

第五章 結論與建議

本實驗結合最新之混合實驗設計法，藉由實驗設計之進行最少的實驗可得最大效益的優點，利用混合實驗設計法針對三種重金屬對 SRB 進行硫酸鹽還原效率影響進行探討，並以分子生物技術之螢光原為雜交法及變性梯度膠體電泳法輔助傳統分析法之不足，可更進一步佐證傳統分析所得的結果，對於環工領域進行各項重金屬生物復育有很大的幫助，也期待在本實驗中利用分子生物技術分析上所遇到的某些問題在未來可得到更進一步的解決方法。本章節根據以上之實驗結果可歸納出幾點結論及建議。



5-1 結論

1. 在混合設計實驗中，當重金屬混合比例以鋅濃度最高時，該組反應對碳源利用率則較高，其中最大之碳源率用率出現在第 11 組反應槽中，該利用率為 35.%。
2. 由混合設計實驗結果顯示，當水溶液中鋅濃度高達 180 mg/L 時，則有助於增加 SRB 對乳酸的利用率，並相對的提升 SRB 進行硫酸鹽還原作用，但是當水溶液中若存在其他兩種重金屬 (銅、鎳) 時，則會降低硫酸鹽還原作用的進行
3. 經由質量平衡計算得知，混合設計實驗中控制組分析所得之硫離子

- 濃度 (290 mg/L) 與理論之硫離子濃度 (283 mg/L) 相接近，由此可證明在完全密閉的反應槽中反應 14 天後，溶液中被消耗掉的硫酸鹽可完全轉換成硫離子，而並非以其他形式之硫的中間產物存在。
4. 由混合設計實驗所得之等高線圖可看出，在三種重金屬交互作用下，最小硫酸鹽還原率並非出現在三角形頂點 (1, 0, 0) 的位置，而是出現在約 (0.7, 0.25, 0.07) 的位置，此結果表示此三種重金屬對 SRB 之毒性順序以銅 > 鎳 > 鋅。
 5. 由混合設計實驗所得之等高線圖發現當銅離子濃度低於 45 mg/L 時，仍有硫酸鹽還原作用產生，但當銅離子濃度高於 60 mg/L 時，SRB 對乳酸鹽之利用能力完全受抑制。
 6. 由確認試驗實驗結果可知，當鋅離子濃度高達 180 mg/L 時雖會對 SRB 初期之生長產生抑制，但當反應時間長達 6 天以上則可獲得與控制組相同之硫酸鹽還原結果。
 7. 確認試驗實驗結果顯示，在反應第 0 小時，水溶液中即有將近 100% 重金屬鋅的去除率，在初始階段重金屬除了少部分是被污泥中殘留的硫離子所去除之外，推測其主要去除機制是由微生物表面吸附作用所造成；然而隨著時間的增加，後續產生的硫離子再與吸附在微生物表面的重金屬結合達沈澱去除效果成為了主要重金屬之去除機制，其結果亦可由 FISH 分析結果得到證實。

8. 鋅離子與 SRB 污泥進行混何時，推測鋅離子會與微生物表面某些有機物質（如：胞外聚合物等）產生吸附或結合，使其在進行螢光原位雜交法之探針雜交後，對螢光顯微照相結果造成干擾而無法計數。
9. 由確認實驗之 FISH 結果可知，反應槽之 bacteria 約佔總微生物之百分比為 80%，而硫酸還原菌佔的百分比約介於 55-60%。
10. 由確認試驗控制組織 DAPI 計數結果可知，本實驗反應槽中整體之微生物個數約為 10^9 cells/mL。
11. 由確認試驗實驗組之 DGGE 結果發現，在反應第 20 小時開始出現另一族群微生物相，而在反應第 92 小時則有某一微生物族群數量急遽減少，此結果顯示重金屬鋅的添加會引起 SRB 菌相的改變，使在重金屬存在的環境下亦能生長之 SRB 菌種成為優勢菌種。

5-2 建議

1. 由於不同重金屬對微生物有不同的毒性抑制效果，若所選用的重金屬最高濃度一律相同，會縮小毒性相對較低的重金屬之毒性效果，故可建議翻閱文獻找出不同重金屬的毒性後再決定混合實驗設計中，各重金屬最高濃度的選擇。
2. 重金屬經由生物沈澱作用形成不溶性金屬硫化物沈澱，依然可能會吸附在微生物表面，若此一技術欲應用在實廠操作上，尚須發展出另一可使污泥與沈澱物有效分析的技術。
3. 本實驗中由於反應槽的植種污泥量過高，造成初始重金屬去除效應以微生物表面吸附為主，恐會影響討論沈澱作用之客觀性，故建議類似之研究可降低植種污泥量以減少吸附作用對沈澱作用之影響。
4. 以重金屬鋅與 SRB 污泥混合後的溶液，進行 FISH 分析結果發現其會嚴重干擾探針雜交後的螢光顯微照相結果，故需找出其他取代之分析方式，或以其他清洗方式設法重金屬附著造成螢光顯微的干擾。
5. 為瞭解反應槽中進行硫酸鹽還原作用的主要優勢菌種，建議可對 DGGE 結果做進一步定序分析以確定反應槽之優勢菌為何。