

嘉南藥理科技大學專題研究計畫成果報告

二仁溪底泥中多氯聯苯分解菌之活性研究

The biodegradation of PCB congeners by
microorganisms from Er-Jen river sediments

計畫類別： 個別性計畫 整合型計畫

計畫編號：90-EV-02

執行期限：90年1月1日至90年12月31日

計畫主持人：錢紀銘

共同主持人：

計畫參與人員：

執行單位：環境工程衛生系

中華民國九十一年二月二十六日

嘉南藥理科技大學專題研究計畫成果報告

二仁溪底泥中多氯聯苯分解菌之活性研究

The biodegradation of PCB congeners by microorganisms from Er-Jen river sediments

計畫編號：90-EV-02

執行期限：90年1月1日至90年12月31日

一、中英文摘要

Dechlorination.

本研究對台南二仁溪底泥微生物之多氯聯苯分解作用進行探討，實驗結果顯示，在好氧分解方面，經過五個月的馴化培養後，二仁溪底泥微生物可對一氯聯苯化合物進行分解作用，至於驗氧脫氯作用方面，經馴化與未經馴化之混合菌液均可對多氯聯苯產生脫氯活性。

關鍵詞：多氯聯苯、好氧分解、脫氯作用

Abstract

The activity of microbial mediated biodegradation of polychlorinated biphenyls (PCBs) by microorganisms from Er-Jen River sediment in Tainan Prefecture was evaluated. After 5 months of acclimation, mixed cultures fed with biphenyl degraded 2-chlorobiphenyl obviously. The dechlorination of 2,3,4-chlorobiphenyl was achieved by mixed cultures with or without of periods of acclimation.

Keywords : Polychlorinated biphenyls, Biodegradation,

二、緣由與目的

灣裡地區位於台南市與高雄縣交界的二仁溪下流流域，自1966年成立專業區開始進行廢五金再生產事業，長期的焚燒廢五金、電纜、電路板與電子器材等已造成河川的嚴重污染^(1,2)，但是運用人為方式清除已然散布到環境中的多氯聯苯污染是件非常不易的事，因此在有效的處理技術被研發應用前，了解自然界中現存多氯聯苯污染的流布、轉化機制，並掌握其對環境的危害情形而進一步控制其破壞程度是十分重要的。

本研究針對台南市灣裡地區之二仁溪流流域底泥進行多氯聯苯生物降解之研究，主要完成的工作有兩方面，第一部份為多氯聯苯之好氧分解研究，內容包括好氧分解菌之增殖培養、一氯聯苯好氧分解之研究，添加 biphenyl 對多氯聯苯分解之影響。第二部份為多氯聯苯之還原性脫氯作用研究，研究內容包括多氯聯苯脫氯作用厭氧菌之馴化培養，各種多氯聯苯之脫氯作用與脫氯形態。

三、研究工作內容

1. 多氯聯苯好氧分解微生物與厭氧脫氯微生物之增殖培養

採自台南市之二仁溪之河底泥，取 300 克放置於 1 升之血清瓶中，分別加入好氧或厭氧培養基 300 ml，再加入各種化合物進行馴化增殖培養，好氧分解實驗分兩組增殖培養狀況，《1》加入 biphenyl + 2-chlorobiphenyl、《2》只加入 biphenyl；至於厭氧脫氯實驗亦分兩組增殖培養狀況，《1》加入 2,3,4-trichlorobiphenyl + 2,4,5-trichlorobiphenyl、《2》只加入 2,3-dichlorobiphenyl + 2,4-dichlorobiphenyl。好氧培養組則在以棉花塞置於血清瓶口，震盪培養。厭氧培養組則在以蓋子旋緊血清瓶口，靜置培養。每週加入新鮮化合物溶液，厭氧培養組在操作過程中，不斷以氮氣進行吹拂。

2. 多氯聯苯好氧分解研究

在增殖培養過程中，於好氧培養組定期取出部份菌液，方法為將馴化血清瓶激烈震盪 1 分鐘，靜置待沈澱，取出懸浮菌液塗抹於含 2-chlorobiphenyl and/or biphenyl 之固體培養基上，進行培養，若菌液中含有具分解能力之微生物，則可在培養基上出現明顯菌落。

3. 多氯聯苯厭氧脫氯研究

自厭氧馴化培養血清瓶，取出懸浮混

合菌液作為菌源，放入含厭氧培養基的血清瓶，再加入各種多氯聯苯，最後以鋁蓋和血清塞密封，以上程序皆在厭氧箱中操作。完成後，將血清瓶置於 30°C，黑暗中靜置培養，定期取樣分析多氯聯苯化合物。

加入之多氯聯苯分三組，第一組為 2,3,4-trichlorobiphenyl + 2,4,5-trichlorobiphenyl + 2,3-dichlorobiphenyl + 2,4-dichlorobiphenyl，第二組為 2,3,4-trichlorobiphenyl + 2,4,5-trichlorobiphenyl，第三組為 2,3-dichlorobiphenyl + 2,4-dichlorobiphenyl 等多氯聯苯單品之混合溶液

4. 培養基中多氯聯苯之萃取與分析

以針筒吸取培養液 2 ml 置於 10 ml 定量管中，加入 0.1 ml, 10 N 的 NaOH 與 2ml 正己烷，蓋緊管蓋，以手搖盪 60 下，將定量管以低速離心機離心 3 分鐘，取出上層正己烷部份，再加入 2 ml 正己烷進行萃取，共三次，收集正己烷部分調至 5 ml，加入無水硫酸鈉脫水。萃取液以氣相色層分析儀電子捕獲檢出器 (GC-ECD) 分析，注射量為 2 μ l，氣相色層分析儀之分析條件為注射部溫度 280°C，偵測器溫度為 300°C，載行氣體 (carrier gas) 與輔助氣體 (make-up gas) 為超高純度氮氣，管柱初溫為 170°C，維持 2 分鐘，再以每分鐘 3°C 速率升溫至 260°C 並維持 30 分鐘，全部時間共 62

分鐘。管柱氣體流速為 2.73 ml/min，輔助氣體流速為 34.33 ml/min，分流比為 15:1。

四、結果與討論

1. 多氯聯苯好氧菌之分解研究

從固體培養基上好氧微生物之生長狀況觀察(表一)，其結果可以基質之添加對於微生物進行多氯聯苯代謝作用之影響，研究中所觀察到之生長狀況分為三種：

- (1)無生長活性(代號“-”)，固體培養基無菌落生成，顯示微生物生長遲緩或死絕。
- (2)有生長活性，但分解菌活性不顯著(代號“+”)，固體培養基有菌落生成(菌落數少於 20)，但經轉移培養後並無法繼續生長，並不形成菌落。
- (3)有生長活性，且分解菌活性明顯(代號“++”)，固體培養基有菌落生成(菌落數大於 20)，但經轉移培養後持續生長(菌落數小於 20)。
- (4)有生長活性，且分解菌活性顯著(代號“+++”)，固體培養基有菌落生成(菌落數大於 20)，但經轉移培養後持續生長(菌落數大於 20)。

明顯可知，未經馴化之二仁溪底泥微生物對多氯聯苯仍具分解活性，但以 Biphenyl + 2-chlorobiphenyl 同時添加之馴化方式所增殖培養之微生物具有最大之分解活性。此外分解多氯聯苯時若無額外加入聯苯，

則微生物並無法利用多氯聯苯，顯見本馴化增殖微生物對多氯聯苯所進行之分解作用為共代謝作用。

表一 各種培養條件下好氧微生物之生長情形

微生物來源	未馴化微生物	
添加基質	Biphenyl + 2-chlorobiphenyl	2-chlorobiphenyl
生長狀況	+	-
微生物來源	Biphenyl 馴化微生物	
添加基質	Biphenyl + 2-chlorobiphenyl	2-chlorobiphenyl
生長狀況	+	-
微生物來源	Biphenyl + 2-chlorobiphenyl 馴化微生物	
添加基質	Biphenyl + 2-chlorobiphenyl	2-chlorobiphenyl
生長狀況	+++	-

2. 多氯聯苯之還原性脫氯作用研究

不論是否經過馴化，二仁溪底泥微生物在培養期間對多氯聯苯均能顯現脫氯活性。

實驗中所分別加入的 4 種多氯聯苯單品，234-CB 在長達三個月的遲滯期後，開始產生脫氯作用並生成脫氯產物，產生的脫氯產物為 24-CB，因此其脫氯形態為脫去間位(*meta position*)的氯取代基，也可以

說是脫去相鄰三個氯取代基(2-,3-,4-)中間的那個氯基(3-)，然而對其它不具相鄰三個氯取代基的多氯聯苯(2,4,5-trichlorobiphenyl、2,3-dichlorobiphenyl、2,4-dichlorobiphenyl)之脫氯結果顯示，在長達五個月的培養期間並無明顯的脫氯作用與脫氯產物產生，因此本混合菌的脫氯特性似乎無法單純地以其具有脫去間位與鄰位氯基的能力來說明，而是應該以具有脫去相鄰三個氯基中間的氯基的能力來加以解釋，所以凡是不具該氯取代形態的多氯聯苯分子便無明顯的脫氯作用產生。

五、參考文獻

- 1.Kawano, M. ,S. Tsuda, I. Watanabe, M. Matsuda, T. Wakimoto, Y.L. Chen, Y.S. Wang, and R. Tatsukawa. 1992. Polyhalogenated dibenzo-*p*-dioxins and polyhalogenated dibenzofurans produced by the pyrolysis at the metal recycle factories: I. Environmental contamination and behavior of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans. The proceedings of the International Symposium of University of Osaka Prefecture on Gloabal Amenity (ISGA Osaka '92), 445-450. Osaka, Japan.
- 2.羅初英. 1989. 多氯聯苯、戴奧辛等有機氯化物在土壤及水質中含量分析. 行政院國家科學委員會環保大型計劃“二仁溪污染大型研究計劃”.