



(51) МПК
B01J 20/22 (2006.01)
C02F 3/34 (2006.01)
C12N 1/26 (2006.01)
C12R 1/01 (2006.01)
C12R 1/72 (2006.01)

**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2011101100/10, 12.01.2011

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 12.01.2011

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 12.01.2011

(43) Дата публикации заявки: 20.07.2012 Бюл. № 20

(45) Опубликовано: 20.07.2013 Бюл. № 20

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2318736 C2, 10.03.2008. RU 2430021 C1, 27.09.2011. RU 2319541 C2, 20.03.2008. RU 2304559 C2, 20.08.2007. RU 2259874 C2, 10.09.2005.

Адрес для переписки:

115583, Москва, а/я 130, ООО "Газпром
 ВНИИГАЗ", ОИС

(72) Автор(ы):

**Коняев Сергей Владимирович (RU),
 Пыстина Наталья Борисовна (RU),
 Листов Евгений Леонидович (RU),
 Балакирев Илья Владимирович (RU),
 Никишова Анна Сергеевна (RU)**

(73) Патентообладатель(и):

**Общество с ограниченной
 ответственностью "Научно-
 исследовательский институт природных
 газов и газовых технологий - Газпром
 ВНИИГАЗ" (RU)**

(54) БИОСОРБЕНТ ДЛЯ ОЧИСТКИ ВОДЫ ОТ УГЛЕВОДОРОДНЫХ ЗАГРЯЗНЕНИЙ И СПОСОБ ЕГО ПОЛУЧЕНИЯ

(57) Реферат:

Группа изобретений относится к промышленной биотехнологии. Предложен способ получения биосорбента для очистки воды от углеводородных загрязнений. Способ включает иммобилизацию биомассы, содержащей взятые в эффективном количестве нефтеокисляющие микроорганизмы, в органический гидрофобный сорбент на основе торфа с последующей сушкой. При этом органический гидрофобный сорбент получают путем низкотемпературного пиролиза под вакуумом измельченного до 0,2-0,5 мм торфа, который проводят при температуре 210-250°C в течение 60-90 мин. Иммобилизацию осуществляют путем внесения сорбента в суспензию биомассы в процессе ее ферментации на стадии замедления роста нефтеокисляющих

микроорганизмов. При этом масса вносимого сорбента в 6-10 раз превышает массу нефтеокисляющих микроорганизмов, содержащихся в суспензии биомассы к моменту внесения сорбента. В качестве нефтеокисляющих микроорганизмов используют штамм дрожжей *Candida maltosa* ВКПМ У-3446 или штамм бактерий *Dietzia maris* ВКПМ Ас-1824. Также предложен биосорбент для очистки воды от углеводородных загрязнений, полученный указанным способом. Техническим результатом является сокращение времени получения биосорбента, увеличение его сорбционной емкости и повышение эффективности процесса утилизации углеводородных загрязнений. 2 н.п. ф-лы, 4 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
B01J 20/22 (2006.01)
C02F 3/34 (2006.01)
C12N 1/26 (2006.01)
C12R 1/01 (2006.01)
C12R 1/72 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: **2011101100/10, 12.01.2011**

(24) Effective date for property rights:
12.01.2011

Priority:

(22) Date of filing: **12.01.2011**

(43) Application published: **20.07.2012 Bull. 20**

(45) Date of publication: **20.07.2013 Bull. 20**

Mail address:

**115583, Moskva, a/ja 130, OOO "Gazprom
VNIIGAZ", OIS**

(72) Inventor(s):

**Konjaev Sergej Vladimirovich (RU),
Pystina Natal'ja Borisovna (RU),
Listov Evgenij Leonidovich (RU),
Balakirev Il'ja Vladimirovich (RU),
Nikishova Anna Sergeevna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Obshchestvo s ogranichennoj otvetstvennost'ju
"Nauchno-issledovatel'skij institut prirodnikh
gazov i gazovykh tekhnologij - Gazprom
VNIIGAZ" (RU)**

(54) **BIOSORBENT FOR WATER CLEANING OF HYDROCARBON CONTAMINATION AND METHOD OF ITS PRODUCTION**

(57) Abstract:

FIELD: process engineering.

SUBSTANCE: set of invention relates to water treatment. Proposed method comprises immobilisation of biomass bearing oil-oxidisers taken in effective amount into organic hydrophobic peat-based sorbent and drying it. Note here that said organic hydrophobic sorbent is prepared by low-temperature pyrolysis in vacuum of peat minced to 0.2-0.5 mm size at 210-250°C for 60-90 minutes. Said immobilisation is performed by adding sorbent into biomass suspension during its fermentation at retardation of oil-oxidising microorganisms growth.

Note here that mass of added sorbent is 6-10 times larger than that of microorganisms contained in biomass suspension at the moment of sorbent application. Said oil-oxidising microorganisms represent yeast culture *Candida maltosa* All-Russian collection of industrial microorganisms Y-3446 or culture of bacteria *Dietzia maris* All-Russian collection of industrial microorganisms Ac-1824. Besides, this invention covers biosorbant for water treatment thus produced.

EFFECT: faster preparation, higher absorption capacity and efficiency.

2 cl, 4 ex

Группа изобретений относится к промышленной биотехнологии и экологии и может применяться для очистки водоемов от углеводородных загрязнений.

Под понятием «биосорбенты» подразумеваются сорбенты, иммобилизованные культурами микроорганизмов, обеспечивающие биологическое разложение углеводородов.

В качестве носителей для иммобилизации культуры микроорганизмов могут быть использованы практически все сорбенты органического (растительные и синтетические) и минерального происхождения, а в качестве культур микроорганизмов-деструкторов - любые простейшие углеводородоокисляющие микроорганизмы (дрожжи, бактерии, грибы).

Иммобилизацию микроорганизмов на сорбент обычно осуществляют методом тонкодисперсного напыления суспензии на поверхность сорбента с одновременным его перемешиванием. После сушки при нормальной температуре биосорбент готов к применению.

Биосорбенты должны отвечать следующим требованиям:

- обладать большой сорбционной емкостью;
- обеспечивать сцепление клеток микроорганизмов с поверхностью сорбента в течение длительного времени применения (7-20 суток);
- обладать безопасностью для окружающей среды и человека после использования;
- обладать гидрофобностью в том случае, если используются для очистки водоемов.

В настоящее время разработано значительное количество биосорбентов, отличительной особенностью которых является разнообразие используемых носителей (сорбентов) и иммобилизованных на них культур микроорганизмов.

Известен биореагент для очистки воды и почвы от нефтяных загрязнений (патент РФ №2081854, С02F 3/34, опубл. 1997.06.20), включающий адаптированную к углеводородам нефти бактериальную культуру рода *Pseudomonas* и компоненты биогенного питания. В качестве компонентов биогенного питания используют натриевое мыло синтетических жирных кислот, водорастворимые соли алюминия или кальция и аммонийные соли фосфорной кислоты. Бактериальную культуру вместе с компонентами биогенного питания иммобилизуют на гидрофобизированном торфе при следующем соотношении компонентов мас. %:

Бактериальная культура <i>Pseudomonas</i>	0,29-032
Натриевое мыло синтетических жирных кислот	3,70-4,38
Водорастворимые соли алюминия или кальция	0,97-1,59
Аммонийные соли фосфорной кислоты	0,79-0,81
Торф	остальное

Известен биосорбент для очистки водной поверхности от нефти и нефтепродуктов (патент РФ №2299181, С02F 3/34, опубл. 2007.05.20), включающий нефтеокисляющие микроорганизмы, взятые в эффективном количестве, и носитель на основе торфа. В качестве носителя биосорбент содержит гидрофобный сорбент нефти на основе торфа, а в качестве нефтеокисляющих микроорганизмов - биомассу штамма микромицета: *Fusarium lateritium* НК-204 или *Gliocladium deliquescens* НК-205 или *Gliocladium deliquescens* НК-206 или консорциума этих штаммов, иммобилизованных в гидрофобный сорбент нефти на основе торфа путем обрастания сорбента грибами, при следующем соотношении компонентов, масс. %:

Биомасса штамма микромицета *Fusarium lateritium* НК-204 или
Gliocladium deliquescens НК-205 или

Gliocladium deliquescens НК-206 или
 консорциума штаммов микромицетов
 гидрофобный сорбент нефти на основе торфа

20-50
 остальное

5 Наиболее близким к предлагаемому биосорбенту и способу его получения (прототипом) является биосорбент для очистки водоемов от нефтепродуктов на основе штаммов бактерий и дрожжевых грибов (патент РФ №2318736, С02F 3/34, опубл. 2008.03.10), включающий нефтеокисляющие микроорганизмы, взятые в эффективном количестве, и носитель. В качестве носителя биосорбент содержит
 10 гидрофобный нефтяной сорбент на основе торфа, а в качестве нефтеокисляющих микроорганизмов - биомассу штамма бактерии *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
 15 бактериально-дрожжевого консорциума, иммобилизованного в гидрофобный сорбент нефти на основе торфа путем обрастания сорбента бактериями и/или грибами, при следующем соотношении компонентов, масс. %:

20	Биомасса штамма бактерий:	
	<i>Rhodococcus erythropolis</i> НК-16 или	
	<i>Arthrobacter</i> sp. НК-15 или	
	дрожжевого гриба <i>Candida lipolytica</i> КБП-3308 или	
	<i>Candida guilliermondii</i> КБП-3175 или	
	<i>Pichia guilliermondii</i> КБП-3205	
25	или их бактериально-дрожжевого консорциума	20-30
	гидрофобный сорбент нефти на основе торфа	остальное

Недостатками известных биосорбентов и способов их получения являются, во-первых, использование в качестве углеводородокисляющих микроорганизмов штаммов грибов, которые обладают очень низкой скоростью потребления
 30 углеводов и низкой скоростью размножения, что приводит к увеличению времени утилизации углеводородных загрязнений и, во-вторых, осуществление иммобилизации микроорганизмов на носитель путем обрастания носителя увеличивает время получения биосорбента (по патенту РФ №2318736 в лабораторных условиях это время составляет 9 суток), а кроме того, приводит к уменьшению сорбционной емкости биосорбента, т.к. внутренние поры носителя закупориваются, что позволяет
 35 использовать только часть поверхности носителя (по патенту РФ №2318736 сорбционная способность биопрепарата составляет 6 г нефти на 1 г биосорбента, в то время как используемые в настоящее время биосорбенты имеют сорбционную емкость
 40 от 7 г/г до 9 г/г).

Задачей, на решение которой направлена предлагаемая группа изобретений, является получение биосорбента, обладающего высокой степенью биодеструкции углеводов.

45 Техническим результатом, на достижение которого направлена предлагаемая группа изобретений, является сокращение времени получения биосорбента, увеличение сорбционной емкости биосорбента, а также повышение эффективности процесса утилизации углеводородных загрязнений.

50 Технический результат группы изобретений достигается за счет того, что в способе получения биосорбента для очистки воды от углеводородных загрязнений, включающем иммобилизацию биомассы, содержащей взятые в эффективном количестве нефтеокисляющие микроорганизмы, в органический гидрофобный сорбент на основе торфа с последующей сушкой, органический гидрофобный сорбент

получают путем низкотемпературного пиролиза под вакуумом измельченного до 0,2÷0,5 мм торфа, который проводят при температуре 210÷250°C в течение 60÷90 мин. Иммобилизацию осуществляют путем внесения полученного органического гидрофобного сорбента в суспензию биомассы в процессе ее ферментации на стадии замедления роста нефтеокисляющих микроорганизмов. Масса вносимого органического гидрофобного сорбента в 6-10 раз превышает массу нефтеокисляющих микроорганизмов, содержащихся в суспензии биомассы к моменту внесения органического гидрофобного сорбента. В качестве нефтеокисляющих микроорганизмов используют штамм дрожжей *Candida maltosa* ВКПМ У-3446 или штамм бактерий *Dietzia maris* ВКПМ Ас-1824. Биосорбент для очистки воды от углеводородных загрязнений, полученный предлагаемым способом, содержит в качестве органического гидрофобного сорбента измельченный до фракций 0,2-0,5 мм торф, а в качестве нефтеокисляющих микроорганизмов - штамм дрожжей *Candida maltosa* ВКПМ У-3446 или штамм бактерий *Dietzia maris* ВКПМ Ас-1824.

В предлагаемой группе изобретений для получения органического гидрофобного сорбента используют предварительно измельченный органический носитель, например торф (фракционный состав 0,2-0,5 мм), который подвергают низкотемпературному пиролизу при температуре 210°C-250°C под вакуумом в течение 60÷90 мин. В результате сорбент получается пористый, с большой внутренней поверхностью контакта фаз. Ферментацию биомассы дрожжей и/или бактерий проводят в накопительном режиме на углеводородном субстрате в присутствии биогенных элементов при технологических параметрах выращивания, указанных в паспортах соответствующих культур. Иммобилизацию биомассы дрожжей или бактерий в органический гидрофобный сорбент осуществляют в процессе ферментации биомассы дрожжей или бактерий путем внесения органического гидрофобного сорбента в суспензию биомассы за 2-3 часа до окончания ферментации биомассы, что сокращает время получения биосорбента. Иммобилизация микроорганизмов происходит за счет того, что органический гидрофобный сорбент, попав в суспензию биомассы, сорбирует остаточные углеводороды вместе с микроорганизмами. Под действием аэрации и перемешивания в глубине пор происходит утилизация остаточного углеводородного сырья и рост биомассы микроорганизмов. Растущая биомасса микроорганизмов глубоко проникает внутрь пор сорбента, обеспечивая тем самым сцепление клеток микроорганизмов с поверхностью сорбента в течение длительного времени, в результате чего происходит устойчивая иммобилизация клеток микроорганизмов. Концентрированно полученной суспензии биосорбента осуществляют центрифугированием с последующей сушкой сгущенной суспензии биосорбента на ленточной, лиофильной сушилке или сушилке с псевдооживленным слоем. Полученный биосорбент может применяться для очистки водоемов.

Ниже приводятся примеры реализации предлагаемой группы изобретений.

Пример 1. Для приготовления органического гидрофобного сорбента используют низинный торф, который измельчают до фракций 0,2 мм - 0,5 мм в мельнице ударного типа. Полученную смесь торфа раскладывают в лотки и помещают в вакуумный сушильный шкаф, в котором устанавливают температуру 230°C и остаточный вакуум 100 Па. После сушки в течение 80 мин органический гидрофобный сорбент готов для использования. Ферментацию углеводородокисляющего штамма микроорганизмов, например штамма дрожжей *Candida maltosa* ВКПМ У-3446, осуществляют в ферментере на жидких парафинах нефти C₁₃÷C₁₇ кабрамидной

депарафинизации. Начальная концентрация парафина - 2%, начальное содержание биомассы дрожжей 2,0-2,2 г в 1 литре суспензии, минеральная среда для размножения штамма имеет следующий состав: H_3PO_4 (70%) - 2,6 г/л, KCl - 1,14 г/л, MgSO_4 - 0,55 г/л, $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,045 г/л, $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,031 г/л, $\text{MnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,031 г/л, CuSO_4 - 0,004 г/л. Ферментацию осуществляют при pH 4,0÷4,2, числе оборотов мешалки - 800 об/мин, подаче воздуха на аэрацию - 100 л/ч на 1 л суспензии биомассы в течение 18 ч. Через 18 ч содержание биомассы дрожжей составляет 15 г в 1 литре суспензии. На стадии замедления роста микроорганизмов в суспензию биомассы дрожжей добавляют 120 г полученного ранее органического гидрофобного сорбента на каждый литр рабочего объема ферментера (в 8 раз больше биомассы дрожжей, выросшей через 18 ч). Ферментацию проводят еще в течение 3 ч, до полного истощения углеводородного питания. Полученную суспензию сгущают на центрифуге при 3500 об/мин в течение 10 мин. Сгущенную суспензию раскладывают на лотки и сушат в лиофильной сушилке в течение 24 ч под вакуумом. Сушку осуществляют в интервале температур от -25°C до +25°C, при остаточном вакууме - 10 Па. Полученный таким образом биосорбент после сушки готов к применению.

Очистку воды от углеводородных загрязнений осуществляют следующим образом. В стеклянный сосуд наливают 1 л воды, на поверхность воды разливают 5 мл сырой нефти. Затем на загрязненную поверхность воды маленькими порциями наносят биосорбент в количестве, обеспечивающем полный сбор нефти с поверхности воды. Взвешивают биосорбент с собранной нефтью (в данном случае - 4,85 г). Зная плотность нефти (850 кг/м³), рассчитывают сорбционную емкость биосорбента, которая в данном случае составляет около 7 г/г.

Биосорбент, насыщенный нефтью, помещают в чашку Петри и наблюдают за разложением нефти под действием микроорганизмов. Биосорбент увлажняют каждые 3 дня. За 15 дней содержание нефти снизилось на 32%, а за 30 дней - на 58%.

Пример 2. Биосорбент после сорбции нефти не вынимают из воды. Через 20 дней содержание нефти в биосорбенте уменьшилось на 47%, что свидетельствует об устойчивой иммобилизации нефтеокисляющих микроорганизмов в поры органического гидрофобного сорбента и высокой скорости разложения углеводородов, т.е. о процессе самоочистки биосорбента от углеводородов, собранных с поверхности воды.

Пример 3. Приготавливают органический гидрофобный сорбент, как в примере 1. Ферментацию углеводородокисляющего штамма микроорганизмов, например, штамма бактерий *Dietzia maris* ВКПМ Ас-1824, осуществляют в ферментере на жидких парафинах нефти C_{13} ÷ C_{17} кабрамидной депарафинизации. Начальная концентрация парафина - 2%, начальное содержание биомассы бактерий 2,0-2,2 г в 1 литре суспензии, минеральная среда для размножения штамма имеет следующий состав: KNO_3 - 4,0 г/л, KH_2PO_4 - 0,4 г/л, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12\text{H}_2\text{O}$ - 1,4 г/л, MgSO_4 - 0,8 г/л, $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,045 г/л, $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,031 г/л, $\text{MnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,031 г/л, CuSO_4 - 0,004 г/л. Ферментацию ведут при pH 7,0÷7,2, числе оборотов мешалки - 800 об/мин, подаче воздуха - 100 л/ч на 1 л суспензии биомассы в течение 20 ч. Через 20 ч содержание биомассы бактерий составляет 15 г в 1 литре суспензии. В суспензию биомассы бактерий добавляют 120 г полученного ранее органического гидрофобного сорбента на каждый литр рабочего объема ферментера (в 8 раз больше биомассы микроорганизмов, выросшей через 20 часов). Ферментацию проводят еще в течение 3 часов, до полного истощения углеводородного питания. Полученную суспензию сгущают на центрифуге при 3500 об/мин в течение 10 мин. Сушку осуществляют в

интервале температур от -25°C до $+25^{\circ}\text{C}$, при остаточном вакууме - 10 Па.

Очистку воды от углеводородов осуществляют как в примере 1. Взвешивают биосорбент с собранной нефтью (в данном случае - 4,83 г). С учетом плотности нефти (850 кг/м^3) рассчитывают сорбционную емкость биосорбента, которая в данном случае составляет около 7,3 г/г.

Биосорбент, насыщенный нефтью, помещают в чашку Петри и наблюдают за разложением нефти под действием микроорганизмов. Биосорбент увлажняют каждые 3 дня. За 15 дней содержание углеводородов снизилось на 37%, а за 30 дней - на 63%.

Пример 4. Биосорбент после сорбции нефти не вынимают из воды. Через 20 дней содержание нефти в биосорбенте уменьшилось на 51%, что свидетельствует об устойчивой иммобилизации нефтеокисляющих микроорганизмов в поры органического гидрофобного сорбента и высокой скорости разложения углеводородов, т.е. о процессе самоочистки биосорбента от углеводородов, собранных с поверхности воды.

Более высокие результаты по очистке воды от углеводородов и утилизации их на поверхности биосорбента были получены при иммобилизации в органический гидрофобный сорбент бактериальной биомассы, что объясняется значением рН воды, которое в опытах по очистке составляет 6,5-6,8 и является более близким к оптимальным условиям культивирования для бактериальной биомассы, чем для дрожжевой биомассы.

Таким образом, предлагаемая группа изобретений позволяет сократить время получения биосорбента, обеспечивает увеличение сорбционной емкости биосорбента, а также повышение эффективности процесса утилизации углеводородных загрязнений за счет самоочистки биосорбента от углеводородов.

Формула изобретения

1. Способ получения биосорбента для очистки воды от углеводородных загрязнений, включающий иммобилизацию биомассы, содержащей взятые в эффективном количестве нефтеокисляющие микроорганизмы, в органический гидрофобный сорбент на основе торфа с последующей сушкой, отличающийся тем, что органический гидрофобный сорбент получают путем низкотемпературного пиролиза под вакуумом измельченного до 0,2-0,5 мм торфа, который проводят при температуре $210-250^{\circ}\text{C}$ в течение 60-90 мин, иммобилизацию осуществляют путем внесения органического гидрофобного сорбента в суспензию биомассы в процессе ее ферментации на стадии замедления роста нефтеокисляющих микроорганизмов, при этом масса вносимого органического гидрофобного сорбента в 6-10 раз превышает массу нефтеокисляющих микроорганизмов, содержащихся в суспензии биомассы к моменту внесения органического гидрофобного сорбента, а в качестве нефтеокисляющих микроорганизмов используют штамм дрожжей *Candida maltosa* ВКПМ У-3446 или штамм бактерий *Dietzia maris* ВКПМ Ас-1824.

2. Биосорбент для очистки воды от углеводородных загрязнений, полученный способом по п.1, содержащий в качестве органического гидрофобного сорбента измельченный до фракций 0,2-0,5 мм торф, а в качестве нефтеокисляющих микроорганизмов штамм дрожжей *Candida maltosa* ВКПМ У-3446 или штамм бактерий *Dietzia maris* ВКПМ Ас-1824.