

探討使用螺旋藻開發微生物光合燃料電池之 可行性

陳志義、魏嘉延

摘 要

本研究螺旋藻構造簡單，與其他藻類比較，具高葉綠素含量、生長週期短、光合作用高；另外，螺旋藻具有生質油源、二氧化碳減量、生物化學品(DHA)、生物放電等高附加價值特點。本研究探討螺旋藻培養的溫度、氮源對螺旋藻成長之影響，長時間生物放電能力；由實驗設計法中找尋螺旋藻最佳培養條件。由實驗結果得到最佳培養條件為：使用 ZARROK 培養基 14.68 g/L (含 0.125g/L 尿素、3.125g/L NaNO_3)、 30°C 、40W 日光燈照射下，每 50mL 螺旋藻，收集生物量(biomass)為 0.554g/L；7h 放電過程，可收集總庫侖為 0.42 C、電壓維持在 0.26 V。由實驗結果可知，利用螺旋藻進行光合燃料電池的應用，深具可行性。

關鍵詞：螺旋藻、最佳培養條件、生物量、光合燃料電池。



Development of microbial photosynthetic fuel cell by using *Spiruling platensis* microalgae

Chih-I Chen, Chia-Yen Wei

Abstract

In this study, *Spiruling platensis* has simple structure compared with other algae, high content of chlorophyll, short growth cycle, and strong photosynthesis. Moreover, *Spiruling platensis* has some high value-added characteristics of having biomass oil source, reduction of carbon dioxide, Docosahexaenoic Acid (DHA), and bio-discharge. The research explores the effects of cultivation temperature of *Spiruling platensis* and source of nitrogen on growth of *Spiruling platensis*, the long-term biological discharge ability, and finding the optimal culture condition of *Spiruling platensis* through various designs of experiments. The result shows that the optimal culture conditions as follows : adding 1.48 g/L ZARROK plate media which contains 0.125 g/L Urea and 3.125 g/L NaNO₃ under the condition of 30°C and 40 watt irradiation of fluorescent lamps, the biomass of 0.554 g/L is collected per 50 mL *Spiruling platensis*. In the process of discharge for 7 h, the total Coulomb of 0.42 C is collected and the voltage is kept in 0.26 V. Consequently, the result shows that the application of photosynthetic fuel cell is high feasible by using *Spiruling platensis*.

Keywords: human serum albumin, antibody, urinary micro-albumin, point-of-care-testing.



一、前言

現今科技發達的時代，人類利用能源的歷史可追溯至史前時代，火為最早使用的能源。18 世紀前動力來源主要是人力、獸力、水力及風力；工業革命後，蒸汽機提供了機械動力，隨後帶動了化石能源(如石油、天然氣...等)、水利、地熱、核能、太陽能、潮汐、風力...等，其中以化石能源的應用比例最高。近幾年來，人類日益追求優渥的生活品質，能源的需求量也因此快速增加，以往認為是取之不盡、用之不竭的天然資源也如同蔽履般不受重視，但現今能源的饋乏已成為人類的最大問題；尋找替代能源是目前各國最關注的話題，生質能源的開發與應用，也成為關注的焦點。

目前，各國所採用的生質能源原料 [1]，主要仍是集中於第一代的糧食作物（如玉米、大麥、裸麥、甘蔗、木薯等）與非糧食作物（如麻瘋樹子、棕櫚樹）發酵產生酒精或製作的生質柴油；第二代非糧食原料（如農作物的莖-稻桿、玉米桿等農作廢棄物以及雜草等）或都市廢棄物（如廢棄食用油等）製造酒精或柴油。第一代原料與人或畜牧動物食用的作物爭地、造成國際糧食作物價格上揚；因此，人們紛紛將焦點轉向第二代非糧食原料或廢棄物，希望能將廢棄的植物纖維素，

轉化為能源，而第二代原料仍是有栽植面積或原料不足、纖維素前處理成本過高的問題。因此，除了持續開發可降低第一、二代生質能源生產成本的技術外，歐、美、日等國家均積極開發第三代生質能原料-藻類，低等的植物。藻類中微藻單細胞直徑小於 1 mm [2-3]，通常呈單細胞、絲狀體或片狀體，構造簡單，整個生物體都能進行光合作用。具有光合效率高、生長週期短的特點，目前螺旋藻是最主要研究微藻菌。

本研究目的找尋影響螺旋藻細胞生長與放電量的因素，包括發酵溫度、氮源種類與濃度。藉由實驗設計法中，找尋最佳培養條件，獲得最大產量的藻類跟螺旋藻總放電之庫容量。

二、文獻探討

2.1 藻類簡介

藻類是最原始的植物，根據化石遺跡推斷，距今三十五億年前就出現在地球上。藻類屬於真核細胞，無根、莖、葉分化，含有葉綠素及其他輔助色素，可捕捉太陽能，進行光合作用。藻類的種類繁多，目前已知大約有三萬多種，依照其構造型態、色素種類、儲存物質等分類，可以分成藍藻門(Cyanophyta)、原綠藻門(Prochlorophyta)、綠藻門(Chlorophyta)、輪藻門(Charophyta)、裸藻門



(Euglenophyta)、褐藻門(Phaeophyta)、金藻門(Chrysophyta)、甲藻門(Pyrrhophyta)、隱藻門(Cryptophyta)與紅藻門(Rhoophyta)等十大植物門。藻類的分佈很廣，從水域到陸地都有其蹤影，有底棲或著生的大型藻，如綠藻、褐藻、紅藻等，這些大型的藻類通稱為「海藻」。海洋中的藻類大多數是屬於漂浮在水中的微藻類，大部分為單細胞、群體或絲狀，其體型從幾微米到 200 μm ，必須藉由高倍顯微鏡才能看清楚。

藻類對於人類的生活息息相關，可應用於許多領域。近年來發現有些微藻含有豐富的多元不飽和脂肪酸(Polyunsaturated fatty acid, PUFA)，如二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)與二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)等，其可以當作人類的健康食品。目前綠藻(*Chlorella*)及螺旋藻(*Spirulina*)已廣泛被大量培養做為保健食品。由於藻類具有高光合作用能力，可利用火力發電廠排出的煙道氣，吸收其中的二氧化碳以提供生長，達到減少廢氣的排放量[4]。

2.1.1 影響藻類生長的因子

由於藻類必須吸收光來進行光合作用進而生長，所以其最主要的生長限制因子為光。其次， CO_2 為藻類進行光合作用不可或缺的物质，因此對於藻類生長也具

有相當的重要性。文獻上也指出，因為混合效果會引響到藻類受光的亮暗頻率，進而影響到其生長。以下將分別介紹光、二氧化碳、混合效果對於藻類的影響。

2.1.1.1 光之影響

由於光是藻類生長的主要限制因子，所以了解光的基本性質在培養藻類上是有其必要性的。光在介質中傳播時，有一部份能量會介質被吸收然後轉換為熱能，此現象稱為光的吸收性質。此外，還有一部分能量被介質中的質點散射到四面八方去，此現象稱為光的散射性質。以下就分別介紹光的吸收及散射性質。光線通過均勻的透明介質(如玻璃、清水)時，從側面是難以看到光線的。如果介質不均勻，像是有懸浮微粒的混濁液體，便可以從側面清晰看到光束的軌跡，這是因為介質中的密度分佈不均勻，如煙(氣體中飄浮著固體微粒)、霧(氣體中飄浮著液體微粒)、懸浮液(液體中懸浮著許多固體微粒)、乳狀液(彼此兩種不互溶的液體混合液)，使得光線在傳播的過程中便有一部分離開原來傳播的方向，往別的方向傳播，此現象就稱為光的散射。研究中將應用光在空氣中傳播會產生散射現象，設計新型光生化反應器。對於光的一些性質有基本的了解以後，以下就分別介紹光對於藻類生長的一些影響因素。



(1) 光照強度之影響：

可見光的波長介於 380-750 nm。但是藻類並不能完全吸收全波長的光來進行光合作用，只能吸收相當接近可見光的波長 400-750 nm 的光進行光合作用，此波長範圍的光就稱為光合作用有效輻射 (photosynthetically active radiation, PAR)。對於光自營性生長的藻類，需要充足的光照以行光合作用，然而光照太強卻會抑制其生長[5]。

(2) 光照路徑之影響：

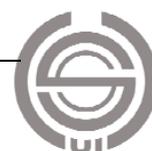
在藻類培養系統中，光線所通過的路徑稱之光徑(light-path)。根據文獻，光照強度隨著藻類濃度及光徑長度增加而以指數關係逐漸衰減，通常以 Lambert-Beer's Law 來模擬此現象。當培養系統的光徑太長時，使得光線無法穿透全部藻液，造成部份區域完全沒有光線照射。或者隨著培養時間增加，藻類濃度上升，藻類彼此間會互相遮蔽光線(mutual shading)，使得光線較難穿透藻液，只能照射到部份藻液。藻類培養系統因此可分成兩區域，光線可到達的區域，稱為光區，在此區域藻類可進行光合作用，而光線無法到達的區域稱為暗區，在此區域藻類幾乎沒有光線可以利用，因此沒有光合作用發生。通常光區所佔培養系統的比例相當小，舉例來說，入射光強度為 $500 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 照射在濃度為 1 g/L 的

Englena gracili 培養系統中，光線僅能到達光徑約 2cm 的範圍內。

光徑長度對於藻類的生長具有重要的意義。以平板反應器來說，將 *Nannochloropsis* 培養於不同光徑長度的平板反應器下進行研究，在光徑較短的反應器，藻類可以充分受到光照，所以濃度較高，但是培養體積較低，藻類產量並不高，反而是在中間長度光徑有最高的產量[6]。代表在此光徑長度下，藻類具有最佳的光使用效率，而此光徑長度就稱為最適光徑(optimal light-path)。

2.1.1.2 CO₂之影響

藻類體內約含有 40-50 % 的碳，若是要生成 1 kg 藻類細胞，需要約 1.5-2.0 kg CO₂ 以供生長代謝，故碳對於藻類的重要性可見一般[7]。就自營藻類來說，能利用無機碳源進行生長。溶於水中的無機碳源，包含 CO₂、H₂CO₃，HCO₃⁻與 CO₃²⁻型態。H₂CO₃、CO₃²⁻無法被藻類利用，HCO₃⁻的利用則因藻種和環境條件而異，最常見的例子就是 *Spirulina* 可利用 HCO₃⁻當做碳源來生長，CO₂ 則是藻類最普遍也是最通用的碳源。CO₂ 佔空氣的 0.03 % (v/v)，而且 CO₂ 又不易溶解於中，當藻類培養於高濃度的時候，所需碳源也逐漸增加。所以在藻類培養系統中，常用純 CO₂ 與空氣混合(CO₂-enriched air)來提供藻類充足的碳源，使得光為藻類生長的唯一限制



因子，同時也可控制培養系統的 pH 值。

2.1.1.3 混合效果

在藻類培養系統中，其混合擾動 (mixing) 程度，對於生產高濃度藻類扮演著重要角色。因為藻類在光照下進行光合作用，而在非光照下，進行呼吸作用。因此光照的亮暗週期，影響光合作用和呼吸作用的比例，對於藻類生長有很大的影響。因此提升藻類培養系統的混合擾動程度，可使藻類細胞快速往復地來回光區與暗區之間，增加光照的亮暗頻率，提升藻類的光合效率值。

2.2 光合微生物燃料電池

近年來許多研究人員提出希望利用光合微生物 (Photo-synthetic organisms) 例如微藻或是光合細菌作為微生物燃料電池的生物催化劑，藉由微藻行光合作用的同時產生電能，因此此裝置也被稱為光合微生物燃料電池 (Photosynthetic microbial fuel cells, PMFC)。1985 年，Tanaka 首先證實了光合微生物燃料電池的可行性 [7]，發現利用藍綠藻作為催化劑，在不照光的情況下其電壓與微藻內糖的含量成正比，而在照光的情況下則呈現電壓上升的現象。利用 *Anabaen* (藍綠藻) 的光合作用與呼吸作用，將光能轉換成電能，且此裝置大約可產生 400mV 的開路電壓，電流密度 30 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ ，能量密度 61 $\mu\text{W}/\text{L}$

[8]。

2.2.1 微生物光合燃料電池運作機制

微生物燃料電池主要是藉由反應槽內之微生物的催化作用，透過電子傳輸即微生物新陳代謝之過程，將化學能轉化成電能的一種反應器 [9]。典型微生物燃料電池是由兩個單獨分離的槽體與一質子交換膜連接兩個槽體所組成；在陽極槽中，以微生物作為生物催化劑氧化有機物，並透過微生物新陳代謝，即呼吸作用過程中釋放電子與質子，產生之質子藉由液相溶液透過質子交換膜移動至陰極槽，電子則經由電極沿著外部電路到達陰極後，與質子及溶氧反應生成水。藉由上述陽極的氧化作用與陰極的還原作用，在兩槽體間產生電位差，迫使電子在陽極槽與陰極槽間移動，形成電流而成為電池。如圖 1 所示：

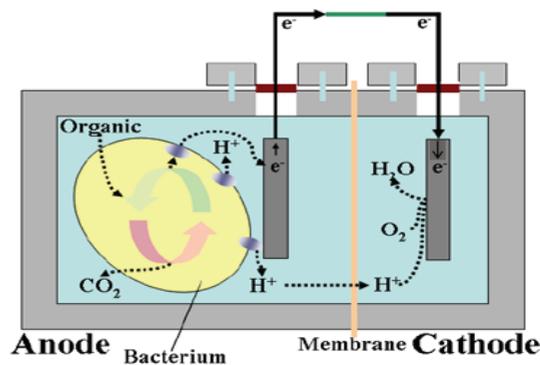


圖 1 微生物燃料電池基本反應機制 [9]

本實驗所選用實驗之微生物為螺旋藻 (*Spirulina platensis platensis*) 其好處



在於能夠在黑暗與光照之下皆能產生電力，不具有重金屬對生物體無害且不需補充有機碳源，只需要二氧化碳、水及陽光，透過微藻在光照的反應下進行光合作用的特點，將無機化合物和光能轉變成有機化合物及電能產電。光反應只在含有光照的情況下方能進行，藉由葉綠素與其他輔助色素吸收光能並以 ATP 和 NADPH_2 兩種高能產物的化學型式將光能儲存起來，然後釋放出電子與產生氧氣，暗反應則無此限制，有光或無光皆可進行，主要是藉由光反應所產生之 ATP 與 NADPH_2 進行氧化還原作用將二氧化碳成葡萄糖或是其他有機物固定，並轉換成碳水化合物。因此光合作用之總反應式如式所示：
$$6\text{CO}_2 + 12\text{H}_2\text{O} + \text{光} \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{O}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$$

由上式可知光合微生物燃料電池之電能來自於水被氧化成氧氣時所釋放的電子。然而光合作用並非光能越強越好，當光能太強時，會產生光抑制現象 (photoinhibition)，進而降低光合作用效率。在生物體中的兩大電子傳遞系統，存在著利用電子轉移的方式來進行階梯式的能量轉換工作。而這兩大電子傳遞鏈：光合作用及呼吸作用，其作用之間差異透過比較也能夠瞭解到生物體為何在產能及放能都需要透過電子傳遞的方式進行轉移。

另外，利用光合作用抑制劑證實了微

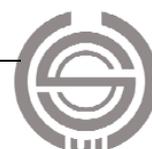
藻電池的電流產生源於光合作用中水光解而釋放出的電子[10]。因此光合微生物燃料電池之運作機制即是藉由陽極槽內之微藻，在光照的情況下吸收光能，並將水分解成氧氣、電子及質子，所產生之質子同樣經液相溶液透過質子交換膜移動至陰極槽，電子經由電極沿著外部電路到達陰極後，與質子及溶氧反應生成水。

2.2.2. 無質子交換膜微生物燃料電池

近年微生物燃料電池發展以無膜微生物燃料電池占大部分，且有膜之微生物燃料電池之內電阻較無膜微生物燃料電池大，進而降低產電效率。

2004 年，比較有膜微生物燃料電池與無膜微生物燃料電池產電之差異 [11]。利用葡萄糖及廢水作為陽極之進流基質，當以葡萄糖為基質，反應器為有膜微生物燃料電池，最大功率密度及庫侖效率各為 262 mW/cm^2 及 55%，反應器為無膜微生物燃料電池，功率密度上升至 494 mW/cm^2 ，庫侖效率則降低為 12%；以廢水為基質，反應器為有膜微生物燃料電池，最大功率密度及庫侖效率各為 28 mW/cm^2 及 28%，反應器為無膜微生物燃料電池其功率密度升至 146 mW/cm^2 ，庫侖效率則降低為 20%，顯示無膜微生物燃料電池之產電效率優於有膜微生物燃料電池。

反應槽為無膜微生物燃料電池，石墨



棒及添加石墨顆粒於陽極槽內，以增加微生物附著之數量，並防止溶氧滲入陽極槽內，陰極電極為碳織布且無添加電解液，利用廢水作為陽極槽之進流基質，外電阻 1000Ω ，產生最大功率密度 50 mW/cm^2 。根據文獻指出雙反應槽反應器之無膜微生物燃料電池，由碳電極為反應電極，利用廢水作為進流基質，外電阻 125Ω ，產生最大功率密度 25 mW/cm^2 ；雙反應槽反應器之有膜微生物燃料電池，由碳電極為反應電極，利用廢水作為進流基質，外電阻 100Ω ，產生最大功率密度 119.3 mW/cm^2 ，根據不同型式之反應器及進流基質不同其結果皆不同[12]。

2.2.2.1 電極材料

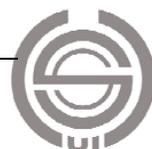
在不添加任何電子調節子的前提下，欲增加 MFC 的效率，除了選擇生產能力較佳的微生物外，亦可著手於電極材料的選擇，由於不同的電極材料會造成不同的活化極化(activation polarization)損失，且陽極材料必須具備良好之導電性、化學穩定性及生物相容性，包括石墨棒(graphite rods)、碳織布(carbon cloth)、碳紙(carbon paper)、石墨塊(woven graphite felt)，因此電極材料的選擇對於電池效能之影響開始漸漸被科學家所重視。使用鉑作為電極之材料也具有其缺點，在正電壓的情況下於電極表面會形成一層鉑的有毒氧化物(PtO)會對微生物造成毒性，進

而造成電極催化活性的降低[13]，為採用不同電極材料所產生之產電差異，其中利用碳電極為陰陽極反應電極之最大功率密度為 104 mW/cm^2 ；利用鉑附著於外層碳紙電極為陰極電極，而陽極則為純碳紙電極作反應，其最大功率密度 660 mW/cm^2 。碳纖維具有表面積高之特性，接收電子能力可隨表面積提高而增加，研究指出於 Pd/I 合金之電極外層附著碳纖維，可降低 H_2O_2 之過氧化物之含量，改善陰極電極之使用壽命及提升效果，且最大電功率可達 78 mW/cm^2 ，電流密度為 70 mA/cm^2 [14]。

2.2.2.2 質子交換膜

質子交換膜於微生物燃料電池之功用在於區隔陰陽兩極，因陽極槽通常控制為厭氧狀態，陰極槽則為好氧狀態，因此質子交換膜的基本功能主要用於隔離微生物燃料電池之陽極與陰極，並使陽極內之氫離子能有效的傳導至陰極，且防止陰極槽內反應氣體滲入陽極槽內，導致陽極槽轉為好氣降低產電效率，也維持微生物燃料電池兩端之 pH 值。目前質子交換膜中，Nafion 膜研究最多，是一種全氟磺酸質子交換膜，具有較高之離子傳導性。

Liu *et. al.* 利用無膜微生物燃料電池之輸出功率比使用 Nafion 作為質子交換膜之電池分別增加了 1.9 倍和 5.2 倍，卻也發現無膜之微生物燃料電池中，氫離子



易由陽極槽傳遞進入陰極表面，並降低微生物燃料電值之電阻值，且陰極槽內擴散至陽極槽之氧氣比 Nafion 膜微生物燃料電池增加了 3 倍[15-17]。

三、研究方法與目的

利用螺旋藻作為微生物燃料電池的催化劑，本研究目的找尋影響螺旋藻細胞生長的因素與評估放電量能力，包括醱酵溫度、氮源種類與濃度。藉由實驗設計法中，找尋最佳培養條件，獲得最大生物量螺旋藻與總放電庫侖之量。

3.1 藻菌

本實驗所使用的螺旋藻類種源為鈍頂螺旋藻(*Spirulina platensis*)，取自於行政院農委會水產試驗所屏東東港分所。



圖 2 螺旋藻於光學顯微鏡下型態(20X)

3.1.1 培養步驟

使用藥品(如 NaHCO_3 等藥品)皆屬試藥級。將血清瓶進行第一次滅菌。滅菌完後，加入 900mL 的蒸餾水，6.03g/L 的 ZARROK 培養基[18]，進行第二次滅菌。待溶液冷卻後加入 8g 的 NaHCO_3 和

100mL 的螺旋藻種菌。測量溶液的 Biomass OD 值、葉綠素 a、藻藍蛋白、放電量(電壓、電流)、重量。測量完後，進行記錄，再置入 30°C 的培養箱並接上打氣裝置。

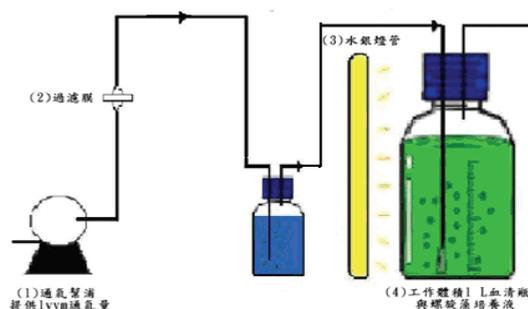


圖 3 利用血清瓶進行藻種培養示意圖

3.1.2 藻類濃度之分析方法

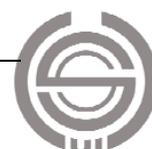
3.2.1.1 生物量(Biomass)

螺旋藻型態觀察如圖 2。利用螺旋藻質量濃度之吸光值(OD_{560})與乾重(g/L, dry weight)的換算，得到螺旋藻生物質量濃度如下：

$$\text{Biomass(g/L)} = -6.93 \times 10^{-4} + 0.42 \times \text{OD}_{560}$$

3.2.1.2 葉綠素 a 量(Chorophyll a)

每日取 2mL 的螺旋藻液，利用離心機分離後，D.I H_2O 清洗 2 次，去除殘餘的培養基成分，之後將菌體收集添加 2 ml 90% $\text{CH}_3\text{OH}_{(\text{aq})}$ ，進行葉綠素 a 溶解。利用高壓式破細胞機，以利 CH_3OH 對於葉綠素的萃取，接著透過離心的方式將細胞殘渣移除，並保留上層澄清之溶液。最後



利用 UV 以定量葉綠素 a 含量，其關係如下：

$$\text{葉綠素 a(g/l)} = 16.5 \times \text{OD}_{665} - 8.3 \times \text{OD}_{650}$$

3.2.1.3 藻藍蛋白量(Phycocyanin)

每日取 2mL 的螺旋藻液，利用離心機分離後，D.I H₂O 清洗 2 次，去除殘餘的培養基成分，之後將菌體收集添加 2 ml 50mM pH 6.85 的 PB buffer，於分離出的螺旋藻樣品中進行藻藍蛋白的萃取。取上層澄清液。利用 UV 量測，以定量螺旋藻中藻藍蛋白的含量。得到藻藍蛋白濃度如下：

$$\text{藻藍蛋白(g/l)} = (\text{OD}_{615} - 0.47 \times \text{OD}_{652}) / 5.34$$

3.2.1.4 光合燃料電池

本實驗之光合燃料電池反應裝置經設計後如圖 4 所示，此裝置由體積 500 mL 之血清瓶與 1L 燒杯所組成，血清瓶瓶蓋處挖空置入鍍金之銅網電極作為電池陽極，且於鍍金電極放置一片微生物過濾檢測濾膜(Supor®200, 0.2μm)作為過濾液體使藻類附著用，燒杯底部置入碳纖維編織布作為電池陰極，陰陽兩極之間距可隨變化作調整，另外從兩極分別使用電線牽出與電錶相連接。電解液為 Zarrok 培養基，電極材料為陽極銅網電鍍金、陰極碳纖維不織布網。

分析流程如下表所示：

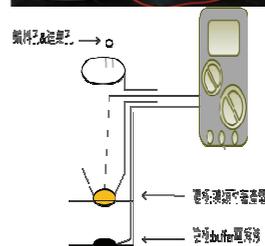
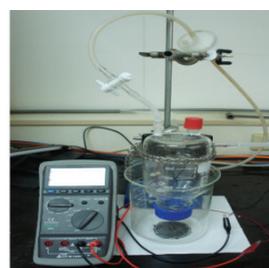
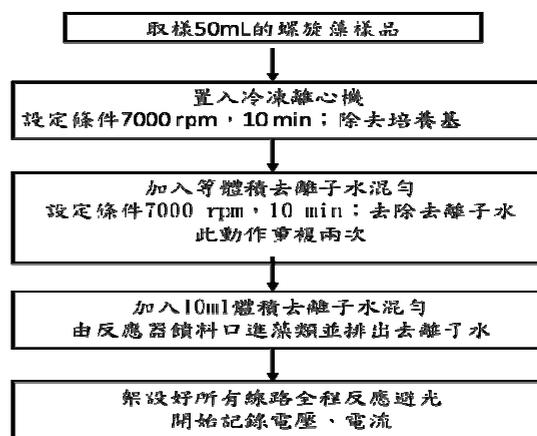
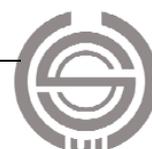


圖 4 光合燃料電池裝置與示意圖

培養後微藻體，放置 4°C 保存，當再次使用時，必須先行「預培養」出適合密度後(即有一定葉綠素量)，再放入於微生物光合燃料電池做測試，如此實驗數據具客觀比較性。電池之開路電壓是指電池在無外加電阻的情況下，測量兩極之間的電位差，其值即為原電池之電動勢。本研究使用萬用電表(PROVA-803)與光合微生



物燃料電池之陰、陽極相連接，連續測量電池之電壓與電流，每筆數據紀錄之間隔時間為 30 分鐘，連續 7-9h。之後將電表所得之數據紀錄，並以 Origin 8 分析其數據及繪出電壓或電流(Y 軸)與時間(X 軸)之關係圖。

四、結果與討論

4.1 溫度之影響

在固定光照強度、通氣量、氮源濃度等因素下，本實驗探討溫度對螺旋藻增生之影響。設定溫度為 32°C、30°C、28°C、26°C，於 6 天內 OD 值變化如圖 5。由實驗過程中，不同溫度下，螺旋藻培養之時間與 OD 值。觀察到溫度在 30°C 下，平均第四天的各項生物量是最高，尤其螺旋藻的葉綠素是成長趨於平穩且較其他溫度高。另外，實驗結果顯示，螺旋藻培養於 30°C 從第零天到第三天之葉綠素成長快速，但到了第四天開始成長緩慢，到第六天 OD 值下降，表示開始衰老。於 32°C 培養，螺旋藻之葉綠素到第三天亦是快速成長，但還是低於 30°C 的 OD 值，一直到了第六天 OD 值雖也開始下降，但仍是比 30°C 之 OD 值來得低。開始衰亡之原因可能是醱酵培養液內氮源已耗盡，所以無法持續成長。

由實驗數據圖可知，最佳生長溫度為 30°C、在第四天是生長周期顛峰。因此接

續實驗，以 30°C、第四天為螺旋藻醱酵培養探討各項影響因素。

4.2 NaNO₃ 之影響

一般螺旋藻培養，使用 NaNO₃、尿素當氮源[18]，因此本實驗在固定光照強度、通氣量、溫度、天數等因素下，探討氮源(NaNO₃ 濃度)對螺旋藻之細胞增生之影響。NaNO₃ 分別設定為第 1 瓶(2g/L)，第 2 瓶(2.5g/L)，第 3 瓶(3.125g/L) 培養四天，探討螺旋藻培養於不同 NaNO₃ 之濃度之影響性，實驗結果如表 1。由表 1 知，觀察葉綠素 a (g/L) 與放電量之值，第 3 瓶之值(9.9382 g/L 與 0.2375 v) 均較第 1 與 2 瓶之值相對好。由表知，隨 NaNO₃ 之濃度由 2 g/L 增至 3.125g/L，Biomass 值由 0.1189 g/L 增至 0.3678g/L；表初期 NaNO₃ 濃度過低會抑制增生速度；以致第四天螺旋藻的 Biomass 值成長平緩。由實驗結果顯示，故螺旋藻最佳生長為 NaNO₃ 添加量為 3.125 g/L。

4.3 尿素之影響

本實驗在固定光照強度、通氣量、氮源 (NaNO₃) 濃度、溫度等因素下，探討氮源(尿素濃度)對螺旋藻之細胞增生之影響。Urea 濃度分別設定為 No.1(0.08g/L) ， No.2(0.1g/L) ， No.3(0.125g/L)，螺旋藻培養於不同 Urea 濃度從第零天到第四天，實驗結果如表



2。由表 2 知，觀察葉綠素 a (g/L) 與放電量之值，第 3 瓶之值(4.6219 g/L 與 0.2504 v) 均較第 1 與 2 瓶之值相對好。如文獻敘述，尿素提供螺旋藻增生之氮源與控制 pH 值，對螺旋藻成長很明顯的影響。螺旋藻生長條件而言，由實驗得知，尿素最佳添加量為 0.125g/L。

4.4 光合燃料電池之直流電流 (DCC)量

本實驗固定在光照強度、通氣量、溫度、氮源濃度及培養 4 天數之因素下，探討螺旋藻之直流電流量。由實驗結果，觀察螺旋藻剛開始放電時，電流為 0.132 mA；第 2h 時，其電流為 0.045 mA、電壓為 0.0662 V，接續每 0.5h 測一次電流量，因需長時間測量與記錄，受限於萬用電表(PROVA-803) 之電池材料不足，所以記錄 2-7h 之直流電流量變化。由圖 6 知，隨放電時間增長，螺旋藻內葉綠素逐漸氧化、枯萎，造成直流電流逐漸下降 [19]；當第 4h 後電流趨於穩定(約 0.017 mA)，持續放電 9h 後，電流依然維持在 0.017 mA。由實驗結果顯示(圖 6)，我們發現從第 4-7 h 之電流量一直維持在 0.017(mA)，所以推測螺旋藻光合作用放電，電流穩定於每秒生成 0.017 mA。依電學原理，於二至七小時內總庫侖($Q=I \times t$) 約為 417.6 C，此為每 50ml 的螺旋藻

培養液之總電量；若 1000ml 的螺旋藻培養液分為 20 個單元分別放電，電路串聯電容器蓄積總電量，則總庫侖變為 20 倍， $\Sigma Q= 8.35C$ 。這蓄積電量足以進行 LED 燈泡發光，因此使用螺旋藻培養液發展為代替能源是可行的。

4.5 重覆培養螺旋藻之直流電壓 (DCV)

本實驗固定在光照強度、通氣量、溫度、氮源濃度及培養天數之因素下，測試重覆培養螺旋藻之放出直流電壓效率是否有差異，這將影響螺旋藻之放出直流電壓效率再現性。

原培養的螺旋藻放出直流電壓能力，於第 2h(0.282V)開始穩定，於第 5h 始上升後又於第 6.5h 下降後趨於平緩 (0.270V)，如圖 6。接著，將這些螺旋藻放回培養液內，再次培養 4 天後，重覆進行螺旋藻放出直流電壓實驗，兩者實驗結果作圖，如圖 7。由圖 7 可知兩者電壓於 30min 後，即開始趨於穩定且無較大之起伏，由此我們可知道這兩種螺旋藻，都有相同持續穩定放出直流電壓能力。

五、結論

依 1 L 之通氣式醱酵瓶實驗過程，由實驗設計法中找到了最佳螺旋藻生長條件為：使用 ZARROK 培養基(含 3.125g/L NaNO_3 、0.125g/L Urea)、



30°C、40W 日光燈照射下，每 50ml 螺旋藻液，收集生物量為 0.554g/L。以此最佳條件培養之螺旋藻進行 7 小時放電過程實驗，發現在四至七小時，電流趨於穩定 0.017 mA。螺旋藻重覆培養的實驗，證明螺旋藻可以重覆且穩定發出電能。由上述實驗結果，使用螺旋藻作為生物能源，進行替代電力能源具相當可行性。

本實驗為新型光合燃料電池反應器之雛型，依據實驗所得到之結果，未來可以進一步規劃探討如何降低內電阻，提高直流電流密度，增加產電之穩定度與持久性。相信使用螺旋藻作為光合燃料電池是指日可待。

致謝

此生質能源應用研究經費由 100 年度修平校內研究計畫(100- CE- 1064)，在此致謝。

六、參考文獻

1. 蘇遠志 and 黃世佑，微生物化學工程學。華香園出版社，1997。
2. 蘇遠志，健康食品綠藻之安全問題—葉綠素的衍生物所引的光過敏症。食品工業，1997. 10(5): p. 12-21.
3. 林良平，小球藻之混營生長及微細藻在生態生產上所扮演的角色 中華生質能源學會會誌，1991. 10(3-4): p. 89-98.
4. Tomonou, Y. and Y. Amao, Effect of micellar species on photoinduced hydrogen production with Mg chlorophyll-a from spirulina and colloidal platinum. International Journal of Hydrogen Energy, 2004. 29: p. 159-162.
5. Hu, Q., H. Guterman, and A. Richmond, A flat inclined modular photobioreactor for outdoor mass cultivation of photoautotrophs. Biotechnol Bioeng., 1996. 51: p. 51-60.
6. Richmond, A., Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology. Wiley-Blackwell, 2004.
7. Belkin, S. and S. Boussiba, Resistance of Spirulina platensis to ammonia at high pH values. Plant and Cell Physiology, 1991. 32: p. 953.
8. Tanaka, K., R. Tamamushi, and T. Ogawa, Bioelectrochemical fuel cells operated by the cyanobacterium, Anabaena variabilis. J. Chemical Technology and Biotechnology. Biotechnology, 1985. 35(3): p. 191-197.
9. Lam, K.B., M. Chiao, and L. Lin, A micro photosynthetic electrochemical cell. IEEE The Sixteenth Annual International Conference, 2003: p. 391-394.
10. Allen, R.M. and H.P. Bennetto, Microbiol fuel-cells electricity



- production from carbohydrates. *Appl Biochem Biotech*, 1993. 39-40: p. 27-40.
11. Logan, B., et al., Microbial fuel cells: methodology and technology. *Environ Sci Technol.*, 2006. 40(17): p. 5181-5192.
 12. Yagishita, T., T. Horigome, and K. Tanaka, Effects of light, CO₂ and inhibitors on the current output of biofuel cells containing the photosynthetic organism *Synechococcus* sp. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 1993. 56: p. 393-399.
 13. Ramnarayan, R., B.E. Logan, and H. Liu, Production of electricity during wastewater treatment using a single chamber microbial fuel cell. *Environ. Sci. and Technol.*, 2004. 38: p. 11-17.
 14. S.K. Wang, Effects of fule types and organic loads on performance of microbial fuel cells. National Taiwan Ocean University, 2008.
 15. Du, Z., H. Li, and T. Gu, A state of the art review on microbial fuel cells: a promising technology for wastewater treatment and bioenergy *Biotechnology Advances* 2007. 25: p. 464-482.
 16. 陳鴻文, PEMFC 電極添加碳纖維的效能評估. 元智大學化學工程學系碩士論文, 2002.
 17. Oh, S.-E. and B.E. Logan, Proton exchange membrane and electrode surface areas as factors that affect power generation in microbial fuel cells. *J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* , 2006. 70(2): p. 162-169.
 18. Zarrouk, C., Contribution a letude d'une cyanophycee. Influence de divers facteurs physiques. et chimiques sur la croissance et la photosynthese do *Spirulina maxima*. University of Paris, France, Ph.D Thesis., 1966.
 19. Chen, H.-B., et al., Modeling on chlorophyll a and phycocyanin production by *Spirulina platensis* under various light-emitting diodes *Biochemical Engineering Journal*, 2010. 53(1): p. 52-56.

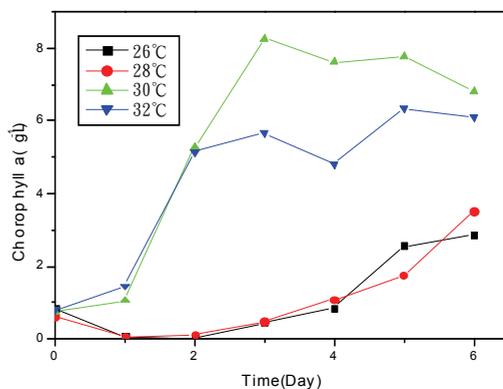


圖 5 溫度之影響



表 1 NaNO₃ 濃度的影響

檢測項目		Biomass (g/l)	葉綠素 a (g/l)	藻藍蛋白 (g/l)	放電量 (V)
樣品瓶號	1	0.1189	8.198	0.0379	0.1963
	2	0.214	4.6284	0.0192	0.2295
	3	0.3678	9.9382	0.0309	0.2375

表 2 尿素濃度的影響

檢測項目		Biomass (g/l)	葉綠素 a (g/l)	藻藍蛋白 (g/l)	放電量 (V)
樣品瓶號	1	0.1003	3.2956	0.0123	0.1936
	2	0.0016	3.1064	0.0123	0.2457
	3	0.0546	4.6219	0.0245	0.2504

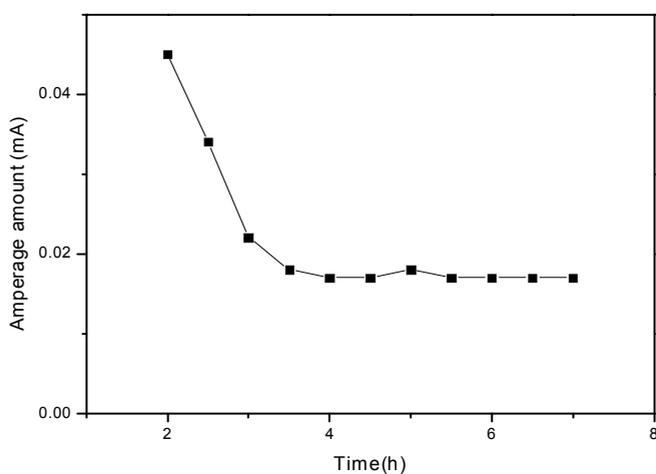


圖 6 螺旋藻光合燃料電池之直流電流量



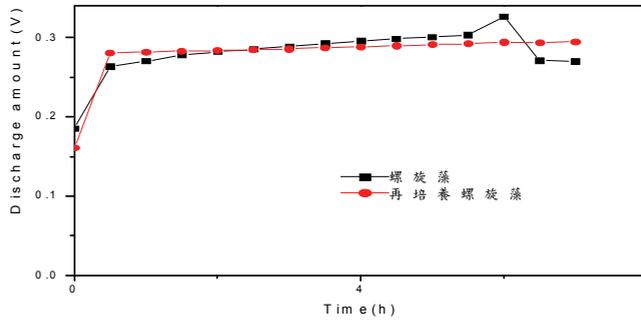


圖 7 重覆培養之螺旋藻之直流電壓

