

Study on Electron Shuttle-Stimulating Bioenergy Extraction Using Medicinal Herbs

Jiahui Liao, Chungchuan Hsueh, Boryann Chen*

Department of Chemical and Materials Engineering, National I-Lan University, I-Lan, Taiwan

Email address:

lisa22684047@gmail.com (Jiahui Liao), cchsueh88@gmail.com (Chungchuan Hsueh), boryannchen@yahoo.com.tw (Boryann Chen)

*Corresponding author

To cite this article:

Jiahui Liao, Chungchuan Hsueh, Boryann Chen. Study on Electron Shuttle-Stimulating Bioenergy Extraction Using Medicinal Herbs. *Science Discovery*. Vol. 6, No. 3, 2018, pp. 147-154. doi: 10.11648/j.sd.20180603.12

Received: January 18, 2018; **Accepted:** June 6, 2018; **Published:** June 22, 2018

Abstract: Prior study proposed that extracts of edible flora might own electrochemical activities to act as electron shuttles (ESs), stimulating capabilities bioelectricity generation in microbial fuel cells (MFCs) at appropriate environmental conditions. However, applications of converting such electrochemical species (e.g., medicinal herbs and tea extracts) to be ESs for practical use still remained open for discussion. Thus, this first-attempt study disclosed critical conditions to manipulate ESs with stably reversible characteristics of electrochemistry from natural bioresources and provided quantitative assessment with practical values for biorefinery/bioenergy applications. According to total phenolics, antioxidant scavenging and power density analyses, *Syzygium aromaticum* owned the most promising electrochemical capability to be electron shuttle (ES) to stimulate energy extraction. The findings indicated that antioxidant activities, total phenolic contents and electron shuttling-activities were all strongly electrochemically associated for sustainable uses. In addition, closed-loop area of redox potential profiles in cyclic voltammetry could quantitatively represent electrochemical activity of test medicinal herb for antioxidant and ES uses.

Keywords: Medicinal Herbs, Antioxidant, Electrochemistry, Electron Shuttle, Bioenergy Extraction

中草藥電子梭萃液促進生物能源生成之評估研究

廖家輝, 薛仲娟, 陳博彥*

化學工程與材料工程學系, 宜蘭大學, 宜蘭市, 台灣

郵箱

lisa22684047@gmail.com (廖家輝), cchsueh88@gmail.com (薛仲娟), boryannchen@yahoo.com.tw (陳博彥)

摘要: 由於中草藥富含有益健康之多酚和類黃酮抗氧化成分, 而且先前研究發現其具有抗氧化成分亦具有生物電化學特性, 文獻更指出其結構中苯環具有多個羥基(-OH)取代基, 因此合理懷疑該性質可能與其抗氧化性等電子傳遞作用有所關聯。本研究基於綠色之永續理念, 嘗試對多種常見天然中草藥進行生物電化學評估, 以及針對抗氧化之相關研究, 來深入評估應用於廢水處理及醫療保健食品之可行性。本研究中證實多種中草藥萃液確實具有生物電化學活性, 不僅具有抗氧化活性, 亦可調控轉換成具可逆性之電子梭成分活性, 更符合綠色循環生生不息之應用。此電子中介作用經過研究發現丁香具有最佳之電子梭功效, 由電化學循環伏安法、抗氧化DPPH和總酚分析中更指出確實具有最佳電化學之作用活性, 並且添加入微生物燃料電池中, 亦發現其提升產電效果亦為最佳, 並且發現經過多次收放電子(CV), 即使萃液中一些抗氧化物質被消耗, 但其餘殘留電子梭之成分, 仍然可具有穩定提高MFC產電功率之能力。另外亦發現將循環伏安法之圖譜面積作為評估電化學特性物質成分中可能具有電子梭能力之初步篩選, 應用上具備其實用的可行性。

关键词：中草藥材、抗氧化、電化學、電子梭、生物能量提取

1. 引言

微生物燃料電池(MFC)做為一種生物電化學評估平台，可藉由通過添加外援式電子梭(ES)，量化評估其具有促進電子轉移(ET)進而輔助有機物生物降解作用，並且能持續能量提取利用之能力，以持續促進生物質能提取作為可再生能源開發之基本依據。因此本研究取定MFC作為可能待測天然物能量生物電化學開發應用上之量化評價平台。原理上而言，若可有效的刺激ET[1-4]，更具有其電化學上的操作價值及應用上之經濟效益。論及電化學驅動的[催化劑]-電子梭一般是具有氧化還原可逆性能促使電子轉移(ET)的有機化合物，先前研究指出若在低生物毒性條件下，可用於有效促進生物能量提取。隨著電子梭的補充，ET能力提高亦可通過能量提取的電子交換，隨之提高還原脫色和生物產電(RD & BG)。然而，先前發現可作為電子梭的中間物(例如：中性紅，亞甲基藍或偶氮染料的脫色代謝物)環境友善性低，並且有二次污染之虞。因此取定環境生態友善性高的電化學活性物質相當重要。實際上，根據有機化學，若苯環上存在羥基(-OH)和/或胺基(-NH₂)取代基，則此類化學物質將強烈地表現出氧化還原中介的特性(例如：ES[4-7])。此外，發現羥基取代基在電化學可逆和穩定的電子穿梭中比ES中的胺基更具有電化學上之操作穩定性。此類化學品可能具有有效之電子中介特性而為電子梭，來幫助處理微生物細胞內的電子傳遞鏈有效轉移，加速污染物生物分解作用。基於考慮到環境保護以及對於綠色環境可持續發展的基本要求，自然界中富含多酚類(即-OH取代基)的天然生物資源將被應用於生物能源開發利用。例如：藥用植物(丁香以及金銀花(或稱忍冬))[8,9]含有大量的多酚類和類黃酮抗氧化物[10,11]。因此具有生物電化學上之功能活性，可作為環境友善的抗氧化劑和電子梭ES來操作應用。此外，關於電子梭促進催化作用特性，顯然天然草本植物(或植物群)通常具有豐富的具有自由基/電子共振化學結構的色素；因此，可能具有電子共振轉移能力之有色物質(例如：花青素)的存在亦可以協同地與ET刺激引起的電化學活性相互作用。例如：茶提取物-兒茶素的主要成分即可能具有抗氧化物或ES的雙重作用[8]。然而，影響這些特性的調控應用策略仍然有待深入破解，以便進行實際工業應用上之系統優化。事實上，Chen和Hsueh[12]即提出將多酚類抗氧化物轉換成生物能源/生物精煉應用的替代品之想法。本研究更提出利用循環伏安法及MFC可用來當作初步評估電子梭能力之工具，利於找出具電子梭功效之各種天然物，使其更有效應用於生物能源提取等各種生物能源之應用領域上。

2. 材料與方法

2.1. 中草藥萃取液

本研究取定金銀花(*Lonicera japonica*)、丁香(*Syzygium aromaticum*)、麻黃(*Ephedra sinica*)、乾薑(*Zingiber*

officinale)、葛根(*Pueraria montana*)等22種常見之中草藥來初評，首先以新鮮2.5g，浸泡於50mL的50%乙醇溶液中(酒萃)，在攝氏65°C下迴流萃取2小時，再減壓濃縮15分鐘，進行抽氣過濾，取其萃液，最後再以去離子水將其定量至50mL，以利後續評估分析。

2.2. 循環伏安法測試

循環伏安測是採三極法，工作電極，反電極和參考電極分別是玻碳電極(0.07cm²)，鉑電極(6.08cm²)和充滿飽和KCl(水溶液)的Ag/AgCl電極。在研究之前，玻璃碳電極(GCE, ID = 3mm; 型號CHI104, CH Instruments Inc., USA)用0.05μm氧化鋁拋光劑拋光，將中草藥汁液以氮氣曝氣去氧15分鐘後，再使用儀器electrochemical workstation(Jiehan 5600, Taiwan)，掃描範圍1.5V到-1.5V，速率為10mV·s⁻¹。由於中草藥本是多元複雜之混合物，因此以六次掃描觀察是否具有穩定氧化還原峰，再將具有此特性之樣品，再進行循環伏安掃描100圈，以觀察其圖譜隨時間之可逆性穩定變化趨勢分析。

2.3. 總酚含量測試

將中草藥萃液量取0.25mL與0.25mL Folin & Ciocalteu's phenol reagent, 0.5mL飽和Na₂CO₃溶液和4mL雙蒸餾水混合，以分光光度計在吸收波長λ=725 nm下測試並以Gallic acid (GA)當作標準品作較正曲線，得校正方程式OD_{GA}=3.6748 C_{GA}-0.0475; r²=0.9993, OD_{GA}是樣品吸光度，C_{GA}是相當於GA濃度(g L⁻¹)。

2.4. DPPH抗氧化測試

DPPH 清除測試，使用 2,2-二苯基-1-苦基肼(DPPH•; C₁₈H₁₂N₆O₅•)自由基作為評估抗氧化活性的標準。對 DPPH 自由基清除率的自由基清除能力由下列方程式判定

DPPH 自由基清除 = (1 - (Abs_{sample} - Abs_{blank}) / Abs_{control}) × 100%，其中Abs_{sample}是30分鐘後DPPH與樣品(或標準品)之間反應的吸光度，Abs_{blank}是空白值(即2mL ethanol 溶劑和1mL樣品或標準溶液)的吸光度，Abs_{control}是對照(1mL DPPH溶液和2mL溶劑)的吸光度。正如Oliverira等人[13]表明，2mL不同稀釋度的1mM DPPH(溶於95%乙醇)瓶與不同濃度的1mL測試藥草或茶提取物混合，在室溫下進行反應30分鐘。然後再通過515nm的分光光度分析。

2.5. 微生物燃料電池製備

針對電子梭研究，本研究使用空氣陰極單槽式微生物燃料電池(聚甲基烯酸甲酯 (Poly(methyl methacrylate), PMMA)(single-chamber MFCs, SC-MFCs)，來作為微生物燃料電池。首先取定長95mm，厚3mm，內徑54mm圓管一支，一端作為陽極閉口端，另一開端作為空氣陰極開口，以此段槽體做為微生物反應槽。陽極生物反應槽之工作體

積為231.3 mL。邊緣以矽利康(silicone)固定玻璃管，並在槽正中央鑽出直徑11mm的孔洞，以作為後續可置參考電極與輔助電極之位置，利於電化學分析儀對電池測量。構造上，圓管兩端的陽極閉口端與空氣陰極開口端分別接上直徑54mm圓洞的壓克力圓盤，距圓盤中心42mm處鑽出直徑8mm之孔洞六個，並製作相同規格的墊片以防止漏液，墊片及電極碳布(陽極碳布直徑54mm的圓形親水多孔碳布，陰極碳布以四氟乙烯塗布，其直徑54mm的圓形疏水多孔碳布，其一端延伸60mm的碳布)放於圓管與圓盤間並以矽利康(silicone)黏合，再以螺栓將圓管與圓盤緊連。

微生物燃料電池之培養液為培養基LB (Luria-Bertani medium)，組成之成分為10g L⁻¹的胰蛋白酶(tryptone)、5g L⁻¹的酵母提取物(yeast extract)及10g L⁻¹的氯化鈉(NaCl)所組成，培養基本身pH值微調確定在7.0±0.2之間；培養基主要提供作為菌體生長及電池電流生產所需之能量。

MFCs所殖種之菌株希瓦氏菌(*Shewanella haliotis*)來自於生化工程研究室所篩選出來具有生物脫色與產電菌株，並在首次殖種時於30°C、125rpm條件下殖入菌液1%(v/v)於含有50ml的LB培養基進行前培養12hr，並取其菌液2.2ml殖入含有220ml LB培養基微生物燃料電池槽體內，MFCs之工作環境為25°C，為提供有效能量營養基質，並以48hr為週期為脈衝注入5mL高溫殺菌濃縮新鮮基質8.8倍濃度LB培養液使MFCs內維持0.2倍LB基質。

2.6. MFC電化學測試

(a)電化學阻抗譜(EIS) (日本HIOKI 3522-50)測量是在幅度為10mV的穩態開路電勢下進行的。頻率範圍是104~5×10⁻²Hz。收集的數據使用奈奎斯特圖的軟件(Zview 2.6b, Jiehan Tech Corp.)進行分析。以二極法MFCs陽極為工作電極，陰極為參考電極與輔助電極，在穩定電壓，擾動振幅為10.0mV，頻率範圍為104~5×10⁻²Hz。阻抗圖(EIS曲線)與x軸的截距(阻抗, Z_{re})，可作為電解質電阻(electrolyte resistance, R_{elec})；而阻抗圖中的曲線在x軸交點後的曲線投影長度是反應動力電阻(kinetic resistance)與質傳電阻(擴散電阻)之和(R_{kin} + R_{diff})將三者總和值則為電池內阻R_{in} (R_{elec} + R_{kin} + R_{diff})，使用奈奎斯特圖軟件(Zview 2.6b, Jiehan Tech)收集數據和分析估算電化學特[14]。

(b)產電測量：使用數據採集系統(DAS 5020; Jiehan Tech Corp.)通過外部電阻R_{out}=1KΩ自動測量電池電壓(每分鐘設定一個數據點)。請注意，為了與之前的結果進行比較，故意使用較高的電阻(1000歐姆)。使用線性掃描伏安法(LSV)測量P=(V×C)/A和I=C/A來確定MFC的功率密度(P)和電流密度(I)，並且使用萬用表V和C分別表示電壓和電流)。請注意，所有的MFC在25°C下在無膜單室模型中操作。

3. 結果與討論

3.1. 中草藥萃取液之電化學評估

首先針對中草藥中可能具可逆電子轉移能力物質進行循環伏安分析的定量評估，以直接表徵其電化學活性是否可用作電子中介體(ES)或抗氧化劑。根據掃描所得之“閉環”氧化還原電位曲線的區域，可將來自不同天然生物資源的ES或抗氧化劑的能力進行劃分等級，並進一步提出具生物能/生物精煉應用價值之可行性物質。如表1和圖1所示，由於丁香CV曲線中面積最大，氧化還原電位峰值最大，因此是最有前景的藥用植物。依據20多種本草綱目(中國草藥學卷，明代李時珍著)中記載能源相關之藥材，初步進行電化學可行性測試(數據未列)，其中最可能具有電子梭特性之中草藥為丁香，陳皮和金銀花等，先前文獻[12]更指出，具穩定的可逆電子穿梭官能取代基是羥基。更由於藥用植物中含有豐富的多酚類化合物(表2; [10,11,15,16])，顯然此類生物材料富含ES-化學物質(例如：電化學活性物質-咖啡酸，原兒茶酸，沒食子酸等)

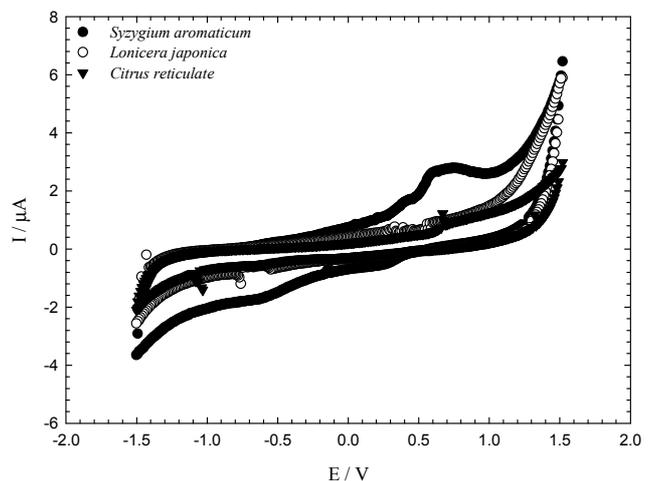


圖1 (a)三種具最佳電化學活性之中草藥提取物的循環伏安曲比較圖。

表1 使用不同的藥草CV曲線的閉環面積的比較。

Sample	Area*(V·μA)
<i>Syzygium aromaticum</i>	5.742
<i>Lonicera japonica</i>	3.063
<i>Citrus reticulata</i>	2.021

$$*Area = \int_{V_L}^{V_H} (i_h - i_l) dV$$

其中V_H, V_L分別表示在+1.5V和-1.5V處的CV掃描的電壓；i_h, i_l分別在特定的掃描電壓下呈現最高和最低的電流值

表2 三種中藥材(丁香、金銀花、陳皮)主要成分比較表。

Herb name	Composition	Reference
Syzygium aromaticum (Dīng xiāng)	Eugenol, eugenol acetate, β -caryophyllene, α -cububene, α -copaene, isoeugenol, nerolidol, farnesol	[10]
Lonicera japonica (Jīnyīn huā)	2,4,6-trihydroxyacetophenone-3-C- β -D-glucoside, biflorin, isobiflorin, 6-C- β -D-(6'-O-galloyl)glucosylnoreugenin, eugenol, eugenyl acetate, trans-coniferyl aldehyde, 1-Omethyl-guaiacylglycerol, epoxiconiferyl alcohol, caryolane-1,9 β -diol, clovane-2,9-diol, α -humulene, β -caryophyllene, β -caryophyllene oxide, oleanolic acid, maslinic acid, and 3,3',4'-tri-Omethylellagic acid	[15]
Citrus reticulata (Chénpí)	Hyperoside, Loganin, Loniceroside A, Luteolin, Hederagenin, caffeic acid, Lonicerin, Protocatechuic acid (3,4-dihydroxybenzaldehyde), Isorhamnetin Ochnaflavon, Chlorogenic acid, Rutin, Shuangkangsu, Loijaposide A, Lonijaposide A1	[11]
	chrysoeriol, luteolin, 5-hydroxymethyl-2-furfural, caffeic acid, Protocatechuic acid (3,4-dihydroxybenzaldehyde), chrysoeriol 7-O-beta-D-glucopyranoside, isorhamnetin 3-O-beta-D-glucopyranoside, kaempferol	[16]
	3-O-beta-D-glucopyranoside, quercetin 3-O-beta-D-glucopyranoside, hederagenin	[17]
	Galic acid, Chlorogenic acid, Ferulic acid, Coumaric acid, Caffeic acid, Catechins, Epicatechins, Hesperidin, Naringenin, Quercetin, Kaempferol	

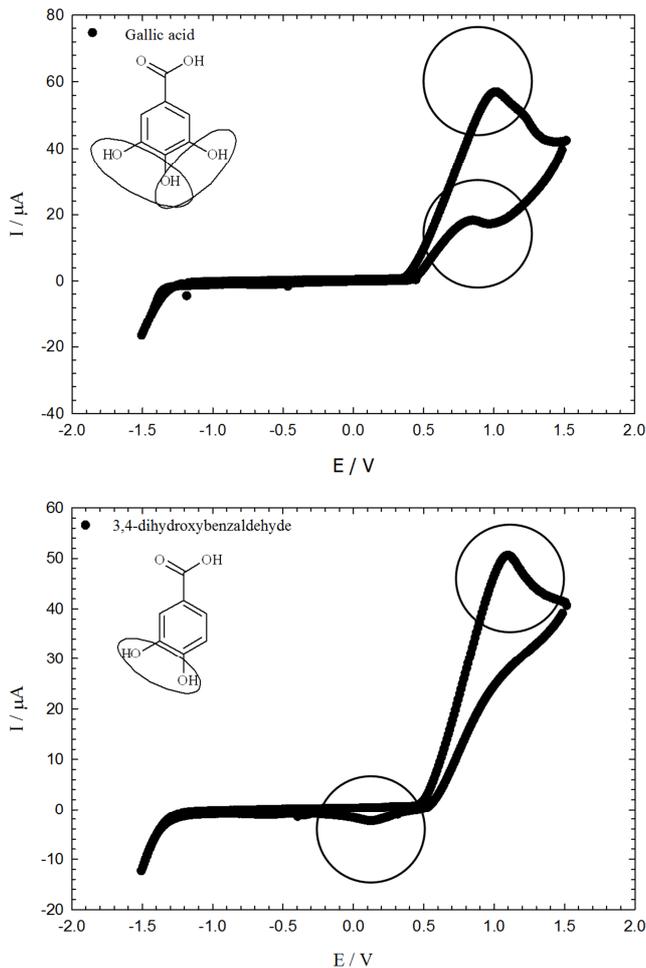


圖2 針對目標中草藥中可能具ETs化合物(沒食子酸, 3,4-二羥基苯甲醛)進行循環伏安掃描比較圖。

由圖2更可看出中草藥萃液所含化合物確實具有電子梭之能力，雖然因為可能草藥萃液中其他物質影響，使其峰值與位置產生偏移，但是仍然可以確認肯定其具有電子梭能力。

3.2. 電化學活性分析

針對電化學活性分析，正如先前研究[8,9]所述，待測化學物質的自由基清除能力和電子中介活性都是電化學相關的特性。因此，對於富含多酚的植物物種（例如：藥草和茶提取物）而言，DPPH自由基清除活性在電化學上是“等價相當”於ESs在MFC中生物發電的氧化還原中介能力。因此如圖4所示，提出了基於DPPH自由基清除能力的不同植物來源的抗氧化活性層級。測試抗氧化劑的能力並轉換成有效濃度（ EC_x ）量化表徵，取30分鐘內用1% DPPH去除x% [20]用於分析方法。 EC_0 和 EC_{100} 可定義為具有可檢測抗氧化活性響應（即0%）的最大濃度和具有100%抗氧化活性響應的最小濃度。如圖4示， EC_x 之評比可用於不同抗氧化效力的各種測試樣品的比較評估，並以DPPH自由基清除能力作為電化學活性可能指標參數，事實上，Przygodzka等人[10]即提到抗氧化活性可能與多酚和類黃酮的含量具有統計上之相關性。此外，可食用的植物（如藥草，茶葉）由於含有豐富的多酚類和黃酮類化合物(圖5)，極可能有效表現出很高的抗氧化活性（如：金銀花[11]）。文獻[18-20]則更證實多酚類和黃酮類化合物的CV曲線在合適環境條件下，可有效轉換表現出還原和氧化電位峰。此研究結果更顯示富含多酚類植物的抗氧化活性亦與具有生物能源開發潛力的ES能力息息相關。因此可如此說，自由基清除能力的定量評估亦可清楚量化電子轉移中介潛力以作為ES的MFC應用可行性。

表3 DPPH自由基清除活性劑量-反應曲線的關鍵參數列表(單位: $g L^{-1}$)。

中草藥	EC_0	EC_{20}	EC_{50}	$Y=A+B\log Z$
Syzygium aromaticum(丁香)	0.00452	0.100	0.530	$Y=5.32+1.16\log Z$
Lonicera japonica(金銀花)	0.00237	0.107	0.835	$Y=5.07+0.941\log Z$
Citrus reticulata(陳皮)	0.300	3.323	11.594	$Y=3.39+1.51\log Z$

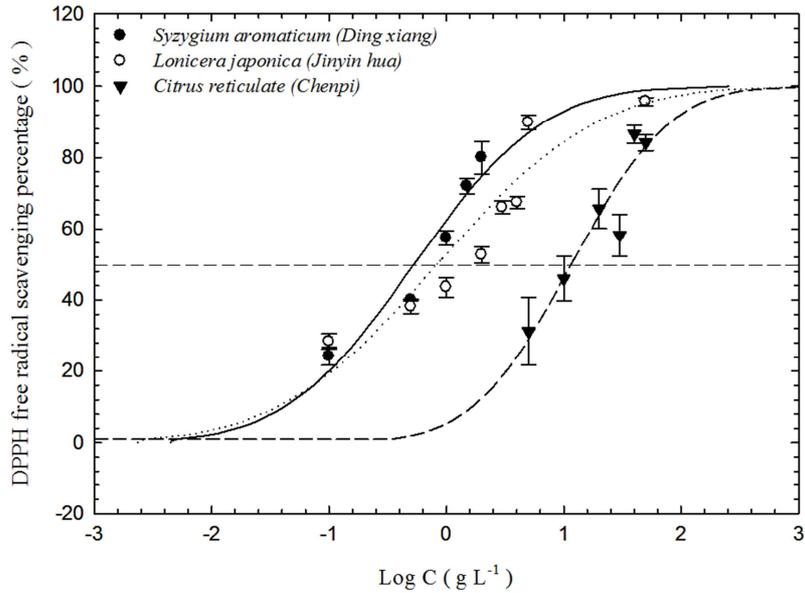


圖3 藥草提取物的抗氧化能力的劑量 - 反應曲線比較圖。

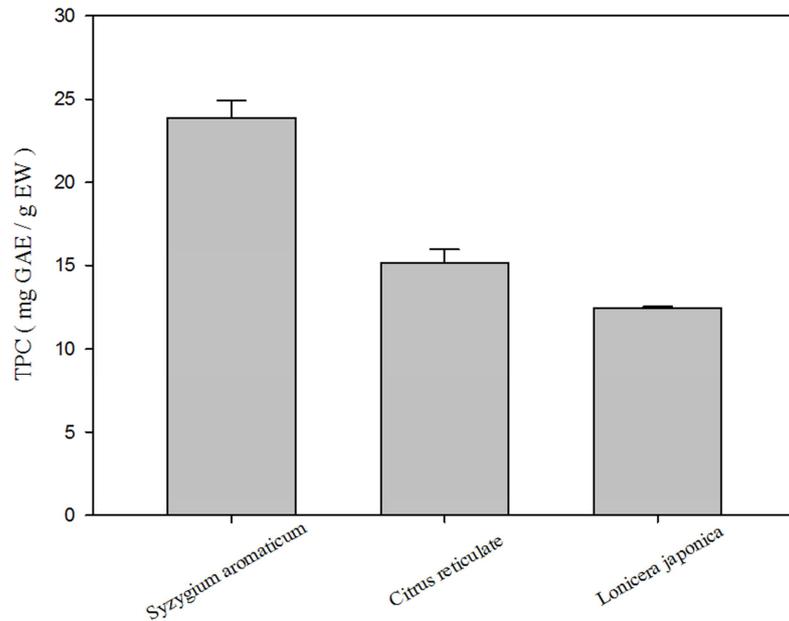


圖4 藥材提取物總酚含量 (TPCs) 比較圖。

圖3、4可以清楚指出不論是總酚含量，還是EC₅₀皆是丁香>金銀花>陳皮(注：愈位於劑量-反應曲線左邊，其有效抗氧化活性越強)，與所得之循環伏安法之面積比較結果相符，更表明用循環伏安法來作為電子梭特性化合物初步篩選方法確實具有可行性，可有效評價出其生物能源上之可應用性。

3.3. 氧化還原峰變化比較評估

若更考慮用到可持續性MFCs的運用待選ES，應再進行長期應用上之穩定性和可行性的處理測試。如循環伏安曲線所示(圖5)，在掃描過程中，測試樣品的不可逆抗氧化成份可被完全利用，只有具可逆的ES(例如：兒茶素)可穩定持續地保留其有效催化作用，可持續使用。經過100

次循環掃描後，可看出提取物CV圖譜中的還原電位峰和氧化電位峰依然穩定顯現。也就是說，所得的電化學活性中間體或ES化合物仍可有效地表現出氧化還原中介的作用能力。事實上，先前文獻[8,9]即揭示了中藥草亦呈現出類似電化學活性逐漸衰減的曲線和達到穩定的ES特徵(例如：電流的電位峰和響應曲線)。一些藥材(如*S. aromaticum*, *C. reticulata*, *Zingiber officinale*, *Lonicera japonica*)的CV測試表現約經CV掃描循環80次後，逐漸衰減的電流響應仍可漸次地收斂到一定水平。換言之，電化學活性的逐漸衰減到穩定水平應該是富含多酚類化合物植物的共同特徵。因此，對於取中草藥業所產生各類藥用植物廢棄物以用來作為回收再利用，作為補充MFC的發電性能評估比較研究應可再深入探索，如何有效存留ES特性物質，以資利用利於MFC在生物能源/生物精煉中的相關應用優化上。

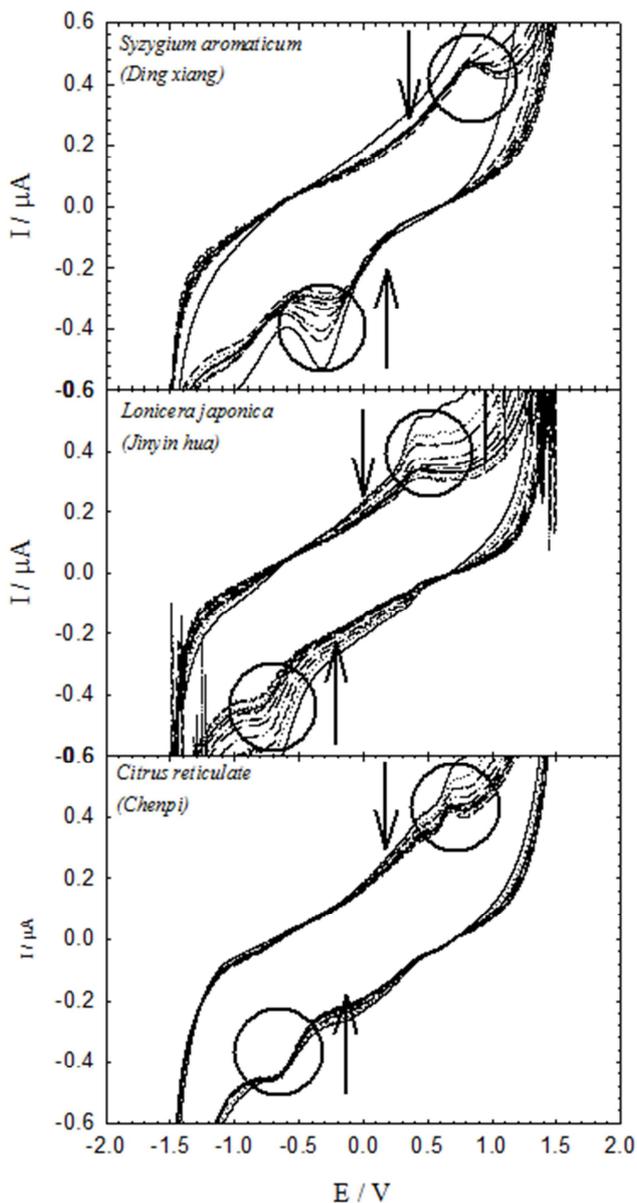


圖5 中草藥100圈循環伏安圖譜之變化。

表2中可明顯看出中草藥確實具有許多電化學特性成份，但並非所有化合物皆能作為電子梭使用，因此不具有電子梭能力之抗氧化成分化合物，在經過一段時間後可能逐漸被使用耗盡，所以由圖6中可看出峰值遞減之狀態，剩餘可能逐漸形成為電子梭化合物占優勢之情況時，才逐漸穩定下來，與先前推測電子梭能力一致，更再次說明電子梭確實有可持續重複利用性，與長時間持續具有反應能力，亦可看出大部分萃物中化合物並不具電子梭能力，因此只能當作一次性電化學上氧化或還原而被利用掉，未來針對中草藥或是可食用性植物萃液可由此點來評價期許續利用之可行性。

3.4. 中草藥萃取液-交流阻抗與極化曲線(MFC)分析

為再度確認中草藥萃液成分可具電子中介作用能力，因此以希瓦式菌WLP72為殖種之MFC作為評估平台，量化

評估富含多酚物質的草藥提取物之間之協同相互作用，評估MFC中的生物發電特性，以驗證原液及殘留的化學物質是否仍具有作為ES或電化學化合物的還原和氧化的潛在峰（圖6）。依藥材的功率密度排序如下：

S. aromaticum: 18.21 mW m⁻² (原液;增加 45%) > 16.63 mW m⁻² (100次掃描;增加32.4%) > 12.56 mW m⁻² (無添加中草藥之對照組);

L. japonica: 19.79 mW m⁻² (100次掃描;增加57.6%) > 16.24 mW m⁻² (原液;增加29.3%) > 12.56 mW m⁻² (無添加中草藥之對照組);

C. reticulata: 17.95 mW m⁻² (100次掃描;增加42.9%) > 15.22 mW m⁻² (原液;增加21.2%) > 12.56 mW m⁻² (無添加中草藥之對照組)。

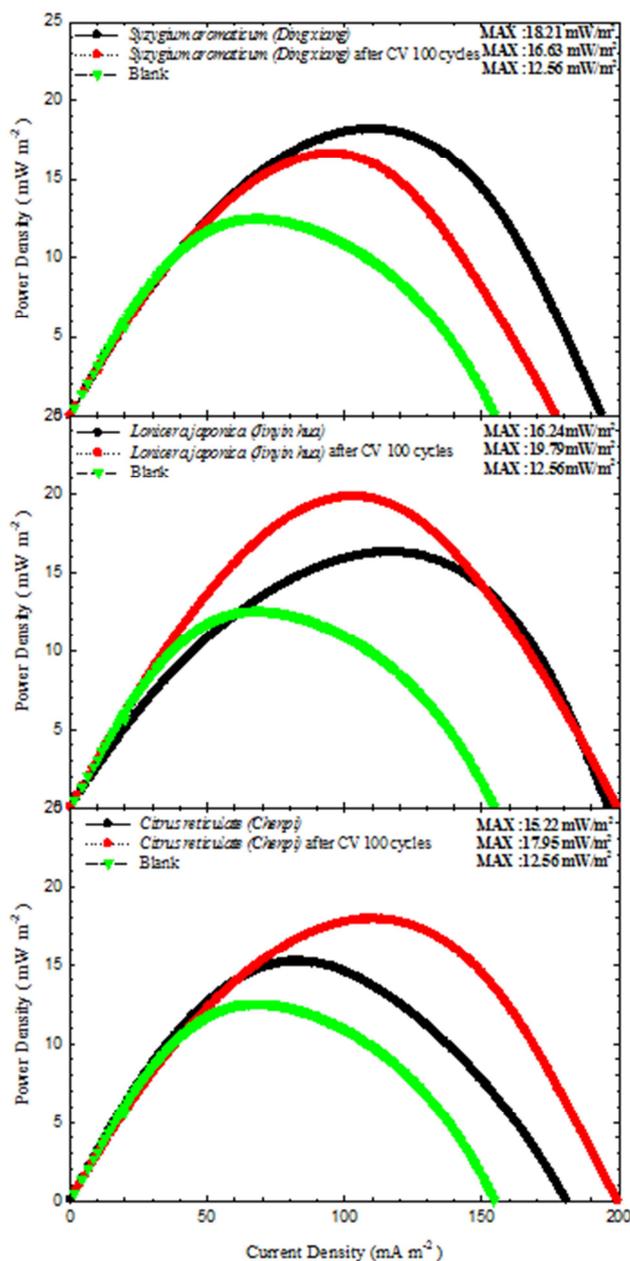


圖6 MFC添加中草藥萃液產電功率變化比較圖。

由圖6可發現萃液經過多次使用(CV)後添加入MFC中仍然具有提高產電功率的效果，顯示剩餘之抗氧化成分確實具備電子梭功效，甚至於金銀花、陳皮產電功率還有提升之能力，但是可能是中草藥之毒性原因，可能陳皮原液經百次掃描後，削減大多數有毒性之抗氧化物，進而產生具高產電活性之結果，因此產電效果不如經一百次掃描者。

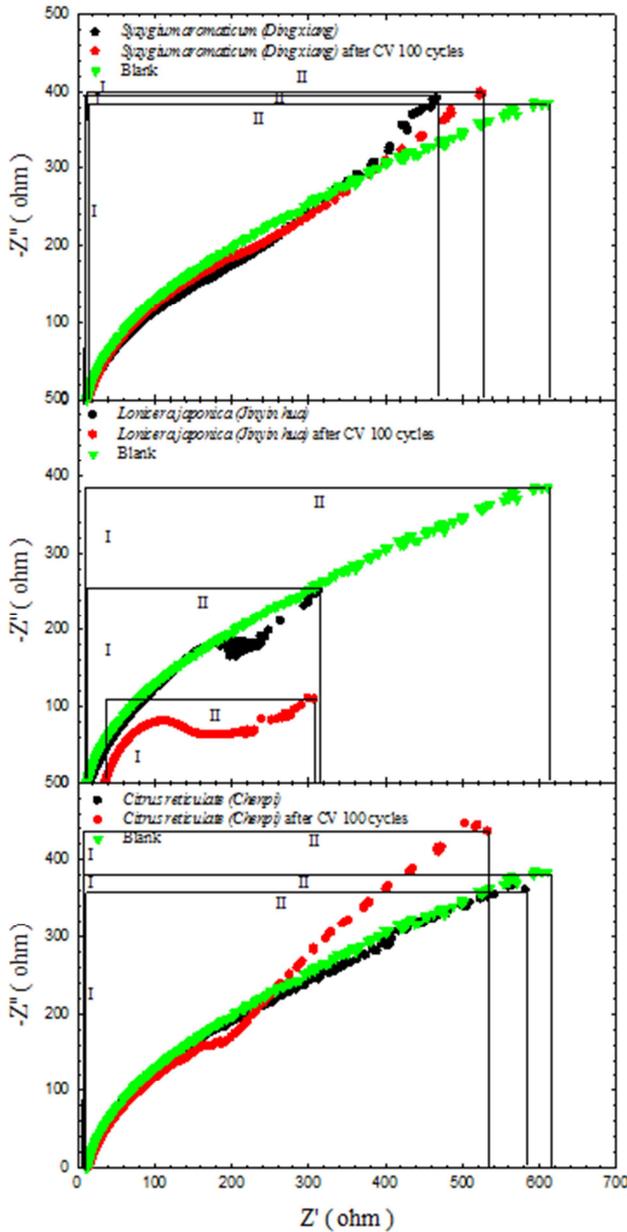


圖7 中草藥萃取物添加進MFC之交流阻抗(EIS)變化圖譜。

表4 中草藥萃液添加進MFC之EIS阻抗計算比較表。

Sample	$R_{elec}(\Omega)$	$R_{kin}+R_{diff}(\Omega)$	Total $R_{in}(\Omega)$
<i>Syzygium aromaticum</i>	14.14	446.02	460.16
<i>Syzygium aromaticum</i> after CV 100 cycles	14.53	548.29	562.82
<i>Lonicera japonica</i>	16.33	297.24	313.57
<i>Lonicera japonica</i> after CV 100 cycles	36.07	271.59	307.66

Sample	$R_{elec}(\Omega)$	$R_{kin}+R_{diff}(\Omega)$	Total $R_{in}(\Omega)$
<i>Citrus reticulata</i>	12.44	569.36	581.80
<i>Citrus reticulata</i> CV 100 cycles	14.32	518.35	532.67
Blank	11.21	599.88	611.09

從EIS圖譜中(圖7)及其內阻計算量化值(表4)中亦可以發現雖然經過100圈循環伏安掃描後，其阻抗有些上升，卻仍比空白值為低，此點與上述之PD數據吻合，同時亦再次說明即使經過多次使用後，中草藥萃液仍具有有效可逆電子梭功效。

上述都表明，若在毒性閾值以下，所得之藥材提取物可以表達出電化學之電子移轉協同交互作用在MFCs更促進有效發電。此解釋為何經過100次循環CV掃描之後，有些具毒性之成分衰減耗盡，仍能具有相當活性的能力來刺激生物發電原因，亦可能是由於草藥提取物中存在的生物毒性顯著衰減現象或“電化學分解”所致。此一發現更可表明，中草藥在評估用藥劑量可進行電化學處理來做為醫學用藥技術應用中的藥性衰減評估提供上之有效選擇。因此，如MFC測試結果(圖6)清楚地顯示，補充存在於含芳香多酚化合物中此種漸近穩定的ES化合物可有效地刺激生物燃料電池中的生物發電特性。也就是說，經使用後的藥草廢物確實仍可作為生物質能提取的可持續重複使用。隨著天然生物資源(如藥用植物和可食用植物)作為綠色電子梭，更由於藉由藥用植物提取物的氧化還原中介作用於工程上的ES應用，MFC的生物發電能力更可被有效地增強。在食品科學技術上之應用，更可用來添加於肉類食品儲存，除了可以延長肉品鮮美時限，更可以有效添加電子梭成份，在食用時可促進能量有效利用，甚至於加快燃燒能量效率，可能有減肥瘦身之應用價值存在。再者，臨床上之藥理作用，極可能與中草藥本身之電化學活性有所關聯，此皆是此研究過程中之極重要發現。

4. 結論

本研究成果表明許多具提神活血之中草藥材，由於自然生成的植物(藥材)成份之存在，因此循環伏安曲線更清楚地顯示出，於合適條件下可表現出作為ES的還原和氧化電位峰。推論各種電化學特性(例如：抗氧化活性、ES活性和總酚含量)彼此息息相關。由於多酚類或富含類黃酮的藥材提取物均具有長期穩定的電化學活性，因此從食用植物和藥材中提取抗氧化劑用於電化學應用(例如：MFC中使用的ES)或是天然食品藥物之相關應用，應是種環境友好且節能的考慮發展方向。

致謝

感謝科技部計畫：(MOST104-2622-E-197-006-CC3;MOST105-2622-E-197-012-CC3;MOST105-2221-E-197-022)之經費補助。

 参考文献

- [1] B. Y. Chen, C. M. Ma, K. Han, P. L. Yueh, L. J. Qin, C. C. Hsueh, *Bioresource technology*, 200 (2016) 1033-1038.
- [2] B. Y. Chen, M. M. Zhang, C. T. Chang, Y. Ding, K. L. Lin, C. S. Chiou, C. C. Hsueh, H. Xu, *Bioresource technology*, 101 (2010) 4737-4741.
- [3] K. Han, P. L. Yueh, L. J. Qin, C. C. Hsueh, B. Y. Chen, *Bioresource technology*, 196 (2015) 746-751.
- [4] B. Xu, B. Y. Chen, C. C. Hsueh, L. J. Qin, C. T. Chang, *Bioresource technology*, 163 (2014) 280-286.
- [5] B.-Y. Chen, J. Hong, I. S. Ng, Y.-M. Wang, S.-Q. Liu, B. Lin, C. Ni, *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 44 (2013) 446-453.
- [6] B.-Y. Chen, C.-C. Hsueh, S.-Q. Liu, J. Y. Hung, Y. Qiao, P.-L. Yueh, Y.-M. Wang, *International Journal of Hydrogen Energy*, 38 (2013) 15598-15605.
- [7] L.-J. Qin, K. Han, P.-L. Yueh, C.-C. Hsueh, B.-Y. Chen, *Biochemical Engineering Journal*, 109 (2016) 297-304.
- [8] B.-Y. Chen, A.-W. Hsu, C.-C. Wu, C.-C. Hsueh, *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, (2017).
- [9] B.-Y. Chen, C.-M. Ma, J.-H. Liao, A.-W. Hsu, P.-W. Tsai, C.-C. Wu, C.-C. Hsueh, *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, (2017).
- [10] M. Przygodzka, D. Zielińska, Z. Ciesarová, K. Kukurová, H. Zieliński, *LWT - Food Science and Technology*, 58 (2014) 321-326.
- [11] X. Shang, H. Pan, M. Li, X. Miao, H. Ding, *J Ethnopharmacol*, 138 (2011) 1-21.
- [12] B.-Y. Chen, C.-C. Hsueh, *American Journal of Chemical Engineering*, 4 (2016) 114.
- [13] G. K. Oliveira, T. F. Tormin, R. M. Sousa, A. de Oliveira, S. A. de Moraes, E. M. Richter, R. A. Munoz, *Food Chem*, 192 (2016) 691-697.
- [14] Y. Sharma, B. Li, *Bioresource technology*, 101 (2010) 1844-1850.
- [15] B. Ryu, H. M. Kim, J. H. Woo, J. H. Choi, D. S. Jang, *Fitoterapia*, 115 (2016) 46-51.
- [16] C.-W. Choi, H. A. Jung, S. S. Kang, J. S. Choi, *Archives of Pharmacal Research*, 30 (2007) 1-7.
- [17] M. N. Safdar, T. Kausar, S. Jabbar, A. Mumtaz, K. Ahad, A. A. Saddozai, *Journal of Food and Drug Analysis*, 25 (2017) 488-500.
- [18] R. d. Q. Ferreira, S. J. Greco, M. Delarmelina, K. C. Weber, *Electrochimica Acta*, 163 (2015) 161-166.
- [19] O. Makhotkina, P. A. Kilmartin, *Anal Chim Acta*, 668 (2010) 155-165.
- [20] A. Masek, M. Zaborski, E. Chrzescijanska, *Food Chem*, 127 (2011) 699-704.