



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
C02F 1/50 (2019.08); A01N 25/00 (2019.08)

(21)(22) Заявка: 2019104959, 21.02.2019

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
21.02.2019

Дата регистрации:
17.12.2019

Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: 21.02.2019

(45) Опубликовано: 17.12.2019 Бюл. № 35

Адрес для переписки:
195256, Санкт-Петербург, ул. Бутлерова, 13, кв.
557, Курашов Евгений Александрович

(72) Автор(ы):
Курашов Евгений Александрович (RU),
Крылова Юлия Викторовна (RU),
Батаева Юлия Викторовна (RU),
Русанов Александр Геннадьевич (RU),
Сухенко Людмила Тимофеевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):
ООО "МЕТА-АКВА" (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2448051 C2, 20.04.2012. SU
1504248 A1, 30.08.1989. CN 103975948 A,
13.08.2014.

(54) АЛГИЦИД ДЛЯ ПОДАВЛЕНИЯ РАЗВИТИЯ ЦИАНОБАКТЕРИЙ И ЗЕЛЕННЫХ ВОДОРОСЛЕЙ НА ОСНОВЕ МЕТАБОЛИТОВ - АЛЛЕЛОХЕМИКОВ ВОДНЫХ РАСТЕНИЙ

(57) Реферат:

Изобретение относится к биотехнологии, в частности к альгицидам на основе органических кислот - метаболитов водных растений, применяемых для обработки искусственных водных экосистем - аквариумов, бассейнов для аквакультуры, с целью избирательного подавления цветения, вызываемого цианобактериями и зелеными водорослями и поддержания развития экосистемы. Описан альгицид для избирательного подавления цветения, вызываемого цианобактериями и зелеными водорослями в искусственных водных экосистемах, отличающийся тем, что в состав входят галловая, тетрадекановая, гептановая, октановая кислоты и этанол, и использованием

природного механизма аллелопатии для контроля развития цианобактерий и зеленых водорослей, в следующих концентрациях, (г/л) (% действующего соединения): галловая кислота C₇H₆O₅ (Gallic acid) - 70 (25); тетрадекановая кислота C₁₄H₂₈O₂ (Tetradecanoic acid) - 70 (25); гептановая кислота C₇H₁₄O₂ (Heptanoic acid) - 70 (25); октановая кислота C₈H₁₆O₂ (Octanoic acid) - 70 (25); этиловый спирт - остальное (1 л). Технический результат: повышение эффективности контроля развития цианобактерий и зеленых водорослей в водных системах и обеспечение экологической безопасности альгицида. 13 табл.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
C02F 1/50 (2006.01)
A01P 13/00 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC
C02F 1/50 (2019.08); A01N 25/00 (2019.08)

(21)(22) Application: **2019104959, 21.02.2019**

(24) Effective date for property rights:
21.02.2019

Registration date:
17.12.2019

Priority:

(22) Date of filing: **21.02.2019**

(45) Date of publication: **17.12.2019 Bull. № 35**

Mail address:

**195256, Sankt-Peterburg, ul. Butlerova, 13, kv. 557,
Kurashov Evgenij Aleksandrovich**

(72) Inventor(s):

**Kurashov Evgenij Aleksandrovich (RU),
Krylova Yuliya Viktorovna (RU),
Bataeva Yuliya Viktorovna (RU),
Rusanov Aleksandr Gennadevich (RU),
Sukhenko Lyudmila Timofeevna (RU)**

(73) Proprietor(s):

OOO "META-AKVA" (RU)

(54) **ALGAECIDE FOR SUPPRESSING DEVELOPMENT OF CYANOBACTERIA AND GREEN ALGAE BASED ON METABOLITES-HETEROTELERGONE OF AQUATIC PLANTS**

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: invention relates to biotechnology, in particular to algaecides based on organic acids – metabolites of aquatic plants, used for treatment of artificial aquatic ecosystems – aquariums, aquaculture pools, in order to selectively inhibit bloom caused by cyanobacteria and green algae and maintain ecosystem development. Described is an algaecide for selective suppression of flowering caused by cyanobacteria and green algae in artificial aquatic ecosystems, characterized by that the composition includes gallic, tetradecanoic, heptanoic, octanoic acids and ethanol, and using a natural mechanism of allelopathy to control

development of cyanobacteria and green algae, in the following concentrations, (g/l) (% of active compound): gallic acid $C_7H_6O_5$ (Gallic acid) – 70 (25); tetradecanoic acid $C_{14}H_{28}O_2$ (Tetradecanoic acid) – 70 (25); heptanoic acid $C_7H_{14}O_2$ (Heptanoic acid) – 70 (25); octanoic acid $C_8H_{16}O_2$ (Octanoic acid) – 70 (25); ethyl alcohol – rest (1 l).

EFFECT: high efficiency of controlling development of cyanobacteria and green algae in aqueous systems and ensuring environmental safety of the algaecide.

1 cl, 13 tbl

RU 2 709 308 C1

RU 2 709 308 C1

Изобретение относится к биотехнологии, в частности к альгицидам на основе органических кислот - метаболитов водных растений, применяемых для обработки искусственных водных экосистем - аквариумов, бассейнов для аквакультуры, с целью избирательного подавления цветения, вызываемого цианобактериями и зелеными водорослями и поддержания развития экосистемы.

Увеличение частоты и продолжительности цианобактериальных «цветений» несет целый ряд серьезных угроз, включая локальное и глобальное ухудшение водных ресурсов и воздействие цианотоксинов. Для искусственных экосистем, таких как аквариумы и бассейны для аквакультуры, цветение цианобактерий и зеленых водорослей сопровождается гибелью рыб и всей экосистемы. Эффективным и инновационным решением указанной проблемы, сохраняющим и восстанавливающим качество воды в естественных и искусственных водных системах, делающим их пригодными для многофункционального использования может быть применение «Метода аллелопатического контроля «цветения» водоемов при эвтрофировании». Таким природным механизмом, обеспечивающим контроль развития планктонных цианобактерий и водорослей, может являться аллелопатия. Под аллелопатией понимают биологическое явление, при котором отмечается ингибирующий или стимулирующий эффекты воздействия растения (или микроорганизма) на другие растения (включая микроорганизмы) посредством синтеза и выделения в окружающую среду специфических аллелохимических соединений (аллелохемиков). В природе растения при помощи метаболитов-аллелохемиков подавляют развитие других растений, водорослей, бактерий. Низкомолекулярные органические соединения (НОС) - аллелохемики имеют определенную мишень, что исключает их отрицательное воздействие на другие элементы водной экосистемы.

Известен альгицид для обработки плавательных бассейнов, на основе смеси полимеров и органических соединений, обладающих альгицидной и антимикробной активностью, имеющий в составе: неполную марганец-цинковую соль полиакриловой кислоты, салицилат натрия, цитрат натрия, четвертичную аммониевую соль [патент РФ №2448051].

Недостатком указанного альгицида является его направленное действие на полное уничтожение всех водорослей, а также на применение только для обработки бассейнов и отсутствие воздействия в условиях аквариумов и бассейнов для аквакультуры.

Известен ингибитор сине-зеленых водорослей - роголистник погруженный (*Ceratophyllum demersum* L.) для борьбы с цветением воды [патент №377144]. Альгицидные выделения роголистника вызывали гибель цианобактерий в лабораторных условиях.

Недостатком известного метода является осложненная технология погружения роголистника в водоемы и невозможность применения данной технологии в искусственных системах, бассейнах и аквариумах.

Наиболее близким, по сути, к заявленному изобретению (прототипом) является способ борьбы с цветением воды в естественных и искусственных промышленных водоемах, градирнях, коммуникациях и других инженерных сооружениях с использованием гексахлорбутадиена [патент №151156].

Недостатком известного способа является то, что в составе гексахлорбутадиена содержится хлор, который является токсичным соединением для всех гидробионтов.

Основной задачей изобретения является создание эффективного альгицида на основе органических кислот - метаболитов высших водных растений, обеспечивающих избирательное ингибирование цианобактерий и зеленых водорослей, вызывающих цветение в аквариумах, инженерных сооружениях. Инновационность заключается в

том, что для решения проблемы цветения воды предлагается использование природного механизма контроля развития цианобактерий и зеленых водорослей в водных системах, а именно аллелопатии.

5 Техническим результатом от использования изобретения является избирательное ингибирование развития цианобактерий и зеленых водорослей и поддержание развития водной экосистемы в аквариумах и бассейнах для аквакультуры с помощью альгицида на основе соединений природного происхождения - метаболитов водных растений.

10 Технический результат обеспечивается тем, что в искусственную водную экосистему - аквариум или бассейн, в которой происходит цветение воды, вызванное цианобактериями или зелеными водорослями, или для предотвращения цветения, вносят спиртовой раствор альгицида так, чтобы его концентрация в воде составила 1 мг/л. Состав альгицида представляет собой спиртовой раствор четырех органических кислот в следующих концентрациях, исходя из возможностей растворителя - этанола для данных кислот (г/л) (% действующего соединения) при совместном растворении:

15	Галловая кислота $C_7H_6O_5$ (Gallic acid)	70 (25)
	Тетрадекановая кислота $C_{14}H_{28}O_2$ (Tetradecanoic acid)	70 (25)
	Гептановая кислота $C_7H_{14}O_2$ (Heptanoic acid)	70 (25)
	Октановая кислота $C_8H_{16}O_2$ (Octanoic acid)	70 (25)
20	Этиловый спирт	остальное (1 л)

Для достижения концентрации в водной экосистеме 1 мг/л каждой кислоты, необходимо 1 литр альгицида растворить в 70 м^3 воды.

25 Известно, что данные кислоты являются метаболитами высших водных растений (Nakai S., Yamada S., Hosomi M. Anti-cyanobacterial fatty acids released from *Myriophyllum spicatum* // *Hydrobiologia*. 2005. V. 543. P. 71-78; Zhou S., Nakai S., Hosomi M., Sezaki Y., Tominaga M. Allelopathic growth inhibition of cyanobacteria by reed // *Allelopathy J.* 2006. V. 18. №2. P. 277-285.). Для создания альгицида использовались коммерческие кислоты.

Альгицид обладает высокой растворимостью, так как кислоты первоначально растворяются в этиловом спирте, затем раствор вносят в воду.

30 Апробацию альгицида проводили в экспериментах по влиянию каждой из кислот отдельно и в комплексном составе на развитие цианобактерий и зеленых водорослей. При определении концентрации кислот в опытах исходили из их содержания в водоемах (приблизительно до 1 мг/л) в качестве метаболитов водных растений в период активного развития высших водных растений и отсутствия цветения воды, вызванного

35 цианобактериями и зелеными водорослями.

Эксперименты по влиянию органических кислот на цианобактерий и зеленые водоросли включали три варианта. В аквариумы, наполненные водой, объемом 50 литров вносили цианобактерий *Synechocystis aquatilis* (1 вариант), *Aphanocapsa* sp. (2 вариант), зеленые водоросли *Scenedesmus* sp. (3 вариант) в виде суспензии и спиртовой

40 раствор одной из четырех кислот в различных концентрациях. Суспензию цианобактерий *Synechocystis aquatilis* культивировали на среде №6 следующего состава: KNO_3 - 1 г/л; K_2HPO_4 - 0,2 г/л; $MgSO_4 \times 7H_2O$ - 0,2 г/л; $CaCl_2$ - 0,15 г/л; $NaHCO_3$ - 0,2 г/л; раствор микроэлементов 1 мл/л. Раствор микроэлементов для среды №6: $ZnSO_4 \times 7H_2O$ - 0,22 г/л; $MnSO_4$ - 1,81 г/л; $CuSO_4 \times 5H_2O$ - 0,079 г/л; $NaBO_3 \times 4H_2O$ - 2,63 г/л; $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \times 4H_2O$ - 1 г/л; $FeSO_4 \times 7H_2O$ - 9,3 г/л; $CaCl_2$ - 1,2 г/л; $Co(NO_3)_2 \times 4H_2O$ - 0,02 г/л; $Na_2ЭДТА$ (Трилон Б) 10 г/л [Громов, Б.В., Титова Н.Н. Коллекция культур водорослей лаборатории Микробиологии Биологического института Ленинградского университета [Текст] /

Б.В. Громов, Н.Н. Титова // Межвузовский сборник. - Л., 1983. - С. 3-27].

Суспензию цианобактерий *Arhanocapsa* sp. культивировали на питательной среде BG-11 следующего состава (г/л): K_2HPO_4 - 0,04; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,075; $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ - 0,036; Na_2CO_3 - 0,02; ЭДТА - 0,001; лимонная кислота - 0,006; железо лимонно-аммиачное - 0,006; микроэлементы - 1 мл [Нетрусов, А.И. Практикум по микробиологии [Текст]: учеб. пособие для высших учеб. заведений / А.И. Нетрусов, М.А. Егорова, Л.М. Захарчук [и др.]; под ред. А.И. Нетрусова. - М.: Академия, 2005. - 352 с.].

Зеленые водоросли *Scenedesmus* sp. культивировали на питательной среде Прата следующего состава (г/л): KNO_3 - 0,1; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,01; K_2HPO_4 - 0,01; $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ - 0,001 [Гайсина, Л.А., Фазлутдинова, А.И., Кабиров Р.Р. Современные методы выделения и культивирования водорослей: учебное пособие [Текст]. - Уфа: Изд-во БГПУ, 2008. - 152 с.].

Пример 1

Исследование альгицидной активности тетрадекановой кислоты в опыте с цианобактериями и зелеными водорослями.

В таблицах 1, 2, 3 показано влияние тетрадекановой кислоты на цианобактерии *Synechocystis aquatilis*, *Arhanocapsa* sp., зеленые водоросли *Scenedesmus* sp.

Табл.1

Численность цианобактерий *Synechocystis aquatilis* (тыс.кл./мл) в эксперименте с различными концентрациями тетрадекановой кислоты

день	контроль	0,001 мг/л	0,01 мг/л	0,1 мг/л	1 мг/л
1	274	274	274	274	274
3	443	361	361	342	291
14	19008	20160	12096	6912	5100

Табл.2

Численность цианобактерий *Arhanocapsa* sp. (тыс.кл./мл) в эксперименте с различными концентрациями тетрадекановой кислоты

день	контроль	0,001 мг/л	0,01 мг/л	0,1 мг/л	1 мг/л
1	550	550	550	550	550
3	1240	1190	970	740	646
14	8700	11700	9050	7520	5600

Табл.3

Численность зеленых водорослей *Scenedesmus sp.* (тыс.кл./мл) в эксперименте с различными концентрациями тетрадекановой кислоты

день	контроль	0,001 мг/л	0,01 мг/л	0,1 мг/л	1 мг/л
1	750	750	750	750	750
3	3652	3350	3300	3145	2940
14	7300	4850	4800	4595	4600

Анализ полученных данных показал снижение численности цианобактерий и водорослей при влиянии тетрадекановой кислоты. На 14 день экспозиции численность цианобактерий *Synechocystis aquatilis* составила 5100 тыс. кл./мл в сравнении с контролем 19008 тыс. кл./мл в концентрации тетрадекановой кислоты 1 мг/л. Наибольшее подавление клеток *Aphanocapsa sp.* и *Scenedesmus sp.* также наблюдалось с концентрацией тетрадекановой кислоты 1 мг/л.

Пример 2

Исследование альгицидной активности галловой кислоты в опыте с цианобактериями и зелеными водорослями.

В таблицах 4, 5, 6 показано влияние галловой кислоты на цианобактерии *Synechocystis aquatilis*, *Aphanocapsa sp.*, зеленые водоросли *Scenedesmus sp.*

Табл.4

Численность цианобактерий *Synechocystis aquatilis* (тыс.кл./мл) в эксперименте с различными концентрациями галловой кислоты

день	контроль	0,1 мг/л	1 мг/л	10 мг/л	100 мг/л
1	40	40	40	40	40
10	6666	8660	1800	1160	520
12	10200	14100	3080	2290	340

Табл.5

Численность цианобактерий *Aphanocapsa sp.* (тыс.кл./мл) в эксперименте с различными концентрациями галловой кислоты

день	контроль	0,001 мг/л	0,01 мг/л	0,1 мг/л	1 мг/л
1	150	150	150	150	150
3	480	450	350	280	204
14	3316,8	3020	1560	1120	855

Табл.6

Численность зеленых водорослей *Scenedesmus sp.* (тыс.кл./мл) в эксперименте с различными концентрациями галловой кислоты

день	контроль	0,001 мг/л	0,01 мг/л	0,1 мг/л	1 мг/л
1	250	250	250	250	250
3	620	670	550	405	315
14	4007,5	4506	3800	1520	817

Анализ полученных данных показал снижение численности цианобактерий и водорослей при влиянии галловой кислоты на цианобактерий и водоросли. При концентрации галловой кислоты 1 мг/л наблюдалось значительное снижение численности клеток цианобактерий и водорослей.

Пример 3

Исследование альгицидной активности октановой кислоты в опыте с цианобактериями и зелеными водорослями.

В таблицах 7, 8, 9 показано влияние октановой кислоты на цианобактерий *Synechocystis aquatilis*, *Aphanocapsa sp.*, зеленые водоросли *Scenedesmus sp.*

Табл.7

Численность цианобактерий *Synechocystis aquatilis* (тыс.кл./мл) в эксперименте с различными концентрациями октановой кислоты

день	контроль	0,001 мг/л	0,01 мг/л	0,1 мг/л	1 мг/л
1	73	73	73	73	73
3	340	310	310	220	150
14	8200	6150	5630	4200	3100

Табл.8

Численность цианобактерий *Aphanocapsa sp.* (тыс.кл./мл) в эксперименте с различными концентрациями октановой кислоты

день	контроль	0,001 мг/л	0,01 мг/л	0,1 мг/л	1 мг/л
1	180	180	180	180	180
3	870	902	620	780	640
14	4860	4030	3560	3120	2300

Табл.9

Численность зеленых водорослей *Scenedesmus sp.* (тыс.кл./мл) в эксперименте с различными концентрациями октановой кислоты

день	контроль	0,001 мг/л	0,01 мг/л	0,1 мг/л	1 мг/л
1	210	210	210	210	210
3	696	704	680	670	566,8
14	5790	4963	4800	4542	3432,5

Анализ полученных данных показал снижение численности цианобактерий и водорослей при влиянии октановой кислоты. Максимальное уменьшение численности происходило в опыте с концентрацией октановой кислоты 1 мг/л.

Пример 4

Исследование альгицидной активности гептановой кислоты в опыте с цианобактериями и зелеными водорослями.

В таблицах 10, 11, 12 показано влияние гептановой кислоты на цианобактерий *Synechocystis aquatilis*, *Aphanocapsa sp.*, зеленые водоросли *Scenedesmus sp.*

Табл.10

Численность цианобактерий *Synechocystis aquatilis* (тыс.кл./мл) в эксперименте с различными концентрациями гептановой кислоты

день	контроль	0,001 мг/л	0,01 мг/л	0,1 мг/л	1 мг/л
1	73	73	73	73	73
3	340	287	256	130	110
14	8200	7856	7560	6420	5100

Табл.11

Численность цианобактерий *Aphanocapsa sp.* (тыс.кл./мл) в эксперименте с различными концентрациями гептановой кислоты

день	контроль	0,001 мг/л	0,01 мг/л	0,1 мг/л	1 мг/л
1	260	260	260	260	260
3	770	640	582	536	452
14	5230	4800	4101	3321	3420

Табл.12

Численность зеленых водорослей *Scenedesmus sp.* (тыс.кл./мл) в эксперименте с различными концентрациями гептановой кислоты

день	контроль	0,001 мг/л	0,01 мг/л	0,1 мг/л	1 мг/л
1	245	245	245	245	245
3	820	782	704	610	687
14	5903	5623	5200	4503	3832

Анализ полученных данных показал снижение численности цианобактерий и водорослей при влиянии октановой кислоты. Наибольшее влияние прослеживается на 14 день экспозиции с концентрацией гептановой кислоты 1 мг/л.

Пример 5

Исследование влияния альгицида на основе галловой, тетрадекановой, октановой и гептановой карбоновых кислот на цианобактерий *Synechocystis aquatilis*.

В таблице 13 показано влияние альгицида на основе галловой, тетрадекановой, октановой и гептановой карбоновых кислот на цианобактерий *Synechocystis aquatilis*.

Табл.13

Численность цианобактерий *Synechocystis aquatilis* (тыс.кл./мл) в эксперименте с различными концентрациями альгицида на основе галловой, тетрадекановой, октановой и гептановой карбоновых кислот

день	контроль	0,1 мг/л	1 мг/л	10 мг/л
1	144	144	144	144
5	2937	1673	294	270
8	9870	1920	730	280
10	19745	15400	7681	638
13	65800	23445	14100	4830

Анализ полученных данных показал снижение численности цианобактерий под влиянием альгицида при всех исследованных концентрациях. Наибольшее влияние прослеживается при концентрации альгицида 10 мг/л. На 13 день экспозиции разница с контролем составила 13,6 раза. При концентрации альгицида 1 мг/л численность цианобактерий на 13 день эксперимента была ниже, чем в контроле в 4,7 раза.

Таким образом, заявленный способ обеспечивает подавление цианобактерий и зеленых водорослей в искусственной водной экосистеме.

Источники информации

1. Патент РФ №2448051.
2. Патент №377144.
3. Патент №15115 6 (прототип).

(57) Формула изобретения

Альгицид для избирательного подавления цветения, вызываемого цианобактериями

и зелеными водорослями в искусственных водных экосистемах, отличающийся тем, что в состав входят галловая, тетрадекановая, гептановая, октановая кислоты и этанол, и использованием природного механизма аллелопатии для контроля развития цианобактерий и зеленых водорослей, в следующих концентрациях, (г/л) (%

5 действующего соединения):

	Галловая кислота $C_7H_6O_5$ (Gallic acid)	70 (25)
	Тетрадекановая кислота $C_{14}H_{28}O_2$ (Tetradecanoic acid)	70 (25)
	Гептановая кислота $C_7H_{14}O_2$ (Heptanoic acid)	70 (25)
10	Октановая кислота $C_8H_{16}O_2$ (Octanoic acid)	70 (25)
	Этиловый спирт	остальное (1 л)

15

20

25

30

35

40

45