

東海大學

環境科學與工程學系碩士班

碩士論文

高鐵酸鉀對溶液態之空氣懸浮細菌之去活化能力評估

Inactivation of Airborne Bacteria in Solution by Potassium Ferrate

研究生：王威筑

指導教授：鄧宗禹 博士

中華民國一〇八年八月

東海大學碩士班研究生
論文指導教授推薦書

環境科學與工程學系王威筑君所提之論文

題目：高鐵酸鉀對溶液態之空氣懸浮細菌之去活化能力評估

Inactivation of Airborne Bacteria in Solution by Potassium Ferrate

係由本人指導撰述，同意提付審查。

指導教授：王威筑（簽章）

108年7月15日

東海大學環境科學系碩士班

論文口試委員審定書

環境科學與工程學系碩士班王威筑君所提之論文

題目：高鐵酸鉀對溶液態之空氣懸浮細菌之去活化能力評估

Inactivation of Airborne Bacteria in Solution by Potassium Ferrate

經本委員會審議，認為符合碩士資格標準。

論文口試委員召集人 張明 (簽章)

委員

鄧宇昂
鄧獻文

中華民國 108 年 7 月 15 日

誌謝

韶光荏苒，轉瞬間學生生涯也告了一段落，碩士的這些年猶如一場引人入勝的電影，但終有散場之時。

首先感謝我的指導教授 鄧宗禹老師在研究期間傾囊相授，從研究主題、方向、架構及方法的建立，乃至本文的完成都不吝嗇地給予指導與鼓勵。也感謝口試期間內弘光科大 張明琴老師及東海大學 郭獻文老師給予的指導與建議，使得學生能夠順利完成本論文。

感謝空污奈米實驗室的所有成員，企鵝學長、駱博、宗哲學長、栢諺、三毛、玗奴、Albert 及 Kasper，感謝你們在實驗室的包容及協助；感謝其他實驗室的朋友們，不惜提供實驗室資源，甚至在實驗上的提點皆都銘記在心；感謝小豬仔微、二、昕穎、肉絲、梁豪、佑安的鞭策，在我蹉跎歲月之時督促我，在我長吁短歎之時陪伴我。感謝我的家人，在求學之路給予我最大的信任與支持，使我能夠無後顧之憂地順利完成學業。

最後，一路上發生了太多意料之外的事，伸手幫助的也不計其數，要感謝的人太多了，不如就謝天吧。

王威筑 謹誌

2018 年 8 月 東海大學



摘要

近年來，對環保意識抬頭之下，我們開始重視空氣品質，由於平均每人每日約有 80~90% 的時間待在室內環境，因此室內空氣品質尤其重要，現階段已開發許多控制及消毒生物氣膠的方法進而提升室內空氣品質，例如熱能、紫外線照射、光觸媒、空氣過濾器等，但有些方法需消耗大量能量，有些則對人體有害。

本研究利用目前在水處理及生物消毒領域廣泛應用的綠色化合物——高鐵酸鉀做為消毒劑，並以水中常見細菌——大腸桿菌 *Escherichia coli* 為參考，空氣中採集的細菌——*Micrococcus sp.*、*Staphylococcus kloosii* 及特定致病菌金黃色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* 做為失活目標，進而探討高鐵酸鉀對於不同菌種間的失活效果。

本研究使用不同濃度的高鐵酸鉀溶液與菌液混和，並於每個取樣點將菌樣取出，以環保署公告之水中總菌落數檢測方法——塗抹法（NIEA E203.56B）進行菌落數計算，最後以每個取樣點菌落數與初始菌落數差及初始菌落數比值得到失活率。使用濃度為 3 mg/L 的高鐵酸鉀時，*E.coli* 的失活率可在反應時間五分鐘達到 100%，當提高濃度至 5 mg/L 時則可以在三分鐘達到相同效果。對於 *Micrococcus sp.* 及 *S. kloosii* 而言，高鐵酸鉀也可在五分鐘使其失活，但需要較高

的濃度 100 mg/L 及 200 mg/L。對於致病菌 *S. aureus*，使用濃度為 500 mg/L 的高鐵酸鉀在五分鐘僅得到 90.82% 的失活率，將反應時間拉長至 30 分鐘才得以使其 100% 失活，研究結果也顯示，假使高鐵酸鉀濃度太低，縱使將反應時間拉長也達不到 100% 失活率。

同時也將三種純度不同（15%、73%、90%）且濃度為 5 mg/L 的高鐵酸鉀進行對大腸桿菌失活效果的實驗比較其間差異，在前半分鐘純度 90% 的高鐵酸鉀僅達到 51.28% 失活率，而其他二者皆達到 65% 失活率，但在第 2.5 分鐘即達到 100% 失活率，而純度 15% 及 73% 也在第三分鐘達到 100% 失活率，結果顯示，純度高低並不會對高鐵酸鉀的失活效果造成太大的影響。

高鐵酸鉀不僅可以使水中常見的大腸桿菌 100% 失活，也可使從空氣中採集之非致病性細菌及特定的致病性細菌失活，高鐵酸鉀亦可以在更高濃度及更長的反應時間下作用，達到 100% 失活效果。與其他常見控制及消毒生物氣膠的方法相比，使用高鐵酸鉀不會像使用熱處理一樣需要大量耗能，也與使用紫外線照射不同，副產物是無毒的，不需要添加其他產物即有良好的失活效果，為一良好的消毒劑。

關鍵字：高鐵酸鉀、失活效果、大腸桿菌、*Micrococcus sp.*、

Staphylococcus kloosii、金黃色葡萄球菌

ABSTRACT

The quality of indoor air has drawn increasingly more attention because of its impact on the well-being of people who are exposed to the indoor contaminants. The presence of airborne and surface-bound bacteria is one of the primary concerns of indoor air quality. Various methods such as ultraviolet irradiation and chlorination have been commonly applied to inactivate bacteria. These methods, however, may be harmful to the health of the people and the environment.

This study examines the effectiveness of applying hexavalent ferrate, a powerful and environmentally benign oxidant, for the inactivation of several types of bacteria, including *Escherichia coli*, locally collected airborne bacteria identified as *Micrococcus sp.* and *Staphylococcus kloosii*, and a known pathogen in *Staphylococcus aureus*. All bacterial inactivation experiments were performed by mixing a pre-determined range of ferrate dosage with the bacteria inoculated in liquid Luria-Bertaini broths under room temperature. The reactants at the various dilution levels were then transferred to agar plates for inoculation to determine the growth of tested bacteria. The applied potassium ferrate had a purity of 15% experimentally determined.

Statistically, *E. coli* was completely inactivated within 5 minutes when a ferrate dosage of 3 mg/L was applied, and within 3 minutes when 5 mg/L was applied. Applying ferrate with higher purity (73% and 90%) did not result in significantly different inactivated rate. In all cases, a reaction time of 3 minutes was needed to completely inactivate *E. coli*.

The two airborne bacteria *Micrococcus sp.* and *S. kloosii* were

completely inactivated in 5 minutes with a ferrate dosage of 100 mg/L and 200 mg/L, respectively. In comparison, a higher ferrate dosage (500 mg/L) and longer reaction time (30 min) were needed to completely inactivate *S. aureus*. No complete inactivation of *S. aureus* was observed when the applied ferrate dosage was less than 500 mg/L, demonstrating the higher resistance of *S. aureus* to ferrate.

Keyword: Potassium ferrate, Inactivation rate, *E. coli*, *Micrococcus sp.*, *Staphylococcus kloosii*, *Staphylococcus aureus*



目錄

誌謝.....	I
摘要.....	III
ABSTRACT.....	V
目錄.....	VII
圖目錄.....	IX
表目錄.....	XI
第一章、前言.....	1
1.1 研究緣起.....	1
1.2 研究目的.....	3
第二章、文獻回顧.....	4
2.1 生物氣膠.....	5
2.2 高鐵酸鉀.....	13
2.3 大腸桿菌.....	24
2.4 金黃色葡萄球菌.....	26
第三章、研究方法.....	27
3.1 研究架構.....	27
3.2 實驗材料與設備.....	29
3.3 實驗方法.....	31
第四章、結果與討論.....	47

4.1	菌樣	47
4.2	高鐵酸鉀對細菌之抑菌效果	51
4.3	高鐵酸鉀對大腸桿菌之失活效果	53
4.4	高鐵酸鉀對空氣中採集細菌之失活效果	55
4.5	高鐵酸鉀對致病性細菌之失活效果	58
4.6	高鐵酸鉀純度測試	60
第五章、	結論與建議	65
5.1	結論	65
5.2	建議	67
第六章、	參考文獻	70



圖目錄

圖 2-1、六價鐵三種共振結構.....	16
圖 2-2、不同 pH 值下六價鐵的四種不同離子型態比例.....	17
圖 2-3、使用 XRD 分析高鐵酸鉀.....	20
圖 3-1、研究架構.....	28
圖 3-2、製備大腸桿菌儲存溶液.....	32
圖 3-3、製備高鐵酸鉀儲存溶液.....	33
圖 3-4、製備 pH 7.0 磷酸鹽緩衝溶液.....	34
圖 3-5、高鐵酸鉀對大腸桿菌之抑菌效果.....	36
圖 3-6、高鐵酸鉀對大腸桿菌之失活效果.....	38
圖 3-7、大腸桿菌菌落計數.....	40
圖 3-8、16S RNA 中 9 個高度變異區域.....	44
圖 3-9、16S RNA 鑑種流程.....	44
圖 3-10、擴增子增幅片段長度與其分類精準度.....	44
圖 3-11、高鐵酸鉀純度實驗流程.....	45
圖 4-1、東海大學理學院 S106 研究室採集之菌種.....	48
圖 4-2、分離培養之乳白色 A 菌及成鵝黃色 B 菌.....	48
圖 4-3、A 菌：Micrococcus sp. strain CAU1456_like(99%).....	49

圖 4-4、B 菌：Staphylococcus kloosii strain ATCC 43959_like(99%)	50
圖 4-5、高鐵酸鉀對大腸桿菌抑菌效果.....	51
圖 4-6、高鐵酸鉀對 A 細菌之抑菌效果.....	52
圖 4-7、高鐵酸鉀對 B 細菌之抑菌效果.....	52
圖 4-8、高鐵酸鉀對於水中常見細菌大腸桿菌的失活效率.....	53
圖 4-9、高鐵酸鉀對空氣中採集細菌之失活效果.....	56
圖 4-10、高鐵酸鉀對於金黃色葡萄球菌的失活效率.....	59
圖 4-11、在濃度 100 mg/L 的高鐵酸鉀作用下不同細菌之失活率 .59	
圖 4-12、同濃度且不同純度的高鐵酸鉀對大腸桿菌的失活效果...61	
圖 5-1、空氣濾網測試系統模擬.....	69

表目錄

表 2-1、鐵氧化物的各種形式.....	13
表 3-1、實驗藥品清單.....	29
表 3-2、實驗設備及儀器.....	30
表 3-3、製備 Luria-Bertaini 培養液藥品.....	31
表 4-1、不同消毒的方法與失活率.....	64





第一章、前言

1.1 研究緣起

隨著時代改變，生活水平逐漸提高、環保意識抬頭之下，我們不只開始注重水資源的乾淨與否，對空氣品質也有一定的要求，甚至開始關注空氣污染議題，像是室內、外空氣品質、PM_{2.5}等，也致力於這些環境問題的改善。

在空氣品質中，尤其重要的是室內空氣品質，每人每天約有 80~90% 的時間待在室內環境，室內空氣品質不僅僅對於工作品質、效率有影響，對於人類身體健康的所造成的影響更是不容小覷(Sundell et al., 1991)。影響室內空氣品質的原因有很多，一般常見的室內污染源包含石棉、一氧化碳 (CO)、生物氣膠等項目。

室內空氣污染物中約有 5~34% 為生物氣膠，其含有致病性/非致病性微生物、過敏原。近年來已開發多種方法來控制生物氣膠，像是利用高溫引起蛋白質變性造成微生物損害、利用紫外線照射來破壞微生物核酸進而殺死微生物亦或是使用空氣過濾器過濾、吸附生物氣膠等方法，但高溫及紫外線照射對於人體皆有一定程度的危害，且對於生物氣膠而言，最為廣泛應用的方法為空氣過濾器，使用空氣過濾器可以有效使空氣中的生

物氣膠被有效去除，但過濾器上的濾網反而可使未被殺死之微生物利用其當作滋生地繁殖。因此本研究欲使用目前廣泛應用在水、氣體類污染及生物消毒的高鐵酸鉀作為一過濾材料，利用其強氧化性質，針對空氣懸浮細菌進行抑制、失活效果評估。

高鐵酸鉀 (Potassium Ferrate, K_2FeO_4) 為一強氧化劑，其在整個 pH 值範圍內皆有良好的氧化還原能力。高鐵酸鉀在許多領域上皆有卓越的表現，例如：廢水處理、超鐵電池……等。高鐵酸鉀在反應過程中與其他常見之消毒劑不同，並不會產生有毒的副產物，更能在使用較低濃度時即能達到與其他消毒劑一樣的效果，除了做為消毒劑之外，高鐵酸鉀的還原後的產物三價鐵，更能做為凝結劑進一步處理污染物，除了處理有機、無機污染物外，在處理生物性污染源也有卓越的表現，高鐵酸鉀為一經濟價值高之綠色化學物。

1.2 研究目的

本研究為探討高鐵酸鉀與空氣過濾器結合，解決生物氣膠於濾網上孳生之問題之可行性評估，目的在於使用目前廣泛應用在廢水處理的高鐵酸鉀做為消毒劑，探討高鐵酸鉀對空氣中採集之細菌的去活化效果，並利用水中常見的大腸桿菌為參考。

本研究主要分為兩部分，第一部分為使用高鐵酸鉀針對水中常見細菌——大腸桿菌達到失活的效果作為失活率及反應時間參考，因後續希望高鐵酸鉀能夠應用到過濾空氣中細菌，進而提高殺菌的效果，第二部分則使用空氣中採集的細菌及特定致病菌來探討其失活效果。

本研究的主要目的為：

1.2.1 探討高鐵酸鉀對空氣中採集細菌失活效果

1.2.2 探討高鐵酸鉀對特定致病菌——金黃色葡萄球菌之失活效果

第二章、文獻回顧

根據行政院環保署（2019）顯示，每人每天約有長達 80~90% 的時間待在室內環境，且室內空氣品質（Indoor Air Quality, IAQ）的良莠對工作品質及效率的影響是不容小覷的(Sundell et al., 1991)，因此，室內空氣品質才是我們應該注重的議題。

美國環保署（2017）將室內空氣品質定義為在建築物周圍及內部的空氣品質，且與居住者的健康及舒適度有關。室內空氣品質不良除了對人體有直接的、短期的影響，例如：眼、鼻和喉嚨之刺激，長期暴露下來也會造成呼吸系統疾病、心臟病甚至是癌症的出現(US.EPA., 2017)。

造成室內空氣品質不良的原因除了一般的室內污染源外，通風不足及溫、濕度也都會影響室內空氣品質。室內空氣品質管理法將室內空氣污染物定義室內空氣中常態逸散，經長期性暴露足以直接或間接妨害國民健康或生活環境之物質，包括二氧化碳、一氧化碳、甲醛、總揮發性有機化合物、細菌、真菌、PM₁₀、PM_{2.5}、臭氧等(行政院環境保護署, 2011)。

2.1 生物氣膠

2.1.1 生物氣膠

在環境氣膠中有可能存在大量的生物氣膠，而生物氣膠對室內空氣污染的貢獻更高達 34%(Mandal & Brandl, 2011)，其來源包括室外來源（透過窗戶、門及通風）、建材、家具、寵物、室內植物以及有機廢物，除此之外，人類的日常活動也會產生生物氣膠，例如：咳嗽、洗滌、沖廁、說話、走路、打噴嚏和清掃地板，溫度及濕度這類的氣象參數更是對生物氣膠的形成和分散造成了影響(Dedesko et al., 2015)。近年來，考慮到生物氣膠對人體健康的影響性，在職場與住家環境中能夠接觸到生物氣膠的倍受關注。

生物氣膠被定義為具有生物來源的空氣懸浮顆粒(Lee, 2011)，其大小和組成都不相同，源起於植物/動物且包含活的有機體(Georgakopoulos et al., 2009)，其中可能存在致病性/非致病性微生物，例如：病毒 (Virus)、細菌 (Bacteria) 和真菌 (Fungi)、內毒素 (Endotoxin)、黴菌毒素 (Mycotoxins)、高分子量過敏原、花粉...等(Douwes et al., 2003; Mandal et al., 2011)，因此，生物氣膠的盛行與疾病有關聯，例如：肺炎、流感、麻疹、哮喘、過敏以及腸胃疾病

(Douwes & Heederik, 1997; Srikanth et al., 2008)。

由於生物氣膠為非常小的氣載顆粒（範圍為 0.001~100 微米），可透過吸入進入人體呼吸道並從空氣中接觸皮膚，容易透過肺和循環系統沉積在身體的各個部位，這種沉積可引起許多涉及整個器官系統的單個器官的健康併發症。大小介於 1.0~5.0 μm 之間的生物氣膠通常存在於空氣中，而較大的顆粒會迅速沉積在物體表面(Mohr, 2007)，由於體積小、質量輕，生物氣膠很容易在不同環境中轉移。

2.1.2 生物氣膠的成分及對人體所造成之影響

生物氣膠包含各種類型的微生物及其衍生之產物，主要的包含真菌及細菌、內毒素、黴菌毒素，花粉等可能之過敏原，均對於人體的健康會造成不利的影響，生物氣膠的病理生理學取決於其物理、化學及生物特性，但大部分的生物氣膠組成複雜，難以評估其綜合毒性(Pearson et al., 2015; Van Leuken et al., 2016)，而構成嚴重的健康風險(Kim et al., 2018)。

真菌普遍存在於自然界中，而在地球上存在大約 220~380 萬種真菌(Hawksworth & Luecking, 2017)，在生物氣膠中

亦有部分含有致病性真菌，這些致病性的真菌會引起的病症如：急毒性、過敏和呼吸道異常(Bush & Portnoy, 2001; Grigis et al., 2000)。而真菌可經由孢子在經過水、空氣的傳播後繁殖，也因為孢子可以在惡劣的環境下生存，待其到一有利條件下才生長成新的個體，因此含有真菌的生物氣膠可以存活得較久(Górny et al., 2001)。

細菌為生物中數量最多的一類，大小介於 $0.2\mu\text{m}\sim 0.6\text{mm}$ (Williams, 2011)，其廣泛的分布於地球上的各個角落，包括在極端的環境下也可發現細菌的存在。細菌常以空氣為傳播媒介，而其中也含有具致病性可以對人類產生致命影響的細菌，像是致炭疽病的炭疽桿菌 (*Bacillus anthracis*) 及致腦膜炎的腦膜炎雙球菌 (*Neisseria meningitidis*) (Heininger, 2010; Hendricks et al., 2014)。

內毒素為革蘭氏陰性細菌細胞壁的脂多醣成分，常於細胞裂解後才釋放出來。含有內毒素的生物氣膠可造成過敏、敗血性休克、胸腔充血、呼吸功能障礙甚至是死亡以及肺癌 (Hayleeyesus et al., 2015; Park et al., 2015; Thilsing et al., 2014)。

在許多職業環境中，生物氣膠常被認為是空氣污染的主

因，如：工業、廢棄物回收場、農產品加工廠(Kummer & Thiel, 2008; Tsapko et al., 2011)，造成一系列急性和慢性的不良健康影響導致疾病的發生，然而生物氣膠會經由人體的呼吸系統進入到肺部，常造成鼻炎、哮喘、支氣管炎和鼻竇炎，甚至也會造成腸胃不適、頭痛、疲勞及虛弱(Douwes et al., 2003)，其中呼吸道感染佔常見疾病的 50-60%(Kummer et al., 2008)。

花粉會使人體的肺功能降低，也是肺炎增加的原因(Baldacci et al., 2015)，同時也有研究指出，有 15%哮喘引發的原因是花粉導致的(Canova et al., 2013)。除了花粉之外，來自於細菌和黴菌的內毒素也會引起刺激性呼吸道炎(Hoppin et al., 2014)，使肺功能顯著降低(Kharitonov & Sjöbring, 2007)。

除了對呼吸系統造成影響外，生物氣膠也與癌症存在著顯著的相關性(Hayleeyesus et al., 2015)。針對處理家禽、肉類的工作者來說，他們通常都暴露在較高濃度生物氣膠的環境下，其中包含動物的皮屑、羽毛、尿液、糞便以及病毒，而這些工作者通常得肺癌的機率高出 30%(Johnson & Choi, 2012; McLean et al., 2004)。除了肺癌之外，在養豬場工作的

工作者也因為暴露在高濃度生物氣膠下，也易得胰臟癌 (Felini et al., 2011)。

2.1.3 生物氣膠控制與消毒

在人口眾多且通風不足的環境中可以大量發現微生物，而生物氣膠的增加被認為與活動持續時間和人群濃度增加有關(Ghorbani et al., 2006)，現階段已經有許多方法來控制環境氣膠，例如過濾、靜電沉澱(Hinds, 1999)，這些方法也被廣泛應用，但對於具有生物特性的生物氣膠而言，在過濾、靜電沉澱後的生物氣膠也可以繼續生長繁殖，並不能真正的解決問題。

為減少及預防生物氣膠對於健康的影響，近年來已開發許多方法來控制生物氣膠，其中包含熱能、紫外線 (UV) 照射、抗菌濾膜、光觸媒、多孔材料吸附及靜電除塵器。

利用熱能來控制生物氣膠的方式共有兩種，濕熱及乾熱。濕熱為利用高溫高壓下產生的蒸汽來對生物氣膠進行控制，而乾熱即為在乾燥環境下利用高溫來控制，雖然目前濕熱處理已廣泛應用在實驗用品滅菌上，但將乾、濕熱處理實際應用在控制空氣中的生物氣膠是非常罕見的，而且非常耗

能。

水中典型的微生物需要以 121°C 暴露於濕熱中 15 分鐘才得以失活，但在乾熱環境中，空氣中的細菌持續暴露在 100~140°C 的溫度下只需要幾秒鐘即可失活(Lee & Lee, 2006)。除此之外，含有真菌的生物氣膠在經過適當的熱處理後，除顆粒尺寸變小外，濃度及可培養的生物氣膠數量也明顯變少(Jung et al., 2009)。

熱處理除了可控制生物氣膠物理及化學特徵，也可以控制生物特徵。當暴露在 400°C 的高溫下時，可使 99.99% 的枯草芽孢桿菌孢子生物氣膠失活(Grinshpun et al., 2010)，而同時也觀察到，當暴露在高溫環境下時，細胞的多肽結構會被破壞因而導致蛋白質的變性所造成的微生物傷害(Madigan & Martinko, 2005)。

除了熱能之外，紫外線 (UV) 照射也廣泛於室內環境來控制生物氣膠。透過使用波長在 220~300nm 間的紫外線來消毒空氣、破壞生物體的核酸造成斷裂，進而殺死微生物(Madigan et al., 2005)。紫外光的殺菌效果取決於其輻照強度、距燈距離、曝光時間、空氣濕度、空氣的運動模式(Beggs et al., 2006; Kujundzic et al., 2006)。當紫外線殺菌輻射

(UVGI) 照輻為 $290\mu\text{W}/\text{cm}^2$ 時，可減少 12 倍手術室中的細菌菌落(Lidwell, 1994)，且使用不同照輻的 UVGI 可以使大腸桿菌、枯草芽孢桿菌達到 99%失活(Lin & Li, 2002)。

不同於使用熱處理的大量耗能，消耗較少的能量就能透過紫外線照射達到滅活生物氣膠，並且僅需透過簡單的安裝即可使用，目前大量應用在手術室及實驗室中(Kujundzic et al., 2006)。但使用紫外線照射可能會產生臭氧(Kujundzic et al., 2006)，並且暴露在紫外線下，會對人體的皮膚產生紅斑，也會對眼睛造成結膜炎(Nardell et al., 2008; Yen et al., 2004)。

空氣過濾器是在室內環境下用來去除生物氣膠最廣泛應用的方法，一般的空氣過濾器能夠去除空氣中的氣膠及其它懸浮微粒，但對生物氣膠來說，被過濾或吸附至過濾器的濾網上後，它可以將濾網當作滋生地，透過吸收同樣被過濾到濾網上的灰塵中的空氣濕氣以及營養物而生長產生異味，並且會透過反向氣流回到空氣中(Miaśkiewicz-Peska & Lebkowska, 2011)。

對於生物氣膠利用濾網當作滋生地繁殖而言，可以利用經過碘、破膜酶處理的過濾器，但當非生物的粉塵沉積，過

濾膜上的抗菌材料被覆蓋後即失效，因此利用此類抗菌材料與過濾器做結合的方式只在短時間內有效(Eninger et al., 2008; Lee et al., 2008)。

使用光觸媒也是一種可有效去除生物氣膠的方法，常見的光觸媒如二氧化鈦 (TiO_2) 和氧化鋅 (ZnO)。光觸媒利用光氧化作用產生羥基自由基使細胞膜破壞而損失輔酶 A，導致細胞呼吸和死亡的干擾(Chang et al., 2010; Sánchez et al., 2012)。單使用光觸媒對於芽孢桿菌、葡萄球菌、不動桿菌屬物種及真菌方面沒有看到相當大的效率，因此有項研究將比率為 7.5% 的銀做為雜質與光觸媒 TiO_2 做結合，在可見光刺激下對大腸桿菌的最大去除率為 93.5%，而使用比率為 5% 的銅與 TiO_2 做結合，可得到 87.8% 去除率(Pham & Lee, 2014a)。

2.2 高鐵酸鉀

鐵是地球上最豐富的金屬之一，在自然環境中，鐵具有不同的離子型態，其中以+2價（亞鐵，Fe(II)）和+3價（鐵，Fe(III)）氧化態最為常見，由Fe(II)和Fe(III)組成的礦物包括赤鐵礦、磁赤鐵礦……等（表2-1）。

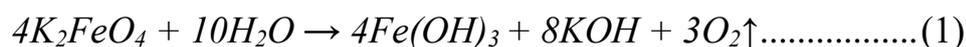
表 2-1、鐵氧化物的各種形式(Tiwari & Lee, 2011)

化合物	名稱	礦物/鹽類
FeO	Ferrous oxide	Wuestite
Fe₂O₃	Ferric oxide	Hematite
Fe₃O₄	Ferrosferric oxide	Magnetite
Fe₂O₃·H₂O	Ferric oxide monohydrate	Goethite
FeO(OH)	Ferric oxyhydroxide	Akaganeite
FeO₂²⁻	Hypoferrite	Na ₂ FeO ₂
FeO₂⁻	Ferrite	NaFeO ₂ 、KFeO ₂
FeO₃²⁻	Ferrate(II)	Na ₂ FeO ₃
FeO₄⁴⁻	Ferrate(IV)	Na ₄ FeO ₄
FeO₄³⁻	Ferrate(V)	K ₃ FeO ₄
FeO₄²⁻	Ferrate(VI)	Na ₂ FeO ₄ 、K ₂ FeO ₄
FeO₅²⁻	Ferrate(VIII)	Na ₂ FeO ₅

不僅僅是存在於大自然之中，鐵的存在與我們的生活息息相關，像是存在於血液中的 Fe(II)，在各種工業及環境應用上更可以看到鐵資源有卓越的表現。

除了常見的 Fe(II)和 Fe(III)之外，在強氧化環境中，還有 +4~+6 更高價數氧化態的鉀和鈉鹽——高鐵酸鹽類 (FeO_4^{2-}) 存在 (Jeannot et al., 2002; Rush & Bielski, 1986)，例如： Na_2FeO_3 ， Na_4FeO_4 ， K_3FeO_4 ， K_2FeO_4 和 Na_2FeO_4 。在這些高價數的鐵氧化物中，+6 價的高鐵酸鹽(VI)尤其備受矚目，在表 2-1 中，相對穩定和容易製備之高鐵酸鹽類 (FeO_4^{2-}) 為高鐵酸鉀。

高鐵酸鉀是一種暗紫色具有金屬光澤的粉末，易溶於水呈紅紫色溶液。其與多數有機物可產生氧化還原反應，且可在氯仿、苯類以及醚類中穩定懸浮不易還原成三價鐵 (Sharma, 2002)。在 198°C 以下和強鹼溶液中相當穩定，其穩定性隨著 pH 值的上升而增加。並且在酸性條件下，高鐵酸鉀比起其他已知氧化劑具有最高的氧化能力。下式為高鐵酸鉀在水中的反應：



無論是在酸性的環境條件下亦或是鹼性條件下，高鐵酸鉀皆具有良好的氧化能力，其應用範圍廣泛，且不會產生有毒性之副產物，是一種對環境友善之綠色氧化物，而其氧化還原電

位為 2.2V 及 0.7V (Sharma, 2013; Tiwari et al., 2011)。

2.2.1 高鐵酸鉀製備

從 1702 年 Georg Ernst Stahl 從硝酸鉀與鐵屑反應中觀察到紅紫色反應物，而後在 1834 年 Eckenberg 和 Becquerel 在加熱氫氧化鉀和鐵礦石的混合物時也出現此種紅紫色物質，最後此紅紫色物質被鑑定為六價的高鐵酸鉀。目前為止有三種方法製備高鐵酸鉀：濕式氧化法(Schreyer et al., 1953; Thompson et al., 1951; White & Franklin, 1998)、乾式氧化法(Scholder, 1962; Scholder et al., 1956)以及電化學法(Bouzek et al., 2000; Denvir & Pletcher, 1996; Lee et al., 2002)。

2.2.2 高鐵酸鉀之特性

高鐵酸鉀中的六價鐵為我們主要想探討的部分，其分子是為 FeO_4^{2-} ，為一呈四面體結構之晶體(Jiang et al., 2001)，溶於水中會有三種共振結構(Norcross et al., 1997) (圖 2-1)。

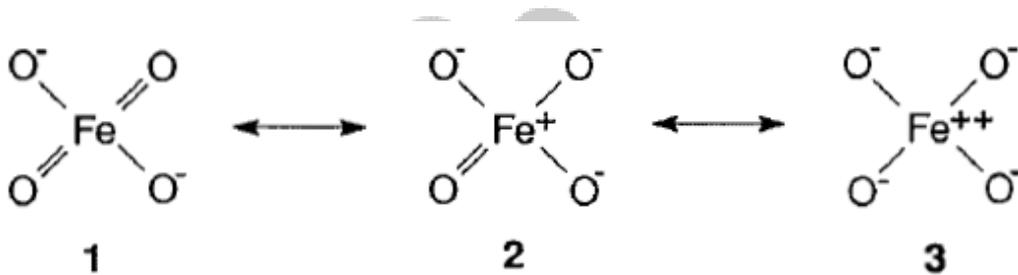


圖 2-1、六價鐵三種共振結構

在不同 pH 值環境下，六價鐵會以四種不同的形式存在水溶液中(Licht et al., 2001; Sharma et al., 2002)：



四種質子化形式的六價鐵分別為 FeO_4^{2-} 、 HFeO_4^- 、

H_2FeO_4 及 H_3FeO_4^+ ，並且可以依照不同 $\text{p}K_a$ 值計算其在不同 pH 值的比例(Li et al., 2005) (圖 2-2)。

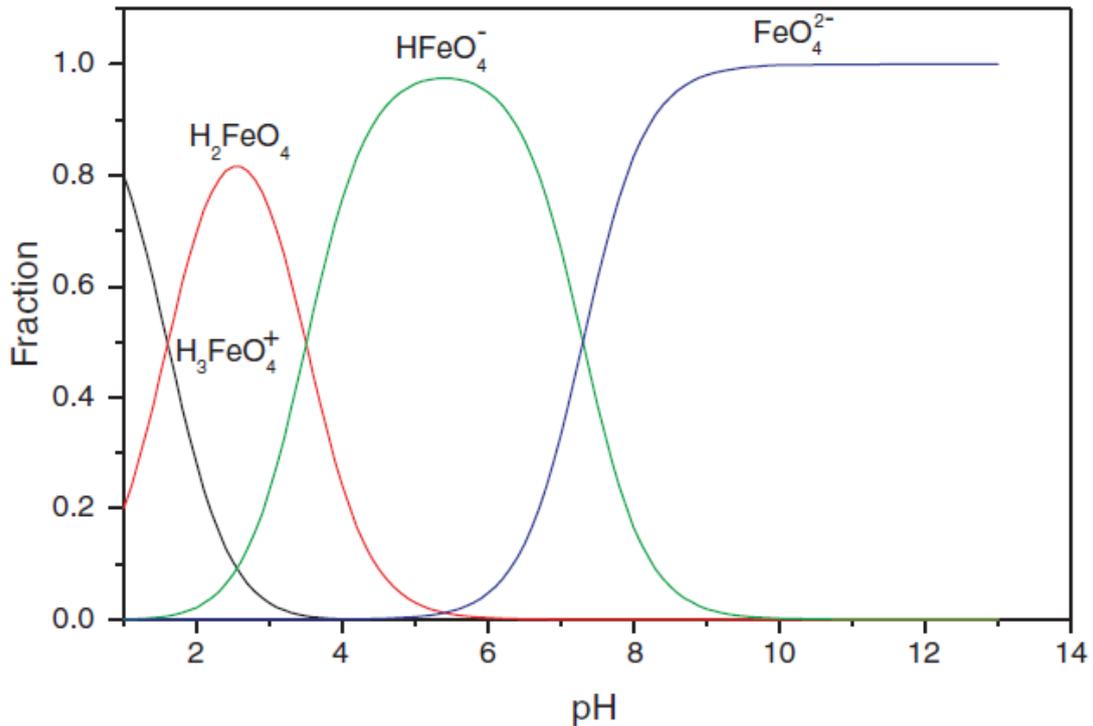


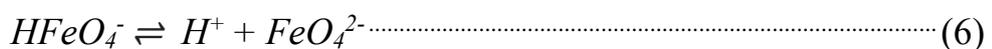
圖 2-2、不同 pH 值下六價鐵的四種不同離子型態比例

在 pH 值大於 10 的鹼性環境中，FeO₄²⁻為主要存在的離子型態，在酸性環境中則是以 H₂FeO₄ 及 H₃FeO₄⁺為主要存在形式。

研究顯示，當 pH 值下降時，滅活率 K' 上升(Kazama, 1994)，質子化形式的六價鐵分率上升(Sharma et al., 2005)，質子化形式的六價鐵 α(HFeO₄⁻)分率可用下式計算：

$$\alpha(\text{HFeO}_4^-) = [\text{H}^+] / ([\text{H}^+] + K_a) \dots\dots\dots(5)$$

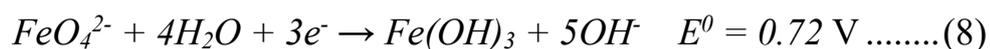
K_a 為 HFeO₄⁻的解離常數



$$K_a = 5.89 \times 10^{-9} \text{ at } 25^\circ\text{C}$$

(Sharma et al., 2001)

因為良好的反應性及強氧化性質使得六價鐵在許多領域上（廢水處理、超鐵電池、綠色氧化劑...等）都有卓越的表現。



在酸性及鹼性環境下，六價鐵的氧化還原電位分別為 2.20V 及 0.72V，其氧化能力高於錳及鉻，一般常見的氧化劑，如臭氧、過氧化氫、次氯酸鈉及氯，還原電位都比六價鐵小(Tiwari et al., 2011)。

在水中，六價鐵得到電子還原成三價鐵，過程中會生成氧氣，使六價鐵具有高活性，因此可應用在廢水處理，降解廢水中的有機、無機污染物，除了生成氧之外，還原後產生的三價鐵亦可有效形成鐵-膠體沉澱物，被稱為良好的凝結劑，可去除水中懸浮固體及未被降解之污染物。

2.2.3 高鐵酸鉀之分析

高鐵酸鹽鉀的分析方法主要為三種：容量滴定法、光譜分析法及 X 光繞射分析法。

1. 容量滴定法 (Volumetric titration method)

容量滴定法是利用六價鐵的強氧化性質來確定高鐵酸鹽的濃度，但有些反應產生的三價鐵 (Ferric ions) 會影響分析的結果，如碘滴定法會將六價鐵離子及 (或) 三價鐵離子還原成亞鐵離子 (Fe^{2+})，而常用於定量高鐵酸鹽濃度的方法有鉻滴定法 (Vicenteperéz et al., 1985) 及砷滴定法 (Losada et al., 1985; Schreyer et al., 1950)。

2. 光譜分析法 (Spectroscopy method)

光譜分析法主要分為傅立葉轉紅外線光譜分析 (FT-IR) 及紫外光-可見光光譜分析 (UV-vis)，高鐵酸鹽水溶液呈暗紫色，其介於波長約 500~800nm 處的可見光-近紅外光吸收光譜 (Neveux et al., 1994)。

另外有研究顯示，高鐵酸鉀在波長 510nm 處的吸收光譜 (Jia et al., 1999)，因此，水溶液中高鐵酸鉀的濃度可以透過 Beer-Lambert Law 的紫外-可見光譜法測定。

3. X 光繞射分析法 (X-ray diffraction, XRD)

X 光繞射分析法為利用 X 光繞射分析晶體的結構，研究 (Li et al., 2005) 利用 XRD 分析純度為 75%、90% 及 99% 的高鐵酸鉀，光譜中 (圖 2-3) 的 (002)、(111)、(211) 和 (013) 四個繞射峰皆對應於高铁酸鉀晶面，其散射角 2θ 分別約於 17.5° 、 20° 、 29° 及 31° (Li et al., 2005)。

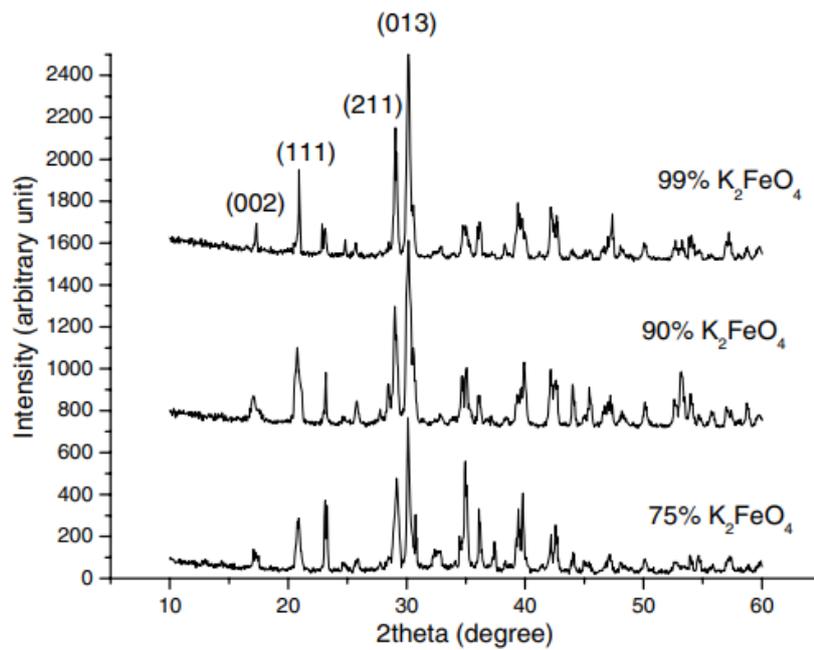


圖 2-3、使用 XRD 分析高铁酸鉀

2.2.4 高鐵酸鉀應用

高鐵酸鉀具有強氧化性質，做為水的消毒劑，可以有效降解水中的有機及無機污染物，取代對環境有害之氧化劑解決產生的如游離氯、氯胺、臭氧有關的消毒副產物

(DBPs)，如三鹵甲烷 (Trihalomethane, THMs)，氧化水中的有機／無機污染物，並產生無毒性的副產物 (三價鐵) (Sharma, 2002; Talaiekhosani, Bagheri, et al., 2016)，因此它被視為一種對環境友好的綠色新興多用途水處理化學品。

六價鐵是一種有效的凝結劑，可以用於去除各種有毒金屬、非金屬 (Jiang & Lloyd, 2002)、重金屬，如 Mn^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Cr^{3+} 、 Hg^{2+} 、 As^{3+} 、 Cu^{2+} 和 Cd^{2+} (Bartzatt et al., 1992; Murmann & Robinson, 1974) 更可以同時發揮多種作用，同時扮演氧化劑及凝結劑的角色去除污染物 (Lee et al., 2003)。

在處理氣體類污染物方面，可先使其呈液相再以六價鐵加以處理，研究指出六價鐵可以成功去除煙囪廢氣中的 SO_2 、 NO 及 Hg^0 ，當 pH 值為 8.0、氣體流速為 1 L/min、溫度為 320K，而六價鐵濃度為 0.25 mmol/L 達到最佳反應條件，而去除率分別是 100、64.8、81.4% (Zhao et al., 2014)。

相較於其他常用的消毒劑，高鐵酸鉀能夠比一般的消

毒劑更有效的滅活細菌和病毒且不會產生任何的致突變/致癌的副產物(DeLuca et al., 1983)。

高鐵酸鉀和臭氧不同，六價鐵不與溴離子反應，在處理含有溴化物的污染水時，並不會產生致癌的溴酸根離子(Sharma et al., 2005)。而處理耐氣的細菌時，例如：好氧孢子形成物 (Aerobic spore-formers)、亞硫酸鹽還原梭菌 (Sulphite-reducing clostridia)，六價鐵也能達到有效的去除作用(Sharma, 2007)。

和低氯酸鹽相比，pH 值對於六價鐵之影響較小，在使用次氯酸鹽消毒時，其所需濃度及接觸時間都比六價鐵來的高(Jiang et al., 2003)。

在滅活大腸桿菌方面，在室溫下、pH 5.5 時，當增加消毒劑的濃度及接觸時間時，使用次氯酸鈉使大腸桿菌失活的效果較高鐵酸鉀不好，隨著 pH 值的上升，其效果更是有顯著的差異(Jiang et al., 2007)。

另一項研究也顯示 pH 值會影響六價鐵使失活的效果，當 pH 值下降時，大腸桿菌的失活數提高，而六價鐵自身的氧化還原反應也從 pH 值 8.2 時衰變 10%增加至 pH 為 5.6 時的 80%(Cho et al., 2006)。

除了可以使大腸桿菌失活之外，在 f2 大腸桿菌噬菌體 (Schink & Waite, 1980)和 Q β 大腸桿菌噬菌體(Schink et al., 1980)的失活實驗中，也發現暴露時間、pH 值、高鐵酸鉀的濃度皆會影響六價鐵滅菌的效果。

在處理難以從水中去除的藻類時，使用六價鐵做為預氧化劑也能有顯著的效果，在預氧化步驟加入高鐵酸鉀，可以減少明礬的使用濃度，除了在短時間內可有效增強明礬在混凝沉澱中去除藻類的效果，在延長接觸時間下去除效率更進一步提高(Ma & Liu, 2002)。

2.3 大腸桿菌

大腸桿菌 *Escherichia coli* (*E. coli*) 主要寄生於溫血動物的腸道內，約佔腸道菌中的 0.1%。大腸桿菌為革蘭氏陰性菌，其菌株呈現短桿狀，無芽孢且具鞭毛會運動，為兼性厭氧菌，在有氧或無氧狀態下皆可生長，藉由宿主動物的排便，大腸桿菌可散布到許多自然生態環境中，離開腸道後可在環境中大量滋生約三天，隨後菌數下降便死亡(劉仲康, 1996)。

大多數大腸桿菌菌株是無害的，正常情形下與宿主保持共生的關係，其致病菌株的主要傳染途徑是藉由糞口傳染，由於大腸桿菌可以在體外存活一段時間，因此成為環境衛生檢測的微生物指標之一。

台灣衛生福利部食品藥物管理署(2013)在一般食品衛生標準下也對大腸桿菌有規定，而大腸桿菌所造成的感染及死亡案例也層出不窮，民國 107 年時，即有 5 案件是因病原性大腸桿菌造成食物中毒，其患者數高達 614 人。

2011 年德國北部種植的豆芽受到「腸道出血性大腸桿菌感染症」(EHEC) 污染，釀成公衛風暴，其中疫情漫延 12 國，有三千多人受害，造成 22 人死亡(羅彥傑, 2011)。而 2018 年 11 月，美國食品藥物管理局 (FDA) 也指出全美爆發蘿蔓生菜遭

大腸桿菌污染的疫情，有 11 個州及加拿大二省受到波及，其中有 32 人因食用生菜導致生病，更有人出現「溶血性尿毒症綜合症」(hemolytic uremic syndrome)，症狀包括腎衰竭(林慧淳, 2018)。



2.4 金黃色葡萄球菌

金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)，隸屬葡萄球菌屬 (*Staphylococcus*)。其呈球型，在顯微鏡下排列為葡萄串狀，有莢膜，無鞭毛及芽孢，為一不運動之需氧或兼性厭氧之革蘭氏陽性菌。在肉眼觀察下，呈有光澤之黃色圓凸型菌落，最適生長溫度為 37°C，最適生長之 pH 值為 7.4，在乾燥環境下可生長數月，加熱 80°C、30 分鐘才能殺死。

通常存在人類之鼻、咽、喉及皮膚表面，常造成伺機性感
染，包含皮膚膿包、肺部、血液感染和食物中毒，嚴重者可引
起敗血病、肺炎或壞死筋膜炎等，衛生福利部食品藥物管理屬
顯示(2018)，近三十年來，因金黃色葡萄球引發食物中毒之患者
人數近 600 人。

第三章、研究方法

3.1 研究架構

本研究目的在於確定高鐵酸鉀對不同種類細菌的失活效果，實驗主要分為三大部份，第一部份為針對水中生存之大腸桿菌進行實驗；第二部份為針對空氣中採樣之細菌及特定環境出沒之致病菌進行實驗，本實驗以金黃色葡萄球菌為實驗標的，第三部分則探討高鐵酸鉀純度對細菌失活效果的影響，整體架構如圖 3-1 所示。



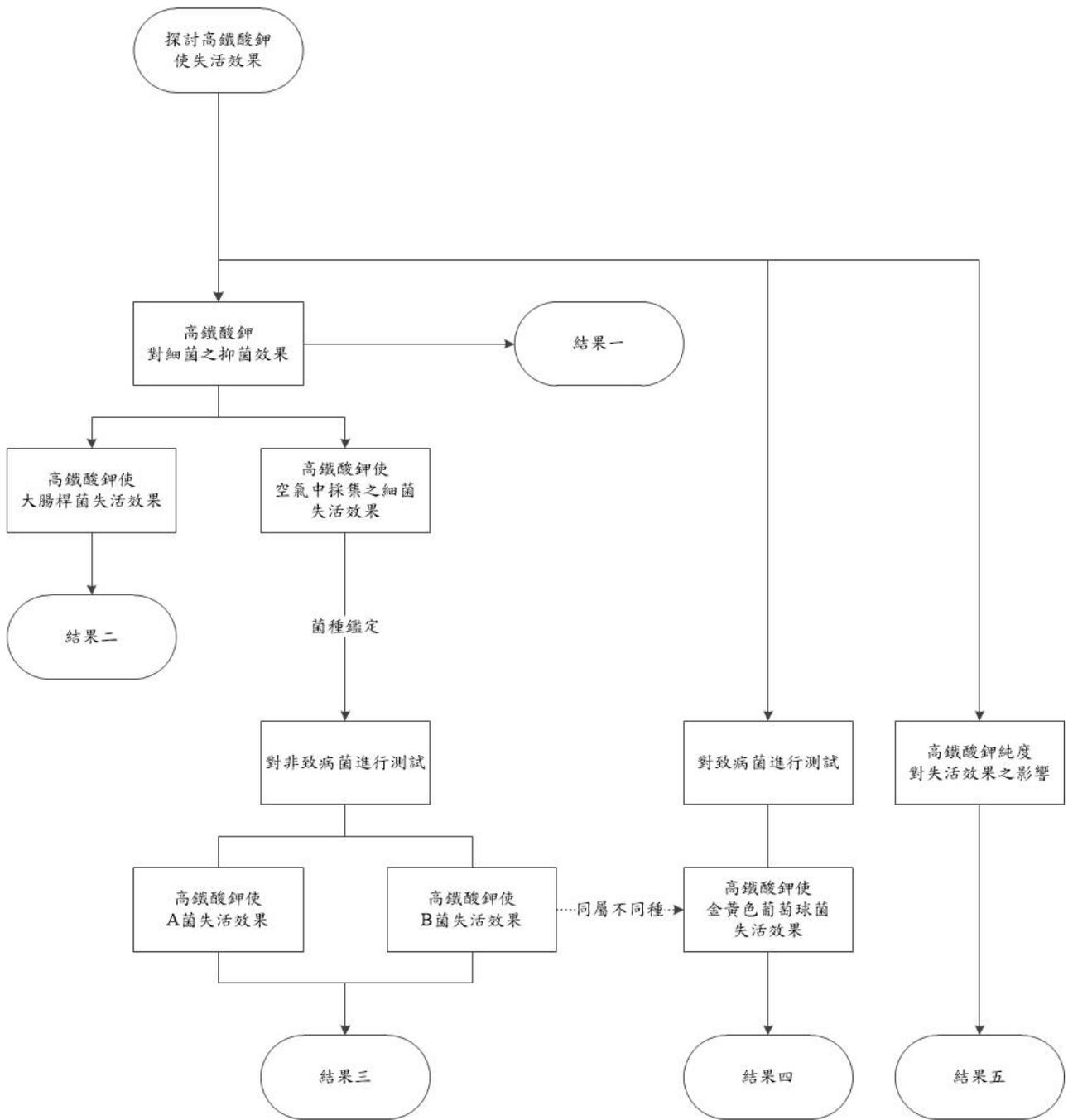


圖 3-1、研究架構

3.2 實驗材料與設備

本研究所使用藥品、設備及儀器如表 3-1、表 3-2，本研究使用菌樣於研究後皆以直立式滅菌釜滅菌處理。

表 3-1、實驗藥品清單

中文名稱/英文名稱	濃度	廠牌	說明
高鐵酸鉀 Potassium ferrate(VI)		天津威一化工	市售、純度 15%
		實驗室製備	純度 73、90%
磷酸二氫鉀 KH ₂ PO ₄		Sigma-Aldrich	細菌儲存溶液
1 M 氫氧化鈉 Sodium hydroxide	97%	Showa	調整 pH 之用
1 M 鹽酸 Hydrochloric acid	37%	Sigma-Aldrich	調整 pH 之用
硫代硫酸鈉 Na ₂ S ₂ O ₃ ·5H ₂ O		Sigma-Aldrich	0.1 M
大腸桿菌 <i>Escherichia coli</i>			ATCC 11775
金黃色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>			NTCT 8532

表 3-2、實驗設備及儀器

名稱	廠牌 / 型號	國家	說明
紫外光/可見光 分光光譜儀 (UV-Vis)	Jasco / V-630		檢測 高鐵酸鉀純度
高溫高壓滅菌釜	大正和蒸氣滅菌器 / A1	台灣	消毒器具
直立式滅菌釜	Tomin medical equipmenco.,LTD / TM-329	台灣	滅菌
無菌操作台	ESCO / Class II BSC	新加坡	
試管震盪器	Thermo / VORTEX MAXI MIX II	美國	
抽氣過濾幫浦	GAST / DOA-P704-AA	美國	
恆溫培養箱	程揚儀器有限公司 / CYI-50D	台灣	
尼龍濾紙	ADVANTEC / C020A047A	日本	

3.3 實驗方法

本研究使用市售純度 15% 高鐵酸鉀為消毒劑，參考文獻

(Cho et al., 2006) 歸納出下列實驗方法：

3.3.1 實驗用藥品製備

在本實驗中，所有溶液皆使用去離子水(DI 水)製備，且所有容器皆使用去離子水潤洗並使用高溫高壓滅菌釜於 121°C 下滅菌 15 分鐘，以確保其不受污染不干擾實驗。

3.3.3.3 Luria-Bertaini 培養液

本研究所有菌種皆使用 LB 培養液進行培養。將以下材料（表 3-3）加入至 1L 去離子水水中並調 pH 值至 7.0 後，以高溫高壓滅菌釜在 121°C 滅菌 20 分鐘，冷卻後即可使用，並保存於 4±2°C。

表 3-3、製備 Luria-Bertaini 培養液藥品

藥品	製備 1L 所需的量
Typtone	10g
Yeast Extract	5g
NaCl	10g
Ampicillin	

3.3.3.4 培養基製備

製成固態培養基則需在調整 pH 值後加入 1.5%（質量

體積比) 的瓊脂 (Agar) 再滅菌，冷卻至約 55°C 後，於無菌操作台分裝至 90mm 無菌培養皿，於室溫下凝固，保存於 4±2°C，保存期限 14 天。

3.3.3.5 大腸桿菌儲存溶液

製備大腸桿菌儲存溶液需將培養的大腸桿菌接種到 50mL 的 LB 培養液中，以恆溫培養箱 37°C 培養 18 小時後，以 4500rpm 離心 15 分鐘，並以 pH 值 7.0 的磷酸鹽緩衝溶液 (Phosphate buffer solution, PBS) 潤洗兩次。

潤洗後重新以 50mL PBS 重新懸浮大腸桿菌，得大腸桿菌儲備溶液 (圖 3-2)。

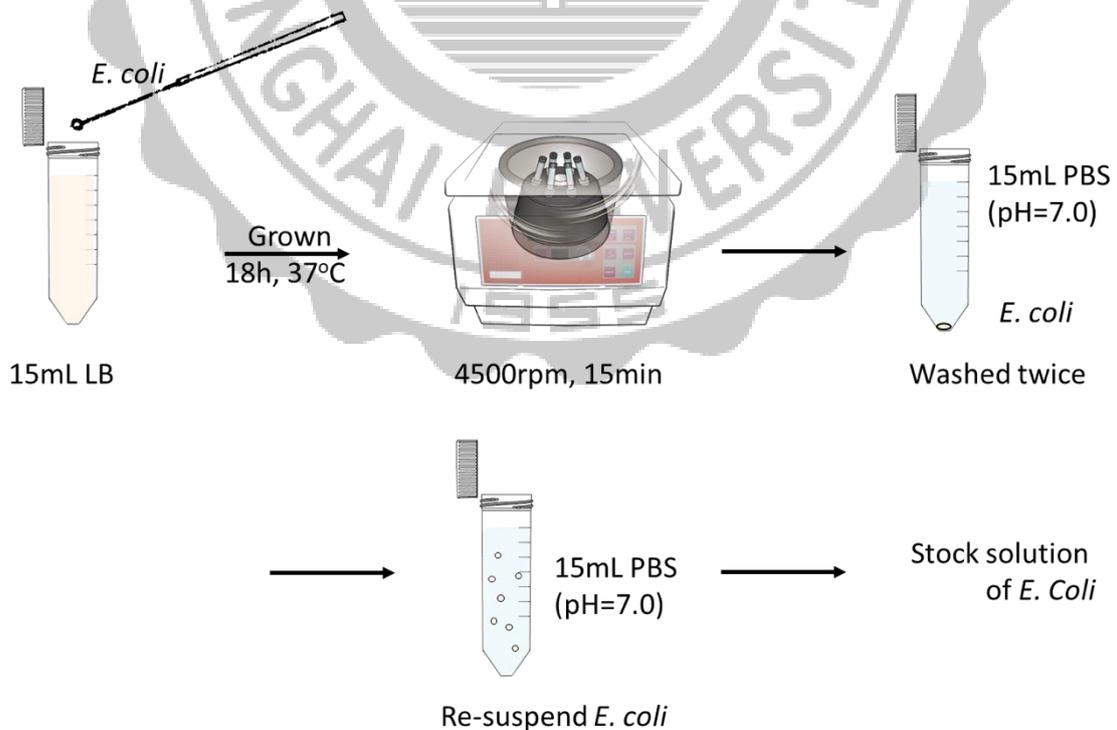


圖 3-2、製備大腸桿菌儲存溶液

3.3.3.6 高鐵酸鉀儲存溶液

製備高鐵酸鉀儲存溶液需將適量的高鐵酸鉀（市售，純度 15%）粉末加入去離子水中，以 0.2 μ m 的尼龍濾紙抽氣過濾以去除已還原的膠態三價鐵以及其他顆粒雜質，最後以氫氧化鈉（NaOH）及鹽酸（HCl）調整 pH 值至 9.0（圖 3-3）。

為了避免高鐵酸鉀還原影響實驗，製備完成後在一小時內使用。

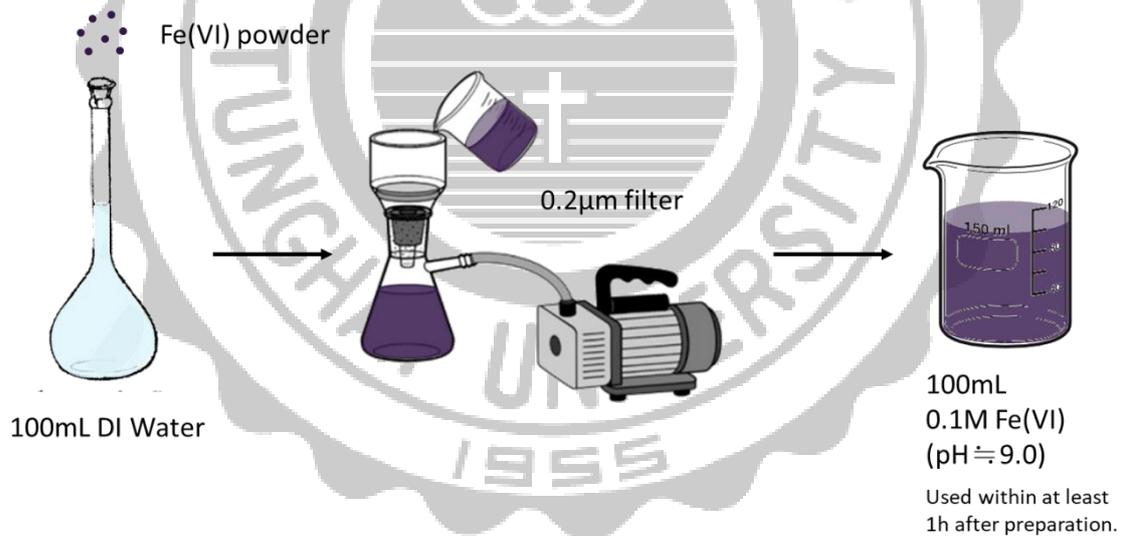


圖 3-3、製備高鐵酸鉀儲存溶液

3.3.3.7 pH 7.0 磷酸鹽緩衝溶液 (Phosphate Buffer Solution)

以 17g 磷酸二氫鉀 (KH_2PO_4) 加入 250mL 之去離子水均勻混合後，以 HCl、NaOH 調整 pH 值至 7.0，並以 0.45 μm 的尼龍濾紙抽氣過濾。

取 1.25mL 溶液稀釋成 1L 後，使用高溫高壓滅菌釜以 121 $^\circ\text{C}$ 滅菌 15 分鐘，以確保其不受污染不影響後續實驗進行 (圖 3-4)。

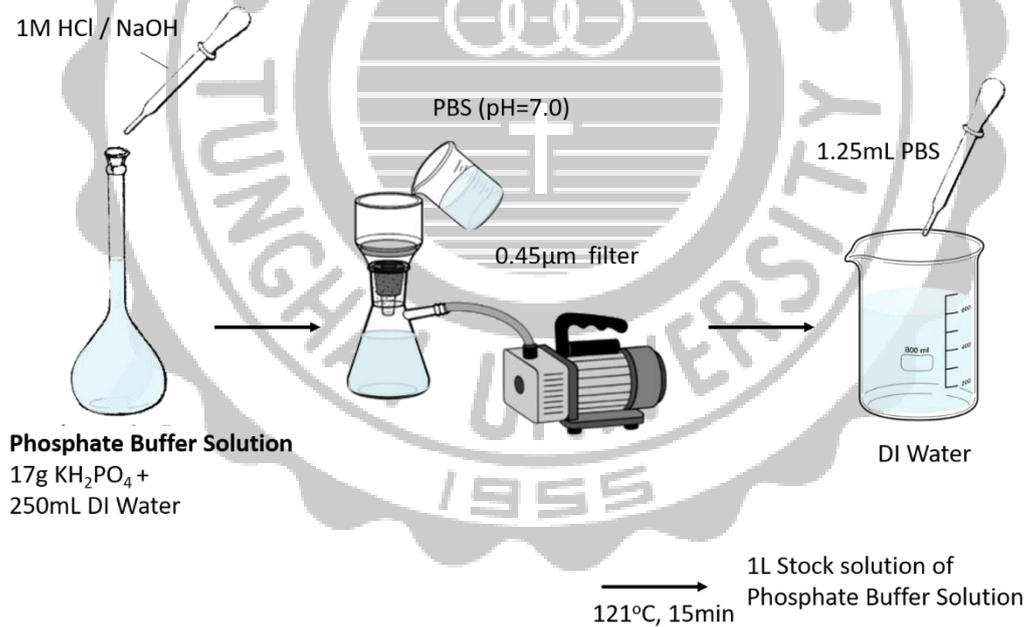


圖 3-4、製備 pH 7.0 磷酸鹽緩衝溶液

3.3.3.8 0.1M 硫代硫酸鈉溶液 (Thiosulfate solution ,

Na₂S₂O₃)

硫代硫酸鈉溶液能夠將 Fe(VI)終止反應還原成

Fe(III)，停止其對大腸桿菌的反應，不再使大腸桿菌失

活。其終止反應方程式為：



將 2.482 g Na₂S₂O₃ 溶於 100mL 的去離子水中，並使用 1 M HCl 及 NaOH 調整 pH 值到 7.0，使用高溫高壓滅菌釜以 121°C 滅菌 15 分鐘，以確保其不受污染不影響後續實驗進行。

3.3.2 高鐵酸鉀對細菌之抑菌效果

要探討高鐵酸鉀對細菌之抑菌效果時，將菌樣以微量移液管取 20 μL 置於培養基上，並以三角玻棒均勻塗佈其上後，取適量高鐵酸鉀至於培養皿。置於恆溫培養箱於 37°C 培養 18hr 後，觀察其抑菌圈探討其是否使細菌無法生長達到抑菌效果（圖 3-5）。

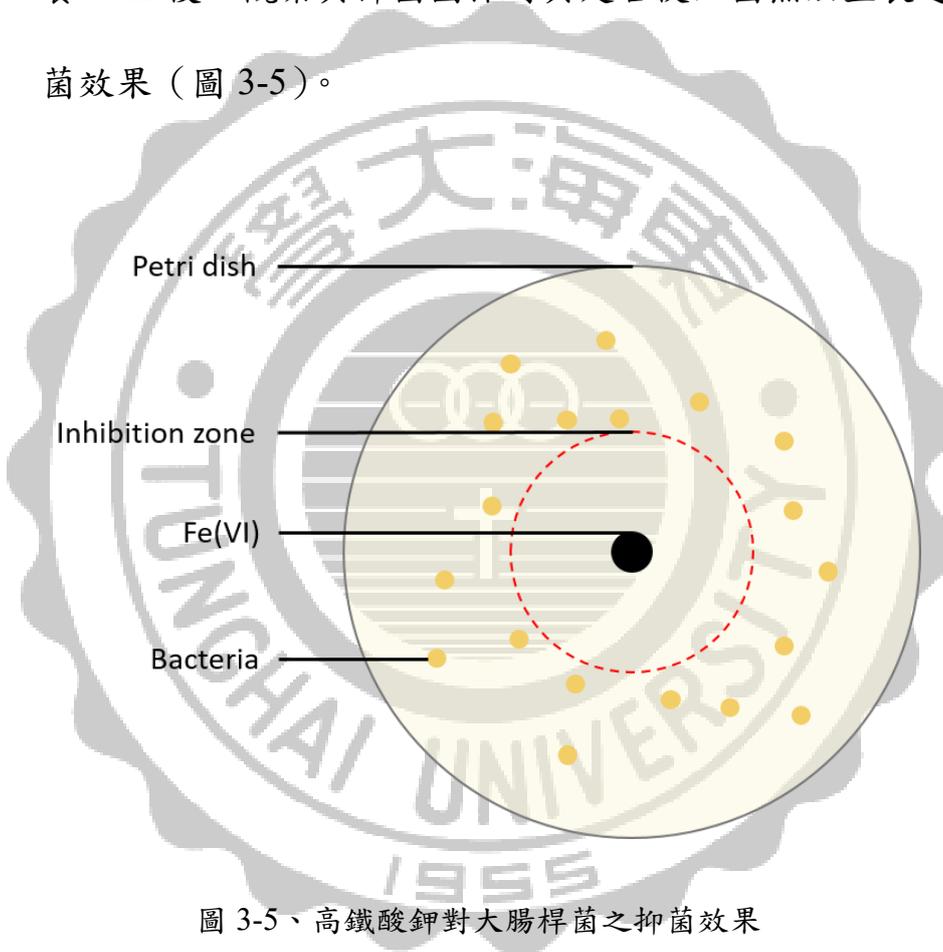


圖 3-5、高鐵酸鉀對大腸桿菌之抑菌效果

3.3.3 高鐵酸鉀對大腸桿菌之失活效果

本實驗使用濃度為 1~5 mg/L 之高鐵酸鉀溶液在室溫下對大腸桿菌進行反應，於每半分鐘取樣直到反應時間達五分鐘，探討高鐵酸鉀對大腸桿菌失活效果作為後續研究參考。

3.3.3.1 細菌接種及培養

將大腸桿菌與 LB 培養液以體積比 1:9 配置，並置於恆溫培養箱以 37°C 培養 18 小時後，取出以 4±2°C 保存。

每次要使用時，以微量滴管取出 100μL 與 900μL 之 LB 培養液混和，並置於恆溫培養箱以 37°C 培養 18 小時兩次，而原菌液在每次取菌液後，則需再加入 LB 培養液，並置於 37°C 培養 18hr，4±2°C 保存。

3.3.3.2 高鐵酸鉀對大腸桿菌之失活效果 (Inactivation effect)

3.3.3.2.1 高鐵酸鉀對大腸桿菌之失活效果

等體積混和高鐵酸鉀儲存溶液與大腸桿菌儲存溶液，並使用試管震盪器持續震盪，每 0.5 分鐘取樣直到 5 分鐘，取出的溶液加入 0.1M 硫代硫酸鈉溶液使六價鐵快速轉變成三價鐵以終止反應 (圖 3-6)，並進行大腸桿菌菌落計數。

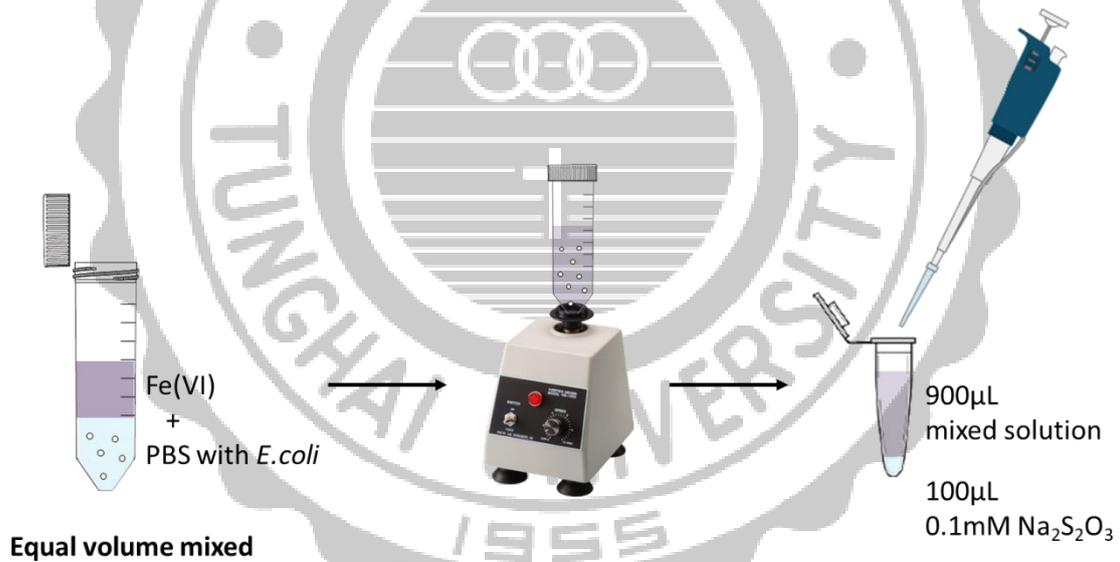


圖 3-6、高鐵酸鉀對大腸桿菌之失活效果

3.3.3.2.2 菌落計數

參考環保署 102 年 4 月 16 日公告之水中總菌落數
檢測方法－塗抹法 (NIEA E203.56B)。

取樣前以試管震盪器搖晃菌液使大腸桿菌均勻懸
浮，並使用微量滴管取 100 μL 菌液滴入有 900 μL 磷
酸鹽緩衝溶液之微量離心管中形成 10 倍稀釋度之菌
樣，混合均勻。而後自 10 倍稀釋度菌樣以相同操作
方式進行 10^2 、 10^3 倍等稀釋菌樣並混搖均勻。

以微量移液管取各稀釋度之菌樣 20 μL 滴在培養
基上，並以三角玻棒均勻塗佈其上。置於恆溫培養箱
於 37°C 培養 18hr 後，觀察其菌落數 (圖 3-7)。有效菌
落數為 3~300 個之間，取各稀釋度有效菌落數以下列
公式進行總菌落數計算，單位為 CFU/mL (Colony
forming units/mL)。

實驗進行前，以塗抹法取得初始菌液之最佳稀釋
度，將初始菌落數控制在 $10^4 \sim 9 \times 10^4$ 間，實驗進行
時，所有實驗均需以試管震盪器均勻混和菌液並且進
行二重覆。

$$\text{總菌落數 (CFU/mL)} = \frac{X1+Y1+X2+Y2+\dots}{(0.02/D1)+(0.02/D1)+(0.02/D2)+(0.02/D2)+\dots} \dots (10)$$

D1、D2：選取培養皿之稀釋度

X1、Y1：D1 稀釋度的培養皿之有效菌落數

X2、Y2：D2 稀釋度的培養皿之有效菌落數

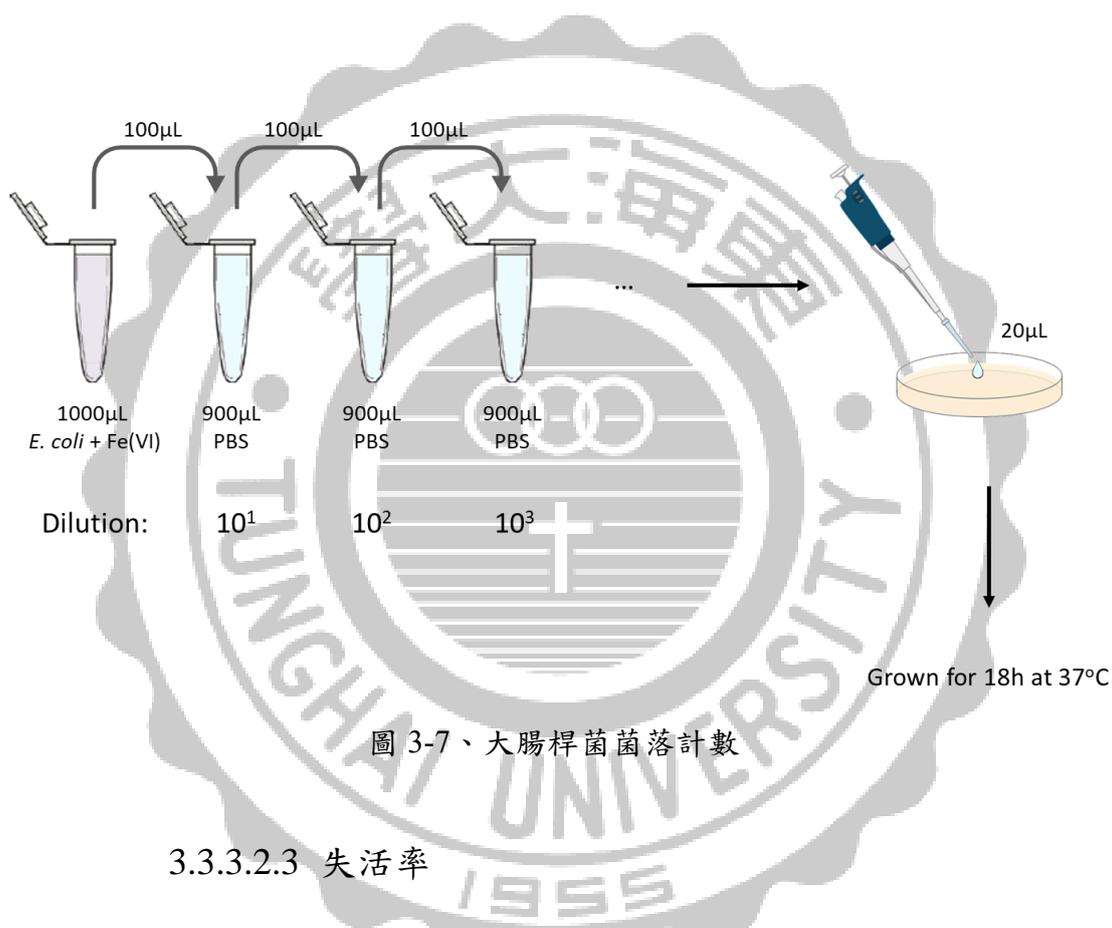


圖 3-7、大腸桿菌菌落計數

3.3.3.2.3 失活率

菌樣依上述方法得各取樣點之總菌落數，將初始菌落數 (N_0) 與各取樣點菌落數 (N) 差值及初始菌落數比值及得到失活率。

$$\text{Inactivation rate}(\%) = (N_0 - N)/N_0 \times 100\% \dots (11)$$

3.3.4 高鐵酸鉀對空氣中細菌之失活效果

本實驗使用濃度為 25、50、100、150、200 mg/L 之高鐵酸鉀溶液在室溫下對空氣中採集之細菌進行反應，於每分鐘取樣直到反應時間達五分鐘，最後以塗抹法計算各樣點總菌落數及失活率，進而探討高鐵酸鉀對空氣中採集細菌之失活效果。

3.3.4.1 細菌採集、接種及培養

3.3.4.1.1 細菌採集

於東海大學理學院 S106，將 90mm 無菌培養皿置於離地面約 120 至 150 公分之高度採樣 24 小時後，置於恆溫培養箱以 37°C 培養 18 小時使菌落生長，並以 4±2°C 保存。

3.3.4.1.2 細菌接種及培養

從經過 37°C 培養 18 小時後的培養基上分離出兩株菌種 A (乳白色)、B (鵝黃色)，接種至 LB 培養液中，於恆溫培養箱以 37°C 培養 18hr，4±2°C 保存。

每次要使用時，以微量滴管取出 100μL 與 900μL 之 LB 培養液混和，並置於恆溫培養箱以 37°C 培養 18

小時兩次。且原菌液在每次取菌液後，則需再加入 LB 培養液，並置於 37°C 培養 18hr，4±2°C 保存，並依照大腸桿菌儲存溶液之方法分別配置成 A、B 儲存溶液。

3.3.4.2 高鐵酸鉀對空氣中細菌之失活效果

將高鐵酸鉀儲存溶液與 A、B 儲存溶液分別等體積混和，並使用試管震盪器持續震盪，相隔一段時間取樣，取出的溶液加入 0.1M 硫代硫酸鈉溶液使六價鐵快速轉變成三價鐵以終止反應，並以塗抹法（NIEA E203.56B）進行菌落計數。

3.3.5 高鐵酸鉀對致病性細菌之失活效果

本實驗使用濃度為 100~500 mg/L 之高鐵酸鉀溶液在室溫下對金黃色葡萄球菌進行反應，於每分鐘取樣直到反應時間達三十分鐘，最後以塗抹法計算各樣點總菌落數及失活率，進而探討高鐵酸鉀對致病性及非致病性細菌之失活效果。

3.3.6 細菌鑑種

細菌在演化過程中 16S 核糖體 RNA (16S rRNA) 的變化程度相當低，16S rRNA 基因由大約 1,500 個鹼基對組成(Jo et al., 2016)，其中有 V1~V9 共 9 個高度變異區域 (High Variable Regions, HVRs)，透過選擇其中高變區的序列 (圖 3-8)，利用此區域進行聚合酶連鎖反應 (PCR) 的專一性放大增福，透過定序、比對資料庫，進行細菌種類鑑定 (圖 3-9)。

而透過 PCR 得到的擴增子 (Amplicon)，其增幅片段的長度也與其分類精準度有關，以屬來說，當擴增子長度達到 200 鹼基序列時，其分類精準度達 81.7%，隨長度增加到 400 鹼基序列則提升至 90%，達 900 鹼基序列其分類精準度為 94.1%，但當序列小於 200 鹼基時，其分類精準度顯著降低 (圖 3-10) (Nossa et al., 2010)，而本研究查詢的鹼基序列長度為 1410 及 1430。

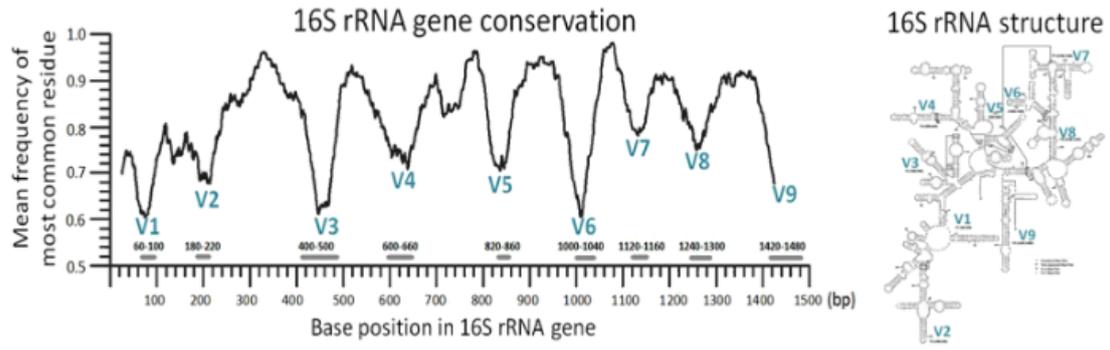


圖 3-8、16S RNA 中 9 個高度變異區域

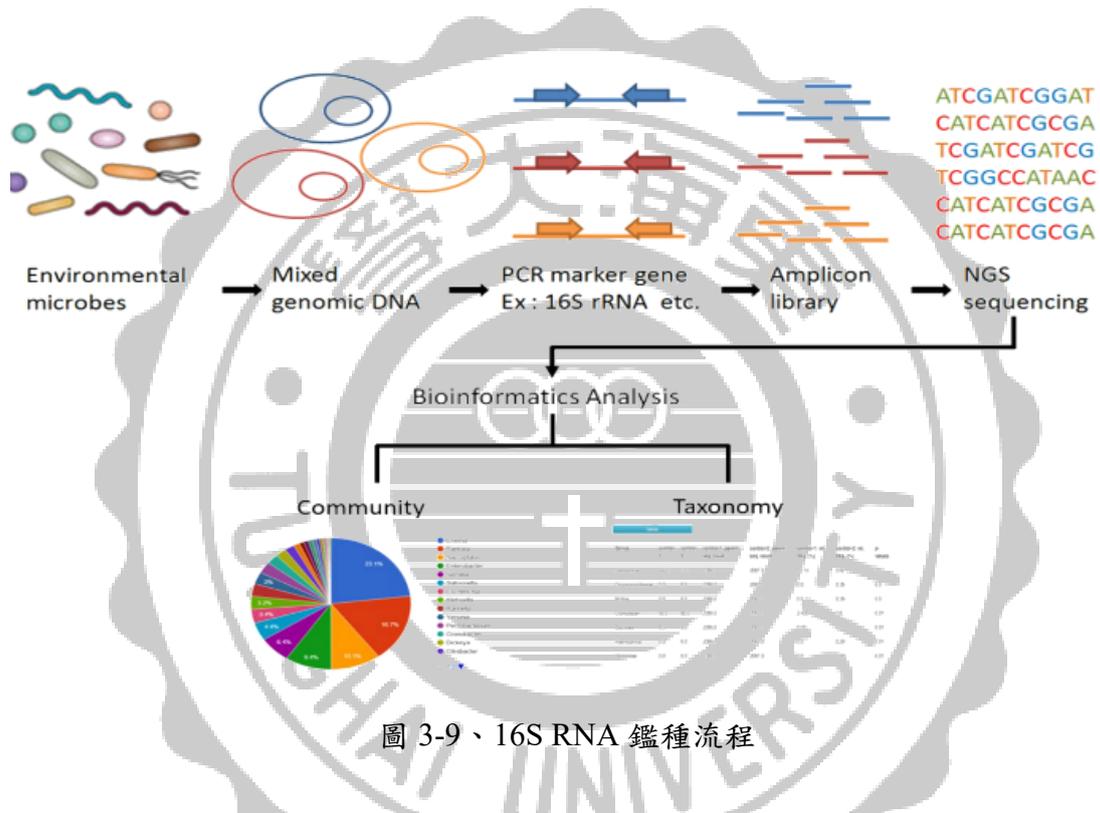


圖 3-9、16S RNA 鑑種流程

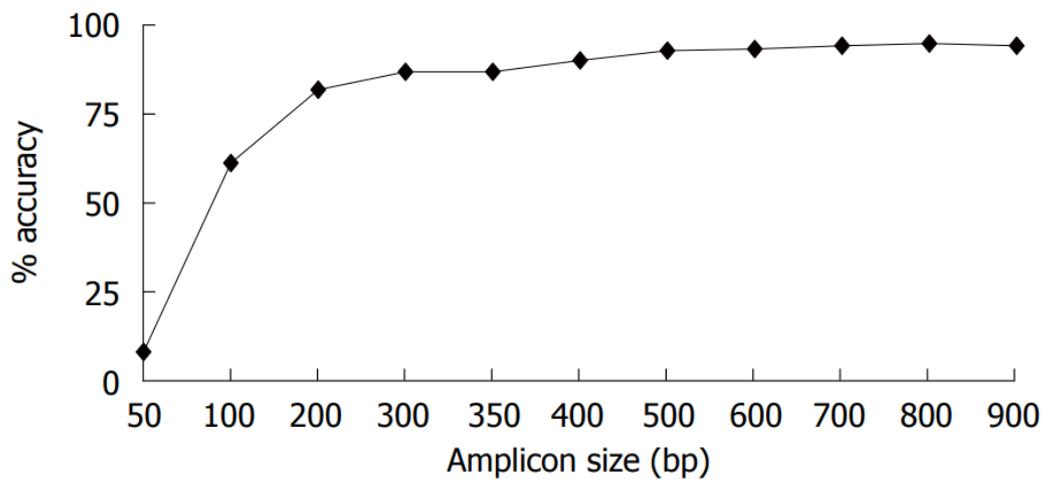


圖 3-10、擴增子增幅片段長度與其分類精準度

3.3.7 高鐵酸鉀純度測試

實驗室已使用濕式氧化法製備出純度 73%、90%之高鐵酸鉀，因製備之高鐵酸鉀純度無法固定且產率低，故使用市售之純度 15%高鐵酸鉀進行本研究。

本部份為探討高鐵酸鉀純度是否對實驗造成影響而比較三種不同純度：15%、73%、90%的高鐵酸鉀對大腸桿菌的失活效果，其純度測定方法如下。

精秤 0.05g 之高鐵酸鉀於 100mL 定量瓶，並加入去離子水後，以 0.2 μ m 的尼龍濾紙抽氣過濾去除已還原之三價鐵及其餘雜質，得一 500ppm 之溶液並連續稀釋至 31.25ppm，以紫外光/可見光分光光譜儀 (UV-Vis) 進行分析 (圖 3-11)。

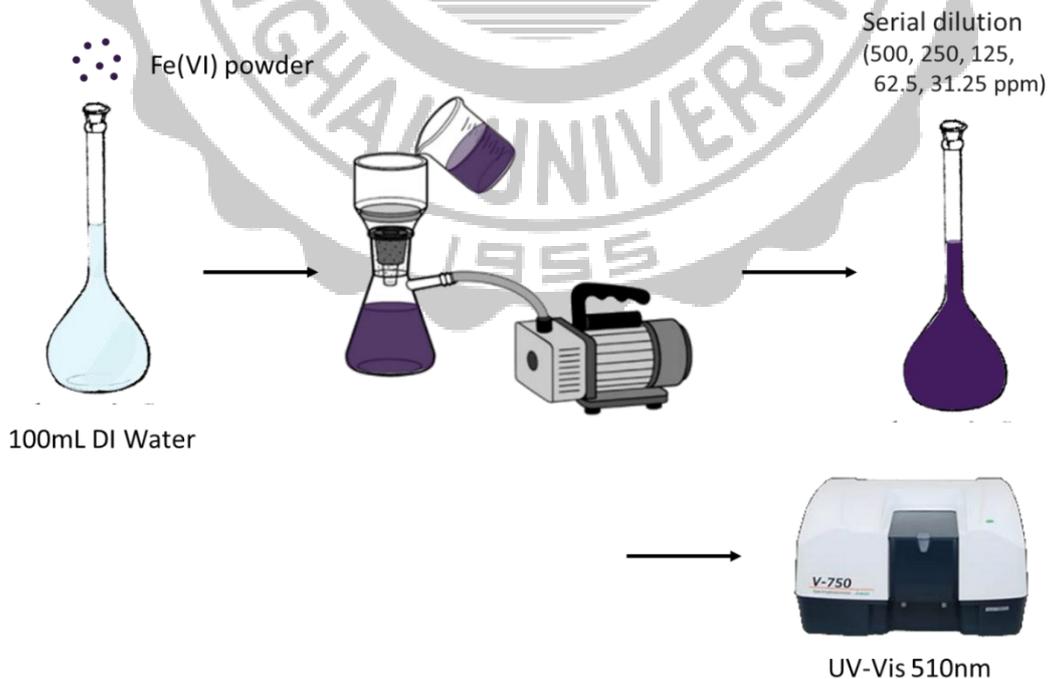


圖 3-11、高鐵酸鉀純度實驗流程

本實驗以紫外光/可見光分光光譜儀 (UV-Vis) 測定五種不同濃度之高鐵酸鉀在 510nm 之吸光值，並依據下列公式：

$$\varepsilon = A/BC \dots\dots\dots (12)$$

依據文獻(Bielski & Thomas, 1987)，得知高鐵酸鉀在 510nm 處有最大吸收峰，其莫耳吸光係數 (ε) 為 $1150 \pm 25 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ；而 A 為樣品的吸光度 (無單位， $A = \log \frac{P_0}{P}$)；B 為本實驗中使用的石英管光路 (cm)；C 為樣品中高鐵酸鉀之濃度 (mol L^{-1})。

將公式變化為下式，即可由公式求得高鐵酸鉀之重量百分比純度，而高鐵酸鉀分子量為 $198.04 \text{ g mol}^{-1}$ ：

$$\text{K}_2\text{FeO}_4 \text{ purity} = \frac{A}{1150} \times 0.1 \times \frac{198.04}{\text{weight of sample}} \times 100\% \dots\dots (13)$$

第四章、結果與討論

本研究結果分為兩大部分，其第一部分為確定高鐵酸鉀是否對欲進行實驗之細菌有抑菌效果，第二部分為利用高鐵酸鉀對欲進行實驗之細菌的失活影響，其又細分為對水中常見之大腸桿菌、空氣中採集之非致病性細菌及與空氣中採集細菌同屬不同種之致病菌——金黃色葡萄球菌做為研究目標。

4.1 菌樣

為後續實驗進行，我們使用大腸桿菌典型種 ATCC 11775、金黃色葡萄球菌典型種 NTCT 8532，以及從東海大學理學院 S106 研究室採集之菌種，並於採集後做菌種鑑定處理。

4.4.4 菌種採樣

將培養皿置於研究室二十四小時並培養後，採集到的培養皿如圖 4-1 所示。爾後從培養皿上取兩株顏色不同的細菌進行分離培養，分別為外觀呈乳白色 A 菌及鵝黃色 B 菌（圖 4-2）。

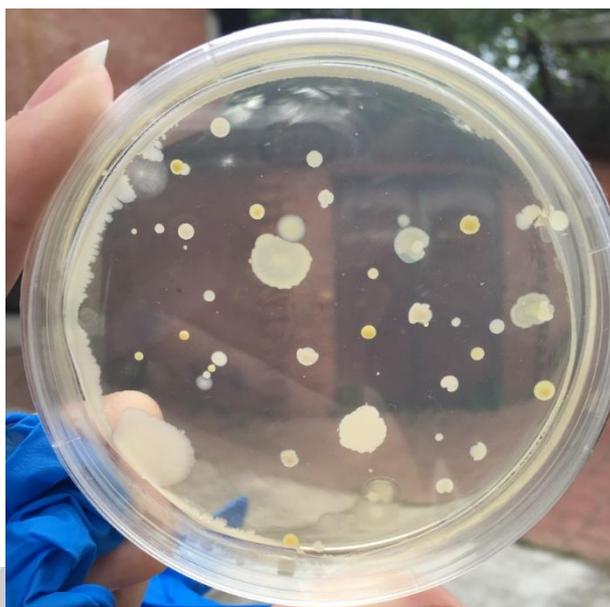


圖 4-1、東海大學理學院 S106 研究室採集之菌種

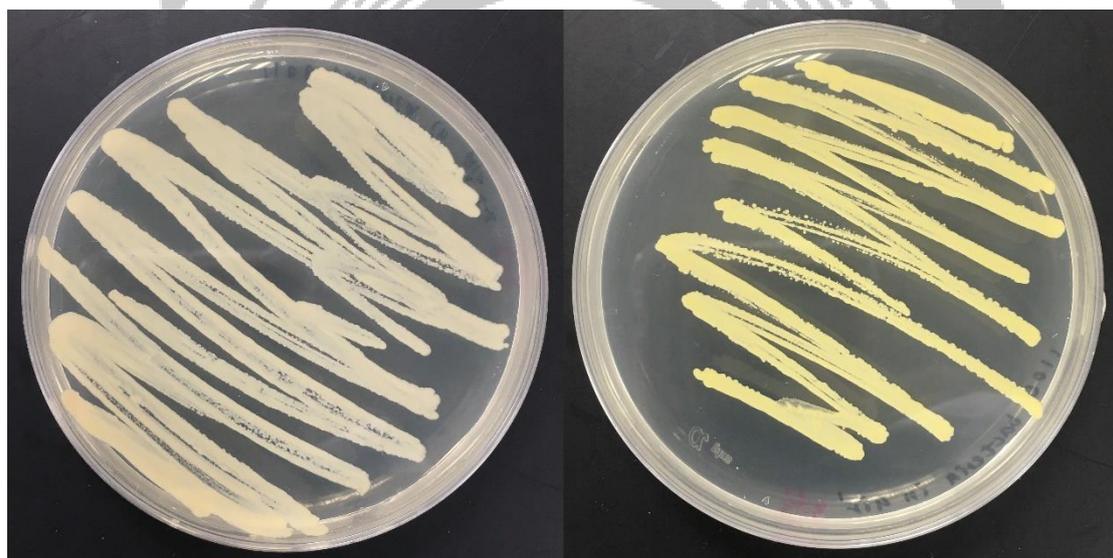


圖 4-2、分離培養之乳白色 A 菌及成鵝黃色 B 菌

4.4.5 菌種鑑定

本次進行研究之細菌皆送至明欣生物科技股份有限公司進行菌種鑑定，分別為，*Micrococcus* sp. strain CAU1456 及 *Staphylococcus kloosii* strain ATCC 43959，分述如下。

4.1.2.1 細菌 A：*Micrococcus sp. strain CAU1456_like*(99%)

細菌 A 如圖 4-3，其鑑種結果為微球菌屬

(*Micrococcus sp.*)。

根據文獻判斷(Kloos et al., 1974)其為 *Micrococcus lylae* *sp.*，在肉眼觀察下，菌落為圓凸型，其周圍平整，並呈乳白色光滑樣。其為革蘭氏陽性菌，成對、四聯或成簇出現，無動力且無孢子，為罕見運動之專性好氧菌，多見於土壤、水中，也常見於人和動物皮膚，為非致病菌，其最佳生長溫度為 25~37°C。

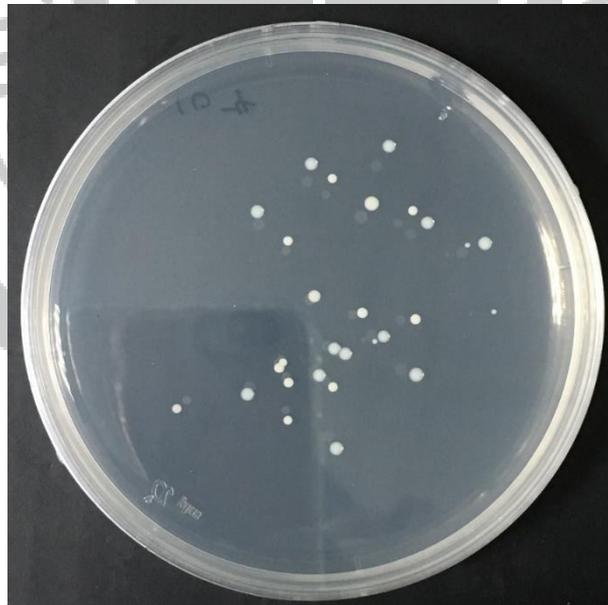


圖 4-3、A 菌：*Micrococcus sp. strain CAU1456_like*(99%)

4.1.2.2 細菌 B：*Staphylococcus kloosii* strain ATCC

43959_like(99%)

細菌 B 如圖 4-4，其鑑種結果為 *Staphylococcus kloosii* strain ATCC 43959。

Staphylococcus kloosii 為一革蘭氏陽性菌，在肉眼觀察下，菌落為圓凸型，其周圍平整，由單個、成對或成簇的球菌組成，好氧，其菌落可以是有色或是無色的，最初在野生動物的皮膚上發現(Schleifer et al., 1984)。

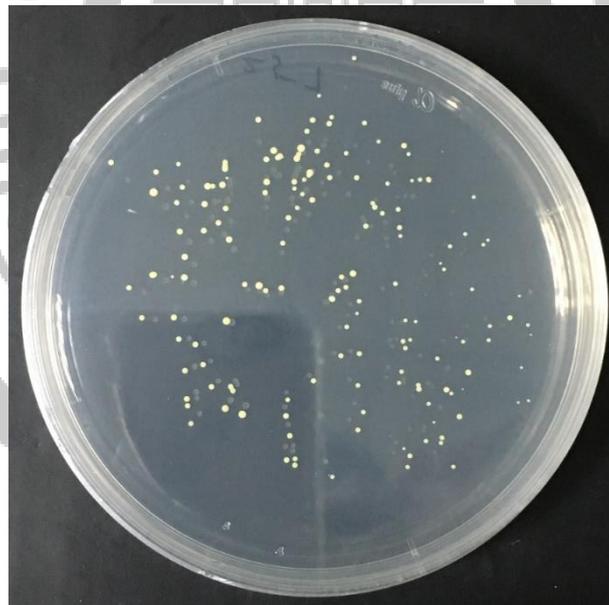


圖 4-4、B 菌：*Staphylococcus kloosii* strain ATCC 43959_like(99%)

4.2 高鐵酸鉀對細菌之抑菌效果

本實驗為觀察抑菌圈以探討高鐵酸鉀對細菌有一定程度之抑菌效果。

高鐵酸鉀不僅是對於生長在水中的大腸桿菌有抑菌的效果，對生長在空氣中的細菌也有抑菌效果。從圖 4-5、圖 4-6 及圖 4-7 可觀察到經過十八小時的培養後，高鐵酸鉀已從原本的暗紫色粉末還原成紅褐色的三價鐵，而較為接近高鐵酸鉀部分的培養基上皆無長出大腸桿菌、A 菌及 B 菌，形成了一空白區域，即為抑菌圈。

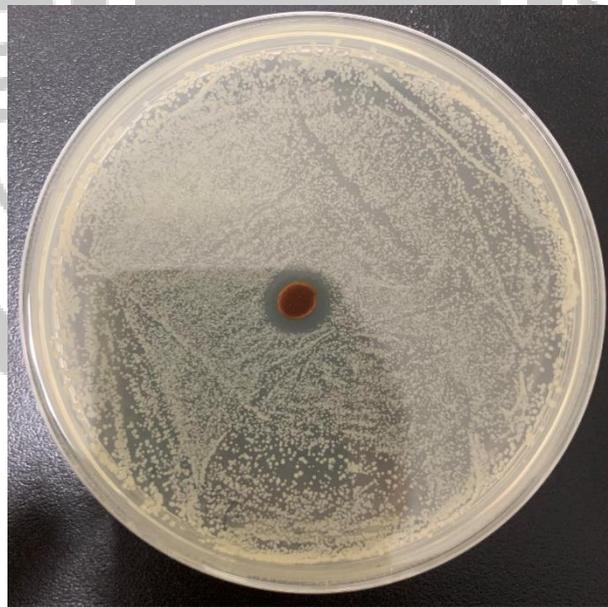


圖 4-5、高鐵酸鉀對大腸桿菌抑菌效果

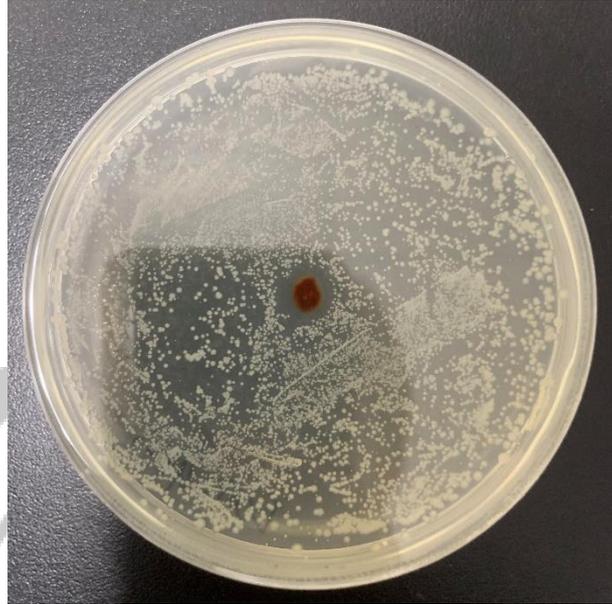


圖 4-6、高鐵酸鉀對 A 細菌之抑菌效果

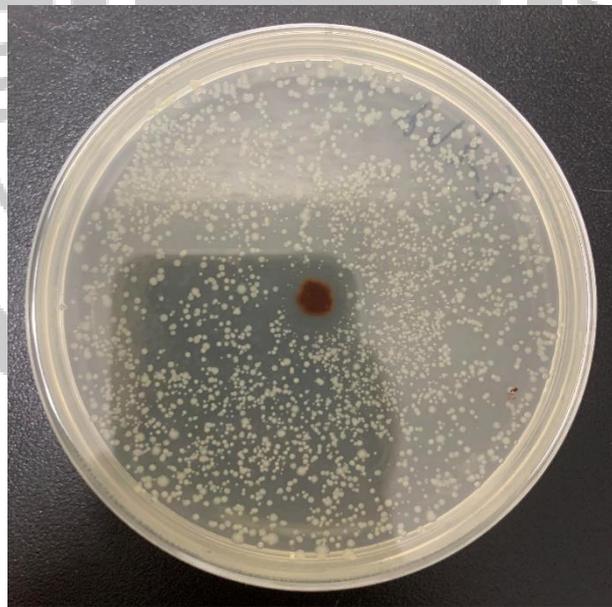


圖 4-7、高鐵酸鉀對 B 細菌之抑菌效果

4.3 高鐵酸鉀對大腸桿菌之失活效果

本實驗為探討高鐵酸鉀對於水中常見細菌大腸桿菌的失活效果。

在圖 4-8 可以觀察到，高鐵酸鉀的強氧化性質可有效使存活在水中之大腸桿菌失活，且使用高濃度之高鐵酸鉀使大腸桿菌失活的速率高於低濃度之高鐵酸鉀。

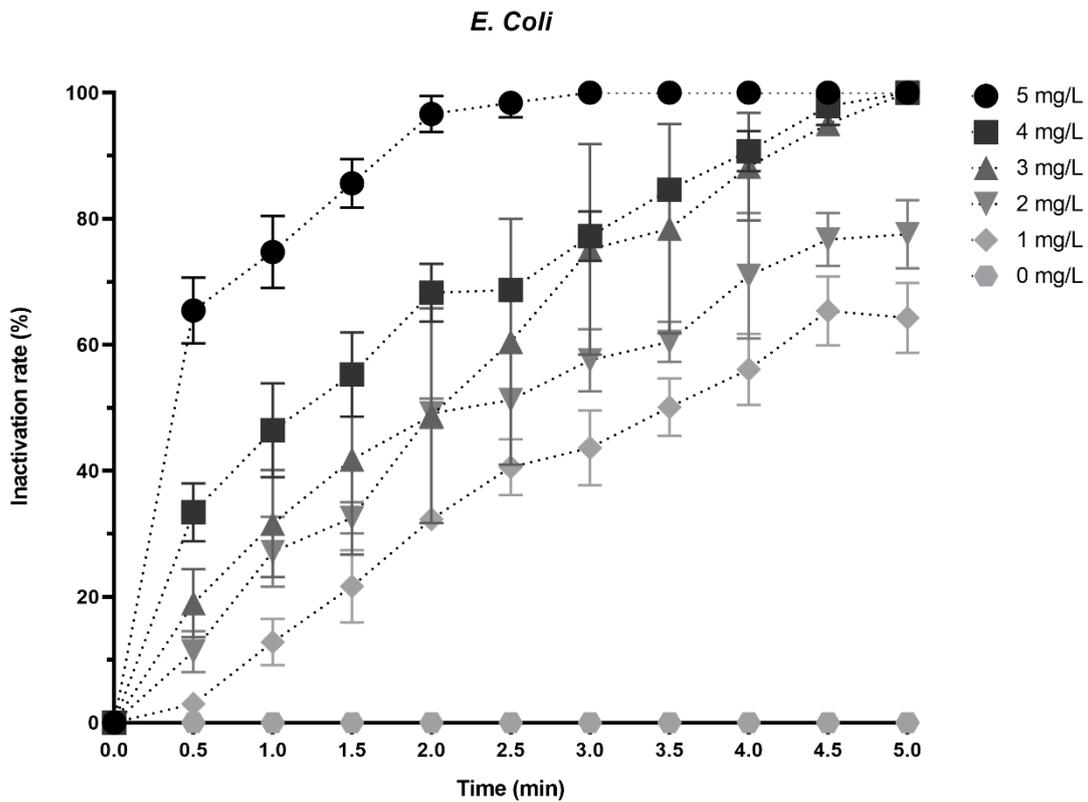


圖 4-8、高鐵酸鉀對於水中常見細菌大腸桿菌的失活效率

在前半分鐘的時候，使用濃度為 5 mg/L 的高鐵酸鉀可以達到 65.46% 的失活效果，但當濃度減少至為 1 mg/L 時，僅能使 2.98% 的大腸桿菌失活；在第二分鐘時，使用濃度為 5 mg/L 的高鐵酸鉀已可達到 96.93% 的失活效果，且在第三分鐘時即可達到 100% 失活效果，而使用濃度為 3 mg/L 及 4 mg/L 的高鐵酸鉀皆可以在第五分鐘使大腸桿菌達到 100% 失活，反之使用濃度為 1 mg/L 的高鐵酸鉀僅能使 64.77% 的大腸桿菌失活。

從圖 4-8 可發現，當高铁酸鉀濃度大於 3 mg/L 時，縱使在最初幾分鐘的效果都不如高濃度的好，不過將反應時間達到五分鐘時，皆能達到 100% 失活效果。但將濃度減少至 2 mg/L 時，可發現縱使將反應時間拉長至五分鐘，其最大失活率僅在 76~77%，對於濃度為 1 mg/L 時，在第四、五分鐘也僅能達到 65.36、64.77% 失活率。說明若從時間上考量，要快速使大腸桿菌達到失活效果，需增加濃度，反之當濃度不足時，縱使將反應時間增長，失活率皆不會再繼續提高，因此我們講採集空氣中的細菌，更進一步探討高铁酸鉀對於存活於不同環境之細菌的失活效果。

4.4 高鐵酸鉀對空氣中採集細菌之失活效果

本實驗為探討高鐵酸鉀對於空氣中採集之細菌之失活效果。

在圖 4-9 可觀察到高鐵酸鉀亦可使空氣中採集到之細菌失活，但濃度需提高到至少 25 mg/L，且對於存在於相同環境之細菌使用相同濃度的高鐵酸鉀會達到不同的效果。

對於 A 菌 (*Micrococcus sp.*) 來說，使用濃度為 25 mg/L 的高鐵酸鉀時，在第五分鐘僅能達到 19.47% 失活率，但提高濃度為 50 mg/L 時，在第五分鐘即可達到 98.34% 失活效果，然而繼續提升濃度至 100 mg/L 時，在第三分鐘可達到 96.06% 失活率，且第四分鐘達到 100% 失活率。

與 A 菌不同，要滅活 B 菌 (*S. kloosii*) 則需要更高濃度的高鐵酸鉀。當使用濃度為 50 mg/L 的高鐵酸鉀且反應時間為五分鐘時，僅能達到 60.79% 失活率，但將濃度提升至 100 mg/L 時，在第五分鐘也僅達到 84.88% 失活率，繼續將濃度提高至 200 mg/L 時，在第一分鐘即可使 B 菌 100% 失活。

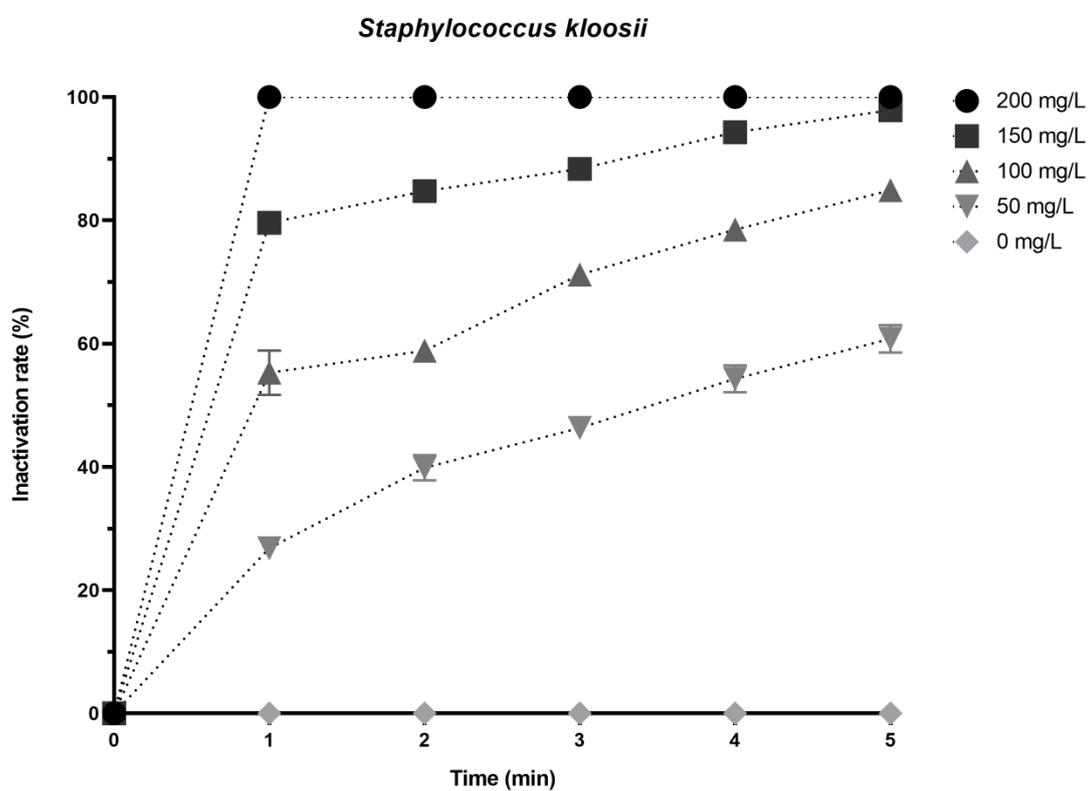
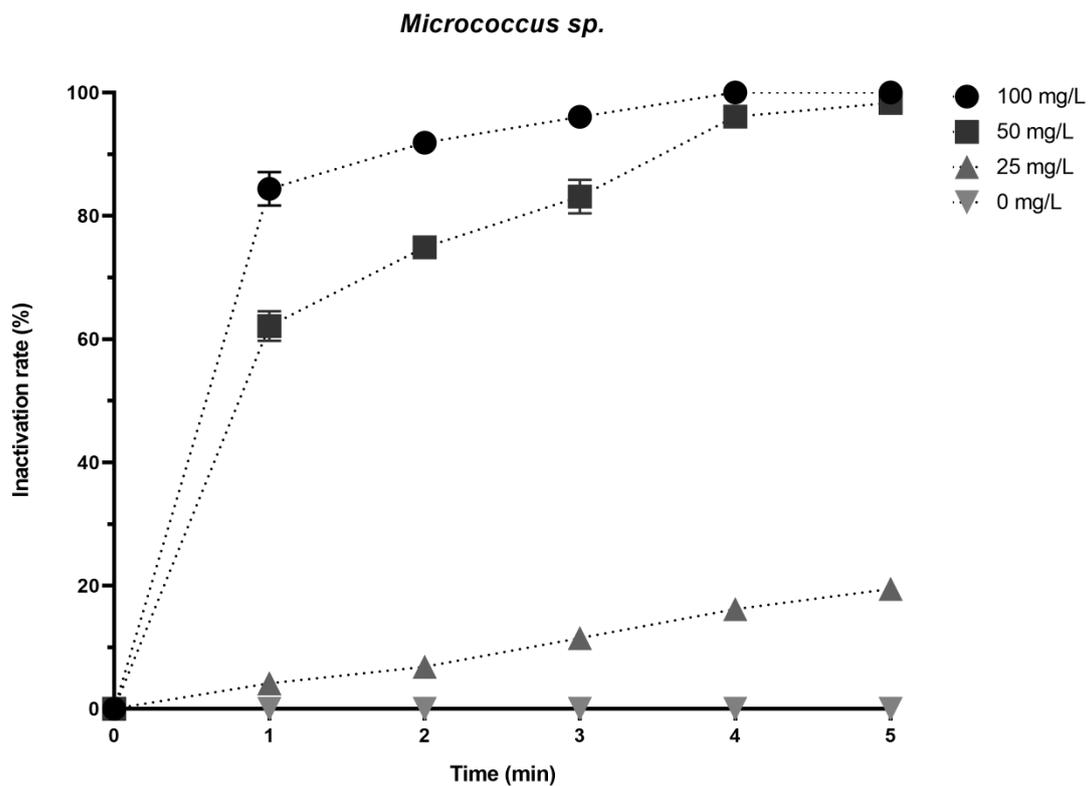


圖 4-9、高鐵酸鉀對空氣中採集細菌之失活效果

結果顯示與大腸桿菌相同，高鐵酸鉀可在五分鐘內有效使存活在空氣中之細菌失活，達到 100%失活效果，但所需濃度遠高於使大腸桿菌失活時所使用的濃度。

與大腸桿菌相比，在相同實驗條件下，僅需 3 mg/L 高鐵酸鉀即可在反應時間達到第五分鐘時將其失活，但對於空氣中採集之細菌而言，則需要 100~200 mg/L 才能使其失活，我們必須使用更高濃度的高鐵酸鉀才能達到相同的效果。

而菌種鑑定結果也顯示，此二株菌種為不同菌屬之細菌且均為非致病性細菌，為探討高鐵酸鉀對於同屬不同種且有致病性之細菌是否亦能達到失活效果，故另針對致病性細菌進行研究。

4.5 高鐵酸鉀對致病性細菌之失活效果

本實驗將探討高鐵酸鉀對與 *S. kloosii* 同屬不同種且具致病性之金黃色葡萄球菌典型種 NCTC 8532 之失活效果。

在圖 4-10 中可以觀察到使用高濃度之高鐵酸鉀可以使金黃色葡萄球菌達到 100% 失活效果，但反應時間需要增加至三十分鐘。當使用濃度為 500 mg/L 之高鐵酸鉀時，在第一分鐘即可達到 84.96% 失活效果，在第五分鐘時可達到 90.82% 失活效果，然而要達到 100% 失活效果則需要三十分鐘。在第三十分鐘時，濃度 300 mg/L、400 mg/L 之高鐵酸鉀分別可達到 81.37、87.91% 失活效果，但對於較低濃度之高鐵酸鉀，最高僅能達到 44.93% 的失活效果。

從上述結果顯示，濃度為 100 mg/L 的高鐵酸鉀同時對三種細菌有作用。從圖 4-11 中可發現，在相同濃度的高鐵酸鉀作用下，三種細菌的失活率大不相同，非致病性的 *Micrococcus sp.* 在反應時間第四分鐘即可達到 100% 失活率，但對於 *S. kloosii* 來說，在第五分鐘僅能達到 84.88%，而對於有致病性金黃色葡萄球菌 *S. aureus* 來說，更是只能達到 11.41% 失活效果。

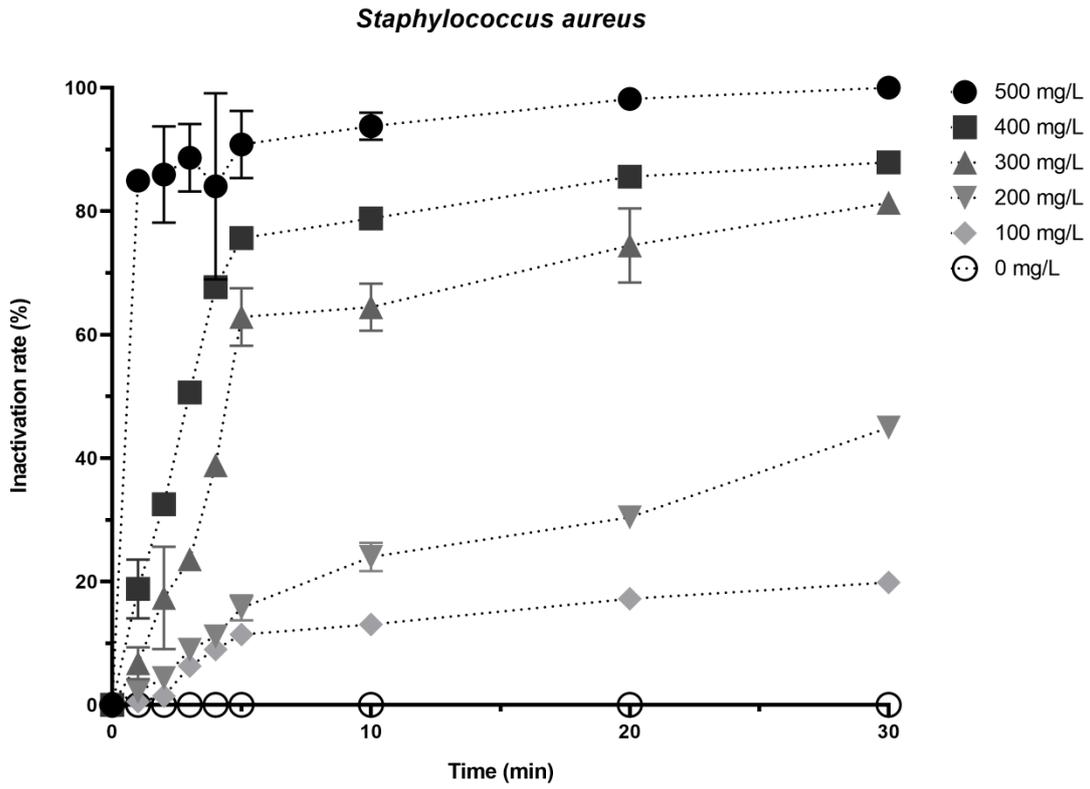


圖 4-10、高鐵酸鉀對於金黃色葡萄球菌的失活率

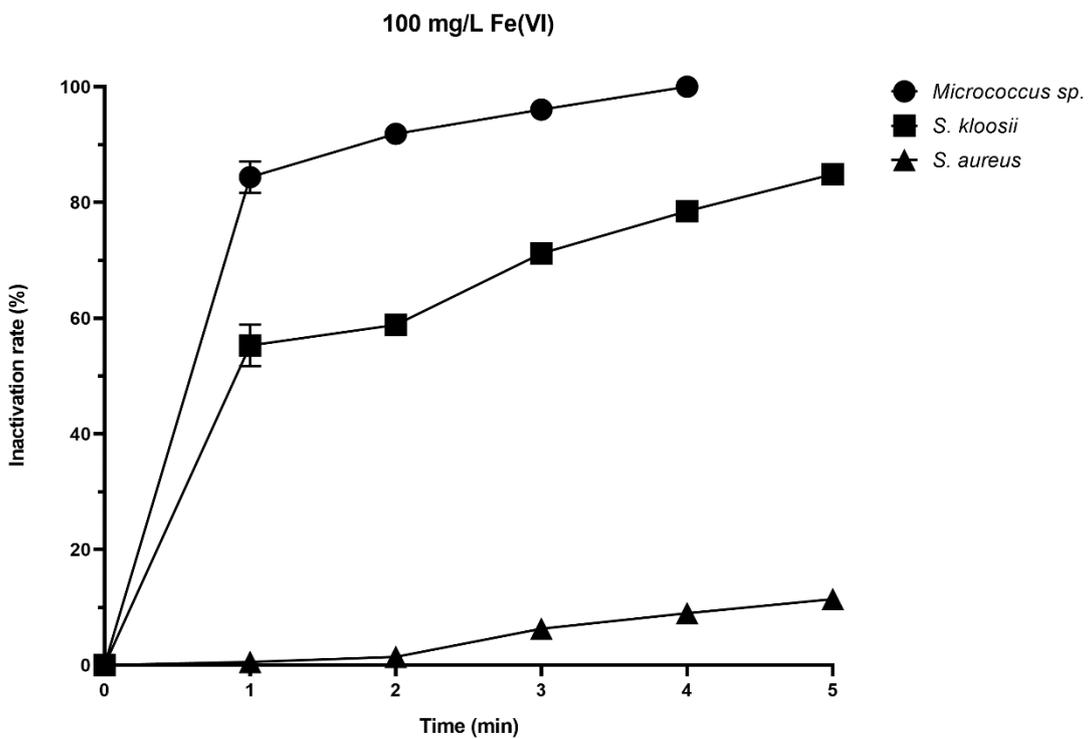


圖 4-11、在濃度 100 mg/L 的高鐵酸鉀作用下不同細菌之失活率

4.6 高鐵酸鉀純度測試

本實驗為比較純度 15%、73%、90%之高鐵酸鉀對大腸桿菌的失活效果。

從圖 4-12 可發現，在第 0.5 分鐘時，不同於其他兩種純度皆達到 65%失活效果，純度 90%的高鐵酸鉀僅達到 51.28%失活率，但在第 2.5 分鐘時，純度 90%的高鐵酸鉀已達到 100%失活效果，而純度 15%、73%的高鐵酸鉀也可達到 98.38%及 97.44%失活效果，然而在反應時間第三分鐘時，三種純度的高鐵酸鉀皆可達到 100%失活效果。

結果顯示，在使用相同濃度的情況下，高鐵酸鉀對於大腸桿菌的失活效果並不會因為純度的不同而有明顯的差異。

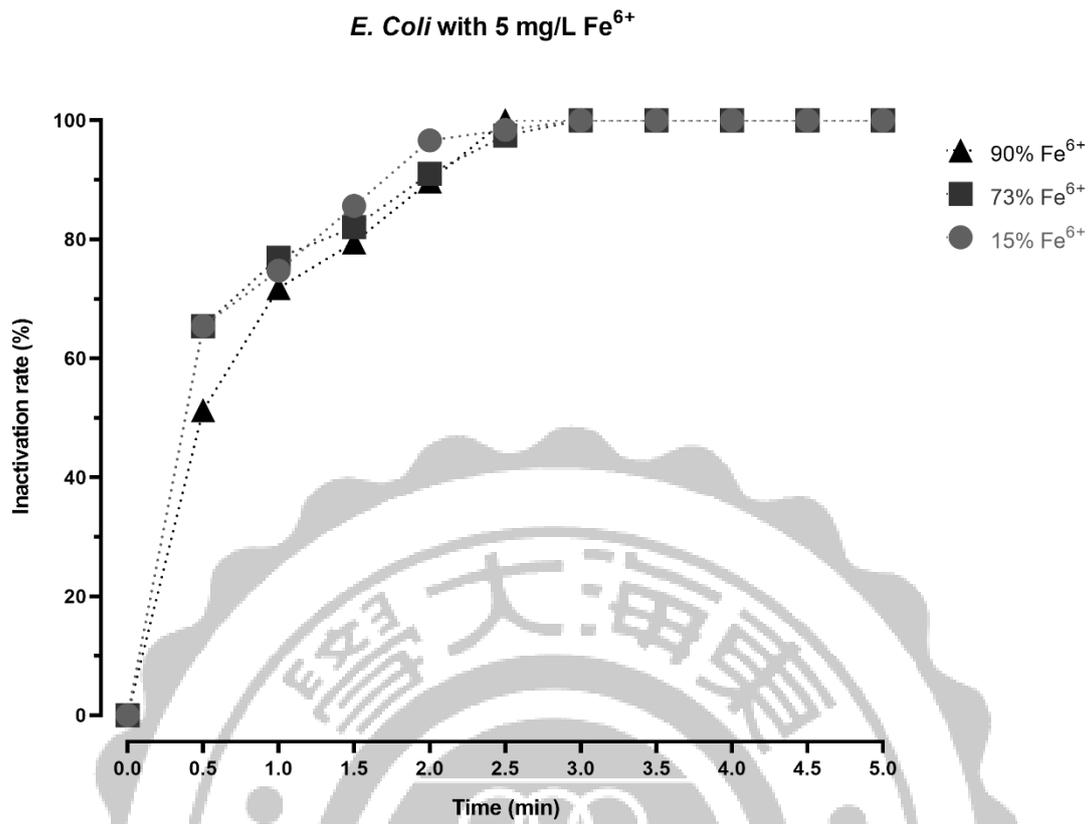


圖 4-12、同濃度且不同純度的高鐵酸鉀對大腸桿菌的失活效果

在高鐵酸鉀對細菌的失活效果中，高鐵酸鉀中的六價鐵離子在反應過程中會還原成三價鐵，文獻(Cho et al., 2006)提到，使用不同濃度的高鐵酸鉀，在時間內衰退的程度不同，使用 1.4 mg/L 的高鐵酸鉀在反應時間五分鐘只衰退 30%，但濃度為 6.25 mg/L 的高鐵酸鉀卻衰退 70%，高濃度的高鐵酸鉀可更快的使大腸桿菌失活，而高鐵酸鉀自身的衰退遵循二階反應動力學，在反應的過程中高鐵酸鉀的濃度越高，衰退的速度越快(Rush et al., 1996)。

就本研究結果而言，不管是對於大腸桿菌亦或是空氣中採集的菌及致病性的金黃色葡萄球菌，高濃度的高鐵酸鉀在反應前期皆較快使細菌失活，且高濃度高鐵酸鉀皆使細菌失活率較高，可能是因為其在反應時間內衰退較多。

在高鐵酸鉀衰退的同時，其強氧化性能夠使細胞的細胞壁、細胞膜、細胞結構中的酶遭到破壞，抑制其蛋白質以及核酸的形成，進而阻礙細菌的生長及繁殖，達到失活的效果(Liu et al., 2011)。而本研究結果顯示，對於不同菌種，高鐵酸鉀所需的濃度也大不同，高鐵酸鉀可與胺反應，且胺可能對膜損傷中起作用(Ramseier et al., 2011)，而胺存在於細胞的磷脂質與肽聚糖中。在革蘭氏細胞分類中，革蘭氏陽性菌的肽聚糖含量較高且網狀結構密集，而革蘭氏陰性菌的肽聚糖含量較低，本研究中大腸桿菌為革蘭氏陰性菌，而金

黃色葡萄球菌為革蘭氏陽性菌，由於金黃色葡萄球菌細胞膜中含有90%肽聚糖，可能因其網狀結構密集，較不易被高鐵酸鉀氧化，造成需要較高濃度高鐵酸鉀才能使失活，存活於空氣中的細菌種類繁多，細菌間結構差異為高鐵酸鉀進行反應帶來不同的困難度。

在高鐵酸鉀消毒的過程不符合一階反應動力學(Sharma et al., 2005)，除了高鐵酸鉀濃度之外，失活速率也會隨著 pH 值的降低而增加。

與其他常見控制及消毒生物氣膠的方法相比（表 4-1），使用高鐵酸鉀不需要加熱，不會像使用熱處理一樣需要大量耗能，也與使用紫外線照射會產生臭氧及對人體造成不適不同，高鐵酸鉀反應後的副產物是無毒的。

相較於光觸媒來說，在室溫下且反應時間為六十分鐘時，將銀以 7.5%比率添加於二氧化鈦中，在可見光的照射下，其對於大腸桿菌的失活率為 93.5%(Pham & Lee, 2014b)，而添加 5%銅時，最大失活率為 87.84%(Pham et al., 2014a)，而使用高鐵酸鉀做為消毒劑，在濃度為 5 mg/L 且反應時間為三分鐘時，即可使大腸桿菌達到 100%失活率，在不需要添加其他產物的情況下可以更快速的達到更良好的失活效果。而對於目前廣泛應用的空氣過濾器而言，若與過濾器結合，將可以解決生物氣膠在濾網上滋生的問題。

表 4-1、不同消毒的方法與失活率

消毒方式	菌種	反應參數	最大失活率	參考文獻
	<i>E. Coli</i>	5 mg/L / 3min	100%	
高鐵酸鉀	<i>Micrococcus sp.</i>	100 mg/L / 4min	100%	本研究
	<i>S. kloosii</i>	200 mg/L / 1min	100%	
	<i>S. aureus</i>	500 mg/L / 30min	100%	
NaOCl	<i>E. Coli</i>	pH 5.5 / 10 mg/L / 15 min	100%	(Jiang et al., 2007)
		pH 7.5 / 10 mg/L / 30 min	<100%	
光觸媒	<i>E. Coli</i>	TiO ₂ + Ag / 1hr	93.5%	(Pham et al., 2014b)
	<i>E. Coli</i>	TiO ₂ + Cu / 1hr	87.84%	(Pham et al., 2014a)
UV	<i>E. Coli</i> in Liquid Egg White	50°C	39.45%	(Geveke, 2008)
CO ₂	<i>E. Coli</i>	45°C / 14 min / 5 MPa CO ₂ pressure	99.99%	(Ballestra et al., 1996)

第五章、結論與建議

為探討高鐵酸鉀對於生物氣膠的失活效果，本研究欲使用水中常見細菌—大腸桿菌做為參考，以空氣中採樣之細菌及致病菌做為失活目標，並探討其針對存在於不同環境中之物種、致病/非致病性物種之失活效果，得出以下結論及建議。

5.1 結論

本研究第肆章的實驗結果顯示，使用濃度 3 mg/L 的高鐵酸鉀即可使大腸桿菌在反應時間五分鐘時達到 100%失活率。

與大腸桿菌相比，提高高鐵酸鉀的濃度至 100~200 mg/L 後，高鐵酸鉀亦可利用其良好的氧化還原能力使存活於空氣中之非致病性 A、B 菌在五分鐘達到 100%失活率。將兩株存活於空氣中之細菌相比，縱使存活於同一種環境中，不同菌屬的細菌在相同的實驗條件下，要達到相同效果，所需高鐵酸鉀濃度及反應時間也大不相同。

針對與 B 菌同屬不同種之致病性細菌—金黃色葡萄球菌來說，高鐵酸鉀亦可在使用更高濃度及更長時間下使其失活，而細胞結構的差異及反應環境的 pH 值造成需要不同濃度的高鐵酸鉀及反應時間才能達到相同的失活效果。

在高鐵酸鉀的純度方面，研究結果也顯示使用純度 15%、

73%及 90%的高鐵酸鉀在使大腸桿菌失活的效果有類似的趨勢，
對於整體研究並無太大的影響。



5.2 建議

5.2.1 高鐵酸鉀使失活研究中 pH 值的控制

在本研究中，因高鐵酸鉀在配置程溶液後會快速還原成三價鐵，因此未將 pH 值的實驗參數加至研究中探討。

研究顯示，高鐵酸鉀在不同的 pH 值中有四種不同的質子化形式(Licht et al., 2001)，與其他消毒劑相比，pH 值對於高鐵酸鉀的影響也較小(Jiang et al., 2003)，而一研究卻顯示，使用相同濃度的高鐵酸鉀在不同 pH 值且反應時間五分鐘對大腸桿菌進行失活研究時，鹼性環境中 (pH 8.2) 的高鐵酸鉀僅有 10% 還原，但在酸性環境中 (pH 5.6) 的高鐵酸鉀卻有 80% 還原，因此後續研究可將 pH 值作為一研究參數加以探討。

5.2.2 高鐵酸鉀使失活最佳濃度探討

在本研究中並未針對於不同種類的細菌做更詳細的高鐵酸鉀使失活最佳濃度探討，在後續研究中，可利用不同的高鐵酸鉀濃度對細菌的失活效果與時間的關係做最佳濃度的探討，以應用到實場上做為經濟價值的參考依據。

5.2.3 菌樣多樣化測試

本研究中僅使用三種類細菌做高鐵酸鉀使失活效果影響，在後續失活效果測試時，可進行多樣化的測試。

針對存在於空氣中細菌之失活效果的部分，可以在不同生活環境中進行採樣（例如：一般居家、辦公環境、集會場所、醫療場所.....等）；在針對致病菌的部分，亦可以針對不同的致病菌進行測試（如：綠膿桿菌、退伍軍人菌），探討高鐵酸鉀對於不同種類的失活效果並比較其所需濃度。

5.2.4 未來應用探討

在高鐵酸鉀未來應用方面，因高鐵酸鉀難以保存，我們可以其他物質（如：甲殼素）包覆高鐵酸鉀形成膠囊化高鐵酸鉀延長其在空氣中保存時間(郭玟玟, 2018; 陳栢諺, 2017)，再將其與過濾器做結合，均勻塗佈於濾網上，利用空氣流量、濕度控制六價鐵釋放量，達到殺菌並且抑制被吸附/過濾到濾網上之剩餘細菌之效果。

研究顯示，打造一個空氣濾網測試系統是可行的，其過濾器效率皆高於 98%(Songer et al., 1963)。

在一立方公尺的模擬空間中（圖 5-1），利用生物氣膠產生器將定量生物氣膠均勻噴灑於控制箱中，在溫、濕度及空

氣流速控制下，使生物氣膠通過測試濾網，並於一段時間後採集模擬空間中的空氣，培養並計算生物氣膠量，以確定膠囊化六價鐵的失活效果。

在實驗方面亦可以結合 UV 燈使失活效果提升。研究顯示(Talaiekhosani, Salari, et al., 2016)， 比起單使用高鐵酸鉀而言，使用 UV 結合高鐵酸鉀可有效提升甲醛去除率，其可以在 35 分鐘內 100% 去除水溶液中的甲醛，當使用填沖床洗滌器時，更可以去除 94% 空氣中的甲醛，而同樣的是否能夠透過在模擬空間中安裝 UV 燈而提升失活效果值得探討。

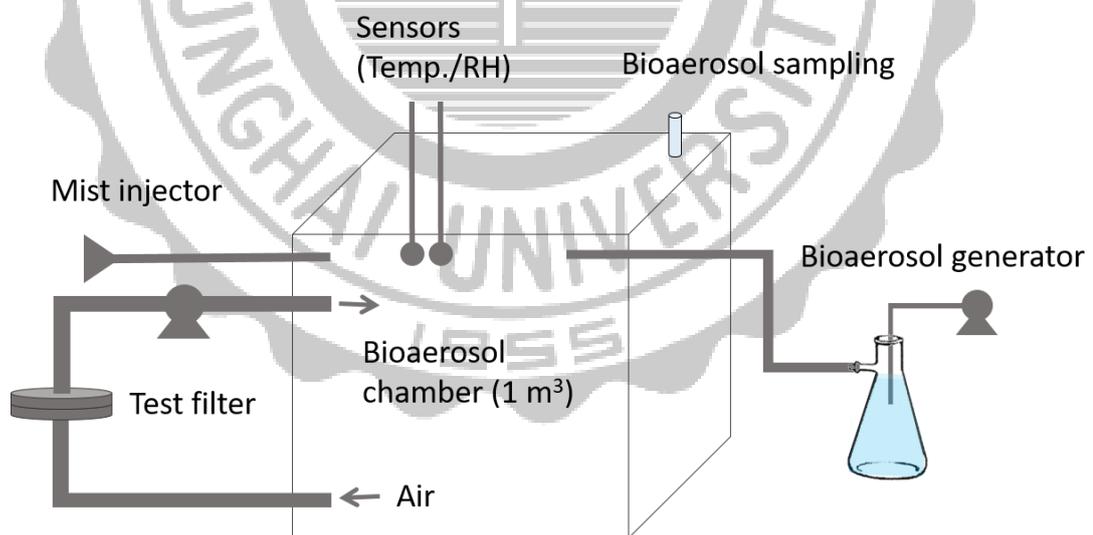


圖 5-1、空氣濾網測試系統模擬

第六章、參考文獻

- Baldacci, S., Maio, S., Cerrai, S., Sarno, G., Baiz, N., Simoni, M., . . . Study, H. (2015). Allergy and asthma: Effects of the exposure to particulate matter and biological allergens. *Respiratory medicine*, 109(9), 1089-1104.
- Ballestra, P., Da Silva, A. A., & Cuq, J. (1996). Inactivation of *Escherichia coli* by carbon dioxide under pressure. *Journal of Food Science*, 61(4), 829-831.
- Bartzatt, R., Cano, M., Johnson, L., & Nagel, D. (1992). Removal of toxic metals and nonmetals from contaminated water. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A Current Issues*, 35(4), 205-210.
- Beggs, C., Noakes, C., Sleigh, P., Fletcher, L., & Kerr, K. (2006). Methodology for determining the susceptibility of airborne microorganisms to irradiation by an upper-room UVGI system. *Journal of Aerosol Science*, 37(7), 885-902.
- Bielski, B. H., & Thomas, M. (1987). Studies of hypervalent iron in aqueous solutions. 1. Radiation-induced reduction of iron (VI) to iron (V) by CO₂. *Journal of the American Chemical Society*, 109(25), 7761-7764.
- Bouzek, K., Schmidt, M. J., & Wragg, A. A. (2000). Influence of electrolyte hydrodynamics on current yield in ferrate (VI) production by anodic iron dissolution. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, 65(1), 133-140.
- Bush, R. K., & Portnoy, J. M. (2001). The role and abatement of fungal allergens in allergic diseases. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 107(3), S430-S440.
- Canova, C., Heinrich, J., Anto, J. M., Leynaert, B., Smith, M., Kuenzli, N., . . . De Marco, R. (2013). The influence of sensitisation to pollens and moulds on seasonal variations in asthma attacks. *European Respiratory Journal*, 42(4), 935-945.
- Chang, Y.-T., Lee, Y.-C., Lin, C.-H., & Chang, Y.-J. (2010). Photocatalytic disinfection of bioaerosols in a novel air purification combined nano-titanium dioxide with UVA irradiation. *Journal of Biotechnology*(150), 271.
- Cho, M., Lee, Y., Choi, W., Chung, H., & Yoon, J. (2006). Study on Fe (VI) species as a disinfectant: Quantitative evaluation and

- modeling for inactivating *Escherichia coli*. *Water research*, 40(19), 3580-3586.
- Dedesko, S., Stephens, B., Gilbert, J. A., & Siegel, J. A. (2015). Methods to assess human occupancy and occupant activity in hospital patient rooms. *Building and Environment*, 90, 136-145.
- DeLuca, S. J., Chao, A. C., & Smallwood Jr, C. (1983). Removal of organic priority pollutants by oxidation-coagulation. *Journal of Environmental Engineering*, 109(1), 36-46.
- Denvir, A., & Pletcher, D. (1996). Electrochemical generation of ferrate Part I: Dissolution of an iron wool bed anode. *Journal of applied electrochemistry*, 26(8), 815-822.
- Douwes, J., & Heederik, D. (1997). Epidemiologic investigations of endotoxins. *International Journal Occup Envir Health*.
- Douwes, J., Thorne, P., Pearce, N., & Heederik, D. (2003). Bioaerosol health effects and exposure assessment: progress and prospects. *The Annals of occupational hygiene*, 47(3), 187-200.
- Eninger, R. M., Adhikari, A., Reponen, T., & Grinshpun, S. A. (2008). Differentiating between physical and viable penetrations when challenging respirator filters with bioaerosols. *CLEAN–Soil, Air, Water*, 36(7), 615-621.
- Felini, M., Johnson, E., Preacely, N., Sarda, V., Ndetan, H., & Bangara, S. (2011). A pilot case-cohort study of liver and pancreatic cancers in poultry workers. *Annals of epidemiology*, 21(10), 755-766.
- Górny, R. L., Reponen, T., Grinshpun, S. A., & Willeke, K. (2001). Source strength of fungal spore aerosolization from moldy building material. *Atmospheric Environment*, 35(28), 4853-4862.
- Georgakopoulos, D., Després, V., Fröhlich-Nowoisky, J., Psenner, R., Ariya, P., Pósfai, M., . . . Hill, T. (2009). Microbiology and atmospheric processes: biological, physical and chemical characterization of aerosol particles. *Biogeosciences*, 6(4), 721-737.
- Geveke, D. J. (2008). UV inactivation of *E. coli* in liquid egg white. *Food and Bioprocess Technology*, 1(2), 201-206.
- Ghorbani, S. F., JONEYDI, J. A., YOUSEFI, M. R., Mohseni, M., & Shirazi, J. (2006). Type and concentration of bioaerosols in the operating room of educational hospitals of Hamadan University of Medical Sciences and effectiveness of ventilation systems, in year 2004.

- Grigis, A., Farina, C., Symoens, F., Nolard, N., & Goglio, A. (2000). Nosocomial pseudo-outbreak of *Fusarium verticillioides* associated with sterile plastic containers. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 21(1), 50-52.
- Grinshpun, S., Adhikari, A., Li, C., Reponen, T., Yermakov, M., Schoenitz, M., . . . Mohan, S. (2010). Thermal inactivation of airborne viable *Bacillus subtilis* spores by short-term exposure in axially heated air flow. *Journal of Aerosol Science*, 41(4), 352-363.
- Hawksworth, D. L., & Luecking, R. (2017). Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 Million Species. *Microbiology spectrum*, 5(4).
- Hayleeyesus, S. F., Ejeso, A., & Derseh, F. A. (2015). Quantitative assessment of bio-aerosols contamination in indoor air of University dormitory rooms. *International journal of health sciences*, 9(3), 249.
- Heininger, U. (2010). Update on pertussis in children. *Expert review of anti-infective therapy*, 8(2), 163-173.
- Hendricks, K., Wright, M., Shadomy, S., Bradley, J., Morrow, M., Pavia, A., . . . Smith, T. (2014). Workgroup on Anthrax Clinical Guidelines. Centers for Disease Control and Prevention expert panel meetings on prevention and treatment of anthrax in adults. *Emerg Infect Dis*, 20(2), 20-36.
- Hinds, W. C. (1999). *Aerosol technology: properties, behavior, and measurement of airborne particles*: John Wiley & Sons.
- Hoppin, J. A., Umbach, D. M., Long, S., Rinsky, J. L., Henneberger, P. K., Salo, P. M., . . . Blair, A. (2014). Respiratory disease in United States farmers. *Occup Environ Med*, 71(7), 484-491.
- Jeannot, C., Malaman, B., Gerardin, R., & Oulladiaf, B. (2002). Synthesis, crystal and magnetic structures of the sodium ferrate (IV) Na_4FeO_4 studied by neutron diffraction and Mössbauer techniques. *Journal of solid state chemistry*, 165(2), 266-277.
- Jia, H., Yang, X., Yang, Y., & Gao, Y. (1999). Direct spectrophotometric determination of ferrate (VI). *CHINESE JOURNAL OF ANALYTICAL CHEMISTRY*, 27(5), 617-617.
- Jiang, J.-Q., & Lloyd, B. (2002). Progress in the development and use of ferrate (VI) salt as an oxidant and coagulant for water and wastewater treatment. *Water research*, 36(6), 1397-1408.
- Jiang, J.-Q., Lloyd, B., & Grigore, L. (2001). Preparation and evaluation of potassium ferrate as an oxidant and coagulant for potable water

- treatment. *Environmental Engineering Science*, 18(5), 323-328.
- Jiang, J.-Q., Wang, S., & Panagouloupoulos, A. (2007). The role of potassium ferrate (VI) in the inactivation of *Escherichia coli* and in the reduction of COD for water remediation. *Desalination*, 210(1-3), 266-273.
- Jiang, J.-Q., Wang, S., & Vogelpohl, A. (2003). Inactivation of *Escherichia coli* with ferrate and sodium hypochlorite: A study on the disinfection performance and constant. *Oxidation technology water wastewater. CUTEC-Series Publication*(57), 406-411.
- Jo, J.-H., Kennedy, E. A., & Kong, H. H. (2016). Research techniques made simple: bacterial 16S ribosomal RNA gene sequencing in cutaneous research. *Journal of Investigative Dermatology*, 136(3), e23-e27.
- Johnson, E., & Choi, K. M. (2012). Lung Cancer Risk in Workers in the Meat and Poultry Industries—A Review. *Zoonoses and public health*, 59(5), 303-313.
- Jung, J. H., Lee, J. E., Lee, C. H., Kim, S. S., & Lee, B. U. (2009). Treatment of fungal bioaerosols by a high-temperature, short-time process in a continuous-flow system. *Appl. Environ. Microbiol.*, 75(9), 2742-2749.
- Kazama, F. (1994). Inactivation of coliphage Q β by potassium ferrate. *FEMS microbiology letters*, 118(3), 345-349.
- Kharitonov, S. A., & Sjöbring, U. (2007). Lipopolysaccharide challenge of humans as a model for chronic obstructive lung disease exacerbations. In *Models of Exacerbations in Asthma and COPD* (Vol. 14, pp. 83-100): Karger Publishers.
- Kim, K.-H., Kabir, E., & Jahan, S. A. (2018). Airborne bioaerosols and their impact on human health. *Journal of Environmental Sciences*, 67, 23-35.
- Kujundzic, E., Matalkah, F., Howard, C. J., Hernandez, M., & Miller, S. L. (2006). UV air cleaners and upper-room air ultraviolet germicidal irradiation for controlling airborne bacteria and fungal spores. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 3(10), 536-546.
- Kummer, V., & Thiel, W. R. (2008). Bioaerosols—sources and control measures. *International journal of hygiene and environmental health*, 211(3-4), 299-307.
- Lee, B. U. (2011). Life comes from the air: a short review on bioaerosol

- control. *Aerosol Air Qual. Res*, 11(7), 921-927.
- Lee, B. U., Yun, S. H., Ji, J. H., & Bae, G. N. (2008). Inactivation of *S. epidermidis*, *B. subtilis*, and *E. coli* bacteria bioaerosols deposited on a filter utilizing airborne silver nanoparticles. *Journal of microbiology and biotechnology*, 18(1), 176-182.
- Lee, J., Tryk, D. A., Fujishima, A., & Park, S.-M. (2002). Electrochemical generation of ferrate in acidic media at boron-doped diamond electrodes. *Chemical Communications*(5), 486-487.
- Lee, Y.-H., & Lee, B.-U. (2006). Inactivation of airborne *E. coli* and *B. subtilis* bioaerosols utilizing thermal energy. *Journal of microbiology and biotechnology*, 16(11), 1684-1689.
- Lee, Y., Um, I.-h., & Yoon, J. (2003). Arsenic (III) oxidation by iron (VI)(ferrate) and subsequent removal of arsenic (V) by iron (III) coagulation. *Environmental science & technology*, 37(24), 5750-5756.
- Li, C., Li, X., & Graham, N. (2005). A study of the preparation and reactivity of potassium ferrate. *Chemosphere*, 61(4), 537-543.
- Licht, S., Naschitz, V., Halperin, L., Halperin, N., Lin, L., Chen, J., . . . Liu, B. (2001). Analysis of ferrate (VI) compounds and super-iron Fe (VI) battery cathodes: FTIR, ICP, titrimetric, XRD, UV/VIS, and electrochemical characterization. *Journal of Power Sources*, 101(2), 167-176.
- Lidwell, O. (1994). Ultraviolet radiation and the control of airborne contamination in the operating room. *Journal of Hospital Infection*, 28(4), 245-248.
- Lin, C.-Y., & Li, C.-S. (2002). Control effectiveness of ultraviolet germicidal irradiation on bioaerosols. *Aerosol science and technology*, 36(4), 474-478.
- Liu, L., Li, L., Wu, Z., & Song, L. (2011). *Physiological responses to ferrate (VI) stress in Microcystis aeruginosa*. Paper presented at the 2011 International Conference on Remote Sensing, Environment and Transportation Engineering.
- Losada, J., Vicenteperez, S., & Hernandez, P. (1985). Ferrate (VI) oxidimetry-direct potentiometric titration of Arsenic(III) in alkaline media. *ANALES DE QUIMICA SERIE B-QUIMICA INORGANICA Y QUIMICA ANALYTICA*, 81(1), 100-104.
- Ma, J., & Liu, W. (2002). Effectiveness and mechanism of potassium ferrate (VI) preoxidation for algae removal by coagulation. *Water*

- research*, 36(4), 871-878.
- Madigan, M. T., & Martinko, J. (2005). Brock Biology of Microorganisms, 11th edn. In: SciELO Espana.
- Mandal, J., & Brandl, H. (2011). Bioaerosols in indoor environment-a review with special reference to residential and occupational locations. *The Open Environmental & Biological Monitoring Journal*, 4(1).
- McLean, D., Cheng, S., Mannetje, A. t., Woodward, A., & Pearce, N. (2004). Mortality and cancer incidence in New Zealand meat workers. *Occupational and environmental medicine*, 61(6), 541-547.
- Miaśkiewicz-Peska, E., & Łebkowska, M. (2011). Effect of antimicrobial air filter treatment on bacterial survival. *Fibres & Textiles in Eastern Europe*, 19(84), 1.
- Mohr, A. J. (2007). Fate and transport of microorganisms in air. In *Manual of Environmental Microbiology, Third Edition* (pp. 961-971): American Society of Microbiology.
- Murmann, R. K., & Robinson, P. R. (1974). Experiments utilizing FeO₄²⁻ for purifying water. *Water research*, 8(8), 543-547.
- Nardell, E. A., Bucher, S. J., Brickner, P. W., Wang, C., Vincent, R. L., Becan-McBride, K., . . . Wright, J. D. (2008). Safety of upper-room ultraviolet germicidal air disinfection for room occupants: results from the Tuberculosis Ultraviolet Shelter Study. *Public health reports*, 123(1), 52-60.
- Neveux, N., Aubertin, N., Gerardin, R., & Evrard, O. (1994). Stabilized Ferrates (VI): synthesis method and applications. In *Chemical water and wastewater treatment III* (pp. 95-103): Springer.
- Norcross, B. E., Lewis, W. C., Gai, H., Noureldin, N. A., & Lee, D. G. (1997). The oxidation of secondary alcohols by potassium tetraoxoferrate (VI). *Canadian journal of chemistry*, 75(2), 129-139.
- Nossa, C. W., Oberdorf, W. E., Yang, L., Aas, J. A., Paster, B. J., DeSantis, T. Z., . . . Pei, Z. (2010). Design of 16S rRNA gene primers for 454 pyrosequencing of the human foregut microbiome. *World journal of gastroenterology: WJG*, 16(33), 4135.
- Park, S.-M., Kwak, Y.-S., & Ji, J.-G. (2015). The effects of combined exercise on health-related fitness, endotoxin, and immune function of postmenopausal women with abdominal obesity. *Journal of*

immunology research, 2015.

- Pearson, C., Littlewood, E., Douglas, P., Robertson, S., Gant, T. W., & Hansell, A. L. (2015). Exposures and health outcomes in relation to bioaerosol emissions from composting facilities: a systematic review of occupational and community studies. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 18(1), 43-69.
- Pham, T.-D., & Lee, B.-K. (2014a). Cu doped TiO₂/GF for photocatalytic disinfection of Escherichia coli in bioaerosols under visible light irradiation: Application and mechanism. *Applied Surface Science*, 296, 15-23.
- Pham, T.-D., & Lee, B.-K. (2014b). Effects of Ag doping on the photocatalytic disinfection of E. coli in bioaerosol by Ag–TiO₂/GF under visible light. *Journal of colloid and interface science*, 428, 24-31.
- Ramseier, M. K., von Gunten, U., Freihofer, P., & Hammes, F. (2011). Kinetics of membrane damage to high (HNA) and low (LNA) nucleic acid bacterial clusters in drinking water by ozone, chlorine, chlorine dioxide, monochloramine, ferrate (VI), and permanganate. *Water research*, 45(3), 1490-1500.
- Rush, J. D., & Bielski, B. H. (1986). Pulse radiolysis studies of alkaline iron (III) and iron (VI) solutions. Observation of transient iron complexes with intermediate oxidation states. *Journal of the American Chemical Society*, 108(3), 523-525.
- Rush, J. D., Zhao, Z., & Bielski, B. H. (1996). Reaction of ferrate (VI)/ferrate (V) with hydrogen peroxide and superoxide anion—a stopped-flow and premix pulse radiolysis study. *Free radical research*, 24(3), 187-198.
- Schink, T., & Waite, T. D. (1980). Inactivation of f2 virus with ferrate (VI). *Water research*, 14(12), 1705-1717.
- Schleifer, K., Kilpper-Bälz, R., & Devriese, L. (1984). Staphylococcus arlettae sp. nov., S. equorum sp. nov. and S. kloosii sp. nov.: three new coagulase-negative, novobiocin-resistant species from animals. *Systematic and Applied Microbiology*, 5(4), 501-509.
- Scholder, R. (1962). Recent investigation on oxometallates and double oxides. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 1(4), 220-220.
- Scholder, R., v. Bunsen, H., & Zeiss, W. (1956). Über Orthoferrate (IV). *Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie*, 283(1-6),

330-337.

- Schreyer, J., Thompson, G., & Ockerman, L. (1950). Ferrate oxidimetry. *Analytical Chemistry*, 22(5), 691-692.
- Schreyer, J., Thompson, G., Ockerman, L., Douglas, B. E., Snyder, M. K., & Moeller, T. (1953). Potassium ferrate (VI). *Inorganic Syntheses*, 4, 164-168.
- Sharma, V. K. (2002). Potassium ferrate (VI): an environmentally friendly oxidant. *Advances in Environmental Research*, 6(2), 143-156.
- Sharma, V. K. (2007). Disinfection performance of Fe (VI) in water and wastewater: a review. *Water Science and Technology*, 55(1-2), 225-232.
- Sharma, V. K. (2013). Ferrate (VI) and ferrate (V) oxidation of organic compounds: kinetics and mechanism. *Coordination Chemistry Reviews*, 257(2), 495-510.
- Sharma, V. K., Burnett, C. R., & Millero, F. J. (2001). Dissociation constants of the monoprotic ferrate (VI) ion in NaCl media. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 3(11), 2059-2062.
- Sharma, V. K., Burnett, C. R., O'Connor, D. B., & Cabelli, D. (2002). Iron (VI) and iron (V) oxidation of thiocyanate. *Environmental science & technology*, 36(19), 4182-4186.
- Sharma, V. K., Kazama, F., Jiangyong, H., & Ray, A. K. (2005). Ferrates (iron (VI) and iron (V)): environmentally friendly oxidants and disinfectants. *Journal of water and health*, 3(1), 45-58.
- Sánchez, B., Sánchez-Muñoz, M., Muñoz-Vicente, M., Cobas, G., Portela, R., Suárez, S., . . . Amils, R. (2012). Photocatalytic elimination of indoor air biological and chemical pollution in realistic conditions. *Chemosphere*, 87(6), 625-630.
- Songer, J. R., Sullivan, J. F., & Hurd, J. W. (1963). Testing Air-Filtering Systems: I. Procedure for Testing High-Efficiency Air Filters on Exhaust Systems. *Appl. Environ. Microbiol.*, 11(5), 394-397.
- Srikanth, P., Sudharsanam, S., & Steinberg, R. (2008). Bio-aerosols in indoor environment: composition, health effects and analysis. *Indian journal of medical microbiology*, 26(4), 302.
- Sundell, J., Lindvall, T., & Stenberg, B. (1991). *Influence of type of ventilation and outdoor airflow rate on the prevalence of SBS symptoms*. Paper presented at the Healthy buildings. Proceedings of the ASHRAE/ICBRSD conference IAQ.
- Talaiekhosani, A., Bagheri, M., Talaie, M. R., & Jaafarzadeh, N. (2016).

- An overview on production and applications of ferrate (VI). *Jundishapur Journal of Health Sciences*, 8(3).
- Talaiekhosravi, A., Salari, M., Talaei, M. R., Bagheri, M., & Eskandari, Z. (2016). Formaldehyde removal from wastewater and air by using UV, ferrate (VI) and UV/ferrate (VI). *Journal of environmental management*, 184, 204-209.
- Thilising, T., Madsen, A. M., Basinas, I., Schlünssen, V., Tendal, K., & Baelum, J. (2014). Dust, endotoxin, fungi, and bacteria exposure as determined by work task, season, and type of plant in a flower greenhouse. *Annals of Occupational Hygiene*, 59(2), 142-157.
- Thompson, G., Ockerman, L. T., & Schreyer, J. (1951). Preparation and purification of potassium ferrate. VI. *Journal of the American Chemical Society*, 73(3), 1379-1381.
- Tiwari, D., & Lee, S.-M. (2011). Ferrate (VI) in the treatment of wastewaters: a new generation green chemical. *Waste Water Treatment and Reutilization*, 241-276.
- Tsapko, V. G., Chudnovets, A. J., Sterenbogen, M. J., Papach, V. V., Dutkiewicz, J., Skorska, C., . . . Golec, M. (2011). Exposure to bioaerosols in the selected agricultural facilities of the Ukraine and Poland-a review. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 18(1).
- US.EPA. (2017). Introduction to Indoor Air Quality. Retrieved from <https://www.epa.gov/indoor-air-quality-iaq/introduction-indoor-air-quality>
- Van Leuken, J., Swart, A., Droogers, P., Van Pul, A., Heederik, D., & Havelaar, A. (2016). Climate change effects on airborne pathogenic bioaerosol concentrations: a scenario analysis. *Aerobiologia*, 32(4), 607-617.
- Vicenteperéz, S., Losada, J., & Hernández, P. (1985). Ferrate (VI)-oxidimetry standardization of reagent with standard iron (II)-Titration of aniline. *ANALES DE QUIMICA SERIE B-QUIMICA INORGANICA Y QUIMICA ANALYTICA*, 81(1), 93-99.
- White, D., & Franklin, G. (1998). A preliminary investigation into the use of sodium ferrate in water treatment. *Environmental technology*, 19(11), 1157-1161.
- Williams, C. (2011). Who are you calling simple? *New Scientist*, 211(2821), 38-41.
- Yen, Y.-L., Lin, H.-L., Lin, H.-J., Chen, P.-C., Chen, C.-R., Chang, G.-H.,

- & Guo, H.-R. (2004). Photokeratoconjunctivitis caused by different light sources. *The American journal of emergency medicine*, 22(7), 511-515.
- Zhao, Y., Han, Y., Guo, T., & Ma, T. (2014). Simultaneous removal of SO₂, NO and Hg⁰ from flue gas by ferrate (VI) solution. *Energy*, 67, 652-658.
- 行政院環境保護署. (2011). 室內空氣品質管理法. Retrieved from <https://law.moj.gov.tw/LawClass/LawAll.aspx?pcode=00130001>
- 林慧淳. (2018). 【獨家】美國蘿蔓生菜爆發大腸桿菌汙染，好市多：全面下架. Retrieved from <https://www.commonhealth.com.tw/article/article.action?nid=78465>
- 郭玟玟. (2018). 不同緩衝層物質對於膠囊化高鐵酸鉀降解甲基橙之影響. (碩士), 東海大學, 台中市. Retrieved from <https://hdl.handle.net/11296/27t763>
- 陳栢諺. (2017). 膠囊化六價鐵製備及控制釋放研究. (碩士), 東海大學, 台中市. Retrieved from <https://hdl.handle.net/11296/5tg42f>
- 劉仲康. (1996). 認識大腸桿菌. Retrieved from <http://resource.blsh.tp.edu.tw/sciencei/content/1996/00100322/0005.htm>
- 羅彥傑. (2011). 歐奪命大腸桿菌 元凶確定是德產豆芽菜. *自由時報*. Retrieved from <https://news.ltn.com.tw/news/world/paper/499679>