

以生物滴濾塔處理含MTBE與BTEX廢氣之生物分解能力與生物相研究

林南成、林啟文

E-mail: 9417442@mail.dyu.edu.tw

摘要

甲基第三丁基醚(Methyl tert-butyl ether, MTBE)為一廣泛使用之汽油添加劑，且在汽油中亦含有其他芳香烴化合物(苯、甲苯、乙苯、二甲苯，合稱BTEX)。近年來陸續發現加油站及大型地下油槽汽油滲漏之情形頗為嚴重，且MTBE與BTEX會隨著汽油滲漏而造成土壤與地下水污染，進而嚴重影響人體之健康。本研究乃以實驗室規模之生物滴濾塔系統，於最佳操作條件(同向流、循環水流量300 ml/min、氣體停留時間固定為85.6秒、循環水溫28 °C)下，進行生物降解MTBE與BTEX之研究，且輔以分子生物技術(SSCP)觀察反應器，於不同有機負荷與不同種類複合碳源的環境下，其菌群結構之變化情形，並建立反應器內微生物去除污染物之效率與其菌群結構間的關係。研究結果顯示：(1)當進流濃度於2.67-50.76 g/m³ hr時，系統處理MTBE之效率為98.6-57.3 %；(2)當系統所使用之氮源由(NH₄)₂SO₄更換成NaNO₃時，系統去除MTBE之能力增加至93.5 %；(3)當系統於總有機負荷小於22.28 g/m³ hr-carbon (即入口濃度為0.55 g/m³-carbon)之條件時，對於處理含有MTBE與toluene之廢氣，具有相當好的處理能力；(4)本系統處理MTBE與BTEX之能力依序為benzene > toluene > ethylbenzene > xylene > MTBE；(5)於總有機負荷小於37.4 g/m³ hr-carbon之條件時，對於處理含有MTBE與BTEX之廢氣，具有相當好的處理能力；(6)若有本研究之其它基質分別與benzene與toluene共存時，系統會因優先分解benzene與toluene之因素，進而影響塔體內微生物分解其它基質之能力，若系統所承受之有機負荷較高，甚至會有抑制微生物分解其它基質之現象產生；(7)對分解含等量之碳數而言，本系統處理含MTBE與BTEX之複合碳源時，其效率明顯優於僅處理MTBE之單一碳源情況。

關鍵詞：生物降解；生物滴濾塔；單股DNA構形多型性；菌群結構；甲基第三丁基醚；芳香族化合物

目錄

封面內頁 簽名頁 博碩士論文授權書	iii	中文摘要	iv	英文摘要	vi	誌謝	viii	目錄	x	圖目錄	xiv	表目錄	xvi	第一章 緒論	1.1 前言																																																																																																								
1.1.2 研究目的	2	1.3 研究內容	3	第二章 文獻回顧	2.1 MTBE與BTEX之簡介	5	2.1.1 MTBE與BTEX之物化性質	6	2.1.2 MTBE與BTEX之使用及對人體之危害	8	2.1.3 MTBE與BTEX之生物降解	10	2.2 生物反應器介紹	12	2.2.1 生物濾床	15	2.2.2 生物滴濾塔	16	2.2.3 生物洗滌塔	17	2.3 生物滴濾塔之相關處理技術與研究	17	2.3.1 生物滴濾塔處理廢氣之研究	18	2.4 生物滴濾塔之操作參數	20	2.4.1 氣-液接觸方式	21	2.4.2 溫度	21	2.4.3 .pH值	21	2.4.4 填充材料	22	2.4.5 其它輔助碳源之添加	23	2.4.6 有機負荷	23	2.4.7 循環水流量	24	2.4.8 空塔停留時間	24	2.5 應用分子生物技術於菌群結構分析之相關研究	25	2.5.1 聚合?鏈鎖反應原理	25	2.5.2 單股DNA構形多型性分析	26	2.5.3 微生物種類辨識方法	27	第三章 材料與方法	3.1 菌種來源	34	3.2 生物滴濾塔之材料與設備	34	3.2.1 生物滴濾塔之儀器設備	34	3.2.2 其它儀器設備	39	3.2.3 生物滴濾塔試驗之相關藥品	40	3.3 分子生物技術之材料與設備	41	3.3.1 分子生物技術之相關藥品	41	3.3.2 分子生物技術之儀器設備	43	3.3.3 其它相關使用材料	43	3.4 研究方法與步驟	45	3.4.1 生物滴濾塔之去除效率評估方法與步驟	45	3.4.2 生物滴濾塔分解MTBE與BTEX實驗	50	3.4.3 分子生物技術建立	52	第四章 結果與討論	4.1 探討氮源成份與穩定期對生物滴濾塔之影響	56	4.1.1 氮源成份對生物滴濾塔之影響	56	4.1.2 氮源成份變化對菌群結構差異之分析	60	4.1.3 穩定期菌群結構差異之分析	63	4.2 探討基質濃度對生物滴濾塔之影響	68	4.2.1 MTBE進氣濃度對分解效率影響	68	4.2.2 基質濃度對菌群結構差異之分析	70	4.2.3 更改基質濃度後其穩定期菌群結構差異之分析	73	4.3 循環水溫對生物滴濾塔之影響	76	4.3.1 循環水溫度對分解效率之影響	76	4.3.2 更換溫度後之穩定期其菌群結構差異分析	79	4.4 以生物滴濾塔處理複合碳源MTBE+Toluene	82	4.4.1 MTBE與Toluene廢氣之去除效率評估	82	4.4.2 MTBE與Toluene試程塔內之菌群結構變化	85	4.5 以生物滴濾塔處理複合碳源MTBE+Toluene	89	4.5.1 MTBE與Toluene廢氣之去除效率評估	90	4.5.2 MTBE與Toluene廢氣之去除效率評估	93	第五章 結論與建議	5.1 結論	96	5.2 建議	99	參考文獻	100

參考文獻

- Almeida, T.A., V.M. Cabrera, and J.G. Miranda, (1998) " Improved detection and characterization of mutations by primer addition in nonradioisotopic SSCP and direct PCR sequencing ", BioTechniques, Vol. 24(2), pp. 220-221. Amann, R.I., W. Ludwig, and K.H. Schliefer, (1995) " Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation ", Microbiological Reviews, Vol. 59(1), pp. 143-169. Balcke, G.U., L.P. Turunen, R. Geyer, and D.F. Wenderoth, (2004) " Chlorobenzene biodegradation under consecutive aerobic-anaerobic conditions ", FEMS Microbiology Ecology, Vol. 49(1), pp. 109-120. Bassam, B.J., G. Caetano-Anolles, and P.M. Grosshoff, (1991)

" Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels " , Analytical Biochemistry, Vol. 196(1), pp. 80-83. Cai, Q.Q., and I. Touitou, (1993) " Excess PCR primers may dramatically affect SSCP efficiency " , Nucleic Acids Research, Vol. 21(16), pp. 3909-3910. Converse, B., and E.D. Schroeder, (1999) " Biodegradation of methyl tertiary butyl ether(MTBE) using a granular activated carbon trickling filter " , Proceedings of the 92nd Annual Meeting & Exhibition of the Air & Waste Management Association, St Louis, Missouri, USA. Cox, H. H. J. and M. A. Deshusses., (2002) , " Co-treatment of H₂S and toluene in a biotrickling filter " , Chem. Engine. Journal ,87:101-110. Diks R.M.M. and S.P.P. Ottengraf, (1991), " Verification studies of a simplified model for the removal of dichloromethane from waste gases using a biological trickling filter, " Bioprocess engineering, 6:93-99. Drogos, D.L., (2000) " MTBE v. other oxygenates " , presented at MEALY's MtBE Litigation Conference, May 11-12. Eweis, J. B., Chang, P. Y., and Schroeder, E. D., (1997) Meering the challenge of methyl tertiary butyl ether (MTBE) biodegradation. Presentation at Air & Waste Management Association ' s 90th Annual Meeting & Exhibition, Toronto, Ontario, Canada. Eweis J., E. Schroeder, D. Chang, K. Scow, R. Morton, and R. Caballero, (1998) " Meeting the challenge of MTBE biodegradation " , Presented of the 90th annual meeting and exhibition, Air and Waste Management Association, Toronto, Ontario, Canada, June 8-13. Ferguson, R.L., E.N. Buckley, and A.V. Palumbo, (1984) " Response of marine bacterioplankton to differential filtration and confinement " , Applied and Environmental Microbiology, Vol. 47(1), pp. 49-55. Findlay G. Edwards and N. Nirmalakhandan. (1996) " Biological Treatment of Airstreams Contaminated with VOCs:an Overview " . Wat. Sci. Tech. 34: 565-571 Fortin, N.Y. and M.A. Deshusses, (1999) " Treatment of methyl tert-butyl ether vapors in biotrickling filters. 1. Reactor startup, steady-state performance, and culture characteristics " , Environmental Science and Technology, Vol. 33(17), pp. 2980- 2986. Foucher, S., F. Battaglia-Brunet, P. d'Hugues, M. Clarens, J.J. Godon, and D. Morin, (2003) " Evolution of the bacterial population during the batch bioleaching of a cobaltiferous pyrite in a suspended-solids bubble column and comparison with a mechanically agitated reactor " , Hydrometallurgy, Vol. 71(1-2), pp. 5-12. Fujiwara Y., T. Kinoshita, H. Stao, and I. Kojima, (1984) " Biodegradation and bioconcentration of alkylethers " , Yukagaku Japan oil chemists' society), Vol. 33, pp. 111-115. Hardison, L.K., S.S. Curry, L.M. Ciuffetti, and M.R. Hyman, (1997) " Metabolism of diethyl ether and cometabolism of methyl tert-butyl ether by a filamentous fungus, a Graphium sp " , Applied and Environmental Microbiology, Vol. 63(8), pp. 3059-3067. Head, I.M., J.R. Saunders, and R.W. Pickup, (1998) " Microbial evolution, diversity and ecology: a decade of ribosomal RNA analysis of uncultured microorganisms " , Microbial Ecology, Vol. 35(1), pp. 1-21. Hekmat, D., A. Linn, M. Stephan, and D. Vortmeyer. ,(1997), " Biodegradation dynamics of aromatic compounds from waste air in a trickl-bed reactor " Appl. Microbiol.Biotechnol. 48: 129-134 Humphries S.E., V. Gudnason, R. Whittall, and N.M. Ian, (1997) " Single-strand conformation polymorphism analysis with high throughput modifications, and its use in mutation detection in familial hypercholesterolemia " , Clinical Chemistry, Vol. 43(3), pp. 427-435. Kharoune, M., A. Pauss, and J.M. Lebeault, (2001) " Aerobic biodegradation of an oxygenates mixture: ETBE, MTBE and TAME in an upflow fixed-bed reactor " , Water Research, Vol. 35(7), pp. 1665-1674. Lee, D.H., Y.G. Zo, and S.J. Kim, (1996) " Nonradioactive method to study genetic profiles of natural bacterial communities by PCR-single-strand-conformation polymorphism " , Applied and Environmental Microbiology, Vol. 62(9), pp. 3112-3120. Mpanias, C. J., B. C. Baltzis . (1998) " Biocatalytic removal of mono-Chlorobenzene vapor in trickling filters " , Catalysis Today. 40: 113-120 Orita, M., H. Iwahana, H. Kanazawa, K. Hayashi, and T. Sekiya, (1989) " Detection of polymorphisms of human DNA by gel electrophoresis as single-strand conformation polymorphisms " , Proceedings of the National Academy of Sciences, Vol. 86, pp. 2766-2770. Park, K.Y., (1999) " Biodegradation of the fuel oxygenate, methyl tert-butyl ether(MTBE), and treatment of MTBE contaminated ground water in laboratory scale reactors " , Ph. D. dissertation, The State University of New Jersey. Salanitro, J.P., L.A. Diaz, M.P. Williams, and H.L. Wisniewski, (1994) " Isolation of a bacterial culture that degrades methyl t-butyl ether " , Applied and Environmental Microbiology, Vol. 60, pp. 2593-2596. Sa, C. S. A., R. A. R. Boaventura. (2001) " Biodegradation of phenol by Pseudomonas putida DSM 548 in a trickling bed reactor " , Biochem. Eng. 9: 211-219 Schwieger, F., and C.C. Tebbe, (1998) " A new approach to utilize PCR-single-strand-conformation polymorphism for 16S rRNA gene-based microbial community analysis " , Applied and Environmental Microbiology, Vol. 64(12), pp. 4870-4876. Selvaratnam, S., B.A. Schoedel, B.L. McFarland, and C.F. Kulpa, (1995) " Application of reverse transcriptase PCR for monitoring expression of the catabolic dmpN gene in a phenol-degradation sequencing batch reactor " , Applied and Environmental Microbiology, Vol. 61(11), pp. 3981-3985. Sorial, G.A., F.L. Smith, P. Biswas, and R.C. Brenner, 1993, " Development of aerobic biofilter design criteria for treating VOCs, " Proceedings of the 86th Annual Meeting & Exhibition of the Air & Waste Management Association, Denver, CO, USA. Staley, J.T. and A. Konopka, (1985) " Measurement of in situ activities of nonphotosynthetic microorganisms in aquatic and terrestrial habitats " , Annual Review of Microbiology, Vol. 39, pp. 321-346. Stoffels, M., R. Amann,W. Ludwig, D. Hekmat, and K.-H. Schleife. (1998) " Bacterial Community dynamics during start-up of a Trickle-bed Bioreactor degrading Aromatic Compounds " , Appl. Environ. Microbiol.. 64: 930-939 Suflita, J.M., and M.R. Mormille, (1993) " Anaerobic biodegradation of known and potential gasoline oxygenates in the terrestrial subsurface " , Environmental Science and Technology, Vol. 27(5), pp. 976-978. Teske, A., C. Wawer, G. Muyzer, and N.B. Ramsing, (1996) " Distribution of sulfate-reducing bacteria in a stratified fjord (Mariager Fjord, Denmark) as evaluated by most-probable- number counts and denaturing gradient gel electrophoresis of PCR-amplified ribosomal DNA fragments " Applied and Environmental Microbiology, Vol. 62(4), pp. 1405-1415. Torsvik, V., J. GoksOyr, and F.L. Daae, (1990) " High diversity in DNA of soil bacteria " , Applied and Environmental Microbiology, Vol. 56(3), pp. 782-787. Wagner, M., R. Amann, H. Lemmer, and K.H. Schleifer, (1993) " Probing activated sludge with oligonucleotides specific for proteobacteria: inadequacy of culture-dependent methods for describing microbial community structure " , Applied and Environmental Microbiology, Vol. 59(5), pp. 1520-1525. Wagner, M., B. Assmus, A. Hartmann, P. Hutzler, and R. Amann, (1994) " In situ analysis of microbial consortia in activated sludge using fluorescently labelled, rRNA-targeted oligonucleotide

probes and confocal scanning laser microscopy ", Journal of Microscopy, Vol. 176, pp. 181-187. Ward, D.M., R. Weller, and M.M. Bateson, (1990) " 16S rRNA sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a natural community ", Nature, Vol. 345(6270), pp. 63-65. Wilson, R.D., D.M. Mackay, and K.M. Scow, (2002) " In situ MTBE biodegradation supported by diffusive oxygen release ", Environment Science Technology, Vol. 36(2), pp. 190-199. Yeh, C.K. and J.T. Novak, (1995) " The effect of hydrogen peroxide on the degradation of methyl and ethyl tert-butyl ether in soils, " Water Environmental Research, Vol. 67(5), pp. 828-834. Zoeckler, J.R., M.A. Widdowson, and J.T. Novak, (2003) " Aerobic biodegradation of methyl tert-butyl ether in gasoline-contaminated aquifer sediments ", Journal of Environmental Engineering, Vol. 129(7), pp. 642-650. 王嘉禧 (2000) , 以生物滴濾塔處理排氣中氨之操作性能研究 , 碩士論文 , 國立中山大學環境工程研究所。 王永福 (2002) , 應用分子生物學方法研究分析複合基質中之中溫產氫菌群族 , 第27屆廢水處理技術研討會。 朱文昌 (1996) , 生物濾床法處理含BTEX廢氣之研究 , 碩士論文 , 國立中興大學環境工程研究所。 朱振華 (1998) , 生物濾床法處裡含BTEX廢氣程序控制之研究 , 碩士論文 , 國立中興大學環境工程研究所。 吳非隆 (1995) , 以生物滴濾塔處理排氣中甲苯成份之操作性能研究 , 碩士論文 , 國立中山大學環境工程研究所。 邱創汎、王耀銘、張坦卿 (1996) , 「空氣污染生物處理技術本土化之評析」 , 工業污染防治 , 第58期 , p111-124。 邱仁杰、歐陽嶠暉、林志墩(1999) , 「生物濾床去除營養物質之原理與程序」 , 國立中央大學環境工程學刊第五期。 林彥穎 (2001) , 以葡萄糖為基質的生物除磷系統體積負荷與磷負荷對代謝行為與菌相影響之研究 , 碩士論文 , 國立中央大學環境工程研究所碩士班。 林依蓉 (2001) , 多氯聯苯厭氧馴養降解菌群微生物多樣性解析 , 碩士論文 , 國立中央大學生命科學研究所。 林啟文、吳志鴻、陳立軒、林虹君 (2003) , ETBE、MTBE及TAME之生物降解中間產物探討 , 第28屆廢水處理技術研討會。 林啟文、吳志鴻、陳政遠、鄭雅文、林虹君、陳立軒 (2003) , 本土MTBE分解菌對甲基第三丁基醚之動力模式探討 , 第八屆生化工程研討會論文集。 林啟文、鄭雅文、陳信源、洪照先、羅伊翔 (2003) , MTBE分解菌之外加碳源及最適量化研究 , 第一屆土壤與地下水研討會。 侯松男 (2002) , 含氧汽油添加劑分解菌之馴化、篩選及生長條件研究 , 碩士論文 , 大葉大學環境工程研究所。 涂秀妹 (2001) , 以實場生物滴濾塔處理排氣中苯乙烯及丙烯?之操作性能研究 , 碩士論文 , 國立中山大學環境工程研究所。 施雅馨 (2003) , 臺灣黑翅土白蟻(*Odontotermes formosanus*)腸道共生菌功能群之研究 , 碩士論文 , 國立彰化師範大學生物學系碩士班。 胡苔莉、蔡蘊華 (2002) , 以原位雜交技術探討配水系統中之生物膜 , 第27屆廢水處理技術研討會。 高志明、陳谷汎、方瑋寧、陳廷育 (2002) , 以好氧生物復育法整治受甲基第三丁基醚 (MTBE)污染場址之評估 , 第一屆海峽兩岸土壤及地下水污染整治研討會。 陳良誌 (2000) , 1.模場生物滴濾處理含異辛醇排氣之操作性能研究 ; 2.以實場生物滴濾塔處理合成樹脂廠排氣之操作性能研究 , 碩士論文 , 國立中山大學環境工程研究所。 陳信源 (2003) , 甲基第三丁基醚分解菌之分解能力與重金屬抑制效應研究 , 碩士論文 , 大葉大學環境工程研究所。 許盈志 (2002) , 使用高效益固定生物模反應器處理系統 (FFR) 處理地下水之可行性評估試驗研究 , 碩士論文 , 國立高雄第一科技大學環境與安全衛生工程所。 黃志謙 (2003) , 新的電泳技術-改良式DNA單股構型多形及部分雜交方法分析白蟻腸道的細菌 , 碩士論文 , 國立彰化師範大學生物學系碩士班。 黃忠永 (1996) , 以生物滴濾塔及濾床處理煉油廢水場排氣中揮發性有機物之研究 , 碩士論文 , 國立中山大學環境工程研究所。 黃俊霖 (2001) , 以分子生物技術探討厭氧生物產氫程序之菌群結構 , 碩士論文 , 國立中央大學環境工程研究所。 黃?珽 (2001) , 單槽連續進流回分式活性污泥系統微生物菌相變化之研究 , 碩士論文 , 國立中央大學環境工程研究所。 廖世媚 (1997) , 利用PCR-SSCP技術分析Rh基因型 , 碩士論文 , 中央警察大學警政研究所。 廖俊博 (2002) , 南仁山古湖底泥甲烷氧化菌社會結構之研究 , 碩士論文 , 國立成功大學生物學系碩士班。 鄭建業 (2001) , 生物有機化學。俊傑書局股份有限公司。 蘇佳慶 (1996) , 以生物滴濾塔處理排氣中一氧化氮之操作性能研究 , 碩士論文 , 國立中山大學環境工程研究所。 美國環保署網站(USEPA) www.epa.gov。 中華民國環保署網站www.epa.gov.tw。 環保署公告毒性化學物質安全資料表(MSDS) <http://www.epa.gov.tw/J/toxic/資料查詢/160-01.doc>。 中國石油公司會計資料(1996、1997)。