

烏山頂泥火山泥漿中之砷於鐵氧化物之釋放研究

劉家全¹、簡錦樹¹、何漣漪²

¹ 國立成功大學地球科學系

² 國立成功大學微生物暨免疫學所

一、中文摘要

本研究即要了解台灣南部泥火山因為當地特殊之地質環境所孕育出之微生物及當地之腐質酸對於鐵氧化物及砷離子之吸附及還原釋放作用。研究首先將萃取泥漿中的腐質酸，並利用已知的腐質酸做比較，確定本區域之腐質酸特性，並利用砷還原培養基培養泥火山樣本中的微生物，以格蘭氏染色細菌得到此區之微生物包括了距離噴發口分別為 2m(WST2、3)及 6m(WST6、7)的格蘭氏陽性桿菌，而噴發口(WST1)及距離噴發口 4m(WST4、5)的菌種則為格蘭氏陰性桿菌。本研究亦以 SEM 之 EDAX 分析發現微生物體主要以碳及氧元素組成，另外菌體上附著之結晶主要以氫及鈉離子為主，說明了菌體是生存在含有氯化鈉的海相沈積環境。

本研究將 2.4ppm 五價砷離子之溶液分別加入 0.1、0.5、1.0ppm 的三氧化二鐵粉末作為五價砷離子之吸附劑，作用 48 小時後發現溶液中之砷離子降到最低值為 1.99ppm，顯示礦物中的三氧化二鐵會吸附五價砷離子於礦物表面上，如此可證明環境中砷離子的吸附脫附行為受到礦物中三氧化二鐵的影響。本研究利用砷酸還原培養基培養嗜鹽菌種其包括 Genus *Halomonas*, Genus *Nesterenkonia* 等菌種，證明本研究地點為海相沈積環境。

關鍵詞：泥火山、腐質酸、鐵氧化物、吸附、砷、砷酸還原培養基

二、前言

本研究經由文獻搜尋發現台灣西南部地區泥火山之分布數量十分多，是一個值得研究的題材，而在台灣西南部，部分泥火山地區之地下水曾發現砷及腐質酸含量偏高與環境流行病的發生似乎有相關性(Wu,1978)，而包括中國(Huang,1985)、日本(Tsuda et al., 1989)、墨西哥(Cebria et al.,1983)、美國(Goldsmith et al.,1972;Harrington et al.,1978;Morton et al.,1976;Southwick et al.,1983)、澳洲(Bergoglio,1964; Biagini et al.,1974)、智利(Zaldivar,1974, 1977)、孟加拉(Rahman et al.,1998; Bhattacharyya et al.,2003)等地研究顯示地下水中砷及腐質酸的含量偏高而造成當地的流行病發生。Willian et al.(2002)探討了黃石公園中富含硫的地熱溫泉中，微生物造成砷富集於鐵氧化物層中。Gaillaume et al.(2002)說明了酸性含礦的污水及一些溫泉中所含的嗜酸性細菌，會將溶解的二價鐵氧化而造成三價鐵的氫氧化物沉澱，另外也催化了三價砷成為五價砷的氧化作用。Kashefi et al.(2002)以三價鐵為電子接受者，培養並探討黃石公園中，在前人文獻中無法經由培養的超高溫鐵還原菌的物化特性，發現到菌體會將三價鐵還原成兩價鐵。Kashefi and Lovley(2000)探討超高溫菌 *Pyrobaculum islandicum* 在 100°C 下，造成三價鐵、四價錳及其他有毒金屬的還原情況。Hyung et al.(2004)探討甲烷氧化菌使銅獲得複合物，其構造的解析暗示了有機銅的化學，生物學上的厭氧甲烷氧化作用及全球碳循環。Huerta-Diaze and Morse(1992)利用離子探針發現砷於硫酸還原循環下，進入黃鐵礦中。

廖(2002)研究將鐵材料放入含有腐質酸之水溶液中，模擬地下水中腐質酸對於不同鐵元素之腐蝕情形，測定其氧化還原電位之變化代表腐蝕情況，結果顯示氧化還原電位(ORP)之變化情況初始變化較大以 H₂O₂ 狀況下的 ORP 為最高其值為 221mV，以腐質酸之值最低其值為 104mV，最終 ORP 皆趨近 100mV。

故本研究調查台灣西南部泥火山及溫泉的泥漿及水質中砷及腐質酸的含量，並探討微生物的作用是否造成砷的脫附，另外也探討微生物對於腐質酸的存在是否造成鐵的還原作用。

三、研究方法

本研究之研究地點位於高雄縣燕巢鄉烏山頂泥火山，於不同季節(2004年10月，2005年3月及6月)共採集了三次的泥漿樣本。其採樣方式以泥火山噴發口向外採取所需樣本並量測泥漿噴出口之溫度及採樣點距離(如圖1)，並帶回研究室進行泥漿之菌種培養、分離及鑑定，並萃取泥漿中之腐質酸及砷，並探討五價砷隨時間於三氧化二鐵之吸附情形，以及培養之菌種對於五價砷之還原能力。

菌種培養、分離及鑑定

本研究將泥火山樣本以砷酸還原培養基(Oremland et al. 2000; Switzer et al., 1998; Van Niel, et al. 2003)(表一)，於30°C耗氧環境下進行菌種培養。菌液於固態培養基劃碟一次，經培養數日後，挑出單一菌落，再經三次劃碟法取單一菌落的步驟，即達到菌種純化。菌種鑑定工作的流程分為光學及環境電子顯微鏡觀察及菌種之DNA萃取及PCR(聚合酶連鎖反應)之16S rDNA基因放大。茲分別描述如下：

1. 光學及環境電子顯微鏡觀察：

將泥漿樣本利用0.8%氯化鈉溶液脫附出微生物後，以500rpm離心30秒去除大部分雜質後，利用DAPI的螢光染色法將微生物染色並於螢光顯微鏡下觀察，量測原始樣本中微生物之數量，而後利用砷酸還原培養基培養泥漿樣本中的微生物，利用劃碟純化單一菌落，以格蘭氏染色辨識微生物的型態及屬於陰性(粉紅色)或陽性(紫色)菌。

2. 菌種之DNA萃取及PCR(聚合酶連鎖反應)之16S rDNA基因放大：

將純化之單一菌種以液態培養基大量培養後，以DNA萃取試劑(Viogene, Taipei, Taiwan)及PCR(聚合酶連鎖反應)，複製細菌之16S rDNA基因片段，以用於基因定序。本研究使用PCR的藥品配置為每管總體積為50 μ l下的混合PCR反應溶液中分別加入2 μ l(10.6 μ M)的forward primer、2 μ l(11.2 μ M)的reverse primer、0.5 μ l(5U/ μ l)的Taq(Promega)、5 μ l(10X)的PCR Buffer(Promega)(with 15mM MgCl)、1.25 μ l(10mM)的dNTP(Promega)、10 μ l的DNA Template、29.25 μ l(11.2 μ M)的ddH₂O，而PCR Cycle中起始溫度為94°C執行5分鐘，之後將雙股DNA分開形成單股的變性(denaturation)溫度為94°C執行1分鐘，黏合(annealing)溫度為55°C執行1分鐘30秒，延長(extention)溫度為72°C執行2分鐘，重複以上變性、黏合、延長作用共30個循環，最後以72°C執行10分鐘穩定PCR產物，才以膠電泳確定PCR產物。此組Primers的序列(Mission Biotech Co. Ltd., San Francisco, CA)如下：16S 27F(forward): 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'；16S 1492R(reverse): 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'。最後將PCR產物以DNA基因定序儀定序，得到forward及reverse共兩端之結果，並以BioEdit軟體，利用兩股序列包含重複片段之特性，判斷連接成一段完整序列，最後至NCBI網站比對此段序列以鑑定菌種。

萃取泥漿中之腐質酸及砷

本研究參考國際腐植質學會(International Humic Substances Society; IHSS)建議之方法(Aiken, 1985)萃取並純化土壤之腐植酸。將腐質酸冷凍乾燥後以FT-IR(傅利葉轉換紅外線光譜儀)分析其光譜，並以同樣方法萃取純化腐質酸標準品(Aldrich 廠牌)，之後將兩者之圖譜比較分析，確定土壤中是否含有腐質酸。而土壤中砷的萃取則參考Ariza et al.(1998)以0.1 M hydroxylammonium hydrochloride aqueous solution 萃取並加熱至95度，於每30分鐘搖晃一次共8小時，離心後，以HPLC管柱(Macherey-Nagel, Ec 250/4.6 nucleosil 100-10 SB, Cat No.72002946)於0~3分鐘分離出三價砷及6~9分鐘分離出五價砷，接著利用原子吸收光譜儀(AA)偵測三價及五價砷之離子濃度。

五價砷於三氧化二鐵之吸附

本研究配置2.4mg/L濃度之五價砷溶液，並加入不同濃度之三氧化二鐵(0.1、0.5、1g/L)，利用IC管柱(Dionex Ionpac AS12A 4*200mm, Serial No. 016176)連接離子層析儀偵測不同時間下五價砷溶液中砷離子之濃度，以探討相同濃度五價砷離子於不同濃度之三氧化二鐵中隨時間之吸附的

曲線變化。

培養菌種對於五價砷還原能力之探討

本研究利用硫酸還原培養之菌株加入不同濃度之砷離子，以探討本研究所鑑定之菌株是否有將五價砷還原成三價砷之能力。

本研究採用之方法是以 HPLC 管柱(Macherey-Nagel, Ec 250/4.6 nucleosil 100-10 SB, Cat No.72002946)分離五價及三價砷離子並搭配 AA 儀器偵測分離出來的砷離子濃度。步驟如下:首先配置 25 mM NaH_2PO_4 及 Na_2HPO_4 流洗液並將流速調整成 1.25mL/min，由於此管柱對三價及五價砷之滯留時間不同，故於 0~3 分鐘流洗時間收集管柱之流出液以便偵測三價砷離子，並於 6~9 分鐘流洗時間收集管柱之流出液以便偵測五價砷離子偵測其吸收值，以探討微生物隨時間對於砷之氧化還原作用。

四、結果

菌種培養、分離及鑑定

本研究將採集之泥漿樣本，利用砷酸還原培養基培養光學顯微鏡觀察，顯示以格蘭氏染色法得到此區之微生物包括了距離噴發口分別為 2m(WST2、3)及 6m(WST6、7)的格蘭氏陽性桿菌，而噴發口(WST1)及距離噴發口 4m(WST4、5)的菌種則為格蘭氏陰性桿菌。本研究並利用成功大學環境電子顯微鏡觀察微生物的型態(如圖 2)，顯示烏山頂 WST1、3、4 樣本之微生物呈現桿狀，而烏山頂 WST2、5、6 樣本之微生物呈現葉片狀，而烏山頂 WST7 樣本呈現球桿狀。本研究利用 EDAS 分析各樣本之元素含量(如表 2)，發現細菌的組成大多由碳(50%)及氧(15%以上)所組成，但是烏山頂 2、5 樣本較其他樣本不同其所含之碳及氧百分比比較少(碳佔 19%以下，氧佔 6.69%以下)，而鈉及氯離子含量較高(鈉佔 15%以上，氯佔 20.2%以上)，推測菌體周圍可能帶有氯化鈉的結晶物，使得 EDAS 之數據含有高百分比的氯及鈉元素。

本研究將烏山頂樣本以砷酸還原培養基培養後，經過三次劃碟純化菌種，並抽取 DNA 及操作 PCR，將 PCR 產物送至明欣生物科技公司定序，得到了以下之親緣關係樹(如圖 3)，發現烏山頂樣本序列中 WST1、4(噴發口及距離噴發口 4m)樣本與 Genus *Nesterenkonia*(涅斯捷連科氏菌屬)親緣關係相似，而 WST2、3(距離噴發口 2m)、6、7(距離噴發口 6m)樣本與 Genus *Halomonas*(鹽單胞菌)菌屬較接近。其中 Genus *Nesterenkonia* 屬於格蘭氏陽性菌隸屬於微球菌科(*Micrococcaceae*)，與格蘭氏染色結果呈現陽性相符。而 *Halomonas* 屬為格蘭氏陰性螺旋菌屬於海洋螺菌目之鹽單胞菌，與格蘭氏染色結果呈現陰性相符。

萃取泥漿中之腐質酸、砷及鐵

本研究利用腐質酸溶於鹼而不溶於酸的特性(Aiken, 1985)，純化泥漿樣本中的腐質酸，以 FT-IR 分析的結果顯示波長 2000cm^{-1} 以上之指紋區訊號，腐質酸標準品與烏山頂泥漿樣本於波長 3399.34 及 2926.43cm^{-1} ，皆有訊號，顯示泥漿樣本中含有腐質酸。

而泥漿中的總砷以 ICP-MS 偵測，含量約在 0.4~7.4ppm(如圖 4)，但是本研究利用 HPLC 管柱分離五價及三價砷，再經由 AA 分析砷離子濃度，結果顯示無法偵測到砷離子，經過探討實驗方法，可能由於砷離子經流洗後造成稀釋，故無法以 AA 儀器測其濃度，而鐵離子之偵測皆大於偵測極限，顯示此地泥漿富含鐵離子。

五價砷於三氧化二鐵之吸附

本研究配置 2.4mg/L 的五價砷離子並分別加入 0.1、0.5、1g/L 的三氧化二鐵，實驗結果顯示剛開始五價砷濃度隨者加入之三氧化鐵越多，溶液中砷離子濃度降的越快，在四小時後當溶液中含有 0.1g/L 的三氧化二鐵時，砷離子濃度降至 2.39mg/L，而溶液中含有 0.5g/L 的三氧化二鐵時，砷離子濃度降至 1.87mg/L，可見三氧化鐵對於砷離子具有吸附效應。而溶液中的五價砷離子於 48 小時後降到最低，到 72 小時後三氧化二鐵上的五價砷離子又再次釋放於溶液中，推測由於三氧化二鐵與

砷反應之系統中，就三氧化二鐵與As(V)兩者皆為高氧化態之固液相物質，無電子釋放，故無氧化還原之作用(賴,2000)，推測兩者之吸附作用只以凡德瓦爾力之鍵結吸附，實驗時間延長後，造成原本吸附於三氧化二鐵之五價砷離子再次脫附於水溶液中。

培養菌種於五價砷之還原

實驗結果顯示五價砷與三價砷之吸收值呈正相關(如圖 5)，但是並不符合溶液中總砷濃度固定之條件，可能原因是 AA 儀器之能量值不穩定，故造成五價砷與三價砷吸收值隨時間一併增加或減少，此結果不如預期，與本研究將砷離子之分離及偵測分開有關，此舉將造成誤差值增加，故本研究將尋求 ICP-MS 線上同時分離及偵測不同價數砷離子之濃度。

五、討論

利用光學及環境電子顯微鏡觀察細菌後，得到此區之微生物包括了格蘭氏陰性(WST 1、4、5)及陽性(WST2、3、6、7)桿菌，而電子顯微鏡的結果也得到了相同的結果，在 EDAS 分析中微生物體主要以碳及氧元素組成，另外菌體上附著之結晶主要以氫及鈉離子為主，說明了菌體是生存在含有氯化鈉的海相環境。定序的結果也顯示了嗜鹽菌(Genus *Halomonas*)的存在，而 Genus *Nesterenkonia* 菌種在中國的鹽湖(Kong et al. 2002.)及美國黃石公園的溫泉泥火山地區 (Meyer-Dombard et al., 2005)皆被發現，可見此類細菌生存於鹽度較高的環境中。

泥漿中的腐質酸含量將影響砷離子氧化還原及吸附脫附之行爲。本研究利用腐質酸溶於鹼而不溶於酸的特性(Aiken, 1985)於泥漿中萃取腐質酸並與標準品做對照，顯示兩者之波長符合，表示腐質酸存在於泥漿土壤中，另外針對砷離子含量，參考 Alloway,1990 對不同母岩之元素分析結果顯示，砷離子於黏土及頁岩中含量較高，故本研究推測泥漿中之總砷可能為原始古亭坑泥岩所沈積或來自央山脈板岩風化後之黏土礦物中。

由實驗結果顯示三氧化二鐵對於砷離子具有吸附效應。而溶液中的五價砷離子於48小時後降到最低，到72小時後三氧化二鐵上的五價砷離子又再次釋放於溶液中，推測由於三氧化二鐵與砷反應之系統中，就三氧化二鐵與As(V)兩者皆為高氧化態之固液相物質，無電子釋放以至產生氧化還原作用(賴,2000)，兩者之吸附作用只以凡德瓦爾力之鍵結吸附，實驗時間延長後，造成原本吸附於三氧化二鐵之五價砷離子再次脫附於水溶液中。

本研究偵測鐵離子數值皆大於 ICP-MS 偵測極限，而且實驗證明五價砷離子於三氧化二鐵環境中具有吸附效應，故可證明環境中砷離子的吸附脫附行為受到礦物中三氧化二鐵的影響。

本研究實驗結果顯示五價砷與三價砷之吸收值呈正相關，但是並不符合溶液中總砷濃度固定之條件，可能原因是 AA 儀器之能量值不穩定，故造成五價砷與三價砷吸收值隨時間一併增加或減少，此結果不如預期，與本研究將砷離子之分離及偵測分開有關，此舉將造成誤差值增加，本研究將尋求 ICP-MS 同時分離及偵測不同價數砷離子。

六、結論

本研究利用砷酸還原培養基培養出嗜鹽之菌種包括 Genus *Halomonas*、Genus *Nesterenkonia* 菌種，證明本研究地點為海相具有鹽度之環境。

本區域泥漿中鐵離子的濃度高於 ICP-MS 的偵測值(>287 mg/L)，而泥漿中的總砷含量約在 0.4~7.4mg/Kg，證明此環境含有氧化鐵及砷酸鹽礦物。兩者之交互作用經由砷離子的吸附實驗顯示水中砷離子的濃度會受到三氧化二鐵而改變，但是只維持了 48 小時，推測三氧化二鐵與 As(V) 兩者皆為高氧化態之固液相物質，故兩者之吸附作用只以凡德瓦爾力之鍵結吸附，實驗時間延長後，造成原本吸附於三氧化二鐵之五價砷離子再次脫附於水溶液中。說明此了地區地下水中砷離子的傳輸與三氧化二鐵有直接的關係，本研究證明了砷離子會吸附於氧化鐵礦物上，對於未來研究砷離子於地下水中之傳輸將有莫大的助益。

經由 FT-IR 分析此地區的土壤中含有腐質酸，將有助於未來研究腐質酸官能基對於砷離子之氧化還原反應。

九、References

- Alloway, B.J. .1990. Heavy metals in soils. John Wiley and Sons, Inc. New York, ISBN 0470215984
- Ariza, J. L. G., D. S. Rodas and I. Gira' ldez.1998. Selective extraction of iron oxide associated arsenic species from sediments for speciation with coupled HPLC-HG-AAS. *J. Anal. At. Spectrom.* **13**:1375 – 1379.
- Aiken, G. R., D.M. McKnight, R. L. Wershaw and P. MacCarthy. 1985 Humic Substances in Soil, Sediment, and Water, John Wiley and Sons, New York, pp.1-9
- Bergoglio, R. M. 1964. Mortality from cancer in regions of arsenical waters of the province of Cordoba, Argentine Republic. *Prensa. Med. Argent.* **51**: 994-998.
- Bhattacharyya, R., D. Chatterjee, B. Nath, J. Jana, G. Jacks, and M. Vahter, 2003. High arsenic groundwater: mobilization, metabolism and mitigation—an overview in the Bengal Delta Plain. *Mol. Cell. Biochem.* **253**: 347-355.
- Biagini, R. E., G. C. Quiroga, and V. Elias. 1974. Chronic hydroarsenism in Urutau. *Arch. Argent. Dermatol.* **24**: 8-11.
- Cebrian, M. E., A. Albores, M. Anguilar, and E. Blackely. 1983. Chronic arsenic poisoning in the north of Mexico. *Human Toxicol.* **2**: 121- 133.
- Gaillaume M., F. Juillot, S. Lebrun, C. Casiot, F. E. Poulichet, O. Bruneel, J. C. Personne, M. Leblanc, P. Ildefonse, and G. Calas. 2002. Bacterial formation of As(V) and As(III) ferric oxyhydroxides in acid mine drainage. Cite abstracts as: *Eos. Trans. AGU* **83(47)**, Fall Meet. Suppl.
- Goldsmith, J. R., M. Deane, J. Thom, and G. Gentry. 1972. Evaluation of health implications of elevated arsenic in drinking water. *Water Res.* **6**:1133-1136.
- Harrington, J. M., J. P. Middaugh, D.-L. Morse, and J. Housworth. 1978. A survey of a population exposed to high concentrations of arsenic in well water in Fairbanks. *Alaska, Am. J. Epidemiol.* **108**: 377-385.
- Huang, Y. Z. 1985. Endemic chronic arsenicism in Xinjiang. *Chin. Med. J.* **98**:219-222.
- Huerta-Diaz, M.D., and J.W. Morse. 1992. Pyritization of trace metals in anoxic marine sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta.* **(56)**: 2681-2702.
- Hyung J. K., d. w. graham, A. A. Dispirito, M. A. Alterman, N. Galeva, C. K. Larive, D. Asunskis, and P. M. Sherwood. 2004. Methanobactin, a copper-acquisition compound from methane-oxidizing bacteria. *Science* **305(10)**: 1612-1615
- Kashefi K., D. E. Holmes, A L. Reysenbach, and D. R. Lovley. 2002. Use of Fe(III) as an electron acceptor to recover previously uncultured hyperthermophiles: isolation and characterization of geothermobacterium ferrireducens gen. Nov., sp. Nov. *Appl. Environ. Microbiol* **68(4)**: 1735-1742.
- Kashefi. K. and D. R. Lovley. 2000. Reduction of Fe(III), Mn(V), and toxic metals at 100°C by *Pyrobaculum islandicum*. *Appl. Environ. Microbiol* **66(3)**: 1050-1056.
- Kong F., M. Zheng, O. Jia, J. Liu. 2002. Retrospect and Prospect of Study on Saline Lake Biology in China MINERAL DEPOSITS **21**:
- Meyer-Dombard, D. R., E. L. Shock and J. P. Amend. 2005. Archaeal and bacterial communities of geochemically diverse hot springs of Yellowstone National Park, USA. *Geobiology* **3**:211 – 227
- Morton, W., G. Starr, D. Pohl, J. Stoner, S. Wagner, and P. Weswig. 1976. Skin cancer and water arsenic in lane County. *Oregon. Cancer.* **37**: 2523-2532.
- Oremland R.S., P.R. Dowdle, Hoeft S., Sharp J.O., Schaefer J.K., Miller L.G., Switzer Blum J.; Smith R.L., Bloom N.S., Wallschlaeger D. 2000. Bacterial dissimilatory reduction of arsenate and sulfate in meromictic Mono Lake, California. *Geochimica et Cosmochimica Acta.* **64(18)**: 3073-3084.
- Rahman, M., M. Tondel, S. A.. Ahmad, and C. Axels. 1998. Diabetes mellitus associated with arsenic

- exposure in Bangladesh. *American Journal of Epidemiology*. **148**: 198-203.
- Southwick, J. W., A. E. Western, M. M. Beck., T. Whitley, R. Isaacs, J. Petajan, and C. D. Hansen. 1983. An epidemiological study of arsenic in drinking in Millard County, Utah, in: Lederer WH, Fensterheim RJ(eds.), Arsenic: Industrial, Biochemical, and Environmental perspectives. Proceedings Arsenic: Industrial, Biochemical, and Environmental perspectives. Proceedings arsenic symposium, Van Nostrand reinhold, New York.
- Switzer Blum, J., Burns Bindi, A., Buzzelli, J., Stolz, J. F. and Oremland, R. S. 1998. *Bacillus arsenicoselenatis*, sp. nov., and *Bacillus selenitireducens*, sp. nov.: two haloalkaliphiles from Mono Lake, California that respire oxyanions of selenium and arsenic. *Arch Microbiol* (**171**): 19-30.
- Tsuda, T. T. Nagira, M. Yamamoto, N. Kurumatani, N. Hotta, M. Harada, and H. Aoyama. 1989. Malignant neoplasms among residents who drink well water contaminated by arsenic from a King's Yellow factory. *J. Univ. Occup. Environ. Health*. **11**: 289-301.
- Van Niel Ed W. J., P. A. M. Classsen, A. J. M. Stams. 2003. Substrate and product inhibition of hydrogen production by the extreme thermophile, *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*. *Biotechnology and bioengineering* **81**(3): 255-262.
- Willian P. I., E. M. Richard, C. B. Benjamin, and F. Scott. 2002. Microbial processes controlling the formation of As(V)-rich Fe(III)-oxyhydroxide deposits in acid-sulfate geothermal springs, Yellowstone National Park. *Cite abstracts as: Eos. Trans. AGU* **83**(47), Fall Meet. Suppl.
- Wu, C. M. 1978. Characteristics of Groundwater Geology in the Blackfoot Disease Endemic Area, *Blackfoot disease Research Report*. **5**:1-24. The Blackfoot Disease Prevention and Control Research Group of Taiwan Provincial Health Department.
- Zaldivar, R. 1974. Arsenic contamination of drinking water and foodstuffs causing endemic chronic poisoning. *Beitr. Pathol.* **151**:384-400.
- Zaldivar, R. 1977. Ecological investigations on arsenic dietary intake and endemic chronic poisoning in man: dose-response curve. *Zentralbl. Bakteriologie Parasitenkunde Infektionskrankheiten Hygiene B*. **164**:481-484.
- 賴進興, 陳世裕, 翁瑞霖. 2000. 針鐵礦與赤鐵礦覆膜濾砂應用於地下水中砷去除之探討 輔英技術學院補助專題研究計畫成果報告。
- 廖志祥. 2002. 廢鐵屑、鑄鐵砂及商用元素鐵素材於水中之腐蝕現象比較研究. 嘉南藥理科技大學 專題研究計畫成果報告計畫。

表一 砷還原培養基配置(1L 配置方法)

藥品名稱	重量或濃度	SL-10 trace elements* (1L)
Na ₂ CO ₃	10.6g	1. FeCl ₂ · 4H ₂ O: 0.75 g,
NaHCO ₃	4.2g	2. ZnCl ₂ : 0.035g
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.1g	3. MnCl ₂ · 4H ₂ O :0.05 g
MgSO ₄	0.025g	4. H ₃ BO ₃ :0.003g
NaCl	90g	5. CoCl ₂ · 6H ₂ O :0.095g,
K ₂ HPO ₄	0.15g	6. CuCl ₂ · 2H ₂ O: 0.001g,
KH ₂ PO ₄	0.08g	7. NiCl ₂ · 6H ₂ O: 0.012g
Na ₂ WO ₄	9 *10 ⁻⁶ g	8. Na ₂ MoO ₄ · H ₂ O: 0.018g
cysteine-HCl	0.125g	9. Na ₂ WO ₄ :0.0075g
Na ₂ S · 9 H ₂ O	0.125g	10. Na ₂ SeO ₃ · 5H ₂ O: 0.0075g.
Na-lactate	10 mM	
Na ₂ HAsO ₄	10 mM	
SL-10 trace elements*	1.0mL	
yeast extract	0.5g/L	

表二 環境電子顯微鏡之 EDAX 分析

樣本編號 (距噴發口距離)	元素			
	C	O	Na	Cl
WST7 (6m)	63.91%	10.69%	12.10%	11.90%
WST5 (4m)	37.99%	12.12%	20.46%	28.77%
WST3 (2m)	25.21%	43.59%	26.82%	3.04%
WST1 (0m)	61.72%	19.40%	9.21%	4.94%
WST2 (-2m)	57.15%	6.69%	15.25%	20.41%
WST4 (-4m)	80.45%	16.46%	2.14%	0.43%
WST6 (-6m)	61.82%	12.58%	10.10%	14.13%

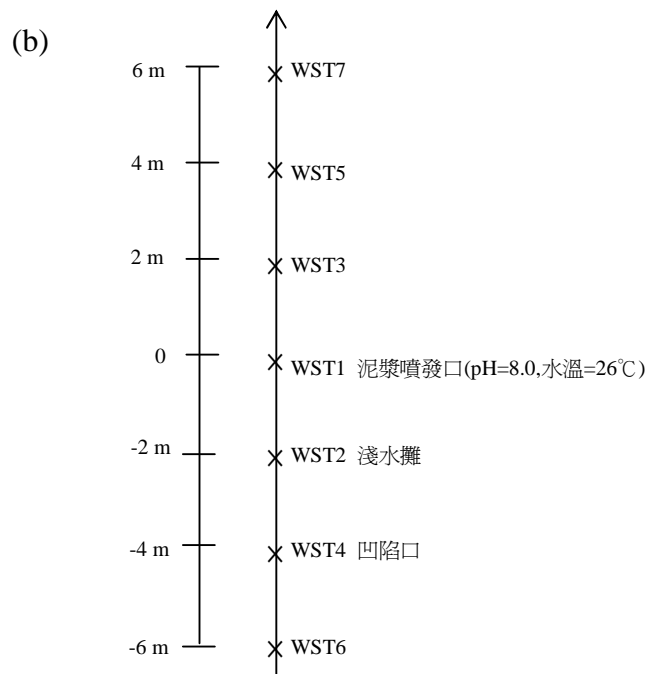
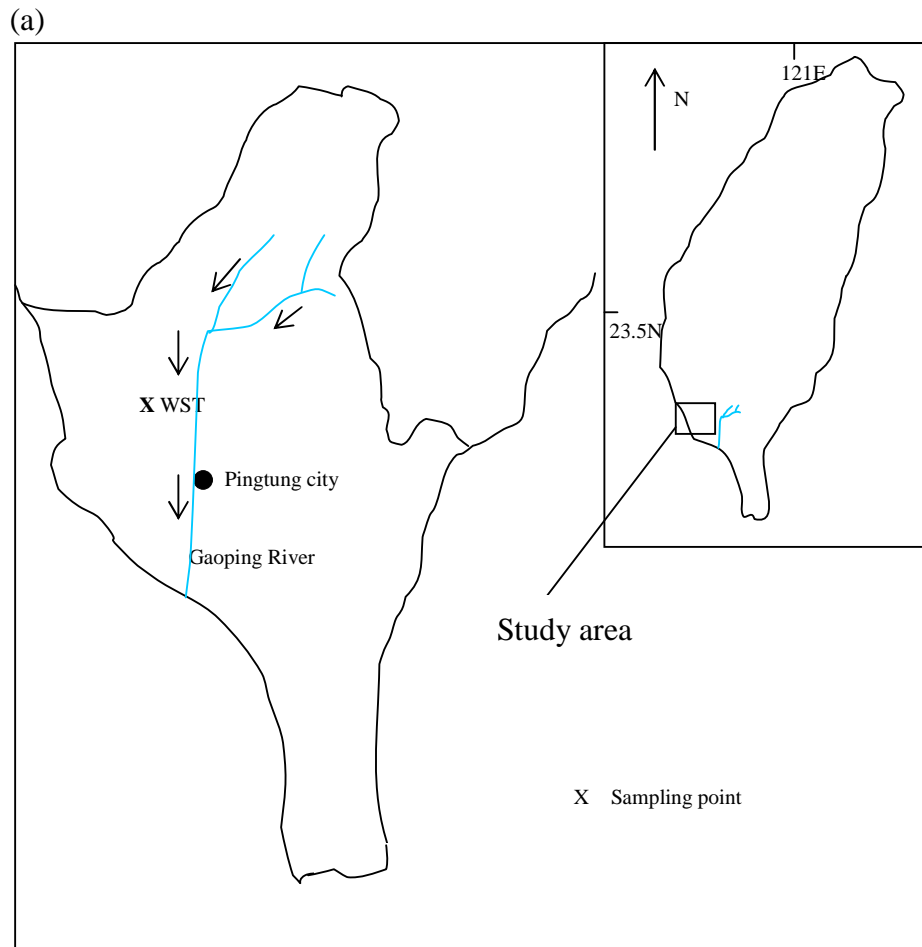


圖1 本研究泥火山噴發泥漿之(a)研究區域, (b)採樣地點距噴發口距離。

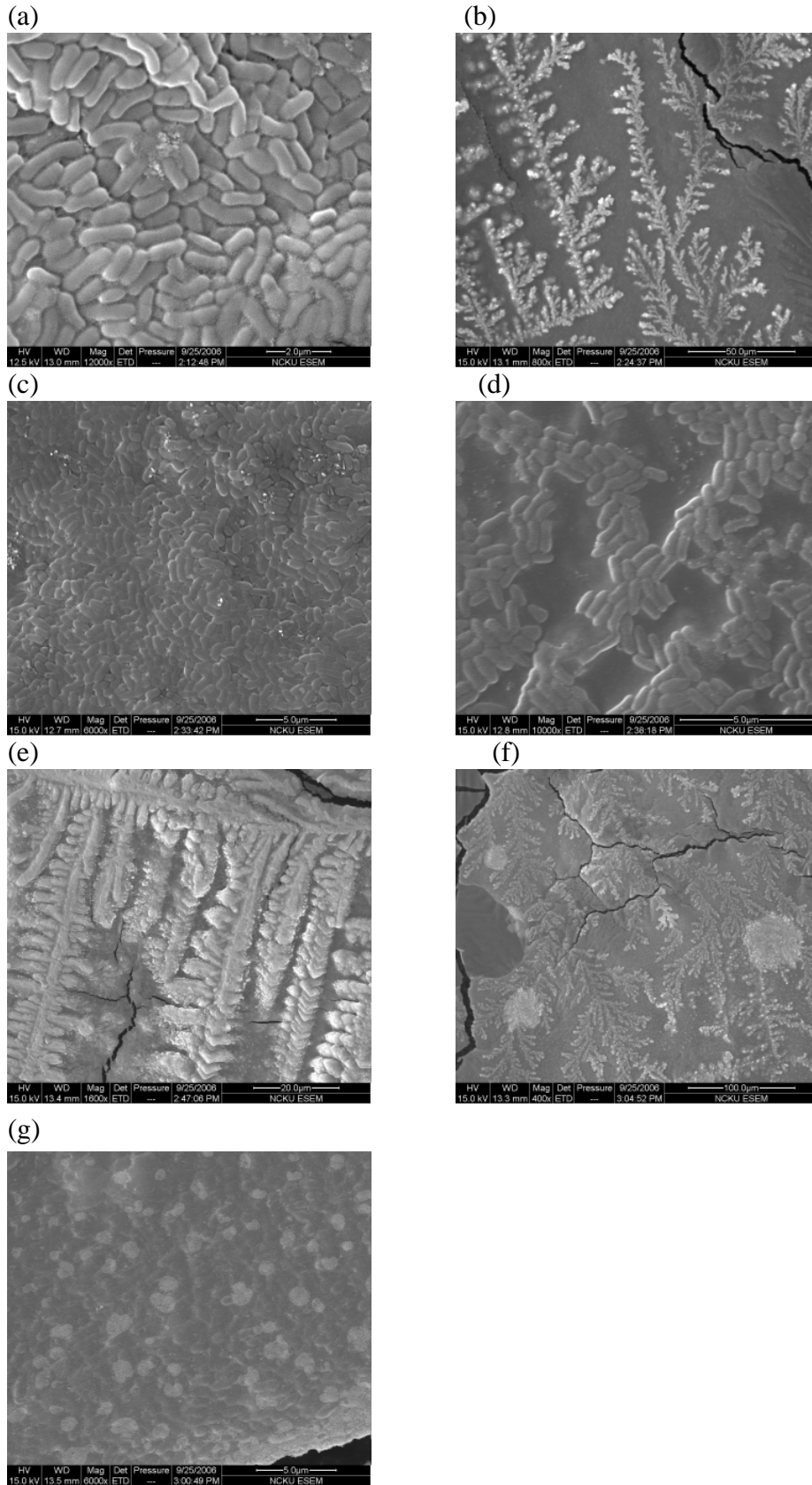


圖 2 環境電子顯微鏡觀察(a)WST1(12000X):桿狀; (b)WST2(800X):葉片狀; (c)WST3(6000X):桿狀; (d)WST4(10000X):桿狀;(e)WST5(1600X):葉片狀; (f)WST6(1600X):葉片狀; (g)WST7(1600X):球桿狀。

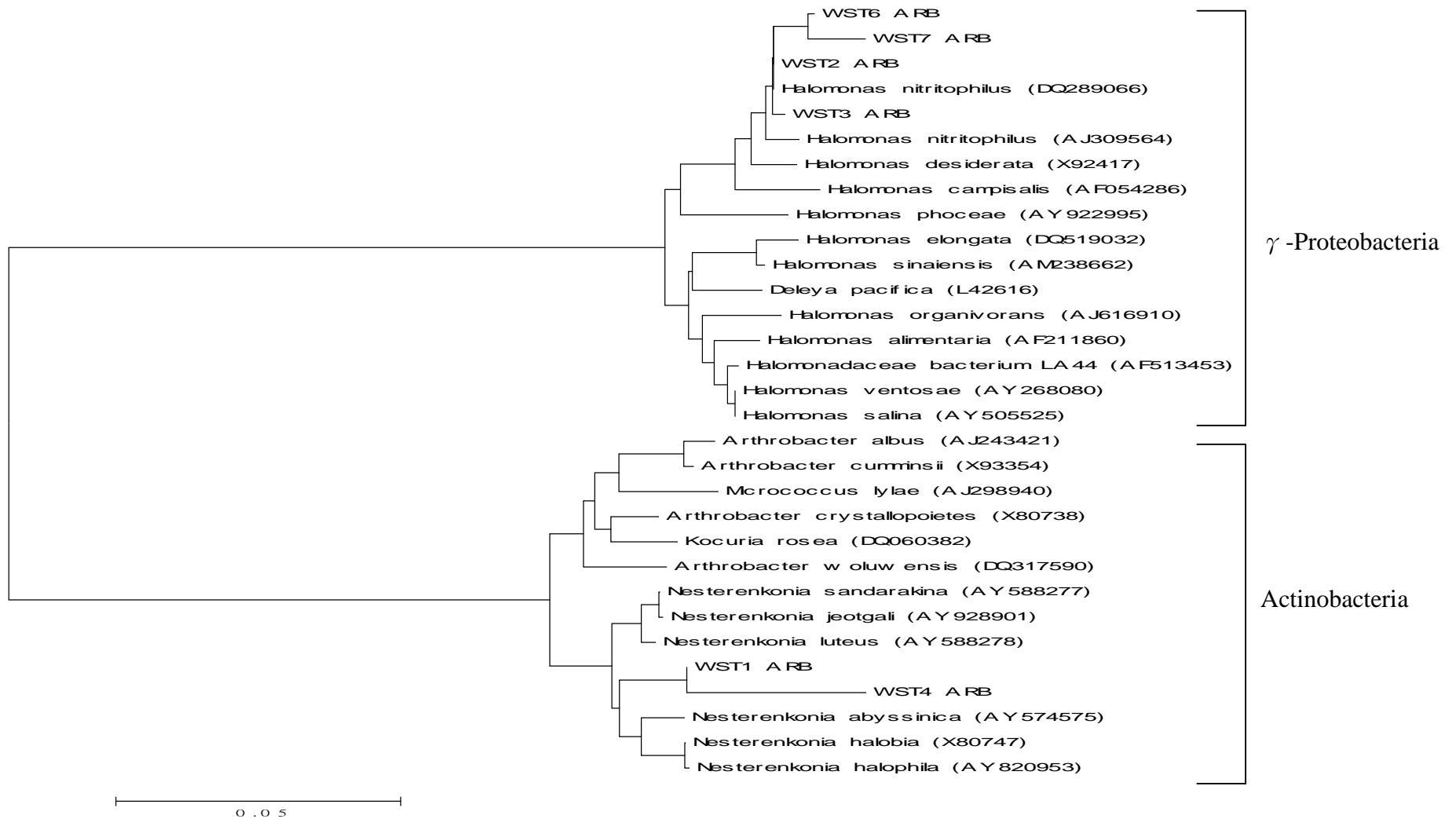


圖 3 烏山頂地區菌種比對之親緣關係樹(0.05 表示 substitutions per nucleotide position)。

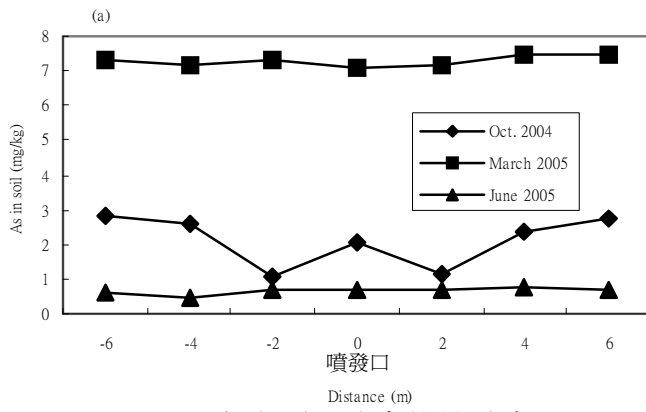


圖 4 烏山頂泥漿中的總砷含量。

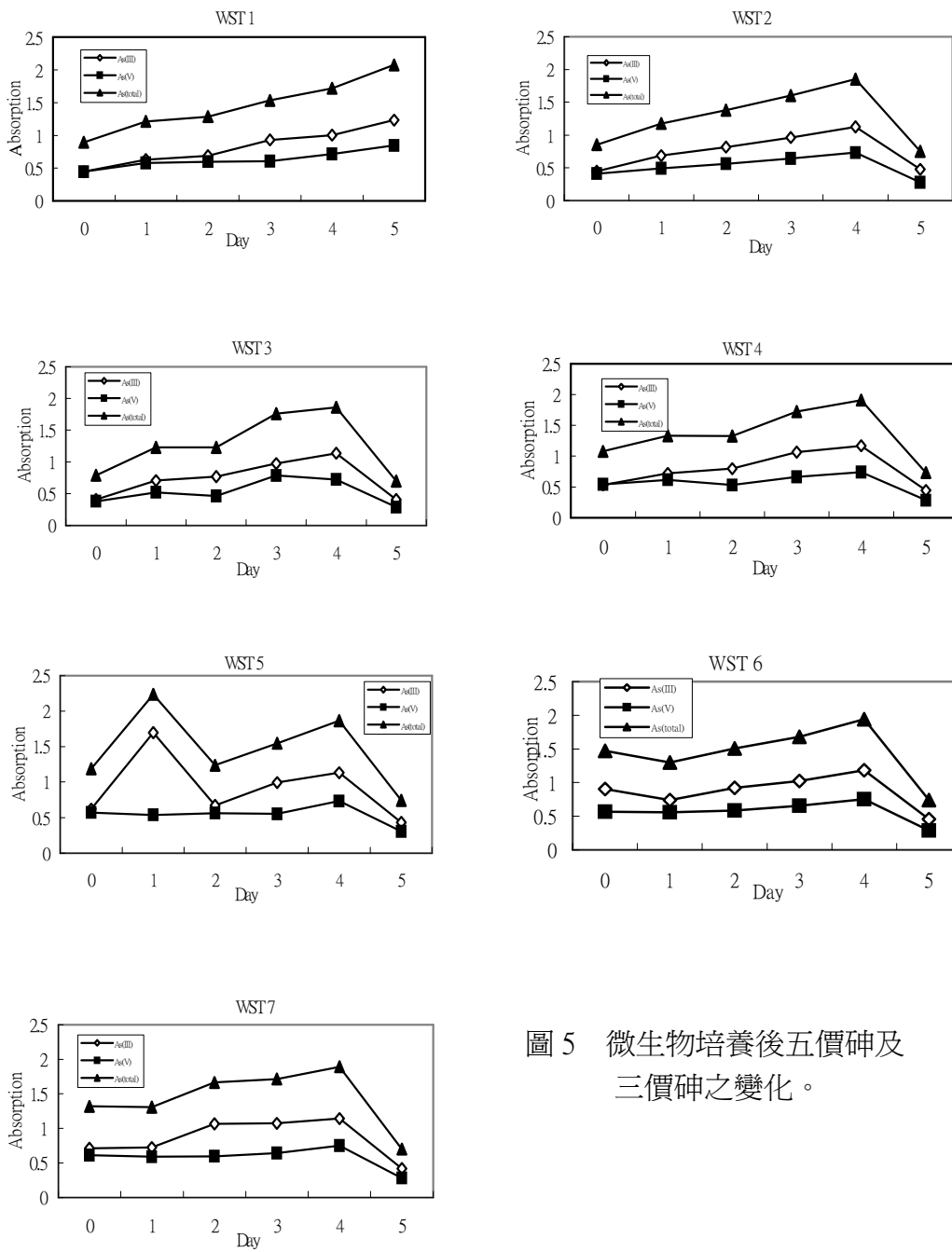


圖 5 微生物培養後五價砷及三價砷之變化。