

Рекомендує до друку

Н. М. Дробик

Надійшла 27.01.2017

УДК 579.695

О. Г. ГОРШКОВА, Т. В. ГУДЗЕНКО, О. В. ВОЛЮВАЧ

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082

## **БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ШТАМУ *PSEUDOMONAS* *SERACIA* ONU-327 – ДЕКТРУКТОРА ФЕНОЛЬНИХ І ВАЖКО ОКИСНЮВАЛЬНИХ СПОЛУК**

---

Експериментально встановлено, що відібраний із забрудненого ґрунтового середовища біохімічно активний непатогенний штам мікроорганізму – ідентифікований як *Pseudomonas seracia* ONU-327, здатен переносити “залпові навантаження” іонів важких металів. Виявлена висока сорбційно-акумуляуюча здатність штаму *P. seracia* ONU-327 у складі біофлокулу щодо

Cu (II), Zn (II), Pb (II), Cr (VI) та повна дефенолізація води за його присутності дозволяють рекомендувати цей штам мікроорганізму в біотехнологіях очистки води від різних поллютантів.

*Ключові слова:* *Pseudomonas ceracia* ONU-327, сорбент іонів важких металів, деструктор фенольних сполук

На сьогоднішній день актуальними залишаються проблеми, пов'язані із охороною навколишнього середовища від високотоксичних хімічних речовин різної природи. Глибоке очищення відпрацьованих технологічних розчинів і стічних вод лише фармацевтичної промисловості, медичних закладів, хімічного, гальванічного виробництва дозволить значно поліпшити екологічний стан, перешкоджаючи потраплянню токсичних фенольних та інших важкоокиснювальних циклічних сполук та іонів важких металів у природні водойми у концентраціях, що перевищують їх гранично допустиму концентрацію (ГДК).

*Мета дослідження* – запропонувати для використання в біотехнології очистки стічних вод від фенольних і важкоокиснювальних сполук, а також іонів важких металів, непатогенний біохімічно активний штам мікроорганізму з притаманними йому за встановлених оптимальних умов поліфункціональними біотехнологічними властивостями.

### **Матеріал і методи досліджень**

Об'єктом дослідження слугував біохімічно активний штам мікроорганізму, відібраний із забрудненого ґрунтового середовища. За сукупністю морфологічних, культуральних, фізіолого-біохімічних ознак визначили його приналежність до бактерій роду *Pseudomonas ceracia* ONU-327. Для здійснення мікробіологічного способу очистки води від поллютантів бактерії культивували за температури +28 °С, у живильному середовищі складу (г/л):  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 1,5;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  – 3; NaCl – 5;  $\text{NH}_4\text{Cl}$  – 1; пептон – 10; глюкоза – 2; дріжджовий екстракт – 5 (pH = 7). Нарощування біомаси здійснювали упродовж 48 год до досягнення щільності культури не менш 5 г/л по сухій біомасі. Залишковий вміст іонів важких металів (ІВМ) у надосадовій рідині визначали атомно-абсорбційним методом на полум'яному атомно-абсорбційному спектрофотометрі «Сатурн» у полум'ї суміші «повітря – пропан – бутан». Концентрацію фенолу в пробах води визначали фотометричним аналізом, суть якого полягає в утворенні забарвлених сполук фенолу з 4-аміноантипірином за присутності гексаціаноферату (III) калію при pH 10,0. Вимірювання проводили на фотоелектроколориметрі (ФЕК) при довжині хвилі 540 нм. Експерименти здійснювали в п'яти повторах. Статистичну обробку результатів досліджень проводили, використовуючи загальноприйняті методи варіаційної статистики за допомогою програми «Microsoft Office Excel 2003» із визначенням *t*-критерію Стьюдента. Статистично вірогідною вважали різницю при  $p < 0,05$ .

### **Результати досліджень та їх обговорення**

Експериментально знайдено, що ґрунтовий штам *P. ceracia* ONU-327 виявляв стійкість до порівняно високих концентрацій ІВМ. Встановлено для окремих ІВМ їх концентрації, що є «пороговими» для досліджуваного штаму: Ni (II) – 10 мг/л; Cu (II) – 50 мг/л [1]; Zn (II) – 20 мг/л [3]; Pb (II) – 60 мг/л [4] (рис. 1).

Особливо високу резистентність штам *P. ceracia* ONU-327 виявляв до Pb (II). За встановлених «порогових» концентрацій ІВМ була проведена спроба очистки води від ІВМ іммобілізованими у складі біофлокул клітинами бактерій штаму *P. ceracia* ONU-327 (рис. 2). Сорбційно-акумуляуюча здатність штаму *P. ceracia* ONU-327 зростає в послідовності: Ni (II) < Cu (II) < Zn (II) < Pb (II). Із рис. 2 видно, що за обробки води мікробіологічним реагентом – *P. ceracia* ONU-327, у складі біофлокул концентрація Pb (II) у воді зменшувалася в найбільшому ступені з 60,0 до  $0,03 \pm 0,003$  мг/л, тобто до ГДК (ступінь очистки води  $\geq 99,9\%$ ).

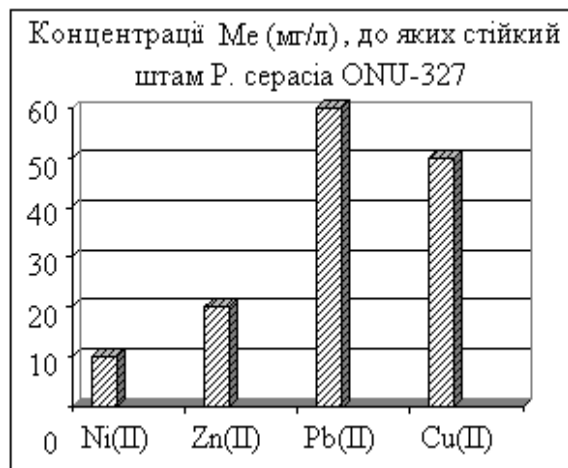


Рис. 1. Концентрації IBM (мг/л), до яких штам *P. seracia* ONU-327 виявляє стійкість

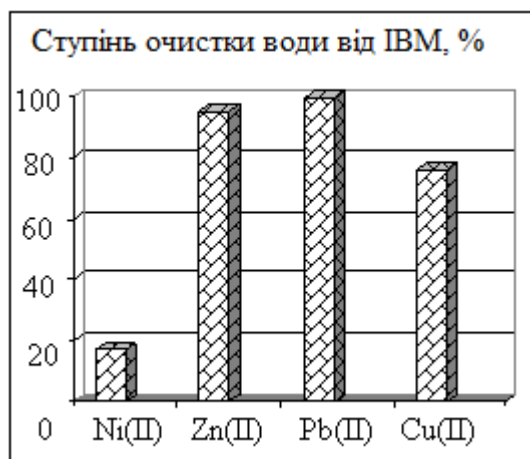


Рис. 2. Ступінь очищення води від IBM іммобілізованими клітинами бактерій штаму *P. seracia* ONU-327

Також експериментально було підтверджено високу ефективність біотехнологічної обробки промислових стоків і стічних вод медичних підприємств з переважним умістом фенольних сполук за допомогою мікробіологічного реагента – штаму *P. seracia* ONU-327. Для цього його культивували упродовж доби за температури +30 °С на МПА, бактеріальні клітини суспендували у мінеральне середовище М-9 та в кількості  $7,5 \times 10^5$  КУО/мл вносили у забруднену фенольними сполуками воду. Без додаткових енерговитрат і введення хімреагентів спостерігалась повна дефенолізація стоків. Запропонований спосіб дозволяє, порівняно з найближчим аналогом [2], досягти за присутності мікробіологічного реагенту – *P. seracia* ONU-327, ступеня очищення багатокомпонентних за складом природних та промислових вод від фенолів (з концентрацією до 300 мг/л) на рівні 95–99% та на відміну від найближчого аналога на 95-97 % вилучити супутні неорганічні поліутанти - такі іони важких металів, як: цинк, свинець, хром шестивалентний [5]. Повна дефенолізація води за температури 30 °С здійснювалась протягом 18–20 діб (рис. 3).

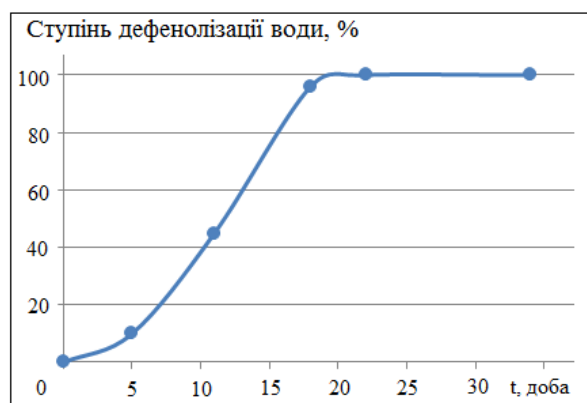


Рис. 3. Кінетична крива ступеня дефенолізації води (%) за присутності штаму *P. seracia* ONU-327 в кількості  $7,5 \times 10^5$  КУО/мл

Відомий спосіб [6], у якому деструктивну очистку стічних вод від фенолів здійснюють методом окиснення перекисом водню в присутності каталізатора, який не потребує попередньої стадії його активації, оскільки як каталізатор використовують глинистий матеріал складу (% мас.):  $\text{SiO}_2$  - 74-75;  $\text{Al}_2\text{O}_3$  - 6-7; сума  $\text{FeO}$  і  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  - 2-3;  $\text{TiO}_2$  - 0,5-1; решта – оксиди лужних та лужноземельних металів, і який викликає розклад перекису водню, що сприяє ефективному руйнуванню фенолу (ступінь очищення води від фенолу складає 97-100%). На жаль, основним недоліком [6] є використання додаткового хімічного окисника, що здатен окиснювати супутні у стічних водах органічні забруднювачі у більш токсичні, ніж вихідні

сполуки, речовини; використання сорбентів (глинистого мінералу, активованого монтморилоніту) не забезпечує глибоке очищення води від інших небезпечних поліютантів неорганічної природи (іони важких металів), присутніх у природних та промислових фенолвмісних стічних водах перелічених вище виробництв. Перевагами розробленого нами способу дефенолізації промислових вод з використанням в якості мікробіологічного реагенту *P. seracia* ONU-327 є екобезпечність, висока ефективність, простота здійснення, спосіб не викликає вторинного забруднення; є промислово використовуваним, а також не потребує кардинальних змін у технології виробництва.

### Висновки

Виявлені поліфункціональні біотехнологічні властивості непатогенного біохімічно активного штаму *P. seracia* ONU-327 дозволяють запропонувати застосовувати його у складі біопрепаратів, призначених для широкого використання в біотехнологіях очистки концентрованих технологічних розчинів і стічних вод перерахованих вище виробництв від високотоксичних іонів важких металів і фенольних сполук.

1. Гудзенко Т. В. Вилучення міді (II) та нікелю (II) із концентрованих водних розчинів глиною, хітозаном та іммобілізованими мікроорганізмами / [Т. В. Гудзенко, О. В. Волювач, Т. О. Беляєва та ін.] // Мікробіологія і біотехнологія. — 2012. — № 4. — С. 36—43.
2. Пат. 2174495 Российская Федерация. МПК C02F 1/72. Способ очистки сточных вод от фенола / Ханхасаева С. Ц., Батоева А. А., Щапова М. А., Рязанцев А. А.; заявитель и патентообладатель: Байкальский институт природопользования СО РАН. — 2000110942/12; заявл. 28.04.2000; опубл. 10.10.2001.
3. Пат. 90119 Україна. МПК C02F 1/24. Спосіб мікробіологічного очищення води від іонів цинку / Іваниця В. О., Гудзенко Т. В., Волювач О. В., Беляєва Т. О., Горшкова О. Г., Конуп І. П., Баранов О. О.; заявник і патентовласник Одеський національний університет імені І. І. Мечникова. — u201315133 ; заявл. 24.12.2013 ; опубл. 12.05.2014, Бюл. № 9.
4. Пат. 106378 Україна. МПК C02F 3/34. Спосіб мікробіологічної очистки розчинів від іонів свинцю / Іваниця В. О., Горшкова О. Г., Гудзенко Т. В., Волювач О. В., Беляєва Т. О., Конуп І. П.; заявник і патентовласник Одеський національний університет імені І. І. Мечникова. — u 2015 10227; заявл. 19.10.2015; опубл. 25.04.2016, Бюл. № 8.
5. Пат. 102265 Україна. МПК C02F 1/24, C02F 1/50, C02F/ 3/34. Спосіб очищення води від хрому (VI) з використанням мікроорганізмів / Іваниця В.О., Гудзенко Т.В., Волювач О.В., Горшкова О.Г., Беляєва Т.О., Конуп І.П.; заявник і патентовласник Одеський національний університет імені І. І. Мечникова. — u201503500; заявл. 15.04.2015; опубл. 26.10.2015., Бюл. № 20.
6. Пат. 74733 Україна. МПК C02F 1/72. Спосіб деструктивного очищення стічних вод від фенолів / Кашковський В. І., Войновський В. В., Матяш Л. П., Решетар Т. П. — 20040705939; заявл. 19.07.2004; опубл. 16.01.2006, Бюл. № 1.

*Е. Г. Горшкова, Т. В. Гудзенко, О. В. Волювач*

Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова

### БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ШТАММА *PSEUDOMONAS SERACIA* ONU-327 – ДЕСТРУКТОРА ФЕНОЛЬНЫХ И ТРУДНООКИСЛЯЕМЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Експериментально встановлено, що виділений із забрудненого ґрунту біохімічно активний непатогенний штамм мікроорганізму – ідентифіциований як *Pseudomonas seracia* ONU-327, способен переносить «залповые загрузки» ионов тяжелых металлов. Обнаруженная высокая сорбционно-аккумулирующая способность штамма *P. seracia* ONU-327 в составе биофлокул по отношению к Cu (II), Zn (II), Pb (II), Cr (VI) и полная дефенолизация воды в его присутствии позволяют рекомендовать данный штамм микроорганизма в биотехнологиях очистки воды от различных загрязнителей.

*Ключевые слова: Pseudomonas seracia ONU-327, сорбент ионов тяжелых металлов, деструктор фенольных соединений*

*O. G. Gorshkova, T. V. Gudzenko, O. V. Voliuvach*

I. I. Mechnikov Odessa National University, Odessa, Ukraine

### BIOTECHNOLOGICAL PROPERTIES STRAIN *PSEUDOMONAS SEPACIA* ONU-327 - PHENOLIC AND DESTRUCTOR HARD OXIDIZING COMPOUNDS

It was established experimentally that isolated from contaminated soil biochemical activity of the non-pathogenic microorganism strain - identified as *Pseudomonas sepacia* ONU-327 is capable of transferring "salvo load" of heavy metal ions. The concentrations of individual heavy metal ions were determined, which are "threshold" for the strain under study: Ni (II) - 10 mg/l; Cu (II) - 50 mg/l; Zn (II) - 20 mg/l; Pb (II) - 60 mg/l. The sorption-accumulating capacity of strain *P. cepacia* ONU-327 is increased in the sequence: Ni (II) < Cu (II) < Zn (II) < Pb (II). Especially high resistance of *P. cepacia* strain ONU-327 was detected with respect to Pb (II). It was shown that when water was treated with a microbiological reagent - *P. cepacia* ONU-327 in the biofloculs, the concentration of Pb (II) in water decreased most from 60.0 to  $0.03 \pm 0.003$  mg/l. The high efficiency of biotechnological treatment of industrial wastewater and sewage of medical enterprises with the main content of phenolic compounds was experimentally confirmed with the help of microbiological reagent - strain *P. cepacia* ONU-327. Complete dephenolization of water (in the presence of heavy metal ions) at a temperature of 30 ° C was carried out for 18-20 days. Advantages of the developed method of dephenolization of industrial waters using the strain *P. cepacia* ONU-327 is environmental safety, high efficiency, ease of implementation, does not cause secondary pollution, does not require any drastic changes in production technology. The discovered polyfunctional biotechnological properties of the nonpathogenic biochemical active strain *P. cepacia* ONU-327 make it possible to recommend it as a part of biologics intended for wide use in biotechnologies of wastewater treatment from highly toxic heavy metal ions and phenolic compounds.

*Key words: Pseudomonas sepacia ONU-327, sorbent of heavy metals, phenolic compounds destructor*