




行政院環境保護署

111年度土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案

開發嗜熱嗜酸深藍紅藻作為永續的被動 生物修復資材：以氧化還原作用及物種 轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)

期末報告(定稿)

- 主辦單位： 行政院環境保護署
- 專案執行單位：國立中興大學／土壤環境科學系
- 專案主持人：劉雨庭 教授
- 專案執行期間：111年09月01日起至
112年08月31日止

中華民國 112 年 08 月 印製



專案基本資料表

專案性質	<input checked="" type="checkbox"/> 實驗性質 <input type="checkbox"/> 非實驗性質	專案類別(單選)	<input type="checkbox"/> 先導型 <input checked="" type="checkbox"/> 研究型 <input type="checkbox"/> 模場型		
研究主題	<input type="checkbox"/> 調查 <input checked="" type="checkbox"/> 整治 <input type="checkbox"/> 其他				
申請機構系所	國立中興大學				
機構地址	台中市南區興大路 145 號				
專案主持人	劉雨庭	職等/職稱	特聘教授		
協同主持人		職等/職稱			
專案名稱	中文	開發嗜熱酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原用及種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)			
	英文	Develop thermoacidophilic Cyanidiales as a sustainable biomaterial of passive bioremediation for removal and redox Cr(VI) and As(III)			
	關鍵字	Cyanidiales、Cr(VI)、As(III)、Sustainable、passive bioremediation			
執行期程	自 民 國 1 1 1 年 0 9 月 0 1 日 起 至 民 國 1 1 2 年 0 8 月 3 1 日 止				
專案主持人	姓名：劉雨庭 E-mail：yliu@nchu.edu.tw		專線：0422840373#3402 手機：0975573160		
專案人員	姓名：詹雅婷 E-mail：ytchan329@gmail.com		專線：0422840373#4208 手機：0921709592		
經費分析總表 (僅模場試驗專案需填寫兩年度金額)	專案預估經費		第一年金額	第二年金額	編列說明
	1.	人事費用	423,863		(1~6 項相加之 50%為限)
	2.	設備使用含維護費	0		(與計畫實驗相關)
	3.	耗材與主要費用	287,197		(與計畫主體相關)
	4.	其它研究相關費用	33,940		(含差旅與租賃費用)
	5.	雜支費用	20,000		(1~6 項相加之 5%為限)
	6.	行政管理費	85,000		(1~6 項相加之 10%為限)
	7.	自籌款	0		(自行籌備款項)
	申請補助金額(1~6 項)				總金額：850,000
	計畫總金額(1~7 項)				總金額：850,000

專案主持人(簽名及蓋章)： 教授劉雨庭 日期： 112/08/26



土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案

111 年度專案成果績效自評表

一、專案基本資料

填表日期：112 年 08 月 26 日

專案性質	<input checked="" type="checkbox"/> 實驗性質 <input type="checkbox"/> 非實驗性質	專案類別	<input type="checkbox"/> 先導型 <input checked="" type="checkbox"/> 研究型 <input type="checkbox"/> 模場型
研究主題	<input checked="" type="checkbox"/> 整治 <input type="checkbox"/> 調查 <input type="checkbox"/> 其他		
執行機構	國立中興大學	專案主持人	劉雨庭
專案名稱	開發嗜熱酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原用及種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)		
專案執行期程	<input type="checkbox"/> 申請階段 <input type="checkbox"/> 期中 <input checked="" type="checkbox"/> 期末		

二、成果績效自評

「計畫總預估數」應與計畫審查核定值相符，請執行單位依實際達成之量化成果填寫於欄位中。

(一) 學術面

項目	目標達成程度		申請 預估數	期中 達成數	期末 達成數	結案後半年 達成率	備註 (說明未達成 原因或學術產 出發表名稱)
	1.國內投稿 (篇數)	2.國外投稿 (篇數)					
A 學術 產出 及 活動	1.國內投稿 (篇數)	(1)論文	0	0	0		
		(2)研討會論文	1	1	0		
	2.國外投稿 (篇數)	(1)期刊論文	1	0	1		
		(2)國際研討會 論文發表	0	0	0		
	3.報告 (篇數)	(1)技術報告	0	0	0		
		(2)研究報告	0	0	0		
	4.專著 (本數)		0	0	0		
	5.辦理學術 會議(場數)	(1)研討/說明會	0	0	0		
		(2)成果發表會	0	0	0		
		(3)論壇	0	0	0		
6.研發改良 技術(項數)	(1)已開發技術	0	0	0			
	(2)技術平台	0	0	0			
B 人才 培 育	7.研發人員 (人數)	(1)碩士	1	0	1		
		(2)博士	1	1	1		
	8.研究團隊 (個數)	(1)跨領域團隊	0	0	0		
		(2)跨機構團隊	0	0	0		
		(3)形成研究中 中心	0	0	0		
		(4)形成實驗室	0	0	0		
	9.其他指標 (請自行命名)	(請自填)					



(二) 產業面

項目		目標達成程度		申請 預估數	期中 達成數	期末 達成數	結案後半年 達成率	備註 (說明未達成原因或專利、技術轉移相關詳細資料)
		已核准	申請中					
A 智慧 財產權	1.專利 (件數)	已核准	發明	0	0	0		
			新型/設計	0	0	0		
			合計	0	0	0		
		申請中	發明	0	0	0		
			新型/設計	0	0	0		
			合計	0	0	0		
B 研發 技術轉 移	2.先期技術 成果移轉	件數	0	0	0			
		授權金(仟元)	0	0	0			
		衍生利益金 (仟元)	0	0	0			
	3.技術移轉 (專利)	件數	0	0	0			
		授權金(仟元)	0	0	0			
		衍生利益金 (仟元)	0	0	0			
	4.技術移轉 (應用技術)	件數	0	0	0			
		授權金(仟元)	0	0	0			
		衍生利益金 (仟元)	0	0	0			
	5.可移轉 產業技術	(1)技術(件數)	0	0	0			
		(2)品種/系 (件數)	0	0	0			
	C 產學研 合作	6.促成合作 研究	件數	0	0	0		
金額(仟元)			0	0	0			
7.促成投資		件數	0	0	0			
		投資金額 (仟元)	0	0	0			
8.促成取得 業界科專		件數	0	0	0			
		業界投資金額 (仟元)	0	0	0			
9.其他指標 (請自行命名)		(請自填)						



(三) 政策面

項目		目標達成程度		申請預估數	期中達成數	期末達成數	結案後半年達成率	備註 (說明未達成原因或其他詳細資料)
		次數	收入(仟元)					
A 服務 便民	1.技術服務	次數		0	0	0		
		收入(仟元)		0	0	0		
	2.諮詢服務	次數		0	0	0		
		收入(仟元)		0	0	0		
B 政策 推動	3.協助政府推動 (件數)	(1)政策		0	0	0		
		(2)法規		0	0	0		
C 技術 效益	4.整治技術提升(%)			50	50	50		
	5.整治成本降低(%)			50	50	50		
	6.提升能源效率(%)			0	0	0		
7.其他指標 (請自行命名)		(請自填)						

三、請依前述學術面、產業面、政策面等預期量化成果，具體敘明研究成果對本署政策推動之助益。(200字為限)

<p>學術面(如國內外研討會、期刊投稿件數、或人才培育碩博士生說明)</p> <p>1.投稿期刊 1 篇、參與國內研討會發表論文 1 篇。</p> <p>2.培育 1 名碩士生、1 名博士生。</p>
<p>產業面(如合作研發產業、申請專利、洽談技術移轉廠商件數說明)</p>
<p>政策面(如整治費用降低、特定污染物整治效益提升、或提供政府作為監測/管制標準、污染址管理等政策及法規研訂之參考)</p> <p>本研究團隊已成功利用深藍紅藻移除廢水中的鉛。由於深藍紅藻的生長範圍極廣，且有從細菌中水平轉移的氧化還原基因，預期其能在氧化還原狀態浮動的地下水環境中，將 Cr(VI)與 As(III)轉變成沉澱態或是有機物種，達到去除之結果。</p>



四、主要研究人力

請依照「專案主持人」、「協同主持人」、「專任人員」、「兼任人員」及「臨時工」等類別之順序分別填寫

姓名	服務機構/系所	職稱	在本研究專案內擔任之具體工作性質、項目及範圍	執行期間
劉雨庭	國立中興大學 土壤環境科學系	教授 專案主持人	研究主題及方向擬定、指導 研究人員執行研究計畫	111/09/01~112/08/31
陳雨賢	國立中興大學 土壤環境科學系	學生 兼任人員	相關實驗執行、分析及實驗 數據彙整	111/09/01~112/08/31
陳函鈺	國立中興大學 土壤環境科學系	學生 兼任人員	相關實驗執行、分析及實驗 數據彙整	111/09/01~112/08/31
盧琪文	國立中興大學 土壤環境科學系	學生 臨時工	相關實驗執行	111/09/01~112/08/31

五、產業界資源投入表

專案執行若有與產業界合作，請執行單位依實際量化成果填寫於欄位中。

投入資源類別	數量	說明
1.自籌款	元	
2.人力	人月	
3.設備		
4.其他資源 (請自行增列)	(請自填)	



行政院環境保護署「土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案」

構想書
 申請計畫書
 期中報告
 修正計畫書
 期末報告
 審查意見回覆對照表

計畫年度	111 年度	計畫類型	<input type="checkbox"/> 先導型 <input checked="" type="checkbox"/> 研究型 <input type="checkbox"/> 模場型
計畫類別	<input type="checkbox"/> 調查 <input checked="" type="checkbox"/> 整治 <input type="checkbox"/> 其他	主持人：劉雨庭教授 NO：C1	
計畫名稱	開發嗜熱嗜酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原作用及物種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)		
審查意見		執行單位回覆	
委員一 1.具綠色整治潛勢。 2.環境(土壤)參數之潛在影響應充分考量才具意義。		1. 謝謝委員指教。 2. 謝謝委員指教與建議。本計畫目標先針對水體的部分，未來後續實驗將繼續深入探討如何移除土壤中的 Cr 與 As，因此目前環境主要參數考慮 pH 與 redox 等。	
委員二 1.本研究具有創新性，有助於污染物處理。		1. 謝謝委員指教。	
委員三 1.本計畫擬以深藍紅藻處理中重金屬，計畫主要探討基礎處理理論及處理可行性，有發表學術期刊文章之可行性。 2.建議可以使用天然水作為實驗用水，以模擬真實情境。		1. 謝謝委員指教。 2. 謝謝委員指教與建議。本計畫預計先建立與釐清深藍紅藻分別與鉻與砷之反應機制，未來會更深入釐清不同情況下的自然水體對於深藍紅藻移除鉻與砷的影響，並針對貼近實際情況的系統進行更完善的優化試驗，以利持續推動深藍紅藻於實際場址的應用。	



<p>3 (1)因為是使用藻類為生物吸收及氧化還原處理方式，因此需在有光源，藻類才可以生長，建議納入未來應用情境可行性。(2)是否擬採抽出處理地下水的方式？</p>	<p>3. 謝謝委員指教與建議。(1)深藍紅藻具有可於低光源甚至黑暗中的條件下進行生長，因此成為本計畫開發作為污染整治的生物資材。本計畫預計先建立與釐清深藍紅藻分別與鉻與砷的機制，後續會更深入探討不同情境下，深藍紅藻對於鉻與砷之間的移除機制，以利持續推動深藍紅藻於實際場址的應用。(2)我們後續將會更深入釐清自然水體對於深藍紅藻移除鉻與砷的影響，並會嘗試模擬抽出前與未抽出前之水體系統，進而評估何種方式更能同時符合永續與移除污染物的方式。</p>
<p>委員四 1.有關專案未來可行性，建議針對其構想規劃及研究方法執行性進行評估，有助於後續推動該技術應用，進而提升我國地下水重金屬污染場址整治效果。</p>	<p>1. 謝謝委員指教與建議。本計畫預計先建立與釐清深藍紅藻分別與鉻與砷之反應機制，未來將會更深入釐清不同情況下的自然水體對於深藍紅藻移除鉻與砷的影響，並針對貼近實際情況的系統進行更完善的優化試驗，以利持續推動深藍紅藻於實際場址的應用。</p>
<p>委員五 1.研究主題符合土壤及地下水污染整治基金補助精神、探討課題新穎、整體研究架構明確方法可行、技術未來應用及推廣性應加強。</p>	<p>1. 謝謝委員指教與建議。本計畫預計先建立與釐清深藍紅藻分別與鉻與砷之反應機制，未來將會更深入釐清不同情況下的自然水體對於深藍紅藻移除鉻與砷的影響，並針對貼近實際情況的系統進行更完善的優化試驗，以利持續推動深藍紅藻於實際場址的應用。</p>



<p>委員六</p> <p>1.具學術價值是發表 SCI 論文的好題材。</p>	<p>1. 謝謝委員指教。</p>
<p>委員七</p> <p>1.請補充說明"永續被動生物修復資材"之應用意義與驗證指標或功能指標。</p> <p>2.請補充說明 Cr(VI)及 As(III)於深藍紅藻體內轉化反應機制之驗證及實驗規劃。</p>	<p>1. 謝謝委員指教與建議。「永續被動生物修復資材」的應用意義在於減緩全球氣候變遷與達到環境永續目標(SDGs)，進而開發出能應用於被動式整治修復之中的生物資材。其中，被動式生物整治是目前所有整治技術中對環境的衝擊最小，也是最符合上述精神的整治技術，不過因為被動式整治面臨的重要課題之一為參與其中的微生物容易受到環境變化而影響其活性，進而降低整治效率，所以在微生物資材的選用與開發極為重要。因此對於驗證指標或成功指標重點將會在於生物資材本身是否具有對於環境高適應的特性與潛力、是否具可有效移除污染物之潛力等，以及整治過程中是否能節省整治所需之能源與減少對環境的衝擊等。因此本計畫預計開發之生物資材-深藍紅藻即為具符合以上指標之潛力微生物，其能在高濃度金屬的極端環境下(20-56°C；pH 0.5-7.0)生存，並具有獨特累積重金屬和誘發氧化還原的新型酶以對抗逆境，使其成為移除重金屬的重要材料，同時可以在好氧與厭氧下生長，本身也可以自營、混營或異營，因此未來若能成功應用於地下水整治之中，除了可對環境的擾動降到最低，也可以節省整治所需之能源進而降低碳排。</p> <p>2. 謝謝委員指教與建議。本計畫為了初步測試當深藍紅藻遇上鉻與砷時的反應機制，以利於計畫後續的試驗，因此將深藍</p>



紅藻 (*Cyanidioschyzon merolae*) 分別與 Cr(VI) 與 As(III) 反應 6 小時，並利用 X 射線吸收近邊結構 XANES 的 LCF 技術解析累積在藻類身上的金屬型態。根據目前初步試驗的結果可證實在酸性與中性條件下，分別都有 98% 與 95% 的 Cr(VI) 被深藍紅藻還原為 Cr(III)，其中又以多醣體貢獻最大，分別有 69% 與 81%。而 As 則會與深藍紅藻細胞表面的多醣體以及體內的蛋白質硫醇基產生鍵結，由此可知，深藍紅藻上的多醣與體內的蛋白質對於金屬的去除/還原有著極大的貢獻。因此實驗規劃為了釐清深藍紅藻與鉻砷之間的交互作用，實驗規劃如圖一，首先會將深藍紅藻分別與 Cr(VI) 與 As(III) 在酸性至中性下反應 6 小時，並利用分子維度等級的同步輻射研究技術進行機制上的解析，分別包含以穿隧式 X 光顯微術(TXM) 解析金屬累積在藻類上的 2D 與 3D 影像分布，並利用 X 光吸收光譜(XAS) 搭配線性組合分析(LCF) 定性及定量 Cr 與 As 之型態轉變，以及使用傅立葉紅外光線譜(FTIR) 技術解析深藍紅藻富集 Cr 與 As 後，其細胞表面之多醣體與細胞體內之蛋白質的結構轉變。



行政院環境保護署「土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案」

構想書 申請計畫書 期中報告 **審查意見回覆對照表**
修正計畫書 期末報告

計畫年度	111 年度	計畫類型	<input type="checkbox"/> 先導型 <input checked="" type="checkbox"/> 研究型 <input type="checkbox"/> 模場型
計畫類別	<input type="checkbox"/> 調查 <input checked="" type="checkbox"/> 整治 <input type="checkbox"/> 其他	主持人：劉雨庭 NO：C4	
計畫名稱	開發嗜熱嗜酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原作用及物種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)		
審查意見		執行單位回覆	
委員一 1. 研究成果豐碩，符合預期工作進度。 2. 結果與討論:文字說明部分過於簡化，建議應針對圖表內容加強說明及所代表之意義。 3. 針對後續實場應用之規劃應加強。		1. 感謝委員的肯定。 2. 感謝委員指教與建議，我們已在期末報告中對圖表的內容進行了更詳細的說明，並解釋了它們所代表的意義。同時，在結果與討論的部分，我們也嘗試進行了更完整的綜合論述。(請參閱期末報告 p. 52-53)。 3. 謝謝委員建議，未來將持續進行相關延伸研究，並將相關建議補充於結論與建議中(請參閱期末報告 p. 56-57)。本計畫主要預計先建立與釐清深藍紅藻分別與鉻與砷之反應機制，未來將會更深入釐清不同情況下的自然水體對於深藍紅藻移除鉻與砷的影響，並針對貼近實際情況的系統進行更完善的優化試驗，以利持續推動深藍紅藻於實際場址的應用。	



<p>委員二</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 請以預定進度及查核點說明期中報告達成狀況。 2. 建議系統性說明研究設計與執行流程，實驗 QAQC。 3. 初步結果與討論建議應有系統性撰寫分析成果，但未說明圖表結果實際意義，建議彙整說明深藍紅藻與 Cr(VI) 的反應機制。以確認是否符合期中預定進度。 4. 後續將複製 Cr(VI) 實驗步驟於 As(III)，建議請提出其差異與控制條件設定之依據規劃後續預定執行工作。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 謝謝委員指教，已將預定進度及查核點說明期中報告達成狀況的說明更新在甘特圖中(請參閱期末報告 p. 11)。 2. 謝謝委員建議，已更新與補充更系統性說明研究設計與執行流程，實驗 QAQC 在研究方法與過程(請參閱期末報告 p. 7)。 3. 謝謝委員建議，已將初步結果與討論建議採用更系統性的描述方式撰寫，同時將深藍紅藻與 Cr(VI) 的反應機制彙整在綜合討論中(請參閱期末報告 p. 52)。 4. Cr(VI) 與 As(III) 與深藍紅藻累積試驗的實驗步驟主要差異在於金屬離子的添加源以及調整 pH 所用的酸鹼藥品不同。Cr(VI) 的來源為 10 mM 重鉻酸鉀(K₂Cr₂O₇)，並利用 10 mM 鹽酸(HCl)與氫氧化鉀(KOH)進行 pH 的調整；As(III) 的來源為 10 mM 砷酸鈉(NaAsO₂)，並利用 10 mM 硝酸(HNO₃)與氫氧化鈉(NaOH) (請參閱期末報告 p. 7)。
<p>委員三</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 「專案基本資料表」請確認最下方日期 111/01/09 是否有誤？ 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 感謝委員指正，已將日期更新為 112/07/12 於期末報告的資料中。



<p>2. P. 5 第一段最後略以「毒性的機制(…」，格式有跳行之情形，請修正。</p> <p>3. P. 7 標題字體大小不一致，請修正。</p> <p>4. P. 9 計畫工作甘特圖，建議以實際執行年月(111. 9. 1-112. 8. 31)撰寫，以利查核。</p>	<p>2. 感謝委員指正，已修正跳行之情形，修正後的完整論述請參閱期末報告 p. 5。</p> <p>3. 感謝委員指正，已將標題的字體大小修正，修正後的完整論述請參閱期末報告 p. 7。</p> <p>4. 感謝委員的建議，已將甘特圖中的實際執行年月更新為「111 年 9 月-112 年 7 月」(請參閱期末報告 p. 11)。</p>
<p>委員四</p> <p>1. 已達到期中查核目標，確立與 Cr(VI) 的反應機制，發現 Cr(VI) 可被 EPS 吸附後被多醣體固定及還原，或被蛋白質還原成氫氧化鉻沉澱，惟後續之現地整治應用可以再行研究探討。</p>	<p>1. 感謝委員的肯定與建議，未來將持續進行相關延伸研究，並將相關建議補充於結論與建議中。本計畫主要預計先建立與釐清深藍紅藻分別與鉻與砷之反應機制，未來將會更深入釐清不同情況下的自然水體對於深藍紅藻移除鉻與砷的影響，並針對貼近實際情況的系統進行更完善的優化試驗，以利持續推動深藍紅藻於實際場址的應用(請參閱期末報告 p. 56-57)。</p>
<p>委員五</p> <p>1. 表二至表五論述 Cr 在藻類系統的變化，其中 XAS 分析結果表二與表三表達不同固相濃度 Cr 物種(VI 與 III) 的分布關係，FTIR 分析結果表四與表五表達不同固相濃度其藻體吸附或吸收的表現。兩種檢測結果交互之間的關係性(或不相關性)宜再清楚表示。</p>	<p>1. 感謝委員的建議，XAS 分析中的 Cr(III)-polysaccharide 型態會與 FTIR 結果中的細胞表面多醣體的部分呼應，而 XAS 分析中的 Cr(III)-hydroxide 則會與體內蛋白質二級結構的結果呼應，而兩者的趨勢變換會根據藻種的不同而有所不同，因此我</p>



- | | |
|--|--|
| <p>2. 續上，例如 Cc 與 Cm 最高固相含量其 VI 價與 III 價分布比例不同(LCF 分析結果)，對照在藻類多醣體與蛋白質上的 Cr(FTIR 分析結果)是 VI 價還是 III 價?</p> | <p>們在期末報告進行了修改，在圖表的內容中提供了更詳盡的說明，解釋了它們所代表的意義，同時，在結果與討論的部分，我們也嘗試進行了更完整的綜合論述。(請參閱期末報告 p. 52-53)。</p> |
| <p>3. 續上，P. 30 頁討論藻類多醣體的吸附及蛋白質吸收，提到「……進而使 Cr(VI)產生還原反應而沉澱……」，「沉澱」一詞不常用於藻體，此處沉澱若涉及水體應清楚描述藻類與水體間的相關情境。</p> | <p>2. 感謝委員的詢問，藻類多醣體與蛋白質上的 Cr(FTIR 分析結果)主要是指 Cr(III)，因為 Cr(VI)是會以吸附在 EPS 的型態存在系統中。FTIR 是針對細胞表面的多醣體與細胞體內的蛋白質二級結構進行探討，因此會分別與 XAS 分析中的 Cr(III)-polysaccharide 型態與 Cr(III)-hydroxide 型態呼應，在結果與討論的部分，我們也嘗試進行了更完整的綜合論述(請參閱期末報告 p. 52-53)。</p> |
| <p>4. P. 12 頁等溫吸附結果，中性條件 (pH=7)Cm>Cc>Cp 與表一之數值不符請再修正。</p> | <p>3. (接續 2. 的描述)，金屬會被傳輸至體內以產生沉澱屬於生物為了降低金屬毒性的策略之一，並有文獻記載與歸納最終會將沉澱物傳輸至液胞儲存。因此此處的 Cr(III)-hydroxide 型態是指來自於 Cr(VI)會被藻類傳輸至體內後，經半胱胺酸產生 Cr(III)還原而最終生成的沉澱物。</p> |
| <p>4. P. 12 頁等溫吸附結果，中性條件 (pH=7)Cm>Cc>Cp 與表一之數值不符請再修正。</p> | <p>4. 感謝委員指正，深藍紅藻於酸性累積 Cr(VI)的能力為 Cm (168.1 mg/g) > Cc (151.7 mg/g) > Gp (103.9 mg/g)，</p> |



	<p>在中性累積 Cr(VI)的能力則是 G_p (93.7 mg/g) > C_c (87.7 mg/g) > C_m (73.0 mg/g)，並已修正文的敘述(請參閱期末報告 p. 14)。</p>
<p>5. 續上，請補充說明本計畫所論及等溫吸附曲線第 I 型與第 III 型之定義。</p>	<p>5. 本實驗根據 IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry)使用基本熱力學分析對等溫吸附行的分類為進行歸納，I 型曲線代表的意思是隨著吸附物質(Cr)濃度的增加，吸附劑(深藍紅藻)對於吸附物質會逐漸趨近飽和的現象，III 型的曲線則意味著吸附劑為多層吸附形成過程中尚達飽和並具有可持續增加的現象，這也意味著深藍紅藻對金屬的累積可能不僅是單純只有細胞表面上官能團的吸附/複合物，也有可能同時具有細胞表面的沉澱和/或吸收，並相關說明補充至文章中(請參閱期末報告 p. 14)。</p>
<p>6. 續上，文中「……C_p 與 C_m 則歸屬第 III 型……C_m 對於 Cr(VI)的吸附量……」有關 C_m 描述有誤，請再修正。</p>	<p>6. 感謝委員指正，已針對描述進行修正(請參閱期末報告 p. 14)。</p>
<p>7. 表二與表三備註說明可能有誤，請再討論。</p>	<p>7. 感謝委員指正，已針對描述進行修正(請參閱期末報告 p. 31-32)。</p>
<p>8. P. 30 頁「……(圖十九至圖二十四與圖二十五)」敘述未完整請再修正。</p>	<p>8. 感謝委員指正，已修正論述(請參閱期末報告 p. 35-36)。</p>



<p>9. 續上「……這表示 Cr 的會促進其 α-helix 的合成……」敘述未完整請再討論。</p> <p>10. 續上「……Cc 與 Cm 的 α-helix 比例……明顯增加 2.4 與 3.0……」敘述可能顛倒請再討論。</p>	<p>9. 感謝委員指正，已修正論述(請參閱期末報告 p. 35-36)。</p> <p>10. 感謝委員指正，已修正論述(請參閱期末報告 p. 35-36)。</p>
<p>委員六</p> <p>1. 依據所提期中報告(初稿)內容，符合期中預定查核點之進度。</p> <p>2. 請檢附申請計畫書回覆意見對照表。</p>	<p>1. 感謝委員的肯定。</p> <p>2. 謝謝委員建議，已將申請計畫書回覆意見對照表於期末報告的資料中。</p>



行政院環境保護署「土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案」

構想書
 申請計畫書
 期中報告
 修正計畫書
 期末報告
 審查意見回覆對照表

計畫年度	111 年度	計畫類型	<input type="checkbox"/> 先導型 <input checked="" type="checkbox"/> 研究型 <input type="checkbox"/> 模場型
計畫類別	<input type="checkbox"/> 調查 <input checked="" type="checkbox"/> 整治 <input type="checkbox"/> 其他	主持人：劉雨庭 NO：C4	
計畫名稱	開發嗜熱嗜酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原作用及物種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)		
審查意見		執行單位回覆	
委員一 1. 報告內容成果豐碩建議計畫執行仍應以未來能實際應用於污染場址之整治為目標。 2. 建議可以針對未來應用於實場時建立操作參數條件。 3. 是否針對胞內與胞外重金屬進行分析與定量比較。		1. 謝謝委員的肯定與建議。未來將會更深入釐清不同情況下的自然水體對於深藍紅藻移除鉻與砷的影響，並針對貼近實際情況的系統進行更完善的優化試驗，以利持續推動深藍紅藻於實際場址的應用。 2. 謝謝委員指教與建議。本計畫預計先建立與釐清深藍紅藻分別與鉻與砷之反應機制，未來將會更深入釐清不同情況下的自然水體對於深藍紅藻移除鉻與砷的影響，並針對貼近實際情況的系統進行更完善的優化試驗，以利持續推動深藍紅藻於實際場址的應用。 3. 謝謝委員指教與建議。目前本研究是有針對金屬於胞內與胞外的金屬型態進行分析比較，所採用的方法是非破壞性的 XAS 分析方式解析金屬累積於深藍紅藻的型態與其個別的含量百分比。	



<p>4. 建議應針對本計畫成果產出績效做說明。</p>	<p>4. 謝謝委員指教與建議。本計畫已完成投稿期刊 1 篇(Journal of Hazardous Materials, SCI, IF: 13.6, 10/274 in Environmental Sciences)，以及參與國內研討會發表論文 1 篇，並培育 1 名碩士生、1 名博士生。</p>
<p>委員二</p> <p>1. 期末報告內容符合原定計畫內容。</p> <p>2. 圖四請分析說明 Cr(VI)能源二個波峰的意義？</p> <p>3. 圖六～九其中(a)、(b)、(c)各自代表意義與結果的文字說明等溫吸附結果可量化的應用條件。</p> <p>4. FTIR 結果建議補充文字名，僅以 p35 說明「...在相關分析中觀察到負相關...，若為正相關...」請一一說明並將量化成果具體列出及分析說明。</p> <p>5. 建議於第五章結果與討論彙整 step by step 試驗參數，例如時間、應用處理 Cr(VI)、AS(III)濃度範圍、深藍紅藻</p>	<p>1. 謝謝委員的肯定。</p> <p>2. 謝謝委員的指教。圖四的 Cr(VI)能源二個波峰分別在 XAS 的圖譜中被稱為 Pre-peak 與 Absorption edge，其中 Cr(VI)的 Pre-peak 在 X 光吸收光譜中是由於鉻原子的電子結構引起的。Absorption edge 則是鉻的原子結構因吸收特定能量的 X-ray，導致特定的 K 層電子能量躍遷，所形成 X 射線吸收邊緣。透過對 X 光吸收光譜的分析，我們能夠揭示六價鉻的電子結構、價態分佈以及化學環境的訊息，因此 XAS 可結合 LCF (linear combination fitting)的分析，以更深入地分析樣品中的金屬型態，並計算其個別在樣品中的百分比含量。</p> <p>3. 謝謝委員指教與建議。相關說明已補充至報告中。</p> <p>4. 謝謝委員指教與建議。已將中文名字與量化成果具體的說明補充至報告中。</p> <p>5. 謝謝委員建議。已將參試驗參數彙整描述於文章的綜合論述中。</p>



<p>適用條件與應用範圍、控制參數、環境干擾因子，可提供後續擴大實場應用之參考依據。</p> <p>6. 結論中「...未來將會更深入釐清不同情況下的自然水體對於深藍紅藻移除銻與砷的影響與其機制」，請具體說明後續研究內容，建議根據研究成果提出配合現地污染整治的操作最佳條件與應用策略。</p>	<p>6. 謝謝委員指教與建議。本計畫主要預計先建立與釐清深藍紅藻分別與銻與砷之反應機制，具體參數需以實際場址的現況經不斷地評估與測試，因此未來將會更深入釐清不同情況下的自然水體對於深藍紅藻移除銻與砷的影響，並針對貼近實際情況的系統進行更完善的優化試驗，以利持續推動深藍紅藻於實際場址的應用。</p>
<p>委員三</p> <p>1. 本計畫執行期間有研究人員參與，包含博士及碩士各一人，人才培育符合預期。</p> <p>2. 後續建議可探討深藍紅藻對於 Cr(VI) 累積機制，主要是將 Cr 還原所導致或以生物吸附為主？除酸鹼度外，是否有其他影響去除機制之因子。</p>	<p>1. 謝謝委員的肯定。</p> <p>2. 謝謝委員的指教與建議。根據目前的實驗結果，在酸性環境下，深藍紅藻主要通過 Cr(III) 還原機制與其細胞表面的多醣體進行結合。而在中性環境下，深藍紅藻主要通過其表面吸附 Cr(VI)。以本計畫的實驗設計系統而言，變數因子有 pH、金屬添加濃度、藻類品種的不同等，因此在文章中有針對這些參數的差異進行個別的探討與論述，以結論來說根據不同屬的溫泉紅藻品種，它們對金屬的累積能力與機制表現也有所不同。然而，不論金屬是 Cr(VI) 或 As(III)，共同之處在於深藍紅藻的表面多醣體以及其體內蛋白質中的 Cysteines 是金屬累積的關鍵結合點，其中 Cysteines 含量的增加可能會在累積金屬量較高的 Cc 中發生。增加 Cysteines 含量可能會增強其在金屬累積中的關鍵作用，因此成為增強深藍紅藻對金屬累積能力的關鍵。未</p>



<p>3. P56 本計畫針對深藍紅藻移除地下水鉻、砷污染有初步結論，且有與傳統整治方法進行優缺點、限制、成本效益...等進行初步比較，值得讚許。</p> <p>4. 承上，計畫結論提及深藍紅藻，未來可成為移除地下水鉻砷污染的候選方法，是否可具體提出後續尚需評估及試驗之項目或需克服之限制，以利後續執行成果之展現。</p>	<p>來將會更深入釐清不同情況下的自然水體對於深藍紅藻移除鉻與砷的影響，並針對貼近實際情況的系統進行更完善的優化試驗，以利持續推動深藍紅藻於實際場址的應用。</p> <p>3. 謝謝委員的肯定。</p> <p>4. 謝謝委員的建議。使用活微藻有一些限制，例如提供適當的光照和營養供應以促進生長，好消息是，本研究採用的嗜熱嗜酸深藍紅藻(Cyanidiales)具有強大的環境適應能力，不僅可以在酸性和中性環境中生存，還可以在高溫、高鹽、乾旱、重金屬富集、100%二氧化碳厭氧或無光照的條件下生長，再加上深藍紅藻對金屬具有特殊的耐受性和氧化還原能力，使其成為移除地下水中鉻和砷污染的候選方法之一。然而，將深藍紅藻實際應用於地下水中砷和鉻的污染去除還需要進一步的界定和作更多的評估與試驗，因此未來將會更深入釐清不同情況下的自然水體對於深藍紅藻移除鉻與砷的影響，並預計通過現場試驗來確定最佳的治理操作條件，以實現實際應用效果。</p>
<p>委員四</p> <p>1. 本計畫本年度工作進度已經達成。</p> <p>2. 利用極端微生物抗毒解毒機制來處理3價砷及六價鉻是合於永續的技術。</p> <p>3. 嗜熱嗜酸深藍紅藻在較中性的地下水中生存條件是否能存活?外來生物一</p>	<p>1. 謝謝委員的肯定。</p> <p>2. 謝謝委員的肯定。</p> <p>3. 謝謝委員指教與建議。(1)深藍紅藻可於中性下生長，且具有可於低光源甚至黑暗</p>



<p>致兩大難處，1 怕它活不好無功效，2 作用基因轉殖到大腸桿菌中，又怕它活太好破壞原環境之微生物生態，這些都是要注意。</p>	<p>中的條件下進行生長，因此成為本計畫開發作為污染整治的生物資材。(2)深藍紅藻可分離自陽明山國家公園，因此不屬於外來種，成為本計畫開發作為污染整治的生物資材。(3)感謝委員的建議與提醒，基因轉殖的議題確實需要經過審慎的評估與試驗，目前本計畫主要著重釐清其對不同金屬累積的機制，因此尚未來到將深藍紅藻與金屬反應的基因移植至其他生物體的規劃與階段，後續若有機會進行此階段的研究，將會審慎評估以確保所採取的措施不會對生態環境造成潛在的危害。</p>
<p>委員五</p> <p>1. P14 頁提到「...在酸性環境，深藍紅藻累積 Cr(VI)的能力則為 Cm(168.1mg/g)>Cc(151.7mg/g)>Gp(103.9mg/g)...」。通常在酸性條件下 Cr(VI)會還原成 Cr(III)，P52 頁亦提到 pH2.0 時觀察到 Cr(OH)₃ 的形成，因此 Cm 與 Cc 是針對 Cr(III)?還是 Cr(VI)?的作用宜再補充說明。</p> <p>2. 續上，本報告試驗結果證實深藍紅藻對重金屬離子具有強吸收作用，但因實驗涉及酸鹼性(pH)與物種價數的影響變化，建議宜再從學理重新整理相關反應機制。</p>	<p>1. 謝謝委員的建議。Cr(VI)在酸性條件下確實會部分地自發還原為 Cr(III)，而溫泉紅藻表面的多醣體確實也具有能將 Cr(VI)還原為 Cr(III)，因此會有部分的 Cr(VI)或 Cr(III)，將會被深藍紅藻細胞表面上的多醣體給固定住，而形成 Polysaccharide-Cr(VI)與 Polysaccharide-Cr(III)的型態。而部分的 Cr(VI)或 Cr(III)則會被吸收進深藍紅藻的體內，被其體內蛋白質中的 Cysteines 給還原為 Cr(III)，並進而產生沉澱物 Cr(OH)₃ 以降低毒性。因此此處的 Cr(OH)₃ 是指在體內形成的沉澱物，且 Cysteines 含量的增加僅在酸性下與 Cr 反應的 Cm 與 Cc 中發現，Cysteines 的增加可能會增強其作為關鍵途徑的作用，從而成為增強 Cm 與 Cc 中 Cr 積累能力的關鍵。</p> <p>2. 謝謝委員建議，本研究旨在瞭解深藍紅藻如何以氧化還原作用及物種轉變以移除 Cr(VI)和 As(III)，因此本計畫著利用同步輻射研究技術進行機制的解析，包含穿隧式 X 光顯微術(TXM)、X 光吸收光譜(XAS)與傅立葉紅外光線譜(FTIR)技術解</p>



	<p>析金屬累積在藻類上的影像分布、鉻型態轉變及其細胞表面之多醣體與細胞體內之蛋白質的結構轉變。未來將持續進行相關延伸研究，並預計會分析深藍紅藻與金屬反應後之蛋白酶與基因的作用，以更進一步的深入解析深藍紅藻與金屬的相關學理機制。</p>
<p>委員六</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 由計畫書 111 年度專案成果績效自評表顯示，在（三）政策面之 C 項技術效益上，預估目標達成程度包含整治技術提升 50%、整治成本降低 50%，建議專案承辦組（技術審查組）與參與審查之委員確認該目標之評核標準。 2. 依據所提期末報告（初稿）內容，符合期末預定查核點之進度。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 謝謝委員建議，我們初步將實驗室結果所得的污染水體修復技術的成本以及優缺點整理在表十四和表十五中以供委員參考。 2. 謝謝委員肯定。



摘要

本研究旨在瞭解深藍紅藻 [*Galdieria partita* (Gp)、*Cyanidioschyzon merolae* (Cm) 與 *Cyanidium caldarium* (Cc)] 對於六價鉻 Cr(VI) 和三價砷 As(III) 的累積能力，並利用同步輻射研究技術進行機制的解析，包含穿隧式 X 光顯微術 (TXM)、X 光吸收光譜 (XAS) 與傅立葉紅外光線譜 (FTIR) 技術解析金屬累積在藻類上的影像分布、鉻型態轉變及其細胞表面之多醣體與細胞體內之蛋白質的結構轉變。實驗結果表明，深藍紅藻在不同 pH 條件下對 Cr(VI) 和 As(III) 均表現出不同的累積能力趨勢。在酸性條件下，深藍紅藻對 Cr(VI) 的最大累積量依序為 Cm (168.1 mg/g) > Cc (151.7 mg/g) > Gp (103.9 mg/g)，而在中性條件下則相反，依序為 Gp (93.7 mg/g) > Cc (87.7 mg/g) > Cm (73.0 mg/g)。研究還揭示了深藍紅藻對 Cr(VI) 的累積機制，包括細胞表面對 Cr(VI) 的吸附、細胞表面多醣體對 Cr(VI) 產生的 Cr(III) 還原固定以及細胞內 Cr(VI) 受半胱胺酸反應產生還原成 Cr(III)，最終生成氫氧化鉻沉澱。對於 As(III) 的累積，在酸性時，深藍紅藻累積 As(III) 的能力為 Cc (56.0 mg/g) > Cm (43.3 mg/g) > Gp (40.1 mg/g)，在中性累積 As(III) 的能力則是有相同的趨勢 Cc (56.7 mg/g) > Cm (50.2 mg/g) > Gp (40.5 mg/g)，其中深藍紅藻主要通過多醣體固定和與半胱胺酸結合來降低 As(III) 的危害。未來將會更深入釐清不同情況下的自然水體對於深藍紅藻移除鉻與砷的影響與其機制，並針對貼近實際情況的系統進行更完善的優化試驗，以利持續推動深藍紅藻於實際場址的應用。



Abstract

In this study, we aimed to reveal the accumulation capacities of the Cyanidiales [*Galdieria partita* (Gp), *Cyanidioschyzon merolae* (Cm), and *Cyanidium caldarium* (Cc)] for hexavalent chromium [Cr(VI)] and trivalent arsenic [As(III)]. Synchrotron-based techniques, including transmission X-ray microscopy (TXM), X-ray absorption spectroscopy (XAS), and Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), were employed to elucidate the mechanisms involved in metal accumulation, imaging distribution on algal surfaces, chromium speciation changes, and structural alterations of extracellular polysaccharides and intracellular proteins. The experimental results revealed different accumulation trends of Cr(VI) and As(III) by the Cyanidiales under varying pH conditions. Under acidic conditions, the maximum accumulation of Cr(VI) by the Cyanidiales followed the order Cm (168.1 mg/g) > Cc (151.7 mg/g) > Gp (103.9 mg/g). In contrast, under neutral conditions, the order was reversed, with Gp (93.7 mg/g) > Cc (87.7 mg/g) > Cm (73.0 mg/g). The study also uncovered the mechanisms of Cr(VI) accumulation, including surface adsorption, polysaccharide-mediated reduction and fixation, and intracellular chromium hydroxide precipitation. Regarding As(III) accumulation, under acidic conditions, the ability of the Cyanidiales followed the order Cc (56.0 mg/g) > Cm (43.3 mg/g) > Gp (40.1 mg/g). Under neutral conditions, the trend was similar, with Cc (56.7 mg/g) > Cm (50.2 mg/g) > Gp (40.5 mg/g). The main mechanisms of As(III) accumulation by the Cyanidiales involved polysaccharide fixation and binding with cysteine residues, reducing the risk associated with As(III) exposure. Future research will delve deeper into understanding the influence and mechanisms of natural water systems on the removal of chromium and arsenic by Cyanidiales under different conditions. Further optimization experiments will be conducted to facilitate the practical application of Cyanidiales in real-world scenarios.



目錄

摘要.....	I
Abstract.....	II
表目錄.....	V
圖目錄.....	VI
前言.....	1
研究目的.....	3
文獻討論.....	4
1. 嗜熱嗜酸深藍紅藻(Cyanidiales).....	4
2. 深藍紅藻獨特的金屬耐受特性與氧化還原能力	5
研究方法與過程.....	7
1. 深藍紅藻培養.....	7
2. 等溫吸附.....	7
3. 穿隧式 X 光顯微術(TXM).....	8
4. X 光吸收光譜(XAS)	8
5. 傅立葉紅外光線譜(FTIR)	11
6. 研究進度及預期完成之工作項目 (甘特圖)	11
結果與討論.....	14
1. 等溫吸附結果.....	14
(1). 鉻的等溫吸附結果	14
(2). 砷的等溫吸附結果	14
2. TXM 分析結果	24
(1). 鉻的 TXM 分析結果.....	24
(2). 砷的 TXM 分析結果.....	24
3. XAS 分析結果.....	29
(1). 鉻的 XAS 分析結果	29
(2). 砷的 XAS 分析結果	29
4. FTIR 分析結果	35
(1). 鉻的 FTIR 分析結果	35
(2). 砷的 FTIR 分析結果	36
5. 綜合討論.....	52



開發嗜熱酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原用及種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)

(1). 深藍紅藻與鉻	52
(2). 深藍紅藻與砷	53
結論與建議.....	55
1. 結論.....	55
2. 整治技術與成本初步評估與建議.....	56
參考文獻.....	59



表目錄

表一、深藍紅藻於 pH 7.0 與 Cr(VI) Freundlich 等溫吸附擬和結果。 ...	16
表二、深藍紅藻於 pH 7.0 與 Cr(VI) Freundlich 等溫吸附擬和結果。 ...	17
表三、深藍紅藻於 pH 2.0 與 As(III) Freundlich 等溫吸附擬和結果。 ...	18
表四、深藍紅藻於 pH 7.0 與 As(III) Freundlich 等溫吸附擬和結果。 ...	19
表五、深藍紅藻於 pH 2.0 與 Cr(VI)反應後之 Cr 的線性組合擬和(LCF)分析結果。 ^a	31
表六、深藍紅藻於 pH 7.0 與 Cr(VI)反應後之 Cr 的線性組合擬和(LCF)分析結果。 ^a	32
表七、深藍紅藻於 pH 2.0 與 As(III)反應後之 As 的線性組合擬和(LCF)分析結果。 ^a	33
表八、深藍紅藻於 pH 7.0 與 As(III)反應後之 As 的線性組合擬和(LCF)分析結果。 ^a	34
表九、深藍紅藻於 pH 2.0 與 Cr(VI)反應後之 FTIR 的細胞表面多醣體 (Polysaccharide)峰高變化與體內蛋白質二級結構(PSS)組成分析結果。.....	38
表十、深藍紅藻於 pH 7.0 與 Cr(VI)反應後之 FTIR 的細胞表面多醣體 (Polysaccharide)峰高變化與體內蛋白質二級結構(PSS)組成分析結果。.....	39
表十一、深藍紅藻於 pH 2.0 與 As(III)反應後之 FTIR 的細胞表面多醣體 (Polysaccharide)峰高變化與體內蛋白質二級結構(PSS)組成分析結果。.....	40
表十二、深藍紅藻於 pH 7.0 與 As(III)反應後之 FTIR 的細胞表面多醣體 (Polysaccharide)峰高變化與體內蛋白質二級結構(PSS)組成分析結果。.....	41
表十三、臺灣地下水污染場址中鉻或砷的濃度。[57].....	57
表十四、其他地下水污染整治技術與微藻技術之比較(引用與修改自臺灣大學環境工程學研究所于昌平教授於 108 年土基會專案結案報告的資料)。[58].....	57
表一五、已發表實驗室結果的砷污染水體修復技術的成本與優缺。 .	58



圖目錄

圖一、實驗架構圖。.....	3
圖二、深藍紅藻生長於美國黃石國家公園自然環境中的影像。圖(a)為深藍紅藻在酸性溫泉的徑流中長成；圖(b)為生長在岩石沉積物表面上生長；圖(c)為深藍紅藻在暴露於硫磺煙霧的岩石表面上生長。[8].4	
圖三、深藍紅藻累積鉛之機制。其中可歸納為四個抵抗鉛毒性的機制：無機磷酸鉛沉澱、細胞表面多醣體提供的防禦線、有機鉛錯合伴隨移動到液胞儲存及與藻類蛋白質中的硫醇基螯合 ^[18] 。.....	6
圖四、Cr 的 LCF 分析的標準品。.....	9
圖五、As 的 LCF 分析的標準品。.....	10
圖六、深藍紅藻於 pH 2.0 與 Cr(VI)反應的等溫吸附結果。.....	20
圖七、深藍紅藻於 pH 7.0 與 Cr(VI)反應的等溫吸附結果。.....	21
圖八、深藍紅藻於 pH 2.0 與 As(III)反應的等溫吸附結果。.....	22
圖九、深藍紅藻於 pH 7.0 與 As(III)反應的等溫吸附結果。.....	23
圖十、深藍紅藻分別在 pH 2.0 與 Cr(VI)反應之 TXM 影像圖，其中黑色部分為 Cr 的分布情形。樣品名中的 Cr 後面之數字代表著存在固相的濃度，單位為 mg/g。.....	25
圖十一、深藍紅藻分別在 pH 7.0 與 Cr(VI)反應之 TXM 影像圖，其中黑色部分為 Cr 的分布情形。樣品名中的 Cr 後面之數字代表著存在固相的濃度，單位為 mg/g。.....	26
圖十二、深藍紅藻分別在 pH 2.0 與 As(III)反應之 TXM 影像圖，其中黑色部分為 As 的分布情形。樣品名中的 As 後面之數字代表著存在固相的濃度，單位為 mg/g。.....	27
圖十三、深藍紅藻分別在 pH 7.0 與 As(III)反應之 TXM 影像圖，其中黑色部分為 As 的分布情形。樣品名中的 As 後面之數字代表著存在固相的濃度，單位為 mg/g。.....	28
圖十四、深藍紅藻分別在 pH 2.0 與 7.0 與 Cr(VI)反應後之 FTIR 的細胞表面多醣體(Polysaccharide)峰高變化示意圖，其中(1) overlapping of saccharides (1147/cm)、(2) Mannose (1075/cm)、(3) Glucose (1033/cm)、(4) 1022/cm、(5) Glycosidic links of sucrose (994/cm)。.....	42
圖十五、深藍紅藻分別在 pH 2.0 與 7.0 與 Cr(VI)反應後之 FTIR 的體內蛋白質二級結構(PSS)組成分析結果示意圖，其中(1) Acid esters (1741/cm)、(2) Lipid esters (1718/cm)、(3) Anti-parallel β -strand	



(1690/cm)、(4) Parallel β -strand (1679/cm)、(5) β -turn (1666/cm)、(6) α -helix (1652/cm)、(7) Unordered structure (1644/cm)、(8) Parallel β -strand (1631/cm)、(9) β -turn (1614/cm)、(10) Amine (1591/cm)、(11) Amide II (1575/cm)、(12) Amide II (1542cm)、(13) Tyrosine ring (1513/cm)。
 43

圖十六、深藍紅藻於 pH 2.0 與 Cr(VI)反應後，Mannose 峰高值與 Cr 在固相中濃度的相關性分析。 44

圖十七、深藍紅藻於 pH 7.0 與 Cr(VI)反應後，Mannose 峰高值與 Cr 在固相中濃度的相關性分析。 45

圖十八、深藍紅藻於 pH 2.0 與 Cr(VI)反應後，蛋白質結構 α -helix/ β -strand 比例與 Cr 在固相中濃度的相關性分析。 46

圖十九、深藍紅藻於 pH 7.0 與 Cr(VI)反應後，蛋白質結構 α -helix/ β -strand 比例與 Cr 在固相中濃度的相關性分析。 47

圖二十、深藍紅藻於 pH 2.0 與 As(III)反應後，Mannose 峰高值與 As 在固相中濃度的相關性分析。 48

圖二十一、深藍紅藻於 pH 7.0 與 As(III)反應後，Mannose 峰高值與 As 在固相中濃度的相關性分析。 49

圖二十二、深藍紅藻於 pH 2.0 與 As(III)反應後，蛋白質結構 α -helix/ β -strand 比例與 As 在固相中濃度的相關性分析。 50

圖二十三、深藍紅藻於 pH 7.0 與 As(III)反應後，蛋白質結構 α -helix/ β -strand 比例與 As 在固相中濃度的相關性分析。 51

圖二十四、深藍紅藻累積 Cr(VI)的概念化機制。 53

圖二十五、深藍紅藻累積 As(III)的概念化機制。 54



前言

目前常見的生物現地整治技術多著重在處理有機污染物，例如含氯化合物與石油碳氫化合物，對於地下水重金屬生物復育技術的研究甚少。對於地下水中的金屬污染，目前最主要的方式為抽出處理，然而當污染範圍大時，整治成本遽增，另外處理後的水若無法回注，更會惡化目前氣候變遷下的水資源枯竭。地下水中的六價鉻[Cr(VI)]也常以強還原劑為整治方法[1]，當 Cr(VI)還原成三價鉻[Cr(III)]時可沉澱下來，降低水中 Cr 的濃度。然而地下水位會因豐枯水期變化使其氧化還原電位動態浮動，造成 Cr(III)氧化回 Cr(VI)後再溶出的風險。地下水中的砷(As)主要以化學混凝法、陰離子交換法、電凝法、吸附法、氧化沉澱法來移除[2]。同樣的，陰離子交換法、電凝法的成本極高，而氧化沉澱法也存在地下水氧化還原電位變動導致的再釋出風險。近年來，生物法用於去除水中砷污染的研究愈發受到重視[3]。主要的概念為利用對 As 有特殊忍耐力的生物，藉由吸附、攝入等作用將水體中的砷富集濃縮，或是將其轉化成甲基砷、二甲基砷等，甲基化砷的毒性比無機砷低許多，達到含砷水體的降毒作用。此生物處理法的費用低，無二次污染，然而技術成熟度與相關研究還需加強。

另外，目前的有機化合物現地整治方法中，土壤與地下水中的重金屬可能會因為氧化劑的投放或加熱等程序被釋放，造成二次污染的疑慮。常見的現地化學氧化法(ISCO)與電阻加熱整治技術(ERH)中，ISCO 利用氧化劑投擲至地表下分解污染物，然而常使用的氧化劑(例如高錳酸鉀)除了對於存在土壤或水體中的微生物具有毒性，錳也會參與並促使土壤或水體中的鐵還原[4]，進而使鍵結在鐵氫氧化物上的重金屬(例如砷)一同釋出造成二次污染問題[5]。ERH 整治技術則是以電流加熱使土壤中的有機污染物揮發，再配合抽出工程以移除污染物，然而此技術缺點在於加熱的程序會提高重金屬的移動性，進而使土壤中的重金屬污染擴散，甚至使其從土壤轉移至含水層中[6]。有鑑於重金屬通常比農藥或石油副產品等有機污染物可更持久得存在於環境中，對於環境造成極大的危害[7]，因此即便是在現地復育的有機污染物整治場址中，可能也需要輔助的現地重金屬復育方法。

被動式的生物復育整治方式(又稱自然衰減法)為綠色永續整治的發展重點之一。針對有機污染物，微生物可透過降解的方式降低污染物濃度，將有害的化學物質轉為無毒的物質釋放回環境之中；對於重金屬，微生物也可進行吸附、吸收與轉化等作用，降低環境條件變化導致的再溶出風險，且生成的廢棄物較少，對環境的衝擊也較小。生物復育整治的缺點也因為微生物是活體，容易受到污染物的特性或是環境條件而影響其活性，導致整治成效不彰。因此開發合適的微生物



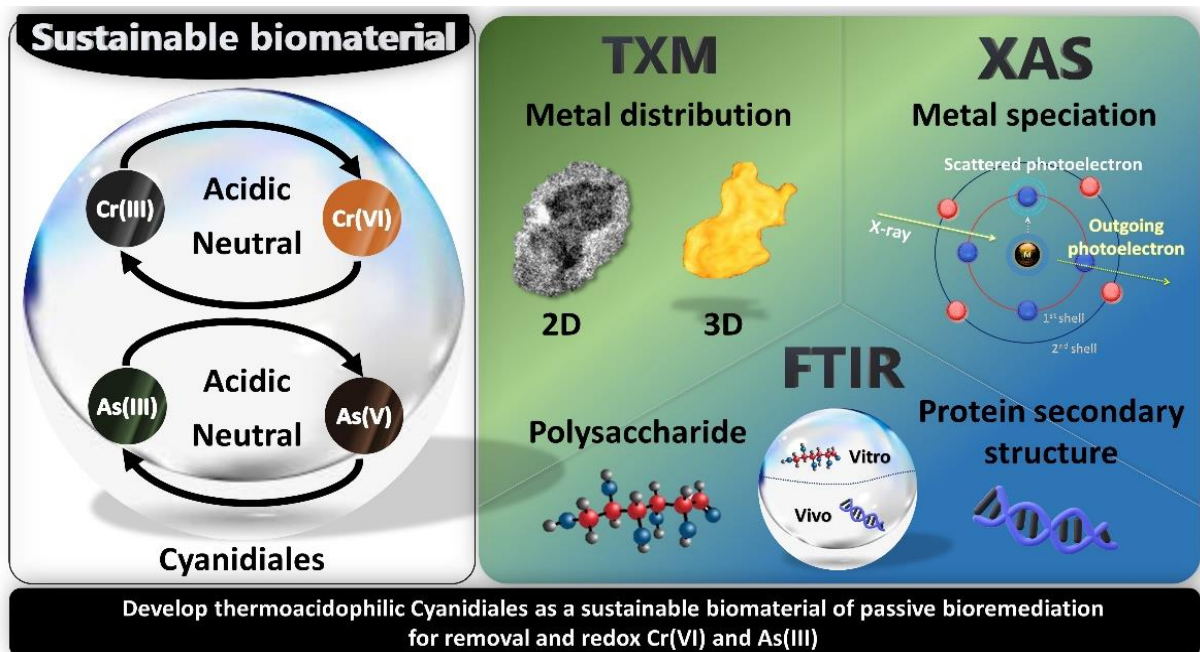
開發嗜熱酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原用及種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)

可永續且有效移除污染物，並縮短整治時間，應用於被動式的生物修復技術中，
為一重要且急迫的課題。



研究目的

土壤或地下水中的鉻(Cr)與砷(As)屬於毒性極高的污染物，因本身會因環境條件轉變而產生氧化還原反應，進而提高移動性與毒性，甚至滲透至地下水遭人飲用，導致危害人類的健康。近期國際以全球氣候變遷與環境永續(SDGs)為目標，因此被動式整治與永續韌性整治成為國際當前發展污染整治技術的主流，然而被動式整治正面臨重要的課題之一為參與其中的微生物容易受到環境而影響其活性，進而降低整治效率，因此在微生物資材的選用與開發極為重要議題。在眾多微生物中，嗜熱嗜酸深藍紅藻(Cyanidiales)為不僅可於酸性與中性生存的微生物，其亦可生存於高溫、高鹽、乾旱、重金屬以及100%二氧化碳厭氧等逆境條件，使其具有極高的環境適應能力，且對於金屬有獨特的耐受性與氧化還原能力，非常合適開發作為被動式生物整治的永續資材，因此本研究旨在開發來自不同屬的深藍紅藻[*Galdieria partita*(Gp)、*Cyanidioschyzon merolae* (Cm)與*Cyanidium caldarium* (Cc)]為永續的生物資材以移除水體中的六價鉻與三價砷之機制，以利後續可實際應用於生物修復整治之中。研究為了深入且明確解析深藍紅藻富集六價鉻與三價砷的機制，實驗利用可從分子維度等級維度的同步輻射研究技術進行分析，實驗架構如圖一所示，包含穿隧式X光顯微術(TXM)以影像解析金屬累積在藻類上的分布，並搭配利用X光吸收光譜(XAS)搭配線性組合分析(LCF)解析Cr與As之型態轉變，以及使用傅立葉紅外光線譜(FTIR)技術解析深藍紅藻富集Cr與As後，其細胞表面之多醣體與細胞體內之蛋白質的結構轉變，此研究成果將對於有助於深藍紅藻未來實際應用於污染場址整治之中。



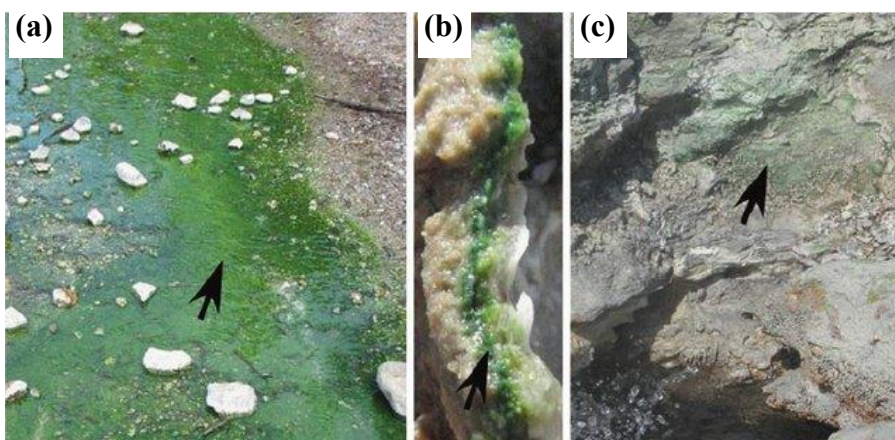
圖一、實驗架構圖。



文獻討論

1. 嗜熱嗜酸深藍紅藻(Cyanidiales)

深藍紅藻(Cyanidiales)為生存於極端環境中的真核微生物，不僅能存活於室溫至高溫(最高至 63°C)、酸性至中性(pH 0.2 - 7.0)的環境，可棲水而生，也擅於岩石表面或縫中進行生長(圖二)[8]。深藍紅藻的棲地分布於世界各地，包含美國黃石國家公園、義大利中部火山地區及臺灣陽明山國家公園地區等[9,10]，其物種分成三屬七種，分別為 *Cyanidium* 屬 [*Cyanidium caldarium* (Cc)]、*Cyanidioschyzon* 屬 [*Cyanidioschyzon merolae* (Cm)]與 *Galdieria* 屬 [*Galdieria sulphuraria* (Gs)、*G. maxima* (Gm)、*G. partita* (Gp)、*G. daedala* (Gd)及 *G. phlegrea* (Gph)] [10]。根據目前文獻記載，深藍紅藻不僅能存活於高溫酸性之環境，且對於含高鹽、乾旱、重金屬以及 100%二氧化碳厭氧等逆境環境條件之適應能力極高[11,12]。深藍紅藻之所以能適應於各種逆境，與其體內特殊蛋白質與基因息息相關，這方面的相關機制也是目前科學家持續深探解析的部分。根據目前研究發現，嗜熱嗜酸深藍紅藻特別在酸性環境中對於金屬是具有獨特的耐受機制，且其體內參與金屬反應的作用基因可轉殖至其他生物中，成功賦予生物抵禦逆境之能力，例如將深藍紅藻耐砷基因轉移至大腸桿菌中，使大腸桿菌能成功的在高砷濃度環境中生長[13]，另也有研究試驗將深藍紅藻耐高溫的作用基因轉移至阿拉伯芥體中，促使阿拉伯芥成功於 33°C 的高溫環境中穩定健康生長。此外，更值得注意的是深藍紅藻是極少數可以在實驗室內大量養殖的極端微生物，通常來自極端環境中的微生物是難以進行人工養殖[14]，由此可知，深藍紅藻是屬非常珍貴且極具開發價值的生物，因此深藍紅藻對於有毒金屬的抵禦機制、參與其中作用的基因與蛋白質，以及能生存於如此極端的條件關鍵因素皆引起許多研究學者的關注。



圖二、深藍紅藻生長於美國黃石國家公園自然環境中的影像。圖(a)為深藍紅藻在酸性溫泉的徑流中長成；圖(b)為生長在岩石沉積物表面上生長；圖(c)為深藍



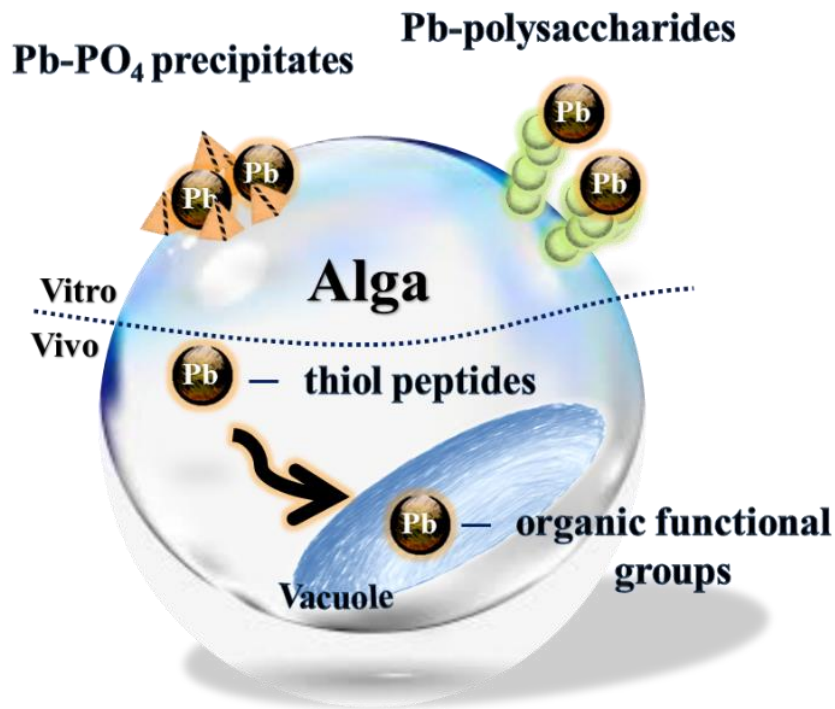
紅藻在暴露於硫磺煙霧的岩石表面上生長。[8]

2. 深藍紅藻獨特的金屬耐受特性與氧化還原能力

目前在所有深藍紅藻中，發現不同屬間對金屬具有獨特的交互作用，例如 Gs 具備了對於汞或砷耐受的基因以生存於逆境之中，以及能攝取多種醣類作為代謝所需之能量，因此 Gs 能夠自營、混營和異營生長，此能力與其他絕對光自營的微生物相比是屬絕對優勢[15]。Cm 則具有可促進砷循環的能力，其能將水溶液中的三價砷[As(III)]攝入體內，並轉換為毒性較低的五價砷[As(V)]，最後進行甲基化以無毒形式釋放回環境。Cc 則不僅可生存於含高濃度的鐵(Fe)與鋁(Al)的環境，亦可將 Fe 與 Al 富集於體內以降低金屬的毒性[16,17]。此外，根據我們先前研究，首次確立深藍紅藻(Gm、Cm 與 Cc)於酸性中對於鉛吸附能力和機制，結果顯示深藍紅藻表面與體內皆協同參與了抵禦鉛的過程，並可歸納出四個深藍紅藻抵抗鉛毒性的機制(圖三)，分別為無機磷酸鉛沉澱、細胞表面多醣體提供的防禦線、有機鉛錯合伴隨移動到液胞儲存及與藻類體內蛋白質的硫醇基螯合，尤其藉由藻類體內的硫醇基鍵結，可大幅增加藻類中鉛的吸附量，使 Cc 的鉛吸附量(298.4 mg/g)增加為 Gm (38.2 mg/g)的八倍之多[18]。同時近期有研究進一步揭露深藍紅藻得以生存於極端條件的特殊作用的蛋白質基因來源，推測這些基因可能來自於早期共同生存在極端環境的古菌域細菌，經水平基因轉移至深藍紅藻中，促進了深藍紅藻對環境的適應力，例如 Gs 身上具備的特殊蛋白質基因編碼，其中的 5%就是經由水平基因轉移而來，這些蛋白質參與了對醣類高度靈活的代謝以及重金屬解毒過程[15]。另外這些古菌域的細菌，包含了 *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*、*Leptospirillum ferriphilum*、*Ferroplasma acidarmanus* 以及 *Acidithiobacillus ferrooxidans* 等，可將在厭氧環境中誘發二價鐵氧化的基因[15,19]，水平移轉至深藍紅藻中，賦予了深藍紅藻可在厭氧情況生存並將二價鐵氧化為三價鐵的潛力。綜上所述，深藍紅藻不僅可有效抵禦各種有毒金屬，同時具備異於尋常微生物的代謝特性，這些特性賦予了深藍紅藻極高的開發價值，以作為生物資材應用於各式各樣污染條件的環境。



開發嗜熱酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原用及種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)



圖三、深藍紅藻累積鉛之機制。其中可歸納為四個抵抗鉛毒性的機制：無機磷酸鉛沉澱、細胞表面多醣體提供的防禦線、有機鉛錯合伴隨移動到液胞儲存及與藻類蛋白質中的硫醇基螯合^[18]。



研究方法與過程

本研究旨在開發來自不同屬的深藍紅藻[*Galdieria partita*(Gp)、*Cyanidioschyzon merolae* (Cm)與*Cyanidium caldarium* (Cc)]為永續的生物資材以移除水體中的六價鉻與三價砷之機制，以利後續可實際應用於生物修復整治之中。研究為了深入且明確解析深藍紅藻富集六價鉻與三價砷的機制，實驗利用可從分子維度等級維度的同步輻射研究技術進行分析，實驗架構如圖一所示，包含穿隧式X光顯微術(TXM)以影像解析金屬累積在藻類上的分布，並搭配利用X光吸收光譜(XAS)搭配線性組合分析(LCF)解析Cr與As之型態轉變，以及使用傅立葉紅外光線譜(FTIR)技術解析深藍紅藻富集Cr與As後，其細胞表面之多醣體與細胞體內之蛋白質的結構轉變，此研究成果將對於有助於深藍紅藻未來實際應用於污染場址整治之中。

1. 深藍紅藻培養

本計畫採用的深藍紅藻來自陽明山國家公園與日本藻種中心NIES Collection, Tsukuba, JAPAN)，測試品種包含來自不同屬的 *Galdieria partita* (Gp)、*Cyanidioschyzon merolae* (Cm) (NIES 3377)與*Cyanidium caldarium* (Cc) (NIES 551)，研究使用的培養液經修飾過的Allen培養液[14]，並在其中加入 1% 甘油，期間給予 12L:12D (12 h Light : 12 h Dark, Philips T5 6500 k)照光進行混營方式的培養。另外為了避免後續的試驗受到培養液的干擾，進行後續實驗前，皆會利用低速離心 (3000 rpm、10 min)方式，先將藻類的培養液移除，並會用去離子水潤洗以移除殘餘培養液，供後續的實驗。

2. 等溫吸附

為了瞭解深藍紅藻對於Cr的累積能力，因此將深藍紅藻進行對Cr(VI)的等溫吸附試驗。首先會將上述步驟(1)製備好的深藍紅藻分別跟Cr(VI)反應，試驗的環境設定在酸性至中性(pH 2.0 - 7.0)，反應時間與固液比分別為 6 小時與 0.5 g/L，初始濃為 0-500 mg/L，所使用的Cr為 10 mM重鉻酸鉀($K_2Cr_2O_7$)，並利用 10 mM鹽酸(HCl)與氫氧化鉀(KOH)進行pH的調整，以轉速 120 rpm 於室溫震盪進行吸附實驗。完成吸附實驗後，將溶液進行離心(3000 rpm, 10 min)，蒐集通過 0.22 μ m 濾膜的上清液，利用感應耦合電漿原子發射光譜儀(ICP-AES)與感應耦合電漿質譜儀(ICP-MS)進行溶液中殘餘Cr的濃度之分析，其中Cr(VI)的部分會用比色法進行測定。吸附模式的分析會以Langmuir或Freundlich等溫吸附模式進行模擬；固體的部分將進行冷凍乾燥(48 h)，以供X光吸收光譜解析Cr型態的變化。

為了瞭解深藍紅藻對於As的累積能力，因此將深藍紅藻進行對As(III)的等溫



開發嗜熱酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原用及種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)

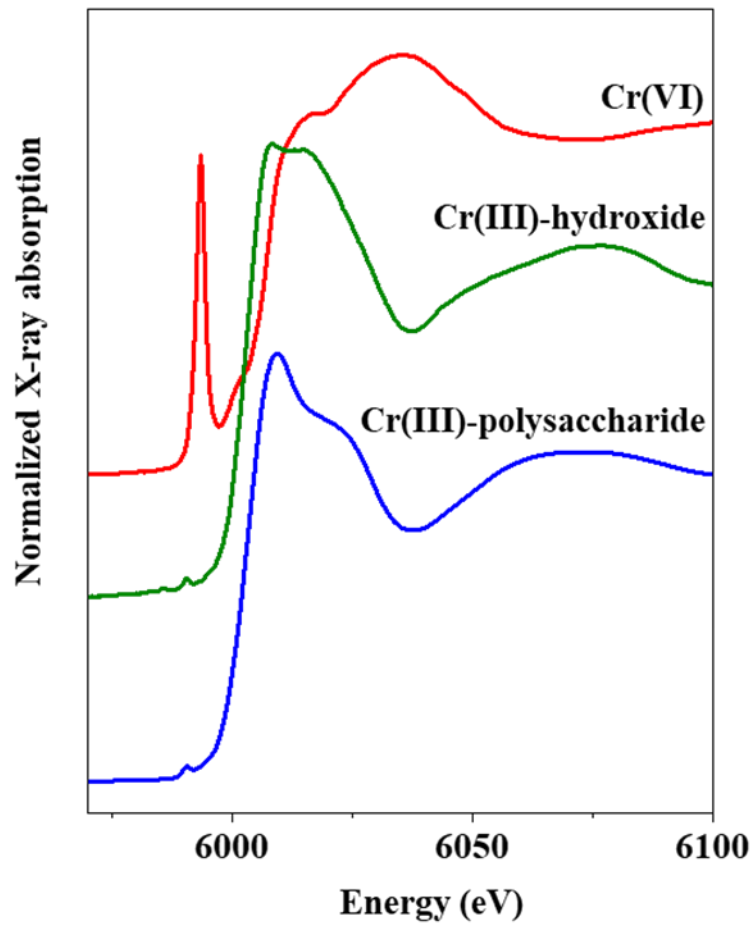
吸附試驗。首先會將上述步驟(1)製備好的深藍紅藻分別跟As(III)反應，試驗的環境設定在酸性至中性(pH 2.0 - 7.0)，反應時間與固液比分別為 6 小時與 0.5 g/L，初始濃為 0-500 mg/L，所使用的As為 10 mM砷酸鈉(NaAsO₂)，並利用 10 mM硝酸(HNO₃)與氫氧化鈉(NaOH)，以轉速 120 rpm 於室溫震盪進行吸附實驗。完成吸附實驗後，將溶液進行離心(3000 rpm，10 min)，蒐集通過 0.22 μm濾膜的上清液，利用感應耦合電漿原子發射光譜儀(ICP-AES)與感應耦合電漿質譜儀(ICP-MS)進行溶液中殘餘As的濃度之分析，吸附模式的分析會以Langmuir或Freundlich等溫吸附模式進行模擬；固體的部分將進行冷凍乾燥(48 h)，以供X光吸收光譜解析As型態的變化。

3. 穿隧式X光顯微術(TXM)

本計畫為了更進一步解析金屬(Cr與As)在深藍紅藻上的分布情況，因此透過TXM分析技術建構出其的影像，此技術是藉由金屬(Cr與As)與藻類間對於X光吸收程度的不同而對比成像。數據於國家同步輻射研究中心(NSRRC)光束線01B (BL01B)進行蒐集，數據蒐集方式以全場式成像的方式，X光經過聚焦鏡聚焦後投射於樣品，入射光經樣品吸收後由物鏡放大成像於二維面積偵測器，樣品製備方式即將完成等溫吸附反應之懸浮液稀釋至合適稀釋倍率，並將樣品滴上Kapton膠帶上待乾後進行影像之蒐集。

4. X光吸收光譜(XAS)

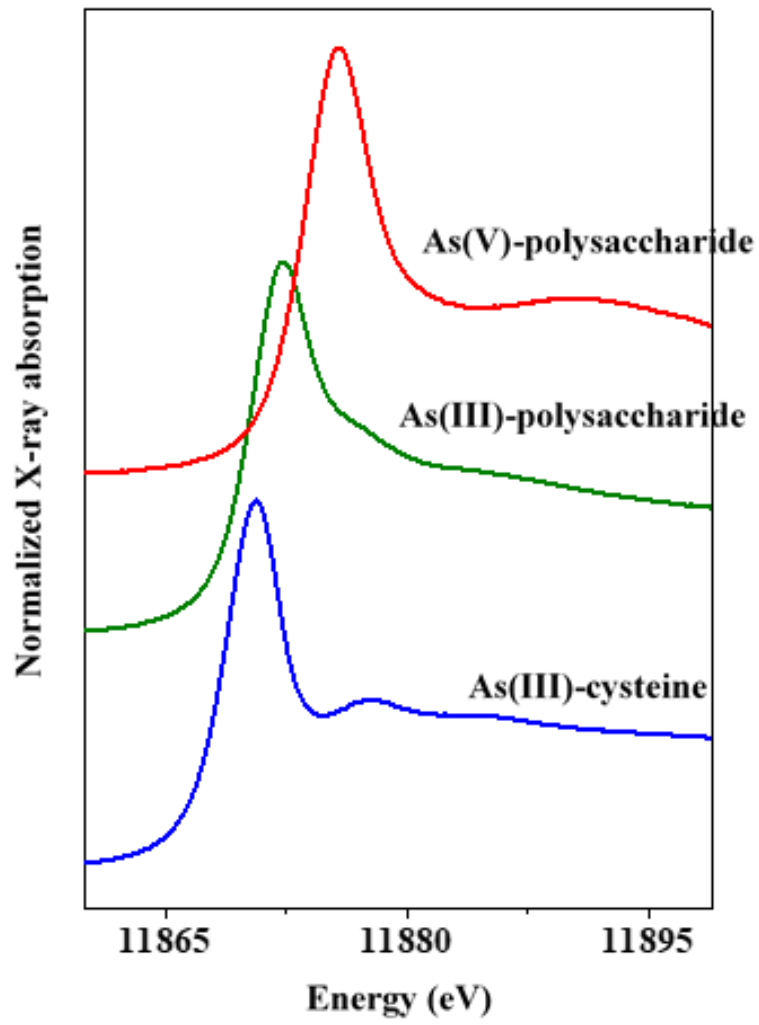
本研究利用XAS對累積於深藍紅藻的金屬(Cr與As)進行型態鑑定，藉由蒐集各種Cr與As存在於自然界的標準品之光譜以進行線性組合擬合(LCF)，分析結果將可描述樣品之間Cr與As的型態變化，用於LCF分析之Cr標準品包含K₂Cr₂O₇、Cr(III)的與多醣體鍵結[Cr(III)-polysaccharide]以及Cr(III)-hydroxide (圖四)；用於As的標準品包含As(V) 與As(III)分別與多醣體鍵結 [As(V)-polysaccharide 與As(III)-polysaccharide]以及As(III)與半胱氨酸鍵結[As(III)-cysteine] (圖五)。本實驗於國家同步輻射研究中心(NSRRC)光束線TLS16A、TLS17C、TPS44A與日本Spring-8的12B實驗站進行數據蒐集，數據則以軟體(IFEFFIT)進行背景、標準化與合併等處理與分析。



圖四、Cr 的 LCF 分析的標準品。



開發嗜熱酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原用及種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)



圖五、As 的 LCF 分析的標準品。



5. 傅立葉紅外光線譜(FTIR)

由於根據初步試驗的結果得知，深藍紅藻細胞表面的多醣體與細胞體內的蛋白質半胱胺酸中硫醇基會積極參與金屬的反應，因此本計畫使用高解析度的傅立葉轉換紅外線光譜儀(FTIR)可測官能基震動之變化，本實驗於國家同步輻射研究中心(NSRRC)光束線 14A (BL 14A)實驗站進行數據蒐集，數據以軟體(OMNIC 8.0)進行背景、標準化等處理處理與分析。其中反應多醣體與蛋白質二級結構的光譜波數分別介於 $900-1200\text{ cm}^{-1}$ 以及 $1465-1760\text{ cm}^{-1}$ ，因此本計畫將著重於此範圍已進行後續分析，將數據進行二階微分以定位其蛋白質二級結構組成，並使用高斯函數(Gaussian function)進行運算分析其比例。

6. 研究進度及預期完成之工作項目 (甘特圖)

工作項目	年月	111.	111.	111.	111.	112.	112.	112.	112.	112.	112.	112.	備註
		9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	
建立深藍紅藻培養的系統	完成												
深藍紅藻與 Cr(VI) 的反應系統		完成	完成	完成									
蒐集與分析 TXM 數據，確立 Cr 於深藍紅藻的分布			完成	完成	完成								
蒐集與分析 XAS 數據，確立 Cr 型態的轉變			完成	完成	完成								
蒐集與分析 FTIR 數據，確立深藍紅			完成	完成	完成								



開發嗜熱酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原用及種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)

藻多醣體與蛋白質結構的轉變														
確立深藍紅藻與Cr(VI)的反應機制與撰寫期中報告						※ 完成								
深藍紅藻與As(III)的反應系統							完成	完成	完成					
蒐集與分析TXM數據，確立As於深藍紅藻的分布								完成	完成	完成				
蒐集與分析XAS數據，確立As型態的轉變								完成	完成	完成				
蒐集與分析FTIR數據，確立深藍紅藻多醣體與蛋白質結構的轉變								完成	完成	完成				
確立深藍紅藻與As(III)的反應機制與撰寫期末報告。												※ 完成		
工作進度估計百分比（累積數）	10%	15%	25%	35%	45%	50%	65%	70%	80%	90%	100%			



預定查核點	期中	<p>查核點：確立深藍紅藻與 Cr(VI)的反應機制。</p> <p>說明：建立「深藍紅藻與 Cr(VI)的反應系統」、「蒐集與分析 TXM 數據，確立 Cr 於深藍紅藻的分布」、「蒐集與分析 XAS 數據，確立 Cr 型態的轉變」、「蒐集與分析 FTIR 數據，確立深藍紅藻多醣體與蛋白質結構的轉變」以及完成「確立深藍紅藻與 Cr 的反應機制與撰寫期末報告」</p>
	期末	<p>查核點：確立深藍紅藻與 As(III)的反應機制。</p> <p>說明：建立「深藍紅藻與 As(III)的反應系統」、「蒐集與分析 TXM 數據，確立 As 於深藍紅藻的分布」、「蒐集與分析 XAS 數據，確立 As 型態的轉變」、「蒐集與分析 FTIR 數據，確立深藍紅藻多醣體與蛋白質結構的轉變」以及完成「確立深藍紅藻與 As 的反應機制與撰寫期末報告」</p>
<p>說明：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1、 工作項目請視專案性質及需要自行訂定。預定進度以粗線表示其起迄日期。 2、 「工作進度百分比」欄係為配合管考作業所需，累積百分比請視工作性質就以下因素擇一估計訂定：(1) 工作天數，(2) 經費之分配，(3) 工作量之比重，(4) 擬達成目標之具體數字。 3、 「預定查核點」，請在條形圖上標明※符號，並在「預定查核點」欄具體註明關鍵性工作要項。 		



結果與討論

1. 等溫吸附結果

(1). 鉻的等溫吸附結果

表一至表二與圖六至圖七為深藍紅藻分別於酸性(pH 2.0)與中性(pH 7.0)與 Cr(VI)反應的 Freundlich 等溫吸附擬和結果，由結果得知在酸性環境，深藍紅藻累積 Cr(VI)的能力為 $C_m (168.1 \text{ mg/g}) > C_c (151.7 \text{ mg/g}) > G_p (103.9 \text{ mg/g})$ ，其 K 值分別為 3.5、2.2 與 1.1，n 值為 1.7、1.5 與 1.4。在中性累積 Cr(VI)的能力則是相反 $G_p (93.7 \text{ mg/g}) > C_c (87.7 \text{ mg/g}) > C_m (73.0 \text{ mg/g})$ ，其 K 值分別為 0.1、1.0 與 0.1，n 值為 0.8、1.4 與 0.8。而在 Freundlich 等溫吸附式當中的 n 值若大於 1，也代表著吸附劑有助於吸附金屬的行為發生。由於 Cr(VI)於酸性條件下會形成負電荷的鉻酸鹽，此有助於深藍紅藻利用其質子化的細胞壁進行吸附[20]，這也解釋了為何深藍紅藻於酸性對於 Cr(VI)的吸附量大於在中性條件下的情況。此外，本實驗根據 IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry)使用基本熱力學分析對等溫吸附行為進行歸納[21]，擬和結果顯示深藍紅藻於酸性的吸附曲線屬於第 I 型，而於中性條件下，僅 C_m 為第 I 型， G_p 與 C_m 則歸屬第 III 型，其中的 I 型曲線代表的意思是隨著吸附質(Cr)濃度的增加，吸附劑(深藍紅藻)對於吸附物質會逐漸趨近飽和的現象，III 型的曲線則意味著吸附劑為多層吸附形成過程中尚達飽和並具有可持續增加的行為[21]，這也解釋了為何 G_p 與 C_c 對於 Cr(VI)的累積量大於 C_m [21,22]，這也意味著深藍紅藻對金屬的累積可能不僅是單純只有細胞壁上官能團的吸附/複合物，也有可能同時具有細胞表面的沉澱和/或吸收。由此可知，深藍紅藻累積 Cr(VI)的能力不只與 pH 有關，不同屬的品種間亦造成對金屬累積能力的差異，因此為了釐清機制，後續將利用 TXM、XAS 與 FTIR 分析釐清之間的相關機制。

(2). 砷的等溫吸附結果

表三至表四與圖八至圖九為深藍紅藻分別於酸性(pH 2.0)與中性(pH 7.0)與 As(III)反應的 Freundlich 等溫吸附擬和結果，由結果得知在酸性環境，深藍紅藻累積 As(III)的能力為 $C_c (56.0 \text{ mg/g}) > C_m (43.3 \text{ mg/g}) > G_p (40.1 \text{ mg/g})$ ，其 K 值分別為 0.3、0.2 與 0.2，n 值為 1.2、1.2 與 1.1， R^2 值為 0.9876、0.9390 與 0.9787。在中性累積 As(III)的能力則是有相同的趨勢 $C_c (56.7 \text{ mg/g}) > C_m (50.2 \text{ mg/g}) > G_p (40.5 \text{ mg/g})$ ，其 K 值分別為 0.3、0.2 與 0.3，n 值為 1.2、1.1 與 1.3， R^2 值為 0.9314、0.9814 與 0.9388，而在 Freundlich 等溫吸附式當中的 n 值若大於 1，也代表著吸



附劑有助於吸附金屬的行為發生。此外，根據 IUPAC 對等溫吸附行為的分類，擬和結果顯示在酸性和中性條件下，深藍紅藻的吸附曲線屬於第 I 型，這表示隨著吸附質(As)濃度的增加，吸附劑的吸附量會迅速增加，最終在足夠濃度的吸附質下逐漸達到飽和。此外，觀察酸性和中性條件對深藍紅藻累積 As(III)能力的影響，可以發現 pH 對深藍紅藻累積 As(III)的能力有影響，但不是單純隨著 pH 的增加或減少而增加或減少，這可能是由於水中 As(III)的形態主要受以下反應控制： $H_3AsO_3 \rightarrow H_2AsO_3^- + H^+$ ，其中 pK_1 值為 9.23。因此，在 pH 2.0 至 7.0 的範圍內，主要的 As(III)形態是不帶電的亞砷酸鹽(H_3AsO_3)，故 H_3AsO_3 不會與吸附劑發生靜電相互作用，但吸附劑中的未質子化的氨基和部分羥基則可以與 H_3AsO_3 發生相互作用[23]。因此，為了進一步瞭解深藍紅藻在 pH 2.0 和 7.0 下對 As(III)的累積機制以及不同品種間的累積能力差異，後續將使用 TXM、XAS 和 FTIR 進行分析，以瞭解 As(III)在深藍紅藻中的金屬分佈、形態變化和交互作用。



開發嗜熱酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原用及種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)

表一、深藍紅藻於 pH 7.0 與 Cr(VI) Freundlich 等溫吸附擬和結果。

Materials	Q_{\max}^a mg/g	K^b	n^c	R^2
GpCr@pH2	103.9	1.1	1.4	0.9923
CcCr@pH2	151.7	3.5	1.7	0.9878
CmCr@pH2	168.1	2.2	1.5	0.9847

^a : Q_{\max} : 實驗最大吸附量，單位 mg/g。

^b : 分配係數(distribution coefficient)。

^c : 校正因子(correction factor)。



表二、深藍紅藻於 pH 7.0 與 Cr(VI) Freundlich 等溫吸附擬和結果。

Materials	Q_{\max}^a mg/g	K^b	n^c	R^2
GpCr@pH7	93.7	0.1	0.8	0.9526
CcCr@pH7	87.7	0.1	0.8	0.9314
CmCr@pH7	73.0	1.0	1.4	0.9763

^a : Q_{\max} : 實驗最大吸附量，單位 mg/g。

^b : 分配係數(distribution coefficient)。

^c : 校正因子(correction factor)。



開發嗜熱酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原用及種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)

表三、深藍紅藻於 pH 2.0 與 As(III) Freundlich 等溫吸附擬和結果。

Materials	Q_{\max}^a mg/g	K^b	n^c	R^2
GpAs@pH2	40.1	0.2	1.1	0.9787
CcAs@pH2	56.0	0.3	1.2	0.9876
CmAs@pH2	43.3	0.2	1.2	0.9390

^a : Q_{\max} : 實驗最大吸附量，單位 mg/g。

^b : 分配係數(distribution coefficient)。

^c : 校正因子(correction factor)。



表四、深藍紅藻於 pH 7.0 與 As(III) Freundlich 等溫吸附擬和結果。

Materials	Q_{\max}^a mg/g	K^b	n^c	R^2
GpAs@pH7	40.5	0.3	1.3	0.9388
CcAs@pH7	56.7	0.3	1.2	0.9314
CmAs@pH7	50.2	0.2	1.1	0.9814

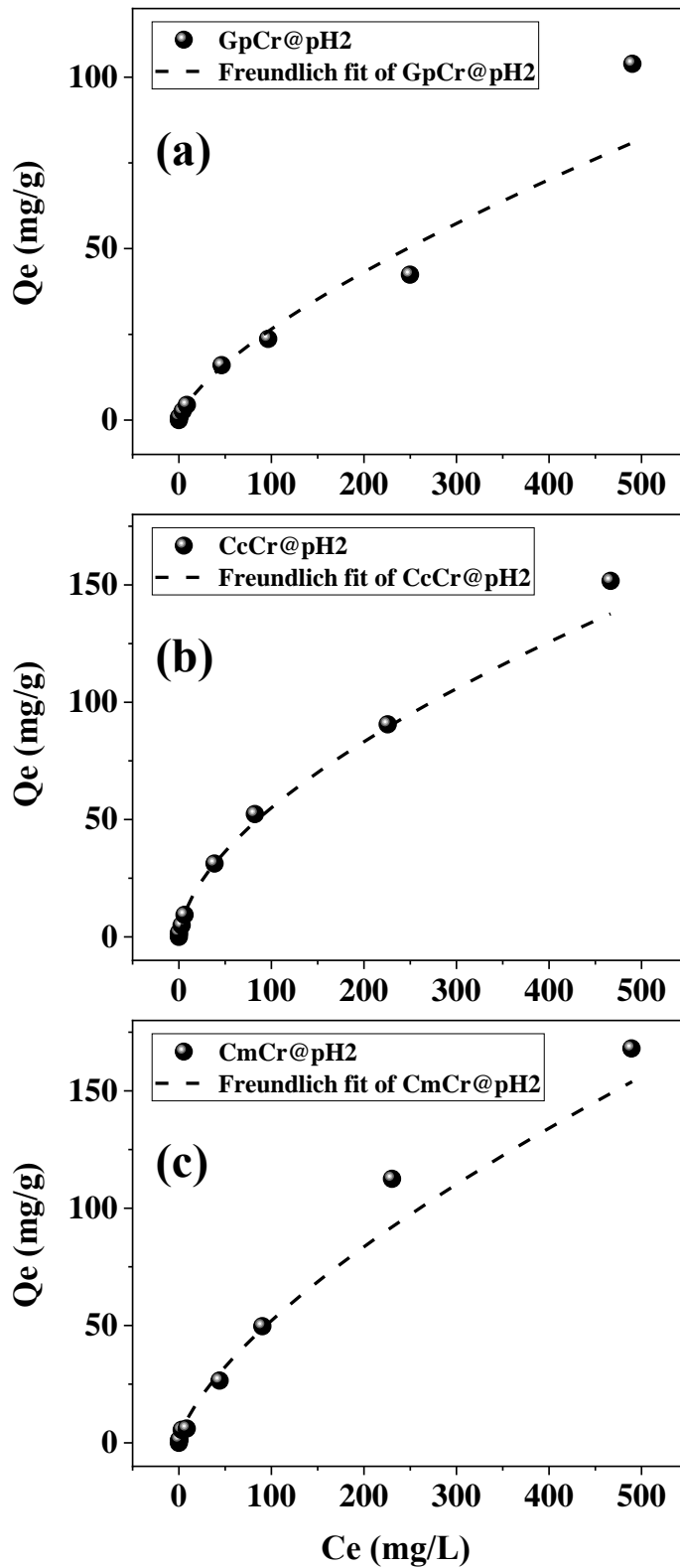
^a : Q_{\max} : 實驗最大吸附量，單位 mg/g。

^b : 分配係數(distribution coefficient)。

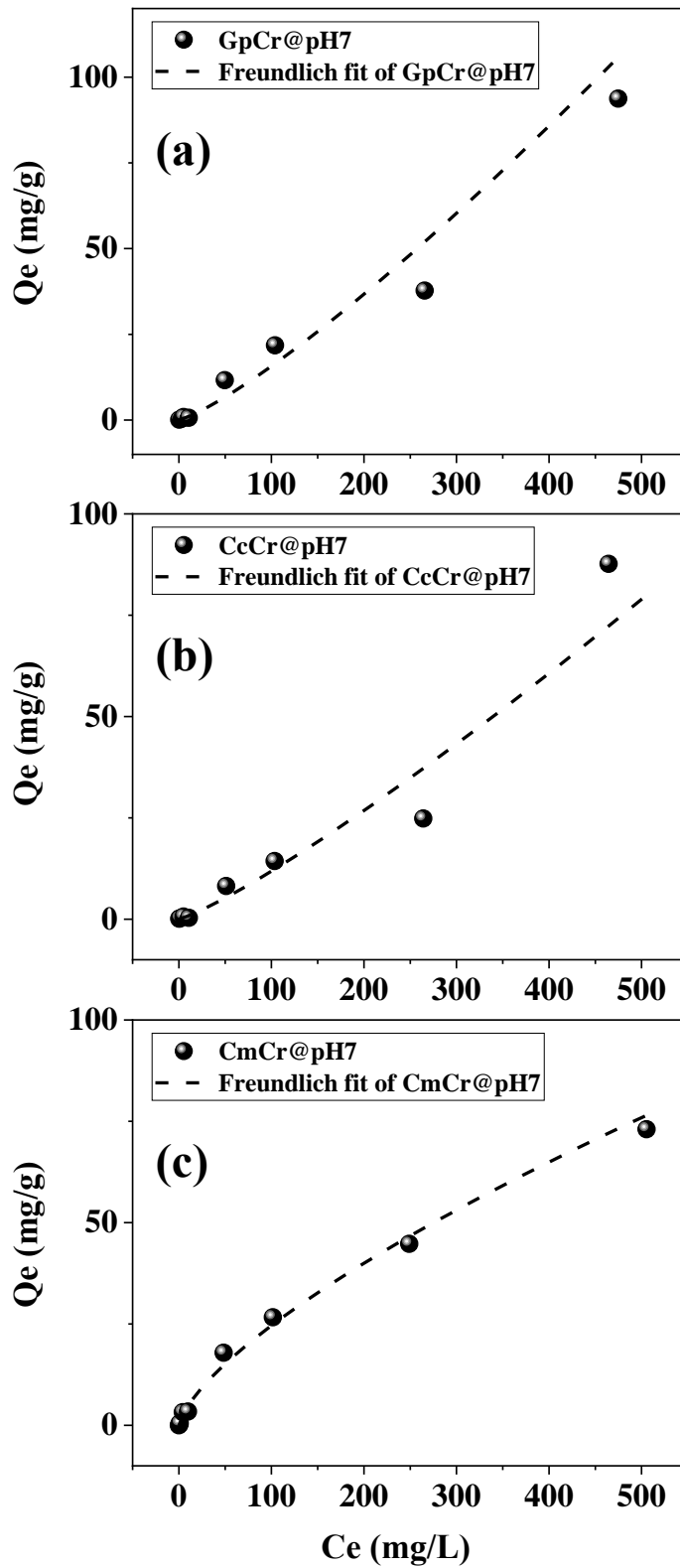
^c : 校正因子(correction factor)。



開發嗜熱酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原用及種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)



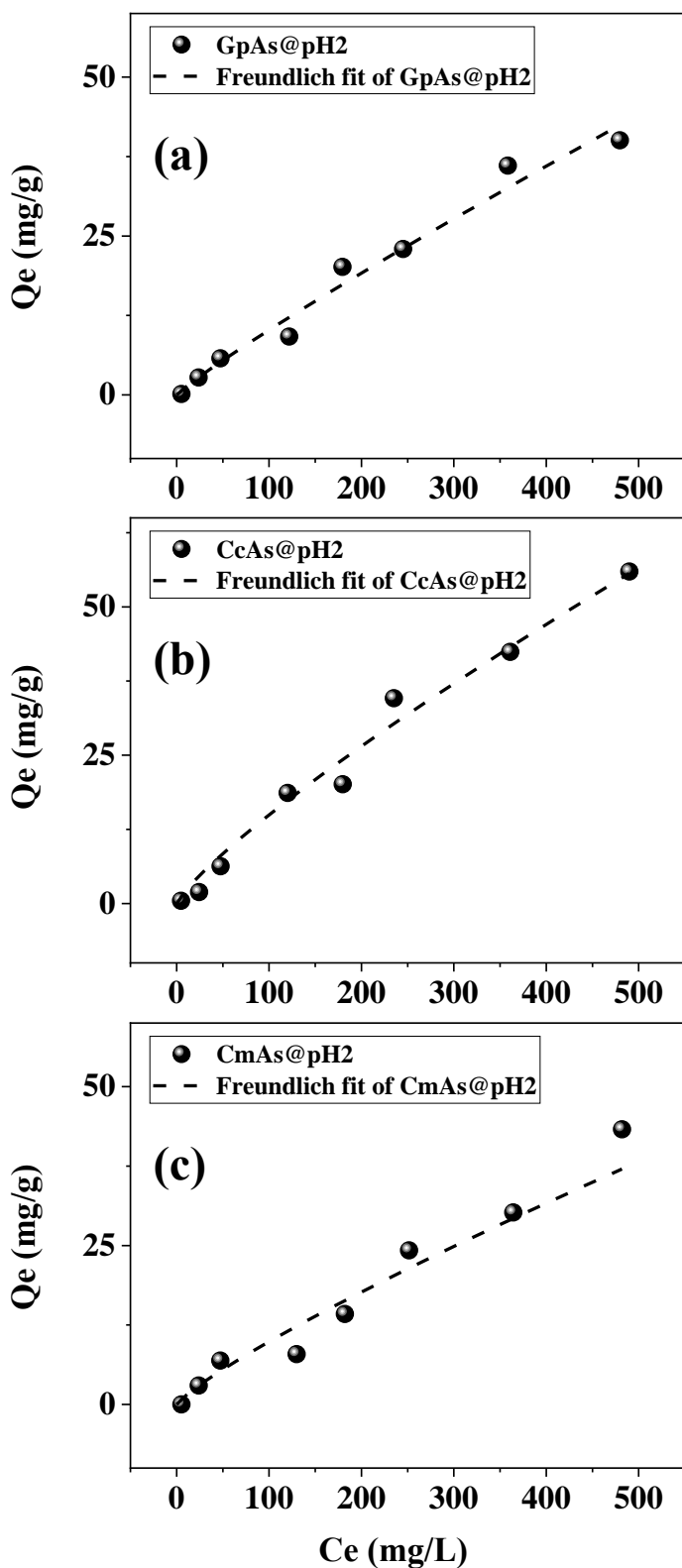
圖六、深藍紅藻於 pH 2.0 與 Cr(VI)反應的等溫吸附結果。



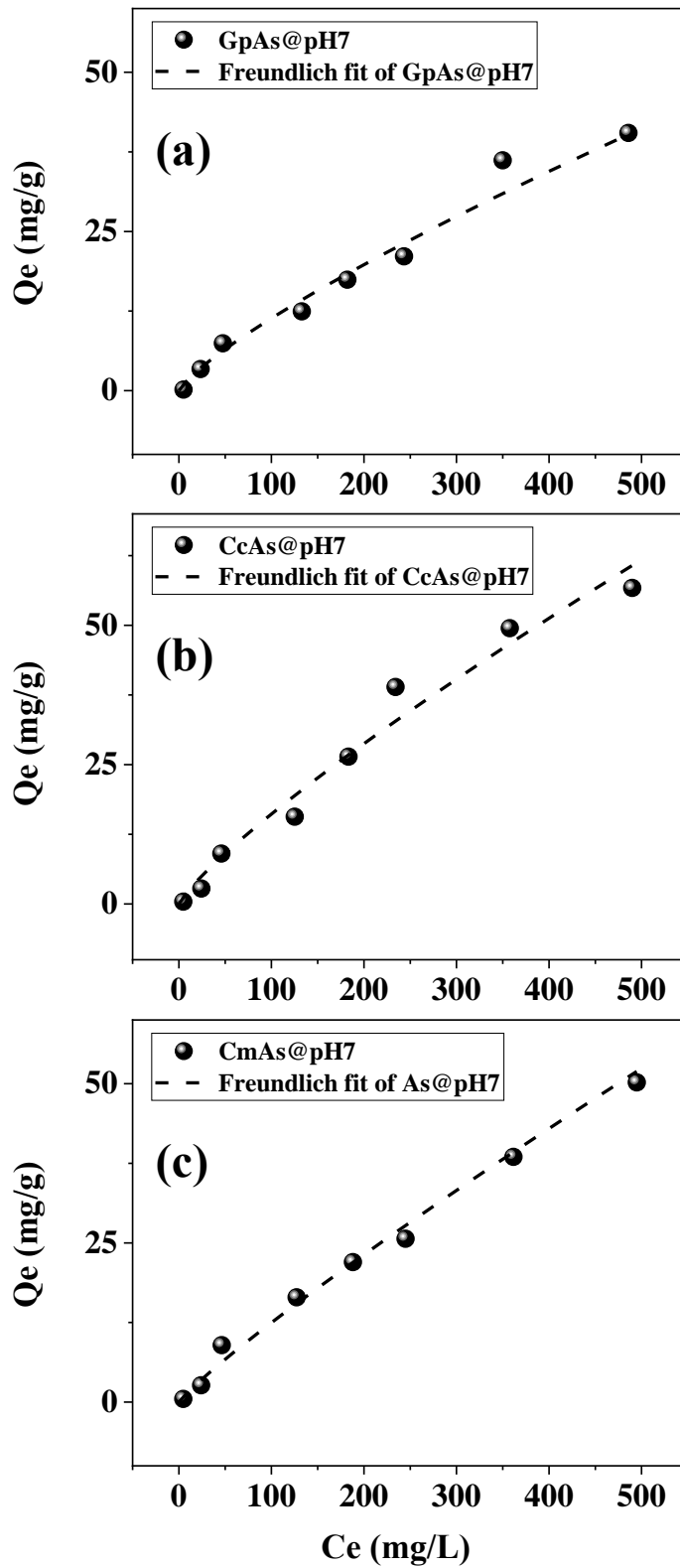
圖七、深藍紅藻於 pH 7.0 與 Cr(VI) 反應的等溫吸附結果。



開發嗜熱酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原用及種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)



圖八、深藍紅藻於 pH 2.0 與 As(III)反應的等溫吸附結果。



圖九、深藍紅藻於 pH 7.0 與 As(III)反應的等溫吸附結果。



開發嗜熱酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原用及種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)

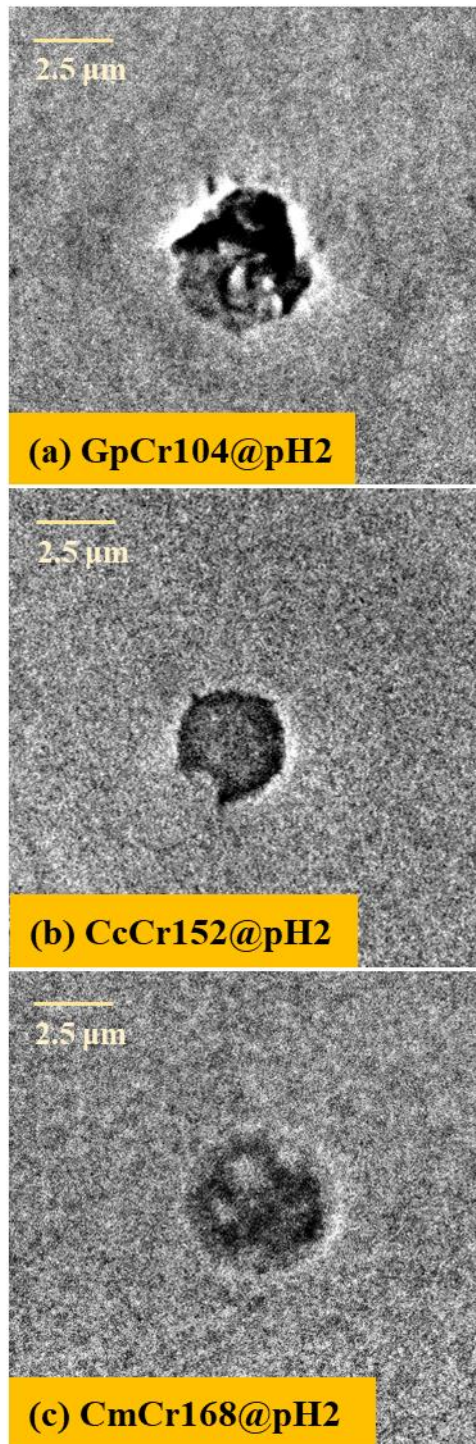
2. TXM 分析結果

(1). 鉻的 TXM 分析結果

圖十至圖十一呈現了深藍紅藻在酸性(pH 2.0)和中性(pH 7.0)條件下與 Cr(VI)反應後的 TXM 影像圖，其中黑色部分表示 Cr 的分布情況。從影像中可以觀察到，在細胞形態方面，深藍紅藻的細胞形貌受到 Cr(VI)的影響，而影響程度各不相同。在酸性條件下，Gp 的細胞明顯受到損壞和皺縮的影響，而 Cc 和 Cm 的受損程度較不明顯。然而，在中性條件下，Cc 和 Cm 的細胞形狀產生變化，特別是 Cm，這表明不同品種的深藍紅藻對於 Cr(VI)的影響有所差異。關於 Cr 在藻類中的分布，酸性條件下，Gp 的 Cr 似乎呈現碎片狀的分佈，Cc 則主要集中在細胞外圍，Cm 則均勻分布。而在中性條件下，Gp 的 Cr 主要集中在細胞外圍，Cc 則均勻分布，Cm 則偏向在細胞外圍。這些結果顯示不同品種的深藍紅藻對於 Cr(VI)的累積方式和 Cr 的分佈存在差異。先前的研究指出，藻類的細胞形態會因為受到 Cr(VI)的脅迫而產生變異[24,25]。綜合以上結果，初步推估不同品種的深藍紅藻對 Cr(VI)的脅迫反應有所不同，這也解釋了為什麼不同品種對於 Cr(VI)的累積能力存在差異，且經由 TXM 影像顯示深藍紅藻會將 Cr 同時累積於細胞表面與體內，因此為了進一步瞭解 Cr 累積在深藍紅藻中的形態轉變，後續的研究將使用 XAS 進行進一步的分析。

(2). 砷的 TXM 分析結果

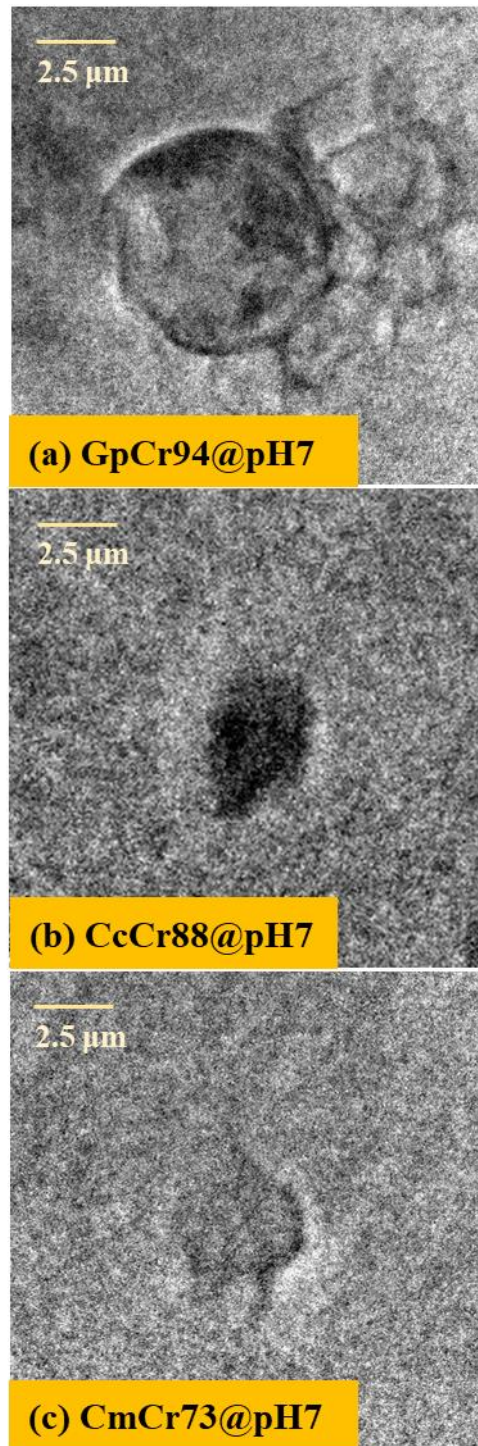
圖十二至圖十三為深藍紅藻分別在酸性(pH 2.0)與中性(pH 7.0)與 As(III)反應之 TXM 影像圖，其中黑色部分為 As 的分布情形。從影像中可以觀察到，在細胞形態方面，深藍紅藻的細胞形貌受到 As(III)的影響，不論是在酸性或中性，深藍紅藻的細胞尚能維持圓形的型態，僅有在中性下的 Cc 稍微轉變成偏橢圓的細胞型態，但整體來看，未有觀察到細胞明顯破裂的現象，與 Cr(VI)的系統相比較不明顯，這可能是由於 As(III)的特性與藻類的反應機制不同於 Cr(VI)，因此對細胞形態的影響較輕微。關於 As 在藻類中的分布，酸性條件下，As 明顯在深藍紅藻明顯在細胞外圍與內部皆有產生累積，其中的差異在於 Cc 累積於外圍的黑色深度明顯高於 Gp 與 Cm，這可能是由於 Cc 細胞表面的反應位點較多，使得其更能有效地累積 As，此也呼應 Cc 對於 As 擁有最高的累積量。而在中性條件下，As 明顯在深藍紅藻明顯在細胞外圍與內部皆有產生累積，其中黑色成像的部分又以細胞外圍的輪廓較為明顯。綜合以上結果，初步推估深藍紅藻主要會將 As 累積於細胞表面，並且同時能觀察到部分的 As 會進入到體內，因此為了進一步瞭解 As 在深藍紅藻中的形態變化，後續的研究將使用 XAS 進行進一步的分析。



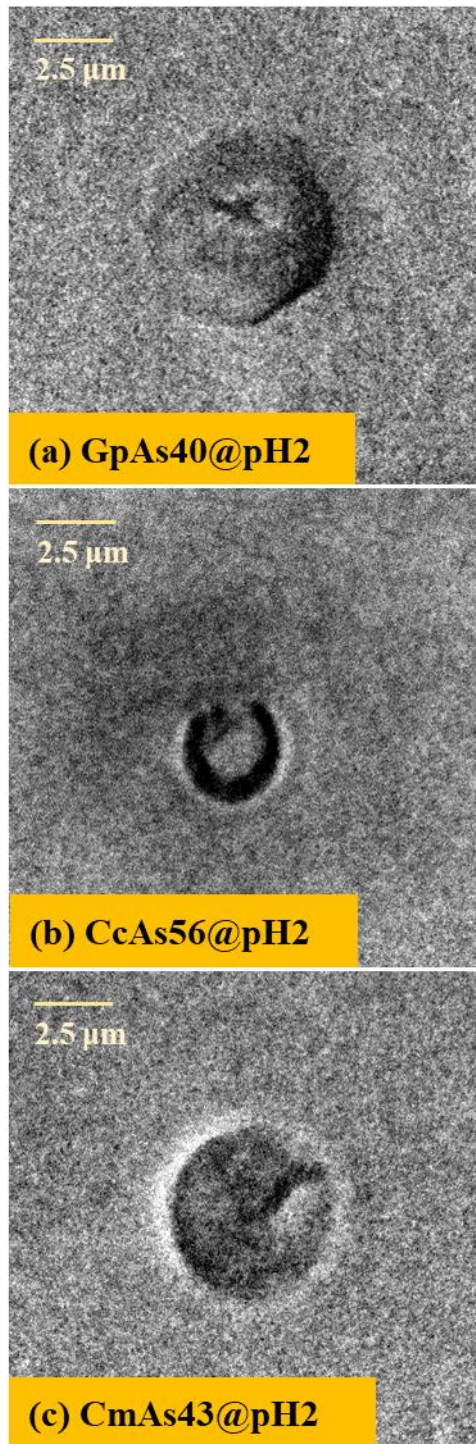
圖十、深藍紅藻分別在 pH 2.0 與 Cr(VI)反應之 TXM 影像圖，其中黑色部分為 Cr 的分布情形。樣品名中的 Cr 後面之數字代表著存在固相的濃度，單位為 mg/g。



開發嗜熱酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原用及種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)



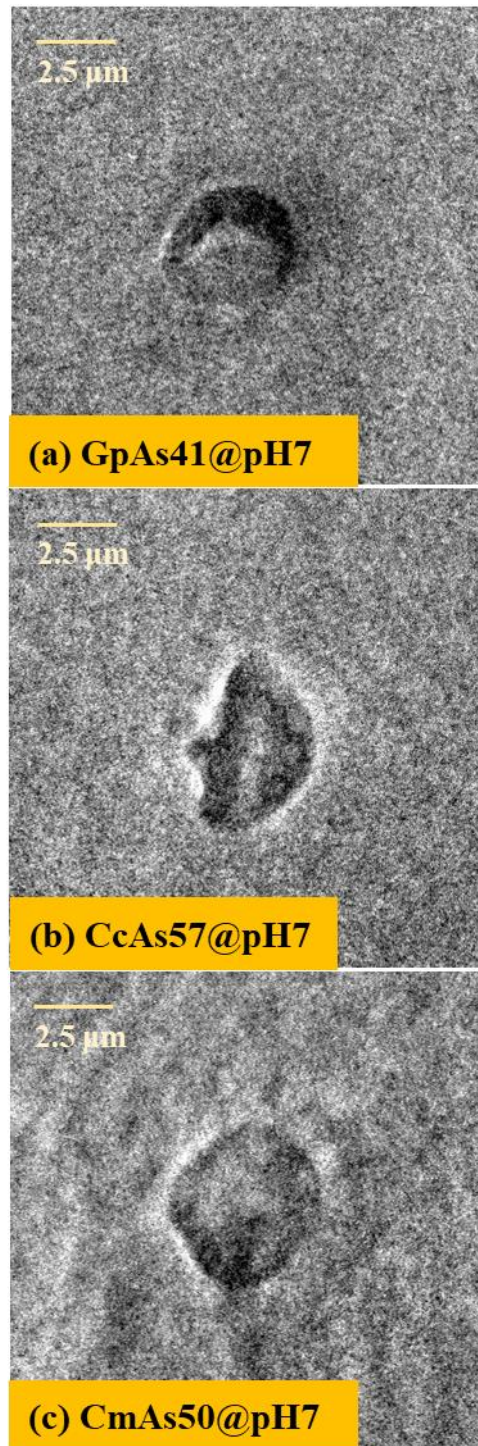
圖十一、深藍紅藻分別在 pH 7.0 與 Cr(VI)反應之 TXM 影像圖，其中黑色部分為 Cr 的分布情形。樣品名中的 Cr 後面之數字代表著存在固相的濃度，單位為 mg/g。



圖十二、深藍紅藻分別在 pH 2.0 與 As(III) 反應之 TXM 影像圖，其中黑色部分為 As 的分布情形。樣品名中的 As 後面之數字代表著存在固相的濃度，單位為 mg/g。



開發嗜熱酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原用及種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)



圖十三、深藍紅藻分別在 pH 7.0 與 As(III)反應之 TXM 影像圖，其中黑色部分為 As 的分布情形。樣品名中的 As 後面之數字代表著存在固相的濃度，單位為 mg/g。



3. XAS 分析結果

(1). 鉻的 XAS 分析結果

表五與表六為深藍紅藻分別在酸性(pH 2.0)與中性(pH 7.0)與 Cr(VI)反應後之 Cr 的線性組合擬和(LCF)分析結果。由結果可知，進入固相中的 Cr 型態主要是 $K_2Cr_2O_7$ 、Cr(III)-polysaccharide 與 Cr(III)-hydroxide $[Cr(OH)_3]$ 的型態，在酸性與中性分別擁有最高累積濃度的 Cm 與 Gp 身上可發現到，不論累積 Cr 濃度多寡，其 Cr(III)-polysaccharide 可維持在 59.3-69.4%之間，表示著其細胞表面的多醣體可與 Cr(III)產生鍵結，進而將 Cr 固定在藻類身上。此外，Cc 不管是在酸性或中性環境下，其主要型態以 $K_2Cr_2O_7$ 為主，特別是在累積濃度來到 88 mg/g 的 Cc，其代表著的是 Cr(VI)可能吸附在藻類的細胞表面。另外觀察到 $Cr(OH)_3$ 的型態亦發現在所有深藍紅藻身上，但比較特殊的是當深藍紅藻對於 Cr(VI)累積濃度逐漸提升時，僅在酸性條件下反應的 Cc 與 Cm 能將 $Cr(OH)_3$ 維持在 17.7-22.6%，這表示著 $Cr(OH)_3$ 的形成可能為 Cc 與 Cm 提供了重要途徑，進而使 Cc 與 Cm 對於 Cr(VI)累積濃度能排名在第一與第二的關鍵。由於深藍紅藻其表面具有胞外聚合物(EPS)，EPS 是由多醣、蛋白質和脂質組成[26]，因此藻類可藉由 EPS 將 Cr(VI)離子固定在其表面，並藉由其中的多醣體將 Cr(VI)還原為 Cr(III) [27]，而部分尚未被固定的 Cr(VI)會進入到藻類體內[28,29]，與其體內蛋白質中硫醇基產生還原反應，而形成 $Cr(OH)_3$ 的沉澱[30,31]。

所以綜觀來看，多醣體是深藍紅藻在累積 Cr(VI)的能力扮演著重要角色，隨著累積 Cr(VI)濃度的提升，轉而出現以吸附態的 Cr(VI)為主要機制，此外 $Cr(OH)_3$ 可能作為額外將 Cr(VI)還原為 Cr(III)的管道，進而使深藍紅藻 Cc 與 Cm 能進一步提升對於 Cr(VI)的累積能力。

(2). 砷的 XAS 分析結果

表七與表八為深藍紅藻分別在酸性(pH 2.0)與中性(pH 7.0)與 As(III)反應後之 As 的線性組合擬和(LCF)分析結果。由結果可知，進入固相中的 As 型態主要是 As(V)-polysaccharide、As(III)-polysaccharide 與 As(III)-cysteine 的型態。在酸性條件中，Gp 會隨著 As 的累積濃度增加，其機制主要會以 As(III)-polysaccharide 為主(55.9-81.5%)，並最終產生部分的 As(V)-polysaccharide (5.6%)，且其體內的 As(III)-cysteine 會隨之由 44.1%下降至 12.9%；而 Cm 與 Gp 相似是一樣會以 As(III)-polysaccharide 為主(69.1-74.7%)，不過最終會生成相似比例的 As(V)-polysaccharide 為 6.6%，但不同於 Gp 的是其 As(V)-polysaccharide 是 Cm 是由 15.1%下降至 5.9%，且其 As(III)-cysteine 可隨 As 累積濃度的增加而由 15.8%提升



開發嗜熱酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原用及種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)

至 18.4%；而對於 As(III)累積量最高的 Cc 除了會以 As(III)-polysaccharide 為主 (68.3-51.8%)，其最終生成 11.7%的 As(V)-polysaccharide，且其 As(III)-cysteine 的比例能維持在 30%以上，明顯高於 Gp 與 Cm。在中性條件中，隨著對 As 累積濃度的增加，Gp 仍然會以 As(III)-polysaccharide (88.4%)為主，As(V)-polysaccharide (11.6%)為其次；Cm 隨著 As 累積濃度的增加，其 As(III)-polysaccharide 與 As(V)-polysaccharide 比例分別可來到 75.0%與 11.3%，而有別於在酸性條件下的 Cm，其 As(III)-cysteine 會由 45.7%下降至 13.7%；而對於 As(III)累積量最高的 Cc，隨著 As 累積濃度提升，Cc 除了會以 As(III)-polysaccharide 為主(64.4%)，其最終生成 2.8%的 As(V)-polysaccharide，不過其 As(III)-cysteine 的比例能維持在 30%以上。

綜合上述結果，可初步歸納深藍紅藻能藉由其表面的多醣體分別與 As(III)與 As(V)產生鍵結，此外部分的 As(III)/As(V)會被傳輸至體內最終在體內形成 As(III)-cysteine，而其中的 As(III)-cysteine 在本研究的系統代表著深藍紅藻細胞體內蛋白質中的半胱胺酸與 As(III)產生鍵結的型態，這也暗示著 As(III)-cysteine 的形成可能為 Cc 提供了重要途徑，進而使 Cc 不論在酸性與中性，對於 As(III)累積濃度能排名在第一的關鍵。



表五、深藍紅藻於 pH 2.0 與 Cr(VI)反應後之 Cr 的線性組合擬和(LCF)分析結果。

a

Sample ^b	R-factor ^c	K ₂ Cr ₂ O ₇ ^d	Cr(III)-	Cr(III)-
			polysaccharide ^e	hydroxide
	-		%	
GpCr0.9@pH2	0.0008	2.9(±1.2) ^f	81.7(±0.5)	15.5(±3.6)
GpCr42@pH2	0.0014	48.1(±3.6)	48.8(±0.6)	3.1(±2.1)
GpCr104@pH2	0.0032	56.7(±5.3)	43.3(±0.9)	0.0(±1.5)
CcCr2@pH2	0.0021	5.0(±5.2)	74.2(±0.8)	20.8(±5.8)
CcCr52@pH2	0.0020	45.3(±4.1)	38.2(±0.7)	16.5(±4.6)
CcCr152@pH2	0.0027	54.4(±4.8)	27.9(±0.8)	17.7(±5.6)
CmCr6@pH2	0.0017	1.6(±4.2)	69.4(±0.7)	29.0(±4.7)
CmCr50@pH2	0.0019	12.8(±4.4)	68.9(±0.7)	18.3(±4.9)
CmCr168@pH2	0.0021	11.0(±4.7)	66.3(±0.8)	22.6(±5.2)

a：擬和範圍介於-20 至+30 eV，所有標準品型態總和為 100±1%。

b：樣品名中的 Cr 後面之數字代表著存在固相的濃度，單位為 mg/g。

c：R-factor = $\sum(\text{data-fit})^2 / \sum \text{data}^2$

d：代表為吸附態的 Cr(VI)。

e：代表 Cr(III)與多醣體鍵結的型態。

f：數據表示為平均值±標準差。



開發嗜熱酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原用及種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)

表六、深藍紅藻於 pH 7.0 與 Cr(VI)反應後之 Cr 的線性組合擬和(LCF)分析結果。

a

Sample ^b	R-factor ^c	K ₂ Cr ₂ O ₇ ^d	Cr(III)-	Cr(III)-
			polysaccharide ^e	hydroxide
	-		%	
GpCr0.4@pH7	0.0015	4.2(\pm 3.2) ^f	68.3(\pm 0.7)	27.5(\pm 4.8)
GpCr22@pH7	0.0019	39.1(\pm 4.2)	59.5(\pm 0.7)	1.5(\pm 4.7)
GpCr94@pH7	0.0018	37.7(\pm 4.2)	61.3(\pm 0.7)	0.9(\pm 0.1)
CcCr0.6@pH7	0.0026	27.9(\pm 5.2)	57.9(\pm 0.8)	14.2(\pm 5.8)
CcCr25@pH7	0.0023	28.1(\pm 5.0)	58.6(\pm 0.8)	13.3(\pm 5.5)
CcCr88@pH7	0.0015	92.7(\pm 3.5)	7.3(\pm 0.6)	0.0(\pm 3.9)
CmCr3@pH7	0.0008	4.8(\pm 3.1)	81.2(\pm 0.5)	13.9(\pm 3.4)
CmCr27@pH7	0.0020	39.5(\pm 4.2)	49.1(\pm 0.7)	11.4(\pm 4.7)
CmCr73@pH7	0.0023	49.6(\pm 4.3)	50.4(\pm 0.7)	0.0(\pm 1.1)

a：擬和範圍介於-20 至+30 eV，所有標準品型態總和為 100 \pm 1%。

b：樣品名中的 Cr 後面之數字代表著存在固相的濃度，單位為 mg/g。

c：R-factor = $\sum(\text{data-fit})^2 / \sum \text{data}^2$

d：代表為吸附態的 Cr(VI)。

e：代表 Cr(III)與多醣體鍵結的型態。

f：數據表示為平均值 \pm 標準差。



表七、深藍紅藻於 pH 2.0 與 As(III)反應後之 As 的線性組合擬和(LCF)分析結果。

a

Sample ^b	R-factor ^c	As(V)-	As(III)-	As(III)-
		polysaccharide ^d	polysaccharide ^e	cysteine ^f
	-		%	
GpAs6@pH2	0.0011	-	55.9(± 0.7) ^g	44.1(± 0.7)
GpAs9@pH2	0.0014	-	77.4(± 0.9)	22.6(± 0.9)
GpAs40@pH2	0.0014	5.6(± 0.5)	81.5(± 1.1)	12.9(± 0.9)
CcAs6@pH2	0.0007	0.4(± 0.3)	68.3(± 1.0)	31.3(± 1.2)
CcAs19@pH2	0.0002	1.0(± 0.3)	67.0(± 0.4)	32.0(± 0.6)
CcAs56@pH2	0.0012	11.7(± 2.5)	51.8(± 2.7)	36.5(± 1.1)
CmAs7@pH2	0.0022	15.1(± 0.8)	69.1(± 1.5)	15.8(± 1.2)
CmAs14@pH2	0.0010	10.8(± 0.4)	72.1(± 0.9)	17.1(± 1.0)
CmAs43@pH2	0.0005	6.9(± 0.3)	74.7(± 0.6)	18.4(± 0.7)

^a：擬和範圍介於-20 至+30 eV，所有標準品型態總和為 100 \pm 1%。

^b：樣品名中的 As 後面之數字代表著存在固相的濃度，單位為 mg/g。

^c：R-factor = $\sum(\text{data-fit})^2 / \sum \text{data}^2$

^d：代表 As(V)與多醣體鍵結的型態。

^e：代表 As(III)與多醣體鍵結的型態。

^f：代表 As(III)與半胱胺酸鍵結的型態。

^g：數據表示為平均值 \pm 標準差。



開發嗜熱酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原用及種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)

表八、深藍紅藻於 pH 7.0 與 As(III)反應後之 As 的線性組合擬和(LCF)分析結果。

a

Sample ^b	R-factor ^c	As(V)-	As(III)-	As(III)-
		polysaccharide ^d	polysaccharide ^e	cysteine ^f
	-		%	
GpAs7@pH7	0.0001	10.8(±0.4) ^g	46.6(±0.9)	42.6(±0.7)
GpAs13@pH7	0.0015	15.2(±0.6)	84.8(±0.6)	-
GpAs41@pH7	0.0024	11.6(±0.7)	88.4(±0.7)	-
CcAs9@pH7	0.0064	53.9(±2.0)	36.9(±3.5)	9.2(±4.0)
CcAs16@pH7	0.0024	3.2(±0.7)	64.2(±1.2)	32.6(±0.9)
CcAs57@pH7	0.0023	2.8(±0.7)	64.4(±1.1)	32.8(±0.9)
CmAs9@pH7	0.0021	5.6(±0.7)	48.6(±1.3)	45.7(±1.5)
CmAs17@pH7	0.0009	4.8(±0.4)	74.8(±0.9)	20.4(±1.0)
CmAs50@pH7	0.0012	11.3(±0.5)	75.0(±1.0)	13.7(±1.1)

a：擬和範圍介於-20 至+30 eV，所有標準品型態總和為 100±1%。

b：樣品名中的 As 後面之數字代表著存在固相的濃度，單位為 mg/g。

c：R-factor = $\sum(\text{data-fit})^2 / \sum \text{data}^2$

d：代表 As(V)與多醣體鍵結的型態。

e：代表 As(III)與多醣體鍵結的型態。

f：代表 As(III)與半胱胺酸鍵結的型態。

g：數據表示為平均值±標準差。



4. FTIR 分析結果

圖十四與圖十五為深藍紅藻在酸性(pH 2.0)與中性(7.0)分別與金屬[Cr(VI)與As(III)]反應後之 FTIR 光譜中的細胞表面多醣體(Polysaccharide)峰高變化與體內蛋白質二級結構(PSS)組成分析結果示意圖，其中圖十四峰值上的數字標籤(1)-(5)為來自多醣體的震動訊號：(1)醣類重疊(overlapping of saccharides, 1147/cm)、(2)甘露糖(Mannose, 1705/cm)、(3)葡萄糖(Glucose, 1033/cm)、(4) 1022/cm、(5)蔗糖的糖苷鍵(Glycosidic links of sucrose, 994/cm) [32,33]；圖十五峰值上的數字標籤(1)-(13)則來自藻類體內蛋白質的震動訊號：(1)酸酯類(Acid esters, 1741/cm)、(2)脂質酯(Lipid esters, 1718/cm)、(3)反平行 β 鏈(Anti-parallel β -strand, 1690/cm)、(4)平行 β 鏈(Parallel β -strand, 1679/cm)、(5) β -轉角(β -turn, 1666/cm)、(6) α -螺旋(α -helix, 1652/cm)、(7) 無序結構(Unordered structure, 1644/cm)、(8)平行 β 鏈(Parallel β -strand, 1631/cm)、(9) β -轉角(β -turn, 1614/cm)、(10) 胺(Amine, 1591/cm)、(11)酰胺 II (Amide II, 1575/cm)、(12)酰胺 II (Amide II, 1542cm)、(13)酪氨酸環(Tyrosine ring, 1513/cm) [34]。根據先前研究指出多醣體中的 Mannose (1705/cm)與蛋白質二級結構(PSS)中的 α -helix (1652/cm)與 Parallel β -strand (1631/cm)屬於與重金屬反應的重要位點 [18,35-37]，因此本研究為了進一步釐清不同深藍紅藻累積 Cr(VI)與 As(III)能力上的機制差異，特此將數值擷取陳列至表九與表十二中，並將其多醣中的 Mannose 峰高值以及蛋白質二級結構(PSS)的 α -helix/ β -strand 比例分別與 Cr 和 As 累積在固相中濃度進行相關性分析(圖十六至圖二十三)。在相關性分析中，若觀察到負相關，這意味著金屬對深藍紅藻的影響可能已經危及其生物代謝活性，進而導致深藍紅藻的細胞型態改變或金屬累積能力的降低，這暗示著金屬對深藍紅藻的影響已經達到了一個不可忽視的程度，可能對生物體產生不利影響。另一方面，若觀察到正相關，這意味著深藍紅藻能夠有效與金屬產生反應，並且這種反應尚未對深藍紅藻造成足夠的生物危害，這可能表示深藍紅藻對金屬具有較高的耐受性或金屬對其生理功能並未造成明顯的負面效應。透過相關性分析，我們可以更深入地瞭解金屬與深藍紅藻之間的交互作用關係，並評估金屬對生物體的影響程度，以及進一步解析其對金屬累積能力的相關機制。

(1). 鉻的 FTIR 分析結果

根據多醣體中 Mannose 與深藍紅藻累積 Cr 含量的相關性結果(圖十六與圖十七)，以及 PSS 中 α -helix/ β -strand 比例與深藍紅藻累積 Cr 含量的相關性結果(圖十八與圖十九)，一致性地顯示出以下結果：對於 Gp 而言，在酸性條件下，其 α -helix/ β -strand 比例會隨著累積在 Gp 中的 Cr 含量而由 1.0 下降至 0.6，且會與深藍紅藻累積 Cr 含量呈負相關(R^2 值為 0.9906)，而在中性條件下，其 α -helix/ β -strand



開發嗜熱酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原及種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)

比例會隨著累積在 Gp 中的 Cr 含量而由 1.0 上升至 1.3，呈正相關， R^2 值為 0.9672；對於 Cc 而言，不論是在酸性還是中性條件下，其 α -helix/ β -strand 比例會隨著累積在 Gp 中的 Cr 含量而由 1.0 分別上升至 1.3 與 1.4，與深藍紅藻累積 Cr 含量呈正相關，在酸性條件的 R^2 為 0.9998；在中性條件的 R^2 為 0.9355。對於 Cm 而言，在酸性條件下與深藍紅藻累積 Cr 含量呈正相關，其 α -helix/ β -strand 比例會隨著累積在 Gp 中的 Cr 含量而由 1.2 上升至 1.4， R^2 值為 0.9935，而在中性條件下，其 α -helix/ β -strand 比例會隨著累積在 Gp 中的 Cr 含量而由 1.3 分別下降至 0.8，則呈負相關， R^2 值為 0.8556。這意味著在酸性環境下，Cr(VI)對 Gp 造成了較大的生物危害，而在中性條件下，Cr(VI)對 Cm 造成了較大的生物危害，這種危害可能直接或間接地導致深藍紅藻的細胞型態改變或金屬累積能力的降低[38]。這也解釋了為什麼在酸性條件下，Gp 的 Cr 累積能力(104 mg/g)與在中性條件下 Cm 的 Cr 累積能力(73 mg/g)最低。

另外值得注意的是在酸性條件下，Cm 與 Cc 在系統中具有最高和次高的 Cr(VI) 累積能力，分別為 168.1 mg/g 與 151.7 mg/g。綜觀深藍紅藻的 PSS 分析結果中發現，隨著深藍紅藻對 Cr 累積含量增加至最高點的過程中，只有 Cm 與 Cc 的 α -helix 比例顯著增加了 2.4%和 3.0%，這表明 Cr 能夠促進 α -helix 的合成，而 α -helix 是 PSS 中主要的有序結構，這暗示有序結構(α -helix)的生成能夠增強生物體對金屬的抵抗能力，先前研究指示 α -helix 與半胱氨酸的結構息息相關，而半胱氨酸上的硫醇基作為還原劑促進 Cr(VI)的還原而生成 Cr(OH)_3 沉澱[30,31]，這也意味著深藍紅藻體內的蛋白質中半胱氨酸中的硫醇基確實與 Cr(VI)產生反應，從而使 Cr(VI)發生還原反應，在細胞內形成 Cr(OH)_3 沉澱[35]，這個結果也解釋了為什麼在酸性條件下，Cc 和 Cm 的 XAS 結果中觀察到的 Cr(OH)_3 組成保持穩定相互呼應。這些結果進一步支持了深藍紅藻對 Cr(VI)的累積和還原能力，通過形成 Cr(OH)_3 沉澱，深藍紅藻成功降低了 Cr(VI)的毒性並減少了對生物體的潛在風險。此外， α -helix 結構的增加可能提供了更強的蛋白質結構穩定性，有助於對抗金屬的傷害。

(2). 砷的 FTIR 分析結果

根據多醣體中 Mannose 與深藍紅藻累積 As 含量的相關性結果(圖二十與圖二十一)顯示，所有相關性呈現正相關，這意味著深藍紅藻能夠有效與金屬產生反應，並且這種反應尚未對深藍紅藻造成足夠的生物危害，這可能表示深藍紅藻對金屬具有較高的耐受性或金屬對其生理功能並未造成明顯的負面效應，暗示著深藍紅藻表面的維持持續利用多醣體與 As 產生鍵結以作為抵禦 As 毒害的機制之一，此



論述同時也得到 XAS 分析結果(表七)的支持，XAS 分析中，As 主要會以 As(III)-polysaccharide 型態以及部分的 As(V)-polysaccharide 的型態。

根據 PSS 中 α -helix/ β -strand 比例與深藍紅藻累積 As 含量的相關性分析(圖二十二與圖二十三)，可以初步歸納出以下結果：在酸性條件下，只有 Cc 和 Cm 呈現正相關， R^2 值分別為 0.9958 與 0.9750，其 α -helix/ β -strand 比例會隨著累積在 Cc 與 Cm 中的 As 含量分別由 1.1 上升至 2.7 與由 1.2 上升至 2.0；而在中性條件下，只有 Cc 呈現正相關(R^2 值為 0.9947)，其 α -helix/ β -strand 比例會隨著累積在 Cc 中的 As 含量而由 1.2 上升至 5.3。此外，隨著深藍紅藻對 As 的累積含量增加至最高點的過程中，只有 Cc 的 α -helix 比例在酸性和中性條件下顯著增加了 11.7% 和 6.7%。這表明 As 能夠促進 α -helix 的合成，而 α -helix 是 PSS 中主要的有序結構。這暗示有序結構(α -helix)的生成能夠增強生物體對金屬的抵抗能力。此外，先前的研究指出 α -helix 結構與半胱氨酸的結構密切相關。將這些結果與 XAS 分析結果(表七至表八)進行共同討論，其中直接與 PSS 結果相關的是 As(III)-cysteine 的型態。隨著深藍紅藻對 As 的累積濃度增加，對應的 As(III)-cysteine 也會隨之增加，尤其是 Cc，其比例可維持在 30% 以上。

這些結果進一步支持了深藍紅藻對於 As 的累積和還原能力。透過形成 As(III)-cysteine 的型態，深藍紅藻成功進一步降低了 As 的毒性並減少了對生物體的潛在風險。此外， α -helix 結構的增加可能提供了更強的蛋白質結構穩定性，有助於對抗金屬的傷害。



開發嗜熱酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原用及種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)

表九、深藍紅藻於 pH 2.0 與 Cr(VI)反應後之 FTIR 的細胞表面多醣體 (Polysaccharide)峰高變化與體內蛋白質二級結構(PSS)組成分析結果。

Sample ^a	Polysaccharide	Protein secondary structure		
	(in vitro)	(in vivo)		
	Peak height of mannose	α -helix	Parallel β -strand	α -helix / Parallel β -strand
	1075/cm	1652/cm	1631/cm	β -strand
	-	%		-
GpCr@pH2	0.66	12.9	12.7	1.0
GpCr42@pH2	0.58	12.7	12.5	1.0
GpCr104@pH2	0.41	10.9	17.0	0.6
CcCr@pH2	0.49	11.5	11.5	1.0
CcCr52@pH2	0.52	12.1	11.4	1.1
CcCr152@pH2	0.58	14.5	11.0	1.3
CmCr@pH2	0.60	14.5	12.1	1.2
CmCr50@pH2	0.65	18.1	14.5	1.2
CmCr168@pH2	0.75	16.9	11.8	1.4

^a：樣品名中的 Cr 後面之數字代表著存在固相的濃度，單位為 mg/g。



表十、深藍紅藻於 pH 7.0 與 Cr(VI) 反應後之 FTIR 的細胞表面多醣體 (Polysaccharide) 峰高變化與體內蛋白質二級結構(PSS)組成分析結果。

Sample ^a	Polysaccharide	Protein secondary structure		
	(in vitro)	(in vivo)		
	Peak height of mannose	α -helix	Parallel β -strand	α -helix / Parallel β -strand
	1075/cm	1652/cm	1631/cm	β -strand
	-	%		-
GpCr@pH7	0.71	13.6	13.1	1.0
GpCr22@pH7	0.73	14.2	13.5	1.1
GpCr94@pH7	0.76	14.6	11.6	1.3
CcCr@pH7	0.67	13.2	12.3	1.1
CcCr25@pH7	0.67	12.0	11.5	1.0
CcCr88@pH7	0.78	14.2	10.0	1.4
CmCr@pH7	0.67	17.0	13.2	1.3
CmCr27@pH7	0.63	16.4	13.8	1.2
CmCr73@pH7	0.62	14.2	17.4	0.8

^a：樣品名中的 Cr 後面之數字代表著存在固相的濃度，單位為 mg/g。



開發嗜熱酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原用及種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)

表十一、深藍紅藻於 pH 2.0 與 As(III)反應後之 FTIR 的細胞表面多醣體 (Polysaccharide)峰高變化與體內蛋白質二級結構(PSS)組成分析結果。

Sample ^a	Polysaccharide	Protein secondary structure		
	(in vitro)	(in vivo)		
	Peak height of mannose	α -helix	Parallel β -strand	α -helix / Parallel
	1075/cm	1652/cm	1631/cm	β -strand
	-	%		-
GpAs6@pH2	0.55	22.9	10.9	2.1
GpAs9@pH2	0.62	21.5	12.1	1.8
GpAs40@pH2	0.69	20.0	14.9	1.3
CcAs6@pH2	0.45	10.1	9.1	1.1
CcAs19@pH2	0.60	13.3	8.3	1.6
CcAs56@pH2	0.75	21.8	8.0	2.7
CmAs7@pH2	0.51	14.5	12.3	1.2
CmAs14@pH2	0.66	14.4	9.8	1.5
CmAs43@pH2	0.78	14.4	7.2	2.0

^a：樣品名中的 As 後面之數字代表著存在固相的濃度，單位為 mg/g。



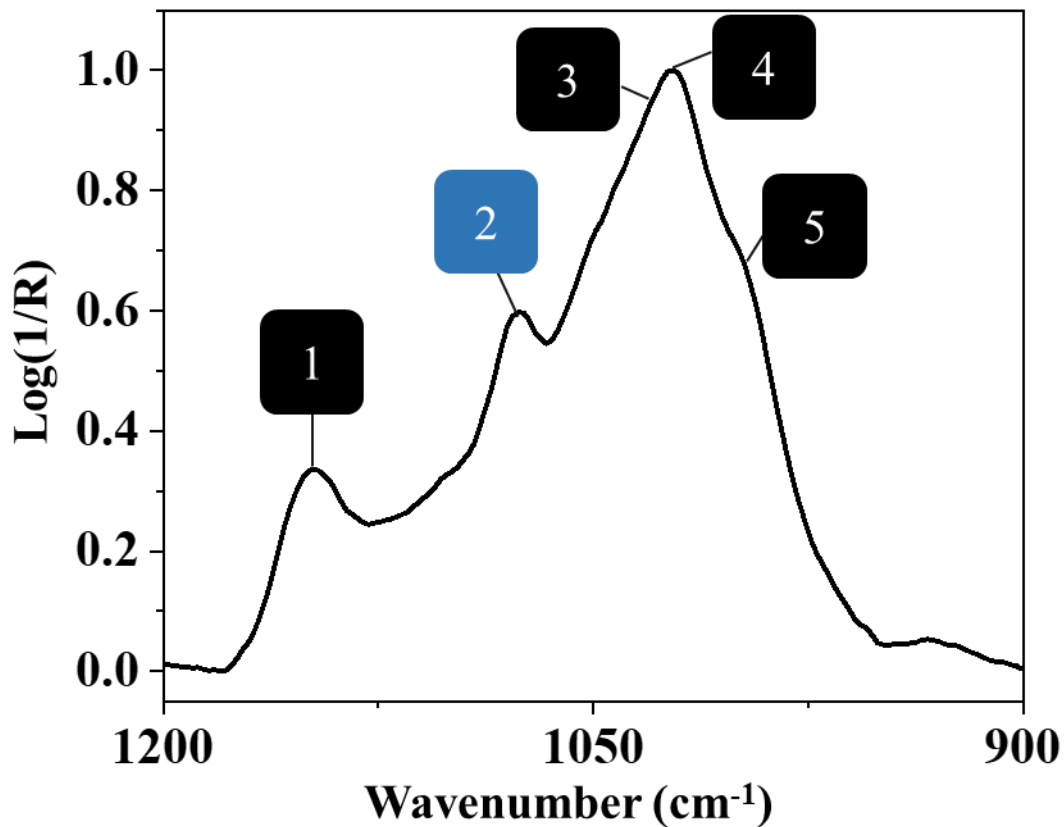
表十二、深藍紅藻於 pH 7.0 與 As(III)反應後之 FTIR 的細胞表面多醣體 (Polysaccharide)峰高變化與體內蛋白質二級結構(PSS)組成分析結果。

Sample ^a	Polysaccharide	Protein secondary structure		
	(in vitro)	(in vivo)		
	Peak height of mannose	α -helix	Parallel β -strand	α -helix / Parallel
	1075/cm	1652/cm	1631/cm	β -strand
	-	%		-
GpAs7@pH7	0.38	26.8	10.1	2.7
GpAs13@pH7	0.49	18.3	9.5	1.9
GpAs41@pH7	0.61	18.1	11.9	1.5
CcAs9@pH7	0.63	14.9	12.3	1.2
CcAs16@pH7	0.68	15.6	10.6	1.5
CcAs57@pH7	0.76	21.6	4.1	5.3
CmAs9@pH7	0.32	20.9	9.5	2.2
CmAs17@pH7	0.47	16.1	9.5	1.7
CmAs50@pH7	0.59	15.0	10.5	1.4

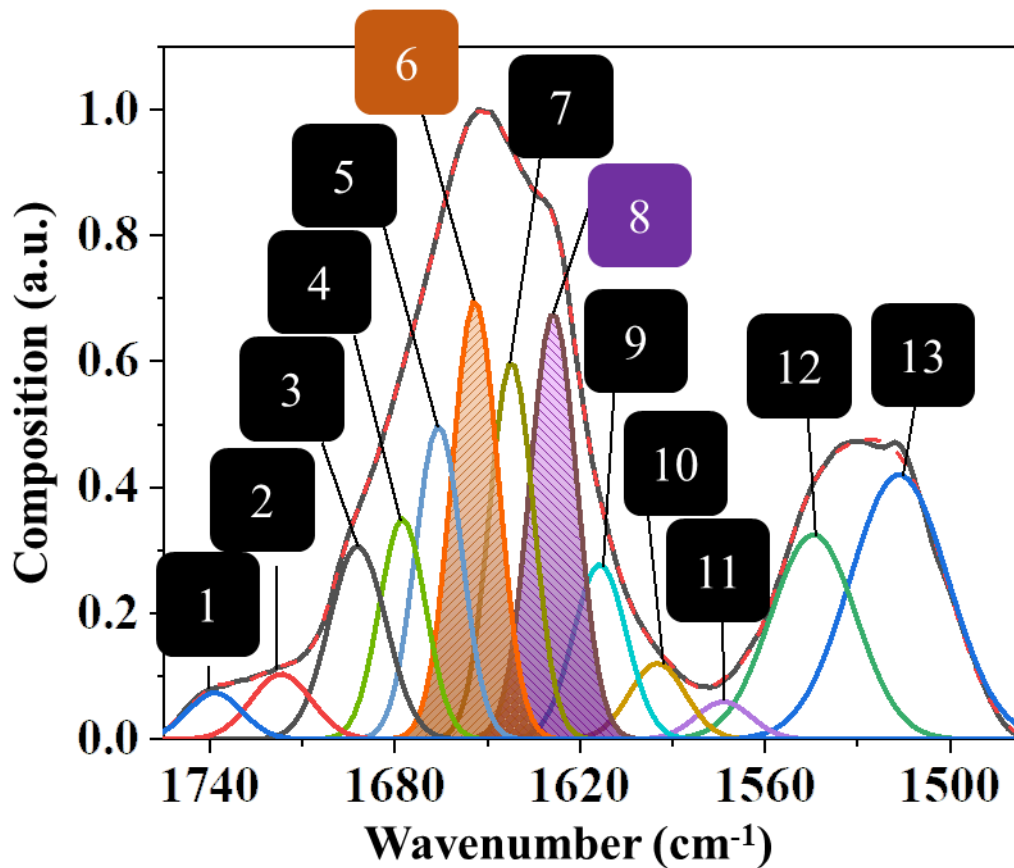
^a：樣品名中的 As 後面之數字代表著存在固相的濃度，單位為 mg/g。



開發嗜熱酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原用及種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)



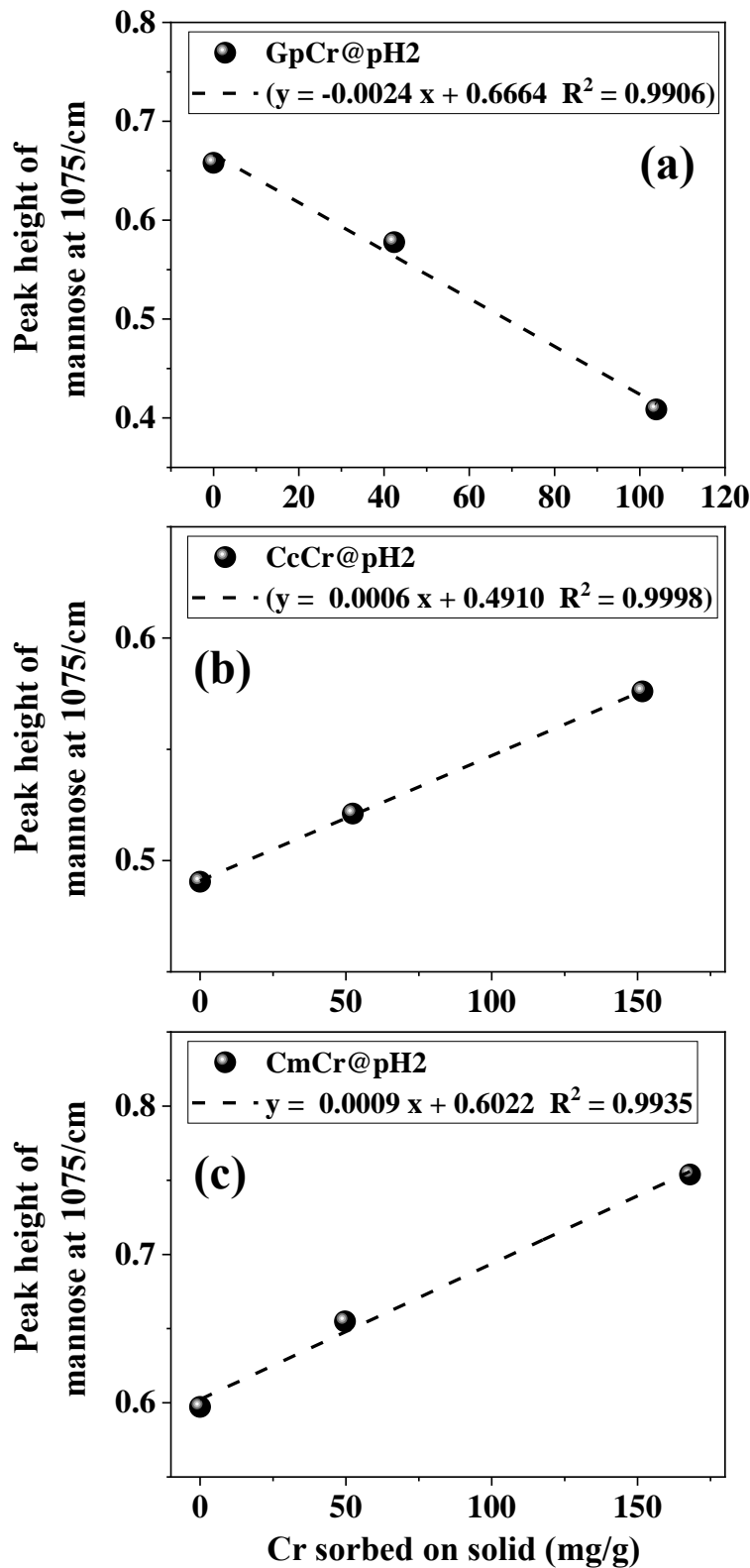
圖十四、深藍紅藻分別在 pH 2.0 與 7.0 與 Cr(VI)反應後之 FTIR 的細胞表面多醣體(Polysaccharide)峰高變化示意圖，其中(1)醣類重疊(overlapping of saccharides, 1147/cm)、(2)甘露糖(Mannose, 1705/cm)、(3)葡萄糖(Glucose, 1033/cm)、(4) 1022/cm、(5)蔗糖的糖苷鍵(Glycosidic links of sucrose, 994/cm)。



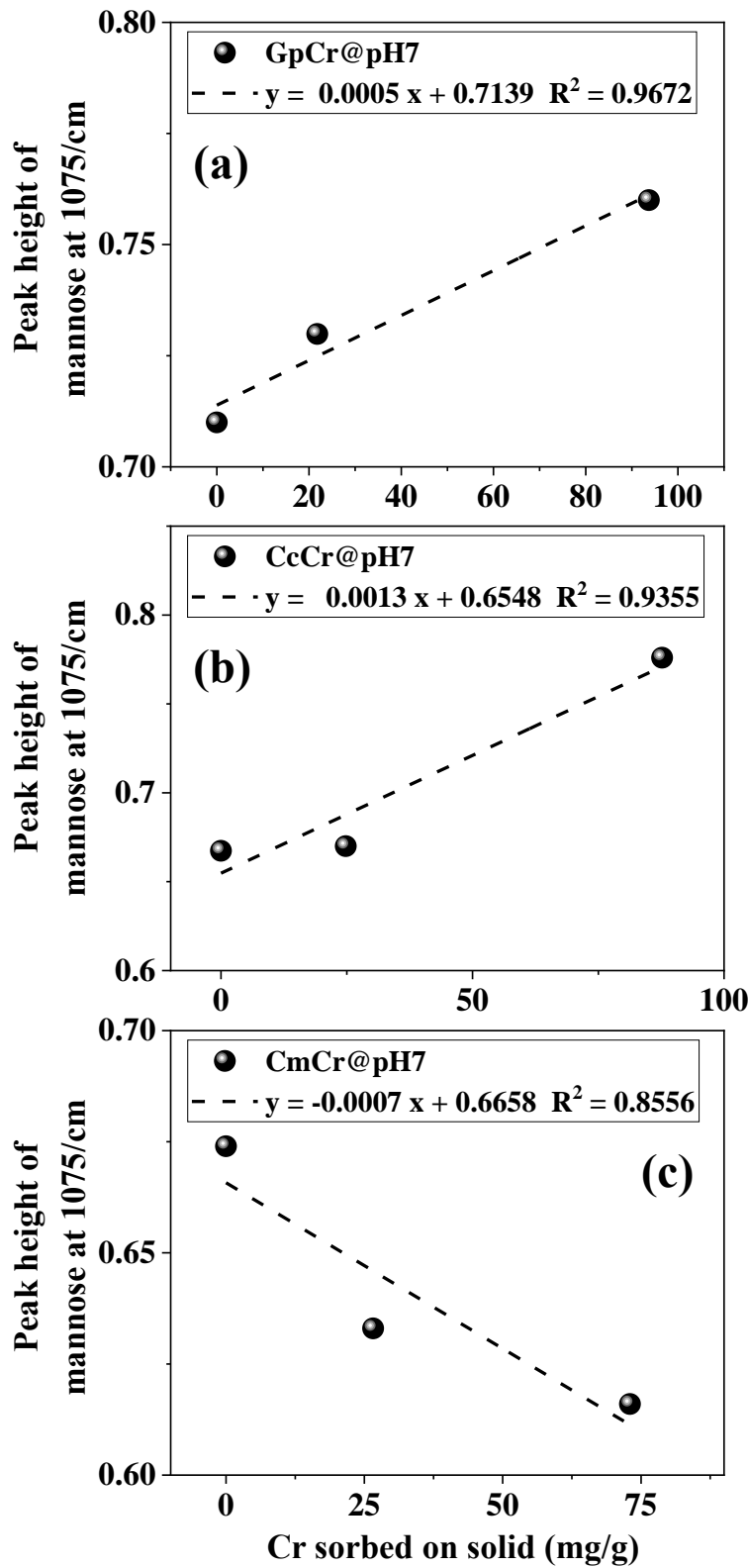
圖十五、深藍紅藻分別在 pH 2.0 與 7.0 與 Cr(VI) 反應後之 FTIR 的體內蛋白質二級結構(PSS)組成分析結果示意圖，其中(1)酸酯類(Acid esters, 1741/cm)、(2)脂質酯(Lipid esters, 1718/cm)、(3)反平行 β 鏈(Anti-parallel β -strand, 1690/cm)、(4)平行 β 鏈(Parallel β -strand, 1679/cm)、(5) β -轉角(β -turn, 1666/cm)、(6) α -螺旋(α -helix, 1652/cm)、(7) 無序結構(Unordered structure, 1644/cm)、(8)平行 β 鏈(Parallel β -strand, 1631/cm)、(9) β -轉角(β -turn, 1614/cm)、(10) 胺(Amine, 1591/cm)、(11)酰胺 II (Amide II, 1575/cm)、(12)酰胺 II (Amide II, 1542cm)、(13)酪氨酸環(Tyrosine ring, 1513/cm)。



開發嗜熱酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原用及種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)



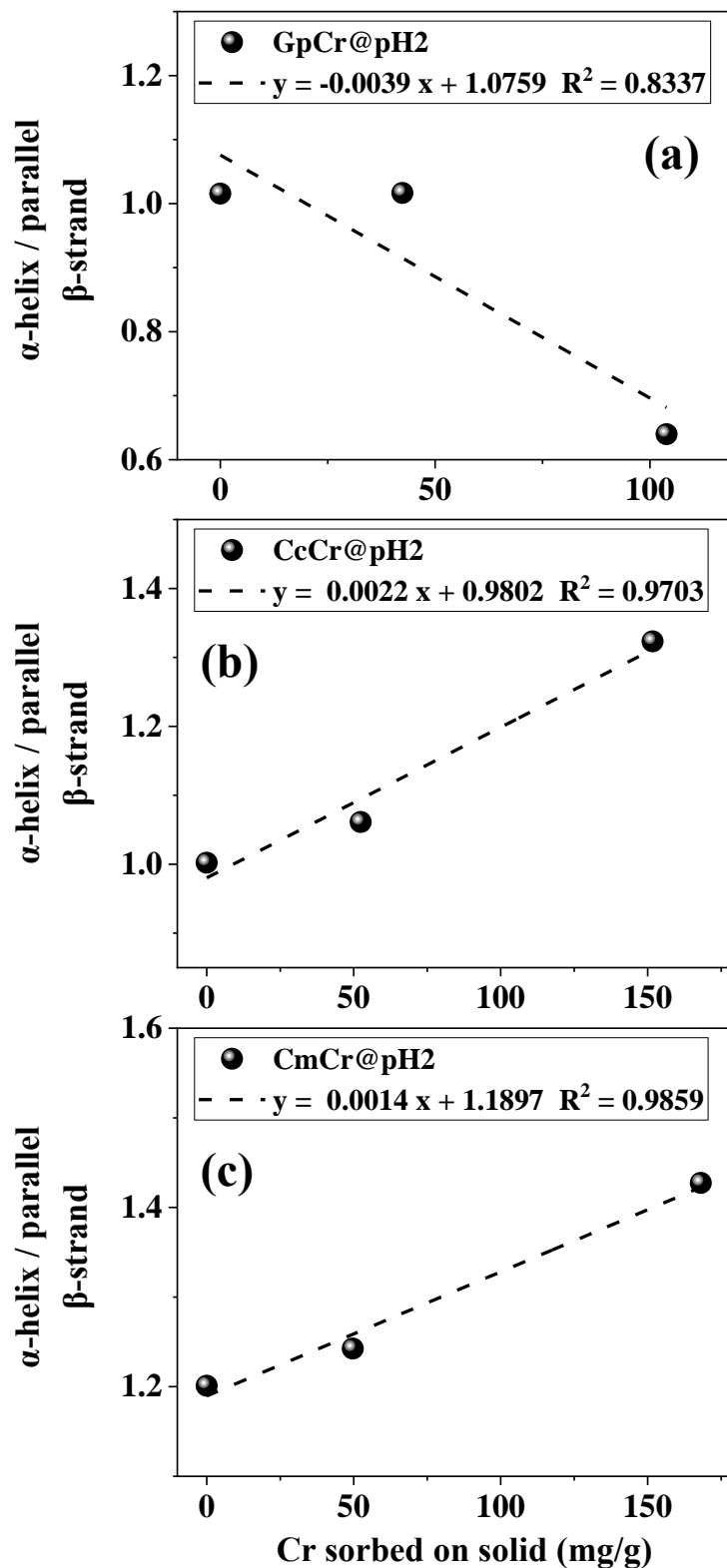
圖十六、深藍紅藻於 pH 2.0 與 Cr(VI)反應後，Mannose 峰高值與 Cr 在固相中濃度的相關性分析。



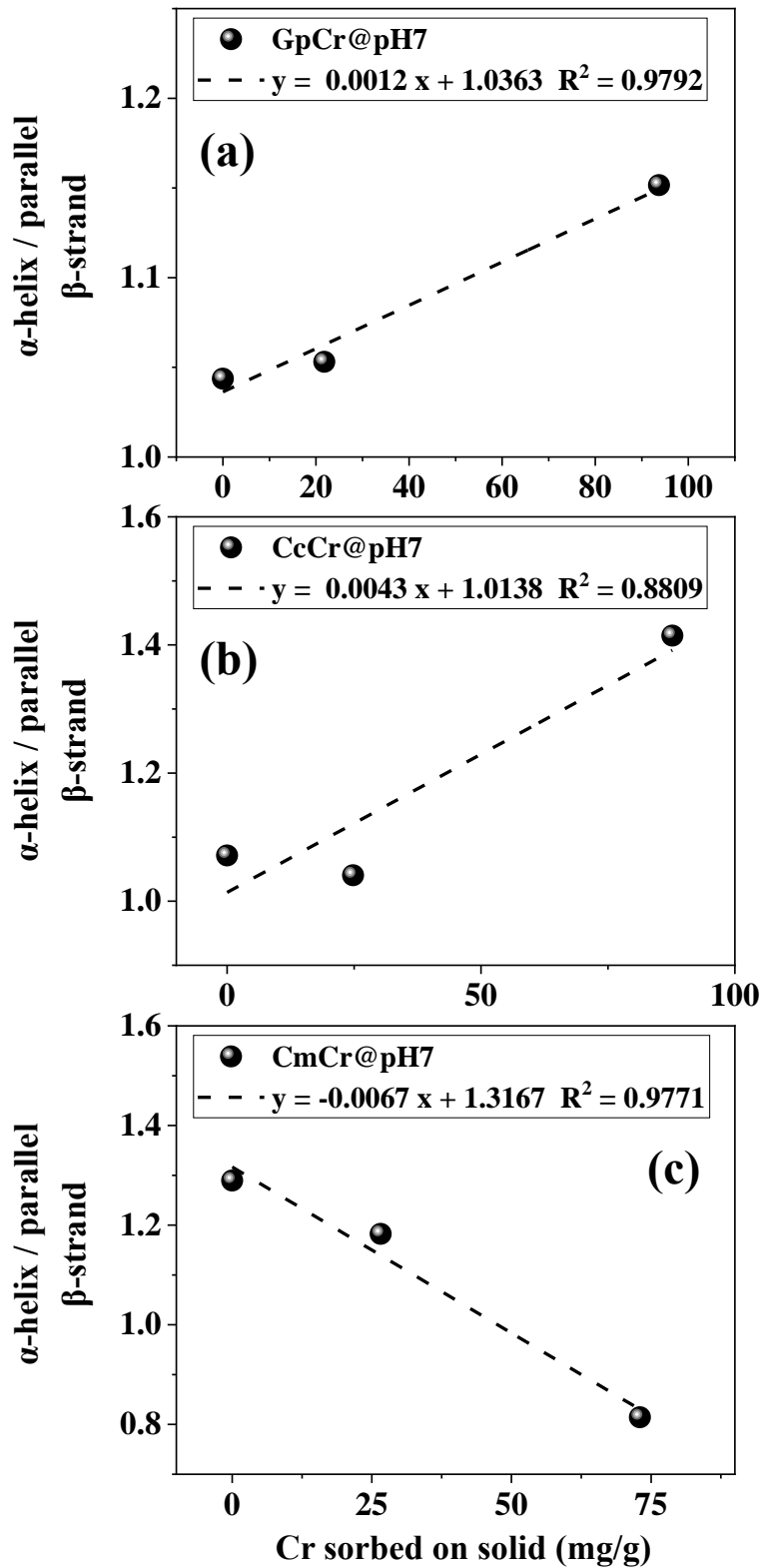
圖十七、深藍紅藻於 pH 7.0 與 Cr(VI)反應後，Mannose 峰高值與 Cr 在固相中濃度的相關性分析。



開發嗜熱酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原用及種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)



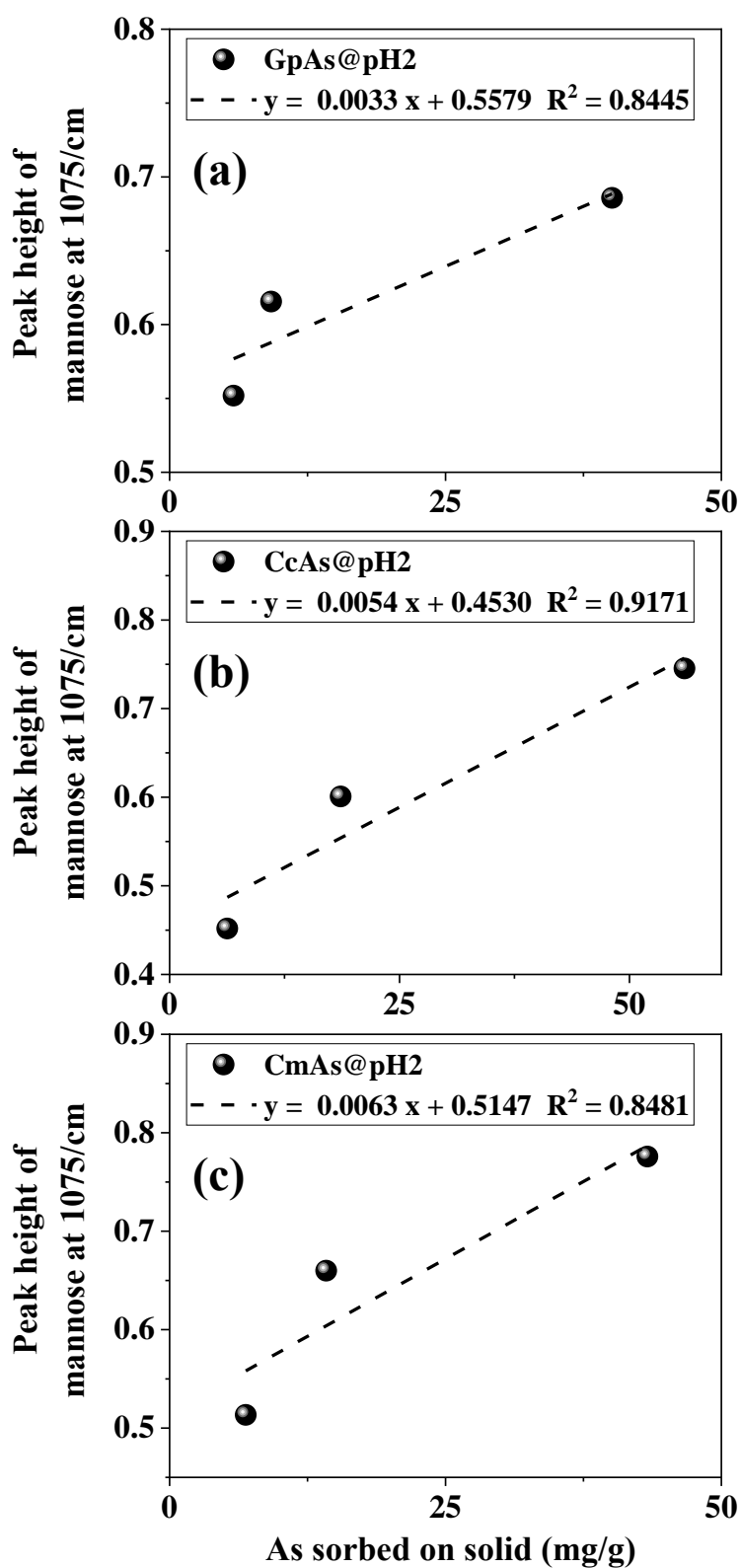
圖十八、深藍紅藻於 pH 2.0 與 Cr(VI)反應後，蛋白質結構 α -helix/ β -strand 比例與 Cr 在固相中濃度的相關性分析。



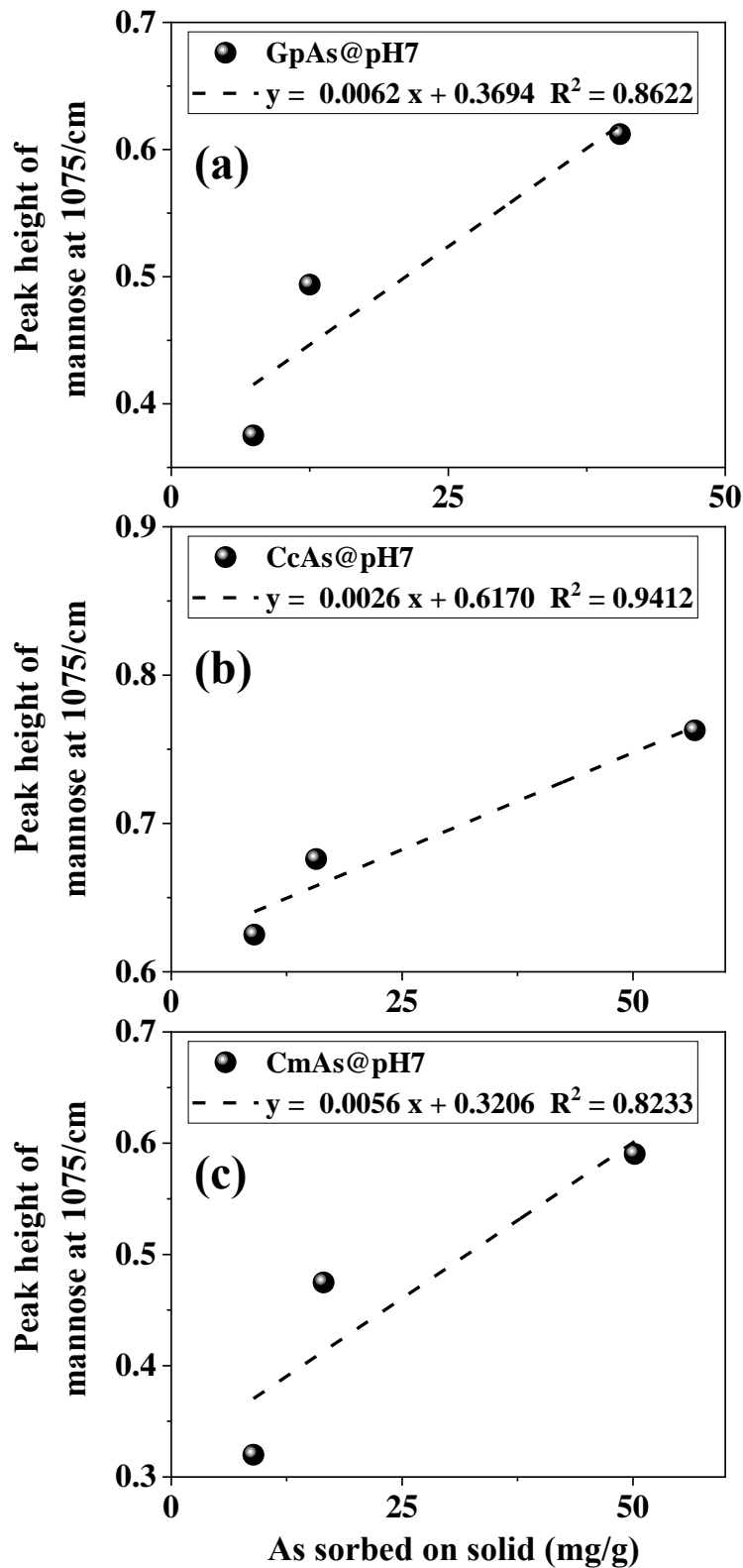
圖十九、深藍紅藻於 pH 7.0 與 Cr(VI)反應後，蛋白質結構 α -helix/ β -strand 比例與 Cr 在固相中濃度的相關性分析。



開發嗜熱酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原用及種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)



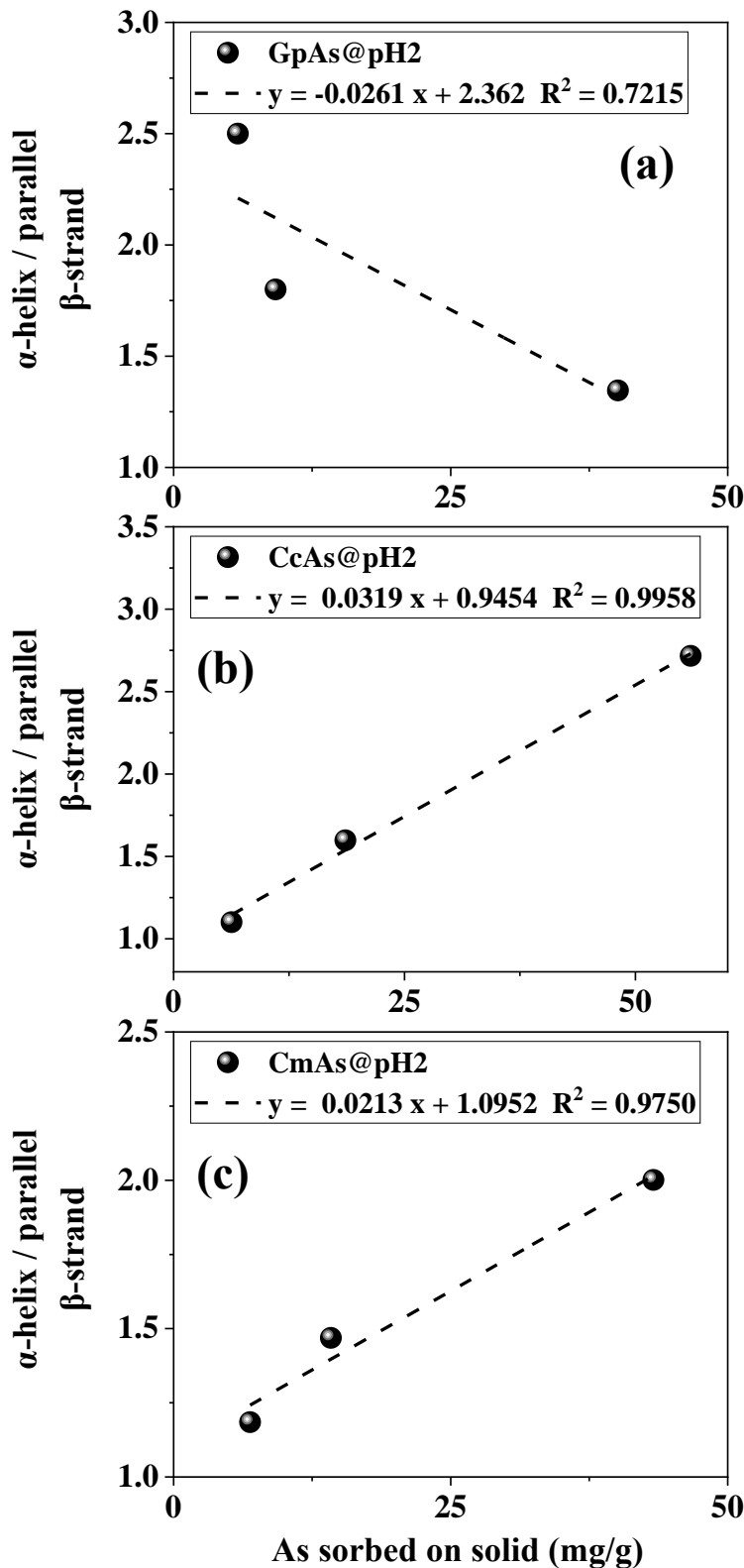
圖二十、深藍紅藻於 pH 2.0 與 As(III)反應後，Mannose 峰高值與 As 在固相中濃度的相關性分析。



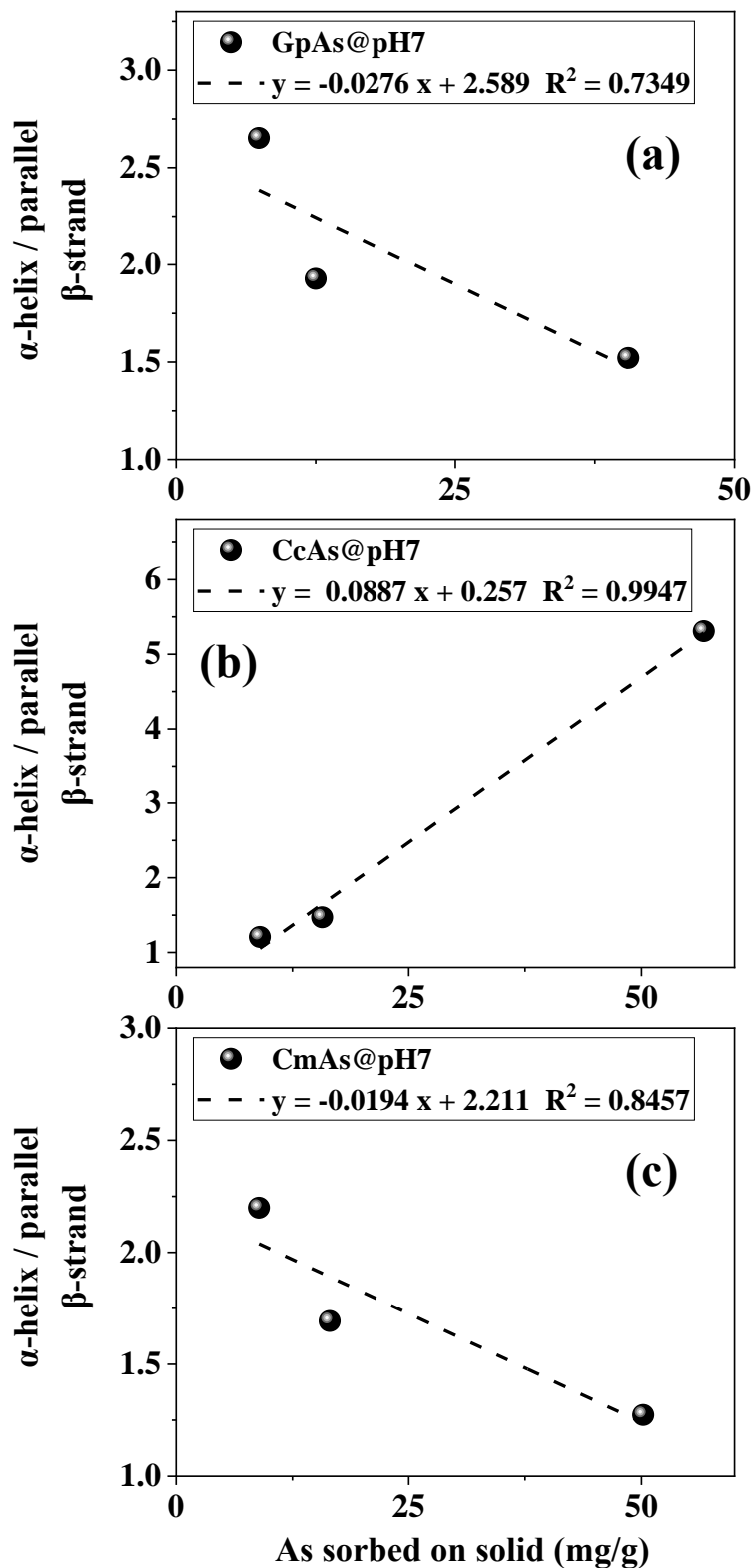
圖二十一、深藍紅藻於 pH 7.0 與 As(III)反應後，Mannose 峰高值與 As 在固相中濃度的相關性分析。



開發嗜熱酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原用及種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)



圖二十二、深藍紅藻於 pH 2.0 與 As(III)反應後，蛋白質結構 α -helix/ β -strand 比例與 As 在固相中濃度的相關性分析。



圖二十三、深藍紅藻於 pH 7.0 與 As(III)反應後，蛋白質結構 α -helix/ β -strand 比例與 As 在固相中濃度的相關性分析。



5. 綜合討論

(1). 深藍紅藻與鉻

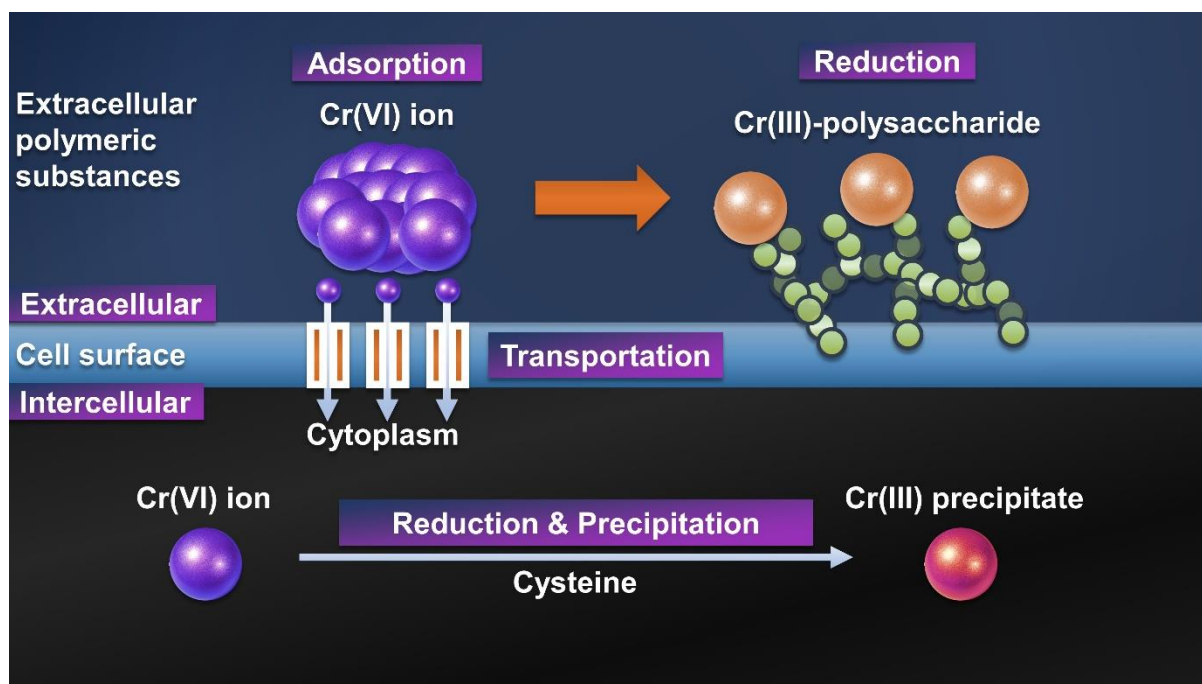
本研究旨在確立三種深藍紅藻品種對於 Cr(VI)的累積能力和分子機制，實驗分別於酸性(pH 2.0)與中性(pH 7.0)與 Cr(VI)反應 6 小時，固液比固定在 0.5 g/L，測試 Cr(VI)的濃度範圍為 0-500 mg/g。為此，本研究對完成累積 Cr 的深藍紅藻進行了採樣，並進行了基於同步加速器的分析。在 XAS 結果中(表五與表六)，我們觀察到一個共同特徵，即表面吸附態的 Cr(VI)和 Cr(III)-polysaccharide 複合物佔主要的 Cr 型態，且無論深藍紅藻在系統中對 Cr 累積量如何，Cr(III)-polysaccharide 複合物的形成在酸性和中性條件下皆保持相對較高的比例，這表明深藍紅藻表面的多醣體在 Cr(VI)的累積中起著關鍵作用。

然而，根據 XAS 結果(表五)，在酸性條件(pH 2.0)下觀察到了深藍紅藻體內 Cr(OH)₃ 物質的形成，這個機制可能是促使 Cm 和 Cc 對 Cr(VI)累積能力增加的原因。值得注意的是，由於 Cm 本身缺乏堅韌的細胞壁，中性條件容易導致 Cm 構型脆弱，這一現象與 TXM 影像[圖十一(b)]以及 FITR 結果中多醣體和二級結構與 Cm 上累積的 Cr 呈負相關[圖十七(c)與圖十九(c)]結果相呼應，這種細胞損傷與蛋白質變性相關，從而降低了 Cm 在中性條件(pH 7.0)下對 Cr(VI)的累積能力。對於中性條件下的 Cc，觀察到的最大 Cr 累積量僅為酸性條件下的 58%，其中高達 92.7%的 Cr 型態是吸附在細胞表面的 Cr(VI) (表六)。因此，體外累積可能是 Cc 在中性條件下主要採取的累積策略，推測體內 Cr(OH)₃ 累積機制的損失可能是導致 Cc 在中性條件下對 Cr(VI)累積能力大幅下降的原因。對於 Gp 來說，在中性條件(pH 7.0)下可展示出對 Cr(VI)的最高累積能力，觀察到 Gp 可以保持相對一致的 Cr(III)-polysaccharide 比例(59.5-68.3%) (表六)，這也再次驗證了深藍紅藻的多醣體在固定和還原 Cr(VI)方面的重要性。然而，在酸性條件下(pH 2.0)，除了觀察到 TXM 影像[圖十(a)]細胞型貌上的變化，亦觀察到 Gp 表面多醣體中的甘露糖的峰高度和 α -helix/ β -strand 比例與 Gp 上累積的 Cr 呈負相關[圖十六(a)與圖十八(a)]，這綜合地表明由於 Gp 表面的多醣體和體內的蛋白質二級結構的變性導致了細胞損壞，進而使 Gp 降低對 Cr(VI)的累積能力。

關於不同材料間對於 Cr(VI)累積能力的探討，與真菌、細菌和其他藻類等生物材料相比，深藍紅藻確實在對 Cr(VI)的能力方面具有顯著的優勢，由可觀察到在 pH 2.0-6.0 範圍內，真菌、細菌和其他藻類對 Cr(VI)的累積能力範圍為 1.7-67.3 mg/g [39-49]，遠低於深藍紅藻在 pH 值 2.0-7.0 範圍內的累積能力(73.0-168.1 mg/g)。此外，本研究證實深藍紅藻不僅能透過細胞表面吸附 Cr(VI)，還通過多醣和半胱胺酸上的硫醇基團將 Cr(VI)還原為較少害的 Cr(III)型態，此外深藍紅藻可確實地



將 Cr(III) 固定在體內(圖二十四)，此類機制是可以降低 Cr 因為氧化還原條件的震



盪而使 Cr 溶解的風險，進而奠定了深藍紅藻在地下水修復實際應用中的前景。

圖二十四、深藍紅藻累積 Cr(VI) 的概念化機制。

(2). 深藍紅藻與砷

本研究旨在確立三種深藍紅藻品種對於 As(III) 的累積能力和分子機制，實驗分別於酸性(pH 2.0)與中性(pH 7.0)與 As(III) 反應 6 小時，固液比固定在 0.5 g/L，測試 Cr(VI) 的濃度範圍為 0-500 mg/g。為此，本研究對完成累積 As 的深藍紅藻進行了採樣，並進行了基於同步加速器的分析。在 XAS 結果中(表七與表八)，我們觀察到一個共同特徵，即 As(III)-polysaccharide 複合物佔主要的 As 型態，且無論深藍紅藻在系統中對 As 累積量如何，As(III)-polysaccharide 複合物的形成在酸性和中性條件下皆保持相對較高的比例，這表明深藍紅藻表面的多醣體在 As(III) 的累積中起著關鍵作用。

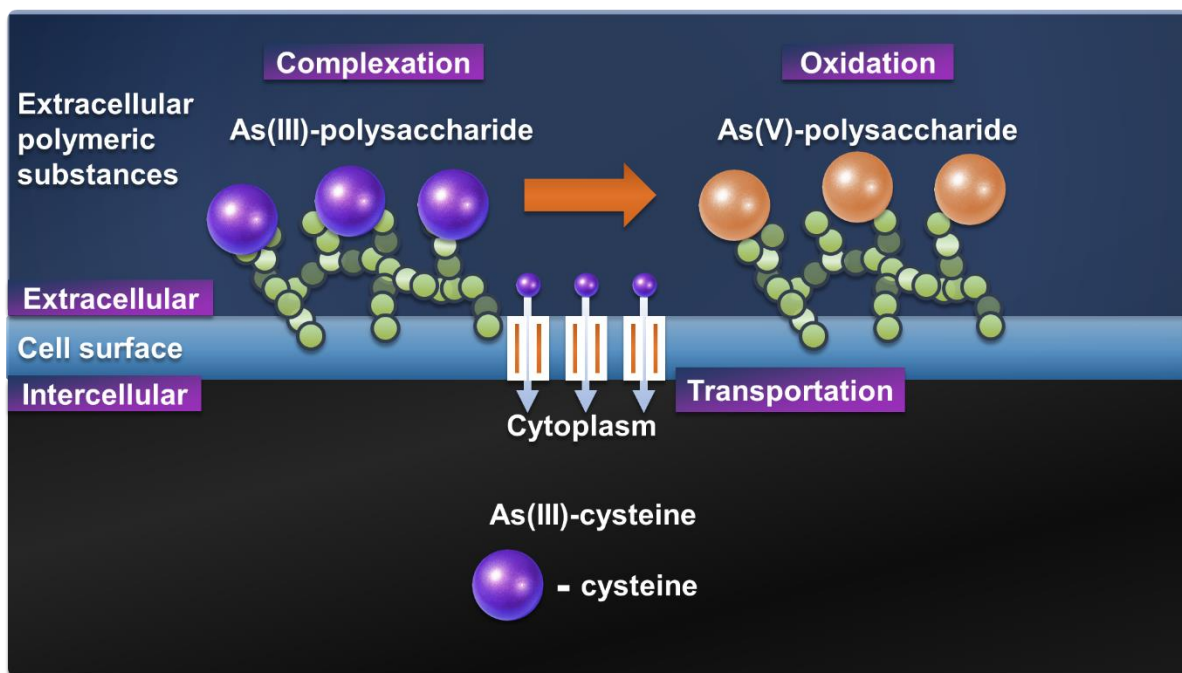
根據 XAS 結果(表七與表八)和 FITR 結果的一致性(圖二十與圖二十一與圖二十二與圖二十三)，觀察到在酸性和中性條件下深藍紅藻體內形成了 As(III)-cysteine，這個機制可能是促使 Cc 對 As(III) 累積能力較高的關鍵機制。對於 Cm 來說，無論在酸性還是中性條件下，主要的 As(III) 累積機制仍然是細胞表面多醣體，其中在酸性條件下，雖然觀察到 As(III)-cysteine 的增加，但增加的幅度不明



開發嗜熱酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原用及種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)

顯，而在中性條件下，儘管觀察到 As(III)-cysteine 的生成，但隨著 As(III) 累積能力增加而逐漸轉化為 As(III)-polysaccharide (75.0%)。對於 Gp 來說，其對 As(III) 的累積能力為最低，但根據 XAS 分析結果顯示，Gp 具有較高比例的 As(III)-polysaccharide (81.5-88.4%) 型態。因此，Gp 和 Cm 擁有相似的機制來累積 As(III)。

關於不同材料間對於 As(III) 累積能力的探討，與其他生物材料相比，深藍紅藻確實在對 As(III) 的能力方面具有顯著的優勢，由可觀察到在 pH 2.0-7.0 範圍內，其他生物材料對 As(III) 的累積能力範圍為 7.6-28.5 mg/g [50-53]，遠低於深藍紅藻



在 pH 值 2.0-7.0 範圍內的累積能力(40.1-56.7 mg/g)。此外，本研究證實深藍紅藻不僅多醣體將 As(III)與 As(V)固定，此外透過深藍紅藻將 As(III)傳輸至體內與其半胱氨酸產生鍵結(圖二十五)，此機制是可以降低 As 因為氧化還原條件的震盪而使再次溶出至環境的風險，以上的這些結果為我們深入瞭解深藍紅藻與 As(III)的相互作用以及其在環境修復等領域的應用提供了重要的資訊。

圖二十五、深藍紅藻累積 As(III)的概念化機制。



結論與建議

1. 結論

本研究為了確立深藍紅藻對於 Cr(VI)與 As(III)累積的複雜機制，本實驗分別於酸性(pH 2.0)和中性(pH 7.0)條件下對三種 Cyanidiales 物種進行了 Cr(VI)等溫吸附實驗，結果顯示均可由 Freundlich 模式進行擬合。在酸性時，觀察到對深藍紅藻對 Cr(VI)的最大累積量分別為 Cm (168.1 mg/g)、Cc (151.7 mg/g)與 Gp (103.9 mg/g)。然而，在中性時，最大累積量與在酸性時有著相反的趨勢，即 Gp (93.7 mg/g)、Cc (87.7 mg/g)與 Cm (73.0 mg/g)，此結果揭示深藍紅藻對於 Cr(VI)累積能力除了受到 pH 值影響，亦發現不同屬間的藻種累積 Cr(VI)策略有所不同。深藍紅藻主要累積 Cr(VI)的機制包含部分 Cr(VI)會被細胞表面的胞外聚合物(EPS)吸附住，同時部分的 Cr(VI)會被其中的多醣體給還原與固定，此外部分的 Cr(VI)將會進入細胞體內與其蛋白質產生反應，並將 Cr(VI)還原為 Cr(III)而形成氫氧化鉻沉澱，而且本研究還更進一步發現，深藍紅藻在酸性條件下面對需要累積較高 Cr(VI)污染濃度時，其能透過在體內形成氫氧化鉻以提高對 Cr(VI)的累積能力。

另於酸性(pH 2.0)和中性(pH 7.0)條件下對三種 Cyanidiales 物種進行了 As(III)等溫吸附實驗，結果顯示均可由 Freundlich 模式進行擬合，在酸性時，深藍紅藻累積 As(III)的能力為 Cc (56.0 mg/g) > Cm (43.3 mg/g) > Gp (40.1 mg/g)，在中性累積 As(III)的能力則是有相同的趨勢 Cc (56.7 mg/g) > Cm (50.2 mg/g) > Gp (40.5 mg/g)。深藍紅藻累積 As(III)的機制主要不僅透過多醣體將 As(III)與 As(V)固定，此外透過深藍紅藻將 As(III)傳輸至體內與其半胱胺酸產生鍵結，此機制是可以降低 As 因為氧化還原條件的震盪而使再次溶出至環境的風險，以上的這些結果為我們深入瞭解深藍紅藻與 As(III)的相互作用以及其在環境修復等領域的應用提供了重要的資訊。

未來將會更深入釐清不同情況下的自然水體對於深藍紅藻移除鉻與砷的影響與其機制，並針對貼近實際情況的系統進行更完善的優化試驗，以利持續推動深藍紅藻於實際場址的應用。



開發嗜熱酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原及種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)

2. 整治技術與成本初步評估與建議

根據行政院環保署全國環境水質監測資訊網的地下水監測資料，臺灣地下水中鉻和砷的污染濃度範圍分別為 0.5-1330.0 mg/L 和 1.1-4.4 mg/L (表十三) [58]，微藻對於低濃度與高濃度的污染皆具有可進行移除的能力，因此將微藻開發作為吸附劑以移除地下水鉻與砷污染將非常合適。此外，對於成本評估的部分，使用微藻和其他吸附材料或離子交換技術去除地下水中重金屬污染物的方法進行了比較 (表十四) [59]，表十五為彙整已發表實驗室結果的砷污染水體修復技術的成本與優缺[54-57]。結果顯示，微藻方法具有較低的成本和限制，並具有重金屬回收和資源化的附加價值，使用不僅微藻可以減少混凝沉澱所產生的污泥處理問題，同時具有較低價格和較高經濟效益。然而，使用活微藻有一些限制，例如提供適當的光照和營養供應以促進生長，好消息是，本研究採用的嗜熱嗜酸深藍紅藻 (Cyanidiales) 具有強大的環境適應能力，不僅可以在酸性和中性環境中生存，還可以在高溫、高鹽、乾旱、重金屬富集、100%二氧化碳厭氧或無光照的條件下生長，再加上深藍紅藻對金屬具有特殊的耐受性和氧化還原能力，使其成為移除地下水中鉻和砷污染的候選方法之一。然而，將深藍紅藻實際應用於地下水中砷和鉻的污染去除還需要進一步的界定和作更多的評估與試驗，未來將會更深入釐清不同情況下的自然水體對於深藍紅藻移除鉻與砷的影響，並針對貼近實際情況的系統進行更完善的優化試驗，以利持續推動深藍紅藻於實際場址的應用。



表十三、臺灣地下水污染場址中鉻或砷的濃度。[58]

場址名稱	地下水污染物	
	鉻	砷
	mg/L	mg/L
臺南市歸仁區沙崙段 0331-0004 地號	0.5	
宗發工業股份有限公司	0.8	
臺中市大里區仁城段 174 地號	1.0	
臺中市南屯區文山段 221 地號	1.3	
希世比能源科技股份有限公司	1.6	
南鋼工業股份有限公司	14.7	
史丹利七和國際股份有限公司	8.9	
億益企業有限公司	130.0	
煜林企業股份有限公司及永康區鹽南段 518 地號	371.0	
進安有限公司	1330.0	
興農股份有限公司王田廠		1.1
原台灣金屬鑛業股份有限公司及其所屬三條廢煙道地區(部分)		4.4

表十四、其他地下水污染整治技術與微藻技術之比較(引用與修改自臺灣大學環境工程學研究所于昌平教授於 108 年土基會專案結案報告的資料)。[59]

	離子交換	活性碳等吸附劑	微藻	深藍紅藻
限制	◆◆◆ ^a	◆	◆◆(活體)	◆(活體)
成本	◆◆◆	◆◆◆	◆	◆
附加價值	◆	◆	◆◆◆	◆◆◆

^a：◆越多，表示越高

表十五、已發表實驗室結果的砷污染水體修復技術的成本與優缺。

進水來源	技術類型	每立方米處理水的成本(美元)	優點	限制	參考文獻
美國	氧化	299	1. 高效 3. 操作簡單 4. 停留時間短 5. 較無有毒殘留物	1. 依賴外部化學品 2. 相關設備成本高	[55]
實驗室合成	電容去離子	N/A	1. 高效	1. 技術含量高的工藝流程 2. 需電力 3. 相關設備成本高 4. 污泥生成	[56]
印度	混凝、沉澱	0.37	1. 高效 2. 實用性高	1. 產生更多固體殘渣 2. 部分金屬浸出 3. 產生較多污泥 4. 處理污泥成本高	[57]
實驗室合成	生物吸附/修復(深藍紅藻)	0.10	1. 高效 2. 無金屬浸出 3. 適應廣泛 pH 變化範圍 4. 環境永續	1. 活體的系統需經優化與維護	This study



參考文獻

- [1] 洪湘閔, 多硫化鈣整治重金屬污染地下水之研究, 朝陽科技大學環境工程與管理系學位論文 (2019) 1-89.
- [2] 廖崇億, 廖倍滋, 陳琦玲, 降低地下水中砷含量之方法比較, 台灣農業研究 65 (2016) 420-429.
- [3] L. Jialong, Z. Zheqiu, C. Lijie, X. Zhifeng, Research progress of arsenic-containing wastewater treatment, *Nonferrous Met. Sci. and Eng.* 9 (2018) 86-91.
- [4] R. Oruko, R. Selvarajan, H. Ogola, J. Edokpayi, J. Odiyo, Contemporary and future direction of chromium tanning and management in sub Saharan Africa tanneries, *Process Saf. Environ. Prot.* 133 (2020) 369-386.
- [5] N. Singh, P.K. Ghosh, S. Chakraborty, S. Majumdar, Decoding the pathways of arsenic biotransformation in bacteria, *Environ. Sustainability* 4 (2021) 63-85.
- [6] J.L.T. Kingston, P.C. Johnson, B.H. Kueper, K.G. Mumford, In situ thermal treatment of chlorinated solvent source zones, *Chlorinated Solvent Source Zone Remediation*, Springer2014, pp. 509-557.
- [7] M.A. Hashim, S. Mukhopadhyay, J.N. Sahu, B. Sengupta, Remediation technologies for heavy metal contaminated groundwater, *J. Environ. Manage.* 92 (2011) 2355-2388.
- [8] V. Reeb, D. Bhattacharya, The thermo-acidophilic cyanidiophyceae (Cyanidiales), *Red Algae in the Genomic Age*, Springer2010, pp. 409-426.
- [9] M. Iovinella, A. Eren, G. Pinto, A. Pollio, S.J. Davis, P. Cennamo, C. Ciniglia, Cryptic dispersal of Cyanidiophytina (Rhodophyta) in non-acidic environments from Turkey, *Extremophiles* 22 (2018) 713-723.
- [10] C.J. Hsieh, S.H. Zhan, Y. Lin, S.L. Tang, S.L. Liu, Analysis of rbcL sequences reveals the global biodiversity, community structure, and biogeographical pattern of thermoacidophilic red algae (Cyanidiales), *J. Phycol.* 51 (2015) 682-694.
- [11] J. Seckbach, The natural history of *Cyanidium* (Geitler 1933): past and present perspectives, *Evolutionary Pathways and Enigmatic Algae: Cyanidium caldarium* (Rhodophyta) and Related Cells, Springer1994, pp. 99-112.
- [12] L. Barsanti, P. Gualtieri, *Algae: anatomy, biochemistry, and biotechnology*, CRC press2005.
- [13] J. Qin, C.R. Lehr, C. Yuan, X.C. Le, T.R. McDermott, B.P. Rosen, Biotransformation of arsenic by a Yellowstone thermoacidophilic eukaryotic alga, *P. Natl. Acad. Sci.* 106 (2009) 5213-5217.
- [14] A. Minoda, R. Sakagami, F. Yagisawa, T. Kuroiwa, K. Tanaka, Improvement of



開發嗜熱酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原用及種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)

- culture conditions and evidence for nuclear transformation by homologous recombination in a red alga, *Cyanidioschyzon merolae* 10D, *PCPhy* 45 (2004) 667-671.
- [15] A.W. Rossoni, D.C. Price, M. Seger, D. Lyska, P. Lammers, D. Bhattacharya, A.P. Weber, The genomes of polyextremophilic Cyanidiales contain 1% horizontally transferred genes with diverse adaptive functions, *eLife* 8 (2019) e45017.
- [16] S. Nagasaka, N.K. Nishizawa, T. Watanabe, S. Mori, E. Yoshimura, Evidence that electron-dense bodies in *Cyanidium caldarium* have an iron-storage role, *BioMetals* 16 (2003) 465-470.
- [17] S. Nagasaka, N.K. Nishizawa, T. Negishi, K. Satake, S. Mori, E. Yoshimura, Novel iron-storage particles may play a role in aluminum tolerance of *Cyanidium caldarium*, *Planta* 215 (2002) 399-404.
- [18] Y.L. Cho, Y.C. Lee, L.C. Hsu, C.C. Wang, P.C. Chen, S.L. Liu, H.Y. Teah, Y.T. Liu, Y.M. Tzou, Molecular mechanisms for Pb removal by Cyanidiales: a potential biomaterial applied in thermo-acidic conditions, *Chem. Eng. J.* 401 (2020) 125828.
- [19] G. Schönknecht, W.H. Chen, C.M. Ternes, G.G. Barbier, R.P. Shrestha, M. Stanke, A. Bräutigam, B.J. Baker, J.F. Banfield, R.M. Garavito, Gene transfer from bacteria and archaea facilitated evolution of an extremophilic eukaryote, *Science* 339 (2013) 1207-1210.
- [20] Y.G. Bermúdez, I.L.R. Rico, E. Guibal, M.C. de Hoces, M.Á. Martín-Lara, Biosorption of hexavalent chromium from aqueous solution by *Sargassum muticum* brown alga. Application of statistical design for process optimization, *Chem. Eng. J.* 183 (2012) 68-76.
- [21] M. Muttakin, S. Mitra, K. Thu, K. Ito, B.B. Saha, Theoretical framework to evaluate minimum desorption temperature for IUPAC classified adsorption isotherms, *Int. J. Heat Mass Transfer* 122 (2018) 795-805.
- [22] K.V. Kumar, S. Gadipelli, B. Wood, K.A. Ramisetty, A.A. Stewart, C.A. Howard, D.J. Brett, F. Rodriguez-Reinoso, Characterization of the adsorption site energies and heterogeneous surfaces of porous materials, *J. Mater. Chem. A* 7 (2019) 10104-10137.
- [23] A. Sarı, Ö.D. Uluoğlu, M. Tüzen, Equilibrium, thermodynamic and kinetic investigations on biosorption of arsenic from aqueous solution by algae (*Maugeotia genuflexa*) biomass, *Chem. Eng. J.* 167 (2011) 155-161.
- [24] D. Cozza, A. Torelli, A. Veltri, M. Ferrari, M. Marieschi, R. Cozza, Ultrastructural features, chromium content and in situ immunodetection of 5-methyl-cytosine following Cr(VI) treatment in two strains of *Scenedesmus acutus* M.(Chlorophyceae) with



- different chromium sensitivity, *Eur. J. Phycol.* 51 (2016) 294-306.
- [25] F. Chen, V. Vallyathan, V. Castranova, X. Shi, Cell apoptosis induced by carcinogenic metals, *Mol. Cell. Biochem.* 222 (2001) 183-188.
- [26] R. Xiao, Y. Zheng, Overview of microalgal extracellular polymeric substances (EPS) and their applications, *Biotechnol. Adv.* 34 (2016) 1225-1244.
- [27] Y.C. Lin, S.L. Wang, Chromium(VI) reactions of polysaccharide biopolymers, *Chem. Eng. J.* 181 (2012) 479-485.
- [28] M. Li, Z. He, Y. Hu, L. Hu, H. Zhong, Both cell envelope and cytoplasm were the locations for chromium(VI) reduction by *Bacillus* sp. M6, *Bioresource Technol.* 273 (2019) 130-135.
- [29] C. Cervantes, J. Campos-García, S. Devars, F. Gutiérrez-Corona, H. Loza-Tavera, J.C. Torres-Guzmán, R. Moreno-Sánchez, Interactions of chromium with microorganisms and plants, *FEMS Microbiol. Rev.* 25 (2001) 335-347.
- [30] G. Dong, Y. Wang, L. Gong, M. Wang, H. Wang, N. He, Y. Zheng, Q. Li, Formation of soluble Cr(III) end-products and nanoparticles during Cr(VI) reduction by *Bacillus cereus* strain XMCr-6, *Biochem. Eng. J.* 70 (2013) 166-172.
- [31] S. Wang, X. Shi, Molecular mechanisms of metal toxicity and carcinogenesis, *Mol. Cell. Biochem.* 222 (2001) 3-9.
- [32] C. Petibois, V. Rigalleau, A.-M. Melin, A. Perromat, G. Cazorla, H. Gin, G. Déléris, Determination of glucose in dried serum samples by Fourier-transform infrared spectroscopy, *Clin. Chem.* 45 (1999) 1530-1535.
- [33] J. Wang, M.M. Kliks, S. Jun, M. Jackson, Q.X. Li, Rapid analysis of glucose, fructose, sucrose, and maltose in honeys from different geographic regions using Fourier transform infrared spectroscopy and multivariate analysis, *J. Food Sci.* 75 (2010) C208-C214.
- [34] C. Petibois, G. Déléris, Chemical mapping of tumor progression by FT-IR imaging: towards molecular histopathology, *Trends Biotechnol.* 24 (2006) 455-462.
- [35] A.A. Bhopatkar, V.N. Uversky, V. Rangachari, Disorder and cysteines in proteins: A design for orchestration of conformational see-saw and modulatory functions, *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 174 (2020) 331-373.
- [36] S. Benoff, G. Cooper, G. Centola, A. Jacob, A. Hershlag, I. Hurley, Metal ions and human sperm mannose receptors, *Andrologia* 32 (2000) 317-329.
- [37] C. Li, Y. Liu, J. Tian, Y. Zhu, J. Fan, Changes in sucrose metabolism in maize varieties with different cadmium sensitivities under cadmium stress, *PLoS One* 15 (2020)



開發嗜熱酸深藍紅藻作為永續的被動生物修復資材：以氧化還原用及種轉變方式去除 Cr(VI)與 As(III)

e0243835.

[38] K. Kluska, J. Adamczyk, A. Krężel, Metal binding properties, stability and reactivity of zinc fingers, *Coord. Chem. Rev.* 367 (2018) 18-64.

[39] L. Yang, J.P. Chen, Biosorption of hexavalent chromium onto raw and chemically modified *Sargassum* sp, *Bioresource Technol.* 99 (2008) 297-307.

[40] V. Murphy, H. Hughes, P. McLoughlin, Comparative study of chromium biosorption by red, green and brown seaweed biomass, *Chemosphere* 70 (2008) 1128-1134.

[41] M.Y. Arıca, İ. Tüzün, E. Yalçın, Ö. İnce, G. Bayramoğlu, Utilisation of native, heat and acid-treated microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* preparations for biosorption of Cr(VI) ions, *Process Biochem.* 40 (2005) 2351-2358.

[42] S.K. Singh, A. Bansal, M. Jha, A. Dey, An integrated approach to remove Cr(VI) using immobilized *Chlorella minutissima* grown in nutrient rich sewage wastewater, *Bioresource Technol.* 104 (2012) 257-265.

[43] G. Sibi, Biosorption of chromium from electroplating and galvanizing industrial effluents under extreme conditions using *Chlorella vulgaris*, *Green Energy Env.* 1 (2016) 172-177.

[44] K. Kayalvizhi, K. Vijayaraghavan, M. Velan, Biosorption of Cr(VI) using a novel microalga *Rhizoclonium hookeri*: equilibrium, kinetics and thermodynamic studies, *Desalin. Water Treat.* 56 (2015) 194-203.

[45] M.A. Espinoza-Sanchez, K. Arevalo-Nino, I. Quintero-Zapata, I. Castro-Gonzalez, V. Almaguer-Cantu, Cr(VI) adsorption from aqueous solution by fungal bioremediation based using *Rhizopus* sp, *J. Environ. Manage.* 251 (2019) 109595.

[46] B. Dhal, B.D. Pandey, Mechanism elucidation and adsorbent characterization for removal of Cr(VI) by native fungal adsorbent, *Sustainable Environ. Res.* 28 (2018) 289-297.

[47] P. Sannasi, J. Kader, B. Ismail, S. Salmijah, Sorption of Cr(VI), Cu(II) and Pb(II) by growing and non-growing cells of a bacterial consortium, *Bioresour. Technol.* 97 (2006) 740-747.

[48] J. Samuel, M. Pulimi, M.L. Paul, A. Maurya, N. Chandrasekaran, A. Mukherjee, Batch and continuous flow studies of adsorptive removal of Cr(VI) by adapted bacterial consortia immobilized in alginate beads, *Bioresour. Technol.* 128 (2013) 423-430.

[49] M. Rawat, A. Rawat, K. Giri, J. Rai, Cr(VI) sorption by free and immobilised chromate-reducing bacterial cells in PVA–alginate matrix: equilibrium isotherms and



- kinetic studies, *Environ. Sci. Pollut. R.* 20 (2013) 5198-5211.
- [50] A. Gupta, V.S. Chauhan, N. Sankararamakrishnan, Preparation and evaluation of iron-chitosan composites for removal of As(III) and As(V) from arsenic contaminated real life groundwater, *Water Res.* 43 (2009) 3862-3870.
- [51] S.M. Maliyekkal, L. Philip, T. Pradeep, As(III) removal from drinking water using manganese oxide-coated-alumina: performance evaluation and mechanistic details of surface binding, *Chem. Eng. J.* 153 (2009) 101-107.
- [52] A. Maiti, J.K. Basu, S. De, Experimental and kinetic modeling of As(V) and As(III) adsorption on treated laterite using synthetic and contaminated groundwater: Effects of phosphate, silicate and carbonate ions, *Chem. Eng. J.* 191 (2012) 1-12.
- [53] M.F. Hamza, S. Lu, K.A. Salih, H. Mira, A.S. Dhmees, T. Fujita, Y. Wei, T. Vincent, E. Guibal, As(V) sorption from aqueous solutions using quaternized algal/polyethyleneimine composite beads, *Sci. Total Environ.* 719 (2020) 137396.
- [54] Y. Shan, P. Mehta, D. Perera, Y. Varela, Cost and efficiency of arsenic removal from groundwater: A Review, United Nations University-Institute for Water, Environment and Health Hamilton 2019.
- [55] R. Barnaby, A. Liefeld, B.P. Jackson, T.H. Hampton, B.A. Stanton, Effectiveness of table top water pitcher filters to remove arsenic from drinking water, *Environ. Res.* 158 (2017) 610-615.
- [56] J.-Y. Lee, N. Chaimongkalayon, J. Lim, H.Y. Ha, S.-H. Moon, Arsenic removal from groundwater using low-cost carbon composite electrodes for capacitive deionization, *Water Sci. Technol.* 73 (2016) 3064-3071.
- [57] L.S. Thakur, P. Mondal, Simultaneous arsenic and fluoride removal from synthetic and real groundwater by electrocoagulation process: parametric and cost evaluation, *J. Environ. Manage.* 190 (2017) 102-112.
- [58] 列管場址查詢, 土壤與地下水污染整治網, 行政院環境保護署.
- [59] 于昌平, 開發微藻膜生物反應槽進行重金屬污染地下水治理研究期末報告 (定稿), 行政院環境保護署 108 年度土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案 (2019) 1-108.