

## 고온성 박테리아를 이용한 섬아연석의 용출 특성

박천영<sup>1\*</sup> · 정경훈<sup>2</sup> · 김봉주<sup>1</sup>

<sup>1</sup>조선대학교 에너지자원공학과, <sup>2</sup>조선대학교 환경공학과 BK21 바이오가스기반 수소생산사업팀

## The Bioleaching of Sphalerite by Moderately Thermophilic Bacteria

Cheon-Young, Park<sup>1\*</sup>, Kyung-Hoon Cheong<sup>2</sup> and Bong-Ju, Kim<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Energy and Resource Engineering, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

<sup>2</sup>Department of Environmental Engineering and BK21 Team for Biohydrogen Production, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

Bioleaching experiments were effectively carried out at 42°C, 52°C and 62°C to leach the more valuable metal ions from sphalerite using bacteria. The pH values of the bioleaching solution were constantly maintained for 10 days in the range of 2.40 to 2.55. In these bioleaching experiments, rod-shaped bacteria attached to the sphalerite surface were continuously observed in the sample. Along with the increase in the leaching temperatures, the concentration of Zn and Pb increased in the control sample of leachates, whereas the concentration of Fe increased in the sample containing bacteria. At 42°C, 52°C and 62°C, the biological leaching content of Zn was found to be 9.5, 2.8 and 2.9 times higher than that in the chemical leaching content, respectively. At these temperatures, the content of Pb in the bacterial sample of the leachate was detected to be 14.8, 7.4 and 3.8 times higher than that of the control sample of the leachate, respectively.

**Key words** : bioleaching, valuable metal ion, moderately thermophilic bacteria, sphalerite

고온성박테리아를 이용하여 섬아연석으로부터 유용금속이온을 효과적으로 용출시키기 위하여 42°C, 52°C, 62°C에서 미생물용출실험을 각각 수행하였다. 이때 미생물용출실험이 진행되는 10일 동안, 용출액의 pH는 2.40에서 2.5 범위를 유지하였으며 미생물 용출실험이 종료될 때까지 막대 모양의 박테리아들이 섬아연석 표면에 부착되어 있는 것이 계속해서 관찰되었다. 용출온도를 42°C, 52°C, 62°C로 증가시키면, 비교시료에서 용출 함량이 증가되는 금속 이온은 Zn과 Pb이고, 박테리아 용출 시료에서는 Fe 용출 양이 증가하였다. 용출 온도를 42°C, 52°C, 62°C로 증가시켰을 때, Zn 이온은 비교시료에서 보다 박테리아 용출 시료에서 각각 9.5배, 2.8배, 2.9배 이상으로 높게 용출되었고, Pb 이온은 비교시료에서 보다 박테리아 용출 시료에서 각각 14.8배, 7.4 배, 3.8배 이상으로 높게 용출되었다. Fe 이온의 경우, 비교시료에서 용출 온도를 42°C, 52°C, 62°C로 증가시켜도 전혀 용출되지 않았지만, 박테리아 용출 시료에서는 Fe 함량이 온도에 비례하여 증가하였다.

**주요어** : 미생물용출, 유용금속이온, 고온성박테리아, 섬아연석

### 1. 서 론

지금까지의 광산활동은 주로 고품위 광석을 대상으로 채광되어 왔으며, 고품위 위주로 광석을 개발하다 보니 점점 지하 심부로 들어가게 되었다. 이로 인해 고품위광석이 고갈되고 지하 심부의 고품위광석을 개

발하다 보니 지층 심도에 비례하여 막대한 경비가 소요되었다. 고품위광석을 개발하는 과정에서 생성된 저품위광석, 광산폐석 및 광미로부터 발생하는 토양오염과 산성광산배수가 환경에 심각한 문제가 되고 있다 (Brierley, 1978a, 1982; Brierley and Brierley, 2001). 또한 순도 높은 금속괴를 얻기 위하여 황화광물의 정

\*Corresponding author: cybpark@chosun.ac.kr

광(concentrate)을 높은 온도로 산화시키거나 회화(roasting)하는 과정에서  $SO_2$  가스가 생성되어 대기오염이 심각하게 문제가 되고 있다(Marsden and House, 1992). 그리고 방대한 양으로 방치되어 있는 저 품위광석, 광산폐석 및 광미에 미량으로 포함되어 있는 유용금속을 기존방법으로 회수하는 것은 사실상 불가능한 일이다. 그러나 미생물을 이용한다면 고 품위광석은 물론이고 저 품위광석, 광산폐석 및 광미로부터 유용금속 이온을 용출시켜 회수할 수 있다(Murr and Berry, 1976; Olson, 1991; Nasernejad *et al.*, 1999). 따라서 현재 미생물을 이용하여 황화광물로부터 유용금속 이온을 용출시켜 회수하고 동시에 환경문제를 해결하고자 하는 요구가 증가되고 있다. 미생물을 황화광물에 적용하여 유용금속 이온을 회수할 때 대기오염은 물론이고 지표수나 토양 오염도 적게 발생한다. Heap leaching 혹은 dump leaching과 같이 현장에서 미생물을 적용하여 유용금속이온을 회수한다면 광석운반에 따른 경비가 절감되고, 용출 용액을 재순환시키기 때문에 지표수나 지하수는 물론이고 토양의 오염 문제도 억제할 수 있다(Bruynesteyn and Duncan, 1971; Brierley, 1978b, 2003; Groudev and Groudeva, 1993). 그러나 미생물을 황화광물에 적용하여 유용금속이온을 효과적으로 용출시켜 내기 위해서는 미생물의 생존 조건에 따른 여러 가지 인자들이 미생물의 생육조건에 맞추어 주어야 한다. 특히 미생물체가 높은 온도에 생존할 수 있거나 고 농도의 중금속 이온에 내성을 갖고 있다면 황화광물로부터 유용금속이온을 효과적으로 용출시킬 수 있다. 약 40°C까지 생존할 수 있는 중온성 박테리아(mesophile)를 황화광물에 접종하여 유용금속 이온을 용출시키는 것 보다 40°C에서부터 55°C까지 생존할 수 있는 중간고온성 박테리아(moderate thermophile)를 적용하면 더 많은 유용금속을 용출시킬 수 있다. 또는 55°C에서부터 약 80°C까지 생존할 수 있는 초고온성박테리아(extreme thermophile)를 황화광물을 적용하여 중간고온성박테리아에서 보다 더 많은 유용금속 이온을 용출시킬 수 있게 되었다(Norris *et al.*, 1986; Ahonen and Tuovinen, 1992; Tuovinen *et al.*, 1994; Schippers, 2007). Rodriguez *et al.*(2003)은 섬아연석에 35°C의 중온성 박테리아와 68°C의 고온성 박테리아를 이용하여 용출실험을 30일 동안 수행하였다. 그 결과 Zn의 용해율이 35°C의 중온성 박테리아에서는 27%에 불과했지만 68°C의 고온성박테리아에서는 76%에 이르렀다. 그리고 Fe의 용해율도 11%에서 40%로 증가하였다. 이와 같이 온도가 증가하면 Arrhenius 공

식에 의한 rate constant가 증가하고 박테리아의 배가 시간이 감소하기 때문에 황화광물로부터 많은 양의 유용금속이온이 효과적으로 용출될 수 있다. 즉 온도가 10°C 증가되면 금속이온 용출율은 약 2배가 증가한다(Torma, 1977; Ahonen and Tuovinen, 1989, 1990, 1992). 그리고 온도가 증가하면 유용금속 이온의 확산율 및 용해도가 증가하여, 물의 점성과 표면장력이 감소되기 때문에 낮은 온도에 비하여 황화광물의 금속이온 용출량이 증가된다. 온도가 증가되면 황화광물과 박테리아의 접촉시간이 감소되어도 유용금속이온이 효과적으로 향상시킬 수 있게 되고, 점성의 감소로 황화광물의 혼합이 잘 되어 동력비가 감소된다. 또한 온도가 증가되면 잔존물(sludge)의 탈수가 용이해진다. 그러나 온도가 증가되면  $CO_2$ 와 같은 가스의 용해도가 감소되고, 높은 온도를 장시간 안정하게 유지하기 위해서는 많은 에너지가 소요된다는 단점도 있다(Brock, 1986).

섬아연석에 미생물을 접종한 유용금속의 용출 실험은 Torma *et al.*(1970)에 의하여 처음으로 시도되었으며, 그 후로 Torma and Guay(1976), Yelloji Rao *et al.*(1992), Konishi *et al.*(1992), Boon *et al.*(1998), da Silva *et al.*(2003)에 의하여 미생물 용출실험을 수행하여 왔다. 한편 Mehta and Murr(1982, 1983), Lizama and Suzuki(1990), Attia and El-Zeky(1990) 등은 정지전압이 낮은 섬아연석에 정지전압이 높은 황철석을 혼합하여 galvanic effect를 유도하고 여기에 미생물을 접종하여 많은 양의 Zn 이온을 용출시키는 실험도 수행하였다.

우리나라에서 미생물을 이용하여 황화광물로부터 유용금속 이온을 용출시키는 연구로는 Kim *et al.*(2003), Ko *et al.*(2009), Park and Cho(2010), Park *et al.*(2009, 2010a)이 수행하였다. 하지만 이들 연구는 저온성 균주로 실험을 수행하였고, 40°C 이상의 고온성 미생물을 이용한 연구로는 Park *et al.* (2010b)뿐이다.

본 연구 목적은 박테리아를 이용하여 섬아연석으로부터 유용금속이온을 효과적으로 용출시키기 위하여 42°C, 52°C, 62°C에서 미생물용출실험을 수행하였다. 온도 증가에 따라 용출되는 유용금속 이온의 함량을 조사하였고, 박테리아의 직접접촉산화작용에 의해 일어나는 충식작용을 고찰하고자하였다.

## 2. 시료채취 및 분석방법

### 2.1. 호산성박테리아

호산성박테리아는 일본, 하츠바루(Hatchnobaru) 지

열발전소 부근의 노천에서 뜨겁게 분출되는 산성 온천수에서 채취하여 배양하였다(Park *et al.*, 2010b). 산성 온천수 10 ml를 미리 준비된 배양액(이하 성장-배양액) 150 ml에 접종시키고 32°C로 제어된 배양기(HB-201SFO)에서 성장시켰다. 32°C의 성장-배양액에서 배양된 박테리아를 4회 계대배양하였으며 박테리아 10 ml를 채취하여 42°C와 52°C의 성장-배양액에서 각각 배양하였다.

## 2.2. 성장-배양액 조성

성장-배양액(150 ml)은 무기성분과 에너지원으로 구성하였다. 무기성분은  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.2 g/L,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5 g/L,  $\text{CaCl}_2$  0.25 g/L 및  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  3.0 g/L을 3차 증류수 1.0 L에 용해시켜 제조하였다. 원소 황 분말 1.0 g/L과  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  5.0 mg/L을 에너지원으로 첨가하였다. 3번 계대배양 된 32°C의 성장-배양액 10 ml를 채취하여 42°C와 52°C의 성장-배양액에서 고온성 박테리아를 각각 성장시켰다. 박테리아가 42°C와 52°C의 온도에 적응할 수 있도록 1회 더 계대배양을 실시하였다. 계대배양은 28일 주기로 수행 하였다. 42°C에서 계대배양된 성장-배양액 50 ml를 채취하여 42°C의 섬아연석-용출 배양액에 접종하고, 52°C의 성장-배양액 50 ml를 채취하여 52°C의 섬아연석-용출 배양액에 접종하였다. 그리고 52°C의 성장-배양액 50 ml를 채취하여 62°C의 섬아연석-용출 배양액에 접종하였다. 에너지원이 제외된 신선한 무기성분 배양액 100 ml를 각각 42°C, 52°C, 62°C의 섬아연석-용출 배양액에 첨가하여 150 ml가 되게하였다. 150 ml로 조제된 42°C, 52°C, 62°C의 섬아연석-용출 배양액을 배양기(HB-201SFO)에서 각각 42°C, 52°C, 62°C로 유지시켰다.

## 2.3. 섬아연석-용출 배양액

섬아연석-용출 배양액의 조성은 성장-배양액에 사용하였던 무기성분 구성 비율과 동일하게 하였고 원소 황 대신 섬아연석 입자(-20 mesh=0.85 mm) 2 g을 에너지원으로 사용하였다. 비교시료(150 ml)도 섬아연석-용출 배양액에 사용하였던 무기성분 구성 비율과 동일하게 제조하였고 섬아연석(20 mesh=0.85 mm, 2 g/L) 양도 동일하게 첨가하였다. 박테리아가 접종된 섬아연석 용출-배양액의 pH는 황산으로 조정하지 않았다. 황산으로 섬아연석 용출-배양액의 pH를 조정하지 않은 이유는 최적의 pH 조건이 아니어도 박테리아가 고 온도에서 생존할 수 있는지, 섬아연석 표면에 부착할 수 있는지 그리고 섬아연석으로부터 유용금속 이온을 용

출시킬 수 있는지를 확인하기 위해서였다. 섬아연석-용출 배양액과 비교시료를 배양기(HB-201SFO)를 사용하여 각각 42°C, 52°C, 62°C에서 반응시켰다. 성장-배양액, 섬아연석-용출 배양액, 500 ml 삼각플라스틱, 실리스토퍼(sili stopper), 섬아연석 입자 및 스페큘라(spatulas) 등은 고압멸균기(SW-90AV100)에서 121°C, 1.8 기압으로 15분간 멸균하여 사용하였다. 섬아연석 입자는 3차 증류수가 들어 있는 초음파세척기(Ultrasonic, Power Sonic 510)에서 15분간 3번 세척하고 고압멸균기에서 멸균하였다.

## 2.4. 섬아연석 시료

섬아연석 시료는 호주에서 구입하였다. 섬아연석 시료를 구성하고 있는 광석광물의 종류를 알아보기 위하여 연마편을 제작하였다. 섬아연석 시료를 조크라샤로 파쇄한 후 -20 mesh와 -200 mesh로 체분석을 실시하였다. -20 mesh 시료는 미생물용출실험에 이용하였고 -200 mesh 시료는 화학분석에 이용하였다. -200 mesh 시료는 왕수분해하여 ICP-MS로 유용금속 이온 함량을 측정하였다.

## 2.5. 분석방법

연마편으로 제작 된 섬아연석 시료 표면을 편광현미경(Leitz, Orthoplan-pol)으로 관찰하였다. 또한 연마편 시료 표면에 포함되어 있는 각각의 광석광물들, 즉, 섬아연석, 방연석, 황동석 및 황철석 표면에 대하여 전자현미분석기(한국기초과학지원연구소, 전주, Electron Probe Microanalysis, EPMA-1600, Shimadzu)를 이용하여 정량분석하였다. 이때 가속전압은 15 Kev이었고 빔 전류는 20 nA이었다. -200 mesh의 섬아연석 시료에 대하여 X-선 회절분석(X-ray diffraction, XRD, Rigaku, Geigerflex D/max rA)을 실시하였다. 분석 조건은 Cu-K $\alpha$  선을 이용하여 가속전압 40 kV, 전류 30 mA, 주사속도 2°/min.으로 3°~90°의 2 $\theta$  구간을 분석하였다. -200 mesh로 체분석 된 섬아연석 시료 0.75 g을 시험관에 넣고 질산과 염산의 비율 1:3으로 조제된 왕수 7.2 ml를 함께 넣었다. 이 시험관을 heating block(DMB-2)에서 1시간 동안 70°C로 유지하면서 섬아연석 시료를 용해한 후 3차 증류수 22.8 ml를 첨가하고 잘 혼합하였다. 이 용액을 0.45  $\mu\text{m}$  여과지로 여과하고 유도결합플라즈마 질량분석기(inductively coupled plasma-mass spectrometry, ICP-MS, Agilent 7500a)를 이용하여 용액 중 Zn, Pb, Cu, Fe의 함량을 측정하였다. 또한 여과용액에 대한  $\text{SO}_4^{2-}$  농도를 이온

크로마토그래피(Ion Chromatography, Dionex-II 500)로 측정하였다. 42°C, 52°C, 62°C에서 고온성박테리아에 의해서 섬아연석으로부터 용출되는 유용금속 이온함량을 측정하기 위하여 섬아연석-용출 배양액과 대조시료에서 각각 10 ml 용액을 채취하였다. 채취된 10 ml 용출액은 pH와 Eh를 측정하고 0.45 µm 여과지로 여과하였다. 여과된 용출액 시료에 진한 질산을 가해 산처리를 하였다. 산 처리된 용출액은 유도결합프라스마 질량분광분석기로 Pb, Fe, Cu 및 Zn 이온 농도를 측정하였다. 섬아연석-용출 배양액에서 일어나는 pH 및 Eh 변화를 알아보기 위하여 pH 메타(Eijelkam, 18.28, multi-parameter analyser, Beigium)로 pH와 Eh를 시간별로 측정하였다. pH 메타는 사용하기 전에 pH 4, pH 7, pH 9의 표준용액(pH standard solutions, Horiba)으로 그리고 Eh는 ORP standard solution(Zobell's solution, Hydrolab, USA)으로 조정하여 측정하였다. 섬아연석 표면에 부착된 호산성 박테리아들의 특성을 알아보기 위하여 섬아연석-용출 배양액에서 섬아연석 입자를 채취하였다. 채취된 섬아연석 입자는 2.5%의 글루타르알데히드(glutaraldehyde)를 첨가하고 75%, 85%, 95% 및 100%의 에틸 알콜(ethyl alcohol)로 탈수시켰다. 탈수된 섬아연석 입자는 양면 테이프에 고정된 후 gold 및 Pt 코팅하여 전자현미경(scanning electron microscopy, SEM, Japan, Hitachi, S4800)

으로 표면을 관찰하였다. 섬아연석 표면에 대한 반정량분석은 전자현미경에 장착되어 있는 에너지 분산형 분광기(energy dispersive X-ray spectrometer, EDS)로 측정하였다. 이때 EDS분석은 100%의 Co 표준시료로 영점조정 후 실시하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. 섬아연석 시료의 구성성분

연마편으로 제작된 섬아연석 시료를 편광현미경으로 관찰한 결과 섬아연석이 약 60%, 방연석이 25%, 황동석이 10%, 황철석이 약 5%로 구성되었다. 미세한 황동석 입자들이 섬아연석과 방연석에 용리구조로 발달되어 있었다. 방연석은 예각삼각형이 잘 발달되어 있는 (100)면이 주로 관찰되었다. 섬아연석 시료를 구성하고 있는 광석광물에 대한 EPMA 정량분석 결과를 Table 1에 정리하였다. EPMA 정량분석은 각 광석광물에 대하여 5 지점을 선택하여 분석하였다. EPMA 분석 결과 섬아연석에는 Zn이 57.35 wt.%, Fe가 9.44 wt.%로 포함되어 있으며 미량성분으로 As(0.048 wt.%)와 Ag(0.002 wt.%)가 검출되었다. 섬아연석에 대한 EPMA 정량분석 자료를 이용하여 화학식으로 나타내면  $(Zn_{83.76}Fe_{16.14}As_1)S$ 으로 표현된다. 섬아연석에 Fe 성분이 약 9.44 wt.%로 포함되어 있다. 이와 같이 섬아연석

Table 1. Electron microprobe analysis of sphalerite sample(units; weight percent)

	sphalerite					mean	galena					mean
S	32.76	32.34	32.57	32.17	32.30	32.43	10.36	10.19	10.21	10.25	10.07	10.22
Fe	9.49	9.42	9.34	9.43	9.51	9.44	0.003	0.00	0.02	0.00	0.02	0.01
Cu	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.09	0.02	0.02	0.01	0.08	0.04
Zn	57.35	57.25	57.82	57.20	57.13	57.35	0.00	0.04	0.00	0.07	0.06	0.03
As	0.04	0.05	0.04	0.06	0.05	0.05	0.00	0.0	0.00	0.00	0.00	0.00
Ag	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.08	0.04	0.10	0.00	0.04
Sb	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.26	0.18	0.26	0.13	0.17
Pb	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	87.27	86.11	86.29	85.72	85.55	86.19
Total	99.64	99.06	99.77	98.80	99.00	99.25	97.73	96.70	96.76	96.41	95.91	96.70
	chalcopyrite					mean	pyrite					mean
S	33.78	33.48	33.33	33.08	33.44	33.42	51.50	50.70	50.69	51.26	50.39	50.91
Fe	29.45	29.47	28.95	28.80	28.83	29.10	45.06	44.92	44.38	45.10	44.83	44.86
Cu	33.55	33.73	33.79	33.04	33.96	33.61	0.00	0.00	0.01	0.02	0.00	0.01
Zn	0.11	0.04	0.04	0.04	0.00	0.05	0.03	0.00	0.10	0.07	0.00	0.04
As	0.15	0.1	0.14	0.12	0.12	0.13	0.23	0.23	0.23	0.16	0.19	0.21
Ag	0.001	0.009	0.012	0.007	0.03	0.01	0.004	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Sb	0.003	0.00	0.00	0.00	0.006	0.00	0.00	0.00	0.009	0.00	0.00	0.00
Pb	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Total	96.84	96.83	96.26	95.09	96.39	96.28	96.82	95.85	95.42	96.61	95.41	96.02

에 Fe 함량이 많이 포함된 이유는 미세한 황동석 입자들이 섬아연석과 용리구조를 이루고 있기 때문이다. 방연석은 S가 평균 10.22 wt.%로 Pb가 86.19를 포함하고 있으며, 미량성분으로 Sb(0.17 wt.%), Cu(0.04), Ag(0.04), Zn(0.03) 등이 검출되었다. 방연석에 대한 EPMA 정량분석 결과를 이용하면 ( $Pb_{99.29}Sb_{33}Cu_{16}Zn_{12}$ )S로 표현할 수 있다. 황동석은 S가 33.42 wt.%, Fe가 29.1, Cu가 33.61가 포함되어 있으며, 미량성분으로 As(0.13 wt.%), Zn(0.04), Ag(0.012), Sb(0.002) 등이 검출되었다. EPMA 정량분석 결과를 이용하면 황동석은 ( $Cu_{50.29}Fe_{49.52}As_{16}Zn_{07}Ag_{01}$ )S<sub>2</sub>으로 표현된다. 황철석은 S가 50.91 wt.%, Fe가 44.86로 포함되어 있고, 미량성분으로 As(0.21 wt.%), Zn(0.04), Cu(0.006), Sb(0.0018), Ag(0.0008) 등이 검출되었다. EPMA 정량분석 결과를 이용하면 황철석은 ( $Fe_{99.63}As_{35}$ )S<sub>2</sub>으로 표현된다. 왕수로 분해한 섬아연석 시료를 IC를 이용하여 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 함량을 측정하였다. IC에서 측정된 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 농도를 S로 변환한 결과 S의 평균 함량은 32.43 wt.%로 측정되었다. -200 mesh의 섬아연석 시료에 대한 XRD분석에서 섬아연석과 방연석에 해당되는 X선 회절 값들이 나타났다(Fig. 11). 섬아연석 시료에 대한 XRD분석 결과에서 황동석과 황철석에 해당되는 회절 값들은 관찰되지 않

았다. 편광현미경이나 EPMA 분석에서 황동석과 황철석이 잘 관찰되지만 XRD분석에서 황동석과 황철석에 해당되는 회절 값들이 나타나지 않는 것은 XRD의 검출한계가 3~5 wt.%이기 때문으로 사료된다(Marsden and House, 1992). -200 mesh 섬아연석 시료를 왕수 분해 후 ICP-MS로 분석한 결과 Zn이 87.1%, S가 9.2%, Pb가 3.42%, Cu가 0.18% 그리고 Fe가 0.07%로 측정되었다.

### 3.2. 섬아연석-용출 배양액의 pH 변화

고온성박테리아가 접종된 42°C, 52°C, 62°C의 섬아연석-용출 배양액의 pH와 Eh 변화를 반응 시간에 대하여 나타내었다(Fig. 1). 대부분의 미생물 용출실험에서 황산을 첨가하여 박테리아가 생존할 수 있는 최적의 pH 조건을 조성해준다(Garcia *et al.*, 1995a; Jones *et al.*, 2003). 그러나 본 미생물용출실험에서는 박테리아의 최적 pH 조건을 맞추기 위하여 황산을 첨가하지 않았다. 황산을 첨가하지 않은 이유는 최적의 pH 조건이 아니어도 42°C, 52°C, 62°C와 같은 고 온도에서 박테리아가 생존할 수 있는지를 확인하기 위해서이다. 용출실험이 1일 경과되었을 때, 42°C, 52°C, 62°C의 섬아연석에 박테리아가 접종된 시료(이하 박테리아 시

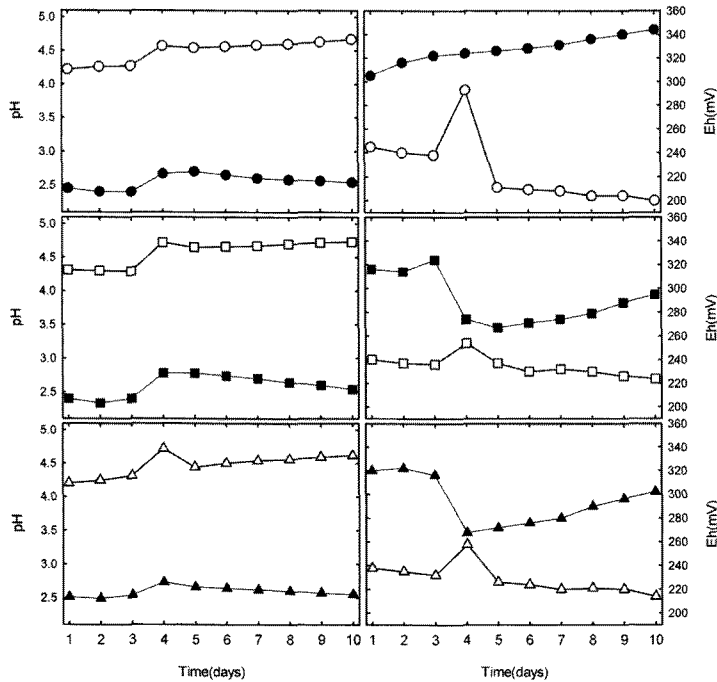


Fig. 1. The variation of pH vs. time in the sphalerite-leaching medium without of sulfuric acid(●; bacteria at 42°C, ○; control at 42°C, ■; bacteria at 52°C, □; control at 52°C; ▲; bacteria at 62°C, △; control at 62°C).

료))에서 pH는 2.45, 2.40, 2.51로 측정되었다. 미생물 용출실험이 진행되는 10일 동안 이들 박테리아가 접종된 시료의 pH 변화는 대체적으로 일정하게 유지되었다. 10일 후, 42°C, 52°C, 62°C의 박테리아 시료에서 pH는 2.54, 2.54, 2.55로 측정되었다. 용출실험이 1일 경과된 시료 즉, 박테리아가 접종되지 않은 섞아연석 시료(이하 비교시료)의 pH는 42°C에서 4.22, 52°C에서 4.31, 그리고 62°C에서는 4.20로 측정되었다. 10일 경과된 비교시료의 pH는 42°C에서 4.6, 52°C에서 4.73 그리고 62°C에서 4.62로 측정되었다. 42°C, 52°C, 62°C의 박테리아 시료에서 용출실험이 1일 경과되었을 때 pH가 각각 2.45, 2.40, 2.51로 매우 낮게 측정된 원인은 박테리아가 포함된 성장-배양액 50 ml를 접종하였기 때문이다. 28일 동안 42°C와 52°C에서 박테리아가 배양된 성장-배양액의 pH는 각각 2.01, 3.70이었다. 박테리아가 생존하고 있는, 즉 pH가 2.01과 3.70이었던 성장-배양액 50 ml를 채취하여 pH가 약 4.3인 신선한 성장-배양액 100 ml에 혼합하면 pH가 2.45(42°C), 2.40(52°C), 2.51(62°C)로 된다. 따라서 황산을 첨가하지 않아도 호산성 박테리아의 최적 성장 pH 조건인 2.3~3.5 범위가 된다(Lawrence *et al.*, 1997; Jones *et al.*, 2003). 박테리아가 섞아연석에 접종되고 1일 경과되었을 때, 42°C, 52°C, 62°C의 박테리아 시료에서 Eh는 각각 305 mV, 3.16 및 320이었고, 비교시료에서는 245 mV, 240, 238이었다. 10일 후 42°C에서 Eh는 344 mV로 증가하였지만 52°C 및 62°C에서는 Eh가 감소하여 각각 295 mV와 214 mV로 감소하였다. 42°C 박테리아 시료에서 Eh 값은 반응 1일부터 서서히 증가하였지만 52°C와 62°C에서의 Eh 값은 반응 4일 이후부터 증가하였다. 52°C와 62°C에서 반응 4일 이후부터 Eh가 증가하는 이유는 Fe 이온(Fig. 9)과 Pb 이온(Fig. 10)이 주로 4일 이후부터 용출되었기 때문인 것으로 사료된다. 왜냐하면 Eh가 증가하기 위해서는 산화작용이 진행되어 전자가 발생되어야 하기 때문이다.

### 3.3. 박테리아의 섞아연석 표면 부착 특성

42°C, 52°C, 62°C의 온도에서 미생물 용출실험이 진행되는 동안, 섞아연석 표면에 부착한 박테리아의 특성을 SEM에서 관찰하였다(Fig. 2).

Fig. 2a에서 크기가 약 0.4×1.1 μm에서 0.5×1.8 μm 범위로 나타나는 막대 모양의 박테리아들이 섞아연석 표면에 부착하였다. 일부 박테리아들의 세포 표면은 심하게 수축되어 나타나고 있다. 박테리아 세포 표면이

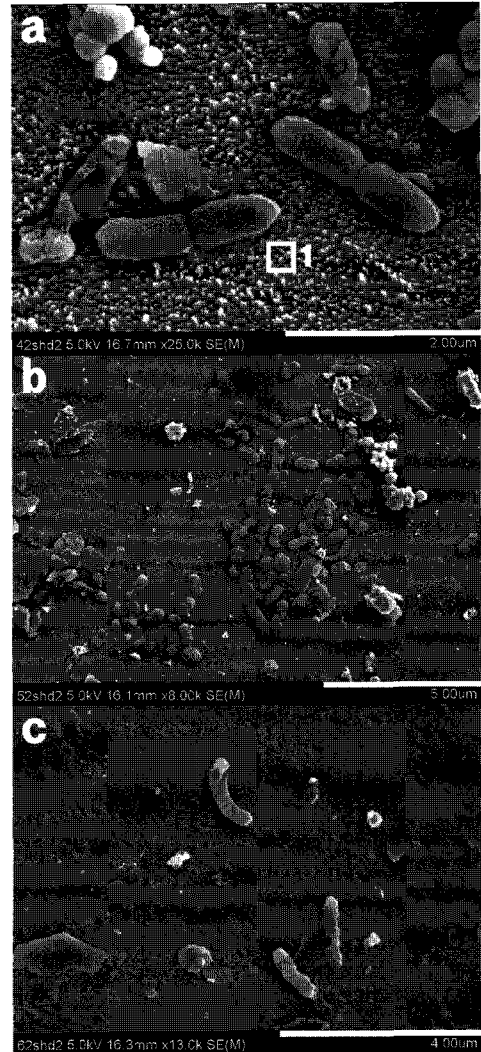


Fig. 2. SEM image of bacteria attached to the sphalerite. After 2 days of bioleaching at 42°C(a), 52°C(b) and 62°C(c). The EDS analysis point(□1) was positioned in Fig. a.

수축되어 나타나는 것은 시료 처리 과정의 탈수에 의해서 혹은 전자현미경의 진공 조건에 의해서 형성되는 것으로 사료된다(Berry and Murr, 1978; Park *et al.*, 2010a). 전체 길이가 약 0.5×2.0 μm로 나타나는 박테리아는 막대 모양의 중간 부분이 구분되어 있고, 이들 세포 표면은 수축되지 않은 것으로 보인다. Fig. 2a의 광물표면(□1 지점)을 EDS분석한 결과 S가 28.47%, Fe가 9.31% 그리고 Zn이 62.22%로 측정되었다. 이 함량을 atomic %로 나타내면 S가 44.25, Fe가 8.31, 그리고 Zn이 47.44이다. S와 Zn의 atomic %로 보아 이 광물은 섞아연석임을 확인할 수 있다.

Fig. 2b는 52°C에서 2일 경과한 박테리아 시료이다. 수많은 박테리아들이 섬아연석 표면에 군집을 이루어 부착하고 있다. 이들 막대 모양의 박테리아들은 크기가 약 0.3×1.4 μm에서 약 0.3×1.8 μm 범위로 나타나고 있다. 이들 박테리아들은 일반적인 박테리아의 크기인 0.5×1.5 μm에 해당되는 것으로 보인다(Norris, 1990). 그러나 크기가 약 0.3×5.1 μm에 해당되는 막대 모양의 박테리아도 관찰되고 있다. 52°C에서 나타나는 박테리아들도 세포 표면이 심하게 수축되어 나타나고 있다.

Fig. 2C는 62°C에서 2일 경과한 박테리아 시료이다. 섬아연석 표면에 길이가 약 0.3×1.5 μm에 해당되는 막대 모양의 박테리아들이 부착되어 있다. 구부러진 모양의 박테리아는 크기가 약 0.3×1.9 μm로 나타난다. 용출온도가 42°C, 52°C, 62°C의 비교적 높은 온도임에도 불구하고 박테리아들이 섬아연석 표면에 부착하여 생존하는 것을 확인하였다. 2일 경과된 박테리아 시료 중에서, 52°C의 섬아연석 표면에 가장 많은 박테리아 개체수가 부착된 것이 관찰되었다. 이와 같이 높은 온도에서도 박테리아들이 생존할 수 있었던 것은 이들 박테리아들이 고 온도의 산성 온천수에서 서식했기 때문일 것이다. 용출실험이 4일 경과한 42°C, 52°C, 62°C의 섬아연석 표면에서 그리고 7일 경과한 42°C, 52°C, 62°C의 섬아연석 표면에 많은 개체수의 박테리아들이 부착한 것을 확인하였다.

Fig. 3은 각각 42°C, 52°C, 62°C에서 용출실험이 10일 경과한 섬아연석 표면을 관찰한 사진이다. Fig. 3a에서 대부분 크기가 약 0.5×1.5 μm에서 0.5×2 μm 범위인 박테리아들이 섬아연석 표면에 부착하였다. 그러나 크기가 약 0.7×6.7 μm의 박테리아도 부착하였다. Fig. 3b에도 막대 모양의 박테리아들이 부착하였다. 박테리아들이 부착한 Fig. 3b의 광물표면은 직각으로 발달한 파쇄대가 발달되어 있다. 이것은 섬아연석이 아니라 방연석 입자 표면으로 해석된다. 왜냐하면 방연석 입자 표면은 직각으로 파쇄대가 발달되어 있고, 또한 직각으로 발달한 파쇄대 표면을 EDS분석하면 언제나 Pb와 S가 검출되었기 때문이다. 이와 같이 방연석 입자가 나타나는 원인은 섬아연석 시료에 방연석이 약 25% 포함되어 있기 때문이다. 섬아연석 시료에 방연석이 포함되어 있는 것을 편광현미경 관찰과 EPMA 정량분석 결과와 일치하였다. Fig. 3c에서 섬아연석의 표면에 막대 모양의 박테리아들이 부착하였고, 직경이 약 8.9 μm의 2차 생성물이 생성되었다. 2차 생성물 표면(□2 지점)에 대한 EDS분석 결과 O(79.06 atomic

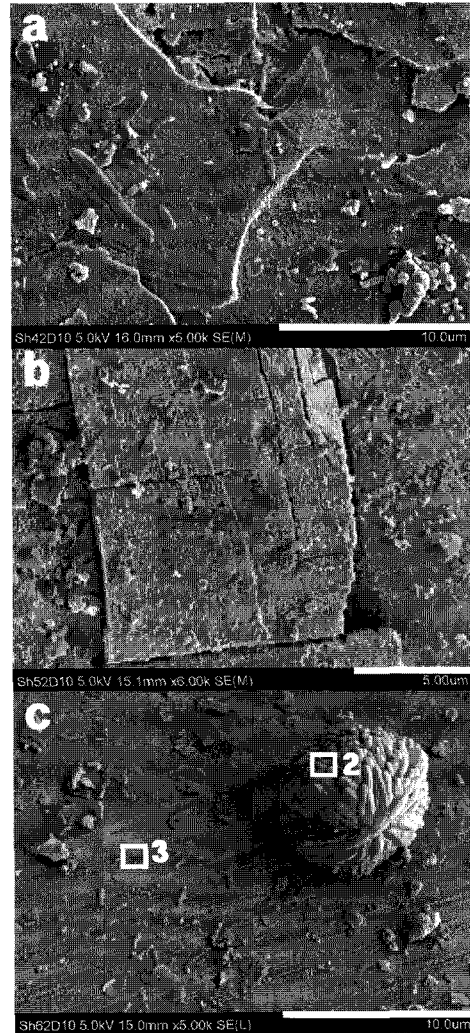
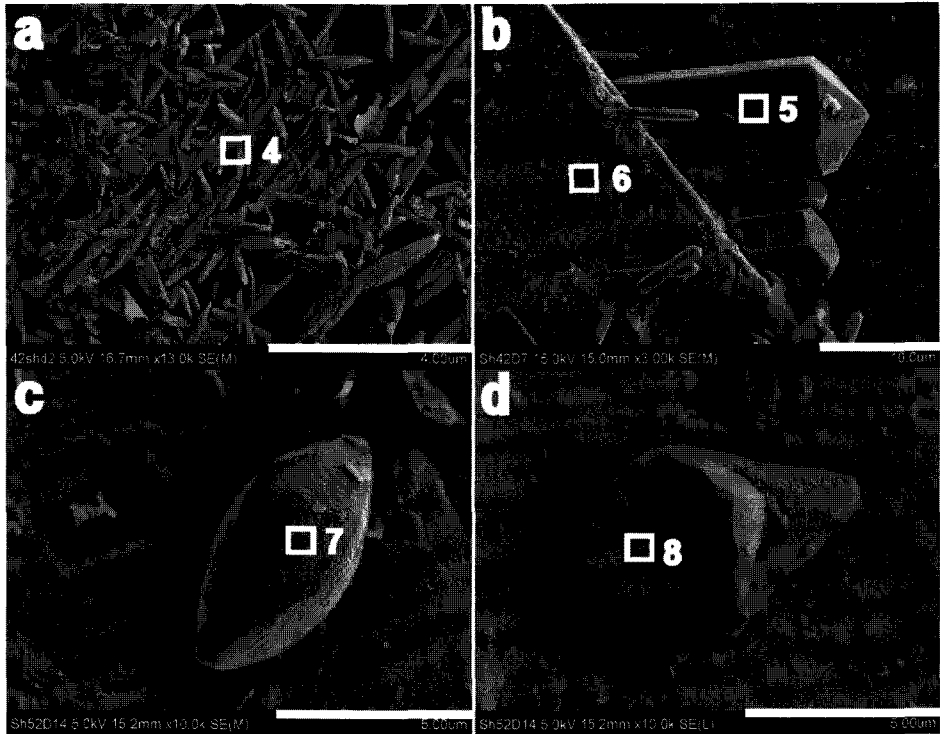


Fig. 3. SEM image of bacteria attached to the spherulite. After 10 days of bioleaching at 42°C(a), 52°C(b) and 62°C(c). The EDS analysis points(□2 and □3) were positioned in Fig. c.

%), P(11.0%), Fe(8.69%), Zn(1.24%)이 검출되었다. 박테리아가 부착되어 있는 광물 표면(□3 지점)을 EDS분석한 결과 S가 32.72%, Fe가 8.27% 그리고 Zn이 43.59%로 검출되었다. 이 함량을 atomic %로 나타내면 S가 49.26, Fe가 7.15 그리고 Zn이 43.59가 된다. Atomic %로 보았을 때 이 광물 표면은 섬아연석임을 확인할 수 있다. 용출실험이 2일과 10일 경과된 42°C, 52°C, 62°C의 섬아연석 시료에서, 14일 경과된 52°C의 시료(Fig. 4c와 d)에서 그리고 17일 경과된 62°C 시료(Fig. 6)에서 박테리아들이 생존하여 있는 것이 확인되었다.



**Fig. 4.** SEM image of the secondary materials on the sphalerite(a, c and d) and galena(b). After 2 days(a), 7 days(b) and 14 days(c and d) of bioleaching at 42°C(a and b) and 52°C(c and d). The EDS analysis points(□4, □5 and □6, □7, □8) were positioned in Fig. a, b, c and d, respectively.

### 3.4. 2차 생성물

미생물 용출실험이 진행되는 동안 다양한 종류의 2차 생성물들이 형성되었다. Fig. 4a는 용출실험이 2일 경과한 42°C의 박테리아 시료이다. 다양한 크기의 침상 결정들이 형성되었으며, 이 결정 표면(□4 지점)에 대하여 EDS분석한 결과 O가 43.55%, Fe가 56.45%로 검출되었다. 이 함량을 atomic %로 나타내면 O가 72.92, Fe가 27.08이다. Fe와 O 성분이 검출되는 것으로 보아 이들 침상 결정들은 철수산화물에 해당되는 것으로 사료된다. 섬아연석 시료에 포함되어 있던 Fe 성분이나 황철석이 미생물의 산화작용에 의하여 산소와 결합하여 철수산화물로 침전된 것으로 사료된다. 박테리아 용출실험에서 침철석(goethite)이나 schwertmannite와 같은 철수산화물이 2차 생성물로 형성된 연구들이 보고되었다(Bhatti *et al.*, 1993). Fig. 4b는 용출실험이 7일 경과한 42°C의 박테리아 시료이다. 육각형의 주상 결정들이 방연석의 광물 표면에 형성되었다. 육각형의 주상 결정 표면(□5 지점)에 대한 EDS분석을 실시한 결과 O가 20.15%, P가 5.44% 그리고 Pb가 74.41%로 검출되었다. 이 함량을 atomic %로 나타내

면 O가 70.20, P가 9.79 그리고 Pb가 20.02이었다. 다양한 크기의 육각 주상 결정들이 다양으로 형성된 것이 방연석 표면에서 관찰되었다. EDS분석에서 항상 Pb 성분이 검출되는 육각 주상의 결정들은 방연석의 용해에 의하여 생성된 것으로 추정된다. 미생물용출실험으로 방연석을 이용하면 언제나 2차 생성물로 anglesite( $PbSO_4$ )가 생성된다(Yelloji Rao *et al.*, 1992; Garcia *et al.*, 1995b; Santhiya *et al.*, 2000). 육각 주상 결정들이 발달한 방연석 표면(□6 지점)에 대한 EDS분석에서 S가 10.71%, Pb가 89.29%이었다. 이 함량을 atomic %로 나타내면 S가 43.67, Pb가 56.33이다. Atomic %로 보았을 때 방연석 입자임을 확인할 수 있다. Fig. 4c는 52°C에서 용출실험이 14일 경과한 박테리아이다. 52°C 온도에서 14일이 경과되었지만 막대 모양의 박테리아들이 섬아연석 표면에 부착되었다. 장경이 약 7.4  $\mu m$ 인 2차 생성물이 섬아연석 표면에 형성되었다. 이 2차 생성물 표면(□7 지점)에 대하여 EDS분석 결과 O가 63.92%, P가 14.87% 그리고 Fe가 21.21%이었다. 이 함량을 atomic %로 나타내면 O가 82.29, P가 9.89 그리고 Fe가 7.82이다. 그리고



Fig. 4d에 형성된 2차 생성물(□8 지점)에 대하여 EDS 분석 결과 P가 56.41%, P가 15.13% 그리고 Fe가 28.46%이었다. 이 함량을 atomic %로 나타내면 O가 77.94, P가 10.79 그리고 Fe가 11.26이다. EDS 분석에서 O, P 및 Fe 성분이 검출되는 Fig. 3c, Fig. 4c 와 Fig. 4d의 2차 생성물은 Konhauser(1998) 가 제시한 것과 같이 미생물에 의해서 형성되는 strengite ( $FePO_4 \cdot 2H_2O$ )에 해당되지 않을까 사료된다. Konhauser (1998)에 의하면 인산염광인 strengite는  $Fe^{3+}$  이온에 의하여 산화환경에서 미생물의 대사작용으로 형성되고, 이 광물에 대한 EDS분석에서 Fe:P의 ratio가 서로 유

사한 값으로 나타나며, 특히 낮은 pH 환경에서 생성되는 것으로 보고하였다. EDS분석에서 O, P 및 Fe 성분이 검출되는 2차 생성물이 Fig. 5에서 다양으로 생성되었다. 이들 2차 생성물이 형성된 바닥에는 수많은 박테리아들이 부착하였다. 이들 2차 생성물의 종류를 확인하기 위하여 용출실험이 완료된 62°C 시료를 XRD분석한 결과 침아연석과 방연석의 회절선 만 나타났을 뿐 2차 생성물로 고려되는 회절선은 전혀 나타나지 않았다.

### 3.5. 박테리아에 의한 총식작용

Fig. 6은 62°C에서 용출실험이 17일 경과한 박테리아 시료이다. 박테리아들이 침아연석 표면에 부착되어 있고 침아연석 표면을 파고들어간 모습들이 관찰되었다. 침아연석 표면을 파고들어가는 모습을 보이는 박테리아들의 크기는 약  $0.2 \times 0.7 \mu m$ 에서  $0.3 \times 1.3 \mu m$  범위이다. 이들 박테리아들의 세포 표면은 심하게 수축되었으며 침아연석 표면은 다양한 크기의 구멍들이 형성되었다. Fig. 6에서와 같이 박테리아들이 침아연석 표면을 파고 들어가는 모습은 박테리아의 직접접촉산화작용에 의한 총식작용으로 해석된다(Berry and Murr, 1978; Bennett and Tributsch, 1978). 본 용출실험에 사용한 박테리아들은 일본의 산성 온천수에서 채취한 것이다. 이 산성 온천수에는 철 혹은 황산화박테리아들이 생존하고 있을 것이다. 이미 많은 연구자들에 의하여 산성 온천수에는 철 및 황산화박테리아가 서식하고 있는 것이 밝혀졌다(Brock *et al.*, 1972; Flürmann and Brock, 1972; Brierley and Brierley, 1973; Bohlool, 1975). 이들 박테리아들이 산화에너지를 얻기 위하여 침아연석 표면에 직접 부착하여 부착 장소를 부식시키는 것으로 사료된다. 박테리아들이 침아연석 표면에 부착하여 총식작용을 일으킬 수 밖에 없는 이유는 침아연석( $ZnS$ )이  $Fe^{2+}$  이온 함량이 적은 혹은  $Fe^{2+}$  이온 함량이 거의 없는 non-ferrous 황화광물이기 때문으로 사료된다(Silverman, 1967; Attia and El-Zeky, 1990; Pogliani *et al.*, 1990). 침아연석은  $Fe^{2+}$  이온을 거의 포함하지 않는 non-ferrous 황화광물이기 때문에  $Fe^{2+}$  이온을 활용하는 부유성 박테리아에게 충분한 Fe 산화 에너지를 공급 해주지 못할 것이다. 따라서  $Fe^{2+}$  이온이 충분히 공급되지 않는 조건에서 박테리아가 산화 에너지를 얻기 위해서는 침아연석 표면에 직접 부착해야 할 것이다. 왜냐하면 침아연석은 평균 Fe 성분이 9.44 wt.%(Table 1)가 포함되어 있기 때문에 침아연석 표면에 박테리아가 부착하면 생존에 필요

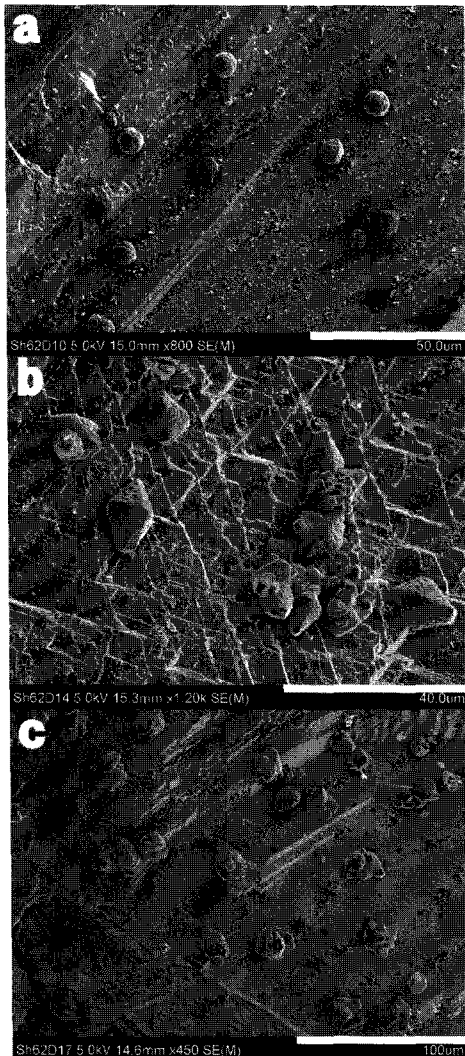


Fig. 5. SEM image of the secondary materials on the sphalerite. After 10 days(a), 14 days(b) and 17 days(c) of bioleaching at 62°C(a, b and c).

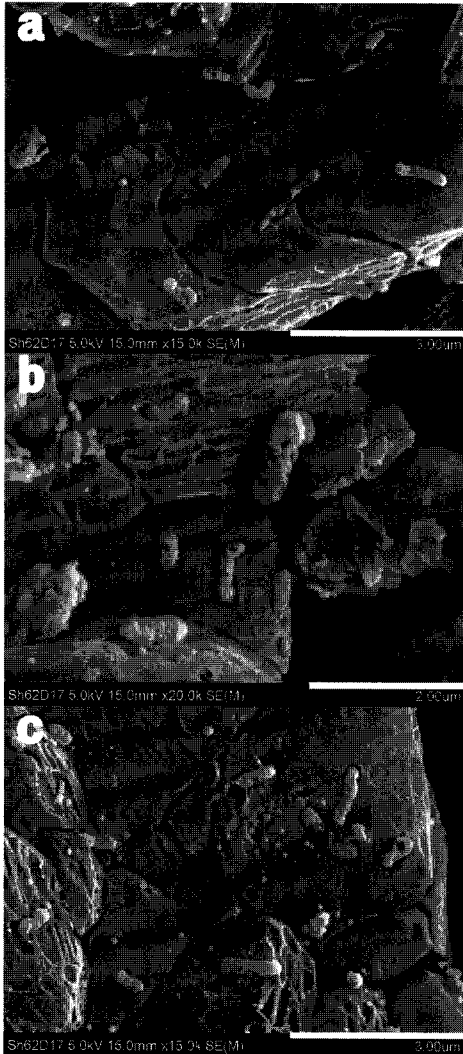


Fig. 6. SEM image of the corrosion pits and bacteria on the spherulite. After 17 days(a, b and c) of bioleaching at 62°C(a, b and c).

한 산화에너지를 충분히 공급받게 될 것이다.  $Fe^{2+}$  이온이 충분히 공급되는 환경이라면 박테리아가 섬아연석 표면에 부착하지 않아도 될 것이다. 섬아연석에는 Fe 성분이 평균 9.44%(EPMA 분석) 정도 포함되어 있지만 황동석(29.1%)이나 황철석(44.86%)에 비하면 매우 낮은 함량이다. 특히 황을 활용하는 박테리아들이 섬아연석 표면에 직접 부착하면 부유성 박테리아들에 비하여 더 많은 황산화에너지를 얻게 될 것이다. 그러므로 Fe의 산화에너지를 활용하는 철산화박테리아가 섬아연석을 이용하는 상황 놓이게 되면 어쩔 수 없이 섬아연석 표면에 부착하여야 할 것이다. 이런 약

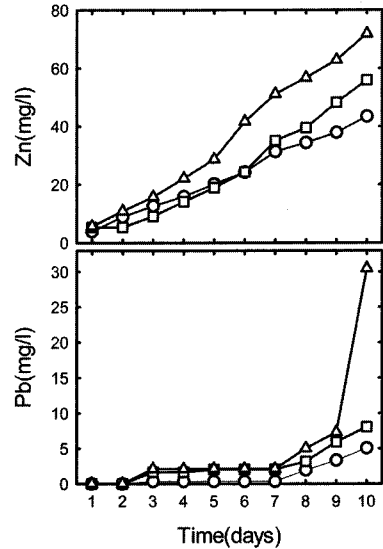


Fig. 7. Change in the concentration of Zn and Pb during the spherulite sterile experiments at 42°C(O; control), 52°C(□; control) and 62°C(△; control).

조건에서 철-박테리아가 생존하기 위해서 섬아연석 표면을 산화시켰으며, 그 결과 총식-부식 자국이 생성된 것으로 사료된다.

### 3.6. 용출 온도에 따른 섬아연석의 용출 특성

42°C, 52°C, 62°C 온도에서 무기적 및 미생물학적 용출실험을 수행하였을 때, 온도 증가에 따른 용출액 중 유용금속 이온 함량의 변화를 나타내었다(Fig. 7). Fig. 7은 온도 증가에 따라 섬아연석 시료로부터 화학적으로 용출된 이온 함량을 비교하였다. 비교시료로부터 10일 동안, 42°C에서 순수한 무기적 산화작용으로 용출된 Zn 이온 함량은 43.42 mg/l이고, 52°C에서는 55.94 mg/l 그리고 62°C에서는 71.84 mg/l이었다. Zn 이온은 온도가 증가함에 따라 용출되는 함량도 함께 증가하였다. Pb 이온은 42°C에서 5.04 mg/l, 52°C에서는 8.07 mg/l 그리고 62°C에서는 30.47 mg/l로 용출되었다. Pb 이온도 역시 온도가 증가함에 따라 용출되는 함량이 함께 증가하였다. Fe 이온은 42°C, 52°C, 62°C의 비교시료에서 전혀 용출되지 않았다. 이는 온도를 증가시켜도 섬아연석 시료로부터 Fe 이온이 무기적 산화작용으로 용출되지 않음을 의미한다. Fig. 8은 섬아연석 시료에서 용출되는 Zn 이온 함량을 비교시료와 박테리아 시료를 함께 나타냈다. 42°C의 박테리아 시료에서 Zn 이온이 412.12 mg/l가 용출되어, 비교시료에 비하여 박테리아 시료에서 약 9.5배 이상으로 Zn

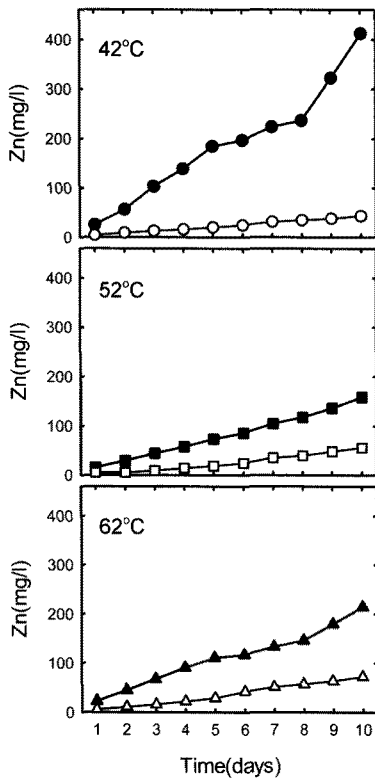


Fig. 8. Change in the concentration of Zn during the sphalerite bioleaching experiments at 42°C (●; bacteria, ○; control), 52°C (■; bacteria, □; control) and 62°C (▲; bacteria, △; control).

이 높게 용출되었다. 52°C의 박테리아 시료에서는 Zn 이온이 158.4 mg/l가 용출되어, 비교시료에 비하여 박테리아시료에서 약 2.8배 이상으로 높게 용출되었다. 62°C 박테리아 시료에서 Zn 이온이 214.34 mg/l가 용출되었고, 비교시료에 비하여 박테리아시료에서 Zn 이온이 약 2.9배 이상으로 높게 용출되었다. Zn 이온은 비교시료에서 온도가 증가하면 Zn 이온 함량도 함께 증가하였지만, 박테리아 시료에서는 온도의 증가와는 관계 없이 용출되는 것으로 나타났다.

Fig. 9는 섬아연석 시료로부터 용출된 Fe 함량을 비교시료와 박테리아시료를 함께 나타냈다. 42°C의 박테리아시료에서는 Fe 이온 함량이 2.04 mg/l가 용출되었고, 52°C의 박테리아시료에서는 13.65 mg/l가 용출되었다. 그리고 62°C의 박테리아 시료에서는 20.49 mg/l가 용출되었다. Fe 이온 함량은 박테리아시료에서 온도가 증가하면 Fe 이온도 함께 증가하여 용출되었다. 박테리아 시료에서 42°C에서 보다 52°C에서 Fe 이온이 약 6.7배 이상으로 그리고 52°C에서 보다 62°C에서

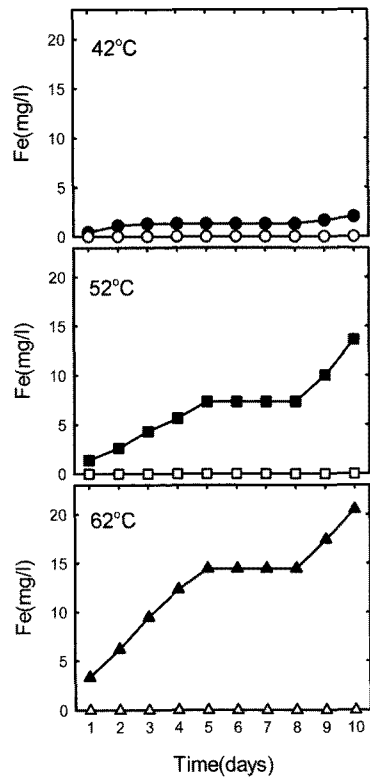


Fig. 9. Change in the concentration of Fe during the sphalerite bioleaching experiments at 42°C (●; bacteria, ○; control), 52°C (■; bacteria, □; control) and 62°C (▲; bacteria, △; control).

약 1.5배 높게 용출되었다. 용출온도를 42°C, 52°C, 62°C로 증가시켜도 섬아연석 시료의 비교시료에서는 Fe 이온이 전혀 용출되지 않았다. 이것은 온도를 증가시켜도 섬아연석 시료에서 Fe 이온이 무기적 산화작용으로 용출되지 않는다는 것을 의미한다. 하지만 여기에 박테리아를 접종하자 Fe 이온이 용출되었고, 또한 온도의 증가와 함께 용출되는 Fe 이온도 함께 증가하였다. 비교시료에서 전혀 용출되지 않던 Fe 이온이 박테리아의 반응에 의하여 온도의 증가와 함께 Fe 함량이 증가하여 용출되었다는 것은 용출실험에 이용된 박테리아가 주로 철을 산화하는 박테리아에 해당될 것으로 추정된다.

Fig. 10은 섬아연석 시료로부터 용출되는 Pb 이온 함량을 비교시료와 박테리아시료를 함께 나타냈다. 42°C의 박테리아 시료에서 용출된 Pb 이온 함량은 74.96 mg/l가 용출되었고, 이는 비교시료에 비하여 박테리아 시료에서 약 14.8배 이상으로 Pb가 높게 용출되었다. 52°C의 박테리아 시료에서 용출된 Pb 함량은

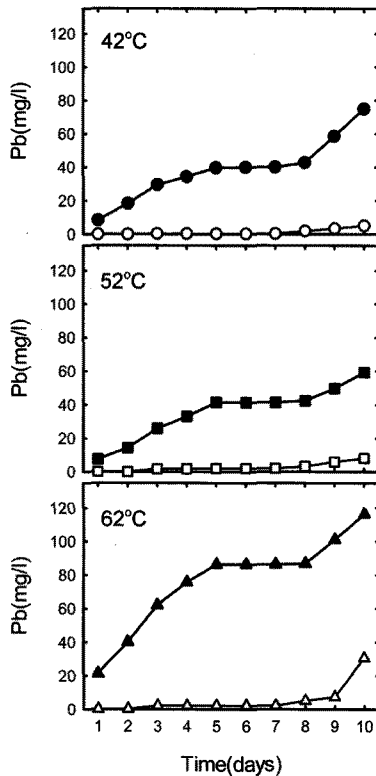


Fig. 10. Change in the concentration of Pb during the sphalerite bioleaching experiments at 42°C(●; bacteria, ○; control), 52°C(■; bacteria, □; control) and 62°C(▲; bacteria, △; control).

59.32 mg/l이었고 비교시료에 비하여 박테리아 시료에서 약 7.4배 이상으로 Pb 이온이 높게 용출되었다. 62°C의 박테리아시료에서 Pb 이온 함량은 116.33 mg/l로 용출되어 비교시료에 비하여 박테리아 시료에서 약 3.8 배 이상으로 높게 용출되었다. Pb 이온은 비교시료에서 온도 증가와 함께 Pb 이온 함량이 함께 증가하여 용출되었지만 박테리아시료에서는 62°C, 42°C, 52°C 순서로 Pb 이온이 높게 용출되었다.

3.7. 용출에 따른 침아연석의 XRD 변화

42°C, 52°C, 62°C 온도에서 무기적 및 미생물학적 용출실험을 10일 동안 수행하고 그 잔유물에 대하여 XRD분석을 수행하였다(Fig. 11). X선 회절선의 강도를 비교하기 위하여 가속전압(40 kV)과 전류(30 mA)를 모두 동일한 조건에서 분석하였으며, 또한 Fig. 11에서 회절선의 상대강도를 비교할 수 있도록 동일한 강도 값(counts/s)을 비교시료와 박테리아 시료에 각각 표시하였다. 침아연석 시료에 대하여 XRD분석한 결과

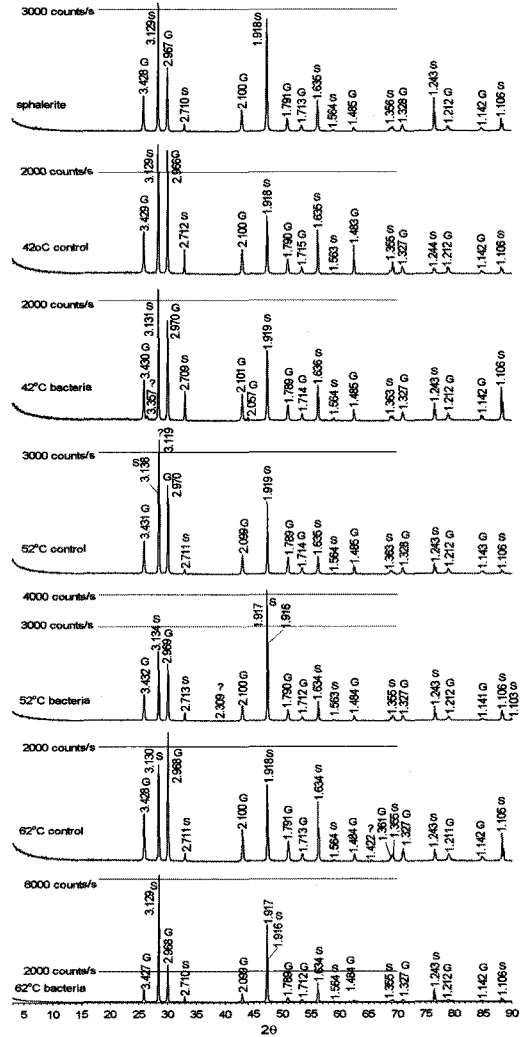


Fig. 11. X-ray diffraction patterns of sphalerite. The control and bacteria samples were analysed the XRD analysis after 10 days of leaching experiment at 42°C, 52°C and 62°C, respectively(G; galena, S; sphalerite).

방연석과 침아연석의 회절선들이 나타났다. 무기적 산화 작용이 진행된 비교시료와 미생물학적 산화작용이 진행된 박테리아 시료를 비교하면, 방연석에 해당되는 회절선  $d_{(200)}2.966\text{Å}$ 의 강도(intensity)는 42°C, 52°C, 62°C에서 모두 비교시료에 비하여 박테리아 시료에서 감소하였다. 침아연석에 해당되는 회절선  $d_{(422)}1.106\text{Å}$ 의 강도는 42°C와 52°C에서 모두 비교시료에 비하여 박테리아 시료에서 증가하였고,  $d_{(220)}1.918\text{Å}$ 과  $d_{(311)}1.243\text{Å}$ 의 회절선 강도는 52°C와 62°C에서 모두 증가하였다. 이들 특정 회절선들의 강도가 상대적으로 감소하거나 증가하는 원인은 침아연석의 방연석 혹은 침아연석의

특정 결정면들이 무기적 혹은 미생물학적 용해작용에 따라 저항이 크거나 약하기 때문에 일어나는 현상으로 사료된다. 즉 광석광물 입자가 무기적 혹은 미생물학적 산화작용을 받으면 광물입자의 표면부터 용해된다. 광물의 표면이 용해되면 광물입자의 직경이 감소하고 결과적으로 표면적이 증가된다. 이와 같이 용해작용이 진행되어 황화광물 입자의 직경이 감소된다는 모델이 shrinkage core 모델(Chaudhury *et al.*, 1985) 혹은 shrinkage particle 모델(Blancarte-Zurita *et al.*, 1986)이다. 그러나 용액 속에서 광물 표면이 무기 혹은 미생물학적 산화작용으로 용해될 때, 모든 결정면이 균일하게 용해되지 않고 선택적으로 용해가 일어난다. 예를 들면, 황철석의 결정면 중 S와 Fe 결합이 약하게 결합하여 전위선(dislocations)이나 stacking faults가 존재하기 때문이다(Martello *et al.*, 1994). 다시 말해, 결정화가 미약한 결정면, 즉 광물학적 결함(imperfection)이 존재하는 결정면은 결정화가 잘 이루어진 결정면 보다 용해가 잘 일어난다(Rojas-Chapana and Tributsch, 2004). 특히 박테리아는 결정화가 미약한 결정면에 선택적으로 더 많이 부착하게 되고 결과적으로 그 결정면을 더 많이 용해된다(Murr and Berry, 1976; Ohmura *et al.*, 1993) 왜냐하면, 결정화가 미약한 결정면은 결정화가 잘 이루어진 결정면에 비하여 쉽게 산화작용이 일어나고, 더 많은 산화에너지가 발생하기 때문에 박테리아가 그 결정면에 선택적으로 더 많이 부착하게 된다(Solari *et al.*, 1992). 따라서 결정화가 미약한 결정면은 더 많이 용해되어 그 결정면의 빈도수가 감소되고 반대로 결정화가 잘 이루어진 결정면은 용해작용에 저항성이 강해 결정면의 빈도수 분포가 상대적으로 증가하게 될 것이다. 무질서하게 분포하고 있는 섬아연석 결정 입자들 사이로 x-선 빔이 입사되어 회절이 일어나기 위해서는 Bragg 방정식의  $\lambda$ 와  $d$ 가 충족되어야 한다. Copper target의  $\lambda(1.5406\text{\AA})$ 가 고정되어 있기 때문에 회절선의 강도(intensity)는 결정면의  $d$  빈도수에 영향을 받게 된다. 무기 혹은 미생물학적 용해작용에 의하여 결정면의 빈도수 분포가 많아진 결정면은 보강간섭에 의하여 회절강도가 증가하게 되고 반대로 빈도수 분포가 감소한 결정면은 회절선의 강도가 감소하게 될 것이다.

#### 4. 결 론

섬아연석으로부터 유용금속 이온을 효과적으로 용출시키기 위하여 42°C, 52°C, 62°C에서 미생물용출실험

을 수행하였다. 박테리아에 의한 생물학적 산화작용과 온도 증가에 따라 용출함량이 증가하는 원소는 Fe이었다. 10일 동안 용출실험이 진행되는 동안 42°C, 52°C, 62°C의 박테리아 시료에서 pH는 대체적으로 2.40에서 2.55 범위로 변화하였다. 이는 박테리아를 이용하여 황화광물로부터 유용금속을 용출시켜 회수하고자 할 경우, 황산을 첨가하지 않아도 유용금속 이온을 용출시킬 수 있어 황산소비를 절약할 수 있음이 확인되었다. 42°C, 52°C, 62°C의 비교적 높은 용출 온도임에도 불구하고 섬아연석 표면에 막대모양의 박테리아들이 부착하여 생존하고 있는 것이 확인되었다. 이는 고온성 박테리아를 황화광물에 이용할 수 있음을 지시하는 것이다. 비교시료에서 용출온도를 42°C, 52°C, 62°C로 증가시켰을 때 함량이 증가하여 용출되는 이온은 Zn과 Pb이었다. 이는 무기적 산화작용에 의하여 Zn과 Pb가 용출되고 이들 이온은 온도효과에 영향을 받는 것이 확인되었다. 42°C, 52°C, 62°C의 용출온도에서, Zn은 비교시료에 비하여 박테리아 시료에서 각각 약 9.5배, 2.8배, 2.9배 이상으로 높게 용출되었다. 이와 같은 용출온도에서 Pb는 비교시료 보다 박테리아 시료에서 각각 약 14.8배, 7.4배, 3.8배 이상으로 높게 용출되었다. 본 용출실험은 고온성박테리아를 황화광물에 접촉하여 유용금속 이온이 온도 증가와 함께 효과적으로 용출되는 것을 확인하였다. 또한 황산을 첨가하여 박테리아 생존의 최적 pH 조건을 조성해 주지 않아도 고 온도에 박테리아들이 생존하는 것을 확인하였다. 따라서 고 온성박테리아를 방대한 양으로 방치되어 있는 저 품위 광석에 적용한다면 유용금속이온도 회수할 수 있을 뿐만 아니라 환경오염도 제어할 수 있을 것이다. 그러나 본 고온성 박테리아의 최적 용출 온도와 최적 pH 조건 등, 현장 적용에 필요한 최적 인자들을 앞으로 더 연구되어야 할 부분으로 사료된다.

#### 사 사

본 연구는 2010년도 조선대학교 학술연구비 지원을 받아 연구되었으며, 연구비를 지원해준 조선대학교에 감사한다.

#### 참고문헌

- Ahonen, L. and Tuovinen, O.H. (1989) Microbiology oxidation of ferrous iron at low temperatures. Applied and Environmental Microbiology, v.55, p.312-316.  
Ahonen, L. and Tuovinen, O.H. (1990) Kinetics of sulfur

- oxidation at suboptimal temperature. *Applied and Environmental Microbiology*, v.56, p.560-562.
- Ahonen, L. and Tuovinen, O.H. (1992) Bacterial oxidation of sulfide minerals in column leaching experiments at suboptimal temperatures. *Applied and Environmental Microbiology*, v.58, p.600-606.
- Attia, Y.A. and El-Zeky, M. (1990) Effects of galvanic interactions of sulfides on extraction of precious metals from refractory complex sulfides by bioleaching. *International Journal of Mineral Processing*, v.30, p.99-111.
- Bennett, J.C. and Tributsch, H. (1978) Bacterial leaching patterns on pyrite crystal surfaces. *Journal of Bacteriology*, v.134, p.310-317.
- Berry, V.K. and Murr, L.E. (1978) Direct observations of bacteria and quantitative studies of their catalytic role in the leaching of low-grade, copper-bearing waste. In Murr, L.E., Torma, A.E. and Brierley, A.(ed.) *Metallurgical Applications of Bacterial Leaching and Related Microbiological Phenomena*, Academic Press, New York, p.103-136.
- Bhatti, T.M., Bigham, J.M., Carlson, L. and Tuovinen, O.H. (1993) Mineral products of pyrrhotite oxidation by *Thiobacillus ferrooxidans*. *Applied and Environmental Microbiology*, v.59, p.1984-1990.
- Blancarte-Zurita, M.A., Branion, R.M.R. and Lawrence, R.W. (1986) Application of a shrinking particle model to the kinetics of microbiological leaching. *Fundamental and Applied Biohydrometallurgy: proceeding, International Symposium on Biohydrometallurgy*, p.243-253.
- Bohlool, B.B. (1975) Occurrence of *Sulfolobus acidocaldarius*, an extremely thermophilic acidophilic bacterium, in New Zealand hot springs. Isolation and immunofluorescence characterization. *Archives of Microbiology*, v.106, p.171-174.
- Boon, M., Snijder, M., Hansford, G.S. and Heijnen, J.J. (1998) The oxidation kinetics of zinc sulfide with *Thiobacillus ferrooxidans*. *Hydrometallurgy*, v.48, p.171-186.
- Brierley, C.L. (1978a) Bacterial leaching. *Critical Reviews in Microbiology*, v.6, p.207-262.
- Brierley, C.L. (1982) Microbiological mining. *Scientific American*, v.247, p.42-51.
- Brierley, C.L. and Brierley, J.A. (1973) A chemoautotrophic and thermophilic microorganism isolated from an acid hot spring. *Canadian Journal of Microbiology*, v.19, p.183-188.
- Brierley, J.A. (1978b) Thermophilic iron-oxidizing bacteria found in copper leaching dumps. *Applied and Environmental Microbiology*, v.36, p. 523-525.
- Brierley, J.A. (2003) Response of microbial systems to thermal stress in heap-biooxidation pretreatment of refractory gold ores. *Hydrometallurgy*, v.71, p.13-19.
- Brierley, J.A. and Brierley, C.L. (2001) Present and future commercial applications of biohydrometallurgy. *Hydrometallurgy*, v.59, p.233-239.
- Brock, T.D. (1986) Introduction: an overview of the thermophiles. In Brock, T.D.(ed.) *Thermophiles*, John Wiley & Sons, p.1-16.
- Brock, T.D., Brock, K.M., Belly, R.T. and Weiss, R.L. (1972) *Sulfolobus*: A new genus of sulfur-oxidizing bacteria living at low pH and high temperature. *Archives of Microbiology*, v.84, p.54-68.
- Bruynesteyn, A. and Duncan, D.W. (1971) Microbiological leaching of sulfide concentrates. *Canadian Metallurgical Quarterly*, v.10, p.57-63.
- Chaudhury, G.R., Sukla, L.B. and Das, R.P. (1985) Kinetics of bio-chemical leaching of sphalerite concentrate. *Metallurgical Transaction B*, v.16B, p.667-670.
- da Silva, G., Lastra, M.R. and Budden, J.R. (2003) Electrochemical passivation of sphalerite during bacterial oxidation in the presence of galena. *Mineral Engineering*, v.16, p.199-203.
- Firmans, C.B. and Brock, T.D. (1972) Ecology of sulfur-oxidizing bacteria in hot acid soils. *Journal of Bacteriology*, v.111, p.343-350.
- Garcia, O. Jr., Bigham, J.M. and Tuovinen, O.H. (1995a) Sphalerite oxidation by *Thiobacillus ferrooxidans* and *Thiobacillus thiooxidans*. *Canadian Journal of Microbiology*, v.41, p.578-584.
- Garcia, O.Jr., Bigham, J.M. and Tuovinen, O.H. (1995b) Oxidation of galena by *Thiobacillus ferrooxidans* and *Thiobacillus thiooxidans*. *Canadian Journal of Microbiology*, v.41, p.508-514.
- Groudev, S.N. and Groudeva, V.I. (1993) Microbial communities in four industrial copper dump leaching operations in Bulgaria. *FEMS Microbiology Reviews*, v.11, p.261-268.
- Jones, R.A., Koval, S.F. and Nesbitt, H.W. (2003) Surface alteration of arsenopyrite(FeAsS) by *Thiobacillus ferrooxidans*. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, v.67, p.955-965.
- Kim, D.J., Cho, K.S., Ahn, J.G., Park, K.H., Sohn, J.S. and Chung, H.S. (2003) Bioleaching of chalcopyrite concentrates by *Thiobacillus ferrooxidans*. *Journal of the Korean Society for Geosystem Engineering*, v.40, p.89-96. (in Korean)
- Ko, M.S., Park, H.S. and Lee, J.U. (2009) Bioleaching of heavy metals from tailings in abandoned Au-Ag mine using sulfur-oxidizing bacterium *Acidithiobacillus thiooxidans*. *Journal of the Korean Society for Geosystem Engineering*, v.46, p.239-251. (in Korean)
- Konhauser, K.O. (1998) Diversity of bacterial iron mineralization. *Earth Science Reviews*, v.43, p.91-121.
- Konishi, Y., Kubo, H. and Asai, S. (1992) Bioleaching of zinc sulfide concentrate by *Thiobacillus ferrooxidans*. *Biotechnology and Bioengineering*, v.39, p.66-74.
- Lawrence, J.R., Kwong, Y.T.J. and Swerhone, G.D.W. (1997) Colonization and weathering of natural sulfide mineral assemblages by *Thiobacillus ferrooxidans*. *Can. J. Microbiol.*, v.43, p.178-188.
- Lizama, H.M. and Suzuki, I. (1990) Interaction of chalcopyrite and sphalerite with pyrite during leaching by *Thiobacillus ferrooxidans* and *Thiobacillus thiooxidans*. *Canadian Journal Microbiology*, v.37, p.304-311.
- Marsden, J. and House, I. (1992) The chemistry of gold extraction, Ellis Horwood, 597p.
- Martello, D.V., Vecchio, K.S., Diehl, J.R., Graham, R.A., Tamilia, J.P. and Pollack, S.S. (1994) Do dislocations and stacking faults increase the oxidation rate of pyrites?. *Geochim Cosmochim Acta*, v.58, p.4657-4665.
- Mehta, A.P. and Murr, L.E. (1982) Kinetic study of sulfide

- leaching by galvanic interaction between chalcopyrite, pyrite, and sphalerite in the presence of *Thiobacillus ferrooxidans*(30°C) and a thermophilic microorganism (55°C). *Biotechnology and Bioengineering*, v.24, p.919-940.
- Mehta, A.P. and Murr, L.E., (1983) Fundamental studies of the contribution of galvanic interaction to acid-bacterial leaching of mixed metal sulfides. *Hydrometallurgy*, v.9, p.235-256.
- Murr, L.E. and Berry, V.K. (1976) Direct observations of selective attachment of bacteria on low-grade sulfide ores and other mineral surfaces. *Hydrometallurgy*, v.2, p.11-24.
- Nasernejad, B., Kaghazchi, T., Edrisi, M. and Sohrabi, M. (1999) Bioleaching of molybdenite from low-grade copper ore. *Process Biochemistry*, v.35, p.437-440.
- Norris, P.R. (1990) Acidophilic bacteria and their activity in mineral sulfide oxidation. In Ehrlich, H.L. and Brierley, C.L.(ed.) *Microbial mineral recovery*, McGraw-Hill Publishing Company, p.3-23.
- Norris, P.R., Marsh, R.M. and Linstrom, E.B. (1986) Growth of mesophilic and thermophilic acidophilic bacteria on sulfur and tetrathionate. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, v.8, p.318-329.
- Ohmura, N., Kitamura, K. and Saiki, H. (1993) Selective adhesion of *Thiobacillus ferrooxidans* to pyrite. *Applied Environmental Microbiology*, v.59, p.4044-4050.
- Olson, G.J. (1991) Rate of pyrite bioleaching by *Thiobacillus ferrooxidans*-results of an interlaboratory comparison. *Applied and Environment Microbiology*, v.1991, p.642-644.
- Park, C.Y. and Cho, K.H. (2010) The characteristics of attachment on pyrite surface and bioleaching by indigenous acidophilic bacteria. *The Korean Society Geosystem Engineering*, v.47, p.51-60. (in Korean)
- Park, C.Y., Cheong, K.H., Kim, K.M., Hong, Y.U. and Cho, K.H. (2009) Bioleaching of pyrite from the abandoned Hwasun coal mine drainage using indigenous acidophilic bacteria, *The Korean Society Geosystem Engineering*, v.46, p.521-535. (in Korean)
- Park, C.Y., Kim, S.O. and Kim, B.J. (2010a) The characteristic of selective attachment and bioleaching for pyrite using indigenous acidophilic bacteria at 4 2°C. *Economic and Environmental Geology*, v.43, p.109-121. (in Korean)
- Pogliani, C., Curutchet, G., Donati, E. and Tedesco, P.H. (1990) A need for direct contact with particle surface in the bacterial oxidation of covellite in the absence of a chemical lixiviant. *Biotechnology Letters*, v.12, p.515-518.
- Rodriguez, Y., Ballester, A., Blazquez, M.L., Gonzalez, F. and Munoz, J.A. (2003) New information on the sphalerite bioleaching mechanism at low and high temperature. *Hydrometallurgy*, v.71, p.57-66.
- Rojas-Chapana, J.A. and Tributsch, H. (2004) Interfacial activity and leaching patterns of *Lptospirillum ferrooxidans* on pyrite. *FEMS Microbiology Ecology*, v.47, p.19-29.
- Santhiya, D., Subramanian, S. and Natarajan, K.A. (2000) Surface chemical studies on galena and sphalerite in the presence of *Thiobacillus thiooxidans* with reference to mineral beneficiation. *Minerals Engineering*, v.13, p.747-763.
- Schippers, A. (2007) Microorganisms involved in bioleaching and nucleic acid-based molecular methods for their identification and quantification. In Donati, E. R. and Sand, W.(ed.) *Microbial processing of metal sulfides*, Springer, p.3-33.
- Silverman, M.P. (1967) Mechanism of bacteria pyrite oxidation. *Journal of Bacteriology*, v.94, p.1046-1051.
- Solari, J.A., Huerta, G., Escobar, B., Vargas, T., Badilla-Ohlbaum, R. and Rubio, J. (1992) Interfacial phenomena affecting the adhesion of *Thiobacillus ferrooxidans* to sulphide mineral surface. *Colloids and Surfaces*, v.69, p.159-166.
- Torma, A.E. (1977) The role of *Thiobacillus ferrooxidans* in hydrometallurgical process. *Adv. Biochem. Eng.*, v.6, p.1-37.
- Torma, A.E. and Guay, R. (1976) Effect of particle size on the biodegradation of a sphalerite concentrate. *Naturaliste Can.*, v.103, p.133-138.
- Torma, A.E., Walden, C.C. and Branion, R.M.R. (1970) Microbiological leaching of a zinc sulfide concentrate. *Biotechnology and Bioengineering*, v.12, p.501-517.
- Tuovinen, O.H., Bhatti, T.M., Bigham, J.M., Hallberg, K.B., Garcia, Jr., O. and Lindstrom, E.B. (1994) Oxidative dissolution of arsenopyrite by mesophilic and moderately thermophilic acidophiles. *Applied and Environmental Microbiology*, v.60, p.3268-3274.
- Yelloji Rao, M.K., Natarajan, K.A. and Somasundaran, P. (1992) Effect of biotreatment with *Thiobacillus ferrooxidans* on the floatability of sphalerite and galena. *Mineral & Metallurgical Processing*, v.9, p.95-100.