

Т.В. Гудзенко, О.В. Волювач, Т.О. Бсляєва,
О.Г. Горшкова, І.В. Пузирьова, В.О. Іваниця

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,
65082, Одеса, вул. Дворянська, 2, e-mail: v_ivanit@ukr.net

ВИДАЛЕННЯ БРОМІДУ ГЕКСАДЕЦИЛПІРИДИНІЮ ІЗ ВОДНИХ РОЗЧИНІВ БАКТЕРІЯМИ РОДУ *PSEUDOMONAS* ЗА ЇХ ВЗАЄМОДІЇ З ГЛИНИСТИМ МІНЕРАЛОМ ТА ХІТОЗАНОМ

Мета. Удосконалення способу видалення найпоширенішого представника катіонних поверхнево-активних речовин (КПАР) – біологічно “жорсткого” броміду гексадецилпіридинію (БГДП) з водних розчинів нафтоокиснювальними бактеріями роду *Pseudomonas* за їх взаємодії з природними сорбентами (глинистим мінералом та хітозаном). **Методи.** Непатогенні бактерії *P. fluorescens* ONU328, *P. maltophilia* ONU329, *P. serasia* ONU327 культивували в поживному середовищі М-9 з додаванням 0,5% пептону при рН 7,2–7,4. Після сорбції залишковий вміст КПАР у розчинах визначали колориметричним методом.

Результати. У результаті проведених досліджень встановлено, що використання бактерій *P. serasia* ONU327, *P. fluorescens* ONU328 і *P. maltophilia* ONU329 за їх взаємодії з природними сорбентами (глинистим мінералом та хітозаном 1:1 по масі) дозволяє у нейтральному середовищі підвищити ступінь видалення БГДП із водних розчинів до 98,0–99,5% при вихідній концентрації КПАР 100 мг/л та скоротити оптимальний час контактування з сорбентами з 60 хв за відсутності мікроорганізмів до 20 хв за їх присутності. Одним грамом змішаного сорбенту із розчину видаляється до 24,9 мг КПАР. **Висновок.** Використання біологічно модифікованих природних сорбентів забезпечує глибоке очищення води від КПАР, зокрема від солей алкілпіридинію, стадію сорбції КПАР рекомендовано включати в комплексну екологічно безпечну біотехнологію водоочищення.

Ключові слова: бромід гексадецилпіридинію, видалення, водні розчини, бактерії роду *Pseudomonas*, глинистий мінерал, хітозан.

Бромід гексадецилпіридинію є типовим представником катіонних поверхнево-активних речовин (КПАР), які використовуються у промисловості як змочувачі, диспергатори, емульгатори і як антистатичний засіб при прядінні штучного шовку, а також при виробництві пластмас, косметичних і синтетичних миючих засобів, у хімічному аналізі, у процесі емульсійної полімеризації, у текстильній, нафтодобувній, нафтопереробній промисловостях та інших галузях [1].

Із даних літератури [7] відомо, що вміст КПАР у стічних водах залежно від виду виробництва коливається в широких межах. Так, тільки вміст іоногенних



ПАР у стоках деяких текстильних фабрик знаходиться у межах 5–50 мг/л, крупних механізованих пралень – 200 мг/л. Бромід гексадецилпіридинію (БГДП) ($[C_{16}H_{33}N^+C_5H_5]Br$) виявляє у порівнянні з первинними, вторинними і третинними алкіламінами більш основні властивості, в досить широкому діапазоні значень рН середовища знаходиться в іонній формі [12].

Широке використання ПАР неминує призводить до забруднення ними відкритих водойм і ставить на порядок денний питання вибору ефективного методу очищення технологічних водних розчинів і стічних вод перерахованих вище виробництв і промислових підприємств.

На сьогодні досить ефективними методами видалення КПАР із водних розчинів вважаються методи осаджувальної флоатації, флоатофлокуляції, флотосорбції, що забезпечують у кислому і лужному середовищах 85% ступінь їх видалення при вихідній концентрації $C \leq 100$ мг/л [2, 8].

Однак для здійснення флоатаційного видалення катіонних ПАР із відпрацьованих водних розчинів необхідно додатково оснащувати підприємства флоатаційними механічними збирачами піни або вводити певні не менш токсичні реагенти для підвищення ступеня їх видалення і суттєвого зменшення об'єму утвореного пінного продукту [11].

Із усіх спеціальних методів очищення води від катіонних ПАР сорбційний метод є найпростішим, менше вартісним при використанні природних легкодоступних, дешевих і екологічно безпечних сорбентів (активоване вугілля, цеоліт, глина, хітозан), простим у здійсненні та, найголовніше, енергонезалежним [10, 13].

Підвищити ефективність сорбції можливо шляхом хімічної модифікації поверхні сорбентів або біологічним шляхом за рахунок використання бактерій за їх контактної взаємодії з частками природних сорбентів.

Метою даної роботи було вивчення видалення броміду гексадецилпіридинію з водних розчинів бактеріями роду *Pseudomonas* за їх взаємодії з глинистим мінералом та хітозаном.

Матеріали і методи

У роботі використано непатогенні штами бактерій роду *Pseudomonas* – *P. cepacia* ONU327, *P. fluorescens* ONU328, *P. maltophilia* ONU329, що зберігаються в колекції кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології Одеського національного університету імені І.І. Мечникова.

Штами *P. fluorescens* ONU328 і *P. maltophilia* ONU329 вилучено з морського середовища, *P. cepacia* ONU327 – з забрудненого нафтопродуктами ґрунту. Ці культури бактерій є деструкторами біорезистентних органічних сполук (органічних барвників, вуглеводнів нафти та інш.) [3].

Бактерії вирощували на рідкому мінеральному середовищі М-9 з додаванням 0,5% пептону (рН 7,2–7,4) при 28 °С впродовж 48 год. У експериментах використовували дешевий та легкодоступний в Україні глинистий мінерал групи монтморилоніту (бентонітову глину ТУ У 320.00136751.032-99) і хітозан, що мають підвищену іонообмінну та сорбційну здатність щодо ПАР.



Контактну взаємодію бактерій з частками глинистих мінералів і хітозаном (1:1 по масі) здійснювали при температурі 28 °С. Для цього 2,0 г глинистого мінералу змішували з 2,0 г хітозану, заливали сорбенти суспензією (100 мл) бактерій у концентрації 1×10^9 мк/мл. Після перемішування (50 об/хв) суспензії бактерій з глинистим мінералом і хітозаном впродовж 60 хв суміш залишали в статичному стані на 60 хв для формування осаду, потім надосадову рідину зливали. Інокульовані осади на дві доби заливали 8,5% водним розчином NaCl при температурі 28 °С і в подальшому використовували у вологому вигляді.

В даній роботі проведено дослідження з видалення із водних розчинів КПАР броміду гексадецилпіридинію (БГДП) із вихідною концентрацією 100 мг/л. Модельні розчини готували шляхом розчинення 0,1 г (БГДП) у 1 л дистильованої води за температури 45 °С.

Видалення БГДП із водних розчинів здійснювали за температури 20 °С, у нейтральному середовищі (рН 7,0), яке встановлювали за допомогою 0,1 н розчинів HCl і NaOH. У скляні колби ємністю 250 мл вносили по 100 мл водного розчину катіонної ПАР (з концентрацією 100 мг/л, що є в два рази меншою за критичну концентрацію міцелоутворення [1, 2]), додавали 0,4 г вологого сорбенту (глинистого мінералу та хітозану) з бактеріями, щільно закривали гумовим корком і струшували протягом 20–60 хв.

Для порівняння у контрольні проби з БГДП додавали 0,4 г сорбенту (0,2 г глинистого мінералу і 0,2 г хітозану), не інокульованого бактеріями.

Для досягнення сорбційної рівноваги давали пробам відстоятися. Використаний сорбент відфільтровували через фільтрувальний папір і в фільтраті визначали залишкову рівноважну концентрацію КПАР колориметрично в присутності метилоранжу за стандартною методикою [1].

Ступінь видалення БГДП з води розраховували за рівнянням:

$\alpha = [(C_0 - C)/C_0] \times 100\%$, де C_0 і C – вихідна і залишкова рівноважна концентрації катіонної ПАР у воді, відповідно.

Достовірність відмінностей між середніми значеннями визначали за критерієм Стьюдента на рівні значимості не менше 95% ($p \leq 0,05$). Обробку даних здійснювали за допомогою програми Excel.

Результати та їх обговорення

В результаті досліджень встановлено (таблиця), що використання клітин бактерій роду *Pseudomonas* за їх взаємодії з природними сорбентами (глинистим мінералом та хітозаном 1:1 по масі) для очищення води від броміду гексадецилпіридинію інтенсифікує процес сорбції КПАР у нейтральному середовищі [6].

Порівняльний аналіз показав, що за взаємодії бактерій *P. fluorescens* ONU328 і *P. maltophilia* ONU329 з природними сорбентами через 20 хвилин експозиції залишковий вміст БГДП складав відповідно $2,0 \pm 0,20$ і $2,0 \pm 0,18$ мг/л. При цьому ступінь видалення становив 98,0%.

При використанні для інокуляції змішаних природних сорбентів штаму *P. serasia* ONU327 ступінь очищення води від БГДП через 20 хвилин експозиції



сягав 99,5%. Залишкова концентрація броміду гексадецилпіридинію у водному розчині не перебільшувала 0,5 мг/л, що відповідає нормативним вимогам [4].

Збільшення експозиції до 60 хвилин приводило до незначного збільшення ступеню видалення БГДП (на 0,2–0,5%) сумішшю глини з хітозаном та бактеріями *P. ceracia* ONU327, *P. fluorescens* ONU328 і *P. maltophilia* ONU329. Таким чином, за одного граму змішаного сорбенту видаляється із розчину 24,5–24,9 мг КПАР.

Таблиця

Видалення броміду гексадецилпіридинію із водних розчинів бактеріями роду *Pseudomonas* за їх взаємодії з глинистим мінералом та хітозаном

Table

Remove of hexadecylpyridinium bromide from aqueous solutions by bacteria of the genus *Pseudomonas* in their interaction with clay mineral and chitosan

Штам	Залишковий вміст БГДП, мг/л	Ступінь видалення (α) БГДП, %
Експозиція 20 хв.		
<i>P. fluorescens</i> ONU 328	2,0±0,20*	98,0
<i>P. maltophilia</i> ONU 329	2,0±0,18*	98,0
<i>P. ceracia</i> ONU 327	0,5±0,08*	99,5
Контроль	22,0±1,70*	78,0
Експозиція 60 хв.		
<i>P. fluorescens</i> ONU 328	1,5±0,12*	98,5
<i>P. maltophilia</i> ONU 329	1,5±0,14*	98,5
<i>P. ceracia</i> ONU 327	0,3±0,07*	99,7
Контроль	17,0±1,18	83,0

Примітка: – вихідна концентрація БГДП становила 100,0 мг/л;

- концентрація сорбенту – 4,0 г/л;

* різниця у порівнянні з контролем достовірна, $p \leq 0,05$

Note: – output concentration of HDPBr was 100.0 mg/l;

- sorbent concentration – 4.0 g/l

* distinction is reliable as compared to control, $p \leq 0,05$

Проведені дослідження по сорбції БГДП із водних розчинів на природних сорбентах (суміш глинистого мінералу з хітозаном у відсутності мікроорганізмів) показали меншу ефективність проведення процесу очищення води від КПАР. У контролі через 20 хвилин експозиції залишковий вміст БГДП у водному розчині складав 22,0±1,70 мг/л, ступінь очищення води не перебільшував 78,0%, а через 60 хвилин – 83,0% (при рН 7).



Використання бактерій роду *Pseudomonas* з природними сорбентами збільшує (на 16,7–21,5%) ступінь сорбції бромиду гексадецилпіридинію при зменшенні оптимального часу контактування порівняно з контролем. Крім того, на біологічно модифікованих змішаних природних сорбентах, хоча і повільно, але відбувається деструкція ПАР на більш прості нетоксичні речовини. Аналогічну деструкцію біологічно жорстких ПАР спостерігали автори робіт [5, 9].

Отримані результати досліджень показали, що використання бактерій роду *Pseudomonas* та суміші природного неорганічного сорбенту глинистого мінералу з природним полімером хітозаном може бути перспективним в комплексних схемах екологічно безпечного очищення багатоконпонентних стічних вод, забруднених катіонними поверхнево-активними речовинами, зокрема біологічно «жорстким» бромідом гексадецилпіридинію.

Т.В. Гудзенко, О.В. Волювач, Т.А. Бєляєва, О.Г. Горшкова, І.В. Пузырьова,
В.А. Іваниця

Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина, e-mail: v_ivanit@ukr.net

УДАЛЕНИЕ БРОМИДА ГЕКСАДЕЦИЛПИРИДИНИЯ ИЗ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ БАКТЕРИЯМИ РОДА *PSEUDOMONAS* ПРИ ИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С ГЛИНИСТЫМ МИНЕРАЛОМ И ХИТОЗАНОМ

Реферат

Цель. Усовершенствование способа удаления наиболее распространенного представителя катионных поверхностно-активных веществ (КПАВ) – биологически “жесткого” бромид гексадецилпиридиния (БГДП) из водных растворов нефтеокисляющими бактериями рода *Pseudomonas* при их взаимодействии с природными сорбентами (глинистым минералом и хитозаном). **Методы.** Непатогенные бактерии *P. fluorescens* ONU-328, *P. maltophilia* ONU329, *P. ceracia* ONU327 культивировали в питательной среде М-9 с добавлением 0,5% пептона при pH 7,2–7,4. После сорбции остаточное содержание КПАВ в растворах определяли колориметрическим методом. **Результаты.** В результате проведенных исследований установлено, что использование бактерий *P. ceracia* ONU327, *P. fluorescens* ONU328 и *P. maltophilia* ONU329 при их взаимодействии с природными сорбентами (глинистым минералом и хитозаном 1:1 по массе) позволяет в нейтральной среде повысить степень удаления БГДП из водных растворов до 98,0–99,5% при исходной концентрации КПАВ 100 мг/л и сократить оптимальное время контактирования с сорбентами с 60 мин в отсутствие микроорганизмов до 20 мин при их присутствии. С помощью 1 г смешанного сорбента удаляется из раствора 24,5–24,9 мг КПАВ. **Вывод.** Использование биологически модифицированных природных сорбентов обеспечивает глубокую очистку воды от КПАВ, в частности от солей алкилпиридиния, стадию сорбции КПАВ рекомендуется включать в комплексную экологически безопасную биотехнологию водоочистки. **Ключевые слова:** бромид гексадецилпиридиния, удаление, водные растворы, бактерии рода *Pseudomonas*, глинистый минерал, хитозан.



**T.V. Gudzenko, O.V. Voliuvach, T.A. Beliaeva, O.G. Gorshkova,
I.V. Puzyreva, V.O. Ivanytsia**

Odesa Mechnykov National University, 2, Dvoryanska str., Odesa,
65082, Ukraine, e-mail: v_ivanit@ukr.net

REMOVE OF HEXADECYLPYRIDINIUM BROMIDE FROM AQUEOUS SOLUTIONS BY BACTERIA OF THE GENUS PSEUDOMONAS IN THEIR INTERACTION WITH CLAY MINERAL AND CHITOSAN

Summary

The aim. Improvement of the method of removing the most common representative of cationic surfactants – biologically hard hexadecylpyridinium bromide (HDPBr) from aqueous solutions of oil oxidative bacteria of the genus *Pseudomonas* in their interaction with the natural sorbents (clay mineral and chitosan). **Methods.** Non-pathogenic bacteria *P. fluorescens* ONU328, *P. maltophilia* ONU329, *P. cepacia* ONU327 were cultivated in nutrient medium M-9 with the addition of 0.5% peptone at pH of 7.2 to 7.4. After sorbtion the residual content of cationic surfactants in solutions was determined by the colorimetric method. **Results.** In result of studies it is established that the use of bacteria *P. cepacia* ONU327, *P. fluorescens* ONU328 and *P. maltophilia* ONU329 in their interaction with the natural sorbents (clay mineral and chitosan 1:1 by weight) allows to increase in neutral environment a degree of removal HDPBr from aqueous solutions to 98.0–99.5% at the initial concentration of cationic surfactant 100 mg/l and to reduce the optimal time contact with the sorbents from 60 min in the absence of microorganisms to 20 minutes at their presence. With help of 1 g of mixed sorbent it is removed 24.5–24.9 mg of cationic surfactant from the solution. **Conclusion.** Using of biologically modified natural sorbents provides deep water purification from cationic surfactant, from salts alkylpyridinium in particular, and the stage of sorbtion is recommended to includ in a comprehensive, ecologically safe biotechnology of water purification.

Key words: hexadecylpyridinium bromide, remove, aqueous solutions, bacteria of the genus *Pseudomonas*, clay mineral, chitosan.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Абрамзон А.А., Зайченко Л.П., Файнгольд С.И.* Поверхностно-активные вещества. Синтез, анализ, свойства, применение: Учеб. пособие для вузов. – Л. : Химия, 1988. – 200 с.
2. *Волювач О.В.* Колоїдно-хімічні закономірності вилучення солей гексадецилпіридинію із водних розчинів : Дис. ...канд. хім. наук : 02.00.11 – Київ, 2006. – 135 с.
3. *Гудзенко Т.В., Волювач О.В., Бляєва Т.О., Конуп І.П., Бухтіяров А.Є., Лісютін Г.В., Пузирьова І.В., Горшкова О.Г., Іваниця В.О.* Нафтоокиснювальна активність деяких штамів бактерій роду *Pseudomonas* // Мікробіологія і біотехнологія. – 2013, № 4. – С. 72–80.
4. *ДСТУ 3812-98.* Охорона довкілля та раціональне поводження з ресурсами. Контроль оперативних стічних вод очисних споруд міст і промислових



підприємств : Загальні положення. – Введ. 1999.07.01. – Офіц. вид. – К. : Держстандарт України, 1999. – IV. 6 с.

5. *Заец С.Н., Таранова Л.А.* Бактериальная деструкция алкилнафталин-сульфоната // *Химия и технология воды.* –1998, № 5. – С. 550–555.

6. *Іваниця В.О., Гудзенко Т.В., Волювач О.В., Бєляєва Т.О., Конуп І.П., Горшкова О.Г.* Біохімічний метод очищення промислових стічних вод від поверхнево-активних речовин // *Екологічні проблеми Чорного моря, Одеса: ІНВАЦ.* – 01–02 листопада 2012 р. – С. 7–8.

7. *Поверхностно-активные вещества. Свойства, технология, применение, экологические проблемы /* Под ред. П.С. Белова. – М. : Изд-во ВЗПИ, 1992. – 171 с.

8. *Свиридов В.В., Свиридов А.В., Никифоров А.Ф.* Физико-химические основы процессов микрофлотации. – Екатеринбург : ГОУ ВПО УГЛТУ-УПИ, 2006. – 578 с.

9. *Сопрунова О.Б., Утепешева А.А., Виет Тиен Нгуен.* Микроорганизмы – деструкторы ПАВ в водных средах // *Водные биоресурсы и их рациональное использование. Вестник АГТУ. Сер. : Рыбное хозяйство.* – 2013. – № 1. – С. 83–90.

10. *Тарасевич Ю.И.* Природные сорбенты в процессах очистки воды. – К. : Наук. думка, 1981. – 208 с.

11. *Холмберг К., Йенссон Б., Кронберг Б., Линдман Б.* Поверхностно-активные вещества и полимеры в водных растворах. – М.: Бинум. Лаборатория знаний, 2007. – 528 с.

12. *Bunting J.W.* Advances in heterocyclic chemistry / Ed by. A.R. Katritzky, A.J. Boulton. – 1975. – Vol. 25. – N.Y. – 467 p.

13. *Патент* України на винахід № 95593 А. Спосіб очистки води від катіонних поверхнево-активних речовин / *Стрельцова О.О., Волювач О.В., Пузирьова І.В., Єгорцева В.О.* / Опубл. : 10.08.2011. Бюл. № 15/2011.

Стаття надійшла до редакції 12.02.2014 р.

