

中華民國第 53 屆中小學科學展覽會  
作品說明書

---

高中組 生活與應用科學科

第二名

040805

那些年，我們一起分解的氨氮

—微生物處理廢水氮化物之探討

學校名稱：高雄市立高雄女子高級中學

作者：  高二 張蔓欣  高二 曹 曦  高二 陳俞君	指導老師：  馬世璋
---	------------------

關鍵詞：氨氮、細菌、廢水處理

## 作品名稱:

那些年，我們一起分解的氨氮—微生物處理廢水氮化物之探討

## 摘要

鑒於氨氮會消耗水中溶氧，造成水質惡化、危害水域生態，且政府將逐步管制廢水的氨氮含量，處理氨氮的技術日益重要。去除氨氮的方法有物理、化學及生物法，但物理、化學法成本高且有二次污染的風險，因此本實驗希望找到能有效分解廢水中氨氮之菌種。採取可口可樂工廠的七池汙水，以高氨氮培養基篩出七種細菌(RW、ST、ET、BA、BS、SR、CA)，並挑選出三種氨氮分解效率最佳的細菌(RW、ST、ET)。進一步發現其能有效降低廢水中氨氮，並減少氨氮廢水對水中動植物的危害。因此，我們認為RW、ST、ET能有效處理廢水中的氨氮並減緩氨氮對於環境的危害。

## 壹、研究動機

在新聞報導中看到廢水氨氮對於水中生物有極大的毒性，而當氨氮在水中結合成亞硝酸鹽氮，飲用此水將與蛋白質形成亞硝胺，此為一種強致癌物，對人體健康極不利。在工業及家庭汙水中，都含有一定比例的氨氮，因此政府也日益重視水中氨氮的危害性，修法逐步提高廢水中氨氮含量的標準。高效率且低成本的氨氮廢水處理技術將是改善環境污染的要點。現今化學及物理技術會排放毒性污染物且耗損大量能量，並對環境造成危害。因此我們決定找出具高氨氮分解能力的微生物，研究其對於廢水中氨氮的分解效能，進一步達成永續經營的目標。

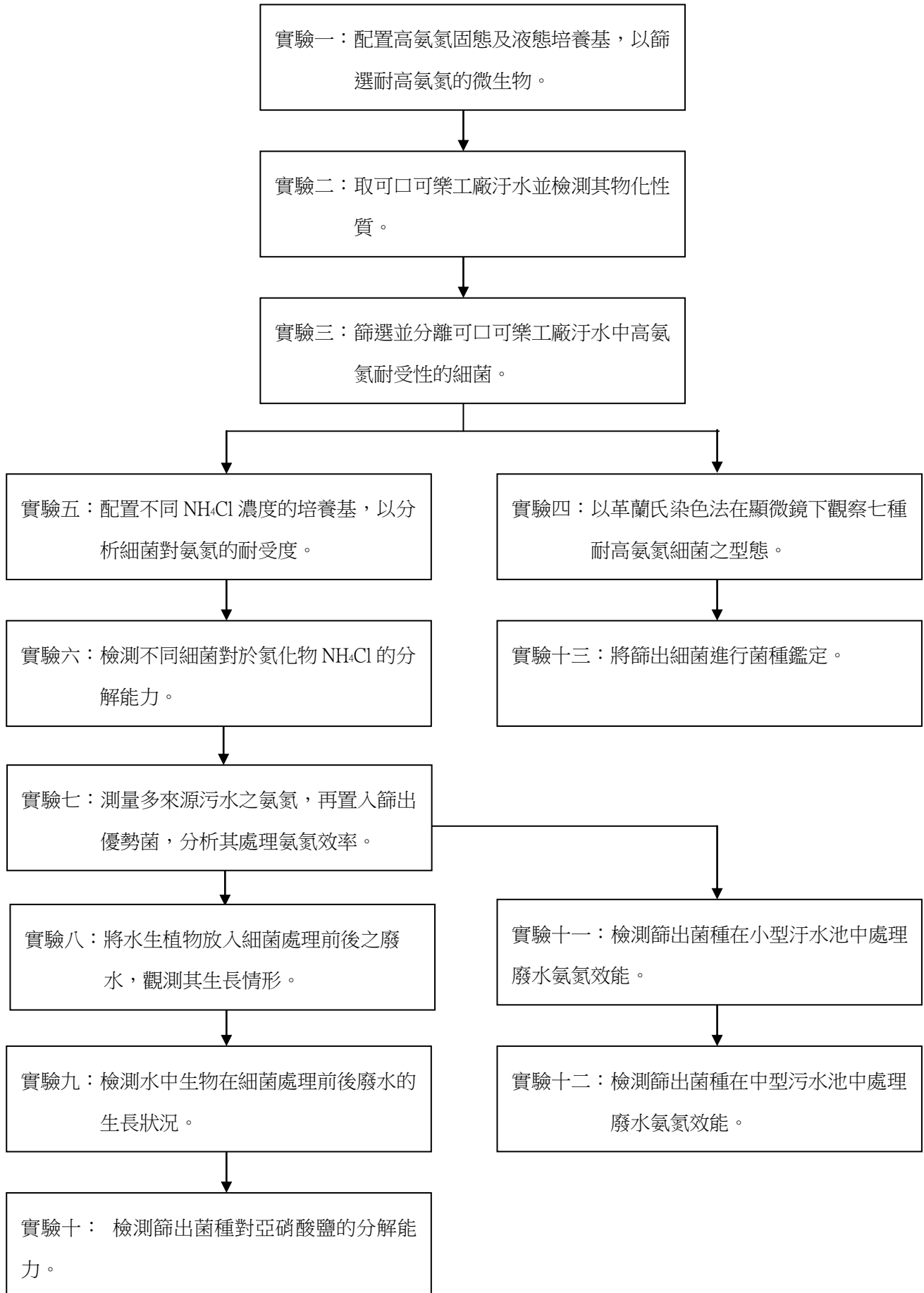
## 貳、研究目的

- 一、從可口可樂高雄燕巢廠的七種汙水池中採集汙水，並分析其物化特性。
- 二、利用高氨氮培養基篩選並分離出可耐高氨氮的細菌。
- 三、檢測篩選出的細菌的革蘭氏細菌類別。
- 四、比較篩選出的七種細菌對於高氨氮環境的耐受性差異。
- 五、比較篩選出的七種細菌對於氨氮分解效率以找出分解氨氮能力較佳的菌種。
- 六、檢測氨氮分解效率佳的三種細菌對於不同類型廢水的氨氮分解效率。
- 七、檢測氨氮分解效率佳的三種細菌能否降低廢水對於水中動、植物的危害程度。
- 八、檢測氨氮分解效率佳的三種細菌對其他氮化物(亞硝酸鹽)是否也同樣具有分解能力
- 九、檢測氨氮分解效率最佳的ST菌在實際廢水池中的分解能力。
- 十、進行菌種鑑定，以瞭解篩出細菌的菌別。

## 參、研究設備及器材

設備		
高壓高溫滅菌器	恆溫震盪培養箱	無菌操作臺
分光光度計	玻璃比色管	烘箱
螺旋試管	微量吸取器	接種環
培養皿	酒精燈	L 型玻棒
雙眼光學顯微鏡 (Leica DM500)	顯微鏡照相系統	鹽度計
溫度計	血清瓶	Parafilm 臘膜
量筒	電子天平	50ml 離心管
錐形瓶	濾紙	水缸
打氣馬達	燒杯	300L 廢水桶
800L 廢水池		
藥品		
培養基(LB)	$\text{NH}_4\text{Cl}$	納氏試劑
酒石酸鉀鈉溶液	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$\text{K}_2\text{HPO}_4$
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	$\text{CaCl}_2$	$\text{FeCl}_3$
Agar 洋菜粉	亞硝酸鈉 $\text{NaNO}_2$	95%乙醇
番紅染液	碘液	結晶紫染劑
75%乙醇	甲基橙	$0.5\text{MH}_2\text{SO}_4$

## 肆、研究過程與方法



### 一、實驗一：配置高氨氮固態及液態培養基，以篩選耐高氨氮的微生物。

(一)動機：為了從汗水中篩出能適應高氨氮環境的細菌，配置 1g/L  $\text{NH}_4\text{Cl}$  的高氨氮培養基。

(二)步驟：

1. 以電子天平秤出以下藥品。

$\text{NH}_4\text{Cl}$	1g/L	$\text{MgSO}_4$	0.1g/L
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	1g/L	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	1g/L
$\text{FeCl}_3$	0.05g/L	$\text{CaCl}_2$	0.02g/L
洋菜粉	15g/L	LB	25g/L

【註明】液態培養基除洋菜粉不加，其餘成分皆同。

2. 加入去離子水至 1L，並攪拌均勻。

3. 放進高壓滅菌器， $121^\circ\text{C}$  30 分鐘。待其冷卻，於無菌操作臺內倒入培養皿中，製得固態培養基。

### 二、實驗二：取可口可樂工廠汗水並檢測其物化性質。

(一)動機：鑒於食品工業污水中含有大量氮化物，我們希望可以從可口可樂工廠七種汗水處理池中取得汗水，從中篩出細菌，並先測量其物化性質。

(二)步驟：

1. 從高雄可口可樂工廠汗水處理池(原水池、生物沉澱池、第二調節池、生物曝氣池、接觸氧化池、污泥池、放流井)中取水，並紀錄取水深度、水溫和顏色。

2. 以分光光度計測量其吸收度及濁度。

3. 以酸鹼度測定計檢測其 pH 值。

4. 測量其鐵離子。

5. 測量其 COD。

6. 以導電度計測其導電度。

7. 以納氏試劑及酒石酸鉀鈉溶液測量其氨氮含量。

### 三、實驗三：篩選並分離可口可樂工廠汗水中高氨氮耐受性的細菌。

(一)動機：期望能從可口可樂工廠污水中篩出高氨氮耐受性之細菌。

(二)步驟：

1. 將七池汗水稀釋 10 倍及 100 倍後，於無菌操作臺中，分別均勻塗抹在固態培養基上後，放入  $37^\circ\text{C}$  恆溫箱中培養 15 小時。

2. 分別在不同汗水的培養基上挑選優勢菌種，並在另培養基上塗盤以確定為單一菌種。

3. 觀察培養基上的菌落大小、顏色深淺是否相同，以確定為單一菌種。
4. 將固態培養基上的單一菌落加入液態培養基，放進迴旋式震盪培養箱培養 15 小時。
5. 為篩選出的七種細菌進行命名。

#### 四、實驗四：以革蘭氏染色法在顯微鏡下觀察七種耐高氨氮細菌之型態。

(一)動機：欲鑑別篩選出的七種細菌為何種革蘭氏菌類別。

(二)步驟：

1. 於無菌操作臺中，分別將七種細菌的菌液(RW、BA、SR、CA、BS、ST、ET )塗抹於玻片上，並於酒精燈上加熱進行熱固定。
2. 將結晶紫染劑滴於玻片上(完全覆蓋菌液塗抹處)，靜待 1 分鐘後以去離子水沖洗。
3. 將碘液滴於玻片上，靜待 1 分鐘後以去離子水沖洗。
4. 滴加 95%乙醇於玻片上進行脫色，直到無結晶紫的顏色流出為止。
5. 以番紅染液進行複染，靜待 45 秒後以去離子水沖洗。
6. 將玻片上多餘的水吸去。
7. 置於光學顯微鏡下觀測，判斷菌種的革蘭氏菌類別。

#### 五、實驗五：配置不同 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 濃度的培養基，以分析細菌對氨氮的耐受度。

(一)動機：欲探討篩選出的菌種在不同氨氮濃度中的生長情形，進而推測其分解氨氮污染物的能力。

(二)步驟：

1. 配製四種  $\text{NH}_4\text{Cl}$  濃度(1g/L、4g/L、8g/L、12g/L)的液態培養基。
2. 每支試管加入 8ml 的培養基，放入高壓滅菌器中滅菌。
3. 於無菌操作臺內，將實驗二的細菌液(RW、BA、SR、CA、BS、ST、ET )加入不同濃度液態培養基中，每管 0.02ml。放進迴旋式震盪培養箱培養 15 小時。
4. 重複三次實驗，以分光光度計檢測細菌的生長情形。



## 六、實驗六：檢測不同細菌對於氮化物 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 的分解能力。

(一)動機：由細菌生長情形可見其能適應高氮氮的環境，藉由測量加入細菌前後的氮氮濃度分析其是否具有分解氮氮的能力，並篩檢出分解效能較高之優勢菌種。

(二)步驟：

1. 以納氏試劑與酒石酸鉀鈉檢測四濃度培養基(稀釋 500 倍)氮氮含量(比例：檢測液 2ml，納氏試劑 0.06ml，酒石酸鉀鈉 0.04ml)，並繪製氮氮含量的標準曲線。
2. 檢測加入細菌(RW、BA、SR、CA、BS、ST、ET)後的氮氮含量(稀釋 500 倍)。重複三次實驗，經數據分析挑選出最佳效率的數種細菌。

## 七、實驗七：測量多來源污水之氮氮，再置入篩出優勢菌，分析其處理氮氮效率。

(一)動機：為檢驗篩出菌種在實際生活中汙水的應用性，採用多種家庭及工業污水，測其加入篩出菌種(RW、ET、ST)前後的氮氮分解程度。

(二)步驟：

1. 以納氏試劑與酒石酸鉀鈉檢測六種廢水(詮鴻魚飼料廢水、SiC 工廠、台塑工業、仁武地下水、台塑含氟工業、鳳山溪污水處理廠)之氮氮含量。
2. 挑選氮氮含量較高的污水進行細菌分解實驗，重複三次實驗。
3. 檢測加入篩出菌種(RW、ET、ST)後的氮氮含量。

## 八、實驗八：將水生植物放入細菌處理前後之廢水，觀測其生長情形。

(一)動機：為檢驗經篩出菌種(RW、ET、ST)分解過後的廢水是否適宜植物生長，將水蘊草放入未處理及處理過廢水，觀察其生長狀況。

(二)步驟：

1. 各置等重( $0.47\text{g}\pm 0.01$ )水蘊草於 100ml 細菌(RW、ET、ST)處理前後廢水。
2. 三週後觀察其生長情形。

## 九、實驗九：檢測水中生物在細菌處理前後廢水的生長狀況。

(一)動機：為檢驗水中生物能否在篩出菌種(RW、ET、ST)分解後廢水合宜生長，在處理前後廢水中放入黑殼蝦觀察。

(二)步驟：

1. 各置 5 隻黑殼蝦於 100ml 細菌(RW、ET、ST)處理前後廢水。
2. 觀察其生長情形。

## 十、實驗十：檢測篩出菌種對亞硝酸鹽的分解能力。

(一)動機：為探討篩出菌種 (RW、ET、ST) 是否仍具有分解其他含氮化合物之能力。

(二)步驟：

1. 配置亞硝酸鹽溶液( $10^{-2}$ M)。
2. 以甲基澄褪色光度法檢測亞硝酸鹽含量 (比例：檢測液 0.2ml，0.5M 硫酸 0.2ml，甲基澄 0.01ml，加去離子水至 2ml)。
3. 以分光光度計波長 506nm 下測其吸光度，重複三次實驗。
4. 檢測加入篩出菌種 (RW、ET、ST) 後的亞硝酸鹽含量。
5. 此為甲基澄褪色法，亞硝酸鹽含量與吸光值呈負相關 (吸光值越高，亞硝酸鹽含量越低)，以「1-吸光值」並換算為百分比繪製亞硝酸鹽含量的變化圖。

## 十一、實驗十一：檢測篩出菌種在小型污水池中處理廢水氨氮效能。

(一)動機：經由實驗顯現篩出菌種的良好分解氨氮效能，為了瞭解其在實際廢水池中是否仍具有高分解效能，進而評估其推廣應用性。

(二)步驟：

1. 於四池廢水池中注入鳳山溪污水處理廠之廢水各 300L。
2. 加入分解效能最佳的 ST 菌於其中三池廢水池內。
3. 經過 2 天處理時間後，以納氏試劑及酒石酸鉀鈉檢驗未經細菌處理及細菌處理後的廢水氨氮含量。

## 十二、實驗十二：檢測篩出菌種在中型污水池中處理廢水氨氮效能。

(一)動機：經實驗發現篩出菌在小型污水池中能有效分解氨氮，為了測其在更大型的廢水池中是否仍有良好分解氨氮能力，以達到在生活中推廣應用的目的。

(二)步驟：

1. 於廢水池中注入鳳山溪污水處理廠之廢水 800L。
2. 加入分解效能最佳的 ST 菌於廢水池內。
3. 經過 2 天處理時間後，以納氏試劑及酒石酸鉀鈉檢驗未經細菌處理及細菌處理後的廢水氨氮含量。

## 十三、實驗十三：將篩出細菌進行菌種鑑定。

(一)動機：為了進一步瞭解篩出菌種的確切菌種。

(二)步驟：

1. 將篩出的 RW、BA、SR、CA、BS、ST、ET 細菌交付基龍米克斯生物科技股份有限公司進行菌種鑑定。



## 伍、研究結果

一、實驗一：配置高氨氮固態及液態培養基，以篩選耐高氨氮的微生物。



圖 1 固態培養基



圖 2 液態培養基

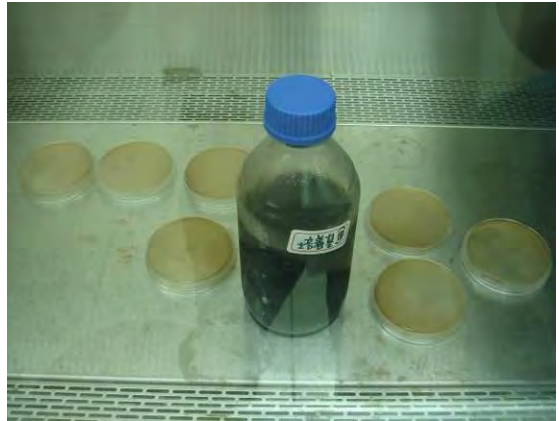


圖 3 固態培養基倒盤於培養皿

二、實驗二：取可口可樂工廠汙水並檢測其物化性質。

(一) 可口可樂工廠採水環境



圖 4 原水池



圖 5 生物曝氣池

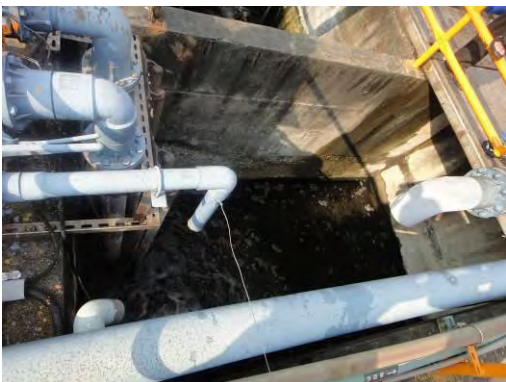


圖 6 第二調節池



圖 7 接觸氧化池



圖 8 放流井



圖 9 污泥池



圖 10 生物沉澱池



圖 11 採水至血清瓶中

(二) 測量汙水各項物理和化學性質

1. 皆取表層水，因取水環境有不斷地翻動，所以表層水與底層水相當。
2. 導電度皆不佳。

表 1 可口可樂工廠汙水物化性質

取樣來源	原水	生物曝氣池	第二調節池	接觸氧化池	生物沉澱池	汙泥池	放流井
取水深度	表層	表層	沉澱後的上層液	表層	表層	表層	表層
水溫	33°C	32°C	32°C	30°C	32°C	29°C	29.5°C
顏色	檸檬汁色	土橘黃色	透明黃色	透明黃色	透明黃色	濁愛玉色	澄清透明液
吸收度	0.180	2.387	0.021	0.024	0.025	0.195	0.023
濁度 (NTU)	122	1820	3.4	0.31	2.62	134	1.9
酸鹼度	6.47	7.69	7.88	8.63	7.83	6.93	8.56

Fe <sup>2+</sup> .Fe <sup>3+</sup> (ppm)	0.67	3.33	0.53	0.53	0.49	1.11	0.47
COD (ppm)	1300	3275	64	42	68	530	28
導電度 ( $\mu$ s/cm)	2290	2570	2480	2440	2500	2510	2430
氨氮 NH <sub>3</sub> -N (ppm)	10.23	9.4	1.79	1.75	1.82	13.12	1.58
環境亮度	亮	亮	亮	亮	亮	亮	亮
備註		有許多 顆粒				有氣泡 白絲	

### 三、實驗三：篩選並分離可口可樂工廠污水中高氨氮耐受性的細菌。

(一)將七池污水塗抹於固態培養基，以接種環純化篩出單一菌種(共塗盤6次)，並分別命名為RW、BA、SR、CA、BS、ST和ET。

自定命名	來源	污水池英文全稱
RW	原水	Raw water tank
BA	生物曝氣池	Biological aerated tank
SR	第二調節池	Secondary regulatory tank
CA	接觸氧化池	Contact aeration tank
BS	生物沉澱池	Biological sedimentation tank
ST	污泥池	Sludge tank
ET	放流井	Effluent tank

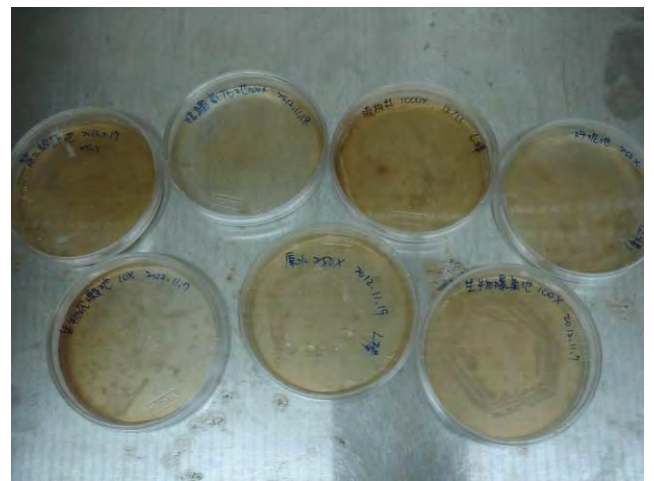
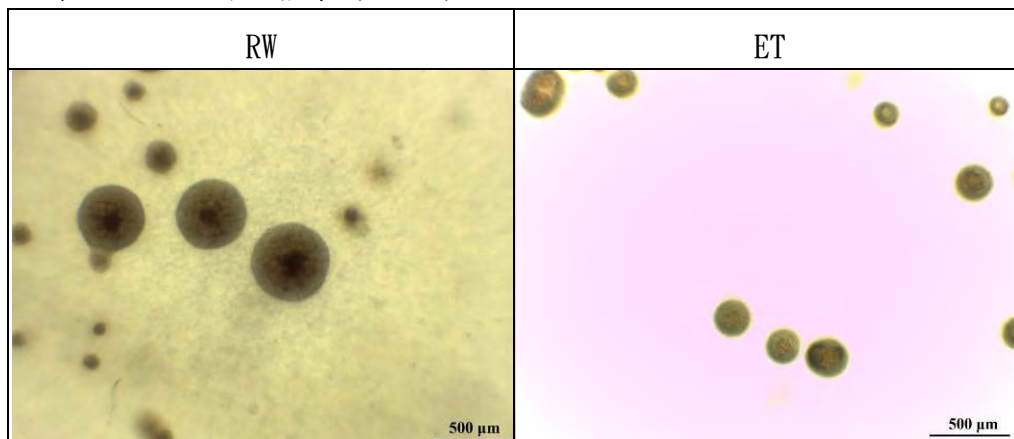
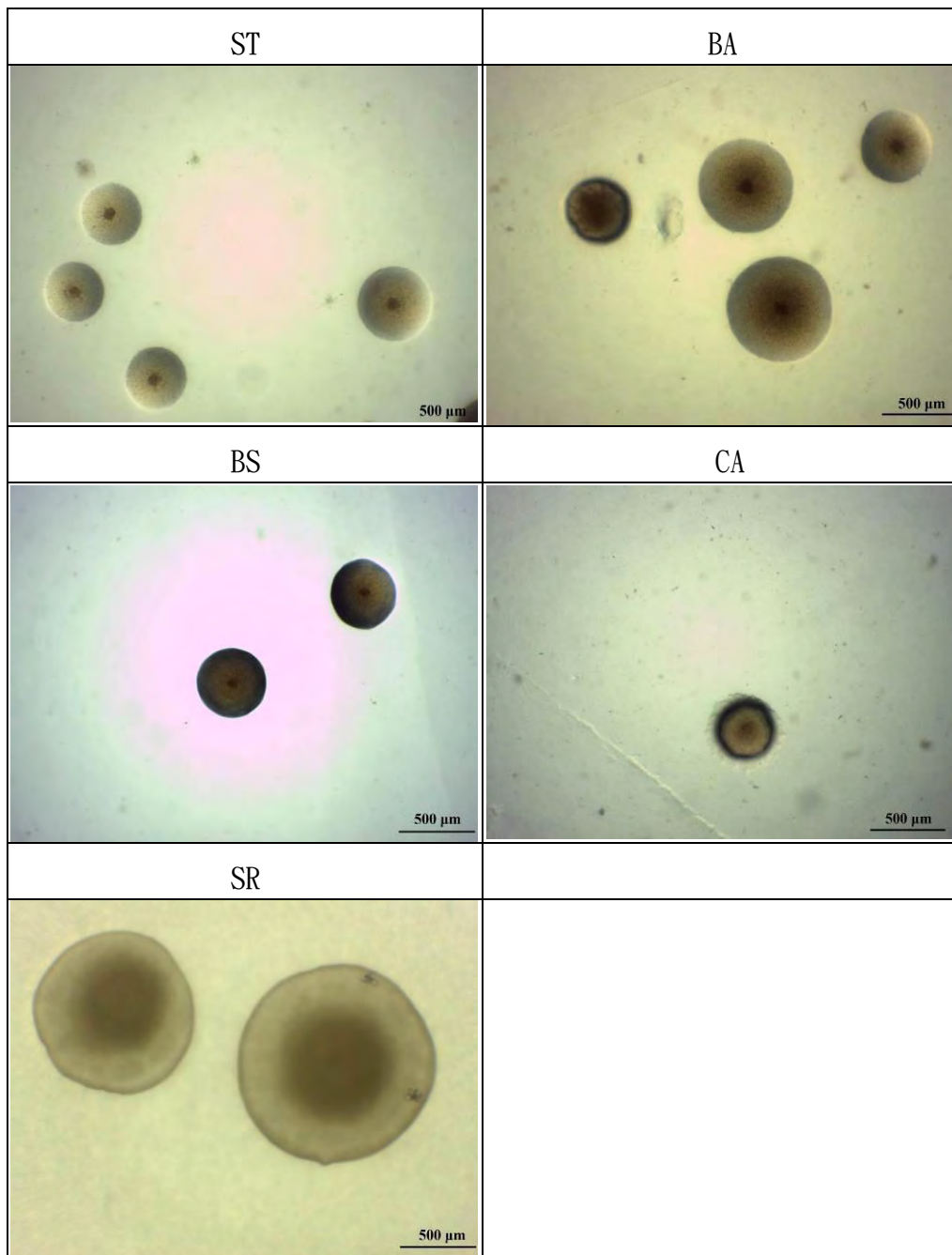


圖 12 固態培養基篩出單一菌種

光學顯微鏡下菌落影像 (40 倍)







(二)從固態培養基中挑出單一菌落加至液態培養基中。

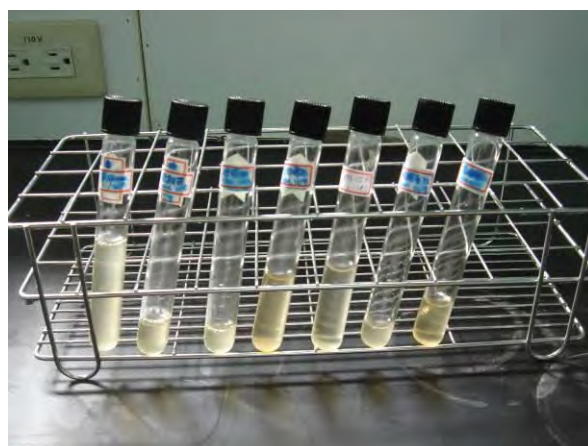
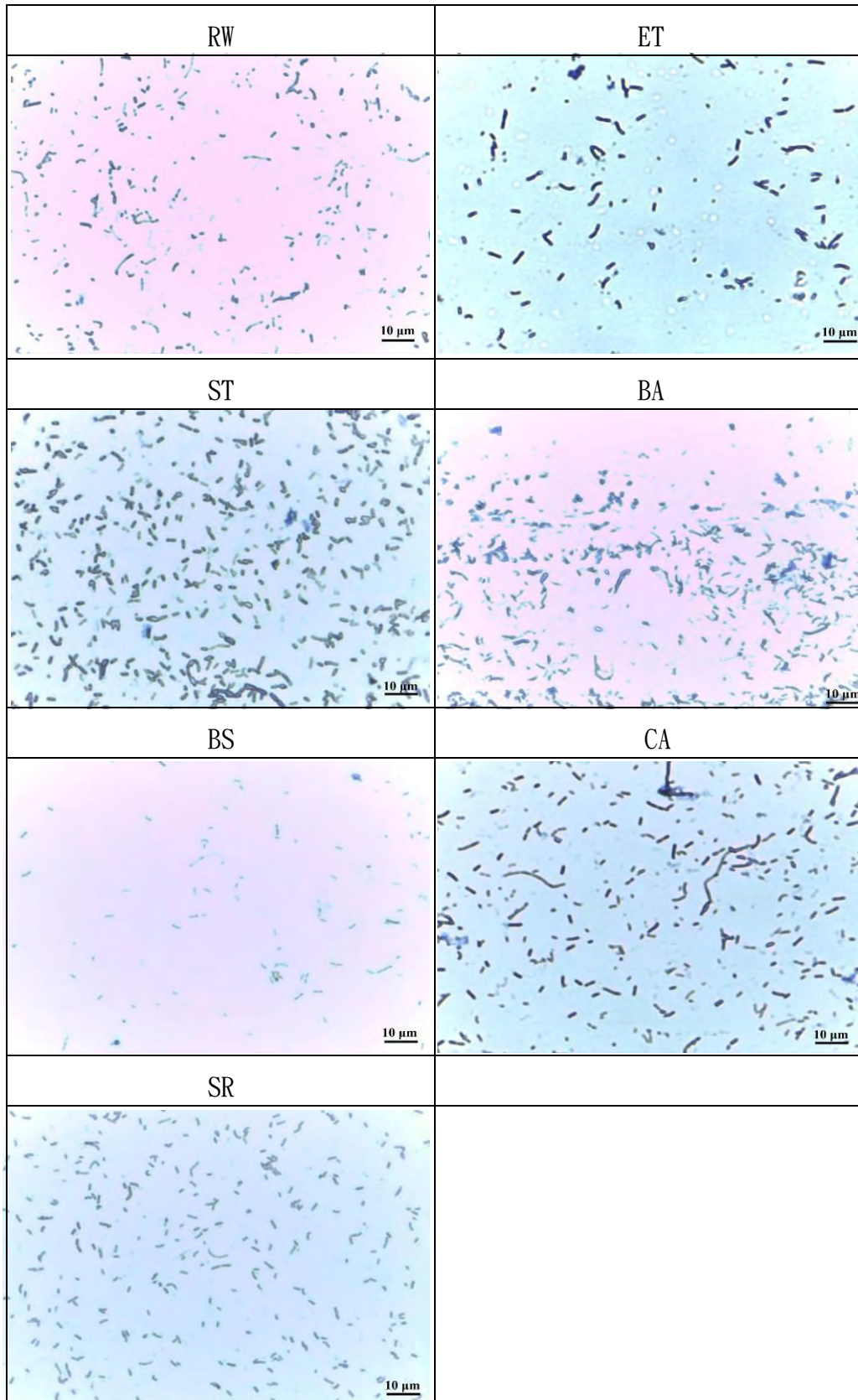


圖 13 液態培養基培養出之細菌 (由左至右為 RW、ET、ST、BA、BS、CA、SR)

四、實驗四：以革蘭氏染色法在顯微鏡下觀察七種耐高氮細菌之型態。

1. 由染色判斷應皆為革蘭氏陽性球菌

光學顯微鏡下的細胞染色影像(100 倍)



五、實驗五：配置不同  $\text{NH}_4\text{Cl}$  濃度的培養基，以分析細菌對氮氣的耐受度。

1. 圖 15 顯示，細菌在 1g/L 及 4g/L 濃度之下的生長情形普遍較佳。

2. 圖 16 顯示，在低濃度(1&4g/L)，BA 菌生長較好；在高濃度(8&12g/L)，CA 菌生長較佳。

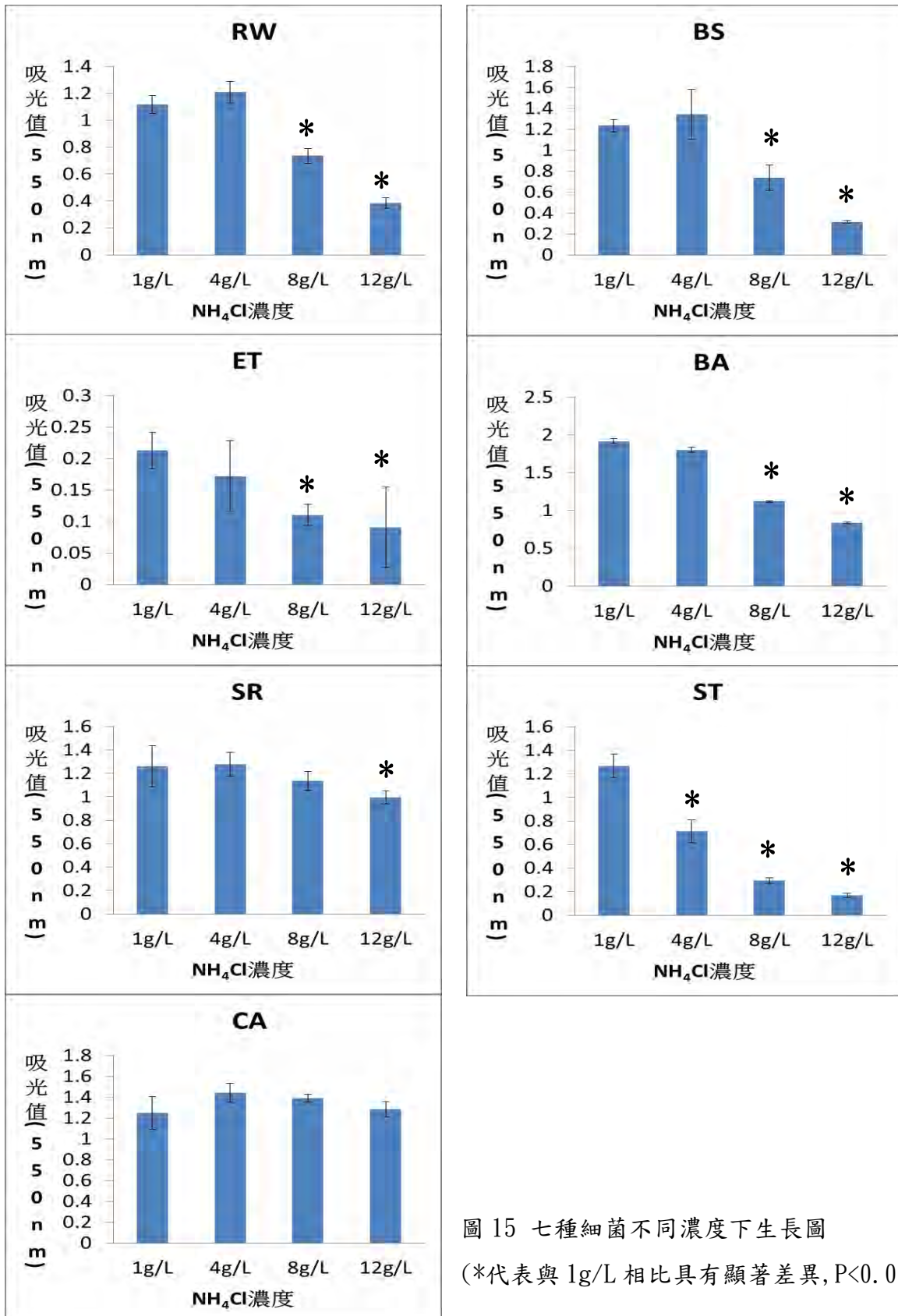


圖 15 七種細菌不同濃度下生長圖

(\*代表與 1g/L 相比具有顯著差異,  $P < 0.05$ )



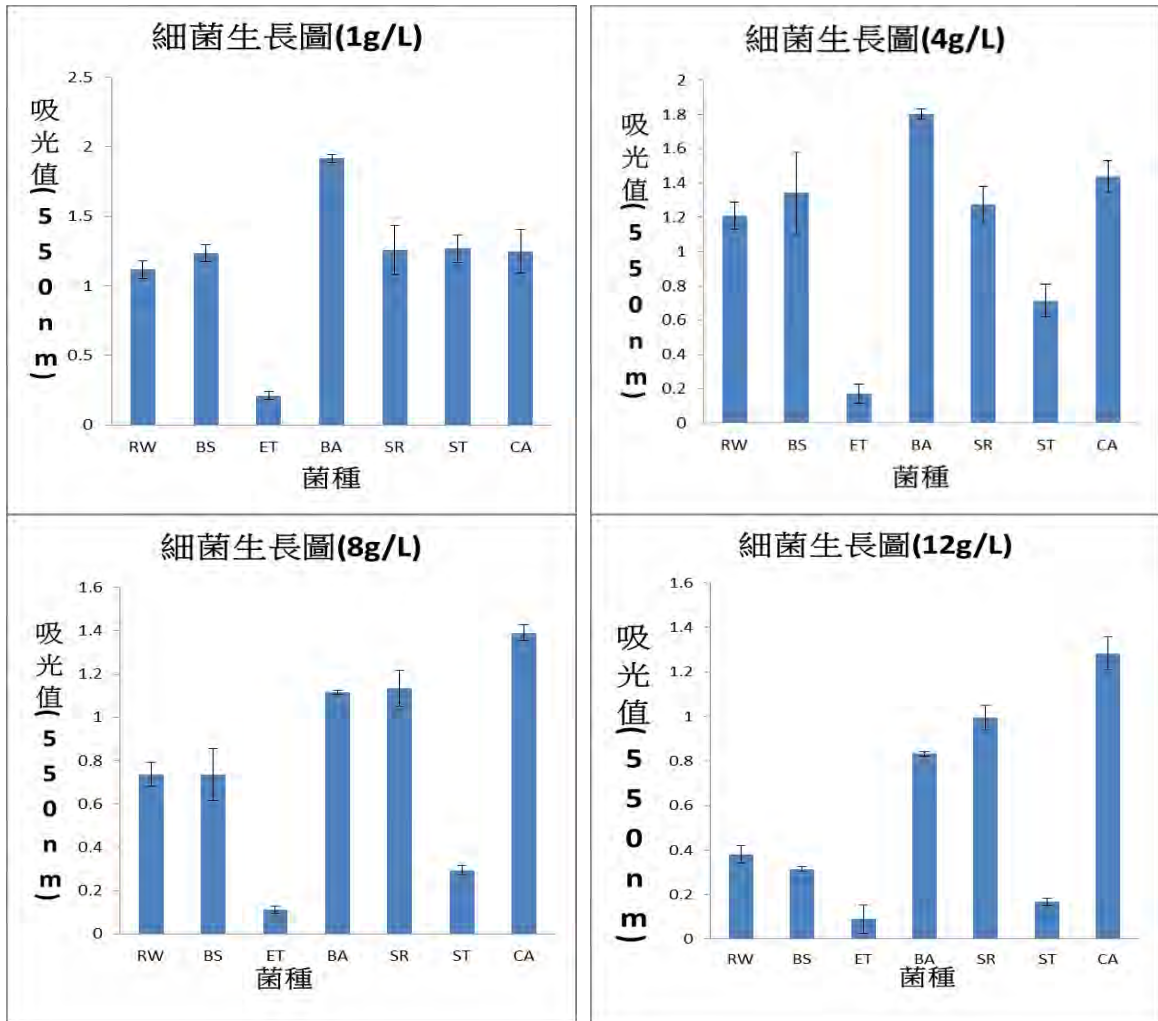


圖 16 不同細菌四種濃度下生長圖

六、實驗六：檢測不同細菌對於氮化物  $\text{NH}_4\text{Cl}$  的分解能力。

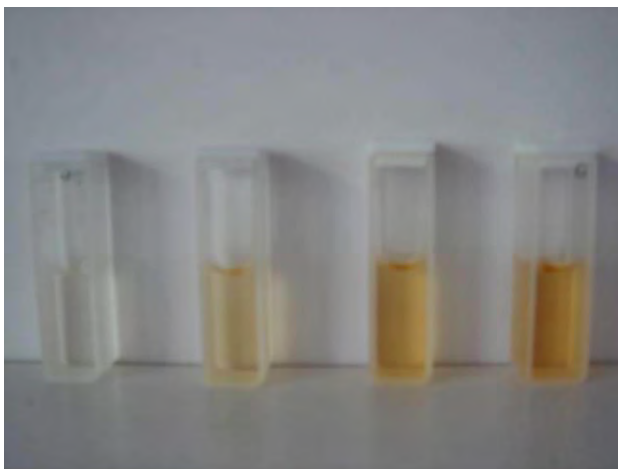


圖 17 納氏試劑檢驗氮含量

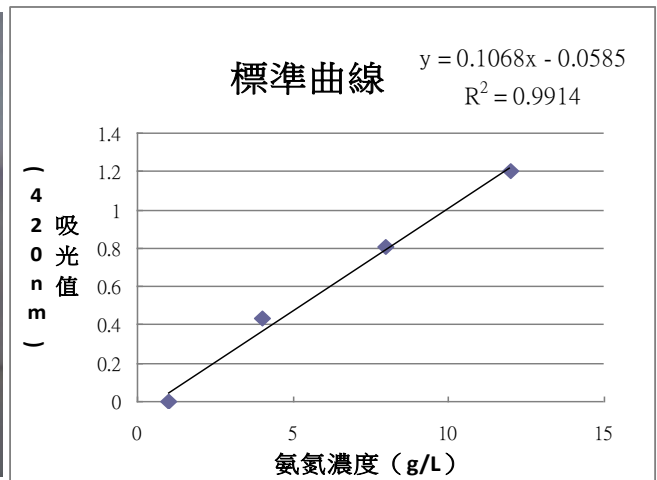


圖 18 繪製後標準曲線

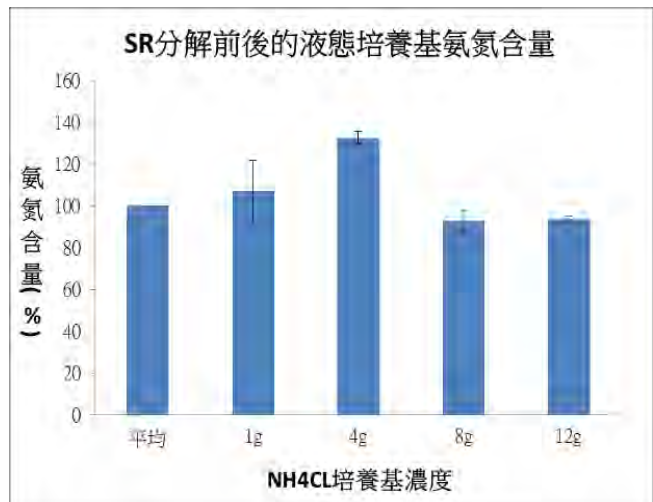
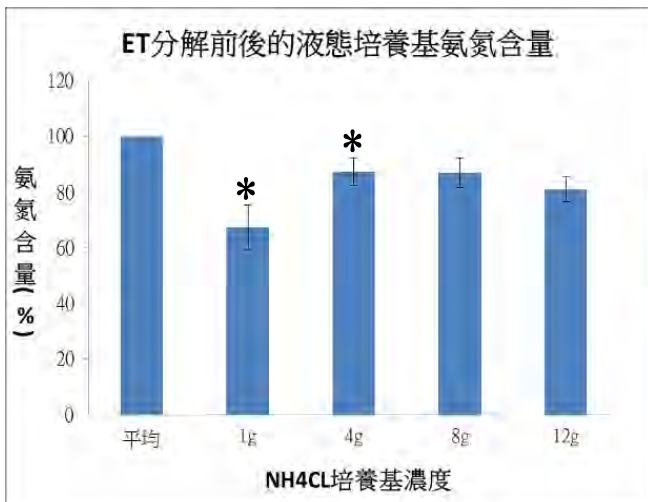
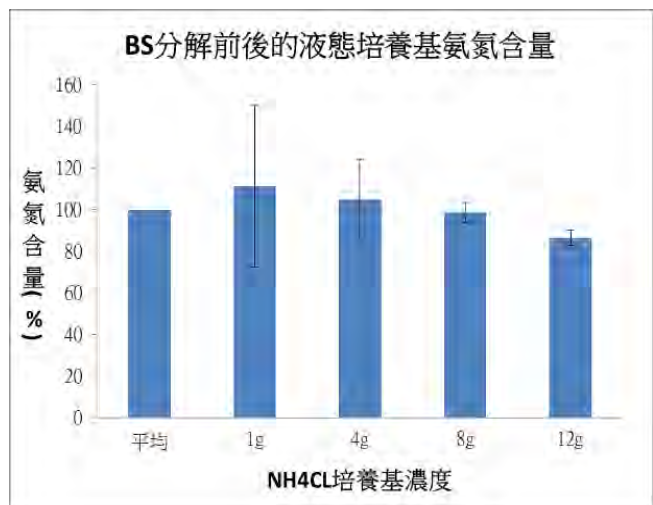
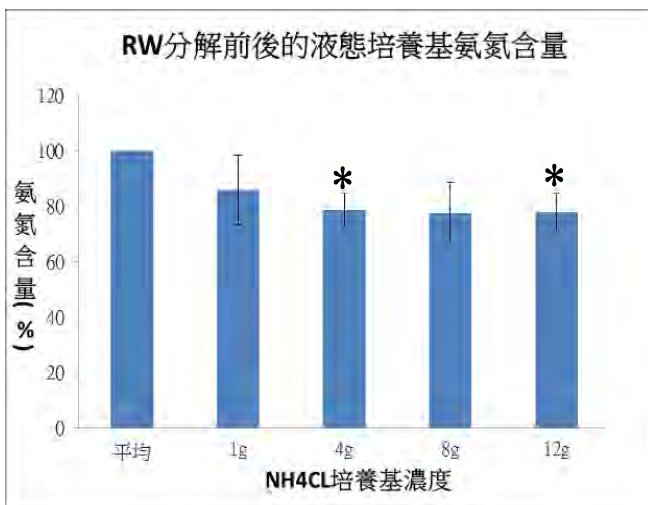
(一)測量標準曲線。

(二)將測得吸光值代入標準曲線公式： $y = 0.1068x - 0.0585$ ( $y$  為吸光值， $x$  為實際氮氮克數)，以求出細菌分解後之氮氮含量。

1. 經數據分析後，挑選 RW、ET、ST 為最佳分解效能之優勢菌種。

表 2 三組細菌氮氮實際含量之平均 (g/L)

平均	1g/L	4g/L	8g/L	12g/L
RW	0.860	3.154	6.206	9.334
BS	1.113	4.199	7.901	10.370
ET	0.673	3.494	6.955	9.711
BA	1.515	3.410	8.042	11.403
SR	1.400	5.301	8.048	11.225
ST	0.176	4.306	7.960	10.651
CA	0.922	4.852	7.761	11.381





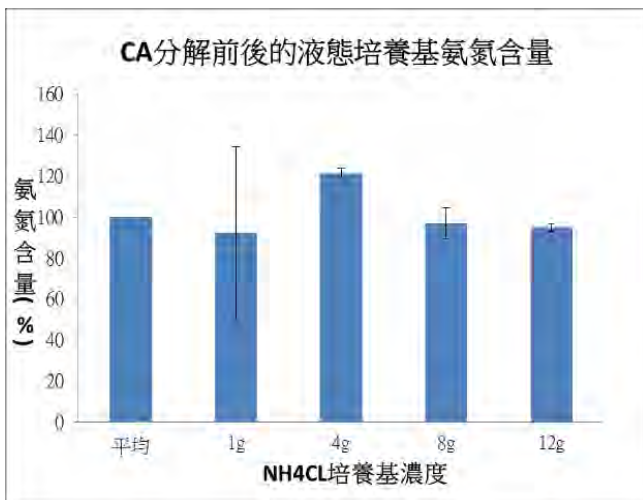
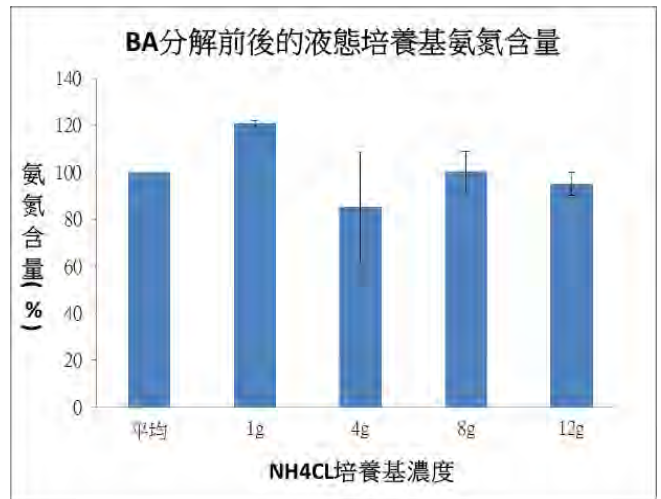
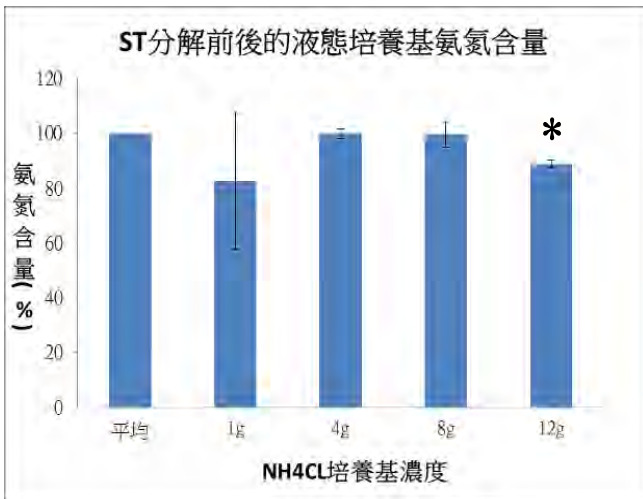
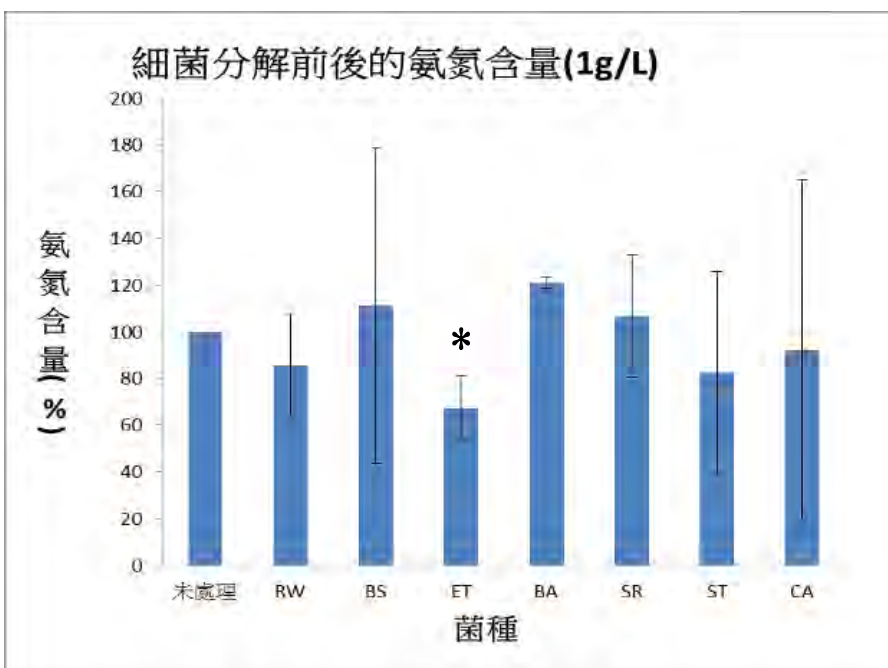
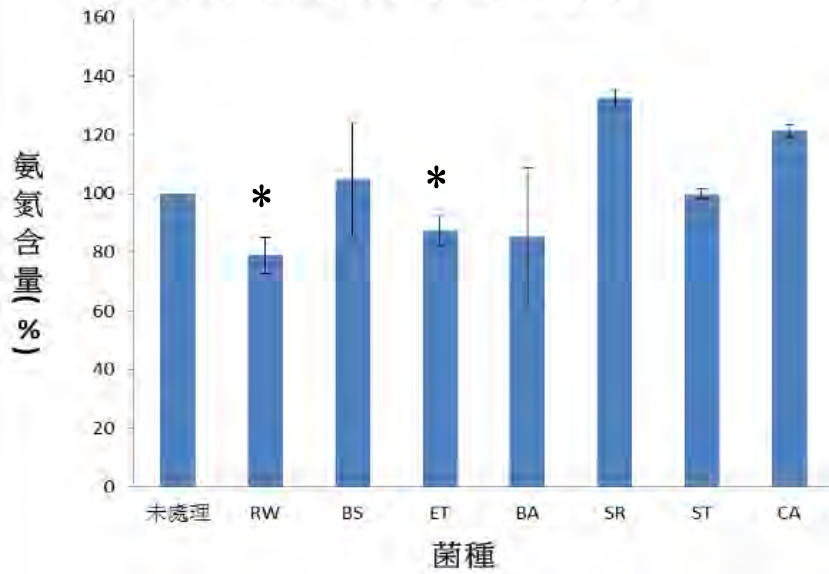


圖 19 七種細菌不同濃度下處理前後氨氮量圖 (\*代表與平均相比具顯著差異,  $P < 0.05$ )

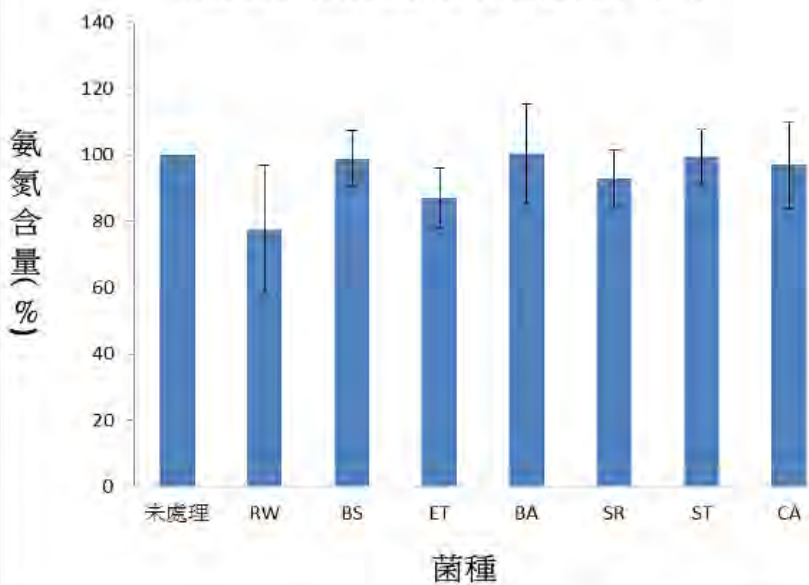
圖 20 不同細菌四種濃度下處理前後氨氮量圖 (\*代表與未處理相比具有顯著差異,  $P < 0.05$ )



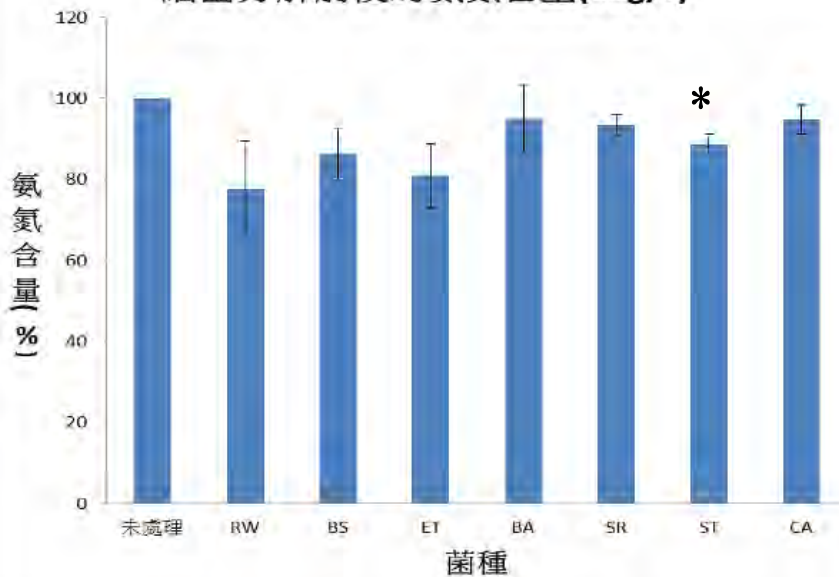
細菌分解前後的氨氮含量(4g/L)



細菌分解前後的氨氮含量(8g/L)



細菌分解前後的氨氮含量(12g/L)



七、實驗七：測量多來源污水之氨氮，再置入篩出優勢菌，分析其處理氨氮效率。



圖 21 詮鴻魚飼料廢水



圖 22 SiC 廢水



圖 23 台塑廢水



圖 24 仁武地下水



圖 25 台塑含氟廢水



圖 26 鳳山溪污水

(一)不同廢水的氨氮含量：鳳山溪>SiC>台塑>台塑氟>仁武>魚飼料

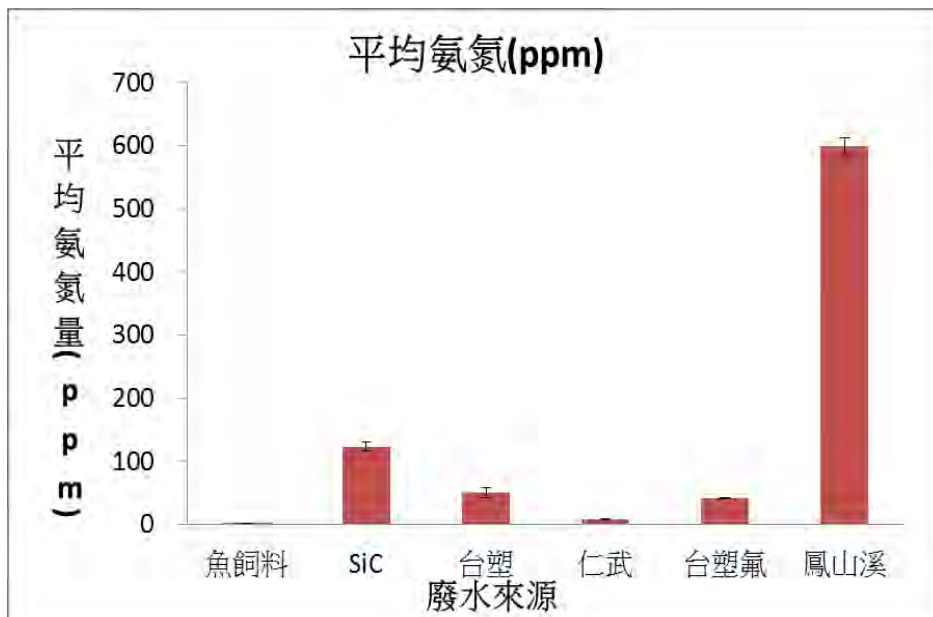


圖 27 各廢水之平均氨氮量

(二)ST、RW、ET 對廢水中氨氮分解能力。

1. 不同廢水中，普遍以 ST 細菌的分解效力較佳，但整體而言，3 個菌種的分解效能都極好。

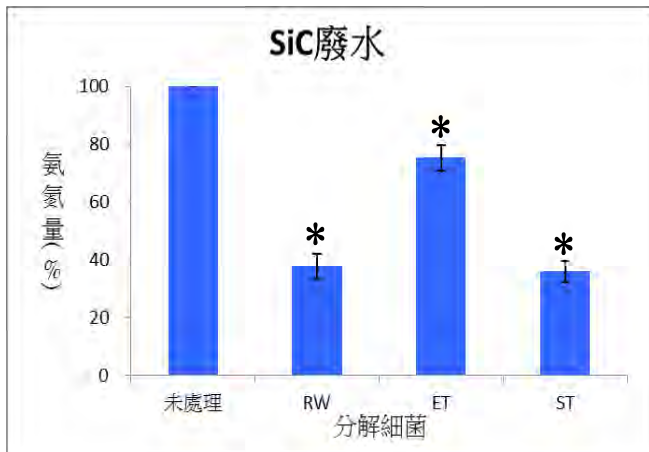


圖 28 處理前後 SiC 廢水氨氮變化量  
(\*代表與未處理相比具顯著差異,  $p < 0.05$ )

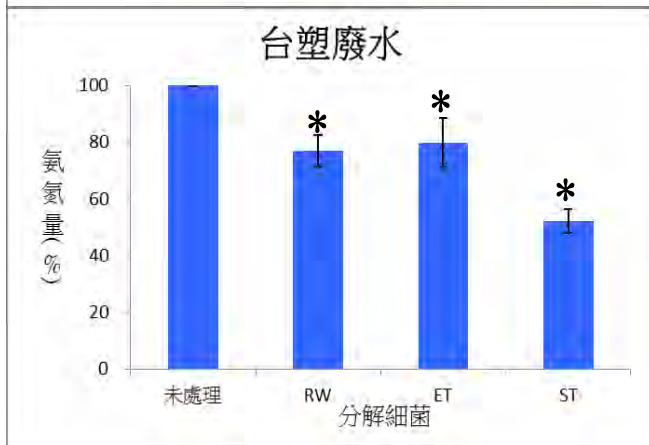


圖 29 處理前後台塑廢水氨氮變化量  
(\*代表與未處理相比具顯著差異,  $p < 0.05$ )

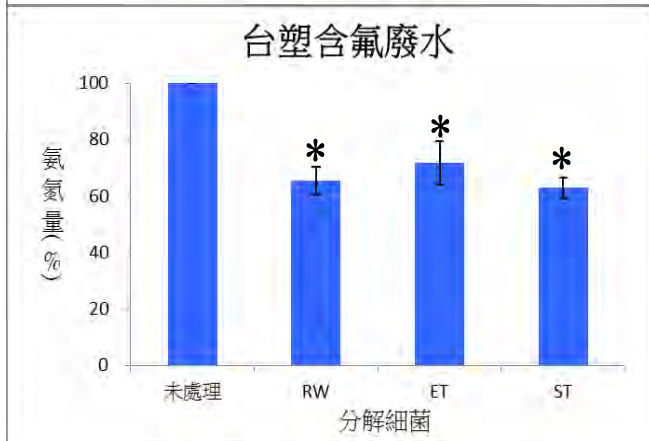


圖 30 處理前後台塑氟廢水氨氮變化量  
(\*代表與未處理相比具顯著差異,  $p < 0.05$ )

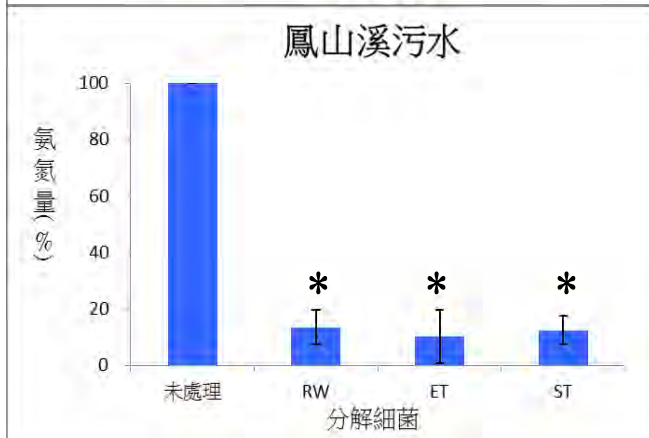


圖 31 處理前後鳳山溪廢水氨氮變化量  
(\*代表與未處理相比具顯著差異,  $p < 0.05$ )



八、實驗八：將水生植物放入細菌處理前後之廢水，觀測其生長情形。

1. 由圖 32 可知，對水草危害程度為 SiC > 台塑含氟 > 鳳山溪 > 台塑。
2. ST 菌在 SiC 及鳳山溪廢水中能使水草的生長情形最佳。
3. ET 菌在台塑汗水中能使水草的生長情形最佳。



圖 32 水草置入不同廢水圖

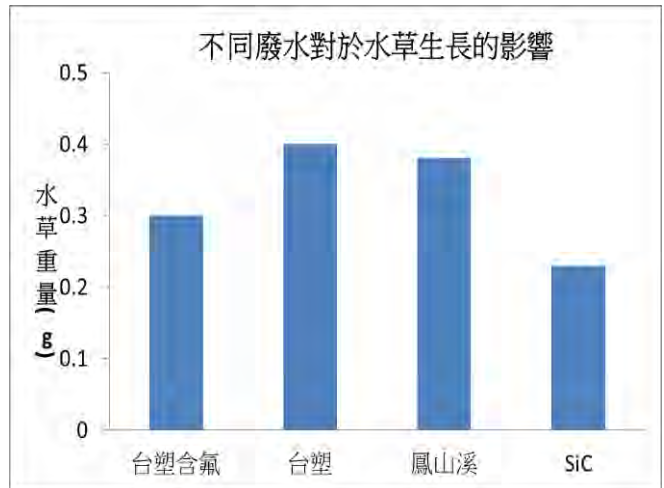


圖 33 不同廢水未經細菌處理之水草重量

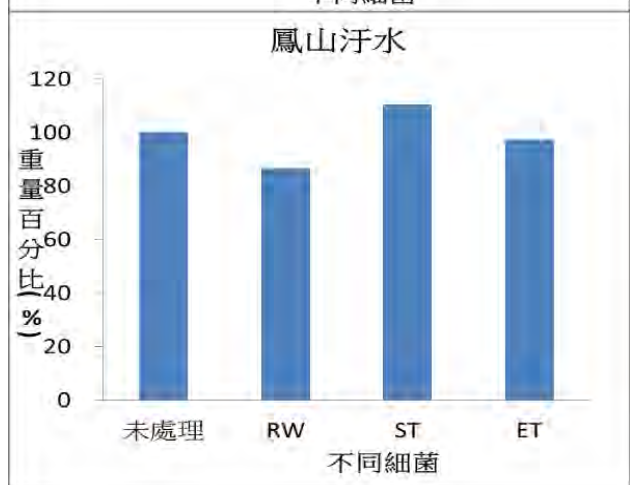
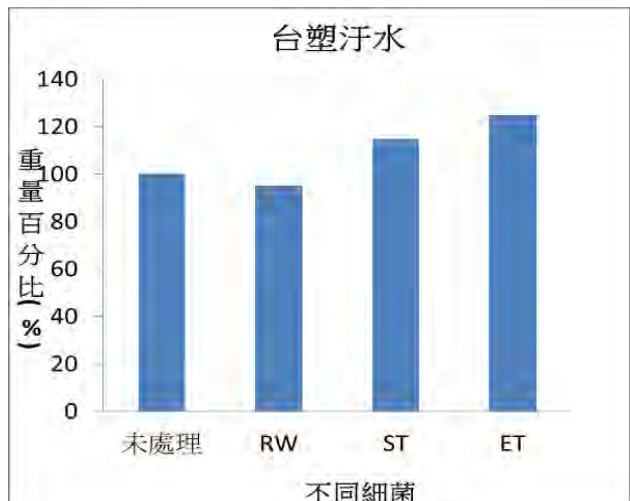
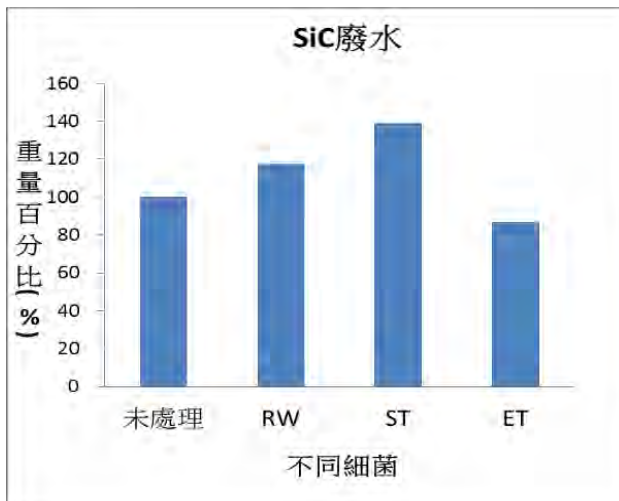


圖 34 不同廢水經細菌處理後之水草重量

九、實驗九：檢測水中生物在細菌處理前後廢水的生長狀況。

1. 在 SiC 廢水中，黑殼蝦的存活時間為 ST 組 > RW 組 > ET 組 > 未處理組。
2. 在台塑廢水中，黑殼蝦的存活時間為 ET 組 > RW 組 > ST 組 > 未處理組。
3. 在台塑氟廢水中，黑殼蝦的存活時間為 ST 組 = ET 組 = RW 組 = 未處理組。
4. 在鳳山溪廢水中，黑殼蝦的存活時間為 ST 組 > ET 組 = RW 組 > 未處理組。
5. 整體而言，ST 菌較能有效延長黑殼蝦在廢水存活的時間。
6. 在台塑氟廢水中，3 菌種延長黑殼蝦的存活時間皆差。



圖 35 SiC 廢水細菌處理前後黑殼蝦生長圖

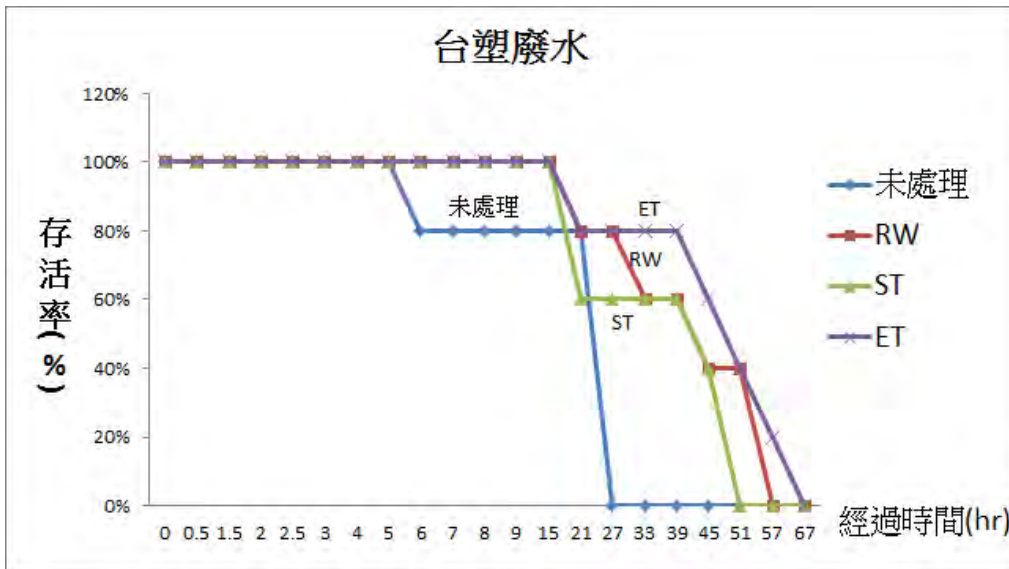


圖 36 台塑廢水細菌處理前後黑殼蝦生長圖

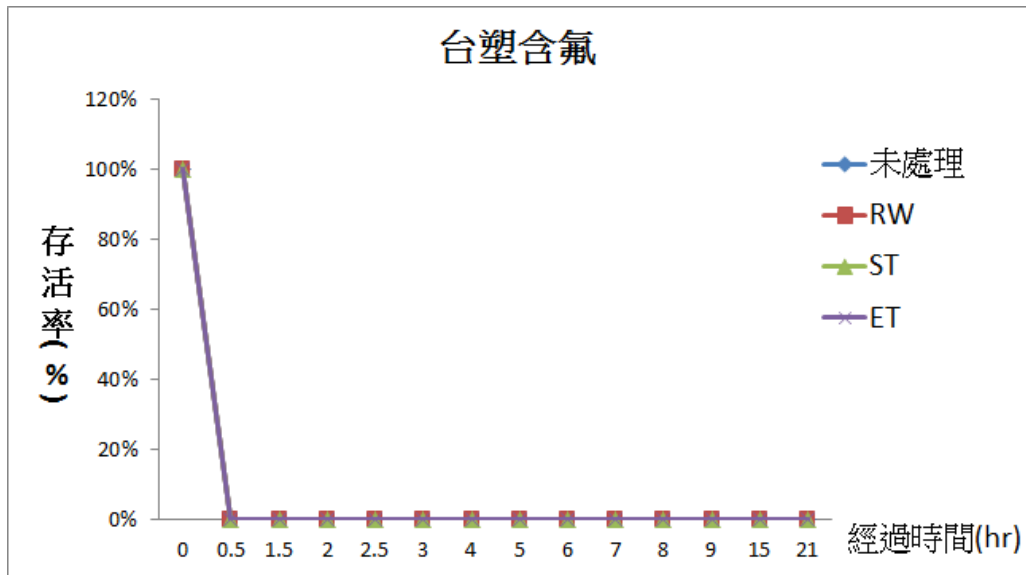


圖 37 台塑含氟廢水細菌處理前後黑殼蝦生長圖

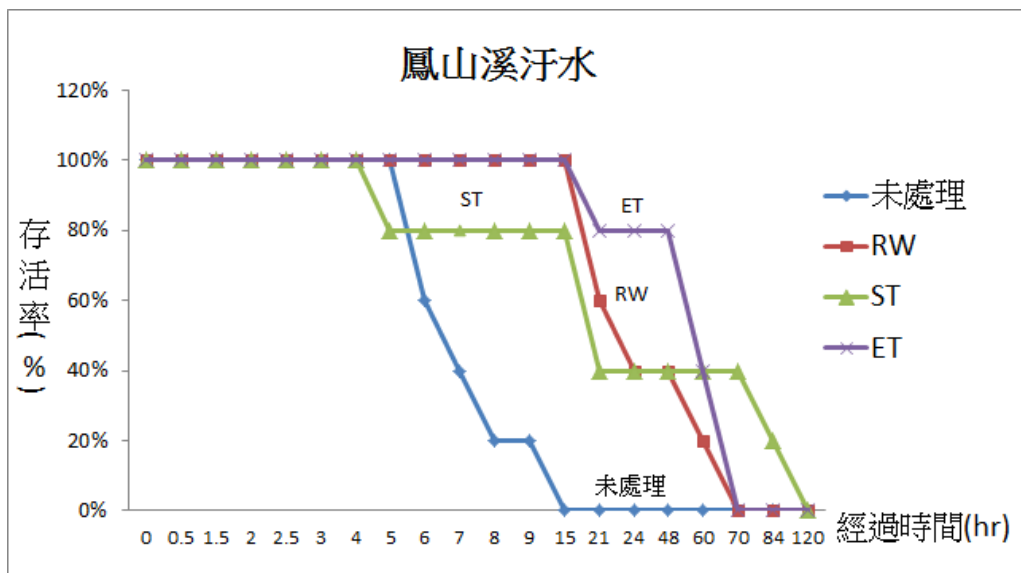


圖 38 鳳山溪廢水細菌處理前後黑殼蝦生長圖

表 3 黑殼蝦行為觀察表

未處理之 SiC 廢水			RW 細菌處理之 SiC 廢水		
經過時間	存活率	生長情況	經過時間	存活率	生長情況
0 小時	100%	正常游動	0 小時	100%	正常游動
0.5 小時	100%	泳足快速擺動	1.5 小時	80%	1 隻跳出水面, 1 隻死亡
1.5 小時	80%	3 隻橫躺於杯底, 1 隻死亡 (頭部呈紅色), 1 隻蜷曲	2 小時	80%	3 隻橫躺杯底
2 小時	60%	共 2 隻死亡	3 小時	80%	1 隻快速游動、打轉
2.5 小時	40%	共 3 隻死亡	4 小時	60%	共 2 隻死亡
4 小時	20%	共 4 隻死亡	8 小時	40%	共 3 隻死亡

7 小時	0%	全數死亡	15 小時	20%	共 4 隻死亡
			21 小時	0%	全數死亡
ET 細菌處理之 SiC 廢水			ST 細菌處理之 SiC 廢水		
經過時間	存活率	生長情況	0 小時	100%	正常游動
0 小時	100%	正常游動	0.5 小時	100%	4 隻翻肚，1 隻異常活動
0.5 小時	100%	5 隻翻肚	1.5 小時	100%	4 隻翻肚
1.5 小時	80%	1 隻死亡	2 小時	80%	1 隻死亡
2 小時	80%	3 隻側翻	2.5 小時	80%	1 隻沿杯壁快速遊動
2.5 小時	80%	靜止不動	3 小時	80%	靜止不動
3 小時	80%	1 隻沿杯壁遊動	21 小時	20%	共 4 隻死亡
4 小時	40%	共 3 隻死亡	24 小時	0%	全數死亡
8 小時	0%	全數死亡			
未處理之台塑廢水			RW 細菌處理之台塑廢水		
0 小時	100%	正常游動	0 小時	100%	正常游動
6 小時	80%	1 隻死亡	21 小時	80%	1 隻死亡
21 小時	60%	共 2 隻死亡	33 小時	60%	共 2 隻死亡
27 小時	0%	全數死亡	45 小時	40%	共 3 隻死亡
			57 小時	0%	全數死亡
ET 細菌處理之台塑廢水			ST 細菌處理之台塑廢水		
0 小時	100%	正常游動	0 小時	100%	正常游動
21 小時	80%	1 隻死亡	21 小時	60%	共 2 隻死亡
45 小時	60%	共 2 隻死亡	47 小時	40%	共 3 隻死亡
51 小時	40%	共 3 隻死亡	53 小時	0%	全數死亡
57 小時	20%	共 4 隻死亡			
67 小時	0%	全數死亡			
未處理之台塑氟廢水			RW 細菌處理之台塑氟廢水		
0 小時	100%	正常游動	0 小時	100%	正常游動
0.5 小時	0%	全數死亡	0.5 小時	0%	全數死亡
ET 細菌處理之台塑氟廢水			ST 細菌處理之台塑氟廢水		
0 小時	100%	正常游動	0 小時	100%	正常游動
0.5 小時	0%	全數死亡	0.5 小時	0%	全數死亡
未處理之鳳山溪廢水			RW 細菌處理之鳳山廢水		
0 小時	100%	正常游動	0 小時	100%	正常游動
2 小時	100%	全數皆側翻	1.5 小時	100%	1 隻衝撞杯壁
6 小時	60%	共 2 隻死亡	2.5 小時	100%	3 隻側躺
7 小時	40%	共 3 隻死亡	15 小時	100%	1 隻蜷曲
8 小時	20%	共 4 隻死亡	21 小時	60%	共 2 隻死亡



15 小時	0%	全數死亡	24 小時	40%	共 3 隻死亡
			60 小時	20%	共 4 隻死亡
			70 小時	0%	全數死亡，身體呈橘紅色
ET 細菌處理之鳳山溪廢水			ST 細菌處理之鳳山溪廢水		
0 小時	100%	正常游動	0 小時	100%	正常游動
0.5 小時	100%	1 隻側躺	5 小時	80%	1 隻死亡
21 小時	80%	1 隻死亡	21 小時	40%	共 3 隻死亡
60 小時	40%	共 3 隻死亡	84 小時	20%	共 4 隻死亡
70 小時	0%	全數死亡	120 小時	0%	全數死亡

十、實驗十：檢測篩出菌種對亞硝酸鹽的分解能力。

(一)三種細菌(ET、RW 及 ST 菌)均不能顯著地分解亞硝酸鹽。

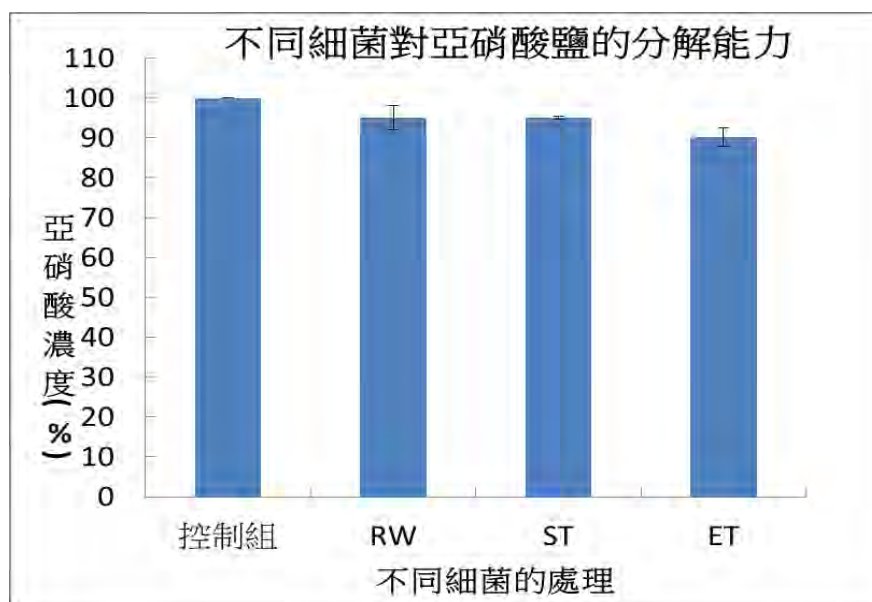


圖 39 亞硝酸鹽細菌處理前後變化圖

十一、實驗十一：檢測篩出菌種在小型污水池中處理廢水氨氮效能。

(一) ST 菌在小型廢水池(300L)中的處理效能佳。



圖 40 小型廢水池

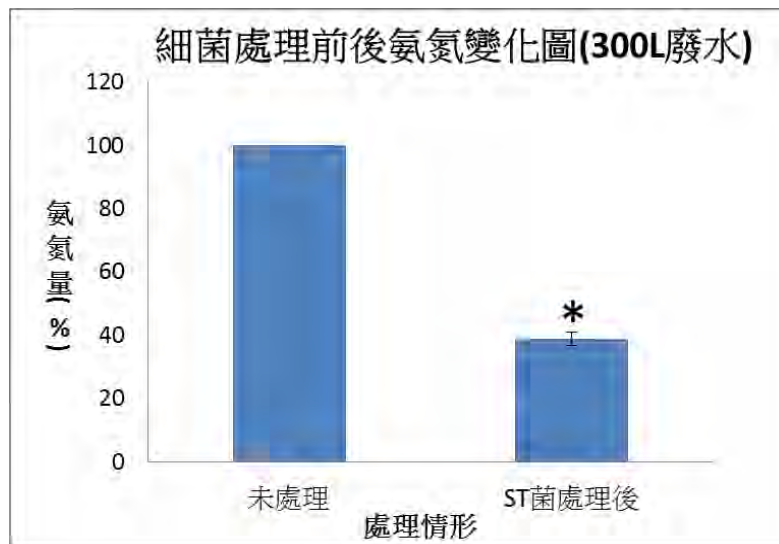


圖 41 ST 菌處理鳳山溪廢水(300L)中氨氮前後變化圖

(\*代表與未處理相比具顯著差異,  $p < 0.05$ )

十二、實驗十二：檢測篩出菌種在中型污水池中處理廢水氨氮效能。

(一) ST 菌在中型廢水池(800L)中的處理效能佳。



圖 42 中型廢水池

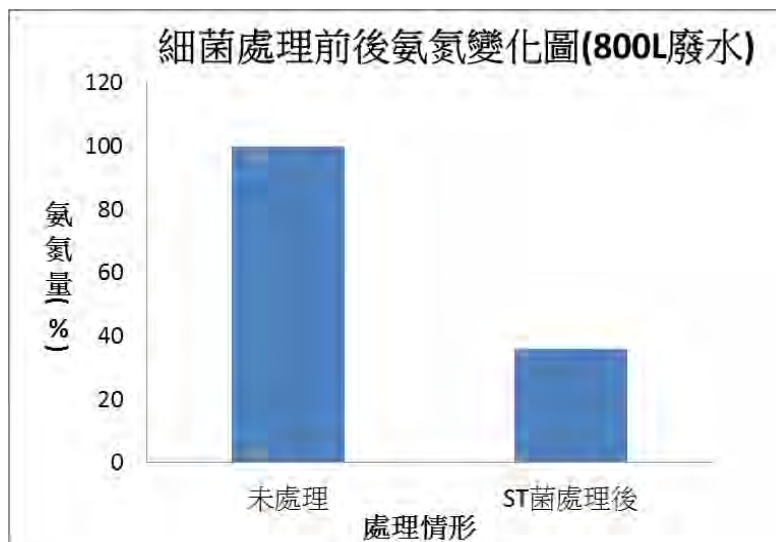


圖 43 ST 菌處理鳳山溪廢水(800L)中氨氮前後變化圖

十三、實驗十三：將篩出細菌進行菌種鑑定。

(一) RW 菌屬 *Exiguobacterium aurantiacum*(金橙黃微小桿菌)。

(二) ST 菌屬 *Firmicute*(厚壁菌門)。

(三) ET 菌屬 *Enterobacter asburiae* (腸桿菌)。

(四) BS 菌屬 *Pseudomonas mendocina*(門多薩假單胞菌)。

(五) BA 菌屬 *Enterobacter asburiae* (腸桿菌)。

(六) CA 菌屬 *Escherichia vulneris*(大腸桿菌)。

(七) SR 菌屬 *Staphylococcus pasteurii*(葡萄球菌)。

## 陸、討論

- 一、經由革蘭氏染色法判定七菌種皆為革蘭氏陽性菌，這和同樣能降低水中氨氮的硝化細菌有所不同，硝化細菌有硝酸菌及亞硝酸菌等多種型態，且均為革蘭氏陰性菌。篩出菌種雖為革蘭氏陽性菌但亦有分解廢水氨氮的能力，微生物世界的多樣性可見一斑。
- 二、在實驗五中，我們發現 BA、SR、CA 菌普遍生長較佳，而在實驗六中，則以 ST、RW、ET 菌有較高的分解效率。由此可見，生長情形最佳的菌種不一定有較佳的分解能力；分解情形較佳的菌種，不一定有較優良的環境適應性，推測微生物在高氨氮環境中，可能有一些保護機制使其得以生存，但保護機制越佳者，不一定就具有較高的分解能力，尤見生物特性的複雜。此外，相關文獻指出，自然界中一部份細菌能利用無機氮化物(氨氮、亞硝酸鹽、硝酸鹽、氮鹽)作為提供自身能量的氮源，屬於化學自營細菌，如硝化細菌。但從實驗中發現，隨著無機氮化物(氨氮)濃度的增加，生長情形並未呈現相對應的增長，再度推論篩出細菌應異於硝化細菌，且其分解效能與生長情形較無顯著相關性。
- 三、在實驗八中觀察廢水對水生植物的影響，我們秤量水草在處理前後廢水中的重量，發現在已處理廢水的生長情形較未處理者佳，但在台塑含氟廢水中，處理前後廢水內的水草生長情形皆較差，且整體水草重量也較其他廢水中的輕許多。推估可分解氨氮之菌種 ST、ET、RW，雖具良好分解氨氮之作用，對含特定污染物之廢水仍有條件上的限制，但還是能看出 ST、ET、RW 菌在淨化水質使水生植物合宜生長上的功效。
- 四、在挑選 ST、RW、ET 為最佳分解氨氮效率菌後，欲進一步探討其對其他氮化物的分解能力，我們在實驗十中，檢測 ST、RW、ET 對亞硝酸鹽的分解能力，由結果看出，雖然處理後的數值有略微降低，但經統計分析後，顯示 ST、RW、ET 菌對亞硝酸鹽的分解不具太大效益。其對氨氮處理雖有顯著成效，對亞硝酸鹽的分解卻無良好能力，可見微生物在分解對象上有專一性。
- 五、在實驗九中，觀察水中生物在細菌處理前後廢水的生長情形，我們發現在已處理廢水中，黑殼蝦的存活時間會大幅增長，顯示 ST、ET、RW 菌對廢水中氨氮之優良處理能力。然而處理後之台塑含氟廢水，黑殼蝦的存活時間卻無顯著增加，且相較其他廢水時間短得許多，推測在台塑含氟廢水中，應具有其他影響因子，進而導致黑殼蝦在該廢水的存活率急遽下降。
- 六、在實驗十一及十二中，可看到氨氮含量在細菌處理後有顯著效果，篩出菌不僅能推廣應用在工業、家庭放流汗水中，亦有應用在水產養殖上的價值。因水中生物對於  $\text{NH}_4^+$  的耐受度較低，若經由微生物將高毒性的  $\text{NH}_4^+$  轉變為其他形式的化合物，如毒性較低的硝酸鹽、亞硝酸鹽，便可降低水池換水的頻率，進而減緩超抽地下水的惡象。

## 柒、結論

本研究利用食品工業之廢水，置入高氨氮的固、液態培養基，培養並純化出可耐高氨氮環境的微生物。藉由不同氨氮濃度的液態培養基檢測篩出菌種的耐受性，並經由實驗分析其處理氨氮的效能，結果顯示培養基內氨氮含量普遍減少，將其中分解效能較佳之三菌種（RW、ST、ET）加入家庭、工業廢水，氨氮量亦明顯降低，且而觀察水中生物在細菌處理前後廢水中的生長狀況，發現經微生物分解後的廢水能使水中生物生存時間相較延長，最後經實驗發現此三菌種在分解亞硝酸鹽的能力上較無分解氨氮的高效力，而為了檢驗篩出菌是否真有推廣應用價值，我們更進一步將分解效率最佳的 ST 菌置入廢水池中進行氨氮處理，發現其亦能有效降低廢水氨氮。本研究欲探討微生物分解氨氮方法的可行性，結果顯示其有良好效用，本研究培養出之菌種能有效分解水中氮化物，若推廣應用，不僅能大幅減少諸如物化分解氨氮方法的高昂成本及風險，亦能降低放流廢水對生態的危害，有助於地球生態的永續發展。

## 捌、參考資料

- 一、行政院環境保護署水保處(2012.06.01)。環保署預告光電產業及科學園區放流水標準草案增訂氨氮管制，取自：  
[http://ivy5.epa.gov.tw/enews/fact\\_Newsdetail.asp?inputtime=1010601150200](http://ivy5.epa.gov.tw/enews/fact_Newsdetail.asp?inputtime=1010601150200)
- 二、衡陽師範學院化學與材料科學系(化學世界第四期)。甲基橙褪色光度法測定亞硝酸根的研究。<http://www.docin.com/p-369565370.html#documentinfo>
- 三、國立嘉義大學微生物與免疫學系。微生物學實驗多元適性課程與教材-4 (2007)。  
<http://web.ncyu.edu.tw/~jgtsay/jg4-llab.pdf>
- 四、崔煜晨(2011.08.23)。中國環境報。取自：  
[http://big5.ifeng.com/gate/big5/gongyi.ifeng.com/gundong/detail\\_2011\\_08/23/8614554\\_0.shtml](http://big5.ifeng.com/gate/big5/gongyi.ifeng.com/gundong/detail_2011_08/23/8614554_0.shtml)
- 五、曾四恭、夏聰惠、何俊明、馮宇柔 (2007)。結合薄膜生物反應槽與無氧氨氧化程序進行生物除氮之研究。行政院國科會專題研究計畫成果報告 (計畫編號: NSC 95-2221-E-002-145)

## 【評語】 040805

作品能夠解決生活上的問題，對於自然環境的保護有貢獻，實驗深入，數據完整，團隊合作非常良好。