

## Thiobacillus ferrooxidans에 의한 Pyrite의 생물학적 침출에 따른 기질 표면 특성변화

†이 인 화 · <sup>1</sup>박 천 영  
조선대학교 공과대학 환경공학부, <sup>1</sup>조선대학교 공과대학 자원공학과  
(접수 : 2001. 5. 23., 게재승인 : 2001. 6. 23.)

### Variation of Characteristics on the Surface of Pyrite as Microbial Leaching by *Thiobacillus ferrooxidans* Progresses

In Hwa Lee† and Chun Young Park<sup>1</sup>

†Division of Environmental Engineering, Chosun University, Kwangju 501-759, South Korea  
<sup>1</sup>Department of Mine Research Engineering, Chosun University, Kwangju 501-759, South Korea  
(Received : 2001. 5. 23., Accepted : 2001. 6. 23.)

The leaching effect of *Thiobacillus ferrooxidans* (ATCC 19859) upon polished pyrite ore in 9K medium at 30°C for 30 days was investigated. The surface atomic ratios for Fe, S, Al, Si, and Cu were analyzed by EPMA using fresh and leached samples. The atomic ratio of Fe and S were changed to Fe rich phase as leaching progressed over 13 days but the Fe/S ratio became constant between 13 and 30 days. SEM imaging showed that 10µm oblong shapes formed on the surface after 13 days and that these further developed until 23 days. Fe, S and K atomic ratios were analyzed by SEM-EDS.

**Key Words** : microbial leaching, polished pyrite, *thiobacillus ferrooxidans*, SEM, EPMA

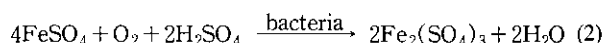
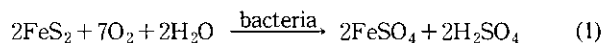
#### 서 론

*Thiobacillus ferrooxidans*는 철 뿐만 아니라 구리, 아연, 납, 우라늄 등 다양한 금속 황의 생물학적 침출이 가능한 미생물로 알려져 있다(1-3). 침출속도는 pH, 반응온도, ferric ion의 농도, 기질입자의 크기, 입자의 표면적 등에 의하여 영향을 받으며 이들 인자에 대한 최적조건 등에 대한 연구가 많이 보고되어 있다(4,5). 그러나 최적조건에서 침출을 진행하여도 침출속도는 꾸준히 감소하며 입자의 크기도 크게 감소하지 않고 비활성화되는 것으로 관찰된다. 1차 침출을 진행시킨 입자를 새로운 용액에 대하여 침출을 다시 수행하면 침출속도는 처음 입자보다 크게 감소하며 금속에 따라서 완전히 비활성화되는 것으로 나타난다(6). 한편 비활성화된 입자를 재분쇄하면 침출속도가 증가되는 것으로 보고된 바 있다(7). 이러한 비활성의 원인은 기질의 표면상태의 변화에 기인하며 표면상태의 변화는 결정구조의 변화, 화학적 조성의 변화, 미세기공의 생성 등이 수

반되는 것으로 추측되지만 이에 대한 연구가 미흡한 실정이다.

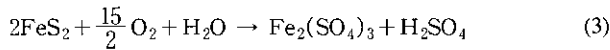
금속황의 산화는 무기화학적으로 또는 미생물에 의해 진행되는데 이 중 미생물에 의한 산화반응에 의해 광산배수의 산성화가 빠르게 진행되는 것으로 알려져 있다(8). 이와 같이 미생물에 의한 황 함유광물의 산화반응은 생물학적 침출(bioleaching)이 작용하여 불용성 금속염을 용해성 금속 염으로 전환한다(9). 미생물에 의한 황철석의 직접 산화 반응은 pyritic sulfur와 ferrous iron의 두 산화 반응으로 특징지어진다. 직접 산화 반응은 황철석을 산화하기 위해서는 황철석과 미생물의 세포벽과의 직접적인 접촉이 필요하다. 미생물들은 세포벽에서 효소를 분비함으로써 황철석을 ferrous iron과 황산으로 산화한다. Ferrous iron의 ferric iron으로의 산화반응도 박테리아에 의해 일어나며 그 반응들은 다음과 같다.

직접 산화 반응(Direct oxidation leaching)



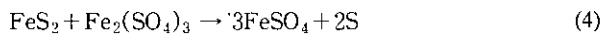
†Corresponding Author : Division of Environmental Engineering, Chosun University, Kwangju 501-759, South Korea  
Tel : +82-62-230-6627, Fax : +82-62-234-6627  
E-mail : ihlee@mail.chosun.ac.kr

## 총괄 직접 산화 반응

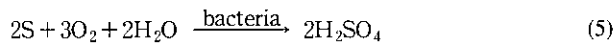


이 반응들은 ferrous sulfate와 원소황을 생성하는 황철석의 간접 산화 반응에 관여하는 강한 산화제인 ferric iron을 생성한다. 간접 산화 반응에 의해 황철석은 ferric iron에 의해서 ferrous iron과 원소황으로 산화된다. ferrous iron과 원소황은 ferric iron과 황산을 제공하기 위해서 박테리아에 의해 산화된다.

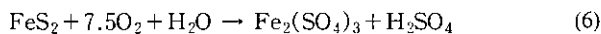
## 간접 산화 반응 (Indirect oxidation leaching)



따라서 간접 산화 반응에서 박테리아의 역할은 ferrous iron을 ferric iron으로 산화하는 것이다. 결과적으로 반응 (4)에서 생성된 ferrous iron은 박테리아의 작용에 의하여 ferric iron으로 산화되고, 이 ferric iron은 다시 많은 양의 황철석과 반응한다. 결국 황철석의 산화속도가 상승하며, 이러한 "propagation cycle"에 의한 산화과정에서 원소황이 생성되고 *Thiobacillus ferrooxidans*나 *Thiobacillus thiooxidans* 및 다른 호산성 박테리아의 대사작용에 의해 황산으로 변화된다(10).



*Thiobacillus ferrooxidans*는 황철석입자와 밀접한 관련이 있으며 본질적으로 직·간접 반응에 관여한다. *Thiobacillus ferrooxidans*에 의한 황철석의 산화와 관련된 두 반응기구의 상대적인 기여도와 화학양론은 아직도 명확하지가 않다. 그러므로 박테리아에 의한 황철석의 용해도를 설명하기 위한 총괄반응은 다음 식으로 나타낼 수 있다.



침출 반응이 일정시간 경과하면 침출량과 속도가 감소하며 이에 따른 기질의 표면변화가 관찰되지만 어떠한 이유에 기인하는지 밝혀지지 않고 있다. 따라서 본 연구는 미생물에 의한 침출이 금속 황에 대하여 진행됨에 따른 표면결정구조 변화를 관찰하고 표면의 결정변화가 원소의 성분분포에 변화를 일으켜 결과적으로 금속황의 표면에 화학적 조성도 변화시키는지를 규명하고자 한다.

본 연구에서는 표면의 화학성분 분석에 유용한 Electro Probe Micro Analyzer (EPMA)를 이용하여 침출 시간에 따른 pyrite 표면의 원소 비율의 변화를 관찰하여 표면의 화학적 특성 변화를 살펴보고자 한다. 또한 고체표면의 부분적인 원소분석은 고 배율의 주사현미경(SEM)에 의하여 이미지를 얻고 각 이미지 상에서 나타난 특정 부분을 SEM에 부착된 EDS(Energy Dispersive Spectroscopy)를 이용하여 원소비율의 차이를 비교하고자 한다. EDS는 0-20 kV의 고

에너지가 시료에 주사될 때 발생하는 X-선의 특성을 이용하여 원자의 종류와 양을 결정하는 방법으로 고체시료표면의 원자의 확인과 정량을 하는데 매우 편리하다(12). 생물공학분야에서 주사현미경이나 투과현미경에 의한 분석 기법이 급속히 발전하고 있고 여기에 부착된 2차 전자를 이용하는 장치로 고체표면을 분석하는 기법은 고체물리학 분야에서 많이 사용하고 있으나 향후 생물학에도 급속히 적용되어 미생물이나 기질 등의 표면분석에 많이 이용될 것으로 전망된다.

## 재료 및 방법

## 배지 조성

본 연구에서 사용될 균주는 *Thiobacillus ferrooxidans* (ATCC 19859)이며 균주의 성장배지는 Silverman의 9K medium(12)을 사용하였으며 최적조건(14)에서 배양하였다. 제조된 시료에 대한 생물학적 침출은  $\text{FeSO}_4$ 가 없는 mineral salt medium을 500 mL 삼각플라스크에 200 mL 용량으로 넣고 5 M 농도  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 를 이용하여 pH를 2.0으로 조절한 후 배양된 균주를 반응부피의 20%(v/v)로 접종하여 수행하였다.

## 시편 제조 및 생물학적 침출

본 연구에 사용될 pyrite는 광양의 폐광에서 원석을 채취하여 분쇄하여 사용하였다. 분쇄된 2 cm 내외 크기의 황철석 조각을 직경이 2.5 cm인 원통형 거푸집에(cylindrical polished section) 넣고 epoxy resin(Buehler사, Araldit LY554, German)과 Hardener(Buehler사, HY554, German)를 1:5의 비율로 혼합한 resin 용액을 부어 넣고 5일간 고화시켜 mounting 하였다. 거푸집을 제거한 specimen을 100, 200, 400, 1000 및 1200 mesh의 연마제에 차례로 2시간씩 grinding 하였다. 황철석 표면의 요철이  $1\mu\text{m}$  이하가 되도록  $0.3\mu\text{m}$ 와  $0.05\mu\text{m}$ 의 입자 크기를 가지는 gamma alumina(Buehler사, German)를 이용하여 polishing cloth(Buehler, German) 위에서 순서대로 polishing하였다. polishing이 완료된 시료는 초음파세척기로 황철석 표면에 붙은 이물질을 제거하고 건조 후 미생물이 접종된 mineral salt medium 200 mL가 채워진 500 mL 삼각플라스크에 넣고 shaker에서  $30^\circ\text{C}$  온도로 침출을 진행하였다. 시료간의 대조를 위하여 미생물이 접종되지 않은 mineral salt medium에서 30일간 다른 시료와 동일한 조건으로 침출을 진행한 시료를 대조시료(control)로 하였다. 제조된 시료는 총 10개이며 제조된 후 침출이 진행된 각 시료의 사진을 Figure 1에 나타내었다.

## 기기분석

연마된 시편의 표면의 모양과 원자의 종류 및 비율을 측정하기 위하여 Electro Probe Micro Analyzer (EPMA, Cameca SX-51, France)를 사용하였으며 시편의 특정부분을 보다 확대한 영역의 이미지 분석 및 원자의 구성비율을 측정하기 위하여 Scanning Electron Microscope and Energy Dispersive Spectroscopy (SEM-EDS, JEOL JSM-840A, ISIS-310, Japan)을 이용하였다.

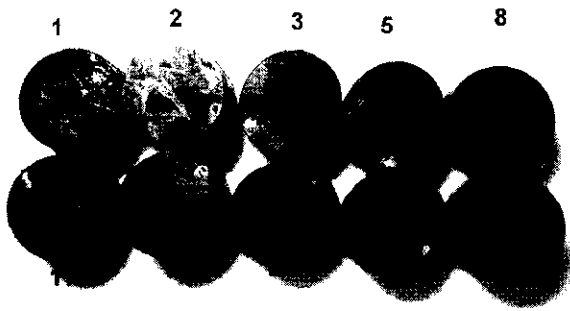


Figure 1. Photograph of polished pyrite ore fixed in resin after leaching progressed.

결과 및 고찰

생물학적 침출에 따른 시료의 표면 변화

제조된 시편을 침출 시키기 전에 EPMA 분석을 시행하였으며 이들 시료를 대상으로 총 30일간 침출을 진행시켜 반응시간에 따른 시료에 대하여 EPMA를 분석하여 대조하였다. 이에 대한 결과는 Figure 2에 정리하였다. 침출이 진행되기 전의 시료의 표면과 침출이 진행된 후의 표면상태를 비교함으로써 침출 시간 경과에 따라 미생물에 의한 표면 변화를 살펴보면 침출 1일에서 5일간에는 표면에 큰 변화가 나타나지 않았으며 8일 경과된 시료에서 침적물의 형태가 나타나기 시작하고 13일 경과 후 작은 점들로 구성된 spot이 형성된 것을 확인 할 수 있었다. 그러나 EPMA에서 얻어진 이미지는 배율이 매우 작아서 생성된 모양은 확인하기 어려웠다. 23일 경과 후에는 보다 큰 무늬가 형성되었으며 이러한 무늬는 30일 경과 후에는 전 표면을 덮을 정도로 넓은 면적으로 확산되는 모습을 보여주었다. EPMA를 통한 표면의 원소별 구성비를 분석하여 Table 1에 정리하였다. 침출이 진행되기 전은 각 시료에서 철 성분이 45.5-46%, 황 성분 52-53% 범위로 성분 비율이 일정 하였으며 알루미늄과 구리 성분과 같은 미량원소는 침출이 진행됨에 따라 구성 비율이 더욱 작아지는 경향을 보여 총 구성비율이 0.05% 이하였다. 침출이 진행됨에 따라 황 성분의 구성비는 13일 후 43.1%까지 감소하는 반면 철성분은 56.9%까지 증가하였다. 침출시간 13일에서 23일까지의 철과 황성분비는 일정한 값을 유지하였으나 30일 경과 후에는 오히려 황 성분이 1% 증가하고 철 성분은

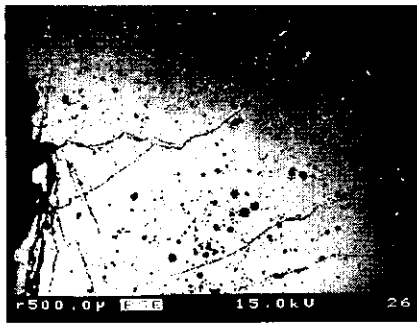
1% 감소하였다. 이와 같은 결과는 침출반응이 진행됨에 따라 황 성분이 침출되면서 상대적으로 철 성분의 노출이 많아진 결과에 기인한 것으로 볼 수 있고 침출이 진행됨에 따라 pyrite 표면에 화학적인 변화가 진행됨을 반증하는 결과이다.

SEM-EDS 분석에 의한 표면의 원자비를 변화 분석

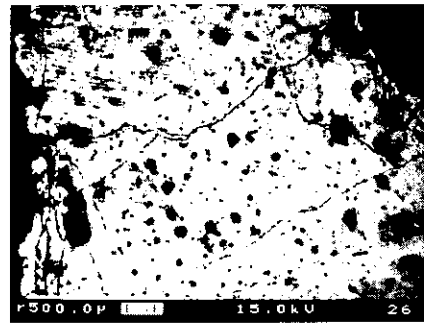
EPMA 이미지는 배율이 작고 원소분석이 전체표면에 대한 평균값에 대한 것이므로 보다 큰 배율에 의한 시료의 미세한 분석을 위하여 주사현미경(SEM, Scanning Electron Microscope)과 SEM이미지상의 특정 부분을 X-선에 의한 EDS(Electron Dispersive Spectroscopy)로 분석하여 원자의 종류별 비율을 정량 하였다. Figure 3 나타낸 SEM 이미지는 EPMA 분석에서 보인 spot에 대하여 5000-8000의 배율로 확대하여 얻어진 것이다. 침출이 1일 진행된 사진은 표면이 거친 상태를 보이는데 이는 생성된 spot의 높이가 낮아 전체적인 초점이 배경에 맞추어졌기 때문이다. 즉 표면의 상태가 매우 매끄러운 상태임을 보여주는 결과인 것이다. 3일 경과된 시료의 경우 spot이 생성되기 시작함을 보여주며 5일 후에는 완전한 형태의 spot이 성장하였다. 8-13일 사이에서 더욱 성장된 spot을 볼 수 있으며 18일 경과된 시료는 도넛 모양의 생성물이 나타났다. 생성물의 전체 크기는 10 μm 내외이며 중간 공간의 크기는 3 μm 내외로 볼 수 있다. 이와 같은 생성물은 *T. ferrooxidans*에 의하여 침출이 진행될 때 미생물의 주위에 침적물이 형성되어 생성된 것으로 보이며 이와 같은 형태는 23일 경과 후 더욱 성장된 생성물의 모양에 의하여 더욱 확실히 증명되고 있다. EPMA 이미지 상에 나타난 점들은 결국 미생물에 의하여 생성된 황화합물로 표면에 부착된 *T. ferrooxidans*는 표면의 pyrite의 Fe-S 결정에 부착되어 산화작용에 의해 생성된 것이었다. 이와 같은 생성물은 침출 된 Fe<sup>2+</sup>가 미생물에 의하여 Fe<sup>3+</sup>로 산화된 후 비정질의 ferric hydroxy sulfate 상태로 기질의 표면에 침착된 것으로 추정된다(13). 표면변화와 침출 시간과의 상관관계는 Lee 등이 제시한 X선 분석에 의한 pyrite 분말의 침출 과정에서 기질의 표면은 침출이 시작된 후 10-20일 사이에 표면의 결정구조에 큰 변화가 일어난다는 보고(24)와 잘 일치하는 결과이다. 결국 이들 생성된 철산화물은 미생물 주위에서 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>이온과 결정화가 진행되면서 jarosite의 형태로 표면의 미생물 주위에 침착되는 것으로 보여진다(15). 위와 같은 일련의 결과는 Snad 등(5)이 제시하는

Table 1. Atomic ratio of the surface of polished pyrite ore as a function of leaching days.

leaching days	Fe	Al	Si	Cu	S	Total
1	45.74	0.01	0.01	0.00	52.24	100.00
3	49.68	0.01	0.01	0.02	50.28	100.00
5	50.71	0.01	0.00	0.03	49.24	100.00
8	51.83	0.00	0.02	0.00	48.15	100.00
13	56.88	0.00	0.01	0.00	43.11	100.00
18	56.69	0.00	0.01	0.05	43.26	100.00
23	57.57	0.00	0.00	0.04	42.39	100.00
30	56.63	0.01	0.00	0.00	43.35	100.00
control	46.90	0.05	0.01	0.29	52.3	100.00



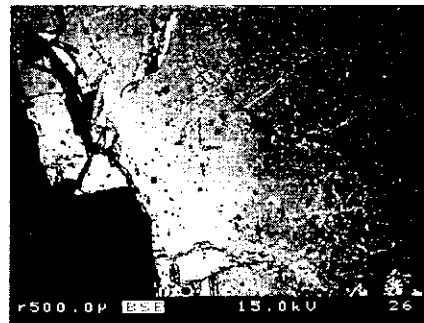
Fresh



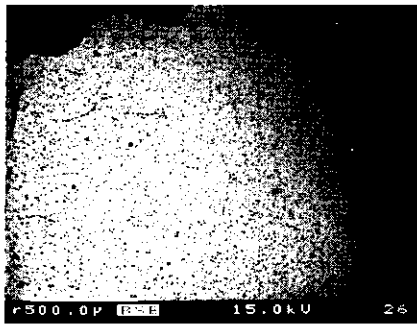
1 day



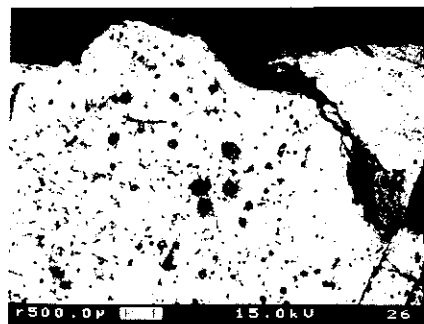
Fresh



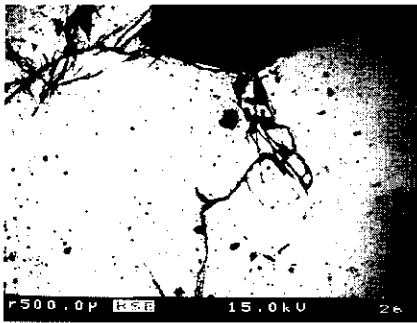
3 days



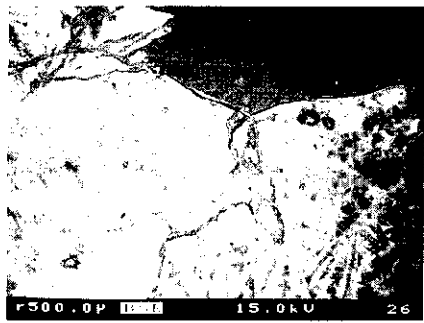
Fresh



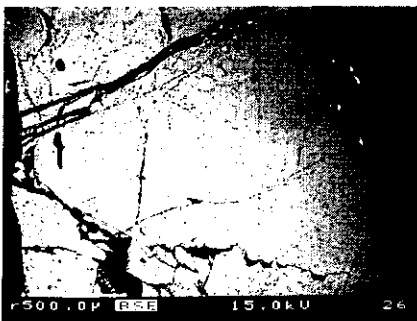
5 days



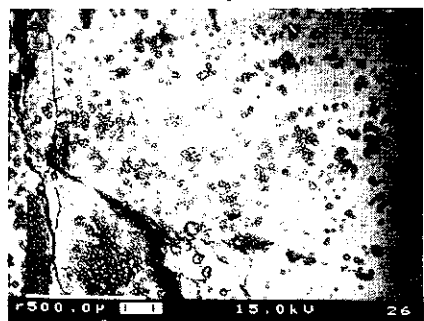
Fresh



8 days



Fresh



13 days

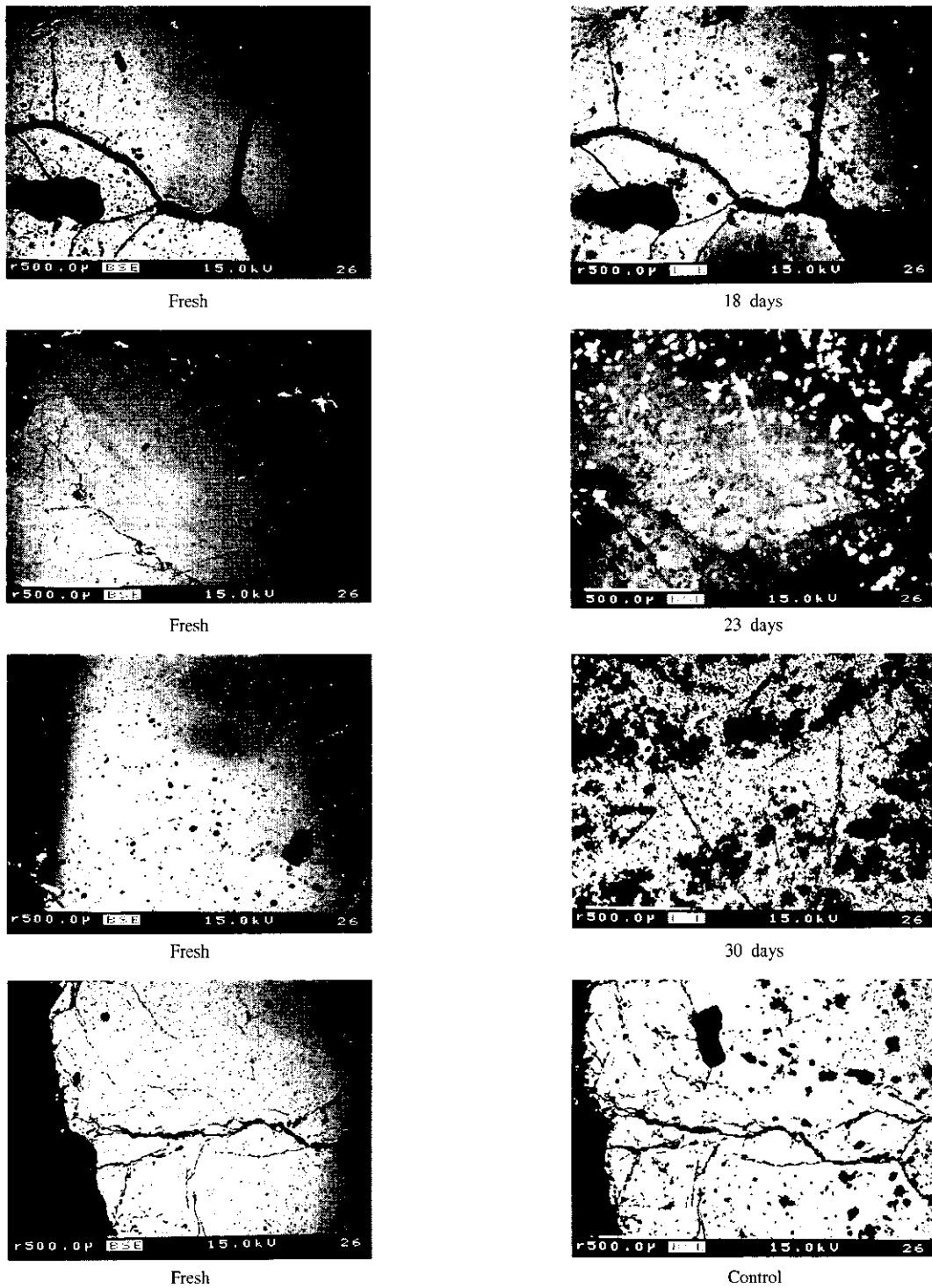


Figure 2. EPMA Image of Polished Ore before and leached samples as a function of leaching days. The control is leached for 30 days in the mineral salt medium without *Thiobacillus ferrooxidans*. The length of bar equivalent to 500  $\mu\text{m}$ .

미생물에 의한 "direct attack mechanism"과 부합되는 결과이다. 미생물이 초기에 황철석의 표면에 황과 반응하는 단계로서 M-S 결합이 끊어지고 이에 따라 결합이 파괴된 자유이온 상태의 Fe는 용액 속에  $\text{Fe}^{2+}$  형태로 침출되어 미생물에 의하여  $\text{Fe}^{3+}$ 로 산화되고 S<sup>0</sup>는 미생물의 작용으로  $\text{SO}_4^{2-}$ 까지 산화과정이 진행된다.  $\text{Fe}^{3+}$ 와  $\text{SO}_4^{2-}$ 는 용액에 농도가 증가함에 따라 일정한 비율로 황철석의 표면에 재침착되어 침출속도를 감소

시키는 것으로 보여진다. 30일 침출이 진행된 표면 사진은 도넛모양의 생성물이 관찰되지 않았는데 EPMA 이미지 나타난 무늬가 표면 전체를 덮은 결과와 비교할 때 pyrite 표면이 이미 침적물에 의하여 새로운 층이 형성되어 침출이 더 이상 진행되지 않는데 기인한다고 보여진다. 이와 같은 결과를 SEM-EDS 분석으로 생성된 spot과 그 외의 부분과 원소 비율을 비교하여 생성물질의 원소 분포 상태를 알아보고자

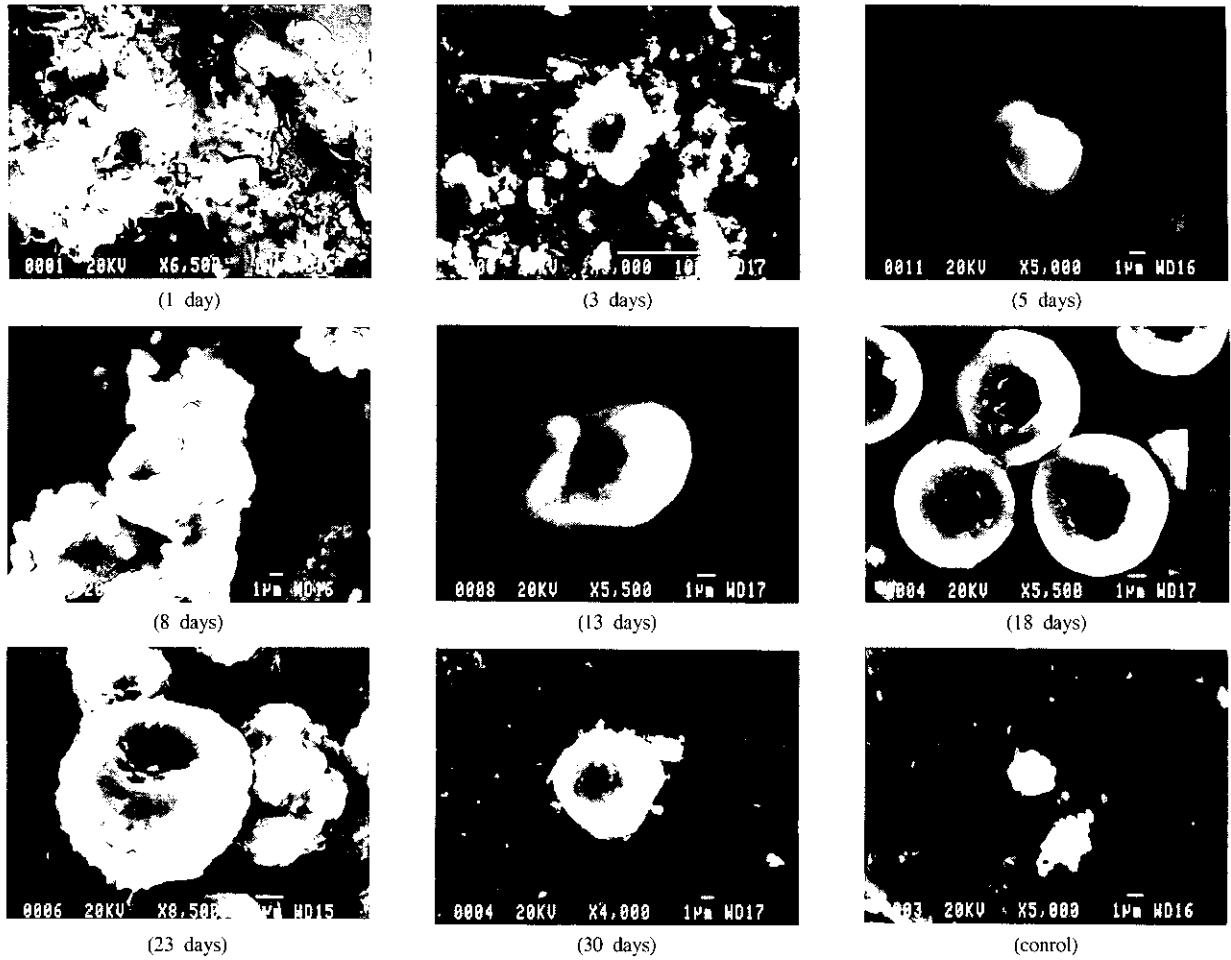


Figure 3. SEM Image of leached samples for 1 day to 30 days. The length of bar is equivalent to 1 μm.

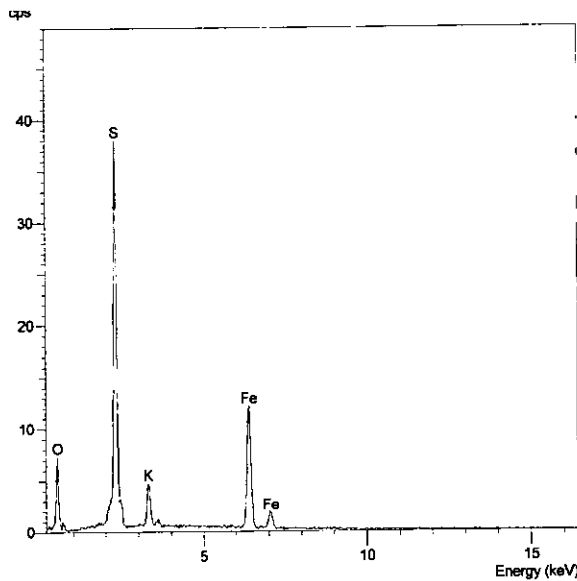


Figure 4. SEM-EDS patterns for leached pyrite samples. Each peak's position on energy(keV) denote kinds of atom and relative peak area is responsible for atomic ratio.

T. ferrooxidans에 의하여 침출이 진행된 각각의 시료에 대하여 SEM-EDS를 분석하여 표면의 모습과 Fe, S, K 원자의

비율을 Figure 5에 도시하였다. 침출이 1일 경과된 spot의 경우 Fe 53.3%, S 35.7%, K 5.85%이며 spot 이외의 지점에서는 Fe 39.8%, S 52.5.7%, K 7.8%로 나타났다. 생성된 spot은 철성분 보다는 침출된 S 성분이 더 많은 원소 구성비를 보이며 이는 미생물에 의하여 침출이 진행될 때 황성분이 먼저 침출되기 때문으로 볼 수 있다. spot에서의 철성분은 침출시간 8일 후 43.4%까지 감소하지만 13일 경과 후에는 56%를 최고로 30일 경과 때까지 50.6%로 감소되고 있다. 황성분은 침출시간 3일까지 50.4%까지 증가하나 이후 계속 감소되어 30일 경과 시점에서는 42%까지 감소되었다. 이와 같은 결과는 황성분이 초기에는 침출량이 많으나 침출시간이 경과함에 따라 결국 원소에 따른 침출량이 평형에 도달함을 보여주는 결과이다. 한편 K 원소는 MSM에 첨가한 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>에 기인한 것으로 보이며 지점에 따라 1%-9.5%로 변화가 심하였으나 spot에서의 비율은 일정한 반면 배경 지역에서는 다소 변화 폭이 심하였다. 배경지역, 즉 생성된 spot 이외의 지역에서의 원소 구성비는 침출 1일 경과 시점에서 Fe 39.8%, S 52.5% K 7.8%이며 침출 시간 3일 경과 시점까지 철의 구성비율이 33.5%까지 감소하다가 18일 경과 시점에서는 57%까지 증가하였고 30일 경과 시점에서 45%까지 감소하였다. Figure 5에서 spot 지점과 배경 지점에서의 철과 황성분의 차이가 초기 3일 경과시점까지는 큰 차

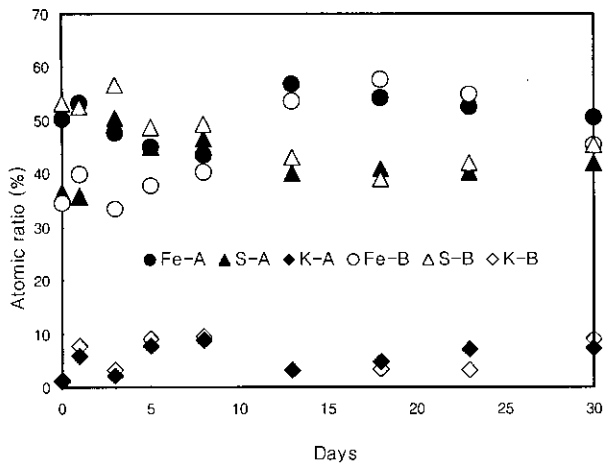


Figure 5. Atomic ratio of Fe, S and K as a function of leaching days analyzed by SEM-EDS for each leached samples. Letter "A" denotes iron atomic ratio in the spot area and "B" denotes iron atomic ratio in the background area. The data on the 0 position is responsible for control sample.

이를 보이나 5일 경과 후에는 지역간의 원소 구성비율이 점차 작아지고 전체적으로 증가 및 감소가 같은 경향으로 변화하는 것으로 나타난다. 이와 같은 결과는 침출이 진행되면서 표면 전체에 침착물이 넓게 생성되어 가는 현상에 따른 결과로 추론된다.

## 요 약

*Thiobacillus ferrooxidans*와 pyrite 광석을 연마하여 resin에 고정된 시편을 대상으로 침출 시간에 따른 표면의 특성 변화를 EPMA 및 SEM-EDS를 이용하여 이미지와 원소구성비율에 따라 살펴보았다. 침출이 진행됨에 따라 표면의 철 성분은 전체적으로 증가한 반면 원소황은 감소하는 경향을 나타냈다. 고배율에 의한 SEM 이미지에서 침출이 진행됨에 따라 도넛모양의 생성물이 침출 13일 경과 시점에서 나타나 23일 경과 후까지 자라났으나 30일 경과 시점에서는 표면전체에 새로운 층 생성된 결과로 나타났다. SEM 이미지 상에서 spot과 배경 지점의 원소 구성비를 EDS에 의하여 분석한 후 비교한 결과 초기에는 원소 구성비의 차이가 큰 값을 보이나 침출이 증가함에 따라 차이가 나지 않으며 이는 침출이 진행됨에 따라 pyrite 표면이 점차 생성물이 침착 되는 것으로 볼 수 있었다.

## 감사의 글

본 연구결과는 1999년도 학술진흥재단 선도연구자지원사업(과제번호 1999-041-E00436)에 의하여 연구되었으며 이에 감사 드립니다.

## REFERENCES

- Colmer, A. R. and Hinkle, M. E. (1950), The role of microorganism in acid mine drainage: A preliminary report, *Science* **106**, 253-256.
- Torma, A. E. (1997), The role of *Thiobacillus ferrooxidans* in hydrometallurgical processes, *Adv. Biochem. Eng.*, **6**, 1-37.
- Douglas E. Rawlings and Simon Silver (1955), *Mining with Microbes*, **13**, 773-778.
- Tohru Wakatuki (1995), Metal oxidoreduction by microbial cells, *J. of Ind. Microbiology*, **14**, 169-117
- W. sand, T. Gerke, R. Hallman, and A. Schipper (1995), Sulfur chemistry, biofilm, and the (in)direct attack mechanism, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **43**, 961-966.
- Anderson, P. R. and Benjamin, M. M. (1985), Effects of silicon on the crystallization and adsorption properties of ferric oxides, *Environ. Sci. Tech.*, **17**, 686-692.
- Murr, L. E. and Mehta, A. P. (1982), Coal desulfurization by leaching involving acidophilic and thermophilic microorganism, *Biotech. Bioeng.*, **24**, 743-748.
- Powell, J. D. (1988), Origin and influence of coal mine drainage on streams of the United States, *Environ. Geol. Wat. Sci.* **11**, 141-152.
- Sengupta, M. (1993), Environmental impacts of mining: Monitoring, restoration, and control, Lewis, pp 494.
- Konishi, Y., Asai, S., and Katoh, H. (1990), Bacterial dissolution of pyrite by *Thiobacillus ferrooxidans*", *Bioprocess Engineering*, **5**, 231-237.
- Anthony R. West (1984), Solid state chemistry and its applications, John Wiley & Sons, 49-52.
- Silverman, M. P. and Lundgren, D. G. (1959), Studies on the chemoautotrophic iron bacterium *Ferrobacillus ferrooxidans*, *J. Bacteriol.*, **77**, 642-647.
- Lazaroff, N., Sigal, N., and Wasserman A. (1982), "Iron Oxidation and precipitation of ferric hydroxysulfates by resting *Thiobacillus ferrooxidans* cells", *Appl. and Environ. Microbiol.*, **43**, 924-938.
- Lee, I. H., Ki, M. H., and Kim, S. W., (2000), Characteristics change on the surface of pyrite by bioleaching with *Thiobacillus ferrooxidans* and isolated strain *Thiobacillus KY*, *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **15**, 254-261.
- Grishin, S.I., Bigham, J. M., and Tuovinen, O. H. (1988), Characterization of jarosite formed upon bacterial oxidation of ferrous sulfate in a packed bed reactor, *Appl. and Environ. Microbiol.*, 3101-3106.
- Axel, S., Peter-Georg, J., and Wolfgang, S. (1996), Sulfur chemistry in bacterial leaching of pyrite, *Appl. and Environ. Microbiol.*, **62**, 3424-3431.