



## (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103834568 B

(45) 授权公告日 2016. 04. 06

(21) 申请号 201410073491. 2

(22) 申请日 2014. 03. 03

(73) 专利权人 临沂大学

地址 276000 山东省临沂市双岭路中段临沂大学

(72) 发明人 王培磊

(51) Int. Cl.

C12N 1/12(2006. 01)

C12R 1/89(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 103005224 A, 2013. 04. 03,

Edith Annie Peach et al., .On the Culture of the Marine Diatom *Nitzschia closterium*(f.)*minutissima*, in *Artificial Sea-water*. 《*Biochem J.*》. 1924,

李炳乾 等. 小新月菱形藻的生产性培养技

术. 《*科学养鱼*》. 2011,

张正斌 等. 高浓度 NO 对小新月菱形藻生长影响的初步研究. 《*中国海洋大学学报*》. 2007,

李炳乾 等. 小新月菱形藻生长条件及半连续培养条件研究. 《*水产科技情报*》. 2012,

审查员 潘天耀

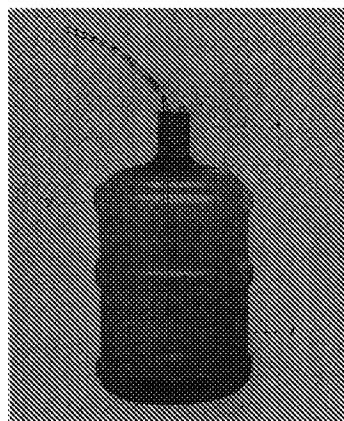
权利要求书1页 说明书5页 附图1页

(54) 发明名称

小新月菱形硅藻浓缩培养液制备方法和塑料桶培养方法

(57) 摘要

本发明公开了一种小新月菱形硅藻浓缩培养液制备方法和塑料桶培养方式。关于培养液的配制,传统做法是现用现配,用一次配一次,用多少配多少,费时、费工、费力,称量麻烦,误差大。现在我采用浓缩液,配一次用多次,操作简单,便于储存和运输,适于规模化、工业化、商品化、专业化生产,十分方便。而且我对传统配方进行了优化,补充了 NaHCO<sub>3</sub>、九二〇植物生长刺激素、人尿、海泥抽取液、牛粪和羊粪浸出液等,营养更加全面、均衡、丰富。关于培养方式,我采用家庭用的矿泉水桶培养方式代替传统的开放水泥池培养,易于操作、不易污染、易于掌控、灵活多样、不易划破、安全可靠,透光性好,成本低,生长快,产量提高 150%。



1. 一种小新月菱形硅藻浓缩培养液,其特征在于配方如下:  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  5克,  $\text{CaCO}_3$  1.4克,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  4克,  $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  0.5克,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  25g,  $\text{NaHCO}_3$  4克, 九二0植物生长刺激素400国际单位, f/2维生素溶液100毫升, f/2微量元素溶液100毫升, 人尿100毫升, 海泥抽取液150毫升, 牛粪浸出液25毫升, 羊粪浸出液15毫升, 土壤抽出液30毫升, 消毒海水1000毫升; 其中f/2微量元素溶液配方:  $\text{ZnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  23毫克,  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  178毫克,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  10毫克,  $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  3.9克,  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  7.3毫克,  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  12毫克,  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  4.35克, 纯水1000毫升; f/2维生素溶液配方: 维生素 $\text{B}_{12}$  0.5毫克, 维生素 $\text{B}_1$  100毫克, 维生素H 0.5毫克, 纯水1000毫升。

2. 如权利要求1所述的小新月菱形硅藻浓缩培养液制备方法,其特征在于步骤如下: 取  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  5克,  $\text{CaCO}_3$  1.4克,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  4克,  $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  0.5克,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  25g,  $\text{NaHCO}_3$  4克, f/2微量元素溶液100毫升, 人尿100毫升, 海泥抽取液150毫升, 牛粪浸出液25毫升, 羊粪浸出液15毫升, 土壤抽出液30毫升, 按顺序加入到装有1000毫升海水的三角烧瓶中, 煮沸10分钟, 冷却; 然后加入九二0植物生长刺激素400国际单位, f/2维生素溶液100毫升, 充分摇匀, 保鲜膜封口, 置于4℃冰箱保存, 备用即可。

3. 一种小新月菱形硅藻塑料桶培养方法,其特征在于包括如下步骤:

培养容器为家庭用的矿泉水桶, 容积20升, 无色透明或带浅天蓝色, 洗刷干净, 后用蒸馏水润洗3遍, 用漏斗装入普通消毒海水11.5升, 所述消毒海水制备方法: 每1立方米海水中加入漂白液200-300毫升, 使海水中有效氯含量达到10-20mg/L, 空气压缩机充气8-12小时后, 用硫代硫酸钠中和余氯; 硫代硫酸钠量由余氯的多少来确定, 直到滴入淀粉碘化钾液不变色为止;

然后加入权利要求1所述的浓缩培养液115毫升, 充分摇匀5分钟, 选择生命力旺盛、无污染的小新月菱形硅藻液进行接种, 接种密度  $10 \times 10^4$ - $15 \times 10^4$  cell/mL, 瓶口插入两根干净玻璃管, 一根较长, 插入较深, 离瓶底6厘米, 用以充气; 另一根较短, 15厘米, 两端露出瓶口即可, 用以排气; 两根玻璃管同样粗细, 直径6毫米; 最后用酒精棉球擦拭瓶口, 用干净的透明胶带封口并将两根玻璃管固定; 长的玻璃管上端露出瓶口7-10厘米, 用乳胶管或塑料管与空气压缩机或气泵相连, 充气, 充气量不宜太大, 以藻细胞浮起不下沉即可; 室内培养, 空调控温, 最佳温度  $27 \pm 2^\circ\text{C}$ , 日光灯照射, 光照强度10000-12000lx, 光/暗周期为16L/8D, 即光照16小时, 黑暗8小时; 培养至第6天, 停止充气, 揭开透明胶带, 用漏斗从瓶口加入2升新鲜培养基, 胶带重新封口, 充气, 继续培养, 至第10天, 密度增加至  $400 \times 10^4$ - $500 \times 10^4$  cell/mL, 即可停止培养, 从瓶口倒出藻液, 将矿泉水桶洗刷干净后, 加入中药消毒液消毒10-30分钟, 后进入下一轮培养;

所述中药消毒液: 由以下重量比的物质组成: 黄芩7~10份、黄秋葵粉3~5份、鱼腥草3~5份、大黄5~10份、甘草5~10份; 将上述药材放入可加热的容器中, 加入3~5倍体积的纯净水, 煮沸后持续煮30~50分钟, 后过滤, 沉淀1~2小时, 后取澄清液即可; 所述黄秋葵粉是清洗干净并烘干后的黄秋葵茎叶、花及籽粒经超微粉碎机粉碎至250目, 然后搅匀、灭菌所得。

## 小新月菱形硅藻浓缩培养液制备方法和塑料桶培养方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于海洋微藻养殖领域,尤其涉及小新月菱形硅藻浓缩培养液制备方法和塑料桶培养方法。

### 背景技术

[0002] 小新月菱形藻属硅藻门,羽纹纲,双菱形目,菱形藻科,菱形藻属,细胞中央膨大成纺锤形,两端渐尖,似月牙形。细胞长12-23 $\mu\text{m}$ ,宽2-3 $\mu\text{m}$ ,中央有一细胞核。色素体黄褐色,两片,位于核两侧。分布于世界海水、半咸和淡水水域,我国各海区均有出现。最适盐度范围为25-32‰,适温15-20 $^{\circ}\text{C}$ ,水温超过28 $^{\circ}\text{C}$ ,停止生长;最适光照强度3000-8000lx,培养时忌直射阳光;适宜pH7-10,最适7.5-8.5。小新月菱形藻俗称“小硅藻”,富含蛋白质、碳水化合物及多种不饱和脂肪酸,是水产经济动物大菱鲆、中国对虾、栉孔扇贝、鲍鱼、马粪海胆和海参等的良好饵料,能促进幼体和亲体生长发育,增强幼苗抵抗力,有重要培养价值。

[0003] 海水中无机碳的存在形式以 $\text{HCO}_3^-$ 为主(占90%),而游离的 $\text{CO}_2$ 不足1%。过去人们一直认为,水体中游离 $\text{CO}_2$ 是藻类利用外源无机碳的唯一形式。张学成的工作表明,螺旋藻培养基中添加50-100 $\text{mmol/L NaHCO}_3$ ,不仅可以满足螺旋藻生长的需要,而且有助于保持藻体生长的pH值。林惠民认为, $\text{NaHCO}_3$ 可作为藻类生长的碳源。我的研究表明小新月菱形硅藻可以利用 $\text{HCO}_3^-$ 作为碳源。

[0004] 温度、光照、盐度、营养盐等对小新月菱形硅藻生长都有重要影响。氮在细胞代谢中是形成氨基酸、嘌呤、嘧啶、卟啉、氨基糖和胺化合物等的基本元素,因而氮是小新月菱形硅藻生长最重要的营养元素。我的研究显示 $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 用作氮源无论对细胞密度的增加、不饱和脂肪酸的合成、虾青素的积累等方面的效果均优于 $\text{NaNO}_3$ 和 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 。人尿中95%是水,5%是可溶性无机盐,其中约2%是尿素。在藻细胞的氮代谢中,氮必须以 $\text{NH}_4^+$ 的形式与细胞内的碳水化合物衍生的酮酸作用生成氨基酸,再合成蛋白质。已经证实许多藻含有尿素酶,在它的催化作用下,尿素分解出氨被微藻利用,酶功能的差异是造成各种微藻利用尿素能力差异的主要原因。孙凌毅指出微藻对铵盐和尿素的利用强于硝酸盐。张贵杰等研究指出培养牟氏角毛藻以尿素效果最好,硝酸钠次之,氯化铵最差。张青田等认为尿素为氮源培养隐藻效果强于氯化铵。本人研究证实每升培养液中添加2-5mL的尿液对小新月菱形硅藻生长有较好促进作用。

[0005] 目前,小新月菱形硅藻规模化培养存在的主要问题是藻细胞生长缓慢、倍增时间长、易污染。合适的培养基是实现小新月菱形硅藻高密度培养的基础。小新月菱形硅藻的培养传统上使用f/2培养基,其中不含碳酸氢钠和九二0植物生长刺激素,但我的实验表明,小新月菱形硅藻除了能利用空气中游离的 $\text{CO}_2$ ,还能有效地利用培养液中的 $\text{HCO}_3^-$ 作为碳源。我的实验和研究表明,添加适量的 $\text{NaHCO}_3$ 、九二0植物生长刺激素、海泥抽取液、牛粪浸出液、羊粪浸出液、土壤抽出液及复合维生素等不仅缩短了小新月菱形硅藻倍增时间,而且延长了生长时间,大大提高生长速度,小新月菱形硅藻产量能提高150%。

[0006] 关于小新月菱形硅藻培养液的配制,传统做法是现用现配,用一次配一次,用多少

配多少,费时、费工、费力,操作麻烦,而且每一种营养盐用量极少,称量麻烦,误差大,很不方便。现在我采用浓缩液,配一次用多次,用时只需要在消毒海水中按浓缩培养液体积:普通消毒海水体积=1:100比例加入浓缩液,搅拌均匀即可接种,操作简单,便于储存和运输,适于规模化、工业化、商品化、专业化和产业化生产,十分方便。而且我对传统配方进行了优化,补充了NaHCO<sub>3</sub>、九二〇植物生长刺激素、f/2维生素、f/2微量元素、人尿、海泥抽取液等,营养更加全面、均衡、丰富,非常有利于小新月菱形硅藻的生长。关于小新月菱形硅藻培养方式,传统的开放水泥池培养,培养规模大,总产量高,但缺点也十分明显:易污染,占地面积大,受天气影响大,不易掌控,一次性投资大,单产低,见效慢,经济效益低,不适用于扩种阶段。我采用家庭用的矿泉水桶培养方法培养代替传统的开放水泥池培养,易于操作,不易污染,易于掌控,规模可大可小,灵活多样,塑料桶不易划破,安全可靠,透光性好,可重复使用,一年四季均可生产,成本低,生长快,尤其适用于扩种阶段,产量提高150%。

### 发明内容

[0007] 为了克服目前技术的不足,本发明提供了一种小新月菱形硅藻浓缩培养液配方: NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>5克, CaCO<sub>3</sub>1.4克, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>4克, Na<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub>·9H<sub>2</sub>O0.5克, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O25g, NaHCO<sub>3</sub>4克, 九二〇植物生长刺激素400国际单位, f/2维生素溶液100毫升, f/2微量元素溶液100毫升, 人尿100毫升, 海泥抽取液150毫升, 牛粪浸出液25毫升, 羊粪浸出液15毫升, 土壤抽出液30毫升, 消毒海水1000毫升。其中f/2微量元素溶液配方: ZnSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O23毫克, MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O178毫克, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O10毫克, FeC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>·5H<sub>2</sub>O3.9克, Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O7.3毫克, CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O12毫克, Na<sub>2</sub>EDTA4.35克, 纯水1000毫升; f/2维生素溶液配方: 维生素B<sub>12</sub>0.5毫克, 维生素B<sub>1</sub>100毫克, 维生素H0.5毫克, 纯水1000毫升。

[0008] 小新月菱形硅藻浓缩培养液制备方法, 方法如下: 取NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>5克, CaCO<sub>3</sub>1.4克, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>4克, Na<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub>·9H<sub>2</sub>O0.5克, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O25g, NaHCO<sub>3</sub>4克, f/2微量元素溶液100毫升, 人尿100毫升, 海泥抽取液150毫升, 牛粪浸出液25毫升, 羊粪浸出液15毫升, 土壤抽出液30毫升, 按顺序加入到装有1000毫升海水的三角烧瓶中, 煮沸10分钟, 冷却; 然后加入九二〇植物生长刺激素400国际单位, f/2维生素溶液100毫升, 充分摇匀, 保鲜膜封口, 置于4℃冰箱保存, 备用。

[0009] 一种小新月菱形硅藻塑料桶培养方式, 其特征在于包括如下步骤:

[0010] 培养容器为家庭用的矿泉水桶, 容积约20升, 无色透明或带浅天蓝色, 洗刷干净, 后用蒸馏水润洗3遍, 用漏斗装入普通消毒海水11.5升(消毒海水制备方法: 每1立方米海水中加入漂白液200-300毫升, 使海水中有效氯含量达到10-20mg/L, 空气压缩机充气8-12小时后, 用硫代硫酸钠中和余氯。硫代硫酸钠量由余氯的多少来确定, 直到滴入淀粉碘化钾液不变色为止), 后加入浓缩培养液115毫升, 充分摇匀5分钟, 选择生命力旺盛、无污染的小新月菱形硅藻藻液进行接种, 接种密度 $10 \times 10^4$ - $15 \times 10^4$  cells/mL, 瓶口插入两根干净玻璃管, 一根较长, 插入较深, 离瓶底约6厘米, 用以充气; 另一根较短, 约15厘米, 两端露出瓶口即可, 用以排气。两根玻璃管同样粗细, 直径6毫米。最后用酒精棉球擦拭瓶口, 用干净的透明胶带封口并将两根玻璃管固定。长的玻璃管上端露出瓶口7-10厘米, 用乳胶管或塑胶料管与空气压缩机或气泵相连, 充气, 充气量不宜太大, 以藻细胞浮起不下沉即可。室内培养, 空调控温, 最佳温度 $27 \pm 2^\circ\text{C}$ , 日光灯照射, 光照强度10000-12000lx, 光/暗周期为16L/8D, 即

光照16小时,黑暗8小时。培养至第6天,停止充气,揭开透明胶带,用漏斗从瓶口加入2升新鲜培养基,胶带重新封口,充气,继续培养,至第10天,密度增加至 $400 \times 10^4 - 500 \times 10^4$  cell/mL,即可停止培养,从瓶口倒出藻液,将矿泉水桶洗刷干净后,加入中药消毒液消毒10-30分钟,后进入下一轮培养。

[0011] 所述中药消毒液:由以下重量比的物质组成:黄芩7~10份、黄秋葵粉3~5份、鱼腥草3~5份、大黄5~10份、甘草5~10份;将上述药材放入可加热的容器中,加入3~5倍体积的纯净水,煮沸后持续煮30~50分钟,后过滤,沉淀1~2小时,后取澄清液即可;所述黄秋葵粉是清洗干净并烘干后的黄秋葵茎叶、花及籽粒经超微粉碎机粉碎至250目,然后搅匀、灭菌所得。

[0012] 有益效果:关于小新月菱形硅藻培养液的配制,传统做法是现用现配,用一次配一次,用多少配多少,费时、费工、费力,操作麻烦,而且由于每一种营养盐用量极少,称量麻烦,误差大,很不方便。现在我采用浓缩液,配一次可多次使用,用时只需要在消毒后的海水中按浓缩培养液体积:普通消毒海水体积=1:100比例加入浓缩液,搅拌均匀即可接种,操作方便,便于储存和运输,便于规模化、工业化、商品化、专业化和产业化生产,十分方便。而且我对传统配方进行了优化,补充了 $\text{NaHCO}_3$ 、九二0植物生长刺激素、f/2维生素、f/2微量元素、人尿、海泥抽取液、牛粪浸出液,羊粪浸出液、土壤抽出液等,营养更加全面、均衡、丰富,非常有利于小新月菱形硅藻生长。关于小新月菱形硅藻培养方式,传统的开放水泥池培养,培养规模大,总产量高,但缺点也十分明显:易污染,占地面积大,受天气影响大,不易掌控,一次性投资大,单产低,见效慢,经济效益低,不适用于扩种阶段。我采用家庭用的矿泉水桶培养方法培养代替传统的开放水泥池培养,易于操作,不易污染,易于掌控,规模可大可小,灵活多样,塑料桶不易划破,安全可靠,透光性好,可重复使用,一年四季均可生产,成本低,生长快,尤其适用于扩种阶段,产量能提高150%。

## 附图说明

[0013] 图为小新月菱形硅藻塑料桶培养方式图。其中附图标记为:1矿泉水桶;2充气管;3排气管。

## 具体实施方式

[0014] 浓缩培养液制备方法

[0015] 1)取 $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 5克, $\text{CaCO}_3$ 1.4克, $\text{K}_2\text{HPO}_4$ 4克, $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 0.5克, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 25g, $\text{NaHCO}_3$ 4克,f/2微量元素溶液100毫升,人尿100毫升,海泥抽取液150毫升,牛粪浸出液10毫升,羊粪浸出液15毫升,按顺序加入到1000毫升海水的三角烧瓶中,煮沸10分钟,冷却;然后加入九二0植物生长刺激素400国际单位,f/2维生素溶液100毫升,充分摇匀,保鲜膜封口,置于4冰箱保存备用。注意,九二0植物生长刺激素和f/2维生素溶液不可一起煮沸消毒,因二者为生物活性物质,遇高温易分解变性;

[0016] 2)因浓缩培养液浓度很高,使用时按浓缩培养液体积:普通消毒海水体积=1:100稀释后使用。即每1000毫升消毒海水中,加入浓缩液10毫升,搅拌均匀后即可接种;

[0017] 3)九二0植物生长刺激素为白色结晶粉末,不易溶于水,可先用酒精充分溶解(一般每克用50毫升酒精或60度白酒溶解1小时以上),再按所需浓度兑水稀释;

[0018] 4)海泥浸出液制备方法:取海滩上沙质较少、有机质较多而又不过分於黑的上层软泥,清除其中的小树枝和小石块等杂物,以容量计算一份泥加两份水,充分搅拌均匀,静置3-4分钟,待粗砂、小石下沉后,把上层泥浆倒入铝锅中,弃去底部粗砂、小石等杂物,按每1000毫升泥浆加入1克的量加入NaOH,煮沸20-30分钟,煮时需不断搅拌,煮后静置24小时,吸取上清液,装入棕色试剂瓶,密封,置于4℃冰箱,备用;

[0019] 5)因柠檬酸铁( $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )较难溶解,可加少量自来水在火炉上微热至80-90℃,并不断搅拌至全部融化;

[0020] 6)人尿制备方法:取人尿1000毫升,烧瓶煮沸15分钟后,冷却24小时,装入白色透明磨口塞试剂瓶,密封,置于4℃冰箱保存,备用;

[0021] 7)羊粪浸出液制备方法:取新鲜羊粪10公斤,加入麸皮1公斤,玉米面0.5公斤,自来水1升,充分搅拌,装入塑料袋发酵10天,后取2公斤放入盆中,加入6升蒸馏水,充分搅拌15分钟,静置,36小时后500目筛绢过滤,取滤液加热煮沸30分钟,以杀死其中的微生物,冷却,静置72小时,取上清液,即为羊粪浸出液,装入磨口塞试剂瓶,密封,置于4℃冰箱,备用;

[0022] 8)牛粪浸出液制备方法:取牛粪50公斤,加入麸皮3公斤,玉米面1公斤,自来水4升,充分搅拌,堆成圆锥状,自然发酵15天,后摊成薄层,阳光下暴晒3天,后取3公斤放入水桶中,加入10升蒸馏水,充分搅匀,静置,48小时后400目筛绢过滤,取滤液加热,煮沸45分钟,杀死其中的细菌、霉菌、病毒等,冷却,沉淀48小时,取上清液,即得牛粪浸出液,装入磨口塞试剂瓶,密封,置于4℃冰箱保存,备用;

[0023] 9)土壤抽出液制备方法:取土壤1公斤,加蒸馏水1000毫升,再加入NaOH2-3克,煮沸120分钟,冷却后过滤,将清液置于暗处静置48小时,取上清液装入棕色试剂瓶,密封,置于4℃冰箱,备用;

[0024] 10)所有药品纯度均需化学纯级别;浓缩液平时置于4℃冰箱保存,使用前需充分摇匀;如无冰箱,浓缩液最好背光、通风、阴暗保存,应避免直射光特别是强烈阳光直射;该浓缩液产品在-5℃至5℃且黑暗、通风条件下,保质期为24个月;

[0025] 11)此浓缩培养液对小新月菱形硅藻扩种和大规模培养等各阶段都适用。

[0026] 小新月菱形硅藻塑料桶培养方式,参见附图:

[0027] 培养容器为家庭用的矿泉水桶,容积约20升,无色透明或带浅天蓝色,洗刷干净,后用蒸馏水润洗3遍,用漏斗装入普通消毒海水11.5升(消毒海水制备方法:每1立方米海水中加入漂白液200-300毫升,使海水中有效氯含量达到10-20mg/L,空气压缩机充气8-12小时后,用硫代硫酸钠中和余氯。硫代硫酸钠量由余氯的多少来确定,直到滴入淀粉碘化钾液不变色为止),后加入浓缩培养液115毫升,充分摇匀5分钟,选择生命力旺盛、无污染的藻液进行接种,接种密度 $10 \times 10^4$ - $15 \times 10^4$  cell/mL,瓶口插入两根干净玻璃管,一根较长,插入较深,离瓶底约6厘米,用以充气;另一根较短,约15厘米,两端露出瓶口即可,用以排气。两根玻璃管同样粗细,直径6毫米。最后用酒精棉球擦拭瓶口,用干净的透明胶带封口并将两根玻璃管固定。长的玻璃管上端露出瓶口7-10厘米,用乳胶管或塑胶料管与空气压缩机或气泵相连,充气,充气量不宜太大,以藻细胞浮起不下沉即可。室内培养,空控温,最佳温度 $27 \pm 2^\circ\text{C}$ ,日光灯照射,光照强度10000-12000lx,光/暗周期为16L/8D,即光照16小时,黑暗8小时。培养至第6天,停止充气,揭开透明胶带,用漏斗从瓶口加入2升新鲜培养基,胶带重新封口,充气,继续培养,至第10天,密度增加至 $400 \times 10^4$ - $500 \times 10^4$  cell/mL,即可停止培养,从

瓶口倒出藻液,将矿泉水桶洗刷干净后,加入中药消毒液消毒10-30分钟,后进入下一轮培养。

[0028] 所述中药消毒液:由以下重量比的物质组成:黄芩7~10份、黄秋葵粉3~5份、鱼腥草3~5份、大黄5~10份、甘草5~10份;将上述药材放入可加热的容器中,加入3~5倍体积的纯净水,煮沸后持续煮30~50分钟,后过滤,沉淀1~2小时,后取澄清液即可;所述黄秋葵粉是清洗干净并烘干后的黄秋葵茎叶、花及籽粒经超微粉碎机粉碎至250目,然后搅匀、灭菌所得。

[0029] 最后应说明的是:以上实施例仅用以说明本发明的技术方案,而非对其限制;尽管参照前述实施例对本发明进行了详细的说明,本领域的普通技术人员应当理解:其依然可以对前述实施例所记载的技术方案进行修改,或者对其中部分技术特征进行等同替换;而这些修改或者替换,并不使相应技术方案的本质脱离本发明实施例技术方案的精神和范围。

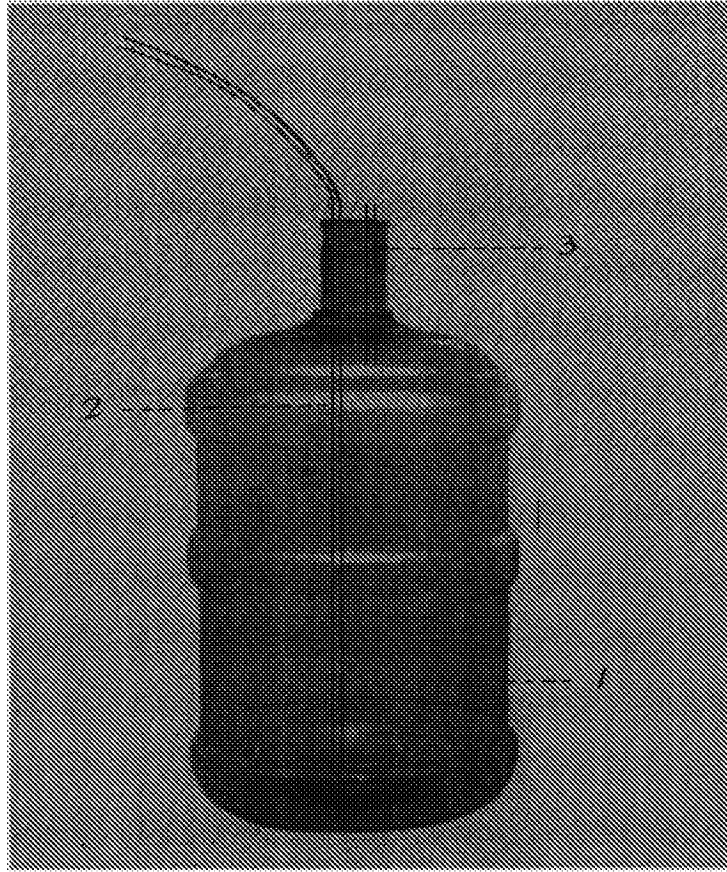


图1