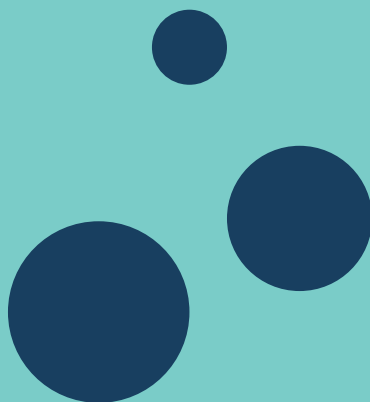


**В.Т. Хмурчик  
Н.Г. Максимович  
В.В. Середин**

# **Биотехнологии в инженерной геологии**



УДК 550.72:579.6:624.13  
ББК 26.367:28.487  
Х 172

**Хмурчик В.Т.** Биотехнологии в инженерной геологии: монография/  
**В.Т. Хмурчик, Н.Г. Максимович, В.В. Середин;** Пермский государственный  
национальный исследовательский университет. – Пермь, 2023. – 196 с.

ISBN 978-5-6050460-5-9

В монографии рассмотрены и обобщены данные многолетних исследований авторов по влиянию жизнедеятельности микроорганизмов на состав и свойства грунтов. Предложена методология формирования заданных характеристик грунта путем активирования жизнедеятельности микроорганизмов. Приведены примеры формирования свойств грунта, осуществленные как в лабораторных, так и полевых условиях на натуральных объектах.

Монография предназначена для широкого круга специалистов в области геологии, биологии, экологии, а также студентов и аспирантов естественно-научных специальностей.

Печатается по решению ученого совета Естественнонаучного института Пермского государственного национального исследовательского университета.

Издание осуществлено при финансовой поддержке Пермского научно-образовательного центра «РАЦИОНАЛЬНОЕ НЕДРОПОЛЬЗОВАНИЕ», 2023.

Рецензенты: **Строкова Валерия Валерьевна** – доктор технических наук Белгородского государственного технологического университета им. В.Г. Шухова, профессор РАН, **Хаустов Александр Петрович** – доктор геолого-минералогических наук, профессор Российского университета дружбы народов им. Патриса Лумумбы.

К Khmurchik V.T.

The data of the authors' long-term research on the influence of the vital activity of microorganisms on the composition and properties of soils are reviewed and summarized in the monograph. A methodology for the formation of the specified ground properties by activating the vital activity of microorganisms is proposed. Examples of the ground properties formation, carried out both in laboratory and field conditions on natural objects, are given.

The monograph is intended for a wide range of specialists in the field of geology, biology, ecology, as well as students and postgraduates of natural science specialties.

УДК 550.72:579.6:624.13  
ББК 26.367:28.487

ISBN 978-5-6050460-5-9

© В.Т. Хмурчик, Н. Г. Максимович, В.В. Середин

# Содержание

## 5 ВВЕДЕНИЕ

### Глава 1. МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ФОРМИРОВАНИЯ СОСТАВА И СВОЙСТВ ГРУНТА БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

- 7 1.1. Мелиорация пород и грунтов, проблемы и задачи
- 13 1.2. Общие представления о воздействии микроорганизмов на грунт
- 24 1.3. Биотехнология и задачи, стоящие перед ней
- 28 1.4. Основы методологии формирования состава и свойств грунта биотехнологическими методами

### Глава 2. ФОРМИРОВАНИЕ СОСТАВА ТВЕРДОЙ КОМПОНЕНТЫ ГРУНТА

- 34 2.1. Воздействие микроорганизмов на твердую компоненту грунта
- 49 2.2. Формирование состава твердой компоненты дисперсного грунта

### Глава 3. ФОРМИРОВАНИЕ СОСТАВА ЖИДКОЙ КОМПОНЕНТЫ ГРУНТА

- 66 3.1. Жидкая компонента грунта породных отвалов горнодобывающей промышленности
- 66 3.1.1. Формирование химического состава дренажных вод породных отвалов
- 84 3.1.2. Отвалы пород Кизеловского угольного бассейна
- 102 3.2. Формирование состава жидкой компоненты грунта породных отвалов

## **Глава 4. ФОРМИРОВАНИЕ СОСТАВА ГАЗОВОЙ КОМПОНЕНТЫ ГРУНТА**

- 115 4.1. Микроорганизмы и газовая компонента  
обводненного грунта
- 124 4.2. Формирование состава газовой компоненты  
обводненного грунта

## **149 ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

## **151 БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК**

## ВВЕДЕНИЕ

Известно, что микроорганизмы, являясь составной частью биотической компоненты грунта, широко распространены в грунтах разного возраста и генезиса. Потребляя из грунта необходимые им химические элементы и питательные вещества и продуцируя метаболиты различной природы, микроорганизмы изменяют состав и свойства твердой, жидкой и газовой компонент грунта, что в свою очередь приводит к изменению его фильтрационных, прочностных и деформационных свойств. Это воздействие микроорганизмов на грунт может иметь как положительные, так и отрицательные последствия для устойчивости инженерных сооружений.

Изучением воздействия микроорганизмов на грунт занимается достаточно ограниченное число исследователей. При этом большее внимание уделяется изучению негативного воздействия микроорганизмов на свойства грунта, а именно: снижению его прочностных и деформационных свойств. Так, согласно данным Р.Э. Дашко, в результате жизнедеятельности микроорганизмов произошло снижение прочности суглинков в основании Исаакиевского собора в Санкт-Петербурге, что привело к неравномерной осадке здания, которая наблюдалась уже на этапе строительства, и образованию трещин. При этом перепад высот грунта в результате деформации составил 0,85 м. Активизация жизнедеятельности микроорганизмов в глинистых грунтах приводит к их переходу в квазипластичное состояние. Развитие микроорганизмов в песчаном грунте может придавать ему плавунные свойства, что отмечалось В.В. Радиной еще в 70-е годы прошлого века. Образование в результате жизнедеятельности микроорганизмов малорастворимых в воде газов, таких как азот, водород, метан, и их накопление в песчано-глинистых грунтах вызывает изменение их напряженно-деформированного состояния и может приводить как к газо-грязевым выбросам, так и деформации подземных сооружений. Известна и коррозионная активность микроорганизмов по отношению к строительным материалам и конструкциям.

Положительное с инженерно-геологической точки зрения воздействие микроорганизмов на грунт изучено гораздо меньше. Обычно выделяют два типа такого воздействия, которые используются на практике. Первый – способность

грунтов к самоочищению от различных загрязнений в результате жизнедеятельности микроорганизмов грунта, что нашло достаточно широкое применение во всем мире в природоохранных биотехнологиях. Второй – это индуцированное микроорганизмами образование и осаждение кальцита.

Однако, широкие метаболические возможности микроорганизмов, а они способны использовать в процессе своей жизнедеятельности практически все природные соединения и обитают в условиях разных температур, солености, величин окислительно-восстановительного потенциала и разных кислотно-щелочных условиях, – все это является предпосылкой для более широких исследований воздействия микроорганизмов на грунт. Понимание принципов и механизмов воздействия микроорганизмов на грунт может позволить использование микроорганизмов грунта для изменения его свойств в заданном направлении, т.е. для технической мелиорации грунта. Таким образом, вопросы формирования заданных свойств грунта путем воздействия на микробное сообщество остаются открытыми. Исследования же в этом направлении, реализованные в виде технологий, позволят повысить устойчивость и надежность зданий и сооружений.

Биотехнологические методы могут быть более финансово затратными в сравнении с традиционными методами мелиорации грунта, однако, они могут оказаться единственно возможными для применения в условиях трудной технической доступности и условиях особых санитарно-гигиенических или иных требований.

Цель данной монографии – показать возможности микроорганизмов по преобразованию компонент грунта, влекущих за собой изменение его фильтрационных, прочностных и деформационных свойств, а также возможность целенаправленного изменения свойств грунта биотехнологическими методами с использованием микробного сообщества самого грунта.

## Глава 1

# МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ФОРМИРОВАНИЯ СОСТАВА И СВОЙСТВ ГРУНТА БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

### 1.1. Мелиорация пород и грунтов, проблемы и задачи

Техническая мелиорация грунтов – это область инженерной геологии, разрабатывающая теорию и методы искусственного улучшения пород в соответствии с запросами различных видов строительства и применительно к различным типам пород [22]. При этом термином грунт принято обозначать почвы и горные породы, изучаемые как основания, как среда или как естественные материалы, используемые в целях строительства [100, 121]. «Грунт» – это специальный инженерно-геологический термин, подразумевающий минеральную или минерально-органическую, органоминеральную, многокомпонентную, многофазовую систему, которая включает твердую, жидкую и газообразную компоненты (как косные, так и живые) и изучается в инженерно-геологическом отношении. Знания о современных особенностях грунтов, закономерностях формирования и преобразования под влиянием природных и антропогенных процессов являются решающими при решении инженерно-геологических задач в научном и прикладном аспектах [114].

Отдельные идеи и технические решения в области искусственного улучшения горных пород возникали еще в начале XIX века. Характерная особенность того времени состояла в том, что вопросами изучения пород занимались специалисты-строители. И если геологи изучали горные породы как естественноисторические образования, увязывали их свойства с генезисом, минералогическим составом, условиями залегания и другими геологическими особенностями, то строители больше обращали внимание на вопросы прочности пород вне связи с их происхождением и составом.

Академик А.П. Павлов объединил естественноисторический и инженерный подходы к изучению пород и впервые дал представление о грунтах как горных породах, слагающих верхнюю часть земной коры. Он разработал классификацию грунтов, построенную на рассмотрении сил сцепления в грунтах, от которых зависят такие их свойства, как сжимаемость и размываемость. Позднее Ф.П. Саваренский предложил классификацию, учитывающую основные физические свойства пород, их отношение к воде и механические свойства, но слабо учитывающую генезис и петрографический состав пород. Созданием дорожно-исследовательского бюро Н.И. Прохоровым, П.А. Земятченским и Н.Н. Ивановым были впервые организационно оформлены совместные научные и производственные работы инженеров-дорожников с геологами. К концу 30-х годов XX века техническая мелиорация грунтов в нашей стране сформировалась как самостоятельная отрасль науки и техники. В эти годы были учреждены специальные кафедры при крупнейших геологических вузах страны и появились первые учебники по инженерной геологии Н.В. Бобкова и Н.Н. Маслова. В.А. Приклонский изложил основы инженерной мелиорации грунтов и описал инженерно-геологические свойства основных генетических типов горных пород СССР. Он переработал и дополнил классификацию пород Ф.П. Саваренского. На стыке физико-математических, строительных и геологических наук возникла новая наука – механика грунтов, начало которой положили исследования К. Терцаги. Механика грунтов рассматривала общие закономерности, которые вытекают из применения к горным породам законов теоретической и строительной механики, и мало учитывала или совсем не учитывала геологическую специфику грунтов. Изучение инженерно-геологических свойств пород территории СССР было продолжено И.В. Поповым. М.М. Филатов и Ф.П. Саваренский указывали на обязательность исследования физико-механических свойств пород на основе генетического подхода к ним. М.М. Филатов сформулировал научное положение, что при создании любых методов улучшения свойств грунтов в целях коренного, качественного преобразования этих свойств всегда необходимо всесторонне учитывать свойства тонкодисперсной части грунта, емкость обмена и состав поглощающего комплекса, а также генетические особенности грунта, его минерально-химический состав. В этой связи изучались характер связей, возникающих в искусственно улучшенных грунтах, и вновь образовавшаяся структура, изменение химико-минералогического состава и дисперсности грунтов и др. Теоретические и экспериментальные исследования, проведенные



В.Т. Трофимовым, С.Д. Воронкевичем, В.И. Сергеевым, Е.М. Сергеевым, С.С. Морозовым, В.М. Безруком и многими другими, показали, что для успешного решения различных вопросов технической мелиорации грунтов необходимо подходить с позиций изучения грунта как определенного природного образования, свойства которого могут быть надежно изменены лишь исходя из современных представлений о составе, структуре и текстуре горных пород различного петрографического состава и генезиса. А.В. Гончаровой в 1973 г. предложена инженерно-геологическая классификация методов технической мелиорации, учитывающая класс структурных связей, генетический тип и важнейшие свойства изменяемых пород. Согласно классификации, все грунты целесообразно разделить на три группы по характеру внутренних связей:

- скальные, полускальные и твердые осадочные грунты с жесткими кристаллизационными связями различного генезиса;
- рыхлые несвязные крупнообломочные и песчаные грунты;
- связные грунты с межчастичными водно-коллоидными связями (лессовые, глинистые, органогенные грунты и почвы) [116].

Современные гидротехнические сооружения, предприятия горной промышленности и промышленные объекты все чаще создаются в сложных инженерно-геологических условиях, считающихся ранее непригодными даже для менее ответственных сооружений. Сложные грунтовые условия мешают нормальному ходу работ, удорожают строительство и удлиняют его сроки. Главная задача грунтоведения и инженерной геологии заключается в оценке геологической обстановки и прогнозе инженерно-геологических процессов и явлений применительно к требованиям различных видов производственной деятельности человека. Несоответствие инженерно-геологических условий требованиям конкретных видов сооружений приводит к необходимости проведения специальных мероприятий по сохранению устойчивости проектируемых сооружений и обеспечению их нормальной эксплуатации в течение всего срока службы. Различают два типа мероприятий – инженерно-строительные и инженерно-геологические.

Инженерно-строительные мероприятия направлены главным образом на борьбу с проявлениями нежелательных инженерно-геологических процессов и явлений путем выбора надлежащей конструкции сооружения и его сопряжения с горными породами с целью исключения или сведения к минимуму опасных для сооружения деформаций [22, 100].

В комплекс инженерно-геологических работ входит выбор наиболее рациональных способов борьбы с основными причинами возникновения и развития отрицательных с инженерно-геологической точки зрения процессов и явлений путем искусственного влияния на ход как естественных, так и искусственно вызываемых сооружений процессов [22, 100].

Из инженерно-геологических мероприятий важнейшую роль играет искусственное изменение свойств горных пород [100]. Физическое состояние грунтовых систем определяется условным равновесием по отношению к суммарному воздействию таких факторов, как давление, температура, количество и виды воды, состав, динамика и концентрация поровых растворов. Любое преобразование грунта возможно только в результате нарушения сложившегося равновесия путем изменения одного или нескольких факторов, определяющих современные условия его существования в поверхностной зоне земной коры [20]. Известно, что в основе большинства неблагоприятных инженерно-геологических явлений лежат свойства пород, влияющие на устойчивость сооружений, условия производства строительных и горных работ и развитие геологических процессов:

- пустотность, трещиноватость и пористость скальных пород и массивов;
- недостаточная плотность, отсутствие структурного сцепления и значительная обводненность рыхлых несвязных горных пород;
- высокая пористость и неводостойкость структурных связей лессовых пород при низкой естественной влажности;
- повышенное влагосодержание, малая плотность и специфика структурных связей глинистых пород [100, 108, 111].

Поэтому для улучшения свойств пород необходимо осуществить по крайней мере одно из мероприятий: увеличить плотность, снизить влажность, увеличить водостойкость существующих структурных связей, создать искусственные структурные связи, – то есть целенаправленно изменить их физико-механические свойства [22]. Разработка теории и методов искусственного улучшения свойств пород в соответствии с запросами различных видов строительства и применительно к различным типам пород, как отмечалось выше, составляет существо технической мелиорации грунтов. Методы технической мелиорации используются на практике как в качестве самостоятельных мер, так и в сочетании с методами инженерно-строи-

тельных мероприятий. Подавление или ограничение влияния нежелательных инженерно-геологических процессов реализуется на основе искусственного улучшения состояния и физико-механических свойств грунта различными техническими приемами.

Современные методы мелиорации пород позволяют придавать связность сыпучим породам, монолитность скальным породам, разбитым многочисленными трещинами; увеличивать прочность глинистых и песчаных рыхлых пород; уменьшать пылимость глинистых пород на дорогах; понижать водопроницаемость; повышать механическую прочность разнообразных пород; повышать морозоустойчивость, устойчивость против агрессивных подземных вод; повышать плотность рыхлых пород; изменять консистенцию глинистых пород; обеспечивать организацию строительных работ и др. [121].

Главной проблемой технической мелиорации грунтов является разработка научно обоснованных методов прогноза и регулирования изменения состава, состояния и свойств пород, происходящих в результате их искусственного преобразования в целях предотвращения существующих и потенциально нежелательных инженерно-геологических процессов [22]. Основная задача технической мелиорации грунтов – разработка теоретических основ и практических методов искусственного изменения свойств пород в сторону повышения их прочности, устойчивости, уменьшения трещиноватости, водопроницаемости и проч., применительно к конкретным требованиям проектирования и организации строительства различных сооружений [121].

Существует два основных направления в технической мелиорации грунтов – преобразование пород на месте их естественного залегания и переработка грунтов в целях получения грунтовых материалов. Соответственно, все существующие методы искусственного воздействия на породы и почвы в строительных целях так же подразделяют на два класса – методы закрепления пород в естественном залегании и методы создания грунтовых материалов [22]. Методы, входящие в первый класс, применяются для усиления оснований сооружений, увеличения устойчивости склонов, откосов и подземных выработок, создания противифльтрационных завес и уменьшения водопритоков к подземным сооружениям. Методы, относящиеся ко второму классу, используются для устройства оснований дорожных и аэродромных покрытий, создания земляных сооружений, устройства грунтовых свай, а также противифльтрационных экранов и

ограждений [106]. Эффективность различных методов мелиорации, с одной стороны, определяется природой, интенсивностью и длительностью внешнего воздействия, а с другой стороны, она зависит от характера среды, в которой действуют внешние факторы, то есть от типа горных пород и инженерно-геологических массивов [100, 108, 111].

Процессы инженерно-геохимического преобразования пород развиваются во времени относительно медленно, но неизбежно влияют на состояние, свойства и инженерное поведение участков геологической среды. Характер и интенсивность процессов, а также их результаты контролируются инженерно-геологическими и геохимическими параметрами среды [20]. При этом характер внутренних первичных структурных связей пород предопределяет различия их физико-механических и фильтрационных свойств и контролирует возможность и эффективность использования тех или иных методов искусственного воздействия в целях улучшения инженерного поведения пород [22].

Увеличение объемов освоения пространства городов, расширение дорожного, гидротехнического, промышленного и гражданского строительства, а также увеличение числа техногенных катастроф требует адекватного расширения методов мелиорации грунтов [106]. В настоящее время обеспечение новых качеств или улучшение физико-механических показателей свойств грунтов достигается различными методами, которые можно объединить в три группы: физико-механические, физико-химические и химические. При этом применение того или иного метода определяется прежде всего геолого-генетическим типом грунта и характером структурных связей. Поэтому целесообразно выделять следующие методы мелиорации: скальных твердых пород, рыхлых несвязных грунтов, связных грунтов [116].

Использование для закрепления грунтов природных механизмов открывает широкие возможности для синтеза цементирующих веществ, отвечающих современным требованиям охраны геологической среды [20]. При этом отмечается, что методы искусственного закрепления пород, созданные или усовершенствованные с учетом существа основных процессов, контролирующих геохимическое уплотнение и цементацию осадков и пород, – гидратации и гидролиза природных силикатов, миграции кремнезема и глинозема, биогенной (органогенной) мобилизации и аккумуляции вещества – являются геохимически оптимальными, что позволяет умень-

шить до минимума агрессивное действие геологической среды и обеспечивает длительное сохранение достигнутого эффекта, то есть долговечность закрепления, а также дает возможность прогнозировать скорость и степень изменения физико-механических свойств закрепленных пород. Поэтому современные методы искусственного закрепления пород должны опираться на такой механизм, при котором осуществляется воссоздание близких к природным веществам и их распределение в природной среде [22].

По нашему мнению, такими геохимически оптимальными методами искусственного закрепления пород будут биотехнологические методы, которые используют процессы, осуществляемые микроорганизмами в природе, в том числе в грунтовых массивах.

## **1.2. Общие представления о воздействии микроорганизмов на грунт**

Микроорганизмы – это самые массовые обитатели нашей планеты. Чрезвычайная гибкость метаболизма позволяет им жить практически повсеместно в любых земных условиях, заселяя почти все элементы геологической среды [37, 38, 48, 63, 237, 336]. Микроорганизмы широко распространены в грунтах разного генезиса и входят в состав их биотической компоненты. Суммарное количество биотической составляющей в различных грунтах меняется в очень широких пределах, однако, установлена прямая зависимость общей численности микроорганизмов от содержания органического вещества [224, 272]. Д.Г. Звягинцев на основании анализа поведения почвенных микробных популяций пришел к выводу, что в почве есть достаточное количество разнообразных микроорганизмов, которые способны разлагать или трансформировать различные вещества, однако для оптимального развития конкретных микроорганизмов необходимо создать определенные условия [47, 48].

Продуктами жизнедеятельности микроорганизмов являются их биомасса, различные окислы, легко возвращающиеся в геохимические циклы, и газы. Исключительную роль микроорганизмов в биогеохимических процессах отмечали В.И. Вернадский, С.Н. Виноградский, Б.Л. Исаченко и другие отечественные исследователи [18, 19, 48, 53, 63, 86]. Особенности физиологии микроорганизмов, их воздействие на минералы, органические вещества и газы дают

все основания ожидать, что микроорганизмы окажут значительное влияние и на свойства других компонент грунта – твердой, жидкой и газовой, изменяя тем самым минеральный состав грунта, его структурные, физические, физико-механические и другие свойства.

Все микроорганизмы воздействуют на **твердую компоненту грунта**, используя для своего питания содержащиеся в ней минеральные элементы. Твердая компонента грунтов складывается различными минералами, а также органическими и органо-минеральными соединениями. Поведение грунтов во многом определяется физическими, физико-химическими и механическими свойствами основных породообразующих минералов, которые, в свою очередь, зависят от особенностей кристаллической структуры этих минералов. В составе грунтов довольно часто встречается органическое вещество, присутствие которого даже в незначительном количестве может коренным образом изменить свойства грунта вследствие высокой физико-химической активности по отношению к минеральной составляющей грунта – обладая в основном кислыми свойствами, органическое вещество является активным агентом выветривания, разлагая силикаты и другие минералы [112].

Органические соединения, выделяемые микроорганизмами в процессе жизнедеятельности, обуславливают реакции комплексобразования, увеличивая тем самым растворимость минералов [22]. Образование комплексных соединений значительно повышает миграционную способность многих химических элементов и нарушает обычную последовательность выделения элементов из растворов в виде их соединений [126]. Микроорганизмы способны разрушать важнейшие минеральные компоненты горных пород, такие как силикаты, алюмосиликаты и доломиты [209]. Разрушение силикатов и алюмосиликатов значительно ускоряется в присутствии бактерий. Активными агентами разложения силикатных минералов являются и органические соединения, образуемые микроорганизмами. Способность микроорганизмов к разрушению силикатных минералов используется, например, при обогащении алюминиевого сырья, которое может быть реализовано по следующим направлениям: 1) обескремнивание некондиционных бокситов за счет избирательного разложения алюмосиликатов микроорганизмами или продуктами их жизнедеятельности; 2) разложение алюмосиликатов с переводом глинозема в жидкую фазу, из которой алюминий может быть извлечен разными методами [1].

При биохимическом разложении, в отличие от чисто химического, концентрация элементов в растворе со временем значительно увеличивается, то есть бактерии разрушают и сами минералы, и покрывающие их пленки [22]. Более активное воздействие на грунт обусловлено способностью микроорганизмов окислять и восстанавливать элементы с переменной валентностью, входящие в состав кристаллической решетки минералов, а также влиянием микробных метаболитов (серной и азотной кислот, органических кислот, слизи, щелочей, сероводорода и др.) [209]. Переработка микроорганизмами огромных количеств восстановленных неорганических соединений часто приводит к изменению геохимической обстановки и отложению новых минералов. Особенно велика роль микроорганизмов в рудных и серных месторождениях [65]. На месторождениях серных и сульфидных руд в одних случаях микробиологические процессы приводят к разрушению руды и ухудшению ее технологических свойств, а в других – к выщелачиванию цветных и редких металлов. Эти процессы идут настолько активно, что издавна используются для добычи металлов гидрометаллургическим способом [55].

Микроорганизмы связывают ионы, присутствующие в поровом растворе, и ускоряют процессы нуклеации и роста кристаллов минералов даже при низкой ионной силе порового раствора [285]. После начала нуклеации дальнейший рост или осаждение минералов может идти абиотически, что наблюдалось при осаждении аморфных железо-алюминиевых силикатов и слабокристаллизованных минералов, таких как аллофан, имоголит и смектит [139, 209, 402]. Микробиологическое новообразование минералов показано на ряде карбонатных, сульфидных, бокситовых, железистых отложений, имеющих в некоторых случаях масштабы месторождений [13, 221].

Развитие микробной компоненты в грунтах увеличивает содержание тонкодисперсной фракции, способствует формированию тонкой пористости, снижению проницаемости и водоотдачи песчаных грунтов. Микроорганизмы, адсорбированные на частицах дисперсных пород, изменяют заряды частиц и их электроповерхностные свойства [37]. Сорбция бактерий на поверхностях минералов песчаного грунта коррелировала с величиной общей свободной энергии поверхности минералов грунта, при этом наблюдалось возрастание количества водородсвязывающих функциональных групп на поверхности клеток [165]. Отмечена большая роль сил электростатического взаимодействия между клетками бактерий и частицами

грунта по сравнению с силами Ван-дер-Вальса [166]. Показана важность гидрофильно-гидрофобных взаимодействий для бактериальной адгезии на частицах грунта [152, 359]. Сорбция бактериальных клеток и продуктов их метаболизма на глинистых частицах приводит к формированию биопленок, что значительно ослабляет интенсивность молекулярного взаимодействия между частицами, приводит к снижению прочности и показателей деформационных свойств [37]. Биопленки состоят из клеток микроорганизмов, погруженных в матрикс из органических соединений различной природы, которые способствуют адгезии биопленок на минеральных частицах. Размеры и структура таких пленок определяются свойствами твердого субстрата, а также совокупностью внешних факторов, прежде всего активностью гидродинамического режима фильтрационного потока в грунтовой толще [38]. В результате адсорбции микроорганизмов на глинистых минералах образуются агрегаты размером до 50–100 мкм и более, размер агрегатов увеличивается вместе с количеством микроорганизмов [108]. В ряде случаев под действием живой компоненты изменяются пористость и водопроницаемость пород благодаря заполнению пор клеточной биомассой или нерастворимыми продуктами обмена, в результате чего повышается связность пород и уменьшается их водопроницаемость [26, 137, 298]. В лабораторном эксперименте развитие в порах песчаника культуры сульфатвосстанавливающих бактерий вызывало закупорку пор и снижение проницаемости с 9,9 до 4,9 дарси [201]. Установлена экспоненциальная зависимость снижения общего сопротивления сдвигу глинистых грунтов и коэффициента фильтрации среднезернистых и мелкозернистых песков по мере повышения в них содержания биомассы микроорганизмов [38]. В США был разработан метод борьбы с обводнением скважин, основанный на закачке в пласт сульфатвосстанавливающих бактерий вместе с компонентами, образующими в порах породы нерастворимый осадок сульфида железа [108]. Ряд органических экзометаболитов микроорганизмов обладает высокой склеивающей способностью и принимает участие в формировании водопрочных агрегатов [22]. Механическая прочность грунтов может уменьшаться за счет выделения микроорганизмами поверхностно-активных веществ. С другой стороны, при известных условиях микроорганизмы способны увеличивать механическую прочность грунтов. Например, в результате жизнедеятельности железобактерий в сильногумифицированных водоемах и болотах образуются ожеженные прослои песчаников [108]. Существуют данные об изменении в результате жизнедеятельности микроорганизмов та-



ких свойств грунтов, как прочность на сдвиг, липкость, пластичность [16]. Среди процессов, контролирующих геохимическое уплотнение и цементацию осадков и пород, выделяют биогенную (органогенную) мобилизацию и аккумуляцию вещества [22].

Трансформация твердой компоненты обычно сопряжена с потреблением или выделением газов и, таким образом, с изменением **газовой компоненты грунта**. Газы всегда содержатся в грунтах и часто оказывают заметное влияние на их свойства. Газы активно вступают во взаимодействие с другими компонентами грунта, участвуя в различных физико-химических (окисление, восстановление, растворение) и биологических процессах, происходящих в грунтах [112]. Существующий газообмен между атмосферой и толщей грунтов направлен на выравнивание состава атмосферного воздуха и газовой компоненты грунтов [108]. Таким образом, газовая компонента – переменная величина, зависящая от строения, состава, влажности грунта, атмосферного давления, гидрогеологических и биологических условий. Воздух и газы в грунтах могут быть атмосферного, органического и химического происхождения. Кроме кислорода, азота и углекислого газа в грунтах часто содержатся тяжелые углеводороды, метан и сероводород, наибольшие скопления которых наблюдаются в сравнительно глубокозалегающих толщах земной коры [121]. В количественном отношении газовая компонента наиболее представительна в зоне аэрации, а в зоне насыщения, то есть ниже уровня грунтовых вод, ее содержание в грунтах невелико. Воздух и газы в грунте встречаются в свободном состоянии (в макропорах, трещинах, пустотах), в заземленном состоянии (в глинистых грунтах, в виде пузырьков в тонких порах), в растворенном состоянии (в воде, заполняющей поры грунта), в адсорбированном состоянии (на поверхности твердых частиц). Наличие в грунте заземленных или адсорбированных газов ведет:

- к увеличению упругости дисперсного грунта, что повышает его прочность, уменьшает сжимаемость, понижает водопроницаемость;
- к неравномерности замачивания, увлажнения и водонасыщения грунта в массиве;
- к выщелачиванию и суффозионному выносу из грунта легкорастворимых солей, гипса, карбонатов и образованию карстовых пустот;
- к возникновению химических реакций с образованием цементирующих растворов и литификации грунта [116].

В инженерно-геологическом отношении газовая компонента грунтов имеет большое значение, так как грунты с газовой компонентой отличаются по своим свойствам от тех же грунтов, не содержащих газы. Наиболее сильно влияет содержание газовой компоненты в порах на свойства глинистых грунтов, прочность и другие свойства которых изменяются в зависимости от соотношения в порах жидкой и газообразной компонент [121]. Газы в любом состоянии оказывают влияние на различные свойства грунтов. Физические характеристики газовой компоненты резко отличаются от аналогичных характеристик твердой и жидкой компонент грунта, поэтому газосодержание наиболее сильно влияет на такие физические характеристики грунта в целом, как плотность, проницаемость, физико-механические свойства, теплофизические параметры (теплоемкость, теплопроводность и проч.). При этом, чем больше газов в грунте, тем больше различаются свойства грунтов [114]. Растворенные в поровом растворе газы в зависимости от состава способны формировать ту или иную химическую агрессивность грунта. Наличие в грунте газовых пузырьков малого размера значительно влияет на изменение порового давления в ответ на приложенную нагрузку [346]. Наличие в грунтах адсорбированных и зацементированных газов обуславливает многолетнюю осадку насыпей из глинистых грунтов, деформации и разрывы земляных насыпей, уменьшение водопроницаемости грунтов [108].

Большую роль в грунтах играет газ, поступающий в грунт в растворенном состоянии с инфильтрующимися водами, часто обогащенными кислородом, а при определенных условиях и углекислым газом. Оба этих газа активно взаимодействуют с другими компонентами грунта, вызывая их окисление или растворение. Наибольшую активность эти процессы имеют в верхней части литосферы, где содержание растворенных газов максимально. По мере проникновения воды в более глубокие горизонты содержание растворенных газов снижается, соответственно снижается и активность воды в окислительно-восстановительных реакциях и процессах растворения [112].

Образование микроорганизмами газообразных веществ при разложении органических и минеральных соединений имеет чрезвычайно широкое распространение в грунтах [100]. Процессы микробиологического образования метана протекают во многих экологических системах. Наличие специфической группы микроорганизмов, образующих метан, и их широкое распространение обу-

славливают присутствие значительных скоплений метана в верхней осадочной оболочке земной коры, где отсутствуют условия для его термokatалитического образования [8]. Разложение органических веществ, бикарбонатов, сульфатов в зависимости от условий, в которых оно происходит, ведет к выделению углекислого газа, азота, аммиака, сероводорода, метана, летучих органических веществ и др. Газонасыщенность грунта может возрастать в результате микробного образования метана или восстановления нитрит- и нитрат-ионов до газообразного азота и его окислов.

Наблюдения за состоянием водонасыщенных дисперсных грунтов в основании бетонных плотин крупных гидроэлектростанций показывают их значительную загазованность, связанную с жизнедеятельностью микроорганизмов [108]. О протекании процессов микробиологического происхождения при строительстве инженерных сооружений свидетельствуют, в частности, данные А.М. Кузнецова об обильном выделении газов (метана, сероводорода, углекислого газа, водорода и др.) после сооружения плотины Камской ГЭС. Источниками органического вещества для микробиологического образования газов в основании плотины являлись органическое вещество пород, богатые органическим веществом воды водохранилища, гидроизоляционные материалы подземных сооружений, представляющие собой мешковину, пропитанную битумом, и др. [59]. На внутренних стенках потерны в местах просачивания воды из водохранилища отмечалось развитие слизиобразующих микроорганизмов и разрушение бетона стен [118]. Дуплотнение противофильтрационной цементационной завесы щавелево-алюмосиликатным раствором создало дополнительный источник питания для микроорганизмов, что привело к их развитию в структуре геля и частичному разложению последнего [14, 68].

Показано, что образование микроорганизмами газов в закрытой системе грунта может увеличивать поровое давление и способствовать значительному разуплотнению глинистых пород, а также придавать плавунные свойства водонасыщенным пескам. По представлениям В.В. Радиной, газообразные соединения, вырабатываемые микроорганизмами в водонасыщенном грунте, частично уходят в атмосферу, частично сохраняются в виде защемленных пузырьков, рассеянных в поровой воде, частично в ней растворяются. Присутствие в воде газа, продуцируемого микроорганизмами, приводит к увеличению давления в поровой воде до 0,4 МПа и более. Газообразные продукты жизнедеятельности микроорганизмов, на-

капливаясь в грунте и создавая повышенное давление в порах между частицами грунта, снижают тем самым трение между частицами грунта, то есть снижают его сопротивление сдвигу, в результате чего может образоваться пльвун [101].

С другой стороны, исследования показывают, что образование биогаза в водонасыщенных песчаных грунтах может снижать их размываемость [251, 252, 346].

Потребление газов наблюдается в процессах нитрификации, азотфиксации, окислении водорода, метана, окиси углерода, сероводорода, оксида серы (IV), при автотрофной ассимиляции углекислоты, осуществляемых микроорганизмами грунта.

Изменения твердой и газовой компонент грунта отражаются и на особенностях его **жидкой компоненты**, влияя на состав и ионную силу грунтовых растворов, их кислотно-щелочные условия, окислительно-восстановительный потенциал и др. Жидкая компонента грунта, к которой относятся вода и водные растворы, имеет большое значение при формировании свойств грунтов в целом и в их преобразовании под воздействием разных факторов. Вода участвует в процессах тепло- и массопереноса, в обогащении определенными веществами одних грунтов и выщелачивании других, способствует или препятствует цементации грунтов. Наличие жидкой компоненты определяет консистенцию, деформируемость и прочность грунтов [112]. Количественное содержание в грунте жидкой компоненты не является постоянным и обуславливается как внешними, так и внутренними факторами геолого-географической обстановки. К первым относятся климатические, геологические, геоморфологические, гидрогеологические условия и растительный покров. К внутренним факторам относятся такие свойства грунтов, как гранулометрический и минеральный состав, емкость поглощения, гидрофильность, влагоемкость [116].

Высокодисперсные минеральные частицы грунтов при взаимодействии с водой приобретают строение, характерное для коллоидных мицелл. Ионы, входящие в состав мицеллы, участвуют в обменных реакциях с ионами водных растворов. Среди обменных ионов резко преобладают катионы. Исследования природы обменных реакций показывают, что обмен ионов может происходить как на внешних поверхностях кристаллов слоистых силикатов, так и в межслоевом пространстве этих минералов. Механизм катионного обмена во многом зависит от характера кристаллических решеток

минералов. Состав обменных катионов определяется минеральным составом грунта и составом его жидкой компоненты. Чаще всего среди обменных катионов находятся ионы кальция, магния, натрия, калия, водорода, реже – ионы алюминия, окисного и закисного железа, аммония, лития [108].

К закислению жидкой компоненты грунта ведет накопление в ней продуктов неполного разложения микроорганизмами органического вещества (например, летучих жирных кислот) в результате процессов брожения. Понижение pH поровых вод могут вызвать также тионовые и нитрифицирующие бактерии, образующие неорганические кислоты в процессе метаболизма.

В результате понижения pH вод при кислотном олеении происходит интенсивное выветривание полевых шпатов с образованием каолинита. В результате выветривания полевых шпатов, слюд, хлорита из них выносятся щелочные элементы, кремнезем, железо, магний. Значительное изменение претерпевают не только алюмосиликаты, но и другие минералы [112].

Проводилось изучение пород чеганской свиты палеогена в западной части Курганской области. Незначительная глубина залегания грунтов свиты обуславливала использование их в качестве основания фундаментов строительных сооружений и, соответственно, вскрытие их котлованами в процессе проведения строительных работ. Присутствие в составе отложений свиты минералов с низкой химической устойчивостью (гипс, сидерит, пирит) определяло наличие у грунтов и подземных вод потенциала агрессивных свойств по отношению к строительным конструкциям, которые могли проявиться с течением времени за счет развития в поверхностных условиях окислительных бактериальных процессов. Из грунтов чеганской свиты на среде для *Thiobacillus ferrooxidans* были выделены бактерии, которые в лабораторных исследованиях с использованием грунтов показали снижение величины значения pH среды и более чем двукратное увеличение содержания сульфат-ионов за счет бактериального окисления пирита. Был сделан вывод, что развитие процессов бактериального окисления пирита в ходе производства строительных работ может привести к повышению сульфатной и общекислотной агрессивности грунтов и грунтовых вод [72].

Защелачивание среды может происходить в результате микробных процессов образования метана и восстановления нитрит-, нитрат- и сульфат-ионов, а также восстановления ионов трехвалентного железа.

В щелочных условиях среды из грунта могут выщелачиваться целые группы элементов и переотлагаться на участках, где создаются благоприятные условия для их осаждения. Железо в щелочной среде малоподвижно, оно может оставаться на месте и входить в состав различных вторичных железистых глинистых минералов. В щелочной среде может происходить гидрослюдизация полевых шпатов, слюд, монтмориллонита, хлоритизация и цеолитизация полевых шпатов, монтмориллонитизация биотита [112].

Многие комплексные соединения с изменением кислых условий среды на щелочные перестают быть устойчивыми и, наоборот, возникает возможность образования других комплексных соединений. Рост щелочных условий среды обуславливает выпадение большинства рудных элементов в результате гидролиза, так как они начинают гидролизироваться при значениях pH около 4 и при pH 6–8 уже почти все выпадают из раствора. Однако, при постепенной нейтрализации жидкой компоненты, содержащей ионы рудных элементов, эти элементы могут выпадать из слабокислых растворов в виде труднорастворимых фосфатов, арсенатов, молибдатов и т.д. еще задолго до установления той степени нейтрализации раствора, при которой начинаются процессы гидролиза этих элементов. При этом наблюдается следующая последовательность выпадения минералов из раствора: 1) арсенаты и фосфаты; 2) сульфаты и гидроокислы; 3) гидроокислы, окислы и карбонаты; 4) гидросиликаты; 5) молибдаты, ванадаты и хроматы [126].

По мере исчерпания микроорганизмами веществ, используемых ими в качестве конечных акцепторов электронов для окисления органических соединений, будет происходить и изменение окислительно-восстановительных условий жидкой компоненты грунта. Кроме того, выделение микроорганизмами продуктов метаболизма, поглощение из твердой и жидкой компонент грунта различных элементов, изменение состава обменных катионов твердой компоненты, изменение состава жидкой и газовой компонент грунта, изменение ионной силы растворов также вызывают изменения окислительно-восстановительных условий жидкой компоненты грунта [209]. Заполнение пор грунта водой и прекращение доступа кислорода хорошо изучено на примере рисовых полей, где наблюдалась характерная последовательность сменяющих друг друга микробных процессов, обусловленная порядком поглощения сначала наиболее термодинамически выгодных акцепторов электрона и переходом микробного сообщества на использование следующего

акцептора по мере их исчерпания, сопровождающаяся изменением окислительно-восстановительного потенциала среды [42].

Таким образом, обнаруживаемые в грунте микроорганизмы, являющиеся составной частью его биотической компоненты, могут функционировать на всех этапах формирования грунта и его изменения. Значение жизнедеятельности микроорганизмов может существенно возрасти при техногенном воздействии на грунт [14, 15, 71]. Большое количество и высокое разнообразие микроорганизмов, их малые размеры и отрицательный заряд поверхности клетки, способность катализировать химические реакции и выделять в окружающую среду вещества, покрывающие и/или связывающие минеральные частицы между собой, – все это влияет на свойства грунтов и их изменение со временем [320]. В связи с этим Р.Э. Дашко были определены следующие основные задачи и направления исследований по геотехническому прогнозированию влияния деятельности микробиоты на безопасность освоения и использования инженерно-геологического пространства:

- исследование основных факторов, определяющих возможность развития природной и привнесенной микробиоты;
- изучение влияния контаминации подземных вод и песчано-глинистых грунтов на активизацию микробной деятельности в подземной среде;
- воздействие температурных условий и радиационного фона на рост/снижение численности микробиоты, активность протекания биохимических и физико-химических процессов в подземной среде мегаполиса и подземных выработках;
- определение численности основных групп микроорганизмов в аэробных и анаэробных условиях для различных инженерно-геологических условий прямыми и косвенными методами;
- изучение негативной деятельности микробиоты, влияющей на развитие пловунов, биохимическую газогенерацию, изменение показателей водных и механических свойств грунтов и биокоррозию строительных материалов;
- исследование позитивной деятельности микроорганизмов с позиции самоочищения подземной среды от органических соединений;
- разработка основных принципов учета микробиологической деятельности при решении вопросов безопасности освоения и использования подземного пространства городов и горно-промышленных регионов [38].

Проведенные к настоящему времени исследования дают возможность полагать, что понимание принципов и механизмов микробного воздействия на грунт позволит использовать микроорганизмы для решения задач инженерной геологии, в частности, для формирования заданных состава и свойств грунта. О необходимости исследования геохимической деятельности микроорганизмов в природе с целью использования ее в практической деятельности человека говорил еще микробиолог С.И. Кузнецов. В частности, он выделял следующие этапы исследования жизнедеятельности микроорганизмов:

- наблюдение геохимического процесса в природе, ознакомление с экологической обстановкой и выделение микроорганизмов, участвующих в этом процессе;
- воспроизведение этого процесса в контролируемых условиях, например, в модельных опытах;
- управление процессом в природе или использование его в народном хозяйстве, например, в гидрометаллургии [61].

Зарубежные исследователи полагают, что по мере накопления знаний и развития технологий в геотехнической инженерии может появиться новое научное направление – микробиологическая геотехнология, призванная решить, по крайней мере, следующие три актуальные задачи: укрепление грунтов за счет биоцементации, снижение проницаемости грунтов с помощью биокольматации, снижение водонасыщенности грунтов за счет образования биогазов [173, 251]. Однако, решение данных задач уже входит в круг задач технической мелиорации грунтов [22], а вот их решение с помощью биотехнологических методов с использованием микроорганизмов может являться геохимически оптимальным в соответствии с трактовкой данного понятия С.Д. Воронкевичем.

### **1.3. Биотехнология и задачи, стоящие перед ней**

Определение биотехнологии в довольно полном объеме дано Европейской биотехнологической федерацией, согласно которому, биотехнология – это наука, которая на основе применения знаний в области микробиологии, биохимии, генетики, геномной инженерии, иммунологии, химической технологии, приборо- и машиностроения использует биологические объекты (микроорганизмы, клетки тканей животных и растений) или молекулы (нуклеиновые кислоты, белки,



ферменты, углеводы и др.) для промышленного производства полезных для человека и животных веществ и продуктов [113]. Биотехнология формировалась и эволюционировала по мере формирования и развития человеческого общества. До тех пор, пока всеобъемлющий термин «биотехнология» не стал общепринятым, для обозначения наиболее тесно связанных с биологией разнообразных технологий использовали такие названия, как прикладная микробиология, прикладная биохимия, технология ферментов, биоинженерия, прикладная генетика и прикладная биология. В настоящее время биотехнология стала наукой о практическом использовании биологии в целом, а не отдельных ее ветвей, как это было прежде [11].

Прорыв биотехнологии на промышленный уровень в немалой степени обязан развитию новых методов исследований на молекулярном уровне и интенсификации процессов, открывших неизвестные ранее возможности в получении биопрепаратов, способов выделения, идентификации и очистки биологически активных веществ [3, 113, 191, 418]. В промышленном масштабе биотехнология представляет собой целую индустрию, в которой можно выделить следующие отрасли:

- производство полимеров и сырья для текстильной промышленности;
- получение метанола, этанола, биогаза, водорода и использование их в энергетике и химической промышленности;
- производство белка, аминокислот, витаминов, ферментов и других соединений путем крупномасштабного выращивания дрожжей, водорослей, бактерий;
- увеличение продуктивности сельскохозяйственных растений и животных;
- получение гербицидов и биоинсектицидов;
- широкое внедрение методов генной инженерии при получении новых пород животных, сортов растений и выращивании тканевых и клеточных культур растительного и животного происхождения;
- переработка производственных и хозяйственных отходов, сточных вод, изготовление компостов с применением микроорганизмов;
- утилизация вредных выбросов, нефти и химикатов, загрязняющих почву и воду;
- производство лечебно-профилактических и диагностических препаратов (вакцин, сывороток, антигенов, аллергенов, интерферонов, антибиотиков и др.) [113].

Наиболее быстро развивается одна из традиционных отраслей биотехнологии – микробная технология, так как практически все биотехнологические процессы тесно связаны с жизнедеятельностью микроорганизмов – бактерий, вирусов, микроскопических грибов и т.п. [96]. Микроорганизмы потребляют из окружающей среды вещества, растут, размножаются, выделяют жидкие и газообразные продукты метаболизма, тем самым реализуя те изменения в системе (накопление биомассы или продуктов метаболизма, потребление загрязняющих веществ), ради которых проводят процесс их культивирования – то есть микроорганизмы являются центральным элементом биотехнологической системы, определяющей эффективность ее функционирования [113].

В настоящее время микроорганизмы используются, в основном, для решения следующих задач:

- производство биомассы как источника белка для выращивания сельскохозяйственных животных;
- получение продуктов метаболизма и синтез определенных соединений типа антибиотиков, витаминов, органических и аминокислот, а в последнее время – белков животного и человеческого происхождения;
- интенсивная утилизация антропогенных загрязнений в очистных системах и биосфере [2, 3, 6, 7, 113].

Из-за промышленной, сельскохозяйственной и бытовой деятельности человека постоянно происходят изменения физических, химических и биологических свойств окружающей среды, многие из которых являются весьма неблагоприятными. Ожидается, что биотехнология будет оказывать многообразное и все возрастающее влияние как на способы контроля за состоянием, так и на само состояние окружающей среды [11, 184, 350, 396, 412, 413].

Существует два основных подхода при использовании биотехнологических методов применительно к объектам окружающей среды – биостимуляция и биодополнение. Оба подхода могут быть применены как по-отдельности, так и совместно.

**Биостимуляция** подразумевает активирование жизнедеятельности микроорганизмов путем создания соответствующими методами оптимальных для этого условий [133, 194, 210, 401]. Жизнедеятельность микроорганизмов ограничивается следующими основными факторами окружающей среды: низкой температурой, высокой минерализацией, неблагоприятными окислительно-восста-

новительными и кислотнo-щелoчными условиями. Их изменением можно добиться повышения скорости процессов, осуществляемых микроорганизмами. Кроме того, активирования жизнедеятельности микроорганизмов можно достичь добавлением специальных соединений, учитывая особенности их физиологии и метаболизма. Таким образом, биостимуляция микроорганизмов может быть достигнута следующими способами:

- изменением температурных условий;
- изменением минерализации растворов;
- изменением окислительно-восстановительных условий;
- изменением кислотнo-щелoчных условий;
- добавлением субстратов-доноров электронов;
- добавлением субстратов-акцепторов электронов;
- добавлением косубстратов;
- добавлением биогенных элементов (микро- и макроэлементов).

**Биодополнение** заключается во внесении в объекты окружающей среды добавочных биологических элементов. В качестве таких элементов могут выступать как выделенные из данного объекта микроорганизмы, (автохтонные микроорганизмы), так и чужеродные для него, выделенные из других объектов (аллохтонные микроорганизмы) [188, 210, 344, 378, 395, 401]. Обычно считается, что увеличение микробного разнообразия грунта ведет к увеличению каталитического потенциала микробного сообщества и, соответственно, лучшему удалению из объектов окружающей среды метаболитов и загрязняющих веществ [188, 419]. В качестве вносимого элемента может выступать и генетический материал (например, в виде плазмидной ДНК) разного происхождения [189, 302].

Внесение в объект окружающей среды культуры микроорганизмов, чужеродных для данного объекта, не всегда может быть успешным вследствие их плохой выживаемости [232, 408, 410], поэтому к вносимым культурам микроорганизмов предъявляются следующие требования:

- способность культуры метаболизировать требуемый субстрат и высокая степень ее ферментативной активности;
- генетическая стабильность культуры;
- сохранение жизнеспособности культуры при хранении, особенно при длительном хранении;
- способность культуры к быстрому росту, особенно после хранения;

- способность культуры выдерживать конкуренцию с автохтонной микрофлорой;
- непатогенность культуры;
- неспособность культуры продуцировать токсичные вещества [295].

В связи с этим разработаны и предлагаются новые способы внесения микроорганизмов в окружающую среду, направленные на повышение их выживаемости и активности:

- инкапсулирование клеток микроорганизмов в носитель, например, альгинатный гель;
- ризосферное внесение микроорганизмов, то есть внесение в корневую зону растений, произрастающих в данной местности [232].

Для трансгенных микроорганизмов предлагается их внесение совместно с природными штаммами [87]. Лабораторные исследования показали, что, управляя внешними условиями, также можно добиться стабилизации внесенной популяции [47].

Отдельные биотехнологические методы находят применение для обработки грунтов, в том числе и в целях изменения их свойств, однако, широкое применение биотехнологии для технической мелиорации грунтов до сих пор не стоит в ее задачах и сдерживается отсутствием развитой методологии.

#### **1.4. Основы методологии формирования состава и свойств грунта биотехнологическими методами**

Исследования воздействия микроорганизмов на компоненты грунта, изложенные выше, показывают, что в микробных популяциях грунта есть достаточное количество разнообразных микроорганизмов, способных как разлагать, так и образовывать различные соединения. Разные условия среды (наличие или отсутствие тех или иных доноров и акцепторов электронов, окислительно-восстановительный потенциал, кислотнo-щелочные условия, температура и проч.) благоприятствуют развитию разных групп микроорганизмов, а изменение условий среды влечет за собой соответствующую смену доминирующей группы микроорганизмов [43], поэтому формирование заданных свойств грунта с помощью микроорганизмов должно учитывать их физиологические особенности. В таблице 1-1 приве-

дены некоторые группы микроорганизмов, влияющие на свойства компонент грунта, и возможные технологии активирования их жизнедеятельности в грунте.

Нами разработана и предлагается методология формирования заданных свойств грунта (рисунок 1-1), которая основывается на создании в грунте путем внесения различных химических соединений и изменения окислительно-восстановительного потенциала и pH среды определенных условий для усиленного развития конкретной группы микроорганизмов, то есть ее активирование, процессы жизнедеятельности которой способны привести к соответствующим изменениям в компонентах грунта и, в целом, к формированию заданных свойств грунта [278].

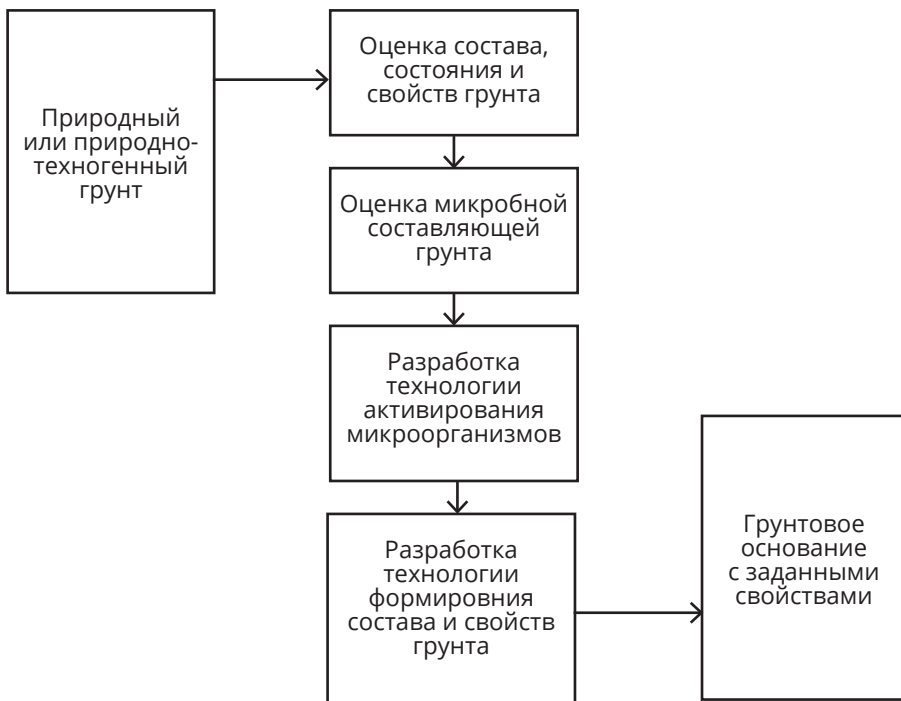


Рисунок 1-1

**Методологическая схема формирования заданных свойств грунта (по: [119])**

## Изменение свойств грунта

<b>Изменение свойств грунта</b>		
<b>Твердая компонента</b>	<b>Жидкая компонента</b>	<b>Газовая компонента</b>
Уменьшение пористости и увеличение прочности грунта	Снижение pH	Не изменяется
Увеличение пористости Снижение прочности	Снижение pH	Не изменяется
Уменьшение пористости и увеличение прочности грунта	Увеличение pH	Не изменяется
Уменьшение пористости и увеличение прочности грунта	Увеличение pH Снижение влажности	Увеличение газоносности Увеличение газосодержания
Уменьшение пористости и увеличение прочности грунта	Увеличение pH	Не изменяется
Уменьшение пористости и увеличение прочности грунта	Увеличение pH	Не изменяется
Увеличение пористости Разуплотнение Снижение прочности	Не изменяется	Увеличение газоносности Увеличение газосодержания

**при активировании микроорганизмов (по: [119])**

<b>Группа микроорганизмов</b>	<b>Технология активирования микроорганизмов</b>
Нитрифицирующие микроорганизмы	Добавление солей аммония Добавление нитритных солей Создание аэробных условий
Тионовые микроорганизмы	Добавление серы Добавление сульфидных солей Создание аэробных условий
Аммонифицирующие микроорганизмы	Добавление аминокислот Добавление мочевины
Денитрифицирующие микроорганизмы	Добавление нитратных солей Добавление органического вещества Создание анаэробных условий
Железовосстанавливающие микроорганизмы	Добавление солей железа (III) Добавление органического вещества Создание анаэробных условий
Сульфат-восстанавливающие микроорганизмы	Добавление сульфатных солей Добавление органического вещества Создание анаэробных условий
Метанобразующие микроорганизмы	Добавление формиата Добавление ацетата Добавление метанола Создание анаэробных условий

Методология формирования состава и свойств грунта с помощью микроорганизмов подразумевает выполнение следующих этапов работы:

1. Оценка текущего состояния грунта, включающая:

- характеристику минерального и гранулометрического состава твердой компоненты;
- оценку рН порового раствора грунта, ионного состава пленочной воды грунтовых частиц, оценку ионного состава и рН подземных вод;
- оценку состава газовой компоненты грунта;

2. Оценка микробной составляющей грунта, призванная определить:

- групповой состав микробного сообщества грунта;
- роль каждой группы микроорганизмов в изменении тех или иных свойств компонент грунта;
- ранжировать группы микроорганизмов по степени их воздействия на грунт;

3. Разработка технологии активирования микроорганизмов, включающая:

- определение оптимальных условий для жизнедеятельности микроорганизмов;
- принятие решения о целесообразности применения *in situ* методов биодополнения с использованием аллохтонных или аутохтонных микроорганизмов грунта;
- подбор состава соответствующих сред для культивирования микроорганизмов;

4. Разработка технологии формирования заданных состава и свойств грунта, заключающаяся в:

- разработке способов создания внешних условий, благоприятных для развития микроорганизмов;
- определении состава растворов для обработки грунта, способов и периодичности их внесения, длительности обработки;
- определении способов и методов контроля за ходом процесса и оценки полученных результатов.



Разработанная методология нашла практическое применение при формировании заданных свойств твердой, жидкой и газовой компонент грунтов в полевых условиях и модельных экспериментах, как описано далее.

# ФОРМИРОВАНИЕ СОСТАВА ТВЕРДОЙ КОМПОНЕНТЫ ГРУНТА

## 2.1. Воздействие микроорганизмов на твердую компоненту грунта

Техническая мелиорация грунтов традиционно используется для улучшения их инженерных свойств: укрепления, снижения проницаемости, уплотнения и т.д. Для обработки грунтов проницаемостью  $10^{-4}$ – $10^{-1}$  см/с обычно применяется закачка химических растворов, из которых происходит осаждение частиц или образование геля, заполняющих поры и пустоты грунтов, что приводит к повышению несущей способности грунтов [187, 190, 229, 341, 342]. Инъекционное закрепление грунтов нашло широкое применение в фундаментах, горном деле, гидротехническом строительстве. Практически на всех крупных плотинах этот способ применяется для создания противофильтрационных завес [68, 297, 399, 400], причем для завес глубокого заложения он является единственным [68].

Обычно используются следующие цементирующие агенты: органические вещества, силикаты, синтетические смолы, карбонат кальция, гипс, портланд-цемент. Два последних агента используются в сухом виде, которые смешивают с грунтом до достижения необходимой плотности. Цементация инициируется насыщением водой [187, 389]. Добавка гипса к грунтам ограничивает набухание и диспергирование глин и повышает стабильность структуры грунта за счет эффектов катионного обмена и электролитического эффекта грунтовой влаги [239]. Использование органических кислот для улучшения характеристик грунтов приводит к увеличению прочности в 1,5–2,5 раза по сравнению с необработанным грунтом [296]. В целях стабилизации грунтовых агрегатов используют и другие органические вещества, в том числе отходы [239]. На Камской ГЭС, где по

данным режимных гидрохимических и гидродинамических наблюдений шло развитие процессов опреснения подземных вод, выщелачивания и растворения гипсоносных пород в основании плотины, проводили работы по доуплотнению противофильтрационной цементационной завесы щавелево-алюмосиликатным раствором. Это было первое в отечественной практике использование силикатного раствора для трещиноватых грунтов в основании плотины. В результате проведенных работ возросли перепады напора на завесе и коэффициент устойчивости сооружения [68]. Однако, химические способы мелиорации грунтов часто являются дорогостоящими и нередко вредными для человека и/или окружающей среды [186, 187, 260]. Например, способы, основанные на использовании цемента, предпочитают не применять как вследствие его высокой стоимости, так и большого количества углекислого газа, выделяющегося при его производстве [233, 338].

Цементации грунтов можно добиться и использованием растворов полимеров [21]. Вместо использования растворов возможно смешение грунта с мелкими частицами полимера с последующим нагревом. Сообщается, что этим методом достигается на один порядок величины большая прочность, чем в случае использования минерального связующего в количестве 2% [403]. В случае использования полимеров природного, в том числе микробиологического, происхождения говорят о биополимерах. Существует достаточно обширная научная литература, посвященная использованию как биополимеров, так и продуцирующих биополимеры микроорганизмов. Биополимеры, являясь обычно высокомолекулярными полисахаридами, безопасны для окружающей среды. Биополимеры кроме цементации грунтов, т.е. связывания частиц грунта между собой, обладают и другими полезными свойствами – они способны образовывать химические связи с металлами и, таким образом, удерживать их в грунте. Более того, биополимеры могут быть легко получены *in situ* инокуляцией грунта соответствующими видами микроорганизмов, которые в дальнейшем могут размножиться и распространиться на значительное расстояние от места инокуляции [211]. Показана способность биополимеров снижать проницаемость грунтов, образовывать широкий ряд непроницаемых барьеров и увеличивать силу сдвига грунтов [178, 298, 428]. Способность биополимеров связывать ионы металлов используется для обработки сточных вод и извлечения ионов металлов из водных растворов, предотвращения миграции тяжелых металлов из грунтов [185, 211, 216, 242, 264,

416]. Используют биополимеры и для обработки ядерных отходов и веществ, содержащих радиоактивные изотопы [225, 288, 394, 417]. Исследования показали, что использование биополимеров в низкой концентрации ведет к снижению сжимаемости глинистых грунтов ( $C_c$  снижается с 0,614 до 0,442), а в высокой концентрации – к повышению сжимаемости ( $C_c$  возрастает с 0,614 до 1,058) за счет замещения глинистых частиц биополимером и электростатического отталкивания между биополимером и глинистыми частицами [332].

Цементация грунтов может происходить за счет образования в них минералов. В лабораторных условиях для этой цели использовали бактерии *Leptothrix discophora*, которые вызывают выпадение в осадок минералов железа и/или марганца. Предполагается возможность индуцирования данного процесса *in situ* за счет активизации жизнедеятельности автохтонной микрофлоры [421]. В полевых испытаниях инъекционного раствора, содержащего уреолитические микроорганизмы, мочевины и соли железа, зафиксировали снижение проницаемости грунта и увеличение силы сдвига в результате осаждения гидроксида железа (III) вследствие ферментативного гидролиза мочевины. Отмечено, что снижение проницаемости песчаного грунта на 2–3 порядка может быть достигнуто при увеличении содержания в грунте осажденного металла более 1,5%, однако сила сдвига при этом не увеличится [172].

Процесс заполнения порового пространства грунта более мелкими частицами, находящимися во взвешенном состоянии в фильтрующейся воде, называется кольматацией. Кольматация происходит по двум причинам – простому механическому заполнению пор грунта и поверхностному взаимодействию частиц. Твердые взвешенные частицы суспензии могут механически задерживаться в порах грунтов, а также вступать в физико-химические взаимодействия со скелетом фильтрующего грунта и друг с другом с образованием коагуляционных связей [114]. При биокольматации гидравлическая проводимость грунта является результатом следующих процессов, протекающих в поровом пространстве грунта:

- транспорта бактерий и их закрепления на частицах грунта;
- бактериального роста, размножения и накопления биомассы, развития микроколоний и биопленок на поверхности минералов с соответствующим уменьшением порового пространства;
- отслоения бактериальных образований и их механического накопления в устьях пор;
- секреции внеклеточных полимеров бактериями;

- окклюзии устьев пор пузырьками слаборастворимых биогенных газов, - приводящих к снижению размеров устьев пор более чем на три порядка величины [320].

Наблюдали заполнение в течение 6 лет 31–45% порового пространства гравелистого грунта с размером частиц 38 и 19 мм в результате биокольматации [314]. Запатентован способ снижения проницаемости и гидравлической проводимости пород и геологических конструкций в результате кольматации за счет роста биомассы автохтонных микроорганизмов пород или специально вносимых культур бактерий (в том числе в виде спор) или псевдомонад [313], а также за счет образования ими минеральных частиц карбонатов кальция, магния и железа [407]. Феррис *и соавт.* использовали бактерии для активного осаждения карбоната кальция в качестве кольматирующего агента. В исследовании использовали инъекцию микроорганизмов для осаждения аутигенных минералов в высокопроницаемых водопроводящих каналах. Осаждение минералов может осуществляться за счет использования бактерий в качестве пассивных центров нуклеации, в то время как инъекция соответствующего раствора вызывает перенасыщение пластовых вод по отношению к определенной минеральной фазе и/или стимулирует метаболическую активность бактерий, способных вызывать такое перенасыщение. В результате эксперимента было достигнуто снижение проницаемости пород с 13 и 5,5 дарси ( $1,1 \cdot 10^{-2}$  и  $4,7 \cdot 10^{-3}$  см/с) до 2,8 и 0,9 дарси ( $2,4 \cdot 10^{-3}$  и  $7,8 \cdot 10^{-4}$  см/с) [214, 215]. В других исследованиях сообщается о снижении пористости и проницаемости пород на 50% и 90%, соответственно, при использовании бактерий и ростовой среды для них с добавлением раствора, содержащего  $\text{CaCl}_2$  и  $\text{NaHCO}_3$ , для обработки лабораторных колонок, заполненных стеклянными бусинами или песком [187]. Экспериментальные данные показали, что после обработки бактериями проницаемость песков может снизиться в 4 раза, а их несущая способность вырасти до существенных значений [173]. Запатентованы способы снижения потока жидкости в пористых средах и структурах гражданского строительства активацией микробиологических процессов, ведущих к образованию карбонатных минералов, путем внесения микроорганизмов, источников питания для них, а также ионов кальция/магния [164, 230].

Биокольматация грунтов может происходить не только за счет образования минеральных частиц, но также и за счет образования микроорганизмами биополимеров. В лабораторном эксперименте с бактериями *Leuconostoc mesenteroides* после 41 сут. экспози-

ции проницаемость колонки с песком снизилась более чем на порядок величины за счет аккумуляции в песке биополимера-декстрана. Накопление биополимера происходило в поровом пространстве, что вызвало снижение пористости и рост электрического сопротивления на 80–100% [390]. Хачатурян *и соавт.* провели серию испытаний проницаемости тонкозернистых песков после кольматации их пятью различными биополимерами и обнаружили снижение проницаемости на 14 порядков величины менее чем за 2 недели экспериментов [277]. Запатентован способ цементации слабых грунтов с использованием микроорганизмов *Bacillus mucilaginosus*, активно продуцирующих экзополисахариды [12]. Утверждается, что контролируемое осаждение минералов в поровом пространстве грунта, приводящее к изменению его макроскопических свойств, так называемый «инжиниринг порового пространства» – инновационный подход в геотехнике, имеющий большие перспективы [425].

В природных условиях к цементации грунтов и пород ведут химические реакции, связанные с выветриванием. Степень цементации грунтов широко варьирует и зависит от свойств окружающей среды, которые также определяют и степень выветривания, постепенно разрушающего образующийся цемент [114]. Естественноцементированные пески существуют в различных частях земной коры. Кальцит – один из наиболее распространенных в природе цементирующих агентов [209]. Так образование песчаников объясняют осаждением именно кальцитового цемента [366]. Цементация песков дополнительно усиливается осаждением малого количества других соединений, например кремнезема, водных силикатов и гидроксидов железа [176, 187, 290]. В роли цементирующих агентов могут выступать как различные минеральные соединения, например, кальцит, гидроксиды железа, марганца и др., так и вещества полимерной природы. Аутигенные минералы образуются *in situ* осаждением из водорастворенного состояния в процессе нуклеации и последующим ростом кристаллов. Обязательным условием выпадения минералов из раствора, даже когда в этом процессе принимают участие микроорганизмы, является достижение некоторой степени перенасыщения раствора. Самопроизвольное выпадение нерастворимого осадка из раствора сдерживается необходимостью преодоления энергоактивационного барьера, что легко осуществляется в насыщенных растворах с помощью энергии, высвобождаемой при образовании связей в твердой фазе. Точка, при которой этот энергоактивационный барьер преодолевается, и начинается рост устойчивого к растворению кластера из молекул, называется точкой нуклеации [220].

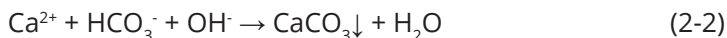
Как только сформируется зародышевое ядро кристалла, начинается его рост за счет взаимодействия с ионами раствора. Нуклеация может протекать как гомогенно вследствие случайных столкновений ионов или атомов в растворе, так и гетерогенно, когда зародышевые ядра кристаллов образуются на поверхности частиц, которые усиливают нуклеацию [187, 383]. В качестве центров нуклеации для аутигенного образования минералов могут выступать биополимеры [138, 220]. Также в качестве центров нуклеации для гетерогенного образования минералов могут выступать различные минералы грунта, влияя на термодинамику реакции осаждения/растворения в системе. Например, частицы грунта, содержащие карбонат кальция, являются идеальной поверхностью для добавочного осаждения карбоната кальция [326]. Гетерогенная нуклеация может также возникать на поверхности индивидуальной бактериальной клетки. Присутствие миллионов таких клеток в данном растворе представляет для кристаллизации неисчислимо множество центров нуклеации [187, 202]. Предполагается, что биогенное образование кальцита является комбинацией гомогенной нуклеации с гетерогенной [319]. Алоизи и соавт. считают, что образование карбонатных наноглобул является первым этапом процесса микробной кальцификации [131]. Исследования показали, что на поверхности клеток умеренно галофильных аэробных бактерий происходит нуклеация нанокристаллов и наноглобул карбонатов [351, 352, 364]. Было предположено, что микроорганизмы способны также влиять и на кинетику осаждения карбонатных минералов [363].

**Цементация грунтов кальцитом.** Не обнаружено каких-либо специфических кальцит-образующих микроорганизмов, так как процесс образования карбоната кальция не обеспечивает микроорганизмы энергией, а является побочным продуктом жизнедеятельности микроорганизмов, продуцирующих углекислоту при минерализации органического вещества [52, 162, 257, 425]. Ключевыми факторами, от которых зависит процесс, являются концентрация ионов кальция и гидрокарбонат-ионов, кислотнo-щелочные условия среды и наличие сайтов нуклеации [162, 280]. Кальцит осаждается *in situ* как цементирующий агент двумя разыми способами: выпадая в осадок из воды, насыщенной карбонатом кальция, и выпадая в результате реакций химического обмена на разделе фаз вода-порода. На осаждение кальцита влияют химизм воды, миграционная способность ионов кальция и гидрокарбонат-ионов, наличие карбонатов, проницаемость пород, их состав и текстура. Немаловажную роль играет и микробная активность пород [186, 243, 323].

Осаждение кальцита описывается следующим средним уравнением реакции [168, 209, 373]:



Микробиологически индуцированное осаждение кальцита протекает в соответствии с уравнениями [187, 357]:



Эксперименты показали, что образование частиц карбоната кальция гетеротрофными бактериями идет различными путями. Так, «пассивное» образование карбонатов стимулируется изменениями среды, которые приводят к накоплению в ней гидрокарбонат- и карбонат-ионов и их последующему осаждению в виде твердых частиц. Эти изменения могут быть вызваны несколькими метаболическими путями бактериальных циклов химических элементов: азота (аммонификация аминокислот, гидролиз мочевины и мочевой кислоты, диссимильаторное восстановление нитратов), серы (диссимильаторное восстановление сульфатов), марганца и железа (диссимильаторное восстановление марганца и железа) [162, 170, 246, 257, 427].

Брессан *и соавт.* обнаружили, что высокие концентрации аминокислот и экзополисахаридов благоприятствуют образованию кристаллов кальцита сферической формы в результате жизнедеятельности сульфатовосстанавливающих бактерий [154]. Гуо *и соавт.* наблюдали одновременное образование кристаллов кальцита гантелевидной, кочановидной, ромбоэдрической и неправильной формы в культуре *Citrobacter sp.* По мнению авторов, это может быть свидетельством одновременного протекания в системе как гомогенной, так и гетерогенной нуклеации кристаллов кальцита [240]. Кавагучи и Дечо предположили, что полиморфизм кристаллов кальцита связан с присутствием специфических белков в продуцируемых клетками микроорганизмов экзополимерах [275]. Хаммес *и соавт.* показали, что культуры микроорганизмов, относящиеся к одному виду, могут обладать абсолютно разными генами, кодирующими уреазу (фер-



мент, участвующий в реакциях осаждения кальцита), от уровня экспрессии которой может зависеть форма образующихся кристаллов [245].

Нами было обнаружено образование кристаллов кальцита в отложениях дренажной системы земляной плотины (рисунок 2-1), где гидрокарбонат-ионы образовывались в результате процесса бактериального восстановления сульфатов. Другими продуктами процесса являлись сероводород, обнаруживаемый по характерному запаху, и гидросульфид-ионы, которые при реакции с водорастворенными ионами  $Fe^{2+}$  выпадали из раствора в виде минерала пирита. При этом новообразованные кристаллы кальцита и пирита могли образовывать сростки (рисунок 2-2) [75].

В случае автотрофных микроорганизмов метаногенез немитотрофного типа и цианобактериальный фотосинтез также могут приводить к осаждению карбоната кальция [162]. Хан и соавт. изучали процесс отложения кристаллов кальцита микро- и нанометровой размерности на поверхности клеток цианобактерии *Synechocystis sp.* и обнаружили предпочтительное ориентирование кристаллов кальцита: скорость роста кристаллов в кристаллографической плоскости (113) была наивысшей, а скорость роста в плоскости (104) снижалась, что было связано с образованием органических метаболитов цианобактерией [248]. Способность к упорядоченному осаждению кристаллов минералов обнаруживается у многих живых организмов и является общей биологической способностью [130].

Активное карбонатообразование не зависит от вышеназванных метаболических путей – частицы карбоната кальция образуются в результате реакций ионного обмена, идущих на поверхности бактериальной клетки по механизму, который до сих пор еще слабо изучен. Предполагается, что активное осаждение карбонатов может быть связано с переносом ионов кальция через клеточную мембрану [162, 312].

Таким образом, карбонатогенез не ограничен ни определенными таксономическими группами микроорганизмов, ни специфическими средами обитания микроорганизмов. Это – общепланетный феномен, существующий с докембрия. В настоящее время считается, что потенциальная активность продукции карбонатов гетеротрофными микроорганизмами выше, чем автотрофными микроорганизмами или чем в ходе абиотических химических реакций [151, 162].



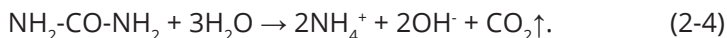
0.2 мм

Рисунок 2-1  
**Агрегат прозрачных зерен кальцита в отложениях дренажной системы земляной плотины (по: [75])**

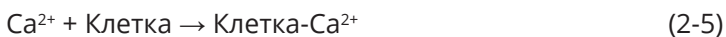


Рисунок 2-2  
**Срастание зерен кальцита и пирита в отложениях дренажной системы земляной плотины (по: [75])**

Эффективность бактериального осаждения минералов зависит от свойств пористой среды, количества присутствующих бактерий и их метаболической активности. Критическим фактором для микробиологически индуцированной цементации является также pH среды [360]. Стокс-Фишер и соавт. определили, что микробиологически индуцированное осаждение карбоната кальция начинается при pH 8,3 и протекает с увеличением скорости до достижения pH 9,0 [387]. Образование кальций-карбонатного (кальцитового) цемента является следствием метаболической активности бактерий, увеличивающей pH среды. Локальное увеличение pH может быть достигнуто продукцией ионов аммония в результате ферментативного гидролиза мочевины (уреазной активности бактерий) в соответствии с уравнением реакции [170, 187]:



Образование кальцитового цемента уреолитическими бактериями изучено лучше, чем другими группами микроорганизмов [425]. Уреазная активность обнаружена у широкого ряда микроорганизмов и растений, некоторые из которых вырабатывают фермент в большом количестве [134, 157, 321, 322]. *Sporosarcina pasteurii* (бывш. *Bacillus pasteurii*) – наиболее часто используемая в исследованиях алкалофильная (щелочелюбивая) почвенная бактерия с высокой активностью конститутивного фермента уреазы, которая использует мочевины как источник энергии и продуцирует ионы аммония ( $\text{NH}_4^+$ ), увеличивающие pH окружающей среды и вызывающие осаждение ионов кальция и карбонат-ионов в виде карбоната кальция. Содержание уреазы в клетках бактерии может достигать 1% от сухого веса клеток [134]. С другой стороны, для успешной биоцементации грунта нет необходимости в высокой уреазной активности микроорганизмов – лучшее образование агрегатов карбоната кальция наблюдалось при низкой скорости гидролиза мочевины бактериями [345]. Локальное увеличение pH часто является причиной того, что клетки микроорганизмов становятся центрами нуклеации для кристаллизации минералов [215]. Кроме того, положительно заряженные ионы кальция могут закрепляться на поверхности бактериальной клетки вследствие ее общего отрицательного заряда. Отложение кальцита на поверхности бактериальной клетки, служащей центром нуклеации, описывается следующими уравнениями [187, 357, 387]:



Внесение в грунт культур микроорганизмов, чужеродных для данного грунта, не всегда может быть успешным вследствие плохой выживаемости интродуцированных микроорганизмов [232, 408, 410], поэтому для биоцементации грунтов часто используют культуры автохтонных уреолитических микроорганизмов грунта [156, 157]. Активирование жизнедеятельности данных микроорганизмов *in situ*, то есть внутри грунта, позволяет избежать технических сложностей, связанных с интродуцированием микроорганизмов в грунт [326]. При этом использование автохтонных уреолитических микроорганизмов самого грунта для его мелиорации с помощью биогенного осаждения кальцита может быть осложнено следующими факторами:

- низкой концентрацией уреолитических бактерий в глубоких горизонтах грунта и их отсутствием в породах;
- недостаточной уреазной активностью микроорганизмов в условиях высокой концентрации солей или щелочности среды выше 8,5;
- потенциальной патогенностью природных микроорганизмов грунта;
- непредсказуемой и нестабильной активностью микроорганизмов в процессе осаждения кальцита [384].

Однако, манипулируя уреолитической активностью микроорганизмов, скоростями реакции и транспорта субстратов и состоянием насыщения, можно значительно влиять на эффективность обработки грунта [339].

Желаемые механические свойства грунта могут быть достигнуты осаждением в нем достаточного количества кристаллов карбоната кальция [167], однако, как показали исследования, прочность грунта зависит не от общего количества осажденного кальцита, а от его распределения в толще грунта [168]. Осаждение биогенного кальцита приводит к улучшению геотехнических свойств грунта вследствие того, что он отлагается не только вокруг рыхлых частиц грунта, но и между ними, связывая тем самым частицы между собой. Более того, связующая функция биогенного кальцита может усиливаться за счет образования водородных и иных связей с частицами грунта [356, 357, 373]. Использование методов биогенного осажде-

ния кальцита оказалось эффективным способом улучшения свойств песчаных грунтов [156, 174, 187, 421, 425].

Исследования Виффин *и соавт.* показали, что прочность биосцементированного песка зависела от содержания в нем осажденного кальцита. Была обнаружена линейная зависимость между пористостью грунта и общим содержанием в нем кальцита [425]. Исследования Ширакава *и соавт.* показали, что величина предела прочности песчаного грунта, консолидированного в результате жизнедеятельности уреолитических микроорганизмов, зависела не от количества осажденного кальцита, а являлась линейной функцией от отношения объема осажденного кальцита к начальной пористости грунта. При этом наблюдалось почти десятикратное увеличение предела прочности при увеличении на 1% отношения объема осажденного кальцита к начальной пористости грунта [375].

Использованием в лабораторном эксперименте *S. pasteurii* для обработки рыхлого песчаного грунта добились его преобразования в песчаник, что было недостижимо при химическом способе осаждении кальцита [356, 357].

Чу *и соавт.* обработкой образцов песчаного грунта тропического пляжа культурой *Bacillus sp.* добились снижения проницаемости грунта до величины  $1,6 \cdot 10^{-7}$  м/с (или 14 мм/сут.). Они отметили, что грунты с такой величиной проницаемости могут быть использованы в строительстве прудов для аквакультур. При этом величина модуля разрушения верхнего слоя грунта, преобразованного в корку, была 35,9 МПа, что сопоставимо с таковой для песчаника [174].

Обработка культурой *S. pasteurii* зерна песчаника приводила к равномерному осаждению в нем кальцита и умеренному снижению пористости (с 0,231 до 0,159) и существенному снижению проницаемости (с  $1,01 \mu\text{m}^2$  до  $0,035 \mu\text{m}^2$ ) [374].

Феррис *и соавт.* сообщили о снижении проницаемости грунта на 15–20% от начального значения в результате биогенного осаждения кальцита [215], а Виффин *и соавт.* – о снижении проницаемости на 22–75% [425].

В лабораторных условиях наблюдали снижение величины проницаемости образцов песчаного грунта с  $2,27 \cdot 10^{-2}$  см/с до  $6,05 \cdot 10^{-3}$  см/с и рост силы сжатия при неконсолидированном компрессионном испытании с 175 кПа до 255 кПа при содержании в грунте биогенно осажденного кальцита 2% [281].

Биологическое осаждение кальцита в образцах кремнистого слабосортированного песчаного грунта (содержание кварца 99,7%) культурой *S. pasteurii* вызывало изменение его прочностных характеристик: увеличение силы сцепления между частицами грунта с 0 до 5,2 кПа и угла внутреннего трения с 33 град. до 43 град. [170].

Обработка песчаного грунта в течение 3 суток культурой *S. pasteurii* приводила к осаждению биогенного кальцита и росту силы сжатия при неконсолидированном компрессионном испытании до 1,7 МПа [291].

После обработки культурой *Bacillus sphaericus* и осаждении биогенного кальцита в тонкозернистых образцах чисто кремнистого песчаного грунта сила сцепления была выше, а угол внутреннего трения ниже, чем в грубозернистых образцах. Все образцы показали высокую стойкость к эрозии в результате замерзания–оттаивания [168].

Прочность обработанных культурой *B. sphaericus* образцов грубозернистого песчаного грунта варьировала в пределах 0,85–2,07 МПа после осаждения в них биогенного кальцита [167].

Обработка образцов песчаного грунта в течение 7 суток культурами *B. sphaericus* и *Bacillus sp.* приводила к появлению в образцах кристаллов карбоната кальция и консолидации грунта. Образование карбоната кальция культурой *B. sphaericus* было выше, чем культурой *Bacillus sp.* (содержание  $\text{CaCO}_3$  в грунте 8% и 3,4%, соответственно), образовавшиеся кристаллы различались по форме. Величина прочности на разрыв в образцах достигала 92 кПа и 48 кПа, соответственно [375].

Исследования Садеги *и соавт.* показали, что самым важным фактором при биогенном осаждении кальцита является тип грунта, затем идут время обработки и концентрация раствора [361].

Мортенсен *и соавт.* наблюдали увеличение прочности образцов песчаного грунта в результате образования кальцита, связывающего частицы грунта, при внесении культуры *S. pasteurii*. При этом в хорошо сортированных грубозернистых песках скорость образования кальцита оказалась выше, чем в тонкозернистых слабосортированных, то есть осаждение кальцита зависело от количества контактов между частицами грунта [326].

Активирование автохтонных уреолитических микроорганизмов слабосортированного песчаного грунта приводило к повыше-

нию в нем содержания кальцита до 2,4% и росту прочности с 2–2,5 МПа до 4,5–6 МПа при испытаниях коническим пенетрометром [156].

Используя культуру *S. pasteurii*, Гомез и соавт. в полевом эксперименте добились образования на поверхности рыхлого песчаного грунта жесткой корки толщиной 2,5 см и изменения свойств грунта до глубины 28 см после 5 циклов обработки в течение 20 дней. При этом содержание кальцита в грунте изменялось от 0 в необработанном грунте до 0,5–2,1% в поверхностном слое и 0,5% на глубине 5–10 см в обработанном грунте [238].

Запатентован способ осаждения карбоната кальция в грунте с целью улучшения его механических свойств путем активирования автохтонных уреолитических микроорганизмов грунта [181].

По мнению Ясухара и соавт., использование фермента уреазы вместо бактериальной культуры позволяет добиться более контролируемых условий при проведении цементации [429]. В лабораторном опыте с колонкой, заполненной гранулированным силикагелем и иммобилизованной на нем уреазой, наблюдали образование частиц кальцита предпочтительно в точках контакта между частицами силикагеля. Гидравлическая проницаемость колонок при этом снижалась на 23–28%, а значение эффективной пористости с 0,35 до 0,27 [347].

Ясухара и соавт. для цементации песчаного грунта вместо бактериальной культуры использовали фермент уреазу, что облегчало техническое выполнение работ в связи с отсутствием необходимости культивирования микроорганизмов и их внесения в грунт. В обработанных образцах, где новоосажденный кальцит занял менее 10% порового объема, более чем на порядок величины снизилась проницаемость, а сила сжатия при неконсолидированном компрессионном испытании находилась в пределах 0,4–1,6 МПа [429].

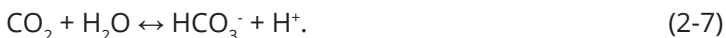
Немати и Вурдоу наблюдали снижение проницаемости песчаника на 98% при образовании кальцита в результате ферментативной обработки породы [329].

Запатентован способ использования фермента уреазы для осаждения карбонатных минералов в инженерно-геологических целях [274].

Другим ферментом, который может быть использован для осаждения кальцита, считают карбоангидразу, катализирующую



взаимопревращение углекислого газа и воды в бикарбонат-ион и протон [183, 247]:



Метаболизм культуры *B. cereus* приводил к выпадению в среде кристаллов кальцита иррегулярной формы, биологическая опосредованность образования которых подтверждалась исследованиями изотопов углерода – величина  $\delta^{13}\text{C}$  новообразованного кальцита была -10,86‰, в то время как для среды культивирования микроорганизмов она была равной -9,256‰ (в сравнении со стандартом  $\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}$ ). То есть культура *B. cereus* метаболизировала органические соединения среды до углекислого газа, который затем реагировал с ионами кальция среды, образуя осадок кальцита [247].

Использование способности микроорганизмов к осаждению кальцита может найти широкое применение в мелиорации грунтов, включая иммобилизацию загрязняющих веществ, предотвращение эрозии, стабилизацию склонов и фундаментов сооружений, стабилизацию грунтов при прокладке тоннелей, укрепление грунтовых дамб и плотин [238, 339]. Использование микроорганизмов, осаждающих карбонат кальция, предлагается даже для изготовления конструкционных материалов [236].

## 2.2. Формирование состава твердой компоненты дисперсного грунта

Аварийные ситуации на нефтехранилищах как местного, так и мирового масштаба (например, разгерметизация резервуара с дизельным топливом в г. Норильске) требуют, с одной стороны, повысить несущую способность грунтового основания, а с другой, понизить проницаемость грунтов. Для решения вышеприведенной проблемы с резервуарами, расположенными в Пермском крае, в пределах дамбы обвалования грунты до глубины 0,2-0,3 м должны характеризоваться модулем деформации ( $E$ ) 24-26 МПа и коэффициентом фильтрации ( $K_f$ ) 1-2 м/сут. для повышения защищенности подземного водоносного горизонта от загрязнения с поверхности [109]. Нами были проведены исследования по формированию состава

ва и свойств твердой компоненты дисперсного грунта, а именно, снижению фильтрационных характеристик за счет осаждения кальцита в поровом пространстве грунта при активировании жизнедеятельности автохтонных уреолитических микроорганизмов грунта с целью повышения защищенности подземного водоносного горизонта от загрязнения с поверхности при размещении промышленных объектов.

**Оценка состояния грунта.** Опыты по формированию состава твердой компоненты грунта проводили на полигоне, расположенном в сосновом бору на территории г. Перми на правом берегу р. Кама, где под тонким дерново-почвенным слоем залегают аллювиальные пески четвертичного возраста – песок мелкий до глубины 0,2 м и песок средней крупности ниже, подстилаемые тугопластичным суглинком. Лабораторные исследования проводились по общепринятым методикам [29, 31], компрессионные испытания проводились на приборе КПП-1М с одомером (Российская Федерация) [28], номенклатуру грунтов определяли по [30]. Характеристика гранулометрического состава, физических и физико-механических свойств грунта приведена в таблице 2-1. Минеральный состав грунта представлен в таблице 2-2.

**Оценка микробной составляющей грунта.** Для определения численности отдельных физиологических групп микроорганизмов в пробах грунта и воды из тела плотины использовали метод посева из предельных десятичных разведений в стерильном фосфатно-солевом буферном растворе [25] на соответствующие селективные среды для определения численности аэробных гетеротрофных, аммонифицирующих, денитрифицирующих и восстанавливающих железо (III) микроорганизмов [84].

Оценка микробной составляющей грунта показала наличие в ней гетеротрофных аэробных микроорганизмов, способных использовать органические соединения для своего роста, в количестве до нескольких миллионов кл/г. Количество аммонифицирующих микроорганизмов, способных метаболизировать мочевины, достигало 1 млн. кл/г. В грунте также обнаружены микроорганизмы, способные к денитрификации и восстановлению железа (каждая группа в количестве нескольких тысяч кл/г). Все выявленные группы микроорганизмов в процессе своего роста на органических соединениях образуют углекислый газ и, следовательно, активизация их жизнедеятельности будет способствовать выпадению кальцита при наличии в среде ионов кальция. В таблице 2-3 показано воздействие данных групп микроорганизмов на компоненты грунта.

Таблица 2-1

**Гранулометрический состав и физико-механические свойства грунта (по: [192])**

Наименование грунта	Глубина залегания, м	Плотность, г/см <sup>3</sup>	Коэффициент пористости	Модуль деформации E, МПа	Коэффициент фильтрации, м/сут.	Гранулометрический состав, %					
						2,0-0,5 мм	0,5-0,25 мм	0,25-0,1 мм	0,1-0,05 мм	0,05-0,005 мм	0,005 мм и менее
Песок мелкий	0,2	1,64	0,725	13,33	5,0-5,76	3,81	44,38	46,36	5,45		
Песок средней крупности	0,4	1,74	0,737	16,00		2,51	63,36	25,38	8,75		
Суглинок	1,2	1,78	0,751	18,00	0,45		1,39	11,51	20,0	47,18	18,92

Таблица 2-2

**Минеральный состав грунта (по: [192])**

Наименование грунта	Содержание, мас. %				
	Кварц	Полевые шпаты	Гидрослюды	Кальцит	Гипс
Песок мелкий	84,2	12,3	3,5	ниже уровня определения	ниже уровня определения

Однако, аэробные условия среды не благоприятствуют развитию денитрифицирующих и железовосстанавливающих микроорганизмов. Более того, для их активирования потребовалось бы не только создание анаэробных условий среды, но и внесение биомассы этих микроорганизмов вследствие их невысокой численности. Активирование денитрифицирующих микроорганизмов требует также дополнительного внесения в среду нитратных солей. Следует учесть, что жизнедеятельность железовосстанавливающих микроорганизмов обычно сопровождается разрушением железистого цемента, скрепляющего частицы грунта, и снижением прочностных характеристик грунта, которые будет необходимо компенсировать образованием кальцитового цемента. Осаждению кальцита благоприятствуют щелочные условия среды, поэтому при использовании аэробных гетеротрофных микроорганизмов вместе с органическим веществом потребуются внесение щелочных добавок. Использование же аммонифицирующими микроорганизмами мочевины сопровождается не только образованием углекислого газа, но и защелачиванием среды вследствие выделения аммиака. Эти причины предопределили выбор аммонифицирующих микроорганизмов для их последующего использования.

Таким образом, в исследуемом грунте выявлены и сгруппированы микроорганизмы, оказывающие влияние на формирование его состава и свойств. Для изменения свойств грунта была разработана технология активирования микроорганизмов.

## Влияние микроорганизмов дисперсного грунта на его свойства (по: [119])

Изменение свойств дисперсного грунта			Процессы в твердой компоненте грунта
Твердая компонента	Жидкая компонента	Газовая компонента	
Уменьшение пористости и увеличение прочности грунта	Увеличение рН порового раствора	Не изменяется	Осаждение $\text{CaCO}_3$ в поровом пространстве
Уменьшение пористости и увеличение прочности грунта	Увеличение рН порового раствора	Не изменяется	Осаждение $\text{CaCO}_3$ в поровом пространстве
Уменьшение пористости и увеличение прочности грунта	Увеличение рН порового раствора и снижение влажности	Увеличение газоносности и газосодержания	Осаждение $\text{CaCO}_3$ в поровом пространстве
Уменьшение пористости и увеличение прочности грунта	Увеличение рН порового раствора	Не изменяется	Осаждение $\text{CaCO}_3$ в поровом пространстве, растворение железистого цемента

**Разработка технологии активирования жизнедеятельности микроорганизмов.** В лабораторных условиях исследовали возможность активации жизнедеятельности аммонифицирующих уреолитических микроорганизмов грунта добавкой мочевины, для чего определяли газообразующую способность микроорганизмов грунта по способу [76]. Активация аммонифицирующих уреолитических микроорганизмов грунта мочевиной показала, что объем выделенного газа возрастал на 7 сутки и существенно уменьшался на 15 сутки [93].

Проводили лабораторные исследования влияния количества аммонифицирующих уреолитических микроорганизмов (их биомассы) в грунте на его свойства [192]. Гранулометрический состав, физические и физико-механические свойства грунта после обработки представлены в таблице 2-4.

Из данных таблиц 2-1 и 2-4 видно, что увеличение численности (биомассы) уреолитических микроорганизмов приводило к росту модуля деформации грунта с 13,33 МПа до 24,99 МПа и снижению коэффициента пористости до 0,525. При этом наблюдалась прямая нелинейная статистически значимая зависимость между количеством внесенной биомассы и модулем деформации ( $r = 0,73$  при  $p = 0,002$ ). По результатам исследований для стимулирования роста в грунте численности аммонифицирующих уреолитических микроорганизмов был подобран состав питательной среды, содержащей глюкозу и мясо-пептонный бульон, а для активирования их жизнедеятельности – мочевины.

Проводили лабораторный эксперимент по подбору оптимального состава раствора для активирования микроорганизмов грунта и одновременной его цементации образующимся кальцитом, при этом использовали концентрацию мочевины 20 г/л как в [117]. В вариантах опытакратно увеличивали содержание глюкозы и мясо-пептонного бульона при сохранении соотношения их концентраций между собой. В одном из вариантов наряду с четырехкратной концентрацией питательных веществ использовали двукратную концентрацию минеральной основы и мочевины (таблица 2-5). После 21 суток выдержки определялись деформационные свойства проб грунта. Результаты эксперимента показали, что концентрация различных компонентов раствора, вносимого в несвязный песчаный грунт, влияет в дальнейшем на степень повышения его прочностных характеристик (рисунки 2-3).

Таблица 2-4

**Гранулометрический состав и физико-механические свойства образцов грунта на 9 суток после добавления биомассы уреолитических бактерий (по: [192])**

Наименование грунта	Естественная влажность, д.ед.	Коэффициент водонасыщения, д.ед.	Плотность, г/см <sup>3</sup>			Коэффициент пористости	Модуль деформации, МПа	Гранулометрический состав, %				Количество добавленной биомассы, г/кг	
			Частиц	естественная	скелета			2,0-0,5 мм	0,5-0,25 мм	0,25-0,1 мм	0,1-0,05 мм		
Песок мелкий	0,107	0,416	2,64	1,74	1,572	0,680	15,69	2,78	42,01	53,09	2,11	нет	
	0,033	0,121	2,65	1,59	1,539	0,722	15,63	3,03	44,54	50,28	2,15	нет	
	0,087	0,432	2,61	1,86	1,711	0,565	14,09	-	-	-	-	нет	
	0,047	0,165	2,65	1,58	1,509	0,756	17,89	3,43	44,01	50,41	2,15	0,5	
	0,002	0,01	2,64	1,58	1,579	0,671	13,33	-	-	-	-	0,5	
	0,047	0,165	2,65	1,58	1,509	0,756	15,63	-	-	-	-	0,5	
	0,04	0,141	2,67	1,58	1,519	0,757	18,18	2,99	43,28	50,9	2,83	1,0	
	0,04	0,141	2,67	1,58	1,519	0,757	15,88	2,95	43,3	50,91	2,84	1,0	
	0,002	0,01	2,64	1,56	1,559	0,692	16,00	-	-	-	-	-	1,0
	0,003	0,01	2,64	1,67	1,669	0,581	14,54	-	-	-	-	-	1,0
	0,122	0,432	2,61	1,87	1,711	0,525	19,36	3,83	47,04	47,84	1,26	1,6	
	0,116	0,543	2,61	1,87	1,676	0,558	17,54	3,68	43,46	50,64	2,21	1,6	
	0,11	0,424	2,64	1,74	1,568	0,684	21,84	2,49	38,82	56,52	2,17	1,6	
	0,11	0,424	2,64	1,74	1,568	0,684	24,99	-	-	-	-	-	1,6

«-» – анализ не проводился

**Схема эксперимента по подбору оптимального состава раствора для активирования микроорганизмов (по: [39])**

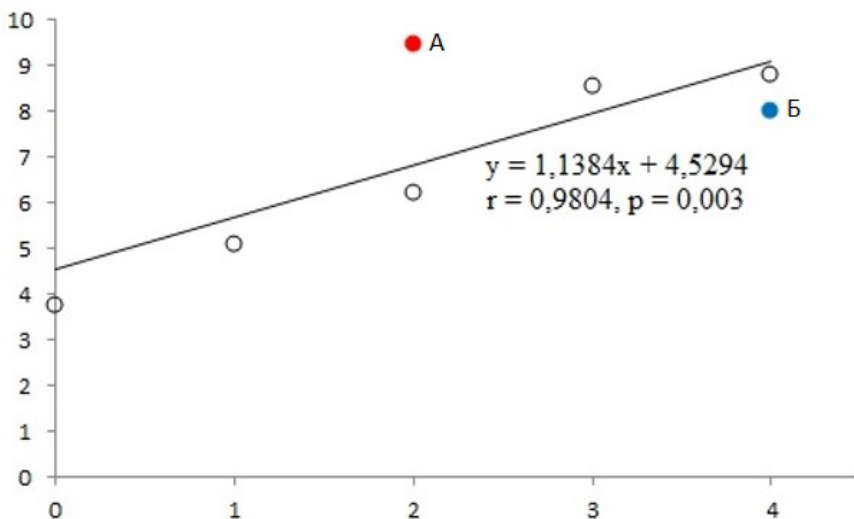
Номер образца	Вода, используемая в растворе	Глюкоза, г/л	Мясо-пептонный бульон сухой, г/л	CaCl <sub>2</sub> , г/л	Мочевина, г/л
1	дистиллированная	5	0,75	37,5	20
2	дистиллированная	10	1,5	37,5	20
3	дистиллированная	15	2,25	37,5	20
4	речная	10	1,5	37,5	20
5	дистиллированная	20	3,0	37,5	20
6	дистиллированная	20	3,0	75	40

При физико-механических испытаниях грунтов величина модуля деформации возрастала в прямой зависимости от роста концентрации компонентов раствора, что могло быть следствием возрастания в грунте количества осажденного кальцита в результате стимуляции увеличения общего количества микроорганизмов поступающими органическими соединениями. Максимальная величина модуля деформации зафиксирована в образцах 3 и 5 (не считая образец 4) при их незначительном различии между собой (разница на 1,5%). При этом концентрация компонентов в растворе, вносимом в образец 3, составляла половину от максимальной концентрации раствора, вносимого в образец 6. В образце 6 (максимальная из используемых концентрация питательных веществ и мочевины) модуль деформации грунта также незначительно отличался от такого в образцах 3 и 5 (разница на 6–7%), что может являться результатом достижения величиной модуля деформации определенного предела, вероятно связанного с максимально возможной скоростью разложения мочевины микроорганизмами и, соответственно, образования кальцита. Максимальная величина модуля деформации за-



фиксирована у образца 4, что, по-видимому, связано с используемой для раствора речной водой, которая в отличие от дистиллированной воды содержит дополнительную биомассу микроорганизмов, способных к разложению мочевины. Таким образом, для активирования микроорганизмов с целью укрепления несвязного песчаного грунта оптимальным является раствор следующего состава: глюкоза – 15 г/л, мясо-пептонный бульон сухой – 2,25 г/л, хлорид кальция,  $\text{CaCl}_2$  – 37,5 г/л, мочевина – 20 г/л.

Модуль деформации  $E$ , МПа



Кратность питательного раствора, ед.

А – данные для образца № 4 – модуль деформации, полученный при использовании речной воды для приготовления раствора 2-кратной концентрации питательных веществ.

Б – данные для образца № 6 – модуль деформации, полученный при использовании 4-кратной концентрации питательного раствора и 2-кратной концентрации мочевины и хлорида кальция.

Рисунок 2-3

**Изменение величины модуля деформации грунта с активированными уреолитическими микроорганизмами в зависимости от концентрации раствора, используемого для активирования (по: [39])**

**Разработка технологии формирования состава и свойств твердой компоненты грунта.** Технология осуществляется поэтапно: на первом этапе производится обработка грунта раствором для активирования микроорганизмов, на втором этапе грунт обрабатывается раствором для осаждения биогенного кальцита (цементационная обработка). Обработка второго этапа проводится через 10 сут. после обработки первого этапа. Обязательными компонентами раствора для осаждения биогенного кальцита являются  $\text{CaCl}_2$  (в количестве 37 г/л) и мочевины (20 г/л).

Было разработано четыре технологические схемы обработки грунта (рисунок 2-4), отличающиеся как количеством обработок грунта и, соответственно, общей длительностью обработки, так и расчетным количеством осажденного кальцита, коэффициента пористости и финансовыми затратами на обрабатываемые растворы (рисунок 2-5). В результате для использования в полевых условиях были выбраны две схемы обработки грунта – схемы № 3 и 4.

Для исследований *in situ* в полевых условиях на полигоне было подготовлено 4 площадки с ровной поверхностью размером 1,0 x 1,0 м, с которых был полностью удален верхний дерново-почвенный слой: 2 площадки были опытными, 2 использовались в качестве контроля.

Для первой обработки опытных площадок использовали по 40 литров раствора для стимулирования роста и активирования жизнедеятельности аммонифицирующих микроорганизмов, содержащего 200 г мочевины, 40 г глюкозы, 60 г сухого мясо-пептонного бульона. В одну из опытных площадок в качестве биодополнения внесли жидкую культуру аммонифицирующих микроорганизмов, содержащую 4 г сырой биомассы (в соответствии с технологической схемой № 4). В контрольные площадки вносили по 40 литров воды.

Вторая обработка, цементационная, проводилась через 10 суток после первой. Для опытных площадок использовали по 40 литров раствора, содержащего 1480 г  $\text{CaCl}_2$ , 800 г мочевины, 40 г глюкозы, 4 г сухого мясо-пептонного бульона. В контрольные площадки вносили по 40 л воды. Обработку повторяли еще два раза с интервалами между обработками 10 суток.

Через 14 дней после последней обработки исследовали фильтрационные характеристики грунта, а также отбирали пробы грунта с поверхности площадок (далее – песок мелкий) и с глубины 0,2 м (далее – песок средней крупности) для анализа их грану-

лометрического состава, физических характеристик, минерального состава.

### Схема 1

2-этапная обработка грунта:

**1 этап** - обработка активизирующим раствором;

**2 этап** - обработка раствором:

CaCl<sub>2</sub> 37 гл/л,  
мочевина 20 гл/л,  
глюкоза 15 гл/л,  
сухой мясо-пептонный бульон  
2,25 гл/л.

### Схема 2

4-этапная обработка грунта:

**1 этап** - обработка активизирующим раствором;

**2-4 этапы** - обработка раствором:

CaCl<sub>2</sub> 37 гл/л,  
мочевина 20 гл/л,  
глюкоза 15 гл/л,  
сухой мясо-пептонный бульон  
2,25 гл/л.

### Схема 3

4-этапная обработка грунта:

**1 этап** - обработка активизирующим раствором;

**2-4 этапы** - обработка раствором:

CaCl<sub>2</sub> 37 гл/л,  
мочевина 20 гл/л,  
глюкоза 1 гл/л,  
сухой мясо-пептонный бульон  
0,1 гл/л.

### Схема 4

4-этапная обработка грунта:

**1 этап** - обработка активизирующим раствором;

**2-4 этапы** - обработка раствором:

CaCl<sub>2</sub> 37 гл/л,  
мочевина 20 гл/л,  
глюкоза 1 гл/л,  
сухой мясо-пептонный бульон  
0,1 гл/л.

Рисунок 2-4

**Состав растворов разных технологических схем обработки грунта (по: [119])**

### Схема 1

Продолжительность работ  
- 10 сут.

Анализ свойств грунта  
- на 17 сут.

Расчетное кол-во  
осажденного  $\text{CaCO}_3$  - 1,5 кг

Расчетный коэффициент  
пористости - 0,715

Стоимость раствора для  
цементационных обработок  
- 32 500 руб/м<sup>3</sup>

### Схема 2

Продолжительность работ  
- 30 сут.

Анализ свойств грунта  
- на 37 сут.

Расчетное кол-во  
осажденного  $\text{CaCO}_3$  - 4,5 кг

Расчетный коэффициент  
пористости - 0,701

Стоимость раствора для  
цементационных обработок  
- 32 500 руб/м<sup>3</sup>

### Схема 3

Продолжительность работ  
- 30 сут.

Анализ свойств грунта  
- на 37 сут.

Расчетное кол-во  
осажденного  $\text{CaCO}_3$  - 4,5 кг

Расчетный коэффициент  
пористости - 0,701

Стоимость раствора для  
цементационных обработок  
- 16 150 руб/м<sup>3</sup>

### Схема 4

Продолжительность работ  
- 30 сут.

Анализ свойств грунта  
- на 37 сут.

Расчетное кол-во  
осажденного  $\text{CaCO}_3$  - 4,5 кг

Расчетный коэффициент  
пористости - 0,701

Стоимость раствора для  
цементационных обработок  
- 16 150 руб/м<sup>3</sup>

Стоимость раствора для цементационной обработки рассчитана по розничным ценам на ноябрь 2021 г.

Рисунок 2-5

**Характеристика разных технологических схем обработки грунта (по: [119])**

Таблица 2-6

**Формирование свойств грунтов в полевых условиях активированием аммонифицирующих микроорганизмов (по: [192])**

Вид грунта	Плотность, г/см <sup>3</sup>	Коэффициент пористости	Коэффициент фильтрации, м/сут.	Гранулометрический состав, %				Технология обработки
				2.0-0,5 мм	0,5-0,25 мм	0,25-0,1 мм	0,1-0,05 мм	
Песок мелкий	1,64	0,725	5,0-5,76	3,81	44,38	46,36	5,45	Природные условия
	1,74	0,737		2,51	63,36	25,38	8,75	
Песок средней крупности	1,70	0,692	1,04	2,51	53,02	38,52	5,94	По схеме 3
	1,72	0,682		2,40	50,61	36,77	10,22	
Песок мелкий	1,68	0,682	3,50	3,37	65,15	26,82	4,65	По схеме 4
	1,71	0,650		3,20	61,78	25,43	9,59	
Песок средней крупности	1,69	0,692	3,50	1,85	50,30	38,17	9,67	По схеме 4
	1,68	0,692		1,94	52,70	39,99	5,37	
Песок мелкий	1,55	0,796	Н.о.	2,12	53,78	37,92	6,19	По схеме 4
	Н.о.	Н.о.		2,04	51,94	36,62	9,39	

Н.о. – не определялся.

Результаты исследования гранулометрического состава грунта и его физических характеристик представлены в таблице 2-6. Плотность грунта верхней части разреза с активированными микроорганизмами по отношению к исходному грунту возрастала с 1,64 г/см<sup>3</sup> до 1,72 г/см<sup>3</sup>, а пористость и коэффициент фильтрации уменьшались соответственно с 0,725 до 0,682 и с 5,76 м/сут до 1,04 м/сут. Подобные же изменения были характерны для верхнего слоя песка средней крупности, отобранного с глубины 0,2 м. То есть глубина обработки грунта при используемой технологии была не менее 0,2 м.

Результаты опыта с добавлением в грунт биомассы аммонифицирующих микроорганизмов в количестве 4 г/м<sup>2</sup> оказались несколько хуже опыта по стимуляции аборигенной аммонифицирующей микрофлоры. Причиной этого может быть разница изначальных фильтрационных характеристик площадок или неравномерное распределение новообразованного карбонатного цемента в грунте, что повлияло на скорость фильтрации воды при проведении измерений.

Таблица 2-7

**Изменение минерального состава грунта при активировании микроорганизмов (по: [192])**

Наименование грунта	Содержание, %					Технология обработки
	Кварц	Полевые шпаты	Гидрослюда	Кальцит	Гипс	
Песок мелкий	84,2	12,3	3,5	ниже уровня определения	ниже уровня определения	Природные условия
	77,0	12,7	7,2	3,1	ниже уровня определения	По схеме 3
	79,8	12,8	4,9	2,5	ниже уровня определения	По схеме 4

Активация микроорганизмов грунта влияла также и на его минеральный состав (таблица 2-7). Результаты рентгено-дифракционного анализа показали, что в грунте появляется кальцит, содержание кварца уменьшается с 84,2% до 77%, а содержание глинистых минералов (гидрослюд), наоборот, увеличивается с 3,5% до 7,2%.

Результаты электронной микроскопии показали, что активирование жизнедеятельности аммонифицирующих микроорганизмов песчаного грунта добавлением мочевины и органических соединений вызывает образование частиц кальцита, заполняющих поровое пространство грунта (рисунки 2-6, 2-7). Таким образом, активизация автохтонных уреолитических микроорганизмов дисперсного песчаного грунта приводила к изменению его минерального состава и физико-механических свойств в результате выпадения в поровом пространстве грунта биогенного кальцита.

Результаты наших исследований, а также исследований других авторов показывают, что при активировании жизнедеятельности аммонифицирующих микроорганизмов в грунте протекают следующие процессы: разложение мочевины с образованием углекислого газа и аммиака и защелачивание среды. Добавление в среду ионов кальция приводит к образованию и осаждению кальцита. В результате выпадения в поровом пространстве кальцита происходит снижение пористости и коэффициента фильтрации грунта, образование в грунте новых структурных связей и рост прочностных и деформационных свойств грунта.

Таким образом, технология формирования состава и свойств твердой компоненты грунта путем активирования жизнедеятельности аммонифицирующих микроорганизмов грунта была апробирована в полевых условиях. Результаты исследования были защищены патентом на изобретение [78]. Данная технология может быть применена для улучшения прочностных свойств несвязных грунтов, а также для снижения их фильтрационных свойств с целью повышения защищенности подземных водоносных горизонтов от загрязнения с поверхности.

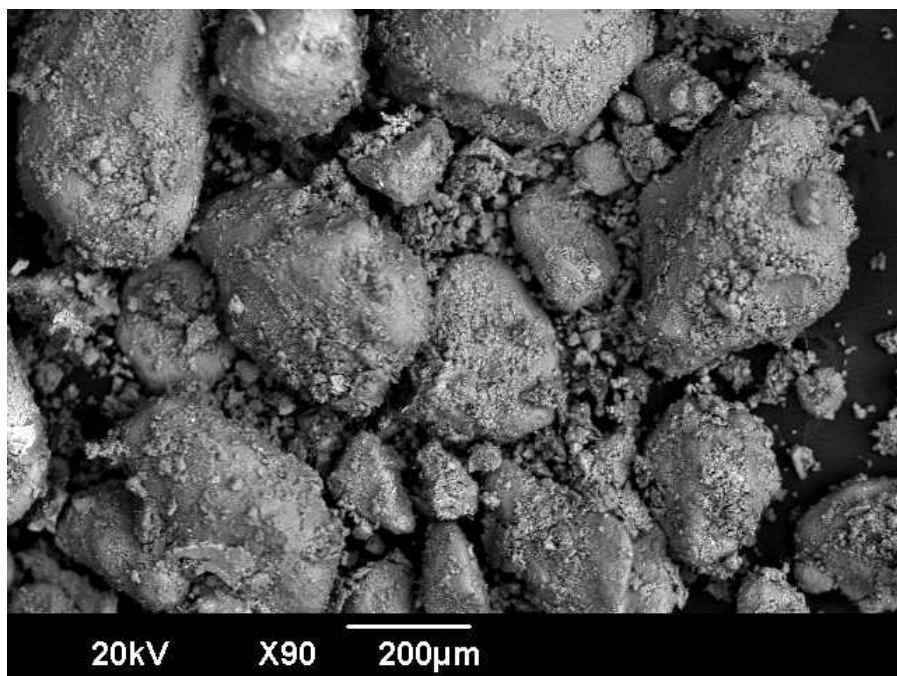


Рисунок 2-6

**Мелкозернистый кальцит между зернами кварца и полевого шпата в образце грунта, обработанного по схеме 3 (по: [192])**



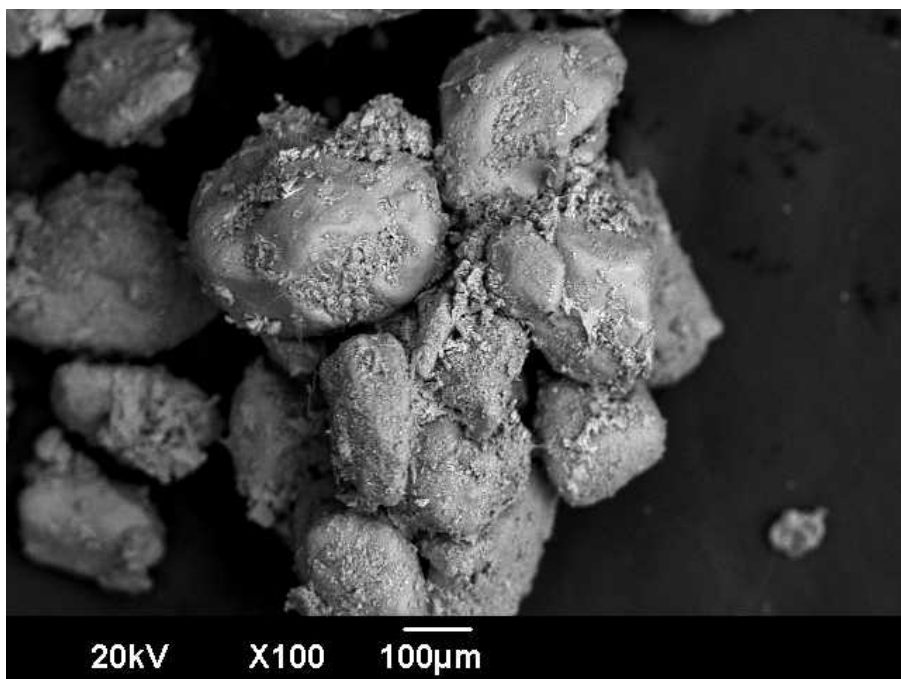


Рисунок 2-7

**Скопления зерен кварца и полевых шпатов, сцементированных вторичным кальцитом, в образце грунта, обработанного по схеме 4 (по: [192])**

# ФОРМИРОВАНИЕ СОСТАВА ЖИДКОЙ КОМПОНЕНТЫ ГРУНТА

## 3.1. Жидкая компонента грунта породных отвалов горнодобывающей промышленности

### 3.1.1. Формирование химического состава дренажных вод породных отвалов

Разработка недр предприятиями горнопромышленного комплекса связана с извлечением на поверхность земли большого количества отработанных пород, которые складировются на поверхности в виде отвалов. Объем ежегодного накопления техногенных грунтов – продуктов горнодобывающей промышленности – почти в три раза превышает объем твердого стока рек, а горнотехническая деятельность человека, включающая добычу и переработку полезных ископаемых и накопление техногенных грунтов, превосходит некоторые геологические процессы [90].

Основными процессами, протекающими в породных отвалах и оказывающими воздействие на их минеральный и вещественный состав, являются процессы техногенного выветривания [98]. Выветривание, как правило, сопровождается увеличением объема породы, ее раздроблением, разрыхлением, увеличением удельной поверхности. Внешними и наиболее четкими признаками выветривания породы служат ее осветление, появление пятнистой окраски, бурых натеков и корочек ожелезнения на стенках трещин, натеки в пустотах, иногда присутствие гипса. Характерными процессами выветривания являются: накопление в выветривающихся породах тонкораздробленного коллоидного материала; появление новых минералов; увеличение трещиноватости и пористости пород; полное или

частичное уничтожение связей, существовавших между частицами пород; гидратация, то есть связывание в продуктах выветривания большого количества воды; накопление органического вещества в результате жизнедеятельности организмов [121]. В зоне выветривания извлеченные породы представляют собой сложную систему, состоящую из растворимых и нерастворимых продуктов. С точки зрения механизма воздействия на породы, слагающие отвалы, техногенное выветривание можно разделить на механическое и химическое. В процессе механического выветривания происходит разрушение пород, слагающих отвалы (в основном, под влиянием давления). Данный процесс приводит к трансформации вещественного состава и изменению фильтрационных свойств отвалов. Под влиянием климатических факторов происходят процессы высыхания-увлажнения отвалов. Эти процессы также сопровождаются разрушением пород за счет давления, возникающего при набухании и усадке слоистых силикатов, входящих в минеральный состав отвалов. Породы шахтных отвалов в результате процессов выветривания приобретают зональное строение, происходит увеличение плотности пород, а также снижение их проницаемости [98]. Основными агентами химического выветривания пород, слагающих отвалы, являются кислород воздуха, атмосферные осадки и грунтовые воды. Под действием этих агентов происходит ряд геохимических процессов, среди которых основным процессом, определяющим значительные масштабы трансформации отвалов, является окисление.

В процессе окисления органического вещества пород отвалов образуются углекислота и органические кислоты, являющиеся кислым резервом в системе вода–порода–органическое вещество–газ и способствующие устойчивому развитию гидролиза алюмосиликатных минералов. Углекислота, получаемая в процессе окисления органических веществ, а также привнесенная инфильтрационными водами, расходуется на формирование  $\text{HCO}_3^-$ -иона в результате нейтрализации  $\text{OH}^-$ -группы, образующейся при гидролизе алюмосиликатных минералов, и на растворение карбонатов. Преобразование в водной среде алюмосиликатного минерального комплекса пород приводит к созданию щелочного резерва и переводу в раствор различных катионов. Большая часть образующихся катионов и их гидроокисей нейтрализуется  $\text{HCO}_3^-$ -ионом, углекислотой и органическими кислотами. Это приводит к формированию  $\text{HCO}_3^-$ -Ca, Ca-Mg, Mg-Ca вод [94]. Взаимодействие атмосферных осадков с породами отвалов, содержащими пирит, ведет к развитию в теле отвалов сер-

нокислотного процесса и формированию кислых дренажных вод аналогично процессу образования кислых шахтных вод [63]. К факторам, благоприятствующим развитию сернокислотного процесса, относятся: 1) высокое содержание серы – кислые шахтные воды обычно не образуются при содержании серы менее 1%; 2) наличие кислорода – в условиях влажности шахты скорость реакции окисления серы пропорциональна концентрации кислорода; 3) динамика вод – в условиях стабильной водной разгрузки и хорошей проницаемости пород кислые продукты вымываются, не достигая высокой концентрации, что затрудняет образование сильнокислых шахтных вод [301]. Наиболее интенсивно дренажные воды образуются во время обильных дождей или весеннего снеготаяния [5, 54]. Из всего многообразия минералов, содержащихся в отвалах, активной всего окислению подвергаются сульфиды и другие минералы с закисными формами атомов [74]. Добыча полезных ископаемых активизирует процесс, так как при этом улучшается контакт сульфидных минералов с водой и кислородом воздуха. Образующиеся дренажные воды могут иметь разную реакцию среды (от кислой до щелочной), содержать или не содержать тяжелые металлы, но они всегда содержат сульфат-ионы. Если процесс образования дренажных вод начался, и если его не остановить, то он будет продолжаться до тех пор, пока не исчерпается весь запас одного из реактантов – сульфидных минералов, воды или воздуха. Процесс может длиться столетиями после прекращения разработки полезных ископаемых [432].

Дренажные воды по кислотно-щелочной реакции среды и минерализации подразделяются на кислые, нейтральные и соленые. Нейтральные и соленые дренажные воды образуются при окислении пород, содержащих достаточное количество основных (т.е. щелочных) минералов, чтобы нейтрализовать кислотность. Нейтральные дренажные воды содержат повышенные концентрации тяжелых металлов, а соленые дренажные воды – сульфатов. Также существенными компонентами соленых дренажных вод являются ионы магния и кальция. Следует отметить, что нейтральные и соленые дренажные воды могут образовываться одновременно. Результатом этого будет образование нейтральных вод с повышенным содержанием тяжелых металлов и сульфатов. При отсутствии четко установленных количественных критериев для разделения дренажных вод на типы обычно руководствуются следующими правилами:

- если pH дренажных вод ниже 6, то воды считаются кислыми; при pH выше 6 дренажные воды могут быть как нейтральными, так и солеными;

- содержание сульфатов 1000 мг/л считается пороговым значением для разделения нейтральных и соленых дренажных вод [340].

Образование, высвобождение, движение и изменение дренажных вод – сложные процессы, определяющиеся комбинацией физических, химических и биологических факторов. Какой тип вод (кислые, нейтральные или соленые) поступит в конечном счете в окружающую среду, зависит от характеристик их источника, путей передвижения и свойств объектов самой окружающей среды, которые варьируют в зависимости от минерального сырья, климата, используемого способа и стадии разработки шахты.

Характеристики и относительное содержание сульфидов и нейтрализующих минералов, которые играют определяющую роль в природе образующихся дренажных вод, варьируют в зависимости от минерального сырья и типа залежи, способа шахтной разработки и способа утилизации образующихся отходов. Пути и механизмы перемещения дренажных вод зависят от климатических и сезонных характеристик и гидрогеологических условий. Климатические и сезонные условия определяют, будут ли дренажные воды образовываться постоянно или периодически, будут ли они разбавленными или высококонцентрированными. Гидрогеологические условия определяют время контакта между породой и раствором. Объекты окружающей среды, получающие дренажные воды, могут также изменять их природу. Примерами таких объектов являются грунтовые воды, поверхностные воды, заболоченные почвы. Все они могут изменять первоначальные характеристики дренажных вод в результате физического перемешивания, химических и биологических реакций.

Влияние материалов, климата, используемой технологии или стадии разработки шахт на природу дренажных вод может быть показано с помощью диаграмм Фиклина (Ficklin) или аналогичных им. Диаграммы Фиклина могут быть использованы для интерпретирования вариаций химического состава дренажных шахтных вод разных залежей [340]. Обычная диаграмма Фиклина представляет собой точечный график в координатах «Сумма основных металлов (цинк, медь, свинец, кадмий, кобальт, никель) – рН». Выбор данных параметров обусловлен тем, что они обладают большей диагностической ценностью при разделении разных геологических условий. Однако, вместо суммы данных металлов могут быть использованы и другие параметры, отражающие влияние сырья, климата, технологии и стадии разработки шахты.

На рисунке 3-1 представлена диаграмма Фиклина, обобщающая данные для дренажных вод широкого круга залежей полезных ископаемых в зависимости от рН среды и содержания металлов, на рисунке 3-2 – в зависимости от рН среды и содержания сульфатов.

Диаграммы Фиклина могут быть использованы для иллюстрации факторов, влияющих на состав образующихся дренажных вод: увеличение содержания в породах пирита ведет к образованию более кислых вод, увеличение содержания сульфидов металлов ведет к увеличению содержания металлов в дренажных водах, а увеличение содержания в породах карбонатных минералов ведет к образованию более щелочных вод (рисунок 3-3).

Потенциальными источниками образования кислых, нейтральных и соленых дренажных вод являются сульфидные минералы и продукты их окисления. Самый распространенный сульфидный минерал – пирит ( $\text{FeS}_2$ ). Содержание пирита в породах и его гранулометрический состав – важные факторы, влияющие на образование кислых шахтных вод [330].

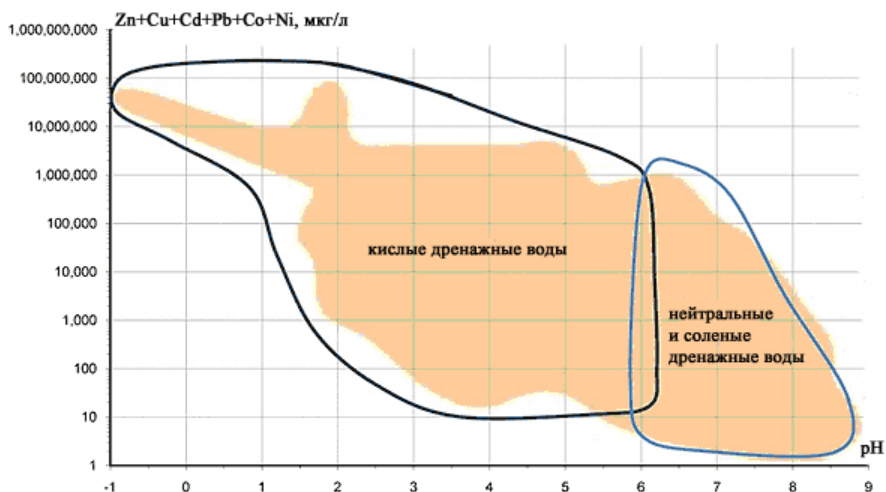


Рисунок 3-1  
**Химическая характеристика типов дренажных вод в зависимости от рН и содержания металлов (по: [340])**

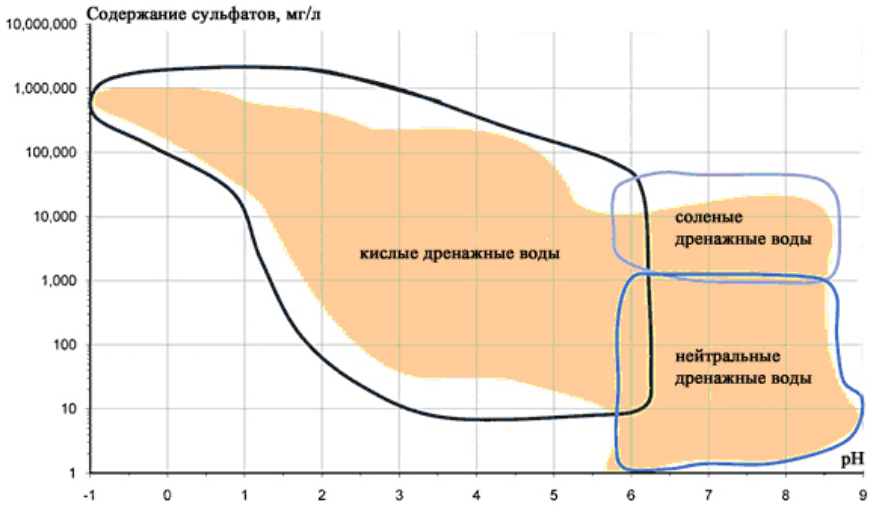


Рисунок 3-2  
**Химическая характеристика типов дренажных вод в зависимости от pH и содержания сульфатов (по: [340])**

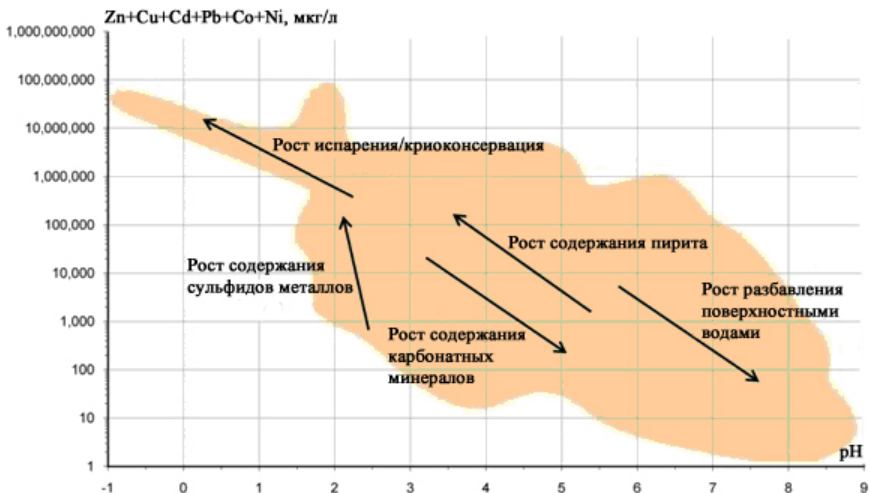
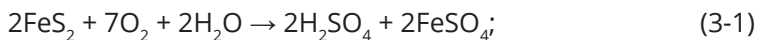


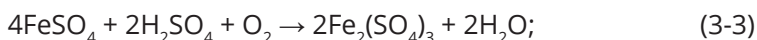
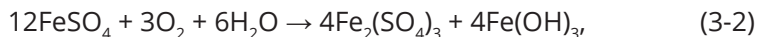
Рисунок 3-3  
**Факторы, влияющие на состав дренажных вод (по: [340])**

Окисление сульфидов является многостадийным биохимическим процессом, которое, как правило, усиливается с увеличением размеров зоны аэрации и площади отвалов на поверхности. Выделяют три стадии окисления пирита [231, 379, 392]:

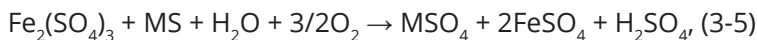
1) при развитии сернокислотного процесса окисление пирита дает серную кислоту и сульфат двухвалентного железа:



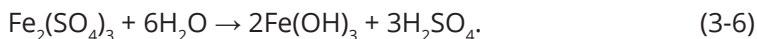
2) в окислительной среде сульфат двухвалентного железа превращается в сульфат трехвалентного железа:



3) сульфат трехвалентного железа окисляет различные сульфиды:



а также гидролизуется до серной кислоты:

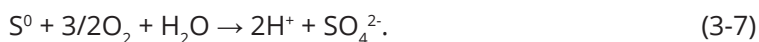


Процесс образования кислых шахтных вод значительно ускоряется деятельностью микроорганизмов, так как многие ацидофильные (кислотолюбивые) микроорганизмы могут ускорять растворение сульфидных минералов путем окисления железа и/или восстановленных форм серы [259, 391, 331]. Например, абиотическое окисление по реакции (3-1) преобладает в растворах с pH более 4 [159] и ограничивается доступностью растворенного кислорода, но усиливается бактерией *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Сульфат трехва-



лентного железа быстро окисляет пирит абиотически и анаэробно по реакции (3-4), которая становится преобладающей в кислых средах [159], однако для ее поддержания сульфат трехвалентного железа должен регенерироваться по реакции (3-3), которая ограничивает скорость реакции (3-4). В кислых условиях (рН менее 3) реакция (3-3) обычно опосредована бактериями, и скорость бактериального процесса окисления на несколько порядков выше процесса абиотического окисления [368, 369].

Эксперименты показали, что микроорганизмы в кислых шахтных водах могут влиять на скорость окисления серы при растворении пирита, арсенопирита, халькопирита, марказита и сфалерита [150, 205], при этом окисление сульфид-ионов до сульфатов идет через ряд промежуточных серосодержащих соединений. Микробное использование сульфидов и промежуточных соединений может значительно влиять на ацидификацию (закисление) среды и скорость растворения пирита [136]. Степень, до которой микроорганизмы увеличивают растворение сульфидных минералов, определяется численностью железоокисляющих клеток и уровнем их активности. Серосодержащие органические соединения в процессе биохимического окисления также дают серную кислоту. Биохимическое окисление элементарной серы, содержащейся в извлеченных угленосных породах, происходит при участии бактерий *Acidithiobacillus thiooxidans*, окисляющих в процессе жизнедеятельности атомы серы по схеме [115]:



Возможно также, что в некоторых трансформациях серосодержащих соединений принимает участие кислород и ОН-радикалы [200]. В результате указанных процессов среда подкисляется серной кислотой до рН 1,5–3,5 [74, 98]. Предполагается, что микробная активность ответственна за 75% всех образующихся кислых шахтных вод [205].

Растворение пирита не является чисто химическим или чисто микробиологическим процессом. Это результат сложного взаимодействия процессов, зависящий от типа пород, структуры и химического состава минералов, наличия и химического состава флюидов, присутствия микробного сообщества, температуры [206].

Механизмы, с помощью которых микроорганизмы ускоряют растворение пирита в кислой среде остаются спорными. Силверман и Эрлих предложили два пути для окисления сульфидов металлов хемолитотрофными микроорганизмами: прямой и косвенный. Прямой путь подразумевает ферментативную атаку организмом, прикрепленным к поверхности пирита [377]. Однако, наличие прикрепленных микроорганизмов не является доказательством *per se* для существования прямого пути. Например, Санд и соавт. и Шипперс и соавт. предположили, что прикрепленные клетки вырабатывают экзополисахарид, который образует специфические комплексы с ионами трехвалентного железа, создавая таким образом локальную среду с пирит-окисляющим потенциалом [365, 368]. Кроме того, нет доказательства существования внеклеточной ферментной системы, способной к окислению сульфида, хотя такие системы были описаны для некоторых железо- (и марганец-) окисляющих бактерии [180, 393]. Косвенное окисление пирита предполагает его химическое окисление ионами  $Fe^{3+}$ . В этом случае прикрепленные или планктонные микроорганизмы образуют ионы трехвалентного железа путем окисления ионов двухвалентного железа. Хотя существуют доказательства окисления как прикрепленными, так и планктонными видами микроорганизмов, кинетика и химизм растворения сульфида остаются неясными [206].

Независимо от ферментативного или неферментативного характера реакции, микробное прикрепление к поверхности сульфида действует на его окислительное растворение. Растворение в присутствии прикрепленных организмов ведет к возникновению локального, кристаллографически контролируемого травления кристалла [141, 207, 286], которого не возникает в присутствии исключительно планктонных хемолитотрофов [207]. Микроорганизмы прикрепляются к сайтам с высокой поверхностной энергией, таким образом, стадия, лимитирующая скорость окисления пирита, протекает на его поверхности [206].

Другие сульфидные минералы, обычно обнаруживаемые в залежах полезных ископаемых, перечислены в таблице 3-1. При окислении эти минералы образуют дренажные воды одного из перечисленных выше типов. Кроме того образуется комплекс вторичных минералов, включающий в себя ряд растворимых сульфатов, водных сульфатов, гидроксисульфатов, оксидов и гидроксидов металлов, глин, карбонатов и гипергенных и диагенетических сульфидов.

Таблица 3-1

**Сульфидные минералы, участвующие в образовании  
дренажных вод при окислении (по: [340])**

<b>Минералы</b>	<b>Химическая формула</b>
Минералы, продуцирующие кислоту при окислении кислородом воздуха	
пирит, марказит	$\text{FeS}_2$
пирротит	$\text{Fe}_{1-x}\text{S}$
борнит	$\text{Cu}_5\text{FeS}_4$
арсенопирит	$\text{FeAsS}$
энаргит/фаматинит	$\text{Cu}_3\text{AsS}_4/\text{Cu}_3\text{SbS}_4$
теннантит/тетраэдрит	$(\text{Cu,Fe,Zn})_{12}\text{As}_4\text{S}_{13}/(\text{Cu,Fe,Zn})_{12}\text{Sb}_4\text{S}_{13}$
реальгар	$\text{AsS}$
орпимент	$\text{As}_2\text{S}_3$
стибнит	$\text{Sb}_2\text{S}_3$
Минералы, продуцирующие кислоту при окислении ионами железа	
все вышеперечисленные, а также:	
сфалерит	$\text{ZnS}$
галенит	$\text{PbS}$
халькопирит	$\text{CuFeS}_2$
ковеллит	$\text{CuS}$
киноварь	$\text{HgS}$
миллерит	$\text{NiS}$
пентландит	$(\text{Fe,Ni})_9\text{S}_8$
гриноцит	$\text{CdS}$

Хотя на сегодняшний день пирит является доминирующим сульфидным минералом, ответственным за образование кислотности, различные залежи полезных ископаемых содержат разные типы сульфидных минералов, не все из которых продуцируют кислотность при окислении.

Как правило, сульфиды железа (пирит, марказит, пирротит), сульфиды металлов с молярным соотношением металл/сера менее 1 и сульфосоли (энаргит) образуют кислоту при реакции с кислородом и водой. Сульфиды металлов с молярным соотношением металл/сера, равным 1 (сфалерит, галенит, халькопирит), не продуцируют кислоту, когда в качестве окислителя выступает кислород, но продуцируют ее, когда окислителем выступают водорастворенные ионы трехвалентного железа. Поэтому количество сульфида железа, присутствующего в залежи полезных ископаемых, играет существенную роль в определении характеристик образующихся дренажных вод. Как результат, образующиеся при окислении только сульфидов железа шахтные воды являются более кислыми, чем воды, образующиеся в результате окисления сульфидных ассоциаций, состоящих из сфалерита и галенита. Окисление сфалерита и галенита приводит к высвобождению сульфат-ионов и ионов цинка и свинца, соответственно. Если эти металлы останутся в растворе, то образуются нейтральные дренажные воды [380].

***Дренажные воды угольных месторождений.*** Месторождения угля найдены на всех континентах, большинство из них разрабатывались в прошлом или разрабатываются в настоящее время. Кислые воды могут образовываться на разрабатываемых, неактивных, заброшенных и мелиорированных угольных месторождениях. Состав кислых вод разных отложений отличается даже в пределах одного месторождения. В природных водах содержание железа, марганца и алюминия обычно не превышает 1 мг/л, что обуславливается химическими и биологическими процессами их осаждения. Эти же самые процессы удаляют железо, марганец и алюминий из кислых вод, однако нагрузка по этим металлам бывает так высока, что их вредное влияние сохраняется. Кроме того кислые воды могут содержать высокие концентрации сульфатов, кальция, калия, магния и натрия. При этом кислые воды угольных месторождений обычно содержат меньшее количество других металлов, чем оно есть в кислых водах месторождений металлов. В таблице 3-2 показано различие в химическом составе типичных кислых вод угольных месторождений и месторождений металлов.

Принципиальное отличие кислых вод месторождений металлов и кислых вод угольных месторождений обусловлено тем, что уголь – осадочная порода. Обычно породы осадочного происхождения имеют более простой минералогический состав в отличие от всех остальных пород, соответственно, химический состав кислых вод угольных месторождений также более прост. Например, из общего списка сульфидных минералов, представленных в таблице 3-1, только первый из них, пирит ( $\text{FeS}_2$ ), обычно обнаруживается в осадочных породах в значительных концентрациях [143]. В угольных и других осадочных отложениях обнаружено нахождение нескольких типов пиритной серы, реактивность которых зависит от размеров и структуры пирита [160]. И хотя все типы пирита способны окисляться, некоторые из них окисляются быстрее остальных. Другими формами серы, обнаруженными в угольных отложениях, являются органическая и сульфатная сера. Органическая сера обычно является химически неактивной и не оказывает влияния на кислотообразование [161]. Сульфатная сера в угольных и других пиритных породах обнаруживается обычно в относительно малых количествах и представляет собой результат выветривания и недавнего окисления сульфидной серы. Некоторые сульфатные минералы (например, мелантерит) могут растворяться с образованием кислоты, в то время как другие (например, гипс) кислоту не образуют. Наличие карбонатных минералов в угольных залежах определяет их щелочность и возможность образования кислых дренажных вод. Основными карбонатными минералами угольных залежей являются кальцит ( $\text{CaCO}_3$ ), доломит ( $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ ) и сидерит ( $\text{FeCO}_3$ ). Наличие или отсутствие известковых карбонатных минералов крайне важно при формировании состава кислых вод. Эти минералы не только нейтрализуют кислоту, образующуюся при окислении пирита, но и ингибируют окисление пирита, поддерживая буферность среды на уровне, при котором железо, высвобождающееся при окислении пирита, выпадает в осадок в виде гидроксида и, таким образом, не может участвовать в дальнейшем окислении пирита. Брейди с соавторами показали, что наличие 1–3% карбонатов в угленосных породах может влиять на тип образующихся дренажных вод (кислые или щелочные воды) [153]. Из всех карбонатных минералов, обычно обнаруживаемых в осадочных породах, наиболее значимым является кальцит, который играет роль цементирующего материала. Доломит образуется в карбонатных отложениях в результате замещения кальция магнием и менее растворим чем кальцит, но также нейтрализует кислотность и может ингибировать окисление пирита. Сидерит менее растворим

чем доломит и является плохим нейтрализатором кислотности, так как ион двухвалентного железа, высвобождаемый при его растворении, окисляется и гидролизуетсся с образованием кислотности. Таким образом, щелочность, образующаяся первоначально при растворении сидерита, полностью нейтрализуется кислотностью, образуемой при последующем осаждении гидроксида железа.

Таблица 3-2

**Типичный химический составов кислых вод, мг/л (по: [380])**

Параметры	Угольные месторождения		Месторождения металлов	
	Кислые воды (рН 3-4)	Нейтральные воды (рН 6,5-7,5)	Кислые воды (рН 3-4)	Нейтральные воды (рН 6,5-7,5)
Кислотность	100-10000	менее 0	100-10000	менее 0
Сульфаты	1000-10000	100-3000	1000-10000	100-3000
Железо общее	10-1000	менее 10-100	10-1000	менее 10
Алюминий	10-1000	менее 1	1-100	менее 1
Марганец	5-100	менее 30	2-25	менее 2
Медь	менее 1	Не обнаруживается	1-100	0,1-1
Цинк	менее 5	Не обнаруживается	10-1000	1-10
Кадмий	Не обнаруживается	Не обнаруживается	0,05-1	0,01-0,1
Свинец	Не обнаруживается	Не обнаруживается	0,5-10	0,01-0,1

Исследования Сайнц *и соавт.* показали, что пространственная вариабельность таких параметров отвала, как тип, количество и распределение в теле отвала сульфидных минералов и минералов с нейтрализующими свойствами, содержание кислорода, влажность, температура, содержание микроорганизмов, приводит к формированию в нем трех зон: ненасыщенной водой зоны внешней поверхности отвала, ненасыщенной водой зоны внутренней части отвала и насыщенной водой зоны нижней части отвала. При этом все упомянутые параметры в разной степени влияют на химические реакции, протекающие в разных зонах отвала [362].

Структурные характеристики отвалов влияют на транспорт соединений внутри них. Поток воды внутри тела отвала описывается теоретической моделью двойной пористости, в соответствии с которой тело отвала состоит из двух зон с отличающимися характеристиками – пористого блока и каналов. Пористый блок характеризуется высокой первичной пористостью и низкой гидравлической проводимостью; среди процессов транспорта в нем превалирует молекулярная диффузия. Каналы характеризуются высокой гидравлической емкостью и низкой водоудерживающей способностью. Процессы транспорта в них определяются процессами адвекции и механической дисперсии. Таким образом, транспорт водорастворенных веществ и химические характеристики образующихся дренажных вод в системах пористого блока и каналов отличаются между собой [362].

Дренажные воды с угольных отвалов обычно содержат повышенные уровни цинка, никеля и других потенциально токсичных металлов. В таблицах 3-3 и 3-4 приведено разнообразие химического состава кислых вод угольных и других месторождений мира.

По ресурсам угля Россия занимает одно из ведущих мест в мире. В недрах нашей страны сосредоточена треть мировых ресурсов угля и пятая часть мировых разведанных запасов угля, сосредоточенных в 22 угольных бассейнах и 129 отдельных месторождений угля [127]. По объемам добычи угля Россия находится в одном ряду с ведущими угледобывающими странами мира. Основными угольными бассейнами России являются: Кузнецкий, Канско-Ачинский, Печорский и Донецкий (Восточный Донбасс). Отдельные крупные угольные месторождения находятся в Восточной Сибири, Забайкалье, Южной Якутии, на Дальнем Востоке и Сахалине. По качеству угли представлены полным диапазоном – от бурых углей до каменных и антрацитов.

## Разнообразие химического состава дренажных вод отвалов угольных месторождений

Шахтный отвал	Месторождение	Химические показатели воды			Литература
		рН	Железо, мг/л	Сульфаты, мг/л	
Дренажные воды с отвалов, 1973 г.	Месторождение The Green Valley, США		56 000	200 000	[316]
Дренажные воды с отвалов, 2011 г.		2,2-4,0	4 400 - 31 000	15 000 - 95 000	
Дренажные воды с отвалов	Месторождение The Friar Tuck, США	2,4-3,1	10 000 - 36 000	17 000 - 58 000	
Дренажные воды с отвала шахты Nailstone	Месторождение Лейцестершира, Великобритания	4,9	46		
Дренажные воды с отвала шахты Dodworth	Месторождение Южного Йоркшира, Великобритания	6,5	30		[430]
Дренажные воды с отвала шахты Bowden Close	Месторождение Западного Дарема, Великобритания	5,0	20		
Дренажные воды с отвала шахты Quaking Houses	Месторождение Северно-Западного Дарема, Великобритания	4,5	10		
Дренажные воды с отвала шахты Oatlands	Месторождение Западного Кембрия, Великобритания	4,0	85		[430]
Дренажные воды с отвала шахты Shilbottle	Месторождение Нортумберленда, Великобритания	3,5	100		
Дренажные воды с отвала шахты Craigenbaw	Месторождение Галлоуэя, Великобритания	3,5			
Кнурув-Щегловице	Рыбницкий угольный район, Польша			4968	[105]
Пшув-Анна				4151	
Дренажные воды с отвала Paint Township	Месторождение шт. Пенсильвания, США	4,7	208	1332	[279]



Таблица 3-4

## Разнообразие химического состава дренажных вод отвалов месторождений металлов

Шахтный отвал	Месторождение	Химические показатели воды			Литература
		pH	Железо, мг/л	Сульфаты, мг/л	
Без названия	Месторождение золота, Россия	1,9	780	3600	[10]
Отвал шахты Valdagras	Месторождение вольфрама, Португалия	2,53	2143	5880	[404]
Отвал South Pad шахты Haile Mine	Месторождение золота, США	4,9	1290	30000	[241]
Отвал Chase Hill Pad шахты Haile Mine		2,0	11000	30000	
Без названия	Месторождение цинка, США	6,3			[204]
Без названия	Месторождение меди INCO Copper Cliff, Канада	5,7	256		[226]
Без названия	Месторождение никеля Nickel Rime mine site, Канада	~5,0	900	3600	[147]
Комплекс отвалов Duluth шахты Dunka Mine	Полиметаллическое месторождение, США	7,0	5	400	[208]

Наиболее ценные и высокотехнологичные запасы углей сосредоточены в угледобывающих районах Сибири. На угольных месторождениях Урала все технологичные запасы угля практически исчерпаны [90]. При добыче каждой тысячи тонн угля шахтным способом на поверхность поступает в среднем 100–115 м<sup>3</sup> отработанных пород [115]. По данным на 2013 г. в отвалах горнодобывающих предприятий, расположенных на территории России, накопилось не менее 12 млрд. т вскрышных и вмещающих пород [127]. К районам очень высокой интенсивности накопления отходов угольной промышленности отнесены Центральный, Уральский и Западно-Сибирский регионы [90]. В литологическом отношении отвалы представлены аргиллитами, алевролитами, песчаниками, углем и другими породами, в них присутствует древесина, металлические предметы. Породы неоднородны по гранулометрическому составу и имеют размер от глинистых частиц до глыб [69, 85].

В отвалы угледобычи складировается изначально неоднородная по химическому и гранулометрическому составу масса, в которой преобладают обломки вмещающих глинистых и карбонатных пород. Значительную часть составляет уголь и углистые вещества, часто встречается технический мусор – предметы из черных и цветных металлов, обломки пластмассы, стекла, древесины. Таким образом, с момента формирования отвал представляет собой химически гетерогенную, но временно не активную систему [125]. Реакции окисления минералов внутри отвалов идут с выделением тепла и сопровождаются самовозгоранием отвалов, обжигом, переплавлением пород, фумарольными процессами [69]. Возгорание происходит в случаях, когда скорость образования тепла при окислении вещества превышает скорость его рассеяния. Источником тепла могут являться взаимодействия между углем и кислородом, процессы увлажнения и высыхания, скрытое тепло водяного пара. Однако, тепло, поступающее при окислении неорганической составляющей углей – пирита, может быть ключевым фактором для достижения количества тепла, необходимого для процесса самовозгорания [127]. Обычно самовозгорание характеризуется тлением – беспламенным горением породы при недостатке кислорода. При достаточном количестве кислорода тление может перейти в пламенное горение, которое обычно возникает в поверхностных, более интенсивно аэрируемых слоях материала. Общим результатом описанных процессов является преобразование вещественного и минерального состава извлеченных пород, которое происходит как в окислительных, так и

восстановительных условиях. Следует отметить, что различные отвалы характеризуются различными масштабами протекания тех или иных процессов. Окисление пород отвалов как правило усиливается с увеличением размеров зоны аэрации внутри отвала и площади отвалов пустых пород на поверхности [127].

Процесс горения сопровождается выбросом газового дыма в атмосферу. Твердые частицы дыма представлены сажей, коксом, кристаллами минералов и органическими остатками. В составе газовой фазы содержится большое количество сернистого газа, сероводорода, оксидов углерода и азота. В частности, концентрация диоксида углерода может достигать  $125 \text{ мг/м}^3$  [74, 98]. Газы, выбрасываемые в атмосферу горящими отвалами, существенно изменяют почвенный и растительный покров, животный мир, продуктивность лесных и сельскохозяйственных угодий на значительных территориях, прилегающих к отвалам. Горение отвалов как правило продолжается несколько лет и характеризуется неравномерностью как интенсивности горения, так и химического преобразования вещества отвалов, что объясняется неравномерным распределением в отвале различных вмещающих пород, углефицированных пород и углей, сульфидной серы и других химически активных компонентов [127].

Горение отвалов приводит к изменению их минерального состава. Б.В. Чесноков выделяет четыре основных типа минерализации горелых отвалов: горелых пород (I), «черных блоков» (II), фумарол (III), выветривания (IV) [122-124]. К 80-м годам XX века на горелых отвалах Европы и Северной Америки было установлено около 160 видов минералов, свыше 10 из них были найдены впервые в мире. В настоящее время на горелых отвалах Челябинского угольного бассейна известно свыше 240 минералов и соединений, не имеющих статуса минеральных видов. Четвертую часть их составляют новые минералы и соединения. Свыше половины минералов и соединений, впервые в мире установленных на горелых отвалах Челябинского угольного бассейна, до сих пор не найдены в других природных техногенных объектах [125]. На горелых отвалах Кизеловского угольного бассейна известно около 40 новых минералов, что объясняется скорее всего их меньшей минералогической изученностью [99].

### 3.1.2. Отвалы пород Кизеловского угольного бассейна

Кизеловский угольный бассейн находится в границах Кизеловского, Гремячинского, Чусовского, Александровского муниципальных районов и Губахинского городского округа Пермского края. Бассейн узкой полосой шириной до 25 км простирается на 150 км вдоль западного склона Урала от г. Александровска на севере до г. Лысьвы на юге. Площадь бассейна составляет около 1500 км<sup>2</sup>. Добыча угля в бассейне началась в конце XVIII века и достигла максимума в 1959 г. В 1994 г. начался процесс ликвидации шахт, которые были закрыты к 2000 г.

Особенностью геологического строения Кизеловского угольного бассейна Пермского края является повышенное содержание в угленосных породах различных форм серы, которая непосредственно входит в состав углей месторождения, а также представлена в виде сульфидов металлов, преимущественно пирита [66]. Среднее содержание серы в кизеловских углях по разным источникам составляет от 5,5 до 8,0% [23, 27]. Среднее содержание в углях Кизеловского бассейна Be, Sc, Ti, V, Co, Ni, Cu, Ga, Ge, Y, Zr, Ag превышает среднее их содержание для углей в СНГ [83].

На территории бассейна насчитывается более 100 отвалов и терриконов различной формы, размеров и возраста [74]. Их расположение в пределах КУБ представлено на рисунке 3-4. Максимально распространены плоские и конические отвалы. Площадь отвалов изменяется от 0,1 до 30 га, высота – от 2 до 64 м, объем – от 2,3 до 2829 тыс. м<sup>3</sup> [57]. Возраст отвалов варьирует от 11 до 134 лет [74]. По данным МНИИЭКО ТЭК, из 486 га нарушенных земель в пределах Кизеловского угольного бассейна, 260 га занимают породные отвалы [57]. Суммарный объем отвалов в разных источниках оценивается по-разному: от 22,5 млн. м<sup>3</sup> [57] до 35 млн. м<sup>3</sup> [74]. Породы, поступающие в отвал, образовались за счет проходки выработок (52%), их ремонта и восстановления (48%). В литологическом отношении они представлены аргиллитами, алевролитами, песчаниками, углем и другими породами. В них присутствует древесина, металлические предметы. Породы неоднородны по гранулометрическому составу, имеют размер от глинистых частиц до глыб [127]. Примерно на половине отвалов происходило горение слагающих их пород [74, 98].

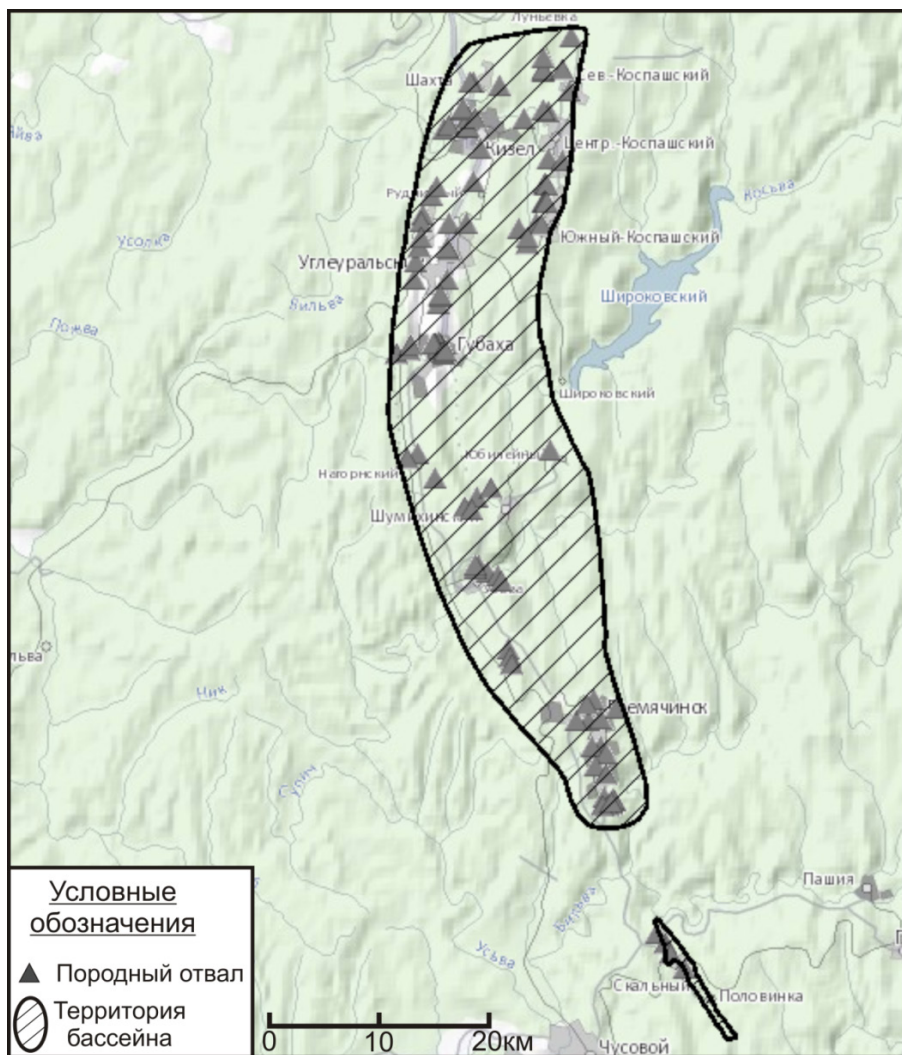


Рисунок 3-4  
**Схема расположения породных отвалов в пределах Кизеловского угольного бассейна (по: [24])**

Результаты проведенных исследований показали неоднородность вещественного состава негорелых породных отвалов, которая связана с различиями в литологии угленосной толщи, технологии добычи угля и складирования отработанных пород, а также возрастом отвалов в пределах того или иного шахтного поля [74]. Следует отметить, что породы подвергались существенному механическому разрушению в процессе их извлечения с применением буро-взрывных работ [102]. В целом, отвалы сложены обломками песчаников (25%), алевролитов (до 40%), аргиллитов (до 20%), а также угленосных пород, представленных в основном известняками (до 25%). Весьма характерным для отвалов является равномерное расслоение обломков по крупности. Так, установлено, что основание отвалов на 65–80% сложено из частиц размером более 150 мм, в средней части преобладают частицы размером 25–100 мм, а верхняя часть отвалов представлена в основном частицами размером 6–3 мм и меньше. Вещественный состав пород в объеме отвалов также неоднороден. Распределение вещественного состава пород по крупности обломков представлено в таблице 3-5. Прослеживается закономерность увеличения содержания песчаников и аргиллитов и снижения содержания угленосных пород с увеличением размеров частиц, слагающих отвал.

Минеральный состав пород, слагающих негорелые отвалы, в целом отражает минеральный состав пород угленосной толщи [102]. Процесс горения приводит к значительной трансформации вещественного состава отвалов. Причиной возникновения горения на породных отвалах в большинстве случаев является самовозгорание горючих веществ, которые содержатся в отвальной массе в виде угля, сростков породы с углем, углистых сланцев, аргиллитов, древесины и различных соединений серы, в основном в виде пирита. Самовозгорание происходит обычно на глубине 0,2-3 м от поверхности отвала и носит очаговый характер, а его развитие происходит за счет последующего расширения участков горения. Температура пород в зоне горения может достигать 800–1200 °С. Относительно плотная структура вершин отвалов затрудняет воспламенение их отвальной массы и приводит к чрезвычайно медленному распространению горения: горючие вещества на вершинах таких отвалов продолжают гореть в течение многих лет после прекращения отсыпки на них пород [110]. В результате восстановления оксидов и кристаллизации безводных соединений в условиях дефицита кислорода происходит образование пород, напоминающих базальты. В очаге

горения и непосредственной близости от него происходят процессы дегидратации и перекристаллизации с выделением летучих компонентов. При этом слагающие отвал аргиллиты преобразуются в кирпично-красную породу, отличающуюся минеральным составом. Угленосные породы в составе отвала преобразуются в «черные блоки», состоящие из шунгита, графита и сульфидов. Преобразование карбонатных пород при горении заканчивается образованием портландита и вторичного кальцита [97]. Установлена прямая связь между высотой отвалов и подверженностью их горению: наибольшей подверженностью горению характеризовались действующие отвалы, имеющие высоту 40-60 м и недействующие отвалы, имеющие высоту 30-60 м [110]. Отвальные породы угольных шахт, пыль с их поверхности, а также продукты горения являются токсичными. Их токсичность, в основном, определяется тяжелыми металлами [49].

Таблица 3-5

**Распределение вещественного состава пород по крупности частиц, слагающих отвал (по: [58])**

Класс крупности обломков, мм	Содержание, %			
	Песчаники	Алевролиты	Аргиллиты	Угленосные породы
500-300	50,3	29,8	15,0	4,9
300-150	33,2	48,4	16,3	2,1
100-50	19,5	52,5	15,6	12,2
25-13	13,6	44,5	9,2	32,0
13-6	8,8	38,8	8,0	48,5
6-3	6,6	30,9	2,6	55,9

Меняется при этом и химический состав дренажных вод: в водной вытяжке грунтов горелых отвалов в 15 раз повышается содержание растворимых соединений алюминия, в 2 раза повышается содержание ионов кальция и натрия+калия, при этом в 2 раза снижается содержание ионов железа (II), и в 3 раза снижается содержание ионов железа (III) [73]. Увеличение содержания алюминия, по-видимому, связано с его высвобождением из алюмосиликатов в процессе горения и образованием растворимых сульфатов

(алунит  $KAl_3(SO_4)_2(OH)_6$ , алуноген  $Al_2(SO_4)_3 \cdot 17H_2O$ , калиевые квасцы  $KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$  и др.). Увеличение содержания кальция, возможно, связано с обжигом известняков и образованием окиси кальция (CaO), неустойчивой к воздействию воды. Снижение концентрации железа в водных вытяжках из пород горелых отвалов, скорее всего, связано с образованием в процессе горения значительного количества гематита  $Fe_2O_3$  – минерала, устойчивого при взаимодействии с водой [73]. Пробы стоков с отвалов показывают крайнюю неравномерность их химического состава (таблица 3-6).

Воды, фильтрующиеся через толщу отвалов и стекающие по их поверхности, обогащаются растворимыми и коллоидными соединениями, переносят большое количество механических взвесей, среди которых значительную роль играют соединения серы, железа, алюминия. Подземные воды в районах породных отвалов имеют низкие значения pH, повышенную минерализацию, а также высокое содержание сульфатов, железа, алюминия, тяжелых металлов. Складирование породных отвалов и отходов переработки угля по берегам рек приводит к размыванию берегов, особенно в паводковый период, перемещению материала в русло и его дальнейшей миграции в водном потоке. Негативное воздействие стоков с отвалов проявляется в пределах бассейнов 5 крупных рек: Ю. Вильва, Яйва, Косьва, Усьва и Чусовая. По данным мониторинга состояния приповерхностной гидросферы в пределах распространения стоков с породных отвалов установлено, что основными загрязняющими веществами в составе стоков являются сульфаты, железо и алюминий. Также резко увеличивается минерализация. Среднее значение содержания сульфат-ионов в стоках по результатам мониторинга [4] составляет  $4985 \text{ мг/дм}^3$  при максимальном значении  $128882 \text{ мг/дм}^3$  (превышение ПДК в 258 раз). Среднее значение содержания ионов железа в стоках составляет  $585 \text{ мг/дм}^3$  при максимальном значении  $2796 \text{ мг/дм}^3$  (превышение ПДК в 9320 раз). Среднее значение содержания ионов алюминия в стоках составляет  $492 \text{ мг/дм}^3$  при максимальном значении  $3550 \text{ мг/дм}^3$  (превышение ПДК в 7100 раз). Также отмечено высокое содержание ионов некоторых металлов: кобальта (до 51 ПДК), лития (до 3772 ПДК), марганца (до 884 ПДК) и никеля (до 92 ПДК) [4].

На рисунках 3-5–3-8 представлена динамика изменения концентрации загрязняющих веществ в стоках с некоторых отвалов в период с 2007 по 2013 год, полученная на основе данных мониторинга химического анализа стоков [4].



Таблица 3-6

**Характерный химический состав стоков с отвалов шахт Кизеловского угольного бассейна, мг/л (по: [73])**

Шахта	pH	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Cl <sup>-</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Al <sup>3+</sup>	Na <sup>+</sup> +K <sup>+</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Fe <sup>3+</sup>	Fe <sup>2+</sup>	Минерализация
Ключевская	2,77	2065,3	117,3	160,3	60,8	497,5	-	-	217,0	40,0	3157,9
Центральная, конусный отвал	2,35	9905,6	17,7	248,5	253,3	-	-	-	0,0	874,9	11280,0
им. Серова	1,79	29971,2	106,4	200,4	151,9	4203,5	-	-	302,0	7348,0	42283,4
Тажная	2,75	3430,8	35,4	300,6	91,1	175,3	353,1	10	0,0	237,3	4635,6
Гремячинская	2,44	2039,9	46,1	300,6	60,7	0,0	200,4	1,2	0,0	209,4	2862,1
Усьва-3	3,62	57,64	25,5	14,03	3,6	-	15,1	0,0	0,6	0,2	117,1
им. 40 лет Октября	2,20	9968,3	140,3	460,9	182,9	364,2	575,8	32	27,9	1870,9	13600,5
Шумихинская	1,99	26427	69,4	340,6	279,5	2091	615,2	5,6	1745,3	3351,0	34935,5
Нагорная	2,70	12981,7	93,6	460,9	413,1	959,8	12,6	12,6	97,7	363,0	16720,1
Центральная, плоский отвал	2,87	2781,9	99,2	140,2	85,0	234,9	5,1	5,1	0,0	96,3	3711,4
Широковская	2,90	500,9	35,4	95,1	15,1	30,3	2,8	2,8	0,0	30,7	721,3
Коспашская	2,39	5099,9	53,8	260,5	72,9	399,5	5,0	5,0	363,3	586,4	7047,7

«-» – нет данных.

По данным, представленным на рисунках, можно отметить большую амплитуду значений концентрации сульфатов, железа и алюминия. Реакция среды при этом практически не меняется. Масштабы загрязнения тесно связаны с климатическим и гидрологическим режимами территории. Сток с отвалов имеет периодический характер, наиболее интенсивно этот процесс происходит в период снеготаяния. Летом и осенью поверхностный сток с отвалов наблюдается эпизодически в случае выпадения значительного количества осадков, а зимой полностью отсутствует.

В рамках мониторинга состояния окружающей среды в пределах Кизеловского бассейна проводится также подсчет количества загрязняющих веществ, попадающих в реки со стоками с отвалов (таблица 3-12).

В связи со значительными масштабами загрязнения окружающей среды кислыми шахтными и дренажными водами ведутся разработки методов по его снижению, при этом обычно не производят разделения источников загрязнения на стоки с отвалов и шахтные воды вследствие тождественности химических и биохимических реакций, определяющих их формирование. Нейтрализация кислых шахтных и дренажных вод является одной из важных природоохранных задач [41, 57, 67, 69, 70, 74, 234, 256, 268, 307, 308, 358, 381, 431, 432, 434, 435], уделяется внимание и снижению содержания сульфатов в водах, поступающих в речную сеть [203, 300, 376, 398, 409], при этом основные мероприятия по нейтрализации и обессульфачиванию кислых вод опираются на использование физических и химических методов их обработки, а использование с этой целью микроорганизмов осуществляется опосредованно при создании биогеохимических барьеров, где основную роль играют физические и химические процессы, или непосредственно в биореакторах, как в случаях для удаления сульфатов. При этом удаление сульфатов из кислых вод может происходить не только в результате бактериального процесса сульфатредукции, но и в результате выпадения из раствора гипса. Примеры реализации природоохранных мероприятий с использованием биогеохимических барьеров и биореакторов приведены в таблице 3-8.

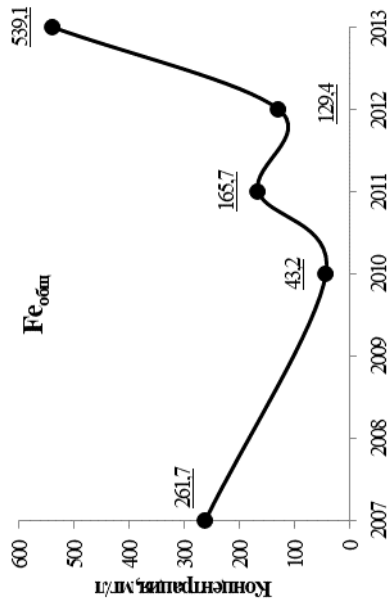
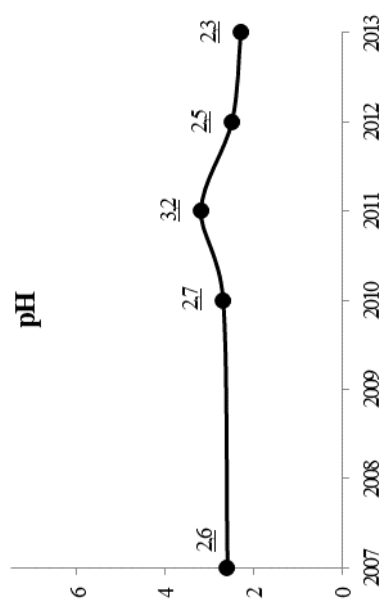
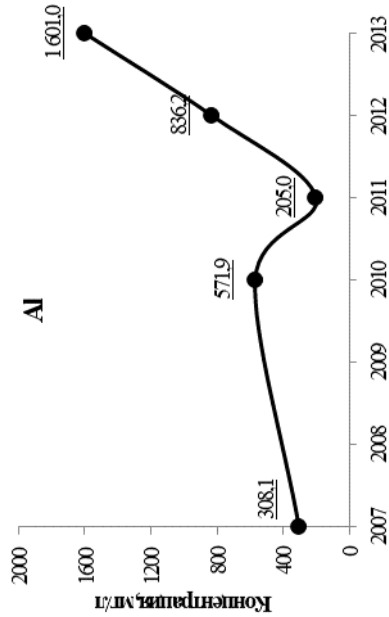
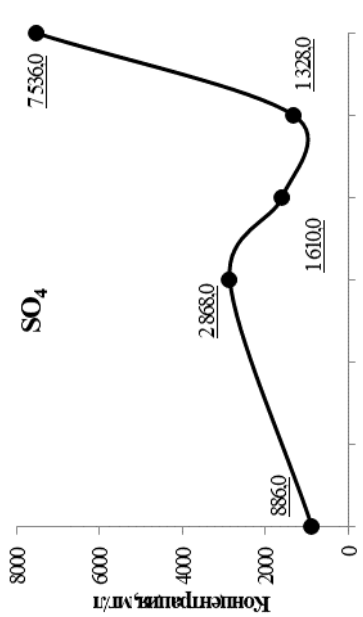


Рисунок 3-5  
Изменение pH и концентрации загрязняющих веществ в дренажных водах с породного отвала шахты Рудничная

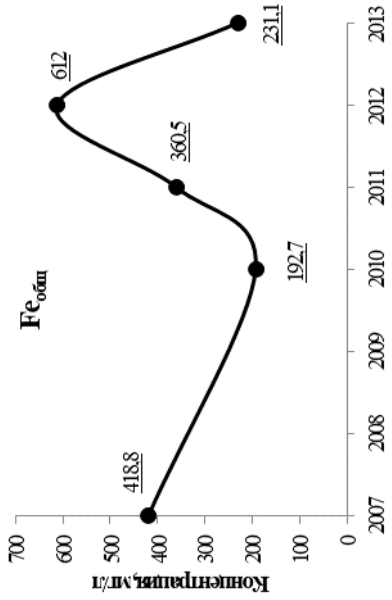
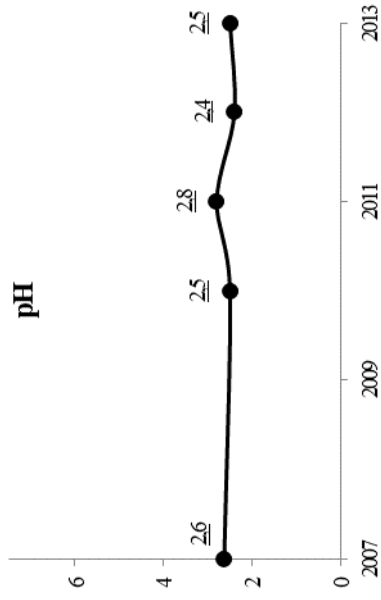
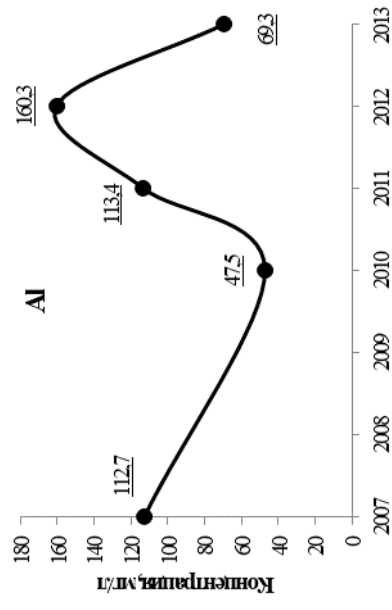
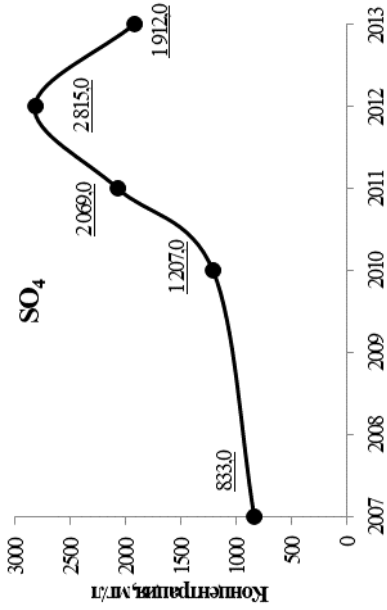


Рисунок 3-6  
Изменение pH и концентрации загрязняющих веществ в дренажных водах с породного отвала шахты им. Крупской

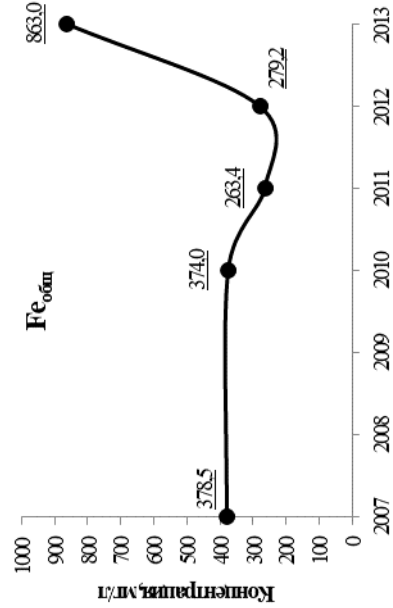
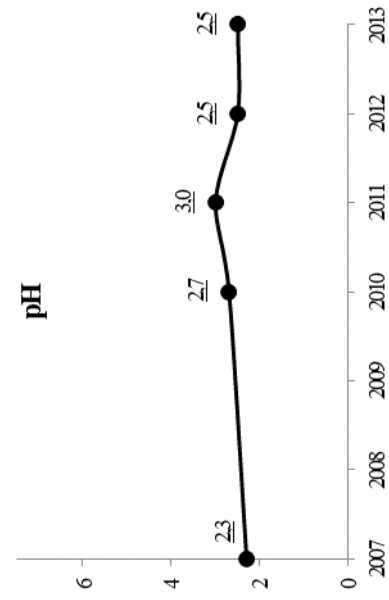
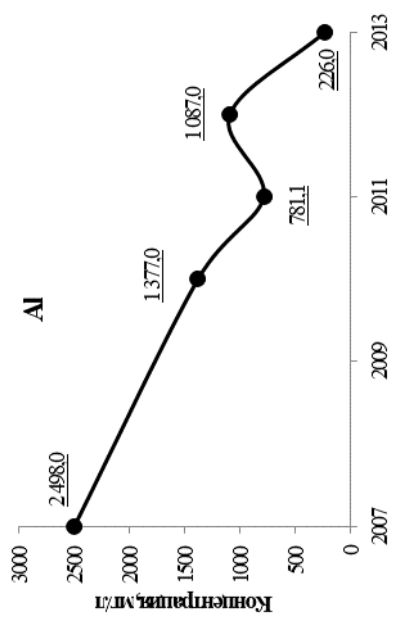
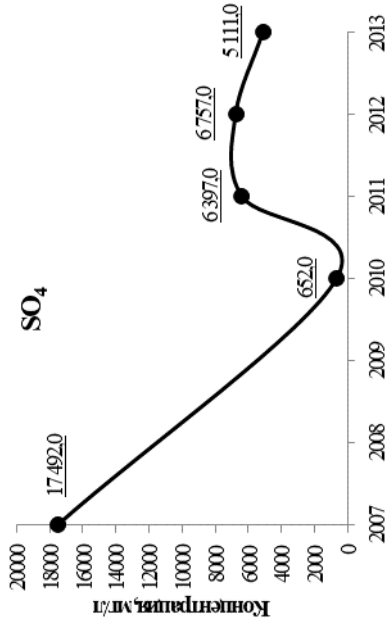


РИСУНОК 3-7  
Изменение pH и концентрации загрязняющих веществ в дренажных водах с породного отвала шахты Шумихинская

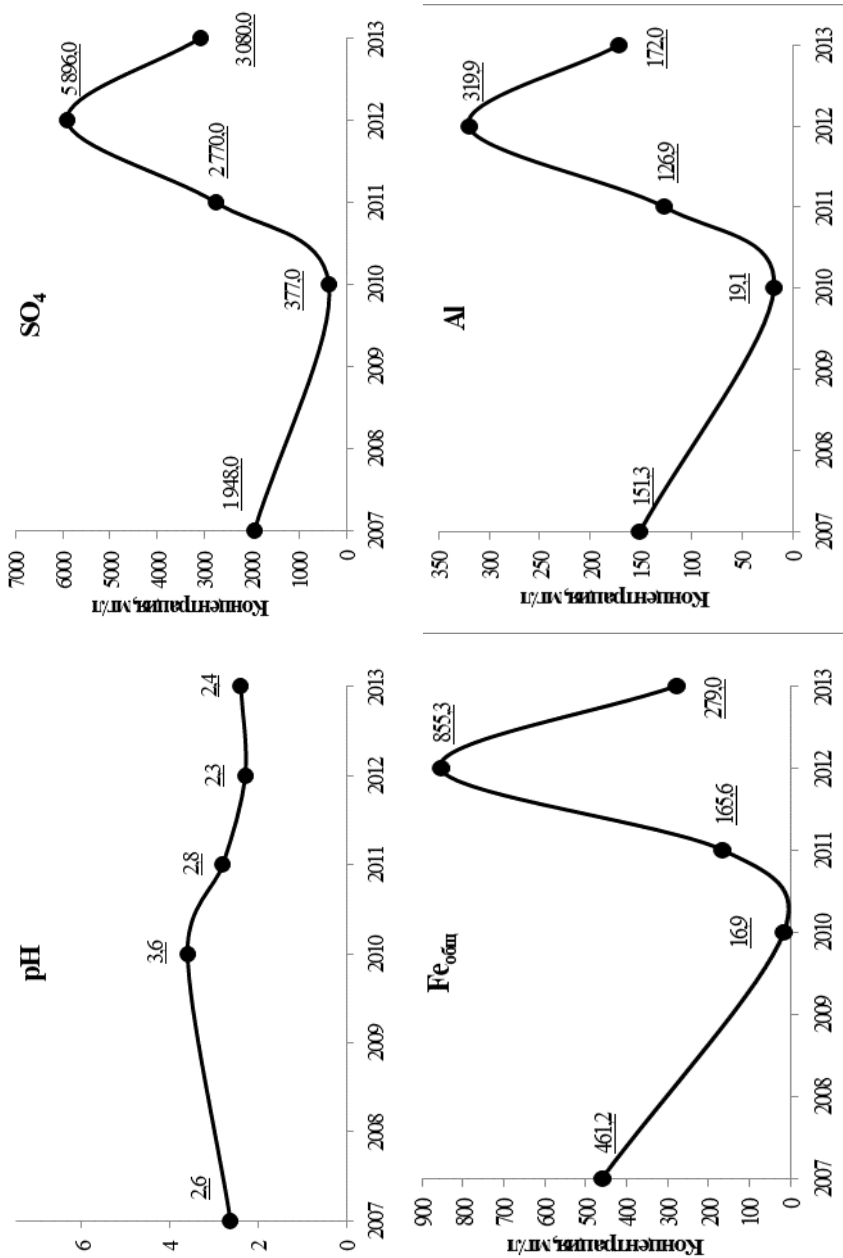


РИСУНОК 3-8  
Изменение pH и концентрации загрязняющих веществ в дренажных водах с породного отвала шахты Скальная

**Количество поступающих в гидросеть загрязняющих веществ в пределах Кизеловского угольного бассейна в 2016 г. (по: [89])**

Наименование загрязняющего вещества	Количество вещества, поступающего в гидросеть с шахтными водами, т/год	Количество вещества, поступающего в гидросеть со стоками с отвалов, т/год
Сухой остаток	79187	1799,18
Сульфаты	44888	1229,81
Железо общее	15896	113,04
Алюминий	535	79,10
Литий	6	1,28
Марганец	172	3,45

Породы в отвалах угольных шахт и обогатительных фабрик непрерывно подвергаются воздействию приземного слоя воздуха, в результате чего физико-химические свойства отвальных пород претерпевают изменения. Таким образом, на породных отвалах могут возникать условия для их периодических деформаций, среди которых наибольшую опасность представляют оползни и обвалы пород [110]. Согласно Л.Г. Зубовой *и соавт.*, вопросам деформации породных отвалов угольных шахт за последние два десятилетия уделялось незначительное внимание, объясняемое спадом производства в угольной промышленности и ужесточением требований к отсыпке новых крупных породных отвалов, а наиболее интенсивное изучение устойчивости откосов породных отвалов, а также деформаций породных отвалов приходится на 1957-1985 годы. При этом наибольшее количество работ проводилось для случаев открытой разработки полезных ископаемых [49].

## Результаты применения биогеохимических барьеров и

Объект	Месторождение	Вид очистного устройства
Излив шахты K2		Аэробный ветланд
Излив шахты K3	Месторождение шт. Пенсильвания, США	Аэробный ветланд
Излив шахты CUC 3		Аэробный ветланд
Излив шахты Clarion County		Аэробный ветланд
Излив шахты Keister 1		Анаэробный ветланд
Излив шахты Keister 3/2	Месторождение шт. Западная Вирджиния, США	Анаэробный ветланд
Излив шахты Z & F		Анаэробный ветланд
Излив шахты The Simco	Месторождение шт. Огайо, США	Анаэробный ветланд
20 мест разлива вод угольных шахт	Европа и США	Анаэробный ветланд
Излив шахты	Полиметаллическое месторождение Idaho Springs-Central City mining district, США	Анаэробный ветланд
Излив шахты Dunka Mine	Полиметаллическое месторождение, США	Анаэробный ветланд



Таблица 3-8

**биореакторов для нейтрализации и обесульфачивания шахтных и дренажных вод**

Химические показатели воды до очистки, мг/л			Химические показатели воды после очистки, мг/л			Литература
pH	Fe	Другое	pH	Fe	Другое	
4,64	98,3	Al – 0,8, Сульфаты - 594	4,9	6,7	Al – 0,42, Сульфаты - 462	[195]
5,2	41	Al – 2,4, Сульфаты - 1388	4,41	2,7	Al – 3,4, Сульфаты - 1202	
3,12	10,6	Al – 4,2, Сульфаты - 332	4,01	5,5	Al – 3, Сульфаты - 313	
5,7	180	Щелочность <sup>а</sup> – 28, Сульфаты – 970	6,9	8	Щелочность <sup>а</sup> – 145, Сульфаты – 580	[276]
3,1	23	Al – 27, Сульфаты - 673	5,4	9	Al – 13, Сульфаты - 466	[213]
4,0	11	Al – 10, Сульфаты - 356	4,8	3	Al – 8, Сульфаты - 347	
2,5	376	Al – 206, Сульфаты - 2821	3,5	86	Al – 76, Сульфаты - 1662	
6,5	111	Щелочность <sup>а</sup> – 87, Сульфаты - 1146	6,5	42	Щелочность <sup>а</sup> – 26, Сульфаты - 1067	[386]
4,9 (3,1-6,3) <sup>б</sup>	33 (0,4-220) <sup>б</sup>	Сульфаты – 950 (270-1600) <sup>б</sup>	6,0 (3,5-7,7) <sup>б</sup>	1,2 (0,05-7,0) <sup>б</sup>	Сульфаты – 740 (160-1500) <sup>б</sup>	[279]
2,8	32	Zn – 10,6, Cu – 1,02, Сульфаты - 1750	4,6	18	Zn – 7,8, Cu – 0,44, Сульфаты - 1560	[426]
7,0	5	Сульфаты - 400	7,0	2	Сульфаты - 200	[208]

<b>Объект</b>	<b>Месторождение</b>	<b>Вид очистного устройства</b>
Шахта без названия	Месторождение никеля Nickel Rime mine site, Канада	Подземные геохимические барьеры
Шахта Lacy-South	Месторождение шт. Индиана, США	Биореактор
Шахта без названия	Месторождение Pennsylvania, США	Биореактор
Шахта без названия	Месторождение Experimental Mine Site, США	Биореактор
Шахта без названия	Полиметаллическое месторождение Ruby Mining, США	Биореактор
Шахта без названия	Месторождение меди INCO Copper Cliff, Канада	Биореактор

<sup>a</sup> В пересчете на  $\text{CaCO}_3$ ,

<sup>b</sup> Среднее значение (размах значений).

Химические показатели воды до очистки, мг/л			Химические показатели воды после очистки, мг/л			Литература
pH	Fe	Другое	pH	Fe	Другое	
5,0	900	Сульфаты - 3600, Щелочность <sup>а</sup> - < 30	7,1	10	Сульфаты - 5, Щелочность <sup>а</sup> - 1000	[147]
2,4	373	Щелочность <sup>а</sup> - 0, Сульфаты - 2220	6,4	15	Щелочность <sup>а</sup> - 2070, Сульфаты - 704	[348]
2,5	160	Al - 173, Zn - 350, Сульфаты - 4000	4,8- 6,8	0,13- 8,99	Al - 0-1,8, Zn - 0-11,4, Сульфаты - 1682-3720	[293]
3,7	67	Al - 7, Щелочность <sup>а</sup> - 17, Сульфаты - 973	6,9	< 0,2	Al - < 0,2, Щелочность <sup>а</sup> - 632, Сульфаты - 712	[204]
	9,1	Cd - 0,13, Cu - 0,21, Pb - 0,31, Zn - 24,7, Сульфаты - 281			Cd - < 0,01, Cu - < 0,01, Pb - 0,01, Zn - 0,5, Сульфаты - 119	[228]
5,7	256	Ni - 29,8, S - 844	6,14	22,08	Ni - 3,18, S - 417,4	[226]

Под деформацией отвала понимается изменение первоначальной формы контура породного отвала в результате сдвига его пород. Деформации реализуются как нестационарные случайные процессы, поскольку нарушение устойчивости обуславливается многими разнородными техническими и природными факторами, которые часто действуют одновременно. В общем виде процесс деформации развивается в три этапа:

- деформация пород (сжатие, связанное с уплотнением разрыхленной горной массы, проявляющееся в осадке пород);
- разрыв пород (возникновение трещин отрыва на верхней площадке отвала);
- проседание и смещение приоткосного массива по поверхности разрушения [49].
- Выделяют следующие три группы факторов, влияющие на устойчивость выработок и отвалов:
- горно-геологические (изменение уровня горизонтов подземных вод, трансформация напряженно-деформированного состояния в массивах пород, прилегающих к откосам, структуры массивов и физико-механических свойств их пород);
- климатические (выветривание пород в откосах, замерзание-оттаивание наружного слоя пород на откосах, увлажнение атмосферными осадками откосов и их оснований);
- горнотехнические (высота и форма технологических контуров откосов и отвалов, способ отвалообразования и схема отсыпки пород в отвал, характеристики фронта и темп углубления работ, статические и динамические нагрузки от горно-транспортного оборудования и отвалов пород) [40]. Однако, данное исследование в большей степени касается устойчивости откосов при открытых горных разработках, а устойчивость породных отвалов рассматривается как частный случай.

По мнению В.М. Сухаревского *и соавт.*, основными причинами оползней и обвалов пород с откосов отвалов являются изменение физико-химических свойств отвальных пород под воздействием их горения, изменение физико-механических свойств отвальных пород как в приповерхностном слое, так и на разной глубине отвалов под действием климатических факторов, превышение несущей способности грунтов, служащих основанием отвалов и разработка отвалов прямым забоем от основания. На основе анализа причин, условий возникновения и характера аварий на породных отвалах разработаны мероприятия, позволяющие предупредить возникновение

на отвалах оползней и обвалов пород, наиболее радикальными из которых являются тушение горящих породных отвалов, профилактика самовозгорания и разборка отвалов с утилизацией отвальных пород [110].

Следует обратить внимание, что влияние климатических факторов на породы отвалов опосредовано жизнедеятельностью микроорганизмов, населяющих данные породы. Исследования Блодау [146], Холберга [244], других авторов показали, что влияние климатических факторов на устойчивость породных отвалов связано с величиной рН порового раствора, от которой зависит скорость окисления сульфидных минералов, в основном пирита. При этом критическим значением величины рН порового раствора является 4,5, когда средняя скорость окисления ионов двухвалентного железа, являющаяся суммой химического и микробиологического окисления, достигает минимального значения, в результате чего снижается скорость регенерации главного окислителя – ионов трехвалентного железа в соответствии с реакциями (3-2) и (3-3), что ограничивает протекание реакций абиотического окисления пирита (3-4) и сульфидных минералов (3-5). При значениях рН порового раствора выше указанной величины микробиологическое окисление пирита незначительно [146], и создаются условия для связывания ионов двухвалентного железа в виде сульфида железа в результате жизнедеятельности сульфатвосстанавливающих микроорганизмов [175, 222, 244, 267, 292], что окончательно приводит к исчерпанию пула окислителя. Развитие микробиологического процесса сульфатредукции сопровождается нейтрализацией порового раствора и снижением его окислительно-восстановительного потенциала а значит, затуханию окислительного процесса [222, 318]. Таким образом, при рН порового раствора равном и выше 4,5 климатические факторы перестанут оказывать существенное влияние на породный отвал, и при прочих равных условиях его склон будет находиться в более устойчивом состоянии, чем при величине рН менее 4,5.

## 3.2. Формирование состава жидкой компоненты грунта породных отвалов

Для повышения устойчивости склона породного отвала угледобывающей шахты были проведены исследования по формированию состава и свойств жидкой компоненты грунта отвала, а именно, повышению величины рН дренажных вод отвала до 4,5 и снижению содержания сульфатов в них за счет активирования жизнедеятельности сульфатовосстанавливающих микроорганизмов грунта отвала.

**Оценка состояния грунта.** В лабораторных исследованиях использовали образцы грунта, слагающего частично горелый отвал шахты Северная, состоящего из неокатанных или слабоокатанных частиц размером менее 2 мм, полученных просеиванием через сито с соответствующим размером ячеек. Образцы грунта были отобраны летом 2017 г. с глубины 0,3–0,5 м от поверхности отвала. Образец горелого грунта отвала имел оранжевый цвет, образец негорелого грунта – черный. Минеральный состав грунта горелой и негорелой частей отвала представлен в таблице 3-9, из которой видно, что в горелом грунте в размерном классе частиц менее 2 мм отсутствуют глинистые и полевошпатные минералы, а содержание гематита в 5 раз превышает таковое для негорелого грунта. В горелом грунте в значительном количестве обнаруживается диаспор, отсутствующий в негорелом грунте. Содержание гидроксисульфатов железа (жарозит) и алюминия (алунит) примерно одинаково в обоих грунтах. Химический состав дренажных вод отвала представлен в таблице 3-10. Следует специально отметить, что данная характеристика химического состава жидкой компоненты отвала относится ко всему отвалу, то есть горелой и негорелой его частям суммарно, а также для всех размерных классов слагающих отвал пород, а не только для частиц менее 2 мм, то есть это интегральная характеристика жидкой компоненты грунта отвала.

**Оценка микробной составляющей грунта.** Известно, что концентрация ионов водорода в среде является фактором, определяющим границы существования живой материи, влияя на рост и размножение организмов. Концентрация ионов водорода в среде воздействует на ионное состояние, а следовательно, и на доступность для организмов многих органических соединений и неорганических ионов. Большинство организмов живет при рН среды от 4 до 9, хотя наилучшим образом они развиваются при нейтральной

реакции среды. Есть и кислотолюбивые (ацидофильные) организмы, в том числе микроорганизмы. Породные отвалы угольных шахт, дренажные и шахтные воды, характеризующиеся высокими концентрациями растворенных сульфатов, железа и ионов водорода, являются местами обитания таких микроорганизмов [64]. Считается, что микробные сообщества кислых сред обитания, в том числе и породных отвалов, характеризуются весьма ограниченным числом видов [149, 199], что может быть объяснено ограниченным количеством пригодных для микробного метаболизма химических реакций в этих средах [136]. Согласно исследованиям Бейкера и Банфилд [136], Джонсона [265], Кондратьевой *и соавт.* [56] и многих других, в состав микробного сообщества, населяющего породные отвалы, входят аэробные ацидофильные гетеротрофные микроорганизмы, окисляющие органические соединения; микроорганизмы, окисляющие железо, серу и восстановленные ее соединения, пирит и сульфидные минералы; микроорганизмы, восстанавливающие железо; сульфатвосстанавливающие микроорганизмы; общая численность микроорганизмов может достигать  $10^9$  кл/г. Структура микробного сообщества кислых сред обитания и уровень активности его членов тесно связана с геохимическими факторами, которые варьируют по сезонам года [206]. Также отмечается изменение структуры микробных сообществ как между местами отбора проб, так и со временем отбора проб. Кроме того, структура микробного сообщества может определяться и негеохимическими факторами, определяющими концентрацию биомассы – рост грибов, выедание простейшими, – которые зависят от температуры и минерализации растворов [199].

Исследования образовавшихся в результате добычи алюминия и в разной степени заросших наземной растительностью отвалов показали, что колонизация растениями отвалов влияла на количество и состав микробного сообщества – численность микроорганизмов была выше в заросших отвалах, в них преобладали грам-отрицательные микроорганизмы [372]. К сожалению, про подобные исследования отвалов угольных пород нам не известно, хотя они тоже подвержены зарастанию. Численность железоокисляющих и сероокисляющих микроорганизмов в отвалах значительно уменьшается с глубиной отбора проб, соответствуя снижению содержания кислорода [367].

Таблица 3-9

Минеральный состав горелого и негорелого грунта плоского отвала шахты Северная, % (по: [308])

Грунт	Кварц	Гематит	Диаспор	Алузит	Ярозит	Каолинит	Гидрослюда (иллит)	Полевые шпаты
горелый	64,6	14,6	9,4	9,5	1,9	0	0	0
негорелый	43,6	2,8	0	7,1	3,3	14,0	21,6	7,6

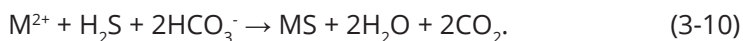
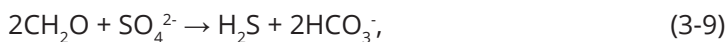
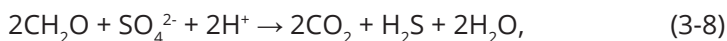
Таблица 3-10

Химический состав дренажных вод плоского отвала шахты Северная (по: [92])

pH	Показатели химического состава, мг/л								
	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Cl <sup>-</sup>	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Na <sup>+</sup> +K <sup>+</sup>	
2,2	2458	20	1,1	0,02	0,002	499	39	2,5	
Fe <sub>общ.</sub>	Al <sup>3+</sup>	Co <sup>2+</sup>	Ni <sup>2+</sup>	Mn <sup>4+</sup>	Zn <sup>2+</sup>	Cu <sup>2+</sup>	Cr <sub>общ.</sub>	Сухой остаток	
320	88	0,21	0,49	3,4	0,44	1,4	0,11	4350	



Процессы жизнедеятельности вышеперечисленных групп микроорганизмов вызывают следующие изменения состава жидкой компоненты грунта отвалов, как показано в таблице 3-11. Наибольший интерес из перечисленных групп вызывают сульфатвосстанавливающие микроорганизмы, жизнедеятельность которых оказывает больший нейтрализующий эффект на кислые дренажные воды вследствие образования не только углекислого газа, но и сероводорода. Образующийся сероводород может образовывать нерастворимые сульфиды с ионами железа и других металлов, предотвращая тем самым реакции их гидролиза и снижая общую кислотность среды [263]:



Отмечена температурная зависимость скорости процесса сульфатредукции от температуры окружающей среды [258]. Частицы образующихся сульфидов халькофильных металлов были устойчивы к окислению в кислородной среде более месяца [388]. Жизнедеятельность сульфатвосстанавливающих микроорганизмов приводит также к снижению содержания в среде сульфатов [34, 235]. Возможность биотехнологического использования сульфатвосстанавливающих микроорганизмов для удаления из загрязненных водотоков сульфатов и ионов тяжелых металлов отмечается многими исследователями [249, 266, 268, 328, 411, 433].

## Влияние микроорганизмов грунта

<b>Изменение свойств грунта</b>		
<b>Твердая компонента</b>	<b>Жидкая компонента</b>	<b>Газовая компонента</b>
Не изменяется	Увеличение рН порового раствора	Снижение газоносности, снижение газосодержания
Не изменяется	Снижение рН порового раствора, снижение ионной силы раствора	Снижение газоносности, снижение газосодержания
Рост пористости и снижение прочности грунта	Снижение рН порового раствора, увеличение ионной силы раствора	Снижение газоносности, снижение газосодержания
Рост пористости и снижение прочности грунта	Снижение рН порового раствора, увеличение ионной силы раствора	Снижение газоносности, снижение газосодержания
Рост пористости и снижение прочности грунта	Увеличение рН порового раствора, увеличение ионной силы раствора	Не изменяется
Не изменяется	Увеличение рН порового раствора, снижение ионной силы раствора	Не изменяется

**породного отвала на его свойства (по: [119])**

<b>Группа микроорганизмов</b>	<b>Процессы в жидкой компоненте грунта</b>
Аэробные ацидофильные органотрофные микроорганизмы	Рост содержания гидрокарбонат-ионов. Снижение окислительно-восстановительного потенциала
Микроорганизмы, окисляющие железо	Рост содержания ионов Fe <sup>2+</sup>
Микроорганизмы, окисляющие серу и восстановленные ее соединения	Рост содержания сульфат-ионов и ионов водорода
Микроорганизмы, окисляющие пирит и сульфидные минералы	Рост содержания сульфат-ионов и ионов водорода
Ацидофильные железовосстанавливающие микроорганизмы	Снижение содержания ионов Fe <sup>2+</sup> . Рост содержания сульфат-ионов.
Сульфатвосстанавливающие микроорганизмы	Снижение содержания сульфат-ионов. Рост содержания сульфид-ионов и гидрокарбонат-ионов.

Сульфатвосстанавливающие микроорганизмы обнаруживаются в разных местах обитания. К ним относят очень разнообразные прокариотические организмы, которые на основании данных анализа рРНК могут быть разделены на 4 группы: грамотрицательные мезофильные сульфатвосстанавливающие бактерии, грамположительные спорообразующие сульфатвосстанавливающие бактерии, термофильные сульфатвосстанавливающие бактерии и термофильные сульфатвосстанавливающие археи [163, 385]. Муйзер и Штамс [328] выделяют 7 филогенетических линий происхождения сульфатвосстанавливающих микроорганизмов – 5 линий среди *Bacteria* и 2 линии среди *Archaea*. Число органических субстратов, используемых сульфатвосстанавливающими микроорганизмами в качестве источника углерода и энергии, достаточно велико: сахара, спирты, органические кислоты, аминокислоты, некоторые ароматические соединения. Основным неорганическим источником энергии служит водород [34, 235, 299, 328]. Некоторые виды в процессе сульфатредукции могут окислять угарный газ [415]. Для биосинтетических процессов используются уксусная кислота (ацетат) и углекислый газ. Некоторые виды растут на средах с органическими субстратами в отсутствие сульфатов, используя энергию процессов брожения [34, 235, 328]. Все сульфатвосстанавливающие микроорганизмы – облигатные анаэробы, многие из них относятся к категории строгих анаэробов, для роста которых требуется не только отсутствие кислорода, но и низкий окислительно-восстановительный потенциал среды. В то же время некоторые штаммы проявляют устойчивость к кислороду и выживают при разной длительности аэрирования среды [128, 135, 282, 294]. Некоторые рода и виды сульфатвосстанавливающих бактерий даже способны к аэробному дыханию [182, 196]. Маршалл и соавт. показали, что скорости окисления органических и неорганических соединений сульфатвосстанавливающими микроорганизмами во время аэробного дыхания сравнимы с таковыми у аэробных микроорганизмов [310]. Некоторые сульфатвосстанавливающие бактерии обладают способностью к восстановлению трехвалентного железа, и их активность может приводить к образованию конкреций сидерита [179]. Сульфатвосстанавливающие микроорганизмы предпочитают среды обитания с показателем pH близким к нейтральному, но были также обнаружены в окислительных условиях в кислой среде [175, 218, 219, 223, 287, 292, 343]. Жизнедеятельность сульфатвосстанавливающих микроорганизмов способствует снижению концентрации сульфатов в образующихся кислых водах, вызывает локальное подщелачивание среды и способствует осаждению

сульфидов металлов (в основном железа) [223]. Присутствие сульфатовосстанавливающих микроорганизмов в породах не зависело от влажности пород или содержания органического вещества, численность их не превышала  $10^7$  CFU/г породы [223]. По данным Перейра *и соавт.*, большинство микроорганизмов таких сложных систем как кислотообразующие породы представлено некультивируемыми в лабораторных условиях формами [337], что затрудняет определение их численности общепринятыми методами, основанными на культивировании. Отмечается также, что сульфатовосстанавливающие микроорганизмы составляют лишь малую часть сообщества и имеют широкое филогенетическое разнообразие, то есть представлены множеством видов разной степени родства, что затрудняет их подсчет при использовании методов анализа 16S рПНК с малым количеством праймеров [337].

Учитывая вышеизложенное, вместо определения численности сульфатовосстанавливающих бактерий в образцах горелого и негорелого грунта отвала определяли их наличие методом накопительных культур на среде Баарса [84]. После 7–10 дней инкубации во флаконах с образцами грунта наблюдали развитие сульфатовосстанавливающих микроорганизмов, в контрольных флаконах видимых изменений не наблюдалось.

**Разработка технологии активирования жизнедеятельности микроорганизмов.** Результаты проведенного эксперимента показали, что грунт как горелой, так и негорелой частей отвала шахты Северная содержит жизнеспособную популяцию сульфатовосстанавливающих микроорганизмов. Результаты жизнедеятельности данной группы микроорганизмов отчетливо обнаруживались визуально, поэтому осуществлять биодополнение грунта сульфатовосстанавливающими микроорганизмами мы считали излишним – количество данных бактерий в образцах грунта было достаточно для осуществления видимых изменений в грунте. Более того, исследования Перейра *и соавт.* показали, что биодополнение накопительной культурой аборигенных сульфатовосстанавливающих микроорганизмов не приводит к увеличению скорости сульфатредукции [337].

При подборе состава среды для активирования жизнедеятельности микроорганизмов методом биостимуляции следует учитывать тот факт, что состав лабораторных сред, используемых для культивирования микроорганизмов, в том числе для учета их численности и постановки накопительных культур, является оптимальным для жизнедеятельности конкретной группы микроорганизмов

и вряд ли будет наблюдаться в природных условиях. Кроме того, использование на крупномасштабных природных объектах больших объемов растворов сложного и «экзотического» состава не является экономически оправданным. Поэтому для активирования *in situ* сульфатвосстанавливающих микроорганизмов грунта отвала был испытан раствор другого состава.

К настоящему времени большинство породных отвалов Кизеловского угольного бассейна покрылось как травянистой, так и деревянистой растительностью. Развитие растительного покрова стимулирует жизнедеятельность гетеротрофных микроорганизмов в верхней части грунта отвалов, которые получают фильтрующиеся через грунт с атмосферными осадками органические вещества от увядшей растительности и корней растений, [255]. Исследования показали, что большой вклад в активизацию микробиологических процессов вносят органические вещества растительного опада, а не ризосферные процессы [198]. Глюкоза и уксусная кислота (ацетат) являются одними из основных метаболитов при развитии микробных сообществ [44, 169, 315]. Какой бы сложный по составу раствор органических веществ не был бы внесен в грунт отвала для активирования жизнедеятельности микроорганизмов, использоваться в процессах микробного метаболизма будут в основном эти соединения. Именно поэтому добавление органического вещества в виде глюкозы и уксусной кислоты (ацетата), которые к тому же метаболизируются разными путями [32], используют как инструмент для измерения размеров микробной биомассы и максимизации микробного разнообразия [324]. Есть мнение, что растворы глюкозы с концентрацией 0,9–9 г/л отражают концентрацию глюкозы в почвенном растворе в результате лизиса клеток корней растений [269, 270]. В исследованиях с использованием метода иницированного микробного сообщества для выяснения изменений в сообществе микроорганизмов рекомендуют использовать раствор глюкозы с концентрацией 5 г/л [84]. Такая концентрация органического вещества может быть принята как максимально допустимая с экономической точки зрения для активации микробного сообщества грунта отвалов. С другой стороны, при исследованиях гетеротрофных микроорганизмов природных экосистем с низким содержанием органического вещества, например, вод и грунтов подземных горизонтов, используют среды с содержанием органического вещества в несколько сотен мг/л [197, 217]. В связи с вышеизложенным был выбран следующий состав раствора для активации *in situ* сульфатвосстанавливающих микро-

организмов грунта отвала (г/л): глюкоза – 0,5; ацетат натрия – 0,5; вода дистиллированная. Проведенный лабораторный эксперимент показал, что раствор данного состава активизирует в грунте отвала жизнедеятельность сульфатовосстанавливающих микроорганизмов.

Таким образом, проведенные лабораторные исследования показали присутствие в грунте отвала шахты Северная как в горелой, так и негорелой его частях сульфатовосстанавливающих микроорганизмов, жизнедеятельность которых активировалась при поступлении органических веществ. В результате анализа научной литературы был подобран состав раствора для активации *in situ* сульфатовосстанавливающих микроорганизмов грунта отвала, который был опробован в ходе лабораторного эксперимента.

**Разработка технологии формирования состава и свойств жидкой компоненты грунта.** Разработку технологии осуществляли с помощью метода лабораторного моделирования: в пластиковые (ПЭТФ) колонки диаметром 6,5 см помещали 200–300 г горелого или негорелого грунта отвала, раз в сутки в каждую колонку добавляли 50–70 мл раствора для активации, который фильтровался через грунт под действием силы гравитации и собирался в отдельную емкость для определения объема стока и его водородного показателя. Для обработки контрольных колонок использовали дистиллированную воду. Эксперимент продолжался 95 суток, в ходе которых было произведено 45 обработок активирующим раствором и столько же замеров рН фильтрующихся вод. Результаты эксперимента представлены на рисунках 3-9 и 3-10.

Видно, что динамика роста водородного показателя дренажных вод в горелом и негорелом грунте отвала выше при активизации в грунте жизнедеятельности сульфатовосстанавливающих микроорганизмов. При этом также отмечается незначительность разницы значений водородного показателя дренажных вод на момент окончания эксперимента: 5,4 – для образца горелого грунта и 5,1 – для образца негорелого грунта отвала. Анализ содержания сульфатов в дренажных водах экспериментальных колонок показал его снижение в ходе эксперимента (таблица 3-12). По окончании эксперимента в грунте породного отвала с активированными сульфатовосстанавливающими микроорганизмами наблюдали цементацию грунта новообразованными частицами сульфидов.

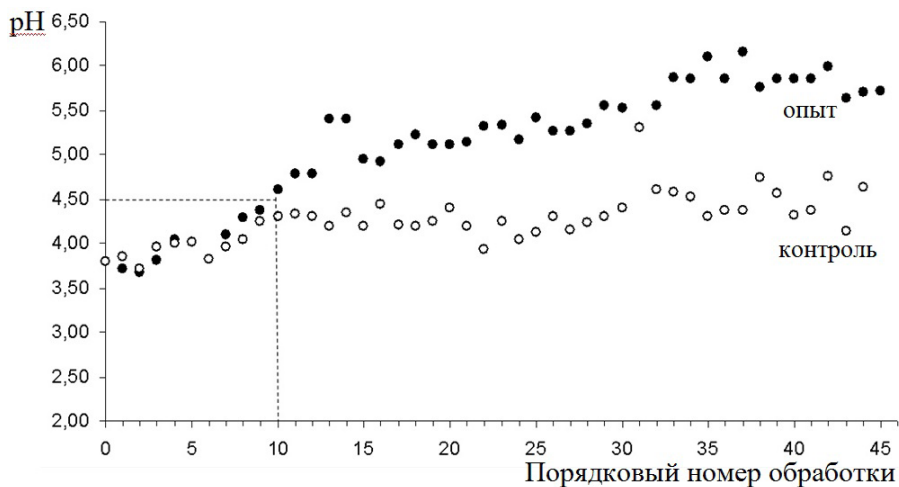


Рисунок 3-9  
**Влияние длительности активирования сульфатовосстанавливающих микроорганизмов на изменение рН порового раствора горелого грунта отвала шахты Северная (по: [308])**

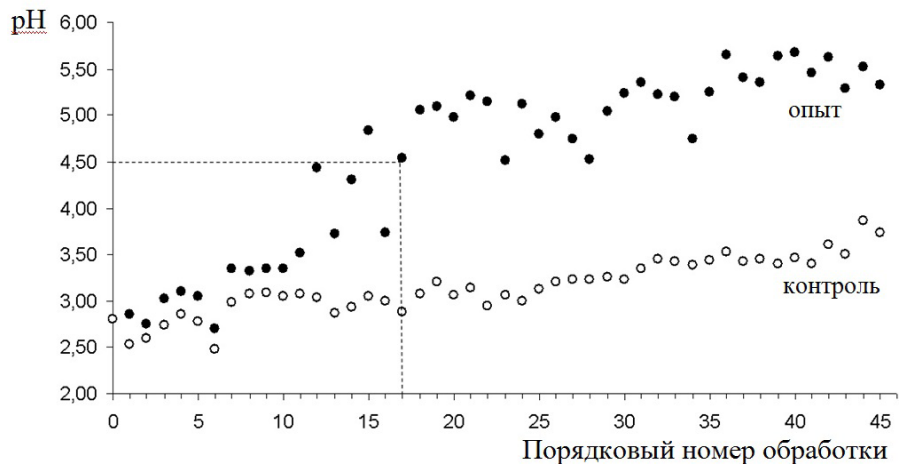


Рисунок 3-10  
**Влияние длительности активирования сульфатовосстанавливающих микроорганизмов на изменение рН порового раствора негорелого грунта отвала шахты Северная (по: [308])**



Результаты проведенных исследований показали, что активизация жизнедеятельности сульфатвосстанавливающих микроорганизмов породного отвала шахты Северная путем добавления органических соединений приводит к изменениям химической характеристики жидкой компоненты грунта. Для достижения требуемой величины рН в поровых водах грунта отвала необходимо произвести 17 обработок негорелого грунта и 10 обработок горелого. При этом в грунте происходят следующие процессы. Сульфатвосстанавливающие микроорганизмы потребляют вносимые органические соединения и восстанавливают сульфат-ионы порового раствора с образованием углекислого газа и сероводорода. Образующийся углекислый газ нейтрализует кислотность поровых вод, а сероводород связывается с ионами металлов, образуя нерастворимые сульфиды и предотвращая тем самым гидролиз ионов металлов и появление добавочных протонов в поровых водах. Выпадение сульфидов сопровождается снижением пористости грунта, образованием в нем новых структурных связей и, как следствие, ростом прочности и устойчивости склона отвала.

На результаты проведенных экспериментов можно посмотреть и с другой стороны. Использованный нами раствор органических веществ по их концентрации соответствует содержанию органического вещества в почвенном растворе при разложении наземной растительности [269, 270] и, таким образом, может имитировать поступление в тело отвала, покрытого сверху растительностью, органических веществ от разлагающейся растительности в результате выпадения атмосферных осадков.

Таблица 3-12

**Изменение рН и содержания сульфатов в дренажных водах экспериментальных колонок, 2018 год (по: [119])**

<b>Грунт</b>	<b>Дата отбора</b>	<b>рН</b>	<b>Содержание сульфатов, мг/л</b>
горелый	25.04	5,52	590,3
	10.05	5,85	105,5
	18.05	5,86	107,3
негорелый	25.04	5,23	150,9
	10.05	5,65	69,8
	18.05	5,45	78,3

Другими словами, каждый дождь, выпадающий на поверхность заросшего растительностью отвала, вызывает активизацию в грунте отвала жизнедеятельности сульфатовосстанавливающих микроорганизмов в результате поступления с фильтрующимися через тело отвала водами органических веществ, образовавшихся в результате разложения растительных остатков на поверхности отвала. В соответствии с периодичностью выпадения осадков следует ожидать такой же периодичности в активизации жизнедеятельности сульфатовосстанавливающих микроорганизмов. При этом образующиеся в результате восстановления сульфат-ионов сульфиды металлов будут подвергаться окислению ионами трехвалентного железа в соответствии с уравнениями (3-4) и (3-5), что будет происходить и в отсутствие поступления в тело отвала органических соединений. Тем не менее, общее защелачивающее действие процесса сульфатредукции, а также постепенное исчерпание пула реакционноспособного трехвалентного железа в условиях анаэробнобиоза, то есть без возможности его пополнения, будут способствовать постепенной естественной нейтрализации дренажных стоков с отвалов, заросших растительностью.

Таким образом, была разработана технология формирования состава и свойств жидкой компоненты грунта, которая заключается в активировании жизнедеятельности сульфатовосстанавливающих микроорганизмов породного отвала путем добавления органических соединений, что приводит к изменениям химической характеристики жидкой компоненты грунта, а именно, снижению кислотности дренажных вод. По результатам исследования получен патент на изобретение [81]. Данную технологию можно использовать в мероприятиях по защите окружающей среды от воздействия кислотных стоков с отвалов горнодобывающей промышленности, а также при рекультивации этих отвалов.

## Глава 4

# ФОРМИРОВАНИЕ СОСТАВА ГАЗОВОЙ КОМПОНЕНТЫ ГРУНТА

### 4.1. Микроорганизмы и газовая компонента обводненного грунта

Одной из областей инженерной деятельности, где особенно важно учитывать возможность выделения газов за счет деятельности микроорганизмов, является строительство и эксплуатация гидротехнических сооружений. Их строительство связано с решением энергетических проблем, мелиорацией земель, водообеспечением городов и промышленных предприятий. Комплекс гидротехнических сооружений обычно занимает значительные площади и имеет большую зону влияния на состояние и свойства природных массивов. Его возведение влечет за собой формирование массивов техногенных грунтов из природных, в результате чего целенаправленно формируются техногенно измененные грунты с проектными параметрами плотности, влажности, коэффициента фильтрации [90]. Обязательной биотической составляющей грунтов, в том числе и техногенных, являются микроорганизмы [114]. Микроорганизмы нуждаются для своего роста в определенных питательных веществах, в состав которых должны входить все те химические элементы, которые необходимы для построения клеточного материала, для активности ферментов и для работы транспортных систем. Кроме того, питательные вещества должны поставлять организму материал, используемый как источник энергии [32]. В грунтах роль такого источника питательных веществ и энергии во многом играет органическое вещество, образующееся в результате жизнедеятельности различных наземных организмов. В обводненные грунты гидротехнических сооружений, содержащие собственное органическое вещество, вместе с фильтрующимися через грунт водами поступают также и органические вещества водных объектов, как водорастворенные, так

и в составе взвеси. Микроорганизмы играют важную роль в разложении (минерализации) органического вещества, состав и процессы микробиологической трансформации которого рассмотрены далее.

Большая часть водорастворенного органического вещества, в том числе и в водоемах разного типа, имеет наземное происхождение [142, 370]. Это органическое вещество уже частично деградировало в наземных грунтовых системах и является бедным, но важным субстратом для развития микроорганизмов водных систем [103, 142, 145, 177, 271, 273, 309, 333, 370].

Выдвигают следующие объяснения того, что частично деградировавшее органическое вещество наземного происхождения способно поддерживать метаболизм водных бактериальных сообществ: большое количество поступающего органического вещества может компенсировать низкую скорость его метаболизма [325, 423, 424]; под воздействием солнечного ультрафиолетового излучения происходит изменение состава органического вещества с образованием более доступных для микроорганизмов соединений [144]; часть органического вещества может оказаться более доступной для микроорганизмов, чем это считалось ранее, и поддерживать достаточную бактериальную продукцию [142]. Водорастворенное органическое вещество представляет собой один из самых больших активных резервуаров органического углерода в биосфере и состоит как из низкомолекулярных, так и высокомолекулярных соединений [253]. В низкомолекулярную фракцию входят органические кислоты, аминокислоты и простые сахара, в высокомолекулярную – полисахариды, белки и/или аминосахара, а также гумусоподобные соединения [262]. Часть водорастворенного органического вещества представляет собой коллоидные агрегаты [155, 284, 422]. На долю полисахаридов может приходиться 50% углерода в высокомолекулярной коллоидной фракции водорастворенного органического вещества [140].

Исследования с помощью протонного ядерного магнитного резонанса показали высокую степень сходства между высокомолекулярным водорастворенным органическим веществом озер, рек, морской воды и морских осадков. Большая фракция пресноводного высокомолекулярного водорастворенного органического вещества была неотличима от морского по химическим свойствам на молекулярном уровне. При этом в пресноводных объектах высокомолекулярное вещество составило 51% от общего водорастворенного органического вещества, что в среднем было выше, но незначитель-

но отличалось от поверхностной морской воды, где оно составляло 30% от общего водорастворенного органического вещества [349]. В водоемах разного типа содержание органического вещества колеблется от 0,5 до 270 мг С/л и по сезонам года изменяется не более чем в 1,3–1,5 раза [103]. Наибольшее количество органического вещества наблюдается в дистрофных водоемах с большой цветностью воды [60]. При этом концентрация органического вещества в воде озер и водохранилищ находится в пределах 3–30 мг С/л. [104]. Анализы содержания и состава органического вещества водных объектов разного типа показали, что в них постоянно присутствуют трудноусвояемые микроорганизмами фракции [103, 254, 414, 436]. Но ни в каких крупных водоемах, в том числе в морях и океанах, не наблюдается устойчивого накопления подобных соединений, что свидетельствует о их постепенном разрушении микроорганизмами [103, 142, 335, 349, 414].

Деструкция взвешенных и растворенных органических веществ – процесс сложный, в котором участвуют сотни видов микроорганизмов из различных физиологических групп [103]. Гетеротрофные бактерии, для которых растворенное органическое вещество является единственным источником энергии и углерода, выработали за время эволюции активные механизмы транспорта органических соединений в клетку. Это позволило им в естественных условиях потреблять субстрат до концентраций вплоть до 20 мкг/л и ниже и тем самым успешно конкурировать с гетеротрофией водорослей. Последние, используя кинетику простой диффузии, способны активно потреблять органический субстрат лишь при концентрациях выше 500 мкг/л и поэтому вынуждены обходиться автотрофным типом питания, недоступным для гетеротрофов [95]. Важную роль в процессе деструкции органических соединений играют экзогенные ферменты, выделяемые микроорганизмами, находящиеся как в свободном состоянии, так и на внешней оболочке их клеток. Под их воздействием в воде образуются сотни метаболитов, которые можно представить в виде постоянного то уменьшаемого, то возрастающего потока, вызываемого и одновременно потребляемого организмами [103]. Деградация органического вещества микроорганизмами усиливается при высоком содержании в нем углеводов, органических кислот и белков [311], но она может быть замедлена включением органического вещества в состав минеральной матрицы грунта [212, 371] и/или инкорпорацией его в устойчивые макромолекулы [250], а также в результате ингибирующего действия металлов [311].

В то же время деградация органического вещества в присутствии металлов может усиливаться в результате его флокуляции, так как структуры с большими физическими размерами лучше колонизируются микроорганизмами [311].

Первый этап деструкции органического вещества представляет собой гидролиз, осуществляемый бактериями-гидролитиками, переводящими вещества твердой фазы в раствор, гидролизуя их вне клетки под действием соответствующих экзоферментов-гидролаз, соответственно протеаз, липаз, целлюлаз. Общая картина гидролиза сводится к появлению вместо индивидуальных полимеров унифицированных мономеров, поступающих в общий резервуар растворенных веществ. Рассеиваемый при гидролизе полимера олигомерный продукт может быть использован «микрофлорой рассеяния» - диссипотрофами. Если гидролитики ограничены поверхностью гидролизуемых веществ твердой фазы, то для диссипотрофов ограничение обусловлено притоком рассеиваемых веществ. Группы анаэробных гидролитиков и диссипотрофов объединяются в группировку первичных анаэробов, очень четко просматриваемую при анаэробных процессах как группировка бродильщиков, осуществляющая кислотогенную или, иначе, водородную фазу с образованием несбраживаемых продуктов. Почти все продукты брожений представлены, помимо водорода, низшими жирными кислотами, спиртами и аналогичными продуктами, которые не могут быть сброжены далее [44, 169, 315]. Важным промежуточным метаболитом при разложении органического вещества является уксусная кислота (ацетат) [171]. Водорастворимое органическое вещество, особенно низкомолекулярная его часть, представлена карбоксикислотами, составляющими 50–90% от его общего количества, аминокислотами (5–32%) и углеводами (5–20%) [142, 254, 327, 335, 397, 414]. В отдельных случаях содержание углеводов может достигать 35% от общего количества водорастворенного органического вещества [158, 355]. Среди карбоксикислот доминирует уксусная кислота (ацетат), среди аминокислот – аспарагин и серин, среди углеводов – глюкоза и фруктоза [142, 254, 327, 335, 397, 414].

Группировка вторичных анаэробов включает организмы с анаэробным окислительным обменом, обусловленным использованием несбраживаемых продуктов первичных анаэробов в качестве доноров электронов и внешних неорганических акцепторов электронов в окислительно-восстановительных реакциях, приводящих к образованию полностью окисленного продукта разложения органи-

ческого вещества – углекислого газа – и восстановленного неорганического соединения. Важнейшими донорами электронов для вторичных анаэробов служат: 1) водород и/или ацетат; 2) ацетат и/или этанол; 3) летучие жирные кислоты. Вторичные анаэробы используют все продукты первичных анаэробов [44, 169, 315].

Таким образом, разложение органического вещества микроорганизмами достигается последовательным восстановлением кислорода (в аэробной среде), нитрат-ионов, ионов железа (III), сульфат-ионов и углекислоты (в анаэробной среде), являющихся конечными акцепторами электронов. Предпочтение между акцепторами электрона для одних и тех же веществ-доноров определяется термодинамическими причинами с использованием в первую очередь реакций, дающих наибольший энергетический выигрыш, то есть реакций, в которых акцептор электронов с более высоким окислительно-восстановительным потенциалом восстанавливается в первую очередь. Последовательность использования акцепторов электронов включает: 1) восстановление нитратов; 2) восстановление  $Fe^{3+}$  (железоредукция); 3) восстановление соединений серы в сероводород или сульфидогенез (он же сульфатредукция); 4) восстановление углекислоты в метан или метаногенез. При этом пока микроорганизмами полностью не исчерпаны ионы  $Fe^{3+}$ , не происходят сульфатредукция или метаногенез, а метаногенез не начинается, пока не исчерпаны сульфат-ионы [44, 129, 169, 304].

Наличие в грунтах органических веществ, которые не являются токсичными по отношению к присутствующим в грунте микроорганизмам, предопределяет существование в грунтах разнообразной и многочисленной микробиоты [47, 48] и является важным фактором для развития газогенерирующих сообществ, требующих анаэробные либо локально микроаэрофильные условия, возможность формирования которых связана с высокой обводненностью грунта [38]. При этом доступность органического вещества для его дегградации микроорганизмами может являться предварительным условием для создания восстановительных условий в грунте или его компартментах [311]. Перечисленные три составляющие – наличие в грунте органического вещества, анаэробной микрофлоры и избыточного содержания влаги – необходимые условия для развития в грунте глеевого процесса, сопровождающегося несбалансированным выносом из грунта железа [45, 46], что действует как фактор дополнительного снижения прочности пород и грунтов [38]. Развитие глеевого процесса способствует образованию смешанослойных

слюдисто-вермикулит-монтмориллонитовых образований. В оглеенных почвах происходит образование вермикулитовых и хлоритовых минералов по слюдам, разрушение разбухающих смешанослойных иллит-сметитовых минералов или потеря ими части смектитовых пакетов. Следствием глееобразования может быть вытеснение алюминия из кристаллической решетки минералов ионами двухвалентного железа, ослабление структурных связей в кристаллической решетке минералов. Вынос железа затрагивает, главным образом, его несиликатную фракцию, которая в значительной мере ответственна за водопрочность агрегатов. Происходят изменения и в составе органического вещества оглеенных грунтов – содержание аминокислот увеличивается в 2,5–3 раза, в них резко возрастает доля дикарбоновых и оксиаминокислот; возрастает абсолютное содержание углеводов, но снижается их относительное содержание в органическом веществе, что связано с усилением разложения в анаэробных условиях; в гумусе наблюдается снижение содержания азота, резко увеличивается абсолютное содержание наиболее агрессивных гумусовых кислот [46]. В затопляемых почвах и грунтах активно развивается микробиологический процесс образования метана [9, 38, 129, 227, 289, 317, 420].

С точки зрения безопасной эксплуатации гидротехнических сооружений и их устойчивости процесс образования метана в обводненных грунтах гидротехнических сооружений является наиболее нежелательным, так как метан малорастворим в воде и в анаэробных условиях, характерных для заводняемой части тела плотины, может накапливаться в газовой фазе. Известно, что малорастворимые газы способствуют разуплотнению песчано-глинистой толщи и переходу песчаных разностей в пlyingуны, а глинистых грунтов – в квазипластичные среды с возможным проявлением в них тиксотропных свойств [38, 101]. Высокая активность биохимического газообразования в грунтах под действием природных и природно-техногенных факторов отмечалась Р.Э. Дашко [35, 36]. В микробиологических исследованиях для подавления нежелательной активности микроорганизмов принято использовать специальные вещества-ингибиторы бактериальных процессов. Подавление микробиологического процесса метаногенеза – технически сложный и экономически затратный процесс, использующий либо такие «экзотические» вещества, как 2-бромэтансульфоновая кислота, либо токсичные для окружающей среды хлорзамещенные аналоги метана – хлороформ, четыреххлористый углерод, хлористый метилен. При



этом полного ингибирования процесса удается достичь не всегда [334]. По данным Дашко и соавт. [38], обработка глинистых грунтов антибиотиками приводила к переходу их в текучее состояние, а обработка водонасыщенных грунтов радиоактивным облучением интенсивностью 1500 рентген/час не приводила к полному подавлению в них микробной активности. С другой стороны, эксперименты показали, что добавление внешнего акцептора электронов ингибирует восстановление акцепторов электронов с более низким значением окислительно-восстановительного потенциала, особенно в случаях лимитирования концентрацией донора электронов [129]. Так, добавление нитрат-ионов полностью ингибировало метаногенез [169, 283], а добавление ионов  $Fe^{3+}$  ингибировало сульфатредукцию и метаногенез [303, 304, 354]. Нитратвосстанавливающие, железовосстанавливающие и сульфатвосстанавливающие микроорганизмы успешно конкурировали с метанобразующими организмами за использование органического субстрата [129, 169].

Лавли и Филлипс при исследовании разложения органического вещества в анаэробных осадках эстуария р. Потомак (США) обнаружили, что добавление соединений окисного железа ингибировало образование метана в осадках. Был сделан вывод, что процесс бактериального восстановления железа может успешно конкурировать с метаногенным путем разложения органического вещества в осадках, а также с бактериальным процессом восстановления сульфатов. В лабораторных условиях наблюдалось ингибирование процесса метанобразования на 50–90% в присутствии аморфного оксигидроксида железа. При наличии в анаэробных осадках аморфных оксигидроксидов железа перенос электронов с органического вещества на ионы окисного железа является основным путем окисления органического вещества. Лабораторные исследования показали, что скорость бактериального восстановления ионов железа аморфных оксигидроксидов железа была в 10 раз выше, чем в случае использования гематита, то есть в присутствии кристаллических соединений железа перенос электронов с органического вещества на ионы окисного железа был крайне мал. Выявлен следующий ряд степени ингибирования бактериального образования метана соединениями железа: аморфный оксигидроксид железа > акаганеит > гетит > гематит [303].

Дальнейшие исследования этих же авторов показали, что замена аморфного оксида железа на лимоннокислую соль трехвалентного железа приводила к более быстрому росту железовосстанавли-

вающих микроорганизмов и практически полному восстановлению всех добавленных ионов трехвалентного железа в двухвалентное состояние [305].

Бонд и Лавли наблюдали ингибирование процесса образования метана в осадках в присутствии слабокристаллизованных оксидов железа. Результаты исследований показали, что мезофильные метанобразующие микроорганизмы обладали способностью восстанавливать оксиды трехвалентного железа и внеклеточные хиноны. Таким образом, ингибирование образования метана в осадках, содержащих соединения трехвалентного железа, может происходить, по крайней мере частично, в результате перенаправления метанобразующими микроорганизмами потока электронов на восстановление ионов железа и внеклеточных хинонов. Перенос метанобразующими микроорганизмами потока электронов на ионы железа наблюдался даже в условиях ингибирования роста и образования метана. Результаты исследования показали, что восстановление ионов железа может происходить в результате жизнедеятельности не только железовосстанавливающих, но и метанобразующих микроорганизмов [148].

Роден и Ветцель наблюдали снижение скорости процесса образования метана в пресноводных осадках в присутствии оксидов железа, когда железовосстанавливающие бактерии успешно конкурировали с метанобразующими за ацетат и водород (промежуточные продукты анаэробного разложения органического вещества) [354].

Роден показал, что способность микробного сообщества пресноводных осадков к восстановлению кристаллических оксидов железа зависит от общей площади поверхности этих оксидов и ее доступности для микроорганизмов, а не от термодинамических свойств оксидов [353].

Ван Бодегом *и соавт.* в лабораторных экспериментах с чистыми культурами метанобразующих микроорганизмов обнаружили прямое ингибирование бактериального процесса образования метана аморфным гидроксидом трехвалентного железа при использовании его в концентрации до 10 мМ. При этом чувствительность к ионам трехвалентного железа метанобразующих микроорганизмов, растущих на смеси водорода с углекислым газом, была выше, чем у метанобразующих микроорганизмов, растущих на ацетате (уксусной кислоте). Культура *Methanosarcina barkeri* при росте на смеси водоро-

да с углекислым газом и росте на метаноле показала способность к восстановлению ионов трехвалентного железа. Сделано предположение, что восстановление ионов железа метанобразующими микроорганизмами также может являться причиной ингибирования метаногенеза соединениями трехвалентного железа [405].

Людерс и Фридрих изучали эмиссию метана с рисовых полей и пришли к заключению, что она может быть уменьшена добавлением в грунт соединений-акцепторов электронов для стимуляции жизнедеятельности микроорганизмов, конкурирующих с метанобразующими микроорганизмами за органические соединения. В качестве соединений-акцепторов они использовали ферригидрит для стимулирования жизнедеятельности железовосстанавливающих микроорганизмов и гипс – для сульфатовосстанавливающих [306].

Ван дер Гон *и соавт.* изучили литературу, посвященную использованию на рисовых полях добавок сульфатсодержащих соединений с целью снижения эмиссии метана с полей. Снижение эмиссии метана зависело не только от количества внесенного сульфата, но было также сайтоспецифичным. Обнаружили логарифмическую зависимость между количеством внесенного сульфата и уменьшением эмиссии метана [406].

Джекил *и соавт.* исследовали возможность снижения эмиссии метана с рисовых полей с помощью добавок соединений железа. Эмиссия метана является результатом двух противоположных процессов, осуществляемых микроорганизмами – образования метана и окисления его. Авторы исследовали влияние добавок соединений железа на микробное образование метана в заводняемых почвах. В полевых условиях были проведены эксперименты, в ходе которых в начале ростового сезона на опытном рисовом поле использовали добавку ферригидрита. Результаты эксперимента показали, что на опытном участке эмиссия метана составила 50% от эмиссии на контрольном участке. Также отмечено отсутствие токсического воздействия внесенного соединения железа на рис и другие растения. Выход продукции с контрольного и опытного участков не отличались друг от друга, содержание ионов железа в рисе также было одинаковым для контрольного и опытного участков, то есть внесение соединений железа не сказывалось на количестве и качестве продукции. Сделан вывод, что добавление соединений железа может являться подходящей стратегией для снижения эмиссии метана с рисовых полей [261].

Таким образом, активирование жизнедеятельности бактерий, восстанавливающих ионы трехвалентного железа, может привести к прекращению образования метана в обводненном грунте. Нами были проведены исследования по формированию состава и свойств газовой компоненты обводненного грунта земляной плотины, а именно, прекращению микробного процесса метаногенеза за счет активирования жизнедеятельности микроорганизмов, конкурирующих с метанобразующими микроорганизмами за субстрат и тем самым подавляющих их развитие и образование метана.

## 4.2. Формирование состава газовой компоненты обводненного грунта

**Оценка состояния грунта.** Исследуемая грунтовая плотина была сооружена в середине XX века способом гидронамыва с обжатым профилем из мелкозернистых песков, добытых из местных карьеров. По классификации техногенных грунтов грунты плотины относятся к классу техногенно-переотложенных, группе строительных, подгруппе намывных (планомерно намывных), типу грунтов земляных сооружений, подтипу песчаных, виду уплотнившихся [90]. Максимальная мощность намывных грунтов составляет 35 м. Физико-механические свойства грунтов и их подробное описание приведено в [93], характерное инженерно-геологическое строение пойменного и руслового участков плотины представлено на рисунках 4-1–4-3.

Естественным основанием грунтовой плотины являются аллювиальные отложения, развитые на всей площади основания плотины [91]. Аллювиальные отложения сложены (сверху вниз) глинами и тяжелыми суглинками, мелкозернистыми песками и гравийно-галечниковыми образованиями. Глины и суглинки слоистые, пылеватые, плотные влажные, в них встречаются растительные остатки. Вся толща аллювиальных глин и суглинков содержит прослойки песка. Гравийно-галечная толща неоднородна по простиранию, по составу заполнителя и содержанию гравия и гальки. В толще наблюдаются линзы мелкозернистого песка и прослойки глин. Также на территории исследований отмечены озерно-болотные (старичные) отложения, которые имеют локальное распространение в виде прослоев. Они залегают на аллювиальных отложениях пойменной террасы, и входят в состав пород, слагающих основание плотины. Отложения представлены глинами и суглинками, торфом, иловыми грунтами и

болотно-озерным мергелем. Торф различают погребенный (залегающий под слоем более молодых отложений мощностью более 2 м) и поверхностный. Местами поверхностные торфы заменены намывными грунтами. Торф и суглинки, слагающие основание пойменной плотины, находятся в очень мягкопластичном и текучепластичном состоянии [91].

Отмечено наличие грунтов, изменивших свою окраску в ходе смены кислородной обстановки на бескислородную после строительства грунтовой плотины. Серые грунты в теле и основании плотины являются признаком восстановительной обстановки, в которой развиваются анаэробные микроорганизмы. Как известно, структурное железо (III) в глинистых минералах может переходить в подвижную форму  $Fe^{2+}$  в процессе жизнедеятельности микроорганизмов, и вымываться с потоком подземных вод, что сказывается на окраске грунтов. Есть сведения, что в результате анаэробной трансформации твердой компоненты заметно изменяется микроагрегатный состав глинистых и супесчаных грунтов, что может повлиять и на их физико-механические свойства [16, 50, 51].

Была проведена оценка свойств грунтов тела плотины и ее основания (таблица 4-1).

Гидрогеологическая обстановка в районе исследований, существовавшая в естественных условиях, в значительной степени изменилась после строительства гидротехнических сооружений и в процессе их эксплуатации. Произошли существенные изменения гидродинамических и гидрохимических условий, которые вызваны рядом факторов: изменением напоров подземных вод, фильтрацией пресных вод из водохранилища и др. [17].

В настоящее время на участке створа плотины выделяются следующие водоносные горизонты:

- локальный водоносный горизонт в теле плотины;
- аллювиальный водоносный горизонт;
- шешминский водоносный горизонт;
- верхнесоликамский водоносный горизонт;
- нижнесоликамский водоносный горизонт.

Геолого-литологическая колонка скважины 1

Масштаб 1 : 100

Абс.отметка устья : 101.29 м  
Общая глубина : 19,00 м

N слоя п/п	Геологический индекс	Глубина залегания слоя, м		Мощность, м	Абс. отметка подошвы слоя, м	Геолого-литологический разрез	Описание грунта	Сведения о воде	
		от	до					появление воды	устойчив. уровень
1	IV	0,00	4,00	4,00	97,79		Песок светло-коричневый, средняя крупности, влажный, с большим количеством гальки до 3 см.		
2	IV	4,00	6,50	2,50	94,79		Гравелистый грунт с песчаным заполнителем. С глубины 6,0 м – водонасыщенный		▼6,00
3	IV	6,50	7,80	1,30	93,49		Песок серый водонасыщенный, средней крупности, с небольшим количеством гальки размером до 1 см		
4	III	7,80	10,50	2,70	90,79		Глина серо-коричневая легкая пылеватая твд ая		
5	III	10,50	12,40	1,90	88,89		Глина светло-коричневая пылеватая тугопластичная с примесью органических веществ		
6	III	12,40	13,60	1,20	87,69		Сыглинки серая тяжелая пылеватая мягкопластичная с примесью органических веществ		
7	III	13,60	15,70	2,10	85,59		Песок темно-серый мелкий водонасыщенный		
8	III	15,70	19,00	3,30	82,29		Гравелистый грунт с песчаным заполнителем водонасыщенный		▼13,60

Рисунок 4-1

**Геолого-литологическая колонка скважины, расположенной на русловом участке плотины (по: [93])**

Геолого-литологическая колонка скважины 3

Масштаб 1 : 100

Абс.отметка устья : 103.16 м  
Общая глубина : 18.00 м

№ слоя п/п	Геологический индекс	Глубина залегания слоя, м		Мощность, м		Геолого-литологический разрез	Описание грунта	Сведения о воде	
		от	до	Абс. отметка подошвы слоя, м	Абс. отметка подошвы слоя, м			Появление воды	Установившийся уровень
1	tQIV	0,00	5,50	5,50	97,66		Песок средней крепости влажный (с глины 5,0 м – водонасыщенный) с галькой до 3 см		
2	aQIII	5,50	7,50	2,00	95,66		Суглинок серый легкий песчанистый мягкопластичный с прослоями песка водонасыщенного. В основании – прослой глины тяжелой мягкоп.		
3	a-QIII	7,50	10,50	3,00	92,66		Гора темно-бурый сильноразложившийся нормальносолевой. У кровли – прослой суглинка темно-бурого славозаторфованного		
4	aQIII	10,50	11,30	0,80	91,86		Глина серо-зеленая легкая пылеватая тугопластичная с примесью органич. веществ		
5	a-QIII	11,30	12,60	1,30	90,56		Суглинок темно-серый тяжелый пылеватый мягкопластичный с примесью органич. веществ		
6	aQIII	12,60	13,70	1,10	89,46		Песок мелкий водонасыщенный с большим количеством гальки до 3 см		
7	aQIII	13,70	16,00	2,30	87,16		Песок средней крепости водонасыщенный с прослоями супеси с большим количеством гальки до 3 см		
8	aQIII	16,00	18,00	2,00	85,16		Гравелистый грунт с песчаным заполнителем водонасыщенный		



Рисунок 4-2

**Геолого-литологическая колонка скважины, расположенной на пойменном участке плотины (по: [93])**

## Условные обозначения

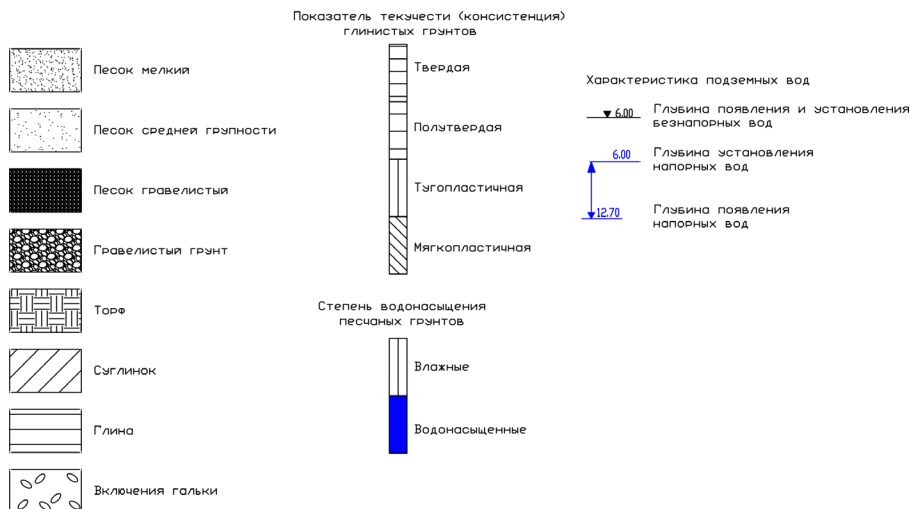


Рисунок 4-3

### Условные обозначения к рисункам 19 и 20 (по: [93])

В локальном водоносном горизонте в теле плотины, появившемся после строительства плотины, глубина залегания вод изменяется от 0,65 м в районе дренажной канавы и до 18,62 м в гребневой части плотины. Воды безнапорные. Питание происходит в основном за счет фильтрации вод из водохранилища, а также за счет атмосферных осадков, при этом не исключен переток вод из нижележащего аллювиального горизонта. Воды имеют гидрокарбонатно-кальциевый состав. Разгрузка вод осуществляется в дренажную систему и аллювиальный водоносный горизонт. Воды в теле плотины имеют в основном схожий состав с водами водохранилища, однако, зачастую на химический состав вод тела плотины оказывают влияние воды аллювиального водоносного горизонта (и наоборот), а также биохимические процессы, происходящие в подземном пространстве района исследований [77].



**Оценка состава и свойств грунтов, слагающих основание и тело земляной плотины (по: [93])**

<b>Тип грунта</b>	<b>Плотность при естественной влажности, т/м<sup>3</sup></b>	<b>Плотность при полном водонасыщении, т/м<sup>3</sup></b>	<b>Коэффициент внутреннего трения, tg φ</b>	<b>Сцепление, кг/см<sup>2</sup></b>
Тело плотины – намывной песок	1,94	2,09	0,58	0
Основание – торф	1,10	1,10	0,34	0
Основание – суглинок зеленовато-серый илистый	1,92	1,93	0,35	0,18
Основание – песок мелко- и тонкозернистый	1,46	1,94	0,61	0
Основание – супесь желтовато-серая илистая	1,84	1,92	0,33	0,80

В результате режимных наблюдений за химическим составом вод в течение года можно сделать однозначный вывод о том, что органическое вещество, содержащееся в водах водохранилища, легко попадает в приповерхностные подземные воды в районе гидротехнических сооружений и может быть использовано в качестве питательных веществ микроорганизмами и способствовать активизации ряда микробиологических процессов. Основной особенностью водорастворенного органического вещества является его неуглеводородный характер: содержание хлороформенных аквабитумоидов в приповерхностных водах достигает 108-122 мг/дм<sup>3</sup>. В составе исследованных проб аквабитумоидов преобладают структуры, являющиеся продуктами преобразования биогенного (углеводного,

липидного и гумусового) материала, что характерно для природного органического фона гидросферы. Обратил на себя внимание тот факт, что содержание аквабитумоида в пробах из тела плотины было выше, чем в пробах из водохранилища. По нашему мнению, это является показателем того, что в теле плотины протекают процессы микробного преобразования органического вещества с образованием новых количеств его водорастворимых форм. Источником этого преобразуемого органического вещества может быть как мортмасса самих микроорганизмов, так и захороненные при создании земляной плотины линзы торфа и донные отложения природного озера. Поступление в тело плотины аквабитумоидов за счет подтока подземных вод нижележащих горизонтов через гидрогеологические окна является маловероятным вследствие более низкого содержания в них аквабитумоида по сравнению с пробами из тела плотины.

Через несколько лет после начала эксплуатации гидротехнического сооружения в пьезометрах всех водоносных горизонтов были отмечены газопроявления. В состав газов входили: метан – от 3 до 86%, азот – 8–91%, сероводород и углекислый газ – 0,1–18%, тяжелые углеводороды – до 2%, водород – до 0,6% [68].

При натурном обследовании в мае 2010 г. колодцев вертикального дренажа обнаруживалось выделение газов в свободном виде. Газовыделение усиливалось при ударе пробоотборного оборудования о дно колодцев. В колодцах были установлены газосборные ловушки, однако выделение газов в колодцах прекратилось, что возможно связано с плановым снижением уровня подпора воды на плотине, в результате чего газы, скопившиеся под телом плотины, больше из-под нее не выдавливались.

Опробование газового состава атмосферы колодцев вертикального дренажа и грунта плотины проводилось в июле 2016 г. и августе 2017 г. При интерпретации данных привлекались результаты проведенных в 2011 г. аналогичных работ. Исследования включали опробование 82 шпуров (глубина 0,5–0,7 м) и колодцев вертикального дренажа. В 2016 г. присутствие метана в подпочвенном воздухе зафиксировано в 35 из 82 опробованных шпуров (42,7%) при колебании максимальных концентраций метана ( $\text{CH}_4\text{max}$ ) от 111 до 12772 ppm (167–19150 мг/м<sup>3</sup>). При относительно близкой частоте встречаемости метана в 2011 и 2016 годах, его концентрации в подпочвенном воздухе в 2016 г. значительно возросли: средняя концентрация увеличилась с 86 до 736 ppm, а в 11 шпурах его содержание превысило 1000 ppm (935 мг/м<sup>3</sup>). Распределение суммарного содержания

углеводородов  $C_1$ - $C_5$  (УВГ<sub>max</sub>) носит близкий характер. Аномально высокие значения данного параметра (1591–12392 ppт) зафиксированы в шпурах, где отмечено повышенное содержание метана. Содержание диоксида углерода ( $CO_2$ <sub>max</sub>) колеблется от 743 ppт до 52091 ppт (406–28468 мг/м<sup>3</sup>) при среднем значении 10534 ppт, что тоже значительно превышает концентрации, зафиксированные в 2011 г. (38–8101 ppт, среднее – 739 ppт). Аномально высокие концентрации диоксида углерода (более 10000 ppт), как правило, приурочены к зонам повышенного содержания метана (более 1000 ppт), имея более широкие контуры распространения. Такой характер распределения метана и диоксида углерода позволяет предполагать об их общем источнике образования (предположительно – биохимическое преобразование рассеянного в грунтах органического вещества). Суммарное содержание летучих органических соединений (ЛОС<sub>max</sub>) колеблется в пределах 0–15,1 ppт (среднее 2,13 ppт), что несколько ниже концентраций, зафиксированных в 2011 г. Максимальные концентрации ЛОС (10,6–15,1 ppт) зафиксированы в подпочвенном воздухе западной части плотины, где в 2011 г. практически во всех пикетах их концентрация превышала 10 ppт [88].

В 2017 г. по сравнению с результатами 2016 г. концентрации  $CO_2$ <sub>max</sub>, УВГ<sub>max</sub>,  $CH_4$ <sub>max</sub>, а также летучих органических соединений (ЛОС) снизились (таблица 4-2). Так, средние значения  $CH_4$  в 2017 г. составили 51,5 ppт, при этом в 2016 г. средние значения  $CH_4$  достигли максимума за все три периода наблюдений и составили 736,5 ppт с максимальным значением 12771,9 ppт.

Таким образом, анализ состава воздуха дренажной системы плотины показал присутствие в нем метана, углеводородных газов  $C_2$ – $C_5$ , летучих органических соединений и углекислого газа. Эти же соединения обнаруживались в составе газовой компоненты грунта плотины. Наблюдалось совпадение трендов распространения метана и углеводородных газов  $C_2$ – $C_5$ , а также летучих органических соединений и углекислого газа. При этом тренды распространения метана и углеводородных газов  $C_2$ – $C_5$  имели обратный характер по отношению к трендам распространения летучих органических соединений и углекислого газа (рисунки 4-4–4-7) [80].

**Статистические параметры состава подпочвенного воздуха по результатам опробования (по: [88])**

Параметр	Год опробования	Концентрация соединений, ppm			
		ЛОС	СН <sub>4</sub>	УВГ	СО <sub>2</sub>
Минимальное значение	2011	0,00	0,00	0,00	38,30
	2016	0,00	0,00	0,00	406,10
	2017	0,00	0,00	0,00	32,69
Максимальное значение	2011	18,50	557,72	195,80	8101,20
	2016	15,13	12771,90	12392,20	52090,90
	2017	0,54	1830,91	23418,76	16230,27
Среднее значение	2011	5,81	86,54	22,80	739,00
	2016	2,13	736,50	634,40	10533,60
	2017	0,02	51,50	511,61	4484,40

По результатам анализов грунта плотины и речной воды был сделан вывод о протекании в теле плотины микробиологического процесса метаногенеза в результате поступления с речными водами органического вещества преимущественно техногенного происхождения (содержание  $C_{орг}$  108–122 мг/дм<sup>3</sup>). Протекание процесса метаногенеза обнаруживалось практически на всем протяжении плотины [80]. Распределение метана было неравномерно по профилю плотины, а концентрация его изменялась в разные годы, что свидетельствует в пользу микробиологического происхождения метана и связано, по-видимому, с неравномерным характером поступления органических соединений в речные воды.

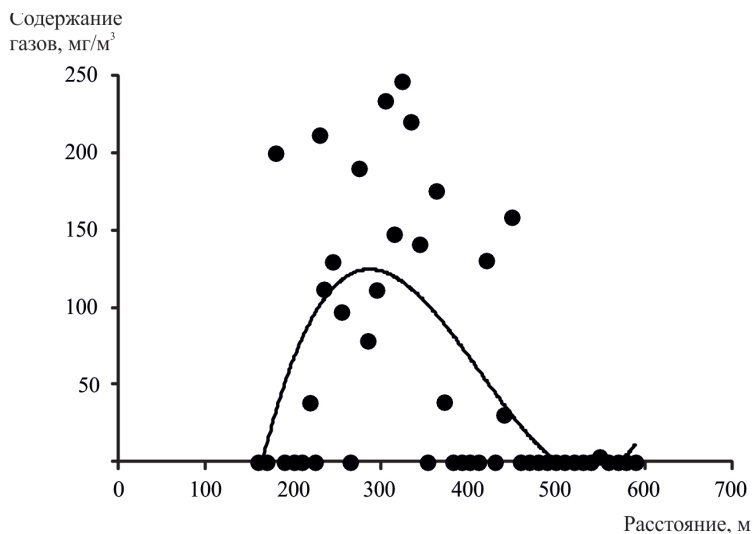


Рисунок 4-4  
**Содержание метана в грунте плотины по результатам газовой съемки (по: [80])**

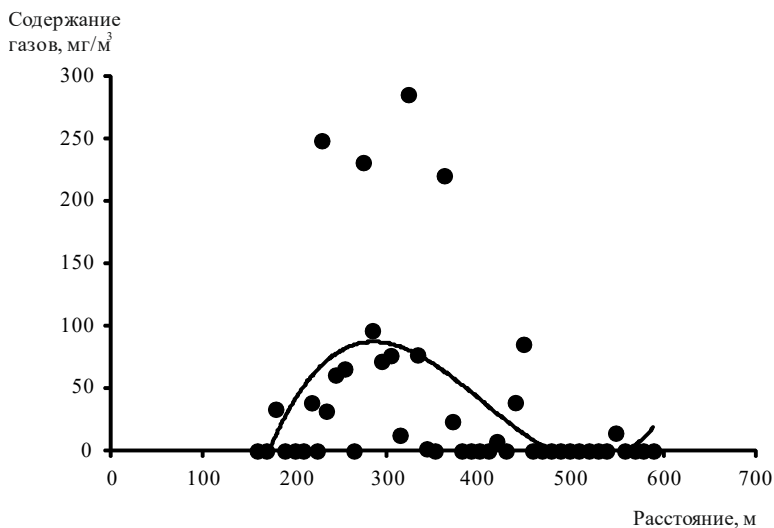


Рисунок 4-5  
**Содержание углеводородных газов C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub> в грунте плотины по результатам газовой съемки (по: [80])**

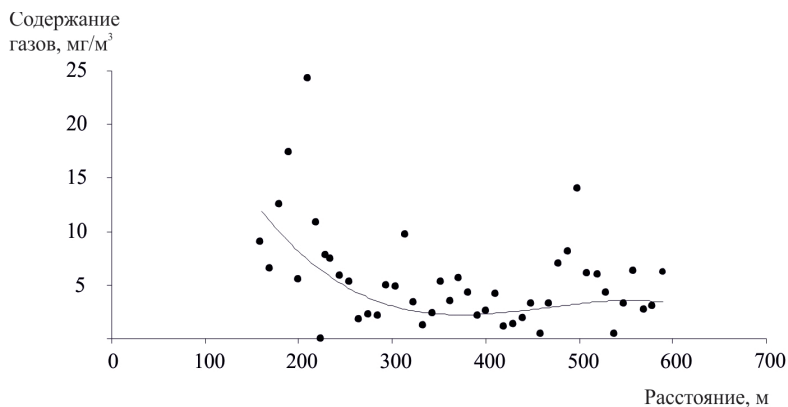


Рисунок 4-6  
**Содержание летучих органических соединений в газе плотины по результатам газовой съемки (по: [80])**

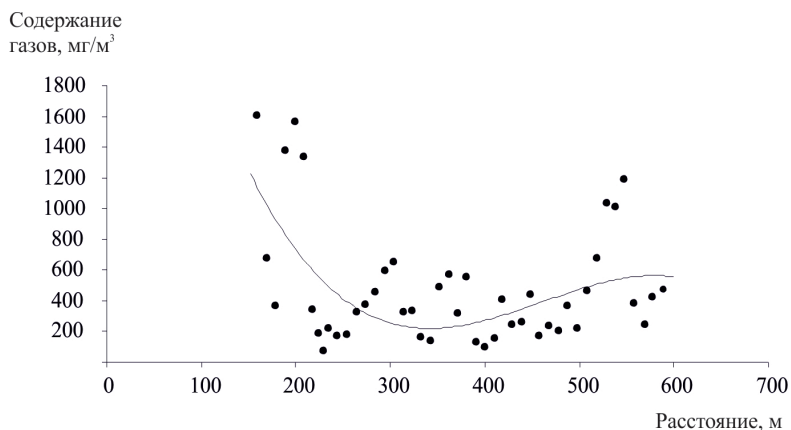


Рисунок 4-7  
**Содержание углекислого газа в газе плотины по результатам газовой съемки (по: [80])**

**Оценка микробной составляющей грунта.** Активизация различных физиологических групп микроорганизмов в грунтовых плотинах происходит за счет постоянного поступления органических веществ с водами из водохранилища, из прослоев торфа в основании плотины, являющихся и источником микроорганизмов, а также донных отложений засыпанного озера. Также стоит отметить, что микробиологические процессы могут протекать с разной степенью интенсивности в различные сезонные периоды и отличаться от года к году.

Натурные работы в рамках мониторинга микробиологических процессов в грунтовой плотине проводились в период 2016–2017 годов. Программа проведения мониторинга была разработана таким образом, чтобы оценить периоды активизации микроорганизмов в рамках годичного цикла технологических и гидрологических режимов водохранилища. По результатам годичных наблюдений зафиксировано, что активность микробиоты изменяется посезонно.

На основании проведенных исследований можно сделать вывод о том, что в районе исследований микробиологические процессы в зимний период протекают также достаточно интенсивно, о чем свидетельствуют показатели БПК<sub>5</sub>. Однако, на наш взгляд, с точки зрения общей интенсивности микробиологических процессов в районе грунтовых плотин и совокупности факторов, способствующих развитию, относительно теплые периоды времени года являются наиболее опасными с точки зрения активизации нежелательных микробиологических процессов. Поэтому внесение веществ-ингибиторов микробиологических процессов целесообразно производить именно в теплые периоды года. Решение о начале обработки грунтового массива тела плотины веществом-ингибитором должно приниматься по результатам всестороннего анализа компонентов окружающей среды, с учетом оценки интенсивности микробиологических процессов и гидрохимических особенностей поверхностных и подземных вод.

Для определения численности отдельных физиологических групп микроорганизмов в пробах грунта и воды из тела плотины использовали метод посева из предельных десятичных разведений на соответствующие элективные среды [62]. Результаты исследований представлены в таблицах 4-3 и 4-4.

С точки зрения безопасной эксплуатации гидротехнического сооружения из всех видов активности микроорганизмов грунта

плотины наибольший интерес представляет их газообразующая способность. Газообразующую способность микроорганизмов грунта определяли по способу [76]. Характеристика исследованных проб грунта и полученные результаты представлены в таблице 4-5.

Таблица 4-3

**Результаты микробиологических исследований воды тела плотины (по: [93])**

<b>Физиологическая группа микроорганизмов</b>	<b>Численность, кл/мл</b>
Аэробные гетеротрофные микроорганизмы	$4,5 \cdot 10^3$
Аммонифицирующие микроорганизмы	$2,5 \cdot 10^2$
Нитрифицирующие микроорганизмы	Менее 2,5

Таблица 4-4

**Результаты микробиологических исследований грунтов тела и основания плотины (по: [93])**

<b>Физиологическая группа микроорганизмов</b>	<b>Численность микроорганизмов, кл/г</b>	
	<b>песок коричневый влажный</b>	<b>песок серый водонасыщенный</b>
Анаэробные гетеротрофные микроорганизмы	$2,75 \cdot 10^7$	$3,5 \cdot 10^5$
Аммонифицирующие микроорганизмы	$2,75 \cdot 10^6$	$6,3 \cdot 10^4$
Денитрифицирующие микроорганизмы	Не обнаружены	Не обнаружены
Микроорганизмы с бродильным типом обмена	$8,25 \cdot 10^5$	$3,5 \cdot 10^3$
Железовосстанавливающие микроорганизмы	$2,75 \cdot 10^7$	$3,5 \cdot 10^7$



**Газообразование в пробах грунта тела плотины (по: [88])**

<b>Номер пробы</b>	<b>Описание пробы грунта</b>	<b>Глубина отбора, м</b>	<b>Газообразование, мл/мин</b>
1	песок коричневый влажный	2,0	0,015
2	песок коричневый влажный	2,5	0,014
3	песок серый водонасыщенный	4,5	0,018
4	суглинок темно-бурый заторфованный	7,5	0,012
5	суглинок заторфованный с серым (переход)	7,8	0,010
6	суглинок (супесь) серый	8,0	0,010
7	суглинок (глина) серый	14,8	0,003
8	суглинок (глина) серый	15,0	0,005
9	песок коричневый	2,0	0,013
10	песок коричневый	5,0	0,013
11	суглинок бурый (серо-зеленый)	6,5	0,006
12	суглинок (глина) серый	10,0	0,004

Газообразование в песчаном грунте было выше чем в глинистом, что может являться следствием того, что в песчаных грунтах обычно содержится большее количество микроорганизмов по сравнению с глинистыми [272, 382]. В водонасыщенном сером песчаном грунте газообразование было выше чем в коричневом песчаном грунте вследствие постоянного поступления органических веществ с фильтрующейся водой.

Используя метод накопительной культуры, определяли наличие в грунте жизнеспособных газообразующих анаэробных микроорганизмов. На третьи сутки эксперимента наблюдали интенсивное газообразование и изменение окраски грунта с охристой на серую, на десятые сутки отмечено образование пузырьков газа. Газообразование продолжалось около двух недель.

Таким образом, песчаный грунт, содержит жизнеспособное анаэробное микробное сообщество, которое может активизироваться при попадании в благоприятные условия, например, в случае затопления грунта при повышении уровня воды в водохранилище.

Определение зависимости скорости газообразования в грунте от концентрации поступившего органического вещества проводили, используя способ, описанный в [76]. В опытах использовали следующие количества глюкозы: 1 г, 0,9 г, 0,8 г, 0,65 г, 0,5 г, 0,35 г, 0,25 г, 0,1 г и 0,05 г, - из чего получались 37 мМ, 33 мМ, 30 мМ, 24 мМ, 19 мМ, 13 мМ, 10 мМ, 4 мМ и 2 мМ растворы глюкозы. Использованный в эксперименте раствор с наименьшей концентрацией глюкозы (2 мМ) содержит 130 мг органического углерода (Сорг) в 1 дм<sup>3</sup>. Анализ проб воды, отобранных из дренажных колодцев в 2011 г., показал, что для них было характерно повышенное содержание органического углерода (Сорг) – 108–122 мг/дм<sup>3</sup>. Следовательно, использовать в эксперименте растворы с меньшим содержанием глюкозы не имеет практического смысла. Результаты эксперимента показали зависимость скорости газообразования в грунте от концентрации поступившего органического вещества (рисунок 4-8). При этом даже наименьшее из использованных количество глюкозы (2 мМ раствор) вызывает газообразование в исследуемом грунте, максимальная скорость которого составляет 0,006 см<sup>3</sup>·мин<sup>-1</sup>. Максимальная скорость газообразования наблюдалась при использовании раствора глюкозы с концентрацией 37 мМ и составляла 0,018 см<sup>3</sup>·мин<sup>-1</sup>. Период интенсивного газообразования во всех экспериментах составлял около 3 суток, после чего наблюдалось постепенное снижение интенсивности газообразования до значений 0,001–0,002 см<sup>3</sup>·мин<sup>-1</sup>. Общая продолжительность газообразования для растворов глюкозы с концентрацией от 37 до 19 мМ составила 13 сут, для растворов глюкозы с концентрацией от 13 до 4 мМ – 9 сут, для для растворов глюкозы с концентрацией 2 мМ – 5 сут [88].

В лабораторных условиях исследовалось влияние содержания органического вещества в поровых водах на прочностные свойства грунтов тела и основания плотины. Объектами исследования были песок серый водонасыщенный и суглинок серый, отобранные в ходе буровых работ. Образцы грунта в кольцах для сдвиговых испытаний [28] помещали в эксикаторы, заполненные растворами глюкозы с концентрацией 0,08, 0,09, 0,11, 0,12, 0,16 и 0,18 г/л, выдерживали в течение 20 сут. при комнатной температуре, после чего проводили испытания [88].

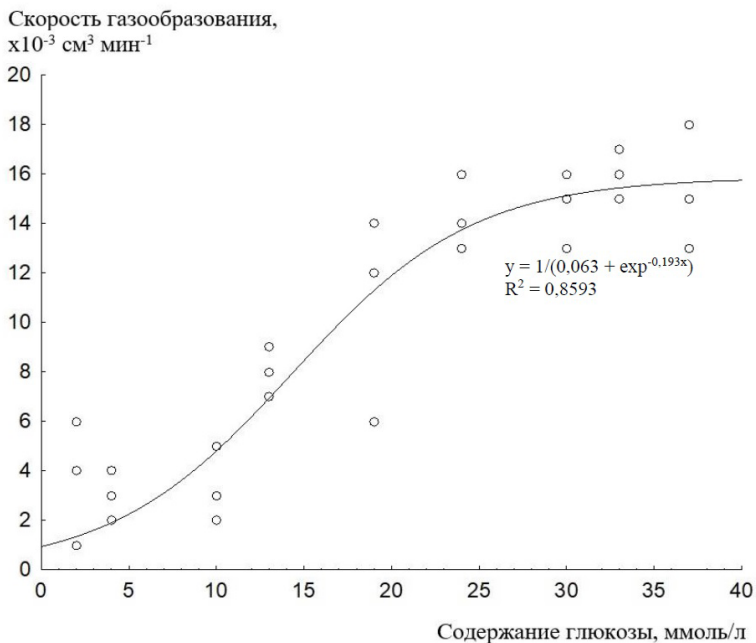


Рисунок 4-8

**Зависимость скорости газообразования в грунте от концентрации органического вещества (по: [88])**

Результаты лабораторных исследований были использованы для расчета коэффициента запаса (устойчивости) плотины при разном содержании органического вещества в поровых водах грунтов плотины. Оценка устойчивости грунтовой плотины проводилась в программе GeoStudio 2007 (модуль SLOPE/W) по методу Morgenштерн-Прайса, реализующему гипотезу круглоцилиндрических поверхностей скольжения. Была использована схема строения плотины, допускающая, что микробные процессы происходят равномерно по всему грунту ниже уровня фильтрующейся воды, одинаково изменяя свойства грунта по всей толще, а насыпной грунт выше пьезометрической линии свои свойства не меняет. Расчеты производились по профилю с точно известными уклонами каждого элемента плотины – на поперечнике по ПК 19+50. При расчетах не учитывалось:

- наличие цементных плит в верхнем бьефе и участков каменных отсыпок на нижнем;
- укрепление верхних слоев плотины за счет посева трав;
- наличие перехватывающих дренажей, улавливающих часть воды и изменяющие тем самым конфигурацию пьезометрической поверхности.

Результаты лабораторных исследований и выполненные расчеты показали, что повышение содержания в грунте органического вещества приводит к снижению величин угла внутреннего трения и силы сцепления, и, соответственно, снижению значения коэффициента запаса (устойчивости) плотины (таблица 4-6, рисунок 4-9). При этом повышение в фильтрующейся через плотину речной воде содержания органического вещества более 0,12 г/л приводит к снижению значения коэффициента запаса (устойчивости) плотины до единицы.

Таблица 4-6

### Влияние концентрации органического вещества на свойства грунтов (по: [88])

Содержание органического вещества в поровых водах грунта, г/л	Свойства грунта						Коэффициент запаса (устойчивости) плотины
	песок			суглинок			
	$\rho$ , г/см <sup>3</sup>	$\varphi$ , град.	$C$ , кПа	$\rho$ , г/см <sup>3</sup>	$\varphi$ , град.	$C$ , кПа	
0,08	1,83	35	0	1,88	17	44	2,8
0,09	1,7	28	0	1,8	14	35	2,3
0,11	1,7	27	0	1,8	13	35	2,2
0,12	1,5	14	0	1,6	7	17,6	1,2
0,16	1,5	13	0	1,6	7	17,6	1
0,18	1,5	12	0	1,6	6	15,4	1

Результаты определения численности групп микроорганизмов показали, что в водонасыщенном грунте плотины обнаружались анаэробные гетеротрофные микроорганизмы в количестве

до  $3,5 \times 10^5$  кл/г, аммонифицирующие микроорганизмы – до  $6,3 \times 10^4$  кл/г, микроорганизмы с метаболизмом бродильного типа – до  $3,5 \times 10^3$  кл/г, железовосстанавливающие микроорганизмы – до  $3,5 \times 10^7$  кл/г (таблица 4-4). Полевые исследования показали наличие в грунте также жизнеспособных газообразующих анаэробных микроорганизмов – метаногенов, согласно данным результатов газовой съемки [93].

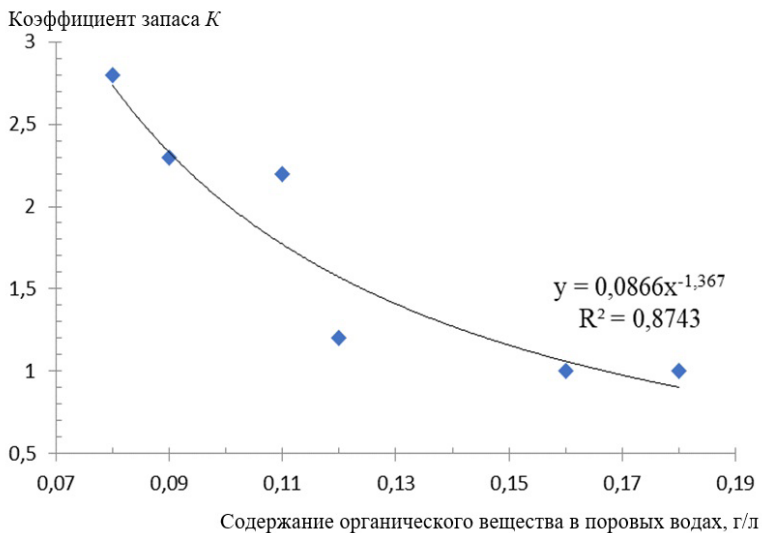


Рисунок 4-9

**Влияние концентрации органического вещества на коэффициент запаса (устойчивость) земляной плотины (по: [88])**

Процессы жизнедеятельности этих групп микроорганизмов вызывают следующие изменения состава газовой компоненты забираемого грунта (таблица 4-7).

Из обнаруживаемых в грунте микроорганизмов наиболее подходящими для наших целей оказываются железовосстанавливающие микроорганизмы. Восстановление соединений трехвалентного железа является термодинамически более выгодным для микробного сообщества чем метаногенез [44, 129, 169, 304, 354]. В ходе процесса не образуются токсичные и/илигазообразные продукты.

Процесс восстановления железа способен полностью подавить метаногенез и обнаруживается во многих природных средах, то есть естественен для окружающей среды. Образующиеся в результате процесса ионы двухвалентного железа в условиях окислительной обстановки и нейтральной среды легко переходят в трехвалентное состояние и выпадают в осадок в виде гидроокислов.

Таблица 4-7

**Влияние микроорганизмов обводненного грунта на его свойства (по: [119])**

<b>Изменение свойств газовой компоненты</b>	<b>Группа микроорганизмов</b>	<b>Процессы в газовой компоненте грунта</b>
Не изменяется	Анаэробные гетеротрофные микроорганизмы	Нет
Не изменяется	Аммонифицирующие микроорганизмы	Нет
Не изменяется	Микроорганизмы с бродильным типом обмена	Нет
Предотвращение образования газа	Железовосстанавливающие микроорганизмы	Прекращение образования метана
Рост газоносности, рост газосодержания	Метанобразующие микроорганизмы	Рост содержания метана

Для протекания данного процесса необходимо наличие в среде ионов трехвалентного железа, которые можно внести в виде водорастворимых солей. Поскольку для железа также существуют нормативы по его содержанию в воде, то необходимо подобрать такие его минимально возможные концентрации, которые были бы достаточны для подавления метаногенеза.

**Разработка технологии активирования жизнедеятельности микроорганизмов.** В ходе лабораторных исследований использовался раствор, содержащий в качестве источника углерода и энергии для микроорганизмов 0,3 г/л глюкозы (120 мг/л в пересчете

на  $C_{\text{опр}}$ ), что соответствовало содержанию органического углерода, обнаруженному в пробах речной воды. Была подобрана оптимальная концентрация хлорида трехвалентного железа,  $\text{FeCl}_3$ , необходимая для активирования жизнедеятельности железовосстанавливающих микроорганизмов и прекращения образования в грунте плотности метана.

Подбор минимальной концентрации хлорида трехвалентного железа  $\text{FeCl}_3$ , необходимой для прекращения образования в грунте плотности метана, проводили по способу, описанному в [120]. Все использованные концентрации  $\text{FeCl}_3$  вызывали остановку процесса газообразования в грунте в течение первого часа. Однако, при концентрации  $\text{FeCl}_3$  0,1 мг данный эффект сохранялся не более 1 суток, в то время как остальные использованные концентрации  $\text{FeCl}_3$  сохраняли подавляющее действие на процесс газообразования в течение 7 суток эксперимента. Таким образом, минимальной концентрацией  $\text{FeCl}_3$ , необходимой для подавления газообразования в грунте, является 0,25 мг на 100 мл раствора или 2,5 мг/л (0,86 мг/л в пересчете на железо) [88].

Следует отметить, что зарубежные исследователи для запуска процесса бактериальной железоредукции и ингибирования процесса метаногенеза используют трехвалентное железо в концентрациях от 0,1 г/л [132] до 14 г/л [303]. Предлагаемая к применению концентрация железа примерно в 10 раз превышает ПДК для питьевой воды [107], однако, как указывалось выше, образующиеся в результате железоредукции ионы двухвалентного железа легко окисляются в аэробной обстановке, переходят в нерастворимое состояние и выпадают в осадок, а не подвергшееся восстановлению трехвалентное железо имеет тенденцию к образованию комплексных соединений и адсорбции на минеральных частицах. Такие процессы интенсивного образования осадка соединений железа наблюдались в 2013 г. при выходе дренажных вод на дневную поверхность [88]. Таким образом, в результате применения реагента превышение ПДК по железу, по нашему мнению, не будет столь значительным.

*Влияние раствора хлорида железа (III) на прочностные свойства грунтов тела плотины.* Изменение микроструктуры высокодисперсных грунтов в зависимости от состава обменных катионов связано с возникновением и распадом микроагрегатов. Это может сказаться при искусственном насыщении грунта каким-либо одним катионом в растворах с крайне высокой его концентрацией. Одновалентные ионы (особенно имеющие малый ионный радиус и боль-

шие гидратные оболочки –  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ) резко увеличивают дисперсность грунта, а двух- и трехвалентные катионы ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ) снижают её [33].

Влияние обменных катионов на содержание в грунтах связанной воды, характер микроструктуры и микротекстуры и свойства грунтов значительно больше в том случае, когда в глинистой фракции содержатся минералы, имеющие большую емкость катионного обмена (например, монтмориллонит); при содержании в глинистой фракции минералов, имеющих малую емкость катионного обмена (например, каолинит и гидрослюды) роль обменных катионов в указанном отношении становится второстепенной. Катионы  $\text{Fe}^{3+}$  имеют наибольшую способность к замещению других ионов в связи с достаточно большим ионным радиусом. Однако ион, который по своему размеру лучше подходит к кристаллической решетке минерала, легче замещает ионы с менее подходящими размерами [114].

Объектом обработки веществом-ингибитором микробиологических процессов являются грунты тела плотины – пески средние и мелкозернистые, т.е. грунты с относительно низким содержанием глинистой фракции. Поэтому значительного воздействия при внесении вещества-ингибитора в преимущественно песчаные грунты тела плотины не прогнозируется. Также стоит учесть факт того, что рекомендуемое количество вещества-ингибитора во вносимом растворе является относительно невысоким при сравнении с фоновыми показателями (на отдельных участках гидротехнического сооружения было отмечено содержание в подземных водах ионов  $\text{Fe}_{\text{общ}}$  более 30 мг/дм<sup>3</sup>).

Для определения потенциального воздействия вещества-ингибитора ( $\text{FeCl}_3$ ) микробиологических процессов на грунты тела плотины были проведены экспериментальные исследования, имитирующие обработку грунтового массива. Концентрация  $\text{FeCl}_3$  во вносимом растворе была увеличена в 2 раза по сравнению с рекомендуемой в разработанной методике (с 5 мг/дм<sup>3</sup> до 10 мг/дм<sup>3</sup>) для более показательной оценки возможного воздействия хлористого железа на свойства грунтов тела плотины.

В проведенном эксперименте в первую очередь представляло интерес потенциальное изменение прочностных свойств (силы сцепления, угла внутреннего трения и др.) песчаных грунтов, т.к. эти показатели напрямую влияют на устойчивость откосов и, следовательно, безопасную эксплуатацию грунтовых плотин. Песчаные грунты доводились до полного водонасыщения тремя различными растворами:



- речной водой с концентрацией  $\text{FeCl}_3$  – 0 мг/дм<sup>3</sup> (контроль);
- речной водой с концентрацией  $\text{FeCl}_3$  – 10 мг/дм<sup>3</sup>;
- дистиллированной водой с концентрацией  $\text{FeCl}_3$  – 10 мг/дм<sup>3</sup>.

Обработка грунтов проводилась в течение 7 суток, после чего образцы передавались в грунтовую лабораторию для последующих физико-механических испытаний. К определяемым показателям относились: сила сцепления, угол внутреннего трения, стандартные физические свойства. Результаты испытаний представлены в таблице 4-8.

По результатам экспериментальных исследований было установлено, что внесение увеличенной в 2 раза концентрации (по сравнению с предлагаемой к внесению в естественных условиях) вещества-ингибитора в грунты тела плотины не оказывает существенного негативного влияния на прочностные свойства грунтов. Наиболее приближенными к естественным условиям являются эксперименты с образцами 3 и 4, т.к. в основе раствора используется речная вода. Так, сила сцепления грунтов после обработки раствором  $\text{FeCl}_3$  на основе речной воды увеличилась с 0,001–0,004 МПа до 0,003–0,007 МПа, а угол внутреннего трения увеличился с 40–41 град. до 46–57 град. [193].

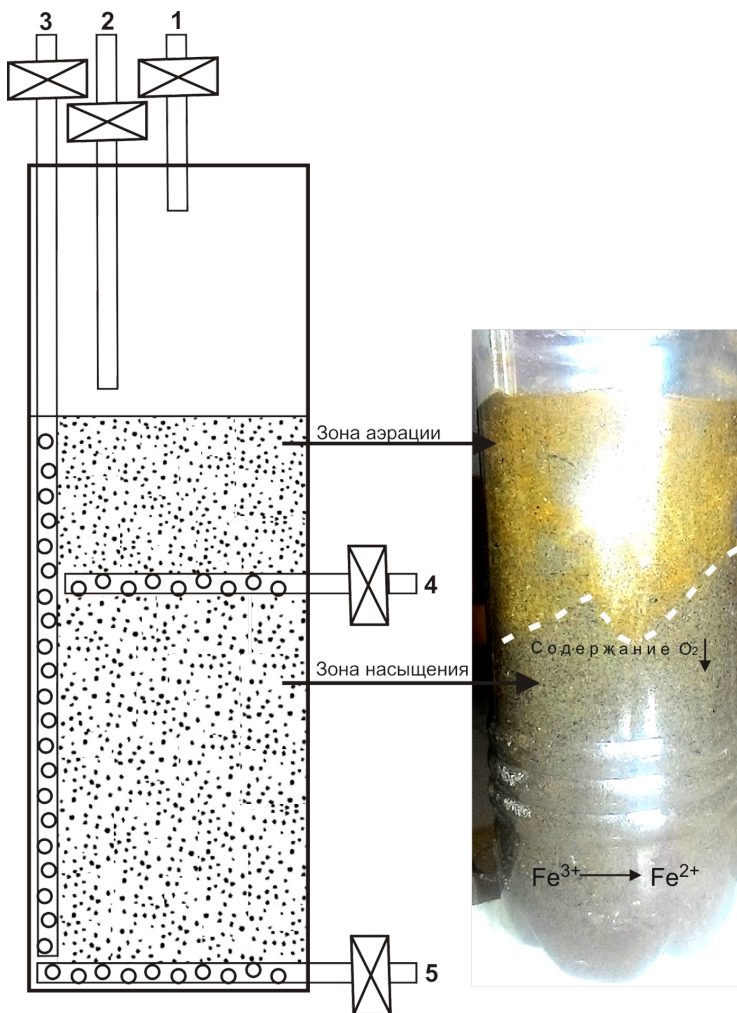
Стоит отметить, что в естественных условиях при внесении в грунтовый массив веществ-ингибиторов ожидается еще меньшее воздействие, т.к. рекомендуемая для внесения концентрация  $\text{FeCl}_3$  составляет половину от использованной в лабораторном эксперименте, кроме того вносимое вещество будет подвергаться интенсивному разбавлению фильтрующейся через тело плотины речной водой.

***Разработка технологии формирования состава и свойств газовой компоненты грунта.*** Был проведен модельный эксперимент по подавлению газообразования в грунте плотины с использованием установки, имитирующей земляную плотину (рисунок 4-10) [88]. Раствор, содержащий 0,3 г/л глюкозы, пропускали через установку со скоростью, близкой к средней скорости фильтрации речной воды через плотину. Для стабилизации химического состава водной фазы в установке и установления ее равновесия с твердой фазой грунта в результате развития глеевой анаэробной обстановки через установку было пропущено 4 л данного раствора.

Таблица 4-8

**Прочностные и физические свойства грунтов, обработанных раствором хлорида железа (III)  
(по: [193])**

Образец грунта	Тип раствора	Влажность естественная	Коэффициент водонасыщения	Плотность, г/см <sup>3</sup>			Коэф. пористости	Сцепление, МПа	Угол внутреннего трения, град.
				частиц грунта	грунта природная	сухого грунта			
1-Песок средней крупности неоднородный	Вода речная	0,197	1,020	2,64	2,09	1,75	0,509	0,001	40
2-Песок средней крупности неоднородный		0,225	0,970	2,64	2,01	1,64	0,610	0,004	41
3-Песок средней крупности неоднородный	Вода речная + FeCl <sub>3</sub> , 10 мг/л	0,243	0,970	2,64	1,98	1,59	0,660	0,007	46
4-Песок средней крупности неоднородный		0,249	1,060	2,64	2,04	1,63	0,620	0,003	57
5-Песок средней крупности неоднородный	Вода дист. + FeCl <sub>3</sub> , 10 мг/л	0,247	1,050	2,64	2,03	1,63	0,620	0,008	59
6-Песок средней крупности неоднородный		0,253	1,060	2,64	2,03	1,62	0,630	0,001	60



1 – трубка для отбора проб газа,  
 2 – трубка для подачи раствора,  
 3 – трубка для подачи вещества ингибитора,  
 4 – трубка аварийного перелива,  
 5 – трубка для отведения раствора; пунктирной линией показана условная граница между зоной аэрации и зоной насыщения.

Рисунок 4-10

**Схема экспериментальной установки для моделирования микробиологических процессов в теле платины (по: [88])**

После стабилизации работы установки в эксперименте использовали раствор, содержащий глюкозу в концентрации 1 г/л, чтобы скорость генерации газа в грунте была максимально возможной – данная концентрация глюкозы примерно в 10 раз превышала содержание водорастворенного органического вещества в пробах воды из водохранилища, отобранных в 2013 г. [88] и имитировала залповый выброс органических веществ в воду реки. Через установку было пропущено 5 л раствора, после чего был произведен анализ газовой фазы в установке, в которой было обнаружено 1,3% об. углекислого газа и 0,45% об. метана. Через установку было пропущено еще 14 л раствора с содержанием глюкозы 1 г/л. Затем в установке активировали жизнедеятельность железовосстанавливающих микроорганизмов раствором, содержащим 1 г/л глюкозы и 5 мг/л  $\text{FeCl}_3$ . Произведенный химический анализ газовой фазы установки показал полное отсутствие в ней метана, а содержание углекислого газа было около 0,1–0,2% об. [88].

Таким образом, активирование в грунте жизнедеятельности железовосстанавливающих микроорганизмов приводит к изменению состава газовой компоненты грунта. По результатам проведенных исследований получено 3 патента на изобретения [76, 79, 120], а также разработан регламент работ, необходимых для подавления газообразования в грунте в случаях повышенного поступления органических соединений в воды реки в результате аварийных сбросов или утечек.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Микроорганизмы, являясь неотъемлемой частью биотической компоненты грунтов и будучи распространенными в грунтах разного состава и генезиса, осуществляя свои метаболические потребности, изменяют состав и свойства отдельных компонент грунта и грунта в целом. В результате многолетних исследований воздействия микроорганизмов на грунты авторами разработана методология формирования заданных состава и свойств грунта биотехнологическими методами с использованием населяющих грунт микроорганизмов. Данная методология заключается в последовательном выполнении следующих этапов работ:

- оценка текущего состояния грунта;
- оценка микробной составляющей грунта;
- разработка технологии активирования микроорганизмов грунта;
- разработка технологии формирования состава и свойств грунта.

Исследования, проведенные в соответствии с разработанной методологией, позволили снизить фильтрационные характеристики песчаного грунта активированием жизнедеятельности аммонифицирующих микроорганизмов, способствующей отложению кальция в поровом пространстве грунта.

Изменение состава и свойств жидкой компоненты грунта породного отвала угледобывающей промышленности было достигнуто активированием жизнедеятельности сульфатовосстанавливающих микроорганизмов, что приводило к снижению кислотности и ионной силы порового раствора.

Прекращение микробиологического процесса образования метана в теле земляной плотины в соответствии с разработанной методологией было достигнуто активированием жизнедеятельности железовосстанавливающих микроорганизмов, которые успешно конкурировали с метанобразующими микроорганизмами за органические соединения, подавляя тем самым их жизнедеятельность и, соответственно, газообразование.

На основании выявленных закономерностей изменения состава твердой, жидкой и газовой компонент грунта под действием процессов жизнедеятельности микроорганизмов разработаны биотехнологические методы формирования заданных свойств грунтов, которые нашли отражение в публикациях и патентах на изобретения.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Андреев, П.И. Об использовании гетеротрофных бактерий при обогащении алюминиевых руд / П.И. Андреев, Р.А. Шавло, Г.И. Каравайко, С.И. Полькин, Н.М. Анищенко, Р.Д. Морозова // Экология и геохимическая деятельность микроорганизмов: Сб. науч. тр. / ред. М.В. Иванов. – Пушино: Изд-во НЦБИ АН СССР, 1976. – С. 126-131.
2. Баев, А.А. Новые направления биотехнологии / А.А. Баев // Биотехнология. – 1985, – № 2. – С. 8-14.
3. Баев, А.А. Биотехнология – союз науки и производства / А.А. Баев., В.А. Быков – М.: Советская Россия, 1987. – 128 с.
4. База данных химического анализа проб подземных и поверхностных вод на территории Кизеловского угольного бассейна [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://kub.maps.psu.ru>
5. Баньковская, В.М. Геохимические изменения природной среды в районах размещения отвалов угледобывающей промышленности / В.М. Баньковская, Н.Г. Максимович // География и природные ресурсы. – 1989. – № 2. – С. 42-45.
6. Беккер, М.Е. Введение в биотехнологию / М.Е. Беккер. – М.: Пищевая промышленность, 1978. – 231 с.
7. Беккер, М.Е. Использование микробной биотехнологии в кормопроизводстве и утилизации отходов // М.Е. Беккер // Биотехнология. – 1985. – № 6. – С. 14-24.
8. Беляев, С.С. Геохимическая деятельность метанобразующих бактерий / С.С. Беляев // Экология и геохимическая деятельность микроорганизмов: Сб. науч. тр. / ред. М.В. Иванов. – Пушино: Изд-во НЦБИ АН СССР, 1976. – С. 139-152.
9. Берестовская, Ю.Ю. Процессы образования и окисления метана в почвах заполярной тундры России / Ю.Ю. Берестовская, И.И. Русанов, Л.В. Васильева, Н.В. Пименов // Микробиология. – 2005. – Том 74. – № 2. – С. 261-270.

10. Биогеохимический мониторинг в районах хвостохранилищ горнодобывающих предприятий с учетом микробиологических факторов трансформации минеральных компонентов / ред. Л.П. Рихванов. – Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2017. – 437 с.
11. Биотехнология. Принципы и применение / ред. И. Хиггинс, Д. Бест, Дж. Джонс. – М.: Мир, 1988. – 480 с.
12. Блинов, Ю.М. Патент RU 96104648. Способ цементации слабых грунтов / Ю.М. Блинов, И.М. Кузнецова, М.В. Попов. – 1996.
13. Болотина, И.Н. Физико-химические явления с участием биотического компонента / И.Н. Болотина // Теоретические основы инженерной геологии. Физико-химические основы. – М.: Недра, 1985. – С. 65-70.
14. Болотина, И.Н. О возможности техногенных биогеохимических явлений при силикатизации гипсоносных пород / И.Н. Болотина, С.Д. Воронкевич, Н.Г. Максимович // Вестник Московского университета. – 1986. – Серия 4. Геология. – № 4. – С. 49-53.
15. Болотина, И.Н. Изучение роли микроорганизмов подземных вод при химическом уплотнении гипсоносных пород основания плотины // И.Н. Болотина, Н.Г. Максимович // Координация исследований на водохранилищах Камского каскада для разработки мероприятий по улучшению экологических условий в водоемах и на прилегающих территориях: Сб. докл. науч.-практ. конф., г. Пермь, 1984 г. / – Пермь, 1984. – С. 44-45.
16. Болотина, И.Н. Микробиологические исследования в инженерной геологии / И.Н. Болотина, Е.М. Сергеев // Инженерная геология. – 1987. – № 5. – С. 3-17.
17. Боряев, Ф.И. Из опыта эксплуатации Камской ГЭС // Ф.И. Боряев, П.Г. Голубниченко, В.С. Южаков. // Гидротехническое строительство. – 1970. – № 11. – С. 5-9.
18. Вернадский, В.И. Проблемы биогеохимии / В.И. Вернадский. – М.: Наука, 1980. – 320 с.
19. Виноградский, С.Н. Микробиология почвы / С.Н. Виноградский – М.: Изд-во АН СССР, 1952. – 792 с.
20. Воронкевич, С.Д. Основы технической мелиорации грунтов / С.Д. Воронкевич – М.: Научный мир, 2005. – 504 с.
21. Воронкевич, С.Д. Инженерная геохимия с основами геохимии техногенеза / С.Д. Воронкевич – М.: Изд-во «Академическая на-



- ука» – Геомаркетинг, 2011. – 480 с.
22. Воронкевич, С.Д. Техническая мелиорация пород / С.Д. Воронкевич, Л.А. Евдокимова, Р.И. Злочевская, Л.В. Гончарова, Е.Н. Огородникова, В.И. Сергеев – М.: Изд-во МГУ, 1981. – 342 с.
  23. Геология месторождений угля и горючих сланцев СССР. Общие данные по угольным бассейнам и месторождениям СССР / ред. Н.И. Погребнов, А.В. Тяжнов, Н.В. Шабаров. – М.: Недра, 1978. – Том 12. – 259 с.
  24. Геоэкологическая геоинформационная система Кизеловского угольного бассейна [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://kub.maps.psu.ru>
  25. Герхардт, Ф. Методы общей бактериологии: в 3 т. / Ф. Герхардт. – М.: Мир, 1983. – 1 т. – 536 с.
  26. Гольденберг, А.М. Принципы использования микроорганизмов для ограничения притока вод в нефтяные скважины // А.М. Гольденберг, Е.И. Квасников // Экологическая и геохимическая деятельность микроорганизмов: Сб. докл. Всесоюз. конф., г. Пущино-на-Оке, 1974 г. / – Пущино-на-Оке: Изд-во ИБФМ АН СССР, 1974. – С. 46.
  27. Горная энциклопедия: в 5 т. / ред. Е.А. Козловский. – М.: Советская энциклопедия, 1985. – Том 2. – 575 с.
  28. ГОСТ 12248-2010. Грунты. Методы лабораторного определения характеристик прочности и деформируемости. – Введ. 01.01.2012.
  29. ГОСТ 12536-2014. Грунты. Методы лабораторного определения гранулометрического (зернового) и микроагрегатного состава. – Введ. 01.07.2015.
  30. ГОСТ 25100-2020. Грунты. Классификация. – Введ. 01.01.2021.
  31. ГОСТ 5180-2015. Грунты. Методы лабораторного определения физических характеристик. – Введ. 01.04.2016.
  32. Готтшалк, Г. Метаболизм бактерий / Г. Готтшалк. – М.: Мир, 1982. – 310 с.
  33. Грунтоведение / ред. Е.М. Сергеев. – М.: Изд-во МГУ, 1971. – 295 с.
  34. Гусев М.В. Микробиология / М.В. Гусев, Л.А. Минеева. – М.: Изд-во МГУ, 1992. – 448 с.

35. Дашко, Р.Э. Микробиота в геологической среде: ее роль и последствия // Р.Э. Дашко // Сергеевские чтения. Вып. 2. Материалы годичной сессии Научного совета РАН по проблемам геоэкологии, инженерной геологии и гидрогеологии: Сб. науч. тр., 23-24 марта 2000 г. / – М.: ГЕОС, 2000, – С. 72-78.
36. Дашко, Р.Э. Проблемы геоэкологической безопасности освоения и использования подземного пространства Санкт-Петербурга / Р.Э. Дашко // Строительство и городское хозяйство в Санкт-Петербурге и Ленинградской области. – 2002. – № 57.
37. Дашко, Р.Э. Особенности инженерно-геологических условий Санкт-Петербурга // Р.Э. Дашко, О.Ю. Александрова, П.В. Котюков, А.В. Шидловская // Развитие городов и геотехническое строительство. – 2011. – № 13. – С. 25-71.
38. Дашко, Р.Э. Геотехника и подземная микробиота / Р.Э. Дашко, Д.Ю. Власов, А.В. Шидловская. – С.-Пб.: Институт «ПИ Геореконструкция», 2014. – 280 с.
39. Деменев, А.Д. Инженерно-геологические последствия микробиологических процессов в грунтовой плотине: автореф. дис. ... канд. геол.-мин. наук: 25.00.08 / Деменев Артем Дмитриевич. – Пермь, 2017. – 25 с.
40. Демин, А.М. Устойчивость открытых горных выработок и отвалов / А.М. Демин. – М.: Недра, 1973. – 231 с.
41. Долина, Л.Ф. Сточные воды предприятий горной промышленности: справочное пособие / Л.Ф. Долина. – Д.: Молодеж. комиссия, 2000.
42. Заварзин, Г.А. Бактерии и состав атмосферы / Г.А. Заварзин. – М.: Наука, 1984. – 199 с.
43. Заварзин, Г.А. Лекции по природоведческой микробиологии / Г.А. Заварзин. – М.: Наука, 2003. – 348 с.
44. Заварзин, Г.А. Введение в природоведческую микробиологию / Г.А. Заварзин, Н.Н. Колотилова. – М.: Книжный дом «Университет», 2001. – 256 с.
45. Зайдельман, Ф.Р. Подзоло- и глееобразование / Ф.Р. Зайдельман. – М.: Наука, 1974. – 208 с.
46. Зайдельман, Ф.Р. Процесс глееобразования и его роль в формировании почв / Ф.Р. Зайдельман. – М.: Изд-во МГУ, 1998. – 316 с.

47. Звягинцев, Д.Г. Управление микробиологическими популяциями в почве / Д.Г. Звягинцев // Сельскохозяйственная биология. – 1983. – № 10. – С. 102-107.
48. Звягинцев, Д.Г. Почва и микроорганизмы / Д.Г. Звягинцев. – М.: Изд-во МГУ, 1987. – 256 с.
49. Зубова, Л.Г. Терриконы / Л.Г. Зубова, А.Р. Зубов, А.А. Зубов, А.В. Харламова, С.Г. Воробьев, Ю.И. Макаришина, В.В. Буначенко. – Луганск: Изд-во «Ноулидж», 2015. – 712 с.
50. Иванов, П.В. Изменение микроагрегатного состава техногенных грунтов при активизации функционального микробного комплекса / П.В. Иванов, С.К. Николаева, Н.А. Манучарова, О.И. Горшколепов // Инженерная геология. – 2014. – № 5. – С. 50-55.
51. Иванов, П.В. Изменение состава, строения и свойств дисперсных грунтов при активизации их природного микробного комплекса: дис. ... канд. геол.-мин. наук: 25.00.08. / Иванов Павел Владимирович. – М., 2015. – 187 с.
52. Илялетдинов, А.Н. Микробиологические превращения металлов / А.Н. Илялетдинов. – Алма-Ата: Наука, 1984. – 268 с.
53. Исаченко, Б.Л. Избранные труды / Б.Л. Исаченко. – М.: Изд-во АН СССР, 1951. – 2 т. – 431 с.
54. Калаева, С.З. Породные отвалы угольных шахт России / С.З. Калаева, С.М. Богданов, Н.О. Лукин, А.А. Огер // Известия ТулГУ. Науки о Земле. – 2016. – № 1. – С. 3-22.
55. Каравайко, Г.И. Микроорганизмы рудных месторождений, их физиология и геохимическая деятельность / Г.И. Каравайко, Н.Н. Ляликова, Т.А. Пивоварова // Экология и геохимическая деятельность микроорганизмов: Сб. науч. тр. / ред. М.В. Иванов. – Пушкино: Изд-во НЦБИ АН СССР, 1976. – С. 25-57.
56. Кондратьева, Т.Ф. Разнообразие сообществ ацидофильных хемолитотрофных микроорганизмов в природных и техногенных экосистемах / Т.Ф. Кондратьева, Т.А. Пивоварова, И.А. Цаплина, Н.В. Фомченко, А.Е. Журавлева, М.И. Муравьев, В.С. Меламуд, А.Г. Булаев // Микробиология. – 2012. – Том 81. – № 1. – С. 3-27.
57. Красавин, А.П. Экологическая реабилитация углепромышленных территорий Кизеловского бассейна в связи с закрытием шахт / А.П. Красавин, Р.Т. Сафин. – Пермь: ИПК «Звезда», 2005. – 287 с.

58. Крюкова, О.С. Разработка научно-методических основ технологии очистки кислых шахтных вод и рекультивации отвалов Кизеловского угольного бассейна: автореф. дис. ... канд. техн. наук / Крюкова Ольга Сергеевна. – Пермь, 2012. – 79 с.
59. Кузнецов, А.М. О газовых явлениях в основании бетонных плотин / А.М. Кузнецов // Гидротехническое строительство. – 1965. – № 10. – С. 33-37.
60. Кузнецов, С.И. Микрофлора озер и ее геохимическая деятельность / С.И. Кузнецов. – Л.: Наука, 1970. – 439 с.
61. Кузнецов, С.И. Итоги и перспективы развития геологической микробиологии / С.И. Кузнецов // Экология и геохимическая деятельность микроорганизмов: Сб. науч. тр. / ред. М.В. Иванов. – Пушкино: Изд-во НЦБИ АН СССР, 1976. – С. 8-25.
62. Кузнецов, С.И. Методы изучения водных микроорганизмов / С.И. Кузнецов, Г.А. Дубинина. – М.: Наука, 1989. – 288 с.
63. Кузнецов, С.И. Введение в геологическую микробиологию / С.И. Кузнецов, М.В. Иванов, Н.Н. Ляликова. – М.: Изд-во АН СССР, 1962. – 239 с.
64. Ленгуорси, Т. Жизнь микроорганизмов при экстремальных значениях pH / Т. Ленгуорси // Жизнь микробов в экстремальных условиях. – М.: Мир, 1981. – С. 322-364.
65. Ляликова, Н.Н. Перспективы расширения круга автотрофных микроорганизмов, принимающих участие в геохимических процессах в рудных месторождениях / Н.Н. Ляликова // Экология и геохимическая деятельность микроорганизмов: Сб. науч. тр. / ред. М.В. Иванов. – Пушкино: Изд-во НЦБИ АН СССР, 1976. – С. 152-160.
66. Максимович, Н.Г. Геохимия угольных месторождений и окружающая среда / Н.Г. Максимович // Вестник Перм. гос. ун-та. – 1997. – Вып. 4: Геология. – С. 171-185.
67. Максимович, Н.Г. Использование геохимических барьеров для решения проблем угольной промышленности / Н.Г. Максимович // Экологическая реабилитация промышленных производств и территорий. – Пермь, 2005. – С. 267-281.
68. Максимович, Н.Г. Безопасность плотин на растворимых породах (на примере Камской ГЭС) / Н.Г. Максимович. – Пермь: Изд-во ПГУ, 2006. – 212 с.

69. Максимович, Н.Г. Создание геохимических барьеров для очистки стоков породных отвалов/ Н.Г. Максимович // Уголь. – 2006. – № 9. – С. 64.
70. Максимович, Н.Г. Использование геохимических барьеров для очистки изливов кислых вод Кизеловского угольного бассейна / Н.Г. Максимович // Инженерная геология. – 2011. – № 9. – С. 46-51.
71. Максимович, Н.Г. Исследование возможности повышения агрессивности подземных вод при строительстве на пиритсо-держащих глинистых грунтах / Н.Г. Максимович, Е.А. Меньшикова, С.В. Казакевич // Инженерно-геологические проблемы урбанизированных территорий: Материалы межд. симп., г. Екатеринбург, 2001 г. / – Екатеринбург: «Аква — Пресс», 2001. – Том 2. – С. 545-551.
72. Максимович, Н.Г. Минералогия чеганских глин и ее инженерно-геологическое значение / Н.Г. Максимович, Е.А. Меньшикова, С.В. Казакевич, В.Г. Шлыков // Проблемы минералогии, петрографии и металлогении. Научные чтения памяти П.Н. Чирвинского: Сб. науч. тр. / – Пермь: Изд-во ПГУ, 2000. – С. 40-43.
73. Максимович, Н.Г. Формирование кислых стоков с отвалов Кизеловского угольного бассейна (Пермский край) / Н.Г. Максимович, О.Ю. Мещерякова, О.А. Березина, А.Д. Деменев, А.М. Сединин, В.Т. Хмурчик // Геологическая эволюция взаимодействия воды с горными породами: Материалы IV Всерос. науч. конф. с междунар. уч-ем, г. Улан-Удэ, 17–20 августа 2020 г. / – Улан-Удэ: Изд-во БНЦ СО РАН, 2020. – С. 239-241.
74. Максимович, Н.Г. Геохимические барьеры и охрана окружающей среды / Н.Г. Максимович, Е.А. Хайрулина. – Пермь, Изд-во Перм. гос. ун-та, 2011. – 248 с.
75. Максимович, Н.Г. Микробиологические процессы в грунтовых плотинах / Н.Г. Максимович, В.Т. Хмурчик // Инженерные изыскания. – 2013. – № 9. – С. 46-51.
76. Максимович, Н.Г. Патент РФ 2592268. Способ определения пораженности грунтов газообразующими микроорганизмами / Н.Г. Максимович, В.Т. Хмурчик. – 2016. – Бюл. № 20.
77. Максимович, Н.Г. Роль микроорганизмов в повышении мутности дренажных вод плотины / Н.Г. Максимович, В.Т. Хмурчик, А.Д. Деменев // Гидротехническое строительство. – 2015. – № 11. – С. 84-86.

78. Максимович, Н.Г. Патент РФ 2646279. Состав и способ укрепления грунтов / Н.Г. Максимович, В.Т. Хмурчик, А.Д. Деменев. – 2018. – Бюл. № 7.
79. Максимович, Н.Г. Патент РФ 2697272. Способ защиты плотин от разрушения / Н.Г. Максимович, В.Т. Хмурчик, А.Д. Деменев, А.М. Сединин. – 2019. – Бюл. № 23.
80. Максимович, Н.Г. Комплекс методов исследования микробиологической активности в грунтовых плотинах / Н.Г. Максимович, В.Т. Хмурчик, М.А. Лаздовская, А.Д. Деменев // Вестник СПбГУ. Сер. 7. Геология, география. – 2014. – № 4. – С. 88-100.
81. Максимович, Н.Г. Патент РФ 2769496. Способ предотвращения образования кислых стоков с отвалов горнорудной промышленности / Н.Г. Максимович, В.Т. Хмурчик, А.М. Сединин, А.Д. Деменев. – 2022. – Бюл. № 10.
82. Максимович, Н.Г. Экологические последствия ликвидации Кизеловского угольного бассейна // Н.Г. Максимович, Н.В. Черемных, Е.А. Хайрулина // Географический вестник. – 2006. – № 2. – С. 128-134.
83. Металлогения и геохимия угленосных и сланцесодержащих толщ СССР. Закономерности концентрации элементов и методы их изучения. – М.: Наука, 1988. – 256 с.
84. Методы почвенной микробиологии и биохимии / ред. Д.Г. Звягинцев. – М.: Изд-во МГУ, 1991. – 304 с.
85. Миронов, К.В. Справочник геолога-угольщика / К.В. Миронов. – М.: Недра, 1991. – 363 с.
86. Мишустин, Е.Н. Ассоциации почвенных микроорганизмов / Е.Н. Мишустин. – М.: Наука, 1975. – 107 с.
87. Могильная, О.А. Образование структурированных сообществ природными и трансгенными бактериями, утилизирующими нафталин / О.А. Могильная, Е.С. Кривомазова, Г.В. Каргатова, Т.И. Лобова, Л.Ю. Попова // Прикладная биохимия и микробиология. – 2005. – Том 41. – № 1. – С. 72-78.
88. Мониторинг биологических процессов в земляных плотинах Камской ГЭС и разработка методов подавления их активности: отчет о НИР / Н.Г. Максимович, Е.А. Хайрулина, В.Т. Хмурчик [и др.] – Пермь: Естественнонаучный институт ФГБОУ ВПО ПГНИУ, 2017. – 274 с.

89. О состоянии и об охране окружающей среды Пермского края в 2018 году. Ежегодный экологический доклад [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://wp.permecology.ru/ежегодный-экологический-доклад/ежегодный-экологический-доклад-2018>.
90. Огородникова, Е.Н. Техногенные грунты / Е.Н. Огородникова, С.К. Николаева. – М.: Изд-во МГУ, 2004. – 250 с.
91. Отчет об инженерно-геологических условиях строительства гидроэлектростанции. – Л.: Гидроэнергопроект, Ленинградское отделение, 1961. – 134 с.
92. Отчет по экологическому мониторингу последствий ликвидации шахт и разрезов Уральского региона за 3-4 квартал 2019 г. – Пермь: ООО «Пермэнергоаудит», 2019. – 111 с.
93. Оценка влияния биологических процессов на физико-механические свойства грунтов тела и основания земляных плотин Камской ГЭС с точки зрения обеспечения их устойчивости: отчет о НИР / Н.Г. Максимович [и др.] – Пермь: Естественнонаучный институт ФГБОУ ВПО ПГНИУ, 2011. – 18 с.
94. Парфенова, Г.К. Многолетняя изменчивость ионно-солевого состава поверхностных вод в районах угледобычи (на примере рек Кемеровской обл.) / Г.К. Парфенова // Геоэкология. Инженерная геология. Гидрогеология. Геоэкология. – 2002. – № 4. – С. 326-332.
95. Печуркин, Н.С. Смешанные проточные культуры микроорганизмов – новый этап в развитии теоретической и прикладной микробиологии / Н.С. Печуркин // Смешанные проточные культуры микроорганизмов. – Новосибирск: Наука, 1981. – С. 3-25.
96. Печуркин, Н.С. Популяционные аспекты биотехнологии / Н.С. Печуркин, А.В. Брильков, Т.В. Марченкова. – Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1990. – 173 с.
97. Потапов, С.С. К минералогии горелых отвалов Кизеловского угольного бассейна (Пермский край) / С.С. Потапов, Н.Г. Максимович // Седьмые Всероссийские научные чтения памяти ильменского минералога В.О. Полякова: Сб. науч. тр. – Миасс: Изд-во Ин-та Минералогии УрО РАН, 2006. – С. 56-67.
98. Потапов, С.С. Минералого-экологические последствия разработки угольных месторождений. Связь с геологическими условиями и способами добычи (на примере Челябинского и Кизеловского бассейнов) / С.С. Потапов, Н.Г. Максимович, Н.В.

- Паршина// Восьмые Всероссийские научные чтения памяти ильменского минералога В.О. Полякова: Сб. науч. тр. – Миасс: Изд-во Ин-та Минералогии УрО РАН, 2007. – С. 12-34.
99. Потапов, С.С. Минералы горелых отвалов Челябинского и Кизеловского угольных бассейнов / С.С. Потапов, Н.Г. Максимович, Н.В. Паршина // Минералогия техногенеза: Сб. науч. тр. – Миасс: Изд-во Ин-та Минералогии УрО РАН, 2007. – С. 52-63.
  100. Приклонский, В.А. Грунтоведение / В.А. Приклонский. – М.: Гос. изд-во геол. литературы, 1949. – 410 с.
  101. Радина, В.В. Роль микроорганизмов в формировании свойств грунтов и их напряженного состояния / В.В. Радина // Гидротехническое строительство. – 1973. – № 9. – С. 22-24.
  102. Разработка, создание установки и проведение опытно-промышленных испытаний метода нейтрализации кислых шахтных вод Кизеловского угольного бассейна отходами ОАО «Березниковский содовый завод»: отчет о НИР. – Пермь: Естественнонаучный институт ФГБОУ ВПО ПГУ, 2003.
  103. Романенко, В.И. Микробиологические процессы продукции и деструкции органического вещества во внутренних водоемах / В.И. Романенко. – Л.: Наука, 1985. – 295 с.
  104. Романенко, В.И. Развитие бактерий на растворенных органических веществах пресных водоемов / В.И. Романенко, Е.П. Никифорова // Микробиология. – 1974. – Том 43. – Вып. 1. – С. 133-137.
  105. Романчук, А.И. Сульфаты (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) и хлориды (Cl<sup>-</sup>) как показатели горнопромышленного загрязнения поверхностных вод (на примере Рыбницкого угольного района в Польше) / А.И. Романчук // Третьи Виноградовские чтения. Грани гидрологии: Сб. науч. тр. – 2018. – С. 455-460.
  106. Рубцов, И.В. Закрепление грунтов земляного полотна автомобильных и железных дорог / И.В. Рубцов, В.И. Митраков, О.И. Рубцов. – М.: Изд-во Ассоциации строительных вузов, 2007. – 184 с.
  107. СанПиН 2.1.4.1074-01 Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения населенных мест. Введ. 26.09.2001. – М., 2001.
  108. Сергеев, Е.М. Инженерная геология / Е.М. Сергеев. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1978. – 384 с.



109. Середин, В.В. Исследование пространственного распределения углеводородов в почвогрунтах и водах на территориях, загрязненных нефтью и нефтепродуктами / В.В. Середин – Пермь: Изд-во ПГТУ, 1998. – 106 с.
110. Сухаревский, В.М. Деформации породных отвалов / В.М. Сухаревский, А.П. Стельмах, И.С. Фридман. – Киев: Техніка, 1970. – 108 с.
111. Теоретические основы инженерной геологии. Геологические основы / ред. Е.М. Сергеев. – М.: Недра, 1985. – 332 с.
112. Теоретические основы инженерной геологии. Физико-химические основы / ред. Е.М. Сергеев. – М.: Недра, 1985. – 288 с.
113. Тихонов, И.В. Биотехнология / И.В. Тихонов, Е.А. Рубан, Т.Н. Грязнева, О.Я. Самуйленко, В.А. Гаврилов. – С.-Пб.: ГИОРД, 2005. – 792 с.
114. Трофимов, В.Т. Грунтоведение / В.Т. Трофимов, В.А. Королев, Е.А. Вознесенский, Г.А. Голодковская, Ю.К. Васильчук, Р.С. Зинангиров. – М.: Наука, 2005. - 1024 с.
115. Тютюнова, Ф.И. Гидрогеохимия техногенеза / Ф.И. Тютюнова. – М.: Наука, 1987. – 335 с.
116. Фролов, А.Ф. Инженерная геология / А.Ф. Фролов, И.В. Коротких. – М.: Недра, 1990. – 412 с.
117. Хазиев, Ф.Х. Ферментативная активность почв / Ф.Х. Хазиев. – М.: Наука, 1976. – 180 с.
118. Хмурчик, В.Т. Коррозия бетонных стен в потернах Камской ГЭС / В.Т. Хмурчик // Перспективы развития естественных наук в высшей школе: Сб. науч. тр. – Пермь: Изд-во ПГУ, 2001. – С. 126-130.
119. Хмурчик, В.Т. Формирование состава и свойств грунтов биотехнологическими методами: дис. ... докт. геол.-мин. наук: 25.00.08. / Хмурчик Вадим Тарасович. – Пермь, 2021. – 478 с.
120. Хмурчик, В.Т. Патент РФ 2565409. Способ отбора веществ ингибиторов газообразования в почвогрунтах / В.Т. Хмурчик, Н.Г. Максимович. – 2015. – Бюл. № 29.
121. Чаповский, Е.Г. Инженерная геология / Е.Г. Чаповский. – М.: Высшая школа, 1975. – 296 с.
122. Чесноков, Б.В. На горящих терриконах угольных шахт / Б.В. Чесноков. – Миасс: ИМин УрО РАН, 2005. – 27 с.

123. Чесноков, Б.В. Типы техногенной минерализации отвалов Челябинского угольного бассейна / Б.В. Чесноков, Т.А. Михаль, Т.Н. Дерябина // Минералы месторождений Южного и Среднего Урала. – Свердловск: УНЦ АН СССР, 1985. – С. 47-58.
124. Чесноков, Б.В. Минералогия горелых отвалов Челябинского угольного бассейна (опыт минералогии техногенеза) / Б.В. Чесноков, Е.П. Щербакова. – М.: Наука, 1991. – 152 с.
125. Щербакова, Е.П. Краткий очерк минералогии горелых угольных отвалов / Е.П. Щербакова // Уральский геологический журнал. – 2018. – № 4 (124). – С. 14-29.
126. Щербина, В.В. Миграция элементов и процессы минералообразования / В.В. Щербина. – М.: Наука, 1980. – 284 с.
127. Янин, Е.П. Особенности воздействия на окружающую среду разработки угольных месторождений / Е.П. Янин // Экологическая экспертиза. – 2019. – № 6. – С. 2-59.
128. Abdollahi, H. Effects of oxygen on the growth of *Desulfovibrio desulfuricans* / H. Abdollahi., J.W.T. Wimpenny // Journal of General Microbiology. – 1990. – Vol. 136. – Iss. 6. – Pp. 1025-1030.
129. Achtnich, C. Competition for electron donors among nitrate reducers, ferric iron reducers, sulfate reducers, and methanogens in anoxic paddy soil / C. Achtnich, F. Bak, R. Conrad // Biology and Fertility of Soils. – 1995. – Vol. 19. – Pp. 65-72.
130. Addadi, B.L. Control and design principles in biological mineralization / B.L. Addadi, S. Weiner // Angew. Chem. Int. (Ed. Engl.). – 1992. – Vol. 31. – Pp. 153-169.
131. Aloisi, G. Nucleation of calcium carbonate on bacterial nanoglobules / G. Aloisi, A. Gloter, M. Krüger, K. Wallman, F. Guyot, P. Zuddas // Geology. – 2006. – Vol. 34. – Pp. 1017-1020.
132. Arnold, R.G. Regulation of dissimilatory Fe(III) reduction activity in *Shewanella putrificans* / R.G. Arnold, M.R. Hoffman, T.J. DiChristina, F.W. Picardal // Applied and Environmental Microbiology. – 1990. – Vol. 56. – Pp. 2811-2817.
133. Atlas, R.M. Stimulated petroleum biodegradation / R.M. Atlas // CRC Critical Reviews in Microbiology. – 1977. – Vol. 5. – Iss. 4. – Pp. 371-386.
134. Bachmeier, K.L. Urease activity in microbiologically-induced calcite precipitation / K.L. Bachmeier, A.E. Williams, J.R. Warmington, S.S. Bang // Journal of Biotechnology. – 2002. – Vol. 93. – Pp. 171-181.

135. Bade, K. Behavior of sulfate reducing bacteria under oligotrophic conditions and oxygen stress in particle-free systems related to drinking water / K. Bade, W. Manz, U. Szewzyk // *FEMS Microbiology Ecology*. – 2000. – Vol. 32. – Iss. 3. – Pp. 215-223.
136. Baker, B.J. Microbial communities in acid mine drainage / B.J. Baker, J.F. Banfield // *FEMS Microbiology Ecology*. – 2003. – Vol. 44. – Iss. 2. – Pp. 139-152.
137. Barbić, F.F. Iron and manganese bacteria in Ranney wells / F.F. Barbić, D.M. Bracilovič, M.V. Djindjič, S.M. Djorelijevski, J.S. Zivkovič, B.V. Krajinčanič // *Water Research*. – 1974. – Vol. 8. – № 11. – Pp. 895-898.
138. Barker, W.W. Biologically versus inorganically-mediated weathering reactions: Relationships between minerals and extracellular microbial polymers in lithobiontic communities / W.W. Barker, J.F. Banfield // *Chemical Geology*. – 1996. – Vol. 132. – Pp. 55-69.
139. Barton, H.A. Microbial life in the underworld: Biogenicity in secondary mineral formations / H.A. Barton, J.R. Spear, N.R. Pace // *Geomicrobiological Journal*. – 2001. – Vol. 18. – Pp. 359-368.
140. Benner, R. Bulk chemical characteristics of dissolved organic matter in the ocean / R. Benner, J.D. Pakulski, M. McCarthy, J.I. Hedges, P.G. Hatcher // *Science*. – 1992. – Vol. 255. – Pp. 1561-1564.
141. Bennet, J.C. Bacterial leaching patterns on pyrite crystal surface / J.C. Bennet, H. Tributsch // *Journal of Bacteriology*. – 1978. – Vol. 134. – Pp. 310-326.
142. Berggren, M. Efficient aquatic bacterial metabolism of dissolved low-molecular-weight compounds from terrestrial sources / M. Berggren, H. Laudon, M. Haei, L. Ström, M. Jansson // *The ISME Journal*. – 2010. – Vol. 4. – Pp. 408-416.
143. Berner, R.A. Sedimentary pyrite formation: An update / R.A. Berner // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. – 1984. – Vol. 48. – Iss. 4. – Pp. 605-615.
144. Bertilsson, S. Photochemically produced carboxylic acids as substrates for freshwater bacterioplankton / S. Bertilsson, L.J. Tranvik // *Limnology and Oceanography*. – 1998. – Vol. 43. – Pp. 885-895.
145. Bianchi, T.S. Temporal variability in sources of dissolved organic carbon in the lower Mississippi River / T.S. Bianchi, T. Filley, K. Dria, P.G. Hatcher // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. – 2004. – Vol. 68. – No. 5. – Pp. 959-967.

146. Blodau, C. A review of acidity generation and consumption in acidic coal mine lakes and their watersheds / C. Blodau // *Science of the Total Environment*. – 2006. – Vol. 369. – Iss. 1-3. – Pp. 307-332.
147. Blowes, D.W. In-situ treatment of mine drainage water using porous reactive walls / D.W. Blowes, K.R. Ptacek, K.R. Waybrant, J.G. Bain // *Proc. 11th Ann. Meeting BIOMINET, 1995*. –Pp. 103-115.
148. Bond, D.R. Reduction of Fe(III) oxide by methanogens in the presence and absence of extracellular quinines / D.R. Bond, D.R. Lovley // *Environmental Microbiology*. – 2002. – Vol. 4. – Iss. 2. – Pp. 115-124.
149. Bond, P.L. Phylogeny of microorganisms populating a thick, sub-aerial, predominantly lithotrophic biofilm at an extreme acid mine drainage site / P.L. Bond, S.P. Smriga, J.F. Banfield // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2000. – Vol. 66. – No. 9. – Pp. 3842-3849.
150. Boon, M. Mechanisms and rate limiting steps in bioleaching of sphalerite, chalcopyrite, and pyrite with *Thiobacillus ferrooxidans* / M. Boon, J.J. Heijnen // *Biohydrometallurgy technologies* / Eds. Torma A.E., Wey J.I., Lakshmanan V.L. – The minerals, metals and materials society, 1993. – Vol. *Bioleaching Processes*. – P. 217.
151. Boquet, E. Production of calcite (calcium carbonate) crystals by soil bacteria is a common phenomenon / E. Boquet, A. Boronat, A. Ramos-Cormenzana // *Nature*. – 1973. – Vol. 246. – Pp. 527-529.
152. Bos, R. Retention of bacteria on a substratum surface with micro-patterned hydrophobicity / R. Bos, H.C. van der Mei, J. Gold, H.J. Busscher // *FEMS Microbiological Letters*. – 2000. – Vol. 189. – Iss. 2. – Pp. 311-315.
153. Brady, K. Evaluation of acid-base accounting to predict the quality of drainage at surface coal mines in Pennsylvania, USA / K. Brady, E. Perry, R. Beam, D. Bisko, M. Gardner, J. Tarantino // *Proc. Int. Land Reclamation and Mine Drainage Conf., 1994*. – Pittsburgh: U.S. Bureau of Mines, 1994. – SP-06A-94.
154. Braissant, O. Bacterially induced mineralization of calcium carbonate in terrestrial environment: the role of exopolysaccharides and amino-acids / O. Braissant, G. Cailleau, C. Dupraz, A.P. Verrecchia // *Journal of Sedimentary Research*. – 2003. – Vol. 73. – Pp. 485-490.
155. Bumison, B.K. Isolation of colloidal fibrils from lake water by physical separation techniques / B.K. Bumison, G.G. Leppard // *Canadian*

- Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. – 1983. – Vol. 40. – Pp. 373-381.
156. Burbank, M.B. Precipitation of calcite by indigenous microorganisms to strengthen liquefiable soils / M.B. Burbank, T.J. Weaver, T.L. Green, B.C. Williams, R.L. Crawford // *Geomicrobiology Journal*. – 2011. – Vol. 28. – No. 4. – Pp. 301-312.
  157. Burbank, M.B. Urease activity of ureolytic bacteria isolated from six soils in which calcite was precipitated by indigenous bacteria / M.B. Burbank, T.J. Weaver, B.C. Williams, R.L. Crawford // *Geomicrobiology Journal*. – 2012. – Vol. 29. – Iss. 4. – Pp. 389-395.
  158. Burney, C.M. Diel relationships of microbial trophic groups and in situ dissolved carbohydrate dynamics in the Caribbean Sea / C.M. Burney, P.G. Davis, K.M. Johnson, J.McN. Sieburth // *Marine Biology*. – 1982. – Vol. 67. – Pp. 311-322.
  159. Butler, T.W. Isotope geochemistry of drainage from an acid mine impaired watershed, Oakland, California / T.W. Butler // *Applied Geochemistry*. – 2007. – Vol. 22. – Pp. 1416-1426.
  160. Carrucio, F. Pyritic materials: acid drainage, soil acidity, and liming / F. Carrucio, L.R. Hossner, G. Geidel // *Reclamation of surface mined lands* / ed. L.R. Hossner. – Boca Raton: CRC Press, 1988. – Pp. 159-190.
  161. Casagrande, D.J. The non-participation of organic sulfur in acid mine drainage generation / D.J. Casagrande, R.B. Finkelman, F.T. Carrucio // *Environmental Geochemistry and Health*. – 1989. – Vol. 7. – Pp. 187-192.
  162. Castanier, S. Ca-carbonates precipitation and limestone genesis — the microbiogeologist point of view / S. Castanier, G. Le Métayer-Levrel, J.-P. Perthuisot // *Sedimentary Geology*. – 1999. – Vol. 126. – №. 1-4. – Pp. 9-23.
  163. Castro, H.F. Phylogeny of sulfate-reducing bacteria / H.F. Castro, N.H. Williams, A. Ogram // *FEMS Microbiology Ecology*. – 2000. – Vol. 31. – Iss. 1. – Pp. 1-9.
  164. Chapelle, G. Patent WO 2009098091. Impermeability rehabilitation of civil engineering structures / G. Chapelle, P.J. Valayer. – 2009.
  165. Chen, G. Impact of surface thermodynamics on bacterial transport / G. Chen, K.A. Strevett // *Environmental Microbiology*. – 2001. – Vol. 3. – Iss. 4. – Pp. 237-245.

166. Chen, G. Bacterial deposition in porous medium as impacted by solution chemistry / G. Chen, H.L. Zhu // *Research in Microbiology*. – 2004. – Vol. 155. – Iss. 6. – Pp. 467-474.
167. Cheng, L. Upscaling effects of soil improvement by microbially induced calcite precipitation by surface percolation / L. Cheng, R. Cord-Ruwisch // *Geomicrobiology Journal*. – 2014. – Vol. 31. – No. 5. – Pp. 396-406.
168. Cheng, L. Cementation of sand soil by microbially induced calcite precipitation at various degrees of saturation / L. Cheng, R. Cord-Ruwisch, M.A. Shahin. // *Canadian Geotechnical Journal*. – 2013. – Vol. 50. – Pp. 81-90.
169. Chidthaisong, A. Turnover of glucose and acetate coupled to reduction of nitrate, ferric iron, and to methanogenesis in anoxic field soil / A. Chidthaisong, R. Conrad // *FEMS Microbial Ecology*. – 2000. – Vol. 31. – Pp. 73-86.
170. Chou, C.-W. Biocalcification of sand through ureolysis / C.-W. Chou, E.A. Seagren, A.H. Aydilek, M. Lai // *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*. – 2011. – Vol. 137. – No. 12. – Pp. 1179-1189.
171. Christensen, D. Turnover of <sup>14</sup>C-labelled acetate in marine sediments / D. Christensen, T.H. Blackburn // *Marine Biology*. – 1982. – Vol. 71. – Pp. 113-119.
172. Chu, J. Iron- and calcium-based biogrouts for soil improvement / J. Chu, V. Ivanov // *Geo-Congress 2014. Technical Papers: Geo-characterization and modeling for sustainability* / eds. M. Abu-Farsakh, L.R. Hoyos. – 2014. – Pp. 1596-1601.
173. Chu, J. Development of microbial geotechnology in Singapore / J. Chu, V. Ivanov, J. He, M. Naeimi, B. Li, V. Stabnikov // *Geo-Frontiers 2011. Advances in Geotechnical Engineering. Geotechnical Special Publications (GSP)* / eds. J. Han, D.E. Alzamora. – 2011. – GSP 211. – Pp. 4070-4078.
174. Chu, J. Microbially Induced calcium carbonate precipitation on surface or in the bulk of soil / J. Chu, V. Stabnikov, V. Ivanov // *Geomicrobiology Journal*. – 2012. – Vol. 29. – Iss. 6. – Pp. 544-549.
175. Church, C.D. Microbial sulfate reduction and metal attenuation in pH 4 acid mine water / C.D. Church, R.T. Wilkin, C.N. Alpers, R.O. Rye, R.B. McCleskey // *Geochemical Transactions*. – 2007. – Vol. 8. – No. 10. – doi:10.1186/1467-4866-8-10.

176. Clough, G.W. Cemented sands under static loading / G.W. Clough, N. Sitar, R.C. Bachus, N.S. Rad // *Journal of the Geotechnical Engineering Division*. – 1981. – Vol. 107. – No. 6. – Pp. 799-817.
177. Coffin, R.B. Availability of dissolved organic carbon to bacterioplankton examined by oxygen utilization / R.B. Coffin, J.P. Connolly, P.S. Harris // *Marine Ecology. Progress Series*. – 1993. – Vol. 101. – Pp. 9-22.
178. Cole, D.M. Small-Scale Mechanical Properties of Biopolymers / D.M. Cole, D.B. Ringelberg, C.M. Reynolds // *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*. – 2012. – Vol. 138. – No. 9. – Pp. 1063-1074.
179. Coleman, M.L. Reduction of Fe(III) in sediments by sulphate-reducing bacteria / M.L. Coleman, D.B. Hedrick, D.R. Lovley, D.C. White, K. Pye // *Nature*. – 1993. – Vol. 361. – Pp. 436-438.
180. Corstjens, P.L. Enzymatic iron oxidation by *Leptothrix discophora*: identification of an iron-oxidizing protein / P.L. Corstjens, J.P. de Vrind, P. Westbroek, E.W. de Vrind-de Jong // *Applied and Environmental Microbiology*. – 1992. – Vol. 58. – Pp. 450-454.
181. Crawford, R.L. Patent US 8420362. In situ precipitation of calcium carbonate (CaCO<sub>3</sub>) by indigenous microorganisms to improve mechanical properties of a geomaterial / R.L. Crawford, M.B. Burbank, T.J. Weaver, B.C. Williams. – 2013.
182. Cypionka, H. Oxygen respiration by *Desulfovibrio* species / H. Cypionka // *Annual Reviews in Microbiology*. – 2000. – Vol. 54. – Pp. 827-848.
183. Dade-Robertson, M. Architects of nature: growing buildings with bacterial biofilms / M. Dade-Robertson, A. Keren-Paz, M. Zhang, I. Kolodkin-Gal // *Microbial Biotechnology*. – 2017. – Vol. 10. – Iss. 5. – Pp. 1157-1163.
184. de Lorenzo, V. Seven microbial bio-processes to help the planet / V. de Lorenzo // *Microbial Biotechnology*. – 2017. – Vol. 10. – Iss. 5. – Pp. 995-998.
185. Deans, J.R. Uptake of Pb<sup>2+</sup> and Cu<sup>2+</sup> by novel biopolymers / J.R. Deans, B.G. Dixon // *Water Research*. – 1992. – Vol. 26. – No. 4. – Pp. 469-472.
186. DeJong, J.T. Bio-mediated soil improvement / J.T. DeJong, M.M. Brina, C.M. Brian, D.C. Nelson // *Ecological Engineering*. – 2010. – Vol. 36. – Pp. 197-210

187. DeJong, J.T. Microbially induced cementation to control sand response to undrained shear / J.T. DeJong, M.B. Fritzsche, K. Nüsslein // *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*. – 2006. – Vol. 132. – No. 11. – Pp. 1381-1392.
188. Dejonghe, W. Bioaugmentation of soils by increasing microbial richness: missing links / W. Dejonghe, N. Boon, D. Seghers, E.M. Top, W. Verstraete // *Environmental Microbiology*. – 2001. – Vol. 3. – Iss. 10. – Pp. 649-657.
189. Dejonghe, W. Effect of dissemination of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) degradation plasmids on 2,4-D degradation and on bacterial community structure in two different soil horizons / W. Dejonghe, J. Goris, S. El Fantroussi, M. Höfte, P. De Vos, W. Verstraete, E.M. Top // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2000. – Vol. 66. – Pp. 3297-3304.
190. Delfosse-Ribay, E. Comparison of creep behaviour and fatigue behaviour of grouted sand / E. Delfosse-Ribay., I. Djeran-Maigre, R. Cabrillac // *Soils and Foundations*. – 2007. – Vol. 47. – Iss. 2. – Pp. 185-194.
191. Demain, A.L. Ecology and industrial microbiology / A.L. Demain, L. Dijkhuizen // *Current Opinion in Microbiology*. – 2006. – Vol. 9. – Iss. 3. – Pp. 237-239.
192. Demenev, A.D. Improvement of sand properties using bio-technological precipitation of calcite cement (CaCO<sub>3</sub>) / A.D. Demenev, V.T. Khmurchik, N.G. Maksimovich, E.P. Demeneva, A.M. Sedinin // *Journal of Environmental & Earth Sciences*, 2021, Vol. 80, Article 580. <https://doi.org/10.1007/s12665-021-09818-w>.
193. Demenev, A.D. Microbial changes of the earth dam mechanical properties and the improvement of them / A.D. Demenev, N.G. Maksimovich, V.T. Khmurchik, A.M. Sedinin // *IAEG/AEG 2018 Annual Meeting Proceedings* / eds. Shakoor A., Cato K. – Cham: Springer, 2019. – Vol. 4. – Pp. 41-45.
194. Devlin, J.F. A semipassive nutrient injection scheme for enhanced in situ bioremediation / J.F. Devlin, J.F. Barker // *Ground Water*. – 1994. – Vol. 32. – Iss. 3. – Pp. 374-380.
195. Dietz, J.M. Evaluation of acidic mine drainage treatment in constructed wetland systems / J.M. Dietz, R.G. Watts, D.M. Stidinger // *Proc. 11th Ann. Meeting of the ASMR, Pittsburgh, April 24-29, 1994*. – Pittsburgh: ASMR, 1994. – Pp. 70-79.



196. Dilling, W. Aerobic respiration in sulfate-reducing bacteria / W. Dilling, H. Cypionka // *FEMS Microbiological Letters*. – 1990. – Vol. 71. – Iss. 1-2. – Pp. 123-128.
197. Dockins, W.S. Dissimilatory bacterial sulfate reduction in Montana groundwaters / W.S. Dockins, G.J. Olson, G.A. McFeters, S.C. Turbak // *Geomicrobiology Journal*. – 1980. – Vol. 2. – Iss. 1. – Pp. 83-98.
198. Dornbush, M.E. Grasses, litter, and their interaction affect microbial biomass and soil enzyme activity / M.E. Dornbush // *Soil Biology and Biochemistry*. – 2007. – Vol. 39. – Pp. 2241-2249.
199. Druschel, G.K. Acid mine drainage biogeochemistry at Iron Mountain, California / G.K. Druschel, B.J. Baker, T.M. Gihring, J.F. Banfield // *Geochemical Transactions*. – 2004. – Vol. 5. – Iss. 2. – Pp. 13-32.
200. Druschel, G.K. Kinetics and mechanism of trithionate and tetrathionate oxidation at low pH by hydroxyl radicals / G.K. Druschel, R.J. Hamers, G.W. Luther III, J.F. Banfield // *Aquatic Geochemistry*. – 2003. – Vol. 9. – Pp. 145-164.
201. Dunsmore, B.C. A novel approach to investigate biofilm accumulation and bacterial transport in porous matrices / B.C. Dunsmore, C.J. Bass, H.M. Lappin-Scott // *Environmental Microbiology*. – 2004. – Vol. 6. – Iss. 2. – Pp. 183-187.
202. Dupraz, C. Microbe–mineral interactions: early carbonate precipitation in a hypersaline lake (Eleuthera Island, Bahamas) / C. Dupraz, P.T. Visscher, L.K. Baumgartner, R.P. Reid // *Sedimentology*. – 2004. – Vol. 51. – Pp. 745-765.
203. Durham, B. Membranes as pretreatment to desalination in waste water reuse: operating experience in the municipal and industrial sectors / B. Durham, M. Bourbigols, T. Pankralz // *Desalination*. – 2001. – Vol. 130. – Pp. 83-90.
204. Dvorak, D.H. Treatment of metal-contaminated water using bacterial sulfate reduction: Results from pilot-scale reactors / D.H. Dvorak, R.S. Hedin, H.M. Edenborn, P.E. McIntire // *Biotechnology and Bioengineering*. – 1992. – Vol. 40. – Iss. 5. – Pp. 609-616.
205. Edwards, K.J. Characteristics of attachment and growth of *Thiobacillus caldus* on sulphide minerals: a chemotactic response to sulphur minerals? / K.J. Edwards, P.L. Bond, J.F. Banfield // *Environmental Microbiology*. – 2000. – Vol. 2. – Pp. 324-332.

206. Edwards, K.J. Geomicrobiology of pyrite (FeS<sub>2</sub>) dissolution: case study at Iron Mountain, California / K.J. Edwards, B.M. Goebel, T.M. Rodgers, M.O. Schrenk, T.M. Gihring, M.M. Cardona, B. Hu, M.M. McGuire, R.J. Hamers, N.R. Pace, J.F. Banfield // *Geomicrobiology Journal*. – 1999. – Vol. 16. – Iss. 2. – Pp. 155-179.
207. Edwards, K.J. Microbial oxidation of pyrite: experiments using microorganisms from an extreme acidic environment / K.J. Edwards, M.O. Schrenk, R.J. Hamers, J.F. Banfield // *American Mineralogist*. – 1998. – Vol. 83. – Pp. 1444-1453.
208. Eger, P. The design of a wetland treatment system to remove trace metals from mine drainage / P. Eger, G. Melchert // *Proc. 9th Ann. Meeting of the ASMR, Duluth, June 14-18, 1992*. – Duluth: ASMR, 1992. – Pp. 98-107.
209. Ehrlich, H.L. *Geomicrobiology* / H.L. Ehrlich. – 3rd ed. – N.Y., Basel, Hong Kong: Marcel Dekker, Inc., 1996. – 719 pp.
210. El Fantroussi, S. Is bioaugmentation a feasible strategy for pollutant removal and site remediation? / S. El Fantroussi, S.N. Agathos // *Current Opinion in Microbiology*. – 2005. – Vol. 8. – Iss. 3. – Pp. 268-275.
211. Etemadi, O. Stabilization of metals in subsurface by biopolymers: laboratory drainage flow studies / O. Etemadi, I.G. Petrisor, D. Kim, M. Wan, T.F. Yen // *Soil and Sediment Contamination*. – 2003. – Vol. 12. – Pp. 647-661.
212. Eusterhues, K. Stabilization of soil organic matter isolated via oxidative degradation / K. Eusterhues, C. Rumpel, I. Kögel-Knabner // *Organic Geochemistry*. – 2005. – Vol. 36. – Iss. 11. – Pp. 1567-1575.
213. Faulkner, B.B. Treatment of acid mine drainage by passive treatment systems / B.B. Faulkner, J.G. Skousen // *Proc. 11th Ann. Meeting of the ASMR, Pittsburgh, April 24-29, 1994*. – Pittsburgh: ASMR, 1994. – Pp. 250-257.
214. Ferris, F.G. Patent US 5143155. Bacteriogenic mineral plugging / F.G. Ferris, L.G. Stehmeier. – 1992.
215. Ferris, F.G. Bacteriogenic mineral plugging / F.G. Ferris, L.G. Stehmeier, A. Kantzas, F.M. Mourits // *Journal of Canadian Petroleum Technology*. – 1996. – Vol. 35. – No. 8. – Pp. 56-61.

216. Findon, A. Transport studies for the sorption of copper ions by chitosan / A. Findon, G. McKay, H.S. Blair // *Journal of Environmental Science and Health*. – 1993. – Vol. A28. – No. 1. – Pp. 173-185.
217. Fliermans, C.B. Microbial life in the terrestrial subsurface of southeastern coastal plain sediments / C.B. Fliermans // *Hazardous Wastes and Hazardous Materials*. – 1989. – Vol. 6. – Iss. 2. – Pp. 155-171.
218. Fortin, D. Microbial sulfate reduction within sulfidic mine tailings: Formation of diagenetic Fe sulfides / D. Fortin, T.J. Beveridge // *Geomicrobiology Journal*. – 1997. – Vol. 14. – Iss. 1. – Pp. 1-21.
219. Fortin, D. Role of *Thiobacillus* and sulfate-reducing bacteria in iron biocycling in oxic and anoxic mine tailings / D. Fortin, B. Davis, T.J. Beveridge // *FEMS Microbiology Ecology*. – 1996. – Vol 21. – Iss. 1. – Pp. 11-24.
220. Fortin, D. Surface-mediated mineral development by bacteria / D. Fortin, F.G. Ferris, T.J. Beveridge // *Reviews in Mineralogy*. – 1997. – Vol. 35. – Pp. 161-180.
221. Fortin, D. Formation and occurrence of biogenic iron-rich minerals / D. Fortin, S. Langley // *Earth-Science Reviews*. – 2005. – Vol. 72. – No. 1-2. – Pp. 1-19.
222. Fortin, D. Iron and sulfur cycling in the zone of microbial sulfate reduction in mine tailings / D. Fortin, J.-P. Rioux, M. Roy // *Water, Air and Soil Pollution Focus*. – 2002. – Vol. 2. – Iss. 3. – Pp. 37-56.
223. Fortin, D. Occurrence of sulfate-reducing bacteria under a wide range of physico-chemical conditions in Au and Cu-Zn mine tailings / D. Fortin, M. Roy, J.-P. Rioux, P.J. Thibault // *FEMS Microbiology Ecology*. – 2000. – Vol. 33. – Iss. 3. – Pp. 197-208.
224. Fredrickson, J.K. Lithotrophic and heterotrophic bacteria in deep subsurface sediments and their relation to sediment properties / J.K. Fredrickson, T.R. Garland, R.J. Hicks, J.M. Thomas, S.W. Li, K.M. McFadden // *Geomicrobiology Journal*. – 1989. – Vol. 7. – No. 1/2. – Pp. 53-66.
225. Fujita, Y. Subsurface calcium carbonate precipitation by ureolytic subsurface bacteria / Y. Fujita, F.G. Ferris, R.D. Lawson, F.S. Colwell, R.W. Smith. // *Geomicrobiology Journal*. – 2000. – Vol. 17. – Iss. 4. – Pp. 305-318.

226. Fyson, A. Microbially-mediated metal removal from acid mine drainage / A. Fyson, M. Kalin, M. Smith // Environmental biotechnology / eds. Moo-Young M., Anderson W.A., Chakrabarty A.M. – Dordrecht: Springer, 1995. – Pp. 533-543.
227. Galchenko, V.F. Biogeochemical processes of methane cycle in the soils, bogs, and lakes of western Siberia / V.F. Galchenko, L.E. Dulov, B. Cramer, N.I. Konova, S.V. Barysheva // Microbiology. – 2001. – Vol. 70. – Iss. 2. – Pp. 175-185.
228. Gallagher, N. Passive treatment of mining influenced wastewater with biochemical reactor treatment at the Standard mine Superfund site, Crested Butte, Colorado / N. Gallagher, E. Blumenstein, T. Rutkowski, J. DeAngelis, D. Reisman, C. Progress // Proc. 29th Ann. Meeting of the ASMR, Tupelo, June 8-15, 2012. – Tupelo: ASMR, 2012. – Pp. 137-153.
229. Gallagher, P.M. Stabilization of liquefiable soils using colloidal silica grout / P.M. Gallagher, A. Pamuk, T. Abdoun // Journal of Materials in Civil Engineering. – 2007. – Vol. 19. – Iss. 1. – Pp. 33-40.
230. Garcia, B. Patent WO 2009133312. Method for reducing fluid flows in a porous medium by means of a biological process / B. Garcia, D. Blanchet, V. Beaumont, F. Haeseler. – 2009.
231. Garrels, R.M. Oxidation of pyrite by iron sulfate solution / R.M. Garrels, M.E. Thompson // American Journal of Sciences. – 1960. – Vol. 258A. – Pp. 57-67.
232. Gentry, T.J. New approaches for bioaugmentation as a remediation technology / T.J. Gentry, C. Rensing, I.L. Pepper // Critical Reviews in Environmental Science and Technology. – 2004. – Vol. 34. – Iss. 5. – Pp. 447-494.
233. Gerilla, G.P. An environmental assessment of wood and steel reinforced concrete housing construction / G.P. Gerilla, K. Teknomo, K. Hokao // Building and Environment. – 2007. – Vol. 42. – Pp. 2778-2784.
234. Gibert, O. Chemical characterization of natural organic substrates for biological mitigation of acid mine drainage / O. Gibert, J. de Pablo, J.L. Cortina, C. Ayora. // Water Research. – 2004. – Vol. 38. – Pp. 4186-4196.
235. Gibson, G.R. Physiology and ecology of the sulphate-reducing bacteria / G.R. Gibson // Journal of Applied Bacteriology. – 1990. – Vol. 69. – Iss. 6. – Pp. 769-797.

236. Ginger, K.D. Patent US 8728365. Methods for making construction material using enzyme producing bacteria / K.D. Ginger. – 2014.
237. Gold, T. The deep, hot biosphere / T. Gold // Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. – 1992. – Vol. 89. – Pp. 6045-6049.
238. Gomez, M.G. Field-scale bio-cementation tests to improve sands / M.G. Gomez, B.C. Martinez, J.T. DeJong, C.E. Hunt, L.A. deVlaming, D.W. Major, S.M. Dworatzek // Ground improvement: Proceedings of the Institution of Civil Engineers. – 2014. – Paper 1300052. – Pp. 1-11.
239. Graber, E.R. Soil stabilization in semiarid and arid land agriculture / E.R. Graber, P. Fine, G.J. Levy // Journal of Materials in Civil Engineering. – 2006. – Vol. 18. – No. 2. – Pp. 190-205.
240. Guo, W. Citrobacter sp. strain GW-M mediates the coexistence of carbonate minerals with various morphologies / W. Guo, H. Ma, F. Li, Z. Jin, J. Li, F. Ma, C. Wang // Geomicrobiology Journal. – 2013. – Vol. 30. – Iss. 8. – Pp. 749-757.
241. Gusek, J.J. Passive management of mining influenced water at the Haile gold mine, SC / J.J. Gusek, R. Schneider // Proc. 27th Ann. Meeting of the ASMR, Pittsburgh, June 5-11, 2010. – Pittsburgh: ASMR, 2010. – Pp. 417-432.
242. Gutnick, D.L. Engineering bacterial biopolymers for the biosorption of heavy metals: New products and novel formulations / D.L. Gutnick, H. Bach // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2000. – Vol. 54. – No. 4. – Pp. 451-460.
243. Hall, J.S. Environments of formation and controls on the spatial distribution of calcite cementation in Plio-Pleistocene fluvial deposits. New Mexico, USA / J.S. Hall, P.S. Mozley, J.M. Davis et al. // Journal of Sedimentary Research. – 2004. – Vol.74. – Pp. 643-653.
244. Hallberg, K.B. New perspectives in mine water microbiology / K.B. Hallberg // Advanced Materials Research. – 2009. – Vol. 71-73. – Pp. 29-36.
245. Hammes, F. Strain-specific ureolytic microbial calcium carbonate precipitation / F. Hammes, N. Boon, J. de Villiers, W. Verstraete, S.D. Siciliano // Applied and Environmental Microbiology. – 2003. – Vol. 69. – Iss. 8. – Pp. 4901-4909.

246. Hammes, F. Key roles of pH and calcium metabolism in microbial carbonate precipitation / F. Hammes, W. Verstraete // *Re/Views in Environmental Science & Bio/Technology*. – 2002. – Vol. 1. – Pp. 3-7.
247. Han, J. Induction of calcium carbonate by *Bacillus cereus* / J. Han, B. Lian, H. Ling // *Geomicrobiology Journal*. – 2013. – Vol. 30. – Iss. 8. – Pp. 682-689.
248. Han, Z. Bio-precipitation of calcite with preferential orientation induced by *Synechocystis* sp. PCC6803 / Z. Han, H. Yan, H. Zhao, S. Zhou, M. Han, X. Meng, Y. Zhang, Y. Zhao, B. Sun, C. Yao, Y. Wang, C. Wang, F. Li, C. Tian, L. Xu // *Geomicrobiology Journal*. – 2014. – Vol. 31. – Iss. 10. – Pp. 884-899.
249. Hard, B.C. Bioremediation of acid mine water using facultatively methylotrophic metal-tolerant sulfate-reducing bacteria / B.C. Hard, S. Friedrich, W. Babel // *Microbiological Research*. – 1997. – Vol. 152. – Pp. 65-73.
250. Harvey, H.R. The effect of organic matter and oxygen on the degradation of bacterial membrane lipids in marine sediments / H.R. Harvey, R.D. Fallon, J.S. Patton // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. – 1986. – Vol. 50. – Pp. 795-804.
251. He, J. Undrained responses of microbially desaturated sand under monotonic loading / J. He, J. Chu // *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*. – 2014. – Vol. 140. – No. 5. – Article 04014003.
252. He, J. Remediation of liquefaction potential of sand using the biogas method / J. He, J. Chu, V. Ivanov // *Stability and performance of slopes and embankments III: Geo-Congress 2013* / eds. C. Meehan, D. Pradel, M.A. Pando, J.F. Labuz. – 2013. – Pp. 879-887. <http://dx.doi.org/10.1061/9780784412787>
253. Hedges, J.I. Global biogeochemical cycles: Progress and problems / J.I. Hedges // *Marine Chemistry*. – 1992. – Vol. 39. – Pp. 67-93.
254. Hedges, J.I. Origins and processing of organic matter in the Amazon River as indicated by carbohydrates and amino acids / J.I. Hedges, G.L. Cowie, J.E. Richey, P.D. Quay, R. Benner, M. Strom, B.R. Forsberg // *Limnology and Oceanography*. – 1994. – Vol. 39. – Iss. 4. – Pp. 743-761.
255. Hedges, J.I. Comparative organic geochemistries of soils and marine sediments / J.I. Hedges, J.M. Oades // *Organic Geochemistry*. – 1997. – Vol. 27. – Iss. 8. – Pp. 319-361.

256. Hedin, R.S. Passive treatment of acid mine drainage with limestone / R.S. Hedin, G.R. Watzlaf, R.W. Nairn // *Journal of Environmental Quality*. – 1994. – Vol. 23. – Pp. 1338-1345.
257. Hendry, J.P. Calcite cementation during bacterial manganese, iron and sulphate reduction in Jurassic shallow marine carbonates / J.P. Hendry // *Sedimentology*. – 1993. – Vol. 40. – No. 1. – Pp. 87-106.
258. Hofacker, A.F. Temperature-dependent formation of metallic copper and metal sulfide nanoparticles during flooding of a contaminated soil / A.F. Hofacker, A. Voegelin, R. Kaegi, F.-A. Weber, R. Kretzschmar // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. – 2013. – Vol. 103. – Pp. 316-332.
259. Hudson-Edwards, K.A. Computer simulations of the interactions of the (0 1 2) and (0 0 1) surfaces of jarosite with Al, Cd, Cu<sup>2+</sup> and Zn / K.A. Hudson-Edwards, K. Wright // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. – 2011. – Vol. 75. – Pp. 52-62.
260. Ivanov, V. Applications of microorganisms to geotechnical engineering for bioclogging and biocementation of soil in situ. / V. Ivanov, J. Chu // *Reviews in Environmental Sciences and Biotechnology*. – 2008. – Vol. 7. – Pp. 139-153.
261. Jäckel, U. Enhanced iron reduction by iron supplement: A strategy to reduce methane emission from paddies / U. Jäckel, S. Russo, S. Schnell // *Soil Biology and Biochemistry*. – 2005. – Vol. 37. – Iss. 11. – Pp. 2150-2154.
262. Jarusutthirak, C. Understanding soluble microbial products (SMP) as a component of effluent organic matter (EfOM) / C. Jarusutthirak, G. Amy. // *Water Research*. – 2007. – Vol. 41. – Pp. 2787-2793.
263. Jarvis, A.P. Effective remediation of grossly polluted acidic, and metal-rich, spoil heap drainage using a novel, low-cost, permeable reactive barrier in Northumberland, UK / A.P. Jarvis, M. Moustafa, P.H.A. Orme, P.L. Younger // *Environmental Pollution*. – 2006. – Vol. 143. – Iss. 2. – Pp. 261-268.
264. Jha, I.N. Removal of cadmium using chitosan / I.N. Jha, L. Iyengar, A.V.S. Prabhakara Rao // *Journal of Environmental Engineering*. – 1988. – Vol. 114. – No. 4. – Pp. 962-975.
265. Johnson, D.B. Biodiversity and ecology of acidophilic microorganisms / D.B. Johnson // *FEMS Microbiology Ecology*. – 1998. – Vol. 27. – Pp. 307-317.

266. Johnson, D.B. Pitfalls of passive mine water treatment / D.B. Johnson, K.B. Hallberg // *Reviews in Environmental Sciences and Biotechnology*. – 2002. – Vol. 1. – Iss. 4. – Pp. 335-343.
267. Johnson, D.B. The microbiology of acidic mine waters / D.B. Johnson, K.B. Hallberg // *Research in Microbiology*. – 2003. – Vol. 154. – Iss. 7. – Pp. 466-473.
268. Johnson, D.B. Acid mine drainage remediation options: a review / D.B. Johnson, K.B. Hallberg // *Sciences of Total Environment*. – 2005. – Vol. 338. – Pp. 3-14.
269. Jones, D.L. Plant and mycorrhizal regulation of rhizodeposition / D.L. Jones, A. Hodge, Y. Kuzyakov // *The New Phytologist*. – 2004. – Vol. 163. – Pp. 459-480.
270. Jones, D.L. Microbial response time to sugar and amino acid additions to soil / D.L. Jones, D.V. Murphy // *Soil Biology and Biochemistry*. – 2007. – Vol. 39. – Pp. 2178-2182.
271. Jones, R.I. The influence of humic substances on lacustrine planktonic food-chains / R.I. Jones // *Hydrobiologia*. – 1992. – Vol. 229. – Pp. 73-91.
272. Kaiser, J.-P. Microbial activity in the terrestrial subsurface / J.-P. Kaiser, J.-M. Bollag // *Experientia*. – 1990. – Vol. 46. – Pp. 797-806.
273. Karlsson, J. Similar relationships between pelagic primary and bacterial production in clearwater and humic lakes / J. Karlsson, M. Jansson, A. Jonsson // *Ecology*. – 2002. – Vol. 83. – Pp. 2902-2910.
274. Kavazanjian, E. Patent WO 2015065951. Mineral precipitation methods / E. Kavazanjian, N. Hamdan. – 2015.
275. Kawaguchi, T. A laboratory investigation of cyanobacterial extracellular polymeric secretions (EPS) in influencing CaCO<sub>3</sub> polymorphism / T. Kawaguchi, A.W. Decho // *Journal of Crystal Growth*. – 2002. – Vol. 240. – Pp. 230-235.
276. Kepler, D. Wetland sizing – Design and treatment effectiveness / D. Kepler // *Proc. 7th Ann. Meeting of the ASMR, Charleston, August 23-26, 1990. – Charleston: ASMR, 1990. – Pp. 403-408.*
277. Khachatoorian, R. Biopolymer plugging effect: Laboratory-pressurized pumping flow studies / R. Khachatoorian, I.G. Petrisor, C-C. Kwan, T.F. Yen // *Journal of Petroleum Science and Engineering*. – 2003. – Vol. 38. – Pp. 13-21.



278. Khmurchik, V.T. Methodological basis of ground composition and traits formation by biotechnological techniques / V.T. Khmurchik, N.G. Maksimovich, A.D. Demenev, V.V. Seredin // In: Science and Global Challenges of the 21st Century - Science and Technology (Isaeva E., Rocha A., Eds.), - Perm, 2021. - Pp. 186-193.
279. Kilborn, Inc. Review of passive systems for treatment of acid mine drainage. Phase II. Prepared for MEND Program. Report # 3.14.1. - Kilborn, Inc., 1996. - 197 p.
280. Kile, D.E. An assessment of calcite crystal growth mechanisms based on crystal size distributions / D.E. Kile, D.D. Eberl, A.R. Hoch, M.M. Reddy // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. - 2000. - Vol. 64. - Iss. 17. - Pp. 2937-2950.
281. Kim, D.-H. An environmentally friendly soil improvement technology with microorganism / D.-H. Kim, K.-H. Park // *International Journal of Railways*. - 2013. - Vol. 6. - No. 3. - Pp. 90-94.
282. Kjeldsen, K.U. Effects of oxygen exposure on respiratory activities of *Desulfovibrio desulfuricans* strain DvO1 isolated from activated sludge / K.U. Kjeldsen, C. Joulain, K. Ingvorsen // *FEMS Microbiology Ecology*. - 2005. - Vol. 53. - Pp. 275-284.
283. Klüber, H.D. Effects of nitrate, nitrite, NO and N<sub>2</sub>O on methanogenesis and other redox processes in anoxic rice field soil / H.D. Klüber, R. Conrad // *FEMS Microbiology Ecology*. - 1998. - Vol. 25. - Pp. 301-318.
284. Koike, I. Role of sub-micrometre particles in the ocean / I. Koike, S. Ham, K. Terauchi, K. Kogure // *Nature*. - 1990. - Vol. 345. - Pp. 242-244.
285. Konhauser, K.O. Bacterial clay authigenesis: A common biogeochemical process / K.O. Konhauser, M.M. Urrutia // *Chemical Geology*. - 1999. - Vol. 161. - Pp. 399-413.
286. Konishi, Y. Bacterial dissolution of pyrite by *Thiobacillus ferrooxidans* / Y. Konishi, S. Asai, H.K. Sakai // *Bioprocesses in Engineering*. - 1990. - Vol. 5. - Pp. 5-17.
287. Koschorreck, M. Functions of straw for in-situ remediation of acidic mining lakes / M. Koschorreck, R. Frommichen, P. Herzsprung, J. Tittel, K. Wendt-Potthoff // *Water, Air and Soil Pollution Focus*. - 2002. - Vol. 2. - Pp. 97-109.

288. Kosyakov, V.N. Utilization of chitin-chitosan biosorbents for environmental deactivation and radioactive waste management / V.N. Kosyakov, N.G. Yakovlev, L.F. Gorovoj // NATO Advanced Science Institutes Series. – 1997. – Ser. 2. – Vol. 34. – Pp. 119-131.
289. Kotsyurbenko, O.R. Shift from acetoclastic to H<sub>2</sub>-dependent methanogenesis in a West Siberian peat bog at low pH values and isolation of an acidophilic Methanobacterium strain / O.R. Kotsyurbenko, M.W. Friedrich, M.V. Simankova, A.N. Nozhevnikova, P.N. Golyshin, K.N. Timmis, R. Conrad // Applied and Environmental Microbiology. – 2007. – Vol. 73. – No. 7. – Pp. 2344-2348.
290. Kralj, D. The influence of some naturally occurring minerals on the precipitation of calcium carbonate polymorphs / D. Kralj, N. Vdović // Water Research. – 2000. – Vol. 34. – Iss. 1. – Pp. 179-184.
291. Kucharski, E.S. Patent US 8182604. Microbial biocementation / E.S. Kucharski, R. Cord-Ruwisch, V. Whiffin, S.M. Al-Thawadi. – 2012.
292. Küsel, K. Microbial cycling of iron and sulfur in acidic coal mining lake sediments / K. Küsel // Water, Air and Soil Pollution. – 2003. – Vol. 3. – Pp. 67-90.
293. Kuyucak, N., St-Germain P. In situ treatment of acid mine drainage by sulphate reducing bacteria in open pits: Scale-up experiences / N. Kuyucak, P. St-Germain // Proc. 11th Ann. Meeting of the ASMR, Pittsburgh, April 24-29, 1994. – Pittsburgh: ASMR, 1994. – Pp. 303-310.
294. Le Gall, J. Anaerobes response to oxygen: the sulfate-reducing bacteria / J. Le Gall, A.V. Xavier // Anaerobe. – 1996. – Vol. 2. – Iss. 1. – Pp. 2-9.
295. Leahy, J.G. Microbial degradation of hydrocarbons in the environment / J.G. Leahy, R.R. Colwell // Microbiological Reviews. – 1990. – Vol. 54. – No. 3. – Pp. 305-315.
296. Lee, J. Strength characteristics of soils mixed with an organic acid material for improvement / J. Lee, K. Kim, B. Chun // Journal of Materials in Civil Engineering. – 2012. – Vol. 24. – No. 12. – Pp. 1529-1533.
297. Lee, J.-Y. Hydrologic characteristics of a large rockfill dam: Implications for water leakage / J.-Y. Lee, Y.-K. Choi, H.-S. Kim, S.-T. Yun // Engineering Geology. – 2005. – Vol. 80. – No. 1-2. – Pp. 43-59.
298. Li, Y. Subsurface application of *Alcaligenes eutrophus* for plugging

- of porous media / Y. Li, I.C.-Y. Yang, K.-I. Lee, T.F. Yen // *Microbial enhanced oil recovery — Recent advances* / eds. E.T. Premuzic, A. Woodhead. – Amsterdam: Elsevier, 1993. – Pp. 65-77.
299. Liamleam, W. Electron donors for biological sulfate reduction / W. Liamleam, A.P. Annachhatre // *Biotechnology Advances*. – 2007. – Vol. 25. – Iss. 5. – Pp. 452-463.
300. Lindsay, M.B.J. Microbiology and geochemistry of mine tailings amended with organic carbon for passive treatment of pore water / M.B.J. Lindsay, K.D. Wakeman, O.F. Rowe, B.M. Grail, C.J. Ptacek, D.W. Blowes, D.B. Johnson // *Geomicrobiology Journal*. – 2011. – Vol. 28. – Iss. 3. – Pp. 229-241.
301. Liu, F. Discussion on the formation and quality type of acidic gob water / F. Liu // *Procedia Earth and Planetary Science*. – 2011. – Vol. 3. – Pp. 364-369.
302. Lovley, D.R. Cleaning up with genomics: Applying molecular biology to bioremediation / D.R. Lovley // *Nature Reviews in Microbiology*. – 2003. – Vol. 1. – Iss. 1. – Pp. 35-44.
303. Lovley, D.R. Organic matter mineralization with reduction of ferric iron in anaerobic sediments. / D.R. Lovley, E.J.P. Phillips // *Applied and Environmental Microbiology*. – 1986. – Vol. 51. – No. 4. – Pp. 683-689.
304. Lovley, D.R. Competitive mechanisms for inhibition of sulfate reduction and methane production in the zone of ferric iron reduction in sediments. / D.R. Lovley, E.J.P. Phillips // *Applied and Environmental Microbiology*. – 1987. – Vol. 53. – No. 11. – Pp. 2636-2641.
305. Lovley, D.R. Novel mode of microbial energy metabolism: Organic carbon oxidation coupled to dissimilatory reduction of iron or manganese / D.R. Lovley, E.J.P. Phillips // *Applied and Environmental Microbiology*. – 1988. – Vol. 54. – No. 6. – Pp. 1472-1480.
306. Lueders, T. Effects of amendment with ferrihydrite and gypsum on the structure and activity of methanogenic populations in rice field soil / T. Lueders, M.W. Friedrich // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2002. – Vol. 68. – Iss. 5. – Pp. 2484-2494.
307. Luptakova, A. Physical-chemical and biological-chemical methods for treatment of acid mine drainage / A. Luptakova, S. Ubaldini, P. Fornari, E. Macingova // *Chemical Engineering Transactions*. – 2012. – Vol. 28. – Pp. 115-120.

308. Maksimovich, N. The use of industrial alkaline wastes to neutralise acid drain water from waste rock piles / N. Maksimovich, V. Khmurchik, O. Meshcheriakova, A. Demenev, O. Berezina // Mine water solutions: Proc. of the postponed 14th IMWA Congr., Christchurch, 9-13 November, 2020 / eds. Pope J., Wolkersdorfer C., Sartz L., Weber A., Wolkersdorfer K. – Christchurch: IMWA, 2020. – Pp. 117-122.
309. Malcolm, R.L. The uniqueness of humic substances in each of soil, stream and marine environments / R.L. Malcolm // *Analitica Chimica Acta*. – 1990. – Vol. 232. – Pp. 19-30.
310. Marschall, C. Influence of oxygen on sulfate reduction and growth of sulfate-reducing bacteria / C. Marschall, P. Frenzel, H. Cypionka // *Archives of Microbiology*. – 1993. – Vol. 159. – Iss. 2. – Pp. 168-173.
311. Marschner, B. Controls of bioavailability and biodegradability of dissolved organic matter in soils / B. Marschner, K. Kalbitz // *Geoderma*. – 2003. – Vol. 113. – Pp. 211-235.
312. McConnaughey, T.A. Calcification generates protons for nutrient an bicarbonate uptake / T.A. McConnaughey, F.F. Whelan // *Earth-Science Reviews*. – 1997. – Vol. 42. – Pp. 95-117.
313. McInerney, M.J. Patent US 4558739. Situ microbial plugging process for subterranean formations / M.J. McInerney, G.E. Jenneman, R.M. Knapp, D.E. Menzie. – 1985.
314. McIsaac, R. Clogging of gravel drainage layers permeated with landfill leachate / R. McIsaac, R.K. Rowe // *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*. – 2007. – Vol. 133. – Iss. 8. – Pp. 1026-1039.
315. McMahon, P.B. Redox processes and water quality of selected principal aquifer systems / P.B. McMahon, F.H. Chapelle // *Ground Water*. – 2008. – Vol. 46. – No. 2. – Pp. 259-271.
316. Melchiorre, E. Microbiological evidence for the origin of acid mine drainage at the Green Valley Site, Vigo County, and Friar Tuck Site, Greene County, Indiana, USA / E. Melchiorre // *Mine Water and the Environment*. – 2011. – Vol. 30. – Pp. 175-184.
317. Melling, L. Methane fluxes from three ecosystems in tropical peatland of Sarawak, Malaysia / L. Melling, R. Hatano, K.J. Goh // *Soil Biology and Biochemistry*. – 2005. – Vol. 37. – Pp. 1445-1453.
318. Mills, A.L. The role of bacteria in environmental geochemistry / A.L. Mills // *Reviews in Economic Geology*. – 1999. – Vol. 6. – Pp. 125-132.

319. Mitchell, A.C. The influence of *Bacillus pasteurii* on the nucleation and growth of calcium carbonate / A.C. Mitchell, F.G. Ferris // *Geomicrobiology Journal*. – 2006. – Vol. 23. – Iss. 3-4. – Pp. 213-226.
320. Mitchell, J.K. Biological considerations in geotechnical engineering / J.K. Mitchell, J.C. Santamarina // *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*. – 2005. – Vol. 131. – No. 10. – Pp. 1222-1233.
321. Mobley, H.L.T. Microbial ureases: significance, regulation and molecular characterization/ H.L.T. Mobley, R.P. Hausinger // *Microbiological Reviews*. – 1989. – Vol. 53. – Pp. 85-108.
322. Mobley, H.L.T. Molecular biology of microbial ureases / H.L.T. Mobley, M.D. Island, R.P. Hausinger // *Microbiological Reviews*. – 1995. – Vol. 59. – Pp. 451-480.
323. Molenaar, N. Calcium carbonate cementation of sand: A method for producing artificially cemented samples for geotechnical testing and a comparison with natural cementation process / N. Molenaar, A.A.M. Venmans // *Engineering Geology*. – 1993. – Vol. 35. – Pp. 103-122.
324. Monard, C. Short-term response of soil bacteria to carbon enrichment in different soil microsites / C. Monard, F. Binet, P. Vandenkoornhuyse // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2008. – Vol. 74. – Iss. 17. – Pp. 5589-5592.
325. Moran, M.A. Support of bacterioplankton production by dissolved humic substances from three marine environments / M.A. Moran, R.E. Hodson // *Marine Ecology. Progress Series*. – 1994. – Vol. 110. – Pp. 241-247.
326. Mortensen, B.M. Effects of environmental factors on microbial induced calcium carbonate precipitation / B.M. Mortensen, M.J. Haber, J.T. DeJong, L.F. Caslake, D.C. Nelson // *Journal of Applied Microbiology*. – 2011. – Vol. 111. – Pp. 338-349.
327. Münster, U. Concentrations and fluxes of organic carbon substrates in the aquatic environment / U. Münster // *Antonie van Leeuwenhoek International Journal*. – 1993. – Vol. 63. – Pp. 243-274.
328. Muyzer, G. The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria / G. Muyzer, A.J.M. Stams // *Nature Reviews in Microbiology*. – 2008. – Vol. 6. – Pp. 441-454.

329. Nemati, M. Modification of porous media permeability, using calcium carbonate produced enzymatically in situ / M. Nemati, G. Voordouw // *Enzyme and Microbial Technology*. – 2003. – Vol. 33. – Iss. 5. – Pp. 635-642.
330. Nordström, D.K. Geochemistry of acid mine waters / D.K. Nordström, C.N. Alpers // *The environmental geochemistry of mineral deposits. Part A: Processes, techniques and health issues.* / eds. G.S. Plumlee, M.J. Logsdon. – *Reviews in Economic Geology*. – Society of Economic Geologists, Inc., 1999. – Vol. 6A. – Pp. 133-160.
331. Nordström, D.K. Geomicrobiology of sulfide mineral oxidation / D.K. Nordström, G. Southam // *Geomicrobiology: Interactions between microbes and minerals* / eds. J.F. Banfield, K.H. Nealson. – Mineralogical Society of America, 1999. – Vol. 35. – Pp. 361-390.
332. Nugent, R.A. The effect of exopolymers on the compressibility of clays / R.A. Nugent, G. Zhang, R.P. Gambrell // *Geo-Frontiers*. – 2011. – Pp. 3935-3944.
333. Opsahl, S. Distribution and cycling of terrigenous dissolved organic matter in the ocean / S. Opsahl, R. Benner // *Nature*. – 1997. – Vol. 386. – Pp. 480-482.
334. Oremland, R.S. Use of “specific” inhibitors in biogeochemistry and microbial ecology / R.S. Oremland, D.G. Capone // *Advances in Microbial Ecology*. – 1988. – Vol. 10. – Pp. 285-383.
335. Pakulski, J.D. Abundance and distribution of carbohydrates in the ocean / J.D. Pakulski, R. Benner // *Limnology and Oceanography*. – 1994. – Vol. 39. – Iss. 4. – Pp. 930-940.
336. Pedersen, K. Exploration of deep intraterrestrial microbial life: current perspectives / K. Pedersen // *Microbiological Letters*. – 2000. – Vol. 185. – Pp. 9-16.
337. Pereyra, L.P. Effect of bioaugmentation and biostimulation on sulfate-reducing column startup captured by functional gene profiling / L.P. Pereyra, S.R. Hiibel, E.M. Perrault, K.F. Reardon, A. Pruden // *FEMS Microbiology Ecology*. – 2012. – Vol. 82. – Iss. 1. – Pp. 135-147.
338. Peris Mora, E. Life cycle, sustainability and the transcendent quality of building materials / E. Peris Mora // *Building and Environment*. – 2007. – Vol. 42. – Pp. 1329-1334.

339. Phillips, A.J. Engineered applications of ureolytic biomineralization: a review / A.J. Phillips, R. Gerlach, E. Lauchnor, A.C. Mitchell, A.B. Cunningham, L. Spangler // *Biofouling*. – 2013. – Vol. 29. – No. 6. – Pp. 715-733.
340. Plumlee, G.S. Geologic controls on the composition of natural waters and mine waters draining diverse mineral-deposit types / G.S. Plumlee, K.S. Smith, M.R. Montour, W.H. Ficklin, E.L. Mosier // *The environmental geochemistry of mineral deposits. Part B: Case studies and research topics* / eds. L.H. Filipek, G.S. Plumlee. – *Reviews in Economic Geology*. – Society of Economic Geologists, Inc., 1999. – Vol. 6B. – Pp. 373-432.
341. Porcino, D. Undrained cyclic response of a silicate-grouted sand for liquefaction mitigation purposes / D. Porcino, V. Marciànò, R. Granata // *Geomechanics and Geoengineering: An International Journal*. – 2011. – Vol. 6. – Iss. 3. – Pp. 155-170.
342. Porcino, D. Static and dynamic properties of a lightly cemented silicate-grouted sand / D. Porcino, V. Marciànò, R. Granata // *Canadian Geotechnical Journal*. – 2012. – Vol. 49. – Pp. 1117-1133.
343. Praharaj, T. Indicators of microbial sulfate reduction in acidic sulfide-rich mine tailings / T. Praharaj, D. Fortin // *Geomicrobiology Journal*. – 2004. – Vol. 21. – Pp. 457-467.
344. Pritchard, P.H. Use of inoculation in bioremediation / P.H. Pritchard // *Current Opinion in Biotechnology*. – 1992. – Vol. 3. – Iss. 3. – Pp. 232-243.
345. Qian, C.X. Corrosion protection of cement-based building materials by surface deposition of CaCO<sub>3</sub> by *Bacillus pasteurii* / C.X. Qian, J.Y. Wang, R.X. Wang, et al. // *Material Science and Engineering. C. Biomimetic and Supramolecular Systems*. – 2009. – Vol. 29. – Pp. 1273-1280.
346. Rebata-Landa, V. Mechanical effects of biogenic nitrogen gas bubbles in soils / V. Rebata-Landa, J.C. Santamarina // *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*. – 2012. – Vol. 138. – No. 2. – Pp. 128-137.
347. Redden, G. CaCO<sub>3</sub> precipitation, transport and sensing in porous media with in situ generation of reactants / G. Redden, D. Fox, C. Zhang, Y. Fujita, L. Guo, H. Huang // *Environmental Science and Technology*. – 2014. – Vol. 48. – Pp. 542-549.

348. Reeder, M.D. Assessment of two field-scale sulfate reducing bioreactors using sulfur isotopes / M.D. Reeder, T.D. Branam, G.A. Olyphant // Proc. 27th Ann. Meeting of the ASMR, Pittsburgh, June 5-11, 2010. – Pittsburgh: ASMR, 2010. – Pp. 813-827.
349. Repeta, D.J. Chemical characterization of high molecular weight dissolved organic matter in fresh and marine waters / D.J. Repeta, T.M. Quan, L.I. Aluwihare, A. Accardi // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. – 2002. – Vol. 66. – Pp. 955-962.
350. Rittmann, B.E. Microbial ecology to manage processes in environmental biotechnology / B.E. Rittmann // *Trends in Biotechnology*. – 2006. – Vol. 24. – Iss. 6. – Pp. 261-266.
351. Rivadeneyra M.A. Carbonate and phosphate precipitation by *Chromohalobacter marismortui* / M.A. Rivadeneyra, A. Martín-Algarra, A. Sánchez-Navas, J.D. Martín-Ramos // *Geomicrobiology Journal*. – 2006. – Vol. 23. – Pp. 89-101.
352. Rivadeneyra, M.A. Amorphous Ca-phosphate precursors for Ca-carbonate biominerals mediated by *Chromohalobacter marismortui* / M.A. Rivadeneyra, A. Martín-Algarra, M. Sánchez-Román, A. Sánchez-Navas, J.D. Martín-Ramos // *The ISME Journal*. – 2010. – Vol. 4. – Pp. 922-932.
353. Roden, E.E. Diversion of electron flow from methanogenesis to crystalline Fe(III) oxide reduction in carbon-limited cultures of wetland sediment microorganisms / E.E. Roden // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2003. – Vol. 69. – Iss. 9. – Pp. 5702-5706.
354. Roden, E.E. Competition between Fe(III)-reducing and methanogenic bacteria for acetate in iron-rich freshwater sediments / E.E. Roden, R.G. Wetzel // *Microbial Ecology*. – 2003. – Vol. 45. – Pp. 252-258.
355. Romankevich, E.A. *Geochemistry of organic matter in the ocean* / E.A. Romankevich. – Springer, 1984.
356. Rong, H. Binding functions of microbe cement / H. Rong, C.-X. Qian // *Advanced Engineering Materials*. – 2015. – Vol. 17. – No. 3. – Pp. 334-340.
357. Rong, H. A cementation method of loose particles based on microbe-based cement / H. Rong, C.-X. Qian, R.-X. Wang // *Science China. Technological Sciences*. – 2011. – Vol. 54. – No. 7. – Pp. 1722-1729.



358. Rose, A.W. Advances in passive treatment of coal mine drainage 1998-2009 / A.W. Rose // Proc. 27th Ann. Meet. of the ASMR, Pittsburgh, June 5-11, 2010. – Pittsburgh: ASMR, 2010. – Pp. 847-887.
359. Rosenberg, M. Hydrophobic interactions: role in bacterial adhesion / M. Rosenberg, S. Kjelleberg // Advances in microbial ecology / ed. Marshall K.C. – New York, London: Plenum Press, 1986. – Vol. 9. – Pp. 353-393.
360. Ruiz-Agudo, E. Effect of pH on calcite growth at constant  $a_{Ca^{2+}}$ / $a_{CO_3^{2-}}$  ratio and supersaturation / E. Ruiz-Agudo, C.V. Putnis, C. Rodriguez-Navarro, A. Putnis // Geochimica et Cosmochimica Acta. – 2011. – Vol. 75. – No. 1. – Pp. 284-296.
361. Sadeghi, M.M. Parameters effects evaluation of microbial strengthening of sandy soils in mixing experiments using taguchi methodology / M.M. Sadeghi, A.R. Modarresnia, F. Shafiei // Geomicrobiology Journal. – 2015. – Vol. 32. – No. 5. – Pp. 453-465.
362. Sáinz, A. Characterisation of sequential leachate discharges of mining waste rock dumps in the Tinto and Odiel rivers / A. Sáinz, J.A. Grande, M.L. de la Torre, D. Sánchez-Rodas // Journal of Environment Management. – 2002. – Vol. 64. – Iss. 4. – Pp. 345-353.
363. Sánchez-Navas, A. Crystal-growth behaviour Ca-Mg carbonate bacterial spherulites / A. Sánchez-Navas, A. Martín-Algarra, M.A. Rivadeneyra, S. Melchor, J.D. Martín-Ramos // Crystal Growth and Design. – 2009. – Vol. 9. – Pp. 2690-2699.
364. Sánchez-Román, M. Aerobic microbial dolomite at the nanometer scale: implications for the geologic record / M. Sánchez-Román, C. Vasconcelos, T. Schmid, M. Dittrich, J.A. McKenzie, R. Zenobi, M.A. Rivadeneyra // Geology. – 2008. – Vol. 36. – Iss. 11. – Pp. 879-882.
365. Sand, W. Sulfur chemistry, biofilm, and the (in)direct attack mechanism – a critical evaluation of bacterial leaching / W. Sand, T. Gerke, R. Hallmann, A. Schippers // Applied Microbiology and Biotechnology. – 1995. – Vol. 43. – Pp. 961-966.
366. Saxena, S.K. Static properties of lightly cemented sands / S.K. Saxena, R.M. Lastrico // Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering. – 1978. – Vol. 104. – No. 12. – Pp. 1449-1464.
367. Schippers, A. Microbial diversity in uranium mine waste heaps / A. Schippers, R. Hallmann, S. Wentzien, W. Sand // Applied and Environmental Microbiology. – 1995. – Vol. 61. – Pp. 2930-2935.

368. Schippers, A. Sulfur chemistry in bacterial leaching of pyrite / A. Schippers, P.-G. Jozsa, W. Sand // *Applied and Environmental Microbiology*. – 1996. – Vol. 62. – Pp. 3424-3431.
369. Schippers, A. Bacterial leaching of metal sulfides proceeds by two indirect mechanisms via thiosulfate or via polysulfides and sulfur / A. Schippers, W. Sand // *Applied and Environmental Microbiology*. – 1999. – Vol. 65. – Pp. 319-321.
370. Schrier-Uijl, A.P. Release of CO<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> from lakes and drainage ditches in temperate wetlands / A.P. Schrier-Uijl, A.J. Veraart, P.A. Leffelaar, F. Berendse, E.M. Veenendaal // *Biogeochemistry*. – 2011. – Vol. 102. – Pp. 265-279.
371. Schroeder, R.A. A review of the geochemical applications of the amino acid racemization reaction / R.A. Schroeder, L.J. Bada // *Earth-Science Reviews*. – 1976. – Vol. 12. – Pp. 347-391.
372. Seifert, A.-G. Variable effects of plant colonization on black slate uptake into microbial PLFAs / A.-G. Seifert, S. Trumbore, X. Xu, D. Zhang, G. Gleixne // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. – 2013. – Vol. 106. – Pp. 391-403.
373. Sel, I. Bacteria-induced cementation process in loose sand medium / I. Sel, H.B. Ozhan, R. Cibik, E. Buyukcangaz // *Marine Georesources and Geotechnology*. – 2015. – Vol. 33. – No. 5. – Pp. 403-407.
374. Sham, E. Monitoring bacterially induced calcite precipitation in porous media using magnetic resonance imaging and flow measurements / E. Sham, M.D. Mantle, J. Mitchell, D.J. Tobler, V.R. Phoenix, M.L. Johns // *Journal of Contaminant Hydrology*. – 2013. – Vol. 152. – Pp. 35-43.
375. Shirakawa, M.A. Sand bioconsolidation through the precipitation of calcium carbonate by two ureolytic bacteria / M.A. Shirakawa, K.K. Kaminishikawahara, M.J. Vanderley, H. Kahn, M.M. Futai // *Materials Letters*. – 2011. – Vol. 65. – Pp. 1730-1733.
376. Silva, A.M. Mine water treatment with limestone for sulfate removal / F.M. Silva, R.M.F. Lima, V.A. Leao // *Journal of Hazardous Materials*. – 2012. – Vol. 221-222. – Pp. 45-55.
377. Silverman, M.P. Microbial formation and degradation of minerals / M.P. Silverman, H.K. Ehrlich // *Advances in Applied Microbiology*. – 1964. – Vol. 6. – Pp. 153-206.

378. Singer, A.C. Perspectives and vision for strain selection in bioaugmentation / A.C. Singer, C.J. van der Gast, I.P. Thompson // Trends in Biotechnology. – 2005. – Vol. 23. – Iss. 2. – Pp. 74-77.
379. Singer, P.C. Acidic mine drainage: The rate-determining step / P.C. Singer, W. Stumm // Science. – 1970. – Vol. 167. – Pp. 1121-1123.
380. Skousen, J.G. A handbook of technologies for avoidance and remediation of acid mine drainage / J.G. Skousen, A. Rose, G. Geidel, J. Foreman, R. Evans, W. Hellier, members of the Avoidance and Remediation Working Group. – The National Mine Land Reclamation Centre, West Virginia University, 1998. – 131 p.
381. Skousen, J. Review of passive systems for acid mine drainage treatment / J. Skousen, C. Zippe, A. Rose, P. Ziemkiewicz, R. Nairn, L. McDonald, R. Kleinmann // Mine Water and the Environment. – 2017. – Vol. 36. – Pp. 133-153.
382. Smith, G.A. Quantitative characterization of microbial biomass and community structure in subsurface material: a prokaryotic consortium responsive to organic contamination / G.A. Smith, J.S. Nickels, B.D. Kerger, J.D. Davis, C.P. Collins, J.T. Wilson, J.F. McNabb, D.C. White // Canadian Journal of Microbiology. – 1986. – Vol. 32. – Pp. 104-111.
383. Sondi, I. Homogeneous precipitation of calcium carbonates by enzyme catalyzed reaction / I. Sondi, E. Matijevic // Journal of Colloid Interface Science. – 2001. – Vol. 238. – Pp. 208-214.
384. Stabnikov, V. Halotolerant, alkaliphilic urease-producing bacteria from different climate zones and their application for biocementation of sand / V. Stabnikov, J. Chu, V. Ivanov, Y. Li // World Journal of Microbiology and Biotechnology. – 2013. – Vol. 29. – Pp. 1453-1460.
385. Stahl D.A. Origins and diversification of sulfate-respiring microorganisms / D.A. Stahl, S. Fishbain, M. Klein, B.J. Baker, M. Wagner // Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology. – 2002. – Vol. 81. – Iss. 1-4. – Pp. 189-195.
386. Stark, L. Iron loading, efficiency, and sizing in a constructed wetland receiving mine drainage / L. Stark, E. Stevens, H. Webster, W. Wenerick // Proc. 7th Ann. Meeting of the ASMR, Charleston, August 23-26, 1990. – Charleston: ASMR, 1990. – Pp. 393-402.
387. Stocks-Fisher, S. Microbiological precipitation of CaCO<sub>3</sub> / S. Stocks-Fisher, J.K. Galinat, S.S. Bang // Soil Biology and Biochemistry. – 1999. – Vol. 31. – No. 11. – Pp. 1563-1571.

388. Sukola, K. Metal-sulfide species in oxic waters / K. Sukola, F.Y. Wang, A. Tessier // *Analitica Chimica Acta*. – 2005. – Vol. 528. – Pp. 183-195.
389. Swart, C.J.U. Subsurface grout barriers for ground stabilization in dolomite areas near Carletonville, South Africa / C.J.U. Swart, A. van Schalkwyk // *Environmental Geology*. – 2001. – Vol. 40. – No. 4-5. – Pp. 592-601.
390. Ta, H.X. Preliminary study of geophysical monitoring of bioclogging caused by bacterial biopolymer accumulation in sands / H.X. Ta, T.-H. Kwon, B. Muhunthan // *Geo-Congress 2014. Technical Papers: Geo-characterization and modeling for sustainability* / eds. M. Abu-Farsakh, L.R. Hoyos. – 2014. – Pp. 1654-1663.
391. Taylor, B.E. Isotope composition of sulphate in acid mine drainage as measure of bacterial oxidation / B.E. Taylor, M.C. Wheeler, D.K. Nordström // *Nature*. – 1984. – Vol. 308. – Pp. 538-541.
392. Taylor, B.E. Stable isotope geochemistry of acid mine drainage: Experimental oxidation of pyrite / B.E. Taylor, M.C. Wheeler, D.K. Nordström // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. – 1984. – Vol. 48. – Pp. 2669-2678.
393. Tebo, B.M. Bacterially-mediated mineral formation: Insights into manganese (II) oxidation from molecular genetic and biochemical studies / B.M. Tebo, W.C. Ghiorse, L.G. van Waasbergen, P.L. Seiring, R. Caspi // eds. J.F. Banfield, K.H. Nealson // *Geomicrobiology: interactions between microbes and minerals. Reviews in Mineralogy*. – Washington, D.C.: Mineralogical Society of America, 1997. – Vol. 35. – Pp. 225-260.
394. Teterin, Y.A. Physico-chemical and adsorption properties of bio-sorbents and mechanisms of their interaction with radionuclides / Y.A. Teterin // *NATO Advanced Science Institutes Series*. – 1997. – Ser. 2. – Vol. 34. – Pp. 135-139.
395. Thompson, I.P. Bioaugmentation for bioremediation: the challenge of strain selection / I.P. Thompson, C.J. van der Gast, L. Ciric, A.C. Singer // *Environmental Microbiology*. – 2005. – Vol. 7. – Iss 7. – Pp. 909-915.
396. Timmis, K. The contribution of microbial biotechnology to sustainable development goals / K. Timmis, W.M. de Vos, J.L. Ramos, S.E. Vlaeminck, A. Prieto, A. Danchin, W. Verstraete, V. de Lorenzo, S.Y. Lee, H. Brüssow, J.K. Timmis, B.K. Singh // *Microbial Biotechnology*. – 2017. – Vol. 10. – Iss. 5. – Pp. 984-987.

397. Tranvik, L.J. Colloidal and dissolved organic matter in lake water: Carbohydrate and amino acid composition, and ability to support bacterial growth / L.J. Tranvik, N.O.G. Jørgensen // *Biogeochemistry*. – 1995. – Vol. 30. – Iss. 2. – Pp. 77-97.
398. Treatment of sulphate in mine effluents. – Lorax Environmental (INAP), 2003. – 129 p.
399. Turkmen, S. Treatment of the seepage problems at the Kalecik Dam (Turkey) / S. Turkmen // *Engineering Geology*. – 2003. – Vol. 68. – No. 3-4. – Pp. 159-169.
400. Turkmen, S. Seepage problems in the karstic limestone foundation of the Kalecik Dam (south Turkey) / S. Turkmen, E. Özgüller, H. Taga, T. Karaogullarindan // *Engineering Geology*. – 2002. – Vol. 63. – No. 3-4. – Pp. 247-257.
401. Tyagi, M. Bioaugmentation and biostimulation strategies to improve the effectiveness of bioremediation processes / M. Tyagi, M.M.R. da Fonseca, C.C.C.R. de Carvalho // *Biodegradation*. – 2011. – Vol. 22. – Iss. 2. – Pp. 231-241.
402. Urrutia, M.M. Formation of short-range ordered alumino-silicates in the presence of a bacterial surface and organic ligands / M.M. Urrutia, T.J. Beveridge // *Geoderma*. – 1995. – Vol. 65. – Pp. 149-165.
403. Valdes, J.R. Heat-induced bonding of sands / J.R. Valdes, D.D. Cortes // *Geo-Congress 2014. Technical Papers: Geo-characterization and modeling for sustainability* / eds. M. Abu-Farsakh, L.R. Hoyos. – 2014. – Pp. 3721-3733. <http://dx.doi.org/10.1061/9780784413272>
404. Valente, T.M. Occurrence, properties and pollution potential of environmental minerals in acid mine drainage / T.M. Valente, C.L. Gomes // *Science of Total Environment*. – 2009. – Vol. 407. – Pp. 1135-1152.
405. van Bodegom, P.M. Direct inhibition of methanogenesis by ferric iron / P.M. van Bodegom, J.C.M. Scholten, A.J.M. Stams // *FEMS Microbiology Ecology*. – 2004. – Vol. 49. – Pp. 261-268.
406. van der Gon, H.A.D. Sulfate-containing amendments to reduce methane emissions from rice fields: mechanisms, effectiveness and costs / H.A.D. van der Gon, P.M. van Bodegom, R. Wassmann, R.S. Lantin, T.M. Metra-Corton. // *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*. – 2001. – Vol. 6. – Pp. 71-89.

407. van der Zon, W.H. Patent US 8256994. Biosealing / W.H. van der Zon, D.A. den Hamer, J.W.M. Lambert, W.O. Molendijk. – 2012.
408. van Elsas, J.D. Survival of *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* introduced into two soils of different texture in field microplots / J.D. van Elsas, A.F. Dijkstra, J.M. Govaert, J.A. van Veen // *FEMS Microbiology Ecology*. – 1986. – Vol. 38. – Pp. 151-160.
409. Van Houlen, R.I. Biological sulfate reduction using gas-lift reactors fed with hydrogen and carbon dioxide as energy and carbon source / R.I. Van Houlen, P.L.W. Holshoff, G. Lettinga // *Biotechnology and Bioengineering*. – 1994. – Vol. 44. – Iss. 5. – Pp. 586-594.
410. van Veen, J.A. Fate and activity of microorganisms introduced into soil / J.A. van Veen, L.S. van Overbeek, J.D. van Elsas // *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. – 1997. – Vol. 61. – Iss. 2. – Pp. 121-135.
411. Vanbroekhoven, K. Sustainable approach for the immobilization of metals in the saturated zone: In situ bioprecipitation / K. Vanbroekhoven, S. Van Roy, L. Diels, J. Gemoets, P. Verkaeren, L. Zeuwts, K. Feyaerts, F. van den Broeck // *Hydrometallurgy*. – 2008. – Vol. 94. – Iss. 1-4. – Pp. 110-115.
412. Verstraete, W. Microbial ecology and environmental biotechnology / W. Verstraete // *The ISME Journal*. – 2007. – Vol. 1. – Pp. 4-8.
413. Verstraete, W. Microbial technology with major potentials for the urgent environmental needs of the next decades / W. Verstraete, J. De Vrieze // *Microbial Biotechnology*. – 2017. – Vol. 10. – Iss. 5. – Pp. 988-994.
414. Volk, C.J. Chemical composition of biodegradable dissolved organic matter in streamwater / C.J. Volk, C.B. Volk, L.A. Kaplan. // *Limnology and Oceanography*. – 1997. – Vol. 42. – Iss. 1. – Pp. 39-44.
415. Voordouw, G. Carbon monoxide cycling by *Desulfovibrio vulgaris* Hildenborough / G. Voordouw // *Journal of Bacteriology*. – 2002. – Vol. 184. – Iss. 21. – Pp. 5903-5911.
416. Wan Ngah, W.S. Adsorption of gold(III) ions onto chitosan and N-carboxymethyl chitosan: Equilibrium studies / W.S. Wan Ngah, K.H. Liang // *Industrial and Engineering Chemistry Research*. – 1999. – Vol. 38. – Pp. 1411-1414.
417. Warren, L.A. Microbially mediated calcium carbonate precipitation: Implications for interpreting calcite precipitation and for

- solid-phase capture of inorganic contaminants / L.A. Warren, P.A. Maurice, N. Parmar, F.G. Ferris // *Geomicrobiology Journal*. – 2001. – Vol. 18. – Iss. 1. – Pp. 93-115.
418. Watanabe, K. Environmentally relevant microorganisms / K. Watanabe, P.W. Baker // *Journal of Bioscience and Bioengineering*. – 2000. – Vol. 89. – Iss. 1. – Pp. 1-11.
419. Watanabe, K. Understanding the diversity in catabolic potential of microorganisms for the development of bioremediation strategies / K. Watanabe, H. Futamata, S. Harayama // *Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology*. – 2002. – Vol. 81. – Iss. 1-4. – Pp. 655-663.
420. Watanabe, T. Dynamics of methanogenic archaeal communities based on rRNA analysis and their relation to methanogenic activity in Japanese paddy field soils / T. Watanabe, M. Kimura, S. Asakawa // *Soil Biology and Biochemistry*. – 2007. – Vol. 39. – Pp. 2877-2887.
421. Weaver, T.J. Bio-induced calcite, iron, and manganese precipitation for geotechnical engineering applications / T.J. Weaver, M. Burbank, A. Lewis, R. Lewis, R. Crawford, B. Williams // *Geo-Frontiers*. – 2011. – Pp. 3975-3983.
422. Wells, M.L. Occurrence of small colloids in sea water / M.L. Wells, E.D. Goldberg // *Nature*. – 1991. – Vol. 353. – Pp. 342-344.
423. Wetzel, R.G. Gradient-dominated ecosystems: sources and regulatory functions of dissolved organic matter in freshwater ecosystems / R.G. Wetzel // *Hydrobiologia*. – 1992. – Vol. 229. – Pp. 181-198.
424. Wetzel, R.G. Death, detritus, and energy flow in aquatic ecosystems / R.G. Wetzel // *Freshwater Biology*. – 1995. – Vol. 33. – Pp. 83-89.
425. Whiffin, V.S. Microbial carbonate precipitation as a soil improvement technique / V.S. Whiffin, L.A. van Paassen, M.P. Harkes // *Geomicrobiology Journal*. – 2007. – Vol. 24. – Iss. 5. – Pp. 417-423.
426. Wildeman, T. Metal removal efficiencies from acid mine drainage in the Big Five constructed wetland / T. Wildeman, S. Macherer, R. Klusman, R. Cohen, P. Lemke // *Proc. 7th Ann. Meeting of the ASMR, Charleston, August 23-26, 1990*. – Charleston: ASMR, 1990. – Pp. 417-424.
427. Wright, D.T. Nonphotosynthetic bacteria and the formation of carbonates and evaporites through time / D.T. Wright, A. Oren // *Geomicrobiology Journal*. – 2005. – Vol. 22. – Pp. 27-53.

428. Yang, I.C.-Y. The use of slime-forming bacteria to enhance the strength of the soil matrix / I.C.-Y. Yang, Y. Li., J.K. Park, T.F. Yen // *Microbial enhanced oil recovery – Recent advances* / eds. E.T. Premuzic, A. Woodhead. – Amsterdam: Elsevier, 1993. – Pp. 89-96.
429. Yasuhara, H. Experiments and predictions of physical properties of sand cemented by enzymatically-induced carbonate precipitation / H. Yasuhara, D. Neupane, K. Hayashi, M. Okamura // *Soils and Foundations*. – 2012. – Vol. 52. – No. 3. – Pp. 539-549.
430. Younger, P.L. The adoption and adaptation of passive treatment technologies for mine waters in the United Kingdom / P.L. Younger // *Mine Water and the Environment*. – 2000. – Vol. 19. – Pp. 84-97.
431. Younger, P.L. A reducing and alkalinity-producing system (RAPS) for the passive treatment of acidic, aluminium-rich leachates emanating from revegetated colliery spoil materials at Bowden Close, County Durham / P.L. Younger // *Proceedings of the CLAIRE Annual Project Conference, London, 11 April, 2002*. – London: CLAIRE, 2002. – Paper 7. – 21 p.
432. Younger, P.L. Passive in situ remediation of acidic mine waste leachates: progress and prospects / P.L. Younger // *Land reclamation: Extending the boundaries* / eds. Moore H.M., Fox H.R., Elliott S. – Balkema: ASMR, 2003. – Pp. 253-264.
433. Zagury, G.J. Characterization and reactivity assessment of organic substrates for sulphate-reducing bacteria in acid mine drainage treatment / G.J. Zagury, V.I. Kulnieks, C.M. Neculita // *Chemosphere*. – 2006. – Vol. 64. – Pp. 944-954.
434. Zhuang, J.M. A two-stage process using recycled acidic and basic sludges for treating acidic rock drainage / J.M. Zhuang, T. Walsh, E. Hobenshield // *Environmental Engineering Science*. – 2008. – Vol. 25. – Iss. 2. – Pp. 275-287.
435. Ziemkiewicz, P. Long-term performance of passive acid mine drainage treatment systems / P. Ziemkiewicz, J. Skousen, J. Simmons // *Mine Water and the Environment*. – 2003. – Vol. 22. – Pp. 118-129.
436. Zsolnay, Á. Dissolved organic matter: artefacts, definitions, and functions / Á. Zsolnay // *Geoderma*. – 2003. – Vol. 113. – Pp. 187-209.





## **ХМУРЧИК Вадим Тарасович**

Окончил биологический факультет Пермского ордена Трудового Красного Знамени государственного университета им. А.М. Горького (1989 г.).

Кандидат биологических наук (1997 г., Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, специальность 03.00.07 – микробиология), доктор геолого-минералогических наук (2022 г., Пермский национальный исследовательский политехнический университет, специальность 25.00.08 – инженерная геология, мерзлотоведение и грунтоведение). Ведущий научный сотрудник лаборатории геологии техногенных процессов Естественного института ПГНИУ, доцент кафедры инженерной геологии и охраны недр геологического факультета ПГНИУ (с 2022 г.).

Область научных интересов – экология микроорганизмов, биогеохимия – исследование геохимической деятельности микроорганизмов и возможности управления ею с помощью биотехнологий.

Автор более 150 научных работ и 2 монографий (в соавторстве). Автор 9 патентов на изобретения в области природоохранных технологий и технической мелиорации грунтов.

Член Ученого совета Естественного института ПГНИУ (2022 г.). Член Диссертационного совета Д ПНИПУ.03.22 Пермского национального исследовательского политехнического университета (2022 г.).

**E-mail:** [khmurchik.vadim@mail.ru](mailto:khmurchik.vadim@mail.ru)

## ОБ АВТОРАХ

В 1978 г. окончил геологический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова по специальности «Гидрогеология и инженерная геология». В 1984 г. там же защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата геолого-минералогических наук. Является заместителем директора по научно-исследовательской работе и заведующим созданной им лабораторией геологии техногенных процессов Естественнонаучного института Пермского государственного национального исследовательского университета. В 2016 г. присвоено звание «Заслуженный эколог Российской Федерации». Основные научные интересы связаны с решением экологических проблем в геологии, вопросов инженерной геологии, гидрогеологии, геохимии, карстоведения и спелеологии. Активно развивает теоретические основы и внедряет в практику методы использования искусственных геохимических и биогеохимических барьеров для решения экологических проблем. С 1983 г. изучает роль микроорганизмов в геологических процессах и возможности управления ими с помощью биотехнологий.

Автор и соавтор более 500 научных работ, 3 учебных пособий, 14 монографий (в том числе зарубежных), 1 атласа, 4 научно-популярных книг и ряда публикаций в периодической печати. Автор 10 патентов в



## МАКСИМОВИЧ Николай Георгиевич

области природоохранных технологий. Главный редактор сборника научных трудов «Пещеры». Член научно-редакционных советов журналов «Геориск», «Геоэкология. Инженерная геология. Гидрогеология. Геокриология», «Discover water», «Вестник ПНИПУ. Прикладная экология. Урбанистика». Научный руководитель четырех кандидатов наук. Прошел стажировки в ведущих научных центрах Германии, Новой Зеландии, Словакии, Словении и Франции и др. Научный руководитель 15 и участник 9 грантов, поддержанных РФФИ, ФЦП, РГО, Министерством образования и науки РФ и др. Член научного совета РАН по проблемам геоэкологии, инженерной геологии и гидрогеологии. Член Российской национальной группы Международной ассоциации по инженерной геологии и охране окружающей среды. Эксперт РАН. Награжден медалью ордена «За заслуги перед Отечеством» II степени, нагрудным знаком «Почетный работник высшего профессионального образования Российской Федерации».

**E-mail:** nmax@psu.ru



## **СЕРЕДИН Валерий Викторович**

Окончил геологический факультет Ленинградского государственного университета им. А.А. Жданова по специальности «Гидрогеология и инженерная геология», квалификация «Инженер-геолог-грунтовед» (1977 г.).

Кандидат геолого-минералогических наук (1986 г., Ленинградский горный институт им. Г.В. Плеханова). Доктор геолого-минералогических наук (2000 г., Пермский государственный университет). Заведующий кафедрой инженерной геологии и охраны недр геологического факультета Пермского государственного университета с 2005 г.

Область научных интересов – оценка и прогнозирование изменения инженерно-геологических условий территорий промышленных предприятий, инженерно-геологических процессов с целью снижения риска их опасных последствий; оценка и прогноз устойчивости инженерных сооружений. Входит в состав научно-редакционного совета журналов «Инженерная геология» и «Инженерные изыскания». Под его руководством защитилось 8 кандидатов наук и 3 доктора наук.

Председатель Диссертационного совета Д ПНИПУ.03.22 Пермского национального исследовательского политехнического университета.

Автор более 300 научных работ и 3 монографий. Автор 3 патентов на изобретения в области природоохранных технологий и технической мелиорации грунтов.

**E-mail:** [seredin@nedra.perm.ru](mailto:seredin@nedra.perm.ru)

Научное издание  
Хмурчик Вадим Тарасович  
Максимович Николай Георгиевич  
Середин Валерий Викторович

## **Биотехнологии в инженерной геологии**

Монография в авторской редакции

Предпечатная подготовка  
А. Н. Ташкинова

Подписано в печать 22.11.2023 г.  
Формат 60x84/16. Бумага офсетная.  
Гарнитура Open Sans. Печать офсетная.  
Усл. печ. л. 12,25. Тираж 250 экз.  
Заказ № 1829.

Отпечатано в полном соответствии  
с качеством предоставленного оригинал-макета  
Типография ООО «Литера»

618554, Пермский край, г. Соликамск, Соликамское шоссе, д. 17