배지의 특성에 따른 토양미생물 활성이 Bio-electrokinetics에서 Pb와 Cu의 이동성에 미치는 영향

Effect of Activation of Soil Microbes on Electromigration according to the Characteristics of the Media of Pb and Cu by Bio-electrokinetics

김홍태* · 이태룡**

Kim, Hong Tae · Lee, Tae Ryong

Abstract

Electrokinetic has been considered a promising technology to remediate soils contaminated with toxic heavy metals. Several modifications have been studied to improve the remediation processes. In this study, bio-electrokinetic(BEK) process which stands for electrokinetic process combined with activated soil bacteria was proposed and environmentally evaluated for enhancement of Pb and Cu migration rates by using culture media solution instead of the electrolyte solution. Five different types of the solutions for each phases were used at different culture media and electrolyte ratios (v/v) with 1:0, 0:1, 3:1, 1:1 and 1:3 for phase 1, 2, 3, 4 and 5, respectively. In addition, experiments were conducted for the ratios between soil microbes and electrolyte at 90% and 80%. In the experiments using electrolyte of containing NO_3^- , the concentrations of lead and copper in the soil at section-1 is relatively lower than that of section-6 since heavy metal components moves from the cathode electrode to the anode electrode. Also the migration rate of lead and copper is high at phase 3. In the experiments using electrolyte of containing NO_2^- , the migration rate of lead and copper is relatively lower than that of using electrolyte of containing NO_3^- . Overall results demonstrated that the heavy metal removal efficiency using electrolyte of containing NO_3^- is higher than that of using electrolyte of containing NO_2^- .

Key words : Bio-Electrokinetics, Lead, Copper, migration, culture media, nitrate electrolyte

요 지

유해한 중금속으로 오염된 토양을 정화하기 위하여 고려된 유망한 기술은 동전기정화법이다. 정화 과정을 개선하기 위하여 몇 가지를 수정하여 연구하게 되었다. 본 연구에서는 중금속으로 오염된 지역의 토양 및 지하수에 동전기적 기술을 사용하고 배양된 금속환원 미생물과 영양분을 주입하여 토양 내의 토착 미생물을 활성화하여 납과 구리의 이동도를 상승시키는 것이 목표이며, 연구 결과 전체적으로 배양액 중 배양된 금속환원 미생물의 부피를 75%로 맞추었을 때 제거효율이 가장 크게 나오는 것을 확인했고, 배양액으로 NO_3^- 를 사용하여 배양된 금속환원 미생물군의 중금속 제거 능력이 다소 뛰어난 것을 알 수 있었으며, 기존의 동전기법과 비교하여 이동도가 60~70% 상승함을 확인하였다.

핵심용어 : 생물 동전기정화법, 납, 구리, 이동도, 배양, 질산염 전해액

1. 서 론

국내의 폐금속광산은 광산업이 퇴조된 1970년대 이후 대부분 방치된 상태이며 제련과정에서 발생하는 광미의 유실, 갭내수인 AMD(Acid Mine Drainage) 유출 등으로 주변 농경지 등의 토양이 중금속에 오염되고 있다. 특히 적절한 방어 체계 없이 무방비로 유기된 광산 및 제련활동의 부산물은 주변 수계, 퇴적물, 토양 등을 통한 심각한 중금속 오염의 점

오염원으로 작용하여 인간을 비롯한 유기 생명체에 치명적인 피해를 미친다(Lovley, et al., 1989; Yeon, et al., 2005; Yoon, 2002). 폐광산에 대한 정밀 조사 후 토양오염방지사업이 추진되고 있으나 그 사업내용은 광미 등의 유실을 방지하기 위한 옹벽설치공사, 우수침투방지 및 지하수 차단 등으로 오염물질의 차폐처리를 통한 오염원의 확산 방지를 그 목적으로 하고 있어 오염토양정화에 대한 근본적인 해결책으로는 볼 수 없다(Ministry of Environment, 2011; Ministry of

*정회원. 경북대학교 토목공학과 정교수(E-mail: htkim@knu.ac.kr)
Member. Professor, Department of Civil Engineering, Kyungpook National University

**교신저자. 정회원. 경북대학교 토목공학과 강의교수(Tel: +82-53-950-4769, Fax: +82-53-950-6564, E-mail: mazdragon@knu.ac.kr)
Corresponding Author. Member. Lecture Professor, Department of Civil Engineering, Kyungpook National University

Commerce, Industry and Energy, 2007).

중금속 오염 토양의 정화, 복원 방법으로는 토양세척(soil washing), 동전기 정화(electrokinetic remediation), 화학용매 추출(chemical extraction), 열탈착 처리법(thermal desorption treatment), 고형화(solidification) 및 안정화(stabilization) 등의 방법이 있다(Ministry of Commerce, Industry and Energy, 2007; Deshpande et al., 2000). 이들 각각의 방법들은 토양의 퇴적 상태에 따라 나타나는 수많은 유기 및 무기성 오염 물질을 정화하는데 서로 장단점을 가지고 있으므로 복합적인 방법을 사용해야 효과를 높일 수 있다. 토양 세척 및 화학 용매 추출 방법은 광산 퇴적토와 같이 미세한 토양에는 부적합하며, 열탈착 처리 방법은 휘발성 유기물의 제거에 적합한 방법이다. 또한 고형화 및 안정화 방법은 오염 물질을 근본적으로 제거하는 방법이 아니며, 단순히 위해성을 저감시키는 방법이다. 따라서 광산 퇴적토와 같은 세립질 토양에 흡착된 이온성 오염물의 제거를 위해서 동전기적 정화 처리(electrokinetic remediation)(Shufa et al., 2009; Park et al., 2009; Yasaman and Dongqing, 2010)가 훌륭한 대안으로 고려되어 많은 연구가 이루어지고 있다.

오염 토양의 동전기적 정화처리법은 토양 내 전극을 삽입하여 전류를 통과시켜 오염물질을 토양 입자로부터 탈착 후 간극수 내 이온물질로 이동되게 한 후 전기장에서 제거할 수 있게 하는 것으로, 토양의 간극 크기나 조직의 분포에 크게 영향을 받지 않기 때문에 기존의 양수 펌핑 기법보다 세립토에서 물과 오염물을 더욱 효과적으로 이동시킬 수 있다. 특히, 극성을 가진 오염 물질의 제거에 매우 효과적이며 중금속, 방사능 물질, 페놀, TCE, 톨루엔 등 유기 및 무기 물질의 제거가 가능한 것으로 평가되고 있어, 향후 큰 잠재력과 다른 분야에의 응용 가능성이 커지고 있다.

본 연구는 동전기법을 수행하며 오염 토양 내 토착 미생물을 활성화(Siegrist, et al., 1998; Zumft, 1997; Cho et al., 2003)시켜 제거효율을 향상시킬 수 있는지에 대해 분석하고자 한다. 미생물 활성화에 큰 영향을 주지 않으면서 중금속 처리에 가장 효과적인 전해액을 선정하여 중금속 제거에 필요한 전해액과 배양된 금속환원 미생물의 최적 부피비를 산출하였다.

2. 실험

본 연구에서는 중금속으로 오염된 지역의 토양 및 지하수에 동전기적 기술을 사용하고 배양된 금속환원 미생물과 영양분을 주입하여 토양 내의 토착 미생물을 활성화하여 납과 구리의 이동도를 상승시키는 것이 주요 목표이다.

2.1 실험 장치

본 연구에 사용된 동전기 정화 실험 장치는 Fig. 1에 도시된 바와 같이 실험 세트와 유출액을 저장 및 측정할 수 있는 메스실린더, 전기회로, 전원공급장치, 그리고, 유입, 유출액의 pH를 측정할 수 있는 pH meter 등으로 구성되어 있다. 실험 장치는 전기적 절연과 측면에서의 압력을 견딜 수

Fig. 1. Schematic diagram of Bio-electrokinetics reactor

있는 9 mm 두께의 아크릴 판 재질을 사용하였으며, 장치는 너비 4 cm, 높이 4 cm, 그리고 길이 28 cm의 규격을 가지며 양쪽 수조 내 전극의 간격은 22 cm로 하였다.

실험에 사용된 전극은 가격이 저렴하고 널리 이용되는 철 전극을 사용하였다. 철 전극은 폭 4 cm, 길이 5 cm의 판형으로 지지대를 사용하여 고정하였다. 또한, pore size 5 μ m, 두께 0.26 mm의 여과지와 pore size 0.83 mm의 STS 망(mesh)으로 구성된 스크린을 설치하여 토양 시료 투입부와 양쪽 수조를 분리하였다. 여과지는 이온성 물질의 투과는 원활하도록 하고 토양 시료 등 입자상 물질은 수조 내 유입을 막기 위하여 사용되었으며, STS 망은 여과지를 지지하는 역할을 한다. 배양액을 따로 설치하여 각 전극에 위치한 수조(reservoir)에 순환을 하였다.

토양에 균일한 이온공급과 물의 전기분해에 의한 갑작스런 pH 변화를 조절하기 위해 배양액과 양극/음극 수조 사이를 같은 유량으로 순환시켰다. 그리고, 본 연구에서의 실험 장치는 이동도의 향상을 도모하기 위해 기존 동전기 정화장치의 전해액 부분에 『토착 미생물의 활성을 향상시킬 수 있는 배양액』이나 『배양된 금속환원 미생물』 혹은 이 두 가지를 혼합하여 주입한 Bio-electrokinetics 반응조라고 명명하였다.

2.2 배양액 제조

본 연구에 사용된 배양액은 증류수에 각종 약품을 첨가하여 제조하였는데, 그 제조방법은 Table 1에 나타내었다.

P원으로는 K_2HPO_4 , 그리고 기타 미량원소를 공급하기 위해 $CaCl_2$, $MgCl_2$, $Na_2EDTA \cdot 2H_2O$, $FeSO_4$, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$, $MnCl_2 \cdot 4H_2O$, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, $NaMoO_4 \cdot 2H_2O$, $NiCl_2 \cdot 6H_2O$, Na_2SeO_3 , H_3BO_4 등을 각각 주입하였으며, Table 1에 그 주입량이 나타나있다. 한편, 독립영양 미생물에 대한 탄소원의 공급 및 pH값을 일정하게 유지하기 위한 알칼리도를 확보하기 위해 $NaHCO_3$ 를 일정량 주입하였다.

그 외에, 암모니아, 질산, 아질산 Stock solution을 준비하였다. 증류수에 NH_3 원료로 $(NH_4)_2S_2O_8$, NO_3^- 원은 KNO_3 , NO_2^- 원료로는 $NaNO_2$ 를 각각 100mg/L로 준비하여 사용하였다.

100 mL 배치 실험시 미생물 주입 후 Stock solution을

Table 1. Characteristics of culture media

Stock sol.		TES1		TES2	
4.2g	NaHCO ₃	1g	Na ₂ EDTA·2H ₂ O	1.5g	Na ₂ EDTA·2H ₂ O
0.3484g	K ₂ HPO ₄	0.5g	FeSO ₄	0.043g	ZnSO ₄ ·7H ₂ O
0.111g	CaCl ₂			0.024g	CoCl ₂ ·6H ₂ O
0.0952g	MgCl ₂	0.019g	NiCl ₂ ·6H ₂ O	0.099g	MnCl ₂ ·4H ₂ O
4mL	TES1	0.008g	Na ₂ SeO ₃	0.025g	CuSO ₄ ·5H ₂ O
2mL	TES2	0.0014g	H ₃ BO ₄	0.022g	NaMoO ₄ ·2H ₂ O

25 mL 암모니아 Stock solution 10 mL, 아질산 혹은 질산 Stock solution을 10 mL 나머지는 증류수로 채워 미생물을 배양하였다. 30 °C로 유지한 배양기에서 3~4일마다 질소농도를 체크해서 질소화합물(암모니아와 아질산 혹은 질산) 중에 부족해진 부분을 보충하고 기록하였다.

2.3 중금속 제거를 위한 최적 부피비 산출

전해액과 배양된 금속환원 미생물의 부피비에 따라 중금속 제거효율이 어떻게 달라지는지 알아보기 위하여 phase를 5단계로 나누어 실험하였다. 수조에 전해액만을 주입한 것을 phase1, 미생물만을 주입한 것이 phase2, 미생물:전해액(3:1)이 phase 3, 미생물:전해액(1:1)이 phase4, 미생물:전해액(1:3)이 phase5번으로 하였다. 즉, Table 2에 나타난 것처럼 각각의 phase는 수조 내의 미생물 분포를 0%, 100%, 75%, 50%, 25%로 조절하여 실험을 시행한 것이다.

또한, 이들 실험은 전해액 선정시와 같은 조건인 HRT 10 일, 온도 20~25 °C(Yeon et al., 2005; Park et al., 2009)에서 진행하였고, 직류전압 장치를 이용하여 4 cm×5 cm의 철판 전극으로 실험을 진행하였다.

공급 전압, 시료 내에서의 전압, 양쪽 수조의 pH, 전기삼투유량 등이 측정되었고 가동시간 이후에는 토양 시료를 Fig. 2에 나타난 것처럼 양극부근부터 음극부근까지 6개의 section으로 자른 후 각 section에 대하여 토양의 pH, 함수율, 오염물질 잔류량 등을 분석하였다.

Table 2. Operating conditions for each phase

	Phase1	Phase2	Phase3	Phase4	Phase5
Temperature(°C)	20~25				
HRT(day)	10				
Volume ratio	0	100	75	50	25
Electrode	Fe(+) / Fe (-)				
Electrode Size	4cm × 5cm				
Electrode Type	plate				
DC Power Supply	Model : OPE-303Q/OPE-305Q				

Fig. 2. Sections of Bio-electrokinetics reactor

3. 실험 결과 및 분석

3.1 중금속 제거를 위한 최적 부피비 산출

NO₃⁻를 전해액으로 사용한 phase1~5에서 Pb, Cu의 농도를 초기 농도와 비교하여 Fig. 3에 나타내었다.

NO₃⁻를 전해액으로 사용한 토양 내 Pb, Cu축적 농도는 양극에 가까운 section 1에서부터 이동이 이루어져 음극에 가까운 section 6에 몰려있다. 이는 Yoon (2002)의 연구결과인 전기삼투와 전기영동으로 인한 양극에서 음극으로의 중금속 이동과 같이 전해액 대신 배양액이나 배양된 금속환원 미생물 혹은 이 두 가지의 혼합주입에도 전기삼투와 전기영동의 흐름현상이 나타나 기존 동전기법의 연구와 같은 결과를 보여주었다.

이동도는 Fig. 3에서와 같이 배양된 금속환원 미생물 부피

Fig. 3. Pb and Cu concentrations of phase 1~5 with NO₃⁻ electrolyte

비가 75%인 phase3이 높게 나타났다. 즉, 전체적으로 배양액 중 배양된 금속환원 미생물의 부피를 75%로 맞추었을 때 제거효율이 가장 크게 나오는 것을 확인했다. 또한, 기존의 동전기 현상을 이용한 토양 정화 기술에서 문제가 되었던 낮은 pH의 양극 전해액에 의한 전기삼투 흐름의 감소와 높은 pH의 음극 전해액에 의한 음극 근처에서의 중금속 침전 현상(Yoon, 2002)이 문제가 되었으나 본 연구에서는 양극의 pH는 2.4로, 양극근처에서의 전기삼투 흐름의 감소가 일부 나타났지만 기존의 동전기법과 비교하여 심하지 않았으며, 음극의 pH는 5를 유지하였으므로 음극 근처에서는 중금속 침전현상이 거의 발생하지 않았다.

3.2 NO₃/NO₂ 효율 확인

NO₃⁻ 대신에 NO₂⁻를 사용한 phase1~5에서 Pb, Cu의 농도를 초기 농도와 비교하여 Fig. 4에 나타내었다.

NO₃⁻ 대신에 NO₂⁻를 사용한 토양 내 Pb, Cu 측정 농도는 NO₃⁻를 사용한 것에 비하여 이동도가 다소 낮게 나타났다. 배양액으로 NO₃⁻를 사용하여 배양된 금속환원 미생물군의 중금속 제거 능력이 다소 뛰어남을 알 수 있었다. Lovley et al.(1989)은 혐기상태의 토양에서 중금속의 산화로 발생하는 electron acceptor를 사용하는 미생물의 활동이 증가함에 따라 산화되는 중금속이 증가하므로 *shewanella* 등의 금속환원 미생물이 이를 다시 환원하는 사이클에 따라 전기

이동도의 상승을 보이는 것으로 판단하였다. 즉, 본 연구도 금속환원 미생물의 사이클에서 electron acceptor로 NO₃⁻가 이용된다는 점에서 같은 결과를 나타낸 것이다. 또한, NO₃⁻ 자체가 충분한 전해질이므로 NO₃⁻와 결합한 중금속의 이동에 의하여 이동도가 상승한 것으로도 보여 진다.

3.3 최적 부피비 확인

배양된 금속환원 미생물 부피비 75%와 100%에서 효율이 높게 나타나므로 그 사이인 80%와 90%에서 Pb, Cu의 농도를 초기 농도와 비교하여 Fig. 5에 나타내었다.

NO₃⁻를 전해액으로 사용한 토양 내 Pb, Cu측정 농도는 양극에 가까운 section 1에서부터 이동이 이루어져 음극에 가까운 section 6에 몰려있고, 이동도는 Fig. 5에서와 같이 배양된 금속환원 미생물 부피비가 75%일 때 가장 높게 나타났다.

McLean et al.(2002)은 배양액으로 기존의 토착 미생물의 활성도를 증가시킬 수 있지만 일정량 이상의 배양된 혼합배지 상태의 금속환원 미생물 주입은 토착 미생물들의 활동을 일부 저해한다고 주장하였는데 본 연구의 부피비 80%, 90%, 100%의 결과가 부피비 75%의 결과보다 낮은 것도 같은 이유에서라고 판단된다. 이는, 어느 정도의 배양액이 주입될 공간이 확보되어야 효율이 커진다는 것을 알 수 있다.

미생물의 전기적 이동을 이용한 동전기 생물학적 복원은 기존의 생물학적 복원의 단점인 낮은 분해속도와 낮은 제거

Fig. 4. Pb and Cu concentrations of phase 1~5 with NO₂⁻ electrolyte

Fig. 5. Pb and Cu concentrations in microbes ratio of 75, 80, 90, 100% with NO₃⁻ electrolyte

효율의 단점을 극복할 수 있었고, Shufa Zhu et al.(2009)의 연구인 기존의 동전기법에서 이동도가 약 30% 정도인 것에 비해 전해액 대신 배양된 금속환원 미생물과 배양액을 3:1로 혼합한 본 연구에서 이동도가 60~70%로 상승함을 확인하였다. 이는 전극의 전해액 대신 토양 미생물과 배양액을 혼합하는 상황을 만들어 유기물을 전자 공여체(electron donor)로 이용해 shewanella 등의 미생물이 Fe, Mn 등을 환원함에 따라 이동도가 상승한 것으로 판단된다.

4. 결 론

폐금속 광산에서 채취된 광미 퇴적토로부터 배양액 주입에 의한 중금속의 이동도를 확인하고자, 전해액 대신 배양액과 배양된 금속환원 미생물을 동전기 방법에 적용하여 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

- 1) 전체적으로 배양액 중 배양된 금속환원 미생물의 부피를 75%로 맞추었을 때 제거효율이 가장 크게 나오는 것을 확인했다. 이는 배양액으로 기존의 토착 미생물의 활성도를 증가시킬 수 있지만 일정량 이상의 배양된 혼합배지 상태의 금속환원 미생물 주입은 토착 미생물들의 활동을 일부 저해하는 것으로 판단된다. 이는, 어느 정도의 배양액이 주입될 공간이 확보 되어야 효율이 커진다는 것을 알 수 있다.
- 2) 배양액으로 NO₃⁻를 사용하여 배양된 금속환원 미생물군의 중금속 제거 능력이 다소 뛰어난 것을 알 수 있었다. 이는 혐기상태의 토양에서 중금속의 산화로 발생하는 electron acceptor를 사용하는 미생물의 활동이 증가함에 따라 산화되는 중금속이 증가하므로 shewanella 등의 금속환원 미생물이 이를 다시 환원하는 사이클에 따라 전기 이동도의 상승을 보이는 것으로 판단된다. 혹은, NO₃⁻ 자체가 충분한 전해질이므로 NO₃⁻와 결합한 중금속의 이동에 의한 것으로도 보여 진다.
- 3) 미생물의 전기적 이동을 이용한 동전기 생물학적 복원은 기존의 생물학적 복원의 단점인 낮은 분해속도와 낮은 제거효율의 단점을 극복할 수 있었고, 기존의 동전기법에서 이동도가 약 30%에 비해 배양된 금속환원 미생물과 배양액을 3:1로 혼합한 본 연구에서 이동도가 60~70%로 상승함을 확인하였다. 이는 전극의 전해액 대신 토양 미생물과 영양분을 혼합하는 상황을 만들어 유기물(organic matter)을 전자 공여체(electron donor)로 이용해 shewanella 등의 미생물이 Fe, Mn 등을 환원함에 따라 이동도가 상승한 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 교육과학기술부 2012년 하반기 일반연구자 지원 사업에 의해 수행되었고, 경북대학교 환경과학연구소, 공동실험실습관의 실험과 분석으로 인한 도움에 감사드립니다.

References

- Cho, A.-Y. Lee, I.-G., Jeon, E.-H., and Ahn, T.-Y. (2003) Utilization of various Electron Acceptors in *Shewanella putrefaciens* DK-1, *The Korean Journal of Microbiology*, Vol. 39, No. 3, pp. 175-180.
- Deshpande, S., Wesson, L., Wade, D., Sabatini, D.A., and Harwell, J.H. (2000) Dowfax surfactant component for enhancing contaminant solubilization, *Water Res.*, Vol. 34, No. 3, pp. 1030-1036.
- Lovley, D.R., Phillips, E.J.P., and Lonergan, D.J. (1989) Hydrogen and formate oxidation coupled to dissimilatory reduction of iron or manganese by *Alteromonas putrefaciens*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 55, pp. 700-706.
- McLean, J.S., Lee, J.U., and Beveridge, T.J. (2002) Interactions of bacteria and environmental metals, fine-grained mineral development and bioremediation strategies. In: Huang, P.M., Bollag, J.M. and Senesi, N. (Eds.) Interactions between Soil Particles and Microorganisms: Impact on the Terrestrial Ecosystem, *John Wiley and Sons, Chichester, England*, pp. 227-261.
- Ministry of Commerce, Industry and Energy (2007) (A)study on prevention of contamination of soil and water at the abandoned metal mines.
- Ministry of Environment (2011) 2010 years, soil measurement net and ground pollution fact-finding mission results.
- Park, S.-W., Lee, T.-Y., Yang, J.-S., Kim, K.-J., and Baek, K. (2009) Electrokinetic remediation of contaminated soil with waste-lubricant oils and zinc, *Journal of Hazardous Materials*, 169, pp. 1168-1172.
- Shufa, Z., Jinghui, Z., and Tieyou, D. (2009) Removal of fluorine from contaminated field soil by anolyte enhanced electrokinetic remediation, *Environ Earth Sci*, 59, pp. 379-384.
- Siegrist, H., Reithaar, S., and Lais, P. (1998) Nitrogen loss in a nitrifying rotating contactor treating ammonium-rich wastewater without organic carbon, *Wat Sci Techn*, 38, pp. 241-248.
- Yasaman Daghighi, Dongqing Li (2010) Induced-charge electrokinetic phenomena, *Microfluid Nanofluid*, 9, pp. 593-611.
- Yeon, K.-H. Lee, P.-K., Youm, S.-J., Choi, S.-H. (2005) Contamination and mobility of toxic trace elements in tailings of sam-san-jeil mine, *The Korean Society of Economic and Environmental Geology*, 38, pp. 451-464.
- Yoon, S.-S. (2002) Characteristics of Electrokinetic Remediation on the Heavy Metal Contaminated Mine Deposit, *Kyungung University*, doctoral dissertation, pp. 107-124.
- Zumft, W.G. (1997) Cell biology and molecular basis of denitrification, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 61, pp. 533-616.

© Received March 21, 2013

© Revised March 21, 2013

© Accepted April 15, 2013