

# 微藻產氫之研發現況

周麗梅、葉信利

水產試驗所海水繁養殖研究中心

## 前言

基於保護環境的考量，氫氣未來將在能源產業中扮演重要角色。氫氣在燃燒後，除了提供能量外，只產生水蒸汽，不會產生二氧化碳 (CO<sub>2</sub>)，由於氫是高效、潔淨、可再生的能源，其應用日益廣泛，需求量也不斷增加。目前氫氣的來源大部分來自原油、煤與天然氣等化石燃料，少數來自電解水或生質能等。石化燃料主要是使用水蒸汽及氯化重整製氫，但製得的氫純度低，熱效率低，容易造成資源的浪費，尤其製程中反應溫度較高，嚴重污染環境。電解水方法製氫是目前應用較廣且比較成熟的方法之一，只要提供電能，可使水分解成氫氣和氧氣，製氫氣的效率一般在 75—85%，但消耗電量大，也不利於能源的綜合利用，發展有限。

因此，遂有開發其他的製氫方法之迫切性。運用不同技術促使微生物代謝產物改變，誘導終產物為氫氣，成為能源系統的一部分。上述技術可將太陽能直接或間接轉換成氫氣，進而取得循環再生的能源，不僅解決能源匱乏問題，也符合環保需求，因此開發生物製氫技術是值得發展之方向。

## 產氫微藻之應用

已知某些藻種 (表 1) 在特定代謝條件下可產生氫氣，使得藻類成為一種亟待開發之生質能標的 (Wunschiers and Lindblad, 2002)。單細胞藻類產氫氣的條件不同，推測是代謝機制不同所導致。某些微藻遇到緊迫的環境變化，便會透過特殊的代謝途徑，繼續產生 ATP 與 NADPH，來維持藻體的生存 (Winkler et al., 2002b)，同時也會產生特殊的代謝產物。

表 1 目前科學期刊發表之產「氫氣」的單細胞藻類

Species	References
<i>Scenedesmus obliquus</i>	Gaffron, 1939
<i>Chlorococcum littorale</i>	Ueno et al., 1999
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Happe and Kaminski, 2002
<i>Scenedesmus vacuolatus</i>	Winkler et al., 2002a
<i>Chlorella fusca</i>	
<i>Chlamydomonas moewusii</i>	Winkler et al., 2002b
<i>Chlamydomonas noctigama</i>	
<i>Lobochlamys segnis</i>	

Gaffron (1939) 在 *Scenedesmus obliquus* 的培養過程中，首先發現有氫氣的產生；Melis and Happe (2001) 以 *Chlamydomonas reinhardtii* 置入密封的透光培養瓶中，在日光

下照射，培養濃度達  $3-6 \times 10^7$  cells/ml 時，移除培養基的硫化合物，此過程將抑制光系統 II 的作用 (Semin et al., 2003)，因電子傳遞截斷而缺少氧氣，當水中之溶氧 (dissolved oxygen) 被消耗殆盡，改採用另一代謝路徑產生能量，其中電子會由光系統 I 傳遞給另一個亦含有鐵原子的氫化酵素 (hydrogenase)，氫化酵素會利用所獲得的電子將氫質子還原成氫氣釋出。此流程包含兩個生理代謝機制，一為運用光合作用，產生氧氣，並製造出含碳的化合物，如醣類、蛋白質、脂質及高能量分子 ATP；另一為藉著代謝細胞物質以產生 ATP，達到存活的目的，同時放出氫氣。依以上結果顯示，單細胞藻類產生氫氣並非是常態性模式，其目的只是為了彌補不能順利進行光合作用產生 ATP 與 NADPH 時，而產生之代償反應 (Das and Veziroglu, 2001; Tamagnini et al., 2002; Vignais et al., 2001)。

藻類製氫原理如圖 1 所示，藻類光合作用分成二部分，在光系統 II (PSII P680) 利用獲取陽光的能量的進行反應，將水分子分解產生氧氣、氫質子 (proton,  $H^+$ ) 及電子 (electron,  $e^-$ )，光系統 II 從水分子中截取電子後位能首先在此獲得提昇，接著在光系統 I (PSI P700) 獲得更進一步提昇，經兩步驟提昇後，電子也因此傳導至 PSI 還原位置的 Fd (ferredoxin)，接著由可逆氫化酶 (reversible hydrogenase) 接收電子，並將其傳輸給兩個質子，以形成氫分子，其流程為  $2H^+ + 2Fd$  hydrogenase  $H_2 + 2Fd$ ，依據氫化酵素所含之金屬原子種類，可分為同時含有 Ni 及 Fe 的氫化酵素 (NiFe-hydrogenase) 及只含

有 Fe 的氫化酵素 (Fe-hydrogenase)。含 Fe 的氫化酵素，其氨基酸及基因序列已被研究發表 (Das and Veziroglu, 2001; Tamagnini et al., 2002; Vignais et al., 2001)，且多樣物種之氫化酵素基因及其蛋白質結構也漸被認識 (Das and Veziroglu, 2001; Tamagnini et al., 2002; Vignais et al., 2001; Winkler et al., 2002b)。

氫化酵素分為二類 (Appel and Schulz, 1998; Das and Veziroglu, 2001; Tamagnini et al., 2002; Vignais et al., 2001)：第一類是可逆性氫化酵素 (reversible or classical hydrogenase)，此類酵素需要電子攜帶者 (electron carrier) 的協助，自光系統 I 所獲得的電子，便是藉由鐵氧化還原蛋白 (ferredoxin) 的協助，將電子自光系統 I 傳遞至氫化酵素。此類酵素會依細胞內的生化條件，進行氫質子還原成氫氣，可逆氫化酵素在氧的分壓不到 2% 的環境下，會停止其運作能力，因此如何掌控環境讓可逆氫化酵素發揮功能，遂成為研究的重點。第二類的氫化酵素就是固氮酵素 (nitrogenase)，但僅在部分的細菌與藍綠藻 (cyanobacteria, blue-green algae) 才有發現此類酵素，此酵素在進行固氮作用 (nitrogen fixation) 時產生氫氣副產物，並且為一不可逆之反應 (Das and Veziroglu, 2001; Tamagnini et al., 2002; Vignais et al., 2001)。

## 微藻量產氫氣技術

藻類量產氫氣可運用二個方式，其一為截斷電子傳遞鏈抑制光系統 II 或光系統 I 的

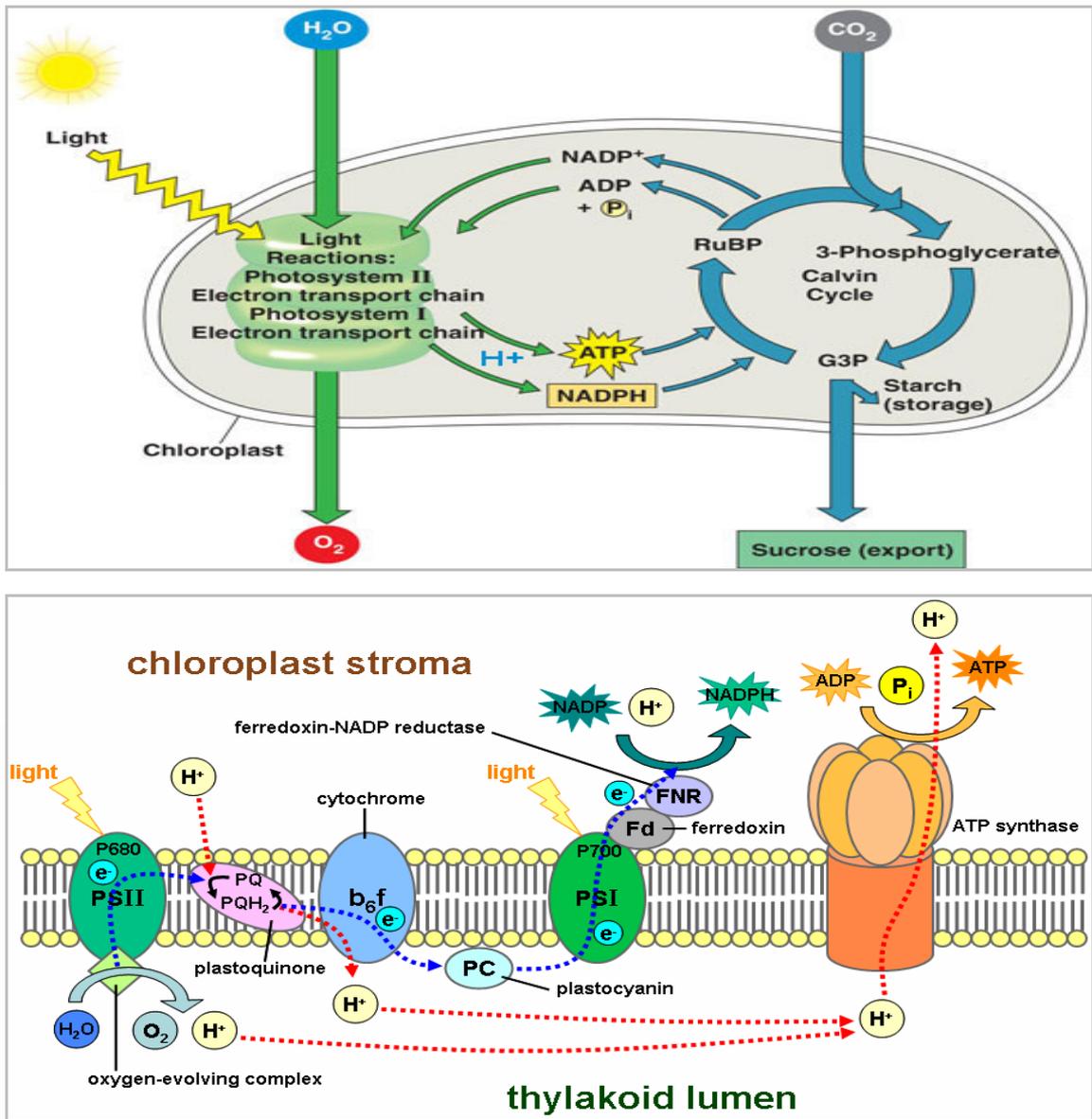


圖 1 *Chlorococcum littorale* 光合作用流程(Ueno et al., 1999)

上圖：葉綠體的結構，綠色圓柱為光反應中心，由多片類囊體(thylakoid)推疊而成，主要功能是将太陽能轉換成 ATP 及 NADPH，驅動加爾文循環(Calvin Cycle)，以合成醣類及其他有機物  
 下圖：放大的類囊體膜，顯示光反應中心氫質子(proton, H<sup>+</sup>)及電子(electron, e<sup>-</sup>)之傳遞機制

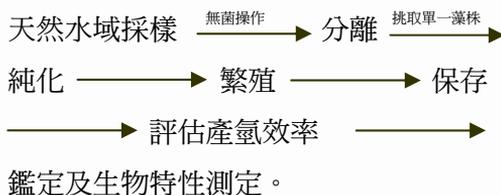
運作，誘導代謝路徑改變，促使藻類終產物為氫氣，另一方式為發展氫化酵素之誘導劑(inducers) 或抑制劑 (inhibitors) 或是篩選氫

化酵素表現基因 (gene over-expression) 之藻種，配合藻類培養技術，透過選種或基因選殖工程，得到大量表現氫化酵素的藻種來

量產氫氣，因此，運用以下方法實現微藻產氫的能力。

1. 微藻對特殊的專一性化合物 DCMU (3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea) 具有感受性，其主要作用是結合 PSII 中的蛋白質，進而抑制 PSII 的作用，降低光合作用效率 (Gonen-Zurgil et al., 1996)。
2. 在微藻中加入電流造成生物緊迫效果，阻斷電子傳遞鏈而抑制光合作用，促使藻類誘發另一代謝路徑，加速 NADPH 將電子傳遞至鐵還原酶及產氫酵素。
3. 透過阻斷專一波長 P680 或 P700 濾光板材料的使用，把其中波長 (PSII 的 P680 與 PSI 的 P700) 其中一條阻斷，促使電子傳遞鏈另外去建立新的替代路徑，以達到產氫效果。
4. 篩選氫化酵素表現基因之藻種，配合藻類培養技術，透過選種純化分離技術，得到大量表現氫化酵素的藻種。

流程如下：



5. 基因選殖工程，得到大量表現氫化酵素。

流程如下 (以細菌為例)：

細菌→進行 DNA 的抽取→PCR 複製 DNA→以核酸定序試劑套組進行核酸定序反應→與基因資料庫比對進行序列資料讀取→選定具

氫化酵素功能基因片段→利用限制酶進行載體切位→將核酸片段轉至載體中移入細菌細胞→利用 colony DNA PCR 複製確認基因轉殖是否成功→評估成效。

## 結語

針對光合作用之微藻誘發產氫氣，並再配合光合發酵產氫細菌槽，利用細菌槽產生的氨氮 (NH<sub>4</sub>) 及二氧化碳供給藻類利用，兩者結合在一起，將促使連續流長期持續產氫，並完成連續流生物製氫技術反應器，可大大提高產氫效能。此模式應用在環境工程及生質能源領域，不僅解決有機廢水或污泥去除有機物之問題，最終目的可配合實際工業條件建立模組，預期生產成本明顯低於目前廣泛採用的水電解法之製氫成本，並為水產養殖之微藻培養以及利用開拓了新紀元。

國內目前對於微藻產氫方法及機制極少相關探討，而國外雖有相關研究，但產氫效率不佳及成本太高等關鍵問題仍待克服，故如何利用微藻提高產氫效能之研究值得繼續深入。過去，藻類相關研究只著重於食物之效益，在能源應用方面極度缺乏，藉由此類研究，藻類除了可提供國人另一個安全的能源產業環境外，也可成為另一種之生質能標的，增進附加價值。此外，藻類透過光能而獲得養分及增殖，這些增殖的藻體成為生生不息的能量來源，此概念合乎環保再生能源需求，可降低污染，緩解溫室效應。