



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

2014년 2월
석사학위논문

생물학적 산화작용을 이용한
석회석내 존재하는 금정광의
Au · Ag 품위 향상

조선대학교 대학원

에너지자원공학과

오 스 지

생물학적 산화작용을 이용한
석회석내 존재하는 금정광의
Au · Ag 품위 향상

The enhancements of Au · Ag grade in limestone contained
gold concentrate using biological oxidation

2014년 2월 25일

조선대학교 대학원

에너지자원공학과

오 스 지

생물학적 산화작용을 이용한
석회석내 존재하는 금정광의
Au · Ag 품위 향상

지도교수 박 천 영

이 논문을 공학 석사학위신청 논문으로 제출함

2013년 10월

조선대학교 대학원

에너지자원공학과

오 스 지

오스지의 석사학위논문을 인준함

위원장 조선대학교 교수 한 오 형 (인)

위 원 조선대학교 교수 강 성 승 (인)

위 원 조선대학교 교수 박 천 영 (인)

2013년 11월

조선대학교 대학원

목 차

List of tables	i
List of figures	ii
Abstract	iv
1. 서론	1
2. 이론적 배경	3
3. 연구목적	6
4. 시료채취 및 분석방법	7
4.1. 광석광물 시료	7
4.2. 미생물 채취	11
4.3. Polymerase chain reaction	15
4.4. 미생물 적응실험	17
4.5. 미생물 용출실험	18
4.6. 고체-잔류물 화학적 분석	19
4.7. 고체-잔류물 납-시금법	20
5. 결과 및 고찰	23
5.1. 광석광물	23
5.2. 염기서열 분석	25
5.3. 적응실험에 대한 pH 변화 및 특성	27
5.4. 용출실험에 대한 pH 변화 및 특성	30
5.5. 용출실험에서 Cu, Pb 및 Fe 이온의 용출량 변화	34
5.6. 고체-잔류물에 대한 화학적 분석	38
5.7. 고체-잔류물에 대한 납-시금법	40

6. 토의	43
7. 결론	45
참고문헌	47

List of Tables

Table 1. Sampling site of indigenous bacteria and subculture	6
Table 2. The chemical composition of the residual solid after leaching experiment for 42 days(digestion with aqua regia)	11

List of Figures

Figure 1. Model for the direct contact oxidation of sulfidic minerals by bacteria	5
Figure 2. Model for the indirect contact oxidation of sulfidic minerals	5
Figure 3. The sampling location(a) and geologic map(b) of Manjang area	9
Figure 4. The concentrate(a) and ore sample(b) in Manjang mine	10
Figure 5. The pH variation on the time in subculture experiment (KHN-2; Haenam, KHN-3; Haenam, KHA-3; Hwasun, KYH; Bonghwa, KUJ; Uljin)	13
Figure 6. Sampling in acid mine drainage of Uljin mine(pH=3.15)	14
Figure 7. The method of lead-fire assay analysis in this study(a; weighting of fusion flux, b; fusion, c; molding, d; separation of glassy slag, e; cupellation, f; silver beads in the bone ash crucible)	22
Figure 8. Photomicrographs of ore mineral from the Manjang mine(Ch; chalcopyrite, Ga; galena, Py; pyrite, Q; quartz, Sp; sphalerite)	24
Figure 9. The alignment of the 16S rRNA sequences isolated from Uljin bacteria with those of <i>A. ferrooxidans</i> (ATCC 23270 type strain)	26
Figure 10. The variation of pH and Eh on the time in adaptation-medium containing $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	28
Figure 11. The SEM image of indigenous acidophilic bacteria. (a) The 1st adaptation with $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ for 21 days(pH=1.76), (b) The 2nd adaptation with $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ for 21 days(pH=1.4). The scale bar is 5.0 μm (a and b) in length	29
Figure 12. The variation of pH and Eh on the time in leaching-medium	31
Figure 13. The SEM image of indigenous acidophilic bacteria in the leaching-medium at 30 days. The scale bar is 5.0 μm (a) and 10.0 μm (b) in length	32
Figure 14. The SEM image of indigenous acidophilic bacteria on the surface ore in the leaching-medium at 30 days. The scale bar is 10.0 μm (a) and 5.0 μm (b) in length	33
Figure 15. The variation of Cu on the time in leaching experiment for 30 days at 32°C	35

Figure 16. The variation of Pb on the time in leaching experiment for 30 days at 32°C	36
Figure 17. The variation of Fe on the time in leaching experiment for 30 days at 32°C	37
Figure 18. The fire assay of the residual solid after leaching experiment. (a) adaptation 1, (b) adaptation 2, (c) non-adaptation 1, (d) non-adaptation 2, (e) control 1, (f) control 2	41
Figure 19. The SEM image of fire assay of the residual solid after fire assay. (a) adaptation 1, (b) adaptation 2, (c) non-adaptation 1, (d) non-adaptation 2, (e) control 1, (f) control 2	42

Abstract

The enhancements of Au · Ag grade in limestone contained gold concentrate using biological oxidation

By SUJI OH

Adv. Prof. : Park, Cheon Young

Dept. of Advanced Plant Construction Engineering

Graduate School, Chosun University

In order to up grade the Au-Ag content in gold ore through biooxidation, indigenous bacteria were collected from five mine water sites. The five indigenous bacteria were grown in a subculture-medium, and Uljin bacteria was selected from these indigenous bacteria, as it had the best oxidation potential during subculturing over 28 days. And in this bacteria we investigated the polymerase chain reaction and 16S rRNA sequence. In order to increase the bacteria's tolerance to heavy metals, the Uljin indigenous acidophilic bacteria was repeatedly subcultured in an adaptation-medium containing Cu 382.98 mg/l for a 2nd period of 21 days. The adapted bacteria were inoculated into Manjang gold ore, and then the bioleaching experiment was carried out for 30 days at 32 °C.

In comparison with sequences of the strain *Acithiobacillus ferrooxidans* (ATCC 23270), the similarity of Uljin bacteria obtained was 100%. Thus it is confirmed that the indigenous Uljin bacteria is the same species as *Acithiobacillus ferrooxidans*(ATCC 23270). As the adaptation experiment proceeded with the Uljin bacteria, the more the pH value was decreased, the more adapted the bacteria became. In decreasing the pH value in the adaptation-medium, it was identified that the indigenous acidophilic bacteria

became adapted to the Cu ions, and that these bacteria have a tolerance potential with heavy metals. In SEM analysis, numerous acidic indigenous bacteria were observed in the adaptation-medium. The result of the bioleaching experiment with Uljin bacteria, the Cu and Pb content was much greater in the non-adapted bacterial sample than in the control sample, as well these contents were greater in the adapted bacterial sample than in the non-adapted bacterial sample. In SEM observation, the rod-shaped indigenous bacteria having sizes ranging from $0.5 \times 0.6 \mu\text{m}$ to $0.5 \times 1.7 \mu\text{m}$, were attached to the surface of the ore in the leaching-medium, and were observed in the leaching-solution. It is confirmed that these bacteria attaching to the surface of the ore can be a evidence of a direct contact oxidation mechanism, whereas with these bacteria in solution there can be an indirect contact oxidation mechanism. The result of leaching the solid-residue with an aqua regia and fire-assay analysis, the Au and Ag content was much greater in the non-adapted bacterial sample than in the control sample, and these content was greater in the adapted bacterial sample than in the non-adapted bacterial sample. The reason a higher value of Au and Ag content were obtained using the adapted bacterial sample is that gold and silver were liberated from the ore due to direct and indirect contact biooxidation.

Accordingly, it is expected that more Au and Ag can be leached from the gold ore, if the bacteria is adapted with an optimization of pH and heavy metal conditions in future bioleaching processes.

1. 서론

일반적으로 Au는 주로 황철석, 황비철석 및 자류철석과 같은 황화광물에 수반된다. 이들 황화광물은 열수광상의 함금 석영 맥으로 혹은 석회석 모암을 교대하여 형성된다(Henley, 1975). 이때 황화광물에 수반되는 Au는 고용체(solid solution) 상태이거나 수 μm 이하의 크기로 존재하게 된다(Dunn and Chamberlain, 1997). 황화광물 속에 들어 있는 Au는 광학현미경으로 구별할 수 있는 경우에는 visible gold라 하며, Au 입자 크기가 $0.1\mu\text{m}$ 이하로 존재하거나 황화광물과 고용체를 이루는 경우에는 invisible gold(Maddox et al., 1998; Allan and Woodcock, 2001)라 한다. 일반적으로 visible gold에서보다 invisible gold에서 Au의 함량이 높게 나타난다(Kojonen and Johanson, 1999).

저항성 금 광석에 들어 있는 invisible gold를 효과적으로 회수하기 위해서 전처리를 해야 하며, 전처리 방법으로 소성(roasting), 고압산화(pressure oxidation) 그리고 생물학적 산화(biological oxidation) 방법이 활용되고 있다. 소성은 저항성 금 광석을 600°C 온도에서 가열하여 다공성 혹은 공극율이 높은 산화광물로 만들어 용매에 Au가 쉽게 용출되도록 하는 방법이다. 이 방법은 Au 회수율은 높으나 소성과정에서 SO_2 가 생성되어 대기 오염 문제가 발생한다는 단점이 있다(Dunn et al., 1995). 고압산화는 저항성 금 광석을 고압의 산소 조건하에 산화시키는 방법이다. 이 방법도 Au 회수율은 우수하나 고가의 시설장비, 고압, 고온 공정에 의해 나타나는 fouling 문제, 장치의 재질문제, 강산에 의한 장비의 부식 등의 문제로 인해 가동에 고도의 기술이 요구되는 방법이다(Celep et al., 2009).

귀금속류에 속하는 플래티늄 그룹원소(PGE)와 Au는 지각 중에 극미량으로 존재하므로 Au를 회수하기 위해서는 황화광물을 미분쇄하여 맥석광물과 황화광물을 분리해야 하며, 이러한 Au를 회수하는 방법에는 납-시금법을 이용하여 회수하거나 cyanide 용액과 같은 용매로 용해시켜 회수할 수 있다. 납-시금법은 많은 양의 용제와 함께 시료를 넣어 용융시키는 방법으로 극미량의 Au의 함량을 결정하는데 사용되어 왔으며, 용매를 이용하여 회수하는 방법은 황화광물 정광에 함유된 Au를 cyanide, thiosulfate, thiourea 등으로 용해시킨 후, 활성탄 등에 흡착시켜 회수하는 방법이다. 용매를 이용하여 회수하는 방법은 황화광물 속에 극 미립자 혹은 고용체 상태로 들어 있는 경우는 용매에 잘 용해되지 않는다는 단점이 있다(Hall et al,

1986; Ubaldini et al., 1998). 극 미립자로 존재하는 Au는 아무리 미 분쇄해도 단체 분리 되지 않기 때문에, 용매에 접촉해도 용해되지 않는다. 그러나 생물학적 산화 방법은 저항성 금 광석을 호산성 박테리아에 접종시켜 황화광물을 산화시켜 Au 입자가 노출되게 하는 전처리 과정이다. 생물학적 산화작용을 거친 잔유물에 화학적 용매제를 이용하면 98 % 이상의 Au를 회수할 수 있다(Hutchins et al., 1988; Amankwah et al., 2005).

생물학적 전처리 방법은 소성이나 고압산화 방법에 비하여 처리 공정이 단순하기 때문에 전문가가 필요 없으며, SO₂ 및 비소 가스가 생성되지 않기 때문에 대기 오염 문제가 발생하지 않으므로 비용과 환경적 측면에서 매우 유리한 방법이다. 그러나 시간이 오래 걸리고 효율이 낮다는 단점이 있다. 또한 미생물을 황화광물에 적용하기 위해서는 고농도의 중금속 이온에 내성을 가질 수 있어야 한다. 이와 같이 중금속 이온에 내성을 갖는 적응 연구는 아직 국내에서 연구가 미진하다.

국의 연구에서 독성 이온에 적응된 미생물은 황화광물의 용출율을 2에서 4배 이상으로 향상시킬 수 있고, 미생물의 활성도가 2에서 4.8배 이상으로 향상됨을 보고하였다(Attia and Elzaky, 1990a; Xia et al., 2008). 또한, 미생물이 이온의 독성에 내성을 갖는 방법은 노출시킨 후 계대배양을 수행하는 것이며, 미생물은 환경을 선택하고 적응 하여 계속 진화되게 될 것이다.

2. 이론적 배경

미생물의 산화작용에 의한 미생물 용출은 광물의 구성 성분을 주 에너지원으로 활용하며, 불용성 황화광물로부터 수용액에 금속이온을 방출시키는 작용을 말한다. 이러한 미생물에 의한 용출은 직접접촉산화작용(direct contact oxidation mechanism)과 간접접촉산화작용(indirect contact oxidation mechanism)에 의하여 일어난다(Sand et al., 1995). 직접접촉산화작용은 미생물이 황화광물 표면에 직접 부착하여 산화시키는 방법이며, 간접접촉산화방법은 미생물이 용액 속의 Fe^{2+} 이온을 산화시켜 에너지원으로 활용하고, 산화에 의해 생성된 Fe^{3+} 이온이 황화광물을 산화시키는 것으로 ferric ion이 황화광물을 무기적으로 산화시키는 방법이다(Fig 1과 2).

미생물에 의한 산화 방법은 온도, 압력, pH 등의 외부적 환경조건이 적절하게 갖추어져야 한다. 특히 미생물 용출에서는 황화광물 에 포함되어 있는 중금속 이온이 박테리아에게 독성으로 작용하기 때문에 미생물 산화작용이 잘 이루어지지 못하게 된다. 이러한 문제점을 해결하기 위해 배양용액에 중금속 이온과 함께 미생물을 적응시키는 방법을 사용하면 적응과 동시에 용출 효율을 증가시킬 수 있게 된다.

미생물의 산화작용에 의해 나타나는 pH와 Eh의 변화는 미생물의 대사작용 및 성장활동에 의한 반응 결과로서 광물의 산화작용을 촉진시키므로 중요한 요인 중 하나라고 볼 수 있다. 따라서 미생물에 의하여 저항성 금 광석이 생물학적으로 산화되면 pH가 감소되고 저항성 금 광석의 구성성분이 용해되며, 산화작용에 의한 구성성분의 용해는 광석의 표면부터 일어나고 점차 내부로 진행된다. 구성성분이 용해됨으로써 광석 내부에 들어 있던 Au는 점점 밖으로 노출되며 결국 분리되게 된다. 따라서 불용성 성분과 Au 및 Ag는 잔유물에 누적되고 용해성 성분들은 제거되게 된다. 결국 용출 고체 잔유물에는 Au와 Ag가 농축되며, 고체 잔유물에 함유되어 있는 Au를 왕수 혹은 cyanide 용액으로 용해시켜 회수하거나 납-시급법을 이용하여 회수하기도 한다(Barefoot and van Loon, 1999; Suominen et al., 2004).

Au가 석회석 모암의 황화광물에 수반되는 경우, 부선정광에 석회석이 부화되게 되는데, 이 부선정광에 호산성 박테리아를 접종하여 생물학적으로 산화시키면, 석회석에 의하여 용출 배양액의 pH가 증가하게 된다. pH 상승은 호산성 박테리아의 생존을 어렵게 하고 결국 미생물용출이 중지된다. Pinches et al.(1976)은 미생물용출 전에 정광을 황산으로 세척하여 pH 상승을 막았으며, Mousavi et al.(2007)은

미생물용출 전에 부선통광에 부화된 석회석을 황산으로 제거하여 유용금속성분을 효과적으로 용출시켰다.

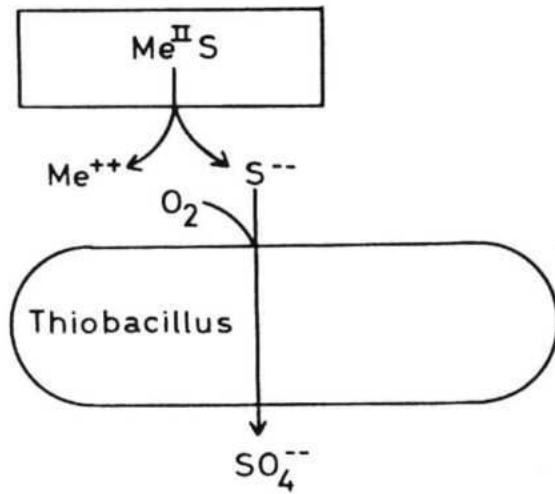


Figure 1. Model for the direct contact oxidation of sulfide minerals by bacteria.

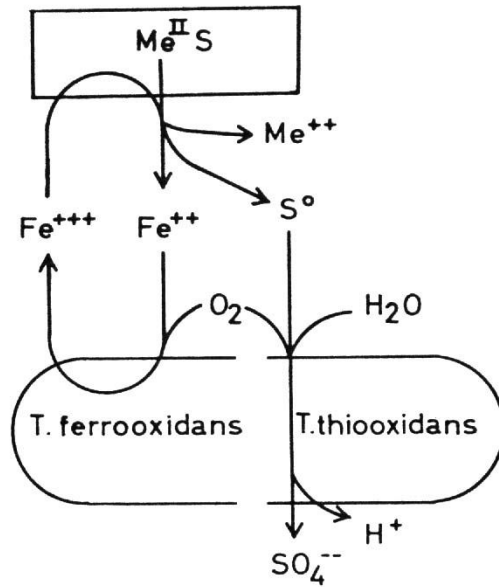


Figure 2. Model for the indirect contact oxidation of sulfide minerals.

3. 연구목적

본 연구에서는 토착박테리아의 산화능력을 이용하여 광석에 함유된 Au와 Ag의 품위를 향상시키고자 하였다. 따라서 산화능력이 우수한 미생물을 선정하기 위하여 5개 지역의 광산배수에서 토착미생물을 채취하였다. 미생물의 계대배양, 토착미생물에 대한 PCR과 16S rRNA 염기서열분석, 적응과 미생물 용출 과정에서 일어나는 물리적 특성을 분석하고, 미생물에 의한 용출량 변화, 그리고 용출 고체-잔류물에 함유된 Au와 Ag의 함량 변화를 비교 분석 하여, 석회석이 부화된 저항성 금광석으로부터 Au와 Ag의 품위를 효과적으로 향상시키고자 하였다. 미생물 용출실험에서 얻은 자료는 친환경적이고 효율적인 Au·Ag 회수 공정 설계에 이용 가능할 것으로 사료된다.

4. 시료 채취 및 분석방법

4.1. 광석광물 시료

본 연구에 사용된 정광과 광석광물은 충북 괴산군 연풍면 유상리 만장광산에서 채취하였다(Figure 3과 4). 만장광산은 1939년 광권이 설정된 후 동과 철을 대상으로 채광되어 오다가 일시 중단된 후 1969년 시추 및 탐광항 등을 시공하였다. 1973년에는 1,478 M/T(Cu 5 %)을 생산한 실적이 있지만, 다시 휴광된 상태이다(대한 광업진흥공사, 1974; 이평구 등, 2004; 이현구 등, 2008). 만장광산은 석회석을 모암으로 하는 스카른 및 열수함동맥상 광상으로 발달되어 있다(이현구 등, 2008). 스카른화 작용으로 발달한 서부의 형석-자철석광체, 석회암내에 발달된 열극을 충진한 구리가 풍부한 중앙 광체와 본 광체의 함동-중석 석영맥으로 구분되어지며, 석영맥의 주향 방향은 대체로 NS-NE 방향이 우세하다. 맥폭은 0.3-2.0 m 정도이다. 스카른 광물로는 석류석, 단사회석, 규회석, 녹렴석을 주로하며, 스카른의 서부광체는 자철석, 형석이 수반되며, 중앙과 본항광체는 황동석, 황철석, 자류철석 등이 주를 이루고 있다(신정숙, 1984; 이현구 등, 2008). 모암이 석회암으로 이루어져 있어 만장광산이 폐광된 이후 봉락된 갱도로부터 흘러나오는 폐수는 산도가 pH 7 정도의 중성을 띠는 특징을 보인다(김지수 등, 2002; 이평구 등, 2004). 만장광산에서 산출되는 황동석의 풍화작용은 주로 광물입자 내부의 균열부나 가장자리를 따라 발달되어 있으며, 황동석의 풍화단계는 4단계로 구분할 수 있다. 첫 번째는 단일 균열부를 따라 풍화되어 있으며, 두 번째 단계는 균열이 발달되어 균열부가 밀집된 곳에 철-산화광물 발달되어 있다. 세 번째 단계는 산화된 균열부가 겹쳐져 풍화가 많이 진행되어 철-산화광물이 떨어져 구멍이 생겨 일부만 관찰되며 황동석이 제대로 보이지 않는 경우를 의미하며, 네 번째 단계는 철-산화광물의 상단 부분이 떨어져 균열부가 커져 있으며 황동석이 관찰되지 않는 단계를 지시한다(이인경 등, 2003; 이평구 등, 2004). 또한, 일부 황동석은 광물 입자를 따라 풍화가 진행되는 것을 관찰할 수 있었다.

본 연구에서는 만장광산의 광물의 표면을 확인하고 광석광물에서 산출되는 금속 광물의 특성을 알아보기 위하여 연마편을 제작하여 편광반사현미경(Leitz, Othplanpol)으로 관찰하였다. 또한, 용출실험에 사용할 정광의 경우 시료의 불균질

성에 의한 산화작용의 용출 변화의 영향을 최소화하기 위하여 대표적 정광 시료를 잘 혼합하여 사용하였다. 또한 미생물 효과적인 용출을 위해 배지, 광액농도, 배양액의 양을 고려하여 준비하였다.

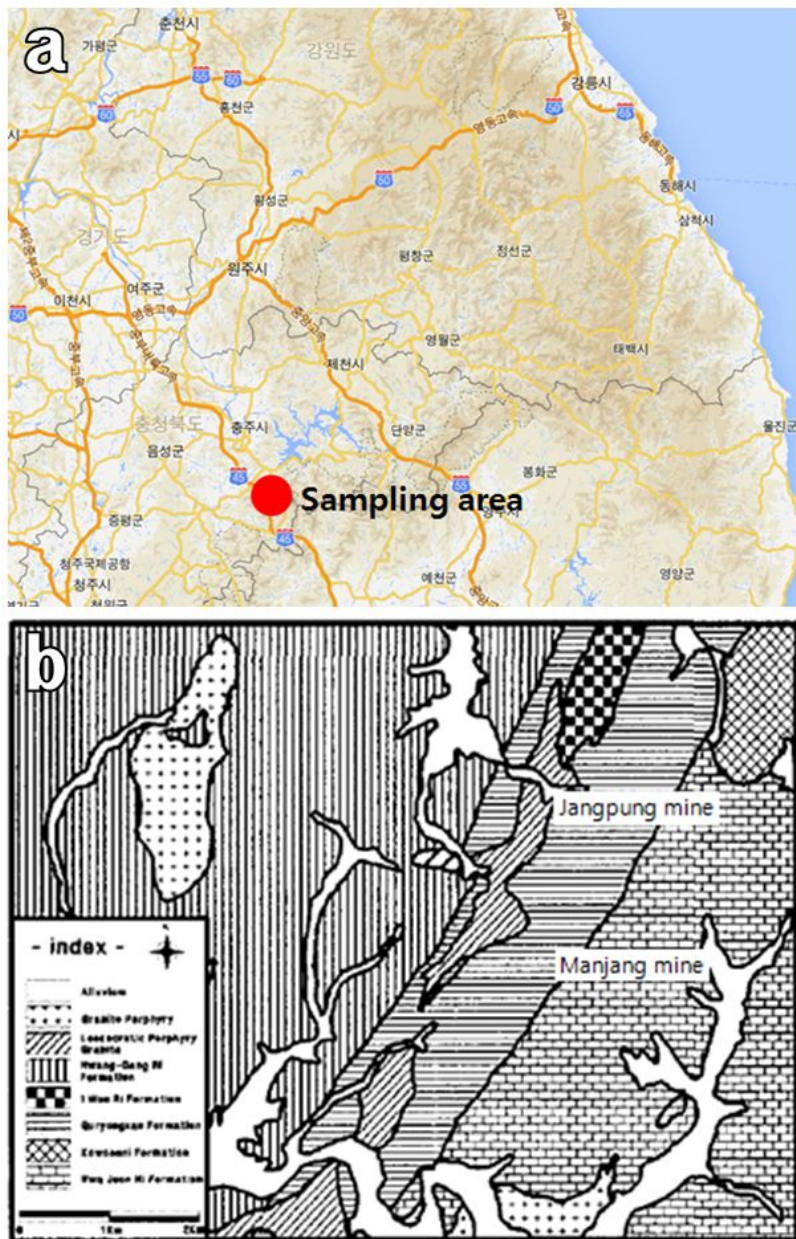


Figure 3. The sampling location(a) and geologic map(b) of Manjang area(Lee et al, 1972).

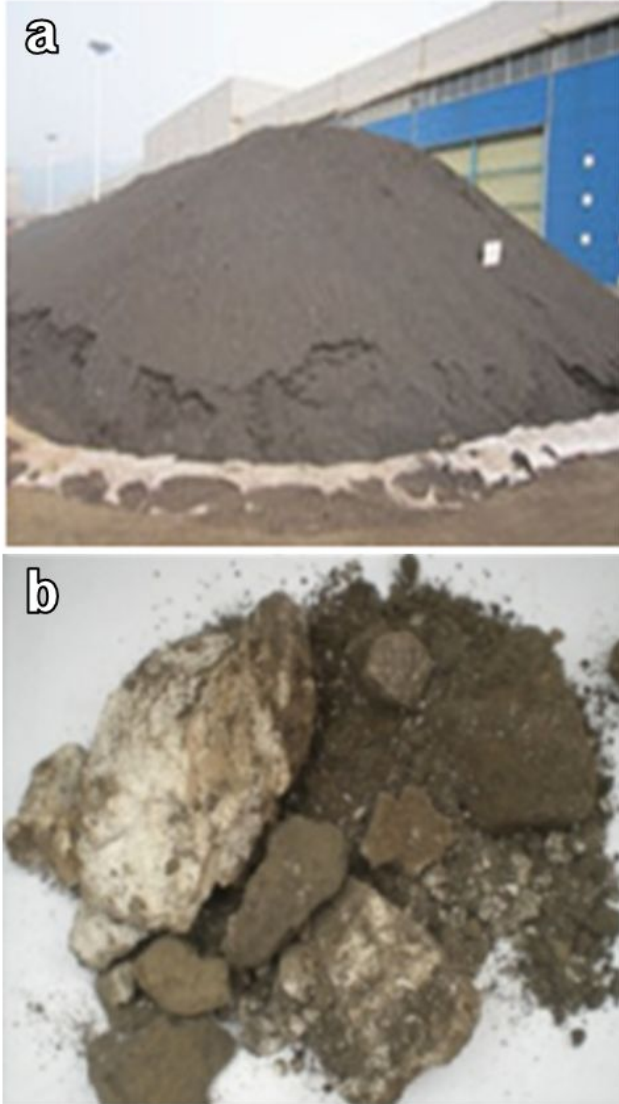


Figure 4. The concentrate(a) and ore sample(b) in Manjang mine.

4.2. 미생물 채취

생물학적 용출 실험을 위해 울진(KUJ), 해남(KHN-2, KHN-3), 화순(KHS-3), 봉화(KYH) 등 총 5개 지역의 광산배수에서 토착 호산성 미생물을 채취하였다. 산화능력이 우수한 미생물을 선정하기 위하여 5개 지역의 광산배수 10 ml를 각각 채취하여 현장에서 성장-배양액에 접종하였다. 성장-배양액에 접종된 5개 지역의 미생물을 항온배양기에서 32 °C로 30일 동안 배양하였다. 성장-배양액의 조성은 무기성분과 에너지원으로 구성하였다. 무기성분은 황산암모늄((NH₄)₂SO₄) 0.2 g/L, 황산마그네슘(MgSO₄ · 7H₂O) 0.5 g/L, 염화칼슘(CaCl₂) 0.25 g/L 및 인산이수소칼륨(KH₂PO₄) 3.0 g/L을 3차 증류수 1.0 L에 용해시켜 제조하였으며, 에너지원으로 원소 황 분말 1.0 g/L과 황산제일철(FeSO₄ · 7H₂O) 5.0 mg/L을 첨가하였다. 미생물의 계대배양(subculture)은 28일 주기로 9회 반복하였다(Figure 6).

Table 1에서 보는 바와 같이, KUJ의 경우, 초기 계대배양 용액의 pH가 4.46이었으나, 28일 수 pH는 2.11로 감소되었다. 이와 같이 계대 배양 용액의 pH가 감소하는 이유는 토착미생물의 에너지 원으로 첨가한 S⁰과 Fe²⁺가 산화되었기 때문이다. 식(1), (2) 와 (3) 같이 S⁰과 Fe²⁺가 산화될 때 H⁺ 이온이 생성되어 배양액의 pH가 감소하게 된다.



미생물의 산화능력, 미생물이 서식하였던 광산배수의 광석광물 등의 인자들을 고려했을 때, 용출실험에 적합한 미생물은 KUJ로 나타났다. 선정된 KUJ 미생물은 용출실험을 수행하기 위하여 적응실험에 사용하였다. KUJ 미생물은 경상북도 울진군 북면 덕구리 울진광산의 광산배수에 서식하는 토착미생물이다(Figure 5).

Table 1. Sampling site of indigenous bacteria and subculture

Sample name	Indigenous bacteria		Subculture(28 days)			Cycle
	Site	Host mineral	pH initial	pH final	difference	
KUJ	mine drainage	pyrrhotite	4.46	2.11	2.35	9
KHN-2	mine drainage	pyrite	4.53	2.24	2.29	9
KHN-3	mine drainage	pyrite	4.62	2.35	2.27	9
KHS-3	mine drainage	pyrite	4.16	2.01	2.15	9
KYH	mine drainage	pyrrhotite	4.56	2.76	1.80	9

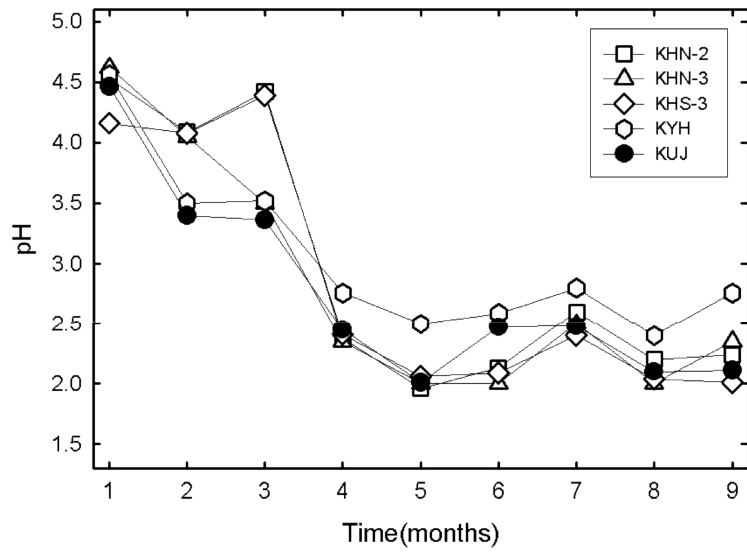


Figure 5. The pH variation on the time in subculture experiment(KHN-2; Haenam, KHN-3; Haenam, KHA-3; Hwasun, KYH; Bonghwa, KUJ; Uijin).



Figure 6. Sampling in acid mine drainage of Uljin mine (pH=3.15).

4.3. Polymerase chain reaction

PCR(polymerase chain reaction)기법은 현재 유전물질을 조작하여 실험하는 거의 모든 과정에 사용하고 있는 검사법으로, 검출을 원하는 특정 표적 유전물질을 증폭하는 방법이다. 또한, 중합효소 연쇄 반응에 의해, 소량의 유전물질로부터 염기 순서가 동일한 유전물질을 많은 양으로 증폭할 수 있으므로 많은 분야에서 사용되는 방법이다. DNA 사슬의 분리를 위한 열변성(denaturation), 시발체의 결합(annealing) 및 신장반응(extention)등 3가지의 주요 단계로 구성된다. 열변성 단계는 DNA polymerase가 DNA 합성을 위해 double strand를 single strand로 바꿔주는 단계이다. 즉 DNA polymerase가 single strand에 부착하여 이것을 template로 삼아 상보적인 strand를 형성하는 것이다. 그러므로 DNA polymerase가 작용하기 위해 DNA double strand가 풀어져야만 한다. 1가닥의 DNA는 증폭시키고자 하는 유전정보를 가지고 있고, 다른 DNA 가닥은 그 가닥의 상보가닥이다. 결합 단계에서는 single strand로 해리된 DNA에 Primer를 부착하는 과정을 말하며, 이 과정에서의 온도는 PCR에서 중요한 요인으로 작용한다. 그 이유는 온도가 너무 높게 되면 Primer와 Template DNA가 서로 결합하지 못하고 분리된 상태로 남아있게 되며, 온도가 너무 낮으면 Primer가 상보적 부위에만 결합하지 않고 비 특이적인 부위에도 결합하기 때문이다. 연장 단계는 dNTPs와 DNA polymerase를 넣어 Primer가 연장, 중합 되는 과정을 말하며, 이 단계에서는 높은 온도에서도 활성을 잃지 않게 안정성을 유지하는 것이 중요하다.

9회 배양된 울진 미생물에 대한 유전자 염기서열 분석을 다음과 같은 순서로 진행하였다. Genomic DNA extraction은 1ml의 PBS(Phosphate-buffered saline) 용액에 분리된 미생물을 혼합한 후 vortex mixing하여 시료를 균질화 시킨다. 그리고 원심분리기를 이용하여 5분 동안 8,000 rpm으로 고액 분리한 후, 상등액을 버리고, Lysis sol. 200 μ L를 분주, vortex mixing하여 균질화 하는 과정을 총 3회 반복하였다. 100 $^{\circ}$ C에서 5분동안 배양을 거친 시료를 13,000 rpm, 10분 동안 원심 분리하였다. PCR은 95 $^{\circ}$ C에서 5분간 열변성 단계, 56 $^{\circ}$ C에서 시발체 결합 단계, 72 $^{\circ}$ C에서 신장반응 단계를 각 45초씩 총 38회 시행한 후, post-extension을 72 $^{\circ}$ C에서 10분간 수행하여 4 $^{\circ}$ C에 보관하고 5 μ L의 PCR 산물을 ethidium bromide가 첨가된 1.8 %의 아가로오스에서 전기 영동하여 확인하였다. 증폭된 PCR 산물을 Geneal

kit을 이용하여 분리하였으며, Basic Local Alignment Search Tool(BLAST)와 GenBank database를 이용하여 염기서열을 비교분석 하였다(최낙철 등, 2013).

4.4. 미생물 적응실험

적응실험은 9회 계대배양 된 울진 미생물을 사용하였다. 그리고 계대배양 된 미생물이 중금속 이온에 내성이 형성될 수 있도록 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (1.5 g)이 용해된 적응-배양액에서 배양하였다. 적응-배양액의 조성은 T & K 배지(Tuovinen and Kelly, 1973)를 사용하였고, 조성은 무기성분과 산화에너지 원으로 구성하였다. 무기성분은 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.4 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.4 g/L, 인산일수소칼륨(K_2HPO_4) 0.4 g/L, 3차 증류수 1.0 L에 용해시켰으며, 산화에너지원으로 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 33.3 g/L을 첨가하였다. 그리고 0.11 N H_2SO_4 을 1.121 ml/L를 첨가하여 T & K 배지 pH를 조정하였다. 미생물이 적응되는 동안 pH와 Eh 변화를 3일 간격으로 측정하였으며, 미생물이 적응되는 것을 확인하기 위하여 적응-배양액에서 미생물을 채취하였다. 미생물 확인은 SEM 및 EDS로 수행하였다.

4.5. 미생물 용출실험

용출실험은 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 에 적응된 울진 미생물을 15ml를 취하여 만장광산 정광 20 g과 함께 용출-배양액에 혼합하여 30일 동안 수행하였다. 용출실험은 미생물이 없는 비교시료(control), 적응되지 않은 미생물, 즉 비-적응 미생물 시료(non-adaptation), 그리고 Cu 이온에 적응된 미생물, 적응 미생물 시료(adaptation)로 각각 수행하였다. 용출실험의 초기 pH는 H_2SO_4 를 이용하여 2.0으로 조정하였으며, 32 °C의 온도를 유지하며 120 rpm의 교반과 7 L/min의 공기주입을 하였다. 그리고 용출실험이 진행되는 동안 3일의 간격을 두고 pH와 Eh를 측정하였으며, 분석용 시료 2 ml를 채취하였다. 분석용 시료는 0.45 μm 여과지를 이용하여 여과한 후 질산을 이용하여 산처리 하였으며, 용출실험은 모두 중복실험으로 수행하였다. 3일 간격으로 채취한 양이온 시료는 Cu, Pb 및 Fe 함량을 원자흡광분광기(atomic absorption spectrophotometer. model; AA-7000, Shimadzu)로 측정하였다. 용출실험이 종료된 용출-배양액 10ml를 취하여 전자현미경(electron scanning microscope, Japan, Hitachi, S4800))으로 부유성 미생물과 광석광물에 부착된 미생물을 관찰하였다.

4.6. 고체-잔류물 화학적 분석

용출-배양액에서 용출 고체-잔류물을 Whatman No 1번 여과지로 여과하여 채취하였다. 증류수로 세척하고 자연건조 시킨 고체-잔류물은 -200 mesh로 분쇄한 후 왕수로 분해하였다. 0.75 g의 분말시료를 heating block(model; DMB-2, 24 hole)에서 70℃로 1 시간 동안 분해한 후, 0.45 μm 여과지로 여과한 후 원자흡광분광기 (atomic absorption spectrophotometry, AAS, AA-7000, Shimadzu, Japan)로 Au, Ag, Fe, Cu, Pb 함량을 측정하였다.

4.7. 고체-잔류물 납-시금법

용출 고체-잔류물에 함유된 Au량을 비교해보기 위해 납-시금법을 수행하였다 (Figure 7). 납-시금법은 플래티늄 그룹원소인 플래티늄, 팔라듐, 로듐과 금을 주로 분리·농축하는데 이용된다. 납-시금법은 분말시료, 산화납, 소다회, 붕사, 규사, 밀가루 등을 도가니에 넣고 용융시키면, 산화납이 용융되어 납으로 환원되면서 플래티늄 그룹원소와 Au을 포집하여 도가니 바닥을 침전시킨다(Potts, 1987). 이와 같이 귀금속들이 포집된 납 합금을 납추라 하며, 규산염광물과 Cu, Pb 및 Zn 등과 같은 금속들은 용융되어 유리질 슬래그로 분리되어 도가니 위로 뜬다. 이때 여러 가지 요인에 의하여 Au이 납추로 포집되지 못하고 슬래그로 유입된다. 납-시금법은 극미량의 Au 함량을 결정하는데 편리하게 사용되어 왔으나, 많은 양의 용제가 사용되기 때문에 오차가 발생할 수 있다. 또한 여러 가지 요인에 의하여 Au이 시금과정에서 손실된다(Van Loon, 1977; Baker, 1985; Juvonen and Baananen, 1993; Balcerzak, 2002; Suominen et al., 2004; Turan and Yucel, 2011). 납추가 형성되는 과정에서 Au이 슬래그로 약 2 % 손실되고, 큐펠레이션 과정에서 약 1 %가 손실된다(Baker, 1985). 황화광물이 효과적으로 용융되지 않아 Au 손실이 초래되기도 하며(Van Loon, 1977; Potts, 1987), 또한 규산염광물이 너무 적어 지나친 점성으로 인하여 Au 손실이 발생한다(Potts, 1987). 조강희 외(2012)는 납-시금법에서 슬래그로 손실되는 Au 손실원인과 손실을 줄이는 연구결과를 보고한 바 있으며, 이러한 Au 손실의 원인으로는 시금과정 중에 녹지 않은 석영과 효과적으로 침전되지 않은 납에 의한 것으로 이를 위해 다양한 용제혼합으로 시금법을 수행하였다. 일반적으로 납-시금법에서 규산염광물을 용해시키기 위하여 소다회나 붕사 이외에 다양한 용제를 첨가하며, 용제의 선택이나 용제 첨가량의 부족, 용제 균형이 맞지 않아 Au의 손실이 일어나는 것으로 사료되고 있다.

이를 고려하여, 고체-잔류물 10.0 g를 각각 용제혼합물(fusion mixture, 소다회 90.0 g, 산화납 20.0 g, 붕사 7.0 g, 규사 7.0 g, 밀가루 7.0 g)들과 비닐봉지에서 잘 혼합하였다. 정광시료들은 사분법(coning and quartering)으로 채취하였다. 자연금(native gold) 혹은 단체분리된 Au은 연성 특성과 비중으로 인하여 flake gold effect 및 nugget effect가 발생할 수 있기 때문에(Juvonen and Vaananen, 1993; Allan and Woodcock, 2001), 시료 채취 과정에서 오차가 발생할 수 있다(Liipo,

2003). 그리고 용융체의 손실을 방지하기 위해 도가니에 장입한 혼합물 표면을 소금으로 도포하였다. 혼합물이 1,200℃로 용융되는 과정에서 소다회와 밀가루가 CO₂ 가스로 변환되며, 변환된 CO₂ 가스는 점성의 용융체를 탈출하면서 용융체의 손실을 야기시킨다(McIntosh et al., 2006). 정광시료와 용제혼합물이 들어있는 점토-도가니를 전기 머플 도가니(muffle furnace)에 넣고 공기를 공급하면서 940℃에서 40분간 가열하였다. 그런 다음 공기를 차단하고 1,150℃로 1시간 동안 지속시켰다. 이때 레이저 온도계(DS2-2000)로 용융 온도를 측정하였다. 용융체를 iron mold에 붓고 자연 냉각시켰다. 냉각된 용융체를 햄머로 두드려 유리질 슬래그와 납추로 분리하였다. 납추는 큐펠-도가니(bone ash crucible, 높이 3 cm, 외경 4 cm, 내경 3 cm, 체적 6.75 cm³)에 넣고 940℃에서 40분간 가열하였다. 이때 남은 산화되면서 큐펠 도가니 속으로 흡수된다. 그러면 큐펠-도가니 바닥에 Au과 Ag의 합금인 은추(silver bead)가 남는다. 남은 은추를 이용하여 Au의 무게를 측정한 후, SEM 및 EDS를 이용하여 반 정량 분석을 하였으며, 왕수를 이용하여 녹인 은추에 대해 왕수분해 하여 원자흡광분광기로 화학적 분석을 실시하였다.



Figure 7. The method of lead-fire assay analysis in this study (a; weighting of fusion flux, b; fusion, c; molding, d; separation of glassy slag, e; cupellation, f; silver beads in the bone ash crucible).

5. 결과 및 고찰

5.1. 광석광물

만장광산의 광석광물을 편광현미경으로 관찰한 결과 주로 황철석(61 %), 방연석(15 %), 섬아연석(4 %), 황동석(2 %), 맥석광물(13 %)로 구성되었다(Figure 8). 황철석은 광석광물의 대부분을 차지하며 자형결정인 cubic form으로 산출되며, 가끔 황철석 내부 크랙 사이에 황동석과 방연석을 함유하기도 한다. 방연석은 주로 섬아연석과 수반되며 전형적인 예각삼각형과 스크래치가 관찰된다. 섬아연석은 주로 광염상으로 석영에 단독으로 산출되며 간혹 황동석과 용리구조를 이룬다. 이들 광석광물에서 Au 혹은 Ag 함유 광물을 육안으로 확인할 수 없었는데, 이는 Au와 Ag를 함유한 광물이 0.1 μm 이하의 극 미립자이기 때문이라 사료된다(Maddox et al., 1998; Ashley et al., 2000). 용출실험에 사용한 정광에 대해 화학 분석한 결과 Fe (11.38 %), Cu (8.35 %), Zn (1.80 %), Pb (73.27 %), Ca (0.79 %), Mg (2.84 %), Na (1.16 %), K (0.41 %)였으며, Au (12.70 g/t), Ag (98.79 g/t) 가 분석되었다.

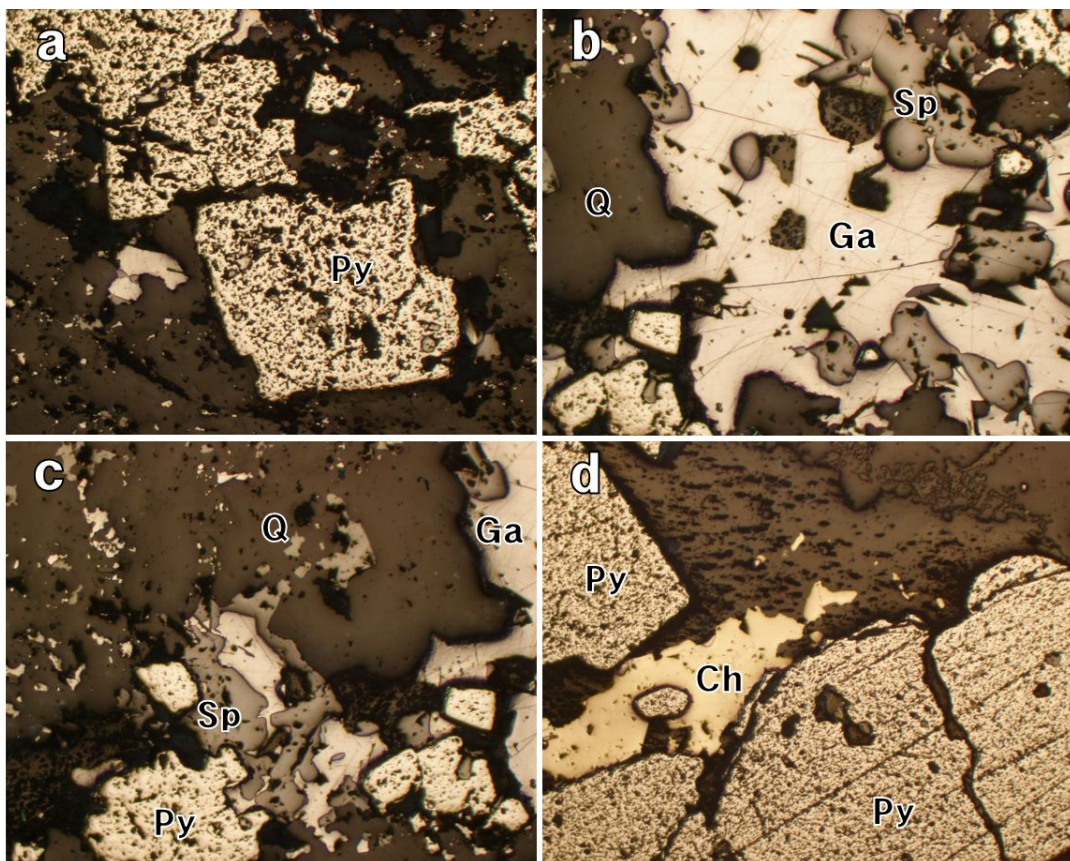


Figure 8. Photomicrographs of ore mineral from the Manjang mine(Ch; chalcopyrite, Ga; galena, Py; pyrite, Q; quartz, Sp; sphalerite).

5.2. 염기서열 분석

토착 호산성 미생물 내 세균의 군집을 분석하기 위해 세균에 특이적인 27F forward와 1492R reverse primer를 사용하여 약 1,500bp 크기에 해당하는 PCR 산물을 확인 하였다. 30개의 clone 중, 올진 미생물을 선정하여 ATCC 23270 표준균주인 *Acidithiobacillus ferrooxidans*의 염기서열을 pairwise 비교 정렬(alignment sequence) 검사를 Figure 9에 정리하였다. 올진 미생물에 존재하는 클론들은 모두 *Acidithiobacillus ferrooxidans* 표준균주와 100 % 의 유사도 지수를 보이는 것을 알 수 있었다. 일반적으로 유사도가 97% 이상이면 같은 종(species)으로 해석한다 (Stackebrandt and Goebel, 1994). 김봉주(2012) 등에 의하면 토착호산성 박테리아에 대하여 중합효소연쇄반응(PCR)과 16S rRNA 염기서열을 분석한 결과 *Acidithiobacillus ferrooxidans*와 유사도가 98.5 % 이상으로 나타난 연구가 있다.

```

result: Thiobacillus(Acidithiobacillus) ferrooxidans (100%)

>gb|GU167985.1| Acidithiobacillus ferrooxidans voucher BGR:37 16S ribosomal RNA
gene, partial sequence
Length=1495

Score = 798 bits (432), Expect = 0.0
Identities = 432/432 (100%), Gaps = 0/432 (0%)
Strand=Plus/Minus

Query 1   AGCAGATTGTATTAGAACCACCTTTTCGTCTCCACGAAAGGACTTTACAACCCGAAGG 60
          |||
Sbjct 463  AGCAGATTGTATTAGAACCACCTTTTCGTCTCCACGAAAGGACTTTACAACCCGAAGG 404

Query 61   CCTTCTTCATCCACGCGGATTGCTTCGTCAGGGTTGCCCCATTGCGAAAAATCCCCA 120
          |||
Sbjct 403  CCTTCTTCATCCACGCGGATTGCTTCGTCAGGGTTGCCCCATTGCGAAAAATCCCCA 344

Query 121  CTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTCCCAGTGTGGCTGGTCTCTCT 180
          |||
Sbjct 343  CTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTCCCAGTGTGGCTGGTCTCTCT 284

Query 181  CAGACCAGCTACCGATCGTCGCCTTGGTGGGCCTTTACCCCGCAACTAGCTAATCGGAC 240
          |||
Sbjct 283  CAGACCAGCTACCGATCGTCGCCTTGGTGGGCCTTTACCCCGCAACTAGCTAATCGGAC 224

Query 241  GTAGGCTCCTCTCTTAGCGCGAGGTCCGAAGATCCCCCGCTTTCCCCCTCAGGGCTCATG 300
          |||
Sbjct 223  GTAGGCTCCTCTCTTAGCGCGAGGTCCGAAGATCCCCCGCTTTCCCCCTCAGGGCTCATG 164

Query 301  CGGTATTAGCCCAAGTTTCCCTGGGTTGTCCCCCACTAAAAGACAGATTCTACGCATTA 360
          |||
Sbjct 163  CGGTATTAGCCCAAGTTTCCCTGGGTTGTCCCCCACTAAAAGACAGATTCTACGCATTA 104

Query 361  CTCACCCGTCGGCCACTCGTCAGCATCCGAAGACCTGTTACCGTTCGACTTGCATGTGTT 420
          |||
Sbjct 103  CTCACCCGTCGGCCACTCGTCAGCATCCGAAGACCTGTTACCGTTCGACTTGCATGTGTT 44

Query 421  AGGCATGCCGCC 432
          |||
Sbjct 43  AGGCATGCCGCC 32

```

Figure 9. The alignment of the 16S rRNA sequences isolated from Uljin bacteria with those of *A. ferrooxidans*(ATCC 23270 type strain).

5.3. 적응실험에 대한 pH 변화 및 특성

T & K 적응-배양액에서 울진토착미생물을 21일 주기로 2회 적응시켰다. 1.5 g의 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 을 300 ml 적응-배양액에 용해시킨 후의 Cu^{2+} 이온 농도는 약 381.98 mg/l이 된다.

1차 적응-배양액의 초기 pH가 2.62이었으나 미생물이 적응되면서 pH가 서서히 감소하여 21일 후에는 1.76으로 나타났다. 그리고 1회 적응된 박테리아를 다시 2회 적응시키자 pH 감소가 더 빠르게 감소하여 21일 후에는 1.4로 나타났다(Figure 10). 2회 적응시키는 동안 미생물의 생존을 확인하기 위하여 각각 21일 주기로 미생물을 0.2 μm 로 여과하여 SEM에서 관찰하였다. Figure 11에서 보는 바와 같이 수많은 미생물들이 Cu^{2+} 이온이 용해된 적응-배양액에서 생존하였음을 확인하였다. 이들 미생물들의 크기는 약 0.5×0.8 μm 에서 약 0.3×2.4 μm 범위이고 막대모양으로 관찰되었다. Figure 11a의 미생물들은 21일 동안 1회 적응된 것이고 Figure 11b는 2회 적응된 것이다. 이와 같은 배양 조건에도 불구하고 수많은 미생물들이 생존하였다는 것은 이들 미생물들이 고농도의 Cu^{2+} 이온과 낮은 pH 환경에 적응되었음을 지시하는 것이다(Tuovinen and Kelly, 1973; Attia and El-Zeky, 1990; Haghshenas et al., 2009).

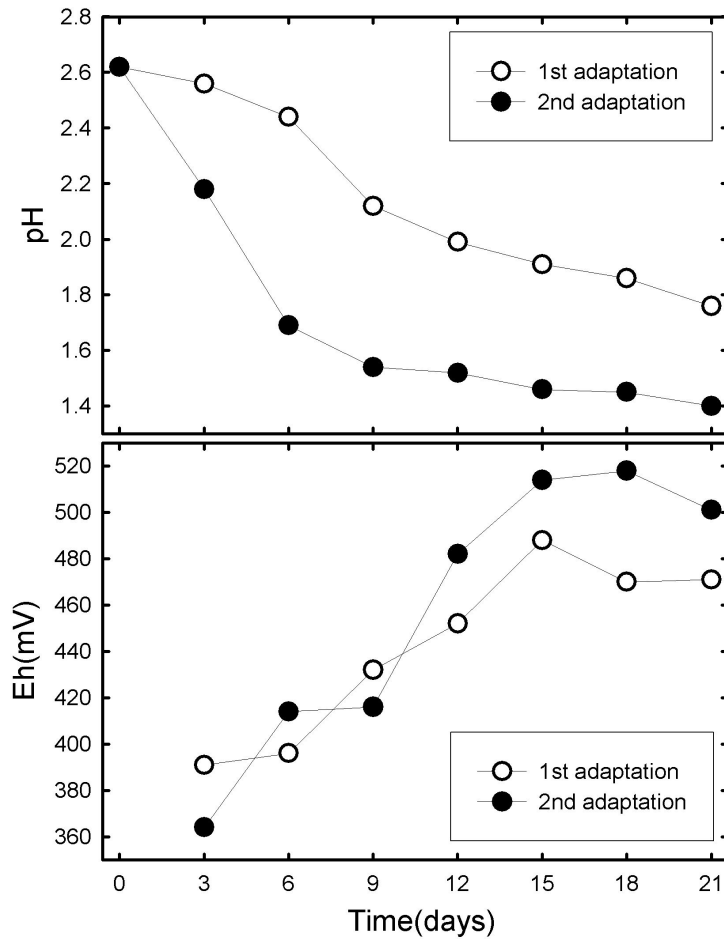


Figure 10. The variation of pH and Eh on the time in adaptation-medium containing $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

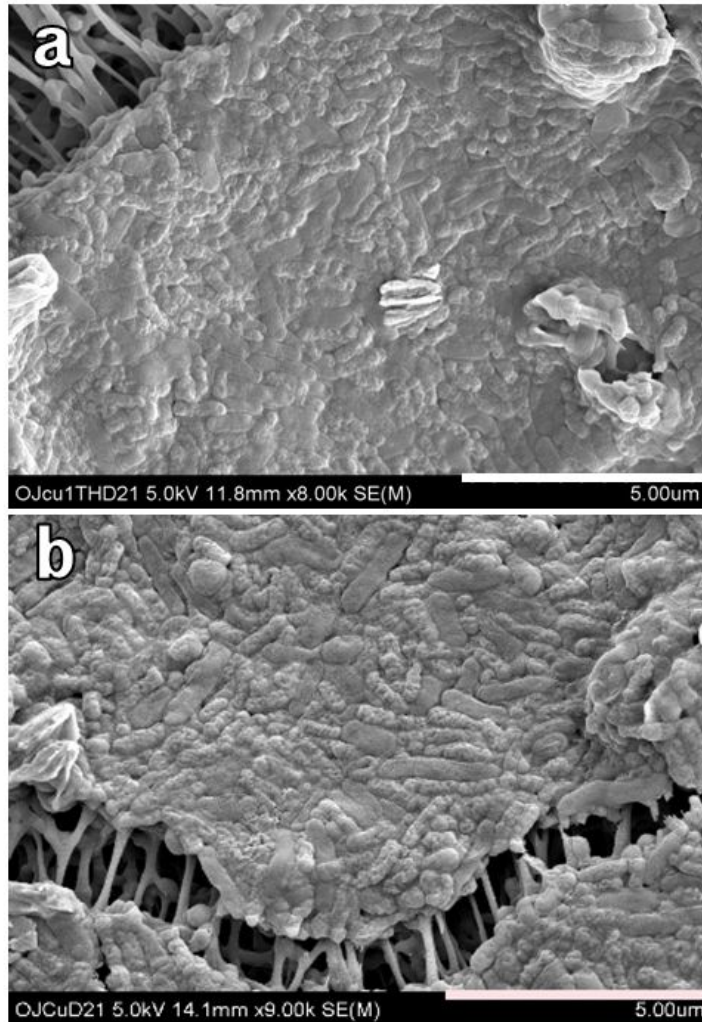


Figure 11. The SEM image of indigenous acidophilic bacteria.
(a) The 1st adaptation with $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ for 21 days(pH=1.76), (b) The 2nd adaptation with $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ for 21 days(pH=1.4).
The scale bar is 5.0 μm (a and b) in length.

5.4. 용출실험에 대한 pH 변화 및 특성

용출실험에 이용한 미생물은 21일 동안 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 에 2회 적응된 미생물을 사용하였다. 미생물이 포함된 적응-배양액 20 ml를 용출-배양액 2000 ml에 접종하였기 때문에 접종비율(v/v)은 1 %이었고, 정광 20g를 용출실험에 사용하였으니 광액농도(w/v)는 1 %이었다. 비-적응 미생물 시료와 적응 미생물 시료의 초기 pH는 2.0이었으나 용출실험이 진행되는 동안 서서히 감소하여 30일 후에는 각각 1.77과 1.38로 나타났다(Figure 12). 이와 같이 용출-배양액의 pH가 감소하는 원인은 미생물의 대사 작용으로 인하여 정광의 황화광물이 생물학적으로 산화되어 H^+ 이온이 발생하였기 때문이다(Attia and Elzaky, 1989; Abbruzzese et al., 1994). 그러나 초기 pH 2.0인 비교시료의 pH는 용출실험이 진행되는 동안 서서히 증가하여 30일 후에는 2.63으로 나타났다. 이와 같이 pH가 증가한 원인은 무기적 산화작용으로 인하여 용출-배양액의 H^+ 이온이 소비되었기 때문이라 사료된다(Groudev et al., 1996; Ubaldini et al., 2000; Kaewkannetra et al., 2009).

용출실험이 종료된 30일, 용출-배양액(pH=1.38)에 포함된 부유성 미생물과 정광시료 표면에 부착한 미생물을 SEM에서 각각 관찰하였다(Figure 13과 14). Figure 13에서 관찰되는 미생물들은 용출-배양액 10 ml를 $0.2 \mu\text{m}$ 여과지에서 여과한 것이다. 이들은 2000 ml 용출-배양액에서 부유성으로 생존하는 미생물로서 막대 모양으로 나타나고 있다. 이들 부유성 미생물들은 배양액 속의 정광시료를 간접적산화작용으로 혹은 간접접촉산화작용으로 산화시키고 있음을 의미한다. Figure 12에서 관찰되는 미생물들은 $0.5 \times 0.6 \mu\text{m}$ 에서 $0.5 \times 1.7 \mu\text{m}$ 정도 크기의 막대 모양의 특징을 가지고 있으며, 정광시료 표면에 물리적으로 접촉하여 직접산화작용 혹은 직접접촉산화작용으로 정광시료를 산화시키는 것으로 해석할 수 있다(Silverman, 1967).

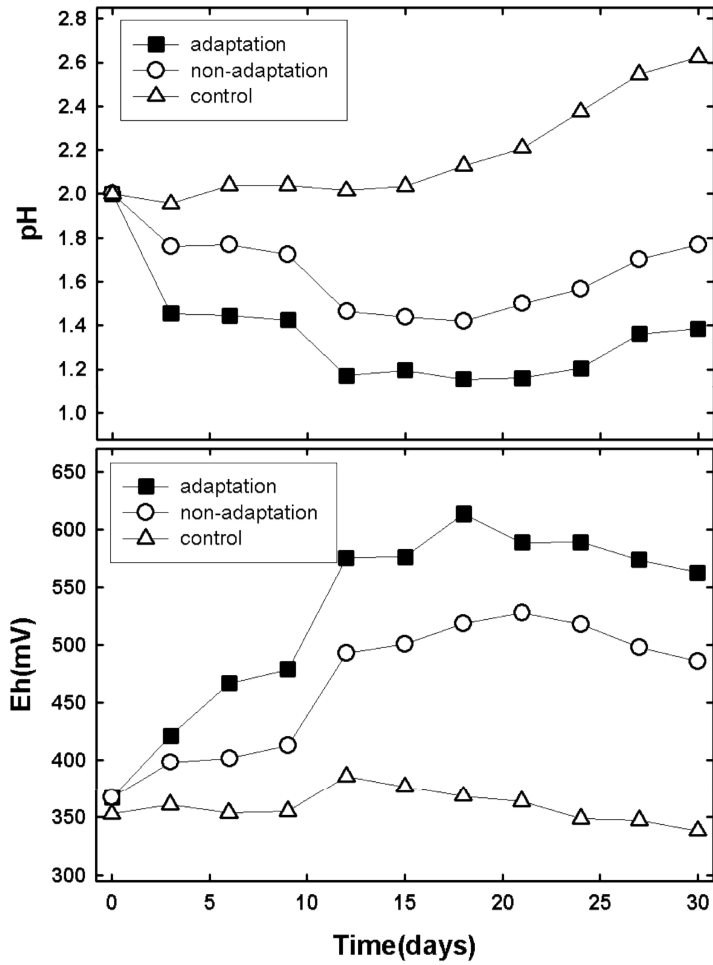


Figure 12. The variation of pH and Eh on the time in leaching-medium.

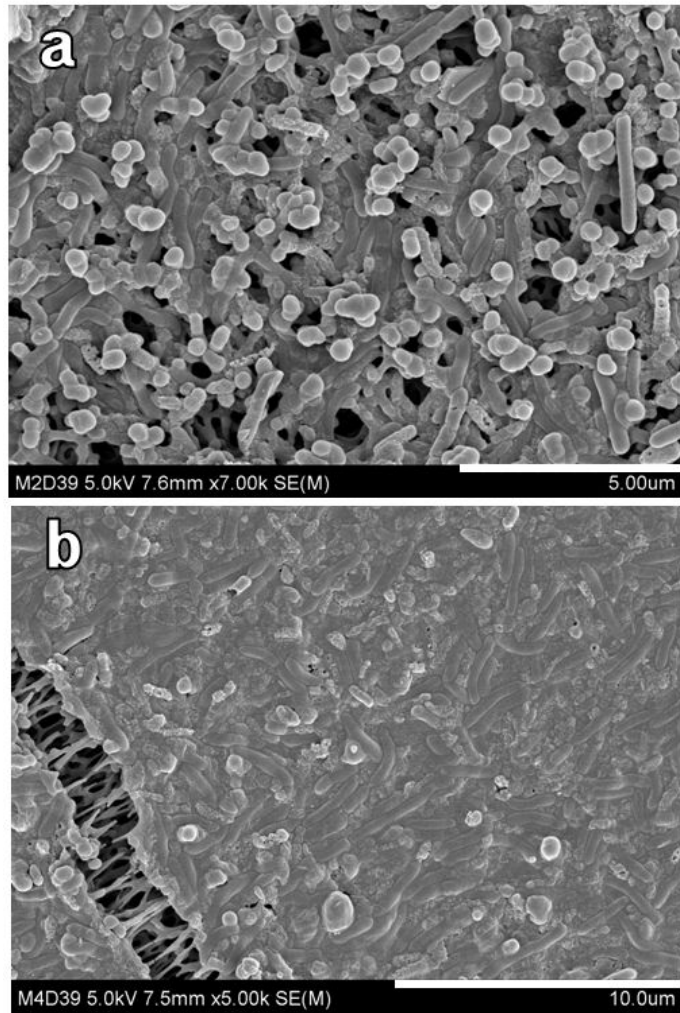


Figure 13. The SEM image of indigenous acidophilic bacteria on the surface ore in the leaching-medium at 30 days.

The scale bar is 5.0 μm (a) and 10.0 μm (b) in length.

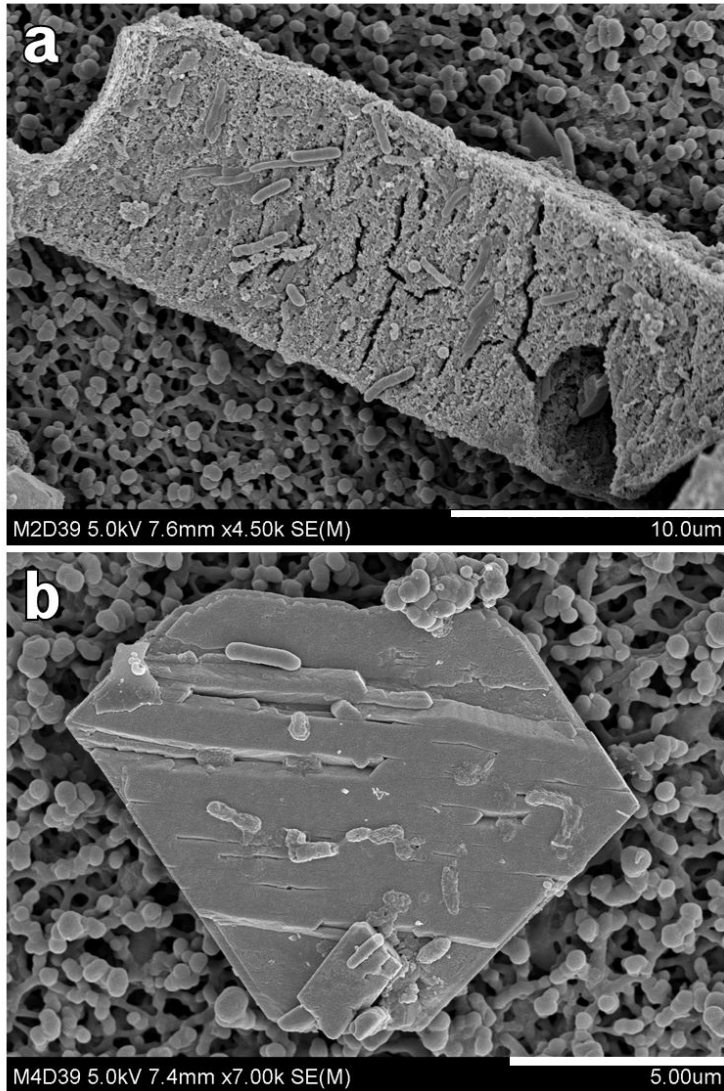


Figure 14. The SEM image of indigenous acidophilic bacteria on the surface ore in the leaching-medium at 30 days.

The scale bar is 10.0 μm (a) and 5.0 μm (b) in length.

5.5. 용출실험에서 Cu, Pb 및 Fe 이온의 용출량 변화

30일 동안 용출-배양액에서 용출된 Cu함량을 시간에 대하여 나타냈다. 비교시료에서 Cu의 용출량은 21.77 mg/l이었고, 비-적응 미생물 시료에서는 39.60 mg/l 그리고 적응 미생물 시료에서는 208.10 mg/l이었다(Figure 15). 적응 미생물에 의한 Cu 용출량은 비교시료에 비하여 9.6 배 이상으로 그리고 비-적응 미생물 시료에 비하여 5.7배 이상으로 높게 용출되었다. 용출율로 환산하면, 정광시료에 대한 적응 미생물의 용출 효율은 24.92 %이었다.

Pb의 경우, 비교시료에서 Pb가 2.45 mg/l, 비-적응 미생물 시료에서 15.19 mg/l 그리고 적응 미생물 시료에서 48.06 mg/l가 용출되었다(Figure 16). 이는 적응 미생물 시료에서 Pb가 비교 시료보다 19.6배 이상으로 그리고 비-적응 미생물 시료보다 3.1배 이상으로 용출되었다.

Fe는 비교시료에서 321.79 mg/l, 비-적응 미생물 시료에서 706.10 mg/l 그리고 적응 미생물 시료에서 757.01 mg/l가 용출되었다(Figure 17). 적응 미생물 시료는 비교시료에 비하여 Fe가 2.3배 이상으로 그리고 비-적응시료는 비교 시료에 비하여 2.1배 이상으로 높게 용출되었다. 비-적응시료와 적응 미생물 시료 사이의 Fe 용출량 차이는 크게 나타나지 않았다. 그러나 정광에 대한 적응 미생물의 용출율은 66.52 %를 보였다.

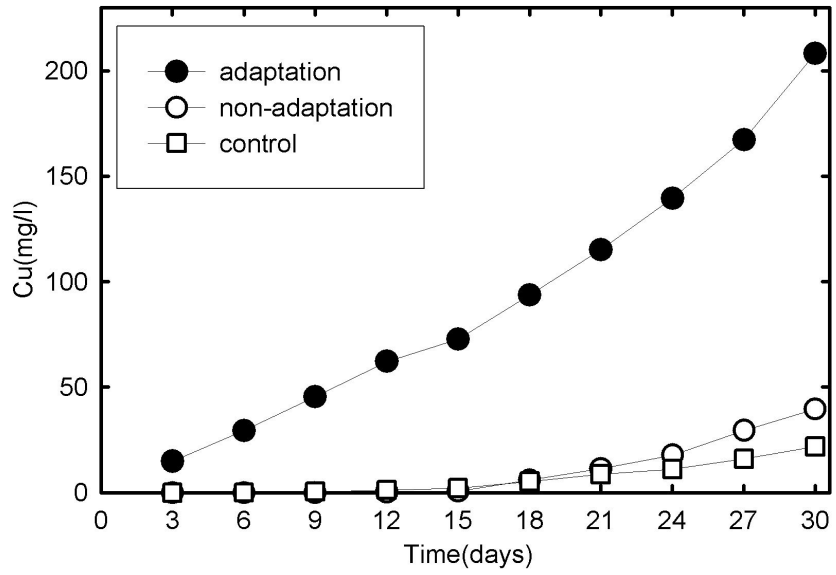


Figure 15. The variation of Cu on the time in leaching experiment for 30 days at 32°C.

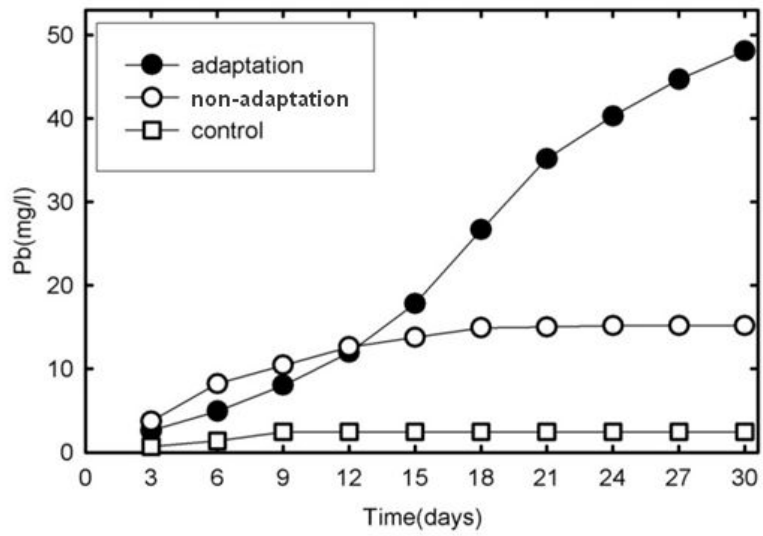


Figure 16. The variation of Pb on the time in leaching experiment for 30 days at 32°C.

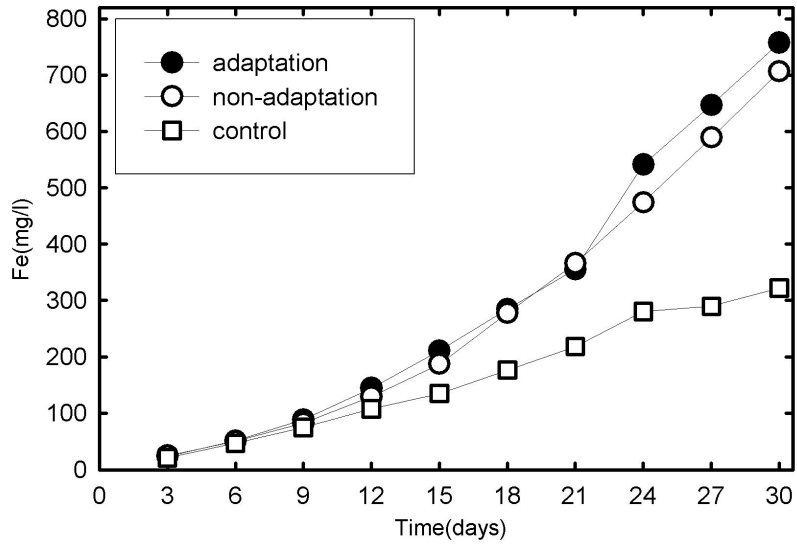


Figure 17. The variation of Fe on the time in leaching experiment for 30 days at 32°C.

5.6. 고체-잔류물에 대한 화학적 분석

30일 동안 용출실험이 종료된 용출 고체 잔유물에 대하여 왕수분해 한 결과 정광시료(concentrate)에서 Au가 12.71 g/t, 비교 시료에서 14.97 g/t, 비-적응 미생물 시료에서 16.34 g/t 그리고 적응 미생물 시료에서 20.88 g/t이었다. 용출율로 비교해보면, 적응 미생물은 정광시료에 대하여 64.28 %의 용출 효율을 보였고 비-적응 미생물은 28.56 %를 보였다. Ag는 정광시료에서 98.79 g/t, 비교 시료에서 100.91 g/t, 비-적응 미생물 시료에서 103.60 g/t 그리고 적응 미생물 시료에서 112.86 g/t으로 분석되었다 (Table 2). Au와 Ag의 함량은 생물학적 산화작용이 많이 진행된 고체 잔유물일수록 증가하였다. 그러나 Cu, Pb 및 Fe 함량은 Au와 Ag와는 반대로 생물학적 산화작용이 많이 진행된 고체 잔유물일 수록 그 함량이 감소하였다. 함량이 감소한 원인은 미생물이 저항성 금 광석을 생물학적 산화작용으로 Cu, Pb 및 Fe 등을 용액으로 용출시켰기 때문이다.

Table 2. The chemical composition of the residual solid after leaching experiment(digestion with aqua regia)

	raw concentrate	control	non-adaptation	adaptation
gold(g/ton)	12.71	14.97	16.34	20.88
silver(g/ton)	98.79	100.91	103.60	112.86
Fe(mg/L)	498.91	498.47	427.15	365.91
Cu(mg/L)	365.74	365.17	352.22	332.65
Pb(mg/L)	3210.35	3183.78	3160.09	3085.98

5.7. 고체-잔류물에 대한 납-시금법

용출 고체-잔류물에 대하여 납-시금법으로 남은 은추를 이용하여 Au의 무게를 측정한 결과, 비교 시료에 비해 적응 미생물 시료에서 Au의 무게가 증가함을 알 수 있었다(Figure 18). SEM 및 EDS를 이용하여 반 정량 분석을 한 결과, 비교 시료에 비해 적응 미생물 시료에서 Au의 함량이 증가하였다(Figure 19). 그리고 납-시금법을 이용하여 Au의 화학적 분석 결과, 비교 시료에서 4.175 g/t, 비-적응 미생물 시료에서 6.225 g/t 그리 적응 미생물 시료에서 6.675 g/t으로 나타났다. 비교 시료에 비하여 비-적응 미생물 시료에서 2.05 g/t의 Au가 더 회수되어 약 49.1 %의 용출 효율을 보였고 적응 미생물 시료는 비교 시료에 비하여 2.5 g/t의 Au가 더 회수되어 약 59.88 %의 용출 효율이 나타났다.

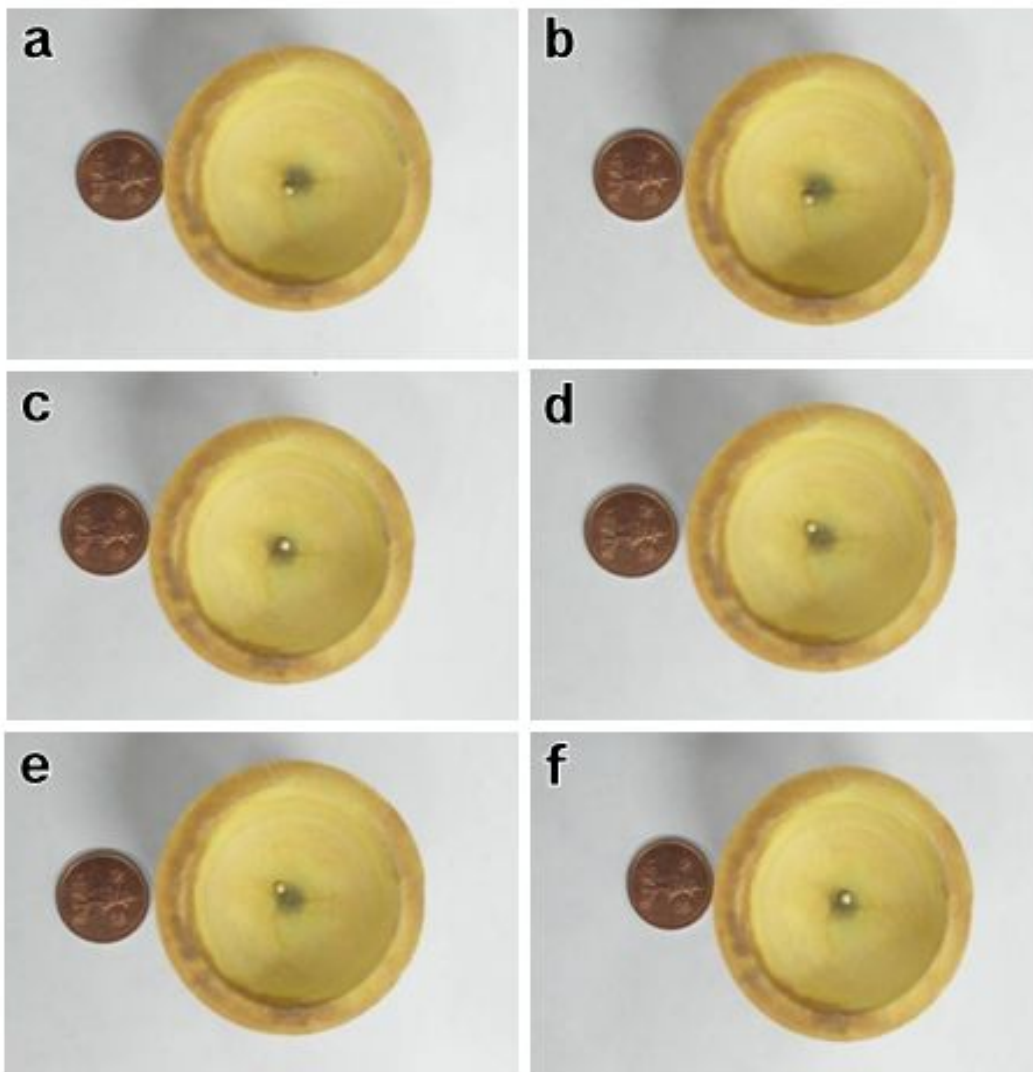


Figure 18. The fire assay of the residual solid after leaching experiment. (a) adaptation 1, (b) adaptation 2, (c) non-adaptation 1, (d) non-adaptation 2, (e) control 1, (f) control 2

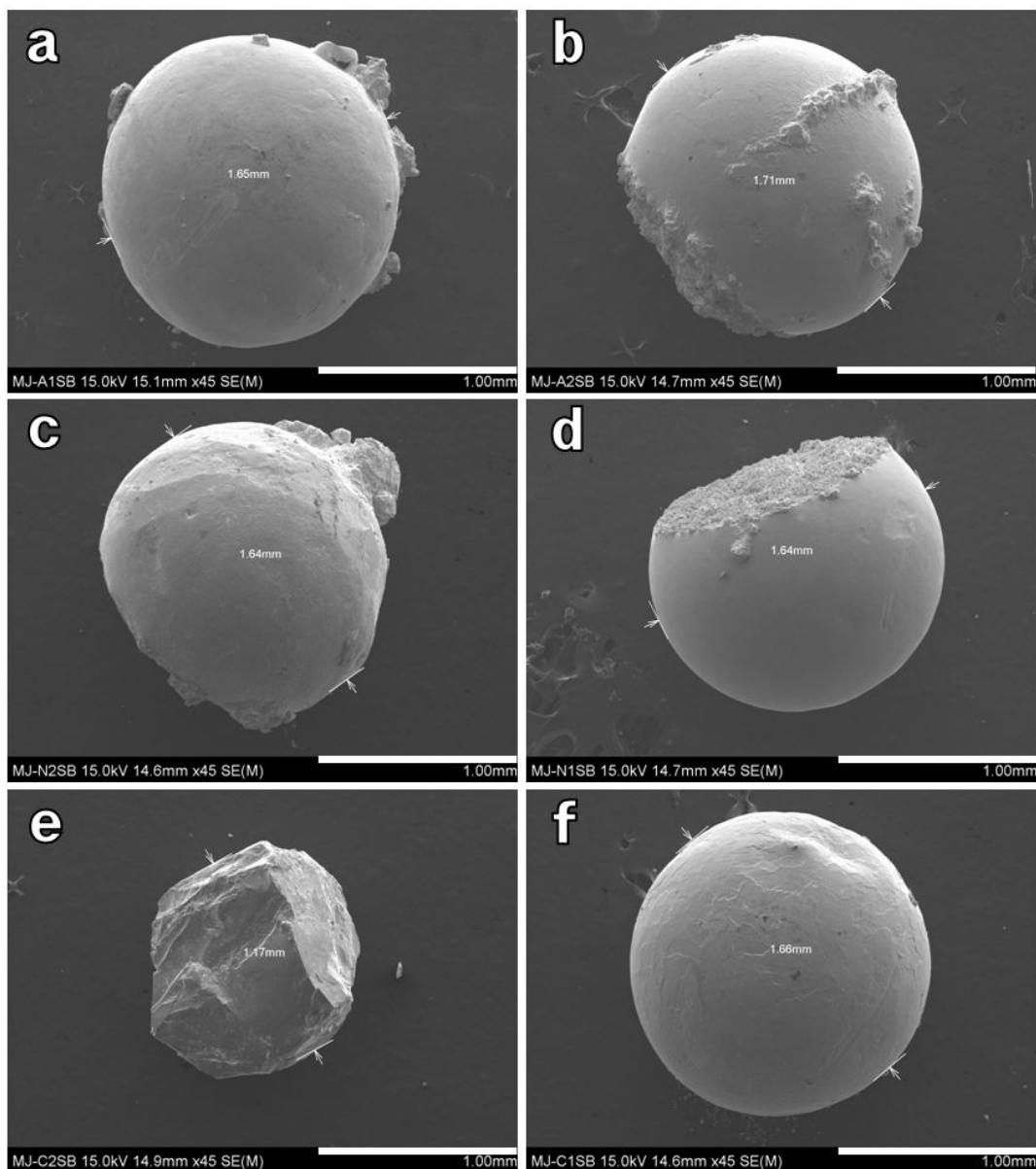


Figure 19. The SEM image of beads of the residual solid after fire assay. (a) adaptation 1, (b) adaptation 2, (c) non-adaptation 1, (d) non-adaptation 2, (e) control 1, (f) control 2

6. 토의

Au의 존재를 확인하기 위하여 광석광물의 표면을 편광현미경에서 관찰하였지만 Au의 존재를 확인할 수 없었다. 이는 Au가 $0.1 \mu\text{m}$ 이하 크기로 혹은 고용체상태로 존재하는 invisible gold이기 때문일 것이다. 비록 Au가 관찰되지 않지만 생물학적 산화작용이 진행되어서 invisible gold가 이들 황화광물 표면으로 노출되었을 것으로 예상된다. 왜냐하면 생물학적 산화작용이 황화광물 표면에서 진행되기 때문에 광물 속에 포획되어 있던 invisible gold가 표면으로 노출되었을 것이다. 이는 황화광물 표면에서 생물학적 산화작용이 진행되어 Cu, Pb 및 Fe와 같은 이온이 용해되면 광물의 직경이 점점 작아진다. 즉 광물의 직경이 작아지면 표면적이 증가하는 shrinkage particle model이 일어난 결과이다(Lindstrom et al., 1992).

Au가 노출되면, Au와 황화광물 사이에 galvanic 반응이 형성된다. 일반적으로 방연석의 정지전압은 0.284V, 황동석은 0.62 V, 섬아연석은 0.46 V, 휘동석은 0.442 V, covellite는 0.42 V, silver는 0.499 V, Au는 1.498 V로 알려져 있다(Ballester et al., 1989; Attia and El-Zeky, 1990; Ballester et al., 2007). 이들 황화광물에 Au가 포획되어 있다면 Au는 음극으로 그리고 이들 황화광물은 양극으로 작용한다. 즉, Attia and El-Zeky(1990)에 의하면 황철석의 정지전압은 0.63 V이고 Au의 정지전압은 1.498V이기 때문에 정지전압이 낮은 황철석은 양극으로 작용하여 anodic corrosion이 일어나고 정지전압이 높은 Au는 음극으로 작용하여 cathodic protection이 일어난다. 그러므로 황철석 표면은 ferrous iron과 황(S^{2-} 혹은 S^0)이 방출되고 Au 표면에서는 산소, 수소이온 및 전자(e^-)가 소비되어 H_2O 가 생성된다. 부식반응으로 방출된 Fe^{2+} 와 황은 미생물의 생물학적 산화작용에 활용되기 때문에 미생물의 활동도가 향상된다. 부식반응과 생물학적 산화작용이 동시에 일어나는 황철석 표면은 그 만큼 더 많은 Au가 노출되게 된다. 그러므로 galvanic 부식반응과 생물학적 산화작용으로 인하여 황철석 표면에 노출되었던 Au는 결국 분리될 것이다. 그 결과 Figure 15, Figure 16, Figure 17에서와 같이 생물학적 산화작용이 많이 진행되어 Cu, Pb 및 Fe가 용출된 고체 잔유물일수록 Au와 Ag의 함량이 증가하여 남게 된다(Table 2). 즉, 생물학적 산화작용이 많이 진행된 고체 잔유물일수록 Au와 Ag의 함량이 증가하였고 반대로 Cu, Pb 및 Fe 함량은 감소하였다. 이와 같은 결과는 Cu^{2+} 이온에 적응된 미생물이 이들 중금속이온에 내성이 형성되었기 때

문이다. 이것은 적응 미생물이 30일 동안 용출-배양액 속에서 수많은 부유성 미생물로 생존하고 있는 것을 그리고 정광시료 표면에 부착하고 있는 것을 보면 알 수 있다. SEM에서 확인한 막대 모양의 토착호산성 미생물은 PCR과 16S rRNA 염기서열 분석으로 *Acidithiobacillus ferrooxidans*임이 확인되었다. 울진 토착호산성 박테리아가 *A. ferrooxidans*는 표준균주와 염기서열이 100 % 일치하는 것은 28일 동안 9회 계대배양 되었기 때문으로 사료된다. 광산배수에는 다양한 종류의 박테리아가 서식한다. 다양한 미생물이 성장-배양액에서 집종되지만 계대배양에서 제공되는 Fe 혹은 황을 산화 에너지 원으로 이용하는 미생물만 생존한다. 따라서 계대배양이 계속 진행되는 동안 *A. ferrooxidans* 만 생존하였을 것으로 사료된다.

*A. ferrooxidans*는 ferrous iron과 원소 황을 동시에 산화하여 에너지로 활용하는 미생물로 알려져 있다(Torma and Boscjer, 1982). 따라서 광석광물에서 관찰되는 황철석(FeS_2), 황동석($CuFeS_2$), 방연석(PbS), 즉 Fe^{2+} 와 S^{1-} 혹은 S^{2-} 를 직접 접촉 산화작용으로 혹은 간접 산화작용으로 산화시켰을 것이다. 용출-배양액에서 관찰되는 부유성 미생물(Figure 13)은 Figure 2에서 기술하는 간접산화작용으로 그리고 광석 표면에 부착한 미생물(Figure 14)은 Figure 1에서 설명하는 직접 접촉 산화작용을 수행하는 미생물들로 해석된다. 이들 미생물에 의한 직접 혹은 간접 접촉 산화작용에 의하여 invisible gold를 포함하는 광석광물이 생물학적으로 분해되었을 것이다. 미생물에 의하여 광석광물이 용해되면 용출-배양액에는 Cu, Pb, Zn 등의 중금속 이온의 농도가 증가된다. 이들 중금속 이온의 독성에 의하여 미생물이 생존할 수 없으나, Figure 13 혹은 Figure 14와 같이 용출-배양액에서 박테리아들이 생존하고 있다. 이는 Cu 이온이 용해된 적응-배양액에서 박테리아들을 적응시켰기 때문이다.

그러므로 중금속 이온에 내성이 형성된 미생물들이 광석광물을 산화에너지를 활용하였을 것이다. 따라서 광석광물은 점점 직경이 감소하여 내부에 포획되어 있던 Au 입자가 노출되었을 것이다. 실제로 고체 용출 잔류물에 대하여 납-시금법으로 Au를 회수한 결과 비교시료에 비하여 비-적용시료에서 2.05 g/t의 Au가 더 회수되었으며 적용시료는 비교시료에 비하여 2.5 g/t의 Au가 더 회수되었다. 용출-배양액의 부유성 미생물은 정광시료를 간접접촉산화작용으로 그리고 부착 미생물은 직접접촉산화작용으로 산화시켰음을 확인하는 것이다(Silverman, 1967). 그러므로 목적 광물의 중금속 이온에 토착호산성 미생물을 더욱 더 적응시키면 더 많은 유용금속을 용출시킬 수 있을 것으로 사료된다.

7. 결론

본 연구는 토착미생물을 이용하여 석회석이 부화된 저항성 금 광석으로부터 Au와 Ag를 효과적으로 회수하고자하였다. 계대배양을 통해 산화정도를 비교하여 선정된 울진 미생물의 16S rRNA 염기서열을 표준균주인 *Acidithiobacillus ferrooxidans*(ATCC 23270)와 pairwise 비교 정렬(alignment sequence) 방법으로 유사도를 비교하였으며, 표준균주와 유사도를 비교한 결과, 울진 미생물은 유사도가 100 %로 나타났다. 9번의 계대배양 후, 울진 미생물을 Cu^{2+} 이온에 21일 동안 적응시킨 결과, 1차 적응 보다 2차 적응에서 pH가 더 효과적으로 감소하였으며, Eh는 증가하는 것을 확인 할 수 있었다. 만장광산의 정광에 대하여 비교 시료, 비-적응 미생물 그리고 적응 미생물을 이용한 용출시료로 30일 동안 실험을 수행하였으며, 용출실험이 종료된 30일 동안 용출 배양액에 포함된 부유성 미생물과 정광시료 표면에 부착한 미생물을 SEM에서 각각 관찰하였다. 용출실험의 pH 측정결과, 비교시료의 pH 또한 초기에는 감소하는 경향을 보였으나 용출실험이 진행되는 동안 무기적 산화작용으로 인하여 용출-배양액의 H^+ 이온이 소비되었기 때문에 서서히 증가하다 30일 후에는 2.63으로 나타났다. 용출된 Cu, Pb 및 Fe 함량은 비교시료에서 보다 비-적응 미생물 시료에서 더 많이 용출되었고 비-적응 미생물 시료에서 보다 적응시료에서 더 많이 용출되었다. 이는 Cu^{2+} 이온에 적응된 미생물이 비-적응 미생물 보다 용출효과가 더 있음을 지시하는 것이다. 용출 고체-잔류물에 함유된 Au와 Ag 함량은 비교시료 보다 비-적응 미생물 시료에서 그리고 비-적응 미생물 시료 보다 적응시료에서 더 많았으며, 납-시금법으로 Au 함량을 측정해본 결과 비교시료에 비하여 비-적응 미생물 시료에서 2.05 g/t의 Au가 그리고 비교 시료에 비하여 적응 미생물 시료에서 2.5 g/t의 Au가 더 회수되었다. 그러나 반대로 생물학적 산화작용이 많이 진행된 시료일수록 Cu, Pb 및 Fe 함량은 감소함을 알 수 있었다. 또한, 무게 측정 결과 적응에 따라 Au·Ag의 무게가 비교 시료보다 증가하는 것을 확인할 수 있었으며, 이러한 납-시금법 수행 시 적절한 용제 혼합으로 시금법을 수행한다면 슬래그로 손실되는 금 손실을 줄일 수 있을 것이라 사료된다.

이러한 생물학적 산화작용을 효과적으로 수행하기 위해 미생물을 장기간 동안 복합 중금속이온으로 적응시키거나 중금속 함량을 증가시켜가면서 적응시킨다면 저항성 금 광석으로부터 더 많은 Au와 Ag를 회수할 수 있을 것으로 사료된다. 또

한, 생물학적 산화 및 용출 대한 다양한 정광에서의 자료 확보 및 연구가 수행되어야 할 것으로 보이며, 현장 적용에 필요한 최적 인자들을 앞으로 연구해야 할 필요가 있다고 사료된다.

참고문헌

- 김봉주, 위대응, 백근식, 성치남, 최낙철, 박천영, 2012, “중합효소연쇄반응과 16S rRNA 염기서열을 이용한 토착호산성박테리아의 동정,” *한국광물학회*, Vol., pp.
- 김지수, 한수형, 최상훈, 이경주, 이인경, 이평구, 2002, “장풍 폐광산의 산성광산폐수에 의한 침출수 유동에 대한 지구물리 및 지화학탐사 자료의 상관 해석,” *지구물리*, Vol.5, pp.19-27.
- 대한광업진흥공사, 1974, “광상탐광굴진,” Vol.2, pp.153-154.
- 신정숙, 1984, “충북 괴산군 연풍면 만장광산 광물수반관계와 유체포유물 연구,” *이화여자대학교 석사학위 논문*.
- 이인경, 이평구, 박성원, 최상훈, 2003, “만장광산에서 산출되는 황동석의 풍화과정 에 대한 광물학적 연구,” *대한자원환경지질학회*
- 이종혁, 김정환, 1972, “괴산도폭(1:50,000) 및 설명서,” *Geological survey of Korea*.
- 이평구, 이인경, 최상훈, 김지수, 2004, “만장광산에서 산출되는 황동석의 산화과정 과 중금속 거동 특성,” *자원환경지질*, Vol.37(3), pp.291-301.
- 이현구, 문희수, 오민수, 2008, “한국의 광상,” *아카넷*, pp.762.
- 조강희, 김봉주, 위대응, 오스지, 최승환, 성규열, 최낙철, 박천영, 2012, “납-시금벌 에서 유리질 슬래그로 손실되는 gold 함량과 손실 원인에 대한 연구,” *한국지구 시스템공학회지*, Vol.49, pp.654-662.
- 최낙철, 최은주, 김봉주, 박정안, 김성배, 박천영, 2013, “가축 매몰지 침출수에 대한 수질 특성 및 호기성 미생물 분포에 관한 연구,” *지질공학회지*, Vol.23, pp.37-46.
- Abbruzzese, C., Ubaldini, S., Veglio, F. and Toro, L., 1994, “Preparatory bioleaching to the conventional cyanidation of arsenical gold ores,” *Minerals Engineering*, Vol.7, pp.49-60.
- Allan, G.C. and Woodcock, J.T., 2001, “A review of the flotation of native gold and electrum,” *Minerals Engineering*, Vol.14, pp.931-962.
- Amankwah, R.K., Yen, W.T. and Ramsay, J.A., 2005, “A two-stage bacterial pretreatment process for double refractory gold ores,” *Minerals Engineering*, Vol.18, pp.103-108.
- Ashley, P.M., Creagh, C.J. and Ryan, C.G., 2000, “Invisible gold in ore and

- mineral concentrates from the Hillgrove gold-antimony deposits, NSW, Australia," *Mineralium Deposita*, Vol.35, pp.285-301.
- Attia, Y.A. and Elzaky, M., 1989, "Bioleaching of gold pyrite tailings with adapted bacteria," *Hydrometallurgy*, Vol.22, pp.291-300.
- 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*, Vol.30, pp.99-111.
- Attia, Y.A. and Elzaky, M.A., 1990a, "Bioleaching of non-ferrous sulfides with adapted thiophilic bacteria," *The Chemical Engineering Journal*, Vol.44, pp.B31-B40.
- Baker, W.E., 1985, "Old analysis," *URI*, Vol.49, pp.1-6.
- Balcerzak, M., 2002, "Sample digestion methods for the determination of traces of precious metals by spectrometric techniques," *Analytical Sciences*, Vol.18, pp.737-750.
- Ballester, A., Blazquez, M.L. and Gonzalez, F., 1989, "Microstructural aspects of PbS/Cu₂S matte bioleaching," *Canadian Metallurgical Quarterly*, Vol.28, pp.361-365.
- Ballester, A., Blazquez, M.L., Gonzalez, F. and Munoz, J.A., 2007, "Catalytic role of silver and other ions on the mechanism of chemical and biological leaching, In: Donati, E.R. and Sand, W.(eds), *Microbial processing of metal sulfides*, Springer, pp.77-101.
- Barefoot, R.R. and van Loon, J.C., 1999, "Recent advances in the determination of the platinum group elements and gold," *Talanta*, Vol.49, pp.1-14.
- Celep, O., Alp, I., Deveci, H. and Vicil, M., 2009, "Characterization of refractory behaviour of complex gold/silver ore by diagnostic leaching," *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, Vol.19, pp.707-713.
- Dunn, J.G. and Chamberlain, A.C., 1997, "The recovery of gold from refractory arsenopyrite concentrates by pyrolysis-oxidation," *Minerals Engineering*, Vol.10, pp.919-928.
- Dunn, J.G., Ibrado, A.S. and Graham, J., 1995, "Pyrolysis of arsenopyrite for gold recovery by cyanidation," *Minerals Engineering*, Vol.8, pp.459-471.

- Groudev, S.N., Spasova, I.I. and Ivanov, I.M., 1996, "Two-stage microbial leaching of a refractory gold-bearing pyrite ore," *Minerals Engineering*, Vol.9, pp.707-713.
- Haghshenas, D.F., Alamdari, E.K., Torkmahalleh, M.A., Bonakdarpour, B. and Nasernejad, B., 2009, "Adaptation of *Acidithiobacillus ferrooxidans* to high grade sphalerite concentrate," *Minerals Engineering*, Vol.22, pp.1299 - 1306.
- Hall, G.E.M., Vaive, J.E. and Ballantyne, S.B., 1986, "Field and laboratory procedures for determining gold in natural waters: relative merits of preconcentration with activated charcoal," *Journal of Geochemical Exploration*, Vol.26, pp.191-202.
- Henley, K.J., 1975, "Gold-ore mineralogy and its relation to metallurgical treatment," *Minerals Sci. Eng.*, Vol.7, pp.289-317.
- Hutchins, S.R., Brierley, J.A. and Brierley, C.L., 1988, "Microbial pretreatment of refractory sulfide and carbonaceous ores improves the economics of gold recovery," *Mining Engineering*, Vol.40, pp.249-254.
- Juvoneen, R. and Vaananen, P.J., 1993, "Determination of gold in geological materials by atomic absorption after lead fire assay separation, Geological Survey of Finland," *Report of Investigation*, Vol.114, pp.13-16.
- Kaewkannetra, P., Garcia-Garcia, F.J. and Chin, T.Y., 2009, Bioleaching of zinc from gold ores using *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Metallurgy*, 16, 368-374.
- Kojonen, K. and Johanson, B., 1999, "Determination of refractory gold distribution by microanalysis, diagnostic leaching and image analysis," *Mineralogy and Petrology*, Vol.67, pp.1-19.
- Langhans, D., Lord, A., Lampshire, D., Burbank, A. and Baglin, E., 1995, "Biooxidation of an arsenic-bearing refractory gold ore," *Minerals Engineering*, Vol.8, pp.147-158.
- Liipo, J., 2003, "Characterization of the mode of occurrence of gold in Jokisivu pilot feed and products," *Minerals Engineering*, Vol.16, pp.1317-1321.
- Lindstrom, E.B., Gunneriusson, E. and Tuovinen, O.H., 1992, "Bacterial oxidation of refractory sulfide ores for gold recovery," *Critical Reviews in Biotechnology*, Vol.12, pp.133-155.

- Maddox, L.M., Bancroft, G.M., Scaini, M.J. and Lorimer, J.W., 1998, "Invisible gold: comparison of Au deposition on pyrite and arsenopyrite," *American Mineralogist*, Vol.83, pp.1240-1245.
- McIntosh, K.S., Auer, D., Koch, K.R. and Eksteen, J.J., 2006, "Integrating pyrometallurgy and robotic systems engineering: fully automated fire assay laboratory for rapid PGE analysis," *Minerals Engineering*, Vol.19, pp.219-231.
- Mousavi, SM., Yaghmaei, S., Vossoughi, M., Jafari, A., Roostaazad, R. and Turunen, I., 2007, "Bacterial leaching of low-grade ZnS concentrate using indigenous mesophilic and thermophilic strains," *Hydrometallurgy*, Vol.85, pp.59 - 65.
- Pinches, A., Al-jaid, F.O., Williams, D.J.A. and Atkinson, B., 1976, "Leaching of chalcopyrite concentrates with *Thiobacillus ferrooxidans* in batch culture," *Hydrometallurgy*, Vol.2, pp.87-103.
- Potts, P.J., 1987, "handbook of silicate rock analysis," *Blackie*, pp. 622.
- Sand, W., Gerke, T., Hallmann, A. and Schippers, A., 1995, "Sulfur chemistry, biofilm, and the (in)direct attack mechanism—a critical evaluation of bacterial leaching," *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol.43(6), pp.961-996.
- Silverman, M. P., 1967, "Mechanism of bacteria pyrite oxidation," *Journal of Bacteriology*, Vol.94, pp.1046-1051.
- Stackebrandt, E. and Goebel, B.M., 1994, "Taxonomic note: a place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology," *International Journal of Systematic Bacteriology*, Vol.44, pp.846-849.
- Suominen, M., Kontas, E., Niskavaara, H., 2004, "Comparison of silver and gold inquarting in the fire assay determination of Palladium, Platinum and Rhodium in geological samples," *Geostandards and Geoanalytical Research*, Vol.28, pp.131-136.
- Torma, A.E. and Boscjer, K., 1982, "Bacterial leaching," *Progress in Industrial Microbiology*, Vol.16, pp.77-118.
- Tuovinen, O.H. and Kelly, D.P., 1973, "Studies on the growth of *Thiobacillus ferrooxidans*," *Arch.Mikrobiol.*, Vol.88, pp.285-298.

- Ubaldini, S., Fornari, P., Massidda, R. and Abbruzzese, C., 1998, "An innovative thiourea gold leaching process," *Hydrometallurgy*, 48, 113-124.
- Ubaldini, S., Veglio, F., Beolchini, F., Toro, L. and Abbruzzese, C., 2000, "Gold recovery from a refractory pyrrhotite ore by biooxidation," *International Journal of Mineral Processing*, Vol.60, pp.247-262.
- Van Loon, J., 1997, "Analytical chemistry of the noble metals." *Pure & Applied Chem.*, Vol.49, pp.1495-1505.
- Xia, L., Liu, X., Zeng, J., Yin, C., Gao, J., Liu, J. and Qiu, G., 2008, "Mechanism of enhanced bioleaching efficiency of *Acidithobacillus ferrooxidans* after adaptation with chalcopyrite," *Hydrometallurgy*, Vol.92, pp.95-101.

감사의 글

길고도 짧았던 지난 2년여 시간이 지나 졸업을 앞두고 있게 되었습니다. 특히 힘들었던 올 한해, 부족하던 저에게 지지와 격려를 아끼지 않으셨던 지인들에게 감사의 말씀을 드립니다.

무엇보다도 많이 부족한 성과물에도 조언과 격려로 지도해주시고 같이 고민해주신 지도교수 박천영 교수님의 은혜에 고개 숙여 깊이 감사드립니다. 또한 논문심사를 통해 부족한 점을 지적하여 주신 한오형 교수님과 강성승 교수님, 학부와 대학원 과정동안 아낌없는 조언과 충고를 해주신 강추원 교수님, 고진석 교수님, 유돈상 교수님, 장일식 교수님, 최태진 교수님 모두 진심으로 감사드립니다.

대학 생활을 하면서 참으로 많은 인연들을 맺었습니다. 이 논문을 완성하기까지 가장 많은 도움을 준 최낙철 박사님과 응용광물 실험실의 강희오빠, 봉주오빠, 성영오빠, 현성오빠, 종주, 양가, 정태, 현수 그리고 같은 실험실은 아니지만 같은 해에 입학해서 항상 옆에서 살뜰히 챙겨준 준희오빠, 민규오빠, 지완오빠, 태유오빠, 지수, 이 자리까지 오게 해주신 많은 선·후배님들 정말 감사드립니다.

그리고 자주 연락하지 않아도 힘이 되고 지치고 힘들 때 먼저 달려와 위로해준 저의 소중한 친구들에게도 감사의 마음을 전합니다.

끝으로, 긴 시간동안 항상 뒤에서 격려와 관심으로 지켜주었던 엄마, 동생 그리고 아빠에게 감사의 마음을 전합니다. 가족의 지지와 격려가 없었다면 부족하나마 이러한 논문이 나올 수 없었으며, 이런 지지에 보답하기 위해 힘이 될 수 있게 노력하겠습니다.

저작물 이용 허용서

학과	에너지자원공학과	학번	20127084	과정	석사
성명	한글 : 오 스 지 한문 : 뭇 스 지 영문 : SUJI AE				
주소	전남 영암군 시종면 옥야리 561-1번지				
연락처	E-MAIL : osj0205@naver.com				
논문제목	한글 : 생물학적 산화작용을 이용한 석회석내 존재하는 금정광의 Au-Ag 품위 향상 영어 : The enhancements of Au-Ag grade in limestone contained gold concentrate using biological oxidation				

본인이 저작한 위의 저작물에 대하여 다음과 같은 조건아래 조선대학교가 저작물을 이용할 수 있도록 허락하고 동의합니다.

- 다 음 -

1. 저작물의 DB구축 및 인터넷을 포함한 정보통신망에의 공개를 위한 저작물의 복제, 기억장치에의 저장, 전송 등을 허락함
2. 위의 목적을 위하여 필요한 범위 내에서의 편집·형식상의 변경을 허락함.
다만, 저작물의 내용변경은 금지함.
3. 배포·전송된 저작물의 영리적 목적을 위한 복제, 저장, 전송 등은 금지함.
4. 저작물에 대한 이용기간은 5년으로 하고, 기간종료 3개월 이내에 별도의 의사 표시가 없을 경우에는 저작물의 이용기간을 계속 연장함.
5. 해당 저작물의 저작권을 타인에게 양도하거나 또는 출판을 허락을 하였을 경우에는 1개월 이내에 대학에 이를 통보함.
6. 조선대학교는 저작물의 이용허락 이후 해당 저작물로 인하여 발생하는 타인에 의한 권리 침해에 대하여 일체의 법적 책임을 지지 않음
7. 소속대학의 협정기관에 저작물의 제공 및 인터넷 등 정보통신망을 이용한 저작물의 전송·출력을 허락함.

동의여부 : 동의(○) 반대()

2014 년 2 월 일

저작자: 오 스 지 (인)

조선대학교 총장 귀하