



(51) МПК
C12N 1/12 (2006.01)
C02F 3/34 (2006.01)
C12R 1/89 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2014112676/10, 01.04.2014

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 01.04.2014

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 01.04.2014

(45) Опубликовано: 10.07.2015 Бюл. № 19

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2192459 C1, 10.11.2002. RU 2100292 C1, 27.12.1997. SU 1751981 A1, 10.02.1997. RU 2005777 C1, 15.01.1994. RU 2422587 C1, 27.06.2011. НОВАКОРСКАЯ И.В., ПАТОВА Е.Н., Коллекция живых штаммов микроводорослей института биологии Коми НЦ УрО РАН и перспективы ее использования, Известия Коми научного центра УрО РАН, 2014, Сыктывкар вып. 2 (10), стр.36-41

Адрес для переписки:

167982, г.Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28, каб.110, Институт биологии Коми научного центра УрО РАН, Патентно-информационная группа, Ю.В.Комовой

(72) Автор(ы):

Щемелинина Татьяна Николаевна (RU),
 Анчугова Елена Михайловна (RU),
 Тарабукин Дмитрий Валерьянович (RU),
 Володин Владимир Витальевич (RU),
 Маркарова Мария Юрьевна (RU),
 Патова Елена Николаевна (RU),
 Новаковская Ирина Владимировна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук (RU)

(54) ШТАММ ЗЕЛеной МИКРОВОДОРОСЛИ *Acutodesmus obliquus*, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫЙ ДЛЯ ОЧИСТКИ СТОЧНЫХ ВОД ОТ ЗАГРЯЗНЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ В КОММУНАЛЬНОМ ХОЗЯЙСТВЕ И ЦЕЛЛЮЛОЗНО-БУМАЖНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

(57) Реферат:

Изобретение относится к биотехнологии. Штамм зеленой микроводоросли *Acutodesmus obliquus* Syko-A Ch-055-12, обладающий способностью снижать содержание загрязняющих веществ в сточной воде, депонирован в Коллекции Микроводорослей ИФР РАН (IPPAS) под регистрационным номером IPPAS S-2016. Штамм зеленой микроводоросли *Acutodesmus obliquus* IPPAS S-2016 может быть использован для

очистки сточных очистных сооружений коммунального хозяйства и целлюлозно-бумажного предприятия от загрязняющих веществ (аммонийного азота, взвешенных веществ, железа) при высоких температурах. 1 ил., 2 пр.

.

.

RU 2 556 131 C1

RU 2 556 131 C1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11) **2 556 131** (13) **C1**

(51) Int. Cl.
C12N 1/12 (2006.01)
C02F 3/34 (2006.01)
C12R 1/89 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: 2014112676/10, 01.04.2014

(24) Effective date for property rights:
01.04.2014

Priority:

(22) Date of filing: 01.04.2014

(45) Date of publication: 10.07.2015 Bull. № 19

Mail address:

167982, g.Sykyvkar, ul. Kommunisticheskaja, 28,
kab.110, Institut biologii Komi nauchnogo tsentra
UrO RAN, Patentno-informatsionnaja gruppa,
Ju.V.Komovoj

(72) Inventor(s):

Shchemelinina Tat'jana Nikolaevna (RU),
Anchugova Elena Mikhajlovna (RU),
Tarabukin Dmitrij Valer'janovich (RU),
Volodin Vladimir Vital'evich (RU),
Markarova Marija Jur'evna (RU),
Patova Elena Nikolaevna (RU),
Novakovskaja Irina Vladimirovna (RU)

(73) Proprietor(s):

Federal'noe gosudarstvennoe bjudzhetnoe
uchrezhdenie nauki Institut biologii Komi
nauchnogo tsentra Ural'skogo otdelenija
Rossijskoj akademii nauk (RU)

(54) **STRAIN OF GREEN MICROALGA *Acutodesmus obliquus* INTENDED FOR SEWAGE TREATMENT FROM POLLUTING SUBSTANCES IN MUNICIPAL SERVICES AND PULP AND PAPER INDUSTRY**

(57) Abstract:

FIELD: biotechnologies.

SUBSTANCE: strain of green microalga *Acutodesmus obliquus* Syko-A Ch-055-12 with the ability to reduce the content of polluting substances in sewage is deposited in the Collection of Microseaweed of IPPAS under the registration number IPPAS S-2016. The strain of green microalga *Acutodesmus obliquus*

IPPAS S-2016 can be used for cleaning of waste treatment facilities of municipal services and the pulp-and-paper enterprise from polluting substances (ammonium nitrogen, suspended substances, iron) at high temperatures.

EFFECT: improvement of strain properties.
1 dwg, 2 ex

R U 2 5 5 6 1 3 1 C 1

R U 2 5 5 6 1 3 1 C 1

Изобретение относится к области биотехнологии и касается получения нового штамма микроводоросли, эффективного для снижения основных загрязняющих веществ (аммонийного азота, взвешенных веществ и железа) в сточной воде очистных сооружений при высоких температурах.

5 Известен штамм одноклеточной зеленой водоросли *Chlorella vulgaris* BIN, предназначен для получения биомассы и очистки сточных вод [Патент RU № 2192459, приоритет от 18.04.2001 г., опубликовано 10.11.2002 г.]. Штамм имеет широкий спектр температуры культивирования (20-40°C). Отсутствует сезонность в его размножении. Штамм не требователен к питательной среде и способен к высокой степени очистки
10 различных категорий сточных вод.

Недостатком штамма является гибель клеток при температуре свыше 40°C.

Задача изобретения - получение штамма микроводоросли, обеспечивающей снижение загрязняющих веществ (аммонийного азота, взвешенных веществ, железа) в сточной воде очистных сооружений при высоких температурах.

15 Техническим результатом изобретения является повышение эффективности очистки сточных вод от загрязняющих веществ при температуре (+15°C - +41°C).

Поставленная задача решена, а технический результат достигнут выделением нового штамма микроводоросли *Acutodesmus obliquus* Syko-A Ch-055-12.

20 Штамм зеленой микроводоросли *Acutodesmus obliquus* Syko-A Ch-055-12, выделен в 2012 году из биомассы активного ила аэротенков целлюлозно-бумажного предприятия. Штамм депонирован в Коллекции микроводорослей ИФР РАН (IPPAS).

В классификации микроорганизмов по группам патогенности Санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.2322-08 от 1 мая 2008 г. «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями
25 паразитарных болезней» штамм одноклеточной зеленой микроводоросли не относится.

Штамм зеленой микроводоросли *Acutodesmus obliquus* Syko-A Ch-055-12 получен путем выделения из активного ила сточных вод аэротенков на питательной среде Болда, следующего состава:

30

35

40

45

Компонент	Маточный раствор (г/л дистиллированной воды)	Используемое количество (мл)	Концентрация в конечной среде (моль)
Макроэлементы			
NaNO ₃	25	10	2,94×10 ⁻³
CaCl ₂ ·2H ₂ O	2,5	10	1,70×10 ⁻⁴
MgSO ₄ ·7H ₂ O	7,5	10	3,04×10 ⁻⁴
K ₂ HPO ₄	7,5	10	4,31×10 ⁻⁴
KH ₂ PO ₄	17,5	10	1,29×10 ⁻⁴
NaCl	2,5	10	4,28×10 ⁻⁴
Щелочной раствор ЭДТА		1	
ЭДТА	50		1,71×10 ⁻⁴
КОН	31		5,53×10 ⁻⁴
Кислый раствор железа		1	
FeSO ₄	4,98		1,79×10 ⁻⁵
H ₂ SO ₄		1	
Раствор Бора		1	
H ₃ BO ₃	11,42		1,85×10 ⁻⁴
Раствор микроэлементов		1	
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8,82		3,07×10 ⁻⁵
MnCl ₂ ·4H ₂ O	1,44		7,28×10 ⁻⁶
MoO ₃	0,71		4,93×10 ⁻⁶
CuSO ₄ ·5H ₂ O	1,57		6,29×10 ⁻⁶
Co (NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	0,49		1,68×10 ⁻⁶

В 936 мл дистиллированной воды необходимо добавить по 10 мл раствора каждого из 6 макроэлементов и по 1 мл каждого микроэлемента и по 1 мл каждого раствора микроэлементов, затем автоклавировать. pH конечного раствора - 6,6.

Штамм зеленой микроводоросли *Acutodesmus obliquus* Syko-A Ch-055-12 характеризуется следующими морфологическими, культуральными и физиологическими признаками: клетки имеют эллипсоидную форму с заостренными полюсами, иногда ассиметричными концами, диаметр клеток от 4-15 мкм, клетки одиночные, зеленые, неподвижные, клеточная стенка утолщенная, хлоропласт пристенный (с пиреноидом), жгутиков нет, образует ценобии в жидкой среде. Ценобии распадаются, клетки мельчают, некоторые округляются. Размножение вегетативным делением клеток и автоспорами. Консистенция слизистая.

Идентификацию вида проводили на основе двух молекулярных маркеров - гена 18s рРНК и ядерного транскрипта 45s (ITS1-5.8s-ITS2)[2-7].

Деревья по ITS 1-5.8 S-ITS2:

CGTGAAATTAACCACAATGCGAACCTATCTGTTCCGTGCCTTAGCTGCCAGC
 AAGGCAATTGGCTTGCCCAATTGACTTGCAAGCTGGTGGGAGTAATTTGATTA
 GCATCAGTGGCGCTTTGGCATGCTTATACACCAGTGCTAACCACTGTCAAAACCAAA
 5 CTCTGAAGCTTTGATTGCTATTAACCTGGCAATCTTAACCAAAGACAACCTCTCAACAA
 CGGATATCTTGGCTCTCGCAACGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAGTGT
 GAATTGCAGAATTCCGTGAACCATCGAATCTTTGAACGCATATTGCGCTCGAGCCCT
 CGGGCAAGAGCATGTCTGCCTCAGCGTCGGTTTATACCCTCACCCCTCTCTCSTTTTG
 10 GAGGGCTGGTCAGCTTCTAGTTGGCCTCAGGGGTGGATCTGGCTTTCCCAATTGGTT
 CACTCCGATTGGGTTGGCTGAAGCTTAGAGGCTTAAGCAAGGACCCGATATGGGCTT
 CAACTGGATAGGTAGCACCCGGCTTCTGCCGACTACACGAAGTTGTGGCTTGTGGACT
 TTGCTAGAGGCCAAGCAGGAAACATGCTTTGCATGTCTTAAACTTTTCGACCTGAGCT
 CAGGCAAGGCTACCCGCTGAACTTAAGCATATAAAA

15 на рис. 1 - представлено дерево ITS1-5.8s-ITS2, построенное методом объединения ближайших соседей. 5V - штамм Syko-A Ch-055-12.

Режим хранения штамма - периодические пересевы 1 раз в 2 месяца с хранением выросшей чистой культуры на скошенном агаре (в холодильнике при температуре не выше +10°C, освещенность ФАР 15 мкмоль м-2с-1) и в жидкой питательной на среде
 20 Болда (при комнатной температуре); в закрытых ватно-марлевыми пробками пробирках.

Родовое и видовое название штамма (на латинском языке):

Acutodesmus obliquus (Turpin) Hegewald & Hanagata

Номер штамма в коллекции Syko-A Ch-055-12.

Происхождение (источник выделения, родословная):

25 Выделен из биомассы активного ила аэротенков целлюлозно-бумажного предприятия.

Гено- и хемотаксономическая характеристика:

Зарегистрирован в GenBank (BankIt1712207BankIt172207KJ627791).

Морфологическая, физиологическая (в том числе культуральная) характеристика:

30 Морфологическое описание:

А) форма клеток - эллипсоидная с заостренными полюсами, иногда с ассиметричными концами, в культуре чаще одноклеточная или образует ценобии из 2-4 клеток, размер: дл. (4)6-15(25), шр. 3-11 мкм.

б) пиреноид_ есть

35 в) хлоропласт пристенный (с пиреноидом) (форма, цвет): зеленый

г) Наличие жгутиков и другие особенности: жгутиков нет, образует ценобии в жидкой среде.

Биотехнологическая характеристика (условия культивирования; название и свойства полезного вещества, продуцируемого штаммом; уровень активности (продуктивности)).

40 Содержится на жидкой и твердой питательной среде Болда (3N-BBM(Bold-Basal Medium with 3-fold Nitrogen))

Ph оптимальная 6,6

Источник CO₂

45 Барботаж воздухом через стерильный фильтр (2 дм³/мин скорость барботажа)

Температура: 23-25°C

Освещение: периодическое -12 свет-12 темнота.

Освещенность (вт/м² или моль квантов света на м² / сек): ФАР 40 мкмоль м-2с-1.

Продуктивность до 1 мг сухого веса на 1 литр среды за 7 суток.

Способность штамма к снижению загрязняющих веществ изучали в лабораторных опытах на сточной воде, взятой из аэротенков очистных сооружений целлюлозно-бумажного предприятия, результаты приведены в примерах ниже.

5 Пример 1. Состав сточной воды, взятой с аэротенков: взвешенные вещества - 2170 мг/дм³, аммонийный азот - 11.28 мг/дм³, железо - 0.67 мг/дм³.

10 В сточную воду, взятую с аэротенков в количестве 2 дм³, вводился штамм зеленой микроводоросли *Acutodesmus obliquus Syko-A Ch-055-12* в количестве 0.04 мл, опытная проба насыщалась кислородом в течение 14 часов при комнатной температуре и естественном освещении.

Состав очищенных сточных вод: взвешенные вещества - 1800 мг/дм³, аммонийный азот - 4.32 мг/дм³, железо - 0.41 мг/дм³.

15 Пример 2. Состав сточной воды, взятой с аэротенков: взвешенные вещества - 2170 мг/дм³, аммонийный азот - 11.28 мг/дм³, железо - 0.67 мг/дм³.

20 В сточную воду, взятую с аэротенков в количестве 2 дм³, сразу вводился штамм зеленой микроводоросли *Acutodesmus obliquus Syko-A Ch-055-12* в количестве 0.04 мл и сточная вода насыщалась кислородом в течение 14 часов при температуре T=41°C и режиме освещения фитолампой OSRAM L 18W/77.

Состав очищенных сточных вод: взвешенные вещества - 1500 мг/дм³, аммонийный азот - 3.2 мг/дм³, железо - 0.27 мг/дм³.

25 Таким образом проведенные экспериментальные проверки доказывают способность штамма зеленой микроводоросли *Acutodesmus obliquus Syko-A Ch-055-12* к жизнедеятельности при высоких температурах (+15°C - +41°C), а также его возможность снизить содержание загрязняющих веществ (аммонийного азота, взвешенных веществ, железа) в сточной воде очистных сооружений.

Формула изобретения

30 Штамм зеленой микроводоросли *Acutodesmus obliquus IPPAS S-2016*, депонированный в коллекции микроводорослей ИФР РАН (IPPAS) и предназначенный для очистки сточных вод коммунального хозяйства и целлюлозно-бумажной промышленности от загрязняющих веществ при температуре +15°C - +41°C.

35

40

45

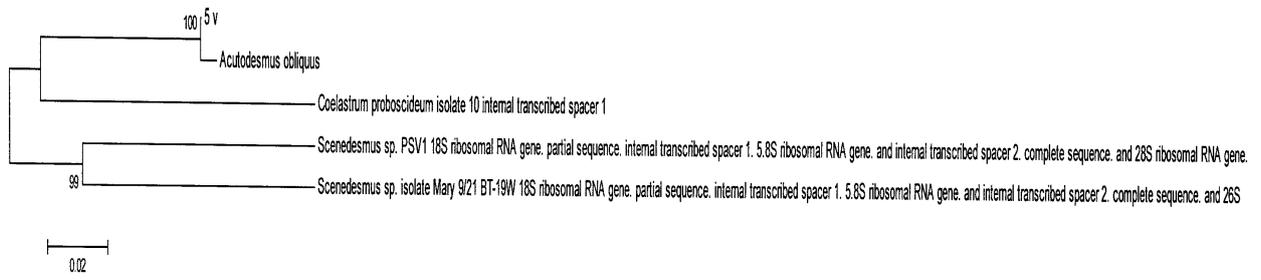


Рис. 1