

연구논문

비소 오염 토양에서 개량제 처리가 지렁이의 비소 흡수에 미치는 영향

류지혁^{1†} · 전경미² · 권오도³ · 우정옥¹ · 윤지현¹

¹국립농업과학원 농산물안전성부 잔류화학평가과

²국립농업과학원 농산물안전성부 독성위해평가과

³전라남도농업기술원 연구개발국

Effects of Soil Amendments on Arsenic Uptake by Earthworms (*Eisenia fetida*) in Arsenic-Polluted Soil

Ji-Hyock Yoo^{1†}, Kyongmi Chon², Oh-Do Kwon³, Jung-Ok Woo¹, and Ji-Hyun Yoon¹

¹Residual Chemical Assessment Division, Department of Agro-Food Safety, National Institute of Agricultural Sciences, Wanju 55365, Korea

²Toxicity and Risk Assessment Division, Department of Agro-Food Safety, National Institute of Agricultural Sciences, Wanju 55365, Korea

³Department of Research, Jeonnam Agricultural Research and Extension Services, Naju 58213, Korea

Received December 12, 2022 / Revised December 20, 2022 / Accepted December 28, 2022

This study was conducted to evaluate the effects of soil amendments on arsenic (As) bioavailability in As-polluted soils. We determined the subsequent changes in As toxicity toward earthworms (*Eisenia fetida*) and As uptake by earthworms. We also investigated whether As bioaccumulation could be used as an index to evaluate changes in quality of As-polluted soils. No significant changes in acute toxicity to earthworms were observed, and the observed increases (70-93 mg kg⁻¹) or decreases (27-38 mg kg⁻¹) in bioavailable As in soils at the end of test were not related to the As concentrations in earthworms. The As concentration in earthworms 14 days after exposure was significantly lower in calcium superphosphate (CSP)- and S-treated soils (101.4-112.8 mg kg⁻¹) than in control soil (138.9 mg kg⁻¹), probably owing to reduced earthworm growth due to lower pH in CSP- and S-treated soils (6.3-7.3) relative to control and steel slag-treated soils (7.5-8.4). Comparisons of As toxicity and the effects of soil properties on this toxicity toward various species of earthworms could facilitate the use of earthworms to produce biological indices for evaluating changes in quality of As-polluted soils following amendment treatments.

Key words: Arsenic, Bioavailability, Earthworm, Soil amendment, Toxicity

1. 서 론

비소 (Arsenic, As)는 환경에 존재하는 독성물질로 미국의 경우 유해물질 우선 순위에서 첫 번째를 차지하며¹⁾ 국제암연구소 (International Agency for Research on Cancer, IARC)는 비소의 구성 성분인 무기비소를 인체발암물질 (Group 1)로 분류하고 있다.²⁾ 폐금속 광산 지역의 일부 농경지는 광해의 영향으로 비소에 의한 오염이 발생하며³⁾ 토양 중 비소 농도가 높은 논에서 재배된 쌀은 무

기비소를 90% 이상 함유한다.⁴⁾ 무기비소는 피부암 등 암을 유발하고 비발암성 질환의 잠재적인 원인이 되며⁵⁾ 태아 및 유아기의 비소 노출은 인지 발달 장애를 일으킬 수 있다.⁶⁾

농경지로부터의 비소 노출을 줄이기 위해 비소 오염에 취약한 농경지에 적용 가능한 객토, 식물정화, 토양세척 등 다양한 토양개량법이 시도되어 왔으나 소요되는 비용이 과다하거나 환경의 회복 기간이 길다는 단점이 있다. 따라서, 경제적이며 영농활동의 지속이 가능한 토양개량

[†]To whom correspondence should be addressed.

Tel: 82-63-238-3246, E-mail: disryu@korea.kr

제, 산업부산물 등의 안정화제를 이용한 비소 안정화에 관한 다수의 연구가 수행되고 있다.⁷⁾ 한편, 토양 중 중금속 등 오염물질의 위해성은 화학적 평가에서 생태독성을 평가하는 방법으로 바뀌고 있다.⁸⁾ 비소 및 중금속으로 오염된 토양에 중금속 안정화를 목적으로 토양개량제를 처리할 경우 토양 중 중금속의 용해도 변화에 대한 지렁이의 반응에 관한 연구가 수행되었으며, 환경생물 중 지렁이의 생체중은 금속 노출에 대해 반응하고⁹⁾ 지렁이는 토양 내 금속의 독성을 평가하기 위한 생물지표 (biomarker) 가 될 수 있다.¹⁰⁾ Neaman 등¹¹⁾은 비소로 오염된 토양에 퇴비를 처리 시 지렁이의 알과 새끼의 수가 증가하고 석회 시용은 지렁이의 번식에 영향을 없으며 지렁이에 대한 독성은 주로 토양의 총 비소 농도와 상관이 있다고 하였다. 화학적 토양개량제 (석회, 인산, red mud, 산화마그네슘)를 이용한 사격장 토양의 안정화 과정에서 지렁이, 식물 및 토양미생물 활성에 미치는 생태독성 연구가 수행되었으며,¹²⁾ 중금속으로 오염된 사격장 토양과 인공 토양을 이용한 독성실험에서 Luo 등¹³⁾은 지렁이의 생존과 번식, 생체중 감소에는 중금속의 농도뿐만 아니라 토양 특성도 영향을 미치며 2000 mg kg⁻¹을 초과하는 납 농도에서는 지렁이의 높은 치사율과 유의한 체중 감소 및 번식 억제기가 나타났으나 1000 mg kg⁻¹ 미만의 농도에서는 지렁이의 번식은 납 보다 토양 pH 등 토양특성과 더 높은 상관성이 있다고 하였다.

개량제를 이용한 중금속 오염토양의 안정화 과정에서 중금속은 식물과 토양생물이 흡수할 수 없는 용해도가 낮은 형태로 변화하며, 이러한 원위치 부동화 (*in situ immobilization*) 공법의 성공 여부는 식물과 토양생물에 대한 중금속의 독성 영향을 정량하여 평가할 수 있다.¹¹⁾ 비소는 토양에 서식하는 지렁이 등 환경생물에 독성 영향을 미칠 수 있으므로 개량제 처리가 토양 내 비소의 안정화에 효과적으로 작용할 경우 생물체 내 흡수가 감소하여 생물에 대한 독성을 유발하지 않거나 대조구에 비해 독성이 감소할 것으로 예상된다. 이와 반대의 경우에는 생물체 내 흡수에 따라 비소의 독성이 증가할 수 있으며 이러한 독성의 증가, 또는 감소는 처리한 물질에 따라 다르게 나타날 수 있다. 따라서, 본 연구를 통해 비소 오염 토양에서 개량제 처리로 인한 생물 유효도의 변화를 구명하여 비소 안정화에 대한 개량제 처리의 영향을 간접적으로 평가하고자 하였으며, 개량제 처리에 의해 비소의 생물 유효도가 변하는 조건에서 지렁이의 비소 흡수량, 또는 생물축적계수 (Bioaccumulation factor, BAF)가 토양 개량에 따른 토양의 질 (quality)을 평가하기 위한 생물학

적 지표로서 활용 가능한지의 여부를 구명하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 지렁이 급성 독성시험 종 준비

시험에 사용한 지렁이는 OECD 가이드라인¹⁴⁾에 준하여 국제 표준종인 줄지렁이 (*Eisenia fetida*)를 국립농업과학원 독성위해평가과에서 분양 받아 사용하였으며 2개월 이상 성숙한 것으로 무게 300-600 mg 사이의 건강하고 균일한 개체를 사용하였다. 오염되지 않은 토양에서 1주일 동안 순화시키고 시험 기간 동안 먹이 공급을 중단하였다.

2.2. 시험토양 채취 및 화학성 분석

실험에 사용한 토양은 충청남도 예산군에 위치한 HY광산 인근의 비소 오염지역에서 채취하여 그늘에서 건조하고 2 mm 체로 걸러 자갈을 제거한 다음 사용하였다. 공시 토양의 화학성은 토양화학분석법¹⁵⁾에 따라 pH (1:5), 전기전도도 (Electrical conductivity, EC), 총 탄소, 유효 인산, 총 질소 함량 및 교환성 양이온 함량을 분석하였다. 토양 중 중금속 총 함량 분석은 토양오염공정시험기준¹⁶⁾에 따라 환류냉각장치를 이용하여 전처리 후 초순수로 희석하여 ICP-MS (7700, Agilent, USA)로 중금속 농도를 분석하였다. 중금속 분석의 신뢰도를 검증하기 위해 토양 인증표준물질 (BAM U112a, Germany)을 이용하여 분석 정확도를 검증하였으며, 토양오염공정시험기준을 만족하는 분석 정확도 85-110% 조건에서 시료의 중금속 분석을 수행하였다. 시험토양의 화학성 및 중금속 농도는 Table 1 및 2와 같다.

2.3. 시험토양 조제 및 개량제 처리

독성시험에 사용할 토양의 비소 농도를 결정하기 위하여 예비실험을 수행하였다. 지렁이 급성 독성시험 시 적정 용량 범위 설정을 위한 예비실험은 건조 토양 기준으로 0.01-1,000 mg kg⁻¹ 범위에서 수행 가능하므로¹⁴⁾ 594-3,564 mg L⁻¹ 농도 범위의 비소 표준용액을 토양수분보유능 (Water Holding Capacity, WHC)의 70%가 되도록 400 g의 건조토양에 101 mL 혼합하여 토양의 비소 농도를 250-1,000 mg kg⁻¹이 되도록 단계별로 조성한 후 배양하였다. 배양이 완료된 농도별 토양에 비오염 토양에서 순화된 지렁이 10마리를 3반복으로 투입하여 1주일 후에 치사율을 조사한 결과 최고 농도인 1,000 mg kg⁻¹의 토양에서도 치사 개체가 나오지 않았다. 그러나, 같은 지역에서

Table 1. Chemical properties of soil used in this study

pH (1:5)	EC ^a (dS m ⁻¹)	Total C (%)	Ex. ^b K	Ex. Ca	Ex. Mg	Ex. Na	Total N (%)	Avail. ^c P ₂ O ₅ (mg kg ⁻¹)
			(cmol _c kg ⁻¹)					
7.7	1.2	1.0	0.1	6.4	1.9	0.1	0.1	168.0

^aEC, Electrical conductivity; ^bEx., Exchangeable; ^cAvail., Available

채취한 비소 농도 1,342 mg kg⁻¹인 토양을 이용한 관련 선행 연구 결과¹⁷⁾ 대조구의 2주일 후 치사율은 약 60-80%로 비교적 높았으며, 본 연구에서는 지렁이의 비소 독성 영향과 함께 비소의 BAF를 산출하고자 하였으므로 과도하게 높은 비소 농도는 배제하고자 하였다. 따라서, 채취한 토양의 비소 농도는 102 mg kg⁻¹으로 토양오염대책 기준 (75 mg kg⁻¹)을 초과하는 오염 토양이지만 예비실험 결과에 따라 독성시험에 사용할 토양의 비소 농도를 1,000 mg kg⁻¹으로 확정하였다. 시험토양의 비소 첨가는 실험과정에서의 손실량을 10%로 감안하여 토양의 비소 농도가 1,100 mg kg⁻¹이 되도록 3,960 mg L⁻¹의 비소 표준용액을 WHC의 70% 수준으로 400 g의 건조토양에 101 mL 혼합 후 배양하였다. 배양이 완료된 토양은 40°C의 건조기에서 2일간 건조 후 균질화하여 2 mm 체를 통과시킨 다음 pH와 비소 농도 분석을 위한 소량의 시료를 채취하였다. 토양에 처리할 개량제로 황, 과인산석회 및 제강슬래그를 비소가 첨가된 건조토양 400 g과 0.5% (황), 0.75% (과인산석회) 및 0.7% (제강슬래그)의 비율로 4반복으로 혼합 후 WHC의 77%가 되도록 1차 증류수를 가한 다음 500 mL 용량의 유리 비커에 담아 밀봉 후 1개월간 배양하였다.

제강슬래그는 성토용 골재, 규산질비료의 원료로 재활용되며 철에서 강 (steel)을 만들기 위해 쇳물의 탄소, 규소 성분을 제거하는 공정에서 발생하는 물질로 주요 구성 성분은 SiO₂, CaO, Al₂O₃, Fe, S, MnO 이며¹⁸⁾ 여러 연구를 통해 비소 및 중금속 안정화 효과가 인정되어 실험에 사용할 개량제로 선정하였다. Lim 등^{19,20)}은 제강슬래그를 사용한 결과 비의 수량이 증가하고 Ca, Fe 및 Si 공급원으로서의 이용 가능성과 산성토양 개량 효과가 있음을 보고하였다. Gu 등²¹⁾은 제강슬래그 처리가 토양 pH 상승 및 중금속의 식물유효도를 60% 감소시키고 비 흡

수를 억제하며, 그 기작으로는 이동성 중금속이 규산염, 인산염 및 수산화물로 침전한다고 하였다. Yun 등²²⁾은 제강슬래그를 처리한 토양에서 비소의 용출농도가 대조구 대비 80% 이상 저감된다고 하였으며 그 기작은 토양 pH 증가와 제강슬래그 내 다량의 금속산화물에 의한 비소의 용출농도 저감이라고 보고하였다.

비소 농도가 높은 토양에 인산과 비소의 작물 흡수 경쟁을 유발할 목적으로 인산을 처리할 경우 추천 시용량의 10배량을 처리해도 비의 비소 흡수를 줄이지 못할 수 있으므로 흡수 경쟁을 유발하려면 과량의 인산이 필요할 수 있다.²³⁾ 따라서, 본 연구에서는 농경지 10a의 표토 무게를 100 ton으로 가정하고 추천 시용량의 15배량에 해당하는 과인산석회의 혼합 비율로 0.75%를 선정하였다. 황의 경우 농경지 10a의 표토 무게를 100 ton으로 가정 시 추천 시용량은 건조토양 기준으로 0.01%에 해당한다. 그러나, 토양에 개량제로 황을 처리 시 비의 비소 농도는 황의 처리량이 증가할수록 유의하게 감소하며²⁴⁾ 본 연구에서 황 처리의 목적은 비소 오염 토양의 개량인 점과 과인산석회의 혼합 비율을 감안하여 황의 혼합 비율로 0.5%를 선정하였다. 제강슬래그를 중금속으로 오염된 토양에 0.3-0.6% 처리 시 중금속의 식물 유효도는 최대 60% 감소하고 비 흡수가 억제된다는 Gu 등²¹⁾의 연구결과와 과인산석회의 혼합 비율을 고려하여 제강슬래그의 혼합 비율을 0.7%로 선정하여 실험을 수행하였다.

2.4. 지렁이 독성시험 및 치사율 조사

비오염 토양에서 1주일간 순화한 지렁이를 증류수로 세척하고 젖은 여과지 (Whatman No. 2)에서 1일간 방치하여 지렁이 체내에 함유된 토양이 배출되게 하였고²⁵⁾ 토양수분 정량, pH 측정 및 지렁이 생체중 측정은 시험 개시 전·후 총 2회 실시하였다. 개량제 처리 후 배양이 완

Table 2. Total heavy metal(loid) concentration of soil used in this study

Element	As	Cd	Pb	Zn	Cu	Cr	Ni
Concentration (mg kg ⁻¹)	102.0	0.1	26.1	64.2	35.7	98.9	44.1
Threshold value ^a	25	4	200	300	150	-	100
Max. tolerable level ^b	75	12	600	900	450	-	300

^aThreshold value of soil contamination; ^bMaximum tolerable level of soil contamination

료된 시험토양 약 490 g이 담겨진 500 mL 용량의 유리 비커에 지렁이 10마리를 처리구별로 4반복으로 투입하고 비커 윗부분을 망사로 덮어 고정된 다음 무게를 측정하였다. 시험은 배양기 내에서 진행하였으며 온도는 20 ± 2°C, 광은 400-800 Lux로 하루 12시간만 조사하여 낮과 밤이 교대로 조성되게 하였고 시험이 종료될 때까지 매일 무게를 측정하여 줄어든 수분을 보충해 주었다. 시험 시작 후 7일과 14일에 형태 이상, 행동 변화, 치사율 등을 조사하였다.

2.5. 지렁이 생체의 비소 농도 분석 및 Bioaccumulation factor (BAF) 산출

Dai 등²⁶⁾의 방법에 따라 시험 종료 후 지렁이를 증류수로 세척하고 젖은 여과지 위에서 1일간 방치하여 체내에 함유된 토양이 배출되게 하였다. 지렁이를 처리구별로 -80°C의 초저온냉동고에 넣어 사멸시키고 70°C의 건조기에서 48시간 동안 건조한 다음 데시케이터에서 냉각하였다. 냉각이 완료된 지렁이 시료는 농촌진흥청 농업과학기술 연구조사분석기준²⁷⁾에 따라 microwave digestion system (ETHOS 1, Milestone IT, Italy)을 이용하여 질산분해 후 ICP-MS (7700x, Agilent Technologies, Japan)로 비소의 농도를 분석하였다.

개량제 처리에 따른 지렁이 생체 내 비소 축적율을 비교하기 위하여 아래의 식을 이용하여 비소의 생물축적계수를 계산하였다.

$$BAF = C_{earthworm} / C_{soil}$$

($C_{earthworm}$: 지렁이 생체 내 비소 농도, C_{soil} : 토양의 비소 농도)

2.6. 토양 중 생물 유효태 비소 분석

개량제 처리에 따른 시험토양의 생물 유효태 비소의 농도 변화를 분석하기 위하여 개량제 처리 전과 지렁이 독

성시험 후의 토양을 채취하여 유효태 비소의 농도를 분석하였다. 분석 전처리는 100 mL 삼각플라스크에 건조 토양 5 g을 칭량하여 1 N HCl 25 mL를 넣고 30°C에서 30 분 동안 진탕한 후 No. 5B 여과지 (Advantec, Tokyo, Japan)로 여과하고 그 여액을 분석시료로 사용하였다. 기기분석에는 ICP-AES (PQ9000, Analytik Jena, Germany)를 이용하였다.

2.7. 통계 분석

비소 오염 토양에 대한 개량제 처리가 지렁이의 비소 독성과 비소 축적에 미치는 영향과 지렁이 생체의 비소 농도와 토양화학적 사이의 상관관계를 분석하기 위하여 통계 패키지 SAS EG (ver 7.1)를 이용하여 상관분석 및 분산분석을 수행하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 개량제 처리 및 독성시험 전·후 토양의 화학성 변화

개량제가 처리된 시험토양에 지렁이를 투입하고 2주간의 독성시험 후 토양의 화학성 변화는 Table 3과 같으며 시험토양의 평균 수분함량은 시험 전·후 24.2-27.9%로 처리구별로 유의한 차이는 없었다. 비소 오염 토양의 시험 전 평균 pH는 대조구에서 7.7로 개량제 처리구의 7.4에 비해 높았으나 시험 후에는 개량제의 영향으로 과인산석회 (과석) 처리에서 pH가 6.3으로 감소하고 제강슬래그 처리에서는 8.4로 증가하여 처리구별 차이가 뚜렷해졌다(Table 3).

개량제 처리 전에 분석한 비소 오염 토양의 유효태 비소 농도는 대조구에서 693 mg kg⁻¹으로 개량제 처리구의 742-749 mg kg⁻¹에 비해 낮았으나, 처리 후에는 과석 (835 mg kg⁻¹) > 대조구 (763 mg kg⁻¹) > 황, 제강슬래그 (711-721 mg kg⁻¹) 순으로 낮아졌으며 (Table 3) 제강슬래

Table 3. Changes in chemical properties of soil used in the earthworm acute toxicity test

Treatment	Soil water content (%)		Soil pH		Bioavailable As in soil ^a (mg kg ⁻¹)	
	Beginning of test	End of test	Beginning of test	End of test	Before soil incubation	End of test
Control	27.9 ± 1.0 a	25.9 ± 1.4 a	7.7 ± 0.13 a	7.5 ± 0.30 b	693 ± 17.9 b	763 ± 8.0 b
Sulfur	27.5 ± 0.7 a	24.9 ± 0.8 a	7.4 ± 0.05 b	7.3 ± 0.03 c	748 ± 6.3 a	721 ± 4.2 c
Calcium superphosphate	26.9 ± 0.5 a	24.2 ± 0.6 a	7.4 ± 0.01 b	6.3 ± 0.03 d	742 ± 24.2 a	835 ± 9.3 a
Steel slag	27.0 ± 1.1 a	24.9 ± 0.4 a	7.4 ± 0.02 b	8.4 ± 0.09 a	749 ± 17.2 a	711 ± 4.5 c

^a1N HCl extractable As in soils.

Values are presented as the mean±standard deviation of four replicates (n = 4). Values with different letters differ significantly from each other (Duncan's multiple range test; p < 0.05).

그 처리구의 유효태 비소 농도의 감소는 토양 중 비소의 불용화에 따른 결과로 판단되었다. 반면, 과석과 같은 칼슘을 함유한 인산질비료 처리는 Ca-phosphate-arsenate 미네랄 형성을 통해 인산에 의한 비소의 용해도 증가를 억제²³⁾하는 것으로 알려져 있으나, 본 연구에서는 인산염에 의한 토양 중 무기비소의 치환²⁸⁾ 기작이 상대적으로 우세하게 작용한 결과 과석 처리구의 유효태 비소의 농도가 증가한 것으로 추측되었다. 황은 논토양에 처리 시며 뿌리부의 비소 부동화²⁹⁾, 토양 공극수의 비소 농도 감소,³⁰⁾ 환원 조건에서 황화물과 비소의 침전³¹⁾ 등의 기작으로 비소의 유효도를 감소시킨다. 따라서, 산화 상태의 본 시험 조건에서 관찰된 황 처리구의 토양 중 유효태 비소의 농도 감소에 대해서는 추가적인 검토가 필요할 것으로 판단된다.

3.2. 지렁이에 대한 독성

비소 오염 토양의 지렁이에 대한 급성 독성시험 결과 처리구 사이에 통계적으로 유의한 치사율의 차이는 나타

나지 않았으나, 시험 7일 후 치사 개체는 대조구에서 총 10 마리 중 1 마리였고 14일 후에는 대조구에서 1 마리 인 반면 황, 과석 및 제강슬래그 처리에서는 10 마리 중 3-4 마리로 증가하였다 (Table 4). 이와 같은 결과는 토양 중 비소의 영향보다는 처리한 개량제의 영향, 또는 황 및 과석 처리구의 경우 대조구에 비해 낮은 토양 pH로 인한 결과로 생각되었다 (Table 3). 그러나, 제강슬래그 처리구에서 시험 종료 후의 pH는 8.4로 가장 높았음에도 유의한 치사율의 차이가 없는 것으로 볼 때 시험토양의 pH 변화에 따른 지렁이의 사멸과는 뚜렷한 상관성이 없는 것으로 판단되었다.

시험 전·후 지렁이의 체중 감소를 역시 처리구별로 유의한 차이는 없었으나 대조구의 평균 11.8%에 비해 개량제 처리구에서 14.0-20.5%로 높은 경향이였다 (Table 5). 시험에 사용한 토양의 비소 농도가 993-1,001 mg kg⁻¹임을 고려할 때 (Table 6) 지렁이의 치사율과 체중 감소율은 상대적으로 낮았으며 개량제 처리에 따른 비소 급성 독성의 뚜렷한 변화를 측정하기는 어려웠다.

Table 4. Acute toxicity of arsenic to earthworms (*Eisenia fetida*) and death rate

Treatment	No. of dead earthworms per ten earthworms								Sum
	7 days after exposure				14 days after exposure				
	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 4	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 4	
Control	0	0	1	0	0	0	1	0	1
Sulfur	0	0	0	0	0	2	1	1	4
Calcium superphosphate	0	0	0	0	1	1	0	1	3
Steel slag	0	0	0	0	0	0	2	1	3

Table 5. Acute toxicity of arsenic to earthworms (*Eisenia fetida*) and earthworm weight

Treatment	Weight of earthworm (mg)		Weight loss (%)
	0 day after exposure	14 days after exposure	
Control	434 ± 28 a	382 ± 10 a	11.8 ± 4.2 a
Sulfur	415 ± 27 a	331 ± 46 a	20.5 ± 7.1 a
Calcium super-phosphate	416 ± 25 a	349 ± 18 a	17.8 ± 0.2 a
Steel slag	412 ± 17 a	356 ± 32 a	14.0 ± 4.1 a

Values are presented as the mean±standard deviation of four replicates (n = 4).

Values with different letters differ significantly from each other (Duncan's multiple range test; $p < 0.05$).

Table 6. Bioaccumulation factor (BAF) of arsenic (As) for earthworms (*Eisenia fetida*)

Treatment	Soil total As	Earthworm As	BAF ^a
	(mg kg ⁻¹)		
Control	993 ± 94 a	138.9 ± 19.6 a	0.14 ± 0.03 a
Sulfur	1001 ± 10 a	112.8 ± 14.6 b	0.11 ± 0.01 a
Calcium superphosphate	1001 ± 21 a	101.4 ± 7.2 b	0.10 ± 0.01 a
Steel slag	955 ± 40 a	117.4 ± 18.1 ab	0.12 ± 0.02 a

^aBAF = $C_{earthworm} / C_{soil}$; Values are presented as the mean±standard deviation of four replicates (n = 4). Values with different letters differ significantly from each other (Duncan's multiple range test; $p < 0.05$).

Tejada 등¹⁰⁾은 143.5 및 71.8 mg kg⁻¹의 비소 농도로 오염시킨 토양에 120일 동안 갈색지렁이를 노출 시 체중 감소율은 각각 약 50 및 30%로 지렁이의 먹이 소비를 감소에 따른 결과이며 갈색지렁이가 비소 독성에 대한 생물지표로 사용될 수 있다고 하였다. 한편, 지렁이는 비소 농도가 높고 금속을 함유하는 토양에서도 서식하며³²⁾ Pierce 등³³⁾은 줄지렁이 (*Eisenia fetida*)가 비소 독성이 높은 폐광산 잔재물에도 서식한다고 하여 비소의 독성이 지렁이의 종에 따라 다르게 나타남을 보고하였다. 또한, Langdon 등,³⁴⁾ Spurgeon과 Weeks³⁵⁾는 줄지렁이의 낱 및 아연에 대한 민감도는 다른 지렁이 종과 비교하여 낮다고 하였다.

3.3. 개량제 처리에 따른 지렁이의 비소 흡수 및 Bioaccumulation factor (BAF)

독성시험 종료 후 분석한 지렁이 체내의 비소 농도는 대조구에서 평균 138.9 mg kg⁻¹으로 황 및 과석 처리구의 평균 101.4-112.8 mg kg⁻¹에 비해 유의하게 높았고 제강슬래그 처리구의 117.4 mg kg⁻¹과는 유의한 차이를 나타내지 않았다 (Table 6). 한편, 개량제 처리 후 토양 중 유효태 비소의 농도는 앞서 기술한 바와 같이 과석 (835 mg kg⁻¹) > 대조구 (763 mg kg⁻¹) > 황, 제강슬래그 (711-721 mg kg⁻¹) 순으로 나타나 지렁이의 비소 농도와는 상관성을 보이지 않았다. 따라서, 처리구별 지렁이의 비소 농도 차이는 지렁이의 체중 감소율이 황 및 과석 처리구에서 평균 17.8-20.5%로 제강슬래그 처리구의 14.0% 및 대조구의 11.8%보다 다소 높았던 것 (Table 5)으로 볼 때 황 및 과석 처리구 지렁이의 생육 및 먹이 활동 저하로 인해 체내 비소 흡수율이 감소한 데 따른 결과로 판단되었다.

Oste 등³⁶⁾은 카드뮴 (1.6-9.6 mg kg⁻¹) 및 아연 (85-437 mg kg⁻¹)으로 오염된 토양에 개량제로 규산 알루미늄과 석회를 처리한 결과 토양 중 중금속의 유효도가 90%까지 감소하여 식물 흡수는 크게 감소하나, 지렁이 (*E. veneta* and *Lumbricus rubellus*)에 의한 흡수는 거의 감소시키지 않았다고 하였다. 따라서, 개량제 처리가 식물에 대한 중금속의 생태 독성은 감소시키나, 지렁이를 먹이로 하는 생물에 대한 독성을 감소시키지는 않는다고 하여 본 연구에서 나타난 황 및 제강슬래그 처리 토양 중 유효태 비소의 감소 및 지렁이 내 비소 농도 감소와는 상반되는 결과를 나타내었다. 반면, Brown 등³⁷⁾은 카드뮴 (15.9 mg kg⁻¹), 납 (3,170 mg kg⁻¹) 및 아연 (1,730 mg kg⁻¹)으로 오염된 팜미사에 하수슬러지와 석회석을 처리 시 호

밀과 *Eisenia fetida*의 생존과 중금속 흡수는 비오염 토양과 유사한 수준으로 회복되었다고 하여 특정 토양 환경에서 중금속에 대한 반응이 서로 다르게 나타남을 보여 주었다.

개량제 처리에 따른 지렁이 생체 내 비소 축적률 (BAF)을 산출한 결과 처리구 사이에 유의한 차이는 없었으나 대조구의 경우 평균 BAF = 0.14로 개량제 처리구의 0.10-0.12에 비해 높은 경향을 나타내었다 (Table 6). 한편, 붉은지렁이 (*Lumbricus rubellus*)가 바이오차를 처리한 비소 농도 494 mg kg⁻¹인 토양에 28일 동안 노출되었을 때의 BAF = 0.46³²⁾이고, 붉은큰지렁이의 경우 바이오차를 처리한 비소 농도 73.9 mg kg⁻¹인 토양에 23일 동안 노출되었을 때의 BAF = 0.67³⁸⁾로 본 연구의 독성시험 노출 기간 (14일), 시험종 및 토양의 비소 농도 (955-1001 mg kg⁻¹) 등과 비교하여 시험 조건의 차이는 있으나 상대적으로 높은 BAF를 나타냈다. 이러한 결과는 처리한 개량제의 종류, 토양 중 비소의 유효도 및 화학성 변화, 환경 변화에 대한 지렁이의 반응 등 여러가지 요인이 복합적으로 작용한 결과로 생각된다.

지렁이의 생육에 미치는 토양 pH와 관련하여 Kim 등³⁹⁾은 왕겨 바이오차 혼합 토양에 대한 지렁이 회피 실험을 통해 지렁이가 바이오차를 선호하며 이는 바이오차 혼합으로 토양 pH가 약 알칼리성을 띠기 때문이라 하였고, Park 등⁴⁰⁾은 약 알칼리 조건이 지렁이 생육에 적합하다고 보고하였다. 중금속으로 오염된 사격장 토양과 인공 토양을 이용한 독성실험에서 Luo 등¹³⁾은 토양의 pH가 증가할수록 지렁이의 생존과 번식이 증가하고 체중 감소는 작아지며, 낱의 농도가 1,000 mg kg⁻¹ 미만일 때 지렁이의 번식은 낱의 농도보다 pH 등 토양 특성과 더 높은 상관관을 보인다고 하였다.

본 연구에서 비소 오염 토양의 시험 전 평균 pH는 대조구에서 7.7로 개량제 처리구의 7.4에 비해 유의하게 높았고 시험 후에는 제강슬래그 처리에서 8.4, 대조구에서 7.5로 과석 처리구의 6.3 및 황 처리구의 7.3과 비교하여 유의하게 높았다 (Table 3). 또한, 지렁이의 비소 농도는 대조구에서 평균 138.9 mg kg⁻¹으로 가장 높고 제강슬래그 처리에서 117.4 mg kg⁻¹으로 다른 처리구에 비해 높았으며, 시험 후 토양의 유효태 비소 농도가 가장 높고 pH가 가장 낮았던 과석 처리에서 101.4 mg kg⁻¹으로 가장 낮은 경향을 나타냈다 (Table 6). 이와 같은 결과는 앞서 기술한 바와 같이 대조구 및 제강슬래그 처리구 지렁이의 체중 감소율이 상대적으로 낮은 경향을 보인 바 (Table 5), 이들 처리구의 지렁이 생육에 유리한 높은 토양 pH

조건에서 지렁이의 생육 및 먹이 활동 증가로 인해 체내 비소 흡수가 증가한 결과로 판단되었다.

4. 결 론

개량제 처리에 의해 토양 중 비소의 생물 유효도가 변화하는 경우 환경생물의 비소 흡수량, 또는 생물축적계수가 토양개량에 따른 토양의 질을 평가하기 위한 생물학적 지표로서 활용 가능한지의 여부를 구명하기 위하여 황, 제강슬래그 및 과인산석회를 약 1,000 mg kg⁻¹의 비소 오염 토양에 처리 후 줄지렁이 (*Eisenia fetida*)의 비소 독성 및 흡수에 미치는 영향을 평가한 결과 급성 독성은 관찰되지 않았으며 개량제 처리에 따른 토양 중 유효태 비소 농도의 증가, 또는 감소는 줄지렁이의 비소 흡수 및 생물축적계수와 유의한 상관성이 없었다. 반면, 토양 pH 변화에 대한 줄지렁이의 반응이 비소에 대한 반응보다 상대적으로 우세한 경향을 보여 지렁이를 비소 오염 토양에 대한 생물학적 지표로 활용하기 위해서는 지렁이 종에 따른 비소 독성 반응 비교, 토양화학성이 지렁이의 독성 반응에 미치는 영향 등 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원 농업과학기술 연구개발사업 (과제번호: PJ01359803)의 지원으로 이루어진 것입니다.

참고문헌

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), "ATSDR's substance priority list", **2017**.
- IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, "Arsenic, metals, fibres, and dusts", **2012**, 100(PT C), 11-465.
- National Institute of Agricultural Sciences (NIAS), "Development of Integrated System of Monitoring and Risk Assessment of Hazardous Substances in Agricultural Sector", **2018**.
- D. Halder, A. Biswas, Z. Šlejkovec, D. Chatterjee, J. Nriagu, G. Jacks, and P. Bhattacharya, "Arsenic species in raw and cooked rice: implications for human health in rural Bengal", *Science of the Total Environment*, **2014**, 497, 200-208.
- T. R. Sanchez, M. Perzanowski, and J. H. Joseph, "Inorganic arsenic and respiratory health, from early life exposure to sex-specific effects: a systematic review", *Environmental research*, **2016**, 147, 537-555.
- S. Bhowmick, S. Pramanik, P. Singh, P. Mondal, D. Chatterjee, and J. Nriagu, "Arsenic in groundwater of West Bengal, India: a review of human health risks and assessment of possible intervention options", *Science of the Total Environment*, **2018**, 612, 148-169.
- J. H. Yoo, H. S. Kim, M. J. Kim, J. O. Woo, H. Y. Choi, and S. C. Kim, "Effect of soil stabilizer on the bioavailability of arsenic in paddy soil", *Journal of Applied Biological Chemistry*, **2022**, 65(4), 349-355.
- Y. Lu, S. Song, R. Wang, Z. Liu, J. Meng, A. J. Sweetman, A. Jenkins, R. C. Ferrier, H. Li, W. Luo, and T. Wang, "Impacts of soil and water pollution on food safety and health risks in China", *Environment International*, **2015**, 77, 5-15.
- M. Tejada, I. Gomez, T. Hernandez, and C. Garcia, "Response of *Eisenia fetida* to the application of different organic wastes in an aluminum-contaminated soil", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **2010**, 73, 1944-1949.
- M. Tejada, I. Gomez, T. Hernandez, and C. Garcia, "Influence of the activity of *Allobophora molleri* in microbial activity and metal availability of arsenic-polluted soils", *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **2013**, 65, 449-457.
- A. Neaman, S. Huerta, and S. Sauvé, "Effects of lime and compost on earthworm (*Eisenia fetida*) reproduction in copper and arsenic contaminated soils from the Puchuncaví Valley, Chile", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **2012**, 80, 386-392.
- P. Sanderson, R. Naidu, and N. Bolan, "Ecotoxicity of chemically stabilised metal (loid) s in shooting range soils", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **2014**, 100, 201-208.
- W. Luo, R. A. Verweij, and C. A. van Gestel, "Determining the bioavailability and toxicity of lead contamination to earthworms requires using a combination of physicochemical and biological methods", *Environmental Pollution*, **2014**, 185, 1-9.
- Organization for Economic Cooperation and Development (OECD), "OECD guideline for testing of chemicals; Test guideline No. 207: Earthworm acute toxicity tests", **1984**.
- National Institute of Agricultural Sciences (NIAS), "Methods of soil chemical analysis", **2010**.
- Ministry of Environment (MOE), "Official methods of soil analysis for polluted soils", **2010**.
- Rural Development Administration (RDA), "Study on identification and mitigation of inorganic pollutants in

- agri-food”, **2015**.
18. S. W. Choi, V. Kim, W. S. Chang, and E. Y. Kim, “The present situation of production and utilization of steel slag in Korea and other countries”, *Magazine of the Korea Concrete Institute*, **2007**, 19, 28-33.
 19. J. T. Lim, Y. Lee, I. J. Park, C. I. Lee, K. H. Hyun, B. S. Kwon, and H. J. Kim, “Evaluation of basic oxygen furnace slag as soil conditioner in the rice paddy field”, *Korean Journal of Soil Science and Fertilizer*, **1999**, 32, 295-303.
 20. J. T. Lim, Y. S. Kim, J. J. Park, C. I. Lee, K. H. Hyun, B. S. Kwon, and H. J. Kim, “Residual effects of basic oxygen furnace slag as soil conditioner in the rice paddy field”, *Korean Journal of Soil Science and Fertilizer*, **2000**, 33, 205-211.
 21. H. H. Gu, H. Qiu, T. Tian, S. S. Zhan, T. H. B. Deng, R. L. Chaney, S. Z. Wang, Y.-T. Tang, J. L. Morel, and R. L. Qiu, “Mitigation effects of silicon rich amendments on heavy metal accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) planted on multi-metal contaminated acidic soil”, *Chemosphere*, **2011**, 83, 1234-1240.
 22. S. W. Yun, C. Yu, Y. C. Yoon, D. H. Kang, S. Y. Lee, J. Son, and D. H. Kim, “Leaching behavior of arsenic and heavy-metals and treatment effects of steel refining slag in a reducing environment of paddy soil”, *Journal of The Korean Society of Agricultural Engineers*, **2016**, 58, 29-38.
 23. C. H. Lee, C. H. Wu, C. H. Syu, P. Y. Jiang, C. C. Huang, and D. Y. Lee, “Effects of phosphorous application on arsenic toxicity to and uptake by rice seedlings in As-contaminated paddy soils”, *Geoderma*, **2016**, 270, 60-67.
 24. Z. Y. Hu, Y. G. Zhu, M. Li, L. G. Zhang, Z. H. Cao, and F. A. Smith, “Sulfur (S)-induced enhancement of iron plaque formation in the rhizosphere reduces arsenic accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings”, *Environmental Pollution*, **2007**, 147, 387-393.
 25. J. G. Coleman, D. R. Johnson, J. K. Stanley, A. J. Bednar, C. A. Weiss Jr, R. E. Boyd, and J. A. Steevens, “Assessing the fate and effects of nano aluminum oxide in the terrestrial earthworm, *Eisenia fetida*”, *Environmental Toxicology and Chemistry*, **2010**, 29, 1575-1580.
 26. J. Dai, T. Becquer, J. H. Rouiller, G. Reversat, F. Bernhard-Reversat, J. Nahmani, and P. Lavelle, “Heavy metal accumulation by two earthworm species and its relationship to total and DTPA-extractable metals in soils”, *Soil Biology and Biochemistry*, **2004**, 36, 91-98.
 27. Rural Development Administration (RDA), “Research, survey and analysis standard for agricultural science and technology”, **2012**.
 28. S. Mukhopadhyay, M. A. Hashim, M. Allen, and B. S. Gupta, “Arsenic removal from soil with high iron content using a natural surfactant and phosphate”, *International Journal of Environmental Science and Technology*, **2015**, 12, 617-632.
 29. G. Dixit, A. P. Singh, A. Kumar, P. K. Singh, S. Kumar, S. Dwivedi, P. K. Trivedi, V. Pandey, G. J. Norton, O. P. Dhankher, and R. D. Tripathi, “Sulfur mediated reduction of arsenic toxicity involves efficient thiol metabolism and the antioxidant defense system in rice”, *Journal of Hazardous Materials*, **2015**, 298, 241-251.
 30. X. Tang, L. Li, C. Wu, M. I. Khan, M. Manzoor, L. Zou, and J. Shi, “The response of arsenic bioavailability and microbial community in paddy soil with the application of sulfur fertilizers”, *Environmental Pollution*, **2020**, 264, 114679.
 31. E. D. Burton, S. G. Johnston, and B. D. Kocar, “Arsenic mobility during flooding of contaminated soil: the effect of microbial sulfate reduction”, *Environmental Science & Technology*, **2014**, 48, 13660-13667.
 32. C. J. Langdon, T. G. Pearce, S. Black, and K. T. Semple, “Resistance to arsenic-toxicity in a population of the earthworm *Lumbricus rubellus*”, *Soil Biology and Biochemistry*, **1999**, 31, 1963-1967.
 33. T. G. Pearce, C. J. Langdon, A. A. Meharg, and K. T. Semple, “Yellow earthworms: distinctive pigmentation associated with arsenic-and copper-tolerance in *Lumbricus rubellus*”, *Soil Biology and Biochemistry*, **2002**, 34, 1833-1838.
 34. C. J. Langdon, M. E. Hodson, R. E. Arnold, and S. Black, “Survival, Pb-uptake and behaviour of three species of earthworm in Pb treated soils determined using an OECD-style toxicity test and a soil avoidance test”, *Environmental Pollution*, **2005**, 138, 368-375.
 35. D. J. Spurgeon and J. M. Weeks, “Evaluation of factors influencing results from laboratory toxicity tests with earthworms”, *Advances in Earthworm Ecotoxicology, SETAC Technical Publications Series*, **1998**, 15-25.
 36. L. A. Oste, J. Dolfing, W.-C. Ma, and T. M. Lexmond, “Effect of beringite on cadmium and zinc uptake by plants and earthworms: more than a liming effect?”, *Environmental Toxicology and Chemistry*, **2001**, 20, 1339-1345.
 37. S. Brown, M. Sprenger, A. Maxemchuk, and H. Compton, “Ecosystem function in alluvial tailings after biosolids and lime addition”, *Journal of Environmental Quality*, **2005**, 34, 139-148.
 38. A. A. Meharg, R. F. Shore, and K. Broadgate, “Edaphic factors affecting the toxicity and accumulation of arsenate in the earthworm *Lumbricus terrestris*”, *Environ-*

- mental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, **1998**, 17, 1124-1131.
39. Y. J. Kim, S. H. Yang, S. Y. Kim, H. S. Yoon, and G. Y. Yoo, "Behavior changes of earthworm from soils amended with biochar – Avoidance and productivity", *Journal of Climate Change Research*, **2014**, 5, 277-284.
40. Y. K. Park, K. H. Park, B. S. Kim, K. S. Kyung, J. S. Shin, and B. Y. Oh, "Development of test method for the evaluation of pesticide acute toxicity using earthworm (*Lumbricus rubellus*)", *The Korean Journal of Pesticide Science*, **2000**, 4, 56-60.