

## 利用豬糞尿發酵液培養螺旋藻及其在水產養殖上之利用

蔡碧心 林峰生

### Culture of *Spirulina platensis* on Fermented Hog Manure and Utilization on Aquaculture

Pi-Hsin Tsai · Feng-Sheng Lin

The hog manure under anaerobic fermentation process, the filtered effluent can be used as nutrient media for *Spirulina platensis* culture.

3~6 p. m.  $\text{NH}_3\text{-N}$  of fermented hog manure seemed to support best the growth of *Spirulina*, when the effluent was slowly infused.

*Spirulina* yielded about  $9.72 \pm 0.54 \text{g/m}^2/\text{day}$  under 5 ppm  $\text{NH}_3\text{-N}$  of fermented manure infused every day, it was better than that of chemical culture,  $9.5 \text{g/m}^2/\text{day}$ .

Carotenoid pigments of *Spirulina* can enhance the reddish colour of red *Tilapia sp.*

In feeding experiment of milkfish, growth rate and conversion coefficient of the milkfish were more satisfactory with feeds containing *S. platensis* as main protein source.

### 前 言

近年來由於臺灣養豬業之發達，排泄物之處理問題隨着養豬場之不斷擴充而日趨嚴重。豬排泄物經細菌分解發酵後，產生之發酵液內含有豐富之無機鹽類，是藻類賴以生長之豐富營養鹽，如能有效之利用這些營養鹽，培養各種高價值的藻類，則不但能將無用的排泄物轉變為可供人利用之高價蛋白質源，且可解決嚴重之環境污染問題。

本試驗之目的，即在利用豬糞尿發酵後所含之無機鹽來培養高蛋白質含量之螺旋藻，並將培養出之螺旋藻應用在水產養殖上，探討螺旋藻所含之豐富色素<sup>(1)</sup>對魚體之影響及其高量蛋白質對魚粉之取代地位。

### 材料與方法

#### (一) 利用豬糞尿發酵液培養螺旋藻：

##### 1. 豬排泄物發酵液之處理及分析：

取自農村之豬糞尿以1:10之比例，加水倒入發酵袋內，經發酵15天後，取其發酵液，利用Standard Method<sup>(2)</sup>分別測定 $\text{NH}_3\text{-N}$ 、 $\text{PO}_3$ 、 $\text{HCO}_3$ 之含量。

##### 2. 室內比較培養試驗：

###### (1) 發酵液添加量之確定：

利用2.5%之培養瓶培養螺旋藻，發酵液以 $\text{NH}_3\text{-N}$ 之濃度為單位，每天各分別添加1.5 p. p. m.，3 p. p. m.，6 p. p. m.及9 p. p. m.，另一組則於實驗開始時加入化學肥料： $\text{NaHCO}_3$  8.4g/ℓ，

$\text{NaNO}_3$  1.0g/ℓ,  $\text{K}_2\text{SO}_4$  1.0g/ℓ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.5g/ℓ, 以資比較。試驗期間每隔二天以560m $\mu$ 之波長測Optical density (以下簡稱O.D.)，二重覆，光照度為3000~4000lux。

(2)促進螺旋藻生長之因子：

(a) 為了解 $\text{NaHCO}_3$ 對螺旋藻生長促進效果，利用2.5ℓ之培養瓶，分為5組，每組每天添加6p. p. m.  $\text{NH}_3$ -N之發酵液外，並每組分別加入  $\text{NaHCO}_3$  0, 1.05, 2.1, 4.2, 8.4g/ℓ，二重覆，然後每二天測定其成長情形。

(b) 利用2.5ℓ之培養瓶，每天添加5 p. p. m.  $\text{NH}_3$ -N之發酵液，鹽度調節為：0, 10%，及20%；二重覆，接種後亦以560m $\mu$ 測O.D.。

3. 室外比較培養試驗：

利用室外6個1.8m×3.6m×0.3m之紅泥培養池，分成三組，二重覆。於夏、冬季各作一次比較培養試驗，三組之處理分別如下：(1)每天添加5 p. p. m. 之發酵液(2)每天添加10p. p. m.  $\text{NH}_3$ -N之發酵液 (3)添加化學肥料： $\text{NaHCO}_3$  4.2g/ℓ,  $\text{NaNO}_3$  1g/ℓ,  $\text{K}_2\text{SO}_4$  1g/ℓ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.5g/ℓ。試驗期間分別測定水溫、O.D.，並視其蒸發量，酌量添注水。

(二)螺旋藻飼料試驗：

1. 螺旋藻對魚體色增色之影響：

(1)於室內玻璃缸40ℓ，各放養27尾紅色吳郭魚，分別投餵新鮮之螺旋藻及配合飼料，飼料之配法如表1之No. 1所示，餵飼50天後，抽取皮膚所含之Crude Carotenoid比較其吸光度。

(2)於室外水泥池3.5m×1.5m×0.8m，各放養100尾紅色吳郭魚，皆餵與配合飼料，亦如表1所示，其中之一為以10%之螺旋藻取代魚粉，餵飼146天後，各取20尾之吳郭魚抽取皮膚所含之Crude Carotenoid，比較其吸光度。

Table 1 Composition of Artificial diet for red *Tilapia* sp.

No.	Ingredient							
	Fish meal	<i>Spirulina</i>	$\alpha$ -starch	Dextrin	Cellulose	Oil	Mineral mix.	Vitamin mix
1	45	0	20	20	4	5	4	2
2	35	10	20	20	4	5	4	2

2. 虱目魚飼料試驗：

利用室外水泥池(3.5m×1.5m×0.8m)，各放養70尾虱目魚，二重覆，投與配合飼料如表2所示。主要是以螺旋藻逐漸取代魚粉，甚至完全以螺旋藻作為飼料之蛋白質來源，並以臺糖虱目魚飼料為對照組，以資比較。試驗期間記錄水溫、pH值、鹽度之變化，並視水質而隨時給予換水。每二星期測一次體重，測時先以Urethan 0.75%將魚麻醉，以避免魚之受傷死亡。

Table 2 Composition of artificial diet for milkfish.

Ingredients	Pond no.						
	A	B	C	D	E	F	G
Fish meal	40	30	20	10	0	0	
<i>Spirulina</i>	0	10	20	30	40	50	*
Soybean meal	10	10	10	10	10	0	

Barley	21	21	21	21	21	21
$\alpha$ -Starch	10	10	10	10	10	10
Cellulose	4	4	4	4	4	4
Vit. mix.	4	4	4	4	4	4
Mineral mix.	6	6	6	6	6	6
Oil	5	5	5	5	5	5

\*Milkfish Feed made by Taiwan Sugar Corp.

### 結 果

(-)利用豬糞尿發酵液培養螺旋藻：

1. 豬糞尿發酵液之成份分析：

隨着豬排泄物採樣地點之不同，經發酵後，發酵液之成份含量亦有差別，在此次試驗中，所用之發酵液其成份範圍： $\text{NH}_3\text{-N}$ :300~500p. p. m.  $\text{PO}_4^{-3}$ :200~400p.p.m,  $\text{HCO}_3^-$ :3000p. p. m. 左右。

2. 室內比較培養

(1) 發酵液添加量之確定：

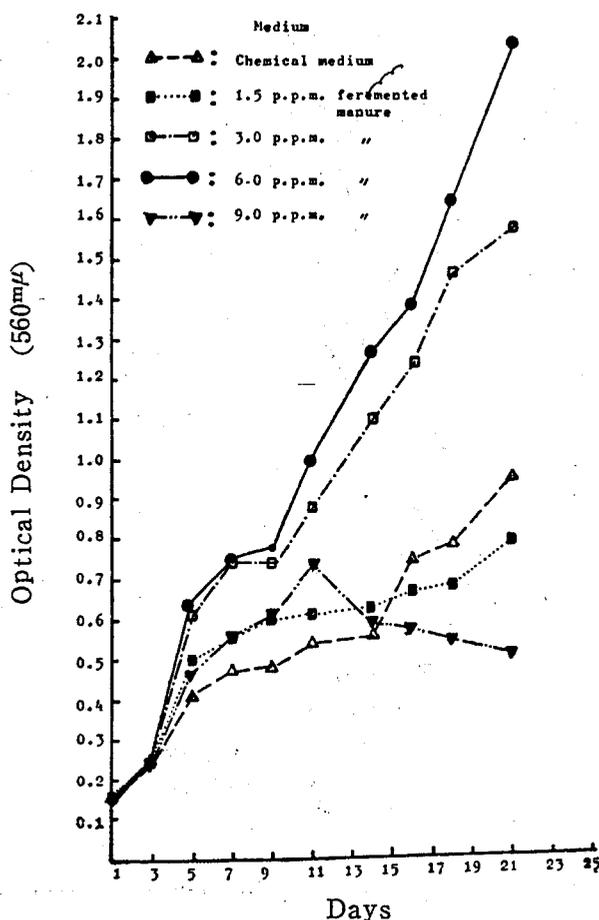


Fig. 1 The growth of *Spirulina* treated with chemical medium and fermented hog manure.

結果如圖1所示：以每天添加6p. p. m.  $\text{NH}_3\text{-N}$  發酵液之生長為最佳，在第21天之O. D. 為2.044 其次為添加3p. p. m.  $\text{NH}_3\text{-N}$  發酵液者，O. D. 為1.598，再次為以化學肥料培養者，O. D. 為0.96 2, ;每天添加1.5p. p. m. 者O. D. 尚有0.806，而以每天添 9 p. p. m. 者為最差，第11天曾達到0.743，但第21天已降至0.523，故發酵液之添加量不能過量，每天以添加 3 ~ 6 p. p. m.  $\text{NH}_3\text{-N}$  之發酵液為適當，如添加過多，藻液呈黑色，不利於螺旋藻之生長，反有許多動物性浮游生物產生。

### (2) 促進螺旋藻生長之因子：

結果分別如圖 2、圖 3 所示：於豬糞尿發酵液培養螺旋藻之過程中，若能添加  $\text{NaHCO}_3$ ，則螺旋藻生長較快，且添加愈多，生長愈佳，此因碳源為螺旋藻生長之限制因子，故如能於培養期間通入  $\text{CO}_2$  則生產量必可提高。

提高培養液之鹽份濃度，亦是促進螺旋藻生長之方法之一，在鹽度 0 ~ 20% 之間，隨鹽份增加，螺旋藻之生長愈佳。

### 3. 室外比較培養：

螺旋藻生長之情形如圖 4 所示：以添加5p. p. m.  $\text{NH}_3\text{-N}$  之發酵液，夏天(平均水溫 22.6~27.6°C) 之成長最佳，其在第19天之O. D. 為1.406；以化學肥料培養者為1.377；添加10p. p. m.  $\text{NH}_3\text{-N}$  發酵液者較差，第20天之O. D. 為0.94；冬天(平均水溫 13.7~18.8°C) 螺旋藻之生長均較差，添加 5 p. p. m. 者第16天之O. D. 為1.06；添加化肥者為0.888；添加10p. p. m. 者為0.674。螺旋藻之生產量則如 表 3 所示：夏季溫度高，平均 26.25°C 下，以化肥培養者，每天可採收  $9.50 \pm 0.72 \text{ g/m}^2$  之乾藻重，而每天添加5p. p. m.  $\text{NH}_3\text{-N}$  發酵液者，每天乾藻之生產量可達  $9.72 \pm$

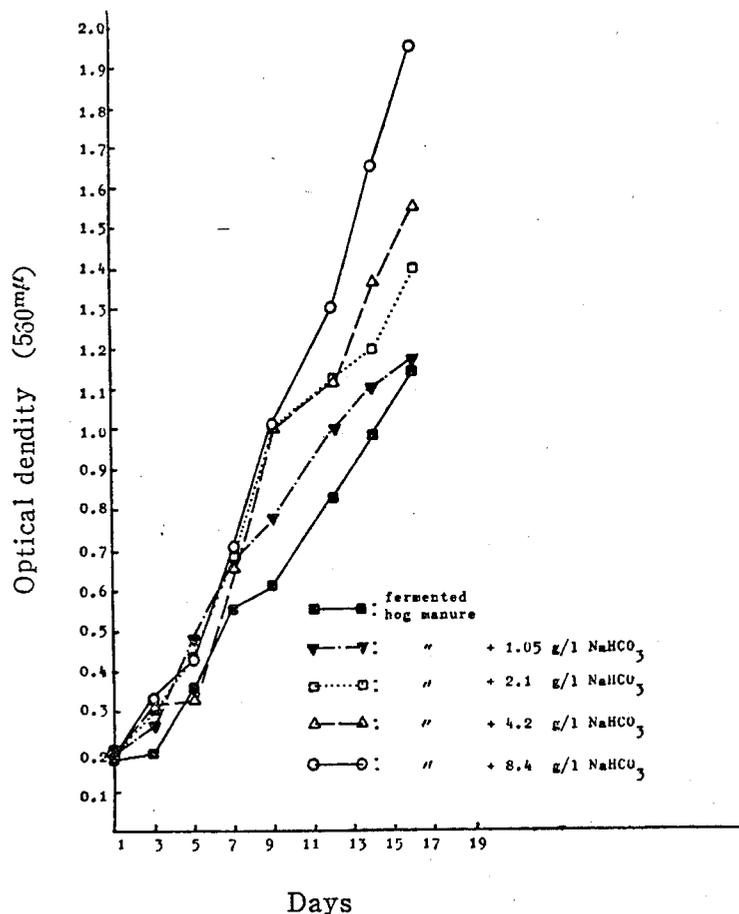


Fig. 2 The growth of *Spirulina* by different treatment.

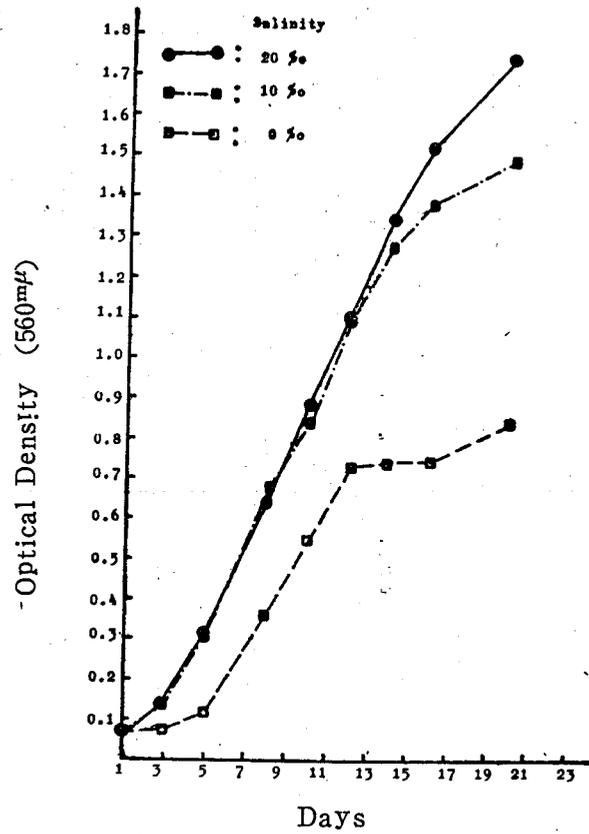


Fig. 3 The effect of salinity on the growth of *Spirulina* fertilized with fermented hog manure.

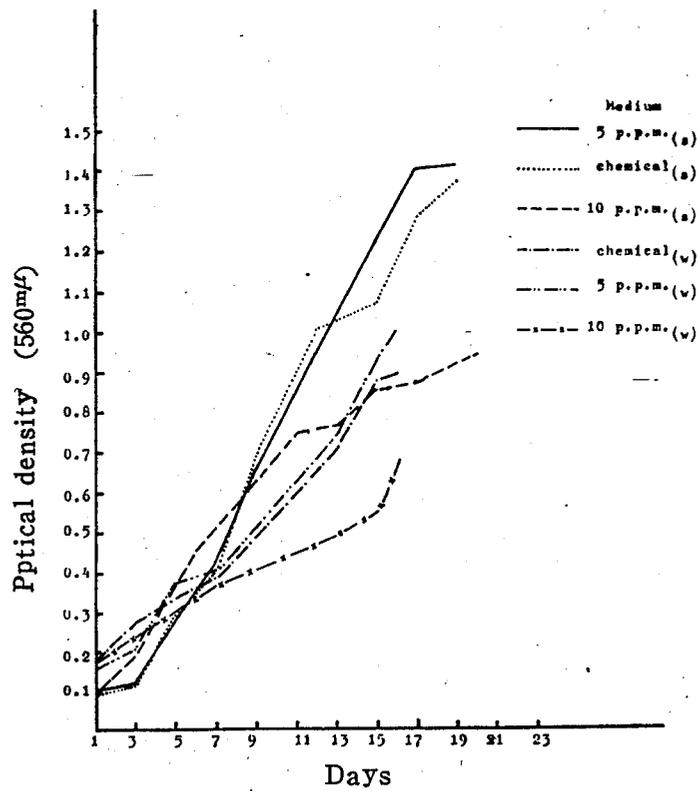


Fig. 4 The growth of *Spirulina* treated with different fertilizer during summer and winter in outside pond.

Table 3 The Production of *Spirulina* under different treatment.

Medium		Production (g/day/m <sup>2</sup> , dry wt.)	
		Summer	Winter
fermented manure (NH <sub>3</sub> -N)	5 ppm	9.72±0.54	7.30±0.36
	10ppm	3.85±1.80	3.40±0.84
Chemical		9.5±0.72	8.45±0.62
Temperature °C		26.25 (21.7-30.8)	17.3 (15-19.6)

0.54g/m<sup>2</sup>，二者之間經用 t 分佈測定，並無顯著性之差異存在 ( $t=1.96>0.49$ )。冬季溫度較低，平均17.3°C，以化肥培養者乾藻之生產量為8.45±0.62g/m<sup>2</sup>/day，添加5 p.p.m. 發酵液者為7.30±0.36g/m<sup>2</sup>/day，二者之間則有差異存在 ( $t=1.960<3.21$ )，可見以發酵液培養，螺旋藻在冬天之生長較差。

#### (二) 螺旋藻飼料試驗：

##### 1. 螺旋藻對於魚體色增色之影響：

結果如圖5，圖6，及表4所示：於室內飼育50天者，以餵飼新鮮螺旋藻之吳郭魚所顯出之紅色最為鮮紅，其Crude Carotenoid 在460m<sup>μ</sup>下之O.D.為1.495，幾為飼予配合飼料者之兩倍，餵食配合飼料者之O.D.為0.585。

配合飼料內含10%螺旋藻者，餵飼紅吳郭魚146天後，魚體之鮮紅度與餵食不含螺旋藻者之差別不很大，但仍較鮮紅，其Crude Carotenoid在440m<sup>μ</sup>下之O.D.為2.3，而飼以不含螺旋藻飼料者為2.0。在此試驗中，就魚體之成長言，以飼予不含螺旋藻者之成長較佳，其增肉係數為1.524，飼予含螺旋藻者為1.694，此因吳郭魚為雜食性之魚類，對植物性蛋白質之消化利用不如動物性蛋白質所致。

##### 2. 虱目魚飼料試驗：

結果如圖7及表5所示：螺旋藻含量高者，虱目魚之成長均佳。就成長率及增肉係數言，皆以F飼料(螺旋藻50%)為最佳，成長率為85.54%，增肉係數為1.71，此飼料是以螺旋藻做為全部之蛋白源，不含魚粉及黃豆粉；D飼料(魚粉10%，螺旋藻30%)次之，成長率84.04%，增肉係數2.22；再次為E飼料(螺旋藻40%)，成長率76.13%，增肉係數2.31。D飼料之較E飼料為佳，可能與飼料之大小有關，所有飼料中除G為粒狀外，其餘皆為條狀，而D之條狀較粗，直徑0.3cm，長約20.5cm，A、B、C、E、F飼料之直徑為0.15cm，長為0.5~0.7cm。此五種飼料對虱目魚而言，可能較細。但經t分佈測定，D與E之成長率及增肉係數之間，均無顯著之差異存在 ( $t=1.960>1.309$   $t=1.960>1.034$ )。臺糖虱目魚飼料由於易於溶失，其成長率僅34.22%，增肉係數為4.64。A、B、C三種飼料，就增肉係數言，相差並不大，而成長率則以C飼料較低，但經測定，C與A、B間並無顯著之差異存在 ( $t=1.960>0.827$ ,  $t=1.960>0.581$ )；而完全以魚粉為主蛋白源之A飼料，與完全以螺旋藻為蛋白源之F飼料，其成長率與增肉係數間，皆有顯著之差異存在，( $t=1.960<2.265$ ,  $t=1.960<2.430$ ) 故總而觀之，螺旋藻高含量之飼料，其效果皆優於低螺旋藻含量者。故就→

虱目魚飼料言，螺旋藻是可取代魚粉，甚至可取代全部之蛋白源。試驗期間之水溫：20.5~32°C；Salinity:20~39‰；pH值在7.8~8.8之間。

Table 4 The results of experiment after raising red *Tilapia sp.* for 146 days.

Item	Initial body wt.(g)	Final body wt. (g)	Total weight increasd(g)	Total feed consumed(g)	Conversion coefficient	O.D.at 440m $\mu$
1	2.302	24.316	2027.300	3090.09	1.524	2.0
2	2.302	21.298	1712.504	2900.65	1.694	2.301

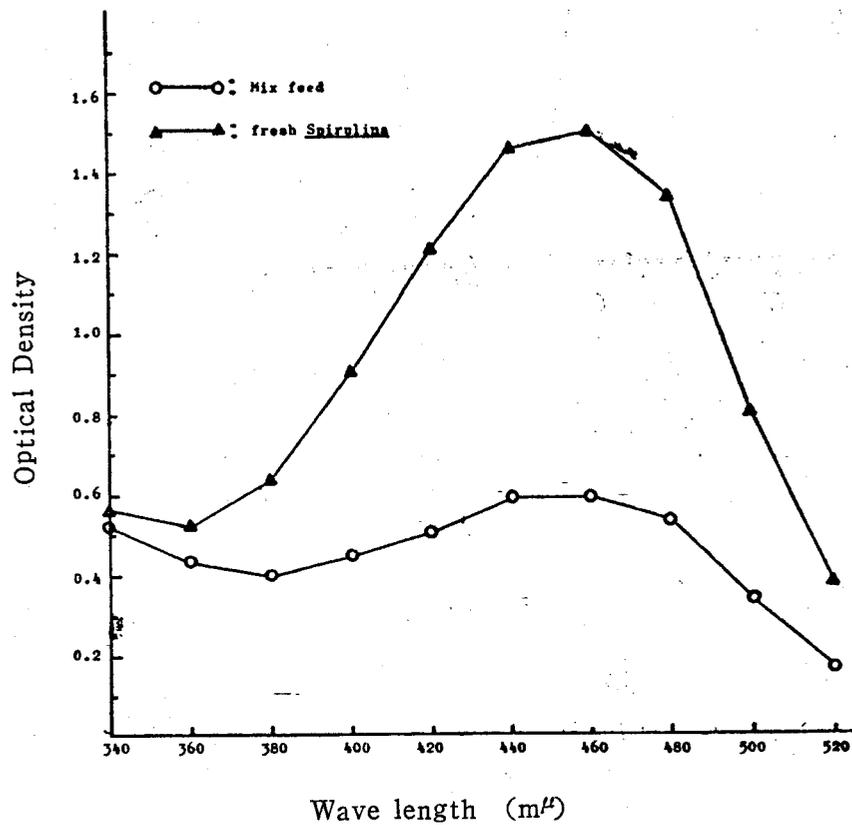


Fig. 5 Absorption curves of crude carotenoid of red *Tiapia* after rearing 50 days.

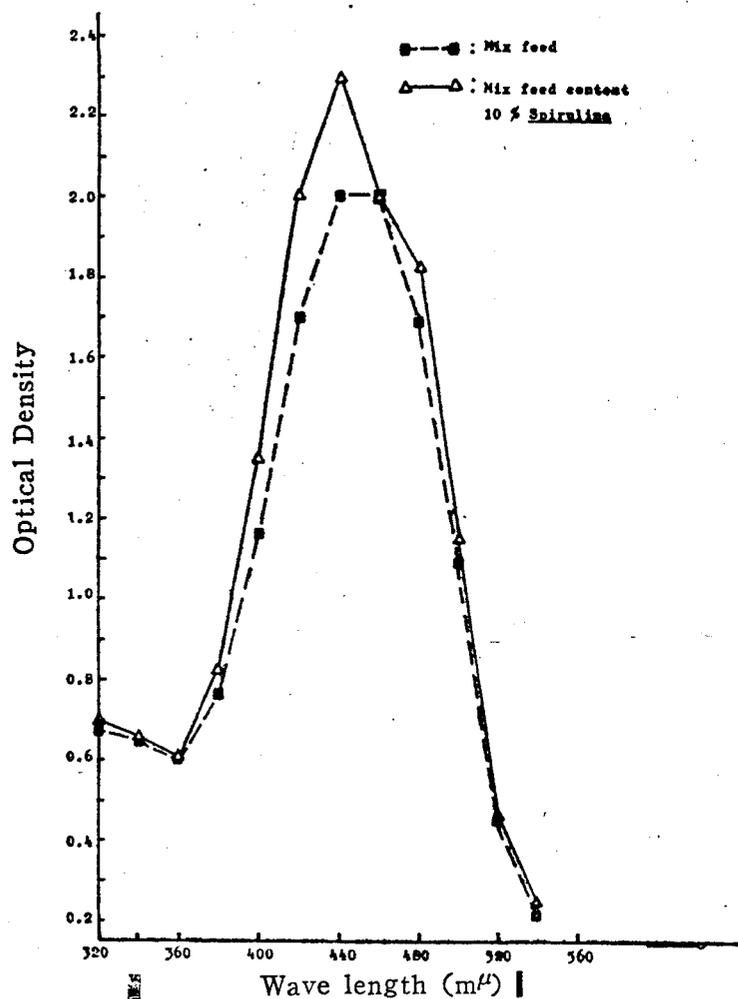


Fig. 6: Absorption curves of crude carotenoid of red *Tilapia* after rearing 146 days in outside ponds.

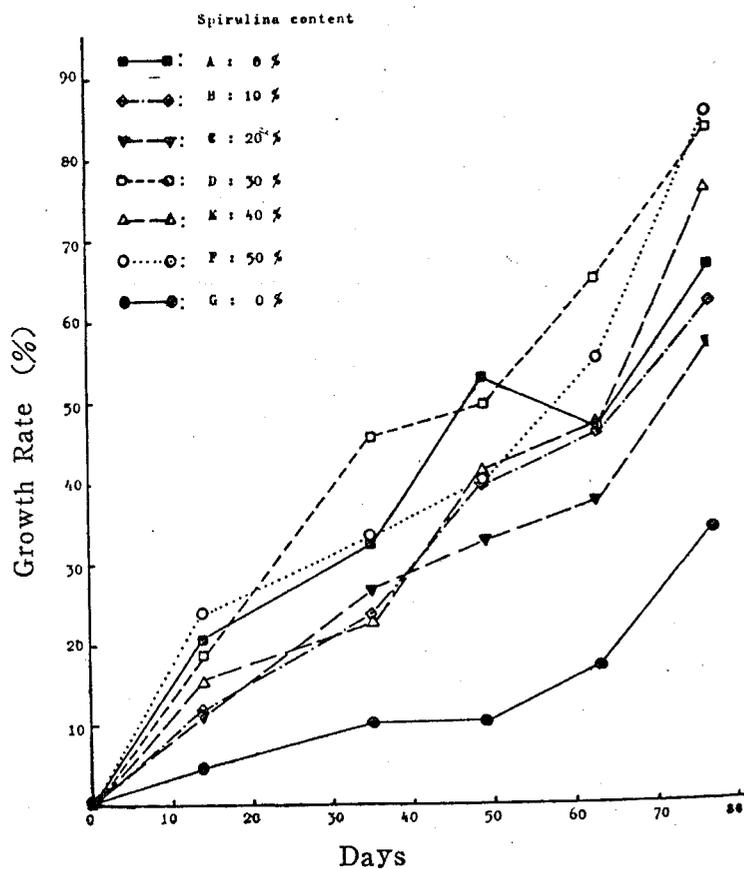


Fig. 7 The growth rate of milkfish fed with different diet.

Table 5 The results of experiment after raising milkfish for 77days

Item	A	B	C	D	E	F	G
Initial mean body wt. (g)	19.08±0.37	20.62±0.1	21.82±0.92	21.07±2.08	21.19±1.45	20.53±0.81	20.94±1.68
Final mean body wt. (g)	31.08±3.60	33.42±0.43	34.34±1.95	38.71±1.27	37.32±2.74	38.09±2.68	28.12±0.21
Conversion coefficient	2.83±0.56	2.76±0.18	2.92±0.57	2.22±0.33	2.31±0.14	1.71±0.73	4.64±1.07
Growth rate (%)	66.65±15.67	62.12±2.95	57.52±15.56	84.04±12.12	76.13±0.86	85.54±5.73	34.22±11.16
Survival rate (%)	91.43±2.86	96.34±1.43	95.00±4.28	95.72±5.71	92.15±1.43	91.43±2.86	90.00±11.42

## 討 論

螺旋藻 *Spirulina Platensis* 不但蛋白質含量高達60%以上，其它之營養成份亦很豐富，且因藻體大採收容易，為值得開發之植物性蛋白源。

所謂豬糞尿之發酵，即由厭氣細菌將糞尿內所含之有機物質分解，轉變為  $\text{CH}_4$  及  $\text{CO}_2$ ，其步驟可分為三：Hydrolysis, Acid-formation, 及 Gas-formation<sup>(4)</sup>，而目前所利用發酵液內之養分，即為第二步驟所產生之有機酸及無機鹽類，這些豐富的 C. N. P. K 等資源，正是微細藻類生長所須之營養鹽。利用發酵液來培養綠藻，已為岡<sup>(4)</sup>所證實，但由於綠藻個體太小，直徑僅 2~6 $\mu$ ，採收所須之費用過於龐大，非小資本者所能負擔，故不易推廣。

由上述之試驗可知：豬糞尿發酵液培養螺旋藻是可行的，但發酵液之添加，速度必須很慢，此因發酵液本身為酸性，pH值在 6~7 之間，而螺旋藻培養液之適當 pH 值範圍在 8.5~9.5，當發酵液添入時，其中所含之  $\text{NH}_3$ -N 遇鹼性之藻液，易於逸走，故須慢慢添入，以利藻體之利用。又由於發酵液為黑褐色，若添加過量，藻液呈黑色，會影響藻體之生長，且  $\text{NH}_3$ -N 之量過多反會引起藻體之分解<sup>5)</sup>，故不宜添加過量。

由於碳源為螺旋藻生長之限制因子，以化學肥料培養時，於每次收成後須添入  $\text{NaHCO}_3$ ，以發酵液培養時，雖然發酵液所含之有機酸可當作碳源，但若能於培養期間通入  $\text{CO}_2$ ，則對提高生產量將有很大的幫助。

實驗中所用之螺旋藻種是來自非洲查德湖之鹽水種，由於海水中之鈣、鎂離子含量高，對螺旋藻有抑制作用，故在本分所培養時改用地下水培養（鹽度 4.5‰），成長尚佳，但若能酌量加入  $\text{NaCl}$ ，則對生長更佳。

在此次試驗中，螺旋藻之生產量就夏季言，以化肥培養者，其成本單就成學肥料之費用，生產每公斤乾藻，須102.47元（生產量以 9.5g/m<sup>2</sup>/day 計）；若以豬糞尿發酵液培養，則就購買豬糞尿之費用0.75/kg言，生產每公斤之乾藻，只須18.08元（生產量以 9.72g/m<sup>2</sup>/day 計），故以發酵液來培養螺旋藻，將可節省生產成本。

螺旋藻之色素含量豐，尤以 Carotenoid 為然，在生長條件良好下，每100g之乾藻可含450mg之 Carotenoid<sup>(1)</sup>，其中  $\beta$ -Carotene 佔 44.63%，Zeaxanthin 佔 15.99%，就錦鯉及金魚言，會將  $\beta$ -Carotene 及 Zeaxanthin 轉變為 astaxanthin，而後將之積聚在皮膚上，形成鮮艷之紅色<sup>(6)</sup>，此次試驗所用之魚種為紅色吳郭魚，結果食用螺旋藻者皆顯出較鮮紅之色彩，故若能將螺旋藻應用在錦鯉及金魚之養殖上，則將可促進臺灣熱帶魚業之發展。

虱目魚養殖，是目前臺灣養殖漁業中重要的一環，具有二百多年的歷史，主要是攝食魚塢內之底藻，其中以藍綠藻類及矽藻類佔最大部分<sup>(7)</sup>。以螺旋藻作為虱目魚配合飼料之蛋白源，應合乎其草食性之消化能力，在此次試驗中，螺旋藻含量高之飼料，魚之成長均優於低含量者，尤以完全以螺旋藻為蛋白源之飼料為佳，可說完全取代了魚粉的地位，且以發酵液培養之螺旋藻，成本低，如此以螺旋藻為蛋白源，當可開發出低價之虱目魚人工配合飼料。

## 摘 要

為解決豬排泄物污染環境之問題，而利用其發酵後廢液內所含之豐富有機酸及無機鹽，來培養高蛋白含量之螺旋藻，並將培養出之螺旋藻應用在魚類之養殖上。

1. 以豬糞尿發酵液培養螺旋藻之最適添加量為每天 3~6 之 p. p. m.  $\text{NH}_3$ -N。添加速度必須很慢，以免  $\text{NH}_3$ -N 之逸走。

2. 夏季以發酵液培養螺旋藻之生產量為  $9.72 \pm 0.54 \text{g/m}^2/\text{day}$ ，以化肥培養者為  $9.50 \pm 0.72 \text{g/m}^2/\text{day}$ 。

- 3.螺旋藻所含之Carotenoid可增進魚體之鮮紅度。
- 4.螺旋藻可完全取代魚粉，作為虱目魚配合飼料之蛋白源。

#### 參考文獻

- 1.中山豐藏 スピルリナー新しい蛋白資源としての可能性 New Food Industry Vol. 17, No.2
- 2.APHA-AWWA-WPCF Standard Methods for the Examination of Water and Waste water.
- 3.Donald L Pavia, Gary M. Lampman & George S. kriz Jr. (1976) Introduction to Organic laboratory Techniques.
- 4.周才藝 (1977) 利用猪糞尿生產沼氣及綠藻 畜産研究 10卷1期。
- 5.Po Chung, W.G. Pond, J. M. Kingsbury, E. F. Walker, Jr.and L. Krook Production and Nutritive Value of *Arthrospira platensis*: A spiral Blue-green Alga Grown on Swine Waste.
- 6.秦 正弘・秦 満夫 (1975) 錦鯉におけるカロチノイド代謝—I 種々のカロチノイドの投與 日水誌 41(6)。
- 7.林書顔 (1968) 虱目魚養殖概論 水産養殖研究報告第三號。