

애시디싸이오바실러스 페로악시덴스에 의한 황철석 산화에 따른 표면 조직의 변화

Surface Texture Changes due to the Oxidation of Pyrite by *Acidithiobacillus Ferrooxidans*

유재영(Jae-Young Yu)^{1*} · 고현진(Hyun-Jin Koh)¹ · 송흥규(Hong Gyu Song)²

¹강원대학교 지질학과

(Department of Geology, Kangwon National University, Chuncheon, Kangwondo 200-701, Korea)

²강원대학교 생명과학과

(Department of Biological Science, Kangwon National University, Chuncheon, Kangwondo 200-701, Korea)

요약 : 애시디싸이오바실러스 페로악시덴스(*Acidithiobacillus ferrooxidans*; *Af*)에 의한 황철석의 산화 기작을 이해하기 위해 황철석-용액간 접촉 배취실험(batch experiment)을 수행하고, 주기적으로 용액의 화학 조성과 함께 반응 황철석의 표면을 주사전자현미경(scanning electron microscope; SEM)으로 관찰하였다. 반응 용액의 Fe 농도 분석 결과는 *Af*가 뚜렷이 구분되는 성장 적응기와 증식기를 거침을 나타내었다. *Af*의 성장 적응기 동안에 황철석 표면에 부착된 개체가 관찰됨으로써 이 기간 동안의 황철석이 *Af*에 의해 직접용탈 산화됨이 확인되었다. 하지만 부착된 개체가 많이 발견되지 않는 점과 Fe가 주로 Fe(III)로 존재한다는 점 등으로 인해 적응기 동안 *Af*가 황철석을 주로 직접용탈을 통해 용해시켰다고 확실하기는 어렵다. *Af* 성장 적응기의 중반 이후부터 증식기 직전까지 Fe 함량이 크게 증가하지 않고 정체되는데, 이는 이 시기에 *Af*에 의한 황철석의 산화가 직접 또는 간접 용탈식 산화든, *Af*가 산화 기작의 전환을 위해 적응 기간을 분명히 필요로 하는 것으로 보인다. SEM 관찰 결과 황철석의 표면에서 *Af*의 세포 분열이 관찰되었다. 이 세포분열 외형을 따라 황철석이 그대로 용식된 모습을 보여주는데, 이는 *Af*에 의한 산화 속도가 매우 불균등하며 산화가 진행되는 동안에는 농도의 변화로부터 계산되는 속도보다 훨씬 빠르게 진행됨을 나타낸다. *Af*의 접촉이 이루어진 황철석의 표면에 훨씬 많은 부식흔이 관찰되어 이 미생물에 의한 산화가 무기적인 산화보다 훨씬 빨리 진행됨을 지시한다. *Af*에 의한 부식 흔은 좁고 깊어, 이것이 적응기-증식기 전이에 영향을 끼쳤을 가능성이 있다.

주요어 : 애시디싸이오바실러스 페로악시덴스, 황철석 산화, 황철석 표면, 주사전자현미경

ABSTRACT : A batch experiment of pyrite oxidation was performed and the surfaces of the reacted pyrite were regularly observed with the scanning electron microscope (SEM) together with the chemical compositions of the solution to help understand the oxidation mechanisms of pyrite by *Acidithiobacillus ferrooxidans* (*Af*). The dissolved Fe concentrations clearly indicated that *Af* experiences the lag and then exponential growth phase. An *Af* cell was observed to be attached to the surface of pyrite during the lag, implying that a direct leaching by the microbe really happens for the period. It is not certain, however, whether the main mechanism of pyrite oxidation during that time was the direct leaching or

*교신저자: jyu@kangwon.ac.kr

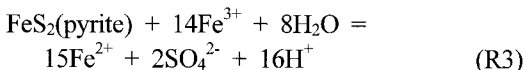
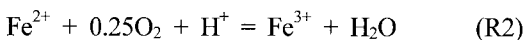
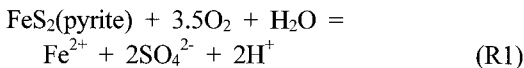
not, because there were just a few cells confirmed to be attached and most of the dissolved Fe was Fe(III). The dissolved Fe concentration stayed almost constant from the mid-lag phase to just before the onset of the exponential phase, suggesting that *Af* needs an adaptation time to switch its oxidation mechanism from one to the other whichever it is during that stage of growth. The moment of *Af*'s cell division was observed by SEM on the surface of pyrite during the lag phase. The corrosion outline around the dividing cell was quite similar to the shape of the cell itself, which implies that the rate of the microbial oxidation is very uneven and the rate when the cell metabolizes should be much faster than that calculated from the concentration variation of the dissolved Fe. The number of etch holes by *Af* is much higher on the inoculated surfaces, indicating the average rate of pyrite oxidation is also much faster than that of abiotic oxidation. The microbial etch holes on pyrite surface are small and deep, which may influence the transition of the growth phases of *Af* from lag to exponential.

Key words : *Acidithiobacillus ferrooxidans*, pyrite oxidation, pyrite surface, SEM

서 론

황철석은 지각에서 그 양이 많지는 않지만 가장 흔히 관찰되는 광물 중의 하나이다. 황철석의 산화는 지구상의 철과 황의 순환에 있어 매우 중요한 반응임과 동시에, 또한 산성비 및 산성 배수와 같은 환경 문제의 원인이 되는 핵심 반응이다(유재영, 1991; Salomons, 1995; Nordstrom and Alpers, 1999). 따라서 지구 환경을 보다 잘 이해하기 위해서는 황철석의 산화 반응을 잘 이해하여야 한다.

황철석의 산화는 매우 복잡하고 다양한 경로를 통해 진행되나(Luther, 1997; Rimstidt and Vaughn, 2003; Descostes *et al.*, 2004), 흔히 아래와 같은 세 개의 반응을 통해 간략히 표현된다(Stumm and Morgan, 1996):



이들 반응은 모두 무기적으로 진행될 수 있으나, 미생물이 관여함으로써 훨씬 빠르게 진행된다(Singer and Stumm, 1970; Fowler *et al.*, 1999). 미생물은 여러 종류가 반응 (R1) 또는 (R2) 또는 (R1)과 (R2) 모두에 관여하는 것으로 알려져 있는데, 이러한 미생물 중 가장 대표적인 것이 애시디싸이오바실러스 페로악시덴스(*Acidithiobacillus ferrooxidans*; *Af*)이다(Good and Kapoor, 2003).

*Af*는 그램네거티브(gram negative) 박테리아로서, 황과 철을 모두 산화시켜 화학합성(chemosynthesis)을 하는 호기성(aerobic) 원핵생물(prokaryote)이다(Kelly and Wood, 2000). *Af*는 위 세 반응 중 (R1)과 (R2) 모두에 관여하며, 특히 가장 느린 반응인 (R2)를 가속시켜 황철석의 산화를 무기적으로 진행될 때보다 최대 10^5 배까지 빠르게 진행시킨다고 알려졌다(Nordstrom and Alpers, 1999). 이와 같은 산화 반응의 가속은 자연계에서 흔히 일어나는 일로, 이 경우 황철석의 산화 반응은 *Af*와 같은 미생물에 의해 조절되므로, 미생물의 황철석 산화 기작을 자세히 이해하는 것이 중요하다.

*Af*에 의한 황철석의 산화에 대해서는 이미 많은 연구가 진행되었으며(예: Yu *et al.*, 2001; Gleisner *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2011), 그 결과 *Af*가 황철석의 산화를 진행시키는 방식은 표면에 흡착하여 산화반응을 진행시키는 직접용탈식(direct leaching)과 용액 중에 부유하여 산화환원 반응을 수행함으로써 황철석의 용해를 진행시키는 간접용탈식(indirect leaching) 모두가 가능하다고 밝혀졌다. 대부분의 연구자들은 이중 간접용탈식의 황철석 산화가 주 기작이라는 것에 의견을 같이 하였으며(Rodriguez, 2003; Gleisner *et al.*, 2006), Yu *et al.* (2001)은 산화 초기에 직접용탈식 산화 또한 중요한 기작임을 주장하였다.

이 연구의 목적은 *Af*에 의한 황철석의 산화가 진행됨에 따라 황철석의 표면 변화가 실제 어떻게 진행되는지 주사전자현미경(scanning electron microscope; SEM)으로 관찰함으로써, *Af*에 의한 산화 기작을 이해하는 데 도움을 얻는 것이다. 그동안 몇몇 연구에서 황철석의 표면 변화에 대한 SEM 관찰이 수행되었으나(Blight *et al.*, 2000; Yu *et al.*,

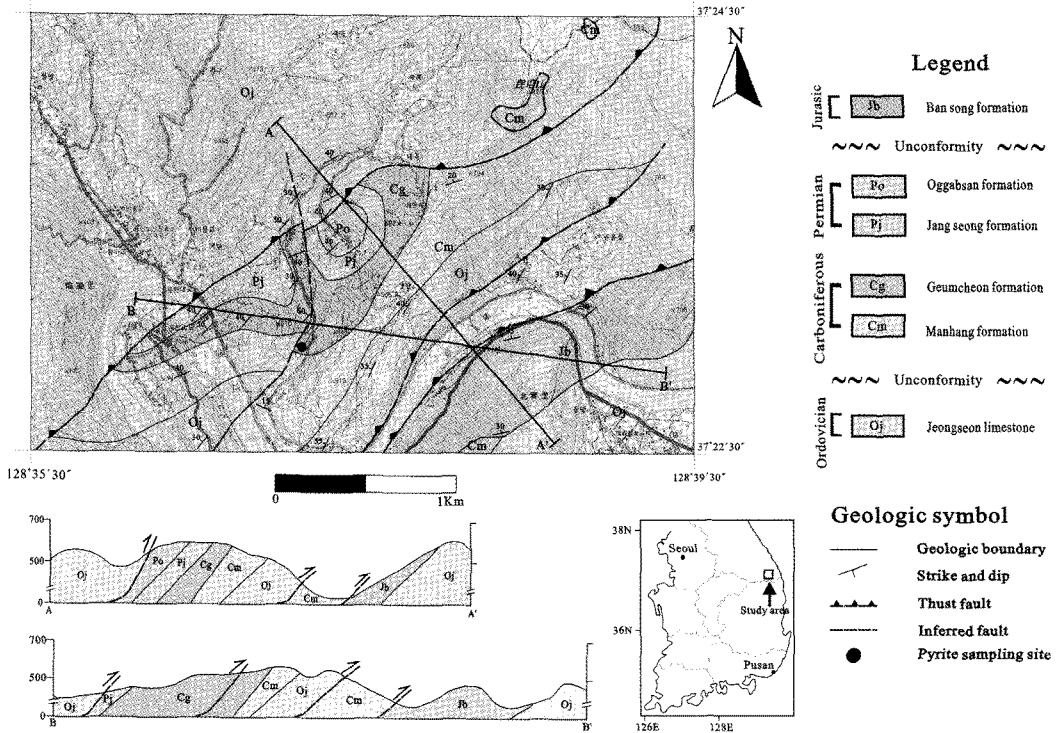


Fig. 1. The geologic map of the area around the pyrite sampling site in Jeongseon.

2001; Liu *et al.*, 2011), 이들 연구의 대부분은 표면 변화보다는 황철석 산화 반응 과정 중의 화학적 작용에 더 관심을 기울여 연구하였다. 이 연구는 상대적으로 연구 성과가 부족한 Af에 의한 황철석 산화에 따른 황철석의 표면 변화에 대한 이해에 크게 기여할 것이다.

연구 방법

황철석 시료 준비

연구에 사용한 황철석 시료는 강원도 정선군 정선읍 봉양리 지역의 금천층에서 채취하였다(그림 1). 금천층 내에는 단층대를 따라 렌즈상의 석영집합체가 존재하는데, 이 집합체 안 또는 그 주변에 자형의 황철석이 포함되어 있다(그림 2).

채취된 황철석 시료는 쇄절구에서 분쇄한 후, 실제 현미경으로 관찰하면서 개별 결정 입자를 핀셋으로 분리하였다. 분리된 황철석 입자는, 미분쇄한 후, 체를 통해 125~90 μm 크기의 입자들만을 따로 모았다. 이렇게 준비된 분말 황철석은 메탄올에

넣고 초음파 세척기에서 30초씩 여러 번 세척하고 상온에서 건조시켰으며, 산화 실험에 사용하기에 앞서 1 N HNO₃에 넣고 1분간 씻어 입자 표면의 불순물을 제거하고 증류수로 세 번 세척한 뒤 아세톤으로 건조시켰다. 그림 3은 이와 같이 준비된 황철석의 X-선 회절 분석 스펙트럼으로서, 이 시료가 거의 순수한 황철석으로 구성되어 있음을 나타낸다.

Af 배양 및 접종 준비

황철석 산화 실험을 위해 미국균주컬렉션(American Type Culture Collection; ATCC)으로부터 Af Type Strain ATCC#-19859 (약칭; ATCC-19859)를 수입하였다. ATCC-19859는 실험실로 배달되고 며칠 후 Yu *et al.* (2001)에 의한 수정 실버만-룬드 그린-배양액(modified Silverman and Lundgren medium: MSL 배양액)에 접종하여 배양하였다.

Af의 배양은 250 mL 삼각 플라스크에 MSL 배양액 100 mL를 채우고 여기에 기준 균주를 포함한 용액 1 mL를 접종하여 수행하였다. 이 때 배양

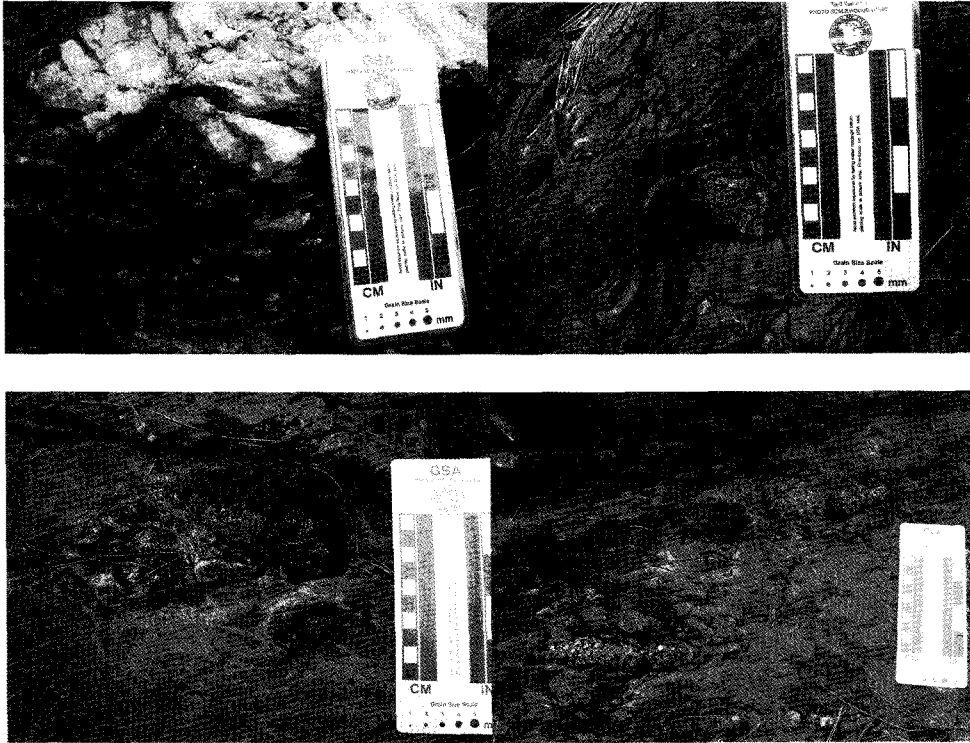


Fig. 2. Quartz lenses containing pyrite crystals in the fault zone developed in the Geumcheon Formation.

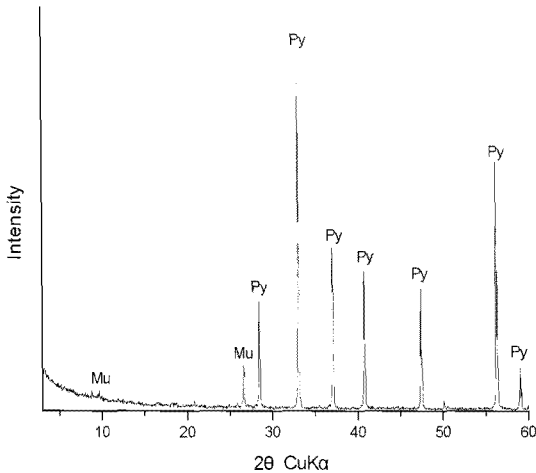


Fig. 3. X-ray diffractogram of the pyrite prepared for the oxidation experiments. Abbreviations; Py = pyrite and Mu = muscovite.

은 인큐베이터 안에서 이루어졌으며, 인큐베이터 내부 온도는 30°C, 교반 속도는 100 rpm을 유지하였다. 균주를 배양할 때, 같은 양의 MSL 배양액을

가진 접종되지 않은 삼각 플라스크를 함께 넣어, 균의 배양 성공 여부를 눈으로 쉽게 판단할 수 있도록 하였다. 인큐베이터에 넣은 후 대략 일주일이 지난 다음, 접종된 배양액의 색이 붉은 색으로 변하면서 배양액의 산화가 활발히 진행됨을 알 수 있었다. 이 때, 접종하지 않은 플라스크 내 배양액은 그대로 투명하였다.

MSL 배양액의 색이 붉어진 다음 황철석 산화 실험 접종을 위해 배양액을 채취 하였다. 이 때 채취된 배양액은 3,000 rpm의 속도로 약 2~3 min 정도 원심분리를 하고, 상등액을 따라 버린 후 5 mM H₂SO₄로 3회 세척한 뒤, 30 mL 5 mM H₂SO₄ 용액에 다시 부유시켜 접종물로 준비하였다.

Af 접종 및 산화 실험

Af에 의한 황철석의 산화 실험은 총 26개의 접종된 플라스크와 10개의 접종되지 않은 플라스크를 인큐베이터 안에서 교반 반응시킴으로써 수행하였다. 각 플라스크에는 Yu *et al.* (2001)의 배양액 50 mL와 앞에서 기술한대로 준비한 황철석 0.2

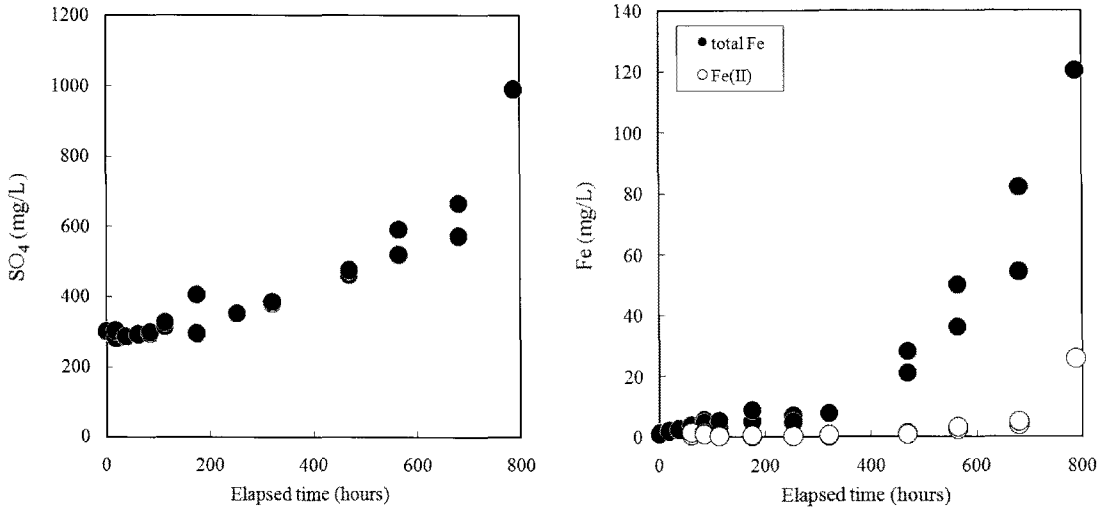


Fig. 4. The concentration variations of SO₄ and Fe in the reaction solution inoculated with *Af* as a function of time.

g을 넣었다. 이들 플라스크에 MSL 배양액으로부터 3차 배양한 배양 용액 1 mL를 10,000배 희석한 후 이 희석액 1 mL를 투여하여 접종하였다. 이와 같이 묽게 하여 적은 수의 *Af*를 접종한 것은 황철석 산화 초기의 *Af* 적응기에 대한 정보를 보다 자세히 관찰하고자 하는 목적이었다. 이 플라스크 용액의 초기 pH는 H₂SO₄를 첨가하여 대략 2로 조정하였다. 접종하지 않은 플라스크는 접종용액을 투여하지 않은 것을 제외하고는 모두 접종한 플라스크와 같다. 총 36개 플라스크의 입구는 유리솜으로 막아 외부로부터 보호하되 공기는 통하게 하였다. 인큐베이터의 내부온도는 30°C, 교반속도는 100 rpm으로 설정하였다.

접종된 플라스크의 시료 채취는 실험 시작 직후, 1일, 2일, 3일, 5일, 7일, 9일, 12일, 15일, 18일, 24일, 28일, 33일, 37일이 지난 뒤 하였으며, 접종하지 않은 플라스크의 시료는 실험 시작 직후, 7일, 15일, 24일, 33일째 채취하였다. 시료 채취할 때 항상 2개의 플라스크를 동시에 채취하였다. 플라스크의 반응 용액은 0.2 μm 공극크기의 여과지로 여과한 후 미리 산으로 세척된 60 mL 플라스틱 병에 담아 보관하였다. 여과 후 남은 황철석은 증류수로 세척한 후 작은 페트리디쉬(petri dish)에 담아 건조 보관하였다.

화학 분석 및 주사전자현미경(SEM) 관찰

필터링을 마친 반응 용액 시료는 바로 쇼트(Schott)사의 Handylap pH11로 pH를 측정하였다. 용존 Fe(II)의 함량은 페난트롤린(phenanthroline) 방법(APHA *et al.*, 1992)을 이용해 측정하였다. 음이온(Cl, NO₃, PO₄, SO₄)의 양은 강원대학교 지질학과 지구화학 실험실에 있는 Methrom사의 761 Compact IC Model을 이용하여 측정하였고, 양이온(Ca, Fe, K, Mg, Na, Si)의 양은 한국기초과학지원연구원 서울분소의 환경소재분석연구팀에 의뢰하여 ICP-AES (Jobin Yvon JM138 Ultrace)를 이용하여 측정하였다.

플라스크의 반응 용액의 여과 후 여과지에 남은 황철석을 증류수로 세척하고 건조시킨 뒤 강원대학교 내 공동실험실습관에 의뢰하여 주사전자현미경(Hitachi S-4300 FESEM)을 통해 관찰을 하였다.

결과 및 토의

반응 용액의 화학적 변화

그림 4는 *Af* 접종 후 반응 용액의 SO₄와 Fe의 함량 변화를 시간의 함수로 나타낸 것이다. 반응 용액 내 용존 SO₄의 시간에 따른 변화를 보면, 반응이 진행됨에 따라 그 농도가 처음부터 꾸준히 증

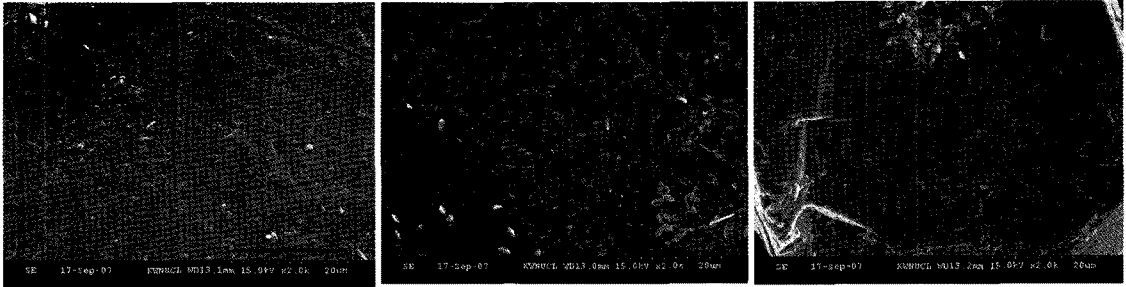


Fig. 5. Pyrite surfaces from the uninoculated reaction batch observed with SEM. From left to right, the elapsed times of reaction were 0, 253, and 681 hours, respectively. The black bar at the bottom right of the first photograph represents 20 μm . All three photographs have the same magnification.

가하여, A_f 의 적응기(lag phase)와 증식기(exponential phase)가 뚜렷이 구분되지 않음을 알 수 있다. 그에 반해 같은 용액 내 용존 철의 함량 변화는 접종 후 약 400시간을 전후로 해서 A_f 가 적응기로부터 증식기로 들어섬을 뚜렷이 나타낸다. 이로부터 이번 실험의 A_f 는 분명히 적응기-증식기 전이를 거쳤음을 알 수 있으며, SO_4 의 함량 변화가 이를 나타내지 못한 것은 반응 결과 용출된 SO_4 가 이차적으로 흡착, 침전 또는 불균등화(disproportionation) 반응 등을 통해 용액으로부터 제거되었을 수도 있음을 나타낸다(Brunner *et al.*, 2008).

철의 시간에 따른 함량 변화와 관련하여 한 가지 주목할 것은 Yu *et al.* (2001)에 의해 관찰된 것과는 달리 이미 적응기 초기부터 대부분의 Fe가 Fe(III)로 존재한다는 점이다. 이는 초기 접종 개체 수가 많지 않아 충분히 황철석 표면이 이용 가능했음에도 불구하고 A_f 가 용존 성분의 Fe(II)를 적극적으로 산화시켰음을 나타내는 것이다. 이는 적응기에 주로 황을 산화시킨다는 Yu *et al.* (2001)의 주장과 배치되는 것으로 뒤에 좀 더 자세한 연구가 필요하다.

황철석 표면의 변화

그림 5와 6은 각각 A_f 를 접종하지 않은 플라스크와 A_f 를 접종한 플라스크로부터 채취한 황철석 시료의 표면 SEM 관찰 사진이다. 그림 5의 황철석 표면에는 부식홈(etch pits)이 거의 관찰되지 않는데 반해, 그림 6의 황철석 표면에는 많은 부식홈이 발달되어, 무기적 산화보다 미생물에 의한 황철석의 산화가 훨씬 빨리 진행됨을 알 수 있다. 특히, 접종된 황철석의 표면이 접종되지 않은 것과 뚜렷

이 그 차이를 보이는 것은 A_f 가 증식기에 들어선 다음이다.

그림 6의 175시간 반응 후 채취한 황철석의 표면은 아직 A_f 의 적응기에 있어 전반적으로 황철석의 표면이 접종하지 않은 것과 큰 차이를 보이지는 않는다. 그러나, 그 표면에 A_f 가 부착되어 있는 모습이 관찰됨으로써, 이 기간 동안 A_f 에 의한 황철석의 직접용탈식 산화가 진행되고 있음을 알 수 있다. 이와 같은 직접용탈식 산화는 Yu *et al.* (2001)에 의한 관찰 결과와도 일치하는 것이다. 하지만, 이번 실험에서 황철석 표면에 부착된 A_f 는 매우 적은 것으로 나타났다.

이 시기에 채취한 황철석 표면에서 관찰된 특이한 것은 A_f 가 표면에 부착된 채로 세포 분열을 하는 모습이다. 이는 다른 문헌에서는 쉽게 볼 수 없는 모습으로, A_f 에 의한 황철석 산화에 대한 몇 가지 중요한 사항을 알려준다. 분열하고 있는 세포 주변을 자세히 살펴보면, 황철석의 표면이 분열하고 있는 모양을 따라 용식되어 있음을 알 수 있다. 이는 적어도 관찰된 황철석의 용식이 세포 분열을 하는 동안 진행되었다는 것을 의미하며, 이는 다시 A_f 에 의한 황철석의 용식이 우리가 생각하는 것보다 훨씬 빠르게 진행될 수 있음을 지시한다. 세포 분열에 걸리는 시간은 생물의 종류에 따라 크게 다르지만 보통 24시간 이내이며(Madigan *et al.*, 2012), 특히 A_f 와 같은 원핵생물(prokaryotes)은 진핵생물(eukaryotes)에 비해 더 짧은 시간이 소요되는 것으로 알려졌다(Harris and Paul, 1994). 그림 4의 Fe의 농도 변화를 살펴보면, 적응기에는 초기를 제외하고는 농도 변화가 거의 없으며, 증식기에는 선형적으로 그 농도가 증가함을 알 수 있다. 만일, A_f 가 끊임없이 세포 분열을 하였다면, Fe의 농

에시디싸이오바실러스 페로아시덴스에 의한 황철석 산화에 따른 표면 조직의 변화

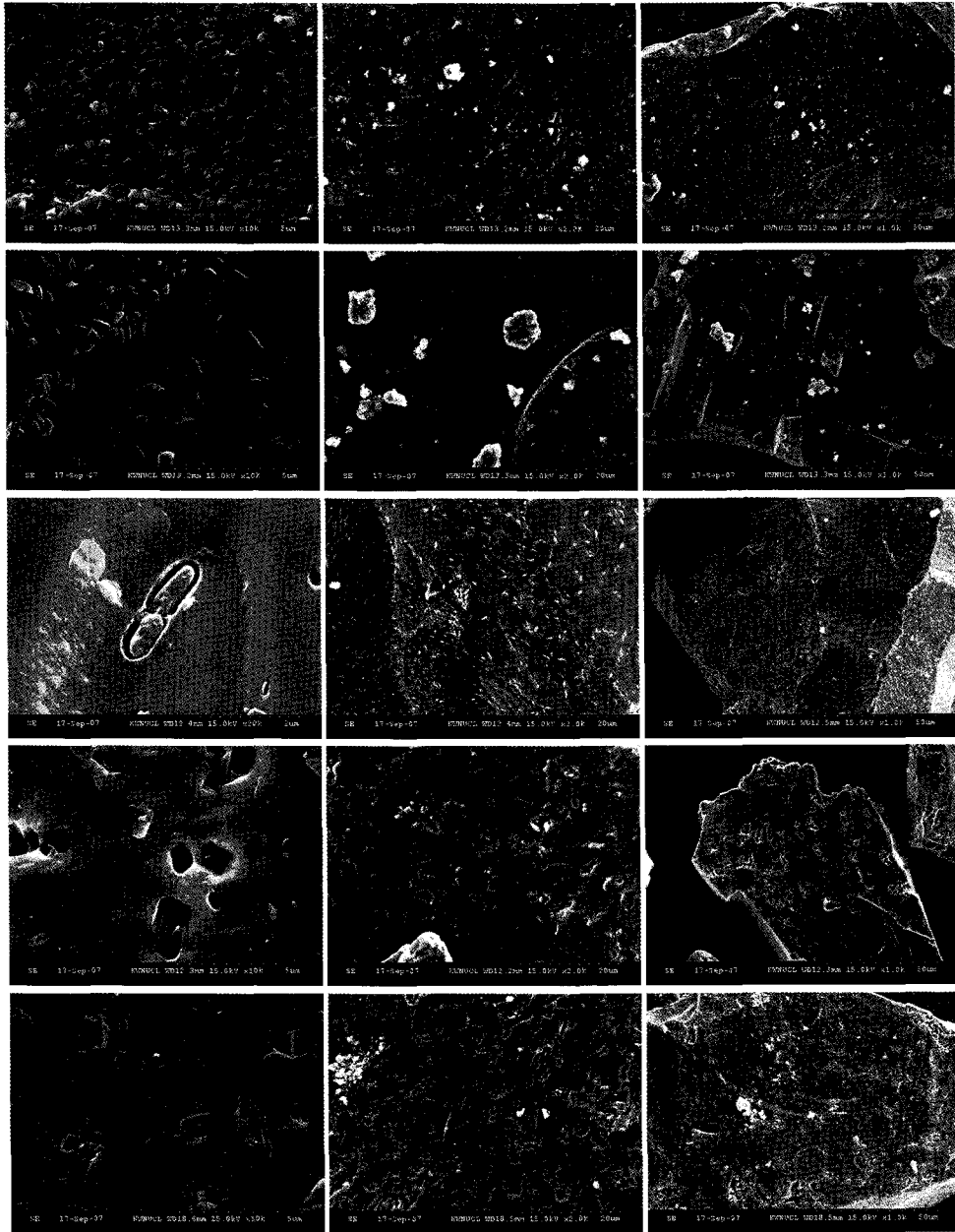


Fig. 6. Pyrite surfaces from the inoculated reaction batch observed with SEM. From left to right, the black bars at the bottom right are 5, 20, and 50 μm , respectively. From top to bottom, the elapsed times of reaction are 0, 61, 175, 469, and 788 hours. Each column has the same magnification and each row has the same elapsed time.

도는 지수함수 2^n 을 따라 증가하여야 할 것이나, 그림 4의 농도 변화는 그렇지 않다. 이는 A_f 에 의한 황철석의 산화 정도(속도)가 그 자신의 성장 및

분열 시기에 따라 매우 다르며, 일단 세포 분열과 같은 활발한 대사(metabolism) 시기에는 그림 4에서 계산되는 것보다 훨씬 빠른 속도로 황철석이 용

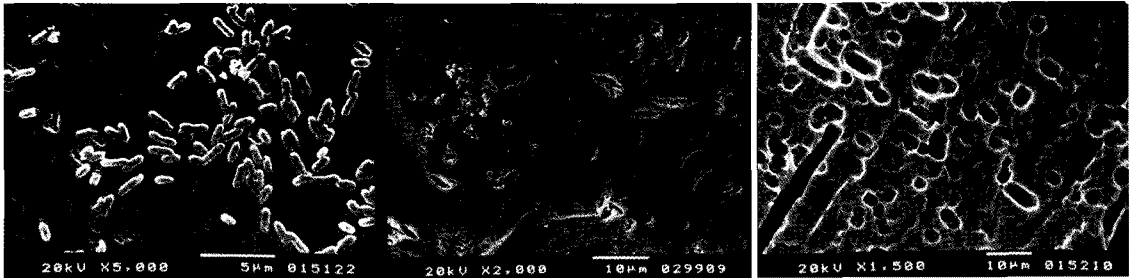


Fig. 7. Pyrite surfaces from the inoculated reaction batch observed with SEM by Yu *et al.* (2001). From left to right, the colonies of *Af* found on the pyrite surface, the pyrite surface before inoculation, the etch pits on pyrite surface developed during the exponential phase.

해가 진행된다는 의미이다.

*Af*가 황철석 표면에 고착된 후 용식을 시작하면, 용액에 의한 간접용탈식 용해보다 훨씬 빠른 속도로 진행되어 좁고 깊은 홈을 내며 황철석 내부로 깊숙이 진입하게 될 것이다. 앞의 예에서 살펴보았듯이, 이 속도는 무기적 산화에 비해 훨씬 빨라 *Af*에 의한 산화가 진행되는 동안 그 구멍이 크게 넓어지지 않을 것이다. *Af*에 의한 구멍은 산화가 진행되는 동안 점점 깊어질 것이며, 이는 구멍이 너무 깊어 더 이상 용액으로부터 산소의 공급이 원활하지 않을 때까지, 그리고 제한된 공간에 황철석의 빠른 산화에 의한 용존 성분의 증가 및 pH의 증가가 *Af*에 의한 대사를 방해할 때까지 급속도로 진행될 것이다. 이러한 상황이 심화되면 결국은 *Af*가 더 이상 산화를 진행할 수 없는 한계 상황에도 달하게 되며, 이때 초기에 황철석 표면에 부착한 후 깊이 진행된 *Af*는 그대로 사멸하던지, 다시 용액으로 부유한 후 새로 산화 반응을 시작하여야 한다. 그림 4의 용존 철의 농도 변화를 보면, 반응 후 200시간이 지나면 더 이상 증가하지 못하고 일정한 수준을 유지하는 것을 볼 수 있는데, 이 기간 동안이 *Af*에 의한 직접 산화가 한계에 달해 더 이상 황철석의 용식이 원활이 진행되지 못하는 기간인 것으로 보인다. 반응 후 약 400시간이 지나면, 갑자기 철의 농도가 증가하기 시작하는데, 이 시기를 전후로 해서 *Af*는 새로운 황철석 산화에 돌입하면서 증식기에 돌입하는 것으로 보인다. 이처럼 *Af*가 적응기에서 증식기로 들어설 때 초기 부착된 *Af*가 사멸하는지 또는 재부유하는지는 확실하지 않으며 이에 대해서는 더욱 많은 연구가 필요하다.

이번 연구와 Yu *et al.* (2001)의 연구에서 모두 400시간을 전후로 해서 적응기에서 증식기로 전이

하는 것을 볼 때, 이와 같은 *Af*의 황철석 산화 패턴 변화는 접종 개체수의 많고 적음에는 상관없는 것으로 보인다. 이는 위 해석에 따르면 *Af* 각 개체가 황철석 표면에 부착된 후 산화가 진행됨에 따라 용존 성분의 공급 및 확산의 원활한 정도에 따라 일어나는 현상으로 당연히 *Af*의 개체수가 많고 적음에 크게 좌우되지 않는다고 할 수 있다.

대부분의 이전 *Af*에 의한 황철석의 산화 연구에서는 용존 성분의 농도 변화로 적응기와 증식기를 뚜렷이 구분할 수 없으며 오직 Yu *et al.* (2001)의 연구만이 이 연구 결과와 마찬가지로 뚜렷한 적응기-증식기 패턴을 보인다. 이러한 이유로 이 연구 결과와 Yu *et al.* (2001)의 연구 결과를 용존 성분의 변화 및 표면 조직의 변화 관점에서 비교하는 것은 매우 의미 있는 일이다.

이번 연구에서 *Af*의 황철석 산화 적응기에 용존 Fe가 대부분 Fe(III)로 존재함은 이미 언급하였다. 이로 보아 *Af*에 의한 철의 산화는 적응기에도 진행되는 것으로 보인다. 이는 적응기에도 간접용탈식 산화가 진행될 수 있음을 의미하는 것이다. Yu *et al.* (2001)의 실험에서 적응기에 용존 Fe가 대부분 Fe(II)로 존재한 이유는 아마도 대부분의 *Af*가 황철석의 표면에서 황을 산화하여 용존 산소를 대부분 소모하면서 Fe가 산화될 충분한 기회가 주어지지 않았을 것으로 추측되지만, 이 점에 대해서는 좀 더 자세한 연구가 필요하다.

그림 6의 황철석 표면을 살펴보면 반응시작 후 400시간 이후의 증식기에도 시간이 지남에 따라 용식 구멍이 꾸준히 증가함을 알 수 있다. 이는 증식기에도 많은 *Af*들이 직접 산화를 진행시키기 때문일 것이다. 그림 7의 Yu *et al.* (2001)이 보고한 황철석 표면 모습을 보면 간접 산화에 의해 그물

무늬의 용식 조직이 관찰되는데, 이 연구 실험에서는 이와 같은 조직이 관찰되지 않는다. 이는 아마도 초기 적은 수의 Af 집중으로, 황철석 산화로 용출되는 용존 Fe의 양이 많지 않아 증식기에 충분한 간접 산화가 진행되지 않았기 때문으로 생각된다.

종합 및 결론

Af에 의한 황철석의 산화로 인한 용액의 화학 조성 변화로부터 Af 성장 적응기와 증식기를 구분할 수 있었다. 이 성장기의 변화가 반응 용액 내 용존 Fe 함량 변화로는 뚜렷이 나타나나, SO₄의 함량 변화상으로는 확연히 구분되지 않는 점은 특기할 만하다. 이는 아마도 SO₄가 황철석으로부터 용출된 이후 흡착, 침전, 또는 불균등화 반응에 의한 탈기 등에 의해 반응 용액으로부터 일부 제거되었기 때문으로 생각된다. 또한 적응기 동안에 용존 Fe는 대부분 Fe(III)로 존재하는데, 이것의 주요 원인이 Af에 의한 산화인지 또는 무기적인 산화인지는 좀 더 연구하여야 한다.

Af의 성장 적응기 동안에 황철석 표면에 부착된 개체가 관찰됨으로써 이 기간 동안의 황철석이 Af에 의해 직접 산화됨은 확인되었다. 하지만 부착된 개체가 많이 발견되지 않는 점과 Fe가 주로 Fe(III)로 존재한다는 점 등을 고려하면 적응기 동안의 Af가 황철석을 주로 직접 산화시켰다고 확신하기는 어렵다. Af 성장 적응기의 중반 이후부터 증식기 직전까지 Fe 함량이 크게 증가하지 않고 정체되는 것은 이 시기에 Af에 의한 황철석의 산화가 직접 산화를 통해 주로 이루어지든 그렇지 않은 간에 산화기작의 전환을 위한 적응이 분명히 필요한 것으로 보인다.

황철석의 표면에서 보여주는 Af의 세포 분열은 Af에 의한 산화 속도가 매우 불균등하며 산화가 진행되는 동안에는 농도의 변화로부터 계산되는 속도보다 훨씬 빠르게 진행됨을 알 수 있다. Af의 집중이 이루어진 황철석의 표면에 훨씬 많은 부식홀이 관찰되는데, 이들이 좁고 깊어 일정 정도가 진행된 후에는 더 이상 산소의 공급과 산화 생성물의 배출이 어려워질 것으로 추측된다. 만일 적응기 동안 Af가 직접 산화 방식을 주로 이용한다면, 위와 같은 이유로 적응기 중반 이후부터 산화의 진행이 정체되는 것으로 짐작된다.

사 사

이 연구는 정부 재원(교육과학기술부 학술연구조성사업비)으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 수행되었다(KRF-2006-311-C00601). ICP-AES 분석을 위해 수고해 주신 기초과학지원연구원 윤혜은 박사와 분석연구부 여러 연구원들께 감사드리며, 또한 IC 분석을 위해 수고해 준 박영윤 박사와 목련화, 윤지윤, 김영기, 김해진, 박운희에게도 감사한다.

참고문헌

- 유재영 (1991) 해설: 산성비와 석탄 내의 황. 광물과 산업, 4, 31-35.
- APHA, AWWA, and WEF (1992) Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water, 18th Ed. APHA Pub., Washington, USA.
- Blight, K., Ralph, D.E., and Thurgate, S. (2000) Pyrite surfaces after bio-leaching: a mechanism for bio-oxidation. Hydrometall., 58, 227-237.
- Brunner, B., Yu, J.-Y., Mielke, R.E., MacAskill, J.A., Madzunkov, S., McGenety, T.J., and Coleman, M. (2008) Different isotope and chemical patterns of pyrite oxidation related to lag and exponential growth phases of *Acidithiobacillus ferrooxidans* reveal a microbial growth strategy
- Descostes, M., Vitroge P., and Beaucaire, C. (2004) Pyrite dissolution acidic media. Geochim. Cosmochim. Acta, 68, 4559-4569.
- Fowler, T.A., Holmes, P.R., and Crundwell F.K. (1999) Mechanism of pyrite dissolution in the presence of *Thiobacillus ferrooxidans*. Appl. Environ. Microbio., 65, 2987-2993.
- Gleisner, M., Herbert, R.B. Jr., and Kockum, P.C.F. (2006) Pyrite oxidation by *Acidithiobacillus ferrooxidans* at various concentrations of dissolved oxygen. Chem. Geol., 225, 16-29.
- Good, W.D. and Kapoor, A. (2003) The microbiology of acid mine drainage. In *Environmental Aspects of Acid Mine Wastes* (eds. J.L. Jambor et al.), Short Course Series Vol. 31, Miner. Assoc. Canada, pp. 203-226.
- Harris, D. and Paul, E.A. (1994) Measurement of bacterial growth rates in soil. Appl. Soil Ecol., 1, 277-290.
- Kelly, D.P. and Wood, A.P. (2000). Reclassification of some species of *Thiobacillus* to the newly designated genera *Acidithiobacillus* gen. nov., *Halothiobacillus* gen. nov. and *Thermithiobacillus* gen. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 50, 489-500.
- Liu, H., Gu, G., and Xu, Y. (2011) Surface properties

- of pyrite in the course of bioleaching by pure culture of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and a mixed culture of *Acidithiobacillus ferrooxidans* and *Acidithiobacillus thiooxidans*. *Hydrometall.*, 108, 143-148.
- Luther, G.W. III (1997) Comment on Confirmation of a sulfur-rich layer on pyrite after oxidative dissolution by Fe(III) ions around pH 2 by K Sasaki., M Tsunekawa., S. Tanaka, and H. Konno. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 61, 3269-3271.
- Madigan, M., Martinko, J., Stahl, D., and Clark, D. (2012) *Brock Biology of Microorganisms*, 13th Ed. Pearson Education Inc., Boston
- Nordstrom, D.K. and Alpers, C.N. (1999) Geochemistry of acid mine waters. In *The Environmental Geochemistry of Mineral Deposits* (eds. G.S. Plumlee and M.J. Logsdon), Society of Economic Geologists, Littleton, CO., pp. 133-160.
- Rimstidt, J.D. and Vaughan, D.J. (2003) Pyrite oxidation: A state-of-the-art assessment of the reaction mechanism. *Geochim Cosmochim Acta*, 67, 873-880.
- Rodriguez, Y. (2003) New information on the pyrite bioleaching mechanism at low and high temperature. *Hydrometall.*, 71, 37-46.
- Salomons, W. (1995) Environmental impact of metals derived from mining activities: Processes, prediction, prevention. *J. Geochem. Explor.*, 52, 5-23.
- Singer, P.C. and Stumm, W. (1970) Acid mine drainage: The rate limiting step. *Science* 167, 1121-1123.
- Stumm, W. and Morgan J.J. (1996) *Aquatic Chemistry*, 3rd Ed. John Wiley & Sons, New York.
- Yu, J-Y., McGenity, T.J., and Coleman, M.L. (2001) Solution chemistry during the lag phase and exponential phase of pyrite oxidation by *Thiobacillus ferrooxidans*. *Chem. Geol.*, 175, 307-317.
-
- 접수일(2011년 9월 15일), 수정일(1차 : 2011년 9월 25일),
게재확정일(2011년 9월 25일)