

小球藻 (*Chlorella vulgaris*) 於模擬煙道氣環境下 之最適生長條件探討

林明瑞^{1*} 彭慶仁²

¹國立台中教育大學科學教育與應用學系環境教育及管理碩士班教授

²國立台中教育大學科學教育與應用學系環境教育及管理碩士班碩士

40306 台中市西區民生路 140 號

摘要

微藻對於 CO₂ 吸收有良好的轉換效率，但若讓小球藻在類似煙道氣的環境下（含高濃度 CO₂ 和 SO_x）是否仍可以存活？最適生長條件又為何？本研究將模擬在煙道氣的各種操作條件下，小球藻的培養試驗，了解小球藻可以忍受和最適生長條件範圍。

本研究主要試驗項目為：CO₂ 濃度、pH、溫度、光照比例，及不同 pH 值下之 Na₂SO₃ 濃度變化試驗，分成批次和連續曝氣培養。

早晚曝氣培養下，當 CO₂ 濃度為 15%，小球藻有最佳平均生長速率，為 25.5mg/L/day；早晚曝氣兩次的小球藻可以忍受到 35% 的 CO₂，pH 6、25°C 為小球藻最適合生長環境；高於或低於此 pH 及溫度生長量與速率會逐漸減少，pH 4 和 9，生長溫度於 15 和 35°C 開始受到抑制。小球藻全日照有最大產量和平均速率均為最佳，但就單位時間照光之小球藻產率（mg/L/day）照光時間）以 12 小時照光，有最高產率，也最符合經濟價值。當 pH 6 時小球藻可以忍受 50 mmol Na₂SO₃，pH 5 時可以忍受 20mmol Na₂SO₃，pH 4 時只能忍受 10mmol Na₂SO₃。

小球藻之連續曝氣培養，最適 pH、溫度、光照比例結果都與批次相同，可以忍受到 30% 的 CO₂，較早晚兩次曝氣低；生長速率以 CO₂ 為 15% 時，小球藻有最佳平均生長速率，為 31.4mg/L/day。當 pH 6 時小球藻可以忍受 40mmol Na₂SO₃，其忍受度稍低於早晚兩次曝氣試驗。

小球藻操作條件迴歸式： $x = 0.98^{24-a} (5.88 * S / (91.3 + S + S^2 / 7.16)) * c^{pH-6} * d^{T-25}$

關鍵詞：小球藻 (*Chlorella vulgaris*)，最適生長條件，可忍受環境條件。

Optimal Growth Conditions of *Chlorella vulgaris* in a Simulated Flue Gas Environment

MING-RAY LIN^{1*} and CING-REN PENG²

¹Professor, Master Program of Environmental Education and Management, National Taichung University of Education

²Master, Master Program of Environmental Education and Management, National Taichung University of Education

No.140, Minsheng Rd., West Dist., Taichung City 40306, Taiwan, R. O. C.

ABSTRACT

Microalgae demonstrate effective conversion efficiency in absorption CO₂. However, it is difficult to determine whether *Chlorella vulgaris* can survive in a flue gas environment filled with high concentrations of CO₂ and SO_x. In this study, *Chlorella vulgaris* were cultivated under various simulated operating conditions in a flue gas environment to determine a tolerable range and the optimal conditions for its growth.

The main test items used in this study were CO₂ concentration, pH, temperature, illumination proportion, and Na₂SO₃ concentration varied according to different pH values to simulate the conditions of flue gas. The tests were mainly divided into batch-type aeration and continuous aeration cultivation.

During morning and evening batch aeration cultivation, a 15% CO₂ concentration resulted in the highest growth rate of 25.5 mg/L/d. The *Chlorella vulgaris* that experienced morning and evening batch aeration could endure an environment of up to 35% CO₂, with pH 6 and a temperature of 25 °C; these were the most suitable environments for the growth of *Chlorella vulgaris*. The growth rate of *Chlorella vulgaris* at a higher or lower pH and temperature was gradually decreased, and was inhibited when it reached pH 4, 9 and 15, 35°C. Full-day illuminated cultivation led to the most production and highest production rate of *Chlorella vulgaris*. However, regarding the production rate per unit time of illumination (mg/L/day/illumination time), the test with an illumination ratio of 1:1 demonstrated the highest and most economic test. At pH 6, *Chlorella vulgaris* could withstand 50 mM of Na₂SO₃. At pH 5, it could withstand 20 mM of Na₂SO₃, and at pH 4, it could withstand only 10 mM of Na₂SO₃.

The continuous aeration cultivation of *Chlorella vulgaris* showed identical results for pH, temperature, and an illumination ratio to the batch aeration cultivation, however it could withstand a CO₂ concentration of only 30%, which was lower than that of the cultivation with morning and evening batch aeration cultivation. The highest growth rate of *Chlorella vulgaris* was 31.4mg/L/d, with a CO₂ concentration of 15%. In a pH 6 environment, it could withstand 40 mM of Na₂SO₃, which was lower than the cultivation test with morning and evening batch aeration cultivation.

Operation conditions regression of *Chlorella vulgaris* :

$$X=0.98^{24-a} (5.88 * S / (91.3+S+S^2/7.16) g) \times c^{|pH-6|} \times d^{|T-25|}$$

Key Words: *Chlorella vulgaris*, optimal growth condition, tolerable condition.

一、前言

全球暖化對於地球環境造成的衝擊無法忽略，各國科學家專心研究，如何可以減緩 CO₂ 所導致的全球暖化強度和生質能源的開發。生物固碳法是植物經由光合作用方式，將 CO₂ 轉變成能源，並放出氧氣。大部分的物理和化學固碳技術都會需要額外的能源來進行，生物固碳技術就沒有這個問題，植物藉著光合作用生長而達到固碳的效果，是目前對環境最好的固碳方法之一。目前有在被使用的生物固碳法有綠化沙漠、植林、森林保護、藻類培養和珊瑚保育和再生。

不過一般綠色植物雖然可以乾淨處理 CO₂，但卻有生長速度緩慢和可用土地面積少等問題，此時利用微藻來固碳便

成為生物固碳裡最受到研究的植物。因為微藻體內的碳大約有 40%~50%，如果要生長出一公斤的微藻，大約需要 1.5~2 公斤左右的 CO₂，加上微藻本身生長快速、培養面積小、大部分藻種都有快速吸收 CO₂ 的能力，和後續藻體開發的營養素和生質能源。微藻是藻類的一種，微藻是單細胞生物，大小在 2~200μm 左右，藻體細胞含有葉綠素可以進行光合作用，可以自營培養也可以異營培養，近年來許多研究在其產生生質能源，包含有產生產氫、生質酒精和生質柴油 [10]。在王冠翕[2]的研究發現，微藻中的螺旋藻 (*Spirulina maxima*) 培養於半導體工廠鍋爐排放的 CO₂ 廢氣中，並且生長良好。將 pH 值控制在 8 時螺旋藻生長擁有最高產量；

而培養螺旋藻的光反應器（高 2.5 公尺、長寬各 8 公尺）80 組白天以太陽光培養晚上使用 LED 燈做為光源，此模組每年約可以固定 2 噸左右的 CO₂，螺旋藻約可以生產 6 公斤，具有相當良好的經濟效應。

根據邱耀興[5]的研究推估小球藻 (*Chlorella sp.*) 至少可承受濃度為 20% 的 CO₂ 廢氣，而 Sung 等人[17]的研究發現，小球藻 (*Chlorella sp. KR-1*) 擁有可能在高溫和高濃度 CO₂ 下穩定生長的優點，此藻種可以忍受到 40°C 的高溫和濃度到達 30% 的 CO₂，被認為是適合利用煙道氣來大量培養。

Xiong 等人[20]的研究中發現小球藻 (*Chlorella sp.*) 本身的含油率約 30~50%；邱靖棉[6]的研究中，小球藻 (*Chlorella sorokiniana T89*) 是從台灣嘉義水稻田所選出的小球藻，其含油率為 30%，且含有大量的不飽和脂肪酸，十分適合作為生質柴油或機能性食品。根據陳怡如[11]的研究指出，小球藻 (*Chlorella sp.*) 在碳源充足的環境下，去除高氮廢水效率良好；而 Wang 等人[19]的研究指出，小球藻 (*Chlorella sp.*) 用於處理工業廢水時，可以有效去除鋁、鈣、鐵、鎂和錳等金屬離子。根據蘇郁雅[12]的研究指出，小球藻 (*Chlorella sp.*) 在 pH 7.5 時去除生活污水中營養源效率較高。

根據曾毓翎[8]的研究指出小球藻 (*Chlorella vulgaris*) 在 pH 6 有最大藻密度與比生長速率；楊仁宏[9]的研究發現，起始水質環境調整至 pH=6 可達到最佳的生長效率與固碳速率。根據蘇郁雅 (2010) 的研究指出，以生活汙水培養小球藻 (*Chlorella sp.*) 時，溫度控制在 25°C 最適合，有最快的小球藻生長速率和最高的去除率。

根據王姿月[1]的研究發現，小球藻 (*Chlorella vulgaris*) 生照光時間 16:8 的生長率大於 12:12；而林佳蓉[4]的研究顯示小球藻 (*Chlorella sp.*) 最適合在 24 小時照光的環境下生長；黃子庭[7]的研究得知小球藻 (*Chlorella sp. TT-1*) 在以廢氣培養下，24 小時照光會有較高的生長速率。再者，微藻主要是應靠光源來進行光合作用來獲得能量和生長，因此光源的強度會影響微藻行光合作用的速率，而進一步影響到微藻生長的速率。微藻生長速率會隨著光照強度的增強而增加；當增強到某個光照強度時，微藻生長速率不會再增加，達到一個固定的速度，稱為光飽和[18]。生長環境的溫度太高會直接導致微藻死亡[14]，不同藻類都有其最適生長的溫度，如果在較低溫的環境，對微藻造成的影響並沒有太

大，但當溫度上升時，大部分的微藻都無法在高溫的環境下生存；為了因應煙道氣排放的固碳，需要尋找可以耐高溫的微藻，而許多的微藻在過了一定的溫度後光合作用的效率會快速降低，使的微藻生長速度緩慢[15]。

每一株微藻所適合的 CO₂ 濃度、溫度、pH、照光時間都不相同，了解此株小球藻適合的 CO₂ 濃度，進一步研究小球藻最佳生長環境條件和忍受度，找出小球藻適合生長的範圍；再針對煙道氣高溫、酸性及高濃度 CO₂ 的特性，和裡面存在的 SO₂ 汙染氣體是否會對小球藻的生長產生影響或抑制，進而評估培養小球藻來處理煙道氣的可行性。

二、實驗設備與方法

本研究首先回顧相關文獻，以了解微藻適合生長的環境條件，再設計不同的環境條件，以培養小球藻，並探討不同培養及環境條件 (CO₂ 濃度、pH 值、溫度和光照時間) 下，小球藻最適合生長的环境範圍和可以忍受的環境條件；最後在模擬煙道氣中對生物影響最嚴重的 SO₂，小球藻在不同酸性的環境下，可以忍受的 SO₂ 的濃度為何。

(一) 試驗材料與設備

1. 藻種

本試驗的微藻藻株採用台灣已經有基本培養技術和應用的小球藻 (*Chlorella vulgaris*)，屬於綠球藻的一種，外觀為球型或略為橢圓形之單細胞藻類，如圖 1 所示，從行政院農業委員會東港水產試驗所生物技術組餌料生物實驗室購買。

2. 培養基成份

此基質來源是參考 Basal[16]培養基進行培養依照培養基組成表配置成 1L 標準培養基，使用 1N NaOH 和 HCL 調整 pH 值。

3. 三角瓶早晚曝氣培養

本實驗將原始小球藻濃度 435mg/L、體積 50ml，以 250ml 三角錐型瓶置於恆溫培養箱內 25°C、光照強度 1500Lux、24 小時照光、震盪頻率 160rpm 培養，以新的培養液 (成分參考表 1) 稀釋 (1:4) 分別培養置新的培養瓶中，當藻密度高時，透過離心的方式以濃縮藻體，再加入新的培養液，維持藻種環境中豐富的營養源，並且大量繁殖。

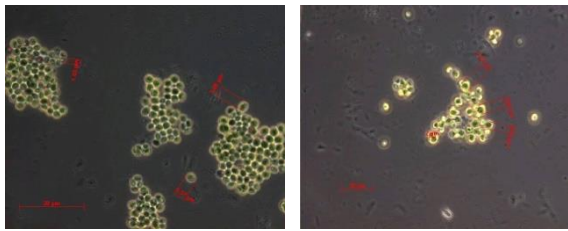


圖 1. 光學顯微鏡下的小球藻 (放大倍率 1000)

表 1. 小球藻培養基組成

| 成份 | 濃度 (g/L) |
|---|----------|
| KNO ₃ | 1.25 |
| KH ₂ PO ₄ | 1.25 |
| MgSO ₄ ·7H ₂ O | 1.00 |
| CaCl ₂ | 0.083 |
| MnCl ₂ ·4H ₂ O | 0.011 |
| CuSO ₄ ·5H ₂ O | 0.015 |
| EDTA-2Na | 0.5 |
| Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O | 0.01 |
| H ₃ BO ₃ | 0.114 |
| FeSO ₄ ·7H ₂ O | 0.049 |
| ZnSO ₄ ·7H ₂ O | 0.088 |
| C _o (NO ₃) ₂ ·6H ₂ O | 0.005 |

4. 反應器設置

微藻照光生物反應器為本研究重要設備之一，如圖 2 所示，本研究是使用生物反應槽來進行實驗，外膜透光率良好，為雙夾層壓克力圓柱體，內層圓柱體用於小球藻培養體積 3.5L (直徑 6.5cm、高 110cm)，反應裝置上方用橡木塞蓋封口，防止塵埃落入反應器內影響實驗進行，內外夾層體積為 2.5L，由恆溫水槽的水在外部循環達到恆溫效果，底部可連結管線，讓氣體從下方進入使藻體不會沉澱於底部，氣體的流量由氣體流量計控制 CO₂ 及空氣氣體流量維持在一定比例，反應氣兩邊設置 T5 燈管光照強度 1500Lux。

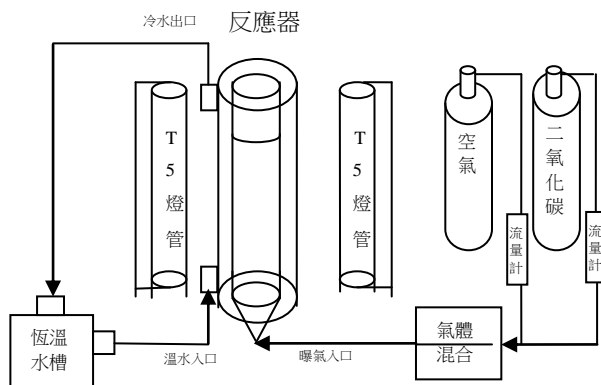


圖 2. 微藻培養設備

(二) 試驗流程

1. 三角瓶早晚曝氣試驗

批次式培養微藻因為擁有簡易與彈性的優點，可以快速培養微藻和一次進行多組試驗。本試驗使用三角瓶 (250ml) 封口於恆溫震盪培養箱培養，通氣量為 50mL/min，每次 10min，震盪頻率皆為 160 rpm。研究試驗有：小球藻檢量線製作、不同濃度 CO₂ (5、10、15、25、35、45%) 對小球藻生長的影響、不同 pH (3、4、5、6、7、8、9、10) 對小球藻生長的影響、不同溫度 (15、20、25、30、35、45°C) 對小球藻生長的探討、不同照光時間 (24 小時照光：0 小時不照光、16 小時照光：8 小時不照光、12 小時照光：12 小時不照光) 對小球藻生長的探討、小球藻對 SO₂ 的忍耐力。本文之實驗數據均為二重複之實驗結果之平均值呈現。

2. 反應槽連續曝氣式培養

本試驗使用連續曝氣的方式培養小球藻，通氣量為 20mL/min，了解小球藻 CO₂ 持續曝氣下小球藻的生長是否可行，反應器設置外膜透光率良好，為雙夾層壓克力圓柱體，內層圓柱體用於小球藻培養體積 3.5L (直徑 6.5cm、高 110cm)。研究試驗有：不同濃度 CO₂ 對小球藻生長的影響、正常光照 (12 照光：12 不照光) 小球藻生長情形、小球藻對 SO₂ 的忍耐力、不同濃度 CO₂ 對小球藻含油率的影響。

3. 名詞釋義：

- (1) 平均生長速率：小球藻平均生長速率是以小球藻生長曲線中達到平衡之前的斜率來代表，利用公式 (最終濃度) - (起始濃度) / 生長時間，算出小球藻生長斜率，代表小球藻在一段時間內其平均濃度增加的速率。
- (2) 比生長速率：以公式 (X₁-X₀) / CO₂ 投入量，算出每克的 CO₂ 投入可以生成多少小球藻。
- (3) 藻產率/照光時數：比較小球藻於不同光照比例的生長下，最多生長量 (X₁-X₀)、最快生長率 (X₁-X₀/T₁-T₀) 分別除以照光時數，找出小球藻最適合生長的照光。

4. 小球藻含油率之檢測

本試驗先加入甲醇進行小球藻破碎，再以有機溶劑 (正己烷和甲醇 2:1 配置) 萃取小球藻中的油酯。以離心機 (6000 轉、10min) 進行分離，取出上層液靜放 1 小時；將油重量/藻體重量算出含油率 [13]。

5. 小球藻濃度與吸光度之檢量線

本試驗為能快速知道試驗中小球藻在藻液中的濃度，將小球藻配置成不同濃度，以不同濃度下之吸光度與該濃度下

藻體乾重之間的關係製成檢量線，方便本研究後續以吸光度快速換算為小球藻之濃度。

從表 2 可以整理出吸光度與藻體乾重的檢量線如圖 3，而藻體乾重方程式為 $y = 205.88x - 17.055$ 、 $R^2 = 0.9953$ ；其中 $R^2 > 0.995$ 為有效的檢量線。

三、結果與討論

(一) 三角瓶早晚曝氣試驗

1. 不同濃度 CO₂ 對小球藻生長影響

本試驗為探討不同濃度 (5、10、15、25、35、45%) 的 CO₂ 對小球藻生長之影響，以不同濃度 CO₂ 對小球藻進行早晚兩次曝氣。且為了解小球藻所能忍受之最高 CO₂ 濃度，因此進行 25% 以上的濃度試驗。

從表 3 可以知道當 CO₂ 濃度愈高，小球藻最大生長量愈多，到了 35% 以後再增加，小球藻生長量受到抑制而降低，當 CO₂ 濃度為 35% 時，有最高的小球藻濃度為 833mg/L，其次是 25、15、10、5%，小球藻最終濃度分別為 744、709、587、410mg/L，而最差是 CO₂ 濃度為 45%，小球藻濃度為 366mg/L。

表 2. 小球藻濃度與吸光度之關係表

| 樣本 | O.D. 684nm | 濾紙乾重 X (g) | 過濾秤重 Y (g) | Y-X (mg) | 小球藻濃度 (mg/L) |
|----|------------|------------|------------|----------|--------------|
| 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 0.777 | 0.1258 | 0.1288 | 3.0 | 132 |
| 3 | 1.47 | 0.1212 | 0.1267 | 5.5 | 273 |
| 4 | 1.96 | 0.1226 | 0.1297 | 7.1 | 371 |
| 5 | 2.38 | 0.1198 | 0.1319 | 12.1 | 481 |
| 6 | 2.75 | 0.1198 | 0.1343 | 14.5 | 563 |

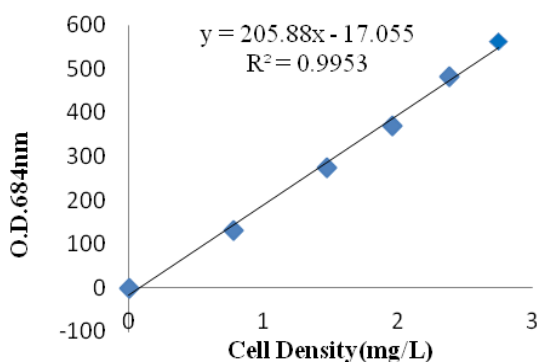


圖 3. 小球藻檢量線

表 3. 不同 CO₂ 濃度下小球藻生長關係

| CO ₂ 濃度 (%) | 小球藻最終濃度 (mg/L) | 平均生長速率 (mg/L/day) | 比生長速率 (day ⁻¹) |
|------------------------|----------------|-------------------|----------------------------|
| 5 | 410±12 | 18.2 | 0.082 |
| 10 | 587±16 | 22.1 | 0.084 |
| 15 | 709±18 | 25.5 | 0.089 |
| 25 | 890±17 | 21.2 | 0.062 |
| 35 | 1131±27 | 16.1 | 0.050 |
| 45 | 366±15 | 7.21 | 0.035 |

註：小球藻起始濃度為 100mg/L 左右

小球藻平均生長速率，先隨著 CO₂ 濃度的增加而增加；當 CO₂ 濃度到達 15% 時，小球藻平均生長速率最快，為 25.5mg/L/day；之後當 CO₂ 濃度再增加，小球藻平均生長速率開始降低；其餘 CO₂ 濃度為 10、25、5、35% 時，小球藻平均生長速率為 22.1、21.2、18.2、16.1mg/L/day，而當 CO₂ 濃度為 45%，小球藻平均生長速率最慢，為 7.21mg/L/day。

當 CO₂ 濃度為 15% 時，小球藻比生長速率最高，為 0.089 day⁻¹；其餘 CO₂ 濃度為 10、5、25、35% 時，小球藻平均生長速率為 0.084、0.082、0.062、0.050 day⁻¹，而當 CO₂ 濃度為 45%，小球藻比生長速率最低，為 0.035 day⁻¹。

早晚兩次曝氣培養下 CO₂ 濃度 10~35% 為小球藻適合的生長範圍，35% 有最高小球藻濃度，15% 有最高平均生長速率和比生長速率，生長曲線如圖 4。利用 Excel，以 mmol/L 為 X 軸，小球藻最終濃度為 Y 軸，作 xy 曲線圖，以公式 $y = ax + b$ 迴歸計算小球藻最終濃度與 CO₂ 濃度的關係，顯示如圖 5，得到公式 (1)

$$x = 5.88 * S / (91.3 + S + S^2 / 7.16) \text{ g/L} \quad (1)$$

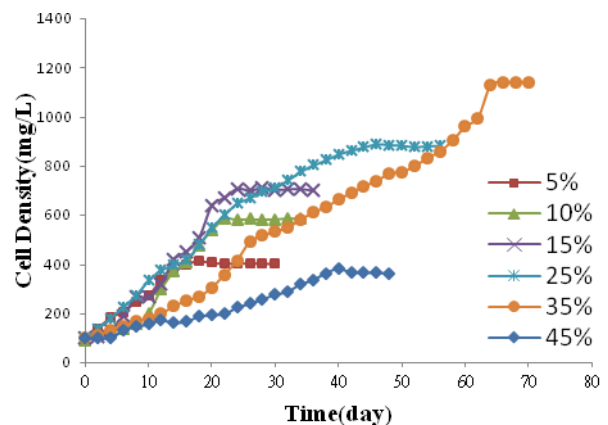


圖 4. 不同 CO₂ 濃度下小球藻之生長曲線

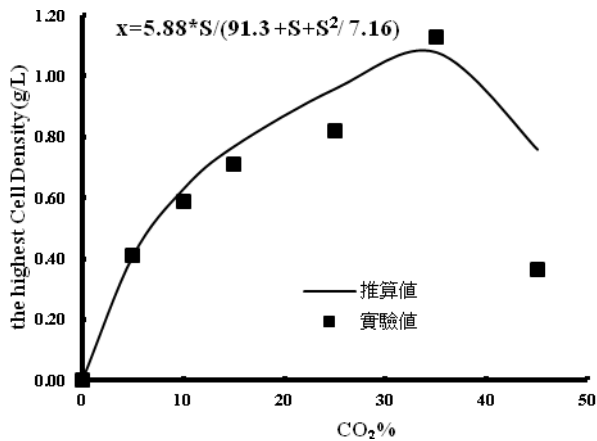


圖 5. 不同濃度 CO₂ 培養下，小球藻之最高生長濃度

小球藻平均生長速率以 Haldane equation 進行迴歸，將公式 (2) 推導致公式 (3)

$$\mu = \mu_{\max} * S / (K_S + S + S^2 / K_i) \quad (2)$$

$$1/\mu = (K_S + S + S^2 / K_i) / \mu_{\max} * S$$

$$1/\mu = K_S / \mu_{\max} * S + 1/\mu_{\max} + S / K_i * \mu_{\max}$$

$$1/\mu = S / K_i * \mu_{\max} + 1/\mu_{\max} + K_S / \mu_{\max} * S$$

$$S/\mu = S^2 / (\mu_{\max} * K_i) + (1/\mu_{\max}) * S + K_S / \mu_{\max} \quad (3)$$

把 S/μ 設成 Y ， S 設成 X 得到 $Y = X^2 / (\mu_{\max} * K_i) + X(1/\mu_{\max}) + K_S / \mu_{\max}$ ，用 X 和 Y 做二次曲線 $Y = ax^2 + bx + c$ ，而 $a = 1/(\mu_{\max} * K_i)$ 、 $b = (1/\mu_{\max})$ 、 $c = K_S / \mu_{\max}$ ；因此可以得到 $a = 47.472$ ， $b = 6.7593$ ， $c = 1.6857$ ，最後求出最大比生長速率 $\mu_{\max} = 0.160 \text{ day}^{-1}$ ，半飽和常數 (K_S) 為 0.258 mg/L ，而抑制常數 (K_i) 為 0.133 mg/L ，比生長速率圖為圖 6。

2. pH 值對小球藻生長的影響

小球藻反應槽如果要用於處理煙道氣的 CO₂，需要面對煙道氣低 pH 的特性，因此不同 pH 值對微藻培養的影響相當重要，本試驗探討不同 pH (3、4、5、6、7、8、9、10) 對小球藻生長影響。

從表 4 得知當 pH 為 6 時，有最高小球藻最終濃度，為 702 mg/L ；其次是 pH 值 7、8、9、5、4，小球藻最高濃度分別為 682、652、644、627、523 mg/L ，pH 值為 10 時最差，小球藻最高濃度為 523mg/L 。

當 pH6 時，小球藻平均生長速率最快，為 28mg/L/day ，

其次是 pH 值為 7、8、5、9、10，小球藻平均生長速率分別為 26.5、25.5、24.4、23.7、19.4 mg/L/day ，pH 為 4，平均生長速率最慢，為 19.4mg/L/day 。

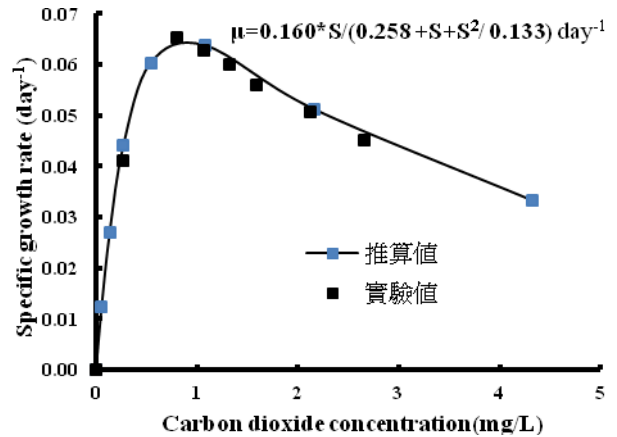


圖 6. 不同 CO₂ 濃度培養下，小球藻之 Haldane 比生長速率曲線

表 4. 不同 pH 與小球藻生長關係

| pH 值 | 小球藻最終濃度 (mg/L) | 平均生長速率 (mg/L/day) | 比生長速率 (day ⁻¹) |
|------|----------------|-------------------|----------------------------|
| 3 | 死亡 | | |
| 4 | 552±8 | 19.4 | 0.074 |
| 5 | 644±15 | 24.4 | 0.084 |
| 6 | 702±16 | 28.0 | 0.089 |
| 7 | 682±15 | 26.5 | 0.087 |
| 8 | 652±15 | 25.5 | 0.085 |
| 9 | 627±11 | 23.7 | 0.074 |
| 10 | 523±9 | 18.1 | 0.063 |

註：小球藻起始濃度為 200mg/L 左右

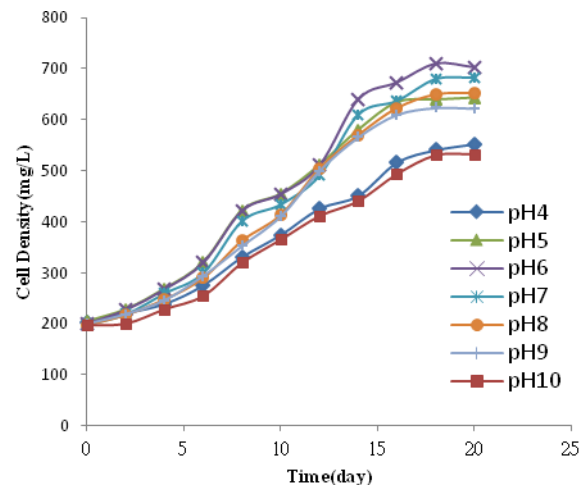


圖 7. 不同 pH 下，小球藻之生長曲線

當 pH6 時，小球藻比生長速率最高，為 0.089 day^{-1} ，其次是 pH 值為 7、8、5、9、4，小球藻平均生長速率分別為 0.087 、 0.085 、 0.084 、 0.074 、 0.074 day^{-1} ，pH 為 10，比生長速率最低，為 0.063 day^{-1} 。

無論最高濃度或平均速率都是 pH 值 6 最好，5~8 為適合生長範圍，偏離此範圍就開始出現抑制現象；當 pH3 時小球藻就會死亡，生長曲線如圖 7。

因為 pH6 是最適合小球藻生長，因此將 pH6 做為最適 pH 基準點，將不同 pH 值進行迴歸來取得校正係數，當 $\text{pH} \geq 6$ 時， θ 為 0.90，公式為 (4)；當 $\text{pH} < 6$ 時， θ 為 0.82，公式為 (5)。

$$\text{pH} \geq 6: x_{\text{pH}} = x_{\text{pH6}} \times 0.90^{|\text{pH}-6|} \quad (4)$$

$$\text{pH} < 6: x_{\text{pH}} = x_{\text{pH6}} \times 0.82^{|\text{pH}-6|} \quad (5)$$

3. 溫度對小球藻生長的影響

本試驗為了解小球藻生長狀況受到不同溫度的影響情形，因此就以不同溫度對微藻進行培養試驗的影響相當重要，本試驗用 15、20、25、30、35、40℃ 等不同溫度對小球藻進行培養。

從表 5 知道當培養溫度為 25℃ 時，小球藻有最高之最終生長濃度，706mg/L；其次是 30、20、35℃，分別是 642、610 和 542 mg/L，15℃ 最低為 502 mg/L。

培養溫度為 25℃，小球藻平均身長速率最快，為 29.8 mg/L/day；其次為培養溫度為 30、20、35℃，小球藻平均生長速率分別為 25.3、23.1 和 20.5mg/L/；當培養溫度 15℃ 時小球藻平均生長速度最慢，為 17.3mg/L/day。

溫度為 25℃，小球藻比生長速率最高，為 0.092 day^{-1} ；其次為培養溫度為 30、20、35℃，小球藻比生長速率分別為 0.088 、 0.078 和 0.076 day^{-1} ；當培養溫度 15℃ 時小球藻比生長速度最低，為 0.069 day^{-1} 。

無論最高濃度或平均速率都是 25℃ 時最好，20~30℃ 為適合生長範圍，超出後都會開始有抑制的現象，40℃ 會死亡；根據蘇郁雅 [12] 的研究指出，以生活污水培養小球藻時，溫度控制在 25℃ 最適合，本試驗使用培養基培養最適溫度也是 25℃，生長曲線如圖 8。

表 5. 不同培養溫度與小球藻之生長關係

| 溫度 ℃ | 小球藻最終濃度 (mg/L) | 平均生長速率 (mg/L/day) | 比生長速率 (day^{-1}) |
|---------|-------------------|----------------------|--------------------------------|
| 15 | 502±9 | 17.3 | 0.069 |
| 20 | 610±12 | 23.1 | 0.078 |
| 25 | 706±13 | 29.8 | 0.092 |
| 30 | 642±12 | 25.3 | 0.088 |
| 35 | 545±9 | 20.5 | 0.076 |
| 40 | 死亡 | | |

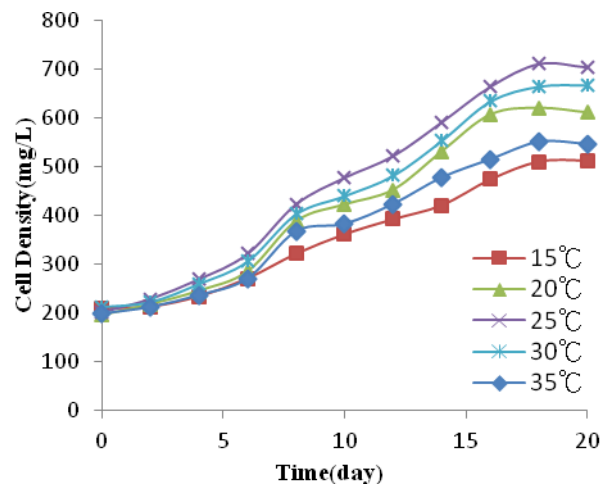


圖 8. 不同溫度下，小球藻之生長曲線

因為 25℃ 是最適合小球藻生長，因此將 25℃ 做為最適溫度基準點，將不同溫度下小球藻進行迴歸來取得校正係數。得到小球藻生長之溫度校正係數，當溫度 $\geq 25^\circ\text{C}$ 時 θ 為 0.96，公式為 (6)；當溫度 $< 25^\circ\text{C}$ 時 θ 為 0.94，公式為 (7)。

$$\text{溫度} \geq 25^\circ\text{C}: x_T = x_{25^\circ\text{C}} \times 0.96^{|\text{T}-25|} \quad (6)$$

$$\text{溫度} < 25^\circ\text{C}: x_T = x_{25^\circ\text{C}} \times 0.94^{|\text{T}-25|} \quad (7)$$

4. 照光時間對小球藻生長的影響

為模擬室外日照培養情形和節省能源為前提，照光時間：不照光時間對小球藻培養的影響相當重要，本試驗探討不同照光時間（24 小時照光：0 小時不照光、16 小時照光：8 小時、12 小時照光：12 小時不照光）對小球藻生長之影響。

由表 6 可知在 24 小時照光時，有最高的小球藻最終生長濃度，為 661mg/L；接著為 16 小時照光，小球藻最高生長濃度為 575 mg/L；而 12 小時照光時最低，小球藻最高生長濃度為 522 mg/L。

表 6. 不同照光時間與小球藻生長之關係

| 照光時間 | 小球藻最終濃度 (mg/L) | 平均生長速率 (mg/L/day) | 比生長速率 (day ⁻¹) | 藻產率/照光時數 (mg/L/h) |
|-------|----------------|-------------------|----------------------------|-------------------|
| 24 小時 | 661±17 | 29.3 | 0.094 | 1.22 |
| 16 小時 | 575±11 | 21.5 | 0.075 | 1.34 |
| 12 小時 | 522±9 | 17.9 | 0.072 | 1.49 |

當 24 小時照光時，小球藻平均生長速率最快，為 29.3 mg/L/day，其次是 16 小時照光，小球藻平均生長速率為 21.5mg/L/day；12 小時照光最差，小球藻平均生長速率為 17.9mg/L/day。

24 小時照光時，小球藻比生長速率最高，為 0.094 day⁻¹，其次是 12 小時照光，小球藻比生長速率為 0.075 day⁻¹；16 小時照光最差，小球藻比生長速率為 0.072 day⁻¹。

若以每照光一小時來做比較的產率來比較，以公式（最終濃度-初始濃度）/培養照光時數，可以知道當 12 小時照光時，小球藻產率最好，為 1.49 mg/L/每小時照光，其次是 16 小時照光，小球藻平均生長速率為 1.34mg/L/照光時數；24 小時照光最差，小球藻平均生長速率為 1.22mg/L/照光時數。

24 小時照光對小球藻生長速率和生長量都是最高的，但就每小時照光之小球藻生產效率光照比 1:1 有最佳的產率，生長曲線如圖 9。

因為一天照光 24 小時是最適合小球藻生長，因此將全光照做為最適光照時數基準點，將不同光照時數下小球藻生長濃度進行迴歸來取得校正係數，得到小球藻生在照光時數 ≥12 時，θ 為 0.98，公式為（8）。

$$X_{\text{照光}} = X_{24 \text{ 小時照光}} \times 0.98^{|24 - \text{照光時數}|} \quad (8)$$

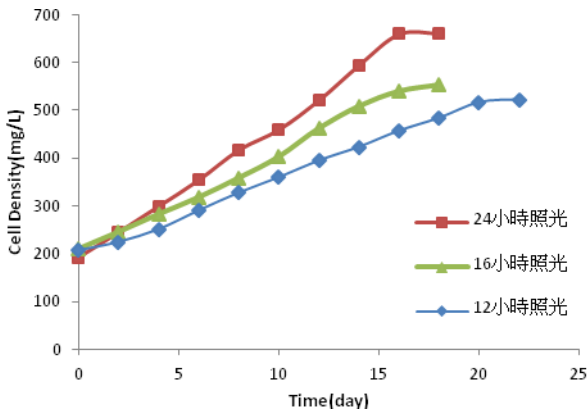


圖 9. 不同照光時間下，小球藻的生長曲線之影響

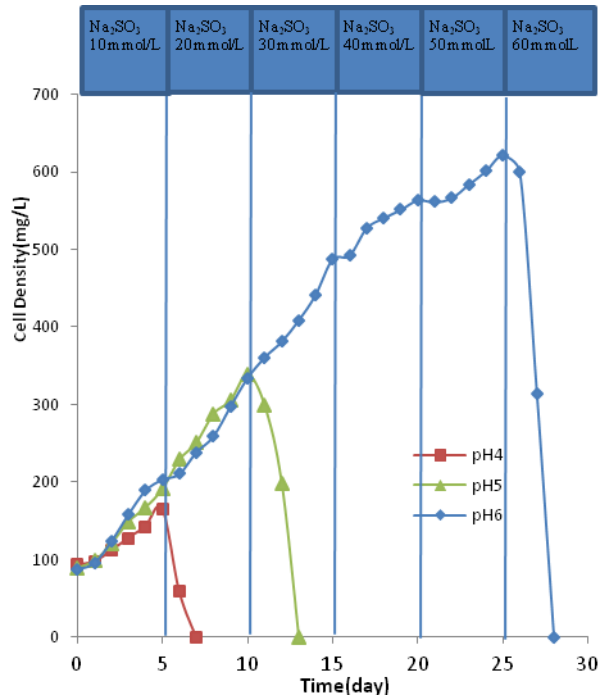


圖 10. 小球藻對 Na₂SO₃ 忍耐力

5. 小球藻對 Na₂SO₃ 的忍耐力

煙道氣除了有高高低 pH 和高濃度 CO₂ 以外，還有污染氣體 SO₂，SO₂ 溶於水會產生 H₂SO₃、HSO₃⁻、SO₃²⁻，Na₂SO₃ 溶於水也有相同結果，因此使用 Na₂SO₃ 代替 SO₂ 進行試驗；先投入 Na₂SO₃ 濃度 10mmol/L，於 pH 4、5、6 的小球藻可以正常生長，再投入 10 mmol/L Na₂SO₃，使濃度達到 20 mmole/L 時，pH 4 小球藻開始死亡；當濃度增加到 30 mmolNa₂SO₃ 時，pH 5 小球藻開始死亡；當濃度增加到 60 mmol/L Na₂SO₃ 時，pH 6 小球藻也開始死亡；愈低 pH 的環境下小球藻對 SO_x 忍耐力愈低，當 pH 為 6 時，可以忍受 Na₂SO₃ 濃度到 50mmol/L，相當於可以忍受 3200ppm 的 SO₂；當 pH 為 5、4，Na₂SO₃ 濃度可以到 20 和 10mmol/L Na₂SO₃ 的環境下生存，相當於可以忍受 1280ppm 與 640ppm 的 SO₂，如圖 10。

6. 迴歸公式

從上述的結果得到，早晚兩次曝氣培養小球藻時，在溫度 25、pH 6、全光照的環境下，以碳源為 CO₂35% 可以得到最高的小球藻濃度，以碳源為 CO₂15%，可以得到最高小球藻生長速率。

(1) 小球藻最終濃度操作公式

將得到的公式全部串連後用得到早晚兩次曝氣培養小球藻生長濃度公式為：

$$x = 0.98^{24-a} (5.88 * S / (91.3 + S + S^2 / 7.16)) \times c^{pH-6} \times d^{T-25} \quad (9)$$

註:

X：小球藻最終濃度 (g/L)

a：照光時數 (≥12 小時)

s：CO₂ 量 (mg/L；濃度≤35%)

c：pH≥6 為 0.90；<6 為 0.82 (pH 4~10)

d：溫度≥25°C 為 0.96；<25°C 為 0.94 (15°C~35°C)

(2) 小球藻平均生長速率操作公式

當 pH 6 時，小球藻有最高生長速率，以 6 為基準點將不同 pH 下小球藻生長速率進行迴歸來取得校正係數，得到，當 pH<6 為 0.87，公式為 (10)；當 pH≥6 時 θ 為 0.94，公式為 (11)

$$V = V_{pH6} \times 0.8^{6-pH} \quad (10)$$

$$V = V_{pH6} \times 0.94^{6-pH} \quad (11)$$

當溫度為 25°C 時，小球藻有最高生長速率，以 25°C 為基準點將不同溫度下小球藻生長速率，進行迴歸來取得校正係數，得到當溫度≥25°C 時 θ 為 0.96，公式為 (12)；當溫度<25°C 時 θ 為 0.95，公式為 (13)。

$$V = V_{25} \times 0.96^{25-溫度} \quad (12)$$

$$V = V_{25} \times 0.95^{25-溫度} \quad (13)$$

當 24 小時照光時，小球藻有最高生長速率，以全光照為基準點將不同光照比下小球藻生長速率，進行迴歸來取得校正係數，得到 θ 為 0.96，公式為 (14)

$$V = V_{24 \text{ 小時照光}} \times 0.96^{24-照光時數} \quad (14)$$

將得到的公式與先前的 Haldane equation 全部串連後，得到早晚兩次曝氣培養小球藻平均生長速度公式為 (15)

$$V = 0.96^{24-a} (0.161d^{-1} * S / (0.656 + S + S^2 / 1.16)) \times c^{pH-6} \times d^{T-25} \quad (15)$$

註:

V：小球藻平均生長速度 (mg/L/day)

a：照光時數 (≥12 小時)

s：CO₂ 量 (mg/L；濃度≤35%)

c：pH≥6 為 0.94；<6 為 0.87 (pH 4~10)

d：溫度≥25°C 為 0.96；<25°C 為 0.95 (15°C~35°C)

(二) 連續曝氣式培養之試驗

1. 不同濃度 CO₂ 下小球藻生長的影響

本試驗探討在 CO₂ 氣體連續曝氣 (20cc/min) 的情況下進行試驗，以不同濃度 (10、15、25、30、35、45%) CO₂ (以 CO₂ 和空氣的混合) 對小球藻反應槽進行曝氣，以了解對小球藻生長之影響情形，討論方式與批次相同。

從表 7 可以知道起始濃度為 200mg/L 左右的小球藻，以不同濃度之 CO₂ 為連續曝氣之碳源，當 CO₂ 濃度為 30% 時，有最高的小球藻濃度為 941mg/L；當 CO₂ 濃度低於 30%，小球藻最大生長量會隨著 CO₂ 濃度增加而增加；而當 CO₂ 濃度到了 30% 以後再增加，小球藻最大生長量受到抑制而降低。當 CO₂ 濃度分別為 35、25、15、10%，小球藻最大生長濃度分別為 848、817、703、541mg/L，而最差是 CO₂ 濃度為 40%，小球藻濃度為 395mg/L。

小球藻平均生長速率是以小球藻生長曲線中達到平衡之前的斜率來代表，由圖 11 生長曲線發現小球藻平均生長速率，先隨著 CO₂ 濃度的增加而增加，當 CO₂ 濃度到達 15% 時，小球藻平均生長速率最快，為 31.4mg/L/day，之後當 CO₂ 濃度再增加，小球藻平均生長速率開始降低；其餘 CO₂ 濃度為 25、10、30、35% 時，小球藻平均生長速率為 24.7、24.4、21.2、18.5mg/L/day，而當 CO₂ 濃度為 40%，小球藻平均生長速率最慢，為 5.2 mg/L/day。

CO₂ 濃度 15% 時，小球藻比生長速率最快，為 0.078 day⁻¹；其餘 CO₂ 濃度為 10、25、30、35% 時，小球藻比生長速率為 0.071、0.058、0.044、0.035 day⁻¹，而當 CO₂ 濃度為 40%，小球藻比生長速率最低，為 0.018 day⁻¹。

表 7. 不同 CO₂ 濃度連續曝氣下，小球藻的生長情形

| CO ₂ 濃度 | 小球藻最終濃度 (mg/L) | 平均生長速率 (mg/L/day) | 比生長速率 (day ⁻¹) |
|--------------------|----------------|-------------------|----------------------------|
| 10 | 541±10 | 24.4 | 0.071 |
| 15 | 703±15 | 31.4 | 0.078 |
| 25 | 817±19 | 24.7 | 0.058 |
| 30 | 941±20 | 21.2 | 0.044 |
| 35 | 848±16 | 18.5 | 0.035 |
| 40 | 395±13 | 5.20 | 0.018 |

註：小球藻起始濃度為 200mg/L 左右

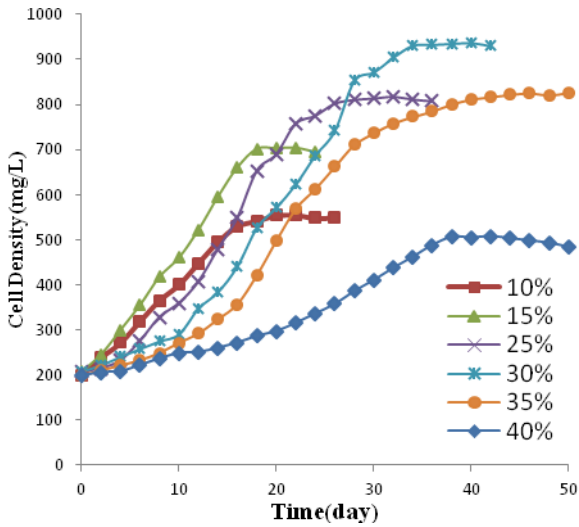


圖 11. 不同濃度 CO₂ 連續曝氣下，小球藻的生長曲線

上述結果可以得知連續曝氣培養小球藻時，在溫度 25、pH6、全光照的環境下，以碳源為 CO₂ 30%，可以得到最高的小球藻濃度，以碳源為 CO₂ 15% 可以得到最高小球藻生長速率。

早晚兩次曝氣與連續曝氣培養下，前者 CO₂ 濃度到達 35% 才開始抑制，後者為 30%；前者小球藻最終生長濃度最高是 CO₂ 濃度 35% 時，後者為 30%；平均生長速率最快都是 CO₂ 濃度 15% 時；但連續曝氣下的 CO₂ 產值遠低於早晚兩次曝氣培養的產值，為了能夠有效利用 CO₂，建議當碳源為 CO₂ 時，採用早晚兩次曝氣來培養小球藻。

根據邱耀興[5]的研究指出，小球藻最適的培養條件為 CO₂ 濃度 15%，且至少可承受濃度為 20% 的 CO₂；本次結果平均生長速率最快為 CO₂ 濃度 15% 時相同，可以忍受的 CO₂ 濃度達到 30% 較高。根據李文哲[3]的研究顯示，溫泉藻最高可以忍受 20% CO₂，而擬球藻則是只能忍受到 8% CO₂，都比本次試驗的小球藻差。

2. 小球藻對 Na₂SO₃ 的忍受度

選擇"以不同濃度 CO₂ 為連續曝氣之碳源"試驗中，有最高小球藻生長量的 CO₂ 濃度為 30%，以及平均生長速率最高的 CO₂ 濃度為 15% 兩個濃度來進行試驗，先投入 Na₂SO₃ 濃度 10mmol/L，於 pH4、5、6 的小球藻可以正常生長，再投入 10 mmol/L Na₂SO₃，使濃度達到 20 mmol/L 時，pH4 小球藻開始死亡；當濃度增加到 30 mmol Na₂SO₃ 時，pH5 小球藻開始死亡；當濃度增加到 50 mmol/L Na₂SO₃ 時，pH6 小球藻也開始死亡；愈低 pH 的環境下小球藻對 SO_x 忍受力

愈低，當 pH 為 6 時，可以忍受 Na₂SO₃ 濃度到 40mmol/L；當 pH 為 5、4，Na₂SO₃ 濃度可以到 20 和 10mmol/L Na₂SO₃ 的環境下生存，如圖 12。

早晚兩次曝氣與連續曝氣培養下，pH 4 與 5 可以忍受的 Na₂SO₃ 濃度是相同的，但在 pH 6 環境下，早晚兩次曝氣可以忍受到 50 mmol/L Na₂SO₃，而連續曝氣只能忍受到 40 mmol/L Na₂SO₃。

3. 不同濃度 CO₂ 對小球藻含油率的影響

本試驗探討在不同濃度 CO₂ 培養下的小球藻，含油率是否會不同，找出最適合生產生質柴油的 CO₂ 濃度。

從表 8 可以知道，不同的濃度 CO₂ 下培養對於小球藻含油率的影響不大，正常培養下，小球藻含油率為 25~27% 左右。

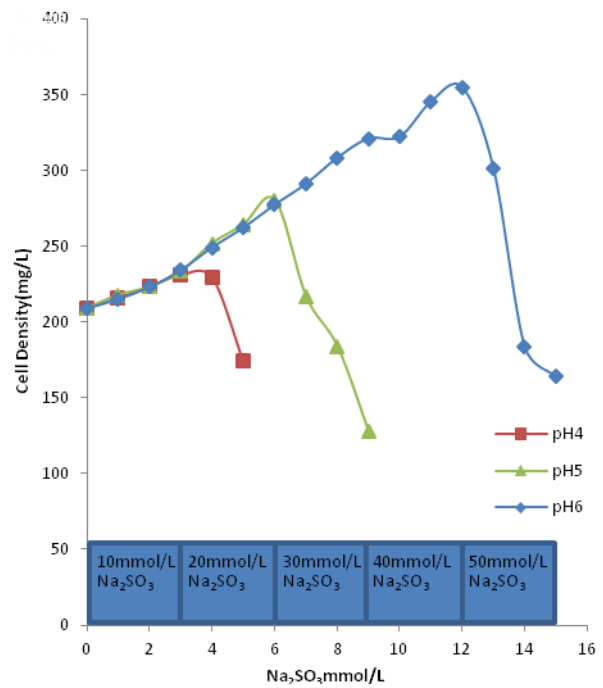


圖 12. 連續曝氣 CO₂ 小球藻對 Na₂SO₃ 忍受力

表 8. 不同濃度下 CO₂ 小球藻含油率

| CO ₂ 濃度% | 藻體重量 (mg) | 油重量 (mg) | 含油率 (%) |
|---------------------|-----------|----------|---------|
| 10 | 196±4 | 48.5±2.4 | 25±1.3 |
| 15 | 230±5 | 62.6±3.0 | 27±1.5 |
| 25 | 257±6 | 65.4±4.0 | 25±2.0 |
| 30 | 237±7 | 61.7±3.7 | 26±1.6 |
| 35 | 214±6 | 54.0±3.2 | 25±1.5 |

四、結論與建議

本研究結論分為兩大部分，第一部分為三角瓶早晚曝氣試驗；第二部分為連續曝氣試驗，以下依序結論為：

(一) 三角瓶早晚曝氣試驗

1. 當碳源 CO₂ 濃度為 10~35%時，為小球藻適合的生長範圍；CO₂ 濃度為 35%時，小球藻有最高生長濃度，為 833 mg/L；CO₂ 濃度為 15%時，小球藻有最大生長速度 CO₂，為 25.5mg/L/day。
2. pH 5~8 為小球藻適合的生長範圍，而最佳生長條件為 pH 6，有最高小球藻最終濃度和最大生長速率，分別為 702 mg/L 及 28.0mg/L/day；pH 3 小球藻會死亡。
3. 20~30°C 為小球藻適合的生長範圍，而最佳生長條件為 25 °C，有最高小球藻最終濃度和最大生長速率，分別為 706mg/L 及 29.8mg/L/day；溫度超過 35°C 小球藻會死亡。
4. 24 小時照光培養對小球藻生長速率和最大生長量都是最好的，為 661mg/L 及 29.3mg/L/day；12 小時照光時時，單位時間照光之小球藻產率最好，為 1.49mg/L/每小時照光，最符合經濟效應的是光照比為 1:1。
5. pH 為 6 時小球藻可以忍受 Na₂SO₃ 濃度到 50mmol/L；pH 為 5、4、分別可以忍受 20 和 10mmol/L 的 Na₂SO₃。
6. 小球藻最終濃度操作公式：

$$x = 0.98^{|24-a|} (5.88 * S / (91.3 + S + S^2 / 7.16)) \times c^{|pH-6|} \times d^{T-25} \quad (16)$$

x：小球藻最終濃度 (g/L)

a：照光時數 (≥12 小時)

s：CO₂ 量 (mg/L；濃度≤35%)

c：pH ≥6 為 0.90；<6 為 0.82 (pH 4~10)

d：溫度 ≥25°C 為 0.96；<25°C 為 0.94 (15°C~35°C)

7. 小球藻平均生長速率操作公式：

$$V = 0.96^{|24-a|} (0.161 * S / (0.656 + S + S^2 / 1.16)) \times c^{|pH-6|} \times d^{T-25} \quad (17)$$

註：

V：小球藻平均生長速度 (mg/L/day)

a：照光時數 (≥12 小時)

s：CO₂ 量 (mg/L；濃度≤35%)

c：pH ≥6 為 0.94；<6 為 0.87 (pH 4~10)

d：溫度 ≥25°C 為 0.96；<25°C 為 0.95 (15°C~35°C)

(二) 連續曝氣試驗

1. 碳源 CO₂ 濃度為 10~30% 為小球藻適合的生長範圍，CO₂ 濃度為 30% 時，小球藻有最高生長濃度，為 947 mg/L；CO₂ 濃度為 15% 時，小球藻有最大生長速度，為 31.4 mg/L/day。
2. 連續曝氣可以忍受 30% CO₂；pH 6 時小球藻可以忍受 Na₂SO₃ 濃度到 40mmol/L；pH 為 5、4、分別可以忍受 20 和 10mmol/L 的 Na₂SO₃。
3. 與早晚曝氣相比，連續曝氣可以忍受的 CO₂ 濃度低於早晚曝氣，pH 6 時小球藻可以忍受 Na₂SO₃ 濃度也較早晚曝氣低。
4. 不同的濃度 CO₂ 下培養對於小球藻含油率的影響不大，正常培養下，小球藻含油率為 25~27% 左右。

(三) 建議

1. 後續研究者可以對其它環境因子 (溫度、pH、氮源) 和不同的產油方式對小球藻含油率的影響進行研究。
2. 本試驗以實驗室模擬為主，但實驗室和實場不同，可以針對實場進行研究。
3. 可以探討其餘營養源對小球藻生長的影響，例如：氮、磷、硫、鐵。

參考文獻

1. 王姿月 (民 98)，油脂藻 *Botryococcus braunii* 與 *Chlorella vulgaris* 生長特性之探討，逢甲大學環境工程與科學學系碩士論文。
2. 王冠翕 (民 101)，以藻類去除半導體業廢氣中二氧化碳之可行性研究，國立中央大學環境工程研究所碩士論文。
3. 李文哲 (民 95)，以高溫高鹼度環境培養微藻固定模擬吸收塔之吸收液中 CO₂ 之研究，國立成功大學環境工程學系碩士論文。
4. 林佳蓉 (民 100)，微藻養殖模式對微藻油脂含量與組成影響之探討，國立交通大學分子醫學與生物工程研究所碩士論文。
5. 邱耀興 (民 92)，小球藻固碳培養條件之探討，長庚大學化工與材料工程研究所碩士論文。
6. 邱靖棉 (民 100)，小球藻 cDNA 註解與功能性基因分析，國立中興大學基因體暨生物資訊學研究所碩士論

- 文。
7. 黃子庭 (民 101), 利用工業煙道廢氣培養微藻對其生物質與油脂產量之最佳化探討, 國立交通大學生物科技學系碩士論文。
 8. 曾毓翎 (民 102), 後燃燒捕獲二氧化碳在利用於微藻培養之研究。未發表碩士論文, 國立中興大學環境工程學系碩士論文。
 9. 楊仁宏 (民 102), 微藻以密閉培養固定 CO₂ 之研究, 明新科技大學, 土木工程與環境資源管理系碩士論文。
 10. 廖麗玲 (民 100), 微藻之開發與應用綜論。食品工業發展研究所專題報導, 43 (10), 1-3。
 11. 陳怡如 (民 100), 利用小球藻處理高氨廢水探討最佳操作參數及生長特性之研究, 淡江大學水資源及環境工程學系碩士論文。
 12. 蘇郁雅 (民 99), 以模擬生活污水培養小球藻探討生長特性之研究, 淡江大學水資源及環境工程學系碩士論文。
 13. Li, Q., W. Du and D. Liu (2008) Perspectives of microbial oils for biodiesel production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 80(5), 749-756.
 14. Munoz, R. and B. Guieysse (2006) Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: a review. *Water Research*, 40, 2799-2815.
 15. Ono, E. and J. L. Cuello (2007) Carbon dioxide mitigation using thermophilic *Cyanobacteria*. *Biosystems Engineering*, 96, 129-134.
 16. Sorokin, C. and R.W. Krauss (1958) The effect of light intensity on the growth rates of green algae. *Plant Physiol.*, 33, 109-113.
 17. Sung, K. D., J. S. Lee, C. S. Shin, S. C. Park and M. J. Choi (1999) CO₂ fixation by *Chlorella sp.* KR-1 and its cultural characteristics. *Bioresource Technology*, 68, 269-273.
 18. Sukenik, A. and A. Livne (1991) Variations in lipid and fatty acid content in relation to acetyl CoA carboxylase in the marine prymnesiophyte *isochrysis galbana*. *Plant Cell Physiology*, 32, 371-378.
 19. Wang, L., M. Min, Y. Li, P. Chen, Y. Chen, Y. Liu, Y. Wang and R. Ruan (2012) Cultivation of Green Algae *Chlorella sp.* in Different Wastewaters from Municipal Wastewater Treatment Plant. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 162(4), 1174-86.
 20. Xiong, W., X. Li, J. Xiang and Q. Wu (2008) High-density fermentation of microalga *Chlorella protothecoides* in bioreactor for microbio-diesel production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 78(1), 29-36.

收件：103.07.31 修正：103.09.15 接受：104.01.19