

中華民國第 65 屆中小學科學展覽會

作品說明書

國中組 生活與應用科學科(二)

第二名

032902

「塑」戰「菌」決——探討小蠟蟲腸道菌對塑膠
微粒的吸附及降解情形

學校名稱： 南投縣立北梅國民中學

作者：	指導老師：
國二 高芸安	許碧蕙
國二 林秉妍	賴佳麟
國二 林秉陞	

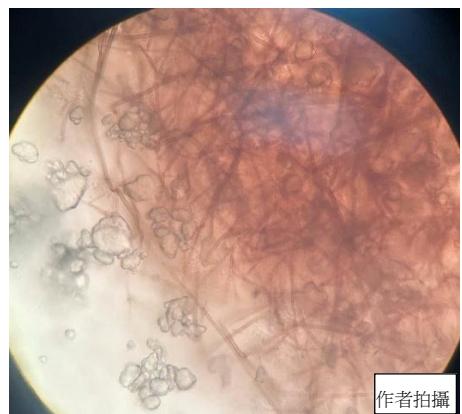
關鍵詞： 小蠟蟲、塑膠微粒、吸附降解

摘要

本研究探討小蠟蟲 (*Achroia grisella*) 腸道共生菌對塑膠微粒的吸附與降解潛力，成功分離出 30 株可穩定培養菌株，並針對常見塑膠 (PET、PP、PE、PLA) 進行吸附與降解分析。結果顯示，菌 2 與菌 5 能有效吸附 PE 與 PLA 微粒，其中菌 5 在 PLA 條件下展現快速酸化與 CO_2 釋放現象，顯示具備生物降解能力。進一步證實其在無碳源條件下仍能附著塑膠表面，顯示其可將塑膠作為潛在碳源。此外，菌株處理後之 PE 微粒對水蚤毒性下降，心跳與存活率回升，推測與毒性添加劑去除有關。本研究亦觀察到菌體對塑膠表面具專一性吸附，對金屬顆粒無附著現象。綜合實驗結果，菌株 5 具高穩定性、廣效吸附與降解潛力，未來可應用於塑膠污染治理與生物回收領域。



實驗過程塑膠微粒被吸附情形



顯微鏡下菌 5 吸附塑膠微粒情形

壹、前言

一、研究動機

塑膠對人類生活造成危害早已不容忽視，尤其在環境層面上，其帶來的污染問題日益嚴重。許多塑膠製品難以在自然環境中降解，長期累積對海洋生物、野生動植物及整體生態系統構成威脅。林慧珍等人（2021）調查台灣西部海岸沙灘發現，微塑膠已成為常見污染物，這些細小顆粒不僅容易被生物體誤食，還可能引發一系列不良反應。高子涵與洪湘婷（2022）從生態毒理角度指出，塑膠微粒會累積於水生生物體內，造成發育異常、免疫抑制與繁殖障礙甚至可能導致細胞組織損傷、纖維化或癌變。此外，塑膠中的化學添加劑亦對人類及動物健康構成全球性威脅，部分物質具有致癌性，或會干擾荷爾蒙，進而影響生長、繁殖與認知功能（Darbre，2020）。

研究顯示，人體大腦內竟可能殘留多達一湯匙量的塑膠微粒（陳育晟，2025），這樣的發現令人震驚，也促使我們更積極尋求解決塑膠污染問題的途徑，特別是針對塑膠微粒的清除方式。目前常見的方法包括物理過濾、化學處理與生物途徑三大類。物理過濾雖效率較高，但能源消耗大、成本高昂；化學處理則可能產生二次污染。相較之下，生物途徑如生物降解與吸附方式，逐漸成為研究的熱門方向。

在眾多研究中，有一項來自 Federica Bertocchini 的意外發現引起了我們的興趣。2017 年她在自家後院清理蜂巢時，將寄生其中的蠟蛾幼蟲 (*Galleria mellonella*) 放入一個舊塑膠袋內，一小時後竟發現袋子出現許多小孔。這一現象讓她推測這些幼蟲可能具備降解塑膠的能力。雖然她本身並非昆蟲學家，卻意識到這項發現的潛力，進而開啟了相關研究。

這項報導激發了我們的好奇心，讓我們決定深入探索蠟蛾幼蟲的腸道菌是否也具有降解塑膠微粒的能力。研究初期，我們觀察了蠟蟲的生活習性，發現其嗜食蜂蠟的行為。實驗中，我們選用以玉米、小麥等澱粉製成的 PLA（聚乳酸）塑膠微粒作為研究材料，因為 PLA 雖具生物可降解性，卻需在特定溫濕條件下才會降解，因此實際回收與處理仍面臨困難。

在前期實驗中，我們測試了不同蠟蟲腸道菌對 PLA 微粒的降解情況。令人驚訝的是，原本混濁的 PLA 塑膠微粒溶液在三天內變得清澈透明，七天後試管底部出現沉澱物。進一步以顯微鏡觀察這些沉澱物，可見菌絲吸附著塑膠微粒，這項現象引導我們思考調整研究方向。

我們篩選 30 種蠟蟲腸道中外觀與顏色各異的菌株，透過 PLA 微粒溶液進行吸附能力測試，最終挑選出 8 種吸附效果較佳的菌株。同時，我們亦納入黑水蛇腸道菌及其他菌株作為對照組，以提升實驗的全面性。此外，我們擴大實驗材料，涵蓋生活中常見的塑膠微粒（如 PET、PP、PE），深入探討這些菌株對不同類型塑膠的吸附與降解潛力。進一步地，我們以水

蚤作為生物指標，評估各菌株在降低塑膠毒性的成效及處理後的塑膠微粒對其活性影響，。透過這一系列實驗，我們期望找出具潛力的菌株，為減緩塑膠污染提供生物解決方案。

二、研究目的與架構

- (一)觀察小蠟蟲生態及篩選小蠟蟲腸道菌株。
- (二)探討小蠟蟲腸道菌對聚乳酸（PLA）塑膠微粒的吸附情形。
- (三)比較不同菌株對四種塑膠微粒（PET、PP、PE、PLA）之吸附效能。
- (四)探討不同菌株對兩種塑膠微粒（PE、PLA）的降解作用。
- (五)了解不同菌株對兩種塑膠微粒（PE、PLA）的專一性情形。
- (六)評估不同菌株吸附塑膠微粒後，對水蚤存活與活性所產生的影響。

「塑」戰「菌」決——探討小蠟蟲腸道菌對塑膠微粒的吸附及降解情形

【研究一】觀察小蠟蟲生態及篩選小蠟蟲腸道菌株

蠟蟲生活史 篩選腸道菌

【研究二】探討小蠟蟲腸道菌對聚乳酸（PLA）塑膠微粒的吸附情形

乳化 PLA 吸附實驗 確認實驗菌

【研究三】比較不同菌株對四種塑膠微粒（PET、PP、PE、PLA）之吸附效能

有碳源實驗 無碳源實驗 比較差異

【研究四】探討不同菌株對兩種塑膠微粒（PE、PLA）的降解作用

CO₂ 檢測(BTB、石灰水) 前後重量變化

【研究五】了解不同菌株對兩種塑膠微粒（PE、PLA）的專一性情形

菌株+金屬粉末+塑膠微粒 菌株+金屬粉末

【研究六】不同真菌吸附塑膠微粒對水蚤存活與活性所產生的影響

作者繪製

水蚤心跳

水蚤存活

貳、研究設備及器材

一、實驗生物

1.小蠟蟲：由鄰近蜂農提供，採集自廢棄蜂箱中。

2.水蚤：取自校園生態池，作為生物指標物種使用。

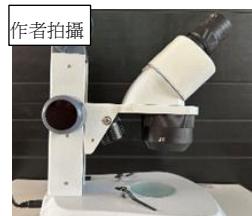


二、實驗設備及器材

		
壓力鍋	無菌操作台	恆溫培養箱
		
高速離心機	分光光度計	微量吸管

(一) 觀察小蠟蟲並採集腸道菌

- 觀察生長過程：透明塑膠盒、蜂蠟、手機。
- 採集腸道菌：小蠟蟲、解剖刀、鑷子、自製 PLA 培養基、離心管、高速離心機。



(二) 篩選小蠟蟲腸道菌

- 自製 PLA 培養基：1% (g/L) PLA 塑膠微粒、Agar、培養皿。 圖 2-1：解剖顯微鏡
- 篩選菌株：以自製 PLA 固態培養基進行初步培養，所需器材包括壓力鍋（滅菌）、接種環、玻璃珠、試管及無菌操作台。
- 純化菌株：利用自製 PLA 固態培養基搭配接種環持續培養，進行菌株純化。

(三)塑膠微粒吸附實驗

1.不同塑膠微粒

本實驗使用以下四種市售產品常見塑膠類型塑膠微粒，包含：

- 聚對苯二甲酸乙二酯 (Polyethylene Terephthalate, PET)
- 聚丙烯 (Polypropylene, PP)
- 聚乙烯 (Polyethylene, PE)
- 聚乳酸 (Polylactide, PLA)



作者拍攝

塑膠微粒粒徑範圍為 $13 \mu\text{m}$ 至 $270 \mu\text{m}$ ，供吸附及降解測試用。圖 2-2：四種塑膠微粒

材質	特性	產品
PET (聚對苯二甲酸乙二酯)	輕、透明、耐用	飲料瓶、纖維
PP (聚丙烯)	耐高溫、堅韌	食品包裝、容器、汽車零件
PE (聚乙烯)	可塑性強，輕巧、耐磨、低成本	塑膠袋、瓶子、容器
PLA (聚乳酸)	耐熱度低，質量輕盈、透明	冷飲杯、沙拉盒

2. 有碳源培養液配方 (每公升)

- 1% (g/L) 四種塑膠微粒 (PET、PP、PE、PLA)
- 250 mg 酵母萃取物 (Difco yeast extract)
- 1,000 mg 硫酸銨 (Ammonium sulfate)
- 100 mg 氯化鈉 (NaCl)
- 200 mg 硫酸鎂 ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)
- 20 mg 氯化鈣 ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
- 10 mg 硫酸亞鐵 ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)
- 0.5 mg 硫酸錳 (MnSO_4)



圖 2-2：有碳源培養液實驗材料

3. 無碳源培養液配方 (每公升)

- 1% (g/L) 四種塑膠微粒 (PET、PP、PE、PLA)
- 3 g 硝酸銨 (NH_4NO_3)
- 5 g 磷酸氫二鉀 (K_2HPO_4)
- 1 g 氯化鈉 (NaCl)
- 0.2 g 硫酸鎂 ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)



圖 2-3：無碳源培養液實驗材料

(四) 不同菌株對塑膠微粒(PE、PLA)的專一性實驗

1. PDB 培養液 (Potato Dextrose Broth) 、玻璃瓶 (200 mL 帶蓋)

2.1% (g/L) PE 微粒、1% (g/L) PLA 微粒

3. 銅粉、鐵粉(無機對照)

4. 培養 7 天的菌株(本實驗所指的菌株 2、菌株 5)



圖 2-4：實驗鐵粉銅粉

(五)不同菌株對塑膠微粒(PE 及 PLA)的降解實驗

1. 實驗設備

- 三角錐瓶 (125 mL)
- 錐形瓶塞
- 橡膠管 (連接指示劑)
- 培養箱 (溫控 28°C, 用於真菌培養)



圖 2-5：降解實驗裝置

2. 實驗材料

- 塑膠來源：
 - PE 塑膠微粒 (預先滅菌)
 - PLA 塑膠微粒 (預先滅菌)
 - 海灘篩選之塑膠顆粒 (作為環境樣本對照)

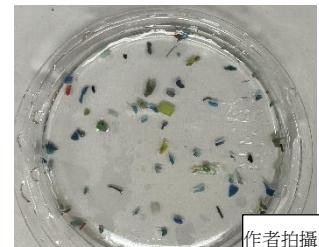


圖 2-6：海灘之塑膠微粒

- 培養液：
 - 無碳源培養液 (本實驗所指的無碳源培養液)
 - 培養 7 天的菌株 (本實驗所指的菌株 2、菌株 5)
- 指示劑：
 - BTB 溴麝香草酚藍指示劑 (綠色或黃色為酸性、藍色為鹼性)
 - 石灰水 (作為 CO₂ 變化觀察對照)



圖 2-7：BTB 指示劑

(六)水蚤活性實驗

- 1% (g/L) 塑膠微粒溶液 (PE)
- 水蚤 (作為生物指標)
- 解剖顯微鏡
- 玻璃試管
- 手機 (拍攝紀錄觀察結果)
- Image J 軟體



圖 2-8：實驗用水蚤

參、實驗過程與方法

【研究一】觀察小蠟蟲生態及培養小蠟蟲腸道菌株

一、小蠟蟲的特徵觀察

(一) 閱讀文獻

- 1.查閱關於小蠟蟲的文獻資料，了解其生物分類、生活史、生態角色等基本資訊。
- 2.將查詢到的資料進行整理與摘要，作為後續觀察與實驗的參考依據。

(二) 實際觀察

透過觀察與紀錄，加深對小蠟蟲外觀與行為的理解：

- 1.顯微觀察：將自廢棄蜂箱取得的小蠟蟲置於解剖顯微鏡下，觀察身體構造與行為。
- 2.影像比對：將觀察到的樣態與資料圖片比對，確認小蠟蟲不同階段的外觀特徵。
- 3.行為觀察：紀錄小蠟蟲的覓食行為、活動情形與成長變化，了解其生活習性。

二、培養小蠟蟲腸道菌株

(一) 採集腸道菌

- 1.利用解剖刀與鑷子對小蠟蟲進行解剖，取出腸道內容物。
- 2.將腸道內容物置於小型離心管中，加入 1 mL 無菌水，放入高速離心機以 13,000 rpm 離心 2 分鐘。
- 3.取離心後的上清液 10 μ L 滴於 PLA 培養基，放入玻璃珠後輕輕滾動使其均勻分布，再倒出玻璃珠以石蠟膠封膜進行培養。
- 4.將培養基放入培養箱以 28°C 培養，進行初步菌落生長觀察。



圖 3-1-1：離心機分離菌液

(二) 純化小蠟蟲腸道菌

- 1.以肉眼觀察 PLA 培養基上不同菌落顏色、形狀與大小，挑選明顯不同者並做記號。
- 2.使用酒精燈對接種環進行加熱滅菌，待冷卻後，挑取選定菌落。
- 3.將菌落以「四區畫線法」劃線接種於新的 PLA 培養基上。
- 4.再次滅菌接種環，從第一次劃線區的末端繼續畫第二區。
- 5.重複步驟 4，畫第三區與最後一區，並在中央劃一條 Z 字型，以利菌落分散。
- 6.使用石蠟膠封膜，置於 28°C 恒溫培養箱中培養。
- 7.重複步驟 1 至 6，直至培養皿中僅出現單一型態菌落，即視為純化成功。最後總計選用 30 個腸道菌進行下一階段的實驗。



圖 3-1-2：不同類型腸道菌

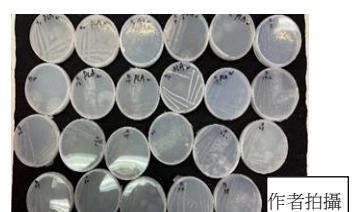


圖 3-1-3：純化腸道菌

【研究二】探討小蠟蟲腸道菌對聚乳酸（PLA）塑膠微粒的吸附情形

一、乳化 PLA 塑膠微粒

1.分別取 0.1 g (0.1%) 、1 g (1%) 、10 g (10%) PLA 塑膠微粒，加入 100 mL 無菌蒸餾水中。

2.使用均質機攪拌 20 – 30 分鐘，以提升 PLA 微粒乳化均勻度。

3.將製備完成的三種濃度 PLA 乳化溶液分裝於無菌玻璃瓶中備用。



圖 3-2：均質機乳化 PLA 塑膠

二、吸附實驗設計

1.將純化後的菌株分別培養於含 1% PLA 塑膠微粒的培養皿中。

2.自不同培養皿中取出培養 96 小時的菌落（約 0.2 cm × 0.2 cm），分別接種於三種濃度（0.1%、1%、10%）的 PLA 乳化溶液試管中。

3.分別於 24、48、72 小時觀察 PLA 乳化溶液，記錄各菌株對 PLA 塑膠微粒吸附情形。

4.實驗另設兩組對照組，以利比較吸附效果：

A. 未知菌組：採用黑水虻腸道菌及其他菌株，與蠟蟲菌株吸附效果進行比較。

B. 空白組：僅含 PLA 乳化溶液，未接種菌株。

表 3-2-1：吸附實驗設計

組別 濃度	實驗組									對照組		備 註 觀察 吸附 情形
	小蠟蟲腸道菌									A. 未知菌組	B. PLA 乳化液	
菌 1	菌 2	菌 3	菌 4	菌 5	菌 30	菌 1	菌 2	無菌		
0.1% PLA	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	
1% PLA	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	
10% PLA	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	

三、確認實驗菌株

在先前進行的三種濃度 PLA（聚乳酸）塑膠微粒吸附實驗中，本研究依據肉眼觀察，篩選出在 1% 的 PLA 塑膠溶液中明顯吸附沉澱的 8 株腸道菌，分別為菌 1、菌 2、菌 5、菌 8、菌 12、菌 15、菌 17 及菌 22。為進一步探討這些菌株對其他類型塑膠微粒的吸附效果，持續繼代培養，作為後續實驗之準備。

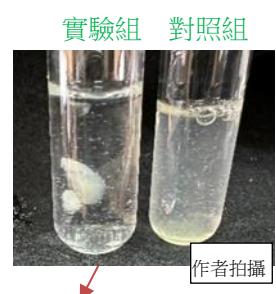


圖 3-3：菌 2 有較佳吸附力

【研究三】比較不同菌株對四種塑膠微粒（PET、PP、PE、PLA）的吸附效能

本研究選用四種常見塑膠微粒進行菌株吸附實驗，PET（聚對苯二甲酸乙二酯）廣泛用於碳酸飲料瓶，佔飲料包裝市場約 57.4%。PP（聚丙烯）常見於食品容器、家電外殼等，但回收率相對偏低。PE（聚乙烯）應用於塑膠袋、薄膜、管材等一次性塑膠製品，占比較高。PLA（聚乳酸）屬於生物可降解塑膠，雖具環保潛力，但在現行回收系統中可能干擾其他塑膠的再製。

一、有碳源吸附實驗

(一) 準備實驗藥品

250 mg 酵母萃取物 (Difco yeast extract) 、1,000 mg 硫酸銨 (Ammonium sulfate) 、100 mg 氯化鈉 (NaCl) 、200 mg 硫酸鎂 ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) 、20 mg 氯化鈣 ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$) 、10 mg 硫酸亞鐵 ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) 、0.5 mg 硫酸錳 ($MnSO_4$) 。

(二) 塑膠微粒溶液製備

1. 將上述藥品混合後分別取 1 g 的 PET、PP、PE 與 PLA 微粒，溶於 100 mL 無菌蒸餾水中，製成 1% (w/v) 微粒懸浮液。
2. 將溶液置入壓力鍋中，以 121°C 高溫高壓滅菌。消毒後之塑膠微粒溶液冷卻，置於冰箱中低溫保存備用。

(三) 吸附實驗設計

1. 將 8 株純化菌株接種於 PDB 液體培養基中進行預先培養。
2. 取 1% 濃度之四種塑膠微粒溶液，分裝於滅菌試管中。
3. 試管中加入 10ml 塑膠微粒溶液，分別取 100 μL 菌液加入試管，混合後靜置 28°C 恆溫培養箱內，進行三重複實驗。
4. 以分光光度計測 OD 值 ($OD=600$) 測第 3 天與第 7 天數值，並與第一天比較，若第一天減第三天相差數值越高，代表菌株吸附能力越高，反之亦然，並用複式顯微鏡觀察菌株附著塑膠微粒情形

D1-D3(或 D1-D7)=數值 差距愈大，表示吸附效果愈好



圖 3-3-1：8 種菌吸附實驗

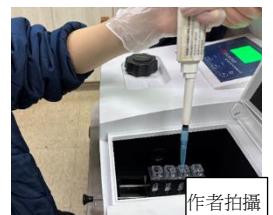


圖 3-3-2：檢測 OD 值變化

(四) 對照組設計

為確認吸附效果之顯著性，設置兩組對照組如下：

1. 未知菌組：採用黑水虻腸道菌及其他菌株，與蠟蟲菌株吸附效果進行比較。
2. 空白組：僅含 PLA 微粒乳化溶液，未接種任何菌株，用以排除其他干擾。

二、無碳源吸附實驗

為了進一步瞭解上述具有吸附能力的 8 株菌株是否具備將塑膠微粒作為養分來源的潛力，本研究依據 Yamada-Onodera 等人提出的方法，選用四種常見塑膠材料——PET、PP、PE 以及 PLA——作為唯一碳源，進行菌株對塑膠降解能力的實驗設計。

(一) 準備實驗藥品

3 g 硝酸銨 (NH_4NO_3) 、5 g 磷酸氫二鉀 (K_2HPO_4) 、1 g 氯化鈉 (NaCl) 、0.2 g 硫酸鎂 ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 。

(二) 塑膠微粒溶液製備

1. 將上述藥品混合後分別取 1 g 的 PET、PP、PE 與 PLA 微粒，溶於 100 mL 無菌蒸餾水中，製成 1% (w/v) 微粒懸浮液。
2. 將溶液置入壓力鍋中，以 121°C 高溫高壓滅菌。
3. 消毒後之塑膠微粒溶液冷卻，置於冰箱中低溫保存備用。

(三) 吸附實驗設計

1. 將 8 株純化菌株接種於 PDB 液體培養基中進行預培養。
2. 取 1% 濃度之四種塑膠微粒溶液，分裝於滅菌試管中。
3. 試管中加入 10ml 塑膠微粒溶液，分別取 100 μL 菌液加入試管，混合後靜置 28°C 恒溫培養箱內，進行三重複實驗。
4. 以分光光度計測 OD 值 (OD=600) 測第 3 天與第 7 天數值，並與第一天比較，若第一天減第三天相差數值越高，代表菌株吸附能力較好，反之亦然，並用複式顯微鏡觀察菌株附著塑膠微粒情形。

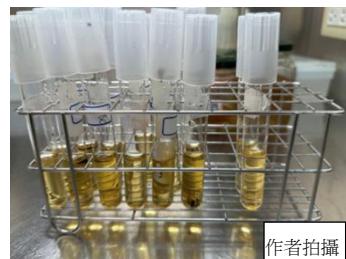


圖 3-3-3：預先培養 8 株菌

作者拍攝

(四) 對照組設計

為確認吸附效果之顯著性，設置兩組對照組如下：

1. 未知菌組：採用黑水虻腸道菌及其他菌株，與蠟蟲菌株吸附效果進行比較。
2. 空白組：不含任何菌株的四種塑膠微粒培養液，用以排除其他干擾。

表 3-3-1：無碳源實驗設計

組別 濃度	實驗組								對照組		備註
	小蠟蟲腸道菌								A. 未知菌組	B. 空白組	
	菌 1	菌 2	菌 5	菌 8	菌 12	菌 15	菌 17	菌 22	菌 1	菌 2	無菌
1 % PET	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎
1 % PP	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎
1 % PE	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎
1 % PLA	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎

【研究四】探討不同菌株對兩種塑膠微粒（PE、PLA）的降解作用

在無外加碳源的控制條件下，實驗發現菌株 2 與菌株 5 仍具備良好存活能力，顯示其可能能夠利用外部難降解物質作為碳源。為進一步評估這兩株菌對於塑膠微粒的生物降解潛力，本研究選擇兩種常見塑膠材料：聚乙烯（PE）與聚乳酸（PLA）作為處理對象。實驗中，我們採用兩項指標作為降解能力的判斷依據：1.酸鹼指示劑 BTB 色變觀察：檢測菌株代謝過程是否產生酸性代謝物，以 BTB 顏色變化（藍綠→黃）作為判斷依據。2.二氣化碳（CO₂）產生量：使用石灰水檢測降解產生 CO₂，由混濁程度評估微生物呼吸作用強度。

（一）塑膠微粒溶液製備

1. 塑膠微粒預處理：先將 PLA 與 PE 微粒使用蒸餾水充分清洗，並進行高溫高壓消毒處理（121°C，15 分鐘），確保無雜菌污染。
2. 配製實驗培養液：在每瓶 250 mL 三角錐瓶中加入本實驗所指無碳源培養液 100 mL（不含葡萄糖或其他碳源）及塑膠微粒 0.5 g。

（二）塑膠降解實驗設計

1. 接種菌株：將菌 2 與菌 5 分別接種至上述培養瓶中作為處理組，另設未接種對照組。
2. 密封與連接指示系統：使用橡膠塞與橡膠導管將三角錐瓶密封，並將橡膠導管連接至裝有 BTB 指示劑（檢測產酸）或石灰水（檢測 CO₂ 產生）的錐形瓶中。
3. 進行培養：將整組實驗系統置於恆溫培養箱中，維持於 28°C，進行培養。
4. 觀察與紀錄：每週記錄 BTB 顏色變化（藍 → 綠 → 黃）與石灰水混濁情形，判斷是否有酸性產物生成（代表代謝進行）或 CO₂ 釋出（代表塑膠降解後被代謝）



圖 3-4-1：BTB 實驗



圖 3-4-2：石灰水實驗

（三）實驗組別設計

實驗組別包含以下三種：1. 實驗組(塑膠顆粒 + 真菌)、2. 對照組 1(只有塑膠顆粒)、3. 對照組 2(只有真菌)

表 3-4-1：降解作用實驗設計

組別 濃度	實驗組(塑膠顆粒 + 真菌)				對照 1(只有塑膠)		對照 2(只有真菌)			
	BTB 指示劑		石灰水		BTB 指示劑	石灰水	BTB 指示劑		石灰水	
	菌 2+塑	菌 5+塑	菌 2+塑	菌 5+塑			菌 2	菌 5	菌 2	菌 5
0.5g PE	◎	◎	◎	◎	◎	◎				
0.5g PLA	◎	◎	◎	◎	◎	◎				

【研究五】了解不同菌株對兩種塑膠微粒（PE、PLA）的專一性

本研究主要探討不同菌株對聚乙烯（PE）與聚乳酸（PLA）微粒的專一性吸附能力，並進一步排除菌株對金屬粉（銅、鐵）等無機物干擾性吸附，以驗證其對塑膠的選擇性作用。

（一）塑膠微粒製備

- 分別取 0.5 g 的 PE、PLA 微粒、銅粉、鐵粉，置於玻璃罐，放入壓力鍋，121°C 高溫高壓滅菌。
- 消毒後之塑膠微粒及金屬粉末冷卻，置於冰箱中低溫保存備用。

（二）專一性實驗設計

- 將菌株 2 及菌株 5 接種於 PDB 培養液中進行預培養。
- 各瓶加入 50 mL PDB 培養液，加入 1% (g/L) 對應添加物（PE、PLA、銅粉或鐵粉）
- 接種已培養 7 天的菌株 2 及菌株 5。
- 封蓋後置於 28°C 恒溫箱，避光培養 7 天。
- 每日觀察菌絲生長與聚集情形，記錄微粒是否有菌絲包覆。



圖 3-5-1：專一性實驗

（三）對照組設計

為確認專一性效果之顯著性，設置兩組對照組如下：

- 金屬粉末組：在 PDB 培養液中加菌並放入銅粉或鐵粉，與放塑膠微粒組進行比較。
- 空白組：在 PDB 培養液中加菌（無添加微粒，作為空白組），用以排除其他干擾。

表 4-5：專一性實驗設計

組別 濃度	實驗組						對照組				備 註 觀察 吸 附 生 長	
	銅粉+塑膠		鐵粉+塑膠		銅粉+鐵粉+塑膠		金屬粉末		空白			
	菌 2	菌 5	菌 2	菌 5	菌 2	菌 5	菌 2	菌 5	菌 2	菌 5		
1 % PE	◎	◎	◎	◎	◎	◎						
1 % PLA	◎	◎	◎	◎	◎	◎						

【研究六】評估不同菌株吸附塑膠微粒後，對水蚤存活與活性所產生的影響

為探討不同菌株處理塑膠微粒後對水質的影響，選用菌株 2 與菌株 5 處理聚乙烯（PE）塑膠微粒溶液，進行吸附實驗，並以水蚤作為指標生物進行活性測試，以評估處理後水體的生物安全性。

一、菌株吸附實驗

1.菌株培養與處理：將菌株 2 與菌株 5 分別接種於 PDB 液體培養基，培養 7 天取出菌絲，使用純水沖洗並吸乾，備用。

2.製備塑膠微粒懸浮液：取 100 ml 生態池水，加入 1 g 聚乙烯（PE）塑膠微粒與 10 μ L 乳化劑 Tween 20，混合製成 1% PE 塑膠微粒懸浮液。

3.吸附處理：將 10 ml 之 1% PE 塑膠微粒懸浮液分別置入試管中，並加入處理過的 2 號或 5 號菌絲，進行吸附處理。

4.水蚤活性與心跳觀察（第 1 日）：在第一支試管(D1)加入 10 隻水蚤，並於 8 小時後觀察並紀錄其活性與心跳速率。

5.持續觀察（第 2~5 日）：之後每隔 24 小時再分別於各試管中加入 10 隻新水蚤，持續 4 天觀察水蚤的心跳變化，以評估不同菌株處理水體產生的變化。



圖 3-6-1：添加水蚤的塑膠懸浮液

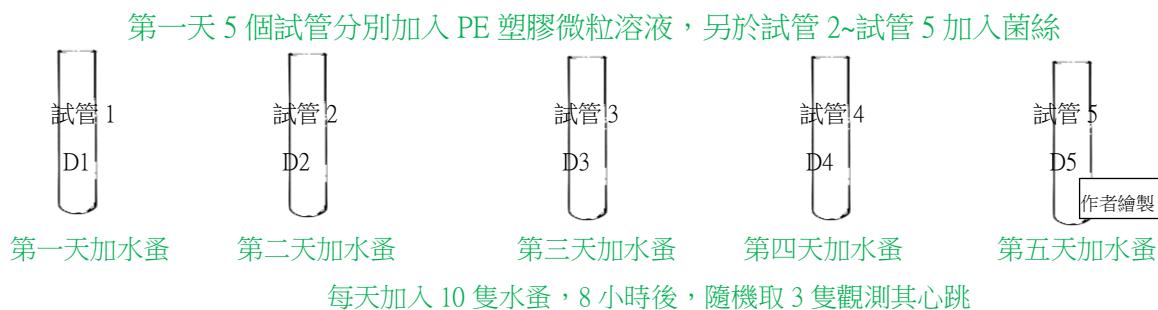


圖 3-6-2：不同菌絲處理 PE 溶液後水蚤活性實驗設計

二、心跳計數

- 1 使用顯微鏡搭配手機，錄製水蚤心臟跳動的短片。
- 2 啟動 Image J 軟體，匯入拍攝好的心跳影片，在影片中選擇明顯可見心臟跳動的區域。
- 3 觀察影像隨時間的灰階強度變化，並在繪出的灰階變化曲線中，數出 10 秒內的波峰數量，即為心跳次數。
- 4 重錄上述步驟測量不同處理條件下的水蚤心跳速率，作為水質評估依據。

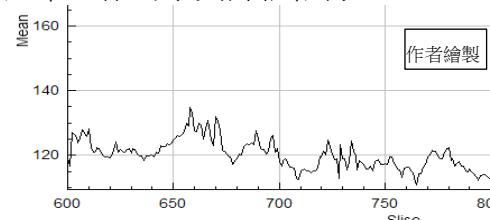


圖 3-6-3：觀察水蚤心跳及計數水蚤心跳次數

肆、研究結果

一、小蠟蟲幼蟲呈乳白至淡黃色，有小鉤狀的口器，用來咬食蜂蠟

蠟蟲的生活史可分為四個主要階段：卵、幼蟲、蛹與成蟲。雌蟲一次可產下大量卵，通常選擇在蜂巢、蜂蠟或其他富含有機物的環境中產卵，以確保孵化後的幼蟲能立即獲得充足的食物來源。



- **卵期**：在適宜的溫度（20 - 30°C）與濕度條件下，卵約在 2 至 4 天內完成孵化。
- **幼蟲期（小蠟蟲階段）**：此為小蠟蟲生活史中最關鍵的階段，也是其展現塑膠降解能力的時期。幼蟲平均需 6 至 7 週完成生長發育。幼蟲取食蜂巢中的蠟質、蜜蜂繭、花粉與蛻皮。其破壞蜂巢的行為會導致蜂蜜洩漏、蜜蜂幼蟲死亡，並可能促使蜂群疾病傳播。因此，小蠟蟲常被養蜂人視為害蟲（Kluser et al., 2010）。
- **蛹期**：幼蟲成熟後進入蛹期，此階段平均可持續約兩個月，為靜止型變態期。
- **成蟲期**：羽化後的小蠟蟲成蟲壽命約為 1 至 3 週，成蟲階段通常不進食，主要進行繁殖行為。

圖 5-1：小蠟蟲幼蟲

小蠟蟲幼蟲在自然界中具有降解蜂蠟的能力，近年來更被研究發現其具降解部分塑膠（如 PE 或 PLA）之潛能，因此逐漸成為生物降解領域中的研究對象。

二、部分小蠟蟲腸道菌在 PLA 塑膠微粒培養基中生長情況佳

自小蠟蟲腸道分離所得之菌株經純化培養後，接種於以聚乳酸（PLA）為主要碳源之固態培養基進行初步生長評估。於培養第 7 天時觀察發現，各接種點菌落在形態與色澤上略有差異，其中多數菌落呈現絨毛狀或棉絮狀結構，顯示其為真菌類群。為進一步確認其對 PLA 環境的適應性，將上述菌落再次轉種至新製備之 PLA 培養基上持續培養至第 14 天。結果顯示，部分菌株菌株之菌絲明顯緊貼培養基表面並呈現大面積網狀擴散，幾乎遍佈整個培養基表面，顯示其在缺乏其他明顯碳源的情況下，仍具持續增殖與擴張能力，具有在 PLA 為主碳源環境中存活與生長之潛能。基於菌落生長型態與擴張能力，最終篩選出 30 株形態明確、生長表現穩定之菌株進行後續 PLA 塑膠微粒溶液實驗，以評估其在液態條件下對 PLA 微粒之吸附與降解潛力。



圖 5-2-1 不同菌株在 PLA 培養基生長

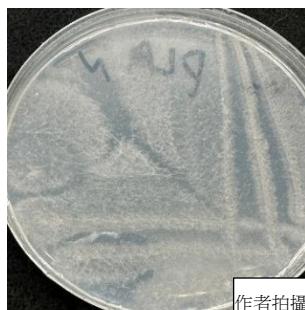


圖 5-2-2 菌株成大面積網狀

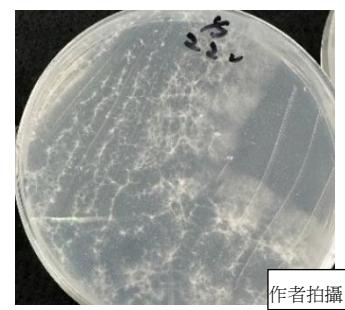


圖 5-2-3 菌株呈現絲狀生長

三、8個小蠟蟲腸道菌對聚乳酸（PLA）塑膠微粒的吸附情形較佳

如表 5-3 所示，將 30 株菌株接種於含有聚乳酸（PLA）塑膠微粒的液態培養基中培養三天後，觀察發現其中 8 株菌株（菌 1、菌 2、菌 5、菌 8、菌 12、菌 15、菌 17 及菌 22）開始於溶液中形成可見菌絲結構。至培養第七天時，從表 5-3 圖片中肉眼可明顯觀察到這些菌絲體與塑膠微粒接觸並形成異質性團聚現象，即菌絲與 PLA 粒子間形成顯著凝聚物，團聚體附著於瓶底或懸浮於培養液中。進一步透過顯微鏡觀察顯示，菌株菌絲可包覆 PLA 微粒表面，顯示菌絲可能透過結合、吸附或初步生物降解等方式與 PLA 微粒產生作用。

表 5-3：8 種菌株在 PLA 形成菌絲結構情形

組別 天數	實驗組								對照組	
	菌 1	菌 2	菌 5	菌 8	菌 12	菌 15	菌 17	菌 22	未知	空白
D1	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗
D3	✗	✓	✓	✓	✓	✓	✗	✗	✗	✗
D5	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✗	✗	✗
D7	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✗	✗
D9	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✗	✗

圖示	(圖左：實驗組 圖右：對照組)							
	菌 1	菌 2	菌 5	菌 8	菌 12	菌 15	菌 17	菌 22

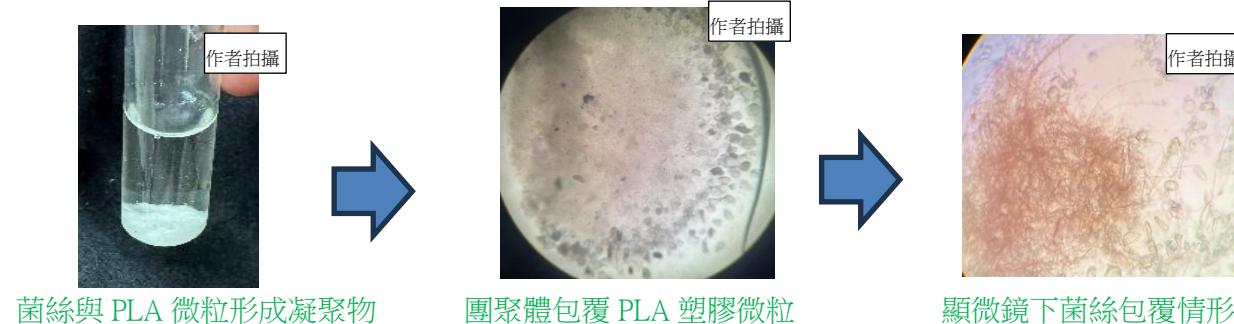


圖 5-3-1：菌絲包覆情形

四、有碳源培養液下，6 種小蠟蟲腸道菌對不同塑膠微粒吸附效果較佳

(一)第三天吸附結果

本實驗以三天培養期為觀察時間點，檢測不同菌株對聚對苯二甲酸乙二酯（PET）、聚丙烯（PP）、聚乙烯（PE）及聚乳酸（PLA）吸附能力的濁度（OD 值），並與對照組進行 t 檢定（t-test）以評估吸附行為的統計顯著性。

1. PET 塑膠微粒吸附效果

表 5-4-1 實驗結果顯示，菌株 1、2、8、12、17 在處理後第三天於 PET 微粒溶液中產生顯著濁度變化。統計分析顯示，其中菌株 1、12 的 p 值達 $p < 0.01$ ，其餘菌株 2、8、17 三株皆達 $p < 0.05$ 水準，顯示這些菌株在短時間內即可表現出對 PET 的附著力，可能透過菌絲或胞外聚合物將塑膠粒子吸附於菌體表面。

2. PP 塑膠微粒吸附效果

從表 5-4-1 實驗結果顯示，菌株 2、8、17、22 在 PP 溶液中顯示出顯著吸附能力，特別是菌株 8、17 的高度顯著結果，達到 $p < 0.01$ 水準，代表其可能擁有特殊的細胞外成分或表面蛋白質，有助於結合非極性的聚丙烯微粒。

3. PE 塑膠微粒吸附效果

從表 5-4-1 實驗結果顯示，菌株 1、2、5、12、17 對 PE 微粒表現出明顯吸附效果，其中菌株 1、菌株 2、菌株 12 達 $p < 0.01$ ，菌株 5 與 17 則為 $p < 0.05$ ，顯示其可能透過菌絲結構或代謝副產物與 PE 結合，進而降低懸浮微粒濃度。PE 吸附反應的發生對未來生物處理如生物膜過濾或微生物反應槽系統具潛在應用價值。

4. PLA 塑膠微粒吸附效果

從表 5-4-1 實驗結果顯示，菌株 1 與菌株 5 於 PLA 溶液中皆達 $p < 0.01$ 的顯著水準，菌株 2 達 $p < 0.05$ 的顯著水準，顯示其對 PLA 微粒具強烈親和力，並可能透過分泌水解酵素（如 PLA 酶）進行初步降解，顯示其可作為未來 PLA 回收或處理的潛在菌種。

綜觀所有實驗結果，部分菌株對於不同種類的塑膠微粒皆展現出穩定而顯著的吸附效果，顯示其具跨塑膠類型的適應能力：

- **菌株 2** 為表現最穩定且顯著的菌株，於所有四種塑膠（PET、PP、PE、PLA）皆達顯著水準（其中 PE 為 $p < 0.01$ ）。此菌株可能具有廣泛的塑膠吸附表面結構或降解相關酵素系統，未來可作為篩選高潛力生物降解菌的重要對象。
- **菌株 1** 分別在 PET、PE、PLA 三種塑膠中皆顯著（均達 $p < 0.01$ ），**菌株 17** 分別在 PP（達 $p < 0.01$ ）及 PET、PE（達 $p < 0.05$ ）三種塑膠中顯著，顯示這兩種菌株對塑膠吸附的多元性與強度，值得進一步分離其產酵素或胞外物質。
- **菌株 5** 分別在 PE（達 $p < 0.05$ ）、PLA（達 $p < 0.01$ ）二種塑膠中顯著，**菌株 8** 分別在 PET（達 $p < 0.05$ ）、PP（達 $p < 0.01$ ）二種塑膠中顯著，顯示這兩種菌對塑膠吸附的多元性與強度。

- 菌株 12 在 PET 與 PE 中皆具 $p < 0.01$ 的穩定吸附表現，代表其具潛力應用於烃類塑膠的初步處理。

表：5-4-1 不同菌株對四種塑膠微粒在第三天的吸附情形

種類 天數	PET		PP		PE		PLA	
	D3	T test						
菌 1	1.263	0.007**	0.110	0.444	0.230	0.010**	0.042	0.002**
菌 2	0.946	0.024*	0.284	0.030*	0.213	0.005**	0.235	0.012*
菌 5	0.398	0.065	0.151	0.215	0.178	0.043*	0.766	0.001**
菌 8	1.253	0.012*	1.102	0.004**	0.103	0.123	0.597	0.058
菌 12	0.164	0.004**	0.117	0.401	0.220	0.002**	0.355	0.072
菌 15	0.302	0.053	0.095	0.429	0.075	0.070	0.115	0.154
菌 17	0.853	0.034*	0.537	0.009**	0.187	0.017*	0.440	0.067
菌 22	0.478	0.279	0.246	0.030*	0.036	0.411	0.349	0.179
黑 1	0.398	0.133	0.173	0.103	0.053	0.118	0.166	0.408
其 1	0.483	0.256	0.153	0.115	0.032	0.498	0.206	0.131
對照	0.538		0.104		0.032		0.176	

不同菌株在第三天對 PET 吸附情形

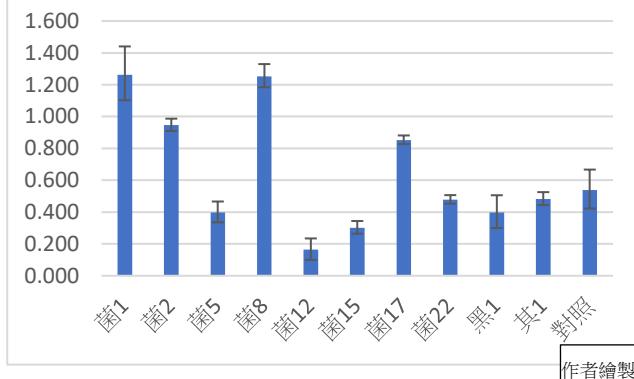


圖 5-4-1-1 不同菌株第三天對 PET 吸附情形

不同菌株在第三天對 PP 吸附情形

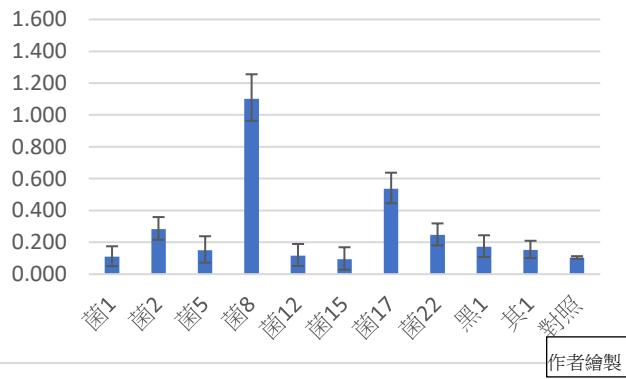


圖 5-4-1-2 不同菌株第三天對 PP 吸附情形

不同菌株在第三天對 PE 吸附情形

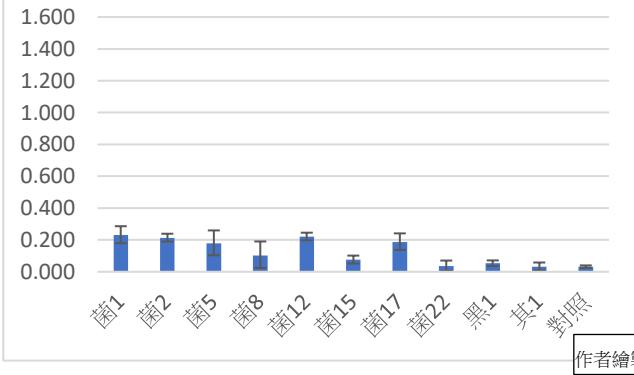


圖 5-4-1-3 不同菌株第三天對 PE 吸附情形

不同菌株在第三天對 PLA 吸附情形

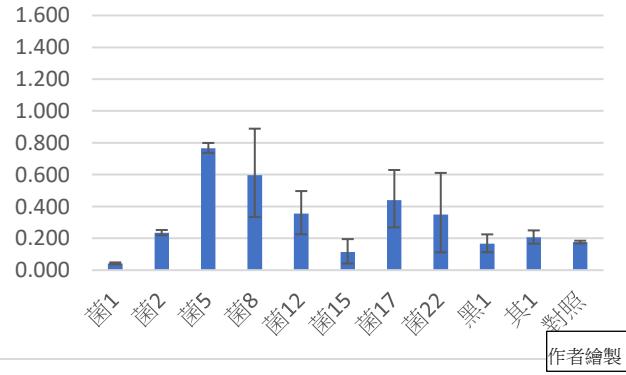


圖 5-4-1-4 不同菌株第三天對 PLA 吸附情形

(二)第七天吸附結果

本實驗以七天培養為觀察時間，透過測量溶液濁度（OD 值）判定小蠟蟲腸道菌對聚對苯二甲酸乙二酯（PET）、聚丙烯（PP）、聚乙烯（PE）及聚乳酸（PLA）等塑膠微粒的吸附效果，並透過 *t* 檢定（*t*-test）與空白對照組比較，以確認各菌株吸附能力的統計顯著性。

1. PET 塑膠微粒吸附效果

根據表 5-4-2，菌株 1、2、5、12、15、17、22 皆在 PET 微粒中呈現統計上的顯著差異，其中菌株 1、2、5、15 皆達 $p < 0.01$ 水準，菌株 12、17、22 亦達 $p < 0.05$ 。這顯示多數菌株皆能有效與 PET 顆粒作用，推測其可能具初步吸附或降解此類高穩定性聚酯塑膠的潛力。

2. PP 塑膠微粒吸附效果

表 5-4-2 實驗結果顯示，菌株 8 在 PP 微粒中達 $p < 0.01$ 統計顯著性。PP 為疏水性強的非極性塑膠，上述菌株能夠與其產生吸附反應，表示這些菌株可能透過胞外黏性物質或特殊表面結構促進聚丙烯顆粒的結合。

3. PE 塑膠微粒吸附效果

表 5-4-2 實驗結果顯示，在聚乙烯（PE）微粒的吸附試驗中，菌株 1、5 皆達 $p < 0.05$ 顯著效果。這些菌株對 PE 微粒的吸附能力，顯示其可能具備一定程度的疏水性結構辨識機制，有利於後續酵素作用或微生物處理流程的應用。

4. PLA 塑膠微粒吸附效果

PLA 為一種具生物可降解性的生質塑膠，結果顯示菌株 1、2、5、12、15 在 PLA 微粒中皆表現出顯著吸附能力。其中菌株 1、5、12、15 達 $p < 0.01$ ，菌株 2 則為 $p < 0.05$ 。此顯示多株菌對 PLA 具有良好親和性，可能透過 PLA 酶或其他水解酵素參與初期降解階段，未來可應用於生物回收或分解 PLA 塑膠廢棄物。

整體而言，本實驗發現多株小蠟蟲腸道來源菌株對多種塑膠微粒均具顯著吸附效果，部分菌株更展現出跨類型塑膠吸附的潛力：

- **菌株 1 及菌株 5** 為表現較穩定的菌株，於 PET、PE、PLA 三種塑膠中皆達顯著水準，其中對 PET、PLA 均為 $p < 0.01$ ，為本研究中吸附潛力突出的菌株，具備通用性高的表面黏附機制與塑膠辨識能力，值得進一步進行功能基因與酵素活性分析。
- **菌株 2** 於 PET、PLA 二種塑膠中達顯著水準，PET 為 $p < 0.01$ 、PLA 為 $p < 0.05$ ；**菌株 12** 於 PET、PLA 二種塑膠中達顯著水準，PET 為 $p < 0.05$ 、PLA 為 $p < 0.01$ ；**菌株 15** 於 PET、PLA 二種塑膠中皆達 $p < 0.01$ 顯著水準，顯示三菌株具有一定的吸附效果。
- **菌株 8** 在 PP 達 $p < 0.01$ 顯著水準，推測其對脂肪族與酯類結構皆具辨識能力。
- **菌株 17 與 22** 則在 PET 中表現 $p < 0.05$ 穩穩定吸附效果，顯示其可能對高分子烴類結構具適應性與潛在降解活性。

表：5-4-2 不同菌株對四種塑膠微粒在第七天的吸附情形

種類 天數	PET		PP		PE		PLA	
	D7	T test	D7	T test	D7	T test	D7	T test
菌 1	1.197	0.006**	0.301	0.054	0.217	0.027*	0.836	0.003**
菌 2	0.983	0.006**	0.461	0.190	0.058	0.216	0.628	0.015*
菌 5	1.344	0.000**	0.340	0.127	0.251	0.016*	0.873	0.003**
菌 8	0.183	0.379	0.137	0.004**	0.107	0.384	0.294	0.119
菌 12	0.758	0.012*	0.447	0.393	0.212	0.074	0.545	0.007**
菌 15	1.354	0.001**	0.479	0.147	0.060	0.163	0.743	0.003**
菌 17	0.075	0.031*	0.729	0.080	0.095	0.495	0.293	0.088
菌 22	0.350	0.048*	0.323	0.150	0.106	0.379	0.239	0.180
黑 1	0.282	0.254	0.309	0.062	0.093	0.418	0.211	0.137
其 1	0.220	0.437	0.505	0.108	0.098	0.204	0.141	0.159
對照	0.209		0.431		0.094		0.070	

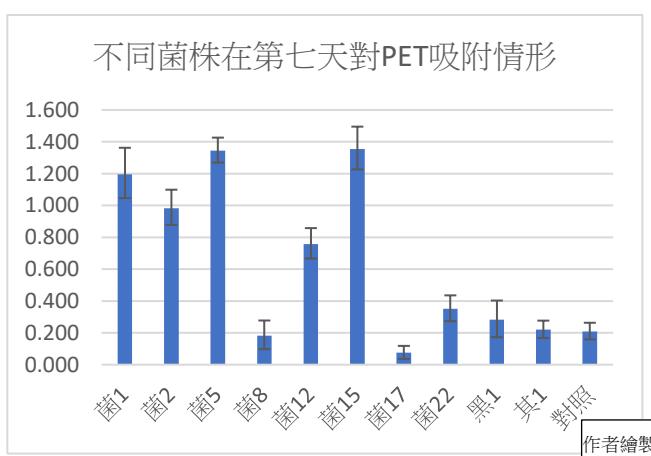


圖 5-4-2-1 不同菌株第七天對 PET 吸附情形

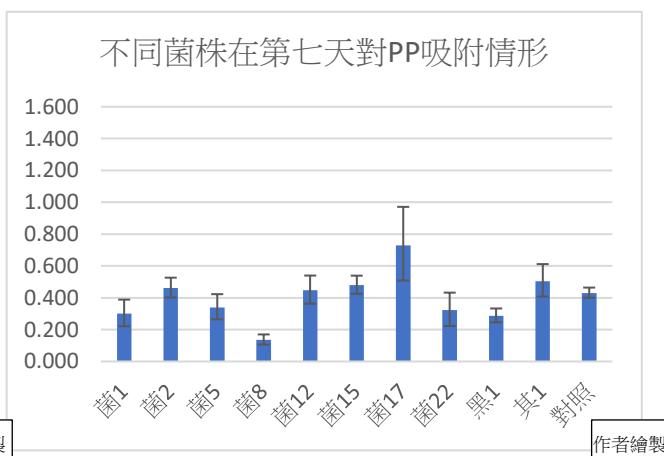


圖 5-4-2-2 不同菌株第七天對 PP 吸附情形

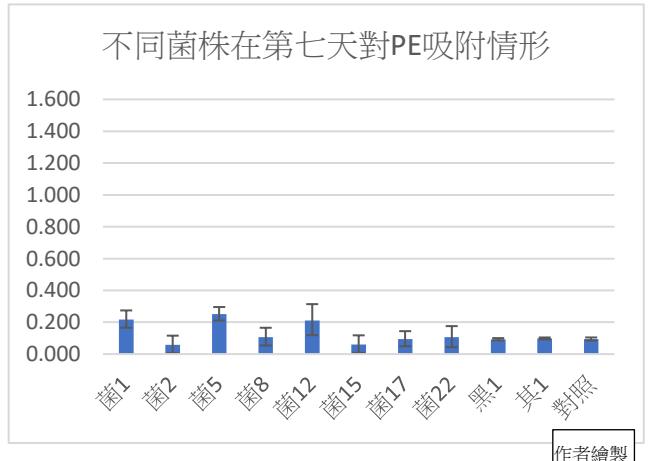


圖 5-4-2-3 不同菌株第七天對 PE 吸附情形

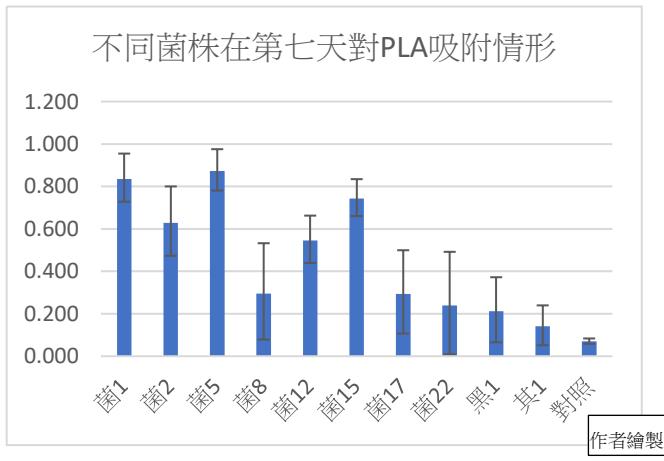


圖 5-4-2-4 不同菌株第七天對 PLA 吸附情形

根據表 5-4-3 之數據顯示，小蠟蟲腸道來源之菌株在第 3 天與第 7 天對四種塑膠微粒 (PET、PP、PE、PLA) 展現不同程度的吸附表現，菌 1、菌 2、菌 5、菌 8、菌 12、菌 15、菌 17 與菌 22 在部分材質上具有顯著性吸附效果，顯示其潛在的專一性或廣效性吸附特性。

圖 5-4-1 進一步比較不同菌株於第 7 天後對塑膠微粒的吸附能力與對照組差異，照片中左側為實驗組（接種菌株），右側為未處理之對照組，從影像中可清晰觀察到各菌株對不同塑膠材質之聚集、沉澱或包覆現象，驗證其吸附效能具可視化之顯著差異。此結果支持菌株對特定塑膠微粒具有穩定可再現的吸附能力，並為後續篩選具環境應用價值菌種提供依據。

表 5-4-3 不同菌株在第三天及第七天對四種塑膠微粒吸附能力達統計顯著總覽

天數 菌株	D3				D7				顯著總 次數	吸附潛力評估
	PET	PP	PE	PLA	PET	PP	PE	PLA		
菌 1	**	-	**	**	**	-	*	**	6 次	對 PET/PLA 吸附穩定型
菌 2	*	*	**	*	**	-	-	*	6 次	對 PET/PE 吸附穩定型
菌 5	-	-	*	**	**	-	*	**	5 次	對 PE/PLA 吸附穩定型
菌 8	*	**	-	-	-	**	-	-	3 次	材質選擇性強(PP)
菌 12	**	-	**	-	*	-	-	**	4 次	材質選擇性強(PET)
菌 15	-	-	-	-	**	-	-	**	2 次	PET 選擇專一型
菌 17	*	**	*	-	*	-	-	-	4 次	對 PP 具吸附偏好
菌 22	-	*	-	-	*	-	-	-	2 次	對 PET/PP 吸附穩定型

圖 5-4-2-5 不同菌株在第七天後與對照組吸附能力比較

	不同菌株在第七天後與對照組吸附能力比較(左邊實驗組，右邊對照組)						
PET	實 實 對 實 對 實 對	實	對	實	對	實	對
	菌 1			菌 2		菌 12	
PP	實 對 實 對 實 對	實	對	實	對	實	對
	菌 2			菌 8		菌 17	
PE	實 對 實 對 實 對	實	對	實	對	實	對
	菌 2			菌 5		菌 12	
PLA	實 對 實 對 實 對	實	對	實	對	實	對
	菌 5			菌 12		菌 15	

五、無碳源培養液下，5 號小蠟蟲腸道菌對 PET、PE 及 PLA 吸附效果較佳

本研究主要探討真菌於無碳源培養液培養七天後，對四種常見塑膠微粒（PET、PP、PE、PLA）的分解能力，並以濁度變化（OD 值）及 t 檢定（T test）為指標，判斷其是否具有分解潛力。

(一) PET (聚對苯二甲酸乙二酯) 分解潛力

PET 為結構堅硬的芳香族聚酯塑膠，極難自然降解。第七天數據中：

- 菌株 5 對 PET 的分解具高度顯著性 ($p = 0.010 < 0.01$)，為所有菌株中表現最佳者，推測其可能分泌具有酯鍵裂解能力的酵素，對 PET 聚合鏈產生水解或斷裂作用。
- 菌株 17 ($p = 0.042 < 0.05$) 亦達顯著，顯示其可能對 PET 具部分選擇性，透過菌絲黏附或局部降解造成濁度變化。

菌株 5 不僅在 PET 分解上達到最高統計顯著性，亦顯示出其可能具有針對聚酯類塑膠的降解機制，具備進一步應用於 PET 廢棄物處理的潛力。

(二) PP(聚丙烯) 分解潛力

PP 為非極性、疏水性極高的聚烯烴塑膠，分解難度極高。實驗結果顯示：

- 所有菌株對 PP 微粒皆未達顯著水準 ($p > 0.1$)。
- 雖菌株 5 在 OD 值上略有變化，但未能證明具降解行為。

(三) PE (聚乙烯) 分解潛力

PE 為另一種高分子、疏水型塑膠，亦為環境中最常見的塑膠污染來源之一。

- 菌株 5 在 PE 中達顯著水準 ($p = 0.033 < 0.05$)，推測其菌絲或分泌物已與 PE 表面產生生物作用，如氧化、初步水解或界面乳化等反應，使塑膠粒子發生形態改變。
- 其他菌株皆未達顯著，顯示其尚未啟動 PE 的有效分解機制。

(四) PLA (聚乳酸) 分解潛力

PLA 為生質來源的聚酯塑膠，具備可自然分解潛力，通常會被微生物水解為乳酸單體。

- 菌株 5 對 PLA 表現顯著分解效果 ($p = 0.039 < 0.05$)，且 OD 值高達 0.865，推測其可能同時具備 PLA 酶及表面活性作用，造成塑膠微粒裂解與菌絲聚集懸浮，進一步導致濁度改變。

綜合分析第七天在無外加碳源的培養條件下，小蠟蟲腸道來源之菌株對 PET、PP、PE 與 PLA 等四種塑膠微粒之吸附表現差異顯著。整體結果顯示，大多數菌株於缺乏碳源情況下，其吸附活性明顯降低，僅部分菌株仍保有顯著吸附能力，顯示其可能具備自發性吸附機制或塑膠表面結合潛力。

其中，菌 5 為表現最為突出的菌株，在 PET、PE 與 PLA 中皆達 $P < 0.05$ 的顯著水準，且 OD 值明顯高於對照組，顯示其即使在營養限制下，仍可穩定與塑膠表面作用，推測其可能具備表面酶活性或微膜形成等功能。菌 17 則僅在 PET 中達 $P < 0.01$ 顯著水準，在其他材質中未呈現顯著性，顯示其對 PET 可能具有選擇性結合能力。

表 5-5-1：不同菌株在無碳源情況下第七天對四種塑膠微粒的吸附情形

種類 天數	PET		PP		PE		PLA	
	D7	T test						
菌 1	0.055	0.051	0.031	0.297	0.023	0.163	0.042	0.272
菌 2	0.229	0.064	0.061	0.306	0.023	0.101	0.119	0.343
菌 5	0.905	0.01**	0.570	0.135	0.277	0.033*	0.865	0.039*
菌 8	0.392	0.363	0.174	0.292	0.061	0.469	0.108	0.139
菌 12	0.464	0.056	0.190	0.399	0.172	0.298	0.232	0.172
菌 15	0.174	0.121	0.424	0.122	0.023	0.147	0.346	0.156
菌 17	0.582	0.042*	0.096	0.427	0.086	0.236	0.131	0.353
菌 22	0.200	0.134	0.114	0.318	0.033	0.181	0.100	0.173
黑 1	0.159	0.22	0.097	0.408	0.067	0.444	0.200	0.196
其 1	0.105	0.123	0.481	0.175	0.053	0.427	0.071	0.500
對照	0.285		0.149		0.062		0.071	

不同菌在無碳源情況下對PE吸附情形

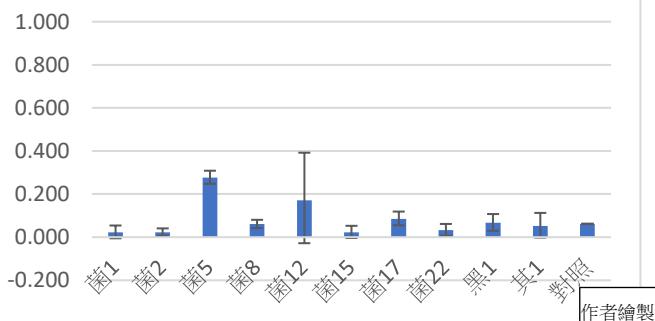


圖 5-5-1 不同菌株在無碳源下對 PET 吸附情形

不同菌株在無碳源情況下對PP吸附情形

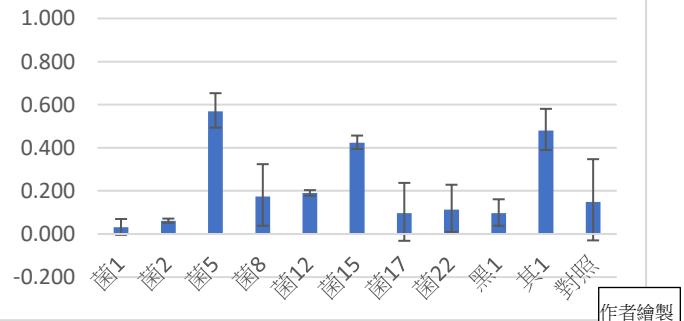


圖 5-5-2 不同菌株在無碳源下對 PP 吸附情形

不同菌在無碳源情況下對PET吸附情形

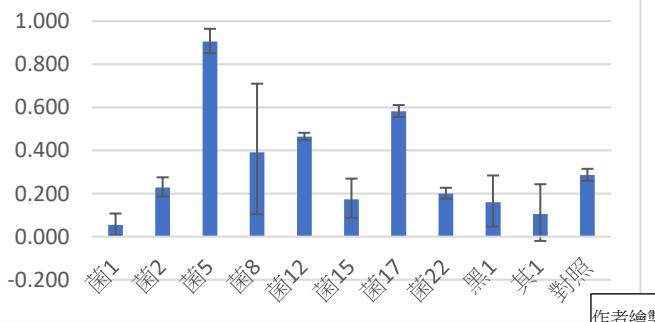


圖 5-5-3 不同菌株在無碳源下對 PET 吸附情形

不同菌在無碳源情況下對PLA吸附情形

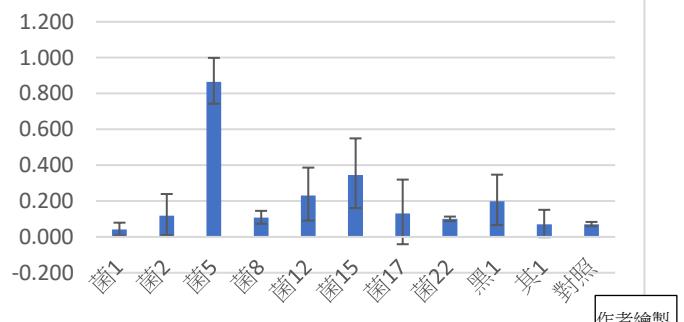


圖 5-5-4 不同菌株在無碳源下對 PLA 吸附情形

表 5-5-2：不同菌株在無碳源下第七天對四種塑膠微粒吸附能力達統計顯著總覽($P < 0.05$)

菌株	PET	PP	PE	PLA	顯著項目數	特性描述
菌 5	✓	✗	✓	✓	3	廣效穩定型，最具潛力
菌 17	✓	✗	✗	✗	1	對 PET 具選擇性
其他菌株	✗	✗	✗	✗	0	無顯著性

六、菌株 2 及菌株 5 對 PLA 塑膠微粒具有較佳降解作用

透過 BTB 酸鹼指示劑與石灰水 CO_2 捕捉系統，觀察兩株真菌（菌 2 與菌 5）對於兩種常見塑膠微粒（PLA 與 PE）的降解表現，結果顯示，菌株與塑膠種類對分解效果具有差異。

菌株 2 與菌株 5 接種於含 PLA 微粒的無碳源培養液中，於第 7 日即可觀察到 BTB 顏色由藍綠轉為黃色，顯示在發酵過程中產生了酸性代謝物，推測與 PLA 降解釋放 CO_2 有關。同時，與之連接的石灰水出現明顯混濁現象，進一步佐證氣體釋放。而接種於含 PE 微粒的組別中，BTB 顏色變化較緩，石灰水混濁亦不明顯，顯示 PE 較不易被菌株分解。

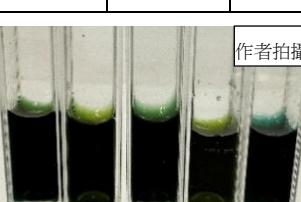
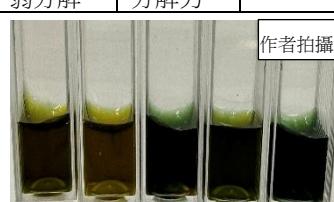
在菌株比較中，菌 5 展現出明顯優於菌 2 的 PLA 分解能力。在接種第 5 天時，菌 5 組即出現 BTB 快速變色與石灰水混濁的反應；相對地，菌 2 則需至第 7 日才逐漸觀察到相似變化，顯示其降解速率較慢。對照組（無菌 PLA）中 BTB 保持藍色、石灰水亦清澈無變化，證實 PLA 本身不會自然釋放 CO_2 。

針對 PE 組，無論菌 2 或菌 5 皆僅產生輕微變化。菌 5 在 PE 條件下出現極輕微的 BTB 變色與石灰水混濁，顯示其可能具些微代謝或表面附著活性；菌 2 的反應則更為微弱。

綜合 BTB 與石灰水兩項指標可知：

- PLA 較易被菌株分解，特別是菌 5，展現出快速且強烈的酸化與氣體釋放反應。
- PE 則難以被降解，即使是菌 5 亦僅產生輕微代謝表現。
- 菌株代謝力依序為：菌 5 > 菌 2 > 無菌對照。
- 推測菌 5 可能分泌酯鍵水解酶，結合其菌絲吸附能力，加速 PLA 表面降解反應。

表 5-6：菌株 2 及菌株 5 分解 PE 及 PLA 結果

組	PE 塑膠					PLA 塑膠				
條件	菌 2 + PE	菌 5 + PE	菌 2	菌 5	PE	菌 2 + PLA	菌 5 + PLA	菌 2	菌 5	PLA
BTB 變化	藍綠	藍綠偏綠	藍綠	藍綠偏綠	藍	藍綠 → 黃綠	黃綠 → 黃	藍 → 淡黃綠	藍綠 → 黃	藍色化
說明	對 PE 無明顯分解能力	對 PE 具微弱分解力	代謝活性弱， CO_2 少	具較強代謝活性	PE 本身無法自然降解	CO_2 產生，對 PLA 有弱分解	CO_2 產量高，較強 PLA 分解力	有少量代謝產酸	CO_2 產量高，菌 5 代謝活性強	無 CO_2 產生，PLA 不會分解
	 作者拍攝 菌 2+PE pH=6.60 菌 5+菌 pH=6.50 菌 2 pH=6.75 菌 5 pH=6.56 PE pH=7.29					 作者拍攝 菌 2+PLA pH=6.33 菌 5+PLA pH=6.25 菌 2 pH=6.77 菌 5 pH=6.58 PLA pH=7.30				
石灰水變化	微混濁	淡混濁	微混濁	淡混濁	清澈	中度混濁	明顯混濁	微混濁	中度混濁	清澈
說明	對 PE 幾無分解能力	略代謝 PE，少量 CO_2	代謝活性弱	代謝較強，產 CO_2	不會產生 CO_2	代謝並產 CO_2	有效分解 CO_2 產量多	代謝產酸 CO_2 少量	代謝力強，產生 CO_2	PLA 本身不產酸
石灰水圖示	 作者拍攝					 作者拍攝				

七、菌株 5 在 PE 與 PLA 中產生較多 CO₂

本研究利用分光光度計觀測不同菌株在含有 PE 與 PLA 微粒之培養液中產生 CO₂ 的情形。根據圖 5-7-1、圖 5-7-2 及表 5-7-1，各組樣品於波長 450 – 620nm 間的吸光度 (OD) 變化呈現典型 BTB 指示劑的變色反應：當溶液酸化時，BTB 顏色由藍轉綠至黃，對應吸光度於短波長 (430-500 nm) 上升、長波長 (600 nm 以上) 下降。

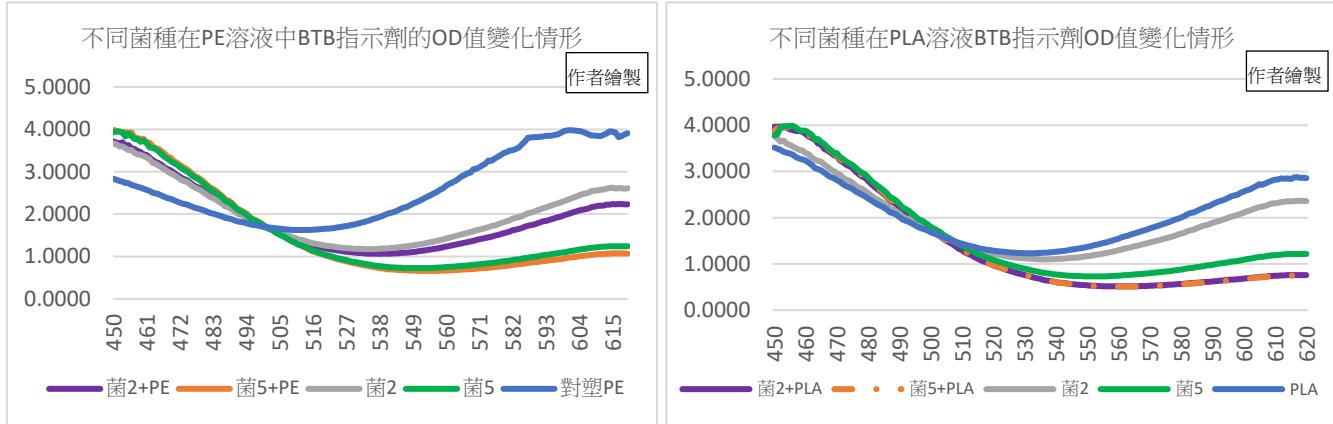


圖 5-7-1 兩菌在 PE 中 BTB 指示劑 OD 值變化情形
在 PE 及 PLA 實驗結果中觀察到以下現象：

- 菌株 5 搭配 PE 或 PLA 時的 OD 值下降幅度最大，代表其在兩種塑膠環境中皆能產生大量 CO₂，推測其對 PE 與 PLA 均具較強的生物分解潛力。
- 菌株 2 與 PE 或 PLA 亦呈現明顯酸化反應，CO₂ 產量次於菌株 5，亦具分解潛能。
- 菌株 2、菌株 5 在無塑膠條件下（單獨組）亦產生一定 CO₂，但下降幅度較小，其中菌株 5 產生 CO₂ 的速率高於菌株 2。
- 對照組（僅有塑膠、無菌）幾乎無吸光度變化，顯示 PE 與 PLA 本身在無菌環境下不會自發釋放 CO₂。

進一步比較兩株菌在不同塑膠環境中的反應如下：

1. 菌株 5 於 PE 與 PLA 環境中皆展現顯著 CO₂ 產生能力，特別是在 PLA 組中表現最強，顯示其對 PLA 具更高的潛在分解性。
2. 菌株 2 亦能產生 CO₂，但整體表現略遜於菌株 5，推測其分解效率較低。
3. 對照組的 OD 值幾乎無變化，佐證塑膠本身在無菌條件下不具降解反應。

表 5-7-1 不同菌種對 PE 及 PLA 酸化程度比較表（依據 OD 最低點判斷酸化強度）

塑膠	PE			PLA		
	組別	酸化程度 (OD 值下降幅度)	推測 CO ₂ 產生量	推測 PE 分解潛力	酸化程度 (OD 值下降幅度)	推測 CO ₂ 產生量
菌 5 + 塑	最大	高	高 (最強)	最大	高	高 (最強)
菌 2 + 塑	明顯	中高	中高	明顯	中高	中高
菌 5	較小	中	無	較小	中	無
菌 2	較小	中	無	較小	中	無
對照組 (塑)	幾乎無	低	無 (無菌)	最小	低	無 (無菌)

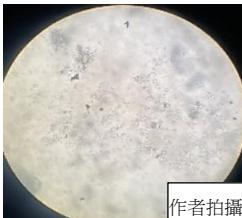
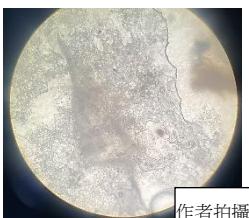
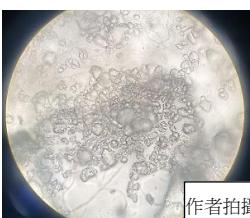
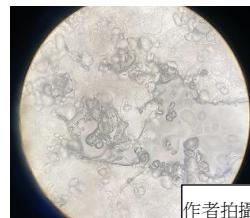
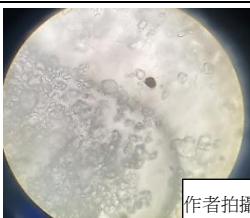
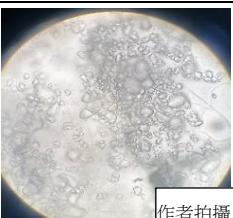
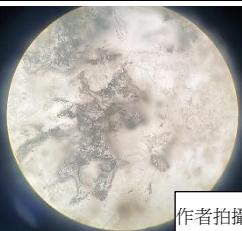
八、菌株 2 及菌株 5 對塑膠微粒具有專一性吸附效果

為了瞭解菌 2 與菌 5 於液體培養環境中對不同材料表面之附著行為，並探討其是否具專一性吸附能力，採用 PDB 培養液作為生長環境，將 PE（聚乙稀）與 PLA（聚乳酸）微粒分別添加至不同培養瓶中，並設置金屬粉末（銅粉與鐵粉）為對照組，進行為期 7 天的靜置培養觀察。

結果顯示，在加入 PE 與 PLA 的實驗組中，菌 2 與菌 5 皆於第 3 日至第 7 日間在塑膠微粒表面形成明顯的菌絲聚集現象。菌絲不僅附著於塑膠表面，且可見其自中心向外延展，形成緊密結合的白色團塊，顯示真菌與塑膠間存在高度的親合性。此現象於所有含 PE 或 PLA 的培養組中皆有穩定表現，並未於液體其他區域發現類似聚集，證明其附著行為具明確方向性。

相對地，在銅粉與鐵粉組中，菌絲則以懸浮或分散方式生長，未觀察到聚集於金屬表面的趨勢。此結果顯示菌 2 與菌 5 在聚合物結構（如塑膠）的表面上具有**選擇性吸附行為**，而對於無孔隙、無聚合鏈的金屬表面則無明顯吸附能力，排除非專一性附著的可能。真菌吸附可能與塑膠材料的**疏水性、表面能或分子排列**有關，推測菌體在接觸塑膠表面後可能啟動特定附著機制，形成穩定菌絲結構。

表 5-8：菌株 2 及菌株 5 在不同溶液中專一性結果

菌株	菌 2		菌 5	
塑膠	PE+銅粉	PLA+銅粉	PE+銅粉	PLA+銅粉
圖片	 作者拍攝	 作者拍攝	 作者拍攝	 作者拍攝
塑膠	PE+鐵粉	PLA+鐵粉	PE+鐵粉	PLA+鐵粉
圖片	 作者拍攝	 作者拍攝	 作者拍攝	 作者拍攝
說明	菌絲與 PE/PLA 塑膠具有親合性，未被無機金屬粉所干擾，有助於證明菌 2 與菌 5 具有專一性的塑膠附著能力，。		菌 5 在含有塑膠微粒（PE、PLA）及金屬粉的 PDB 液體中生長，其菌絲明顯朝向塑膠微粒聚集，顯示選擇性吸附現象。	
對照組	 作者拍攝	菌 2 在銅金屬粉末組未觀察到菌絲附著現象	 作者拍攝	菌 5 在鐵金屬粉末中，未觀察到相同吸附現象。

九、使用菌株 2 及菌株 5 處理塑膠微粒後，能提高水蚤存活與活性

從表 5-9 顯示，2 號菌組與 5 號菌組的心跳速率從 D1 到 D5 穩定上升，對照組（未經菌處理的塑膠微粒）心跳基本維持穩定，約在 290 bpm 上下，一開始 2 號菌與 5 號菌組的心跳遠低於對照組；但到第五天時，2 號與 5 號菌組的心跳速率接近對照組。

推測 PE 塑膠微粒會被水蚤吸入造成消化不良或心臟功能抑制，使其心跳降低，2 號菌與 5 號菌可能具有吸附或降解塑膠微粒中有害物質的能力，經過時間作用後，有效降低塑膠微粒對水蚤的毒性。隨著天數增加，菌株作用時間變長，塑膠微粒的毒性減輕，水蚤的心跳逐漸恢復正常水平。

表 5-9：2 號及 5 號菌株吸附塑膠微粒對水蚤的活性影響

天數 組別	D1	D2	D3	D4	D5
2 號菌	175	188	205	223	245
5 號菌	156	173	201	230	252
對照組	290	288	292	294	291

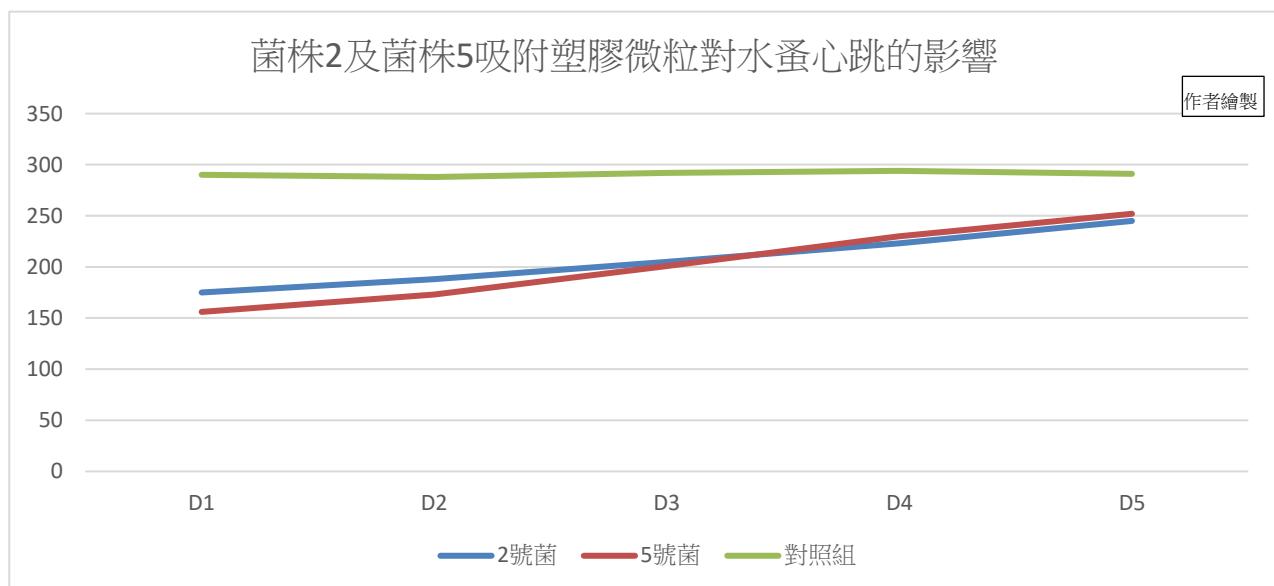


圖 5-9-1 實驗組腸道充滿塑膠微粒
影響其活性

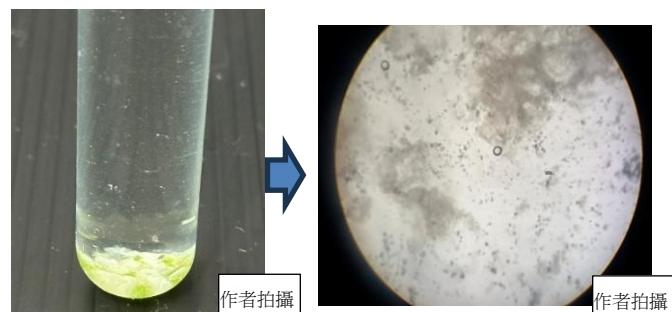


圖 5-9-2 實驗組試管底部有團聚物
吸附塑膠微粒

伍、討論

一、小蠟蟲腸道菌揭示潛在塑膠降解新來源

本研究自觀察小蠟蟲（*Achroia grisella*）進食蜂蠟的生態行為出發，推測其腸道共生菌可能具備塑膠降解潛能。成功分離出 30 株可穩定培養之菌株，為後續吸附與降解研究提供實驗基礎。過去已有研究指出蠟蟲腸道菌與塑膠代謝相關（Kundungal et al., 2019；Lin et al., 2022），而本研究擴展至小蠟蟲，補足該物種微生物研究的空白。研究結果亦與 Bombelli 等人（2017）關於 *Galleria mellonella* 降解 PE 之發現相呼應，顯示不同蠟蟲物種皆可能成為新興塑膠降解微生物的來源庫。

二、八株具高吸附能力之真菌株可望應用於 PLA 污染處理

研究發現菌株 1、2、5、8、12、15、17 與 22 能於液態 PLA 培養基中形成明顯菌絲結構並吸附塑膠微粒。這些菌株具備潛力作為生物吸附劑，應用於塑膠微粒污染控制。先前研究指出真菌菌絲可分泌胞外聚合物（EPS）與疏水性表面蛋白，有助於微粒黏著與團聚（Op De Beeck et al., 2021；Bayry et al., 2012），此外亦可配合分泌酯酶等酵素進行降解（Awasthi et al., 2022）。本研究初步證實菌絲包覆現象，為開發可持續的塑膠去除技術提供基礎。

三、菌株吸附行為受塑膠種類影響，菌 5 展現多方位潛力

於 PDB 有機培養條件下進行吸附實驗，結果顯示菌 5 對 PET、PE 與 PLA 三種塑膠微粒皆具顯著吸附效果，為吸附範圍最廣之核心菌株。菌 12 與菌 2 則於 PET 與 PLA 中表現穩定，亦具潛力。菌 15 則對 PLA 具高度吸附能力，顯示其可能具材質選擇性。根據 Srikanth et al. (2022) 與 Shah et al. (2008)，PLA 中酯鍵較易遭受水解，因此在微生物酵素作用下降解速率較快。此外，Yuan et al. (2020) 指出，塑膠結構一旦遭破壞，可促進後續微生物的附著與代謝，本研究實證與其推論一致。

四、無碳源條件中菌株 5 仍表現潛在塑膠降解活性

在無碳源培養液中，菌 5 仍能穩定附著於 PET、PE 與 PLA 表面，顯示其可能將塑膠作為營養來源進行初步代謝。此與 Yoshida et al. (2016) 所發現之 *I. sakaiensis* 以 PET 為唯一碳源的能力相似，也與 Fernandes et al. (2020) 所述淡水真菌可單獨利用塑膠維持生長的研究一致。本研究結果強調菌 5 不僅為吸附型菌株，亦可能具資源轉換與回收應用價值。

五、菌株 2 與菌株 5 對 PLA 降解能力比較下，菌株 5 具顯著優勢

利用 BTB 指示劑與石灰水檢測系統，本研究確認菌株 2 與菌株 5 對 PLA 塑膠微粒具有分解能力。實驗顯示，菌株 5 (*Curvularia senegalensis*) 於第 5 日即出現 BTB 顏色由藍轉黃及石灰水混濁現象，代表有明顯的酸化反應與 CO₂ 釋放；而菌株 2 (*Purpureocillium lilacinum*) 則需至第 7 日才出現相同變化，反應時間相對較慢。對照組（無菌或僅含塑膠）則無任何顯著變化。根據光度計結果，菌株 5 在含 PE 與 PLA 的培養條件下產生最多 CO₂，顯示其不僅具塑膠表面吸附能力，更有主動代謝塑膠、釋放代謝產物的潛力。

菌株 5 (*Curvularia senegalensis*) 為一種已知具備酯酶分泌能力的絲狀真菌。Fernandes et al. (2022) 指出，該菌株可分泌一種具聚氨酯分解能力的胞外酯酶，具備水解酯類高分子聚合物的功能，顯示其在合成塑膠降解上的潛力。

此一發現與陳唯 (2023) 於竹南紅樹林中針對 PLA 與 PU 降解真菌之研究結果相呼應。研究指出，在以聚氨酯作為唯一碳源的條件下，紅樹林真菌如 *Paraconiothyrium bishopiae* 可有效進行塑膠降解。本研究根據 BTB 與石灰水檢測結果，菌株 5 在 PLA 與 PE 處理下皆釋放出明顯的 CO₂ 量，已具高度生物活性與代謝潛能。此結果亦呼應 Tokiwa et al. (2009) 指出 PLA 需特定微生物酵素介入方能有效降解的理論架構。

六、菌株 2 與菌株 5 展現材料選擇性吸附特性，專一性顯著

專一性吸附試驗顯示，菌 2 與菌 5 能選擇性附著於 PE 與 PLA 表面，形成菌絲聚集體，對銅粉與鐵粉無吸附現象。此結果符合 Huang et al. (2021) 關於真菌利用疏水劑 (Hydrophobics) 與疏水性塑膠表面結合的機制推論。金屬無聚合鏈與孔隙結構，亦無法提供酵素結合位點，進一步說明菌體對高分子聚合物具有專一辨識與結合能力，具有選擇性吸附潛能。

七、菌株處理可降低 PE 毒性並改善水蚤生理表現

菌 2 與菌 5 處理 PE 微粒溶液後，水蚤心跳速率與存活率皆顯著上升，推測菌絲或酵素可去除塑膠表面毒性添加劑或代謝副產物。Darbre (2020) 曾指出部分塑膠添加劑具內分泌干擾與毒性潛勢，而 Yuan et al. (2020) 亦指出真菌代謝可降低材料疏水性，有助於毒性釋放與後續生物處理。上述結果支持菌株處理可作為水質生物淨化策略之一，亦有助於減緩微塑膠對水生生物之毒性風險。

陸、結論與未來展望

本研究從小蠟蟲腸道中分離具潛力之真菌，證實菌株 2 與菌株 5 不僅可吸附 PE 與 PLA 微粒，且菌 5(*Curvularia senegalensis*)具顯著 PLA 生物降解能力。進一步實驗也顯示其在無碳源條件下仍可與塑膠表面結合，並減少對水蚤的毒性，具環境應用潛能。

未來可進一步：

1.評估菌體在天然水體或污水中穩定性與塑膠降解效率，模擬真實環境應用。

2.探討菌株與其他菌群（如細菌、藻類）協同處理塑膠污染的可能性。

本研究顯示生物吸附與降解結合的雙效策略具發展潛力，為處理微塑膠污染提供新解方，未來可望發展為生物吸附或生物降解應用於環境塑膠污染治理的微生物資源，並提供後續生物技術應用與微生物篩選的重要依據。

參考文獻

1. 林慧珍、黃詩婷、李孟婷（2021）。台灣地區海岸沙灘微塑膠分布特徵與來源分析。《環境教育研究》，17(2)，1 – 18。[https://doi.org/10.6208/JERE.202106_17\(2\).0001](https://doi.org/10.6208/JERE.202106_17(2).0001)
2. 高子涵、洪湘婷（2022）。塑膠微粒對水生生物的潛在毒性效應與風險管理建議。《國立臺灣大學公共衛生期刊》，41(3)，233 – 248。[https://doi.org/10.6310/tphj.2022.41\(3\).02](https://doi.org/10.6310/tphj.2022.41(3).02)
3. 陳育晟（2025）。人體微塑膠殘留與健康風險評估初探：來自大體檢體的警訊分析。《環境與毒理學期刊》，19(1)，45 – 58。<https://doi.org/10.62712/envtox.2025.1901.004>
4. 陳唯（2023）。竹南紅樹林塑膠垃圾上真菌多樣性與其塑膠降解能力之探討（*Fungi associated with plastic waste on Chunan mangrove floor and their ability to degrade plastics*）[碩士論文，國立臺灣海洋大學海洋生物研究所]。
5. Ali, S. S., Elsamahy, T., Zhu, D., & Su, J. (2023). Biodegradability of polyethylene by efficient bacteria from the guts of plastic-eating waxworms and investigation of its degradation mechanism. *Journal of Hazardous Materials, 443*(Part B), 130287.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.130287>
6. Fernandes, J. C. A., Lopes, S. G., Alves, L. B., de Macedo, J. R., Guimarães, L. H. S., & Cruz-Hofling, M. A. (2022). Characterization of a polyurethane-degrading esterase from *Curvularia*

senegalensis with potential application in bioremediation. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 10*, 877981. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.877981>

7. Kundungal, H., Devipriya, S. P., Raghavan, P., Nampoothiri, K. M., & Thomas, S. (2019). Insect larvae and polyethylene biodegradation: A systematic review. *Environmental Pollution, 255*(Part 2), 113267. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113267>
8. Lin, X., Fan, L., Mo, Y., Zeng, Z., & Jiang, L. (2022). Gut microbial community structure of waxworms and their plastic-degrading potential. *Frontiers in Microbiology, 13*, 865901. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.865901>

【評語】032902

本作品從小蠟蟲 (*Achroia grisella*) 分離出 30 株腸道菌，並設計評估吸附的方法來分析各菌株的應用潛力，最後挑選出表現良好的菌株進行分解塑膠微粒的測定，以及使用水蚤來檢測分解後塑膠微粒懸浮液對生物的危害程度是否降低。本研究內容豐富，研究設計優良，步驟嚴謹，在結論和討論的部分都有詳盡的描述，可見其用心程度。以下建議供同學參考：

1. 顯微鏡的操作倍率應述明，並標示適當長度的尺標。
2. 塑膠微粒粒徑常介於 10 μm 左右，僅使用解剖顯微鏡，辨析不容易，應可使用解析度較佳的顯微鏡。
3. 作品第 5 頁樣本微粒，大小介於 13~270 μm ，應考量自然沉降是否會干擾實驗的結果。
4. 所使用銅粉、鐵粉的粒子大小為何？是否與塑膠微粒相仿，粒徑大小亦有可能為影響實驗的變因，應作控制。
5. 一開始取得了 30 株菌株，雖篩選其中 8 株，仍應報導另外 22 株在篩選過程中得到的實驗數據與篩選條件。

6. 建議以濁度計量測會比 OD 值 (穿透率的 $-\log$ 值) 更有意義。
7. 作品第 16 頁描述「吸附能力的濁度 (OD 值)」有些混淆，OD 值與光散射與吸收度相關，濁度單位於國際標準化組織中稱為 FNU (Formazin Nephelometric Units) 或常用 NTU (nephelometric turbidity unit)，非 OD 值。不論使用哪一種量測，應敘述所得到的數值如何能對應對塑膠微粒的吸附能力。
8. 作品表格中「◎」的意義為何？有些混淆，若只是空白表格則敘明待測品項即可。
9. 水蚤實驗中，除了以「未經菌處理的塑膠微粒」作為對照組，亦應加入「未添加塑膠微粒」，即原始自然生活環境的對照組。
10. 單獨菌體對水蚤的影響也應有對照組來確認。
11. 只有在水中均質的 PLA 懸浮液，不能稱為乳化液。
12. 表格的數據應註記符號的意義，例如 X 和 V 分別代表什麼意義？

13. 以 OD 600 測定 PLA 的分解時，也要考慮細胞生長造成的干擾。是否應該配合沈澱量作評估，若沈澱量在 7 日亦增加(或不變)，但 OD 却增加的情形，反而有可能是可以在 PLA 裏生長又可吸附的合適菌株，此一現象亦可和降解作用的數據作一併驗證。

14. 作品表 5-4-2 中的菌 5，p value 為 0.000，是否有誤。

15. 表 5-6 的照片(上左)敘述有誤。

作品海報

「塑」戰「菌」決——探討小蠟蟲腸道菌 對塑膠微粒的吸附及降解情形

摘要

本研究探討小蠟蟲（*Achroia grisella*）腸道共生菌對塑膠微粒的吸附與降解潛力，成功分離出30株可穩定培養菌株，並針對常見塑膠（PET、PP、PE、PLA）進行吸附與降解分析。結果顯示，菌2與菌5能有效吸附PE與PLA微粒，其中菌5在PLA條件下展現快速酸化與 CO_2 釋放現象，顯示具備生物降解能力。進一步證實其在無碳源條件下仍能附著塑膠表面，顯示其可將塑膠作為潛在碳源。此外，菌株處理後之PE微粒對水蚤毒性下降，心跳與存活率回升，推測與毒性添加劑去除有關。本研究亦觀察到菌體對塑膠表面具專一性吸附，對金屬顆粒無附著現象。綜合實驗結果，菌株5具高穩定性、廣效吸附與降解潛力，未來可應用於塑膠污染治理與生物回收領域。

壹、研究動機

難以降解的微塑膠已廣泛分布於海岸與水域中，對環境與生物健康構成威脅。林慧珍等人（2021）指出台灣西部海灘普遍檢出微塑膠；高子涵與洪湘婷（2022）亦說明其對水生生物造成發育異常與細胞損傷。更有研究發現人體大腦可能殘留高達一湯匙的塑膠微粒（陳育晨，2025），引發社會關注。相較物理與化學處理，微生物降解或吸附具永續潛力。2017年，Bertocchini 發現蠟蛾幼蟲能咬穿塑膠袋，促使相關研究展開。本研究以蠟蟲與黑水虻腸道菌為對象，探討其對PLA等常見塑膠的吸附與分解能力。初步觀察發現PLA溶液在接種菌株後三天內變清，七天後出現附菌絲沉澱，顯示可能具有吸附與降解能力。進一步自蠟蟲腸道篩選30株菌，挑出8株表現佳者，並與其他菌株交叉測試於PET、PE、PP等塑膠。為評估應用潛力，我們亦進行水蚤毒性測試，觀察菌株處理前後塑膠對生物活性的影響，期望尋找具吸附力與毒性降低效果之候選菌株。

貳、研究目的、研究架構、設備器材

研究目的

- 一、觀察小蠟蟲生態及篩選小蠟蟲腸道菌株。
- 二、探討小蠟蟲腸道菌對聚乳酸（PLA）塑膠微粒的吸附情形。
- 三、比較不同菌株對四種塑膠微粒（PET、PP、PE、PLA）吸附效能。
- 四、探討菌株對兩種塑膠微粒（PE、PLA）的降解作用。
- 五、了解菌株對兩種塑膠微粒（PE、PLA）的專一性情形。
- 六、評估菌株吸附塑膠微粒後，對水蚤存活與活性的影響。

實驗生物：小蠟蟲、水蚤

研究設備及器材



參、研究過程與結果

【研究一】觀察小蠟蟲生態及培養小蠟蟲腸道菌株

實驗流程

- 無菌解剖小蠟蟲取腸道內容物
- 離心處理，取上清液
- 滴加上清液至PLA培養基進行初步培養
- 觀察培養基上菌落外觀（顏色形狀大小）
- 使用四區畫線法進行菌株純化至單一菌落
- 完成30株純化菌株篩選，準備後續實驗

實驗結果

一、小蠟蟲腸道菌在PLA環境中的生長表現

(一)菌株篩選：

- 小蠟蟲腸道純化菌株接種於聚乳酸（PLA）固態培養基。

(二)篩選結果：

- 選出30株形態明確、在PLA環境下生長穩定的菌株。
- 進行後續液態PLA塑膠微粒吸附與分解潛能實驗。

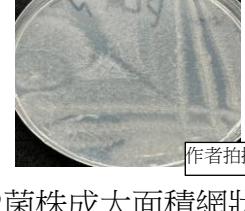
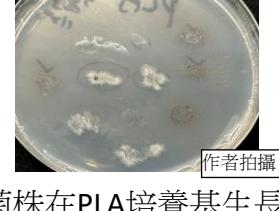


圖3-1-1菌株在PLA培養基生長

圖3-1-2菌株成大面積網狀

圖3-1-3菌株呈絲狀生長

【研究二】探討小蠟蟲腸道菌對聚乳酸（PLA）塑膠微粒的吸附情形

實驗流程

【步驟一】乳化PLA塑膠微粒製備

- 備製0.1%、1%、10%三種濃度塑膠微粒溶液。

【步驟二】純化菌株預培養

- 將小蠟蟲腸道純化菌株培養至含1% PLA塑膠微粒之固體培養基，28°C恆溫箱中培養96小時，促進菌落生長與適應。

【步驟三】接種至PLA乳化溶液

- 挑取0.2 cm x 0.2 cm大小菌落，分別接種至0.1%、1%、10%濃度的PLA乳化溶液試管。

【步驟四】吸附觀察與紀錄

- 於24小時、48小時、72小時觀察溶液透明度變化、沉澱物情況，以拍攝與目視描述進行，歸納各菌株吸附效果差異。

【步驟五】設置對照組

- 未知菌組：黑水虻腸道菌及其他來源菌，作吸附效果比較。

- 空白組：純PLA乳化溶液，以排除自然沉降或乳化變化影響。

實驗結果

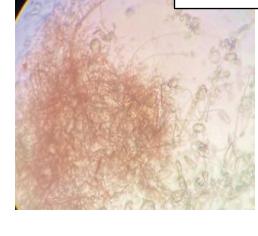
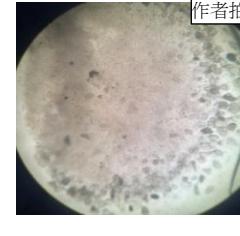
•第3天結果（D3）：8株菌株出現可見菌絲結構。

•第5天至第9天結果（D5-D9）：

- 菌1、菌2、菌5、菌8、菌12、菌15、菌17、菌22持續形成菌絲並與PLA微粒結合。
- 控制組（未知菌組與空白組）無明顯菌絲結構或團聚現象。

•顯微鏡觀察：

- 菌絲結構可包覆PLA微粒表面。推測菌絲與PLA間可能發生結合、吸附或初步生物降解作用。



菌絲與PLA微粒形成凝聚物

團聚體包覆PLA塑膠微粒

顯微鏡下菌絲包覆情形

參、研究過程與結果

【研究三】比較不同菌株對四種塑膠微粒 (PLA、PE、PP、PET) 之吸附效能

實驗流程：有碳源

材料：

PE (聚乙稀)、PP (聚丙稀)、PET (聚對苯二甲酸乙二酯)、PLA (聚乳酸)。

【步驟一】實驗藥品準備

- 成分：5% Agar、250 mg酵母萃取物、1,000 mg硫酸銨、100 mg氯化鈉、200 mg硫酸鎂、20 mg氯化鈣、10 mg硫酸亞鐵、0.5 mg硫酸錳。

【步驟二】塑膠微粒溶液製備

- 製備方式：各取1g塑膠微粒，加入100 mL無菌蒸餾水，製成1% (w/v)懸浮液。於121°C高壓滅菌後，冷卻並置於冰箱低溫保存。

【步驟三】菌株預先培養

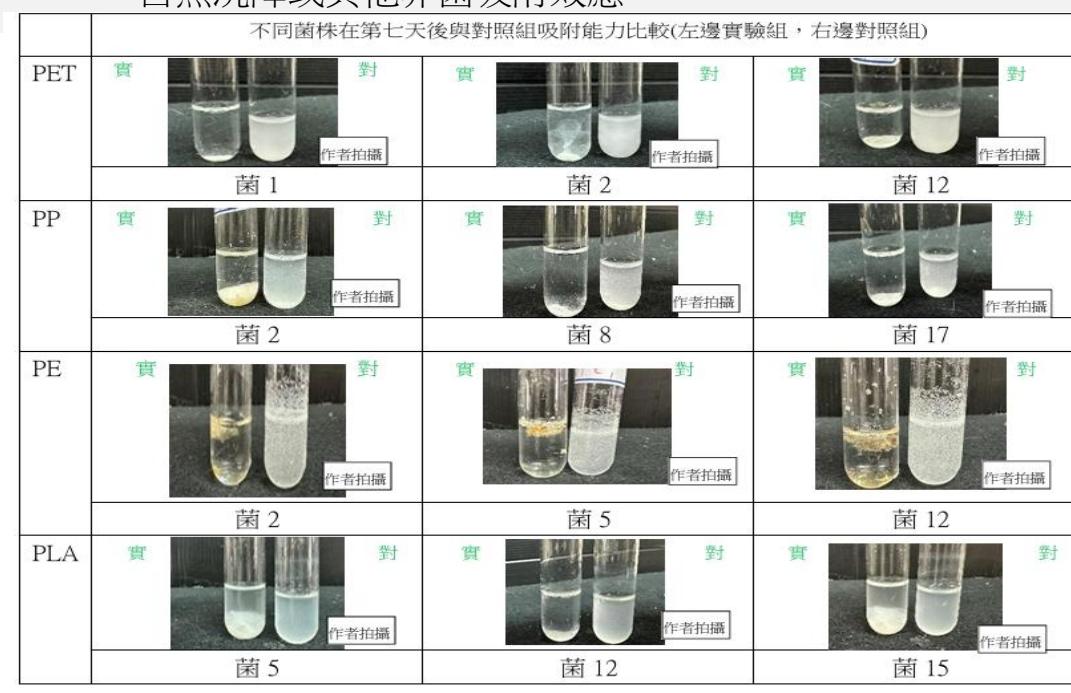
- 培養條件：小蠟蟲腸道純化菌株共8株。接種於YPD液體培養基中，於28°C恆溫箱內培養，促進生長。

【步驟四】吸附實驗設計

- 實驗組操作：取1%濃度之PE、PP、PET與PLA四種塑膠微粒懸浮液，分裝於滅菌試管中。各試管加入100 μL預培養菌液。靜置於28°C恆溫培養箱中培養，設三重複組以確保實驗穩定性。
- 吸附效果觀察：於培養第1天、第3天與第7天，以分光光度計 (600 nm) 測量OD值。計算第1天減第3天的OD差值，OD下降幅度越大，代表吸附效果越好。使用複式顯微鏡觀察菌株附著於塑膠微粒情形。

【步驟五】對照組設計

- 未知菌組：採用黑水蛇腸道菌及其他菌進行吸附效果比較。
- 空白組：僅含塑膠微粒乳化溶液，未接種菌株，用以排除自然沉降或其他非菌吸附效應。



實驗流程：無碳源

【步驟一】實驗藥品準備

- 成分：3 g硝酸銨 (NH₄NO₃)、5 g磷酸氫二鉀 (K₂HPO₄)、1 g氯化鈉 (NaCl)、0.2 g硫酸鎂 (MgSO₄·7H₂O)。

【步驟二】塑膠微粒溶液製備

- 將藥品溶於100 mL無菌蒸餾水中。各加入1g塑膠微粒 (PE、PP、PET、PLA)，製成1% (w/v) 濃度懸浮液。
- 以121°C高壓滅菌處理，滅菌後冷卻保存於冰箱備用。

【步驟三】菌株預培養

- 菌株：小蠟蟲腸道純化菌株 (共8株) 接種於YPD液體培養基中，於28°C恆溫箱培養。

【步驟四】無碳源吸附實驗設計

- 實驗組操作：分裝1%濃度之PE、PP、PET、PLA塑膠微粒溶液於滅菌試管中。各試管加入100 μL預培養菌液。靜置於28°C恆溫培養箱中，設置三重複組。
- 吸附效果檢測：使用分光光度計 (600 nm) 分別於第1天、第3天、第7天量測OD值。以第一天減去第三天的OD差值評估吸附效果 (數值差距越大表示吸附能力越好)。

【步驟五】對照組設置

- 未知菌組：黑水蛇腸道菌及其他菌株，比較吸附表現。
- 空白組：不接種菌株純塑膠微粒溶液，作為自然沉降對照。

【研究四】探討不同菌株對兩種塑膠微粒 (PE、PLA) 的降解作用

實驗流程：塑膠微粒生物降解能力分析

本實驗進一步評估其對塑膠微粒 (PE、PLA) 之生物降解潛力，並透過以下兩項指標進行判斷：**BTB酸鹼指示劑變色觀察**：藉由BTB色變 (藍綠 → 黃) 偵測代謝產酸。**石灰水混濁度檢測CO₂產生**：間接推測塑膠降解後的微生物呼吸強度。

二、實驗步驟說明

【步驟一】塑膠微粒預處理與培養液配置

使用蒸餾水將PLA與PE微粒徹底清洗。經121°C、15分鐘高壓滅菌處理，避免雜菌干擾。

將0.5 g經處理的塑膠微粒加入250 mL三角錐瓶，搭配100 mL無碳源液體培養基 (不含葡萄糖等碳源)。

【步驟二】菌株接種與實驗組設置

將菌株2與菌株5分別接種至含塑膠的培養瓶中 (每組三重複)。

對照組1：僅含塑膠顆粒、不接菌株 (評估非生物性變化)。

對照組2：僅含菌株、不加塑膠顆粒 (評估菌株代謝背景)。

【步驟三】封閉系統與指示劑連接

使用橡膠塞封瓶，導管一端連接至含**BTB指示劑**的錐形瓶 (偵測產酸)。或連接至含**石灰水**的錐形瓶 (偵測CO₂)。

【步驟四】培養與觀察紀錄

所有瓶組置於28°C恆溫培養箱中培養。每週觀察並記錄：

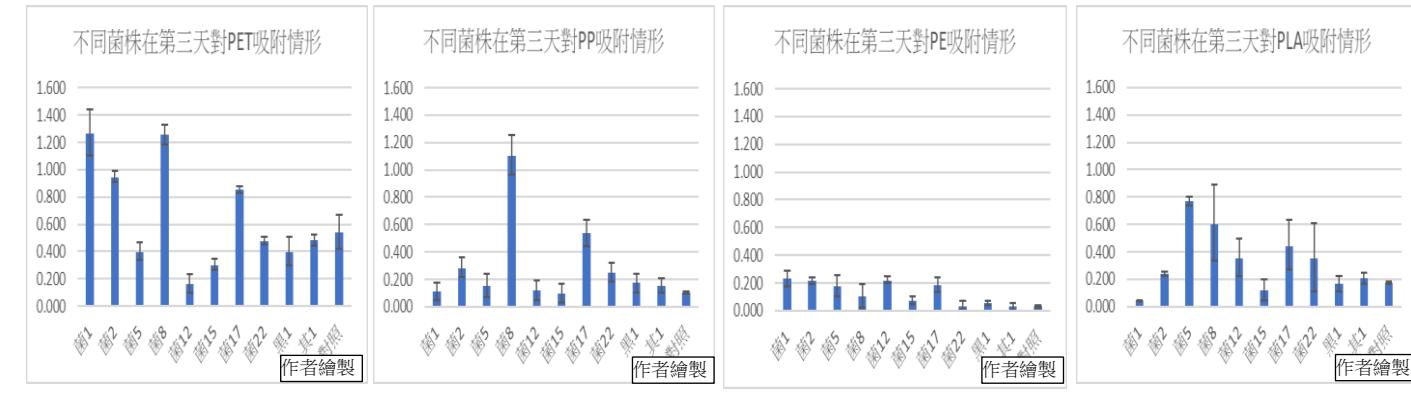
BTB顏色變化 (藍 → 綠 → 黃)。

石灰水混濁程度 (CO₂產生指標)。

實驗結果

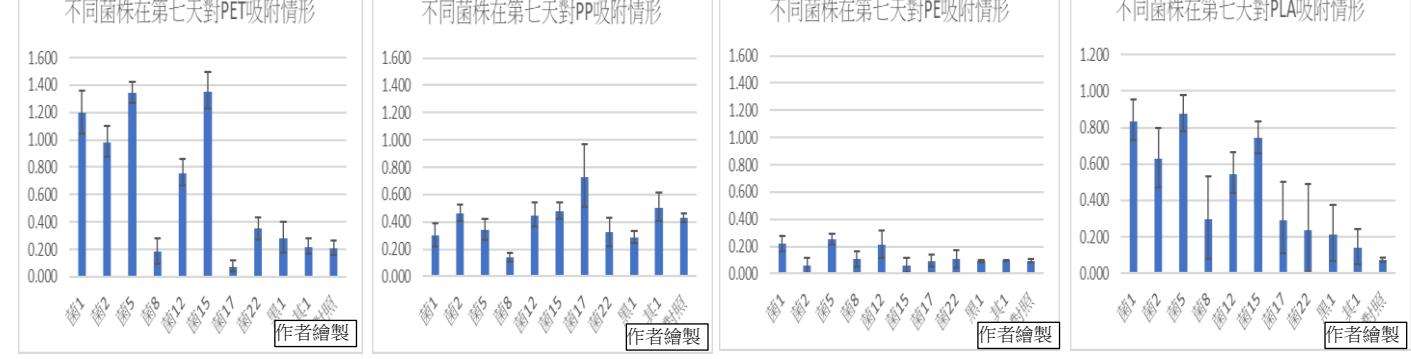
一、第三天吸附結果總結 (D3)

- 菌2：四種塑膠皆有吸附顯著性 (全能型吸附菌株)。
- 菌1：對PET、PP、PLA有明顯選擇性吸附潛力。
- 菌17：對PP具高度吸附特性。
- 菌5：對PE與PLA吸附效果穩定。



二、第七天吸附結果總結 (D7)

- 菌1、菌5：PET、PE、PLA塑膠皆維持高顯著吸附。
- 菌2、菌12、菌15：PET、PLA皆具穩定吸附能力。
- 菌8：針對PP材質表現突出。
- 菌17、菌22：對PLA展現高度專一性。



三、菌株吸附能力總結 (D3 + D7統整)

小蠟蟲腸道來源之菌株在第3天與第7天對四種塑膠微粒 (PET、PP、PE、PLA) 展現不同程度的吸附表現，菌1、菌2、菌5、菌8、菌12、菌15、菌17與菌22在部分材質上具有顯著性吸附效果，顯示其潛在的專一性或廣效性吸附特性。

天數 菌株	D3				D7				顯著總 次數	吸附潛力評估
	PET	PP	PE	PLA	PET	PP	PE	PLA		
菌1	**	-	**	**	**	-	*	**	6 次	對 PET/PLA 吸附穩定型
菌2	*	*	**	*	**	-	-	*	6 次	對 PET/PE 吸附穩定型
菌5	-	-	*	**	**	-	*	**	5 次	對 PE/PLA 吸附穩定型
菌8	*	**	-	-	-	**	-	-	3 次	材質選擇性強(PP)
菌12	**	-	**	-	*	-	-	**	4 次	材質選擇性強(PET)
菌15	-	-	-	-	**	-	-	**	2 次	PET 選擇專一型
菌17	*	**	*	-	*	-	-	-	4 次	對 PP 具吸附偏好
菌22	-	*	-	-	*	-	-	-	2 次	對 PET/PP 吸附穩定型

實驗結果

一、整體結果

整體趨勢：大多數菌株吸附活性下降，僅少數菌株維持吸附能力。

二、各材質吸附表現分析

- PET：菌5、菌17吸附效果顯著 (P < 0.01)。
- PP (聚丙烯)：所有菌株吸附效果無顯著差異 (P > 0.05)。
- PE (聚乙稀)：僅菌5吸附效果達顯著水準 (P < 0.05)。
- PLA (聚乳酸)：僅菌5吸附效果達顯著水準 (P < 0.05)。

三、關鍵菌株分析

- 菌5：在PET、PE與PLA三種材質中皆達統計顯著，為廣效穩定型
- 菌17：僅在PET中達顯著水準，推測對PET具選擇性結合能力。

■ 總合結論

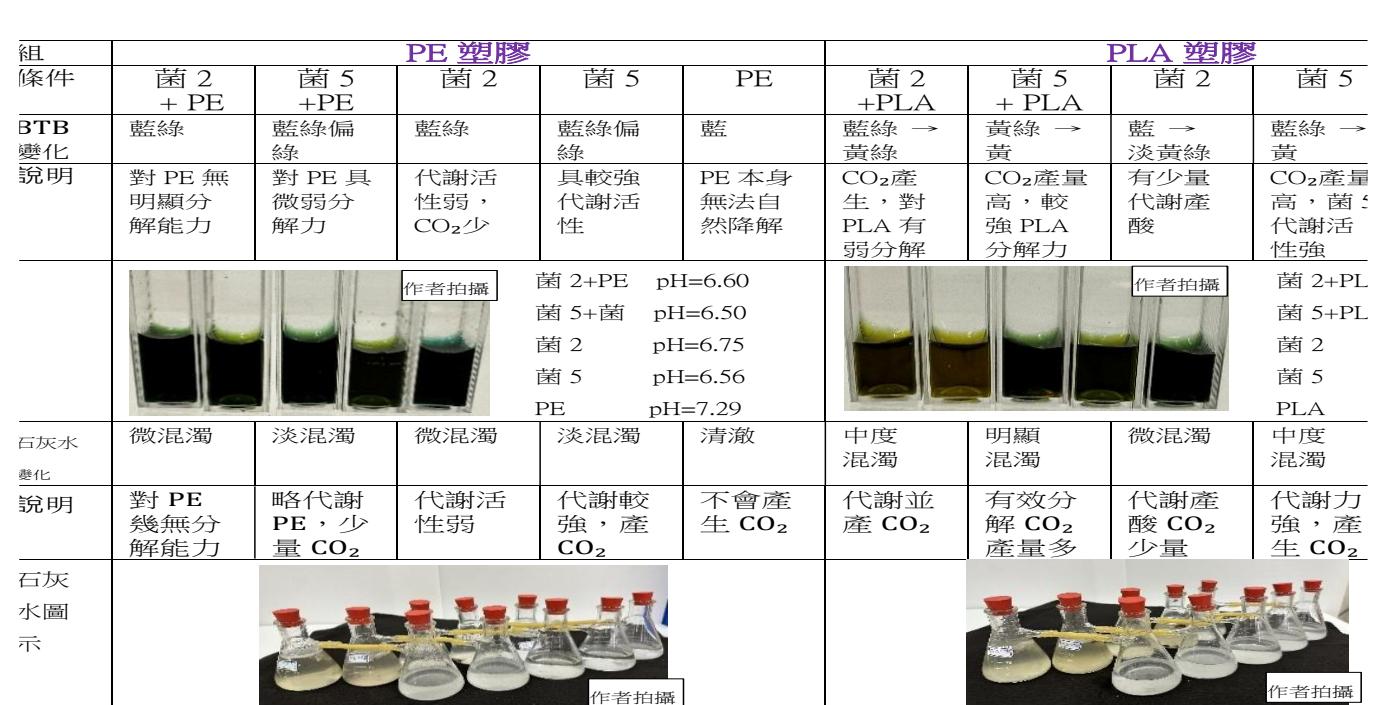
- 菌5在缺乏碳源條件下，仍展現穩定吸附能力
- 菌17表現選擇性，對特定塑膠 (PET) 有較佳結合效果。
- 其他菌株則未呈現明顯吸附性，顯示其對塑膠利用能力有限。

菌	PET吸附	PP吸附	PE吸附	PLA吸附	顯著數	特性描述
5	✓	✗	✓	✓	3項	廣效穩定型，具潛力
17	✓	✗	✗	✗	1項	對PET具選擇性吸附
其他	✗	✗	✗	✗	0項	吸附能力有限

實驗結果

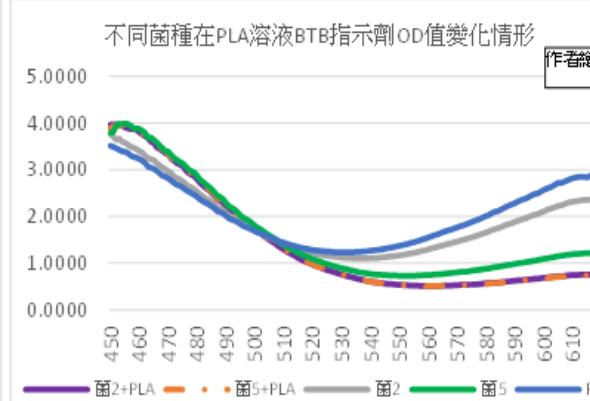
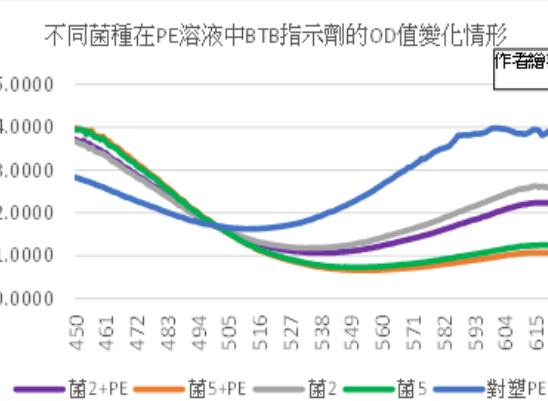
綜合BTB與石灰水兩項指標可知：

- PLA較易被菌株分解，特別是菌5，展現出快速且強烈的酸化與氣體釋放反應。
- PE則難以被降解，即使是菌5亦僅產生輕微代謝表現。
- 菌株代謝力依序為：菌5 > 菌2 > 無菌對照。
- 推測菌5可能分泌酯鍵水解酶，結合其菌絲吸附能力，加速PLA表面降解反應。



【研究四】探討不同菌株對兩種塑膠微粒（PE、PLA）的降解作用

- 菌株5搭配PE或PLA時的OD值下降幅度最大，代表其在兩種塑膠環境中皆能產生大量CO₂，推測其對PE與PLA均具較強的生物分解潛力。
- 菌株2與PE或PLA亦呈現明顯酸化反應，CO₂產量次於菌株5，亦具分解潛能。
- 菌株2、菌株5在無塑膠條件下（單獨組）亦產生一定CO₂，但下降幅度較小，其中菌株5產生CO₂的速率高於菌株2。
- 對照組（僅有塑膠、無菌）幾乎無吸光度變化，顯示PE與PLA本身在無菌環境下不會自發釋放CO₂。



塑膠	PE			PLA		
	組別	酸化程度 (OD值 下降幅度)	推測CO ₂ 產生量	推測PE 分解潛力	酸化程度 (OD值下 降幅度)	推測CO ₂ 產生量
菌5 + 塑	最大	高	高(最強)	最大	高	高(最強)
菌2 + 塑	明顯	中高	中高	明顯	中高	中高
菌5	較小	中	無	較小	中	無
菌2	較小	中	無	較小	中	無
對照組 (塑)	幾乎無	低	無 (無菌)	最小	低	無 (無菌)

【研究五】了解不同菌株對兩種塑膠微粒（PE、PLA）的專一性

實驗流程

【步驟一】材料預處理

準備四種微粒材料：PE微粒、PLA微粒、銅粉、鐵粉，各取0.5 g。分裝至玻璃罐中，放入高壓鍋進行滅菌(121°C, 15分鐘)。滅菌後冷卻，置於冰箱中低溫保存備用。

【步驟二】菌株預培養

使用PDB液體培養基(Potato Dextrose Broth)進行預培養：取菌株2與菌株5，接種至50 mL PDB培養液中，置於28°C恆溫箱中活化。

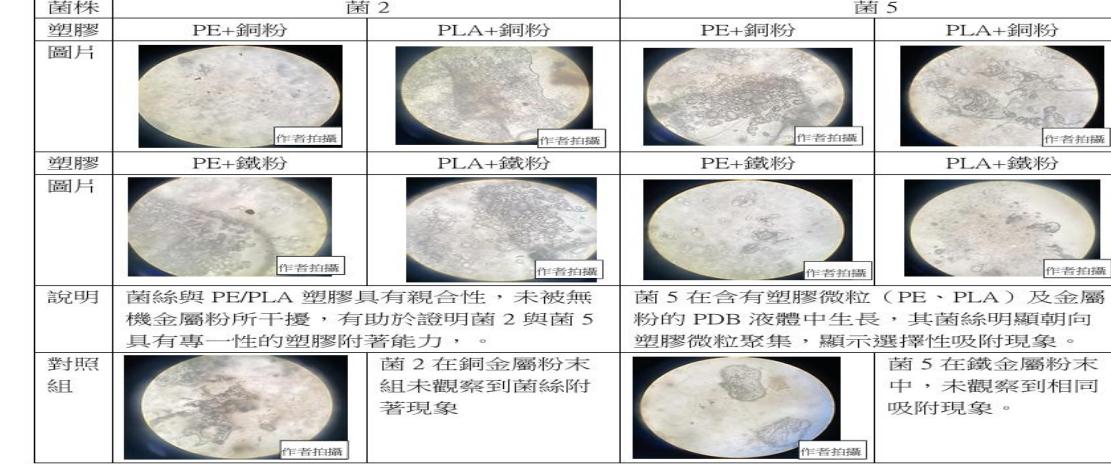
【步驟三】專一性吸附實驗設計

各處理組中加入50 mL PDB培養液，並加入對應添加物：PE、PLA、銅粉、鐵粉(1% w/v，即0.5 g / 50 mL)。

將已預培養7天的菌株2或菌株5接種入各瓶中。封蓋並置於28°C恆溫箱中避光培養7天。

每日觀察並紀錄：菌絲是否對目標顆粒(塑膠或金屬)產生聚集、附著或包覆行為。評估其對塑膠顆粒專一性吸附現象

實驗結果(塑膠組)		對照結果(金屬粉組)	
1. 第3至第7天期間，菌株2與菌株5於PE與PLA表面出現明顯菌絲聚集現象。	2. 菌絲附著位置具明確方向性，僅集中於塑膠微粒表面。	1. 在含銅粉與鐵粉的組別中，菌絲呈分散或懸浮生長。	2. 未觀察到明顯聚集於金屬表面的現象。
3. 液體培養基中其餘區域無明顯菌絲聚集，顯示有選擇性附著。		3. 表示菌株對金屬表面無專一性吸附行為。	



【研究六】評估不同菌株吸附塑膠微粒後，對水蚤存活與活性所產生的影響

實驗流程

【步驟一】菌株培養

- 培養菌株2與菌株5於YPD液體培養基中，28°C培養7天。
- 收集菌絲並以純水沖洗後備用。

【步驟二】塑膠懸浮液製備

- 使用生態池水100 mL，加入PE微粒1 g與乳化劑Tween 20(10 μL)，製成1% (w/v) PE懸浮液。

【步驟三】吸附處理

- 分裝5 mL塑膠懸浮液於試管中，加入處理後菌絲。
- 靜置進行菌絲與塑膠微粒吸附。

【步驟四】水蚤暴露實驗

- 每日加入10隻新水蚤至各處理試管中(連續5天)。
- 記錄其活性與心跳速率變化。

【步驟五】水蚤心跳分析

- 使用顯微鏡與手機錄影記錄水蚤心跳。
- 利用ImageJ軟體分析10秒內心跳波峰數，換算為bpm。
- 比較各組水蚤心跳變化，評估處理水對水蚤的影響。



肆、討論

一、小蠟蟲腸道菌為新興塑膠降解微生物來源

- 自Achroia grisella腸道分離出30株菌株，建立研究基礎。
- 填補小蠟蟲腸道微生物在塑膠降解領域的空白，呼應Galleria mellonella降解PE的相關研究(Bombelli et al., 2017)。

二、八株真菌具PLA吸附潛力

- 菌株1、2、5、8、12、15、17、22可穩定吸附PLA微粒。
- 真菌可能藉由胞外聚合物(EPS)與酯酶等蛋白進行塑膠附著與初步降解(Op De Beeck, 2021; Awasthi, 2022)。

三、菌株吸附行為受材質影響，菌5表現最佳

- 菌5對PE、PLA、PET皆具吸附力，為吸附範圍最廣菌株。
- PLA因酯鍵易水解，菌12與15亦具吸附潛力，與Yuan等(2020)所述塑膠破壞促進附著機制一致。

四、菌株5可於無碳源條件下進行塑膠代謝

- 菌5能於無外加碳源條件下穩定附著PET、PE、PLA，推測可將塑膠作為營養來源。
- 結果與I. sakaiensis及淡水真菌利用塑膠為唯一碳源的研究相符(Yoshida, 2016; Fernandes, 2020)。

五、菌株5對PLA降解能力優於菌株2

- BTB與石灰水實驗顯示：菌株5第5日即產生酸與CO₂，降解速率明顯快於菌株2。
- 菌株5(Curvularia senegalensis)可分泌聚氨酯降解酯酶(Fernandes, 2022)，為降解型核心菌株。

六、菌株展現明確材料選擇性吸附

- 菌2與菌5專一吸附於PE與PLA，對金屬粉(銅、鐵)無附著現象。
- 顯示其可辨識疏水性塑膠表面結構並選擇性結合(Huang et al., 2021)。

七、菌處理可降低PE毒性，改善水蚤健康

- 經菌處理之PE溶液可提升水蚤心跳速率與存活率。
- 推測真菌可移除表面毒性添加劑或副產物，有助於水質生物淨化(Yuan, 2020; Darbre, 2020)。

伍、結論

本研究從小蠟蟲腸道中分離具潛力之真菌，證實菌株2與菌株5不僅可吸附PE與PLA微粒，且菌5(Curvularia senegalensis)具顯著PLA生物降解能力。進一步實驗也顯示其在無碳源條件下仍可與塑膠表面結合，並減少對水蚤的毒性，具環境應用潛能。未來可進一步：

1.評估菌體在天然水體或污水中穩定性與塑膠降解效率，模擬真實環境應用。

2.探討菌株與其他菌群(如細菌、藻類)協同處理塑膠污染的可能性。

本研究顯示生物吸附與降解結合的雙效策略具發展潛力，為處理微塑膠污染提供新解方，未來可望發展為生物吸附或生物降解應用於環境塑膠污染治理的微生物資源，並提供後續生物技術應用與微生物篩選的重要依據。