



(51) МПК  
*E02B 15/04* (2006.01)  
*C02F 3/32* (2006.01)  
*C02F 3/34* (2006.01)  
*C12N 1/26* (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,  
 ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2009147686/03, 21.12.2009

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
 21.12.2009

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 21.12.2009

(45) Опубликовано: 27.06.2011 Бюл. № 18

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2318736 C2, 10.03.2008. RU 2322400 C1, 20.04.2008. RU 2115727 C1, 20.07.1998. RU 2264357 C2, 20.04.2005. RU 2157842 C1, 20.10.2000. RU 95119734 A, 27.02.1998. RU 2133769 C1, 27.07.1999. US 4415661 A, 15.11.1983.

Адрес для переписки:

167982, г.Сыктывкар, ул.  
 Коммунистическая, 28, Институт биологии  
 Коми научного центра УрО РАН,  
 инновационная группа

(72) Автор(ы):

Шарапова Ирина Эдмундовна (RU),  
 Маркарова Мария Юрьевна (RU),  
 Гарабаджиу Александр Васильевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Учреждение Российской академии наук  
 Институт биологии Коми научного центра  
 Уральского отделения РАН (RU)

## (54) КОМПЛЕКСНЫЙ БИОСОРБЕНТ НА ОСНОВЕ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ И ГРИБОВ ДЛЯ ОЧИСТКИ ВОДНЫХ СРЕД ОТ НЕФТИ И НЕФТЕПРОДУКТОВ В ПРИСУТСТВИИ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

(57) Реферат:

Изобретение относится к нефтяной промышленности и экологии и может быть использовано для очистки поверхности природных и искусственных водоемов, сточных вод и жидких отходов производств от загрязнений нефтью и нефтепродуктами с одновременной утилизацией загрязнения микроорганизмами. Технический результат - увеличение скорости и полноты биodeградации нефти и токсичных нефтепродуктов. Биосорбент для очистки водоемов от нефти и нефтепродуктов, включающий в качестве носителя гидрофобный нефтяной сорбент на основе торфа и нефтеокисляющие микроорганизмы, иммобилизованные на носителе в эффективном количестве. Иммобилизование на носителе

микроорганизмов осуществляют адсорбционным способом с получением индивидуальных сорбентов: бактериального с культурой *Rhodococcus equi* P-72-00, дрожжевого с культурой *Rhodotorula glutinis* 2-4 М и грибного с мицелиальным грибом *Trichoderma lignorum* F-98, при этом комплексный биосорбент для очистки содержит композицию индивидуальных сорбентов, при следующем соотношении компонентов, мас. %: бактериальный с культурой *Rhodococcus equi* P-72-00 45-55; дрожжевой с культурой *Rhodotorula glutinis* 2-4 М 45-55, или бактериальный с культурой *Rhodococcus equi* P-72-00 45-55; грибной с мицелиальным грибом *Trichoderma lignorum* F-98 45-55, или бактериальный с культурой *Rhodococcus equi* P-72-00 40-50;

дрожжевой с культурой *Rhodotorula glutinis* 2-4 М 20-35; грибной с мицелиальным грибом *Trichoderma lignorum* F-98 25-35. Биосорбент применяют совместно с концентрированной культурой

микроводорослей *Chlorella vulgaris* Beijer при соотношении компонентов по сухому веществу, мас. %: биосорбент 90-97, биомасса микроводорослей *Chlorella vulgaris* Beijer 3-10. 3 табл.

RU 2 4 2 2 5 8 7 C 1

RU 2 4 2 2 5 8 7 C 1



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,  
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.  
*E02B 15/04* (2006.01)  
*C02F 3/32* (2006.01)  
*C02F 3/34* (2006.01)  
*C12N 1/26* (2006.01)

**(12) ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: **2009147686/03, 21.12.2009**

(24) Effective date for property rights:  
**21.12.2009**

Priority:

(22) Date of filing: **21.12.2009**

(45) Date of publication: **27.06.2011 Bull. 18**

Mail address:

**167982, g.Syktyvkar, ul. Kommunisticheskaja, 28,  
Institut biologii Komi nauchnogo tsentra UrO  
RAN, innovatsionnaja gruppa**

(72) Inventor(s):

**Sharapova Irina Ehdmundovna (RU),  
Markarova Marija Jur'evna (RU),  
Garabadzhiu Aleksandr Vasil'evich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Uchrezhdenie Rossijskoj akademii nauk Institut  
biologii Komi nauchnogo tsentra Ural'skogo  
otdelenija RAN (RU)**

**(54) COMPLEX BIO-SORBENT ON BASE OF BACTERIA STRAIN AND FUNGI FOR PURIFICATION OF WATER MEDIUM FROM OIL AND OIL PRODUCTS AT PRESENCE OF MICRO-ALGA**

(57) Abstract:

FIELD: oil and gas production.

SUBSTANCE: immobilisation on carrier of micro-organisms is performed by adsorptive procedure producing individual sorbents: bacterial with culture *Rhodococcus eqvi* P-72-00, yeast with culture *Rhodotorula glutinis* 2-4 M and fungi with filamentous fungi *Trichoderma lignorum* F-98. Also, complex bio-sorbent for purification contains a composition of individual sorbents at the following ratio of components, wt %: bacterial with culture *Rhodococcus eqvi* P-72-00 45-55; yeast with culture *Rhodotorula glutinis* 2-4 M 45-55, or bacterial with culture *Rhodococcus eqvi* P-72-00 45-55; fungi with filamentous fungi *Trichoderma lignorum* F-98 45-55, of bacterial with culture *Rhodococcus eqvi* P-72-00

40-50; yeast with culture *Rhodotorula glutinis* 2-4 M 20-35; fungi with filamentous fungi *Trichoderma lignorum* F-98 25-35. Bio-sorbent is applied together with concentrated culture of micro-alga *Chlorella vulgaris* Beijer at ratio of components for dry substance, wt %: bio-sorbent 90-97, bio-mass of micro-alga *Chlorella vulgaris* Beijer 3-10.

EFFECT: increased rate and completeness of biodegradation of oil and toxic oil products; bio-sorbent for purification of water basins from oil and oil products, as sorbent, including hydrophobic oil sorbent on base of peat and oil-oxidising micro-organisms immobilised on carrier at effective amount.

3 tbl

Изобретение относится к нефтяной промышленности и экологии и может быть использовано для очистки поверхности природных и искусственных водоемов, сточных вод и жидких отходов производств от загрязнений нефтью и нефтепродуктами с одновременной утилизацией загрязнения микроорганизмами.

Известен гидрофобный органоминеральный нефтяной биосорбент на сорбенте "СОРБОНАФТ" (№ 2318736). Биосорбент включает нефтеокисляющие микроорганизмы, а именно биомассу штамма бактерий *Rhodococcus erythropolis* НК-16 или *Arthrobacter sp.* НК-15 или дрожжевого гриба *Candida lipolytica* КБП-3308 или *Candida guilliermondii* КБП-3175, или *Pichia guilliermondii* КБП-3205, или их бактериально-дрожжевого консорциума, иммобилизованного в гидрофобный сорбент нефти на основе торфа путем обрастания сорбента бактериями и/или грибами.

Недостатком прототипа является то, что биосорбент недостаточно эффективен и с сорбированной нефтью недолго находится на поверхности, теряет гидрофобность; за 27 дней при исходном нефтезагрязнении 46% снижение содержания сорбированной нефти на 30-41%.

Задачей изобретения является получение более эффективного по показателям биодеструкции нефти и нефтепродуктов биосорбента.

Технический результат состоит в том, что биосорбент с применением различных таксономических культур микроорганизмов имеет большую скорость и полноту биодegradации нефти и токсичных нефтепродуктов по сравнению с прототипом. Новый биосорбент может осуществлять одновременно сорбцию и утилизацию нефти и нефтепродуктов с водной поверхности с сохранением гидрофобных свойств при ликвидации загрязнения с концентрацией более 50%.

Получение биомассы микроорганизмов и их иммобилизация на сорбенте могут осуществляться в крупномасштабном производстве.

Технический результат достигается тем, что биосорбент для очистки водоемов от нефти и нефтепродуктов, включающий в качестве носителя гидрофобный нефтяной сорбент на основе торфа и нефтеокисляющие микроорганизмы, иммобилизованные на носителе в эффективном количестве, согласно изобретению, в качестве микроорганизмов используют биомассу штаммов бактериальной культуры *Rhodococcus eqvi* P-72-00, дрожжевой культуры *Rhodotorula glutinis* 2-4 М и мицелиального гриба *Trichoderma lignorum* F-98, иммобилизование на носителе микроорганизмов осуществляют адсорбционным способом с получением индивидуальных сорбентов: бактериального с культурой *Rhodococcus eqvi* P-72-00, дрожжевого с культурой *Rhodotorula glutinis* 2-4 М и грибного с мицелиальным грибом *Trichoderma lignorum* F-98, при этом комплексный биосорбент для очистки содержит композицию индивидуальных сорбентов, при следующем соотношении компонентов, мас. %:

Бактериальный с культурой <i>Rhodococcus eqvi</i> P-72-00	45-55
Дрожжевой с культурой <i>Rhodotorula glutinis</i> 2-4 М	45-55
или Бактериальный с культурой <i>Rhodococcus eqvi</i> P-72-00	45-55
Грибной с мицелиальным грибом <i>Trichoderma lignorum</i> F-98	45-55
или Бактериальный с культурой <i>Rhodococcus eqvi</i> P-72-00	40-50
Дрожжевой с культурой <i>Rhodotorula glutinis</i> 2-4 М	20-35
Грибной с мицелиальным грибом <i>Trichoderma lignorum</i> F-98	25-35

и применяется совместно с концентрированной культурой микроводорослей *Chlorella vulgaris* Beijer, при соотношении компонентов по сухому веществу, мас. %:

5 Штаммы используемых микроорганизмов депонированы: *Rhodococcus equi* P-72-00 (справка о депонировании №2705 от 18.11.2005, выданная НИИ «Коллекция культур микроорганизмов» ФГУН ГНЦ ВБ «ВЕКТОР», регистрационный номер В-1117) и дрожжевая *Rhodotorula glutinis* 2-4 М (справка о депонировании №2205 от 18.11.2005, выданная НИИ «Коллекция культур микроорганизмов» ФГУН ГНЦ ВБ «ВЕКТОР»  
10 регистрационный номер Y-1112). Штамм мицелиального гриба *Trichoderma lignorum* F-98 (имеет паспорт ВКПМ (Всероссийская Коллекция Промышленных Микроорганизмов)). Зеленые водоросли рода *Chlorella* хранятся в коллекции в Лаборатории Радиобиологии Института Биологии Коми научного центра УрО РАН.

15 Авторами разработки используемым для иммобилизации сорбента штаммам бактерий и грибов присвоены следующие обозначения:

*Rhodococcus equi* P-72-00 (бактериальный сорбент - Сб)

*Rhodotorula glutinis* 2-4 М (дрожжевой сорбент - Сд)

*Trichoderma lignorum* F-98 (грибной сорбент - Ст)

20 Микроорганизмы и их консорциумы, как и биосорбенты в целом, характеризуются, как экологически нетоксичные.

Используемый термофильный штамм одноклеточной зеленой водоросли *Chlorella vulgaris* Beijer отличается очень высокой экологической пластичностью к  
25 антропогенным факторам разнообразным ядохимикатам, тяжелым металлам, а также к нефти и нефтепродуктам (Мельников С.С., Мананкина Е.Е. Хлорелла: физиологически-активные вещества и их использование. Минск: Наука и техника, 1991. 79 с.; Дубовик И.Е. Влияние углеводов нефти на одноклеточные водоросли // Физиол. и биохим. Клетки при действии экстремальных факторов: Сб. науч.тр. Уфа: БашГУ, 1988. С.95-100; Кузьмахметов Г.Г. Способ оценки загрязнения почв по морфологическим показателям популяций водорослей // Почвоведение. 1993. №8. С.114-117).

Грибы играют заметную роль в деградации нефти в почве и способны  
35 утилизировать полиароматические углеводороды (ПАУ) (Bossert, I., Bartha R. The fate of petroleum in soil ecosystems // Petroleum microbiology. - New York: Macmillan Publishing Co., 1984. - P.435-473; Козлов, 2002, Александрова А.В. Род *Trichoderma* Pers.: Fr. Новое в систематике и номенклатуре грибов, 2003 г.). Используемый штамм *Trichoderma lignorum* F-98 относится к целлюлозолитическим грибам.

40 Используемые штаммы бактерий *Rhodococcus equi* и дрожжей *Rhodotorula glutinis* входят в состав нефтеокисляющего препарата «Универсал» и избирательны в отношении биodeградации углеводов разных классов (Маганов, Маркарова, Муляк и др., 2006: Природоохранные работы на предприятиях нефтегазового комплекса. Часть 1. Рекультивация загрязненных нефтью земель в Усинском районе  
45 Республики Коми. - Сыктывкар, 2006. - 208 с.).

Способ получения индивидуальных биосорбентов предусматривает технологию получения активной формы биопрепарата с последующей иммобилизацией  
50 микроорганизмов на носителе, экономически прост, пригоден для промышленного изготовления. Биосорбенты бактериальный, дрожжевой и грибной получают способом адсорбции на сорбенте «Сорбонафт». Адсорбция клеток обеспечивает как высокую клеточную нагрузку (порядка 1 г влажной биомассы на 1 г носителя), так и необратимое связывание больших количеств биомассы. Активность и стабильность

получаемых индивидуальных сорбентов не ниже соответствующих параметров аналогов, полученных с применением других методов. Данный способ дешев, прост, универсален и не оказывает стрессовых воздействий на клетки.

Для использования применяют «смешанный» биосорбент или композицию индивидуальных биосорбентов.

Комплексный биосорбент для очистки содержит композицию индивидуальных биосорбентов, при следующем соотношении компонентов, мас. %:

Бактериальный с культурой <i>Rhodococcus equi</i> P-72-00	45-55
Дрожжевой с культурой <i>Rhodotorula glutinis</i> 2-4 М	45-55
или Бактериальный с культурой <i>Rhodococcus equi</i> P-72-00	45-55
Грибной с мицелиальным грибом <i>Trichoderma lignorum</i> F-98	45-55
или Бактериальный с культурой <i>Rhodococcus equi</i> P-72-00	40-50
Дрожжевой с культурой <i>Rhodotorula glutinis</i> 2-4 М	20-35
Грибной с мицелиальным грибом <i>Trichoderma lignorum</i> F-98	25-35

Способ получения биосорбента и его свойства показаны на примерах в модельных опытах. В качестве гидрофобного нефтяного сорбента на основе торфа использовали сорбент с торговым названием «СОРБОНАФТ».

В опытах предусмотрено иммобилизование микроорганизмов в нефтяной сорбент, получение индивидуальных сорбентов, их комбинирование и затем, после нанесения сорбента в загрязненную водную поверхность внесение накопительной культуры микроводорослей (МВ) рода *Chlorella*, а так же последующее в ходе опытов (в начале и конце) определение степени деструкции ими адсорбированной сорбентом нефти и нефтепродуктов (НП) в воде и в сорбенте.

Полученный биосорбент применяется совместно с концентрированной культурой микроводорослей *Chlorella vulgaris* Beijer, при соотношении компонентов по сухому веществу, мас. %:

биосорбент	90-97
биомасса микроводорослей <i>Chlorella vulgaris</i> Beijer	3-10

В условиях лаборатории проведены испытания биосорбентов с целью оптимизации процесса деградациии нефти на загрязненных водных поверхностях. В соответствии с этим в первом опыте изготавливали биосорбенты, а именно готовили биомассу микроорганизмов и вносили их в сорбент, во втором опыте полученные биосорбенты, обогащенные индивидуальными микроорганизмами и биомассу МВ распыляли на водную поверхность, загрязненную определенным количеством нефти и дизельного топлива, или в загрязненную нефтепродуктами воду шламонакопителя аэропорта г.Сыктывкар.

Опыт 1. Получение биосорбента на основе сорбента «Сорбонафт» включает глубинное культивирование микроорганизмов (м/о) с последующим концентрированием и иммобилизацией накопительной культуры на носителе. Для получения биомассы клеток м/о (бактериального, дрожжевого и мицелиального грибов) чистые культуры выращивали в условиях глубинной ферментации на комбинированной (углеводно-углеродной) питательной среде, включающей минеральные соли азота, фосфора, калия. Питательная среда индивидуальна по минеральному составу и рН для бактериальной, дрожжевой и грибной культур м/о. Культивирование индивидуальных культур проводили при 22-25°C в условиях интенсивной аэрации на качалке при 220 об/мин в течение 2-3 суток. По достижении плотности культур не менее 3,0-5,0 г/л по сухой биомассе, культуральную жидкость

центрифугировали, в полученном осадке концентрация сухой биомассы достигала 15-20 г/л. В лабораторных условиях по 1 мл концентрированной биомассы каждой из индивидуальных культур перемешивали с 1 г сорбента «Сорбонафт», высушивали полученные таким образом биосорбенты при температуре не более 35°C и получали индивидуальные биосорбенты, готовые к дальнейшему применению.

В сорбентах был определен клеточный титр (Тк), под которым понимается количество жизнеспособных клеток микроорганизмов, иммобилизованных на 1 г адсорбента-носителя. Тк определялся по разности концентраций клеточной суспензии до и после контакта с адсорбентом, а также методом предельных разведений посевом сорбента. Число клеток в суспензии определялось методом Коха по стандартной методике. Время контакта клеток для бактериальной, дрожжевой и грибной культур м/о с сорбентом 3-20 часов (оптимальный срок 6 часов). Также была определена дегидрогеназная активность (Хазиев Ф.Х. Методы почвенной энзимологии. М.: Наука, 2005. - 252 с.) сорбентов после высушивания, характеризующая углеводородокисляющую активность биосорбентов. Все клетки находились в экспоненциальной фазе роста. Результаты представлены в таблице 1. Считается, что пригодными для создания биопрепаратов на носителях (сорбентах), т.е. обеспечивающими достаточно высокую клеточную нагрузку на 1 г носителя, являются те материалы, на которых клеточный титр равен  $10^7$  клеток/г носителя, для представленных сорбентов клеточный титр соответствует требованиям и сохраняется в течение 8-12 месяцев.

Накопительную культуру зеленых водорослей рода *Chlorella* - вид *Chlorella vulgaris* Вејјег получали культивированием на среде Майерса при дневном освещении или по методике (Григорьев Ю.С., Андреев А.А. «Устройство для выращивания микроводорослей», патент №2165973), с последующим концентрированием центрифугированием (2000 об/мин), с показателями по биомассе 3,5-30 г/л. Определение интенсивности развития водорослей в водной среде Са, Сб по концентрации соответствующих хлорофиллов а и b у зеленых микроводорослей по методике (Методы физиолого-биохимического исследования водорослей. Отв. редактор Топачевский А.В. - Наукова думка, 1975, стр.48-50). Культивирование водорослей - простой и малозатратный способ.

Опыт 2. Испытание полученных адсорбционным способом биосорбентов для очистки загрязненной нефтью и дизельным топливом воды.

Для живых объектов опасны в определенных концентрациях и нерастворимая составляющая нефти, и растворимые соединения, которые также входят в состав дизельного топлива и неосвинцованного бензина (Ратушняк А.А., Андреева М.Г., Латыпова В.З., Гарипова Л.Г. Токсическое действие нефти и продуктов ее переработки на *Daphnia magna* Straus // Гидробиол. Журнал. - 2000. - 25 с.). За счет обогащения сорбента м/о общая площадь поверхности контакта сорбента с поллютантом и поглощательная способность снижены, поэтому в опытах соотношение нефти и биосорбента было 2:3, а дизельного топлива и биосорбента (ДТ) 1:2.

Биосорбенты с ассоциацией м/о и жидкий концентрированный биопрепарат микроводорослей наносят на загрязненную водную поверхность, при этом осуществляется одновременная сорбция и биодеструкция нефти и нефтяных углеводородов (дизельное топливо) в присутствии микроорганизмов и зеленых водорослей.

Опыт 2.1. Готовили минеральный раствор дистиллированной воды с

азофоской (0,35% раствор), разливали по 100 мл в стеклянные колбы емкостью 250 мл, вносили в колбы нефть в количестве 2 мл (2% или 15 г/л загрязнения) и сорбента по 3 г. ДТ вносили в соответствующие варианты опыта по 1 мл (1% или 7 г/л загрязнения) и сорбента по 2 г. В варианты 4,5,6 (таблица 2) добавляли биосорбенты при соотношении, мас. %: 50:50 и 45:25:30, и микроводоросли к массе комплексного биосорбента в соотношении 1:2 и 1:3 (1 мл водорослей биомассой 3,5 г/л.). Результаты опытов приведены в таблице 2.

Опыт 2.2. Два образца загрязненной воды из шламонакопителя Аэропорта «Сыктывкар» размещали по 100 мл в стеклянные колбы емкостью 250 мл, в которые затем в варианты 3 и 4 (таблица 3) добавляли биосорбенты при соотношении мас. %:

50:50 и 50:50 и микроводоросли к массе комплексного биосорбента в соотношении 1:1. Образец 1 - исходное содержание нефтепродуктов (НП) 2,1 мг/л; образец 2 - исходное содержание НП 1,6 мг/л. Результаты опытов приведены в таблице 3.

Химические и микробиологические анализы проводили по окончании опыта, который длился 60 дней (2-3 месяца вегетационный период положительных температур на Севере). Перед анализом проводили разделение отработанного сорбента и воды фильтрованием. Концентрацию НП в воде и в сорбенте определяли флюориметрически на анализаторе «Флюорат - 02» (Методика выполнения измерений массовой доли нефтепродуктов в пробах почв на анализаторе жидкости «Флюорат - 02» ПНД Ф16.1.21-98. - М., 1998. - 15 с.). По окончании опытов 2.1. и 2.2.

рассматривали комплекс показателей, отражающих механизм и взаимосвязь процессов биологической очистки загрязненной водной среды, которые позволяют судить об эффективности биологического метода очистки водных сред УОМ, иммобилизованными на сорбентах в присутствии микроводорослей.

Наиболее интенсивно очистка от нефти в массе всех биосорбентов произошла в вариантах с внесением культуры водорослей. В вариантах 5,6 (таблица 2) с дрожжевым и бактериально-грибным биосорбентами, процент очистки составил соответственно 72,5% и 88,6%. Несколько менее интенсивно прошел процесс очистки в варианте 4 (таблица 2) с внесением композиции биосорбентов бактериального, дрожжевого и грибного 62,7%.

По окончании опыта 2.2, для очистки загрязненной нефтью воды шламонакопителя особенно эффективно было применение бактериально-грибного и бактериально-дрожжевого биосорбентов (варианты 3,4 - таблица 3).

Во всех вариантах опыта численность м/о в водной среде была на 1-2 порядка ниже, чем в массе биосорбентов. Полученные микробиологические показатели говорят об отсутствии прямой связи между численностью в водной среде культивируемых, внесенных форм м/о и их потенциальной нефтеокисляющей активностью. Так, гриб *Trichoderma* самостоятельно не активно разлагает нефтепродукты, но его мицелий служит матрицей для адгезии других УОМ, конкретно культуры *Rhodococcus equi* P-72-00 с культурой *Rhodotorula glutinis* 2-4 М, а по показателям суммарной концентрации пигментов хлорофилла а и b,  $\Sigma$ Ca, Cb, можно судить о концентрации клеток МВ.

Сорбент-носитель стимулирует микробный метаболизм за счет локализации иммобилизованных и свободных клеток в приповерхностном слое воды, тем самым ускоряя процесс биоремедиации, а водорастворимые микробные метаболиты создают условия для симбиотических отношений микробного сообщества в целом МВ - УОМ биосорбентов, за счет этого повышается эффективность применяемых биосорбентов.



Таким образом, биосорбенты способны эффективно осуществлять одновременно сорбцию и разложение нефти в водной толще и в массе сорбента, а именно при загрязнении нефтью водного субстрата до 15 г/л и более 50% массы сорбента при исходном весовом соотношении 1:1 нефти и биосорбента, а также деструкцию токсичных нефтепродуктов ДТ при концентрации около 40% или 7 г/л, бензиновых и керосиновых фракций в массе загрязненной воды шламонакопителя при исходном весовом соотношении нефтепродуктов и биосорбента 1:2. Эффективность очистки субстратов от нефти достигается за счет применения иммобилизованных на гидрофобном сорбенте штаммов бактериального, дрожжевого и грибного консорциума в присутствии зеленых микроводорослей рода *Chlorella* и состоит в снижении содержания нефтепродуктов в сорбенте за 60 суток на 70-89%.

Таблица 1

Биологические показатели иммобилизованных культур микроорганизмов на сорбенте опыта 1.

Наименование биосорбента	Иммобилизованная культура	Регистрационный №ККМ	Рабочее наименование	Тк, Титр Кл/г сорбента	АД, мг ТФФ/час 1 г сорбента
Сорбент без м/о	-		С без м/о	0	0
Бактериальный	<i>Rhodococcus egvi</i>	B-1117	Сб	$2,5 \times 10^7$	0,054
Дрожжевой	<i>Rhodotorula Glutinis</i>	Y-1112	Сд	$1 \times 10^7$	0,076
Грибной	<i>Tiichoderma lignorum</i>	F-98	Сг	$5 \times 10^7$	0,081

Таблица 2

Результаты анализов по окончании опыта 2.1.

№, наименование варианта	Загрязнитель-нефть 2%					Загрязнитель - ДТ 1%.				
	Содержание НП в сорбенте мг/г	Убыль НП в сорбенте %	Мг ТФФ/ час 1 г сорб.	Сумм-е содержание каротин оидов ΣСа,Сб мг/л	КОЕ УОМ /Лг сорбента.	Содержание НП в сорбенте мг/г	Убыль НП в сорбенте %	ТФФ/ час 1 г сорб	Сумм-е содержание каротиноидов ΣСа,Сб мг/л	КОЕ УОМ /1 г сорбента
1. Сорбент без м/о	510	6				109	9			
2. Сорбент без м/о и микроводоросли	400±130	21,5	0,009	11,1	$1,3^* 10^6$	96±24	11,9	0,004	5,77	$6,2^* 10^6$
3. Сорбент бактериальный и микроводоросли	54±13	89,4	0,285	22,3	$1,6^* 10^8$	19±5	82,5	0,047	2,29	$6,4^* 10^6$
4. Сорбент бактер-й (45%)+ Сорбент дрожжевой (25%)+ сорбент грибной (30%) и микроводоросли (3,5%) к массе комплексного биосорбента	190±50	62,7	0,055	6,1	$2,4^* 10^8$	26±6	76,1	0,052	0,59	$2,1^* 10^7$
5. Сорбент бактер-й (50 %)+ сорбент дрожжевой (50%) и микроводоросли (3,5%) к массе комплексного биосорбента	140±50	72,5	0,055	4,2	$1,3^* 10^8$	20±5	81,6	0,049	4,50	$1,2^* 10^6$
6. Сорбент бактер-й (50 %)+ сорбент грибной (50%) и микроводоросли (3,5%) к массе комплексного биосор-та	58±18	88,6	0,140	3,1	$1,9^* 10^8$	28±7	74,3	0,062	2,62	$3,6^* 10^6$

Таблица 3

Результаты анализов по окончании опыта 2.2.

№, наименование варианта	Загрязненная вода объекта 1 шламонакопителя с исходным СНП 2,1 мг/л, 1,5 г биосорбент					Загрязненная вода объекта 2 шламонакопителя с исходным СНП 1,6 мг/л, 1,5 г биосорбент				
	Содержание НП в воде мг/л	Содержание НП в сорбенте мг/г	Убыль НП в сорбенте / в воде %	Мг ТФФ/ час 1г сорбента	Суммарное содержание каротиноидов ΣСа,Сб мг/л	Содержание НП в воде мг/л	Содержание НП в сорбенте мг/г	Убыль НП в сорбенте / в воде %	Мг ТФФ/ час 1г сорбента	Суммарное содержание каротиноидов ΣСа,Сб мг/л
1. Вода+МВ + Сорбент без м/о, 3г	0,25±0,09	0,75±0,19	$\frac{64}{88}$	0,013	2,67	0,25±0,09	0,8±0,2	$\frac{50}{84}$	0,012	2,24
2. Вода+МВ+ б/с(Сб)	0,18±0,06	1,0±0,3	$\frac{52}{91}$	0,009	1,59	0,26±0,09	0,50±0,12	$\frac{68}{83}$	0,010	2,24
3. Вода+МВ+(Сб+Сд) (1:1)	0,15±0,05	0,53±0,13	$\frac{75}{92}$	0,013	1,80	0,16±0,05	0,85±0,21	$\frac{47}{90}$	0,014	1,28
4. Вода+ МВ+ б/с (Сб+Ср) (1:1)	0,15±0,05	0,63±0,16	$\frac{70}{92}$	0,022	2,66	0,12±0,04	0,63±0,16	$\frac{61}{92}$	0,017	1,83

### Формула изобретения

Биосорбент для очистки водоемов от нефти и нефтепродуктов, включающий в качестве носителя гидрофобный нефтяной сорбент на основе торфа и нефтеокисляющие микроорганизмы, иммобилизованные на носителе в эффективном количестве, отличающийся тем, что в качестве микроорганизмов используют биомассу штаммов бактериальной культуры *Rhodococcus equi* P-72-00, дрожжевой культуры *Rhodotorula glutinis* 2-4 М и мицелиального гриба *Trichoderma lignorum* F-98, иммобилизацию на носителе микроорганизмов осуществляют адсорбционным способом с получением индивидуальных сорбентов: бактериального с культурой *Rhodococcus equi* P-72-00, дрожжевого с культурой *Rhodotorula glutinis* 2-4 М и грибного с мицелиальным грибом *Trichoderma lignorum* F-98, при этом комплексный биосорбент для очистки содержит композицию индивидуальных сорбентов, при следующем соотношении компонентов, мас. %:

Бактериальный с культурой *Rhodococcus equi* P-72-00 45-55  
 дрожжевой с культурой *Rhodotorula glutinis* 2-4 М 45-55,

ИЛИ

Бактериальный с культурой *Rhodococcus equi* P-72-00 45-55  
 грибной с мицелиальным грибом *Trichoderma lignorum* F-98 45-55,

ИЛИ

Бактериальный с культурой *Rhodococcus equi* P-72-00 40-50  
 дрожжевой с культурой *Rhodotorula glutinis* 2-4 М 20-35  
 грибной с мицелиальным грибом *Trichoderma lignorum* F-98 25-35,

и применяется совместно с концентрированной культурой микроводорослей *Chlorella vulgaris* Beijer, при соотношении компонентов по сухому веществу, мас. %:

биосорбент 90-97  
 биомасса микроводорослей *Chlorella vulgaris* Beijer 3-10