

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.  
C12N 1/20 (2006.01)



## [12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200710011997.0

[43] 公开日 2008年1月30日

[11] 公开号 CN 101113418A

[22] 申请日 2007.7.6

[21] 申请号 200710011997.0

[71] 申请人 辽宁大学

地址 110036 辽宁省沈阳市皇姑区崇山中路  
66号辽宁大学

[72] 发明人 马溪平 潘玲 孙学凯 付宝荣  
徐成斌 李法云 冷阳

[74] 专利代理机构 沈阳杰克知识产权代理有限公司  
代理人 杨华

权利要求书1页 说明书6页 附图1页

### [54] 发明名称

一种富集光合细菌的培养基

### [57] 摘要

本发明涉及一种富集光合细菌的培养基。采用的技术方案是：一种富集光合细菌的培养基，其特征在于含有基础培养基、酵母膏和羟基丁二酸；在基础培养基中，每1000ml基础培养基加入0.1g~3.0g的酵母膏和0.5g~2.0g的羟基丁二酸。用本发明的培养基培养光合细菌，培养速度快，成本低。弥补了光合细菌生长期过短以及繁殖过程pH升高过快等方面的不足之处，延长了生长期5~7天，使最大生长量OD<sub>660</sub>提高到1.6~3.0。

1、一种富集光合细菌的培养基，其特征在于含有基础培养基、酵母膏和羟基丁二酸；在基础培养基中，每 1000ml 基础培养基加入 0.1g~3.0g 的酵母膏和 0.5g~2.0g 的羟基丁二酸。

2、根据权利要求 1 所述的一种富集光合细菌的培养基，其特征在于在基础培养基中，每 1000ml 基础培养基加入 1.0g 的酵母膏和 1.5g 的羟基丁二酸。

### 一种富集光合细菌的培养基

**技术领域：**本发明涉及一种富集细菌的培养基，特别涉及一种富集光合细菌的培养基。

**背景技术：**光合细菌是一大类能进行光合作用的原核生物的总称。研究应用的实践表明，光合细菌能利用多种硫化物和有机物作为其光合作用的供氢体和有机碳源，在高浓度的有机废水处理与资源化、水产养殖的水质调控与促进健康生长、在农业中作为高效活性菌肥等方面，发挥着十分有益的和令人瞩目的作用。

光合细菌是一类不产氧的特殊生理类群的原核微生物的总称，是最早出现的具有原始光合成体系的原核微生物，在自然界的碳素、氮素、硫素转化循环中起重要作用。光合细菌营养丰富，细胞干物质中蛋白质含量高达 60%以上，光合细菌还含有多种维生素，尤其是 B 族维生素极为丰富，VB12、叶酸、泛酸、生物素的含量远高于酵母。此外，光合细菌还含有大量的类胡萝卜素、辅酶 Q 等生理活性物质。因此，光合细菌具有很高的营养价值，在水产和畜禽养殖上有着很高的应用价值。

光合细菌的推广和应用，关键在于需要合适的培养基质，但目前经典的用于富集光合细菌的常规培养基，主要配方为：氯化铵 1g，碳酸氢钠 1g，磷酸氢二钾 0.2g，乙酸钠 1~5g，七水硫酸镁 0.2g，氯化钠 0.5~2g，生长因子 10ml，微量元素溶液 10ml，蒸馏水 980ml，（见《微生物学实验教程》），其平均富集的时间为 2~8 周，周期长，

且存在培养基成分种类多，成本较高的缺点。

发明内容：为了解决上述问题，本发明提供一种富集光合细菌的培养基，用本发明的培养基培养光合细菌，培养速度快，成本低。

本发明采用的技术方案是：一种富集光合细菌的培养基，其特征在于含有基础培养基、酵母膏和羟基丁二酸（苹果酸）；在基础培养基中，每 1000ml 基础培养基加入 0.1g~3.0g 的酵母膏和 0.5g~2.0g 的羟基丁二酸。

优选的，在基础培养基中，每 1000ml 基础培养基加入 1.0g 的酵母膏和 1.5g 的羟基丁二酸。

基础培养基是光合细菌的常用培养基。也就是现有技术中经常用的，并已公开的光合细菌培养基。

调节本发明培养基 pH 为 7~9，121℃灭菌 30min。将光合细菌接种于培养基中，振荡混匀，置于光照培养箱中光照培养，光照条件为 1500~2000lux，温度为 30±1℃。

酵母膏对光合细菌的生长量的影响随着酵母膏的浓度的增加而增加，经过 7 天的光照培养后，当酵母膏的用量小于 3g/L 时(每 1000ml 基础培养基加入 3.0g)，其菌体繁殖速度很快，菌液 OD<sub>660</sub> 达 1.9，当酵母膏的用量大于 3g/L 时，其 OD<sub>660</sub> 值无明显变化，菌液 OD<sub>660</sub> 为 2.0~2.1。因此，酵母膏的用量以 0.1 g/L~3.0g/L 的酵母膏为宜。

羟基丁二酸对光合细菌的生长量的影响，随着羟基丁二酸的浓度的增加而增加，经过 7 天的光照培养后，当羟基丁二酸的用量小于 2.0g/L(每 1000ml 基础培养基加入 2.0g)时，其菌体繁殖速度很快，菌

液 OD<sub>660</sub> 达 1.7, 当羟基丁二酸的用量大于 2.0g/L 时, 其 OD<sub>660</sub> 值无明显变化, 菌液 OD<sub>660</sub> 为 1.8~1.9。因此, 羟基丁二酸的用量以 0.5g/L~2.0g/L 为宜。

本发明的有益效果是:

1、富集培养速度快。由于在基础培养基中加入了酵母膏、羟基丁二酸等营养成分, 为光合细菌创造了一个更好的厌氧环境, 使光合细菌生长速度快, 培养 5 天后, 菌液颜色逐渐变深, 由浅红转变为粉红最后变为深红, 培养其 OD<sub>660</sub> 为 1.7~2.0。

2、光合细菌生长期延长, 最大生长量提高。随着培养时间的增加, 菌液 OD<sub>660</sub> 逐渐增加, 培养 4 天时, 其 OD<sub>660</sub> 为 1.2~1.5, 比使用基础培养基培养光合细菌时的 OD<sub>660</sub> 有所提高, 培养 8~12 天时, 菌液生长量达最高峰, 其 OD<sub>660</sub> 为 2.0~3.0。光合细菌的生长期延长了 3~7 天, 对其繁殖更有促进作用。

3、使用本发明的培养基培养光合细菌, pH 值上升较常规基础培养基缓慢。光合细菌生长过程中, 随着光合细菌的生长 pH 值不断升高, 当基础培养基中 pH 值上升到 9 时, 细菌生长受抑制。而本发明的培养基相对于基础培养基 pH 值上升缓慢, 当 pH 值上升到 9 时, 光合细菌的 OD<sub>660</sub> 值开始下降。主要是由于培养基的 pH 值影响了培养基中营养物质的离子化程度, 从而影响微生物对营养物质的吸收, 而且还会影响代谢反应中各种酶的活性。

4、成本低。在常规培养基中, 由于加入了生长因子和微量元素溶液, 使用成本太高, 而本发明用酵母膏和羟基丁二酸替代了生长因

子和微量元素溶液，使成本降低。

5、用本发明培养基培养的光合细菌，用于净化和改善养殖水体。按光合细菌的  $30 \text{ kg/hm}^2$  用量一次性洒入鱼塘，试验池水质比对照组有明显改善，其中溶解氧增加 68%，COD 下降 21%，氨氮下降 58.7%，硝酸氮下降 29.4%，硫化物下降 77.4%。

附图说明：

图 1 是本发明与常规培养基，在培养基富集培养过程中，光密度  $\text{OD}_{660}$  的变化图；

图 2 是本发明与常规培养基，在培养基富集培养过程中，pH 变化图。

在图 1 和图 2 中，a 代表本发明的培养基，b 代表常规培养基  
具体实施方式：

实施例 1

（一）富集光合细菌培养基的配制

基础培养基：氯化铵 1.0g，碳酸氢钠 1.0g，磷酸氢二钾 0.2g，乙酸钠 3.0g，七水硫酸镁 0.2g，氯化钠 1.0g，用蒸馏水配成 1000ml。

在上述基础培养基中，加入 0.1g 酵母膏和 0.5g 羟基丁二酸。

（二）光合细菌的培养

将上述培养基的 pH 调至 7， $121^\circ\text{C}$  灭菌 30min。将光合细菌（市购）按照接种浓度为 4% 接种于培养基中，振荡混匀，置于光照培养箱中光照培养，光照条件为 1500lux，温度  $30^\circ\text{C}$ 。

富集培养结果：光照培养 5 天后，菌液  $\text{OD}_{660}$  为 1.3，光照培养 8

天后，达到最大生长量，菌液  $OD_{660}$  为 1.9，使光合细菌的对数生长期延长 3 天。

## 实施例 2

### (一) 富集光合细菌培养基的配制

基础培养基：氯化铵 1.0g，碳酸氢钠 1.0g，磷酸氢二钾 0.2g，乙酸钠 3.0g，七水硫酸镁 0.2g，氯化钠 1.0g，用蒸馏水配成 1000ml。

在上述基础培养基中，加入 3.0g 酵母膏和 2.0g 羟基丁二酸。

### (二) 光合细菌的培养

将上述培养基的 pH 调至 7，121℃ 灭菌 30min。将光合细菌（市购）按照接种浓度为 4% 接种于培养基中，振荡混匀，置于光照培养箱中光照培养，光照条件为 1500lux，温度 30℃。

富集培养结果：光照培养 5 天后，菌液  $OD_{660}$  为 1.4，光照培养 10 天后，达到最大生长量，菌液  $OD_{660}$  为 2.2，使光合细菌的对数生长期延长 5 天。

## 实施例 3

### (一) 富集光合细菌培养基的配制

基础培养基：氯化铵 1.0g，碳酸氢钠 1.0g，磷酸氢二钾 0.2g，乙酸钠 3.0g，七水硫酸镁 0.2g，氯化钠 1.0g，用蒸馏水配成 1000ml。

在上述基础培养基中，加入 1.0g 酵母膏和 1.5g 羟基丁二酸。

### (二) 光合细菌的培养

将上述培养基的 pH 调至 7，121℃ 灭菌 30min。将光合细菌（市购）按照接种浓度为 4% 接种于培养基中，振荡混匀，置于光照培养

箱中光照培养，光照条件为 1500lux，温度 30℃。

富集培养结果：光照培养 5 天后，菌液 OD<sub>660</sub> 为 1.8，光照培养 12 天后，达到最大生长量，菌液 OD<sub>660</sub> 为 2.5，使光合细菌的对数生长期延长 7 天，最大生长量提高。

用此培养基培养的光合细菌应用于养殖水的净化处理，养殖水 COD、氨氮的去除率分别达到了 61%、70.48%。

#### 对比例

分别取实施例 3 本发明的培养基和背景技术中介绍的常规培养基，分别调节培养基的 pH 为 7，121℃灭菌 30min。将光合细菌（市购）按照接种浓度为 4%接种于培养基中，振荡混匀，置于光照培养箱中光照培养，光照条件为 1500lux，温度 30℃。光照培养 12 天，测定培养基富集培养过程中光密度 OD<sub>660</sub> 变化（见图 1）及 pH 变化（见图 2）。

从图 1 可知，使用常规培养基培养光合细菌，3 天后菌液开始转红，第 5 天时菌液 OD<sub>660</sub> 为 1.5，5 天后其 OD<sub>660</sub> 逐渐降低；使用本发明培养基培养光合细菌，随着培养时间的增加，菌液 OD<sub>660</sub> 逐渐增加，培养 12 天，其 OD<sub>660</sub> 为 2.4，本发明的培养基使光合细菌的对数生长期延长 7 天，并且对其繁殖更有促进作用。

由图 2 可知，随着光合细菌的生长 pH 值不断升高，当常规培养基中 pH 值上升到 9 时，细菌生长受抑制。使用本发明的培养基培养光合细菌相对于常规培养基 pH 值上升缓慢，使光合细菌的对数生长期延长。

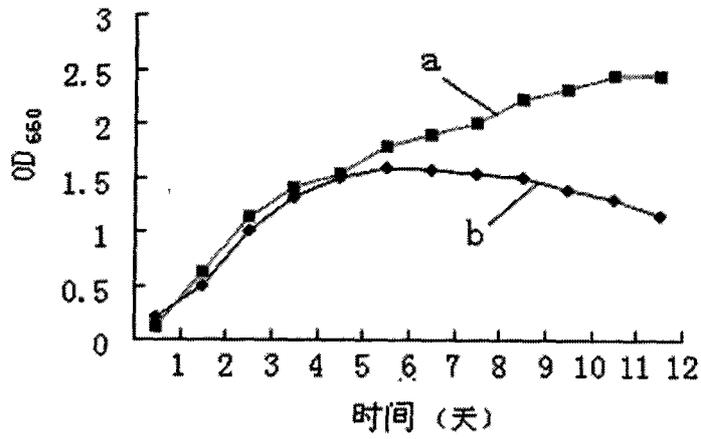


图1

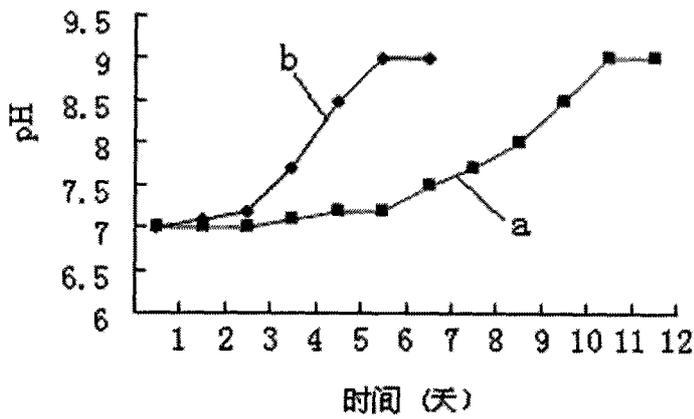


图2