

**Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Саратовский государственный аграрный университет
имени Н. И. Вавилова»**

БИОТЕХНОЛОГИЯ ЗАЩИТЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

краткий курс лекций

для бакалавров III курса

Направление подготовки
19.03.01 Биотехнология

Профиль подготовки
Пищевая биотехнология

УДК 574:60
ББК 28.080:28.4
С14

Биотехнология защиты окружающей среды: краткий курс лекций для бакалавров IV курса направления подготовки 19.03.01 «Биотехнология» / Сост.: И.А. Сазонова, А.А. Щербаков // ФГБОУ ВО «Саратовский ГАУ». – Саратов, 2016. – 51 с.

Краткий курс лекций по дисциплине «Биотехнология защиты окружающей среды» составлен в соответствии с рабочей программой дисциплины и предназначен для направления подготовки 19.03.01 «Биотехнология». Краткий курс лекций содержит теоретический материал по основным вопросам экологической биотехнологии, рассмотрены вопросы использования микроорганизмов для защиты окружающей среды. Направлен на формирование у студентов знаний об основных закономерностях биотехнологических процессов, на применение этих знаний для защиты окружающей среды, для решения экологических проблем.

© Сазонова И.А., 2016
© ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ», 2016

Введение

Биотехнология защиты окружающей среды — это применение биологических систем и процессов для решения задач охраны окружающей среды и рационального природопользования.

Краткий курс лекций по дисциплине «Биотехнология защиты окружающей среды» предназначен для студентов по направлению подготовки 19.03.01 «Биотехнология». Он раскрывает основные биотехнологические методы, применяемые для защиты окружающей среды и включает в себя биоремедиацию, биodeградацию ксенобиотиков, биоконверсию отходов знакомит с биотестированием и биоиндикацией.

Курс нацелен на формирование ключевых компетенций, необходимых для эффективного решения профессиональных задач и организации профессиональной деятельности на основе глубокого понимания законов функционирования экосистем.

Лекция 1

БЕЗОТХОДНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ I

1.1. Виды отходов

1.2. Виды безотходных производств

Безотходная технология - технология, подразумевающая наиболее рациональное использование природных ресурсов и энергии в производстве, обеспечивающее защиту окружающей среды. Это принцип организации производства вообще, подразумевающий использование сырья и энергии в замкнутом цикле. Замкнутый цикл означает цепочку первичное сырьё - производство - потребление - вторичное сырьё.

Принципы безотходной технологии:

- Системный подход
- Комплексное использование ресурсов
- Цикличность материальных потоков
- Ограничение воздействия на окружающую среду
- Рациональная организация.

Отходы производства - остатки сырья, материалов и полупродуктов, образующиеся при получении заданной продукции, которые частично или полностью утратили свои качества и не соответствуют стандартам (техническим условиям). Эти остатки после соответствующей обработки могут быть использованы в сфере производства или потребления.

Хранение отходов в естественном виде возможно без потерь в течение 2-3 дней. При длительном хранении они теряют свои питательные свойства, закисают, загнивают, забраживают, загрязняя окружающую среду.

К малоиспользуемым в настоящее время отходам относятся: фильтрационный осадок (дефекат) в сахарной промышленности, последрожжевая и послеспиртовая барда в спиртовой отрасли, картофельный сок в крахмальном производстве, табачная пыль, а также углекислый газ брожения и вторичный газ брожения в спиртовой и пивоваренной отраслях.

Ежегодно из образующихся в сахарной отрасли свыше 2 млн т дефеката используется лишь 70 %. Для одного завода мощностью переработки свеклы 3 тыс. т в сутки требуется для складирования дефеката до 5 га земли. Из 5 тыс. т картофельного сока используется лишь до 20 %. Углекислый газ брожения в спиртовой отрасли используется на 20 %, остальное выбрасывается в атмосферу, усиливая парниковый эффект.

Экологическое совершенствование производства предполагает экономию потребляемых ресурсов окружающей среды и сокращение массы отходов, размещаемых в ней. И то и другое достигается путем внедрения малоотходных технологий, создания систем безотходного производства, вывода из эксплуатации устаревших основных фондов, оказывающих негативное воздействие на окружающую среду.

В настоящее время в значительной степени пересмотрены ранее сформированные подходы к производству и качеству выпускаемой пищевой продукции. Важно, что от этапа увеличения выпуска продукции для удовлетворения растущих потребностей человека мы переходим к этапу увеличения качества выпускаемой продукции при все возрастающих требованиях к экологической чистоте производственных процессов. Внедряются эффективные технологические процессы, разрабатываются принципиально новые подходы к организации безотходных или малоотходных энерго- и ресурсосберегающих технологий.

За рубежом активно ведут разработки по комплексному использованию сырья и безотходной переработки образующихся вторичных ресурсов с применением

микробиологической биотрансформации сырья, главным образом в направлении обогащения его белком, синтезируемым бактериями, дрожжами или грибами в целях получения кормов, кормовых и пищевых добавок.

В Японии при изготовлении пищевых продуктов используют кости рыб, стебли конопля, кожуру цитрусовых, отруби, жмых, спиртовую барду и пивную дробину. При получении кормов и удобрении в Японии используют панцири креветок и крабов, рисовую шелуху, соевым жмых, барду и обезжиренные бобы или остатки отжатого соевого творога «тофу».

В США при получении пищевых продуктов используют скорлупу орехов (миндаль), сахарную мелассу, чайные остатки, жмых, остатки теста и хлеба, подсырную сыворотку.

Великобритания в производстве продуктов питания рационально использует шелуху какао бобов и кормовые белки из свекловичного жома.

В России также ведутся аналогичные исследования и внедряются в производство. Например, свекловичный пектин используется при производстве колбас, в молочной промышленности при изготовлении кисломолочных напитков, творожных масс. Пищевые свекловичные волокна могут найти применение и в кондитерской промышленности при изготовлении хлебобулочных изделий, в том числе профилактического назначения, при производстве готовых блюд, горчицы, соусов, супов, кетчупов, изделий консервной и рыбной промышленности. При этом снижается калорийность изделий, повышается их биологическая ценность, экономится дорогостоящее основное сырье.

Одним из видов пищевых отходов, представляющих значительный интерес для предприятий пищевой промышленности и заготовочных предприятий общественного питания, являются выжимки ягод. Их следует рассматривать как дополнительные источники ценнейших веществ природного происхождения (сахара, органические кислоты, витамины, минеральные вещества). Однако в большинстве случаев отходы соковых производств используют на корм скоту, превращают в компост или просто сжигают.

Учитывая промышленные масштабы выращивания и переработки черноплодной рябины, клюквы и брусники, а также содержание в выжимках ценных биологически активных и пектиновых веществ, переработка выжимок является актуальной задачей. С другой стороны, решение этой задачи позволит улучшить комплексную переработку и использование сельскохозяйственного сырья, в частности, вторичных продуктов производства.

В настоящее время при производстве мучных кондитерских и х/б, а также колбасных и паштетных изделий используется традиционная рецептура и традиционные технологические схемы производства. Предложены различные варианты использования данных видов вторичных сырьевых ресурсов для производства кулинарных, мясных, мучных кондитерских и булочных изделий.

Разработаны рецептуры и технологии приготовления мясорастительных паштетов с выжимками ягод брусники и клюквы, маринадов овощных и овощей пассированных с выжимками ягод брусники, клюквы, жимолости, облепихи.

Создание промышленных технологий производства концентрированных белковых продуктов из растительного сырья - одно из основных направлений увеличения ресурсов продовольствия и кормов, а также безотходное производство.

В большинстве промышленно развитых стран (США, Японии, Бельгии, Дании и др.) уже накоплен практический опыт по переработке бобовых с получением белков и разнообразного ассортимента высококачественных пищевых продуктов на их основе. Как правило, эти производства работают по экологически чистой безотходной технологии, выпуская помимо пищевых высококонцентрированных белков также высококачественные корма и биологически активные препараты.

Современные технологии получения белковых продуктов из растительного сырья строятся на двух основных технологических подходах:

1. Глубокое фракционирование макро- и микронутриентов сырья с максимизацией выхода белков, их очистка, концентрированно и при необходимости модификация функциональных и медико-биологических характеристик.

2. Оптимальное фракционирование макро- и микронутриентов сырья с получением белково-липидных и белково-углеводных композитов заданного состава с максимальным сохранением фитохимического потенциала сопутствующих микронутриентов.

Для российской пищевой промышленности наибольший интерес представляют белковые продукты из растительного шрота (изоляты, концентраты, обезжиренная мука, текстурированные белки). Технологии их производства можно отнести к первому подходу, так как при их получении ставится задача достижения максимального выхода белкового компонента после исчерпывающего извлечения липидов.

Изоляты и концентраты - более очищенные формы белков. Они используются в питании без каких-либо ограничений и в совокупности с другими пищевыми компонентами могут служить основным источником белка в рационе человека.

В нашей стране традиционно развита рыбоперерабатывающая промышленность, где возможности биотехнологии чрезвычайно широки. Многочисленные исследования показали, что морепродукты особенно богаты природными биологически активными веществами (БАВами), которые могут быть использованы в качестве функциональных ингредиентов. Это ферменты, витамины, аминокислоты, полиеновые жирные кислоты, фосфолипиды, биополимеры и гормоны, а также минеральные и др. вещества, играющие незаменимую роль в организме.

В создавшихся условиях обеспечение населения пищевыми продуктами с повышенным лечебно-профилактическим эффектом, в том числе за счет вовлечения в сферу производства морепродуктов, включая неиспользуемые биоресурсы, является актуальным. Отходы рыбной промышленности также можно перерабатывать с дальнейшим получением БАД, белков, экстрактов и др.

Воздействие вредных факторов окружающей среды, несбалансированность современного питания (дефицит пищевых волокон, белка, витаминов, минеральных солей микроэлементов) обостряют потребность в специальных продуктах питания, проблему которых частично может решить рациональное использование вторичного пищевого сырья, являющегося результатом традиционных технологических процессов производства пищевой продукции.

1.3. Основные принципы создания безотходных производств

Отходы производства - остатки сырья, материалов и полупродуктов, образующиеся при получении заданной продукции, которые частично или полностью утратили свои качества и не соответствуют стандартам (техническим условиям). Эти остатки после соответствующей обработки могут быть использованы в сфере производства или потребления.

Отходы потребления - это непригодные для дальнейшего использования (по прямому назначению) изделия производственно-технического и бытового назначения (например, изношенные изделия из пластмасс и резины, вышедший из строя шамотный кирпич теплоизоляции печей и др.).

Побочные продукты образуются при физико-химической переработке сырья наряду с основными продуктами производства, но не являются целью производственного процесса. Они в большинстве случаев бывают товарными, на них имеются ГОСТ, ТУ и утвержденные цены, их выпуск планируется. Чаще всего это содержащиеся в сырье компоненты, не используемые в данном производстве, или продукты, которые получают при добыче или обогащении основного сырья; их принято называть попутными продуктами (например, попутный газ при добыче нефти).

Вторичные материальные ресурсы (ВМР) - совокупность отходов производства и потребления, которые могут быть использованы в качестве основного или вспомогательного материала для выпуска целевой продукции.

Между промышленностью и окружающей средой до сих пор доминирует открытый тип связи. Производственный процесс начинается с использования природных ресурсов и завершается превращением их в средства производства, предметы потребления. За процессом производства следует процесс потребления, после чего использованные продукты выбрасываются.

Таким образом, открытая система базируется на принципе одноразового использования исходного материала природы.

Каждый раз производственная деятельность начинается с использования некоторых новых природных ресурсов, и каждый раз потребление заканчивается выбросами отходов в окружающую среду. Как было показано выше, весьма небольшая часть природных ресурсов превращается в целевые продукты, большая часть их попадает в отходы.

Биосфера функционирует по принципу встроенности систем: каждая форма конструируется за счет деструкции других форм, составляя звено всеобщего кругооборота вещества в природе. Производственная деятельность вплоть до самого последнего времени строилась по другому принципу - максимальной эксплуатации природных ресурсов и игнорирования проблемы деструкции отходов производства и потребления. Этот путь был возможен лишь до тех пор, пока масштабы отходов не превышали границ способности экологических систем к самовосстановлению.

Таким образом, назрела необходимость перехода к принципиально новой форме связи - к замкнутым системам производства, предполагающим возможно большую встроенность производственных процессов во всеобщий круговорот вещества в природе.

При замкнутой системе производство строится, опираясь на следующие фундаментальные принципы:

1. возможно более полное использование исходного природного вещества;
2. возможно более полное использование отходов (регенерация отходов и превращение их в исходное сырье для последующих ступеней производства);
3. создание конечных продуктов производства с такими свойствами, чтобы используемые отходы производства и потребления могли быть ассимилированы экологическими системами.

Сложившееся сегодня положение в области ресурсопотребления и масштабы промышленных выбросов позволяют сделать вывод о том, что имеется только один путь решения проблемы оптимального потребления природных ресурсов и охраны окружающей среды - создание экологически безвредных технологических процессов, или безотходных, а на первое время - малоотходных. Это единственный способ, подсказанный самой природой.

В ноябре 1979 г. в Женеве на совещании по охране окружающей среды в рамках Организации Объединенных Наций (ООН) была принята «Декларация о малоотходной и безотходной технологии и использовании отходов». В соответствии с Декларацией под безотходной технологией понимается такой принцип функционирования промышленности и сельского хозяйства региона, отрасли, а также отдельных производств, при котором рационально используются все компоненты сырья и энергия в цикле и не нарушается экологическое равновесие.

Под малоотходным понимают такое производство, вредные последствия деятельности которого не превышают уровня, допустимого санитарными нормами, но по техническим, экономическим, организационным или другим причинам часть сырья и материалов переходит в отходы и направляется на длительное хранение.

Конечно, концепция безотходной технологии в некоторой степени носит условный характер. Под безотходной технологией понимается теоретический предел, идеальная модель производства, которая в большинстве случаев может быть реализована не в

полной мере, а лишь частично (отсюда и малоотходная технология), но с развитием технического прогресса - с все большим приближением. Технологические процессы с минимальными выбросами, при которых способность природы к самоочищению в достаточной степени может предотвратить возникновение необратимых экологических изменений, называют иногда малоотходными технологиями. Однако название "безотходная технология" получило наибольшее распространение.

Стратегия безотходной технологии исходит из того, что неиспользуемые отходы являются одновременно не полностью использованными природными ресурсами и источником загрязнения окружающей среды. Снижение удельного выхода неиспользуемых отходов в расчете на товарный продукт технологии позволит произвести больше продукции из того же количества сырья и явится вместе с тем действенной мерой по охране окружающей среды.

Биосфера дает нам природные ресурсы, из которых в сфере производства получают конечные продукты, при этом образуются отходы. Продукты используются либо в сфере производства, либо в сфере потребления, и вновь образуются отходы. Под отходами понимаются вещества, не обладающие на первых порах потребительской ценностью. Во многих случаях при необходимости после соответствующей обработки они могут быть использованы как вторичное сырье (вторичные материальные ресурсы) или как вторичные носители энергии (вторичные энергоресурсы). Если по техническим или технологическим причинам невозможно или экономически невыгодно перерабатывать отходы, то их необходимо выводить в биосферу таким образом, чтобы по возможности не наносить вреда естественной окружающей среде.

Можно составить следующий баланс по сферам производства и потребления, исходя из закона сохранения материи:

$$R = A \cdot (1 - \varphi_m) + S$$

где R - расход природных ресурсов, кг/с; A - масса образующихся отходов в сферах производства и потребления, кг/с; φ_t - средний коэффициент использования отходов, кг/кг; S - масса веществ, накапливающихся в сферах производства и потребления вследствие постоянного роста производства, кг/с.

Анализ балансового уравнения показывает, что снижение удельного количества неиспользуемых отходов производства и тем самым удельного расхода природных ресурсов R возможно:

1. за счет уменьшения удельного выхода отходов;
2. за счет повышения коэффициента использования отходов.

Выбор одного из путей зависит как от технологических возможностей, так и от экономических условий. Первичная цель безотходной технологии - настолько уменьшить выводимый в единицу времени в биосферу поток массы неиспользованных отходов, чтобы сохранялось естественное равновесие биосферы и обеспечивалось сохранение основных природных ресурсов.

В создании безотходной технологии определились следующие четыре принципа:

1. разработка и внедрение различных бессточных технологических схем и водооборотных циклов на базе эффективных методов очистки (например, в гальваническом производстве);
2. разработка и внедрение принципиально новых технологических процессов, исключающих образование любых видов отходов;
3. создание территориально-промышленных комплексов, т.е. экономических районов, в которых реализована замкнутая система материальных потоков сырья и отходов внутри комплекса;
4. широкое использование отходов в качестве вторичных материальных и энергетических ресурсов.

Анализ существующей ситуации, расчеты и прогнозы на будущее убедительно показывают, что реализация безотходных производств во всех отраслях промышленности

возможна при условии активного использования достижений науки и техники, и в первую очередь химической технологии.

Особенность химической технологии состоит в том, что она способна превратить в ресурсы не только свои собственные отходы, но и отходы других производств. В связи с этим химия и химическая технология способствуют решению таких коренных проблем охраны природы, как комплексное использование сырья и утилизация отходов, обезвреживание производственных выбросов.

Вопросы для самоконтроля

- 1) Какие виды отходов вы знаете?
- 2) Что такое безотходные технологии?
- 3) Принципы безотходных технологий?
- 4) Каковы технологические подходы производства белковых продуктов из растительного сырья?
- 5) Каковы основные принципы создания безотходных производств?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

- 1) Биотехнология: Теория и практика / Н.В. Загоскина, [и др.]. – М.: Изд-во: Оникс. - 2009. – 496 с.
- 2) **Волова, Т.Г.** Экологическая биотехнология: уч. пособие для университетов / Т.Г. Волова. - Новосибирск: Хронограф, 2007. – 141с.

Дополнительная

- 1) Сельскохозяйственная биотехнология / под. ред. В.С. Шевелухи. – М.: Высшая школа, 2003. – 469с.
- 2) **Блинов, В.А.** Биотехнология (некоторые проблемы сельскохозяйственной биотехнологии) / В.А.Блинов. – Саратов: ОГУП РИК «Полиграфия Поволжья», 2003. – 198с.

Лекция 2

БИОКОНВЕРСИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ МАТЕРИАЛОВ И ОТХОДОВ

2.1 Переработка растительных и пищевых отходов

Технология микробиологической биоконверсии отходов предназначена для переработки сырьевых компонентов, не используемых в традиционном кормопроизводстве, в высококачественные углеводно-белковые кормовые добавки и комбикорма.

Суть технологии биоконверсии заключается в следующем: сырьевые компоненты (отходы) содержащие сложные полисахариды – пектиновые вещества, целлюлозу, гемицеллюлозу и др. подвергаются воздействию комплексных ферментных препаратов, содержащих пектиназу, гемицеллюлазу и целлюлазу. Ферменты представляют собой очищенный внеклеточный белок и способны к глубокой деструкции клеточных стенок и отдельных структурных полисахаридов, т.е. осуществляется расщепление сложных полисахаридов на простые с последующим построением на их основе легко усвояемого кормового белка.

Другими словами, трудно усваиваемое сырье переходит в легко усваиваемую животными форму путем расщепления неусваиваемой молекулы белка на простые аминокислоты.

В качестве исходных сырьевых компонентов могут быть использованы следующие отходы:

1. Растительные компоненты сельскохозяйственных культур: стебли зерновых и технических культур, корзинки и стебли подсолнечника, льняная костра, стержни кукурузных початков, картофельная мезга, трава бобовых культур, отходы сенажа и силоса, отходы виноградной лозы, чайных плантаций, стебли табака.

2. Отходы зерноперерабатывающей промышленности: отруби, отходы при очистке и сортировке зерновой массы (зерновые отходы), зерновая сорная примесь, травмированные зерна, щуплые и проросшие зерна, семена дикорастущих растений, некондиционное зерно.

3. Отходы консервной, винодельческой промышленности и фруктовые отходы: кожица, семенные гнезда, дефектные плоды, вытерки и выжимки, отходы винограда, отходы кабачков, обрезанные концы плодов, жмых, дефектные кабачки, отходы зеленого горошка (ботва, створки, россыпь зерен, битые зерна, кусочки листьев, створки), отходы капусты, свеклы, моркови, картофеля.

4. Отходы сахарной промышленности: свекловичный жом, меласса, рафинадная патока, фильтрационный осадок, свекловичный бой, хвостики свеклы.

5. Отходы пивоваренной и спиртовой промышленности: сплав ячменя (щуплые зерна ячменя, мякина, солома и др. примеси), полировочные отходы, частицы измельченной оболочки, эндосперма, битые зерна, солодовая пыль, пивная дробина, меласса, крахмалистые продукты (картофеля и различных видов зерна), послеспиртовая барда, бражка.

6. Отходы чайной промышленности: чайная пыль, сметки, волоски, черешки.

7. Отходы эфирно-масличной промышленности: отходы травянистого и цветочного сырья.

8. Отходы масло - жировой промышленности: подсолнечная лузга, хлопковая шелуха.

9. Отходы кондитерской и молочной промышленности.

Таким образом, любое растительное сырье и его производные, как лигноцеллюлозный источник, доступны для микробиологической биоконверсии в углеводно-белковые корма и кормовые добавки.

Наряду с переработкой кондиционных растительных и зерновых компонентов, технология позволяет восстановление и многократное увеличение прежних кормовых свойств сырья, зараженного патогенной микрофлорой, испорченного насекомыми или частично разложившегося из-за неправильного хранения.

В процессе биоконверсии в некондиционных компонентах уничтожаются болезнетворная микрофлора, яйца гельминтов, возбудители тяжелых заболеваний (бруцеллез, туберкулез, холера, тиф и др.), а также и вредные паразитирующие простейшие (аскариды, солитеры и др.). При этом кормовая ценность некондиционного сырья после соответствующей обработки превышает кормовую ценность кондиционных аналогов в 1,4-1,8 раз.

После завершения процесса биоконверсии получаемым конечным продуктом, может быть кормовая добавка, которая приобретает кормовые свойства в 1,8-2,4 раза превосходящие фуражное зерно хорошего качества, а также обладает рядом существенных и необходимых свойств, которыми не обладает традиционное зерновое сырье.

Кормовые добавки используются как основной компонент при производстве комбикормов, как добавку к грубым растительным кормам, при производстве простых кормовых смесей с измельченным фуражным зерном, отрубями, зерно отходами.

Биодеструкция жировых отходов также позволяет не только решать проблемы экологической безопасности, но и использовать отходы в качестве полезных продуктов. Биодеструкция жира при использовании эмульсии «вода-жир» позволяет осуществить переработку крупнотоннажных отходов масложирового производства, содержащих кроме масел и жиров минеральные компоненты. Полученные при этом гидролизаты моно-, ди- и триацилглицериды, жирные кислоты могут быть в дальнейшем использованы в производстве резино-технических изделий в качестве вторичных активаторов вулканизации, диспергаторов ингредиентов и мягчителей резиновых смесей и др.

2.2 Биоконверсия лигноцеллюлозных объектов

Растительная биомасса - возобновляемый и легкодоступный источник сырья. Основные ее компоненты - целлюлоза (2/3), крахмал, гемицеллюлоза, лигнин. Лигнин - высокомолекулярный нерастворимый трехмерный неупорядоченный ароматический полимер. Целлюлоза - высокомолекулярный нерастворимый полимер глюкозы. Она является главным компонентом как растительной биомассы, так и сельскохозяйственных, бытовых отходов, а также отходов деревообрабатывающей и целлюлозно-бумажной промышленности.

Ферментативное превращение целлюлозы перспективно не только с точки зрения создания самостоятельных малоотходных технологий, но и с позиции снижения экологической опасности различных производств целлюлозно-бумажной промышленности и других производств, перерабатывающих растительное сырье и образующих большое количество отходов. Ежегодное производство древесины для изготовления бумаги достигает 150 млн. тонн и постоянно возрастает, создавая тем самым мощное давление на окружающую природную среду. Таким образом, невостребованные сырьевые ресурсы для ферментативного получения углеводов из целлюлозы огромны и постоянно возобновляются.

В основе биологической деградации лигноцеллюлозы лежит действие целлюлолитических ферментов. Реакционная способность природных целлюлозосодержащих материалов невелика, поэтому сырье для ферментативного осахаривания целлюлозы должно иметь большую поверхность, а микрофибриллярная структура целлюлозы должна быть разрушена. Реакционную способность природных субстратов также снижает наличие лигнина. Наиболее эффективным, а также дорогим и энергоемким способом предварительной подготовки сырья является размол. Поэтому для

предобработки используют воздействие 0.5-2% растворов щелочи, гамма-облучение, механо-термообработку в разбавленной серной кислоте с последующей экстракцией лигнина и др. методы.

Гидролиз можно проводить и биологическим способом, с помощью ферментов, выделяемых грибами видов *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Sporotrichum*. Далее при использовании дрожжей можно получить спирт, при использовании бактерий *Klebsiella* или *Aeromonas* - бутанол. Ряд микроорганизмов рода *Clostridium* могут продуцировать уксусную и молочную кислоты, лактат, ацетон из опилок, соломы, отходов сахарного тростника. С помощью *Trichoderma reesei* биомасса разлагается до сахаров. Ферменты и неразложившаяся целлюлоза поступают в повторные циклы, а остаточный лигнин используется в качестве источника энергии для перегонки спирта.

Еще один вид технологии состоит в прямом сбраживании целлюлозными бактериями гексоз и пентоз, образующихся при гидролизе целлюлозы и гемицеллюлоз. Преимущества этой технологии заключаются в следующем: помимо одновременной конверсии целлюлоз и пентоз в этанол происходит комбинация целлюлозного и спиртового брожения, а, кроме того, необходимая предварительная обработка субстратов сводится к минимуму.

При микробной деградаци и конверсии целлюлоз и гемицеллюлоз можно получать этиловый спирт и сырье для химической промышленности (фурфурол, фенолы, крезолы). 200 000 т надлежащим образом переработанной соломы дают 50 000 т этанола и 20 000 т фурфурола.

Термофилия определенных штаммов *Clostridium* (при оптимальной температуре роста 65—75° С) создает известные преимущества, так как стоимость перегонки этилового спирта и других растворителей уменьшится, а это сделает производственный процесс более экономичным.

Одним из отходов сельского хозяйства является солома. Эти отходы трудно использовать, так как скорость разложения соломы невелика. Лучшая утилизация - инокулирование её ассоциацией целлюлолитических грибов, азотфиксирующих и полисахаридообразующих бактерий. В таком виде солому можно запахивать в землю как органическое удобрение, а можно через определенное время использовать как высокобелковый витаминизированный корм.

Биоконверсия отходов лесопромышленных предприятий и предприятий переработки сельскохозяйственного сырья (целлюлознолигнина) является новой технологией, не имеющей аналогов в отечественном и зарубежном промышленных производствах. Однако на практике, особенно отечественной, широко распространена технология химической конверсии целлюлознолигнина, преследующая те же цели, что технология биоконверсии — превращение целлюлозы в сахаристые вещества.

Технология химической конверсии предполагает перколяционный гидролиз целлюлозосодержащих материалов горячей разбавленной серной кислотой при температуре 150-180°С и при избыточном давлении 2.5-3.0 кгс/кв. см. Основными недостатками процесса перколяционного гидролиза древесины являются образование крупнотоннажного отхода — лигнина и низкое качество гидролизата с точки зрения микробиологического синтеза: наличие в смеси и пентоз, и гексоз, а также заметных количеств ингибирующих примесей, ограничивает применение гидролизата только производством белково-витаминного концентрата (гидролизные дрожжи). Во всех остальных биотехнологических производствах это сырье оказывается неприемлемым, тем не менее, производительность гидролизных аппаратов при химической конверсии составляет 5.4-18.0 г/л·ч, что на порядок выше, чем при биоконверсии — 0.6-1.1 г/л·ч при одинаковом выходе по редуцирующим веществам от исходного сырья по абсолютно сухим веществам соответственно 25-44 % и 25-48 %. Но сравнение обеих технологий по некоторым показателям (качественная характеристика получаемого продукта, отход лигнина и влияние на окружающую природную среду) выдвигает биоконверсию как наиболее перспективную технологию.

Однако, несмотря на многочисленные исследования, в настоящее время ни в одной стране мира пока нет промышленных установок для ферментативного гидролиза целлюлозосодержащих материалов. Одной из основных причин того, что процесс ферментативного гидролиза целлюлозы пока не удается перевести на промышленный уровень, является отсутствие высокопроизводительных и экономически эффективных аппаратов и технологий для ферментативного гидролиза, сопоставимых с уровнем аппаратов традиционной химической технологии.

Для того, чтобы технологии биоконверсии растительного сырья экономически были выгодны для использования их в промышленном производстве, исследователи ориентируются на получение продуктов, которые невозможно получить традиционными химическими технологиями переработки растительного сырья. По данным литературы известно и описано немало технологий биоконверсии растительного сырья с использованием многостадийных процессов для удешевления нерентабельного процесса ферментативного гидролиза, являющегося основным в технологии биоконверсии. При этом экономическая характеристика той или иной технологии сильно зависит от рентабельности сопутствующих процессов и способов их использования.

Так, например, сегодня рентабельными являются технологии, предусматривающие: 1) ферментативный гидролиз растительного сырья микроорганизмами, продуцирующими внеклеточные целлюлазы и накапливающими белок за счет своего развития для получения кормового и пищевого продукта; 2) совместное культивирование микроорганизмов, продуцентов внеклеточных целлюлаз для ферментативного гидролиза целлюлозы, и микроорганизмов, продуцентов целевого продукта (кормовой белок, этанол, ферментные препараты и др. продукты) на углеводах после ферментативного гидролиза.

Интересна биоконверсия чайных отходов твердофазной ферментацией. Она осуществляется в следующей последовательности:

- подготовка сырья к ферментации (подсушка, дробление, стерилизация);
- приготовление посевного материала;
- ферментация (культивирование);
- сушка;
- дробление и упаковка.

В зависимости от вида гриба и условий производства приготовление посевного материала возможно также поверхностным культивированием микроорганизмов. В этом случае технологическая схема несколько видоизменяется. В частности, получение чистой культуры посевного материала производится по следующей последовательности:

- выращивание маточной культуры в малых и больших колбах в микробиологической лаборатории;
- выращивание посевной культуры на кюветах в растительных камерах — отделение чистой культуры. Готовый посевной материал смешивается со стерилизованным экстракционным жомом в смесителе-реакторе.

Очистка и подача воздуха в технологической линии осуществляются воздушными фильтрами. В технологической линии предусмотрена также установка для мойки и стерилизации растительных камер.

Биоконверсия отходов чайного производства в белковую биомассу происходит довольно эффективно как с применением твердофазной, так и глубинным методом культивирования, с использованием грибов и дрожжей; хотя рост биомассы во всех случаях лимитирован, в реакционной среде остается неиспользованной около половины исходной целлюлозы.

2.3 Компосты из органических отходов

Компосты (нем. *Kompost*, итал. *composta* от лат. *compositus* — составной) - это органические удобрения, получаемые в результате разложения различных органических

веществ под влиянием деятельности микроорганизмов. При компостировании в органической массе образуются ГВ: ГК, ФК и гумины, повышается содержание питательных макроэлементов (азота, фосфора и калия), доступных растениям, а микроэлементы становятся биодоступными. Кроме того, обезвреживается патогенная микрофлора, погибают яйца гельминтов, и при этом происходит многократное увеличение биомассы полезных почвенных микроорганизмов.

Различают следующие виды конечных продуктов аэробной переработки органических отходов:

- компосты - органические удобрения, полученные в процессе компостирования при активном участии микроорганизмов;

- биокомпосты - компосты, полученные в результате переработки органических отходов методом ускоренной твердофазной ферментации в специальных камерах-ферментерах с применением специальных штаммов микроорганизмов;

- вермикомпосты (червекомпост, копролит, вермигумус или биогумус) - органические удобрения, полученные в процессе вермикомпостирования, то есть компостирования с участием микроорганизмов в присутствии некоторых видов дождевых червей (вермикультуры);

- биоперегной – компосты, полученные в результате переработки органических отходов при участии личинок некоторых видов синантропной мухи;

- зоокомпосты – компосты, полученные в результате переработки органических отходов с участием личинок копрофагов.

В литературе зоокомпостами называют часто компосты, полученные в результате переработки органических отходов при участии личинок некоторых видов синантропных мух, как правило, вида *Musca domestica*.

Из всех вышеприведенных видов субстратов - конечных продуктов биоконверсии органических отходов, возможно при их дальнейшей более глубокой переработке получать как ГП, так и комплексные гуминовые биопрепараты, используя их как по отдельности, так и в сочетании друг с другом.

Считается, что в процессе компостирования, представляющим собой динамический многофазный микробиологический процесс, принимают участие более 2000 видов бактерий и не менее 50 видов грибов. Технологически правильно приготовленные компосты имеют двойную ценность по сравнению с компостируемыми материалами. Для производства биокомпостов требуются специальные устройства – биоферментаторы модульного типа. Использование технологии ускоренной ферментации в твердой фазе позволяет получать из органосодержащих отходов в течение 3-5 суток зрелый высококачественный биокомпост высокого нагрева. Это экологически чистые субстанции - безопасные органические удобрения и полезные почвоулучшители.

Существует разница в микробиологических активностях компостов и вермикомпостов в пользу последних. Использование вермикомпоста (15-20%) в составе почвогрунтов позволяет сократить сроки созревания урожая до 7-10 дней, продлить сроки плодоношения растений на 2-3 недели и повысить урожайность в 1,5-2 раза. При этом в овощах повышается содержание сахаров, витаминов и сухого вещества и, вместе с тем, существенно снижается количество нитратов. Выращенные в теплицах овощи и фрукты с использованием вермикомпоста имеют практически такой же вкус и аромат, как полученные в естественных условиях. Время хранения плодов увеличивается почти в 2 раза. Важно отметить, что вермикомпосты обладают пролонгированным действием в течение 3-4 лет после их однократного внесения в почву. При выращивании декоративных растений использование вермикомпоста ускоряет рост и развитие растений, усиливает обильность цветения, способствует лучшему укоренению черенков и стимулирует корнеобразование.

В последние годы во многих зарубежных странах получили очень широкое распространение **водные вытяжки** или водные экстракты из компостов и

вермикомпостов, так называемые компостные и вермикомпостные «чай» (*compost tea*, *vermicompost tea*). Они в настоящее время являются одними из экологически самых безопасных и недорогих универсальных средств для оживления почвы, оздоровления растений и борьбы с некоторыми фитопатогенами и насекомыми-вредителями. Идеолог этой биотехнологии - д-р Элайн Ингхэм (Elaine Ingham). Она разработала методику оценки качества компостного «чая», которая заключается в определении количества и процентного соотношения основных групп почвенных микроорганизмов (бактерии, грибы, простейшие и нематоды).

Компостный и вермикомпостный «чай» близки по своим свойствам. Они содержат в себе как водорастворимые компоненты компоста или вермикомпоста (ГК, ФК, органические кислоты, аминокислоты, регуляторные пептиды, витамины, гормоны и другие продукты жизнедеятельности микроорганизмов, обитающих в компостах или вермикомпостах, так и живую почвенную (ризосферную) микрофлору. Биофунгицидные свойства ему придают различные виды и типы почвенных микроорганизмов. Присутствуют азотфиксирующие бактерии, которые способны превращать атмосферный азот в аммонийные формы, доступные растениям. Они содержат в себе как несимбиотические аэробные формы бактерий родов *Azotobacter*, *Azomonas*, *Mycobacterium* и *Azospirillum* так и симбиотические бактерии рода *Rhizobia*.

В лабораторных и полевых опытах было показано, что водные экстракты из компостов и вермикомпостов существенно подавляют такие фитопатогены: рода *Verticillium* (вилт, сухая гниль), рода *Phomopsis* (черная пятнистость), рода *Sphaerotheca* (мучнистая роса), *Uncinula necator* (мучнистая роса), рода *Pythium* (черная ножка), *Rhizoctonia* (черная ножка), *Plectosporium*, рода *Phytophthora* (фитофтороз) и рода *Fusarium* (фузариоз).

Механизмы подавления этих инфекций имеют микробную природу, так как стерилизация компостов или вермикомпостов устраняет эту биологическую активность.

Однако жидкие водные биопрепараты, полученные на основе компостов и вермикомпостов имеют два существенных недостатка.

Во-первых, такие биопрепараты не подлежат хранению и должны использоваться сразу после их приготовления. Это обусловлено тем, что живая популяция почвенных аэробных микроорганизмов быстро погибает в препарате при отсутствии кислорода воздуха после розлива и упаковки. Поэтому в такие жидкие биопрепараты необходимо добавлять или стабилизаторы, или консерванты для сохранения жизнеспособности микроорганизмов.

Во-вторых, при получении водных вытяжек из компостов или вермикомпостов в экстракт переходит очень малая доля исходного субстрата (1-3%). Это обусловлено тем, что гранулы компостов и, особенно вермикомпостов, обладают водопрочностью. Поэтому необходимо использовать физические (механическое тонкое измельчение, ультразвук или кавитация) или химические (изменение значение рН среды в щелочную сторону) методы обработки, что приводит к разрушению гранул этих субстратов и высвобождению в экстракт водорастворимых и щелочерастворимых соединений, особенно ГК и ФК.

Вопросы для самоконтроля

- 1) В чем состоит суть биоконверсии?
- 2) Какие отходы могут быть использованы в качестве сырьевых компонентов для биоконверсии?
- 3) Какие ферменты участвуют в биологической деградации лигноцеллюлозы?
- 4) Что такое компосты? Виды компостов?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Биотехнология: Теория и практика / Н.В. Загоскина, [и др.]. – М.: Изд-во: Оникс. - 2009. – 496 с.
2. Биопрепараты: Сельское хозяйство. Экология. Практика применения. – М.: ООО «ЭМ-кооперация», 2008 – 296 с.

Дополнительная

- 1) **Елинов, Н.П.** Основы биотехнологии / Н.П. Елинов. - СПб.: Наука, 1995, 600с.
- 2) Биотехнология / Под ред. А. А. Баева. – М: Наука, 1984. – 309с.
- 3) Сельскохозяйственная биотехнология / под. ред. В.С. Шевелухи. – М.: Высшая школа 2003. – 469 с.

Лекция 3

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОТЕХНОЛОГИИ В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ ДЛЯ РЕШЕНИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ПРОБЛЕМ

3.1. Биотехнологические методы в растениеводстве

Повышение биологической продуктивности в сельском хозяйстве является предметом активных исследований комплекса различных биологических наук. Биотехнологические методы традиционно используются в сельском хозяйстве для повышения плодородия почв, борьбы с вредителями и возбудителями болезней культурных растений и животных, приготовления продовольственных продуктов, их консервирования и улучшения питательных свойств. При этом удельный вес биотехнологии для развития и повышения эффективности традиционных сельскохозяйственных технологий постоянно возрастает.

В настоящее время особые перспективы в создании и распространении новых культивируемых сортов растений обещает применение новейших методов биотехнологии – клеточной и генетической инженерии. Усилия биотехнологов направлены на увеличение выхода продукции и повышение ее питательности, усиление устойчивости культивируемых биологических видов к неблагоприятным условиям внешней среды, патогенам и вредителям. При этом остается актуальной проблема поддержания разнообразия среди культивируемых видов и сохранения генетических ресурсов в целом.

Микроорганизмы играют большую роль в повышении плодородия почвы, так как в процессе роста и развития улучшают ее структуру, обогащают питательными веществами, способствуют более полному использованию удобрений.

Интенсивное растениеводство обедняет почву азотом, так как значительная его доля ежегодно выносится из почвы вместе с урожаем. С древних времен для восстановления и улучшения почв существует практика использования бобовых растений, способных в симбиозе с азотфиксирующими микроорганизмами восполнять почвенные запасы азота в результате diazotрофности. Большой положительный эффект от возделывания бобовых вызвал постановку исследований явления diazotрофности. Культивирование бобовых положительно влияет на азотный баланс почв, также облегчает борьбу с эрозией и помогает восстанавливать истощенные земли.

3.2. Технология получения азотных биоудобрений

Наиболее простой способ инокуляции основан на использовании почвы после выращивания на ней бобовых растений. Этот метод разработан в конце XIX века и применяется до настоящего времени. Недостаток метода – необходимость перемещения достаточно больших объемов почвы (100–1000 кг/га), а также возможность распространения болезней.

Более эффективным оказалось применение для инокуляции семян специальных препаратов азотфиксирующих бактерий. Клубеньковые бактерии рода *Rhizobium*, развиваясь в корневой системе бобовых растений, в симбиозе с ними фиксируют атмосферный азот, обеспечивая этим азотное питание растений. Процесс азотфиксации протекает только в клубеньках на корнях бобовых растений, которые образуются в результате проникновения бактерий через корневые волоски в корень. Взаимоотношение бактерий с растениями зависит от комплекса условий, включая физиологическое состояние и условия роста растений, а также физиологическую активность и вирулентность бактерий. Под вирулентностью понимают способность бактерий проникать внутрь корня растений и вызывать образование клубенька.

Первая коммерческая разновидность культуры для инокуляции семян (товарное название «Nitragin») была запатентована в Великобритании Ноббе и Хилтнером в 1896

году. Для разных бобовых в то время выпускали 17 вариантов культуры. В 20-е годы выпускалось много разновидностей инокулятов, среди них были чистые культуры азотфиксирующих микроорганизмов, смеси бактерий с песком или торфом, а также культуры, выращенные на агаре или в жидкой среде.

В качестве носителя для бактерий были опробованы различные композиции: смеси торфа с почвой, добавки люцерны и соломы, перегнившие опилки, бентонит и активированный уголь. В настоящее время для поддержания жизнеспособности симбиотических азотфиксирующих бактерий используют разнообразные носители, но лучшим считается торф.

Сухие препараты азотфиксаторов, приготовленные на основе клубеньковых бактерий рода *Rhizobium* и предназначенные для повышения урожайности бобовых растений (гороха, фасоли, сои, клевера, люцерны, люпина и др.) в настоящее время выпускаются под товарным названием «Нитрагин». Помимо почвенного нитрагина, выпускают также сухой нитрагин – препарат бактерий с содержанием в 1 г не менее 9 млрд. жизнеспособных клеток, в качестве наполнителя используют мел, каолин, бентонит. Препараты сухого нитрагина с остаточной влажностью 5–7 % фасуют по 0.2–1.0 кг и хранят при 15 °С в течение 6 месяцев.

Аналог азотных удобрений – другой препарат азотфиксирующих бактерий – «Азотобактерин», который выпускается промышленностью в нескольких вариантах. Бактерии рода *Azotobacter* являются свободноживущими азотфиксирующими микроорганизмами и обладают высокой продуктивностью азотфиксации (до 20 мг/г использованного сахара). Помимо связывания атмосферного азота, эти бактерии продуцируют биологически активные соединения (витамины, гиббериллин, гетероауксин и др.). В результате этого инокуляция азотобактерином стимулирует прорастание семян и ускоряет рост и развитие растений. Более того, *Azotobacter* способен экскретировать фунгицидные вещества. Этим угнетается развитие в ризосфере растений микроскопических грибов, многие из которых тормозят развитие растений. Однако бактерии рода *Azotobacter* весьма требовательны к условиям среды, особенно концентрации в почве фосфатов и микроэлементов, и активно развиваются в плодородных почвах.

В последние годы для изучения биологической азотфиксации стали применять методы молекулярной биологии и новейшие методы генетики.

Установлена возможность с помощью колифага P1 размножить свободноживущую азотфиксирующую бактерию *Klebsiella pneumoniae* M5 и с ее помощью трансдуцировать *nif*-гены (гены азотфиксации). Также доказано, что перенос *nif*-генов возможен с помощью плазмид от штамма-азотфиксатора к штамму, не обладающему diazотрофностью. Обнаружены конъюгативные плазмиды, несущие гены азотфиксации, относительно легко передающиеся при конъюгации от штамма к штамму. После этого появились надежды на получение методами клеточной и геномной инженерии растений, способных фиксировать атмосферный азот. Однако перенос генов азотфиксации и их экспрессия является чрезвычайно сложной задачей.

3.3. Снабжение растений фосфатами

Фосфатные ионы в почве, как известно, не очень подвижны, поэтому вокруг корневой зоны растений часто возникает дефицит фосфора.

Для улучшения питания сельскохозяйственных культур фосфатами эффективен метод применения фосфоробактерина. Препарат получают на основе спор культуры *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum*. Эти бактерии превращают трудно усвояемые минеральные фосфаты и фосфорорганические соединения (нуклеиновые кислоты, нуклеопротеиды) в доступную для растений форму. Следует отметить, что фосфоробактерин не заменяет фосфорные удобрения и не действует без них. Положительный эффект от применения

фосфоробактерина не только связан с доставкой усвояемых фосфатов к растениям, но обусловлен также действием биологически активных веществ (тиамина, биотина, никотиновой и пантотеновой кислот, витамина В12 и др.). Данные биологически активные вещества, попадая на поверхность семян при инокуляции, а затем в ткани растения, стимулируют фосфорное и азотное питание, то есть благоприятно действуют на развитие растений на первых этапах.

3.4. Биологические методы и препараты для борьбы с вредителями и болезнями сельскохозяйственных растений и животных

Практически одновременно с развитием животноводства и растениеводства возникла проблема защиты культурных растений и домашних животных от вредителей и болезней. Бурное развитие химии и переход сельского хозяйства на интенсивные технологии привели к появлению и применению огромного разнообразия химических веществ для борьбы с вредителями и болезнями культивируемых видов. Первоочередное место заняли пестициды – ядовитые химические вещества, используемые для борьбы с вредителями, болезнями и сорняками. Однако только небольшая часть (около 10 %) применяемых и вносимых в окружающую среду пестицидов достигает цели; основная же масса этих веществ вызывает гибель полезных организмов, аккумулируется в биологических объектах, нарушает равновесие в природных экосистемах и биоценозах, загрязняет почвы, водоемы, воздух. Более того, вредители приобретают резистентность к пестицидам. Таким образом, применение пестицидов вступило в явное противоречие с глобальной проблемой защиты окружающей среды.

Большие перспективы среди разрабатываемых подходов имеют биологические методы.

Использование микроорганизмов в качестве биопестицидов – сравнительно новое направление биотехнологии, но уже имеющее существенные достижения. В настоящее время бактерии, грибы, вирусы находят все более широкое применение в качестве промышленных биопестицидов. Технология производства этих препаратов весьма различна, как различна природа и физиологические особенности микроорганизмов-продуцентов. Однако имеется ряд универсальных требований, предъявляемых к биопестицидам, основные из них: селективность и высокая эффективность действия, безопасность для человека и полезных представителей флоры и фауны, длительная сохранность и удобство применения, хорошая смачиваемость и прилипаемость.

В настоящее время для защиты растений и животных от насекомых и грызунов применяются, помимо антибиотиков, около 50 микробных препаратов, относящихся к трем группам: это бактериальные, грибные и вирусные препараты.

Бактериальные препараты. К настоящему времени описано свыше 90 видов бактерий, инфицирующих насекомых. Большая их часть принадлежит к семействам *Pseudomonadaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Lactobacillaceae*, *Micrococcaceae*, *Bacillaceae*. Большинство промышленных штаммов принадлежит к роду *Bacillus*, и основная масса препаратов (свыше 90 %) изготовлена на основе *Bacillus thuringiensis* (Bt), имеющих свыше 22 серотипов. Штаммы Bt используют для борьбы с различными вредителями – гусеницами, комарами, мошкой.

Препараты на основе Bt относятся к токсинам кишечного действия. Типичными последствиями их воздействия являются паралич кишечника, прекращение питания, развитие общего паралича и гибель насекомого. Бактерии группы *Bacillus thuringiensis* эффективны в отношении 400 видов насекомых, включая вредителей полей, леса, садов и виноградников.

Технология получения биопестицидов на основе энтомопатогенных бактерий представляет собой типичный пример периодической гомогенной аэробной глубинной

культуры, реализующейся в строго стерильных и контролируемых условиях. Цель процесса – получение максимального урожая бактерий и накопление токсина.

Первый отечественный препарат получен на основе *Bac. thuringiensis var. dalleriae* – энтобактерин. Эффективен против чешуекрылых насекомых (капустной белянки, капустной моли, лугового мотылька, пяденицы, шелкопряда, боярышницы и др.).

Дендробациллин является препаратом для защиты леса от сибирского шелкопряда на основе *Bac. thuringiensis var. dendrolimus*. Бактерия была выделена из гусениц сибирского шелкопряда – вредителя хвойных лесов. Этот препарат также эффективен для защиты овощных, плодовых и технических культур от разных насекомых (совок, белянок, молей, пядениц и др.).

Инсектин – по действию аналогичен дендробациллину, предназначен для борьбы, главным образом, с сибирским шелкопрядом. Получен на основе *Bac. thuringiensis var. insectus*.

БИП – биологический инсектицидный препарат, изготавливается в виде сухого порошка и пасты на основе *Bac. thuringiensis var. Darmstadiensis*, эффективен против вредителей плодовых (от яблочной и плодовой молей, пядениц, листоверток, шелкопрядов) и овощных культур (белянок, молей).

Бактулоцид – бактерия, на основе которой выпускается данный препарат, выделена из водоема. Применяется в жидком виде разбрызгиванием по поверхности водоема. Высоко токсичен для личинок комаров и мошек, но совершенно безопасен для других насекомых и гидробионтов, обитающих в одном водоеме с комарами.

Новейшие биотехнологические методы могут способствовать повышению эффективности бактериальных препаратов в результате изменения плазмид в бактериях, контролирующих синтез белка. Производство аспорогенных штаммов может упростить технологию ферментации и снизить стоимость препаратов. Возможно получение биоинсектицидов с более специфичными мишенями.

Грибные препараты. Многочисленные виды энтомопатогенных грибов широко распространены в природе; они поражают широкий круг насекомых, обладая для этого различными механизмами, включая контактный, что облегчает их применение. Грибы хорошо сохраняются в виде спор и продуцируют разнообразные биологически активные вещества, усиливающие их патогенность. Однако грибные препараты не применяются пока достаточно широко. Это связано, во-первых, с определенными технологическими трудностями, возникающими при их культивировании, и во-вторых, обусловлено жесткими требованиями к факторам окружающей среды (высокая активность грибных препаратов проявляется только в условиях высокой и стабильной влажности).

Известны сотни видов энтомопатогенных грибов, но наиболее перспективными считаются две группы грибов – мускаринные грибы из *Euascomycetes* и энтомотрофные из семейства *Entomophthoraceae*.

Основное внимание привлекают следующие грибные патогены: возбудитель белой мускардины (род *Beauveria*), возбудитель зеленой мускардины (род *Metarhizium*) и *Entomophthora*, (поражающий сосущих насекомых).

Грибы, в отличие от бактерий и вирусов, проникают в тело насекомого не через пищеварительный тракт, а непосредственно через кутикулу. При прорастании конидий на кутикуле насекомого ростовые трубки могут развиваться на поверхности или сразу начинают прорастать в тело, часто этот процесс сопровождается образованием токсина.

Заражение насекомых грибными патогенами в отличие от других микроорганизмов может происходить на различных стадиях развития (в фазе куколки или имаго). Грибы быстро растут и обладают большой репродуктивной способностью. Для того чтобы применение грибных препаратов было эффективным, надо применять их в определенное время с сезона и в оптимальной концентрации.

Metarhizium anisopliae – наиболее известный энтомопатогенный гриб, описанный более 100 лет назад как зеленый мускаринный гриб. Этот гриб поражает многие группы

насекомых, включая слюнного пастбищного клопа и вредителя сахарного тростника. Есть данные о том, что с его помощью можно бороться с коричневой цикадой – вредителем риса.

Verticillium lecanii является единственным грибным энтомопатогеном, на основе которого на западе успешно выпускают препараты в промышленных масштабах. Этот организм способен контролировать в оранжереях численность тлей и алейроцид в течение нескольких месяцев.

Для инфицирования саранчи используют австралийский микроскопический гриб *Entomophthora praxibuli*. Саранча погибает в течение 7–10 дней после применения препарата.

В Японии выпущен в продажу инсектицид на основе гриба *Aspergillus* для защиты лесов от вредителей; препарат вносят в почву, он поглощается корнями деревьев, распространяясь по сосудистой системе дерева, защищает его от насекомых.

Боверин является отечественным грибным препаратом, который изготавливают на основе конидиоспор *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. После заражения насекомого *B. bassiana* выделяет боверицин, циклодепсипептид-токсин. Боверин безопасен для человека и теплокровных, не вызывает ожогов у растений.

Перспективы грибных препаратов очевидны. Достижения последних лет свидетельствуют о принципиальной применимости методов геномной инженерии для изучения физиологии, генетики и биохимии грибов. Это может привести к большему интересу к грибам как возможным продуцентам биопестицидов и, следовательно, к созданию более стойких и эффективных препаратов на их основе.

Вирусные препараты. Весьма перспективны для защиты растений энтомопатогенные вирусы. Вирусы чрезвычайно контагиозны и вирулентны, узко специфичны по действию, хорошо сохраняются в природе вне организма-хозяина. Эти препараты вследствие высочайшей специфичности практически полностью безопасны для человека и всей биоты. Заражаются насекомые вирусами при питании. Попавшие в кишечник тельца-включения разрушаются в щелочной среде.

Вирусы способны размножаться только в живой ткани организма-хозяина. Это обстоятельство делает очень трудоемкой процедуру получения вирусного материала в значительных количествах. Получают вирусный материал при размножении вирусов в насекомых. После гибели насекомых их массу измельчают, затем выделяют вирусный материал и подвергают очистке.

Особое внимание при изучении вирусов было обращено на одну группу вирусов – бакуловирусы. В этой группе отсутствуют вирусы, патогенные для позвоночных. Однако другие группы – вирусы цитоплазматического полигедроза, энтомопатогенные вирусы и иридовирусы – содержат потенциальные биопестициды против насекомых, поэтому сейчас рассматриваются как перспективные биопестициды.

Первый вирусный инсектицид был выпущен компанией «Сандоз» в 70-е годы. Препарат предназначен для борьбы с коробочным червем хлопчатника.

Производство вирусных препаратов основано на массовом размножении насекомого-хозяина на искусственных средах. На определенной стадии развития насекомое заражают, добавляя суспензию вирусов в корм. Спустя 7–9 суток погибших гусениц собирают, высушивают и измельчают. В измельченную массу добавляют физиологический раствор (1 мл на 1 гусеницу), взвесь фильтруют. Осадок суспендируют в небольшом количестве физиологического раствора и заливают глицерином. Препарат стандартизируют и разливают во флаконы.

Существует два метода применения вирусных препаратов: интродукция вирусов в плотные популяции насекомых на сравнительно небольших площадях и обработка зараженных участков путем опрыскивания или опыления на ранних стадиях развития личинок.

Видовое название энтомопатогенных вирусов состоит из группового названия и поражаемого хозяина (например, «полиэдроз непарного шелкопряда» или «полиэдроз американской бабочки»).

Отечественной промышленностью выпускается несколько вирусных препаратов; в том числе «вирин-ГЯП» (против гусеницы яблоневого плодового шелкопряда), «вирин-КШ» (против кольчатого шелкопряда), «вирин-ЭНШ» (против непарного шелкопряда), «вирин-ЭКС» (против капустной совки). В США усовершенствован процесс производства нескольких вирусных препаратов для защиты лесов («ТМ-Биоконтроль» и «Циптек»).

Вследствие достаточной трудоемкости производства эти препараты пока не нашли массового применения. Специалисты считают, что потребуются годы, чтобы вирусные препараты смогли занять значительное место на рынке биопестицидов.

Биогербициды. К последним относятся микроорганизмы-патогены растений, ферменты, а также полупродукты, получаемые биоконверсией. Для борьбы с отдельными видами сорняков, устойчивых к химическим препаратам, применяют специфические и токсичные для них микроорганизмы. Наиболее часто используют грибные фитопатогены и грибные фитотоксины.

США и Япония совместно разрабатывают получение биогербицидов на основе природных микроорганизмов для борьбы с сорняками сои, арахиса, риса. *Phytophthora palmivora* - для борьбы с повиликой. Начали производство биогербицида на основе билафоса, продуцируемого штаммом *Streptomyces hydroscopicus*. Препарат обладает широким спектром действия, нарушает азотный обмен в листьях и стеблях сорняков.

Наряду с биогербицидами, для защиты растений все шире применяют биологические препараты для борьбы с возбудителями заболеваний. На основе бактерий *Pseudomonas fluorescens* получен препарат «Р-2-79», подавляющий развитие свыше 40 видов микроорганизмов, поражающих пшеницу, ячмень, рожь. На основе *Pseudomonas* проводят защиту семян сорго и кукурузы от антрактоза и ризоктониоза; хлопчатника и сои – от вилта и ряда других заболеваний.

Для борьбы с фитофторозом яблонь предложен способ применения почвенной бактерии *Enterobacter aerogenes*.

Защита многих овощных культур от заболеваний, вызываемых некоторыми видами микроскопических грибов, обеспечивается применением препарата на основе культур *Trichoderma polysporum*, *T. viride*.

Вопросы для самоконтроля

- 1) Какие азотные биоудобрения используются в сельском хозяйстве?
- 2) Какие биологические методы существуют для борьбы с вредителями и болезнями?
- 3) На какие группы делятся микробные препараты?
- 4) Что такое биогербициды?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

- 1) **Волова, Т.Г.** Экологическая биотехнология: уч. пособие для университетов / Т.Г. Волова. - Новосибирск: Хронограф, 2007. – 141с.
- 2) Биопрепараты: Сельское хозяйство. Экология. Практика применения. ООО «ЭМ-кооперация», Москва, 2008. - 296 с.

Дополнительная

- 1) **Елинов, Н.П.** Основы биотехнологии / Н.П. Елинов. - СПб.: Наука, 1995. - 600с.
- 2) Биотехнология / Под ред. А. А. Баева. – М: Наука, 1984. – 309с.

- 3) Сельскохозяйственная биотехнология / под. ред. В.С. Шевелухи. – М.: Высшая школа, 2003. – 469с.
- 4) Экологическая биотехнология / Под редакцией К.Ф. Форстера и Дж. Вейза Л.: Химия, 1990. – 384с.
- 5) Блинов В.А. Биотехнология (некоторые проблемы сельскохозяйственной биотехнологии) Саратов: ОГУП РИК «Полиграфия Поволжья», 2003. – 198с.

Лекция 4

БИОРЕМЕДИАЦИЯ

4.1. Понятие биоремедиации, ее принципы

Биоремедиация — комплекс методов очистки вод, грунтов и атмосферы с использованием метаболического потенциала биологических объектов — растений, грибов, насекомых, червей и других организмов. Первые простейшие методы очистки сточных вод — поля орошения и поля фильтрации — были основаны на использовании растений.

Принципы биоремедиации

Использование растений

Растение воздействует на окружающую среду разными способами. Основные из них:

- ризофильтрация — корни всасывают воду и химические элементы необходимые для жизнедеятельности растений;
- фитоэкстракция — накопление в организме растения опасных загрязнений (например, тяжёлых металлов);
- фитоволатилизация — испарение воды и летучих химических элементов (As, Se) листьями растений;
- фитотрансформация:
- фитостабилизация — перевод химических соединений в менее подвижную и активную форму (снижает риск распространения загрязнений)
- фитодеградация — деградация растениями и симбиотическими микроорганизмами органической части загрязнений
- фитостимуляция — стимуляция развития симбиотических микроорганизмов, принимающих участие в процессе очистки

Использование микроорганизмов и грибов

Главную роль в деградации загрязнений играют микроорганизмы. Растение является своего рода биофильтром, создавая для них среду обитания (обеспечение доступа кислорода, разрыхление грунта). В связи с этим, процесс очистки происходит также вне периода вегетации с несколько сниженной активностью.

4.2. Биоремедиация атмосферы

Биоремедиация атмосферы – комплекс методов очистки атмосферы с помощью микроорганизмов. Все методы очистки делятся на регенеративные и деструктивные. Первые позволяют возвращать в производство компоненты выбросов, вторые трансформируют эти компоненты в менее вредные.

Электрические методы. При этом способе газовый поток направляется в электрофильтр, где проходит в пространстве между двумя электродами – коронирующим и осадительным. Частицы пыли заряжаются, движутся к осадительному электроду, разряжаются на нем. Таким методом можно удалять не только пыли, но и туманы.

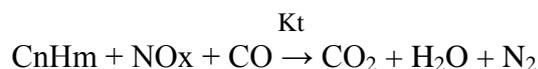
Адсорбция – поглощение твердым веществом газового компонента. В качестве адсорбентов применяют активные угли различных марок, силикагель и др. Позволяет достигать высокой степени очистки, кроме того способ регенеративный, то есть уловленный ценный компонент можно вернуть обратно в производство.

Абсорбция – поглощение газов жидкостью. Метод основан либо на процессе растворения газовых компонентов в жидкости, либо на растворении вместе с химической реакцией. Является регенеративным.

Термические методы. Являются деструктивными. При достаточной теплотворной способности выбросного газа его можно сжечь напрямую. Получающиеся в результате

термического разложения компоненты должны быть менее опасными для окружающей среды, чем исходный компонент.

Химические методы. Как правило, с использованием катализаторов. Например, каталитическое восстановление оксидов азота из выхлопных газов автотранспорта:



Биологическая очистка. Для разложения загрязняющих веществ используются специально подобранные культуры микроорганизмов. Микроорганизмы размножаются сами, используя загрязнения в качестве субстрата. Биофильтрация является наиболее выгодной с экономической точки зрения и наиболее отработанной технологией очистки отходящих газов. Может быть успешно использована для защиты атмосферы на предприятиях пищевой, табачной, нефтеперерабатывающей промышленности.

Аэроионы - мельчайшие жидкие или твердые частицы, заряженные положительно или отрицательно. Особенно благоприятно действие отрицательных (легких аэроионов). Их справедливо называют витаминами воздуха. Механизм действия отрицательных аэроионов на взвешенные в воздухе частицы состоит в следующем. Отрицательные аэроионы воздуха заряжают (или перезаряжают) пыль и микрофлору, находящиеся в воздухе, до определенного потенциала, пропорционально их радиусу. Заряженные пылевые частицы или микроорганизмы начинают двигаться вдоль силовых линий электрического поля по направлению к противоположно (положительно) заряженному полюсу, т.е. к земле, к стенам и потолку. Если выразить в длинах силы гравитации и силы электрические, действующие на тонкодисперсную пыль, то легко можно увидеть, что электрические силы превосходят силы гравитации в тысячи раз. Это дает возможность по желанию строго направлять движение облака тонкодисперсной пыли и очищать, таким образом воздух в данном месте. При отсутствии электрического поля и диффузном движении отрицательных аэроионов между каждым движущимся аэроионом и положительно заряженной землей (полом) возникают силовые линии, вдоль которых движется данный аэроион вместе с частичкой пыли или бактерией. Осевшие на поверхности пола, потолка и стен микроорганизмы могут периодически удаляться.

4.3. Биоремедиация почвы

Биоремедиация загрязнённых почв и грунтов представляет собой набор техник, основанных на применении биологических агентов для очистки почв и грунтов от загрязнителей. Чаще всего для биоремедиации почв используются микроорганизмы, обычно бактерии и грибы; реже – растения.

Выбор определенной технологии биоремедиации основывается на основе таких критериев как природные условия места очистки, свойства почвы, концентрация и уровень токсичности загрязнителя и т.д. Применяемые в биоремедиации почв технологии можно объединить в две группы: методы *in situ* и методы *ex situ*.

Биоремедиация *in situ*. Основана на очистке среды от загрязнителя без удаления загрязнённой почвы из района загрязнения. Поскольку технологии этого типа не требуют проведения земляных работ, они являются более дешёвыми, создают меньше загрязнения воздуха и высвобождают меньше летучих загрязнителей, чем технологии *ex situ*.

Один из подходов биоремедиации *in situ* заключается во введении в загрязнённую почву кислорода с помощью специального оборудования, с тем, чтобы стимулировать рост микроорганизмов и аэробную биodeградацию загрязнителей. Данная техника чаще всего применяется для очистки от различных нефтепродуктов.

Помимо кислорода стимуляция биodeградации может осуществляться путём введения в почву питательных веществ для стимуляции роста и метаболизма микроорганизмов,

осуществляющих деградацию поллютанта. Чаще всего для этих целей используют азот- и фосфорсодержащие удобрения.

Другим распространённым подходом является введение в почву микроорганизмов (в том числе генетически модифицированных) или ферментов для ускорения деградации органических поллютантов, присутствующих в почве.

Биоремедиация ex situ. Основана на снятии слоя загрязнённой почвы и очистке её от поллютантов за пределами места загрязнения, что делает этот подход более дорогостоящим, чем биоремедиация in situ. Тем не менее, у технологий данного типа есть ряд преимуществ: они требуют меньше времени и обеспечивают полный контроль процесса очистки.

Одним из типов применяемых при биоремедиации in situ технологий является использование биореакторов. Перед помещением в биореактор из почвы удаляются крупные камни, грунт подвергается перемешиванию, что делает его более однородным; после добавления воды образуется глинистая суспензия. В данную суспензию вносятся проводящие очистку от поллютанта почвы микроорганизмы, для которых в реакторе создаются оптимальные условия. После завершения процесса очистки почва высушивается и возвращается в окружающую среду.

Другой подход биоремедиации in situ заключается в том, что удалённая с места загрязнения почва размещается на определённой территории, её обеспечивают аэрацией, питательными веществами и водой для стимуляции роста и метаболизма микроорганизмов, осуществляющих биоремедиацию. По сравнению с очисткой с помощью биореакторов, данная технология требует много места и занимает дольше времени. Можно выделить несколько различных вариантов такого подхода.

В одном из вариантов загрязнённую почву удаляют с места загрязнения и распределяют тонким слоем на площади, специально огороженной по периметру для предотвращения распространения загрязнения за её пределы. Почву вспахивают для обеспечения доступа кислорода почвенным микроорганизмам и добавляют стимулирующие их рост вещества. Также над почвой разбрызгивают воду, что позволяет поддерживать оптимальную влажность и понижает запыленность воздуха.

Загрязнённую почву можно также складывать толстым слоем высотой 1-3 метра. При этом аэрация путём вспахивания заменяется аэрацией с помощью системы труб, доставляющих в почву воздух для стимуляции биодеградации. В данном случае почву обычно смешивают с каким-нибудь рыхлым веществом (например, соломой), чтобы облегчить аэрацию. В процессе ремедиации из-за продувки воздуха происходит испарение из грунта различных веществ, в том числе самого поллютанта, поэтому система обязательно снабжается датчиком состава почвенных испарений. Также в грунт добавляют удобрения и поддерживают на определённом уровне влажность.

При смешивании грунта с большим количеством разрыхлителей (сена, кукурузных кочерыжек, соломы) аэрацию можно осуществлять с помощью вакуумных насосов или вентиляторов. Такую смесь также можно аэрировать путём перемешивания в специальных резервуарах. Ещё один вариант – размещение загрязнённой почвы с разрыхлителем в длинные кучи, регулярно перемешиваемые тракторами. Во всех этих трёх случаях соотношение разрыхлитель/почва составляет примерно 1/3. После каждого перемешивания почва укрывается, что позволяет поддерживать нужную температуру и влажность. Очистка таким способом занимает недели вместо обычных для биоремедиации почв месяцев.

4.4. Биоремедиация нефтяных загрязнений

Самым распространённым в водной среде является загрязнение нефтью и различными нефтехимическими продуктами. Существует ряд технологий обработки загрязнённых грунтов. Наиболее распространены сжигание, захоронение и биоокисление. По

имеющимся сравнительным оценкам, биоокисление является наиболее дешевым, экологически безопасным и перспективным методом. В литературе для обозначения этого процесса используются термины «биodeградация», «биовосстановление», «биорекультивация» и «биоремедиация». В основу очистки нефтяных загрязнений методами биоокисления положена биохимическая деятельность нефтеокисляющих микроорганизмов, которые довольно широко распространены в природе. При этом очевидно, что для эффективной очистки нефтяных загрязнений необходимо использовать быстрорастущие штаммы микроорганизмов, интенсивно потребляющих углеводородные субстраты.

Технология проведения работ по очистке различных объектов от нефтяных загрязнений может быть различной в зависимости от конкретных условий. В случае аварийных разливов нефти на почву при благоприятной гидрогеологической обстановке её очистка производится на месте загрязнения. Производится обваловка участка, перемешивание и структурирование грунта, обработка биопрепаратом. При внесении биогенных компонентов создаются благоприятные условия для развития микрофлоры – как естественной, так и внесенной с биопрепаратом. Для этого почва рыхлится, увлажняется, поддерживается необходимый уровень содержания в почве компонентов питания микроорганизмов.

При неблагоприятной гидрогеологической обстановке (если существует опасность просачивания загрязнений в водоносные горизонты) грунт для биовосстановления вывозится на специально подготовленные гидроизолированные площадки. Наиболее удобным методом очистки загрязненных грунтов, в особенности имеющих организационный характер (например, осадки ливневой канализации, загрязнения автозаправочных станций и др.), является создание специальных установок биокомпостирования. Эти установки представляют собой площадки, оборудованные устройствами для распределения осадка на площади карты, рыхления, орошения и дренажа, а также системой внесения биогенных элементов. Желательно также обеспечить условия для поддержания плюсовых температур в холодное время года. На этих площадках в загрязненный грунт вносятся биогенные элементы и биопрепарат, производится мониторинг нефтяных загрязнений, периодическое рыхление, увлажнение и подкормки. Это позволяет в течение теплого времени года довести содержание углеводов в грунте до уровня ниже 1000 мг/кг.

Сказанное выше касается в основном нерастворимых в воде нефтепродуктов, для которых характерным является поверхностное загрязнение грунта, если только оно не является результатом многолетнего складирования и захоронения нефтезагрязненных почв и осадков (например, в амбарах). Более трудная ситуация возникает в случаях, когда загрязнитель относительно хорошо растворяется в воде. Тогда загрязненная вода проходит в нижние горизонты почвы, поражая грунт и вызывая длительные загрязнения грунтовых вод. К таким веществам относятся, в частности, фенол. Штамм *Aureobacterium saperdae* 6–204 наиболее активен с точки зрения скорости биodeградации фенола.

Вопросы для самоконтроля

1. Каковы принципы биоремедиации?
2. Способы биоремедиации атмосферы?
3. Какие группы методов применяют при биоремедиации почв?
4. Что лежит в основе метода биоокисления?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Биотехнология: Теория и практика / Н.В. Загоскина, [и др.]. – М.: Изд-во: Оникс. - 2009. – 496 с.
2. Техника и технология утилизации нефтяных отходов [монография] / Н. С. Минигазимов и др. Акад. наук Респ. Башкортостан, ГУП НИИ безопасности жизнедеятельности. - Уфа: Гилем, 2010. – 313с.
3. **Волова, Т.Г.** Экологическая биотехнология: уч. пособие для университетов / Т.Г. Волова. - Новосибирск: Хронограф, 2007. – 141с.

Дополнительная

1. **Корте Ф.** Экологическая химия / Ф. Корте, М. Бахадир, В. Клайн и др. М.: Мир, 1996. – 396с.
2. **Елинов, Н.П.** Основы биотехнологии / Н.П. Елинов. - СПб.: Наука, 1995. - 600с.
3. Биотехнология / Под ред. А. А. Баева. – М: Наука, 1984. – 309с.

Лекция 5

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ДЕТОКСИКАЦИЯ И ВОССТАНОВЛЕНИЕ ПОЧВ

5.1. Почва, ее микрофлора

Основа почвы – почвенные минералы составляют 80-90% веса. Они, как правило, содержат почти всю таблицу Д.И. Менделеева, но в форме не доступной растениям. Другая составляющая часть почвы – органическое вещество, причем наиболее ценная его часть – гумус – мельчайшие коллоидные частицы органики, имеющие еще большую поверхность и удерживающие ионы элементов, в доступной для питания растений форме. Гумус является хранилищем основных элементов питания. Гумус – аморфное органическое вещество, которое образуется в почве в результате микробиологического и физико-химического преобразования органических соединений растительного и животного происхождения. Процесс образования гумуса называют гумификацией.

Третья составляющая почвы – ее живой компонент – сообщество разных почвенных микроорганизмов: бактерий, грибов, инфузорий, водорослей, микроскопических червей и др. Их биомасса в верхнем слое почвы может достигать 1-1,5 кг/м² и более. Почвенным микроорганизмам принадлежит основная роль в формировании плодородия почвы.

Почвенные микроорганизмы – совокупность разных групп микроорганизмов, для которых естественной средой обитания служит почва. Это основной компонент, трансформирующий почву и участвующий в процессах кругооборота всех химических элементов. В 1г чернозема содержится до 10 млрд. живых микроорганизмов. Они представлены как прокариотами (бактерии, актиномицеты, сине-зеленые водоросли), так и эукариотами (грибы, микроскопические водоросли, простейшие). Благодаря использованию современных методов (электронная и капиллярная микроскопия) ежегодно открывают много новых почвенных микроорганизмов. Среди них есть гетеротрофы и автотрофы, аэробы и анаэробы.

Большинство бактерий почвы способны развиваться при нейтральном pH, температуре 25-45°C, относительной влажности выше 95%.

Характеристика некоторых видов микроорганизмов

1) Почвенные бактерии образуют три основных класса:

Класс *Eubacteria* включает разнообразные по форме и функциям почвенные микробы:

- сапрофиты-аутоотрофы (для питания используют минеральные вещества);
- сапрофиты-метатрофы (используют простые органические вещества);
- паратрофы (питаются сложными органическими ВМС).

Также встречаются некоторые патогенные для человека возбудители токсикоинфекций, дизентерии, бруцеллеза и др.

Класс *Actinomycetes* являются аэробами и мезофиллами. Они принимают активное участие в синтезе органических и минеральных веществ. К этому классу относят возбудителей туберкулеза, проказы и дифтерии человека.

Класс *Muxobacteriae* имеют палочковидную или кокковую форму, обладают высокой подвижностью. Они способны разлагать клетчатку и хитин, выделяют большое количество слизи, которая может превращаться в гумусоподобное вещество.

2) В почве очень много различных видов плесеней и грибов. Их качественный состав сильно зависит от типа почвы, температуры, влажности, pH и т. д. Грибы принимают активное участие в почвообразовательных процессах, они способны разлагать остатки растений и других органических веществ.

3) Почва может обильно населяться водорослями, если в ней содержится большое количество азота. Водоросли активно принимают участие в почвообразовательном

процессе, способны заселять субстраты не пригодные для других организмов и накапливать органические вещества.

4) Количество простейших в почве колеблется в широких пределах – от 500 до 500 тыс. в 1 г почвы. Особенно богаты ими окультуренные почвы. Это жгутиковые и реснитчатые, вирусы и бактериофаги.

Население почвы постоянно изменяется не только благодаря размножению и трансформации микрофлоры, но и за счет экзогенного внесения микроорганизмов (навоз, компост). Срок жизни почвенных организмов – от нескольких часов до нескольких дней.

Важное значение в повышении урожайности растений и улучшения плодородия почвы имеют микробы-антагонисты. Это особая группа, которая вырабатывает различные БАВ, в первую очередь, антибиотические вещества, подавляющие рост и развитие патогенной микрофлоры.

Почва обладает разнообразными, мощными системами самоочищения. Однако этого иногда бывает недостаточно и происходит загрязнение почвы.

5.2. Экологическая оценка состояния почв. Способы детоксикации

Наблюдаемая в последние десятилетия концентрация промышленности на локальных территориях, формирование агроурболоандшафтов, наносит ущерб природным системам, отрицательно воздействуя на почву, растительность, водоемы, атмосферу и человека. При этом почвы являются своеобразным накопителем выбросов, ингредиенты которых в зависимости от природных условий поступают в компоненты окружающей среды. Например, формирование качества поверхностных вод во многом определяется диффузными загрязнениями, состав которых, в свою очередь, непосредственно связан с состоянием почвенного покрова. Почва принимает участие в формировании стока больших и малых рек и трансформации поверхностных вод в грунтовые.

В почвах, подвергнутых антропогенному воздействию, нарушаются газогазовые обмены, и они снижают свою протекторную и продуктивную способности. Это приводит к увеличению смыва загрязнений с их поверхности, что в итоге ведет к повышенному выносу взвешенных (минеральных и органических) веществ, нефтепродуктов и ПАУ в водоемы и в грунтовые воды. Поэтому восстановление протекторных свойств почвы по существу является технологическим методом защиты окружающей среды, в т. ч. и гидросферы.

Для устранения загрязнений геологической среды применяются три принципиально различающихся подхода.

Первый - собственно очистка, предусматривающая полное извлечение вредных компонентов из объекта вместе с почвой (грунтом), обезвреживание с дальнейшей утилизацией их вне массива каким-либо известным способом.

Второй – основан не на удалении, а на подавлении активности (детоксикации) вредного компонента на месте, непосредственно в массиве, например, путем его нейтрализации, разложения (деструкции), связывания и т. п.

Третий – основан на локализации загрязнителей в массиве за счет создания вокруг аномалии защитного экрана, препятствующего дальнейшему распространению загрязнений. При этом сами загрязнители не разрушаются и не удаляются, а остаются законсервированными внутри массива и изолированными от экосферы экранами.

При разной стоимости ни один из известных способов не является технологически универсальным. Оптимальным будет компромиссное сочетание технологических и организационных решений, обеспечивающих приемлемое соотношение «качество очистки – цена» с позиций охраны гидросферы и инвестиций.

5.3. Микробное выщелачивание и биогеотехнология металлов

Биогеотехнология металлов – это процессы извлечения металлов из руд, концентратов, горных пород и растворов вод воздействием микроорганизмов или продуктов их жизнедеятельности при нормальном давлении и физиологической температуре (от 5 до 90 °С). Составными частями биогеотехнологии являются:

- 1) биогидрометаллургия, или бактериальное выщелачивание;
- 2) биосорбция металлов из растворов,
- 3) обогащение руд.

Важность применения биогеотехнологии металлов связана с исчерпаемостью доступных природных ресурсов минерального сырья и с необходимостью разработки сравнительно небогатых и трудноперерабатываемых месторождений. При этом биологические технологии не обезображивают поверхность Земли, не отравляют воздух и не загрязняют водоемы стоками в отличие от добычи ископаемых открытым способом, при котором значительное количество земельных площадей разрушается. Биогеотехнологические методы, микробиологическая адсорбция и бактериальное выщелачивание, позволяют получить дополнительное количество цветных металлов за счет утилизации «хвостов» обогатительных фабрик, шламов и отходов металлургических производств, а также переработки так называемых забалансовых руд, извлечением из морской воды и стоков.

Применение биологических методов интенсифицирует процессы добычи минерального сырья, удешевляет их, при этом исключает необходимость применения трудоемких горных технологий; позволяет автоматизировать процесс.

Несмотря на давность существования биотехнологических процессов извлечения металлов из руд и горных пород, только в 50-е годы была доказана активная роль микроорганизмов в этом процессе. В 1947 году в США Колмер и Хинкли выделили из шахтных дренажных вод микроорганизмы, окисляющие двухвалентное железо и восстанавливающие серу. Микроорганизмы были идентифицированы как *Thiobacillus ferrooxidans*. Вскоре было доказано, что эти железooksисляющие бактерии в процессе окисления переводят медь из рудных минералов в раствор. Затем были выделены и описаны многие другие микроорганизмы, участвующие в процессах окисления сульфидных минералов. Спустя несколько лет, в 1958 году, в США был зарегистрирован первый патент на получение металлов из концентратов с помощью железooksисляющих микроорганизмов.

Бактерии *Thiobacillus ferrooxidans* очень широко распространены в природе, они встречаются там, где имеют место процессы окисления железа или минералов. Они в настоящее время наиболее изучены.

Помимо *Thiobacillus ferrooxidans*, широко известны также *Leptospirillum ferrooxidans*. Первые окисляют сульфидный и сульфитный ионы, двухвалентное железо, сульфидные минералы меди, урана. Спириллы не окисляют сульфидную серу и сульфидные минералы, но эффективно окисляют двухвалентное железо в трехвалентное, а некоторые штаммы окисляют пирит. Сравнительно недавно выделены и описаны бактерии *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*, *Thiobacillus thiooxidans*, *T. acidophilus*. Окислять S^0 , Fe^{2+} и сульфидные минералы способны также некоторые представители родов *Sulfolobus* и *Acidianus*. Среди этих микроорганизмов – мезофильные и умеренно термотолерантные формы, крайние ацидофилы и ацидотермофилы. Для всех этих микроорганизмов процессы окисления неорганических субстратов служат источником энергии. Данные литотрофные организмы углерод используют в форме углекислоты, фиксация которой реализуется через восстановительный пентозофосфатный цикл Кальвина. Несколько позднее было установлено, что нитрифицирующие бактерии способны выщелачивать марганец из карбонатных руд и разрушать алюмосиликаты. Среди микроорганизмов, окисляющих $NH_4^+ \rightarrow NO_2^-$, это представители родов *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira*, *Nitrobacter*, *Nitrococcus* и др.

Бактериальное выщелачивание, называемое также биогидрометаллургией или биоэкстрактивной металлургией, в промышленных масштабах довольно широко применяют для перевода меди и урана в растворимую форму.

Существуют несколько способов проведения бактериального выщелачивания металлов. Все они основаны на стимуляции роста железобактерий, способных окислять двухвалентное железо и серу. Эти методы весьма экономичны и чисты в экологическом плане; отличаются достаточной простотой и способны к самоподдерживанию, благодаря образованию агента-растворителя металлов в виде раствора Fe^{3+} .

Все полученные при бактериальном выщелачивании продукты реакции находятся в растворах, которые легко можно нейтрализовать; какие-либо вредные побочные газообразные продукты отсутствуют; процесс не зависит от масштабов его проведения. К трудностям реализации биологических методов относится необходимость поддержания активной микробной культуры в строго контролируемых и заданных условиях, низкие в сравнение с химическими процессами скорости реакций, взаимосвязанность процессов выщелачивания со скоростями роста микроорганизмов.

К перспективным направлениям биогеотехнологии металлов относят направление, ориентированное на обогащение руд и концентратов. Весьма эффективным представляется применение для этих целей сульфатредуцирующих бактерий, с помощью которых можно разработать принципиально новые процессы и значительно улучшить существующие. При проведении процессов флотации окисленных минералов свинца и сурьмы применение сульфатредуцирующих бактерий повышает на 6–8 % извлечение минералов в результате сульфидизации окислов; в процессах флотации церуссита ($PbCO_3$) извлечение свинца возрастает на 20–25 %. Применение сульфатредуцирующих бактерий для десорбции ксантогената с поверхности некоторых минералов после флотации позволяет селективно разделить некоторые минералы.

Таким образом, биологические методы активно дополняют и частично позволяют заменить традиционные методы горнодобывающей отрасли. Многие вопросы биогеотехнологии в настоящее время успешно решены. Это получение меди, никеля, кобальта, марганца, мышьяка и ряда других металлов. Медь и уран получают в больших масштабах в процессах кучного и подземного выщелачивания. С помощью чанового выщелачивания удается перерабатывать многие концентраты и получать цинк, медь, олово, серебро, золото и др. Разрабатываются и находят все большее применение процессы биосорбции металлов из растворов и сточных вод; намечены подходы и начинают применяться биологические методы в процессах обогащения руд и концентратов. Применение биотехнологических методов позволяет увеличивать сырьевые ресурсы, обеспечивает комплексное извлечение металлов, не требует сложной горной техники; процессы легко поддаются регулированию и автоматизации и позволяют решать многие природоохранные задачи.

Вопросы для самоконтроля

- 1) Какие группы микроорганизмов встречаются в почве?
- 2) Каковы источники питания почвенных микроорганизмов?
- 3) Способы детоксикации почв?
- 4) Каковы составные части биогеотехнологии?
- 5) Виды микроорганизмов, используемых для биовыщелачивания?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

- 1) Биотехнология: Теория и практика / Н.В. Загоскина, [и др.]. – М.: Изд-во: Оникс. - 2009. – 496 с.
- 2) Биопрепараты: Сельское хозяйство. Экология. Практика применения. ООО «ЭМ-кооперация», Москва, 2008, 296 с.
- 3) Техника и технология утилизации нефтяных отходов [монография] / Н. С. Миниغازимов и др. Акад. наук Респ. Башкортостан, ГУП НИИ безопасности жизнедеятельности. - Уфа: Гилем, 2010

Дополнительная

- 1) **Блинов, В.А.** Биотехнология (некоторые проблемы сельскохозяйственной биотехнологии) / В.А. Блинов. – Саратов. - 2003. – 198с.
- 2) **Елинов, Н.П.** Основы биотехнологии / Н.П. Елинов. - СПб.: Наука, 1995, 600с.
- 3) Сельскохозяйственная биотехнология /Под. ред. В.С. Шевелухи. - М.: Высшая школа, 2003. - 469 с.
- 4) **Егорова, Т.А.** Основы биотехнологии / Т.А. Егорова, С.М. Клунова, Е.А. Живухина. – М.: Издательский центр «Академия», 2003. – 208с.

Лекция 6

ПРИМЕНЕНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ОЧИСТКИ ГАЗО-ВОЗДУШНЫХ ВЫБРОСОВ И ДЕГРАДАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ

6.1. Основные загрязнители воздуха, методы очистки

Проблема борьбы с загрязнением воздушного бассейна в условиях возрастающей технологической деятельности приобретает все большую остроту. В воздухе больших промышленных городов содержится огромное количество вредных веществ. При этом концентрация многих токсикантов превышает допустимые уровни. Основной вклад в загрязнение атмосферы вносят предприятия нефтеперерабатывающей, химической, пищевой и перерабатывающей промышленности, а также большие сельскохозяйственные комплексы, отстойники сточных вод, установки по обезвреживанию отходов.

Среди этих веществ – органические (ароматические и непредельные углеводороды, азот-, кислород-, серо- и галогенсодержащие соединения) и неорганические вещества (сернистый газ, сероуглерод, окислы углерода, аммиак, хлороводород, галогены). В воздушных бассейнах больших промышленных городов присутствуют десятки различных соединений, в том числе дурно-пахнущие, способные даже в незначительных концентрациях представлять угрозу для здоровья, а также вызывать у людей чувство дискомфорта.

Для очистки воздуха применяют различные методы – физические, химические и биологические, однако уровень и масштабы их применения в настоящее время чрезвычайно далеки от требуемых. Среди применяемых физических методов – абсорбция примесей на активированном угле и других поглотителях, абсорбция жидкостями. Наиболее распространенными химическими методами очистки воздуха являются озонирование, прокаливание, каталитическое дожигание, хлорирование.

Биологические методы очистки газозагрязненного воздуха начали применять сравнительно недавно, и пока в ограниченных масштабах. Биологические методы очистки воздуха базируются на способности микроорганизмов разрушать в аэробных условиях широкий спектр веществ и соединений до конечных продуктов, CO_2 и H_2O .

Широко известна способность микроорганизмов метаболизировать алифатические, ароматические, гетероциклические, ациклические и различные C1-соединения. Микроорганизмы утилизируют аммиак, окисляют сернистый газ, сероводород и диметилсульфоксид. Образующиеся сульфаты утилизируются другими микробными видами. Есть данные об эффективном окислении аэробными карбоксибактериями монооксида углерода, являющейся одним из наиболее опасных воздушных загрязнителей. Представители рода *Nocardia* эффективно разрушают стерин и ксилон; *Hyphomicrobium* – дихлорэтан; *Xanthobacterium* – этан и дихлорэтан; *Mycobacterium* – винилхлорид.

Наиболее широким спектром катаболических путей характеризуются почвенные микроорганизмы. Так, только представители рода *Pseudomonas* способны использовать в качестве единственного источника углерода, серы или азота свыше 100 соединений – загрязнителей биосферы. Большие возможности для повышения биосинтетического потенциала микроорганизмов-деструкторов токсичных веществ имеются на вооружении у микробиологов и генетиков, включая методы традиционной селекции и отбора, а также новейшие достижения клеточной и генетической инженерии.

Подавляющее число токсических загрязнителей атмосферы может быть разрушено монокультурами микроорганизмов, но более эффективно применение смешанных культур, имеющих большой каталитический потенциал и, следовательно, деструктурирующую способность. Для разрушения трудно утилизируемых соединений в ряде случаев микроорганизмы целесообразно адаптировать к таким субстратам и только

после этого вводить их в рабочее тело действующих установок.

6.2. Установки для биологической очистки воздуха

Для биологической очистки воздуха применяют три типа установок: биофильтры, биоскрубберы и биореакторы с омываемым слоем.

Принципиальная схема для биологической очистки воздуха была предложена в 1940 году Прюссом. Первый биофильтр в Европе был построен в ФРГ совсем недавно – в 1980 году. Спустя три года только в ФРГ функционировало и находилось в стадии запуска около 240 установок.

Основным элементом *биофильтра* для очистки воздуха, как и водоочистного биофильтра, является фильтрующий слой, который сорбирует токсические вещества из воздуха. Далее эти вещества в растворенном виде диффундируют к микробным клеткам, включаются в них и подвергаются деструкции. В качестве носителя для фильтрующего слоя используют природные материалы – компост, торф и др. Эти материалы содержат в своем составе различные минеральные соли и вещества, необходимые для развития микроорганизмов. Поэтому в биофильтры не вносят каких-либо минеральных добавок.

Воздух, подлежащий очистке, подается вентилятором в систему, проходит через фильтрующий слой в любом направлении, снизу вверх или наоборот. При этом воздух должен проходить через всю массу фильтрующего слоя равномерно. Поэтому требуется однородность слоя и определенная степень влажности. Оптимальная для очистки воздуха влажность фильтрующего слоя составляет 40–60 % от веса материала носителя. При недостаточной влажности материала фильтрующего слоя в нем образуются трещины, материал пересыхает. Это затрудняет прохождение воздуха и снижает физиологическую активность микроорганизмов. Увлажнение материала обеспечивается распылением воды на поверхности фильтрующего слоя. При избыточной влажности в толще слоя происходит образование анаэробных зон с высоким аэродинамическим сопротивлением. В результате снижается время контакта потока воздуха с поглотителем и падает эффективность очистки. В толще фильтрующей массы не должно образовываться более плотных зон или комков материала, что возможно при использовании компоста, так как при этом снижается удельная площадь поверхности фильтрующего слоя. В материале не должно возникать температурных градиентов, а также не должно происходить резких изменений pH среды. Поэтому температурный режим в биофильтре поддерживается постоянным. Для этого воздух, подаваемый в биофильтр, подогревается, установка в целом термостатируется.

Для обеспечения стабильной работы биофильтров следует соблюдать комплекс мер, важнейшими из которых являются следующие. Воздух, подаваемый на очистку в биофильтр, предварительно увлажняют в биоскруббере до относительной влажности в 95–100 %. При заполнении фильтрующего слоя для снижения аэродинамического сопротивления в материал добавляют гранулы (диаметром 3–10 мм) из синтетических полимерных материалов (полиэтилена, полистирола), а также частицы автопокрышек, активированный уголь. Масса добавок составляет от 30 до 70 % от массы фильтрующего материала. Для предотвращения резкого закисления материала фильтрующего слоя в ходе трансформации органики в него добавляют известняк или карбонат кальция в количестве 2–40 % от веса носителя. С целью избежания ситуаций, когда микроорганизмы, входящие в состав рабочего тела биофильтра, могут ингибироваться токсическими веществами в результате, например, залповых выбросов, в материал вносят активированный уголь, до 250 кг/м³.

При высокой входной концентрации вредных веществ в воздухе процесс их деструкции в ходе прохождения потока через фильтрующий слой неравномерен. Сначала разрушаются легкодоступные вещества, и только в конце процесса начинается разрушение трудно-деградируемых соединений. Так, при присутствии в воздухе в

качестве вредных примесей комплекса соединений (бутанола, этилацетата, бутилацетата и толуола) последний утилизируется микроорганизмами только после окисления всех остальных веществ.

Стационарное состояние и наиболее высокая скорость биоочистки наступают спустя некоторое время после запуска биофильтра. Требуется некоторый период для созревания и адаптации микробиологического ценоза.

Концентрация микроорганизмов в ходе очистки возрастает и может стать избыточной. Поэтому материал фильтрующего слоя приходится периодически обновлять. Длительность циклов достаточно велика и составляет несколько лет.

Принцип функционирования **биоскрубберов** отличается тем, что процесс очистки воздуха реализуется в две стадии в двух различных установках. На первом этапе в абсорбере токсические вещества, находящиеся в воздухе, а также кислород растворяются в воде. В результате воздух выходит очищенным, а загрязненная вода далее следует на очистку.

Применяют различные типы абсорберов (барботажные, насадочные, распылительные, форсуночные и т.д.). Цель конструктивных усовершенствований заключается в увеличении площади поверхности раздела фаз, газовой и жидкости. Это определяет эффективность абсорбции. На второй стадии загрязненная вода поступает в аэротенк, где она регенерируется. Очищение воды в аэротенке происходит по обычной схеме с участием кислорода. В ходе очистки сложные органические вещества окисляются микроорганизмами, формирующими активный ил, до конечных продуктов с образованием биомассы.

Биореактор с оmyваемым слоем: рабочим телом этой биосистемы являются иммобилизованные микроорганизмы. Биослой реактора представляет собой гранулы с иммобилизованными микробными клетками. Этот слой оmyвается водой, содержащей необходимые для развития клеток минеральные вещества. Загрязненный воздух проходит через него, при этом вещества, подлежащие деструкции, диффундируют в водную пленку, покрывающую частицы биокатализатора, и далее окисляются микроорганизмами. Скорость деструкции может лимитироваться скоростью диффузии веществ из газовой фазы в жидкую, а также скоростью протекания реакций в микробных клетках. Скорость диффузии, в свою очередь, зависит от природы токсических веществ и их концентраций. Стационарный режим биореактора с оmyваемым слоем после его запуска наступает через 5–10 дней. При использовании заранее адаптированных к очищаемым веществам микроорганизмов этот срок может быть сокращен до нескольких часов.

Периодически, обычно раз в несколько месяцев, биослой очищают от избытка биомассы и наполняют свежими гранулами.

Основные требования, предъявляемые к установкам биологической очистки газов, заключаются в простоте и эксплуатационной надежности конструкции, высокой удельной производительности и высокой степени очистки. Удельная производительность установки измеряется отношением объема воздуха, прошедшего через нее за 1 ч, к общему объему установки.

Масштабы промышленного применения методов биологической очистки воздуха в настоящее время весьма незначительны. Наиболее распространенным типом установок являются биофильтры. Они достаточно дешевы, малоэнергоемки, требуют незначительных расходов воды. Однако производительность биофильтров сравнительно невысока – от 5 до 400 м³ очищаемого воздуха на 1 м² поперечного сечения фильтрующего слоя/ч. Главным образом, это определяется низким содержанием микроорганизмов в единице объема материала фильтрующего слоя. Высота биофильтров из-за требований однородности структуры и газодинамических ограничений невелика (около 1 м), поэтому они занимают большие площади (от 10 до 1600 м²).

Биоскрубберы по сравнению с биофильтрами занимают меньшую площадь, так как представляют собой башни высотой в несколько метров. Эксплуатационные затраты при

использовании биоскрубберов выше, так как процесс биоочистки воды требует существенных затрат. Применение биоскрубберов эффективно при наличии в воздухе хорошо растворимых токсических веществ. Производительность биоскрубберов существенно выше по сравнению с биофильтрами, при этом эффективность очистки также высока. Например, применение биоскрубберов для очистки отходящих газов металлургических предприятий дает следующие показатели: производительность 120000 м³/ч, снижение интенсивности запаха воздуха – от 75 до 85 %, степень конверсии органических примесей – 50 %.

Наиболее перспективными для очистки воздуха являются биореакторы с омываемым слоем. Эти установки, практически не уступая в степени очистки, характеризуются более высокой удельной производительностью (несколько тысяч кубометров очищаемого воздуха в час). Такие малогабаритные установки очень эффективны для очистки воздуха предприятий интенсивного животноводства. Степень очистки воздуха в реакторе с иммобилизованными на активированном угле микроорганизмами от ацетона, бутанола, пропионового альдегида, этилацетата достигает 90 % при удельной производительности установки 10 000 ч⁻¹.

Описаны другие подходы для очистки воздуха, например, на основе растущей суспензии микроорганизмов. Пропускание воздуха, насыщенного сероводородом, сернистым ангидридом и парами серной кислоты, через интенсивную культуру микроводоросли *Chlorella*, имеющую большую поверхность контакта суспензии с воздухом, обеспечивает 100 %-ю очистку воздуха при производительности установки до 1 млн м³/ч.

6.3. Дегградация ксенобиотиков

Ксенобиотики – чужеродные для организмов соединения (пестициды, ПАВ, красители, лекарственные вещества и пр.), которые практически не включаются в элементные цикл углерода, азота, серы или фосфора. Ксенобиотики временно или постоянно накапливаются в окружающей среде и вредно влияют на все живое. Широкое и повсеместное применение пестицидов, в том числе неразлагаемых, накопление различных отходов в огромных количествах привело к широкому распространению загрязнения окружающей среды – недр, воды, воздуха. Накопление ксенобиотиков представляет огромную опасность для человека, употребляющего в пищу крупную рыбу и высших животных.

Судьба химических соединений, попадающих в окружающую среду, определяется комплексом физических, химических и особенно биологических факторов. Дегградация ксенобиотиков может происходить в результате физических и химических процессов и существенно зависит от типа почвы, ее структуры, влажности, температуры и пр. Биологическая трансформация соединений, попавших в окружающую среду, может протекать в различных направлениях, приводя к минерализации, накоплению или полимеризации.

Ксенобиотики, которые подвергаются полной дегградации, то есть минерализуются до диоксида углерода, воды, аммиака, сульфатов и фосфатов, используются микроорганизмами в качестве основных ростовых субстратов и проходят полный метаболический цикл. Частичная трансформация соединений происходит, как правило, в процессах кометаболизма или соокисления и не связана с включением образуемых продуктов в метаболический цикл микроорганизмами. Наконец, некоторые ароматические углеводороды и синтетические полимеры вообще не поддаются биологической трансформации.

Поведение ксенобиотика в природе зависит от многих взаимосвязанных факторов: структуры и свойств самого соединения, физико-химических условий среды и ее биокаталитического потенциала, определяемого микробным пейзажем. Все эти факторы в

совокупности определяют скорость и глубину трансформации ксенобиотика. Нельзя забывать о том, что биологическая деградация ксенобиотиков оправдана только тогда, когда происходит их полная минерализация, разрушение и детоксикация. Это может быть достигнуто в результате всего одной модификации структуры соединения. Однако часто в ходе деградации происходит серия последовательных модификаций исходного соединения с участием нескольких микробных видов.

Важную роль в удалении ксенобиотиков из окружающей среды играют разнообразные типы микробного метаболизма. В природных условиях на ксенобиотики воздействуют микробные сообщества. В них проявляются различные типы взаимодействия: кооперация, комменсализм, взаимопомощь. Именно благодаря гетерогенности природных микробных сообществ ксенобиотики в принципе могут подвергаться биодеградации, а наличие в микробных сообществах взаимосвязанных метаболических путей разрушения токсинов является основой для борьбы с загрязнением окружающей среды.

Есть два пути для борьбы с загрязнением биосферы ксенобиотиками:

- сбор и детоксикация ксенобиотиков до момента попадания в окружающую среду;
- трансформация или удаление ксенобиотиков, попавших в среду.

Возможности микробных сообществ в отношении деградации многих токсичных соединений значительны. Доказано, что при повторном попадании в среду многих химических соединений время до начала их трансформации (так называемый адаптационный период микроорганизмов по отношению к данному субстрату) значительно короче по сравнению с первым попаданием этого соединения. В течение этого периода микроорганизмы в ходе адаптации к токсическому соединению как субстрату селекционируются по способности деградировать данный субстрат. В результате естественным путем возникают микробные популяции, которые, как оказалось, могут сохраняться в почве в течение нескольких месяцев после полной деградации токсиканта. Поэтому к моменту нового поступления этого соединения в почву в ней уже присутствуют адаптированные микроорганизмы, способные атаковать токсикант. Таким образом, после попадания ксенобиотиков в окружающую среду из почвы можно выделить микробные виды, способные деградировать конкретные ксенобиотики и далее среди них вести селекцию на увеличение скорости деградации.

Это возможно различными путями:

- отбором конститутивных мутантов;
- отбором на генную дупликацию;
- на основе механизма переноса генов.

Повышение деградирующей способности возможно также в результате стимуляции естественной почвенной микрофлоры, уже адаптированной к токсикантам.

При попадании новых веществ в окружающую среду может происходить природное генетическое конструирование, в результате которого возникают микробные формы с новыми катаболическими функциями.

Огромная роль в процессах межорганизменного переноса генетической информации, приводящих к биохимической изменчивости популяций, принадлежит плазмидам – внехромосомным генетическим элементам. Катаболические, или деградативные плазмиды кодирующие реакции минерализации или трансформации ксенобиотиков, придают микроорганизмам способность перераспределять между собой пул деградативных генов.

В настоящее время описаны разнообразные природные катаболические плазмиды, встречающиеся у различных представителей почвенной микрофлоры. Особенно часто они идентифицируются среди рода *Pseudomonas*.

Информация, которую несут плазмиды, может расширить круг субстратов хозяина за счет объединения двух метаболических путей, либо полным кодированием нового пути, либо дополнением существующих метаболических путей. Внутри- и межплазмидные рекомбинации приводят к перетасовке генов на плазмидах и возникновению новых метаболических путей.

Известны также случаи перераспределения генетического материала между плазмидами и хромосомой хозяина, приводящие к появлению совершенно новых генов. Пластичность катаболических плазмид обеспечивает перераспределение генетического материала, что может привести к возникновению в природе нового организма, эффективно деградирующего новый субстрат. Таким образом, природные генетические механизмы обмена информации позволяют получать эффективные штаммы-деструкторы ксенобиотиков.

Большинство пестицидов, попадающих в окружающую среду в результате использования их для обработки сельскохозяйственных культур, расщепляются бактериями и грибами. Превращение исходного пестицида в менее сложное соединение достаточно эффективно происходит под воздействием микробных сообществ. Доказана возможность полной минерализации ДДТ в ходе сопряженного метаболизма. Высокая токсичность ряда пестицидов может утрачиваться уже на первой стадии микробной трансформации. Это позволяет разрабатывать относительно простые микробиологические методы для борьбы с ксенобиотиками. Описаны опыты успешного применения ферментов (гидролаз, эстераз, ациламидаз и фосфоэстераз) для проведения первичного гидролиза пестицидов и увеличения степени их последующей биodeградации. Например, с помощью паратионгидролазы из *Pseudomonas* sp. можно достаточно эффективно удалять остаточный паратион из контейнеров с данным пестицидом, а забуференные растворы данного фермента применяют для уничтожения разливов паратиона на почвах.

Большую опасность для окружающей среды представляют полиароматические углеводороды. Так, полихлорбифенилы (ПХБ) являются очень устойчивыми соединениями, долго присутствующими в окружающей среде в результате прочной адсорбции биологическими и осадочными породами и плохой миграции. Микроорганизмы не способны глубоко деградировать эти соединения, тем не менее, модифицируют их.

Установлена способность микробных сообществ деградировать промышленные ПХБ с образованием новых типов углеводородов, при этом молекулы с низкой степенью хлорирования расщепляются. Устойчивое полиароматическое соединение бензапирен не минерализуется в системах активного ила, хотя описано несколько микробных видов, способных частично его метаболизировать. В ходе деградации бензапирена образуются канцерогенные соединения (гидрокси- и эпоксипроизводные). Также устойчив к деградации полистирол, хотя описано несколько случаев частичной деградации измельченных автомобильных шин, изготовленных из стирол-бутадиеновой резины. Есть сообщения о росте микробного сообщества на стироле, в ходе которого разрушается ингибитор полимеризации 4-трет-бутилкateхол, далее происходит свободнорадикальная полимеризация стирола с осаждением образующегося полистирола. Этот полимер впоследствии под воздействием микробного сообщества исчезает из почвы.

Одной из крупнейших групп загрязнителей природы считаются галоген-содержащие ксенобиотики, которые характеризуются высокой токсичностью и плохой деградируемостью. Причина токсичности и устойчивости этих соединений определяется наличием в них трудно расщепляемой галоген-углеродной связи. Однако, как оказалось, ряд галогенсодержащих соединений – природные образования, представляющие собой метаболиты бактерий, грибов, водорослей. Это определило судьбу отдельных галогенсодержащих соединений в природе. Длительные исследования путей деградации галогенсодержащих ксенобиотиков показали, что для получения суперштамма, эффективно разлагающего данные ксенобиотики, нужно модифицировать существующий катаболический механизм деградации ароматических соединений.

Биологические методы также применимы для очистки природной среды от нефтяных загрязнений, представляющих собой как сточные воды нефтяной промышленности, так и непосредственное загрязнение в результате разлива нефти. Сточные воды нефтяной промышленности очищают биологическими методами после удаления большей части

смеси различных углеводородов физическими методами. Для этого применяют аэрируемые системы биоочистки с активным илом, содержащим адаптированное к компонентам нефти сообщество. Скорость деградации зависит от качественного состава и концентрации углеводородов, а также температуры и степени аэрации среды.

Наиболее эффективно биodeградация осуществляется, когда нефть эмульгирована в воде. Особую проблему представляют выбросы и аварийные разливы нефти на поверхность почвы. Это приводит к загрязнению не только пахотных земель, но также и источников питьевой воды. В почве содержится много микробных видов, способных деградировать углеводороды, но их активность часто низка, в том числе и в результате дефицита отдельных биогенных элементов. В таких случаях эффективным является внесение в почву так называемых олеофильных удобрений, в состав которых входят соединения азота, фосфаты и другие минеральные элементы, концентрации которых

в почве достаточно низки и лимитируют рост микроорганизмов. После внесения этих соединений в почву концентрация микроорганизмов-деструкторов существенно возрастает, и возрастает скорость деградации нефти.

Пока существует большой разрыв между достижениями, полученными в конструировании микроорганизмов, и возможностями их практического применения. Вероятно, в будущем наиболее перспективными для детоксикации ксенобиотиков будут биологические системы, состоящие из микробиологической консорции индивидуальных организмов и микробных сообществ, полученных методами клеточной и генетической инженерии.

Вопросы для самоконтроля

- 1) Основные загрязнители и методы очистки воздуха?
- 2) Типы установок для очистки воздуха?
- 3) Что является ксенобиотиками?
- 4) Роль микробов в деградации ксенобиотиков?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Биотехнология: Теория и практика / Н.В. Загоскина, [и др.]. – М.: Изд-во: Оникс. - 2009. – 496 с.
2. Техника и технология утилизации нефтяных отходов [монография] / Н. С. Минигазимов и др. Акад. наук Респ. Башкортостан, ГУП НИИ безопасности жизнедеятельности. - Уфа: Гилем, 2010. – 313с.
3. **Волова, Т.Г.** Экологическая биотехнология: уч. пособие для университетов / Т.Г. Волова. - Новосибирск: Хронограф, 2007. – 141с.

Дополнительная

1. **Корте Ф.** Экологическая химия / Ф. Корте, М. Бахадир, В. Клайн и др. М.: Мир, 1996. – 396с.

Лекция 7

БИОТЕСТИРОВАНИЕ, БИОИНДИКАЦИЯ

7.1. Биотестирование и биоиндикация как методы контроля качества среды.

Чувствительность организмов к изменениям условий среды и, особенно, к наличию конкретных химических примесей положена в основу биологической индикации и биотестирования.

Как правило, в роли организмов индикаторов выступают стенобионтные виды. Их исчезновение служит доказательством неблагоприятных воздействий на среду обитания в конкретных местах.

Большое распространение получил метод *лихеноиндикации*, основанный на учете количества лишайников в городских насаждениях, районах крупных предприятий. Наличие на стволе дерева лишайников связано с химическим составом воздуха. Например, для определения средней концентрации SO_2 в воздухе используют формулу:

$$C_{SO_2} = 18.72 - 3.94Q - 0.15h - 2.38p,$$

где Q – освещенность на высоте 1,5 м, лк; h – средняя высота мха на стволе, м; p – степень покрытия древесной растительности лишайниками.

Биотестирование можно считать обязательным для получения интегральных оценок загрязненности водоемов ксенобиотиками. Хотя таким образом и невозможно установить спектр чужеродных веществ, однако это самый надежный способ установить наличие загрязнения и влияние его природы на организмы.

В качестве организмов-индикаторов используют бактерии, водоросли, беспозвоночные.

Характер и состояние почвы определяется по дикорастущим растениям.

Показателем благоприятности условий существования служит и общее разнообразие видов, обитающих в данном месте.

Примеры растений биоиндикаторов:

<i>Фактор загрязнения</i>	<i>Растение биоиндикатор</i>
общее загрязнение	лишайники и мхи
тяжелые металлы	слива, фасоль обыкновенная
фотосмог	крапива, табак
диоксид серы	ель, люцерна
аммиак	подсолнечник, конский каштан
сероводород	шпинат, горох
засоленность почв	лебеда
повышенная сухость почв	ромашка, полынь
повышенная влажность	мята, щавель, хвощи
песчаность	мокрица, коровяк
глинистость	одуванчик, лютик ползучий

7.2 Биотестирование как интегральный метод оценки качества воды

Значительное время контроль за загрязнением окружающей среды осуществлялся только физико-химическими методами, путем определения концентраций загрязнителей и соблюдением соответствия величин измеренных концентраций нормированных показателей предельно-допустимым концентрациям (ПДК). С развитием химической промышленности, синтезом новых соединений и их использованием в производстве перечень контролируемых загрязнителей в составе сточных вод увеличивается с каждым

днем. Сегодня много загрязняющих веществ по разным причинам не контролируется: для одних не разработаны ПДК, для других отсутствуют утвержденные методики определения, а их воздействие испытывает окружающая среда. В результате получается так, что широкий спектр соединений, токсичных веществ в водной, воздушной и почвенной средах не контролируется. Но и в случае контроля полного спектра соединений в среде на уровне ПДК нельзя утверждать об отсутствии вредного воздействия на окружающую среду. Так как информация физико-химических показателей не позволяет в принципе сделать вывод о совокупном воздействии загрязняющих веществ различной природы на живые организмы и степени их опасности.

Заполнить информационный аналитический вакуум о комбинационном воздействии загрязнителей признаны методы биотестирования. Особенность информации, получаемой с помощью методов биотестирования состоит в интегральном характере отражения всей совокупности свойств испытываемой среды с позиции восприятия ее живым объектом. И в отличие от физико-химических методов, посредством которых определяется валовое содержание того или иного загрязнителя, биотестовые методы анализа качества воды позволяют обнаружить физиологически активные формы соединений, влияющие на организм. Так, например, нет возможности разрабатывать ПДК веществ под различные значения pH среды, а именно изменение pH среды влечет за собой образование иных форм соединений, возможно более токсичных. Или же токсическое действие токсикантов усиливается в мягкой воде нежели чем в жесткой. А комплексное воздействие загрязнителей совсем непредсказуемо.

Изучено и выделены несколько вариантов воздействия токсикантов.

1. Антагонистическое воздействие токсикантов - возможно такое сочетание ионов в комбинации которых эффект токсичности будет меньше.
2. Аддитивный эффект - эффект токсичности суммы токсикантов равен сумме эффектов токсичности.
3. Синергический эффект - неполное суммирование эффектов токсичности.
4. Сеисибилитационный эффект - комбинация токсикантов усиливает эффект токсичности.

Сегодня биотестовые методы, как необходимое дополнение к химическому анализу включены в стандарт по контролю качества вод различного назначения.

Принцип биотестирования сводится к регистрации изменения биомассы, выживаемости, плодовитости, а также физиологических или биохимических показателей тест-объекта в испытываемой среде.

В настоящее время в мире используется большое разнообразие тест-объектов: от одноклеточных водорослей, мхов и лишайников, бактерий и простейших микроорганизмов до высших растений, рыб и теплокровных животных.

В России в органах государственного аналитического контроля за качеством воды дафниевый тест рекомендован в качестве основного для контроля токсичности сточных вод и перспективного для оценки уровня токсического загрязнения природных вод. Дафниевый тест обязателен при установлении ПДК отдельных веществ в воде рыбохозяйственных водоемов.

Выбор тест-объекта определен следующим: 1) этот род ветвистоусых рачков распространен повсеместно в пресных водоемах, является важной составной частью зоопланктона, служит источником пищи молодым рыбам; 2) легко культивируется в лабораторных условиях - испытания загрязняющих веществ можно проводить в течение года; 3) определяющая особенность - это то, что по характеру питания они являются фильтраторами и прокачивают большие объемы воды, отфильтровывая в качестве пищи бактерии и микроводоросли, поэтому, если в воде присутствует токсикант даже маленькой концентрации из-за объема отфильтрованной воды чувствительность тест-объекта высокая.

Дафниевый метод биотестирования основан на определении изменений выживаемости и плодовитости дафний при воздействии токсических веществ, содержащихся в тестируемой воде по сравнению с контролем.

Выделяют кратковременное биотестирование - до 96 час. Позволяет определить острое токсическое действие испытываемой воды на дафний по их выживаемости. Показателем выживаемости служит среднее количество особей, выживших в тестируемой воде или в контрольной за определенное время. Критерием токсичности является гибель 50% и более дафний за период времени до 96 час. в тестируемой воде по сравнению с контролем.

Длительное биотестирование - 20 и более суток - позволяет определить хроническое токсическое действие испытываемой воды на дафний по снижению их выживаемости и плодовитости. Показателем выживаемости служит среднее количество исходных самок-дафний, выживших в течение биотестирования, показателем плодовитости - среднее количество молодежи, выметанной в течение биотестирования, в пересчете на одну выжившую исходную самку. Критерием токсичности является достоверное отличие от контроля показателя выживаемости или плодовитости дафний.

Выше было упомянуто о большом количестве тест-объектов, использующих в биотестировании и это неслучайно. Дело в том, что различные организмы по разному реагируют на загрязнители. И задача природоохранных органов правильно оценить ситуацию и выбрать более чувствительный тест-объект.

Пример. Результаты биотестирования сточных вод завода, синтезирующего биологические активные соединения гербицидного направления, могут быть различными в зависимости от выбранного тест-объекта. Дафниевый тест может показать отсутствие токсического воздействия, а культура водорослей может почувствовать токсикант. Почему? Дело в том, что предполагаемый токсикант, синтезируемые гербициды являются ингибиторами процессов фотосинтеза у растений и водорослей. Поэтому дафнии могут в кратковременном опыте зафиксировать отсутствие острого токсического воздействия, а водоросли в случае нарушения работы фотосинтетической цепи оперативно отреагируют на загрязненность.

Поэтому в системе контроля за качеством сточных вод также рекомендованы водоросли: хлорелла и сцепедесмус. Критерием токсичности при биотестировании с использованием водорослей служит достоверное снижение количества клеток в испытываемой воде по сравнению с контролем.

С целью быстрого получения информации о качестве воды используются экспресс методы биотестирования.

В Москве разработан и выпускается мелкими партиями прибор "Биотоке". Устройство Биотоке - это портативный биолюминометр. Результаты токсичности пробы воды получают через 10 мин.

В Санкт-Петербурге выпускается прибор Биотестер. В качестве тест-объекта используют одноклеточные микроорганизмы - инфузории туфелька. Этот метод основан на хемотаксической реакции организмов в ответ на загрязнитель, т.е. движение культуры в благоприятную зону. Данная тест-реакция - хемотаксис, является очень чувствительной к токсикантам определенной группы.

В России биотестирование проводят аналитические лаборатории органов природоохраны для определения токсичности сточной воды (происходят ли патологические изменения или гибель организмов, обусловленные присутствием в ней токсических веществ) на сбросе в водный объект, воды в контрольном и других створах водопользования с целью проверки соответствия качества воды нормативным требованиям:

- сточная вода на сбросе в водный объект не должна оказывать острого токсического действия, а вода в контрольном и других створах водопользования - хронического токсического действия на тест-объекты.

В соответствии с "Методическим руководством по биотестированию воды РД 118-02-90", биотестирование является дополнительным экспериментальным приемом для проверки необходимости корректировки величин ПДС по интегральному показателю "токсичность воды", который позволяет учесть ряд существенных факторов: наличие в сточной воде токсических веществ, неучтенных при установлении ПДС, вновь образованных соединений, метаболитов, различные виды взаимодействия химических веществ. Необходимость корректировки величин ПДС возникает в том случае, если при биотестировании воды из контрольного створа водного объекта установлено несоответствие ее качества требуемому нормативу: вода в контрольном створе водного объекта не должна оказывать хронического токсического действия на тест-объекты (дафний и цероидафний).

Для оценки бактериального загрязнения используются санитарно-бактериологические и гидробиологические показатели.

Микронаселение природных вод чрезвычайно разнообразно. Его качественный и количественный состав определяется в первую очередь составом воды. Для глубоко залегающих, очень чистых артезианских вод характерно почти полное отсутствие бактерий вследствие защищенности водоносного слоя от контакта с лежащими выше горизонтами.

Особенностью состава воды открытых водоемов является изменение его по сезонам года: сопровождающееся изменениями в количестве и видовом разнообразии микронаселения. Бактериальная загрязненность поверхностных источников обусловлена, главным образом, поступлением в водоемы поверхностного стока, содержащего органические, минеральные вещества и микроорганизмы, смываемые с площади водосбора, и сточных вод.

С позиций санитарной микробиологии оценка качества воды проводится с целью определения ее санитарно-эпидемиологической опасности или безопасности для здоровья-человека. Вода играет важную роль в передаче возбудителей многих инфекций; главным образом кишечных. Т.к. через воду получают распространение брюшной тиф, дизентерия, холера, инфекционный гепатит и т.д.

Прямое количественное определение возбудителей всех инфекций для контроля за качеством воды неосуществимо в связи с многообразием их видов и трудоемкостью анализа. В практической санитарной микробиологии поэтому прибегают к косвенным методам, позволяющим определить потенциальную возможность заражения воды патогенными микроорганизмами.

Вопросы для самоконтроля

- 1) Каковы принципы биотестирования?
- 2) Объекты биотестирования?
- 3) Какие приборы используют для определения токсичности вод?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Биотехнология: Теория и практика / Н.В. Загоскина, [и др.]. – М.: Изд-во: Оникс. - 2009. – 496 с.
2. Техника и технология утилизации нефтяных отходов [монография] / Н. С. Миниغازимов и др. Акад. наук Респ. Башкортостан, ГУП НИИ безопасности жизнедеятельности. - Уфа: Гилем, 2010. – 313с.
3. **Волова, Т.Г.** Экологическая биотехнология: уч. пособие для университетов / Т.Г. Волова. - Новосибирск: Хронограф, 2007. – 141с.

Дополнительная

1. **Корте Ф.** Экологическая химия / Ф. Корте, М. Бахадир, В. Клайн и др. М.: Мир, 1996. – 396с.
2. **Елинов, Н.П.** Основы биотехнологии / Н.П. Елинов. - СПб.: Наука, 1995. - 600с.
3. Биотехнология / Под ред. А. А. Баева. – М: Наука, 1984. – 309с.

Лекция 8

Сточные воды как объект очистки

Биологическая очистка сточных вод основана на способности микроорганизмов использовать растворённые и коллоидные загрязнения в качестве источника питания и минерализовывать их в процессах своей жизнедеятельности. Среди биологических методов защиты окружающей среды биологические методы очистки сточных вод первыми получили развитие и в настоящее время наиболее широко используются. По объёму перерабатываемых потоков биологическая очистка сточных вод является самой крупнотоннажной технологией и применяется на подавляющем большинстве очистных сооружений: производственных, городских, локальных и придомовых.

Очистку сточных вод проводят с целью удаления из них взвешенных и растворимых органических и неорганических соединений до концентраций, которые не превышают регламентированные (предельно допустимые концентрации, ПДК). Чем ниже содержание загрязнений в очищенной сточной воде, тем выше её качество.

Нормативы качества и объёмы сбрасываемой воды (предельно допустимые сбросы, ПДС) назначаются с учётом соотношения объёмов сбрасываемых сточных вод и воды водоприёмного природного водоёма, процессов самоочищения в водоёме, категории водоёма и содержания фоновых загрязнений. В случае использования речной воды для культурно – бытовых или хозяйственно-питьевых целей регламентируются показатели качества воды в контрольном створе, в котором состав и свойства воды должны соответствовать нормативным и который расположен на расстоянии 1 км выше ближайшего по течению пункта водопользования или водопотребления.

В России требования к качеству очищенных сточных вод содержатся в «Правилах охраны поверхностных вод от загрязнения сточными водами», «Правилах охраны прибрежных районов морей», строительных нормах и правилах проектирования канализации и очистных сооружений. Все эти документы определяют условия отведения сточных вод в водоёмы, и их выполнение обязательно как для промышленных объектов, так и для хозяйствующих субъектов.

Регламентированное содержание загрязнений в очищенной воде зависит от категории природного водоёма, в который эту воду сбрасывают. Выделяют водоёмы, вода которых используется для хозяйственно-питьевых целей (а также для снабжения предприятий пищевой промышленности), для культурно-бытового водопользования и в рыбохозяйственных целях. Наиболее жёсткие требования предъявляются к качеству воды объектов, используемых в рыбохозяйственных целях.

Различают водопотребление и водопользование. При водопотреблении воду изымают из мест локализации и перемещают. Главные потребители воды – промышленность, сельское хозяйство, горная добыча, хозяйственно-питьевое водоснабжение. Российскими природоохранными документами нормируется содержание загрязнений в воде хозяйственно-питьевого назначения.

При водопользовании воду используют без изъятия из мест локализации. Наиболее крупные водопользователи – гидроэнергетика, транспорт, рыбное хозяйство, система отдыха. Нормируется содержание загрязнений в воде водоёмов культурно-бытового и рыбохозяйственного назначения.

Рыбохозяйственные водоёмы подразделяют на 3 категории:

высшая категория – для разведения особо ценных и ценных видов рыб, других водных животных и растений, места расположения нерестилищ;

первая категория – для сохранения и воспроизводства ценных видов рыб, высокочувствительных к содержанию кислорода;

вторая категория – для других рыбохозяйственных целей.

Сброс вод при соблюдении рыбохозяйственных ПДК не должен приводить к гибели рыб и их кормовой базы, к их постепенному исчезновению, ухудшению товарных качеств обитающей в водном объекте рыбы, замене ценных видов рыб на малоценные.

Если сточная вода сбрасывается не в природный водоём, а в городскую канализацию, то, согласно действующему законодательству, в каждом населённом пункте Российской Федерации могут утверждаться собственные правила приёма сточных вод в канализацию и соответственно ПДК загрязняющих веществ, сбрасываемых со сточными водами на очистные сооружения канализации.

8.1 Основные показатели загрязнённости сточных вод

Для определения характера и степени загрязнённости сточных вод, качества очистки используется ряд показателей.

Органолептические показатели: цвет, вид, запах, мутность, прозрачность. Некоторые вещества обнаруживаются органами чувств человека при очень малых концентрациях (например, хлорфенол – при 0,000004 мг/л). По принятой методике вкус и запах воды определяются для холодной и подогретой до 60⁰С вода т оцениваются по следующей системе:

- 0 баллов – запах и привкус не обнаруживаются;
- 1 балл – обнаруживаются лишь опытным лицом с тонким обонянием и вкусом;
- 2 балла – обнаруживаются потребителем;
- 3 балла – обнаруживаются легко, могут быть поводом для жалоб;
- 4 балла – вода непригодна для употребления;
- 5 баллов – вода совершенно непригодна для питья.

В соответствии с гигиеническими требованиями при использовании воды в питьевых целях интенсивность запаха не должна превышать двух баллов.

Из запахов различают ароматический, болотный, гнилостный, древесный, землистый, рыбный, сероводородный и неопределённый. Вода, пригодная для употребления, не должна иметь запаха. Появление запаха чаще всего связано с образованием сероводорода при гниении серосодержащих органических веществ или при восстановлении сульфатов. Причиной появления запахов и привкусов воды может быть массовое развитие водорослей в водоёме, откуда производится водозабор. При этом в воду поступают продукты обмена веществ водорослей, придающие воде разнообразные запахи и привкусы.

Качественное определение мутности проводят описательно: слабая опалесценция, опалесценция, слабая, заметная и сильная муть. Количественно мутность определяют турбидиметрическим методом по ослаблению проходящего через пробу света. В качестве стандарта используют суспензию SiO₂, каолина, формазина.

Прозрачность (или светопропускание) воды обусловлена её цветом и мутностью, т. е. содержанием в ней различных растворённых и окрашенных органических и минеральных веществ. В зависимости от степени прозрачности воду условно подразделяют на прозрачную, слабоопалесцирующую, опалесцирующую, слегка мутную, мутную и сильно мутную. Мерой прозрачности служит высота столба воды, при которой можно наблюдать опускаемую в воду белую пластину определённых размеров (диск Секки) или различать на белой бумаге шрифт определённого размера и типа (как правило, полужирный шрифт высотой 3,5 мм). Результаты выражаются в сантиметрах с указанием способа измерения.

Физико-химические показатели: рН, температура, окислительно-восстановительный потенциал, суммарная минерализация, электропроводность, цветность.

Суммарная минерализация отражает общее содержание минеральных веществ в воде; обычно выражается в мг/л или мг/дм³ (до 1000 мг/л) и ‰ (промилле или тысячная доля при минерализации более 1000 мг/л).

Электропроводность приблизительно отражает суммарную минерализацию воды и обычно возрастает с её увеличением.

Цветность воды выражается в градусах платиново-кобальтовой или бихромат-кобальтовой шкалы и характеризует интенсивность окраски воды. Высокая цветность воды

ухудшает её органолептические свойства и оказывает отрицательное влияние на развитие водных организмов.

Содержание взвешенных веществ отражает содержание в воде грубодисперсных суспендированных минеральных примесей (частиц глины, песка, других неорганических веществ) и органических частиц (различных микроорганизмов, активного ила, планктона, отмерших остатков организмов и т. п.).

Потери при прокаливании, зольность твёрдых примесей характеризуют содержание органической и минеральной части примесей. Определяют их путём прокалывания пробы (навески) при 500-600⁰С, при этом большинство соединений, содержащих С, Н, N, S и другие летучие примеси, выгорают. Потери при прокаливании выражают в мг/л, зольность – в % от исходной массы твёрдого образца. Вместо показателей потерь при прокаливании и зольности иногда используют показатель «содержание в пробе летучих и нелетучих примесей».

Плотный остаток – остаток, образовавшийся при упаривании нефилтрованной воды и высушенный до постоянного веса при 105⁰С. Сухой остаток – остаток после упаривания и высушивания при 105⁰С профильтрованной воды.

Для описания содержания органических соединений также применяют показатели «растворённое органическое вещество» (РОВ), «взвешенное органическое вещество» (ВОВ), «общий органический углерод» (ОУУ).

Показатель «общий органический углерод» определяется окислением органических веществ до СО₂ при нагревании. Для вычисления ОУУ используют разность в количестве СО₂ до и после окисления. Концентрация ОУУ растворённых органических веществ в незагрязнённых природных водах составляет от 1 до 20 мг/л. В болотных водах она может достигать нескольких сотен мг/л.

Жёсткость (мг-экв/л). Общая жёсткость воды определяется, главным образом, как сумма концентраций ионов Са²⁺ и Mg²⁺, выраженная в мг-экв/л. Она равна $[Ca^{2+}]/20,04 + [Mg^{2+}]/12,16$. Мягкая вода имеет жёсткость <4 мг-экв/л, вода средней жёсткости 4-8 мг-экв/л, жёсткая 8-12 мг-экв/л, очень жёсткая >12 мг-экв/л. Величина общей жёсткости в питьевой воде не должна превышать 7 мг-экв/л. Особые требования предъявляются к технической воде (из-за образования накипи).

Содержание железа и марганца. В городских сточных водах допускается содержание Fe до 5-8 мг/л, Mn до 1 мг/л. Воду в качестве питьевой можно использовать, если общее содержание железа не превышает 0,3 мг/л, марганца – 0,1 мг/л.

Содержание сульфатов, хлоридов, силикатов. Концентрация хлоридов может служить контрольным показателем для определения времени нахождения воды в сооружениях, сигналом о несоответствии проб поступающих и очищенных вод, поскольку в процессе прохождения сточной воды по всем очистным сооружениям хлориды практически не потребляются биоценозом очистных сооружений.

Содержание соединений фосфора и азота. Содержание аммонийного и нитратного азота в очищенной воде не должно превышать ПДК. Особенно важно отсутствие ионов NH₄⁺, которые вредны для рыб. При использовании процессов биологической очистки сточных вод в аэробных условиях должно быть обеспечено ориентировочное соотношение полного биологического потребления кислорода (БПКп), азота и фосфора: БПКп : N : P = 100:5:1. Если в сточных водах это соотношение не выдерживается (N и P меньше требуемого уровня), то азот и фосфор добавляют в сточные воды (обычно в виде минеральных солей: хлоридов, сульфатов, фосфатов).

Кислотность (мг-экв/л) сточных вод определяется способностью связывать гидроксид-ионы. Количество гидроксид-ионов, вступающих в реакцию, отображает общую кислотность воды и зависит от содержания свободного диоксида углерода, других органических слабых кислот, сильных кислот и их солей.

Щёлочность (мг-экв/л) определяет количество веществ, вступающих в реакцию с сильными кислотами. В зависимости от характера анионов, формирующих щёлочность,

различают гидратную щёлочность (обусловленную присутствием ионов OH^-), бикарбонатную (HCO_3^-), карбонатную (CO_3^{2-}), силикатную (HSiO_3^-), фосфатную (H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} , PO_4^{3-}), гуматную и т. д. Природные воды с рН 7-9 обычно имеют суммарную карбонатную и бикарбонатную щёлочность 3-4 мг-экв/л.

Суммарный показатель карбонатной и бикарбонатной щёлочности используется в оценке качества иловой воды метантенка и выражает содержание CO_2 , гидрокарбонатов и карбонатов. В этом случае при рН воды $<4,0-4,3$ щёлочность равно 0. При определении щёлочности иловой воды метантенка при внесении HCl оттитровываются гидроксиды, карбонаты, гидрокарбонаты и низшие жирные кислоты. Содержание жирных кислот определяется по разнице оттитровывания двух проб с разными индикаторами. Жирные кислоты оттитровывают последними.

Чем выше щёлочность сточной воды, тем выше её буферная ёмкость, выше устойчивость к закислению и защелачиванию, наблюдаемым в биологических процессах аммонификации, потребления соединений азота микроорганизмами, нитрификации, денитрификации и др. В то же время для достижения желаемых значений рН для воды с низкой щёлочностью требуется меньший расход реагентов.

Содержание синтетических ПАВ. На биоочистку допускается поступление сточных вод с содержанием синтетических ПАВ не более 10-20 мг/л

Суммарная концентрация вредных вещества на выходе из очистных сооружений в долях ПДК не должна превышать 1:

$$C_i / \text{ПДК}_i \leq 1 \quad (1.1)$$

где C_i – концентрация i -го вещества-загрязнителя в воде, мг/л; ПДК_i – предельно допустимая концентрация вещества-загрязнителя в воде, мг/л.

Растворённый кислород – один из основных санитарных показателей состояния водоёма. Концентрация кислорода в значительной мере определяет направление и скорость процессов химического и биологического окисления органических и неорганических соединений. Минимальное содержание растворённого O_2 , обеспечивающее нормальное развитие рыб, составляет около 5 мг/л. Понижение его до 2 мг/л вызывает массовую гибель (замор) рыбы.

Наиболее часто для оценки показателя общей загрязнённости сточных вод органическими соединениями используют показатели ХПК и БПК.

ХПК – химическое потребление кислорода – величина, определяемая по методике, при которой вещество, присутствующее в сточных водах, химически окисляется -25%-м $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ при кипячении пробы в течение 2ч в растворе H_2SO_4 с объёмной долей 50%. Для полноты окисления органических веществ применяют катализатор – Ag_2SO_4 . Большинство органических веществ в таких условиях окисляется до H_2O и CO_2 , однако ряд соединений (пиридин, бензол и его гомологи, нафталин, триметиламин) в этом режиме окисляются не полностью. При окислении бихроматом наряду с органическими веществами окисляются и некоторые неорганические вещества (NO_2^- , S^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, Fe^{2+} , SO_3^{2-}). Аммиак и ионы аммония, образующиеся при окислении органического азота, не окисляются. Величину ХПК выражают в пересчёте на содержание кислорода, например в мг O_2 /л, то есть потребление бихромата или перманганата калия переводят в эквивалентное потребление кислорода (то количество кислорода, которое потребовалось бы для окисления кислородом органических веществ, содержащихся в 1 л воды).

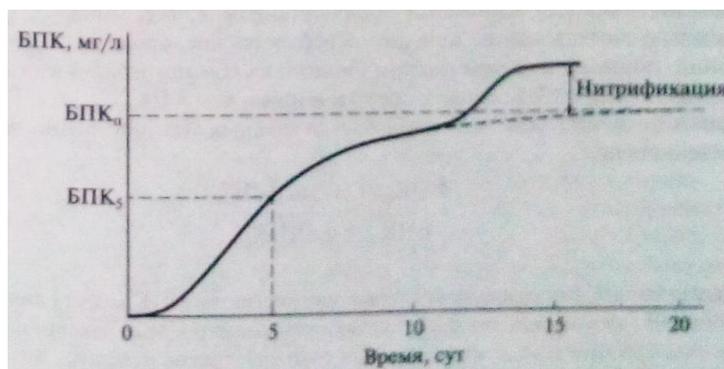
Кроме ХПК по бихроматной окисляемости (ХПК Cr) используют также ХПК по перманганатной окисляемости (ХПК Mn) – окисление загрязнений с помощью KMnO_4 . Эта методика более простая в исполнении, но при её использовании количество окисляемых органических соединений существенно меньше, чем при окислении бихроматом.

При определении ХПК азот не окисляется и его не учитывают.

ХПК подземных природных вод составляет десятые и сотые доли мг/л; исключение составляют подземные воды нетяжных месторождений и грунтовые воды, питающиеся за счёт болот. Для воды горных рек и озёр ХПК составит 2-3 мг O₂/л, равнинных рек – 5-7 мг O₂/л, рек с болотным питанием – десятки мг на 1 литр.

БПК – биохимическое (биологическое) потребление кислорода – количество кислорода, которое потребляется микроорганизмами или при аэробном биологическом разложении органических веществ, содержащихся в сточных водах, при стандартных условиях инкубации (температура 20⁰С, нейтральный рН) за определённый интервал времени. Кислород, затрачиваемый на нитрификацию, при определении БПК не учитывается. Ил должен быть адаптирован к потреблению загрязнений сточных вод. В зависимости от длительности биологического разложения различают БПК за 5 сут, 20 сут и полное окисление: БПК₅, БПК₂₀, БПК_п. БПК₅ обычно определяют для стоков, содержащих легко усвояемые загрязнения – углеводы, низшие спирты. Для стоков химических производств с большим спектром органических загрязнений определяют БПК_п. Однако это определение может быть затруднено тем, что по мере снижения концентрации органического загрязнения начинают протекать процессы нитрификации с потреблением кислорода, поэтому БПК_п часто определяют за время 15-20 сут, до начала нитрификации (см. рисунок).

При определении БПК классическим методом загрязнённая вода разбавляется чистой аэрируемой водой в таком соотношении, чтобы количества растворённого кислорода, которое может быть биологически потреблено микроорганизмами, хватило на окисление загрязнений в воде после разбавления. Смесь разливают в сосуды, которые закрывают таким образом, чтобы над жидкостью не оставалось слоя воздуха, выдерживают заданное время (5 сут, 20 сут) в темноте при температуре инкубирования, после чего производят измерение содержания растворённого кислорода. БПК_п рассчитывают по графику БПК = f(τ). Для предотвращения нитрификации в анализируемую воду добавляют различные ингибиторы – этилмочевину, метиленовую синь и др. Однако их внесение часто приводит к занижению результатов определения БПК_п.



Кривая изменения БПК от времени

Для определения БПК за время τ часто используют уравнение

$$d\text{БПК} / d\tau = -k (\text{БПК}_п - \text{БПК}) \quad (1.2)$$

(кинетика окисления загрязнений описывается дифференциальным уравнением первого порядка, т. е. скорость изменения БПК пропорциональна концентрации оставшихся загрязнений), откуда:

$$\text{БПК}_\tau = \text{БПК}_п (1 - 10^{-k\tau}) \quad (1.3)$$

$$\tau = \frac{1}{k} \lg \frac{\text{БПК}_п - \text{БПК}_\tau}{\text{БПК}_п} \quad (1.4)$$

Так как для достижения БПК_п $\tau \rightarrow \infty$, то для практических расчётов принимают

$$\text{БПК}_{\text{п практич.}} = 0,99\text{БПК}_{\text{п}\infty} \quad (1.5)$$

Зная БПК_{т1} и БПК_{т2}, можно найти БПК_п.

Для городских сточных вод $k \approx 0,15/0,25$ сут⁻¹. Для биологически очищенных $k \approx 0,08/0,25$ сут⁻¹.

Недостатки БПК как показателя загрязнённости воды обусловлены длительностью измерения. Результаты измерений БПК трудно стандартизовать, и они могут варьироваться для одной и той же группы сточных вод. Присутствие сильно токсических веществ в стоках может угнетать жизнедеятельность организмов при определении БПК. Всё это затрудняет применение показателя БПК для контроля за состоянием среды и регулирования процесса очистки.

Для ряда соединений определение ХПК невозможно (например, для оксиметилфурфуурола), хотя они вполне доступны для биологического окисления, и наоборот, есть соединения, которые химически окисляются, но биологически инертны. В целом, ХПК выше, чем БПК, что обусловлено не столько более полным химическим окислением загрязнений по сравнению с биологическим, сколько тем обстоятельством, что в биологическом процессе часть субстрата загрязнений переходит в биомассу микроорганизмов, т. е. минерализуется не полностью, и соответственно меньше потребляется кислорода на окисление загрязнений, поэтому даже при полном биологическом потреблении такого субстрата, как глюкоза, БПК в воде с глюкозой ниже, чем ХПК.

Ориентировочно, для хозяйственнофекальных (хозяйственно-бытовых) стоков принимают:

$$\text{БПК}_{20} = 1,5 \div 2 \text{БПК}_5 \quad (1.6)$$

$$\text{БПК}_{20} = 0,8\text{ХПК}_{\text{Cr}} \quad (1.7)$$

Кроме нитрифицирующих бактерий на показания БПК могут влиять сероокисляющие, железоокисляющие и другие хемоавтотрофные бактерии. Однако обычно содержание в воде используемых или субстратов невелико и не учитывается при определении БПК.

Показатель БПК характеризует количество кислорода, которое потребили бы живые организмы в природной воде в случае попадания в неё загрязнений. Поскольку растворимость кислорода в воде невелика – в зависимости от температуры воды от 7 до 13 мг/мл, он быстро потребляется при окислении загрязнений, поэтому величины БПК особенно строго регламентируются в вод, сбрасываемой в водоёмы рыбохозяйственного назначения. С целью предупреждения возникновения анаэробных условий в местах выпусков сточных вод принимаются специальные меры, обеспечивающие быстрое перемешивание воды водоёма.

Лекция 9

Биоценозы сооружений аэробной очистки

В каждом очистном сооружении формируется свой, специфический биоценоз в виде активного ила или биоплёнки, видовой состав и структура которых отражают условия в используемой очистной экосистеме.

Активный ил

Активный ил представляет собой хлопья размером от 0,1-0,5 до 2-3 мм и более, с плотностью в среднем 1,1-1,4 г/см³, состоящие из частично активных, частично отмирающих микроорганизмов (около 70%) и твёрдых частиц неорганической природы (около 30%). В состав активного ила входят полисахариды, в том числе клетчатка, полиуроновые кислоты, внеклеточные белки, образованные преимущественно бактериями. Полисахариды окружают бактериальные клетки и скрепляют частицы в хлопья, поэтому лишь небольшая часть клеток остаётся вне хлопьев. Активный ил имеет развитую поверхность (до 100 м²/г сухой массы) и, следовательно, высокую адсорбционную способность. На поверхности его концентрируются поступающие со сточной жидкостью мелкие частицы, клетки микроорганизмов и молекулы растворённых веществ. Процесс сорбции чрезвычайно интенсивен, достигает величин 35-400 мг ХПК/г абсолютно сухого вещества (далее асв), поэтому часто уже через несколько минут после контакта ила со сточной водой концентрация в ней органических веществ снижается на 20-30% и более. При рН от 4 до 9 частицы ила имеют отрицательный заряд.

Важнейшее свойство ила – способность к хлопьеобразованию (флокуляци и флокулообразованию) и седиментации. На этом основаны удаление ила из сточной воды во вторичном отстойнике и рециркуляция его в аэротенк для повышения окислительной мощности аэротенка.

В зависимости от возраста выделяют три основных типа ила:

- работающий на неполное окисление органических загрязнений – возраст наименьший;
- формирующийся в режиме полного окисления;
- формирующийся в режиме полного окисления с последующей нитрификацией – с наибольшим возрастом.

Экологические и физиологические преимущества скоплений в виде хлопьев, образованных микробным сообществом, до сих пор не выяснены, но очевидно, что при обитании в системе аэротенк – вторичный отстойник удержание микроорганизмов в экосистеме определяется их способностью к агломерации и осаждению. В этих условиях в активном иле преобладают бактерии, образующие слизь или слизистые капсулы, способствующие образованию хлопьев. Такие бактерии возвращаются в аэротенк с рециркулируемым илом. При устойчивых нагрузках на активный ил и отсутствии токсичных примесей в сточных водах, поступающих на очистку, формируются крупные, компактные, хорошо флокулирующиеся хлопья ила.

В очистных сооружениях используется активный ил, содержащий сообщество микроорганизмов (главным образом бактерий и простейших), сформировавшееся естественным путём, включающее местную микрофлору, адаптированную к определённому спектру загрязнений сточных вод. Биоценоз ила имеет характерную биотическую и трофическую структуру с функциональной связью между микроорганизмами различных групп, уникальную для каждого конкретного очистного сооружения.

В окислении загрязнений сточных вод основная роль принадлежит бактериям, число которых в расчёте на 1 г сухого вещества ила колеблется от 10⁸ до 10¹⁴ клеток, из которых обычно 50-80% составляют гетеротрофные микроорганизмы. В биоценозе аэротенка, как правило, отсутствуют водоросли, весьма ограниченно представлены черви и членистоногие.

Бактерии. При аэробной очистке сточных вод протекает два наиболее важных микробиологических процесса: окисление органического углерода и нитрификация при участии флокулообразующих, нитчатых бактерий, бактерий-нитрификаторов.

Флокулообразующие бактерии, окисляющие соединения, относятся к родам: *Actinomyces*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Cellulomonas*, *Corynebacterium*, *Desulfotomaculum*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Pseudomonas*, *Rhodopseudomonas*, *Sarcina* и др.

Наиболее активны бактерии р. *Pseudomonas* (до 80% от численности бактерий активного ила), способные окислять различные спирты, парафины, ароматические углеводороды, углеводы и другие классы соединений.

Основная роль в образовании полисахаридов в составе хлопьев активного ила и в формировании самой способности к хлопьеобразованию принадлежит покрытой капсулой грамотрицательной палочковидной бактерии *Zooglea ramigera*, близкой к псевдомонадам. В средах, бедных питательными веществами, а также сточной воде *Z. ramigera* образует аморфные массы полисахарида, в которых находятся колонии этой бактерии в виде разветвлённого деревца. Бактерии *Z. ramigera* способны окислять различные органические вещества, однако основная их роль – образование полисахаридов. Клетки *Z. ramigera* обнаруживаются также в сильно загрязнённых пресноводных водоёмах, где образуют взвешенные в воде хлопья или слизистые обрастания (зооглеи) на находящихся в воде предметах. Эти бактерии растут в широком диапазоне температур от 9 до 37⁰С. Оптимальными являются температура 28⁰С и рН 7,0. Бактерии не растут в анаэробных условиях, но хорошо переносят их в течение 24 ч.

Углеродоокисляющие нитчатые бактерии представлены рр. *Sphaerotilus*, *Beggiatoa*, *Thiothrix*, *Nocardia (Gordonia)*, *Microtrix*. Нитчатые бактерии, среди которых часто встречается *Sphaerotilus natans*, с одной стороны, выполняют положительную роль, окисляя многочисленные органические соединения и образуя каркас, вокруг которого формируются флокулы, а с другой – они являются причиной плохого осаждения ила в отстойнике и образования устойчивой пены в аэротенке. При нарушении технологических режимов очистки эти бактерии начинают интенсивно размножаться в активном иле, при этом их нити не включаются в частицы активного ила. Ил вспухает, плохо оседает в отстойниках, не отделяется от очищенной им воды, что ухудшает очистку. Во вспухании ила могут участвовать и другие нитчатые бактерии. Вспухающий ил имеет высокую окислительную способность, однако развитие нитчатых бактерий в нём нежелательно. Оптимальным для качества очистки сточной воды является биоценоз ила, в котором преобладают флокулирующие микроорганизмы, а нитчатые содержатся в небольшом количестве.

При очистке сточных вод, богатых углеводами, но с дефицитом азота, иногда наблюдается интенсивное развитие гетероферментативных молочнокислых бактерий р. *Leuconostoc*, образующих мощную капсулу, состоящую из декстрана, что затрудняет осаждение ила во вторичном отстойнике.

Очень важное значение имеет группа целлюлозоразлагающих бактерий рр. *Cellulomonas* и *Cellulovibrio*, всегда присутствующие в иле в значительном количестве. Эти микроорганизмы разлагают целлюлозное волокно, поступающее в аэротенк вместе со сточными водами. При суточной нагрузке 100-150 мг волокна на 1 г ила волокно успеет разрушиться целлюлозоразлагающими бактериями, и накопления его в активном иле не наблюдается. Наиболее интенсивно разрушение протекает при рН 7,5-8,0, снижение рН до 5,0 почти полностью приостанавливает деятельность бактерий-целлюлозолитиков.

Если сточная вода в аэротенке плохо аэрируется, то развиваются анаэробные процессы, в которых могут участвовать микроорганизмы, осуществляющие маслянокислое брожение, денитрификацию, сульфатредукцию и др. Денитрификация во вторичных отстойниках приводит к образованию пузырьков азота, что затрудняет удаление ила из сточной воды на выходе из отстойника.

В условиях длительного голодания микроорганизмов в биоценозе активного ила ряд бактерий может образовывать споры, что способствует повышению устойчивости активного ила при изменении состава сточных вод.

В зимний период преобладают психрофильные формы микроорганизмов.

В бактериальном сообществе очистных сооружений выделяют бактерии-нитрификаторы (рр. *Nitromonas*, *Nitrobacter* и др.) в связи с их ролью в окислении аммонийных ионов и удалении минерального азота из сточных вод. По сравнению с гетеротрофными углеродоокисляющими микроорганизмами они развиваются медленнее. Численность нитрификаторов увеличивается с возрастом ила. В случае необходимости окисления аммонийных ионов в сточных водах именно активность нитрификаторов часто ограничивает производительность аэротенка. Наиболее активно нитрификация протекает после окисления органических соединений, когда создаются благоприятные условия для нитрификаторов.

В современных технологиях биологического фосфора большое значение имеют бактерии р. *Acinetobacter*. В определённых режимах очистки, а именно с чередованием аэробных и анаэробных условий, они способны накапливать внутри клеток большое количество фосфатов (в виде полифосфатов).

В сточных водах, содержащих соединения серы, например в сточных водах целлюлозно-бумажных комбинатов, в активном иле развиваются тионовые и серобактерии, окисляющие серу и тиосоединения, а так же сульфатредукторы. Из тионовых и серобактерий преобладают представители рр. *Thiobacillus* и *Sulfomonas*. Тионовые бактерии развиваются при содержании в воде восстановленных соединений серы (метилсульфида, диметилсульфида, меркаптанов).

При большом количестве серосодержащих органических веществ, например белков, и недостаточной аэрации в очистных сооружениях доминируют такие серобактерии, как *Thiotrix* и *Beggiatoa*. Их массовое развитие и особенно отложение капелек серы в их клетках свидетельствуют о плохой очистке. В зонах аэротенков и в крупных хлопьях, где наблюдается дефицит кислорода, создаются условия для развития сульфатредукторов, восстанавливающих сульфаты с образованием сероводорода.

При недостатке в очищаемых стоках соединений азота, например в стоках целлюлозно-бумажных предприятий, в активном иле можно обнаружить азотфиксирующие бактерии.

При высоком содержании в воде соединений железа в активном иле развиваются бактерии р. *Ferrobacillus* и другие, окисляющие Fe^{2+} .

В активном иле встречаются бактерии-паразиты р. *Bdellovibrio* и литические бактерии. *Bdellovibrio* прикрепляются к клетке бактерии-хозяина, проникают в неё, размножаются внутри клетки, что приводит к её лизису. Литические бактерии разрушают клетки микроорганизмов при воздействии выделяемых или литических ферментов. Содержание литических бактерий в зависимости от состояния ила варьируется в пределах 0,001-0,5% и более от общего числа гетеротрофных бактерий. После исчерпания органического субстрата в среде воздействие литических на популяцию гетеротрофных бактерий приводит к уменьшению численности последних.

В активном аэробном иле из внеклеточных ферментов присутствуют гидролазы, протеазы, целлюлазы, а также пероксидазы, катализирующие окисление субстратов при участии пероксида водорода, и каталазы, разлагающие H_2O_2 . В анаэробном иле активность пероксидаз и каталаз не проявляется.

Грибы. В активном иле аэробных очистных сооружений встречаются дрожжи и мицелиальные (плесневые) грибы.

Дрожжи активно развиваются в сточных водах, богатых углеводами, углеводородами и органическими кислотами, например, при очистке сточных вод, образовавшихся в производстве кормовых дрожжей из разных субстратов, стоков

молочных производств, содержащих молочную сыворотку. Среди дрожжей часто встречаются дрожжи рр. *Candida*, *Torulopsis*, *Trichosporon*, *Rhodotorula*.

При поддержании значения рН в области 3,5-6,0 биоценозы с доминированием дрожжей могут иметь высокую окислительную способность и эффективно очищать сточные воды. Однако применение дрожжей для очистки сточных вод ограничено их седиментирующей способностью и недостаточной глубиной окисления соединений.

Среди мицелиальных грибов встречаются рр. *Cladosporium*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Mucor*, *Trichoderma*. Они образуют разветвлённые гифы, которые затрудняют образование плотных хлопьев и осаждение ила и могут приводить к его вспуханию. Особенно часто во вспухающем иле, наряду с нитчатými бактериями *S. natans*, встречаются грибы из р. *Fusarium*. Для предотвращения опасности обильного развития грибов и вспухания ила биологическую очистку проводят при рН 6,8-7,2, благоприятном для развития флоркулообразующих бактерий.

Простейшие. Простейшие составляют 0,5-1% суспендированных частиц активного ила. Они принимают непосредственное участие в потреблении органических веществ, однако, занимая в сообществе активного ила более высокий уровень в трофической цепи питания, чем бактерии, простейшие поглощают большое их количество (от 20.000-40.000 бактерий за сутки), тем самым регулируют видовой и возрастной состав микроорганизмов, снижают массу биоценоза, обеспечивают активную флокуляцию микроорганизмов и, следовательно, улучшают очистку воды.

В биоценозах очистных сооружений встречаются несколько сотен видов представителей четырёх групп простейших: 1) саркодовые (*Sarcodina*) – амёбы (*Amoeba limax*, *Amoeba diploidea*, *Amoeba proteus*), раковинные корненожки (*Arcella*, *Centropyxis*), голые корненожки *Pelomyxa* и др.; 2) жгутиковые (*Mastigophora*, *Flagellata*) – бесцветные жгутиконосцы из родов *Bodo*, *Peranema* и др.; реснитчатые инфузории (*Ciliata*) – свободноплавающие (*Colpidium*, *Stylonychia*, *Oxytricha*, *Paramecium* - инфузория туфелька), брюхореснитчатые инфузории (*Oxytricha*, *Stylonychia*, *Euplotes*, *Aspidisca*), одиночные прикрепленные (сувойки *Vorticella*), колониальные прикрепленные (*Opercularia*, *Carchesium*, *Epistylis*); 4) сосущие инфузории (*Suctorina*) – представители родов *Podophrya*, *Tokophrya*, *Acineta*.

По сравнению с бактериями простейшие более чувствительны к изменению химических и физических условий среды, колебаниям технологических параметров очистки, поэтому по численности простейших, их видовому составу и состоянию можно судить о работе очистного сооружения.

Простейшие очень чувствительны к присутствию в сточных водах токсичных примесей, например фенола, формальдегида, которые угнетают их развитие.

В условиях полного биологического удаления загрязнений из воды в иле в основном присутствуют брюхореснитчатые инфузории, колониальные инфузории *Carchesium*, раковинные корненожки *Arcella*, отдельные крупные амёбы, сувойки *Vorticella convallaria*, отсутствуют мелкие амёбы и бесцветные жгутиковые.

При перегрузке очистных сооружений в иле преобладают саркодовые, особенно мелкие амёбы и сосущие инфузории.

При недостатке в сооружениях растворённого кислорода клетки многих простейших увеличиваются в объёме, а затем погибают. В большом количестве развиваются жгутиковые: из инфузорий преобладает *Paramecium caudatum*, выносящая к недостатку кислорода и способная развиваться даже в гниющем иле. Преобладание амёб и жгутиковых, свободноплавающих инфузорий *Colpidium* и *Paramecium caudatum* свидетельствует о неудовлетворительной работе сооружения.

Кроме простейших, в активном иле присутствуют более крупные, сложнее организованные представители макрофауны: коловратки *Rotatoria* (*Rotifera*) родов *Philodina*, *Cathypna* (*Lecane*), *Monostyla*, *Notommata*, круглые черви *Nematoda*, малощетинковые кольчатые черви р. *Aelosoma*. Размер их 0,04-2,5 мм.

Коловратки питаются бактериями, взвешенными веществами, а также простейшими. Они весьма чувствительны к изменению внешних условий, поэтому их высокая численность и активность указывают на хорошую работу очистных сооружений. При массовом развитии коловраток деструкция органического вещества, определённая по БПК, может составить 100-200 мг O₂/л в сутки.

Отсутствие коловраток в иле свидетельствует о неудовлетворительной очистке. Появление раздутых, изменённых особей, внезапная их гибель обусловлены резким нарушением режима очистки. При понижении концентрации растворённого кислорода коловратки теряют подвижность, вытягиваются и постепенно отмирают.

Интенсивное развитие круглых червей *Nematoda* свидетельствует о застойных зонах в аэротенке. Наличие кольчатых червей р. *Aelosoma* в активном иле – показатель устойчивой нитрификации.

Для образования биоценозов систем очистки используют активный ил с уже работающих очистных сооружений, состав которого сходен с составом поступающих загрязнений. При отсутствии очистных систем-аналогов активный ил формируют из сточных вод, разбавленных водой местных хозяйственно-бытовых предприятий или реки, постепенно адаптируя ценоз к загрязнению стоков. Ил наращивают путём аэрации отстойной, снабжённой биогенными солями и подогретой до 20-25⁰С сточной воды. При появлении через 36-48 часов видимых хлопьев ила добавляется исходная сточная вода, аэрация продолжается и периодически производится декантация активного ила, сброс отстойной воды и добавка исходного стока. Через 15-16 суток по достижении концентрации ила 0,4-0,5 г/л аэротенк переводят в режим непрерывной подачи сточной воды с возвратом всего оседающего во вторичном отстойнике ила в аэротенк до тех пор, пока его концентрация не достигнет 3-5 г/л. После этого начинают выводить из системы часть избыточного ила.

Иногда активный ил формируют, используя сообщества микроорганизмов, полученных в лаборатории и потребляющих один или несколько основных компонентов загрязнений. Однако в условиях очистных сооружений лабораторный ценоз неустойчив и является лишь начальным звеном для образования рабочего активного ила.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. **Баадер, В.** Биогаз – теория и практика / В. Баадер, Е. Доне, М. Брендерфельд. – М.: 1982.
2. Биотехнология: Теория и практика / Н.В. Загоскина, [и др.]. – М.: Изд-во: Оникс. - 2009. – 496 с.
3. Биотехнология / Под ред. Баева А.А. – М.: Наука, 1988 г. – 309с.
4. **Бирюков, В.В.** Основы промышленной биотехнологии / В.В. Бирюков. – М.: КолосС, 2004. – 296 с.
5. **Волова, Т.Г.** Экологическая биотехнология: уч. пособие для университетов / Т.Г. Волова. - Новосибирск: Хронограф, 2007. – 141с.
6. **Гальченко, В.Ф.** Метанотрофные бактерии / В.Ф. Гальченко. – М.: ГЕОС, 2001. – 500с.
7. **Колесников, С.И.** Экологические основы природопользования / С.И. Колесников. - М.: Издательско-торговая корпорация «Дашков и К», 2010. – 156с.
8. **Корте, Ф.** Экологическая химия / Ф. Корте, М. Бахадир, В. Клайн и др. М.: Мир, 1996. – 396с.
9. **Кретович, В.Л.** Биохимия азота воздуха растениями / В.Л. Кретович. – М.: Наука, 1994.
10. **Минеев, В.М.** Химизация земледелия и природная среда, М.: Агропромиздат, 1990. - С.5.
11. **Мягков, М.И.** Твердые бытовые отходы города / М.И. Мягков, Г.М. Алексеев, В.А. Ольшанецкий. - Л.: Стройиздат, 1978. - С.51-69.
12. **Нетрусов, А.И.** Микробиология: учебник для студ. высш. учеб. заведений / А.И. Нетрусов, И.Б.Котова. – 2-е изд., стер. – М.: Издательский центр «Академия», 2007. – 352 с.
13. **Никольский, К.С.** Биомасса из отходов производства / К.С. Никольский, В.В. Соколов //Химия в сельском хозяйстве. - № 3-4. – 1993. - С.20-21.
14. **Рыбчин, В.Н.** Основы генетической инженерии / В.Н. Рыбчин. – СПб.: Изд-во СПбГТУ, 1999.
15. Сельскохозяйственная биотехнология / Под. ред. В.С. Шевелухи. – М.: Высшая школа2003. – 469 с.
16. **Тихонович, И.А.** Генетика симбиотической азотфиксации с основами селекции/ И.А. Тихонович, Н.А. Проворов. – СПб.: Наука, 1998.
17. **Черных, Н.А.** Негативное воздействие тяжелых металлов на почвы // Химизация сельского хозяйства. - №1. – 1991. - С.40-42.
18. Экологическая биотехнология / Под редакцией К.Ф. Форстера и Дж. Вейза Л.: Химия, 1990. – 384с.
19. Экология микроорганизмов: Учеб. для студ. вузов / А.И. Нетрусов, Е.А. Бонч-Осмоловская, В.М. Горленко и др. / Под ред. А.И. Нетрусова. – М.: Издательский центр «Академия», 2004. – 272 с.
20. **Эмануль, Н.М.** Курс химической кинетики \ Н.М. Эмануэль, Д.Г. Кнорре. - Изд. 4-е, М.: Высшая школа, 1984. – 234с.
21. **Эрнст, Л.К.** Биотехнология сельскохозяйственных животных / Л.К. Эрнст, М.И. Прокофьев. – М.: Колос, 1995.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	37
Лекция 1. Безотходные биотехнологии	38
1.1 Виды отходов	38
1.2 Виды безотходных производств.....	39
1.3 Основные принципы создания безотходных производств.....	42
Вопросы для самоконтроля.....	44
Список литературы.....	44
Лекция 2. Биоконверсия растительных материалов и отходов	45
2.1 Переработка растительных и пищевых отходов.....	45
2.2 Биоконверсия лигноцеллюлозных объектов.....	46
2.3 Компосты из органических отходов.....	49
Вопросы для самоконтроля.....	51
Список литературы.....	51
Лекция 3. Использование биотехнологии в сельском хозяйстве для решения экологических проблем	52
3.1 Биотехнологические методы в растениеводстве.....	52
3.2 Биологические методы и препараты для борьбы с вредителями и болезнями сельскохозяйственных растений и животных.....	52
3.3 Снабжение растений фосфатами	54
3.4 Биологические методы и препараты для борьбы с вредителями и болезнями сельскохозяйственных растений и животных	54
Вопросы для самоконтроля.....	58
Список литературы.....	58
Лекция 4. Биоремедиация	59
4.1 Понятие биоремедиации, ее принципы.....	59
4.2 Биоремедиация атмосферы.....	59
4.3 Биоремедиация почвы.....	60
4.4 Биоремедиация нефтяных загрязнений.....	62
Вопросы для самоконтроля.....	63
Список литературы.....	63
Лекция 5. Биологическая детоксикация и восстановление почв	64
5.1 Почва, ее микрофлора	64
5.2 Экологическая оценка состояния почв. Способы детоксикации.....	65
5.3 Микробное выщелачивание и биогеотехнология металлов	66
Вопросы для самоконтроля.....	68
Список литературы.....	68
Лекция 6. Применение биотехнологических методов для очистки газо-воздушных выбросов и деградация ксенобиотиков	66
6.1 Основные загрязнители воздуха, методы очистки	69
6.2 Установки для биологической очистки воздуха	70
6.3 Деградация ксенобиотиков	72
Вопросы для самоконтроля.....	76
Список литературы.....	76
Лекция 7. Биотестирование, биоиндикация	77
7.1 Биотестирование и биоиндикация как методы контроля качества среды.....	77
7.2 Биотестирование как интегральный метод оценки качества воды.....	77
Вопросы для самоконтроля.....	80
Список литературы.....	80
Лекция 8. Сточные воды как объект очистки	81

8.1 Основные показатели загрязнённости сточных вод.....	82
Лекция 9. Биоценозы сооружений аэробной очистки	89
Библиографический список.....	93
Содержание.....	94