

Effect of Chemical Amendments on Soil Biological Quality in Heavy Metal Contaminated Agricultural Field

Yoo Chul Kim, Young Kyu Hong, Se Jin Oh¹, Seung Min Oh¹, Won Hyun Ji²,
Jae E. Yang¹, and Sung Chul Kim*

Department of Bio-environmental Chemistry, Chungnam National University, Daejeon, 305-764

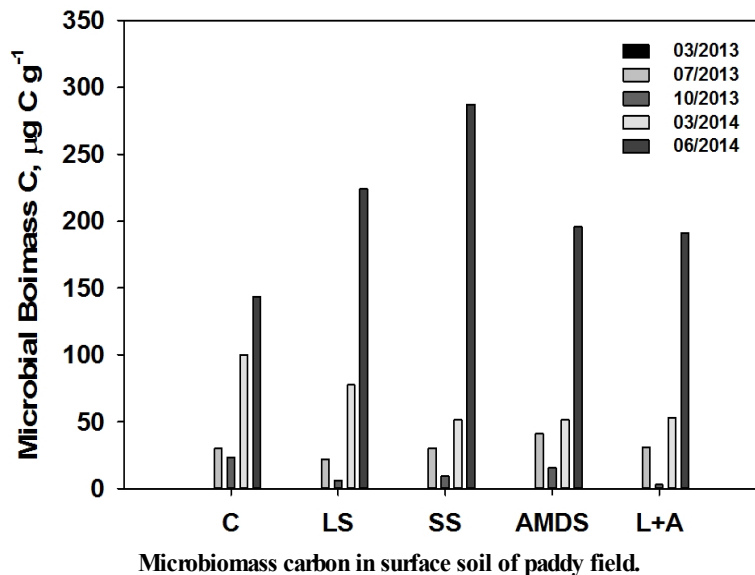
¹Department of Biological Environment, Kangwon National University, Chuncheon, 200-701

²Technology Research Center, Korea Mine Reclamation Corporation, Cheonan, 331-803

(Received: March 5 2015, Revised: April 16 2015, Accepted: April 18 2015)

Heavy metal pollution has been a critical problem in agricultural field near at the abandoned metal mines and chemical amendments are applied for remediation purpose. However, biological activity can be changed depending on chemical amendments affecting crop productivity. Main purpose of this research was to evaluate biological parameters after applying chemical amendments in heavy metal polluted agricultural field. Result showed that soil respiration (SR) and microbial biomass carbon (MBC) were changed after chemical amendments were applied. Among three different amendments, lime stone (LS), steel slag (SS), and acid mine drainage sludge (AMDS), AMDS had an effect to increase SR in paddy soil. Comparing to control (93.98-170.33 mg kg⁻¹ day⁻¹), average of 30% increased SR was observed. In terms of MBC, SS had an increased effect in paddy soil. However, no significant difference of SR and MBC was observed in upland soil after chemical amendment application. Overall, SR can be used as an indicator of heavy metal remediation in paddy soil.

Key words: Heavy metals, Soil respiration, Microbial biomass carbon, Biological activity



*Corresponding author : Phone: +82428216737, Fax: +82428216731, E-mail: sckim@cnu.ac.kr

[§]Acknowledgement: This research was supported by "Optimum Remediation Technology for Heavy Metal Stabilization and Soil Amelioration" through the Mine Reclamation Corporation (MIRECO) funded by the Ministry of Trade, Industry, and Energy.

Introduction

최근 휴폐광산 인근 수계 및 토양에서의 중금속 오염에 의한 문제점 등이 대두됨에 따라 이를 해결하기 위한 다양한 방법들이 모색되고 있다 (Muhlbachova et al., 2015). 중금속 오염으로 인한 환경적 문제점으로는 산성광산 배수 (AMD, Acid Mine Drainage)에 의한 주변 수계 환경의 황화 현상 (yellow boy) 또는 백화 현상 (whitening) 등이 있으며 토양 내 미생물의 생체량 감소와 같은 생태계 교란 등이 대표적이다 (Nwachukwu and Pulford, 2011). 환경의 중금속 오염은 인체의 건강에 영향을 미칠 수 있으며 특히 중금속 오염 농경지에서 재배된 농작물 내의 중금속 농도가 기준을 초과하여 체내에 축적될 경우 신경계 또는 호르몬의 활동 장애 및 암을 유발시키기도 한다 (Naseri et al., 2015).

중금속 오염 농경지를 복원하기 위해서는 물리, 화학, 생물학적 방법 등을 이용할 수 있다. 하지만 대부분의 오염 토양 정화 방법은 열 (heat) 또는 산성물질과 같은 화학물질을 사용하기 때문에 작물을 재배해야 하는 농경지에는 적용하기 어려운 실정이다 (Oh et al., 2011). 다양한 복원 방법 중 원위치적 (in-situ) 복원공법인 안정화공법은 처리 비용이 저렴하며 토양 내 중금속의 불용화 (immobilization) 효율성이 뛰어나고 토양 생태계에 미치는 영향이 적다는 장점이 있어 널리 이용되고 있다 (Castaldi et al., 2005; Gray et al., 2006; Friesl et al., 2003; Mench et al., 2006).

토양 미생물은 토양의 비옥도를 향상시키기도 하며 토양 내 유기물의 분해 및 영양분의 순환에 중요한 역할을 한다 (Kizikaya et al., 2004). 하지만 토양 내 높은 농도의 중금속은 미생물의 활성뿐만 아니라 단백질의 변형, 세포벽 파괴 등과 같은 미생물의 생리학적 기능을 저하시켜 궁극적으로 토양의 기능을 상실시키기도 한다 (Renella et al., 2007; Jiang et al., 2010; Leita et al., 1995). 따라서 미생물의 생체량, 호흡량, 그리고 잠재적 미생물의 활동에 의한 토양의 특성 변화 등은 토양의 오염도를 평가하는데 주요 지표로 사용될 수 있다 (Nwachukwu and Pulford, 2011).

본 연구의 주요 목적은 중금속 오염 농경지를 대상으로 안정화 복원 공법에 따른 생물상의 특성 변화를 관찰하여 안정화 복원 공법의 활용성을 평가하는 것이다.

Materials and Methods

시험구 설치 및 시료채취 중금속 오염 농경지의 화학적 안정화 공법 시용에 따른 생물학적 특성 변화를 모니터링 하기 위한 시료 채취 장소는 충북 단양에 위치한 유진광산 (N 37.01.52.32, E 128.14.36.32) 인근 농경지를 선택하였다. 화학적 안정화 공법을 적용하기 위한 안정화제는 석회석 (lime stone), 제강슬래그 (steel slag), 및 산성광산배

Table 1. Summary of constructed experimental plots in field.

Amendments	Mixing ratio	Treatments
Lime stone (LS)		1. Control
		2. Contaminated soil + 3% LS
Steel slag (SS)	3%	3. Contaminated soil + 3% SS
		4. Contaminated soil + 3% AMDS
AMD sludge (AMDS)		5. Contaminated soil + 3% (LS+AMDS)

수 슬러지 (acid mine drainage sludge)를 이용하였으며 처리 비율은 처리구의 토양 무게 대비 3%를 처리하였다. 처리구 설치 방법은 안정화제 표층혼합으로 오염토양 40 cm 층위에 안정화제 3%를 혼합한 후 임의배치법 (randomized method)을 사용하여 구성하였다. 각 처리구의 크기는 4 m² (2 m x 2 m, WxL)로 구성 하였으며 처리구에 대한 내용은 Table 1에 정리하였다.

처리구 설치 후 토양 시료는 표토 (0-30 cm)와 심토 (30-60 cm)로 구분하여 각각 2013년 3월부터 2014년 3월까지 12주, 28주, 56주 간격으로 채취하였으며 각 처리구별 시료는 같은 처리구에서 3개의 시료를 채취한 후 합하여 하나의 시료로 하여 분석에 사용하였다.

토양의 물리화학적 특성 및 중금속 분석 물리화학적 특성분석을 위한 시료는 풍건한 후 2 mm 체로 체거름하여 사용하였으며 생물학적 특성분석을 위한 시료는 습윤 상태를 유지하기 위해 냉장 보관한 후 7일 이내에 분석을 시행하였다.

토양의 특성 중 토성 (soil texture)은 hydrometer법에 의해 분석하였으며 화학적 질 평가 항목에 대한 분석은 국립농업과학기술원의 토양 및 식물체 분석법 (2000)에 준하여 실험하였다. 토양의 pH(1:5)와 EC(1:5)는 풍건토양 10 g에 증류수 50 ml을 가하여 30분간 진탕하고 Whatman No. 2로 여과시킨 후 pH meter (Orion mode 921A)와 EC meter (Orion model 50 conductivity meter)를 이용하여 각각 측정하였다. 수분 함량은 습토 30-40 g을 건조기에 넣고 105°C에서 24시간 건조한 후 건조전 무게와 건조후 무게의 차에 의해 계산하였다. 유기물 함량은 walkely-black 방법에 따라 1N K₂Cr₂O₇을 가하여 반응시킨 후 UV/Vis Spectrophotometer (UV 240 Shimadzu, Japan)로 파장 610 nm에서 비색 정량하였다. 유효인산 함량은 bray No.1 방법으로 추출하여 ammonium paramolybdate로 발색시킨 후 파장 660 nm에서 UV/Visible spectrophotometer를 이용하여 비색 정량하였다. 총 질소는 토양 1 g을 H₂SO₄-H₂O₂ 습식 분해 후 분해액을 Kjeltec system (2300 Kjeltec analyzer, FOSS)을 이용하여 측정하였다. 치환성 양이온은 1M NH₄OAc (pH 7.0) 용액으로 침출 후 AAS (Atomic Absorption Spectrophotometer,

Shmadzu, Japan)를 이용하여 Ca, Mg, K, Na의 함량을 측정하였다. 토양의 중금속 분석을 위한 전처리에는 토양오염공정시험법의 전함량 분석법 (aqua regia)에 준하였으며 기기 분석은 ICP-OES (Thermo, iCAP 6000 series, USA)를 이용하여 실시하였다.

토양의 생물학적 특성 분석 토양의 생물학적 특성인 토양호흡 (Soil respiration)과 미생물 생체량 (Microbial biomass C)의 측정은 일본 토양 미생물 연구회 (2002)에서 제안한 분석 방법에 준하여 수행하였다. 토양호흡은 습토 (건토중량 100 g)를 300 mL 용량의 플라스틱 용기에 취한 후 0.5 M NaOH가 들어있는 vial 병을 삽입하였으며, 밀봉 후 25°C에서 72시간동안 배양하였다. 배양 후 vial 병을 꺼내어 phenolphthalein을 지시약으로 1 M HCl을 사용하여 홍적색에서 무색으로 색이 변할 때까지 적정을 하였고, 다시 bromo-cresolgreen을 지시약으로 0.2 M HCl을 사용하여 푸른색에서 노란색으로 변할 때까지 적정한 후 소모된 0.2 M HCl의 양을 환산하여 CO₂의 양을 계산하였다.

미생물 생체량은 유리 비커에 습토 (건토 50 g 상당량)를 취한 후 클로로포름 약 50 mL와 비등석이 들어있는 유리비커 및 물을 채운 petri dish와 함께 진공 Desiccator에 넣어 뚜껑을 덮고 나서 진공펌프로 감압하였다. 클로로포름이 비등하기 시작하고 나서 3분 후 Desiccator의 밸브를 잠그고 이 상태로 25°C에서 압조건으로 24시간 정치 시켰다. 혼중 후 Desiccator의 밸브를 열어 공기가 들어가는 것을 확인하고 물이 들어있는 petri dish를 교체 해준 후 감압, 탈기를 여러 회 실시하여 클로로포름을 제거시킨다. 유리 비커에 담긴 혼중 토양을 250 mL 용량의 플라스틱 비커에 옮긴 후 비 혼중토양을 10배량의 증류수로 현탁 시킨 것을 주사기에 넣어 수회로 나누어 주입하고, 이 토양 시료를 토양호흡측정법에 준하여 배양하여 이산화탄소 발생량을 측정하였으며, 비 혼중 토양도 동시에 배양하고, 이산화탄소 발생량을 측정하였다.

Results and Discussion

공시 토양 특성 현장에 처리구를 설치하기 전 공시 토양의 특성은 Table 2에 정리하였다. 농경지(논)의 토양은 양토 (loamy)적 토성을 가지고 있었으며 수분함량 및 용적밀도는 각각 6.67%, 1.46 g cm⁻³으로 조사되었다. 토양의 화학적 특성 평가 결과 토양 pH, 유기물함량, 유효인산 등의 값이 각각 6.43, 17.43 g kg⁻¹, 200.88 mg kg⁻¹로 조사되어 국내 농경지 적정범위 안에 분포하는 것으로 조사되었다. 전함량 분석법에 의해 조사된 중금속 함량은 Cd, As, Pb, Zn의 함량이 각각 4.83, 291.11, 163.01, 307.39 mg kg⁻¹으로 Pb를 제외한 3종류의 중금속 함량이 토양오염 우려기준을 초과하였다.

처리구의 중금속 함량 현장 처리구에 대한 중금속의 함량 변화를 모니터링 하기 위해 단일 추출법인 0.1N HCl과 1.0N HCl 추출법을 이용하여 처리구의 중금속 안정화 효율성을 평가하였다. 전함량 분석법의 경우 안정화제 처리에 따른 중금속의 불용화 효율성을 판단하기 어려우며 다양한 추출방법 중 토양보전법에 의해 2010년 이전에 사용되었던 단일 추출법을 사용하여 처리구의 중금속 불용화 효율성을 평가하였다. 단일 추출법인 0.1N HCl을 이용하여 Cd, Pb, Zn의 중금속 함량을 모니터링한 결과 안정화제를 처리한 처리구의 중금속 유효태 함량이 대조구에 비해 모두 감소하는 것으로 조사되었다 (Fig. 1). 표토의 Cd 함량에 대한 안정화 효율성을 평가한 결과 대조구의 시기별 평균 농도인 0.75 mg kg⁻¹에 비해 석회석, 제강슬래그, 산성배수슬러지, 및 석회석+산성배수슬러지를 처리한 처리구의 평균 농도가 각각 0.55, 0.66, 0.75, 0.55 mg kg⁻¹으로 석회석 > 석회석+산성배수슬러지 > 제강슬래그 > 산성배수슬러지 순으로 안정화 효율성을 나타내었다. 심토에서의 카드뮴 (Cd)의 경우 대조구의 평균농도인 0.64 mg kg⁻¹과 비교하여 석회석, 제강슬래그, 산성배수슬러지, 및 석회석+산성배수슬러지의 평균 농도가 각각 0.44, 0.43, 0.63, 0.50 mg kg⁻¹으로 제강

Table 2. Physicochemical properties and heavy metal concentration of experimental paddy field.

Soil properties								
Sand	Silt	Clay	Bulk density	Water contents	pH	EC	Organic Matter	Avail. P ₂ O ₅
----- % -----			g cm ⁻³	%		dS m ⁻¹	g kg ⁻¹	mg kg ⁻¹
36.9	45.5	17.6	1.46	6.67	6.43	0.37	17.43	200.88
Concentration of heavy metals ^a								
Cd			As		Pb		Zn	
----- mg kg ⁻¹ -----								
4.83			291.11		163.01		307.39	

^aHeavy metal concentration is measured by aqua regia.

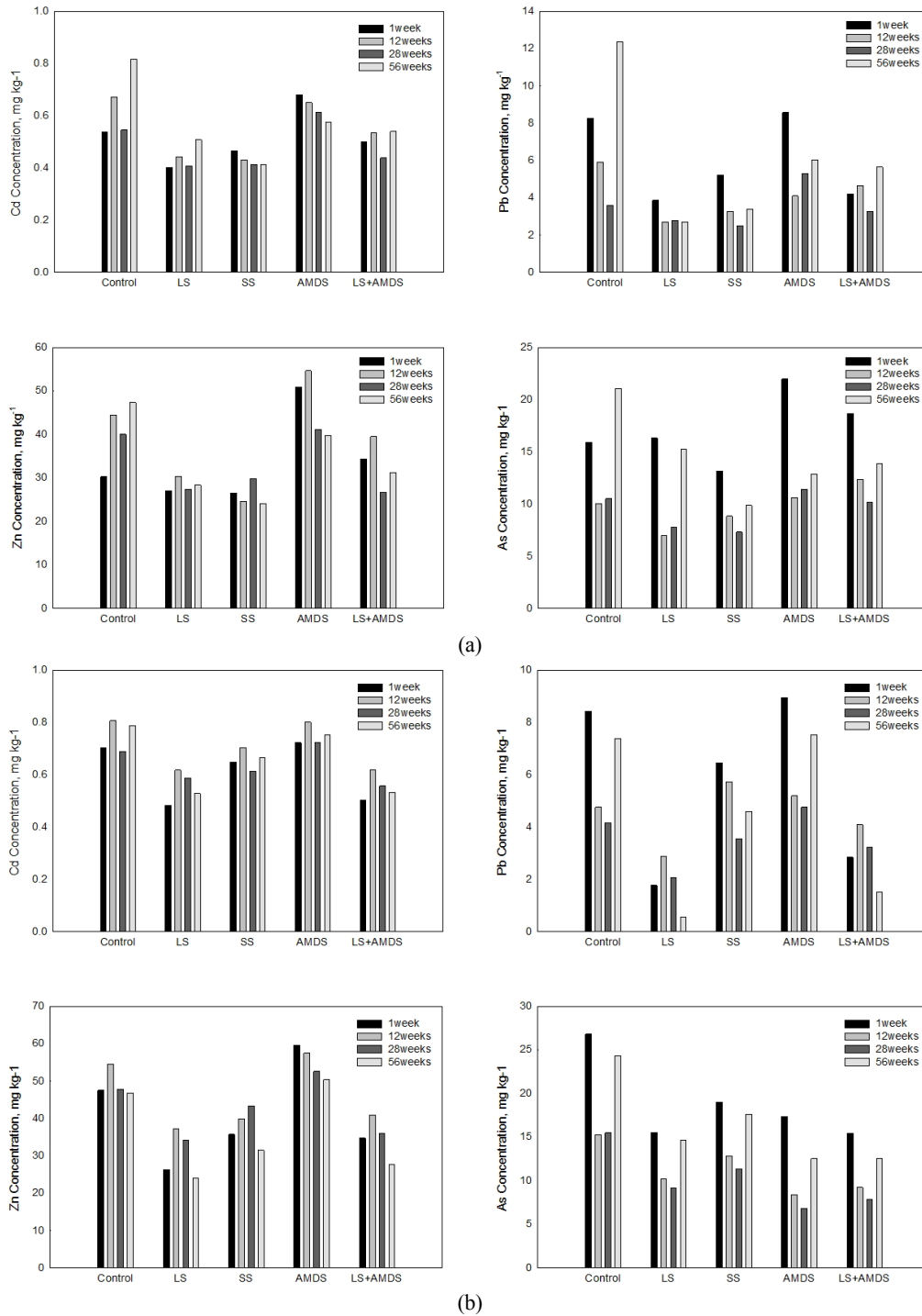


Fig. 1. Concentration of heavy metals extracted with 0.1N HCl for Cd, Pb, Zn and 1.0N HCl for As. (a) surface soil, (b) subsurface soil.

슬래그 (효율 33%)와 석회석 (효율 31%)의 안정화 효율이 가장 높았다. 납 (Pb)의 경우 표토와 심토 모두에서 다른 중금속 원소에 비해 가장 높은 안정화 효율성을 나타내었다. 특히 석회석의 경우 표토와 심토에서 대조구 (평균 농도 6.18, 7.53 mg kg⁻¹)에 비해 각각 70.6, 60.1%의 중금속 안정화 효율을 나타내었다. 납은 다른 중금속에 비해 pH가 높은 알칼리 조건에서 수산화기 (-OH)와 결합을 형성하는 속

도가 빨라 안정화제 중 가장 높은 토양 pH를 나타낸 석회석 (토양 pH 7.64)에서 중금속 안정화 효율이 가장 높은 것으로 사료된다 (Ye et al., 2015).

아연 (Zn)의 경우 표토와 심토 모두 산성배수슬러지를 제외한 나머지 처리구에서의 중금속 불용화 효율이 각각 23.5 - 38.0% (표토)와 18.7 - 35.2% (심토)로 나타났으며 산성 배수슬러지의 경우 다른 중금속에 비해 비소 (As)의 안정화

효율이 높은 것으로 조사되었다. 산성배수슬러지를 이용한 비소의 안정화 효율은 농경지 표토의 경우 대조구 (20.47 mg kg⁻¹)에 비해 44.9%가 저감하였다. 산성배수슬러지를 이용한 비소의 안정화 효율은 철산화물에 의한 공침 (co-precipitation)에 의해 주로 발생하며 산성배수슬러지 내의 철산화물에 의한 비소의 공침에 의한 안정화 효율이 높게 나타난 것으로 사료된다 (Banerjee et al., 2008; Kim et al., 2013). 안정화제에 따른 중금속의 불용화 효율성을 종합해 보면 Cd, Pb, Zn과 같은 양이온 중금속의 경우 토양의 pH를 상승시키는 석회석의 효율성이 높았으며 환경에서 음이온의 형태로 존재하는 As의 경우 산화철에 의한 공침 효과를 나타내는 산성배수슬러지의 안정화 효율성이 높았다.

토양 미생물 생체량 (Microbial biomass C) 및 토양 호흡 (Soil respiration) 논토양에 대해 안정화제를 처리한 후 시간에 따른 미생물 생체량 (MBC)을 모니터링한 결과 석회석과 산성배수슬러지를 혼합한 처리구의 표토를 제외한 모든 처리구의 표토와 심토에서 미생물 생체량이 대조구 (평균농도 74.3 mg C kg⁻¹)에 비해 증가하는 것으로 조사되었다 (Fig. 2). 표토의 경우 제강슬래그 (94.7 mg C kg⁻¹) > 석회석 (82.5 mg C kg⁻¹) > 산성배수슬러지 (76.0 mg C kg⁻¹) > 석회석+산성배수슬러지 (69.6 mg C kg⁻¹) 순으로

MBC가 증가하였으며 심토의 경우 석회석+산성배수슬러지 (125.8 mg C kg⁻¹) > 제강슬래그 (117.4 mg C kg⁻¹) > 석회석 (88.7 mg C kg⁻¹) > 산성배수슬러지 (85.2 mg C kg⁻¹) 순으로 미생물 생체량이 증가하였다. 처리구에 따른 MBC의 증가는 표토와 심토의 경향이 상이하였다. 표토의 경우 석회석+산성배수슬러지의 처리구 내 MBC의 양이 낮은 반면 심토에서는 가장 높은 것으로 조사되었다. 이러한 결과에 대한 명확한 이유는 밝혀지지 않았으나 논토양 심토와 같은 혐기적 조건에서는 산성배수슬러지의 유입에 따른 황환원 박테리아 (sulphate reducing bacteria)에 의한 MBC의 증가 가능성이 있을 것으로 사료된다 (Johnson and Hallberg, 2005).

안정화제 처리에 따른 토양호흡을 모니터링한 결과 시기별 평균 토양호흡은 대조구 (142.44 mg kg⁻¹ day⁻¹)와 비교하여 큰 차이를 보이지 않았다 (Fig. 3). 표토의 경우 안정화제 처리에 따른 토양호흡의 증가는 산성배수슬러지 (184.04 mg kg⁻¹ day⁻¹) > 석회석+산성배수슬러지 (156.75 mg kg⁻¹ day⁻¹) > 제강슬래그 (151.58 mg kg⁻¹ day⁻¹) > 석회석 (145.75 mg kg⁻¹ day⁻¹) 순이었으며 산성배수슬러지를 처리한 처리구의 토양호흡이 타 처리구에 비해 약 23% 높았다. 심토의 경우 안정화제 처리에 따른 토양호흡의 시기별 증가는 대조구에 비해 높지 않았다. 심토에서의 토양호흡은 제

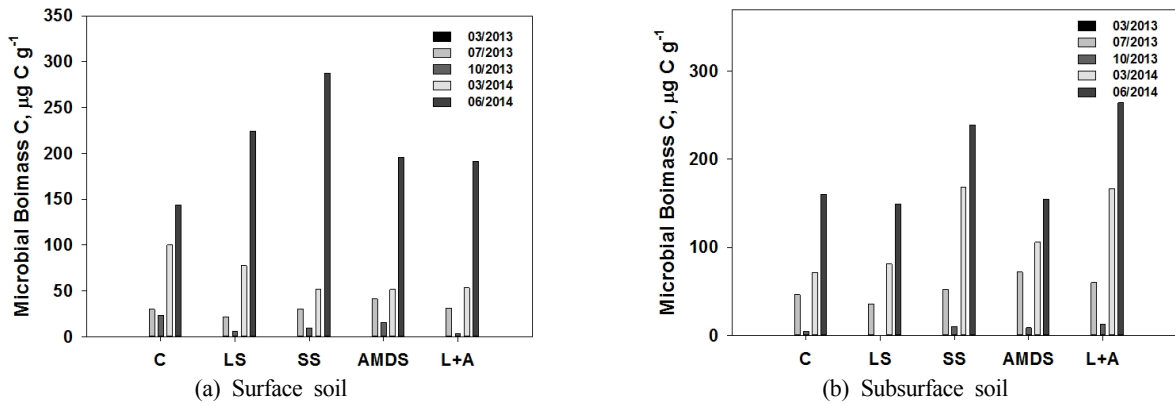


Fig. 2. Result of microbial biomass carbon in each treatments.

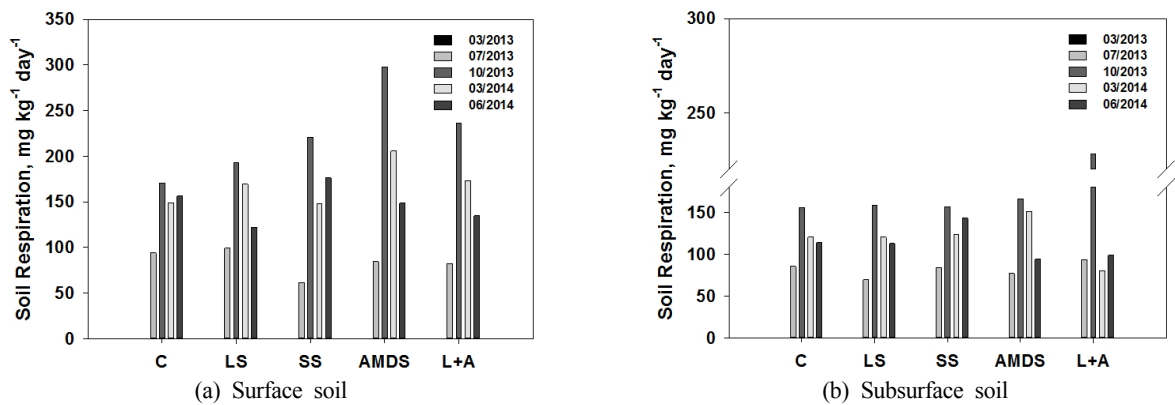


Fig. 3. Result of soil respiration in each treatments.

강슬래그 처리구가 대조구 ($118.90 \text{ mg kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$)에 비해 약 6% 정도 높았으며 다음으로는 석회석과 산성배수슬러지를 혼합한 처리구가 약 5% 정도 대조구에 비해 높았다. 안정화제 처리에 따른 생물학적 특성 변화를 종합해보면 석회석과 산성배수슬러지를 혼합처리한 처리구의 토양 호흡과 미생물 생체량이 대조구에 비해 높게 증가하는 것으로 조사되었다.

중금속 유효도와 토양 내 생물학적 특성의 상관관계
안정화제 처리에 따른 토양 내 중금속의 유효도 변화와 생물학적 특성인 미생물생체량과 토양호흡의 관계를 살펴보기 위해 중금속 원소별 토양 내 유효도와 생물학적 특성의 상관관계를 살펴보았다 (Fig. 4). 표토와 심토 모두 토양 내 중금속 유효도가 감소함에 따라 생물학적 특성이 증가하는 역의 상관관계를 나타내었다. 이는 중금속의 유효도가 감소함에 따라 미생물의 활동에 영향을 미치는 중금속의 독성이

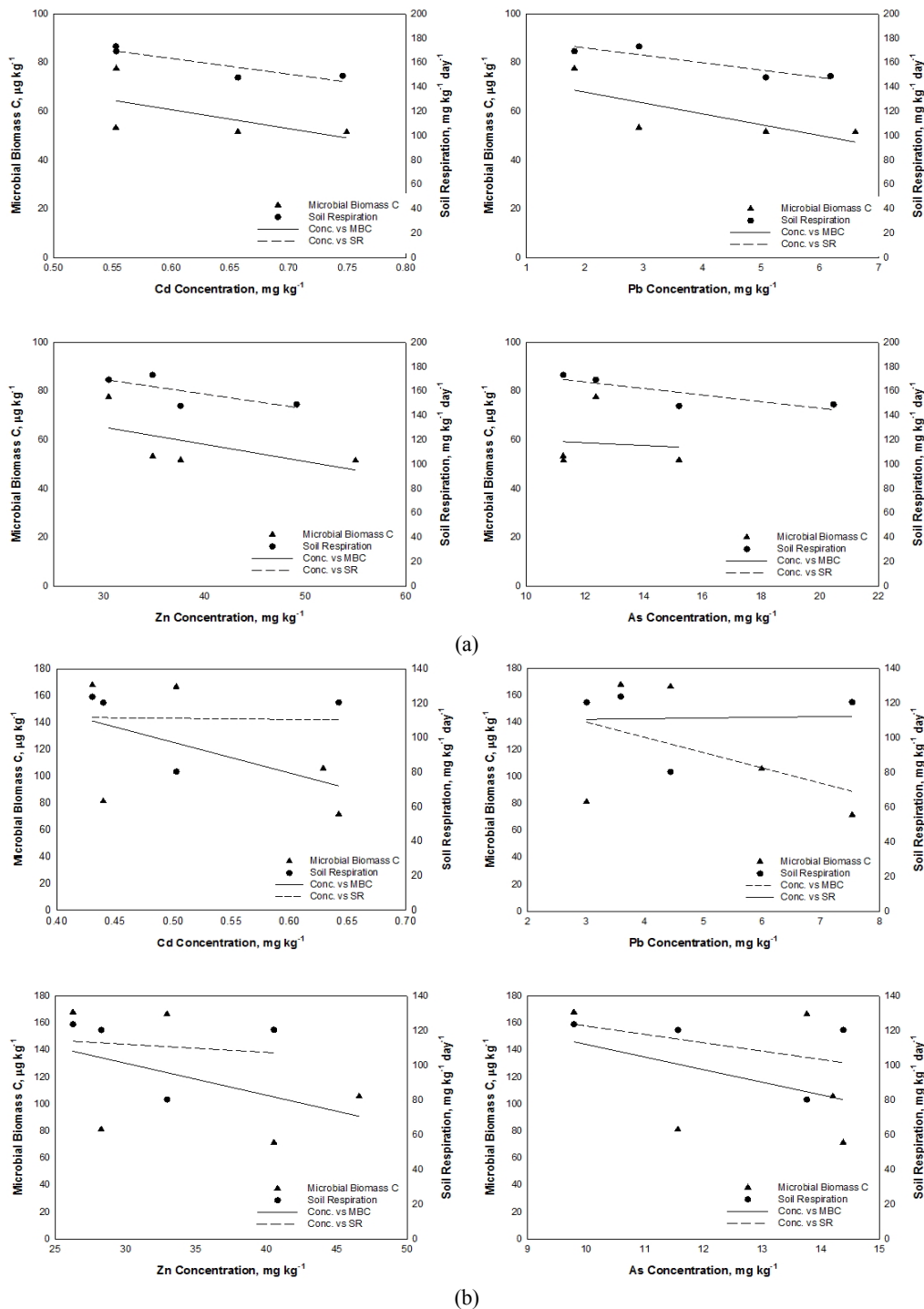


Fig. 4. Relationship between heavy metal concentration and soil biological properties.

낮아지는 것에 기인하며 안정화제 처리에 따른 토양 내 환경의 질이 향상된 것으로 사료 된다 (Nwachukwu and Pulford, 2011).

중금속의 원소에 따른 토양 내 생물학적 특성과의 상관관계를 살펴보면 심토보다는 표토에서의 역에 대한 상관관계가 명확하게 확인되었다. 특히 Cd과 Pb의 경우 토양 내 중금속의 유효도가 감소함에 따라 토양호흡이 증가하며 이에 대한 결정계수값 (R^2)이 각각 0.81, 0.82로 높은 상관관계를 나타내었다 (data is not shown). 선행연구에 의하면 토양호흡은 토양 내 탄소의 무기화 (mineralization) 변화를 측정하는 방법으로 중금속의 농도에 따라 민감하게 변화하여 중금속 농도에 따른 오염도를 평가하는 유용한 변수 중 하나이다 (Nwachukwu and Pulford, 2011). 본 연구의 결과 역시 중금속의 유효도 감소에 따른 토양호흡의 증가가 관찰되어 선행연구 결과와 유사한 결론을 도출하였다.

Conclusion

중금속 오염 농경지의 복원을 위한 화학적 안정화 공법은 현장 적용이 가능하고 공사 비용이 절감된다는 장점이 있다. 하지만 화학적 안정화 공법에 따른 토양의 생물학적 변화에 대한 연구는 미비한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 중금속 오염 농경지의 안정화 공법 적용에 따른 중금속의 유효도 변화와 생물학적 특성을 모니터링 하여 생물학적 특성 변화에 따른 안정화 공법 효율성의 판단가능성을 평가하였다. 중금속 오염 농경지에 석회석, 제강슬래그, 산성배수슬러지를 이용하여 안정화 공법을 시행한 결과 처리구에서 모두 중금속의 유효도가 감소하였다. 특히 석회석의 경우 양이온의 특성을 가진 Cd, Pb Cu의 안정화 효율이 높았으며 산성배수슬러지는 토양 내에서 음이온의 특성을 나타내는 As의 안정화 효율이 높았다. 중금속의 안정화 효율성에 따른 생물학적 특성과의 상관관계를 분석한 결과 표토와 심토 모두에서 중금속의 유효도가 감소함에 따라 토양호흡과 미생물 생체량과 같은 생물학적 특성이 증가하였다. 따라서 본 연구 결과를 바탕으로 중금속 오염 농경지에 대해 안정화공법 적용에 따른 생물학적 특성을 비교 평가하여 중금속의 유효도 감소에 대한 효율성을 판단할 수 있을 것으로 사료된다.

References

Banerjee, K., G.L. Amy, M. Prevost, S. Nour, M. Jekel, P.M. Gallagher, and C.D. Blumenschein. 2008. Kinetic and thermodynamic aspects of adsorption of arsenic onto granular ferric hydroxide (GFH). *Water Res.* 42:3371-3378.

Castaldi, P., L. Santona, P. Melis. 2005. Heavy metals immobilization by chemical amendments in a polluted soil and influence on white lupin growth. *Chemosphere.* 60:365-371.

Friesl, W., E. Lombi, O. Horak, and W.W. Wenzel. 2003. Immobilization of heavy metals in soils using inorganic amendments in greenhouse study. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 166:191-196.

Gray, C.W., S.J. Dunham, P.G. Dennis, F.J. Zhao, S.P. McGrath. 2006. Fields evaluation of in-situ remediation of a heavy metal contaminated soil using lime and red-mud. *Environ. Pollut.* 142:530-539.

Jiang, J., L. Wu, N. Ni, Y. Luo, L. Liu, Q. Zhao. 2010. Effects of multiple heavy metal contamination and repeated phytoextraction by *sedum plumbizincicola* on soil microbial properties. *Eur. J. Soil Biol.* 46:18-26.

Johnson, D.B., K.B. Hallberg. 2005. Acid mine drainage remediation options: a review. *Sci. Total Environ.* 338:3-14.

Kizikaya, R., T. Askin, B. Bayrakli, and M. Saglam. 2004. Microbiological characteristics of soils contaminated with heavy metals. *Eur. J. Soil Biol.* 40:95-102.

Ko, M.S., J.Y. Kim, J.S. Lee, J.I. Ko, and K.W. Kim. 2013. Arsenic immobilization in water and soil using acid mine drainage sludge. *Appl. Geochem.* 35:1-6.

Leita, L., M. de Nobili, G. Mublachova, C. Mondini, L. Marchiol, and G. Zerbi. Bioavailability and effects of heavy metals on soil microbial biomass survival during laboratory incubation

Mench, M., G. Renella, A. Gelsomino, L. Landi, and P. Nannipieri. 2006. Biochemical parameters and bacterial species richness in soils contaminated by sludge-borne metals and remediated with inorganic soil amendments. *Environ. Pollut.* 144:24-31.

Muhlachova, G., M. Sagova-Mareckova, M. Omelka, J. Szakova, and P. Tlustos. 2015. The influence of soil organic carbon on interactions between microbial parameters and metal concentrations at a long term contaminated site. *Sci. Total Environ.* 502:218-223.

Naseri, M., A. Vazirzadeh, R. Kazemi, and F. Zaheri. 2015. Concentration of some heavy metals in rice types available in Shiraz market and humn risk assessment. *Food Chem.* 175: 243-248.

Nwachukwu, O.I. and I.D. Pulford. 2011. Microbial respiration as an indicator of metal toxicity in contaminated organic materials and soil. *J. Hazard. Mater.* 185:1140-1147.

Oh, S. J., S.C. Kim, H.S. Yoon, H.N. Kim, T.H. Kim, K.H. Yeon, J.S. Lee, S.J. Hong, and J. E. Yang. 2011. Evaluating heavy metal stabilization efficiency of chemical amendment in agricultural field: Field experiment, *Korean J. Soil. Sci. Fert.* 44:1052-1062.

Renella, G., A.M. Chaudri, C.M. Falloon, L. Landi, P. Nannipieri, P.C. Brooks. 2007. Effects of Cd, Zn or both on soil microbial biomass and activity in a clay loam soil. *Biol Fertil. Soils.* 43:751-758.

Ye, X., S. Kang, H. Wang, H. Li, Y. Zhang, G. Wang, and H. Zhao. 2015. Modified natural diatomite and its enhanced immobilization of lead, copper, and cadmium in simulated contaminated soils. *J. Hazard. Mater.* 289:210-218.