

目錄

中文摘要	i
英文摘要	iii
誌謝	v
目錄	vi
圖目錄	x
表目錄	xiv
縮寫對照表	xvii
第一章	前言.....	1
1-1	研究緣起.....	1
1-2	研究目的.....	2
第二章	文獻回顧.....	3
2-1	重金屬污染源.....	3
2-1.1	物化處理程序.....	4
2-1.2	生物處理程序.....	6
2-2	硫循環.....	10
2-2.1	硫的同化還原作用 (assimilatory reduction).....	10
2-2.2	硫的異化還原作用 (dissimilatory reduction).....	11

2-3	硫酸還原菌 (sulfate-reducing bacteria, 簡稱 SRB) 簡介.....	13
2-4	硫酸還原作用之抑制與競爭.....	14
2-5	硫酸還原菌之其他應用.....	17
2-5.1	應用硫酸還原菌降解難分解有機物質.....	17
2-5.2	硫酸還原菌結合薄膜技術處理含重金屬廢水.....	17
2-5.3	硫酸還原菌直接應用於含重金屬廢水之處理.....	19
2-6	分子生物技術應用於 SRB 菌分析之簡介.....	26
2-6.1	螢光原位雜交法 (Fluorescence In-Situ Hybridization, 簡稱 FISH).....	26
2-6.2	聚合酶連鎖反應 (Polymerase Chain Reaction, 簡稱 PCR).....	28
2-6.3	變性梯度凝膠電泳法 (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis, 簡稱 DGGE).....	30
第三章	實驗方法與設備.....	33
3-1	實驗流程與架構.....	33
3-2	各項水質分析方法及使用儀器.....	35
3-3	植種污泥之來源及馴養.....	36
3-3.1	培養基成分.....	36

3-3.2	厭氧污泥之批次馴養	37
3-4	印刷电路板業模擬廢水之水質及成分	38
3-5	以混合設計法及反應曲面分析法建立實驗組數	39
3-6	反應槽的設置	45
3-7	分子生物技術	47
3-7.1	FISH 實驗步驟	48
3-7.2	DNA 萃取實驗步驟	55
3-7.3	PCR 實驗步驟	57
3-7.4	DGGE 實驗步驟	59
第四章	結果與討論	62
4-1	混合設計實驗	62
4-1.1	碳源利用率	62
4-1.2	硫酸鹽還原率	63
4-1.3	硫離子產生率	65
4-1.4	重金屬對硫酸還原活性的影響	68
4-2	大反應槽實驗	75
4-2.1	SRB 對碳源利用	75
4-2.2	硫酸鹽還原變化	76
4-2.3	硫離子產生變化	78

4-2.4	MLVSS 變化	79
4-2.5	重金屬變化	80
4-2.6	反應速率分析	81
4-3	混合設計與大反應槽實驗結果比較	84
4-4	吸附作用與沈澱作用的探討	85
4-5	FISH 分析結果	87
4-5.1	微生物生長生長變化	88
4-5.2	FISH 的干擾	93
4-5.3	FISH 的數量計算	97
4-6	DGGE 分析結果	103
第五章	結論與建議	105
5-1	結論	105
5-2	建議	108
參考文獻		109
附錄一	實驗原始數據	117
附錄二	反應槽發生問題解決與改善	137
附錄三	螢光原位雜交法相關藥品配製	139



圖目錄

圖 2-1	硫循環.....	12
圖 2-2	硫酸還原菌結合萃取式薄膜反應槽.....	1
圖 2-3	雙股 DNA 開鏈示意圖.....	31
圖 3-1	實驗流程圖.....	34
圖 3-2	厭氧污泥馴養槽及 pH, ORP, 溫度偵測器.....	37
圖 3-3	混合實驗設計實驗組分佈圖.....	43
圖 3-4	裝入培養基的混合實驗批次式反應槽.....	45
圖 3-5	加入不同重金屬濃度的混合實驗批次式反應槽.....	46
圖 3-6	植入厭氧濃縮污泥後的混合實驗批次式反應槽.....	46
圖 3-7	反應時間 $t = 0$ hr 採樣後的混合實驗批次式反應槽.....	46
圖 3-8	混合實驗批次式反應槽恆溫震盪.....	47
圖 3-9	螢光原位雜交法專用之雜交玻片.....	51
圖 3-10	螢光原位雜交裝置.....	52
圖 3-11	螢光顯微鏡照相設備.....	54
圖 3-12	聚合酶連鎖反應器.....	61
圖 3-13	變性梯度膠體電泳槽.....	61
圖 3-14	顯影照相設備.....	61
圖 4-1	混合試驗各組反應槽之碳源變化情形.....	63

圖 4-2	混合試驗各組反應槽之硫酸鹽濃度變化情形.....	64
圖 4-3	混合試驗各組反應槽之硫離子濃度之變化情形.....	68
圖 4-4	不同重金屬組合下之硫酸鹽還原率等高線圖.....	69
圖 4-5	確認試驗反應 14 天中碳源濃度隨時間變化.....	76
圖 4-6	確認試驗反應 14 天中硫酸鹽濃度隨時間變化.....	77
圖 4-7	確認試驗反應 14 天中硫離子濃度隨時間變化.....	79
圖 4-8	確認試驗反應 14 天中 MLVSS 濃度隨時間變化.....	80
圖 4-9	確認試驗反應 14 天中重金屬鋅濃度隨時間變化.....	81
圖 4-10	確認試驗之碳源利用、硫酸鹽還原及硫離子產生對時間之 相關線性圖.....	83
圖 4-11	控制組硫酸鹽、硫離子及 DOC 對時間變化圖.....	84
圖 4-12	實驗組硫酸鹽、硫離子及 DOC 對時間變化圖.....	85
圖 4-13	確認試驗實驗組植種前之污泥 DAPI stain 螢光顯微照 片.....	89
圖 4-14	確認試驗實驗組 t = 0 小時之污泥 DAPI stain 螢光顯微 照片.....	89
圖 4-15	確認試驗實驗組 t = 20 小時之污泥 DAPI stain 螢光顯 微照片.....	90

圖 4-16	確認試驗實驗組 t = 44 小時之污泥 DAPI stain 螢光顯 微照片.....	90
圖 4-17	確認試驗實驗組 t = 92 小時之污泥 DAPI stain 螢光顯 微照片.....	91
圖 4-18	確認試驗實驗組 t = 140 小時之污泥 DAPI stain 螢光顯 微照片.....	91
圖 4-19	確認試驗實驗組 t = 212 小時之污泥 DAPI stain 螢光顯 微照片.....	92
圖 4-20	確認試驗實驗組 t = 336 小時之污泥 DAPI stain 螢光顯 微照片.....	92
圖 4-21	確認試驗實驗組 t = 92 小時之污泥雜 EUB338 之螢光 顯微照片.....	93
圖 4-22	氯化鋅溶液有雜 EUB338 探針之 DAPI 螢光顯微照片...	95
圖 4-23	氯化鋅溶液有雜 EUB338 探針之 Cy3 螢光顯微照片.....	95
圖 4-24	氯化鋅溶液沒有雜任何探針之 DAPI 螢光顯微照片.....	96
圖 4-25	氯化鋅溶液沒有雜任何探針之 Cy3 螢光顯微照片.....	96
圖 4-26	軟體計算 Probe stain 結果.....	98
圖 4-27	軟體計算 DAPI stain 結果.....	99

圖 4-28	確認試驗控制組之污泥 DAPI stain 螢光顯微照片·····	101
圖 4-29	DAPI stain 螢光顯微照片計數方式·····	101
圖 4-30	確認試驗控制組 DGGE 之微生物相變化 (二重複) ·····	104
圖 4-30	確認試驗實驗組 DGGE 之微生物相變化·····	104



表目錄

表 2-1	國內各類重金屬廢水處理程序之優缺點·····	8
表 2-1	國內各類重金屬廢水處理程序之優缺點 (續)·····	9
表 2-2	硫酸還原菌、甲烷菌及醋酸菌之生長反應方程式·····	16
表 2-3	硫酸還原菌及甲烷菌對醋酸利用之反應方程式·····	16
表 2-4	重金屬對 SRB 造成毒性的濃度·····	20
表 2-4	重金屬對 SRB 造成毒性的濃度 (續)·····	21
表 2-5	碳源種類對 SRB 之硫酸還原效率之影響·····	22
表 2-5	碳源種類對 SRB 之硫酸還原效率之影響 (續一)·····	23
表 2-5	碳源種類對 SRB 之硫酸還原效率之影響 (續二)·····	24
表 2-5	碳源種類對 SRB 之硫酸還原效率之影響 (續三)·····	25
表 3-1	各項水質分析方法及其使用儀器·····	35
表 3-2	修正後之 SRB1 培養基組成成分及含量·····	36
表 3-3	一般印刷電路板業放流水中所含之重金屬濃度·····	38
表 3-4	設計比例編碼與重金屬濃度及調配添加量之對照表·····	40
表 3-5	混合實驗之三種重金屬混合比例編碼表 (Design Table)··	41
表 3-6	各組反應之試劑添加量及植種量·····	42
表 3-7	實驗規劃所需調配的培養基配取量·····	44

表 3-8	硫酸還原菌族群所使用之探針.....	49
表 3-9	聚合酶連鎖反應所使用之引子.....	57
表 3-10	聚合酶連鎖反應實驗控制條件.....	58
表 4-1	混合試驗各組反應槽第 0 天及第 14 天之重金屬去除 率.....	67
表 4-2	混合試驗各組反應槽之硫酸鹽還原率.....	70
表 4-3	各項式之回歸係數統計表.....	72
表 4-4	各次方項式之 ANOVA 分析表.....	72
表 4-5	確認試驗之各項反應速率分析表.....	82
表 4-6	確認試驗控制組 Probe 佔 DAPI 百分比.....	98
表 4-7	確認試驗控制組 DAPI stain 數量計算.....	102
表一	混合實驗溶解性有機碳濃度原始數據.....	117
表一	混合實驗溶解性有機碳濃度原始數據 (續).....	118
表二	混合實驗硫酸鹽濃度原始數據.....	119
表二	混合實驗硫酸鹽濃度原始數據 (續)	120
表三	混合實驗硫離子濃度原始數據.....	121
表三	混合實驗硫離子濃度原始數據 (續)	122
表四	混合實驗銅離子濃度原始數據.....	123

表五	混合實驗鋅離子濃度原始數據.....	124
表六	混合實驗鎳離子濃度原始數據.....	125
表七	確認試驗溶解性有機碳濃度原始數據.....	126
表八	確認試驗硫酸鹽濃度原始數據.....	127
表八	確認試驗硫酸鹽濃度原始數據 (續)	128
表九	確認試驗硫離子濃度原始數據.....	129
表十	確認試驗鋅離子濃度原始數據.....	130
表十一	確認試驗 EUB338 佔 DAPI 面積百分比原始數據.....	131
表十一	確認試驗 EUB338 佔 DAPI 面積百分比原始數據 (續)··	132
表十二	確認試驗 SRB385 佔 DAPI 面積百分比原始數據.....	133
表十二	確認試驗 SRB385 佔 DAPI 面積百分比原始數據 (續)··	134
表十三	確認試驗 SRB385Db 佔 DAPI 面積百分比原始數據.....	135
表十三	確認試驗 SRB385Db 佔 DAPI 面積百分比原始數據 (續).....	136
表十四	問題解決對策表.....	137
表十四	問題解決對策表 (續)	138

縮寫對照表

英文縮寫	英文名稱	中文名稱
AMD	Acid mine drainage	酸礦廢水
APS	Sdenosine – 5' – phosphosulfate	腺核苷磷酸硫
APS	Ammonium Persulfate	過硫酸銨
CCD	Central composite design	中央合成設計
DAPI	4' 6' - diamidino - 2 - phenylindole	染劑
DGGE	Denaturing Gradient Gel Electrophoresis	變性梯度凝膠電泳法
DEPC	Diethyl pyrocarbonate	焦炭酸二乙酯
EMB-SRB	Extractive membrane bioreactor - sulfate-reducing bacteria	硫酸還原菌結合萃取式薄膜反應槽
EPS	Extracellular polymer substances	胞外聚合物
ETBR	Ethidium bromide	溴乙烯
FBPRs	Fluidized bed pellet reactors	流體化床結晶法
FISH	Fluorescence in-situ hybridization	螢光原位雜交法
HA	Homoacetogenic bacteria	醋酸生成菌
HB	Hybridization buffer	雜交液
MA	Methanogenic archaea	甲烷生成菌
PAGE	Polyacrylamide gel electrophoresis	聚丙烯醯胺凝膠電泳法
PAPS	3' – phosphoadenosine – 5' – phosphosulfate	3' – 磷酸腺核苷 – 5' – 磷酸硫
PBS	Phosphate Buffered Saline	磷酸鹽緩衝溶液

縮寫對照表 (續)

英文縮寫	英文名稱	中文名稱
PCB	Printed circuit board	印刷電路板
PCR	Polymerase chain reaction	聚合酶連鎖反應
PFA	Paraformaldehyde	三聚甲醛
RSM	Response surface method	反應曲面法
SIR	Solvent impregnated resin	溶液含浸樹脂
SRB	Sulfate reducing bacteria	硫酸還原菌
SRT	Sludge retention time	污泥停留時間
TAE	Tris-acetate/EDTA electrophoresis	緩衝液
TDS	Total dissolved solids	總溶解固體物
TEMED	N, N, N', N' -Tetramethyl-ethylenediamine	催化劑
WB	Washing buffer	清洗液