

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

結合微生物脫氯作用與化學氧化反應進行含氯芳香族化合物之降解研究

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC92-2313-B-041-009-

執行期間：92年08月01日至93年07月31日

執行單位：嘉南藥理科技大學環境工程與科學系(所)

計畫主持人：陳意銘

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 11 月 2 日

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

結合微生物脫氯作用與化學氧化反應進行含氯芳香族化合物之降解研究

The Degradation of Chlorinated Aromatics by Microbial Dechlorination

Coupling with Chemical Oxidation Procedures

計畫編號：NSC-92-2313-B-041-009

執行期限：92年8月1日至93年7月31日

主持人：陳意銘 嘉南藥理科技大學環境資源管理系

一、 中英文摘要

結合化學氧化與生物分解程序進行有機毒性物質之排除，為近來頗受重視之研究方向。本計畫結合脫氯與氧化反應，對於PCP與HCB採取連續進行生物性脫氯作用與化學性氧化分解兩種降解程序。研究成果顯示，僅採用化學氧化降解，高含氯量之芳香族化合物確實具有抵抗化學氧化之特性，因此Fenton系統針對這類化合物並無明顯降解效果。反之，微生物脫氯降解方面，脫氯作用之難易進行與否與含氯量多寡並無明顯關係，以氯苯化合物而言，高含氯量之六氯苯、五氯苯反較二氯苯更易進行脫氯作用。以Fenton系統處理六氯苯與五氯酚之脫氯產物--135-三氯苯、13-二氯苯、14-二氯苯、345-三氯酚、35-二氯酚，其降解率可達72%、88%、86%、69%與85%。然而若將化學與脫氯兩步驟結合，因為脫氯作用培養液之有機質與微生物的干擾，其後續之化學氧化效率會明顯降低，因此本研究亦採用不同處理方式以減少脫氯培養液之有機質成分與含量，研究結果顯示，適當減低有機質將有助於脫氯產物之後續氧化降解。

關鍵詞：五氯酚、六氯苯、化學氧化、脫氯作用

Abstract

Recently, a combined method of chemical oxidation treatment and biological

degradation treatment to deplete the PCP and HCB pollutions were discussed. In this study, the degradations of PCP and HCB were made by microbial dechlorination coupling with chemical oxidation procedures. The results in the first year suggested that the highly chlorinated aromatics were more resistant to Fenton oxidation than less chlorinated ones. On the other hand, highly chlorinated aromatics were strongly dechlorinated by acclimated microorganisms but less chlorinated ones were not. As results showed, the dechlorination products of HCB and PCP, 135-trichlorobenzene, 13-dichlorobenzene, 14-dichlorobenzene, 345-trichlorophenol, and 35-dichlorophenol were treated by Fenton system with decomposition ratios of 72%, 88%, 86%, 69% and 85%, respectively. However, when HCB and PCP were first dechlorinated by acclimated anaerobic microorganisms for removal of chlorines and then introduced directly to a Fenton system for following oxidation and ring cleavage. The organic matters in the dechlorination cultures had reduced the extent of oxidation. In the third step of this study, we also evaluated how the organic contents affected the efficiency of Fenton system.

Keywords : Pentachlorophenol, Hexachlorobenzene, Chemical oxidation, Dechlorination

二、 緣由與目的

含氯芳香族化合物中氯酚類化合物(chlorinated phenols, CPs)與氯苯類化合物(chlorinated benzenes, CBs)廣泛而大量地利用於農、工業上，如農業用之殺蟲劑、殺菌劑與殺草劑，工業上之木材防腐劑與工業原料等。長期以降，氯酚類、氯苯類化合物在壤、水體及生物體的嚴重污染^(1,2)。這些含氯芳香族化合物對多種生物均具毒性⁽³⁾，對微生物具抑制性，對人類亦有致突變性與致癌性⁽⁴⁾，其中尤以高含氯量之五氯酚(pentachlorophenol, PCP) 六氯苯(hexachlorobenzene, HCB)的危害最受重視，因此我國環保署明定多種氯酚類化合物與氯苯類化合物為重要列管毒性物質。

近來台灣地區一連串水產魚貝類之含毒性物質事件，顯示環境有機毒性物質之處置迫在眉睫，在在引起環境與衛生學界的注意，亟欲達成氯酚類化合物(CPs)與氯苯類化合物(CBs)等污染的防治及排除。在處理受污染的土壤與地下水之方法上，雖然採用生物處理法將有機污染物加以好氧礦化分解之研究已漸成熟，其費用與其他處理方法相較之下較為經濟，然而CPs與CBs均為有毒性物質，若利用傳統的生物處理法(如活性污泥法、旋轉生物法、生物濾床等)處理，則會因此類化合物對微生物的抑制作用，容易造成整個生物處理系統的操作不良，而無法有效達到處理目的。因此化學處理法成為重要的處理方式，相關研究指出^(5,6)，若於受污染土壤中注入適量過氧化氫，能有效去除難分解之有機物質，且過氧化氫分解後之產物可作為氧源供微生物利用，故此種兼具生物及化學反應之處理方式格外受到重視。

因此，本計畫結合生物性脫氯作用與化學性氧化反應兩個步驟，首先利用馴化厭氧菌進行還原性脫氯作用，先脫去 PCP

與 HCB 分子上部份氯基^(7,8,9)，這些含氯量較少之脫氯產物可容易地經由 Fenton 法加以氧化降解與裂環，如此將可有效提升整體分解效果。

本研究結合脫氯與氧化反應，對於 PCP 與 HCB 採取連續進行生物性脫氯作用與化學性氧化分解兩種降解程序，達成將 PCP、HCB 裂環分解之目標，研究內容包括：

1. 氯酚類化合物與氯苯類化合物之 Fenton 反應研究。
2. PCP 與 HCB 脫氯微生物之馴化培養。
3. PCP 與 HCB 之脫氯形態與脫氯途徑探討。
4. PCP 與 HCB 脫氯產物之 Fenton 氧化分解。

三、 結果與討論

本計畫『結合微生物脫氯作用與化學氧化反應進行含氯芳香族化合物之降解研究』之工作重點分為四方面，第一在化學氧化降解方面，著重於各氯苯與氯酚化合物進行 Fenton 反應之分解率測試，第二在於微生物脫氯降解方面，目標在於脫氯微生物之馴化與強化，第三在於脫氯培養液之有機物成分對於氯苯與氯酚脫氯產物之 Fenton 氧化分解的影響，第四為直接結合脫氯降解與氧化分解作用，了解脫氯菌液中脫氯產物之氧化情形。

1. 氯酚化合物與氯苯化合物之 Fenton 降解效能比較

對各種化合物進行 Fenton 反應，比較固定條件下氧化降解效果，以作為馴化特定脫氯形態微生物之參考。降解結果如表一所示，不同含氯量之氯酚化合物與氯苯化合物進行 Fenton 反應之降解率。

表一 氯酚與氯苯化合物之 Fenton 降解率

反應條件一: pH=3, H ₂ O ₂ 0.1 ml, FeSO ₄ 0.01 M		
氯酚化合物	降解率(%)	反應時間(Min)
一氯酚	71~80	30
二氯酚	65~82	30
三氯酚	35~52	30
四氯酚	36~43	60
五氯酚	25	60
氯苯化合物		
氯苯化合物	降解率(%)	反應時間(Min)
一氯苯	78	30
二氯苯	52~68	30
三氯苯	37~62	30
四氯苯	31~39	60
五氯苯	33	60
六氯苯	21	60
反應條件二: pH=2, H ₂ O ₂ 0.2 ml, FeSO ₄ 0.01 M		
氯酚化合物	降解率(%)	反應時間(Min)
一氯酚	90~94	30
二氯酚	82~85	30
三氯酚	63~72	30
四氯酚	40~53	30
五氯酚	38	30
氯苯化合物		
氯苯化合物	降解率(%)	反應時間(Min)
一氯苯	95	30
二氯苯	85~88	30
三氯苯	72~76	30
四氯苯	56~62	30
五氯苯	52	30
六氯苯	34	30

結果顯示,高含氯量之氧化分解效果甚差,不到 40%,然而低含氯量者之分解則可高達 80%,顯見 Fenton 系統對於五氯酚等高氯化合物非屬有效之方法。此外,相同含氯數之氯苯化合物,例如三氯苯(trichlorobenzene, TCB)有 123-三氯苯、124-三氯苯、135-三氯苯,這三種同類物之 Fenton 降解率分別為 72%、76%、76%,差距並不大,因此具有特定脫氯途徑之厭氧菌的馴化工作相形之下並不重要。相同狀況亦發生在氯酚化合物之氧化分解,235-三氯酚(trichlorophenol, TCP)、245-三氯酚、345-三氯酚之分解率則為 68%、66%、72%。

2. 脫氯微生物之馴化培養與脫氯測試

二仁溪底泥厭氧菌分別以五氯酚與六氯苯馴化培養至三個月時,將各馴化菌液分別取出進行初步脫氯測試,在一至三個月之脫氯培養期間,部份馴化微生物已可對五氯酚、五氯酚與六氯苯行脫氯作用,且有明顯之脫氯產物生成,但部份組別之脫氯程度均未達 60%,顯示馴化微生物雖具有脫氯活性,然其脫氯能力仍有待持續馴化培養加以強化。

六氯苯馴化微生物在經 6 個月之馴化期後,其脫氯能力已然增強,經脫氯測試,可在 10 天內將 2 ppm 之六氯苯完全降解,16 天內可完全降解 10 ppm,30 天內可降解 20 ppm 之六氯苯。

六氯苯之主要脫氯途徑如下:

六氯苯 → 五氯苯 → 1235-四氯苯 → 135-三氯苯

次要脫氯途徑如下:

六氯苯 → 五氯苯 → 1235-四氯苯 → 124-三氯苯 → 13-三氯苯+14-三氯苯

因此,六氯苯之脫氯產物主要為 135-三氯苯,只有少量 13-、14-二氯苯。

五氯酚之脫氯作用則需較長之馴化時間,該厭氧微生物在經 9 個月之馴化期後,其對五氯酚之脫氯能力為,12 天內將 2 ppm 之五氯酚完全降解,30 天內可完全降解 10 ppm,55 天內可降解 20 ppm 之五氯酚。

五氯酚之主要脫氯途徑如下:

五氯酚 → 2345-四氯酚 → 345-三氯酚 → 35-二氯酚

因此,五氯酚之脫氯產物主要為 345-三氯苯與 35-二氯酚(dichlorophenol, DCP),少量為 34-二氯酚。

此外,實驗中並測試河川中原始菌液之脫氯能力,結果證實多處底泥與水體微生物均可對六氯苯產生脫氯作用^(10,11)。

3. 有機成分對脫氯產物氧化分解的影響

研究分為兩部份，首先進行脫氯培養液之有機成分降低研究，實驗利用厭氧培養與好氧培養來降低有機物含量，結果如表二所示，

表二 添加有機物之培養液經不同培養方式之 COD 降低情形

培養液添加物	培養方式	處理前 COD (mg/L)	處理後 COD (mg/L)	培養期 (天)	
不添加	厭氧	98	76	30	
	好氧	92	70	10	
	厭氧-好氧	103	72	30-10*	
YE** (g/L)	5	厭氧	4568	2465	60
		好氧	4568	1126	15
		厭氧-好氧	4568	983	70-15
	1	厭氧	863	362	45
		好氧	863	213	15
		厭氧-好氧	863	247	50-15
	0.1	厭氧	162	124	30
		好氧	162	89	15
		厭氧-好氧	162	79	35-15
Suc	5	厭氧	5018	2796	60
		好氧	5018	1352	15
		厭氧-好氧	5018	1035	70-15
	1	厭氧	921	405	45
		好氧	921	296	15
		厭氧-好氧	921	301	50-15
	0.1	厭氧	185	118	30
		好氧	185	132	15
		厭氧-好氧	185	103	35-15
Glu	5	厭氧	4855	2393	60
		好氧	4855	756	15
		厭氧-好氧	4855	697	70-15
	1	厭氧	987	362	45
		好氧	987	298	15
		厭氧-好氧	987	304	50-15
	0.1	厭氧	173	98	30
		好氧	173	102	15
		厭氧-好氧	173	93	35-15

*:30-10 表示先經厭氧培養 30 天，再經好氧培養 10 天。

** :YE 為 yeast extract, Suc 為 Sucrose, Glu 為 Glucose

至於第二部份之工作，則取用前述經培養降低有機含量的培養液，調整部份組別

之 COD 值，加入脫氯產物進行 Fenton 氧化分解，實驗結果如表三所示：

表三 培養液中添加六氯苯與五氯酚脫氯產物之 Fenton 分解情形

培養液添加物	培養方式	COD (mg/L)	氧化分解率(%)				
			135-TCB	345-TCP	35-DCP		
不添加	An*	76	56	54	82		
	Ae	70	52	61	79		
	Bi	72	52	55	80		
YE** (g/L)	5	An	2465	11	9	23	
			1000#	22	19	30	
			697 [Ⓢ]	28	32	41	
		Ae	1126	19	16	39	
			523 [Ⓢ]	34	32	49	
			983	25	16	37	
	1	An	362	39	42	70	
			300#	46	42	68	
			115 [Ⓢ]	53	56	78	
		Ae	213	56	50	68	
			132 [Ⓢ]	53	52	77	
			247	50	50	70	
	0.1	An	124	53	55	81	
			100#	56	57	79	
		Ae	89	51	60	81	
	Suc	5	An	2796	12	7	26
				1000#	24	23	38
				1352	16	18	39
Ae			1000#	22	25	38	
			1035	25	21	41	
			405	35	37	52	
1		An	300#	43	39	56	
			296	42	47	61	
			301	40	42	63	
		0.1	An	118	53	60	72
			Ae	132	55	53	70
			103	52	55	80	
Glu		5	An	2393	15	11	27
				1000#	26	23	35
				756	29	28	38
			Ae	697	34	29	41
				362	39	43	52
				300#	46	50	57
	1	Ae	298	45	45	61	
			304	43	47	58	
			An	98	53	53	79
		0.1	Ae	102	59	59	83
			93	51	59	80	

*:An 為厭氧，Ae 為好氧，Bi 為厭氧後好氧

#:培養液以二次水稀釋

@:培養液經 2 μm 濾膜過濾

由結果觀之，有機質含量對於低氯量

之氯苯與氯酚之氧化降解影響甚大，當 COD 大於 1000，則分解率遽降至 30% 以下，但若將 COD 值降至 100 mg/L 的水準，則分解率則與純水中進行的相去不遠。因此有兩種方法可以改善有機物之干擾，一是降低有機物之添加，在本研究中，部分之馴化厭氧菌在 0.1 g/L 的有機物添加下可進行脫氯作用，因此脫氯菌液中之 COD 並不需高至 1000 來達成脫氯作用的進行，其次，對於脫氯菌液進行適當的曝氣，亦可降低其有機質含量。此外，不同有機物添加的組別，若其 COD 值相近，則各氯苯、氯酚化合物之氧化降解率差異不大，若由脫氯實驗之角度觀之，則 YE 應是較好的選擇。

4. 直接結合微生物脫氯作用與氧化 Fenton 氧化作用分解六氯苯與五氯酚

脫氯作用之馴化厭氧微生物來源有二，一是僅經馴化增殖之厭氧混合菌液，二是該菌液經脫氯實驗後再度轉移至新培養基重新培養之轉移菌液，兩種菌液之脫氯作用不盡相同，其脫氯結果如表四所示。

表四 六氯苯與五氯酚之脫氯作用

六氯苯脫氯實驗					
微生物來源*	YE 添加量 (g/L)	脫氯作用	脫氯產物	培養時間 (天)	最終 COD (mg/L)
Et-Ac	5	O	135-TCB 13-DCB ^{&}	16	2526
	1	O	135-TCB 13-DCB	20	549
	0.1	X	--	--	--
Et-Tr	5	O	135-TCB	10	3065
	1	O	135-TCB	12	638
	0.1	O	135-TCB	20	117
Nd-Ac	5	O	135-TCB 13-DCB	16	2388
	1	O	135-TCB 13-DCB	18	593
	0.1	X	--	--	--
Nd-Tr	5	O	135-TCB	10	3284
	1	O	135-TCB	10	521
	0.1	O	135-TCB	26	96

五氯酚脫氯實驗					
微生物來源	YE 添加量 (g/L)	脫氯作用	脫氯產物	培養時間 (天)	最終 COD (mg/L)
Et-Ac	5	O	345-TCP 35-DCB	35	2433
	1	O	345-TCP 35-DCB	40	513
	0.1	X	--	--	--
Et-Tr	5	O	345-TCP 35-DCB	20	3172
	1	O	345-TCP 35-DCB	25	587
	0.1	X	--	--	--
Nd-Ac	5	O	345-TCP 35-DCB	30	2239
	1	O	345-TCP 35-DCB	40	459
	0.1	X	--	--	--
Nd-Tr	5	O	345-TCP 35-DCB	20	2946
	1	O	345-TCP 35-DCB	20	596
	0.1	O	345-TCP 35-DCB	35	101

* Et 表示微生物取自二層行橋流域、Nd 表示微生物取自南荳橋流域、Ac 表示馴化培養微生物、Tr 表示轉移培養微生物。

[&] 13-DCB 產生量甚低，僅佔所有脫氯產物之 6~8%。

脫氯作用完成後，添加 YE 5 g/L 之組別因為 COD 含量過高，不利後續 Fenton 反應，因此只採用添加 YE 1g/L 與 0.1g/L 之組別進行後續氧化實驗，其中添加 YE 1g/L 組因為 COD 值仍高達 500~700，因此取出部份菌液續經好氧培養之二度處理以降低 COD，好氧培養過程依曝氣方式分為搖晃曝氣與強制通氣，搖晃曝氣為每天用手搖晃 3 分鐘，強制通氣作用則以打氣機每天持續打氣 8 小時，經 6 天之曝氣後，搖晃曝氣所降低之 COD 有限，約為 22~28%，脫氯產物之揮發散失率為 11%~18%，強制通氣可降低超過 53% 之 COD，但是脫氯產物亦會隨之揮發散失，散失率超過 68%，因此強制通氣不適用於

後續之 COD 降低作用。表五為各種條件下，Fenton 系統對與脫氯產物之氧化降解率。

表五 六氯苯與五氯酚經脫氯培養後之脫氯產物經 Fenton 系統氧化分解情形

六氯苯脫氯-氧化實驗					
脫氯培養液來源*	二度處理 ^{&}	COD (mg/L)	氧化分解率(%)		
			135-TCB	13-DCB	
Et-Ac	1	Ae	423	32	53
		Ft	231	38	57
		Nd	549	29	46
Et-Tr	1	Ae	498	34	--
		Ft	256	42	--
		Nd	638	27	--
	0.1	Ft	42	61	--
		Nd	117	51	--
Nd-Ac	1	Ae	513	31	49
		Ft	269	39	56
		Nd	593	27	50
Nd-Tr	1	Ae	384	35	--
		Ft	210	43	--
		Nd	521	29	--
	0.1	Ft	43	63	--
		Nd	96	54	--
五氯酚脫氯-氧化實驗					
脫氯培養液來源	二度處理	COD (mg/L)	氧化分解率(%)		
			345-TCP	35-DCP	
Et-Ac	1	Ae	367	29	51
		Ft	185	40	58
		Nd	513	23	38
Et-Tr	1	Ae	443	26	48
		Ft	284	38	56
		Nd	587	25	37
Nd-Ac	1	Ae	323	33	49
		Ft	169	43	57
		Nd	459	28	43
Nd-Tr	1	Ae	438	32	46
		Ft	263	41	53
		Nd	596	24	33
	0.1	Ft	43	61	79
		Nd	101	48	83

* 脫氯培養液取自表四之脫氯實驗。

[&] Ae 表示培養液經搖晃曝氣，Ft 表示培養液 2 μm 濾膜過濾，Nd 表示培養液未經處理。

根據以上結果，可以發現較低 COD 值的培養液中，Fenton 系統不失為一個處理低含氯量芳香族化合物的有效方法，對於三

氯苯與三氯酚之分解率可達 60%，而對二氯苯與二氯酚之分解率甚至可高達 80%，因此接下來的工作應是利用轉移培養與連續培養技術，強化脫氯微生物之降解能力，以期培養出可在極低有機物含量之培養液中進行脫氯作用的厭氧脫氯微生物族群。

四、計畫成果自評

1. 完整進行各氯苯與氯酚化合物之 Fenton 反應研究，並據以建立在各種脫氯培養液中之 Fenton 氧化分解資料。
2. 經由馴化與轉移培養方式，成功培養出不需高量有機添加物即可對五氯酚、六氯苯進行脫氯作用之微生物。
3. 結合厭氧-好氧兩系統之優勢，利用微生物脫氯系統之優勢--針對高含氯量化合物具高脫氯降解能力，以及 Fenton 系統氧化作用之優勢--針對低含氯量化合物具強化學分解能力，成功達成去除含氯芳香族化合物污染之目標。

五、參考文獻

1. Kawamoto, K., and K. Urano. Parameters for predicting fate of organochlorine pesticides in the environment (I) octanol-water and air-water partition coefficients. *Chemosphere*. 1989. 18:1987-1996.
2. Humppi, T. Observation of polychlorinated phenoxyanisoles in technical chlorophenol formulation and in sawmill environment. *Chemosphere*. 1985. 14:523-528.
3. van Gestel, C.A.M., W.C. Ma, and C.E. Smit. 1991. Development of QSARs in terrestrial ecotoxicology: Earthworm toxicity and soil sorption of chlorophenols. *Chlorobenzenes and dichloroaniline*. *Sci. Total Environ.* 109-110:589-604.
4. Gobas, F.A.P.C., E. J. McNeil, L. Lovett-Doust, and G. D. Franks. Migration of wood-preserving chemicals in contaminated ground water

- in sand aquifer at Pensacola, Florida. *Environ. Sci. Technol.* 1985. 19:955-961.
5. Valo, R., J. Apajalahti, and M. Salkinoja-Salonen. Studies on the physiology of microbial degradation of pentachlorophenol. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 1985. 21:313-319.
6. Walling, C. Fenton's Reagent Revisited. *Accounts of Chemical Research.* 1975. 8:125-131.
7. Mohn, W.W., and J.M. Tiedje. 1992. Microbial reductive Dehalogenation. *Microbiol. Rev.* 56:482-507.
8. Chen, I.M., F. C. Chang, B. V. Chang, and Y. S. Wang. 2000. Specificity of the microbial activities in the reductive dechlorination of chlorinated benzenes. *Water Environ. Res.* 72(6):675-679.
9. Chen, I.M., B. V. Chang, S. Y. Yuan, and Y. S. Wang. 2002. Reductive dechlorination of hexachlorobenzene under various additions. *Water, Air, and Soil Poll.* 139:61-74
10. Chen, I. M., Y. F. Chang, and H. Lin. 2003. Microbial Dechlorination of hexachlorobenzene by untamed sediment microorganisms in Taiwan. *Practice Periodical of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste Management, ASCE.* (Accepted, Control No: HZ/2003/030301)
11. Chen, I Ming, Y. F. Chang, Y. F. Chen, C. C. Su and J. M. Chyan. 2003. Dechlorination of hexachlorobenzene by untamed aquatic microorganisms in Taiwan. *ASIAN WATERQUAL2003-IWA Asia-Pacific Regional Conference.* October 20, 2003. Bangkok, Thailand.