

11. Kozlovsky, M. P. (2004). Impact of hydrological regime onto the phytonebiont communities in the riverine oak

forests. Science Bulletin of State Lviv Forestry University, 14.8, 373–376.

Дата надходження рукопису 14.08.2015

Козловський Микола Павлович, доктор біологічних наук, відділ екосистемології. Інститут екології Карпат НАН України, вул. Козельницька, 4, м. Львів, Україна, 79026
e-mail: myk234@ukr.net

УДК 579.695

DOI: 10.15587/2313-8416.2015.50645

СПОСІБ ОЧИЩЕННЯ ВОДИ ВІД ХРОМУ (VI) ЗА ПРИСУТНІСТЮ МІКРООРГАНІЗМІВ

© О. Г. Горшкова, Т. В. Гудзенко, В. О. Іваниця, О. В. Волювач

Експериментально підтверджена висока ефективність очищення води від хрому (VI) бактеріальною поліфункціональною суспензією, складеної із асоціації непатогенних штамів бактерій роду Pseudomonas: P. fluorescens ONU328, P. maltophilia ONU329, P. cepacia ONU327 у об'ємному співвідношенні 1:1:1. Спосіб дозволяє у присутності перекису водню і хлориду кальцію очищати забруднені води від хрому (VI) з концентрацією до 70 мг/дм³ до значень концентрації, менших гранично-допустимої концентрації

Ключові слова: очищення води, хром (VI), бактерії роду Pseudomonas, непатогенні, поліфункціональні

The high efficiency of water purification from chromium (VI) by the polyfunctional bacterial suspension consisted of the association of non-pathogenic bacteria strains of the genus Pseudomonas: P. fluorescens ONU328, P. maltophilia ONU329, P. cepacia ONU327 in a volume ratio of 1:1:1 is experimentally confirmed. The method allows in the presence of hydrogen peroxide and calcium chloride to purify contaminated water from chromium (VI) with concentration up to 70 mg/dm³ to values of concentration smaller than the maximum allowable concentration

Keywords: water purification, chromium (VI), bacteria of the genus Pseudomonas, non-pathogenic, polyfunctional

1. Вступ

Важкі метали утворюють групу найнебезпечніших забруднювачів довкілля [1]. 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.

2. Постановка проблеми

Значні кількості хрому можуть надходити у водойми зі стічними водами гальванічних виробництв, фарбувальних цехів текстильних підприємств, шкіряних заводів і підприємств хімічної промисловості [2]. Скидати такі води 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 мг/дм³, в підземних водах – знаходиться у межах $n \cdot 10 - n \cdot 10^2$ мг/дм³. Вміст Cr (VI) у водоймах, призначених для санітарно-побутового використання не повинен перевищувати його гранично-допустимої концентрації (ГДК) 0,05 мг/дм³ [2].

Токсичність водорозчинних сполук хрому знаходиться в прямій залежності від валентності хрому: найбільш отруйливі сполуки, в яких хром шестивалентний, високотоксичними є сполуки Cr (III), мета-

левій хром і сполуки хрому (II) менш токсичні. Хром володіє канцерогенним ефектом, руйнує центральну нервову систему, чинить руйнівну дію на репродуктивну функцію організму. Незалежно від шляху надходження в організм людини в першу чергу уражаються нирки – спочатку канальцевий апарат, потім судинна сітка з переважним ураженням клубків. Страждають також функції печінки та підшлункової залози. Також хром викликає рак легенів, злоякісні утворення в шлунково-кишковому тракті, дерматити [3].

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

3. Літературний огляд

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 не модифікованих 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 [4]. Особливу увагу привертають хімічно модифіковані сорбенти з поліпшеними адсорбційними властивостями щодо аніонних форм важких металів [5].

Недоліком сорбції хромат-іонів на природних не модифікованих 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 та, на жаль, порівняно з миттєвою адсорбцією ванадат- та вольфрамат-іонів композитом силікагель-поліанілін за рахунок комплексоутворення цих металів з нанесеним полімером стан рівноваги при адсорбції хромат-іонів (pH_{opt} 2) триває 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 [6]. Суть способу полягає в тому, що в біореактор вносять поживний розчин, біомасу мікроорганізмів та Cr (VI) в концентрації 20 мг/дм³. 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 відносяться: 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 [7]. 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 способу [7] 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 вище наведеного 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.

Відомий спосіб [8], 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/дм³): KH_2PO_4 – 0,5; NH_4Cl – 1,0; Na_2SO_4 – 4,5; $CaCl_2 \times H_2O$ – 0,06; $MgSO_4 \times 7H_2O$ – 0,06; натрій лактат – 6,0; дріжджовий екстракт – 1,0; $FeSO_4 \times 7H_2O$ – 0,004; аскорбінова кислота – 1,0; pH – 7,6 при темпе-

ратурі 28–30 °C в анаеробних умовах протягом 4–5 діб в атмосфері аргону. Одержану біомасу віддалять від середовища центрифугуванням, відмивають фізрозчином і засівають у модифіковане середовище без іонів сульфату такого складу (г/дм³): KH_2PO_4 – 0,5; NH_4Cl – 1,0; $NaCl$ – 1,0; $CaCl_2 \times H_2O$ – 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 способу [8] 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 іммобілізованих мікроорганізмами пористих сорбентів, 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 та поліфункціональність дії використаної асоціації мікроорганізмів щодо супутніх токсикантів, що зазвичай присутні у стічних водах.

4. Спосіб очищення води від хрому (VI) за присутністю непатогенних штамів бактерій роду *Pseudomonas fluorescens* ONU328, *Pseudomonas maltophilia* ONU329, *Pseudomonas cepacia* ONU327

В основу наукового дослідження поставлено задачу удосконалити спосіб очищення води від хрому (VI) мікроорганізмами шляхом використання асоціації непатогенних мікроорганізмів поліфункціональної дії і екологічно безпечних хімічних реагентів, що дозволить підвищити ефективність очищення водного середовища, зокрема промислових стічних вод гальванічних виробництв, від токсичного шестивалентного хрому при вихідній високій концентрації Cr (VI) 70 мг/дм³, та прискорити процес очищення.

Поставлена задача вирішується способом очищення води від хрому (VI) за присутністю мікроорганізмів, який полягає в тому, що промивні стічні води гальванічних виробництв та інших небезпечних виробництв, у складі яких присутній хром (VI) у концентрації до 70 мг/дм³ очищують мікробіологічним реагентом у присутності перекису водню і хлориду кальцію, який відрізняється від [8] тим, що в якості мікробіологічного реагенту використовують бактеріальну суспензію, складену із асоціації непатогенних штамів бактерій роду *Pseudomonas*: *P. Fluo-*

rescens ONU328, *P. maltophilia* ONU329, *P. cepacia* ONU327 у об'ємному співвідношенні 1:1:1.

На відміну від [8] кожен з штамів бактерій роду *Pseudomonas*: *P. fluorescens* ONU328, *P. maltophilia* ONU329, *P. cepacia* ONU327 та їх асоціація (1:1:1) володіє поліфункціональною дією не тільки по відношенню до хрому (VI), але й по відношенню до таких високотоксичних катіонів металів як: свинець [9], кадмій [10]; до нафтопродуктів і поверхнево-активних речовин – [11, 12], що можуть бути присутніми разом із хромом (VI) у стічних водах.

Пропонований спосіб очищення води від хрому (VI) здійснювали наступним чином. Забруднену хроматіонами та різними механічними домішками воду направляли спочатку у відстійник, де контролювали температуру і при необхідності доводили рН до значення, близького до нейтрального. Потім воду спрямовували у ємність, де відбувалось 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 підводили інкулятор, заповнений бактеріальною суспензією (мікробіологічний реагент), складеної із асоціації непатогенних штамів бактерій роду *Pseudomonas*: *P. fluorescens* ONU328, *P. maltophilia* ONU329, *P. cepacia* ONU327 (1:1:1 за об'ємом), та дозатори розчинів перекисню водню і хлориду кальцію. Через 10–15 хв після введення мікробіологічного реагенту дозатором вводили перекис водню та хлорид кальцію.

Культури бактерій попередньо нарощували на поживному середовищі М-9 із додаванням пептону, дріжджового екстракту і глюкози. Нарощування біомаси здійснювали при рН 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 змішували із забрудненою хромом (VI) водою в об'ємному співвідношенні 1:1 та проводили стерилізацію протягом 20 хв.

Під дією перекису водню і хлориду кальцію суттєво пришвидшувався процес утворення в однорідній суспензії біофлорів (за відсутністю хімреагентів агрегація бактерій протікає значно повільніше і відбувається під дією полісахаридних комплексів клітинної стінки). При цьому різко збільшувалась загальна адсорбційна ємність системи і, відповідно, ефективність очищення води від хрому (VI).

Дослідження по очищенню води від хрому (VI) за 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 (виді-

лені з морської води), *P. cepacia* ONU327 (виділений із ґрунту), що зберігаються в колекції мікроорганізмів кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології ОНУ імені І. І. Мечникова.

Результати по очищенню води від хрому (VI) іммобілізованими за присутності перекису водню і хлориду кальцію клітинами бактерій роду *Pseudomonas* після автоклавовання представлені в табл. 1.

Таблиця 1
Ступінь очищення води від Cr (VI) за її обробки різними штамми бактерій роду *Pseudomonas*

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. cepacia</i> ONU327	4,9±0,70	93,4
Асоціація (1:1:1) <i>P. cepacia</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>P. maltophilia</i>	0,05±0,002	99,9

Примітка: вихідна концентрація Cr (VI) у воді – 70 мг/дм

Як видно із даних табл. 1, із трьох непатогенних штамів бактерій роду *Pseudomonas* найбільшою сорбційно-акумуляуючою здатністю володіє штам *P. cepacia* ONU327, що забезпечує ступінь очищення води від Cr (VI) на 93,4 % при його залишковому вмісті у воді 4,9±0,70 мг/дм³.

Залишкову концентрацію хрому (VI) у розчинах після очищення визначали методом електротермічної атомно-абсорбційним спектрофотометрії з використанням приладу «Сатурн-2» у полум'ї суміші «повітря – пропан – бутан». Результати дослідження оброблювали статистично з використанням програми «SPSS 19 для Windows».

Найефективнішим мікробіологічним реагентом, що виконує одночасно функції біосорбенту і біоаккумулятору Cr (VI) є асоціація штамів бактерій *P. fluorescens* ONU328, *P. maltophilia* ONU329, *P. cepacia* ONU327 (1:1:1 в об'ємному співвідношенні).

5. Апробація результатів досліджень

Розроблений спосіб очищення води від хрому (VI) пройшов успішні лабораторні випробування при очищенні стічної води одного із гальванічних цехів та електростанції. Спосіб ефективний навіть за присутності катіонів важких металів і екологічно безпечний для людини і навколишнього середовища через використання непатогенних штамів бактерій *P. Fluorescens* ONU328, *P. maltophilia* ONU329, *P. cepacia* ONU327.

6. Висновки

Таким чином, основними перевагами пропонуемого біологічного способу в порівнянні з [8] 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 поллютантів (Cd,

Pb, нафтопродукти тощо), що розкриває більш широкі перспективи їх використання в біотехнології очищення багатокомпонентних стічних вод.

Література

1. Грушко, Я. М. Вредные неорганические соединения в промышленных сточных водах [Текст] / Я. М. Грушко – Л.: Химия, 1979. – 161 с.
2. Тяжелые металлы [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://biology.krc.karelia.ru/misc/hydro/mon5.html>
3. Бингам, Ф. Т. Некоторые вопросы токсичности ионов металлов [Текст] / Ф. Т. Бингам, Ф. Д. Прья, У. М. Джерелл; Под ред. Х. Зигеля, А. М. Зигеля. – М.: Мир, 1993. – 230 с.
4. Тарасевич, Ю. И. Адсорбция на глинистых минералах [Текст] / Ю. И. Тарасевич, Ф. Д. Овчаренко. – К.: Наук. думка, 1975. – 351 с.
5. Рябченко, К. В. Адсорбційні властивості силікагелю in situ іммобілізованим поліанліном щодо аніонних форм Cr (VI), Mo (VI) та V (V) [Текст] / К. В. Рябченко, Е. С. Яновська, В. А. Тьортих, О. Ю. Кичкирук // Вопросы химии и химической технологии. – 2011. – № 6. – С. 167–172.
6. Гвоздяк, П. И. Восстановление шестивалентного хрома коллекционными штаммами бактерий [Текст] / П. И. Гвоздяк, Н. Ф. Могилевич, А. Ф. Рильський, Н. И. Грищенко // Микробиология. – 1986. – Т. 55, № 6. – С. 962–965.
7. Дмитренко, Г. Н. Использование мембранного био-реактора для восстановления шестивалентного хрома [Текст] / Г. Н. Дмитренко, В. В. Коновалова, П. И. Гвоздяк // Химия и технология воды. – 2001. – Т. 23, № 5. – С. 552–562.
8. Патент України на корисну модель № 71666. Спосіб очистки стічних вод від шестивалентного хрому мікроорганізмами [Текст] / Перетятко Т. Б., Гудзь С. П., Шоляк К. В. – Опубл.: 25.07.2012, Бюл. № 4, 2012.
9. Патент України на корисну модель № 76922. Біо-сорбційний спосіб очистки води від іонів свинцю [Текст] / Іваниця В. О., Гудзенко Т. В., Волювач О. В., Беляєва Т. О., Конуп І. П., Баранов О. О. – Опубл.: 25.01.13, Бюл. № 2.
10. Патент України на корисну модель № 79392. Біо-сорбційний спосіб очистки води від кадмію [Текст] / Пузи-рьова І. В., Іваниця В. О., Гудзенко Т. В., Волювач О. В., Беляєва Т. О., Конуп І. П., Баранов О. О. – Опубл.: 25.04.13, Бюл. № 8.
11. Гудзенко, Т. В. Нафтоокиснювальна активність деяких штамів бактерій роду *Pseudomonas* [Текст] / Т. В. Гудзенко, О. В. Волювач, Т. О. Беляєва, І. В. Пузи-рьова, Г. В. Лісютін, О. Г. Горшкова, В. О. Іваниця // Мік-робиологія і біотехнологія. – 2013. – № 4. – С. 72–80.
12. Гудзенко, Т. В. Видалення броміду гексадеци-лпіридинію із водних розчинів з бактеріями роду

Pseudomonas за їх взаємодії з глинистим мінералом та хітозаном [Текст] / Т. В. Гудзенко, О. В. Волювач, Т. О. Беляєва, О. Г. Горшкова, І. В. Пузирьова, В. О. Іваниця. // Микробиологія і біотехнологія. – 2014. – № 1 (25). – С. 72–78.

References

1. Grushko, J. M. (1979). Harmful inorganic compounds in industrial wastewater. Leningrad: Chemistry, 161.
2. Tjzhelye metally. Available at: <http://biology.krc.karelia.ru/misc/hydro/mon5.html>
3. Bingham, F. T., Pr'a, F. D., Jarell, W. M.; Zygelja, H., Zygelja, A. M. (Eds.) (1993). Some problems of the toxicity of metal ions. Moscow., USSR: World, 230.
4. Tarasevich, Y. I., Ovcharenko, F. D. (1975). Adsorption on clay minerals. Kyiv.: Nauk. Dumka, 351.
5. Ryabchenko, K. V., Yanovsky, E. S., Torti, V. A., Kickery, O. Y. (2011). Adsorption properties of silica gel in situ immobilized polyaniline relative to anionic forms of CR (VI), Mo (VI) V (V). Questions of chemistry and chemical technology, 6, 167–172.
6. Gvozdyak, P. I., Mogilevich, N. F., Rilski, A. F., Grischenko N. (1986). Recovery of hexavalent chromium collectible strains of bacteria. Microbiology, 55 (6), 962–965.
7. Dmitrenko, G. N., Konovalov, V. V., Gvozdyak, P. I. (2001). The use of membrane bioreactor for recovery of hexavalent chromium. Chemistry and technology of water, 23 (5), 552–562.
8. Peretiatko, T. B., Gudzy, S. P., Solyak, K. V. (2012). Patent of Ukraine for useful model № 71666. Method of sewage purification from hexavalent chromium with microorganisms. With. Publ.: 25.07.2012, № 4.
9. Ivanytsia, V. O., Gudzenko, T. V., Voliuvach, O. V., Beliaeva, T. O., Konup, I. P., Baranov, O. O. (2013). Patent of Ukraine for useful model № 76922. Biosorption method of water purification from ions of lead. With. Publ.: 25.01.13, № 2.
10. Puzyreva, I. V., Ivanytsia, V. O., Gudzenko, T. V., Voliuvach, O. V., Beliaeva, T. O., Konup, I. P., Baranov, O. O. (2013). Patent of Ukraine for useful model № 79392. Biosorption method of purification of cadmium from water. With. Publ.: 25.04.13, № 8.
11. Gudzenko, T. V., Voliuvach, O. V., Beliaeva, T. O., Konup, I. P., Bukhtiarov, A. E., Lisiutin, G. V., Puzyreva, I. V., Gorshkova, O. G., Ivanytsia, V. O. (2013). Oil oxidative activity of some strains of bacteria of *Pseudomonas* genus. Microbiology&Biotechnology, 4, 72–80.
12. Gudzenko, T. V., Voliuvach, O. V., Beliaeva, T. O., Gorshkova, O. G., Puzyreva, I. V., Ivanytsia, V. O. (2014). Remove of hexadecylpyridinium bromide from aqueous solutions by bacteria of the genus *Pseudomonas* in their interaction with clay mineral and chitosan. Microbiology&Biotechnology, 1 (25), 72–78.

Дата надходження рукопису 18.08.2015

Горшкова Олена Георгіївна, молодший науковий співробітник, кафедра мікробиології, вірусології та біотехнології, Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, вул. Дворянська, 2, м. Одеса, Україна, 65082

Гудзенко Тетяна Василівна, кандидат біологічних наук, доцент, кафедра мікробиології, вірусології та біотехнології, Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, вул. Дворянська, 2, м. Одеса, Україна, 65082
E-mail: 7872930@mail.ru

Іваниця Володимир Олексійович, доктор біологічних наук, професор, кафедра мікробиології, вірусології та біотехнології, Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, вул. Дворянська, 2, м. Одеса, Україна, 65082

Волювач Ольга Вячеславівна, кандидат хімічних наук, старший науковий співробітник, кафедра мікробиології, вірусології та біотехнології, Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, вул. Дворянська, 2, м. Одеса, Україна, 65082