
綠膿桿菌與金黃葡萄球菌 吸附重金屬能力的探討

陳昱豪 鄭儀 林榆婕 李竹昀 洪巧芸 王依宸 蔡玉薰 房樹生*

國立臺南家齊女子高級中學

壹、研究動機

除了少數的致病細菌，多數的細菌對人類是無害甚至有益的。經常食用含有嗜酸性乳酸桿菌 (*Lactobacillus acidophilus*) 或比菲德氏益菌 (*Bifidus*) 的食品對腸道的蠕動及消化相當有幫助，另外還有許多抗生素也是由細菌分泌所製造出來；細菌在目前生物科技的發展上也扮演了舉足輕重的角色。細菌是非常細小的生物，但在環境中卻扮演非常重要的角色，負責分解動植物的遺體及廢物，也有根瘤菌可以將大氣中的氮氣轉為氮化物，供植物吸收利用。

除了前面提到對環境的影響，部分細菌在環境中還具備了一種特異功能，那就是吸附重金屬。近年來有相當多的文獻指出部分細菌確實具有一定程度的吸附重金屬的能力[1]，如光合細菌 (*Rhodobacter capsulatus*)[2]、球形芽孢桿菌 (*Bacillus sphaericus*)[3]、綠膿桿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)[4]等。

隨著工業革命的開始，雖然便利了人們的生活，但其引發的污染卻漸漸破壞地球的環境，尤其是重金屬的污染更是日益

惡化。重金屬會透過飲食、呼吸或是直接接觸的路徑進入人體，但是重金屬不像其他的毒素可以在肝臟分解代謝，排出體外。相對的，它極易積存在大腦、腎臟等器官，漸進式的損壞身體正常功能。

重金屬進入人體後，大部分會與我們體內的蛋白質、核酸結合。蛋白質在生物體內的作用主要是進行酵素反應，當這些酵素和重金屬結合時，就會導致酵素的活性消失或減弱。另一方面，當重金屬和核酸結合，便會導致核酸的結構發生變化，使得基因突變，影響細胞遺傳，產生畸胎或癌症[5]。

如何減少環境中重金屬的污染是目前世界各國政府及環保團體努力的課題，而部分細菌的吸附重金屬能力更是漸漸被重視而加以研究。在我們的研究裡，我們希望可以藉由觀察重金屬濃度對常見細菌生長的影響，進而瞭解細菌吸附重金屬的能力。

貳、文獻探討

近年來重金屬污染是最主要的環境污染之一，農業及工業的污染是其主要肇因，就像一場戰爭一樣，重金屬污染對環

*為本文通訊作者

境、公共衛生以及經濟造成全面性的重大影響。重金屬污染中，常見的有錳、銅、鋅、鐵、鎘、鉛、鋁、鎳等，而這些重金屬污染又常是不可分解且永續存在的，目前常用於分離液體中重金屬的方式有：化學沈澱法、化學氧化還原法、離子交換法、過濾法、電子化學處理、反轉滲透等方式[1]，但多流於昂貴或不夠有效率，所以環境工程學家以及學者目前仍致力於低成本且有效移除重金屬的方式。

生物材料在重金屬吸附的應用在近幾年被大幅研究，生物材料具有速度快、吸附能力佳、低成本及材料易取得等優點，但仍具有易飽和等缺點。目前常用的生物材料包括藻類、植物及微生物，而其中又以細菌的效益最大，因為細菌體積小，總和面積大，相對的吸收能力也較其他生物材料來的高。已經陸續有文獻指出，螢光假單胞菌（*Pseudomonas fluorescens*）對鈾，土壤微生物 *Streptomyces noursei* 對鎘、銅、鉛、鋅、鎘，以及芽孢桿菌屬中的 *Bacillus firmus* 對鉛、銅、鋅等重金屬具有吸收能力[1]。

細菌能夠吸附重金屬取決於構造上的特性，細菌具有細胞壁，而細菌的細胞壁含有豐富的多醣類及醣蛋白，如葡聚糖（glucans）、基丁質（chitin）、甘露聚醣（mannans）以及磷酸甘露聚醣（phospho-mannans），而這些帶正電聚合物扮演了吸附重金屬的重要角色，可以藉由靜電引力與許多金屬離子（如： Cu^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Cd^{2+} ）相結合，進一步

降低液體中重金屬的含量[6]。

在 2004 年八月的報導中，有一則這麼提到：「大甲鎮永信段芋田受污染，台中縣環保局經從 55 丘段，取樣品化驗後，有 6 區確實受到鎳污染。」[7] 國際癌症研究中心(IARC)致癌性分類中：金屬鎳是屬於 2B，可能會致癌；而鎳化合物是屬於第一類，有致癌性。美國 EPA 也認定鎳的粉塵與 Ni_3S_2 具有致癌性。當不幸誤飲鎳污染的水，或透析用水被污染引起二價鎳中毒，其症狀為噁心、嘔吐、頭痛、心悸、虛弱、呼吸急促、咳嗽等會持續 1-2 天。慢性中毒則會呈現過敏性皮膚炎、慢性呼吸道疾病、免疫機能異常等症狀，甚至癌症都有可能發生[8]。

錳污染在台灣較少見到，但在大陸地區卻是嚴重的污染項目之一，而錳污染主要來自鋼鐵製造、焊接、採礦及提煉過程中所產生的粉塵。另外有機錳也用作有機鉛的代用品，作為燃料抗震劑。錳中毒是一種嚴重的神經中毒，主要病變在於大腦基底核，尤其蒼白球的神經細胞變性為其共同點，將造成身體行動上的障礙，出現類似類似巴金森症的症狀[9]。

由於鎳、錳的污染其研究文獻較少，但鎳污染與錳污染卻也是造成環境嚴重污染的元兇之二，所以在我們的研究中，我們希望從日常生活常發現的細菌中，尋找可能具有錳、鎳重金屬吸附能力的細菌，於是我們從目前仍未被報導的大腸桿菌（*Escherichia coli*）、金黃色葡萄球菌（*Staphylococcus aureus*）以及綠膿桿菌

(*Pseudomonas aeruginosa*) 著手，希望能利用細菌與金屬溶液共培養後，以原子吸收光譜儀 (AAs) 測量其共培養菌液的上清液中重金屬的濃度變化，由其中發現具有重金屬吸附能力菌種。

參、研究目的

- 一、以分光光度計求得金黃色葡萄球菌以及綠膿桿菌、大腸桿菌菌液 O.D. 值與實際菌數之關係。
- 二、不同濃度的硫酸鎳以及硫酸錳溶液對三種細菌生長的影响。
- 三、以 AAs (atomic absorption spectrometer) 確認三種細菌吸附金屬的能力。

肆、研究設備與材料

- (一) 生物材料：大腸桿菌 (*Escherichia coli*)、金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、綠膿桿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)。
- (二) 化學藥品：硫酸鎳、硫酸鈉、硫酸錳 (NiSO_4 、 Na_2SO_4 、 MnSO_4)、酒精。
- (三) 恆溫器材：恆溫培養箱。
- (四) 儀器設備：電子天秤、加熱攪拌器、滅菌鍋、無菌操作台、筆記型電腦、恆溫震盪培養箱、離心機 (Sigma 6K15 成大生理所懷孕生理實驗室提供)。
- (五) 其他器材：光學目鏡、微量吸取器 (Pipettes, p20、p200、p1000)、微量吸取尖 (Tips)、試管、有蓋試管、三角錐瓶、量筒、燒杯、種菌環、刮

勻、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、微離心管 (Eppendorf)。

(六) 各種溶液：

1. 細菌培養液 [LB (Luria-Bertani) medium, NB (nutrient broth) medium]
2. Luria - Bertani agar plate (LB agar plate) : 2.5% (w/v) LB powder、2%(w/v) agar、pH 7.0。
3. Nutrient broth (NB agar plate) : 0.8% (w/v)、1.5%(w/v)agar、pH 7.0。
4. 1M 金屬溶液 (硫酸鎳、硫酸鋅、硫酸銅、硫酸鈉、硫酸錳)

伍、研究過程與方法

一、各菌種的培養

1. 取一個培養皿 (LB agar plate for *E.coli*, NB agar plate for *S. aureus* and *P. aeruginosa*)，底部標明日期、菌株名稱及組別。
2. 將接種環在酒精燈火焰下燒紅，並將接種環在培養基空白處輕戳數次以冷卻，再挑取單一菌落。
3. 打開培養皿，將沾有菌落之接種環以三區畫線的方式分出單一菌落。
4. 將培養皿倒置，於 37°C 恆溫培養箱中培養 24 小時。
5. 取一罐裝有滅菌過 200ml LB 培養液 (NB for *S. aureus* and *P. aeruginosa*)

- 的錐形瓶，標明菌種名稱、組別及日期。
- 將接種環在酒精燈火焰下燒紅，待冷卻後自 agar plate 上挑取單一菌落。
 - 將沾有菌落的種菌環深入錐形瓶中，輕敲瓶壁使菌落掉下。
 - 將錐形瓶口以酒精燈燒一下，蓋上鋁箔紙。
 - 將錐形瓶放入恆溫培養箱中搖晃 24~48 小時。

二、生長趨勢與菌落的計數

- 待恆溫培養箱中的菌液培養 24~48 小時後，取出菌液測量其吸光值。
- 將吸光值達到 1.07 之大腸桿菌、吸光值達到 0.8 之金黃色葡萄球菌、吸光值達到 0.72 之綠膿桿菌菌液取出使用。
- 將菌液以 LB 或 NB 培養液依下列比例稀釋：(原液比 medium) 1 : 1、2 : 1、4 : 1、10 : 1，並分別測量其吸光值(三重複)。
- 將原菌液與稀釋過的菌液以連續稀釋 (series dilution) 稀釋 10^7 ~ 10^8 倍，取出 100 μ l 稀釋後的菌液塗盤於培養皿中(三重複)。
- 將塗盤之培養皿置入恆溫培養箱中培養 24 小時。
- 取出培養皿計算其上之菌落數目，並與其相對吸光值作圖。

三、各菌種與各金屬溶液共培養

- 取出培養後的菌液，將吸光值稀釋至 0.05。

- 將吸光值 0.05 之菌液分別取 50ml 分裝至五瓶錐形瓶中，並分別加入 0 μ M，100 μ M，150 μ M，200 μ M，250 μ M，或 750 μ M，1000 μ M，1250 μ M，1500 μ M 的金屬溶液。
- 加入重金屬吸附液後，置入 37 $^{\circ}$ C 恆溫培養箱中培養，並分別於 0、5、8 小時後測量其吸光值。
- 將各時間點所測得之吸光值及其相對之重金屬吸附液濃度繪圖。

四、金屬再吸收之測試驗證

- 取出 1.5ml 含金屬之菌液，並裝入微離心管中。
- 以 10000 rpm 的轉速離心 3 分鐘。
- 取出上清液，裝入乾淨之微離心管中。
- 以 AAs(atomic absorption spectrometer) 測量各實驗組別菌液中的金屬濃度。

陸、實驗結果

一、以分光光度計求得不同菌液 O.D.值與實際菌數之關係：

為了後續的實驗操作方便，我們希望利用分光光度計測量菌液的吸光值來表示細菌的數量多寡，所以我們首先必須先證實菌液的吸光值與實際的菌數有線性關係。

而從圖一中可以發現，我們所使用的三種細菌其菌液吸光值與實際菌數具有高度的正相關性，其中又以大腸桿菌的線性關係最高，其相關係數達到 0.9679，即便是綠膿桿菌也有將近 0.8 的正相關性，代

表我們所使用的三種細菌，在我們所測得的吸光值範圍內確實可以菌液的吸光值來代表實際係菌數量的多寡。

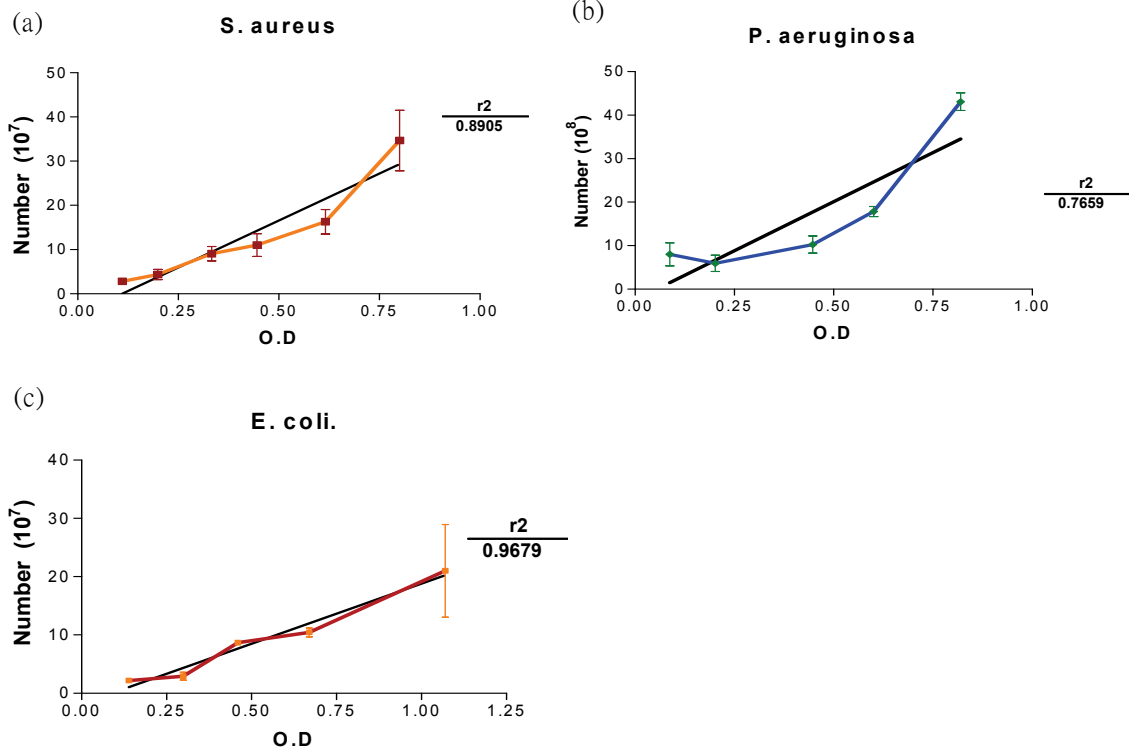
除了得知此三種細菌菌液與實際菌數的高度相關性外，我們還觀察到，相較於大腸桿菌和金黃色葡萄球菌，綠膿桿菌在相同吸光值所代表的實際菌數要高出十倍，此現象可提供後續實驗做為調整的參考。

二、不同濃度及種類重金屬對細菌生長的影響：

從前面的實驗已知菌液的吸光值在

我們所測得的吸光值範圍內可代表菌數。為了進一步證實細菌吸附重金屬的能力，所以我們先將三種不同的細菌與硫酸鎳與硫酸錳進行共培養，在不同的時間點觀察細菌生長的狀況是否受到重金屬濃度與種類的影響。

從圖二(a)中我們可以觀察到，在硫酸鎳濃度低於 $150\mu\text{M}$ 時，對金黃色葡萄球菌的生長沒有顯著影響。但隨著濃度提升，不論是五小時或八小時，金黃色葡萄球菌的生長隨著硫酸鎳濃度提升到 $250\mu\text{M}$ 而受到抑制。在五小時的時間點上，相較於



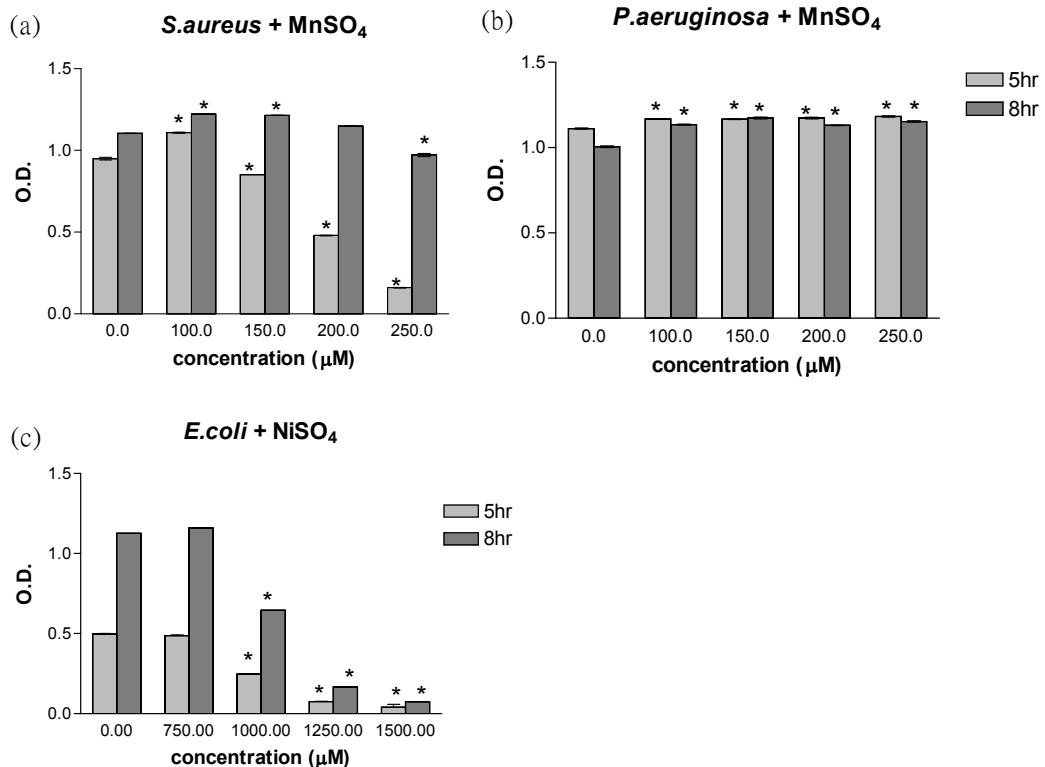
圖一、O.D 值與實際菌數的比較。(a)為金黃色葡萄球菌，(b)為綠膿桿菌，(c)為大腸桿菌。大腸桿菌與金黃色葡萄球菌的實際菌數為數值的 10^7 倍，而綠膿桿菌為數值的 10^8 倍。誤差範圍為平均值 \pm SEM。

控制組，僅有 200 μM 及 250 μM 硫酸鎳對金黃色葡萄球菌生長有顯著性的抑制；但在八小時的時間點，100、150、200 以及 250 μM 硫酸鎳都對金黃色葡萄球菌的生長產生抑制的效果。

而對綠膿桿菌而言，五小時的時間點上，隨著硫酸鎳濃度的提升，綠膿桿菌的生長顯著受到抑制，此抑制效果在 150 μM 、200 μM 、250 μM 可見，並在 250 μM 最為顯著；但隨著時間來到八小時，可以明顯看出，除了 250 μM 濃度硫酸鎳的共培養下，綠膿桿菌幾乎停止生長外，其餘濃度相較於控制組都沒有顯著地抑制綠膿桿

菌的生長（圖二 b）。此現象表示在 200 μM 以內的硫酸鎳可能為綠膿桿菌可承受的濃度範圍，並且綠膿桿菌可能在五小時及八小時這三小時的間隔中，具備某些能力使其受到硫酸鎳抑制的現象抒解，使生長趨於正常。

另外，在硫酸鎳濃度低於 750 μM 時，對大腸桿菌的生長沒有顯著影響（圖二 c）。但隨著濃度提升，不論是五小時或八小時，大腸桿菌的生長隨著硫酸鎳濃度提升到 750 μM 以上而開始受到抑制，在 1250 μM 及 1500 μM 濃度的硫酸鎳共培養下，大腸桿菌生長更是幾乎完全被抑制。



圖二、不同硫酸鎳濃度在五小時與八小時對金黃色葡萄球菌(a)、綠膿桿菌(b)與大腸桿菌(c)菌數的影響。* $p < 0.05$ 分別相較於控制組 (0 μM)，以 one-way ANOVA 統計。

我們另外使用了硫酸鈉來作為控制組，與大腸桿菌、金黃色葡萄球菌以及綠膿桿菌共培養，從圖四(a)、(b)及(c)可以看出硫酸鈉對細菌的生長沒有影響，也證明硫酸鎳及硫酸錳對細菌所造成的不同影響確實是來自於金屬濃度的改變，而非操作誤差及人為因素。

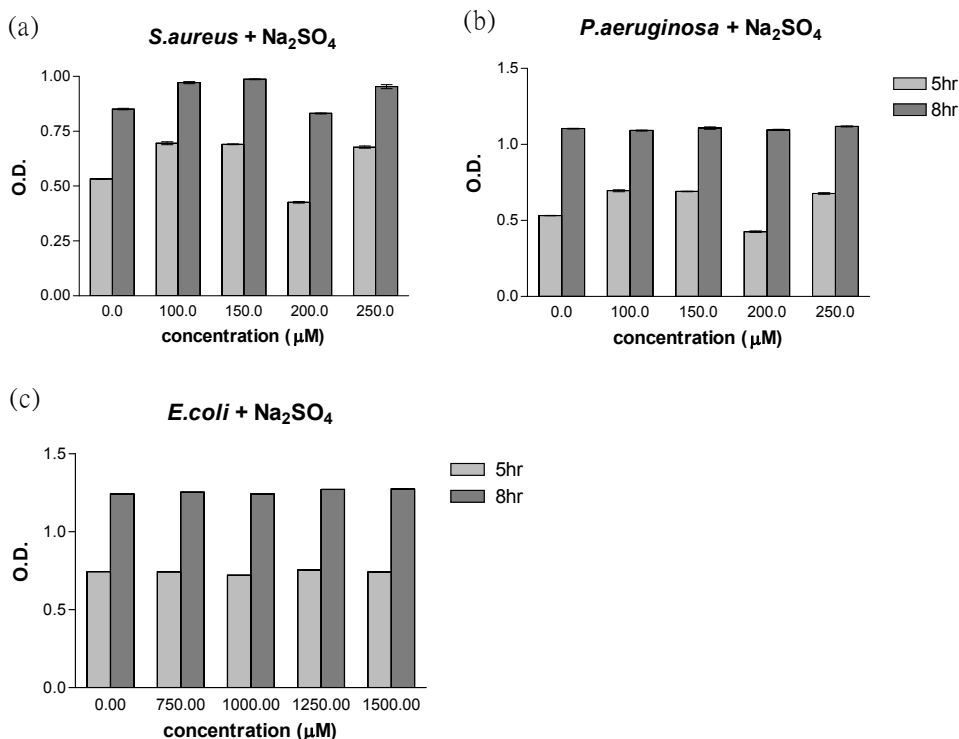
三、金屬再吸收之測試驗證：

為了進一步探討我們從共培養中發現的現象，我們將特定濃度重金屬共培養的菌液經過離心後，取出上清液，以 AAS (atomic absorption spectrometer) 測量其吸光值，並對照標準曲線得到絕對濃度，以確認此一生長曲線改變的現象是否與細

菌的重金屬吸附功能有關。

從表一中我們發現，大腸桿菌不管是對於鎳離子或是錳離子，都沒有顯著性的影響，表示大腸桿菌對於鎳離子與錳離子在我們使用的濃度及時間點並沒有呈現金屬吸收的功能。

而金黃色葡萄球菌對於鎳離子可能具備一定的吸收程度，於五小時即可達到 22% 左右的吸收率，而八小時可達到 25% 左右。對照鎳離子濃度對於金黃色葡萄球菌的生長的影響，我們發現當硫酸鎳濃度達 200 μ M 時，金黃色葡萄球菌的生長於五小時後減緩，而這可能也同時反應在吸收率上，其吸收率在五小時及八小時的差異，並沒有如 150 μ M 硫酸鎳的增加幅度。



圖四、不同硫酸鈉濃度在五小時與八小時對金黃葡萄球菌(a)、綠膿桿菌(b)以及大腸桿菌(c)菌數的影響。

此外，金黃色葡萄球菌對於錳離子可能有較佳的吸收效果，在硫酸錳濃度 200 μ M 的共培養下，其五小時即可達 34.759% 的吸收率，而八小時其吸收率更可達到 81.283%，表示金黃色葡萄球菌對

於錳離子確實有顯著的吸附作用；即便面對較高濃度的錳離子，其吸收率在五小時及八小時也分別可達到 22.345% 及 73.869%。

表一、細菌對鎳離子與錳離子的吸收率。控制組為硫酸金屬溶液，無細菌共培養。吸收率為：實驗組/控制組*100%。

細菌	金屬共培養 (原始濃度) (μ M)	控制組 (μ g/L)	實驗組 (共培養) (μ g/L)	吸收率 (%)
金黃色葡萄球菌	150 μ M Ni ²⁺ 5hr	8.632 x 10 ⁻⁴	6.732 x 10 ⁻⁴	22.01
	150 μ M Ni ²⁺ 8hr	8.632 x 10 ⁻⁴	6.302 x 10 ⁻⁴	26.992
	200 μ M Ni ²⁺ 5hr	1.09 x 10 ⁻³	0.852 x 10 ⁻³	21.835
	200 μ M Ni ²⁺ 8hr	1.09 x 10 ⁻³	0.84 x 10 ⁻³	22.943
	200 μ M Mn ²⁺ 5hr	1.122 x 10 ⁻²	0.732 x 10 ⁻²	34.759
	200 μ M Mn ²⁺ 8hr	1.122 x 10 ⁻²	0.21 x 10 ⁻²	81.283
	250 μ M Mn ²⁺ 5hr	1.083 x 10 ⁻²	0.841 x 10 ⁻²	22.345
	250 μ M Mn ²⁺ 8hr	1.083 x 10 ⁻²	0.283 x 10 ⁻²	73.869
綠膿桿菌	150 μ M Ni ²⁺ 5hr	8.632 x 10 ⁻⁴	5.732 x 10 ⁻⁴	33.596
	150 μ M Ni ²⁺ 8hr	8.632 x 10 ⁻⁴	1.102 x 10 ⁻⁴	87.234
	200 μ M Ni ²⁺ 5hr	1.09 x 10 ⁻³	0.837 x 10 ⁻³	23.211
	200 μ M Ni ²⁺ 8hr	1.09 x 10 ⁻³	0.23 x 10 ⁻³	78.9
	250 μ M Mn ²⁺ 5hr	1.183 x 10 ⁻²	1.204 x 10 ⁻²	-1.775
	250 μ M Mn ²⁺ 8hr	1.183 x 10 ⁻²	1.172 x 10 ⁻²	0.93
大腸桿菌	750 μ M Ni ²⁺ 5hr	3.684 x 10 ⁻³	3.544 x 10 ⁻³	3.8
	750 μ M Ni ²⁺ 8hr	3.684 x 10 ⁻³	3.478 x 10 ⁻³	5.6
	1000 μ M Ni ²⁺ 5hr	5.127 x 10 ⁻³	5.239 x 10 ⁻³	-2.138
	1000 μ M Ni ²⁺ 8hr	5.127 x 10 ⁻³	5.312 x 10 ⁻³	-3.6
	1500 μ M Mn ²⁺ 5hr	5.73 x 10 ⁻²	5.411 x 10 ⁻²	5.57
	1500 μ M Mn ²⁺ 8hr	5.73 x 10 ⁻²	5.328 x 10 ⁻²	7.01

另外我們可以明顯看出，不同於金黃色葡萄球菌，綠膿桿菌對於錳離子則沒有明顯吸附作用，但對於鎳離子的吸附效果卻較為明顯，不管是在 150 μ M 硫酸鎳或 200 μ M 硫酸鎳的共培養，綠膿桿菌對於鎳離子的吸收率在八小時都可以達到八成左右的能力，表示綠膿桿菌對於鎳離子具有較高的敏感性與吸附性。

柒、討論

一、大腸桿菌、金黃色葡萄球菌以及綠膿桿菌都是日常生活中常出現的細菌，但其生長速率略有不同，在我們確認生長曲線與實際菌數的線性關係時發現，在同樣標準程序下二十四小時的生長過程中，大腸桿菌可以達到 1.2 的吸光值，但金黃色葡萄球菌及綠膿桿菌卻只有 0.8；但在每 0.1 吸光值所代表的實際菌數中，卻又以綠膿桿菌所生長的實際菌數最多，可達 10^8 個，而大腸桿菌與金黃色葡萄球菌則有 10^7 個（圖一）。所以在我們的系統中，統一以吸光值來代表實際菌數，並且分別比較重金屬對不同菌種生長的影響，並不受到菌種間生長速度與實際菌數不同的干擾。

二、因為在我們的預備實驗中發現（未顯示），大腸桿菌對於金屬濃度變化比較不敏感，可以承受較高濃度的重金屬溶液，故我們使用較高濃度的重金屬溶液來與大腸桿菌共培養。從我們的結果中可以發現大腸桿菌對於鎳和錳

幾乎沒有吸收的效果（表一），而我們認為此一現象可能可以從大腸桿菌與重金屬共培養的結果獲得一點呼應：從圖二中我們可以看到，大腸桿菌對於鎳金屬離子敏感度較低，相對的也就是耐受性較高，但當濃度提升到 1000 μ M 時，大腸桿菌的生長速度開始受到影響，相對於沒有重金屬的組別其生長受到部分抑制，而當濃度再提升到 1500M 時，其生長幾乎停止，表示大腸桿菌對於鎳金屬離子可承受的濃度可能落在 1000 μ M ~ 1250 μ M 之間。就數據來看，750 μ M ~ 1000 μ M 的斜率較 1000 μ M ~ 1250 μ M 的斜率大，表示大腸桿菌可能較為缺乏緩衝環境變化的能力，當濃度提升到一個閾值時，其生長就很快陷入停擺；而相較於鎳的作用，雖然圖三中錳金屬離子對於大腸桿菌生長仍有顯著性地差異，但沒有顯著性地濃度相關性（dose-dependent）抑制，甚至在較低濃度如 750 μ M 或 1000 μ M 還有部分促進大腸桿菌生長的效果，而此一現象可能來自於此濃度錳金屬離子啟動了大腸桿菌的某些促活（pro-survival）機制，使其生長速度加快。

三、而不同於大腸桿菌，我們發現金黃色葡萄球菌對於錳金屬離子可能有吸附的能力，在五小時及八小時都發現有金黃色葡萄球菌共培養的組別中，錳金屬離子濃度相較於控制組要低，經過換算後發現，在八小時金黃色葡萄

球菌可能可以達到 80% 的吸收能力 (表一), 此一現象同樣的可以從金黃色葡萄球菌與錳離子共培養的結果尋得相關性, 從圖三中我們發現金黃色葡萄球菌與硫酸錳共培養五小時時, 硫酸錳從 $100\mu\text{M}$ 的濃度開始, 呈現濃度相關性地抑制金黃色葡萄球菌的生長, 但再經過三小時, 達到八小時則發現, 僅有 $250\mu\text{M}$ 的硫酸錳造成 0.1 的吸光值下降, $100\mu\text{M}$ 及 $150\mu\text{M}$ 的濃度還呈顯著性地些微促進金黃色葡萄球菌的生長, 表示金黃色葡萄球菌在三個小時內, 可能因其吸附錳金屬的吸附率由 22% 上升到 73%, 而使環境恢復到金黃色葡萄球菌可以接受的程度, 使其生長情況恢復甚至更好, 而低濃度硫酸錳促進金黃色葡萄球菌的效果可能來自於濃度錳金屬離子啟動了金黃色葡萄球菌的某些促活機制, 使其生長速度加快。

四、金黃色葡萄球菌對於鎳離子的吸附效果可能沒有如同錳離子的吸附效果好, 就我們的結果而言, 此吸附上限可能在 21%~26% (表二上半部), 而此現象也能從硫酸鎳與金黃色葡萄球菌共培養的結果獲得呼應, 從圖二我們發現五小時及八小時所呈現的菌數走勢相似, 都隨著硫酸鎳濃度提升而抑制金黃色葡萄球菌的生長, 而且從八小時的趨勢圖中我們可以發現, 硫酸鎳抑制金黃色葡萄球菌生長的程度更甚於五小時 (圖二 a), 可能是由於

自五小時後, 其吸附能力已到極限, 金黃色葡萄球菌受限於環境中的壓力, 而影響其生長的速度。

五、跟金黃色葡萄球菌相反的, 綠膿桿菌缺乏對錳離子的吸附能力, 但可能具備良好的鎳離子吸附能力 (表一), 而從綠膿桿菌與硫酸鎳共培養的結果我們可以發現, 在五小時的時間點綠膿桿菌受到鎳離子濃度相關性地抑制, 但在八小時的時間點, 除了 $250\mu\text{M}$ 的硫酸鎳之外, 其餘濃度硫酸鎳的抑制效果已消失, 其生長的情況都與控制組無異, 表示綠膿桿菌可承受的硫酸鎳的濃度在 $200\mu\text{M}$ 以內 (圖二 b), 並且可以在八小時內吸附此濃度內的鎳離子, 使生長不受影響。

六、而從圖三中我們也發現, 硫酸錳對於綠膿桿菌不但沒有影響, 反而呈現濃度相關性地刺激其生長, 這可能表示在我們使用的硫酸錳濃度內, 綠膿桿菌受到輕微的刺激, 但不至受到傷害, 形成一種良性刺激, 活化了綠膿桿菌的促活系統, 使其生長情況顯著提升。而綜合我們的研究發現, 低濃度的錳離子似乎對於細菌而言是一種良性地刺激, 都能使其有效地增加生長速度, 而關於此作用我們仍然沒有相關文獻地佐證, 將來可以從這裡針對錳離子的促活作用做延伸, 深入探討。

七、細菌、藻類及真菌類能吸附重金屬已有相當多的報導[1], 但針對鎳及鎳金

屬離子的吸收文獻仍相當有限，為我們研究獨特性之一；而且就目前為止的文獻中，並沒有提及重金屬離子濃度與細菌生長的關係，是我們研究的獨特性之二；再者，綠膿桿菌與金黃色葡萄球菌比起文獻中提到的光合作用菌或生物技術改良的菌種都要來的常見，其取得也較為方便，相信其應用價值不低。

八、我們的研究中都是針對單一細菌對單一重金屬的吸附效果作探討，但實際環境中的重金屬污染通常是多樣的，所以我們必須針對同時存在多種重金屬的溶液進行實驗，觀察細菌是否仍具有特定的重金屬吸附能力。

捌、結論

- 一、大腸桿菌對於鎳與錳金屬離子無吸附功能。
- 二、金黃色葡萄球菌對於錳離子具有較佳吸附功能，吸附率於八小時平均可達 77%。
- 三、金黃色葡萄球菌對於鎳離子八小時平均吸附率約 24%。
- 四、綠膿桿菌對於鎳離子具有較佳吸附功能，八小時平均吸附率可達 83%。
- 五、低濃度錳離子具有刺激大腸桿菌、金黃色葡萄球菌以及綠膿桿菌生長的作用，不同細菌有不同的錳離子耐受度。

玖、參考文獻

- 陳明, 中縣／大甲芋田土質化驗出爐 6 區確實受到鎳污染 東森新聞網, 中縣／大甲 (2004/08/09 23:08).
- 王一雄, 常見重金屬中毒 - 鎳(Nickel, Ni) <http://blog.udn.com/jackwang4664/1160713> (2007/08/15 10:12:41).
- 黃錦章醫師 長., 慢性錳中毒：台灣經驗. <http://www.pcc.vghtpe.gov.tw/old/docms/60403.htm>.
- Ahluwalia S.S. and Goyal D., Microbial and plant derived biomass for removal of heavy metals from wastewater. *Bioresour Technol*, 98, 2243-2257 (2007).
- Feng Y., Yu Y., Wang Y. and Lin X., Biosorption and bioreduction of trivalent aurum by photosynthetic bacteria *Rhodobacter capsulatus*. *Current microbiology*, 55, 402-408 (2007).
- Tuzen M., Uluozlu O.D., Usta C. and Soylak M., Biosorption of copper(II), lead(II), iron(III) and cobalt(II) on *Bacillus sphaericus*-loaded Diaion SP-850 resin. *Analytica chimica acta*, 581, 241-246 (2007).
- Ansari M.I. and Malik A., Biosorption of nickel and cadmium by metal resistant bacterial isolates from agricultural soil irrigated with industrial wastewater. *Bioresour Technol*, 98, 3149-3153 (2007).
- Arthur C. Guyton M.D., John E. Hall P. and 林佑穗、袁宗凡編譯, 新編蓋統醫用生理學. (2002).
- Andres Y., Thouand G., Boualam M. and Mergeay M., Factors influencing the biosorption of gadolinium by micro-organisms and its mobilisation from sand. *Applied microbiology and biotechnology*, 54, 262-267 (2000).