



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **114829**

(13) **U**

(51) МПК

**C02F 1/72** (2006.01)

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2016 08641**

(22) Дата подання заявки: **08.08.2016**

(24) Дата, з якої є чинними  
права на корисну  
модель: **27.03.2017**

(46) Публікація відомостей **27.03.2017, Бюл.№ 6**  
про видачу патенту:

(72) Винахідник(и):

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

(73) Власник(и):

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

## (54) МІКРОБІОЛОГІЧНИЙ СПОСІБ ОЧИСТКИ ВОДИ ВІД ФЕНОЛУ

(57) Реферат:

Мікробіологічний спосіб очистки води від фенолу, який полягає в тому, що води, у складі яких присутній фенол, очищують реагентом, причому як реагент використовують непатогенний штам мікроорганізмів *Pseudomonas fluorescens* ONU328 або *Pseudomonas maltophilia* ONU329, що культивують протягом доби за температури 30 °С на МПА, (м'ясо-пептонний бульйон) бактеріальні клітини суспендують у мінеральне середовище М-9 та в кількості  $7,5 \times 10^5$  КУО/мл вносять у воду, що містить до 300 мг/л фенолу, і витримують протягом 22 діб.

**UA 114829 U**



Корисна модель належить до області обробки промислових і стічних вод, а саме до мікробіологічного способу очистки води від високотоксичного фенолу і його похідних, і може бути використана для очистки стоків хімічного виробництва, нафтопереробної, коксохімічної, целюлозно-паперової, фармацевтичної та інших промисловостей.

Фенол має високу токсичність і є небезпечним забруднювачем навколишнього середовища; подразнює шкіру, слизові, може спричинити розлади функції нервової системи. Граничнодопустима концентрація (ГДК) фенолу у воді водоймищ, що використовуються для рибогосподарських цілей дуже мала і складає 0,001 мг/л [Режим електронного доступу: [http://www.cawater-info.net/water quality\\_in\\_ca/norm 11.htm](http://www.cawater-info.net/water quality_in_ca/norm 11.htm)]. Тому на сьогоднішній день виникає актуальна проблема пошуку ефективного способу очистки промислових і стічних вод, що містять фенол.

Відомий спосіб очистки стічних вод від органічних сполук: фенол, нафтопродукти та ін. [Патент RU № 2031851, МПК C02F 1/32, опубл. 27.03.1995 р.], який полягає в обробці забрудненої води окиснювачем: озоном або перекисом водню, і ультрафіолетовим опроміненням суцільного спектра із тривалістю імпульсу  $10^{-6}$ - $10^{-3}$  і щільністю імпульсної потужності випромінювання на одиницю поверхні стічної води не менше 100 кВт/м<sup>2</sup>.

Недоліками способу є недостатня очистка стічних вод від органічних сполук та велика витрата енергоресурсів, окисних реагентів.

Відомий спосіб очистки стічних вод від фенолу за допомогою окиснювального-відновлювального ферменту (пероксидази хрону), іммобілізованого в гель полісахариду з морських водоростей - карагінан [Патент України № 29455, МПК C02F 1/00, опубл. 10.01.2008 р., Бюл. № 1]. Спосіб передбачає введення у забруднювальний розчин гранул карагінану з чорноморської водорості *Phyllophora nervosa* з іммобілізованою в них пероксидазою (0,2-2,5 од/мг) з додаванням перекису водню. Суміш після перемішування за кімнатної температури і рН 6,0-7,0, певний час витримують, після чого гранули з полімерним продуктом окиснення, який концентрується в них, відокремлюють фільтруванням.

Недоліки способу: пероксидаза хрону каталізує окиснення фенолу у присутності H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, який може стати додатковим забруднювачем навколишнього середовища; розроблений біокаталізатор використовується впродовж 5 циклів із 50 %-вим ступенем трансформації фенолу із концентрацією 0,25 ммоль/дм<sup>3</sup> (23,5 мг/л).

Відомий спосіб очистки стічних вод від фенолу шляхом окиснення перекисом водню в присутності залізовмісного каталізатора Fe-монтморилоніту [Патент RU № 2174495, МПК C02F 1/72, опубл. 10.10.2001], в якому іони заліза (III) зафіксовані на поверхні монтморилоніту шляхом іонного обміну з наступним прожарюванням.

Основним недоліком способу є досить складний і енергоємний процес попередньої підготовки каталітичної системи, яка включає стадію прожарювання каталізатора, що робить проблематичним використання способу в промислових масштабах.

Відомий спосіб очистки стічних вод киснем повітря і перекисом водню з використанням вугілля, яке містить зв'язані в поверхневі комплекси каталітично активні іони металів Fe (II), Fe (III) [Тарковская И.А., Ставицкая С.С, Лукьянчук В.М., Тарковская Г.Б. Применение угольных катализаторов для окислительно-деструктивной очистки сточных вод // Химия и технология воды. - 1993. - Т. 15, № 7-8. - С. 578-583.]. При цьому ступінь очистки води від фенолу сягає 88 % при вихідній концентрації 10-50 мг/л.

Недоліком способу є недостатній ступінь очистки води від фенолу.

Найбільш близьким аналогом до корисної моделі за одержаним результатом, що досягається, є Патент України на винахід № 74733 від 16.01.2006, Бюл. № 1, 2006 р. (прототип), у якому спосіб деструктивної очистки стічних вод від фенолу здійснюють методом окиснення реагентом - перекисом водню в присутності каталізатора, який не потребує попередньої стадії його активації, та як каталізатор використовують глинистий матеріал складу (% мас): SiO<sub>2</sub> - (74-75); Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> - (6-7); сума FeO і Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> - (2-3); TiO<sub>2</sub> - (0,5-1); решта - оксиди лужних і лужноземельних металів, і який викликає розклад перекису водню, що сприяє ефективному руйнуванню фенолу (ступінь очистки води від фенолу складає 97-100 %).

Недоліками способу є: використання додаткового хімічного окисника, що здатний окиснювати супутні в стічних водах органічні забруднювачі у більш токсичні речовини, ніж вихідні сполуки; використання сорбентів - глинистого мінералу, активованого монтморилоніту, не забезпечує глибокої очистки води від інших супутніх небезпечних політантів органічної (нафтопродукти) і неорганічної природи (іони важких металів), присутніх у фенолвмісних водах перерахованих вище виробництв.

В основу корисної моделі, що заявляється, поставлено задачу: забезпечити високу ефективність мікробіологічної очистки води від фенолу без введення додаткового окисника

(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) за рахунок використання біохімічно-активних штамів мікроорганізмів, що є непатогенними і володіють щодо інших супутніх політантаів (іонів важких металів, нафтопродукти) поліфункціональною дією.

Поставлена задача вирішується мікробіологічним способом очистки води від фенолу, який полягає в тому, що води, у складі яких присутній фенол, очищують реагентом, який відрізняється тим, що як реагент використовують непатогенний штам мікроорганізмів *Pseudomonas fluorescens* ONU328 або *Pseudomonas maltophilia* ONU329, що культивують протягом доби за температури 30 °С на МПА, бактеріальні клітини суспендують у мінеральне середовище М-9 та в кількості 7,5×10<sup>5</sup> КУО/мл вносять у воду, що містить до 300 мг/л фенолу, і витримують протягом 22 діб.

Здійснюється спосіб наступним чином. Культивування мікроорганізмів здійснюють на інкубаторі шейкері New Brunswick Scientific Incubator Shaker INNOVA 43R у флаконах зі 100 мл середовища при 150 об/хв. протягом доби за температури 30 °С. У кожному випадку засів живильного середовища проводять добою культуру, що виросла на МПА у стаціонарних умовах (термостат) за температури 30 °С.

Об'єм посівного матеріалу становить 1,0 % до об'єму середовища. Мікроорганізми у кількості 7,5×10<sup>5</sup> КУО/мл вводять у ємність (біоспороду) з накопиченими промисловими стоками, що містять фенол. За концентрації у них фенолу більше 300 мг/л стоки розбавляють водою.

У біоспоруді створюються сприятливі умови для розмноження мікроорганізмів. Внаслідок розмноження мікроорганізмів в біоспоруді за наявності фенолу як єдиного їх живильного джерела відпадає необхідність періодичного додавання нових порцій свіжих мікроорганізмів - досить один раз їх увести у біоспороду.

Через 18 діб контактування фенолвмісної води з мікроорганізмами воду аналізують на залишковий вміст у ній фенолу. За його наявності воду, оброблену мікробіологічним способом, витримують ще декілька діб (до 20 діб) і знов проводять хімічний аналіз.

Очищена від фенолу вода може бути використана повторно для виробничих цілей або направлена в каналізацію.

Дослідження по очистці води від фенолу за присутності непатогенних бактерій роду *Pseudomonas* проводили у Біотехнологічному науково-навчальному центрі Одеського національного університету імені І.І. Мечникова.

Для проведення дослідження використовували два штами бактерій роду *Pseudomonas* spp., які попередньо були виділені із морського середовища та за сукупністю морфологічних, культуральних і фізіолого-біохімічних ознак, визначених з використанням класичних бактеріологічних методів та тест-системи API 50 CHB Medium (bioMerieux, Франція) віднесено до виду *P. fluorescens* ONU-328 та *P. maltophilia* ONU-329.

Додатково за жирнокислотним складом, спектри яких одержано на газовому хроматографі Agilent 7890 (Agilent Technologies, USA), і розшифровано з використанням бібліотечної бази даних RTSBA6 6.21 програми MIDI Sherlock, досліджувані штами з високим індексом схожості (Sim Index ≥ 0,72) ідентифіковано як *P. fluorescens* ONU-328, *P. maltophilia* ONU-329. Вони не є патогенними і на сьогоднішній день зберігаються в колекції мікроорганізмів кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології ОНУ імені І.І. Мечникова.

Результати по мікробіологічній очистці води від фенолу за присутності морських штамів мікроорганізмів *P. fluorescens* ONU-328 і *P. maltophilia* ONU-329 представлені в табл. 1.

Таблиця 1

Ступінь очистки води від фенолу штамами  
мікроорганізмів *P. fluorescens* ONU-328 і *P. maltophilia* ONU-329\*

Штам	Температура, °С	Концентрація культури, 10 <sup>5</sup> ×КУО/мл	Ступінь очистки води від фенолу, %					
<i>P. fluorescens</i> ONU-328	30	0,35	26,0	---	69,8	95,0	100,0	100,0
		5,0	26,0	---	69,8	100,0	100,0	100,0
		7,5	33,6	---	93,5	100,0	100,0	100,0
	18	0,35	---	18,1	---	33,3	61,4	87,1
		5,0	---	22,4	---	33,3	63,8	100,0
		7,5	---	22,4	---	33,3	89,7	100,0

Штам	Температура, °C	Концентрація культури, 10 <sup>5</sup> ×КУО/мл	Ступінь очистки води від фенолу, %					
P. maltophilia ONU-329	30	0,35	22,7	26,7	72,4	93,8	100,0	100,0
		5,0	22,4	26,7	73,8	94,2	100,0	100,0
		7,5	85,6	97,8	100,0	100,0	100,0	100,0
	18	0,35	18,1	33,6	39,7	37,5	88,8	90,0
		5,0	35,3	48,1	76,4	77,9	100,0	100,0
		7,5	39,7	50,0	76,7	80,8	100,0	100,0
Термін, діб			5	11	18	22	34	40

Примітка: \* вихідна концентрація фенолу у воді - 300 мг/л; "---" не визначено

Із даних табл. 1. видно, що використані штами мікроорганізмів володіють доброю фенолоокиснювальною здатністю за температур 18-30 °C. Більшою біохімічною активністю відносно великих концентрацій фенолу у воді (300 мг/л) володів штам P. maltophilia ONU-329 порівняно зі штамом P. fluorescens ONU-328. За обробки води штамом P. maltophilia ONU-329 із концентрацією культури  $3,5 \times 10^4$  КУО/мл глибока очистка від фенолу (ступінь очистки сягав 100 %) спостерігається на 34 добу, і при збільшенні концентрації культури до  $7,5 \times 10^5$  КУО/мл - на 18 добу (креслення).

Оптимальними для глибокої очистки води від фенолу є такі умови: 30 °C; концентрація культури -  $7,5 \times 10^5$  КУО/мл; час контактування мікроорганізмів з фенолвмісною водою - від 18 до 22 діб (в залежності від штаму мікроорганізмів).

Спосіб ілюструється наступним прикладом.

Приклад

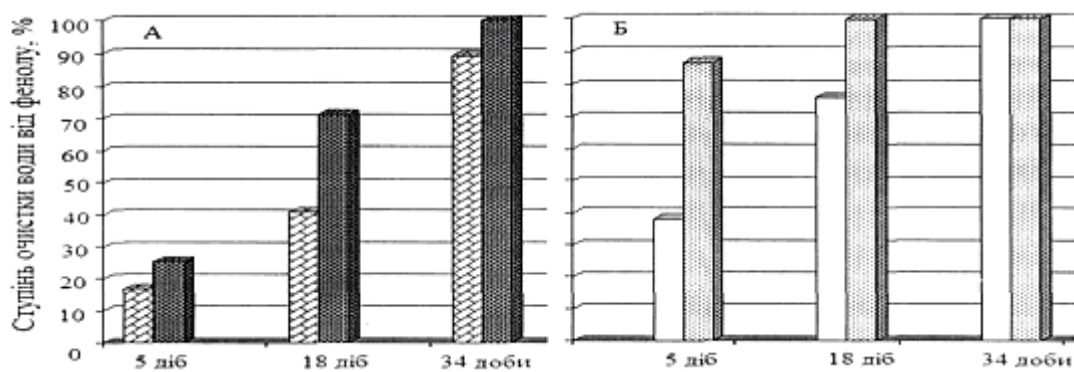
В п'ять пробірок наливали по 10 мл розчину фенолу з вихідною концентрацією 300 мг/л, дві з них слугували контролем, а в інші три пробірки вносили бактеріальні клітини штаму P. maltophilia ONU-329 у кількості  $7,5 \times 10^5$  КУО/мл. Після 18 діб витримання проб за температури 30 °C усі проби аналізували на залишковий уміст у них концентрації фенолу. Проведений фотометричний аналіз, заснований на утворенні забарвлених сполук фенолу з 4-аміноантипірином в присутності гексаціаноферату (III) при pH=10,0±0,2, показав, що концентрація фенолу була на рівні ГДК - ступінь очистки води від фенолу складав 100,0 %.

Таким чином, пропонуємий спосіб дозволяє порівняно з прототипом досягти 100,0 % ступеня очистки води від фенолу з вихідною концентрацією 300 мг/л за відсутності додаткового хімічного окисника (що здатний окиснювати супутні в стічних водах органічні забруднювачі у більш токсичні речовини, ніж вихідні сполуки) шляхом введення бактеріальних клітин непатогенних штамів P. fluorescens ONU-328, P. maltophilia ONU-329, здатних виконувати подвійну функцію - окиснювальну щодо фенолів і нафтопродуктів [Нафтоокиснювальна активність деяких штамів бактерій роду Pseudomonas / Гудзенко Т.В. та ін. // Мікробіологія і біотехнологія. - 2013. - № 4. - С. 72-80] і сорбційно-акумуляуючу щодо іонів важких металів [Патент України; № 102265. Спосіб очищення води від хрому (VI) з використанням мікроорганізмів / Іваниця В.О., Гудзенко Т.В. та ін. Опубл.: 26.10.2015., Бюл. № 20.; Патент України № 90119. Спосіб мікробіологічного очищення води від іонів цинку / Іваниця В.О., Гудзенко Т.В. та ін. Опубл.: 12.05.14., Бюл. № 9, 2014.; Патент України № 106378. Спосіб мікробіологічної очистки розчинів від іонів свинцю / Іваниця В.О., Горшкова О.Г. та ін. Опубл. 25.04.2016, Бюл. № 8], та не викликають вторинного забруднення навколишнього середовища.

Основні переваги способу: екологічна безпечність, висока ефективність, простота здійснення, не викликає вторинного забруднення. Спосіб є "промислово використовуваним", не потребує кардинальних змін в технології виробництва.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Мікробіологічний спосіб очистки води від фенолу, який полягає в тому, що води, у складі яких присутній фенол, очищують реагентом, який **відрізняється** тим, що як реагент використовують непатогенний штам мікроорганізмів Pseudomonas fluorescens ONU328 або Pseudomonas maltophilia ONU329, що культивують протягом доби за температури 30 °C на МПА (м'ясо-пептонний бульйон), бактеріальні клітини суспендують у мінеральне середовище М-9 та в кількості  $7,5 \times 10^5$  КУО/мл вносять у воду, що містить до 300 мг/л фенолу, і витримують протягом 22 діб.



Комп'ютерна верстка В. Мацело

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