



## (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106085997 A

(43)申请公布日 2016. 11. 09

(21)申请号 201610399026.7

C12R 1/645(2006.01)

(22)申请日 2016.06.07

C02F 103/20(2006.01)

(71)申请人 中国水产科学研究院渔业机械仪器  
研究所

地址 200092 上海市杨浦区四平街道赤峰  
路63号

(72)发明人 刘娥 刘兴国 陆诗敏 曾宪磊  
王小冬 时旭

(74)专利代理机构 上海伯瑞杰知识产权代理有  
限公司 31227

代理人 孟旭彤

(51)Int.Cl.

C12N 11/10(2006.01)

C12N 11/04(2006.01)

C02F 3/34(2006.01)

权利要求书1页 说明书3页

### (54)发明名称

一种固定化藻菌球及其制备方法和应用

### (57)摘要

本发明涉及本发明涉及一种固定化藻菌球、其制备方法、其培养方法及应用,所述的固定化藻菌球,由蛋白核小球藻、光合细菌、包埋材料组成,其制备方法主要是将培养的蛋白核小球藻和光合细菌在一定比例下滴入海藻酸钠溶液中,用玻璃棒充分搅拌使其混合均匀后,滴入氯化钙溶液中,交联后制得。本发明制得的固定化藻菌球净化水产养殖排放水效果好,既可发挥藻类的净化功能,又可发挥菌的净化作用,具有双重净化效果,这种固定藻菌球的有一定的密度和机械强度,小球不易破碎,易于沉入水底,可以发挥更好的净化效果。发明还提供了该固定化藻菌球的继续培养方式,简单易行,成本低,可实现大规模的工业化生产。

1. 一种固定化藻菌球的制备方法,其步骤包括:

(a)将75-85ml的 $0.9-1.1 \times 10^6$ 个/ml的蛋白核小球藻溶液用高速离心机离心后去掉清液,用去离子水稀释至0.9-1.1ml,得到浓缩蛋白核小球藻溶液;

(b)将75-85ml的 $0.9-1.1 \times 10^8$ 个/ml的光合细菌溶液用高速离心机离心后去掉清液,用去离子水稀释至0.9-1.1ml,得到浓缩光合细菌溶液;

(c)将步骤(a)制得的浓缩蛋白核小球藻溶液、步骤(b)制得的浓缩光合细菌溶液和质量浓度1.9-2.1%的海藻酸钠溶液按1:2.5-3.5:18-22的体积比混合均匀成备用溶液;

(d)将步骤(c)制得备用溶液匀速滴入到的质量浓度6%氯化钙溶液中,所述备用溶液和所述氯化钙溶液体积比为1:4.5-5.5,交联形成固定化藻菌球。

2. 根据权利要求1所述的固定化藻菌球的制备方法,其特征在于:所述步骤(a)和步骤(b)中的高速离心机离心条件为2800-3200转/min,离心5-7min。

3. 根据权利要求1所述的固定化藻菌球的制备方法,其特征在于:所述步骤(c)中的混合方法为用玻璃棒搅拌1.5-2.5小时。

4. 根据权利要求1所述的固定化藻菌球的制备方法,其特征在于:所述步骤(d)中的交联时间为22-26小时,交联温度为2-6℃。

5. 一种固定化藻菌球由权利要求1-4中任意一项所述的方法制得。

6. 根据权利要求5所述的固定化藻菌球,其特征在于:所述固定化藻菌球的半径为1.9-2.1mm,密度为1.120-1.122g/cm<sup>3</sup>,机械强度为0.0734-0.0736N/mm<sup>2</sup>的固定藻菌球。

7. 权利要求5所述的固定化藻菌球的培育方法,其特征在于:将所述固定化藻菌球放入NH<sub>4</sub>Cl, NaNO<sub>2</sub>和K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>配制含NH<sub>4</sub><sup>+</sup>中N含量为9-11mg/L, NO<sub>2</sub><sup>+</sup>中N含量为1.1-1.3mg/L, P含量为4.5-5.5mg/L的培养液中,在温度25±1℃、光强度为2000-4000Lx、光暗比12h:12h的条件下培养3-5天。

8. 权利要求5所述固定化藻菌球在净化水产养殖废水中的应用。

9. 权利要求5所述固定化藻菌球在环境治理方面的应用。

## 一种固定化藻菌球及其制备方法和应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种固定化藻菌球及其制备方法和应用。

### 背景技术

[0002] 随着世界人口的增长和科学技术的发展,一度被称为“不可枯竭”的渔业资源变得日益稀缺。为满足人类对优质蛋白质的需求,各主要渔业国家更加关注水产养殖业,使其迅速成为世界食品生产中发展最快的产业之一。特别是我国的水产养殖业,近年来在全球动物性食品生产中增长最快。但是,由于养殖过程中存在大量饵料投入、大量用药和大量换水等一系列问题,使得养殖水环境污染日益严重,养殖环境恶化引起病害频繁发生,养殖产品质量下降。对于水产养殖业污染的治理国内外已经有很多研究,根据作用的机理的不同,国内外水产养殖污染净化方法主要分为三大类:物理净化方法、化学净化方法和生物净化方法。其中生物净化法主要有活性污泥法、生物膜法生物滤池、生物转盘、生物流化床、生物接触氧化法、藻类处理技术、微生物处理技术,人工湿地技术、多介质土壤层技术等。

[0003] 为了解决上述技术问题,本发明提供了一种固定化藻菌球,该固定化藻菌球具有很好的净化水产养殖排放水,既可发挥藻类的净化功能,又可发挥菌的净化作用,具有双重净化效果,同时藻类的代谢物和死亡藻类可被菌群分解转化,细菌分解产生的营养物又可为藻类生长提供营养物质。

### 发明内容

[0004] 本发明的目的是提供一种固定化藻菌球、其制备方法、其培养方法及应用,该固定化藻菌球具有很好的净化水产养殖排放水能力。

[0005] 为了实现以上技术效果,本发明是通过如下步骤实现:

[0006] 一种固定化藻菌球的制备方法包括:

[0007] (a)将75-85ml的 $0.9-1.1 \times 10^6$ 个/ml的蛋白核小球藻溶液用高速离心机离心后去掉清液,用去离子水稀释至0.9-1.1ml,得到浓缩蛋白核小球藻溶液;

[0008] (b)将75-85ml的 $0.9-1.1 \times 10^8$ 个/ml的光合细菌溶液用高速离心机离心后去掉清液,用去离子水稀释至0.9-1.1ml,得到浓缩光合细菌溶液;

[0009] (c)将步骤(a)制得的浓缩蛋白核小球藻溶液、步骤(b)制得浓缩光合细菌溶液和质量浓度1.9-2.1%的海藻酸钠溶液按1:2.5-3.5:18-22的体积比混合均匀成备用溶液;

[0010] (d)将步骤(c)制得的备用溶液匀速滴入到的质量浓度6%氯化钙溶液中,所述备用溶液和所述氯化钙溶液体积比为1:4.5-5.5,交联形成固定化藻菌球。

[0011] 所述步骤(a)和步骤(b)中的高速离心机离心条件为2800-3200转/min,离心5-7min。

[0012] 所述步骤(c)中的混合方法为用玻璃棒搅拌1.5-2.5小时。

[0013] 所述步骤(d)中的交联时间为22-26小时,交联温度为2-6℃。这样可以使固定化藻菌球强度更高,不易破碎。

[0014] 根据以上方法制得的固定化藻菌球。

[0015] 所述固定化藻菌球的半径为1.9-2.1mm,密度为1.120-1.122g/cm<sup>3</sup>,机械强度为0.0734-0.0736N/mm<sup>2</sup>的固定藻菌球。这样的小球可以沉入水底,更利于菌藻的净水效果。

[0016] 将所述固定化藻菌球放入NH<sub>4</sub>Cl,NaNO<sub>2</sub>和K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>配制含NH<sub>4</sub><sup>+</sup>中N含量为9-11mg/L,NO<sub>2</sub><sup>+</sup>中N含量为1.1-1.3mg/L,P含量为4.5-5.5mg/L的培养液中,在温度25±1℃、光强度为2000-4000Lx、光暗比12h:12h的条件下培养3-5天。

[0017] 所述固定化藻菌球在净化水产养殖废水中的应用。

[0018] 所述固定化藻菌球在环境治理方面的应用。

[0019] 本发明的有益效果是:

[0020] 1、本发明制得的固定化藻菌球具有很好的净化水产养殖排放水,既可发挥藻类的净化功能,又可发挥菌的净化作用,具有双重净化效果,同时藻类的代谢物和死亡藻类可被菌群分解转化,细菌分解产生的营养物又可为藻类生长提供营养物质。

[0021] 2、这种固定藻菌球的密度为1.120-1.122g/cm<sup>3</sup>,机械强度为0.0734-0.0736N/mm<sup>2</sup>,小球不易破碎,易于沉入水底,可以发挥更好的净化效果。

[0022] 3、本发明提供了该固定化藻菌球的继续培养方式,只需将其放入NH<sub>4</sub>Cl,NaNO<sub>2</sub>和K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>配制的培养液中,在一定条件下即可继续培养,提高了固定化藻菌球的产率。

[0023] 4、本发明采用的该固定化藻菌球的继续培养方式,简单易行,成本低,可实现大规模的工业化生产。

## 具体实施方式

[0024] 下面结合实施例,对本发明作进一步说明:

[0025] 实施例1

[0026] 分别用100mL量筒分别量取80mL培养的10<sup>6</sup>个/ml的蛋白核小球藻和80mL的10<sup>8</sup>个/ml光合细菌,用NF1200台式离心机离心,3000转/min,离心6min,去掉上清液。用去离子水稀释至1mL。将蛋白核小球藻3mL和光合细菌1mL充分混合均匀。移液枪分别吸取蛋白核小球藻3mL,光合细菌1mL,藻菌混合液4mL分别加入到20mL充分溶解的2%海藻酸钠溶液中,用玻璃棒充分搅拌2h,使其混合均匀。用20mL注射器吸取混有藻、菌、藻菌的2%海藻酸钠溶液,安装16号针头,分别匀速滴入到100mL预冷的6%氯化钙溶液中,形成固定化藻菌球。将小球在氯化钙溶液中室温交联24小时,得到平均半径为2mm,平均密度为1.121g/cm<sup>3</sup>,平均机械强度为0.0735N/mm<sup>2</sup>的固定藻菌球。

[0027] 实施例2

[0028] 将实施例1中的固定化藻菌球放入NH<sub>4</sub>Cl,NaNO<sub>2</sub>和K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>配制含NH<sub>4</sub><sup>+</sup>中N含量为10mg/L,NO<sub>2</sub><sup>+</sup>中N含量为1.2mg/L,P含量为5mg/L的培养液中,投放密度为2.8×10<sup>5</sup>个/m<sup>3</sup>,在温度25℃、光强度为3000Lx、光暗比12h:12h的条件下培养4天,得到驯化的固定化藻菌球,藻浓度增大3.2倍,菌浓度增大6.8倍,使藻菌球适应投放环境,以便于实施投放。

[0029] 实施例3

[0030] 上海松江养殖池塘,使用前该水体可溶性TP为5mg/L,氨氮为10mg/L,COD为80mg/L,使用实施例1里的固定化藻菌球,投放密度为2×10<sup>5</sup>个/m<sup>3</sup>,每个为0.04±0.01g,使用后该水体可溶性TP为1.8mg/L,氨氮为1.2mg/L,COD为20mg/L。

## [0031] 实施例4

[0032] 以下实施例的检测方法为可溶性TP的测定采用钼-锑-抗分光光度法,  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的测定采用纳氏试剂法, COD的测定采用重铬酸钾法。

## [0033] (1)固定化藻菌球

[0034] 将实施例1里的制得固定藻菌球用去离子水冲洗小球三次后, 加入到5L配好的模拟养殖水中, 投放密度为 $2 \times 10^5$ 个/ $\text{m}^3$ 。采用MGC-350BPY-2光照培养箱, 在温度 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、光强于3000Lx、光暗比12h:12h的条件下进行水处理。

## [0035] (2)单独固定化蛋白核小球藻球

[0036] 用100mL量筒量取80mL培养的 $10^6$ 个/mL的蛋白核小球藻, 用NF1200台式离心机离心, 3000转/min, 离心6min, 去掉上清液。用去离子水稀释至1mL。用移液枪吸取蛋白核小球藻4mL加入到20mL充分溶解的2%海藻酸钠溶液中, 用玻璃棒充分搅拌2h, 使其混合均匀后, 用20mL注射器吸取, 安装16号针头, 分别匀速滴入到100mL预冷的6%氯化钙溶液中, 形成固定化蛋白核小球藻, 将小球在氯化钙溶液中室温交联24h。之后用去离子水冲洗小球三次。把小球加入到5L配好的模拟养殖水中, 投放密度为 $2 \times 10^5$ 个/ $\text{m}^3$ 。采用MGC-350BPY-2光照培养箱, 在温度 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、光强于3000Lx、光暗比12h:12h的条件下进行水处理。

## [0037] (3)单独固定化光合细菌球

[0038] 用100mL量筒量取80mL培养的 $10^8$ 个/mL光合细菌, 用NF1200台式离心机离心, 3000转/min, 离心6min, 去掉上清液。用去离子水稀释至1mL。用移液枪吸取光合细菌4mL加入到20mL充分溶解的2%海藻酸钠溶液中, 用玻璃棒充分搅拌2h, 使其混合均匀后, 用20mL注射器吸取, 安装16号针头, 分别匀速滴入到100mL预冷的6%氯化钙溶液中, 形成固定化光合细菌球, 将小球在氯化钙溶液中室温交联24h。之后用去离子水冲洗小球三次。把小球加入到5L配好的模拟养殖水中, 投放密度为 $2 \times 10^5$ 个/ $\text{m}^3$ 。采用MGC-350BPY-2光照培养箱, 在温度 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、光强于3000Lx、光暗比12h:12h的条件下进行水处理。

## [0039] (4)测试结果

[0040] 各种小球对可溶性TP, 氨氮和COD的去除率如下表所示:

## [0041]

	可溶性TP	氨氮	COD
固定化藻菌	90%	89%	52%
固定化藻	30%	30%	15%
固定化菌	20%	25%	50%

## [0042] (5)测试结果

[0043] 根据以上结果, 本发明制得的固定化藻菌球既可发挥藻类的净化功能, 又可发挥菌的净化作用, 具有双重净化效果, 同时藻类的代谢物和死亡藻类可被菌群分解转化, 细菌分解产生的营养物又可为藻类生长提供营养物质, 可以达到更好的净水效果。