ว.วิทย. มข. 44(4) 783-793 (2559) KKU Sci. J. 44(4) 783-793 (2016)

ผลของการกระตุ้นแอโนดด้วย กระแสไฟฟ้ากระแสสลับและกระแสตรง ต่อไฟฟ้าที่ได้จากเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์

Effect of Alternative Current and Direct Current Stimulation on Anode on Electricity outputs of Microbial Fuel Cell

กมล รอดอยู่[1] มานะ ศรียุทธศักดิ์[2] และ ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์[3*]

[1]หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

[2]ภาควิชาวิศวกรรมไฟฟ้า คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

[3]ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

[*]Corresponding Authors, E-mail: srengpipat@gmail.com

บทคัดย่อ

การคัดเลือกกลุ่มของแบคทีเรียเพื่อใช้ในเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ จำเป็นต้องคัดเลือกกลุ่มแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการถ่ายโอนอิเล็กตรอนให้กับขั้วไฟฟ้าแอโนดและสามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ดีอีกด้วย การกระตุ้นด้วยศักย์ไฟฟ้าและกระแสไฟฟ้าที่แอโนดเป็นวิธีที่สามารถเพิ่มทั้งประสิทธิภาพการผลิตไฟฟ้าและการย่อยสลายสารอินทรีย์ในด้านแอโนด ในงานวิจัยนี้ได้ทำการเปรียบเทียบผลการกระตุ้นแอโนดด้วยกระแสไฟฟ้ากระแสสลับและไฟฟ้ากระแสตรง และผลของอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient broth (NB), phosphate buffer basal medium (PBBM) และ fresh water medium (FWA) ที่ใช้ในระหว่างการกระตุ้น ต่อแรงดันไฟฟ้า กระแสไฟฟ้าและกำลังไฟฟ้าของเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ จากการศึกษาพบว่าค่ากระแสไฟฟ้ามากที่สุดคือ 72.9 มิลลิแอมป์/ตร.ม. จากชุดที่ใช้ PBBM และไฟฟ้ากระแสสลับ 5 มิลลิแอมป์ ในการกระตุ้น และกำลังไฟฟ้ามากที่สุดคือ 13.4 มิลลิวัตต์/ตร.ม. จากชุดที่ใช้ PBBM และไฟฟ้ากระแสสลับ 10 มิลลิแอมป์ แรงดันไฟฟ้ามากที่สุดคือ 719.0 มิลลิโวลต์ จากชุดที่ใช้อาหาร PBBM และไฟฟ้ากระแสสลับกระตุ้น 5 มิลลิแอมป์ เมื่อนำไบโอฟิล์มที่ได้จากชุดที่ใช้ PBBM และไฟฟ้ากระแสสลับ 10 มิลลิแอมป์ มาคัดแยกจุลินทรีย์ พบว่ามี *Shewanella putrefaciens* และ *Aeromonas hydrophila* ซึ่งเป็น Ferric reducing bacteria ที่มีประสิทธิภาพในการถ่ายโอนอิเล็กตรอนให้กับขั้วไฟฟ้า จากการศึกษาวิจัยนี้พบว่ากระตุ้นแอโนดด้วยกระแสไฟฟ้านั้น ควรใช้ไฟฟ้ากระแสสลับในการกระตุ้น โดยใช้ร่วมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ PBBM และค่าไฟฟ้ากระแสสลับที่ใช้กระตุ้นไม่ควรเกิน 10 มิลลิแอมป์ เพื่อให้ได้กลุ่มจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพเหมาะสำหรับใช้ในการผลิตไฟฟ้าด้วยเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์

ABSTRACT

Selection of consortium for microbial fuel cell (MFC) needs effective consortium that can both utilize organic compound and directly transfer electron to anode. Poised potential and current stimulation on anode could enhance electricity output and COD removal in anode of MFC. The aim of this research was to study the effect of alternative current (AC) and direct current (DC) and culture media (NB, PBBM and FWA) that use for anode stimulation on voltage, current density and power density outputs of MFC. The result show that PBBM+AC stimulation at 5 milli-ampere (mA) gave the highest current density and voltage at 72.9 mA/m^2 and 719 milli-volt (mV) respectively. Moreover PBBM+AC stimulation at 10 mA gave the highest power density at 13.4 milli-watt/m^2. Ferric reducing bacteria such as *Shewanella putrefaciens* and *Aeromonas hydrophila* were isolated from anode biofilm of PBBM+AC stimulation at 10 mA indicating that effective directly electron transfer bacteria could be enriched by AC stimulation. From this study, AC current stimulation on anode at 0-10 mA in PBBM medium can be used to enrich the effective consortium on anode for use in MFC.

คำสำคัญ: เซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ การกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้า Ferric reducing bacteria

Keywords: Microbial fuel cell, Electric current stimulation, Ferric reducing bacteria

บทนำ

ปัจจุบันการวิจัยและพัฒนาเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ (Microbial Fuel Cell; MFC) เพื่อนำไปใช้ในการบำบัดน้ำเสียได้รับความสนใจจากนักวิจัยทั่วโลก ซึ่งการทำงานของเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์นอกจากบำบัดน้ำเสียแล้ว ยังสามารถ เปลี่ยนน้ำเสียให้เป็นกระแสไฟฟ้า (Min and Logan, 2004) เซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์นั้น มีหลักการทำงานคล้ายคลึงกับเซลล์เชื้อเพลิงโดยทั่วไป ที่ประกอบด้วยด้านแอโนด (เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน) ด้านแคโทด (เกิดปฏิกิริยารีดักชัน) และเยื่อเลือกผ่านโปรตอนที่กั้นระหว่างด้านแอโนด กับด้านแคโทด ในเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ จุลินทรีย์ทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชัน จุลินทรีย์ด้านแอโนดจะทำหน้าที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ โดยการใช้สารอินทรีย์สำหรับกระบวนการเมตาบอลิซึมในเซลล์ และใช้ขั้วไฟฟ้าแอโนดเป็นตัวรับอิเล็กตรอน สำหรับการหายใจของเซลล์จุลินทรีย์จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันระหว่างเซลล์แบคทีเรียกับแอโนด ทำให้เกิดการไหลของอิเล็กตรอน ผ่านจากด้านแอโนดไปสู่ด้านแคโทดที่มีตัวรับอิเล็กตรอนอยู่ เกิดเป็นกระแสไฟฟ้าไหลในวงจร (Lovley, 2006) ดังนั้นการถ่ายโอนอิเล็กตรอนจากเซลล์จุลินทรีย์ไปสู่แอโนด จึงเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้มีผลต่อกระแสไฟฟ้าที่ผลิตได้จากเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์

จุลินทรีย์ในกลุ่มของ Ferric reducing bacteria (FRB) เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีการรายงานว่าสามารถถ่ายโอนอิเล็กตรอนให้กับแอโนดได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น *Shewanella putrefaciens* (Kim et al., 1999; 2002) โดยไปเกิดเป็นไบโอฟิล์มอยู่ที่แอโนด และถ่ายโอนอิเล็กตรอนให้กับแอโนด ผ่านทาง

ไซโตโครมที่อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย ส่วน *Geobacter sulfurreducens* (Reguera et al., 2006) นอกจากจะสามารถถ่ายโอนอิเล็กตรอนผ่านทางไซโตโครม ยังสามารถถ่ายโอนผ่านทาง pili (พิไล) ที่มีคุณสมบัติพิเศษคือสามารถนำไฟฟ้าได้ (electrical conductive pili) เป็นต้น จากคุณสมบัติดังกล่าวนำไปสู่การวิจัยเพื่อคัดเลือกและค้นหาวิธีเพิ่มจำนวนประชากรของแบคทีเรียกลุ่มนี้

การใช้เซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ ในการบำบัดน้ำเสียนั้น ควรใช้กลุ่มจุลินทรีย์มากกว่าการใช้เชื้อเดี่ยว เนื่องจาก FRB สามารถส่งอิเล็กตรอนให้แอโนดได้ดี และไม่มีความสามารถในการย่อยน้ำตาลกลูโคสได้ แต่สามารถย่อยได้เพียงสารอินทรีย์โมเลกุลเล็ก เช่น อะซิเตท และแลกเตท ทำให้ไม่เหมาะสมที่จะนำไปย่อยน้ำเสียที่มีโครงสร้างของสารอินทรีย์ที่ซับซ้อน (Logan, 2005) ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องหาวิธีที่จะคัดเลือกกลุ่มของจุลินทรีย์ ที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ดี และสามารถถ่ายโอนอิเล็กตรอนให้กับแอโนดได้ มีรายงานการศึกษาการใช้การกระตุ้นด้วยศักย์ไฟฟ้าและกระแสไฟฟ้าที่แอโนดที่ สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดไบโอฟิล์มของแบคทีเรียในกลุ่ม FRB ที่ขั้วแอโนดและยังสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ได้อีกด้วย Torres et al. (2009) ได้แสดงให้เห็นว่าการใช้ศักย์ไฟฟ้าค่าต่างๆ สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดไบโอฟิล์มของกลุ่มแบคทีเรียที่แอโนด และค่าความต่างศักย์ที่ต่างกันทำให้ได้กลุ่มของจุลินทรีย์ที่ต่างกัน นอกจากนั้นการใช้ความต่างศักย์กระตุ้นที่แอโนดของเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ ก่อนเริ่มการทำงานของระบบสามารถลด lag time ของระบบได้ (Cho and Ellington, 2007; Wang et al., 2009) และ Lin et al. (2013) ได้รายงานผลการใช้ศักย์ไฟฟ้ากระแสตรงในการกระตุ้นแอโนด พบว่าการกระตุ้นด้วยศักย์ไฟฟ้าทำให้ไบโอฟิล์มและการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสีย เกิดขึ้นได้รวดเร็วกว่าและมีประสิทธิภาพมากกว่าชุดที่ไม่ได้รับการกระตุ้น

จากงานวิจัยที่ผ่านมา ยังไม่พบรายงานการศึกษาผลของกระแสไฟฟ้าต่อการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่จะนำไปใช้ในเซลล์เชื้อเพลิง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งที่จะศึกษา ผลของการกระตุ้นตัวอย่างตะกอนดินด้วยกระแสไฟฟ้า โดยจะเปรียบเทียบผลของการใช้กระแสไฟฟ้าสลับเทียบกับกระแสตรงที่มีผลต่อการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ และศึกษาชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ โดยเปรียบเทียบค่าแรงดันวงจรเปิด กระแสไฟฟ้าและกำลังไฟฟ้าที่ผลิตได้จากเซลล์เชื้อเพลิง

อุปกรณ์และวิธีการดำเนินการวิจัย

1. ตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง

ดินตัวอย่างเก็บจากระบบระบายน้ำ ลึกลงไปจากพื้นถนน 2 เมตร บริเวณถนนหน้าคณะอักษรศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย นำตัวอย่างเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °ซ ก่อนนำมาทำการทดลอง

2. การกระตุ้นกลุ่มจุลินทรีย์บนขั้วไฟฟ้าแอโนดด้วยไฟฟ้ากระแสตรงและไฟฟ้ากระแสสลับ

2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ

ในงานวิจัยนี้เพื่อเปรียบเทียบอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการกระตุ้นด้วยไฟฟ้า จึงศึกษาผลของอาหารเลี้ยงเชื้อ 3 ชนิดได้แก่ nutrient broth (NB) ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อทั่วไป กับ phosphate buffer basal medium (PBBM) (Wang et al., 2010) และ fresh water enrichment medium (FWA) (Lovley and Philips, 1988) ที่เติม อะซิเตท ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์

2.2 การเตรียมชุดการทดลอง

นำตัวอย่างดิน 5 กรัม ใส่ในขวดแก้วขนาด 250 มล. ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวแต่ละชนิด และขั้วไฟฟ้า 2 ขั้ว โดยขั้วไฟฟ้าทำจากผ้าเคฟล่าคาร์บอน ขนาดกว้าง 3 ซม. ยาว 3 ซม. ทำให้มีพื้นที่ขั้วไฟฟ้ารวมสองด้านเป็น 18 ตร.ซม.ติดกับสายทองแดง หลังจากนั้นเททับด้วยผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวด้วยน้ำมันพาราฟิน ดังแสดงในรูปที่ 1 ในการกระตุ้นได้ใช้เครื่องจ่ายกระแสคงที่ 2 ชนิด คือเครื่องจ่ายกระแสตรงและเครื่องจ่ายกระแสสลับความถี่ 50 เฮิรตซ์ โดยปรับค่ากระแสไฟฟ้าที่จ่ายให้กับขั้วแอโนดเป็น 0, 5, 10 และ 15 มิลลิแอมป์ (rms) หรือ 0, 0.28, 0.56 และ 0.83 มิลลิแอมป์ (rms)/ตร.ซม. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 °ซ เป็นเวลา 60 วัน หลังจากนั้นนำขั้วแอโนด ไปใช้เป็นขั้วแอโนดของเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ต่อไป

รูปที่ 1 ส่วนประกอบของชุดการทดลองการกระตุ้นจุลินทรีย์ด้วยกระแสไฟฟ้า

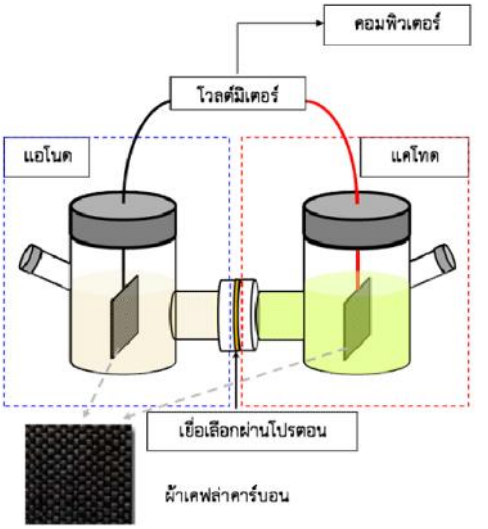
3. ผลของการกระตุ้นแอโนดด้วยกระแสไฟฟ้า ต่อการผลิตกระแสไฟฟ้าของเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์

3.1 เตรียมเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์

งานวิจัยนี้ใช้เซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ชนิดห้องคู่ ขนาด 100 มล. เท่ากันทั้งด้านแอโนดและแคโทด กั้นแยกด้วยเยื่อเลือกผ่านโปรตอน (Neosepta®, Japan) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.8 ซม. ดังแสดงในรูปที่ 2 ขั้วไฟฟ้าแอโนดและแคโทดต่อเข้ากับโวลต์มิเตอร์ Pico ADC11 (pico® Technology, UK) บันทึกค่าในคอมพิวเตอร์ด้วยโปรแกรม PicoLog Recorder โดยบันทึกค่าทุกๆ 1 นาที บ่มที่อุณหภูมิ 25 °ซ

ด้านแอโนด ประกอบด้วยสารละลายโซเดียมอะซิเตท ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว PBBM 100 มล. และใช้ขั้วแอโนดที่ได้จากการกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าเป็นขั้วไฟฟ้าแอโนดของเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์

ด้านแคโทด ประกอบด้วยสารละลาย 1 มิลลิโมลาร์ $K_3Fe(CN)_6$ ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว PBBM 100 มล. ทำจากผ้าเคฟล่าคาร์บอน ขนาดกว้าง 3 ซม. ยาว 3 ซม. ยึดติดกับสายทองแดง เช่นเดียวกับขั้วแอโนด



รูปที่ 2 แผนผังของเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองนี้

3.2 การจ่ายไฟฟ้าให้กับตัวต้านทาน

การวิเคราะห์หากำลังไฟฟ้าสูงสุดของเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ ทำโดยต่อตัวต้านทานค่าต่างๆ (100, 51, 10, 5.1, 2 และ 1 กิโลโอห์ม) ตามลำดับ เข้ากับเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์แล้วนำมาคำนวณหากระแสไฟฟ้าและกำลังไฟฟ้าที่จ่ายให้กับตัวต้านทาน ซึ่งกำลังไฟฟ้าจะมากที่สุดเมื่อความต้านภายนอกที่มาต่อกับวงจรมีค่าเท่ากับความต้านทานภายในของเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ (Logan, 2008)

3.3 การคำนวณหาค่าต่างๆ ทางไฟฟ้า

นำค่าแรงดันที่เซลล์จ่ายให้กับตัวต้านทานค่าต่างๆ มาคำนวณหาค่ากระแสไฟฟ้า และกำลังไฟฟ้า โดยคิดเป็นหน่วยต่อพื้นที่ของขั้วไฟฟ้า ดังสมการที่ 1 และ 2 โดยพื้นที่ของขั้วไฟฟ้า (a) ในการทดลองนี้มีค่าเท่ากับ 18 ตร.ซม.

กระแสไฟฟ้า: $i = (V / R) / a$ (1)

กำลังไฟฟ้า: $P = (I \times V) / a$ (2)

4. การศึกษาชนิดของแบคทีเรียที่อยู่บนแอโนดและพิสูจน์เอกลักษณ์ของแบคทีเรียที่คัดแยกได้

4.1 การคัดแยกแบคทีเรีย

นำชุดการทดลองที่ให้ค่ากำลังไฟฟ้ามากที่สุดมาคัดแยกแบคทีเรีย โดยหลังจากที่ทำการจ่ายไฟให้กับตัวต้านทานค่าต่างๆแล้ว นำเข็มฉีดยามาดูดสารละลายที่ด้านแอโนด นำสารละลายที่ได้มาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำมากระจายลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง PBBM agar (1.5% agar)ที่เติมสาร ferric citrate เข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ นำไปบ่มในกล่องไร้อากาศ GENBox (bioMérieux, France) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน นำโคโลนีที่ได้มาให้ได้เชื้อบริสุทธิ์โดยวิธี Streak plate บน PBBM ที่เติมสาร ferric citrate

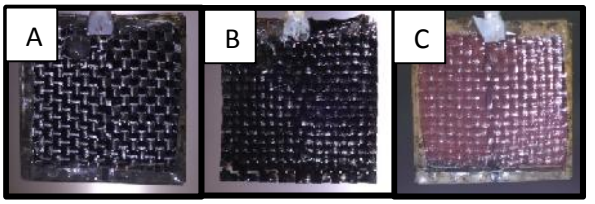
4.2 การทดสอบทางชีวโมเลกุล

นำแบคทีเรียมาสกัดดีเอนเอ โดยใช้ชุดสกัด GF-1 (Vivantis, Malaysia) และทำ PCR โดยใช้ primers ชนิด 16F27 (5'-AGA GTTTGATCCTGGCT CAG-3') และ 16R1492 (TACGGCTACCTTGTTA CGACTT-3') ทั้งหมด 35 รอบ ประกอบด้วยอุณหภูมิ 95 °ซ เป็นเวลา 5 นาที อุณหภูมิ 94 °ซ เป็นเวลา 1 นาที อุณหภูมิ 55 °ซ เป็นเวลา 1 นาที อุณหภูมิ 94 °ซ เป็นเวลา 1 นาที และอุณหภูมิ 72 °ซ เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (16S rDNA sequencing) ที่ได้ (1st base sequencing, Singapore) ทำการเชื่อมสายดีเอ็นเอที่ได้ด้วยโปรแกรม BIOEDIT และนำไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล GenBank เพื่อจัดจำแนกสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ได้

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย

1. ผลการกระตุ้นแอโนดด้วยกระแสไฟฟ้า

หลังจากที่กระตุ้นแอโนดด้วยไฟฟ้ากระแสตรงและกระแสสลับค่าต่างๆ ในแต่ละชุดการทดลอง พบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงของสีอาหารเลี้ยงเชื้อ ในขวดชุดการทดลอง และพบว่าที่ขั้วไฟฟ้าแอโนดมีไบโอฟิล์มเกาะบนขั้วไฟฟ้าของแต่ละชุดการทดลอง ดังแสดงในรูปที่ 3



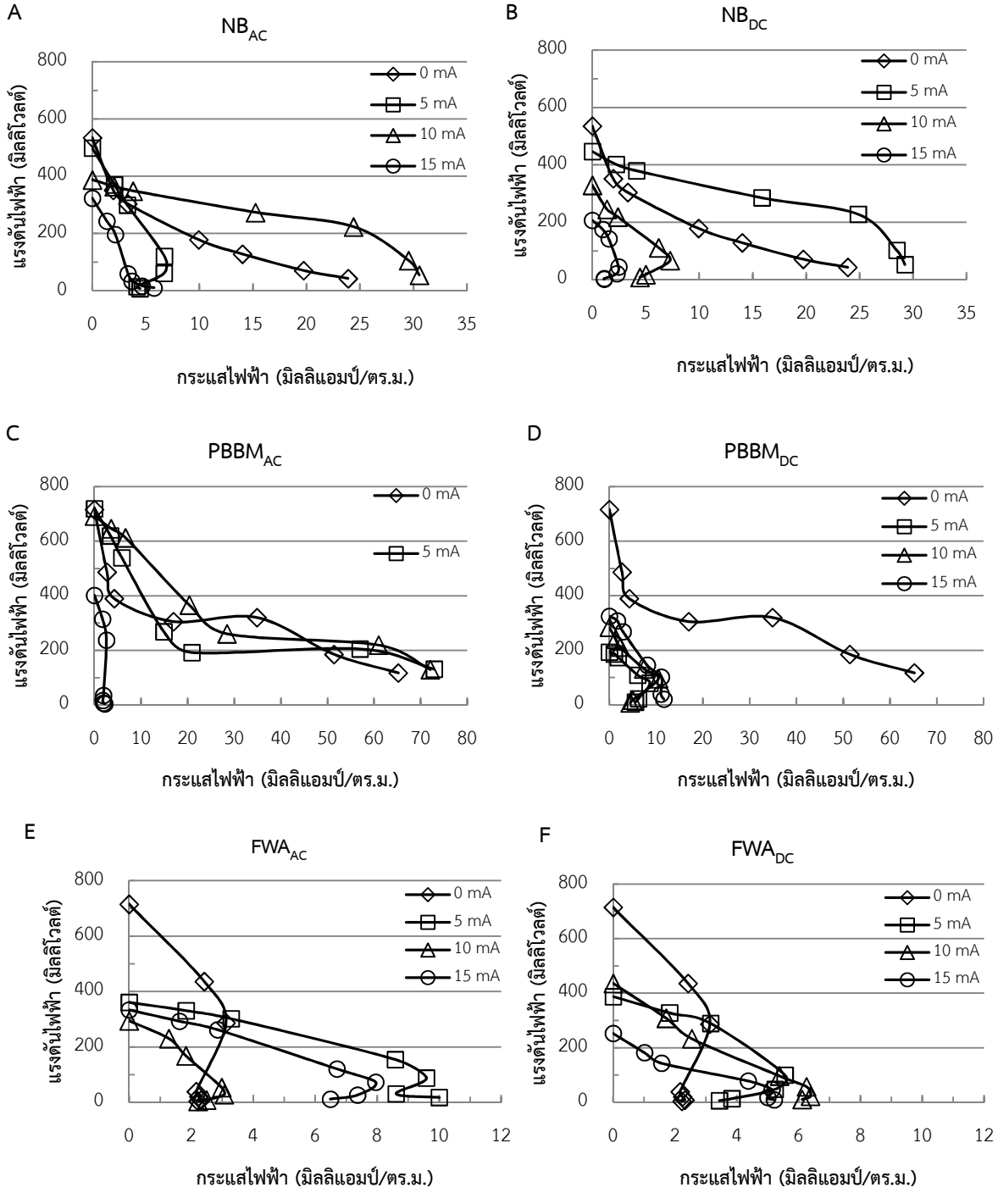
รูปที่ 3 ขั้วไฟฟ้าหลังจากการกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้า

รูปที่ 3 ลักษณะของขั้วไฟฟ้าที่ผ่านกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้า โดยรูป 3A เป็นขั้วไฟฟ้าที่อยู่ในอาหาร NB และไม่ได้จ่ายกระแสไฟฟ้า รูป 3B เป็นชุดการทดลองที่มีอาหาร PBBM และจ่ายไฟฟ้ากระแสสลับ 10 มิลลิแอมป์สังเกตเห็นไบโอฟิล์มสีดำบนขั้วไฟฟ้า และรูป 3C เป็นของชุดการทดลองที่ใช้ NB และจ่ายไฟฟ้ากระแสตรง 15 มิลลิแอมป์ สามารถสังเกตเห็นไบโอฟิล์มสีแดงบนขั้วไฟฟ้า ซึ่งพบลักษณะของขั้วไฟฟ้าในชุดการทดลองนี้เท่านั้น ทั้งนี้ในชุดการทดลองอื่นๆ ที่เหลือมีลักษณะของขั้วไฟฟ้าเป็นไปตามรูป 3A และ 3B

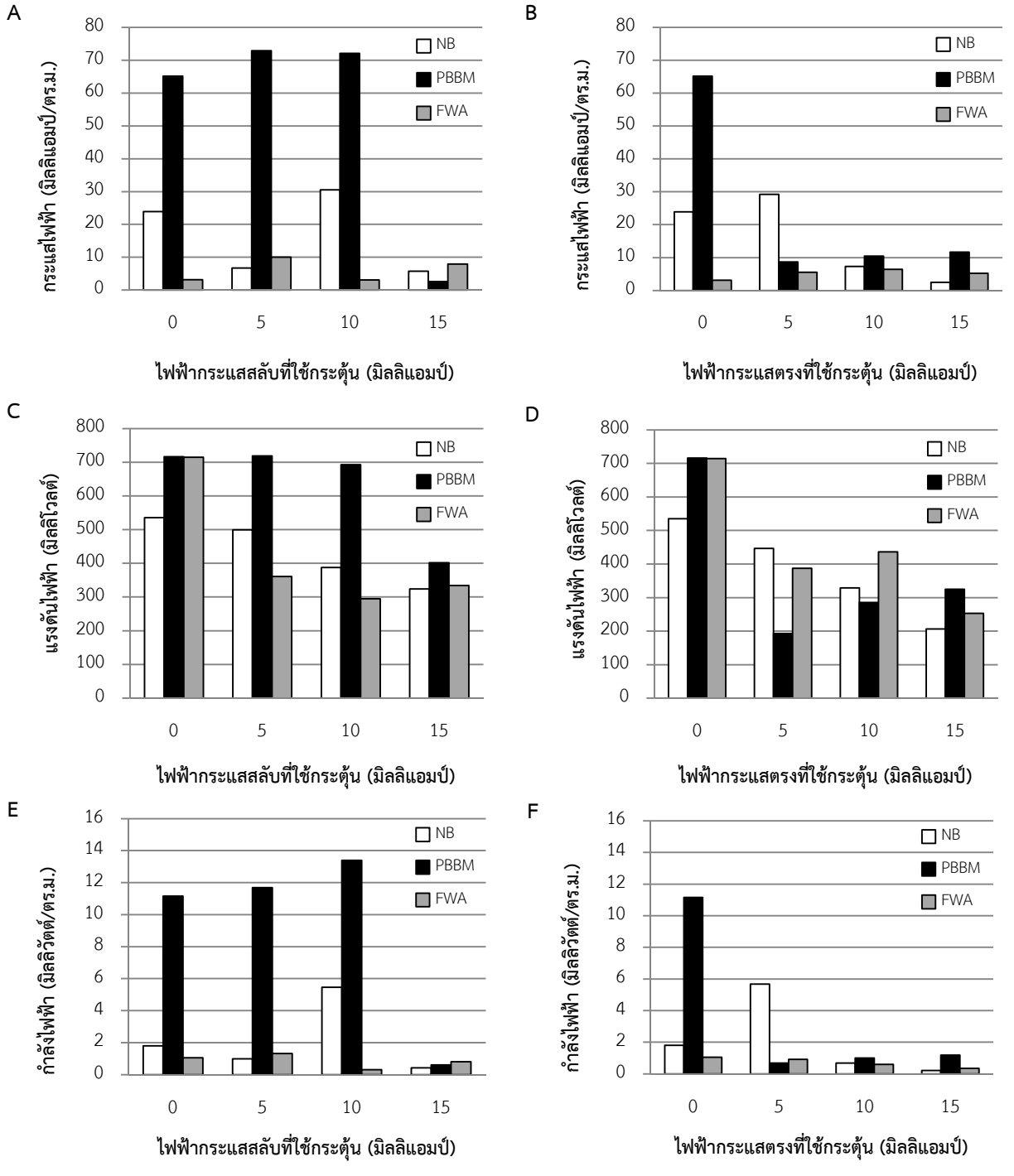
2. ผลของแอโนดที่ถูกกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าต่อแรงดันไฟฟ้า กระแสไฟฟ้า และกำลังไฟฟ้าที่ผลิตในเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์

หลังจากกระตุ้นขั้วไฟฟ้าแอโนดเป็นเวลา 60 วันแอโนดถูกย้ายมาใส่ในเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ เพื่อศึกษาความสามารถในการผลิตกระแสไฟฟ้าโดยมีอะซิเตทเป็นแหล่งพลังงานให้กับกลุ่มจุลินทรีย์บนแอโนด โดยหลังจากต่อแอโนดเข้ากับโวลต์มิเตอร์ ค่าแรงดันไฟฟ้าของเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ก็จะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป และเพิ่มขึ้นจนค่าแรงดันไฟฟ้าคงที่ซึ่งค่านี้คือแรงดันไฟฟ้าวงจรเปิด (open circuit voltage: Voc) หรือแรงดันไฟฟ้าสูงสุดของเซลล์เชื้อเพลิงนั้นๆ (V_{max}) หลังจากนั้นนำตัวต้านทานค่าต่างๆ เรียงลำดับจาก 100 กิโลโอห์มไปจนถึง 1 กิโลโอห์ม ต่อเข้ากับระบบเพื่อนำค่าแรงดันไฟฟ้าที่จ่ายให้กับตัวต้านทานค่านั้นๆ มาคำนวณหาค่ากระแสไฟฟ้า และกำลังไฟฟ้าสูงสุดของแต่ละชุดการทดลอง รูปที่ 4A-F แสดงค่าความสัมพันธ์ระหว่างกระแสและแรงดันที่ได้จากเซลล์เชื้อเพลิง

จากผลของกระแสไฟฟ้าและกำลังไฟฟ้า ชุดที่กระตุ้นด้วยไฟฟ้ากระแสสลับมีค่ามากกว่าที่กระตุ้นด้วยไฟฟ้ากระแสตรง และผลของอาหารเลี้ยงเชื้อในชุดการทดลองที่กระตุ้นด้วยไฟฟ้ากระแสสลับ พบว่าชุดที่ใช้อาหาร PBBM ดีกว่าชุดที่ใช้อาหาร NB และ FWA ตามลำดับ โดยค่ากระแสไฟฟ้ามากที่สุดคือ 72.9 มิลลิแอมป์/ตร.ม. จากชุดที่ใช้ PBBM และไฟฟ้ากระแสสลับ 5 มิลลิแอมป์ ในการกระตุ้น และกำลังไฟฟ้ามากที่สุดคือ 13.4 มิลลิวัตต์/ตร.ม. จากชุดที่ใช้ PBBM และไฟฟ้ากระแสสลับ 10 มิลลิแอมป์ ในการกระตุ้น ค่าแรงดันไฟฟ้าที่ได้จากเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ พบว่าชุดที่ใช้ไฟฟ้ากระแสสลับกระตุ้น ให้ค่ามากกว่ากระแสตรง และชุดที่ใช้อาหาร PBBM กับไฟฟ้ากระแสสลับกระตุ้น 5 มิลลิแอมป์ ให้แรงดันไฟฟ้ามากที่สุดคือ 719 มิลลิโวลต์



รูปที่ 4 กราฟแสดง polarization curve ระหว่างค่าแรงดันไฟฟ้า และกระแสไฟฟ้าที่ได้จากเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ จากแอโนดที่กระตุ้นด้วยไฟฟ้ากระแสสลับ (รูป 4A, 4C และ 4E) และกระตุ้นด้วยไฟฟ้ากระแสตรง (รูป 4B, 4D และ 4F) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB, PBBM และ FWA ที่ใช้ในการกระตุ้น



รูปที่ 5 กราฟแสดงค่ากระแสไฟฟ้า แรงดันไฟฟ้า และกำลังไฟฟ้าที่ได้จากเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ จากแอโนดที่กระตุ้นด้วยไฟฟ้ากระแสสลับ (รูป 5A, 5C และ 5E) และกระตุ้นด้วยไฟฟ้ากระแสตรง (รูป 5B, 5D และ 5F) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB, PBBM และ FWA ที่ใช้ในการกระตุ้น

จากผลการทดลอง เมื่อพิจารณาชนิดของกระแสไฟฟ้าที่ใช้ในการกระตุ้น เมื่อเพิ่มค่าไฟฟ้ากระแสตรงที่ใช้ในการกระตุ้นเพิ่มมากขึ้น ผลของกระแสไฟฟ้าและกำลังไฟฟ้าที่ได้ลดลงอย่างมากเมื่อเทียบกับชุดที่ไม่ได้จ่ายไฟฟ้าดังแสดงในรูปที่ 5B และ 5F สำหรับไฟฟ้ากระแสสลับที่ใช้กระตุ้น ชุดที่จ่ายไฟเพิ่มมากขึ้นแต่ไม่เกิน 10 มิลลิแอมป์ ในอาหาร PBBM ค่ากระแสไฟฟ้าและกำลังไฟฟ้าที่ได้มากกว่าชุดที่ไม่ได้จ่ายไฟกระตุ้น (0 มิลลิแอมป์) ดังแสดงในรูป 5A และ 5E การใช้ไฟฟ้ากระแสสลับในการกระตุ้นเกิน 10 mA การผลิตกระแสไฟฟ้าและกำลังไฟฟ้าจะลดลงอย่างมาก ซึ่งค่ากระแสไฟฟ้าที่มากกว่า 10 มิลลิแอมป์ อาจยับยั้งหรือทำลายเซลล์จุลินทรีย์ (Wellman et al., 1996) ดังนั้นค่าของกระแสไฟฟ้าที่สูงเกินไป จึงอาจจะไม่เหมาะสมสำหรับใช้ในการกระตุ้น ส่วนไฟฟ้ากระแสตรงที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ค่าของกระแสที่ใช้ (มากกว่าเท่ากับ 5 มิลลิแอมป์) อาจยับยั้งเซลล์จุลินทรีย์ได้ เพราะค่ากระแสไฟฟ้าที่ได้จากเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์มีค่าน้อยกว่าชุดที่ไม่ได้จ่ายไฟฟ้ากระแสตรง ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะลักษณะของไฟฟ้ากระแสตรงนั้นต่างกับไฟฟ้ากระแสสลับ โดยระบบไฟฟ้ากระแสตรงจะจ่ายกระแสไฟฟ้าออกมาต่อเนื่องและคงที่ ในขณะที่ไฟฟ้ากระแสสลับจะสลับไปมาระหว่างบวกกับลบ และกระแสไฟฟ้าที่จ่ายเป็นกราฟรูปไซน์ อาจช่วยลดการทำลายเซลล์จุลินทรีย์ได้ ผลของอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 3 ชนิดนั้น พบว่าอาหาร PBBM ให้กระแสไฟฟ้ากับกำลังไฟฟ้ามากกว่า NB และ FWA ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Wang et al. (2010) ซึ่งใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PBBM ในการเพิ่มจำนวนของ FRB

3. จุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากไบโอฟิล์ม

แบคทีเรียที่คัดแยกได้จากไบโอฟิล์มบนอาหารแข็ง PBBM agar ที่มีสีส้มอิฐที่เติม ferric citrate สามารถเปลี่ยนสีส้มอิฐเป็นสีเขียวหรือเขียวอ่อน จัดเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม FRB ซึ่งคัดแยกได้ทั้งหมด 12 ไอโซเลท เมื่อทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยวิธีการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rDNA ของแต่ละไอโซเลท และนำไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล GenBank พบว่าไอโซเลทที่คัดแยกได้เป็นแบคทีเรียสายพันธุ์ต่างๆดังแสดงในตารางที่ 1 *S. putrefaciens* และ *A. hydrophila* เป็น 2 สายพันธุ์ที่แยกได้จากไบโอฟิล์มที่มีการรายงานไว้แล้วว่า *S. putrefaciens* (Gorby et al., 2006; Kim et al., 2002; Xiong et al., 2006) และ *A. hydrophila* (Pham et al., 2003) เกาะที่ขั้วไฟฟ้าและสามารถถ่ายโอนอิเล็กตรอนให้กับแอโนดได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นจึงทำให้มีความเป็นไปได้ว่าการกระตุ้นแอโนดด้วยไฟฟ้ากระแสสลับสามารถทำให้ได้กลุ่มจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพเพื่อนำไปใช้เป็นแอโนดของเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์ได้

ตารางที่ 1 สายพันธุ์ของแบคทีเรียที่คัดแยกได้เปรียบเทียบกับฐานข้อมูลของ GenBank

ไอโซเลท	สายพันธุ์ของแบคทีเรีย	% Similarity	Accession Number
1	*Shewanella putrefaciens*	99	DQ307731.1
2	*Aeromonas hydrophila*	99	JN019024.1
3	*Clostridium saccharoperbutylacetonicum*	99	CP004121.1
4	*Bacteroides graminisolvens*	99	NR041642.1
5	*Bacteroides graminisolvens*	99	NR113069.1
6	*Aeromonas hydrophila*	99	JN019024.1
7	*Bacteroides graminisolvens*	99	NR041642.1
8	*Propionicimonas paludicola*	99	NR104769.1
9	*Clostridium aciditolerans*	99	NR043557.1
10	Uncultured bacterium	99	AB874482.1
11	Uncultured *Clostridium*	99	JX462527.1
12	*Bacteroides graminisolvens*	99	NR113069.1

สรุปผลการวิจัย

การกระตุ้นแอโนดด้วยกระแสไฟฟ้านั้น ควรใช้ไฟฟ้ากระแสสลับในการกระตุ้น โดยใช้ร่วมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ PBBM และค่าไฟฟ้ากระแสสลับที่ใช้กระตุ้นไม่ควรเกิน 10 มิลลิแอมป์ เพื่อให้ได้กลุ่มจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพเหมาะสำหรับใช้ในการผลิตไฟฟ้าด้วยเซลล์เชื้อเพลิงจุลินทรีย์

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาจากบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อเฉลิมฉลองวโรกาสที่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวภูมิพลอดุลยเดชทรงเจริญพระชนมายุครบ 72 พรรษา และทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช

เอกสารอ้างอิง

ศุภชัย ฤทธิ์เจริญวัตถุ. (2544). ผลของกระแสไฟฟ้าสลับต่อพฤติกรรมของเซลล์ (MG-63) ในหลอดทดลอง. วิทยานิพนธ์ หลักสูตรวิศวกรรมศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาไบโออิเล็กทรอนิกส์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ: 44 หน้า

Cho, E.J. and Ellington, A.D. (2007). Optimization of the biological component of a bioelectro-chemical cell. Bioelectrochem. 70(1): 165-172.

Gorby, Y.A., Yanina, S., McLean, J.S., Rosso, K.M., Moyles, D., Dohnalkova, A., Beveridge, T.J., Chang, I.S., Kim, B.H., Kim K.S., Culley, D.E., Reed, S.B., Romine, M.F., Saffarini, D.A., Hill, E.A., Shi, L., Elias, D.A., Kennedy, D.W., Pinchuk, G., Watanabe, K., Ishii, S., Logan, B., Nealson, K.H., and Fredrickson, J.K. (2006). Electrically conductive bacterial nanowires produced by *Shewanella oneidensis* strain MR-1 and other microorganisms. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 103(30): 11358–11363.

Kim, B.H., Kim, H.J., Hyun, M.S. and Park, D.H. (1999). Direct electrode reaction of Fe (III)-reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*. J. Microbiol Biotechnol. 9(7): 127–131.

Kim, H.J., Park, H.S., Hyun, M.S., Chang I.S., Kim, M. and Kim, B.H. (2002). A mediator-less microbial

fuel cell using a metal reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*. Enzyme Microbiol Technol. 30(2): 145–152.

Lin, H., Wu, X., Miller, C. and Zhu, J. (2013). Improved performance of microbial fuel cells enriched with natural microbial inocula and treated by electrical current. Biomass Bioenerg. 54: 170-180.

Logan, B. E. (2005). Simultaneous wastewater treatment and biological electricity generation. Water Sci Technol. 52(1-2): 31–37.

Logan, B.E. (2008). Microbial fuel cells. New Jersey: Wiley-Interscience. pp. 50-53.

Lovley, D.R. (2006). Bug juice: harvesting electricity with microorganisms. Nat Rev Microbiol. 4(10): 497-508.

Lovley, D.R. and Phillips E.J.P. (1988). Novel mode of microbial energy metabolism: organic carbon oxidation coupled to dissimilatory reduction of iron or manganese. Appl Environ Microb. 54(6): 1472-1480.

Min, B. and Logan, B.E. (2004). Continuous electric generation from domestic wastewater and substrates in a flat plate microbial fuel cell. Environ Sci Technol. 38(21): 5809–5814.

Pham, C.A., Jung, S.J., Phung, N.T., Lee, J., Chang, I.S., Kim, B.H., Yi, H. and Chun, J. (2003). A novel electrochemically active and Fe(III)- reducing bacterium phylogenetically related to *Aeromonas hydrophila* isolated from a microbial fuel cell. FEMS Microbiol Lett. 223(1): 129–134.

Reguera, G., Nevin, K.P., Nicoll, J.S., Covalla, S.F., Woodard, T.L., and Lovley, D.R. (2006). Biofilm and nanowire production leads to increased current in *Geobacter sulfurreducens* fuel cells. Appl Environ Microbiol. 72(11): 7345–7348.

Torres, C.L., Krajmalnik-Brown, R., Parameswaran, P., Marcus, A.K., Wanger, G., Gorby, Y.A. and Rittmann, B.E. (2009). Selecting anode-respiring bacteria based on anode potential: phylogenetic, electrochemical, and microscopic characterization. Environ Sci Technol. 43(24): 9519-9524.

Wang, A., Sun, D., Ren, N., Liu, C., Liu, W., Logan, B.E. and Wu, W.M. (2010). A rapid selection strategy for an andophilic consortium for microbial fuel cells. Bioresour Technol. 101(11): 5733-5735.

Wang, X., Feng, Y.J., Ren, N.Q., Wang, H.M., Lee, H., Li, N. and Zhao, Q.L. (2009). Accelerated start-up of two-chambered microbial fuel cells: Effect of anodic positive poised potential. Electrochim Acta. 54(3): 1109-1114.

Wellman, N., Fortun, S.M. and McLeod B.R. (1996). Bacterial biofilms and the bioelectric effect. Antimicrob Agents Chemother. 40(9): 2012–2014.

Xiong, Y.J., Shi, L., Chen, B., Mayer, M.U., Lower, B.H., Londer, Y., Bose, S., .Hochella, M.F., Fredrickson, J.K. and Squier, T.C. (2006). High-affinity binding and direct electron transfer to solid metals by the *Shewanella oneidensis* MR-1 outer membrane c-type cytochrome OmcA. J. Am. Chem. Soc. 128(43): 13978–13979.

❑❑❑❑❑