2014 年臺灣國際科學展覽會 優勝作品專輯

作品編號 100011

參展科別 工程學

作品名稱 本土性微藻結合廢水之生質柴油產製

得獎獎項 大會獎:一等獎

候補作品:1

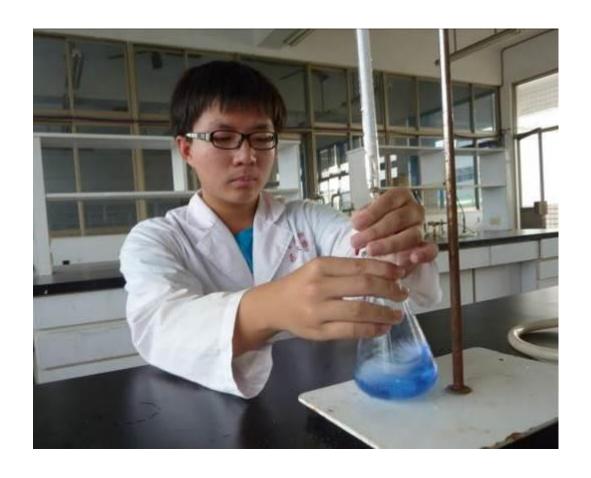
就讀學校 國立屏東高級工業職業學校

指導教師 王美惠

作者姓名 范文陸

關鍵字 微藻、發光二極體(LED)、生質柴油

作者簡介



我是范文陸,目前就讀屏東高工化工科三年級,我非常喜歡做實驗,很高興有這個機會參加國際科展,除了接觸到很多大學才能使用的儀器,更能學習到許多新的知識,雖然在實驗進行中一直面對挫折和失敗,但我從不會輕言放棄,因為對我來說找到問題和解決問題才是最重要的,而在這過程中又會學習解決問題的能力,最後,謝謝幫助過我的老師、學長姊以及教授在背後不斷的支持以及鼓勵,讓我對自己的作品又有更進一步的認識以及自信,更讓我在實驗室裡留下美好及難忘的回憶。

摘要

本研究以淡水常見之微藻進行培養,首先篩選出頂棘藻 Chodatella sp.為研究 對象,第二階段設計不同曝氣量及不同 LED 燈之佈光面積進行藻類培養比較,再 以部分因素法探討微藻培養之最佳化條件;第三階段設計 LED 光生物反應器培養 微藻,探討其可行性及微藻降解畜牧廢水營養鹽之能力。

實驗結果顯示,曝氣的培養方式以及增加佈光面積有助於微藻生長,而部分因素法實驗設計結果,影響生質潛勢最重要因子為置換天數。另外,LED光生物反應器培養的微藻其生質物產率高達230.73 mg/L.d,水中的營養鹽去除率皆高達約90%以上,藻粉油脂含量為28.77%,脂肪酸組成顯示碳數具有C16-C18之物質,與生質柴油的組成物質相符,非常具有轉化成生質柴油的潛勢。

Abstract

In this study, the first, using the common freshwater rmicroalgae which is called *Chodatella* sp, is the research object. The second, Designing different aeration culture conditions is to as a comparison (0,0.5,0.8,1.5 air.L / min.L). Light area of developing different algal culture is to understand the growth conditions and microalgae biomass potential. To study the change in the growth of algae, culture of microalgae using partial factors. The experiment is to explore the best condition of microalgae. Using the replacement ratio, time is to understand the interaction of microalgae biomass energy potential and for further seeking the best growth rate, and the best biomass energy potential. The third part is to using a set of LED light microalgae culture bioreactor. The possibility in bioreactor is to underst and the feasibility of microalgae and livestock waste nutrients. The experiment in this result showed that the way of aeration light and covered area is to help microalgae. Part of the results in this experiment which used the light source, and the replace ment ratio with the three-way interaction, is conducive to producing biodiesel.

The results indicated that the most important factor in the biomass potential is for the replacement days. In addition, bioreactor in this LED light microalgae is to yield up 230.73 mg / L.d. The cell suspension was then filtered and water quality testing, nitric acid, nitrous acid, ammonia, Kjeldahl nitrogen, total phosphorus, COD whose removal rate could reach 89.49%, 92.65%, 99.98%, 98.94%, 99.16%, 99.60%, which has a good ability to degrade. In terms of up to 28.77% oil content, fatty acid composition also has a C_{16} - C_{18} very high biodiesel potential.

壹、 前言

一、研究動機

石油日益枯竭,燃燒後會增加 CO₂的排放,導致全球氣候異常,加上油價上 漲、儲量有限,因此開發生質能源為目前重要課題。

微藻為相當具有生質潛力的替代能源之一,藻類可以利用無機碳源行光合作 用。另外,藻類於培養過程中,控制培養環境中的氮、碳源,可幫助微藻生長並 且累積微藻脂質。

台灣養豬戶高達 600 萬戶,所排放的畜牧廢水造成水體優養化及水污染現象, 而微藻可藉由細胞合成,達到移除氮、磷的效果,若以廢水為基質培養微藻,一 方面可以降低微藻生產成本,另一方面又達到淨化水質的效果,另外可回收藻體 作為生質能源之原料,不但可改善環境汙染,更具有資源永續及再利用的功效。

利用 LED 燈做為培養燈源,相較於日光燈較為節能,且擁有窄頻特性。LED 光生物反應器使藻細胞受光面積均勻,且以批次方式進料畜牧廢水、出料藻液, 便於取得藻體生質物量,以畜牧廢水培養微藻可降解廢水中氮、磷......等有機物, 利於未來藻類養殖工程之應用。

二、研究目的

本研究分為三階段,首先篩選本土性高油脂潛勢微藻,第二階段進行批次試驗,以不同曝氣量(0、0.5、0.8、1.5 air.L/min.L)進行比較,探討此微藻在不同曝氣量生長之差異,並以不同佈光面積進行藻類培養,瞭解微藻生長狀況;然後以部分因素法培養微藻,以光源、置換比例、置換時間的組合,了解微藻生質能源潛勢之交互作用,並得到微藻培養之最佳化條件,進一步尋找最佳生長率、最佳生

質能源潛勢。第三階段設置一套培養微藻之LED光生物反應器,了解微藻降解畜牧廢水營養鹽能力與可行性之評估。本研究期望生質能源結合資源永續再利用的理念,利用畜牧廢水培養本土混營性微藻,進一步提升微藻產製生質柴油之競爭力。

貳、 研究方法或過程

一、文獻回顧

(一) 影響微藻生長因子

1. 光照

微藻為行光合作用之生物,藻體所含葉綠素會吸收光能及固定 CO₂的酵素。若光照強度逐漸增強,則藻體之光合作用效率會更好。但藻體吸收光能到某臨界點時,微藻之光合效能將達到飽和狀態,若繼續增加光照強度,會導致藻體內行光合作用系統受損,造成微藻光合作用效率降低(Carvalho *et al.*, 2011)。

光照強度不但會影響光合作用,也會左右影響藻體吸收營養鹽之速率(Lobban and Harrison, 1997)。

光的照射可分光照區、非光照區。底部的藻體,因互相遮蔽,呈現無光照現象(非光照區),但是經攪拌或打氣的方式,使藻體成懸浮狀態而接受到光源(照光區),當藻體受到光照後,將又沉降至底部不受光,所以每個藻體都能間接性的照射到光源,因此光合利用率也會跟著提高。(Rocha et al.,2003; Richmond,2004) 研究 Nannochloropsis gaditana sp. 連續照光,結果顯示藻體於連續照光下,微藻生長趨勢較佳,當藻體濃度過高時,將會產生藻體互相遮蔽現象,導致藻體無法接受到光源,因此造成光照區與非光照區的產生,所以在連續光照下配合適當曝氣量,使藻體於光照區、非光照區的來回頻率增加,光合效率也會增加。

文獻指出,以光強度 $200 \sim 1400~\mu mol~photon~m^{-2}s^{-1}$ 培養小球藻時,小球藻的生質物量差異不大,當光強度調整為 $600~\mu mol~photon~m^{-2}s^{-1}$ 以上時,小球藻油脂含量較高,證明光強度於 $600~\mu mol~photon~m^{-2}s^{-1}$ 為此藻種最佳培養條件(謝,2008)。而

(Borowitzka, 1999 研究 Chlorella sp. 於夏天及冬天培養狀況,結果顯示夏天的藻細胞產量為冬天的 2 倍,也證明了光照強度的大小會使微藻受到生長的影響。

2. 温度

微藻分為低溫、中溫、高溫藻種,結果顯示培養溫度會影響生物體內的酵素作用,更會影響微藻生長率、脂質含量及脂肪酸組成成分。另外,(Renaud et al., 2002)研究,當微藻培養溫度<16℃時,微藻生長趨勢下降,當培養溫度>35℃時,藻種皆會有死亡現象,證明培養溫度過高,將影響微藻光合效率並減緩藻體生長率,更會造成藻體油脂含量變化。

(Renaud et al., 2002) 研究在溫度 $25 \times 27 \times 30 \times 33 \times 35$ °C下培養 Isochrysis sp.,觀察此藻種生長速率及油脂含量,結果顯示,培養溫度在 27 °C 有最佳的生長速 0.97 d⁻¹,粗脂肪含量也高達 21.7 %,但培養溫度高於 30 °C 時,微藻有生長下降之趨勢,證明不同培養溫度,將會影響粗脂肪含量變化。

(Xin et al., 2011) 研究 Scenedesmus sp.以 $10 \times 20 \times 25 \times 30$ $^{\circ}$ $^{$

(Aaronson.,1973) 研究溫度對此藻種($Ochromonas\ danica\ sp.$)之粗脂肪含量是否有影響,結果顯示,當溫度從 15℃上升至 30℃時,藻體油脂含量會從 39.9%提升至 53.3%。

3. 曝氣強度

在培養微藻中,曝氣強度也是影響微藻生長很大的因素,曝氣優點為 (1) 可使培養液和營養鹽混合均勻 (2) 混合均勻,也可帶動藻體流動,達到均勻受光的效果,也可提高光合效率 (3) 防止微藻沉澱,避免產生藻體互相遮蔽,降低光合效率。

(葉氏,2006)研究 Chlorella sp.曝氣量 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 L/min 下的生長速率,結果發現曝氣量在 2.0、2.5 L/min 下有較佳的生長趨勢,而低曝氣量的 微藻生長較緩慢,證明在高曝氣量下,微藻有較佳的生長率,也因為 2.0、2.5 L/min 的曝氣量達到最佳混合效果,故沒有明顯差異。

4. 氮磷

微藻如同一般植物,必須從外界攝取無機營養,以合成細胞體,適當的氮磷, 幫助使微藻生長,因為氮磷是構成藻體中氨基酸、蛋白質、輔酵素、酵素.....等, 在氮磷受限情況下,有助於微藻累積油脂及碳水化合物。

Piorreck et al.,2008 研究顯示,微藻培養之氮源濃度,為主要影響藻體累積油脂之因子,在氮源濃度較低或氮源即將耗盡時,藻體會累積油脂,油脂含量高達 50 - 60 %藻體乾重。而畜牧廢水中所含之氮、磷......等其他有機物,可提供微藻攝取,使微藻得到生長的能量。

(張氏,2011) 研究 Chodatella sp.,探討不同畜牧廢水添加比例,是否會對微藻生長有影響,研究是以 0、20、40、60、80、100%的廢水添加比例培養微藻,結果發現此藻種在這幾種添加比例都有生長現象,但廢水添加比例>80%時,微藻生長率相對的低。

(二) 微藻培養系統

1. 開放式培養系統

包括大型淺池、開放式槽體、圓形培養池、跑道行培養池……等(黃,2008), 常用來作為商業大規模生產,因此培養方式規模易放大,成本也較低,但也具有 以下缺點:因為在室外,因此容易受到外界影響,例如:原生動物、藻種、菌種 的汙染、氣候、溫度、光照強度和光照週期變化……等,也因培養體積過大,無 法均勻攪拌,導致所培養生物無法均勻受光,所以培養出來的藻類濃度偏低(Pulz, 2001)。

2. 密閉式培養系統

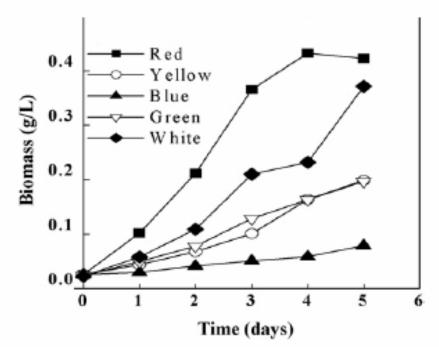
將藻體於透明之培養袋、各式光生物反應器以及發酵槽......等,且密閉式系統可與外界隔離,降低被汙染風險並提升藻細胞生長率及油脂產率,相較於開放式,密閉式更易控制條件,產量及品質都較為穩定,但缺點為培養成本過高...... 等。

(三) LED 燈對微藻生長之影響

發光二極體相較於其他發光器具有高亮度、低成本、窄頻、體積小、可靠性 高、壽命長......等優點(徐,2001)。而藻體中的葉綠素,其光合作用的最佳吸收波 峰大部分於紅色、藍色波段,相較於傳統燈泡更易於收集特定波段(窄頻)之光源。

使用紅、白、黃、綠和藍光之 LED 燈培養微藻,如圖(一)所示,培養時間越長,光照強度越強,藻細胞產率越高,其中紅色 LED 燈源相較於其他燈源之生質物量都來的好,生長率也都達最高波鋒,證明紅色光源為此藻種培養最佳光源,但 LED 燈光照強度過甚,將導致微藻生質物量下降,其次效果較佳光源為白光,但光照強度過強的白光,微藻生質物量有不穩定之現象,諈後效果最差的燈源則

是藍光,其生長波鋒和生質物量都是維持較低的趨勢,另外黃、綠光源數據都較為接近,生長率相較於紅、白光是緩慢上升。培養微藻,以紅光和白光 LED 為培養光源,會有較佳培養效果(Wang et al., 2007)。



圖(一)連續時間下,不同光源(紅、藍、白、綠、黃)培養微藻之 生質物量 Wang et al.(2007)

二、研究器材與反應條件

表(一)研究器材

儀器名稱	製造國家	型號
照度計	Taiwan	DX-200
烘箱	Taiwan	OV-50
高溫高壓滅菌斧	Taiwan	LS-2
高速冷凍離心機	Japan	HITACHI CR22GIII
螢光光學顯微鏡	Japan	Nikon ECLIPSE-E400
掃描式電子顯微鏡	U.S.A	FEI Quanta 200
索氏萃取設備	Germany	S-416 Gerhardt
冷凍乾燥機	Japan	EYELA FDU-2100
氣相層析儀	U.S.A	Agilent 7820A

氣相層析儀(Agilent, 7820A, 美國)分析條件如下:

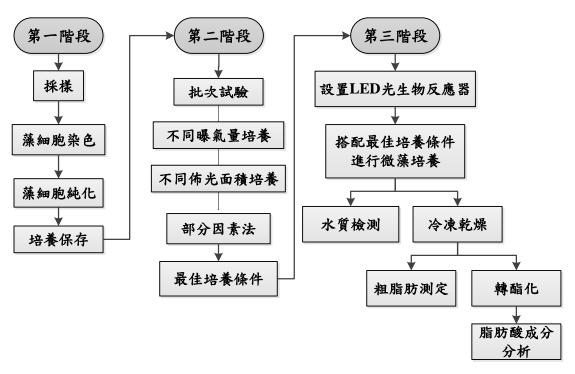
- 1. 注射樣品量:1μL
- 2. 溫度設定:偵測器之溫度為300 ℃,注射溫度250 ℃。烘箱溫度初溫50 ℃維持1分鐘後,以每分鐘25℃速率加熱至175℃。以每分鐘4℃速率加熱至230℃,在230℃條件下維持4分鐘。
- 載體氣體: 氮氣流速為 25 mL/min, 氫氣流速為 40mL/min, 空氣流速為 400 mL/min。
- 4. 偵測器: FID, flame ionization detector (火焰離子檢出器)
- 5. 管柱:DB-23 (60 m×0.25 mm,0.25μm)

脂肪酸甲基酯標準品:標準品購自於 Sigma 之脂肪酸甲基酯混合標準品,成分如表 3-3 所示。將脂肪酸甲基酯混合標準品與 n-hexane 混合,利用 GC 分析,對照廠商提供之標準品圖譜,獲得各脂肪酸甲基酯滯留時間。

微藻油脂經脂肪酸甲基酯化,以GC分析,將各尖峰的滯留時間(retention time) 與標準品比較,確認各脂肪酸甲基酯成分,並對應檢量線,求得各成分含量。

三、研究流程

首先以本土性高油脂潛勢微藻為試驗對象,第二階段以不同曝氣量培養(0、0.5、0.8、1.5 air.L/min.L)進行比較,探討此微藻在不同曝氣量生長之差異,並以不同佈 光面積進行藻類培養,瞭解微藻生長狀況及生質潛勢;接下來以部分因素法培養 微藻,探討本土性微藻培養之最佳化條件,以光源、置換比例、置換時間的組合, 了解微藻生質能源潛勢之交互作用,進一步尋找微藻之最佳生長率、最佳生質能 源潛勢。最後設計一套微藻之LED光生物反應器,觀察此套反應器之可行性以及 了解微藻降解畜牧廢水營養鹽之能力,深入對微藻處理畜牧廢水暨生質能源之影 響,進一步尋找降解畜牧廢水營養鹽之能力併同生質潛勢最佳化條件,本研究架 構,如圖(二)所示。



圖(二)研究架構流程圖

微藻以畜牧廢水為營養鹽產製生質能源,可能有許多因子共同影響結果,因此,若單純以傳統實驗方法逐一固定因子,分別測試,將浪費許多成本及測試時間,而且測試的結果也不易瞭解因子間之交互作用及影響。利用實驗設計,有效的找出因子間相互之影響,得知重要的結果,可有效減少測試時間和次數。本研究利用之實驗設計方法為部分因素法,部分因素法設計精神是在於以最少的實驗次數,找出完整的系統變化。本試驗是以三個影響參數量化之設計,分別為光源藍光、紅光、白光;置換比例為 5%、10%、15%;置換天數設定為每 1、2、3 天各置換一次。其餘條件為恆溫(25℃)、恆濕(61%-68%)、24 小時全光照、曝氣培養(0.8 air.L/min.L)。利用部分因素法,將參數變化出不同之組合,尋找出此藻種處理畜牧廢水最佳化條件。部分因素法試程設計,如表(二)所示。

表二實驗設計-部分因素法

	變因			變因項目		
Run	變因1	變因2	變因3	光源	piggery置換比例	piggery置換天數
1	1	-1	-1	紅光	5%	1
2	1	1	0	紅光	15%	2
3	1	0	1	紅光	10%	3
4	0	-1	-1	藍光	5%	1
5	0	1	0	藍光	15%	2
6	0	0	1	藍光	10%	3
7	-1	-1	-1	白光	5%	1
8	-1	1	0	白光	15%	2
9	-1	0	1	白光	10%	3

(一)篩選高油脂潛勢的混營性優勢藻

1. 採樣:前往採樣區(中央畜牧場、麟洛溼地),依照環檢所 NIEA E504.42C 方法,進行取樣。





圖(三)微藻採樣地點(畜牧廢水場)

- 染色:將樣品過濾,去除固體懸浮物後,滴入數滴尼羅紅染劑,吸取染色後水樣置於玻片上,於高倍率螢光顯微鏡下挑出欲培養的藻種。
- 3. 純化:將挑出之藻體放入培養基內進行培養,待藻體成長後,以白金耳或 L棒取出較純之藻,再置於新的培養基中,不斷重複至得到純藻群為止。



圖(四)藻細胞純化

 放大培養:將欲培養之藻種放入裝有營養鹽之容器內小量培養,培養一 段時間後,將培養容器放大並加入營養鹽持續培養。



圖(五)放大培養

保種:將純化出的藻置於固態培養基中,密封並隔絕光線後,置於4℃冰箱中存放。

(二) 廢水採樣及前處理

1. 廢水採樣:前往採樣地點,以容器裝取適量畜牧廢水。



圖(六)畜牧廢水場

- 水樣前處理:首先以濾網過濾掉固體懸浮物,之後將水樣裝入離心瓶低 溫離心,分離殘餘的固體物和澄清液,取澄清液放入滅菌釜中,滅菌後 放置室溫。
- 3. 保存:將水樣置於4℃冰箱中冷藏。

(三) 不同曝氣量培養

分別調整曝氣量 0、0.5、0.8、1.5air.L/min.L 進行微藻培養。

(四) 不同佈光面積培養

以不同燈數之 LED 燈進行微藻培養。

(五) 部分因素法

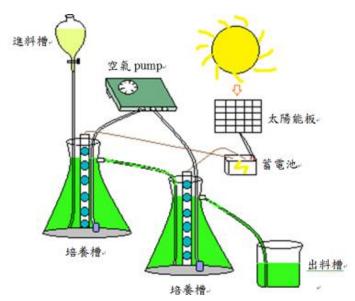
探討3個變因其交互影響關係,分別為光源、置換時間、置換比例,如圖(七) 設計共9個試程,每日監測 OD 及 Biomass,觀察微藻生長情況。



圖(七)部分因素法

(六) 設計 LED 光生物反應器

本研究設計一套 LED 光生物反應器搭配部分因素法得到最佳培養條件進行微藻培養,每日監測 OD 及 Biomass,觀察微藻生長變化。



圖(八)LED 光生物反應器模組

(七) 水質檢測

將 LED 光生物反應器培養之藻液以低溫離心機離心後,取得水質並依照環檢所的檢驗方法,分別進行 $TP \times NO_3^- \times NO_2^- \times TKN \times NH_3$ -N、COD 六項水質檢測,觀察微藻降解廢水能力。

(八) 冷凍乾燥

將 LED 光生物反應器培養之藻液經低溫離心機離心後,取得藻液裝入離心管內,先放入冷凍 1 天後,再置入離心瓶,進行冷凍乾燥,以便於之後的檢測項目(粗脂肪測定、脂肪酸甲基酯成分分析)進行。

(九) 粗脂肪測定

將冷凍乾燥後的藻粉,進行粗脂肪測定,其步驟如下:

- 1. 秤取 0.1g 藻粉
- 2. 加入棉花
- 3. 加入有機溶劑(正己烷 80 mL 及甲醇 40 mL)

- 4. 置入索式萃取機進行萃取
- 5. 置入烘箱、乾燥箱去除水分
- 6. 秤取萃取杯重量
- 計算油脂含量,公式如下:
 脂質含量=(萃取杯後重-萃取杯前重)/藻粉重*100

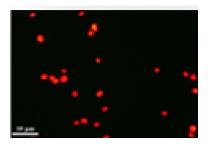
(十) 脂肪酸成分分析

- 1. 秤取 0.1g 藻粉,加入 1 N 8 mL NaOH 甲醇
- 2. 超音波震盪 5 min 及水浴 60℃ 30 min
- 3. 加入 0.7 N 8 mL HCl 甲醇及 10 mL BF₃
- 4. 水浴 100 °C 15 min
- 5. 冷卻至室溫後加入 2 mL 飽和食鹽水
- 6. 加入4mL正己烷静置5min
- 7. 吸取 0.4 mL 上層液於小瓶子,上機(氣相層析儀)

參、 研究結果與討論

一、挑選優勢藻種

以尼羅紅染色和純化技術挑選出優勢藻種頂棘藻 Chodatella sp.。

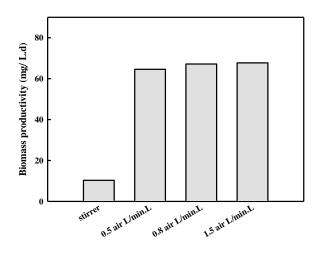


圖(八)螢光顯微鏡下顯示染色之結果 (400X)

二、不同培養方式對 Chodatella sp.生質潛勢之影響

(一)曝氣量探討微藻最佳生質潛勢

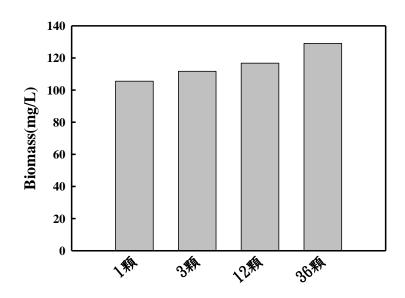
首先進行不同曝氣量之試驗,探討本土性微藻培養最佳之曝氣量,分別以 0、 0.5、 0.8、 1.5 air.L/min.L 進行培養比較,圖(九)所示,顯示有曝氣的培養方式,其 微藻的生質物量產率相較於攪拌培養方式高,考量成本與培養效果,以 0.8 air.L/min.L 曝氣量最具經濟效應。



圖(九)不同曝氣量對微藻生長影響之 Biomass 產率(mg/L.d)

(二) 佈光面積探討微藻最佳生質潛勢

不同佈光面積對微藻生長影響之試驗,光源皆使用藍光,因藻體中葉綠素進 行光合作用之最佳波峰介於藍光波段,圖(十)顯示,燈數越多,佈光面積越大,微 藻生長狀況越佳,因此本實驗採用 36 顆 LED 燈進行微藻培養。



圖(十)不同佈光面積對微藻生長影響之生質物量產率(mg/L.d)

(三) 部分因素法探討微藻最佳生質潛勢

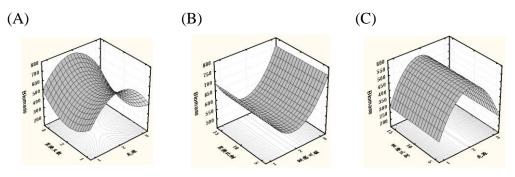
考量降低培養成本與減少水資源消耗之問題,本章節利用部分因素法之設計, 探討本土性高油脂潛勢微藻培養之最佳化條件。主要變因為光源(紅光、藍光、白 光)、置換比例(5、10、15%)與置換時間(1、2、3 day),利用組合間之配置,了解 微藻生質能源潛勢之交互作用,並進一步尋找最佳生長率、最佳生質能源潛勢。

不同置換天數、不同光源、不同置換比例對微藻生長率之變化,結果如圖(十一)所示。圖十一(A)顯示 Chodatella sp.之生長率變化,x 軸為光源 y 軸為置換天數,在不同置換天數與不同光源的交互作用下,置換天數為三天置換一次、光源為藍光時,微藻有較高的生質物量,而置換天數太短以及使用紅光、白光為培養光源,培養效果則較差。

圖十一(B)為不同置換比例與不同置換天數,對微藻生長率之影響。由圖發現, 在兩因子交互作用下,置換天數為3天時,微藻有最佳的生質物量,而置換比例 增加或減少,微藻生質物量並無會有任何影響。

圖十一(C)為不同光源與不同置換比例對 Chodatella sp.生質物量之影響。仍然顯示,光源為藍光時,微藻有較高的生質物量。因此,欲維持良好的生質物量,光源以藍光培養,較為適合,而無論何種置換比例,皆不會影響微藻生長。

綜合以上結果,微藻生質物量較高時,培養光源須以藍光最好,若光源為紅、白光培養,生質物量亦有下降趨勢。另外置換天數以每3天置換一次有最佳的生質物量,此外,無論何種置換比例,對微藻生質物量並無任何影響。



圖(十一)不同培養條件下對微藻生長影響之 Biomass(mg/L)

- (A)光源(1 為紅光; 2 為藍光; 3 為白光)與置換天數
- (B)光源與置換比例
- (C)置換天數與置換比例

三、微藻生質能潛勢與最佳培養條件之統計分析與檢定模式

(四) 統計分析

許多環境因子皆會影響微藻之生質潛勢,本實驗針對光源、置換比例、置換 天數,探討各因子對微藻生質潛勢的影響,並利用部分因素法,進一步探討各因 子間的交互作用關係,取得最佳培養條件,共同條件為 24 小時光照、曝氣量 0.8 air·L/d·L、溫度(25℃)、濕度(61%~68%),而三個影響因子參數設計,分別為光 源(LED 紅、藍、白光)、置換比例(5、10、15%)、置換時間(1、2、3天),將參數依實驗設計變化出不同的組合,尋找最佳生長率、生質物量產率,共設計9個試程,如表(三)所示

利用部分因素法設計 9 個試程,以了解不同培養條件對 Chodatella sp.生質能潛勢變化情形,結果於表(四)所示,全部試程之微藻生長率,以試程 5 有最佳生長率(3.86 d⁻¹),Biomass 產率方面,同樣以試程 5 有最佳生質物量產率(69.97mg/L.d),更進一步分析,試程 5 條件為光源:藍光、置換比例:15 %、置換時間:2 天,而生長率較低試程分別為 8、9,初步推測微藻培養效果與光源有關,以藍光為光源之試程,其生長率與生質物量產率皆較好。

	變因			變因項目		
Run	變因1	變因2	變因3	光源	piggery置換比例	piggery置換天數
1	1	-1	-1	紅光	5%	1
2	1	1	0	紅光	15%	2
3	1	0	1	紅光	10%	3
4	0	-1	-1	藍光	5%	1
5	0	1	0	藍光	15%	2
6	0	0	1	藍光	10%	3
7	-1	-1	-1	白光	5%	1
8	-1	1	0	白光	15%	2
9	-1	0	1	台来	10%	3

表(三) 部分因素法組合之試程

表(四) 部分因素法之生質潛勢產出變化情形

Run		Variable		Biomass(mg/d)		Biomass production (mg/L.d)	Specific growth rate (d-1)
	1	2	3	initial	Final		
1	l	-l	-1		501.03	46.18	3.56
2	1	0	1		361.00	48.69	3.50
3	1	1	0		588.23	31.33	3.12
4	0	-l	-1		673.26	43.33	3.49
5	0	0	1	448.56	569.05	69.97	3.86
6	0	1	0		777.84	57.63	3.73
7	-1	-1	-1		477.15	31.90	3.19
8	-1	0	1		342.54	19.95	2.61
9	-1	1	0		548.07	19.77	2.66

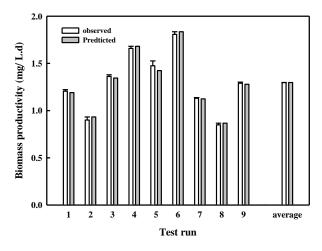
表(五)為生質物量產率因子與因子間的交互關係影響結果,主要參數為光源、 置換比例、置換時間三個因子,生物質量產率方面,置換時間對生物質量產率有 較顯著影響(P<0.05),換言之,當置換時間增加時,生質物量產率會增加 0.15(mg /L.d),而在表(五)上無顯示置換比例因子之影響,推測置換比例無因子間之交互關係作用。

表(五) 生物質量產率因子與因子間的交互關係影響	學結果
--------------------------	-----

effects	Biomass production (mg/L.d)	t(4)	p
光源	-0.07	-2.08	0.11
置换時間	0.15	4.86	0.01

(五) 實驗值與實驗預測值之比較

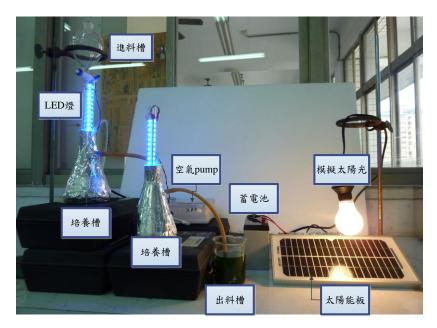
圖(十二)為 Chodatella sp.生質物量實際值與模式預測值之比較。圖中顯示試程之實驗值與預測值極為接近,整體來說,於實際試驗中所得出的生質物量產率以及帶入模式所得知數據,兩者相比較極為接近,於平均值而言,結果令人滿意。



圖(十二) Chodatella sp.對生質物量產率之實驗值與預測值比較

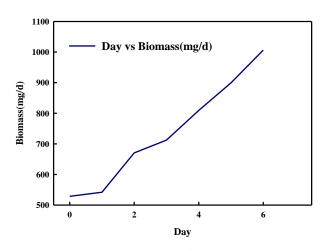
四、設計 LED 光生物反應器

本研究研發的 LED 光生物反應器圖(十二),首先是左上角的進料槽,基質為 畜牧廢水,左下角的三角錐瓶為培養槽,本實驗設計 2 個培養槽進行微藻培養(培 養槽可依據出料需求設計N個),而中間的燒杯為出料槽,最右邊的是提供整套LED 光生物反應器電力的太陽能板及蓄電池。



圖(十二) LED 光生物反應器

本實驗設計一套 LED 光生物反應器並搭配最佳條件培養微藻,培養條件:置換天數2天;置換比例15%;光源藍光,圖(十三)顯示 Chodatella sp.於反應器內培養,有持續且穩定的生長現象,本實驗是設計將藻體培養至所需生質物量時收藻,即設定當微藻之生質物量為1000(mg/L)以上時收藻。



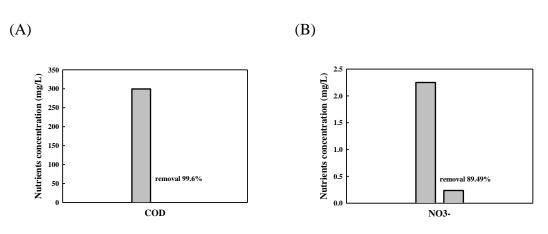
圖(十三) 光生物反應器對微藻生長影響之生質物量

表(六) LED 光生物反應器對 Chodatella sp.生質物量產率與比生長率之影響

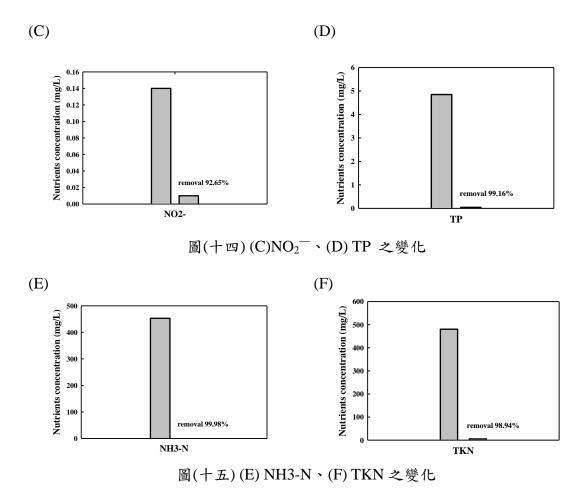
Biomass production (mg/L.d)	230.73(mg/L.d)
Specific growth rate (d-1)	1.89(d-1)

五、LED 光生物反應器探討微藻降解畜牧廢水之功效

於下列圖示顯示,Chodatella sp.對於水質硝酸鹽、亞硝酸、氨氮、凱氏氮、總磷、化學需氧量去除率分別可達 89.49%、92.65%、99.98%、98.94%、99.16%、99.60%,具有良好的降解能力。換句話說 Chodatella sp.能充分的利用畜牧廢水中的營養鹽進行生長,未來廢水來源將會使用例如:工業廢水及家庭廢水......等廢水進行微藻培養,並持續觀察 Chodatella sp.對廢水的降解能力,這樣一來以廢水為基質培養微藻,不但可以淨化水質、降低微藻生產成本,也能避免水體優養化及水污染現象,更能解決廢水任意排放之困擾,達到環境永續及資源再利用之成效。

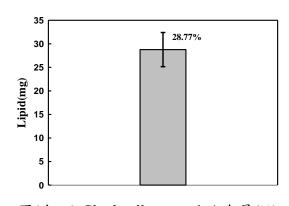


圖(十三)(A) COD、(B) NO₃⁻之變化



六、脂質測定結果

將 LED 光生物反應器培養藻液,進行冷乾形成藻粉,之後將藻粉進行索式萃取,其油脂含量高達 28.77%,證明本實驗設置之光生物反應器的可行性以及此藻種 Chodatella sp.非常具有轉化成生質柴油的潛力。



圖(十六) Chodatella sp.之油脂含量(%)

七、脂肪酸成分分析

將 LED 光生物反應器培養藻液,進行冷乾形成藻粉,之後將藻粉進行轉脂化程序得到生質柴油,再將生質柴油打進 GC 內進行分析後與標準品比較得到物質濃度,與標準品對照,結果顯示亞麻酸甲酯、反式脂肪酸甲酯、苯甲酸甲酯、棕櫚酸油甲酯的含量較高,其碳數為 C₁₆-C₁₈之物質,與生質柴油的組成物質相符,證實此微藻轉酯化後的生質柴油可以使用。

表(七)藻粉經轉酯化反應後之產物

脂肪酸組成	濃度(ppm)
(C13:0) 十三酸甲酯	4.52
(C16:0) 棕櫚酸甲酯	39.53
(C16:1) 棕櫚酸油甲酯	107.26
(C17:0) 十七烷酸甲酯	88.37
(C18:0)硬脂酸甲酯	59.25
(C18:1n9t) 反式脂肪酸甲酯	186.62
(C18:1n9c) 油酸甲酯	49.51
(C18:2n6c) 苯甲酸甲酯	137.82
(C18:3n6) 亞麻酸甲酯	466.02
(C18:3n3) 亞麻酸甲酯	61.88

肆、 結論與應用

一、結論

- (一) 本研究挑選高油脂潛勢之混營性藻種- Chodatella sp.為研究對象。
- (二) 曝氣方式有助於微藻生長,其中曝氣量 0.8 air.L/min.L 最具經濟效益。
- (三) 佈光面積增加有助於微藻生長,其中 36 顆 LED 燈具有較佳培養效果。
- (四) 由部分因素法得知試程 5 相較於其他試程有最佳 Specific growth rate(3.862 d⁻¹)與 Biomass production(69.973 mg / L.d)。
- (五) 光源與置換天數有交互作用關係,且置換天數為主要影響微藻生長之變因。 微藻以 LED 光生物反應器培養之 Biomass production(mg/L.d)高達 230.73 mg/L.d。
- (六) 微藻於 LED 光生物反應器內培養,對於水質 NH3-N、TKN、TP、COD、NO2—、NO3—去除率分別高達 89.49 %、92.65 %、99.98 %、98.94 %、99.16 %、99.60 %,具有良好的降解能力。
- (七) 以反應器培養 Chodatella sp.其脂質含量高達 28.77%。
- (八) 藻粉進行轉酯化得到生質柴油,將生質柴油上 GC 分析,與標準品對照,結果顯示(C16:0)及(C18:0)物質的含量較高,與生質柴油的物質相符,證實此 微藻轉酯化後的生質柴油可以使用。

二、未來應用

(一) 將本研究設計之 LED 光生物反應器放大,可增加微藻之產量。

- (二) LED 光生物反應器可移至室外,太陽光充足時,以自然光培養,並透過太陽能板將光能轉化為電能儲存於蓄電池中,夜晚或光線不足時可以 LED 燈提供光源使微藻繼續生長(可達到 24 小時培養),因此微藻之生質物量可以持續且穩定增加。
- (三)本研究以畜牧廢水為基質培養微藻,未來可以將廢水來源範圍擴大,例如: 使用家庭汙水、工業廢水......等廢水或通入火力發電廠之煙道氣體於反應 器中,作為提供微藻生長之營養鹽,可以降低培養成本,避免水體優養化、 水污染及空氣污染,更能解決任意排放之困擾。

伍、 參考文獻

- 林志生、邱聖壹,2010,光生物反應器於微藻培養之研究與產業化的進展。農業生技產業季刊 22 (p.44-51)。
- 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
- 黄昭霖,2008,LED在微藻養殖之應用。
- 謝誌鴻,2008,微藻培養與微藻油脂生產之研究。
- 徐明芳,2001,光生物反應器衰減特性與螺旋藻生長動力學研究,第25卷第11期。
- 張偉鈞,2011,應答曲面法探討 Chodatella sp.利用畜牧廢水及最適化生質能源應用之研究。
- Aaronson.S , 1973 , Effect of incubation temperature on the macromolecular and lipid content of the phytonagellate Ochromonas danica \cdot J \cdot Phyco1.
- Borowitzka, M.A., 1999 Commercial production of microalgae.
- Carvalho, A. P., Meireles, L. A. and Malcata, F. X., 2011, Microalgal Reactors A

 Review of developmental and Comparative Immunology.enclosed System Designs and Performances.
- H.-L. , 2009 , "RNAi knock-down of the Litopenaeus vannamei Toll gene (LvToll) significantly increases mortality and reduces bacterial clearance after challenge with Vibrio harveyi."
- Lobban, C. S., and P. J. Harrison. , 1997 , Seaweed Ecology and Physiology.
- Pulz, O., · 2001 · Photobioreactors.

- Piorreck, M., Baasch, K. H., and Pohl, P., '2008', Biomass production,total protein,chlorophylls, lipids and fetty acids of freshwater green and blue-greenalgae under different nitrogen regimes, Phytochemistry,
- Richmond, A., , 2000, Microalgal biotechnology at the turn of the millennium.
- Renaud.S. M. Luong-Van T Lambrinidis.G.et a1, 2002, Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures.
- Rocha 2003; Richmond, 2004, Growth aspects of the marine microalga Nannochloropsis gaditana
- Wang Chih-Yu, Chun-Chong Fu, Yung-Chuan Liu. 2007. Effects of using light-emitting diodes on the cultivation of Spirulina platensis. Biochemical Engineering Journal 37(1): 21-25.
- Xin-Hui Xing ' 2011 ' Quantification of a specific bacterial strain in an anaerobic mixed culture for biohydrogen production by the aerobic fluorescence recovery (AFR) technique, Biochemical Engineering Journal.

評語

本計畫是選擇特定本地藻類利用廢水來培養可作為生質柴油原料的藻類。結果不但可以得到具高能量且優質之產物而且可以同時減少汙染,可說是一項非常 有創意之研究。