자원환경지질, 제42권, 제5호, 445-455, 2009
Econ. Environ. Geol., 42(5), 445-455, 2009

미생물학적 황산염 환원에 의한 토양 내 비소와 구리의 원위치 침전

장해영[1] · 전효택[2*] · 이종운[3]
[1]GS칼텍스, [2]서울대학교 에너지자원공학과, [3]전남대학교 에너지자원공학과

In-situ Precipitation of Arsenic and Copper in Soil by Microbiological Sulfate Reduction

Hae-Young Jang[1], Hyo-Taek Chon[2*] and Jong-Un Lee[3]
[1]GS Caltex Corporation, GS Gangnam Tower, Seoul 135-985, Korea
[2]Department of Energy Resources Engineering, Seoul National University, Seoul 151-744, Korea
[3]Department of Energy and Resources Engineering, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

Microbiological sulfate reduction is the transformation of sulfate to sulfide catalyzed by the activity of sulfate-reducing bacteria using sulfate as an electron acceptor. Low solubility of metal sulfides leads to precipitation of the sulfides in solution. The effects of microbiological sulfate reduction on in-situ precipitation of arsenic and copper were investigated for the heavy metal-contaminated soil around the Songcheon Au-Ag mine site. Total concentrations of As, Cu, and Pb were 1,311 mg/kg, 146 mg/kg, and 294 mg/kg, respectively, after aqua regia digestion. In batch-type experiments, indigenous sulfate-reducing bacteria rapidly decreased sulfate concentration and redox potential and led to substantial removal of dissolved As and Cu from solution. Optimal concentrations of carbon source and sulfate for effective microbial sulfate reduction were 0.2~0.5% (w/v) and 100~200 mg/L, respectively. More than 98% of injected As and Cu were removed in the effluents from both microbial and chemical columns designed for metal sulfides to be precipitated. However, after the injection of oxygen-rich solution, the microbial column showed the enhanced long-term stability of in-situ precipitated metals when compared with the chemical column which showed immediate increase in dissolved As and Cu due to oxidative dissolution of the sulfides. Black precipitates formed in the microbial column during the experiments and were identified as iron sulfide and copper sulfide. Arsenic was observed to be adsorbed on surface of iron sulfide precipitate.

Key words : microbiological sulfate reduction, in-situ precipitation, mine soil, arsenic, copper

미생물학적 황산염 환원은 황산염을 전자수용체로 이용하는 황산염 환원 박테리아에 의해 황산염이 황화이온으로 변환되는 과정이다. 형성된 황화이온은 주변의 용존 금속 이온과 결합하여 용해도가 낮은 금속 황화물로 침전된다. 이 연구에서는 비소와 중금속으로 오염된 송천 금은광산 일대 토양을 대상으로 하여 토착 박테리아에 의한 황산염 환원을 유도함으로써 독성 원소의 원위치 고정화 기술의 효율성을 평가하였다. 왕수 분해 결과, 대상 토양 내 비소, 구리, 납의 함량은 각각 1,311 mg/kg, 146 mg/kg, 294 mg/kg 등으로 나타나 특히 비소의 오염이 심각한 상태였다. 회분식 실험 결과, 미생물학적 황산염 환원에 의하여 pH 증가, 산화환원전위 감소, 황산염 함량 감소, 비소와 구리 함량 감소 등이 관찰되었다. 이 때 가장 높은 중금속 침전 효율을 유도하는 탄소원과 황산염의 농도 범위는 각각 0.2~0.5%, 100~200 mg/L로 나타났다. 미생물학적 또는 화학적으로 황화물 침전을 유도하게 고안된 컬럼 실험 수행 결과, 비소와 구리는 두 컬럼에서 모두 98% 이상 제거되었다. 그러나 산소를 다량 포함한 용액을 주입한 후, 화학적으로 황화물 침전을 유도한 컬럼에서는 즉각적인 비소와 구리의 재용출 현상이 나타났으나, 미생물학적 황산염 환원을 유도한 컬럼에서는 침전물이 30일 이상 장기간 안정성을 보였다. 미생물학적 컬럼 내에 형성된 검은색 침전물을 분석한 결과 FeS와 CuS로 나타났으며 비소는 대부분 철 황화물에 흡착되어 있는 것으로 확인되었다.

주요어 : 미생물학적 황산염 환원, 원위치 침전, 광산 토양, 비소, 구리

*Corresponding author: chon@snu.ac.kr

1. 서 론

미생물학적 황산염 환원은 황산염(sulfate, SO_4^{2-})을 전자수용체(electron acceptor)로 이용하는 황산염 환원 박테리아(SRB; sulfate-reducing bacteria)의 활동에 의하여 황산염 이온이 황화이온(sulfide, S^{2-})으로 환원되는 작용을 말하며, 이는 반응속도론적으로 무생물적(화학적) 반응에 비하여 매우 빠른 것으로 알려져 있다(Gibson, 1990). 미생물학적 환원 과정에서 형성된 황화이온은 금속을 황화물의 형태로 침전시키며, 침전된 금속 황화물의 매우 낮은 용해도에 의해 금속 이온이 용액 중으로부터 제거된다(Metcalf, 2003).

비소나 중금속으로 오염된 심부 토양 및 지하수에 대해 가장 널리 이용되는 복원기술은 오염된 물질을 지상으로 꺼내어 처리하는 방법(ex-situ pump-and-treat method)이다(예를 들면, Keimowitz *et al.*, 2007). 그러나 이러한 방법은 설비가 복잡하고, 비싸며, 다량의 화학 물질을 사용하고, 작업 종사자가 오염물에 노출될 위험이 있으며, 다량의 슬러지가 발생되는 등의 단점이 있다.

미생물학적 황산염 환원 과정에서 생성된 황화이온은 토양 내 금속 이온과 반응하여 황화물 형태의 침전물을 형성하므로 중금속이 원위치 침전(ISMP; in-situ metal precipitation)되는 효과를 기대할 수 있다(Suthersan, 1997). 토양 환경 내에 많이 존재하는 황산염 중 일부만 환원되어도 대부분의 독성 원소를 침전시킬 수 있으며, 박테리아가 토양으로부터 황산염을 직접 이용하기 어려운 경우, 황산염을 추가적으로 주입해 주는 방법을 고려할 수 있다. 또한 심부에 분포하는 독성 원소의 처리를 위해 고가의 화합물을 별도로 투입할 필요가 없이 미생물의 활성화를 위한 간단한 전자공여체 겸 탄소원만을 공급하면 되므로 설비 및 운영의 측면에서 다른 복원기술에 비하여 비용이 훨씬 저렴하다. 특히 유기화합물과 중금속에 의해 복합적으로 오염되어 있는 토양의 경우, 유기화합물을 미생물이 분해하여 탄소원으로 이용하게 되므로 유기물 오염까지 동시에 처리할 수 있는 장점이 있다.

미생물학적 황산염 환원을 이용한 중금속의 처리 기술에 대한 연구는 미국 등 선진국에서 활발히 연구되고 있다. 국내의 경우, 국외의 성과에 비교할 만한 기술개발이 이루어지지 않은 실정으로서, 비소 오염 퇴적물 내에서의 비소 고정화(Lee *et al.*, 2005a, 2006), 미생물학적 황산염 환원에 의한 mackinawite(FeS) 형성(Ha *et al.*, 2006), 크롬으로 오염된 공장 폐수에 대한 미생물학적 황산염 환원의 영향 및 개략적 모델 제시(Chang and Kim, 2007), 자연적인 황산염 함량에 따른 미생물학적 중금속 고정화 연구(Song *et al.*, 2007) 등이 수행된 바 있다.

이 연구에서는 심부 토양 및 지하수를 오염시키는 '산화환원전위에 민감한(redox-sensitive)' 독성 원소와 중금속을 미생물학적 황산염 환원 반응을 이용하여 원위치에 침전시키는 기술의 효율성을 실험을 통해 평가하고자 하였다.

회분식(batch) 실험에서는 토양으로부터 토착미생물 집단을 추출하여 오염 토양에 접종한 후 배양하며 시간에 따른 pH, 산화환원전위, 황산이온 함량, 용존 중금속 함량 등의 변화를 관찰하여 미생물학적 황산염 환원 및 중금속 침전이 실제로 발생하는지의 여부를 파악하였다. 또한 가장 높은 중금속 침전 효율을 보이는 탄소원과 황산염의 농도 범위를 확인하여 오염 처리를 위한 최적의 컬럼(column) 운전 조건을 파악하고자 하였다.

회분식 실험에서 얻은 정보를 바탕으로 보다 자연적인 수리지질학적 조건에서의 반응을 모사하기 위하여 컬럼식 실험을 수행하였다. 컬럼을 통해 나오는 배출수 내의 중금속 함량을 모니터링하여 미생물학적 황산염 환원에 의한 중금속의 침전 및 고정화 효율을 평가하였다. 또한 컬럼 내에 형성된 침전물을 일부 채취하여 화학조성 및 광물조성을 파악함으로써 실제로 황화물 침전이 발생하였는지의 여부를 밝히고자 하였다. 한편 침전된 광물이 산소의 유입과 같은 갑작스런 환경 변화에도 불구하고 장기간에 걸쳐 그 안정성을 확보할 수 있는지의 여부를 규명하고자 하였다.

2. 실험 재료 및 방법

2.1. 토양 분석

연구 대상인 송천광산은 강원도 강릉시 연곡면 삼산리에 위치하고 있는 금 · 은 · 몰리브덴 광산으로서 1970년대 후반에 채광이 중단되었다. 그간 송천광산은 주변에 적치된 광미와 일대 토양에서 높은 비소와 중금속 함량이 보고되어 왔다(Lee *et al.*, 2005b; Lim *et al.*, 2008). 2008년 5월 선광 시설 주변 선광 잔재물이 있던 곳에서 심도 30~60 cm의 심토를 채취하여 실험에 이용하였다.

채취한 토양 시료는 건조 후 10 mesh와 80 mesh 체를 이용하여 체질하고, 10 mesh 이하의 토양 시료는 토양 pH, 작열감량(loss-on-ignition), 양이온교환능력

의 측정과 입도분석, 총 질소 및 탄소 함량 분석에 사용하였으며, 80 mesh 이하의 토양은 왕수(aqua regia) 분해 후 중금속 정량에 사용하였다. 총 질소 및 탄소 함량은 10 mesh 이하의 토양을 대상으로 원소분석기(elemental analyzer; Flash EA 1112, Thermo Electron Corporation, USA)를 이용하여 분석하였다. 토양 내 중금속의 함량은 왕수 분해 후 유도결합플라즈마발광광도기(ICP-AES, inductively coupled plasma - atomic emission spectrometer; OPTIMA 4300DV, Perkin Elmer, USA)를 이용하여 측정하였다. 실험에 사용된 모든 실험 용기는 10% 염산 용액에 24시간 세척하여 용기에 흡착되어 있는 중금속을 제거하였다.

토양 내 중금속의 존재 형태를 알기 위하여 연속추출(sequential extraction)을 실시하였으며 이 때 실험에 사용한 추출제와 추출된 중금속의 존재 형태는 Table 1과 같다.

2.2. 미생물 분리

황산염 환원 박테리아의 존재는 철 이온을 포함하는 배지에서 시료 중의 박테리아를 혐기적으로 배양하고 생장 결과 생성된 황화물이 철 이온과 반응하여 흑색의 황화철을 출현시키는 원리를 통하여 검출하였다. 혐기성 한천배지에 sodium sulfate(5 g/L)와 ferrous sulfate (0.05 g/L)를 첨가하고 토착미생물 접종액(inoculum) 1 mL를 pour plate 방법으로 접종하였다. 이후 30°C 조건에서 며칠간 혐기성 용기(anaerobic jar) 내에서 배양한 결과 흑색의 집락(colony)이 나타났으며, 이를 통하여 황산염 환원 박테리아의 존재를 확인할 수 있었다. 토착미생물 접종액은 증류수 50 mL와 건조하지 않은 토양 시료 5 g을 혼합하고 배양기에서 1 시간 동안 150 rpm으로 진탕한 후 자연침강시킨 후 그 상등액을 채취하여 이용하였다.

2.3. 회분식 실험

건조된 토양 시료 130 g과 탄소원 용액 400 mL를 serum bottle에 담아 고압멸균기(autoclave)를 이용하여 멸균하였다. 탄소원으로는 메탄올과 포도당을 1:1의 비율로 섞어 제조하였다. 최적의 탄소원 함량을 구하기 위하여 최종 탄소원 농도가 각각 0.05%, 0.1%, 0.2%, 0.5%(w/v) 등이 되도록 제작하여 각 실험 세트에 주입하였다(Table 2). 질소원으로는 NH_4Cl 용액을 500 ppm이 되도록 제조한 후 주입하였다. 이후 앞에서 준비한 미생물 접종액을 조성된 실험 세트에 접종하였으며, 이 때 무생물적(화학적) 비교실험(control)을 위

Table 1. Extractants used in the sequential extraction and nominal phases

Extraction step	Extractants	Phases
1	$MgCl_2$ (1 M)	Exchangeable (easily extractable)
2	CH_3COOH (0.16 M)	Carbonate-bound (easily extractable)
3	$NH_2OH{\cdot}HCl$ (0.5 M) at pH 2	Manganese oxides (reducible)
4	oxalate buffer (0.2 M) at pH 3	Iron oxides (reducible)
5	diluted HNO_3 (0.035%), H_2O_2, CH_3COOH (0.16 M)	Organic matters and sulfides (oxidizable)
6	HNO_3, HCl	Silicate minerals (residual)

Table 2. Setup of the batch experiments

Batch no.	Bacteria	Substrates	Additives
A	×	carbon source (0.2%)	Na_2SO_4 (100 mg/L)
B1	○	DIW*	
B2	○	carbon source (0.05%)	
B3	○	carbon source (0.1%)	
B4	○	carbon source (0.2%)	
B5	○	carbon source (0.5%)	
C1	○	carbon source (0.2%)	DIW
C2	○		Na_2SO_4 (50 mg/L)
C3	○		Na_2SO_4 (200 mg/L)
C4	○		Na_2SO_4 (500 mg/L)

*Deionized water

해 미생물을 접종하지 않은 비교시료에는 동일한 양의 멸균된 증류수를 주입하였다.

인위적으로 비소와 구리로 오염된 토양수를 제조하기 위한 시약으로는 NaH_2AsO_4(Aldrich)와 $CuCl_2$(Junsei)를 각각 사용하였다. 미생물 배양 시작 후 활성도가 높아지는 3일째에 각 실험 세트에 인위적으로 비소와 구리를 각각 70 mg/L와 30 mg/L 주입하였다. 몇 개의 실험 세트에는 다양한 농도의 황산염을 투입하여 황산염의 추가적인 주입이 반응을 활성화시키는지의 여부와 최적의 황산염 함량 범위를 알고자 하였다(Table 2). 조성된 회분식 실험 세트에 N_2(100%) 가스를 purging하고 butyl rubber stopper로 입구를 막아 혐기성 환경을 유지하면서 중금속을 주입한 시점부터 42일간 반응시켰다. 이 기간 동안 주기적으로 용액을 채취하여 pH, 산화환원전위, 용존 중금속 함량, 황산이온 함량을 측정하였다. 황산이온의 함량은 ion chromatography (DX-500, Dionex, USA)를 이용하여 정량하였다. 모든 실험은 중복실험을 실시하였다.

2.4. 컬럼식 실험

컬럼의 내부 직경은 4 cm, 길이는 30 cm가 되도록 아크릴 재질로 제작하였다. 토양 570 g를 멸균한 후 3개의 컬럼(컬럼 1, 2, 3)에 충진하고 중금속 용액(비소 70 mg/L, 구리 30 mg/L)을 제조하여 상향 주입하였다. 용액 주입을 위한 펌프는 4-line 연동식(peristaltic) 펌프(Masterflex L/S, Cole Palmer Inc., USA)를 사용하였다.

컬럼을 통해 배출되는 용액의 중금속 함량이 주입수의 함량과 같아질 때까지 중금속 용액을 20일간 주입한 후, 메탄올과 포도당을 섞은 탄소원 용액을 0.2% 농도로 첨가하였다. 컬럼 1에는 100 mg/L의 Na_2SO_4와 증류수를 주입하여 비교 실험 세트로 이용하였으며, 컬럼 2에는 100 mg/L의 Na_2S와 증류수를 주입하여 화학적(무생물학적) 황화물 침전을 유도하였고, 컬럼 3에는 100 mg/L의 Na_2SO_4와 미생물 접종액을 접종하여 미생물학적 황산염 환원에 의한 금속 황화물 침전을 유도하였다(Table 3). 이후 30일간 컬럼을 운영하며 배출수 내의 중금속 함량을 모니터링하였다. 미생물학적 황산염 환원 시스템의 급작스런 산소 유입에 대한 장기간 안정성을 평가하기 위하여, 총 50일 경과 후 산소가 많은 중금속 용액을 주입하기 시작하여 40일간 관찰하였다.

모든 실험 기간 동안 컬럼 상부로 배출되는 용액을 주기적으로 채취하여 0.2 μm 필터를 통해 여과한 후 pH, 산화환원전위, 황산이온 함량, 용존 중금속 함량 등을 분석하였다. 특히 As(V)과 As(III) 함량을 구별하기 위하여 배출 용액을 대상으로 음이온교환카트리지(anion exchange cartridge; LC-SAX, Supelco, USA)를 통과시킴으로서 용액 중의 As(III)만 분리한 후 ICP-AES(OPTIMA 300XL, Perkin Elmer, USA)로 정량하고, As(V) 함량은 총 As 함량과 As(III) 함량 간의 차이로 계산하였다.

컬럼 실험 도중 형성된 침전물 시료는 질소 가스로 충전된 glove box에서 수 일간 건조한 후 XRD(X-ray diffractometer; D5005, Bruker, Germany)와 SEM-EDS(scanning electron microscopy-energy dispersive spectrometer; JSM-6700F, Jeol, Japan)를 이용하여 광물 및 화학 조성 분석을 실시하였다.

3. 실험 결과 및 고찰

3.1. 오염토양의 지구화학적 특성

송천광산 주변 토양의 지구화학적 특성을 분석한 결과는 Table 4와 같다. 실험 대상 토양 시료의 pH는 2.99로 강산성의 pH를 보였다. 이는 황화광물이 지표에 노출되며 생성되는 황산염이 토양 내에 많이 포함되어 있어, pH를 측정하는 과정에서 증류수와 평형을 이루면서 황산이 생성되었기 때문이다. 토양 시료의 양

Table 3. Time table of the column experiments

Time (days)	Column 1 (control)	Column 2 (chemical)	Column 3 (biological)
0-20	As 70 mg/L, Cu 30 mg/L (N_2 purged)		
21-50	As 70 mg/L, Cu 30 mg/L (N_2 purged), 0.2% carbon source solution		
	DIW*	DIW	inoculum
	Na_2SO_4 100 mg/L	Na_2S 100 mg/L	Na_2SO_4 100 mg/L
51-90	As 70 mg/L, Cu 30 mg/L (oxygen-rich)		

*Deionized water

Table 4. Physical and chemical properties of the soil sample

Parameters	Values	Tolerable level*
pH	2.99	
Loss-on-ignition (%)	6.3	
Cation exchange capacity (meq/100 g)	89.48	
Sand fraction (%)	78.2	
Silt fraction (%)	10.3	
Clay fraction (%)	11.5	
Total nitrogen (%)	0.008	
Total carbon (%)	0.064	
Al (%)	1.4	-
As (mg/kg)	1,311	20
Cd (mg/kg)	0.1	3
Cr (mg/kg)	6.5	100
Cu (mg/kg)	146.1	100
Mn (mg/kg)	284.9	-
Ni (mg/kg)	2.9	50
Fe (%)	1.44	-
Pb (mg/kg)	294.9	100
Zn (mg/kg)	79.8	300

*: Kloke (1979)

이온교환능력은 89.48 meq/100 g으로 비교적 높게 나타났다. 작열감량은 6.3%로 측정되었으며, 입도분석 결과 모래 78.2%, 실트 10.3%, 점토 11.5%의 비율을 차지하고 있었다. 작열감량의 수치로 볼 때 유기물의 함량은 적으며, 비교적 높은 점토의 함량 때문에 양이온교환능력이 높게 나타난 것으로 판단된다. 총 질소와 탄소 함량은 각각 0.008%, 0.064%로서 매우 낮아 미생물의 활성화를 위해서는 별도로 질소와 탄소의 공급이 필요한 것으로 나타났다.

토양 내 비소와 중금속의 오염 정도를 조사한 결과, 비소는 1,311 mg/kg의 함량을 나타내어 오염이 심각한 상태였다. 이는 동일 지역을 대상으로 한 Lim *et al.*(2008)의 연구 결과 나타난 평균 1,910 mg/kg보다는 낮은 수치이나, Kloke(1979)가 제시한 토양에서의 중금속 최대 허용한계치에 비하여 65배 이상 높은 값이었다. 그밖에 구리와 납의 함량이 토양에서의 중금속 최대 허용한계치에 비하여 각각 1.5배 및 3배가 높은 함량을 나타내고 있어 오염이 진행되어 있는 상태였다. 따라서 송천광산 토양에 분포하는 토착미생물 집단은 이들 중금속 오염에 비교적 잘 적응되어 있을 것으로 예상되었다. 실험 토양이 납으로 오염이 되어 있었지만, 이번 실험에서는 납을 연구 대상에서 제외하였다. 이는 납 이온은 황산염과 만나 $PbSO_4$ 형태의 침전물을 형성하므로 황화물 침전 반응을 유도하기 어렵기 때문이었다.

토양 시료에 대한 연속추출 결과를 Table 5에 나타내었다. 비소는 망간 산화물과 철 산화물에 결합된 형태가 전체의 87%를 차지하고 있었으며, 이는 철, 망간 산화물과 친화력이 좋은 비소의 특성을 잘 반영하고 있는 것으로 판단하였다. 구리와 납의 경우, 상대적으로 황화물 형태의 비율이 높아 이들 중금속이 황화광상의 풍화로부터 분산되었음을 나타낸다. 납의 경우 이온교환성 형태의 함량이 10.8 mg/kg으로 상대적으로 높아 많은 양이 쉽게 용탈되어 수계로 유입될 가능성이 있는 것으로 나타났다.

3.2. 회분식 실험

동일한 양의 탄소원과 황산염을 접종하였으나 미생물을 접종하지 않은 비교시료(Table 2의 Batch A)와 미생물을 접종한 시료(Table 2의 Batch B4) 간의 시간에 따른 pH와 산화환원전위 변화를 Fig. 1에 나타내었다. pH의 경우, 비교시료에서는 6.71~7.42 사이에서 큰 변화를 보이지 않았으나 미생물 시료에서는 초기 pH 7.05에서 대체적으로 조금씩 증가하여 8.75까지 상승하였다. 이러한 pH의 증가는 황산염 환원 반응에 흔히 수반되는 현상으로서, 황산염 환원 박테리아가 유기물을 산화시키고 황산염을 전자수용체로 이용한 결과 황화수소가 발생되고 알칼리도(HCO_3^-)가 증가하기 때문이다. pH가 상승하면 황산염 환원 시스템에서는 부가적으로 중금속이 수산화물로 침전되고, 대부분의 중금속은 높은 pH에서 이동도가 저하되므로 고정화 효과가 더욱 증대된다(Suthersan, 1997).

산화환원전위는 비교시료에서 -10 mV~20 mV 범위의 값을 나타낸 반면, 미생물 시료에서는 -100 mV 이하의 강한 음의 값을 보였다. 산화환원전위가 -100 mV 이하인 환원 조건에서는 미생물학적 황산염 환원이 활

Table 5. Heavy metal concentrations determined by the sequential extraction (unit: mg/kg)

	Exchangeable	Carbonate-bound	Mn-oxides	Fe-oxides	Organics/sulfides	residual	total
As	0.7 (0.1%)	6.5 (0.5%)	453.0 (34.9%)	672.9 (51.8%)	88.7 (6.8%)	77.0 (5.9%)	1,298.8
Cu	3.6 (2.5%)	4.6 (3.3%)	37.4 (26.4%)	19.2 (13.6%)	67.5 (47.7%)	9.1 (6.4%)	141.4
Pb	10.8 (3.7%)	1.2 (0.4%)	52.3 (18.1%)	132.1 (45.8%)	85.1 (29.5%)	6.7 (2.3%)	288.2

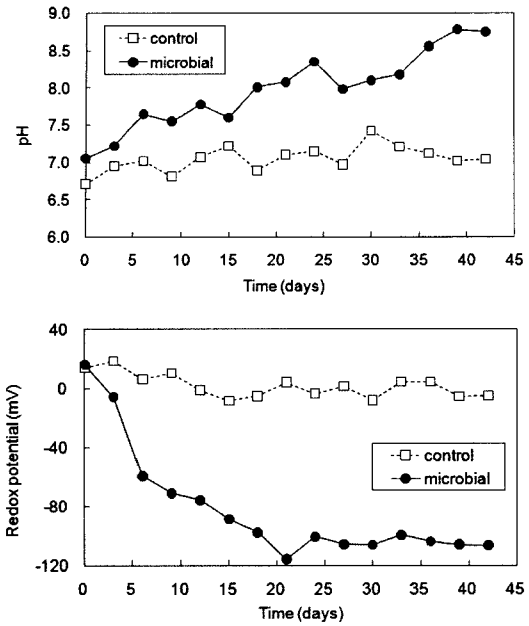

Fig. 1. Variation of pH and redox potential in the batch experiments.

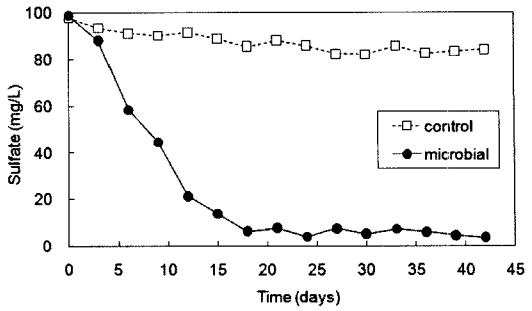

Fig. 2. Variation of sulfate ion concentrations in the batch experiments.

발히 일어난다(Postgate, 1984). 특히 미생물 접종 시료에서 처음 1주 동안 산화환원전위는 급격히 감소하였는데, 이는 황화이온이 생성되면서 산화환원전위 감소 효과가 발생한 것으로 보이며 결과적으로 강한 환원 환경이 형성되어 황산염 환원 박테리아가 활동하기에 적합한 조건이 되었다. 또한 비소와 구리는 환원 환경에서 그 이동성이 매우 낮으므로 중금속 고정화의 효과가 더욱 증대될 수 있다.

황산염을 주입한 실험 세트(Table 2의 Batch A~C4)에서 시간에 따른 황산염 함량의 변화를 관찰한 결과, 3주가 지난 후에는 비교시료인 Batch A와 탄소원을 주입하지 않은 Batch B1, 황산염을 주입하지 않은 Batch C1을 제외하고는 모든 실험 세트에서 70% 이상의 황산염 함량의 감소가 나타났다. 미생물 접종 시료인 Batch B4의 경우, 6주 후 실험이 종료되었을 때 황산염의 감소량은 96.3 mg/L로 비교시료(15.8 mg/L)에 비하여 그 감소량에 있어 6배 정도 큰 차이를 보였다 (Fig. 2). 실험 조건을 환원 환경으로 유지하였으므로 화학적인 황산염 환원도 발생하였을 것으로 생각되나, 미생물 접종 시료에서는 황산염이 급격히 감소한 것으로 보아 미생물이 환원 반응을 촉진한 것으로 판단된다(Geets *et al.*, 2005).

한편 미생물을 접종한 시료들에서는 검은색 침전물이 상당량 생성되어 비교시료와 확연한 차이를 보였다. 이는 토양 구성 성분 중 1.44% 존재하는 철이 환원성 용해되어 발생된 Fe(II)와 황산염이 환원되어 발생된 황화이온이 반응하여 철 황화물의 형태로 침전된 것으로 판단되었다. CuS 형태의 구리 황화 침전물도 포함되어 있을 가능성이 있으나, 철과 구리(146 mg/kg) 간의 함량 차이를 고려할 때 대부분은 철 황화물일 것으로 여겨졌다. 동일한 침전물이 아래에 기술할 컬럼 실험에서도 발생하였으며 이를 분석한 결과 FeS와 CuS가 검출되었다(아래 3.3 절 참조).

42일에 걸친 실험 결과, 미생물을 접종하지 않은 시료에 비해 접종한 시료 내의 중금속 함량이 현저히 감소되어 오염 토양의 미생물 집단은 비소와 구리의 환원 및 침전에 효율적인 것으로 나타났다. 각 탄소원의 농도에 따른 중금속 함량의 변화양상을 Fig. 3에 나타내었다. 비소와 구리 모두 탄소원을 주입하지 않은 경우에는 용액 내에서 거의 감소하지 않아 미생물의 반응이 활성화되지 않은 것으로 나타났다. 탄소원 농도가 0.2% 이상일 경우 실험 시작 후 15일이 경과하자 비소의 농도가 3.5 mg/L 이하로 떨어져 95% 이상의 비소가 용액 중에서 제거되었으며, 실험이 종료된 42일 후에는 1 mg/L 이하로 감소하였다. 반면 탄소원 농도가 0.05%인 경우 실험 종료 후에도 12.55 mg/L의 비소가 남아 있어 미생물의 활동에 필요한 전자공여체가 부족했던 것으로 판단된다. 구리의 경우, 탄소원 농도는 0.1% 이상의 조건에서 구리 함량이 0.63 mg/L 이하로 감소하여 96% 이상의 제거 효율을 보였다. 전반적으로 구리는 적은 탄소원을 주입하여도 비소보다 더 쉽게 침전되는 것으로 나타났다. 종합적으로 볼 때, 비소와 구리의 침전 처리를 위해서는 0.2% 이상의 탄소원이 필요한 것으로 나타났다.

황산염의 투입은 투입하지 않은 경우에 비하여 비소

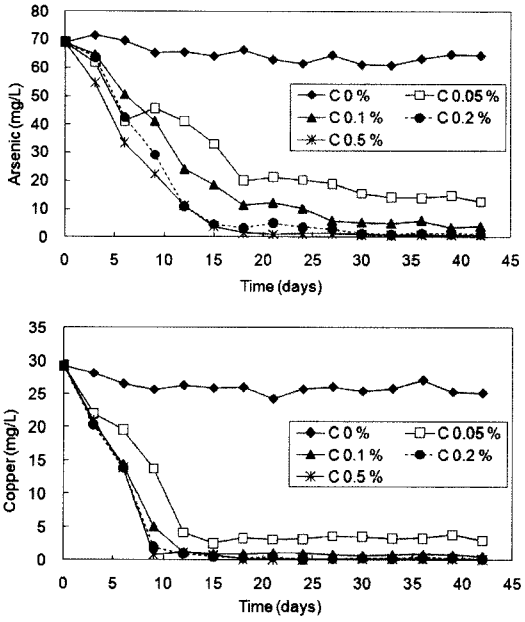

Fig. 3. Removal of arsenic and copper with various concentrations of carbon source solution.

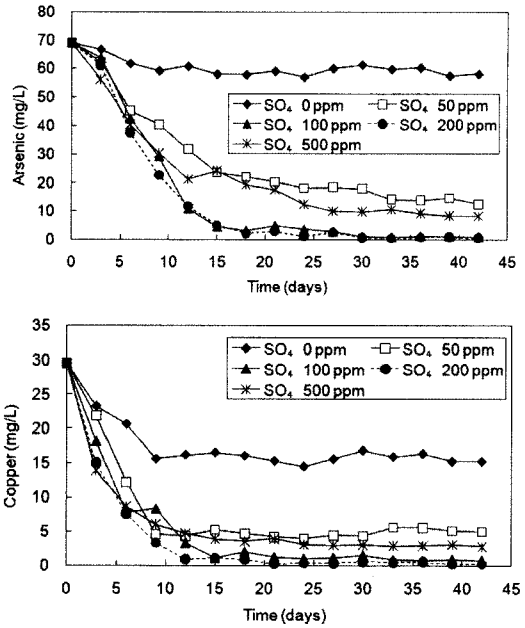

Fig. 4. Removal of arsenic and copper with various concentrations of sulfate.

와 구리의 환원성 제거에 효과적이었으며, 이는 활발한 황화물 형성 및 침전 작용에 의한 것으로 판단된다. 토착미생물 집단은 100 mg/L의 황산염을 투입하였을 때 각각 69.12 mg/L의 비소(98.7%), 19.22 mg/L의 구리(96.1%)를 제거할 수 있었다(Fig. 4). 따라서 미생물이 토양 자체에 존재하는 황산염을 이용하기 보다는 별도로 황산염을 주입하여 직접 이용할 수 있도록 하는 것이 더욱 효과적인 것으로 나타났다. 황산염을 투입하지 않은 경우, 비소는 대부분이 계속 용액 중에 이온 상태로 남아 있었다. 반면 구리는 황산염을 주입하지 않은 경우에도 초기 농도의 50% 정도가 제거되었는데, 이는 황화물 침전에 의한 것 보다는 공급한 탄소원에 의해 다른 박테리아가 성장하며 생물량이 많아져 생물흡착(biosorption)이 발생한 것으로 여겨진다. 한편 500 mg/L의 황산염을 투입하였을 때에는 100 mg/L 또는 200 mg/L인 경우보다 오히려 비소와 구리의 제거 효율이 조금 낮아지는 것으로 확인되었다. 이는 지나치게 많은 황산염의 존재가 미생물의 작용을 저해할 가능성도 있음을 지시하는 것으로서 이에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

3.3. 컬럼식 실험

실험이 진행된 90일 동안, 컬럼 1, 2, 3 배출수 내의 비소 및 구리 함량을 모니터링한 결과는 Fig. 5와 같다. 0~20일 사이에는 세 컬럼 모두 중금속 용액이 포화되며 비소와 구리의 농도가 각각 70 mg/L, 30 mg/L

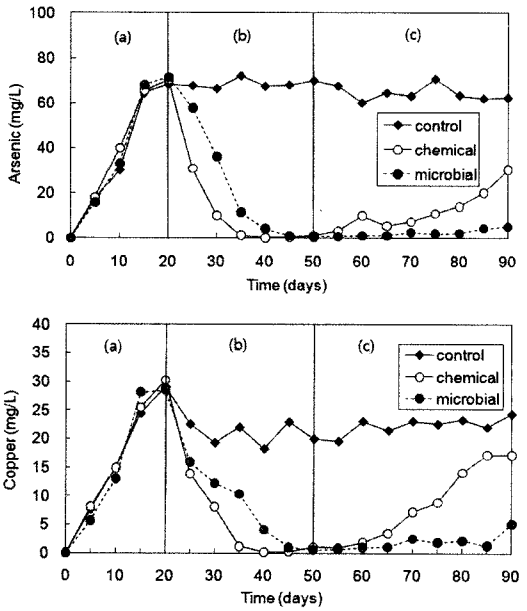

Fig. 5. Variation of arsenic and copper concentrations in effluents during the column experiments. (a) input of only metal solution, (b) bacterial inoculum and supply of SO_4^{2-} or S^{2-}, and (c) input of O_2-rich solution.

에 가까워졌다. 황산염 환원 반응을 유도한 20일 이후부터는 화학적 환원 및 미생물학적 환원을 유도한 컬럼 2, 3에서 중금속의 농도가 급격히 감소하기 시작하였다. 50일 경에는 비소의 경우 0.7 mg/L, Cu의 경우 0.6 mg/L 이하로 각각 99%, 98% 이상의 제거 효율을 보였다. 따라서 비소와 구리가 토양 내에 침전 고정화되었음을 알 수 있었고, 황산염 환원 박테리아가 매개하는 독성 원소의 침전반응은 반응속도 면에서 충분히 빠른 것으로 나타났다.

실험 시작 후 50일째에 산화성 용액을 주입한 후, 약 5일이 지나자 화학적 환원을 유도한 컬럼 2에서는 비소가 재용출되기 시작하였다. 30일이 지나며 미생물학적 컬럼에서도 비소가 용출되기 시작하였으나 그 함량이 매우 낮았으며, 결과적으로 화학적인 비소 황화물 침전을 유도한 컬럼 2보다 미생물학적 침전을 유도한 컬럼 3의 침전 안정성이 6배 좋은 것으로 평가되었다. 30일 동안 배출수 중 비소의 농도는 3 mg/L 이하로 유지되어 이 기간 동안 황산염 환원 박테리아가 토양에 부착되어 있는 유기 탄소를 이용하여 황산염 환원 반응을 지속한 것으로 보였다. 구리의 경우, 침전 상태는 35일간 지속되어 장기적 안정성 면에서 화학적 황산염 환원에 비해 미생물학적 환원이 3.5배 정도 뛰어난 것으로 나타났다.

실험 시작 후 25일 이후에 컬럼 2와 3에서는 회분식 실험의 경우와 유사하게 컬럼 내에 검은색 침전물이 다량 형성되어 주입 또는 생성된 황화이온이 토양에서 용출된 철과 반응하였음을 알 수 있었다. 또한 미생물학적 컬럼(컬럼 3)에서 배출되는 용액 내 비소의 산화 상태를 분석한 결과, 대부분의 비소가 3가 상태로 존재하고 있어 침전물 내에는 As_2S_3가 형성되었을 가능성도 있는 것으로 나타났다(Newman *et al.*, 1997). 형성된 침전물이 실제로 금속 황화 침전물인지 알아보기 위하여 미생물학적 컬럼에서 두 개의 침전물 시료를 채취하여 XRD 및 SEM-EDS를 이용하여 광물 및 화학조성 분석을 실시하였다(Fig. 6~Fig.9).

첫 번째 침전물에 대한 XRD 분석 결과를 살펴 볼 때, 명확하지는 않으나 FeS 형태의 철 황화물에 가까운 것으로 판단되었다(Fig. 6). 이는 컬럼 내의 황산염 환원 시스템이 토양과 침전물의 혼합물이므로 침전물 채취 시 불순물이 혼입되었을 가능성이 있다. SEM-EDS 분석 결과는 이 침전물이 철 황화물일 가능성을 더욱 높게 나타낸다(Fig. 7). 특히 이 침전물에서는 비소가 발견되었으며, 이는 철 화합물과 친화력이 강한 비소의 특성을 잘 반영하고 있는 것으로서, 철과 황에 비해 조성 비율이 작은 것으로 보아 환원된 비소가 철 황화물에 흡착되어 있는 것으로 판단된다. 또한 일부는 철 황화물과 공침전(Bostick and Fendorf, 2003)하였거나 비소 황화물을 형성(Bostick *et al.*, 2004)하였을 가능성도 배제할 수 없다.

두 번째 침전물에 대한 XRD 분석 결과, 주요 피크

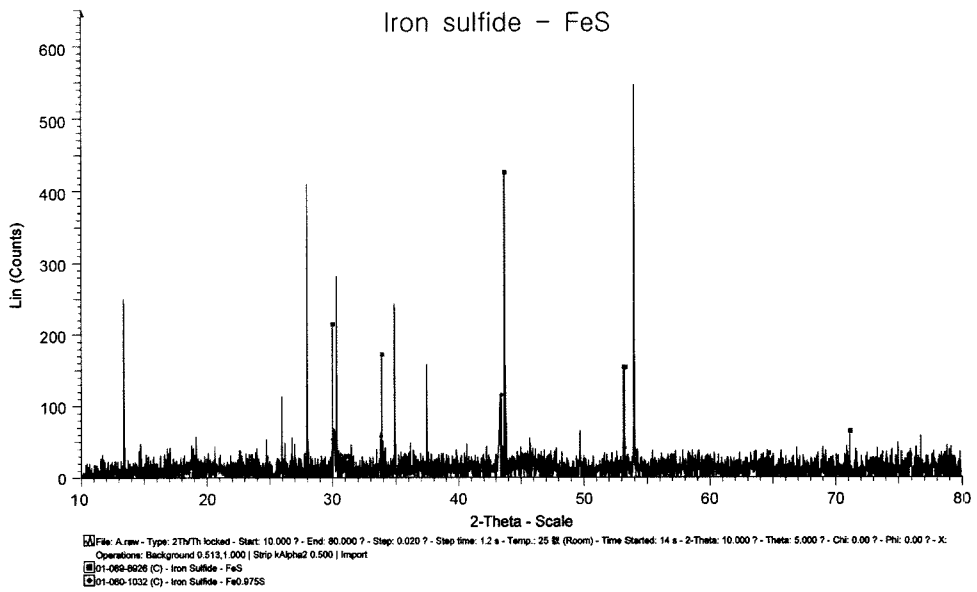

Fig. 6. Result of XRD analysis with the first precipitates in the column.

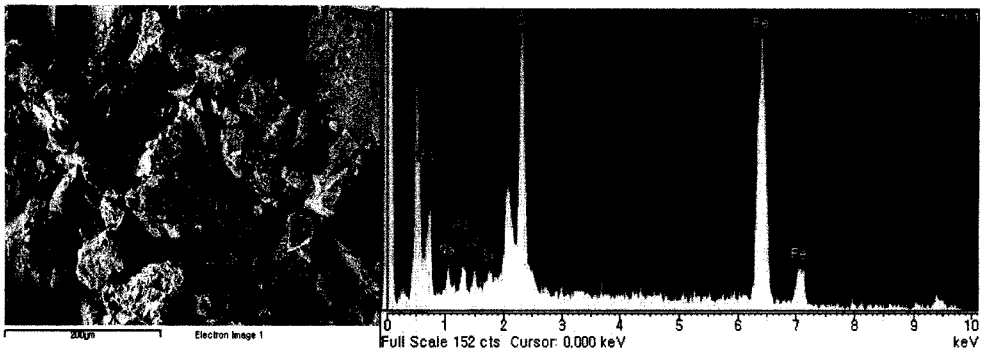

Fig. 7. Result of SEM-EDS analysis with the first precipitates in the column. The peaks are designated as, from left, O, Fe, Na, As, Al, Si, S, Fe, and Fe.

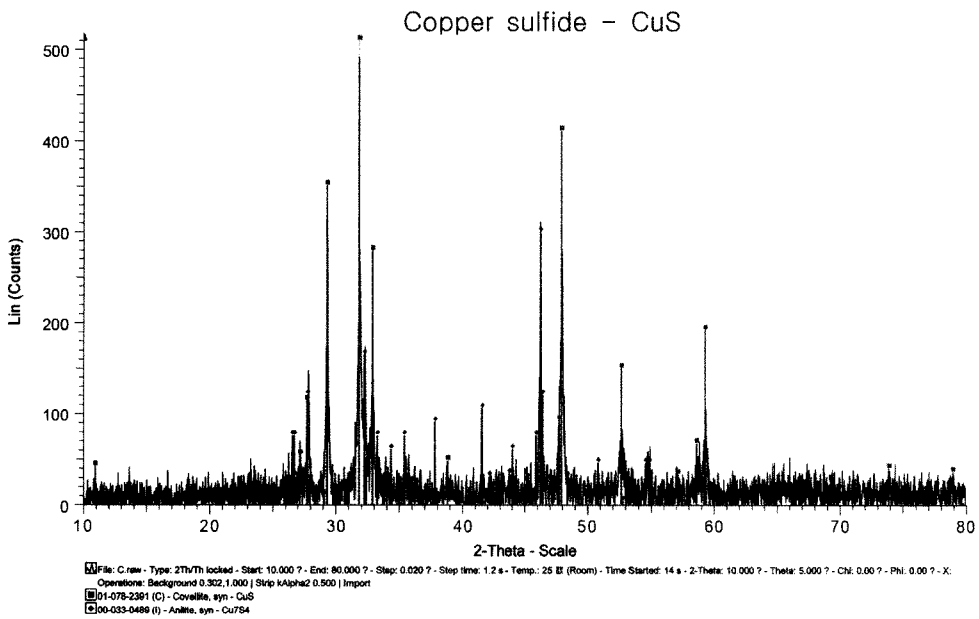

Fig. 8. Result of XRD analysis with the second precipitates in the column.

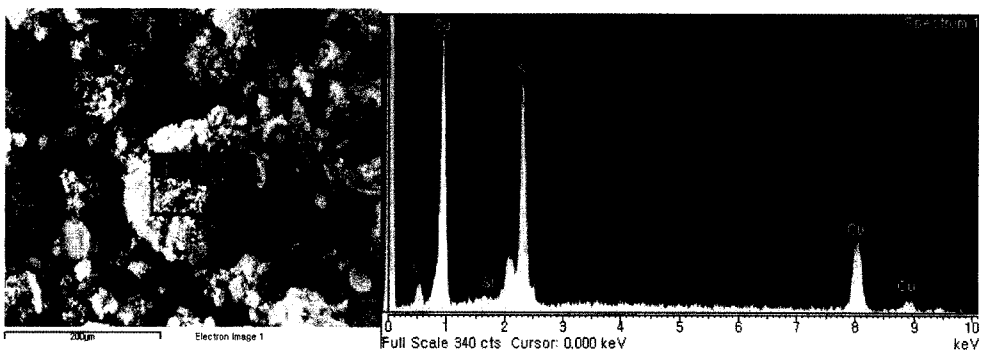

Fig. 9. Result of SEM-EDS analysis with the second precipitates in the column. The peaks are designated as, from left, O, Cu, Si, S, Cu, and Cu.

가 대부분 CuS(covellite)와 일치하므로 CuS 형태의 황화물일 가능성이 높다(Fig. 8). 구리와 황의 피크가 높게 나타난 SEM-EDS 분석 결과도 이를 뒷받침하고 있으며, 토양 입자가 섞여 있기 때문에 규소와 산소의 피크도 일부 관찰된다(Fig. 9). 이상의 분석 결과로 미루어 보면, 컬럼 내에 형성된 검은색의 침전물은 주로 FeS와 CuS임을 알 수 있었다. 그러나 토양의 물리화학적 분석결과에서 보듯이 철의 함량이 구리에 비해 훨씬 높기 때문에 대부분의 침전물은 FeS일 것으로 판단된다. 회분식 실험의 결과에서 언급한 것처럼, 토양 구성 성분 중의 철이 강한 환원 환경에서 환원성 용해되어 발생된 Fe(II)와 황산염이 환원되어 발생된 황화이온이 반응하며 FeS의 형태로 침전되었을 것이다.

독성 중금속을 지하 심부 원위치에 침전, 고정화시키는 방법에 대한 그간의 가장 큰 우려는 예기치 못한 환경변화로 산화 상태의 지하수가 지하에 유입될 경우 환원 상태에서 안정적으로 침전되어 있던 독성원소가 재산화(re-oxidation)되어 용출되지 않는가 하는 점이었다. 이런 측면에서 철 황화 침전물의 발생은 심부 토양 내에 고정화된 중금속의 장기간 안정성 확보에 있어서 매우 중요하다. 산화상태의 지하수가 갑작스럽게 유입될 경우 양도 풍부하고 반응속도도 빠른 철 황화물이 중금속의 황화 침전물보다 먼저 산화되며 산소를 소모하는 완충 작용을 할 수 있기 때문이다(Abdelouas *et al.*, 2000; Ha *et al.*, 2006). 특히 중금속을 침전시킨 후 다시 산화성 용액을 주입하여 침전물의 용출을 유도한 이 연구의 컬럼 실험 결과, 미생물학적 황산염 환원에 의하여 형성된 침전물의 안정성이 화학적 침전에 비하여 매우 높게 나타난 점은 특기할 만한 것으로서, 이 기술의 실용화를 위한 기본적인 자료를 제공한 것으로 판단된다.

4. 결 론

송천광산 토양에서 분리한 황산염 환원 박테리아를 이용하여 미생물학적 황산염 환원을 유도한 결과, 컬럼 내의 비소와 구리는 각각 99%, 98% 이상이 제거되었다. 산화성 용액에 대한 침전물의 장기간 안정성은 미생물학적으로 침전된 황화물이 화학적인 경우에 비하여 3.5배 이상 뛰어난 것으로 평가되었다. 이 과정에서 수반되는 철 황화물 침전의 발생은 산화상태의 지하수가 갑작스럽게 유입되었을 때, 중금속의 황화 침전물보다 먼저 산화되며 산소를 소모하는 완충 작용을 할 수 있다.

이 연구를 통하여 실제 토양 환경에 가까운 조건에서 미생물학적 황산염 환원에 의한 토양 내 독성 원소 및 중금속의 원위치 침전 처리의 효율성과 적용가능성을 확인할 수 있었다. 이를 통해 광산 주변의 오염된 토양 및 지하수에 대하여 보다 효율적이고 경제적이며 환경친화적인 생물학적 정화 기술을 수립하기 위한 기반 자료를 제공할 수 있을 것으로 기대한다.

사 사

이 연구는 2009년 한국광해관리공단 광해방지기술개발사업 토양개량복원 및 정화분야의 일환으로 수행되었습니다.

참고문헌

Abdelouas, A., Lutze, W., Gong, W., Nuttall, E.H., Strietelmeier, B.A. and Travis, B.J. (2000) Biological reduction of uranium in groundwater and subsurface soil. Sci. Tot. Environ., v.250, p.21-35.

Bostick, B.C., Chen, C. and Fendorf, S. (2004) Arsenite retention mechanisms within estuarine sediments of Pescadero, CA. Environ. Sci. Technol., v.38, p.3299-3304.

Bostick, B.C. and Fendorf, S. (2003) Arsenite sorption on troilite(FeS) and pyrite(FeS_2). Geochim. Cosmochim. Acta, v.67, p.909-921.

Chang, I.S. and Kim, B.H. (2007) Effect of sulfate reduction activity on biological treatment of hexavalent chromium[Cr(VI)] contaminated electroplating wastewater under sulfate-rich condition. Chemosphere, v.68, p.218-226.

Geets, J., Borremans, B., Vangronsveld, J., Diels, L. and van Lelie, D. (2005) Molecular monitoring of SRB community structure and dynamics in batch experiments to examine the applicability of in situ precipitation of heavy metals for groundwater remediation. J. Soils Sediments, v.5, p.149-163.

Gibson, G.R. (1990) Physiology and ecology of the sulphate-reducing bacteria, J. Appl. Bacteriol., v.69, p.769-797.

Ha, W.-K., Lee, J.-U. and Jung, M.C. (2006) Study on geomicrobiological reductive precipitation of uranium and its long-term stabilization. J. Korean Soc. Geosystem Eng., v.43, p.331-338. (in Korean)

Keimowitz, A.R., Mailloux, B.J., Cole, P., Stute, M., Simpson, H.J. and Chillrud, S.N. (2007) Laboratory investigations of enhanced sulfate reduction as a groundwater arsenic remediation strategy. Environ. Sci. Technol., v.41, p.6718-6724.

Kloke, A. (1979) Content of arsenic, cadmium, chromium, fluorine, lead, mercury, and nickel in plants grown on contaminated soil. UN-ECE Symp. 325p.

Lee, J.-U., Lee, S.-W., Kim, K.-W. and Yoon, C.-H. (2005a) The effects of different carbon sources on microbial

mediation of arsenic in arsenic-contaminated sediment. Environ. Geochem. Hlth., v.27, p.159-168.

Lee, J.S., Chon, H.T. and Kim, K.W. (2005b) Human risk assessment of As, Cd, Cu and Zn in the abandoned metal mine site. Environ. Geochem. Hlth., v.27, p.185-191.

Lee, J.-U., Lee, S.-W., Kim, K.-W., Lee, J.-S. and Chon, H.-T. (2006) Geomicrobiological effects on arsenic behavior in anaerobic sediment from abandoned gold mine area. J. Korean Soc. Geosystem Eng., v.43, p.448-457. (in Korean)

Lim, H.S., Lee, J.S., Chon, H.T. and Sager, M. (2008) Heavy metal contamination and health risk assessment in the vicinity of the abandoned Songcheon Au-Ag mine in Korea. J. Geochem. Expl., v.96, p.223-230.

Metcalf, E. (2003) Wastewater engineering: treatment disposal and reuse. McGraw Hill, 780p.

Newman, D.K., Beveridge, T.J. and Morel, F.M.M. (1997) Precipitation of arsenic trisulfide by *Desulfotomaculum auripigmentum*. Appl. Environ. Microbiol., v.63, p.2022-2028.

Postgate, J.R. (1984) The sulphate-reducing bacteria, 2nd Ed. Cambridge University Press, 145p.

Song, D.-S., Lee, J.-U., Ko, I.-W. and Kim, K.-W. (2007) Study on geochemical behavior of heavy metals by indigenous bacteria in contaminated soil and sediment. Econ. Environ. Geol., v.40, p.575-585. (in Korean)

Suthersan, S.S. (1997) Remediation engineering: design concepts. Lewis Publishers, 384p.

2009년 8월 25일 원고접수, 2009년 10월 15일 게재승인