中華農業研究（Jour. Agric. Res. China）33(3)：276～291（1984）

溫度與照度對螺旋藻生長速率、生理與生化性質之影響

劉　慧　瑛

摘要：食用性高蛋白質螺旋藻 *Spirulina platensis*, 爲一絕對光自營性生物，除了照度因素外，溫度、接種濃度與培養方式對其生長都有重要的影響。劇烈的攪拌會減弱藻體對高溫及强光的耐性而使生長速率變慢。太過稀薄的藻體則在40°C及强光下生長時會迅速進入衰減期；然而，提高溫度至40°及45°C時可使較高濃度的藻體得到較大的生長速率與較小的飽和光量。

初濃度約0.24g/l之對數生長期螺旋藻培養液在33—45°C與1—16 klux 環境下培養24小時，經一般組成與色素成分分析後發現，在强光高溫下生長之藻體，其細胞內除全醣量大幅增加外，蛋白質、核酸、葉綠素 a、類胡蘿蔔素及藻藍素含量均行減少且失去上浮能力；在顯微鏡下可觀察到細胞顆粒及氣胞數目減少呈透明狀態；靜置培養之藻體細胞總長度達2—3毫米，通氣攪拌則導致細胞嚴重斷裂；單位培養體積內之總醣量高出低溫弱光培養者約30—35倍，除葉綠素 a 減少，藻藍素不增減外，其餘成分都有增加。

在37°C, 6 klux 或40°C, 4—6 klux下，以靜置方式培養螺旋藻時可以得到最大的蛋白質、葉綠素 a 及藻藍素產量。

螺旋藻（Spirulina）係一新開發之食用高蛋白質藍綠藻（Blue-green algae）。在自然界中所存在的螺旋藻雖有三十餘種[15]，而以法國石油研究所與日本中村浩自非洲內陸 Chad, Aranguadi 湖分離出之*S. platensis*及自墨西哥SOSA Texcoco碱業公司碳酸鹽蒸發池中分離得到之*S. maxima*被認爲最具生產價值[2,15]。除了非洲Kanem族[10,15]與墨西哥 Aztek 族[2,15]人民已有食用該藻數千年之歷史外，法國、墨西哥與日、美、俄、西德等國一些學術研究機構自十五年前開始紛紛進行種種培養、生化及營養試驗，證實其具有高營養價值且食用安全無虞[4,15]。

就該藻之天然生育環境觀察，此藻適合在高溫及陽光充足的地區生長，目前除了墨西哥採用半天然（semi-natural）方式培養[2,26]，年產可達五百噸外[26]，在臺灣[1]及硫球（由日本投資經營）[3]均已進行人工化大規模培養生產。螺旋藻培養雖以方法簡易著稱，實際上室外生產單立面積產量僅及綠藻之半[27]。就藻體營養價值、經濟用途及生產潛能而言，螺旋藻優於綠藻，所以，提高螺旋藻生長速率並控制成品品質，可使其成爲一種高營養的廉價蛋白質資源與生質（Biomass）能源。

對於培養條件之探討，Meyer[20], Nguyen[21]與Ogawa[22,23,24]等人均著重於常溫或最適生長溫度（Optimum Temperature）下藻體生長情形及一般成分分析之研究。Ogawa 氏研究 35°C 下*S. platensis* 之生長動力學[23]，並探討不同照光强度（Light Intensity）對細胞色素變化之影響[24]。Van Eykelenburg則研究15°至 39°C與0.3至21 klux 照度下細胞產量與內部微細構造之差異[28,29,30]。有關溫度與照度變化對此藻一般組 成分，色素成分，礦物質含量等品質影響並未被分析研

1.臺灣省農業試驗所　研究報告第 1168 號。本文獲國科會71年度研究成果獎助。

2.本所農業化學系助理研究員。臺灣省　臺中縣　霧峰鄉。

究。由於 *S. platensis* 較適合在30°C以上高溫下生長，且夏季臺灣水溫或可高達 40°C，因此本試驗旨在探討超適溫度（30° 至 45°C）下，不同照度與溫度對藻體生長速率、產量、蛋白質（Protein）、核酸（Nucleic Acid），全醣（Carbohydrate）、葉綠素 a （Chlorophyll a）、類胡蘿蔔素（Carotenoid）、藻藍素（C-Phycocyanin）含量及其它生理特性之影響，俾能求得提高藻體生長速率與品質之方法。

材料與方法

一、使用藻種：*Spirulina platensis* 與 *S. maxima* 係臺灣大學蘇遠志教授及前聯合工業研究所所長郝履成博士慨贈。

二、培養基組成：將Zarrouk氏培養基組成[33]加以修飾如下：

表一：合 成 培 養 基 組 成

Table 1: The composition of synthetic medium

$NaHCO_3$	8.4 g/l	K_2HPO_4	0.25 g/l
$NaNO_3$	1.5	K_2SO_4	0.5
NaCl	0.5	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.1
$CaCl_2$	0.015	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0.0
E. D. T. A. -2Na.	0.08	A_5 soln.	0.5 ml./l
B_6 soln	0.5ml./l		

a A_5 soln. (g/l)：H_3BO_3 2.85, $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 1.81, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.22, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 0.08, MoO_3 0.15

b B_6 soln. (g/l)：NH_4VO_3 0.023, $K_2Cr_2(SO_4) \cdot 24H_2O$ 0.096, $NiSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.048, $Na_2WO_4 \cdot 2H_2O$ 0.018, $Co(No_3)_2 \cdot 6H_2O$ 0.044

三、靜置培養：將含有對數生長期（Log Phase）藻體之培養液 300c.c. 裝入直徑九公分之平底棕色圓玻璃盆中，置於大型植物生長箱內，由上方以60W日光燈照射培養，每隔約四小時攪拌一次。

四、通氣培養：將含有對數生長期藻體之培養液 250c.c. 裝入 500c.c. 三角瓶內，加上通氣管塞後置於恆溫箱內，以熱帶魚養殖用送風幫浦通氣攪拌（通氣量約1.5vvm），並以4支 20W日光燈由底部照光培養。

五、照度測定：以東京光電照度計 ANA—300 型測定之。文中以I（Intensity of light, KLUX）表示之。

六、藻體濃度測定：將培養液置於1公分或5公分寬之石英管中，以 HITACH Model 124 Double Beam Spectrophotometer測定在波長560nm時之吸光密度（OpticalDensity 或Absorbance）值，而以$O.D._{560}$（d=1cm）表示之。藻體接種後之初濃度則以 X_0 表示。藻體乾重（Dry Cell Weight，簡稱D. C. W.）則以下式計算：$D.C.W._{(mg)} = 0.55 \times O.D._{560} \times$體積 (c. c.)

七、藻體前處理：取 100c.c. 藻體培養液兩組，以濾紙過濾並洗滌後，一將濾紙浸入80%丙酮液中萃取脂溶性色素；一將濾紙上藻體以蒸餾水洗至塑膠杯內，放入凍庫，俟其凍結後再予取出解凍。以Ultrasonics Co. Sonicator Cell Disruptor Model W-220F 超音波震盪處理2—3分鐘後，將細胞溶液洗至定量瓶中，分析其藻藍素、蛋白質、核酸及全醣含量。

八、色素吸光光譜測定：以 HITACHI Model 124 掃描式 UV-Vis. Spectrophotometer，光柵（slit）1nm，掃描藻色素液在330至750 nm之吸光光譜。

九、蛋白質測定：依據Lowry et. al.（19）方法加以修飾測定。試劑中之Na-tartrate以Na-Citrate取代。

十、核酸測定：以0.25 N $HClO_4$ 萃取三十分鐘後測其在 260 及280 nm 的紫外吸光密度並代入下式計算核酸濃度：

Nucleic Acid (mg/c.c.) = 0.063O. D.$_{260}$ − 0.036O. D.$_{280}$ [8]

十一、全醣量測定：以酚—硫酸法測定之[11]。

十二、總蛋白質、核酸、全醣量測定：以下式計算

單位體積內各成分總量 (mg/l)

= O. D.$_{560}$ × 0.55 × 體積 (c.c.) × 各成分含量 (%)

十三、葉綠素a測定：取80%丙酮抽出液，測其在660及730 nm之吸光密度，代入下式：

Chlorophyll a$_{(mg)}$ = 10 × v × f × (O. D.$_{660}$ − O. D.$_{730}$)/890 [16]

(v：溶液體積c.c. 數，f：稀釋倍數，葉綠素a吸光常數$\varepsilon^{1\%}_{1cm}$ = 890)

十四、藻藍素測定：取細胞溶液測定其在620及750 nm之吸光密度，代入下式：

Phycocyanin (mg) = 10 × v × f × (O. D.$_{620}$ − O. D.$_{750}$)/73

藻藍素吸光常數$\varepsilon^{1\%}_{1cm}$ = 73 [6]，此測定值中並未包含 Allophycocyanin與Phycoerythrocyanin含量)

十五、類胡蘿蔔素測定：取80%丙酮抽出液，測其在475及730 nm之吸光密度，代入下式：

Carotenoids (mg) = 10 × v × f × (O. D.$_{475}$ − O. D.$_{730}$)/2500 [16]

(類胡蘿蔔素吸光常數 $\varepsilon^{1\%}_{1cm}$ = 2500)

十六、上浮率 (Floating Ratio) 測定：取10c.c. 培養液置於內徑 12mm之試管中，測其在 560nm 之吸光密度值 (O. D.$_{560}$) 而以D_0表示之。靜置一小時後取上層兩毫升液，測定其 O. D.$_{560}$值，以D_1表示；代入下列公式：

Floating Ratio (%) = $(D_1 \times 2)/(D_0 \times 10) \times 100\%$

結果與討論

一、溫度與照度對藻體生長速率之影響：

螺旋藻爲一絕對光自營性生物 (Obligate autotroph) [22]，能够利用 CO_2、HCO_3^- 等無機碳源進行光合作用而生長，然而在無光照環境下，不能利用有機碳源如葡萄糖、醋酸等以維持生命。*S. platensis*與*S. maxima* 均適合在30至37°C 下生長，而以前者較耐高溫與强光。由於本試驗中所培養之*S. maxima*在16 Klux, 40°及45°C下均發生光分解死亡現象，因此僅以 *S. platensis* 作爲探討對象。

將不同接種濃度之藻體培養液置於 40°C 下以日光燈照射培養 24 小時，照度分別爲 4，6 及16 Klux，測定藻體在 6 及24小時之O. D.$_{560}$值。結果由圖 1 培養時間與藻體濃度關係可以看出照度愈强時生長也愈快；接種濃度愈高則藻體產量也愈大；不過接種濃度太稀薄 (X_0 = 0.023) 時藻體初期生長雖快，然而培養至24小時生長反而緩慢。

依據Ogawa & Terui氏之研究，藻體在 40°C 之比生長速率 (Specific growth rate, μ) 低於在35—37°C下生長者[23]，而Van Eykelenburg則以31°C爲*S. platensis*最適生長溫度[28]。將不同接種濃度之藻體培養液置於 37°, 40° 及45°C下，以 4，6，16 klux 之照度培養24小時，則試

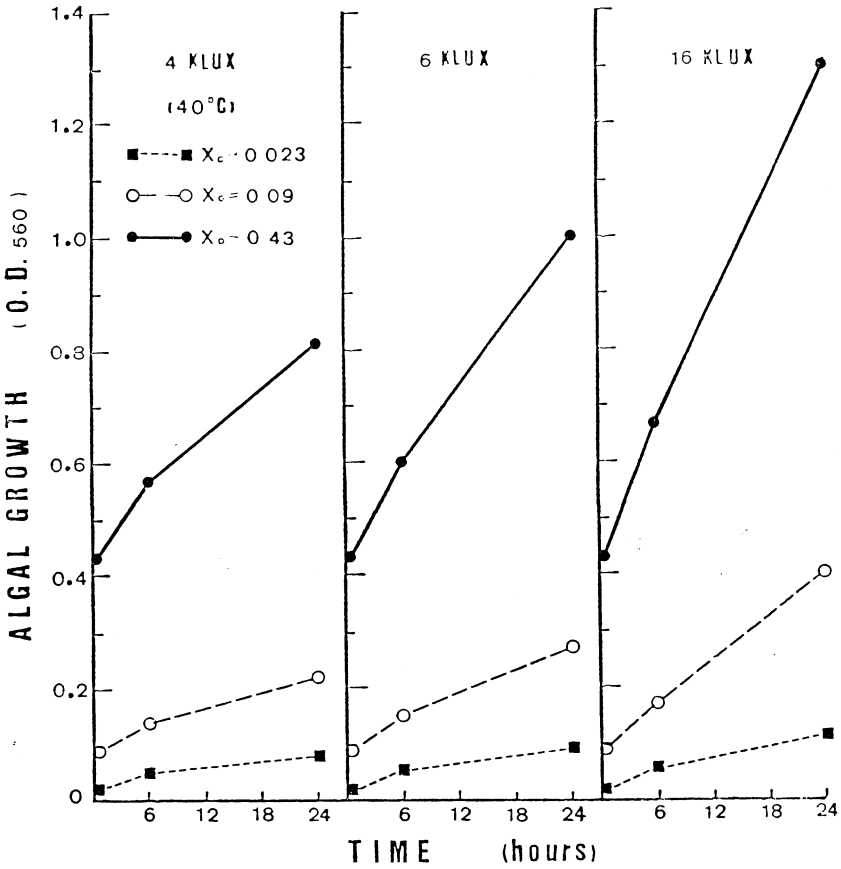


圖 1：不同接種量與不同照度下螺旋藻生長情形

Fig. 1: Time courses of Spirulina growth with various inoculum sizes and with various light intensity.

驗結果顯示溫度愈高，照度愈强時，藻體產量（以藻體乾重表示）增加愈多。由圖 2 不同照光强度與

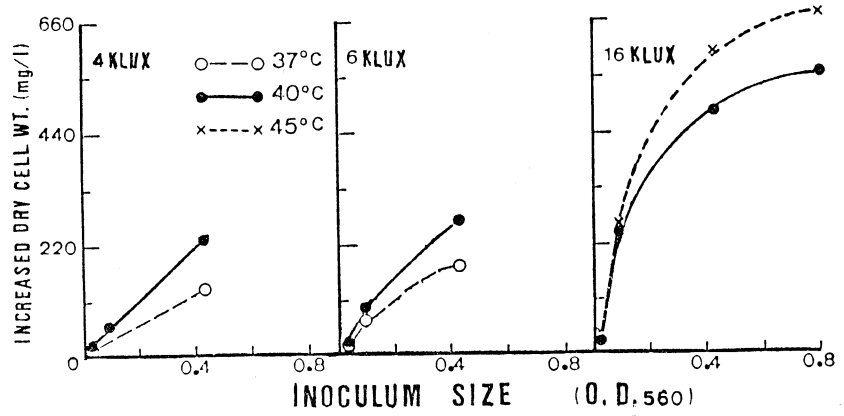


圖 2：不同溫度與照度下，螺旋藻接種量與藻體乾重增加量之關係

Fig. 2: Effect of Inoculum size on Spirulina production in various temperature and cultural light intensity.

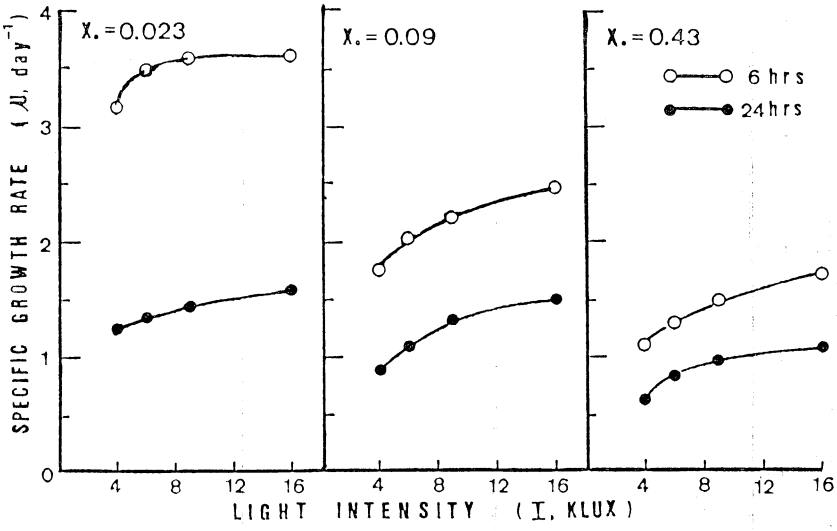


圖 3：不同螺旋藻接種量下，照度與藻體比生長速率之關係

Fig. 3: Effect of cultural light intengity on the specific growth rate of *Spirulina platensis* with various inoculum sizes.

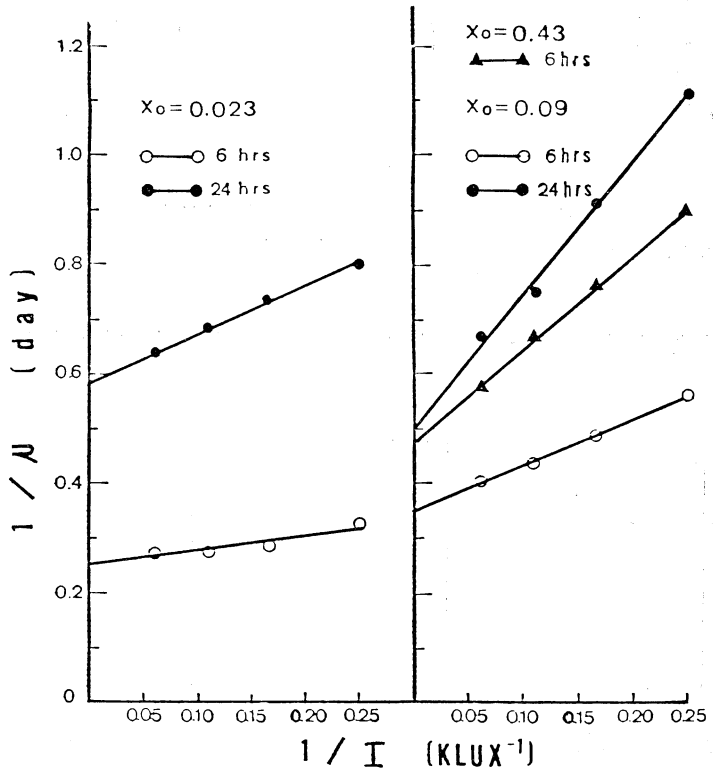


圖 4：對數生長期藻體之照度倒數與比生長速率倒數作圖

Fig. 4: Lineweaver-Burk plot for the effect of light intensity (I) upon pecific growth rate (μ) with various inoculum sizes of *Spirulina splatensis*.

溫度對藻體乾重增加量之影響可見，於16 klux照度下45°C 優於 40°C，而在 6、4 klux 照度下亦以40°C優於37°C者。

關於藻體生長動力學之研究，Ogawa 氏認爲在營養條件充分之環境下，對數生長期中之藻體，其比生長速率（μ）與入射光强度（I_o）符合Monod-Type方程式 $\mu=\mu max\ I_o/(I_o+K_L)$, μmax 爲最大比生長速率，K_L 爲飽和光常數[24]。圖 3 所示即不同接種濃度及培養時間下所求得之比生長速率與照度之關係，藻體濃度愈稀薄，比生長速率也愈大。6 小時培養所得藻體比生長速率大於24小時者；濃度愈稀兩者差異也愈大。根據 Lineweaver-Burk公式$1/\mu=1/\mu max+K_L/I_o$作圖，以比生長速率與照度之倒數分別作爲縱軸及橫軸時可以求出各生育條件下之最大比生長速率（縱軸交點）及飽和光常數（橫軸交點）。由圖 4 比生長速率倒數與照度倒數之關係所求得之各培養條件下之μmax 與K_L 值示於表 2。根據Ogawa氏報告，在35—37°C下以極稀薄之藻體培養所得到 之μmax 爲$2.2day^{-1}$, K_L爲6.7klux[23]。將其μmax 值與本次試驗所得結果相比較則發現，在較高溫度（40°C）下培養可使較高濃度的藻體（$X_o=0.09$, 6小時；$X_o=0.43$, 6小時）得到相近的比生長速率，且減少對光照度的需求量（K_L 分別爲 5 及 3.6klux）。又，以 $X_o=0.023$ 培養時，雖然 6 小時培養結果可以求得μmax 爲$4.0day^{-1}$，亦即間隔約 6 小時細胞分裂一次，由於藻體濃度太過稀薄，本試驗中僅取用吸光密度法測定，誤差甚大，須經精確測定後再予證實。

表二：最大比生長速率與飽和光常數

Table 2: Maximum specific growth rate and light intensity saturation constant calculate d from fig. 4

Items / Time / Inoculum Size (X_0, O. D.$_{560}$)	Maximum Specific Growth Rate (μ, day^{-1})		Saturation constant of light intensity (K_L, Klux)	
	6 hours	24 hours	6 hours	24 hours
0.023	4	1.7	1	1.5
0.09	2.8	2	1.5	5
0.43	2.1	—	3.6	—

$X_o=0.023$培養24小時後O. D.$_{560}$值達到0.11而其μmax却少於 $X_o=0.09$者，由於照度不成爲其生長限制因子，因此顯示出在培養後期，細胞內部代謝發生變化，無法維持對數期生長而進入安定期（Stationary phase）或衰減期（Decline phase）。由圖 1 藻體生長情形亦可看出，接種濃度太低時，藻體不適宜在40°C下生長。

二、溫度與照度對藻體細胞組成分之影響：

將接種濃度 $X_o=0.43$ 之藻體培養液置於不同溫度及照度下培養24小時後測定其藻體產量，蛋白質、全醣及核酸含量等，並計算藻體之比生長速率值，結果如圖 5 所示，光照强溫度高時比生長速率大，全醣含量增加而蛋白質與核酸含量降低。

在碳源利用上，大幅度增加之藻體全醣量正可說明在高溫强光下，光合作用旺盛進行。

反之，藻體蛋白質含量減少則可能是由於氮源缺乏，氮同化作用（Nitrogen assimilation）緩慢，呼吸作用（Respiration）快速等因素所引起。本試驗中並未有氮源缺乏現象，且 Van Eykelenburg 亦以試驗結果說明增加硝酸鹽濃度可以提高藻體在35°C以上溫度生長時之產量及生長速率[30]，因此推斷氮同化速率趕不上光合作長速率是藻體蛋白質含量遽減之主因。Faucher et. al 等研究 *S. maxima*對尿素之利用發現該藻對尿素吸收情形較硝酸態好。[13] 作者亦對 *S. platensis* 進行氮源利用試驗發現其對氨態氮如氨水、硫銨及尿素等吸收最快，其次爲亞硝酸態氮，再次爲硝酸態氮；即

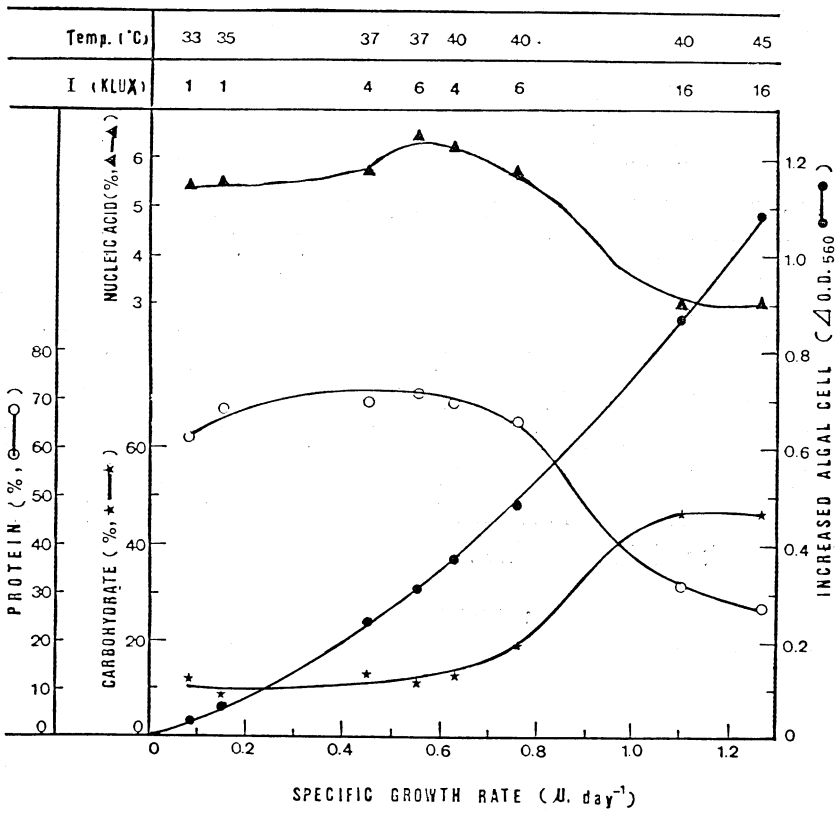


圖 5：不同溫度與照度下，藻體之比生長速率，O. $D._{560}$增值與蛋白質、全醣及核酸含量關係圖

Fig. 5: Effect of specific growth rate, temperature and light intensity upon protein, nucleic acid and toal carbohydrate content in algal cell.

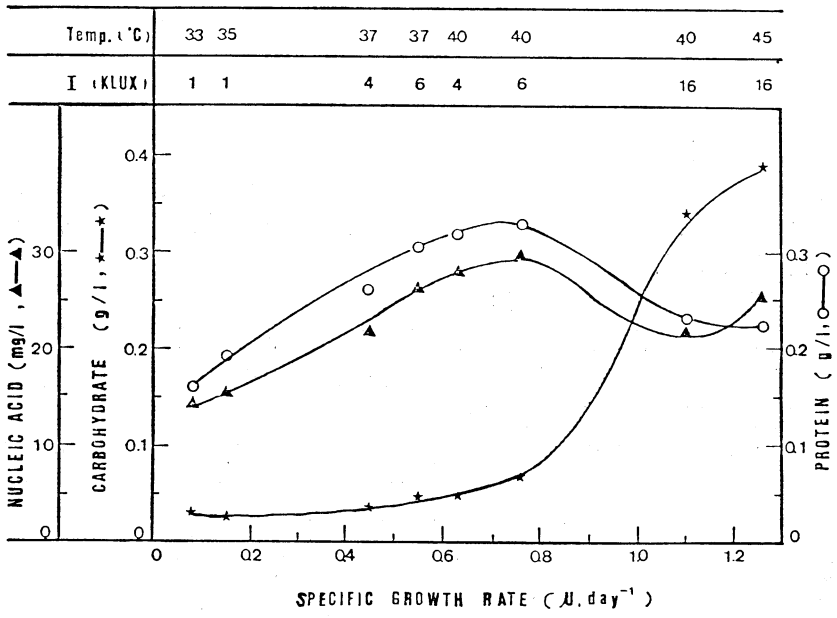


圖 6：不同溫度及照度下，螺旋藻培養液中所含蛋白質、核酸與全醣量和藻體比生長速率之關係

Fig. 6: Effect of specific growth rate, temperature and lignt intensity upon protein, nucleic acid and carbohydrate amounts in Spirulina cultural medium.

令在常溫下培養，當藻體接種入新的培養基（僅含硝酸態氮源）時，蛋白質含量會下降10至20%左右後再逐漸上升。本試驗係以硝酸鈉作爲唯一氮源。

又Verstreate等研究藍綠藻*Anabaena flos-quae*之生長及對硝酸鹽之利用時指出培養液內鐵濃度影響硝酸鹽之吸收[31]。由於光合作用旺盛時，能量轉移系統需要大量的鐵離子參與其事，此可能導致培養液內鐵濃度缺乏，不足藻體所需，間接影響硝酸鹽的吸收而使氮同化速率趕不上光合作用速率，以致全醣量大增而蛋白質量減少。所以，要提高藻體在 40°C 以上溫度及强光下生長時，使用氨態氮或增加鐵濃度是提高藻體蛋白質含量及維持正常生長之可能方法。

由上述藻體組成分分析結果計算出單位體積內總蛋白質、核酸及全醣量，其與溫度及照度之關係示如圖 6。單位體積內全醣量在高溫强光下之增加量可達中溫低照度者之30至35倍，碳素固定量高達約0.14g/l/day培養深度以2.5—5.0公分計算時相當於 3.5—7.0g/m²/day。又由總蛋白質及核酸量之增減情形可知單位體積內藻體蛋白質與核酸量均有增加，而以40° C, 6klux培養時產量最大。

三、溫度與照度對藻體色素組成之影響：

將前述培養條件下之藻體分別取得其脂溶性色素，及含有各種色素之細胞水溶液，掃描 750nm至330nm之波長後求得其吸收光譜。結果如圖 7a, b及圖8a, b所示。由圖7a脂溶性色素在照度不同下

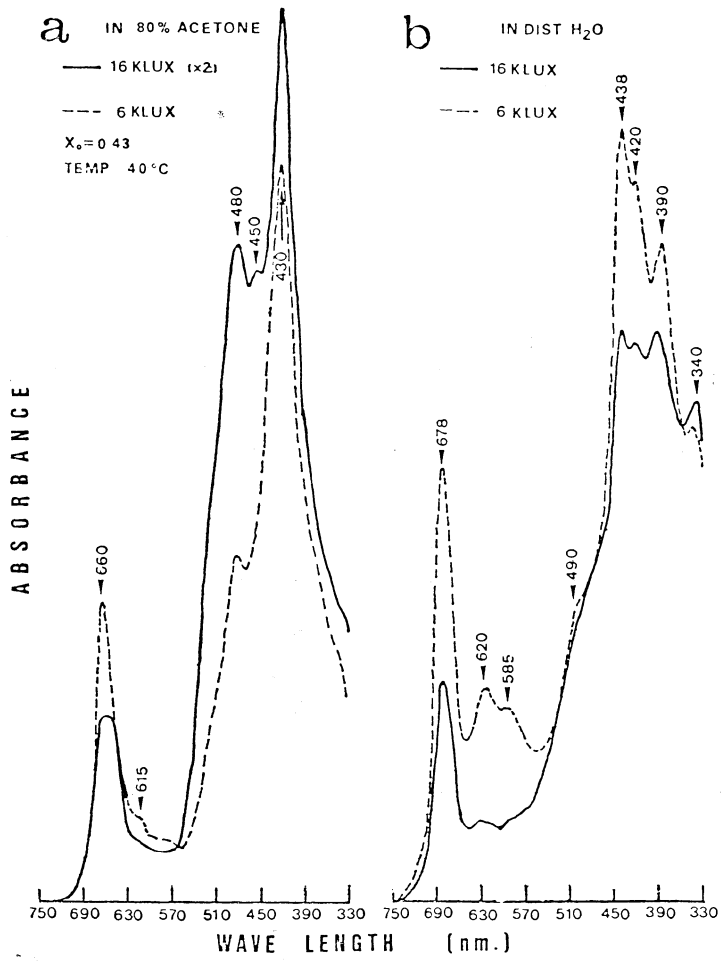


圖 7：照度不同時，螺旋藻丙酮抽出液與細胞液之色素吸收光譜

Fig. 7: Absorption spectra with acetone extracts and cell suspension from *S. platensis* cells grown illuminated at 6 and 16 Klux.

之變化情形可以看出葉綠素a吸光（660及 430nm）密度大量減少，而類胡蘿蔔素吸光（510至340nm）變化程度較小。表 3 所示爲 *S. platensis* 在常溫狀態下培養時所含有之類胡蘿蔔素組成。表 4 所示則爲該類胡蘿蔔素在丙酮及正乙烷（n-Hexane）中最大吸收波長。

表三：螺旋藻之類胡蘿蔔素組成

Table 3：The composition of carotenoids of *S. platensis*

Items / Sample	A[5]	B[15]	C[25]
β-Carotene	38.5(%)	42.5(%)	71 (%)
Cryptoxanthine	5.0	13.9	
Echinenone	5.3	11.0	12.5
Lutein and Euglenanone	—	7.2	
Physoxanthine	—		6.25
Xanthophylls	—	25.0	
β-Zeacarotene			2.5
Zeaxanthine	35.4	7.9	7.75
Unidentified degradation products of carotenoid	17.0		
Total amounts of carotenoids (mg/kg)	1,071	4,000	6,000

表四：螺旋藻體內所含類胡蘿蔔素之最大吸收波長

Table 4：Principal absorption maxima of some carotenoids[9] presented in *S. platensis*

Carotenoids	Maximum absorption (nm.)			Solvent
β-Carotene	(429)	452	478	acetone
β-Carotene	(425)	450	477	n-Hexane
Cryptoxanthin		446	475	n-Hexane
Echinenone		460		acetone
Echinenone	(432)	459	(483)	n-Hexane
Lutein	(420)	44	475	n-Hexane
Myxoxanthophyll	(450)	478	510	acetone
Oscillaxanthine	470	499	534	acetone
Physoxanthine		445	474	n-Hexane
β-Zeacarotene	407	427	454	n-Hexane
Zeaxanthine		452	479	acetone
Zeaxanthine	424	449	476	n-Hexane

圖 8a 所示爲不同接種濃度之藻體在 16klux, 40°C 下生長時脂溶性色素液之吸收光譜。與圖7a比較結果可以發現藻體接種量大（如 $X_o=0.8$）時，所受到的光照量小，近似於稀濃度藻體（如$X_o=0.43$）在低照度（6klux）下生長之結果。臺灣夏季中午日照强度高達 110klux ，爲充分吸收日光能及避免葉綠素受强光破壞，應該提高培養液中藻體濃度在O. D.$_{560}$值0.8以上。

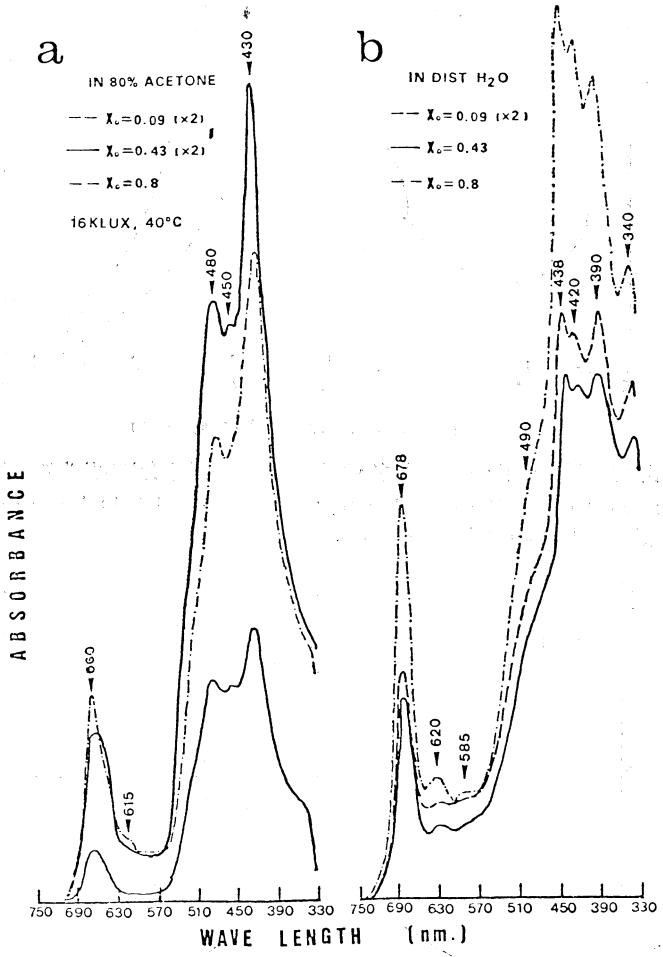


圖 8：螺旋藻接種量不同時，藻體丙酮抽出液與細胞液之色素吸收光譜

Fig. 8: Absorption spectra with acetone extracts and cell suspension from *S. platensis* cells grown with various inoculums izes.

細胞水溶液吸收光譜（圖7b及8b）即藻體細胞色素懸浮液之吸收光譜。照光强度增加時，水溶性藍色色素如藻藍素（C-Phycocyanin, 620nm）與藻紅藍素（Phycoerythrocyanin, 585nm）含量亦呈大量降低，在類胡蘿蔔素與葉綠素a色素吸收區域中490，438，420，390及340nm 等波峰之吸光密度亦亦因照度不同而有不同的變化。

在不同溫度及照度下生長之藻體，其葉綠素 a、類胡蘿蔔素其藻藍素含量分佈情形示如圖 9 。由此圖中可以看出藻體所含葉綠素 a 與藻藍素在强光培養下急遽減少，而類胡蘿蔔素含量呈少量減少；

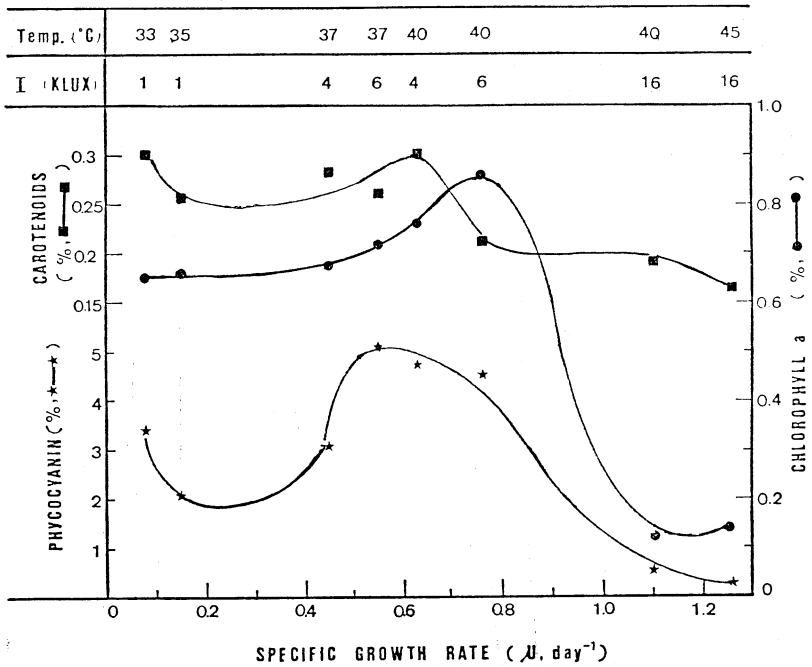


圖 9：不同溫度及照度下，藻體葉綠素，類胡蘿蔔素與藻藍素含量和比生長速率之關係

Fig. 9: Effect of specific growth rate, temperature and light intensity upon pigment content in algal cells.

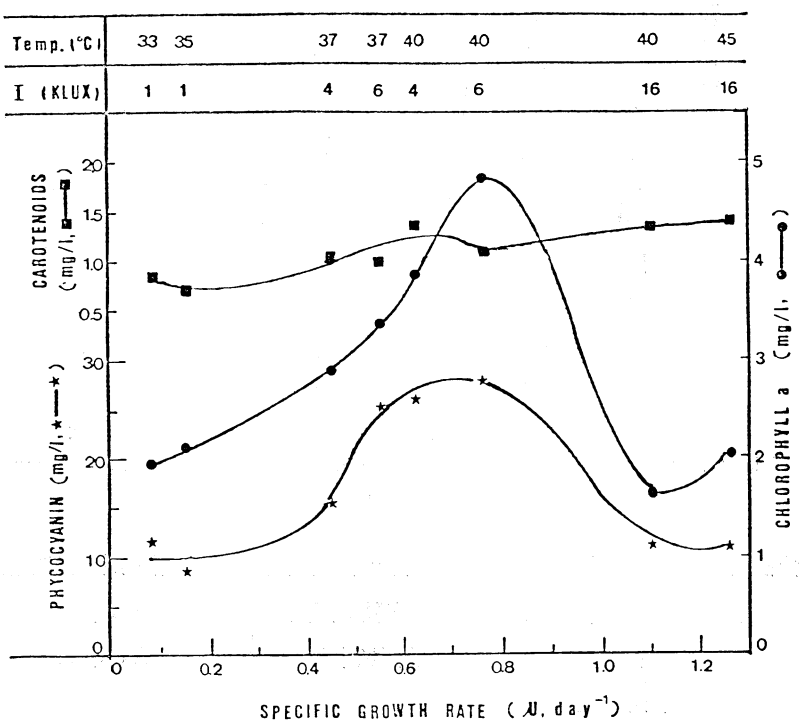


圖10：不同溫度及照度下，螺旋藻培養液內所含葉綠素，類胡蘿蔔素與藻藍量和比生長速率之關係

Fig. 10: Effect of specific growth rate, temperature and light intensity upon pigment amounts in Spirulina cultural medium.

此結果與Kratz & Meyers氏對*Anacystis nidulans*色素在强光下變化之研究結論[17]相同。圖10所示則爲不同生長條件下單位體積內各色素成分總量與比生長速率、溫度及照度之關係。由該圖中可以看出僅葉綠素總量在强光下減少，藻藍素沒有增減而類胡蘿蔔素含量增加，因此可以推測各成分之生合成速率比不上藻體生長速率而使得攪體內色素含量減少。

藻藍素係由藻藍胆素原（Phycocyanobilin）與大分子之蛋白質緊密結合而成，强光下藻藍素含量減少與圖5所示之蛋白質含量減少，可能互有因果關係。Boussiba 等，即認爲藻藍素是一種蛋白質的貯藏形式[7]。

四、溫度與照度對藻體上浮之影響：

S. platensis 與 *S. maxima* 生理特性之一大差異即前者具有上浮能力而後者則無。Van Eykelenburg氏發現 *S. platensis* 會形成圓柱形之氣胞（Gas vacuole或Gas Vesicle)[29]。Walsby氏研究氣胞膜的構造認爲幾乎全由蛋白質分子所構成；在光線微弱或藻體老化時，細胞內氣胞數目會增加[32]。有關此藻上浮能力之研究，尚無資料可循。圖11 所示爲不同溫度及照度下生長之藻體，其上浮率與比生長速率、蛋白質含量之關係。由此圖中可以看出蛋白質含量與藻體上浮率似成正比關係。圖5所示强光下藻體蛋白質量減少，除了藻藍素合成速率受影響外，氣胞膜蛋白不能形成亦爲可能因素之一。

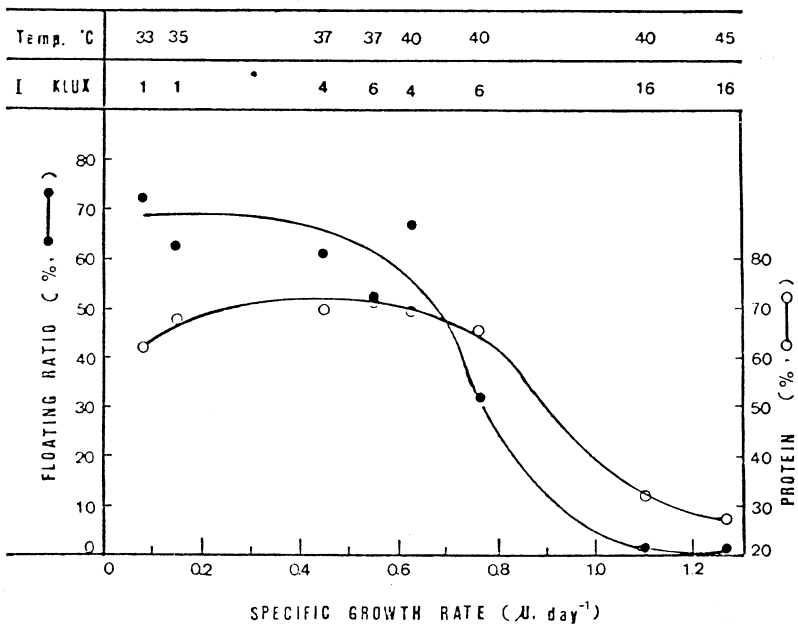


圖11：不同溫度及照度下，螺旋藻上浮率及蛋白質含量與比生長速率之關係

Fig. 11：Effect of specific growth rate, temperature and light intensity upon floating ratio and protein content of *S. platensis*.

五、培養方式對藻體生長及生理之影響：

Ogawa 氏認爲溫度大於37°C時藻體生長反而減慢[23]，然而依據本次試驗結果顯示*S. platensis*即使在45°C, 16klux 下亦能快速繁殖，Ogawa 氏係使用振盪方式培養。表5所示即以通氣攪拌與靜置培養方式比較藻體生長結果。由此表中可以看出，强光高溫下通氣培養之藻體生長較慢，然而其細胞組成分與色素含量則與靜置培養所得結果相近。低照度培養時，通氣藻拌與靜置培養之藻體生長差異較小。

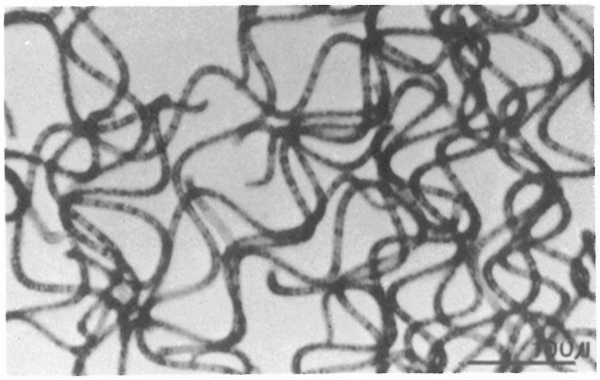


圖 十二： 40°C,16klux 靜置培養24小時 (×200)

Fig.12： *S. platensis* grown with sedimentation 40° C, 16 klux (×200)

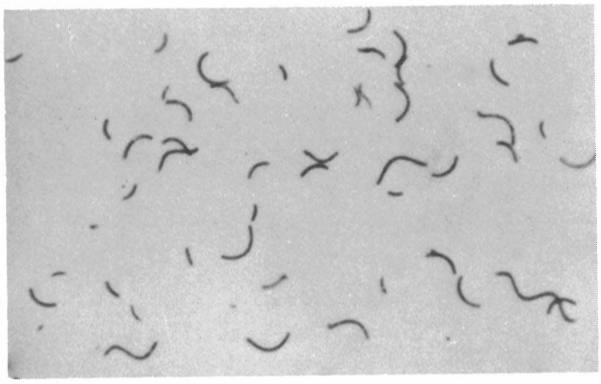


圖 十三： 42 °C, 9klux 通氣培養 24 小時 (×40)

Fig.13： *S. platensis* grown with aeration, 42° C,9 klux (×40)



圖 十四： 40 °C, 6 klux 通氣培養 24 小時 (×200)

Fig.14： *S. platensis* grown with aeration 40°C,6 klux (×200)

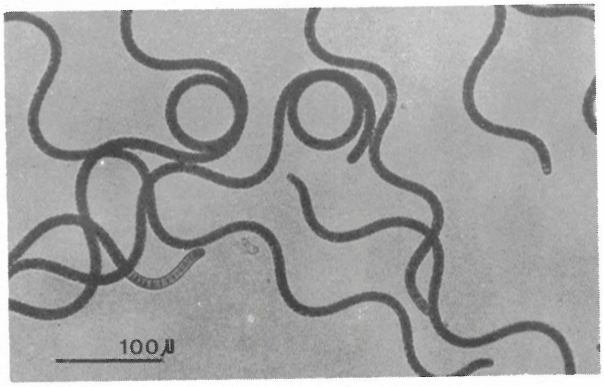


圖 十五： 40°C, 4klux 靜置培養24小時 (×200)

Fig.15： *S. platensis* grown with sedimentation 40°C, 4klux (×200)

表五：不同培養方式下藻體之生長與細胞組成分分析

Table 5: Growth rate and cellular compostion of *S. platensis* grown in different cultivating treatment

Growing type	Temperature (°C)	Illumination (Klux)	Inoculum size (O. D. 560)	Growth Rate (μ)	Floating ratio (%)	Nucleic acid (%)	Protein (%)	Carbohydrate (%)	Chlorophyll a (%)	Carotenoids (%)	Phycocyanin (%)
Sedimentation	45	16	0.09	1.58	2		31.58	52.92			
	40	16	0.09	1.54	1	4.19	33.92	52.38	0.22	0.22	1.58
	40	16	0.43	1.27	3	3.03	31.92	47.69	0.22	0.19	1.47
	40	6	0.43	0.99	32	5.83	65.82	13.37	0.96	0.21	5.48
Air-bubbling	42	9	0.23	0.42	2	4.90	27.42	45.83	0.24	0.22	1.38
	40	6	0.23	0.85	55	6.09	62.50	27.22	0.75	0.25	2.10

在光學顯微鏡下觀察强光高溫下靜置培養之藻體，發現細胞延伸至全長達 2～3mm，螺紋數三、四十，細胞甚少斷裂，許多部分呈透明狀態，顆粒減少（見圖12），顯示藻體色素顆粒與氣胞數目減少。以通氣方式培養之藻體則斷裂成小段（見圖 13,14）。將高溫强光下生長之藻體放入凍庫再予解凍時，細胞容易破碎，然而在低照度下生長之藻體（見圖15），並無此現象。由此可知藻體在高溫强光下生長時，細胞比生長速率雖大而易破裂損傷，因此不宜採用較激烈的攪拌方式，以免對藻體造成物理傷害，如此則可使藻體維持正常生長。

參考文獻

1. 中村浩，田邊洋介（1973）：醱酵協會誌31，185—197
2. エンザイム、ジヤパン臺灣でスピルリナ生產（1976）：發酵と工業34，216
3. 日本クリエート：スピルリナに進出（1982）：Ibid., 40, 1072-1073.
4. 岩村信一郎（1977）：Ibid., 35, 854-860.
5. 隆野松男、勝山政明、岩橋正雄、小池利通，岡田稔（1980）：Bull. Jap. Soc. Sci. Fisheries 46, 479-482.
6. Boussiba, S. & Richmond, A. E. (1979) Isolation and characterization of phycocyanins from the blue-green alga *Spirulina platensis*. Arch. Microbiol. 120, 155-159.
7. Boussiba, S. & Richmond, A. E. (1980) C-Phycocyanin as a storage protein in the blue-green alga *Spirulina platensis*. Arch. Microbiol., 125, 143-147.
8. Burton, K. (1956) Biochem. J., 62, 315-323.
9. Davis, B. H. (1976) Carotenoids in 'Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments', ed. by T. W. Goodwin, 2nd ed., Chapt. 19, pp. 111-117, Acad. Press, London, New York.
10. Delpeuch, F.; Joseph, A. & Cavelier, C. (1975) Consommation alimentaire et apport nutritionnel des algues bleus (*Oscillatoria platensis*) quelques populations du kanem (Tchad). Ann. Nutri. Ali., 29, 597.
11. Dubois, M. et. al. (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem., 28, 350-356.
12. Farrar, W. V. (1966) Tecuitlatl : A glimpse of aztec food technology. Nature, 211, 341-342.
13. Faucher, O., Coupal, B. & Leudy, A. (1979) Utilization seawater-urea as a culture medium for *Spirulina maxima*. Can. J. Microbiol., 25, 752-759.
14. Geitler, L. (1932) Cyanophyceae in 'Kryptogamen-Flora von Deutschland, Osterreich und der

Schweiz', ed. by L. Rabenhorst, 2nd ed., Band 14, Akad. Verlag. Leipiz.

15. Hills, C. (1981) The Secrets of Spirulina , 2nd ed., Univ. Trees Press, Boulder Creek, Cali.
16. Jensen. A. (1978) Chlorophylls and carotenoids in 'Handbook of Phycological Methods', ed. by J. A. Hellebust and J. S. Craigi. Univ. Cambridge Press, pp. 59-70.
17. Kratz, W. A. & Meyers, J. (1955) Nutrition and growth of several blue-green algae. Amer. J. Bot., 42, 282-287.
18. Lineweaver, H. & Burk, D. (1934) J. Amer. Chem. Soc. 56, 658.
19. Lowry, O. H., et. al. (1951) Protein measurement with the foiling phenol reagent. J. Biol. Chem', 193, 265-275.
20. Meyer, C. (1969) Etude d'une culture d'algues en vue d'une production a grande echelle. Industr. alim. agri., 60, 1445-1449.
21. Nguyen, H. T., Kosaric, N. & Bergouhnou, M. A. (1974) Growth of *Spirulina maxima* algae in effluents from secondary waste water treatments. Biotech. Bioeng., 16, 881-896.
22. Ogawa, T. & Terui, G. (1979) Studies on the growth of *Spirulina platensis* (I) on the pure culture of *Spirulina platensis*. J. Ferment. Technol., 48, 361-367.
23. Ogawa, T., Kozasa, H. & Terui, G. (1972) Studies on the growth of Spirulina (II) growth kinetics of an autotrophic culture. J. Ferment. Technol., 50, 143-149.
24. Ogawa, T. & Terui, G. (1972) Growth kinetics of *Spirulina platensis* in autotrophic and mixotrophic cultures. Proc. IV. IFS : Ferment. Technol. Today, 543-549.
25. Palla, J. C., Mille, G. & Busson, F. (1970) Comparative study of the carotenoids of *Spirulina platensis* and *Spirulina geitleri*. C. R. Acad. Sci. Ser. D. 270, 1038-1041.
26. Santillan, C. (1982) Mass production of Spirulina. Experientia 38, 40-44.
27. Soeder, C. J. (1976) Zur Verwendung von Mikroalgen fur Ernahrungszwecke. Natur wissenschaften 63, 131-138.
28. Van Eykelenburg, C. (1979) an 'ecobox' with a discontinuous temperature gradient and a continuous light intensity gradient. Experientia 35, 1127-1128.
29. Van Eykelenburg, C. (1979) The ultrastrtucture of *Spiruina platensis* in relation to temperature and light intensity. Antonie van Leeuwenhoek 45, 369-390.
30. Van Eykeleburg, C. (1980) Ecophysiological studies on *Spirulina platensis* effect of temperature, light inatensit and nitrate concentration on growth and ultrastructure. Antonie van Leeuwenhoek 46, 113-127.
31. Verstreate, D. R., Storch, T. A. & Dunham, V. L. (1980) A comparison of the influence of iron on the growth and nitrate metabolism of Anabaena and Scenedesmus Physiol. Plant., 50, 47-51.
32. Walsby, A. E. (1972) Structure and function of gas vacuoles. Bacteriol. Rev., 36, 1-32.
33. Zarrouk, C. (1966) Thesis de Doctoratde l.universite de Paris.

Studies on the Effects of Temperature and Light Intensity upon Growth Rate, Physiological and Biochemical Characteristics of *Spirulina platensis*

Huey-Ing Liu[2]

Summary

Edible blue-green alga, *Spirulina platensis*, rich in protein and carotenoids, is an obligate photo-autotroph. Not only light intensity, but also temperature, inoculum size and cultivating type affect the growth of this alga. Violent agitation would decrease the resistance of high temperature and strong illumination, then slow down the growth rate. Too diluted inoculant and strong illumination at 40°C would quickly make the algal growth approaching to decline phase. However, the maximum algal growth rate and lesser saturation constant of light intensity could be obtained with dense inoculant and increasing the cultivation temperature to 40° and 45°C.

Spirulina grown in exponential phase with inoculum size about 0.24g/l were cultivated under 33°-45°C and 1-16 Klux for 24 hours. After analyzing the cellular composition and pigment content, it was found that algal cell grown with high temperature and light intensity had extremely high carbohydrates content, but less in protein, nucleic acid, chlorophyll a, carotenoids and c-phycocyanin content and lost floating ability. Under microscopic examination, the cell was transparent, contained few granules, formed short fragments in aeration culture and very long [2-3mm. in length] in sedimental cutlure.

Comparison the medium for Spirulina grown in high temperature and strong light with low temperature and dim light, it was found that the amount of total carbohydrates presented in unit volume medium of the former was 30 to 35 folds, chlorophyll a was fewer, c-phycocynin was equal and other components were more than that of the latter.

Maximal production of protein, chlorophyll a and c-phycocyanin in Spirulina could be harvested with sedimental cultivation at 37°C and 6 Klux or at 40°C and 4-6 Klux.

1. Contrbution No. 1168 from Tawian Agrultural Research Instute (TARI). This research was ofered for an research awardfrom National Science Council, R. O. C.

2. Assistant agricultural chemist, Dept. of Agricultural Chemistry, TARI, Wufeng, Taichung Hsien, Taiwan 431, R O C.