

嘉南藥理科技大學專題研究計畫成果報告

生物淋溶處理河川底泥時 PAH 之釋出

計畫類別：個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：CNEE93-02 子計畫(1)

執行期間：93 年 1 月 1 日至 93 年 12 月 31 日

計畫總主持人：余光昌

子計畫主持人：余光昌

計畫參與人員：凌慧紋

執行單位：嘉南藥理科技大學環境工程與科學系

中華民國 94 年 2 月 15 日

摘要

二仁溪下游河段為台灣南部地區污染最嚴重之河段之一，其底泥中更富含歷年來累積而成之高濃度重金屬。本研究主要探討由二仁溪底泥所馴養出之原生硫氧化菌在進行底泥中重金屬之生物淋溶時 PAH 釋出之情形。結果顯示，底泥在有滅菌無添加基質、無滅菌無添加基質及無滅菌有添加基質的情況下進行生物淋溶，過程中到試程結束時 PAHs 皆會隨著 pH 下降而釋出，只有 2~3 環的 Phenanthrene 和 5 環中的 Benzo(a)pyrene、Dibenz(a,h)anthracene 沒有釋出的現象。

關鍵詞：重金屬、底泥、生物淋溶、硫氧化菌、PAH

Abstract

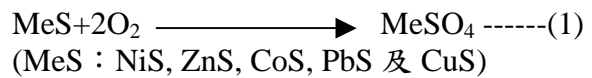
The aim of this study is to explore the release of PAHs from sediment during the bioleaching process of remediating the sediment contaminated with heavy metals. Results reveal that the release of 4-rings, 5-rings and 6-rings PAHs in the bioleaching processes with non-sterilization and substrate adding significantly increased with the decrease of sediment pH.

一、緣由與目的

在以往之研究中[1, 2, 3, 4, 5, 6]，生物淋溶的方法最早係發現在酸礦排水中，為一種自然發生之現象，其他地方也可發現此現象，如土壤酸化或污水管之冠狀腐蝕皆導因於此。但生物淋溶也有正面之作用，例如從礦物質中溶出金屬，從硫礦中回收金屬以及工業廢棄物或廢水廢棄污泥中去除重金屬等。

生物淋溶之原理可由下列反應式來說明：

direct mechanism



leaching bacteria :

Thiobacillus(T.) ferrooxidans

T. thiooxidans

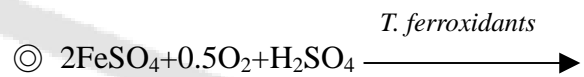
T. prosperus

T. cuprinus

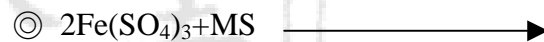
Leptospirillum ferrooxidans

藉此機制來溶出重金屬，需時較長。

indirect mechanism



單純化學反應



(2)式及(3)式反應係循環反應，持續地溶出重金屬。此二反應中係加入 FeSO₄ 做為基質，在 pH 值酸性(溶礦:pH 2.3 ; 溶污泥:pH 4.0)下，以鐵氧化菌進行生物淋溶作用。而(4)式則加入硫粉做為基質，以硫氧化菌進行生物淋溶，且無需調整 pH 值。

硫氧化菌在應用上除了 pH 值無需調整而節省費用外，尚有其他優點，包括：縮短反應時間(由 8-30 天左右降至 40 小時以下)；淋溶效果較佳；費用節省；操作上較容易；可在室溫下(20~30 °C)操作等等。

影響底泥或污泥進行生物淋溶之因素很多，包括下列各項：

1. 底泥(或污泥)特性
2. 底泥(或污泥)之起始 pH 值
3. 生物接種百分率

4. 反應停留時間
5. 基質添加率
6. 操作溫度
7. 底泥(或污泥)中 AVS 含量高低
8. 底泥(或污泥)中重金屬種類及其鍵結型態分佈
9. 營養質(N, P)之添加情形
10. 底泥(或污泥)氧化還原狀態

大部份之生物淋溶方法用在環保方面之研究，多著重於在廢水或生活污水(sewage)處理後，所產生之污泥的重金屬脫除處理，以便有利於後續掩埋之處置。

而關於河川底泥利用生物淋溶方法來除去重金屬之研究較為缺乏，僅有 Seidel H.等(1997)，利用德國萊比錫當地馴養之硫氧化菌來進行研究。其結果發現，剛疏浚起來之厭氧性底泥，生物淋溶效果不佳，若將其久置一段時間，形成的好氧狀態，就可以有較高之效率。因此，以生物淋溶法脫除河川污染底泥重金屬之研究，急待加強，以便提出更好之菌種及最佳之操作條件。以生物淋溶方法處理工業廢水或生活污水污泥時，一般 Cd、Cu、Zn 溶出效率較高，Ni 次之，對 Pb 及 Cr 溶出效率最差。因此，河川底泥中 Pb、Cr 溶出效率能否提高，也是本研究之重點。

PAHs 在自然界中對生態和環境是有危害的，美國環保署早於 80 年代即宣佈其中 16 種化合物為優先列管污染物。

本研究之目的，乃欲探討由二仁溪底泥所馴養出之原生硫氧化菌在進行底泥中重金屬之生物淋溶時 PAH 釋出之情形。

二、研究方法

本研究方法可分為下列各項：

1. 底泥樣品的採集

本研究將在二仁溪下游污染河段以 Ekman-Birge 採泥器採取泥樣，取 0~10cm 泥樣混合均勻，以供生物淋溶試驗用。混合泥樣將以冰盒冷藏攜回實驗室，先測其含水率，假密度後，一部分底泥在手套箱內缺氧

風乾。風乾後先將硬塊搗碎，再以 2mm 細篩去除粗顆粒(dp> 2mm)，混合均勻後放入乾燥器中等待測定其物化特性，而其他混合泥樣則供硫氧化菌馴養及生物淋溶試驗用。

2. 硫氧化菌之馴養

取 8.0g 二仁溪底泥(濕重)放入 250mL 培養基中進行硫氧化菌之馴養。每一試程結束後，取上澄液 5 mL，放入含 250mL 培養基及 8.0g 二仁溪底泥(濕重)之錐形瓶中繼續馴養(subculturing)。培養基之組成為：

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 5.16gS/L;

NH_4Cl 1g/L

KH_2PO_4 1g/L;

$\text{MgCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.5g/L

3. 生物淋溶試驗

生物淋溶試驗之進行，係每一試程配置 4.5g/L 之二仁溪底泥(濕重)，再加入控制量之基質及 5mL 之已馴養菌種，然後再以純水稀釋至 250mL。接著，將錐形瓶放入恆溫培養箱中，在控制之不同硫氧化菌植種量(0, 1, 2, 4, 8%)之下及 120 rev/min 攪動速度下培養，每 2 至 3 日取出 5mL 樣品，經 10000g, 10min 之離心後，上澄液則供 pH、氧化還原電位(ORP)、硫酸鹽含量及重金屬鉛含量之分析，以觀察其變化。殘餘泥樣則分析重金屬各鍵結型態之分佈。

4. PAH 之分析

經自然風乾後搗碎去除雜質之底泥秤取約 1.00 ±0.01g，經索氏萃取(NIEA M165.00C) → 真空濃縮 → 吹氮 → 矽膠淨化(NIEA M183.00C) → 真空濃縮 → 吹氮 → 上機(GC-FID)(NIEA R812.20C);分析底泥中有機化合物的存在。步驟如下：

將秤取完的泥樣至於索氏萃取裝置中的濾筒內，並再 250mL 的燒瓶中加入 200mL 二氯甲烷和少許沸石，接著加熱開冷水使之回流效果加以萃取，之後接回流出的溶液經真空濃縮，使溶液濃度更加純化。接著吹氮，同時加入環己烷將殘留在玻璃壁上的溶液沖下最後定量至 1mL。接著將吹氮完的溶液進行

矽膠淨化。先將淨化管先用 50mL 丙酮和 50mL 的環己烷沖洗（烘乾），接著淨化管內填充玻璃棉、矽膠 10.0g、1~2cm 的無水硫酸鈉（Na₂SO₄）再以 CH₂Cl₂ 流洗使矽膠全部濕潤並不使之乾掉，接著用 40mL 正戊烷預先沖洗並丟棄（以 2mL/min）約 25min，再將之前所吹氮定量之溶液倒入淨化管內並用 2mL 環己烷沖洗樣品瓶，接著以 25mL 正戊烷沖洗管柱並丟棄後以 25mL CH₂Cl₂/C₅H₁₂ 比例為 2：3 沖洗（即 10mL 的 CH₂Cl₂、的 15mL C₅H₁₂）這時收集所淨化出之溶液裝至於棕色瓶內。之後真空濃縮吹氮定量再以 GC-FID 分析。

三、結果與討論

1. 經生物淋溶時底泥顆粒中 PAHs 的釋出

依照美國環保署(U.S. EPA)宣佈列為優先管制之多環芳香族碳氫化合物(Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs)16種化合物，來做為底泥顆粒經生物淋溶過程時是否釋出有機物中的16種PAHs化合物。試程以(原始底泥有滅菌但無添加基質；原始底泥無特別滅菌也無添加基質；原始底泥無特別滅菌但有添加基質)對於PAHs釋出的情形如及表4.4.4.1、表4.4.4.2、表4.4.4.3所示。結果顯示由16種PAHs總量的範圍於原始底泥有滅菌但無添加基質下(45.13~23.14 mg/kg)、原始底泥無特別滅菌也無添加基質下(44.93~38.33mg/kg)、原始底泥無特別滅菌但有添加基質下(46.89~27.60mg/kg)都有明顯減少的情形，這表示底泥中PAHs的釋出，更進一部了解PAHs釋出情形可由圖4.4.4.1、圖4.4.4.2、圖4.4.4.3看出。

由圖4.4.4.1顯示試程在生物淋溶一開始時pH7.93，在16種PAHs化合物中以4環之Fluoranthene (FL)濃度最高為13.47 mg/kg，其次為2環中的Naphthalene(Naph)(8.79 mg/kg)；經過生物淋溶過程於14天時底泥顆粒中所含有機物化合物逐漸釋出，pH6.49時2~3環中Naphthalene (Naph)、

Acenaphthylene(Acen)、Acenaphthene(Ace)及4環之化合物都呈現明顯的釋出，其中以Naphthalene(Naph)、Acenaphthylene(Acen)、Acenaphthene(Ace)、Pyrene(Pyr)、Benzo(a)anthracene(BaA)、Chrysene(Chr)效果最佳，釋出為原來濃度的一半或更多；而其他如Fluorene (Flu)、Phenanthrene(PA)、Anthracene(Ant)、Benzo(a)pyrene(BaP)、Dibenz(a,h)anthracene (DBA)、Indeno(1,2,3-c,d)pyrene(IND)及Benzo(g,h,i)perylene(BghiP)，在生物淋溶過程中釋出情形並不顯著，釋出為原來之0.08~0.6 mg/kg而已；在五環中的Benzo(b)fluoranthene(BbF)和Benzo(k)fluoranthene(BkF)並沒有濃度的存在，這跟圖4.4.4.2結果一至，可能的原因為底泥中並沒有這兩種有機化合物的存在，而這兩個試程中也沒有添加基質作用，因為在圖4.4.4.3試程中添加基質的情形於生物淋溶一開始時，有這兩種有機化合物的存在，這顯示電子提供者之還原態硫會造成(BbF)和(BkF)的產生。

在底泥無特別滅菌也無添加基質之生物淋溶過程中PAHs濃度的變化如圖4.4.4.2所示，以2環中(Naph)的濃度最為顯著，這跟底泥無特別滅菌但有添加基質(圖4.4.4.3)結果一致，濃度相當高(17~18mg/kg)；相對的，在底泥有滅菌但無添加基質(圖4.4.4.2)中，濃度所佔為其1/2，這顯示經高溫高壓滅菌後的底泥比在自然界環境中之底泥，PAHs中2環之化合物濃度較低；只有在4環中的(FL)在底泥經滅菌後濃度較高並最顯著。在圖4.4.4.2中淋溶一開始pH7.91時濃度較高為2環(Naph)(18.86 mg/kg)、3環中的(Ant)(3.16 mg/kg)和4環(FL)(4.53 mg/kg)，經生物淋溶到試程結束pH6.54的第20天，發現以原始泥中原生硫氧化菌的氧化作用經化學反應使pH下降，pH遞減過程中PAHs中16種化合物裡，只有2~3環中的(Naph)、(Acen)、(Ace)、(Flu)、(PA)；4環中的(FL)、(Pyr)、

(BaA)、(Chr)有較明顯的釋出趨勢，而其他化合物中經生物淋溶過程釋出情形非常微小並沒有太大的改變。

在添加基質作為電子提供者使硫氧化菌氧化 pH 下降之圖 4.4.4.3 顯示生物淋溶一開始時 pH6.11 到試程結束的 pH2.20 整個試程在 26 天淋溶時間下，PAHs 中的化合物都有釋出的情形，最顯著為(Ant)、(Chr)、(BbF)、(BkF)、(IND)、(BghiP)而其中(Chr)更可以完全的釋出，如圖 4.4.4.2 結果一至，並且在圖 4.4.4.1 中也可以將其幾乎完全釋出；在 5 環中的(BbF)、(BkF)和 6 環中的(IND)、(BghiP)在淋溶過程中基質輔助下都能減少存在底泥的濃度，使濃度由原先(1.74~5.16 mg/kg)減少至(0~0.39 mg/kg)。整個淋溶過程中有機化物的釋出在其 pH3.78 降至 pH2.20 小幅下降時，對 PAHs 溶出影響並不大；在圖 4.4.4.1、圖 4.4.4.2、圖 4.4.4.3 中不同淋溶條件下，發現淋溶過程到淋溶結束時 2~3 環中的(PA)、5 環中的(BaP)及(DBA)並沒有變化。

五、參考文獻

1. Seidel H., Ondrusch Ka. J., Morgenstern P. and Stottmeister U., 1997, Bioleaching of Heavy Metals from Contaminated Aquatic Sediments Using Indigenous Sulfur-Oxidizing Bacteria : A Feasibility Study, International Conference on Contaminated Sediments, preprints, Vol. I, pp. 420-427.
2. Tyagi R. D., Blais J. F., Auclair J. C. and Meunier N., 1993, Bacterial leaching of Toxic Metals from Municipal Sludge : Influence of Sludge Characteristics, *Wat. Env. Res.*, Vol. 65, No. 3, pp. 196-204.
3. Blais J. F., Tyagi R. D., Auclair J.C. and Lavoie M. C., 1992, Indicator Bacteria Reduction in Sewage Sludge by a Metal Bioleaching Process, *Wat. Res.*, Vol. 26, No. 4, pp. 487-495.
4. Couillard D. and Chartier M., 1991, Removal of Metals from Aerobic Sludges by Biological Solubilization in Batch Reactors, *J. Biotechnology*, Vol. 20, pp. 163-180.
5. Blais J. F., Tyagi R. D., Auclair J. C., 1992, Bioleaching of Metals from Sewage Sludge by Sulfur-Oxidizing Bacteria, *J. Envir. Engrg.*, Vol. 118, No.5, pp. 690-707.
6. Blais J. F., Tyagi R. D., Auclair J. C. and Huang C.P., 1992, Comparison of Acid and Micro bial Leaching for metal Removal from Municipal Sludge, *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 26, No.1-2 pp. 197-206.

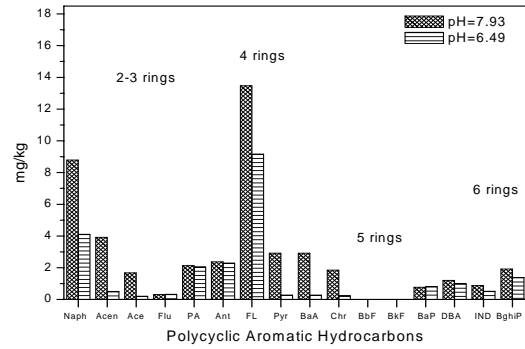


圖 4.4.4.1 原始底泥有滅菌但無添加基質之生物淋溶過程底泥顆粒中 PAHs 濃度的變化

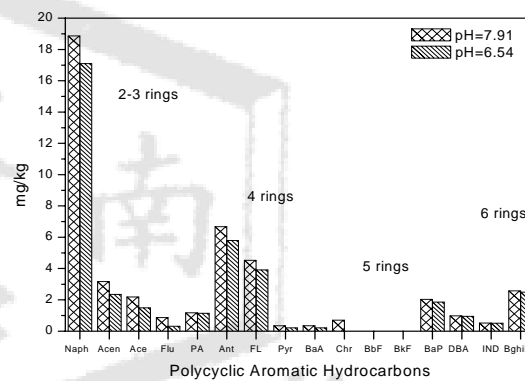


圖 4.4.4.2 原始底泥無特別滅菌也無添加基質之生物淋溶過程底泥顆粒中 PAHs 濃度的變化

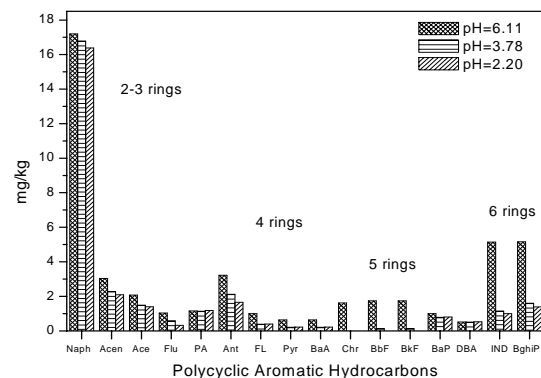


圖 4.4.4.3 原始底泥無特別滅菌但有添加基質之生物淋溶過程底泥顆粒中 PAHs 濃度的變化

表 4.4.4.1. 原始底泥有滅菌但無添加基質之生物淋溶過程底泥顆粒中 PAHs 濃度的變化

compound	Concentration(mg/kg dry weight)		
	At fast pH7.93	第 2 天 pH6.54	第 14 天 pH6.49
2-ring			
Naphthalene	8.79	5.28	4.11
3-ring			
Acenaphthylene	3.92	0.95	0.50
Acenaphthene	1.68	0.84	0.21
Fluorene	0.31	0.33	0.32
Phenanthrene	2.13	2.25	2.05
Anthracene	2.37	2.49	2.29
4-ring			
Fluoranthene	13.47	10.58	9.17
Pyrene	2.92	0.53	0.28
Benzo(a)anthracene	2.92	0.53	0.28
Chrysene	1.85	1.47	0.23
5-ring			
Benzo(b)fluoranthene	0	0	0
Benzo(k)fluoranthene	0	0	0
Benzo(a)pyrene	0.77	0.82	0.81
(Dibenz(a,h) anthracene	1.20	1.00	0.99
6-ring			
Indeno(1,2,3-c,d)pyrene	0.88	0.53	0.52
Benzo(g,h,i)perylene	1.92	1.40	1.38
Total PAHs	45.13	28.99	23.14

表 4.4.4.2. 原始底泥無特別滅菌也無添加基質之生物淋溶過程底泥顆粒中 PAHs 濃度的變化

compound	Concentration(mg/kg dry weight)			
	At first pH 7.91	第 1 天 pH 5.95	第 2 天 pH 6.30	第 20 天 pH 6.54
2-ring				
Naphthalene	18.86	17.65	17.70	17.10
3-ring				
Acenaphthylene	3.16	2.59	2.50	2.35
Acenaphthene	2.18	1.62	1.55	1.49
Fluorene	0.87	0.38	0.35	0.31
Phenanthrene	1.17	1.15	1.17	1.14
Anthracene	6.68	5.92	5.88	5.8
4-ring				
Fluoranthene	4.53	4.20	4.33	3.91
Pyrene	0.34	0.24	0.21	0.21
Benzo(a)anthracene	0.34	0.24	0.21	0.21
Chrysene	0.7	0	0	0
5-ring				
Benzo(b)fluoranthene	0	0	0	0
Benzo(k)fluoranthene	0	0	0	0
Benzo(a)pyrene	2.03	2.06	1.99	1.86
(Dibenz(a,h) anthracene	0.98	1.97	0.98	0.95
6-ring				
Indeno(1,2,3-c,d)pyrene	0.52	0.51	0.52	0.51
Benzo(g,h,i)perylene	2.57	3.10	2.49	2.49
Total PAHs	44.93	40.64	39.9	38.33

表 4.4.4.3. 原始底泥無特別滅菌但有添加基質之生物淋溶過程底泥顆粒中 PAHs 濃度的變化

compound	Concentration(mg/kg dry weight)								
	At fast pH 6.11	pH 7.97	pH 5.84	pH 5.27	pH 3.78	pH 3.02	pH 2.81	pH 2.22	pH 2.20
2-ring									
Naphthalene	17.20	13.84	16.38	16.72	16.78	15.85	15.93	17.47	16.38
3-ring									
Acenaphthylene	3.04	2.18	2.4	2.32	2.27	2.08	2.08	2.27	2.09
Acenaphthene	2.08	1.45	1.61	1.59	1.49	1.36	1.35	1.47	1.4
Fluorene	1.03	0.72	0.77	0.61	0.58	0.44	0.42	0.33	0.32
Phenanthrene	1.15	0.93	1.11	1.13	1.14	1.08	1.1	1.22	1.18
Anthracene	3.23	2.08	2.44	2.17	2.12	1.99	1.98	1.99	1.66
4-ring									
Fluoranthene	0.99	0.45	0.37	0.38	0.39	0.37	0.37	0.41	0.4
Pyrene	0.63	0.17	0.20	0.21	0.21	0.20	0.2	0.22	0.22
Benzo(a)anthracene	0.63	0.17	0.20	0.21	0.21	0.20	0.2	0.22	0.22
Chrysene	1.62	0.65	0.44	0	0	0	0	0	0
5-ring									
Benzo(b)fluoranthene	1.74	1.27	0.88	0.59	0.13	0	0	0	0
Benzo(k)fluoranthene	1.74	1.27	0.88	0.59	0.13	0	0	0	0
Benzo(a)pyrene	0.99	0.68	0.79	0.78	0.78	0.74	0.75	0.83	0.81
(Dibenz(a,h)anthracene	5.14	3.39	2.94	2.57	1.15	0.94	0.92	1.02	0.99
6-ring									
Indeno(1,2,3-c,d)pyrene	0.51	0.41	0.49	0.5	0.51	0.48	0.49	0.54	0.53
Benzo(g,h,i)perylene	5.16	3.17	3.72	1.92	1.60	1.46	1.32	1.43	1.39
Total PAHs	46.89	32.84	35.64	32.3	29.48	27.19	27.13	29.43	27.60