

## Bakteriálna oxidácia a redukcia železa v procese tvorby a spracovania kyslých banských vôd

Daniel Kupka<sup>1</sup>

### *Bacterial Oxidation and Reduction of Iron in the Processes of Creation and Treatment of Acid Mining Waters*

Acid mine drainages (AMDs) arise at the weathering of sulphidic minerals. The occurrence of acidic streams is commonly associated with the human mining activities. Due to the disruption and excavation of sulphide deposits, the oxidation processes have initiated. Acidic products of sulphide oxidation accelerate the degradation of accompanying minerals. AMDs typically contain high concentrations of sulfuric acid and soluble metals and cause serious ecological problems due to the water pollution and the devastation of adjacent country. Microbial life in these extremely acidic environments may be considerably diverse. AMDs are abundant in bacteria capable to oxidize and/or to reduce iron. The rate of bacterial oxidation of ferrous iron released from pyrite surfaces is up to one million times faster than the chemical oxidation rate at low pH. Bacterial regeneration of ferric iron maintains the continuity of pyrite oxidation and the production of AMDs. Another group of microorganisms living in these environments are acidophilic ferric iron reducing bacteria. This group of microorganisms has been discovered only relatively recently. Acidophilic heterotrophic bacteria reduce ferric iron in either soluble or solid forms to ferrous iron. The reductive dissolution of ferric iron minerals brings about a mobilization of iron as well as associated heavy metals. The Bacterial oxidation and reduction of iron play an important role in the transformation of either crystalline or amorphous iron-containing minerals, including sulphides, oxides, hydroxysulfates, carbonates and silicates. This work discusses the role of acidophilic bacteria in the natural iron cycling and the genesis of acidic effluents. The possibilities of application of iron bacteria in the remediation of AMDs are also considered.

**Key words:** acid mine drainage (AMD), iron oxidation, iron reduction, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidiphilium*

### Úvod

Reakcie, pri ktorých dochádza k transformácii dvojmocnej formy železa na trojmocnú a opačne, sa významne uplatňujú pri zvetrávaní a premene minerálov s obsahom železa (sulfidy, hydroxyoxidy, hydroxysulfáty, karbonáty, silikáty). Kyslé banské vody (acid mine drainage, AMD) vznikajú pri zvetrávaní sulfidických minerálov. Sú charakteristické vysokou koncentráciou kyseliny sírovej a rozpustených kovov. Svojou agresivitou spôsobujú deštrukciu sprievodných hornín a následne mobilizáciu kovov v prostredí. Z aspektu acidifikácie prostredia je najvýznamnejším minerálom pyrit  $\text{FeS}_2$ . Pri oxidácii pyritu v prírodných podmienkach sa uplatňujú dva oxidanty, a to kyslík a železitý ión. Oxidáciu pyritu možno popísať nasledujúcou sekvenciou reakcií (Singer and Stumm, 1970):



Reakcia (1) je extrémne pomalá a jedná sa viac-menej o disociáciu pyritu vo vodnom prostredí. Pre deštrukciu pyritu a tvorbu acidity je najdôležitejšia reakcia sulfidu so železitým iónom, ktorá prebieha pomerne rýchlo a je nezávislá na prítomnosti kyslíka. Reoxidácia  $\text{Fe}^{2+}$  na  $\text{Fe}^{3+}$  kyslíkom je v porovnaní s rýchlosťou redukcie  $\text{Fe}^{3+}$  v reakcii (3) zanedbateľná. Krokom určujúcim rýchlosť oxidácie pyritu a tvorby kyslých vôd je teda reakcia (2), pri ktorej dochádza k regenerácii oxidačného činidla  $\text{Fe}^{3+}$  iónu (Singer and Stumm, 1970, Lawson, 1982). Mechanizmus a kinetika tejto reakcie sú rozdielne v neutrálnej a kyslej oblasti. V kyslom prostredí je chemická oxidácia železa molekulovým kyslíkom extrémne pomalá a prebieha podľa kinetickej rovnice (4):

$$-\frac{d[\text{Fe}^{2+}]}{dt} = K[\text{Fe}^{2+}]^2[\text{O}_2]e^{\left(\frac{E_a}{RT}\right)} \quad (4)$$

<sup>1</sup> MVDr. Daniel Kupka, PhD., Ústav geotechniky SAV, Watsonova 45, 043 53 Košice, [dankup@saske.sk](mailto:dankup@saske.sk)  
(Recenzovaná a revidovaná verzia dodaná 10. 12. 2004)

Rýchlosť oxidácie  $\text{Fe}^{2+}$  je priamo úmerná parciálnemu tlaku kyslíka a rastie úmerne so štvorcom koncentrácie  $\text{Fe}^{2+}$  (Huffman and Davidson, 1956; Mathews and Robins, 1972; Kupka, 2001; Kupka and Skvarla, 2001).

## Výsledky a diskusia

### Oxidácia $\text{Fe}^{2+}$

Ak berieme do úvahy chemické zloženie kyslých banských vôd (Tab. 1), v ktorých sa koncentrácie železa pohybujú rádovo okolo  $10^{-3}$ - $10^{-2}$  M a atmosférický parciálny tlak kyslíka (cca 21 kPa) pri teplote okolo 15 °C bude rýchlosť oxidácie železa rádovo  $10^{-7}$ - $10^{-6}$  M h<sup>-1</sup> (Kupka, 2001). Táto hodnota je podstatne nižšia ako reálne namerané rýchlosti vo vzorkách kyslých banských vôd. Vyššie rýchlosti oxidácie železa sú spôsobené katalytickým účinkom železo-oxidujúcich baktérií prítomných v environmentálnych vzorkách. V dôsledku bakteriálnej katalýzy rýchlosť oxidácie  $\text{Fe}^{2+}$  je v daných podmienkach viac ako milión krát vyššia v porovnaní s rýchlosťou abiotickej reakcie (Obr. 1.)

Tab. 1. Fyzikálno-chemické parametre banských drenážnych vôd v lokalite Smolník. Dátum odberu 4.7.2003. Analýza: Environcentrum s.r.o. Košice, Ústav geotechniky Košice, Ekolab Košice.

Tab. 1. Physico-chemical parameters of acid mine waters from Smolník locality. Sampling Dat: Julu 4-th 2003. Analysis: Environcentrum Ltd. Košice, Institute of Geotechnics SAS, Košice, Ekolab Košice.

Parameter/jednotka	Odberové miesto	
	Šachta Pech výtok	Štôlna Caritas
pH	3,89	2,96
teplota [°C]	15,2	11,1
vodivosť [μS]	3040	5820
Eh [mV]	272+212	468+212
O <sub>2</sub> [% saturácie]	98	13
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> [mg l <sup>-1</sup> ]	3287	6775
Fe <sup>2+</sup> [mg l <sup>-1</sup> ]	446,8	333,4
Fe <sup>3+</sup> [mg l <sup>-1</sup> ]	4,9	346,8
Cu [mg l <sup>-1</sup> ]	1,58	15,50
Zn [mg l <sup>-1</sup> ]	8,39	16,21
Mn [mg l <sup>-1</sup> ]	22,9	118,4
Al [mg l <sup>-1</sup> ]	10,9	158,0
Na [mg l <sup>-1</sup> ]	2,5	6,6
K [mg l <sup>-1</sup> ]	2,7	6,4
As [mg l <sup>-1</sup> ]	0,0426	0,0077
Hg [mg l <sup>-1</sup> ]	0,0005	0,0026
Pb [mg l <sup>-1</sup> ]	0,027	< 0,002
Sb [mg l <sup>-1</sup> ]	0,0052	0,0046
Cr [mg l <sup>-1</sup> ]	0,0076	0,045
Sr [mg l <sup>-1</sup> ]	0,175	0,463
Cd [mg l <sup>-1</sup> ]	0,0199	0,0548

Bakteriálna regenerácia  $\text{Fe}^{3+}$  udržuje kontinuitu procesu zvetrávania pyritu a ďalších sulfidov<sup>3</sup>. Produkty oxidácie pyritu (kyselina sírová a síran železitý) následne akcelerujú rozklad sprievodných hornín alumosilikátov, oxidov a karbonátov. Presakujúce vody vykazujú vysoké koncentrácie síranov, rozpusteného železa ( $\text{Fe}^{2+}$  a  $\text{Fe}^{3+}$ ), meď, hliník, zinku, mangánu, niklu, kadmia, arzenu a ďalších prvkov (Tab. 1). Produkcia kyslých banských vôd predstavuje vážny ekologický problém. Spôsobuje devastáciu okolia, degradáciu pôd, poškodzovanie a úhyn vegetácie, kontamináciu podzemných vôd a vodných tokov a vstup kovov do potravinového reťazca.

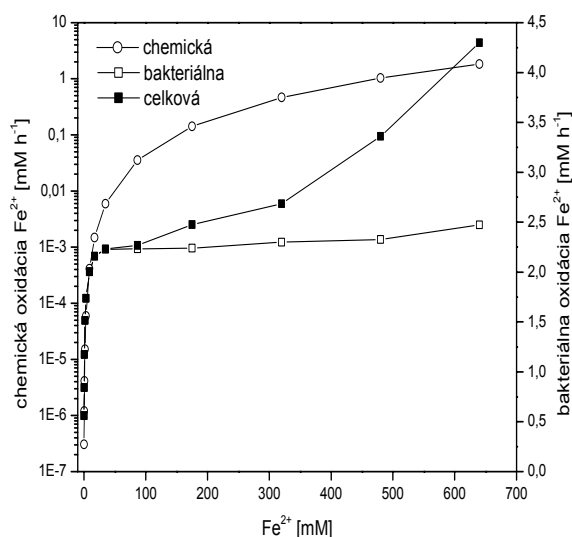
Na Slovensku, ktoré je známe dlhodobou banskou tradíciou, je veľa lokalít, v ktorých existujú vhodné podmienky pre tvorbu kyslých banských vôd. Jedná sa o odkryté alebo rozfárané priestory, zatopené šachty a štôlna, haldy, skládky a odkaliská rudných, alebo uhoľných baní. Typickými príkladmi kde dochádza k produkcii kyslých banských vôd v dôsledku dlhodoberj banskej činnosti, sú lokality Smolník na východnom Slovensku a Šobov v Štiavnických vrchoch.

Dlhodobé laboratórne testy, pri ktorých boli vytvorené optimálne podmienky pre biodegradáciu sulfidov ukázali, že tvorba kyslých vôd závisí od pomerného zastúpenia jednotlivých minerálov v hornine. Horniny s vyšším obsahom sulfidov (>3 %) produkovali kyslé výluhy počas celej pozorovacej doby. Horniny s obsahom

<sup>2</sup> Pri zvetrávaní sulfidov možno predpokladať prevahu síranových aniónov, kedy je reakcia druhého poriadku vo vzťahu ku koncentrácii  $\text{Fe}^{2+}$ .

<sup>3</sup> Pri tvorbe acidity hrá významnú úlohu aj produkcia kyseliny sírovej ako produktu bakteriálnej oxidácie síry a redukovaných sírných zlúčenín, ktoré vznikajú ako intermediáty pri oxidácii sulfidov.

sulfidov okolo 1 % produkovali počas tejto doby neutrálne až mierne alkalické výluhy s uvoľňovaním vápnika a horčíka (White and Jeffers, 1994). Kyslé výluhy sa začínajú tvoriť vtedy keď pufrčná kapacita sprievodných minerálov, hlavne karbonátov, nestačí neutralizovať kyslé produkty oxidácie sulfidov.



Obr. 1. Porovnanie kinetiky chemickej (○) a bakteriálnej (□) oxidácie železa v roztokoch s koncentraciou Fe<sup>2+</sup> 0-700 mM, pri teplote 30 °C a pH 2,2. Pri biologickej oxidácii Fe<sup>2+</sup> bol použitý bakteriálny druh *Acidithiobacillus ferrooxidans* CCM 3973. Koncentrácia bakteriálnych buniek vo vzorkách bola rádovo 10<sup>8</sup> ml<sup>-1</sup>. Reakčné rýchlosti boli vypočítané zo spotreby kyslíka z roztoku v uzavretom systéme a prepočítané na rýchlosť oxidácie železa podľa stechiometrie rovnice (2).

Fig. 1. Comparison of the kinetics of chemical (○) and biological (□) oxidation of iron in the concentration range 0-700 mM, at 30 °C at pH 2.2. *Acidithiobacillus ferrooxidans* [CCM 3973] was utilized in biological Fe<sup>2+</sup> oxidation. Bacterial cell concentration reached 10<sup>8</sup> ml<sup>-1</sup>. Reaction rates were measured from oxygen uptake rates and converted to Fe<sup>2+</sup> oxidation rates according to the stoichiometry of reaction (2).

Prítomnosť mikroorganizmov v kyslých bankských vodách a ich aktívna účasť pri ich tvorbe bola dokázaná už v 50-tych rokoch minulého storočia (Colmer et al., 1950). Pri oxidácii sulfidov hrajú dominantnú úlohu chemolitotrofné, acidofilné, železo a síru oxidujúce baktérie. Niektoré z nich sa využívajú v biohydrometalurgii, hlavne pri spracovaní zlatonosných a medených rúd a koncentrátov. Najnovšie práce zamerané na štúdium biodiverzity v týchto extrémne kyslých prostrediach dokázali pomerne pestré zastúpenie mikrobiálnych druhov (Johnson, 1998).

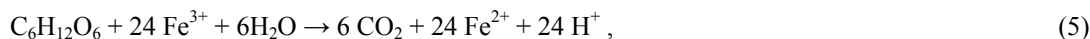
### Redukcia Fe<sup>3+</sup>

Oxidačná forma a rozpustnosť železa je podmienená aciditou prostredia. Pri hodnotách pH pod 2,5 je trojmocné železo prítomné v rozpustnej forme a chemická oxidácia Fe<sup>2+</sup> na Fe<sup>3+</sup> je pomalá. Železo je redox-aktívnym prvkom a v danom prostredí ľahko transformuje z jednej oxidačnej formy na druhú. Redox potenciál páru Fe<sup>3+</sup>/Fe<sup>2+</sup> pri pH 2 je 0,77 V. Táto hodnota je blízka redox potenciálu 0,82 V systému O<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O. Trojmocné železo je termodynamicky vhodným alternatívnym akceptorom elektrónov (náhradou kyslíka) pri bakteriálnej oxidácii organických i anorganických látok. Z prostredí kyslých bankských vôd, ktoré sú bohaté na obsah železa boli izolovaní zástupcovia acidofilných železo-redukujúcich baktérií. Jedná sa o relatívne novú skupinu mikroorganizmov, ktorá sa svojimi vlastnosťami významne odlišuje od doteraz známych neutrofilných Fe(III)-redukujúcich baktérií (Küsel et al., 1999; Johnson and McGinness, 1991). Zástupcovia rodu *Acidiphilium* a *Acidiphilium*-podobné izoláty redukujú v mierne až extrémne kyslom prostredí tuhé (amorfné a kryštalické) a rozpustné formy trojmocného železa relatívne rýchlo a kompletne. Čisté kultúry týchto organizmov dokážu kompletne oxidovať cukry na CO<sub>2</sub>, s maximálnym využitím redukčných ekvivalentov organického substrátu v spojení s redukciami Fe(III) bez tvorby fermentačných medziproduktov. Na rozdiel od neutrofilných Fe(III) redukujúcich organizmov prídavok acetátu, alebo laktátu pôsobil u acidofilov inhibične (Küsel et al., 1999). Schopnosť súčasne korespirovať kyslík a trojmocné železo pri oxidácii organickej látky vylučuje požiadavku striktnej anaerobiózy, čo má veľký význam z aspektu technologického využitia týchto mikroorganizmov pri redukcii železa.

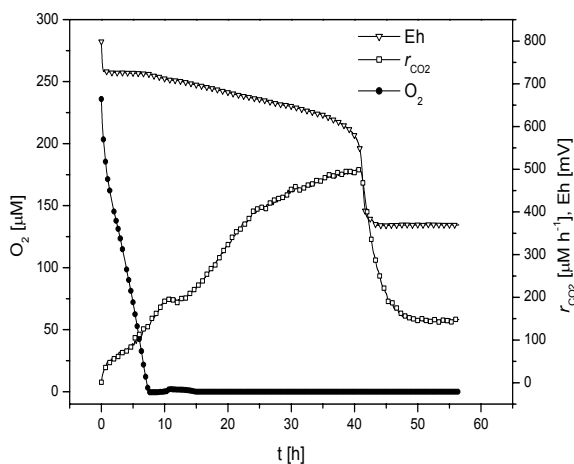
Zlúčeniny trojmocného železa podliehajú abiotickej hydrolyze, ktorá do značnej miery závisí od hodnoty pH, pričom dochádza k acidifikácii prostredia. Pri nízkych hodnotách pH Fe<sup>3+</sup> hydrolyzuje na [FeOH]<sup>2+</sup>, ďalej na [Fe(OH)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> a Fe(OH)<sub>3</sub>. Aj v extrémne kyslom prostredí sa nachádzajú nerozpustné formy Fe(III) rôznych

typov. Jedná sa o amorfné a kryštalické formy hydroxy-oxidov železa, oxyhydroxy sulfáty, ako sú jarozit a schwertmannit, ďalej goetit, lepidokrit.

Redukcia  $\text{Fe}^{3+}$  acidofilnými heterotrofnými baktériami môže byť významná v banských vodách obsahujúcich vyššie koncentrácie rozpustených organických látok. Prídavok organickej hmoty do kyslých banských vôd podporuje rozvoj acidofilných heterotrofov a zníženie koncentrácie rozpusteného kyslíka podporuje utilizáciu  $\text{Fe}^{3+}$  ako alternatívneho akceptora elektrónov s jeho následnou redukciou na  $\text{Fe}^{2+}$ . Redukcia rozpustných foriem trojmocného železa (reakcia 5) je proces pri ktorom sa tvorí acidita, redukcia nerozpustných zlúčenín trojmocného železa je proces produkujúci alkalinitu (reakcia 6).

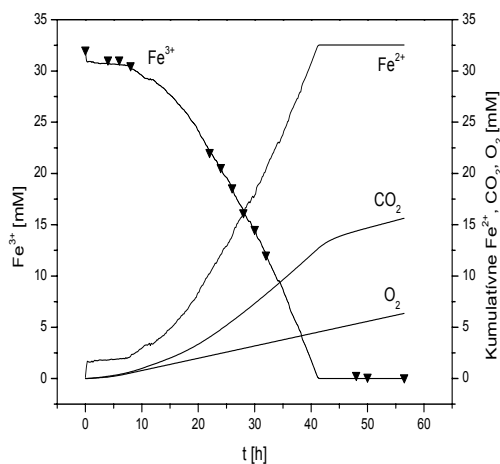


Na obr. 2 a 3 je uvedený priebeh bakteriálnej redukcie  $\text{Fe}^{3+}$  vo forme síranu železitého. Keďže sa jedná o rozpustnú formu  $\text{Fe}(\text{III})$  (počiatočná hodnota  $\text{pH} = 2,3$ ) a donorom elektrónov (oxidovateľným substrátom) bol cukor D-galaktóza (hexóza), redukcia železa prebiehala v súlade s rovnicou (5). Baktérie boli kultivované v reaktore pri teplote  $30^\circ \text{C}$  pri dodržaní mikroaeróbnych podmienok s limitovaným prístupom kyslíka do roztoku jeho difúziou z povrchu. Priestor reaktora nad hladinou bol odvetrávaný atmosférickým vzduchom s prietokom  $100 \text{ ml h}^{-1}$ . Reakčný roztok bol jemne miešaný pri  $75 \text{ ot. min}^{-1}$ . Pri takýchto podmienkach bol objemový koeficient prestupu kyslíka do roztoku konštantný s hodnotou  $k_{\text{La}} = 0,5 \text{ h}^{-1}\text{C}$ . Rastúca bakteriálna kultúra rýchlo spotrebovala všetok kyslík. Jeho koncentrácia v roztoku bola prakticky nulová. So zmenou pomeru  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$  oxidačno-redukčný potenciál (Eh) roztoku klesal z hodnoty  $800 \text{ mV}$  na cca  $350 \text{ mV}$ . Časť organického substrátu bola oxidovaná kyslíkom v súlade s rovnicou (7). Zvyšná časť cukru bola súčasne oxidovaná trojmocným železom až do kompletnej redukcie na  $\text{Fe}^{2+}$  v súlade s rovnicou (5).



Obr. 2. Oxidačno-redukčný potenciál roztoku (Eh), rýchlosť produkcie  $\text{CO}_2$  ( $r_{\text{CO}_2}$ ) a koncentrácia rozpusteného kyslíka v médiu v priebehu redukcie  $\text{Fe}^{3+}$  bakteriálnou kultúrou *Acidiphilium* SJH.

Fig. 2. Redox-potential of the solution (Eh), carbon dioxide production rate ( $r_{\text{CO}_2}$ ) and concentration of oxygen in the medium in the course of  $\text{Fe}^{3+}$  reduction by bacterial culture *Acidiphilium* SJH



Obr. 3. Úbytok  $\text{Fe}^{3+}$  a kumulatívne množstvá redukovaného železa, spotrebovaného kyslíka a produkovaného oxidu uhličitého v priebehu bakteriálnej redukcie železa kultúrou *Acidiphilium* SJH.

Fig. 3. Decrease of  $\text{Fe}^{3+}$  and cumulative amounts of reduced iron and oxygen and produced carbon dioxide in the course of  $\text{Fe}^{3+}$  reduction by bacterial culture *Acidiphilium* SJH.

Obrázok 3. dokumentuje korespiráciu kyslíka a  $\text{Fe}^{3+}$  bakteriálnou kultúrou *Acidiphilium* SJH. Tento acidofilný heterotrofný bakteriálny druh redukuje trojmocné železo bez nárokov na striktné anaeróbne podmienky, ktoré sú pre väčšinu železo-redukujúcich baktérií nevyhnutné.

## Záver

Možnosti spracovania kyslých bankských vôd bakteriálnymi oxidačno-redukčnými procesmi:

Vzhľadom na dlhodobú tvorbu kyslých bankských vôd (storočia až tisícročia), na ich spracovanie je potrebné navrhnúť také dlhodobé fungujúce technológie úpravy vôd, ktorých výsledkom bude kontinuálne odstraňovanie kovov a síranov, ako aj zvyšovanie hodnoty pH. Hlavnou požiadavkou je, aby alkalinitu tvoriace reakcie prevažovali nad reakciami, pri ktorých dochádza k produkcii kyseliny. Pri úprave kyslých bankských vôd sa štandardne aplikujú oxidačné alebo redukčné postupy.

V prvom prípade sa po oxidácii železa aplikujú neutralizujúce látky, ako NaOH, CaCO<sub>3</sub>, CaO, Ca(OH)<sub>2</sub>, s cieľom zvýšenia pH a vyzrážania trojmocného železa vo forme Fe(OH)<sub>3</sub>. Pri tomto spôsobe úpravy je dôležitým krokom oxidácia Fe<sup>2+</sup> na Fe<sup>3+</sup>. Pre urýchlenie oxidácie Fe<sup>2+</sup> v kyslom prostredí je vhodné použiť acidofilné železo-oxidujúce baktérie *Acidithiobacillus ferrooxidans* alebo *Leptospirillum ferrooxidans*. Jedná sa o chemolitotrofné druhy, ktoré autotrofné fixujú CO<sub>2</sub> (Kupka, 2001). Samotnú oxidáciu Fe<sup>2+</sup> v kyslom prostredí (rovnica 2) možno označiť za proces produkujúci alkalinitu, pretože do reakcie vstupuje H<sup>+</sup> protón. Pri hydrolyze Fe<sup>3+</sup> na [FeOH]<sup>2+</sup> sa H<sup>+</sup> protón spotrebovaný pri oxidácii železa opäť vracia do prostredia. Hydrolyza až na Fe(OH)<sub>3</sub> generuje ďalšiu aciditu.



Následne dochádza k precipitácii Fe<sup>3+</sup> vo forme Fe(OH)<sub>3</sub> a k odstráneniu ďalších kovov z roztoku buď sorpciou na „aktívne“ Fe-zrazeniny, alebo ich vyzrážaním. Kyselinu sírovú je možné neutralizovať reakciou s karbonátmi vo forme CaSO<sub>4</sub>.

V druhom prípade sa na úpravu vôd využívajú prírodné, alebo umelo vytvárané jazierka (močiare wetlands), do ktorých sa vysádza kyslomilná vodná vegetácia a pridáva sa vápenec spolu s rôznymi organickými substrátmi (Kalin, 2001). Funkčné močiare predstavujú veľmi zložité ekosystémy, obsahujúce aeróbne aj anaeróbne zóny s pH gradáciou o 3 až 5 jednotiek medzi vstupom a výstupom. Pri úprave vody sa uplatňujú čiastkové procesy, ako sú iónová výmena, sorpcia kovov na organický substrát a vodné rastliny, filtrácia koloidných a suspendovaných materiálov. Tieto sú však menej dôležité v porovnaní s mikrobiálnymi transformačnými procesmi. Denitrifikácia, amonifikácia, metanogenéza, a hlavne redukcia síranov (reakcia 9) a redukcia železa (reakcia 6) sú považované za najdôležitejšie pri úprave kyslých vôd a zároveň za hlavné alkalinitu produkujúce procesy (Vile and Wieder, 1993) v týchto ekosystémoch.



Síran-redukujúce baktérie (SRB) znižujú koncentráciu síranov a produkujú sírovodík, ktorý môže zrážať rozpustené kovy. Tvorba bikarbonátu prispieva zároveň k elevácii pH.

Johnson (1995) navrhol pre spracovanie kyslých vôd sekvenciu reaktorov s acidofilnými železo-redukujúcimi baktériami a síran-redukujúcimi baktériami. Cez tieto dva stupne úpravy, v ktorých prebiehajú podobné reakcie ako v umených močiach je usmerňovaný tok spracovávanej vody. Kontrola procesu je na vyššej úrovni v porovnaní s predchádzajúcim spôsobom. Redukcia železa v prvom stupni znižuje hodnotu redox potenciálu kyslých bankských vôd a zvyšuje pH, keďže sa jedná o alkalinitu produkujúci proces (rovnica 6). Tým sa vytvárajú priaznivé podmienky pre činnosť SRB v druhom stupni úpravy. Ďalším významným faktorom je vylúčenie vstupu Fe<sup>3+</sup> iónu, ktorý oxiduje sulfidy kovov (reakcia 3) vznikajúce precipitáciou so sírovodíkom. Táto reakcia môže prispievať k nežiaducej produkcii kyseliny a k spätnej mobilizácii kovov, ktorá bola pozorovaná v umelých sanačných močiach (Vile and Wieder, 1993).

*PodĎakovanie: Táto práca vznikla v rámci riešenia grantovej úlohy Grantovej agentúry VEGA 2/2107/22 a VEGA 2/5033/5.*

## Literatúra - References

- Colmer, A., R., Temple, K., L. Hinckle, M., E.: An iron oxidizing bacterium from the acid mine drainage of some bituminous coal mines. *J. Bacteriol.*, 59, 317-328, 1950.
- Huffman, R., E., Davidson, N.: Kinetics of the ferrous iron-oxygen reaction in sulphuric acid. *J. Am. Chem. Soc.* 78, 4836-4842, 1956.
- Johnson, B., D.: Biodiversity and ecology of acidophilic microorganisms. *FEMS Microbiol. Ecol.* 1998, 27, 307-317.
- Johnson, D., B.: Acidophilic microbial communities: Candidates for bioremediation of acidic mine effluents. *Int. Biodeterioration. Biodegradation*, 1995, 41-58.

- Johnson, D., B., S., McGinness: Fe(III) reduction by acidophilic heterotrophic bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 57, 1991, 207-211.
- Kalin, M. 2001 Biogeochemical and ecological consideration in designing wetland treatment systems in post-mining landscapes. *Waste management*, 21, 191-196.
- Kupka, D. 2001. Ferrous iron oxidation by *Thiobacillus ferrooxidans*, PhD. Thesis, Institute of Geotechnics, Slovak Academy of Sciences, Košice.
- Kupka, D. And Škvarla, J. 2001. Kinetics of chemical oxidation of ferrous iron by oxygen in acid sulfate solutions. *Acta Metallurgica Slovaca*, 7, 3, 243-248.
- Küsel, K., Dorsch, T. et al., 1999. Microbial reduction of Fe(III) in acidic sediments: Isolation of *Acidiphilium cryptum* JF-5 capable of coupling the reduction of Fe(III) to the oxidation of glucose. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 3633-3640
- Lowson, R.T. 1982. Aqueous oxidation of pyrite by molecular oxygen. *Chem. Rev.* 82, 5, 461-497
- Mathews, C.T. and Robins, R.G. 1972. The oxidation of aqueous ferrous sulphate solutions by molecular oxygen. *Proc. Aust. Inst. Min. Met.*, 242, 47-56.
- Singer, P.C. and Stumm, W. 1970. Acidic mine drainage: The Rate-Determining Step. *Science*, 167, 1121-1123
- Vile, M.A. and Wieder, R.K. 1993. Alkalinity generation by Fe(III) reduction versus sulfate reduction in wetlands constructed for acid mine drainage treatment. *Water Air Soil Pollut.*, 69, 425-441.
- Welham, N.J., Malatt, K.A. and Vukcevic, S. 2000. The effect of solution speciation on iron-sulphur-arsenic-chloride systems at 298 K. *Hydrometallurgy*, 57, 209-223.
- White, W.W. and Jeffers, T.H. 1994. Chemical predictive modeling of acid-mine drainage from metallic sulphide-bearing waste rock. *ACS SYMP. Ser.*, 550, 608-630.