

# 應用腰鞭毛藻與光合菌於微生物燃料電池之開發

方慧萍，黃佩菁，吳佳晏，林重宏\*

大葉大學生物資源學系，彰化縣大村鄉學府路 168 號

\*電子郵件: clin@mail.dyu.edu.tw

## 摘要

當今地球上的人們愈到了兩個難題，一是能源危機，原本賴以生存的石化燃料，目前已因為開採將盡，價格日益攀昇，二是全球暖化，自工業發展以後全球的二氧化碳排量逐日增加，隨著溫度的上升及海平面的上升，已經威脅到了野生動物的生存，更甚威脅到人類的生存。所以，替代性能源的開發已經悄悄進行了許久，使用自營性的微生物做為直接或間接產電的基礎，將化學能轉換成電能，製成微生物燃料電池 (microbial fuel cells, MFCs)，並可以應用到廢水處理，如此一來不但解決了能源問題，也解決了一部分的環保問題。這個實驗以與美麗海葵 (*Aiptasia pulchella* Carlgren 1943)行共生的腰鞭毛藻 (Dinoflagellate)和光合菌為研究材料，應用於微生物燃料電池的開發。取腰鞭毛藻  $8.75 \times 10^5$  mL 為陽極，以白金(Pt)為催化劑，外部電阻為 22M, 1M, 1K 歐姆( $\Omega$ )，電阻 1K  $\Omega$  的電流 0.06 微安培(uA)為最高。光合菌是自營性細菌需要厭氧性環境下培養，取菌量 1.0 O.D，測其電壓，電流，於電阻 1K $\Omega$ 得 2.61 微安培(uA)電流。初步結果顯示有微弱電流的產生，進一步分析如提高細胞數，光照，電極的材質等將持續分析測試。

關鍵字: 共生藻，腰鞭毛藻，光合菌，微生物燃料電池

## 前言

微生物燃料電池 (microbial fuel cells, MFCs)是用微生物催化有機化合物的化學能轉成電能的設備，並且作為一個可持續性的生物能源，最初的測試光合行為生物燃料電池(PhotoMFCs)是1960年代開始，在發電的微生物燃料電池中，電子通過生物催化劑從基質解放至陽極通過外部負載電流，並結合了陰極電子受體通過電或生物催化降低 (Rosenbaum, He et al. 2010)。MFCs並且用於處理廢水 (Yu, Liang et al. 2011)，降低使用糧食作物開發的成本 (Cusick, Kiely et al. 2010)。目前已開發出了多種類型的MFCs，包括單室、雙室、上流式、扁平化、管狀設計等等 (Cheng and Logan 2011)。以開發的微生物燃料電池應用的種類很多，例如藍綠藻，研究顯示藍綠藻  $0.55 \text{ mA/m}^2$  的電流密度的最大功率密度  $114 \text{ mW/m}^2$  (Yuan, Chen et al. 2011)。光合色藻類供電MFC產生了細菌所製造的微生物燃料電池，暴露於光 ( $4000\text{x}$ )，功率密度增加了8-10 % (Xing, Cheng et al. 2009)，顯示電壓的產生與光照有正相關，且不需提供有機物質。

光合菌 (photosynthetic bacteria, 簡稱PSB)是由光能轉換為化學能，是地球上最早出現具原始光能的原核生物，在厭氧環境下進行不生成氧氣光合作用之細菌，光合細菌可將氨 ( $\text{NH}_3$ )、亞硝酸( $\text{NO}_2$ )、硫化氫 ( $\text{H}_2\text{S}$ )，轉為生長所需的養分。光合菌可 a. 用於水產養殖上能將硫化氫( $\text{H}_2\text{S}$ )，水， $\text{CO}_2$ 分解合成糖類及硫酸，而硫酸又可中和氨 ( $\text{NH}_3$ )，可改善養殖池環境，降低病害及提高產量降低魚群的死亡率; b. 光合細菌中含有豐富蛋白質，維生素，菌綠素，生長素，類胡蘿蔔素等，可做為魚貝類飼料當中的添加劑，使魚群健康的生長，增加魚體內的抗生素；c.光合菌也可以生產出許多酵素，增加水中不足的部分。由於培養光合菌須要在完全無氧的狀況下，不允許有其他雜菌的污染，照光的時間的考量不足夠，培養所需的溫度和其pH值的影響，都會直接影響光合菌的生長。

近年來研究人員提出希望利用光合微生物，作為微生物燃料電池的生物催化劑，重點在於有效的產電及符合經濟效益，本實驗採用與美麗海葵共生的腰鞭毛藻以及光合菌作為微生物燃料電池的燃料，長期培養腰鞭毛藻，於植物生長箱培養，其數目於 $2 \times 10^6$ /毫升達到飽和，光合菌則是以OD值分析固定菌量，並且將應用開該光合性微生物的潛在經濟價值，如高性能且持久的產電。

## 材料與方法

藻類培養

以人工海水培養腰鞭毛藻並加入一些養份，使其能夠維持正常功能，我們採用 f/2 培養基的配方 (Roberto Iglesias-Prieto 1992)，配製成 1 公升用來養殖腰鞭毛藻的海水。以 24°C 恆溫培養 (Karwath, Janofske et al. 2000)，並給予 12 小時日照及 12 小時黑暗 (Spector 1984)，直到生長到足夠量的藻，再繼續進行測試部分。

#### 光合菌培養

以淡水培養基 80mL 和光合菌 20mL 並於 100mL 培養瓶培養，以 24°C 恆溫培養，並給予 12 小時日照及 12 小時黑暗為周期，照度(lux) 2900 使其能夠維持正常功能並生長。培養基的成分與配置如下：

| 微量元素溶液                                               |        |
|------------------------------------------------------|--------|
| K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>                      | 1g     |
| NaCl                                                 | 0.5g   |
| CaCl <sub>2</sub>                                    | 0.01g  |
| FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O                | 0.02g  |
| MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O                | 0.002g |
| MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O                | 0.2g   |
| Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O | 0.001g |
| 蒸餾水                                                  | 1L     |

| 淡水培養基以 4°C 保存        |       |
|----------------------|-------|
| 淡水光合基配置              | 1L    |
| Sodium succinate     | 5g    |
| NH <sub>4</sub> Cl   | 1g    |
| 微量元素                 | 100mL |
| 蒸餾水                  | 900mL |
| Yeast extract 酵母菌萃取物 | 0.5g  |

並煮沸 1min 攪拌溶解，其 PH 值範圍在 7.0~7.5，之後滅菌 25min，培養基放冷後至於 4°C 冰箱存放。

#### 電壓電流測試

以白金電極(長 2cm，寬 0.2cm，高 0.1cm)來做為催化劑，取不同量的藻或光合菌，測試不同電阻，電壓電流的產出，以萬用電錶 prova 803(Prova Instruments Inc. Taipei, Taiwan) 及電腦記錄，以 30 秒取一數值連續跑 15min 以上，並將結果記錄下來製作成圖。

### 結果與討論

以共生藻為材料的初步實驗，取固定藻量  $8.75 \times 10^5$  細胞/mL，以白金(Pt)絲作為陽極(-)與陰極(+)，將腰鞭毛藻置於陽極，兩極之間連接外電阻，22M，1M，1K 歐姆( $\Omega$ )，以雙通道電錶紀錄電壓與電流(圖 1)。在電阻 22M  $\Omega$ ，海水的電壓值為零，若是電阻為 1K  $\Omega$ ，電壓值最高可達 11 mV，而含有藻的電池，在電阻 22M  $\Omega$ ，電壓值最高可達 110mV，隨著外部電阻的下降，電壓值明顯下降，如電阻為 1K  $\Omega$ ，電壓值趨近於 0 mV。在電阻 1K  $\Omega$ ，海水的電流值為負值，顯示電流的方向是流向陽極(藻)。而含有藻的電池，電流值曾達 0.09  $\mu$ A，而後趨近於零，隨著外部電阻的增加，電流值有下降趨勢。結果顯示外部電阻下降，電壓下降，電流增加。

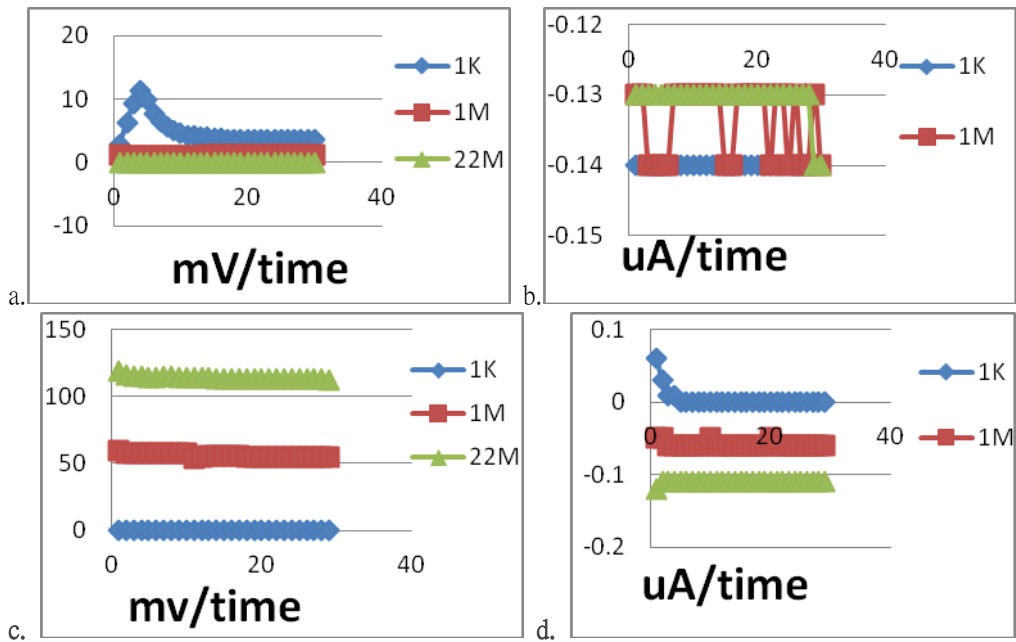


圖 1 共生藻不同電阻條件下電壓及電流產值。取外電阻， 22M， 1M， 1K 歐姆( $\Omega$ )，以海水為對照組，分析以 30 秒取一數值，讀取 30 min。**a.** 海水對照組 30 min 期間的電壓值。**b.** 海水對照組 30 min 期間的電流值。**c.** 藻 30 min 期間的電壓值。**d.** 藻 30 min 期間的電流值。

光合菌源自環境樣本，分析其生長曲線顯示光合菌的生長最高點是在 36 天時所測得的 O.D 值 1.734，而後生長趨緩，可能達到飽和(圖 2)。以光合菌為材料的微生物燃料電池初步實驗，同樣以白金(Pt)絲作為陽極(-)與陰極(+)，將光合菌置於陽極，兩極之間連接外電阻， 22M， 1M， 1K 歐姆( $\Omega$ )，以雙通道電錶紀錄電壓與電流(圖 3)。電阻 22M  $\Omega$ ，電壓值最高，達 110 mV，而電流最低，低於零。電阻 1K  $\Omega$ ，電壓值最低，0，而電流值最高，達 2.5  $\mu$ A。由此可知電阻越小時所測出電流越大，電壓越小。與共生藻相比較，共生菌所產生的電流較大。

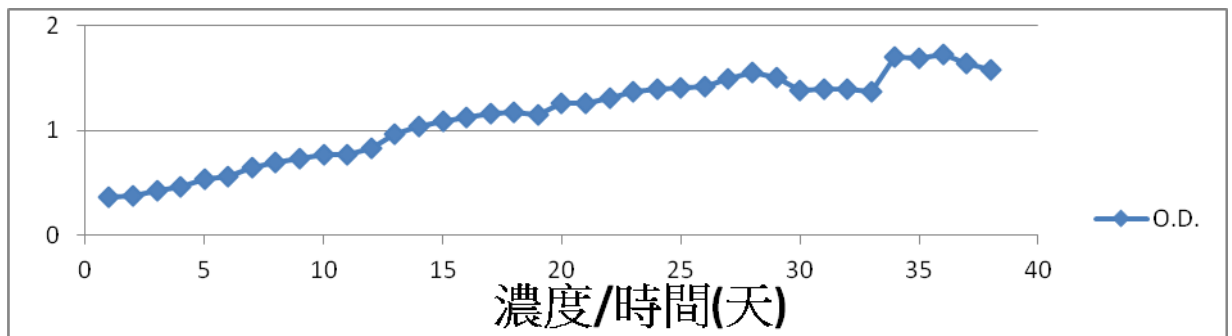
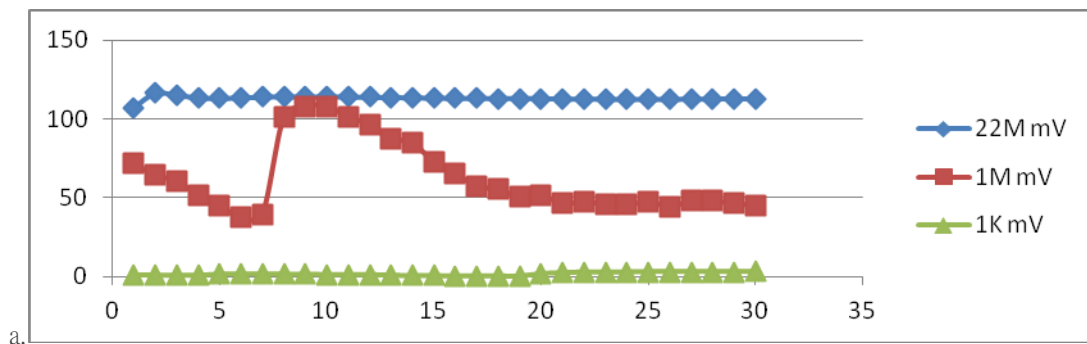


圖 2.光合菌生長曲線圖。每天固定時間固定的量測定 O.D.值。



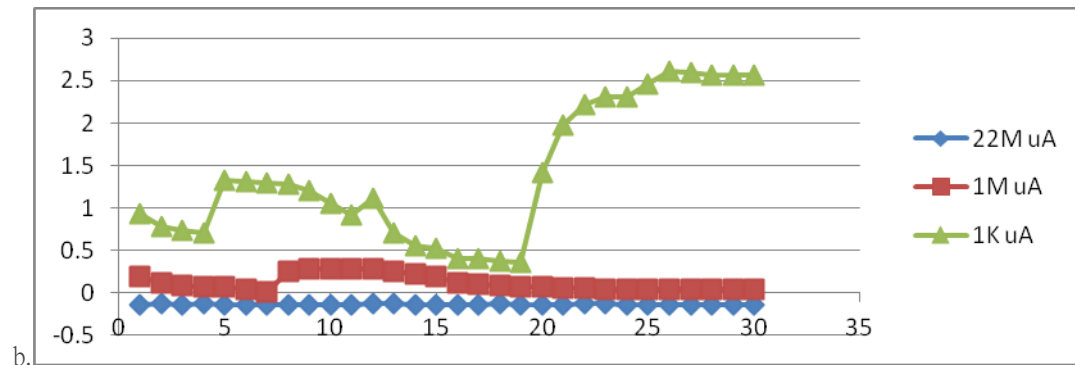


圖 3 光合菌不同電阻條件下電壓及電流產值。取外電阻， 22M，1M，1K 歐姆( $\Omega$ )，分析以 30 秒取一數值，讀取 30 min。a. 光合菌於不同電阻下的電壓數據海水對照組 30 min 期間的電壓值。b. 光合菌於不同電阻下的電流數據。

光合作用型微生物燃料電池(photosynthetic microbial fuel cells, photoMFCs)為一種整合光合作用與微生物燃料電池，直接利用光能轉化成電能或是間接利用，以達到電能永續生產的目的。目前已經開發的光合作用型微生物燃料電池，有些利用光合菌將電子直接傳給陽極，如應用藍綠藻，*Spirulina platensis*於光合作用型微生物燃料電池研究顯示，將藻 1.2g/cm<sup>2</sup>直接置於陽極表面，於避光的條件下，可產生 0.39 伏特的電壓，在照光的條件下則有 0.29 伏特電壓 (Fu et al., 2009)。 *Rhodobacter sphaeroides*，一種無氧光合菌，則藉由光能產生氫氣及氫氣氧化的過程產生電子，在照光和避光的條件下，功率密度分別為 790 mW/m<sup>2</sup>與 0.5 mW/m<sup>2</sup>，和光合作用活性有正相關(Cho et al., 2008)。應用光合型的微生物與異營性細菌的結合裝置，如藍綠藻*Synechocystis Pcc-6803*與來自淡水池塘的微生物所形成的生物膜於單室光合作用型微生物燃料電池，顯示電壓的產生與光照有正相關，且不需提供有機物質，緩衝溶液及電子傳遞媒介物(Zou et al., 2009)。為了使藻能夠合適生長及異營性細菌能在避光下產電，則將藻培養與微生物燃料電池分開，微生物發電所需的有機物質由藻行光合作用提供，可以達到連續產電 100 天(Strik et al., 2009)。應用鹽沼植物*Spartina anglica* 根部所提供的有機物質連接一微生物燃料電池，電流產生持續 119 天而最大功率有 100 mW/m<sup>2</sup>(Timmers et al., 2010)。不論是直接或是間接光合作用型微生物燃料電池，其優勢為能源的永續產出。

初步實驗的測試，腰鞭毛藻和光合菌在特定數量的情況下，光合菌的電流產值表現優於腰鞭毛藻，以 1K  $\Omega$ 的電阻最為明顯，電阻越大其電壓越小，電流就會越高，相反則電流越小。後續的實驗如最佳產電的條件，如藻量，電極材質與距離，光照對產電的影響，評估持續產電效能等都是重要的工作，這些實驗結果有助於評估最佳產電的條件，最佳化的電池裝置，及持續產電效能。

#### 參考文獻

- Cheng, S. and B. E. Logan (2011). "Increasing power generation for scaling up single-chamber air cathode microbial fuel cells." *Bioresour Technol* **102**(6): 4468-4473.
- Cho, Y.K., et al. (2008). Development of a solar-powered microbial fuel cell. *J Appl Microbiol* **104**(3): 640-650.
- Cusick, R. D., P. D. Kiely, et al. (2010). "A monetary comparison of energy recovered from microbial fuel cells and microbial electrolysis cells fed winery or domestic wastewaters." *International Journal of Hydrogen Energy* **35**(17): 8855-8861.
- Fu, C.C., et al. (2009). Effects of biomass weight and light intensity on the performance of photosynthetic microbial fuel cells with *Spirulina platensis*. *Bioresour Technol* **100**(18): 4183-4186.
- Karwath, B., D. Janofske, et al. (2000). "Temperature effects on growth and cell size in the marine calcareous dinoflagellate *Thoracosphaera heimii*." *Marine Micropaleontology* **39**(1-4): 43-51.
- Roberto Iglesias-Prieto, J. L. M., Wendy A. Robins, and Robert K. Ternch (1992). "Photosynthetic responses to elevated temperature in the symbiotic dinoflagellate *Symbiodinium microadriaticum* in culture." *Department of biological sciences and the marine science institute, university of California* **89**: 10302-1030

- Rosenbaum, M., Z. He, et al. (2010). "Light energy to bioelectricity: photosynthetic microbial fuel cells." Current Opinion in Biotechnology **21**(3): 259-264.
- Spector, D. L. (1984). "Dinoflagellates." **12**.
- Strik, D.P., et al. (2008). Renewable sustainable biocatalyzed electricity production in a photosynthetic algal microbial fuel cell (PAMFC). Appl Microbiol Biotechnol **81**(4): 659-668.
- Timmers, R.A., et al. (2010). Long-term performance of a plant microbial fuel cell with *Spartina anglica*. Appl Microbiol Biotechnol **86**(3): 973-981.
- Xing, D., S. Cheng, et al. (2009). "Change in microbial communities in acetate- and glucose-fed microbial fuel cells in the presence of light." Biosensors and Bioelectronics **25**(1): 105-111.
- Yu, C.-P., Z. Liang, et al. (2011). "Nitrogen removal from wastewater using membrane aerated microbial fuel cell techniques." Water Research **45**(3): 1157-1164.
- Yuan, Y., Q. Chen, et al. (2011). "Bioelectricity generation and microcystins removal in a blue-green alga powered microbial fuel cell." Journal of Hazardous Materials **187**(1-3): 591-595.
- Zou, Y., et al. (2009). Photosynthetic microbial fuel cells with positive light response. Biotechnol Bioeng, **104**(5): 939-946.

Applied dinoflagellate (*Symbiodium sp.*) and photosynthetic bacteria on the development of microbial fuel cells

Huei Ping Fang, Peijing Huang, Judy Wu, Chorng-Horng Lin\*

Department of Bioresources, DaYeh University, 168 University Rd, Changhua 515, Taiwan

\*Email: [clin@mail.dyu.edu.tw](mailto:clin@mail.dyu.edu.tw)

Because of the depletion of fossil fuels, increasing energy consumption for industry and economic development, global warming and environmental pollution, there is an increasing need for sustainable renewable energy. Microbial fuel cells (MFCs) have been developed, providing clean, sustainable energy that electrical energy was transformed from the oxidation of organic molecules in electrochemically active bacteria and also applied on the complex substrates present in wastewaters. Further, photosynthetic microbial cells (photoMFCs) or Microbial solar cells (MSCs) used solar energy to produce electricity or chemicals that direct electron transfer between a photosynthetic biocatalyst and the anode of a MFC, or either electrocatalysts or heterotrophic bacteria on the anode to convert photosynthetic products supplied by autotrophic plants or algae indirectly. In this study, we would develop a device of MFC with the dinoflagellate and the photosynthetic bacteria as the autotrophic source. Platinum (Pt) was used as the electrode materials and cells were applied on the anode. Performance of the MFC in terms of voltage and current was measured for the resistance: 22M, 1M, and 1K  $\Omega$ . The primary results showed that for the algae the highest current was 0.06  $\mu\text{A}$  at 1K  $\Omega$ . For photosynthetic bacteria, the highest current reached 2.61  $\mu\text{A}$  at 1K  $\Omega$ . Further analyses, increased biomass, light, and electrode materials will be investigated to improve the performance of the MFCs.

Keywords: dinoflagellate, *Symbiodium sp.*, photosynthetic bacteria, microbial fuel cells