

БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОЧИСТКИ ГРУНТОВ

1. Методы биodeградации загрязнителей.

2. Методы биопоглощения загрязнителей.

I.

Методы биodeградации загрязнителей основаны на деструкции токсичных загрязняющих веществ различными видами микроорганизмов. Эффект достигается либо за счет активизации аборигенной микрофлоры, либо за счет внесения в грунт определенных культур микроорганизмов, а также всевозможных комплексных препаратов.

Методы очистки активизацией микрофлоры

Данные методы очистки основаны на активизации существующей (аборигенной) в почве или породе микрофлоры. В результате этого микроорганизмы начинают активно поглощать загрязнитель и вызывать его деструкцию.

Методы активизации аборигенной микрофлоры направлены на создание оптимальной среды для развития определенных групп микроорганизмов, разлагающих загрязнитель. Эти методы могут быть использованы везде, где естественный микробиоценоз сохранил жизнеспособность и достаточное видовое разнообразие. Очистка за счет активизации микрофлоры является медленным, но очень эффективным процессом. Наиболее часто эти методы очистки применяются для ликвидации нефтяных и углеводородных загрязнений.

К простейшим способам активизации микрофлоры относятся механические. Рыхление, частые вспашки, дискование, распашка загрязненных нефтью земель являются благоприятными факторами, стимулирующими процессы биodeградации нефти в почве, при этом также улетучиваются легкие фракции нефти.

Существует также метод смешивания загрязненной почвы с чистой, после чего в ней не только активизируется микрофлора, но и сама почва становится пригодной для выращивания растений, которые впоследствии используются в качестве субстрата, в свою очередь ускоряя биodeградацию.

При очистке от нефтепродуктов почвы или горных пород путем стимулирования природной микрофлоры необходимо осуществить активизацию природного микробного почвенного комплекса и особенно тех групп микроорганизмов, которые окисляют углеводороды, что ведет к активному потреблению углеводородов нефти.

Например, при использовании такой технологии для переработки 10 000 т почвы, удаленной с территории вблизи нефтеперерабатывающего завода (г. Роттердам, Нидерланды), за 75 дней обработки концентрация нефтепродуктов в почве снизилась до нормативного уровня.

Процесс очистки загрязненных материалов на оборудованных площадках является относительно дешевым методом, однако данный вариант очистки не обеспечивает оптимальных условий для жизнедеятельности микроорганизмов, что ведет к существенному увеличению сроков обработки материалов.

Часто активизация биodeградации осуществляется за счет поддержания оптимальной температуры. Так, загрязненную почву зимой для повышения температуры покрывают черной полиэтиленовой пленкой, летом такую же пленку, только прозрачную, используют для снижения испарения с поверхности.

В настоящее время появились методы электрокинетической активизации биodeградации. За счет электрического тока обеспечивается миграция микроорганизмов, имеющих собственный заряд по загрязненной зоне, что гарантирует более быструю и равномерную очистку грунта.

Механизм активизации биodeградации с помощью ультразвука состоит в разбивке крупных почвенных агрегатов, которые особенно часто образуются при нефтяном загрязнении, что, в свою очередь, увеличивает доступность загрязнителя для микроорганизмов.

Другим широко распространенным способом биоактивизации является улучшение условий аэрации почвы, породы или воды за счет добавок воздуха. Самой простой мерой в данном случае является продувка воздухом под различным давлением почв, пород и подземных вод.

Она применяется при загрязнении летучими углеводородами, дизельным топливом и им подобными загрязнителями. Продувка воздухом поверхностных водоемов с целью активизации биodeградации фосфора описана П. Ревеллем в 1995 г.

Аналогичным, по сути, является метод активизации биodeградации дизельного топлива с помощью введения инъекций воздуха в анаэробные пространства, эффективность метода для различных углеводородов от 45 до 94%.

Иногда в местах скопления углеводородокисляющих микроорганизмов создается разрежение воздуха для обеспечения миграции к ним легких углеводородов, бензина; эффективность очистки достигает 100%.

Часто методы продувки воздухом сочетаются с введением питательных веществ. Для удаления из массивов летучих углеводородов через горизонтальные скважины вместе с воздухом подается газообразная питательная смесь. Другим вариантом этого метода является разбрызгивание микрочастиц питательного раствора. Активизация углеводородокисляющих микроорганизмов за счет закачки в грунты химически активных пен имеет высокую эффективность благодаря своему комплексному воздействию: улучшению условий дыхания, оптимизации баланса питательных веществ, а также увеличению подвижности и доступности неводорастворимых органических загрязнений.

Идеальными для биодеструкции являются нейтральные почвы. В кислых почвах для нейтрализации широко применяют известь. В нефтезагрязненных почвах известь дополнительно нейтрализует продукты разложения нефти и снижает подвижность токсичных веществ, ускоряет разложение метаново-нафтенных структур. Наиболее эффективно для ускорения биodeградации нефти в почве внесение смеси извести и карбонатной сажи (туфа). Для нейтрализации щелочных почв используют гипс. Методы нейтрализации для активизации биodeградации применяются и для очистки поверхностных вод, в частности от фосфора.

Активизация биodeградации в нефтезагрязненных почвах и грунтовых водах достигается за счет внесения минеральных удобрений. Однако необходимо отметить, что реакция микроорганизмов сильно варьирует в зависимости как от конкретного загрязнителя, так и от свойств добавки. Существует опыт закачки в загрязненный нефтью грунт сточных вод, обогащенных нитратами (до 0,5 г/л), для активизации биodeградации. При этом концентрация алифатических соединений снизилась с 1,5 до 0,5 мг/л, ароматических - с 5,0 до 0,5 мг/л.

При внесении азота в дозе 600 кг/га степень деградации нефтяных углеводородов в целинных почвах возрастала в среднем на 45%. Мочевина и покрытая серой мочевина ускоряют биodeградацию нефти с 14,8 до 58,6% за 21 сутки, что применяется на железнодорожных магистралях и на дренированных песчаных почвах.

В серых лесных почвах наиболее эффективно ускоряет биodeградацию комплекс азотных, фосфорных, калийных удобрений и перегноя. Добавки в воду азота,

кислорода и метана применяются также для активизации микрофлоры с целью очистки от хлорсодержащих растворителей.

ЗАО "Спецбиотех" разработана эффективная технология детоксикации почв, загрязненных хлорорганическими соединениями, в том числе ПХДФ и ПХДД, основанная на использовании уникального по своим свойствам, функциям и областям применения активированного гуминового концентрата, способствующего в том числе активизации аборигенной микрофауны. Технология была опробована в 1995-1996 гг. в г. Серпухове Московской области на территории, прилегающей к заводу конденсаторов и загрязненной ПХДФ.

После обработки этим препаратом почвы, содержащей в среднем 98 мг/кг ПХДФ, концентрация ПХДФ снизилась до 1 мг/кг через 60 дней в течение одного вегетационного периода. Во второй вегетационный период содержание ПХДФ составляло менее 0,01 мг/кг. Очистка почвы от ПХДФ сопровождалась увеличением влагоемкости почвы (на 12%), содержания почвенных микроорганизмов (с 104 до 107 КОЕ/г), заметным приростом почвенной фауны (например, дождевых червей), улучшением структуры почвы.

Одним из методов, обеспечивающих диспергацию нефти и вследствие этого улучшающих ее контакт с микроорганизмами, является внесение ПАВ. Моющие вещества вымывают мазут из почвы вместе с водой и влияют на активность микроорганизмов, повышение концентрации ПАВ до 5% вызывает угнетение микрофлоры. Эмульгатор нефти ЭПН-5 стимулировал численность спорообразующих грибов и бактерий при дозе 20—40%, при этом увеличение дозы до 60-100% приводило к их угнетению. С целью активизации биodeградации нефти в почве применяются также ПАВ-С1, неонол АФ-14, ПАВ ОП-10, полиакрилонитрил. Хлористый калий улучшает экстракцию нефти из почвенных агрегатов в раствор. Сочетание применения ПАВ с внесением минеральных удобрений, особенно аммонийных форм азота и фосфора, ускоряет биodeградацию нефти.

При поверхностном нефтяном загрязнении можно использовать препарат "Файерзайн", содержащий ферменты, активизирующие микрофлору. Мощность слоя обработки без выемки грунта 30-40 см, срок очистки около 4 недель. Препарат вносится с помощью брандспойта из машины, желательна также обработка грунта рыхлением. Используют "Файерзайн" и для очистки вод и донных осадков.

Активное влияние на биodeградацию нефти в почвах оказывают сточные воды ферм, однако в каждом конкретном случае должно быть дано экологическое обоснование. Ускоряют биodeградацию нефти целлюлозосодержащие отходы - солома, опилки. Эффективным является внесение опилок со стимуляторами разложения нефти.

Методы очистки внесением культур

Методы внесения культур микроорганизмов применяются в тех случаях, когда необходимая аборигенная микрофлора отсутствует. Они могут применяться при массированном и аварийном загрязнении, в сложных условиях, при отсутствии развитого естественного биоценоза. Достоинством этих методов является их селективность и возможность выведения штаммов микроорганизмов, разрушающих сложные токсичные соединения. Однако их эффективность не всегда бывает одинаково высока, поскольку многие культуры "работают" лишь в относительно узком диапазоне условий. Кроме того, иногда происходит вырождение микроорганизмов до достижения необходимого уровня очистки.

Также следует учитывать, что их применение может нарушать естественные биоценозы, поскольку при этом происходит смена состава популяций ведущих сообществ микроорганизмов.

Обычно для очистки почв и грунтов используют бактерии (*Bacterium*, *Actinomyces*, *Actrobacter*, *Thiobacterium*, *Desulfotomaculum*, *Pseudomonas*, *Hydromonas*, *Bacillus* и др.), а также низшие формы грибов. Часто применяют комплексные биопрепараты, которые содержат не только целый набор культур, но и

питательные вещества. В настоящее время именно эта область - разработка искусственных биопрепаратов-деструкторов - получила во всем мире широкое распространение.

Различные виды дрожжей *Candida* разлагают ароматические соединения с концентрацией 1% за 180-200 дней. *Candida* sp. способна также утилизировать керосин и газ. *Candida lipolytica*, введенная в дозе 108 кл/г почвы, активно разлагает сырую нефть.

Нефтезагрязненные почвы обрабатывают *Acinetobacter* sp., *Alcaligenes* sp., *Pseudomonas* sp., одновременно вносят растворы фосфорных и аммонийных солей. Нефть на поверхности почвы уничтожают бактерии видов *Actinomyces elegans* и *Geotrichum marium*. Использование *Actinobacter* sp. дает 80%-ный эффект очистки от ароматических соединений по истечении 5 недель. Для деструкции нефти выделены штаммы галотолерантных и галофильных археобактерий. В условиях высоких температур может быть использована *Bacillus thermoleovans*. Бактерия рода *Desulfobacterium* осуществляет деградацию салицилата в условиях сульфатредукции. *Streptomyces albiaxialis* разлагает углеводороды нефти при содержании соли до 30%; эффективность при оптимальной температуре 28-30°C достигает 50%. Деградацию ароматических углеводородов осуществляют некоторые виды *Mycobacterium*, а также *Pseudomonas alcaligenes*, которая разлагает и галоуглеводороды.

За рубежом довольно широко для локальной очистки сильнозагрязненных почв и других материалов используется весьма эффективная, но дорогостоящая технология "биовосстановления". Суть этой технологии сводится к тому, что загрязненный материал загружается в биореактор, оборудованный паровой экстракцией, трубопроводами для подвода кислорода (или воздуха), питательных веществ и системами контроля pH и температуры.

Биоочистку можно комбинировать с физическими методами, такими, как экстракция паром или адсорбция на угле для удаления летучих соединений, или с химическими методами для удаления токсичных компонентов или металлов.

В условиях города, когда многочисленны небольшие локальные разливы нефтепродуктов, непосредственное использование биопрепаратов на месте бывает нерационально. В этих случаях наиболее рационален сбор загрязненных почв или пород путем срезки с последующей их биоочисткой на специальных площадках.

Технология применения биопрепаратов для очистки, в частности почвы, предусматривает одновременное внесение в почву микробиологических препаратов и минеральных компонентов, необходимых для питания микроорганизмов, в основном азота и фосфора, которые вносятся в виде минеральных удобрений.

В зависимости от концентрации загрязнения почвы в комплексе с биотехнологическими методами применяются и агротехнические приемы, направленные на улучшение обеспечения кислородом микроорганизмов.

Деструкцию этиленгликоля осуществляют *Azotobacter phicolinophilus*, *Artrobacter paraffineus*, *Artrobacter terregens*. *Bacillus subtilis* разрушает диэтиламин.

Для очистки почв и вод от пестицидов и гербицидов широко применяют грибки, а также бактерии и даже грибки с пересаженными бактериальными генами. Интродукция в почву, загрязненную гербицидами *Nocardioides simplex* ЗЕ в дозе (1-1,6) • 10 кл/г почвы, снижает содержание загрязнителя на 91-98% в течение 3 недель.

Внесение микроорганизмов в почвы и породы эффективно и при очистке их от тяжелых металлов, радионуклидов, сульфатов. Так, показана возможность использования *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., для концентрирования стронция, цезия, плутония из ультраразбавленных растворов.

На избирательной способности бактерий извлекать из многокомпонентных грунтов определенные химические элементы и загрязнители основаны способы очистки грунтов методом бактериального выщелачивания. При бактериальном

выщелачивании элементы извлекаются посредством их растворения микроорганизмами в водной среде.

Метод применяется для извлечения ценных металлов из руд и отходов производства и был впервые запатентован в США. На его основе можно проводить и очистку грунтов, в том числе и от тяжелых металлов.

Вблизи загрязненного массива, который подлежит очистке бактериальным выщелачиванием, создается прудок для выращивания и регенерации бактерий. Над телом загрязнителя создается коллекторная сеть, или сеть скважин для подачи бактериального раствора на загрязненный массив.

Бактериальный раствор, фильтруясь через загрязненный грунт, производит выщелачивание загрязнителя. Обогащенный загрязнителем раствор попадает в дренажную сеть под массивом и сбрасывается в дренажную канаву. Оттуда раствор перекачивается в отстойник, а затем с помощью сепаратора происходит полное удаление загрязнителя из раствора.

II.

Методы биопоглощения загрязнителей

Эти методы основаны на способности различных организмов, прежде всего растений, поглощать всевозможные токсичные компоненты из почв и грунтов, накапливать их в своих тканях и тем самым очищать почвы. После этого растения выкашиваются и перерабатываются с целью концентрирования и утилизации накопившихся в них загрязнителей. Недостатком метода биопоглощения является необходимость последующей утилизации загрязнителей в тех или иных биопоглотителях.

Концентрирование элементов является одной из важнейших биохимических функций живого вещества на Земле, изучаемых в биогеохимии. При этом различаются два вида концентрирования: I рода - по отношению к 14 элементам, встречающимся в теле всех без исключения живых организмов (H, C, K, O, Na, Mg, Al, Si, P, Cl, S, Ca, Fe); II рода - избирательная концентрация организмом определенных элементов или веществ. В методах биопоглощения загрязнений используется концентрирование II рода.

В.И.Вернадский, изучая особенности концентрирования II рода, разделил все живые организмы на три группы:

1. Организмы обычные (по данному элементу) - при концентрации элемента организмом в пределах $0,1n$ до $0,01n$ и ниже.

2. Организмы, богатые тем или иным элементом, - при относительном увеличении более чем на 10% весового среднего содержания данного элемента в организме по сравнению со средним содержанием его в окружающей среде.

3. Организмы-концентраторы - при концентрации элемента или вещества в количестве, составляющем более 10% его веса или его атомного состава. Они наиболее эффективны при использовании их для биопоглощения загрязнений.

При этом по виду поглощаемого элемента различают следующие группы организмов-концентраторов: водородисто-кислородные, углеводородные, азотные и натриевые, серные и кальциевые, магниевые и алюминивые, железистые и т.п. Так, например, водоросли концентрируют в себе йод, картофель и подсолнечник - калий, бобовые - кальций, галофиты - натрий и хлор и т.п.

Очевидно, практически любые растения могут использоваться в качестве биопоглотителей, однако селективность их по отношению к определенным загрязнителям весьма различна и до конца еще не выяснена. Так, например, было показано, что посев на нефтезагрязненной почве бобов и злаковых трав способствует ускорению биodeградации нефти. С этой целью также могут выращиваться сорго, кормовой горох, люцерна, донник, вика, ячмень, овес. Пальмы какао накапливают фосфор и магний.

Укроп, табак, ячмень, свекла, люцерна, г о р о х и другие бобовые поглощают тяжелые металлы. Кроме того, концентраторами тяжелых металлов являются лишайники, мхи и некоторые другие низшие растения.

Имеются данные по поглощению растениями и радионуклидов. При этом подбираются такие культуры растений, которые интенсивно поглощают с помощью корневой системы долгоживущие радиоактивные изотопы и тем самым очищают корнеобитаемый слой почвы. Затем урожай скашивается и сжигается, радиоактивная зола концентрируется и складывается.

Наблюдения, проведенные в фитоценозах территорий, загрязненных радионуклидами в результате аварии на Чернобыльской АЭС, позволили выявить определенные закономерности в накоплении различными растениями радионуклидов. По состоянию на 1 января 1998 г. общая площадь земель лесного фонда, загрязненных ^{137}Cs вследствие аварии на Чернобыльской АЭС, составила около 1 млн га.

К 1998 году радиационная обстановка в этих лесах относительно стабилизировалась. Наступила восстановительная стадия последствий радиационной аварии, которая при имеющемся составе радионуклидов продлится десятки, а в ряде случаев и сотни лет. На восстановительной стадии корневое поступление радионуклидов в лесную растительность из почвы значительно преобладает над внешним загрязнением. Высокая способность древесно-кустарниковых и травянистых растений к накоплению долгоживущих продуктов деления вызывает необходимость нормирования содержания радионуклидов в лесных ресурсах как исходного сырья для получения радиационно-безопасной продукции на всех этапах ее переработки.

В накоплении радионуклидов разными группами растений отмечены видовые и другие таксономические различия. Коэффициент перехода радионуклидов из почвы в растения увеличивается в ряду: лесные ягоды - грибы - мхи и лишайники. По уровню содержания радионуклидов в древесине при одинаковой плотности загрязнения почвы и в одинаковых лесорастительных условиях основные лесообразующие породы составляют в порядке убывания следующий условный ряд: мягколиственные породы, твердолиственные, хвойные породы. Накопление радионуклидов древесным ярусом происходит интенсивнее в молод-няках, чем в средневозрастных, приспевающих и спелых древостоях, а деревья лучшего класса роста накапливают ^{137}Cs больше и интенсивнее, чем угнетенные и отстающие в росте. На влажных и переувлажненных почвах этот процесс происходит гораздо интенсивнее по сравнению с автоморфными условиями местопроизрастания. Наблюдается также обратная связь между трофностью почвы и интенсивностью поступления из нее радионуклидов в лесную растительность.

У всех древесных пород наибольшее удельное содержание радионуклидов отмечалось в вегетативных органах (листья или хвоя и побеги), а наименьшее - в древесине. Уровень содержания радионуклидов в коре также многократно превышает содержание в древесине.

Значительно реже используется биоаккумуляция загрязнителей у животных, хотя представители животного мира также концентрируют в себе определенные элементы и вещества.

Например, моллюски, кораллы, фораминиферы концентрируют кальций, радиолярии - кремний, ракообразные и паукообразные - медь и т.д.

Заглатывая нефтезагрязненную почву, дождевые черви делают нефть более доступной для микроорганизмов и ускоряют ее биodeградацию. В лабораторных опытах показано достоверное снижение содержания остаточной нефти и уменьшение токсичности загрязнения через три месяца в почве с начальным нефтесодержанием 5 и 10%.

В водоемах ртуть и полихлорированные бифенилы накапливаются в рыбах, для очистки водоемов требуется последующее извлечение этих организмов, что делает этот метод неэффективным.

Таким образом, методы биопоглощения загрязнителей весьма многочисленны и обладают специфическими преимуществами перед другими способами, в частности селективностью.