

# 以反應曲面法探討擬球藻生長之最佳化

闕志衡、余世宗

E-mail: 387111@mail.dyu.edu.tw

## 摘要

本研究以反應曲面法探討培養條件對擬球藻生長的影響，並建立其數學模式，並藉以找出最適培養條件，先以一次一因子進行培養，探討碳源濃度、氮源濃度、及培養基起始pH值對擬球藻的生長之影響，確定各因子的適當範圍以利實驗設計法，並進行中心混成實驗。經由一次一因子實驗得知，擬球藻批次培養於NaNO<sub>3</sub> 0.3 g/L下，以NaHCO<sub>3</sub> 20 g/L、培養基起始pH值為8.5為基礎培養基較為適合操作條件，以一次一因子實驗結果為基礎，實驗以三因子兩水準之中心混成實驗，不同NaHCO<sub>3</sub>濃度(10、20、30 g/L)、不同培養基起始pH值(7.5、8.5、9.5)及不同天然鹽濃度(10、20、30 g/L)，8組因子實驗、6組星點及6組中心點實驗，以統計軟體Minitab進行分析，擬球藻生質濃度最適條件為NaHCO<sub>3</sub> 30.8 g/L、天然鹽20.3 g/L、培養基起始pH 8.27，以最適條件培養，生質濃度可達1 g/L。

關鍵詞：擬球藻、反應曲面法、一次一因子、中心混成實驗

## 目錄

中文摘要	iii
ABSTRACT	iv
誌謝	v
目錄	vi
圖目錄	ix
表目錄	xi
第一章 緒論	1
1.1 前言	1
1.2 研究目的	1
第二章 文獻回顧	3
2.1 藻類簡介	3
2.1.1 影響藻類生長之因子	4
2.1.1.1 碳源	4
2.1.1.2 氮源	5
2.1.1.3 鹽度	6
2.1.1.4 酸鹼值	6
2.1.1.5 光源	7
2.1.1.6 溫度	10
2.1.1.7 攪拌	10
2.1.2 光合作用	11
2.2 藻類之生長培養方式	14
2.2.1 自營(autotrophy)	15
2.2.2 異營(heterotrophy)	15
2.2.3 混營(mixotrophy)	15
2.2.4 開放式與密閉式培養系統	17
2.2.5 批次式、饋料批次式、半連續式與連續式培養策略	22
2.3 反應曲面法(Response Surface Methodology, RSM)	25
第三章 實驗材料與研究方法	26
3.1 實驗藻種	26
3.2 培養基組成	27
3.3 微藻培養設備	29
3.3.1 化學藥品	29
3.3.2 實驗器材	30
3.4 搖瓶批次培養	31
3.5 實驗分析方法	32
3.5.1 乾重(dry weight)測量	33
3.5.2 檢量線製作	34
3.5.3 鹼度測定(滴定法)	36
3.5.4 硝酸鹽氮測定(分光光度計法)	37
3.6 實驗設計	38
3.6.1 碳源濃度對擬球藻生長影響	38
3.6.2 氮源濃度對擬球藻生長影響	38
3.6.3 起始pH值對擬球藻生長影響	39
3.6.4 中心混成設計	40
第四章 實驗結果與討論	44
4.1 擬球藻一次一因子條件探討	44
4.1.1 NaHCO <sub>3</sub> 濃度對擬球藻生長的影響	44
4.1.2 NaNO <sub>3</sub> 濃度對擬球藻生長的影響	49
4.1.3 起始pH值對擬球藻生長的影響	53
4.2 批次培養擬球藻中心混成實驗設計	57
4.3 因子影響效應分析	65
4.4 批次培養	67
第五章 結論	69
5.1 結論	69
5.2 建議	69
參考文獻	71

## 參考文獻

1. 田宮博；渡邊篤，1965，藻類實驗法，南江堂，日本東京，p24-104。
2. 吳欣慧，2008，以二階段培養模式培養小球藻(*Chlorella* sp.)生產油脂之研究，淡江大學水資源及環境工程學系碩士論文，台北。
3. 洪志瑞，2007，油質性微藻培養於新型光生化反應器之研究，國立成功大學化學工程學系碩士論文，台南。
4. 許建雄，2006，以無機碳為碳源培養周式扁藻：培養條件對生長之影響，大葉大學環境工程研究所碩士論文，彰化。
5. 張志成，2008，以回應曲面法探討 *Thraustochytrium* sp. 對脂質合成之影響，大葉大學生物產業科技學系研究所碩士論文，彰化。
6. 張惟閔，2005，微藻培養於新型光生化反應器之系統開發，國立清華大學化學工程研究所碩士論文，新竹。
7. 黃王瑰，2011，量產微藻光反應器的發展，行政院環境保護署環境檢驗所電子報，22期，新知寶庫。
8. 黃毓涵，2009，小球藻最適化連續式培養之研究，國立成功大學化學工程學系碩士論文，台南。
9. 葉育才，1979，光合作用 - 植物生產力的生理基礎，國立編譯館，台北，p3。
10. 葉俊良，2006，在光生化反應器中以二階段策略培養微藻生產油脂之研究，國立成功大學化學工程學系碩士論文，台南。
11. 潘忠政，2001，整合鹼液吸收及光合作用以固定二氧化碳，大葉大學環境工程研究所碩士論文，彰化。
12. 陳明耀，1997，生物餌料培養，水產出版社，台北，p43-125。
13. 陳飛鵬，2008，以NaHCO<sub>3</sub>為碳源批次培養 *Tetraselmis chui*，大葉大學環境工程研究所碩士論文，彰化。
14. 謝誌鴻、吳文騰，2009，微藻 - 綠色生質能源，科學發展，433期，p36-40。
15. 鄭玟芬，2008，海洋微藻在氮源限制下固定CO<sub>2</sub>與生質潛能組成之研究，國立成功大學環境工程學系碩士論文，台南。
16. 蘇惠美，1999，餌料生物之培養與利用，臺灣省水產試驗所，台北，p27-31。
17. 蘇惠美、雷淇祥、廖一久，1990，溫度、光照度和鹽度對骨藻生長速率之影響，臺灣水產學會刊，17期，p213-222。
18. Becker, E. W. 1994. Microalgae: biotechnology and microbiology. University of Cambridge Press. New York.
19. Borowitzka, M. A. 1999. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. *Journal of Biotechnology*. 70: 313-320.
20. Chen, F. 1996. High cell density culture of microalgae in heterotrophic growth. *Trends Biotechnol.* 14(11): 421-426.
21. Endo, H., Nakajima, K., Chino, R. and Shirota, M. 1974. Growth characteristics and cellular components of *Chlorella regularis*, heterotrophic fast growing strain. *Agricultural and Biological Chemistry*. 38: 9-18.
22. Gerad, J. T., Bwrdeell, R. Funke, Christine, L. Case and sixth edition. 1998. *Microbiology*. Benjamin Cummings.
23. Jeong, M. L., Gillis, J. M. and Hwang, J. Y. 2003. Carbon dioxide mitigation by microalgal photosynthesis. *Bull. Korean Chem. Soc.* 24(12):

1763-1766. 24. Kobayashi, M., Kakizono, T., Yamaguchi, K., Nishio, N. and Nagai, S. 1992. Growth and astaxanthin formation of *Haematococcus pluvialis* in heterotrophic and mixotrophic conditions. *Journal of Fermentation and Bioengineering*. 74: 17-20. 25. Lee, Y. K. 1997. Commercial production of microalgae in the Asia-Pacific rim. *Journal of Applied Phycology*. 9: 403-411. 26. Lee, Y. K. and Shen, H. 2006. *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Basic Culturing Techniques. Edited by Amos Richmond. Blackwell Science. 47-53. 27. Masojidek, J., Koblizek, M. and Torzillo, G. 2004. *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology, photosynthesis in microalgae*. Edited by Amos Richmond. Blackwell Science. 20-39. 28. Ogbonna, J. C. and Tanaka, H. 2000. Light requirement and photosynthetic cell cultivation-Development of processes for efficient light utilization in photobioreactors. *Journal of Applied Phycology*. 12: 207-218. 29. Pulz, O. 2001. Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 57(3): 287-293. 30. Radmer, R. J. and Parker, B. C. 1994. Commercial Applications of Algae Opportunities and Constraints. *Journal of Applied Phycology*. 6: 93-98. 31. Renaud, S. M. and Thinh, L. V. 2002. Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures. *Aquaculture*. 211(1-4): 195-214. 32. Richmond, A. 2004. Principles for attaining maximal microalgal productivity in photobioreactors: an overview. *Hydrobiologia*. 512: 33-37. 33. Rocha, J. M. S., Garcia, J. E. C. and Henriques, M. H. F. 2003. Growth aspects of the marine microalga *Nannochloropsis gaditana*. *Biomol. Eng.* 20(4-6): 237-242. 34. Rubio, F. C., Fernandez, F. G. A., Perez, J. A. S., Camacho, F. G. and Grima, E. M. 1999. Prediction of dissolved oxygen and carbon dioxide concentration profiles in tubular photobioreactors for microalgal culture. *Biotechnol. Bioeng.* 62(1): 71-86. 35. Schpeper, T., Al-Rubeai, M., Corne, J. F., Dussap, C. G., Elias, C. B., Gomes, J., Gros, J. B., Hill, D. C., Joshi, J. B., Menawat, A. S., Nisbet, L. J., Pulz, O., Scheibenbogen, K. and Wrigley, S. R. 1998. *Bioprocess and Algae Reactor Technology*. *Journal of Apoptosis*. 36. Shipton, C. A. and Barber, J. 1994. In vivo and in vitro photoinhibition reactions generate similar degradation fragments of D1 and D2 photosystem- reaction center proteins. *European Journal of Biochemistry*. 220: 801-808. 37. Strickland, J. D. H., Holm-Hansen, O., Eppley, R. W. and Linn, R. J. 1969. The use of a deep tank in plankton ecology. I. Studies of the growth and composition of phytoplankton crops at low nutrient levels. *Limnology and Oceanography*. 14: 23-34. 38. Suh, I. S. and Lee, S. B. 2001. Cultivation of a cyanobacterium in an internally radiating air-lift photobioreactor. *Journal of Applied Phycology*. 13: 381-388. 39. Turpin, D. H. 1991. Effect of inorganic N availability on algal photosynthesis and carbon metabolism. *J. Phycol.* 27(1): 14-20. 40. You, T. and Barnett, S. M. 2004. Effect of light quality on production of extracellular polysaccharides and growth rate of *Porphyridium cruentum*. *Biochem. Eng. J.* 19(3): 251-258. 41. Yuan-Kun, L. 2001. Microalgal mass culture systems and methods: Their limitation and potential. *Journal of Applied Phycology*. 13: 307-315.