ساکرومایسیس سرویسیا مولد توان الکتریکی در پیل سوختی زیست‌شناختی

مصطفی رحیم‌نژاد[1]، قاسم نجف‌پور[1*]، سیدعلی اصغر قریشی[1]، نادر مختاریان[2]

۱- بابل، دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل، دانشکده مهندسی شیمی

۲- اصفهان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرضا، دانشکده مهندسی شیمی

پیام نگار: **Najafpour8@nit.ac.ir**

زمان دریافت: ۱۳۸۸/۱۱/۴

زمان پذیرش: ۱۳۸۸/۱۲/۲۲

چکیده

در پیل سوختی زیست‌شناختی سوبسترا به وسیله میکروارگانیزم و یا آنزیم اکسید می‌شود و انرژی زیست شیمیایی موجود در موادمغذی به انرژی الکتریکی تبدیل می‌گردد. ساکرومایسیس سرویسیا[1] به عنوان یک زیست کاتالیزگر زنده و گلوکز به عنوان سوبسترا در پیل سوختی زیست‌شناختی مورد استفاده قرار گرفت. از متیلن بلو باغلظت ۵۰ میکرومول در لیتر به عنوان واسطه انتقال الکترون استفاده گردید. میزان رشد میکروارگانیزم پس از تلقیح به سیستم در فاصله زمانی۲ ساعت مورد بررسی قرار گرفت. این میکروارگانیزم توانایی خوبی برای رشد در شرایط بی‌هوازی از خود نشان داده که توانسته ظرف مدت ۳۶ ساعت تمامی گلوکز موجود در سیستم را مصرف کند. منحنی پلاریزاسیون سیستم بدون افزودن واسطه انتقال و بعد از افزودن متیلن بلو به عنوان واسطه انتقال مورد بررسی قرار گرفت. افزایش مادهٔ واسطه سبب افزایش توان به میزان ۴/۵ میکروواط گشته است. پیل ساخته شده دارای ولتاژ مدار باز۲۵۰ میلی ولت بوده است که به مدت ۳۶ ساعت نیز کاملاً پایدار بوده است.

کلمات کلیدی: پیل سوختی زیست‌شناختی، متیلن بلو، واسطه انتقال الکترون، *ساکرومایسیس سرویسیه*، زیست الکتریسیته

۱- مقدمه

ضرورت انتخاب جایگزین مناسب، ارزان قیمت و پاک به جای سوخت‌های فسیلی ضرورتی اجتناب ناپذیر است. از جمله انرژی‌های مطرح، انرژی الکتریکی تولید شده به وسیلهٔ پیل‌های سوختی می‌باشد، که به دلیل بازدهی بسیار بالا و عدم آلایندگی محیط‌زیست و نیز مصرف هیدروژن، متانول، زیست توده و... به عنوان سوخت، در حال حاضر راه‌حل مناسبی جهت عبور از تنگنای انرژی و آلودگی محیط‌زیست می‌باشد [۲و۱].

در درون پیل‌های سوختی انرژی شیمیایی حاصل از یک واکنش شیمیایی به انرژی الکتریکی مفید تبدیل می‌گردد. لازم به ذکر است که تبدیل انرژی در درون پیل‌های سوختی تبدیل مستقیم انرژی شیمیایی به انرژی الکتریکی است. عملکرد پیل سوختی مانند باتری نیست که انرژی را ذخیره کند، بلکه در پیل سوختی حالتی از انرژی به حالت دیگر تبدیل می‌شود[۳].

1. *Saccharomyces cerevisiae*

فناوری پیل سوختی میکروبی جدیدترین فناوری تولید الکتریسته و زیست الکتریسته است که از زیست توده به وسیله باکتری‌ها به‌دست می‌آید. در سال ۱۹۱۱ اولین پدیده جریان الکتریسته به کمک میکروارگانیزم‌ها اعم از باکتری‌ها و میکروب‌ها توسط پورت شناسایی شده است[۴]. پس از گذشت ۵۵ سال تحولی در توسعه و پیشرفت چشمگیری در کاربری این گونه فرایندها صورت گرفته است[۵].

در یک پیل سوختی تا زمانی که سوخت و اکسیدان در درون سلول فراهم باشند به طور پیوسته انرژی شیمیایی به انرژی الکتریکی تبدیل می‌گردد. با توجه به بحران‌های به وجود آمده در زمینه انرژی پیشرفت‌های زیادی در زمینه پیل‌های شیمیایی در حال انجام است. بهره دهی بالا از مزایای عمدهٔ این نوع پیل‌هاست اما هزینه‌های بالای کاتالیزگرها و دمای عملیاتی بالا و خورنده بودن محلول الکترولیت از معایب این نوع از پیل‌ها می‌باشد.در این رابطه پیل‌های سوختی زیست‌شناختی جذاب و امیدبخش می‌باشند[۶].

پیل‌های سوختی زیست‌شناختی یکی از انواع پیل‌های سوختی هستند که می‌توانند در دوره طولانی مدت به کار برده شوند. علی رغم پیل‌های سوختی قدیمی که از هیدروژن، اتانول و متانول به عنوان سوخت استفاده می‌نمودند پیل‌های سوختی زیست‌شناختی از دهنده‌های الکترون زنده استفاده می‌کنند. بر خلاف پیل‌های سوختی شیمیایی، پیل‌های زیست‌شناختی در شرایط ملایمی به عنوان مثال، در دما و فشار محیط، کار می‌کنند همچنین از الکترولیت‌های ارزان قیمت استفاده می‌نمایند. در پیل‌های زیست‌شناختی به عنوان نمونه می‌توان از آنزیم و یا خمیرمایهٔ نانوایی به عنوان کاتالیزگر و یا میکروارگانیسم استفاده کرد[۷].

از جمله فواید مهم پیل‌های سوختی زیست‌شناختی این است که آنها توانایی تبدیل انرژی شیمیایی را از یک محیط زیست‌شناختی به جریان الکتریکی دارا می‌باشند و سوخت مورد نیاز را در این سیستم‌ها می‌توان از یک محیط زیست‌شناختی و حتی از یک ارگانیزم زنده و یا گیاه گرفت [۸]. در طراحی پیل‌های سوختی زیست‌شناختی برای تبدیل انرژی شیمیایی به انرژی الکتریکی از زیست کاتالیزگرها استفاده می‌شود[۹]. در مجموع پیل‌های سوختی زیست‌شناختی را به دو دسته کلی پیل‌های سوختی میکروبی و آنزیمی طبقه‌بندی می‌کنند. برخلاف سیستم‌های میکروبی که از ارگانیزم‌های زنده به عنوان منبع کاتالیزوری استفاده می‌کنند، در سیستم‌های آنزیمی از پروتئین‌های آنزیمی خالص برای انجام واکنشهای کاتالیزی خاص استفاده می‌گردد. در مواردی می‌توان چندین آنزیم را با یکدیگر ترکیب کرد تا اکسایش ماده به طور کامل انجام پذیرد. همچنین می‌توان از واحدهای پروتئینی کوچکتر از آنزیم‌های کامل به عنوان کاتالیزگر در پیل‌های سوختی استفاده کرد. در پیل‌های سوختی آنزیمی، پیل در پتانسیلی نزدیک به پتانسیل (اکسایش- کاهش) آنزیم عمل می‌کند[۱۰]

از لحاظ نظری تولید جریان برق از پیل سوختی میکروبی پدیدهٔ جدیدی محسوب نمی‌شود. به طور حتم روش‌های علمی و اجرایی آن برای تولید برق کاملاً نوین می‌باشند. ابزارهایی که از نظر اقتصادی پیل سوختی میکروبی را برای تولید انرژی توجیه کند نیاز به بررسی دارد. اگر هزینه تبدیل انرژی از نفت در سطح پائین حفظ شود، روش‌های متنوعی در تکامل و تدوین انرژی نوین شکل گرفته که فرایندهای رقیب تولید انرژی هستند. پیل سوختی میکروبی روش بسیار جدیدی برای تولید انرژی است که تلاش چندانی برای اسکلت و ساخت آن انجام نگرفته که بتوان اقتصادی بودن آن را توجیه کرد[۱۲و۱۱].

هدف از انجام این تحقیق استفاده از مخمر به عنوان کاتالیزگر زیستی در محفظه بی هوازی و همچنین، استفاده از ماده شیمیایی متیلن بلو جهت تولید جریان و ولتاژ الکتریکی است.

۱- مواد و روش‌ها

۱-۲ میکروارگانیسم و محیط کشت

باکتری ساکرومایسیس سرویسیا از بانک میکروبی آزمایشگاه تحقیقاتی زیست‌فناوری دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل تهیه شد. سپس باکتری به محیط کشت MRS تلقیح گردید و پس از ۱۶ ساعت به بیشترین میزان رشد خود در شرایط بی هوازی رسید.

در این تحقیق از گلوکز به عنوان منبع قندی استفاده شد.همچنین به محیط کشت مواد دیگری نیز افزوده شده که مواد و همچنین ترکیب درصدهای آن در جدول (۱) ارائه گردیده است و پس از آن محیط کشت به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار ۱۵psig اتوکلاو گردید. تمام مواد شیمیایی و آلی مورد نیاز برای انجام آزمایش نیز از شرکت سیگما خریداری شد. برای اینکه عصاره مخمر با گلوکز خالص مورد استفاده در دمای بالا واکنش

ندهد و سبب کدر شدن محلول نگردد محلول گلوکز و محیط کشت به صورت جدا از هم اتوکلاو شدند و پس از رسیدن به دمای محیط با هم مخلوط گردیدند. پس از آن به میزان ۵ درصد تلقیح باکتری صورت گرفت و محلول در شرایط بی هوازی در دمای محیط (۲ ∓ ۲۶ °C) قرار داده شد. هر ۲ ساعت یک بار نیز از محلول نمونه گیری شد و جذب آن در طول موج ۶۲۰ nm با دستگاه طیف نورسنج اندازه‌گیری شده تا بتوان منحنی رشد باکتری را در شرایط بی هوازی به دست آورد.

جدول ۱- مواد مورد استفادهٔ محیط کشت

ماده	میزان (g/l)
گلوکز	۳۰
عصاره مخمر	۳
پپتون	۱
NH4Cl	۰/۵
متیلن بلو	۰/۰۰۶۷
MgSO4	۰/۲

۲-۲ مشخصه‌های پیل سوختی زیست‌شناختی

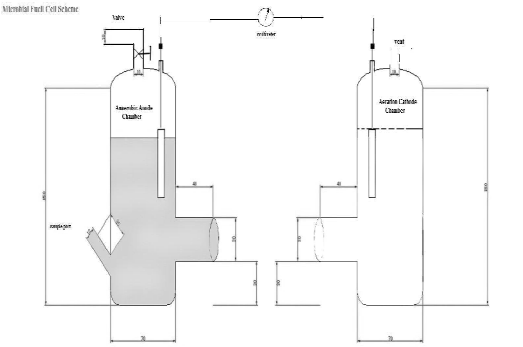
برای ساخت تک سلول پیل سوختی زیست‌شناختی از یک پیل دو قسمتی شامل بخش آند بی هوازی و کاتد هوازی، به طور مجزا از هم، استفاده شد.جنس محفظه‌ها از شیشه پیرکس بود و هر کدام از محفظه‌ها نیز دارای ظرفیت ۸۲۰ میلی لیتر می‌باشند.قطر داخلی هر کدام از محفظه‌ها ۶/۴cm است که توسط یک لوله رابط به قطر ۲/۴cm و طول ۳cm توسط یک غشاء عبوردهندهٔ پروتون از جنس نافیون از هم جدا شده‌اند. نمای طراحی تک سلول زیست‌شناختی به صورت تصویری در شکل (۱) آورده شده است.۷۵ درصد از حجم فوق حجم کاری لحاظ شده است.۶۱۵ لیتر از محیط کشت تهیه شده با مشخصات فوق به قسمت آند اضافه گردید و در سمت کاتد نیز از۶۱۵ میلی لیترآب بدون یون استفاده شده که توسط اسپارژی به این محفظه هوادهی نیز صورت گرفته است.

در این کار برای انتقال الکترون‌های تولیدی حاصل از فرایند تخمیر، از الکترودهایی از جنس گرافیت استفاده شده است.ابعاد دو الکترود(الکترودهای آند و کاتد) یکسان و به اندازهای ۸×۵ سانتیمتر می‌باشند و جریان حاصل توسط یک سیم مسی به مدار بیرونی منقل شده است.

۲-۳ روش‌های آنالیز

۲-۳-۱ بررسی ریخت‌شناسی ذرات

ریخت‌شناسی و ساختار سطح نفیون با میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد بررسی قرار گرفته است. برای گرفتن تصاویر با میکروسکوپ الکترونی در انجام این تحقیق از میکروسکوپ الکترونی (SEM) موجود در دانشگاه تربیت مدرس استفاده گردید. میکروسکوپ الکترونی مورد استفاده ساخت شرکت فیلیپس[1] از کشور هلند و مدل XL30 است.



شکل ۱- نمای اجمالی و عملیاتی پیل سوختی زیست‌شناختی در مقیاس آزمایشگاهی (الف) نمای اجمالی یک پیل سوختی زیست‌شناختی دارای دو محفظه مجزا، (ب) پیل سوختی زیست‌شناختی ساخته شده و در حال کار

1. Philips

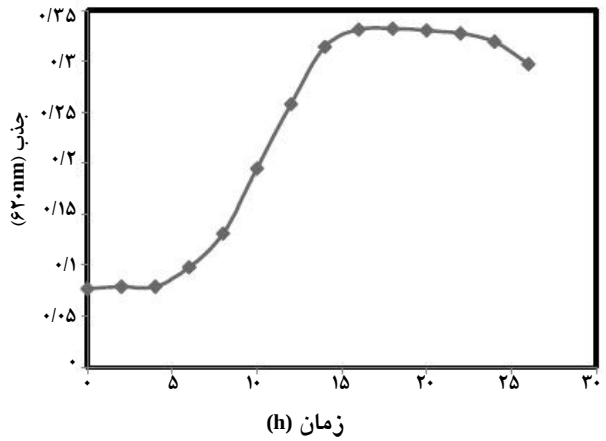
۲-۳-۲ آنالیز قند

میزان مصرف قند محلول گلوکز بـه روش DNS انـدازه‌گیـری شـد. بدین ترتیب که ابتدا محلول به مدت ۵ دقیقه با سـرعت ۷۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید و بعد از آن محلول حاصل بالا با معـرف DNS مخلوط شد و سپس جذب آن بـا دسـتگاه طیـف نورسـنج در طول موج ۵۴۰ nm اندازه گیری گردید.

اندازه گیری جریان و ولتاژ: برای به دست آوردن جریان از المانهـای مقاومتی برای ایجاد مقاومت‌های متغیر استفاده شد، المان مقـاومتی معمولی، به دلیل اینکه دارای یک مقاومت اهمی ثابـت و پایـدار (در دمای معمولی) و در ولتاژهای مختلف مـی‌باشـد. در نتیجـه، المـان مقاومتی به دلیل نداشتن افت ولتاژ درون المـان و نیـز صـفر بـودن جریان نشتی، گزینه مناسبی برای ساخت دستگاه اندازه‌گیری است. در این روش برای قـرار دادن بارهـای مختلـف مقـاومتی روی پیـل سوختی از ترکیب یک سیستم رلـه‌ای مقـاومتی اسـتفاده شـده کـه می‌توان با سری کردن مقاومت‌های مختلف، بارهای مقاومتی دلخواه را ایجاد کرد و با قرار دادن آن روی پیل سوختی، اثر آن را مـشاهده نمود. دستگاهی جهت ثبت نتایج ولتـاژ و جریـان در پیـل سـوختی زیست‌شناختی ساخته شد. بـرای سـاخت ایـن سیـستم مقـاومتی و رله‌ای از ۱۵ مقاومت مختلف و ۱۶ رله استفاده شد که این سیـستم ساخته شده توانایی گرفتن ۱۸ دیتـا را دارا مـی‌باشـد. برنامـه مـورد استفاده برای ثبت نتایج برنامه مطلب[1] بوده است.

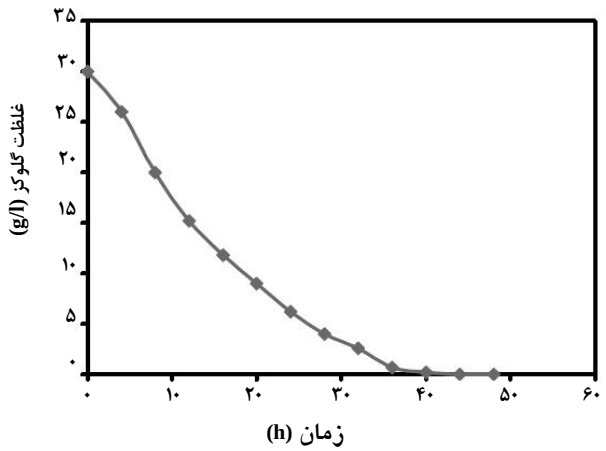
۳- بحث ونتایج

شکل (۲) سینتیک رشد میکروارگانیزم ساکرومایسیس سرویـسیا را نشان می‌دهد. سینتیک رشد بدین منظور مورد بررسی قـرار گرفـت که از زمان لازم برای رسیدن به حالت پایا آگاه شویم. از زمان تلقیح هر ۲ ساعت یک‌بار نمونه‌گیری شد و میزان جذب نوری آنها خوانده شد. تمام داده‌ها با دو بار تکرار انجام شـدند و میـانگین داده‌هـا نیـز ارائه شده است. نتایج حاصل نشان می‌دهند کـه ایـن بـاکتری طـی مدت ۱۸ ساعت به بیشینه رشد خود در شرایط بی هوازی می‌رسـد. غلظت گلوکز جهت رشد میکروارگانیزم ۳۰ گرم در لیتر بوده اسـت. این میکروارگانیزم توانایی مصرف این غلظت از ماده قندی را ظـرف مدت ۳۶ ساعت از خود نشان داده است.



شکل ۲- منحنی رشد میکروارگانیسم *ساکرومایسیس سرویسیا* در شرایط بی هوازی

شکل (۳) مصرف گلوکز را توسط باکتری ساکرومایـسیس سرویـسیا نشان می‌دهد. همان‌طوری که در شکل نیز مشاهده می‌گردد غلظت اولیه مورد آزمایش ۳۰ گرم بـر لیتـر بـوده کـه پـس از گذشـت ۳۶ ساعت این باکتری توانسته است تمامی قنـد موجـود در سیـستم را مصرف کند که نشان دهندهٔ مصرف بسیار خوب گلـوکز توسـط ایـن باکتری در شرایط بی هوازی می‌باشد.

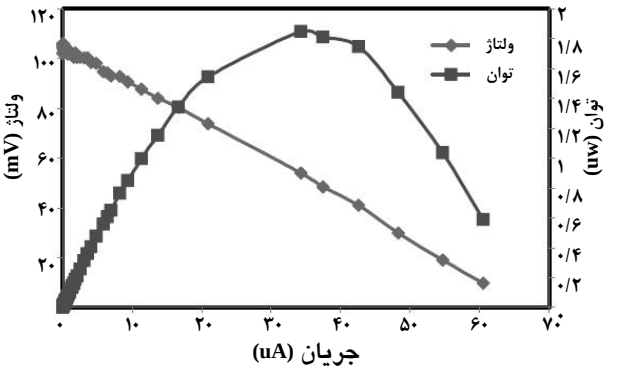


شکل ۳- نرخ مصرف گلوکز توسط باکتری *ساکرومایسیس سرویسیا* در شرایط بی هوازی

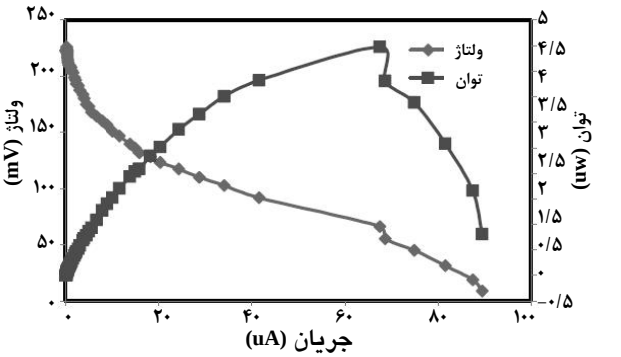
منحنی پلاریزاسیون پیل در دو حالت قبل و بعد از افـزودن واسـطه انتقال، مورد بررسی قرار گرفت که در شـکل (۴) ارائـه شـده اسـت. همانطور که شکل (۴-الف) نشان مـی‌دهـد بیـشینه تـوان و جریـان تولید شده در این حالت به ترتیب ۱/۷ میکـرووات و ۶۰ میکروآمپـر

1. MATLAB

بوده است. باافزودن ۵۰ میکرو مول از واسطه انتقال متیلن بلو به این سیستم پیل سوختی توان خروجی تا حدود ۲ برابر زیاد شد به طوری که توان تولیدی به ۴/۵ میکروواوت افزایش یافت.



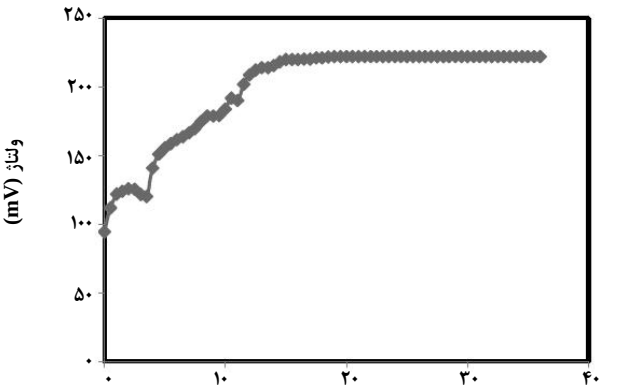
(الف)



(ب)

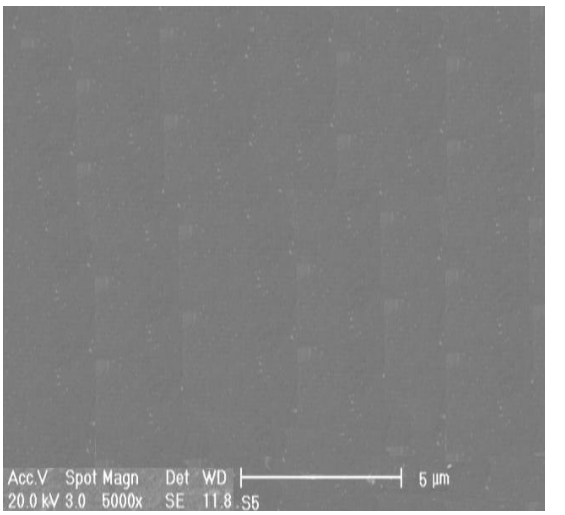
شکل ۴- منحنی پلاریزاسیون پیل در حالت‌های قبل از افزودن واسطه انتقال (الف) و پس از افزودن واسطه انتقال (ب)

منحنی ولتاژ در مقابل زمان در حالت بدون بار در شکل (۵) ارائه شده است. این پیل ساخته شده توانسته است ولتاژی حدود ۰/۲۵ ولت را به مدت ۳۶ ساعت بدون بار تامین کند.

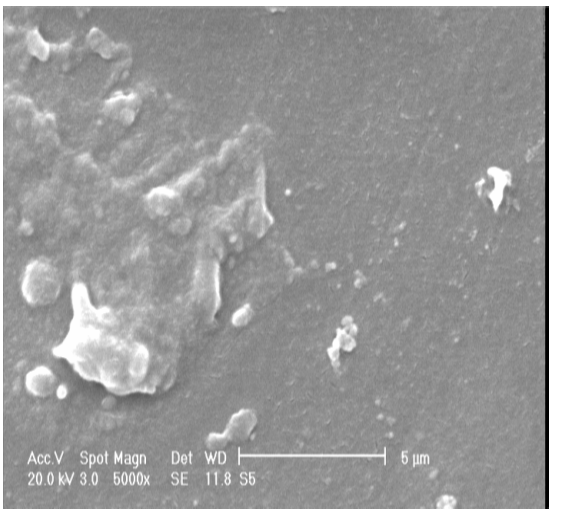


شکل ۵- منحنی ولتاژ پیل در مقابل زمان در حالت بدون بار

همچنین در این تحقیق سطح نفیون مورد استفاده نیز توسط میکروسکوپ الکترونی، قبل و بعد از استفاده، مورد آنالیز قرار گرفت. شکل (۶) تصویر الکترونی گرفته شده از روی سطح نفیون را با بزرگ‌نمایی ۵۰۰۰ برابر نشان می‌دهد. همان طور که این تصویر نشان می‌دهد اندکی آلودگی بر روی سطح غشاء مشاهده می‌گردد که نیاز به احیای آن برای استفاده مجدد دارد.



(الف)



(ب)

شکل ۵- تصویر الکترونی گرفته شده از روی سطح نفیون. (الف) قبل از استفاده (ب) بعد از استفاده

۴- نتیجه‌گیری

وجود میکروارگانیزم‌های مختلف با کارایی‌های متنوع این توانایی را به علم زیست فناوری داده است تا بتواند در شاخه‌های علمی مختلف حضور عملی داشته باشد. محققان این رشته پی به وجود میکروارگانیزم هایی برده‌اند که قادرند در پی انجام واکنشهای متابولیکی خود الکترون آزاد نمایند. رشد بی هوازی میکروارگانیزم ساکرومایسیس سرویسیا نشان داده است که این موجود زنده توانایی بسیار خوبی جهت رشد در شرایط بی هوازی دارا می‌باشد و این میکروارگانیزم توانست طی ۳۶ ساعت غلظت گلوکز ۳۰ گرم در لیتر را به صفر برساند. از این باکتری جهت استفاده در پیل سوختی زیست‌شناختی استفاده گردید. پیل زیست‌شناختی ساخته شده در دو حالت با حضور و بدون حضور واسطه انتقال متیلن بلو مورد بررسی قرار گرفت که نتایج نشان داده است حضور متیلن بلو سبب افزایش توان پیل به میزان ۴/۵ میکروووات گشته است. همچنین این پیل توانست ولتاژی حدود ۲۵۰ میلی ولت را در حالت مدار باز تولید کند که به مدت ۳۶ ساعت نیز پایدار بوده است.

۵- تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه صنعتی نوشیروانی بابل به خاطر حمایت‌های مالی و فراهم نمودن امکانات و تجهیزات آزمایشگاهی تشکر و سپاسگزاری می‌نمایند.

مراجع

[1] S. Venkata, G. Mohan, B. Mohanakrishna, R. Purushotham, R. Saravanan, P.N. Sarma, "Bioelectricity generation from chemical wastewater treatment in mediatorless (anode) microbial fuel cell (MFC) using selectively enriched hydrogen producing mixed culture under acidophilic microenvironment". *Biochem. Eng. J.* 39, 121–130, (2008).

[2] D. Zhuwei, L. Haoran, G. Tingyue, "A state of the artreview on microbial fuel cells: A Promising technology for waste water treatment and bioenergy", *Biotechnol. Adv*., 25, 464-482, (2007).

[3] W.Vielstich, A. Lamm, H.A. Gasteiger, "Handbook of Fuel Cells—Fundamentals Technology and Applications, Fundamentals Fand Survey of Systems". Vol. 1. Wiley, Chichester, UK, (2003).

[4] B. E. Logan, "Microbial fuel cells". *Wiley-Interscience*, New Jersey, USA, (2007).

[5] R.M.Allen, H.P. Bennetto, "Microbial fuel cells: electricity production from carbohydrates". *Appl. Biochem. Biotechnol*., 39(2), 27-40, (1993).

[6] B. Min, S.Cheng, B.E. Logan, "Electricity generation from swine wastewater using microbial fuel cells". *J. Water Research*., 39, 1675–1686, (2005).

[7] R. M. Allen, H.P. Bennetto, "Microbial Fuel Cells". *Appl. Biochem. Biotechno*., 39, 27-40, (1993).

[8] D. R. Lovley, "Microbial fuel cells: novel microbial physiologies and engineering approaches". *J.Current Opinion in Biotechnol*., 17, 327–332, (2006).

[9] L. Huang, R.J. Zeng, I. Angelidaki, "Electricity production from xylose using a mediator-less microbial fuel cell". *Bioresource Technol*., 99, 4178–4184, (2008).

[10] A.K.shukla, P.Suresh, S. Berchmans, P. Rajendran, "Biological fuel cells and their application". *Current Science*. 87(4), 19-28, (2006).

[11] M. Rahimnejad, M.Mokhtarian, G.D. Najafpour, D.Ramli, A.Ghoreyshi, "Low Voltage Power Generation in aBiofuel Cell Using Anaerobic Cultures". *World. Appl. Sci. J*., 6 (11), 1585-1588, (2009).

[12] G. D. Najafpour, M.Rahimnejad, M.Mokhtarian, D.Ramli, A. Ghoreyshi, " Bioconversion of Whey to Electrical Energy in a Biofuel Cell Using *Saccharomyces cerevisiae* ".*World. Appl. Sci. J*., 1 (5), 1818-4952, (2010).