

Thiobacillus ferrooxidans를 이용한 소화 슬러지의 중금속 제거에 미치는 슬러지 농도의 영향

†류 희 옥·김 윤 정¹·조 경 숙¹·강 근 석²·최 형 민³

송실대학교 환경·화학공학과, ¹이화여자대학교 환경공학과, ²송실대학교 통계학과, ³송실대학교 섬유공학과
(접수 : 1998. 2. 2., 게재승인 : 1998. 3. 30.)

Effect of Sludge Concentration on Removal of Heavy Metals from Digested Sludge by *Thiobacillus ferrooxidans*

Hee Wook Ryu†, Yoon Jung Kim¹, Kyung-Suk Cho¹, Keun Sek Kang², and Hyung-Min Choi³

Dept. of Chemical and Environmental Engineering, Soong Sil University, Seoul 156-743, Korea

¹Dept. of Environmental Science and Engineering, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea

²Dept. of Statics, Soong Sil University, Seoul 156-743,

³Dept. of Textile Engineering, Soong Sil University, Seoul 156-743

(Received : 1998. 2. 2., Accepted : 1998. 3. 30.)

To investigate the feasibility of the microbial process for removal of heavy metals from the high solid content sludge, the effect of sludge concentration on the solubilization of heavy metals by an iron oxidizing bacterium *Thiobacillus ferrooxidans* was examined. With increasing the sludge concentration, the removal efficiency of heavy metals and the oxidation rate of iron were inhibited. Especially, when the sludge concentration is over 5% (w/v), the activity of *T. ferrooxidans* was remarkably inhibited. This inhibition is considered to occur due to the dissolved inhibitory materials such as organic compounds, heavy metals, and others which were extracted from the sludge during incubation period. In conclusion, the microbial process by *T. ferrooxidans* is only effectively used in ranges of 1.3 to 4.0% (w/v) sludge concentration.

Key Words : Digested sludge, *Thiobacillus ferrooxidans*, Heavy metals, Microbial solubilization, High sludge content

서 론

인구증가, 도시 집중화 및 산업화가 심화됨에 의해 물소비량, 폐수 발생량 및 각종 폐수처리 시설로부터 발생하는 슬러지 양이 급격하게 증가하고 있다. 대부분의 슬러지는 탈수 후 매립하고 있으나, 최근 들어서는 상하수 슬러지를 비료로 자원화하는 연구가 활발히 진행되고 있다. 그러나, 각종 폐수처리 시설로부터 배출되는 슬러지에는 Cd, Cr, Cu, Ni, Pb 및 Zn과 같은 독성 중금속들이 0.5~2.0wt% 함유되어 있고, 많게는 4 wt% 까지도 함유되어 있다(1-2). 중금속 제거를 위한 전처리과정 없이 그대로 환경 중에 방출된다면 토양, 지하수 및 하천등이 슬러지로부터 용출되는 중금속에 의해 오염될 위험성이 매우 크다. 그러므로 슬러지를 최종 매립 처리하거나 자원화하기 전에 슬러지 중의 중금속을 제거할 필요가 있다.

슬러지중의 중금속을 제거하기 위한 전통적인 기술은 pH 1.5 ~ 2.0의 산성 용액으로 슬러지를 처리하는 화학적인 방법이다(3). 화학적인 방법은 가열과 산치리를 병행할 경우 중금속의 용해도를 높힐 수 있다. 그러나, 산치리 방법은 주요 중금속중의 하나인 Cu를 거의 용해시키지 못할뿐 아니라, 슬러지 1톤을 처리하기 위해서는 약 0.5~0.8톤의 황산이 소요되기 때문에 재료비가 많이 드는 단점이 있다(4-7). 따라서, 이러한 화학적 방법의 문제점을 극복하고 경제적으로 중금속을 제거할 수 있는 방법으로 생물학적 용출 방법에 대한 연구가 최근들어 주목받고 있다(2, 5, 8-11).

중금속의 생물용출법은 슬러지에 함유된 불용성의 중금속화합물을 생물의 직접적인 대사작용이나 대사산물에 의해 가용성의 중금속 화합물의 형태로 용출하여 제거하는 방식이다. 생물학적 방식은 상온과 상압하에서 조압하므로 장치와 조압이 간단하고 중금속 용출효율이 높은 장점이 있다. 중금속의 생물학적 용출에 있어 *Thiobacillus ferrooxidans*가 효과적인 세균으로 알려져 있어 많은 연구들이 진행되고 있다(2, 9, 11). *T. ferrooxidans*는 1.5~3의 낮은 pH에서 자라는 호산성 세균으로 환원형의 황화합물 뿐만 아니라 환원철 화합물을 산화하여 에너지를 획득하는 철 산화세균이다. *T. ferrooxidans*는 낮은 pH에서

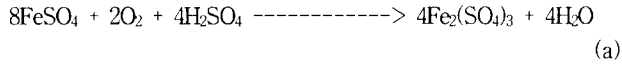
† Corresponding author : Department of Chemical and Environmental Engineering, Soong Sil University, Sangdo-Dong 1-1, Dongjak-Gu, Seoul 156-743, Korea.
Tel : 02-820-0611, Fax : 02-812-5378
e-mail : hwryu@saint.soongsil.ac.kr

무기물인 FeSO₄를 사용하여 대사에너지를 얻고 탄소원으로 CO₂를 사용하므로 다른 미생물에 의한 오염 문제가 거의 없어 멸균작업이 필요없다. 따라서, *T. ferrooxidans*를 이용한 중금속 제거 공정은 환경오염물질의 처리시설과 같은 개방계에 적용할 수 있기 때문에, 이 균주를 이용한 슬러지의 중금속 제거에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있다.

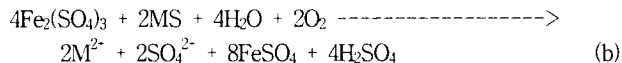
*T. ferrooxidans*를 이용한 중금속의 제거반응은 아래와 같은 직접 산화반응과 간접 산화반응으로 나뉜다.

(1) 간접산화반응

T. ferrooxidans



Chemical reaction



(MS, metal sulfide, insoluble; M²⁺, free metal ion, soluble)

(2) 직접산화반응

T. ferrooxidans



반응(a)에 의해 생물학적으로 생성된 Fe₂(SO₄)₃는 강력한 산화제로, 반응(b)와 같은 화학적 반응에 의해 중금속 황화합물 (MS)을 산화시켜 수용상으로 용출시킨다. 반응(b)에 의해 재생된 FeSO₄는 *T. ferrooxidans*의 에너지원으로 사용된다. 반응(a)와 (b)의 순환 공정에 의해 보다 많은 양의 중금속이 슬러지로부터 용출되고, 반응 부산물인 H₂SO₄는 중금속의 산처리 효과를 유발하여 중금속 용출 효율을 향상시킨다. 또한, *T. ferrooxidans*는 반응(c)와 같이 직접적으로 불용성의 황화합물 형태인 중금속에 작용하여 중금속을 용출시킬 수 있다.

지금까지의 *T. ferrooxidans*를 이용한 중금속 제거에 관한 연구는 주로 혐기성 소화조나 농축조에서 배출되는 슬러지를 대상으로 하였기 때문에 1.3~4.0%(w/v) 미만의 낮은 슬러지 농도에서 수행되었다(7, 9, 11). 그러나, 각종 처리장에서 발생하는 슬러지는 대부분 일단 탈수과정을 거쳐 처리되므로 탈수슬러지의 중금속 제거 비용을 최소화하기 위해서는 고농도 슬러지 농도에서의 중금속 제거 기술에 관한 연구가 필요하다. 따라서, 본 연구에서는 *T. ferrooxidans*에 의한 슬러지의 중금속 제거 효율에 미치는 슬러지 농도의 영향을 조사하므로써 적용이 가능한 슬러지 농도를 도출하였으며, *T. ferrooxidans*의 철산화 속도에 미치는 슬러지 추출액의 영향을 규명하였다.

재료 및 방법

슬러지

본 연구에 사용한 슬러지는 서울 근교 I 하수 처리장에서 채취한 혐기성 소화 탈수 슬러지이다. 실험하는 동안 슬러지가 부패되는 것을 방지하기 위해 슬러지를 일광 건조시킨 후 곰팡이 제거제 사용하여 사용하였다. 사용한 슬러지의 슬러지의 주요 중금속 함량은 2,340±40 mg-cu/kg-dry sludge; 31,870±461 mg-Al/kg-dry sludge; 1,152±31 mg-Cr/kg-dry sludge; 4,529±105 mg-

Zn/kg-dry sludge; 13.44±0.30 mg-Cd/kg-dry sludge; 222±10 mg-Pb/kg-dry sludge; 33,020±1320 mg-Fe/kg-dry sludge 이다.

세포 배양 및 조건

슬러지의 중금속 용출에 사용한 균주는 *Thiobacillus ferrooxidans* (ATCC19859)이다. 성장 배지는 Silverman의 9K 배지를 사용하였다(12). 9K 배지는 MS(mineral salt)배지 [(NH₄)₂SO₄ 3.0 g/L, K₂HPO₄ 0.5 g/L, MgSO₄·H₂O 0.5 g/L, KCl 0.1 g/L, Ca(NO₃)₂ 0.01 g/L]와 에너지원인 FeSO₄·7H₂O 3~4 일간 30℃에서 배양하여 얻은 배양액을 여과하여 침전물을 제거한 후, 8,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 균체를 회수하였다. 회수한 균체는 MS배지에 현탁하여 균체 농축액을 준비하였다. 이 농축액은 660 nm 파장에서 0.08의 흡광도를 나타내고 0.045 mg dry cell/mL에 상응하며, 아래 실험의 접종액으로 사용하였다.

슬러지 중금속 제거

*T. ferrooxidans*를 이용한 중금속 제거 실험은 250 mL 삼각 플라스크에서 수행하였고, 100 mL MS배지에 슬러지는 2, 5, 9, 17 % (w/v)가 되도록 첨가하였다. 각 플라스크에 FeSO₄·7H₂O를 15 g/L (3 g-Fe²⁺/L) 첨가하고, 농축된 *T. ferrooxidans* 현탁액을 5 mL씩 접종하였다. 30℃, 200 rpm에서 진탕 배양하면서 반응액의 pH와 ORP를 매일 측정하였다. 또한 반응액 1 mL를 채취하여 20,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 얻은 상등액의 Fe²⁺와 Fe³⁺농도를 측정하였다. 실험 개시 후 2주일이 경과한 후 반응액을 원심분리하여 상등액의 중금속(Cu, Zn) 농도를 측정하였다.

*T. ferrooxidans*의 철산화속도에 미치는 슬러지 추출액의 영향은 다음과 같은 방법에 의해 조사하였다. MS배지에 슬러지를 각각 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 4, 5, 6, 10 % (w/v)가 되도록 첨가하고 HCl용액으로 pH 2로 조절하였다. 200 rpm에서 2일 동안 진탕한 후 슬러지액을 여과하여 슬러지 용출액을 준비하였다. 각각의 여과액을 250 mL의 삼각 플라스크에 100 mL 씩 넣고, 121℃, 1.5기압에서 멸균한 후 FeSO₄·7H₂O 45 g (9 g-Fe²⁺/L)이 되도록 첨가하였다. 초기 pH를 H₂SO₄로 2.0에 맞추고 *T. ferrooxidans* 농축액을 2.3 mL씩 접종하였다. 6시간 간격으로 시료를 채취하여 pH, ORP, Fe²⁺ 및 Fe³⁺ 농도를 측정하였다.

분석법

Fe²⁺와 Fe³⁺농도는 o-Phenolthroline method를 사용하여 510 nm에서 정량하였다(13). 슬러지의 중금속 농도는 microwave법에 의해 유기물을 제거한 후 측정하였다(14). 슬러지와 슬러지 용출액중의 중금속 농도는 유도결합 플라즈마 원자 방사 분광기 (Plasma 40, Perkin Elmer, U. S. A)를 이용하여 분석하였다. 슬러지 용출액 중의 유기물의 농도는 총유기탄소 분석기 (TOC-5000A, Shimadzu, Japan)를 이용하여 분석하였다.

결과 및 고찰

슬러지의 농도를 2, 5, 9, 17 % (w/v)로 변화시키면서 *T. ferrooxidans*를 이용한 탈수슬러지의 중금속 용해특성에 미치는

슬러지 농도의 영향을 조사하였다(Figure 1). 슬러지를 배양하는 동안에 배양액의 pH는 슬러지 농도가 2%일 때는 배양 기간 동안 약 2.5로 일정하게 유지되었다. 그러나, 5% 이상의 슬러지 농도에서는 배양액의 pH는 초기 3-4일 동안에는 3.5~4.5까지 상승하였으며, 슬러지의 농도가 높을수록 pH의 증가율이 높아지는 현상이 관찰되었다. ORP를 기준으로 할 때 중금속의 용출 상태를 간접적으로 예측 가능하다. 예를 들면 슬러지내에 함유된 중금속중 가장 용해하기 어려운 Cu는 ORP가 최소 250 mV 이상에서 가능하다(11). 배양액의 ORP는 2% 슬러지 농도에서는 배양 2일 후에 약 450 mV까지 상승하였고, 슬러지의 농도가 증가할수록 ORP는 느린 속도로 증가하였다. 9%와 17%의 높은 슬러지 농도에서는 배양 2주일 후에도 ORP값이 300 mV 이하이었다. 배양액에 첨가한 Fe²⁺는 2% 슬러지 농도에서 약 1일내에 Fe³⁺로 거의 산화되었으며, 5% 슬러지 농도에서는 2%에서 보다는 늦지만 약 4일내에 거의 산화되었다. 그러나, 9%와 17% 슬러지 농도에서는 Fe²⁺가 약 1/3정도 감소 되었으나 이에 상응하여 Fe³⁺는 거의 검출되지 않았다. 이는 9% 이상의 슬러지 농

산화된 것이 아니고, 배양액의 pH가 4이상으로 증가하였기 때문에 물리·화학적인 작용에 의해 수용상의 Fe²⁺이 침전물의 형태로 전환되었기 때문으로 추정된다(15).

슬러지중에 함유된 중금속들은 Cd, Cu, Zn, Pb, Hg, Cr, Ni 등으로 Cu와 Pb를 제외하고는 쉽게 화학약품에 의한 산 추출에 의해서 용해가 가능하다. 본 연구에서는 대표적 중금속으로 쉽게 용해 가능한 Zn과 난용해성인 Cu를 조사하였다. 약 2주일간 배양 후에 각 시료에서 용출된 Zn과 Cu의 농도를 측정하여, 처리된 슬러지 중의 중금속 농도와 비교 계산한 제거율은 Figure 2에 도시하였다. 2% 슬러지 농도에서는 Zn과 Cu가 각각 60%와 35% 제거되었다. 5% 슬러지 농도에서는 Zn과 Cu의 제거율은 각각 58%와 5%로 Cu의 제거효율이 급감하였다. 또한 9%와 17% 슬러지 농도에서의 Zn의 제거효율은 50%와 40%이었으나, Cu제거효율은 거의 0%이었다. Zn은 타 중금속에 비해 산처리에 의해 비교적 잘 용출되는 중금속으로, 9%나 17%에서 얻은 제거효율은 *T. ferrooxidans*의 작용보다는 pH를 조절해주기 위해 첨가한 H₂SO₄에 의한 추출 결과로 사료되었다. 즉, 슬러지 농도가 5%를 초과하면 *T. ferrooxidans*에 의한 철산화 활성 및 중금속 제거효율이 상당히 저해받고, 9% 이상의 슬러지 농도에서는 *T. ferrooxidans*의 철산화 활성이 완전히 저해받아 중금속 제거능이 상실됨을 의미한다. 이러한 결과는 슬러지로부터 용출된 유기물을 비롯한 기타 저해물질에 의해 화학적 독립영양 세균인 *T. ferrooxidans*의 활성이 저하 되는 것으로 추정된다(6). 따라서, 슬러지 처리과정에서 용출되는 저해물질들의 영향을 규명하기 위하여 *T. ferrooxidans*의 철산화능에 미치는 슬러지 추출액이 미치는 영향을 조사하였다(Figure 3). *T. ferrooxidans*는 슬러지 추출액을 첨가하지 않은 배지 (9K 배지)에서는 9 g-Fe²⁺/L을 완전히 산화하는데 약 21시간이 소요되었다. 그러나, 슬러지의 추출액의 농도가 증가할수록 점점 감소하였으며, 슬러지 농도 6% 이상의 추출액에서는 *T. ferrooxidans*의 철산화 활성이 완전히 저해를 받았다. 각 슬러지 추출액에서의 총유

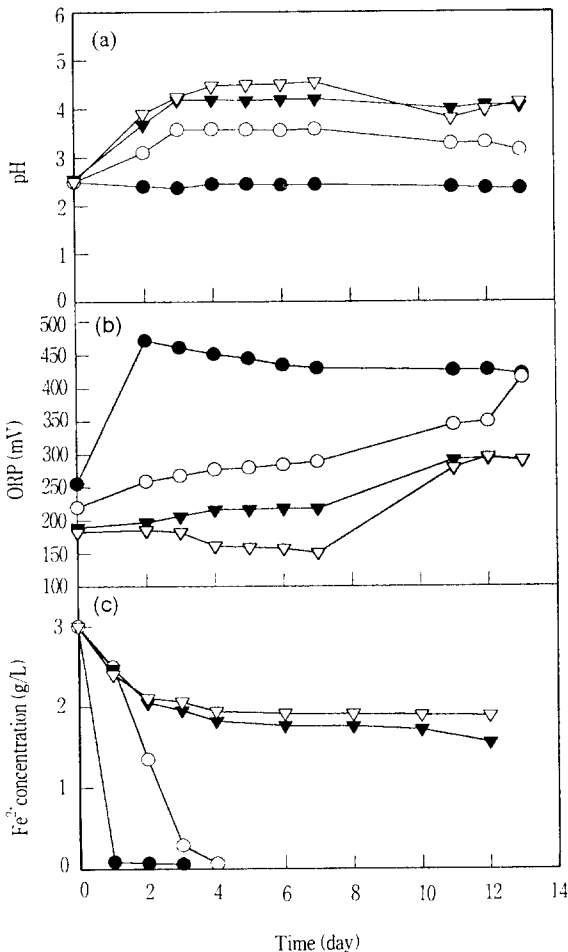


Figure 1 Time profiles of pH, ORP, and Fe²⁺ concentration at different sludge concentrations.
(a) pH, (b) ORP, (c) Fe²⁺ concentration
● : 2% (w/v), ○ : 5% (w/v), ▼ : 9% (w/v), ▽ : 17% (w/v)
도에서는 *T. ferrooxidans*에 의한 철산화 활성에 의해 Fe²⁺이

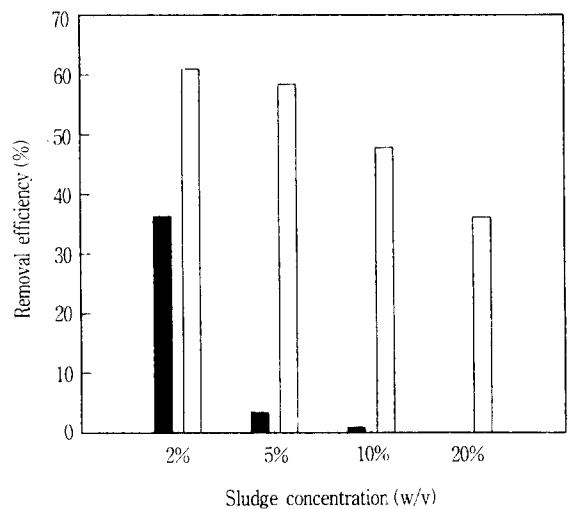


Figure 2 Removal efficiency of heavy metals at different sludge concentrations.
□ : Zn, ■ : Cu.

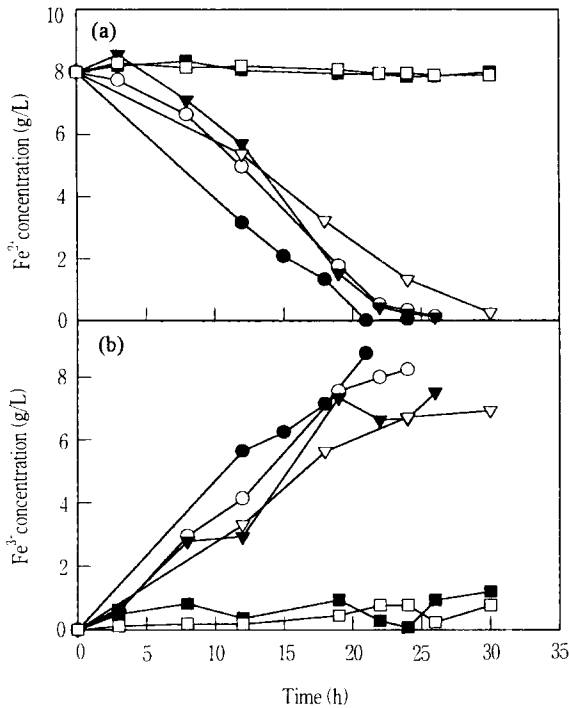


Figure 3 Effect of sludge extract on iron oxidation. (a) Fe^{2+} concentration, (b) Fe^{3+} concentration. The sludge extract was prepared as the following sludge concentrations. ● : control, ○ : 2% (w/v), ▼ : 4% (w/v), ▽ : 5% (w/v), ■ : 6% (w/v), □ : 10% (w/v)

기 탄소 농도(TOC)와 Figure 3 (a)의 철농도로부터 구한 Fe^{2+} 평균산화속도와와의 관계를 Figure 4에 도시하였다. 슬러지 추출액을 첨가하지 않은 9K 배지에서 *T. ferrooxidans*의 철산화속도는 $0.38 \text{ g-Fe}^{2+}/\text{L} \cdot \text{h}$ 이었다. 총유기탄소농도가 150 mg/L 이하(슬러지 농도 4% (w/v))의 조건에서는 철산화속도는 $0.34 \text{ g-Fe}^{2+}/\text{L} \cdot \text{h}$ 이상으로, *T. ferrooxidans*의 철산화활성은 유기물에 의해 약간 영향을 받았다. 그러나, TOC가 188 mg/L (5% 슬러지 추출액) 이상에서는 *T. ferrooxidans*의 철산화속도는 급격하게 감소하였고, 226 mg/L (6% 슬러지 추출액) 이상에서는 균주의 철산화 활성이 완전히 상실되었다.

슬러지의 농도 증가에 따른 *T. ferrooxidans*의 활성저해 원인으로 (1) 슬러지 입자의 응집과 침전에 의한 물질전달 저항, (2) 슬러지중의 저해물질에 의한 세균의 저해작용을 고려할 수 있다. 9~17%의 고농도 슬러지에서는 배양이 진행됨에 따라 슬러지 입자들의 응집현상이 발생되고, 슬러지 입자들의 침전이 일어난다. 따라서, 고농도 슬러지 용액에서는 *T. ferrooxidans*가 필요로 하는 산소와 이산화탄소와 같은 기체상의 물질전달이 원활하지 못하게 되어, *T. ferrooxidans*의 철산화 능력이 저하되게 된다. 이러한 현상은 *T. ferrooxidans*를 이용한 석탄과 점토 탈황 등의 슬러지 시스템을 이용하는 생물공정에서 보고되고 있다 (15-18). 두 번째로는 슬러지의 농도가 증가할수록 슬러지 중에 함유된 유기물과 중금속 등의 여러 저해물질들의 용출량 증가에 따른 세균의 활성 저해작용이다. 독립영양 세균들의 경우 유기물에 의해서 저해작용을 받는다(16). Figure 4에서 보는데와 같

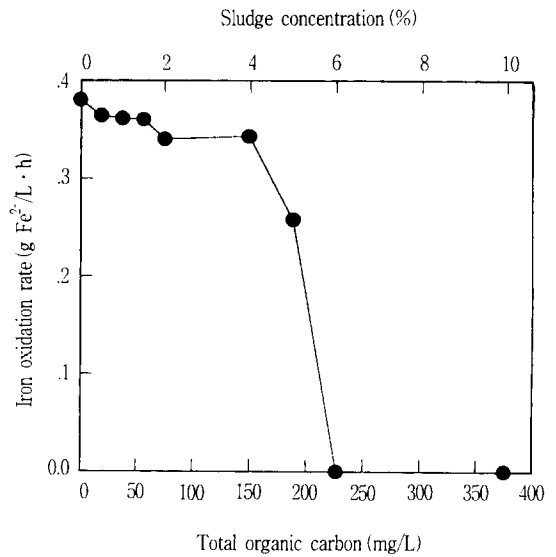


Figure 4 Relationship among iron oxidation rate, sludge concentration, and TOC.

이 슬러지 농도 5% (w/v) 이상에서는 *T. ferrooxidans*의 철산화능이 완전히 저해받았다. 이 경우 슬러지 용출액에서 *T. ferrooxidans*의 철산화능을 조사한 것으로 물질전달 제약에 의한 활성저해는 없다. 따라서, 고농도 슬러지에서의 *T. ferrooxidans*의 활성저해는 물질전달의 제약보다는 용출액에 함유된 유기물이나 다른 용존 저해물질의 작용이 주요 원인을 알 수 있다.

본 연구결과와 지금까지 보고된 연구결과들을 종합해 볼 때, 혐기소화 슬러지액과 같이 고형물질의 양이 1.3~4.0% (w/v)의 낮은 슬러지 농도에서는 *T. ferrooxidans*를 이용할 경우에 효과적으로 중금속의 용출이 가능하다(2, 9-11). 그러나 고농도 슬러지 농도에서는 슬러지로부터 용출된 저해물질들에 의해서 5% (w/v) 이상의 슬러지 농도에 적용하기는 어려움을 알 수 있었다. 따라서, 탈수 슬러지와 같은 고농도 슬러지의 중금속 제거 기술을 개발하기 위해서는 고농도 슬러지 농도에서도 중금속 제거 활성을 발휘하는 새로운 균주 개발에 관한 연구가 필요하다.

요 약

철산화세균인 *Thiobacillus ferrooxidans*를 이용하여 폐수처리과정에서 발생하는 혐기소화 슬러지의 생물학적 중금속제거에 미치는 슬러지 농도의 영향을 조사하였다. 혐기소화 슬러지와 탈수슬러지에 적용이 가능하도록 슬러지 농도를 2, 5, 9, 17% (w/v)로 설정하였다. 5% (w/v) 이상의 슬러지 농도에서는 *T. ferrooxidans*의 중금속 용출율이 매우 낮았다. *T. ferrooxidans*의 철산화능은 슬러지 용출액의 농도가 증가할수록 저해받았고, 특히 슬러지 농도가 6% (w/v) 이상인 슬러지 추출용액에서는 균의 활성이 완전히 저해받았다. 고농도 슬러지에서의 *T. ferrooxidans*의 활성저해는 물질전달의 제약보다는 용출액에 함유된 유기물이나 다른 용존저해물질의 작용이 주요 원인을 알 수 있었다. *T. ferrooxidans*는 혐기소화 슬러지액과 같이 고형물질의 양이 1.3~4.0% (w/v)의 낮은 슬러지 농도에만 효과적으로 적용이 가능하였다.

감 사

본 연구는 1996년도 한국학술진흥재단 대학부설연구소과제 연구비에 의하여 연구되었음.

참 고 문 헌

1. Davis, R. D. (1987), Use of Sewage Sludge on Land in the United Kingdom, *Water Sci. Technol.*, **19**, 1-6.
2. Tyagi, R. C., Couillard, C., and Tran, F. T. (1991), Comparative Study of Bacterial Leaching of Metals from Sewage Sludge in Continuous Stirred Tank and Air-lift Reactors, *Proc. Biochem.*, **26**, 47-54.
3. Tyagi, R. D. and Couillard D. (1989), Bacterial Leaching of Metals from Sludge. In *Encyclopedia of Environmental Control Technology* (P. E. Cheremisinoff, ed.), pp. 537-591, Gulf Publishing Co., Houston.
4. Oliver, G. G. and Carey, J. H. (1976), Acid Solubilization of Sewage Sludge and Ash Constituents for Possible Recovery, *Water Res.*, **10**, 1077-1081.
5. Tyagi, R. D., Couillard, D., and Tran, F. (1988), Heavy Metals Removal from Anaerobically Digested Sludge by Chemical and Microbial Methods, *Environ. Pollut.*, **50**, 295-316.
6. Wozniak, D. J. and Huang, J. Y. C. (1982), Variables Affecting Metal removal from Sludge, *Res. J. Wat. Pollut. Control Fed.*, **54**, 1574-1580.
7. Lo, K. S. L. and Chen, Y. H. (1990), Extracting Heavy Metals from Municipal and Industrial Sludges, *Sci. Total Environ.*, **90**, 99-116.
8. Sreekrishnan, T. R. and Tyagi, R. D. (1996), A Comparative Study of the Cost of Leaching Out Heavy Metal from Sewage Sludges, *Proc. Biochem.*, **31**, 31-41.
9. Cho, I. C., Byeun E. S., Kim, I. S., and Park, S. C. (1994), Leaching of Heavy Metals from Anaerobic Sewage Sludge by *Thiobacillus thiooxidans* and *Thiobacillus ferrooxidans*, *J. Kor. Solid Wastes Eng. Soc.*, **11**, 239-246.
10. Jain, D. K., and Taygi, R. D. (1992), Leaching of Heavy Metals from Anaerobic Sewage Sludge by Sulfur-Oxidizing Bacteria, *Enzyme Microb. Technol.*, **14**, 376-383.
11. Tyagi, R. D. and Couillard, D. (1994), An Innovative Biological Process for Heavy Metals Removal from Municipal Sludge, In *Biological Degradation of Wastes* (A. M. Martin, ed.), pp. 307-318, Elsevier Appl. Sci., New York.
12. Silverman, M. P. and Lundgren, D. G. (1959), Studies on the Chemoautotrophic Iron Bacterium *Ferrobacillus ferrooxidans*, *J. Bacteriol.*, **77**, 642-647.
13. Furman, N. H. (1975), *Standard Methods of Chemical Analysis*, 6th ed., R. E. Krieger Publishing Co., Huntington, New York.
14. Cho, K. S., Ryu, H. W., and Chang, Y. K. (1996), Chemical Characteristics and Microbial Activity of Streams Contaminated by the Abandoned Coal Mine Drainage, *Kor. J. Ecol.*, **19**, 365-373.
15. Kargi, F. (1982), Microbial Coal Desulphurization, *Enzyme Microb. Technol.*, **4**, 13-19.
16. Andrews, G., Darroch, M., and Hansson, T. (1988), Bacterial Removal of Pyrite from Concentrated Coal Slurries, *Biotechnol. Bioeng.*, **32**, 813-820.
17. Ryu, H. W., Chang, Y. K., and Kim, S. D. (1993), Microbial Coal Desulfurization in an Airlift Bioreactor by Sulfur-Oxidizing Bacterium *Thiobacillus ferrooxidans*, *Fuel Process. Technol.*, **36**, 267-275.
18. Ryu, H. W., Cho, K. S., Chang, Y. K., and Kim, S. D. (1995), Refinement of Low-Grade Clay by Microbial Removal of Sulfur and Iron Compounds Using *Thiobacillus ferrooxidans*, *J. Ferment. Bioeng.*, **79**, 46-52.