

中華民國第 63 屆中小學科學展覽會

作品說明書

高中組 動物與醫學科

052005

蟲塑大自然－麵包蟲和蠟蟲消化 PVC 可能性之
探討

學校名稱：國立潮州高級中學

作者： 高二 楊輝騰 高二 劉嘉芸 高二 利芯綸	指導老師： 楊勝惠 洪育祥
-----------------------------------------------	-----------------------------

關鍵詞：麵包蟲、蠟蟲、PVC

摘要

為了研究麵包蟲和蠟蟲食用聚氯乙稀(PVC)後的成長，我們將麵包蟲和蠟蟲各分成食用麥片、麥片加 PVC 及 PVC 三組飼養，記錄它們的存活、死亡、成蛹和成蟲數量並觀察行為。之後收集蠟蟲和麵包蟲的糞便進行層析和碘蒸氣燻色實驗，並進行成分分析。結果顯示，PVC 組的糞便含有 PVC 訊號，但無法證明 PVC 被分解。接著，我們進行了麵包蟲和蠟蟲腸道內菌種的培養實驗，希望證明這些菌種能夠降解 PVC，同時了解在哪種 pH 值的環境下，這些菌種能夠有效地降解 PVC。為此，我們先以廣用指示劑測量兩種蟲腸道 pH 值並配製不同的 pH 值溶液，再將這些溶液配製培養基進行菌種培養。透過實驗數據的比較，我們希望找到最適合的菌種降解 PVC。

壹、研究動機

現今世界塑膠廢棄物汙染嚴重，一直是重要的地球環保問題，成分為 PVC 的塑膠，被譽為毒塑膠，不只因其含有氯，也因其都市塑膠廢棄物的占比名列前茅，產生的毒素對生態環境傷害頗大。我們從報導中得知麵包蟲和蠟蟲可以消化塑膠，且代謝完的糞便可以回歸大自然作為肥料，因此我們用這兩種蟲做了一系列實驗。探討牠們是如何消化 PVC，以及牠們的糞便是否真的能作為肥料。

貳、研究目的

一、目的

- (一)了解麵包蟲和蠟蟲餵食 PVC 後的行為和成長狀況。
- (二)檢驗麵包蟲和蠟蟲吃 PVC 後，PVC 是否被消化。
- (三)探討麵包蟲和蠟蟲腸胃道菌種是否能降解 PVC。
- (四)探討麵包蟲和蠟蟲腸胃道菌種在哪種 pH 值環境中降解 PVC 的效果最好。

二、相關資料

(一)麵包蟲的生活史:學名：黃粉蟲(*Tenebrio molitor*)。分類：屬於鞘翅目多食亞目擬步行蟲總科擬步行蟲科。種數：台灣已知約有 240 種，半數以上是台灣特有種。成長：黃粉蟲是完全變態的昆蟲，即成蟲、卵、幼蟲、蛹四種時期。食性：雜食性。

- 1.卵期：體長約 0.1-0.3cm，非常脆弱且細小，不宜隨便翻動以免造成幼蟲受傷或死亡，當飼料表層出現幼蟲脫的皮時，代表一齡蟲已經孵化，從卵成長到一齡蟲的時間大約 8~10 天。
- 2.幼蟲期：此時期為卵孵化之後，化蛹之前，麵包蟲每次生長都會脫去外皮，幼蟲期共會脫 7 次皮，每脫皮一次都會伴隨身體成長，年齡也會跟著增長 1 齡，約 8~9 天會脫皮一次，50~60 天會蛻變成蛹，糞便為細小顆粒狀，食物來源不足時常有互食現象。
- 3.蛹期：剛化成的蛹呈現黃白色，隨著時間推進顏色會越來越黃，體長也會漸漸減，此段時間完全喪失行動能力，只有腹部會蠕動或翻滾，約 6~8 天蛻變成成蟲。
- 4.成蟲期：剛羽化的成蟲很稚嫩脆弱且不活躍，大約過 5~6 天後牠們的顏色會變深變黑，鞘翅也會變硬，在營養不足或食物不足的情況下常有互食現象，存活期約為 50 天(貢鼓紳，1992 年)。

(二)蠟蟲的生活史:學名:小蠟螟。分類:節肢動物門鱗翅目螟蛾總科螟蛾科。

模式種:小蠟螟,大蠟螟,印度穀蛾。成長:蠟蟲是屬於完全變態昆蟲,即卵、幼蟲、蛹、成蟲四個階段。食性:雜食。

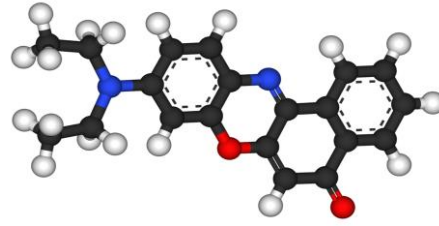
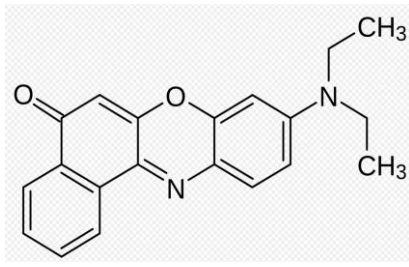
- 1.成蟲期:有趨光性,白天時多半不動,晚上常活動,使用口器進食,體肥多毛,雄體成蟲體型較小,存活期約 20 天左右。
- 2.卵期:肉眼不易察覺,非常微小,呈乳白色,約 5~7 天孵化。
- 3.幼蟲期:初孵化時呈乳白色,長約 0.2 公分,成熟後呈乳白或灰黑,長度約為 2~3 公分,頭部為黑棕色,喜歡吐絲把自己裹起來,過程中把食物夾雜在絲中,完成把自己裹起來後,就待在裡面幾乎不出來,除非沒食物。靠蠕動前行,身體表面覆蓋細毛,糞便為白色細小顆粒。
- 4.蛹期:孵化後約 18~19 天做繭化蛹,剛化成的蛹為黃黑色,全身僵硬且不會動,長約 3~4 公分,化繭後約 5~6 天成蛾(貢鼓紳,1992 年)。

(三)TLC

TLC 片:薄層層析(張煥宗等,2022 年)是一種用於分離混合物的技術。在這種技術中,一層吸附劑被覆蓋在鋁箔上,這層吸附劑通常是矽膠、氧化鋁或纖維素等物質。接著,樣品會使用毛細管點在吸附劑層上,然後用單一或混合溶劑作為流動相。這些溶劑在毛細作用下,會將樣品中的不同成分由下往上帶到吸附劑層的頂端。因為不同組分與固定相的作用力不同,所以它們在溶劑中的溶解度也不同,導致它們的上升速度有所區別。最終,不同組分會在吸附劑層上形成不同的斑點,實現對混合物的分離和純化。總之,薄層層析是一種利用吸附劑層和溶劑流動分離混合物的技術。通過毛細管將樣品點在吸附劑層上,在溶劑的幫助下,不同成分會在層上移動,形成不同的斑點,以達到分離和純化的目的。

(四)尼羅紅

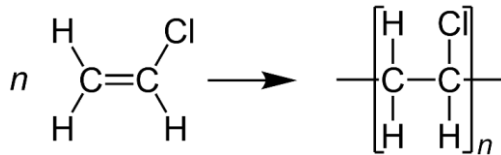
尼羅紅(Wikipedia, 2023, June 7)是一種親脂性染料,其化學式為 $C_{20}H_{18}N_2O_2$ 。它可以將細胞內的脂滴染成黃色,並且在富含脂質的環境中會發出強烈的螢光。尼羅紅的顏色可以根據環境的極性而變化,從深紅色(對極性膜脂質)到強烈的金黃色(對細胞內儲存的中性脂質)不等。此外,尼羅紅具有高度溶劑化顯色性,在不同的溶劑中顯色程度會有所變化。而在極性介質中,尼羅紅幾乎不會發出螢光。因此,尼羅紅是一種廣泛應用於生物學研究中的染料,它可以用來標記和分析細胞中的脂質,在不同的生物領域中具有很大的應用價值。



(圖片來源：Wikipedia。June 7, 2023)

(五)PVC

聚氯乙稀(葉名倉等，2022年)(Polyvinyl Chloride)純聚氯乙稀是一種白色，脆性固體。一般的粉狀微粒大小約為 70-150 μm (Peng, 2020)。是由氯乙稀聚合而成的高分子聚合物，是除了聚乙烯、聚丙烯之後，第三種最廣泛生產的合成塑膠聚合物。它不溶於醇類，但微溶於四氫呋喃。



(圖片來源：葉名倉等，2022年)

(六)革蘭氏染色法(維基百科，2022, February 13)

革蘭氏染色(衛生福利部食品藥物管理署，2010年9月13日)(Gram stain)是用來鑑別細菌的一種方法：這種染色法利用細菌細胞壁上的生物化學性質不同，可將細菌分成兩類，即革蘭氏陽性(Gram Positive)與革蘭氏陰性(Gram Negative)。此種染色法由丹麥微生物學家 Hans Christian Gram 於西元 1884 年所創，是最常用的細菌鑑別染色法。本法利用細菌細胞壁脂質含量多寡而將細菌染成不同顏色，被染成紫色的細菌(脂質含量較少)稱為革蘭氏陽性菌；被染成紅色的細菌(脂質含量較多)為革蘭氏陰性菌，此為目前細菌分類的重要依據。

參、研究設備與器材

一、實驗器材：

(一)儀器：電子秤、無菌操作台、滅菌箱、電子顯微鏡。

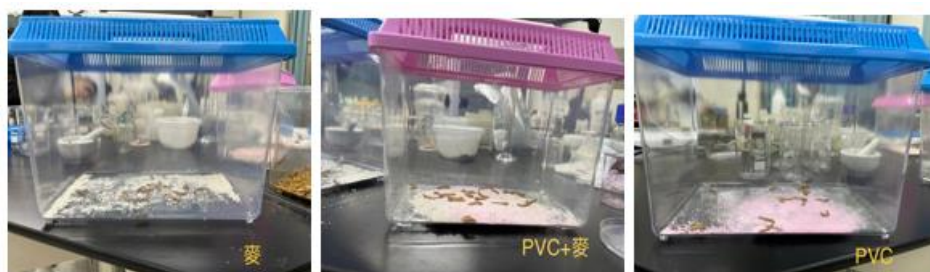
(二)材料：蠟蟲、麵包蟲、燕麥片、昆蟲箱、培養皿、滴管、萬用試紙(MERCK)、UV 燈、TLC 片(MERCK)、毛細管、沖堤瓶、鑷子、解剖刀、解剖針、試管、溫濕度計、保鮮膜、鑷子、刀片、蓋玻片、載玻片、手套、燒杯、量瓶、蒸餾水、玻片、酒精燈。

(三)藥品：丙酮、石油醚、甲苯、正己烷、松節油、冬青油、乙酸乙酯、PVC 粉末、四氫呋喃、環己酮、尼羅紅、檸檬酸、檸檬酸鈉、磷酸二氫鉀（磷酸一鉀）、磷酸氫二鉀（磷酸二鉀）、Agar 粉、三羥甲基胺基甲烷、結晶紫、碘液、95%酒精、75%酒精、番紅。

肆、研究方法與過程

【實驗一】分三組飼養麵包蟲及蠟蟲的方式

- 1.直接向商家購得麵包蟲和蠟蟲，其幼蟲齡數皆平均混合。
- 2.充分供應食物給麵包蟲和蠟蟲，並將麥片磨成粉秤。
- 3.將均勻混合各齡的麵包蟲和蠟蟲，各分成三組，每一組放入 20 隻的幼蟲於昆蟲箱中飼養，實驗組餵食 PVC 粉 3 克(以 12 克 PVC 粉加 4ml 尼羅紅染劑。尼羅紅染劑是以 1mg : 200ml 加入丙酮配製而成)，第一對照組餵食 5 克麥粉+3 克 PVC 粉，第二對照組餵食 5 克麥粉，各組實驗均控制在相同的溫度、溼度、及光線明亮度，每天將麵包蟲和蠟蟲秤重，觀察並紀錄其各生長情況和行為。
- 4.將被啃咬及死亡的變黑蟲體挑出來，以防有真菌感染其他蟲體。
- 5.有剛形成蛹者，需立即挑出來另外存放於培養皿中，以防止被其他幼蟲咬死，紀錄日期並觀察其變化，直到其蛻變為成蟲。
- 6.蛻變成成蟲後，繼續以 PVC 和麥粉等物品餵食，觀察其生長狀態。



麵包蟲分為三組飼養的情形(左至右分別餵食麥粉、麥粉+PVC 粉、PVC 粉)



蠟蟲分為三組飼養的情形(左至右分別餵食麥粉、麥粉+PVC 粉、PVC 粉)

【實驗二】糞便的檢測

- 1.收集糞便的方式：從各組中取出等量的麵包蟲和蠟蟲先使其消化道排空，餵食後隔天再收取牠們的糞便，分別用試管存放並標籤。
- 2.利用 TLC 檢驗三組的麵包蟲和蠟蟲的糞便
 - (1)取適量的四氫氟喃加入三組糞便樣品中，用玻璃棒攪拌。
 - (2)以毛細管吸附樣品溶液，滴於 TLC 上，再放入丙酮加正己烷調和出的展開液中。
- 3.待展開液跑到終點線時，取出並晾乾，晾乾後再放入含有碘片的廣口瓶中。靜待 3 分鐘後取出觀察薰色狀況。
- 4.對比麥片組、麥片+PVC 組、PVC 組、純 PVC 粉是否有相同物質。

【實驗三】腸胃道菌種培養

- 1.取 250ml 蒸餾水加入 5.5 克 Agar 粉，充分攪拌後放入滅菌箱中高溫高壓(121°C，約 1.16atm)殺菌 20 分鐘，再倒入培養皿中冷卻
- 2.麵包蟲先以酒精浸泡消毒，再放入無菌水中清洗，取出其腸胃道並搗碎，將腸胃道塗抹在自製培養基中。
- 3.分成三組分別培養，麥片組、PVC 組、麥片+PVC 組分別觀察。
- 4.養出的菌種進行純化培養。
- 5.每日觀察新的菌種變化，並拍照記錄其顏色。
- 6.革蘭氏染色作法
 - (1)將少量菌種塗抹於玻片上，用蒸餾水稀釋，並置於酒精燈上加熱固定。
 - (2)將結晶紫滴於玻片上，靜置一分鐘後用蒸餾水洗去多餘的結晶紫，甩乾。
 - (3)將碘液滴於玻片上，靜置一分鐘後用蒸餾水洗去多餘的碘液，甩乾。
 - (4)以 95%酒精脫色，直至無結晶紫的顏色流出為止。
 - (5)以番紅複染，約 45 秒後用蒸餾水洗去。
 - (6)以吸水紙吸乾或在空氣中陰乾後，即可置於顯微鏡下觀察

【實驗四】腸胃道菌種降解 PVC 實驗

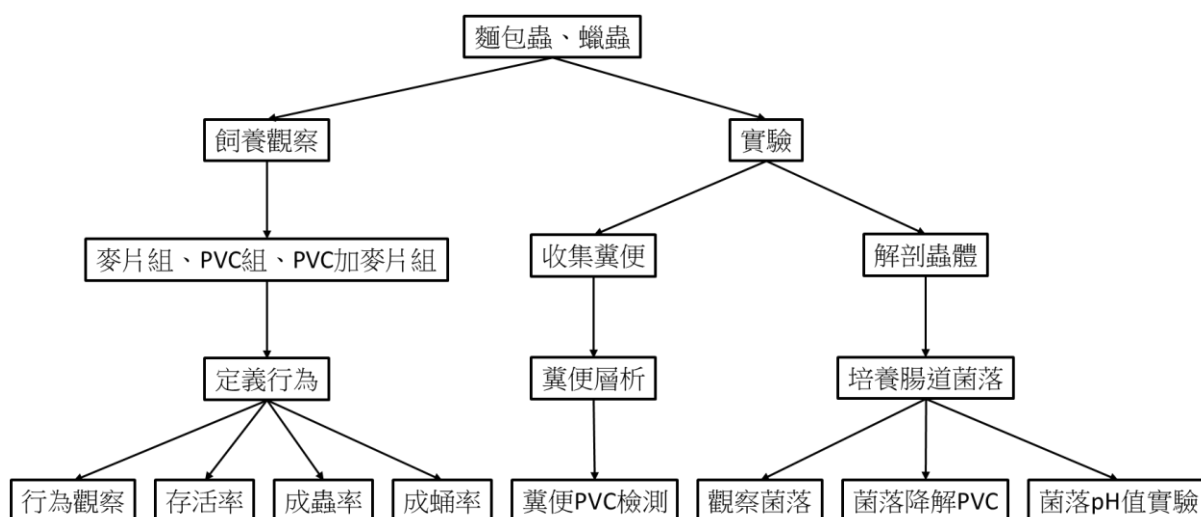
- 1.此實驗的目的為對比麥片組、PVC 組、麥片加 PVC 組三組哪組腸道的菌種降解 PVC 的能力最強。
- 2.分成三組分別培養，麥片組、PVC 組、麥片+PVC 組分別觀察。
- 3.在新的培養基中鑲入染過尼羅紅的 PVC 粉，培養基分成四塊(1、2、3、4 區)，每一區鑲入 0.1 克的 PVC 粉。
- 4.將實驗三培養的菌種塗抹在培養基上，由 1 區到 4 區按順序塗抹。
- 5.觀察方式是藉由藍光照射，使用輔助程式捕捉 PVC 粉螢光的面積及亮度，對比自身

在不同天數的螢光面積及亮度，紀錄各組螢光面積及亮度減少情形，代表菌種降解 PVC 較佳。

【實驗五】對比腸道菌在不同 PH 值環境中降解 PVC 能力之影響

- 1.取各組的麵包蟲和蠟蟲的腸胃道，塗抹在廣用試紙上，測量其腸胃道的 pH 值，以了解腸胃道菌種生長環境的 pH 值。
- 2.取 PVC 組的菌種(因由實驗四得到的結果為 PVC 組降解 PVC 的能力最佳)，對比不同 pH 值對菌種降解 PVC 能力之影響。
- 3.利用檸檬酸和檸檬酸鈉，配出 pH 值=5 的緩衝溶液。
- 4.利用磷酸二氫鉀(磷酸一鉀)和磷酸氫二鉀(磷酸二鉀)，配出 pH 值=6 的緩衝溶液。
- 5.利用磷酸二氫鉀(磷酸一鉀)和磷酸氫二鉀(磷酸二鉀)，配出 pH 值=7 的緩衝溶液。
- 6.將上述緩衝溶液取 250ml 加入 5.5 克的 Agar 粉，充分攪拌後放入滅菌箱中高溫高壓 (121°C，約 1.16atm)殺菌 20 分鐘，再倒入培養皿中冷卻。
- 7.將染過尼羅紅的 PVC 粉鑲入培養基中，培養基分成四塊(1、2、3、4 區)，每一區鑲入 0.1 克的 PVC 粉。將 PVC 組的菌種塗抹在培養皿上。
- 8.觀察方式是藉由藍光照射，使用輔助程式捕捉 PVC 粉螢光的面積及亮度，對比自身在不同天數的螢光面積及亮度，紀錄各組螢光面積及亮度減少情形，代表菌種降解 PVC 較佳的 pH 值環境。

肆、實驗架構圖



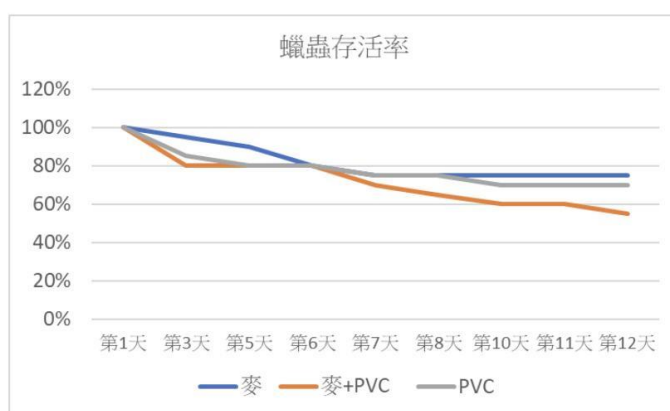
伍、研究結果

【實驗一】分三組飼養蠟蟲及麵包蟲的觀察

(一) 蠟蟲飼養

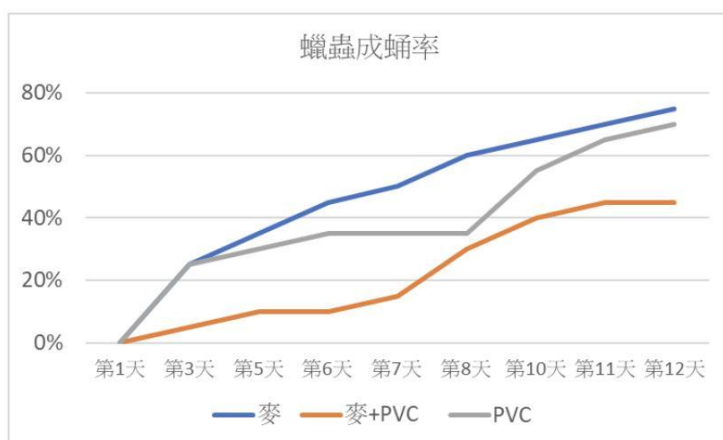
1. 三組蠟蟲的存活數比較

由圖可見，麥片組的存活率相對其他兩組較高，但 PVC 組的折線是最平穩的，變動幅度最小，麥片組和 PVC 組這兩組的存活率相當接近，反而是麥片+PVC 組存活率是最底的，變動幅度相比其他兩組也是最大的，發現蠟蟲互咬而導致變黑死亡的情形比麵包蟲來得低。



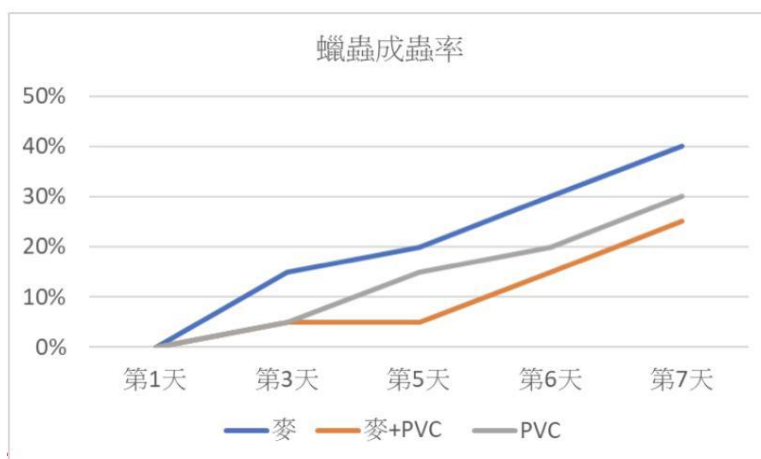
2. 蠟蟲出現蛹的三組比較

如圖可見，可知結蛹率高低：麥片組>PVC組>PVC+麥片組，麥片組和PVC組的結蛹率較接近，但麥片+PVC組的結蛹率相對其他兩組低許多，PVC組在第六天時，結蛹率突然增加許多，其他兩組的折線都是平穩上升的。



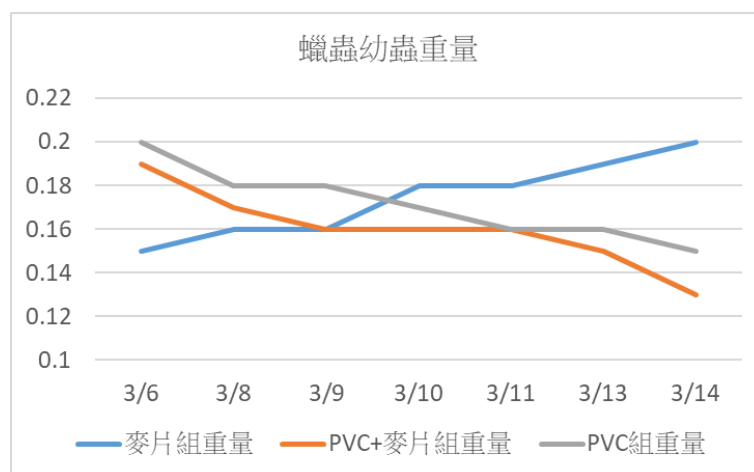
3.蠟蟲出現成蟲的三組比較

如圖成蟲率的結果，麥片組>PVC 組>麥+PVC 組，麥片組的成蟲率上升的幅度最大，麥片組和 PVC 組成蟲率都是隨著天數增加而穩定上升，麥片+PVC 組在第 5 天才具有明顯增加，在第一天～第三天成蛹率沒有變化。



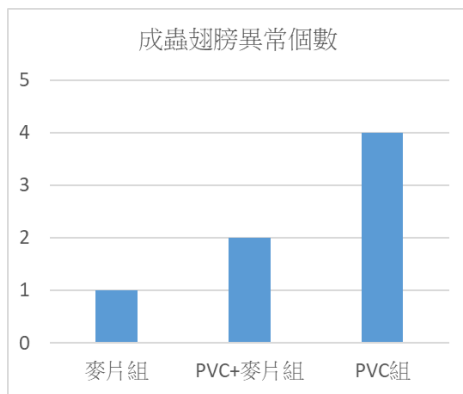
4.蠟蟲幼蟲的三組平均重量比較

麥片組的幼蟲平均重量隨著天數增加，重量也慢慢在增加；麥片加 PVC 組和 PVC 組的幼蟲平均重量反而隨著天數增加，重量卻慢慢在減少，但三組增加和減少的幅度都介於 0.1g~0.2g 之間，變化不大。



5.蠟蟲行為

蠟蟲會像毛毛蟲那樣爬行，但大部分時間會吐絲把自己包起來，所以當我們要觀察他們的成長情況，需要把它們的繭撕開，變成蛾時，通常都是不會動的，但如果搖晃容器，會瞬間飛起來想逃離容器，有些成蟲翅膀有異常，累積七天觀察成蟲翅膀異常個數總數，麥片組<PVC+麥組<PVC 組。



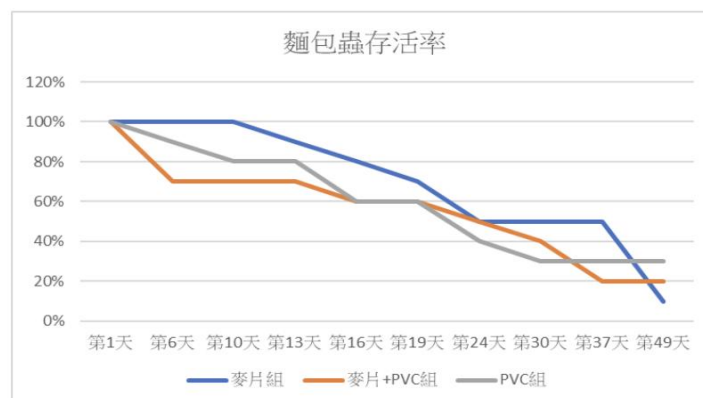
蠟蟲行為	成蟲翅膀異常個數
麥片組	1
PVC+麥片組	2
PVC組	4



(二) 麵包蟲飼養

1. 麵包蟲存活率

麵包蟲的存活率，三組的數據很相近，原本麥片組一開始的存活率是最高的，但後來變成最低的，反倒是 PVC 組的存活率，到最後是最高的。



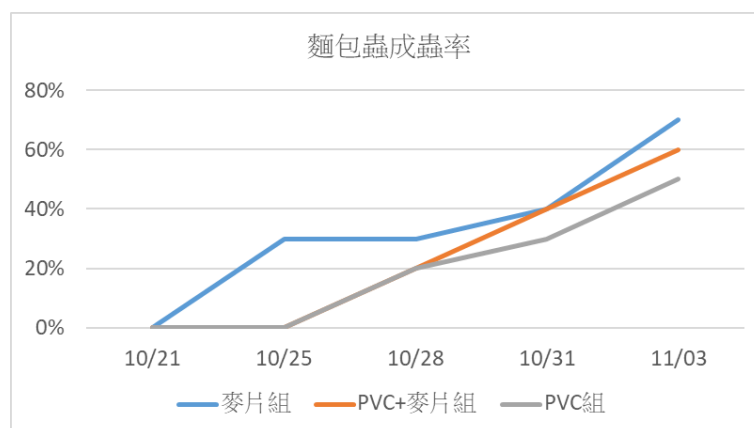
2 麵包蟲結蛹率

結蛹率：麥片組>麥片+PVC組>PVC組，三組的折線連線非常接近，麥片+PVC組到第四天才會有明顯的增加。



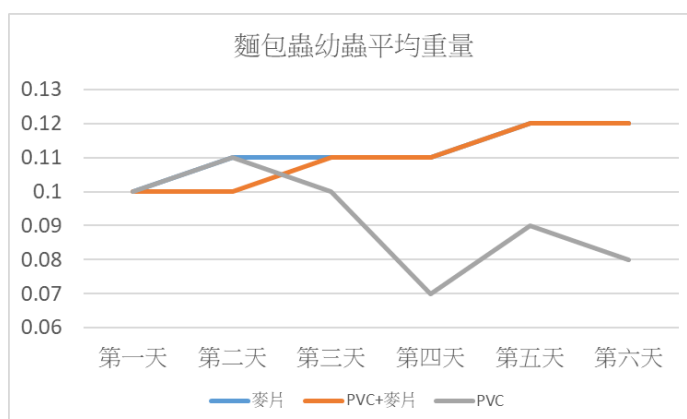
3 麵包蟲成蟲率

成蟲率：麥片組>麥片+PVC組>PVC組，前5天麥片+PVC組和PVC組的蛹都還沒蛻變成成蟲，麥片組是最先有成蟲的。



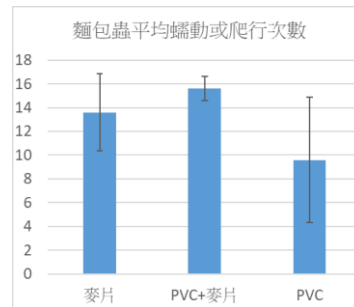
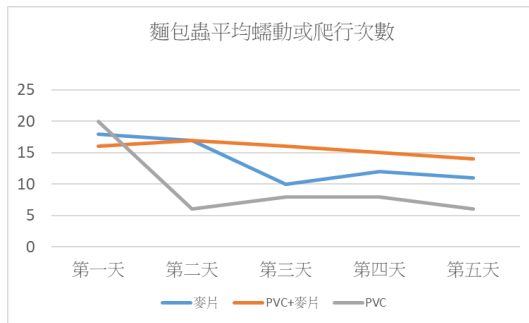
4. 麵包蟲幼蟲平均重量

麥片組和麥片+PVC組，重量相當接近，有隨天數慢慢增加，但PVC組重量變化有時增加，有時減少，相比其他兩組較不穩定。



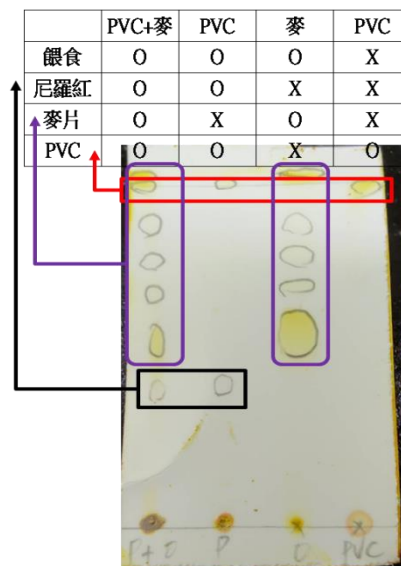
5. 麵包蟲行為

- (1) 麵包蟲每分鐘蠕動或爬行的隻數，麥片組和 PVC+麥片組的數據較接近，而 PVC 組蠕動或爬行隻數，隨天數增加數值明顯減少。平均又以 PVC+麥片組的次數較高。
- (2) 晃動時，麵包蟲蠕動或爬行隻數，麥片組的數值和麥片+PVC 組的數值較接近，PVC 組第一天時，移動或蠕動的隻數都大於兩者，但第二天後，數值突然降低許多，小於其他兩組。



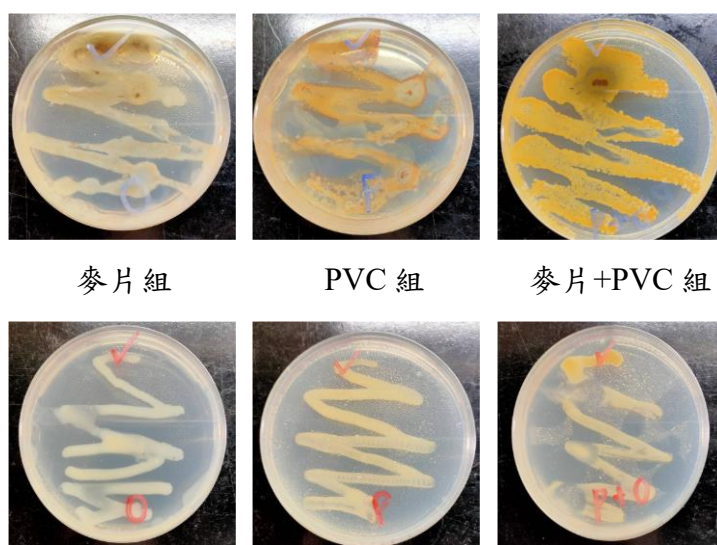
【實驗二】糞便的檢測

- 實驗結果我們用因子分析的方式來表現，由下圖可見，最下面黑色框起來的部分是尚未進行薰色前就出現的尼羅紅訊號，呈現淡紅色。有餵食麥片的組別都有出現等高的訊號(紫色框起來的部分)，推測其為麥片經消化後代謝物質的訊號。而有餵食 PVC 的也有等高的訊號(紅色框起來的部分)，再對比最右邊純 PVC 粉的訊號，也是等高，因此可以確立紅色框起來的為 PVC 的訊號。
- 餵食 PVC 後麵包蟲和蠟蟲無法完全消化 PVC，糞便中依然是含有 PVC 成分，但有可能麵包蟲可以部份消化 PVC，因此我們希望能直接觀察牠們腸胃道中的菌是否降解 PVC。

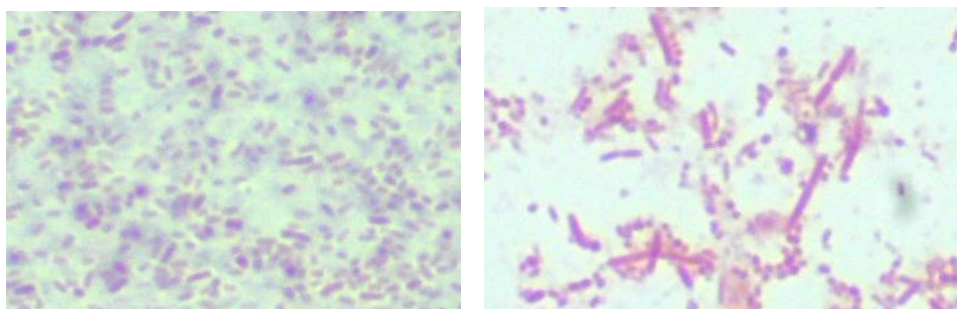


【實驗三】腸胃道菌種培養

- 1.我們為了看麵包蟲腸道裡的菌種消化 PVC 的情形，故根據吃不同食物的麵包蟲，分成了三組，分別是麥片組、PVC 組、麥片+PVC 組，來做對比，每組都用五隻蟲的腸胃道，麵包蟲用 75%酒精消毒後以無菌水清洗乾淨，取出其腸胃道並搗碎，在培養基中塗抹腸胃道(由打勾處往下塗抹)，從左到右分別為麥片組、PVC 組、麥片+PVC 組，下排是由上排取樣再培養的菌種，養出的菌為深黃色和白色。

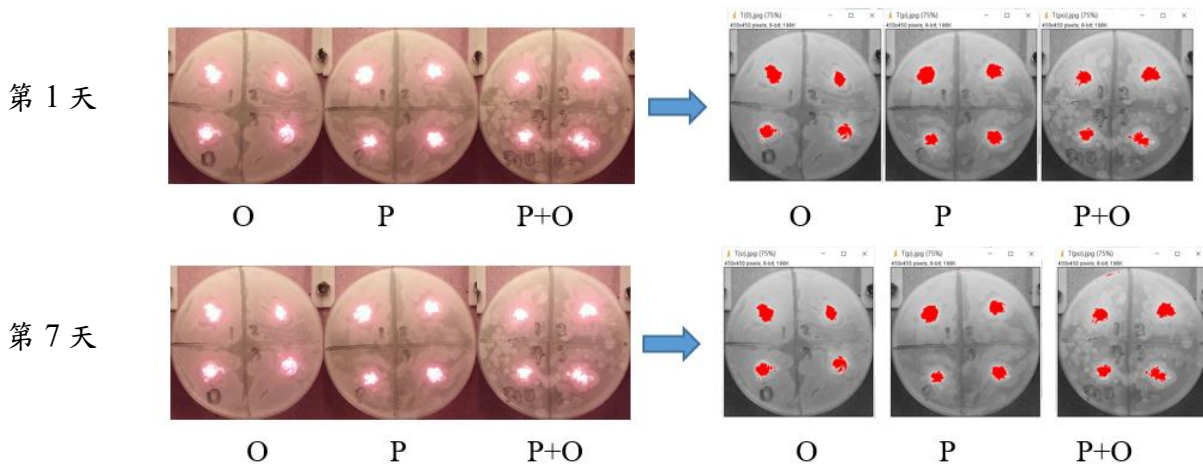


- 2.取一些培養基培養的菌落，以革蘭氏染色法染色後用顯微鏡觀察(1000 倍)由左為麥片組、右為 PVC 組，兩組菌種組成陽性菌(紫色)、陰性菌(粉色)皆有出現，但型態有明顯差異。



【實驗四】腸胃道菌種降解 PVC 實驗

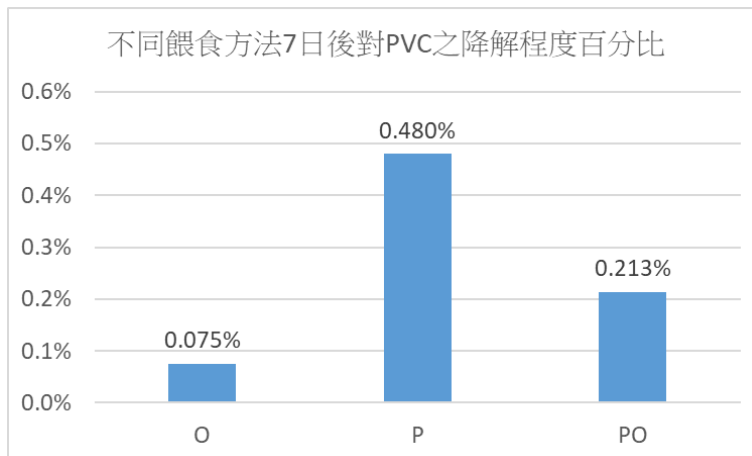
- 1.我們將 PVC 鑲入培養基中，再觀察腸胃道中的培養菌種是否能降解 PVC，利用藍光照射，使用輔助程式捕捉 PVC 粉螢光的面積及亮度，對比自身不同天數的螢光面積及亮度。
- 2.實驗結果為 PVC 組的反光的面積及亮度降低最多，其餘二組沒有明顯變化，推斷 PVC 組腸胃道中菌種降解 PVC 的能力最佳。



3.此圖為使用 Image J 程式對比螢光面積的數據擷取，對比 7 天後情形，PVC 組面積減少最多，推斷 PVC 組腸胃道中菌種降解 PVC 的能力最佳。

第1天	Area	Mean	StdDev	IntDen	%Area	RawIntDen	MinThr	MaxThr
O	5228	244.403	9.686	1277740	2.582	1277740	220	255
P	5923	246.191	8.96	1458187	2.925	1458187	220	255
PO	5117	244.133	10.282	1249227	2.527	1249227	220	255
第7天								
O	5328	244.219	9.737	1301201	2.631	1301201	220	255
P	5935	245.01	9.897	1454136	2.931	1454136	220	255
PO	5397	243.613	10.623	1314780	2.665	1314780	220	255

	O	P	PO
第1天	244.403	246.191	244.133
第7天	244.219	245.01	243.613
差值	0.184	1.181	0.520
百分比	0.075%	0.480%	0.213%

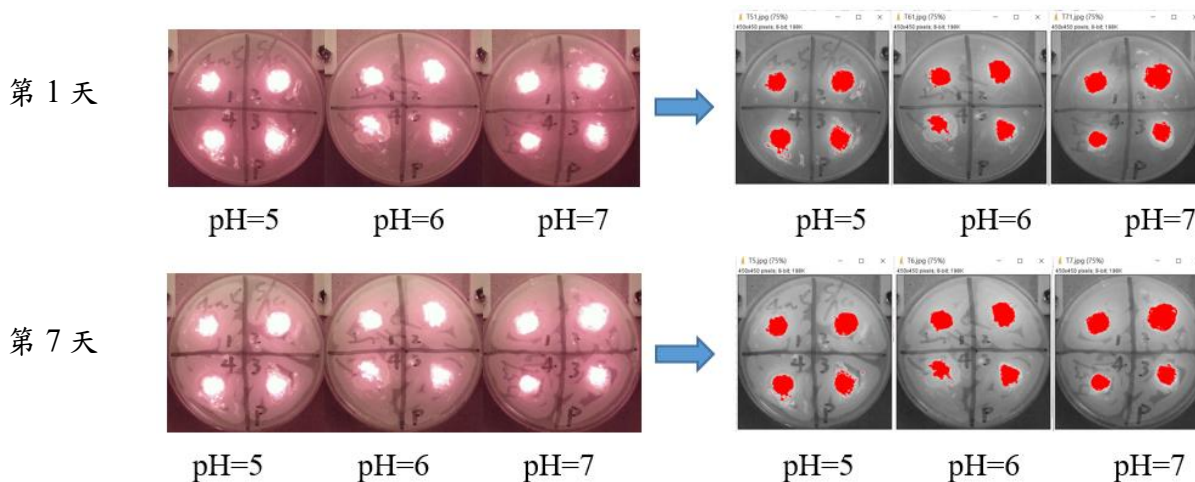


【實驗五】對比腸道菌在不同 pH 值環境中降解 PVC 能力之影響

- 1.麵包蟲 PVC 組腸胃道 pH 值檢測，以廣用試紙測得 pH 值約為 6，推斷其菌種適合在 pH 值為 6 的弱酸環境生長。
- 2.蠟蟲 PVC 組腸胃道 pH 值檢測，以廣用試紙測得的 pH 值約為 8，與麵包蟲的 pH 值不同，推斷其菌種環境適合在 pH 值 8 的弱鹼環境生長。

腸胃道pH值的檢測		
廣用試紙	麵包蟲	蠟蟲
O	5~6	7~8
P	6~7	7~8
PO	6~7	7~8

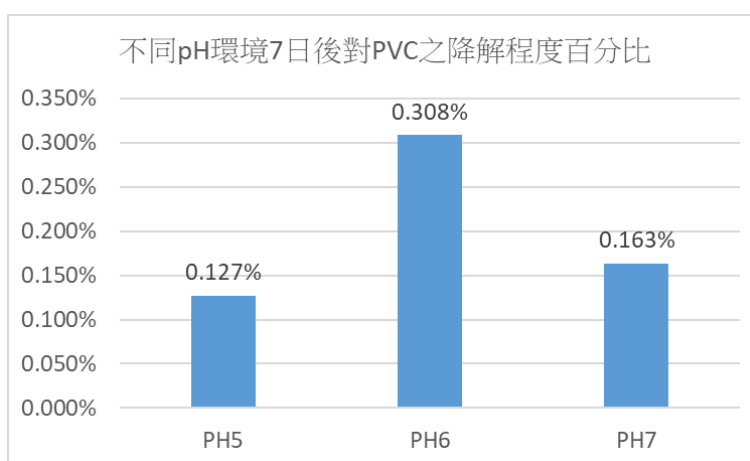
3. 對比不同 pH 值對菌種降解 PVC 能力之影響，共分為三組，分別為 pH 值=5、6、7，而結果顯示 pH=6 的降解 PVC 的能力最佳。



4. 此圖為使用 Image J 程式對比螢光面積數據擷取，對比 7 天後，pH=6 的螢光面積減少最多，推斷 pH=6 的環境菌種降解 PVC 能力最好。

第1天	Area	Mean	StdDev	IntDen	%Area	RawIntDen	MinThr	MaxThr
PH5	11740	246.718	8.382	2896469	5.798	2896469	220	255
PH6	10212	247.189	8.027	2524289	5.043	2524289	220	255
PH7	11640	247.219	8.098	2877631	5.748	2877631	220	255
第7天	Area	Mean	StdDev	IntDen	%Area	RawIntDen	MinThr	MaxThr
PH5	12052	246.405	8.733	2969670	5.952	2969670	220	255
PH6	11007	246.427	8.788	2712419	5.436	2712419	220	255
PH7	12618	246.816	8.377	3114322	6.231	3114322	220	255

	PH5	PH6	PH7
第1天	246.718	247.189	247.219
第7天	246.405	246.427	246.816
差值	0.313	0.762	0.403
百分比	0.127%	0.308%	0.163%



陸、討論

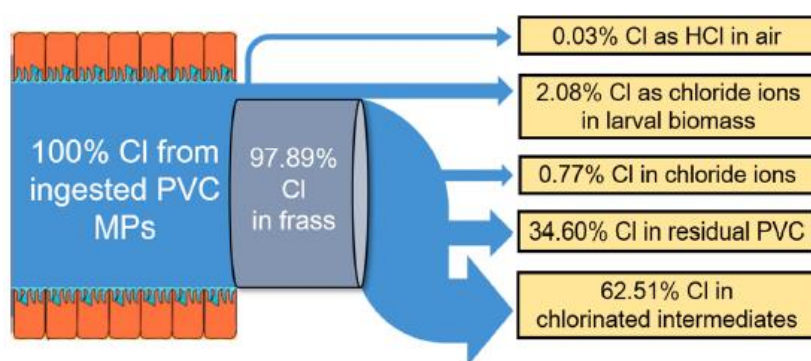
【實驗一】飼養麵包蟲及蠟蟲的過程、方式

1. 在一開始飼養時，麵包蟲-PVC 組是最活躍的，但隨著時間牠們會慢慢的減少活動量，我們推測可能是因為牠們雖然可以從 PVC 中獲得能量，但比起麥片組和麥片+PVC 組，得到的能量會少許多。
2. 飼養麵包蟲時我們發現，麵包蟲會出現側翻的現象，出現這種狀況通常是兩種原因，一種是生病了，可能會伴隨腹部尾部變黑，另一種則是要結蛹，除此之外，麵包蟲死亡的姿勢也是側翻。
3. 我們觀察到蠟蟲、麵包蟲的 PVC 組會出現較多身體異常的成蟲，而 PVC+麥片組異常成蟲的數量雖然少於 PVC 組，但相較於麥片組還是比較多，成蟲身體異常例如：翅膀發育不完全或畸形等等，因此我們推測可能是因為長時間吃 PVC 對身體產生一定的影響，只是在幼蟲時期沒有顯現。此種現象與之前的觀察，麵包蟲食用保麗龍的成蟲發育異常相似(劉等，2006 年)。
4. 實驗中麵包蟲或蠟蟲餵食 PVC 組，不論是存活率，結蛹率都不是最低的，此點與之前的研究結果 PVC 組最低的情形有些落差(Peng et al., 2020)，也有可能是不同品種的麵包蟲，或是添加的穀物飼料營養成分不同所導致。

【實驗二】糞便的檢測

1. 在做麵包蟲和蠟蟲糞便的檢測時遇到一點困難，麵包蟲 PVC 組的糞便和 PVC 粉不好分辨，因為麵包蟲吃了染過尼羅紅的 PVC 粉後的糞便也是粉色的，且兩者的大小相似，不好區別。而蠟蟲則是因為牠們會吐絲將自己裹起來，在這之間也會將食物和糞便與自己一起包進繭裡面。解決方法則是將餵食幾天後的麵包蟲另外放置，讓其的糞便不會和 PVC 粉混淆，而蠟蟲則是將其繭撥開，實驗時直接用絲當作樣品，因為絲上會留有蠟蟲的糞便。
2. 透過層析，我們無法確定是否有其他有機小分子出現，只能知道糞便中仍然含有 PVC，因此需用尋找其他方法檢測，例如培養腸胃道細菌等(曾，2009 年)，有待進一步的分析。
3. 使用碘燻色，對比燻色後每組色塊的分部，發現每組都有相近高度的色塊，而 TLC 片上有等高的訊號代表有相同的物質，由此可對比四組是否有相同的物質。有餵食麥片的兩組(O、PO)有等高物質，推測其為麥片代謝後的產物，可能是纖維素。有餵食

PVC 的兩組(P、PO)和純 PVC 粉有等高物質，表示(P、PO)組的糞便中含有 PVC 成份，雖然確定有 PVC，但無法確定 PVC 是否有被降解，所以做了下一項實驗，探討 PVC 是否可以在腸胃道中被降解，我們直接觀察腸道菌是否降解 PVC。



(Peng et al., 2020)

【實驗三】腸胃道菌種培養

- 1.取三組的麵包蟲來養菌，發現麥片組、PVC 組、PVC+麥片組，都有橘紅色的菌種，但是以 PVC 組、PVC+麥片組中的橘紅色菌的數量佔有較高比例。而兩組中，又以 PVC 組的橘紅色菌最多，推測可能是可以降解塑膠的紅菌（曾依晴，2009）。
- 2.除了紅菌以外，也有其他不一樣顏色的菌落，由革蘭氏染色實驗，對比麥片組和 PVC 組腸道菌，染色後格蘭氏陽性陰性菌皆有，表示麵包蟲腸道裡含有多種的菌種需要純化，且可看出 PVC 組有些呈長條形的桿菌，與麥片組的形狀有明顯差異。至於有哪些菌種能夠分解 PVC 則需要進一步的基因鑑定與生化分析。另外，蠟蟲的腸道菌生長緩慢且菌種種類比麵包蟲更加豐富，後續可作進一步的探討。
- 4.塗菌全程在無菌操作檯中操作，且每用完一組，都會進行酒精消毒，避免在過程中加入許多雜菌或混到他組菌種。塗菌完後放入盒中密封模擬缺氧環境，同時也避免空氣中雜菌進入。

【實驗四、五】腸胃道菌種降解 PVC 實驗

1. 實驗中所用的 PVC 粉已經過高溫殺菌處理，避免雜菌加入。鑲入時大致取相同位置進行。利用 Image J 分析，發現 PVC 組降解的效果最好，推測原因為 PVC 組的蟲食用 PVC 後，腸胃道中可降解 PVC 的菌種被活化，以至於 PVC 組腸胃道的菌種已經適應了有 PVC 的環境，在腸胃道中降解效果應為最佳。
2. 我們推測腸胃道裡菌種的活性可能會受 pH 值影響。結果顯示腸道菌在 pH=6 的環境下降解 PVC 的能力最佳，與麵包蟲腸道 pH 值相同。而對比圖表可發現，pH=7 的環境比 pH=5 的環境降解效果較佳，推測此菌喜歡在中性偏弱酸的環境下生長。

柒、結論

1. 麵包蟲和蠟蟲皆可食用 PVC 粉，由蠟蟲的重量對比，我們發現 PVC 組和 PVC+麥片組的情況相似，雖然從牠們的糞便中可以確定有進食，但體重卻沒有增加，反而減少，而麥片組則是體重有逐漸增加。雖然 PVC 組和 PVC+麥片組有體重下降的情形，但仍可繼續生長，甚至對個體耐受性較強的幼蟲來說，影響不大，推測牠們可能可以從 PVC 中獲得能量繼續生長。但食用 PVC 除了可以獲得能量，也可能得到毒素或其他物質導致成蟲異常。
2. 麵包蟲和蠟蟲糞便中仍然含有 PVC 成分，如何使 PVC 轉為小分子且可被大自然吸收，達到環保的意圖，有待探討。在應用方面，我們希望能夠萃取出麵包蟲和蠟蟲腸胃道中可以消化塑膠的菌種，並加以培養和量產，製作出可以降解塑膠的物質，以替代對環境有害的消除塑膠方法，如燃燒塑膠、掩埋塑膠。在後續研究方面，我們有下列幾種想法:(1)麵包蟲、蠟蟲如何消化 PVC (2)麵包蟲、蠟蟲消化 PVC 後會轉變成什麼物質(3)如何提升腸道菌降解 PVC 的能力(4)利用基因鑑定方式確定能降解 PVC 的菌為何種菌。
3. 麵包蟲腸胃道中的菌種有能力降解 PVC。其中，PVC 組的降解能力優於其他兩組，我們推測原因為 PVC 組的蟲食用 PVC 後，腸胃道中可降解 PVC 的菌種被活化，以至於 PVC 組腸胃道此類菌種最豐富，因此降解效果最強，且此菌種在 pH=6 的環境降解 PVC 能力較 pH=7 或 pH=5 最佳。另外，蠟蟲腸胃道中呈弱鹼性的菌種是否也能有效降解 PVC，後續我們會進行相關實驗。

捌、參考資料

1. 貢毅紳，昆蟲學，國立中興大學農學院出版委員會，p.541~604，1992年修訂版。
2. 劉家慧、林芸君、李智鈞、董怡芳，活體垃圾車，中華民國第四十六屆中小學科學展覽會，高中組(生命科學)科，編號040718，共13頁，2006年。
3. 曾依晴，從麵包蟲體內分離出可分解保麗龍之菌種，2009年台灣國際科學展覽會優勝作品專輯，編號070006，共47頁。
4. Peng, Bo-Yu et al. (2020) Biodegradation of Polyvinyl Chloride (PVC) in *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) larvae. *Environment International* 145: 106106.
5. 張煥宗等。(2022年2月再版)。高中化學(全)。臺北市：龍騰文化事業股份有限公司
6. Nile red。(2023, June 7)。Wikipedia。取自：
https://en.wikipedia.org/wiki/Nile_red
7. 葉名倉等(民111年12月初版二刷)。高中化學(V)。臺南市：南一書局
8. 革蘭氏染色法。(2022, February 13)。維基百科。取自：
<https://zh.wikipedia.org/zh-tw/%E9%9D%A9%E8%98%AD%E6%B0%8F%E6%9F%93%E8%89%B2>
9. 革蘭氏染色。(2010年9月13日)。衛生福利部食品藥物管理署。2010年9月6日，
取自：<https://www.fda.gov.tw/tc/siteListContent.aspx?sid=1955&id=3316>

玖、附件

【實驗一】分三組飼養蠟蟲的觀察

1. 三組蠟蟲的存活數比較

蠟蟲	3/6	3/8	3/9	3/10	3/11	3/13	3/14	3/15
麥片組	95%	90%	80%	75%	75%	75%	75%	75%
PVC+麥片組	80%	80%	80%	70%	65%	60%	60%	55%
PVC組	85%	80%	80%	75%	75%	70%	70%	70%

2. 蠟蟲出現蛹的三組比較

蠟蟲	3/6	3/8	3/9	3/10	3/11	3/13	3/14	3/15
麥片組	25%	35%	45%	50%	60%	65%	70%	75%
PVC+麥片組	5%	10%	10%	15%	30%	40%	45%	45%
PVC組	25%	30%	35%	35%	35%	55%	65%	70%

3. 蠟蟲出現成蟲的三組比較

蠟蟲	3/18	3/20	3/22	3/24
麥片組	15%	20%	30%	40%
PVC+麥片組	5%	5%	15%	25%
PVC組	5%	15%	20%	30%

4. 蠟蟲幼蟲的三組平均重量比較

蠟蟲幼蟲(g)	3/6	3/8	3/9	3/10	3/11	3/13	3/14
麥片組重量	0.15	0.16	0.16	0.18	0.18	0.19	0.2
PVC+麥片組重量	0.19	0.17	0.16	0.16	0.16	0.15	0.13
PVC組重量	0.2	0.18	0.18	0.17	0.16	0.16	0.15

【實驗二】分三組飼養麵包蟲的觀察

1. 麵包蟲存活率

麵包蟲	10/21	10/25	10/28	10/31	11/03	11/09	11/15	11/22	12/03
麥片組	100%	100%	90%	80%	70%	50%	50%	50%	10%
PVC+麥片組	70%	70%	70%	60%	60%	50%	40%	20%	20%
PVC組	90%	80%	80%	60%	60%	40%	30%	30%	30%

2. 麵包蟲結蛹率

麵包蟲	10/21	10/25	10/28	10/31	11/03
麥片組	30%	40%	60%	80%	90%
PVC+麥片組	10%	30%	40%	60%	70%
PVC組	30%	50%	50%	60%	60%

3. 麵包蟲成蟲率

麵包蟲	10/21	10/25	10/28	10/31	11/03
麥片組	0%	30%	30%	40%	70%
PVC+麥片組	0%	0%	20%	50%	60%
PVC組	10%	10%	30%	50%	70%

4. 麵包蟲幼蟲平均重量

	第一天	第二天	第三天	第四天	第五天	第六天
麥片	0.10g	0.11g	0.11g	0.11g	0.12g	0.12g
PVC+麥片	0.10g	0.10g	0.11g	0.11g	0.12g	0.12g
PVC	0.10g	0.11g	0.10g	0.07g	0.09g	0.08g

5. 麵包蟲行為

(1) 麵包蟲每分鐘蠕動或爬行的隻數

第一天	第1分鐘	第2分鐘	第3分鐘	第4分鐘	第5分鐘
麥片	6	5	4	3	6
PVC+麥片	9	11	8	9	7
PVC	12	13	10	13	13

第二天	第1分鐘	第2分鐘	第3分鐘	第4分鐘	第5分鐘
麥片	9	8	11	8	8
PVC+麥片	11	10	10	8	9
PVC	6	8	4	2	2

第三天	第1分鐘	第2分鐘	第3分鐘	第4分鐘	第5分鐘
麥片	7	7	7	7	7
PVC+麥片	9	6	5	7	8
PVC	6	4	5	6	6

第四天	第1分鐘	第2分鐘	第3分鐘	第4分鐘	第5分鐘
麥片	5	4	5	2	3
PVC+麥片	3	6	8	10	7
PVC	4	2	4	6	4

第五天	第1分鐘	第2分鐘	第3分鐘	第4分鐘	第5分鐘
麥片	8	8	7	6	6
PVC+麥片	8	7	8	9	6
PVC	8	5	6	6	6

(2)晃動時，麵包蟲蠕動或爬行隻數

第一天	爬動隻數
麥片	18
PVC+麥片	16
PVC	20

第二天	爬動隻數
麥片	17
PVC+麥片	17
PVC	6

第三天	爬動隻數
麥片	10
PVC+麥片	16
PVC	8

第四天	爬動隻數
麥片	12
PVC+麥片	15
PVC	8

第五天	爬動隻數
麥片	11
PVC+麥片	14
PVC	6

【評語】 052005

研究麵包蟲和蠟蟲食用聚氯乙炔(PVC) 後的成長，進行麵包蟲和蠟蟲腸道內菌種的培養實驗，尋找能夠降解 PVC 的菌種：

1. 研究結果顯示 PVC 組的糞便含有 PVC 訊號，但無法確定 PVC 是否被有效分解。為了更確定地證明 PVC 的降解，需要使用更精確的分析方法和技術來檢測 PVC 的分解程度。菌種降解 PVC 的百分比在不同組別皆在 0.5%以下，差別太小，降解能力需再加以證明及量化，控制組的實驗也宜一併考慮。
2. 菌種培養實驗是為了找到能夠降解 PVC 的菌種和最適合的 pH 值環境。然而，該實驗中僅使用了廣泛使用的指示劑來測量蟲腸道的 pH 值，而未考慮其他可能影響菌種生長和 PVC 降解的因素。
3. 實驗應該參考之前的已經發表的報告，過往類似研究已經有鑑定出菌種，宜比較是否有新的發現。
4. 實驗記錄本應再詳實記錄。

作品海報

為了研究麵包蟲和蠟蟲食用聚氯乙烯 (PVC) 後的成長，我們將麵包蟲和蠟蟲各分成食用麥片、麥片加PVC及PVC三組飼養，記錄它們的存活、死亡、成蛹和成蟲數量並觀察行為，之後收集蠟蟲和麵包蟲的糞便進行層析和碘薰色實驗，並進行成分分析。結果顯示，PVC組的糞便含有PVC訊號，但無法證明PVC被分解。接著，我們進行了麵包蟲和蠟蟲腸道內菌種培養實驗，希望證明這些菌種能夠降解PVC，同時了解在哪種pH值的環境下，這些菌種能夠有效地降解PVC。為此，我們先以廣用指示劑測量兩種蟲腸道pH值並配置不同的pH值溶液，再將這些溶液配製培養基進行菌種培養。透過實驗數據的比較，我們希望找到最適合的菌種降解PVC。

壹、研究動機

現今世界塑膠廢棄物污染嚴重，成分為PVC的塑膠被譽為毒塑膠，不只因含有氯，也因其都市塑膠廢棄物中的占比名列前茅，我們從報導中得知麵包蟲和蠟蟲可以消化塑膠，且代謝完的糞便可以回歸大自然作為肥料，因此我們用這兩種蟲做了一系列實驗，探討他們是如何消化PVC，以及他們的糞便是否真的能作為肥料。

貳、研究目的

- (一)了解麵包蟲和蠟蟲餵食PVC後的行為和成長狀況。
- (二)了解麵包蟲和蠟蟲餵食PVC後，PVC是否有消化情形。
- (三)探討麵包蟲和蠟蟲腸胃道菌種是否能降解PVC。
- (四)探討麵包蟲和蠟蟲腸胃道菌種在哪種pH值環境中降解PVC的效果最好。

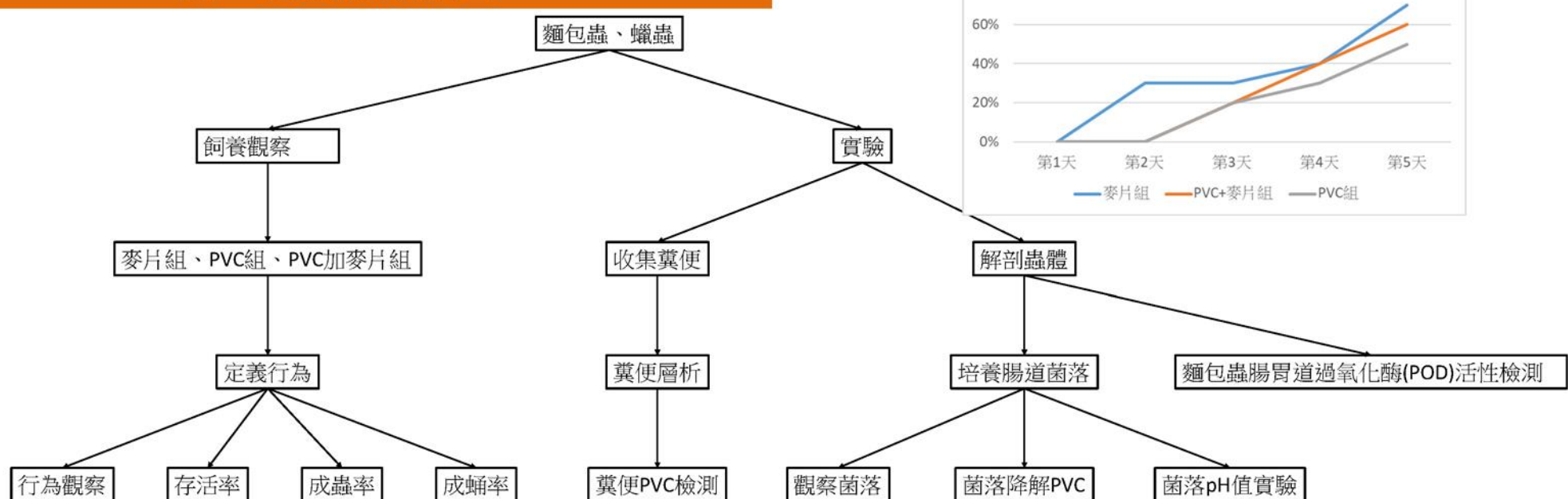
參、相關資料

- (一)麵包蟲的生活史。學名：黃粉蟲(Tenebrio molitor)；分類：屬於鞘翅目多食亞目擬步行蟲總科擬步行蟲科
 - 1.卵期：體長約 0.1-0.3cm，非常脆弱且細小，大約8~10天。
 - 2.幼蟲期：幼蟲期共會脫7次皮，約8~9天會脫皮一次，50~60天會蛻變成蛹。
 - 3.蛹期：約6~8天蛻變成成蟲。
 - 4.成蟲期：蛻變5~6天後，顏色會變深變黑，鞘翅也會變硬，存活期約為50天。
- (二)蠟蟲的生活史。學名：小蠟螟；分類：節肢動物門鱗翅目螟蛾總科螟蛾科。
 - 1.卵期：肉眼不易察覺，非常微小，約5~7天孵化。
 - 2.幼蟲期：喜歡吐絲把自己裹起來，食物夾雜在絲中，待在裡面幾乎不出來，靠蠕動前行。
 - 3.蛹期：約18~19天做繭化蛹，黃黑色，全身僵硬不動，化繭後約5~6天成蛾。
 - 4.成蟲期：有趨光性，使用口器進食，雄體成蟲體型較小，存活約20天左右。
- (三)薄層層析法：一種利用吸附層和溶劑流動分離混合物的技術。不同成分會在層上移動，形成不同的斑點，以達到分離和純化的目的。
- (四)尼羅紅是一種親脂性染料，其化學式為C₂₀H₁₈N₂O₂。尼羅紅是一種廣泛應用於生物學研究中的染料。

肆、實驗器材

- 1.儀器：數位解剖顯微鏡、數位光學顯微鏡、電子秤、分光光度計、離心機、無菌操作台、滅菌釜
- 2.材料：蠟蟲、麵包蟲、燕麥片、昆蟲箱、培養皿、滴管、萬用試紙(MERCK)、UV燈、TLC片(MERCK)、毛細管、沖埕瓶、鑷子、解剖刀、解剖針、試管、溫濕度計、保鮮膜、刀片、蓋玻片、載玻片、手套、燒杯、量瓶
- 3.藥品：丙酮、石油醚、甲苯、正己烷、松節油、冬青油、乙酸乙酯、PVC粉末、四氫呋喃、環己酮、尼羅紅、檸檬酸、檸檬酸鈉、磷酸二氫鉀、磷酸氫二甲、Agar粉、三羥甲基胺基甲烷

伍、實驗架構圖



【實驗一】分三組飼養麵包蟲及蠟蟲的方式

將均勻混合各齡的麵包蟲和蠟蟲，各分成三組，每一組放入 20隻的幼蟲於昆蟲箱中飼養，對照組餵食5克麥粉，第一實驗組餵食 PVC粉3克，第二實驗組餵食5克麥粉+3克 PVC粉，每日觀察。

【實驗二】糞便的檢測

- 1.利用 TLC 檢驗三組的麵包蟲和蠟蟲的糞便
- 2.待展開液跑到終點線時取出並晾乾，晾乾後再放入含有碘片的廣口瓶中。靜待3分鐘後取出觀察薰色狀況。
- 3.對比麥片組、麥片+PVC組、PVC組、純PVC粉是否有相同物質。

【實驗三】腸胃道菌種培養

- 1.取250ml蒸餾水加入5.5克Agar粉，充分攪拌後放入滅菌釜中高溫高壓(121°C，約1.16atm)殺菌20分鐘。
- 2.蟲先以酒精浸泡消毒，再放入無菌水中清洗，取出其腸胃道並搗碎，將腸胃道塗抹在培養基中。

【實驗四】腸胃道菌種降解PVC實驗

- 1.對比麥片組、PVC組、麥片加PVC組三組哪組腸道的菌種降解PVC的能力最強。
 - (1)在培養基中鑲入染過尼羅紅的PVC粉，培養基分成四塊(1、2、3、4區)，每一區鑲入0.1克的PVC粉。
 - (2)觀察方式是藉由藍光照射，使用輔助程式捕捉PVC粉螢光的面積及亮度，對比自身在不同天數的螢光面積及亮度，紀錄各組螢光面積及亮度減少情形，代表菌種降解PVC較佳。
- 2.對比腸道菌在不同PH值環境中降解PVC能力之影響。
 - (1)取PVC組的菌種(因由實驗四得到的結果為PVC組降解PVC的能力最佳)，對比不同pH值對菌種降解PVC能力之影響。

【實驗五】麵包蟲腸胃道過氧化酶(peroxidase, POD)活性檢測

- 1.藥品準備：(1)Potassium phosphate buffer (2)POD activity buffer
- 2.樣品準備：(1)選擇餵食燕麥、PVC 的麵包蟲。(2)擠出蟲的消化道液，測量重量並加入 1ml Potassium phosphate buffer (3)以研磨棒將樣品磨碎 (4)以 6000rpm 離心 20 分鐘後置於冰上保存
- 3.(1)分光光度計輸入設定470波長的光(2)將 2610ul POD activity buffer 加入比色管並於分光光度計中架設好，進行校正。(3)加入90ul的樣品上清液，開始分析。
- 4.數據分析：(1)用分光光度計測出愈創木酚四聚體的 $\frac{\Delta A}{\Delta t}$ 值，再配合其吸光係數 $\epsilon(26.6mM^{-1}cm^{-1})$ 與比色管長度 1 cm(光徑)，以 Beer-Lambert 定律推算出其濃度 c，再除以樣品重量可得到 POD 活性。

柒、研究結果

【實驗一】分三組飼養蠟蟲及麵包蟲的觀察

(1-1)麵包蟲飼養觀察

1.麵包蟲存活率(左下圖)

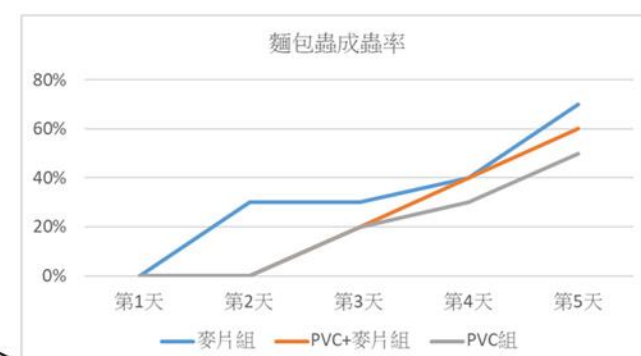
由圖可見，麵包蟲的存活率，三組的數據很相近，麥片組一開始的存活率是最高的，但後來變成最低的，反倒是 PVC組的存活率，到最後是最高的

2.麵包蟲成蛹率(右下圖)

由圖可見，結蛹率：麥片組>麥片+PVC組>PVC組，三組的折線連線非常接近，麥片+PVC組到第四天才明顯的增加。

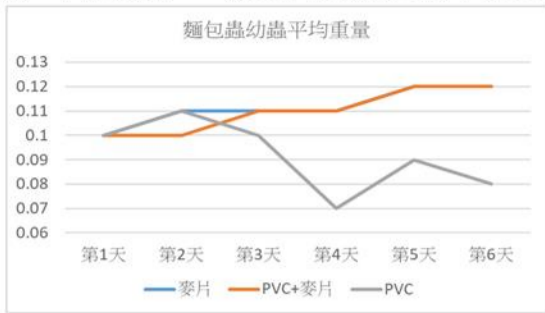
3.麵包蟲成蟲率

成蟲率：麥片組>麥片+PVC組>PVC組，前5天麥片+PVC組和PVC組的蛹都還沒蛻變成成蟲，麥片組是最先有成蟲的。



4. 麵包蟲幼蟲平均重量

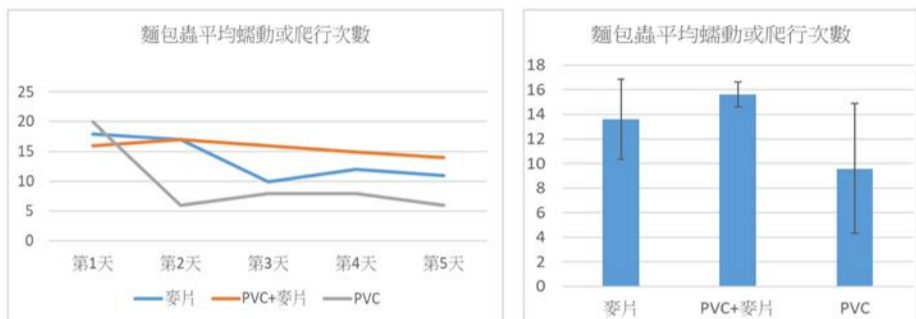
麥片組和麥片+PVC組，重量相當接近，有隨天數慢慢增加，但PVC組重量變化有時增加，有時減少，相比其他兩組較不穩定。



5. 麵包蟲行為

(1) 相較麵包蟲每分鐘蠕動或爬行的隻數，麥片組和PVC+麥片組的數據較接近，而PVC組蠕動或爬行的隻數，隨天數增加，數值明顯減少。平均又以PVC+麥片組的次數較高。

(2) 晃動時，麵包蟲蠕動或爬行隻數，麥片組的數值和麥片+PVC組的數值較接近，PVC組第一天時，移動或蠕動的隻數都大於兩者，但第二天後，數值突然降低許多，小於其他兩組。



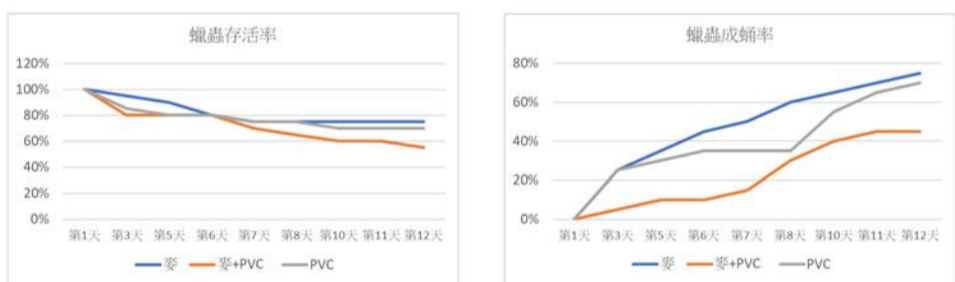
(2-2) 分三組飼養蠟蟲的觀察

1. 蠟蟲存活率(左下圖)

由圖可見，麥片組的存活率相對其他兩組較高，但PVC組的折線是最平穩的，變動幅度最小，麥片組和PVC組這兩組的存活率相當接近，反而是麥片+PVC組存活率是最低的，變動幅度相比其他兩組也是最大的，發現蠟蟲互食而導致變黑死亡的情形相比麵包蟲來得低。

2. 蠟蟲成蛹率(右下圖)

如圖可見，可知成蛹率高低：麥片組>PVC組>PVC+麥片組，麥片組和PVC組的結蛹率較接近，但麥片+PVC組的結蛹率相對其他兩組低許多，PVC組在第六天時，結蛹率突然增加許多，其他兩組的折線都是平穩上升的。

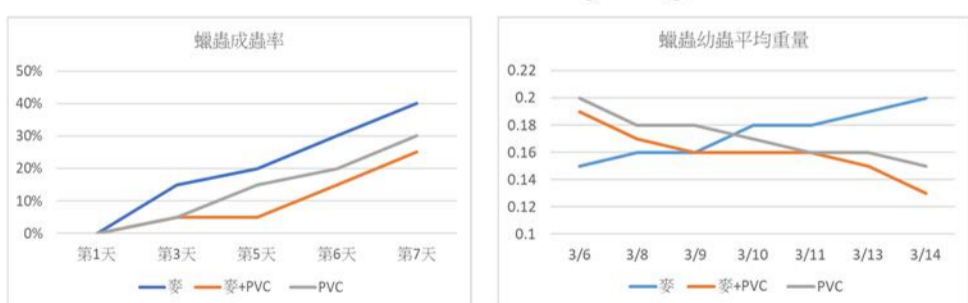


3. 蠟蟲成蟲率(左下圖)

如圖成蟲率的結果麥片組>PVC組>麥+PVC組，麥片組的成蟲率上升的幅度最大，麥片組和PVC組成蟲率都是隨著天數增加而穩定上升，麥片+PVC組在第5天才有明顯增加，在第一~三天成蛹率沒有變化。

4. 蠟蟲幼蟲平均重量(右下圖)

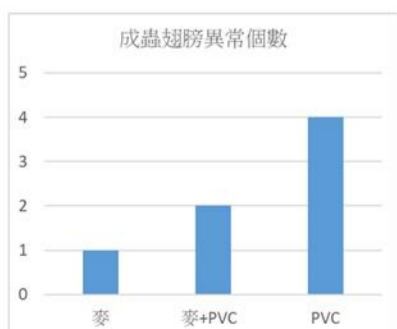
如圖麥片組的幼蟲平均重量隨著天數增加，重量也慢慢在增加；麥片+PVC組和PVC組的幼蟲平均重量反而隨著天數增加，重量卻慢慢在減少，但三組增加和減少的幅度都介於0.1g~0.2g之間，變化不大。



5. 蠟蟲行為

蠟蟲大部分時間吐絲把自己包起來，變成蛾時，通常都是不會動的，但如果搖晃容器，會飛起來想逃離容器，有些成蟲翅膀有異常，如圖為累積七天觀察成蟲翅膀異常個數總數，麥片組<PVC+麥組<PVC組。

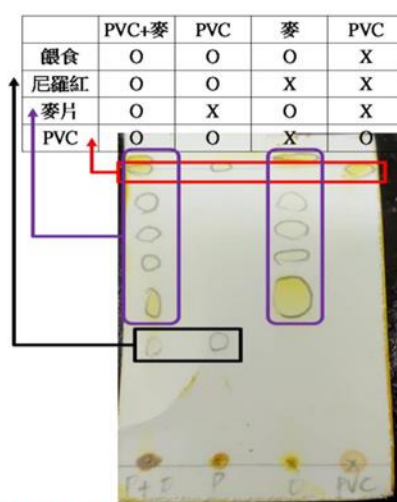
蠟蟲行為	成蟲翅膀異常個數
麥片組	1
PVC+麥片組	2
PVC組	4



【實驗二】糞便的檢測

利用碘蒸氣薰色顯現麵包蟲糞便中的物質

經過麵包蟲的消化作用，使得PVC訊號變弱了，理由可能是部分降解成其他物質，但仍保有部分PVC，須待進一步分析。



【實驗三】腸胃道菌種培養

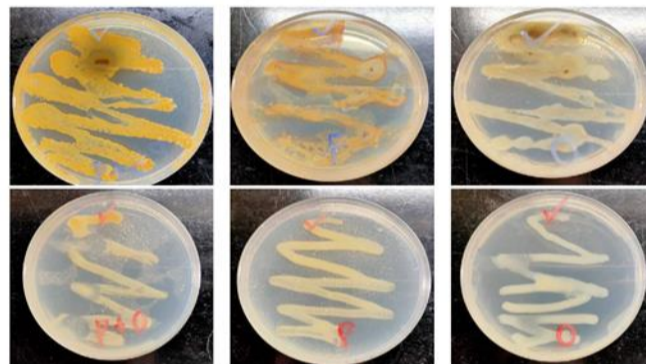
3-1 腸胃道PH值檢測

- 麵包蟲PVC組腸胃道pH值檢測，以廣用試紙測得pH值約為6，推斷其菌種適合在pH值為6的弱酸環境生長。
- 蠟蟲PVC組腸胃道pH值檢測，以廣用試紙測得的pH值約為8，與麵包蟲的pH值不同，推斷其菌種環境適合在pH值8的弱鹼環境生長。

廣用試紙	麵包蟲	蠟蟲
O	5~6	7~8
P	6~7	7~8
PO	6~7	7~8

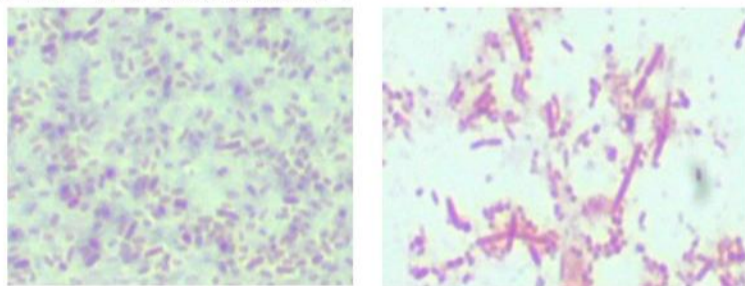
3-2 腸胃道菌種培養

- 從左到右分別為麥+PVC組、PVC組、麥片組，下排是由上排取樣再培養的菌種，養出的菌為深黃色和白色，我們想透過養菌更好直接觀察腸胃道中的菌種是否能降解PVC，之後做再純化菌種。



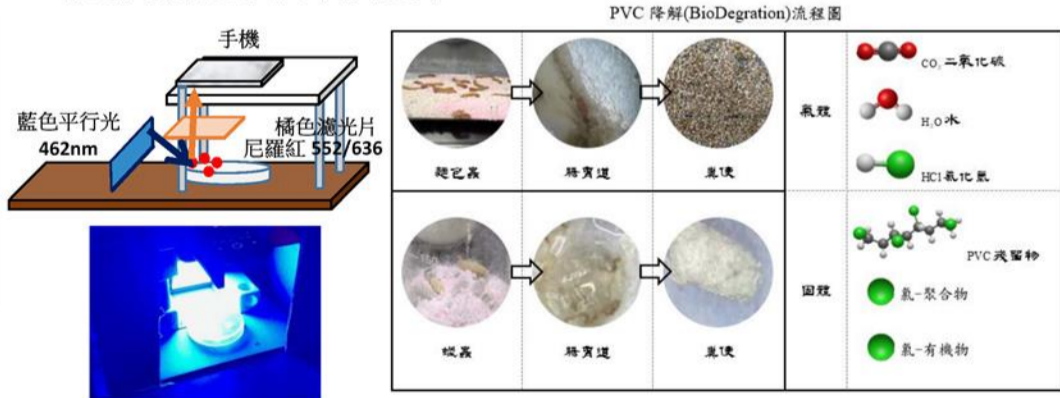
3-3 革蘭氏染色法對比麥片組菌種和PVC組菌種

- 取一些培養基培養的菌落，以革蘭氏染色法染色後用顯微鏡觀察(1000倍)，左為麥片組、右為PVC組，兩組菌種組成陽性菌(紫色)、陰性菌(粉色)皆有出現，但型態有明顯差異。



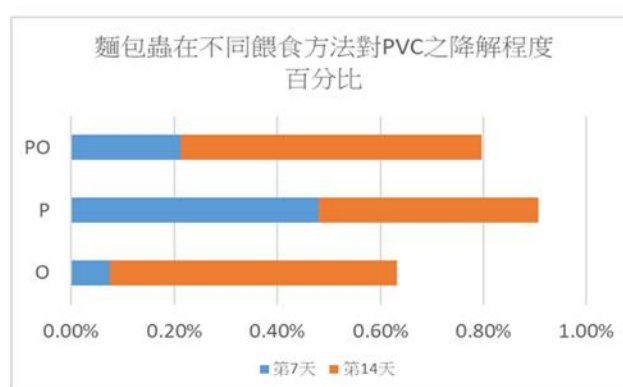
【實驗四】腸胃道菌種降解PVC實驗

我們將PVC鑲入培養基中，再觀察腸胃道中的培養菌種是否能降解PVC，利用藍光照射，使用輔助程式捕捉PVC粉螢光的面積及亮度，對比自身不同天數的螢光面積及亮度。



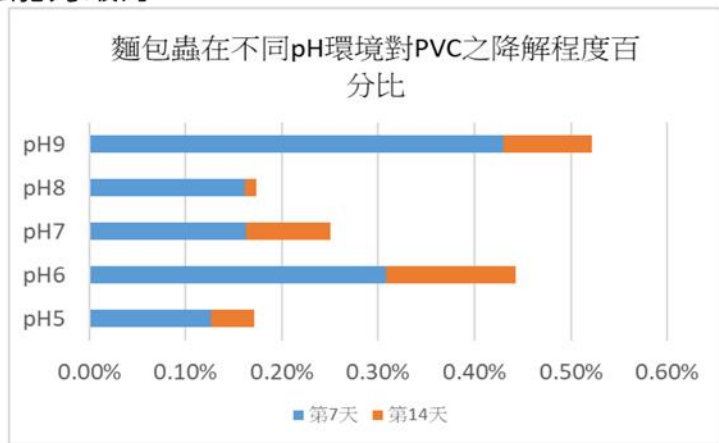
4-1 麵包蟲(P、P+O、O)

- 下圖為使用Image J程式對比螢光平均亮度數據擷取做成的圖表，對比7天與14天後的情形，PVC組的數值減少最多，推斷PVC組的腸胃道中菌種降解PVC的能力最佳。



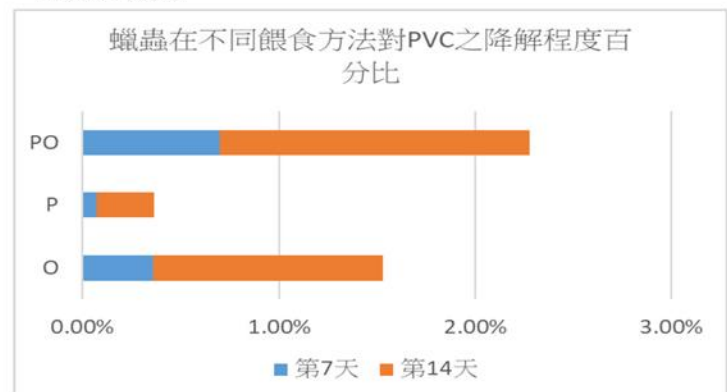
4-2 麵包蟲 (PH5、6、7、8、9)

1. 下圖為使用Image J程式對比螢光平均亮度數據擷取做成的圖表，對比7天與14天後的情形，發現pH=9與pH=6的數值減少最多，推斷pH=9與pH=6的環境菌種降解PVC能力最好。



4-3 蠟蟲 (P、P+O、O)

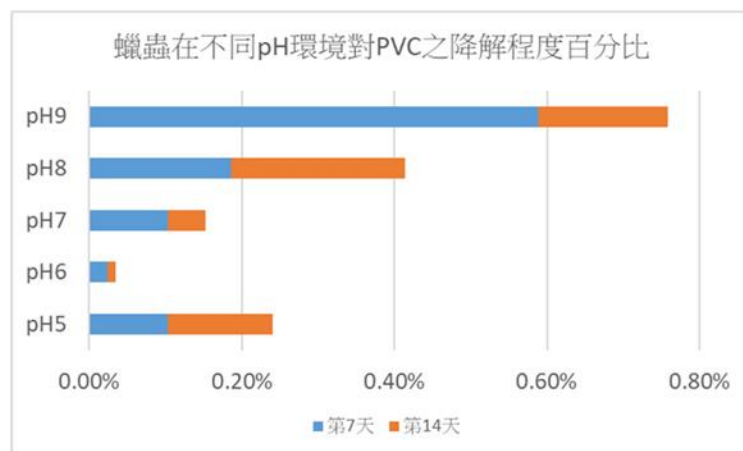
1. 下圖為使用Image J程式對比螢光平均亮度數據擷取做成的圖表，對比7天與14天後的情形，PVC+麥片組的數值減少最多，推斷PVC+麥片組的腸胃道中菌種降解PVC的能力最佳。



	N=1	N=2	N=3	平均	標準差	單位
燕麥	0.953	0.446	0.840	0.746	0.188	nmole/min.mg
PVC	1.256	2.929	2.914	2.366	0.680	nmole/min.mg

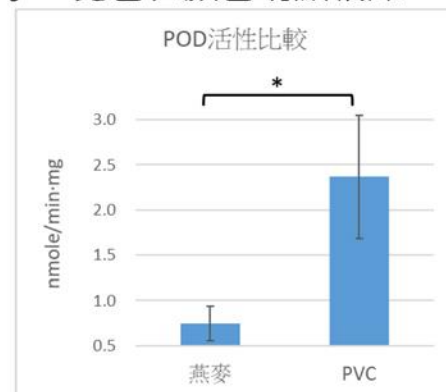
4-4 蠟蟲 (PH5、6、7、8、9)

1. 下圖為使用Image J程式對比螢光平均亮度數據擷取做成的圖表，對比7天與14天後的情形，發現pH=9的數值減少最多，推斷pH=9的環境菌種降解PVC能力最好。



【實驗五】麵包蟲腸胃道過氧化酶POD活性檢測

1. 餵食PVC的實驗組，蟲體腸胃道的活性大於餵食燕麥組
2. 餵食燕麥的對照組蟲體較大，進行分光光度計檢測，有四次測到負值數據無法使用，且比色管顏色變化不明顯。
3. 餵食PVC的實驗組蟲體較小，比色管顏色明顯較深。



捌、討論

【實驗一】飼養麵包蟲及蠟蟲的過程、方式

1. 麵包蟲的PVC組，隨著時間牠們會慢慢的減少活動量卻沒有死亡，推測是因為牠們可以從PVC中獲得能量。
2. 我們觀察到蠟蟲、麵包蟲的PVC組會出現較多身體異常的成蟲，推測長時間吃PVC對身體產生負面的影響。
3. 實驗中麵包蟲或蠟蟲餵食PVC組，不論是存活率，結蛹率都不是最低的，此點與之前的研究結果PVC組最低的情形有些落差 (Peng et al., 2020)，也有可能是不同品種的麵包蟲，或是添加的飼料營養成分不同所導致。

【實驗二】糞便的檢測

1. 透過層析，我們無法確定是否有其他有機小分子出現，只能知道糞便中仍然含有PVC，因此需用尋找其他方法檢測，例如培養腸胃道細菌等 (曾依晴，2009年)，有待進一步的分析。
2. 使用碘薰色。有餵食麥片的兩組 (O、PO) 有等高物質，推測其為麥片代謝後的產物，可能是纖維素。有餵食PVC的兩組 (P、PO) 和純PVC粉有等高物質，表示 (P、PO) 組的糞便中含有PVC成份，雖然確定有PVC，但無法確定PVC是否有被降解。

【實驗三】腸胃道菌種培養

1. 取三組的麵包蟲來養菌，發現麥片組、PVC組、PVC+麥片組，都有橘紅色的菌種，但是以PVC組、PVC+麥片組中的橘紅色菌的數量佔有較高比例。而兩組中，又以PVC組的橘紅色菌最多，推測可能是可以降解塑膠的紅菌 (曾依晴，2009)。
2. 除了紅菌以外，也有其他不一樣顏色的菌落，由革蘭氏染色實驗，對比麥片組和PVC組腸道菌，染色後格蘭氏陽性與陰性菌皆有，表示麵包蟲腸道裡含有多種的菌種需要純化，且可看出PVC組有些呈長條形的桿菌，與麥片組的形狀有明顯差異。至於有哪些菌種能夠分解PVC則需要進一步的基因鑑定菌種與生化分析。

【實驗四】腸胃道菌種降解PVC實驗

1. 麵包蟲:
 - (1) 利用Image J分析，發現PVC組降解的效果最好，推測原因為PVC組的蟲食用PVC後，腸胃道中可降解PVC的菌種被活化，以至於PVC組腸胃道的菌種已經適應了有PVC的環境，在腸胃道中降解效果應為最佳。
 - (2) 我們推測腸胃道裡菌種的活性可能會受pH值影響。結果顯示腸道菌在pH=6、9的環境下降解PVC的能力最佳，而麵包蟲的腸胃道PH值約為5~6。由結果來看，麵包蟲腸道菌在弱酸性和弱鹼性的環境中生長佳，降解PVC能力最明顯。
2. 蠟蟲:
 - (1) 利用Image J分析，發現PVC組的降解能力最差，推斷蠟蟲對PVC的適應性沒有麵包蟲強，可能蠟蟲吐絲之後並未進食。然而P+O組有餵食燕麥加PVC，食用後消化道適應有PVC的環境，所以降解效果最佳。
 - (2) 蠟蟲腸胃道菌在PH9的環境中降解PVC能力最佳，而蠟蟲腸胃道的PH值約為7~8，屬偏鹼性的環境。由結果來看，菌在pH9降解能力最為明顯，因此可看出蠟蟲腸胃道菌在弱鹼性的環境中生長最佳。

【實驗五】麵包蟲腸胃道過氧化酶 (POD) 活性檢測

1. 由實驗結果可看出PVC組的POD濃度較麥片組高。此實驗由生理方面來觀察食用PVC後對蟲的影響，推測牠們食用PVC後使身體產生較多活性氧，因此製造更多的POD來抗氧化。

玖、結論

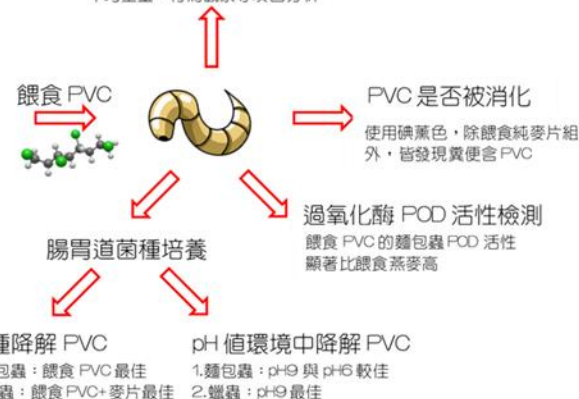
1. 我們推測蟲體可以從PVC中獲得能量。糞便中仍然含有PVC，可知蟲無法將全部的PVC消化掉。我們做了腸胃道菌種培養，先是探討P、PO、O三組哪組的腸胃道菌降解最好，結果麵包蟲的是PVC組最好，蠟蟲的是P+O組最好。再來用不同pH值環境來探討菌種在哪個環境降解PVC能力最佳，發現在pH=6、9的環境下降解PVC的能力最佳。最後我們做POD檢測，以生理層面來看蟲如何應對食用PVC後產生的負面影響，結果麵包蟲食用PVC後會使POD顯著增加。
2. 在應用方面，我們希望能夠萃取出麵包蟲和蠟蟲腸胃道中可以消化塑膠的菌種，並加以培養和量產，製作出可以降解塑膠的物質，以替代對環境有害的消除塑膠方法，如燃燒塑膠、掩埋塑膠。在後續研究方面，我們有下列幾種想法:
 - (1) 如何提升腸道菌降解PVC的能力
 - (2) 利用基因鑑定方式確定能降解PVC的菌為何種菌。

拾、參考文獻

1. 貢毅紳，昆蟲學，國立中興大學農學院出版委員會，p.541~604，1992年修訂版。
2. 劉家慧、林芸君、李智鈞、董怡芳，活體垃圾車，中華民國第四十六屆中小學科學展覽會，高中組(生命科學)科，編號040718，共13頁，2006年。
3. 曾依晴，從麵包蟲體內分離出可分解保麗龍之菌種，2009年台灣國際科學展覽會優勝作品專輯，編號070006，共47頁。

餵食PVC後的行為和成長狀況

存活率、成蛹率、成蟲率、幼蟲平均重量、行為觀察等項目分析



4. Peng, Bo-Yu et al. (2020) Biodegradation of Polyvinyl Chloride (PVC) in *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) larvae. [Environment International](https://doi.org/10.1080/10497315.2020.1811066) 145: 106106.
5. 張煥宗等。(2022年2月再版)。高中化學(全)。臺北市：龍騰文化事業股份有限公司
6. Nile red. (2023, June 7)。Wikipedia。取自：https://en.wikipedia.org/wiki/Nile_red
7. 葉名倉等(民111年12月初版二刷)。高中化學(V)。臺南市：南一書局
8. 革蘭氏染色法。(2022, February 13)。維基百科。取自：<https://zh.wikipedia.org/zh-tw/%E9%9D%A9%E8%98%AD%E6%B0%8F%E6%9F%93%E8%89%B2>
9. 革蘭氏染色。(2010年9月13日)。衛生福利部食品藥物管理署。2010年9月6日。取自：<https://www.fda.gov.tw/tc/siteListContent.aspx?sid=1955&id=3316>
10. 謝依軒、吳仔觀，利用麵包蟲腸道降解聚丙烯並探討其優化策略，2022年台灣國際科學展覽會優勝作品專輯，編號070002，共29頁。