

Danuta CHROSTOWSKA

Maria GOSS

Ewa BUSZMAN

Zakład Biochemii Farmaceutycznej

Śląska Akademia Medyczna, Sosnowiec

KRYTERIA WARUNKUJĄCE EFEKTYWNOŚĆ PROCESU BAKTERYJNEGO ŁUGOWANIA SIARCZKÓW METALI

Wstęp

Efektywność procesu mikrobiologicznego ługowania związana jest z aktywnością biologiczną stosowanych bakterii. Największy udział w tym procesie wykazują bakterie rodzaju *Thiobacillus*, głównie gatunki *T. ferrooxidans* i *T. thiooxidans*.

Aktywność tych bakterii można być odniesiona do utleniania właściwych dla danego gatunku substratów i monitorowana różną liczbą parametrów takich jak; wytwarzanie kwasu siarkowego, zmiana wartości pH podłoża, wartości potencjału red-oks, pobieranie tlenu, pobieranie w procesach oddechowych dwutlenku węgla, przyrost biomasy, utlenianie Fe^{2+} do Fe^{3+} [1,2], a także ilością wyługowanego produktu w procesie ługowania rud siarczkowych [3,4]. Utlenianie odpowiednich substratów zachodzi w określonych warunkach fizyko-chemicznych [5] i geochemicznych środowiska [6,7]. Fizyko-chemiczne warunki wzrostu bakterii *T. ferrooxidans* i *T. thiooxidans* były przedmiotem szeregu badań [8,9,10]. Te same gatunki bakterii mogą posiadać jednak różną stabilność cech fizjologicznych co utrudnia ich taksonomiczną ocenę. Wg Huthinsona i wsp. [11] pozostaje to w związku z różnym pochodzeniem szczepów bakterii.

Nadrzędnym celem pracy było ustalenie kryteriów warunkujących efektywność procesu bakteryjnego ługowania siarczków. Dla zrealizowania tego celu postanowiono;

- porównać aktywność szczepów *T. ferrooxidans* i *T. thiooxidans* pochodzących z różnych naturalnych środowisk i wyselekcjonować szczepy najaktywniejsze,
- ustalić wpływ określonych parametrów na rozwój wyselekcjonowanych szczepów,
- określić efektywność procesu ługowania pirytu z udziałem wyselekcjonowanych szczepów.

Materiał i metody

1. Porównanie aktywności szczepów T.ferrooxidans i T.thiooxidans.

Do badań wybrano następujące szczepy bakterii:

T.ferrooxidans: F1-74, F4-74, F6-75, F14-76, F16-76, F23-77, F22-77, F26-77, F27-77,

T.thiooxidans: T3-74, T8-75, T15-76, T29-77, T30-77.

Wszystkie szczepy wyizolowano z wód kopalń węgla kamiennego z wyjątkiem F1-74 i T3-74, które pochodziły z kolekcji Inst. Przer. Surowc. Mineralnych AGH w Krakowie.

Hodowle T.ferrooxidans prowadzono na podłożu płynnym wg Silvermana i Lundgrena 9K, zaś hodowle T.thiooxidans na podłożu płynnym wg Waksmana, zgodnie ze składem podanym przez Karawajkę i wsp. [7]. Podłoża o objętości 100 cm³ zaszczepiano świeżą zawiesiną bakterii w liczbie 10⁶ kom/cm³ w kolbach Erlenmayera i inkubowano w 30° C bez aerowania. Aktywność szczepów oceniano przez pomiar ich dynamiki wzrostu metodą liczenia bakterii w komorze Thoma [12] oraz ilością μ l pobranego tlenu w stałej objętości próbki poprzez oznaczenia manometryczne w aparacie Warburga [13]. Badania przeprowadzano równolegle, pobierając próbki w odstępach 2-3 dni.

2. Wpływ wybranych parametrów na aktywność wyselekcjonowanych szczepów

Badania dotyczyły:

- wpływu różnej zawartości żelaza Fe²⁺ w podłożu,
- wpływu różnych temperatur inkubacji,
- wpływu pH
- wpływu napowietrzania hodowli
- wpływ wytrząsania hodowli.

W większości doświadczeń stosowano podłoże płynne 9K oraz bakterie T.ferrooxidans F26-77 o znanej liczbie wyjściowej. Miarą aktywności bakterii była ilość zużytego tlenu przez stałą objętość zawiesiny bakteryjnej. Próbki do badań pobierano w odstępach 1-3 dniowych. Pomiar przeprowadzone w czystych kulturach w warunkach laboratoryjnych były podstawą ustalenia warunków procesu bakteryjnego łągowania.

- Badania wpływu zawartości jonów Fe²⁺ prowadzono na podłożach 1K, 5K, 9K i 15K, zawierających odpowiednio 1, 5, 9 i 15 g Fe²⁺/dm³.

Oznaczenie końcowej zawartości jonów Fe³⁺ wykonano pośrednią metodą manganometrycznego miareczkowania jonów Fe²⁺ [14].

- Badając wpływ temperatury na aktywność bakterii hodowle inkubowano w 6°, 22°, 30° i 37° C.

- W badaniach wpływu pH początkowe wartości pH podłoża wynosiły; 2,0, 3,0 i 4,0.
 - Badania wpływu napowietrzania i wytrząsania hodowli prowadzono z zastosowaniem podłoża 9K, temp. 30° C, pH 2,4 oraz wyjściowej liczby bakterii $5 \cdot 10^7 / \text{cm}^3$. Hodowle prowadzono w następujących wariantach; I hodowla napowietrzona, II hodowla mieszana magnetycznie, III hodowla stacjonarna.
- Przed pomiarem próbki homogenizowano szklanym homogenizatorem ręcznym przez 1,5 minuty w celu uzyskania homogennej zawiesiny bakterii.

3. Efektywność ługowania pirytu z udziałem wyselekcjonowanych bakterii.

W procesie mikrobiologicznego ługowania pirytu zastosowano optymalne parametry wzrostu bakterii w hodowlach standardowych; temp. 22 i 30° C, pH = 2-4, podłoże 5K, liczba bakterii $> 10^6 / \text{cm}^3$, bakterie *T.ferrooxidans* F26-77 i *T.thiooxidans* T29-77.

Ługowanie prowadzono w skali laboratoryjnej w układzie:

50 g węgla (z kop. Siersza, o rozdrobnieniu 0,1-0,2 mm, o zawartości 2,8 % pirytu) + 100 cm³ r-ru 5K + bakterie.

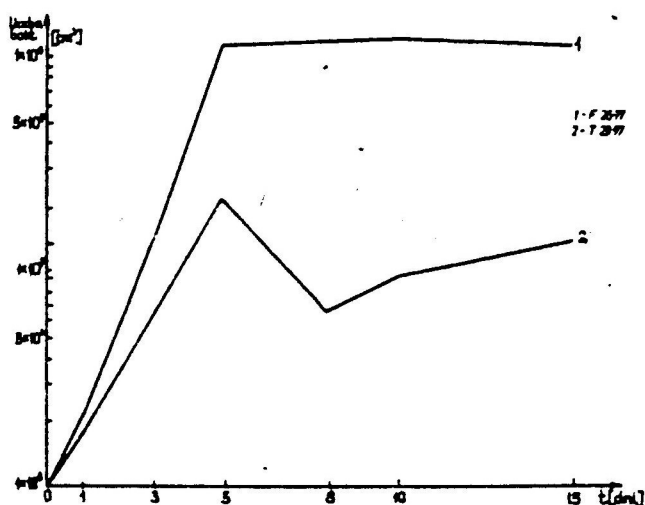
Efektywność odsiarczania węgla określano przez oznaczenie zawartości siarki pirytovej przed i po procesie ługowania przy użyciu metody wg PN-75/G-04516 str. C11.

Wyniki

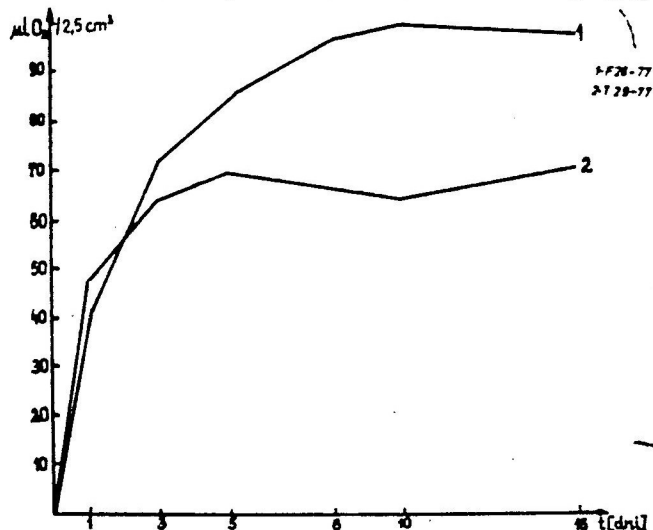
1. Porównanie aktywności szczepów *T.ferrooxidans* i *T.thiooxidans* pochodzących z różnych naturalnych środowisk.

Z pomiarów manometrycznych jak również ze zliczenia bakterii metodą komorową uzyskano bardzo zbliżone wyniki dla dziesięciu przebadanych szczepów *T.ferrooxidans* i oddzielnie dla pięciu szczepów *T.thiooxidans*. Graficznie przedstawiono dane dla wybranych szczepów (rys. 1 i 2) - *T.ferrooxidans* F26-77 i *T.thiooxidans* T29-77. Analiza krzywych wzrostu szczepów *T.ferrooxidans* wykazała dwie fazy - w początkowych dniach hodowli faza intensywnego namnażania, trwająca do 8 lub 10 dnia hodowli, przechodząca w fazę równowagi trwającej do końcowego dnia doświadczenia.

Dla szczepów *T.thiooxidans* faza intensywnego namnażania trwała do 5-go dnia hodowli po czym między 5 i 8 następowało obniżanie się liczby komórek i monowny wzrost, nawet do wartości maksymalnej osiągniętej w 5 dniu doświadczenia. Przyrost bakterii był o rząd wielkości wyższy od początkowej liczby bakterii, natomiast szczepy *T.ferrooxidans* wykazywały



Rys. 1. Krzywe wzrostu szczepów F26-77 i T29-77



Rys. 2. Liczba $\mu\text{l O}_2$ pobierana przez F26-77 i T29-77 w poszczególnych dniach hodowli

przyrost o dwa rzędy wielkości.

Wyniki pomiarów manometrycznych wyrażające ilość $\mu\text{l O}_2$ w odniesieniu od stałej objętości próbki ($2,5 \text{ cm}^3$) i zawartych w niej bakterii (rys. 2) wykazują stałe zwiększanie ilości pobieranego tlenu w kolejnych dniach doświadczenia, co było zgodne z przebiegiem krzywych wzrostu bakterii. Na tej podstawie wykazano, że najaktywniejszymi były następujące szczepy; F26-77, F16-76, F6-75, F23-77, T3-74 i T29-77.

W przypadku kiedy za kryterium aktywności przyjęto ilości $\mu\text{l O}_2$ w przeliczeniu na stałą liczbę bakterii ($10^6/\text{cm}^3$), najwyższe pobieranie tlenu w pierwszym dniu hodowli obserwowano dla następujących szczepów;

F26-77, F20-77, F22-77, T3-74 i T29-77 (rys. 7).

W kolejnych dniach zużycie tlenu zmniejszało się co mogło być spowodowane zmianą wartości odżywczej podłoża, a co za tym idzie zmniejszeniem aktywności bakterii i pojawieniem się bakterii martwych.

2. Wpływ wybranych parametrów na aktywność bakterii.

Wyniki pomiarów wyrażające ilość O_2 pobieranego przez bakterie F26-77 wzrastające w podłożach o różnej zawartości żelaza przedstawiono na rys. 3, a wyniki końcowych pomiarów pH i Eh oraz stężenie jonów Fe^{3+} w podłożu zamieszczono w tabeli 1.

Tabela 1.

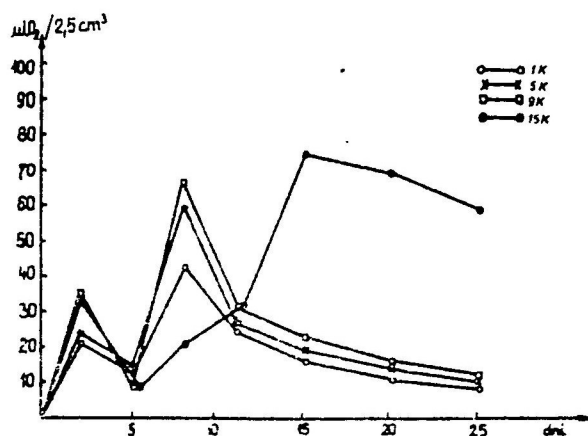
Wartości pH i Eh oraz stężenie jonów Fe^{3+} w hodowlach o różnej początkowej zawartości jonów Fe^{2+}

Bakterie symbol szczepu	Podłoże	pH końcowe	Eh mV końcowe	Fe^{2+} wyjściowe g/dm ³	Fe^{3+} końcowe g/dm ³
F23-77	1K	1,95	519	1,00	0,956
F26-77	1K	2,10	520	1,00	0,926
F23-77	5K	1,92	518	5,00	4,78
F26-77	5K	1,72	540	5,00	4,84
F23-77	9K	1,78	525	9,00	8,56
F26-77	9K	1,80	541	9,00	8,74
F23-77	15K	1,86	532	15,00	14,45
F26-77	15K	1,85	537	15,00	14,45

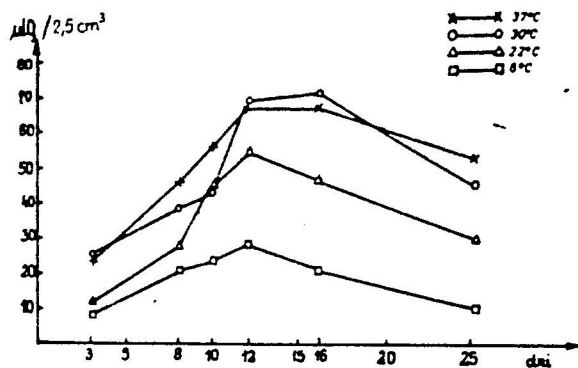
Uzyskane wyniki wskazują, że wartości pH i Eh zmierzone w 25-tym tj. końcowym dniu doświadczenia oraz stopień utlenienia żelaza dla wszystkich wyjściowych stężeń Fe^{2+} dla szczepów F23-77 i F26-77 są podobne. Zmiana wartości pH środowiska (z 2,4 do 1,8) i wzrost wartości Eh (z 220 do 520-560 mV) wskazuje na pełne utlenienie jonów Fe^{2+} do Fe^{3+} o czym świadczy również stężenie jonów Fe^{3+} w końcowym dniu doświadczenia.

Bakterie wzrastające na podłożu o zawartości żelaza 5 g i 9 g w 1 dm³ nie różnią się znacznie w ilości pobieranego tlenu (rys. 3), jakkolwiek zauważa się, że wraz ze wzrostem zawartości żelaza, ilość pobieranego tlenu również wzrasta.

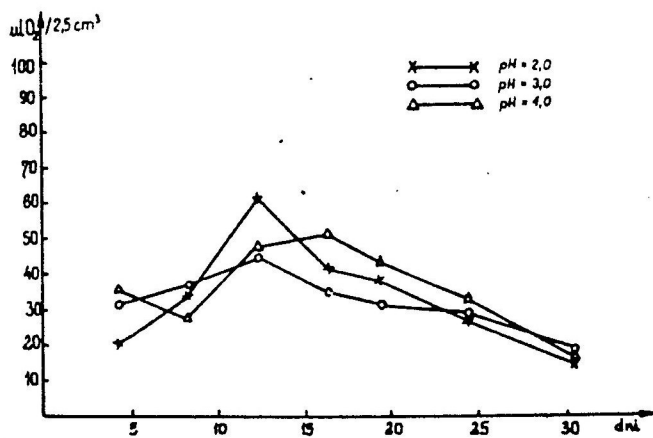
- Wyniki wpływu temperatury na aktywność szczepu F26-77 przedstawiono na rys. 4. Maksymalne wartości zużycia tlenu wykazuje szczep inkubowany w temp. 30° i 37° C (ok. 70 μl), mniejsze ilości w temp. 22° C (54 μl) i najniższe w temp. 6° C (30 μl).
- Wyniki badań wpływu pH podłoża na aktywność szczepu F26-77 ilustruje



Rys. 3. Zużycie tlenu przez bakterie F26-77 w podłożu o różnej zawartości żelaza

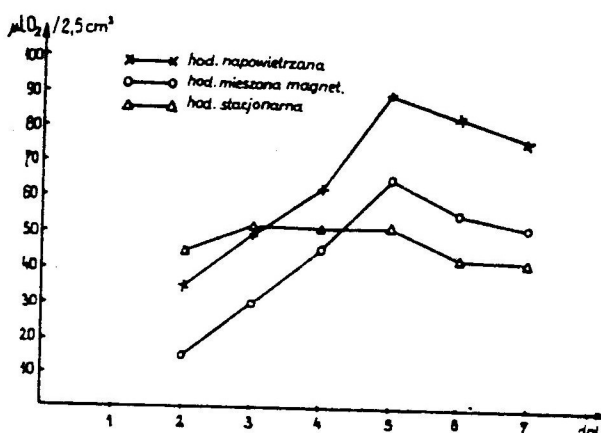


Rys. 4. Zużycie tlenu przez bakterie F26-77 inkubowane w różnych temperaturach



Rys. 5. Zużycie tlenu przez bakterie F26-77 w podłożu o różnej wyjściowej wartości pH

Rys. 6. Zużycie tlenu przez bakterie F26-77 w hodowli napowietrzanej, mieszanej magnetycznie i stacjonarnej



rys. 5. Zauważa się, że pH w przedziałach od 2,0-4,0 nie wpływa znacząco na aktywność badanego szczepu.

- Wyniki badań wpływu napowietrzania i mieszania hodowli w porównaniu z hodowlą stacjonarną na aktywność szczepu F26-77 ilustruje rys. 6. Wykresione krzywe dotyczą próbek zhomogenizowanych i wyrażają ilość $\mu\text{l O}_2$ w przebiegu trwania hodowli.

Najwyższe wartości pomiarów uzyskiwano dla hodowli napowietrzanych ($90 \mu\text{l O}_2$) i kolejno dla mieszanych magnetycznie ($65 \mu\text{l}$) oraz stacjonarnej ($50 \mu\text{l}$).

3. Mikrobiologiczne ługowanie pirytu.

W celu potwierdzenia aktywności biologicznej wybranych szczepów bakteryjnych *T. ferrooxidans* i *T. thiooxidans* przeprowadzono badania zastosowania tych bakterii w procesie mikrobiologicznego ługowania pirytu z węgla.

Badania wpływu parametrów fizykochemicznych na aktywność procesu bakteryjnego odsiarczania węgla w skali laboratoryjnej wykazały, że proces ten zachodzi z najwyższą wydajnością w roztworze ługującym 5K o wyjściowej wartości pH od 2-4 oraz w temperaturze 30°C . Uzyskane wartości są analogiczne do optymalnych warunków wzrostu bakterii *Thiobacillus*.

Dodatkowo przeprowadzono badania wpływu wyjściowej liczby bakterii na procentowe obniżenie zawartości siarki pirytovej w węglu po ługowaniu. Wyniki uzyskane po 28 dniach ługowania przedstawiono w tabeli 2.

Uzyskane wyniki wskazują na wyraźny wzrost wyługowania siarki pirytovej z węgla w miarę zwiększania liczby bakterii wprowadzonych do

roztworu ługującego.

Tabela 2.

Bakteryjne ługowanie pirytu z węgla w obecności
różnej liczby bakterii

Lp.	Liczba bakterii w 1 cm ³ roztworu	Wyługowanie pirytu z węgla %		
		od	do	średnio
1	10 ³	3,2	4,5	3,9
2	10 ⁴	7,2	9,3	8,3
3	10 ⁵	9,7	14,3	12,0
4	10 ⁶	15,4	15,5	15,5
5	10 ⁷	12,2	22,6	17,4
6	10 ⁸	18,5	37,9	28,2

Omówienie wyników - dyskusja

Celem przeprowadzonych badań była ocena wzrostu wybranych szczepów *T. ferrooxidans* i *T. thiooxidans* oraz ocena ługującej aktywności bakterii w danych warunkach hodowli.

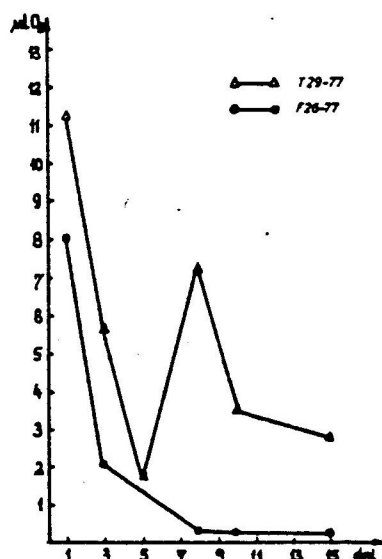
Otrzymane wyniki badań były podstawą do porównania efektów zliczania komórek bakteryjnych w komorze Thoma z efektami pomiarów aktywności bakterii w odniesieniu do ilości pobieranego tlenu.

Wykreślone krzywe przebiegu wzrostu bakterii na podstawie danych z obliczeń metodą komorową (rys. 1) charakteryzują się prawidłowym przebiegiem, zwłaszcza w fazie intensywnego namnażania się bakterii. Faza ta trwa do 5 lub 10-go dnia hodowli. Czas trwania kolejnej fazy równowagi jest różny w zależności od badanego szczepu. Obserwowany przyrost bakterii był o jeden lub dwa rzędy wyższy od początkowej liczby wprowadzonych bakterii. Jako miarę aktywności biologicznej szczepów przyjęto ilość μ l pobieranego przez bakterie tlenu w 2,5 cm³ podłoża. Aktywność ta jest iloczynem aktywności komórek żywych i ich ilości w badanej objętości podłoża. Jest ona zatem wypadkową aktywności komórek żywych i ich udziału w całej populacji liczonych bakterii. W takim rozumieniu ilość pobieranego tlenu w pierwszych dniach hodowli wzrastała (rys. 2) i krzywa przebiegała analogicznie do krzywej wzrostu bakterii.

Bardziej właściwe wydawać by się mogło ocenianie aktywności bakterii poprzez obliczenie zużytego tlenu na stałą liczbę bakterii.

Przy założeniu stałej aktywności pojedynczej żywej komórki aktywność uzyskana w takim przeliczeniu powinna maleć co zgodne jest z dokonywanymi obserwacjami (rys. 7). Obniżenie aktywności w pobieraniu tlenu

w przeliczeniu na stałą liczbę komórek może być z jednej strony spowodowane zmniejszaniem się ilości żywych komórek w całej hodowli, a z drugiej zmniejszaniem się aktywności komórek żywych w miarę wzrostu stężeń produktów katabolizmu oraz wyczerpywania się substratów odżywczych.



Rys. 7. Zużycie tlenu przez bakterie F26-77 i T29-77 w przeliczeniu na 10^6 komórek/cm³

Prowadzone badania [15] nad zależnością zużycia tlenu od liczby bakterii wykazały, że przy odpowiedniej liczbie bakterii (10^4 - 10^9) zależność między zużyciem tlenu, a ilością bakterii jest logarytmiczna. Przeliczanie zatem zużycia tlenu na stałą liczbę bakterii może prowadzić do niewłaściwych wniosków przy porównaniu dwóch układów różniących się znacznie ilością komórek bakterii w 1 cm³. W przypadku stosowania bakterii w procesie technologicznym jako aktywność bakterii należałoby raczej uznać aktywność określonej objętości hodowli będącej iloczynem aktywności komórek żywych i ich ilości.

Przy braku odpowiedniej metody liczenia wyłącznie żywych komórek w odniesieniu do niektórych gatunków bakterii, metoda manometrycznego pomiaru pobierania tlenu jest właściwym kryterium oceny żywotności szczepów bakterii. Ze względu na specyficzny charakter wzrostu bakterii tionowych nie można wykluczyć pewnych błędów w dokonywanych pomiarach [15,16].

Procesy fizjologiczne bakterii, również tionowych są bardzo złożone i przebiegają odmiennie lub z różnym nasileniem w zależności od wielu wzajemnie na siebie oddziałujących parametrów fizyko-chemicznych [7,17].

W niniejszej pracy zbadano parametry podstawowe dla prawidłowego przebiegu procesów życiowych bakterii takie jak; różne wyjściowe ilości energetycznego substratu - utlenianego przez bakterie, różne temperatury inkubacji, różne wyjściowe wartości pH podłoża oraz napowietrzanie i mieszanie hodowli. Zauważono, że ze wzrostem ilości jonów Fe^{2+} w podłożu wzrasta również ilość pobieranego tlenu do 8-go dnia hodowli, z wyjątkiem roztworu 15K (15 dzień) - co mogło świadczyć o zwolnionym metabolizmie bakterii rosnących na tym podłożu.

Począwszy od 8-go i 15-dnia ilość pobieranego przez bakterie tlenu malała. Obniżenie aktywności bakterii mogło wynikać ze wzrostu stężenia jonów Fe^{3+} oraz z autozakwaszenia środowiska w następstwie hydrolizowania jonów [17]. Kowrow i inni [18] uzyskiwali duży przyrost biomasy bakterii *T. ferrooxidans* przy zastosowaniu elektrochemicznej redukcji żelaza Fe^{3+} do Fe^{2+} , dzięki czemu środowisko było bogate w substrat energetyczny. Zapewnienie takich warunków wzrostu, w których uzyskiwanoby wysoką koncentrację komórek wiąże się z intensywnością utleniania substratu, co w warunkach bakteryjnego ługowania rud siarczkowych jest istotne ze względu na wydajność procesu.

Wynika stąd, że intensywność utleniania jonów Fe^{2+} zależy także od liczby komórek bakterii w środowisku. Zostało to również potwierdzone kinetyką utlenienia jonów żelazawych przez bakterie *T. ferrooxidans* [2]. Zdolność utleniającą środowiska zależy przede wszystkim od potencjału red-oks E_h i pH. Obniżenie pH z wartości początkowej 2,3 do 1,8 oraz wzrost potencjału E_h we wszystkich badanych próbach świadczyło o utlenianiu się jonów żelazawych do żelazowych w trakcie procesu.

Analiza aktywności bakterii w oparciu o pomiary manometryczne z wskazaniem ilości pobieranego tlenu w warunkach hodowli o zmiennych temperaturach inkubacji i różnych wyjściowych wartościach pH (rys. 4 i 5) potwierdziła, że optymalną temperaturą wzrostu dla *T. ferrooxidans* jest temp. 30°C oraz pH od 2,0-4,0. Utleniania jonów Fe^{2+} zależy zarówno od właściwej temp. inkubacji jak i pH środowiska.

Moszniakova i Karavajko [17] wykazali, że ciągła regulacja pH utrzymywanego w przedziale 2,3-2,4 dla szczepów *T. ferrooxidans* pozwala na uzyskanie nawet w temp. 12°C znacznego wzrostu bakteryjnego utleniania Fe^{2+} , zaś bez regulacji pH wydajność jest 4-5 krotnie mniejsza. Potwierdza to konieczność utrzymywania pH środowiska przy ocenie kinetyki bakteryjnego utleniania.

Wzrost i aktywność bakterii tlenowych zależy również od obecności tlenu w środowisku, ze względu na aerobowy charakter większości gatunków rodzaju *Thiobacillus* [19]. Potwierdzeniem były wyniki pomiarów manometrycznych hodowli napowietrzanej i mieszanej magnetycznie w porównaniu z wynikami hodowli stacjonarnej (rys. 6).

Wyselekcjonowane szczepy bakterii *T.ferrooxidans* i *T.thiooxidans* zastosowano w procesach bakteriynego ługowania.

W przeprowadzonych badaniach wykazano przydatność tych bakterii do procesów mikrobiologicznego ługowania pirytu występującego w węglu. Proces ten w optymalnych warunkach wzrostu bakterii oraz w obecności najwyższej liczby bakterii możliwej do namnożenia w hodowli płynnej prowadzi do wyługowania ok. 40 % pirytu w węglu po 20-30 dniach ługowania.

LITERATURA

- [1] Bracilović D., Barbić F., Živković J., Zeitschr All. Mikrobiol., 17, 3, 1977, 253-254.
- [2] Czogała J., Dutkiewicz B., Chrostowska D., Rudy i Metale Nieżelazne, 23 (6), 1978, 292-295.
- [3] Guay R., Silver M., Biotechnol. Bioeng. XIX, 1977, 727-740.
- [4] Touvinen O.H., Kelly D.P., Zeitschr. Allg. Mikrobiol., 12, 1972, 311-346.
- [5] Feldman K., Gorrol D., Z. Allg. Mikrobiol., 16, 4, 1976, 255-258.
- [6] Tsokur N.I., Mikrobiol. Zh., 39(4), 1977, 513-519.
- [7] Karavajko G.I., Kuzniecov S.J., Gołomzik A.J., Rol mikroorganizmow v vyščelečievanii metallov iz rud, Nauka, Moskva 1972.
- [8] Lundgren D.G., Vestal J.R., Tabita F.R., Water pollution microbiology Wiley Interscience, New York, 1972, 69-88.
- [9] Vishniac W., Santer M., Bacteriol. Rev. 21, 1957, 195-213.
- [10] Luchterowa A., Postępy Mikrobiologii, 13, 2, 1974, 158.
- [11] Hutchinson M., Johnstone K.J., White D., J. Gen. Microbiol. 41, 1965, 357-366.
- [12] Petrycka M., Mrozowska J., Ćwiczenia z mikrobiologii sanitarnej, Skrypty uczelniane, Politechnika Śląska, Gliwice, 1974, s. 484.
- [13] Goss M., Chrostowska D., Wilczok T., Zeszyty Naukowe WSI, Opole, 1981.
- [14] Minczewski J., Marczenko Z., Chemia Analityczna, tom II, PWN, W-wa 1976.
- [15] Chrostowska D., Dziurawicz A., Goss M., Niesmak U., Raczek K., Zeszyty Naukowe WSI, Opole 1981.
- [16] Goss M., Materiały Zjazdowe PTBF, Wrocław - Oleśnica, 1978, 109.
- [18] Kavrov B.G., Denisov G.K., Sekačieva L.G., Mikrobiologia, 3, 1978, 400-404.
- [17] Moszniakova S.A., Karavajko G.I., Mikrobiologia 1, 1979, 48-52.
- [19] Anbrejuk I., Rubenczik L.J., Kozłowa J.A., Głuszczenko T.F.G., Mikrobiologia, 4, 1973, 643-646.

CRITERIA OF THE BACTERIAL LEACHING PROCESS

The effectiveness of bacterial leaching strongly depends on biological activity of used bacteria. *Thiobacillus ferrooxidans* and *Thiobacillus thiooxidans* bacteria were isolated from coal mine waters and their activity was determined by the use of micromanometric techniques and by direct counting in Thom's chamber. The most active strains were chosen for all kinetic experiments.

The effect of culture conditions on *Thiobacillus* bacteria growth was examined. The bacteria reached the highest biological activity at 30°C, in aerated 5K or 9K medium and at pH 2 to 4.

It was proved that the selected strains of bacteria were also effective in bacterial leaching processes.