



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

B09C 1/10 (2021.08); C02F 3/34 (2021.08); C12N 1/20 (2021.08)

(21)(22) Заявка: 2021115256, 27.05.2021

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
27.05.2021Дата регистрации:
29.12.2021

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 27.05.2021

(45) Опубликовано: 29.12.2021 Бюл. № 1

Адрес для переписки:

124482, Москва, а/я 48, Андреевой Марии
Юрьевне

(72) Автор(ы):

Саргин Борис Викторович (RU),
Остах Сергей Владимирович (RU),
Батарагин Валерий Михайлович (RU),
Шурыгина Екатерина Григорьевна (RU),
Деньгаев Алексей Викторович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Общество с ограниченной ответственностью
«Научно-производственное объединение
«Волга-Экология» (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2516412 C2, 20.05.2014. RU
2681831 C2, 12.03.2019. RU 2191753 C2,
27.10.2002. RU 2571219 C2, 20.12.2005.
БУРМИСТРОВА Т.И. и др., Биодegradация
нефти и нефтепродуктов в почве с
использованием мелиорантов на основе
активного торфа, Химия растительного сырья.
2003. N 3, с. 69-72. WO 2013007398 A1, 17.01.2013.

(54) Препарат для биодegradации нефти и нефтепродуктов (Нефтедеструктор)

(57) Реферат:

Изобретение относится к биотехнологии. Предложен препарат для биодegradации нефти и нефтепродуктов (нефтедеструктор), включающий ассоциацию бактерий: *Bacillus atrophaeus* ВКМ В-81, *Pseudomonas* spp. ВКМ В-892, *Pseudomonas putida* ВКМ В-1301, *Arthrobacter* sp. Ас-950, *Microbacterium flavescens* ВКМ Ас-1415, *Bacillus*

megaterium ВКМ В-112 в заданном соотношении. Изобретение позволяет повысить эффективность очистки почвы и акватории при температурном диапазоне от -10°C до +40°C, а также возможность утилизации углеводородной фазы при высокой концентрации солей в почве. 15 з.п. ф-лы, 2 табл., 4 пр.

C 1
2 7 6 3 4 2 8
R UR U
2 7 6 3 4 2 8
C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
B09C 1/10 (2006.01)
C02F 3/34 (2006.01)
C12N 1/20 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

B09C 1/10 (2021.08); C02F 3/34 (2021.08); C12N 1/20 (2021.08)(21)(22) Application: **2021115256, 27.05.2021**(24) Effective date for property rights:
27.05.2021Registration date:
29.12.2021

Priority:

(22) Date of filing: **27.05.2021**(45) Date of publication: **29.12.2021** Bull. № 1

Mail address:

124482, Moskva, a/ya 48, Andreevoj Marii Yurevne

(72) Inventor(s):

**Sargin Boris Viktorovich (RU),
Ostakh Sergei Vladimirovich (RU),
Bataragin Valerii Mikhailovich (RU),
Shurygina Ekaterina Grigorevna (RU),
Dengaev Aleksei Viktorovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Obshchestvo s ogranichennoi otvetstvennostiu
«Nauchno-proizvodstvennoe obiedinenie
«Volga-Ekologiya» (RU)**

(54) **PREPARATION FOR BIODEGRADATION OF OIL AND OIL PRODUCTS (OIL DESTRUCTOR)**

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: invention relates to biotechnology.
The proposed drug for biodegradation of oil and oil products (oil destructor), including the association of bacteria: *Bacillus atrophaeus* VKM B-81, *Pseudomonas* spp. VKM B-892, *Pseudomonas putida* VKM B-1301, *Arthrobacter* sp. Ac-950, *Microbacterium flavescens* VKM Ac-1415, *Bacillus megaterium* VKM B-112 in

a given ratio.

EFFECT: invention improves the efficiency of cleaning the soil and water area at a temperature range from -10°C to +40°C, as well as the possibility of utilizing the hydrocarbon phase with a high concentration of salts in the soil.

16 cl, 2 tbl, 4 ex

Изобретение относится к биотехнологии и экологии, а именно, к композициям для очистки грунта и водных объектов, загрязненных нефтяными и полициклическими ароматическими углеводородами с одновременным восстановлением физико-химических свойств и естественного биоценоза почв и акваторий.

5 Нефтедеструктор предназначен для обезвреживания нефтесодержащих отходов и изъятых нефтезагрязненных грунтов, прошедших этап очистки механическим, физическим или физико-химическим способами; локализации и ликвидации разливов нефти и нефтепродуктов; рекультивации нефтезагрязненных земель; очистки водных объектов от нефтяной пленки.

10 Применение биопрепаратов-нефтедеструкторов, включающих в свой состав штаммы углеводородокисляющих микроорганизмов, является самым экологически безопасным способом очистки и восстановления нефтезагрязненных сред ввиду образования нетоксичных продуктов в процессе биодеструкции углеводородной фазы. В настоящее время известно большое количество биопрепаратов-нефтедеструкторов.

15 Из документа RU 2681831 (МПК C12N 1/20, B09C 1/10, C02F 3/34, C12R 1/01, опубликован 12.03.2019 г.) известен препарат для биодegradации нефтепродуктов, включающий ассоциацию бактерий *Bacillus megaterium* ВКПМ В-607, *Bacillus subtilis* ВКПМ В-5328, *Pseudomonas putida* ВКПМ В-5624, *Rhodococcus erythropolis* ВКПМ АС-1269 иммобилизованную на глауконитсодержащем носителе в количестве $10^7 - 10^{10}$ клеток/г.

20 Из документа RU 2668789 (МПК C12N 1/26, B09C 1/10, C02F 3/34, C12R 1/01, C12R 1/06, C12R 1/40, опубликован 02.10.2018) известен биопрепарат-нефтедеструктор, представляющий собой ассоциацию нефтеокисляющих почвенных микроорганизмов, содержащую в качестве нефтеокисляющих почвенных микроорганизмов бактерии рода *Bacillus atrophaeus* АRK-81, *Pseudomonas putida* АRK-1301, *Rhodococcus* sp. АRK-66, *Artrobacter* sp. АRK-950, *Bacillus megaterium* АRK-396, выращенные при раздельном культивировании и смешанные до общего содержания бактерий $15-20 \times 10^9$ кл/мл.

30 Наиболее близким аналогом изобретения является техническое решение, описанное в патенте РФ RU2516412 (МПК B01J 20/10, B01J 20/283, C02F 3/34, C02F 1/28, B09C 1/10, C12R 1/125, C12R 1/32, C12R 1/38, C12R 1/40, опубликован 20.05.2014 г.). Из прототипа известен препарат для очистки воды и почвы от нефтяных загрязнений, содержащий микроорганизмы - деструкторы нефти, сорбент, микроудобрения, причем в качестве деструкторов нефти он содержит 75-85% от общего количества клеток ассоциацию нефтеокисляющих микроорганизмов: *Bacillus subtilis* ВКМ В-81, *Pseudomonas* spp. ВКМ В-892, *Pseudomonas putida* ВКМ В-1301, *Rhodococcus* sp. ВКМ Ас-950, *Mycobacterium flavescens* ВКМ Ас-1415, а также почвенные бактерии *Agrobacterium radiobacter* ВКМ В-1219 - 15-25% от общего числа клеток, криопротектор - глицерин, сорбент, представляющий собой мелкодисперсный дегидратированный цеолит с размером гранул 0,1-0,5 мм, опудренный наночастицами Аэросила А-300, микроудобрения - азотнокислый натрий 0,5% и фосфорнокислый калий 0,5%, при определенном соотношении компонентов.

45 Исходя из предшествующего уровня техники, техническая проблема состоит в создании препарата-нефтедеструктора, способного активно и эффективно работать в широком влажностно-температурном диапазоне, что позволит использовать его в разных климатических зонах.

Технический результат заключается в увеличении эффективности консорциума при использовании в более широком влажностно-температурном диапазоне от -10°C до $+40^{\circ}\text{C}$, в том числе и со значительными суточными перепадами температур, а также в

возможности утилизации углеводородной фазы при высокой концентрации солей в почве. Консорциум имеет высокую адаптивность к экстремальным условиям окружающей среды.

При проведении рекультивации нефтезагрязненных земель данный препарат можно использовать с гуматами, что позволяет улучшить качество почвы после очистки.

Для достижения указанного технического результата препарат для биодegradации нефти и нефтепродуктов (нефтедеструктор), включающий ассоциацию бактерий: *Bacillus atrophaeus* ВКМ В-81, *Pseudomonas* spp. ВКМ В-892, *Pseudomonas putida* ВКМ В-1301, *Arthrobacter* sp. Ас-950, *Microbacterium flavescens* ВКМ Ас-1415, содержит штамм бактерий *Bacillus megaterium* ВКМ В-112. Общее содержание клеток бактерий в суспензии не менее 1×10^9 КОЕ/мл.

В частном случае препарат для биодegradации нефти и нефтепродуктов может дополнительно содержать бактерии *Agrobacterium radiobacter* ВКМ В-1219 и/или бактерии *Pseudomonas turukhanskensis* ВКМ В-2935.

Дополнительный штамм бактерий *Pseudomonas turukhanskensis* ВКМ В-2935 усиливает фенолоксиляющую способность, а также работает при пониженных температурах окружающей среды, что дает перспективу его использования в регионах с коротким тепловым периодом.

В частном случае препарат для биодegradации нефтепродуктов может дополнительно содержать криопротектор - глицерин, азотнокислый натрий и/или фосфорнокислый калий. Причем азотнокислый натрий содержится в количестве 0,5% масс., фосфорнокислый калий содержится 0,5% масс.

Препарат для биодegradации может быть в виде водной суспензии с титром клеток не менее 1×10^9 КОЕ/мл, предпочтительно $(1-3) \times 10^9$ КОЕ/мл.

Препарат для биодegradации может быть в виде лиофильно высушенной биомассы штаммов с титром клеток обезвоженного продукта не менее 1×10^{11} КОЕ/г, предпочтительно $(1-8) \times 10^{11}$ КОЕ/г.

Препарат для биодegradации может быть в виде сухой формы, иммобилизованной на сорбенте. В качестве сорбента используют цеолиты, или глаукониты, или измельченные остатки древесины или торфа.

Препарат на сорбенте может быть получен методом контактно-сорбционного обезвоживания путем иммобилизации концентрированной суспензии препарата на сорбенте в шнековым смесителе, в соотношении 1:10.

Препарат для биодegradации нефтепродуктов может дополнительно содержать почвоструктуратор, в качестве которого могут быть использованы гуминовые вещества, состоящие из гуминовых кислот и/или их солей.

В препарате штаммы бактерий *Bacillus atrophaeus* ВКМ В-81, *Pseudomonas* spp. ВКМ В-892, *Pseudomonas putida* ВКМ В-1301, *Arthrobacter* sp. Ас-950, *Microbacterium flavescens* ВКМ Ас-1415, *Bacillus megaterium* ВКМ В-112 могут быть в следующих соотношениях 3:1:1:1:1:3; 2:1:1:1:1:2 или в равных соотношениях. При этом отклонение от указанных соотношений до 10% входит в указанные соотношения.

Доля клеток отдельных бактерий каждого штамма в ассоциации составляет 8-15%.

Как известно, фосфор и азот жизненно необходимы бактериям для роста и развития. Технический результат достигается за счет использования штамма бактерий *Bacillus megaterium* ВКМ В-112. Штамм бактерий *Bacillus megaterium* ВКМ В-112 является не только нефтеоксилирующим, но и способен выщелачивать фосфор (растворять, высвободить) из объектов литосферы, делая его доступным для растений и других

бактерий. Данный штамм *Bacillus megaterium* ВКМ В-112 является спорообразующим и способен выживать в суровых климатических условиях, а также при больших перепадах температур. Другой почвенный штамм *Agrobacterium radiobacter* является азотфиксирующей бактерией. Данные штаммы в совокупности являются хорошими структураторами почвы и помогают другим бактериям лучше расти и развиваться в нефтезагрязненной почве.

Ассоциация микроорганизмов может подобрана так, что различные штаммы дополняют друг друга, что обеспечивает эффективность их использования в более широком влажностно-температурном диапазоне от -10°C до $+40^{\circ}\text{C}$, в том числе и с значительными суточными перепадами температур.

Материалы, поясняющие сущность изобретения:

Таблица 1 - Остаточное содержание нефтепродуктов в почве после обработки препаратом.

Таблица 2 - Результаты лабораторных исследований.

Препарат получают следующим образом. Микроорганизмы биопрепарата *Bacillus atrophaeus* ВКМ В-81, *Pseudomonas* spp. ВКМ В-892, *Pseudomonas putida* ВКМ В-1301, *Arthrobacter* sp. Ас-950, *Microbacterium flavescens* ВКМ Ас-1415, *Bacillus megaterium* ВКМ В-112 выращиваются отдельно в биореакторе известными способами, затем готовят микробную ассоциацию смешиванием в одной емкости расчетных долей культуральных жидкостей.

Препарат может быть в виде однородной жидкой суспензии, сухой формы на сорбенте и сублимированного порошка.

Количество клеток микроорганизмов в зависимости от агрегатной формы препарата: однородная жидкая суспензия - $(1-3)\times 10^9$ КОЕ/мл; сублимированная форма - $(1-8)\times 10^{11}$ КОЕ/г; сухая форма на сорбенте - $(5-7)\times 10^9$ КОЕ/г.

Возможна адаптация консорциума под конкретный регион путем внесения аборигенных микроорганизмов, выделенных из образцов почвы нефтезагрязненного участка, на котором планируется проведение рекультивационных работ, в основной состав.

Готовый препарат в виде однородной жидкой суспензии и сублимированного порошка в активированном состоянии представляет собой жидкость от светло-коричневого и желтого до насыщенного темно-коричневого цвета со специфическим запахом, свойственным данному продукту.

Изобретение подтверждается следующими примерами:

Пример 1. Препарат получают следующим образом:

Микроорганизмы биопрепарата культивируют отдельно в промышленных ферментерах на 70-300 литров. В качестве питательной среды используется глюкозо-пептонно-дрожжевая среда. Для адаптации бактерий к деструкции углеводов на заключительной стадии культивирования добавляется 0,5 л солянки. Ферментер и питательную среду стерилизуют при температуре 120°C в течение 30 минут. pH поддерживается на уровне 7,2 при помощи аммиачной воды.

Выращивание микробных культур в ферментере проводят при температуре $32\pm 1^{\circ}\text{C}$ с постоянной подачей воздуха для аэрации и вращением мешалки $250\text{ об}\cdot\text{мин}^{-1}$ в течение 35 ± 2 ч. Контроль за температурой, расходом воздуха, разрежением в полости ферментера и pH осуществляют по ротаметру, мановакуумметру и уравновешенному мосту. Культивирование прекращают при достижении pH $(7,5\pm 0,5)$ ед. pH.

Для приготовления жидкой формы препарата все микроорганизмы смешиваются в

отдельной емкости в необходимых соотношениях. Общее количество контролируется методом высева на плотной питательной среде (ГРМ-агар). Количество живых клеток составляет $(1-3) \times 10^9$ КОЕ/мл.

5 В готовую смесь могут быть внесены необходимые добавки: азотнокислый натрий и фосфорнокислый калий, а также глицерин. Жидкую форму препарата расфасовывают в полиэтиленовые емкости с дыхательным клапаном объемом от 1 до 25 литров.

10 Сухую форму препарата получают методом контактно-сорбционного обезвоживания с иммобилизацией концентрированной суспензии на структурированных подготовленных сорбентах, имеющих пористую структуру, в шнековом смесителе. Сорбенты предварительно прокаливаются при температуре 350-400°C. Количество клеток в форме на сорбенте - $(5-7) \times 10^9$ КОЕ/г. При указанной технологии приготовления препарата влажность продукта составляет 8-10%.

15 Сублимированная форма производится на промышленной сублимационной сушильной установке ТГ-50. Количество клеток в готовом продукте составляет не менее 1×10^{11} КОЕ/г.

Форма, марка и вид применяемых препаратов варьируется в зависимости от агрегатной формы загрязненной среды, удаленности региона, вида и степени загрязнения.

20 Пример 2.

Апробация Нефтедеструктора осуществлялась в районе с коротким вегетационным периодом. В ходе проведения испытаний исследовалось совместное применение препарата и почвоструктуратора - гумино-минерального комплекса «Био-ГМК». Местом проведения являлась территория с антропогенным рельефом на территории 25 одного из месторождений, находящегося на территории Ханты-Мансийского округа - Югры, на поверхности которой были отмечены нефтяные загрязнения и разливы, а также нарушенные нефтезагрязненные земли с повышенным содержанием солей. Под проведение мероприятий был выделен участок площадью 900 м².

30 Активация жидкой концентрированной формы Нефтедеструктора происходила в течение 48 часов в двухкубовой емкости с использованием местной болотной воды, включающей в себя аборигенные нефтеокисляющие микроорганизмы. Было осуществлено поддержание непрерывной аэрации с помощью компрессора и температуры воды на уровне 24-27°C. В качестве элементов минерального питания 35 были использованы аммиачная селитра (3 кг), монокалийфосфат (2 кг) и «Азофоска» (3 кг). В качестве источника углерода был внесен сахар в количестве 10 кг.

Биологический этап рекультивации включал в себя внесение Нефтедеструктора и почвоструктуратора «Био-ГМК» на характерные загрязненные участки и последующий посев фитоэталонной смеси.

40 Результаты лабораторных исследований по остаточному нефтесодержанию представлены в таблице 1.

Помимо отслеживания динамики на двух маркированных участках, был выбран третий объект (вход на 1 участок), имеющий высокую концентрацию углеводов, который также был обработан Нефтедеструктором.

45 Проведенные испытания доказали эффективность применения биопрепарата Нефтедеструктор на нефтезагрязненных и нарушенных землях, а также синергетический эффект при его совместном применении с почвоструктуратором «Био-ГМК». Было достигнуто значение показателя нефтесодержания на нефтезагрязненных и нарушенных землях на уровне ниже установленных нормативов для территорий Ханты-Мансийского

автономного округа - Югры, а также обеспечен устойчивый растительный покров. Было доказано, что входящий в состав консорциум способен утилизировать углеводородную фазу при высокой концентрации солей в почве, что подтверждает его адаптивность к экстремальным условиям окружающей среды.

5 Анализ полученных экспериментальных данных на одном из действующих месторождений Ханты-Мансийского автономного округа - Югры показал высокую нефтеокисляющую способность Нефтедеструктора (более 85% деструкции углеводов), что дает перспективу его дальнейшего использования в условиях Западной Сибири.

10 Пример 3.

Местом проведения испытаний являлась территория с антропогенным рельефом на территории свалки, на поверхности которой были отмечены отвалы отходов и определено наличие нефтепродуктов в почве (земельный участок, занятый свалкой промышленных и бытовых отходов, расположенной за кладбищем «Красная Этна» на территории Шуваловской промзоны в Ленинском районе города Нижнего Новгорода).

15 Территория Шуваловской промзоны более чем 20 лет использовалась в качестве полигона захоронения твердых коммунальных и строительных отходов. На протяжении нескольких последних лет были отмечены случаи очагового горения на данной территории.

20 Было принято решение провести рекультивацию данного участка и в дальнейшем использовать его для нужд города. После удаления отходов с территории свалки было необходимо проведение комплекса рекультивационных мероприятий, позволяющих уменьшить негативное воздействие на окружающую среду, а также улучшить ландшафт территории и подготовить ее для возможного строительства.

25 С учетом наличия на территории нефтезагрязненных грунтов было предложено использовать биологические методы деструкции углеводов с использованием микроорганизмов-нефтедеструкторов.

На Шуваловской промзоне была оборудована и предоставлена тестовая площадка с изоляцией для проведения опытно-промышленных испытаний.

30 Последовательность проведения опытно-промышленных испытаний:

- 1) Активация Биопрепарата в сухой форме на сорбенте в течение 3 часов (аэрирование с помощью компрессора) с добавлением удобрений;
- 2) Приготовление раствора гумино-минерального комплекса «Био-ГМК», 1%;
- 3) Внесение необходимого количества препарата на каждую площадку.

35 Были отобраны пробы в день постановки эксперимента с площадок без внесенных препаратов и в день окончания эксперимента (через 45 суток) со всех площадок.

В течение всего периода проведения опытно-промышленных испытаний проводились работы по рыхлению (аэрированию) и поливу (при необходимости) почвы для лучшего развития и жизнедеятельности нефтеокисляющих микроорганизмов.

40 В таблице 2 представлены результаты исследований, полученные с помощью аккредитованной лаборатории промышленной и экологической токсикологии отдела биологических исследований НИИ химии ННГУ им. Н.И. Лобачевского.

При обработке нефтезагрязненного грунта с различной концентрацией нефтепродуктов (от 10% до 15%) Нефтедеструктором в сочетании с гумино-минеральным комплексом отмечается снижение концентрации токсиканта в грунте на 54-76% за 45 суток, что говорит об эффективности применяемой комбинации препаратов и стимулирующем действии гуматов при разложении углеводов.

Лабораторный анализ на содержание в грунте подвижных форм тяжелых металлов

показал, что в обработанном грунте их количество значительно снизилось, что говорит о способности гуминовых веществ к иммобилизации суперэкоксикантов.

Содержание в почве бенз(а)пирена, канцерогенного вещества, значительно снизилось после обработки нефтезагрязненного грунта Биопрепаратом в сочетании с

5 органиноминеральным комплексом.

Пример 4.

В ноябре 2019 года были проведены испытания Нефтедеструктора в поселении Вороновское на территории НПО «Волга-Экология» в Троицком районе города Москвы. Планировалась закладка эксперимента на зиму и отбор проб весной 2020 года для

10 проверки эффективности действия биопрепарата в межсезонный период, а также жизнеспособности микроорганизмов в условиях пониженных температур.

В ходе подготовки к проведению опытно-промышленных испытаний была оборудована площадка для проведения исследований.

Порядок проведения опытно-промышленных испытаний:

- 15 1) Активация сублимированной формы Нефтедеструктора в течение 1 часа (аэрирование с помощью компрессора) с добавлением удобрений;
- 2) Создание модельного загрязнения на площадках (дизельное топливо + мазут = 1:2 в качестве загрязнителя)
- 3) Разравнивание загрязненного грунта;
- 20 4) Внесение необходимого количества препарата на каждую площадку.

В лаборатории РГУ нефти и газа им. И.М. Губкина были проведены исследования на остаточное содержание нефтепродуктов в почве гравиметрическим методом при помощи экстрактора.

При использовании Нефтедеструктора было отмечено снижение модельного

25 загрязнения с 14,8 до 2,9%, что составляет более 80% эффективности.

Проведены опытно-промышленные испытания препарата для определения деградирующей способности, экономической целесообразности и надежности применения биопрепарата для снижения времени рекультивации земель и сокращения

30 затрат на эколого-восстановительные мероприятия. Препарат был испытан на восьми площадках в разных регионах России и показал высокую эффективность.

Промышленные испытания на объектах нефтедобычи продемонстрировали оперативность действия технологии - в течение 72 часов степень очистки достигла 94%.

Область применения препарата велика - от обеззараживания нефтезагрязненных природных водоемов и почв до обезвреживания отходов химической промышленности.

35 Препарат-нефтедеструктор способен активно и эффективно работать в широком влажностно-температурном диапазоне, что позволяет его использовать в разных регионах мира.

Таблица 1 - Остаточное содержание нефтепродуктов в почве

Наименование пробы	Остаточное содержание нефтепродуктов в почве, г/кг				Эффект, %
	Постановка ОПИ	10 суток	30 суток	45 суток	
Нефтезагрязненный участок (1)	218,6	57,1	35,8	32,2	85,27
Нефтезагрязненный участок с повышенным содержанием солей	92,2	42,2	21,4	12,1	86,88
Вход на участок 1	415,4	351,3	242,4	55,5	86,64

45 Таблица 2 - Результаты лабораторных исследований

Входной контроль			Выходной контроль		
№ пробы	Содержание нефтепродуктов, мг/кг	Результат биотестирования и фитотестирования	№ пробы	Содержание нефтепродуктов, мг/кг	Результат биотестирования и фитотестирования

1.1*	24150	- Не оказывает острое и хроническое токсическое действие - «практически неопасный» - относятся к V классу опасности	1.2	5883	- Не оказывает острое и хроническое токсическое действие - «практически неопасный» - относятся к V классу опасности
2.1	41859	- Не оказывает острое и хроническое токсическое действие - «практически неопасный» - относятся к V классу опасности	2.2	18958	- Не оказывает острое и хроническое токсическое действие - «практически неопасный» - относятся к V классу опасности

* Прим. 1.1, 2.1 - необработанные биопрепаратом площадки с концентрацией нефтепродуктов 10% и 15% соответственно; 1.2, 2.2 - обработанные Нефтедеструктором и «Био-ГМК» площадки с концентрацией нефтепродуктов 10% и 15% соответственно

(57) Формула изобретения

1. Препарат для биodeградации нефти и нефтепродуктов, включающий ассоциацию бактерий: *Bacillus atrophaeus* ВКМ В-81, *Pseudomonas* spp. ВКМ В-892, *Pseudomonas putida* ВКМ В-1301, *Arthrobacter* sp. Ac-950, *Microbacterium flavescens* ВКМ Ac-1415, отличающийся тем, что содержит штамм бактерий *Bacillus megaterium* ВКМ В-112.

2. Препарат для биodeградации нефти и нефтепродуктов по п. 1, отличающийся тем, что дополнительно содержит бактерии *Agrobacterium radiobacter* ВКМ В-1219.

3. Препарат для биodeградации нефти и нефтепродуктов по п. 1 или 2, отличающийся тем, что дополнительно содержит штамм бактерий *Pseudomonas turukhanskensis* ВКМ В-2935.

4. Препарат для биodeградации нефти и нефтепродуктов по п. 1, отличающийся тем, что дополнительно содержит криопротектор – глицерин.

5. Препарат для биodeградации нефти и нефтепродуктов по п. 1, отличающийся тем, что дополнительно содержит азотнокислый натрий и/или фосфорнокислый калий.

6. Препарат для биodeградации нефти и нефтепродуктов по п. 5, отличающийся тем, что дополнительно содержит азотнокислый натрий в количестве 0,5% масс. и/или фосфорнокислый калий 0,5% масс.

7. Препарат для биodeградации нефти и нефтепродуктов по п. 1, отличающийся тем, что общее содержание клеток бактерий не менее 1×10^9 КОЕ/мл.

8. Препарат для биodeградации нефти и нефтепродуктов по п. 1, отличающийся тем, что представляет собой водную суспензию с титром клеток $(1-3) \times 10^9$ КОЕ/мл.

9. Препарат для биodeградации нефти и нефтепродуктов по п. 1, отличающийся тем, что выполнен иммобилизованным на сорбенте, с количеством клеток $(5-7) \times 10^9$ КОЕ/г.

10. Препарат для биodeградации нефти и нефтепродуктов по п. 9, отличающийся тем, что в качестве сорбента используют цеолиты или глаукониты или измельченные остатки древесины или торфы.

11. Препарат для биodeградации нефти и нефтепродуктов по п. 9, отличающийся тем, что препарат на сорбенте получен методом контактно-сорбционного обезвоживания путем иммобилизации концентрированной суспензии препарата на сорбенте в шнековом смесителе.

12. Препарат для биodeградации нефти и нефтепродуктов по п. 1, отличающийся тем, что представляет собой сублимированную форму с титром клеток $(1-8) \times 10^{11}$ КОЕ/г.

13. Препарат для биodeградации нефти и нефтепродуктов по п. 1, отличающийся

тем, что дополнительно содержит почвоструктуратор.

14. Препарат для биодegradации нефти и нефтепродуктов по п. 13, отличающийся тем, что в качестве почвоструктуратора используются гуминовые вещества, состоящие из гуминовых кислот и/или их солей.

5 15. Препарат для биодegradации нефти и нефтепродуктов по п. 1, отличающийся тем, что штаммы бактерий *Bacillus atrophaeus* ВКМ В-81, *Pseudomonas* spp. ВКМ В-892, *Pseudomonas putida* ВКМ В-1301, *Arthrobacter* sp. Ас-950, *Microbacterium flavescens* ВКМ Ас-1415, *Bacillus megaterium* ВКМ В-112 в следующих соотношениях 3:1:1:1:1:3 или 2:1:1:1:1:2 или в равных соотношениях.

10 16. Препарат для биодegradации нефти и нефтепродуктов по п. 1, отличающийся тем, что бактерий каждого штамма в ассоциации содержится не менее 10%.

15

20

25

30

35

40

45