

## 藻類應用於三價砷移除之探討

石明正<sup>1</sup>, 詹淑琴<sup>2</sup>, 郭宗儒<sup>2</sup>, 陳俊翰<sup>2</sup>, 傅世雄<sup>2</sup>, 施乃綺<sup>2</sup>

1 義守大學生物科技學系助理教授

2 義守大學生物科技學系學生

### 摘要

在印度和台灣的部分區域之地下水和地表水中經常含有較高濃度的砷。砷事實上不僅對人類的身體健康造成影響，引起一些疾病的產生，其同時亦是一種致癌物；因此，將砷由環境中移除的技術就顯得異常重要。砷於自然水源中主要是以砷酸鹽和亞砷酸鹽的形式存在。但是大部分現有常用的砷移除技術對於亞砷酸鹽之移除效率基本上是不高的。同時亞砷酸鹽之毒性與砷酸鹽之毒性相較之下是更高的。因此，將亞砷酸鹽氧化為砷酸鹽不但可幫助砷移除技術對於亞砷酸鹽之移除效率之增加，同時亦能降低砷的毒性。然而，使用現行一般將亞砷酸鹽氧化為砷酸鹽的氧化劑不僅增加操作費，亦會引起二次污染。除此之外，有機的砷化合物毒性比無機的砷化合物毒性更小。因此此研究將嘗試馴化與培養可將亞砷酸鹽氧化為砷酸鹽的藻類。同時，這一項研究將評估藻類氧化技術應用於 RO 薄膜技術的可能性與整體移除效率是否有提昇。基於實驗的結果，證實所馴養藻類能夠在高濃度的亞砷酸鹽濃度中繼續生存，而且這些馴養藻類於操作期間可將超過 80% 的亞砷酸鹽氧化為砷酸鹽。薄膜測試的實驗結果指出配合上藻類氧化技術之使用確實可將亞砷酸鹽和砷酸鹽的移除效率提昇至超過 90%。

**關鍵詞：**亞砷酸鹽，氧化，砷酸鹽，藻

## USE OF THE ALGA FOR ARSENITE BIOMANIPULATION

Ming-Cheng Shih, Shu-Chin Chan, Tsung-Ju Kuo, Chun-Han  
Chen, Shih-Hsiung Fu, Nai-Chi Shih  
Department of Biological Science and Technology, I-Shou  
University, Kaohsiung County, Taiwan

### Abstract

In India and Taiwan, groundwater and surface water often contain high concentrations of arsenic in some areas. Arsenic can harm human health and is also a carcinogenic compound; therefore, arsenic remediation technologies become more and more important than before. The arsenates and the arsenites are the main species of arsenic in natural water. In fact, most of arsenic remediation technologies are plagued by the basic difficulty of removing arsenite. Moreover, the toxicity of arsenite is higher than arsenate. Therefore, the oxidation of arsenite is not only able to increase the efficiency of arsenic remediation, but also can decrease the toxicity of arsenic. However, the usage of the oxidizing agents will increase the operation cost and cause secondary pollutions. Also, the organic arsenic toxicity is smaller than the inorganic arsenic. This research tries to inoculate the algae, which is able to oxidize arsenite to arsenate. Also, this study will try to evaluate the possibility and remediation efficiency of the alga oxidation coupling with RO membrane technology. Basing on the experimental results, it is found that the algae are able to survive in high arsenite concentration, and the algae can oxidize over 80% of arsenite to arsenate in the operation periods. The experimental results of membrane tests indicate both of the RO membrane removal efficiency of arsenite and arsenate are exceeding 90% by coupling with the algae.

**Keywords:** Arsenite, Oxidation, Arsenate, Alga

## 1. 前言

砷廣泛分布於地表上並且佔了地殼的 $5 \times 10^{-4} \%$  [1]，其於地殼中充裕程度排名第20[2]。它也是人體中第12個最豐富的元素，和海水中第14個最豐富的元素。

砷極易溶解於河水和海水中[3]，因此水可說是砷運輸的主要途徑之一。未被污染的水域中砷的濃度極易受共同運輸的可用的礦物之影響，因此各地的砷濃度經常是相異的。其濃度範圍，在自然地表水系統中一般是從不到 $0.5 \text{ ugL}^{-1}$ 至大於 $5000 \text{ ugL}^{-1}$  [4, 5]。事實上地球上有超過200種礦物中普遍含有砷，他們大多數是礦石礦物或者他們的相關產物，甚至部分礦物其主要成份就是砷化合物，例如磷灰石中就常含有高濃度的砷，有時甚至高達  $1000 \text{ mgKg}^{-1}$ 。於自然狀況中有些地區地下水會受上述這些因素的影響而有較高濃度的砷，例如台灣西南沿海與蘭陽平原之地下水體與印度Rajarampur 村之井水均含有超過飲用水標準的砷。然而，含高濃度的砷礦物在自然環境中的存在亦並非如此普遍，因而於自然情況下高濃度的砷污染也並非隨處可見。除此之外，在自然條件下，砷亦經常存在於有高地熱活動的水質環境中，因此造成一些高地熱活動地區出現砷濃度超乎異常的高，如同日本中的地熱水含有18000 到  $60000 \text{ ugL}^{-1}$  並且影響鄰近的河流，使致含有大約 $2 \text{ ugL}^{-1}$  的砷[5]。

事實上近年來許多水系統中砷的來源除了自然來源外，砷亦可從許多不同人類活動所產生的副產品中被發現到，並被釋放至附近的水文系統，例如地下水系統與河流系統中，並引起嚴重的污染問題。在這許多來源中，礦物和熔煉相關工業是人為砷污染中最嚴重的工業來源。因為砷是礦物熔煉相關工業的一個副產品，同時許多礦石，例如銅，黃金，硼，鉛，鋅，煤礦石的內含物亦富含砷，

再加上於冶金工業的熔煉過程中，砷化合物經常被用來作為添加物[3]。因此現下幾乎大部分高濃度的砷污染大多源自於銅，鉛，鋅，黃金，或者鈷等之金屬熔煉所產生。半導體工業亦是砷污染來源之一，無機砷在半導體工業中經常地被用作一個摻雜劑元素。一些半導體材料也含有砷，例如GaAs, GaAsP。因此半導體產業的一些操作流程或者工廠維修保養活動可能產生砷污染。煤的燃燒亦是砷污染來源之一[6]，許多工業操作流程與能量生產過程含有煤燃燒。這個燃燒過程可能將煤所內含的砷導引到空氣裡，並藉著雨水回到地表或者水源。

農業也是砷的最大的用戶。許多老舊的殺蟲藥劑，除草劑和除真菌劑含有砷。許多砷化合物也被用作動物之飼料添加劑，例如洛克沙生與胺苯亞砷酸。這些人為污染源的增加使這個元素集中在某些地點，並提升了它的濃度，使其大為超出了自然環境背景環境所本有的濃度，這些砷化合物將累積到土壤並釋放至表層水並滲透到地下水裡而造成污染。

砷是人體非必須且具有毒性的元素，隨著人類的飲用水暴露在砷污染之區域中之機會增加，使科學家對砷的毒性有更深入與更進一步的了解。事實上這些於非刻意狀態下被攝取的砷之濃度因其並非是刻意要毒殺環境中之生命體，因而其濃度一般而言並不會造成立即性的毒殺作用與傷害，但科學家的研究卻顛覆此觀念。事實上科學家於一些受砷污染地區，例如台灣與印度等國家，所作的病理學研究數據中觀察到許多種疾病增加與產生的現象，例如心血管疾病所引發的死亡率增加 [7]，一種稱為烏腳病的 peripheral vascular 異常的極端形式之產生[8]，中央神經系統機能障礙的現象與病變[9]，皮膚病變[10]，以及糖尿病 mellitus 的發展之增加與發生[11]。除此之外，科學家亦發現在人類中，暴露在無機砷下也增加了產生如皮膚癌，肺臟癌等癌症的危險[12,13]。

基於砷對於環境污染與人體健康之影響因此對於發展將砷由水中有效移除的方法以及效率的改進在一些受砷污染的區域或一些工業化的國家中有極大需求。目前，為把砷從水移走已經發展了許多方法。常見的將砷移除的方法有(a) 沉澱法 (b) 吸附法 (c) 離子交換法 (d) 膜分離法。以上這些方法中，膜分離技術是目前較引人注目的方法<sup>11</sup>。膜分離技術是一種允許水通過特別過濾器媒介但卻不允許砷通過特別過濾器媒介，進而達到將砷由水中分離的目的之一種新

方法.此種膜處理方法比起其他的分離法可更有效的將五價砷由水中分離移除.除了將五價砷有效分離移除之外,膜分離技術也能同時有效地移走許多水中溶解的雜質與一些致病微生物.除此之外,膜本身具有不累積砷之優點,所以使用過的膜的處置法相當簡單,其保養和操作的需要比起其他處理法也是最小的.但是膜分離技術卻有著低三價砷分離效率的問題.近來,許多研究者嘗試以更環保或者成本效益更合算的技術改善上述低三價砷移除效率之缺點. Biooxidation 是最符合這些目標要求的可行方法之一. Biooxidation 是以微生物為媒介,經由微生物將三價砷以生物化學作用轉換成五價砷.事實上有許多中微生物可耐高濃度的砷,甚至可將三價砷有效的氧化為五價砷.但這些微生物大多為厭氧微生物,而厭氧操作之技術性比喜氧操作較為嚴苛,因此本實驗所要操作的微生物系統是偏向於需氧系統.一些 phototrophic 微生物,例如 microalgae, 在一些熱帶和亞熱帶的地區近年來因為於廢水處理過程中被選擇作為一種替代性的 biosystem 而受到了更多注意[14].這些微生物能夠把光當作一個能量來源而不需添加有機碳源,同時在缺乏有機碳源環境中這些微生物也可有效的維持本身新陳代謝的運作.因此這些 phototrophic 微生物能夠在沒有碳來源的情況下,於廢水處理工廠的開放池中培養.因此本研究嘗試以自行由附近水文環境篩選出之藻類以適當的培養基搭配上設計良好的生長環境與實驗流程探討其當成生物氧化程序之可行性,並將其應用於逆滲透膜分離技術來探討提昇三價砷膜分離效果之可行性.

## 2. 材料與方法

### 2.1 使用菌株與試劑

使用於生物氧化法之藻類為高雄縣附近之水文環境所篩選出之藻類.實驗流程中所使用購自市售廠商之化學試劑,均為分析級.使用之培養基為 Modified-Detmer culture medium[15].

### 2.2 生物轉化反應與膜分離程序

使用 3000 mL 三角錐瓶數個,採取多槽同時進行轉化反應之策略.操作條件為 10% 菌種,溫度  $25^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,光源為間接之日光照設並配合上使用市售之植物燈管與日光燈管每日照射 12 小時.膜分離程序所使用的幫浦與膜為市面上一般

用於家庭逆滲透淨水系統的幫浦與 RO 膜。

### 2.3 分析方法

以分光光度計 OD<sub>629nm</sub> 之吸光密度值來表示菌體量.利用原子吸收光譜儀來定量水中五價砷與三價砷之濃度.三價砷之測定為將樣本液過濾後於 24 小時內以原子吸收光譜儀加以測定. 五價砷之測定為樣本液中總砷濃度減掉三價砷濃度. 總砷之測定為為將樣本液過濾後以預還原劑 KI 先將濾液中之五價砷完全轉換成三價砷並於 24 小時內以原子吸收光譜儀加以測定.

### 3. 結果與討論

圖 1 為於生物轉化程序中藻類之生長模式. 圖 1 數據中顯示出這些藻類確實可存活於高濃度的三價砷環境中.其生長狀態是亦符合一般的微生物生長模式. 亦即活動生長先期為遲滯期, 70 小時後進入對數生長期, 234 小時之前為對數成長期. 234 小時與 446 小時之間應會有一段停滯期, 接著進入死亡期.

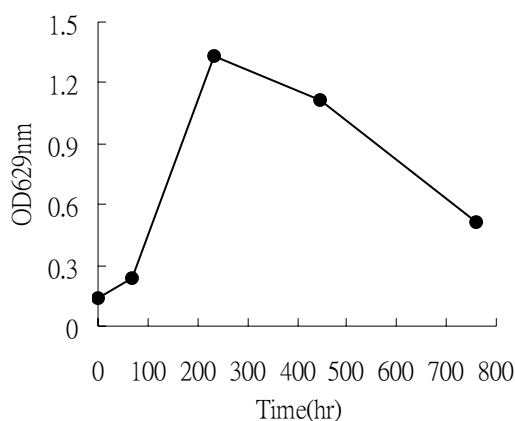


圖1. 藻類生長曲線

圖2之數據為菌液中三價砷與五價砷之濃度變化情況.由圖2數據中可發現所使用的藻類可很快速的於70小時內將溶液中超過70%以上的三價砷氧化成五價砷. 相較於一般研究者於厭氧狀態下利用微生物將三價砷轉化為五價砷所需的時間與轉化效率而言, 本文所使用的藻類混合族群將三價砷氧化為五價砷所需的轉化時間並不算太長, 其轉化效率也可與這厭氧微生物相比擬. 實驗中可發現其最佳之氧化效率可達約75%以上. 一般而言藻類生長與代謝之速度大都比

菌類生命體慢，因此目前利用微生物將三價砷氧化為五價砷之研究大都以厭氧微生物為主。但此實驗圖形顯示出相較於厭氧狀態下微生物之三價砷轉化時間與轉化效率而言，本實驗所使用之藻類族群之轉化時間並不算太長，其轉化效率也可與厭氧微生物相比擬。但與厭氧微生物之培養環境之嚴苛要求與養分需求之成本考量相比之下，藻類不需碳源以及不需特殊之環境控制之優點使的以藻類成為生物氧化劑更具競爭優勢。

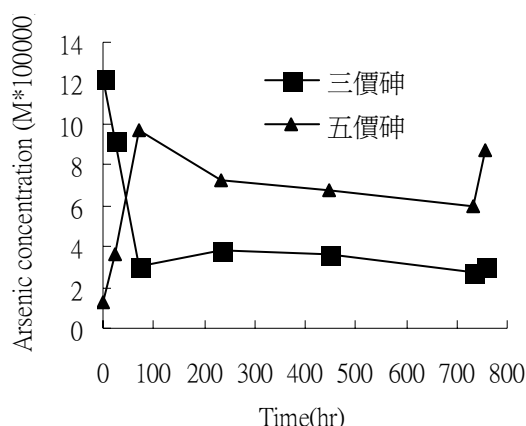


圖2. 菌液中三價砷與五價砷之濃度變化

圖 3 顯示的數據為經過 RO 膜處理後，排放淨水與排放廢水中之總砷濃度之變化。圖 3 中之數據顯示了經過本實驗所篩選的藻類族群處理再經由膜處理的淨水中之砷濃度持續的降低，此現象顯示了經過微生物處理後對於總砷之膜分離效率可有效的提昇，最後整體膜移除率可高達 90% 以上。其溶液中總砷移除率增加之一應為溶液中之砷型態由初始時膜移除率較不佳之三價砷經由微生物的作用將其氧化為膜移除率較高之五價砷所引致的。顯示經由生物處理後之菌液再以逆滲透膜技術處理後所排放的淨水中之砷濃度確實可有效的移除與降低。而由圖 3 中亦可發現排放的廢液中之砷濃度亦是呈現下降的趨勢，顯示配合上微生物處理法不僅可幫助逆滲透膜移除率的增加，同時亦降低了水中砷

之含量。歸納砷移除率增加與廢液中砷濃度降低之原因首先應為由水

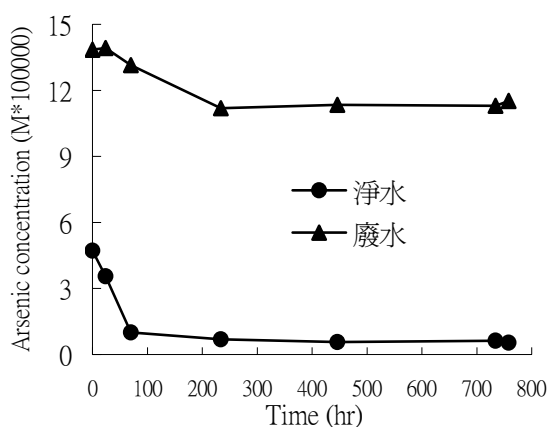


圖3. RO膜處理後，淨水與廢液中之總砷濃度之變化。

中砷之種類由膜移除率較不佳之三價砷氧化為膜移除率較佳之五價砷，同時微生物本身亦可能具有吸附之作用或可幫助砷之凝聚沉降作用的產生故而進一步造成整體膜之砷移除率增加與造成水中砷濃度之下降。事實上由圖 4 中也可看出溶液中三價砷之膜移除率由 63% 增加至 90% 以上。此項 RO 膜三價砷移除率大幅度的增加亦是總體砷之移除率增加的原因之一。至於 RO 膜三價砷移除率大幅度的增加原因可能是溶液中初始加入的無機三價砷經由藻類族群之生化作用轉化成有機三價砷或溶液中之三價砷與溶液中其他有機物質結合形成較大之聚合物，因而使其可被膜截留下來，進而提昇了整體三價砷之膜移除率。



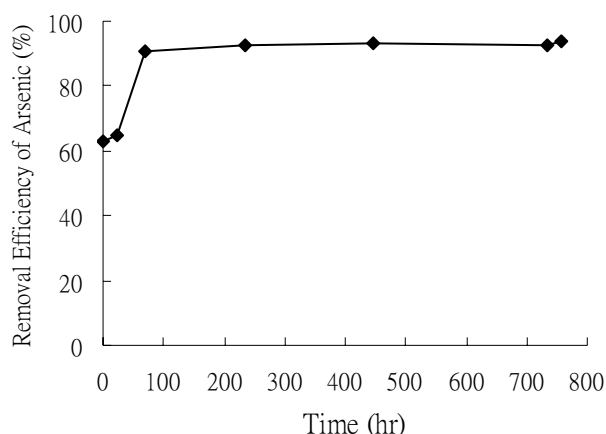


圖4. 三價砷膜移除率之變化

#### 4.結論

以往之研究者大都於厭氧狀態下以細菌將三價砷氧化成五價砷.但由此實驗中可發現利用藻類將三價砷氧化成五價砷亦是可行之道,雖然要達到70%的轉化率其需時間約70小時,但相較於以往使用細菌的厭氧法卻可省下碳源之購買,同時其可直接應用於現有的水處理設施,例如曝氣池.當此法結合於逆滲透膜時,發現不僅總砷之移除率可高達90%以上,原先對於三價砷分離效率甚差之逆滲透膜,亦可提升其三價砷的膜移除率高達90%以上.事實上此結果亦顯示了生物氧化法的應用當不只與膜處理技術結合,未來只要將此技術稍加整合改良就可直接應用於其他對水中三價砷之分離移除效率不佳之系統,並提昇整體水中三價砷之移除率.

#### Acknowledgement:

This work was funded by the NSC grants (NSC 94-2211-E-214-002) and ISU grants (ISU 96-04-05).

#### 參考文獻

1. The Chemical Environment. Environment and Man. Vol. 6, Academic Press, New York (1977).

2. Medical and biological effects of environmental pollutants: arsenic. National Academy of Sciences, Washington, D. C. (1977).
3. Matschullat, J., "Arsenic in the geosphere—A review," *Sci. Total Environ.*, 249 (1-3), pp. 297–312 (2000)
4. Smedley, P. L., and Kinniburgh, D. G., "A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters," *Appl. Geochem.* 17, pp.517-568 (2002).
5. Mandal, B. K. and Suzuki, K. T., "Arsenic round the world: a review," *Talanta*, 58, pp. 201-235 (2002).
6. World Health Organization, "Environmental Health Criteria. Arsenic," Vol. 16 . United Nations Environment Programme, International Labor Organization and World Health Organization, Geneva (1981).
7. Hertz-Picciotto, I., Arrighi, H. M., and Hu, S. W., "Does arsenic exposure increase the risk for circulatory disease?" *Am. J. Epidemiol.* 151, pp. 174–181 (2000).
8. Liu, C.W., Lin , K.H., Kuo, Y.M., "Application of factor analysis in the assessment of groundwater quality in a blackfoot disease area in Taiwan". *Sci. Total Environ.* 313, pp. 77 – 89 (2003).
9. Rodr'iguez, V.M., Jimenez-Capdeville,M.E.,Giordano, M., "The effects of arsenic exposure on the nervous system." *Toxicol Lett*,145, pp.1-18, (2003).
10. Tsuji, J. S., Benson, R., Schoof, R. A., and Hook, G.C., "Health effect levels for risk assessment of childhood exposure to arsenic." *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 39, pp. 99 – 110 (2004).
11. Tseng, C.H., Tseng, C.P., Chiou, H.Y., Hsueh, Y.M., Chong, C.K., Chen, C.J., "Epidemiologic evidence if diabetogenic effect of arsenic." *Toxicol. Lett.* 133, pp.69-76 (2002).
12. Guo, H.R, Lipsitz, S.R., Hu, H., Monson, R.R., "Using ecological data to estimate a regression model for individual data: the association between arsenic in drinking water and incidence of skin cancer." *Environ. Res.* 79, pp. 82-93 (1998).
13. Hopenhaynrich, C., Biggs, M.L., Smith, A.H., "Lung and kidney cancer mortality. associated with arsenic in drinking water in Cordoba, Argentina." *Int J. Epidemiol.* 27, pp. 561-569 (1998).
14. Lau, P.L., Tam, N.F.Y., and Wong, Y.S., 'Effect of Algal Density on Nutrient

Removal from Primary Settled Wastewater.’ *Environ. Pollut.*, 89, pp. 59-66 (1995).

15. Maeda, S., Kumamoto, T., Yonemoto, M., Nakajima, S., and Takeshita, T., “Bioaccumulation of arsenic by freshwater algae and the application to the removal of inorganic arsenic from an aqueous phase. Part 1. Screening of freshwater algae having high resistance to inorganic arsenic.” *Sep. Sci. Techno.* 18, pp. 375-385 (1983).