

等鞭金藻以立體空間量產

何雲達 戴仁祥 陳鴻議 林明男

摘要

本量產系統改良自例行試驗少量需求培養規模之藻類室一、二樓空間，大量生產系統由二樓之水浴槽、暫存培養槽架、培養瓶接種中央工作檯及一樓與室外大容量生產槽所組成。等鞭金藻在二樓水浴槽內(12°C~18°C)保種培養至可接種濃度若未移出接種，仍可繼續增殖 16 至 34 天濃度下降。40L 暫存槽收穫濃度最高可達 300 萬細胞數/mL，濃度最佳增加值每日增加 208 萬細胞數/mL，大量生產之 150 L，600 LFRP 槽與 3000 L 水泥池在收穫時最高濃度分別為 263 萬、289 萬、118 萬細胞數/mL，濃度最佳增加值每日分別增加 195 萬、442 萬、177 萬細胞數/mL。室內 150L 玻璃槽大量批次生產比室外水泥池穩定。大量培養用海水以次氯酸鈉滅菌，儲存於 2 個 10 m³槽，殘餘氯在 1.5 ppm 以下，注入藻類生產槽前先添加含有海波之營養鹽，去除餘氯。

關鍵詞：等鞭金藻、量產

前言

等鞭金藻(*Isochrysis galbana*)一直被視為雙殼貝類浮游苗之最佳餌藻(Loosanoff *et al.*, 1963)，其量產培養是否穩定，為國內單體牡蠣種苗能否成功量產之關鍵因素。早期國外貝類種苗生產，對等鞭金藻之培養經常遭遇不穩定之瓶頸，即使以人工海水培養也未必成功(Walne, 1974)，室內連續式自動生產藻類之模式雖已建立系統流程(Stein, 1979)，其培養槽 16 L，收穫用收集瓶僅 4 或 9 L；以兩個不同時間點開始連續式培養等鞭金藻之比較(Bougaran *et al.*, 2003)，培養容器也僅 2.2 L 而已。另在室外利用自然光之連續式自動培養所建立之模式，其培養槽容量為 250 L，而培養水體僅 68 L，可收穫藻量受限於陽光之照度，但仍未應用於等鞭金藻之培養(Camacho *et al.*, 1990)。微細藻類之大量生產，為相當耗費人力之工作，尤其

以半連續式生產困難之等鞭金藻最為嚴重，在生產流程中，操作時間之掌握不能有所疏失，否則前功盡棄。而等鞭金藻以外之藻類，在室內使用 600 L 之塑膠袋，以半連續式使用滅菌水培養，在未遭受細菌污染的條件下，可維持 2 個月之大量生產(Toba *et al.*, 1992)。

蘇等(1999)以實驗室規模略微擴大生產等鞭金藻，每天 1 m³水之生產量，從 1 L 之藻種量開始時，必須在 13 天前接種 4 個 1 L 之三角瓶，接種用之藻濃度 300 萬細胞數/mL，在此之後每天需持續相同數量之接種，4 個 1 L 瓶需在接種後第五天才能收穫，再一對一轉移到 4 個 12 L 圓桶，而三角瓶收穫後必須隨即清洗，在第五天起每天之工作項目增加了轉移 4 個三角瓶之藻水至 4 個 12L 圓桶及清洗用過之三角瓶，持續 4 天後，第五天 4 個轉移至

12 L 圓桶培養之藻水才可收穫，再以每兩個圓桶轉移成一個 500 L 槽，而用過之圓桶亦需清洗，因此第九天起每天需增加轉移入 2 個 500 L 槽及清洗 4 個圓桶之工作，再過 4 天即第 13 天每天才能收穫 2 個 500 L 之藻水使用，收穫時濃度為 250 萬細胞數/mL，同時清洗用過之水槽，藻細胞數在 13 天之內需增加至少 208 倍，平均每天 16 倍以上。在本試驗場之地理環境條件下，夏季以外經常季節風強勁，日照不足，室外培養很難如此快速增殖，即使偶而能如此快速增殖也未必能穩定維持 7 天以上不出現死亡之藻細胞，而愈大容量培養轉移接種之濃度不宜太稀，以維持在未轉移前可快速增殖階段之濃度範圍內，雖未完全隔絕污染源，但能確保等鞭金藻為優勢種，在不需使用無菌室接種之條件下，有必要改良保種與適量暫存培養之生產系統與操作流程，以建立作業操作標準步驟，任何人經短期訓練後，即可依步驟進行高效率大量生產，因此利用藻類室一、二樓及室外立體空間進行量產試驗。同時亦應用冬季低溫低照度期，細胞增殖緩慢且不被污染，使用空間足夠且操作方便之水浴槽，作為需快速增殖大量培養前之儲存。

材料與方法

等鞭金藻量產流程為利用藻類室一、二樓立體空間，由二樓之水浴槽內 2.5 L 三角瓶大量保種開始，保種溫度控制在 12~18°C 間，保種瓶數 120 個，視需要移出槽外自然回溫至 23~25°C，接種至 2.5 L 三角瓶以高溫高壓滅菌水稀釋，或直接接種至 5.2L 保特瓶，瓶數 96 個進行暫存培養，再接入 24 個 40 L 玻璃槽，在二樓之多層木架立體空間，採靜置暫存培養，再以虹吸管原理移入一樓之 30 個 150 L 玻璃

槽，或可直接由 5.2 L 保特瓶移入 150L 玻璃槽，稀釋後培養至快速增殖階段，以動力抽移至室外 600 LFRP 槽與 3000 L 水泥池各 10 個，150 L 玻璃槽開始為量產流程需打氣，且可視需求收穫育苗。

藻類培養用海水以含殘餘氯方式儲存，在儲存期間被污染的機會可降低，使用前需用硫代硫酸鈉(海波)中和去除殘餘氯，避免傷害藻類，處理槽所加注之次氯酸鈉(漂白水)有效氯濃度控制在 1.5 ppm 以內，而用來中和次氯酸鈉之海波量略高些，讓藻水中略含有海波殘留，則多注入一些含氯水之失誤，亦不致於傷害藻類。

一、水浴槽內三角瓶保種培養

水浴槽設置在藻類室二樓靠窗側，直接利用自然光，與輔助用單管日光燈裝於牆面，水浴槽由 10mm 厚玻璃板所組裝，寬 50 cm，長 1170 cm 分東西兩側各 585 cm，槽內水位高 7~10 cm，控制水溫 12~14 °C 作為各種藻類之低溫適量保種。純化種取自東港生物技術組，接種方式為倒出小三角瓶上層藻細胞活動力較佳之藻水，瓶底留下 1/4~1/5 水量，為沈澱於底部濃度較高之藻細胞，再注入高溫高壓滅菌水與營養鹽，讓原保種瓶底部活動力較差之藻細胞繼續增殖。

為瞭解等鞭金藻在水浴槽內之增殖週期，將可移出分瓶接種之測試瓶，停止分瓶稀釋，每隔 3~7 天測定測試瓶藻水吸光值，每瓶測定採樣方式有二，方式一為均勻混合前取自然聚集於水體頂端最高濃度部位，方式二為混合後取水樣。為方便實際應用，吸光值之測定使用最簡易低價位之單一波長測定儀，因鐵質濃度測定儀所使用之呈色指示劑，加入含鐵質之水樣呈現茶褐色，接近高濃度等鞭金藻之顏色(兩者高濃度可獲得最大吸光值之波長均為

410 nm)，而各不同濃度等鞭金藻由此測定儀測出之對應吸光值，經回歸分析可得直線方程式，較血球計數器檢測快而被應

用，但不同一台測定儀之光源強弱略有差異，所得直線方程式不同，必須固定使用同一台。

等鞭金藻量產系統操作流程圖

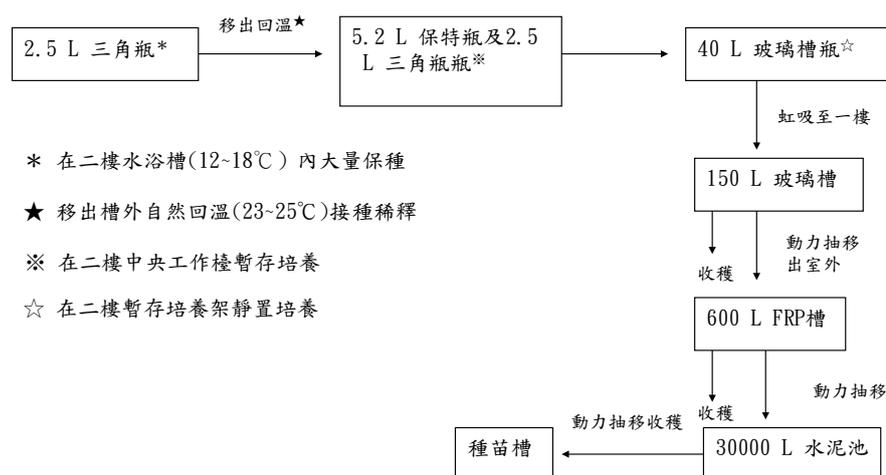


Fig. 1. Flow chart represented mass production of *Isochrysis galbana*.

二、二樓水浴槽外暫存培養

在二樓內側牆面擺置高 60 cm 寬 40 cm 厚 20 cm 之 40 L 玻璃槽 24 個，使用輔助光源為省電式燈泡，兩槽共用兩盞燈，以一高一低懸吊，槽內最高照度為 9000 lux。同時使用 5.2 L 之礦泉水保特瓶，擺置於玻璃槽架底下之空間，裝設雙管式日光燈，光線向下照射，在瓶內之最高照度為 4500 lux。保特瓶之種原由 2.5 L 三角瓶接入，採一對一接入，再以一倍水量稀釋，經過 1~3 天倒入 40 L 玻璃槽，3 瓶倒入 1 槽再注滿水位，稀釋一倍多。保特瓶橫向接種，由一瓶接成兩瓶，再接成 4 瓶或甚至 8 瓶。

2.5 L 三角瓶為台灣模在大陸量產之特殊規格，放置於滅菌釜之置物板上或水

2.5L 三角瓶為特殊規格，放置於滅菌釜之置物板上或水浴槽內、操作檯或培養架上，擺置最省空間，操作方便，經分批大量使用，在水浴槽外進行多瓶數之暫存培養，使用高壓高溫滅菌水稀釋，到達一定濃度以 3 瓶倒入一個 40 L 玻璃槽，分兩次注入次氯酸鈉滅菌水，即接入後注半槽水，隔日注滿槽水。

三、一樓室內及室外大量培養

一樓室內使用 16 個 300L 水槽，以兩個水槽一組，擺在外側，內側擺置 30 個 150 L 槽，亦兩個水槽一組，保留中央通

道，每組水槽間保留有操作空間，將空間充份利用。注入培養用海水水管為 35 mm 軟管，分東西側兩組，各組長度適當方便操作，注水量大，注水速度快。抽出藻水之水管亦比照注水管之管徑與配置，抽出槽底清洗污水管為內徑 20 mm 之耐壓管，不受泵浦之吸力而變形。

四、次氯酸鈉滅菌海水溶存低殘餘氯方式儲存，使用時加入海波去除殘留氯之方式應用。

結果與討論

等鞭金藻量產系統改良之目的在於以最少的人力與時間，穩定生產符合需求之品質與量，達成牡蠣單體種苗大量生產，穩定供應業者需求之目標。改良後之藻類立體空間量產系統可建立作業操作標準步驟，任何人經短期訓練後，即可依步驟進行高效率生產，其他大量培養困難度高之藻種，亦可應用本量產系統，調整部分流程進行生產。當等鞭金藻在室外大量培養因天氣變化而不穩定時，則需調整流程進行室內生產，以較密集人力反覆操作半連續式培養仍可供應種苗需求。

一、水浴槽內三角瓶保種培養

在水浴槽之三角瓶內活力較強之藻細胞自然向上聚集，未更換新瓶，每週至少接出一次，當較大之保種瓶藻細胞活力不佳瓶數日漸增多，為維持足夠之大瓶瓶數，小三角瓶每隔三或四天即可接出，相隔接出時間愈短，原保種瓶可維持愈長時間不老化，長達三個月以上，但若因操作時間失誤，超過一週以上未將原保種瓶接出稀釋，則部份保種瓶內之藻細胞因老化而不再增殖，則必須淘汰更換新瓶。如此類推 500 mL 與 2.5 L 及 3.5 L 之寬底瓶之

較多瓶數保種亦採取相同之接種方式，即將活力較佳之上層藻水移出，保留原瓶底部再予稀釋，當發現有老化未增殖之瓶，則予淘汰清洗換新瓶。

由於保種瓶連續長期使用未更換清洗，不但瓶壁附有藻屍，瓶底也有硬化之沈積物堆積，清洗前需使用鹽酸溶解附著物，再以試管刷刷洗後清除殘留之鹽酸。改良後以 2.5 L 三角瓶作為在水浴槽內培養等鞭金藻之保種三角瓶，最少保種量為 12 瓶，可視需要增加至 96 瓶。保種三角瓶接種與移出不超過三次即予更換新瓶，使用高壓噴水槍射出水柱很容易沖下附著物，瓶頸以試管刷加強刷洗，不再使用鹽酸即可沖洗乾淨。每次培養更換新瓶後立即清洗，可縮短每次清洗所需時間，清洗後隨即注入海水，以鋁箔紙封口存放，因滅菌處理時間需 2~3 小時，在滅菌前後保種三角瓶均用於儲備滅菌水，擺置於木架上之特定空間。滅菌釜更換為全自動型，置入滅菌瓶後旋緊滅菌釜門蓋，按下電源開關即可，完成滅菌後鍋內壓力雖已歸零，但與鍋外仍有壓力差，需微開排氣閥緩慢排出鍋內熱氣，避免瓶內高溫水再沸騰溢出，可處理 2.5 L 三角瓶 28 個為舊型之兩倍。

在水浴槽內降低溫度培養可減緩藻細胞之增殖速度，但仍保有增殖力，水浴槽內降溫水之深度可視需要調整，在大量培養生產期間，保持較低水位，但降溫水之深度為標準保種瓶(2.5 L 三角瓶)高度之一半至 3/5，水溫再下降 1~2°C，則保種瓶內藻水溫度有分層現象，上高下低，而等鞭金藻具有活動力，則必有向上集中之現象，接種後之初期低濃度階段最明顯，上下溫差愈大也有相同效果。大量培養生產必須增加保種瓶數即可，接種時將各個種原瓶內聚集之高濃度部份倒出少許藻水量

移入備接種之新瓶，原瓶注水稀釋後放回水浴槽或移出回溫，備接入 5.2 L 保特瓶或直接接入 40 L 玻璃槽。藻類濃度測定快速又簡易所用之鐵質濃度測定儀，應用於等鞭金藻濃度之測定，與血球計數器所測得之每 mL 細胞數，所得之對應圖為直線。如 Fig. 2，Y 軸為血球計數器所測定之每 mL 細胞數值，X 軸為由鐵質濃度測定儀測得之吸光(OD)值，經回歸分析所得

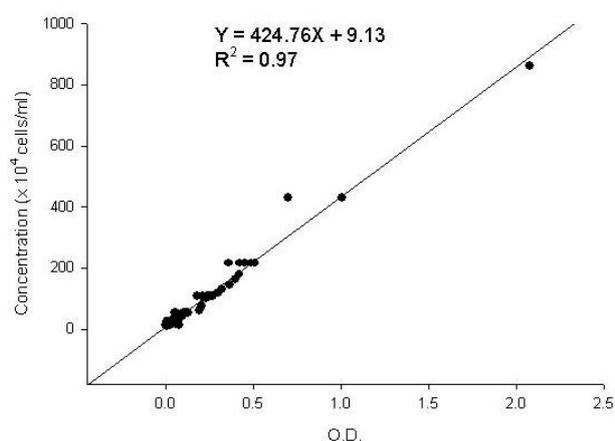


Fig. 2. The relationship between concentration (cells/ml) and optical density.

方程式為 $Y = 424.76X + 9.13$ ， $R^2 = 0.97$ ，當吸光值趨近於 0 時，實際藻類濃度仍有接近 10 萬個細胞數/mL，因此濃度低於 10 萬細胞數/mL 即無法測得。而等鞭金藻使用大容器(超過 100L)之大量培養濃度超過 300 萬細胞數/mL 相當困難，一般在 1~200 萬細胞數/mL 之範圍，吸光值超過 0.6(260 萬細胞數/mL)即予稀釋或餵飼貝類種苗。

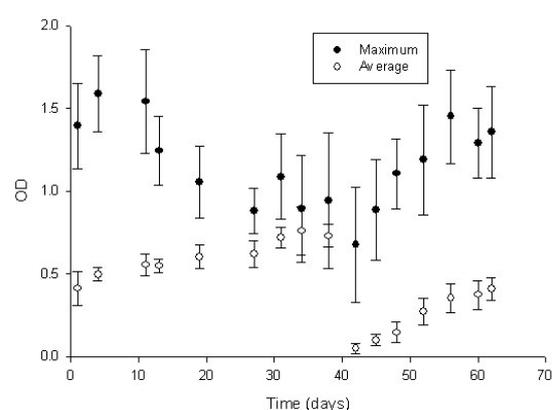


Fig. 3. Variation of optical density of *Isocrysis galbana* stock in the cold water bath.

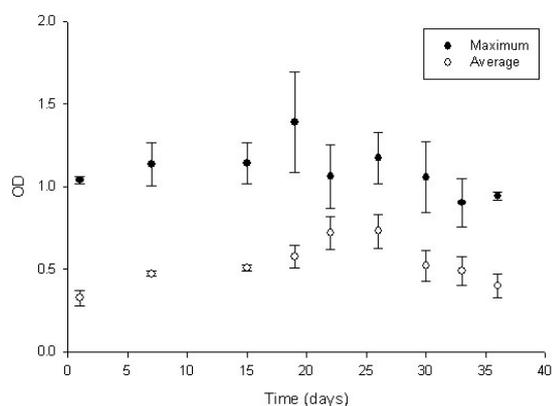


Fig. 4. Variation of optical density of Tungkang strain *Isocrysis* stock in the cold water bath in winter.

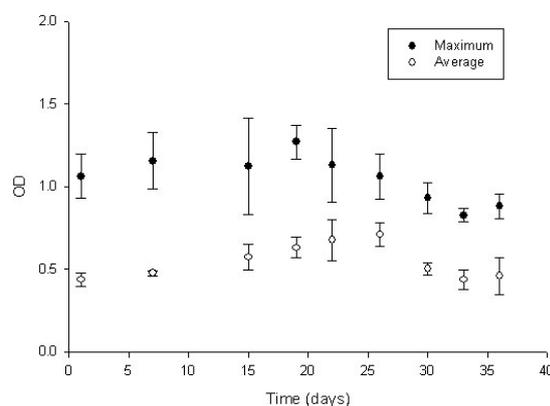


Fig. 5. Variation of optical density of Tahiti strain *Isocrysis* stock in the cold water bath in winter.

等鞭金藻在水浴槽使用 2.5 L 三角瓶保種培養，不予打氣，培養水溫成層，藻細胞向上方高溫處聚集，在一、二月份低氣溫期每隔 3 至 7 天測定 9 個培養瓶，其平均增殖狀況如 Fig. 3，在開始測定之第 4 天聚集濃度達最高值，之後隨平均濃度上升而下降，在第 27 天降至最低，但在第 34 天平均濃度達最高值為 332 萬個細胞數/mL，其聚集濃度之增加有限，仍較最高之平均濃度高。在第 38 天平均濃度開始下降，重新開始以極低濃度接入新瓶，各瓶之聚集濃度與平均濃度再次逐漸增加，在第 56 天平均聚集濃度達最高值，平均濃度仍在增加中，在第 62 天，發現 3 瓶平均濃度急速下降，僅 1 瓶增加，4 瓶略下降，1 瓶不變，停止測定，總平均濃度為 183 萬個細胞數/mL。

同樣在一、二月份以三重複比較東港株與大溪地株之等鞭金藻在水浴槽內不打氣之增殖狀況如 Fig. 4 與 Fig. 5，東港株第一次測定之平均濃度與聚集濃度均低於大溪地株，兩株在第 19 天聚集濃度均達最高值，而東港株高於大溪地株，在第 26 天兩株之平均濃度亦同時達最高值，仍以東港株高於大溪地株，此後兩株之平均濃度均逐漸下降，在第 33 天大溪地株降至最低，第 36 天略微回升，而東港株在第 36 天下降較明顯，平均濃度低於大溪地株，停止測定。在六、七月份之高氣溫期同樣進行東港株與大溪地株等鞭藻在水浴槽內不打氣培養增殖狀況之比較，為四重複組，測定結果如 Fig. 6、Fig. 7，在第一次測定時東港株之平均濃度高於大溪地株，在第 8 天東港株之聚集濃度達最高值後下降，而大溪地株在第 16 天才達最高值後下降，兩株之平均濃度均在第 16 天達最高值後下降，在第 22 天兩株確定不再增殖，均以極

低濃度重新接種，接種後第 8 天東港株有 1 瓶濃度未增加，第 13 天東港株有 2 瓶濃度降為 0 而結束測定，但大溪地株之各瓶平均濃度與聚集濃度均明顯增加，在夏季氣溫偏高期間，水浴槽內保種瓶未浸泡於低溫水之部份，瓶內水體溫度必較冬季低氣溫期高，以致到達最高平均濃度之天數較短，當藻類濃度一旦開始下降，從下降濃度藻水中取出藻細胞重新接種，接種後之增殖狀況較不穩定，且有不再增殖之現象，以東港株藻細胞較為明顯。當東港株等鞭金藻以不打氣靜置培養，濃度增加達 100 萬細胞數/mL 後，在培養藻水表面常出現有不活動藻細胞覆蓋，而大溪地株僅在培養容器最高水位處留下一條線痕。

二、二樓水浴槽外暫存培養

在改良為立體空間暫存培養前，二樓內側架上之 14 槽玻璃缸內藻水，使用抽水機一缸缸抽至一樓之 300L 玻璃槽，視狀況樓上一缸對應樓下一缸，或兩缸對一缸，因此每次換缸需有人員在樓下更換管線出口末端，或由樓上之人員下樓更換。當每缸接近抽完藻水時，人員需抬高一邊傾斜使藻水完全抽乾，再立即關閉抽水機電源，避免泵浦內之水全部流失，以致換缸時需重新灌水排出空氣，泵浦才能產生吸力。又由於在架上清洗用過之玻璃槽需抽排清洗之廢水，需另外使用一台專排污水之抽水機，而污水管線亦需獨立，或視需要連通。使用多年後，因抽水機逐台故障，藻水排至樓下改應用虹吸管原理，以抽水機灌水將水管內之空氣排除，槽內水即自然以重力流下一樓，長期使用污水抽水機容易故障，以虹吸排污很容易吸入空氣造成水流中斷，改用較小型之 40L 玻璃槽，重量較輕，搬移不費力也不危險，在

清洗瓶罐處以高壓水噴槍噴水柱清洗，亦相當快速。

由於使用 5 L 三角瓶以日光燈培養等鞭金藻，其增殖密度可高達 1000 萬細胞數/mL 之成功次數或瓶數相當多，類似於以扁瓶培養，因此一樓之培養槽改用寬度僅 20 cm，長度 120 cm 高 75 cm 之強化玻璃水槽，水容量 150 L，共 30 槽採每兩槽一組，共用一組 4 燈管之 40W 日光燈，各燈管有獨立之電源開關，視需要使用燈管數，4 支燈管全開在槽內之照度 3500~7500 lux 以培養等鞭金藻為主。如此在樓上 24 槽對應樓下之 30 槽，可一對一接入，則需兩人操作，一人在樓上一人在樓下變換管路末端以注入不同之水槽，否則需由一人上下一二樓重複操作，必相當煩瑣勞累。經過改良將樓下 30 槽之注水管各別延伸上二樓，在二樓即可選擇需注入之特定槽，管線穿透樓板，在樓上將該 30 根管線互相連通，每 8 槽共用一個注入管口，注入口兩側各 4 槽，則注水用移動式虹吸管不需太長，方便使用，藻水管內排氣亦方便，將樓下各槽編號，在樓上對應之各閥亦予編號，開啟所需注入之管閥，其餘各閥關閉，即可正確無誤的注入該槽，人員不需上下樓，而不同藻種有不同組之排注管線，則可同時操作，均以虹吸管方式吸排，僅使用一台磁力式抽水機即可。

水浴槽外之暫存培養一直維持靜置不打氣之方式，水浴槽內每一個 2.5 L 三角瓶對應一個 5.2 L 保特瓶接種，在注入滅菌水稀釋前，需經 5~8 小時之回溫，避免水溫急速升高傷害藻細胞。保特瓶暫存培養如同三角瓶之保種培養，不打氣而蓋上瓶蓋，瓶蓋僅罩住未旋緊，搬移時易脫落，經進行旋緊瓶蓋完全氣密對增殖之影響測試，完全氣密分保留瓶頸有氣室及藻水全滿無氣室，及僅罩住未旋瓶蓋可通氣為對

照組，以 10 瓶重複比較，各瓶接入相同種原，稀釋後之濃度均為 90 萬個細胞數/mL，52 小時後以對照組平均濃度最高 150 萬個細胞數/mL，有氣室者 145.5 萬/mL，全滿者 141.2 萬個細胞數/mL，利用保特瓶培養可以瓶蓋隔絕來自空氣中之污染源，經進行旋緊瓶蓋完全氣密對增殖影響之測試結果，相差並不明顯。

因此若稀釋用水可完全滅菌，則在理論上亦可以保特瓶為保種容器，經進行保特瓶橫向擴充接種之測試，每隔 2~3 天稀釋一倍水量，則 6~10 天可由 1 瓶增加為 8 瓶，但由 4 瓶接成 8 瓶後並不穩定，常發生濃度不增反下降，而由 2 瓶接成 4 瓶再倒入 40L 玻璃槽，亦有類似現象，並非各槽均無法增殖，而有幾槽未增殖，若擴充為 8 瓶則增殖均減緩，再接入 40 L 槽後，各槽均無法增殖。如此保特瓶僅能作為暫存培養用。若當 40 L 槽有空槽時，未必需由保特瓶暫存，直接由 2.5 L 三角瓶以高溫高壓滅菌水保種兼作暫存用，直接接入 40 L 槽，則可提高在該槽內濃度增加之速度。

由測定結果如 Fig. 8 所示，為 40 L 槽暫存培養至收穫移槽之平均濃度，及培養期間以日為單位所增加之濃度。橫軸為依時序由春夏至秋冬培養操作批次，每批次之培養期，最少 8 小時最多 78 小時，各批次培養槽數 4 至 13 槽不等。縱軸為增殖至收穫之濃度，測定吸光值之平均數，及該期間以日為單位所增加之濃度。藻類濃度值在一段時間內之變化速度，有些研究者以成長率 (growth rate) 表示 (Brown *et al.*, 1998; Valenzuela-Espinoza *et al.*, 1999; Phatarpekar *et al.*, 2000)，即兩次測定之濃度以細胞數/mL 為單位，各取自然對數 (\ln) 值之差，與時間 (以天為單位) 之比值 (μ 無單位/天)，無法與所測定之濃度單位有所

比較，易與吸光(OD)值相互混淆，在現場作業人員間避免採用。在Fig. 8中第1至6批次為3月底所進行之操作測試，第7、8批次為4月初及中旬所測試，第9至17批次為5月初至5月中所測試，第18、19批次為6月中旬測試，第20至24為9月中旬及10初中旬測試。若將未增殖之各培養槽與日增殖率為負值部份剔除，且該批次未增殖槽數剔除後不足2槽，亦將該批次剔除，則少了

4批次。在40L玻璃槽內暫存培養亦為不予打氣之靜置培養，藻細胞有聚集現象，測定藻水採樣如同水浴槽內之保種三角瓶，分採表層水體與混合平均後之水體，以瞭解藻細胞之活力，當表層濃度高於混合平均濃度表示活力良好，反之表示藻細胞沈在底部，攪拌後濃度增高。當接入東港株種原，培養藻水表面常出現無活力藻細胞覆蓋，不易完全混合。

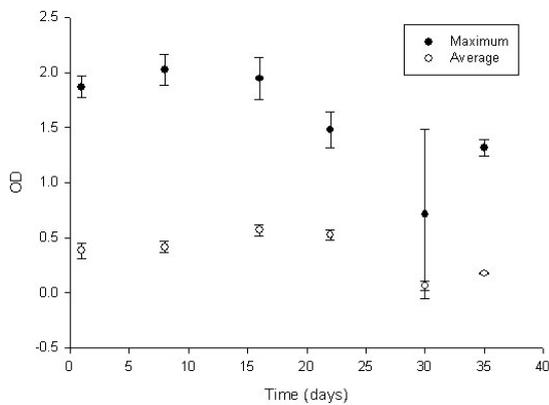


Fig. 6. Variation of optical density of Tungkrang strain *Isocrysis* stock in the cold water bath in summer.

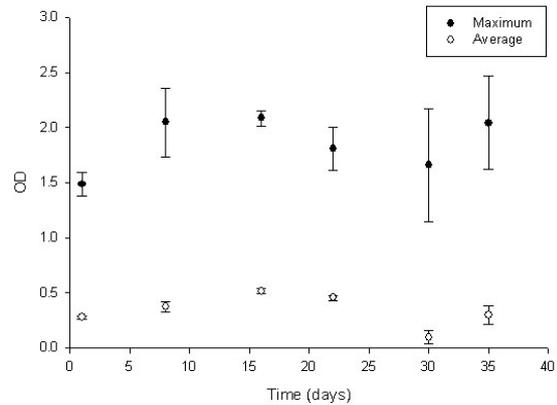


Fig. 7. Variation of optical density of Tahiti strain *Isocrysis* stock in the cold water bath in summer.

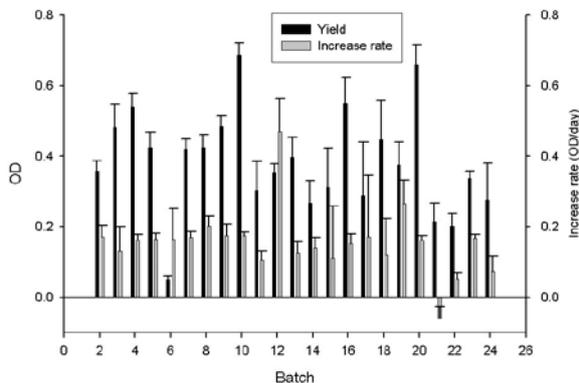


Fig. 8. Mean optical density and increase rate at each batch culture in 40 liters glass tanks at yield.

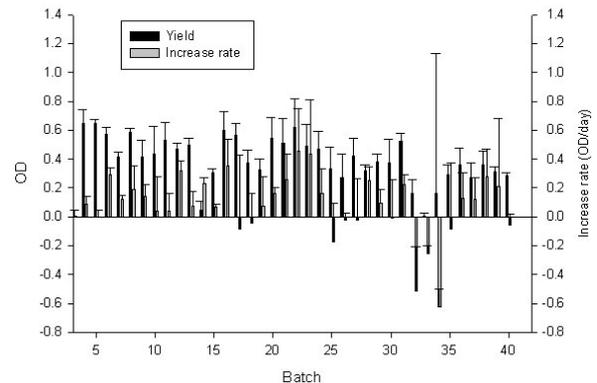


Fig. 9. Mean optical density and increase rate at each batch culture in 150 liters glass tanks at yield.

由 Fig. 8 所示在 40 L 槽培養至收穫之平均濃度，3、4 月份收穫之平均濃度最高可達 240 萬細胞數/mL，而濃度最佳增加值每日增加 95 萬細胞數/mL，在 5、6 月份收穫之平均濃度最高可達 300 萬細胞數/mL，濃度最佳增加值為每日 208 萬細胞數/mL。9、10 月份收穫之平均濃度最高僅達 150 萬細胞數/mL，濃度最佳增加值為每日增加 81 萬細胞數/mL。

然而暫存培養之目的不在於其可增殖之最高濃度，而在於最佳增殖率之維持，確保後續之打氣培養可維持較長期間之穩定增殖，可如同綠色系藻類半連續式培養生產，節省批次培養清洗培養槽之時間。但當打氣培養不穩定時，水浴槽外之暫存培養方式需予調整，即增加 2.5 L 三角瓶使用數量，仍以高溫高壓滅菌水接入種原，在水浴槽外之室溫培養，再直接接入 40 L 玻璃槽；而水浴槽移出者接入 5.2 L 保特瓶，亦同時增加瓶數，則每 6 個保持瓶移入一樓一個 150L 玻璃槽，縮短流程。在二樓之 40 L 槽藻水亦可直接移入室外之 600 LFRP 槽，由 4 個 40 L 槽集中移入 1 個 600 L 槽，由於輸送管線切換方便，效率可提高。且 40 L 槽為批次使用，每一批次暫存以不超過 3 天為原則，清槽時無藻屍附著於槽壁與底部，以高壓水噴槍之水柱稍予沖刷即乾淨。

三、一樓室內及室外大量培養

一樓室內培養槽在早期共有 22 個 300 L 玻璃槽，分內外兩側擺置，中央為走道，從樓上接入藻水或注入稀釋用海水，均使用移動式延長軟管，由中央部位拉向東西兩側延伸，分注各槽，管徑為 16 mm，注水速度慢，後來改為固定式注水管，各槽均有注水閥，可同時小水量注水，因速度

慢，注水時人員暫時離開，經常遺忘而溢出。藻水抽排出室外亦用 16 mm 軟管，以強力沈水泵浦抽出較快。

藻類培養室一樓內側擺置 30 個 150 L 強化玻璃槽，兩個水槽共用一組光源，水槽寬度僅 20 cm 透光可提高，而空間已充份利用。藻類種原由二樓提供，每槽有獨立之注入水管，管閥在二樓控制，僅需確認編號，一個人操作即可節省時間與體力，注入稀釋用水與抽排收穫藻水使用較大管徑水管，均能縮短操作時間提高效率。由於排水無高度差，各培養槽均無底部排水孔之設計，槽底略微傾斜一端使用較強之動力抽排，抽乾較自然流出時間短，再使用吸塵器即可完全乾燥。若二樓暫存培養之槽數與瓶數足夠多，可調整 2 個 40 L 槽對應 1 個 150 L 槽，不到一倍水之稀釋量，濃度增加快，縮短培養至可收穫之時間，減少燈光照度則可調整較長時間暫存，視需求量而定。

抽出槽底清洗廢水之馬達操作改良為自動交替切換式，操作人員不需來回切換注入自來水之開關閥，以電磁閥自動控制。後來將抽清洗水泵浦改用高速抽水機吸力較大，將泵浦出口管之末端提高且放大管徑，可暫存一定水量，在較低水位部位可少量排水，即抽水量變小時，高水位出口處水位高度下降，可由水位控制器偵測感應，決定馬達啟動或停止。即水位不夠高停止，自動切換自來水閥開啟，注入自來水提高水位，而感應到高水位則馬達啟動，自來水電磁閥自動關閉，停止供水，泵浦繼續抽出槽底少量之污水，而水槽固定傾斜一側，不需在抽乾藻水時才由人員操作暫時傾斜，洗完再恢復，因排水吸力夠強，而不需太大之固定傾斜度。但最後仍有少許殘留之較乾淨水，再手動切換吸

塵器將水完全吸乾。而吸塵器之應用並非將污水直接吸入吸塵器之儲存桶，另有以 200 mmP.V.C.管改裝之污水儲存桶，以提高儲存水量，底部排水管裝逆止閥，吸塵器斷電自動排水，而抽水機浦與吸塵器連通管間之逆止閥易遭阻塞而失效，因此完全吸乾槽底水，必須手動操作，以連續抽排數個水槽可避免人員來回切換水閥開關。

最後將抽排藻水及抽排污水之幹管固定，設有 4 個類似消防栓之軟管接頭，減短軟管移動長度，每一接頭接管後可處理 12~14 槽，兩組軟管才不致於糾纏打結。而抽排藻水原使用 0.75HP 之沈水泵浦，重 5.5 kg 操作費力，最後改用高速抽水機在室外抽吸，而水槽內有大口徑之小型沈水泵浦，僅 0.7 kg 相當輕便，將藻水抽至高速抽水機之管線內，高速抽水機出水口之直立支管水位上升，由水位控制開關啟動電源，將藻水吸出並輸送至室外 F.R.P. 槽，或直接送至室內之育苗池，均配有固定管線，而當高速抽水機自動啟動後，小型沈水泵浦可先切斷電源，若操作人員暫時離開，藻水抽乾，高速抽水機可自動斷電停止，將各槽藻水抽完後，則需開啟自來水開關閥，以自來水將管線內及泵浦內之藻水完全排出，將自來水留於管內，可降低泵浦遭受海水腐蝕之機會，避免藻類在管線內死亡。

在 150 L 槽內各培養批次增殖至收穫之濃度如 Fig. 9，每批次最少 6 槽，最多 24 槽，增殖期最短接近 6 小時，最長超過 72 小時。第 1 至 4 批次為 3、4 月份所測試，收穫時所增殖之平均濃度最高為 285 萬細胞數/mL，濃度最佳增加值為每日增加 101 萬細胞數/mL，第 5 至 12 批次為 5、6 月份所測試，收穫時之增殖平均濃度最高為 257 萬細胞數/mL，濃度最佳增加值

為每日增加 124 萬細胞數/mL。第 13 至 22 批次為 9 月份所測試，收穫時增殖平均濃度最高為 263 萬細胞數/mL，濃度最佳增加值為每日增加 195 萬細胞數/mL；第 23 至 29 批次為 10 月份所測試，收穫時之平均濃度最高為 209 萬細胞數/mL，濃度最佳增加值為每日增加 117 萬細胞數/mL，第 30 至 39 批次為 11 月份所測試，收穫時之平均濃度最高為 161 萬細胞數/mL，而濃度最佳增加值為每日增加 127 萬細胞數/mL，此期間培養不穩定，出現不增殖槽數相當多，以致有 5 個批次每日平均增殖值為負值。而有不少批次出現濃度下降之培養槽，將未增殖之槽數剔除後，若該批次不足 2 槽亦將該批次剔除，因而少了 7 批次。

當藻類需求量不多，等鞭金藻在 150 L 槽生產過剩可直接抽入室內種苗池，立即飼育貝類種苗，則不考慮藻細胞受傷害之程度，以最快速度抽移即可，由小型沈水泵浦串連高速抽水機抽出最快，每槽 2 分 10 秒可抽完 150 L 水量。若抽移至室外 600 LFRP 槽維持緩慢增殖，則以不經過高速抽水機為宜，避免藻細胞受傷害，可切換分支管由小型沈水泵浦抽出室外，每槽抽完需 5 分 10 秒，抽排之同時可清洗使用過之空槽，若保留 1/2 或 1/3 藻水作為種原，則可同時注水稀釋，操作人員可自行控制作業時間，一次清理 24 個水槽 2 小時 30 分鐘可完成，但濃度測定與藻細胞活動力鏡檢時間近 1 小時。

由一樓室內抽移出之等鞭金藻在室外 FRP 槽，僅作為育苗前之短時間蓄養，增殖力極不穩定。而較穩定之方式改為從二樓直接虹吸接入室外 FRP 槽再稀釋培養，Fig.10 為室外 600 LFRP 槽各批次培養至收穫之平均濃度，每批次最少 3 槽，最多 8 槽，增殖期最短 2.5 小時，最長有 78.5

小時者。第 1 至 3 批次為 5、6 月份所測試，藻水由一樓室內移出增殖濃度不高，收穫時所增殖之平均濃度最高為 154 萬細胞數/mL，濃度最佳增加值為每日增加 100 萬細胞數/mL；第 4 至 13 批次為 9 月份所測試，藻種由二樓所接入，收穫時所增殖之平均濃度最高為 289 萬細胞數/mL，而濃度最佳增加值為每日增加 442 萬細胞數/mL，為第 13 批次在 4 小時內由 6 槽所換算而得，第 14 至 20 批次為 10、11 月份所進行之測試，收穫時所增殖之平均濃度最高為 228 萬細胞數/mL，而濃度最佳增加值為每日增加 203 萬細胞數/mL。但剔除濃度未增加之各槽，僅剩下 16 批次。而水泥池培養僅有 3 個批次，最少 3 池最多 6 池，僅在 9 月份測試，如 Fig. 11 收穫時所增殖之平均濃度最高為 118 萬/mL，濃度

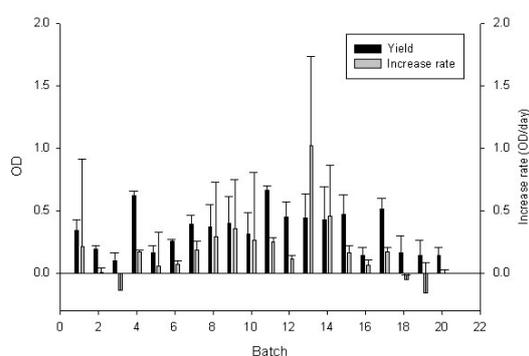


Fig. 10. Mean optical density and increase rate at each batch culture in 600 liters FRP tanks at yield.

四、次氯酸鈉滅菌海水溶存低殘餘氯方式儲存，使用時加入海波去除殘留氯之方式應用：

藻類培養用水以含有殘餘氯方式儲存，如同自來水般，較方便使用，僅需先加入適量海波於培養槽，即使槽內已有藻類，注水稀釋方便又快速。而培養藻類添

最佳增加值為每日增加 77 萬/mL，增殖狀況很不理想。

依據 Bougaran *et al.* (2003)以兩個時間起始連續式培養等鞭金藻之比較，可分以批次培養至穩定期才開始連續式培養，及一開始即以連續式培養，比較兩者之收穫平均濃度，溶氧及營養鹽消耗率、光合作用率極大值 (maximum gross photosynthesis rate)均無差異，但兩次試驗之日稀釋率不同，收穫之平均濃度亦不同，第一次試驗之日稀釋率為 1，收穫平均濃度為 900 萬細胞數/mL，第二次試驗之日稀釋率為 1.08，收穫平均濃度為 770 萬細胞數/mL，該系統共有 6 個 2.2L 之培養槽，由電腦程式控制水溫、pH，固定照度、打氣量、水流量，以紅外線吸光值監測藻類濃度變化，其生產量必竟有限。

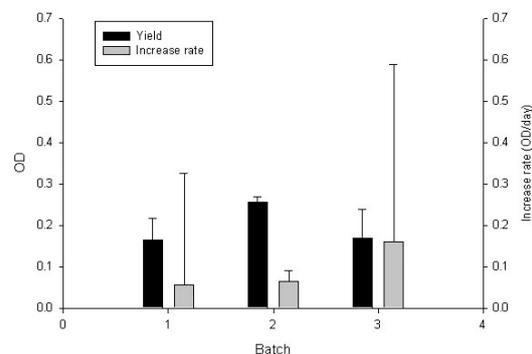


Fig. 11. Mean optical density and increase rate at each batch culture in 3000 liters cement tanks at yield.

加營養鹽的時機改在注水稀釋前，則海波以固定濃度與營養鹽混合，添加營養鹽即添加了海波，使用更為方便，若海波濃度太高將與營養鹽內某些成份產生沈澱，但仍具有去除殘餘氯之能力，對藻類之培養效果，在短期內並不明顯。一般藻類大量培養槽數不多之情況下，使用次氯酸鈉滅

菌之方式大都為一槽一槽個別滅菌(蘇, 1999), 在培養槽接入藻種前一天或前 1 至 2 小時使用較高濃度之次氯酸鈉滅菌, 添加之濃度約 10 ppm, 再以 10 ppm 海波中和後立即接種, 依據海波中和氯氣之反應式(陳, 1983), 在水中 1 ppm 之氯氣需 6.99 ppm 之海波可完全去除, 因此次氯酸鈉與海水滅菌作用後, 殘餘氯必須在 1.5 ppm 以下。在海水中含有極低濃度之殘餘氯, 對海水中浮游生物產生毒性, 如牡蠣擔輪子幼苗 1 小時之安全濃度 LC₇₋₁₉ 為 0.01~0.028 ppm, 而 LC₁₁₋₂₃ 為 0.051~0.138 ppm (周, 1986), 由於藻類細胞增殖速度快, 且殘餘氯之衰減亦快, 在較低之餘氯濃度下, 無慢性毒問題。

使用次氯酸鈉滅菌海水大量培養等鞭金藻之增殖效果並不穩定, 雖會出現猛暴性之增殖, 但不常見, 一般經過 5 次以上之轉移容器稀釋後, 增殖力下降, 或死亡大於增殖而濃度下降, 尤其以室外露天培養更顯著, 不適合一般的水泥池大量培養。除非像在以色列(Boussiba *et al.*, 1988) 設計有環狀槽且以人工海水培養, 底面積 100 m²水深僅 12 公分, 打入 CO₂ 控制 pH 值, 即使每日氣溫高低變化超過 16°C, 水流每秒 30 cm, 培養濃度可高達 4,300 萬細胞數/mL, 半連續培養可維持 15 天。

參考文獻

周昱翰 (1986) 總殘留氯對真牡 *Crassostrea gigas* 幼生期急毒性之研究. 國立台灣大學海洋研究所碩士論文, 台北, 81 pp。
 陳建初 (1983) 水質管理, 九大圖書公司, 台北, 234 pp。
 蘇惠美 (1999) 餌料生物之培養與利用。台灣省水產試驗所東港分所, 105 pp。
 蘇惠美、歐陽又新、朱元南、張明毅、周瑞仁、楊朝麟 (1999) 餌料生物暨水產種苗生

產自動化專輯, 37pp.

Bougaran, G.; L. L. L. Déan, E. Lukomska, R. Kaas and R. Baron (2003) Transient initial phase in continuous culture of *Isochrysis galbana* affinis Tahiti. *Aquat. Living Resour.*, 16: 389-394.
 Boussiba, S., E. Sandbank, G. Shelef, Z. Cohen, A. Vonshak, A. Ben-Amotz, S. Arad and A. Richmond (1988) Outdoor cultivation of the marine microalga *Isochrysis galbana* in open reactors. *Aquaculture*, 72: 247-253.
 Brown, M.R., M. A. McCausland and K. Kowalski (1998) The nutritional value of four Australian microalgal strains fed to Pacific oyster *Crassostrea gigas* spat. *Aquaculture*, 165: 281-293.
 Camacho. F., E. Molina., Ma. E. Martinez., S. Sanchez and F. Garcia (1990) Continuous culture of the marine microalga *Tetraselmis* sp. productivity analysis. *Aquaculture*, 90:75-84.
 Loosanoff, V. L. and H. C. Davis (1963) Rearing of bivalve mollusks. *Adv. Mar. Biol.*, 1: 1-136.
 Phatarpekar, P. V.; R. A. Sreepada.; C. Pednekar and C.T. Achuthankutty (2000) A comparative study on growth performance and biochemical composition of mixed culture of *Isochrysis galbana* and *Chaetoceros calcitrans* with monocultures. *Aquaculture*, 181: 141-155.
 Stein, J. R. (1979) *Handbook of Phycological Methods Culture Methods and Growth Measurements*. Published by the Press Syndicate of the University of Cambridge. 448 pp.
 Toba, D. R., D. S. Thomopson, K. K. Chew, G. J. Anderson and M. B. Miller (1992) *Guide to manila clam culture in Washington*.

- Printed in the United States of America.
Published by Washington Sea Grant
Program University of Washington. 80 pp.
- Valenzuela-Espinoza, E.; R. Millán-Núñez and F. Núñez-Cabrero (1999) Biomass production and nutrient uptake by *Isochrysis aff. galbana* (Clone T-ISO) cultured with a low cost alternative to the f/2 medium. *Aquacult. Eng.*, 20: 135 – 147.
- Walne, P. R. (1974) *Culture of Bivalve Molluscs. 50 years' experience at Conway*, Fishing News (Books) Ltd. Surrey, England. 173 pp.

Improvement and operation tests of the mass-culture system of marine microalga, *Isochrysis galbana*

Yun-Dar Ho, Ren-Shyang Tai, Hon-Yee Chen and Min-Lan Lin

Abstract

The mass-culture system of marine microalga is improved by routine culture system in a two floors building. The system consists of a cold water bath that contain hundreds of 2.5 L flasks and more than 8 dozens of 5.2L PE bottles, 2 dozens of 40 L glass tanks that on center table and side frame at second floor. First floor and outdoors have thirty 150 L glass tanks and ten 600 L FRP tanks and 3000L cement tanks, respectively. Each tanks of temporary culture microalga is transferred to larger tanks by siphon downstairs. Microalga cultured on first floor was transfered to outdoors by pumping. The average concentration of microalga stock culture in the cold water bath (12~18°C) increases 16 to 34 days then declines. The highest concentration of this microalga temporary culture in 40L glass tanks is 3×10^6 cells/mL and its maximum increasing concentration is 2.08×10^6 cells/mL/day at yield. But mass-culture in 150 L glass tanks, 600 L FRP tanks and 3000 L cement tanks gets their highest mean concentration of 2.63×10^6 , 2.89×10^6 , 1.18×10^6 cells/mL and with their maximum increasing concentration of 1.95×10^6 , 4.42×10^6 , 1.77×10^6 cells/mL/day, respectively. Microalga in cement tanks grew slowly and decline, in FRP tanks become bloom sometimes. However, microalga was cultured in 150 L glass tanks indoor grew more stable than other vessel of this system. The seawater is sterilized by chlorine and stocked in two 10 m³ tanks with the chlorine residual below 1.5 ppm. Sodium thiosulfate mixes with nutrients was added to microalga culture tanks before sterile seawater with chlorine residual is filled.

Keywords: *Isochrysis galbana*, mass-culture system