



УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **102265**

(13) **U**

(51) МПК

C02F 1/24 (2006.01)

C02F 1/50 (2006.01)

C02F 3/34 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2015 03500**

(22) Дата подання заявки: **15.04.2015**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **26.10.2015**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **26.10.2015, Бюл.№ 20**

(72) Винахідник(и):

**Іваниця Володимир Олексійович (UA),
Гудзенко Тетяна Василівна (UA),
Волювач Ольга Вячеславівна (UA),
Горшкова Олена Георгіївна (UA),
Беляєва Тамара Олексіївна (UA),
Конуп Ігор Петрович (UA)**

(73) Власник(и):

**ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.І. МЕЧНИКОВА,
вул. Дворянська, 2, м. Одеса, 65082 (UA)**

(54) СПОСІБ ОЧИЩЕННЯ ВОДИ ВІД ХРОМУ (VI) З ВИКОРИСТАННЯМ МІКРООРГАНІЗМІВ

(57) Реферат:

Спосіб очищення води від хрому (VI) з використанням мікроорганізмів, який полягає в тому, що промивні стічні води, у складі яких присутній хром (VI) у концентрації до 70 мг/дм³ очищують мікробіологічним реагентом у присутності перекису водню і хлориду кальцію, причому як мікробіологічний реагент використовують бактеріальну поліфункціональну суспензію, складену із асоціації непатогенних штамів бактерій роду *Pseudomonas*: *P. fluorescens*, *P. maltophilia*, *P. серасія* у об'ємному співвідношенні 1:1:1.

UA 102265 U

Корисна модель належить до галузі очищення води від токсичних забруднювачів - іонів важких металів, зокрема від хрому (VI), і може бути використана в процесах водопідготовки та очищення стічних вод в хімічній, скляній, керамічній промисловості, а також промивних стічних вод гальванічного виробництва.

Важкі метали утворюють групу найнебезпечніших забруднювачів довкілля. У природні водойми з промисловими стічними водами надходить велика кількість іонів важких металів, які становлять реальну небезпеку для людини і стають істотною перешкодою у життєдіяльності більшості мікробіонтів.

Хромування поверхонь металевих виробів широко застосовується на сучасних гальванічних виробництвах. Електроліти, які використовуються під час хромування, через певний час роботи забруднюються катіонами заліза та іншими домішками і це вимагає їх часткової або повної заміни. Велика кількість вод, що містять розчинні сполуки хрому, утворюється під час промивання деталей після електролітичних ванн. Значні кількості можуть надходити у водойми зі стічними водами фарбувальних цехів текстильних підприємств, шкіряних заводів і підприємств хімічної промисловості. Скидати такі води та відпрацьовані електроліти без очищення заборонено. У річкових незабруднених і слабо забруднених водах вміст хрому коливається від кількох десятків часток мікрограма до кількох мікрограмів у літрі. Середня концентрація у морських водах - $0,05 \text{ мг/дм}^3$, в підземних водах - знаходиться у межах $n \cdot 10 - n \cdot 10^2 \text{ мг/дм}^3$. Вміст Cr (VI) у водоймах, призначених для санітарно-побутового використання не повинен перевищувати його граничнодопустимої концентрації, ГДК= $0,05 \text{ мг/дм}^3$. ГДК у воді водойми, яка використовується у рибогосподарських цілях для Cr (VI) становить $0,001 \text{ мг/дм}^3$. Норми ГДК Cr (VI) у воді для скиду її в каналізаційну систему - $0,05 \text{ мг/дм}^3$.

Вилучення хрому (VI) являє собою складне, але водночас важливе науково-технічне та екологічне завдання.

Підвищення вимог до якості води та допустимих концентрацій забруднень в промислових стічних водах, які скидаються у водойми, змушує шукати нові, екологічно чисті та економічно вигідні способи видалення з них іонів важких металів. До таких методів, які успішно застосовуються для рішення цієї проблеми і є достатньо ефективними, можна віднести сорбцію іонів важких металів, зокрема хромат-іонів, на різних немодифікованих і хімічно модифікованих сорбентах та їх сорбцію, біоаккумуляцію мікроорганізмами.

Для очищення промислових металовмісних стічних вод часто застосовують природні матеріали, які добре зарекомендували себе як іонообмінні матеріали та сорбенти [Тарасевич Ю.И., Овчаренко Ф.Д. Адсорбция на глинистых минералах. -К.: Наук, думка, 1975. - 351 с.]. Особливу увагу привертають хімічно модифіковані сорбенти з поліпшеними адсорбційними властивостями щодо аніонних форм важких металів [Рябенко К.В., Яновська Е.С., Тьортих В.А., Кичирук О.Ю. Адсорбційні властивості силікагелю in situ іммобілізованим поліаніліном щодо аніонних форм Cr (VI), Mo (VI) та V (V)// Вопросы химии и химической технологии. - 2011. - № 6. - С. 167-172].

Недоліком сорбції хромат-іонів на природних немодифікованих і хімічно модифікованих (наприклад, композит силікагель-поліанілін) сорбентах є неглибоке очищення води від цих високотоксичних іонів. Ступінь очищення води від Cr (VI) збільшується від 25-40 % (на різних природних не модифікованих сорбентах) до 95 % у випадку хімічної модифікації поверхні. Стан рівноваги при адсорбції хромат-іонів ($pH_{\text{опт}} = 2$) триває дуже довго (близько доби) і здійснюється за іонообмінним механізмом.

Відомий спосіб анаеробного очищення води від Cr (VI) при періодичному культивуванні мікроорганізмів і створенні окисно-відновного потенціалу (ОВП) середовища на рівні (-140) мВ [Гвоздяк П.И., Могилович Н.Ф., Рильський А.Ф., Грищенко Н.И. Восстановление шестивалентного хрома коллекционными штаммами бактерий// Микробиология - 1986. - Т. 55, № 6. - С. 962-965]. Суть способу полягає в тому, що в біореактор вносять поживний розчин, біомасу мікроорганізмів та Cr (VI) в концентрації 20 мг/дм^3 . За допомогою інертного газу видаляють кисень з розчину і створюють ОВП (-140) мВ. Повна редукція шестивалентного хрому відбувається за 10 год.

До недоліків такого способу належать: низька початкова концентрація Cr (VI) в розчині, необхідність використання інертного газу для створення низького окисно-відновного потенціалу, довготривалість процесу очищення.

Відомий спосіб біологічного очищення води від хрому (VI) в аеробних умовах [Дмитренко Г.Н., Коновалова В.В., Гвоздяк П.И. Использование мембранного биореактора для восстановления шестивалентного хрома// Химия и технология воды. - 2001. - Т. 23, № 5. - С. 552-562]. Спосіб базується на тому, що очищення води від хрому (VI) здійснюють іммобілізованими в біокаталітичні мембрани мікроорганізмами при періодичному внесенні Cr

(VI). Процес протікає при окисно-відновлювальному потенціалі 250-270 мВ. Реалізація відомого способу забезпечує повне очищення води від Cr (VI) тільки при концентрації нижче 20 мг/дм³. Відновлення Cr (VI) з концентрацією 40 мг/дм³ відбувається протягом 80 год. Залишкова концентрація Cr (VI) з обох сторін біокаталітичної мембрани складає 1 мг/дм³. Ступінь очищення становить 97,5 %.

Основними недоліками відомого способу є довготривалість процесу очищення (80 діб) і недосягнення концентрації Cr (VI) до норм ГДК (0,05 мг/дм³) для скидання обробленої води у каналізаційну систему.

Найбільш близьким аналогом до корисної моделі за одержаним результатом, що досягається, є спосіб очищення води від сполук шестивалентного хрому мікроорганізмами (прототип) [Патент України № 71666, Бюл. № 4, 2012]. Спосіб заснований на тому, що очищення води від сполук шестивалентного хрому (VI) здійснюють шляхом використання сульфатвідновлювальних бактерій і псевдомонад у співвідношенні 7:1. Для цього асоціацію мікроорганізмів *Desulfovibrio desulfuricans* Ya-11 і *Pseudomonas* sp. попередньо вирощують у рідкому середовищі складу (г/л): KH_2PO_4 -0,5; NH_4Cl -1,0; Na_2SO_4 -4,5; $\text{CaCl}_2 \times \text{H}_2\text{O}$ - 0,06; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ -0,06; натрій лактат - 6,0; дріжджовий екстракт - 1,0; $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ -0,004; аскорбінова кислота - 1,0; pH=7,6 при температурі 28-30 °C в анаеробних умовах протягом 4-5 діб в атмосфері аргону. Одержану біомасу відділяють від середовища центрифугуванням, відмивають фізрозчином і засівають у модифіковане середовище без іонів сульфату такого складу (г/л): KH_2PO_4 -0,5; NH_4Cl -1,0; NaCl -1,0; $\text{CaCl}_2 \times \text{H}_2\text{O}$ - 0,06; MgCl_2 -0,06; натрій лактат - 6,0; дріжджовий екстракт - 1,0; FeCl_2 -0,004; аскорбінова кислота - 1,0. Цю одержану біомасу переносять у біотенк з пористим наповнювачем та висхідним потоком рідини та культивують 14 діб при температурі 28-30 °C за анаеробних умов. Через біотенк пропускають модельовану стічну воду, яка містить іони шестивалентного хрому у концентрації 0,1-2,5 мМ. Ступінь очищення води від Cr (VI) за анаеробних умов (pH 7,2-7,6) протягом 14 діб сягає 99,0-99,75 %.

При досягненні високих результатів основним недоліком відомого способу є ускладненість приготування біомаси (попереднє вирощування мікроорганізмів у поживному середовищі в атмосфері аргону протягом 4-5 діб, центрифугування, нарощування біомаси на модифікованому середовищі), тривалість іммобілізації бактерій на пористому сорбенті (14 діб) та самого процесу очищення від Cr (VI) (теж 14 діб). Крім того, слід враховувати, що адсорбційна здатність усіх сорбентів, включаючи пористі сорбенти, що іммобілізовані мікроорганізмами, не безмежна і потребує відновлення, що пов'язано з необхідністю відмивання або перезавантаження таких фільтрів-біотенків. Відсутні відомості про відношення використаних мікроорганізмів до патогенних або непатогенних, що є дуже важливим в екобіотехнології, відсутні відомості і про поліфункціональність дії використаної за прототипом асоціації мікроорганізмів щодо супутніх токсикантів, що зазвичай присутні у реальних металовмісних стічних водах.

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалити спосіб очищення води від хрому (VI) мікроорганізмами шляхом використання асоціації непатогенних мікроорганізмів поліфункціональної дії і екологічно безпечних хімреагентів, підвищити ефективність очищення водного середовища, зокрема промивних стічних вод гальванічних виробництв, від токсичного шестивалентного хрому при вихідній високій концентрації Cr (VI) 70 мг/дм³, суттєво прискорити процес очищення.

Поставлена задача вирішується способом очищення води від хрому (VI) з використанням мікроорганізмів, який полягає в тому, що промивні стічні води, у складі яких присутній хром (VI) у концентрації до 70 мг/дм³ очищують мікробіологічним реагентом у присутності перекису водню і хлориду кальцію, і відрізняється тим, що як мікробіологічний реагент використовують бактеріальну поліфункціональну суспензію, складену із асоціації непатогенних штамів бактерій роду *Pseudomonas*: *P. fluorescens* ONU328, *P. maltophilia* ONU329, *P. ceracia* ONU327 у об'ємному співвідношенні 1:1:1.

Пропонований спосіб очищення води від хрому (VI) включають разом із технологічним процесом у замкнутий цикл і здійснюють наступним чином. Забруднену хромат-іонами та різними механічними домішками воду спрямовують спочатку у відстійник, де контролюють температуру і при необхідності доводять pH до значення, близького до нейтрального. Потім воду спрямовують у ємність, де відбувається глибоке очищення хромвмісної води мікробіологічним способом до рівня нижче ГДК, що дозволяє повторно використовувати очищену воду у замкнутому водопостачанні. Для цього до ємності із забрудненою водою підводять інокулятор, заповнений бактеріальною суспензією (мікробіологічний реагент), складеної із асоціації непатогенних штамів бактерій роду *Pseudomonas*: *P. fluorescens* ONU328, *P. maltophilia* ONU329, *P. ceracia* ONU327 (1:1:1 за об'ємом), та дозатори розчинів (3 %)

перекису водню і (10 %) хлориду кальцію. Через 10-15 хв. після введення мікробіологічного реагенту дозатором вводять перекис водню та хлорид кальцію.

Культури бактерій попередньо вирощують на поживному середовищі, що містить (г/л): KH_2PO_4 -1,5; Na_2HPO_4 -3; NaCl -5; NH_4Cl -1; пептон - 10; глюкоза - 2; дріжджовий екстракт - 5.

5 Нарощування біомаси здійснюють при pH 7,0-7,2 і температурі 28° С протягом 48 год. до досягнення щільності культур не менш 5 г/л по сухій біомасі, після чого асоціацію мікроорганізмів змішують із забрудненою хромою (VI) водою в об'ємному співвідношенні 1:1 та проводять стерилізацію протягом 20 хв.

10 Під дією перекису водню і хлориду кальцію суттєво пришвидшується процес утворення в однорідній суспензії біофлор (за відсутності хімічних реагентів агрегація бактерій протікає значно повільніше і відбувається під дією полісахаридних комплексів клітинної стінки). При цьому різко збільшується загальна адсорбційна ємність системи і, відповідно, ефективність очищення води від хрому (VI).

15 Дослідження по вилученню хрому (VI) із модельних водних розчинів у присутності різних штамів бактерій роду *Pseudomonas* проводили у Біотехнологічному науково-навчальному центрі Одеського національного університету імені І.І. Мечникова.

Для проведення дослідження використовували непатогенні штами бактерій роду *Pseudomonas*: *P. fluorescens* ONU328, *P. maltophilia* ONU329 (виділені з морської води), *P. серасія* ONU327 (виділений із ґрунту), що зберігаються в колекції мікроорганізмів кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології ОНУ імені І.І. Мечникова.

20

Дослідження по вилученню хрому (VI) із модельних водних розчинів проводили наступним чином. В чотири колби наливали по 15 мл модельного водного розчину хромату амонію з вихідною концентрацією по металу 70 мг/дм³. Вводили по 15 мл бактеріальної суспензії, складеної з трьох окремих штамів бактерій роду *Pseudomonas* та з однієї їх асоціації (*P. fluorescens* ONU328, *P. maltophilia* ONU329, *P. серасія* ONU327) у об'ємному співвідношенні 1:1:1. Проби витримували 10 хв. і потім додавали по 0,09 мл 3 % розчину перекису водню і 1,50 мл 10 % розчину хлориду кальцію. Утворені біофлорки піддавали стерилізації протягом 20 хв. Надосадкові розчини аналізували на залишковий вміст у них Cr (VI) атомно-абсорбційним методом на полум'яному атомно-абсорбційному спектрофотометрі "Сатурн" у полум'ї суміші "повітря - пропан - бутан". Експеримент проводили у п'яти повторностях. Із трьох штамів *P. fluorescens* ONU328, *P. maltophilia* ONU329, *P. серасія* ONU327 найбільшою сорбційно-акумуючою здатністю володів штам *P. серасія* ONU327. З використанням в якості мікробіологічного реагенту штаму *P. серасія* ONU327 ступінь очищення води від Cr (VI) склав 93,0 %.

25

30 Результати залишкової концентрації Cr (VI) у воді за її обробки іммобілізованими за присутності перекису водню і хлориду кальцію клітинами бактерій роду *Pseudomonas* після автоклавування представлені в таблиці.

Таблиця

Штам	Залишкова концентрація Cr (VI), мг/дм ³	Ступінь очищення води від Cr (VI), %
<i>P. fluorescens</i> ONU328	27,0±1,20	61,4
<i>P. maltophilia</i> ONU329	12,6±0,70	82,0
<i>P. серасія</i> ONU327	4,9±0,70	93,0
Асоціація (1:1:1) <i>P. серасія</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>P. maltophilia</i>	≤0,1±0,002	≥99,9

Примітка: вихідна концентрація Cr (VI) у воді - 70 мг/дм³

40 Як видно із наведених у таблиці результатів досліджень, поставлену задачу виконано: ступінь очищення води від Cr (VI) при використанні бактеріальної асоціації *P. fluorescens* ONU328, *P. maltophilia* ONU329, *P. серасія* ONU327 в об'ємному співвідношенні 1:1:1 сягає ≥99,9 % при його залишковому вмісті у воді до 0,1±0,002 мг/дм³, що значно нижче ГДК (0,5 мг/дм³) для скидання очищених від Cr (VI) розчинів у каналізацію.

45 Основними перевагами пропонованого біологічного способу в порівнянні з прототипом є: глибоке очищення води від високотоксичного хрому (VI) до норм ГДК за суттєве скорочення часу обробки води (не більше години на обробку) та часу приготування мікробіологічного

реагенту (48 год.), складеного із асоціації непатогенних мікроорганізмів поліфункціональної дії стосовно різних полютантів, що розкриває більш широкі перспективи його використання в біотехнології очищення реальних багатокомпонентних стічних вод, аніж мікробіологічного реагенту за прототипом.

5

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб очищення води від хрому (VI) з використанням мікроорганізмів, який полягає в тому, що промивні стічні води, у складі яких присутній хром (VI) у концентрації до 70 мг/дм³ очищують мікробіологічним реагентом у присутності перекису водню і хлориду кальцію, який **відрізняється** тим, що як мікробіологічний реагент використовують бактеріальну поліфункціональну суспензію, складену із асоціації непатогенних штамів бактерій роду *Pseudomonas*: *P. fluorescens*, *P. maltophilia*, *P. serasia* у об'ємному співвідношенні 1:1:1.

15

Комп'ютерна верстка О. Гергіль

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601