ICS 点击此处添加 ICS 号
CCS 点击此处添加 CCS 号

T/WSWXH

新疆维吾尔自治区微生物学会团体标准

T/XXX XXXX—XXXX

光合细菌叶面肥生产技术规程

Technical rules for production of photosynthetic bacteria foliar fertilizer

（征求意见稿）

（本草案完成时间：2022.8.1）

XXXX－XX－XX 发布　　XXXX－XX－XX 实施

发 布

目　　次

前言 II
1　范围 1
2　规范性引用文件 1
3　术语和定义 1
3.1　光合细菌菌剂 1
3.2　原菌种 1
3.3　一级菌种 1
3.4　二级菌种 1
4　生产用水和设施设备 1
4.1　生产用水 1
4.2　设施设备 1
5　生产技术流程 2
5.1　生产流程 2
5.2　一级菌种质量 2
5.3　培养基 2
5.4　二级菌种生产 2
5.5　光合细菌叶面肥调配 2
6　生产记录 3
6.1　生产、加工过程记录 3
6.2　培养基采购使用记录 3
6.3　记录保存 3
附录A（资料性）　光合细菌生产流程技术规程 4

前　　言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则　第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由新疆农业科学院微生物应用研究所提出。

本文件由新疆维吾尔自治区微生物学会归口。

本文件起草单位：新疆农业科学院微生物应用研究所，新疆农业科学院农作物品种资源研究所

本文件主要起草人：曾军、高雁、张龑、张志东、霍向东、孙建

光合细菌叶面肥生产技术规程

1 范围

本标准规定了光合细菌生产所涉及的生产环境、设备要求、生产技术流程、质量检测及储存。
本标准适用于新疆具有光合细菌生产条件的生物科技有限公司等企业。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB 5749 生活饮用水卫生标准
GB/T 38579 生物产品中光合细菌测定
NY/T 527 光合细菌菌剂
GB 20287-2006 农用微生物菌剂
NY/T 1109-2006 微生物肥料生物安全通用技术准则
NY/T798-2004 复合微生物肥料

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 光合细菌菌剂

专指紫色非硫光合细菌，其中主要以沼泽红假单胞菌（Rhodopseudomonas palustris）、荚膜红细菌（Rhodobacter capsulatus）、类球红细菌（Rhodobacter sphaeroides）等为菌种，采用有机、无机原料，经过厌氧光照培养制成的活菌制品。

3.2 原菌种

由环境中分离出的菌种，经过纯化并且鉴定的菌株。

3.3 一级菌种

以原菌种为种子扩培生产出的菌种。

3.4 二级菌种

以一级菌种为种子扩培出的液体菌种。

4 生产用水和设施设备

4.1 生产用水

光合细菌生产用水应符合地表水环境质量标准GB 5749中水质要求。

4.2 设施设备

4.2.1 无菌操作间

用于光合细菌一级菌种接种车间，配备紫外杀菌灯，无菌操作台，光照培养箱。

4.2.2 菌种保藏室

用于菌种原种保藏和一级菌种暂时存储，放置有-80℃冰箱，-20℃冰箱和冷藏柜。

4.2.3 规模化生产车间

用于光合细菌二级菌种扩大培养，主要配备紫外杀菌灯，碘钨灯照明系统，搅拌罐，透明培养容器，抽吸水泵，温度计，分光光度计，称量称等。

4.2.4 叶面肥调配灌装车间

用于光合细菌调配作物叶面菌肥车间，配备搅拌罐，灌装设备等容器。

5 生产技术流程

5.1 生产流程

光合细菌生产按照附录 A 执行。

5.2 一级菌种质量

光合细菌一级菌种为纯菌株不含杂菌，接种前菌种分光光度检测OD550nm 吸光值≥1.5，活菌数≥1 x 109 CFU/mL，有效活菌数检测参照国家标准GB/T38579执行。

5.3 培养基

光合细菌一级菌种培养基和生产培养基见附录A。

5.4 二级菌种生产

5.4.1 培养容器

二级菌种培养可使用高透明度的塑料袋培养塑料袋厚度12司，宽度0.3～1.0 m，长度10～100 m；使用透明玻璃容器生产，玻璃容器容量10～20 L;柱形亚克力透明玻璃圆柱，容量0.1～2 吨。

5.4.2 培养条件

二级菌种培养总体条件为光照强度4000 ～ 5000 lx，培养温度25～35℃，培养时间3～7天。

5.4.3 接种量

一级菌种接入量按照二级培养体积的10～20%接入搅拌罐中与培养基重复混匀后，用泵吸入培养容器中。

5.4.4 培养

照明使用500 w 碘钨灯，每间隔3 m放置一个，碘钨灯距离培养容器高度2 m。每日取容器中光合细菌液体进行菌液OD550nm吸光值测定，待OD550nm吸光值达到1.5以上停止培养。

5.5 光合细菌叶面肥调配

5.5.1 叶面肥辅料

叶面肥辅料有表明活性剂、糖蜜、柠檬酸、EDTA

5.5.2 光合细菌叶面肥调配

将培养好的光合细菌泵吸入搅拌罐中，加入叶面肥辅料，然后打开搅拌转子20-50 rpm转速下降菌体与辅料搅拌均匀。

5.5.3 光合细菌叶面肥灌装

调配好的光合细菌叶面肥使用自动灌装系统将其灌装入1L,5L不透明塑料桶中，密封，张贴好商标，商品复合GB 20287-2006规定。

5.5.4 产品质量

产品质量应符合国家行业标准NY/T 527和NY/T798-2004规定。

5.5.5 储存

包装好的光合细菌产品存储放置于仓库，室温，通风避光直射。

6 生产记录

6.1 生产、加工过程记录

应记载菌种来源、发酵日期、培养时间、灌装日期、菌液颜色、菌数、发酵温度、pH值。

6.2 培养基采购使用记录

应记载培养基进货日期、名称、规格、批号、数量、供货商、索证情况、报纸期限、验收人记录、培养基使用量。

6.3 记录保存

记录保存至少2年。

附 录 A
（资料性）
光合细菌生产流程技术规程

1 光合细菌生产技术流程

1.1 技术流程

光合规模化生产主要分为一级菌种培养，二级菌种扩大培养，叶面肥调配三大关键环节。

1.2 光和细菌生产技术总结

1.2.1 一级菌种培养

1.2.1.1 菌种

本产品所使用的菌种为紫色非硫光合细菌，菌种为沼泽红假单胞菌（Rhodopseudomonas palustris），荚膜红细菌（Rhodobacter capsulatus），类球红细菌（Rhodobacter sphaeroides），菌种类型符合NY/T 1109-2006。

1.2.1.2 培养基

一级菌种培养基为光合细菌培养基成分为（g/L）：蛋白胨3.0，酵母浸粉2.4，氯化钙（$CaCl_2 \cdot 2H_2O$）0.3，硫酸镁（$MgSO_4 \cdot 7H_2O$）0.5，pH值6.8-7.0，蒸馏水1000 ml，121℃灭菌15 min。

1.2.1.3 接种及培养

无菌操作台中将三种光合细菌原种使用无菌接种针分别接种于无菌光合细菌培养基中，然后将培养瓶顶层使用塑料膜密封放置于30℃，光照强度5000lx的光照培养箱中静置培养3-7天，待液体颜色变红时对种子液进行摇动，每日一次直至菌体OD550nm 吸光值达到1.5左右时培养结束。

1.2.2 二级菌种培养

1.2.2.1 培养设施

二级菌种培养为规模化扩大培养，需要配备有配料台秤，搅拌罐，抽吸泵，培养前需先打开培养室的紫外线对培养空间进行灭菌30 min。

1.2.2.2 培养基

光合细菌二级培养基成分为（g/L）：酵母粉0.1，乙酸钠1，丙酸钠0.5，氯化钙0.3，硫酸镁0.2，磷酸氢二钾1，微量元素1 ml，pH值6.8-7，自来水。

微量元素成分：EDTA 0.5 g，七水硫酸亚铁0.2 g，七水硫酸锌0.01g，四水氯化锰0.003g，硼酸0.03g，六水氯化钴0.02g，二水氯化铜0.001g，六水氯化镍0.002g，二水钼酸钠0.003g，去离子水1000 ml。

1.2.2.3 接种与培养

将培养基加入搅拌罐中加入自来水，边搅拌边溶解培养基，每种培养基分别依次序溶解，之后加入光合细菌一级菌种继续搅拌20-50 rpm速度搅拌30min。一级菌种接种量控制为10%。使用泵将搅拌均匀的光合细菌和培养基打入培养容器。照明使用500 w 碘钨灯，每间隔3 m放置一个，碘钨灯距离培养容器高度2 m，控制培养室温度25-35℃，培养3-7天。

1.2.2.4 质检

每日取容器中光合细菌液体进行菌液OD550nm吸光值测定，待OD550nm吸光值达到1.5以上停止培养。观察并记录菌体色泽以及气味。正常光合细菌色泽紫红至深红色，菌体悬浮性较好，pH值7-7.5。若菌体色泽发黑或者发黄，白色，气味馊臭，硫化氢气味重大，表明培养失败应及时处理掉，培养容器需要重新消毒。

1.2.3 叶面肥调配

1.2.3.1 叶面肥辅料

叶面肥辅料有表明活性剂、糖蜜、柠檬酸、EDTA。

1.2.3.2 叶面肥调配

将培养好的光合细菌泵吸入搅拌罐中，加入叶面肥辅料，然后打开搅拌转子20-50 rpm转速下降菌体与辅料搅拌均匀。

1.2.3.3 光合细菌叶面肥灌装

调配好的光合细菌叶面肥使用自动灌装系统将其灌装入1L,5 L不透明塑料桶中，密封，张贴好商标。

1.2.4 产品质量

产品质量应符合国家行业标准NY/T 527规定。

1.2.5 储存

包装好的光合细菌产品存储放置于仓库，室温，通风避光直射