



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105130006 A

(43) 申请公布日 2015. 12. 09

(21) 申请号 201510400443. 4

(22) 申请日 2015. 07. 09

(71) 申请人 常州大学

地址 213164 江苏省常州市武进区潞湖路 1 号

(72) 发明人 黄勇 余静

(51) Int. Cl.

*C02F 3/34*(2006. 01)

权利要求书1页 说明书3页

### (54) 发明名称

一种蓝藻去除方法

### (57) 摘要

本发明涉及了一种蓝藻去除方法,属于水环境保护领域。本发明针对于现有蓝藻处理的方法只能治标不能治本的弊端,提供了一种蓝藻去除方法,通过从蓝藻中提取蓝藻毒素与食藻鲮鱼内脏及组织提取液的混合溶液发霉,并将发霉后的混合溶液进行培养,提取霉菌溶液的方法对河道中蓝藻治理,达到去除蓝藻的目的。与传统方法相比,本发明所使用的方法处理蓝藻具有效率高、能耗低的特性;无化学药剂的使用,不会造成水生动植物的伤害,同时也不会通过食物链进入人体。

1. 一种蓝藻去除方法,其特征在于具体步骤为:

(1) 取含有蓝藻的水样 50 ~ 100mL, 向其中加入乙醇, 加入的乙醇与水样体积比为 3:5 ~ 4:5, 在频率为 300 ~ 450 赫兹的超声波下震动 15 ~ 25min;

(2) 将上述经超声波处理过后的水样调节 pH 为 3.0 ~ 4.0, 用无纺纱布过滤;

(3) 将无纺纱布过滤后的滤液进行离心分离, 取上清液;

(4) 将上述上清液过碳酸钙色谱柱, 用体积含量为 40% 的甲醇水溶液淋洗, 再用体积含量为 95% 的甲醇水溶液洗脱, 得含有蓝藻毒素的洗脱液;

(5) 将上述的含有蓝藻毒素的洗脱液浓缩、蒸馏, 得蓝藻毒素提取液;

(6) 取鲜活 3 ~ 5 条鲜活鳙鱼的内脏, 清洗干净后重复上述(1)~(5)步骤得鳙鱼内脏及组织提取液;

(7) 将蓝藻毒素提取液与鳙鱼内脏及组织提取液混合, 在潮湿阴凉条件下使其发霉, 待霉芽长到 3 ~ 5cm 为宜;

(8) 将发霉的混合液接种到固体培养基上, 于 25℃ 温度下培养 7 ~ 10 天, 得霉菌孢子培养物, 所述固体培养基为琼脂固体斜面;

(9) 用无菌水将霉菌孢子培养物制成悬浮液接种到罐内已灭菌的培养基中, 并通入无菌空气、搅拌, 于 27℃ 温度下培养 20 ~ 28h, 得种子培养液;

(10) 然后将得到的种子培养液接种到含有苯乙酸前体的培养基中, 通入无菌空气, 搅拌, 并保持温度培养 5 ~ 8 天, 得霉素发酵液;

(11) 将上述霉素发酵液冷却, 过滤, 滤液在 pH 为 2 ~ 2.5 的条件下, 用醋酸丁酯进行多级逆流萃取, 再用 pH7.0 ~ 7.2 的缓冲液调节, 活性炭脱色, 经共沸蒸馏即可得霉菌提取液;

(12) 把上述得到的霉菌提取液加热煮沸, 变为气体通入充满氮气的密闭箱中, 使其在气相中浓度为 50 ~ 80ppm, 再把刚打捞上来的蓝藻放入密闭箱中, 自然吸收 3 ~ 5 天, 待其颜色变淡发黑, 从密闭箱中取出;

(13) 以每 30 ~ 50m<sup>2</sup> 的区域面积投入 30 ~ 50g 上述从密闭箱中经霉菌处理后变淡发黑的蓝藻计算, 分区覆盖整个区域水体。

## 一种蓝藻去除方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及了一种蓝藻去除方法,属于水环境保护领域。

### 背景技术

[0002] 随着经济的飞速发展,人类对水资源的污染也日益严重。近年来由于一些内陆湖泊中水的营养化,每年夏季高温天气蓝藻就会出现大爆发,也称为水华;水华时,湖面上漂浮着一层绿色的、如油漆状的蓝藻,自水面向水体呈立方体分布。蓝藻中的项圈藻可快速产生致死因子,破坏养殖对象的鳃组织,干扰其新陈代谢的正常进行,麻痹神经,使其死亡。蓝藻中个别种不但活体带毒,而且死亡个体分解会产生生物毒素——蓝藻毒素。蓝藻毒素量多时可直接造成养殖对象中毒死亡,即使数量少,也可通过食物链积累效应危害养殖对象,直至危害人体。

[0003] 目前,处理蓝藻的主要方法分为外环境治理和内环境治理。内环境治理需要投入大量的人力物力进行引清冲污、搬迁污染企业等转移污染方式,并没有从根本上解决污染;内环境治理方面,如生物法、化学法各类治理蓝藻的方法及处理剂,但至今难以得到广泛、有效的应用,尤其化学方法中药剂加入,会造成水生动植物的伤害,还会通过食物链进入人体,潜在二次污染。

### 发明内容

[0004] 本发明所要解决的技术问题:针对于现有蓝藻处理技术只能治标不能治本的弊端,提供了一种蓝藻去除方法,通过从蓝藻中提取蓝藻毒素与食藻鳙鱼内脏及组织的提取液混合物发霉,并将发霉后的混合溶液进行培养成具有溶藻性能的菌株,放入区域水体中,以在密闭箱中培育蓝藻为载体,水为媒介,传播到附近蓝藻上,如此进行,波及整个区域水体,达到根除蓝藻的目的。

[0005] 为解决上述技术问题,本发明采用如下所述的技术方案:一种蓝藻去除方法,其特征在于具体步骤为:

(1) 取含有蓝藻的水样 50 ~ 100mL,向其中加入乙醇,加入的乙醇与水样体积比为 3:5 ~ 4:5,在频率为 300 ~ 450 赫兹的超声波下震动 15 ~ 25min;

(2) 将上述经超声波处理过后的水样调节 pH 为 3.0 ~ 4.0,用无纺纱布过滤;

(3) 将无纺纱布过滤后的滤液进行离心分离,取上清液;

(4) 将上述上清液过碳酸钙色谱柱,用体积含量为 40% 的甲醇水溶液淋洗,再用体积含量为 95% 的甲醇水溶液洗脱,得含有蓝藻毒素的洗脱液;

(5) 将上述的含有蓝藻毒素的洗脱液浓缩、蒸馏,得蓝藻毒素提取液;

(6) 取鲜活 3 ~ 5 条鲜活鳙鱼的内脏,清洗干净后重复上述 (1) ~ (5) 步骤得鳙鱼内脏及组织提取液;

(7) 将蓝藻毒素提取液与鳙鱼内脏及组织提取液混合,在潮湿阴凉条件下使其发霉,待霉芽长到 3 ~ 5cm 为宜;

(8) 将发霉的混合液接种到固体培养基上,于 25℃ 温度下培养 7 ~ 10 天,得霉菌孢子培养物,所述固体培养基为琼脂固体斜面;

(9) 用无菌水将霉菌孢子培养物制成悬浮液接种到罐内已灭菌的培养基中,并通入无菌空气、搅拌,于 27℃ 温度下培养 20 ~ 28h,得种子培养液;

(10) 然后将得到的种子培养液接种到含有苯乙酸前体的培养基中,通入无菌空气,搅拌,并保持温度培养 5 ~ 8 天,得霉素发酵液;

(11) 将上述霉素发酵液冷却,过滤,滤液在 pH 为 2 ~ 2.5 的条件下,用醋酸丁酯进行多级逆流萃取,再用 pH7.0 ~ 7.2 的缓冲液调节,活性炭脱色,经共沸蒸馏即可得霉菌提取液;

(12) 把上述得到的霉菌提取液加热煮沸,变为气体通入充满氮气的密闭箱中,使其在气相中浓度为 50 ~ 80ppm,再把刚打捞上来的蓝藻放入密闭箱中,自然吸收 3 ~ 5 天,待其颜色变淡发黑,从密闭箱中取出;

(13) 以每 30 ~ 50m<sup>2</sup> 的区域面积投入 30 ~ 50g 上述从密闭箱中经霉菌处理后变淡发黑的蓝藻计算,分区覆盖整个区域水体。

[0006] 本发明应用方法:以每 30 ~ 50m<sup>2</sup> 的区域面积投入 30 ~ 50g 上述从密闭箱中经霉菌处理后变淡发黑的蓝藻计算,分区覆盖整个区域水体,即可。

[0007] 本发明的原理:通过从蓝藻中提取蓝藻毒素与鲮鱼内脏及组织的提取液混合物并在一定的条件下发霉,筛选培养具有溶藻性能的菌株,放入区域水体中,以在密闭箱中培育蓝藻为载体,水为媒介,传播到附近蓝藻上,如此进行,波及整个区域水体,达到根除蓝藻的目的。

[0008] 本发明与其他方法相比,有益技术效果是:

(1) 无化学药剂的使用,不会造成水生动植物的伤害,同时也不会通过食物链进入人体,潜在二次污染。

(2) 与传统方法相比,本发明所使用的方法处理蓝藻具有效率高、能耗低的特性。

#### 实施方式

[0009] 一种蓝藻去除方法,其特征在于具体步骤为:

(1) 取含有蓝藻的水样 50 ~ 100mL,向其中加入乙醇,加入的乙醇与水样体积比为 3:5 ~ 4:5,在频率为 300 ~ 450 赫兹的超声波下震动 15 ~ 25min;

(2) 将上述经超声波处理过后的水样调节 pH 为 3.0 ~ 4.0,用无纺纱布过滤;

(3) 将无纺纱布过滤后的滤液进行离心分离,取上清液;

(4) 将上述上清液过碳酸钙色谱柱,用体积含量为 40% 的甲醇水溶液淋洗,再用体积含量为 95% 的甲醇水溶液洗脱,得含有蓝藻毒素的洗脱液;

(5) 将上述的含有蓝藻毒素的洗脱液浓缩、蒸馏,得蓝藻毒素提取液;

(6) 取鲜活 3 ~ 5 条鲜活鲮鱼的内脏,清洗干净后重复上述 (1) ~ (5) 步骤得鲮鱼内脏及组织提取液;

(7) 将蓝藻毒素提取液与鲮鱼内脏及组织提取液混合,在潮湿阴凉条件下使其发霉,待霉芽长到 3 ~ 5cm 为宜;

(8) 将发霉的混合液接种到固体培养基上,于 25℃ 温度下培养 7 ~ 10 天,得霉菌孢子培养物,所述固体培养基为琼脂固体斜面;

(9) 用无菌水将霉菌孢子培养物制成悬浮液接种到罐内已灭菌的培养基中,并通入无菌空气、搅拌,于 27℃ 温度下培养 20 ~ 28h,得种子培养液;

(10) 然后将得到的种子培养液接种到含有苯乙酸前体的培养基中,通入无菌空气,搅拌,并保持温度培养 5 ~ 8 天,得霉素发酵液;

(11) 将上述霉素发酵液冷却,过滤,滤液在 pH 为 2 ~ 2.5 的条件下,用醋酸丁酯进行多级逆流萃取,再用 pH7.0 ~ 7.2 的缓冲液调节,活性炭脱色,经共沸蒸馏即可得霉菌提取液;

(12) 把上述得到的霉菌提取液加热煮沸,变为气体通入充满氮气的密闭箱中,使其在气相中浓度为 50 ~ 80ppm,再把刚打捞上来的蓝藻放入密闭箱中,自然吸收 3 ~ 5 天,待其颜色变淡发黑,从密闭箱中取出;

(13) 以每 30 ~ 50m<sup>2</sup> 的区域面积投入 30 ~ 50g 上述从密闭箱中经霉菌处理后变淡发黑的蓝藻计算,分区覆盖整个区域水体。

#### 实例 1

[0010] 以每 30m<sup>2</sup> 的区域面积投入 30g 上述从密闭箱中经霉菌处理后变淡发黑的蓝藻计算,分区覆盖整个区域水体;在投放 3 天后,河道中蓝藻出现大片的死亡,其死亡率达到了 80% 以上。

#### 实例 2

[0011] 以每 40m<sup>2</sup> 的区域面积投入 40g 上述从密闭箱中经霉菌处理后变淡发黑的蓝藻计算,分区覆盖整个区域水体;在投放 4 天后,河道中蓝藻出现大片的死亡,其死亡率达到了 82% 以上。

#### 实例 3

[0012] 以每 50m<sup>2</sup> 的区域面积投入 50g 上述从密闭箱中经霉菌处理后变淡发黑的蓝藻计算,分区覆盖整个区域水体;在投放 5 天后,河道中蓝藻出现大片的死亡,其死亡率达到了 85% 以上。