

# 活性污泥接受分解能力水平傳遞之探討

廖文景、張玉明

E-mail: 9411627@mail.dyu.edu.tw

## 摘要

微生物在分解一些難分解或持久性有機物時，必須要有適當的分解機制；這些機制一般認為是由染色體外之plasmid所進行。Plasmid帶有代謝途徑的訊息，可以提供原宿主分解能力，也可藉由細菌之接合作用（conjugation）進入其他細菌體內，因此而將plasmid之能力水平轉移至其他細菌。本研究以批次實驗之方式將馴化過之具分解能力活性污泥，與未具分解能力之活性污泥在水懸浮液中共處，觀察分解能力水平傳遞之現象。分解目標污染物是2,4-D；活性污泥的來源為土壤；活性污泥的分解能力是由實驗室馴化而得。活性污泥對2,4-D的分解能力，用批次反應中的分解表現來評估。實驗結果顯示：1. 實驗室馴化後之活性污泥可以得到2,4-D分解能力，但高濃度之2,4-D對活性污泥仍有抑制。2. 有分解能力的活性污泥可使無能力者得到能力，即是水平傳遞現象；水平傳遞量隨時間而增加。3. 具分解能力活性污泥量會影響分解能力水平傳遞速率，而2,4-D濃度以及未具分解能力活性污泥量對分解能力水平傳遞速率影響不大。

關鍵詞：持久性；plasmid；接合作用；2,4-D；馴化；活性污泥；分解能力；水平傳遞

## 目錄

第一章 前言	1
1.1 研究緣起	1
1.2 研究內容	2
1.3 研究目的	3
第二章 文獻回顧	5
2.1 活性污泥之應用	5
2.2 2,4-D之背景資料	7
2.3 2,4-D之分解	9
2.3.1 2,4-D之光分解	10
2.3.2 2,4-D之化學分解	10
2.3.3 2,4-D之生物分解	11
2.4 微生物分解2,4-D之能力	21
2.4.1 plasmid簡介	22
2.4.2 具2,4-D分解能力之plasmid	23
2.5 分解能力之水平傳遞	27
2.5.1 接合作用	27
2.5.2 轉型作用	30
2.5.3 轉導作用	31
2.6 微生物生長動力模式	34
第三章 研究方法	35
3.1 研究材料及儀器設備	35
3.1.1 活性污泥來源	36
3.1.2 使用藥品	36
3.1.3 研究使用材料	36
3.1.4 研究使用儀器設備	38
3.2 研究架構	40
3.3 活性污泥之馴化與培養	41
3.3.1 基質	41
3.3.2 營養鹽成分與配比	41
3.3.3 活性污泥培養	42
3.3.4 活性污泥分解2,4-D之馴化	44
3.4 活性污泥分解2,4-D之評估項目與方法	46
3.4.1 2,4-D含量之測量方式	46
3.4.2 2,4-D濃度檢量線	47
3.4.3 分解實驗前後水樣pH變化之測量	48
3.4.4 菌體濃度測量方法	49
3.5 活性污泥分解2,4-D實驗	49
3.5.1 未馴化過活性污泥分解2,4-D實驗	50
3.5.2 馴化過活性污泥分解2,4-D實驗	50
3.6 活性污泥分解2,4-D之能力水平傳遞評估	51
3.6.1 分解能力水平傳遞實驗	51
3.6.2 分解能力水平傳遞之量化	55
3.7 活性污泥分解2,4-D之動力學特性評估方法	56
3.7.1 微生物生長動力模式評估	56
3.7.2 動力學實驗	59
3.7.3 活性污泥分解2,4-D之生長實驗	59
3.7.4 活性污泥分解2,4-D之動力參數求取	61
第四章 結果與討論	64
4.1 活性污泥分解2,4-D之分解時間曲線	64
4.1.1 未馴化過活性污泥分解2,4-D	64
4.1.2 馴化過活性污泥分解2,4-D	65
4.1.3 2,4-D分解實驗前後水樣之pH變化	68
4.2 活性污泥分解2,4-D之生長實驗	69
4.3 2,4-D分解能力水平傳遞	69
4.3.1 不同初始2,4-D濃度實驗組之分解能力水平傳遞	70
4.3.2 不同馴化過活性污泥量實驗組分解能力水平傳遞	74
4.3.3 不同未馴化過活性污泥量實驗組分解能力水平傳遞	79
4.4 2,4-D分解能力水平傳遞之量化	82
4.4.1 不同初始2,4-D濃度實驗組分解能力水平傳遞之量化	83
4.4.2 不同馴化過活性污泥量實驗組分解能力水平傳遞之量化	86
4.4.3 不同未馴化過活性污泥量實驗組分解能力水平傳遞之量化	88
4.5 以活性污泥生長動力模式為基礎之分解能力水平傳遞速率	90
4.5.1 活性污泥分解2,4-D之生長動力學參數	91
4.5.2 2,4-D濃度、馴化過之活性污泥量以及未馴化過之活性污泥量對分解能力水平傳遞速率之影響	92
第五章 結論與建議	98
5.1 結論	98
5.2 建議	100
參考文獻	101
附錄	105

## 參考文獻

- Aly, O.M., and S.D. Faust, (1964). Studies on the fate of 2,4-D and ester derivatives in natural surface waters. *Agric. Food Chem.* 12(6):541-546.
- Andrew CH, Harwood CS (2002). Chemotaxis of *Ralstonia eutropha* JMP134(pJP4) to the Herbicide 2,4-Dichlorophenoxyacetate. *AEM.*68.2.968-972.2002.
- Crosby, D. G., and H. O. Tutass.( 1996). Photodecomposition of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid. *J. Agr. Food Chem.* 14(6):596-599.
- Digiovanni G.D, Neilson J.W, Pepper, I.L, Sinclair N.A (1996). Gene Transfer of *Alcaligenes eutrophus* JMP134 Plasmid pJP4 to Indigenous Soil Recipients. *AEM.*62.7.2521-2526.
- Don RH, Pemberton, JM (1985). Genetic and physical map of the 2,4-dichlorophenoxyacetic acid-degradative plasmid pJP4. 161(1),466-468.
- Don RH, Weightman AJ, Knackmuss HJ,and Timmis KN (1985). Transposon mutagenesis and cloning analysis of the pathways for degradation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and 3-chlorobenzoate in *Alcaligenes eutrophus* JMP134(pJP4). 161(1),85-90.
- Don RH, Pemberton JM (1981). Properties of six pesticide degradation plasmids isolated from *Alcaligenes paradoxus* and *Alcaligenes eutrophus*. *J Bacteriol.* 145,681-686.
- Filer K,and Harker AR (1997). Identification of the Inducing Agent of the 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid Pathway Encoded by Plasmid pJP4. *Journal of Envir. Microbio.* 63(1),317-320.
- Fulthorpe RR, McGowan C, Maltseva OV, Holben WE, Tiedje

JM (1995). 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid-Degrading Bacteria Contain Mosaics of Catabolic Genes. *AEM*. 61.9.p.3274-3281. Halter, M, (1980). 2,4-D in the aquatic environment. Section II in Literature Reviews of Four Selected Herbicides: 2,4-D, dichlobenil, diquat& endotall. Shearer R., and M. Halter, eds. Hemmett, R.B. and S.D. Faust, (1969). Biodegradation Kinetics of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid by aquatic microorganisms. *Residue. Rev.* 29:191-207. Johan HJ, Leveau, Alexander JB, Zehnder, and Jan Roelof van der Mee(1998). The *tfdK* Gene Product Facilitates Uptake of 2,4-Dichlorophenoxyacetate by *Ralstonia eutropha* JMP134(pJP4). 180,2237-2243. Johnson.W.G., T.L. Lavy, and E.E. Gbur, (1995a). Persistence of Triclopyr and 2,4-D in Flooded and Non-Flooded Soil. *Journal of Environmental Quality*, 24(3) pp493-497. Johnson. W.G., T.L. Lavy, and E.E. Gbur, (1995b). Sorption mobility, and degradation of triclopyr and 2,4-D and four soils. *Weed Sci.* 43:678-684. Ka JO, Holben W.E, and Tiedje JM (1994). Genetic and phenotypic diversity of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)-degrading bacteria isolated from 2,4-D-treated field soils. *Journal of Envir. Microbiol.* 60(4),1106-1115. Neilson JW, Josephson KL, Pillai SD, and Pepper IL (1992). Polymerase chain reaction and gene probe detection of the 2,4- dichlorophenoxyacetic acid degradation plasmid, pJP4. *Journal of Envir.* Newby DT, Josephson KL, and Pepper IL (2000). Detection and Characterization of Plasmid pJP4 Transfer to Indigenous Soil Bacteria. *Journal of Envir. Microbiol.* 66,290-296. Newby DT, Gentry TJ, and Pepper IL (2000). Comparison of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid Degradation and Plasmid Transfer in Soil Resulting from Bioaugmentation with Two Different pJP4 Donors. *Journal of Envir. Microbiol.* 66,3399-3407. Que Hee, S.S., and R.G. Sutherland, (1981). *The phenoxyalkanic Herbicides, Volume 1 : Chemistry, Analysis, and Environmental Pollution* Press. Inc., Boca Raton, Florida 319 pgs. Top EM, Maltseva OV, and Forney LJ (1996). Capture of a catabolic plasmid that encodes only 2,4- dichlorophenoxyacetic acid:alpha-ketoglutaric acid dioxygenase (*TfdA*) by genetic complementation. *Journal of Envir. Microbiol.* 62(7),2470-2476. Turnbull GA, and Morgan JAW (2001). Degradation of Substituted Phenylurea Herbicides by *Arthrobacter globiformis* Strain D47 and Characterization of a Plasmid-Associated Hydrolase Gene, *puhA*. *Journal of Envir. Microbiol.* 67(5),2270-2275. 林志勇 (2002), 生物分解能力之化學計量, 大葉大學環境工程學系研究所碩士論文 張紘偉 (2003), 氯酚分解的質體核酸 (plasmid DNA) 量化分析, 大葉大學環境工程學系研究所碩士論文 蔡旭清 (2003), 活性污泥分解2,4-D中間產物之動態, 大葉大學環境工程學系研究所碩士論文 歐陽嶠暉 (2000), 「下水道工程學」, 長松文化公司 「活性污泥法新技術」, 經濟部工業污染防治技術手冊, 1994.