더욱 효과적으로 식물체 내에 축적할 수 있을 것이다.

3.2.2. EDTA의 이동

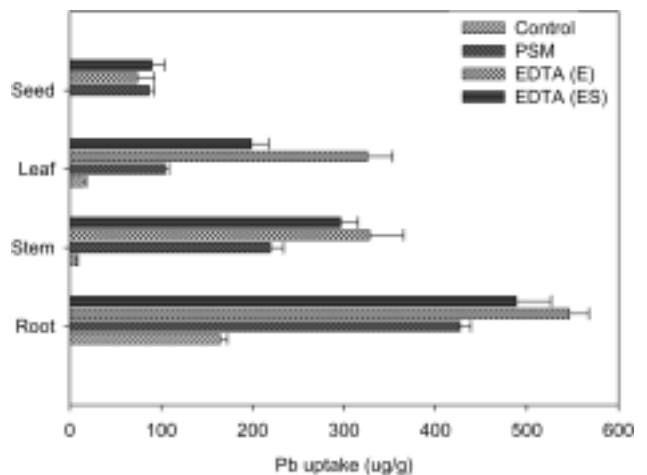
각 칼럼반응조 심도별 EDTA의 농도는 Table 1과 같다. EDTA의 농도는 심도가 깊을수록 감소하였다. 그러나 ES 처리구에서는 일괄 주입한 E 처리구에 비해 훨씬 깊은 심부(80~100 cm)에서도 1.4 µg/g의 EDTA가 검출되었다. 이 결과는 시간이 경과하면서 EDTA가 점차 심부로 이동하는 것을 나타낸다. 반면 E 처리구에서는 주입한 지 15일 밖에 지나지 않아 대부분이 토양 상부에 잔류하고 있어 분할 주입한 토양보다 상부(0~20 cm)에서 약 3배 정도 높은 양의 EDTA가 검출되었다. 국내의 기후 여건상 2모작을 할 수 없고, 동절기에는 토양이 동결되어 EDTA의 이동이 느려지는 점을 감안한다면, EDTA의 주입시 분할주입보다는 수확기 직전에 주입하는 것이 더욱 적당할 것으로 판단된다.

3.3. 처리에 따른 식물체내 납 농도

각 처리구별 강아지풀 건량의 납 농도는 Fig. 4에 비교하였다. Fig. 4에서와 같이 처리구별 식물내 납 농도는 Control의 뿌리내 Pb 164.7 µg/g에 비해 M 처리구에서 2.6배, ES 처리구에서 3배, E 처리구에서 3.3배 이상 증가하였

**Table 1.** Concentrations of residual EDTA in the column soils treated with chelator

Treatment	Soil depth(cm)	EDTA(µg/g)
EDTA(E)	0~20	90.8 ± 19.0
	20~40	19.4 ± 15.6
	40~60	2.6 ± 0.01
	60~80	0.0 ± 0.0
	80~100	0.0 ± 0.0
EDTA(ES)	0~20	28.6 ± 4.6
	20~40	20.4 ± 7.3
	40~60	4.8 ± 0.2
	60~80	0.0 ± 0.0
	80~100	1.4 ± 0.1



**Fig. 4.** Concentration changes of Pb in root, stem, leaf, and seed of green fox tail grown in the soil column.

다. 또한 줄기에서의 Pb 농도는 Control 8.1 µg/g에 비해 27배(M), 37배(ES), 40배(E) 증가하였을 뿐 아니라, Control의 잎(15.6 µg/g)에 비하여 7배(M), 13배(ES), 21배(E) 씩 증가하였다. 특히, Control 씨앗에서는 납이 검출되지 않았으나, 처리구의 씨앗에서는 87.0 µg/g(M), 90.0 µg/g(ES) 및 73.9 µg/g(E)가 검출되어, 식물상복원증진법을 사용했을 경우 먹이연쇄를 통한 생태계내로의 중금속 확산가능성이 있음을 보여주고 있다. 그러므로 이를 대비하여 종자를 먼저 수확하는 방안 등이 함께 고려되어야 할 것이다.

식물의 기관별 납 농도는 뿌리 > 잎, 줄기 > 씨 순으로 나타났다. 식물체내의 납 농도에 총 건량을 곱해서 식물의 지상부에 축적된 납의 총량을 계산한 결과 Control 약 1.2 mg, M 처리구 약 7.6 mg, ES 처리구 약 11.8 mg, E 처리구 약 13.0 mg으로 나타나, 중금속 제거측면에서는 EDTA를 일괄처리하는 것이 가장 효율적인 것으로 나타났다. PSM 처리시에도 식물의 납 축적율은 Control 대비 6.33 배 증가하였고, EDTA 일괄처리에 대비 58.5%의 납이 축적되었다. 식물이 뿌리에서 지상부로 이동시킨 납의 비율 (Translocation Factor)은 Control은 0.05, M 처리구는 0.5, ES와 E 처리구는 모두 0.6으로, EDTA와 PSM의 효과가 비슷하게 나타났다. M 처리구에서 식물에 의한 Pb의 흡수가 상당히 증가하고 translocation factor도 EDTA와 유사한 것은 상당한 의미를 갖는다. Blaylock 등은 Pb 오염토양에서 Indian mustard에 EDTA와 유기산, citric acid를 처리하여 식물체가 흡수한 Pb를 조사한 결과, 단순히 유기산 처리를 할 경우는 줄기내 Pb농도가 약 500 µg/g으로 미미하였으나, EDTA 처리시에는 약 16,000 µg/g까지 증가하였다고 보고하였다.<sup>6)</sup> 본 연구에서 M 처리구에서의 Pb 흡수증가가 유기산만 의존한 것이라면, 식물체내의 Pb 농도가 EDTA 처리 대비 58.5%는 기대하기 어려울 것이며, translocation factor가 EDTA와 대등하지도 못할 것이다. 그러므로 미생물이 생산하는 유기산 이외의 다른 작용, 예를 들어 siderapore와 같은 금속이동에 관여하는 다른 영향요인이 있을 것으로 추정할 수 있다. 이에 대한 연

구는 지속적으로 추진할 필요가 있다.

Siderapore의 지속적 생산 및 공급을 위해서는 토양내 미생물의 활성도가 높아야 한다. 이에 각 처리구별 칼럼 토양의 DHA를 측정하여 그 결과를 Fig. 5에 도식하였다. 칼럼내 DHA의 연직분포는 최상부 0~20 cm에서 가장 높고 20~100 cm에서는 10 µg/g 이하로 낮았다. 그러나 상부 0~20 cm 토양내 DHA는 Blank 30 µg/g, Control 45 µg/g, M 처리구 220 µg/g, E 및 ES 처리구에서는 25 µg/g으로, M 처리구의 표토에서 미생물 활성도가 Control에 비해 5배 이상 높았으며, E 및 ES 처리구에서는 Blank보다도 낮게 측정되었다. 이 결과는 EDTA에 의한 독성으로 토양내 근권 미생물의 활성이 감소한다는 것을 간접적으로 보이고 있다. 또한 PSM 처리로 인해 미생물 활성도가 높아지고, 미생물 활성도가 지속적으로 유지되어 미생물이 분비하는 유기산 및 효소(siderapore)에 의하여 금속의 이동성이 증가하는 등 식물상복원공법의 효율을 높이는 것 이외에도 복원이 완료된 후에도, 생태학적으로 견강한 토양을 유지 할 수 있다는 것을 의미한다.<sup>18,19)</sup>

#### 4. 결론

각 처리구별로 강아지풀의 납 축적은 뿌리에서 EDTA 약 500~550 µg/g, PSM 약 430 µg/g, Control 약 165 µg/g, 줄기에서 EDTA 약 300 µg/g, PSM 약 200 µg/g, Control 약 8 µg/g, 잎에서 EDTA 약 200~300 µg/g, PSM 약 100 µg/g, Control 약 16 µg/g, 씨에서 EDTA, PSM 약 70~90 µg/g이었고, 식물이 뿌리에서 지상부로 이동시킨 납의 비율은 EDTA 0.6 > PSM 0.5 >> Control 0.05이었다. EDTA 일괄 처리구와 PSM 처리구 모두에서 깊이 40 cm까지 납의 용해 및 이동이 있었으며, 식물이 이용할 수 있는 형태의 납은 EDTA 일괄 처리구에서 가장 많이 나타났다. PSM은 식물의 생장을 촉진시켰고 표토의 미생물 활성도를 높였으며, EDTA 분할주입은 일괄주입에 비해 식물체내 납 함량도 낮고 지하로의 EDTA 용출을 야기하였다. 따라서 납 오염 토양에 PSM을 처리하거나 성장 중/후반기에 EDTA를 일괄 주입하면 Phytoremediation 효율을 높일 수 있을 것이다.

#### 사 사

본 연구는 광해방지사업단의 광해방지기술개발사업비에 의하여 수행되었습니다.

#### 참고 문헌

1. Cao, X., Ma, L. Q., Chen, M., Singh, S. P., and Harris, W. G., "Impacts of phosphate amendments on lead biogeochemistry at a contaminated site," *Environ. Sci. Technol.*, **36**, 5296~5304(2002).
2. Cunningham, S. D. and Berti, W. R., "Phytoextraction and phytoestabilization: technical, economic, and regula-

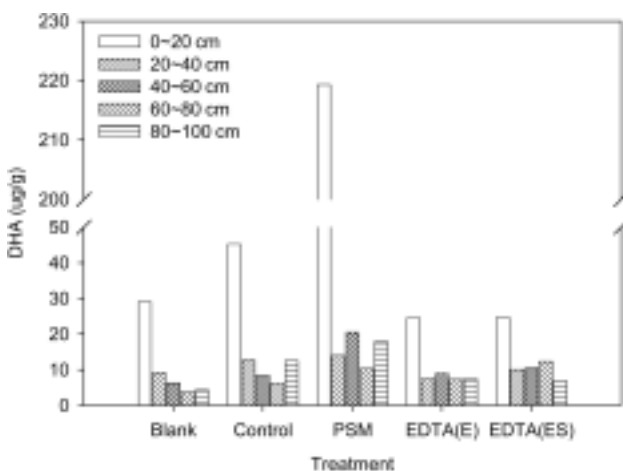


Fig. 5. Vertical profiles of microbial dehydrogenase activities in column soils under different treatments.

- tory considerations of soil-lead issue,” *Phytoremediation of Contaminated Soil and Water*, Terry, N., Banuelos, G.(Eds.), Lewis Publisher, Boca Raton, Florida, pp. 359~376(2000).
3. Zhou, Q. X. and Song, Y. F., *Principles and methods of contaminated soil remediation*, SciencePress, Beijing, pp. 215~219(2004).
  4. Susarla, S., Medina, V. F., and McCutcheon, S. C., “Phytoremediation: An ecological solution to organic chemical contamination,” *Ecological Engineering*, **18**, 647~658(2002).
  5. Grčman, H., Vodnik, D., Velikonja-Bolta, Š., and Leštan, D., “Ethylenediaminedisuccinate as a new chelate for environmentally safe enhanced lead phytoextraction,” *J. Environ. Qual.*, **32**, 500~506(2003).
  6. Blaylock, M. J., Salt, D. E., Dushenkov, S., Zakharova, O., Gussman, C., Kapulnik, Y., Ensley, B. D., and Raskin, I., “Enhanced accumulation of Pb in Indian Mustard by soil-applied chelating agents,” *Environ. Sci. Technol.*, **31**(3), 860~865(1997).
  7. Lasat, M. M., “Phytoextraction of metals from contaminated soil: A review of plant/soil/metal interaction and assessment of pertinent agronomic issues,” *Hazardous substance research*, **2**, 1~25(2000).
  8. Chen, Y. X., Lin, Q., Luo, Y. M., He, Y. F., Zhen, S. J., Yu, Y. L., Tian, G. M., and Wong, M. H., “The role of citric acid on the phytoremediation of heavy metal contaminated soil,” *Chemosphere*, **50**(6), 807~811(2003).
  9. Elless, M. P. and Blaylock, M. J., “Amendment optimization to enhance lead extractability from contaminated soils for phytoremediation,” *Int. J. Phytoremed.*, **2**(1), 75~89(2000).
  10. Chen, H. and Cutright, T., “EDTA and HEDTA effects on Cd, Cr, and Ni uptake by *Helianthus annuus*,” *Chemosphere*, **45**, 21~28(2001).
  11. Huang, J. W., Chen, J. J., Berti, W. B., and Cunningham, S. D., “Phytoremediation of lead-contaminated soils; role of synthetic chelates in lead phytoextraction,” *Environ. Sci. Technol.*, **31**, 800~805(1997).
  12. Kayser, A., Wenger, K., Keller, A., Attinger, W., Felix, H. R., Gupta, S. K., and Schulin, R., “Enhancement of phytoextraction of Zn, Cd, and Cu from calcareous soil: The use of NTA and sulfur amendments,” *Environ. Sci. Technol.*, **32**(9), 1778~1783(2000).
  13. Evangelou, M. W. H., Ebel, M., Schaeffer, A., “Chelate assisted phytoextraction of heavy metals from soil. Effect, mechanism, toxicity, and fate of chelating agents,” *Chemosphere*, **68**, 989~1003(2007).
  14. Lombi, E., Zhao, F. J., Dunham, S. J., and McGrath, S. P., “Phytoremediation of heavy metal-contaminated soils: Natural hyperaccumulation versus chemically enhanced phytoextraction,” *J. Environ.*, **30**, 1919~1926(2001).
  15. Romkens, P., Bouwman, L., Japenga, J., and Draaisma, C., “Potentials and drawbacks of chelate-enhanced phyto-remediation of soils,” *Environ. pollut.*, **116**, 109~121(2002).
  16. Nowack, B., “Environmental chemistry of aminopolycarboxylate chelating agents,” *Environ. Sci. Technol.*, **36**, 4000~4016(2002).
  17. Barac, T., Taghavi, S., Borremans, B., Provoost, A., Oeyen, L., Colpaert, J. V., Vangronsveld, J., van der Lelie, D., “Engineered endophytic bacteria improve phytoremediation of water-soluble, volatile organic pollutants,” *Nature and biotechnology*, **22**, 583~588(2004).
  18. Di Simone, C. D., Sayer, J. A., Gadd, G. M., “Solubilization of zinc phosphate by a strain of *Pseudomonas fluorescens* isolated from a forest soil,” *Biology and Fertility of Soils*, **28**, 87~94(1998).
  19. Majewska, M. and Kurek, E., “Effect of microbial activity on Cd sorption/desorption processes in soil polluted with various Cd sources,” *Geophysical Research Abstracts*, **7**, 04332(2005).
  20. Zhuang, X., Chen, J., Shim, H., and Bai, Z., “New advances in plant growth-promoting rhizobacteria for bioremediation,” *Environ. International*, **33**(3), 406~413(2007).
  21. Rodriguez, H. and Fraga, R., “Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion,” *Biotechnology Advances*, **17**, 319~339(1999).
  22. Saravanan, V. S., Madhaiyan, M., and Thangaraju, M., “Solubilization of zinc compounds by the diazotrophic plant growth promoting bacterium *Gluconacetbacter diazotrophicus*,” *Chemosphere*, **66**, 1794~1798(2007).
  23. Abou-Shanab, R. A., Ghazlan, H., Ghanem, K., and Moawad, H., “Behavior of bacterial populations isolated from rhizosphere of *Diplachne fusca* dominant in industrial sites,” *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, **21**, 1095~1101(2005).
  24. US Army, “Final Report on the demonstration results for the phytoextraction of lead contaminated soil at the Twin Cities army ammunition plant,” Report No. SFIM-AEC-ET-CR-200045(2007).
  25. Kim, S. H. and Lee, I. S., “Phytoremediation of Cu-contaminated soil and water by *Commelinacommunis*,” *Korean J. Ecol.*, **28**(1), 7~13(2005).
  26. 김성현, 이인숙, “구리 내성 식물에 관한 연구,” *한국생태학회지*, **27**(1), 43~47(2004).
  27. Xiong, Z. T., “Bioaccumulation and physiological effects of excess lead in a roadside pioneer species *Sonchus Oleraceus* L.,” *Environ. pollut.*, **97**(3), 275~279(1997).
  28. Epstein, A. L., Gussman, C. D., Blaylock, M. J., Yermiyahu, U., Huang, J. W., Kapulnik, Y., and Orser, C. S., “EDTA and Pb-EDTA accumulation in *Brassica juncea* grown in Pb-amended soil,” *Plant Soil*, **208**, 87~94(1999).