

(19)



(10) LT 3111 B

(12)

PATENTO APRAŠYMAS

(11) Patento numeris: 3111

(51) Int.Cl.⁸: C12N 15/00,
C12S 1/00

(21) Paraiškos numeris: IP100

(22) Paraiškos padavimo data: 1992 07 15

(41) Paraiškos paskelbimo data: 1994 03 25

(45) Patento paskelbimo data: 1994 12 25

(72) Išradėjas:

Saulius Grigškis, LT

Egidijus Vladas Baškys, LT

Kęstutis Vilutis, LT

(73) Patento savininkas:

Saulius Grigškis, Stikilų g. 16-11, 2024 Vilnius, LT

Egidijus Vladas Baškys, Justiniškių g. 17-8, 2056 Vilnius, LT

Kęstutis Vilutis, Konarskio g. 10-9, 2015 Vilnius, LT

(54) Pavadinimas:

Naftos teršalus degraduojantis mikroorganizmas *Azotobacter vinelandii* 21

(57) Referatas:

Atrinktas naujas mikroorganizmas efektyviai degraduojantis sunkias naftos frakcijas *Azotobacter vinelandii* 21. Kamienas išskirtas iš vandens po tanklaivio avarijos užteršto sunkia nafta. Šis kamienas gali būti panaudotas gėlo ir sūraus vandens bei dirvos valymui nuo naftos ir jos produktų teršalų. *Azotobacter vinelandii* 21 deponuotas Rusijos moksliniame tiriamajame institute "Genetika" (Maskva), kolekcinis numeris BKPM B-5980 ir "Biocentro" mikroorganizmų muziejaus kolekcijoje, kolekcinis numeris BC-21.

Išradimas priskiriamas mikrobiologinei pramonei ir jis gali būti taikomas biotechnologijoje, žemės ūkyje bei gamtos apsaugoje. Išradimo esmė - naujas bakterinis kamienas, naudojamas biologiniam vandens ir dirvos valymui nuo naftos teršalų.

Žinomas iš JAV patento Nr. 3813316 *Pseudomonas aeruginosa* PAO kamienas, kuris turi kontroliuojančias angliavandenilių utilizaciją plazmides CAM, OCT, NAH ir SAL, ir naudojamas mikrobiologinei naftos ir jos produktų degradacijai.

Šio kamieno trūkumas - lėta nevalytos naftos utilizacija.

Taip pat žinomas ir SU aut.1. Nr. 612958 *Pseudomonas aeruginosa* kamienas, turintis OCT⁺, CAM⁺ ir NAH⁺ plazmides. Jis naudojamas biologiniam vandens nuo naftos ir jos produktų valymui.

Pseudomonas aeruginosa 121 kamieno trūkumas yra siauras veikimo spektras.

Artimiausias savo veikimu siūlomam kamienui yra *Pseudomonas putida* 36, degraduojantis naftą ir jos produktus vandenyje ir dirvoje. *Pseudomonas putida* 36 išskirtas Tiumenės srityje iš Belozersko naftos radimvietės, 13100 grėžinio (SU aut.1. Nr. 76446).

Šio kamieno trūkumas yra lėtas naftos, ypač aromatinės degradavimas: per 30 parų utilizuoja 74,5% parafininės naftos, o aromatinės - 68,4% nuo pradinio kiekio.

Išradimo tikslas - pagreitinėti sunkių naftos frakcijų degradavimą.

Atrinktas mikroorganizmas gali būti panaudotas gėlo ir sūraus (jūros) vandens bei dirvos valymui nuo naftos teršalų.

- 5 Siūlomas *Azotobacter vinelandii* 21 kamienas išskirtas iš vandens, užteršto sunkia nafta po tanklaivio avarijos. Kamienas deponuotas Rusijos moksliniame tiriamajame institute "Genetika" (Maskva), kolekcinis numeris BKMM B-5980.

10

Siūlomas *Azotobacter vinelandii* kamienas, deponuotas ir uždarnosios akcinės bendrovės "Biocentras" mikroorganizmų muziejaus kolekcijoje, kolekcinis numeris BC-21, pasižymi šiomis savybėmis.

15

Morfologinės. Ląstelės 0,9-1,5x1,3-2,8µm dydžio, jų forma priklausomai nuo kultūros amžiaus ir augimo sąlygų kinta nuo storų bukais galais lazdelių iki panašių į kokus. Ląstelės dažniausiai sukibę po dvi, nors yra pavienių ar susitelkusių grupėmis, turi kapsules. Judrios, turi peritrichinius žiuželius. Gramneigiamos.

20

- 25 **Kultūrinės.** Po 48 val. ant mėsos peptono agaro užauga pilkšvai balsvos, blizgančios, lygiais kraštais iškilios 2-4 mm diametro kolonijos, gleivėtos. Užsėjus kultūrą į mėsos peptono buljoną, buljonas drumsčiasi, plėvelė nesusidaro.

30

Fiziologinės. Aerobas. Katalazės reakcija teigiama, oksidazės neigiama. Auga 4-41°C temperatūroje, optimali - 30°C, 4°C ir 41°C temperatūroje augimas lėtas.

35

Silpnai hidrolizuoja krakmolą, želatinos neskystina, naudoja gliukozę, fruktozę, sacharozę, manitą, ramnozę. Asimiliuoja nitratus ir molekulinį atmosferos azotą.

Naudoja angliavandenilius: naftaliną, antracena, oktana, heksana, oktadekana, benzolą, toluolą, ksilolą, dekalina, parafiną, asfaltenus. Aromatinę naftą skaldė aktyviau negu parafininę.

5

Siūlomo *Azotobacter vinelandii* 21 ir žinomo *Pseudomonas putida* 36 kamienų naftą degraduojančių savybių bei kitų požymių palyginimas pateiktas lentelėje.

10

Azotobacter vinelandii 21 ir *Pseudomonas putida* 36 kamienų naftą degraduojančių savybių palyginimas.

Lentelė

15

Požymiai	<i>Azotobacter vinelandii</i> 21	<i>Pseudomonas putida</i> 36
Naftos degradacija:		
aromatinės (%)	80,2	68,4
parafininės (%)	75,6	74,5
Degradacijos trukmė (paros)	21	30
Sunkios naftos degradacija (%)	72,5	57,2
Degradacijos trukmė (paros)	21	21
Naftos degradacija vandenyje (%):		
gėlame	77,4	60,0
sūriame (jūros)	46,8	9,0
Angliavandenilių degradacija (%)		
antracenas	72,6	46,3
dekalinas	44,4	38,5
oktadekanas	36,7	41,6
asfaltenai	27,5	21,5

Iš lentelėje pateiktų rezultatų matyti, kad siūlomas kamienas per 21 parą parafininę naftą degradavo iki

- 75,6%, aromatinę - 80,2%, o *Pseudomonas putida* 36 per 30 parų degradavo atitinkamai iki 74,5% ir 68,4% nuo pradinio kiekio; per 21 parą *Azotobacter vinelandii* 21 degradavo 72,8%, o *Pseudomonas putida* 36 - 57% sunkios naftos nuo pradinio kiekio; *Azotobacter vinelandii* 21 degradavo 72,6% antraceno, 44,4% dekalino, 36,7% oktadekano ir 27,5% asfaltenų, o *Pseudomonas putida* 36 atitinkamai 46,3%, 38,5%, 41,8%, 21,5% nuo pradinio kiekio; *Azotobacter vinelandii* 21 gėlame vandenyje degradavo 77,4% naftos, sūriame - 46,8%, o *Pseudomonas putida* 36 atitinkamai 60,0% ir 9,0% nuo pradinio kiekio.

- Siūlomas *Azotobacter vinelandii* 21 kamienas už *Pseudomonas putida* 36 pranašesnis tuo, kad geriau ir greičiau degraduoja aromatinę bei sunkią naftą, geriau įsisavina asfaltenus, aromatinius (antracenas), ciklinius (dekalinas) angliavandenilius ir geriau kaip *Pseudomonas putida* 36 utilizuoja naftą sūriame vandenyje, kas leidžia *Azotobacter vinelandii* 21 kamieną panaudoti biologiškai valant ne tik dirvą ir gelą vandenį, nuo sunkios naftos ir jos produktų, bet ir sūrų jūros vandenį.

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

- 5 *Azotobacter vinelandii* 21 (deponuotas Rusijos mokslinio tiriamojo instituto "Genetika" (Maskva) muziejuje, kolekcinis numeris BK M B-5980) - naftą degraduojantis mikroorganizmas, naudojamas biologiniam vandens ir dirvos valymui nuo naftos teršalų.