

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

利用氫氣自營性薄膜生物反應槽進行氯酚脫氯之研究

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC92-2211-E-002-029-

執行期間：92 年 08 月 01 日至 93 年 07 月 31 日

執行單位：國立臺灣大學環境工程學研究所

計畫主持人：曾四恭

計畫參與人員：張朝謙，陳雅芳

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 93 年 8 月 26 日

利用氫氣自營性薄膜生物反應槽進行氯酚脫氯之研究

計劃主持人：曾四恭

研究人員：張朝謙 陳雅芳

計劃編號：NSC92-2211-E-002-029

中文摘要：

還原脫氯反應是微生物於厭氧環境中對於氯酚化合物之主要代謝途徑，而外加有機物或氫氣是最常應用於促進脫氯反應的方法，其中氫氣較無二次污染的問題，因此較適合應用於地下水污染之整治。本研究利用矽膠管薄膜反應槽培養氫細菌進行 2-氯酚（2-CP）之生物降解，評估氫細菌對 2-CP 之脫氯能力及其環境之影響因子，以含 2-CP 之人工廢水長期馴養，經馴養穩定後（約 4 個月），由批次實驗結果顯示於供應氫氣的條件下，反應槽可進行 2-CP 之還原脫氯反應並產生酚，而酚仍會進一步分解而降低水中之總有機碳（TOC）。反應槽於不同還原條件下，2-CP 之代謝途徑並不相同，於脫硝或硫酸還原環境中，2-CP 被當成碳源或能源降解，而於硝酸鹽及硫酸鹽缺乏的環境中，則是以還原脫氯反應為主。就脫氯反應機制而言，硝酸鹽及硫酸鹽均會抑制 2-CP 的脫氯反應，不過其抑制的程度有所差異，當硝酸鹽存在環境中時，會立刻完全抑制脫氯反應的進行，而硫酸鹽則需要較長的時間才會完全抑制脫氯反應，此二者的作用均是取代 2-CP 為電子接受者。

關鍵字：氯酚、還原脫氯、氫細菌、脫硝作用、硫酸還原作用

英文摘要：

The reductive dechlorination is the main metabolic pathway for chlorophenols under anaerobic conditions. The addition of external organics or hydrogen are the most usage to enhance dechlorination. In which, the hydrogen has no secondary pollution, and thus suit for the remediation of polluted groundwater. A gas-permeable silicone membrane bioreactor was used to cultivate the biofilm under hydrogenotrophic condition for reductive dechlorination of 2-chlorophenol (2-CP). After acclimating for about 4 months, the bioreactor showed a high dechlorinating performance. H_2 was used as electron donor for dechlorinating 2-CP, and produced the dechlorinating intermediate, phenol. Both nitrate and sulfate inhibited the 2-CP dechlorination, but the inhibition levels were different. Nitrate completely inhibited the dechlorination at once, while sulfate took longer time to reach completely inhibition, only after the bacteria having adapted to the sulfate-reducing condition. Both inhibitions were accomplished by taking the place of 2-CP as electron acceptors.

Results of this study demonstrated that nitrate competed with 2-CP as the electron acceptor, while sulfate retarded the activity of hydrogen-dechlorinating bacteria and thus inhibited the 2-CP dechlorination.

Key words: hydrogenotrophic, chlorophenol, phenol, dechlorination, biofilm, bioreactor

1. 前言

氯酚化合物是常見的環境污染物，對生物具有毒性，常用於木材防腐劑、除草劑及殺菌劑，污染型態常以地下水、空氣或廢棄物存於環境中。厭氧生物分解是處理此類污染物常用的方法，微生物於厭氧條件下，可將含氯數較高的氯酚化合物，依序脫氯產生含氯數較低的物種，最後產生酚再開環分解。氯酚之還原脫氯反應中，常需添加額外之易分解有機物當成電子供給者，以促進脫氯反應之進行 (Hendriksen et al., 1992; Vallecillo et al., 1999)，然而外加之有機物若未被完全分解，則會形成另一種污染，尤其是針對地下水污染之復育，外加有機物會有污染水源的疑慮，為解決此問題，可改以氫氣取代外加有機物，因為氫氣不會造成環境污染的問題。許多學者研究證實氫氣可促進含氯有機物的厭氧脫氯反應 (Ballapragada et al., 1997; Warner et al., 2002)，然而利用氫氣長期馴養氫細菌進行氯酚脫氯之研究，則未見相關之文獻，所以此方面的研究相當具有創新性。氯酚脫氯反應中，硝酸鹽及硫酸鹽是最常見的影響因子，許多研究發現在脫硝或硫酸還原條件下，氯酚之脫氯反應會受到抑制 (Häggbloom et al., 1993; Chang et al., 1996; Chang et al., 1998)。而且地下水中常存在硝酸鹽及硫酸鹽，因此有必要了解這兩種含氧化合物對氯酚脫氯的影響。

本研究利用矽膠薄膜反應槽培養氫細菌，矽膠管內通入氫氣當成電子供給者，供給生物膜進行 2-CP 之脫氯反應。實驗中控制三個反應槽分別在脫硝、硫酸還原及脫氯之條件下長期馴養，探討在不同還原條件馴養下，微生物對 2-CP 之降解情形，以及 2-CP 代謝途徑的差異，並探討硝酸鹽及硫酸鹽對微生物脫氯反應的影響。而氫氣對 2-CP 降解效率的影響，以及在反應中所扮演的角色，也是本研究所要探討的重點。

2. 實驗設備與方法

2.1 實驗設備

本實驗利用矽膠管薄膜反應槽來馴養氫細菌 (如圖 2-1)，反應槽材質為玻璃，有效容積為 850 mL，反應槽纏繞矽膠管 (內徑 2.5 mm、外徑 3.0 mm、長 5 m, Fuji system co., Japan)，利用 polyvinyl alcohol (PVA, Nacalai Tesque) 及 alginic acid (SIGMA) 將厭氧污泥包埋固定於矽膠管外形成生物膜，污泥來源是台灣大學畜產所養豬廢水廠之厭氧槽污泥。矽膠管內通入氫氣，由另外一端排出，氫氣可藉由擴散作用通過矽膠管壁進入溶液中，提供氫細菌所需的電子供給者，而矽

膠管外的生物膜，直接利用由管內擴散出來的氫氣，氫氣流量固定於 20 ml/min。

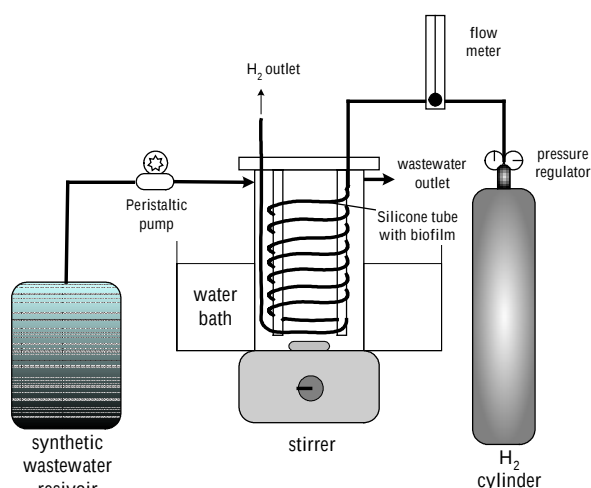


圖 2-1 矽膠管薄膜生物反應槽示意圖

2.2 反應槽馴養

反應槽以人工配製合成廢水連續進流進行微生物馴養，反應槽分別控制於脫硝（DN）、硫酸還原（DS）及脫氯（DC）條件，合成廢水含有 KH_2PO_4 (1.0 g/l), K_2HPO_4 (1.0 g/l), NaHCO_3 (1.0 g/l), MgCl_2 (20 mg/l), NH_4Cl (30 mg-N/l) 及微量元素 (1 ml/l)，微量元素組成為 $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (7.3 g/l), $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (2.5 g/l), $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.5 g/l), $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0.5 g/l), $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (2.0 g/l), ZnCl_2 (1.0 g/l) and CuCl_2 (0.1 g/l)。DN 反應槽則額外添加硝酸鹽 (50 mg-N/L)，DS 反應槽則添加硫酸鹽 (200 mg/L)，DC 反應槽則不含硝酸鹽及硫酸鹽，反應槽置於溫度為 25 °C 之水浴中，水力停留時間（HRT）為 15 小時，分別以 10 天的間隔增加 2-CP 濃度為 10 mg/L、25 mg/L 及 50 mg/L 馴養。

2.3 分析方法

2-CP 及 phenol 的濃度是利用液相層析儀（HPLC，Milipore Model 501 pump and Water 486 detector）分析，所用的層析管是 Polaris 5u C18-A 250×4.6 mm，流洗液是氰甲烷（acetonitrile）/水/醋酸（500:500:5.7, v/v），流洗液流速為 1.0 ml/min，偵測器波長設定為 280 nm。陰離子則以離子層析儀（Dionex DX-120）分析，流洗液為 1.7 mM/1.8 mM $\text{NaHCO}_2/\text{Na}_2\text{CO}_3$ ，流速 1.25 ml/min。總有機碳（TOC）則以 TOC 分析儀分析（O.I. Analytical Model 1010）。水中的 pH 及氧化還原電位（ORP, Ag/AgCl）是以 pH 分析儀（HTC-200 pH meter）及 ORP 分析儀（ORIGIN model 720A, USA）偵測。

3. 結果與討論

3.1 反應槽對 2-CP 的降解

反應槽在以 2-CP 馴養超過一年後，在進流 2-CP 濃度約 25 mg/L，HRT= 15

小時條件下，2-CP 的去除率均達 90%以上，不同的還原條件並沒有明顯差異(表 3-1)。在 DN 反應槽中，硝酸鹽是當成電子接受者進行脫硝作用，其去除率約 84.2%，DS 反應槽之硫酸鹽也是當成電子接受者進行硫酸還原反應，其去除率約 72%。雖然在不同反應槽的 2-CP 去除率沒有明顯差異，不過反應槽的操作條件則明顯不同，DN 反應槽的 ORP 值最高，其次是 DC 反應槽，而 DS 反應槽最低，由 ORP 的差異可知道不同反應槽進行的反應不同，2-CP 的代謝途徑應有所差異。

表 3-1 反應槽於馴養穩定後之操作狀況

反應槽	2-CP 負荷, $\text{gm}^{-2}\text{d}^{-1}$	硝酸鹽負荷, $\text{g-Nm}^{-2}\text{d}^{-1}$	硫酸鹽負荷, $\text{gm}^{-2}\text{d}^{-1}$	反應槽 pH	反應槽 ORP, mV	2-CP 降解率, $\text{gm}^{-2}\text{d}^{-1}$ (去除率,%)	硝酸鹽降解率, $\text{g-Nm}^{-2}\text{d}^{-1}$ (去除率,%)	硫酸鹽降解率, $\text{gm}^{-2}\text{d}^{-1}$ (去除率,%)
DN	0.71	1.45	0	6.1 ~ 6.3	-40 ~ +50	0.67 (95.4)	1.22 (84.2)	0
DS	0.71	0	5.8	6.8 ~ 7.1	-280 ~ -210	0.66 (93.8)	0	4.18 (72.0)
DC	0.72	0	0	6.2 ~ 6.4	-170 ~ -90	0.67 (94.5)	0	0

3.2 2-CP 之批次降解

2-CP 於不同反應槽之批次降解如圖 3-1 所示，在 DN 反應槽中，硝酸鹽是主要的電子接受者因而迅速減少，而脫硝過程中並沒有偵測到脫氯產物酚，只有在脫硝完畢後才出現(圖 3-1, (A))。DS 反應槽中，硫酸鹽是主要電子接受者進行硫酸還原反應，而在硫酸還原過程中，2-CP 的降解並沒有酚產生，顯示 2-CP 也不是進行還原脫氯反應(圖 3-1, (B))。而在 DC 反應槽中，由於沒有硝酸鹽及硫酸鹽的存在，因此 2-CP 是主要的電子接受者而進行還原脫氯反應，2-CP 降解過程中伴隨著酚的產生，而酚也可進一步分解(圖 3-1, (C))。

3.3 氫氣對 2-CP 降解之影響

為了解氫氣於 2-CP 降解反應中所扮演的角色，乃進行連續進流之長期試驗，實驗結果如圖 3-2 所示，於此試程之前，反應槽處於供應氫氣條件下，三個反應槽對 2-CP 的去除率均很相近，出流水 2-CP 濃度維持在 0.5 ~ 2 mg/L 之間，當停止供應氫氣時(第 0 天)，反應槽出流水 2-CP 濃度則立即上升(圖 3-2 (A))，其中 DS 反應槽出流水 2-CP 濃度由 1.7 mg/L 上升到 12.8 mg/L，而此時硫酸鹽的去除率也迅速由 68.8%降為 0(圖 3-2 (B))；脫硝槽也有相同的情形，2-CP 及硝酸鹽的降解效率因缺乏氫氣而下降；另外脫氯槽之 2-CP 去除率受影響程度最輕，顯示脫氯槽之微生物較能適應環境的改變。不過在此試程第 2 天，出流水 2-CP 濃度則迅速下降，第五天後三個反應槽之 2-CP 去除效率均達穩定。當反應

槽重新供應氫氣時(第 12 天),反應槽出流水 2-CP 濃度也立即上升(圖 3-2 (A)),而隨時間漸漸再次回穩,而此時脫硝槽之硝酸鹽去除率則因氫氣供應而逐漸提升(圖 3-2 (B)),硫酸還原槽之硫酸鹽去除率也同樣逐漸提升。圖 3-2 (C)是改變氫氣條件下,反應槽之氧化還原電位(ORP)變化情形,當停止供應氫氣時,反應槽之 ORP 迅速上升,而再重新供應氫氣時,ORP 則再降回原來的範圍。很顯然的,本實驗中氫氣是當成電子供給者而進行脫硝作用、硫酸還原反應及 2-CP 的脫氯作用,雖然 2-CP 在缺乏氫氣下也可分解,本研究證實氫氣可取代外加有機物進行 2-CP 之脫氯反應,氫細菌的脫氯能力應可應用於其他含氯有機物的脫氯反應。

3.4 反應槽之操作負荷因子

在不同進流 2-CP 負荷試驗中,2-CP 的去除率隨 2-CP 負荷增加而降低,2-CP 負荷約在 $0.8 \text{ g/m}^2\text{d}$ 以下,才能維持 90%以上的 2-CP 去除率(圖 3-3),當負荷超過 1 之後,2-CP 的去除率則大幅下降,其中又以 DS 反應槽的下降幅度最大,可能是生物膜的活性受到抑制。在 DN 及 DS 反應槽中的硝酸鹽及硫酸鹽去除率,也明顯受到 2-CP 負荷的增加而下降,其中硝酸鹽去除率僅些微下降,而硫酸鹽去除率則大幅下降(圖 3-4),可能是硫酸還原菌的活性受到 2-CP 的抑制。

另外當改變硝酸鹽及硫酸鹽的負荷時,2-CP 的去除率並沒有明顯變化,由此可說明在脫硝及硫酸還原條件下,2-CP 的降解與脫硝反應及硫酸還原反應無直接相關。

4. 結論

由本研究結果顯示氫細菌可應用於處理 2-CP 的污染問題,不論在何種還原條件下,反應槽均可有效去除 2-CP。在不同條件下,氫細菌對 2-CP 的代謝途徑不同,在硝酸鹽或硫酸鹽存在的環境中,2-CP 無法進行還原脫氯反應,而在硝酸鹽及硫酸鹽不存在的環境中,氫細菌就可利用氫氣為電子供給者,進行 2-CP 的還原脫氯反應。而反應槽操作負荷上,2-CP 負荷控制在 $0.8 \text{ g/m}^2\text{d}$ 以下,2-CP 的去除率可達 90%以上,另外硝酸鹽及硫酸鹽的負荷對 2-CP 並沒有明顯的影響

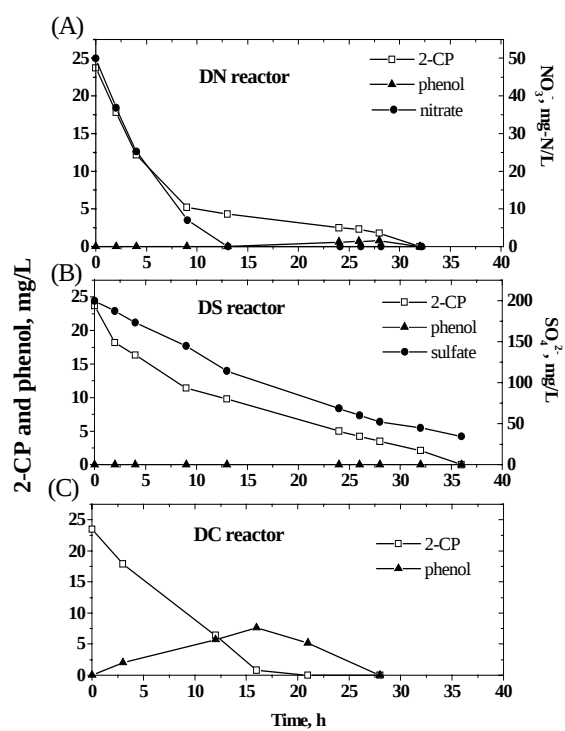


圖 3-1 各反應槽之批次反應

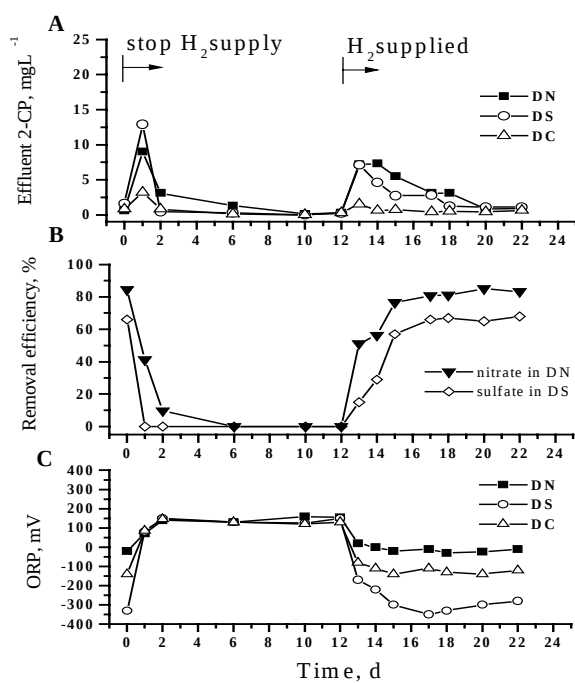


圖 3-2 氫氣對各反應槽之影響試驗

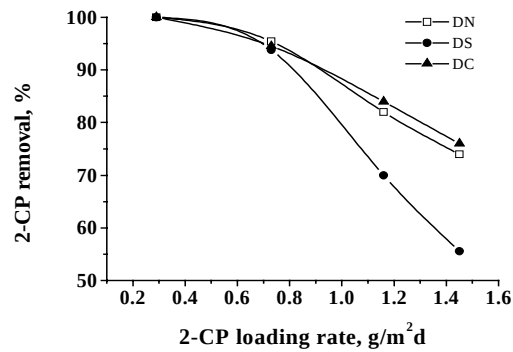


圖 3-3 反應槽於不同 2-CP 負荷下之 2-CP 去除率

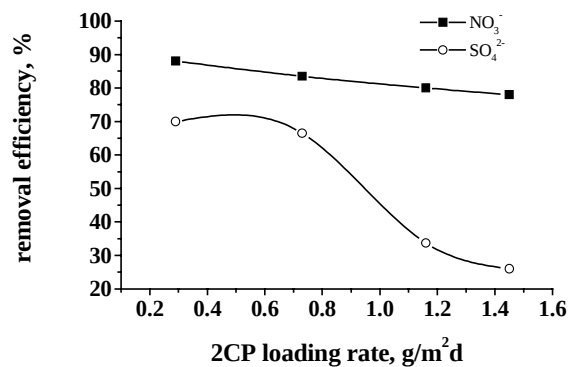


圖 3-4 不同 2-CP 負荷對硝酸鹽及硫酸鹽去除率的影響

參考文獻

- Ballapragada, B. S., Stensel, H. D., Puhakka, J. A., Ferguson, J. F., 1997. Effect of hydrogen on reductive dechlorination of chlorinated ethenes. *Environ. Sci. Technol.*, 31, 1728-1734
- Chang, B. V., Zheng, J. X., Yuan, S. Y., 1996. Effects of alternative electron donors, acceptors and inhibitors on pentachlorophenol dechlorination in soil. *Chemosphere*, 33(2), 313-320
- Chang, B. V., Chiang, C. W., Yuan, S. Y., 1998. Dechlorination of pentachlorophenol in anaerobic sewage sludge. *Chemosphere*, 36(3), 537-545
- Häggblom, M. M., Rivera, M. D., Young, L. Y., 1993. Influence of alternative electron acceptors on the anaerobic biodegradability of chlorinated phenols and benzoic acids. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59, 1162-1167
- Hendriksen, H. V., Larsen, S., Ahring, B. K., 1992. Influence of a supplemental carbon source on anaerobic dechlorination of pentachlorophenol in granular sludge. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58, 365-370
- Vallecillo, A., Garcia-Encina, P. A., Peña, M., 1999. Anaerobic biodegradability and

toxicity of chlorophenols. Wat. Sci. Tech., 40,161-168
Warner, K. A., Gilmour, C. C., Capone, D. G., 2002. Reductive dechlorination of
2,4-dichlorophenol and related microbial processed under limiting and
non-limiting sulfate concentration in anaerobic mid-Chesapeake Bay sediments.
FEMS Microbiology Ecology, 40, 195-165

成果自評：

本研究成果大部分符合原計畫之內容與進度，研究成果也發表於國際期刊
Chemosphere 中，並已被接受付印中，顯示本研究具有相當的學術價值。