

利用蠕枝藻淨化草蝦養殖池水之效果



劉冠甫、洪崑龍

水產試驗所生物技術組

由於人工飼料開發成功，台灣水產養殖型態由原來的粗放生產模式邁向集約化，人工配合飼料的商業化逐促使傳統生產的管理模式被取代之，配合飼料大量被使用；一般人工配合飼料中僅有 26.8%的氮、30.1%的磷、25.5%的有機物被所飼養的動物所利用，但最後卻有 35%的有機碳、89%的氮、68%的磷分別蓄積於池中 (Chien, 1991)；而溶解於水中的氮鹽主要是養殖動物代謝後的排泄物，或含氮有機物質被水中微生物分解所產生的 (Russo, 1985)，組成其中的無機氮鹽主要是氨鹽、亞硝酸鹽及硝酸鹽。

水中的氮鹽分別是以分子態的氨 (NH_3 , Ammonia) 和銨離子 (NH_4^+ , Ammonium) 兩類型式同時存在，兩者間存在相互變動的平衡，其平衡關係與水溫、鹽度及pH值等因子有關 (Chen, 1983)， NH_3 為親脂性分子，容易穿透脂質性的細胞膜，所以一般皆認為毒性較高 (Sullinan and Ritacco, 1985)，其毒性依魚蝦貝類之種別、年齡及其所處環境因子(如溶氧量)之不同而有所差異，一般養殖池之濃度不應高於 0.02 mg/L $\text{NH}_3\text{-N}$ ；0.47—1.55 mg/L $\text{NH}_3\text{-N}$ 濃度時，大部分魚類會有中毒現象 (Merkous and Downing, 1957)；對草蝦苗的急毒性之濃度，會依其各成長蛻變期 (nauplius~PL6) 之不同而有所差別，在 0.541—4.409 mg/L $\text{NH}_3\text{-N}$ 濃度 (Chin, 1986)，相對於分子態氨的高毒性，銨離子對水產動物的毒性較低 (Spotte, 1979)，除非濃度過高的狀況之下，影響到細胞對鈉離子的通透性或阻

止體內氮的排泄，才會造成傷害。氮鹽處在 pH 中性或微鹼性下，再經由水中的 *Nitrosomonas* sp. 細菌進行硝化作用 (nitrification) 轉換為亞硝酸鹽 (nitrite)，亞硝酸鹽之毒性存在於亞硝酸根離子 (NO_2^-)，其對水中動物具相當高的毒性 (Colt and Armstrong, 1981; Jayasankar and Muthu, 1983; Manthe et al., 1984)，當其離子濃度在 0.5 mg/L $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 時，就可能在某些魚類中產生毒害，會有毒性作用 (Crawford and Allen, 1977)；在草蝦苗 (nauplius~PL6) 的急性毒性上，24 小時之 LC_{50} 為 4.9—61.9 mg/L $\text{NO}_2^-\text{-N}$ ，48 小時的 LC_{50} 為 8.3—33.2 mg/L $\text{NO}_2^-\text{-N}$ (Chin, 1986)，一般而言，水中亞硝酸鹽的安全濃度，在淡水魚類為 0.1 mg/L $\text{NO}_2^-\text{-N}$ ；在海水魚類為 1.0 mg/L $\text{NO}_2^-\text{-N}$ ；在甲殼類為 28 mg/L $\text{NO}_2^-\text{-N}$ ；在貝類為 329—735 mg/L $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 。後兩類動物之所以能忍受較高濃度的亞硝酸鹽，主要在於甲殼類與貝類血液中不含血紅素；通常血紅素 (haemoglobin) 在亞硝酸根離子存在時，易被氧化成變性血紅素 (methemoglobin)，使血紅素中之亞鐵離子 (Fe^{+2}) 氧化成鐵離子 (Fe^{+3})；而降低血液攜氧能力，引起水中動物缺氧 (hypoxia)、發紺 (cyanosis) 等中毒現象 (郭, 1997)。硝酸鹽對於水中動物的毒性作用較前二類氮鹽、銨鹽與亞硝酸鹽對水中動物之毒性毒害作用較低，而幾乎不具毒性，在水中缺氧的情況下，硝酸鹽有部分會被還原為亞硝酸鹽及銨鹽，但大部分則經由硝酸呼

吸細菌的脫氮作用 (denitrification) 直接將硝酸鹽還原成氮分子 (N_2)，逸散入大氣中。

溶於水中的氮鹽對於養殖動物既然多少會造成不適或傷害甚至有毒害作用，而致使生理調節失控或產生病變，水質控制的得當與否顯然對養殖業而言，被視為成敗關鍵之一 (Hirayama, 1974)；一般水中藻類是會去吸收利用這些溶解性含氮化合物作為其營養鹽，其中只有銨鹽能以直接方式為藻類所吸收並同時加以利用於藻體細胞內氨基酸合成的同化作用，至於硝酸鹽和亞硝酸鹽則必須經由藻細胞內的硝酸還原酵素 (nitrate reductase) 及亞硝酸還原酵素 (nitrite reductase) 將硝酸根離子、亞硝酸根離子還原成銨離子，才能被應用於藻細胞內氨基酸的同化作用 (Conway, 1977)。Caldwell 早在 1946 年便提出利用微藻所具有能以相當高效率吸收水域中無機鹽類作為營養鹽的機制特性，作為廢水處理的構思 (Noue et al., 1990)。

事實上，台灣水產養殖技術中的池塘管理，既有“作水色”的觀念，其主要作用即是利用微藻來吸收池水中大量的溶解性氮鹽、磷酸鹽等物質，以達到安定水質的目的，使池中魚蝦類的緊迫 (stress) 減低，而且藻體亦可作為池中動物能所攝食的餌料之一 (陳, 1986)；但藻類直接在養殖池中隨意滋生的方法亦有其缺點存在，如果池塘中藻類管理不當而導致死亡、腐敗時相對會加速池塘水質的惡化，加重池塘管理的工作，同時藻相亦難加以選控，若不幸池中的微藻是有害藻相可能導致魚蝦類的死亡如 *Chaetoceros concaicorne* 對鰓部的傷害，甚至危害到生命，如 *Alexandrium tamarense* Balech 造成西施貝中毒事件 (蘇和周, 1993)；所以如將選定優良之藻種固著化 (immobilized) 形成藻床，隨時能將固定的藻體視所需情形及藻類

生長情況加以移動處理，控制藻類生態，運用藻類之優勢，改善其缺點來作為處理水質方式首要的課題之一。

蠕枝藻 (*Helminthocladia australis* Harvey) 屬紅藻植物門 (Rhodophyta)、真紅藻綱 (Florideophyceae)、海索麵目 (Nemaliales)、粉枝藻科 (Liagoraceae)，其絲狀體可被利用為吸收養殖水中氮鹽之材料，蠕枝藻絲狀體具有糾纏及附著的特性，同時絲狀體藻體對水中的氮鹽及磷酸鹽具有相當高的吸收速率。由於聚胺基甲酸乙酯泡棉 (polyurethane foam; PU) 可被用來固定化植物組織細胞，且對細胞代謝及成長並無影響，因此設計以 PU 泡棉來作為蠕枝藻絲狀體之固定材質，固定化方法製成藻床，來探討蠕枝藻絲狀體在固定化的情況下對草蝦 (*Penaeus monodon*) 養殖之水中的氮鹽有多少吸收能力，是否可達到處理水質的淨化水準，以期能探尋一個以固定化藻類為材料而操作簡易且效能又高的淨水方式。

蠕枝藻絲狀體經由酒精消毒過後的果汁機打碎後移植至 2 公升錐形瓶中，同時添加 SWMⅢ濃縮培養基 (1 mL/L) (表 1) 連續打氣培養，置於溫度 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 之培養箱內，光源為三波段太陽燈 $32 \mu\text{Em}^{-2}\text{S}^{-1}$ 的照光強度，光照時間為 14 : 12 (L : D)；PU 泡棉 (厚 10 mm) 以 95% 的酒精預先浸泡漂洗，重複清洗 5 次，去除含有泡棉製程反應物質異氰酸鹽及三級胺類等物質殘留其中，再用去離子水清洗前述處理過的 PU 泡棉將有機溶劑洗滌乾淨，重複清洗 7 次 (李, 1994)；最後將 PU 泡棉經由滅菌釜滅菌備用，供蠕枝藻絲狀體之附著生長；絲狀體先行飢餓處理一星期後，將濕重 20 g 經由酒精消毒過的果汁機打

碎後移植至PU泡棉 (300 × 300 × 10 mm) 上後，移至 45 L 玻璃缸中；將平均體重 0.16 ± 0.06 g 草蝦苗 250 尾移至 45 L FRP 桶中後，再與玻璃缸連接，以虹吸方式形成流水；試驗分三組別：一、空白PU泡棉，二、藻片，三、藻片加培養液 (1 次/星期)，各組採三重複；草蝦餵飼飼料為總體重之 20% 之飼料重，分三次/日；試驗期為 63 日。

表 1 Modified SWMⅢ培養基的組成 (尾形，1970)

組	成	濃	度
NaNO ₃		2.0 mM	
Na ₂ HPO ₄		0.1 mM	
Na ₂ EDTA		30.0 μM	
FeCl ₃		2.0 μM	
P-I metal*		2.0 mL	
Tris (hydroxymethyl) aminomethane		500.0 mg	
Sea water		Up to 1 liter	
pH		7.5	
*P-I metal			
H ₃ BO ₃		12.368 g	
MnCl ₂		1.385 g	
ZnCl ₂		0.109 g	
CuCl ₂ ·2H ₂ O		0.034 mg	
CoCl ₂ ·6H ₂ O		4.759 mg	
In 2 liter pure water			

試驗初始，海水中平均亞硝酸-氮濃度 686 ± 7 μg/L、硝酸-氮濃度 5.132 ± 0.022 mg/L 及銨-氮濃度 0.092 ± 0.005 mg/L；試驗終止時，水中平均亞硝酸-氮濃度，對照組的 863 ± 14 μg/L、試驗二的 165 ± 4 μg/L 和試驗三的 530 ± 3 μg/L (圖 1)；硝酸-氮的平均濃度分別為對照組的 30.581 ± 0.918 mg/L、試驗二的 32.577 ± 0.093 mg/L 及試驗三的 13.710 ± 0.228 mg/L (圖 2)；銨-氮平均濃度分別為對照組的 0.231 ± 0.015 mg/L、試驗二的 $0.067 \pm$

0.004 mg/L 及試驗三的 0.131 ± 0.020 mg/L (圖 3)；試驗終止時，蝦苗之平均活存率為對照組的 $20.0 \pm 11.2\%$ 、試驗二的 $88.0 \pm 9.5\%$ 及試驗三的 $95.2 \pm 7.2\%$ ，平均體重為對照組的 3.51 ± 1.48 g、試驗二的 4.47 ± 1.78 g 及試驗三的 4.25 ± 1.54 g (表 2)。

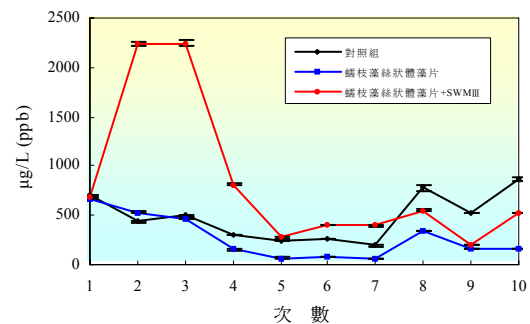


圖 1 蠕枝藻絲狀體藻片處理水體中亞硝酸-氮濃度變化

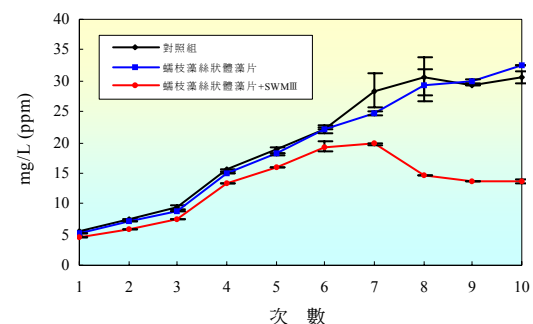


圖 2 蠕枝藻絲狀體藻片處理水體中硝酸-氮濃度變化

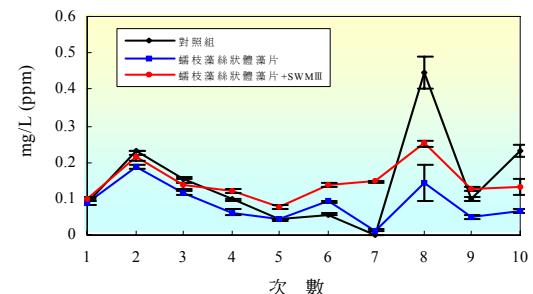


圖 3 蠕枝藻絲狀體藻片處理水體中銨-氮濃度變化

表 2 草蝦苗之成長與存活率

	對照組 (空白 PU 泡棉)	試驗二 (藻片)	試驗三 (藻片 + SWMⅢ)
初始平均體重 (g)	0.16 ± 0.06	0.16 ± 0.06	0.16 ± 0.06
終止平均體重 (g)	3.51 ± 1.48	4.47 ± 1.78	4.25 ± 1.54
平均存活率 (%)	20.0 ± 11.2	88.0 ± 9.5	95.2 ± 7.2

利用蠕枝藻絲狀體固定於 PU 泡棉形成之藻片於淨化水質試驗結果，經變異數分析 (ANOVA) 與特奇公正顯著差異法 (HSD) 分析，草蝦的養殖水域中的亞硝酸-氮、硝酸-氮及銨-氮的各最終濃度，顯示試驗組兩組與對照組分析比較有極顯著差異，顯示蠕枝藻絲狀體藻片對水中溶解性氮鹽有顯著的吸收利用，且有達到淨化水質功效；另外，從蝦苗在試驗終止時之存活率與體重分析結果顯示，試驗組兩組與對照組在存活率有極顯著差異情況下，試驗組兩組之平均體重與對照組比較結果無顯著差異，但皆大於對照組之平均體重，顯示蠕枝藻絲狀體藻片有效的吸收利用養殖水域中溶解性氮鹽，淨化水質功

效，同時在水質良好穩定情況下，降低環境因子對蝦苗緊迫，使蝦苗在高存活率情形下，亦可促進蝦苗的成長，相較之下對照組因水質惡化下，致使蝦苗死亡率升高，且蝦苗之平均體重亦不如試驗組。利用蠕枝藻絲狀體形成之藻片處理養殖用水雖可淨化水質功效，但運作過程中有兩要項需克服，一是水中不溶性大型懸浮物需加以除去，否則黏附藻片時會影響蠕枝藻絲狀體之代謝生長，甚至導致藻類死亡；二為絲狀體成長致使新生藻體位於上層，在藻片長時間使用，會使下層藻體因上層藻體的遮蔽，使其無法照光導致產生白化現象，所以需將表層藻體移除，以利內層藻體生長。



純種培養