

파일럿 규모의 실증실험 사례를 통한 구연산의 우라늄 식물 전이 효과 규명

한이경 · 이민희*

부경대학교 지구환경과학과

The Investigation for the Effects of Citric Acid on the Uranium Transfer into the Plants by the Pilot Scale Feasibility Test

Yikyong Han · Minhee Lee*

Department of Earth Environmental Sciences, Pukyong National University, Republic of Korea

ABSTRACT

The field feasibility tests for a phytoextraction process were performed to identify the effect of citric acid as a chelate on the uranium (U) transfer into the plant for the naturally U contaminated soil in Duckpyeongri, Korea. For the feasibility tests, lettuce and Chinese cabbage were cultivated for 49 days on four testing grounds (1 m × 1 m × 0.5 m in each) in 2016. The citric acid solution was added to two testing grounds (one for lettuce and the other for Chinese cabbage) increasing the U transfer in two crop plants and their results were compared to those without the citric acid solution. When without the citric acid solution, the U concentration of plant after the cultivation was low (< 45 µg/kg for leaves and < 450 µg/kg for roots). However, with the addition of 50 mM citric acid solution, the U concentration of lettuce leaves and roots increased by 24 times and 1.8 times, and the U concentration of Chinese cabbage leaves and roots increased by 86.7 times and 5.4 times. The absolute accumulated U amount (µg) in lettuce and Chinese cabbage also increased by 8.7 times and 50 times, compared to those without citric acid solution. Less than 8% of the U amount of exchangeable/carbonate phases was removed by using the lettuce and Chinese cabbage when the citric acid solution was not applied. However 52% and 66% of the U amount in exchangeable/carbonate phases were removed by the lettuce and the Chinese cabbage when the citric acid solution was added. The effect of the citric acid on the U transfer capability into the plants was quantitatively investigated by the field feasibility test, suggesting that U existing as exchangeable/carbonate phase in soil can be successfully removed by the phytoextraction process using Chinese cabbage with citric acid.

Key words : Citric acid, Phytoextraction, Removal efficiency, Sequential extraction procedure, Uranium

1. 서 론

식물추출법(Phytoextraction)은 식물의 전이 기작을 이용하여 토양으로부터 중금속을 식물 내에 농축하여 제거하는 친환경적인 식물재배 정화법으로 알려져 있다(Macek et al., 2000; Reeves and Baker, 2000; Antonkiewicz and Jasiewicz, 2002). 토양으로부터 식물로의 중금속 전이는 토양의 pH, 산화/환원 환경 등에 의존적이며, 다른 중금속 농도와 착화합물을 형성하는 리간드 등에 의해서도 영향을 받는다(Pabalan and Turner, 1997; Katsoyiannis et al., 2006). 식물 전이 과정에서 토양 내 중금속은 양이온

형태로 식물 뿌리 세포의 원형질막에 흡착되고, 목질부로 전이된 후 식물체의 세포층 내에서 유기화합물로 킬레이트화 되는데(Yang et al, 2005), 일부 중금속 중 아연, 니켈, 망간, 구리는 식물체가 필요로 하는 필수 원소로써 이온 형태로 식물체 내에 쉽게 전이되지만, 납, 카드뮴, 우라늄과 같은 원소는 금속킬레이트 복합체를 형성하여 주로 식물체의 세포막에 흡착하게 된다(Huang, 1992). 식물 전이에 의한 식물추출법의 중금속 농축효율은 미생물 활성화와 유전공학의 적용 또는 비료나 킬레이트제 등의 첨가에 의해 향상될 수 있는데(Bennett et al., 1998; Dhankèher et al., 2002; Huang et al., 1998; Souza et

*Corresponding author : heelee@pknu.ac.kr

Received : 2016. 11. 21 Reviewed : 2016. 12. 6 Accepted : 2016. 12. 21

Discussion until : 2017. 2. 28

al., 1999), 특히 킬레이트제 첨가는 식물이 중금속을 흡착하고 전이하기 위한 중금속 용해도와 생물활성도를 증가시키는 것으로 알려져 있다(Schmidt, 2003). 식물 전이 대상 원소에 따라 사용되는 킬레이트제는 다양한데, 세슘의 경우는 NH_4^+ , K^+ (Lasat, 1998), 납은 EDTA(Ethylene Diamine Tetracetic Acid: $C_{10}H_{16}N_2O_8$) (Kumar, 1995; Huang and Cunningham, 1996), 그리고 우라늄은 구연산을 사용하여 토양 내 우라늄의 용해도와 생물활성도를 증가시킬 수 있는 것으로 알려져 있다(Lozano et al., 2011, Han et al., 2014). Thayalakumaran et al.(2000) 과 Madrid et al.(2003)은 중금속으로 오염된 토양에서 식물정화법을 적용할 때 킬레이트제를 첨가하면 토양 내 중금속의 용해도를 증가시켜 식물의 중금속 흡수율을 높일 수 있다고 주장하였으며, Turgut et al.(2004)는 EDTA와 구연산을 킬레이트제로 사용하여 해바라기를 이용한 토양 내의 카드뮴, 크롬, 니켈의 흡수율을 높이는 실험을 실시하여 EDTA의 효과를 입증하였다. Mihalik et al. (2012)와 Duquène et al.(2009)은 구연산이 해바라기의 우라늄, 철, 아연 흡수율을 높이고, 인도겨자와 호밀풀에 의한 우라늄의 흡수율도 증가시키는 것으로 보고되었다. 식물의 우라늄 흡수율을 높이는데 사용된 구연산의 기작은 구연산의 OH기가 리간드로 작용하여 ‘우라닐’ 양이온과 반응하여 형성된 킬레이트화합물이 식물체의 세포층으로 전이하는 과정을 포함한다(Phillips et al.,1995).

구연산을 킬레이트제로 활용한 식물정화 이전의 연구들은 실험실 규모의 배치실험임에 반하여, 본 연구는 토양 내 자연 우라늄 함량이 높은 옥천지역의 실제 현장에서

과일릿 규모의 식물재배 시험구를 설치하여 작물을 재배함으로써 식물추출법에서 구연산의 효과를 현장실증실험으로 검증하고자 하였다. 또한 현장실증실험 결과와 실내 포트 실험 결과를 비교하여, 실제 우라늄 오염 부지에서 구연산이 식물추출법 제거효율에 미치는 영향을 규명하였다.

2. 실험 방법

2.1. 실증실험 지역 선정 및 지질 특성

실증실험 부지를 선정하기 위해 이전 연구자들에 의해 우라늄 함량이 높은 것으로 보고된(Kim and Chon, 1997; Lee et al, 1997; Shin and Kim, 2011) 옥천대 A, B, C지역의 임야와 농경지 10지점에서 토양을 채취하

Table 1. Soil type and uranium concentration of soil samples at Okcheon area

Sampling area	Soil type	Uranium concentration (mg/kg)
A	Farm land	28.85
A	Soil including tailings	69.25
A	Farm land	23.66
A	Mountain slope	42.58
B	Mountain slope	22.19
B	Farm land	5.07
C	Farm land	5.96
C	Mountain slope	25.56
C	Mountain slope	17.58
C	Farm land	4.53

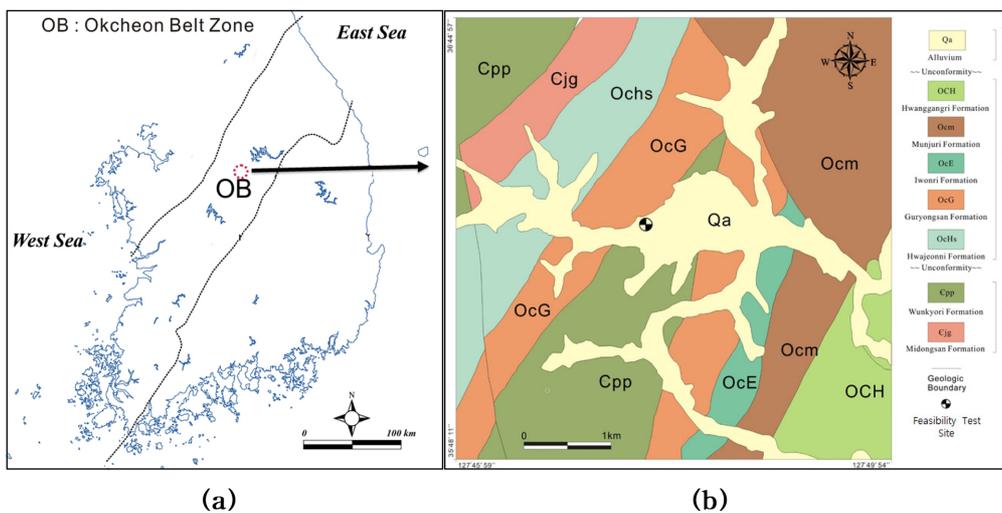


Fig. 1. Index map showing the Okcheon belt zone (OB) (a) and the geological map around the research area (b) (modified from Lee and Kim, 1972).

여 국내 토양오염공정시험기준에 준하여 전처리하고 우라늄 농도를 측정하였다(MOE, 2009)(Table 1). 분석 결과 우라늄 농도가 높으면서 식물재배가 가능한 충북 괴산군 A지역 산사면 지역을 본 연구를 위한 현장실증실험 지역으로 선정하여 식물재배 시험구를 설치하였다(Fig. 1).

국내 우라늄 농도가 높은 기반암이 분포하는 옥천대는 자연기원의 우라늄 오염 우려지역을 포함하여 남한 면적의 5.5%에 해당되며, 한반도 중부에 연장 170 km, 폭 80 m, 면적 5,100 km²으로 북동 해안에서 남동 해안까지 북동방향의 주향으로 존재한다. 옥천대 북동부는 고생대 지층이 분포하고 중생대 지층은 좁게 나타나며, 주로 석회암과 쇄설성 퇴적암으로 구성되어 있다. 중앙부에서 남서부에는 변성퇴적암류인 흑색 점판암, 천매암, 녹니석편암, 운모편암과 각섬암으로 구성되어 있어 북동부의 고생대층과 층서, 암상, 변성정도에 있어서 큰 차이를 나타내고 있다(Kim, 1982). 옥천대의 함우라늄 흑색 셰일층은 충북 증원군 이류면 탄용리에서 충북 괴산군 청천면 덕평리, 보은군 화북면 용수리에 이르고, 이곳에서 화강암피관입구역의 지나 다시 충남 금산군 추부면 아전리 부근 추부터널, 복수면 목소리에 이르는 총 90 km에 걸쳐 분포한다(Lee, 1986). 옥천대내 흑색 셰일(또는 점판암) 분포지의 암석, 토양, 하상퇴적물에 대한 우라늄 농도 분석 결과, 괴산지역, 보은지역, 금산지역 등에서 지표방사능과 우라늄 함량이 높은 것으로 확인되었다(Chon and Jung, 1991; Lee and Chon, 1980). 현장실증실험 지역인 괴산군 덕평리 일대는 오르도비스기의 이원리층(합력 사질 천매암), 구룡산층(흑색 점판암 및 셰일: 주요 함우라늄 지층) 및 화전리층(결정질 석회암, 석탄질 점판암)이 분포하며, 운교리층(사질천매암)이 구룡산층을 양분하고 있다. 흑색 셰일 주변은 암회색의 토양이 분포하며 이원리층 및 화전리층의 토양에서는 밝은 갈색 내지 암회색을 띤다(Chon and Jung, 1991). 구룡산층 내 흑색 셰일 및 점판암에는 우라늄과 저품위 탄층이 배태되어 있어 폐석탄 광산이 위치하고 있고, 과거 우라늄 개발을 위한 갱도 굴진 및 사면 절단을 한 채굴적이 존재한다(Lee, 1986).

본 현장실증실험 지역인 A지역 산사면은 과거 우라늄과 석탄을 채굴하였던 지점과 가까운 지역으로 흑색셰일과 점판암으로부터 풍화된 미성숙 토양(Inceptisols)으로 이루어져 있다.

2.2. 실증실험 지역의 토양 특성 규명 실험

2.2.1. 토양의 물리화학적 특성 규명 실험

실증실험 지역의 토양 특성을 파악하기 위하여 실증 시

험구 토양의 토성(Soil texture), 수소이온 농도(pH), 총유기탄소함량(TOC: Total Organic Carbon content), 양이온교환능력(CEC: Cation Exchange Capacity), 총질소(T-N: Total Nitrogen) 및 총인(T-P: Total Phosphorus) 농도, 우라늄 농도 등을 분석하였다. 토성은 자동 체분석기와 토양입자의 크기에 따른 침강속도차를 이용한 피펫팅(pipetting)법을 이용하여 측정된 입도 분석 결과로부터 미농무성에서 제시한 토성삼각법(soil texture triangle)으로 결정하였으며, 수소이온농도는 국내 토양오염공정시험기준에 준하여 pH 전극(Orion 3-Star Plus pH Meter)을 이용하여 측정하였다. 총유기탄소함량은 Walkley-Black법으로 분석하였고, 양이온교환능력은 Ammonium acetate 법으로 분석하였다. 총질소의 농도는 Kjeldahl 법으로 정량해서 단백질/질소 자동분석기(Kjeltec auto 2400/8400 System, Tecator AB)를 이용하여 분석하였으며, 총인의 농도는 질산-염산에 의해 분해하여 ICP(Thermo, ICAP 7400)를 이용하여 분석하였다. 토양의 우라늄 농도는 토양오염공정시험기준에서 제시한 왕수추출법인 전함량법에 따라 전처리를 한 후 ICP-MS(Perkin elmer, Elan 6100, FIMS 400)로 분석하였다(MOE, 2009).

2.2.2. 토양 내 우라늄 용출 실험

실증실험 지역의 토양 내 우라늄의 용출 특성을 파악하기 위하여 인공강우용출 실험(SPLP: Synthetic Precipitation Leaching Procedure)과 독성물질용출 실험(TCLP: Toxicity Characteristic Leaching Procedure)을 실시하였다. 인공강우용출 실험은 토양으로부터 강우 및 지표수에 의한 토양의 우라늄 용출량을 예측하여 오염 확산 가능성과 토양 내 우라늄의 안정성을 규명하기 위하여 'USEPA 1312법'에 따라 실시하였다. 토양을 30°C에서 건조한 후 표준체(직경 4.75 mm)를 통과한 오염토양과 용출액(extraction fluid) 비는 1:20(W/V)의 비율(오염 토양시료 5 g vs 용출액 100 mL)로 하여 250 mL 반응용기에 혼합하였다. 용출액은 H₂SO₄/HNO₃(60:40 W%) 용액을 사용하여 증류수 100 mL의 pH를 5.00 ± 0.05로 조절한 후 사용하였으며, 회전속도가 30 rpm인 회전 장치에 장착하여 20시간 동안 용출시켰다. 용출액은 Whatman No. 40 여과지를 이용하여 액상과 고상을 분리하고, 분리된 액상 시료의 우라늄 농도를 ICP-MS를 이용하여 분석하였다(USEPA Method 1312, 1994). 독성물질용출 실험은 'USEPA 1311법'에 따라 5.7 mL 아세트산과 64.3 mL 1N NaOH와 증류수를 첨가한 500 mL 용출액을 사용하였다. 5 g의 토양과 용출액 400 mL(초산을 이용하여 pH

Table 2. The methods of sequential extraction procedure test

Extraction step	Chemical form	Extraction fluid & Process
Step 1	Exchangeable cations	8 mL of 0.5 M MgCl ₂ in 50 mL polycarbonate centrifuge tubes for 1 h and centrifuged at 2000 rpm for 15 min
Step 2	Carbonates	8 mL of 1 M acetic acid-sodium acetate buffer solution at pH 5 for 5 h
Step 3	Fe & Mn oxides	20 mL of 0.04 M NH ₂ OH.HCl in 25% acetic acid at 96°C for 6 h
Step 4	Organic matter	3 mL of 0.02 M HNO ₃ and 5 mL of 30% H ₂ O ₂ at 85°C for 2 h
Step 5	Residual	10 mL of 15% H ₂ O ₂ at 75-80°C for 15 h

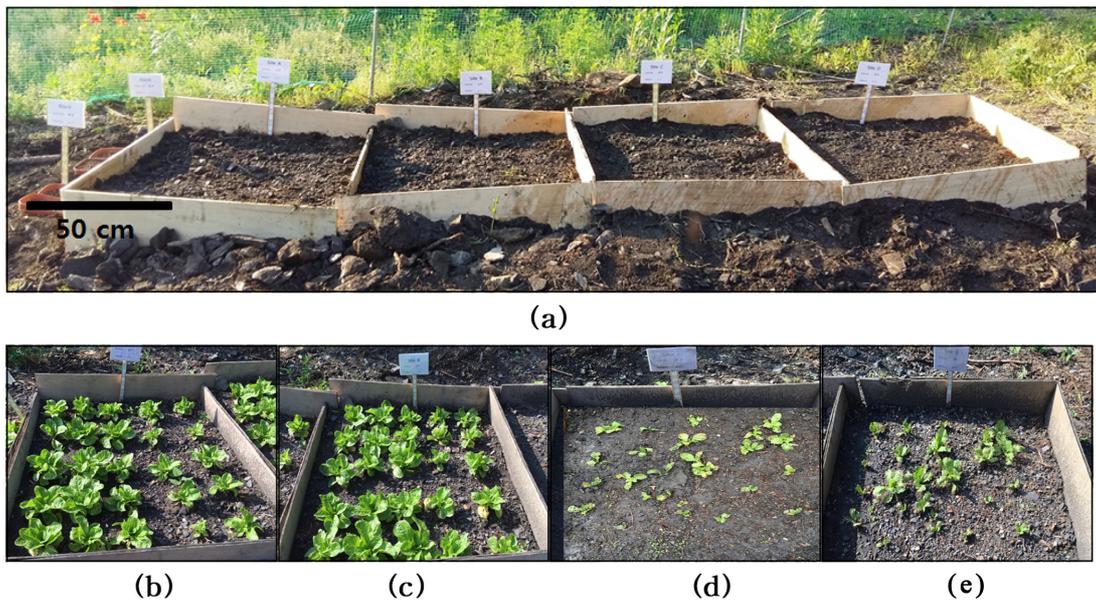


Fig. 2. Photographs of the pilot scale feasibility test for phytoextraction ((a) Four feasibility testing grounds, (b) Lettuce without citric acid, (c) Lettuce with citric acid, (d) Chinese cabbage without citric acid and (e) Chinese cabbage with citric acid).

2.88로 적정한 수용액을 혼합한 후, Hag rotator(HAG-220)를 사용하여 30 ± 2 rpm의 교반속도로 약 18시간 동안 용출하였다. 용출액은 Whatman No. 40 여과지를 이용하여 액상과 고상을 분리하고, 분리된 액상시료의 우리늄 농도를 ICP-MS를 이용하여 분석하였다(USEPA Method 1311, 1994).

2.2.3. 토양 내 우리늄 연속추출 실험

식물이 토양 내에 존재하는 모든 우리늄을 농축할 수 있는 것은 아니므로 토양 내 우리늄 존재형태와 토양으로부터 식물로 전이 가능한 우리늄량을 규명하기 위하여, Tessier et al.(1979)와 Jung(1994)이 제시한 방법으로 현장실증실험 지역의 토양 시료를 대상으로 연속추출 실험(Sequential Extraction Procedure)을 실시하였다. 연속추출 방법은 5가지의 연속 추출액을 이용하여 토양 내 우리늄을 교환성이온 형태(1단계), 탄산염결합 형태(2단계), 환원성

철/망간산화물 형태(3단계), 산화성 유기물/황화물 형태(4단계), 광물격자 내 잔류상 형태(5단계)로 분류하고, 각 단계별 추출액의 우리늄량을 측정하여 토양 내 우리늄량을 5단계별 중량비로 나타낼 수 있는 정량적인 방법이다 (Table 2). 각 단계별 추출액의 우리늄 용출량을 왕수법으로 용출한 총 우리늄 함량과 비교하여 토양 내 우리늄의 존재 형태별 질량비를 계산하였다. 자연 풍화 작용에 의해 토양으로부터 용출 가능한 토양 내 우리늄 존재 형태를 1단계와 2단계 형태(교환성이온/탄산염결합 형태)로 가정하고(Han et al., 2014), 이 두 단계에 해당되는 우리늄량을 식물 전이에 의해 제거가 가능한 총 우리늄 제거량으로 설정하여 식물추출법의 우리늄 제거효율(%)을 계산하였다.

2.3. 현장실증실험

2.3.1. 파일럿 규모의 현장실증실험 설계

실제 식물재배 현장에서 구연산 용액 첨가에 의한 우리

농 식물 전이능 변화를 규명하기 위하여, 우라늄 함량이 높은 A지역의 산사면 토양에 파일럿 규모의 현장 식물재배 시험구(crops testing ground)를 설치하였다. 선행 배치 실험 결과(Han et al., 2014) 우라늄 제거효율이 높았던 국내 주요 재배 작물인 상추(*Lactuca sativa* L.)와 배추(*Brassica campestris* L.)를 이용하여 2016년 6~7월 중 49일 동안 온도 25~32°C, 습도 43~87%의 자연 환경 조건에서 식물재배 실험을 실시하였다. 식물재배를 위해 1.2 cm 두께의 합판을 이용하여 가로 1 m × 세로 1 m × 깊이 0.5 m 크기의 시험구 4개를 제작하였다(Fig. 2(a)). 각각 2개의 시험구에 상추와 배추 씨앗을 가로 세로 10 cm 간격을 두고 표토 1 cm 깊이로 파종하였다(Fig. 2). 토양으로부터 식물의 우라늄 제거효율을 높이기 위하여 선행 배치실험 연구(Han et al., 2014)에서 효과가 높았던 50 mM 구연산 용액 2 L를 킬레이트제로서 식물 수확 일주일 전부터 이틀 간격으로 상추와 배추를 재배하는 각 1개 시험구(Fig. 2(c)와 2(e))의 토양 상부에 분사하였다(시험구당 총 6 L).

2.3.2. 식물추출법의 우라늄 제거량과 제거효율 계산

현장실증실험 지역에서 49일 동안 재배한 식물의 잎과 뿌리를 채취하여 습식분해법(NIAST, 2000)으로 식물 부위별 우라늄 농도를 분석하였다. 식물 부위별로 분리한 시료 1 g을 300 mL 비이커에 넣고 10 mL 질산(HNO₃)을 첨가하여 10시간 정치시켰다. 갈색 연기가 모두 날아 갈 때까지(유기물 분해) 1 mL 과산화수소수를 넣고 180°C 이하에서 1차 산 분해를 실시한 후 무색이 될 때까지 160~200°C에서 서서히 가열하였다. 0.5% 질산을 사용하여 최종 분해액의 부피를 10 mL로 맞춘 후, Whatman No. 40 여과지를 사용하여 여과한 여액의 우라늄 농도를 ICP-MS로 측정하여 식물의 부위별 우라늄 농도를 분석하여 식물의 우라늄 제거량과 제거효율을 계산하였다. 또한 현장실증실험과 동일한 토양과 식물을 이용하여 식물생장기 내에서 실내 포트 실험을 수행한 결과와 현장실증실험 결과를 비교하였다. 실내 포트 실험을 위하여 30 cm × 10 cm × 11 cm 크기의 플라스틱 포트를 사용하여 하부에 1 cm 두께로 마사토를 채우고 그 위에 현장실증실험 부지의 토양 3.3 kg을 충전하여 총 6개의 식물재배 포트(control 토양 2개 포트 포함)를 제작하였다. 각각 2개의 포트에 상추(*Lactuca sativa* L.)와 배추(*Brassica campestris* L.) 씨앗을 심어 발아시키고, 매일 200 mL의 수분을 공급하여 전체 토양 수분 함량이 약 20~30%가 유지되도록 조절하였다. 식물생장기의 조건을 온도 25°C, 습도 70%,

조도 4000 Lux(16시간/일), CO₂ 농도 600 ppm으로 유지한 후 식물 포트를 식물생장기 내에 정치시켜 49일 동안 식물을 재배하였다. 식물 수확 일주일 전부터 이틀 간격으로 상추와 배추 각 1개 포트에 50 mM 구연산 용액 300 mL를 분사하여, 구연산 용액을 킬레이트제로 첨가한 포트 토양과 첨가하지 않은 포트 토양에서 재배된 식물의 잎과 뿌리의 우라늄 농도를 분석하였다.

현장실증실험 지역에서 식물추출법에 의한 식물 부위별 우라늄 제거량은 재배한 식물에 농축된 우라늄 농도로부터 아래 식(1)을 이용하여 계산하였다.

$$\text{Absolute removal amount} = M_u \times M_d \quad (1)$$

여기서 M_u 는 식물체의 부위별 우라늄 농도($\mu\text{g}/\text{kg}$), M_d 는 시험구에서 재배된 식물체 부위별 총 건조 단위질량(g)을 의미한다.

실내 포트 실험에 의한 우라늄 제거효율은 포트 내 토양 3.3 kg에서 재배한 식물에 농축된 총 우라늄량과 토양 내 교환성이온/탄산염결합 형태에 해당되는 우라늄량(μg) 사이의 질량분배율로부터 구하였다(식 (2) 참조).

$$\text{Removal efficiency (\%)} = 100 - \left[\left(\frac{U_s - U_p}{U_s} \right) \times 100 \right] \quad (2)$$

여기서 U_s 는 토양 내 교환성/탄산염결합 형태로 존재하는 우라늄량(μg), U_p 는 식물체의 우라늄량(μg)을 의미한다.

현장실증실험에서 식물추출법의 우라늄 제거효율은 토양 내 생물학적 이용 가능성이 높은 교환성이온/탄산염결합 형태에 해당되는 우라늄량을 토양으로부터 식물로의 전이가 가능한 총 우라늄량(제거효율 100%)으로 가정하여, 식물추출법 실험 전후 현장실증실험 지역 토양의 우라늄 농도($\mu\text{g}/\text{kg}$)를 분석하여, 식 (3)을 이용하여 계산하였다.

$$\text{Removal efficiency (\%)} = \left(\frac{U_i - U_f}{U_i} \right) \times 100 \quad (3)$$

여기서, U_s 는 토양 내 교환성이온/탄산염결합 형태로 존재하는 우라늄 농도($\mu\text{g}/\text{kg}$)를 나타내며, U_f 는 식물재배 후 토양 내 교환성이온/탄산염결합 형태로 존재하는 잔류 우라늄 농도($\mu\text{g}/\text{kg}$) 나타낸다. 킬레이트제로서 구연산 용액을 첨가한 경우와 첨가하지 않은 경우, 식물추출법에 의한 우라늄 제거효율을 비교하여, 구연산 용액이 우라늄의 식물 전이에 미치는 영향을 규명하였다.

Table 3. Properties of the soil for the feasibility field test

Soil texture	U conc. (mg/kg)	pH	TOC (%)	CEC (cmol/kg)	T-N (%)	T-P (mg/kg)
Sand	42.58	4.91	5.43	19.70	0.39	1661.04

3. 실험 결과

3.1. 실증실험 지역의 토양 특성 규명 결과

3.1.1. 토양의 물리화학적 특성

현장실증실험 지역 토양의 특성 분석 결과는 Table 3에 나타나있다. 토양의 평균 우라늄 농도는 42.58 mg/kg이고 pH는 4.91으로 약산성 토양이었다. 토양 입도 분석 결과, 모래 입자가 95.62%, 미사질 입자는 3.72%, 점토 입자가 0.66%를 차지하는 사질 토양이었다. 총유기탄소함량은 5.4%로 우리나라 토양의 평균 함량(2.2~2.4%)의 2배이었다. 양이온치환용량, 총인, 총질소 함량은 각각 19.70 cmol/kg, 1661.04 mg/kg, 0.39%로, 양이온치환용량과 총인 함량은 우리나라 일반 농경지 토양의 평균인 7.7~10.9 cmol/kg와 73~123 mg/kg보다 높았다(RDA, 1989). 본 현장실증실험 지역의 토양은 흑색세일과 점판암이 풍화된 미성숙 토양(Inceptisols)으로 이루어져 있는 산사면 풍화 토양으로, 입도분석결과 사질토양에 해당되지만 기반암인 흑색세일과 점판암의 영향으로 유기탄소함량과 양이온치환용량이 높아 작물재배가 가능하고 자연 우라늄함량이 높아서 식물추출법실험에 적합한 장소로 판단되었다.

3.1.2 토양 내 우라늄 용출 실험

토양 내 우라늄 용출 실험 결과, 인공강우 용출액의 우라늄 농도는 20.01 µg/L, 독성물질 용출액의 우라늄 농도는 58.10 µg/L로 나타나, 자연 강우나 지표수에 의해 토양으로부터 우라늄이 용출하여 짧은 시간 내 주변 수계를 오염시킬 가능성은 적으나, 실증실험 부지 토양 내 우라늄 농도가 42.58 mg/kg이며 음용수 기준 허용 농도가 30 µg/L인 것을 감안하면 지속적인 용출에 의한 수계와 토양 오염 가능성이 있다고 판단되었다.

3.1.3. 토양 내 우라늄 연속추출 실험

토양으로부터 식물 전이 가능성이 높은 교환성이온/탄산염결합 형태로 존재하는 우라늄량을 측정하기 위하여 5 단계별 연속추출 실험을 실시하였으며, 실험 결과는 Fig. 3에 나타나있다. 현장실증실험 지역 토양 내 교환성이온 형태(1단계)로 존재하는 우라늄 농도는 12.77 µg/kg, 탄산염결합 형태(2단계)는 10,627.97 µg/kg, 환원성 철/망간산화물 형태(3단계)는 698.31 µg/kg, 산화성 유기물/황화물

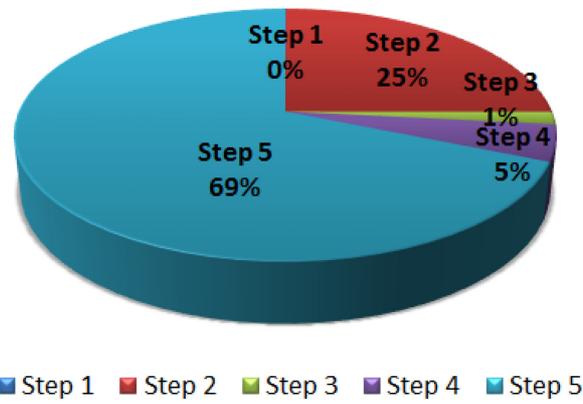


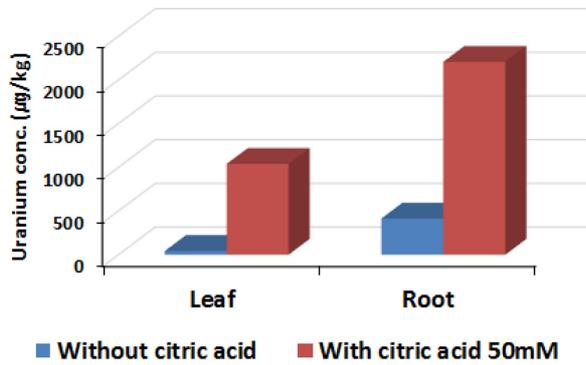
Fig. 3. Result of the sequential extraction procedure for the soil.

형태(4단계)는 1,984.22 µg/kg, 광물격자 내 잔류상 형태(5 단계)의 농도는 29,256.72 µg/kg이었다. 현장실증실험 부지 토양 내 존재하는 우라늄의 75.01%는 수계 용출에 비교적 안정된 형태인 철/망간 산화물 형태(1.64%), 유기물 황화물 형태(4.66%), 광물격자 내 잔류상 형태(68.71%)로 존재하였으나, 토양으로부터 식물 전이 가능성이 높은 교환성이온 형태(0.03%)와 탄산염결합 형태(24.96%)의 우라늄 비율은 24.99%로 나타나, 장기간 동안 토양으로부터 용출될 수 있는 우라늄량도 상당히 많은 것으로 나타났다.

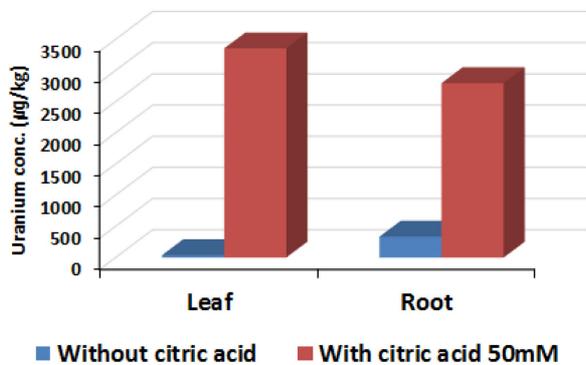
3.2. 현장실증실험 결과

3.2.1. 구연산 첨가에 따른 우라늄의 식물 전이

식물추출법을 적용한 현장실증 시험구중에서 구연산 용액을 첨가한 토양과 첨가하지 않은 토양에서 재배된 식물의 잎과 뿌리의 우라늄 농도를 분석한 결과는 Fig 4에 나타내었다. 현장실증 시험구 내 구연산 용액을 첨가하지 않은 토양에서 49일 동안 재배한 상추 잎과 뿌리의 우라늄 농도는 각각 42.90 µg/kg과 415.00 µg/kg이었으며, 배추 잎과 뿌리의 우라늄 농도는 38.70 µg/kg과 335.00 µg/kg이었다. 토양으로부터 식물의 우라늄 흡수율을 높이기 위해 50 mM 구연산 용액을 첨가한 토양에서 재배한 상추 잎과 뿌리의 우라늄 농도는 각각 1040.00 µg/kg과 2,208.00 µg/kg로 증가하였으며, 배추 잎과 뿌리의 우라늄 농도도 3,355 µg/kg과 2,797.00 µg/kg로 크게 증가하였다. 구연산 용액을 첨가하지 않은 토양에서 재배한 식물체의 경우 우라늄은 대부분 뿌리에 농축되었고 잎으로는 매우



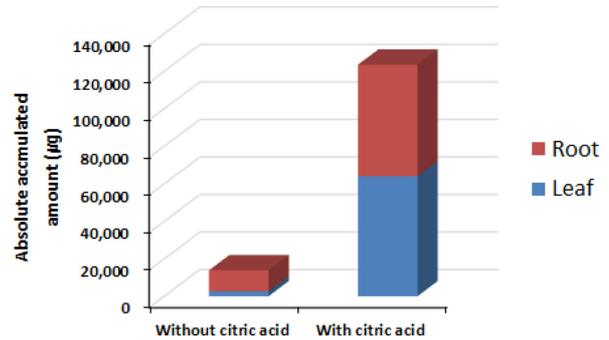
(a) Lettuce



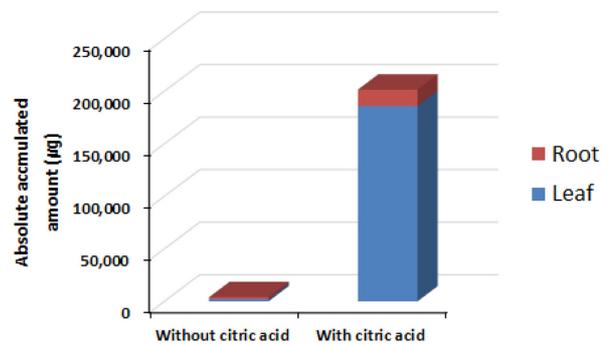
(b) Chinese cabbage

Fig. 4. Uranium concentrations in leaves and roots of plants after 49 days of phytoextraction.

적은 양이 전이되었다. 구연산 용액을 첨가한 경우 상추 잎과 뿌리의 우라늄 농도는 각각 24배와 5.3배로 증가하였으며, 배추 잎과 뿌리의 우라늄 농도도 86.7배와 8.4배로 증가하여 구연산 용액 첨가에 의해 우라늄의 식물 전이능이 매우 향상되었으며, 특히 잎으로의 우라늄 전이가 구연산 용액 첨가에 의해 크게 활성화됨을 알 수 있었다. A지역 밭토양에 50 mM 구연산 용액을 첨가한 경우 배추 잎의 우라늄 농도가 50배 증가하고 뿌리의 우라늄 농도는 8.9배 증가한 선행 배치실험 결과(Han et al., 2014)와 비교했을 때, 본 실증실험 부지에서 재배한 식물의 우라늄 농도가 많이 증가한 이유는 실증 시험구 토양 내 교환성 이온/탄산염결합 형태로 존재하는 우라늄 비율(24.99%)이 선행 연구 지역인 A지역 밭토양 내 교환성이온/탄산염결합 형태로 존재하는 우라늄 비율(13.40%)보다 높기 때문으로 판단된다. 특히 구연산 용액을 첨가했을 때 잎의 우라늄 농도가 많이 증가하는 이유는 토양에 주입된 구연산이 토양 내 ‘우라닐’ 양이온과 반응하여 금속킬레이트 복



(a) Lettuce



(b) Chinese cabbage

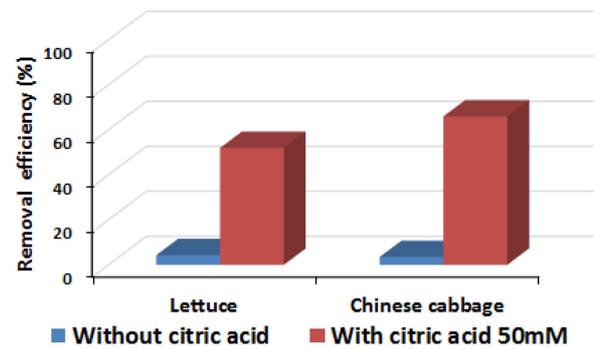
Fig. 5. Absolute accumulated uranium amount in leaves and roots of plants transferred from the soil by the phytoextraction.

합체로 존재함으로써 토양으로부터 우라늄의 용해도와 생물활성도를 증가시켜(Huang et al., 1998), 식물 뿌리에만 흡착되었던 우라늄이 구연산 분자구조(C₆H₈O₇) 내 3개의 카르복실기(R-COO⁻)와 결합하여 킬레이트 화합물을 형성하고, 식물체의 세포층으로 이동한 후, 세포벽의 카르복실기(COO⁻)와 결합하여 흡착하였기 때문이다(Waite et al., 1994; Langmuir, 1997). 기존의 식물정화법에서는 대부분의 오염물이 식물의 뿌리에 제한되어 제거효율을 고려하는 경우 식물 성장 초기 단계만을 이용해야하는 한계가 있었으나, 구연산 용액 첨가에 의해 식물의 잎까지 우라늄의 전이를 증가시킬 수 있다는 본 연구 결과로부터, 향후 식물추출법에 적용하는 식물 성장 단계가 더 확대될 수 있을 것으로 판단된다.

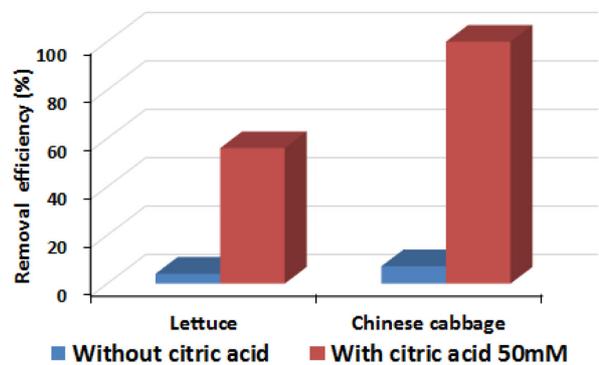
3.2.2. 구연산 첨가에 따른 식물추출법의 우라늄 제거량
현장실증실험 전후의 식물 잎과 뿌리의 우라늄 농도에 49일 동안 재배한 잎과 뿌리의 건조 중량을 곱하여 계산한 식물 부위별 우라늄 제거량(µg)은 Fig. 5에 나타내었다. 구연산 용액을 첨가하지 않은 토양에서 재배한 상추 잎과

뿌리의 우라늄 제거량은 각각 2,637.49 μg 이와 11,188.40 μg 이었으며, 배추 잎과 뿌리의 우라늄 제거량은 2,145.14 μg 와 1,876.00 μg 이었다. 50 mM 구연산 용액을 첨가한 토양에서 재배한 상추 잎과 뿌리의 우라늄 제거량은 각각 63,939.20 μg 와 59,527.68 μg 이었으며, 배추 잎과 뿌리의 우라늄 제거량은 185,967.65 μg 와 15,663.20 μg 이었다. 이러한 결과는 킬레이트제를 첨가하지 않은 토양에서 재배한 식물과 비교했을 때, 구연산 용액 첨가에 의해 상추 잎과 뿌리 전체의 총 제거량은 8.7배, 배추 잎과 뿌리 전체의 총 제거량은 50배 증가하였음을 의미한다. 자연 재배 환경에서 상추는 배추보다 성장속도가 빠르기 때문에 생체량이 많고 제거량도 배추보다 높게 나타나지만, 구연산 용액을 첨가 했을 때 총 제거량은 배추가 훨씬 많이 증가하여, 우라늄의 경우 배추가 상추보다 구연산 용액의 식물 전이능 증대 효과가 높은 것으로 나타났다.

3.2.3. 구연산 첨가에 따른 식물추출법의 우라늄 제거효율
 토양 내 교환성이온/탄산염결합 형태로 존재하는 우라늄량에 대하여 구연산 용액을 첨가한 경우와 첨가하지 않은 경우, 식물추출법에 의한 우라늄 제거효율(%) 결과를 Fig. 6에 나타내었다. 구연산 용액을 첨가하지 않고 현장 시험구에서 재배한 상추와 배추에 의한 토양의 총 우라늄 제거효율은 4.3%와 7.5%로 매우 낮아 A지역 토양의 경우 식물추출법에 의한 우라늄 제거는 큰 효과가 없는 것으로 나타났다. 반면 50 mM 구연산을 첨가한 경우 토양 내 교환성이온/탄산염결합 형태로 존재하는 우라늄 농도 10,640 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 에 대하여 상추와 배추 재배 후 토양 내 교환성이온/탄산염결합 형태로 존재하는 잔류 우라늄 농도가 각각 5,091 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 과 3,604 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 로 나타나, 상추와 배추에 의한 토양의 우라늄 제거효율은 각각 52%와 66%로 매우 높았다. 실내 식물생장기 내에서 식물을 재배한 포트 실험 결과(Fig. 6(b)), 구연산 용액을 첨가하지 않고 재배한 상추와 배추에 의한 제거효율은 각각 4.75%와 9.31%로 현장실증실험 결과와 비슷하게 나타났지만, 50 mM 구연산 용액을 첨가한 경우 3.3 kg 토양 내 교환성이온/탄산염결합 형태로 존재하는 우라늄량 35.112 μg 에 대하여 식물추출법 실험 후 상추와 배추에 흡착된 우라늄량은 각각 19.959 μg 과 35.066 μg 로 나타나, 상추와 배추의 제거효율은 각각 57%와 100%로 현장실증실험 결과보다 높게 나타났다. 현장실증실험 결과가 실내 포트 실험 결과보다 낮은 이유는 다양한 환경 변화가 있는 자연 재배 조건이 식물 성장 최적 조건(온도 25°C, 습도 70%, 조도 4000 Lux(16시간/일), CO₂ 농도 600 ppm 조건)을



(a) Field feasibility test



(b) Pot test

Fig. 6. Result of uranium removal efficiency of plants after 49 days of the pilot scale feasibility test (a) and laboratory pot test (b).

유지하는 식물생장기 내의 재배 조건과 다르기 때문에, 킬레이트제에 의한 식물 전이능이 다르게 나타나기 때문으로 판단된다. 현장실증실험 결과, 배추는 우라늄 함량이 높은 A지역 산사면 토양에 대하여 50 mM 구연산 용액을 첨가한 식물추출법을 적용한 경우, 토양 내 교환성이온/탄산염결합 형태로 존재하는 우라늄을 효과적으로 제거할 수 있는 것으로 나타났다.

4. 결 론

현장실증실험을 통해 구연산 용액을 첨가하는 경우 배추는 식물 전이능이 크게 증가하여, 환경변화가 다양한 실제 식물재배 환경에서도 토양 내 우라늄을 효과적으로 제거하는 것으로 확인되었다. 기존의 선행 연구에 의하면 식물추출법 적용 시 식물체에서 우라늄은 대부분 뿌리에 흡착되고 있으므로는 매우 적은 양이 전이되는 것으로 알려져 왔으나, 본 연구에서는 구연산 용액을 킬레이트제로 첨가

하면 우라늄의 용해도와 식물활성도가 증가하여 토양으로부터 앞으로의 우라늄 전이량과 이에 따른 식물의 제거량이 증가하는 것으로 나타났다. 따라서 구연산 용액의 첨가는 단순한 식물의 우라늄 제거량을 높일 뿐 아니라 정화법에 활용할 수 있는 식물 성장 단계를 확대하는 효과가 있음을 입증하였다. 기존의 연구가 자연 재배 환경을 고려하지 않는 실내 실험에 제한되어, 실제 오염 현장에서 식물추출법의 우라늄 제거효율을 평가하기 어려웠으나, 본 논문은 국내 최초로 실제 식물재배 환경에서 현장실증 실험을 통해 우라늄 제거 효율을 측정하였다는데 의미가 있다.

사 사

이 논문은 2013년도 한국연구재단 일반연구지원사업의 지원을 받아 연구되었음(NRF-2013R1A1A2062339). 본 논문을 세심하게 심사하여주신 심사자들에게 감사드립니다.

References

- Antonkiewicz, J. and Jasiewicz, C., 2002, The use of plants accumulating heavy metals for detoxification of chemically polluted soils, *J. Pol. Agri. Univ.*, **5**, 121-143.
- Bennett F.A., Tyler E.K., Brooks R.R., Gregg, P.E.H., and Stewart, R.B., 1998, Fertilization of hyperaccumulators to enhance their potential for phytoremediation and phytomining, *Plants that Hyperaccumulate Heavy Metals*, Cambridge, CABI Publishing, 249-259 (Brooks, R.R. ed).
- Chon, H.T. and Jung M.C., 1991, Dispersion of toxic elements in the area covered with uranium-bearing black shales in Korea, *J. Korean Inst. Min. Geol.*, **24**, 3, 245-260.
- Dhankèher, O.P., Li, Y., Rosen, B.P., Shi, J., Salt, D., Senecoff, J., Sashti, N., and Meagher, R.B., 2002, Engineering tolerance and hyperaccumulation of arsenic in plants by combining arsenate reductase and gamma-glutamylcysteine synthetase expression, *Nature Biotechnol.*, **20**, 1140-1145.
- Duquène, L., Vandenhove, H., Tack, F., Meers, E., Baeten, J., and Wannijn, J., 2009, Enhanced phytoextraction of uranium and selected heavy metals by Indian mustard and ryegrass using biodegradable soil amendments, *Sci. Total Environ.*, **407**, 1496-1505.
- Han, Y.K., Park, S.M., and Lee, M.H., 2014, Phytoextraction using citric acid for enhanced removal of uranium from soil, *J. Geol. Soc. Korea*, **50**, 501-515.
- Huang, J.W., 1992, Aluminum effects on calcium fluxes at the root apex of aluminum-tolerant and aluminum-sensitive wheat cultivars, *Plant Physiol.*, **98**, 230-237.
- Huang, J.W. and Cunningham, S.D., 1996, Lead phytoextraction: Species variation in lead uptake and translocation, *New Phytol.*, **134**, 75-84.
- Huang, J.W., Blaylock, M.J., Kapulnik, Y. and Ensley, B.D., 1998, Phytoremediation of uranium-contaminated soils: Role of organic acids in triggering uranium hyperaccumulation in plants, *Environ. Sci. Technol.*, **32**, 2004-2008.
- Jung, M.C., 1994, Sequential extraction of heavy metals in soils and A case study, *Econ. Environ. Geol.*, **27**, 5, 469-477.
- Katsoyiannis, I.A., Althoff, H.W., Bartel, H., and Jekel, M., 2006, The effect of groundwater composition on uranium(VI) sorption onto bacteriogenic iron oxides, *Water Res.*, **40**, 3646-3652.
- Kim, J.S. and Chon, H.T., 1997, Dispersion and enrichment of potentially toxic elements in Chubu area covered with black shales and slates in Korea, *Econ. Environ. Geol.*, **30**, 2, 89-103.
- Kim, O.J., 1982, Geology and mineral resources of the Korea, University of Yonsei Press, 33-44.
- Kumar, N.P.B.A., 1995, Phytoextraction: The use of plants to remove heavy metals from soil, *Environ. Sci. Technol.*, **29**, 1232-1238.
- Langmuir, D., 1997, *Aqueous Environmental Geochemistry*, Prentice-Hall, Inc. Upper Saddle River, NJ.
- Lasat, M.M., 1998, Phytoremediation of a radio cesium-contaminated soil: evaluation of cesium-137 bioaccumulation in the shoots of three plant species, *J. Environ. Qual.*, **27**, 165-169.
- Lee, C.H. and Kim, J.H., 1972, Explanatory Text of the Geological Map of Goe San Sheet(1:50,000), Geological Survey of Korea.
- Lee, D.S., 1986, Mineralogy of low-grade uranium ores in the black slate of the Ogcheon group, Korea, *J. Korean Inst. Min. Geol.*, **19**, 133-146.
- Lee, J.S., Chon H.T., and Kim, K.W., 1997, Dispersion and migration of potentially toxic elements in the rock-soil-plant system from the boeun area by underlain by black shales, Korea, *Econ. Environ. Geol.*, **30**, 6, 589-601.
- Lee, M.S. and Chon, H.T., 1980, Geochemical correlations between uranium and other components in U-bearing formation of Okchon belt, *J. Korean Inst. Min. Geol.*, **13**, 4, 241-246.
- Lozano, J.C., Rodriguez, P.B., Tome, F.V., and Calvo, C.P., 2011, Enhancing uranium solubilization in soils by citrate, EDTA, and EDDS chelating amendments, *J. Hazard. Mater.*, **198**, 224-231.
- Macek, T., Mackova, M., and Kas, J., 2000, Exploitation of plants for the removal of organics in environmental remediation

- tion, *Biotechnol. adv.*, **18**, 23-34.
- Madrid, F., Liphadzi, M.S., and Kirkham, M.B., 2003, Heavy metal displacement in chelate-irrigated soil during phytoremediation, *J. Hydrol.*, **272**, 107-119.
- Mihalik, J., Henner, P., Frelon, S., Camilleri, V., and Fevrier, L., 2012, Citrate assisted phytoextraction of uranium by sunflowers: Study of fluxes in soils and plants and resulting intra-planta distribution of Fe and U, *Environ. Exp. Bot.*, **77**, 249-258.
- Ministry of environment (MOE). 2009, Soil pollution process test standard, Ministry of Environment Republic of Korea.
- NIAS, 2000, Methods of soil and plant analysis, National Institute of Agricultural Science and Technology, Suwon, Korea.
- Pabalan, R.T. and Turner, D.R., 1997, Uranium(6+) sorption on montmorillonite: experimental and surface complexation modeling study, *Aquat. Geochem.*, **2**, 203-226.
- Phillips E.J.P., Landa E.R. and Lovley D.R., 1995, Remediation of uranium contaminated soils with bicarbonate extraction and microbial U(VI) reduction, *J. Ind. Microbiol.*, **14**, 203-207.
- Reeves, R.D. and Baker, A.J.M., 2000, Metal-accumulating plants. In: Raskin, I. (Ed.), *Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean Up the Environment*, John Wiley & Sons, Incorporated, 193-229.
- Rural Development Administration (RDA), 1989, Report of the Farmland Cultivation, 395-410.
- Schmidt, U., 2003, Enhancing phytoextraction: the effect of chemical soil manipulation on mobility, plant accumulation, and leaching of heavy metals, *J. Environ. Qual.*, **32**, 1939-1954.
- Shin, D.B. and Kim, S.J., 2011, Geochemical characteristics of black slate and coaly slate from the uranium deposit in Deokpyeong area, *Econ. Environ. Geol.*, **44**, 5, 373-386.
- Souza M.P., Huang C.P., Chee N., and Terry N., 1999, Rhizosphere bacteria enhance the accumulation of selenium and mercury in wetland plants, *Planta*, **209**, 259-263.
- Tessier, A., Campbell, P., and Bisson, M., 1979, Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals, *Anal. Chem.*, **51**, 844-851.
- Thayalakumar, T., Vogeler, I., Scotter, D.R., Robinson, B.H., Clothier, B.E., and Green, S.R., 2000, Chelation therapy for dirty soils. 2000 Annual Meetings Abstracts. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, 202.
- Turgut, C., Pepe, M.K., and Cutright, T.J., 2004, The effect of EDTA and citric acid on phytoremediation of Cd, Cr, and Ni from soil using *helianthus annuus*, *Environ. Pollut.*, **131**, 147-154.
- USEPA Method 1311, 1994, Toxicity characteristic leaching procedure, Test methods for evaluating solid waste, physical/chemical methods, SW-846, 3rd ed., Environmental Agency, Washington, DC.
- USEPA Method 1312, 1994, Synthetic precipitation leaching procedure, Test methods for evaluating solid waste, physical/chemical methods, SW-846, 3rd ed., Environmental Agency, Washington, DC.
- Waite, T.D., Davis, J.A., Payne, T.E., Waychunas, G.A., and Xu, N., 1994, Uranium(VI) adsorption to ferrihydrite: application of a surface complexation model, *Geochim. Cosmochim. Acta*, **58**, 5465-5478.
- Yang, X., Feng, Y., Hea, Z., and Stoffella, P.J., 2005, Molecular mechanisms of heavy metal hyperaccumulation and phytoremediation, *J. Trace Elem. Med. Biol.*, **18**, 339-353.