

황산화균 *Acidithiobacillus thiooxidans*를 이용한 사격장 토양 내 중금속 용출

한협조¹ · 이종운^{1*} · 고명수² · 최낙철³ · 권영호⁴ · 김병규⁴ · 전효택⁵

¹전남대학교 에너지자원공학과, ²광주과학기술원 환경공학과,

³전남대학교 공업기술연구소, ⁴한라건설(주), ⁵서울대학교 에너지자원공학과

Bioleaching of Heavy Metals from Shooting Range Soil Using a Sulfur-Oxidizing Bacteria *Acidithiobacillus thiooxidans*

Hyeop-Jo Han¹, Jong-Un Lee^{1*}, Myoung-Soo Ko², Nag-Choul Choi³, Young-Ho Kwon⁴,
Byeong-Kyu Kim⁴ and Hyo-Taek Chon⁵

¹Department of Energy and Resources Engineering, Chonnam National University

²Department of Environmental Science and Engineering, Gwangju Institute of Science and Technology

³Engineering Research Institute, Chonnam National University

⁴Halla Engineering and Construction Co.

⁵Department of Energy Resources Engineering, Seoul National University

Applicability of bioleaching techniques using a sulfur-oxidizing bacteria, *Acidithiobacillus thiooxidans*, for remediation of shooting range soil contaminated with toxic heavy metals was investigated. The effects of sulfur concentration, the amount of bacterial inoculum and operation temperature on the efficiency of heavy metal solubilization were examined as well. As sulfur concentration and the amount of bacterial inoculum increased, the solubilization efficiency slightly increased; however, significant decrease of heavy metal extraction was observed with no addition of sulfur or bacterial inoculum. Bacteria solubilized the higher amount of heavy metals at 26°C than 4°C. Lead showed the highest removal amount from the contaminated soil but the lowest removal efficiency when compared with Zn, Cu and Cr. It was likely due to formation of insoluble $PbSO_{4(s)}$ as precipitate or colloidal suspension. Sequential extraction of the microbially treated soil revealed that the proportion of readily extractable phases of Zn, Cu and Cr increased by bacterial leaching, and thus additional treatment or optimization of operation conditions such as leaching time were required for safe reuse of the soil. Bioleaching appeared to be a useful strategy for remediation of shooting range soil contaminated with heavy metals, and various operating conditions including concentration of sulfur input, inoculum volume of bacteria, and operation temperature exerted significant influence on bioleaching efficiency.

Key words : bioleaching, sulfur-oxidizing bacteria, heavy metals, shooting range soil, *Acidithiobacillus thiooxidans*

Pb, Zn, Cu등으로 오염된 사격장 토양을 대상으로 하여 황산화균인 *Acidithiobacillus thiooxidans*를 이용한 미생물학적 중금속 용출 기술의 적용 가능성을 파악하고 에너지원인 황의 농도, 미생물 접종량, 반응 온도 등의 조건이 중금속 용출 효율에 미치는 영향을 규명하였다. 황의 투입량 및 미생물의 초기 접종량이 높을수록 중금속 용출 효율이 다소 높게 나타났으나, 황 및 미생물을 접종하지 않은 경우에는 중금속 용출량이 뚜렷하게 감소하였다. 또한 26°C 조건에서의 중금속 용출량에 비하여 4°C 조건에서의 용출량은 매우 낮았다. 오염 농도가 가장 높은 Pb의 경우 다른 중금속에 비하여 월등히 높은 용출량을 나타내었으나 그 효율은 가장 낮았으며 이는 용출되어 나온 Pb가 $PbSO_{4(s)}$ 로써 침전 또는 콜로이드 입자를 형성하였기 때문으로 판단된다. 연속추출법을 적용하여 반응 전과 후의 중금속 존재 형태의 변화를 파악한 결과, Zn, Cu, Cr의 경우 용출이 용이한 형태의 비율이 증가함으로써 추가적인 조치가 필요하였다. 중금속으로 오염된 사격장 토양 등의 현장 복원에 미생물학적 용출 기법이 유용하게 적용될 수 있으며 이 때 에너지원의 농도, 미생물의 접종량, 반응 온도 등의 인자가 용출 효율에 매우 중요한 영향을 미치는 것으로 확인되었다.

주요어 : 미생물학적 용출, 황산화균, 중금속, 사격장 토양, *Acidithiobacillus thiooxidans*

*Corresponding author: jongun@chonnam.ac.kr

1. 서 론

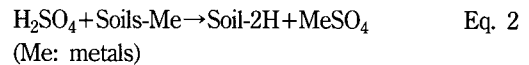
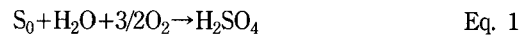
국내에는 수많은 군 사격장이 있으나, 사격장에서 배출되는 오염물질의 종류와 토양 및 지하수의 오염실태 및 거동에 대한 연구는 드물게 보고되는 실정이다(Park *et al.*, 2008). 일반적으로 사격장에서 자연계로 가장 많이 유출되는 오염물질은 탄두 및 뇌관에 사용되는 중금속과 화약물질이다(Jenkins *et al.*, 1998). 사격장 토양오염을 야기하는 중금속은 사용하는 탄두의 재질과 종류 등에 따라 다르다. 예를 들어, 소총 사격장에서는 총탄 내부 충전물질인 납의 오염이 가장 심각하다(Ministry of National Defence Republic of Korea, 2002). 납은 인류 건강을 가장 크게 해치는 중금속 중 하나로서 과도한 납이 인체에 노출되면 발작, 정신지체, 행동 장애를 유발할 수 있다. 납에 노출되는 경로는 매우 다양하며 납이 함유된 공기, 음식, 물, 토양, 먼지의 흡입 및 섭취를 들 수 있다. 식물체 내에서 납은 거의 이동하지 않으며, 식물은 납에 의해 발아율, 영양성장, 광합성 기능 등에 저해를 받는다(Wierzbicka, 1999).

수질이나 대기 오염에 비하여 토양 오염은 느리게 진행되며 복원에 소요되는 기간도 오랜 시일을 필요로 하므로 중금속에 일단 오염된 토양을 생태계에 영향을 주지 않고 원래의 상태로 회복시키는 것은 매우 어렵다. 일반적인 중금속 정화 방법으로 화학적 침전법, 화학적 산화 및 환원법 등을 들 수 있다(Nourbakhsh *et al.*, 1994).

화학적 방법 중 하나로서 토양으로부터 독성 중금속을 용출(leaching)하여 제거하는 방법이 있다. 용출법은 오염된 토양 및 퇴적물 등으로부터 오염물을 제거하는 토양세척기술로 1982년 이후 상용화되어 유럽과 북미 지역 등에서 활발하게 적용되어 왔다(Iskandar, 2001). 용출에 대한 중금속의 안정성은 광물과의 결합 형태에 강하게 영향을 받기 때문에 토양으로부터 중금속을 용출할 때에는 강한 화학 세척제를 사용한 후 수처리를 거치는 화학적 용출법이 널리 사용되고 있다(Ko *et al.*, 2004). 그러나 화학적 용출법은 경비가 많이 소요되고 중금속 결합 형태와 화학적인 용출 특성을 고려해야 하는 등 운전이 어려우며 많은 양의 에너지를 필요로 한다. 또한 때때로 중금속의 용출 효율이 만족스럽지 못할 뿐만 아니라 독성 부산물이 생성되는 단점이 있다(Tyagi and Couillard, 1989). 최근 들어 이러한 화학적 용출법의 부작용을 보완하고 대체할 수 있는 기술로 미생물학적 용출법(microbial leaching,

bioleaching)이 제안되고 있다.

미생물학적 용출법에서 금속을 용출하는데 주로 사용되는 박테리아는 *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Leptospirillum ferrooxidans* 등의 철산화균과 *A. thiooxidans* 등의 황산화균을 들 수 있다(Muñoz *et al.*, 1995; D'Hughes *et al.*, 1997; Dew *et al.*, 1998; Dastidar *et al.*, 2000). 그 중 1922년 Waksman과 Joffe에 의해 분리 배양된 *A. thiooxidans*(Waksman and Joffe, 1922)는 호기성 환경에서 성장하는 독립영양균으로 순수 황 및 환원된 황화합물을 산화시켜 성장에 필요한 에너지를 얻고, 황산을 만들어 배양액의 pH를 1~1.5까지 낮춘다(Rulkens, 1995). 이 때 만들어진 황산은 금속 화합물로부터 금속을 용출하는데 중요한 요인이 된다(Eqs. 1-2).



중금속으로 오염된 토양, 퇴적물, 슬러지를 대상으로 한 미생물학적 용출에 관한 연구로는 하수 슬러지에서 미생물학적 용출을 이용한 중금속 형태의 변화(Chen *et al.*, 2005), 퇴적물에서 중금속의 미생물학적 용출(Chen and Lin, 2000), 미생물학적 광미 용출 시 황 농도가 중금속 제거에 미치는 영향(Liu *et al.*, 2007), 자연적인 우라늄에 의해 부화된 흑색 셰일로부터 철산화균인 *A. ferrooxidans*를 이용한 우라늄 용출(Lee *et al.*, 2005), 하수 슬러지로부터 Pb, Zn, Cu, Cd, Ni 등의 중금속 용출 연구(Jang *et al.*, 2002) 등의 연구들이 수행된 바 있다. 그러나 중금속으로 오염된 군부대 사격장 부지 토양을 대상으로 한 미생물학적 용출에 관한 연구는 거의 수행된 바 없는 실정이다.

미생물학적 용출법은 화학적 용출법의 문제점을 보완하는 대안으로 떠오르고 있으며 다양한 매질에서 중금속을 효과적으로 용출하므로 높은 농도의 중금속을 함유한 사격장 토양에서도 효과적으로 중금속을 용출할 수 있을 것으로 기대된다. 이 연구에서는 국내 군 사격장 토양을 대상으로 황산화균인 *A. thiooxidans*를 이용한 미생물학적 용출법의 적용 가능성을 실험적으로 검토하고 이 때 미생물학적 용출법에 미치는 여러 가지 주요 인자들의 영향에 대해 파악하려 하였으며, 이를 통하여 사격장 토양에 대한 경제적이고 효율적인 처리 방안 수립의 기초 자료를 제공하고자 하였다.

2. 실험방법

2.1. 시료채취 및 화학분석

실험에 사용된 토양 시료는 경기도 파주시 장단면에 위치한 장단 사격장에서 채취하였다. 장단 사격장은 과거 군 사격장으로 사용되었으며 400 m² 규모의 평지에 격발장과 사격 표적지 등이 있다. 현재 사격장은 운영되고 있지 않으며 시료 채취 당시 사격장 내 부지는 수풀 등으로 덮여 있었다. 토양 시료는 사격장 부지 내 사격 표적지 주변의 토양을 대상으로 채취하였다.

채취한 시료는 자연건조 시킨 후 80 mesh(직경 0.18 mm) 체를 이용하여 체질(sieving) 하였다. 이 중 <0.18 mm 입도의 토양을 취하여 pH를 측정하고 왕수 분해 후 Pb, Zn, Cu, Cd, Ni, Cr, As 및 Fe의 토양 내 전함량을 측정하였다. 또한 중금속의 존재 형태를 알기 위하여 건조 토양을 대상으로 Jung(1994)이 제안한 방법에 의한 연속추출을 수행하였다(Table 1). 연속추출은 토양의 여러 구성 광물과 수반되는 금속 원소의 상대적 결합 세기와 물리화학적 환경의 변화에 따라 발생할 수 있는 잠재적인 화학반응에 관한 정보를 제공하며 유해 미량원소의 상대적인 이동도에 관한 정

보를 제공한다(Tessier *et al.*, 1979).

2.2. *A. thiooxidans* 배양

이 실험에 사용한 황산화균인 *A. thiooxidans*(ATCC 8085)는 American Type Culture Collection에서 분양 받았다. *A. thiooxidans*는 medium 125에 황(sulfur)을 첨가하여 배양하였으며 배양액의 조성은 다음과 같다.

- ① Medium 125: (NH₄)₂SO₄ 0.2 g, MgSO₄·7H₂O 0.5 g, CaCl₂ 0.25 g, KH₂PO₄ 3 g, FeSO₄·7H₂O 0.0091 g, 증류수 1000 mL

- ② 원소 황

미생물 배양은 1.0 g의 순수 황을 250 mL 플라스크에 정량한 후 고압멸균기(autoclave)에서 3일에 걸쳐 100°C, 30분의 조건으로 멸균하고 이에 멸균한 medium 125 배양액 100 mL과 미생물을 접종하여 배양하였다. 배양 조건은 26°C의 호기성 환경에서 배양하였으며 박테리아의 활성도는 pH를 측정하여 판단하였다.

2.3. 중금속 용출실험

토양 시료 15 g에 medium 125 용액 300 mL을 넣어 슬러리(slurry)를 제조한 후 *A. thiooxidans* 18 mL

Table 1. Method for the sequential extraction

Extraction step	Extractants	Reaction time	Fractions
1 step	0.5 M MgCl ₂ (pH 7)	15 min (vortex)	Exchangeable fraction
2 step	1 M NaOAc (pH 5)	5 h (vortex)	Fraction bound to carbonate or specially adsorbed fraction
3 step	HOAc 25% in 0.04 M NH ₂ OH-HCl	6 h (96°C)	Fraction bound to Fe-Mn oxide
4 step	0.02 M HNO ₃ , 30% H ₂ O ₂ (pH 2), 20% HNO ₃ in 3.2 M NH ₄ OAc	2 h (85°C), 3 h (85°C) 30 min (vortex)	Fraction bound to organic and sulfides
5 step	HF, HClO ₄ , HNO ₄	9 h (90°C), 3 h (140°C), 10 h (190°C)	Residual fraction

Table 2. Experimental condition of the batch tests

Set	Soil	Medium	Sulfur (w/v)	Inoculum (v/v)	Temperature
A	15 g	Medium 125 (300 mL)	0% (0 g)	<i>A. thiooxidans</i> 6% (18 mL)	26°C
B			1% (3 g)	<i>A. thiooxidans</i> 6% (18 mL)	
C			2% (6 g)	<i>A. thiooxidans</i> 6% (18 mL)	
D			5% (15 g)	<i>A. thiooxidans</i> 6% (18 mL)	
E	15 g	Medium 125 (300 mL)	1% (3 g)	<i>A. thiooxidans</i> 2% (6 mL)	26°C
F			1% (3 g)	<i>A. thiooxidans</i> 18% (54 mL)	26°C
G			1% (3 g)	<i>A. thiooxidans</i> 6% (18 mL)	4°C
H			1% (3 g)	<i>A. thiooxidans</i> 0% (Deionized water 18 mL)	26°C

을 접종한 미생물 시료와 멸균된 증류수 18 mL을 넣어준 비교시료(control)로 나누어 용출 실험을 진행하였다.

*A. thiooxidans*의 에너지원이 되는 황 투입량에 따른 중금속 용출량의 차이를 확인하기 위해 18 mL의 미생물 접종물을 주입한 조건에서 각각 0, 3, 6, 15 g의 황을 주입하여 용출 실험을 진행하였다. 또한 초기에 주입한 *A. thiooxidans*의 함량에 따른 중금속 용출량의 차이를 파악하기 위해 황 3 g을 투입한 경우에 추가로 *A. thiooxidans*의 주입량을 6 mL, 18 mL, 54 mL로 조절된 실험군을 조성하였다(Table 2). 이상의 실험은 26°C, 150 rpm의 조건으로 진행하였으며, 증온성균인 *A. thiooxidans*의 대사작용에 있어서 온도의 조건을 알아보기 위해서 상기한 실험군 외에 별도로 4°C에서 용출 실험을 진행하여 온도에 따른 미생물학적 용출 효율을 확인하였다. 모든 실험은 중복실험을 실시하였고 토양은 10 mesh(직경 2 mm) 이하의 것을 사용하였다. 초기 pH는 2로 조정하였고 용출 실험에 접중한 *A. thiooxidans*는 상기한 조건에서 일주일 동안 배양한 것을 사용하였다.

실험이 진행되는 동안 일정한 시간 간격으로 반응 용기 내의 용액을 채취하여 pH, 용존 Fe²⁺ 및 총 Fe, Pb, Zn, Cu, Cd, Ni, Cr, As 함량을 측정하였다. 또한 반응 종료 후 각 용기 내의 상등액을 제거한 후 잔류 토양을 회수하여 자연 건조시켰다. 건조된 잔류 토양은 다시 왕수분해하여 중금속 함량을 분석한 후 용출 실험 전의 중금속 함량과 비교하였다. 또한 연속 추출을 실시하여 용출실험 전과 후의 구성광물과 수반되는 금속 원소의 상대적 결합세기 및 유해 미량원소의 상대적 이동도의 변화를 비교하였다.

2.4. 분석방법

반응 용기 내에서 채취한 용액 시료의 pH는 Orion 720A pH meter에 연결한 Thermo Orion 9135AP 전극을 이용하여 측정하였으며 이 때 전극의 calibration은 pH 7.00 및 4.01의 표준 완충 pH 용액을 이용하여 수

행하였다. 용존 Fe²⁺는 ferrozine 법(Stookey, 1970)을 이용하여 착색한 후 UV-vis(Shimadzu, UV-MINI-1240)를 이용, 562 nm 파장에서 측정하였다. 용존된 총 Fe, Pb, Zn, Cu, Cd, Ni, Cr, As 함량은 광주과학기술원 환경분석센터의 ICP-OES(Optima 5300 DV)를 이용하여 분석하였다.

3. 결과 및 토의

3.1. 사격장 토양의 물리화학적 특성

실험에 사용한 장단 사격장 토양의 물리화학적 특성을 조사한 결과, pH는 5.47로써 약산성토에 속하며 토양의 산성화가 심각하지 않은 것으로 판단되었다. 왕수 분해를 통해 측정된 사격장 토양 내 중금속 함량은 Pb가 1,927 mg/kg으로 가장 높았으며 이는 Bowen(1979)이 제시한 일반 토양 내 평균 함량(35 mg/kg) 및 Kloke(1979)가 제시한 최대허용한계값(100 mg/kg)에 비하여 매우 높은 값이었다(Table 3). 이는 대부분의 사격장에서와 같이 과거 사격 활동에 의해 토양 내 잔류한 탄두 등이 이 지역의 주된 오염원으로 작용했기 때문이다. Pb 이외에도 Cu 함량이 토양 내 평균 함량(30 mg/kg)에 비하여 높은 값인 184 mg/kg으로 나타났으며 Zn 함량(115 mg/kg) 역시 토양 내 평균 함량(90 mg/kg)에 비하여 다소 높게 나타났다. 이는 Cu 및 Zn이 탄피의 주구성 원소이며 격발시 탄피 앞부분이 탄두에 묻어 발사됨으로써 역시 토양에 잔류하였기 때문이다. 이들을 제외한 Ni와 Cr의 함량은 토양 내 평균 함량보다 높지 않았으며 As와 Cd는 최저검출한계 이하로 정량되었다.

토양 오염원인 Pb, Zn, Cu와 오염 중금속은 아니지만 46 mg/kg의 함량을 가진 Cr에 대하여 연속추출을 실시하였다. 사격장 토양의 주된 오염원인 Pb의 경우, 교환가능한 형태부터 잔류물 형태까지 고르게 분포되어 있었고 그 중 이동이 용이하며 식물체에 의해 이용 가능한 형태인 1~3단계 추출 형태가 전체의 75.6%를 차지하고 있었다(Fig. 1). Zn의 경우, 잔류물 형태의

Table 3. Concentration of heavy metals extracted with the aqua regia digestion in the shooting range soil (units: mg/kg, nd: not determined)

Metals	Fe(%)	Pb	Zn	Cu	Cd	Ni	Cr	As
Concentrations	4.4	1,927	115	184	nd	12	46	nd
Average level ¹⁾		35	90	30	0.35	50	70	6
Tolerable level ²⁾		100	300	100	3	50	100	20

¹⁾Bowen, 1979, ²⁾Kloke, 1979

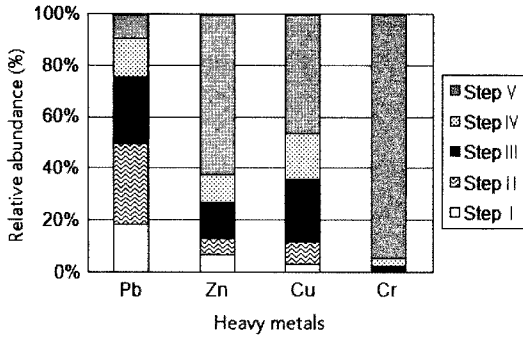


Fig. 1. Sequential extraction of the soil sample before bioleaching. Step I: Exchangeable fraction. Step II: Fraction bound to carbonate or specially adsorbed fraction. Step III: Fraction bound to Fe-Mn oxide. Step IV: Fraction bound to organic and sulfides. Step V: Residual fraction.

비율이 전체의 62.4%를 차지하며 1~3 단계 추출 형태로서 27.0%가 존재하였다. Cu의 경우 역시 잔류물 형태가 전체의 46.3%로써 가장 많은 부분을 차지하며 1~3 단계 추출 형태는 35.9%로써 Zn에 비하여 다소 높았다. Cr의 경우, 용출되기 어려운 잔류물 형태의 비율이 94.7%로써 거의 대부분을 차지하고 있었다. 전체적으로 Pb를 제외한 중금속들은 용출되기 어려운 형태를 띠고 있었으며, Pb의 경우에만 이동이 용이한 형태부터 잔류물 형태까지 고른 분포를 보였다.

3.2. 중금속 용출 실험

3.2.1. pH 변화

Table 2와 같이 다양한 조건에서 미생물학적 용출 실험을 진행하는 동안 주기적으로 반응 용기 내 용액을 채취하여 pH를 측정하였다.

황 투입량을 0%, 1%, 2%, 5%로 조절하여 황 함량에 따른 미생물학적 용출 실험을 진행한 A, B, C, D 조건(Table 2 참조)에서 pH 변화를 살펴보면, 황을 넣어주지 않은 A 조건의 경우 시간이 경과함에 따라 초기에 조정된 pH 2에 비하여 pH가 점차 증가하는 것으로 확인되었다(Fig. 2(a)). 반면 일정량의 황을 넣어준 B, C, D 조건의 경우 실험이 진행되는 동안 pH가 지속적으로 감소하여 25일이 경과하였을 때에는 pH 0.6까지 떨어졌다. 이는 *A. thiooxidans*를 접종한 경우 황산화균의 대사작용을 위해서는 황이 반드시 필요함을 나타낸다. 실험 시작 후 8일이 경과할 때까지 가장 많은 황을 주입한 D 조건에서 pH 감소가 가장 활발하였으나 약 10일이 경과하면서부터 B, C 조건에서도 유사한 pH 값을 나타내었다.

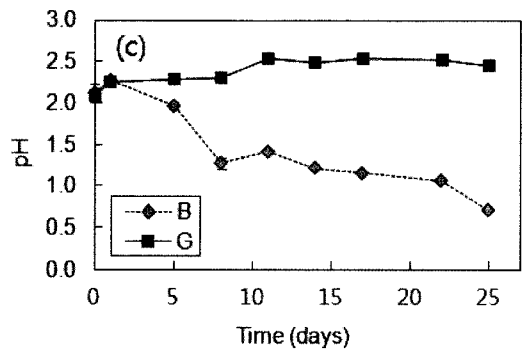
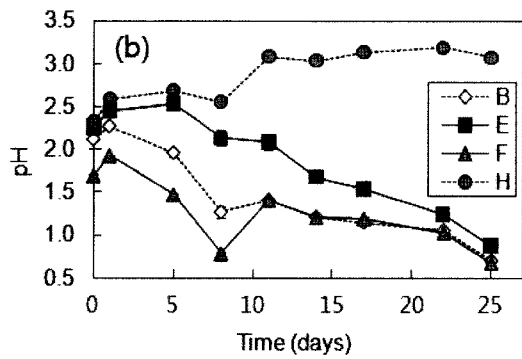
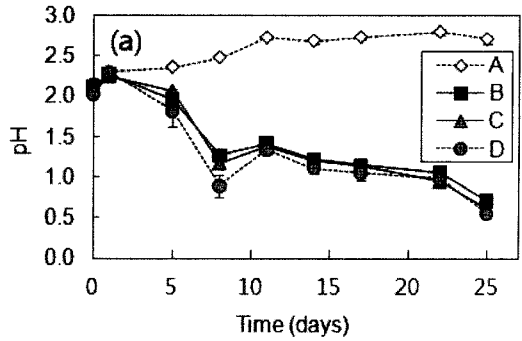


Fig. 2. Variations in pH affected by (a) sulfur concentration, (b) microbial inoculum amount and (c) temperature over time. Refer to Table 2 for experimental conditions of A-H sets.

황 함량을 1%로 동일하게 주입하고 *A. thiooxidans*의 접종량을 각각 6%, 2%, 18%, 0%로 조절한 B, E, F, H 조건에서의 pH 변화를 살펴보면, 가장 많은 *A. thiooxidans*를 접종한 F 조건(18%)의 경우 반응 직후 가장 낮은 pH를 보였으며 8일이 경과하였을 때 pH 0.8의 값을 나타냈다(Fig. 2(b)). 하지만 10일이 경과하며 B 조건(6%)과 비슷한 pH 변화 양상을 보였으며 실험 종료 시점에서 두 조건 모두 pH 0.7을 나타냈다. 초기에 2%의 미생물을 접종한 E 조건은 실험 기간

동안 B와 F 조건에 비하여 상대적으로 높은 pH를 나타냈으나 시간이 경과하며 그 차이가 점차 감소하는 양상을 보였으며 25일이 경과하였을 때 pH 0.9로 측정되었다. 그러나 미생물을 집중하지 않은 비교시료인 H 조건의 경우 시간이 경과함에 따라 pH가 증가하는 양상을 보임으로써 추가적인 공급이 없는 상태에서 초기에 조절한 수소이온이 소모되고 있음을 알 수 있었다.

온도에 따른 미생물학적 용출 실험을 진행한 B와 G 조건에서는 황 함량 1%, *A. thiooxidans* 초기 주입량 6%로 일치시킨 상태에서 진행 온도를 26°C, 4°C로 각각 달리하였다. 이는 미생물학적 용출 기법을 온도 조절이 가능한 반응조(reactor) 등에서 수행하지 않고 오염 현장에 직접 적용하였을 경우 동절기에도 용출 효과가 나타나는지의 여부를 파악하기 위한 것이었다. 실험 결과, B 조건에서는 실험이 진행되는 동안 pH가 지속적으로 감소하였으나 4°C에서 진행한 G 조건의 경우 pH 변화가 거의 나타나지 않아 온도가 *A. thiooxidans*의 대사작용에 큰 영향을 미치는 것으로 판단되었다(Fig. 2(c)).

3.2.2. 중금속 용출량 변화

초기 황 투입량을 0%, 1%, 2%, 5%로 조절하여

중금속 용출 실험을 진행하였다. 황을 투입하지 않은 A 조건에서는 황을 투입한 B~D 조건에 비하여 확연하게 낮은 함량의 중금속이 용출된 것으로 나타났으며 (Fig. 3) 이는 Fig. 2에서 나타난 pH 감소 양상과도 일치하는 것이었다.

Pb의 경우, 25일 경과시 2% > 1% > 5%의 황 투입 순으로 용출량이 높았으나 황을 투입한 세 조건 간에 용출량 차이가 크게 발생하지 않았다(Fig. 3(a)). 한 가지 특기할만한 결과는 토양 중 존재하는 Pb 함량이 Cu 및 Zn 함량에 비하여 10배 이상 높고 그 존재 형태도 다른 중금속에 비하여 쉽게 용출이 가능한 형태였음에도 불구하고 용출된 Pb 함량이 매우 낮았다는 점이다. 5%의 황을 투입하였을 경우 25일 경과하였을 때 Pb는 6.2 mg/kg의 농도가 용출된 반면, Cu는 13.4 mg/kg이 용출되었다. 이는 황산화균의 대사작용으로 황(S)이 황산염(SO_4^{2-})으로 산화된 후 용출되어 나온 Pb^{2+} 이온과 결합하여 용해도가 매우 낮은 $\text{PbSO}_{4(s)}$ 를 형성하였기 때문으로 판단된다. 황을 투입하지 않은 경우에 비하여 Pb의 용출량이 높으므로 미생물학적 용출 기법의 효과가 분명히 나타나기는 하나, 오염 원소가 Pb인 경우 황산화균을 이용한 용출법을 적용하면 다른 대부분의 중금속처럼 용존 상태로써 용출되지 않음을

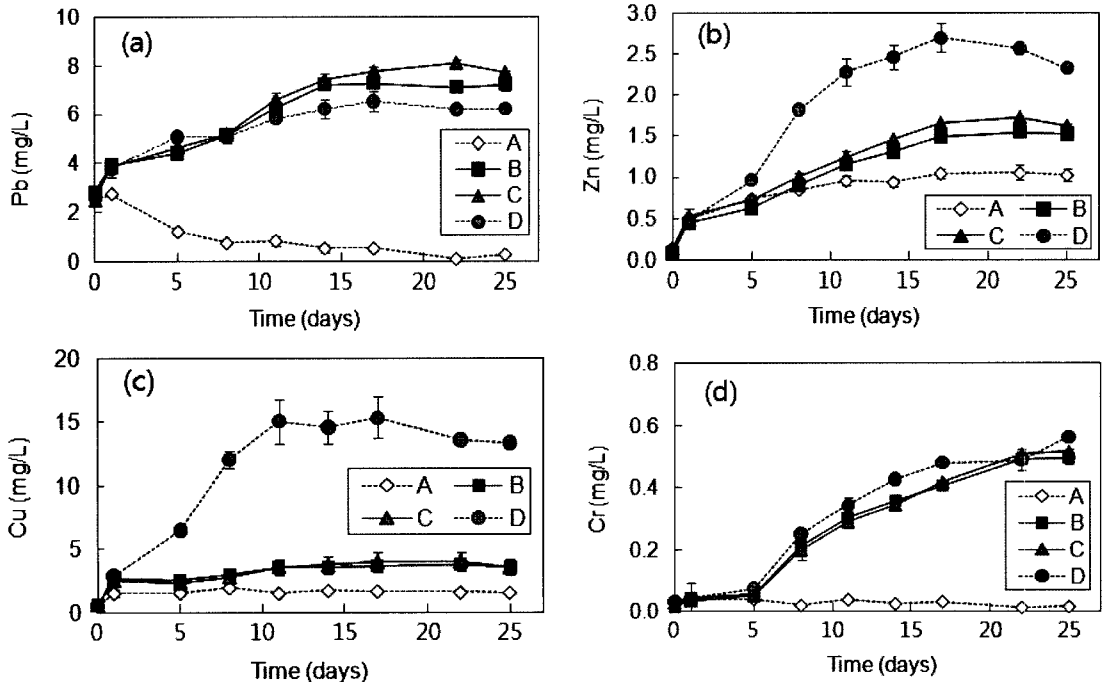


Fig. 3. Variations in the extracted (a) Pb, (b) Zn, (c) Cu and (d) Cr affected by sulfur concentration over time. Refer to Table 2 for experimental conditions of A~D sets.

나타낸다. 이 때 Pb의 제거 효율은 $PbSO_{4(s)}$ 의 형태가 침전물인지 또는 콜로이드인지의 여부에 좌우될 것이다.

Zn과 Cu의 용출에 있어 5%의 황을 공급한 D 조건에서 각각 1%와 2%의 황을 넣어준 B와 C 조건보다 상대적으로 높은 용출량을 나타냈다(Fig. 3(b), (c)). 1%와 2%의 비율로 황을 투입한 조건 사이에는 용출량의 차이가 크지 않았다. 이는 더 많은 황을 공급함에 따라 황산화균의 활동이 상대적으로 활발하여 Zn과 Cu의 용출이 활발히 진행된 것으로 판단된다. 반면 황을 투입하지 않은 A 조건의 경우 실험이 종료될 때까지 Zn 1.0 mg/kg, Cu 1.5 mg/kg의 낮은 용출량을 보여 황산화균의 대사작용이 없다면 미생물학적 용출이 진행되지 않는 것으로 나타났다. 이 실험에서는 주어진 조건 하에서 가장 많은 함량의 황을 투입했을 때 가장 높은 중금속 용출 효율을 보였다. 그러나 오염 토양 현장에 황을 투입함으로써 황산화균의 활성을 증가시키려고 할 때 무조건 고품량의 황을 투입하는 것은 이차적인 문제를 유발할 가능성이 있다. 순수 황은 용해도가 매우 낮으므로 황산화균은 황 입자에 흡착한 후 성장하며 황을 산화시킨다. 이 때 여분의 황 입자는 그대로 토양층에 잔류하게 되므로 경제적 손실뿐만

아니라 처리 토양의 산성화를 지속적으로 유발할 수 있다(Chen and Lin, 2009). 따라서 사전에 처리 대상 토양에 적합한 최적 용출 조건을 실험적으로 결정하는 과정이 필요할 것이다. 한편 Cr의 용출에 있어서도 가장 많은 황을 투입한 D 조건에서 높은 용출량을 보였지만 B 및 C 조건에서 나타나는 Cr 용출량과 큰 차이를 보이지 않았다(Fig. 3(d)).

처리 토양 내에 존재하는 토착 황산화균의 활성화가 어려울 경우 인위적으로 황산화균을 공급하는 bioaugmentation을 수행하여야 할 것이다. 이 때 경제적이고 효율적인 미생물 투입량을 결정하는 것이 중요하며 따라서 이 실험에서는 초기 미생물 접종량에 따른 용출 효율을 관찰하였다.

미생물 주입량에 따른 Pb의 용출 결과, *A. thiooxidans* 주입 후 초기 5일 간은 주입한 접종량과 용출량이 비례하였으나 5일이 경과하며 미생물 초기 주입량이 6%인 B 조건에서 Pb 용출이 가장 활발히 진행되었다(Fig. 4(a)). 실험 초기에 가장 낮은 용출량을 보인 E 조건(접종량 2%)에서는 10일이 경과하면서 Pb의 용출량이 급격히 증가하여 25일이 경과하였을 때 B 조건의 용출량과 큰 차이를 보이지 않았다. *A. thiooxidans*를

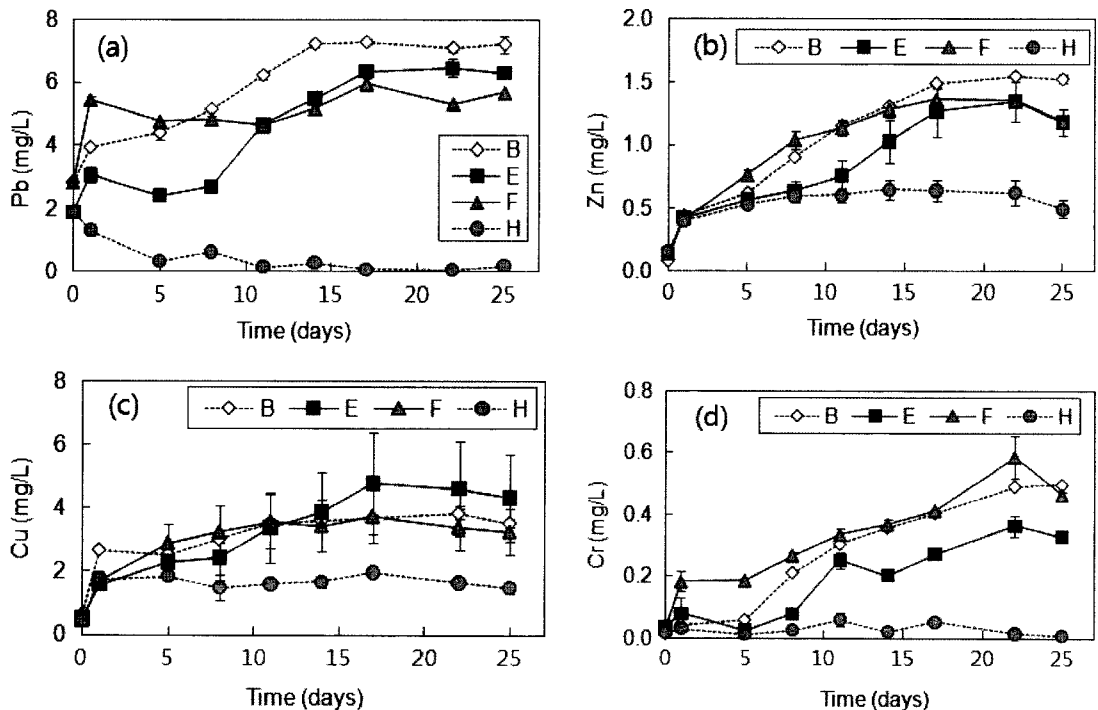


Fig. 4. Variations in the extracted (a) Pb, (b) Zn, (c) Cu and (d) Cr affected by the initial bacterial inoculum over time. Refer to Table 2 for experimental conditions of A~D sets.

주입하지 않은 비교시료 H 조건에서는 Pb의 용출이 미약하였고 시간이 경과하며 $PbSO_{4(s)}$ 침전의 영향으로 용출이 거의 발생하지 않았다. 다른 중금속에서도 미생물을 접종하지 않은 비교시료에서는 가장 낮은 용출량을 보였으며 이는 연구 대상 토양 내에 토착 황산화균의 존재량이 극히 미미함을 나타낸다(Fig. 4(b)~(d)). 특히 Zn과 Cu의 경우, 초기 미생물 접종량 2%의 조건에서도 25일 경과 후에는 매우 높은 용출량을 보여 장기간의 실험 기간 중 미생물이 충분히 성장함을 알 수 있었다. 그러나 반응 초기 약 10일까지는 가장 높은 미생물 접종량 조건(18%)인 F 조건에서 가장 높은 효율을 보였으므로 단기간에 오염 토양을 처리해야 할 경우에는 황산화균 접종량을 증가시킬 필요가 있는 것으로 판단되었다.

미생물학적 용출 실험 진행시 각각 26°C와 4°C 조건을 부여하여 온도에 따른 미생물학적 용출 효율을 관찰하였다. 모든 중금속의 경우 예상하였던 것과 같이 상온(B 조건)에 비하여 낮은 온도(G 조건)에서는 용출량이 확연히 감소하였다(Fig. 5(a)~(d)). 이는 용출 실험에 사용한 *A. thiooxidans*가 중온성균(mesophilic)으로 약 26~30°C의 온도가 생장에 가장 적합하기 때

문에 상대적으로 낮은 4°C 조건에서는 대사작용을 활발히 하지 못한 결과이다. 만약 황산화균을 이용하여 오염 부지 현장에 원위치(in situ) 용출 기술을 적용하려면 온도가 낮아지는 동절기는 운전을 중지하거나 또는 상온을 유지하기 위한 적절한 설비를 갖춰야 할 것이다.

3.2.3. $PbSO_4$ 침전에 관한 열역학적 검토

황산화균 배양을 위해 투입한 다량의 황이 미생물에 의해 SO_4^{2-} 로 산화된 후 용출되어 나온 Pb^{2+} 와 결합하여 불용성의 $PbSO_{4(s)}$ 로 침전됨으로써 Pb의 용출 효율을 낮추는 것은 몇 차례 보고된 바 있다(예를 들면, Chen and Lin, 2009). 다른 중금속과 비교하였을 때 보여지는 이러한 Pb의 낮은 용출 효율은 위에서 기술한 바와 같이 이 연구에서도 나타났다. 그러나 이 실험에서와 같이 pH가 1 이하로 감소하는 강산성 조건에서는 황산염이온의 화학종이 SO_4^{2-} 보다는 HSO_4^- 형태가 우세하므로 $PbSO_{4(s)}$ 가 안정적으로 형성되는지에 대한 확인이 필요하였다. 자연 토양 중에 형성된 침전물에 대한 직접적인 관찰은 어려운 실정이므로 열역학적 데이터베이스에 기초한 지구화학적 speciation 프로그램

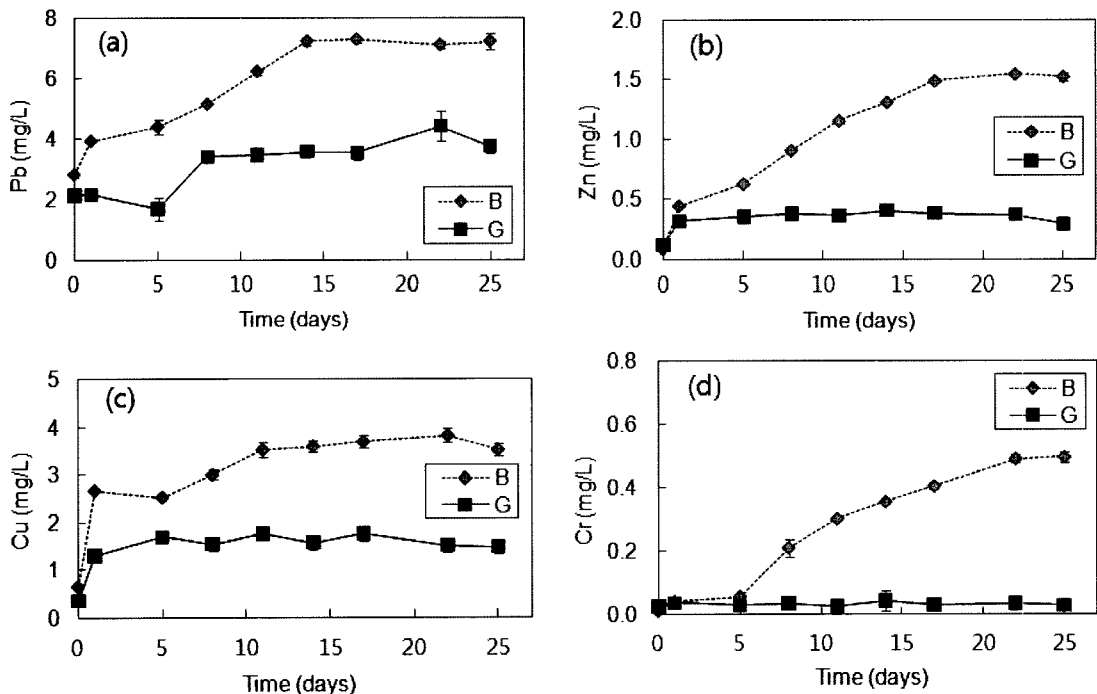


Fig. 5. Variations in the extracted (a) Pb, (b) Zn, (c) Cu and (d) Cr affected by temperature over time. Refer to Table 2 for experimental conditions of A~D sets.

램인 Visual MINTEQ ver 2.61을 이용하여 $PbSO_{4(s)}$ 의 형성 가능성을 검토하였다. 이 때 pH는 0.80으로 설정하였고 플라스크 내에 존재하는 다른 이온들의 효과를 고려하여 투입한 medium 125 배양액 내 이온 함량, 황에서 비롯된 SO_4^{2-} 함량, 토양 중의 중금속 함량 등을 모두 계산에 투입하였다. 계산 결과, HSO_4^- 가 전체 용존 SO_4 화학종 중 약 72%로서 대부분을 차지하였으며 SO_4^{2-} 의 경우 약 12% 존재하는 것으로 나타났다. 그러나 이러한 조건에서도 $PbSO_{4(s)}$ 의 포화지수(saturation index= $\log IAP/K_{sp}$; 이 때, IAP=ion activity product, K_{sp} =solubility product)는 1.438로서 과포화상태로 나타나 열역학적으로 침전 가능한 결과를 보였다. 이로 미루어 pH가 1 이하인 강산성 조건에서도 *A. thiooxidans*를 이용한 미생물학적 용출을 위하여 에너지원으로 투입하는 황으로 인해 $PbSO_{4(s)}$ 의 형성이 가능한 것으로 판단되었다.

3.2.4. 철 용출량 변화

미생물학적 용출 실험의 결과, 미생물을 활성화하지 않은 비교실험에 비하여 주입한 *A. thiooxidans*의 활발한 대사작용에 의해 낮은 pH의 산성 환경이 조성됨으로써 상대적으로 높은 함량의 Pb, Zn, Cu, Cr이 용출되었으며 이러한 특징은 Fe에서도 동일하게 나타났다. 황을 투입하지 않은 A 조건과 황산화균을 접종하지 않은 H 조건, 그리고 4°C에서 실험을 진행한 G 조건에서는 Fe가 용출되지 않은 반면 일정량의 황을 공급하고 *A. thiooxidans*를 접종하여 26°C에서 실험을 진행한 B, C, D, E, F 조건에서는 높은 함량의 Fe가 용출되었다(Fig. 6(a)~(c)). Ferrozine 염색법을 사용하여 총 용존 Fe 중 Fe^{2+} 함량을 정량한 결과 거의 모든 Fe가 Fe^{3+} 의 형태로 존재하였으며 이는 미생물학적 작용의 결과 반응 분위기가 강산성 산화환경으로 조성되었음을 나타낸다.

오염 토양 및 퇴적물을 대상으로 이 연구에서 사용한 것과 같은 호산성(acidophilic) 미생물을 이용하여 중금속을 용출할 경우, 용존 Fe가 Fe^{3+} 로 산화된 후 jarosite 등 Fe(III)-화합물을 형성하여 침전하기 쉬우며 이는 특히 *A. ferrooxidans* 등의 철산화균을 사용할 경우 두드러진다. Fe(III)-화합물이 형성되면 용출된 중금속은 Fe(III)-화합물에 흡착 또는 공침전되기 쉬우므로 미생물을 이용한 중금속 용출 후 제거 효율을 낮추기 쉽다(예를 들면, Park et al., 2007). 그러나 철산화균을 사용할 경우 대사작용을 활발하게 하기 위해 최대 9g/L의 높은 Fe를 공급하여 Fe(III)-화합물 형성이 용

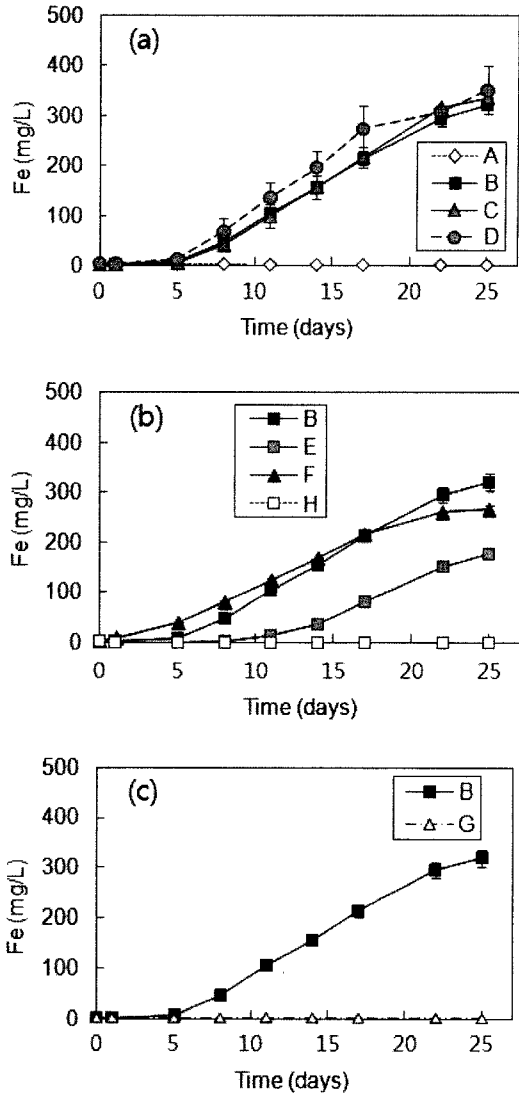


Fig. 6. Variations in total dissolved Fe concentrations affected by (a) sulfur concentration, (b) microbial inoculum amount and (c) temperature over time. Refer to Table 2 for experimental conditions of A-H sets.

이한데 반하여 이 연구에서와 같이 황산화균을 적용할 경우에는 별도로 공급하는 Fe가 소량이므로 상대적으로 적은 양의 침전물이 발생할 것이다. 이러한 사실은 철산화균을 사용하는 경우에 반응 용액의 색이 철산화물로 인하여 적갈색으로 나타나는데 반하여 이 연구에서는 실험 종료까지 거의 투명한 색을 유지한데서도 알 수 있었다. 단지 처리하려는 토양 자체에 많은 양의 Fe가 존재할 경우에는 Fe(III)-화합물의 침전 가능성을 고려하여 용출 기술을 적용하여야 할 것이다.

3.3. 토양 내 중금속 제거율

용출 실험이 종료된 후 반응 용기 내 상등액을 제거하고 처리된 잔류 토양을 자연 건조하여 왕수분해를 한 후 중금속을 정량하였다. 처리 후의 각 중금속 함량과 처리 전 토양에 존재하던 함량 차이를 통해 토양으로부터의 제거율을 계산하였다.

다른 중금속에 비하여 토양으로부터 Pb의 제거율이 낮은 것이 특징적으로 관찰되었다(Table 4). 물론 D 조건에서 최대 63%에 이르는 Pb 제거율을 나타내었지만 이 값은 86~92%에 이르는 다른 중금속의 제거율과 비교하였을 때 낮은 값이었다. 이는 앞서서도 말한 바와 같이 용출되어 나온 Pb^{2+} 가 SO_4^{2-} 와 결합하여 매우 낮은 용해도를 갖는 $PbSO_{4(s)}$ 를 형성하기 때문으로 판단된다. A 조건의 경우 처리한 후의 토양에서 오히려 더 높은 농도의 Pb가 존재하는 것으로 나타났다. 이는 과정 중 발생한 오염 또는 오류에 의한 것이거나 또는 처리 전 토양의 왕수 분해시 콜로이드 상태로 존재하여 0.45 μm 필터를 통과하지 못 했던 Pb가 실험 후에는 필터를 통과함으로써 토양 내에 더 많은 Pb 함량이 추가된 것처럼 나타나는 것으로 추측된다.

형성된 $PbSO_{4(s)}$ 는 토양 매질로 침전되는 것 이외에 콜로이드 상태로 부유할 가능성도 있다. 최종 상등액을 대상으로 0.45 μm 필터를 통과시킨 후 필터에 걸러진 콜로이드를 건조하여 화학분석을 한 결과, Zn, Cu, Cr, Fe의 경우 처리 토양 내 함량에 비하여 콜로이드에서 약 0.8~2.8배 부하된 결과를 보인 반면 Pb는 1.2~4.0배 높은 농도로 농집된 것으로 나타났다(Table 4). 이는 형성된 $PbSO_{4(s)}$ 가 일부 콜로이드 상태로 부유하고 있을 가능성을 나타내는 것이다. 반응조(reactor)에서 미생물학적 용출 기법을 적용할 경우

용출된 중금속이 존재하는 상등액을 제거하는 과정 중에 콜로이드 역시 제거되므로 상대적으로 높은 용출 효율을 기대할 수 있다. 그러나 미생물학적 용출을 오염 부지 현장에 직접 적용할 경우 콜로이드가 토양 입자에 흡착하거나 부피가 증가하며 침전할 가능성을 배제할 수 없다. 따라서 현장 적용을 위해서는 토양 공극에서의 콜로이드 이동 특성을 조사하여야 하며 이에 관한 추가 연구가 필요하다.

각 조건별로 중금속 제거율을 살펴보면, 초기에 5%의 황을 넣어준 D 조건에서 1~2%의 황을 투입한 조건보다 모든 중금속에 있어 더 높은 용출 효율을 보였다(Table 4). 이는 더 많은 황을 넣어줌에 따라 상대적으로 황산화균의 활동이 활발하여 중금속의 용출이 활발히 진행된 것으로 보인다. 이는 2%의 황을 투입한 C 조건에서의 중금속 제거율이 1%의 황을 투입한 B 조건에 비하여 높은 결과에서도 나타난다. 초기에 황을 투입하지 않은 A 조건의 경우 가장 낮은 제거율을 나타내 연구 대상 토양의 미생물학적 처리를 위해서는 황의 투입이 반드시 필요할 것으로 판단된다.

A. *thiooxidans*의 양을 각각 2%, 6%, 18%, 0%로 조정한 E, B, F, H 조건의 경우, 미생물을 접종하지 않은 H 조건에서 다른 조건에 비하여 월등히 낮은 제거율을 보였으며 가장 많은 양의 미생물을 접종한 F 조건에서 가장 높은 제거율을 나타냈다. 한편 2%의 미생물을 접종한 E 조건에서는 18%의 F 조건과 큰 차이가 없고 6%의 B 조건에 비하여는 다소 높은 제거율을 보여 주어진 반응 시간에서는 많은 양의 미생물을 접종할 필요가 없는 것으로 판단된다. 온도에 따른 용출 실험 결과, 4°C에서 실험을 진행한 G 조건의 경우 모든 중금속이 26°C에서 실험을 진행한 B 조건보

Table 4. Heavy metal solubilization (%) from the studied soil and enrichment factor of the heavy metals in colloidal suspension

Set	Heavy metal solubilization ¹⁾ (%)				Enrichment factor in colloidal suspension ²⁾				
	Pb	Zn	Cu	Cr	Pb	Zn	Cu	Cr	Fe
A (S 0%, bacteria 6%, 26°C)	-19.8	38.1	2.3	11.2	1.6	1.0	1.1	1.0	1.4
B (S 1%, bacteria 6%, 26°C)	44.4	72.4	76.5	68.5	2.5	0.9	0.8	1.1	1.5
C (S 2%, bacteria 6%, 26°C)	53.5	83.6	84.5	82.7	2.0	1.2	1.0	1.3	1.4
D (S 5%, bacteria 6%, 26°C)	63.3	92.0	86.0	88.8	4.0	2.7	1.7	2.3	2.8
E (S 1%, bacteria 2%, 26°C)	50.0	79.4	80.6	71.3	2.5	1.4	1.1	1.4	1.7
F (S 1%, bacteria 18%, 26°C)	46.1	81.6	81.1	72.4	2.7	1.2	0.8	1.3	1.6
G (S 1%, bacteria 6%, 4°C)	37.3	65.6	64.7	50.1	1.2	1.0	0.8	0.8	1.1
H (S 1%, bacteria 0%, 26°C)	21.9	62.9	39.4	47.7	2.2	1.6	1.5	1.4	1.8

¹⁾Heavy metal solubilization (%)=(Reduced concentration/The original concentration in the pre-treated soil)×100 (%)

²⁾Enrichment factor=Concentration in colloidal suspension/Concentration in the treated soil

다 낮은 제거율을 보였다.

3.4. 토양 내 중금속의 존재형태 변화

용출 실험이 종료된 후 자연 건조시킨 토양 시료를 대상으로 다시 연속추출을 실시한 결과를 Fig. 7에 나타내었으며 이 때 상호 비교를 위하여 처리 전의 토양에 관한 연속추출 결과를 맨 오른쪽 막대그래프로 수록하였다. 사격장 토양의 주된 오염원인 Pb의 경우, 황을 주입하지 않았거나(A 조건), 4°C에서 반응하였거나(G 조건), 미생물을 접종하지 않은 경우(H 조건), 용출이 어려운 잔류상 형태 비율이 크게 증가하였다(Fig. 7(a)). 시간에 따른 Pb 용출 경향을 관찰한 결과에서도 이들 조건에서는 Pb 용출량이 극히 적었으며(Fig. 3~5 참조), 이는 앞서서도 말했듯이 용해도가 극히 작은 PbSO_{4(s)}의 형성과 관련이 있는 것으로 판단된다. 이들 조건에 비하여 황 투입량 또는 미생물 접종량을 증가시킨 B~F 조건의 경우 처리 전 토양과 크게 상이하지 않은 존재 형태를 보였으며 따라서 이 조건들에서는 용출된 Pb가 PbSO_{4(s)}를 형성하였더라도 주로 콜로이드 상태로 존재하는 것으로 여겨진다.

Zn, Cu, Cr의 경우, A, G, H 조건에서 처리 전 토양과 유사하거나 또는 다소 높은 비율로 용출이 어려운 형태인 4 단계(유기물 및 황화물 형태) 및 5 단계(잔류상 형태) 형태로 존재하는 반면 황 및 미생물을 투입하고 상온에서 반응시킨 B~F 조건에서는 이동이 용이한 1~3 단계 형태의 비율이 뚜렷하게 증가한 것을 관찰하였다(Fig. 7(b)~(d)). 이는 장기간에 걸친 용출 실험 결과 단단하게 결합되어 있는 4, 5 단계로 존재하던 중금속 형태가 이동이 용이한 1~3 단계 형태로 변환된 것을 의미한다. 그러나 이러한 결과는 처리 후 토양 내에서 중금속의 이동도를 향상시킴으로써 안전한 재사용 가능성을 떨어뜨리는 결과로 볼 수 있다. 이러한 단점을 해결하기 위해서 용출 기간을 연장하는 방법 또는 반대로 적절한 용출량을 얻으면서 4~5 단계 광물상의 변화를 최소화하는 단축된 적정(optimum) 용출 기간을 조사, 적용하는 방법을 적용하여야 할 것이다.

4. 결 론

경기도 파주 소재 장단사격장 토양을 대상으로 황산

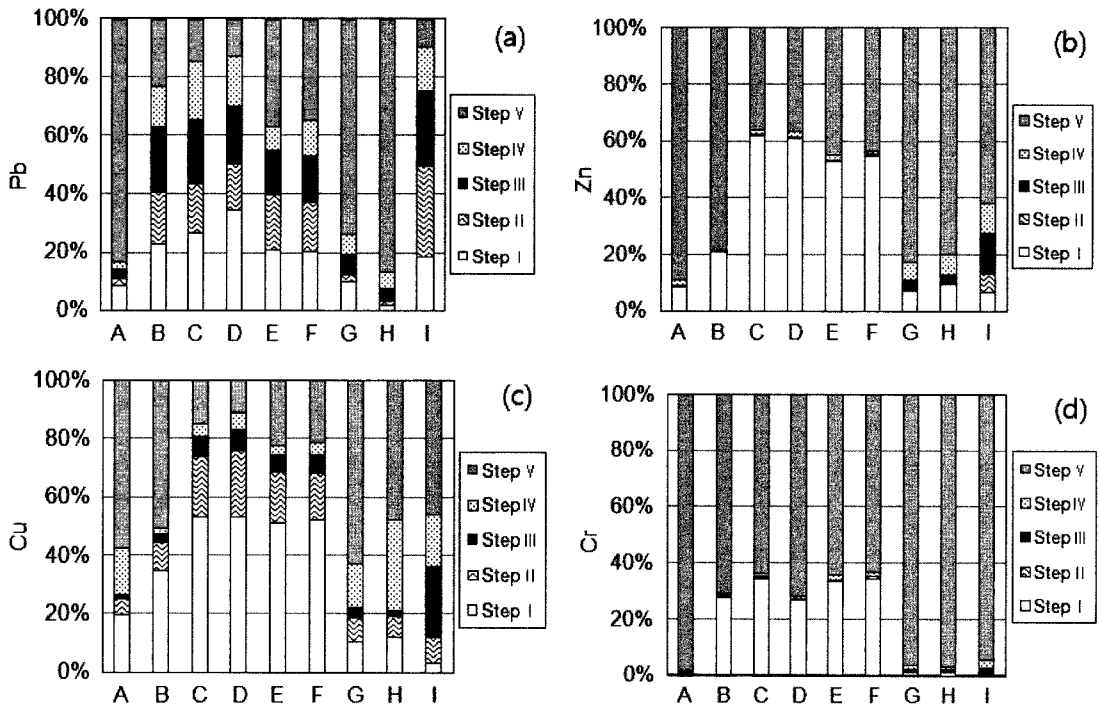


Fig. 7. Sequential extraction of the soil sample after bioleaching for (a) Pb, (b) Zn, (c) Cu and (d) Cr. Refer to Table 2 for experimental conditions of A~H sets. The set I is the result for the initial, pre-treated soil which was included for comparison. Step I: Exchangeable fraction. Step II: Fraction bound to carbonate or specially adsorbed fraction. Step III: Fraction bound to Fe-Mn oxide. Step IV: Fraction bound to organic and sulfides. Step V: Residual fraction.

화균인 *A. thiooxidans*를 이용하여 중금속 용출 실험을 실시하였으며 다양한 용출 조건들이 중금속 용출 효율에 미치는 영향을 파악하였다. 연구 토양은 Pb 오염이 가장 심각하였으며 Zn 및 Cu 오염도 진행된 것으로 나타났다. 시간에 따라 채취한 용출액을 대상으로 용존 중금속을 화학 분석하고 반응 기간이 종료된 후 토양을 수거하여 용출 효율을 조사한 결과, 전체적으로 황산화균의 활성을 증가시키기 위해 투입한 황 함량이 5%인 경우가 황 투입량이 1~2%인 경우에 비하여 용출 효율이 다소 높았다. 반면 황을 투입하지 않은 경우에는 월등히 낮은 용출 효율을 보였다. 또한 초기 주입한 미생물 접종량이 많을수록 반응 초기에 높은 용출 효율을 보였으나 시간이 경과하며 그 차이는 미미하였고 미생물을 주입하지 않은 시료의 경우 다른 시료에 비하여 뚜렷하게 낮은 용출 효율을 보였다. 한편 Pb의 용출 효율은 다른 중금속에 비하여 작았으며 이는 용출된 Pb^{2+} 가 황산화 산물인 SO_4^{2-} 와 결합하여 용해도가 작은 $PbSO_4(s)$ 를 형성하였기 때문이다. 온도에 따른 실험을 진행한 결과 4°C에서 진행한 반응에서는 26°C의 경우에 비하여 월등히 낮은 효율을 나타냈다. 처리 후 토양을 수거하여 연속추출을 수행한 결과 Zn, Cu, Cr 등의 존재 형태 중 이동이 용이한 형태의 비율이 높아져 효과적인 토양의 재사용을 위해서는 이에 대한 적절한 조치가 필요한 것으로 판단되었다. 이상의 결과로 보아 중금속으로 오염된 사격장 토양 등을 대상으로 미생물학적 용출을 이용한 오염 복원시 오염 중금속의 종류, 에너지원의 농도, 미생물 접종량, 온도 등과 같은 인자가 용출 효율에 매우 중요한 영향을 미칠 수 있다는 것이 확인되었다.

사 사

이 연구는 환경부 “토양·지하수오염방지기술개발사업”에서 지원받아 수행되었습니다.

참고문헌

- Bowen, H.J.M. (1979) Environmental chemistry of the elements. Academic Press, London.
- Chen, S.-Y. and Lin, J.-G. (2000) Influence of solid content on bioleaching of heavy metals from contaminated sediment by *Thiobacillus* spp. J. Chem. Technol. Biotechnol., v.75, p.649-656.
- Chen, S.-Y. and Lin, P.-L. (2009) Optimization of operating parameters for the metal bioleaching process of contaminated soil. Separ. Purif. Technol. (in review)
- Chen, Y.X., Hua, Y.M., Zhang, S.H. and Tian, G.M. (2005) Transformation of heavy metal forms during sewage sludge bioleaching. J. Haz. Mater., v.123, p.196-202.
- D'Hughes, P., Cezac, P., Cabral, T., Battaglia, F., Truongmeyer, X.M. and Morin, D. (1997) Bioleaching of a cobaltiferous pyrite: a continuous laboratory-scale study at high solids concentration. Miner. Eng., v.10, p.507-527.
- Dastidar, M.G., Malik, A. and Roychoudhury, P.K. (2000) Bidesulphurization of Indian (Assam) coal using *Thiobacillus ferrooxidans* (ATCC 13984). Energ. Convers. Manage., v.41, p.375-388.
- Dew, D.W., Lawson, E.N. and Broadhurst, J.L. (1998) The BIOX process for biooxidation of gold-bearing ore or concentrates. In: Rawlings, D.E. (ed.), Biomining: theory, microbes and industrial processes. Springer-Verlag, Berlin, p.45-80.
- Iskandar, L.K. (2001) Environmental restoration of metals contaminated soils. Lewis Publishers.
- Jang, A., Jang H.-Y., Kim S.-M., Lee, J.-U. and Kim, I.S. (2002) Decontamination of heavy metals from dewatered sludge by *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Environ. Eng. Res., v.7, p.199-206.
- Jenkins, T.F., Walsh, M.E., Thorne, P.G., Miyares, P.H., Ranney, T.A., Grant, C.L. and Esparza, J.R. (1998) Vertical migration potential of metal contaminants at small arms firing ranges, Camp Edwards Military Reservation. Massachusetts. U.S. Army Corps of Engineers, Waterways Experiment Station. IRRP-98-3.
- Jung, M.C. (1994) Sequential extraction of heavy metals in soils and a case study. Econ. Environ. Geol., v.27, p.469-477. (in Korean)
- Kloke, A. (1979) Content of arsenic, cadmium, chromium, fluorine, lead, mercury, and nickel in plants grown on contaminated soil. UN-ECE Symp. 325p.
- Ko, I.W., Lee, K.P., Lee, C.H. and Kim, K.W. (2004) Assessment of pilot-scale acid washing soil contaminated with As and heavy metals. Proceedings of 2004 Conference of Korean Society of Soil and Groundwater Environment, p.239-242. (in Korean)
- Lee, J.-U., Kim, S.M., Kim, K.W. and Kim, I.S. (2005) Microbial removal of uranium from uranium-bearing black shale. Chemosphere, v.59, p.147-154.
- Liu, Y.G., Zhou, M., Zeng, G.M., Li, X. Xu, W.H. and Fan, T. (2007) Effect of solids concentration on removal of heavy metals from mine tailings via bioleaching. J. Haz. Mater., v.141, p.202-208.
- Ministry of National Defense Republic of Korea (2002) Assessment of pollution in shooting range soil and study about prevention measure of pollution diffuse.
- Muñoz, J.A., González, F., Blázquez, M.L. and Ballester, A. (1995) A study of the bioleaching of a Spanish uranium ore: I. A review of the bacterial leaching in the treatment of uranium ores. Hydrometallurgy, v.38, p.39-57.
- Nourbakhsh, M., Sag, Y., Ozer, D., Aksu, Z., Katsal, T. and Calgar, A. (1994) A comparative study of various biosorbents for removal of chromium(VI) ions from industrial wastewater. Process Biochem., v.29, p.1-5.
- Park, H.-S., Lee, J.-U. and Ahn, J.-W. (2007) The effects of *Acidithiobacillus ferrooxidans* on the leaching of

- cobalt and strontium adsorbed onto soil particles. Environ. Geochem. Hlth., v.29, p.303-312.
- Park, S.H., Bae, B.H., Kim, M.K. and Chang, Y.Y. (2008) Distribution and behavior of mixed contaminants, explosives and heavy Metals at a small scale military shooting range. J. Korean Soc. on Water Quality, v.24, p.523-532. (in Korean)
- Rulkens, W.H. (1995) Methods of cleaning contaminated soils and sediments, In: Grotenhuis, J.T.C., Tichy, R., Salomons, W., Forstner, U. and Mader, P. (ed.), Heavy metals. Springer-Verlag, Berlin, p.171-191.
- Stookey, L.L. (1970) Ferrozine - a new spectrophotometric reagent for iron. Anal. Chem., v.42, p.779-781.
- Tessier, A., Campbell, P.G.C. and Bisson, M. (1979) Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metal. Anal. Chem., v.51, p.844-850.
- Tyagi, R.D. and Couillard, D. (1989) Bacterial leaching of metals from sludge, In: Cheremisinoff, P.E. (ed.), Encyclopedia of environmental control technology, v.3. Gulf Publishing Co, Houston, p.557-591.
- Waksman, S.A. and Joffe, I.S. (1922) Microorganisms concerned with the oxidation of sulphur in soil: II. *Thiobacillus thiooxidans*, a new sulphur oxidizing organism isolated from the soil. J. Bacteriol., v.7, p.239-256.
- Wierzbicka, M. (1999) Comparison of lead tolerance in *Allium cepa* with other plant species. Environ. Pollution, v.104 p.41-52.

2009년 8월 16일 원고접수, 2009년 10월 10일 게재승인