

(19)



(10) **LT 4791 B**

(12) **PATENTO APRAŠYMAS**

(11) Patent numeris: **4791**

(51) Int. Cl. ⁷: **C12N 1/14**
B09C 1/10

(21) Paraiškos numeris: **2000 057**

(22) Paraiškos padavimo data: **2000 07 04**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **2001 01 25**

(45) Patent paskelbimo data: **2001 05 25**

(62) Paraiškos, iš kurios dokumentas išskirtas, numeris: —

(86) Tarptautinės paraiškos numeris: —

(86) Tarptautinės paraiškos padavimo data: —

(85) Nacionalinio PCT lygio procedūros pradžios data: —

(30) Prioritetas: —

(72) Išradėjas:

Donaldas ČITAVIČIUS, LT
Antanas DIDŽIAPETRIS, LT
Gražina GIEDRAITYTĖ, LT
Karolis JANKEVIČIUS, LT
Lilija KALĖDIENĖ, LT
Juozas KRIŠČIŪNAS, LT
Rapolas LIUŽINAS, LT

(73) Patent savininkas:

Viešoji įmonė "Grunto valymo technologijos", Antakalnio g 42, 2040 Vilnius, LT
Vilniaus universiteto Gamtos mokslų fakultetas, Čiurlionio g. 21/27, 2009
Vilnius, LT

(74) Patentinis patikėtinis:

Genė Ona SRUOGIENĖ, UAB "TARPINĖ", A.P.Kavoliuko g. 24-152, 2050 Vilnius,
LT

(54) Pavadinimas:

Štamai *Penicillium decumbens* thom 4,5 VNB-AMFK ir *Penicillium frequentans*
Westling 6,4 PNB-AMFK, oksiduojantys naftos angliavandenilius

(57) Referatas:

Išradimas priklauso biotechnologijos bei aplinkos apsaugos sritims. Nauji štamai *Penicillium decumbens* Thom 4,5 VNB-AMFK (deponuotas Vilniaus Universiteto Augalų fiziologijos ir mikrobiologijos katedros

LT 4791 B

mikroorganizmų kolekcijoje (LT), registracijos kodas 4,5 VNB-AMFK), išskirtas iš Vilniaus naftos bazės, ir štamai *Penicillium frequentans* Westling 6,4 PNB-AMFK (deponuotas Vilniaus Universiteto Augalų fiziologijos ir mikrobiologijos katedros mikroorganizmų kolekcijoje (LT), registracijos kodas 6,4 PNB-AMFK), išskirtas iš Panevėžio naftos bazės grunto, ir jų derinys efektyviai skaido naftą ir jos angliavandenilius ir naudojami grunto, užteršto nafta ir jos produktais biologiniam valymui.

Išradimas priklauso mikrobiologijos bei aplinkos apsaugos sritims, būtent naftą ir naftos produktus skaidantiems mikroorganizmams. Išradimas gali būti panaudotas valant gruntą, užterštą nafta ir naftos produktais, ypač sunkiosiomis jos frakcijomis.

Žinomi naftą oksiduojantys mikroorganizmai *Acinetobacter*, aprašytas patento RU 2 053 204, CO2F 3/34, aprašyme, o taip pat *Mycobacterium*, aprašytas patento RU 2 053 206, CO2 F3/34, aprašyme, naudojami naftos angliavandenilių biodestrukcijai.

Taip pat žinomos aerogeninės naftą oksiduojančios bakterijos *Pseudomonas putida* PI K_o – 1, *Pseudomonas* P – 896 ir *Micrococcus* PI K_y – 1, naudojamos gamybai biopreparato, skirto aplinkos valymui nuo naftos ir jos produktų. Štamai aktyvūs pH ribose 4,5 – 8,5 ir temperatūros ribose 10° – 40°C, (žiūr. patento RU 2 122 980, CO2F 3/34, aprašymą).

Šių mikroorganizmų trūkumas – nedidelis aktyvumas sunkiųjų naftos frakcijų atžvilgiu.

Išradimo esmę sudaro aktyvių štamų, oksiduojančių stambiamolekulinius naftos angliavandenilius, gavimas.

Užduoties sprendimui siūlomi štamai *Penicillium decumbens* Thom 4,5 VNB – AMFK ir *Penicillium frequentans* Westling 6,4 PNB – AMFK, pasižymintys didesniu aktyvumu naftos angliavandenilių atžvilgiu. Mikromicetų *Penicillium decumbens* ir *Penicillium frequentans* štamai saugomi Vilniaus universiteto Augalų fiziologijos ir mikrobiologijos katedroje. Jų registracijos kodai *Penicillium decumbens* – 4,5 VNB – AMFK, *Penicillium frequentans* – 6,4 PNB – AMFK. Štamai identifikuoti remiantis Ramirez C. "Manual atlas of the Penicillia" Amsterdam: Elsevier, 1982, 874 p.

Siūlomi štamai *Penicillium decumbens* Thom 4,5 VNB – AMFK išskirtas iš Vilniaus naftos bazės, o štamai *Penicillium frequentans* Westling 6,4 PNB – AMFK – iš Panevėžio naftos bazės grunto.

Štamai *Penicillium decumbens* Thom 4,5 VNB – AMFK ir *Penicillium frequentans* Westling 6,4 PNB – AMFK savo požymiais yra artimi. Jų morfologiniai požymiai (konidijakočių

dydžiai, sterigmų-fialidžių kuokšteliai, konidijų dydžiai) skiriasi nežymiai, o fiziologiniai-biocheminiai požymiai (kultivavimo sąlygos, augimo faktorių poreikiai, oksidacinis ir proteazinis aktyvumas ir kt.) yra beveik identiški.

Siūlomas štamas *Penicillium decumbens* Thom 4,5 VNB – AMFK išskirtas iš nafta ir naftos produktais užteršto Vilniaus naftos bazės teritorijos grunto. Jo gavimui buvo naudota mikrobiologinė kultūrų skyrimo metodika. Užterštas nafta dirvožemio mėginys buvo subertas į kolbutę su fiziologiniu tirpalu, kuri buvo purtoma 10 min. orinėje purtyklėje. Gauta suspensija praskiedimo metodu išsėta ant standžios Čapeko terpės, kurioje vieninteliu anglies šaltiniu panaudota 0,5 % naftos produktų. Gryna mikromiceto kultūra identifikavimui ir apibūdinimui persėta ant standžios alaus misos ir Čapeko terpių. Mikromicetų kultūra saugoma šaldytuve 4°C temperatūroje, persėjant į mėgintuvėlius ant nuožulnaus Čapeko terpės agarų. Kultūra persėjama į atnaujintą terpę kas 6 mėn.

Siūlomas štamas *Penicillium frequentans* Westling 6,4 PNB – AMFK išskirtas iš Panevėžio naftos bazės grunto. Jo gavimui naudota ta pati kaip ir *Penicillium decumbens* Thom 4,5 VNB – AMFK atveju mikrobiologinė kultūrų skyrimo metodika. *Penicillium frequentans* štamas saugomas 4 °C temperatūroje ant agarizuotos Čapeko terpės. Kultūra persėjama kas 6 mėn.

***Penicillium decumbens* Thom 4,5 VNB – AMFK kultūriniai – morfologiniai požymiai.** Ant Čapeko terpės kultūra auga santykinai lėtai. Po 10 parų kolonijos diametras siekia 2 – 3 cm. Kolonijos aksominės tekstūros, centre šviesesnis pūkuotas micelis, žalsvai pilkos spalvos, kuri, kultūrai senstant, įgyja dūminį atspalvį. Apatinė kolonijos pusė bespalvė arba nežymiai žalsva. Pigmento į aplinką neskiria. Kultūros kvapas aiškus, aromatinis, primena muilo kvapą. Konidijakočiai 50 – 100 x 2 – 2,5 μm, lygūs arba nežymiai spygliuoti. Sterigmos (fialidės) susitelkę glaudžiais kuokšteliais po 12 – 15. Konidijos ovalios arba beveik apvalios, lygios arba retai spygliuotos, 2 – 3 μm diametro, bendroje masėje žalsvos. Sporų grandinėlės sudaro gerai išreikštus stulpelius.

***Penicillium decumbens* Thom 4,5 VNB – AMFK fiziologiniai – biocheminiai požymiai.** Štamas *Penicillium decumbens* Thom 4,5 VNB – AMFK gerai auga ant įprastų natūralių, sintetinių ir pusiau sintetinių terpių: alaus misos, Čapeko, Čapeko-Dokso, Sabūro ir kt. terpių. Optimalus terpių pH apie 7. Papildomų augimo faktorių štamai nereikalauja. Skiria į aplinką organines rūgštis, pasižymi oksidoreduktaziniu ir proteaziniu aktyvumu.

Štamas gali naudoti mitybai naftos angliavandenilius kaip papildomą ar vienintelį anglies šaltinį. Naftos angliavandenilių įtaką mikromicetų augimui ir vystymuisi vertinome pagal biomasės pokytį.

Penicillium frequentans Westling 6,4 PNB-AMFK kultūriniai – morfologiniai požymiai. Ant Čapeko terpės kultūra auga greitai. Po 10 parų kolonijos diametras siekia 5 – 6 cm. Kolonijos plačiai pasklidę, aksominės tekstūros, gausiai sporuliuojančios, pilkai žalios spalvos, kuri, kultūrai senstant, tamsėja. Apatinė kolonijos pusė geltonai ruda. Kultūros kvapas būdingas pelėsiams. Konidijakočiai $100 - 200 \times 3 - 3,5 \mu\text{m}$, lygūs arba nežymiai spygliuoti. Sterigmos (fialidės) susitelkę kuokšteliais po 10 – 12. Konidijos beveik apvalios, lygios arba retai spygliuotos, $3 - 3,5 \mu\text{m}$ diametro. Sporų grandinėlės sudaro gerai išreikštus stulpelius. Štamas auga $6^\circ\text{C} - 32^\circ\text{C}$ ribose, optimalus augimas $26^\circ\text{C} - 28^\circ\text{C}$ temperatūroje.

Penicillium frequentans Westling 6,4 PNB-AMFK fiziologiniai – biocheminiai požymiai. Štamas *Penicillium frequentans* Westling 6,4 PNB-AMFK gerai auga ant įprastų natūralių, sintetinių ir pusiau sintetinių terpių: alaus misos, Čapeko, Čapeko-Dokso, Sabūro ir kt. terpių. Optimalus terpių pH apie 7. Papildomų augimo faktorių štamas nereikalauja. Skiria į aplinką organines rūgštis, pasižymi oksidoreduktaziniu ir proteaziniu aktyvumu. Štamas gali naudoti mitybai naftos angliavandenilius kaip papildomą ar vienintelį anglies šaltinį. Naftos angliavandenilių įtaka mikromiceto augimui ir vystymuisi vertinome pagal biomasės pokytį.

1 pavyzdys

Mikromicetų *Penicillium decumbens* 4,5 VNB – AMFK augimui terpėje su naftos angliavandeniliais kaip vieninteliais anglies šaltiniais buvo naudota skysta Čapeko terpė (be agaro) užsėjant $1-2 \text{ mln/ml}$ tankio mikromicetų sporų suspensija; į terpę su užsėta mikromiceto kultūra buvo įnešama po 0,5 % heptano (C_7H_{16}), tetradekano ($\text{C}_{14}\text{H}_{30}$), heksadekano ($\text{C}_{16}\text{H}_{34}$), dokoano ($\text{C}_{22}\text{H}_{46}$), tolueno ($\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_5$), ksileno ($(\text{CH}_3)_2\text{C}_6\text{H}_4$), benzeno (C_6H_6), difenilmetano ($(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{CH}_2$) ir dyzelinio kuro. Mikromicetų augimui terpėje su angliavandenilių mišiniu buvo naudota skysta Čapeko terpė, įnešant po 0,25 % tetradekano ir dokoano. Mikromiceto kultūra terpėje su naftos angliavandeniliais buvo inkubuojama $26^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ temperatūroje 7 paras. Naftos angliavandenilių įtaka mikromicetų vystymuisi buvo vertinta pagal biomasės pokytį kontroliniame variante (Čapeko terpė su sacharozė) ir bandomajame variante (Čapeko terpė be sacharozės) su atitinkamu angliavandeniliu.

Palyginimui naudoti *Acremonium murorum* ir *Trichoderma harzianum* kolekcinis kamienas, išskirtas iš derlingos dirvos sluoksnio.

Gauti rezultatai pateikti 1 lentelėje.

1 lentelė

Penicillium decumbens Thom 4,5 VNB – AFMK, *Acremonium murorum* ir *Trichoderma harzianum* biomasės kiekis (mg/ml) po 7 parų auginimo skystoje Čapeko terpėje be sacharozės su 0,5% naftos angliavandenilių, kaip vieninteliais anglies šaltiniais.

Čapeko terpė su angliavandeniliu	<i>Penicillium decumbens</i>	<i>Acremonium murorum</i>	<i>Trichoderma harzianum</i>
Heptanas C_7H_{16}	8,50±1,78	2,67±0,85	3,00±0,41
Tetradekanas $C_{14}H_{30}$	15,83±1,93	6,83±0,24	0,85±0,20
Heksadekanas $C_{16}H_{34}$	13,67±2,25	2,50±0,50	0,65±0,14
Dokozanas $C_{22}H_{46}$	114,17±17,56	12,38±1,34	10,50±0,43
Dokozanas ir tetradekanas $C_{22}H_{46}+C_{14}H_{30}$	72,63±5,99	0,50±0,05	11,00±0,82
Toluenas $CH_3C_6H_5$	10,67±0,47	2,50±0,50	1,50±0,41
Ksilenas $(CH_3)_2C_6H_4$	5,17±0,62	0,67±0,24	0,30±0,14
Benzenas C_6H_6	2,50±0,41	7,33±0,62	4,00±0,82
Difenilmetanas $(C_6H_5)_2CH_2$	12,17± 1,25	6,50±1,22	1,17± 0,62
Dyzelinis kuras	5,25±0,25	5,25±0,50	0,83±0,47
Kontrolė Čapeko terpė su sacharoze	129,83±11,03	136,33±10,22	196,17±9,46

Penicillium decumbens palyginti su *Acremonium murorum* ir *Trichoderma harzianum* intensyviau skaido naftos angliavandenilius heptaną, tetradekaną, heksadekaną, dokozaną,

toluena, ksilena, difenilmetana, dyzelinį kurą ir tik lėčiau benzeną. Ypač aktyviai skaido dokožaną bei dokožano ir tetradekano mišinį.

2 pavyzdys.

Mikromiceto *Penicillium frequentans* 6,4 PNB-AMFK augimui terpėje su naftos angliavandeniliais kaip vieninteliais anglies šaltiniais buvo naudota skysta Čapeko terpė (be agarų) užsėjant 1-2 mln/ml tankio mikromicetų sporų suspensija; į terpę su užsėta mikromiceto kultūra buvo įnešama po 0,5 % heptano (C_7H_{16}), tetradekano ($C_{14}H_{30}$), heksadekano ($C_{16}H_{34}$), dokožano ($C_{22}H_{46}$), tolueno ($CH_3C_6H_5$), ksileno ($(CH_3)_2C_6H_4$), benzeno (C_6H_6), difenilmetano ($(C_6H_5)_2CH_2$) ir dyzelinio kuro. Mikromicetų augimui terpėje su angliavandenilių mišiniu buvo naudota skysta Čapeko terpė, įnešant po 0,25 % tetradekano ir dokožano. Mikromiceto kultūra terpėje su naftos angliavandeniliais buvo inkubuojama $26\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje 7 paras. Naftos angliavandenilių įtaka mikromiceto vystymuisi buvo vertinta pagal biomasės pokytį kontroliniame variante (Čapeko terpė su sacharozė) ir bandomajame variante (Čapeko terpė be sacharozės) su atitinkamu angliavandeniliu. Palyginimui naudoti *Acremonium murorum* ir *Trichoderma harzianum* kolekcijiniai štamai, išskirti iš derlingos dirvos sluoksnio. Gauti rezultatai pateikti 2 lentelėje.

2 lentelė

Penicillium frequentans 6,4 PNB – AMFK, *Acremonium murorum* ir *Trichoderma harzianum* biomasės kiekiai (mg/ml) po 7 parų auginimo skystoje Čapeko terpėje be sacharozės su 0,5% naftos angliavandenilių, kaip vieninteliais anglies šaltiniais.

Čapeko terpė su angliavandeniliu	<i>Penicillium frequentans</i>	<i>Acremonium Murorum</i>	<i>Trichoderma harzianum</i>
Heptanas C_7H_{16}	1,17±0,62	2,67±0,85	3,00±0,41
Tetradekanas $C_{14}H_{30}$	1250±1,47	6,83±0,24	0,85±0,20
Heksadekanas $C_{16}H_{34}$	100,17±10,74	2,50±0,50	0,65±0,14
Dokožanas $C_{22}H_{46}$	108,00±12,56	12,38±1,34	10,50±0,43

Dokozanas ir tetradekanas $C_{22}H_{46}+C_{14}H_{30}$	$51,67\pm 4,99$	$0,50\pm 0,05$	$11,00\pm 0,82$
Toluenas $CH_3C_6H_5$	$1,33\pm 0,47$	$2,50\pm 0,50$	$1,50\pm 0,41$
Ksilenas $(CH_3)_2C_6H_4$	$5,67\pm 0,62$	$0,67\pm 0,24$	$0,30\pm 0,14$
Benzenas C_6H_6	$7,17\pm 0,82$	$7,33\pm 0,62$	$4,00\pm 0,82$
Difenilmetanas $(C_6H_5)_2CH_2$	$14,17\pm 0,1855$	$6,50\pm 1,22$	$1,17\pm 0,62$
Dyzelinis kuras	$4,80\pm 0,92$	$5,25\pm 0,50$	$0,83\pm 0,47$
Kontrolė Čapeko terpė su sacharoze	$210,00\pm 10,35$	$136,33\pm 10,22$	$196,17\pm 9,46$

Penicillium frequentans Westling 6,4 PNB – AMFK palyginus su naftą oksiduojančiais mikroorganizmais *Acremonium murorum* ir *Trichoderma harzianum* intensyviau skaido naftos angliavandenilius heptaną, tetradekaną, heksadekaną, dokozaną, ksileną, difenilmetaną, dyzelinį kurą, silpniau – heptaną ir tolueną. Ypač intensyviai skaido dokozaną ir heksadekaną.

3 pavyzdys

Štamas *Penicillium frequentans* 6,4 PNB – AMFK buvo auginamas 250 ml Erlenmejerio kolbose su Čapeko terpe, kuriose terpės kiekis buvo 100 ml, inkubacijos trukmė 30 parų ir temperatūra 35 °C. Bandymui buvo imama 50 g grunto, kuriame mazuto kiekis vidutiniškai sudarė 39 g/kg grunto. Nesunaudotas mazuto kiekis grunte buvo nustatomas svorio metodu, prieš tai išekstrahavus mazutą iš grunto CH_3Cl . Kadangi grunte mazuto kiekis buvo gana didelis, jis buvo ekstrahuojamas 4 kartus po 60 ml CH_3Cl . Vėliau tirpiklis buvo išgarinamas. Įvertinant mazuto įvairių angliavandenilių frakcijų įsisavinimą mikroorganizmais buvo naudojama skysčio kolonėlės chromatografija. Sorbentu buvo naudojamas silikagelis markės L 100/160 μ (Chemopol, Čekija) aktyvuotas 110°C temperatūroje 16 valandų. Adsorbcinis mazuto frakcionavimas stiklinėje kolonėlėje (aukštis 20 cm, diametras 2 cm) buvo atliekamas tirpikliais C_6H_{14} (60 ml), C_6H_6 (100 ml) ir paskiausiai eliuojama C_2H_5OH (100 ml). Tuo būdu buvo gautos 3 angliavandenilių frakcijos, įeinančios į mazuto sudėtį: sočioji - parafinų, aromatinių angliavandenilių ir dervos. Gautos frakcijos buvo nustatomos dujinės

chromatografijos metodu. Biodegradacijos procesui įvertinti buvo skaičiuojamas mazuto įsisavinimo mikroorganizmais laipsnis - utilizacijos laipsnis (%), skaičiuojamas iš gauto eksperimento duomenų, naudojantis formule:

$$A = B/C \cdot 100 \%,$$

kur: A - utilizacijos laipsnis, %

B - sunaudoto mazuto kiekis grunte po inkubacijos, g/kg

C - grunte esantis mazuto kiekis prieš inkubaciją, g/kg.

Mazuto frakcijos utilizacijos laipsnis buvo nustatomas dujinės chromatografijos metodu. Tuo tikslu po inkubacijos likęs mazutas buvo ekstrahuojamas CH_3Cl , tirpiklis išgarinamas, po to mazutas ištirpinamas 5 ml $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$ ir gauti pavyzdžiai analizuojami dujiniu chromatografu markės ЛХМ - 8МД, naudojant detektorių - katarometrą, kolonėles 3m x 3mm (nešėjas Chromaton N - AW, 0160 - 0,200 mm su 15. Apiezon L.) judančioji fazė - azotas (60 mm/min). Gauti duomenys pateikti 3 lentelėje.

3 lentelė

Mazuto biodegradacija grunte, inokuliuotame *Penicillium frequentans* 6,4 PNB –AMFK ir *Penicillium decumbens* 4,5 VNB – AMFK štamų kultūromis.

Kultūra	Paimto grunto kiekis, g	Rastas mazuto kiekis, g	Mazuto kiekis grunte, g/g	Mazuto kiekis grunte, g/kg	Sunaudoto mazuto kiekis, g/kg	Utilizacijos laipsnis, %
Kontrolė	40	1.6198	0.040495	40,49		
<i>Penicillium decumbens</i>	40	1.4335	0.035837	35,84	4,65	11.49
<i>Penicillium frequentans</i>	40	1.3746	0.037365	34,36	6,13	15.14

Siūlomi štamai *Penicillium frequentans* 6,4 PNB –FMK ir *Penicillium decumbens* 4,5 VNB – AFMK auga 4° - 36°C ribose, optimalus augimas 26° - 28°C temperatūroje ir pH 6,0 – 7,5.

4 pavyzdys

Siekiant įsitikinti, ar *Penicillium* štamai gali augti toje pačioje terpėje kartu, štamus *Penicillium decumbens*, *Penicillium frequentans* ir *Penicillium citrinum* auginame Erlenmejerio kolbose su Čapeko terpe, kaip aprašyta 3 pavyzdyje. *Penicillium citrinum* Thom 4,5 VNB – AMFK savo morfologinėmis ir fiziologinėmis–biocheminėmis savybėmis artimas

Penicillium decumbens ir *Penicillium frequentans* štamams. Jis aktyviai skaido heptaną, tetradekaną, silpniau – dokožaną, dyzelinį kurą, mazutą.

4 lentelė

Mazuto biodegradacija grunte, inokuliuotame *Penicillium decumbens*, *Penicillium frequentans* ir *Penicillium citrinum*.

Štamo kultūra	Paimto grunto kiekis, g	Rastas mazuto kiekis, g	Mazuto kiekis grunte, g/g	Mazuto kiekis grunte, G/kg	Sunaudoto mazuto kiekis, g/kg	Utilizacijos laipsnis, %
Kontrolė	40	1,6198	0,040495	40,49		
<i>Penicillium citrinum</i>	40	1,5162	0,037905	37,91	2,58	6,37
<i>P. decumbens</i> + <i>P. frequentans</i> + <i>P. citrinum</i>	40	1,2363	0,03098	30,91	9,58	23,66

Pavieniui panaudoti *Penicillium* štamai (*Penicillium decumbens*, *Penicillium frequentans* ir *Penicillium citrinum*, žiūr. 3 ir 4 lenteles) silpniau skaido mazutą. Tie patys štamai, auginami kartu, mazuto destrukcijos aktyvumą padidina 2 – 4 kartus.

Mikromicetų štamų kultūros saugomos šaldytuve 4 °C temperatūroje ant agarizuotos Čapeko arba alaus misos terpių, persėjant į mėgintuvėlius ant nuožulnaus Čapeko terpės agaro. Kultūra persėjama į atnaujintą terpę kas 6 mėn.

Siūlomi štamai *Penicillium decumbens* 4,5 VNB – AMFK ir *Penicillium frequentans* 6,4 PNB – AMFK vienodai intensyviai skaido atskirus naftos angliavandenilius priklausomai nuo šių angliavandenilių cheminės sudėties. Abu štamai auga toje pačioje mitybinėje terpėje, tarp jų nėra antagonistinių santykių ir gali būti panaudoti kartu. Šie štamai gali būti kultivuojami pramoniniu būdu, naudojant įprastas standartines natūralias, sintetines ar pusiau sintetines terpes ir įprastą įrangą, papildomų augimo faktorių nereikalauja, pasižymi oksireduktaziniu ir proteaziniu aktyvumu.

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. Štamas *Penicillium decumbens* Thom 4,5 VNB – AMFK (deponuotas Vilniaus universiteto Augalų fiziologijos ir mikrobiologijos katedros mikroorganizmų kolekcijoje (LT), registracijos kodas 4,5 VNB – AMFK), aktyviai oksiduojantis naftą ir naftos angliavandenilius, ypač aktyviai oksiduojantis dokozano ir tetradekano mišinius.
2. Štamas *Penicillium frequentans* Westling 6,4 PNB- AMFK (deponuotas Vilniaus universiteto Augalų fiziologijos ir mikrobiologijos katedros mikroorganizmų kolekcijoje (LT), registracijos kodas 6,4 PNB – AMFK), aktyviai skaidantis naftą ir naftos angliavandenilius, ypač aktyviai skaidantis dokozaną ir heksadekaną.
3. Štamas *Penicillium decumbens* Thom 4,5 VNB – AMFK, skirtas panaudoti nafta ir naftos produktais, ypač naftos angliavandenilių mišiniu – dyzeliniu kuru ir mazutu, užteršto grunto biologiniam valymui.
4. Štamas *Penicillium frequentans* Westling 6,4 PNB – AMFK, skirtas panaudoti nafta ir naftos produktais, ypač naftos angliavandenilių mišiniu – dyzeliniu kuru ir mazutu, užteršto grunto biologiniam valymui.
5. Štamų *Penicillium decumbens* Thom 4,5 VNB – AMFK ir *Penicillium frequentans* Westling 6,4 PNB – AMFK pagal 1 ir 2 punktus gavimo būdas, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad paruošia nafta ir naftos produktais užteršto grunto vandens suspensiją, paruoštą suspensiją praskiedimo metodu užsėja ant agarizuotos Čapeko terpės, kurioje vieninteliu anglies šaltiniu panaudoja naftos produktų angliavandenilius, palaiko mikromicetams augti reikiamą temperatūrą esant pH 6,5 – 7,5 ribose, grynos mikromiceto kultūros identifikavimui ir apibūdinimui persėja ant standžios alaus misos ir Čapeko terpių.
6. Štamų *Penicillium decumbens* Thom 4,5 VNB – AMFK ir *Penicillium frequentans* Westling 6,4 PNB – AMFK gavimo būdas pagal 5 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad suspensija naftos produktų angliavandenilių turi iki 0,5 %.
7. Štamų *Penicillium decumbens* Thom 4,5 VNB – AMFK ir *Penicillium frequentans* Westling 6,4 PNB – AMFK gavimo būdas pagal 5 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad mikromicetų auginimui palaiko temperatūrą 26 – 28 °C ribose.

8. Štamai *Penicillium decumbens* Thom 4,5 VNB – AMFK, *Penicillium frequentans* Westling 6,4 PNB – AMFK ir *Penicillium citrinum*, panaudoti kartu sudarius jų konsorciumą, naftos produktų (mazuto) destrukcijos aktyvumą padidinantis 2 – 4 kartus.