[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl[7]
C07K 14/405
C07K 1/14 C12N 1/12

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 03102039.9

[43] 公开日 2004 年 8 月 18 日

[11] 公开号 CN 1521186A

[22] 申请日 2003.1.27 [21] 申请号 03102039.9

[71] 申请人 人宇生物科技股份有限公司
地址 台湾省台北市
共同申请人 吕志翼
[72] 发明人 江永棉 周宏农 郑俊明 吕志翼

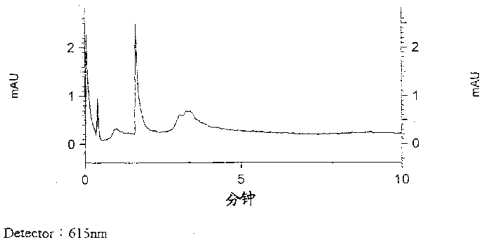
[74] 专利代理机构 北京三友知识产权代理有限公司
代理人 刘朝华

权利要求书 2 页 说明书 10 页 附图 7 页

[54] 发明名称 利用蠕枝藻生产高吸光度藻红素的用途及其方法

[57] 摘要

一种利用蠕枝藻生产高吸光度藻红素的用途及其方法。利用蠕枝藻生活史中具有的有性生殖、无性生殖与营养繁殖三个世代交替及果孢子丝状体阶段不含各种胶类的特征下，在控制的光线、温度及营养条件下，延续其丝状体阶段，并进一步以其为材料，萃取高吸光度比值藻红素。通过其单位重量含有藻红素的高重量比值，达到降低单位成本及减少藻红素纯化步骤的功效。



ISSN1008-4274

1、一种利用蠕枝藻生产高吸光度藻红素的用途，该蠕枝藻的生活史具有有性生殖、无性生殖与营养繁殖三个世代交替，其特征是：利用其孢子丝状体生产高吸光度比值的藻红素。

2、根据权利要求 1 所述的用途，其特征是：该孢子丝状体为果孢子丝状体。

3、根据权利要求 1 所述的用途，其特征是：该蠕枝藻从其果孢子丝状体中萃取的藻红素，经高效能液相层析仪所得出的 565nm 的层析光谱图。

4、一种利用蠕枝藻生产高吸光度藻红素的方法，其特征是：它包含下列步骤：

（1）以培养液培养蠕枝藻含成熟果孢子囊的配子体，得到果孢子；

（2）将该果孢子置于温度 15-30℃下，光照为 500-6000 lux 的照度与明暗比为 10:14 以上的环境下培养，使其长成为丝状体；

（3）收集该丝状体；

（4）加入酸碱缓冲液，加以搅拌和离心，以得到深色的色素蛋白溶液；

（5）以盐析法去除该深色的色素蛋白溶液中杂质，并沉淀出色素蛋白。

5、根据权利要求 4 所述的方法，其特征是：该培养液为 SWM-Ⅲ培养液。

6、根据权利要求 4 所述的方法，其特征是：该 SWM-Ⅲ培养液为去除有机物的 SWM-Ⅲ培养液。

7、根据权利要求 4 所述的方法，其特征是：培养该果孢子丝状体的方法为旋浮培养法。

8、根据权利要求 4 所述的方法，其特征是：该（1）的培养的环境为 20℃，2000 lux 的照度与明暗比为 12:12。

9、根据权利要求 4 所述的方法，其特征是：收集该丝状体更依次包含如下的步骤：以网布收集法收集该丝状体、干燥该丝状体及研磨该丝状体，使其成为粉末。

10、根据权利要求 9 所述的方法，其特征是：该网布收集法使用 20-400

网目的网布。

11、根据权利要求 9 所述的方法，其特征是：干燥该丝状体的方法为真空法。

12、根据权利要求 9 所述的方法，其特征是：干燥该丝状体的条件为温风法。

13、据权利要求 4 所述的方法，其特征是：该离心的条件为转速 6000rpm、时间 10min 及温度 4℃。

14、根据权利要求 4 所述的方法，其特征是：该酸碱缓冲液为磷酸钾溶液，以维持溶液 pH 值在 5-10 之间。

15、根据权利要求 4 所述的方法，其特征是：该盐析法去除杂质为加入 20%硫酸铵溶液。

16、根据权利要求 4 所述的方法，其特征是：该盐析法沉淀色素蛋白为加入 60-65%硫酸铵溶液。

17、根据权利要求 4 所述的方法，其特征是：它还包含以超过滤法纯化分离出藻红素。

18、根据权利要求 4 所述的方法，其特征是：它还包含以胶滤层析法纯化分离出藻红素。

19、据权利要求 18 所述的方法，其特征是：该胶滤层析法为使用 Sephadex G200 的胶滤层析法。

利用蠕枝藻生产高吸光度藻红素的用途及其方法

技术领域

本发明是有关于用蠕枝藻(Helminthocladia australis 生产具有高吸光度(OD)比值藻红素的用途及其方法和装置。利用蠕枝藻生活史中具有的有性生殖、无性生殖与营养繁殖三个世代交替及果孢子丝状体阶段不含各种胶类的特征下，在控制的光线、温度及营养条件下，延续其丝状体阶段，并进一步以其为材料，萃取高吸光度比值藻红素。

背景技术

不论就藻红素、藻蓝素或其它天然蛋白质色素而言，通常具有实用安全性，对热、酸碱度等亦具相当程度的稳定性，可应用于食品与化妆品上，同时亦可作为免疫学上抗体标志用的荧光色素而应用于临床诊断及细胞生化学研究上。

目前市场已开发并应用的有藻蓝素(phycocyanin)与藻红素(phycoerythrin)，其中，藻蓝素生产的原料来源多为可予大量繁殖培养的蓝绿藻，如螺旋藻(Spirulina)与铜锈微囊藻(Microcystis)，且其培养与生产方法多享有专利。

而藻红素则因原料的缺乏，或因原物料不利于色素生产，而存在产量少及价格昂贵的缺陷，对全球每年数万磅食用红色色素的需求，必须开发一种天然、安全、稳定又具特殊荧光释出的红色色素，预估大量生产后，将使价格下降，更会扩大其应用范围与市场供给。

目前藻红色素蛋白大部分是分离自红藻的大型叶状体，如紫菜(Porphyra)或仙菜藻(Ceramium)等，少部分则萃取自可大量控制培养的紫球藻(Porphyridium)。其主要问题在于:

1、目前虽有野生大量红藻资源及栽培的紫菜作为藻红素原料，但因多数红

藻含丰富胶质物(洋菜胶、鹿角菜胶、红藻胶)，导致色素的萃出不易，尤其是干燥后的藻类原料更是如此，再加上野生藻种的原料在品和产量上均有季节性差异，为人力所不易掌握。

2、目前紫球藻的培养于收集细胞时，亦有显著的困难，因为单细胞藻体的收集一向是耗能而耗时的操作，影响生产成本甚大，而藻细胞于培养时所分泌的可溶性多醣类，除了阻碍细胞的收集外，亦影响到色素的抽取。

为了解决上述的问题，美国专利 5,358,858 提出了一种由头发菜(Bangiaatropurpurea)及狭叶紫菜(Porphyraangusta)丝状体生产藻红素的方法，利用头发菜及狭叶紫菜生活史中的丝状孢子体阶段不含各种胶类的特征下，利用控制的光线、温度及营养条件下，延续其丝状体阶段，并进一步以其为原料，萃取藻红素，其步骤如下:

1、丝状体的培养与繁殖，从野外采集成熟的头发菜或狭叶紫菜配子体，以灭菌海水及毛笔清洗藻体干净，稍阴干后投入含改良过的 SWM-III(如表一所示)培养皿中，培养皿内底部铺有盖玻片，待孢子释放并附着于盖玻片后，在室温下、1000-4000lux 的照度及每日 10-16 小时照光的培养箱中发芽成长，最后发育呈分歧多枝的丝状孢子体。

表一 SWM-III的组成

$NaNO_3$	8.5g/100ml	取 2ml
Na_2HPO_4	0.595g/100ml	取 2ml
Na_2EDTA	0.5g/100ml	取 2ml
	0.01625g/100ml	取 2ml
$FeCl_3$(或 $FeCl_3 \cdot 7H_2O$)	0.02885g/100ml	取 2ml
*[1]PI-metal		取 2ml
*[2]S-3Vitamins		取 2ml
Soil extract		取 50ml
Tris (10cc/l)		取 500mg

Livere xtract	取 10mg
海水 pH=7、5	1 升

(调 pH 时：先以浓 HCl 调至 pH≤7，再以适当浓度的 NaOH 调至 pH7、5，如此可免于消毒时产生白色沉淀)

其中 *1PI-metal 为:

H_3BO_3	12.368g
$MnCl_2$	1.385g
$ZnCl_2$	0.109g
蒸馏水	2 升
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	4.479mg
$CuCl_2 \cdot 2H_2O$	0.034mg

其中 *2S-3Vitamins 为:

ThiaminHCl	0.5g
Capantothenate	0.1g
Nicotinicacid	0.1g
P-aminobenzoicacid	10mg
Biotin	1mg
蒸馏水	2 升
Inositol	5g
Folic acid	2mg
Thymine	3mg
B_{12}	1mg

(所有的 Stock 溶液均存于褐色瓶中，冷藏保存)

2、丝状体刮下后移至含培养液的三角瓶，在上述生长环境条件下培养，育成丝状体的聚集团。打碎丝状体的聚集团，移至更大生长的量瓶继续发育成更多的聚集团，并因此渐次扩大培养的体积，在较大体积的照光培养槽中，应予

打气(每分钟300毫升干净空气)大量繁殖培养。通过100-400网目的网布过滤，滤除的培养液可回收再使用，对后续的培养并无妨碍。

3、藻体收获后，因丝状体结构可经真空或温风迅速干燥，再研磨成粉后，以水或磷酸盐溶液予以充分搅拌萃取、离心，可得澄清的深红藻蛋白溶液；藻色素的浓缩与纯化，可通过20%硫酸铵溶液去除部分杂质蛋白沉淀，再于溶液中经60-65%硫酸铵溶液沉淀出色素蛋白，为OD_{565}/OD_{280}=1.4-1.6的粗红色色素，为食品级、化妆品可用的色素。

4、将沉淀的蛋白进一步通过胶滤层析纯化(gelfiltration)，使用Sephadex G200树酯分离，第一道程序可得OD比为3.3-3.7的藻红素产品，再次重复即可得OD比为5.1-5.2的藻红素，再经胶体电泳法(SDS)电泳所得的结果显示纯度约99%，可作为免疫检验用试剂。

上述的方法虽然可以避免传统紫菜、仙菜藻萃取色素法需以加热及分离胶值的复杂手续，或是紫球藻等单细胞植物萃取法，由于其体积小，导致收集的困难与其分泌的多醣类影响色素的抽取的问题，其主要缺陷在于:

但是头发菜及狭叶紫菜丝状体直接形成的深红藻蛋白溶液，其OD_{565}/OD_{280}只有1.4-1.6，仍需进行藻色素的浓缩与纯化，来获取高OD值的藻红素，造成制程复杂及成本较高。因此我们需要开发其它藻种的丝状体，使其初次形成的深红藻蛋白溶液就具有高OD值的藻红素。

鉴于上述的背景技术中，传统利用头发菜及狭叶紫菜丝状体直接形成的深红藻蛋白溶液，其吸光度比值偏低的问题。本发明人创造出利用蠕枝藻生产具有高吸光度比值藻红素的用途及其方法，避免上述情形产生。

发明内容

本发明的主要目的是提供一种利用蠕枝藻生产高吸光度藻红素的用途及其方法，通过其单位重量含有藻红素的高重量比值，达到降低单位成本的目的。

本发明的又一个目的是提供一种利用蠕枝藻生产高吸光度藻红素的用途及

其方法，通过其可萃取具有高吸光度比值藻红素，达到减少藻红素纯化步骤的目的。

本发明的目的是这样实现的：一种利用蠕枝藻生产高吸光度藻红素的用途，其生活史具有的有性生殖、无性生殖与营养繁殖三个世代交替，其特征是：利用其孢子丝状体生产高吸光度比值的藻红素。

该孢子丝状体为果孢子(carpospore)丝状体。

该藻种为蠕枝藻(Helminthocladia australis，从其果孢子丝状体中萃取的藻红素，经高效能液相层析仪所得出的565nm的层析光谱图。

该蠕枝藻果孢子丝状体生产高吸光度比值的藻红素，包含下列步骤：以培养液培养蠕枝藻含成熟果孢子囊的配子体并得到果孢子；将该果孢子置于15-30℃下，500-6000lux的照度与明暗比为10:14以上的环境下培养，使其长成为丝状体；收集该丝状体；加入酸碱缓冲液，加以搅拌、离心，以得到深色色素蛋白溶液；及以盐析法去除该深色的色素蛋白溶液中杂质，并沉淀出色素蛋白。

该培养液为SWM-Ⅲ培养液。该SWM-Ⅲ培养液为去有机物的SWM-Ⅲ培养液。培养该果孢子丝状体的方法为旋浮培养法。培养的环境为20℃，2000lux的照度与明暗比为12:12。

收集该丝状体的步骤更包含：以网布收集法收集该丝状体；干燥该丝状体；及研磨该丝状体，使其成为粉末。网布收集法使用20-400网目网布。干燥该丝状体的方法为真空法。干燥该丝状体的条件为温风法。离心的条件为转速6000rpm、时间10min及温度4℃。该酸碱缓冲液为磷酸钾溶液，以维持溶液pH值在5-10之间。盐析法去除杂质为加入20%硫酸铵溶液。盐析法沉淀色素蛋白为加入60-65%硫酸铵溶液。更包含以超过滤法(ultrafiltration)纯化分离出藻红素。更包含以胶滤层析法纯化分离出藻红素。胶滤层析法为使用Sephadex G200的胶滤层析法。

下面结合较佳实施例和附图详细说明。

附图说明

图 1 是利用高效能液相层析仪(HPLC)得出的藻红素 UV 吸收及荧光发散层析光谱图;

图 2 是头发菜生活史的示意图;

图 3 是狭叶紫菜生活史的示意图;

图 4 是海面生活史的示意图;

图 5-图 7 是传统的头发菜萃取出的纯质藻红素经高效能液相层析仪所得出的 280nm、565nm、615nm 的层析光谱图。

图 8-图 10 是传统的狭叶紫菜萃取出的纯质藻红素经高效能液相层析仪所得出的 280nm、565nm、615nm 的层析光谱图。

图 11-图 13 是本发明的蠕枝藻萃取出的纯质藻红素经高效能液相层析仪所得出的 280nm、565nm、615nm 的层析光谱图。

具体实施方式

下面的较佳实施例仅为说明本发明，还可以广泛地在其它藻种的实施例施行，且本发明的范围不受下面较佳实施例的限定。

众所周知，藻胆蛋白是来自藻类体内的一种水溶性荧光蛋白色素。因其具有特殊的荧光性质，目前主要被广泛的运用于流动细胞仪的荧光试剂上。各种藻胆蛋白中，藻红素是其中的一种，亦是天然物中荧光强度最高的一种，因此有许多荧光检测方法采用此类色素。

图 1 为藻红素利用高效能液相层析仪(HPLC)得出的 UV 吸收及荧光发散层析光谱图，其层析条件如下所述:

HPLC column: HYDROCELL DEAE NP10

Column size: 50*4.6mm

Buffer A: 10mMK-PBS pH6.0

Buffer B: 10mMk-PBS, 0.5M NaCl pH6.0

Gradient: 0%Buffer B→12min→50%Buffer B

Detection: 565nm

Flow rate: 1ml/min

而高效能液相层析仪主要由高精密度高压泵体、分离管、侦测仪和记录器所组成。

参阅图 2 所示，观察头发菜生活史，有性生殖为产生造果器 6(即雌性配偶体 5)与精子囊 2(即雄性配偶体 1)释放的精子 3 受精 4 之后，在果孢子囊 7 会发育成果孢子 8，里面的果孢子 8 成熟后，即会散出，变成丝状孢子体 9，在侧腰状色素体 b 作用下，成长为胞子体 10 和壳胞子囊 11，其放出壳胞子 12 在单胞子形成部位 15 进一步成长为幼体 13、单列藻体 14，在星状色素体 a 作用下，形成单胞子 16，单胞子 16 进一步形成直立体（配偶体）18、多列藻体 17 成长为雄性配偶体 1。

无性生殖则是由单孢子 16 直接发育成萌发成幼体 13、单列藻体 14 及小型藻体，等到一定时候又可产生单孢子 16，单孢子 16 又萌发成单列藻体 14 及小型藻体，如此循环一直到适当的环境条件下，单列藻体 14 及小型藻体所产生的单孢子 16 就可萌发成大型藻体 17。同时，单列藻体 14 及小型藻体也能转变成大型藻体 17，再进入有性生殖世代。

参阅图 3 所示，观察狭叶紫菜生活史中，由于其与图 2 的头发菜生活史大体相同，故不详述。我们可以得知上述两种藻类的生活史一般是有性生殖及无性生殖两个世代交替，传统技术就是利用丝状孢子体阶段不含各种胶类的特征，在控制的光线、温度及营养条件下，延续其丝状体阶段，并进一步以其为原料，萃取藻红素。

参阅图 4 所示，观察海面(Nemalion)生活史，由于其与图 2 的头发菜生活史大体相同，故不详述。藻类的生活史除了是以有性生殖及无性生殖两个世代交替外，另外部分藻类还多出一个营养繁殖世代，即产生四分孢子的孢子体(即四分孢子体)，其过程为造果器受精后形成果孢子体(carposporephyte)、果孢

子(carpospore)、四分孢子体(tetrasporophyte)、四分孢子囊(tetrasporangium)、最后是四分孢子(tetraspore),其中果孢子与四分孢子都会萌发成丝状体,但此两种丝状体的特性不同。

本发明就是利用具有营养繁殖世代的蠕枝藻,其果孢子丝状体阶段不含各种胶类的特征,在控制的光线、温度及营养条件下,延续其丝状体阶段,并进一步以其为原料,萃取出具有高OD值藻红素,其步骤如下:

1、丝状体的培养与繁殖,将成熟的蠕枝藻含成熟果孢子囊的配子体,以灭菌海水及毛笔清洗藻体干净,稍阴干后投入不含有机物的SWM-III培养液的培养器中,培养器内底部铺有玻璃片,待果孢子(carpospore)释放并附着于玻璃片后,在温度15-30℃下,500-6000 lux的照度,明暗比为10:14以上及每日10小时以上照光的培养器中发芽成长,最后发育呈分歧多枝的丝状体。

2、丝状体刮下后移至含培养液的大型培养槽,在上述生长环境条件下培养,可育成丝状体的疏松小聚集团,并因此渐次扩大培养的体积,在较大体积的照光培养槽中,应予打气使该小聚集团悬浮于培养液中(称为旋浮培养)大量繁殖培养。通过20-400网目的网布过滤,滤除的培养液可回收再使用,对后续的培养并无妨碍。

3、藻体收获后,因丝状体结构可经真空或温风迅速干燥,再经自动磨粉机研磨成粉后,取2.4公克重的粉末,加入70毫升、10mM的磷酸钾溶液或其它酸碱缓冲液予以充分搅拌,以维持溶液pH值在5-10之间予以充分搅拌、再以6000rpm、10min及4℃的状态下离心,可得澄清的深红藻蛋白溶液。藻色素的浓缩与纯化,可通过20%硫酸铵溶液去除部分杂质蛋白沉淀,再于溶液中经60-65%硫酸铵溶液沉淀出色素蛋白,其为OD_{565}/OD_{280}=2.66的粗红色色素,为食品级、化妆品可用的色素。

上述澄清的深红藻蛋白溶液也可以用直接收获的湿藻体磨碎加磷酸钾溶液后再离心取得,而藻色素的浓缩与纯化可通过超过滤法(ultrafiltration)来进行。

4、将沉淀的蛋白进一步通过胶滤层析纯化(gelfiltration),使用120公

分长的 Sephadex G200 树酯分离，第一道程序可得 OD 比为 4.5 以上的藻红素产品，再次重复即可得 OD 比为 5.3 以上藻红素，再经胶体电泳法(SDS)电泳所得的结果显示纯度约 99%，可作为免疫检验用试剂。

参阅图 5-图 7 所示，为传统从头发菜萃取出的纯质藻红素经高效能液相层析仪(HPLC)所得出的 280nm、565nm、615nm 的层析光谱图，

参阅图 8-图 10 所示，为传统从狭叶紫菜萃取出的纯质藻红素经高效能液相层析仪所得出的 280nm、565nm、615nm 的层析光谱图。实际上，从不同的藻种中所萃取出的藻红素，其经高效能液相层析仪所得出层析光谱图亦有所差异，就像人类的手指指纹一般。因此，我们可以通过此一特性来分辨出藻红素是由何种藻种所生产。

参阅图 11-图 13 所示，是本发明从蠕枝藻取出的纯质藻红素经高效能液相层析仪所得出的 280nm、565nm、615nm 的层析光谱图。

表二为传统的头发菜、狭叶紫菜与本发明的蠕枝藻萃取藻红素的比较表。

第一列为单位藻类重量(克)含藻红素重量(毫克)的比值，代表在相同的藻类重量下可以产出的藻红素，我们可以清楚得知：本发明的蠕枝藻，其含藻红素的比值为最高。

第二、三列为从藻种中萃取出藻红素的吸光度比值(OD_{565}/OD_{280})及(OD_{615}/OD_{565})，前者表示藻红素和其它蛋白质纯度的比例，后者表示藻蓝素和藻红素的纯度比，(OD_{565}/OD_{280})比值越高表示藻红素纯度越高，其附加价值越高，越具有食品或化妆品色素利用价值，也越有利后端制成纯化，因可应用于医疗的免疫检验用试剂上；而因为藻蓝素会吸收藻红素所发出的荧光，造成作为在食品或化妆品色素用途时荧光颜色不佳，因此(OD_{615}/OD_{565})越低表示藻蓝素含量越少，在荧光颜色效果上更佳。同样地，我们可以明显看出：本发明的蠕枝藻，其萃取出藻红素具有最高的吸光度比值。因此，利用本发明的蠕枝藻丝状体来萃取藻红素，其较传统头发菜和狭叶紫菜的丝状体，具有高藻红素含量与高吸光度比值的优点。

表二 各藻种藻粉色素成份分析

藻种	Ba	Pa	Ha
RPE mg/g 藻粉	53.5	38.89	48.1
吸光比值 A_{565}/A_{280}	1.40	1.54	2.34
吸光比值 A_{615}/A_{565}	0.19	0.53	0.15

其中

RPE: 一种藻红蛋白，具有亲水性并在水与形成稳定性水溶液，其最大 UV 吸收波长及荧光发散波长各为 566nm 及 575nm。

Ba: 传统头发菜(Bangia atropurpurea)

Pa: 传统狭叶紫菜(Porphyra angusta)

Ha: 本发明的蠕枝藻(Helminthocladia australis)

本发明是通过举出一个较佳实施例来描述，但是本发明并不限定于所举出的实施例，显而易见地，其它未脱离本发明所揭示的精神下，所完成的等效改变或修饰，均应包含在本发明的保护范围之内。

综上所述，本发明的实施例能达到所预期的功效，又其所揭露的具体构造，不仅未曾见诸于同类产品中，亦未曾公开于申请前，具有新颖性、创造性和实用性。

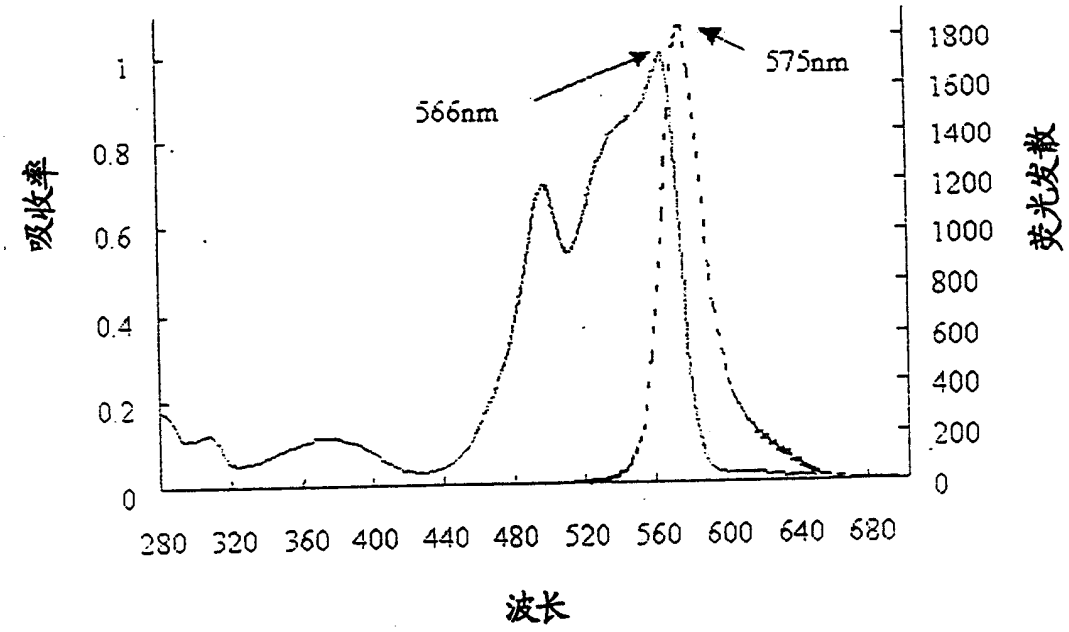

566nm
575nm
吸收率
荧光发散
波长
0
0.2
0.4
0.6
0.8
1
200
400
600
800
1000
1200
1400
1600
1800
280 320 360 400 440 480 520 560 600 640 680

图 1

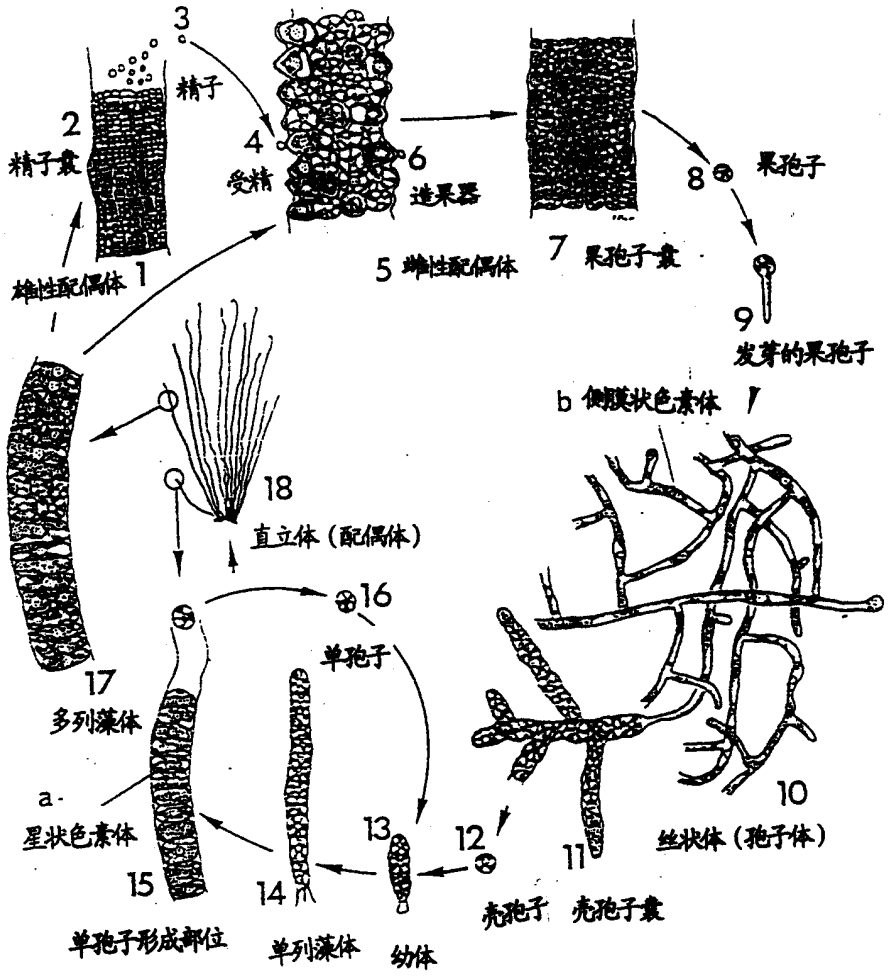

3
精子
2
精子囊
4
受精
6
造果器
5 雌性配偶体
7 果孢子囊
8 果孢子
9
发芽的果孢子
雄性配偶体 1
b 侧膜状色素体
18
直立体（配偶体）
16
单孢子
17
多列藻体
a
星状色素体
13
12
10
丝状体（孢子体）
11
15
14
壳孢子
壳孢子囊
单孢子形成部位
单列藻体
幼体

图 2

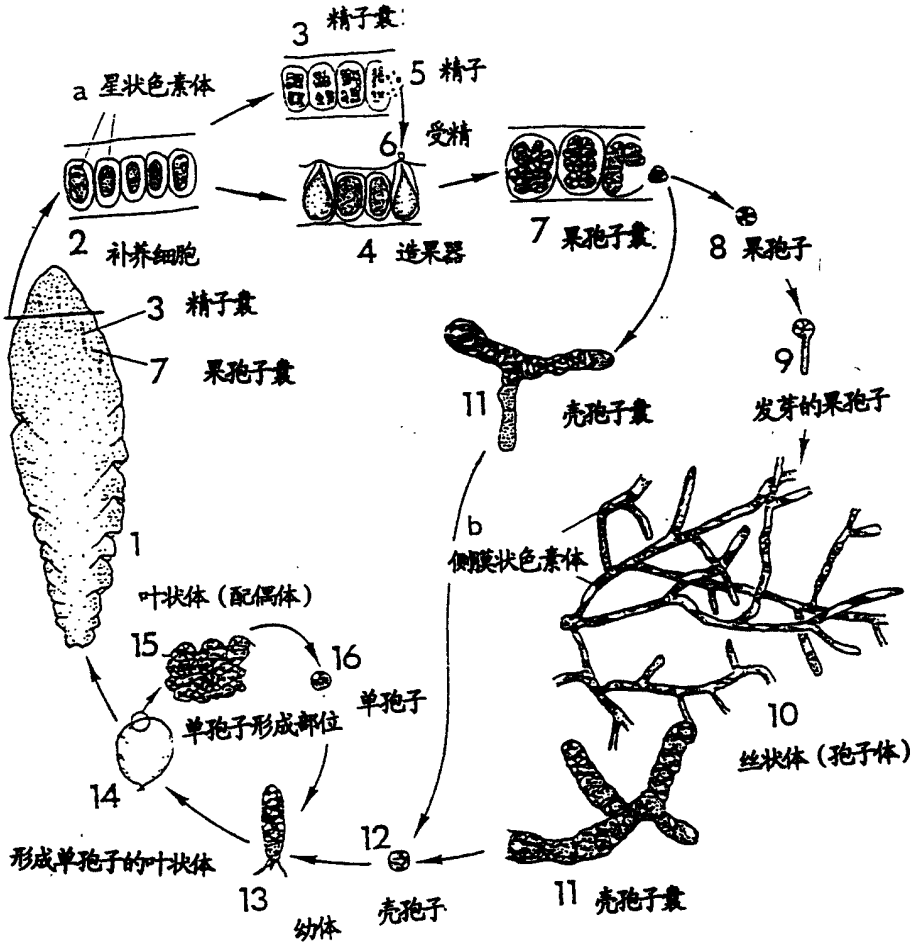

3 精子囊
5 精子
a 星状色素体
6 受精
2 补养细胞
4 造果器
7 果孢子囊
8 果孢子
3 精子囊
7 果孢子囊
11 壳孢子囊
9
发芽的果孢子
b
侧膜状色素体
1
叶状体（配偶体）
15
16
单孢子
单孢子形成部位
10
丝状体（孢子体）
14
形成单孢子的叶状体
12
13
幼体
壳孢子
11 壳孢子囊

图 3

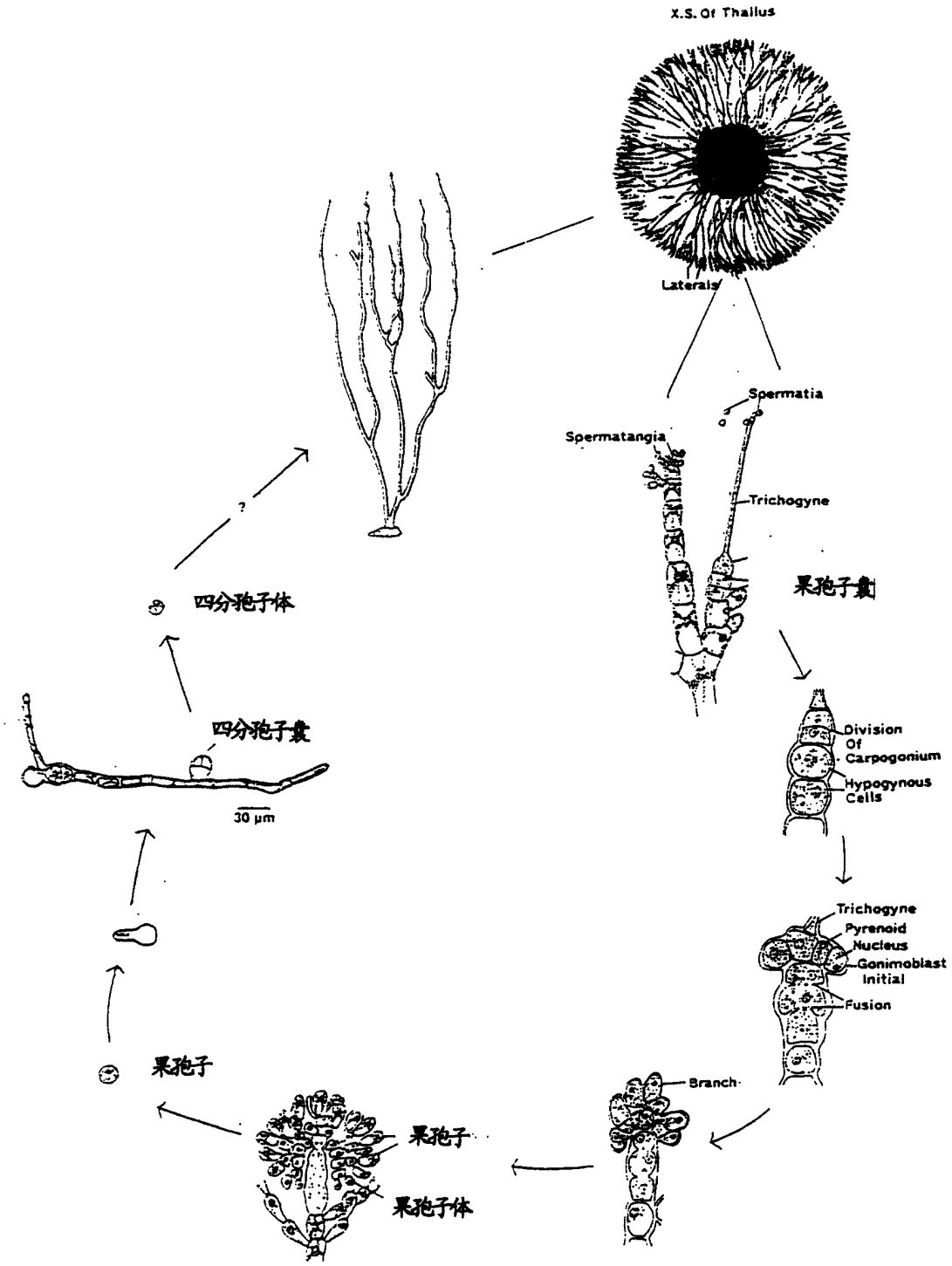
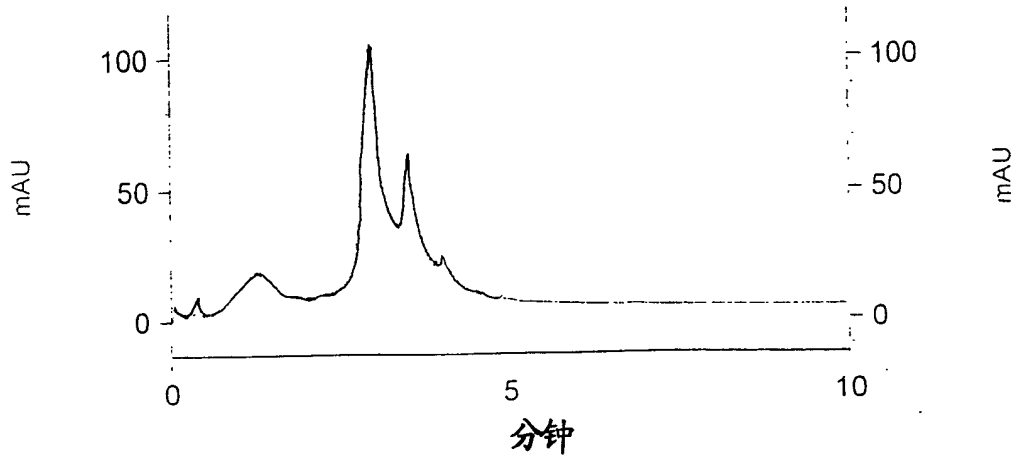
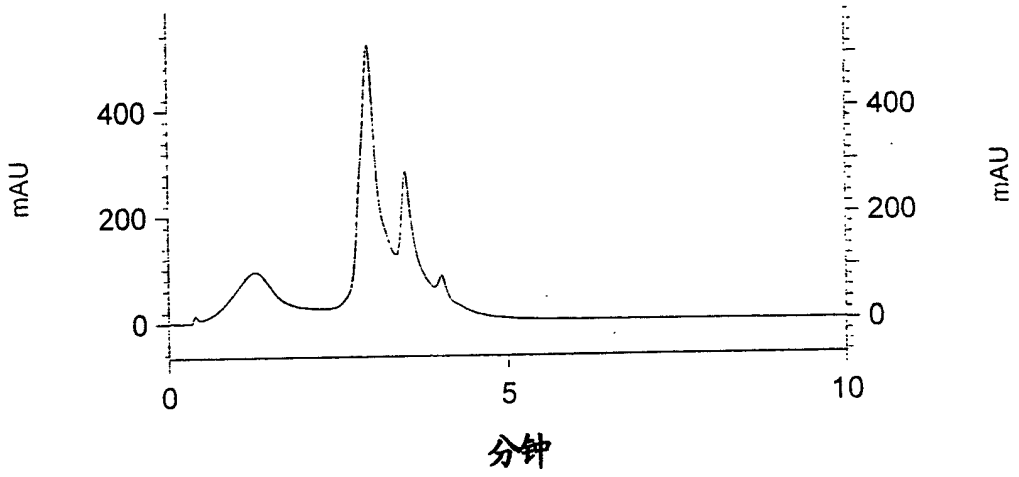

X.S. Of Thallus
Laterals
Spermatia
Spermatangia
Trichogyne
果孢子囊
Division Of Carpogonium
Hypogynous Cells
Trichogyne
Pyrenoid
Nucleus
Gonimoblast Initial
Fusion
Branch
果孢子
果孢子体
果孢子
四分孢子体
四分孢子囊
30 μm
?

图 4



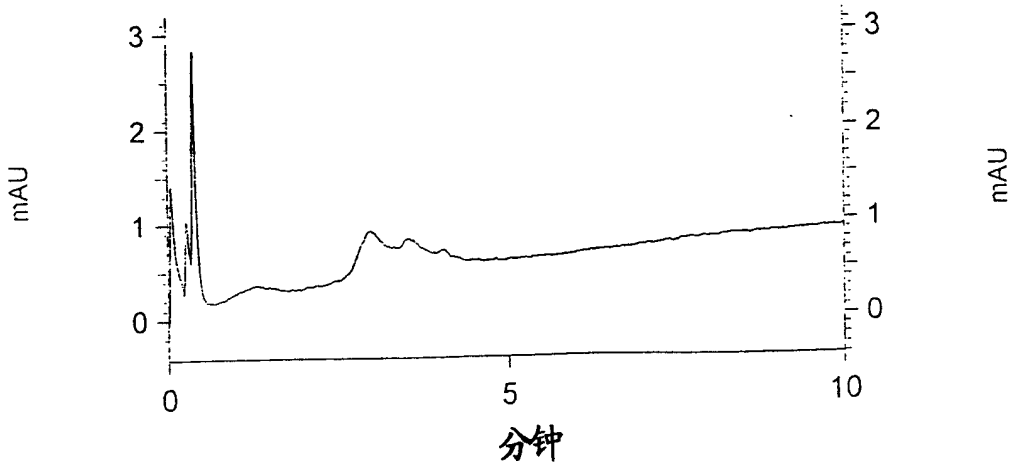
Detector：280nm

图 5



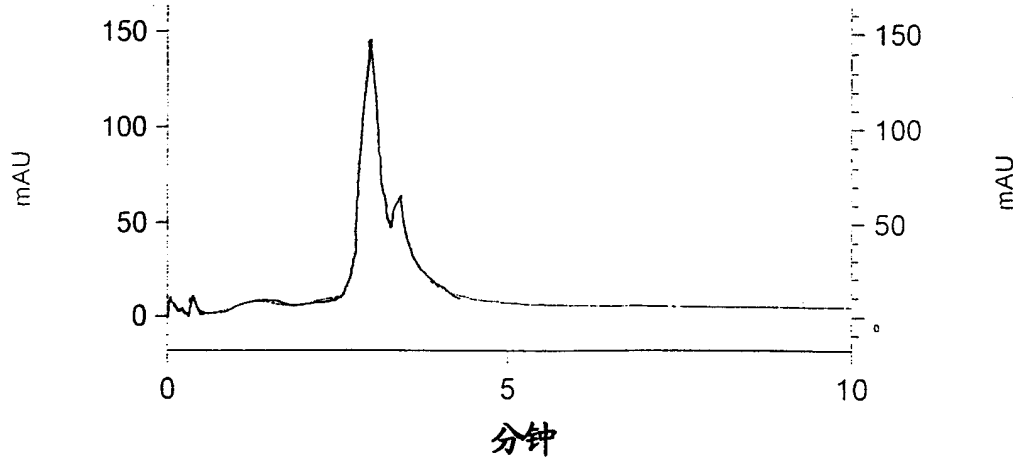
Detector：565nm

图 6



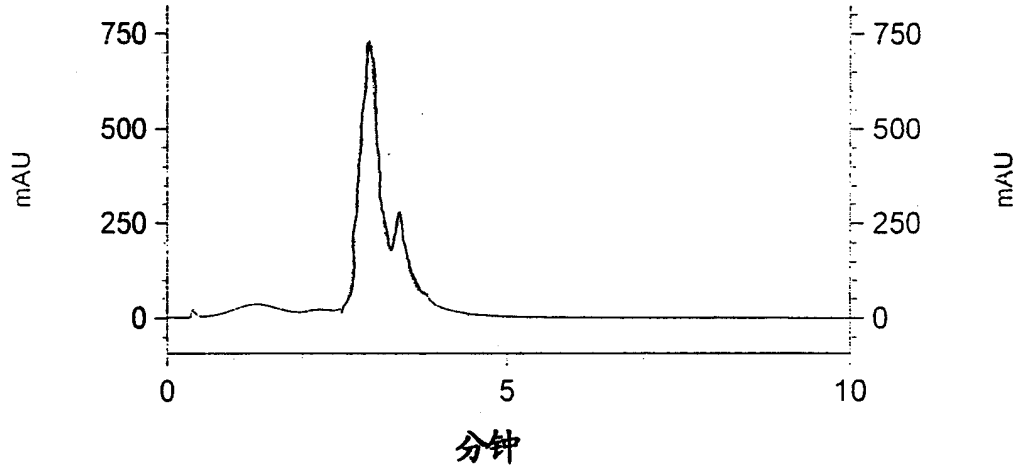
Detector：615nm

图 7



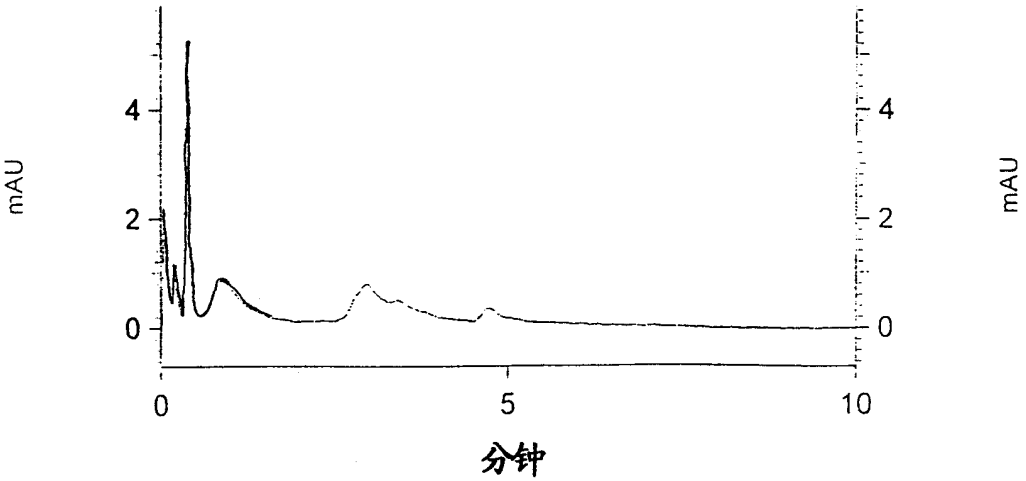
Detector：280nm

图 8



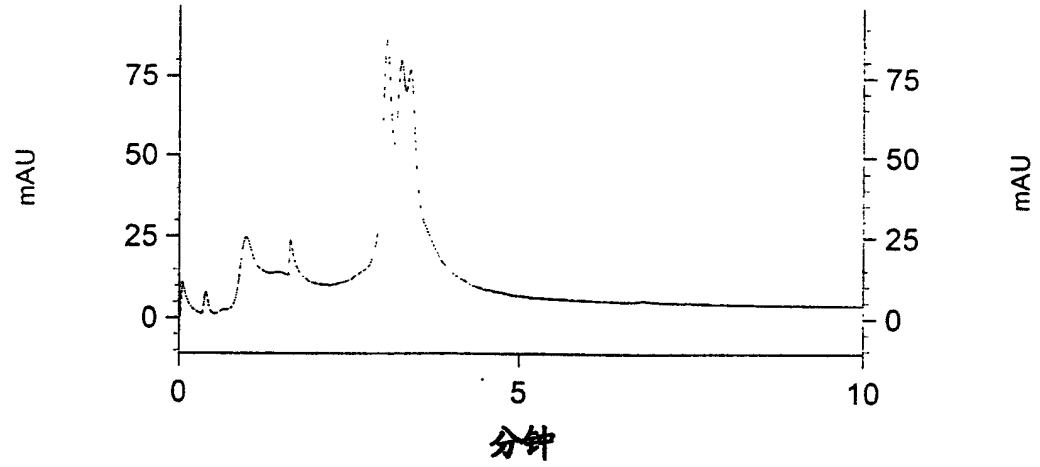
Detector：565nm

图 9



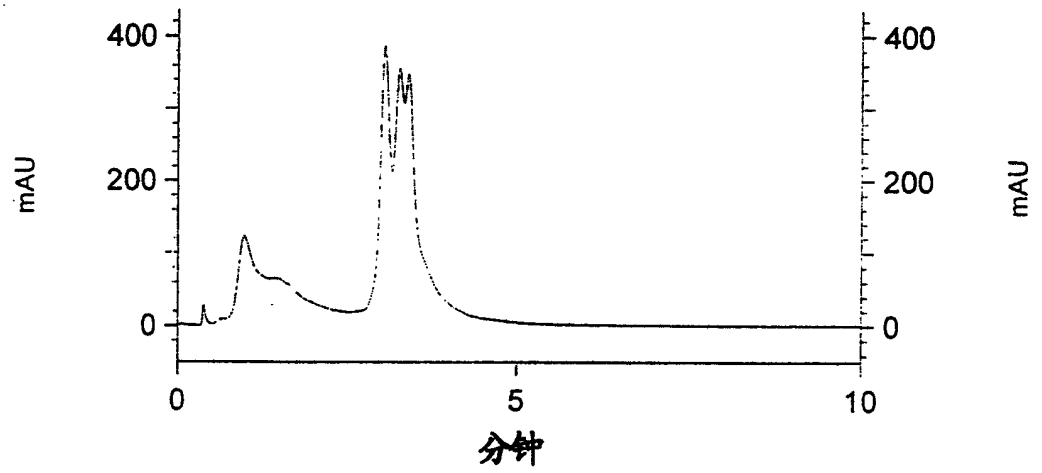
Detector：615nm

图 10



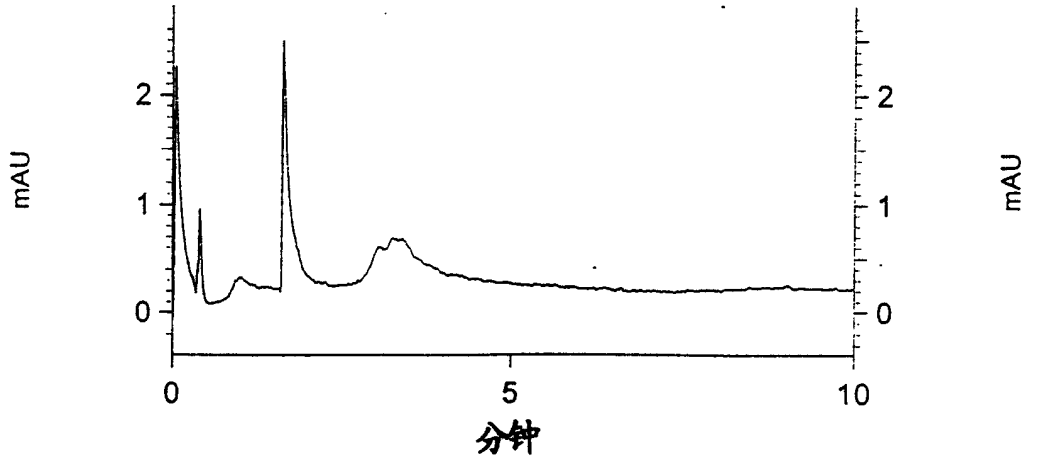
Detector：280nm

图 11



Detector：565nm

图 12



Detector：615nm

图 13