



УКРАЇНА

(19) UA (11) 39004 (13) A

(51) 6 C02F3/34, C12N1/26, C12N1/38

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ БІОЛОГІЧНОЇ ДЕСТРУКЦІЇ НАФТОВІСНИХ СТИЧНИХ ВОД І ФЕНОЛВІСНИХ СПОЛУК

(21) 2000127561

(22) 26.12.2000

(24) 15.05.2001

(33) UA

(46) 15.05.2001, Бюл. № 4, 2001 р.

(72) Астрова Нелі Генадіївна

(73) Астрова Нелі Генадіївна

(57) Спосіб біологічної деструкції нафтомістких і фенолмістких сполук, що включає вирощування штаму бактерій-обструкторів *Bacillus species* ВКПМ

В 5467 у середовищі, який відрізняється тим, що вирощування здійснюють на синтетичному середовищі, складеному із солей азотнокислого калію або натрію і фосфорнокислого калію або натрію з додаванням ростового фактора типу десибіотину або дріжджового автолізу, а також з додаванням морської солі, після чого проводять деструкцію вуглеводнів і фенолвісних сполук на модифікованих носіях, кількість штаму 10^8 - 10^9 кліт/мл на площу 25-26 см².

Винахід відноситься до біотехнології і екології, а саме, - до мікробіологічного очищення морської і прісної води від нафтових та фенольних сполук.

Відомий спосіб очистки об'єктів довкілля від вуглеводів нафти і масла шляхом використання бактерій-деструкторів нафтопродуктів (мікробний комплекс) *Arthrobacter globiformis* ВКПМ S-1551 або *Rhodococcus erythropolis* ВКМП S-1550, здібних виростати у широкому діапазоні температур і рН середовища на сильно мінералізованих середовищах з вуглевод- і фенолмісткими сполуками (1).

Найбільш близьким до запропонованого технічного рішення є спосіб біологічної деструкції вуглеводів (2). Спосіб полягає в тому, що штам *Pseudomonas sp.* ВКПМ В-3829 (4а) вирощують у поживному середовищі, яке містить вуглеводи (C₂₆₋₃₆ і вище) на пористому носії (пемза), з введенням в середовище додатково акваамінової сполуки солей важких металів в концентрації 0,001-0,005 г/л, і вуглеводи, швидкість біодеструкції яких досягає 4,0-4,2 г/л за добу.

Недоліком вказаних способів є постійне аерування середовища, при цьому оптимальний діапазон концентрацій запропонованих біостимуляторів - 0,001-0,005 г/л. Вихід за межі цього діапазону у бік зменшення або збільшення призводить до зниження або відсутності ефекту.

В основу винаходу поставлено задачу вдосконалення способу біологічної деструкції вуглеводів шляхом застосування вирощеного штаму бактерій-деструкторів *Bacillus species* ВКПМ В 5467 в поживному середовищі, що скорочує тривалість процесу, підвищує якість її, дозволяє інтенсифікувати процес біодеструкції вуглеводмістких сполук у прісній та морській воді.

Поставлена задача вирішується тим, що, згідно винаходу, вирощування штаму бактерій *Bacillus species* ВКПМ В 5467 здійснюють у поживному середовищі, складеному з солей азотнокислого калію (або натрію) і фосфорнокислого калію (або натрію), з додаванням ростового фактора десибіотину (або дріжджового автолізу), а також з додаванням морської солі, після чого проводять деструкцію вуглеводородів і фенолмістких сполук на модифікованих носіях нанесенням вирощеного штаму у кількості 10^8 - 10^9 клітин/мл на площу імовілізанта 25-26 см².

Спосіб здійснюється таким чином. Штам *Bacillus species* ВКПМ В 5467 вирощують в умовах подачі повітря в поживне середовище, яке містить вуглеводороди (C₂₆₋₃₆ і вище) на модифікованих носіях кулястої форми з отворами, з можливістю мобілізації клітин-деструкторів всередині носіїв. Отвори діаметром 6-8 мм у кулястому носії розташовані діаметрально протилежно, кількість їх 8-12. Носії укладені шарами між сітчастими пластинами для утримування їх у потоці води в періодичних та безперервних умовах режиму роботи. Бактерії уводять з концентрацією 10^3 - 10^4 кліт/мл одночасно і залишають на протязі 48-72 годин в періодичних умовах для мікробіологічного росту. Потім відчиняють протік (0,25 год⁻¹, 0,30 год⁻¹, 0,54 год⁻¹) нафтомістких вод з різною кількістю вуглеводородів і, за їх останньою кількістю у середовищі, судять про ефективність деструкції.

Приклади конкретного виконання способу.

Приклад 1. Спосіб може бути застосований для очистки довкілля у широкому діапазоні: поверхні гідросфери (морів, океанів, річок, озер, лиманів), стічних нафтомістких вод промисловості та

(19) UA (11) 39004 (13) A

підприємств, які працюють у постійному безперервному процесі очистки води.

Біодеструкцію здійснюють у морській воді або середовищі такого складу: морська сіль - 2%, NH_4Cl (амоній хлористий) - 1 г/л, калій фосфорнокислий двоаміщений K_2HPO_4 або Na_2HPO_4 - 1 г/л, дестибіотин - 0,001% або дріжджевий екстракт - 1 мл/л, вода водопровідна - 1 л, рН середовища 7,2-7,5.

Як субстрат для деструкції вводять дизельне паливо у кількості 150 мг/л, 250 мг/л, 500 мг/л, 750 мг/л, 900 мг/л, 2550 мг/л.

рН середовища регулюють 10% розчином NaOH . Деструкцію проводять штамом *Bacillus species* ВКПМ В 5467 на модифікованому носії $S = 25,0 \text{ см}^2$.

В біореактори об'ємом 20 л вводять морське середовище - 18 л, заповнюють модифікованими носіями, розташованими горизонтально парами на перфорованих сітках (табл.1).

У таблиці 1 представлені результати очистки штамом *Bacillus species* ВКПМ В 5467 дизельного палива у морській воді на модифікованих носіях (температура 18-20°C). Швидкість потоку - 0,25 год⁻¹.

Кількість клітин на площі іммобілізанта $S = 25$ дорівнювала 10^8 - 10^9 кліт/мл.

Таблиця 1

Кількість субстрата, мг/л	Термін, год	Ефективність деструкції
150	120	98
250	96	99
500	72	100
750	48	100
900	24	100
Разом: 2550	15 діб	98-100

Приклад 2.

При мікробній деструкції з іммобілізованими бензола готували розчин морської солі вищеприведеного складу (приклад 1).

Як субстрат вводили бензол в кількості 150 мг/л, 250 мг/л, 500 мг/л, 750 мг/л, 900 мг/л, 2550 мг/л. Результати деструкції враховували через 12, 24, 42, 72 і 108 годин (табл.2).

У таблиці 2 представлені результати мікробної деструкції бензолу у морській воді штамом *Bacillus species* ВКПМ В 5467 (у безперервних умовах) на модифікованих носіях. Швидкість потоку - 0,30 год⁻¹, $t = 18$ -20°C.

Таблиця 2

Кількість субстрата, мг/л	Термін, год	Ефективність деструкції
150	12	98
250	24	99
500	48	100
750	72	100
900	108	100
Разом: 2550	15 діб	98-100

Приклад 3.

Мікробну деструкцію у комплексі гексан + фенол здійснювали способом, описаним у прикладі 1. Гексан + фенол як субстрат для деструкції вводили у співвідношенні 1:1.

Результати деструкції враховували через 4, 5, 7, 9 і 25 добу методом кількісного визначення субстрату (табл.3).

У таблиці 3 приведені дані мікробної деструкції гексана+фенола штамом *Bacillus species* ВКПМ В 5467 у морській воді (у безперервних умовах).

Таблиця 3

Кількість субстрата, мг/л	Термін, доба	Ефективність деструкції
12,5 + 12,5 = 25,0	4	98
25 + 25 = 50	5	99
50 + 50 = 100	7	100
75 + 75 = 150	9	100
Разом: 2550	25 діб	98-100

Таким чином, запропонований спосіб, в порівнянні з прототипом, дозволяє інтенсифікувати процес біодеструкції різних вуглеродмістких сполук при середніх температурних діапазонах (18-20°C), зберігаючи кількість бактерій - деструкторів 10^8 - 10^9 кліт/мл, досягти більш глибоку очистку (98-100%) при різних швидкостях потоку нафтомістких та фенолмістких стічних вод (0,25 год - 0,5 год).

Література:

1. RU, Патент Российской Федерации № 2053204, заявка № 97102054 от 1997.02.17., опубл. 1998.07.20. МКИ⁵: C12N 1/26, C02F3/34, B09C1/10. Способ очистки объектов окружающей среды от углеводородов нефти и масел. - Капотина Л. Н.
2. SU, МКИ⁵: C12N 1/26, 1/38, C02F 3/34, А.С. № 1637327А1, заявка № 4441150/13 от 04.06.88. Одесский государственный университет им. И.И. Мечникова. - Н. Г. Астрова.

ДП "Український інститут промислової власності" (Укрпатент)
Україна, 01133, Київ-133, бульв. Лесі Українки, 26
(044) 295-81-42, 295-61-97

Підписано до друку _____ 2001 р. Формат 60х84 1/8.
Обсяг _____ обл.-вид. арк. Тираж 50 прим. Зам. _____

УкрІНТЕІ, 03680, Київ-39 МСП, вул. Горького, 180.
(044) 268-25-22
