



มหาวิทยาลัยหาดใหญ่
HATYAI UNIVERSITY

ผลของชนิดวัสดุที่ใช้ทำคู่อิเล็กโทรดต่อการผลิตไฟฟ้าชีวภาพในเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบ
ห้องคู่ของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง

Effect of materials for electrode couples making on bio-electricity
production in the two-chamber microbial fuel cell of photosynthesis
bacteria

ชัยวัฒน์ บรรดิเทพี^{1*}, นรินทร์ โพธิ์แจ่ม², อภิเชษฐ์ คำนับภา³, ประไพ บางเขย⁴, สมรักษ์ พันธุ์ผล⁵,
และชัยยงค์ เตชะไพโรจน์⁶

Chaiwat Bandaiphet^{1*}, Narin Po-charam², Apichet Kumnubpha³, Prapai Bangchoey⁴,
Somrak Panphol⁵ and Chaiyong Teachapiroj⁶

^{1,2,3,4,6} ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร จังหวัด
นครปฐม

^{1,2,3,4,6} Department of Biotechnology, Faculty of Engineering and Industrial Technology, Silpakorn
University, Nakornpathom.

⁵ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จังหวัดปัตตานี

⁵ Department of Applied Biology, Faculty of Science, Prince of Songkhla University, Pattany.

*Corresponding author, E-mail: Bandaiphet_C@su.ac.th

บทคัดย่อ

พลังงานไฟฟ้าเป็นอีกหนึ่งผลิตภัณฑ์เพิ่มเติมที่น่าสนใจนอกเหนือจากสารชีวภัณฑ์ที่แบคทีเรียสร้างขึ้น
งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา ผลชนิดของวัสดุที่ใช้ทำคู่อิเล็กโทรดแอโนด-แคโทดและช่วงการให้แสง
(photosynthesis fermentation) และไม่ให้แสง (Dark fermentation) ต่อการผลิตไฟฟ้าของ *Rhodobacter*
spheroides ในเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ชนิดห้องคู่ (Two Chamber-Photo-Microbial Fuel Cell:
TCP-MFC) โดยใช้อาหารสูตรน้ำเสียสังเคราะห์ พบว่า คู่อิเล็กโทรดแอโนด-แคโทดที่ทำจากสังกะสี-ทองแดง
(Zn-Cu) ได้ผลดีกว่าการใช้วัสดุชนิดอื่น ให้ค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุด 0.11 mA (0.035 mA/cm²) เมื่อหมักได้
180 ชั่วโมง และช่วงการใช้แสงให้ค่าไฟฟ้าดีกว่าช่วงไม่ให้แสง 3-5 เท่า โดยช่วงเวลาให้แสงสลับช่วงไม่ได้รับ
แสงช่วงละ 12 ชั่วโมงให้ผลดีที่สุด โดยระหว่างการผลิตกระแสไฟฟ้าใน TCP-MFC แบคทีเรียยังเจริญเติบโต
ได้ดีพบผลผลิตมวลชีวภาพของเซลล์ (3.31 กรัม/น้ำหนักแห้งต่อลิตร) และปริมาณโปรตีนได้ เท่ากับ 0.52
กรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง (58%) ไม่แตกต่างจากการหมักปกติในขวดหมัก พลังงานไฟฟ้าจากการใช้ประโยชน์
น้ำเสียของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงนี้จึงเป็นอีกหนึ่งผลิตภัณฑ์ที่น่าสนใจนอกจากสารชีวภัณฑ์ที่มีประโยชน์อื่นได้

คำสำคัญ : แบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีแดง, ผลของแสง, เซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์, ไฟฟ้าชีวภาพ



Abstract

This research aims to study the effects of the material type for making the anode-cathode electrode pair and the photosynthesis fermentation and dark fermentation on the electricity production of *Rhodobacter sphaeroides* in a Two Chamber-Photo-Microbial Fuel Cell (TCP-MFC) using a synthetic wastewater medium. It was found that the anode-cathode electrode pair made of zinc coupled with copper (Zn-Cu) was more effective than using other materials and provided a maximum electrical current value of 0.11 mA (0.035 mA/cm²) when fermented for 180 hours. During the light exposure period, the electricity value is 3-5 times higher than the no light period, but the periods of light exposure and non-light at 12 interval periods gave the best results. During electricity generation in TCP-MFC, it still grew very well and gave the highest cell biomass yield (3.31 grams dry weight per liter), and protein content (0.52 grams per gram dry cell, 58%), which were not different from that of normal fermentation in a fermentation bottle. Electrical energy from the use of wastewater by this bacterium is another interesting product in addition to other useful products.

Keywords: photosynthetic bacteria, light effect, microbial fuel cells, bioelectricity

บทนำ

แบคทีเรียสังเคราะห์แสง (Photosynthetic Bacteria; PSB) พบในแหล่งน้ำธรรมชาติ เจริญเติบโตได้ในสภาวะมีแสง เนื่องจากมีแบคทีเรียโอคลอโรฟิลล์หรือบี และแคโรทีนอยด์ โดยใช้แหล่งคาร์บอนอินทรีย์ทั้งน้ำตาลต่าง ๆ และกรดอินทรีย์ ผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์ต่าง ๆ ได้ เช่น การสะสมโปรตีนในเซลล์ (Single Cell Protein) (Cai et al., 2019) มีรายงานการใช้แบคทีเรียสังเคราะห์แสงมากมายในการบำบัดน้ำเสียได้ผลดี (Lu et. al., 2019) โดย *Rhodopseudomonas spp.* และ *Rhodospirillum spp.* ช่วยบำบัดน้ำทิ้งที่มีสารอินทรีย์สูงได้มวลชีวภาพน้ำหนักแห้งของเซลล์ 2.89 ± 0.23 กรัมต่อลิตร และมีปริมาณโปรตีนเฉลี่ยร้อยละ 34.86 ± 2.85 กรัมต่อลิตร ลดปริมาณ COD ร้อยละ 80.84 ± 4.35 กรัมต่อลิตร (Chen, Zhang, & Wang, 2020) *Rhodopseudomonas spp.* บางสายพันธุ์ให้โปรตีนในเซลล์สูงถึงร้อยละ 60 - 65 ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อสัตว์ คือ Methionine, Tryptophane และ Cystine ซึ่งไม่ค่อยพบในราและยีสต์ (Yang et al., 2017) บางสายพันธุ์สามารถผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวเป็นส่วนใหญ่ (C16-C18) และกรดไขมันโอเมก้า 3, 6 และ 7 ใช้ทำอาหารเสริมรักษาสุขภาพของผิวหนัง (Zhou, Zhang, Zhang, & Peng, 2015) บางสายพันธุ์ให้วิตามินและแร่ธาตุ เช่น กรดฟอลิก วิตามินบี วิตามินซี ดี และอี เป็นต้น ถูกใช้ทำอาหารเสริมผสมในอาหารสัตว์ (Feed Additive) ได้มีรายงานช่วยเพิ่มสีของไข่แดงของไข่ไก่และเพิ่มจำนวนไข่ในปลา ยังใช้เป็นโปรไบโอติกเสริมอาหาร ลดกลิ่นมูลสุนัขและแมว และผลิตปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพได้ (Cai & Wang, 2012)



PSB เป็นแบคทีเรียที่ใช้พลังงานแสงในการย่อยสลายสารอาหารผ่านกระบวนการสังเคราะห์แสง (Photocatalysis) โดยใช้เม็ดสีภายในเซลล์เป็นตัวสังเคราะห์แสง และยังสามารถหมักแบบไม่ใช้แสง (Dark-fermentation) โดยทั้งสองแบบแบคทีเรียสามารถย่อยสลายสารอินทรีย์คาร์บอนได้อิเล็กตรอนออกมาเพื่อใช้ในปฏิกิริยารีดอกซ์ผ่านสารรับ-ส่งอิเล็กตรอนต่างๆภายในเซลล์ เช่น NADH FADH คิวโนน สารไซโทโครม เป็นต้น เพื่อให้เกิดพลังงานใช้ในกิจกรรมของเซลล์ได้ (Cai & Wang, 2012) อิเล็กตรอนเหล่านี้ยังสามารถส่งผ่านออกมานอกเซลล์ผ่านด้วยปฏิกิริยารีดอกซ์จากในเซลล์ออกมามานอกเซลล์ได้ จึงมีในการใช้ประโยชน์จากอิเล็กตรอนที่วิ่งปลดปล่อยพลังงานออกมาผลิตเป็นกระแสไฟฟ้าได้ (Abbas, Rafatullah, Ismail, & Syakir, 2017)

เซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบใช้แสง (Photo-MFC) เป็นอุปกรณ์ที่ใช้เพาะเลี้ยง PSB ให้แปลงพลังงานแสงเป็นพลังงานเคมีและไฟฟ้าโดยตรง ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (Abbas, Rafatullah, Ismail, & Syakir, 2017) เซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง (Photo-MFC) เป็นเทคโนโลยีเกี่ยวกับสร้างชีวพลังงานที่ใช้ในช่วงไม่นานนี้ Hülsen, Sander, Jensen, and Butstone, (2020) นำเสนอ photo-MFC แบบห้องคู่ (Two-chamber) ประกอบด้วยห้องแอโนดและแคโทดที่ติดตั้งอิเล็กโทรดแอโนดและแคโทด เชื่อมระหว่างห้องด้วยเมมเบรนแลกเปลี่ยนโปรตอน (H^+) เคลื่อนที่ผ่านไปได้เท่านั้น เพาะเลี้ยงแบคทีเรียในกลุ่มให้อิเล็กตรอนได้ (Exoelectrogenic Bacteria) ในห้องแอโนด เมื่อแบคทีเรียย่อยสลายสารอินทรีย์จะได้อิเล็กตรอน (e^-), โปรตอน (H^+) และ CO_2 ออกมา โดยอิเล็กตรอนจะเคลื่อนที่จากขั้วแอโนดไปยังขั้วแคโทดผ่านวงจรภายนอก ทำให้เกิดกระแสไฟฟ้าเกิดขึ้น อิเล็กตรอนเคลื่อนที่ออกจากเซลล์จุลินทรีย์เข้าสู่ขั้วแอโนดเคลื่อนที่ผ่านวงจรภายนอกไปยังขั้วแคโทดสู่ตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย เช่น ออกซิเจน การเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนปลดปล่อยพลังงานผ่านวงจรภายนอกเกิดกระแสไฟฟ้าได้ (Xiang, Yiwei, Peng, & Xingzu, 2018) จัดเป็นพลังงานทดแทนที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

มีรายงานว่า PSB ชนิด Anoxygenic Phototrophic Bacteria (APB) ใน Photo-MFC ให้พลังงานไฟฟ้าสูงกว่า Oxygenic Phototrophic Bacteria (OPB) โดย APB มีเม็ดสีช่วยในการสังเคราะห์แสงภายใต้สภาพไร้ออกซิเจนได้ดีกว่า ซึ่งในแบคทีเรียสีม่วง มี BChl a และ b แบคทีเรียสีเขียว มี BChl c และ d และเฮลิโอแบคทีเรียมี BChl g (Liang, Zhai, Liu, Ji, & Li, 2020) โดยในการเพาะเลี้ยง *Rhodospseudomonas palustris* DX-1 ที่เป็น APB ใน photo-MFC จากการบำบัดน้ำเสีย ได้ค่าความหนาแน่นพลังงานที่สูงขึ้น $2,780 \text{ mW/m}^2$ (Xing, Zuo, Cheng, Regan, & Logan, 2008) Tatinclaux et al. (2018) รายงานการผลิตไฟฟ้าจาก *Rhodobacter sphaeroides* ใน Photo-MFC ขนาด 200 มิลลิลิตรโดยใช้อะซิเตตเป็นแหล่งคาร์บอนในห้องแอโนดที่มีอิเล็กโทรดแพลตินัม ส่วนห้องแคโทดมีอิเล็กโทรดกราไฟต์ ได้ค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดที่ $851.8 \mu A$ หลังหมัก 72 ชั่วโมง เซลล์เชื้อเพลิงแบคทีเรียสังเคราะห์แสง (PSB-Fuel Cell หรือ PSB-FC) แบบห้องคู่มีเมมเบรนเลือกผ่านโปรตอน Nafion® ใช้ *Rhodobacter sphaeroides* ใช้คู่อิเล็กโทรดแพลตินัม ผลิตไฟฟ้าได้ถึง 6.9 W/m^2 ที่ค่าแรงดันไฟฟ้าอยู่ที่ 0.1-0.3 โวลต์ (Zheng, Cai, Huang, & Chen, 2017)



ปัจจัยด้านแสงที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีแดง แสงที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยง PSB มี 2 แหล่ง คือแสงจากธรรมชาติและแสงจากหลอดไฟ โดยความเข้มแสงส่งผลกระทบต่อการสะสมมวลชีวภาพ การผลิตสารชีวภัณฑ์ เช่น แครโรทีนอยด์และแบคทีเรียคลอโรฟิลล์ร่วมกับการกำจัดมลพิษของ PSB ในน้ำเสีย รวมถึงค่าการผลิตระแสไฟฟ้าชีวภาพของ PSB ใน Photo-MFC ตัวอย่างเช่น Kuo, Chien, and Chen, (2012) ศึกษาผลของแหล่งกำเนิดแสง (หลอดไส้, หลอดฮาโลเจน, หลอดฟลูออเรสเซนต์, หลอด LED สีขาว, สีเหลือง, สีแดง, สีน้ำเงิน และสีเขียว) ที่ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ มีความมืดเป็นตัวควบคุม พบว่า หลอดไส้ให้ผลดีที่สุดต่อการเจริญของ *Rhodospseudomonas palustris* และปริมาณแครโรทีนอยด์ Zhou et al. (2015) ศึกษาผลของความเข้มแสงต่อการบำบัดน้ำเสียของ PSB พบว่า ความเข้มแสง 2,000-4,000 ลักซ์ เหมาะสมที่สุดสำหรับการผลิตชีวมวลและการกำจัด COD แต่ความเข้มแสง 8,000 ลักซ์เหมาะกับการผลิตแครโรทีนอยด์ Zheng et al. (2017) พบ แบคทีเรียสีม่วง *Rhodospseudomonas palustris* DX-1 ใน MFC ห้องคู่ที่ใช้อิเล็กโทรดกราไฟท์และคาร์บอนไฟเบอร์แท่ง ได้ค่าความหนาแน่นพลังงาน 2,720 mW/m² (ที่ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์) ขณะที่แบบไม่ใช้แสงเท่ากับ 1,130 mW/m²

การผลิตระแสไฟฟ้าของ PSB ที่ได้จาก Photo-MFC ยังเป็นที่น่าสนใจและอยู่ในระหว่างการพัฒนาด้วยความต้องการหาแหล่งพลังงานทดแทนที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและราคาถูก นักวิจัยพยายามปรับปรุงและเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตไฟฟ้าให้ดีขึ้นหลากหลายวิธี เช่น การพัฒนาตัวเชื้อจุลินทรีย์ลักษณะและองค์ประกอบของ Photo-MFC สภาวะในการหมัก นักวิจัยนิยมใช้น้ำเสียที่มีสารอินทรีย์มากมายในการเลี้ยง PSB ให้ได้ดีขึ้น ช่วยลดมลพิษ ช่วยบำบัดให้สิ่งแวดล้อม และลดต้นทุนในการผลิตระแสไฟฟ้าลงได้ สำหรับงานวิจัยนี้ มีจุดประสงค์เพื่อศึกษา การหมัก PSB (*Rhodobacter spheroides*) ในเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ชนิดห้องคู่ (Two Chamber-photo Microbial Fuel Cell, TCP-MFC) ในอาหารน้ำเสียสังเคราะห์ โดยศึกษาผลของวัสดุที่ใช้ทำคู่อิเล็กโทรดและการหมักแบบให้แสง (Photosynthesis Fermentation) และไม่ให้แสง (Dark Fermentation) ต่อการผลิตระแสไฟฟ้านอกเหนือจากการสร้างสารชีวภัณฑ์ปกติได้

วิธีดำเนินการวิจัย

จุลินทรีย์

Rhodobacter spheroides สั่งซื้อจากศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย นำมาเพาะเลี้ยงในขวดปิดฝาแบบไร้อากาศในอาหารสังเคราะห์ตามที่สถาบันแนะนำให้แสงธรรมชาติ จนเชื้อเป็นสีแดง

อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรน้ำเสียสังเคราะห์

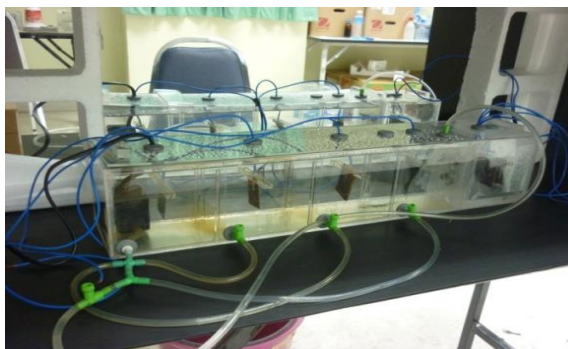
อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรน้ำเสียสังเคราะห์ ประกอบด้วย 0.1 g/L Ammonium Chloride, 0.5 g/L Sodium Chloride, 0.5 g/L Sodium Bicarbonate, 3.0 g/L Sodium Acetate, 0.1 g/L Magnesium Sulfate Heptahydrate, 0.1 g/L Calcium Chloride Dehydrate, 0.2 g/L Dipotassium Phosphate, 0.5 g/L Yeast Extract และ 0.5 g/L Peptone ปรับ pH 7 ในน้ำกลั่น 1 ลิตร (Lu et al., 2019)

การเตรียมกล้าเชื้อและการหมักแบคทีเรียสังเคราะห์แสง

นำมาเตรียมกล้าเชื้อโดยหมักแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในน้ำเสียสังเคราะห์ โดยใช้ขวดขนาด 600 มล. แล้วขยายการหมักลงในขวดพลาสติกขนาดใหญ่ขึ้น 2.5 ลิตร ปริมาตรที่ใช้งาน 2.3 ลิตร พร้อมใส่หัวเชื้อ 20% (v) หมักภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิห้อง การหมักให้โดยแสงธรรมชาติ หมักจนเชื้อมีอายุ 48 ชม. นำไปใช้ต่อไป

ลักษณะของ TCP-MFC และวิธีการหมัก

เซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ชนิดห้องคู่ (Two chamber Photo-MFC) สำหรับการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียสังเคราะห์แสงโดยมีขนาดและส่วนประกอบต่าง ๆ ดังรูปที่ 1 ปริมาตรห้องแอโนดที่ใช้หมักแบคทีเรีย 1,000 มิลลิลิตร ติดตั้งขั้วอิเล็กโทรดแอโนดและแคโทดขนาด 4 x 4 ซม. (32 ตารางเซนติเมตร) ที่ทำจากวัสดุต่าง ๆ โดยมีแผ่นเยื่อเลือกผ่านโปรตอน (Nafion®) กั้นระหว่างห้องแอโนดและห้องแคโทดห้องแคโทดเติมน้ำสะอาดมีการพ่นอากาศผ่านปั๊มอากาศ เพื่อใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอน การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียในแอโนดของ TCP-MFC โดยใช้อาหารสูตรน้ำเสียสังเคราะห์เติมด้วยหัวเชื้อ 20% ภายใต้สภาวะไร้อากาศโดยใช้สภาวะการให้แสงจากฟลูออเรสเซนต์ความเข้ม 4,000 ลักซ์ แบบช่วงรับแสงและไม่รับแสงเลียนแบบช่วงเวลากลางวันและกลางคืน โดยตั้งเวลาเปิดปิดช่วงละ 12 ชั่วโมง



ภาพที่ 1 ลักษณะของเซลล์เชื้อเพลิงชนิดห้องคู่ (TCB-MFC) ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง *R. sphaeroides*

การศึกษาผลของชนิดวัสดุใช้ทำคู่อิเล็กโทรดต่างๆ ต่อการผลิตกระแสไฟฟ้าใน TCP-MFC

วัสดุที่ใช้ทำอิเล็กโทรดเป็นสิ่งสำคัญใน MFC ในงานนี้มีการศึกษาคู่อิเล็กโทรดที่ทำจากวัสดุที่แตกต่างกัน ได้แก่ ทองแดง สแตนเลส เหล็ก สังกะสี เป็นต้น โดยนำอิเล็กโทรดวัสดุมาสลับจับคู่แอโนด-แคโทด จากวัดค่าความต่างศักย์ ดังแสดงในตารางที่ 3 เลือก 3 คู่ที่เหมาะสม ทดสอบใช้ในการผลิตกระแสไฟฟ้าใน TCP-MFC ใช้เครื่องมือวัดมัลติมิเตอร์รุ่น MU39C วัดค่าทางไฟฟ้าต่าง ๆ (ความต่างศักย์ ค่ากระแสไฟฟ้าและแรงดันไฟฟ้า) เก็บตัวอย่าง วิเคราะห์การเจริญเติบโตโดยหาน้ำหนักแห้งของแบคทีเรียและวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน แล้วนำไปใช้เป็นกล้าเชื้อหมักใน TCP-MFC



การศึกษาการผลิตกระแสไฟฟ้าใน TCP-MFC ในช่วงเวลาได้รับแสงเปรียบเทียบกับช่วงที่ไม่ได้แสง

ในการผลิตกระแสไฟฟ้าจากการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในแอโนดของ TCP-MFC โดยใช้อาหารสูตรน้ำเสียสังเคราะห์เติมด้วยหัวเชื้อ 20% ภายใต้สภาวะให้แสงจากฟลูออเรสเซนต์ความเข้ม 4,000 ลักซ์ เปรียบเทียบผลช่วงได้รับแสง (Photosynthesis Fermentation) และช่วงไม่ได้รับแสง (Dark Fermentation) ช่วงละ 12 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับช่วงให้แสง 16 ชั่วโมงสลับช่วงมืด 8 ชั่วโมง และช่วงสว่าง 8 ชั่วโมงสลับช่วงมืด 16 ชั่วโมง วัดค่าไฟฟ้าเก็บผลที่เกิดขึ้น

วิธีวิเคราะห์

การวัดค่าทางไฟฟ้า ทำโดยใช้มัลติมิเตอร์รุ่น MU39C และวัดค่าทางไฟฟ้า ได้แก่ ค่ากระแสไฟฟ้า (I, mA) แรงดันไฟฟ้า (V, mV) ใช้คำนวณค่าทางไฟฟ้าต่าง ๆ ได้แก่ ค่าความหนาแน่นของกระแสไฟฟ้าต่อพื้นที่ผิวแอโนด (mA/cm^2) = I / A , ค่าความหนาแน่นของกำลังไฟฟ้าต่อพื้นที่ผิวแอโนด (mA/cm^2) = P / A โดยที่ P = กำลังไฟฟ้า (Watt) = I/V , A = พื้นที่ผิวอิเล็กโทรดแอโนด (cm^2)

ระหว่างการเพาะเลี้ยง มีการเก็บตัวอย่างวิเคราะห์การเจริญเติบโตในรูปน้ำหนักแห้งของเซลล์โดยปั่นเหวี่ยงแยกเซลล์ที่ 10,000 rpm ล้างเซลล์สองรอบด้วยน้ำกลั่น นำตะกอนไปอบแห้งในตู้อบแล้วชั่งหาน้ำหนักแห้ง และการวิเคราะห์หาโปรตีนภายในเซลล์ (Crude Protein) โดยนำน้ำหนัก 5 มล. ปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นและปั่นเหวี่ยงอีกสองครั้ง ด้วย Tris-HCl buffer pH 8.0 (10 มิลลิโมล/ลิตร) แล้วย่อยทำลายผนังเซลล์ด้วยสารละลายผสมของเมธานอลและโซเดียมคลอไรด์ (0.1 โมล/ลิตร) 5 มล. แล้วเติม 1% Triton-X100 ทำให้เกิดปฏิกิริยาการย่อยใน Sonicator เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำสารละลายปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 30 นาที จะได้สารละลาย Crude Protein วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Lowry Method (Patthawarol & Saejung, 2019)

ผลการวิจัย

การศึกษาการผลิตกระแสไฟฟ้าจากการย่อยสลายสารอาหารระหว่างการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียสังเคราะห์แสง (Photosynthetic Bacteria, PSB) ชนิด *Rhodobacter spheroides* มีปัจจัยที่ส่งผลต่อการผลิตกระแสไฟฟ้าจาก PSB ในเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ เช่น สูตรอาหาร วัสดุที่นำมาเป็นอิเล็กโทรดขนาดของเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ ชนิดอิเล็กโทรด สภาวะการหมักทั้งแบบใช้แสงและไม่ใช้แสง (Photosynthesis และ Dark Fermentation) ในงานวิจัยนี้ เริ่มจากการศึกษาผลของวัสดุที่ใช้ทำอิเล็กโทรดแอโนดค่าโตนใน TCP-MFC และช่วงเวลาการได้รับแสงและไม่ได้รับแสง การทดลองเริ่มจากเพาะเลี้ยง PSB ในขวดหมักขนาด 600 มิลลิลิตรสูตรอาหารสังเคราะห์ สูตรหมักในเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องคู่ (TCP-MFC) ใช้เมมเบรนแลกเปลี่ยนโปรตอน ขนาด 1.5 ลิตร โดยใช้คู่อิเล็กโทรดที่เหมาะสมจากการทดลอง จากนั้นจึงไปศึกษาผลของการหมักแบบให้แสง (Photosynthesis Fermentation) และช่วงไม่ได้รับแสง (Dark Fermentation)



ผลการจับคู่อิเล็กโตรดแอโนด-แคโทด ที่ทำจากวัสดุต่างๆ วัดค่าความต่างศักย์พบ ผลที่ให้ค่าความต่างศักย์สูง 5 คู่ ที่น่าสนใจ ดังแสดงในตารางที่ 1 เลือกคู่ที่ดีที่สุด 3 คู่ ได้แก่ เหล็ก-สแตนเลส (Fe-SS), สังกะสี-เหล็ก (Zn-Fe) และ สังกะสี-ทองแดง (Zn-Cu) มาทดสอบใช้ในการผลิตกระแสไฟฟ้าใน TCP-MFC ของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงต่อไป

ตารางที่ 1 ผลของค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าของการจับคู่อิเล็กโตรดแอโนดและแคโทดที่ทำจากวัสดุต่าง ๆ

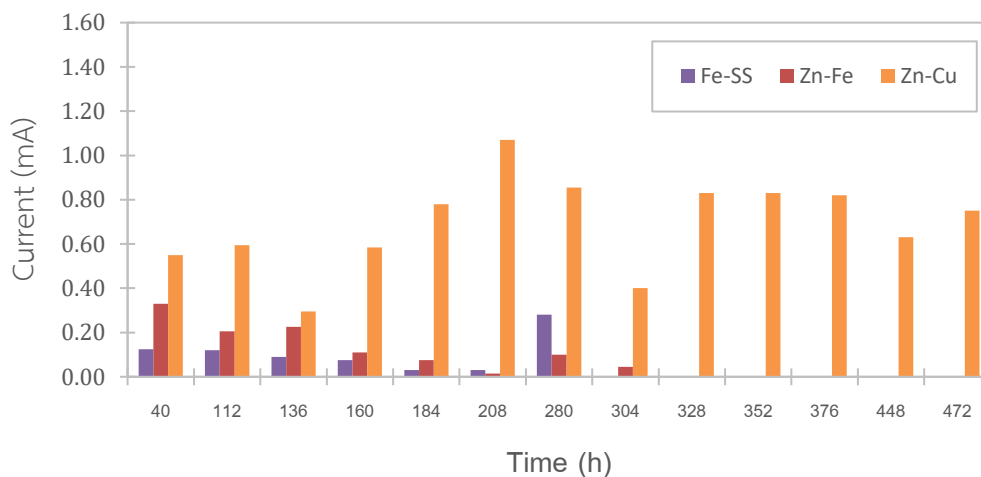
No.	Anodic Electrode–Cathodic Electrode	Voltage (mV)
1	Copper-Iron (Cu-Fe)	10.00
2	Iron-Stainless steel (Fe-SS)	18.00
3	Copper-Stainless steel (Cu-SS)	14.00
4	Zinc-Iron (Zn-Fe)	17.00
5	Zinc-Copper (Zn-Cu)	16.00
6	Zinc-Stainless steel (Zn-SS)	14.00

ผลการศึกษาการผลิตกระแสไฟฟ้าของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีแดง *R. sphaeroides* ใน TCP-MFC ภายใต้สภาวะการให้แสงตามช่วงเวลากลางวันและกลางคืนที่มีทั้งช่วงรับแสงเวลากลางวันและไม่รับแสงช่วงเวลากลางคืน แสดงดังภาพที่ 2 การหมักในแอโนดของ TCP-MFC ของคู่อิเล็กโตรด พบว่า Zn-Cu มีค่าการผลิตกระแสไฟฟ้าเพิ่มขึ้นสูงสุดในชั่วโมงที่ 208 วัดค่าได้ 1.13 mA ขณะที่คู่อิเล็กโตรดอื่นพบว่า ให้ค่าการผลิตกระแสไฟฟ้าได้สูงที่สุดค่าสูงสุดที่พบใน Zn-Fe (0.31 mA ในชั่วโมงที่ 44) และ Fe-SS (0.22 mA ในชั่วโมงที่ 116) ทั้งนี้ผลการใช้คู่อิเล็กโตรด Zn-Fe และ Fe-SS ให้ผลไม่ดี มีค่ากระแสไฟฟ้าต่ำมากหลังการหมักในช่วงหลังโดยหมักได้เพียง 1 สัปดาห์ ขณะที่การใช้ Zn-Cu ยังผลิตค่ากระแสไฟฟ้าได้ตลอด 2 สัปดาห์ของการหมัก

แม้ว่าค่าความต่างศักย์ของคู่อิเล็กโตรดโลหะก่อนการหมักจะมีค่าสูง เช่น ในคู่อิเล็กโตรด Fe-SS และ Zn-Fe จะมีค่าสูงกว่า Zn-Cu แต่ผลที่เกิดขึ้นในระหว่างหมัก Zn-Cu จะให้ผลค่ากระแสไฟฟ้าดีที่สุด เป็นไปได้ว่า เมื่อเติมอาหารเลี้ยงเชื้อและแบคทีเรียหมักเกิดการเจริญเติบโตของฟิล์มชีวภาพของแบคทีเรียที่เคลือบบนผิวอิเล็กโตรดแอโนด เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาวะในน้ำหมัก สภาวะในระหว่างหมักการสร้างสารผลิตภัณฑ์ต่างๆ ละการใช้แสงของแบคทีเรีย ที่อาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของการนำไฟฟ้าของโลหะที่ใช้ทำอิเล็กโตรด ได้ทั้งในแง่ของการเพิ่มการทำงานเช่นในคู่อิเล็กโตรด Zn-Cu ทำให้ได้ค่ากระแสมากขึ้น หรือลดประสิทธิภาพการทำงานเช่น ความเป็นพิษของโลหะผลต่อแบคทีเรียหรือกระแสไฟฟ้าไปมีผลต่อการเจริญหรือยับยั้งเมตาบอลิซึมและไบโอฟิล์มระหว่างการผลิตไฟฟ้าทำให้การผลิตกระแสไฟฟ้า



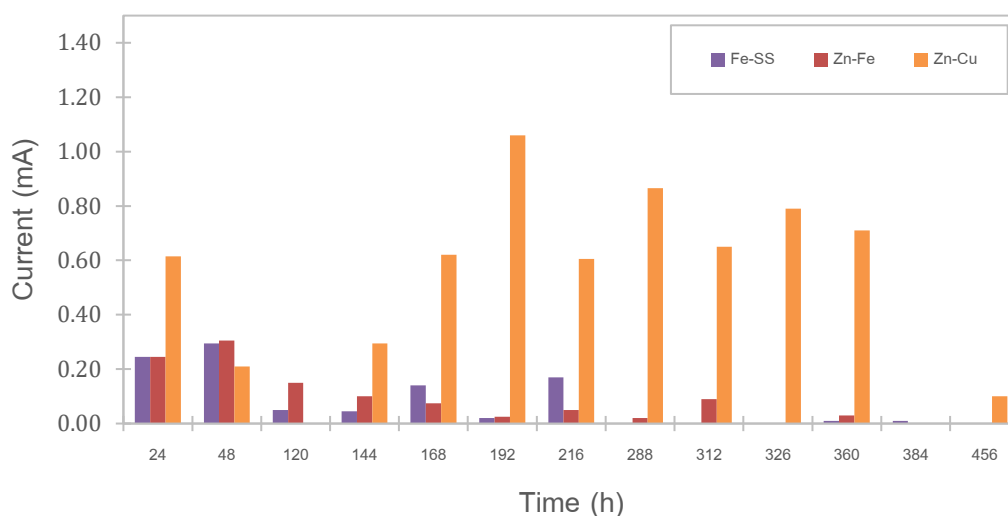
ลดลงไม่เป็นไปตามที่คาดไว้ ซึ่งต้องมีการพิสูจน์ต่อไป อย่างไรก็ตาม ผลการหมักในช่วงนี้ คิวอิเล็กโทรด Zn-Cu เป็นคิวอิเล็กโทรดที่ให้ประสิทธิภาพดีที่สุด ใน TCP-MFC รูปแบบนี้



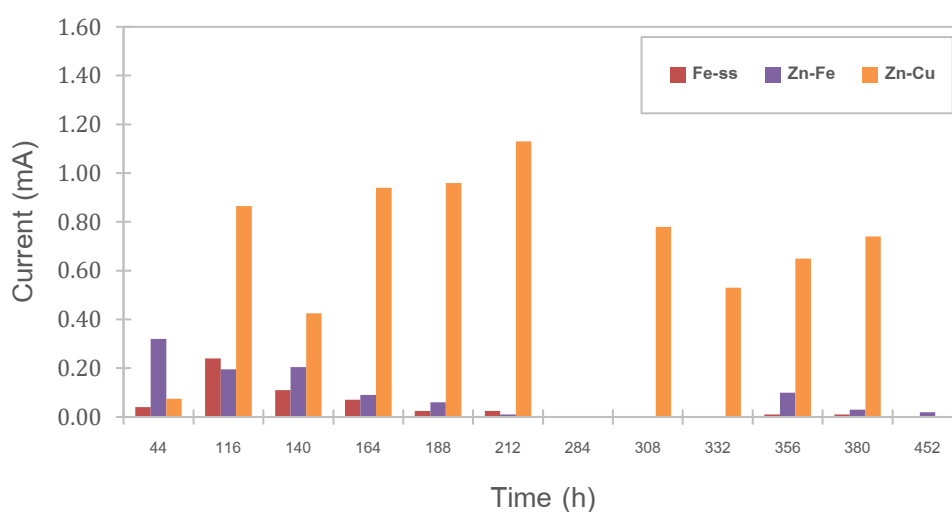
ภาพที่ 2 ค่าการผลิตกระแสไฟฟ้า (mA) ของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ชนิดห้องคู่ โดยใช้คิวอิเล็กโทรดแอโนด-คาโทด ที่ทำจากวัสดุ 3 แบบ คือ เหล็ก และสแตนเลส (Fe-SS), สังกะสี-เหล็ก (Zn-Fe) และสังกะสี-ทองแดง (Zn-Cu) โดยให้แสง ฟลูออเรสเซนซ์ (4,000 ลักซ์) โดยใช้ช่วงสว่าง (Photosynthesis Fermentation) สลับกับช่วงมืด (Dark Fermentation) ช่วงละ 12 ชั่วโมง

ภาพที่ 3 แสดงการผลิตกระแสไฟฟ้าใน TCP-MFC ในการหมักแบบช่วงให้แสง (Photosynthesis Fermentation) 16 ชั่วโมงสลับช่วงมืด (Dark Fermentation) 8 ชั่วโมง เมื่อใช้คิวอิเล็กโทรด Zn-Cu พบว่า มีค่าการผลิตกระแสไฟฟ้าเพิ่มขึ้นสูงสุดในชั่วโมงที่ 190 วัดค่าได้ 1.24 mA ขณะที่คิวอิเล็กโทรด Zn-Fe พบว่า มีค่าการผลิตกระแสไฟฟ้าสูงสุดใน 48 ชั่วโมงแรก วัดค่าได้ 0.25 mA และคิวอิเล็กโทรด Fe-SS ให้ค่ากระแสไฟฟ้าน้อยสุดวัดค่าได้สูงสุดในชั่วโมงที่ 48 ได้ค่า 0.27 mA ในเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แบบห้องคู่ที่มีคิวอิเล็กโทรด Zn-Cu ให้ผลดีที่สุด และพบระยะเวลาการผลิตกระแสไฟฟ้าได้ตลอดการหมัก 500 ชั่วโมง ขณะที่การใช้คิวอิเล็กโทรด Zn-Fe และ Fe-SS ปริมาณกระแสไฟฟ้าลดลงและมีค่าน้อยมากตลอดระยะเวลาการหมัก

ภาพที่ 4 แสดงการหมักเพื่อผลิตกระแสไฟฟ้าใน TCP-MFC ช่วงสว่าง ในการหมักแบบช่วงให้แสง (Photosynthesis Fermentation) 8 ชั่วโมงสลับช่วงมืด (Dark Fermentation) 16 ชั่วโมง เมื่อใช้คิวอิเล็กโทรด Zn-Cu ยังคงให้ค่ากระแสไฟฟ้าเพิ่มขึ้นสูงสุดในชั่วโมงที่ 212 วัดค่าได้ 1.44 mA ในส่วนของคิว



ภาพที่ 3 ค่าการผลิตกระแสไฟฟ้า (mA) ของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในเซลล์เชื้อเพลิง จุลินทรีย์ชนิดห่อคู่ โดยใช้คู่อิเล็กโทรดแอโนด-คาโทดที่ทำจากวัสดุ 3 แบบ คือ เหล็ก และสแตนเลส (Fe-SS), สังกะสี-เหล็ก (Zn-Fe) และสังกะสี-ทองแดง (Zn-Cu) โดยใช้ช่วงสว่าง (Photosynthesis Fermentation) 16 ชั่วโมงสลับช่วงมืด (Dark fermentation) 8 ชั่วโมง



ภาพที่ 4 ค่าการผลิตกระแสไฟฟ้า (mA) ของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในเซลล์เชื้อเพลิง จุลินทรีย์ชนิดห่อคู่ ขนาด 1.5 ลิตร โดยใช้คู่อิเล็กโทรดแอโนด-คาโทด 3 แบบ คือ เหล็กและสแตนเลส (Fe-SS), สังกะสี-เหล็ก (Zn - Fe) และสังกะสี-ทองแดง (Zn - Cu) โดยใช้ช่วงสว่าง (photosynthesis fermentation) 8 ชั่วโมงสลับช่วงมืด (Dark fermentation) 16 ชั่วโมง



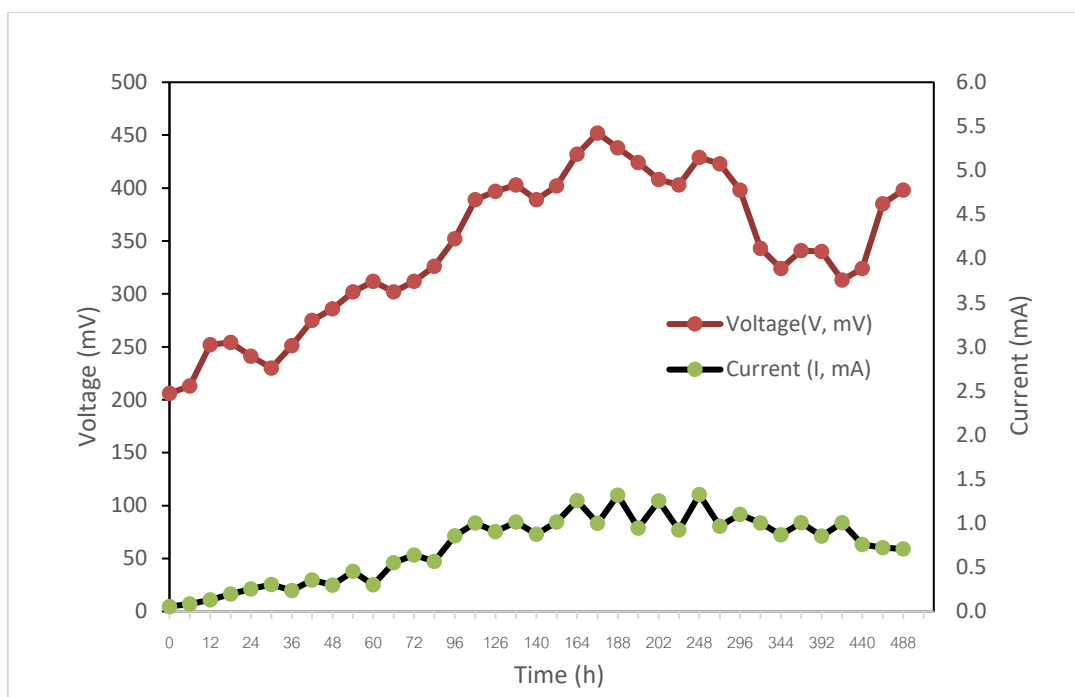
อิเล็กโทรด Zn-Fe พบว่า มีค่าการผลิตกระแสไฟฟ้าสูงสุดใน 24 ชั่วโมงแรก วัดค่าได้ 0.32 mA คู่อิเล็กโทรด Fe-SS วัดค่าได้สูงสุด 0.23 mA ในชั่วโมงที่ 118 และคู่อิเล็กโทรด Zn-Cu ยังคงให้ผลดีที่สุด และสามารถพบ การผลิตกระแสไฟฟ้าได้ตลอดการหมัก 500 ชั่วโมง ขณะที่การใช้คู่อิเล็กโทรด Zn-Fe และ Fe-SS ปริมาณกระแสไฟฟ้าลดลงมีค่าน้อยตลอดระยะเวลาการหมัก

จากผลการทดลองพบว่า การหมักโดยใช้คู่อิเล็กโทรด Zn-Fe และ Fe-SS ให้ค่ากระแสไฟฟ้าที่ดีในช่วงต้นของการหมัก แต่ค่ากระแสไฟฟ้าลดลงตามระยะเวลาหมัก ขณะที่การใช้คู่อิเล็กโทรด Zn-Cu ให้ค่ากระแสไฟฟ้าสูงกว่า Zn-Fe และ Fe-SS ประมาณ 3-5 เท่า และค่ากระแสไฟฟ้าในระยะเวลาหมักนานกว่า โดยค่าศักย์ไฟฟ้าของคู่อิเล็กโทรดตามค่าในตารางที่ 1 มีค่าใกล้เคียงกัน ดังนั้นสิ่งที่เกิดขึ้นน่าจะเป็นผลมาจากวัสดุโลหะที่ใช้ทำอิเล็กโทรด นอกจากค่าศักย์ไฟฟ้าที่ดีแล้ว อาจเป็นผลมาจากค่าการนำไฟฟ้าของคู่อิเล็กโทรดด้วย ตลอดจนผลของอาหารซึ่งเป็นส่วนประกอบที่เป็นสารละลาย อาจส่งผลยับยั้งต่อการส่งผ่านอิเล็กตรอนได้ด้วย ทั้งนี้ความคิดเห็นส่วนหนึ่งของทีมงานวิจัย อาจเป็นผลจากความเป็นพิษของโลหะที่ใช้ทำอิเล็กโทรดต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ได้ ซึ่งต้องมีการตรวจสอบต่อไป

ผลของช่วงให้แสงและไม่ให้แสง ในการผลิตกระแสไฟฟ้า (mA) และความต่างศักย์ (mV) ในเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ชนิดห้องคู่ (TCP-MFC) ที่ใช้คู่อิเล็กโทรดแอโนด-คาโทดที่ดีที่สุด ที่ทำจากสังกะสี-ทองแดง (Zn-Cu) ที่ใช้หมักแบคทีเรียสังเคราะห์แสง โดยให้แสงฟลูออเรสเซนซ์ (4,000 ลักซ์) ภายใต้ช่วงสว่าง (Photosynthesis Fermentation) สลับช่วงมืด (Dark Fermentation) ช่วงละ 12 ชั่วโมงที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ผ่านมา แสดงในภาพที่ 5

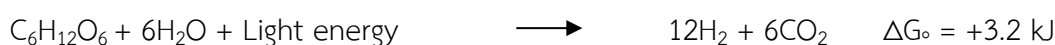
จากภาพที่ 5 ผลการหมักเมื่อใช้คู่อิเล็กโทรด Zn-Cu ยังคงให้ค่ากระแสไฟฟ้าเพิ่มขึ้นและมีค่าสูงสุดในชั่วโมงที่ 160-200 วัดค่าได้ 1.44 mA ที่น่าสนใจพบว่า เส้นกราฟกระแสไฟฟ้ามีค่าสลับขึ้นลงตลอดการหมัก โดยพบว่า ช่วงวัดกระแสในเวลาเช้า (ที่ผ่านช่วงไม่ให้แสงมา เลียนแบบเวลากลางคืนในการหมักแบบ Dark fermentation) ได้ค่ากระแสไฟฟ้าต่ำกว่า การวัดในช่วงเย็น (เลียนแบบการให้แสงในตอนกลางวัน) ช่วงการหมักแบบได้รับแสงจะมีค่ากระแสไฟฟ้าสูงกว่า 1.00 mA ขณะที่ช่วงยังไม่ได้รับแสงค่ากระแสจะอยู่ในต่ำกว่า 1.00 อยู่ในช่วง 0.70-1.00 mA น้อยกว่าช่วงให้แสงประมาณ 0.3 mA โดยประมาณ

ขณะที่ค่าความต่างศักย์ของคู่อิเล็กโทรด Zn-Cu ให้ค่าสูงขึ้นในช่วงการหมักจนถึงชั่วโมงที่ 270 หลังจากนั้นค่าความต่างศักย์จะมีค่าลดลงในขณะที่ยังคงมีการผลิตกระแสไฟฟ้าอยู่แต่มีค่าลดลง ความต่างศักย์ที่ผิดปกตินี้แสดงให้เห็นว่า ระบบน่าจะเกิดความต้านทานขึ้นชัดเจนในช่วงท้ายของการหมัก จุดนี้น่าจะมีหลายสาเหตุ ทีมผู้วิจัยให้ความเห็นว่า น่าจะเกิดจากการที่อาหารหมด แบคทีเรียลดลง หรืออยู่ในช่วง Stationary Phase ก่อนเข้าสู่ช่วง Death Phase ได้ นอกจากนี้ช่วงหลังของการหมักยังคงพบว่าแบคทีเรียมีสีซีดลงกว่าต้องเริ่มต้น และพบการตกตะกอนของแบคทีเรียด้วย

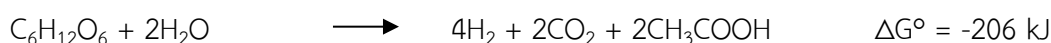


ภาพที่ 5 ค่าการผลิตกระแสไฟฟ้า (mA) และความต่างศักย์เซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ชนิดห้องคู่ (TCP-MFC) ที่ใช้เชื้อเพลิงไฮโดรเจน-คาร์บอนไดออกไซด์ที่ทำจากแผ่นสังกะสี-ทองแดง (Zn-Cu) หมักแบคทีเรียสังเคราะห์แสงโดยให้แสงฟลูออเรสเซนซ์ (4,000 ลักซ์) ภายใต้ช่วงสว่าง (Photosynthesis Fermentation) สลับช่วงมืด (Dark Fermentation) ช่วงละ 12 ชั่วโมง

กลไกการหมักแบบไม่ใช้แสง (Dark Fermentation) และการหมักแบบใช้แสง (Photo Fermentation) เป็นการย่อยสลายสารคาร์บอนอินทรีย์ทำให้เกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ในระบบส่งผ่านอิเล็กตรอนที่มีพลังงานสูงผ่านสารตัวกลาง เช่น NADH คิวโนน ไซโทโครม เป็นต้น Cai et al. (2019) ในกรณีการหมักแบบใช้แสงแสงช่วยเร่งการเกิดปฏิกิริยาด้วยการทำงานของเอนไซม์ไนโตรจีเนสและไฮโดรจีเนส (Nitrogenase and Hydrogenase enzymes) ผลการใช้กลูโคสเป็นสารตั้งต้นในกระบวนการสังเคราะห์แสงแสดงดังสมการ



ส่วนการหมักแบบไม่ใช้แสง (Dark-fermentation) PSB ย่อยสลายสารอินทรีย์คาร์บอนภายใต้สภาวะที่ไม่มีแสงและไม่ใช้ออกซิเจน แสดงดังสมการ



ผลิตก๊าซไฮโดรเจนน้อยกว่าการหมักแบบใช้แสง ผลได้ของอิเล็กตรอนจึงน้อยกว่าด้วย (Cai et al., 2019)



ค่าความหนาแน่นของกระแสไฟฟ้า (Current Density) เป็นค่าที่บอกถึงประสิทธิภาพในการผลิตไฟฟ้าโดยดูจากการส่งผ่านอิเล็กตรอนที่ห้องแอโนด ซึ่งจะสะท้อนถึงประสิทธิภาพของการส่งผ่านอิเล็กตรอนที่อิเล็กโตรดแอโนด (Fabian, 2018). ผลการศึกษาการผลิตกระแสไฟฟ้าของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีแดง *R. spheroides* ใน TCP-MFC นี้ (ภาพที่ 3) โดยใช้คู่อิเล็กโตรด พบว่า Zn-Cu มีค่าการผลิตกระแสไฟฟ้าเพิ่มขึ้นสูงสุดในชั่วโมงที่ 208 วัดค่าได้ 1.13 mA ได้ค่าความหนาแน่นของกระแสไฟฟ้าเมื่อเทียบกับพื้นที่อิเล็กโตรดแอโนดเท่ากับ 0.035 mA/cm² มีค่ามากกว่าช่วงการหมักแบบไร้แสงที่ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 0.85 mA เท่ากับ 0.027 mA/cm²

มีรายงานผลวิจัยการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียสังเคราะห์แสงใน photo-MFC อื่น ดังแสดงในตารางที่ 2 (Hülse et al., 2020) นอกจากนั้น Tatinclaux et al. (2018) รายงานผลการหมัก *R. Spheroides* ใน Photo-MFC แบบห้องคู่ ขนาด 200 มิลลิลิตรที่มีขั้วแอโนดมีอิเล็กโตรดแพลตตินัมและขั้วแคโทดมีอิเล็กโตรดกราไฟต์ โดยใช้เชื้อซีดเป็นแหล่งคาร์บอน ได้ค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดที่ 851.8 μ A ที่ 72 ชั่วโมง ทั้งนี้งานวิจัยนำมาเทียบอ้างอิงมานี้มีรูปแบบและสภาวะที่แตกต่างกัน จึงอาจทำให้ไม่สามารถเทียบเคียงได้ชัดเจน ซึ่งทีมผู้วิจัยไม่สามารถเปรียบเทียบได้เนื่องจากรูปแบบและลักษณะของ MFC แตกต่างกัน แต่การผลิตกระแสไฟฟ้าในรูปแบบ TCP-MFC นี้มีค่ากระแสไฟฟ้าไม่มาก แต่ค่าการผลิตกระแสไฟฟ้าสะสม ซึ่งถ้าสามารถจับเก็บประจุอิเล็กตรอนไว้ได้ จะช่วยให้ได้ค่ากระแสไฟฟ้าสูงในระดับหนึ่งที่น่าสนใจ

ผลการผลิตไฟฟ้าของ *R. spheroides* ใน TCP-MFC ต่อเจริญเติบโตและผลิตโปรตีน แสดงในตารางที่ 3 พบว่า น้ำหมัก PSB เมื่อเปรียบเทียบในช่วงการให้แสงและไม่ได้รับแสง 3 แบบ ค่าผลผลิตมวลชีวภาพที่ให้ค่ามวลชีวภาพสูงสุดคือ ช่วงสลับการให้แสงและไม่ให้แสงช่วงละ 12 ชั่วโมง (ได้ค่าเฉลี่ย 3.31 กรัม/น้ำหนักแห้งต่อลิตร) ปริมาณโปรตีนเท่ากับ 0.52 (คิดเป็น 52% กรัม/น้ำหนักแห้งต่อกรัมเซลล์) ซึ่งน้อยกว่าผลของมวลชีวภาพในขวดหมักขนาด 600 mL ซึ่งมีค่ามวลชีวภาพ 3.56 กรัม/น้ำหนักแห้งต่อลิตรและปริมาณโปรตีนเท่ากับ 0.55 กรัมต่อกรัม/น้ำหนักแห้ง อาจพอบอกได้ว่า ไม่พบความผิดปกติของค่ามวลชีวภาพและปริมาณโปรตีนที่พบใน TSC-MFC ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการหมักในขวดหมัก กระแสไฟฟ้าและการหมักใน TCP-MFC ไม่ส่งผลกระทบต่อเจริญเติบโตได้ อย่างไรก็ดี เชื้อนี้ยังสามารถสร้างสารชีวภัณฑ์ตัวอื่นที่เป็นประโยชน์ได้ด้วยเช่น เบต้าคาโรทีน คาโรทีนอยด์ เป็นต้น (Kuo et al., 2012) ซึ่งต้องมีการศึกษาว่า ได้รับผลกระทบจากการหมักในเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ระหว่างผลิตกระแสไฟฟ้าหรือไม่ต่อไป

สรุปผลการทดลองและวิจารณ์

จากการเพาะเลี้ยง *R. spheroides* ใน TCP-MFC นี้ ภายใต้การหมักแอโนดไร้ออกซิเจนและแคโทดมีการเติมอากาศให้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอน โดยใช้คู่อิเล็กโตรดแอโนด-แคโทดที่ทำจากสังกะสี-ทองแดง (Zn-Cu) ได้ผลดีกว่าการใช้วัสดุชนิดอื่น โดยให้ค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุด 0.11 mA (0.035



ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบกระแสไฟฟ้าและค่าการผลิตไฟฟ้าของแบคทีเรียสังเคราะห์ในเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ใช้แสงแบบห้องคู่ (Dual Photo-MFC) รูปแบบต่าง ๆ ที่ได้จากการรายงานของ Hülsen et al. (2020) เปรียบเทียบกับการทดลองนี้

PSB	Power output	Dual Photo-MFC with membrane
<i>Rhodospirillum rubrum</i>	750 mA/m ²	CDM ^a
<i>Rhodospirillum rubrum</i>	1.25 W/m ²	CEM ^b
<i>Rhodobacter spheroides</i>	7.3 mW/L	Nafion 117
<i>Rhodospseudomonas palustris</i>	2,780 mW/m ²	-
<i>Rhodospseudomonas palustris</i>	10.4 mW/m ³	Nafion 115
<i>Rhodospseudomonas</i> sp.	2.7 µA/cm ²	Nafion
<i>Rhodospseudomonas</i> sp.	221 mW/m ²	-
<i>Rhodovulum sulfidephilum</i>	25.9 µW	Nafion
<i>Chlorobium</i>	Near zero	AEM ^c
<i>Rhodobacter spheroides</i> (this work)	0.035 mA/cm ²	Nafion 117

หมายเหตุ “-” Unknown a=Cellophane dialysis membrane b=Cation exchange membrane
c=Anion exchange membrane

ตารางที่ 3 การผลิตมวลชีวภาพของ *R. spheroides* และปริมาณโปรตีน ใน TSC-MFC

Operation Time (hr) (Photosynthesis - Dark fermentation periods) in TCP- MFC	Average Biomass in TCP-MFC (g DW/L)	Average Crude Protein in TCP-MFC (g/g DW)	Average Biomass in 600 ml in fermentation bottle (g DW/L)	Average Crude Protein In fermentation bottle (g/g DW)
12 - 12	3.31	0.52	3.56	0.55
16 - 8	3.13	0.48	3.28	0.49
8 - 16	2.72	0.36	3.06	0.38

mA/cm²) เมื่อหมักได้ 180 ชั่วโมง และช่วงการใช้แสง (Photosynthesis Fermentation) ผลิตกระแสไฟฟ้าได้ดีกว่าช่วงการหมักแบบไร้แสง (Dark fermentation) 3-5 เท่า โดยระหว่างการผลิตกระแสไฟฟ้าใน



TCP-MFC แบบที่เรายังเจริญเติบโตได้ดีพบ ปริมาณโปรตีนไม่ต่างจากการหมักในขวด พบผลผลิตมวลชีวภาพของเซลล์ (3.31 กรัม/น้ำหนักแห้งต่อลิตร) และปริมาณโปรตีนได้ เท่ากับ 0.52 กรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง (58%) เซลล์เชื้อเพลิง TCP-MFC ของ *R. sphaeroides* นี้ จึงมีประสิทธิภาพสามารถผลิตพลังงานไฟฟ้าได้จัดเป็นอีกหนึ่งผลิตภัณฑ์ที่น่าสนใจ นอกเหนือจากการหมักเพื่อสร้างสารชีวภัณฑ์ที่มีประโยชน์อื่นซึ่งเป็นสารมูลค่าสูงเพิ่มเติม

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากกองทุนสนับสนุนการวิจัย นวัตกรรมและการสร้างสรรค์ มหาวิทยาลัยศิลปากร (Silpakorn University Research, Innovation and Creative Fund) ขอขอบคุณ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพและภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ทำวิจัยและสนับสนุนการทำงานวิจัยนี้และภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่สนับสนุนการวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

- Abbas, S. Z., Rafatullah, M., Ismail, N. & Syakir, M. I. (2017). A review of sediment microbial fuel cell as a new source of sustainable energy and heavy metal remediation. *Int J Energy Res*, 41 (9), 1242-1264.
- Cai, J. & Wang, G. (2012). Hydrogen production by a marine photosynthetic bacterium, *Rhodovulum sulfidophilum* P5 isolated from a shrimp pond. *Int J Hydrogen Energy*, 37, 15070–15080.
- Cai, J., Zhaoa, Y., Fan, J., Li, F., Feng, C., Guan, Y., Wang, R. & Tang, N. (2019). Photosynthetic bacteria improved hydrogen yield of combined dark-and photo-fermentation. *J. Biotechnol*, 302, 18-25.
- Chen, Y., Zhang, G. & Wang, H. (2020). Enhancement of photosynthetic bacteria biomass production and wastewater treatment efficiency by zero-valent iron nanoparticles. *J Biosci Bioeng*, 130, 306-310.
- Fabian, F. (2018). Photoelectrode, photovoltaic, and photosynthetic microbial fuel cells. *Renewable Sustainable Energy Rev*, 90, 16-27.



- Hülsen, T., Sander, E., Jensen, P. & Butstone, D. (2020). Application of purple phototrophic bacteria in a Biofilm photobioreactor for single cell protein production: Biofilm vs suspended growth. *Water Res*, 181, 115909.
- Kuo, F.S., Chien, Y.H. & Chen, C.J. (2012). Effects of light sources on growth and carotenoid content of photosynthetic bacteria *Rhodospseudomonas palustris*. *Bioresour Technol*, 113, 315-318.
- Liang, Y., Zhai, H., Liu, B., Ji, M. & Li, J. (2020). Carbon nanomaterial-modified graphite felt like an anode-enhanced power production and polycyclic hydrocarbon removal in microbial fuel cells. *Sci Total Environ*, 713, 136483.
- Lu, H., Zhang, G., Zheng, Z., Meng, F., Du, T., & He, S. (2019). Bio - conversion of photosynthetic bacteria from non-toxic wastewater to realize wastewater treatment and bioresource recovery. *Bioresour Technol*, 278, 383–399.
- Patthawarol, S. & Saejung, C. (2019). Production of single-cell protein from manure as animal feed by Using photosynthetic bacteria. *Adv Appl Microb*, 21, 161-183.
- Prasad, J. & Tripathi, R.K. (2021). Scale up and control the voltage of sediment microbial fuel cells for charging a cell phone. *Biosen Bioelectron*, 172, 112767.
- Tatinclaux, M., Gregoire, K., Leininger, A., Biffinger, J.C., Tender, L., Ramirez, M., Torrents, A. & Kjellerup, B.V. (2018). Electricity generation from wastewater using a floating air cathode microbial fuel cell. *Water Energy Nexus*, 1(2), 97-103.
- Wang, W., Zhang, Y., Li, M., Wei, X., Wang, Y., Liu, L., Wang, H. & Shen, S. 2020. Operation Mechanism of Constructing wetland-microbial fuel cells for wastewater treatment and electricity generation. *Bioresour Technol*, 314, 123808.
- Xiang, Q., Yiwei, R., Peng, L. & Xingzu, W. (2018). New insights in a photosynthetic microbial fuel cell using anoxygenic phototrophic bacteria. *Bioresour Technol*, 258, 310-317.
- Xing, D., Zuo, Y., Cheng, S., Regan, J.M. & Logan, B.E. (2008). Electricity generation by *Rhodopseudo-monas palustris* DX-1. *Environ Sci Technol*, 42(11), 4146–4151.
- Yang, A., Zhang, G., Meng, F., Lu, P., Wang, X. & Peng, M. (2017). Enhancing protein to extremely high Content in photosynthetic bacteria during biogas slurry treatment. *Bioresour Technol*, 245, 1277-1281.



มหาวิทยาลัยหาดใหญ่
HATYAI UNIVERSITY

- Zheng, W., Cai, T., Huang, M. & Chen, D. (2017). Comparison of electrochemical performances and microbial community structures of two photosynthetic microbial fuel cells. *J Biosci. Bioeng*, 124(5), 551–558.
- Zhou, Q., Zhang, P., Zhang, G. & Peng, M. (2015). Biomass and pigments production in photosynthetic bacteria wastewater treatment: Effects of photoperiod. *Bioresour Technol*, 190, 196–200.