

## TRH S BIOREMEDIATIONÍMI PRODUKTY

**Martina Siglová, Jiří Mikeš, Vlastimil Píštěk, Miroslav Minařík**  
EPS, s.r.o., V Pastouškách 205, 686 04 Kunovice, e-mail:vyvoj@epsro.cz

Předkládaný příspěvek mapuje situaci v oblasti komerční dostupnosti/nedostupnosti bioaugmentačních přípravků, biostimulačních činidel a zákaznického servisu globálně.

U.S. EPA definuje bioremediační (bioaugmentační a biostimulační) přípravky jako mikrobiální kultury, enzymy, aditiva, nebo nutrienty, které významně navýší biodegradční rychlosti rozkladu polutantů a naopak sníží vliv jejich negativního působení v ekosystému [1]. Bioremediační preparáty mohou být klasifikovány nejen jako bioaugmentační nebo biostimulační prostředky, ale i jako jejich kombinace.

Bioaugmentace je, jednoduše řečeno, vnos mikrobiálních kmenů na kontaminovanou lokalitu s cílem obohatit předmětné místo o mikrobiální taxony s posílenou biodegradční aktivitou nebo s enzymovým vybavením, které na daném místě chybí. Teoreticky lze uvažovat i o využití geneticky modifikovaných mikroorganismů, avšak česká legislativa vylučuje jejich použití ve volné přírodě. Z tohoto důvodu není tento přístup v ČR aplikovatelný (vyhláška MŽP ČR č. 374/2000 Sb., o bližších podmínkách nakládání s geneticky modifikovanými organismy a produkty).

Obvyklý bioaugmentační postup zahrnuje studium autochtonních mikroorganismů (taxonů, které se na dané lokalitě vyskytují přirozeně) a při zjištění jejich nedostatečnosti co do počtu či enzymového vybavení jsou vybrány, pomnoženy a následně vneseny takové alochtonní (exogenní) taxony, které disponují, ve srovnání s alochtonní mikroflórou, sofistikovanějšími metabolickými drahami [2].

Alternativou, případně doplňkem k bioaugmentaci, je tzv. biostimulace zahrnující modifikaci prostředí vedoucí ke stimulaci činnosti autochtonních mikroorganismů schopných dekontaminovat znečištěné území. Tento krok může obnášet adici různých forem nutrientů, jako jsou fosfor, dusík, ale i dodatečný zdroj uhlíku či surfaktant. Tato aditiva jsou většinou injektována do horninového prostředí pomocí vrtů a drenáží. Primární výhodou biostimulace je, že se jedná o posílení činnosti přítomné, nativní mikroflóry, která je velmi dobře adaptována na horninové prostředí. Jako nevýhoda se však jeví, že dodané nutrienty zřídka využívají pouze mikroorganismy zodpovědné za biodegradaci polutantů a také, že distribuce a biodostupnost biostimulačních činidel je výrazně ovlivněna lokální geologií horninového prostředí [2].

Výhodou obou přístupů je jejich možné použití *in situ*, tedy přímo v místě znečištění bez dalšího nakládání se zeminou či podzemními vodami. Ale pokud to okolnosti vyžadují, je možné využít i finančně a technicky náročnější varianty – bioremediace *ex situ*.

V podzemních a průmyslových vodách a v zemině může docházet k samovolnému a přirozenému rozkladu v případě přítomnosti vhodně složených a náhodně vytvořených mikrobiálních konsorcií, avšak v přirozeném prostředí se lze často setkat s absencí některého významného biologického činitele, čímž je kompletní biologický rozklad kontaminantů zpomalen, omezen nebo kompletně znemožněn.

Aplikace vhodného mikrobiálního taxonu, či ještě lépe speciálně konstruovaných směsných konsorcií, se může jevit jako velice slibná alternativa vedoucí k odstranění organických polutantů ze systému a lze tak výrazně podpořit rychlost procesů v součinnosti jednotlivých, již přítomných biologických činitelů. Látky, které by mohly být úspěšně transformovány navrženými mikrobiálními konsorciemi, řadíme nejčastěji mezi antropogenní organické polutanty. Typickými představiteli takových látek, které jsou navíc hojně rozšířeny v našem životním prostředí, jsou např. alifatické, ale i aromatické chlorované uhlovodíky, odpady na bázi olejů a tuků a dalších ropných derivátů či látky ze skupiny endokrinních disruptorů.

Proces bioaugmentace je znám od 60. let minulého století, ale komerční dostupnost bioaugmentačních preparátů je otázkou minulých 10 až 15 let. Adice alochtonních (exogenních) mikroorganismů k doplnění endogenní mikroflóry je obvykle navržena jako alternativní strategie při bioremediaci kontaminovaného horninového prostředí. Je vhodná za těch okolností, kdy autochtonní mikroorganismy nejsou schopny degradovat přítomné polutanty nebo kdy jsou natolik ovlivněny stresem v důsledku znečištění, že nejsou schopny dekontaminace daného prostředí. Dále tehdy, kdy je nutné oživení lokality, neboť počty degradujících mikroorganismů jsou příliš nízké, rychlost biodegradace je nedostatečná, popř., když aplikace alochtonní mikroflóry napomůže zkrátit lag-fázi bioremediačního procesu [3]. Má-li však být tento přístup úspěšný, měly by být aplikované mikroorganismy nejen schopny biodegradace, ale musí vykazovat také genetickou stabilitu a vitalitu v průběhu skladování, musí být schopny přežít v cizím prostředí, účinně soupeřit o přežití s přítomnou mikroflórou a být schopny pohybu v pórech a sedimentech směrem ke kontaminantům. V neposlední řadě musí tato vnašená mikrobiální konsorcia splňovat podmínky zdravotní nezávadnosti.

Bioremediační technologie disponují navíc oproti svým fyzikálně-chemickým protějškům nepopíratelnou výhodou z finančního hlediska, neboť je můžeme řadit mezi levné technologie nápravy životního prostředí [4]. Na druhé straně použití těchto metod vyžaduje odborné znalosti z oborů mikrobiologie, biotechnologie, sanačních technologií, hydrogeologie apod. Řada sanačních firem proto tyto technologie nevyužívá a volí raději přístupy ze spektra fyzikálně-chemických metod i přes skutečnost, že aplikace biotechnologií je vůči životnímu prostředí šetrnější a z hlediska investic méně nákladná.

Tento problém, který souvisí s nedostatkem znalostí v oboru aplikované biologie, je však snadno řešitelný nabídkou trhu o speciálně konstruovaná bioremediační činidla distribuovaná včetně dostatečné technické podpory. K vyvinutým bioremediačním produktům je obvykle nabídnut soubor služeb zahrnujících technické poradenství, konzultace a návrhy řešení od školeného týmu odborníků (mikrobiologů, inženýrů, geologů, chemiků a techniků) tak, aby bylo zajištěno správné aplikování produktu, design instalačních zařízení, množství doprovodných médií a samotná realizace.

Finální realizace bioremediační technologie využívající komerčních bioremediačních produktů (činidel obsahujících vybrané mikroorganismy s biodegradačními schopnostmi – tzv. bioaugmentační preparáty) může vhodně rozšířit spektrum působnosti firem pracujících v oblastech ochrany životního prostředí, jako např. při sanacích kontaminovaných lokalit, zpracování odpadů, odpadních průmyslových vod, plynů apod.

Přestože v USA, kde je trh s biostimulačními a bioaugmentačními činidly bezesporu nejrozvinutější, zařadila EPA na seznam NCP vytvořený před pěti lety (National Oil and Hazardous Substances Pollution Contingency Plan (NCP) Product Schedule [5]) pouze 12 komerčních bioremediačních přípravků orientovaných primárně na dekontaminaci ropných uhlovodíků. Tento malý počet produktů určených pro podporu bioremediačních technologií je tak nízký proto, že do seznamu byla uvedena jen ta činidla, ke kterým dodali producenti požadovaná data, zaručili jejich bezpečnost a efektivitu jednotlivých přípravků prokázali sérií testů za podmínek protokolu vyvinutého agenturou EPA [1].

Jak je vidět z tabulky I., jednotlivé bioremediační přípravky se liší tím, zda-li jsou založeny na působení mikrobiální kultury (7 typů – v tabulce vyznačeny tučně), nutričního aditiva (4 typy) a kombinace nutričního a enzymového aditiva (1 typ). Přípravky na bázi vhodně vybraných mikrobiálních taxonů určených k bioaugmentaci prostředí jsou tedy nejrozšířenější.

Např. produkt s názvem BET BIOPETRO patří na americkém trhu k nejrozšířenějším bioaugmentačním přípravkům určeným pro likvidaci ropného znečištění. Podle výrobce obsahuje produkt dostatečné množství mikroorganismů schopných degradovat ropu, alifatické a aromatické látky a to jak v zeminách, tak i ve vodě. Jedná se o přípravek distribuovaný ve formě prášku s dobou skladovatelnosti až 1 rok. Přípravek je před použitím smíchán s vodou a aplikován pomocí nízkotlakých trysek. Jako i v tomto případě, mikrobiální přípravky často obsahují řadu dalších aditiv, jako jsou např. vhodné nutriety či surfaktanty [5].

Garner Environmental Services, Inc. je primárním distributorem přípravku Petro-Clean. Podle katalogu produktů se jedná o směs surfaktantu, nutrientů a bakterií degradujících uhlovodíky. Mikrobní konsorcium je složeno převážně ze spor r. *Bacillus*. Petro-Clean je běžně aplikován povrchově pomocí tlakových nebo zahradních rozstřikovačů [5].

Verde Environmental, Inc. je výrobcem bioremediačního přípravku Micro-Blaze. Jedná se o kapalný produkt obsahující několik mikrobiálních kmenů (převážně r. *Bacillus*), surfaktanty a nutrienty, které jsou schopny metabolizovat 35 typů organických polutantů nacházejících se v zemině a vodě. Při použití přípravku Micro-Blaze je doporučeno jeho ředění na příslušnou koncentraci a následná aplikace přes sprejovací zařízení [5].

Tabulka I Bioremediační přípravky zahrnuté na seznam NCP agenturou U.S. EPA [5].

Název bioremediačního přípravku	Typ přípravku	Výrobce
<b>BET BIOPETRO</b>	MK	BioEnviro Tech, Tomball, TX, USA
BILGEPRO	NA	International Environmental Products, LLC, Conshohocken, PA, USA
INIPOL EAP 22	NA	Societe, CECA S.A., France
LAND AND SEA RESTORATION	NA	Land and Sea Restoration LLC, San Antonio, TX, USA
<b>MICRO-BLAZE</b>	MK	Verde Environmental, Inc., Houston, TX, USA
OIL SPILL EATER II	NA/EA	Oil Spill Eater International, Corporation Dallas, TX, USA
<b>OPPENHEIMER FORMULA</b>	MK	Oppenheimer Biotechnology, Inc., Austin, TX, USA
<b>PRISTINE SEA II</b>	MK	Marine Systems, Baton Rouge, LA, USA
<b>STEP ONE</b>	MK	B & S Research, Inc., Embarrass, MN, USA
<b>SYSTEM E.T. 20</b>	MK	Quantum Environmental Technologies, Inc. (QET), La Jolla, CA, USA
VB591TMWATER, VB997TMSOIL, AND BINUTRIX	NA	BioNutraTech, Inc., Houston, TX, USA
<b>WMI-2000</b>	MK	WMI International, Inc., Houston, TX, USA

Použité zkratky:

MK -- Mikrobiální kultura; EA -- Enzymové aditivum; NA -- Nutriční aditivum

Přípravek WMI-2000 je dodáván v práškové formě, která obsahuje mikrobiální kultury specificky selektované pro rozklad ropných produktů a dalších kontaminantů. Na rozdíl od výše uváděných přípravků lze WMI-2000 aplikovat v suché podobě nebo v podobě kapaliny po 2 hodinové aktivaci. Přípravek je určen pro aplikaci na znečištěnou hladinu vodních ploch. Výrobcem je rovněž doporučena současná aplikace nutrientů a následné udržování koncentrací dusíku a fosforu na 5-20 mg/l respektive 1-5 mg/l [5].

Tabulka II Příklady dalších bioremediačních přípravků, které nejsou zahrnuty na seznam NCP.

Název bioremediačního přípravku	Typ přípravku	Výrobce
SDC9 <sup>TM</sup>	MK	The SHAW Group INC, USA
Dehalococcoides bioaugmentation cultures: BCI –e, BCI–a, BCI-t	MK	BCI Labs, Watertown, MA, USA
KB-1 <sup>TM</sup>	MK	SIREM Labs, USA
Bio-Dechlor INOCULUM <sup>TM</sup> ORC ORC-advanced 3-D Microemulsion (3DMe) <sup>TM</sup> HRC	MK NA NA NA NA	Regenesis, San Clemente, CA, USA
BC2	MK	BioAug LLC, VA, USA
MICROBAC AG MICROBAC E MICROBAC NL MIKROBAC MH NITROSEED ST POLYSEED POLYSEED NK	MK+NA NA NA MK MK MK MK+NA	Microbac Ltd ,UK
IMB – Bacillus spores	MK	Innovative Microbial BioProcess s.a. (Belgie)
BIO-Col BIO-Epur BIO-Vase	MK MK MK	Idrabel Environmental Biotechnology (Belgie)

Použité zkratky:

MK -- Mikrobiální kultura; EA -- Enzymové aditivum; NA -- Nutriční aditivum, elektronový donor, surfaktant apod.

V USA je také dobře zmapována situace na trhu s bioaugmentačními činidly určenými k dekontaminaci míst znečištěných chlorovanými uhlovodíky (zejména PCE, TCE). V rámci programu ESTCP [6] byl vypracován podrobný přehled nejen vlastních bioaugmentačních přípravků, ale i jejich technologického vývoje, základních charakteristik a dalších potřeb týkajících se výzkumu v předmětné oblasti. Bioaugmentační činidla pro degradaci chlorovaných uhlovodíků jsou známa od osmdesátých let minulého století, ale teprve od roku 1995 je v USA všeobecně akceptován fakt, že tyto přípravky mohou být v některých aplikacích účinnější, než jiné přístupy. Do té doby byla např. přeceňována role biostimulace, která předpokládala nutnou přítomnost autochtonní mikroflóry schopné degradace chlorovaných uhlovodíků.

Např. americká společnost Shaw (The SHAW Group INC, USA) zaměstnává více jak desítku odborníků na oblast bioaugmentace zacílené na dekontaminaci chlorovaných rozpouštědel, PCB, PAH, stejně jako MTBE. Firma vyvinula dechlorační kulturu dostupnou pod názvem - SDC9<sup>TM</sup>. Tato technologie byla vytvořena speciálně pro čištění kontaminovaných podzemních vod. Přípravek obsahuje anaerobní bakterie rodu *Dehalococcoides* sp. (DHC), které jsou schopny degradovat vysoce chlorovaná rozpouštědla na netoxické etheny. Kultura SDC9<sup>TM</sup> byla úspěšně aplikována na kontaminovaných lokalitách roztroušených po celých Spojených státech, zahrnujících i některé z největších *in situ* bioremediačních projektů. Zakoncentrovaná kultura je přepravována v nativním stavu ve 20 litrových nádobách. Naráz lze připravit dávku od 20 do 4000 l.

Společnost BCI Labs udržuje několik mikrobiálních kultur, které jsou charakterizovány svou metabolickou aktivitou (methanogenní, sulfát-redukující apod.) a jsou certifikovány jako nepatogenní. Pro aplikaci v místě použití je kultura nejprve adaptována pro místní podmínky v délce několika týdnů, aby byla zajištěna maximální dekontaminační aktivita. Přeprava je zajištěna v 1 či 20 litrových nádobách.

Společnost SIREM je producentem bakteriálního preparátu KB-1<sup>TM</sup>, který je založen na rodu *Dehalococcoides*. Firma má vypracovány detailní standardní operační postupy jak pro samotnou produkci mikroorganismů, tak pro kontrolu degrační aktivity, nepatogenity, čistoty kultury apod.

Společnost Regensis připravuje šarže mikrobiálního preparátu Bio-Dechlor INOCULUM<sup>TM</sup> v množství od 1,5 do 80 l. Každá dávka je testována na patogeny, čistotu a degrační aktivitu. Biodegrační schopnosti jsou prověřovány ještě ve chvíli injeckáže na dekontaminované lokalitě.

Společnost BioAug LLC produkuje inokulační materiál pod názvem BC2, který je opět založen na degračních schopnostech r. *Dehalococcoides*. Opět se testuje nepatogenita přípravku, monitorují se rozkladné metabolické meziproducty, přítomnost a množství *Dehalococcoidů* a dalších mikroorganismů.

V Evropě je trh s bioaugmentačními preparáty dosud nepříliš vyvinutý. Z provedeného průzkumu vyplynulo, že ve střední a východní Evropě se jedná o oblast zcela nepoznamenanou a pouze státy jako Belgie či Velká Británie disponují v tomto směru nabídkou velmi úzce profilovaných přípravků. Mezi výrobce a distributory můžeme zařadit např. společnosti: Microbac Ltd (UK), Innovative Microbial BioProcess s.a. (Belgie), Idrabel Environmental Biotechnology (Belgie), GreenSan Water&Soil Remediation (Belgie).

Při aplikaci bioaugmentačních produktů je nutno předcházet kompetitivním problémům a zvýhodnit předem alochtonní mikroflóru vůči mikroorganismům autochtonním [7]. Za tímto účelem jsou často vyvíjeny nutriční produkty určené pro výživu pouze vnášených mikroorganismů. Např. může být použit speciální dusíkatý či fosforečný zdroj, jehož utilizace jsou ovšem schopny pouze mikroorganismy tvořící bioaugmentační preparát, což je zvýhodňuje oproti autochtonním konsorciím.

Přestože množství informací týkající se bioremediačních technologií je v současnosti již velmi obsáhlé, stále existuje mnoho nejasností a chybějících poznatků, zejména na poli jejich cílené, kontrolovatelné a ovlivnitelné aplikace za účelem nápravy environmentálních škod a směřování společnosti k trvalé udržitelnosti.

Zde se tudíž otevírá obrovský prostor pro vývojovou a inovační činnost společností působících v našem regionu. V ČR dosud neřešené zůstávají otázky přípravy komerčně dostupných bioremediačních přípravků v kontextu jejich použití pro šetrné, finančně výhodné bioremediační technologie. Chybí poznatky o specifikaci mikrobiálních konsorcií vhodných k rozkladu jak aromatických, tak alifatických organických látek, které by tvořily základ snadno aplikovatelného, bioremediačního preparátu. Rovněž se nabízí výrazné prohloubení možností aplikace vyvinutých přípravků do dalších oblastí environmentálních biotechnologií, např. do postupů kompostování, do *ex situ* bioreaktorových technologií apod.

## Použitá literatura

[1] NICHOLS, W.J. (2001): The U.S. Environmental Protection Agency: National Oil and Hazardous Substances Pollution Contingency Plan, Subpart J Product Schedule (40 CFR 300.900). *Proceedings of 2001 International Oil Spill Conference*. American Petroleum Institute, Washington DC, pp1479-1483.

[2] XUEQING ZHU, ALBERT D. VENOSA, AND MAKRAM T. SUIDAN,(2004): LITERATURE REVIEW ON THE USE OF COMMERCIAL BIOREMEDIATION AGENTS FOR CLEANUP OF OIL-CONTAMINATED ESTUARINE ENVIRONMENTS. EPA/600/R-04/075

- [3] FORSYTH, J.V., TSAO, Y.M., BLEM, R.D. (1995): Bioremediation: when is augmentation needed? V Hincee, R.E. *et al.* (eds) *Bioaugmentation for Site Remediation*. Battelle Press, Columbus, OH, 1-14.
- [4] DEMAIN, A. L. AND DAVIES, E. (1999): Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology, ASM Press, Washington, D.C., 666-681.
- [5] U.S. EPA (2004): Literature review on the use of commercial bioremediation agents for cleanup of oil-contaminated estuarine environments, Office of Research and Development, EPA/600/R-04/075 [online]. [citováno dne 15.3.2009]. Dostupné na: < <http://www.epa.gov/oilspill/pdfs/litreviewbiormd.pdf> >
- [6] ESTCP (2005): Environmental Security Technology Certification Program, Bioaugmentation for remediation chlorinated solvents, technology development and research needs, dokument z ministerstva obrany USA, [online]. [citováno dne 28.3.2009]. Dostupné na: < <http://docs.serdp-estcp.org/viewfile.cfm?Doc=BioaugmentationWhitePaper.pdf> >
- [7] ROSENBERG, E., LAGMANN, R., KUSHMARO, A., TAUBE., R., ADLER, R., AND RON, E.Z. (1992): Petroleum bioremediation—a multiphase problem. *Biodegradation*, **3**, 337-350.

