

中華民國第四十五屆中小學科學展覽會
作品說明書

高職組 化工、衛工及環工科

第二名、最佳創意獎

091101

食用真菌對染料廢水的褪色分解作用

國立淡水高級商工職業學校

作者姓名：

職三 劉貴香 職三 蕭宛庭 職二 魏翊如
職二 陳依玲

指導老師：

蕭緯世

壹、摘要

本研究以簡易的天然物(阿華田、馬鈴薯)為培養基，來培養鮑魚菇、靈芝、蛹蟲草等食用真菌的菌絲體，並以菌絲體發酵液進行染料褪色分解試驗。結果如下：

- 1.鮑魚菇、靈芝、蛹蟲草的菌絲體(液)皆具有使染料褪色分解的能力。
- 2.培養方式不同，菌絲體(液)使染料褪色分解的能力也不同，以鮑魚菇為例，振盪培養優於靜置培養。
- 3.食用真菌的菌絲體在染料中不會死亡，而且能繼續生長，繼續使染料褪色分解。
- 4.同一菌種若培養基不同、pH 值不同，則其使染料褪色分解的能力也不同，以蛹蟲草為例，生長於 pH 3 培養基的菌絲體(液)，最具染料褪色分解能力。
- 5.溫度會影響菌絲體的生長，進而影響菌絲體(液)使染料褪色分解的能力。蛹蟲草適於低溫生長，鮑魚菇適於一般室溫，靈芝則適於高溫，故可依不同季節來選用適當的菌種，以有效進行染料廢水處理。

貳、研究動機

一、動機

當我們在進行食用真菌菌絲體的液體振盪培養時，發現培養液會因為菌絲體的生長而減少，而且顏色變淡、變透明，我們假設如果把工業用染料倒入含菌絲體的培養液中，染料會不會被褪色、分解？菌絲體能不能繼續生長？於是在請教老師後，開始了這次的研究。

二、前人研究

- (一) 含染料廢水之主要來源為染整業，由於印染過程中使用大量的染料，且大多在鹼性染色劑中染色，所以染整廢水的特色為高 COD、低 BOD 及高色度問題。根據國內對染整工廠的調查，其排放原廢水多半不符合工業廢水之排放標準。環保署『藍波計畫』水污染稽查不合格者，就是以染整業為首，不合格之因素，主要是色度，其次才是 COD。色度除了會污染水源，妨礙觀瞻外，還會阻止光線進入水中，妨礙水中植物的光合作用，降低水中的溶氧量，進而破壞水中的生態平衡。而染整廢水中的色度主要是由染料所造成，因此染整廢水中染料的去除就顯得相當重要。
- (二) 廢水之處理，大致可分為物理、化學及生物處理三種方法。物理方法處理費高，化學方法會造成二次污染，生物方法因使用自然界的微生物，沒有上述缺點，為極具潛力的方法。
- (三) 許多污染環境之有毒有機化合物，如染料，在化學結構上類似於木質素模式化合物(lignin model compounds)，或可稱之為木質素模式化合物。這些毒物在環境中殘留的時間長久，又能夠抵抗微生物的分解，已知對人類及其他生物造成健康上嚴重的危害。

(四) 對染料成分有較佳分解能力的微生物主要分爲細菌與白腐真菌兩類，尤其是白腐真菌(*Phanerochaete chrysosporium* ATCC4725) 具有優異的去色能力，可以分解多種染料，對直接染料(direct dyes)、反應性染料(reactive dyes)、酸性染料(acid dyes)與分散性染料(dispersed dyes)等大類，51 種染料，都有褪色能力。白腐真菌因具有木質素分解酵素，在營養缺乏下，發生次級代謝，可以分泌木質素分解酵素系統，將木質素完全分解成二氧化碳及水。

參、研究目的

已知許多食用真菌具有分解木質素的能力，由此推論這些食用真菌必能產生木質素分解酵素。本實驗的目的在以不同的方法，培養不同食用真菌的菌絲體，並測試其在常溫下對工業染料之分解、褪色能力。

肆、研究設備及器材

- 一、 無菌操作臺、高溫高壓殺菌釜、振盪培養器、pH 測定器、電子天秤、電磁攪拌器、相機。
- 二、 接種器、鑷子、酒精燈、培養皿、試管、試管架、廣口瓶、三角瓶、量筒、玻棒、滴管、濾網、濾紙、瓦斯爐、湯匙、水果刀、鋁箔紙。
- 三、 食用真菌：香菇 (*Lentinus edodes*)、鮑魚菇 (*Pleurotus cystidiosus*) 【以上爲一般市售新鮮子實體】、靈芝 (*Ganoderma tsugae* BCRC 36203) 【菌種，購自生物資源保存及研究中心】、蛹蟲草 (*Cordyceps militaris*) 又稱北蟲草 【子實體，購自敦農生物科技有限公司】。
- 四、 培養基材料：馬鈴薯、蔗糖、洋菜、麥粒、麵粉、阿華田 【製造商：英聯食品飲料(泰國)公司、代理商：欣臨企業公司】 (圖 1)。
- 五、 染料：酸性染料(寶藍)、分散性染料(大紅)、直接性染料(深藍) 【購自第一化工原料

公司】(圖 2)。

伍、研究過程或方法

一、培養基製作

(一)馬鈴薯洋菜培養基 (potato dextrose agar, 簡稱 PDA)

- 1.馬鈴薯削皮切丁，取 200 克置於鍋中，加入 800ml 的水，煮沸後再沸騰 40 分鐘。
- 2.過濾出汁液，加入 30 克蔗糖及 20 克洋菜，加熱將洋菜溶解，加水定量成 1 公升。
- 3.將培養基分裝於試管中，置於高溫高壓殺菌釜中，殺菌 20 分鐘。

(二)馬鈴薯液體培養基(potato dextrose broth, 簡稱 PDB)

做法與 PDA 相同，但不加洋菜，分裝於培養瓶中。

(三)阿華田液體培養基

取阿華田 30 克加水配成 1 公升溶液，分裝於培養瓶中，置於高溫高壓殺菌釜中，殺菌 20 分鐘。

二、食用真菌菌絲體的純培養 (pure culture)

(一)在無菌操作臺內，將香菇、鮑魚菇、蛹蟲草的子實體撕開，以鑷子夾取內部無菌部之菇肉，接種於 PDA 培養基上，於常溫下培養。

(二)在無菌操作臺內，以鑷子夾取靈芝菌種之菌絲體，接種於 PDA 培養基上，於常溫下培養 (圖 3)。

三、不同培養方式對食用真菌染料褪色分解能力的影響

(一)振盪培養

- 1.以自製的接種器(圖4)切取 0.5 cm^2 經純培養的鮑魚菇菌絲體，接種於裝有40 ml PDB培養基的廣口瓶中。
- 2.常溫下，置於轉速160 rpm之振盪培養器(圖5)培養。
- 3.四天後，瓶內生長出球狀的菌絲體(圖6)。
- 4.將10 ppm分散性染料(大紅)40 ml加入廣口瓶中。
- 5.再置於振盪培養器內，繼續培養，觀察染料被褪色分解的情形。
- 6.每個處理有三重複。

(二)靜置培養

- 1.以自製的接種器切取 0.5 cm^2 經純培養的鮑魚菇菌絲體，接種於裝有20 ml PDB培養基的廣口瓶中。
- 2.常溫下靜置培養。
- 3.四天後，培養基表面長滿片狀菌絲體(圖7)。
- 4.將10 ppm分散性染料(大紅)20 ml加入瓶中。
- 5.繼續靜置培養，觀察染料被褪色分解的情形。
- 6.每個處理有三重複。

四、不同培養基對食用真菌染料褪色分解能力的影響

(一) PDB 培養基

- 1.以自製的接種器切取 0.5 cm^2 鮑魚菇菌絲體，接種於裝有 40 ml PDB培養基的廣口瓶中。
- 2.常溫下，振盪培養（160 rpm）12 天。
- 3.將 10 ppm 分散性染料(大紅) 40 ml 加入瓶中。
- 4.觀察及記錄染料被褪色分解的情形。
- 5.每個處理有三重複。

(二)阿華田培養基

方法同上述(一) PDB 培養基。

五、不同培養體積對食用真菌染料褪色分解能力的影響

- (一)以自製的接種器切取 0.5 cm^2 鮑魚菇菌絲體為接種源。
- (二)分別接種於裝有 20 ml 及 40 ml 阿華田培養基的廣口瓶中（圖 8）。
- (三)經 4 天振盪培養後，分別加入與培養基同體積的 10 ppm 分散性染料(大紅)。
- (四)繼續振盪培養，並觀察染料被褪色分解的情形。
- (五)每個處理有三重複。

六、培養基 pH 值對食用真菌染料褪色分解能力的影響

- (一)以自製的接種器切取 0.5 cm^2 蛹蟲草菌絲體為接種源，分別接種於調整過pH值（pH 3

~9) 的 20ml PDB 培養基中，靜置培養。

(二)培養四天後加入 10 ppm 分散性染料(大紅)，進行褪色分解試驗。

(三)每個處理有三重複。

七、比較不同菌種對染料的褪色分解能力(第一部分)

(一)以自製的接種器分別切取 0.5 cm²鮑魚菇、靈芝、蛹蟲草的菌絲體接種於裝有 40 ml PDB培養基的廣口瓶中。

(二)培養方式：靜置培養、振盪培養（160rpm）。

(三)培養十天後加入 10 ppm 酸性染料(寶藍)，進行褪色分解試驗。

(四)特別條件：實驗期間適逢低溫期（10~16℃）

(五)每個處理有三重複。

八、比較不同菌種對染料的褪色分解能力(第二部分)

(一)以自製的接種器分別切取 0.5 cm²鮑魚菇、靈芝、蛹蟲草的菌絲體接種於裝有 60ml PDB 的三角瓶中。

(二)培養方式：靜止培養，但每天在五個不同時段用手搖動約 10 秒鐘。

(三)十四天後加入 10ppm 分散性染料(大紅)，進行褪色分解試驗。

(四)特別條件：實驗期間適逢高溫期（28~32℃）

(五)每個處理有三重複。

九、麥粒菌種對染料的褪色分解能力

- (一)以自製的接種器分別切取 0.5 cm^2 鮑魚菇、靈芝、蛹蟲草的菌絲體接種於裝有麥粒的培養皿中。
- (二)培養二十天後(圖 17)加入 10ppm 直接性染料(深藍)，進行褪色分解試驗。
- (三)每個處理有三重複。

陸、實驗結果

一、培養基製作

培養基成品如圖 9 所示。

二、食用真菌菌絲體的純培養 (pure culture)

- (一)在 PDA 斜面上，由香菇菇肉所生成的菌絲體較少、較薄、較易褐化(老化)；而鮑魚菇、靈芝、蛹蟲草的菌絲體則較多、較厚、無褐化現象（圖 10）。
- (二)香菇、鮑魚菇的菌絲體適於在一般室溫生長（約 $26\text{—}28^{\circ}\text{C}$ ），靈芝菌絲體適於在較高溫生長（約 $30\text{—}32^{\circ}\text{C}$ ），蛹蟲草則適於在較低溫生長（約 $14\text{—}18^{\circ}\text{C}$ ）。

三、不同培養方式對食用真菌染料褪色分解能力的影響

- (一)振盪培養所產生的菌絲體較多（圖 11）。
- (二)由表一顯示，振盪培養所產生的菌絲體(液)，對染料的褪色分解能力較靜置培養較佳且快速（圖 12）。

四、不同培養基對食用真菌染料褪色分解能力的影響

- (一)PDB 與阿華田培養基所產生的菌絲體的量約略相同。

(二)由表二顯示，阿華田培養基所產生的菌絲體(液)，對染料的褪色分解能力較 PDB 培養基所產生者快速，但處理第四天後，二者並無差別（圖 13）。

五、不同培養體積對食用真菌染料褪色分解能力的影響

由表三顯示，體積 20ml 的培養基所產生的菌絲體(液)，對染料的褪色分解能力較 40ml 所產生者佳且快速（圖 14）。

六、培養基 pH 值對食用真菌染料褪色分解能力的影響

如圖 15 所示，靜置培養於各 pH 值 (pH 3~9) 的蛹蟲草菌絲體對染料都有褪色分解能力，其中以生長於 pH 3 培養基中的蛹蟲草菌絲體對染料有最佳的褪色分解能力。

七、比較不同菌種對染料的褪色分解能力(第一部分)

如圖 16 所示，在低溫的條件下，鮑魚菇、靈芝、蛹蟲草等不論是振盪培養或靜置培養，都具有使染料褪色分解的能力，其中尤以振盪培養的蛹蟲草菌絲體對酸性染料（寶藍）有最佳的褪色分解能力。

八、比較不同菌種對染料的褪色分解能力(第二部分)

由圖 18 所示，在高溫（28—32℃）條件下生長的鮑魚菇、靈芝、蛹蟲草之菌絲體(液)都具有使染料褪色分解的能力。

九、麥粒菌種對染料的褪色分解能力

由圖 19 所示，生長於麥粒上的鮑魚菇、靈芝、蛹蟲草之菌絲體(即麥粒菌種)都具有使染料褪色分解的能力，其中以鮑魚菇麥粒菌種對直接性染料(深藍)有最佳的褪色分解能力。

柒、討論

一、限於研究經費，本實驗表一、表二、表三所得結果皆為肉眼所觀察到的結果，並未數字

化(量化)，若能以分光光度計或 COD 測定器測量，應可得較客觀的數據。

- 二、實驗結果中菌絲體的多寡(產量)，亦未數字化(量化)，僅以觀察所見來描述，若能將菌絲體過濾、烘乾、稱重，結果應較客觀。
- 三、本實驗所使用的鮑魚菇及靈芝與產業上常用的白腐真菌 (*Phanerochaete chrysosporium*) 都屬於木材腐朽菌，由實驗結果顯示，它們都具有使染料褪色分解的能力。
- 四、蛹蟲草與冬蟲夏草為同一屬 (genus)，雖不是木材腐朽菌，但在適合的生長條件下（如培養基、低溫）有極佳的染料褪色分解能力。
- 五、促使染料褪色分解的主要原因，應為菌絲體產生的二次代謝產物 (secondary metabolite)，二次代謝產物的形成可能受溫度、培養基種類、培養基 pH 值、通氣狀況等因素影響，亦即菌絲體對染料的褪色分解能力可能受上述因素影響。
- 六、在實驗過程中，我們發現鮑魚菇及蛹蟲草的菌絲體在加入染料後，不但不會死亡，而且還能繼續生長（圖 20），使染料褪色分解。我們推論染料對鮑魚菇及蛹蟲草的菌絲體沒有毒害，而且似乎可作為菌絲體生長的碳源。

捌、結論與建議

- 一、相較於產業上必須在 37℃ 溫度下，使用特別調配的 DMS 化學培養基來培養白腐真菌 (*Phanerochaete chrysosporium*)，才能使它具有染料褪色分解能力，本實驗以材料取得容易、配製簡單的天然物培養基 (PDB、阿華田培養基)，在常溫下培養一般常見的鮑魚菇菌絲體，即可在短期內使染料褪色分解，似乎為一較經濟、環保、有效的染料廢水處理法。
- 二、不同食用真菌的菌絲體各有適合其生長的溫度，若能在不同季節使用不同的菌種，或是使用鮑魚菇、靈芝、蛹蟲草的混合菌種，似乎為一節省能源的有效方法，值得產業上參考利用。

玖、參考資料及其他

- 一、葉茂淞 2002 以天然與基因重組菌種進行偶氮染料褪色動力學之研究 逢甲大學化學工程研究所碩士論文 台中 84 頁。
- 二、賴滋漢等譯 生物技術基礎 初版 台中 富林出版社 24 頁 民 91。
- 三、蘇遠志 應用微生物學 初版 臺北 華香園出版社 1101 頁 民 88。

表一 不同培養方式對食用真菌染料褪色分解能力的影響

加染料天數 培養方式	第二天	第四天	第六天
振盪培養	++	+++	++++
靜置培養	+	++	++

註：以 + 的多寡表示染料被褪色分解的程度。菌種為鮑魚菇。

表二 不同培養基對食用真菌染料褪色分解能力的影響

加染料天數 培養基	第二天	第四天	第六天
PDB 培養基	+	++	+++
阿華田培養基	++	++	+++

註：以 + 的多寡表示染料被褪色分解的程度。菌種為鮑魚菇。

表三 不同培養體積對食用真菌染料褪色分解能力的影響

加染料天數 體積	第二天	第四天	第六天
20ml	+	++	++++
40ml	+	+	++

註：以 + 的多寡表示染料被褪色分解的程度。菌種為鮑魚菇。



圖 1 阿華田



圖 2-1 左：分散性染料(大紅) 右：酸性染料(寶藍)



圖 2-2 10ppm 酸性染料(大紅)



圖 3 菌絲體純培養，無菌操作過程



圖 4 自製的接種器



圖 5 振盪培養器



圖 6 經振盪培養四天的鮑魚菇菌絲體



圖 7 靜置培養四天的鮑魚菇菌絲體



圖 8 阿華田培養基 左 20 ml、右 40 ml



圖 9 培養基成品（左：PDA 中：PDB 右：阿華田）



圖 10-1 純培養 15 天的菌絲體 左：鮑魚菇 右：香菇



圖 10-2 蛹蟲草菌絲體



圖 10-3 靈芝菌絲體



圖 11 培養 8 天的鮑魚菇菌絲體（左：靜置培養 右：振盪培養）



圖 12 加染料後第 6 天 （左：靜置培養 右：振盪培養）



圖 13 加染料後第 4 天 （左：PDB 右：阿華田）



圖 14 不同培養體積(左：40ml 右：20ml)所產生的菌絲體對染料分解的比較〈加染料後第 4 天〉



圖 15 比較靜置培養於 pH 3~9 的蛹蟲草菌絲體對染料的褪色能力

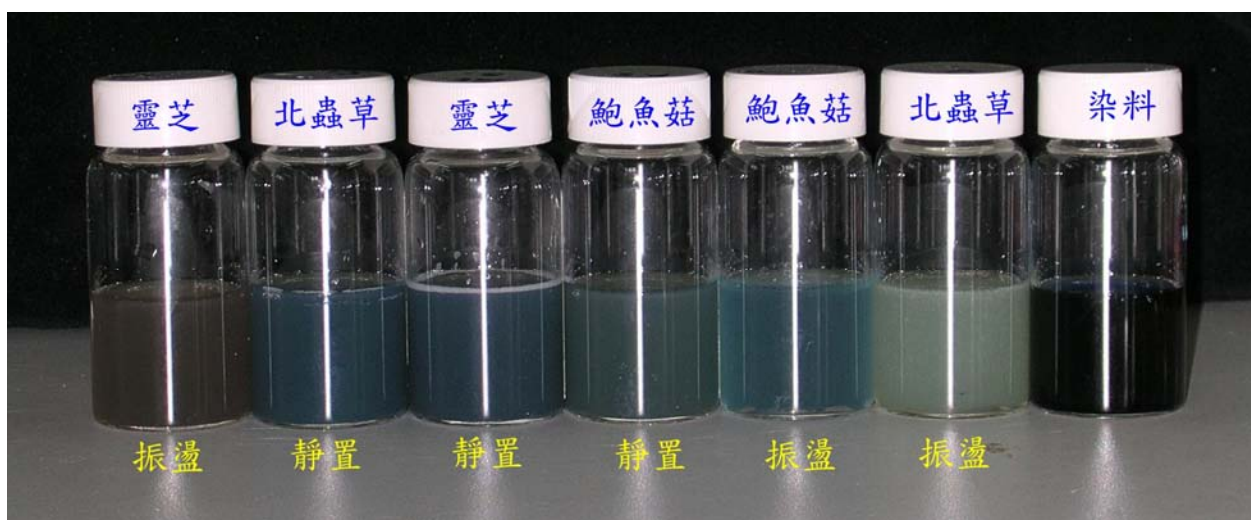


圖 16 比較不同菌種對染料的褪色分解能力〈在低溫的條件下〉

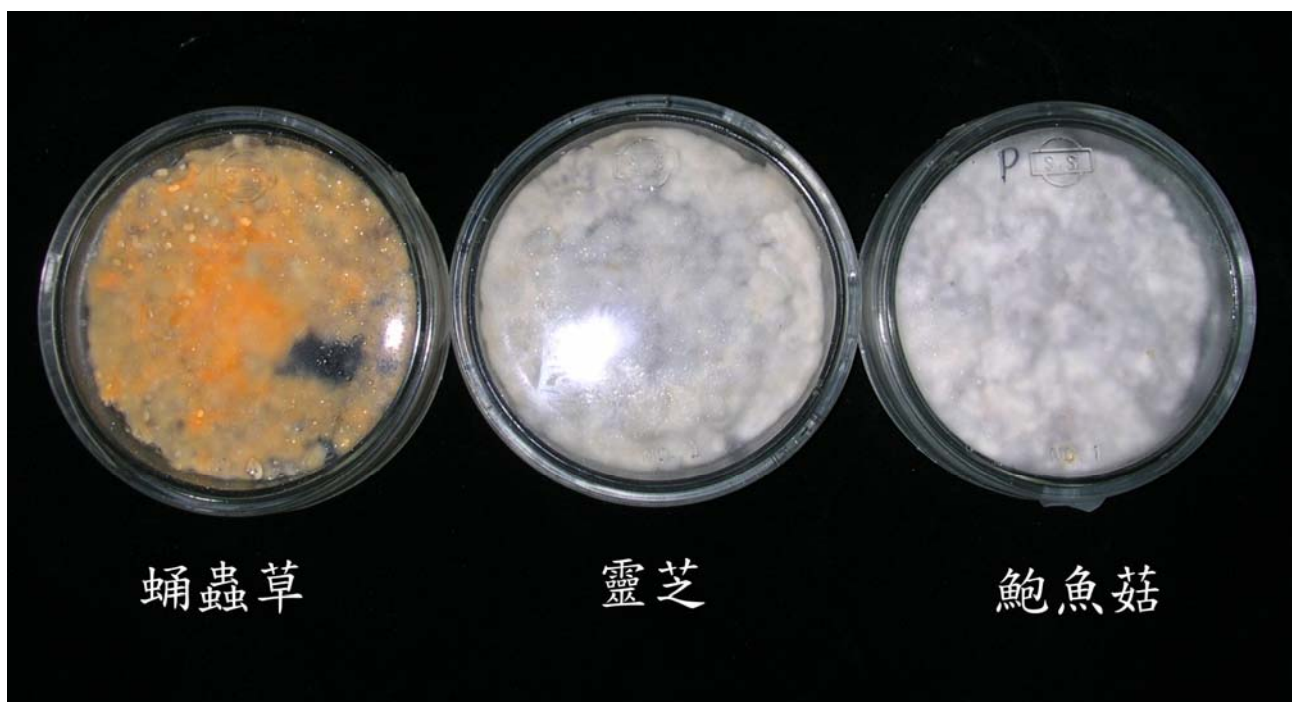


圖 17-1 麥粒菌種

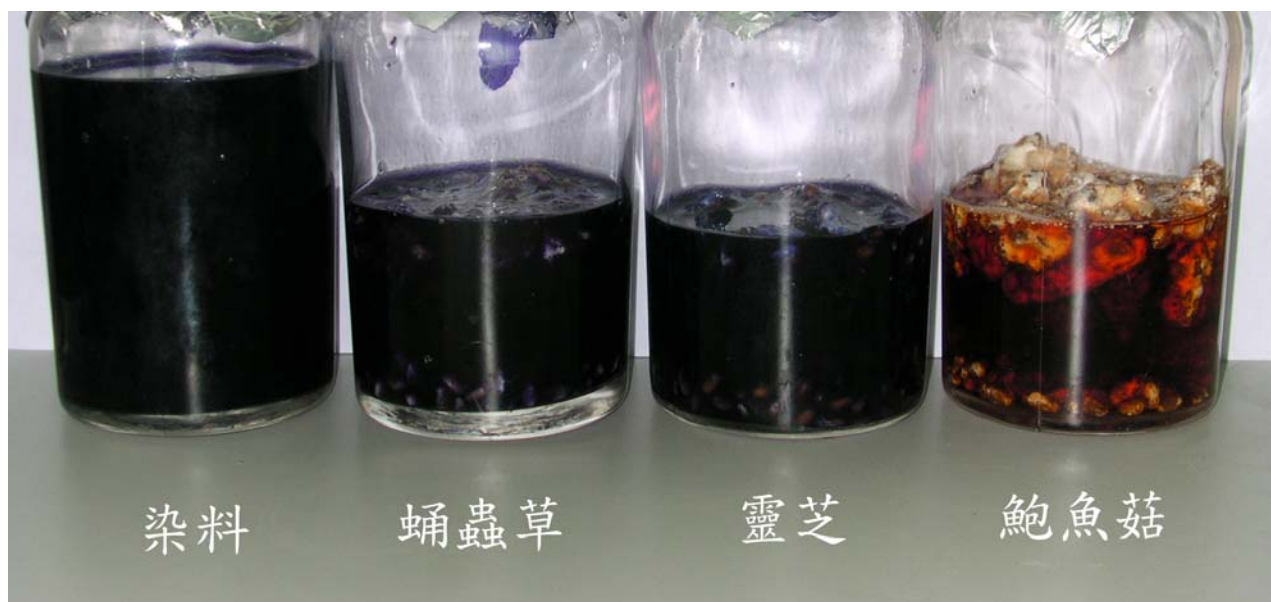


圖 17-2 麥粒菌種培養二十天後加入直接性染料(深藍)

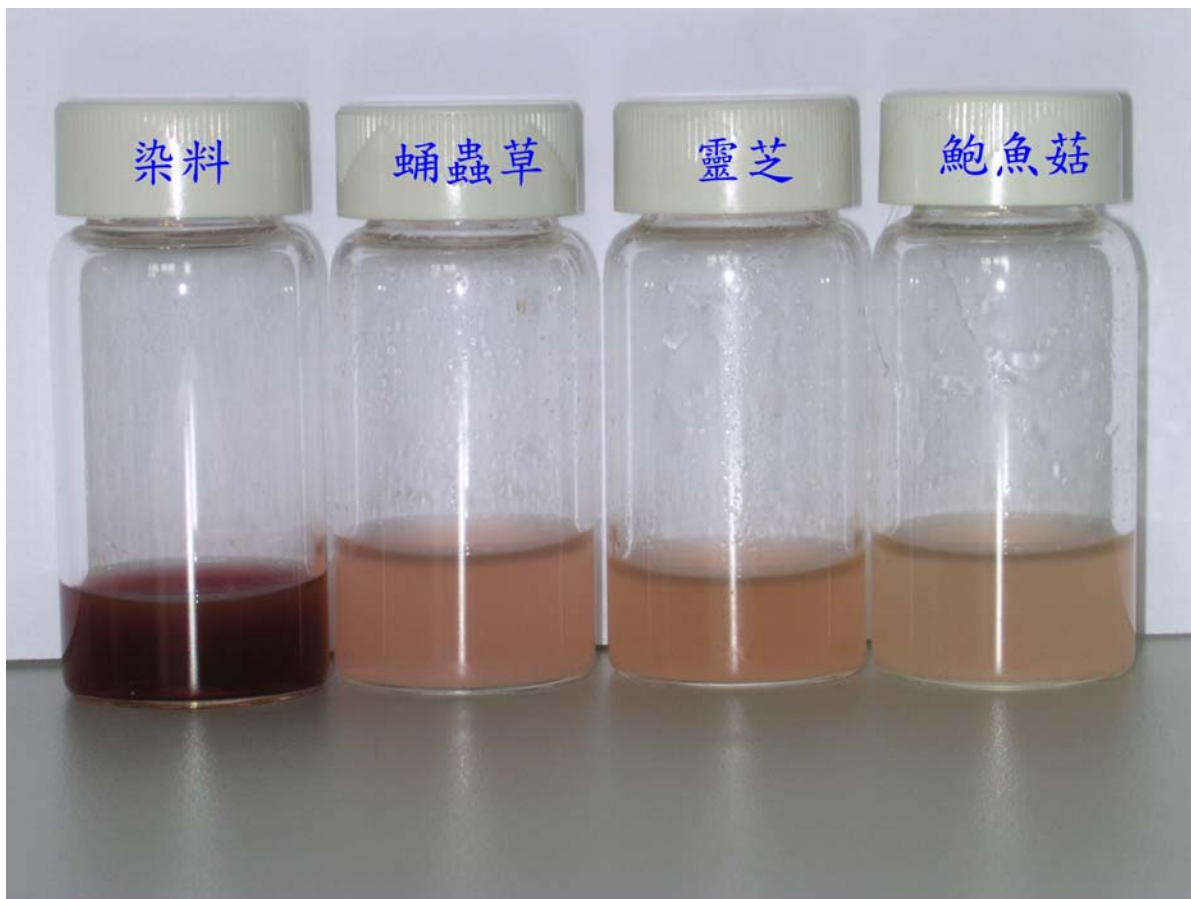


圖 18 麥粒培養十四天後，加入分散性染料(大紅)第三天(在高溫條件下)

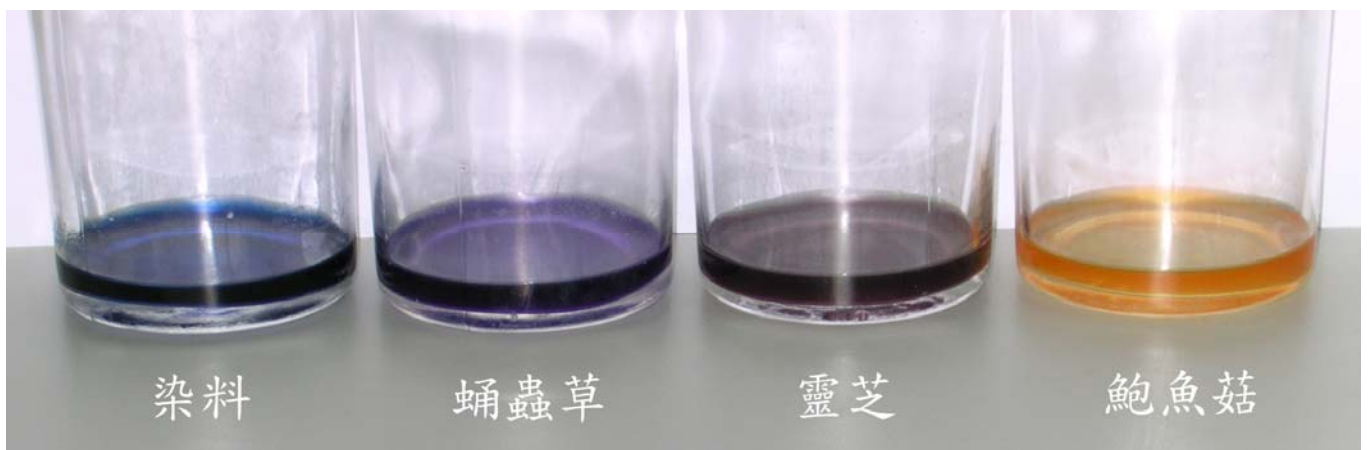


圖 19 麥粒菌種加入直接性染料(深藍)第十天



圖 20 蛹蟲草菌絲體不但使染料褪色分解，還能不受毒害，繼續生長

中華民國第四十五屆中小學科學展覽會
評 語

高職組 化工、衛工及環工科

第二名、最佳創意獎

091101

食用真菌對染料廢水的褪色分解作用

國立淡水高級商工職業學校

評語：

針對染料之廢水處理提出解決方法，實驗認真
並有創意，若能對研究設計再改進，會有更具
說服力的結論。