

「小藻立大功」--應用綠光等鞭金藻 製作重金屬檢測器

戴榕萱¹ 黃脩涵¹ 楊晴雯¹ 黃雅湄¹ 蘇曉霓² 陳昱豪¹ 房樹生^{1*}

¹國立臺南家齊女子高級中學

²私立興國高級中學

在環保上，由於藻類具有重金屬吸附能力，可應用於含重金屬廢水的處理；另外，有些低劑量的重金屬會促進藻類生長，高劑量則會抑制其生長。基於此特性，本研究希望藉由重金屬濃度與藻類數目的高度相關的迴歸方程式，當作生物性的重金屬檢測器，其應用的價值在於簡單、方便。實驗中使用單細胞之綠光等鞭金藻 (*Isochrysis galbana*)和具相同陰離子之四種重金屬溶液 $ZnSO_4$ 、 $MnSO_4$ 、 $NiSO_4$ 、 $CuSO_4$ 及一種非重金屬溶液 Na_2SO_4 進行共培養。研究結果，求得第 7 天之 $NiSO_4$ 、 $CuSO_4$ 與綠光等鞭金藻數目的高度相關迴歸方程式。利用此 $NiSO_4$ 及 $CuSO_4$ 重金屬檢測器，可換算出 1 g 之 Na^+ 型陽離子交換樹脂對 200 mM $NiSO_4$ 的吸附率為 29%，4 g 為 88.9%。而 Na^+ 型陽離子交換樹脂對 5 mM $CuSO_4$ 的吸附率則達 100%。另外，並推測綠光等鞭金藻對 200 mM $NiSO_4$ 與 5 mM $CuSO_4$ 並無吸附能力。

壹、研究動機

藻類是原生生物界的成員，為生態系

中的生產者，藉由光合作用，將無機碳固定並產生氧氣，提供地球上的生物進行呼吸。目前已有研究者利用藻類來減少環境中的二氧化碳，進一步降低溫室效應。另外，藻類也可吸收水中的無機鹽類當作營養來源或吸附一些重金屬離子，在環保上，可應用來處理含重金屬污染的水體。

為了確認藻類具有吸附重金屬的能力，必須測得水中重金屬的濃度，而測量水中重金屬濃度需要使用昂貴、精密的儀器，如火焰式原子吸收光譜儀或原子吸收光譜儀，才能夠進行測量；在沒有特殊設備的狀況下，本研究希望能利用簡單的生物檢測法做為測量金屬濃度的檢測器，進一步利用此生物性的金屬檢測器來測量藻類吸附重金屬的能力，以作為將來應用的基礎。

貳、文獻探討

依環境污染的定義，重金屬是指密度大於 4 或原子量在 40 以上的金屬原子，如鋅、錳、銅、鉛、汞、鎘、鎳、銀等。其污染的特點在於它不能被微生物所分解，它可以經由食物鏈進入人體，之後不易排泄，能在人體的一定部位累積，導致慢性

* 為本文通訊作者

中毒，中毒後又極難治療。重金屬污染中，常見的有錳、銅、鋅、鐵、鎘、鉛、鋁、鎳等，因此，世界各國都把重金屬列為水質的監測項目。

許多研究指出，藻類可用來吸附水中的金屬，所以可進行含重金屬廢水之處理或貴重金屬之回收。有些藻類的細胞壁是由纖維素的微纖維形成的網狀結構，富含多糖，如果膠、木糖、甘露糖、藻酸或地衣酸多糖等，為帶負電物質，可以藉由靜電引力與許多陽離子金屬離子，如 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Cd^{2+} 等相結合，進一步降低水中重金屬的含量。藻類的重金屬累積能力，會因重金屬濃度及藻類的不同部位而有所不同。另外，研究亦指出重金屬在低劑量會促進藻類生長，過量則會對藻類造成生化的影響、改變生化組成、改變細胞的體積、干擾細胞分裂、改變生長速率、對胞器造成影響、影響藻細胞的活動力、對其生活史和族群造成影響。

基於上述研究，我們認為重金屬濃度愈高，影響藻類的生長愈明顯，也許可利用此特性，找出重金屬濃度與藻數目之間的相關性。若能獲得高度相關之迴歸方程式，就可利用此方程式，推算該溶液所含之金屬濃度，製作成一簡單的生物性檢測器。為了進行量化，本研究利用綠光等鞭金藻 (*Isochrysis galbana*) (圖一) 進行實驗。綠光等鞭金藻為一種單細胞微藻，體型小，約 $2-10 \mu\text{m}$ ，經過 5-7 天培養，藻細胞可增殖數 10 倍，使實驗過程較為方便好控制。本研究為避免實驗的誤差，亦選

用含有相同陰離子之重金屬溶液 ZnSO_4 、 MnSO_4 、 NiSO_4 、 CuSO_4 等進行實驗。由於 Na^+ 不屬於重金屬，本研究以 Na_2SO_4 做為負控制組，用以確認實驗組中確實是重金屬離子造成藻類生長影響，而不是 SO_4^{2-} 的影響。



圖一、綠光等鞭金藻 (1000x)

另外，「 Na^+ 型陽離子交換樹脂法」是最被普遍用來去除水中鈣、鎂等離子或其它溶解離子，它是利用「 Na^+ 型陽離子交換樹脂」與水中鈣、鎂、鋁離子或其它重金屬離子之結合力比鈉離子更強的原理，來吸附去除水中的金屬陽離子。所以，本實驗擬利用「 Na^+ 型陽離子交換樹脂」來進行金屬陽離子的吸附，做為自製金屬檢測器的驗證，證明此檢測器的確可用以推算金屬濃度。

最後，利用綠光等鞭金藻來進行重金屬之吸附，並利用自製金屬檢測器來計算吸附後重金屬濃度，並進一步推算綠光等鞭金藻吸附重金屬之能力。

參、研究目的

一、製作各種重金屬檢測器

找出綠光等鞭金藻數目與各種重金屬濃度 $ZnSO_4$ 、 $MnSO_4$ 、 $NiSO_4$ 、 $CuSO_4$ 之相關係數，藉此製作出各種重金屬檢測器。

二、重金屬檢測器之測試驗證

利用 Na^+ 型陽離子交換樹脂進行重金屬溶液之吸附，並利用金屬檢測器測量重金屬濃度，藉以確認重金屬檢測器的可行性。

三、綠光等鞭金藻對重金屬的吸附能力

將綠光等鞭金藻 (*Isochrysis galbana*) 與重金屬共培養，利用重金屬檢測器測量吸附後之重金屬濃度，藉以確認綠光等鞭金藻吸附重金屬的能力。

肆、研究設備與器材

(一) 生物材料：等鞭金藻。

(二) 化學藥品：福馬林(約 40%)、硫酸鎳、硫酸鋅、硫酸銅、硫酸鈉、硫酸錳、海鹽、液體花寶(Hypoxex)、酒精、 Na^+ 型陽離子交換樹脂。

(三) 儀器設備：低溫恆溫培養箱、電子天秤、加熱攪拌器、滅菌鍋、自製簡易無菌操作台、光學顯微鏡、筆記型電腦、數位相機(Olympus C-770)、離心機、電子目鏡(型號：MD35，廠商：JIN CHENG)。其他器材：微量吸取器

(Pipette)、微量吸取尖(Tips)、試管、有蓋試管、細胞計數盤、手按式計次器、三角錐瓶、量筒、燒杯、鑷子、刮勺、玻璃漏斗、離心試管、玻棒、懸滴玻片、紙巾、拭鏡紙、石蠟膜(Parafilm)、濾紙、鋁箔紙、蒸餾水。

(四) 各種溶液

1. 1%福馬林：取 250 μ l 40 %福馬林加入 9.75 ml 之海水中。
2. 1M 重金屬溶液：硫酸鎳、硫酸鋅、硫酸銅、硫酸鈉、硫酸錳。
3. 海水 (3.33 %)：於 1L 蒸餾水加入 33.3 g 海鹽，過濾後滅菌使用。
4. 0.1 %海水花寶：於 1 L 之無菌海水中加入 1 ml 無菌之液體花寶。

伍、研究過程與方法

一、實驗流程

見表一。

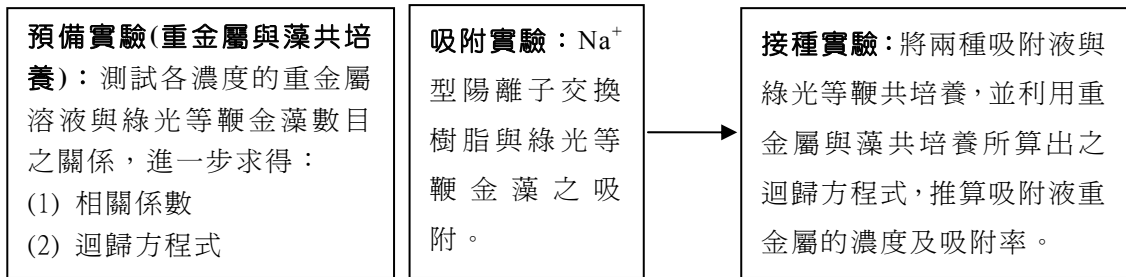
二、綠光等鞭金藻的培養

以 0.1 % 的海水花寶作為 *Isochrysis galbana* 的培養液，以 2×10^5 /ml 的濃度，培養於 250ml 的三角錐瓶中，置於低溫恆溫培養箱中，培養條件控制在 25°C，光照 12 小時，黑暗 12 小時。

三、綠光等鞭金藻的計數

取等邊金藻藻液 20 μ l 及 1% 的福馬林 20 μ l，以微量吸取器混合均勻，在顯微鏡，放大 200x 下，利用細胞計數器計算綠光等鞭金藻的數目。

表一、實驗流程



四、綠光等鞭金藻形態的觀察

利用電子目鏡(型號：MD35，廠商：JIN CHENG)，進行綠光等鞭金藻形態的觀察與拍照。

五、綠光等鞭金藻的生長趨勢

於玻璃試管中分別置入 10ml 5×10^5 cells/ml 之綠光等鞭金藻，於第 2、4、7、9 天計數綠光等鞭金藻之數目。各組為三重覆之實驗，以求平均值及標準差。

六、綠光等鞭金藻與各重金屬溶液共培養

(一) 各重金屬對綠光等鞭金藻生長的影響

不同濃度之重金屬溶液與綠光等鞭金藻 5×10^5 cells/ml，共培養 2-9 天，總體積為 10 ml，於第 2、4、7、9 天計算綠光等鞭金藻數目。利用綠光等鞭金藻數目與各重金屬濃度求其相關性，並利用 Microsoft Excel 2003 內建軟體求得相關係數與迴歸方程式。

(二) 高濃度(10 mM)之各種重金屬溶液對綠光等鞭金藻生長毒性測試

取 10 mM 之各種重金屬溶液 NiSO₄、

MnSO₄、ZnSO₄、CuSO₄、Na₂SO₄ 等與 5×10^5 cells/ml 綠光等鞭金藻共培養，總體積為 10 ml，於第 4 天及第 7 天進行綠光等鞭金藻數目之計數。將金屬處理之綠光之對照組存活率設定為 100 %。等鞭金藻數目與未處理重金屬之對照組比較，計算存活率：計算時，未處理重金屬之對照組存活率設定為 100 %。

(三) 吸附液之接種實驗

取 200 μ l 吸附液與 5×10^5 cells/ml 綠光等鞭金藻共培養 7 天，總體積為 10 ml (相當於將吸附液稀釋 50 倍)，於第 7 天進行綠光等鞭金藻數目之計數。利用相對應第 7 天之迴歸方程式(等鞭金藻數目與重金屬濃度)推算重金屬濃度。

七、Na⁺型陽離子交換樹脂對 Ni²⁺及 Cu²⁺之吸附

取不同重量 Na⁺型陽離子交換樹脂，分別與 200 mM 之 NiSO₄ 及 5 mM 之 CuSO₄ 進行吸附，吸附體積為 8 ml，吸附 1 小時後，取 200 μ l 吸附上清液，依研究過程

與方法六之(三)進行接種實驗。

八、綠光等鞭金藻對 Ni^{2+} 及 Cu^{2+} 之吸附

取 $5 \times 10^6/\text{ml}$ 、 $2 \times 10^7/\text{ml}$ 之綠光等鞭金藻分別與 200 mM 之 NiSO_4 及 5 mM 之 CuSO_4 進行吸附，其總體積為 8 ml，進行吸附 7 天後，取 200 μl 吸附上清液，依研究過程與方法六之(三)進行接種實驗。

倍，第 7 天之後，藻液濃度約為 1.42×10^6 cells/ml，第九天生長趨於平緩，藻的數量不再增加。綠光等鞭金藻以此起始濃度 (5×10^5 cells/ml) 下，其生長的對數期大約在 7 天內，但因計數藻類數量時可能會造成誤差，故之後的實驗天數，最多觀察到第 9 天(圖三)。

陸、研究結果

一、光等鞭金藻的形態及生長曲線

(一) 外觀形態

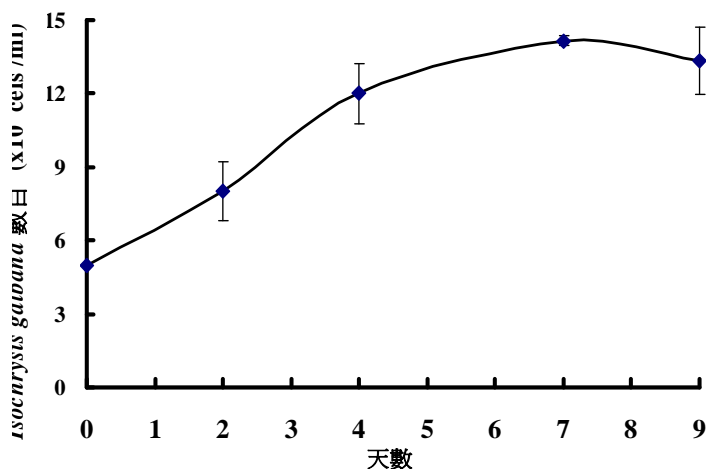
顯微鏡放大 200x 下，綠光等鞭金藻為單細胞微藻，呈橢圓型，因放大倍率不夠，鞭毛不明顯。當培養濃度約在 $2 \sim 5 \times 10^5$ cells/ml 時，藻液呈黃綠色(圖二)。

(二) 生長曲線

當綠光等鞭金藻之濃度在 5×10^5 cells/ml 時，大約 4-7 天可以複製 1-1.5



圖二、綠光等鞭金藻培養濃度在 $2 \sim 5 \times 10^5$ cells/ml 時，呈現黃綠色。



圖三、綠光等鞭金藻的生長曲線。

二、重金屬對綠光等鞭金藻生長的影響

(一) 不同濃度的重金屬在第七天對綠光等鞭金藻生長的影響

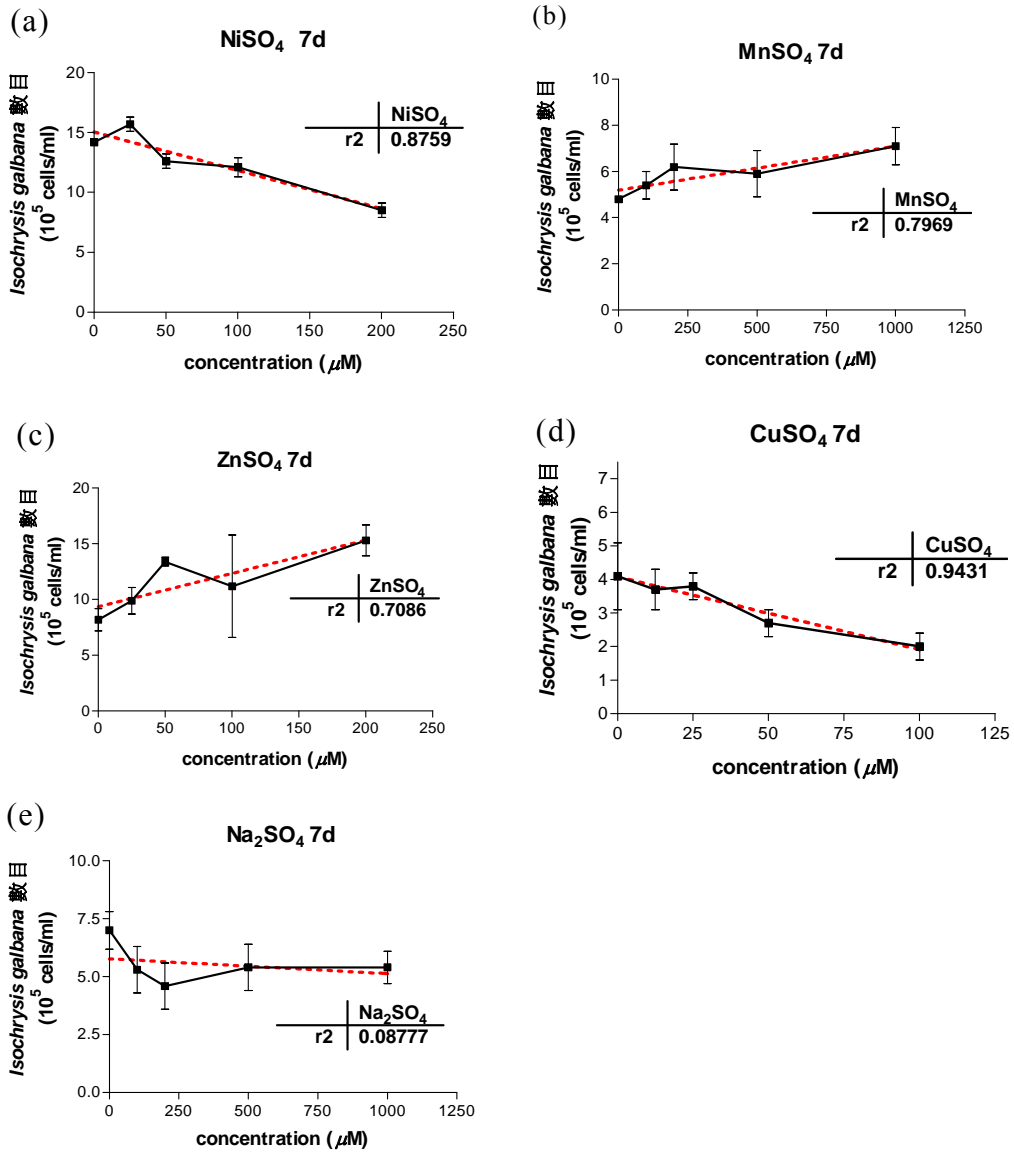
在預備實驗中我們得知，NiSO₄ 在 50-200 μM 濃度下與 *Isochrysis galbana* 共培養 2、4、7、9 天，都會抑制 *Isochrysis galbana* 的生長，且以第 7 天及 9 天最明顯，並呈現濃度趨勢(濃度越高，抑制等邊金藻生長越明顯)。就 NiSO₄ 濃度與 *Isochrysis galbana* 數目間的迴歸曲線來看，可求得相關係數 (R² 值)。由 R² 值可知，第二天的相關程度最差，R² 值為 0.75，第 9 天次之，約為 0.84，第四天相關程度最高，相關係數 R² 值大於 0.9，第七天的 R² 值為 0.87 (圖四 a)，且迴歸方程式為一次方程式。由此結果，可簡單利用第四天或第七天所得到的迴歸方程式來進行 *Isochrysis galbana* 數目與 NiSO₄ 濃度之間的換算，之後其他重金屬只試驗到第四天或第七天。

Isochrysis galbana 分別使用 MnSO₄、ZnSO₄ 在各種濃度培養下共培養 4 和 7 天時，此兩種重金屬都會促進其生長，並呈現濃度趨勢。但在各濃度下，都未達顯著差異(t-test)。就 MnSO₄、ZnSO₄ 濃度與 *Isochrysis galbana* 數目間的迴歸曲線來看，所求的 R² 值都未達 0.8，所以，無法找到一個較適合的迴歸方程式來進行 *Isochrysis galbana* 數目與 MnSO₄、ZnSO₄

濃度之間的推算。

在 CuSO₄ 各種濃度培養下觀察 7 天的結果顯示，CuSO₄ 濃度與 *Isochrysis galbana* 數目迴歸方程式之 R² 值達 0.94，有明顯抑制生長的趨勢(圖四 d)。由此結果，可簡單利用第七天所得到的迴歸方程式來進行 *Isochrysis galbana* 藻數目與 CuSO₄ 濃度的推算。以 Na₂SO₄ 各種濃度培養下作為對照組，觀察 7 天的結果顯示，Na₂SO₄ 濃度與 *Isochrysis galbana* 數目之 R² 值為 0.1，無明顯抑制生或促進生長的趨勢(圖四 e)。

由 *Isochrysis galbana* 的生長曲線(圖三)可知，在第七天有最大的生長數量且在對數期中，故針對第七天各重金屬溶液 (NiSO₄、MnSO₄、ZnSO₄、CuSO₄、Na₂SO₄) 在不同濃度下對 *Isochrysis galbana* 數目影響的結果加以整理(圖四)，可知 NiSO₄ 濃度對 *Isochrysis galbana* 數目的相關係數 R² 為 0.88；MnSO₄ 濃度對 *Isochrysis galbana* 數目所得到的 R² 未達到 0.8；ZnSO₄ 濃度對 *Isochrysis galbana* 數目所得到的 R² 亦未達到 0.8；CuSO₄ 濃度對 *Isochrysis galbana* 數目所得到的 R² 為 0.94；而 Na₂SO₄ 濃度對 *Isochrysis galbana* 數目所得到的相關係數 R² 則只有 0.1。以預備試驗的結果，只有 NiSO₄ 與 CuSO₄ 獲得高度相關的迴歸方程式 (y=ax+b)，可以利用 *Isochrysis galbana* 藻數目進行金屬濃度的推算。



圖四、各種金屬(NiSO₄、MnSO₄、ZnSO₄、CuSO₄、Na₂SO₄)在不同濃度下，於第七天對綠光等鞭金藻 *Isochrysis galbana* 生長的影響。以迴歸分析得到 *Isochrysis galbana* 數目與金屬濃度的迴歸曲線與相關係數 (R^2)。

三、高濃度重金屬對綠光等鞭金藻生長的影響

各種金屬(NiSO₄、MnSO₄、ZnSO₄、CuSO₄、Na₂SO₄)在不同濃度下，於第七天

對等鞭金藻 *Isochrysis galbana* 生長的影響，我們得到各金屬濃度與藻數目的迴歸方程式及相關係數。CuSO₄ 及 NiSO₄ 的濃度與藻數有高度相關，可利用迴歸方程式

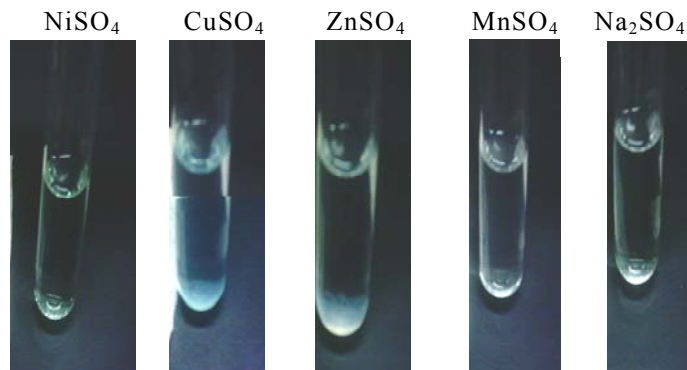
來進行 *Isochrysis galbana* 藻數目與金屬濃度的推算，但 MnSO_4 、 ZnSO_4 與 Na_2SO_4 則無法求得高度相關的迴歸方程式，推測可能所使用之濃度太低，無法達到抑制作用；另外，推測可以因提高 CuSO_4 及 NiSO_4 濃度而得到更佳之推算方程式。所以，本實驗提高各金屬濃度，先測試各種金屬在高濃度（10mM）下對 *Isochrysis galbana* 生長的影響，希望可藉由提高金屬濃度來增加處理前後 *Isochrysis galbana* 數目的差異。由於 *Isochrysis galbana* 生長四天時也在生長的對數期內，故在第四天及第七天均進行測試。為避免高濃度重金屬溶液於藻類培養液（0.1%海水花寶）中，與海水螯合產生沈澱造成對 *Isochrysis galbana* 數目計算的影響，故先進行沈澱測試。

(一) 高濃度(10mM)重金屬溶液的沈澱測試

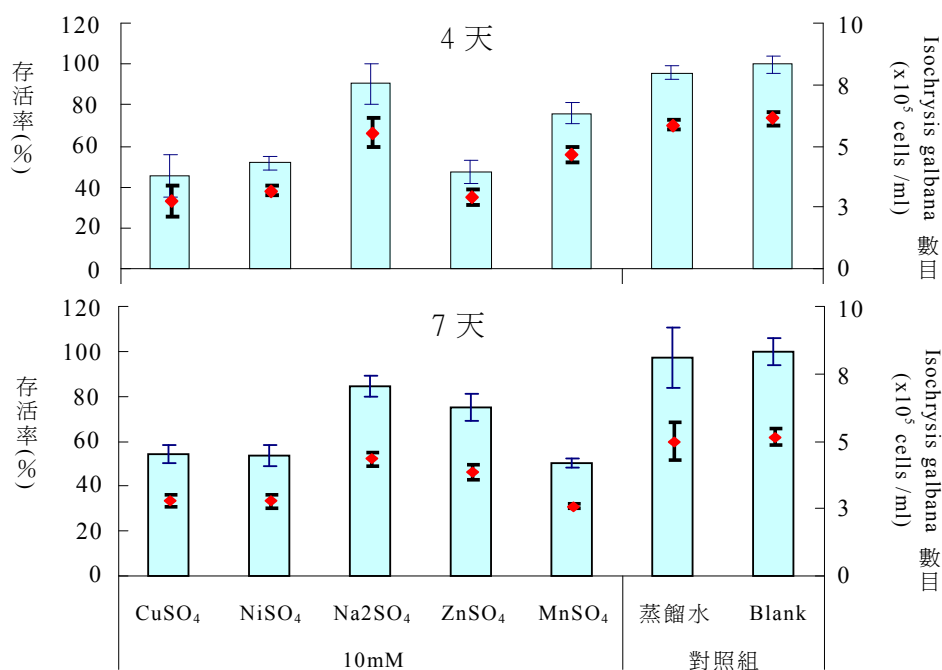
利用 *Isochrysis galbana* 培養液，配置 10 mM 之 NiSO_4 、 MnSO_4 、 ZnSO_4 、 CuSO_4 及 Na_2SO_4 重金屬溶液，其中 ZnSO_4 、 CuSO_4 有些為沈澱，而 NiSO_4 、 MnSO_4 及 Na_2SO_4 則不會造成沈澱（圖五）。

(二) 高濃度(10 mM)金屬對綠光等鞭金藻生長的影響

由圖六我們發現，*Isochrysis galbana* 生長在 NiSO_4 及 CuSO_4 高濃度下，於第四天及第七天的生長都有接近 50% 的抑制。生長在 ZnSO_4 及 MnSO_4 高濃度下，於第四天及第七天結果不一致， ZnSO_4 在第四天、 MnSO_4 在第七天對 *Isochrysis galbana* 的生長有 50% 抑制， ZnSO_4 在第七天、 MnSO_4 在第四天則無，所以尚無法確認其對 *Isochrysis galbana* 生長的影響。生長在 Na_2SO_4 高濃度下，無論在第四天或第七天均對 *Isochrysis galbana* 無明顯之毒性。對照組的蒸餾水培養下，對 *Isochrysis galbana* 無毒性。所以，只選擇 NiSO_4 及 CuSO_4 各濃度培養下對 *Isochrysis galbana* 數目有影響，且無沈澱之濃度進行實驗，求得金屬濃度與 *Isochrysis galbana* 數目高度相關的曲線，進一步求得迴歸方程式來推算未知金屬的濃度。



圖五、各種金屬於 10 mM 濃度下之 *Isochrysis galbana* 培養液中的沈澱測試。



圖六、10 mM 五種金屬在 4 和 7 天下，對 *Isochrysis galbana* 的毒性。
長條圖代表存活率 (%)，紅點代表 *Isochrysis galbana* 數目。

四、Na⁺型陽離子交換樹脂及綠光等鞭金藻對 Ni²⁺ 或 Cu²⁺ 的吸附能力

利用已知有陽離子吸附能力之 Na⁺型陽離子交換樹脂來進行 NiSO₄ 或 CuSO₄ 的吸附，希望可以利用金屬濃度與 *Isochrysis galbana* 數目的相關所求得迴歸方程式並推算未知金屬的濃度，來驗證 NiSO₄ 及 CuSO₄ 當作金屬檢測器的可利用性。另外，欲測試綠光等鞭金藻是否具吸附金屬的能力，所以，在吸附之後，利用金屬濃度與 *Isochrysis galbana* 數目的迴歸方程式，當成金屬檢測器，推算出經綠光等鞭金藻吸附過後之重金屬溶液，並測量其金屬濃度是否降低。

(一) NiSO₄ 及 CuSO₄ 之濃度與 *Isochrysis galbana* 數目的迴歸方程式

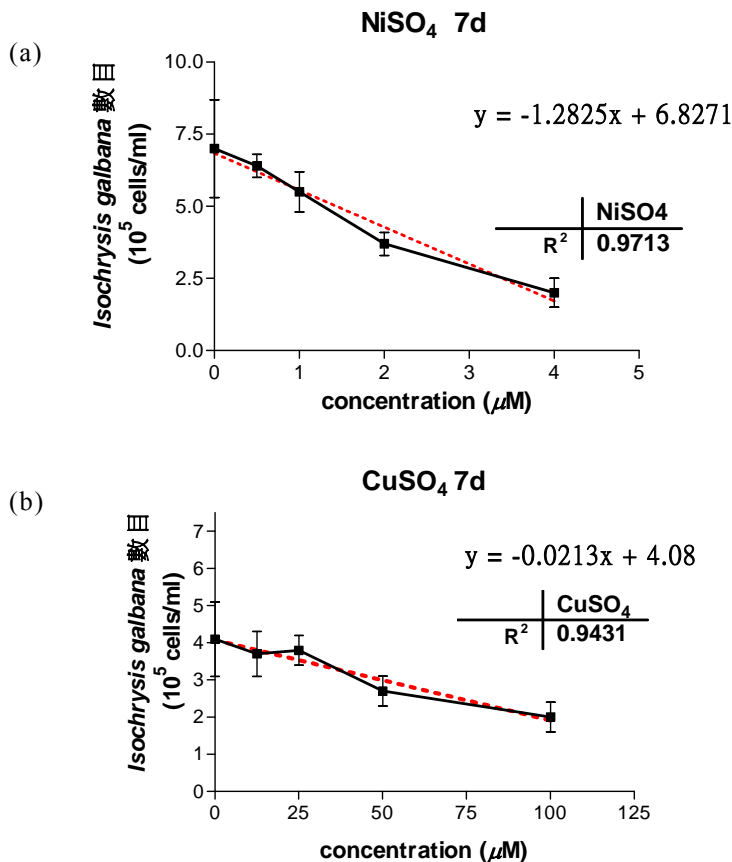
由第 7 天時，NiSO₄ (圖七 a) 及 CuSO₄ (圖七 b) 之各培養濃度與 *Isochrysis galbana* 數目得到之相關曲線，並求得迴歸方程式，所得到的相關係數 R² 值均 > 0.94，故可將 *Isochrysis galbana* 數目帶入迴歸方程式來換算金屬的濃度。

(二) Na⁺型陽離子交換樹脂對 Ni²⁺ 或 Cu²⁺ 的吸附

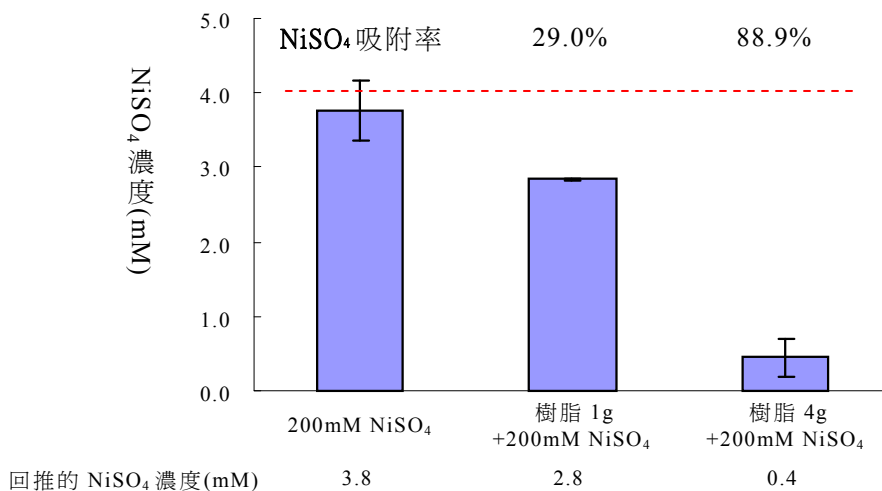
Cu²⁺、Ni²⁺ 等陽離子已知可被 Na⁺型陽離子交換樹脂吸附，置換出的 Na⁺ 並不會造成 *Isochrysis galbana* 的毒性，而干擾金屬濃度與 *Isochrysis galbana* 數目的趨勢關係 (圖四、圖七)。故利用

不同重量 (1g 與 4g) 之 Na^+ 型陽離子交換樹脂對 NiSO_4 及 CuSO_4 進行吸附，驗證金屬檢測器的可測量性。結果得知，利用 1g 與 4g 的樹脂進行 200mM NiSO_4 的 Ni^{2+} 之吸附 (圖八)， NiSO_4 有隨著吸附物越多而濃度越低的趨勢，1g 樹脂的吸附率為 29.0%，4g 者為 88.9%，相差約 3 倍。但由樹脂吸附蒸餾水的實驗得知，由蒸餾水回推 NiSO_4 濃度為 1mM 左右，此結果可能在計算藻數目時的誤差或樹脂交換出的 Na^+ 對藻數目造成影響所導致。

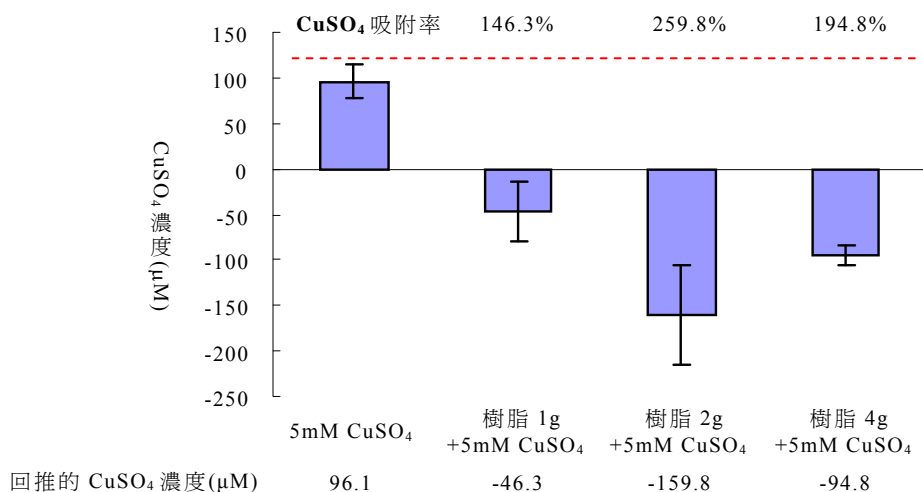
在 Cu^{2+} 的吸附結果，利用三種重量 1g、2g 及 4g 的樹脂進行 5mM CuSO_4 的 Cu^{2+} 之吸附，結果都達 100 % 之吸附 (圖九)，由於所用的 CuSO_4 的濃度較低，樹脂的量太高，使得三種重量的樹脂均可將 5mM CuSO_4 的 Cu^{2+} 完全吸附，所以無法得到樹脂之克數與回推 CuSO_4 濃度的趨勢關係。若將沒有吸附物之培養液，利用所做出的迴歸方程式來換算金屬濃度，得到 $-15.0 \pm 8.9 \mu\text{M}$ 。由上述結果，表示 NiSO_4 及 CuSO_4 當作金屬檢測是可行的。



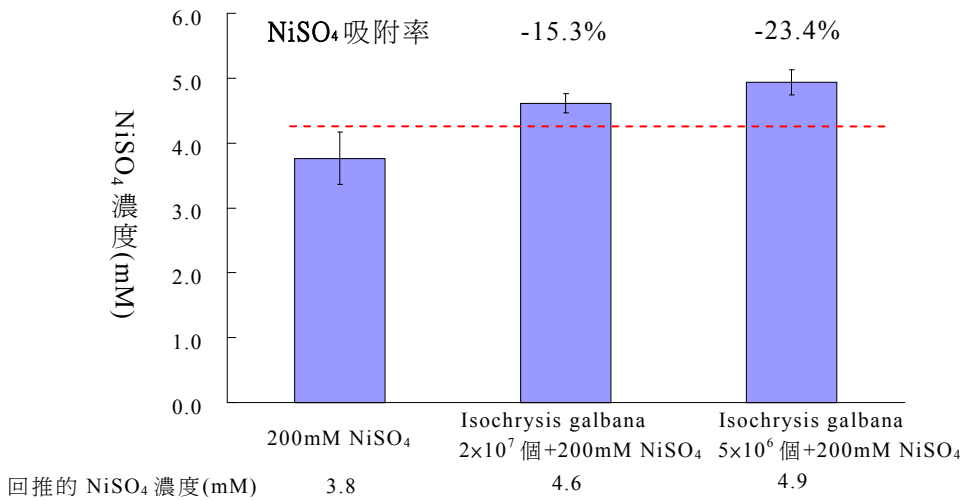
圖七、 NiSO_4 、 CuSO_4 濃度與 *Isochrysis galbana* 數目之迴歸方程式與相關係數 (R^2)。



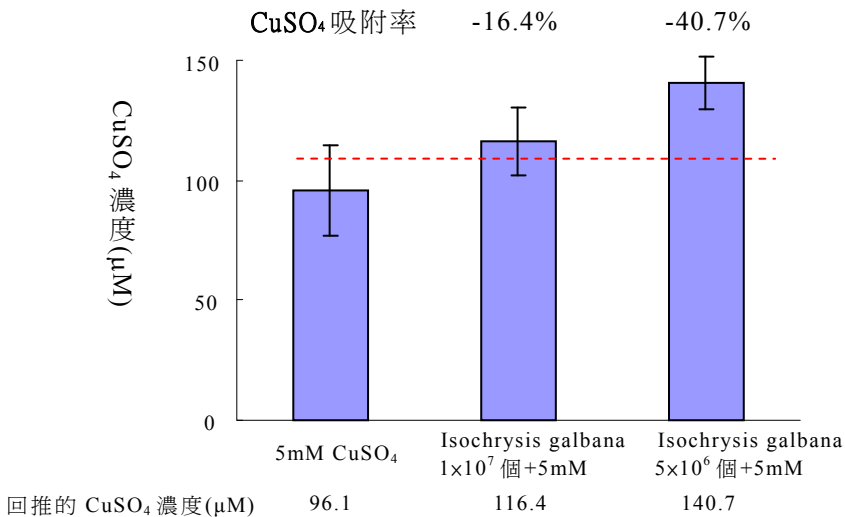
圖八、Na⁺型陽離子交換樹脂對 Ni²⁺之吸附。吸附率 = [未吸附 (200 mM NiSO₄) 之 NiSO₄ 濃度理論值 - 樹脂吸附所回推之 NiSO₄ 濃度 (mM)] / 未吸附 (200 mM NiSO₄) 之 NiSO₄ 濃度理論值 × 100%



圖九、Na⁺型陽離子交換樹脂對 Cu²⁺之吸附。吸附率 = [未吸附 (5 mM CuSO₄) 之 CuSO₄ 濃度理論值 - 樹脂吸附所回推之 CuSO₄ 濃度 (μM)] / 未吸附 (5 mM CuSO₄) 之 CuSO₄ 濃度理論值 × 100%



圖十、*Isochrysis galbana* 對 Ni²⁺ 之吸附。吸附率 = [未吸附 (200 mM NiSO₄) 之 NiSO₄ 濃度理論值 - *Isochrysis galbana* 吸附後所回推之 NiSO₄ 濃度 (mM)] / 未吸附 (200 mM NiSO₄) 之 NiSO₄ 濃度理論值 × 100%



圖十一、*Isochrysis galbana* 對 Cu²⁺ 之吸附。吸附率 = [未吸附 (5 mM CuSO₄) 之 NiSO₄ 濃度理論值 - *Isochrysis galbana* 吸附後所回推之 CuSO₄ 濃度 (μM)] / 未吸附 (5 mM CuSO₄) 之 CuSO₄ 濃度理論值 × 100%

(三) 綠光等鞭金藻對 Ni^{2+} 或 Cu^{2+} 的吸附能力

利用金屬濃度與 *Isochrysis galbana* 數目之迴歸方程式，進行金屬濃度的測量，分析綠光等鞭金藻對 Ni^{2+} 或 Cu^{2+} 的吸附能力，若有吸附時，回推之金屬濃度會較理論值低。綠光等鞭金藻對 200 mM NiSO_4 的 Ni^{2+} 吸附結果可知，綠光等鞭金藻濃度在 2×10^7 cells/ml 及 5×10^6 cells/ml 時吸附後，回推之 NiSO_4 濃度分別為 4.6 ± 0.1 mM 及 4.9 ± 0.2 mM (圖十)，與理論值 (4 mM) 比較，吸附率小於 0%，可知其完全無吸附能力。只加入吸附物 *Isochrysis galbana*，以培養液取代 NiSO_4 的條件下，會測出 1.3 ± 1.2 mM，應是計算藻數目的誤差所造成的干擾。綠光等鞭金藻對 5 mM CuSO_4 的 Cu^{2+} 吸附結果可知，無論綠光等鞭金藻濃度在 1×10^7 cells/ml 及 5×10^6 cells/ml 時，吸附率小於 0%，均無吸附效果 (圖十一)。

柒、討論

一、本實驗使用 5×10^5 cells/ml 濃度下之綠光等鞭金藻 (*Isochrysis galbana*) 進行培養觀察其生長，約在第 7 天會達到靜止期，細胞濃度大約增加 2-3 倍 (圖二)。雖然 *Isochrysis galbana* 數目與各濃度的重金屬 NiSO_4 及 CuSO_4 ，具高度相關，由於綠光等鞭金藻原本成長的倍數就低，所以容易造成藻的數目些微改變，回推的金屬濃度就差異頗大。在蒸餾水組，因為

誤差造成回推之 NiSO_4 濃度為 -0.2 ± 1.3 mM， CuSO_4 濃度為 -0.9 ± 46.9 μ M，若扣除誤差的部分 (圖七)， NiSO_4 金屬檢測器之靈敏度最小為 1 mM，而 CuSO_4 金屬檢測器之靈敏度最小為 25 μ M。

- 二、本實驗進行均利用人為的方式進行綠光等鞭金藻的計數，而該種藻類為會游動的單細胞微藻，故在取出計數時容易造成誤差；另外，因為個體小，在利用細胞計數器計數時也容易造成計數之誤差。另外，*Isochrysis galbana* 對環境變化敏感，每組實驗藻類的生長快慢不同，故進行吸附實驗時，所用來推算金屬濃度之迴歸方程式，必須是同一次實驗的結果才能利用。例如圖七 a 與圖四 a 都是在第七天時測量 NiSO_4 濃度與 *Isochrysis galbana* 數目之關係，但迴歸方程式差異甚大。
- 三、本實驗的結果計算得到 Na^+ 型陽離子交換樹脂對 Cu^{2+} 的吸附力 $> 100\%$ ；*Isochrysis galbana* 對 Ni^{2+} 及 Cu^{2+} 的吸附力則 $< 0\%$ ，並不合理，應為計數誤差所致。另外，也可能為樹脂中交換出之 Na^+ 或 *Isochrysis galbana* 釋放出其他物質，影響 *Isochrysis galbana* 的生長所造成的誤差。
- 四、環保署所公布之污染標準，各金屬污染上限均 < 100 μ M，低於本實驗之 NiSO_4 金屬檢測器的可測得最小值，所以只能可用此金屬檢測器測量較

高濃度之 NiSO_4 溶液。目前本實驗做出的 NiSO_4 及 CuSO_4 金屬檢測器主要針對單一金屬做測試，但真實的環境中，所含金屬不只一種，如何進一步應用於測量真實環境水樣之金屬濃度，可能還必須要加以改進，才能有更好之應用。

捌、結論

- 一、本實驗獲得 NiSO_4 之金屬檢測器，其靈敏度為 1-4 mM。
- 二、本實驗獲得 CuSO_4 之金屬檢測器，其可測量的範圍為 25-100 μM 。
- 三、 Na^+ 型陽離子交換樹脂可驗證金屬檢測器的可行性。
- 四、綠光等鞭金藻濃度在 1×10^7 cells/ml 及 5×10^6 cells/ml 時，對 NiSO_4 及 CuSO_4 無吸附能力。

參考文獻

利用海洋微細藻類固定二氧化碳及在資源化應用 張富龍 林畢修平 財團法人生物技術開發中心

http://www.epa.gov.tw/attachment_file/upload/R/名詞定義/05肆-水質保護統計類.pdf

<http://www.epa.gov.tw/main/index.asp> 行政院環保署

<http://e-info.org.tw/node/14107> 道路工程對生態環境的影響——間接影響生物吸附劑及其吸附性能研究進展 黃娜 華南師範大學

<http://www.bio.ncue.edu.tw> 國立彰化師範大學生物系之藻類及重金屬

http://www.nhm.ac.uk/hosted_sites/ina/CODENET/galleries/DICimages/source/iso.htm 等鞭金藻 (Isochrysis galbana)

http://mail.dali.tcc.edu.tw/~tech/activities/act1_2.html Na^+ 型離子交換樹脂吸附陽離子之原理

<http://etd.lib.nsysu.edu.tw/ETD-db/ETD-search/getfile?URN=etd-0625103-042548&filename=etd-0625103-042548.pdf> 等鞭金藻的介紹

http://bbs.burgersu.com/forum/forum_posts.asp?TID=239&PN=1&get=last 保特瓶曬太陽可能釋出加倍的微量金屬「銻」

C.K. Yap, A. Ismail, H. Omar, S.G. Tan Toxicities and tolerances of Cd, Cu, Pb and Zn in a primary producer (Isochrysis galbana) and in a primary consumer (Perna viridis) *Environment International* 29 (2004) 1097–1104

Akira Satoha, Shigetoh Miyachia etc. al Evaluation of the sensitivity of marine microalgal strains to the heavy metals, Cu, As, Sb, Pb and Cd *Environment International* 31 (2005) 713-722