

中華民國第四十八屆中小學科學展覽會
作品說明書

高中組 生物(生命科學)科

佳作

040718

乳牛瘤胃液消化分解與發電效益探討

學校名稱：國立宜蘭高級中學

作者： 高二 何承儒 高二 陳思妤 高二 張之醴 高二 林繼宇	指導老師： 鄭雅玲 賴思學
---	-----------------------------

關鍵詞： 微生物燃類電池、瘤胃、原蟲

乳牛瘤胃液消化分解與發電效益探討

摘要

此作品是以荷蘭乳牛的瘤胃液作為微生物燃料電池進行一系列探討，實驗主要包含四部份：牛瘤胃液中的微生物觀察、牛瘤胃液在不同受質下的產氣量分析、牛瘤胃液發電實驗和發電效益評估。產氣量分析的實驗中，觀察到以百慕達草為受質的總產氣量最高，然而澱粉較可持久產氣。在產電實驗中，使用自行設計的壓克力反應槽進行發電，實驗結果發現以過錳酸鉀當電解液、澱粉為受質及經過分層後的下層牛瘤胃液皆有較佳的發電效果。此外，使用日常中容易取得的稻桿亦有不錯的發電效果。在串連兩個牛瘤胃液電池後，可點亮 LED 燈，可顯出牛瘤胃液為一有潛力的微生物燃料電池能源。

壹、研究動機

節節高升的物價和日益枯竭的石油資源，如何開發新的能源是急需解決的棘手問題。我們從資料中得知牛瘤胃液中的微生物在消化纖維素的過程中會釋出電子，也有國外實驗室引出電流、電壓，引起了大家的好奇。原來牛瘤胃中的微生物是這樣深具潛力的能量來源，於是我們進行了實驗，希望進行牛瘤胃液發電的進一步探討，並對未來的生質能源有更進一步的認識。

貳、研究目的

- 一、牛瘤胃液中的微生物分類與原蟲對不同溫度、pH 值反應的觀察，以了解其最適當之發酵產電環境。
- 二、模擬牛瘤胃液環境，分析微生物在不同的受質與微生物密度差異下的產氣量。
- 三、在不同電解液、原蟲密度、受質下進行牛瘤胃液發電，試圖找出其最適之發電條件。
- 四、評估牛瘤胃微生物燃料電池對未來能源的實用性。

參、研究設備及器材

一、操作器材：

恆溫水浴槽	訂製反應槽	三用電錶	分液漏斗	微量滴管
可加蓋試管	滴管	分注器	紗布	載玻片、蓋玻片
碳棒	石墨片	pH 計	試管架	各式燒杯
鱷魚夾	鑷子	質子交換膜	鋁箔紙	橡皮塞
磁石攪拌器	保鮮膜	燒瓶	顯微鏡	玻璃針筒
量筒	1K Ω 電阻	橡皮管	電子秤	漏斗
矽膠	針頭	溫度計	鋼瓶(儲氣用)	測微器

二、藥品和各類氣體、受質：

蒸餾水	蔗糖	百慕達草	澱粉	奶粉
葡萄糖	生理食鹽水	KMnO ₄	CO ₂	NaCl
CaCl ₂ · 2H ₂ O	MgSO ₄ · 7H ₂ O	K ₃ Fe(CN) ₆	Na ₂ HPO ₄	KCl
NH ₄ HCO ₃	N ₂	NaHCO ₃		

三、牛瘤胃液：

牛瘤胃液取自鄰近大學乳牛，供採集之乳牛已接受過外科手術在身體左側安裝矽膠開口以便牛瘤胃液取得(相片 A)，每日上下午兩次定時餵食百慕達草和精料的混合物。實驗中所使用取自於上午餵食前的牛瘤胃液，以減少各次實驗牛瘤胃液的差異性。乳牛體內取出的牛瘤胃液經 8 層紗布過濾掉粗大的草料(相片 B)，注入事先填充 CO₂ 的玻璃瓶並放入恆溫水浴槽，再加入事先配置的緩衝溶液，全部過程保持在 38~39°C 下操作。



相片 A、瘤胃有矽膠開口的荷蘭乳牛



相片 B、以八層紗布過濾草料

四、人工唾液(緩衝溶液)：

配方(每公升)：

序號	藥品名	重量(克)	序號	藥品名	重量(克)
1	NaHCO ₃	4.90	5	NaCl	0.47
2	NaH ₂ PO ₄ · 12H ₂ O	4.31	6	CaCl ₂	0.0377
3	KCl	0.57	7	NH ₄ HCO ₃	0.2825
4	MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.12			

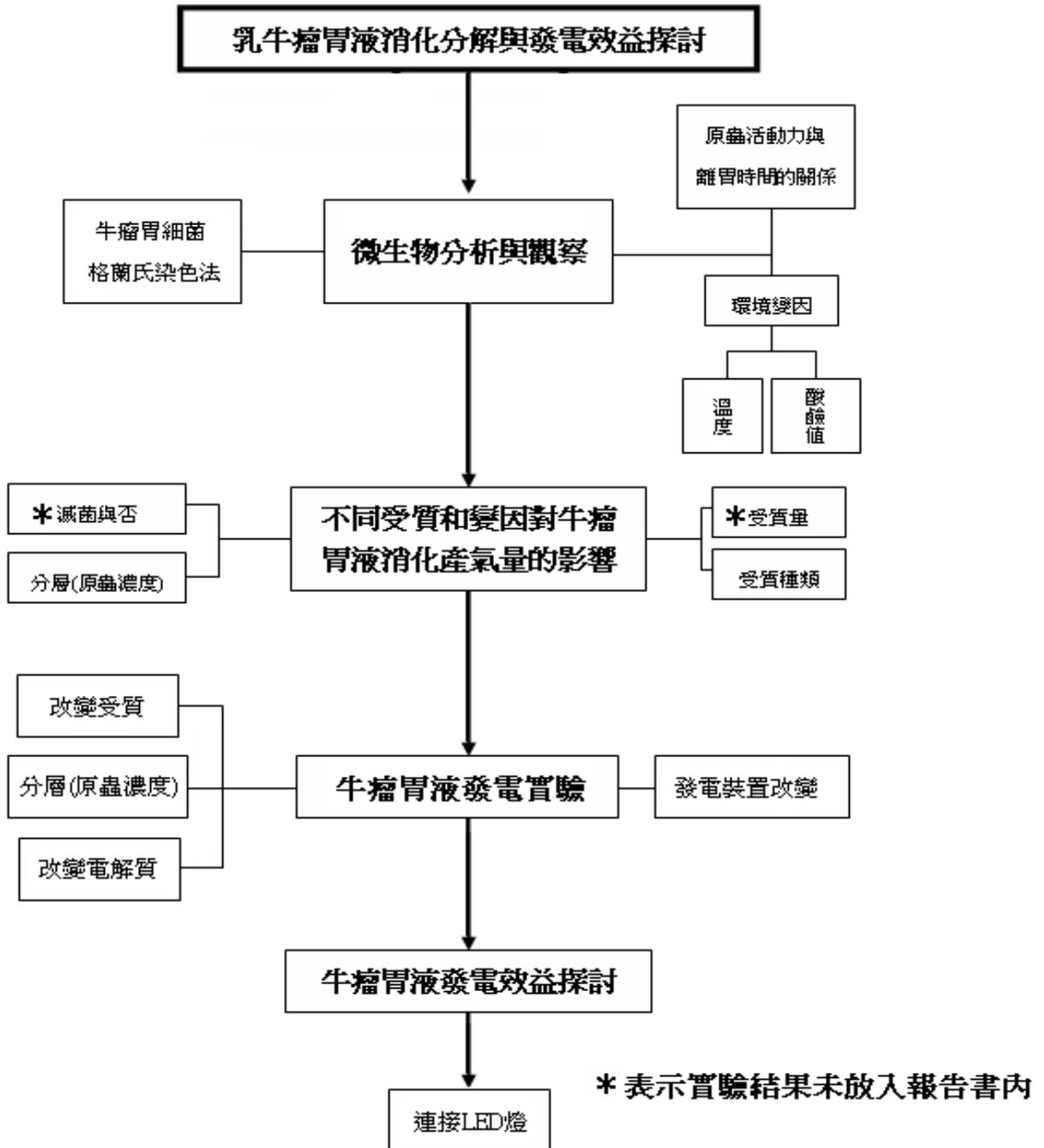
(緩衝溶液為一次大量配製，以減少實驗誤差。)

實驗前預將當次所需緩衝溶液(pH≐8.23)放入水浴槽預熱至與牛瘤胃液同溫，並以 CO₂ 充氣調整至 pH 值≐7.0。

肆、研究過程與方法

一、研究過程說明：

針對牛瘤胃液微生物發電效益探討，我們想先了解牛瘤胃液中的有哪些微生物？將這些牛瘤胃液微生物取出體外後，如何保持其最佳活性，以利發電實驗進行？故先進行牛瘤胃液微生物初步的分析和觀察，接著想比較牛瘤胃液微生物對不同受質的消化分解效率，以找到最適合的發電的材料。最後以自行設計的反應槽進行發電實驗，改變不同變因以提高發電效率，並嘗試計算其最佳的電功率。



(圖一)實驗流程圖

二、牛瘤胃液中微生物分析過程：

- (一)利用顯微鏡觀察牛瘤胃液中微生物的種類及其型態、特徵等。
- (二)利用革蘭氏染色法將牛瘤胃液中的細菌染色。
- (三)依原蟲的特徵(大小和纖毛型態等)做簡單分類。
- (四)觀察原蟲在各種環境變因(溫度、pH 值)下的活動力。

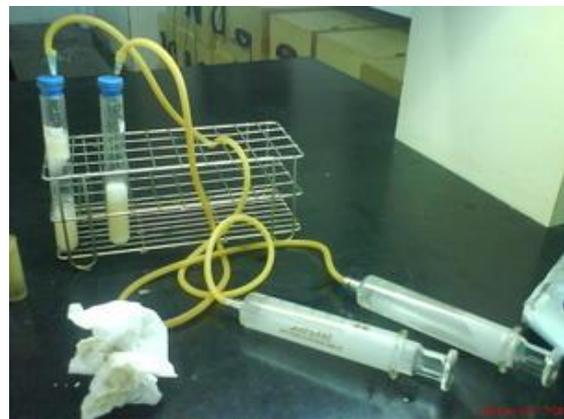
三、不同變因影響發酵產氣量實驗過程：

(一)操作步驟

- 1.先將試管中置入實驗所需之受質，再充入氮氣，以維持厭氣微生物的活性。
- 2.以分注器在置有不同受質的試管中，分別加入定量牛瘤胃液(相片 C)。
- 3.以鋁蓋鉗在橡膠塞外加上鋁蓋，避免發酵過程氣體壓力過大而使試管橡膠塞掉落。
- 4.以橡膠軟管連接針頭與玻璃針筒，將針頭插入橡皮塞引出管內氣體並測量產氣量(相片 D)。



相片 C、以分注器加入定量牛瘤胃液



相片 D、以玻璃針筒測量產氣

(二)實驗過程

1. 受質種類不同對產氣量的影響

為了解牛瘤胃液對不同受質的消化分解效率，而將牛瘤胃液加入不同種類受質，觀察其消化後的產氣量並做比較。

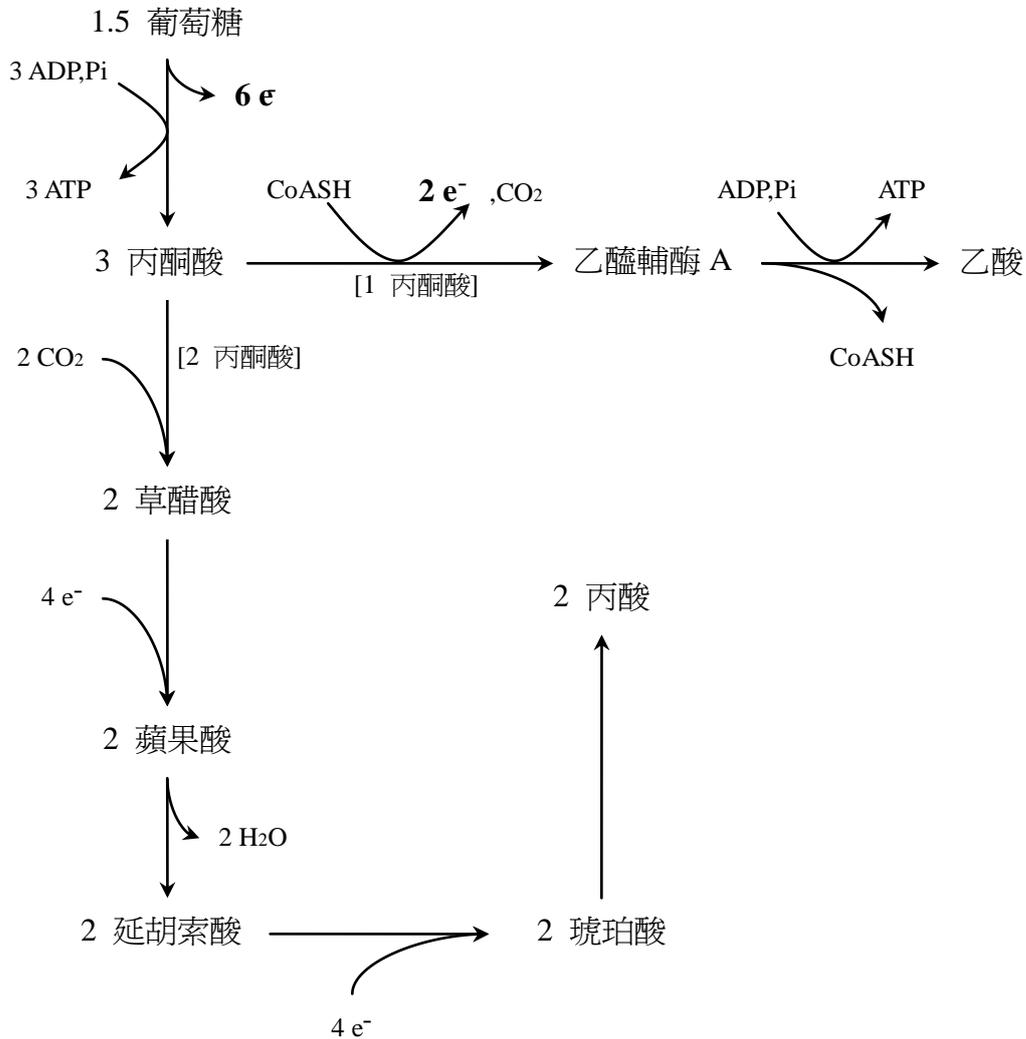
2. 牛瘤胃液分層對產氣量的影響

為了解牛瘤胃液中的原蟲是否對產氣有所助益，因此將牛瘤胃液做分層，方法如下：將牛瘤胃液放入分液漏斗中並靜置約 40 分鐘，因原蟲的體型較大，靜置時易沉澱於下方，故下層的原蟲密度會高於上層，最後將上、下層牛瘤胃液分離，再分別加入不同受質觀察其產氣量的差異。

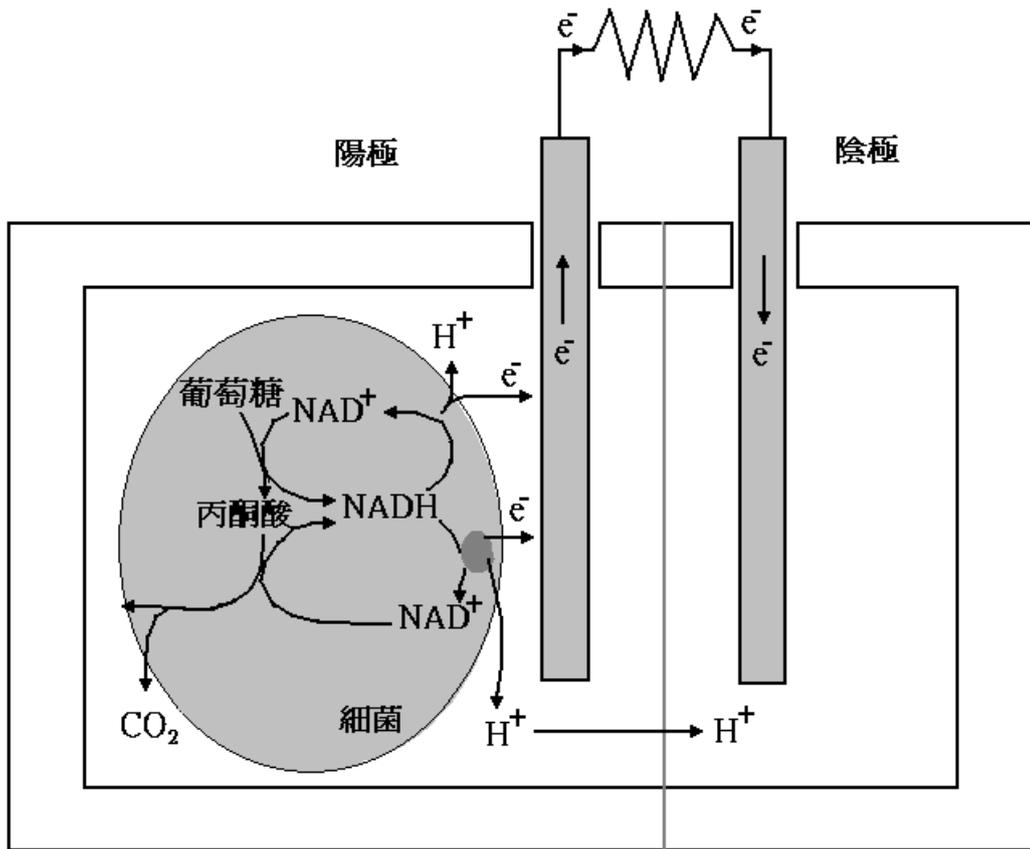
四、牛瘤胃液燃料電池發電實驗之原理與內容：

(一)原理：

牛瘤胃液中之微生物在分解碳水化合物的過程中會釋出電子，最後會產生可揮發性的脂肪酸(如：乙酸、丙酸、丁酸等)，供乳牛吸收利用以合成養分(圖二)。微生物釋出的電子經由電極及導線進入陰極(內置鐵氰化鉀或過錳酸鉀)，構成一迴路產生電流，此即為微生物燃料電池(圖三)。



(圖二)牛瘤胃微生物分解碳水化合物釋出電子過程



(圖三)牛瘤胃液微生物燃料電池發電原理

(二)自行設計反應槽

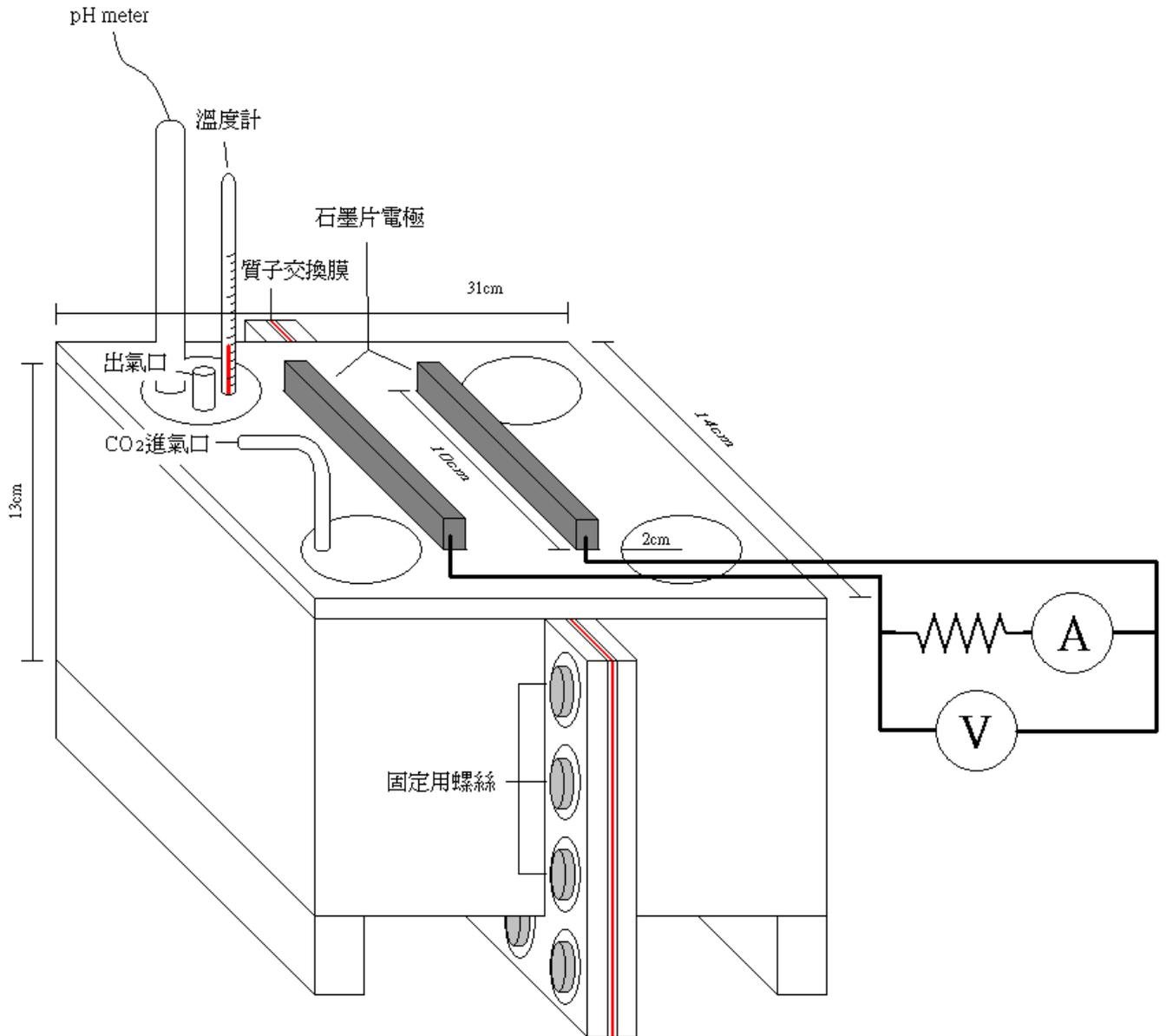
爲了進行牛瘤胃液的發電實驗，我們自行設計了方便 pH 值測量、具有進氣口與出氣口以維持其厭氧環境、且可安裝質子交換膜與電極的反應槽。初期所設計的反應槽 A 在經過一連串的實驗後發現其電壓有其極限，且因其爲透明，易受到光線影響，以及我們想將電極由碳棒更換爲接觸面積廣且電阻小的石墨片，我們便著手設計反應槽 B(圖四)，因此，實驗主軸統一使用反應槽 B 進行實驗。

1.反應槽 A(相片 D)：

單側(內)大小：10.5*14.5*3 cm³

2.反應槽 B(相片 E)：

單側(內)大小：15*13*6 cm³



(圖四) 反應槽 B 裝置圖

(三) 實驗過程

1. 以反應槽 A、B 進行發電實驗：

由於反應槽 A 容量小、電極接觸面積小，所以另設計了使用石墨片且容量較大的反應槽 B，預期提高牛瘤胃液電池的電壓。

2. 分別以鐵氰化鉀和過錳酸鉀為電解液進行發電實驗：

因過錳酸鉀的電位較鐵氰化鉀高，為得更高之電壓，提高其應用上的價值，嘗試以過錳酸鉀代替鐵氰化鉀來進行發電實驗。

3.牛瘤胃液分層發電實驗：

爲了驗證牛瘤胃液中原蟲是否也扮演幫助產電的重要角色，因此先將牛瘤胃液分層，再分離上、下層牛瘤胃液分別進行發電實驗並比較其電壓大小。

4.加入不同受質的牛瘤胃液發電實驗：

因先前實驗皆以百慕達草(纖維)作爲受質供牛瘤胃液中的微生物分解產電，所以此次實驗想測試是否其他受質能有更高的發電效率。因在產氣實驗中發現以澱粉作爲受質有產氣持久的特徵，也想嘗試以稻桿爲受質，故此次發電實驗分別以澱粉、草和稻桿作爲受質並比較其電壓大小。



相片 D、使用反應槽 A 進行發電



相片 E、使用反應槽 B 進行發電

伍、研究結果

一、牛瘤胃液中微生物觀察與分析

(一)簡述：利用顯微鏡觀察牛瘤胃液中微生物的種類及型態與特徵等。

- 1.細菌：經革蘭氏染色法染色，大多爲呈現紫色之陽性菌
- 2.原蟲：以纖毛分布情形，可分爲全纖毛蟲(較少)和多纖毛蟲(較多)兩大類，觀察其形態並以測微器測量其大小，初步簡單分類約 15 種原蟲 (相片於附錄中)。
- 3.其他：多次在牛瘤胃液中發現雙球狀物體，推測爲真菌的孢子囊。

(二)活動力觀察：

- 1.原蟲活動力與離胃時間的關係：

吸取少許置於顯微鏡下觀察原蟲的活性，發現隨著離開瘤胃的時間(不提供受質)拉長，原蟲活動力會逐漸降低。最先開始失去活動力的爲體型中~小(長度 40um~100um 左右)的多纖毛類的原蟲，後爲大型的全纖毛類。

- 2.為何原蟲活動力會漸降低，我們推論有以下原因：
- (1)取出的牛瘤胃液並未如牛胃環境完全相同(未不停攪拌)。
 - (2)沒有新的牛瘤胃液補充，導致廢物累積毒害原蟲。
 - (3)受質消化完畢，無持續的營養供給。

(三)原蟲對環境耐受度的分析：

(在此討論兩項因素：溫度與酸鹼值)

1.溫度：

- (1)37~39°C左右，原蟲的活動力最為活躍。
- (2)在 32~40°C，皆可觀察到尚有活動力的原蟲。
- (3)溫度下降，受影響最大的是體型中等的多纖毛類原蟲。

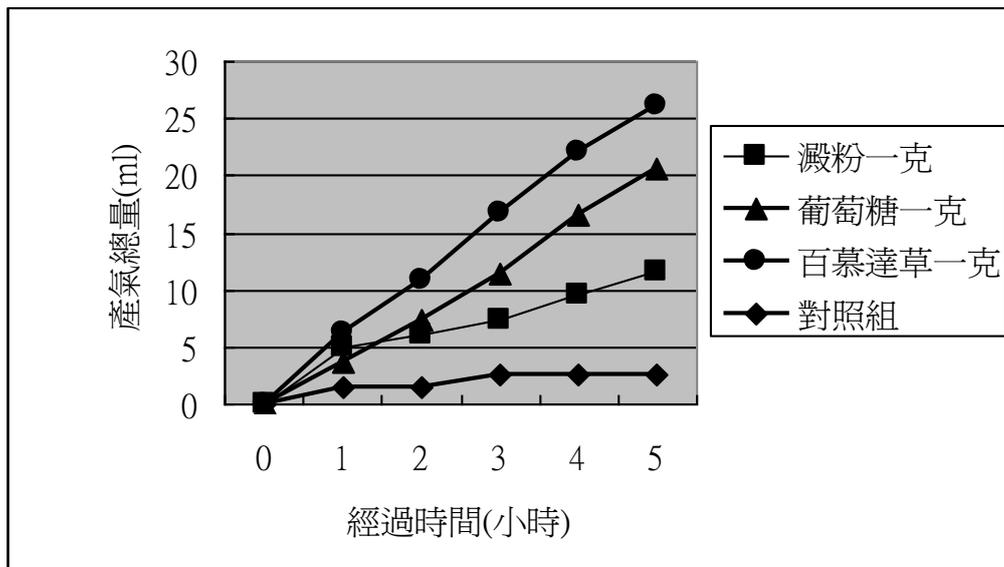
2.pH 值：

以滴管吸取溶液來提升或降低 pH 值，來測試酸鹼度對原蟲活動力的影響。
結果 pH6.4~6.8 左右為活動最佳狀態。

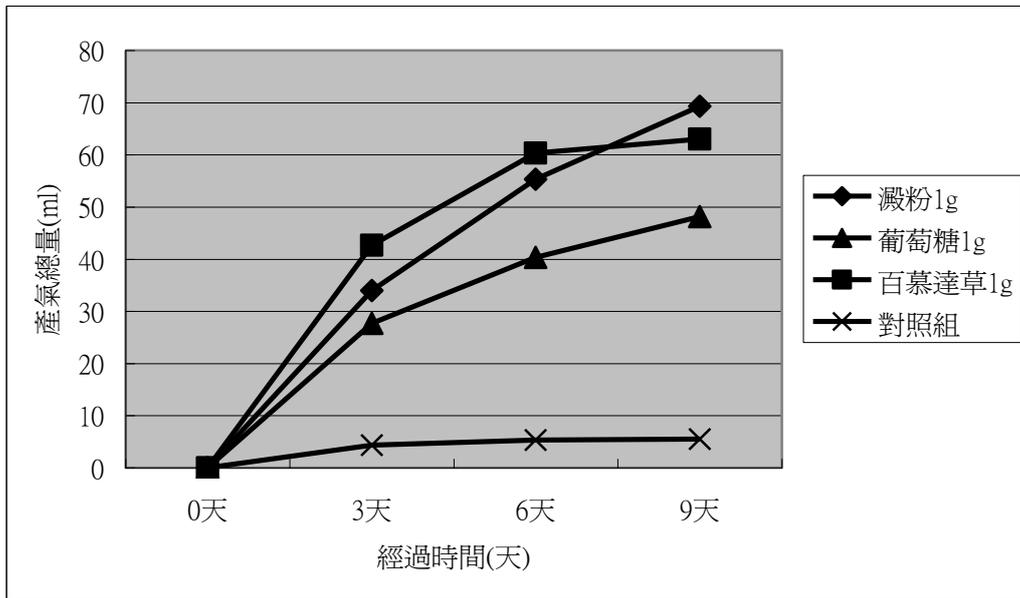
二、不同受質和變因對牛瘤胃液消化產氣量的影響

(一)受質種類不同對產氣量的影響

1.實驗數據：



(圖五) 短時間產氣總量觀察(一小時記錄一次)



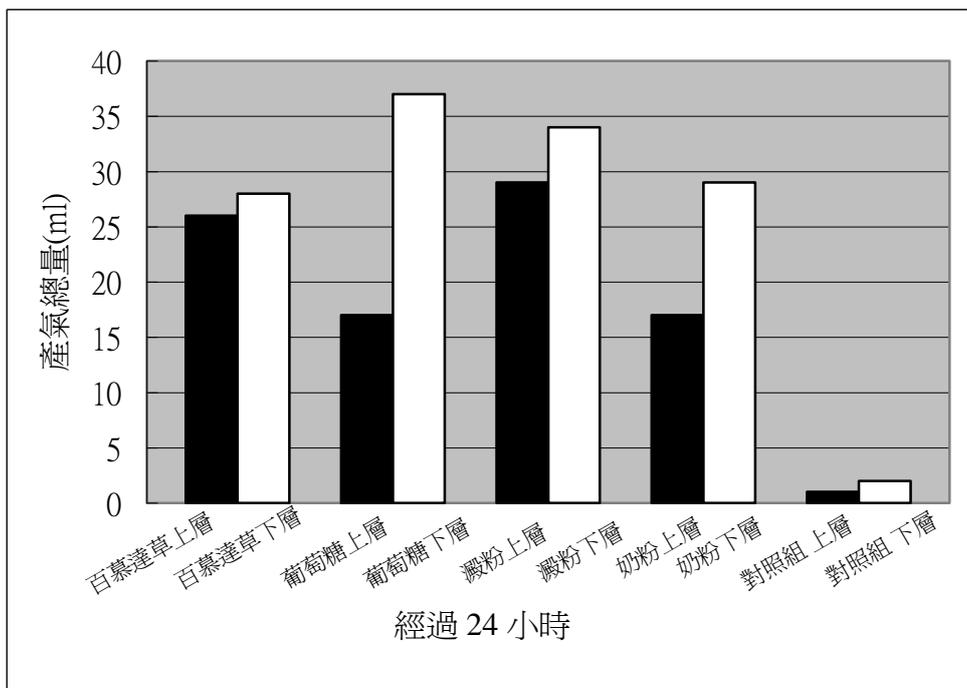
(圖六)長時間產氣總量觀察(三天記錄一次)

2. 實驗結果：

- (1) 短時間觀察之下(五小時)，發現草的產氣速率為受質中最高。
- (2) 長時間觀察之下(九天)，澱粉產氣比其他受質持久。

(二)牛瘤胃液分層的對產氣量的影響

1. 實驗數據：



(圖七)

2. 實驗結果：

- (1) 發現下層牛瘤胃液產氣量比上層牛瘤胃液明顯高出許多，證實產氣量和原蟲密度有關。

三、牛瘤胃液的發電實驗

(一)不同反應槽的發電實驗

1.實驗器材：

(1)反應槽 A：

電極：碳棒。

陽極：牛瘤胃液 150ml、緩衝溶液 150ml。

陰極：0.5M $K_3Fe(CN)_6$ 300ml。

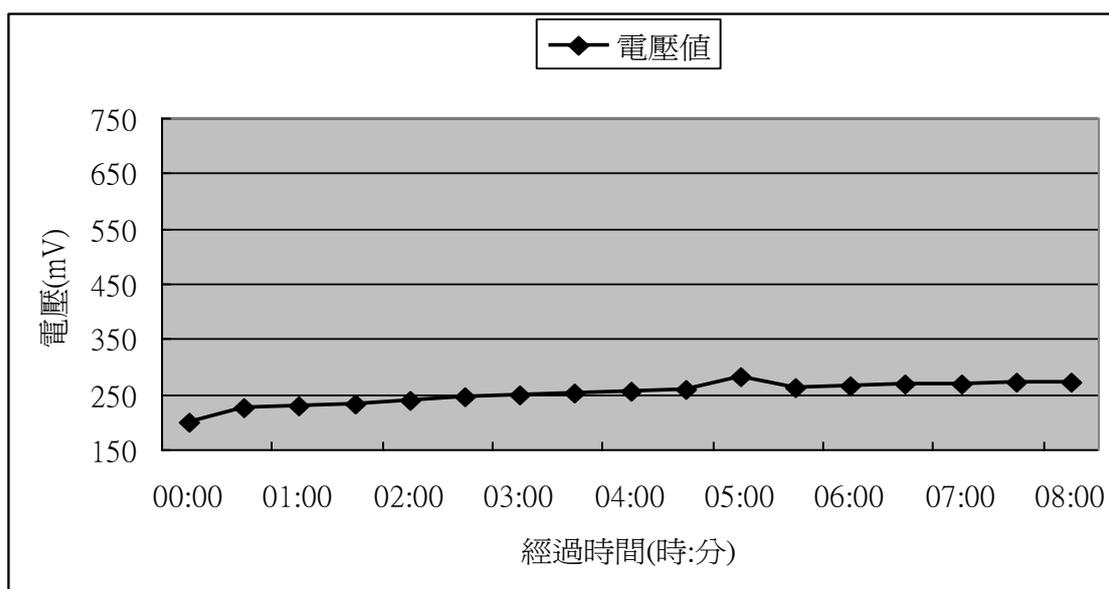
(2)反應槽 B：

電極：石墨片

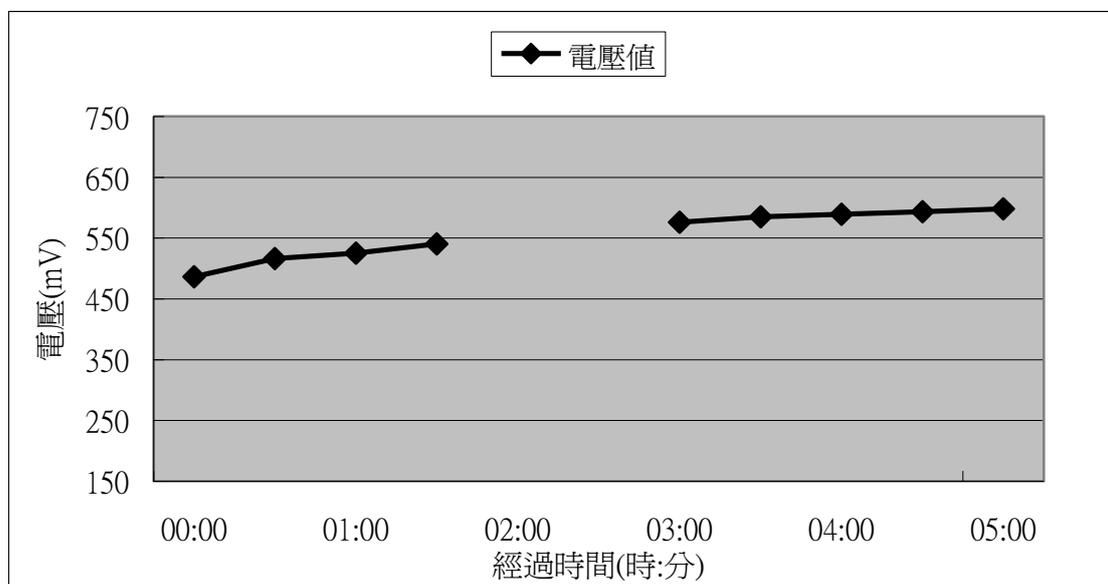
陽極：牛瘤胃液 450ml、緩衝溶液 450ml。

陰極：0.5M $K_3Fe(CN)_6$ 900ml。

2.實驗數據：



(圖八)反應槽 A



(圖九)反應槽 B

3.實驗結果：

- (1)改善電極接觸面積後確實可提高電壓值。
- (2)由數據可知反應槽 B 可引出較大之電壓，故之後實驗改以反應槽 B 進行。

(二)不同的電解液之發電實驗比較

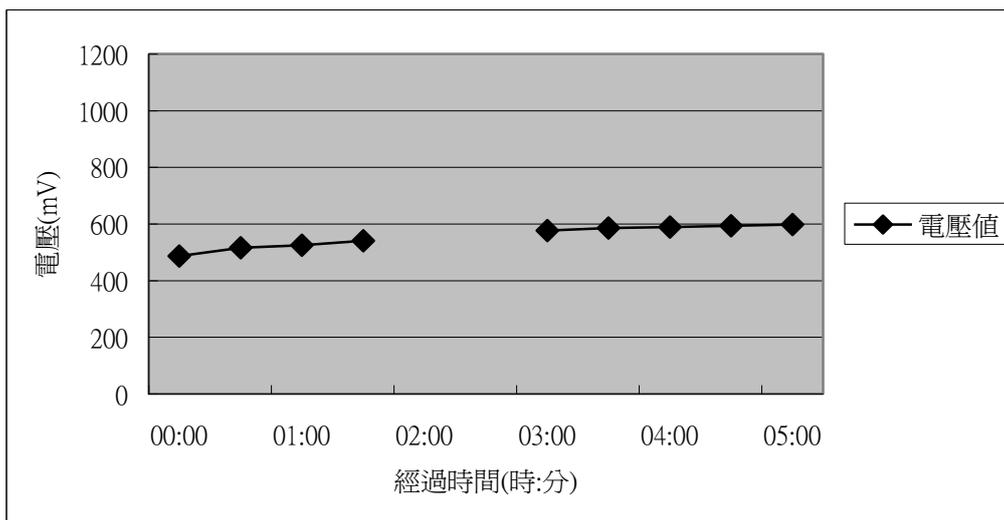
1.實驗器材：

反應槽 B*2、石墨片。

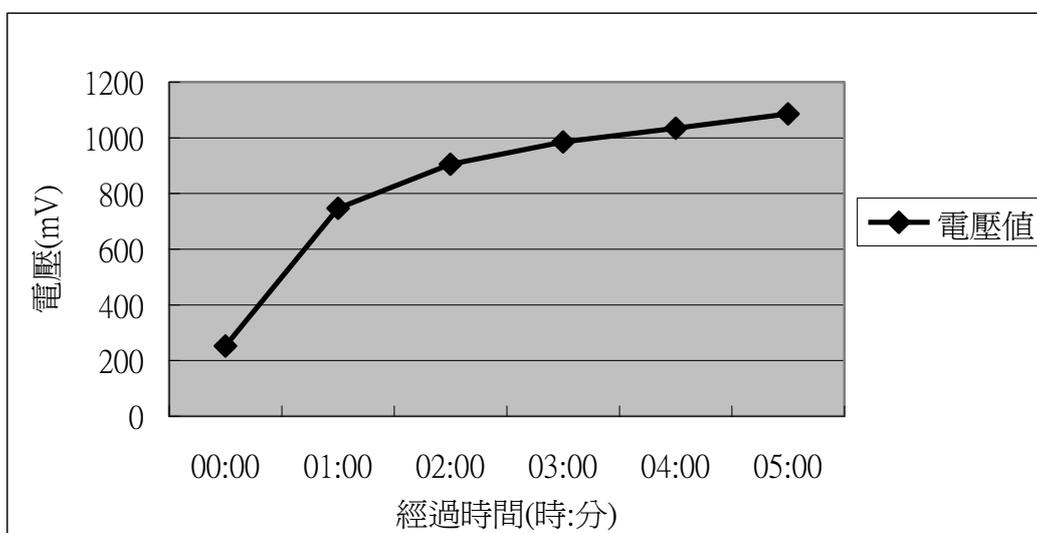
陽極：牛瘤胃液 450ml、緩衝溶液 450ml。

陰極：0.5M $K_3Fe(CN)_6$ 900ml 和 0.1M $KMnO_4$ 900ml

2.實驗數據：



(圖十)電解液為鐵氰化鉀



(圖十一)電解液為過錳酸鉀

3.實驗結果：

- (1)比較實驗結果，使用過錳酸鉀當電解液發電的電壓較鐵氰化鉀高出約 485mV，也使電壓達到了約 1150 mV(圖十、十一)。
- (2)當電壓持續的上升時，電阻也跟著上升，經測量電阻並以歐姆定律計算得知電流接近穩定的狀態，亦即不隨電壓增加而上升。

(三)分層牛瘤胃液分別與電解液發電實驗

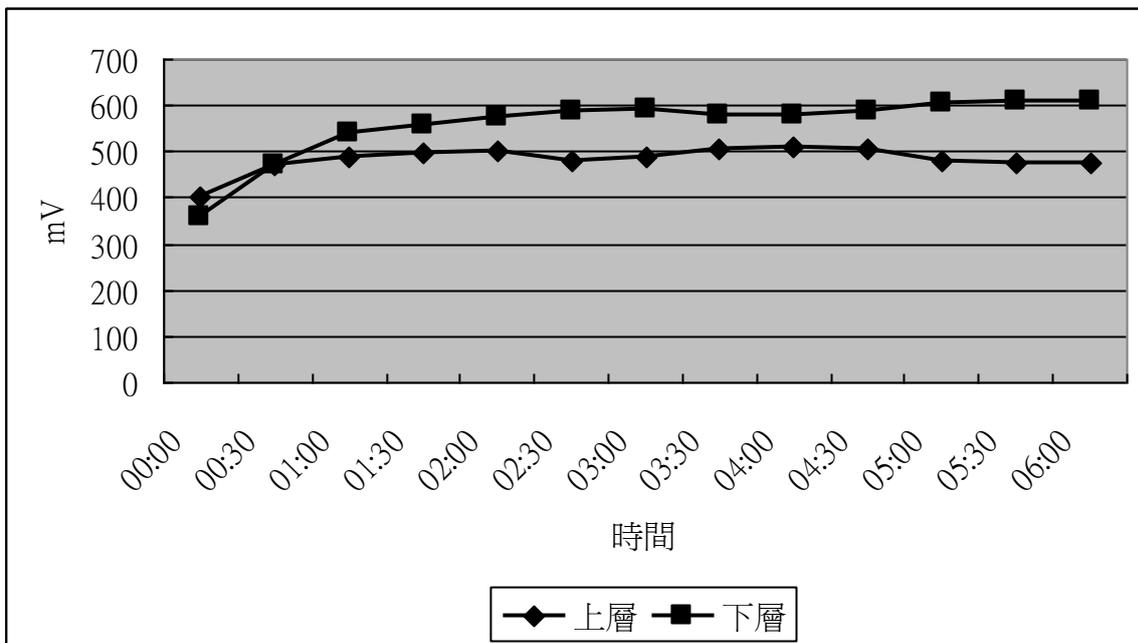
1.實驗器材：

反應槽 B*2、石墨片。

陽極：牛瘤胃液 450ml、緩衝溶液 450ml。

陰極：0.5M $K_3Fe(CN)_6$ 900ml。

2.實驗數據：



(圖十二)分層牛瘤胃液發電

3.實驗結果：

- (1)含原蟲較多的下層牛瘤胃液所產生的電壓普遍比較高，因此濃縮微生物可能是提升其功率的好辦法。
- (2)推測原因為原蟲也會分解纖維素，在分解過程中亦會釋出電子幫助產電，可知原蟲對發電有正向益助。

(四)不同受質的牛瘤胃液發電實驗比較

1.實驗器材：

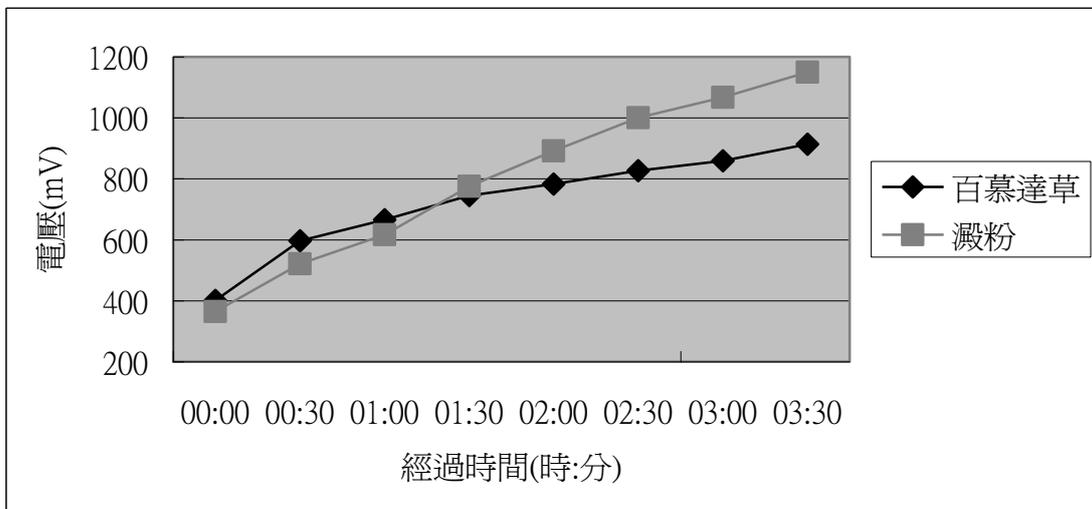
反應槽 B、石墨片。

陽極：牛瘤胃液 450ml、緩衝溶液 450ml。

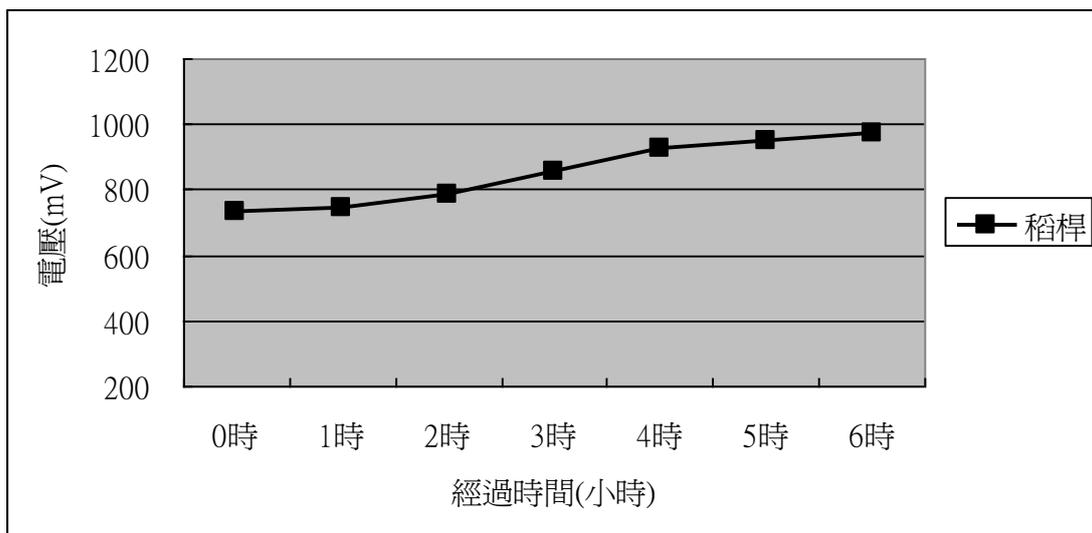
陰極：0.1M KMnO_4 900ml、稻桿為 0.5M $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 900ml

百慕達草 3g、澱粉 3g、稻桿 3g。

2.實驗數據：



(圖十三)分別以百慕達草和澱粉為受質的發電



(圖十四)以稻桿為受質的發電

3.實驗結果：

- (1)以澱粉為受質的牛瘤胃液電池不僅具有持久的特徵，而且電壓上升速率還較草高。
- (2)以稻桿為受質發電效果頗佳，且是生活中常見的材料，具有應用的價值。

四、牛瘤胃液發電應用效益評估

(一)實驗過程：

藉由連接 LED 燈泡使之發亮的應用過程，評估使用牛瘤胃液發電的效率。

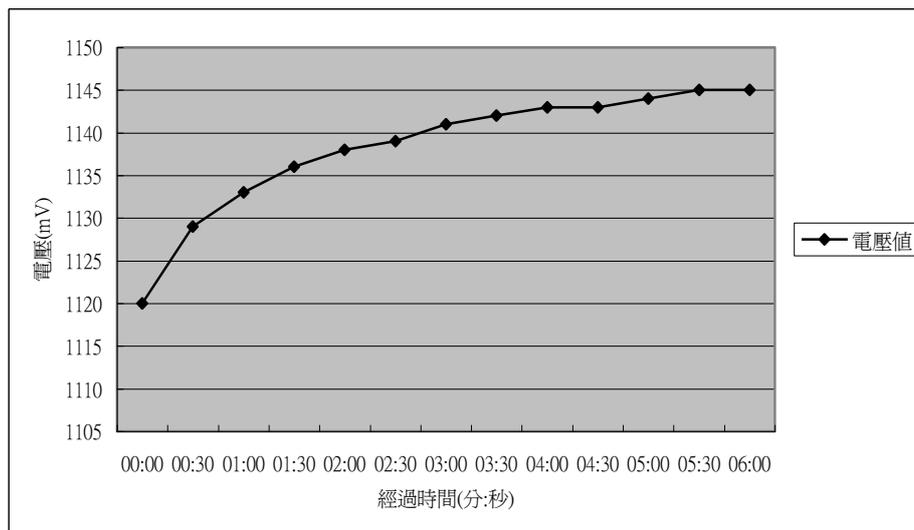
(二)實驗步驟：

使用牛瘤胃液連接鐵氰化鉀溶液進行發電，串連兩槽使電壓至 2300 毫伏，等電壓穩定後接上 LED 燈泡並計秒數，比較連接前與連接後的電壓，記錄取下燈泡後電壓回跳的情形，以串聯電阻時顯示之電流計算其電功率，評估其未來作為生質能源的潛力。

(三)實驗數據：

1.連接 LED30 秒

(圖中橫軸為取下後經過的時間)



(圖十五)連接 LED 燈後電壓恢復圖



相片 F、以牛瘤胃液電池點亮 LED 燈

2.以百慕達草爲受質之牛瘤胃液電池的電功率計算(外接 $1K\Omega$ 的電阻)：

$$P = V * I$$

$$P = 1.145(V) * 1.1(mA)$$

$$= 1.26(mW)$$

3.以稻桿爲受質之牛瘤胃液電池功率計算：

$$P = V * I$$

$$P = 0.97(V) * 0.94(mA)$$

$$= 0.90(mW)$$

(四)實驗結果：

- 1.連接 LED 燈 30 秒後的牛瘤胃液電池電壓有些許下降，但在約五分鐘後即回升至接近原電壓，比一開始發電時上升速度要快上許多，可知此電池有一定持續發電能力。
- 2.連接 LED 燈一小時後的串聯的兩槽牛瘤胃液仍有 937 毫伏，且依然能使 LED 燈持續發亮，可知使用牛瘤胃液發電有應用性。
- 3.之後電壓的下降便不再明顯，應是電池與 LED 燈的消耗功率達到新的平衡，此爲可應用之電壓。
- 4.以稻桿爲受質的電池電功率稍低於以百慕達草爲受質的電池，但是稻桿容易取得，且價格低廉，爲一符合經濟效益的材料。

陸、討論

- 一、由實驗二產氣實驗之(一)觀察到就長時間產氣量來說澱粉產氣比其他受質持久，但消化速率來看，草爲受質中最好。根據所查得的資料，這可能是因爲在牛瘤胃液中以分解纖維素的細菌爲大宗。因此，若要使所加入的受質能快速發揮作用，則以加入草料爲最佳。而澱粉持久的原因可能是因爲分解澱粉的細菌較能忍受酸性環境，在實驗過程中 pH 值的降低對此類細菌影響較小。
- 二、實驗二之(二)下層牛瘤胃液產氣量比上層牛瘤胃液更多，證實原蟲密度對產氣量確實有影響。根據資料，原蟲與細菌在牛瘤胃液中有共生的現象，原蟲亦會消化纖維素，使產氣量增加
- 三、實驗三發電實驗之(一)增加接觸面積較大、電阻較小的電極確實可提高電壓值。由此來看，未來若要將牛瘤胃液燃料電池推向應用層面，器材方面可從增加電極板接觸面積與減小電阻著手。
- 四、由實驗三之(三)的數據得知含原蟲較多的下層牛瘤胃液所產生的電壓普遍比較高，因此濃縮微生物或許是提升牛瘤胃液電池功率的好辦法，但是原蟲是否也有其最適宜生長的密度，此實驗的分層法有可進步的空間，是否有比利用重力將其分層更好的方法？
- 五、在實驗四所連接過 LED 燈的槽電壓回升速度極快，且能讓 LED 燈持續發亮至少約 6 小時，並在發電時可加入身邊常見的稻桿爲受質亦可得頗高之功率，可知使用牛瘤胃液發電有應用性，也的確證明了牛瘤胃液發電的潛力不容小覷，期望我們能有更多時間深入進行更多研究，並使此發電方式更有可行性，在未來，或許會是資源枯竭的人類一穩定能源來源。

柒、結論

- 一、牛瘤胃中微生物大致可分為三類：細菌、原蟲和真菌。牛瘤胃液微生物燃料電池以細菌為主體。保持微生物活性最適宜的環境是 37~39°C、pH6.4~6.8，若自牛體取出，則須以水浴或其他方法保溫。
- 二、消化產氣的實驗過程中，總產氣量以百慕達草為最大。另外，發現原蟲濃度較高的下層牛瘤胃液產氣量明顯比上層牛瘤胃液要多，推知原蟲可幫助消化纖維素及其他受質，使產氣量增加。
- 三、以過錳酸鉀為電解液的發電實驗，電壓值最高約達 1150mV，而使用鐵氰化鉀為電解液的電壓值最高約為 600mV。由此可知，使用過錳酸鉀可產生較大電壓。
- 四、原蟲能幫助消化纖維素並釋出電子，因此提高原蟲濃度能加速牛瘤胃液微生物分解纖維素，使發電的反應槽產生更高電壓。
- 五、在發電實驗中加入不同受質可得不同電壓，其中澱粉(約 1150mV)較草料(約 900mV)高，且以稻桿為受質的牛瘤胃液微生物燃料電池亦可產生頗高電壓(約 970mV)。
- 六、牛瘤胃液發電使 LED 燈發亮後，電壓會些微下降，但回升速度極快，且可連續連接許久(6 小時)不會明顯下降，因此的確能成為電源的提供者，對未來能源提供可待發展且極具潛力。

捌、未來展望

- 一、進一步做細菌的分析，找出發電效率高的菌種，來提升發電效能，延長產電時間和拓展應用範圍。
- 二、開發日常生活中常見的材料(如：落葉、雜草等等)作為牛瘤胃液微生物燃料電池的受質。
- 三、設計新的方法使原蟲離開牛體後能存活更久時間，並維持活動力，進一步增加發電效益。
- 四、進一步分析受質消化產氣實驗產出的氣體與產物成分，以了解牛瘤胃的消化與營養吸收的關係，並將實驗結果運用在牛隻飼養和泌乳上。

玖、參考資料

- (一)瘤胃生態系統與反芻動物對養分的利用，作者：楊价民，出版：藝軒出版社 1997。
- (二) *Biotechnology and Bioengineering*，作者：Flynn William G. (EDT)，出版：Nova Science Pub Inc.
- (三) *Biology*，作者：Campbell Neil A/ Reece Jane B，出版：Addison-Wesley
- (四) *電化學 -理論與應用-* 作者：田福助 出版：新科技書局
- (五) *The Rumen Microbial Ecosystem*，編輯：P.N.Hobson，出版：Elsevier Applied Science
- (六) *TRENDS in biotechnology Vol.23 No.6 June 2005*

附錄：牛瘤胃液中的微生物相片

1.全纖毛原蟲類：



(照片 100X)
長:132.5um 寬:75um
特徵:黑，橢圓(大)



(照片 100X)
長:152.5um 寬:125um
特徵:黑，圓(大)



(照片 100X)
長:187.5um 寬:82.5um
特徵:黑，長(大)

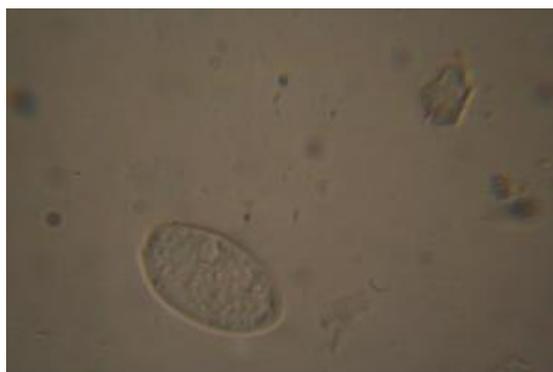


(照片 400X)
長:80um 寬:25um

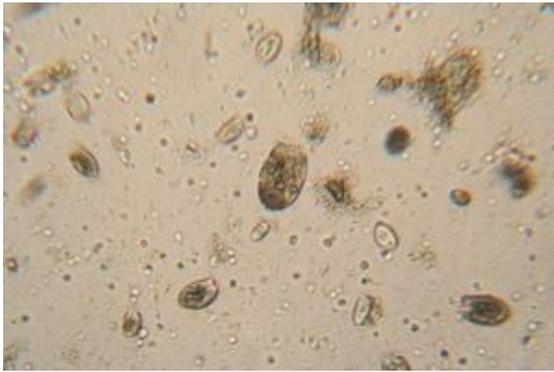
2.多纖毛蟲類：



(照片 400X)
長:67.5um 寬:45um



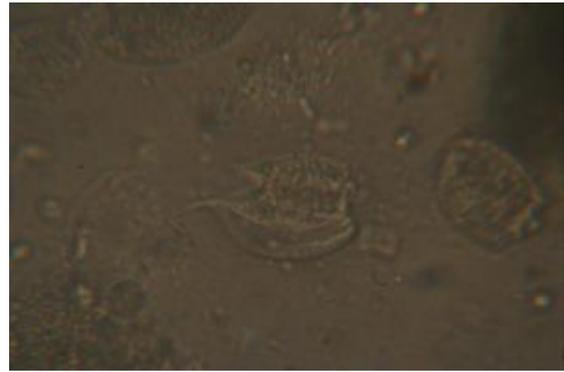
(照片 400X)
長:45um 寬:25um



(照片 100X)

長:100um 寬:62.5um

特徵:頂部有纖毛(中)



(照片 400X)

長:55um 寬:30um

特徵:尖尾(小)



(照片 400X)

長:87.5um(包括尾) 寬:37.5um

特徵:尖尾長



(照片 400X)

長:62.5um(包括尾) 寬:32.5um

特徵:尖尾短



(照片 400X)

長:約 50um 寬:25um

特徵:有一較大胞器(小)



(照片 400X)

長:67.5um 寬:45um

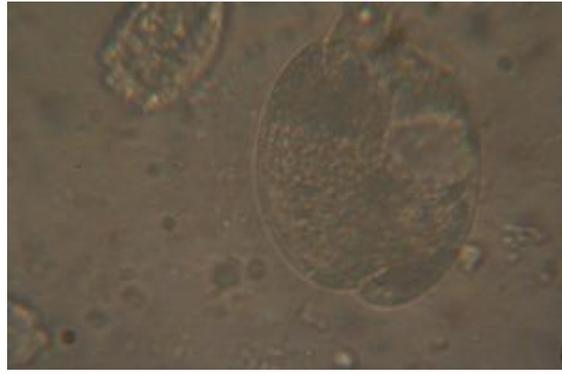
特徵:周圍有四片片狀物(小)



(照片 400X)

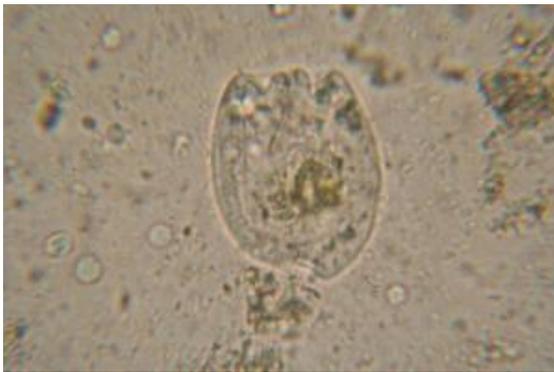
長:45um 寬:42.5um

特徵:尾部有凹處



(照片 400X)

長:75um 寬:62.5um



(照片 400X)

長:62.5um 寬:47.5um

3.牛瘤胃液中其他的生物及染色照片：



(照片 400X)

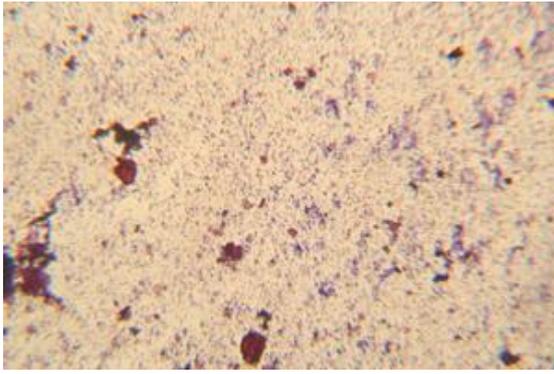
長:200um 寬:125um

全纖毛類(以亞甲藍染色)



(照片 400X)

長:100um 寬:75um



(照片 100X)
經革蘭氏染色的細菌
(圖下方大紅點為原蟲)



(照片 400X)
參考資料後推論可能為胃液中真菌的孢子囊



(照片 100X)
在瘤胃液中觀察到此類不移動、長條狀的生物，尚未了解其在瘤胃生態系中的角色，期待未來尚有機會進行深入研究。



(照片 100X)
多次在瘤胃液中發現此雙球狀物體，推測為真菌的孢子囊。

【評語】 040718

1. 能結合生物及化學的概念及實驗材料，設計實驗設備，獲得實驗數據。
2. 對於胃液中的生物種類應加強分析，以精確控制變因。
3. 建議加入探討胃液中生物分解生質原料的實驗設計。