

# 嘉義市第 38 屆中小學科學展覽會

## 作品說明書

科 別：生 物

組 別：國中組

作品名稱：光合菌培育與淨化水質研究

關 鍵 詞：光合菌、淨化水質

編 號：

## 目錄

摘要.....	2
壹、研究動機.....	2
貳、研究目的.....	2
參、研究設備及器材.....	2
肆、研究過程與方法	
實驗一、認識光合菌.....	5
實驗二、光合菌的單離純化 .....	6
實驗三、光合菌的擴培 .....	13
實驗四、光合菌淨化水質 .....	16
.....	
伍、研究結果.....	18
陸、討論.....	21
柒、結論.....	23
捌、參考資料.....	23

# 光合菌培育與淨化水質研究

## 摘要

本研究主要探討光合菌之培育與淨化水質。內容分為：一、認識光合菌。二、光合菌的單離純化。三、光合菌的擴培。四、光合菌的淨化水質。經研究初步得知，光合菌的單離純化是一個很嚴謹的技術，我們遵守操作步驟，很順利的分離並擴培三個不同來源的菌種，一部分以低溫保存，另一部分將擴培的菌液，再以零下 87°C 低溫冷凍乾燥法，製成粉末裝入膠囊中保存。另取本校魚池水，加入 10ml/L 的光合菌液，經一個月時間做淨化處理，經檢測水質結果發現化學需氧量、導電度、磷酸鹽、氨-氮、硫酸鹽、餘氯等檢測項目的消除率均達 50% 以上；溶氧量增加率亦達 50%，光合菌淨化水質效果很好，值得多多推廣使用。

## 壹、研究動機

我家魚缸養著一隻小魚，每個禮拜我都會幫牠清理魚缸，但最近魚缸裡的水很混濁，正好我在電視上看到一則有關光合菌的報導，心想這或許能幫助魚缸的水變乾淨，於是就到網路上找了一些關於光合菌的資料，並邀集志同道合的班上同學，一起探討光合菌是否真的可以淨化水質及加速植物的生長，在老師的指導下，展開了一系列的實驗。

## 貳、研究目的

- 一、探討光合菌的分離與擴培方法。
- 二、探討光合菌淨化水質的功能效率。
- 三、探討光合菌的應用。

## 參、研究設備及器材

### 一、實驗設備：(圖 1.)

培養基、本校魚池水、COD 檢測試劑、硫酸鹽檢測劑、磷酸鹽檢測劑、銅檢測劑、餘氯檢測劑、檢測劑、玉米種子、培養土。

### 二、實驗藥品：(圖 2.)

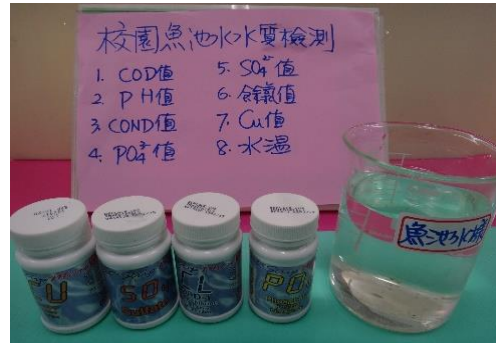
試管、鑷子、透氣膠帶、微量吸管、酒精燈、燒杯、盆栽、塗盤、無菌棒、低溫恆溫培養箱、D.O 檢測計、pH 檢測器、COD 分解爐、micro20 分光光度計、溫度計、滴管、菌種培養箱。



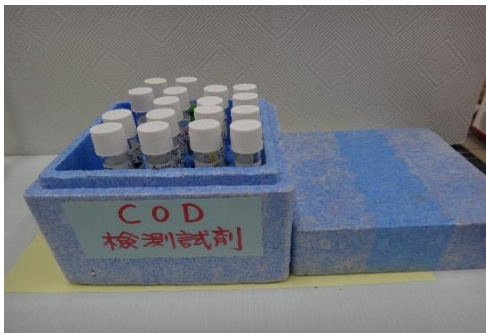
圖 1.主要實驗設備



A. agar、yeast等培養基原料



B.水質檢測藥劑



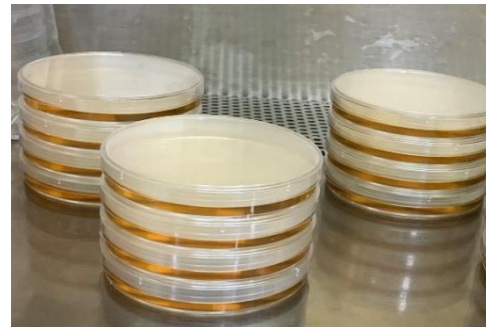
C.化學需氧量(COD)檢測藥劑



D.液態培養基



E.玉米種子



F.自製的培養基



G.光合菌液種源(本校/ 中研院)



H.培養土

圖 2.主要實驗藥品

## 肆、研究過程及方法

### 【實驗一、認識光合菌】

#### (一)光合菌簡介

- 1.學名：Photosynthetic Bacteria，簡稱 PSB。
- 2.功能：能在光照和黑暗條件下利用自然的有機物進行光合作用。
- 3.生長環境：主要分布於水生環境中光線能透射到的缺氧區，光合菌的適宜水溫為 15~40C。
- 4.特徵：利用地底的排泄物和有毒有害的物質進行繁殖，提高溶解含氧量，並附有豐富的蛋白質和維生素等多樣有機物。
- 5.種類：根據它們所含光合色素和電子供體的不同而分為產氧光合細菌(藍細菌)和不產氧光合細菌(紅色細菌和綠色細菌)。

(1)藍細菌(Cyanobacter)：含有葉綠素 A、以水作為供氫體和電子供體、通過光合作用將光能轉變成化學能、同化 CO<sub>2</sub> 為有機物質排出氧氣的光合細菌。進行光合作用部位含有葉綠素 A、β-胡蘿蔔素、類胡蘿蔔素、藻膽素 (包括藻藍素和藻紅素)類囊體。

(2)紫色細菌：紫色細菌是一群含有菌綠素和類胡蘿蔔素、能進行光合作用、光合內膜多樣、以硫化物或硫酸鹽作為電子供體、沉積硫的光能自氧型細菌。因含有不同類型的類胡蘿蔔素，細胞培養液呈紫色、紅色、橙褐色、黃褐色，故稱為紫色細菌。紅螺菌屬、紅假單胞菌屬和紅微菌屬，曾被認為不能利用硫化物作為電子供體以還原 CO<sub>2</sub> 構成細胞物質，所以稱它們為非硫紫色細菌。這些細菌大多數可利用低濃度的硫化物，現規為紫色硫細菌。多分布在淡水、海水和高鹽等含有可溶性有機物和低氧壓的水生環境中，也常見於潮濕的土壤和水稻田中。

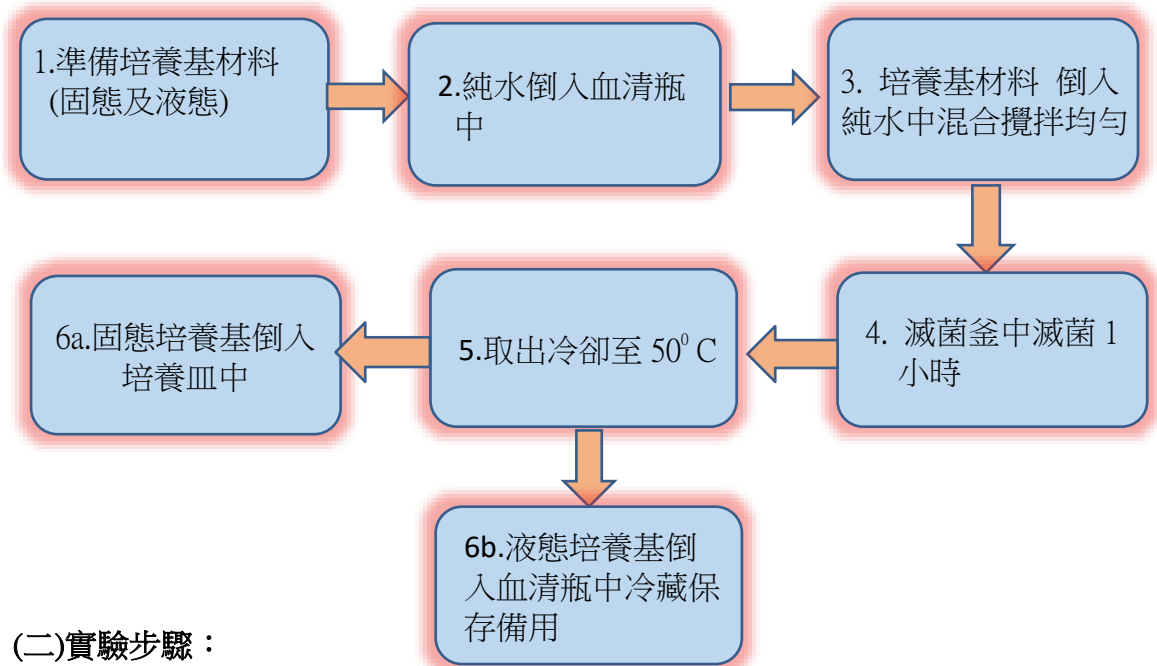
#### (二)光合菌應用

- (1)主要用途：(1)淨化水質(避免固體有機物和有害物質累積)。(2)飼料添加(所含的酶類，促進魚類的消化吸收，並提高魚的生長速度，減少魚類病害，抑制病菌的生長與繁殖)。
- (2)使用方法：(1)水體噴灑。(2)飼料添加。

## 【實驗二、光合菌的單離純化研究】

### 一、光合菌的培養基配製

#### (一)實驗流程：



#### (二)實驗步驟：

##### 1. 準備培養基材料

(1)液態培養基材料：Yeast extract 5g/L、Sodium succinate 50g/L、  
Ms power 0.43g/L、NH<sub>4</sub>CL 10g/L。

(2)固態培養基材料：Yeast extract 5g/L、Sodium succinate 50g/L、  
Ms power 0.43g/L、NH<sub>4</sub>Cl 10g/L、Agar 15g/L。

2. 準備 1000ml 純水倒入血清瓶中。

3. 將上列材料依序倒入純水中，並混合溶液充分攪拌均勻。

4. 移至滅菌釜中滅菌 1 小時。

5. 冷卻至 50° C 迅速倒入培養皿中。

6. 固態培養基(內含 Agar)倒入培養皿中，約 30min 會凝固。

液態培養基(內不含 Agar)倒入血清瓶中，冷藏保存備用。

#### (三)操作情形：圖 3

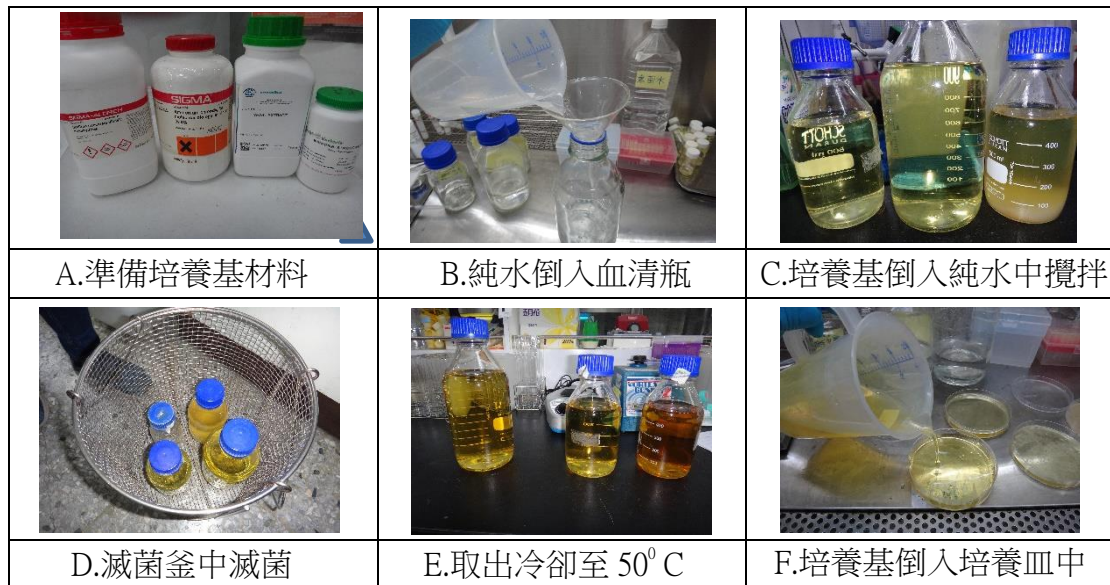
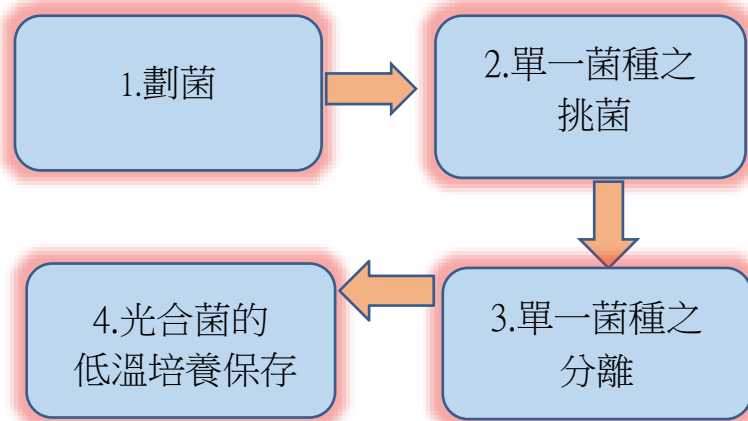


圖 3. 光合菌的培養基配製

## 二、光合菌的單離與純化

### (一) 實驗流程：



### (二) 實驗步驟：

#### 1. 劃菌

##### 1-1 實驗步驟

##### (1) 準備檢樣

檢樣 A：學校實驗室提供；檢樣 B：中研院研究室提供。

(2) 將光合菌混合均勻後分裝，用麥克筆寫下實驗物名稱。

(3) 把接種環(劃菌的工具)用酒精消毒；再用火消毒。

(4) 冷卻接種團(大約 1 分鐘)後，開始劃第一區。

(5) 將接種團用火燒並等待冷卻後，開始劃第二區。

(6) 將接種團用火燒並等待冷卻後，開始劃第三區。

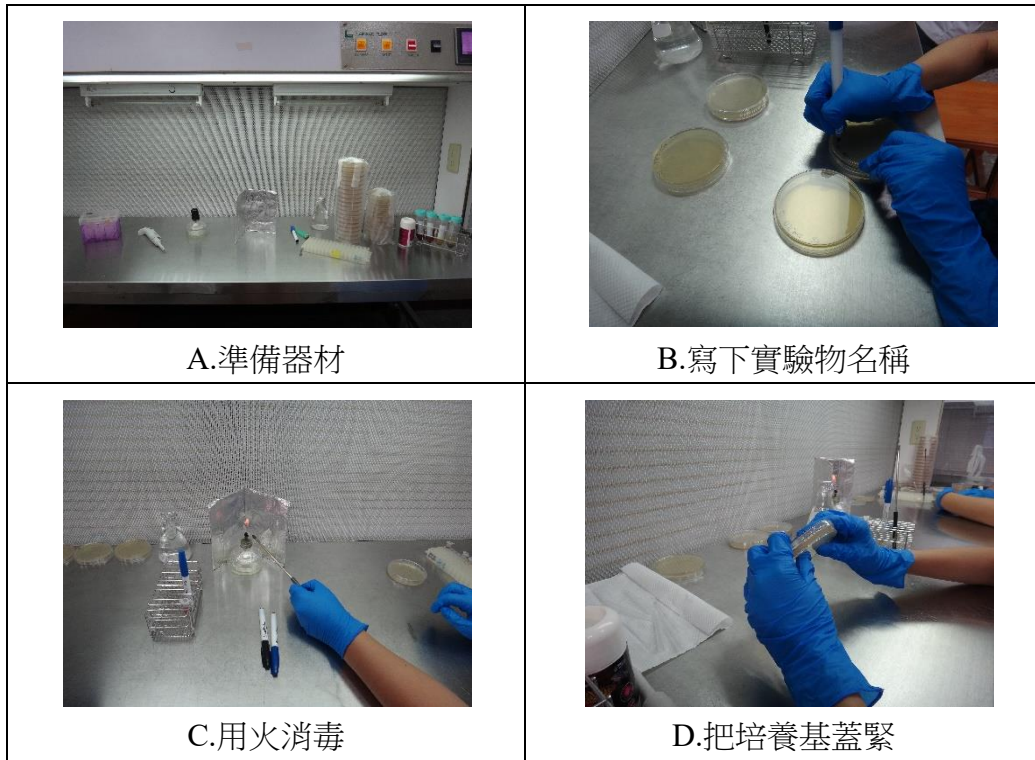
(7) 直接劃第四區(中途不用稀釋)。

(8) 將培養基蓋緊，消毒接種團。

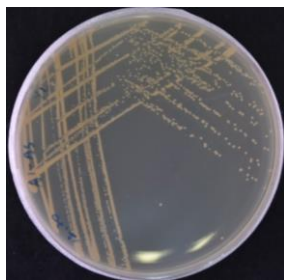
(9) 繼續劃下一個光合菌實驗，重複第 3~8 步驟，實驗三重複。

1-2. 操作情形：圖 4~6

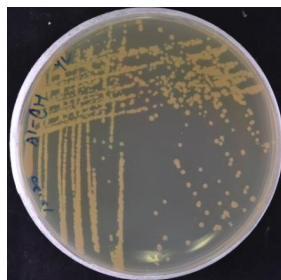




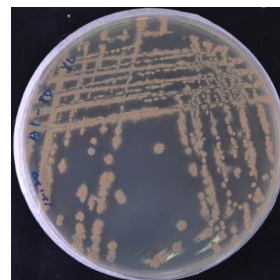
▲ 圖 4.光合菌之劃菌操作情形



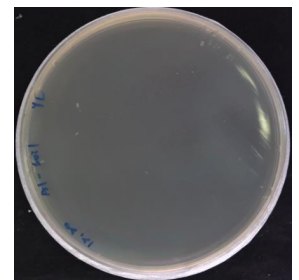
1-AS



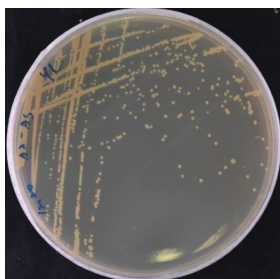
1-CH



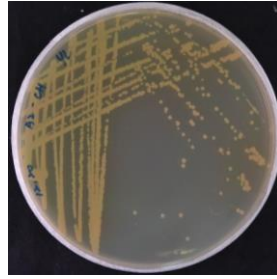
1-PD



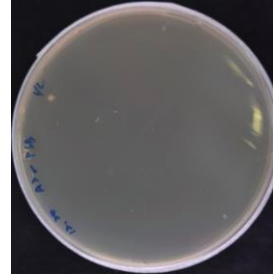
1-Soil



2-AS



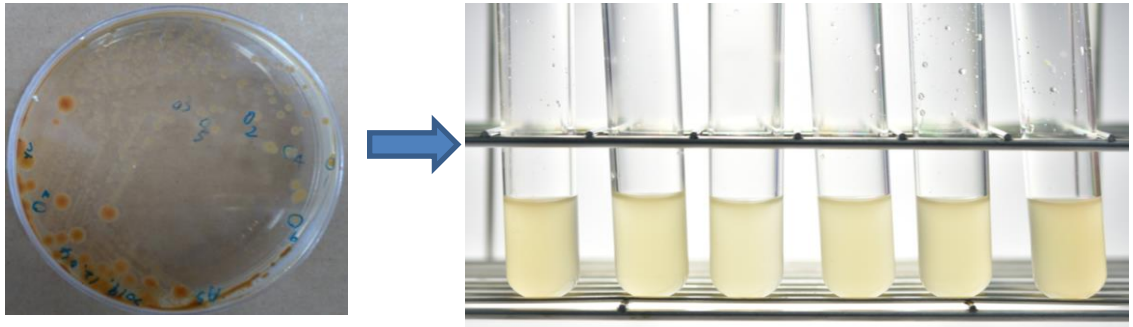
2-CH



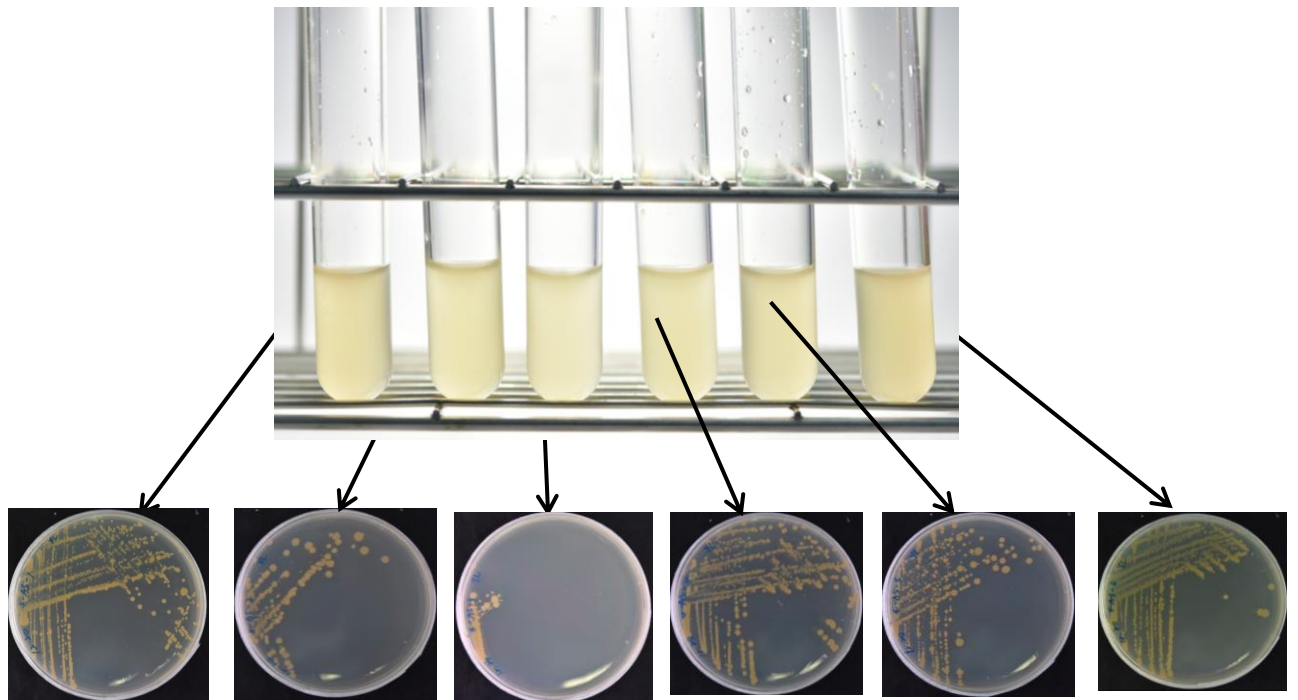
2-PSB

光合菌種來源  
 AS:中研院實驗室  
 CH:本校實驗室  
 PD:光合菌膠囊  
 PSB:商業光合硝化菌  
 Soil: 土壤

▲ 圖 5.不同來源的光合菌畫盤



▲ 圖 6：挑選 6 個單一菌落做純化培養



▲ 圖 6.分別將擴培的菌液拿去畫盤

## 2.單一菌種之挑菌

### 2-1 實驗步驟

- (1)準備器材。
- (2)將所有器材消毒。
- (3)將小試管用鑷子夾出來並放到試管架上。
- (4)取液態培養基分裝到小試管內(7 個)。
- (5)在小試管上寫下光合菌類型。
- (6)把培養皿外的透氣膠帶撕下。
- (7)打開培養皿的蓋子(手盡量不要在上方，以免有雜菌)。
- (8)將單一菌種用微量吸管挑出來並放到對應的小試管裡。
- (9)將微量吸管前端的小吸管丟掉(不可重複使用)。

### 2-2.操作情形：圖 7



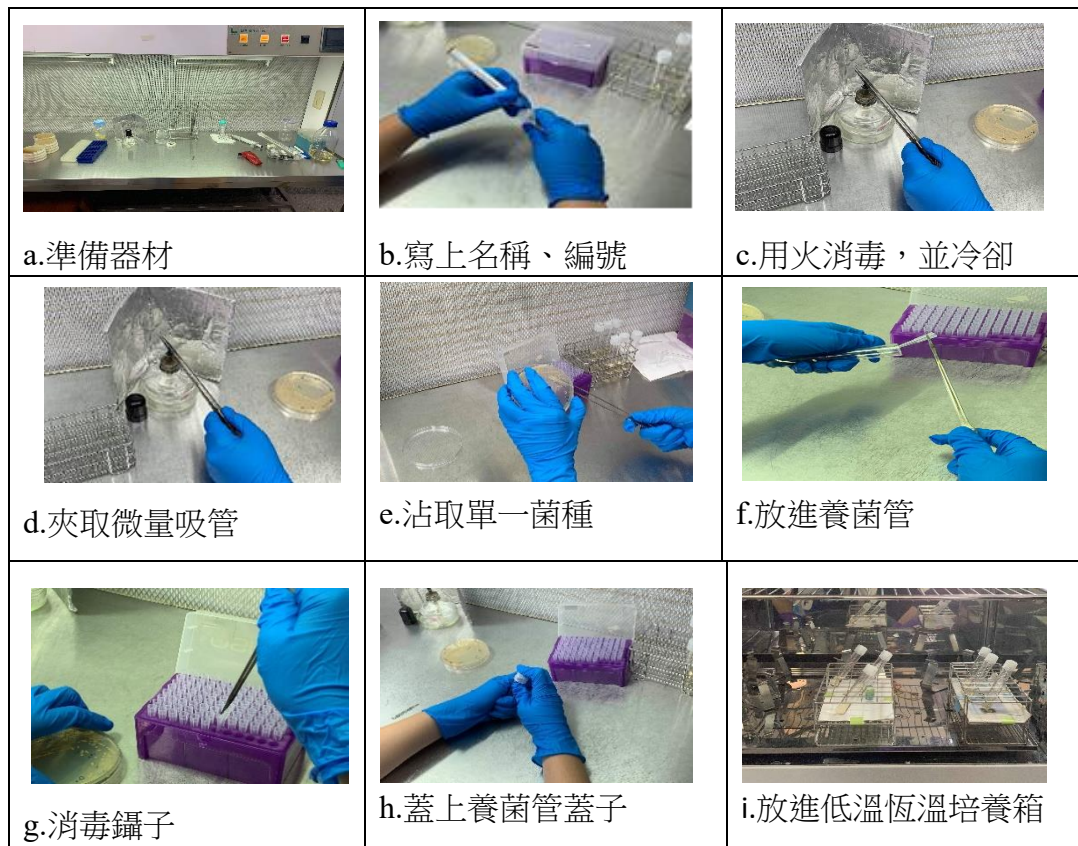
▲ 圖 7.光合菌之挑菌實驗情形

### 3.單一菌種之分離

#### 3-1 實驗步驟

- (1)準備器材。
- (2)在養菌管上寫下日期和菌種編號。
- (3)把液態培養基用微量吸管吸進養菌管。
- (4)將鑷子用酒精和火消毒。
- (5)打開培養皿蓋子
- (6)用微量吸管沾取單一菌種(盡量挑較大的、和其他菌種距離較遠的)。
- (7)將培養皿蓋子蓋上。
- (8)將單一菌種放進養菌管。
- (9)將養菌管蓋子蓋上。
- (10)消毒鑷子。
- (11)在培養皿上圈出並寫上剛才挑的菌種的編號。
- (12)放進低溫恆溫培養箱。

#### 3-2 操作情形(圖 8)



▲ 圖 8. 光合菌之挑單一菌種實驗操作情形

#### 4. 光合菌的低溫培養與保存

##### 4-1 實驗步驟

- (1) 把上面的上清液去掉(需留下一點)。
- (2) 把一些上清液和菌種混合並集中在同一試管內。
- (3) 打開液態培養基(瓶口需消毒)。
- (4) 吸取培養基並放進試管。
- (5) 拿取 5 個小試管。
- (6) 寫上編號。
- (7) 吸取試管裡的培養基。
- (8) 將培養基放進小試管。
- (9) 將負 80 度的菌種放進小試管裡。
- (10) 將酒精倒入小燒杯，並把圖盤無菌棒放入。
- (11) 將塗盤無菌棒消毒，並等待冷卻。
- (12) 在固態培養基上寫下編號。
- (13) 吸取小試管裡的培養基，滴在固態培養基，並用塗盤無菌棒分布在固態培養基直到光合菌完全乾掉為止。

##### 4-2 操作情形：圖 9



a. 準備材料



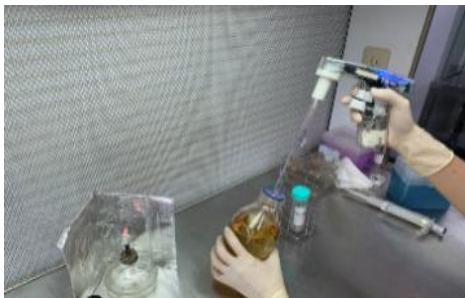
b. 把上清液去掉



c. 將菌種和上清液混合



d. 瓶口消毒



e. 吸取培養基



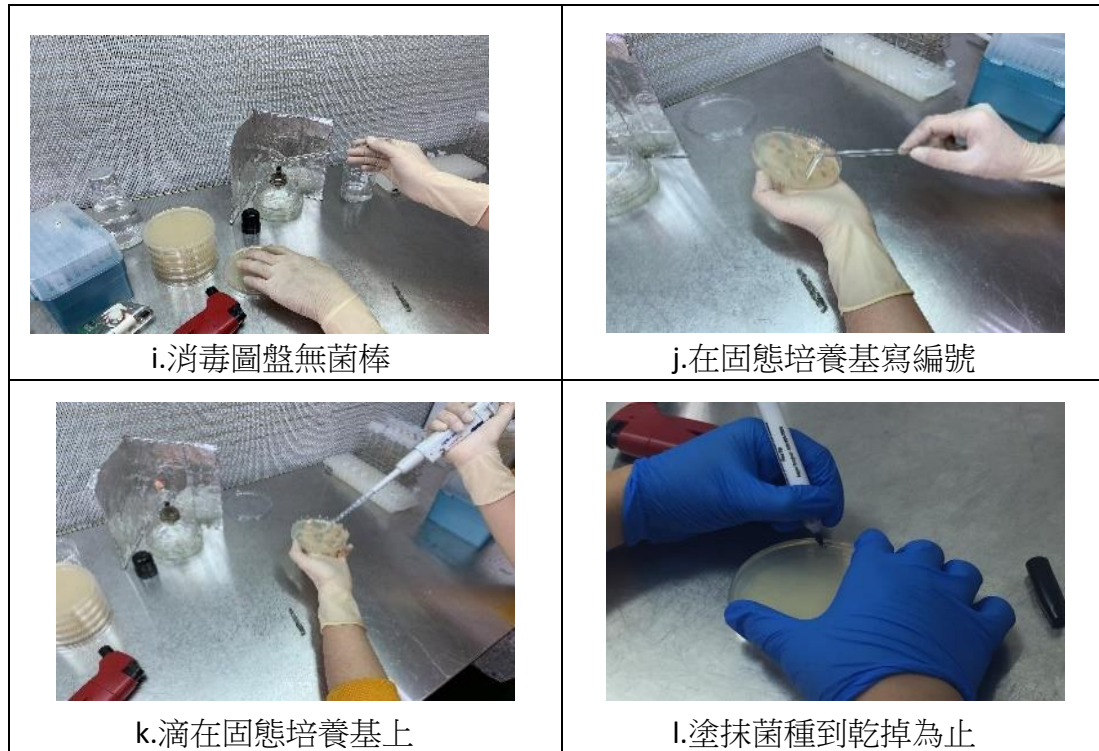
f. -80°C 的菌種培養箱



g. 將培養基放進小試管



h. 酒精倒入小燒杯

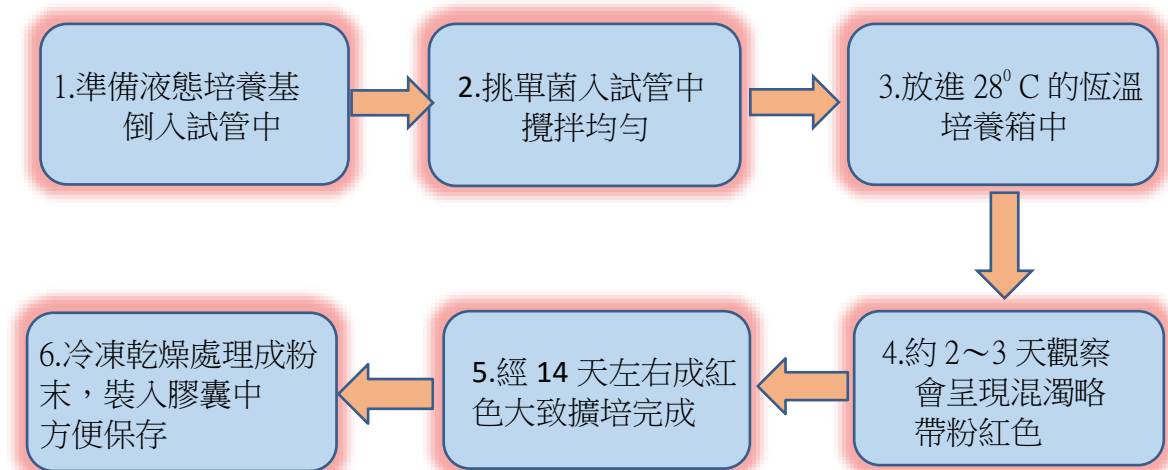


▲ 圖 9.光合菌之低溫培養實驗

### 【實驗三、光合菌的擴培】

#### 一、實驗室擴培方法

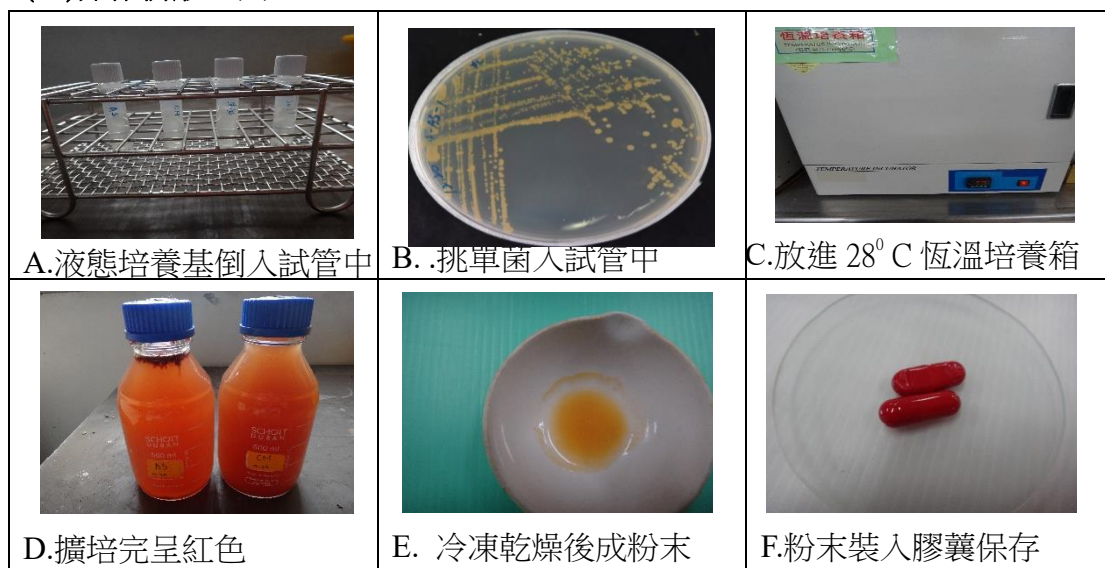
##### (一)實驗流程：(實驗室法)



##### (二)實驗步驟：

- 1.準備液態培養基倒入試管中。
- 2.單菌挑入試管中攪拌均勻。
- 3.放進 28° C 的恆溫培養箱中或置入厭氧材料包的密封瓶罐中培養。
- 4.約 2~3 天觀察會呈現混濁略帶粉紅色，經 14 天左右成紅色，擴培完成。
5. -87° C 經冷凍乾燥處理，得濃縮粉末，裝入膠囊中方便保存。

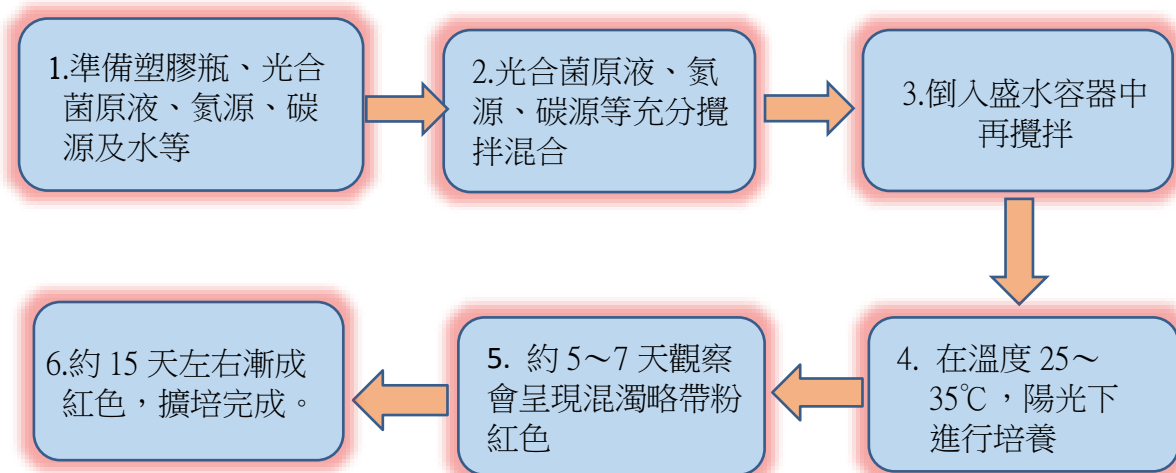
(三)操作情形：圖 10



▲ 圖 10.光合菌之擴培(實驗室法)

二、室外擴培方法

(一)實驗流程：(室外方法)



(二)實驗步驟：

- 1.準備碳源培養基(味素、蝦露、魚露等)和氮源培養基(雞蛋、尿素、硝酸鹽等)。
- 2.光合菌原液、氮源、碳源等三種原料充分攪拌混合均勻。
- 3.由步驟 2 所得之混合液，倒入盛水容器再攪拌均勻，瓶蓋塞緊。
- 4.25~35°C 陽光下培養，初期會呈現混濁帶粉紅色。
- 5.經 14 天左右成紅色大致擴培完成。
- 6.光合菌擴培成品，可放陰涼處保存 2~3 個月。

(三)操作情形：圖 11



▲ 圖 11.光合菌之擴培(室外曝曬法)

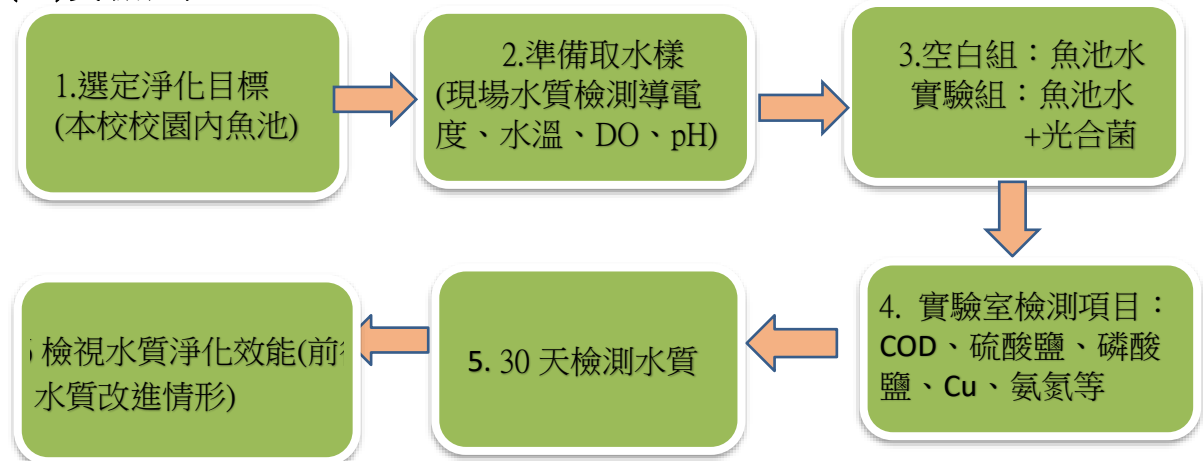


## 【實驗四、光合菌淨化水質研究～以本校魚池水質為例】

### (一)說明

光合細菌在不同的自然環境下，具有固氮、脫氮、固碳、硫化物氧化等多種功能，與自然界中的氮、磷、硫循環有著密切的關係，在自然環境的自淨過程中，擔任著重要的角色。在水產養殖上，光合細菌常被用來除去水中之硫化氫與氨氮，藉以改善養殖池的水質環境，有效降低廢水中生化需氧量 (BOD) 和化學需氧量 (COD)濃度，快速分解有機質，達到淨化水質的目的。

### (二)實驗流程：



### (三)實驗情形：圖 11

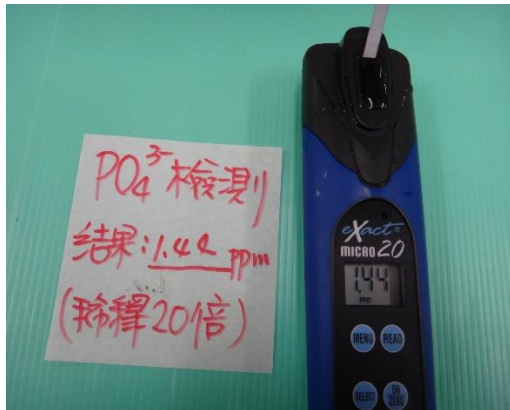




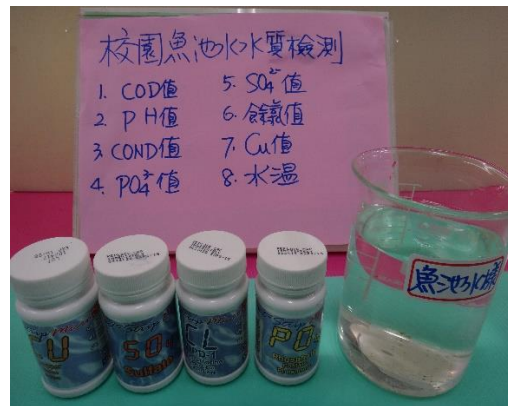
E. 魚池水質硫酸鹽檢測



F. 魚池水檢測銅離子含 138ppm



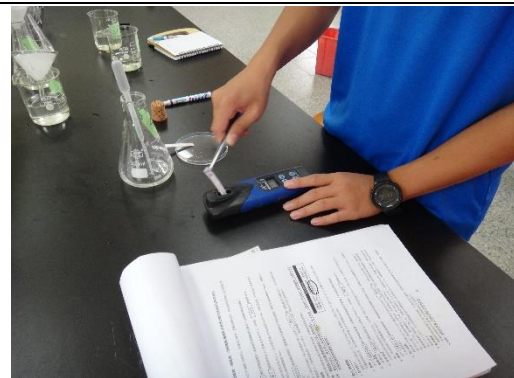
G. 魚池水檢測磷酸鹽含量



H. 魚池水檢測 COD、pH 等 8 項含量



i. 10 天檢測水質一次，1 月 3 次紀錄




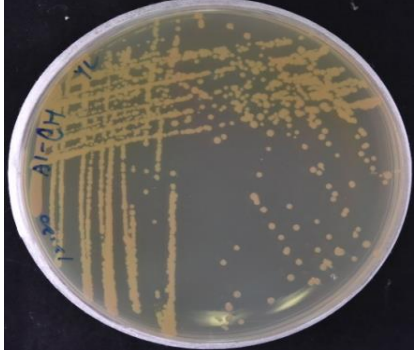
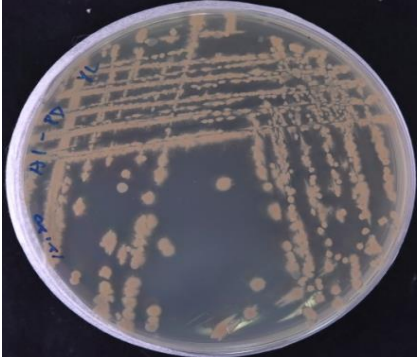
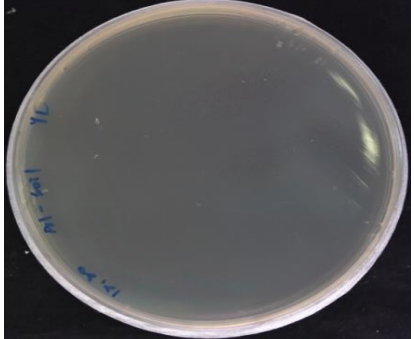
j. 以分光光度計檢測水質情形

▲ 圖 12. 光合菌淨化校園水質之實際檢測情形

## 伍、研究結果

### 一、【光合菌的單離純化】實驗結果：

(單離每個菌要大，且相離遠的，為最理想)

菌種來源	研究結果
中研院實驗室 (由光合菌液單離)	
本校實驗室 (由光合菌液單離)	
光合菌膠囊 (由光合菌粉再處理單離)	
土壤 (由土壤中分離)	

## 二、【光合菌的擴培】實驗結果：

擴培方法	研究結果
<p data-bbox="316 405 507 443">實驗室擴培</p> <div data-bbox="268 584 560 801" style="border: 1px solid blue; border-radius: 15px; padding: 5px; background-color: #4a86e8; color: white;"> <p data-bbox="268 622 528 763">挑選 6 個單一菌落 在恆溫培養箱中 做純化擴培之產品</p> </div>	
<p data-bbox="336 936 488 974">室外擴培</p> <div data-bbox="268 1137 560 1355" style="border: 1px solid blue; border-radius: 15px; padding: 5px; background-color: #4a86e8; color: white;"> <p data-bbox="284 1176 544 1317">以光合菌液在室外 陽光下做擴培之 產品(一)</p> </div> <div data-bbox="268 1659 560 1877" style="border: 1px solid blue; border-radius: 15px; padding: 5px; background-color: #4a86e8; color: white;"> <p data-bbox="268 1697 528 1839">以光合菌液在室外 陽光下做擴培之 產品(二)</p> </div>	 

### 三、【光合菌淨化水質】實驗結果：

1.說明：1L 魚池水加入光合菌 10ml，經 30 天後檢測。

空白組：校園魚池水。

實驗組：S1、S2、S3……1L 校園魚池水加 5ml 光合菌液。

2.結果：(1)化學需氧量、導電度、磷酸鹽、氨-氮、硫酸鹽、餘氯等項目消除率均達 50%以上。

(2)溶氧量增加率亦達 50%。光合菌淨化水質效果很好。

3.實驗紀錄：表 1

表 1. 光合菌淨化校園水質之實驗紀錄

實驗次數 檢測項目	空白組	S1	S2	S3	淨化後 平均	消除率
COD(化學需氧量)	157	15	13	17	15	90%
DO(溶氧量)	1.2	1.8	1.8	1.8	1.8	增加率 50%
COND(導電度)	450	122	118	120	120	73%
pH(酸鹼度)	8.5	8.0	7.8	7.6	7.8	8%
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (磷酸鹽)	0.09	0.04	0.04	0.04	0.04	55%
NH <sub>3</sub> -N(氨-氮)	2.4	0.3	0.5	0.4	0.4	83%
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (硫酸鹽)	35	17	18	16	17	51%
餘氯	0.08	0.03	0.04	0.05	0.04	50%

## 陸、討論

### 一、光合菌的介紹：

通常所說的光合細菌是一類能在厭氧光照下，利用有機物作為供氫體兼碳源，進行不放氧光合作用的細菌，光合細菌在自然界的碳、氮、硫循環中起著重要作用。

光合菌細胞內含有以細胞膜內折形成的囊狀載色體，以增加色素吸收光的面積。色素主要有細菌葉綠素 a、b、c、d、e、g 和 80 多種類胡蘿素。光合細菌在自然界中分佈非常廣泛，在海洋、江河、湖泊、池沼、土壤、水田、極地或溫泉、高鹽水體等各種生態境中都有光合細菌的踪跡，在氧氣含量有限而光線能到達的表面水、底泥中數量最多。

### 二、光合菌的單離與純化：

從環境水域中分離及純化光合菌的技術，是連續且大量培養的基礎；從養蝦池、養魚池、水溝等可排放大量的有機質含鹽分的水域要比淡水池容易分離出光合菌。光合菌的單離與純化需要花很長的時間，因為光合菌的成長速度慢，每個純化步驟要 3~5 天時間，全程需 20~30 天時間才能完成。

將用酒精消毒過的接種團用火消毒，須等到接種團前端變紅才可拿起使用；打開培養皿的蓋子；微量吸管使用後要丟棄，不可重複使用。用微量吸管沾取單一菌種時，盡量挑較大的單一菌而且和其他菌種距離較分開的，這樣純化或擴培效果才會顯著。

光合菌之四區劃菌接種團使用之前，應先用火消毒，直到接種團前端變紅，並等待冷卻後(接種團前端恢復原本顏色)，才可拿取，並開始實驗，而當劃第三區和第四區時，中途不可稀釋。光合菌之單一菌種之挑菌：當打開實驗之培養皿的蓋子時，手應盡量不要在上方，避免有雜菌，而當單一菌種挑出來，放到對應小試管後，微量吸管前端的小吸管應丟棄，不可重複使用，避免汙染混合菌。

純化與分離光合菌的操作過程：將採得的水體置於固態培養基中培養細菌，大量而複雜的菌落中出現單一紅色菌落 → 將紅色菌落挖出繼續分離純化培養，紅色菌落變多 → 將未完全分離的紅色菌繼續挖出分離純化培養，紅色菌落繼續增加 → 再將紅色菌挖出培養，培養皿出現大量的光合菌紅色菌落 → 固態培養基中已經出現單一的紅色菌落，再繼續分離純化，紅色菌落和單一紅菌落變多 → 再從單一紅色菌落分離培養，培養皿中已經呈現同型態的紅色菌落，光合菌分離工作已經完成，可以進行菌種鑑定、純種培養和菌種保存。

### 三、光合菌的擴培：

擴培選取原料菌種和培養基時，建議直接到網路購買培養基，同時也可以購買一定量的菌種，買回來直接擴培；而選取原料溶液可用自來水，可使用增氧泵曝氣 6-12h 或曝曬 2-3 天或井水，防止雜菌污染；若將 80 公斤水中加入定量的培養基，使之充分溶解，與 20 公斤的光合細菌菌種混合均勻後進行分裝處理，密封培養。在溫度 25-35℃，自然光照下進行培養，晴天培養時間大約需要 10 天，每日觀察光合細菌培養物顏色，並與原液比較，當顏色基本一致時，可視為培養完成。

應用營養物質如魚溶漿、魚粉、酵母萃取物、麩胺酸、葡萄糖、黑糖、糖蜜、去油黃豆粉等亦都可以用來培養光合菌，但要具備相當的光合菌培養知識和防止雜菌污染的技術

### 四、光合菌淨化水質：

光合細菌在不同的自然環境下，具有固氮、脫氮、固碳、硫化物氧化等多種功能，與自然界中的氮、磷、硫循環有著密切的關係，在自然環境的自淨過程中，擔任著重要的角色。在水產養殖上，光合細菌常被用來除去水中之硫化氫與氨氮，藉以改善養殖池的水質環境，降低魚蝦病害。光合菌亦能有效降低廢水中生化需氧量 (BOD) 和化學需氧量 (COD) 濃度，快速分解有機質，達到淨化水質的目的。隨著水產養殖業的發展，水產養殖單位產量大幅度提高，但水質污染嚴重，特別是飼養後期，水中有機物、氨及亞硝酸鹽含量偏高，嚴重影響了魚的生長。光合細菌施入水體後，它可降解水體中的殘存飼料、魚類的糞便及其它有機物；同時，還能吸收利用水體中的氨、亞硝酸鹽、硫化氫等有害物質。施用光合細菌，能有效避免固體有機物和有害物質的積累，起到淨化水質的作用。

### 五、光合菌的應用：

光合菌可以應用在海水、半海水及淡水的養殖池，使用時不需考慮鹽度的問題，做為飼料添加劑。由於光合細菌營養價值高，可以作為飼料添加劑補充飼料營養不平衡，促進生長；並可當培養浮遊動物餌料。水體中施入光合細菌後，矽藻、小球藻等魚類喜歡攝食的藻類成為優勢藻類，而藍藻等有害藻類受到抑制。光合細菌能大量利用水中的氨氮，能有效避免如藍藻的大量繁生。光合細菌亦可維持微生態平衡，一方面補充菌群，分解有害有機質。另一方面使得塘口，菌相和藻 2 相達到平衡，水質不易變化，起穩定水質的作用，始終維持著養殖池塘生態系統平衡。

## 柒、結論

近年來由於化學農藥與化學肥料過度使用，不僅對於自然資源如土壤、水源造成重大的衝擊，破壞了大自然的生態平衡。各國莫不致力於開發環境保全型之永續性農耕體系，以減少化學合成物質之使用，期能達到生產自然安全農產品的目標。而光合菌的投入農漁體系運作已有十餘年的時間，目前可說是微生物肥料運作的試金石，且大致已獲得可預期的成效。本次我們自從去年暑假，開始投入以光合菌的單離、純化、擴培與對養殖魚池水質的淨化實驗研究，一路過來雖極辛苦，然獲致實驗的初步成果，也叫人欣慰了。

### 捌、參考資料

1. 朱芳琳，凌惠玲，2019，國民中學自然科學 1 上，第 2 章 生物體的組成。翰林出版社。
2. 黃世鈴、楊豐隆、黃麗玲，2013，從養殖池中純化光合菌及其大量培養的技術，水試專訊，第 41 期。
3. 劉啟德，光合菌微生物肥料之介紹，臺大農業推廣通訊雙月刊 96 期。101 年 12 月。
4. 許博煜，2013，專題研究報告～光合菌促進生長節奏。