

## *Thiobacillus ferrooxidans* (ATCC 19859)와 분리균주 *Thiobacillus* KY에 의한 생물학적 침출에 따른 황철석의 표면 특성변화

†이 인 화 · <sup>1</sup>기 민 희 · 김 시 옥  
조선대학교 공과대학 환경공학부, <sup>1</sup>금호생명공학 연구소  
(접수 : 2000. 5. 17., 게재승인 : 2000. 6. 8.)

## Characteristics Change on the Surface of Pyrite by Bioleaching with *Thiobacillus ferrooxidans*(ATCC 19859) and Isolated Strain *Thiobacillus* KY

In-Hwa Lee†, Min-Hee Ki<sup>1</sup>, and Si Wook Kim  
Division of Environmental Engineering, Chosun University  
<sup>1</sup>Kumho Life and Environmental Science Laboratory  
(Received : 2000. 5. 17., Accepted : 2000. 6. 8.)

A bacterial leaching was conducted for pyrite with *Thiobacillus ferrooxidans* (ATCC 19859) and *Thiobacillus* KY isolated from acid mine water around Kwangyang area to characterize the surface of substrate as reaction progress at the optimum condition under 9K medium for 30 days. It was found that the surface crystallinity changes referred to hkl plane was observed for 20 days leached by *T. ferrooxidans*, similar changes also observed for 10 days leached pyrite by *Thiobacillus* KY. Based on the results of SEM-EDS, the atomic ratios of Fe, S, and Si on the surface were changed to sulfur rich phase but exposed Si ratio decreased from 16.94% to 4.85% during 30days mainly due to reprecipitating of Fe and S as a mixed compound.

**Key Words** : bioleaching, *Thiobacillus ferrooxidans*, pyrite, XRD, SEM-EDS

### 서 론

역청탄광의 산성 광산 배수로 부터 *Thiobacillus ferrooxidans*가 Colmer등(1)에 의해 분리된 후 침출에 관여하는 미생물의 분리 동정과 이들 미생물의 생리기작을 중심으로 연구가 진행되어 왔다. 또한 산업적인 생물학적 침출의 이용은 경제성이 없는 저품 위 광석에 생물학적 침출을 적용하려는 방향으로 진행되어 왔다 (2). 생물학적 침출이 산업분야에 적용되는데 가장 장애가 되는 것은 침출반응의 속도와 침출이 진행된 기질의 비활성화이다. 침출의 속도는 우수한 균주의 분리와 침출조건의 최적화를 통하여 많은 향상이 이루어 지고 있으나 침출의 대상이 되는 기질, 즉 금속황에 대한 연구는 그 중요성에 비추어 상대적으로 미흡하다(3).

*Thiobacillus ferrooxidans*는 철 뿐만아니라 구리, 아연, 납, 우라늄등 다양한 금속황의 생물학적 침출이 가능한 미생물로 알려

져 있으며 침출속도는 pH, 반응온도, ferric ion의 농도, 기질입자의 크기, 입자의 표면적등에 의하여 영향을 받으며 이들 인자에 대한 최적조건등에 대한 연구가 많이 보고되어 있다(4,5). 그러나 최적조건에서 반응을 진행하여도 침출속도는 꾸준히 감소하며 입자의 크기도 크게 감소하지 않고 비활성화되는 것으로 관찰된다. 1차 침출을 진행시킨 입자를 다시 새로운 용액에 대하여 침출을 다시 수행하면 침출속도는 처음 입자보다 크게 감소하며 금속에 따라서 완전히 비활성화되는 것으로 나타난다(6). 한편 비활성화된 입자를 재분쇄하면 침출속도가 증가되는 것으로 보고 된 바 있다(7). 이러한 비활성의 원인은 기질의 표면상태의 변화에 기인하며 표면상태의 변화는 결정구조의 변화, 화학적 조성의 변화, 미세기공의 생성등이 수반되는 것으로 추측되지만 이에 대한 연구가 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 생물학적 침출이 진행되는 과정에서 기질의 표면특성변화를 관찰하고 미생물과 기질과의 침출과정에 대한 기작을 밝히는데 초점을 맞추고자 한다.

금속황의 산화는 무기화학적으로 또는 미생물에 의해 진행되는데 이중 미생물에 의한 산화반응에 의해 광산배수의 산성화가 빠르게 진행되는 것으로 알려져 있다(8). 이와 같이 미생물에 의한 황합유광물의 산화반응은 생물학적 침출(bioleaching)이 작용

†Corresponding Author : Division of Environmental Engineering, Chosun University  
Tel : 062-230-6627, Fax : 062-234-6627  
E-mail : ihlee@mail.chosun.ac.kr



합하여 사용하였다. 균주를 분리 배양하기 위한 시료는 전라남도 광양부근의 폐광의 산성 배출수를 위치에 따라 여러 곳에서 채취하여 수집하였다.

배양온도에 따른 균주의 성장과 ferrous iron의 산화를 조사하기 위해 균주를 20%(v/v) 집중한 후 160 mM FeSO<sub>4</sub>를 주입하고 20-50°C로 온도를 조절하여 배양하였다. 또한 초기 pH에 따른 균체의 성장을 조사하기 위하여 80 mM FeSO<sub>4</sub>를 주입하고 30°C에서 pH를 10M농도 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 pH를 1.5-3.0으로 조절하여 ferrous iron 산화를 비교하였다. Fe의 분석을 위해 배양액을 1000 X g에서 10 분간 원심 분리한 후 상등액을 취하고, 이를 적당히 희석한 다음 510 nm에서 UV/VIS spectro photometer (Hewlette Packard, HP 8452A, USA)를 이용하여 분석하였다. Fe<sup>2+</sup>는 희석한 상등액 0.1 mL에 o-phenanthroline reagent 0.4 mL를 섞고 증류수를 2.5 mL 채운 후 분석하였고, Fe<sup>3+</sup>은 환원제로 10 %(w/v) hydroxylamine hydrochloride를 처리하여 total iron농도를 측정할 후 total iron 농도에서 Fe<sup>2+</sup>를 뺀 농도 차이의 값으로 계산하였다.

### X-ray 회절분석기를 이용한 황철석의 침출 특성 조사

반응시간이 경과함에 따라 균주에 의한 황철석의 용출 특성을 조사하기 위해 9K MSM에 황철석을 1 %(w/v) 첨가한 후 최종 pH를 2.0으로 조절하고 *T. ferrooxidans*를 접종하였다. 반응 10일 후와 20일 후에 시료를 채취하여 X-ray 회절분석기 (Rigaku D/MAX-IIIa)를 이용하여 2θ구간을 0~90° 범위로 분석하였고, X-선관의 target은 Cu의 K<sub>α</sub>선을 사용하였다. 각 peak에 해당하는 원소의 확인은 ASTM의 원소 발광선을 수록한 표를 참고하여 분석하였다[11]. 침출 전 후의 황철석의 표면을 관찰하기 위하여 주사전자현미경(SEM)을 이용하여 1000배에서 1500배로 확대한 사진을 얻었으며 표면의 원자의 종류와 원자의 상대적인 양을 측정하기 위하여 SEM에 장착되어 있는 Energy Dispersive Spectroscopy(EDS) 분석을 시행하였다. 황철석 시료의 경우 전도성이 낮으므로 표면을 gold sputtering 처리하여 분석하였다[12]. SEM-EDS는 Jeol사의 ISIS-310모델을 이용하여 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### 균주분리 및 배양

미생물 침출에 관여하는 우수 토착 균주의 선별 분리를 위하여 폐광안의 15개 지점의 산성 배출수를 채취한 후 시료를 기본 배지 50 ml에 접종하고 30°C에서 7일간 진탕 배양한 후 동일한 배지에 다시 1 mL씩 옮겨서 7일간 진탕 배양하였다. 이러한 과정을 5회 이상 반복하면서 기본 배지내 ferrous ion의 산화속도가 빠른 균주를 선별하였다. 균주의 순수분리를 위하여 최종적으로 계대 배양한 배지중 100 μl를 취하여 3 %(w/v) 한천배지(Bacto agar)위에 도말하였으나 평판배지에서는 미생물 집락이 형성되지 않았다. 일반적으로 enrichment culture 방법을 이용한 균주의 순수분리는 한천평판배지위에서 완전히 분리된 형태의 집락으로 부터 이루어져야 하지만 본 실험에서 여러방법으로 평판배지의 배양을 시도하였으나 성장하지 않았다. 이는 *Thiobacillus*속의 균주들이 극히 pH가 낮은 조건에서만 성장하기 때문으로 사료된다. 즉 pH 2.0이하인 조건에서는 Bacto agar를 사용하더라도 평판배지를 제조하기가 매우 어렵기 때문에 통상 pH 2.5 -3.0에서 제조하게 된다. 그러나 본 분리균주는 이 조건에서

성장하지 않았다. 따라서 순수 분리의 여부는 액체 배지에서 가장 빠르게 자라는 균주들을 대상으로 하여 단시간내에 계속하여 계대배양하면서 광학현미경(Olympus, CHT-213)으로 관찰하여 형태와 크기로 *Thiobacillus*임을 확인하였다. 이러한 방법으로 채취된 시료 중 9K MSM에서 성장이 우수한 균주를 광양 광산의 시료에서 한개의 균주를 분리하였다. *Thiobacillus ferrooxidans*는 운동성과 편모가 있으며, 포자를 형성하지 않는 G(-)의 rod shape(0.1×1.5 μm)이다. 성장하기 위하여 ferrous iron과 환원된 무기 황화합물을 산화하여 에너지를 얻으며, pH 1.8~3.0인 조건에서 최적 활성을 나타내는 호산성(acidophilic), 호기성(aerobic) 박테리아로 최적 온도는 25~35°C인 중온균이다. 또한 탄소원으로 대기중의 CO<sub>2</sub>를 이용하는 chemolithoautotroph이다[14]. 이들은 그람음성의 막대세균 (0.1×1.2 μm)이며 편의상 *Thiobacillus KY*로 명명하였다. 본 실험에서 사용한 공시균주인 *T. ferrooxidans* (ATCC 19859)도 그람음성의 막대세균 (0.1×1.2 μm)이었다.

### 생물용출 최적조건

일반적으로 *T. ferrooxidans*의 최적 성장 온도는 25~45 °C로 알려져 있고, 55 °C에서도 생물학적 산화가 가능하며 그 보다 높은 온도에서는 화학적 산화반응이 일어나는 것으로 보고되어 있다(7). *T. ferrooxidans*의 성장 최저온도에 관해서는 보고된 바 없으나 일반적으로 배양액의 빙점에서 박테리아의 활성이 정지되는 것으로 알려져 있다(15). 본 실험에서 배양 온도를 15~40°C로 조절하여 ferrous iron의 산화를 관찰한 결과, Figure 1에 나타난바와 같이 공시균주인 *T. ferrooxidans*는 25~30°C에서 산화율이 가장 높게 관찰되었고, 본 실험에서 분리한 *Thiobacillus KY*의 산화도 역시 25~30°C에서 높게 관찰되었다. 최적온도에서의 산화율은 분리 균주의 산화율이 공시 균주의 산화율에 미치지 않았으나, 15°C에서는 공시 균주 보다 높게 관찰되었다.

*T. ferrooxidans*의 활성에 영향을 미치는 pH 범위는 1.0~5.0이고 ferrous iron의 산화에 적합한 pH는 2.3~2.5로 보고되어 있다 (16). 본 실험에서는 Figure 2에 도시된 바와 같이 공시 균주와

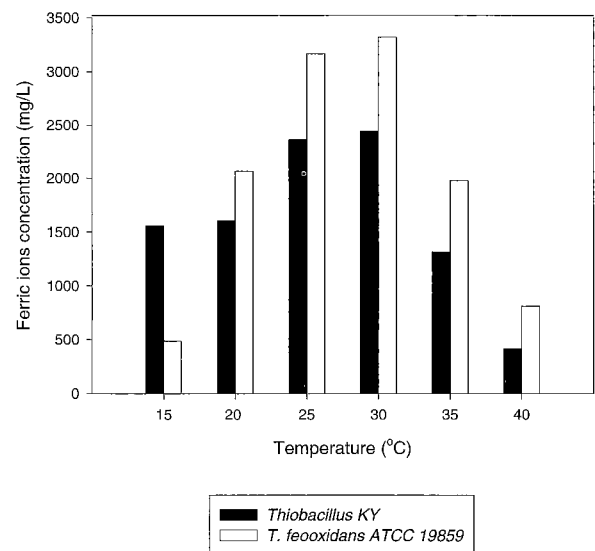


Figure 1. Ferric ion concentration in the mineral salts medium as a function of medium temperature after ferrous ion reacted for 30 hr by *Thiobacillus ferrooxidans* ATCC 19859 and *Thiobacillus KY*, respectively.

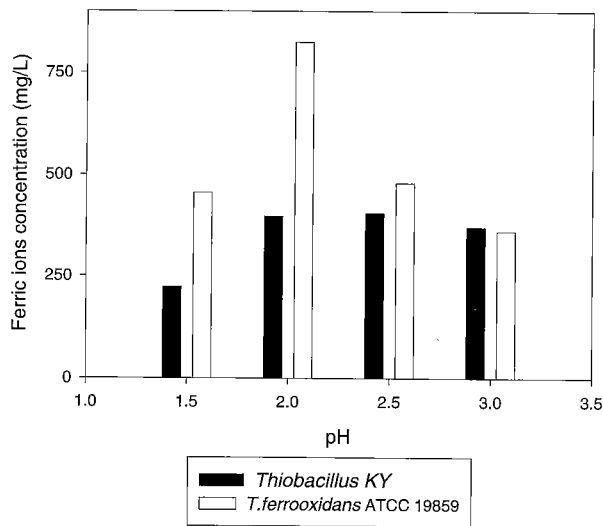


Figure 2. Ferric ion concentration in the mineral salts medium as a function of medium pH after ferrous ion for 36 hr by *Thiobacillus ferrooxidans* ATCC 19859 and *Thiobacillus KY*, respectively.

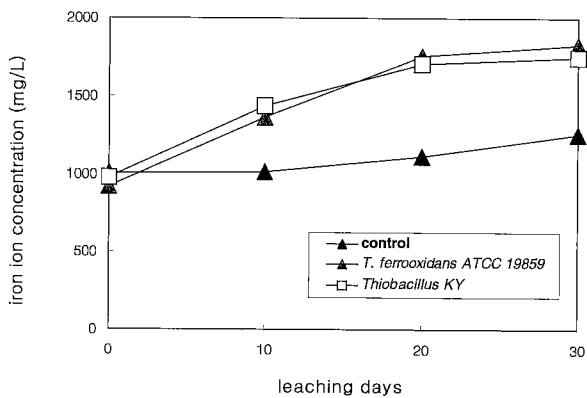


Figure 3. Total iron ions concentration in the 9K medium as leaching progressed for 30 days by *Thiobacillus ferrooxidans* ATCC 19859 and *Thiobacillus KY* at temperature and pH are 35°C and 2.0, respectively.

분리 균주인 *Thiobacillus KY*이 모두 pH 2.0에서 가장 좋은 활성을 보였으며 pH 3.0에서는 분리 균주가 공시 균주 보다 다소 활성이 높게 나타났다. *T. ferrooxidans*에 의해 ferrous iron의 산화가 진행되면서 점차 pH가 증가하는 양상을 보였으나 산화반응이 완전히 종료된 후에는 pH가 감소하는 현상을 관찰할 수 있었다. 반응시간이 증가함에 따라 pH가 감소하는 이유는 생물학적 침출 결과 최종적으로 생성된  $SO_4^{2-}$ 의 증가에 기인한다(16).

공시균주인 *Thiobacillus ferrooxidans*(ATCC 19859) 와 분리균주인 *Thiobacillus KY*를 이용하여 50 mesh (300 $\mu$ m)이하의 입도 pyrite를 1%(w/v) 첨가하여 5M 농도  $H_2SO_4$ 를 이용하여 pH를 2.0으로 조절하고 균주의 접종량은 반응부피의 20%(v/v)를 사용한 후 배양온도 30°C에서 30일간 배양하면서 배양액의 철이온 농도를 ICP로 분석하여 Figure 3을 얻었다. 대조군으로는 같은 조건의 배양액속에 균을 접종하지 않고 농도를 분석하여 사용하였다. 대조군의 경우 초기농도 1004 mg/L에서 30일 후 1250 mg/L로 증가한 반면 *Thiobacillus ferrooxidans*(ATCC 19859)의 경우 920 mg/L에서 30일 침출 후 1828 mg/L으로 증가하였고 *Thiobacillus KY*의 경우 초기농도 974.5 mg/L에서 30일 후 1748 mg/L

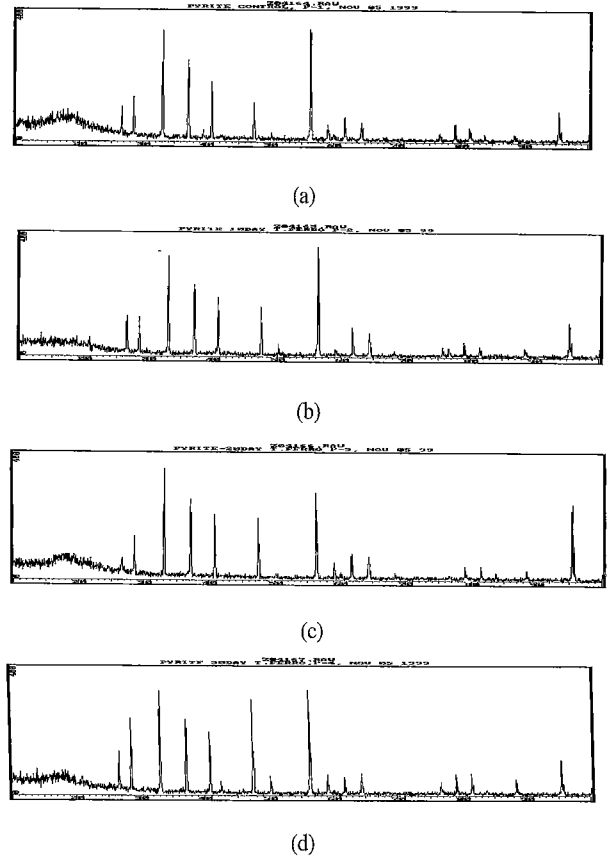


Figure 4. XRD patterns of pyrite sample for fresh (a), leached 10days (b), leached 20days (c), and leached 30 days (d) by *Thiobacillus ferrooxidans* ATCC 19859.

로 증가하여 두 균주의 침출속도는 큰 차이를 보이지 않았으나 *Thiobacillus KY*가 초기에 침출속도가 상대적으로 빠르고 20일 이후에는 *Thiobacillus ferrooxidans*(ATCC 19859)를 사용한 경우가 침출된 ferric ion의 농도가 더 크게 나타났다.

### X-ray 회절분석기를 이용한 황철석의 침출에 따른 결정구조 변화 분석

*T. ferrooxidans*에 의하여 침출이 진행된 황철석 시료를 대상으로 X-ray회절분석을 시행한 결과 침출 시간이 경과함에 따라 황철석의 특정 결정평면의 peak강도가 감소하는 것으로 나타났다. Figure 5은 황철석을 *T. ferrooxidans*에 반응시키기 전 시료(a)와 10일 반응(b), 20일 반응(c) 그리고 30일간 반응시킨 후의 시료에 대한 x-선 회절분석 결과(d)이며 Figure 6은 *Thiobacillus KY*에 의하여 침출반응을 각각 10일(a), 20일(b), 30일(d)동안 반응시킨 후 X선 회절분석을 시행한 결과이다.

각 피크의 위치는 물질의 특정결정면에 기인한 것이고 피크의 높이는 결정면의 노출정도를 나타낸다. 미생물에 의한 침출반응을 시키기 전인 시료(A)로부터 얻어진 황철석의 x-선 peak는 ASTM 6-0170 자료와 비교하여 볼 때 전형적인 황철석임을 알 수 있다.

그러나 결정면의 노출에 대한 절대적인 정량적인 결과로 보기 어렵기 때문에 각 피크의 상대적인 강도로 비교 분석하는 것이 타당하다고 보고 가장 큰 피크( $I_0$ )에 대한 다른 피크의 강도를 계산하여 비교 분석하고자 한다. 먼저 X선의 파장( $\lambda$ )은 Cu K $\alpha$ 로

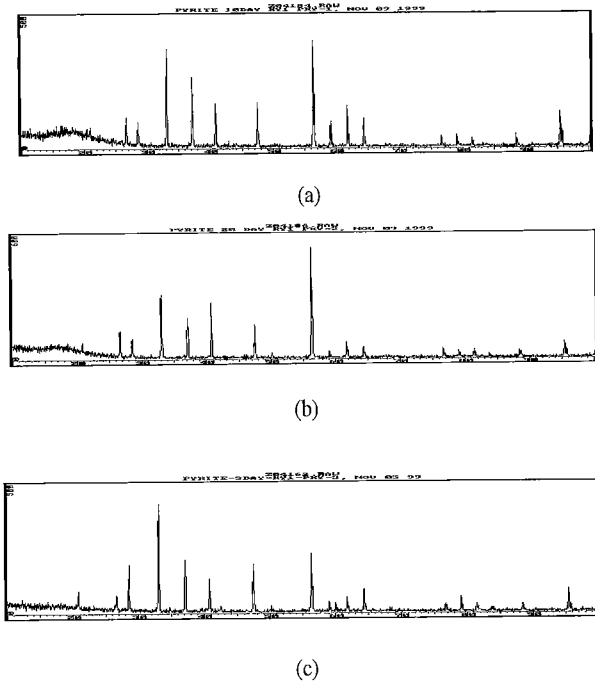


Figure 5. XRD patterns of pyrite sample for leached 10days (a), leached 20days (b), and leached 30 days (c) by *Thiobacillus KY*.

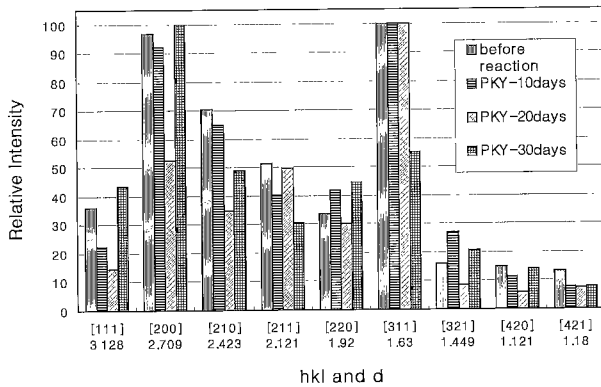


Figure 6. Relative intensities for each hkl planes by recalculated from various XRD results of Fig. 4, X abscissa represents hkl and d spacing simultaneously, and Y abscissa is relative intensity  $I/I_0$ , where I is each peak intensity and  $I_0$  is the biggest peak.

사용할 경우 1.5405이며 Braggs 법칙에 의하여  $\lambda = 2d \sin \phi$ 에 의하여 격자간의 공간거리(d)를 구하고 이에 대한 hkl 평면을 표시할 수 있다(12). 이러한 계산과정을 통하여 X선회절분석에서 얻어진 각 피크의  $\phi$  값과 강도(I)를 비교하여 Figure 6에 *T. ferrooxidans* 공시균주를 사용한 시료에 대한 결과를, *Thiobacillus KY*를 사용한 시료에 대한 결과를 Figure 7에 도시하였다. 먼저 Figure 6의 결과에서 가장 뚜렷한 점은 20일 침출시킨 시료의 변화이다. 미생물에 의한 생물 침출 반응 시간이 길어질수록 황철석 특정 면의 x-선 강도가 현저하게 감소하거나 증가하고 있다. 특정 면의 x-선 강도가 약하게 나타나는 이유는 *T. ferrooxidans*가 황철석의 특정 면을 선택적으로 침출시켜 그 특정 면이 감소하였기 때문이며, 반대로 특정 면의 x-선 강도 peak가 증가하는 원인은 미생물의 선택적 침출에 의하여 황철석의 새로운 면이 노출되었기 때문인 것으로 사료된다. 이 경우 가장

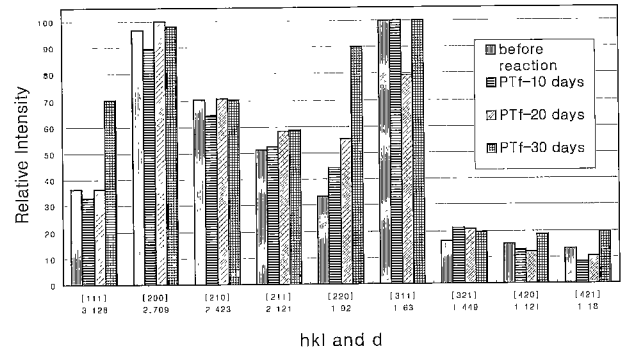


Figure 7. Relative intensities for each hkl planes by recalculated from various XRD results of Fig. 5., X abscissa represents hkl and d spacing simultaneously and Y abscissa is relative intensity ( $I/I_0$ ), where I is each peak intensity and  $I_0$  is the biggest peak.

강도가 큰 피크가 다른 시료와는 달리 [311]평면에서 [200]평면으로의 변화이다. 이는  $Fe_2S_3$ 의 결합에서 S-Fe-S의 결합에서 Fe-S 결합이 끊어짐에 따라 [311]평면이 상대적으로 감소함에 기인하는 것으로 황철석의 표면에 결정구조에 큰 변화가 일어났음을 알 수 있다. 또한 [111]평면과 [220]의 경우 30일 침출된 경우 상대적으로 노출된 양이 많은데 이것은 결정구조의 안쪽에 자리한 원자에도 변화가 생겼음을 나타낸다. 다른 평면의 경우 침출 시간에 따른 노출량에 변화가 크지 않으며 이는 특정평면에 미생물이 작용하여 침출이 일어남을 반증한다. *Thiobacillus KY*위 경우 10일간 침출 반응시킨 시료에서 결정구조의 변화가 크게 나타났는데 앞의 *T. ferrooxidans*의 경우처럼 [311]평면의 감소와 [200]평면의 상대적 증가로 나타나 같은 경향을 보이고 있다. 이는 *Thiobacillus KY*균주가 더 빠른 침출이 일어난 결과에 기인하는 것으로 보인다. 결국 생물학적침출은 화학적 침출과는 달리 침출이 진행되면서 나타나는 결정구조의 변화가 나타나며 이는 S-Fe-S 결합의 해체에 의하여 일어나고 미생물은 이러한 결정구조에 선택적으로 작용한다는 결론을 얻을 수 있다. 또한 황철석의 경우에 표면에는 정육면체구조에 따라 여러 결정면이 노출되어 있으며 미생물이 표면을 공격할 때 노출된 S를 먼저 산화시켜 Fe-S결합이 끊어지게 되고 이 결과로 Fe ion이 자유이온으로써 침출되는 것으로 보인다(17). *Thiobacillus KY*의 경우에도 유사한 경향을 보이나 변화가 10일 경과시점에서 일어난다. 이는 앞서의 X-선회절분석 결과와도 일치하는 것으로 *Thiobacillus KY*의 경우에 침출이 초기에 더 빠르게 일어나며 침출과정은 유사한 것으로 결론 지을 수 있다.

### SEM-EDS 분석에 의한 표면의 원자비율 변화 분석

주사현미경으로부터 얻어진 이미지상의 특정 부분을 X선에 의한 EDS로 분석하여 원자의 종류별 비율을 정량 하였다. Figure 8은 SEM-EDS를 침출시키기 전의 시료에 대하여 분석한 결과로서 Fe 36.97%, S 45.71%, Si 16.94%이며 나머지는 산소 원자와 구리원자로서 불순물의 원자들이다. 불순물의 원자비율은 침출이 진행되면서 0.1%이하로 줄었다. *T. ferrooxidans*에 의하여 침출이 진행된 각각의 시료에 대하여 SEM-EDS를 분석하여 표면의 모습과 Fe, S, Si 원자의 비율을 Figure 9에 도시하였다. 표면의 S 원자비율은 침출이 10일 진행될 때까지 약 2%의 증가를 보이며 Fe의 비율은 변화가 거의 없으며 Si는 1% 감소하였다. 침출반응 20일 경과 시료에서는 황 성분의 변화는 없으

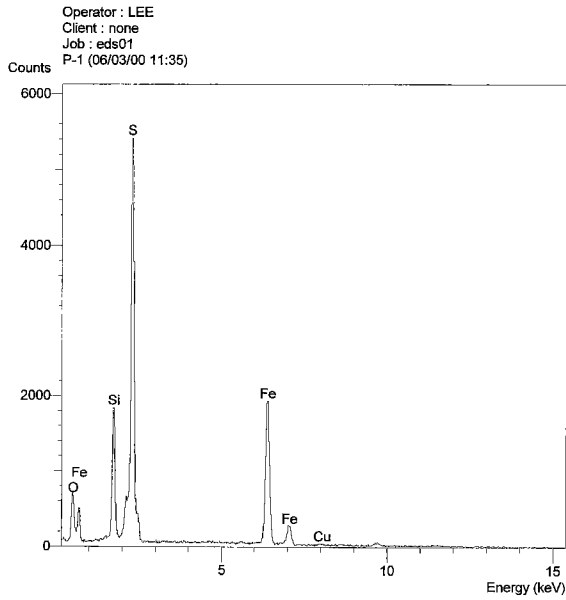


Figure 8. SEM-EDS patterns for fresh pyrite. Fe atomic ratio is 36.97%, S is 45.71%, Si 16.94% and the remains are oxygen and Cu.

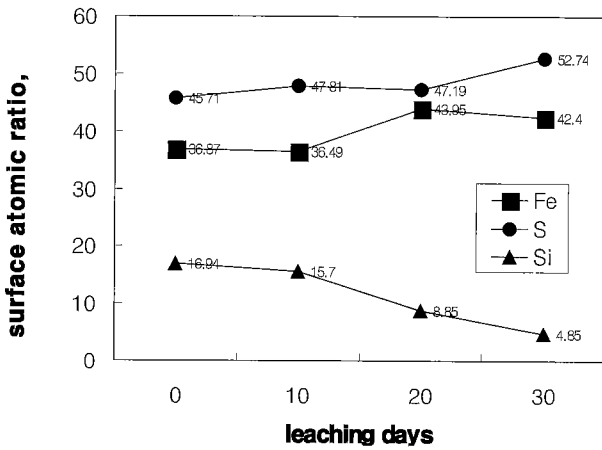
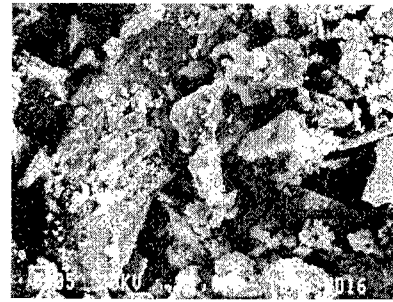
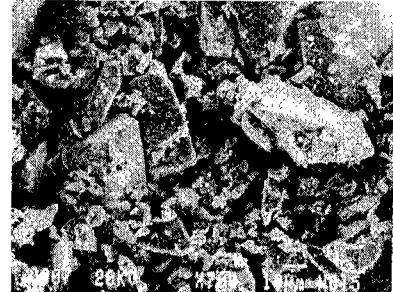


Figure 9. Atomic contents ratio of Fe, S, Si on the surface of pyrite as a function of leaching days.

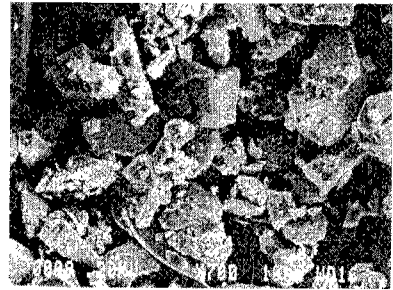
나 Fe 비율이 7% 증가하고 Si 성분이 같은 비율로 감소하고 있다. 이러한 결과는 반응이 진행됨에 따라 표면의 결정구조변화에 따라 철성분이 상대적으로 증가하고 노출된 Si 위에 철이 다시 침착된 결과로 해석된다. 반응시간 30일 경과시료의 경우 S의 비율이 52%까지 증가하고 철의 비율은 1% 감소하여 큰 변화를 보이지 않는다. 이 경우 침출된  $Fe^{2+}$ 가 미생물에 의하여  $Fe^{3+}$ 로 산화된 후 비정질의 ferric hydroxy sulfate 형태 또는 결정질의 jarosite 형태로 기질의 표면에 침착될 수 있는데[18], X-선 회절 분석의 결과에 나타난 피크의 모습이 비정질의 형태가 아닌 강한 결정성 피크를 보이는 것으로 미루어  $SO_4^{2-}$  이온이  $NH_4^+$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$  등의 양이온과 형성한 jarosite가 표면에 침착되는 것으로 보여진다(17). 보다 정확한 분석을 위하여 *T. ferrooxidans* 공시균주에 의하여 Figure 10에 SEM을 이용하여 침출전(a), 30일 경과 후(b)에 대한 1000배 확대한 사진을 얻었다. 침출전의 표면이 거친데 비하여 30일동안 미생물에 의한 침출이 진행된 후에는 표



(a)



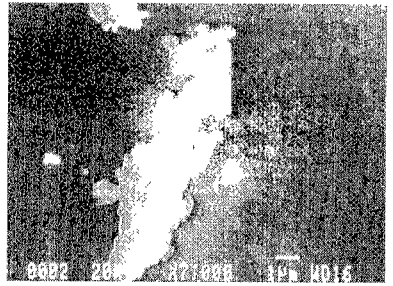
(b)



(c)



(d)



(e)

Figure 10. SEM images for fresh pyrite (a), 10 days (b), 20 days (c), 30 days (d) and magnified 7000 times circle on the (e). Scale bar for (a) to (d) is 10 $\mu$ m, (d) is 1 $\mu$ m.

면이 매끄럽게 변화하였다. 노출된 황철광 위에 침착물(원형 안에 물질)을 7000배로 확대한 후 EDS로 분석한 결과 S 59.56%, Fe 38.9%, Si 1.53%의 원자구성비를 가진 물질이었으며 S가 60%에 육박하는 물질임을 가만할 때 침출된 황이 황철석위에 침착된 물질로 보이며 Si, Fe, S 또는 (SO<sub>4</sub>)가 결합된 물질로 추정되며 이에 대한 연구가 더욱 진행되어야 할 것으로 보인다. SEM-EDS 결과에 나타난 바와 같이 표면에 Si 비율은 반응이 진행됨에 따라 꾸준히 감소하는데 이는 황철석 표면에 노출된 SiO<sub>2</sub>가 Fe와 황의 침착물에 의하여 노출면이 감소된 결과에 기인한 것으로 보여 Fe-S 침착물이 침출과정 후 다시 침착된다는 결론을 뒷받침한다.

이러한 결과를 종합하여 침출과정을 기질의 표면변화에 따라 해석하면 다음과 같은 결론이 도출된다. 침출이 시작되면서 표면의 결정구조변화가 10-20일 사이에 일어나고 이때 황성분이 상대적으로 감소하고 철성분의 노출이 많아진다. 이는 Sand등[5]이 제시하는 미생물에 의한 "direct attack mechanism"과 부합되는 결과로서 미생물이 초기에 황철석의 표면에 황과 반응하는 단계로서 M-S 결합이 끊어지고 이에 따라 측정된 결정평면의 노출비율이 변화되었다고 설명된다. 결합이 파괴된 자유이온 상태의 Fe는 용액속에 Fe<sup>2+</sup>형태로 침출되어 미생물에 의하여 Fe<sup>3+</sup>로 산화되고 S<sup>0</sup>는 미생물의 작용으로 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>까지 산화과정이 진행된다. 또한 Fe<sup>3+</sup>와 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>는 용액에 농도가 증가함에 따라 일정한 비율로 황철석의 표면에 재침착되어 침출속도가 감소되는 것으로 설명된다. 침출이 진행된 시료를 재분쇄(regrinding)하면 침출속도가 증가한다는 보고가 있는데(4), 이는 침출과정이 진행됨에 따른 표면의 결정구조변화와 수반되는 Fe<sup>3+</sup> 및 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>의 혼합물의 침착에 의하여 불활성화된 표면을 기계적으로 제거하는 효과에 기인한다고 볼 수 있다. 이러한 침출과정에 나타나는 현상을 감안하여 미생물에 의한 침출속도를 일정하게 유지하기 위한 방법을 제시하면 다음과 같다. 먼저 용액중의 Fe<sup>3+</sup>와 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>의 농도를 감소시켜 침착이 일어나지 않도록 하는 것이 필요하다. 따라서 침출반응이 진행된 후 20일 이내에 용액중의 이온을 분리하여 제거한 후 미생물만을 재순환하는 공정이 효율적으로 판단된다. 침출이 일정시간 진행된 기질에 대해서는 기질표면을 기계적인 방법으로 새로운 결정면을 노출시켜주는 것도 고려할 수 있다. 즉 침출반응이 진행될수록 표면이 불활성화되므로 새로운 활성면을 노출시켜 미생물로 하여금 반응이 잘 진행되도록 하는 것이다.

미생물에 의한 침출이 진행되면서 대상 금속황의 표면변화의 보다 일반적이 규칙성을 증명하기 위해서는 황철석이외에 CuS, ZnS, PbS등 다양한 금속황에 대한 침출에 따른 표면변화를 관찰할 필요가 있을 것으로 사료되며 향후 이에 대한 연구를 계속하고자 한다. 또한 폐광에서 채취한 금속황 시료 표면을 직접 관찰하는 방법도 고려할 수 있으나 이에 대한 연구방법이 먼저 확립되어야 할 것이다.

## 요 약

공시균주인 *Thiobacillus ferrooxidans*(ATCC 19859)와 광양의 폐광산수에서 분리한 *Thiobacillus KY*를 이용하여 황철광(pyrite, FeS<sub>2</sub>)에 대하여 30일간 침출반응하여 반응시간에 따른 황철광의 표면특성변화를 관찰하였다. *Thiobacillus ferrooxidans* (ATCC

19859)의 경우 반응시간 20일 경과 후, *Thiobacillus KY*는 반응시간 10일 후 각각 황철광 표면에 결정구조의 변화가 관찰되었다. Fe<sub>2</sub>S의 결합에서 S-Fe-S의 결합이 끊어짐에 기인하는 [311]평면의 상대적으로 감소와 침출시간 증가에 따른 [111]평면과 [220]의 상대적으로 노출의 증가의 특징을 나타냈다. SEM-EDS 결과 침출시작기 전의 시료는 Fe 36.97%, S 45.71%, Si 16.94%이며 반응이 진행됨에 따라 황성분의 비율이 증가하였다. 또한 노출된 황철광 위에 침착물은 S 59.56%, Fe 38.9%, Si 1.53%의 원자구성비를 가진 물질이었다. 이러한 결과로 부터 침출이 진행되면서 결정구조의 변화와 황과 철의 침착물에 의하여 황철광의 표면이 비활성화된다는 결론을 도출할 수 있다.

## 감 사

본 연구는 1997년 한국학술진흥재단의 생물화학공학 학술연구비 지원에 의하여 연구되었으며 이에 감사 드립니다.

## REFERENCES

- Colmer, A. R., Hinkle, M. E.(1950), The role of microorganism in acid mine drainage: A preliminary report, *Science* **106**, 253-256.
- Torma, A. E.(1997), The role of *Thiobacillus ferrooxidans* in hydrometallurgical processes, *Adv. Biochem. Eng.*, **6**, 1-37.
- Douglas E. Rawlings and Simon Silver(1955), *Mining with Microbes*, **13**, 773-778.
- Tohru Wakatuki(1995), Metal oxidoreduction by microbial cells, *J. Ind. Microbiology*, **14**, 169-177.
- Sand, W., Gerke, T., Hallman, R., Schipper, A.,(1995), Sulfur chemistry, biofilm, and the (in)direct attack mechanism, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **43**, 961-966.
- Anderson, P. R. and Benjamin, M. M.(1985), Effects of silicon on the crystallization and adsorption properties of ferric oxides, *Environ. Sci. Tech.*, **17**, 686-692.
- Murr, L. E. and Mehta, A. P.(1982), Coal desulfurization by leaching involving acidophilic and thermophilic microorganism, *Biotech. Bioeng.*, **24**, 743-748.
- Powell, J. D.(1988), Origin and influence of coal mine drainage on streams of the United States, *Environ. Geol. Wat. Sci.*, **11**, 141-152.
- Sengupta, M.(1993), Environmental impacts of mining: Monitoring, restoration, and control, Lewis, pp. 494.
- Konishi, Y., Asai, S. and Katoh, H.(1990), Bacterial dissolution of pyrite by *Thiobacillus ferrooxidans*, *Bioprocess Engineering*, **5**, 231-237.
- Anthony R. West(1984), Solid state chemistry and its applications, John Wiley & Sons, 49-52.
- Lyman, C. E.(1986), Scanning electron microscopy, X-ray microanalysis, and analytical electron microscopy, Goldstein, Plenum Press, New York, 3-47.
- Wise, D. L.(1997), Global environmental biotechnology, Kluwer Academic Publishers, 157-169.
- Silverman, M. P. and Lundgren, D. G.(1959), Studies on the chemoautotrophic iron bacterium *Ferrobacillus ferrooxidans*, *J. Bacteriol.*, **77**, 642-647.
- Axel, S., Peter-Georg, J. and Wolfgang, S.(1996), Sulfur chemistry in bacterial leaching of pyrite, *Appl. Environ. Microbiol.*, **62**, 3424-3431.

16. Ki, M. H., Cha, J. M., Lee, I. H. (1988), Oxidation ferrous sulfate by *Thiobacillus ferrooxidans*, *Environ. Eng. Res.*, 20, 851-861.
17. Lazaroff, N., Sigal, N., and Wasserman A.(1982), Iron Oxidation and precipitation of ferric hydroxysulfates by resting *Thiobacillus ferrooxidans* cells", *Appl. Environ. Microbiol.*, 43, 924-938.
18. Grishin, S. I., Bigham, J. M. and Tuovinen, O. H.(1988), Characterization of jarosite formed upon bacterial oxidation of ferrous sulfate in a packed bed reactor, *Appl. Environ. Microbiol.*, 54, 3101-3106.