



УКРАЇНА

(19) UA (11) 50944 (13) A

(51) 6 C02F3/34,E02B15/04

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДВИДАЄТЬСЯ ПІД
ВІДПОВІДАЛЬНІСТЮ
ВЛАСНИКА
ПАТЕНТУ

(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ БАКТЕРІАЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ ДЛЯ ОЧИЩЕННЯ ВОДИ ВІД НАФТИ ТА НАФТОПРОДУКТІВ

1

(21) 2001096315

(22) 14 09 2001

(24) 15 11 2002

(46) 15 11 2002, Бюл. №11, 2002 р

(72) Коцар Олена Михайлівна, Ткачук Микола Григорович

(73) ТОВАРИСТВО З ОБМЕЖЕНОЮ
ВІДПОВІДАЛЬНІСТЮ НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ
ЦЕНТР "ПОТЕНЦІАЛ-4"(57) Спосіб отримання бактеріального препарату для очищення води від нафти та нафтопродуктів, що передбачає вирощування біомаси бактерій *Pseudomonas fluorescens* 2-а ЦМПМ В-2256 в яку вносять перекис водню і хлорид кальцію в кількості 10^6 моль/л і 0,036-0,046 моль/л відповідно, після чого перед висушуванням

2

біомасу бактерій наносять на сфагновий торф 10 %-ї вологості із розрахунку не менше 10^8 клітин на 1 г торфу, який відрізняється тим, що як бактерії-деструктори нафтопродуктів використовуються виділені з окисленої нафти бактерії *Rhodococcus* *maris*, *Candida maltosa* з ліпофільними властивостями та *Pseudomonas aeruginosa*, *Artobacter simplex* з гідрофільними властивостями, а нарощену і сфлукуювану біомасу бактерій наносять на верхній торф 30-40 % вологості, попередньо насичений мінеральними добавками та дріжджовим автолізатом, з розрахунку не менше 10^{9-12} клітин на 1 г по сухій вазі та подальшим вакуумним сушінням до кінцевої вологості 10-15 %, та добавкою до препарату 1-10 % по масі гідробіозованого торфу

Винахід відноситься до екології, а саме до препаратів для очищення водного середовища та ґрунту від забруднень нафтою та нафтопродуктами ліквідації аварійних розливів нафти, нафтопродуктів, та може бути використаний для очищення промислових, господарсько-побутових стічних та зливових вод

Технології очищення водного середовища від забруднень нафтою та нафтопродуктами можна розділити на технології із застосування адсорбентів (гідробіозованого перліту, хімічних полімерів, активованого вугілля, глини торфу та інші) з подальшою утилізацією забруднень, використана монокультура бактерій деструкторів нафти та нафтопродуктів - препарат "Путідойл" (ав. св. СРСР №1076446, 1982), суміші природних нафтоокислюючих культур (пат. Російської Федерації №9401000, 1996) консорціуму мікроорганізмів (пат. України №22967, 1998, пат. Росії №2214174, 1998, пат. України №26495, 1999)

Недоліком адсорбційних методів є недостатня ефективність знято нафтозабруднень з водного середовища та необхідність подальшої їх утилізації. При застосуванні монокультур, сумішей та асоціацій бактеріальних культур до утилізації нафтопродуктів необхідно в усьому об'ємі води утворити

велику концентрацію нафтоокислюючих бактерій

Відомий спосіб ліквідації нафтових забруднень з поверхні водойм при внесенні суміші ліпофільних добрив (інкапсульована суміш сполук N та P разом з гідрофобним порошковидним адсорбентом (перліт) та бактеріальним препаратом, який являє собою сухий порошок нафтоокислюючих бактерій *Pseudomonas putida* 36 (Ав. св. №1710515, 1988). Недоліком цього способу є великі затрати теплової енергії (320°C) для отримання пористого перліту та трудомісткість в приготуванні і виліні інкапсульованого добрива

Найбільш близьким до того, що пропонується, є "Спосіб отримання бактеріального препарату для очищення водного середовища від забруднень нафтопродуктами" (пат. Російської Федерації №2033975, 1995, препарат "Еконадін") та спосіб застосування цього препарату (пат. Російської Федерації №2031860, 1995)

Суть способу отримання бактеріального препарату для очищення водного середовища від нафтопродуктів полягає в нарощуванні біомаси бактерій *Pseudomonas fluorescens* 2-а ЦМПМ В-2256, її флокуляції за допомогою перекисної водню та хлориду кальцію, та перед висушуванням нанесення біомаси бактерій на сфагновий торф

(13) A

(11) 50944

(19) UA

10% вологості із розрахунку не менше 10^9 кл/г

Препарат використовується для зняття нафтопродуктів з поверхні водного середовища та очищення поверхні води від їх залишків

Недоліком препарату "Еконадін" є недостатня ефективність розкладу нафти та нафтопродуктів на поверхні водного середовища, а особливо при очищенні промислових, господарсько-побутових та зливових стічних вод в яких нафтопродукти знаходяться в основному в емульгованому вигляді в водній товщі. Для їх деструкції біопрепарат повинен постійно знаходитись в водному середовищі щоб адсорбувати на свою поверхню емульговані нафтопродукти та їх розкласти

Недостатня ефективність препарату обумовлена також ще й тим, що при його виготовленні використана монокультура штучно виведеного штаму бактерій-деструкторів нафтопродуктів *Pseudomonas fluorescens* 2-а ЦМПМ В-2256 з гідрофільними властивостями. При використанні гідрофільних бактерій процес очищення відбувається тільки в зоні контакту їх з розчиненими у воді нафтопродуктами, розчинність яких у воді надто мала.

Штучно виведені штами бактерій, при внесенні їх на забруднені нафтою ділянки, не завжди витримують конкуренцію з місцевою мікрофлорою, в результаті чого життєдіяльність нафтоокислюючих бактерій швидко подавляється і інтенсивність деструкції виявляється нижче очікуваної

Недоліком препарату "Еконадін" є також те, що в ньому в якості носія бактерій-деструкторів та сорбента нафтопродуктів використаний сфагновий торф, який має низьке рН, а саме рН5,18, що пригнічує розвиток як бактерій-деструкторів нафтопродуктів, так і супутньої мікрофлори в водоймищі, розвиток якої завжди індукується при наявності органічної речовини

До складу препарату не входять біогенні елементи, необхідні для життєдіяльності культури *Pseudomonas fluorescens*, тому розвиток бактерій та розклад нафтопродуктів відбувається надто довго, для препарату зводиться в основному до адсорбції та видалення адсорбованих нафтопродуктів з поверхні водного середовища з торфом, так як при цьому основну роль в процесі очищення поверхні води відіграє сухий торф - прекрасний сорбент нафтопродуктів

Малоефективність препарату "Еконадін" при використанні його для очищення в очисних спорудах промислових, господарсько-побутових та зливових стічних вод, в яких нафтопродукти знаходяться в емульгованому стані та в незначній концентрації, зумовлена також тим, що при намоканні торфу не адсорбує нафтопродукти і це спричиняє їх винос з очисних споруд, так, як час їх деструкції набагато довший, ніж час перебування води в очисних спорудах типу фільтрів

В основу винаходу поставлена задача створити бактеріальний препарат, який активно очищає поверхню та товщу водного середовища та ґрунту від забруднень нафтою і нафтопродуктами, здатний для примінення в біоінженерних спорудах для очищення промислових, господарсько-побутових та зливових вод, забруднених емульгованими та розчинними нафтопродуктами

До складу біопрепарату входять активні мікро-

організми-деструктори нафти та нафтопродуктів - бактерії та дріжджі, виділені з окисленої нафти родовищ Східної України. Мікроорганізми представлені як - гідрофільними *Pseudomonas aeruginosa*, *Artobacter simplex*, та і ліпофільними культурами *Candida maltosa*, *Rhodococcus mans*. Ліпофільні бактерії можуть розвиватися безпосередньо в нафтовій фазі, що суттєво прискорює процес деструкції нафтопродуктів. Ці бактерії не є антагоністами, так як вони виділені з природного бактеріального ценозу і пов'язані метаболічними взаємодіями

До складу біопрепарату входять мінеральні добавки в кількості $1-4 \times 10^2$ кг на 1 кг сухого торфу, необхідні для розвитку бактерій-деструкторів нафтопродуктів, а також дріжджовий автолізат, як стимулятор розвитку бактерій, необхідний для швидкого переходу з висушеного стану бактеріальної клітини в ростовий

В якості адсорбенту нафтопродуктів та носія бактерій використаний верховий торф частина якого (1-10% по вазі) гідрофобізована з рН6,6-7,8, що являється оптимальним для життєдіяльності бактерій

Гідрофобізований торф при тривалому перебуванні в воді не намокає, здатний адсорбувати на свою поверхню емульговані нафтопродукти в товщі води, що сприяє їх бактеріальному розкладу

Спосіб виконували наступним чином

Культури бактерій *Pseudomonas aeruginosa*, *Artobacter simplex*, *Candida maltosa*, *Rhodococcus mans*, взяті в однаковій кількості, вирощували на поживному середовищі Раймонда, де джерелом вуглецю служили вуглеводи та 2-5мас % дизельного палива, при температурі 25°C з аерацією протягом 24-48 годин для отримання концентрованої суспензії (не менше 4-5г/л по сухій біомасі). Суспензію бактерій флокулювали послідовним внесенням з розрахунку на один літр 1 мл 3% перекису водню і 50мл 10% хлориду кальцію

Верховий торф з рН6,68 та вологістю 30-40% рівномірно обробляли концентрованим розчином мінеральних добавок та дріжджовим автолізатом, після чого на торф рівномірно наносили зфлокульовану суспензію бактерій щоб концентрація нафтоокислюючих клітин на торфі становила не менше 10^9 кл/г

Торф, збагачений мінеральними добавками, дріжджовим автолізатом та нафтоокислюючими бактеріями, піддавали вакуумній сушці при температурі не більше 30°C до вологості не нижче 10-15%

До торфу збагаченими бактеріями та мінеральними добавками додавали 1-10% гідрофобізованого торфу, який отримували при обробці його гідрофобізуючою речовиною - поліметилгідрисилоксаном (промислова марка ГЖЖ-94М) при температурі 120°C

Принцип дії бактеріального препарату наступний

При внесенні препарату на поверхню водного середовища, на якому є плівка нафтопродуктів, препарат за кілька хвилин адсорбує її на себе. Через добу навколо препарату утворюється плівка бактерій, яка складається з ліпофільних - тісно пов'язаних з нафтопродуктами, та гідрофільних

бактерій, які вільно знаходяться в поверхневому шарі вода. В залежності від нафтопродукту та його кількості залежить час його утилізації бактеріями.

В зв'язку з структуризованістю бактеріальний препарат з адсорбованими нафтопродуктами можна легко зняти з поверхні води та перенести в менший об'єм для подальшої деструкції бактеріями, або використати як паливо.

Препарат може бути використаний для очистки води, забрудненої емульгованими нафтопродуктами, в якості засипки в біоінженерних спорудах біоплат з гідропонного типу, біофільтрах, біореакторах, полях фільтрації, де препарат постійно знаходиться в водному середовищі. В цих умовах активним сорбентом нафтопродуктів є гідрофобізований торф. Затримка нафтопродуктів в очисних

спорудах сприяє їх розкладу нафтоокислюючими бактеріями.

Для препарату перевірена як на нафті, так і на дизельному паливі, керосині, мастилі. Для адсорбції 1 мл нафти та подальшого її розкладу залежно від товщини плівки необхідно витратити до 0,54г препарату.

Приклад 1

В дві скляні посудини діаметром 25см з 0,5л дніпровської води вносили по 3г нафти або нафтопродукту. В одному посуді на плівку нафти наносили відомий бактеріальний препарат "Еконадін" (прототип), а в другому - пропонуємий "Трофойл" до повної адсорбції. Результати дослідів представлені в таблиці 1.

Таблиця 1

Результати очищення водної поверхні від нафтопродуктів бактеріальними препаратами: 1-прототип "Еконадін", 2- пропонуємий "Трофойл"

Вид нафтопродукту	Кількість препарату для адсорбції 3г нафтопродукта, г		Час контакту нафтопродукту з препаратом, доба		Ефективність розкладу			
	Еконадін (прототип)	Трофойл (пропонуємий)	Еконадін	Трофойл	Залишкова концентрація, г/л		% очищення	
					Еконадін	Трофойл	Еконадін	Трофойл
Нафта	4,18	3,08	14	14	2,03	0,04	31,3	98,6
Дизельне паливо	3,28	3,00	2	2	1,64	0,03	54,6	99,0
Керосин	3,28	3,00	2	2	1,20	0,005	60,0	99,8

Приклад 2

Моделлю аераційної споруди служили дві конусовидні скляні посудини об'ємом 3 л, в середині яких було розміщено 100г біопрепарату. В нижню конусовидну частину 2-х модельних пристроїв резиновим шлангом дозовано подавалась з бачка-змішувача модельна вода, забруднена емульсією дизельного палива, яка утворювалась внаслідок змішування дніпровської води з дизельним паливом за допомогою електромішалки. Очищена вода відводилась в верхній частині моделі. Час перебування води в моделі становив 4 години, а контакт її з біопрепаратом - 2 години. Модель працювала в

проточному режимі 5 діб.

В перші дві доби роботи аераційної моделі з засипкою препаратом "Еконадін" вода мала після установки коричневий колір та була забруднена органічними речовинами та гуміновими кислотами, які вимивались із сфагнового торфу. В той час, в моделі з засипкою препаратом "Трофойл" вода була чиста, так як в препараті застосовано верхній торф. Затримання нафтопродукту в основному відбувається гідрофобізованою частиною торфу. Усереднені показники очищення води біопрепаратами:

Таблиця 2

Моделльний пристрій з біопрепаратом	Концентрація, г/л		Ефективність очищення, %
	початкова	залишкова	
"Еконадін" (прототип)	3,0	2,15-1,93	28,4-35,6
"Трофойл" (пропонуємий)	3,0	0,05-0,03	98,3-99,0

Отримані результати в табл. 2 показують ефективність використання біопрепарату "Трофойл" для очищення води в біоінженерних спорудах. Препарат протягом 2-х годин адсорбує 98,3-99,0% з подальшим його розкладом. Порівняльний аналіз двох технічних рішень (пат. пат. Російської Феде-

рації №2033975, 1995) показав, що використання пропонуваного способу значно підвищує ефективність розкладу на водній поверхні нафти на 67,0%, дизельного палива - на 45,4%, керосину - на 39,8% та емульгованого в водному середовищі дизельного палива - на 86,6%.

ДП «Український інститут промислової власності» (Укрпатент)
вул. Сим'ї Хохлових, 15, м. Київ, 04119, Україна
(044) 456 – 20 – 90

ТОВ «Міжнародний науковий комітет»
вул. Артема, 77, м. Київ, 04050, Україна
(044) 216 – 32 – 71