



行政院環境保護署

107 年度土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案

結合臭氧氧化法與生物整治法 降解通氣層機油污染物

期末報告(定稿)

主辦單位： 行政院環境保護署
專案執行單位：朝陽科技大學／環境工程與管理系所
專案主持人：劉敏信 副教授
專案執行期間：107 年 01 月 10 日起至
107 年 11 月 30 日止

中 華 民 國 107 年 12 月 印製

專案基本資料表

專案性質		☒ 實驗性質 ☐ 非實驗性質		專案類別(單選)		☒ 研究專案 ☐ 模場試驗		
研究主題		☐ 調查 ☒ 整治 ☐ 其他						
申請機構系所		朝陽科技大學 環境工程與管理系						
機構地址		台中市霧峰區吉峰東路 168 號						
專案主持人		劉敏信		職等／職稱		副教授		
協同主持人				職等／職稱				
專案 名稱	中文	結合臭氧氧化法與生物整治法降解通氣層機油污染物						
	英文	Combined ozone oxidation and bioremediation for the degradation of motor oil contaminant in vadose zone						
	關鍵字	化學氧化法、機油降解微生物、整治列車						
執行期程		自 民 國 1 0 7 年 0 1 月 1 0 日 起 至 民 國 1 0 7 年 1 1 月 3 0 日 止						
專案主持人		姓名：劉敏信 E-mail：jliu@cyut.edu.tw				專線：04-23323000#4529 手機：0910-599767		
專任助理		姓名： E-mail：				專線： 手機：		
經費 分 析 總 表		專 案 預 估 總 經 費		申請金額		編列說明		
		1.	人事費用		264,000		(1~5 項相加之 50%為限)	
		2.	貴重儀器使用含維護費		0		(與計畫實驗相關)	
		3.	消耗性器材與主要費用		659,000		(與計畫主體相關)	
		4.	其它研究相關費用		0		(差旅與租賃費用)	
		5.	雜項費用		50,000		(1~6 項相加之 5%為限)	
		6.	行政管理費		97,000		(1~5 項相加之 10%為限)	
		專案計畫申請總金額		1,070,000		總金額：1,070,000		

說明：

1. 本署以部份補助為原則，得指定不補助項目，不補助項目應為自籌款項，應自行核銷不得申請。
2. 非實驗性質之專案，若第一項費用編列金額超出比率，須於申請時向本署專簽說明，俾利審查。
3. 補助專案經費編列自申請起經專案核准後，經費編列中各項費用單價與需求只可減少與下修。

專案主持人：

(簽名及蓋章)

日期：107 年 12 月 4 日



研究中文摘要

本研究結合臭氧氧化法及生物整治法降解通氣層機油污染物，試驗過程中將臭氧注氣於受機油污染之土壤中，作為預臭氧(Pre-ozonation) 程序降解污染物，透過以上兩種技術整治列車的結合，可使污染物達到更良好的處理成效。在化學氧化的過程中，臭氧氧化法增加污染物的生物降解性，一般是透過臭氧將大分子的有機化合物斷鍵成較小分子的化合物，以利微生物分解。本計畫在臭氧注氣試驗後定期監測預臭氧後土壤之 pH 值、導電度、ORP 等基本性質，評估開始進行生物復育步驟的時間，預計在使用臭氧注氣法進行批次試驗後，開始進行微生物整治的適合時間，使其達到最佳的處理成效，並節省臭氧使用量及生物降解時間。同時也藉由已研發的臭氧氧化及生物降解技術，發展土壤機油污染物降解技術，並於未來應用於實場整治上。

本研究自行製備通氣層受機油污染濃度約為 12,000 mg/kg 之土壤模場，利用臭氧注氣法(Ozone sparging)結合生物整治法(Bioremediation)搭配氣泡式微生物呼吸儀監測微生物於模場內之活性狀況，並探討機油污染物降解成效。本研究將含臭氧的空氣流量設定為 10 L/min、臭氧流率為 2,888 mg/min 之條件，分別以每批次 1 小時注入兩個不同土壤含水率的臭氧模場中，研究結果顯示將臭氧注氣於高土壤含水率 15% 的模場至第 12 批次時，降解率為 47%；而在低土壤含水率 1% 情況下的模場其臭氧注氣至第 6 批次時降解率已高達 85%，當低含水率的臭氧模場注氣試驗到第 6 批次時已達臭氧降解極限，後續通入之臭氧無明顯降解成效。將預臭氧過後第 0、3、6、9、12 批次之土壤於臭氧模場中取出進行生物復育之步驟，研究結果顯示經預臭氧過後之污染土壤皆可提高生物降解率，而在高含水率的土壤經過預臭氧過後至第 12 批次時，可將生物降解率由 35% 提升至 52 %，而低含水率的土壤經過預臭氧過後，各批次之試驗土壤皆可達到法規標準 1,000 mg/kg 以下，顯示出極佳的降解成效。本試驗亦藉由微生物氣泡式呼吸儀觀察微生物活性狀況，得知微生物於預臭氧過後之土壤模場中有較佳的攝氧情形，與未臭氧注氣之模場相比顯示有較佳的微生物活性狀況，而於試驗後期累積攝氧量降低，推估生物復育模場內已無微生物可利用之碳源所造成的。

關鍵字：化學氧化法、機油降解微生物、整治列車



研究英文摘要

The treatment methods used in this study was to combine the two techniques, ozone sparging and biodegradation, as a remediation chain in order to achieve degradation of motor oil in vadose zone. During chemical oxidation process, ozone degraded contaminants into by-products that were more toxic, affecting the survival of the planted microorganisms. However, chemical oxidation by ozone increased the biological degradability of contaminants. This was achieved through large macromolecular organic compounds being degraded into chains of smaller compounds by ozone to be degraded by microorganisms. The current project regularly monitored pH values, conductivities and ORP values of the pre-ozonated soil, in order to assess the optimal starting time for bioremediation. Batch experiments were conducted after ozone sparging, followed by bioremediation, so as to attain optimal treatment results, saving ozone usage and degrading time. Meanwhile, by utilizing the ozone oxidation and biodegradation techniques, a method for motor oil contaminant degradation was developed for future use in real-scale remediation.

A batch-type ozone sparging method was used to treat the motor oil contaminated soil, the ozone flow rate was set up at 10 L/min with ozone concentration 288.8 mg/L, the sparging time was one hour each batch and ozone was sparged into two pilots with 1% and 15% water content in soil respectively. The results showed that the removal efficiency of motor oil contaminant was 47% when 12 hours pre-ozonation was applied in 15% water content soil. Meanwhile, the removal efficiency approached 85% when 6 hours pre-ozonation was applied in 1% water content soil, no obvious removal efficiency increased for further pre-ozonation. In addition, the soil samples were collected after 3, 6, 9, 12 hours ozone sparging for biodegradation test by using the implanted strain *Pseudomonas putida*. The biodegradation was enhanced when pre-ozonation was applied in both soil layer pilots, the biodegradation efficiency increased from 35% to 52% in higher soil water content, however the remaining concentration of total petroleum hydrocarbons reached below 1,000 mg/kg the regulation standard in lower soil water content. The accumulative oxygen uptake of microbe increased which indicated the microbes was activated in pre-ozonation soil.

Keywords: Chemical oxidation, Motor oil degrading microorganisms, Remediation chain



總目錄

一、 前言	1
二、 研究目的	1
三、 文獻探討	2
3.1 石油碳氫化合物	2
3.2 石油油品	3
3.3 TPHs 對土壤之影響	3
3.4 臭氧(O ₃)基本性質介紹	4
3.5 臭氧氧化烷烴機制	6
3.6 pH 值對臭氧的氧化機制影響	6
3.7 臭氧在污染土壤上之應用	7
3.8 臭氧對土壤中 TPH 之影響	9
3.9 通過臭氧氧化釋放微生物可利用的營養物質	11
3.10 <i>Pseudomonas putida</i>	12
3.11 好氧微生物降解有機物的特性	12
3.12 石油烷烴的微生物代謝機制	13
3.12.1 烷烴的微生物好氧代謝	13
3.12.2 芳香烴的微生物好氧代謝	16
3.13 氣泡式呼吸儀說明及應用	17
3.14 國內外相關文獻執行情形	21
3.14.1 臭氧在兩相及三相中對 PAH 的降解之影響	21
3.14.2 臭氧對不同環數之 PAH 降解情形	22
3.14.3 Fenton 法去除 PAH 之情形	23
3.14.4 結合化學氧化及生物處理降解 PAH 之情形	24
3.14.5 不同臭氧劑量對苯並[a]芘降解之影響	26
3.14.6 結合臭氧氧化及生物處理降解苯並[a]芘之情形	27
3.14.7 結合臭氧氧化及生物處理降解橄欖油廢水之情形	28
四、 研究方法及步驟	30
4.1 臭氧注氣系統建立	31
4.2 臭氧製造流程	32
4.3 微生物預前試驗	32
4.4 監測預臭氧過後之土壤基本性質	32
4.5 預臭氧過後生物降解試驗規劃	33
4.6 土壤模場建立	33
4.7 氣相臭氧濃度	34



4.8 土壤微生物氣泡式呼吸儀系統	34
4.10 土壤有機質測定.....	36
4.11 元素分析.....	36
4.12 土壤中機油分析方法.....	36
4.13 GC/FID 分析條件.....	36
4.14 微生物菌液培養.....	37
4.15 營養鹽添加.....	37
4.16 三磷酸腺苷(Adenosine triphosphate, ATP).....	37
4.17 變性梯度膠電泳(Denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE)	38
4.18 臭氧尾氣風險評估.....	38
4.19 經濟效益評估.....	38
4.20 研究預期完成及已完成之工作項目（甘特圖）	39
五、 結果與討論	40
5.1 模場背景調查.....	40
5.2 批次式臭氧注氣試驗對於土壤 pH 值及 ORP 之變化.....	41
5.3 批次式臭氧注氣試驗對於土壤導電度之變化	43
5.4 批次式臭氧注氣試驗對於通氣層受機油污染之成效	44
5.5 批次式臭氧注氣對於土壤有機質之變化	46
5.6 批次式臭氧個別注氣時間之模場尾氣試驗	47
5.7 批次式臭氧注氣過後土壤中微生物存活情形	49
5.8 油品降解菌 <i>Pseudomonas putida</i> 之生長曲線.....	50
5.9 預臭氧過後生物復育模場週次採樣試驗	51
5.9.1 臭氧模場土壤含水率 1%之預臭氧過後生物復育試驗	51
5.9.2 臭氧模場土壤含水率 15% 之預臭氧過後生物復育試驗	53
5.10 利用氣泡式微生物呼吸儀探討微生物活性	55
5.11 利用 PCR-DGGE 進行優勢菌種判斷及菌相分析	59
六、 結論與建議	60
6.1 結論.....	60
6.2 建議.....	60
參考文獻.....	61



圖目錄

圖 3-1 臭氧處理受重油污染土壤之圖譜變化	9
圖 3-2 經過臭氧化後之土壤其營養物質之變化	11
圖 3-3 烷烴的微生物好氧微生物代謝概念	14
圖 3-4 微生物降解烷烴類過程	15
圖 3-5 生物表面活性劑參與碳氫化合物的攝取	16
圖 3-6 芳香烴的微生物好氧代謝路徑	17
圖 3-7 活性污泥中經馴化的微生物累積攝氧圖	18
圖 3-8 植菌種後第 1 週微生物累積攝氧量曲線	19
圖 3-9 植菌種後第 2 週微生物累積攝氧量曲線	19
圖 3-10 植菌種後第 3 週微生物累積攝氧量曲線	20
圖 3-11 植菌種後第 4 週微生物累積攝氧量曲線	20
圖 3-12 土壤模場添加菌液後之各週次累積攝氧量變化圖	21
圖 3-13 臭氧對不同環數之 PAH 降解情形	23
圖 3-14 添加不同比例 H_2O_2 : Fe^{2+} 去除 PAH 之情形	24
圖 3-15 化學氧化結合生物降解處理 PAH 之情形	25
圖 3-16 不同臭氧消耗量及不同 H_2O_2 和 Fe^{2+} 降解 PAH 之情形	25
圖 3-17 不同試驗條件下苯並[a]芘及 TOC 去除率	26
圖 3-18 不同處理工法對於橄欖油廢水之降解成效	29
圖 4-1 本計畫之研究架構	30
圖 4-2 本計畫臭氧試驗注氣示意圖	32
圖 4-3 試驗模場反應槽示意圖	33
圖 4-4 土壤微生物氣泡呼吸儀系統示意圖	35
圖 5-1 批次式臭氧注氣試驗對於土壤 pH 值及 ORP 之影響	41
圖 5-2 土壤含水率 15% 之 pH 值及 ORP 變化	42
圖 5-3 批次式臭氧注氣試驗對於土壤導電度之影響	43
圖 5-4 批次式臭氧注氣試驗對於通氣層受機油污染之成效	45
圖 5-5 批次式臭氧注氣試驗通氣層之相對機油濃度	45
圖 5-6 臭氧注氣過後之土壤有機質變化	46
圖 5-7 臭氧曝氣批次操作時個別時間的臭氧尾氣流率	47
圖 5-8 臭氧注氣過後土壤之總菌落數	49
圖 5-9 <i>Pseudomonas putida</i> 之 ATP 及 OD 曲線	50
圖 5-10 臭氧模場含水率 1% 之預臭氧土壤生物降解之機油殘餘濃度	52
圖 5-11 臭氧模場含水率 1% 之預臭氧土壤生物降解相對機油濃度	52
圖 5-12 臭氧模場含水率 15% 之預臭氧土壤生物降解之機油殘餘濃度	54
圖 5-13 臭氧模場含水率 15% 之預臭氧土壤生物降解相對機油濃度	54



圖 5- 14 不同臭氧注氣時間的土壤生物復育試驗第一週之 5 日累積攝氧量.....	55
圖 5- 15 不同臭氧注氣時間的土壤生物復育試驗第二週之 5 日累積攝氧量.....	56
圖 5- 16 不同臭氧注氣時間的土壤生物復育試驗第三週之 5 日累積攝氧量.....	56
圖 5- 17 不同臭氧注氣時間的土壤生物復育試驗第四週之 5 日累積攝氧量.....	57
圖 5- 18 不同臭氧注氣時間的土壤生物復育試驗第五週之 5 日累積攝氧量.....	57
圖 5- 19 預臭氧不同時間後土壤進行生物復育各週之 5 日生物累積攝氧量.....	58
圖 5- 20 利用 DGGE 進行優勢菌種判斷及土壤菌相分析	59



表目錄

表 3-1 原油元素分析	2
表 3-2 石油產物蒸餾溫度及碳數分佈表	3
表 3-3 臭氧之物理化學性質	4
表 3-4 臭氧在空氣中的性質及毒性	5
表 3-5 常使用的氧化劑氧化還原電位	5
表 3-6 臭氧反應之機制	7
表 3-7 國內外文獻臭氧在土壤污染整治上應用之差異	8
表 3-8 重油污染土壤經臭氧氧化後形成之產物	10
表 3-9 臭氧在兩相及三相中降解 PAH 效率及消耗之臭氧劑量	22
表 3-10 不同臭氧去除率添加 SMC 之降解成效	27
表 3-11 不同預臭氧時間過後生物處理單寧酸之成效	28
表 5-1 模場土壤基本特性與試驗濃度	40





一、前言

加油站數量隨交通工具數量的快速成長而增加。故國內加油站之地下儲油槽數量相當可觀，而目前最新統計國內約有 2,460 家加油站，若發生油品滲漏將導致土壤及地下水污染時，對周遭環境及國民健康產生危害。

使用單一工法進行整治時，往往都有其限制或缺點，例如使用氧化劑進行化學氧化法的整治過程中，易受到優勢流或短流的影響，造成氧化劑與污染物的非均勻性，無法完全去除油品污染物。而若單獨使用生物復育法，一般而言雖然對環境較為友善，但微生物易受到 pH 值、溫度及污染物毒性所造成的抑制作用等所影響，使得整治的時間過長。因此本計畫結合化學氧化法以及生物復育法，先使用化學氧化法將微生物難分解的長鏈化合物或分子量較大的物質，先行斷鏈成短鏈或分子量較小的物質，使得微生物得以順利分解，以達到更良好且更節省時間的成效。

二、研究目的

利用臭氧氧化法及生物復育法結合為整治列車，以降解難處理之污染物已被廣泛的運用，例如：PAHs、油品污染物等，文獻指出先利用臭氧可將難降解的有機物分解成較小的分子供微生物所利用，且臭氧會自解為氧氣提高土壤中的含氧濃度，對微生物有正面之影響，透過此方法以達到更良好的污染物降解成效。

於 107 年度計畫中將沿用 105 年計畫「臭氧注氣法處理飽和層及未飽和層柴油污染物試驗」的最佳試驗參數，結合生物復育的步驟，以降解機油污染物。主要目標為探討最佳曝氣時間，以便後續進行生物復育的步驟。藉此評估其最佳處理成效，達到節省臭氧及縮短生物復育時間為目的。



三、文獻探討

3.1 石油碳氫化合物

「石油」的英文名稱為 Petroleum，是由 Petra oleum 所得，原義為 Rock oil，是岩油之意。根據大英百科全書敘述「石油是烴類的複雜混合物，以液態、氣態、固態的形式存在於地球」。只是一般多呈液體狀，因此，通常將這未加提煉前的液態石油，泛稱為「原油」(Crude oil)。原油組成的物質並不固定，各地出產的原油成份差異頗大，因此，其顏色、重量也不相同，從白色、棕色、綠色、黃色，以至於深黑色皆有，比重則由 0.8 到 1.0。原油主要由碳及氫所組成，其他尚有少量的氮、氧、硫以及金屬等(郭，2013)。

表 3- 1 原油元素分析

	Elements	Content (%)
Crude oil	Carbon	83.0~87.0
	Hydrogen	13.0~14.0
	Nitrogen	0.1~2.0
	Oxygen	0.05~1.5
	Sulfur	0.05~6.0
	Metals	0.03

總石油碳氫化合物為加油站常見的污染物，其加油站的油品洩漏為主要污染來源，洩漏來源可能包括：

- (1) 卸油口及卸油管線：卸油口因卸油不慎溢出或管線鏽蝕破損造成油品洩漏。
- (2) 油槽：油槽大多位於地下 3 至 5 公尺處。油槽防鏽蝕設備未確實運作可能造成油槽鏽蝕破損造成洩漏，若混凝土護槽有龜裂便會造成土壤與地下水污染。
- (3) 泵島（加油島）：泵島最容易發生洩漏的位置為輸油管與泵島連接點，與加油時人為疏失而造成洩漏。



3.2 石油油品

所有石油製品都是將原油經由蒸餾過程所產生的。基礎油也是這樣製成的。潤滑油品製造以基礎油(Base oil)與添加劑調製而成，一般分為「全合成油」、「合成油」、「礦物油」。基礎油大致有二種：一是以原油經提煉和精製之天然礦物油；另一則是化工原料經化學合成的方法製成之合成基礎油。以礦物基礎油與添加劑調製而成者稱為礦物油 (Mineral oil)，以合成基礎油與添加劑調製而成者稱為合成油，合成油又分為全合成及半合成)。礦物油，乃在於此類機油是直接由原油再加以提煉而成，礦物油由於其中的分子結構存在著部份的支鏈，而這些存在的支鏈往往在潤滑過程中卻容易發生斷裂，易產生機油裂解變質。

表 3-2 石油產物蒸餾溫度及碳數分佈表 (工研院，2003)

產物名稱	蒸餾溫度 (°C)	碳數分佈
汽油 (Gasoline)	30-200	C ₅ -C _{10/12}
Naphtha	100-200	C ₈ -C ₁₂
煤油、噴射機油 (Kerosene and jet fuels)	150-250	C ₁₂ -C ₁₅
柴油、燃料油 (Diesel and fuel oils)	160-400	C ₁₃ -C ₂₇
重燃料油 (Heavy fuel oils)	315-540	C ₁₉ -C ₄₅
潤滑油 (Lubricating oils)	425-540	C ₂₀ -C ₄₅

3.3 TPHs 對土壤之影響

土壤遭受油品污染後具有吸持的特殊機制，進而累積於土壤環境中，土壤團粒構造可能會受到破壞，致使土壤物理及化學性質發生改變，對微生物的活性也會產生不利的影響。若受輕質油品（汽油、燃料油）污染土壤時，因碳數較低易形成揮發性有機氣體（VOCs）之影響，此氣體不僅在土壤孔隙中傳播，甚至浮出地表經光分解後形成有毒性之水溶性苯或二甲苯等；若受重質油品（柴油、原油）污染土壤時，會因重力而滲入土壤，而被吸附於土壤顆粒表面，且隨吸附時間越長，油品污染物之重量大於土壤吸附能力時，油品則會脫附而流入地下水中，造成地下水污染（史，2001）。因油脂為疏水性，會附著於土壤孔隙中，阻隔水分及養分之傳輸，使土壤變成還原狀態，進而影響土壤好氧微生物的呼吸作用。土壤一旦變成還原狀態後，所產生的硫化物，不但會毒害植物，並造成土壤中有



結合臭氧氧化法及生物整治法降解通氣層機油污染物

機碳、全氮、可交換性鐵、錳、鉀等增加外，硝酸態氮及可交換性鈣則有減少之趨勢，而 C/N 值及微生物群數則比正常土壤為高。

3.4 臭氧(O₃)基本性質介紹

臭氧具強烈氧化特性，是一般消毒劑中氧化能力最強者，且臭氧會刺激眼鼻之黏膜，通常 0.01~0.02 mg/L 即可嗅到類似魚腥之特殊臭味。Manley 與 Niegowski (1967)指出在室溫中之乾淨容器內，臭氧的半衰期大約是 20 至 100 小時；溫度為 120°C 時，半衰期降為 11 至 112 分鐘；溫度再升高至 250°C 時，半衰期僅有 0.04~0.4 秒而已。臭氧的密度約為氧氣的 1.5 倍。在 20°C 狀態下，臭氧在水中的溶解度則是氧氣的 11.5 倍，但水溶液中的臭氧卻極不穩定。在 20°C 之純水中其半衰期約為 3 小時，且易受到 pH、溫度及催化劑等之影響，使半衰期更短(陳，2001)。臭氧的物理化學性質、在空氣中的性質與毒性、氧化還原電位則分別如表 3-3、表 3-4、表 3-5 所示。

表 3-3 臭氧之物理化學性質(McCarty, 1974)

性質	特性
形成	光化學反應，高壓放電
比重	1.658 (空氣比重=1 時)
水中溶解度	1.09 g/L (0°C)、0.57 g/L (20°C)
熔點	-251°C
沸點	-112°C
吸收波長	253.7 nm
氧化電位	-2.07 Volt
顏色	低濃度(無色)、高濃度(藍色)
氣味	腥味、辛辣味



表 3-4 臭氧在空氣中的性質及毒性

臭氧(ppm)	臭氧對人體的影響
0.01~0.02	無色，略帶青草味
0.1	會有刺鼻的感覺
0.2~0.6	3~6 小時的長時間接觸，會感覺到眼睛乾澀、視覺不佳
0.5	味道辛辣、呈淡藍色，明顯感覺咽喉及上呼吸道會有明顯的刺激感
1~2	接觸時間長達兩小時以上時，會感到頭痛、胸部疼痛、上呼吸道感覺乾燥，可能會造成慢性中毒
5~10	長時間暴露會導致水腫
15~30	小動物若長期暴露 2 小時以上，會導致死亡
50	人體若長期暴露 1 小時以上會有生命危險

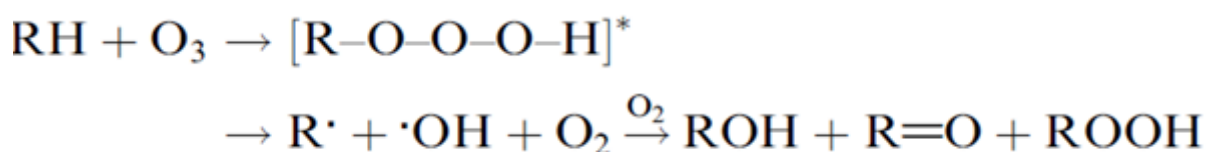
表 3-5 常使用的氧化劑氧化還原電位 (Prenle and Mauk, 1978)

氧化還原反應式	氧化還原電位
$\text{F}_2 + 2\text{e}^- \rightarrow 2\text{F}^-$	3.06 V
$2\text{O}_3 \cdot + 2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 4\text{O}_2 + 2 \cdot \text{OH} + 2\text{H}_2\text{O}$	2.8 V
$\text{O} \cdot$	2.42 V
$\text{O}_3 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}$	2.07 V
$\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$	1.77 V
$\text{MnO}_4^- + 8\text{H}^+ + 5\text{e}^- \rightarrow \text{Mn}^{2+} + 4\text{H}_2\text{O}$	1.49 V
$\text{Cl}_2 + 2\text{e}^- \rightarrow 2\text{Cl}^-$	1.36 V
$\text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O} + 4\text{e}^- \rightarrow 4\text{OH}^-$	0.40 V



3.5 臭氧氧化烷烴機制

臭氧可與烷烴反應，烷烴的所有 C-H 鍵都具有反應性。烷烴的臭氧的初始攻擊以 C 和 H 原子之間的鍵合為中心，速率確定步驟涉及從 C-H 鍵去除 H。臭氧對 C-H 鍵的兩個主要途徑 1,3-偶極插入和自由基反應。1,3-偶極插入機制是由原子的電負性引發的。具有部分正電荷的碳原子與臭氧分子的帶負電荷的氧原子相關。另一方面，相對負電荷的氫原子連接到以部分正電荷為特徵的臭氧分子的另一端。C-H 鍵的分裂被認為是以過氧化物（R-O-O-OH）作為中間產物所發生的，隨後轉化為分解產物。Hellman 和 Hamilton (1974)提出了一個更加詳細的闡述，並實驗支持臭氧在烷烴上的反應機制：



其中 RH 為烷烴，[R-O-O-O-H] * 為烷基氫三氧化物(alkyl hydrotrioxide)的瞬時復合物，R· 為烷基，·OH 是氫氧自由基，ROH 為醇，R=O 為酮，和 ROOH 為羧酸。乙酸是烷烴臭氧氧化的主要產物。烷烴可以通過臭氧反應進行醇，酮和羧酸的氧化轉化(Vikhorev *et al.*, 1978)。

3.6 pH 值對臭氧的氧化機制影響

根據 pH 值的不同，臭氧氧化過程遵循兩種不同的途徑。在酸性條件下，臭氧與有機化合物直接作為親電子反應 (Turhan *et al.*, 2012)。最後，形成醛、羧酸和其它副產物 (Nawrocki *et al.*, 2010)。在鹼性 pH 下，臭氧從直接臭氧氧化轉變為複雜的鏈條機理。臭氧迅速分解產生羥基和其他自由基物質 (Turhan *et al.*, 2012)。其中產生的氫氧自由基能比臭氧本身更快的進行有機物降解，臭氧的直接反應及間接反應機制如表 3-6 所示。



表 3-6 臭氧反應之機制

項目	直接反應	間接反應
氧化劑	臭氧分子(O ₃)	氫氧自由基(·OH、HO ₂)氧化
氧化力	強 2.07V	較強 2.33V
反應速率	慢	快
反應 pH 值	酸性(pH<7)、中性(pH=7)	鹼性(pH>7)
作用機制	電偶極加成反應、親電子反應、 親核反應	親電子反應、脫氫反應、電子轉 移作用
反應選擇 性	1.未飽和芳香族、烯類、簡單胺類 2.含 OH、NH ₂ 、OCH ₃ 等官能基之 化合物 3.非極性與微極性分子	無
氧化產物	醛類、酮類、羧酸、極性分子	醛類、酮類、羧酸、醇類
生成一次 氧化產物	易	不易

3.7 臭氧在污染土壤上之應用

於 1997 年 Masten 及 Davies 曾應用臭氧氣體整治土壤中 PAHs，首先提到對於菲 (Phenanthrene) 的去除，其將臭氧氣體以每小時 250 mg 之臭氧通入含菲之土壤，經過實驗 150 分鐘後，檢測土壤中菲的含量，其去除率高達到 95%；接下來對於芘 (Pyrene) 的去除，其將臭氧氣體以每小時 600 mg 之臭氧通入土壤，經過實驗 240 分鐘後，檢測土壤中芘的含量，其去除率也高達到 91% (Masten and Davies, 1997)。

張等人於 2003 年的研究中，將臭氧濃度為 3.38 mg/L 之臭氧通入受蒽 (anthracene) 污染 100 mg/kg 之土壤，其蒽的降解率隨著通氣時間的增加而上升，經過曝氣 40 分鐘後，蒽的降解率可達 80.4%。

於 2006 年 Mark M. 等人也曾應用臭氧氣體整治受菲 (phenanthrene) 污染之土壤，將臭氧濃度為 20 ppm 之臭氧通入受 200 mg/kg 菲污染的壤質砂土中，經過曝氣 360 分鐘後，其降解率最高可達 85%。而在同樣條件下，將臭氧通入受 200 mg/kg 菲污染的黏土中，其降解率也可達到 75%。

於 2008 年劉等人將臭氧濃度為 50 mg/L 之臭氧通入受重油污染之土壤，經過曝氣 30 分鐘後總石油烴降解率為 41%，其中芳香烴降解率最高為 90%，其次



結合臭氧氧化法及生物整治法降解通氣層機油污染物

是飽和烴為 61%。此篇文獻也提到了預臭氧可以促使酯類等可溶性石油烴的生成，從而提高生物的可利用率。

表 3-7 國內外文獻臭氧在土壤污染整治上應用之差異

	Masten and Davies, 1997	Masten and Davies, 1997	張氏等 人，2003	Mark <i>et al.</i> , 2006	Mark <i>et al.</i> , 2006	劉氏等 人，2008
污 染 物	菲 Phenanthrene	芘 Pyrene	蒽 anthracene	菲 Phenanthrene	菲 Phenanthrene	重油 heavy oil
起 始 濃 度	100 mg/kg	100 mg/kg	100 mg/kg	200 mg/kg	200 mg/kg	unknown
處 理 區 域	未飽和層 土壤	未飽和層 土壤	未飽和層 土壤	未飽和層 土壤(壤質沙 土)	未飽和層 土壤(黏土)	未飽和層 土壤
臭 氧 濃 度	250 mg/hr	600 mg/hr	3.38 mg/L	20 ppm	20 ppm	50 mg/L
注 入 時 間	150分鐘	240分鐘	40分鐘	360分鐘	360分鐘	30分鐘
處 理 效 率	95%	91%	80%	85%	75%	41%



3.8 臭氧對土壤中 TPH 之影響

於 2016 年 Chen 等人將臭氧濃度 20 mg/L、臭氧流量 5 L/min 注氣於 250 g 受重油污染 10,600 mg/kg 之土壤中，注氣時間分別為 1.5、2、2.5 及 3 小時，其重油污染濃度分別剩餘 6,500 mg/kg、5,700 mg/kg、4,920 mg/kg 及 4,740 mg/kg。由圖 3-1 可顯示出受重油污染之土壤，經過臭氧處理過後圖譜面積下降，且將重質烴類轉化為較輕的化合物，其主要降解的碳數為 C_{16} - C_{40} (黑色圖譜為未經臭氧處理的對照組，粉紅色圖譜為經臭氧處理 3 小時過後之土壤)。

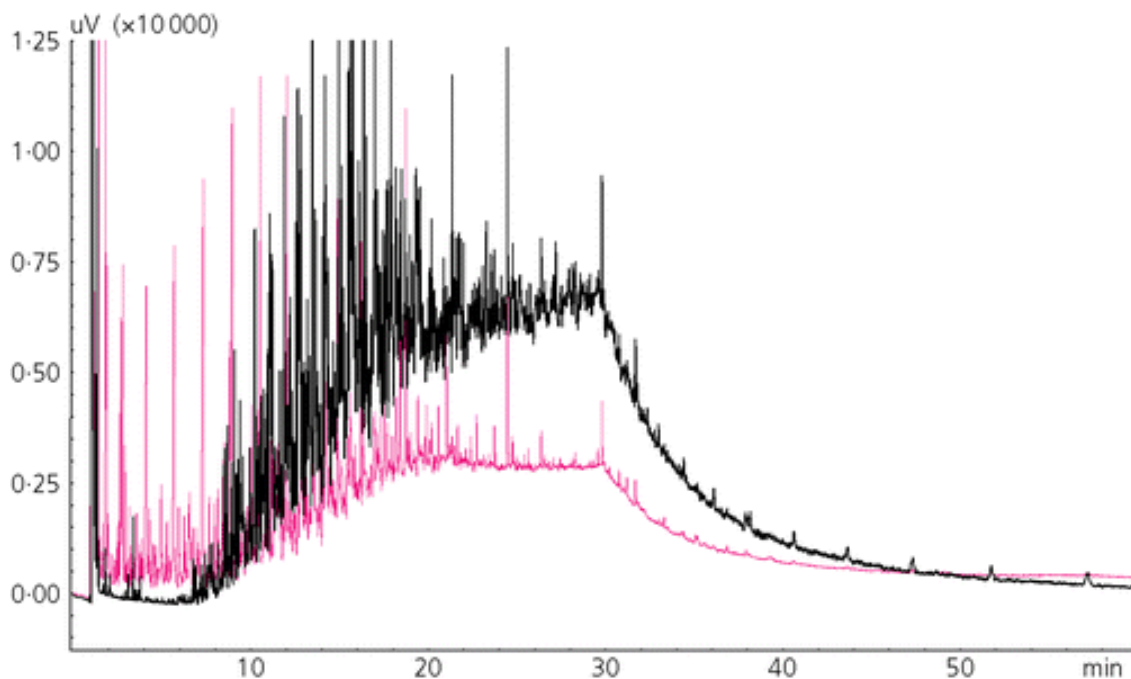


圖 3-1 臭氧處理受重油污染土壤之圖譜變化(Chen *et al.*, 2016)



Chen 等人將經由 GC-FID 圖譜中保留時間利用 GC-MS 進行臭氧氧化後形成之產物的鑑定，其結果如表 3-8 所示。由表可得知經臭氧曝氣過後之受重油污染土壤，臭氧會將其形成許多不同的羧酸等物質，其中 10 個被鑑定為易被生物降解的 *n*-單羧酸(*n*-monocarboxylic acids)。

表 3-8 重油污染土壤經臭氧氧化後形成之產物(Chen *et al.*, 2016)

Retention time (min)	Analyte name
2.72	Unknown carboxylic acid
4.42	Hexanoic acid
5.84	Heptanoic acid
7.38	Octanoic acid
9.20	Nonanoic acid
10.54	<i>n</i> -Decanoic acid
12.06	Unknown carboxylic acid
13.70	Dodecanoic acid
15.02	Tridecanoic acid
16.29	Cyclohexane, undecyl-
17.59	Unknown
18.79	<i>n</i> -Hexadecanoic acid
21.07	Unknown
24.55	Unknown
29.96	Unknown



3.9 通過臭氧氧化釋放微生物可利用的營養物質

圖 3-2 顯示土壤中的硝酸鹽，銨和活性磷濃度隨著臭氧氧化時間而增加，硝酸鹽顯示出最明顯的上升。經過 3 小時的臭氧處理後，臭氧將硝酸鹽從 7.5 mg/kg 提高到 118 mg/kg，在此期間銨從 8 mg/kg 增加到 19.5 mg/kg。對於相同的臭氧氧化條件，活性磷從 1.5 mg/kg 增加到 15 mg/kg。生物有效氮和磷的釋放可能來自含氮和磷化合物，如樹脂，瀝青質和有機質 (Lehtola *et al.*, 2001; Sutton *et al.*, 2014)，儘管微生物中的蛋白質和磷脂可能是微量的來源。而硝酸鹽的大量增加可能是由於臭氧氧化銨和有機氮所造成的。營養素的釋放應促進生物降解，並降低添加大量營養源以刺激生物修復的需要。

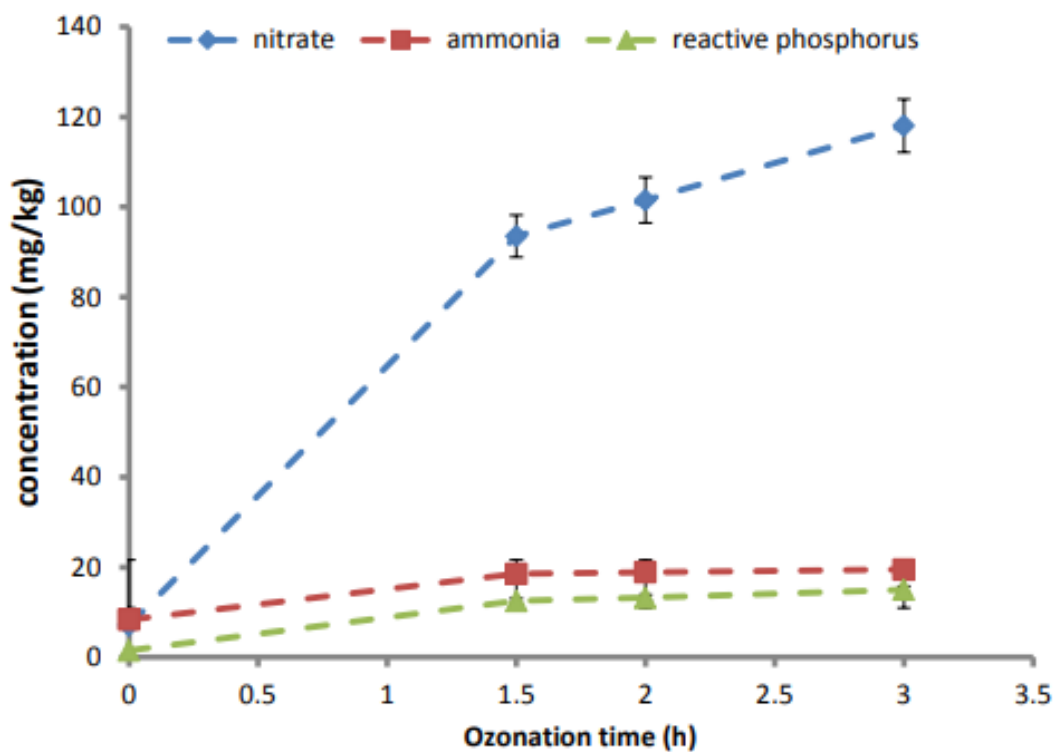


圖 3-2 經過臭氧化後之土壤其營養物質之變化



3.10 *Pseudomonas putida*

Pseudomonas putida 為土壤及水體中常見之微生物，且早已知道會降解石油產品。從 Nigeria 含油污染土壤中分離出的惡臭假單胞菌可降解煤油、汽油、柴油、發動機油和原油(Obayori *et al.*, 2009)。

Pseudomonas putida 和相關的菌團對 TPHs 進行超過 25 日的降解，菌株 A (*P. putida* CB699) 可降解 61% 的 TPHs，其中可將 C₁₄ 到 C₃₂ 完全降解(Zheng *et al.*, 2018)。

Ramadass 等人於 2018 年利用 *Pseudomonas putida* TPK-1 以及 *Pseudomonas aeruginosa* TPK-4 降解已風化的發動機機油，此兩株菌種已於 2016 的研究中就得知有降解柴油及正構烷烴的能力。機油污染濃度為 39,000~41,000 mg/kg，在第 210 天時其降解率都達 75% 左右，比自然衰減還多了約 20% 的降解率。而將土壤添加 N、P、K 無機肥料進行生物刺激，則降解率都比單純只添加兩株菌種的生物強化以及自然衰減來得低。

3.11 好氧微生物降解有機物的特性

為了使微生物和有機污染物有完善的代謝過程，其化學物質必須能夠被生物接觸以進行生物降解。例如，烴類為不溶於水的物質，因此它們的降解需要產生表面活性劑。而有機污染物於細胞內的初始攻擊為一種氧化過程，氧的活化及結合的酶促反應關鍵是加氧酶及過氧化酶。外圍降解途徑是逐步將有機污染物轉化為中央中間代謝的中間體，例如三羧酸循環(TCA cycle)。從中央前體代謝物生物合成細胞生物質，例如乙醯輔酶 A、琥珀酸、丙酮酸。各種生物合成和生長所需的糖類則必須通過葡萄糖新生作用來合成(Fritsche and Hofrichter, 2000)。

3.12 微生物降解碳氫化合物所產生之酶

微生物參與生物整治所產生的酶(Enzymes)可分為氧化還原酶(Oxidoreductase)及水解酶(Hydrolases)，而加氧酶(Oxygenases)、漆酶(Laccases)及過氧化物酶(Peroxidases)皆為氧化還原酶，水解酶的部分則包括脂肪酶(Lipases)、纖維素酶(Cellulases)等。每種污染物所參與分解的酶皆不同，例如加氧酶中的單加氧酶及雙加氧酶，可將碳氫化合物中的烴類於末端甲基開始降解並氧化形成醇類最終變成脂肪酸，可產生單加氧酶及雙加氧酶之微生物則有 *Arthrobacter*、*Burkholderia*、*Mycobacterium*、*Pseudomonas*、*Sphingomonas* 及 *Rhodococcus* 等(Sharma *et al.*, 2018)。



加氧酶是芳香族化合物好氧降解的主要酶，透過加入一個或兩個氧分子來催化芳香族化合物中環的裂解是降解的必要步驟。根據所涉及的氧分子數，加氧酶可分為兩類：單加氧酶（催化加入一個氧原子分子）和雙加氧酶（催化加入兩個氧原子分子）(Sharma *et al.*, 2018)。

3.12 石油烷烴的微生物代謝機制

3.12.1 烷烴的微生物好氧代謝

直鏈烷烴最常見的好氧代謝途徑是單末端氧化，即首先通過氧化烷烴末端的一個甲基轉變為相應的醇，然後再依次氧化為相應的醛和脂肪酸。在轉化為相應的脂肪酸後，一種情況是直接經歷隨後的 β 氧化序列，即形成羧基並脫落兩個碳單元；另一種情況是經歷 ω -羥基化形成 ω -羥基脂肪酸，然後在非專一羥基酶的參與下被氧化為二羧基酸，最後再經歷 β 氧化序列，這種氧化途徑稱之為雙末端氧化，其概念如圖 3-3 所示(Van-Hamme *et al.*, 2003)。Rehm 在 1981 年發現雙末端氧化的證據是一些利用烷烴的細菌和酵母菌能夠產生細胞外產物，如 *Pseudomonas*、*Cornebacterium* 和 *Candida* 的許多種類能夠利用烷烴累積二羧基酸。Rittman 發現，以烷烴為唯一碳源和能源的細菌，亞末端氧化與單末端氧化比起來可能是次要的。而在那些輔助氧化烷烴的細菌中，如 *Bacillus sp.*，*Streptomyces sp.*，*Arthrobacter sp.*，亞末端氧化可能是主要的(Rittman *et al.*, 1991)。許多真菌(酶菌)及一些酵母菌則專門是亞末端氧化的。亞末端的第一種中間產物是仲醇，隨後被氧化為酮，這些中間產物的存在往往是判斷亞末端氧化的標準。然而這些中間產物也可能是非專一性酶初始氧化烷烴的產物。



結合臭氧氧化法及生物整治法降解通氣層機油污染物

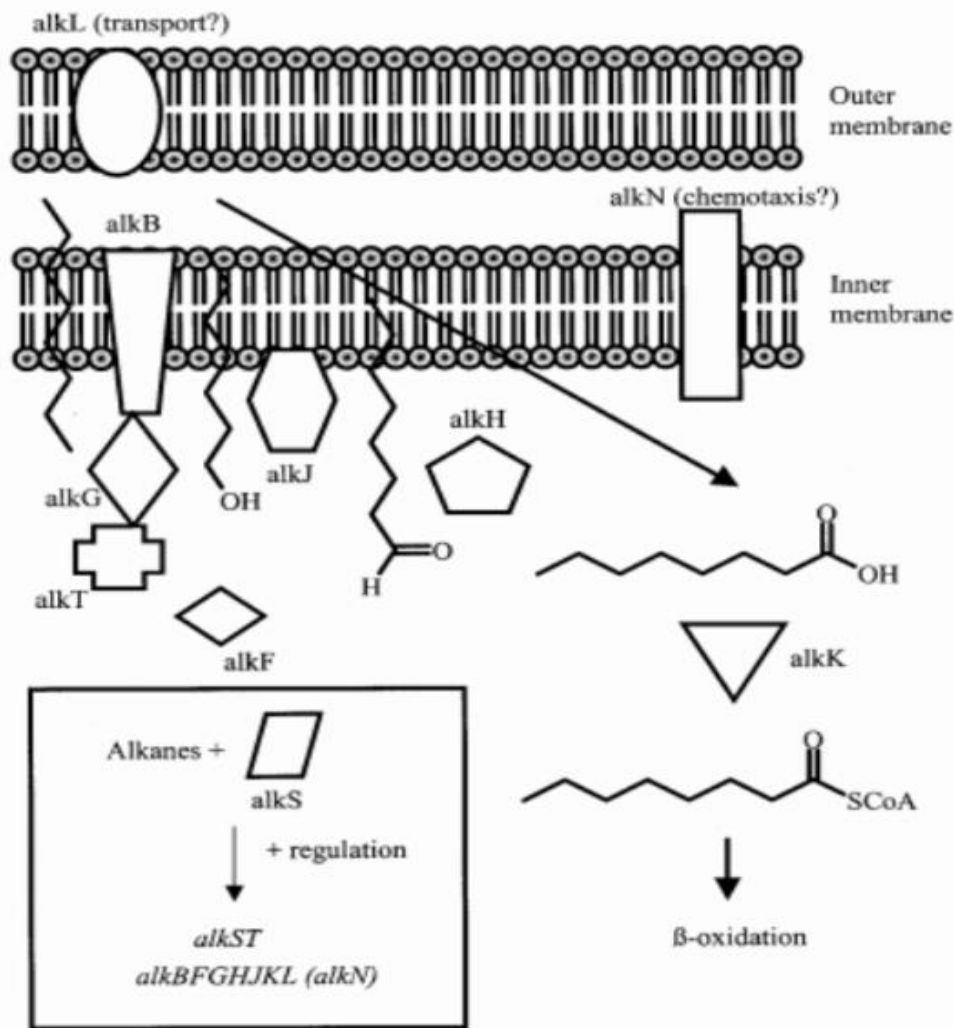


圖 3- 3 烷烴的微生物好氧微生物代謝概念(Van-Hamme *et al.*, 2003)

通常支鏈烷烴比相同碳數的直鏈烷烴難以降解，研究發現支鏈脂肪酸的代謝有兩種途徑： ω 氧化和 β 氧化。Rittman 指出支鏈烷烴的開始氧化階段與直鏈烷烴的氧化是一樣的，即首先是在單氧化酶的催化下將末端的甲基羥基化，然後在一系列脫氫酶的作用下最終生成支鏈脂肪酸。

文獻指出長鏈正構烷烴 (C_{10} - C_{24}) 降解最快，而短鏈烷烴 (低於 C_9) 對許多微生物而言是具有毒性的，但是它們能從石油污染的地方迅速揮發。烷烴的氧化被分類為末端或亞末端，單末端氧化是主要途徑，其通過形成相應的醇、醛和脂肪酸而進行。 β 氧化脂肪酸導致乙酰輔酶 A (acetyl-CoA) 的形成，具有不均勻碳原子數的正烷烴被降解為丙酰輔酶 A (propionyl-CoA)，丙酰輔酶 A 又被羧化成甲基丙二酰輔酶 A (methylmalonyl-CoA) 並進一步轉化成琥珀酰輔酶 A (succinyl-CoA)。低鏈 (C_3 - C_6) 和長鏈烷烴發生亞末端氧化，形成仲醇和隨後的酮，而不飽和的 1-烯烴則在鏈的飽和末端被氧化 (Fritsche and Hofrichter, 2000)。



Wilkinson 等人也於 2002 年提出微生物降解烷烴類的相同觀點，過程如圖 3-4 所示。Wilkinson 提出 $C_{11}\sim C_{19}$ 的烷烴類主要降解途徑為單加氧酶輔助了烷烴中的甲基團氧化並形成醇類，接著脫氫至相對應醛及脂肪酸，脂肪酸再透過 β 氧化進入三羧酸循環，以提供微生物能量。

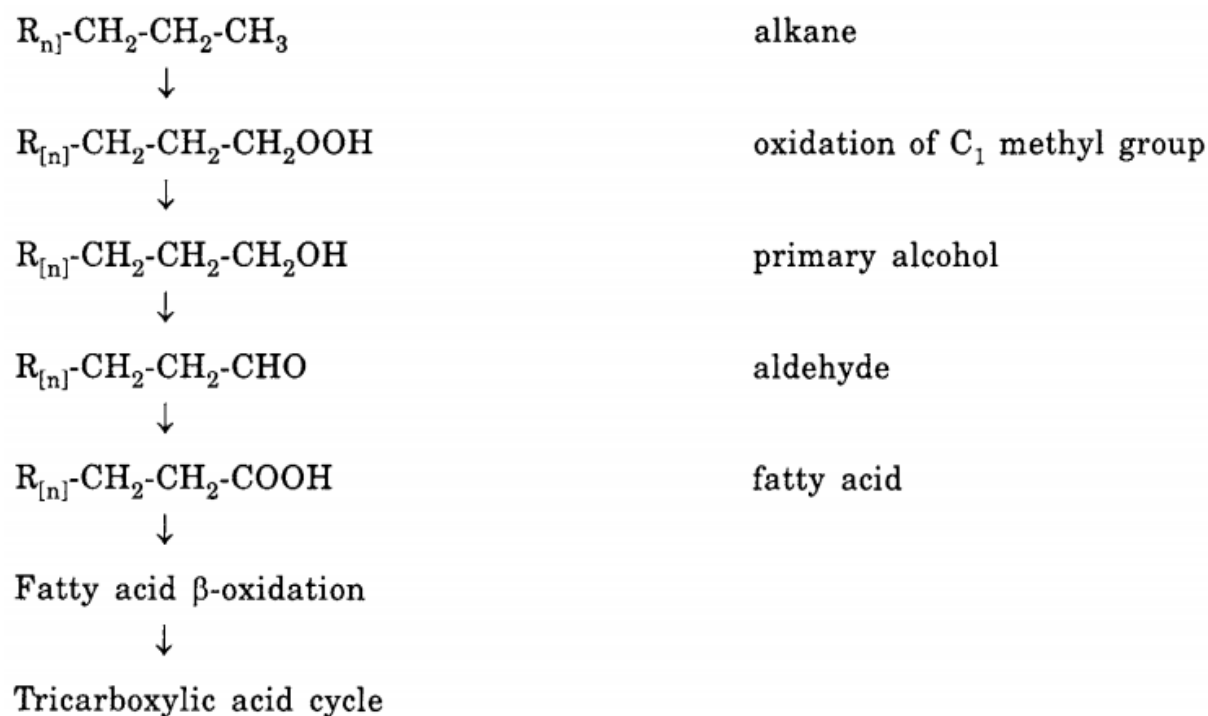


圖 3- 4 微生物降解烷烴類過程(Wilkinson, 2002)

油品中微量組成的環烷烴對於微生物攻擊具有相對抗性。未暴露的末端甲基使主要攻擊變得複雜化，但仍有少數物種能夠使用環己烷作為唯一的碳源；其中較常見的是共代謝的混合培養，而環己烷降解的機制如圖 3 所示。通常環烷烴的烷基側鏈能促進降解，但隨著鍊長的增加，脂肪烴的水溶性會降低。而鍊長為 C_{12} 及以上的碳氫化合物基本上是不溶於水的。這些親脂性基質的攝取主要分為兩種機制：(1)微生物細胞在油滴處的附著；以及(2)生物表面活性劑的產生，與細胞附著相關的攝取機制仍然未知。而產生生物表面活性劑的作用則已得到相關的研究，圖 3-5 顯示了由 *Pseudomonas spp.* 產生的鼠李糖脂的乳化作用，在油水界面內和膠束的形成(Fritsche and Hofrichter, 2000)。



結合臭氧氧化法及生物整治法降解通氣層機油污染物

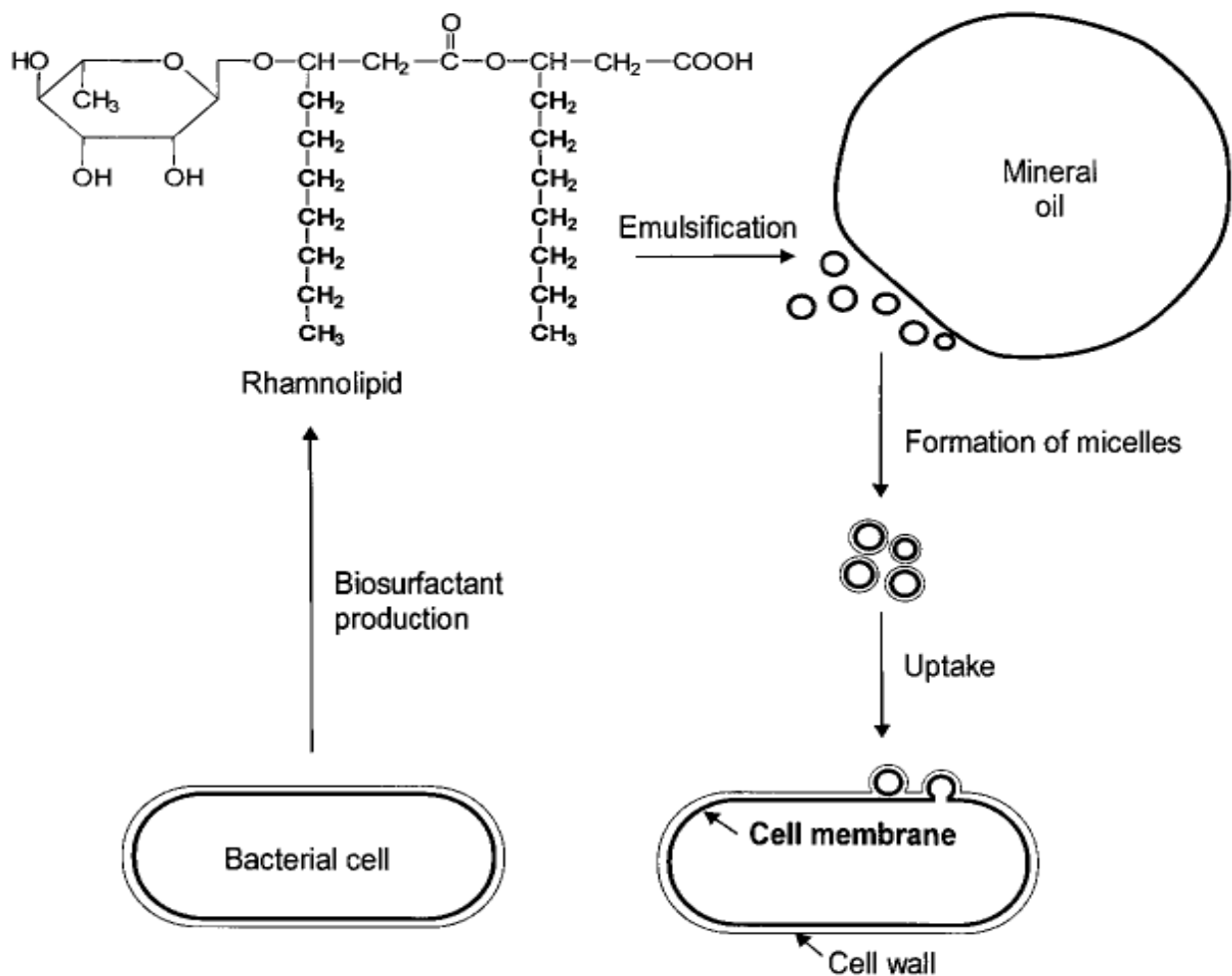


圖 3-5 生物表面活性劑參與碳氫化合物的攝取(Fritsche and Hofrichter, 2000)

3.12.2 芳香烴的微生物好氧代謝

芳香烴是重要的原油成分，所以是復育土壤污染優先控制的污染物，原核微生物和真核微生物都具有氧化芳香烴的能力，但細菌和真菌氧化芳香烴的機制並不一樣。細菌通過過氧化物酶將分子氧的兩個氧原子結合進芳香烴中形成順式構型的二氫二醇，順式二氫二醇在另外一種過氧化物酶的催化下將芳香環破裂成鄰苯二酚；與細菌相反，真菌通過 P450 催化單氧化酶和環氧化物水解酶使芳香烴轉化為反式構型二氫二醇，其代謝路徑如圖 3-6 所示(Van-Hamme *et al.*, 2003)。

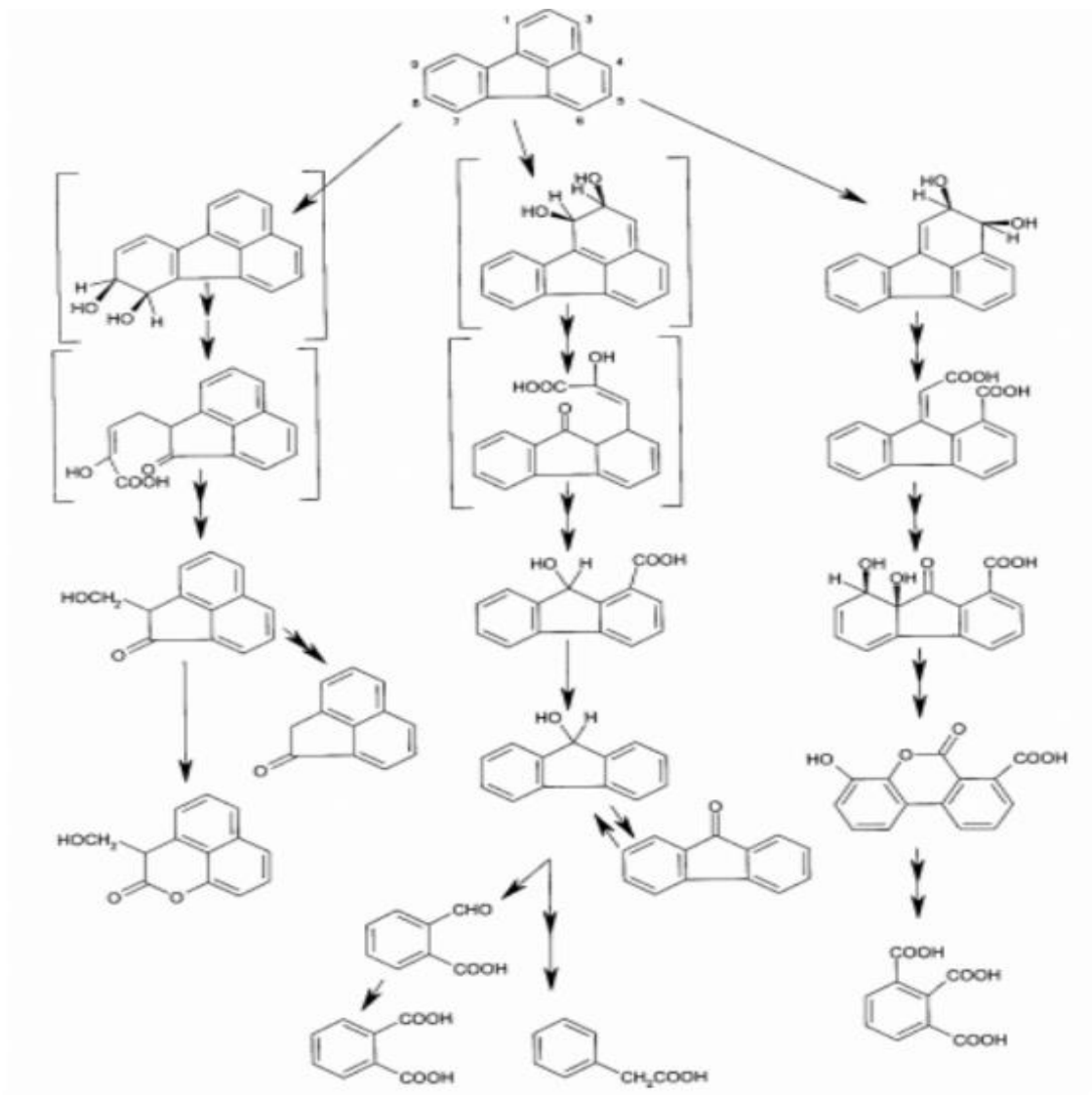


圖 3-6 芳香烴的微生物好氧代謝路徑(Van-Hamme *et al.*, 2003)

3.13 氣泡式呼吸儀說明及應用

氣泡式呼吸儀 (Bubble Respirometer)為美國 Challenge Environmental System, Inc. (CES)公司的 James C. Young 博士於 1993 年間研發出的最先進呼吸儀，可同時進行好氧及厭氧分解可行性之研究。氣泡式呼吸儀試驗過程中所包含的組件，共分為氣泡計數元件、呼吸儀介面組、呼吸儀反應瓶、攪拌基座、數據接受處理機等。

氣泡式呼吸儀在好氧模式下可將通入反應瓶之氣體轉變為相同體積大小的氣泡，因此可藉由統計最終所產生的氣泡數，得出總氣體的體積：

$$\text{氣泡數}(n) \times \text{單一氣泡體積}(v) = \text{氣體之體積}(nv)$$



結合臭氧化法及生物整治法降解通氣層機油污染物

若想得知好氧模式下氣體在不同時間的流速變化，則可固定呼吸試驗中每次的測量時間 (T)，計算各時間內所通入反應瓶的氣體體積，即可得知流速變化：

$$\frac{\text{氣體之體積 (nv)}}{\text{固定測量時間 (t)}} = \text{氣體體積之流速 (nv/t)}$$

文獻研究利用氣泡式呼吸儀監測活性污泥中經馴化的微生物，在進行煉焦廢水硫氰化物毒性試驗時，其活性是否受到抑制。由圖 3-7 可知，經馴化後微生物累積攝氧曲線在初期並沒有明顯受到毒性的抑制作用，顯示工業廢水中特定的毒性物質，對馴化後的微生物有可能反而是其基質能量來源，且有較高的毒性忍受度，或不具有毒性效應，因此在初始暴露毒性劑量雖高，但累積攝氧量亦越大(洪，2003)。

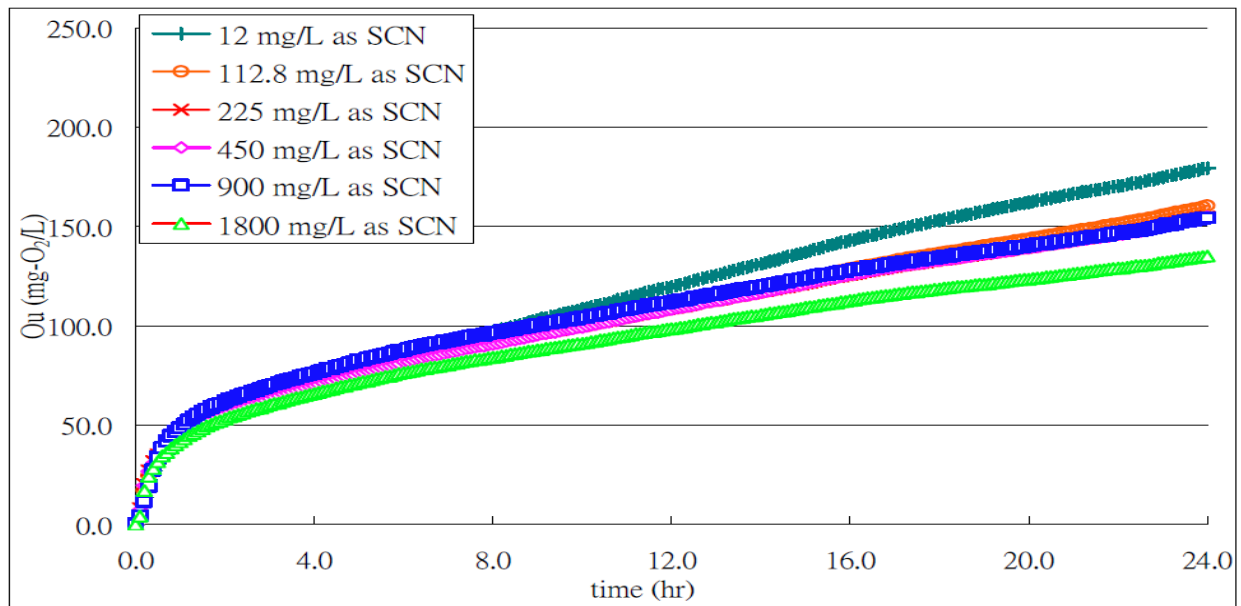


圖 3-7 活性污泥中經馴化的微生物累積攝氧圖(洪，2003)

文獻研究利用氣泡式呼吸儀監測植菌微生物對柴油污染物濃度降解及其活性探討，實驗時間為期四週，菌種分為 *Bacillus cereus* 菌、*Achromobacter xylosoxidans* 菌、*Pseudomonas putida* 菌及三種菌混合的 Mixture 組。四組微生物初始累積攝氧量差異不大，皆維持在 200 與 250 mg-O₂ 間。各週次累積攝氧量如圖 3-8 至圖 3-11 所示。經過 4 週的試驗時間後，*Bacillus cereus* 菌第 1 週已出現降解情形，柴油濃度由 22,428 mg/kg 降至 20,000 mg/kg，而第四週時柴油濃度約為 19,000 mg/kg 且累積攝氧量上升至 320 mg-O₂。*Achromobacter xylosoxidans* 菌直至第 4 週時，柴油濃度才降至 19,000 mg/kg，累積攝氧量比起 BC 菌在相同濃度下還低，約 240 mg-O₂，推測微生物分解污染物所需氧氣可能較少，或模場內降解反應已告一段落，因此殘餘的污染物並不多。*Pseudomonas putida* 菌第 1 週



已出現降解情形，柴油殘餘濃度降至 17,000 mg/kg，累積攝氧量約 320 mg-O₂，4 週後仍未有二次降解情形。Mixture 組第 1 週已出現降解情形，柴油殘餘濃度降至 20,000 mg/kg，此週累積攝氧量約 250 mg-O₂，但第 2 週後柴油濃度無明顯變化，且累積攝氧量則已降低至 220 mg-O₂，推測模場內易分解的油品污染物已減少，第 3 週時降解反應再次進行，柴油殘餘濃度約為 18,000 mg/kg 且累積攝氧量上升至 220 mg-O₂ 後下降，推測模場應有二次降解，第 4 週時模場內污染物應已減少(李，2015)。

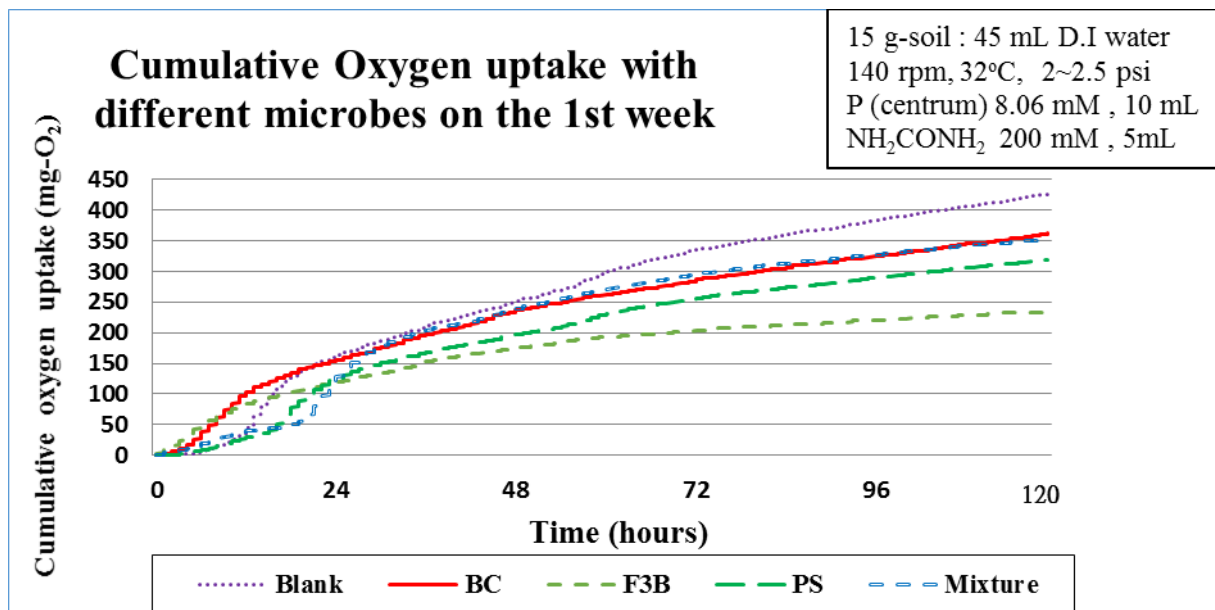


圖 3- 8 植菌種後第 1 週微生物累積攝氧量曲線(李，2015)

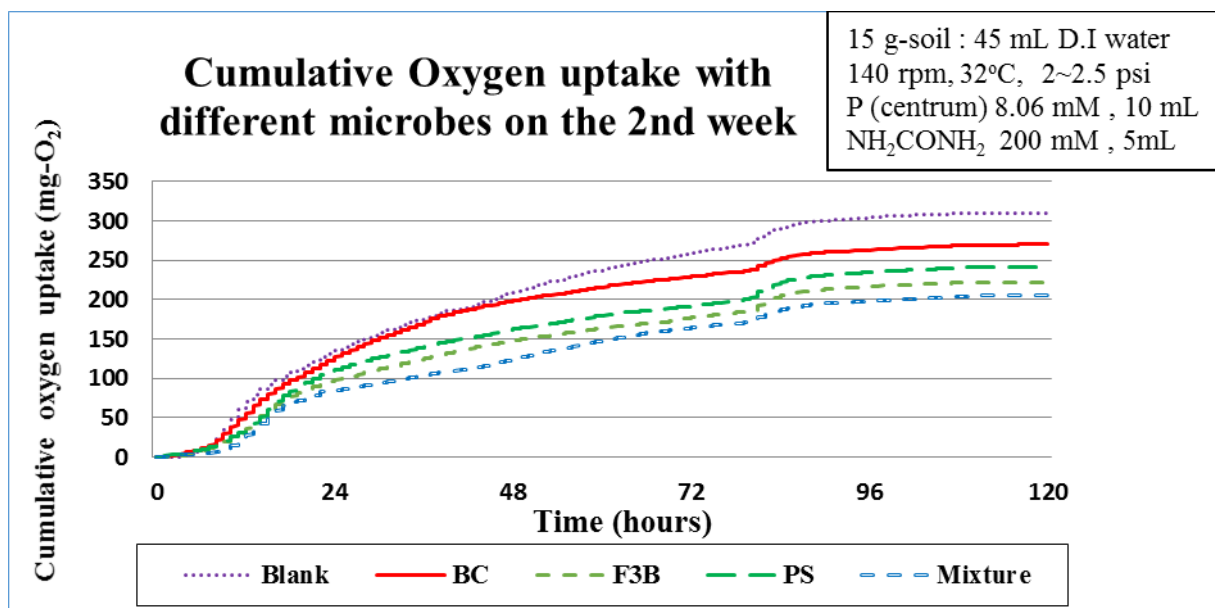


圖 3- 9 植菌種後第 2 週微生物累積攝氧量曲線(李，2015)



結合臭氧氧化法及生物整治法降解通氣層機油污染物

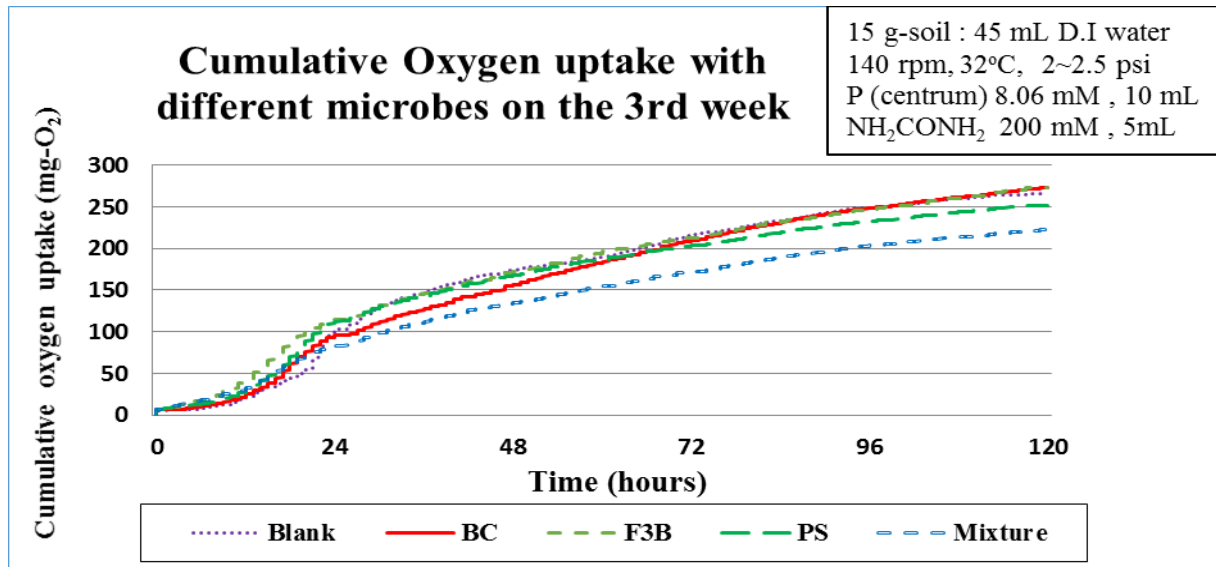


圖 3- 10 植菌種後第 3 週微生物累積攝氧量曲線(李，2015)

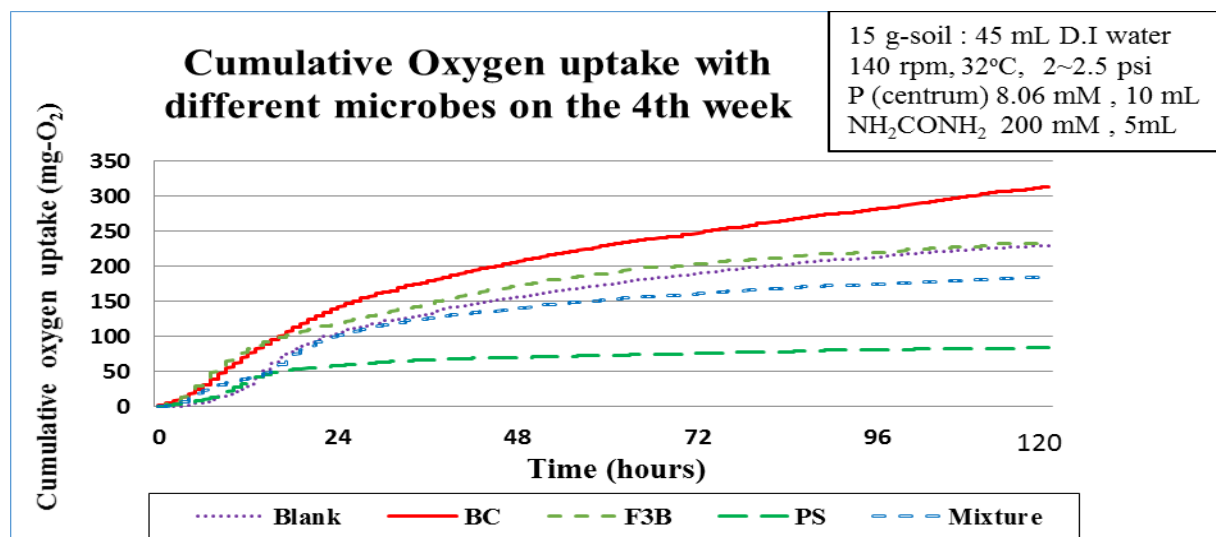


圖 3- 11 植菌種後第 4 週微生物累積攝氧量曲線(李，2015)

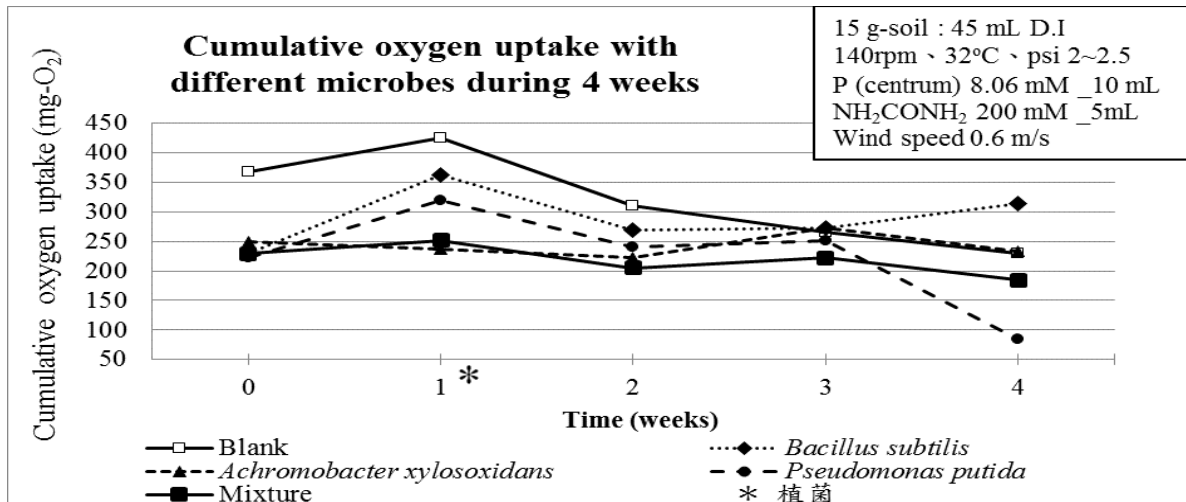


圖 3-12 土壤模場添加菌液後之各週次累積攝氧量變化圖(李，2015)

由文獻結果可得知，柴油濃度降低而累積攝氧量上升時，微生物應有降解反應進行，且由呼吸試驗結果可推測降解仍在持續，或仍有污染物待降解；當柴油濃度數週未降低但攝氧量逐漸下降時，推測為模場中易分解的油品污染物已減少，使得延續降解反應不明顯(李，2015)。

3.14 國內外相關文獻執行情形

3.14.1 臭氣在兩相及三相中對 PAH 的降解之影響

文獻指出氣體流量保持在 1.0 L/min，臭氣濃度為 1.00 ± 0.02 mg/L 下，pH 為 6.7 的砂及 pH 為 6.4 的泥炭，其 PAH 濃度分別為 1,420 mg/kg 及 2,370 mg/kg，比較臭氣在兩相(臭氣-土壤)和三相(臭氣-土壤-水)中，對受雜酚油(Creosote oil)污染的砂和泥炭中的 PAH 之降解。表 3-9 列出了在不同系統中，雜酚油污染土壤臭氣氧化期間 PAH 的降解和消耗的臭劑量情形。由表所得的結果可知，臭氣在氣相中比在水中更穩定，其中 $\cdot\text{OH}$ 自由基催化臭氣的分解 (Langlais *et al.*, 1991)。比較了這兩種臭氣系統，得出的結論是，臭氣在兩相中的 PAH 降解是比三相中來得有效(Kulik *et al.*, 2006)。



結合臭氧氧化法及生物整治法降解通氣層機油污染物

表 3-9 臭氧在兩相及三相中降解 PAH 效率及消耗之臭氧劑量(Kulik *et al.*, 2006)

Soil Type	Time (min)	Two-phase ozonation		Three-phase ozonation	
		PAH removal (%)	Ozone consumed (mg/kg)	PAH removal (%)	Ozone consumed (mg/kg)
Sand	30	54	200	40	200
	60	61	245	41	270
	120	64	270	56	430
Peat	60	34	1460	27	1480
	120	37	1680	28	2550
	180	38	2300	31	3690
	300	41	3800	34	5890

3.14.2 臭氧對不同環數之 PAH 降解情形

文獻利用臭氧分別在砂和泥炭中降解三環和四環之 PAH，結果如圖 3-13 所示。臭氧在兩相及三相的泥炭中，曝氣 120 分鐘後，分別降解三環之 PAH 33.5% 和 23%，四環之 PAH 降解分別為 40%和 31%。而在砂中降解三環及四環之 PAH 也得到類似的結果。這與 PAH 的鍵定位能量預期的一致，因為臭氧分子更容易攻擊具有較低鍵定位能力的有機化合物。此外，其他文獻研究則確定在水性介質中，用臭氧降解低分子量（三環）之 PAH 較高分子量（四環）之 PAH 慢 (Butković *et al.*, 1983; Trapido *et al.*, 1995)。另一方面，這些結果與 Nam 和 Kukor (2000) 的結果相反，其宣稱臭氧的反應性隨著苯環結合的數量增加而降低。

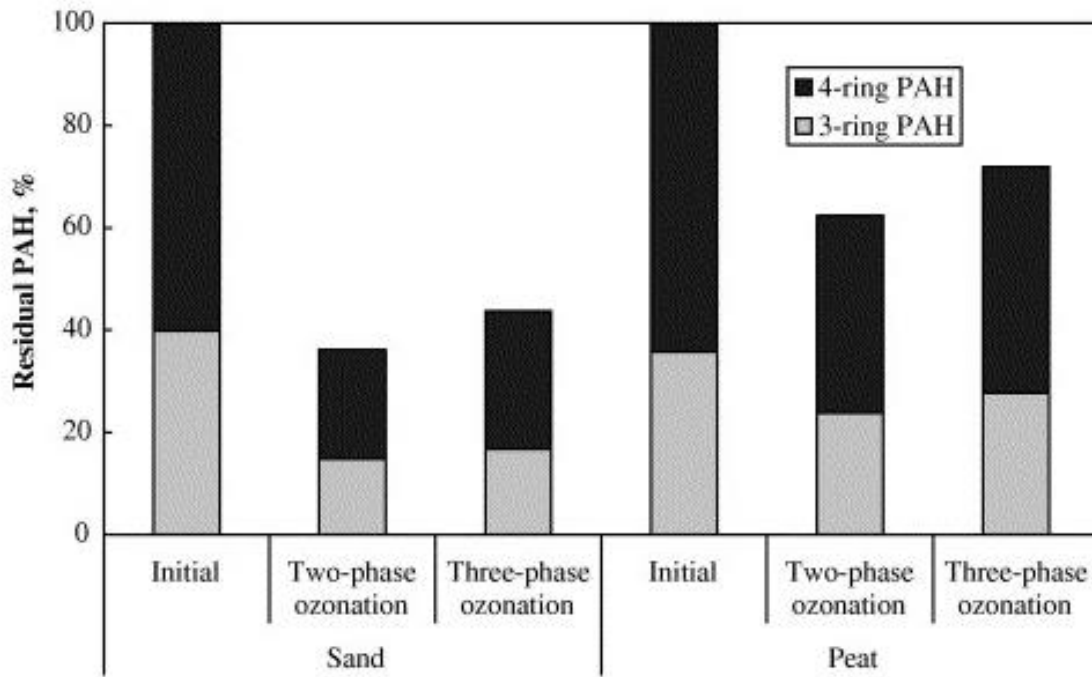


圖 3- 13 臭氧對不同環數之 PAH 降解情形(Kulik *et al.*, 2006)

3.14.3 Fenton 法去除 PAH 之情形

文獻利用添加不同比例之 H_2O_2 及 Fe^{2+} 比較受雜酚油污染砂及泥炭中之 PAH 降解情形，其實驗時間為 24 小時，研究結果如圖 3-12 所示。增加 $\text{H}_2\text{O}_2:\text{Fe}^{2+}$ 重量比增強了雜酚油污染中的砂和泥炭之 PAH 去除。將該比率從 0.043:0.007 提高到 0.086:1.014，能使砂中之 PAH 的降解率從 73.5% 提高到 80%，而將比例進一步提高為 0.172:0.028 可使雜酚油污染砂中之 PAH 的降解率達到 88.5%。而在泥炭中，將 $\text{H}_2\text{O}_2:\text{Fe}^{2+}$ 之重量比由 0.133:0.022 提高到 0.266:1:0.043 則額外增加了 23% PAH 去除。如未添加 Fe^{2+} ，只單純增加 H_2O_2 比例時，由圖 3-14 可知，其 PAH 降解效率沒有明顯的增加，甚至還下降。其原因可能在過量的 H_2O_2 存在下， H_2O_2 會清除氫氧自由基。氫氧自由基被認為是由 H_2O_2 與土壤中所含的天然鐵的相互作用所產生的(Kulik *et al.*, 2006)。



結合臭氧氧化法及生物整治法降解通氣層機油污染物

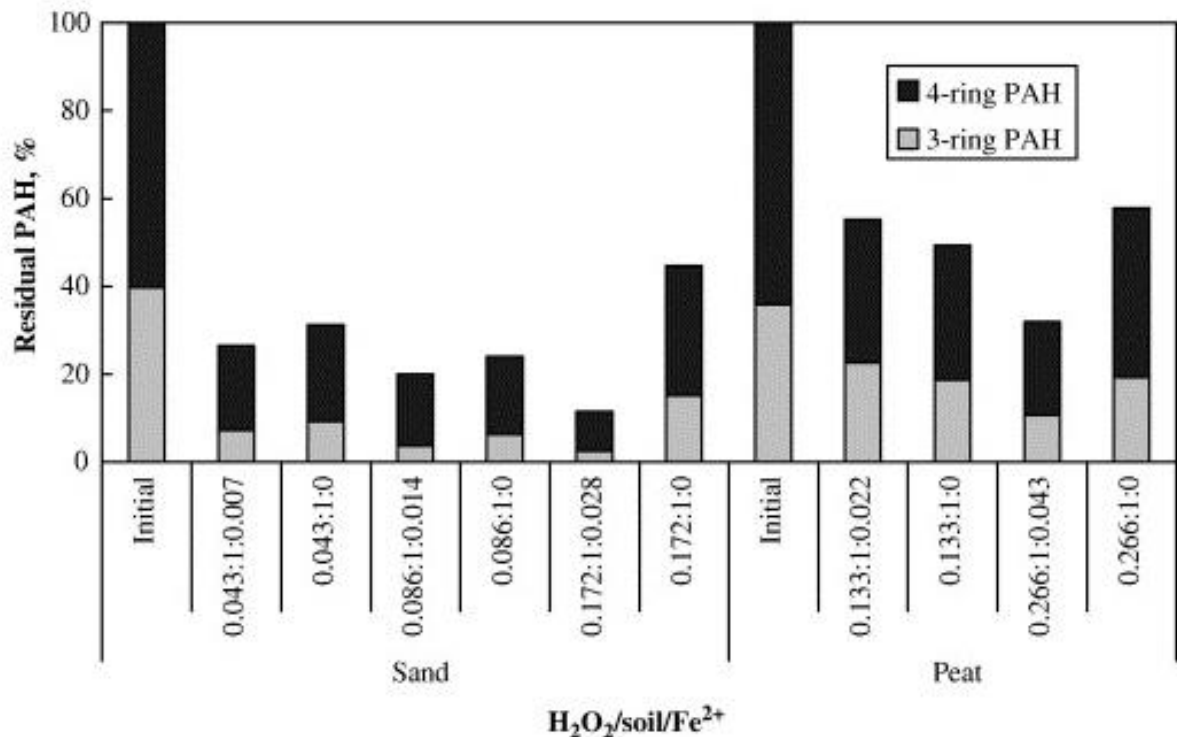


圖 3- 14 添加不同比例 H_2O_2 : Fe^{2+} 去除 PAH 之情形(Kulik *et al.*, 2006)

3.14.4 結合化學氧化及生物處理降解 PAH 之情形

文獻將上述兩種化學氧化法個別結合生物降解，處理受雜酚油污染砂及泥炭中之 PAH，初始（未經過化學處理）土壤持續進行四週的生物降解後，其 PAH 在砂及泥炭中降解率分別為 30%和 56%。其解釋為泥炭中存在的天然有機物質可能是微生物的營養物質，因此可促進雜酚油污染泥炭中的微生物降解 PAH。而將生物處理時間延長至 8 週時，其 PAH 在砂及泥炭中，只額外降解了 18%和 3%。而將兩種化學氧化法個別結合生物降解後，其結果如圖 3-15 所示。將臭氧結合生物降解應用於受雜酚油污染砂及泥炭中，其臭氧消耗量為 230 mg/kg，曝氣時間為 120 分鐘時，降解率在砂及泥炭中都可提高到 75%，其可能原因為預臭氧可以產生更多的水溶性和含氧代謝物供生物降解，以提高 PAH 降解率。而在 Fenton 預氧化結合生物降解應用於受雜酚油污染砂中，未添加 Fe^{2+} 時，PAH 在第八週時降解率為 85.5%，而 H_2O_2 及 Fe^{2+} 重量比為 0.043：0.007 時，顯示出 PAH 降解率在第八週時可達 94% (Kulik *et al.*, 2006)。

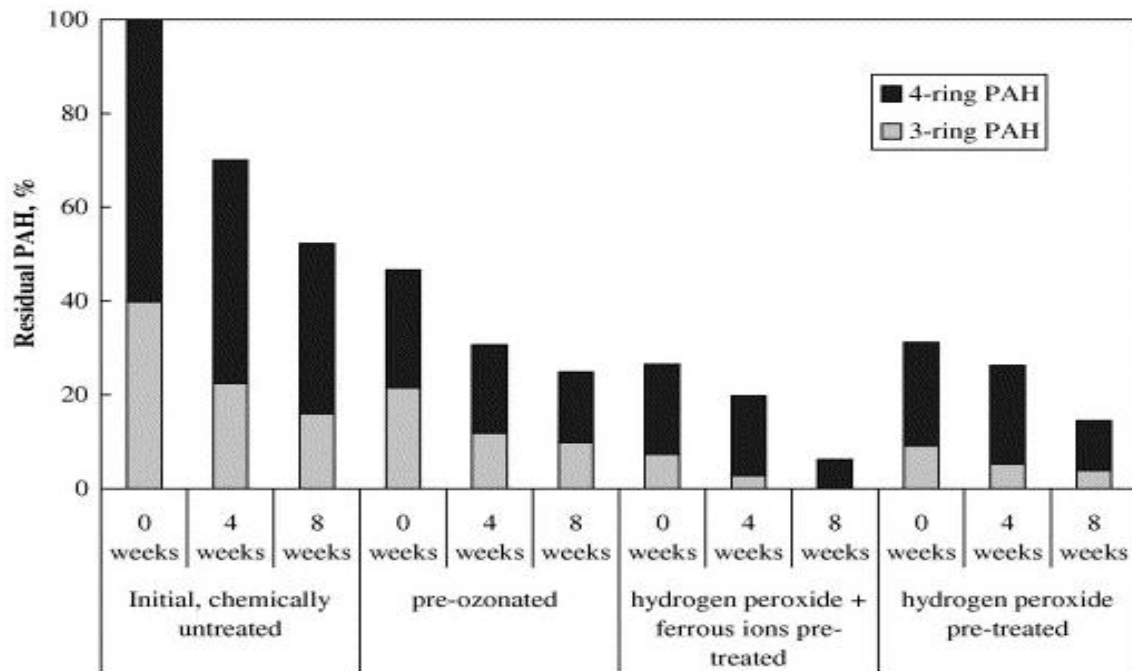


圖 3- 15 化學氧化結合生物降解處理 PAH 之情形(Kulik *et al.*, 2006)

而將消耗的臭氧劑量由 230 mg/kg 提高至 2,300 mg/kg 時，其降解率沒有明顯的差異。但是將 H_2O_2 及 Fe^{2+} 由 0.043 : 0.007 提高到 0.133 : 0.022 時，其降解率不增反減。其原因為施用高劑量的 H_2O_2 後可能殘留在土壤中，而殘留的 H_2O_2 會引起的生物的抑制作用，結果如圖 3-16 所示(Kulik *et al.*, 2006)。

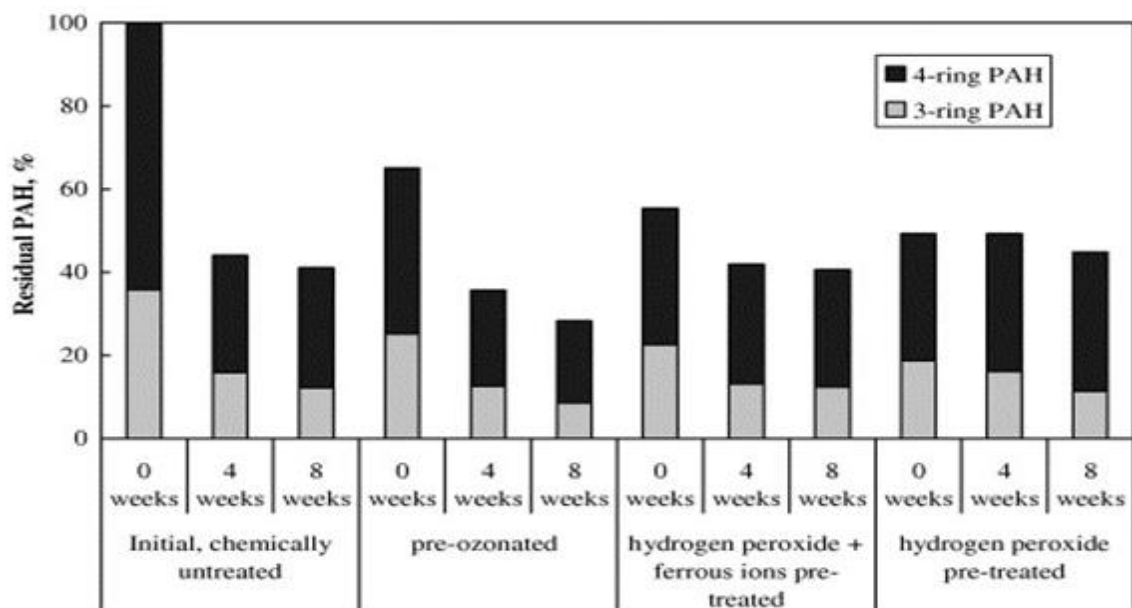


圖 3- 16 不同臭氧消耗量及不同 H_2O_2 和 Fe^{2+} 降解 PAH 之情形(Kulik *et al.*, 2006)



由上述的結果可得知，只有預臭氧過後的砂粒才能使後續的生物降解三環及四環之 PAH 有大致相等的降解效果，而隨著臭氧劑量的增加，其降解率並無明顯差異，所以過多的臭氧劑量對後續的生物整治並無顯著的效果。此文獻也指出，結合化學和生物降解處理受雜酚油污染土壤中之 PAH，比單獨使用化學氧化或生物降解有更佳的降解效果。

3.14.5 不同臭氧劑量對苯並[a]芘降解之影響

依文獻指出，土壤在 pH 值為 7 時，將土壤中含有污染物苯並[a]芘 (benzo(a)pyrene) 濃度為 600 mg/kg，分別進行三種不同試驗，其條件為 4 mg O₃/ppm B[a]p、18 mg O₃/ppm B[a]p 及 44 mg O₃/ppm B[a]p，流量分別為 0.5 g/h、1.8 g/h 及 5 g/h，結果如圖 3-17 所示。隨著臭氧劑量的增加，整體污染物去除率增加。在臭氧劑量為 4 mg，曝氣時間為 320 分鐘時，其苯並[a]芘去除率為 55%。將臭氧劑量提高為 18 mg 時，在曝氣時間為 8 分鐘時，其去除率即可達到 55%。然而將臭氧劑量更進一步的提高到 44 mg 時，其去除率並無顯著的改善。根據以上結果，將 18 mg O₃ 設定為最佳臭氧劑量(Russo *et al.*, 2012)。

將最佳試驗條件 18 mg O₃/ppm B[a]p 通入受污染物苯並[a]芘濃度為 600 mg/kg 時，在處理前 10 分鐘，僅實現了 2% 的 TOC 去除率，而隨著氧化時間增加至 160 分鐘，TOC 去除率也提高到 66%。其可能原因為氧化初期苯並[a]芘形成了其他較難分解的有機氧化的中間產物(Russo *et al.*, 2012)。

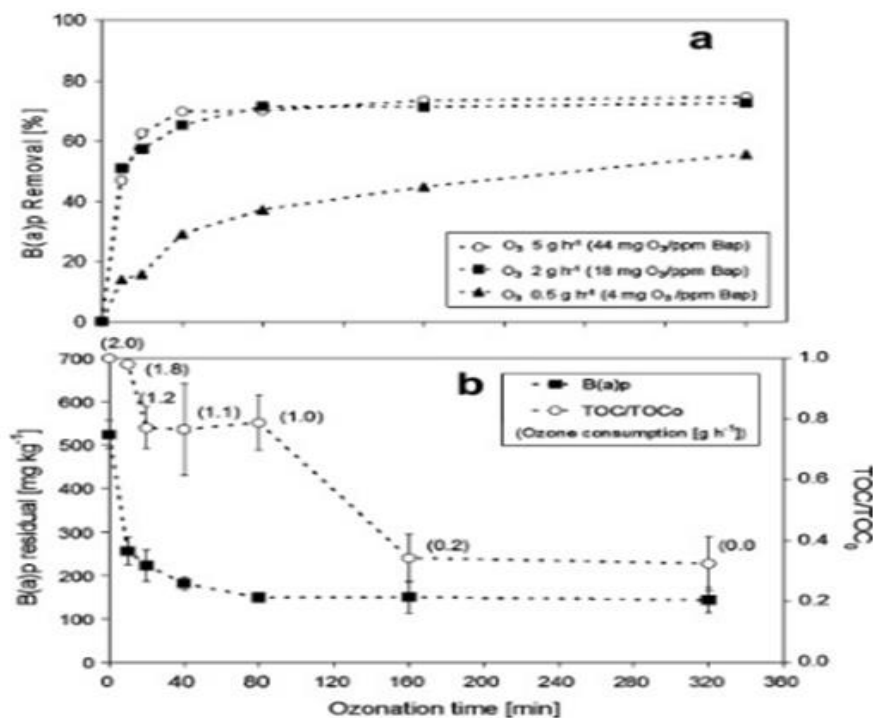


圖 3-17 不同試驗條件下苯並[a]芘及 TOC 去除率(Russo *et al.*, 2012)



3.14.6 結合臭氧氧化及生物處理降解苯並[a]芘之情形

將四種不同的預處理條件：未處理的污染土壤（US）；用預臭氧處理過後之污染土壤，分別為苯並[a]芘去除率為 30%（S30），50%（S50）和 70%（S70）。預臭氧處理過後分別添加 5%之蘑菇產業有機殘留物的堆肥(SMC)，其營養成分為 C：39.9%和 N：2.5%以及高濃度的微生物 2.8×10^8 CFU/g，試驗結果如表 3-10 所示。文獻結果顯示，在苯並[a]芘去除率達到 30% (S30)及 50% (S50)時，添加 5%之 SMC 有最佳的處理成效，其去除率約為 67%。而去除率為 70% (S70)時，僅實現了 20%的去除率，推估為在臭氧試驗後期，產生了有毒的中間產物，導致生物降解成效不佳。根據上述結果可知，通過臭氧氧化預處理可顯著提高生物處理的去除效率(Russo *et al.*, 2012)。

表 3-10 不同臭氧去除率添加 SMC 之降解成效 (Russo *et al.*, 2012)

Ozonation				Aerobic biodegradation	
Sample	C_0 (mg/kg)	t_{O_3} (min)	C_{O_3} (mg/kg)	Sample	C_{bio} (mg/kg)
US	524 (± 32)	0	524 (± 32)	US + 5% SMC	339 (± 9)
S30	524 (± 32)	6	374 (± 18)	S30+ 5% SMC	124 (± 12)
S50	524 (± 32)	10	269 (± 11)	S50+ 5% SMC	93 (± 5)
S70	524 (± 32)	70	161 (± 4)	S70 + 5% SMC	128 (± 13)

C_0 ：苯並[a]芘初始濃度(mg/kg)

t_{O_3} ：臭氧通入時間(min)

C_{O_3} ：預臭氧過後苯並[a]芘殘餘濃度(mg/kg)

C_{bio} ：有氧生物降解後的苯並[a]芘濃度(mg/kg)



3.14.7 結合臭氧氧化及生物處理降解橄欖油廢水之情形

於 2018 年 Oz 等人利用預臭氧結合使用小型生物反應器平台 (SBP) 膠囊技術的固定生物質生物處理的方式處理橄欖油廢水，橄欖油廢水經分析結果顯示大多數成分為酚類。實驗配製污染濃度為 150、300 及 1000 mg/L 單寧酸溶液 (以總酚測量)，隨著臭氧化時間的增加，單寧酸濃度降低。例如在污染濃度為 150 mg/L 的狀況下，臭氧反應時間的前 3 分鐘內去除 40%，在 5 分鐘內去除 60%，臭氧化時間分別為 7 和 10 分鐘相當於去除 74% 和 77%，隨著臭氧化的時間增加單寧酸濃度持續下降，直到臭氧處理 7 分鐘以上，則去除率下降。臭氧化前的初始 pH 值 3.69 在臭氧化過程的 10 分鐘內降至 3.02，這是由於形成中間體的酸類如弱有機酸或酚酸。

利用臭氧進行不同時間的單寧酸降解，接著使用 SPB 膠囊進行生物處理，如表 3-11 所示。臭氧處理 10 分鐘降解 87% 的單寧酸，而臭氧化的 1.5 和 3 分鐘僅顯示 37%。對於 1.5 和 3 分鐘的實驗，利用微生物降解 24 小時後分別獲得 86% 和 71% 的主要降解。臭氧化 10 分鐘導致最高的單寧酸降解速率，進一步的生物降解高達 90%。1.5 和 3 分鐘的臭氧化有較低的去除率，然後生物降解階段分別負責剩餘的單寧酸去除率高達 88% 和 83%。因此，理論上經過 1.5 分鐘的臭氧預處理後，再經由生物處理單寧酸 24 小時已可能是足夠的。

表 3-11 不同預臭氧時間過後生物處理單寧酸之成效(Oz et al., 2018)

Ozonation time	Biological stage					TOD (mg L ⁻¹ O ₃)
	0 h	12 h	24 h	36 h	48 h	
1.5 min	37 %	41 %	86 %	87 %	88 %	144
3 min	37 %	51 %	71 %	83 %	83 %	215
10 min	87 %	88 %	90 %	N. A	90 %	283

圖 3-18 中利用 UV / Vis 光譜顯示初始橄欖油廢水在 274nm 和 214nm 處有兩個吸收峰 (1:10 稀釋)。這兩種波長與芳香族化合物含量成正比。在利用每種處理方式 (1 小時臭氧化、單一膠囊生物降解、結合臭氧及膠囊生物降解) 後，兩個峰均顯示下降，並且在臭氧結合生物處理的過程中顯示顯著的下降趨勢。此原因為芳香環開環和降解成較小的芳香烴分子，甚至表示這些物質的雙鍵分子減少。臭氧化後 UV/Vis 中的芳香族化合物之峰高的降低為已知的現象，因為臭氧的氧



化性質會破壞酚類化合物。兩種方法結合後其吸光度數據清楚的表明，橄欖油廢水經過預臭氧後再進行生物處理不僅可以降解酚類化合物，還可以降解苯酚轉化產物和臭氧處理後橄欖油廢水的高有機負荷。

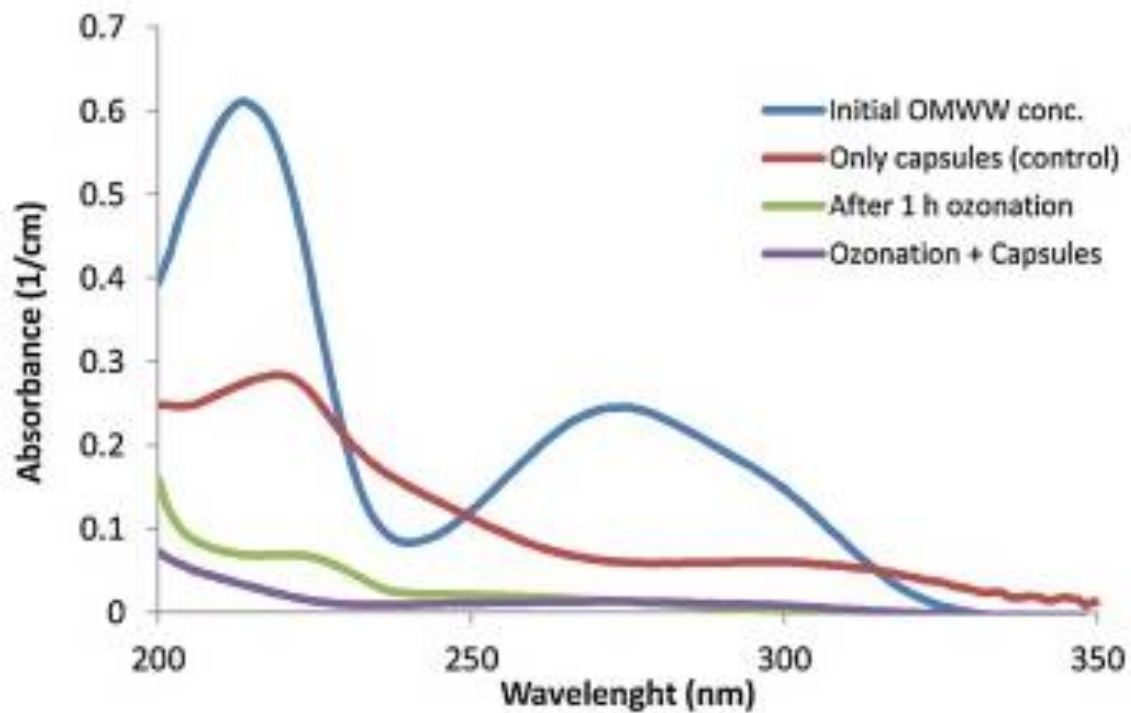


圖 3- 18 不同處理工法對於橄欖油廢水之降解成效



四、研究方法及步驟

本試驗計畫之研究架構如圖 4-1 所示，研究初期分為兩部份：實驗室規模的土壤環境建立與臭氧注氣系統建立。土壤環境的部份會先進行質地分析、有機質測定及元素分析，以瞭解土壤基本背景狀況。由於 105 年環保署計畫結果已得知最佳臭氧流量為 10 L/min 與注氣時間為 1 小時，因此延用其最佳臭氧流量及注氣時間進行臭氧試驗。將不同臭氧注氣時間試驗完畢後進行 GC/FID 分析，探討機油污染物的降解狀況，再將預臭氧後的土壤進行生物復育試驗。因此本試驗可瞭解以不同臭氧注氣時間反應後土壤進行生物復育降解機油之最佳成效。

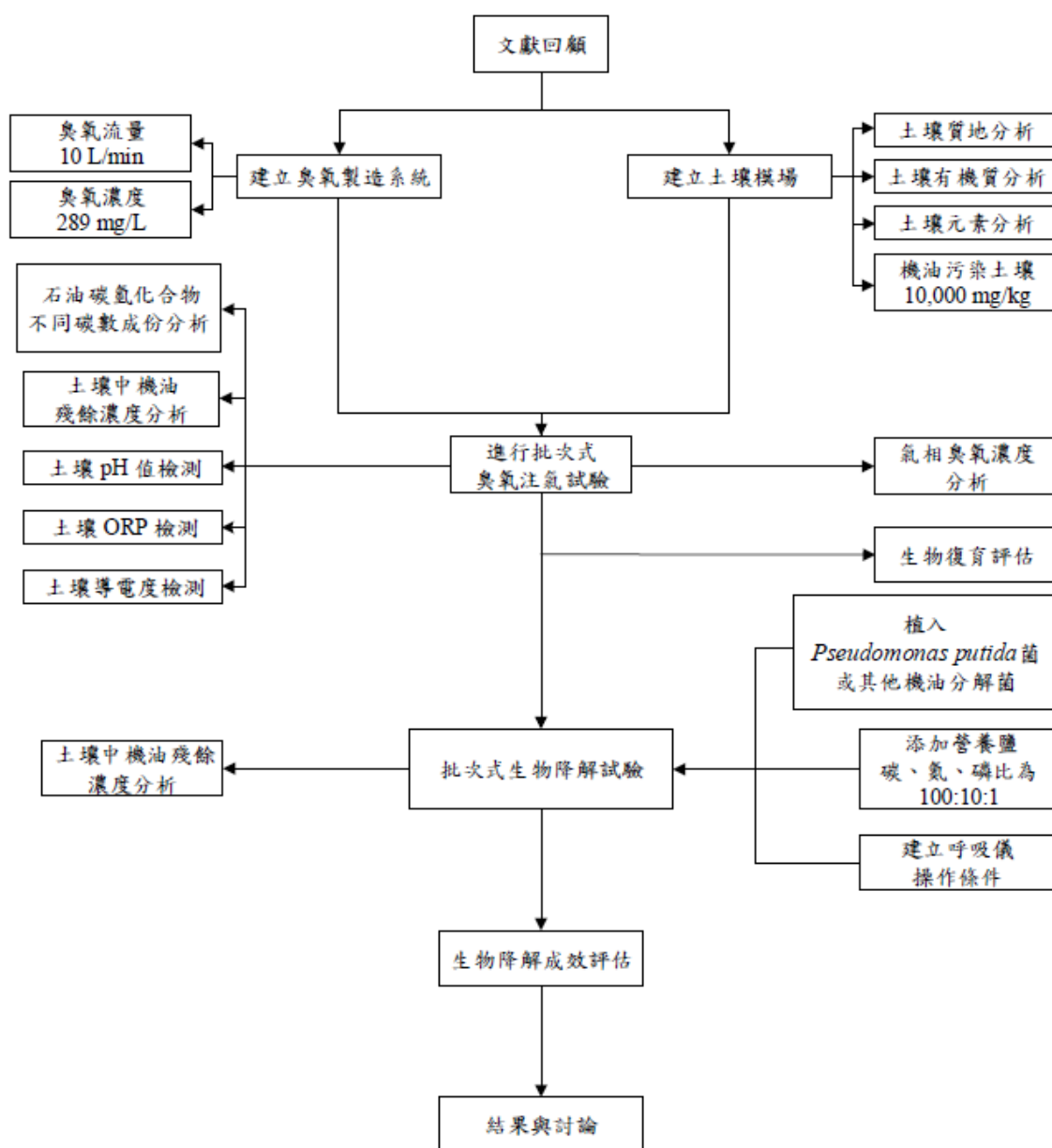


圖 4-1 本計畫之研究架構



4.1 臭氧注氣系統建立

試驗所使用的臭氧是首先利用氧氣製造機產生氧氣，再經過臭氧製造機（EMEC, OXL-50）採用石英管放電方式，將含有氧分子的氣體通入石英放電管中，通入電壓使氧氣形成臭氧，該系統設計製造規模乃考量未來污染場址實場可以直接應用。本研究各單元簡述如下：

1. 氧氣製造機：使用富氧膜兩側氣體壓力差作為推動力，利用混合氣體對於富氧膜的滲透速度不同，進而達到氣體分離以提升氧氣純度的目的。
2. 臭氧產生機(OXL-50)：外型尺寸1700 (H) x 700 (W) x 500 (D) mm，使氧氣通過石英放電之真空管，通入高壓變壓器來產生臭氧。
3. 空壓機：利用空壓機使臭氧壓力增加，進行探討各壓力之試驗。
4. 純氧流量計：利用流量計來測試氧氣流量。
5. 流量調節計：利用調節計來調整不同臭氧濃度與流率。
6. 臭氧注氣反應槽：反應槽體積約為100公升，材質為高密度聚乙烯(HDPE)。
7. 碘化鉀吸收瓶：用以定量臭氧產生之臭氧產量及反應槽出流氣體中之臭氧濃度。
8. 三向閥：控制氣流方向。
9. 管線：氣流管線之材質為高密度聚乙烯(HDPE)，水流管線則為聚乙烯。
10. 溶液之配製：
 - (1) 碘化鉀吸收液(2%)：取20 g 碘化鉀(KI)加二段水至1 L。
 - (2) 2N 硫酸(H_2SO_4)：取56 mL 濃硫酸，加二段水至1 L。
 - (3) 0.1N 硫代硫酸鈉($Na_2S_2O_3$)：取24.8 g $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ 加二段水至1 L。

以上配製之溶液用以定量臭氧機之臭氧產量及反應瓶出流氣體中之臭氧濃度。

本研究利用臭氧製造系統測試建立各參數，臭氧劑量則考量土壤氧化劑需求



結合臭氧氧化法及生物整治法降解通氣層機油污染物

量(Soil oxidant demand, SOD)加入計算當中。

4.2 臭氧製造流程

首先開啟冷卻水，避免臭氧機運轉時過熱。當氧氣進入放電管後，高壓變壓器利用電磁感應的原理使高壓變壓器開始放電，將外界的空氣吸入後進入氧氣機，接著利用混合氣體對於富氧膜的滲透速度不同，進而達到氣體分離以提升氧氣純度，之後將氧氣通入放電管內，當氧氣經過高壓放電後會使氧氣電離成等離子體，進而生成臭氧，如圖 4-2 所示。

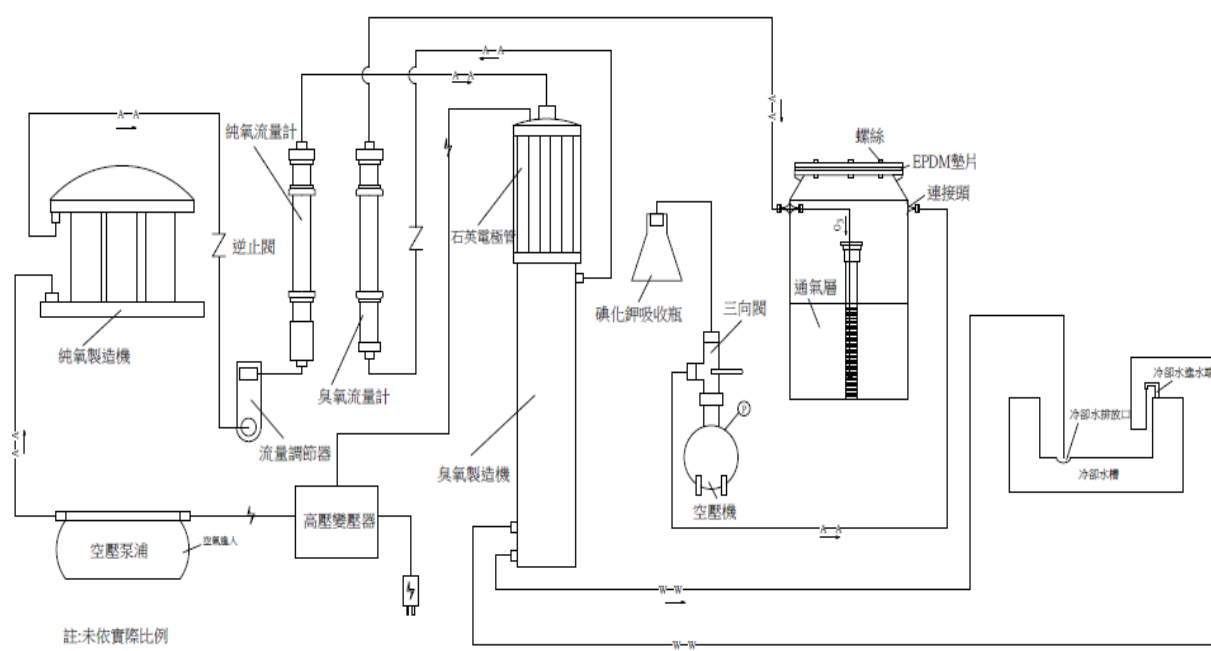


圖 4-2 本計畫臭氧試驗注氣示意圖

4.3 微生物預前試驗

本試驗先在受機油污染場址當中進行生物復育試驗，其目的為從場址中分離出台灣本土的機油分解菌，定序出其 DNA 碼再輸入至 NCBI 資料庫進行比對確認其菌種，再將此菌投入實驗室規模的模場中，作為預臭氧試驗過後的菌種。

4.4 監測預臭氧過後之土壤基本性質

本試驗同時監測經臭氧曝氣過後土壤之 pH 值、導電度、ORP 等，以評估臭氧對土壤的基本性質是否造成影響或改變，透過此試驗，決定預臭氧過後須開始進行微生物整治步驟的時間。



4.5 預臭氧過後生物降解試驗規劃

本研究預臭氧過後之生物降解試驗，延用 105 年度「臭氧注氣法處理飽和層及未飽和層柴油污染物試驗」之最佳臭氧參數條件，進行預臭氧試驗，土壤經預臭氧試驗後，採集模場內些許土壤進行後續生物降解試驗，進行土壤之元素分析，並將 C/N/P 比調整為 100:10:1，及將含水率控制在 6 至 10%，提供微生物最佳生長環境，由於生物降解成效較慢，因此本研究在一週一次土壤採樣中，搭配微生物呼吸儀進行測試為生物活性，當每進行一次採樣時，即重新進行微生物呼吸儀操作以求取 5 日累積攝氧率，並比較每週微生物之活性。

4.6 土壤模場建立

土壤模場是為了模擬機油因人為因素而洩漏至土壤環境中，導致周圍土壤受到污染之情形。為此本計畫於朝陽科技大學設置實驗室規模土壤受機油污染環境的模場。模場製作時，將土壤 50 kg 及機油逐層添加再以機械攪拌，並在中心置入 2 吋井管井篩，免去未來需重新開挖土壤才能置入注氣管件。管篩周圍鋪設 2-3 mm 石英砂，避免土壤阻塞井篩縫且仍能保有良好通氣性，最後填入受機油污染土壤並加蓋密封，即完成模場之製作，如圖 4-3 所示。土壤模場建立完成後，沿用 105 年度計畫成果，在空氣流量為 10 L/min 時，可得最佳臭氧產率 2,888 mg/min 之臭氧，通入受機油約 12,000 mg/kg 污染土壤之模場內，進行臭氧批次曝氣試驗，接著採集模場內預臭氧過後之土壤 1 kg 搭配微生物呼吸儀，進行生物降解試驗。

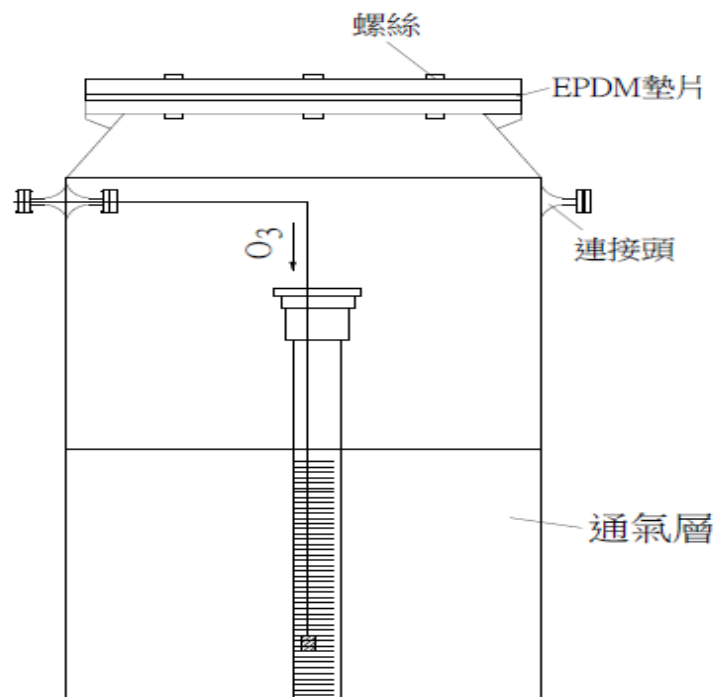


圖 4-3 試驗模場反應槽示意圖 (未依實際比例)



4.7 氣相臭氧濃度

本實驗中氣相臭氧濃度測定依照美國水及廢水標準檢驗方法第 22 版之 Ozone Demand / Requirement ; Semi-Batch Method。利用碘化鉀易被臭氧氧化而產生碘分子之特性，並以硫代硫酸鈉(Sodium thiosulfate, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, Merck)滴定，藉此計算氣相中臭氧濃度。配置 2 %之碘化鉀(Potassium iodide, KI, Merck) 800 mL 裝入氣體吸收瓶中，臭氧產生機需預熱 10 分鐘後，將臭氧通入裝有碘化鉀溶液之氣體吸收瓶，通入固定時間臭氧，使得氣相中之臭氧充分被吸收，此時吸收瓶內碘化鉀之顏色，隨著臭氧量之增加，由最初的無色轉變為橘紅色至紅褐色。再利用經標定之 0.5 N 之硫代硫酸鈉滴定至無色。利用臭氧產率之計算公式求出單位時間之臭氧產率(mg-臭氧/min)及臭氧機產生之臭氧濃度(mg-臭氧/L-Air)。

$$\text{臭氧產率} \left(\frac{\text{mg}}{\text{min}} \right) = \frac{\text{硫代硫酸鈉濃度(N)} \times \text{硫代硫酸鈉滴定體積(mL)}{\text{通入氣體之時間(min)}} \times 24$$

$$\text{臭氧濃度} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{\text{硫代硫酸鈉濃度} \left(\frac{\text{mg}}{\text{min}} \right)}{\text{氣體流量} \left(\frac{\text{L}}{\text{min}} \right)}$$

4.8 土壤微生物氣泡式呼吸儀系統

使用預臭氧處理後的土壤接著進行生物刺激復育(Biostimulation)及生物強化復育(Bioaugmentation)，並且使用氣泡式呼吸儀搭配生物泥漿法進行土壤中微生物活性監測。將呼吸儀以震盪頻率 130 rpm、操作溫度 30℃、土壤 pH 值為 7、添加土水比 1:3 及營養鹽碳、氮、磷比為 100:10:1 進行呼吸儀操作，藉以探討生物整治過程中土壤機油濃度降解趨勢與微生物活性之關係。氣泡式呼吸儀操作原理為進行微生物好氧反應時，反應瓶內因微生物呼吸作用產生之 CO_2 為 KOH 所吸收後，反應瓶內產生部分真空，氧氣即由細胞左邊之入口經細胞油被吸入反應瓶內，當氧氣經過細胞內部之氣泡斷裂點時，即產生氣泡，並於通過細胞油時，被裝置於細胞基座上之紅外線偵測器所測得，而產生電壓變化，一般偵測器無氣泡通過時，電壓約為 100~105 mV，當有氣泡通過時電壓即升高至 500 mV，而產生一可辨識之計數訊號，經由介面組合傳至電腦，由訊號處理軟體接收。進行厭氧反應時，因屬於產氣反應，故與上述好氧反應操作方式相反，且不需供氧系統及 KOH 吸收裝置，土壤微生物氣泡呼吸儀系統示意如圖 4-4 所示。

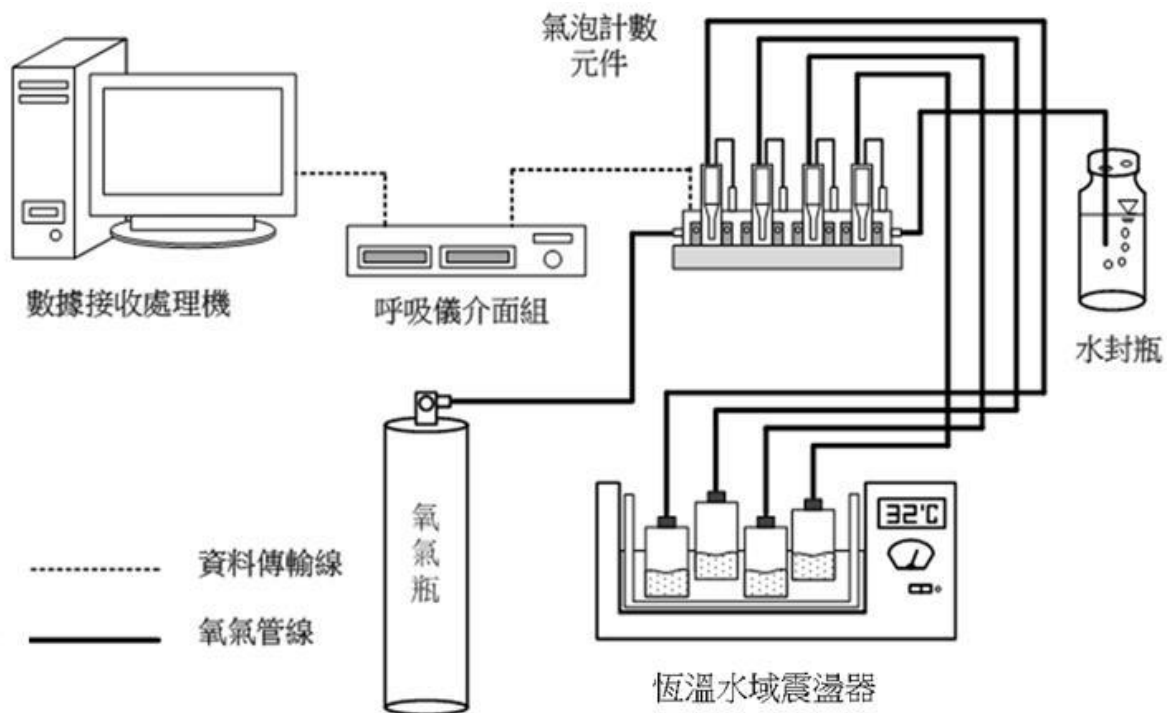


圖 4-4 土壤微生物氣泡呼吸儀系統示意圖

4.9 土壤質地分析

本研究是使用鮑式比重法進行土壤質地分析，分析方法如下：

有機質去除：

1. 將土壤以 20 mesh 標準篩過篩，篩去碎石與雜物。
2. 取 60~120 g 風乾土壤樣品，置於 500 mL 燒杯中並添加 50 mL 試劑水。
3. 每 10 分鐘添加 5 mL 過氧化氫，直至土壤無劇烈反應。
4. 將燒杯至於加熱板上以 90°C 加熱，每 45 分鐘添加 5 mL 過氧化氫。
5. 待土壤無明顯冒泡且出現固液分層後持續加熱 30 分鐘去除殘餘過氧化氫。

比重測量：

1. 量取 50 g 土壤放入攪拌杯中，若土壤質地偏砂質則取 100 g 土壤進行分析。
2. 加入 300 mL 試劑水與 10 mL 六偏磷酸鈉靜置 10 分鐘。
3. 使用機械式攪拌器以 6,000 rpm 攪拌 5 分鐘。
4. 攪拌後將所有懸浮液洗入 1 L 沉降桶中，以試劑水補至 1 L 標線。
5. 放入鮑式比重計，40 秒後記錄比重計數值，本次紀錄值為 PS。
6. 靜置 2 小時後再次記錄比重計數值，本次紀錄值為 PC。



結合臭氧氧化法及生物整治法降解通氣層機油污染物

7. 以公式計算土壤質地分配比例。

4.10 土壤有機質測定

1. 稱取約 0.25 g 之土樣，置於 500 mL 錐形瓶中。加入 10 mL 之 1 N 重鉻酸鉀($K_2Cr_2O_7$)，搖晃均勻。
2. 加入 20 mL 濃硫酸，搖晃均勻後靜置 30 分鐘。另取錐形瓶不加土樣並重覆以上步驟，作為空白試驗。
3. 加入 200 mL 試劑水（必要時過濾）及 10 mL 之 85 % 磷酸，待樣品冷卻至室溫。
4. 滴入 3~4 滴二苯胺指示劑後，以 0.5 N 之硫酸亞鐵銨溶液(Fe^{2+})滴定之。滴定過程顏色變化如下：濁藍色→鮮明藍色→深綠色（終點）。

4.11 元素分析

本研究元素分析是將樣品風乾以 20 mesh 標準篩網過篩後，以元素分析儀進行分析。廢棄物中 C、H、N、S 等元素在高溫純氧環境下燃燒後，會產生 CO_2 、 H_2O 、 NO_x 及 SO_2 混合氣體，以氫氣將燃燒後的混合氣體帶送經過銅還原管處理後，將 NO_x 還原成 N_2 ，其他氣體進入各吸附管，依氣體吸附的特性，分別被不同的吸附管之填充物吸附。 N_2 直接由氫氣帶入熱傳導偵檢器 (Thermal conductivity detector, TCD) 檢測含量。吸附管依序以氣體不同脫附溫度加溫脫附 CO_2 、 H_2O 及 SO_2 ，再分別依序引入 TCD 以檢測個別成分含量。

4.12 土壤中機油分析方法

土壤部分則使用環檢所公告的超音波萃取法 (NIEA M167.01C) 與土壤中總石油碳氫化合物檢測方法 (NIEA S703.62B) 進行檢測。超音波萃取使用丙酮/正己烷 (1:1, v/v) 進行萃取，並利用 GC/FID 進行機油各成份與總濃度分析。

4.13 GC/FID 分析條件

層析管柱：DB-1HT 30 m x 0.32 mm x 0.1 μm

載流氣體 (N_2) 流速：30 mL/min

注射埠溫度：350°C

偵測器溫度：350°C

起始溫度：50°C，持續 5 分鐘



升溫速度：50°C 以每分鐘 10°C 升溫至 350°C

最終溫度：350°C，持續 10 分鐘

氫氣流速：30 mL/min

空氣流速：300 mL/min

注射方式：split (2:1)

4.14 微生物菌液培養

微生物培養是將菌液加入培養基並曝氣使微生物生長，微生物數目多寡與菌液濁度成正比，故可藉由光學密度(Optical density, OD)測定細菌菌數，並透過生物 ATP 冷光儀進行量測其活菌數。本研究使用市售 LB 培養基 (Lysogeny broth, LB) 進行微生物培養，再移植至 M9 培養基進行微生物強化。菌種將自土壤中直接萃取細菌的核酸，利用聚合酶連鎖反應(Polymerase chain reaction, PCR)配合核酸序列定序出的 DNA 碼，再輸入 NCBI 資料庫進行比對確認。

4.15 營養鹽添加

微生物生存所需的營養源，氮與磷的比例則需保持在生物量：氮：磷為 100：10：1 的比例，除氮磷外，微量元素如 K、Ca、Mg、Fe、Na、Co、Zn、Mo、Cu、Mn 等皆是微生物生長必需之微量元素。而此實驗將依微生物分析結果調整氮磷比例，並以機油為碳源、尿素提供氮源、有機磷肥提供磷源、善存溶液供給微量元素等。

4.16 三磷酸腺苷(Adenosine triphosphate, ATP)

ATP 在生物化學中是一種核苷酸，作為細胞內能量傳遞的物質。ATP 在與螢光素 (luciferin) 和螢光素酶 (luciferase) 的作用下會產生冷光(以細菌而言，一個菌體內的 ATP 含量約為 10^{-18} M)，利用上述之原理將可於生物快速冷光儀中監測其微生物活菌量，其儀器顯示之讀值為相對發光值(Relative light unit, RLU)，經過下式的計算過後即可得出微生物之含量。

$$c_{ATP}^{Sample} (pg\ ATP/mL) = \frac{RLU_{obs}}{RLU_{ctrl}} \times \frac{10\ 000 (pg\ ATP)}{V_{Sample}} (mL)$$



4.17 變性梯度膠電泳(Denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE)

DGGE 為一種分子生物技術，可以分離經 PCR 放大的個別物種的 16S rDNA 片段，顯示複雜微生物菌相的 DNA 圖譜，圖譜上的條帶代表許多個別菌種的基因片段，且由各條帶的粗細可判斷菌種含量之多寡，因此 DGGE 能夠作為評估微生物的菌相組成之方法。

4.18 臭氧尾氣風險評估

據文獻指出臭氧濃度超過 0.5 ppm 時對人體開始造成影響，在臭氧注氣過程中定期監測逸散出來的尾氣濃度包含臭氧及二氧化碳，並評估各參數之風險。

4.19 經濟效益評估

臭氧比起液態的氧化劑的確成本較高，但氣態的臭氧相較於其他液態的氧化劑質傳方面較佳，並且透過結合生物整治的方式，將可找出使用臭氧注氣法進行批次試驗時，需開始進行微生物整治步驟，即可達到最佳的處理成效，以節省臭氧使用量及生物降解時間。



4.20 研究預期完成及已完成之工作項目（甘特圖）

工作項目		年月												備註
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
受機油污染土壤模場設置			※											
設立臭氧注氣試驗操作環境			※											
土壤基本性質分析			※											
建立微生物呼吸儀操作系統			※											
結合臭氧氧化及生物降解試驗												※		
臭氧曝氣時間對生物降解之探討												※		
DGGE 分析臭氧曝氣後之優勢菌種												※		
成果報告撰寫														※
預定查核點		期中	完成呼吸儀操作系統、進行臭氧氧化及生物降解試驗之初步探討											
		期末	完成臭氧氧化及生物降解試驗探討、利用 DGGE 分析臭氧曝氣後之優勢菌種、撰寫成果報告書											
說明：														
1、工作項目請視專案性質及需要自行訂定。預定進度以粗線表示其起迄日期。														
2、「工作進度百分比」欄係為配合管考作業所需，累積百分比請視工作性質就以下因素擇一估計訂定：(1) 工作天數，(2) 經費之分配，(3) 工作量之比重，(4) 擬達成目標之具體數字。														
3、「預定查核點」，請在條形圖上標明※符號，並在「預定查核點」欄具體註明關鍵性工作要項。														



五、結果與討論

5.1 模場背景調查

計畫試驗所使用的機油選用 Shell Rimula R2 Extra 15W-40 全合成機油，油品污染土壤為自行添加機油調配，其土壤基本特性資料與機油濃度如表 5-1 所示。土壤質地經由鮑氏土壤機械分析法分析，其分析結果砂粒 88%、黏粒 4%、粉粒 8%，屬於壤質砂土(Loamy Sand)，相較於粉質土壤或黏質土壤，砂質土壤有較佳的通氣性。為了避免機油的黏稠性，導致土壤濃度配製不均，因此先將機油溶入正己烷中，再均勻混入土壤，配製完成後的土壤放置於陰暗風櫃處，待正己烷揮發後進行採樣，分析其土壤中機油污染濃度。本試驗共建立兩個臭氧模場並設定不同土壤含水率，其一臭氧模場土壤含水率為 1%，而另一臭氧模場則參考現地土壤含水率設定為 15%，而機油污染濃度則分別為 12,313 mg/kg 及 14,438 mg/kg。

表 5-1 模場土壤基本特性與試驗濃度

土壤來源	自行配製之污染土壤		
質地分析 (壤質砂土)	砂粒(%)	黏粒(%)	粉粒(%)
	88	4	8
油品污染物	機油		
臭氧模場編號	臭氧模場 1	臭氧模場 2	
土壤污染濃度(mg/kg)	12,313	14,438	
含水率(%)	1	15	
pH 值	7.3	7.44	
氧化還原電位(mV)	195	183	
導電度(μS/cm)	191	114	
土壤孔隙率(%)	32		



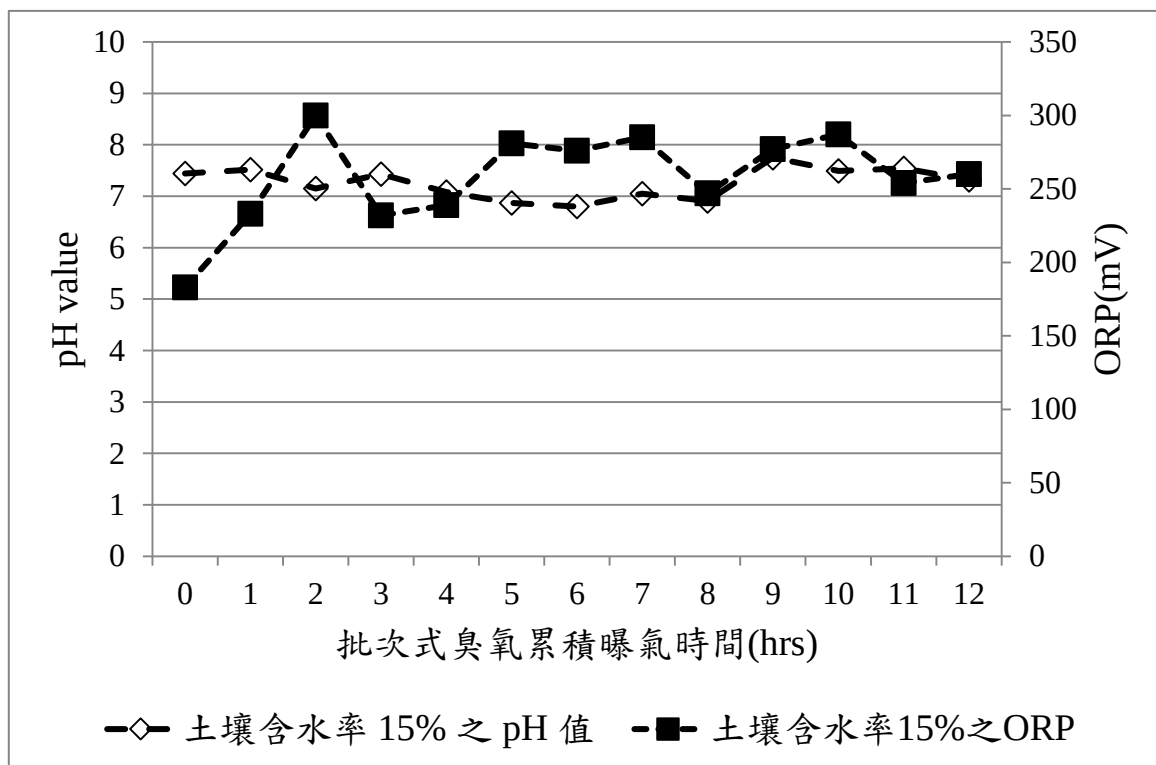
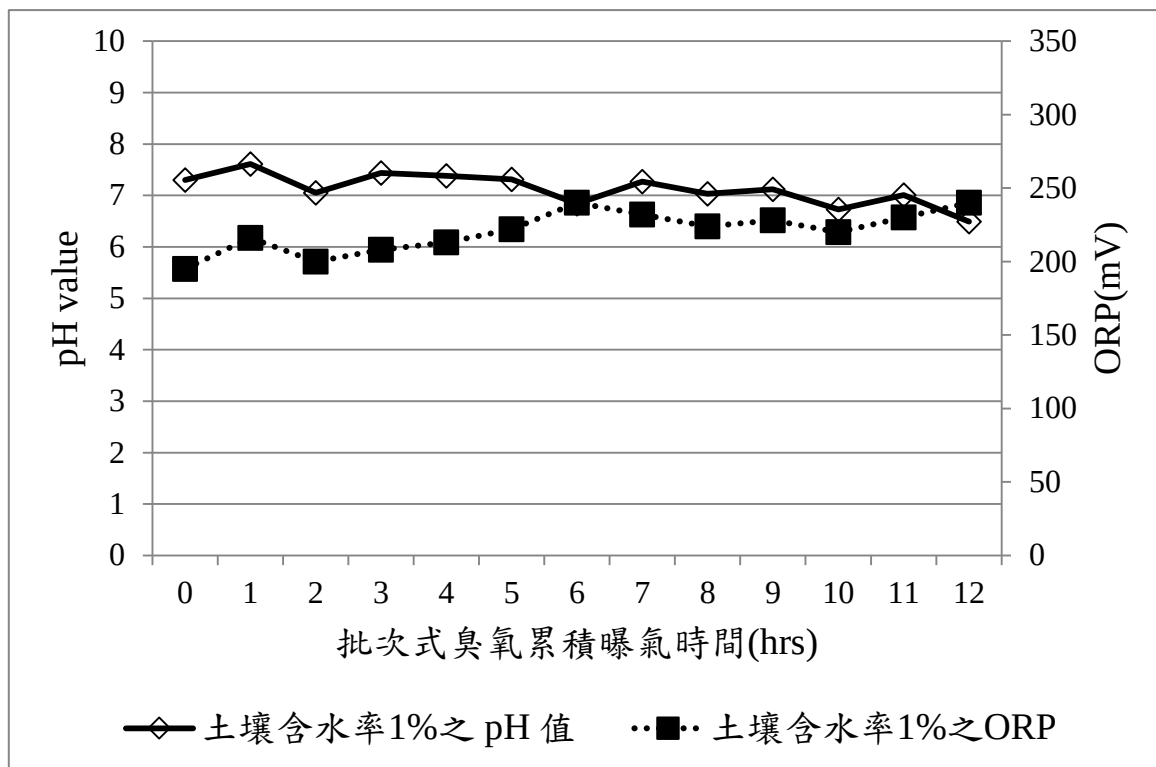
5.2 批次式臭氧注氣試驗對於土壤 pH 值及 ORP 之變化

本研究將含臭氧的空氣流量設定為 10 L/min、臭氧流率為 2,888 mg/min，注氣於模場 100 公升反應槽中，以臭氧注氣 1 小時作為批次注氣時間，靜置 23 小時後再進行採樣，共進行 12 批次臭氧降解土壤中機油試驗，探討經過批次式臭氧曝氣後，機油污染土壤中 pH 值及 ORP 的變化，本試驗將土壤含水率設定為 1% 及 15% 並比較其差異。於含水率為 1% 之臭氧模場中，其 pH 值初始為 7.3 呈現弱鹼性，而在臭氧注氣第 6 批次以前 pH 值無明顯變動，但進行至第 12 批次時 pH 值為 6.49 呈現弱酸性，如圖 5-1 所示。臭氧在氧化有機物時會將其分解為醇、醛、酮、羧酸等物質，而羧酸為礦化作用前的最後產物，因此在臭氧注氣試驗進行至第 12 批次時，推估已有羧酸的產生，才導致 pH 值略為下降。而 ORP 初始值為 195 mV，而經過 12 批次的臭氧注氣試驗後，ORP 可上升至 250 mV，由於臭氧半衰期短而還原為氧氣，並同時可提高土壤中的氧氣濃度才導致 ORP 上升。

圖 5-2 為土壤含水率為 15% 之 pH 及 ORP 變化，在含水率為 15% 之臭氧模場 pH 值及 ORP 初始分別為 7.44 及 183 mV，於臭氧注氣至第 12 批次時其 pH 值為 7.32，和低含水率之臭氧模場相比 pH 值較無明顯變化，但 ORP 的部分在曝氣至第 12 批次時仍可上升至 260 mV，亦顯示了臭氧還原為氧氣，並提高了土壤中的氧化狀態。根據上述兩個不同含水率之臭氧模場可得知經臭氧注氣過後之土壤，當其 pH 值較低時有較高的氧化還原電位，但整體 pH 值並未呈現明顯變化，仍舊可保持在微生物可存活的 5-9 之間，且 ORP 皆有明顯的上升，顯示了土壤中含氧量的提高，對後續之生物復育有正面之影響。



結合臭氧氧化法及生物整治法降解通氣層機油污染物





5.3 批次式臭氧注氣試驗對於土壤導電度之變化

本研究將含臭氧的空氣流量設定為 10 L/min、臭氧流率為 2,888 mg/min，注氣於模場 100 公升反應槽中，以臭氧注氣 1 小時作為批次注氣時間，靜置 23 小時後再進行採樣，共進行 12 批次臭氧降解土壤中機油試驗，探討經過批次式臭氧曝氣後，機油污染土壤中導電度之變化，其結果如圖 5-3 所示。本試驗將土壤含水率設定為 1% 及 15%，土壤導電度初始值分別為 191 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 及 114 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 。於圖中可得知土壤導電度隨著臭氧注氣時間的增加而上升，於含水率為 1% 之土壤中，臭氧注氣進行至第 12 批次時其導電度上升至 1,292 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ，其原因為臭氧曝氣時，臭氧將有機物分解為醇、醛、酮、羧酸等物質，而其中羧酸為弱電解質，因此羧酸的產生導致導電度大幅上升，或臭氧在分解油品時會使部分產物產生離子化，此現象與上圖 pH 值到最後呈現些微下降相符。而將含水率提高至 15% 後，臭氧注氣進行至第 12 批次時，其導電度僅上升至 391 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ，其導電度亦上升但幅度並無土壤含水率為 1% 時明顯，但仍可推斷已有羧酸或部分產物離子化的現象產生。

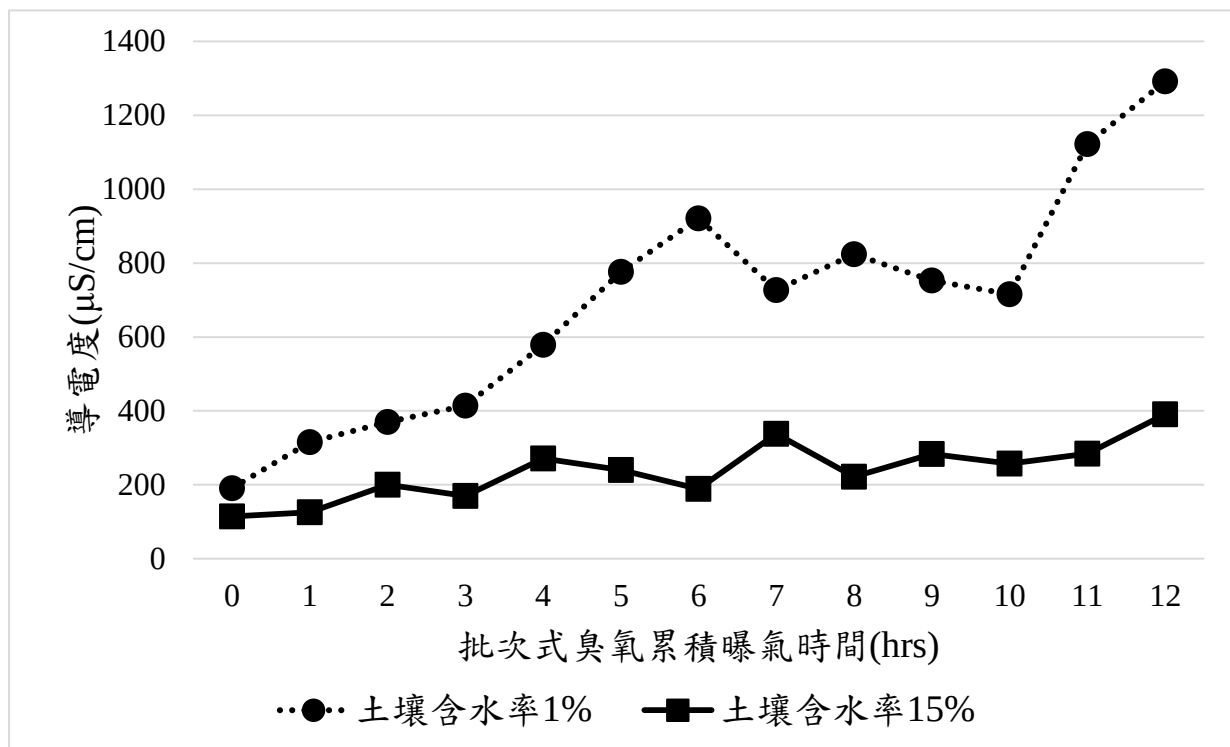


圖 5-3 批次式臭氧注氣試驗對於土壤導電度之影響



5.4 批次式臭氧注氣試驗對於通氣層受機油污染之成效

本研究將含臭氧的空氣流量設定為 10 L/min、臭氧流率為 2,888 mg/min 之條件，注氣於模場 100 公升反應槽中，土壤含水率設定為 1%及 15%，探討不同含水率之模場內通氣層受機油污染之降解成效，以臭氧注氣 1 小時作為批次注氣時間，靜置 23 小時後再進行採樣，臭氧注氣共進行 12 批次，其結果如圖 5-4 所示。由圖 5-4 可知臭氧在含水率為 1%的前 6 個批次試驗中，有明顯的降解成效，臭氧注氣至第 6 批次時，其降解率可達 85%，機油殘餘濃度為 1,857 mg/kg，後續的臭氧注氣試驗中，機油污染物已無明顯降解之趨勢，在進行臭氧注氣試驗至第 6 批次時，已接近臭氧可達到之降解極限，雖然持續注氣之後於第 12 批次之土壤已低於法規污染管制標準 1,000 mg/kg，但降解成效已無前 6 批次中顯著，因此後續以臭氧注氣 6 小時後導入生物復育，避免通入過多的臭氧卻得不到相對的降解效果，造成臭氧使用上的浪費。而土壤含水率為 15%之臭氧模場中，在進行至第 2 批次時有一波較明顯的降解成效，其降解率為 22%，機油殘餘濃度為 11,218 mg/kg，而臭氧注氣持續進行至第 6 批次時產生另一波明顯的降解，並於第 12 批次時其降解率達 47%，機油殘餘濃度為 7,597 mg/kg，和土壤含水率為 1%之模場相比其降解成效有顯著的下降。

由於兩個不同含水率之臭氧模場其初始機油污染濃度不同，因此圖 5-5 將以 C/C_0 之相對機油濃度之數據呈現，由圖 5-5 可清楚得知在土壤含水率為 1%，於第 6 批次時其相對機油濃度為 0.15，而將試驗進行至第 12 批次，其相對機油濃度為 0.07，可明顯看出後續通入之臭氧已達不到良好的降解成效。而土壤含水率為 15%時，於臭氧注氣至第 12 批次後，其相對機油濃度為 0.5，其臭氧降解成效沒有在低含水率試驗中顯著。於 2018 年 Chen 等人的研究中發現土壤含水率為影響臭氧氧化效率的原因，其研究中提到當土壤含水率高於 5% 時，將阻礙臭氧化的效率，並導致較少的水溶性產物的產生及碳的氧化。由此可得知土壤含水率為影響臭氧氧化油品污染物的的重要因素。在低含水率的狀況下臭氧可有效的於土壤孔隙中傳輸並和污染物作接觸，而當含水率提高時其臭氧之傳輸可能受到限制，無法有效的與污染物反應，達到較佳的污染物氧化分解效果。

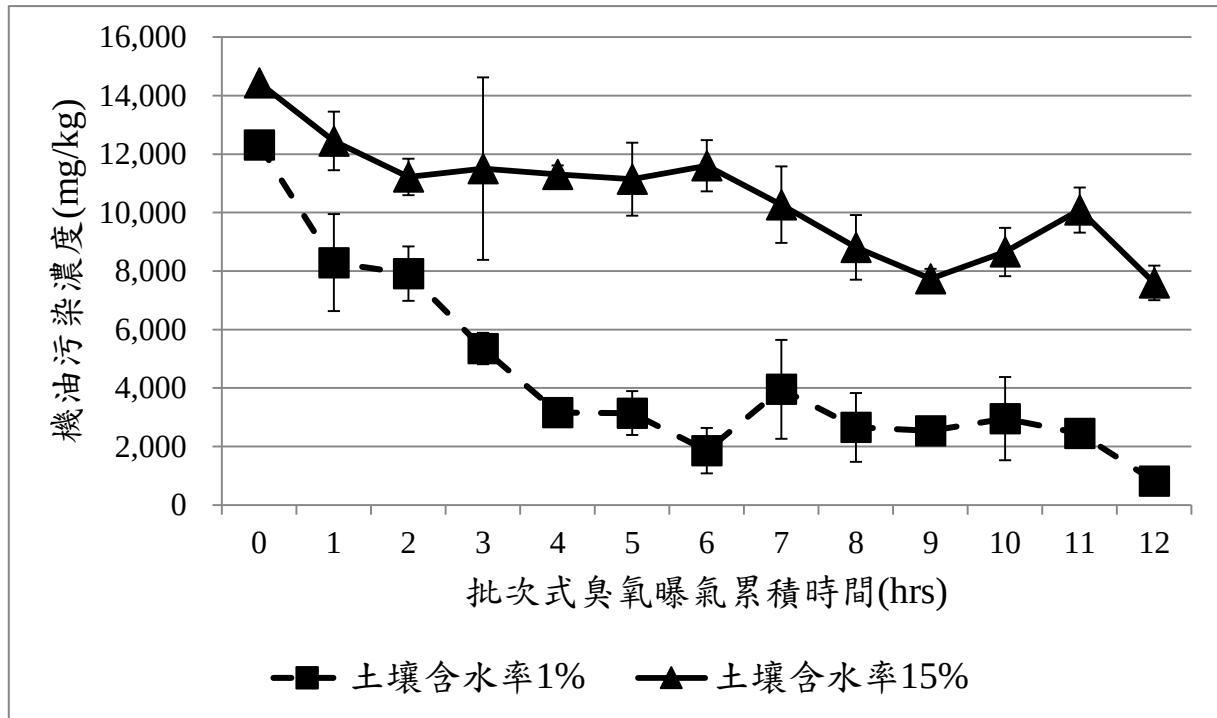


圖 5-4 批次式臭氧注氣試驗對於通氣層受機油污染之成效

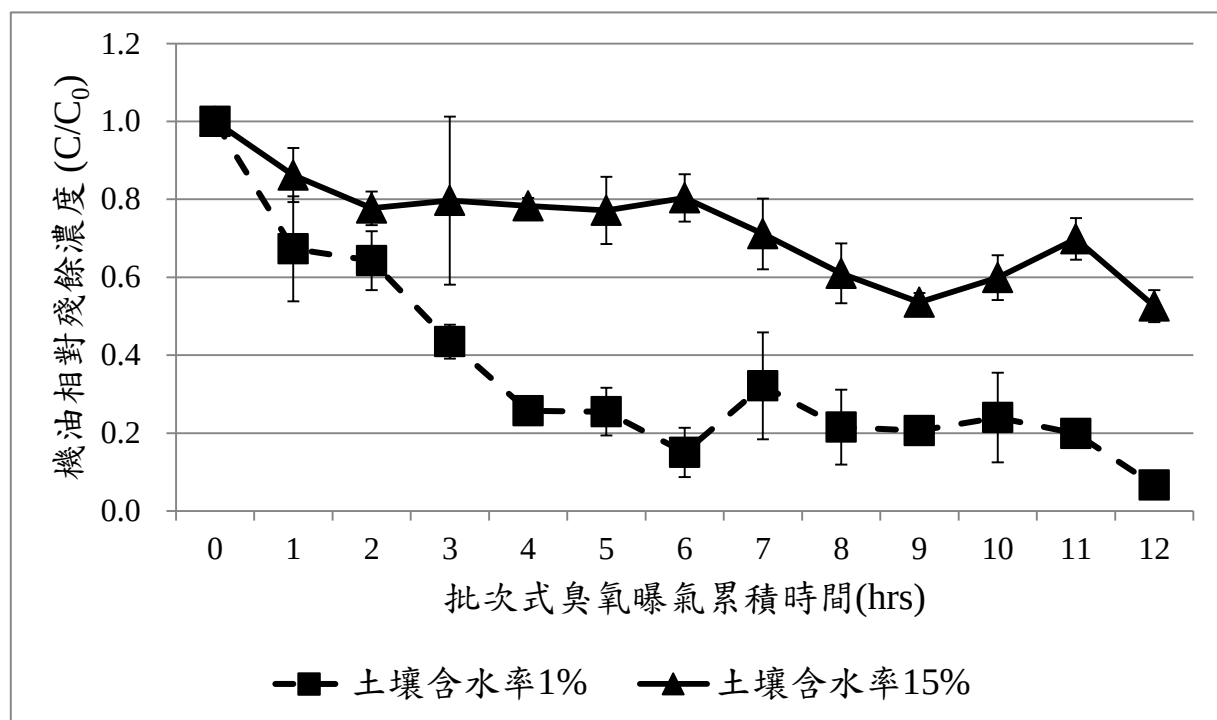


圖 5- 5 批次式臭氧注氣試驗通氣層之相對機油濃度



5.5 批次式臭氧注氣對於土壤有機質之變化

本研究將含臭氧的空氣流量設定為 10 L/min、臭氧流率為 2,888 mg/min 之條件，注氣於模場 100 公升反應槽中，以臭氧注氣 1 小時作為臭氧批次注氣時間，試驗共進行 12 批次，並將各批次臭氧累積注氣過後之機油污染土壤於模場內取出，利用重鉻酸鉀氧化法對各批次臭氧注氣過後之土壤進行土壤有機質試驗，於試驗過程中取 0.5 g 之土壤後加入 10 mL 1 N 重鉻酸鉀及 20 mL 濃硫酸，待冷卻過後加入 200 mL 蒸餾水及 10 mL 之 85% 磷酸並加入二苯胺指示劑，最後以 0.5 N 亞鐵溶液滴定至終點，試驗結果如圖 5-6 所示。由圖中可觀察到經臭氧注氣過後之土壤其有機質含量增高，於 2014 年 Sutton 等人的研究中發現，經化學氧化過後之土壤其可溶性有機碳(DOC)明顯上升，而 Chen 等人於 2018 年的研究中亦發現相同的結果，結果中提到經臭氧注氣過後之受 TPH 污染土壤，其可溶性有機碳有顯著的增加，表明了大量的疏水性有機物質轉變為可溶性有機碳，其可溶性有機碳分子較小並較易溶入於液體中，相較於其他碳的形式其可溶性有機碳也較易被微生物做攝取。因此推估有機質含量上升的原因為臭氧將土壤中腐植質等分子量較大或機油等疏水性物質轉化成可溶性有機碳。

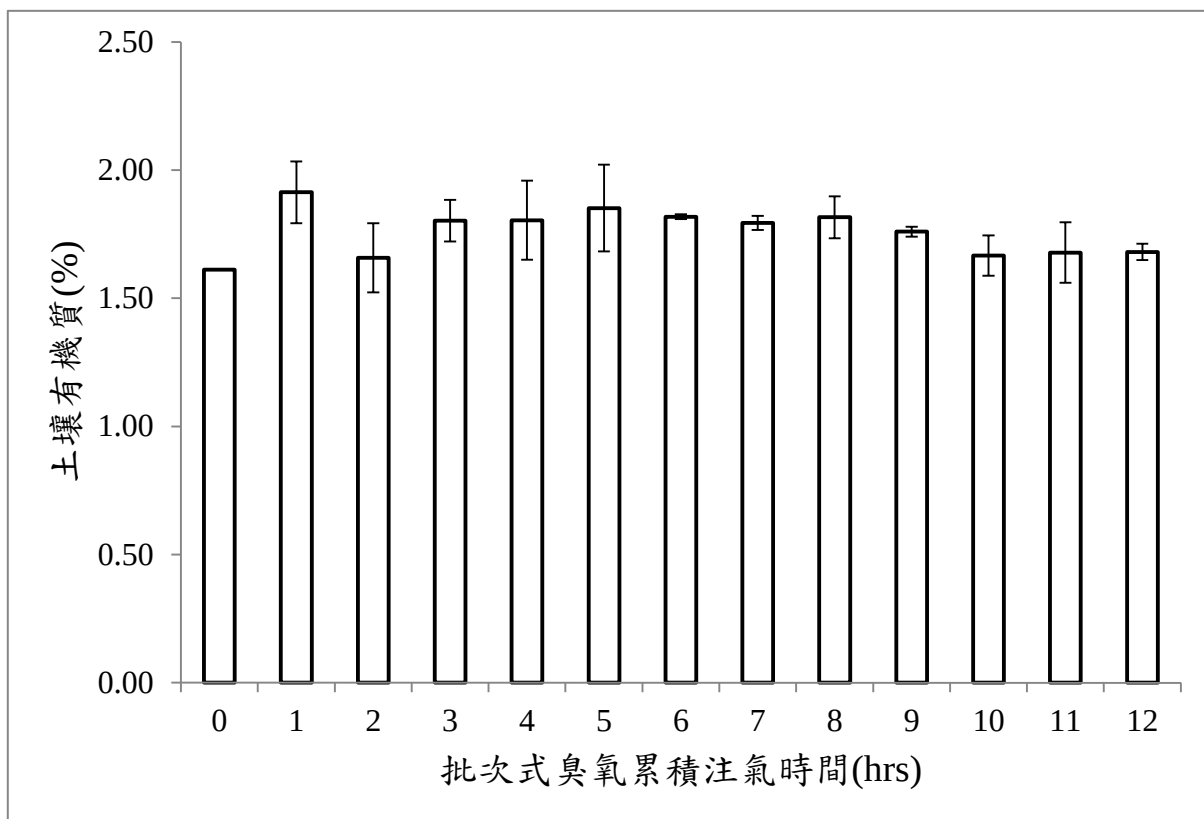


圖 5-6 臭氧注氣過後之土壤有機質變化



5.6 批次式臭氧個別注氣時間之模場尾氣試驗

本研究利用含水率為 15%之臭氧模場，觀察臭氧模場尾氣出口端之臭氧流率之情形。將含臭氧的空氣流量設定為 10 L/min、臭氧流率為 2,888 mg/min 之條件，注氣於模場 100 公升反應槽中，以臭氧注氣 1 小時作為臭氧批次注氣時間，試驗共進行 12 批次，批次式臭氧注氣試驗進行的同時，於反應槽的臭氧尾氣出口端配製 2%之碘化鉀吸收液，觀察批次式臭氧個別注氣時間與臭氧尾氣之關係，結果如圖 5-7 所示。於試驗結果中可發現模場尾氣出口端之臭氧流率逐漸上升，於第 2 批次至第 6 批次之尾氣臭氧流率則呈現平緩，亦對應到含水率為 15%之臭氧模場內第 2 批次至第 6 批次無明顯降解成效，當進行第 7 批次之臭氧注氣試驗時，模場內機油污染濃度有明顯下降，而尾氣出口端之臭氧流率則上升，顯示當模場內有較多機油污染物時，臭氧較可與機油污染物於模場內做接觸並反應，因此有較少之未反應臭氧於尾氣端產出，而當模場內機油污染物逐漸被臭氧所降解時，後續通入之臭氧較無法完全的和機油污染物做接觸且反應，所以才產生臭氧並未完全反應完畢即通過尾氣出口端所排出之現象產生。

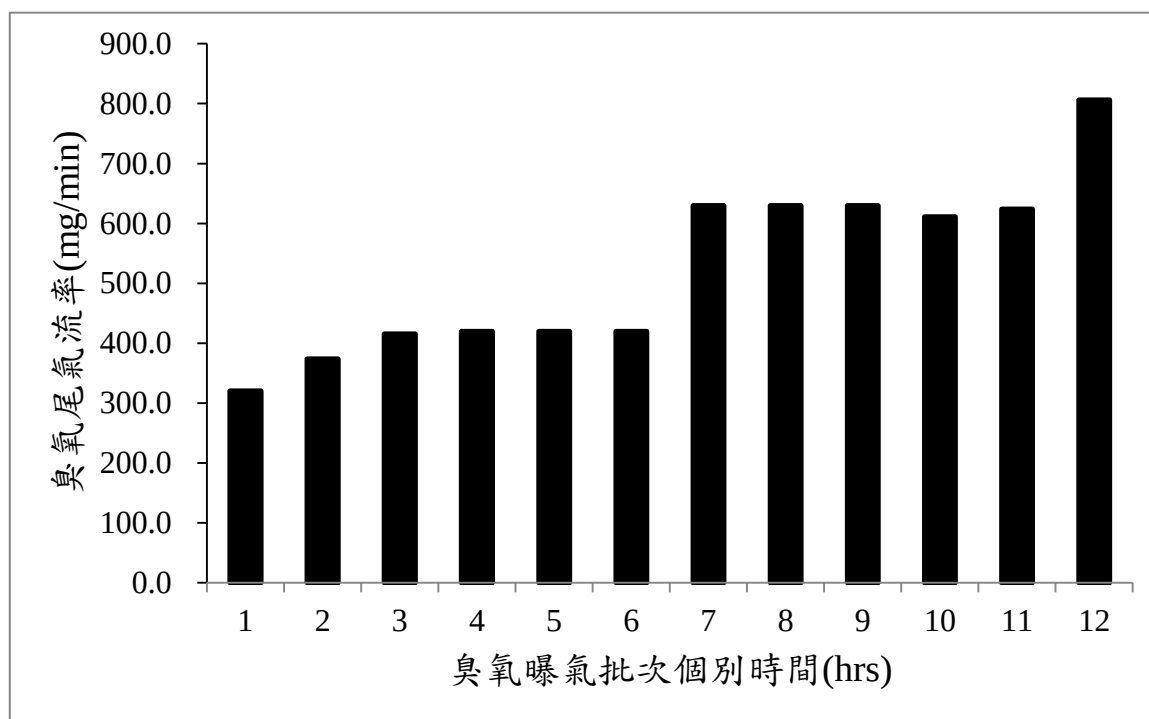


圖 5-7 臭氧曝氣批次操作時個別時間的臭氧尾氣流率



結合臭氧氧化法及生物整治法降解通氣層機油污染物

本計畫利用以下公式計算每單位臭氧量能夠降解的機油量。

$$\frac{\left(\text{油品初始濃度} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) - \text{油品最終濃度} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) \right) \times \text{處理之土壤重量 (kg)}}{\text{臭氧濃度} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times \text{流量} \left(\frac{\text{L}}{\text{min}} \right) \times \text{注氣時間 (min)}}$$

將本研究的最佳臭氧製造參數，其臭氧濃度為 288.8 mg/L、臭氧流量 10 L/min，臭氧流率為 2,888 mg/min，在反應槽的耗損臭氧流率為臭氧流率扣除個別時間的臭氧尾氣流率，在含水率為 15% 試驗土壤 50 kg 的反應槽中，其初始機油污染濃度為 14,438 mg/kg，12 小時注入臭氧的試驗最終機油污染濃度為 7,597 mg/kg，因此可得數值約為 0.2 mg 機油/mg O₃。



5.7 批次式臭氧注氣過後土壤中微生物存活情形

本試驗在含水率 15%之臭氧模場下，進行第 1 批次臭氧注氣試驗後，立刻打開模場並於模場中取出約 1 kg 左右之土壤，對其利用總菌落數連續觀察 5 天土壤中微生物存活之情形，試驗結果如圖 5-8 所示。試驗前未經臭氧注氣之空白(Blank)組別的土壤總菌落數為 1.8×10^5 CFU/g，於臭氧注氣過後其總數下降至 9.90×10^4 CFU/g，顯示臭氧對土壤中微生物有殺菌之效果但仍有微生物存活於土壤中，於 2008 年 Jung 等人的研究中表明微生物大多存活於土壤孔隙間，而當土壤含水率提高時，土壤孔隙間有水分的阻擋，因此臭氧較不易於土壤孔隙中傳輸，才會產生已經過臭氧注氣後之土壤，仍然有活菌存活的情形產生。而將土壤靜置一天後其土壤總菌落數可上升至 5.20×10^5 CFU/g，甚至於第四天時上升至 4.10×10^6 CFU/g，顯示經臭氧注氣過後之土壤，靜置一天過後其微生物可得到增長，原因為臭氧半衰期短且易還原為氧氣，為土壤提供了更高的含氧量，以至於臭氧注氣過後之土壤總菌落數有明顯增長。透過此試驗可得知於批次式臭氧注氣完畢後，其臭氧為微生物提供了更良好的存活環境，使其土壤總菌落數上升，亦說明了在臭氧注氣過後於第 2 天時即可植入菌種，且臭氧不會殘留於土壤中對微生物造成危害。

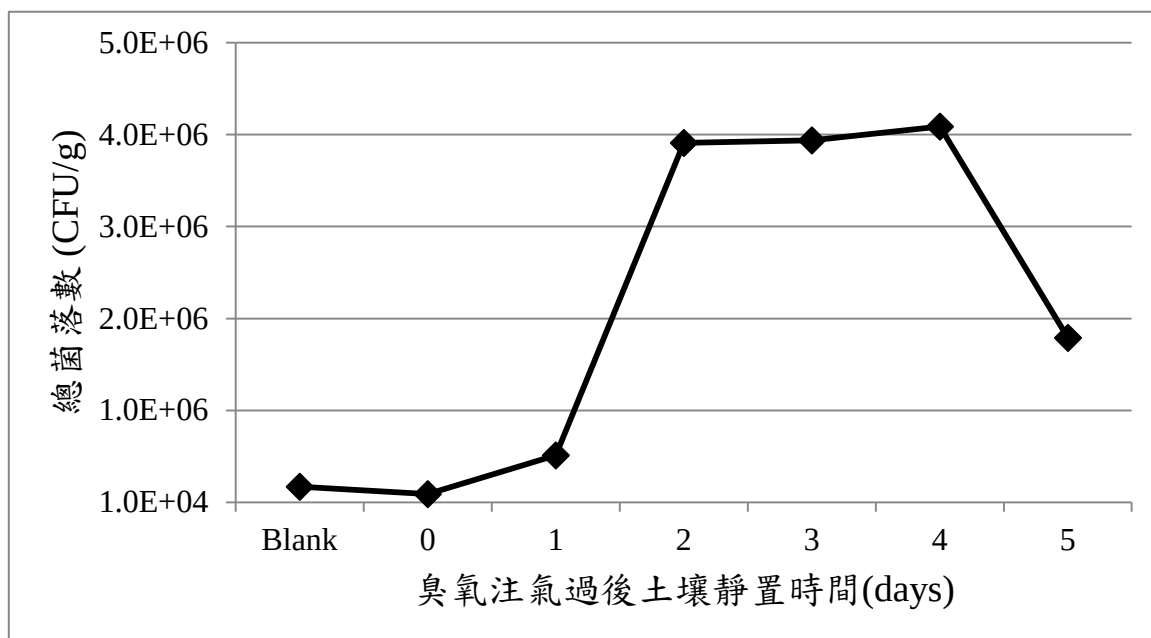


圖 5-8 臭氧注氣過後土壤之總菌落數



5.8 油品降解菌 *Pseudomonas putida* 之生長曲線

本研究所使用之菌種 *Pseudomonas putida* 是由中興大學植物病理學系鄧文玲教授所提供。將 *Pseudomonas putida* 從 -80°C 冰箱取出後進行活化，使其恢復原本的生理機能。在 30°C 、搖晃頻率 140 rpm 的培養箱中，利用 M9 培養基進行馴養，每日監測其光學密度(OD)及利用 ATP 生物快速冷光儀進行微生物活性之檢測，結果如圖 5-9 所示。由圖 5-9 可得知 *Pseudomonas putida* 在培養至第 1 日時，OD 及 ATP 都可迅速上升，在第 2 日時 OD 值依舊上升但 ATP 值下降，其原因為透過 OD 監測微生物活性時，可能將微生物的代謝物或老死菌體也一併納入其中，而 ATP 只會顯示出活菌的數量，因此本試驗將菌種培養過後第 1 日視為微生物活性最佳之狀況，因此於微生物活性最高時植入預臭氧過後受機油污染之土壤中，進行後續的生物復育步驟。

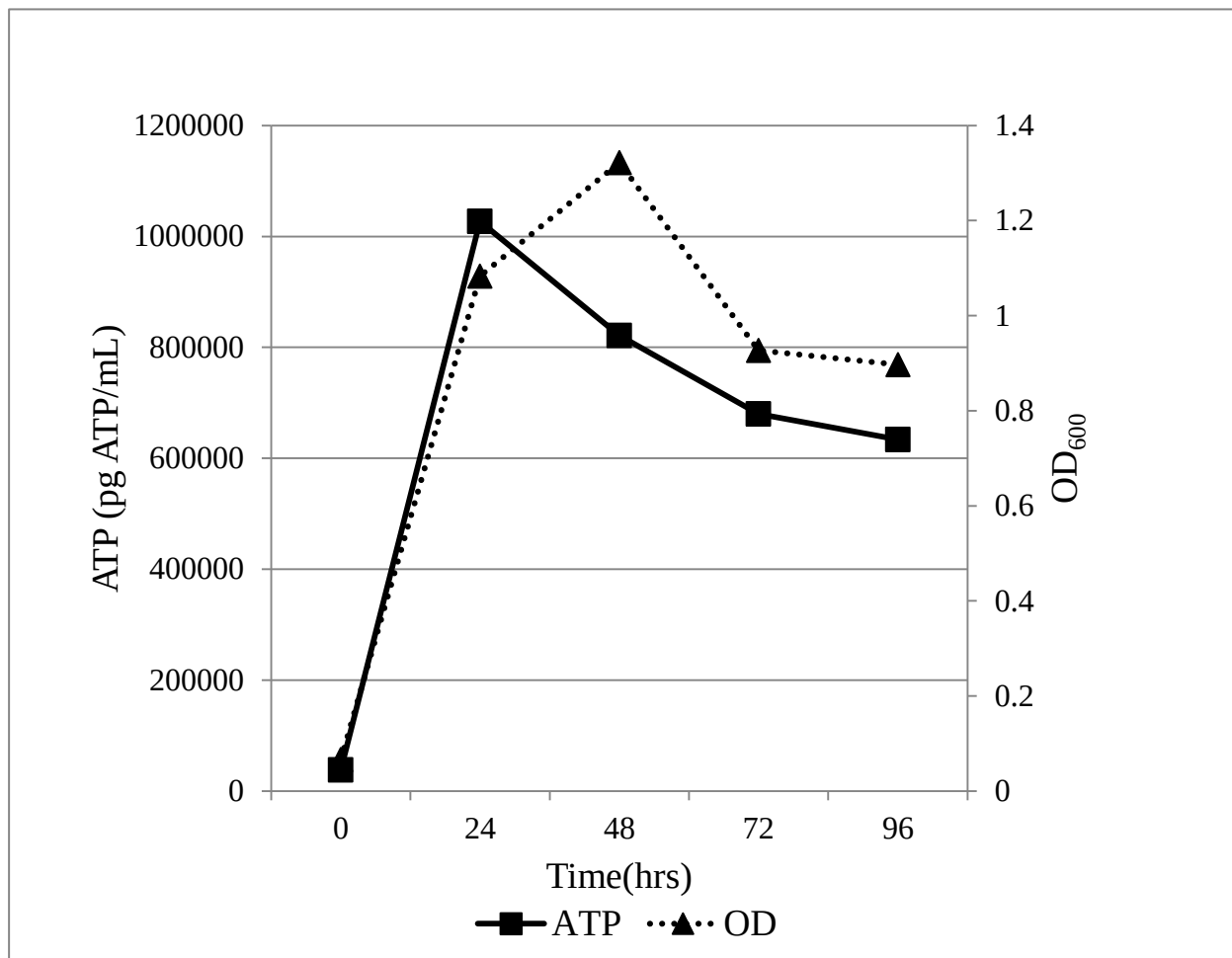


圖 5-9 *Pseudomonas putida* 之 ATP 及 OD 曲線



5.9 預臭氧過後生物復育模場週次採樣試驗

5.9.1 臭氧模場土壤含水率 1%之預臭氧過後生物復育試驗

將臭氧模場含水率為 1%之土壤經過批次式臭氧注氣試驗後，從 100 L 模場內隨機取出約 1 kg 土壤進行生物復育試驗，分別取出未預臭氧(0 hr)及第 3、6、9、12 批次臭氧注氣試驗後的土壤進行植菌(1%菌液土壤比)，以及未臭氧注氣且未植菌的空白組土壤(Blank)，總共建立六個生物試驗模場，取出後調整其碳氮磷比，使其達到 100:10:1，同時將土壤含水率控制在 6-10%之間，提供微生物較適合的生長環境，五組植入菌種 *Pseudomonas putida* 後開始進行每週的土壤採樣，觀察在 5 週內機油污染物生物降解之情形，結果如圖 5-10 所示。經臭氧注氣過後之土壤，於生物復育中第 5 週時都已可將機油污染物降解至法規污染管制標準 1,000 mg/kg 以下，其臭氧曝氣第 3、6、9 及 12 小時的土壤生物降解率分別為 88%、94%、75%及 91%，顯現出極佳的降解效果。而 BK 及未預臭氧組之土壤生物降解試驗於第二週時降解率分別可達 48%及 55%，但後續降解曲線即呈現平緩，推估微生物已將易攝取的成份分解，例如碳氫化合物中脂肪族所包含的飽和烴，其於碳氫化合物中相對含量較高且容易被微生物所利用，而較難分解的芳香烴或極性物質等對於微生物而言較難分解，才會產生後續降解情況平緩的情形發生，但經過臭氧注氣過後之土壤，其較難被微生物所分解之物質，已被臭氧斷鏈並形成分子量小且較不具毒性之物質，因此土壤中機油污染物的生物可利用性上升，進而達到更佳的降解成效。

於圖 5-11 中將數據由相對機油濃度 (C/C_0) 做呈現，觀察不同臭氧批次注氣時間後之生物復育情形。由圖中可發現經臭氧注氣過後之生物復育成效較佳，於臭氧注氣過後第 3、6、9 及 12 批次中相對機油濃度分別為 0.12、0.06、0.24 及 0.09，而未經臭氧預注氣的生物復育試驗(0 hr)中，其相對機油濃度為 0.39 且持續呈現平緩，顯示經臭氧注氣過後之土壤，臭氧明顯可將機油氧化分解成微生物較易攝取之物質，於文獻中表明經臭氧注氣過後之油品大多降解成許多不同的羧酸等物質，經過鑑定後顯示其物質為易被生物降解之 *n*-單羧酸(Chen *et al.*, 2016)，使得機油污染物之生物可利用性上升，並有更佳之機油降解成效。



結合臭氧氧化法及生物整治法降解通氣層機油污染物

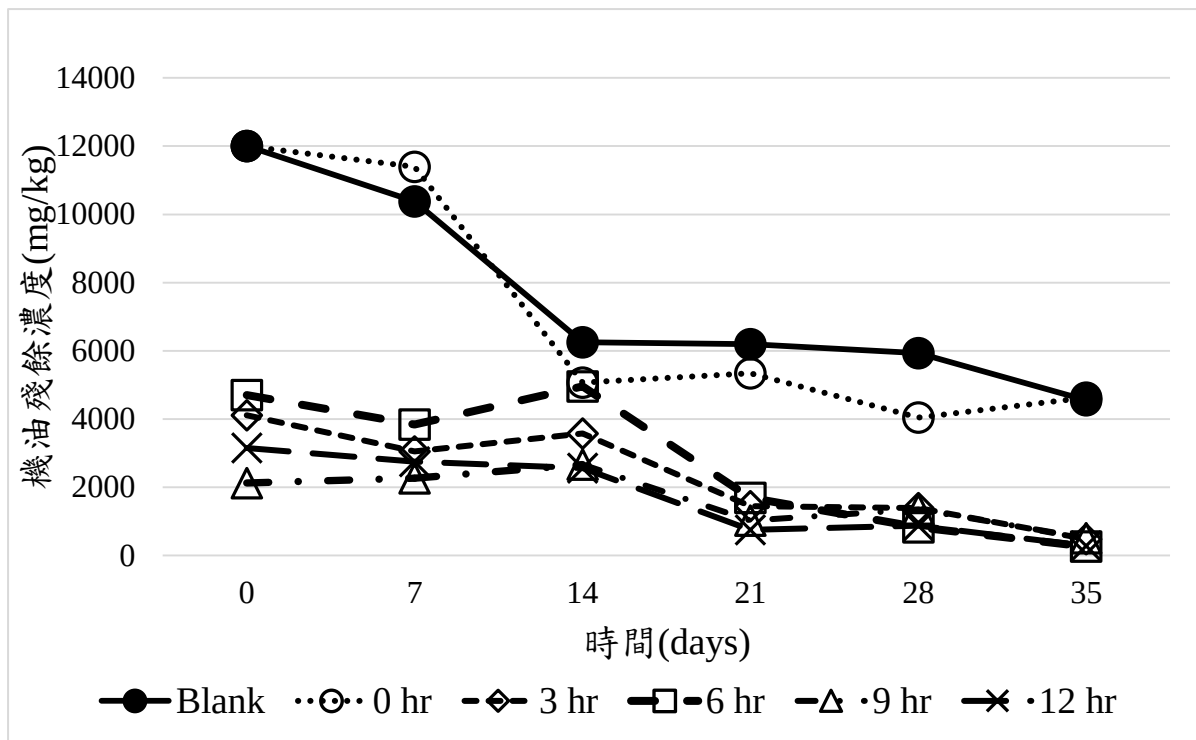


圖 5- 10 臭氧模場含水率 1%之預臭氧土壤生物降解之機油殘餘濃度

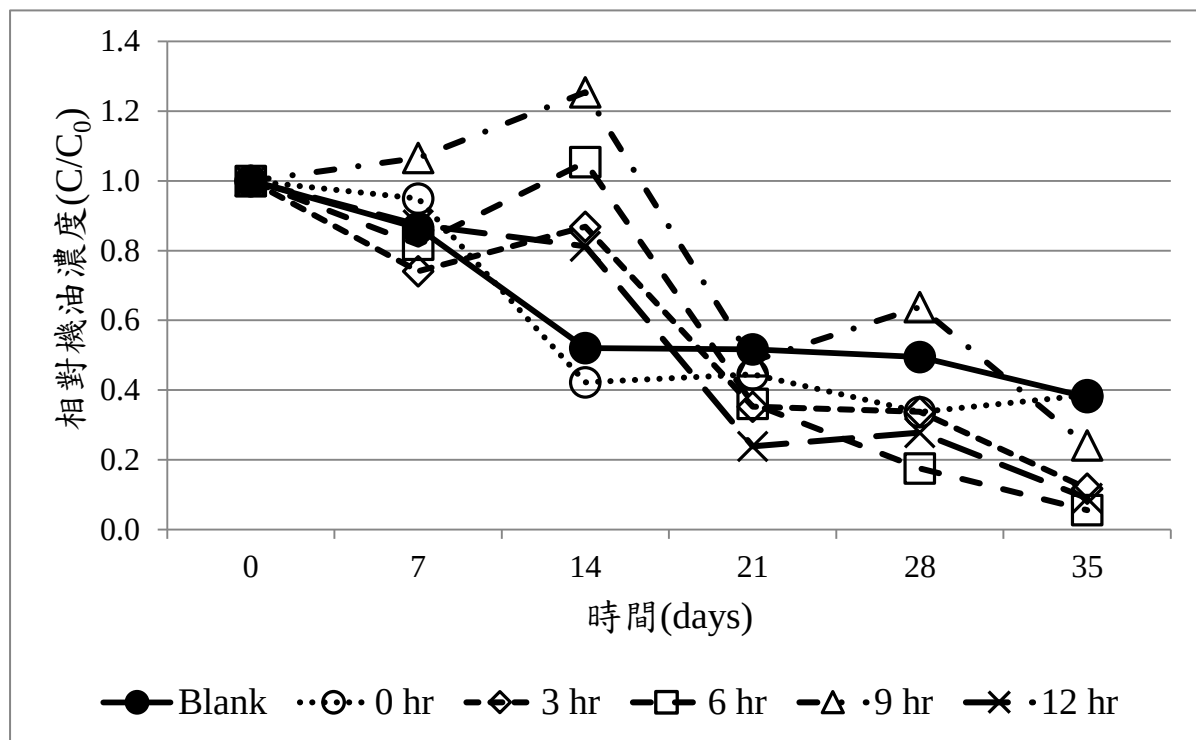


圖 5- 11 臭氧模場含水率 1%之預臭氧土壤生物降解相對機油濃度



5.9.2 臭氧模場土壤含水率 15% 之預臭氧過後生物復育試驗

將臭氧模場含水率為 15% 之土壤經過批次式臭氧注氣試驗後，從 100 L 模場內隨機取出約 1 kg 土壤進行生物復育試驗，分別取出未預臭氧(0 hr)及取出第 3、6、9、12 批次臭氧注氣試驗後土壤植菌(1%菌液土壤比)，以及未臭氧注氣且未植菌的空白組土壤(Blank)，總共建立六個生物試驗模場，取出後調整其碳氮磷比，使其達到 100:10:1，五組植入菌種 *Pseudomonas putida* 後開始進行每週的土壤採樣，觀察在 5 週內機油污染物生物降解之情形，結果如圖 5-12 所示。於臭氧模場土壤含水率為 15% 之土壤，經過臭氧注氣試驗至第 12 批次後，其土壤機油污染濃度仍有約 8,000 mg/kg，與利用臭氧注氣至土壤含水率為 1% 之臭氧模場到第 12 批次時相比，有較高的生物試驗起始機油濃度。未預臭氧及臭氧注氣第 3、6、9、12 小時之土壤，機油初始濃度分別為 12,876 mg/kg 及 11,194 mg/kg、9,326 mg/kg、10,050 mg/kg、8,065 mg/kg、在各組未臭氧注氣或注氣過後之土壤進行生物復育試驗至第 5 週時，未臭氧注氣及第 3、6、9、12 小時注氣之土壤，機油殘餘濃度分別為 8,262 mg/kg 及 7,110 mg/kg、5,393 mg/kg、4519 mg/kg、3,811 mg/kg，其土壤生物降解率則為 35.84%、36.48%、42.17%、55.03%、52.75%。顯示當臭氧注氣時間較長時有較佳的生物降解成效，其降解率和未臭氧曝氣之土壤相比有較高的降解率。但和臭氧模場土壤含水率為 1% 相比成效仍較差，原因為臭氧尚未將機油完全的氧化分解為微生物更容易攝取之物質，但整體而言經過臭氧注氣過後之土壤，其降解成效有顯著的上升，且臭氧注氣時間越長則進行生物復育時的成效越佳。

於圖 5-13 中將數據以相對機油濃度 (C/C_0) 做比較呈現，觀察不同臭氧批次注氣時間後之生物復育情形。Blank 組、未預臭氧組(0 hr)以及第 3、6、9、12 小時等六組試驗於生物復育試驗中進行至第 5 週時，其 Blank 組的相對機油濃度為 1.06 無明顯降解效果，而未預臭氧組及注氣第 3 小時兩組試驗組其相對機油濃度皆為 0.64，顯示臭氧於高土壤含水率的狀況下，在臭氧注氣至第 3 批次時尚未足以提高生物降解的功效，而當注氣時間提高到第 6 批次時其相對機油濃度為 0.58，其降解成效提高，並於臭氧注氣至第 9、12 批次時其相對機油濃度可達 0.45，顯示當臭氧注氣時間增加時生物降解率越高，臭氧確實的將機油污染物逐步氧化分解為微生物較易分解之物質。



結合臭氧氧化法及生物整治法降解通氣層機油污染物

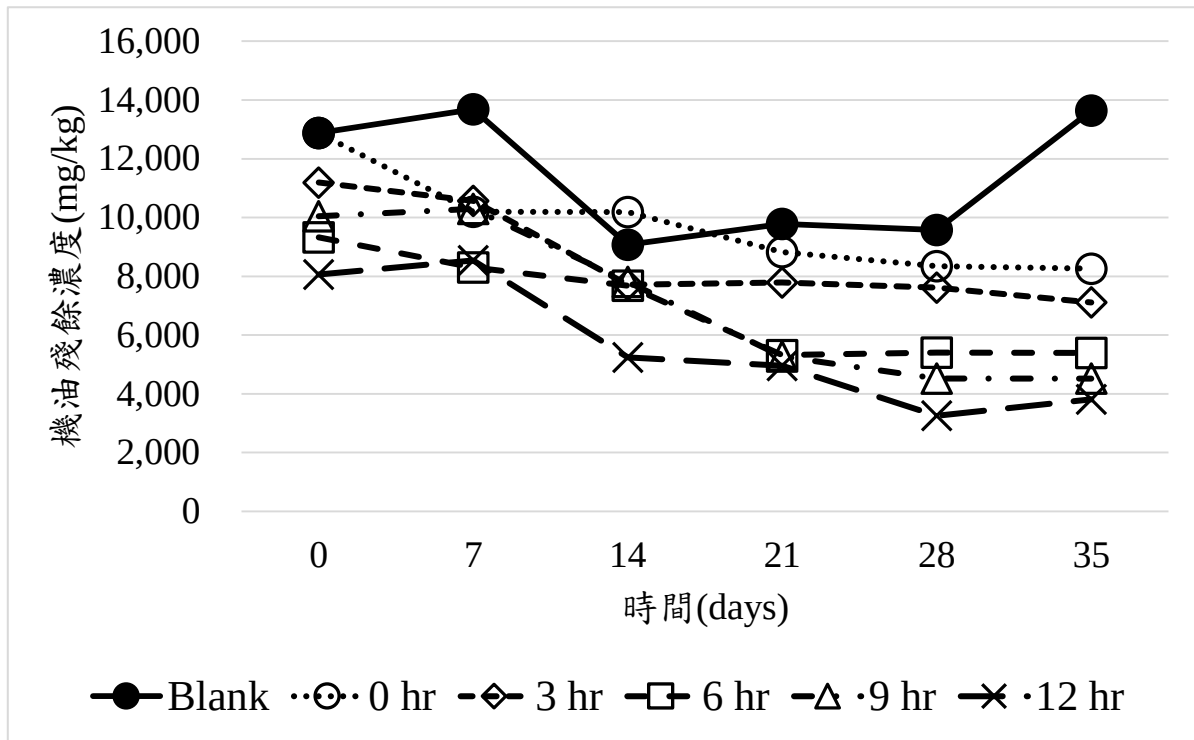


圖 5- 12 臭氧模場含水率 15%之預臭氧土壤生物降解之機油殘餘濃度

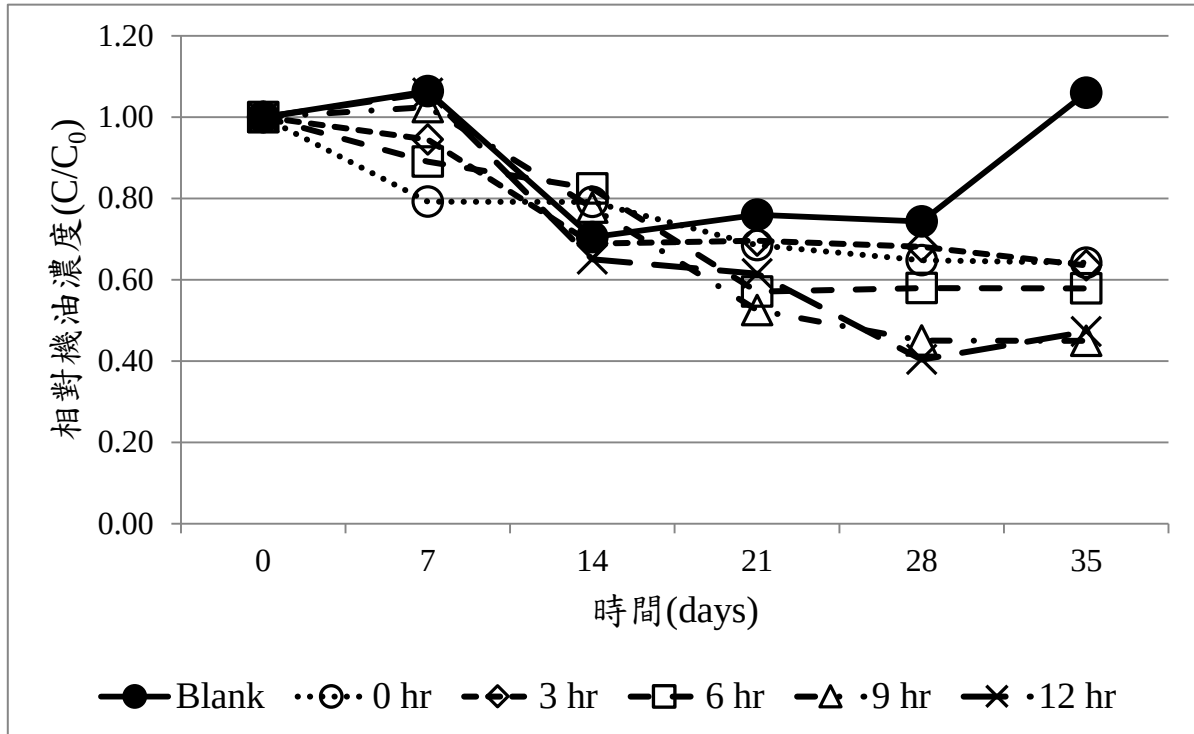


圖 5- 13 臭氧模場含水率 15%之預臭氧土壤生物降解相對機油濃度



5.10 利用氣泡式微生物呼吸儀探討微生物活性

將未經臭氧曝氣及曝氣過後第 3、6、9 及 12 批次之土壤以及未植茵且未經過臭氧處理之空白組(Blank)於模場取出後，進行生物復育試驗的同時搭配氣泡式微生物呼吸儀，觀察試驗期間微生物於模場內的攝氧情形，試驗以每週進行 5 日的呼吸試驗，所測量各週次的累積攝氧量如圖 5-14 至圖 5-18 所示。於第一週時 12 hr 試驗組之累積攝氧量為 18 mg-O₂ 高於其他組別，其攝氧情形可持續上升至第三週，其累積攝氧量可達到 40 mg-O₂，其次則為第 9 批次試驗其初始累積攝氧量為 15 mg-O₂，並於第四週上升至 48 mg-O₂，而 6 hr 試驗組之初始累積攝氧量為 11 mg-O₂，相較於第 9、12 批次有稍低的累積攝氧量，但其累積攝氧量於第四週時仍可達到 27 mg-O₂，而 3 hr 試驗組在初始有較低的累積攝氧情形，其累積攝氧量於第一週僅有 2.3 mg-O₂，於第四週時其累積攝氧量達到 38 mg-O₂，顯示 3 hr 試驗組微生物需要有較長的適應期間，才導致初始累積攝氧量較低的情形，待微生物適應之後其累積攝氧量則逐漸上升，而未臭氧注氣(0 hr)的試驗其初始累積攝氧量亦較低僅有 7 mg-O₂，但和 3 hr 試驗組土壤相同，待微生物適應其環境後其累積攝氧量可達 33 mg-O₂，而試驗期間未注氣也未植茵之 Blank 組其累積攝氧量皆明顯低於其他試驗組別。

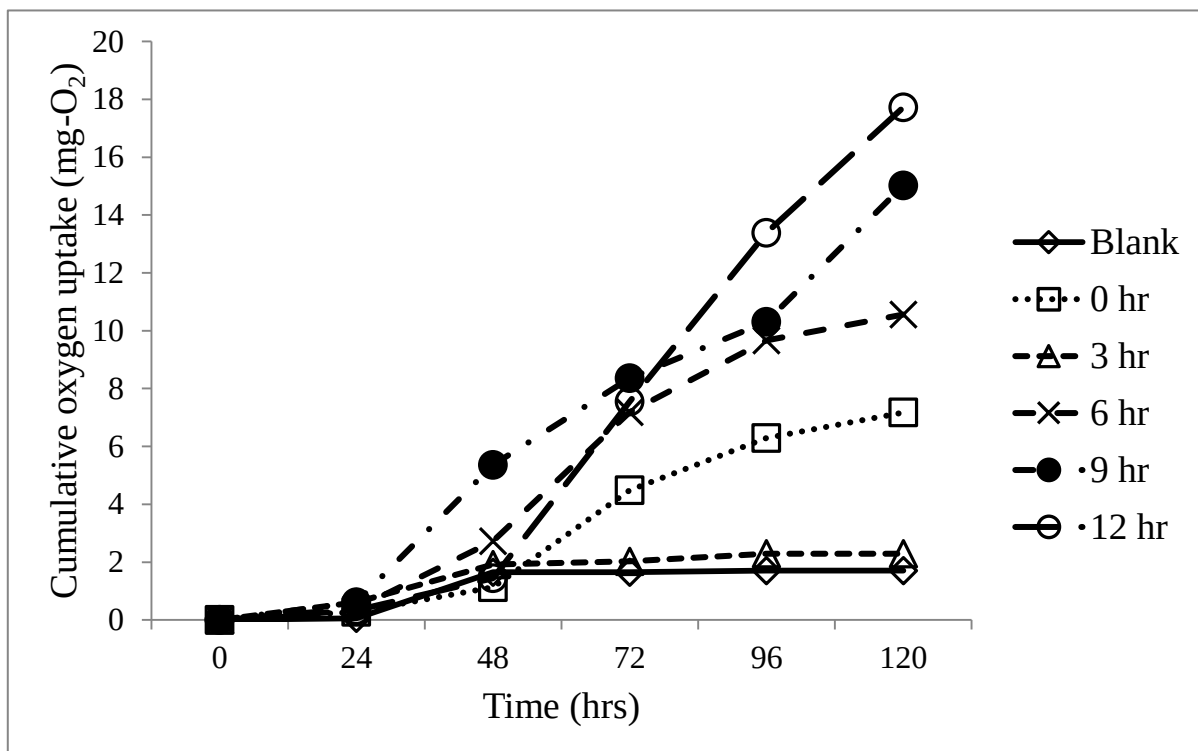


圖 5- 14 不同臭氧注氣時間的土壤生物復育試驗第一週之 5 日累積攝氧量



結合臭氧氧化法及生物整治法降解通氣層機油污染物

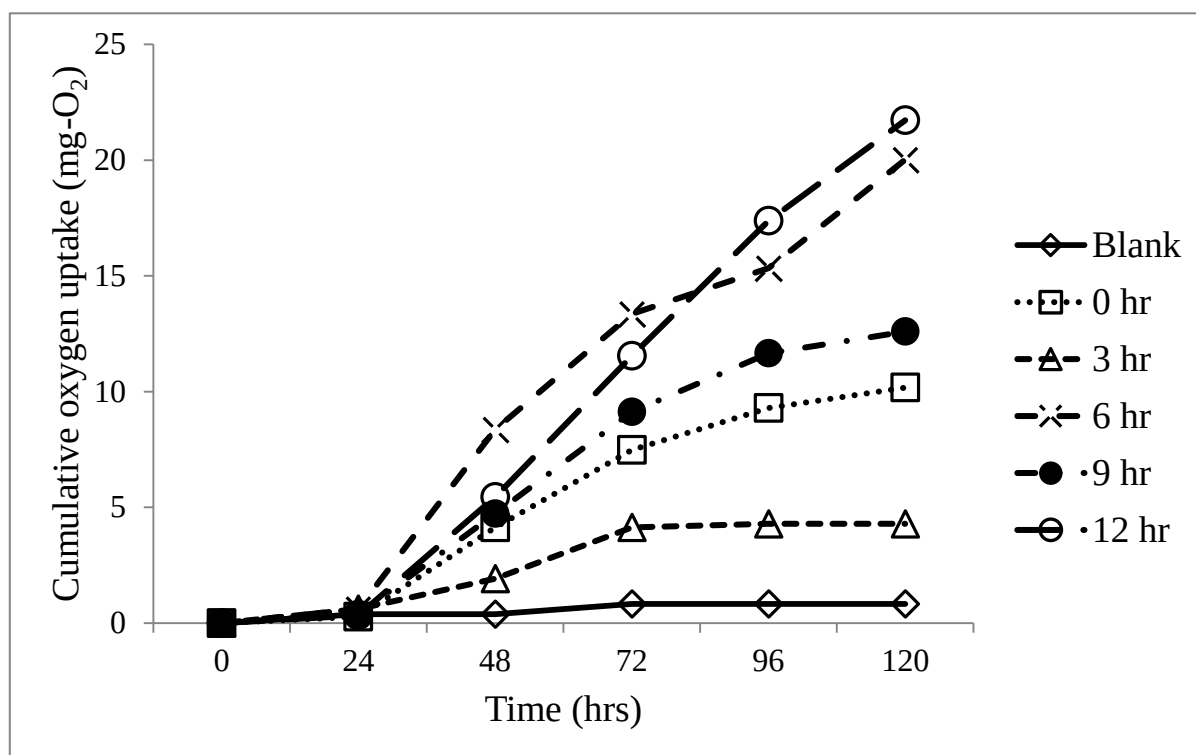


圖 5- 15 不同臭氧注氣時間的土壤生物復育試驗第二週之 5 日累積攝氧量

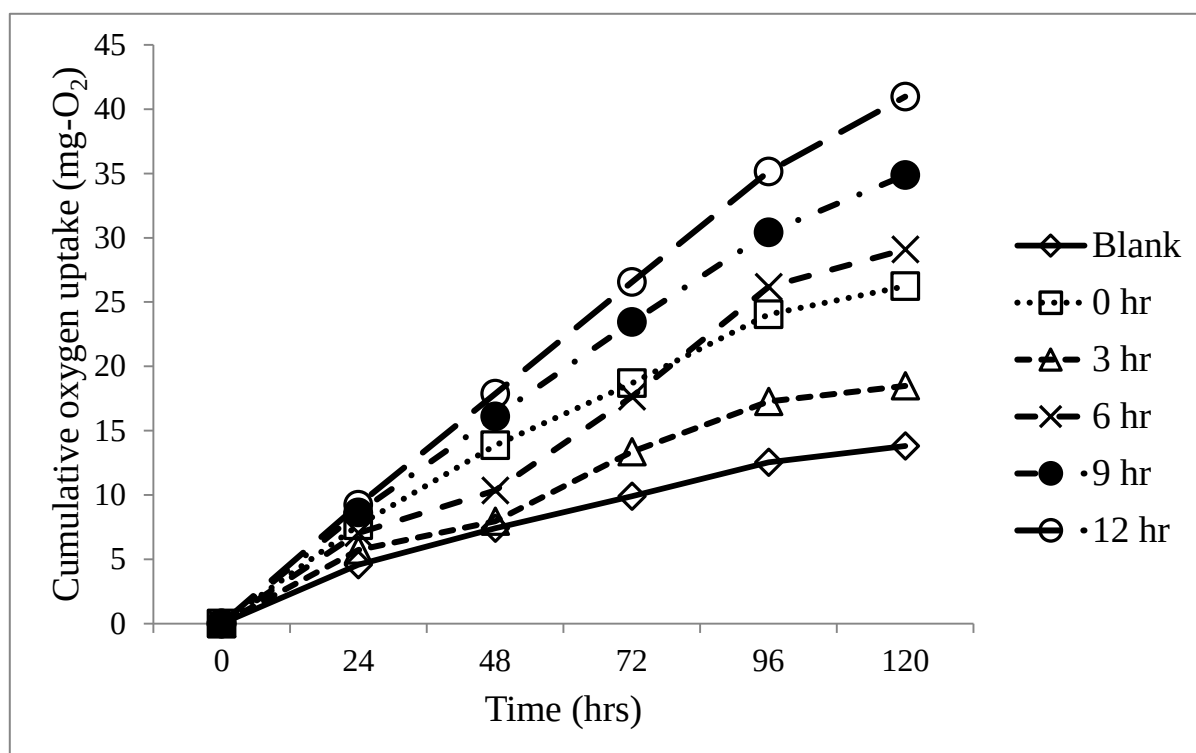


圖 5- 16 不同臭氧注氣時間的土壤生物復育試驗第三週之 5 日累積攝氧量

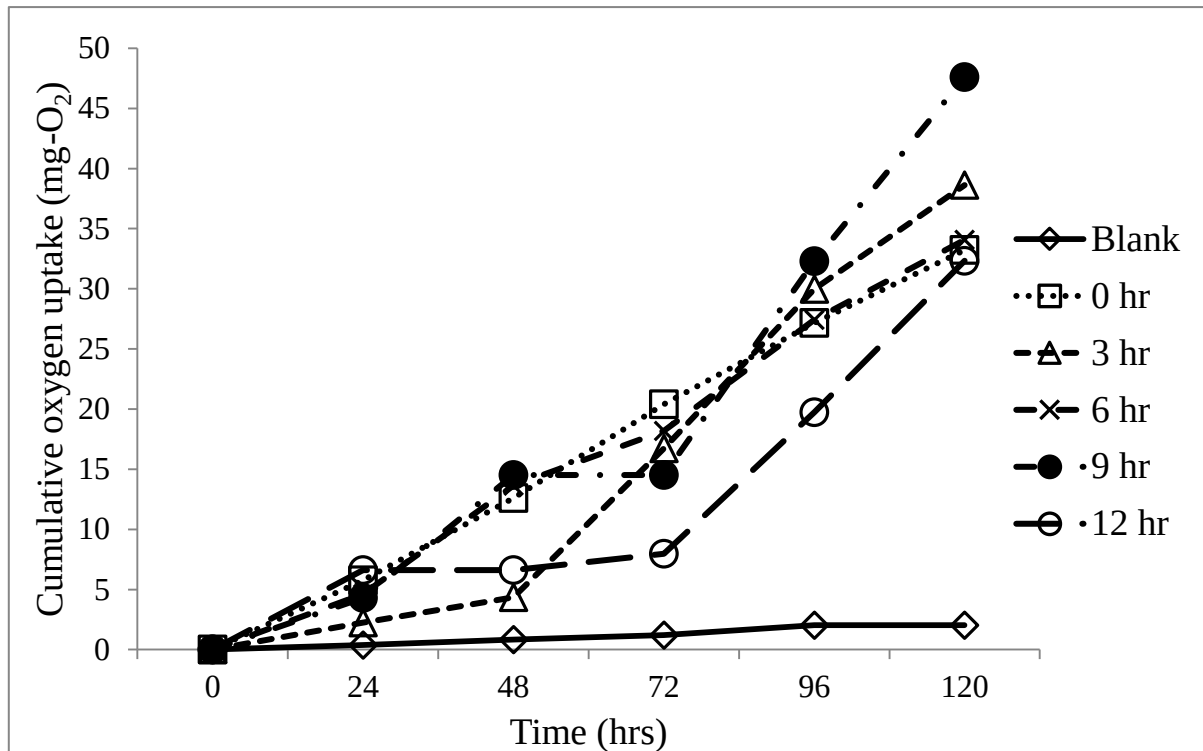


圖 5- 17 不同臭氧注氣時間的土壤生物復育試驗第四週之 5 日累積攝氧量

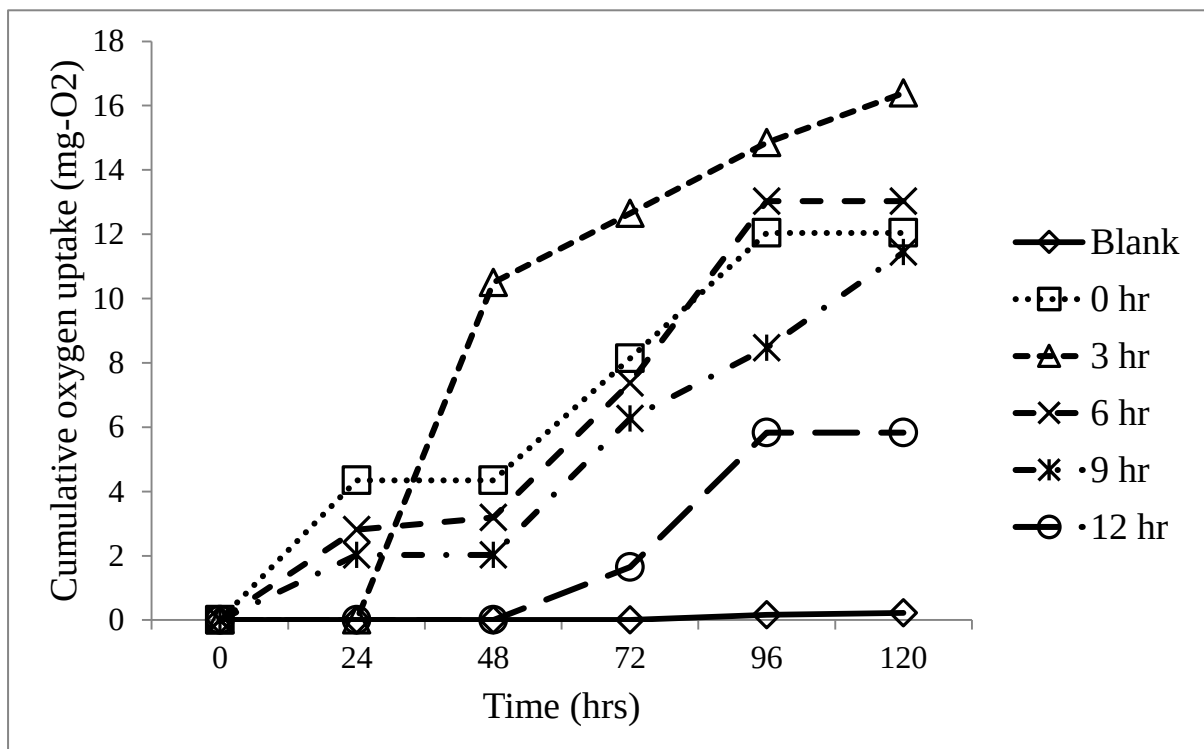


圖 5- 18 不同臭氧注氣時間的土壤生物復育試驗第五週之 5 日累積攝氧量



將未經臭氧曝氣及曝氣過後第 3、6、9 及 12 批次之土壤以及未植菌且未經過臭氧處理之 Blank 組別於模場取出後，進行 5 週生物復育試驗的同時搭配氣泡式微生物呼吸儀，觀察試驗期間微生物於模場內的攝氧情形，各週次 5 日累積攝氧量如圖 5-19 所示。由圖可得知經臭氧注氣過後之土壤於初始皆有較良好的累積攝氧量，其中又以批次式臭氧注氣時間最多的 12 hr 組有最高的初始累積攝氧量，代表微生物於臭氧注氣過後之生物復育模場內有較佳的活性，且活性可持續升高至第 4 週。而 3 hr 組試驗初始累積攝氧量較低，推估為臭氧注氣時間不足，因此植入之微生物需適應其環境後才得以提高其活性，由圖中可看出 3 hr 組試驗雖然初始累積攝氧量較低，但當微生物適應後其各週次累積攝氧量可逐漸上升至第 4 週。第 0、3、6、9 hr 試驗組皆於第五週時累積攝氧量才逐漸下降，但 12 hr 組試驗於第四週時其累積攝氧量則已經開始下降，推估 12 hr 組試驗組中的微生物於模場內較快將可利用之機油污染物分解，後續無可利用之碳源後才導致其累積攝氧量提前降低的情形發生。結果顯示經臭氧注氣過後之土壤，其微生物有較高的累積攝氧量，推估臭氧隨著注氣時間的增加，已將機油污染物氧化分解成微生物較易攝取之物質並提供了較良好的生存環境，同時也代表著微生物於模場內有較佳的活性及機油污染物降解情形的發生。

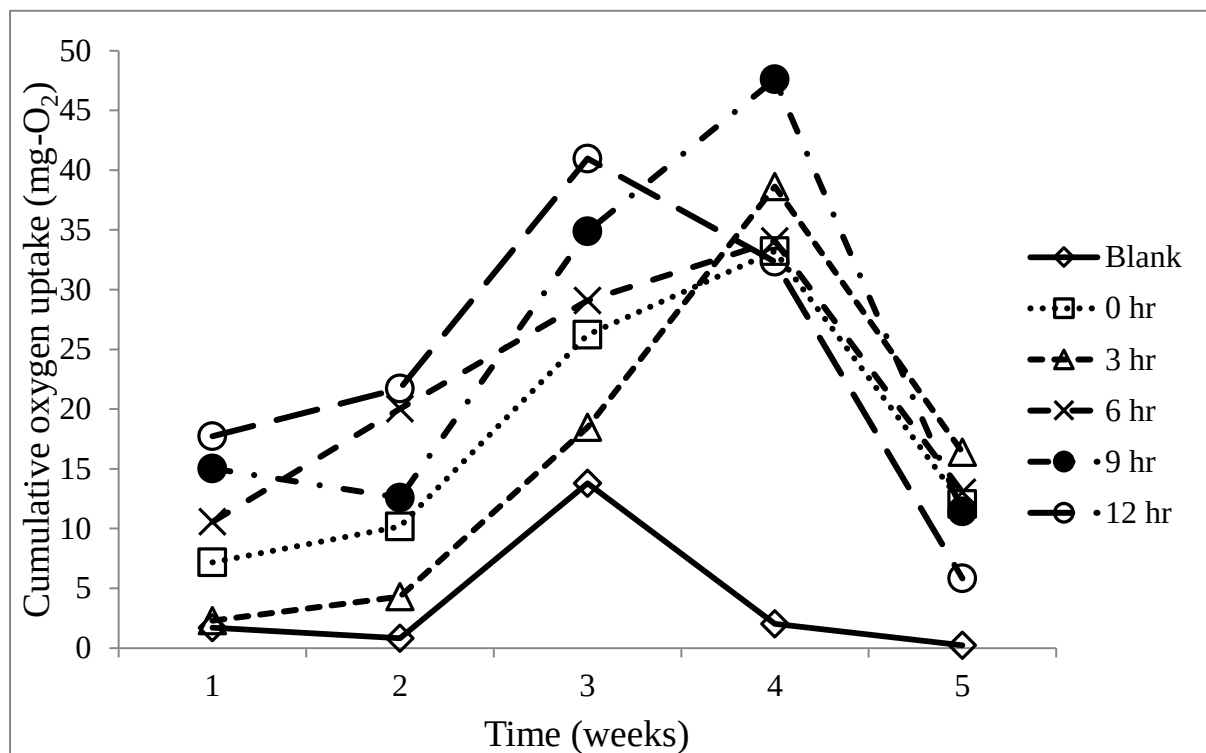


圖 5- 19 預臭氧不同時間後土壤進行生物復育各週之 5 日生物累積攝氧量



5.11 利用 PCR-DGGE 進行優勢菌種判斷及菌相分析

圖 5-20 為生物降解完畢後利用 DGGE 進行優勢菌種判斷及菌相分析。首先先抽取各土壤樣品中菌種之 DNA，接著進行聚合酶連鎖反應(Polymerase chain reaction, PCR)將目標 DNA 進行擴增後再進行電泳，確認是否有成功抽取到 DNA，最後即可利用 DGGE 進行優勢菌種判斷及菌相分析。於下方 DGGE 圖譜所顯示的組別中，由左至右分別為：*Pseudomonas putida*、未經臭氧及生物復育處理之 Blank 組，未經臭氧注氣及注氣第 3、6、9、12 hr 後接著進行生物降解試驗之樣品，最後確定土壤的優勢菌依舊為 *Pseudomonas putida*。於下圖可發現 Blank 組有優勢菌種的產生，且和 *Pseudomonas putida* 所顯示的條帶位置相同，判斷可能土壤本身或於採樣、進行試驗期間 *Pseudomonas putida* 影響了 Blank 組，導致 Blank 組亦有降解情形發生。而將各批次經臭氧注氣過後之試驗組別和單獨只有 *Pseudomonas putida* 的組別進行對照，在第 3、9 批次的樣品中，雖然 *Pseudomonas putida* 條帶位置顏色較淺，但仍然有 *Pseudomonas putida* 的存在，而於其他組別中皆可明顯的看出土壤中仍可發現 *Pseudomonas putida* 的蹤跡，並由條帶的顏色深淺判斷為優勢菌種。而將 Blank 組、未臭氧注氣組及經臭氧曝氣過後第 3、6、9、12 小時等組進行比較，由圖譜可看出經過臭氧注氣過後之土壤，菌相明顯變複雜，推斷可能是臭氧已將微生物較難攝取之成分破壞成小分子，並提供了較良好的生存環境，才導致土壤中產生了其他菌種。

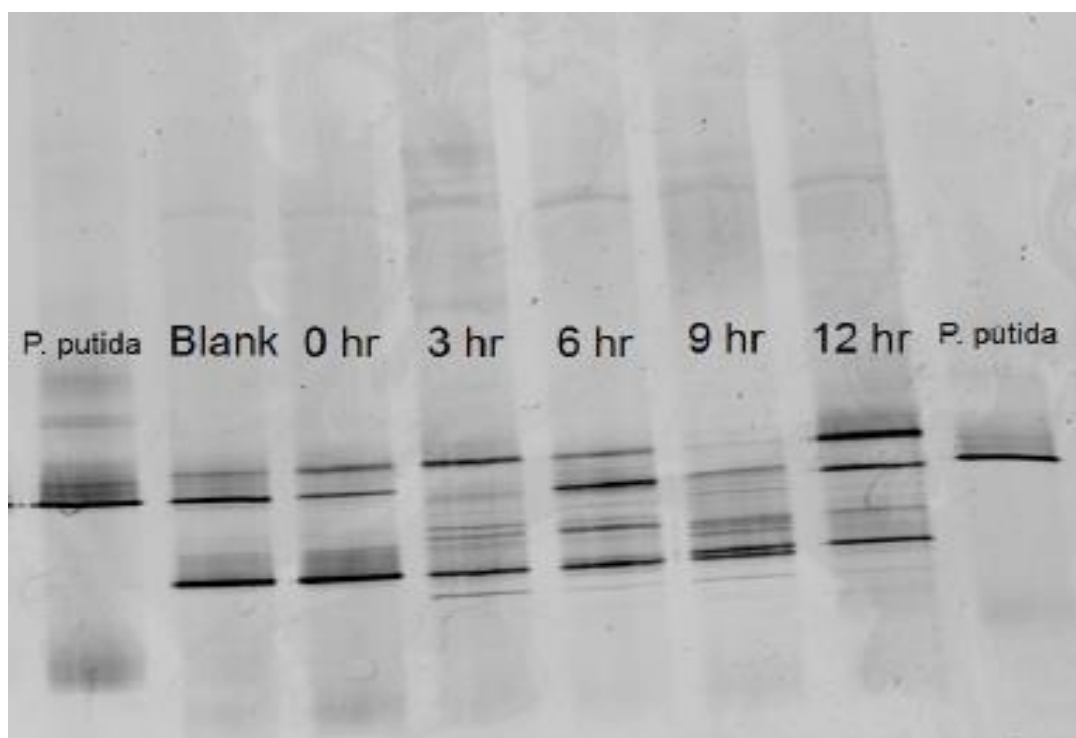


圖 5-20 利用 DGGE 進行優勢菌種判斷及土壤菌相分析



六、結論與建議

6.1 結論

1. 臭氧注氣後之土壤的 pH 值下降及導電度上升顯示臭氧逐步分解機油污染物。臭氧注氣後之土壤 ORP 上升顯示臭氧還原為氧氣，提高了土壤氧氣濃度。
2. 本研究顯示土壤含水率較低時有較佳的臭氧降解成效，因此土壤含水率為影響臭氧注氣成效的因素。
3. 經預臭氧過後之土壤明顯提高生物降解率，並已將機油污染濃度約 12,000 mg/kg 之土壤，藉由臭氧氧化法結合生物復育法降解至法規標準 1,000 mg/kg 以下。
4. 本研究藉由總菌落數分析臭氧模場內活菌生存情形，研究顯示將臭氧注氣過後之土壤靜置 2 天後其總菌落數上升，顯示土壤已無臭氧殘留，亦即臭氧注氣過後第 2 天即可植菌開始進行生物復育之步驟。
5. 微生物氣泡式呼吸儀數據結果顯示，經預臭氧過後之土壤其微生物有較佳的累積攝氧量，代表微生物於生物復育模場內有較佳的活性，後期累積攝氧量下降顯示模場內已無可供微生物利用之碳源。
6. 植入菌種 *Pseudomonas putida* 於生物復育完成後，經由 DGGE 圖譜顯示該菌仍為優勢菌種，並且土壤經臭氧注氣過後其菌相變複雜，代表土壤環境更適合微生物存活。

6.2 建議

本試驗使用臭氧氧化法結合生物復育法降解通氣層中機油污染物，結果顯示在高土壤含水率的狀況下較不利於臭氧進行降解，建議進行臭氧降解時可將土壤含水率降低。而低含水率的土壤在臭氧注氣至第 6 批次時，已可以考慮進行生物整治之步驟，但高含水率之土壤其臭氧注氣時間需往上提升，以增加臭氧與污染物接觸的機會，用於增加後續生物的降解率以達到更良好的降解成效。



參考文獻

Butkovic', V., L. Klasinc, M. Orhanovic', H. Gu'sten, J. Turk, "Reaction rates of polynuclear aromatic hydrocarbons with ozone in water," Environ. Sci. Technol. 17, pp. 546-548, 1983.

Chen, T., A.G. Delgado, B.M. Yavuz, A.J. Proctor, J. Maldonado, Y. Zuo, P. Westerhoff, R. Krajmalnik-Brown, B.E. Rittmann, "Ozone enhances biodegradability of heavy hydrocarbons in soil," Journal of Environmental Engineering and Science, 11(1), pp. 7-17, 2016.

Chen, T., B.M. Yavuz, A.G. Delgado, G. Montoya, D.V. Winkle, Y. Zuo, R. Kamath, P. Westerhoff, R. Krajmalnik-Brown, B.E. Rittmann, "Impacts of moisture content during ozonation of soils containing residual petroleum," Journal of Hazardous Materials, Volume 344, pp. 1101-1108, 2018.

Fritsche, W., M. Hofrichter, "Aerobic degradation by microorganisms," In: Klein J, editor. Environmental Processes- Soil Decontamination. Weinheim, Germany: Wiley-VCH; pp. 146-155, 2000.

Hellman, T.M. and G.A. Hamilton, "On the mechanism of alkane oxidation by ozone in the presence and absence of FeCl_3 ," J. Am. Chem. Soc. 96, pp. 1530-1535, 1974.

Jung, H., K.-D. Sohn, B. Neppolian and H. Choi, "Effect of soil organic matter (SOM) and soil texture on the fatality of indigenous microorganisms in integrated ozonation and biodegradation," Journal of Hazardous Materials, Vol. 150(3), pp. 809-817, 2008.

Kulik, N., A. Goi, M. Trapido and T. Tuhkanen, "Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by combined chemical pre-oxidation and bioremediation in creosote contaminated soil," 78(4), pp. 382-391, 2006.

Langlais, B., D.A. Reckow, D.R. Brink, (eds.), "Ozone in Water Treatment-Application and Engineering," American Water Works Association and Lewis Publishers, Chelsea, Michigan, USA, p. 569, 1991.

Lehtola, M.J., I.T. Miettinen, T. Vartiainen, T. Myllykangas, P.J. Martikainen, "Microbially available organic carbon, phosphorus, and microbial growth in ozonated drinking water," Water Research, 35(7), pp. 1635-1640, 2001.



結合臭氧氧化法及生物整治法降解通氣層機油污染物

Masten, S.J., S.H.R. Davies, “Efficacy of in-situ for the remediation of PAH contaminated soils,” *Journal of Contaminant Hydrology*, 28(4), pp. 327-335, 1997.

McCarty, J.J. and C.H. Smith, “A Review of Ozone and Application of Domestic Wastewater Treatment,” *J. AWWA*, 66(12), pp. 718-726, 1974.

Nam, K. and J.J. Kukor, “Combined ozonation and biodegradation for remediation of mixtures of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil,” *Biodegradation*, 11, pp. 1-9, 2000.

Nawrocki J. and B. Kasprzyk-Hordern, “The efficiency and mechanisms of catalytic ozonation,” *Applied Catalysis B: Environmental*, 99(1-2), pp.27-42, 2010.

Obayori O.S., S.A. Adebuseye, A.O. Adewale, G.O. Oyetibo, O.O. Oluyemi, R.A. Amokun, M.O. Ilori, “Differential degradation of crude oil (Bonny Light) by four *Pseudomonas* strains,” *J. Environ. Sci.*, pp. 243-248, 2009.

O'Mahony, M.A., A.D.W. Dobson, J.D. Barnes, I. Singleton, “The use of ozone in the remediation of polycyclic aromatic hydrocarbon contaminated soil,” *Chemosphere*, 63(2), pp. 307-314, 2006.

Prengle, H.W. and C.E. Mauk, “New technology ozone/UV chemical oxidation wastewater process for metal complex, organic species and disinfection,” *AIChE Sym.*, 74, 228, 1978.

Ramadass, K., M. Megharaj, K. Venkateswarlu and R. Naidu, “Bioavailability of weathered hydrocarbons in engine oil-contaminated soil: Impact of bioaugmentation mediated by *Pseudomonas* spp. On bioremediation,” *Science of The Total Environment*, Vol. 636, pp. 968-974, 2018.

Rehm, H.J., and I. Reiff, “Mechanism and occurrence of microbial oxidation of long-chain alkanes,” *Adv. Bioeng*, 24, pp. 1241-1269, 1981.

Rittman, B.E., A.J. Valocchi and E. Seagren, “A critical review of in-situ bioremediation,” *University of Illinois at Urbana-Champaign*, 1991.

Russo, L., L. Rizzo and V. Belgiorno, “Ozone oxidation and aerobic biodegradation with spent mushroom compost for detoxification and benzo(a)pyrene removal from contaminated soil,” *Chemosphere*, 87(6), pp. 595-601, 2012.



Sharma, B., A.K. Dangi, P. Shukla, “Contemporary enzyme based technologies for bioremediation: A review,” *Journal of Environmental Management*, Vol. 210, pp. 10-22, 2018.

Sutton, N. B., T. Grotenhuis, H.H.M. Rijnaarts, “Impact of organic carbon and nutrients mobilized during chemical oxidation on subsequent bioremediation of a diesel-contaminated soil,” *Chemosphere*, Vol. 97, pp. 64-70, 2014.

Turhan, K., I. Durukan, S.A. Ozturkcan, Z. Turgut, “Decolorization of textile basic dye in aqueous solution by ozone,” *Dyes and Pigments*, 92(3), pp. 897-901, 2012.

Van-Hamme, J.D., A. Singh and O.P. Ward, “Recent advances in petroleum microbiology: Microbiology and molecular biology reviews.” 67(4), pp. 503-549, 2003.

Vikhorev, A.A., A.M. Syroezhko, V.A. Proskuryakov, A.S. Yakovlev, “Oxidation of n-decane by ozone–air mixtures,” *J. Appl. Chem. USSR* 51, pp. 2448-2451, 1978.

Wilkinson, S., S. Nicklin, J.L. Faull, “Biodegradation of fuel oils and lubricants: Soil and water bioremediation options.” *Progress in Industrial Microbiology*, Vol. 36, pp. 69-100, 2002.

Zheng, M., W. Wang, M. Hayes, A. Nydell, M.A. Tarr, S.A. Van Bael, K. Papadopoulos, “Degradation of Macondo 252 oil by endophytic *Pseudomonas putida*,” *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 6(1), pp. 643-648, 2018.

郭釗成，「微生物降解及化學氧化土壤中潤滑油之探討」，國立屏東科技大學環境工程與科學系，2013。

張暉，紀錄，吳峰，鄭金秀，李小波，「蔥污染土壤的原位臭氧氧化法修復」，武漢大學環境科學與工程系，2003。

劉婉婷，郭書海，李鳳梅，李剛，徐燕，「重油污染土壤的臭氧預處理研究」，農業環境科學學報，2008。

洪瑞敏，「毒性污泥之呼吸儀毒性試驗研究」，朝陽科技大學，2003。

李冠賢，「氣泡式呼吸儀監測被動式生物通氣法中微生物活性之探討」，朝陽科技大學，2015。



結合臭氧氧化法及生物整治法降解通氣層機油污染物

史盟秀，「BTEX 在幾種台灣主要土壤中之吸附與降解」，國立屏東科技大學環境工程與科學系，2001。



**行政院環境保護署土壤及地下水污染整治基金管理會
土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案**

107 年度專案成果績效自評表

一、專案基本資料

填表日期：107 年 10 月 23 日

專案性質	☒ 實驗性質 ☐ 非實驗性質	專案類別	☒ 研究專案 ☐ 模場試驗
研究主題	☐ 調查 ☒ 整治 ☐ 其他		
申請機構系所	朝陽科技大學 環境工程與管理系	計畫主持人	劉敏信
專案名稱	結合臭氧氧化法與生物整治法降解通氣層機油污染物		
專案執行期程	☐ 申請階段 ☐ 期中 ☒ 期末		

二、成果績效自評

「計畫總預估數」應與計畫審查核定值相符，請執行單位依實際達成之量化成果填寫於「結案達成數」欄位中。（僅模場試驗類型專案需填寫工作進度達成數）

（一）學術面

項目\目標達成程度			申請 預估數	工作進 度達成 數	期中 達成數	期末 達成數	結案 達成率	備註 (說明未達成原因 或學術產出發 表名稱)
A 學 術 產 出 及 活 動	1.國內投稿 (篇數)	(1)論文	0		0	0		
		(2)研討會論文	1		0	1	100%	投稿兩岸年會
	2.國外投稿 (篇數)	(1)期刊論文	1		0	1	100%	投稿 2018 CESE
		(2)研討會論文	0		0	0		
	3.報告 (篇數)	(1)技術報告	0		0	0		
		(2)研究報告	1		1	1	100%	
	4.專著 (本數)		0		0	0		
	5.辦理學術 會議(場數)	(1)研討/說明會	0		0	0		
		(2)成果發表會	0		0	0		
		(3)論壇	0		0	0		
6.研發改良 技術(項數)	(1)已開發技術	0		0	0			
	(2)技術平台	0		0	0			
B 人 才 培 育	7.研發人員 (人數)	(1)碩士	3		3	3	100%	
		(2)博士	1		1	1	100%	
	8.研究團隊 (個數)	(1)跨領域團隊	0		0	0		
		(2)跨機構團隊	0		0	0		
		(3)形成研究中心	0		0	0		
		(4)形成實驗室	0		0	0		
9.其他指標 (請自行命名)		(請自填)						

（二）產業面



項目 \ 目標達成程度				申請 預估數	工作進 度達成 數	期中 達成數	期末 達成數	結案 達成率	備註 (說明未達成原因或專 利、技術轉移相關詳細資 料)
A 智慧財產權	1.專利 (件數)	已 核 准	發明	0		0	0		
			新型/設計	0		0	0		
			合計	0		0	0		
		申 請 中	發明	0		0	0		
			新型/設計	0		0	0		
			合計	0		0	0		
B 研發技術轉移	2.先期技術 成果移轉	件數		0		0	0		
		授權金(仟元)		0		0	0		
		衍生利益金(仟元)		0		0	0		
	3.技術移轉 (專利)	件數		0		0	0		
		授權金(仟元)		0		0	0		
		衍生利益金 (仟元)		0		0	0		
	4.技術移轉 (應用技 術)	件數		0		0	0		
		授權金(仟元)		0		0	0		
		衍生利益金(仟元)		0		0	0		
	5.可移轉 產業技術	(1)技術(件數)		1		1	1	100%	
		(2)品種/系(件數)		0		0	0		
C 產學研合作	6.促成合作 研究	件數		0		0	0		
		金額(仟元)		0		0	0		
	7.促成投資	件數		0		0	0		
		投資金額 (仟元)		0		0	0		
	8.促成取得 業界科專	件數		0		0	0		
		業界投資金額 (仟元)		0		0	0		
9.其他指標 (請自行命名)		(請自填)							



(三) 政策面

項目		目標達成程度	申請 預估 數	工作進 度達成 數	期中 達成數	期末 達成數	結案 達成率	備註 (說明未達成原因或 其他詳細資料)
A 服 務 便 民	1.技術服務	次數	0		0	0		
		收入(仟元)	0		0	0		
	2.諮詢服務	次數	0		0	0		
		收入(仟元)	0		0	0		
B 支 援 合 作	3.協助政府制定 (件數)	(1)政策	0		0	0		
		(2)法規	0		0	0		
		(3)規範	0		0	0		
		(4)標準	0		0	0		
D 社 會 效 益	4.獲得認證(件數)		0		0	0		
	5.獲得獎項(件數)		0		0	0		
	6.提升能源效率(%)		0		0	0		
	7.節能減碳效率(%)		0		0	0		
8.其他指標 (請自行命名)		(請自填)						



三、請依學術成就、技術創新、經濟效益、社會影響等方面，評估研究成果對現況或本署之學術或應用價值。（簡述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性，500字為限）

目前國內受油品污染場址大多以現地(In-situ)整治方式，而使用化學氧化及生物復育來整治受油品污染場址，為常見之技術。若將兩種技術單獨使用，在使用上都有其限制，使用液體氧化劑(如過氧化氫或過硫酸鹽溶液等)時，在添加注入時常會因優勢流或短流現象，造成接觸氧化反應的非均勻性，無法有效的完全去除油品污染物。若使用臭氧氣體氧化，則受限於其氧化能力，對於高濃度或難氧化的污染物則無法有效降解。而生物復育雖對環境較友善，但生物復育的缺點為整治過程緩慢，且不論以馴化原生微生物或添加碳氫化合物分解菌都需要適應期，在污染場址整治的應用上，耗時為一大問題。

根據國外文獻指出，透過兩種技術的結合，可以使土壤或水中的有機污染物，達到更良好的污染物降解成效。因此本研究將兩種技術結合，透過臭氧先將耐高溫、結構複雜且不易揮發的機油先行透過預臭氧(Pre-ozonation)的方式處理，使其分子可被臭氧分解成較小的分子，接著進行生物復育的步驟。本計畫將兩種技術結合，獲得最佳的臭氧曝氣時間和最佳可開始進行生物復育步驟的時間。在此整治列車的方法下，可降低臭氧劑量，避免造成過多的臭氧溢散到空氣中，造成環境上的二次污染，同時也可降低生物復育所需的時間，大大節省了臭氧使用上的成本及所耗費的時間。



行政院環境保護署土壤及地下水污染整治基金管理會

107 年度土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案

構想書審查意見表

專案類型	☒ 研究專案 ☐ 模場試驗		申請經費	1,494,900	NO : 16
專案主持人	劉敏信 副教授	專案主題	☒ 整治 ☐ 調查 ☐ 其它		
服務單位	朝陽科技大學 環境工程與管理系				
專案名稱	結合臭氧氧化法與生物整治法降解通氣層機油污染物				
審查意見			回覆說明		
委員一：					
1. 本技術若已成熟可申請模場？此設備是否能應用於一般加油站規模？			1. 感謝委員意見。本研究結合臭氧氧化及生物整治技術，雖然兩種技術已經成熟，但如何串聯成為整治列車，乃本年度研究的主要目的。未來研究成果將作為模場申請的先導試驗，對於一般加油站規模的整治工程將也可以應用。		
2. 評估地下水鮮少有機油，其技術發展之意義？			2. 由於機油的低溶解度，的確地下水中鮮少機油污染物，因此本試驗主要探討方向為通氣(土壤)層受機油污染之部分。		
3. 臭氧對生物降解之影響？			3. 感謝委員意見。據文獻指出，臭氧可將污染物先分解成較小的分子，且預臭氧可產生水溶性及含氧代謝物供微生物利用，因此透過兩種技術結合，預計可達到更良好的污染物降解效果。		
4. 本技術以臭氧處理後是否影響生物處理宜評估？			4. 感謝委員意見。據文獻指出，臭氧曝氣時可能產生出有毒的副產物，導致微生物受到毒性抑制作用，無法使生物降解效果達到最佳狀態，因此將評估以臭氧處理後是否影響生物處理。		



5. 建議直接以實際機油污染土壤進行試驗？另以目前試驗規劃為以前柴油但這次為機油是否合適？ 6. 宜評估機油場址在台灣是否多？具整治效應？建議直接以實際機油污染土壤直接試驗。	5. 感謝委員建議及意見。因目前尚未找出最適當的曝氣時間及最佳進行生物整治的步驟，因此本計畫先以人工配置之受機油污染土壤作為污染的目標物。103 年度與 104 年度計畫中，已曾利用好氧菌微生物將 25,000 mg/kg 柴油污染物降解至約 500 mg/kg 污染管制標準值(1,000 mg/kg) 以下，而本臭氧系統也已在 105 年度計畫中找出最佳的曝氣參數，因此本計畫將延用其參數做為曝氣之條件，並以更難降解的機油污染物作為研究標的。 6. 感謝委員建議及意見。工廠所使用的潤滑油亦為機油的一種，可能因人為的隨意傾倒或洩漏流入土壤中，且其不易揮發及耐高溫，對土壤環境有強烈的威脅。本研究會嘗試尋找實際機油污染土壤直接進行試驗，高雄的中殼污染場址為可能來源。
委員二：	
1. 本計畫為延續性計畫。 2. 本計畫所探討的對象為機油，實際污染場址的機油為商業產品，該產品中有一些添加物會限制油品的生物分解性，建議先加以評估(除了生產單位的原始機油污染場址之外)。 3. 本計畫所探討的工法為”離場”反應槽	1. 本計畫為 105 年度「臭氧注氣法處理飽和層及未飽和層柴油污染物試驗」之延伸，在 105 年度中以證實臭氧對柴油污染物有顯著的降解效果，因此本年度將以整治列車的概念加入生物復育法，降解更難處理的機油污染物，希望結合兩種技術，能達到更佳的降解成效。 2. 感謝委員提示與建議。本計畫將會先行評估欲使用之機油其組成成分，評估其成分是否會限制生物分解性。 3. 本計畫的臭氧氧化與生物復育反應槽及



式操作或是”現地”的實場操作？ 4. Ozone 與污染物之間的量化關係建議討論。 5. 經濟性與實務操作性建議討論。	系統乃是模擬現場污染以現地(In-situ)整治方式進行操作，因此執行的成效將可直接應用於實場現地整治工法中。 4. 感謝委員的建議。本試驗將會探討臭氧使用流率、數量與機油污染物降解之間的量化關係，以供未來作為參考的依據。 5. 感謝委員建議。本計畫將會找出最佳臭氧曝氣時間，以節省臭氧使用上的成本及減少微生物所需耗費的時間。在實務操作上是具可行的，本研究將兩種技術結合，的確能使污染物在實務操作上有更高的降解效果。
委員三：	
1. 臭氧對微生物是有危害性，當結合兩種方法，前者為化學處理方法，後者為生物處理方法，對無濃度污染物如何整合二者。 2. 前期研究成果，技術轉移與授權後之使用狀況如何？	1. 感謝委員意見。臭氧對於微生物確實具有危害性，但是根據先前計畫中的有機質測定結果中，臭氧並不會將有機質完全反應掉，另產生出有機物，後續引入系統的微生物應能將其攝取作為營養鹽，藉此生存而持續降解碳氫化合物。 2. 前期研究成果已提供污染場址整治公司作為參考，但目前台灣仍無法效法美國以臭氧方式作為化學氧化法的選項，相信本研究將增加國內廠商的信心，結合化學氧化及生物整治工法在經費節省之下，能更有效的降解石油碳氫化合物等污染物。



委員四：

- | | |
|---|---|
| <p>1. 本計畫結合臭氧氧化與生物整治方法，探討機油污染物之降解成效，其中不同階段之處理成效為何？預期達成之指標為何？</p> <p>2. 植入微生物 <i>Bacillus cereus</i> 於處理系統中，未來於實場應用時，該微生物是否仍能維持為優勢菌種？</p> <p>3. 臭氧對後續微生物處理，是否會降低其處理功效？另臭氧是否有殘留之影響，致使為生物處理功效降低？</p> | <p>1. 感謝委員意見。本計畫將會比較不同曝氣時間，接著進行生物整治步驟後之差異，並找出最佳臭氧氧化的曝氣時間以接著進行生物整治步驟，預期透過兩種技術的結合，可以使得污染物能夠達到更良好的降解率，並降低臭氧使用上的成本及減少微生物整治所需的時間。</p> <p>2. 感謝委員意見。本研究將於生物處理過程中，進行 PCR-DGGE 分析，判斷 <i>Bacillus cereus</i> 是否仍維持為優勢菌種，或者有其他降解石油碳氫化合物的微生物存在。</p> <p>3. 感謝委員意見。根據文獻指出，將兩種技術結合，在處理有機污染物上，皆可達到更良好的降解成效，因此需找出最佳的臭氧曝氣時間以接著進行生物整治的步驟。臭氧的半衰期短且容易自解成較穩定的狀態，所以可能殘留之微量臭氧對微生物影響應該不大。</p> |
|---|---|



環保署建議：

- | | |
|---|--|
| 1. 本計畫是否具商業化之價值? | 1. 感謝大署的意見。本計畫將可以降低臭氧在使用上的劑量及成本，評估最佳微生物投入之時間點，並且減少生物整治的時間，未來將於污染實場做為現場人員參考之依據。 |
| 2. 文獻顯示臭氧與微生物會互相干擾，本研究殘留之臭氧是否會影響微生物之生長? | 2. 感謝大署的意見。臭氧其半衰期短且容易自解成較穩定的狀態，所以殘留之臭氧相較液態的化學氧化藥劑，對微生物影響應該不大。 |



行政院環境保護署土壤及地下水污染整治基金管理會

107 年度土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案

計畫書審查意見表

專案主持人：劉敏信	服務單位：朝陽科技大學環境工程與管理系	研究類 05
專案名稱：結合臭氧氧化法與生物整治法降解通氣層機油污染物		
委員一：		
1. 國內單純受機油污染場址相當少，建議宜以實際受油品污染場址進行試驗。 2. 本研究過去已執行多年補助計畫建置相關研究基礎與設備，其人事及耗材明顯偏高建議調降。	1. 感謝委員建議。因機油在降解上比其它油品更具挑戰性，因此本研究選擇以機油污染場址土壤進行測試。 2. 謹依照委員的建議，在人事費及耗材費等部分的編列上調降。	
委員二：		
1. 主持人(執行團隊)的學術研究能力與技術發展能力足以勝任本計畫 2. 主持人(執行團隊)近五年研究與技術發展績效佳 3. 本專案對未來土壤及地下水污染調查及整治工作推動的貢獻仍待本計畫未來執行成果的呈現與說明。但以機油污染而言，本計畫(臭氧與生物降解)的實務應用性建議評估。機油不易被微生物所降解，即使被降解，大部分是容易降解的一小部分被微生物降解，相對分子量較大的大部分機油，並無法被降解。臭氧	1. 感謝委員肯定。本執行團隊將會持續精進其學術研究能量與技術發展能力執行本計畫。 2. 感謝委員肯定。本執行團隊將會持續進行研究，以發展出更優異之技術，供國內業者在實場改善工程上作為參考。 3. 感謝委員建議。本計畫之貢獻將會於未來執行成果時呈現與說明。若此試驗降解成效佳，將於明年申請模場試驗計畫。由於機油其碳數高，較不易分解，因此本計畫將會先使用臭氧氧化法，使相對分子量較大之機油成分，斷鏈成為分子量較小之物質，以利後續之微生物生解步驟得以進	



的 ISCO 後，微生物所需要的活性恢復時間建議評估，若不易恢復微生物活性則微生物添加的情境與時機，建議評估。是否以機油為研究對象也建議評估，(機油以生物法整治的成效與效益建議討論)	行。而預臭氧過後，將會進行土壤之 pH 值、ORP、導電度、元素分析等試驗，以評估土壤是否已回復到對微生物較無害之環境，若無法使土壤回復至原本性質，將會透過添加營養鹽等方式。因在國外結合兩種方法處理污染物成效皆有提高，因此本研究選擇更具挑戰性之機油作為目標污染物。
4. 本專案預估之成果績效主要為論文發表(研討會或期刊論文)	4. 感謝委員意見。本計畫之成果將不僅於研討會及期刊中發表論文，同時將本研究結果於下階段應用於實場，並將技術轉移給國內整治業者。
5. 本研究計畫書撰寫具體	5. 感謝委員肯定。本計畫將會依計畫書撰寫內容進行試驗。
6. 本研究計畫書所擬定的研究方法可行	6. 感謝委員支持。本研究將會依計畫書內研究方法進行試驗。
7. 本研究計畫書所擬定的研究內容與所預期的研究成果，對未來土壤或地下水污染場址調查整治(或評估)的實場應用性仍待說明(計畫書中對研究成果的實務應用性的說明仍不具體)	7. 感謝委員建議。本計畫將找出最佳試驗參數，且將兩種整治方法串連為整治列車，以提供相關數據給實場作為參考，並於明年度申請模場試驗計畫。
8. 本研究計畫書的文獻蒐集尚完整，對國內外本研究領域現況了解	8. 感謝委員肯定。本計畫將會持續蒐集國內外之相關文獻。
9. 本研究專案執行期限合理	9. 感謝委員支持。本計畫將於執行期限內進行試驗，以求出相關試驗參數。
10. 本研究計畫書中對研究的預期成果已說明，但對實務應用性的說明卻不具體	10. 感謝委員建議。本計畫將找出最佳試驗條件與參數，並於明年度申請模場試驗計



11. 本計畫為延續性計畫，因此，前期研究成果的說明應具體 12. 本研究計畫對預期成果的呈現說明以學術發表為主，對實務應用性的說明不具體 13. 本研究計畫已依原計畫構想書的審查意見修正	畫，冀望在實務應用性上能夠更為具體。 11. 感謝委員建議。在 105 年度「臭氧注氣法處理飽和層及未飽和層柴油污染物試驗」中，空氣流量設定為 10 L/min 時，可得到最佳化臭氧產率 2,888 mg/min，若將柴油污染物濃度設定為飽和層 300 mg/L、未飽和層 24,200 mg/kg，進行試驗時，於飽和層臭氧注氣進行 1 批次 1 小時柴油降解率可達 98%，於未飽和層臭氧注氣進行 15 批次各 1 小時柴油降解率即可達 70%。研究結果亦顯示每批次以注氣 1 小時為最佳操作時間。 12. 感謝委員建議。本研究將先行進行實驗室規模之試驗，未來研究成果將可於明年度提出模場試驗計畫。 13. 感謝委員肯定。本計畫將會遵照各委員建議，修改計畫書內容，使計畫書內容更加完善。
委員三：	
1. 自評績效中有列產業面之可移轉產業技術 1 件，應於計畫內說明，可移轉技術之名稱項目，以及可能之對象。	1. 感謝委員建議。本計畫可移轉技術之名稱項目為以臭氧為氧化劑的 ISCO 技術，並結合生物整治工法成為整治列車概念，並可於未來應用於實際柴油及機油等油品污染物場址。



委員四：

- | | |
|---|--|
| <p>1. 計畫書中對於生物降解試驗之規劃說明，僅以呼吸儀系統說明，並未規劃詳細之試驗，應予以修正與補充。</p> <p>2. 有關土壤模場之建立系統，似乎並未說明試驗模擬之條件或實施方法，無法確認本計畫之執行方式。</p> <p>3. 對於臭氧氧化與生物整治方法，對於機油污染之處理成效，應有預期達成之量化指標。</p> <p>4. 計畫中對於通氣層之模擬條件，應有詳細之規劃與說明，以利未來實場之應用。</p> | <p>1. 感謝委員建議。本計畫生物降解試驗部分，會先將預臭氧過後之土壤，進行元素分析，以將 C/N/P 比調整為 100:10:1，並控制其含水率在 6 至 10%，提供微生物最佳生長環境。由於微生物降解成效較慢，因此本研究擬定生物呼吸儀進行期程為每週一批次進行土壤採樣，之後再進行生物呼吸試驗為期五日，已於 p. 25 中補充說明。</p> <p>2. 感謝委員建議。本計畫土壤模場之建立系統中，將空氣流量設定為 10 L/min 時，可得到最佳化臭氧產率 2,888 mg/min，將上述條件之臭氧通入實驗室規模之模廠內，進行預臭氧試驗，並定期取出經預臭氧過後之土壤，搭配呼吸儀進行生物降解試驗，已於 p. 25 補充說明。</p> <p>3. 感謝委員建議。本計畫將透過兩種技術的整合，預期可將受機油污染之土壤，降解至土壤管制標準 1,000 mg/kg 以下。</p> <p>4. 感謝委員建議。本計畫中通氣層之模擬條件，將測其土壤孔隙率或土壤容積密度(Bulk Density)，以利未來實場之應用參考。</p> |
|---|--|



本署意見：	
1. 經費編列合理。	1. 感謝大署支持。本計畫以參照核定經費調整修改人事費及耗材費等部分。
2. 請將審查意見表置於計畫書首頁後。	2. 感謝大署建議。已將審查意見表置於計畫書首頁後。



行政院環境保護署「土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案」

☐申請計畫書 ☒期中報告 ☐修正計畫書 ☐期末報告 **審查意見回覆對照表**

計畫年度	107 年度	計畫類型	☒ 研究計畫 ☐ 模場試驗
計畫類別	☐ 調查 ☒ 整治 ☐ 其他		主持人：劉敏信
計畫名稱	結合臭氧氧化法與生物整治法降解通氣層機油污染物		
委員審查意見		計畫單位回覆	
委員一		委員一	
1. 期中報告對計畫執行現況、流程及方法已具體說明。		1. 感謝委員肯定。本計畫將會持續進行試驗，探討更多數據及結果。	
2. 本計畫無自籌款。		2. 本計畫由環保署全額補助。	
3. 期中報告對本計畫後續執行工作項目已說明（p. 47 & 48）。		3. 感謝委員肯定。本計畫將會執行並完成後續工作項目。	
4. 計畫執行進度與預定進度相符，並未落後。		4. 感謝委員肯定。本計畫將會持續進行試驗，探討更多數據及結果。	
5. 期中報告顯示計畫研究內容與原計畫目的相符。		5. 感謝委員肯定。本計畫會持續進行試驗，達成計畫目的。	
6. 期中報告的初步成果顯示，依據原計畫設計與初步成果所提出之討論與建議合理。		6. 感謝委員肯定。本研究所探討出之初步結果及數據可望供實場做為參考依據。	
(1) 臭氧的 NOD（NOM）建議討論。		(1) 感謝委員建議。本計畫將會討論臭氧的 natural oxidant demand 及 natural organic material。	
(2) 臭氧的 NOD（NOM）與傳輸距離之間的關係？建議討論（土壤有機質與臭氧有效劑量（足以氧化污染物）之間的關係於工程實務應用上相對重要）。		(2) 感謝委員建議。本計畫將於距離臭氧注氣井篩 5 cm、15 cm 及 30 cm 處進行採樣，進行 NOD(NOM)之試驗，探討臭氧傳輸距離及 NOD(NOM)之關係。	
(3) 臭氧有其相對氧化極限，但臭氧無法氧化的部分卻可以由微生物降解，就		(3) 感謝委員建議。結合臭氧氧化法與生物復育法是旨在增加生物可行性。單	



氧化與生物降解而言，此部分不易評估，建議討論此差異是因為物理質傳、化學氧化(氧化力)或生物分解的結果？此三者之間的關係建議討論(因為臭氧無法持續氧化降解的殘餘污染物，卻可以被微生物分解？建議討論此特性)。

獨利用生物復育法進行降解試驗只將初始濃度約為 12,000 mg/kg 之機油污染土壤降解至約 4,600mg/kg，顯示機油污染物中有無法單純只靠生物復育即可降解之物質。而進行臭氧注氣試驗時可看出前 6 批次有顯著的效果，但仍未低於法規標準，而持續進行臭氧注氣試驗至第12批次時可將機油污染濃度降解至法規標準以下，但已無前 6 批次有如此顯著效果，顯示了臭氧在後續的浪費及成效不彰，因此本試驗將第 6 批次定為臭氧的降解極限。後續透過生物復育的方法來降低成本，並增加生物可行性。

(4) 本試驗是以含砂量將近 90%的砂質土為試驗對象，宜特別說明。

(4) 感謝委員建議。本試驗為自行調配之機油污染土壤，土壤來源為某砂石場，利用鮑氏比重法進行質地分析，其土壤性質為壤質沙土。相較於其他質地之土壤有較好的通氣性，有利於臭氧注氣試驗及生物復育的進行。若土壤有黏粒特性，將需要進行土壤改質，增加孔隙率與透氣性。

7. 期中報告的初步成果顯示，目前的研究成果符合原計畫書所預期的成果。

7. 感謝委員肯定。本計畫將持續進行試驗，以探討更多數據及結果。

8. 期中報告的初步成果顯示，本計畫已有初步研究成果，報告中說明已有三位碩士研究生助理參與試驗，培育土水整治相關人才。

8. 感謝委員肯定。本研究團隊將會持續培育土水整治相關人才，為土水界貢獻相關知識並未來應用於實場上。

9. 期中報告已有初步成果，本成果是否可獲得專利或技術轉移，尚待未來期末報告中說明。

9. 感謝委員建議。專利或技術轉移之部分將於期末報告時較明朗並說明。

10. 期中報告已有初步成果，本研究可提升國內土壤與地下水污染整治技術與應用，符合政策。也可提升國內土水

10. 感謝委員肯定。本計畫將會持續進行試驗，以提供更多數據及結果供實場



整治事業的發展，對社會經濟發展有助益。	作為參考，提升國內土水整治事業及社會經濟的發展。
委員二 1. 對於機油分解或生物降解之產物，應規劃進行檢測分析，以利釐清反應機制與成效。 2. 請比較說明計畫所得之成果，每 1mg 之臭氧可降解 0.26mg 機油，係有較佳之處理功效，抑或是仍有加強之空間？ 3. 請補充說明生物整治方法後，對機油降解之貢獻成效為何？	委員二 1. 感謝委員建議。本計畫由於分析儀器能力有限，因此透過參閱文獻來了解油品分解或生物降解時之產物。根據文獻指出利用臭氧降解有機物時會產生醇、醛、酮等物質，而生物降解的部分則可能產生極性物質 (N-heterocyclic、O-heterocyclic、S-heterocyclic) 等。 2. 感謝委員建議。根據文獻指出含水率為臭氧注氣試驗的重要考量，適當的水份可提升臭氧的降解成效，但過高的含水率則會阻擋臭氧於土壤孔隙間傳遞的效率，進而降低臭氧降解成效。後續將進行水份影響因子的探討。 3. 感謝委員建議。單獨利用生物整治法只將初始濃度約為 12,000 mg/kg 之機油污染土壤降解至約 4,600mg/kg，而透過臭氧氧化法及生物復育法的結合則將機油污染濃度降至法規標準以下，顯示了臭氧增加了後續微生物的生物可行性。
委員三 1. 報告之錯別字仍多，宜加強校稿以提升品質，舉例而言，表 3.1 將” Crude oil” 誤植為” Curde oil”，即為明顯錯誤。 2. 圖 5-7 至 5-12 所列縱坐標 oxygen uptake 之單位為 mg，是否正確？是否	委員三 1. 感謝委員提醒。爾後將會更加注意用字的正確性，並使用文書軟體校訂，提升計畫書品質。 2. 感謝委員建議。圖 5-7 至 5-12 所列縱坐標 oxygen uptake 之單位為 mg 無



以 mg/kg 表示會更為恰當?請說明之。 3. 試驗結果顯示每 1 mg 臭氧可降解 0.26 mg 之機油污染物，數據是否合理?建議計算降解每毫克機油污染物所需之理論臭氧需求量，並與所得結果做比較。	誤，代表整段氣泡式呼吸儀試驗期間，設定其記錄時間所得到之攝氧量。 3. 感謝委員建議。關於 1 mg 臭氧可降解 0.26 mg 之機油污染物是由此次試驗結果計算所得，數據應屬合理。將於爾後試驗中加入土壤有機質之相關參數，求出自然臭氧(氧化劑)需求量並與先前結果做比較。
委員四 1. 配製油品污染土壤宜考量配制不同風化時間之老化土壤作為土壤樣品。 2. 建議宜對臭氧處理後土壤分析總菌數及評估之菌相穩定週期性；以利臭氧處理後微生物境況。 3. 宜由目前試驗評估模場放大或實場操作限制評估之。	委員四 1. 感謝委員建議。本計畫先自行製備機油污染土壤以求其效果性，而風化及老化土壤在整治上非常具有挑戰性，爾後可嘗試並探討其降解成效。 2. 感謝委員建議。本計畫已開始進行新的模場試驗，並於臭氧注氣試驗中加入測定土壤總菌落數，評估整個經臭氧處理過後土壤的菌群數量。 3. 感謝委員建議。本計畫已於新的模場試驗中，監測其臭氧尾氣之情形，並透過測定總菌落數及 ATP 來觀測經臭氧注氣過後之土壤中微生物存活之情況。
委員五 1. 進度符合規劃。 2. 模槽反映之臭氧注入深度為何？能否估計其逸散速率及真正用於機油降解之比率？以利於實場應用性評估。	委員五 1. 感謝委員肯定。本計畫將持續進行試驗，以提供更多數據及結果。 2. 感謝委員建議。其臭氧試驗模場深度及寬度分別約為 60 cm 及 57 cm 左右，利用 50 kg 之機油污染土壤建立模場時，其機油污染土壤高度約為 15 cm，曝氣井篩的開篩長度則隨著土壤高度而定。本計畫已於新的模場進行臭氧尾氣試驗，探討有多少臭氧量於模場內未完全反應而排出。



委員六

可考慮以質量平衡方式(如氣相或液相)，確認土壤濃度變化是相轉移或確實改善成效，以驗證本計畫之成效。

委員六

感謝委員建議。本計畫經由 GC/FID 計算其機油污染濃度，經計算結果顯示機油濃度的下降。於新的模場中將會探討土壤有機質的變化，觀察試驗過後其土壤有機質是否下降。由於機油的揮發性極低，轉移至氣相的可能性相對也極低。

專案主持人： 劉敏信 (簽名及蓋章)



行政院環境保護署「土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案」

☐申請計畫書 ☐期中報告
☐修正計畫書 ☒期末報告

審查意見回覆對照表

計畫年度	107 年度	計畫類型	☒ 研究計畫 ☐ 模場試驗
計畫類別	☐ 調查 ☒ 整治 ☐ 其他		主持人：劉敏信
計畫名稱	結合臭氧氧化法與生物整治法降解通氣層機油污染物		
委員審查意見		計畫單位回覆	
委員一		委員一	
11. 期末報告對研究計畫的執行現況、流程及方法說明具體完整。		1. 感謝委員肯定。本研究已完整說明執行現況及方法。	
12. 計畫後續執行工作項目及內容已於報告書中 P.60 說明，並已提出相關建議。		2. 感謝委員肯定。希望本研究所提供之建議對於實場之整治可作為重要參考。	
13. 計畫執行進度與預定進度大致相符，計畫執行進度並無落後。		3. 感謝委員肯定。本研究已於計畫執行期間完成預期之研究內容。	
14. 期末報告所說明的研究內容與原計畫目的大致相符。		4. 感謝委員肯定。本團隊之研究內容已依循原計畫之目的並達成。	
15. 根據期末報告內容所提出之討論與建議合理，但是否能具體的應用於整治工程實務上仍待進一步說明討論。操作上所需控制的參數建議討論。		5. 感謝委員建議。應用於整治工程實務上的確有較高之難度，但根據眾多文獻及本研究結果皆指出結合兩種整治工法確實可提升機油降解率。而所需控制之參數需再進一步討論，但本研究所使用之參數已有良好之研究成果，希望可供實場應用上作為參考。	
16. 期末報告所說明的整體研究成果符合預期，但工程實務的應用性(與應用對象)仍待說明討論。臭氧劑量建議檢討，即單位臭氧所能削減的污染物量，或是削減單位污染物所需提供的臭氧量，建議評估。臭氧傳輸成效也建議評估。		6. 感謝委員建議。本計畫所研究之污染對象為高碳數之機油，以機油為研究對象已有良好之成效，相信應用於較低碳數之柴油或汽油等，亦可有良好之降解效果。本研究臭氧注氣量扣除臭氧尾氣可計算出每單位臭氧可降解之機油量為 0.2 mg 機油/mg O ₃ ，而本研究臭氧模場之採樣點為離注氣井篩 5 cm、15 cm 及 30 cm 並以此做分析，結果顯示各採樣點之機油濃度皆有下降之趨勢，藉此評估本研究之臭氧條	



17. 本研究計畫的學術產出及活動、人才培育符合預期。 18. 本計畫的研發成果在獲得專利、技術轉移…等仍待持續評估。 19. 本計畫對國內土壤地下水污染領域的發展有所助益。	7. 件於模場中有良好之傳輸。 8. 感謝委員肯定。本團隊將持續培訓相關人才，並持續進行學術產出及研究。 9. 感謝委員建議。本研究已投稿 2018 CESE 之國際研討會並指定轉投期刊，以及海峽兩岸研討會。 10. 感謝委員肯定。希望本研究之研究成果可應用於實場，並於實場上有其參考價值。
委員二 1. 期中報告審查意見及回覆情形應明列於期末報告。 2. 圖 5-10 - 5-13 所列之 Blank 所指為何？為何其數值會隨時間而有劇烈之變動？ 3. 結合臭氧氧化法與生物整治法降解通氣層機油污染物之系統耗能為何？去除單位質量機油污染物之成本為何？與既有處理技術相比是否具競爭力？應於報告中務實評估。	委員二 1. 感謝委員提點，已將期中報告審查意見及回覆置於期末報告中。 2. 感謝委員建議。圖 5-10 至 5-13 之 Blank 組為未臭氣注氣也未進行生物復育之組別，而有劇烈變動推估為採樣過程中受到菌種 <i>Pseudomonas putida</i> 之影響，因此產生此現象發生，爾後會再更注意其相關細節。 3. 感謝委員建議。本研究其主要耗能為臭氣之使用，相對於生物復育確實有較高之耗能，但透過結合兩種技術可將臭氣之使用量降低，並達到較佳之成效。其成本尚需評估，但對比單純使用化學氧化法進行降解，其兩種技術之結合確實可節省成本，因可降低所使用之臭氣量。此技術與既有之技術相比是具有競爭力的，透過臭氣可節省整治時間，而透過生物復育則可降低成本，並節省臭氣使用量，並於研究成果中顯示其有更佳之降解率。



委員三 4. 請補充期中報告之審查意見及回覆辦理情形，以利瞭解本計畫之修正與執行成果。 5. 研究成果中對於微生物優勢菌種的相關討論較少，建議應有更具體之分析與討論。 6. 本計畫對於臭氣氧化與生物復育法降解機油污染物之相關成果，是否有最佳化之操作或建議條件？後續 scale-up 之具體建議為何？ 7. 高土壤含水率將不利於臭氣氧化之進行，然而，若是控制在低土壤含水率之條件，是否亦會影響後續生物復育技術之操作？請具體說明操作之最佳化範圍為何？	委員三 1. 感謝委員提點，已將期中報告審查意見及回覆置於期末報告中。 2. 感謝委員建議。其最初利用 PCR-DGGE 之目的為用於觀察生物復育結束後，<i>Pseudomonas putida</i> 是否為優勢菌種且仍可於土壤中發現其蹤跡，經分離條帶之相對位置顯示經生物復育過後之土壤，仍可發現植入菌種 <i>Pseudomonas putida</i> 之蹤跡。 3. 感謝委員建議。其最佳化條件為臭氣注氣於低含水率之土壤，於第 6 批次即可進行生物復育之步驟，而注氣於高含水率之土壤則需延長臭氣曝氣時間，以提升後續生物復育之降解效率。後續 scale-up 之具體建議為利用臭氣降解時需考量其含水率，假使土壤含水率過高，則需降低其含水率，以增加臭氣降解效率並提升後續生物復育之效果。 4. 感謝委員建議。若控制在低土壤含水率之條件下，其臭氣較可與污染物做接觸，而未反應完全之臭氣可還原為氧氣以提升土壤氧氣濃度，對生物復育有正向之影響，並不會影響後續生物復育之操作。其最佳化條件為降低土壤含水率，以利後續生物復育之進行。
委員四 1. 臭氣注氣 2 天後脫菌數上升，即可植菌作復育，宜有較多詳細分析作佐證以利論述。 2. 對低含水率能獲得較佳臭氣降解率，宜對實際場址運用提出建議最佳條件	委員四 1. 感謝委員建議。總菌落數為環境中常見之菌數分析方法。此方法雖較耗時，但其優點可準確判斷土壤中活菌數，於結果中顯示菌落數於第二天已有明顯上升，因此判斷第二天已無臭氣殘留。 2. 感謝委員建議。建議可對實場之土壤進行含水率之檢測，假使含水率過高



或解決方式。 3. 臭氧注氣後，除含水率影響催化效應，是否亦受質地、油品影響可補述說明。	則需風乾土壤或增加臭氧注氣時間。 3. 感謝委員建議。土壤質地亦會影響臭氧傳輸，其黏土等粒徑較小之土壤由於其孔隙較小，較不利於臭氧傳輸。而油品之部分其低碳數之油品由於其鏈長較短，因此較不用通入大量臭氧用於破壞其鏈結即可達到降解之目的。
委員五 1. 進度符合期末報告規劃。 2. 請補充期中審查意見回覆表。 3. 低土壤含水率 1% 的情況通氣層受機油污染的臭氧降解效率，較高含水率 15% 土壤的佳，代表以氣態臭氧降解機油的成效較好，但後續期待的生物降解貢獻有限，雖評估微生物於預臭氧過後之土壤中有較佳的攝氧情形，但試驗後期累積攝氧量降低，應考慮添加碳源的必要性，及機油完全礦化的比率。 4. 臭氧注入的土壤中，不同的含水率、有機物及微生物含量/種類等，均會造成不同程度的臭氧消耗，應提出現地應用本方法時，臭氧劑量、通入深度、時間、頻率等的調校依據，以提升實際應用性。	委員五 1. 感謝委員肯定。本計畫已完成期末報告之規劃。 2. 感謝委員提點，已將期中報告審查意見及回覆置於期末報告中。 3. 感謝委員建議。本試驗將會持續觀察高含水率 15% 土壤之後續生物復育情形，並視狀況額外添加葡萄糖等碳源或其他營養元素等。 4. 感謝委員建議。本研究臭氧模場之微生物含量為 1.8×10^5 CFU/g，而臭氧條件於先前之研究中得知臭氧流量為 10 L/min 有最佳之臭氧濃度為 289 mg/L，利用此參數注氣於本研究高度為 60 cm 之臭氧模場中，已有降解成效。而決定批次式臭氧注氣時間已於 105 年度計畫中，係以利用現地場址風化柴油做為決定批次式注氣時間之依據，於第 60 分鐘時將現地風化柴油降解至法規標準以下。
委員六 1. 5.6 節商業化模組成本分析除需考量材料費外，建議應將後續操作維護及耗材更換等費用納入考量，並與其他尾氣處理方法(如活性碳吸附法等)比	委員六 1. 感謝委員建議。本計畫所使用之臭氧設備，其內部之石英電極管為較須注意之部分，其放電並使氧氣成為臭氧，因此須定期保養，以維持臭氧濃



較，以更為務實的探討本研究成果於實場應用之可行性與優勢。	度等。而尾氣處理方式的確可藉由活性碳吸附達到去除效果，並達到低成本的效益。
2. 圖 5.4、5.5 之皆以去除率作為 Y 軸，與圖 5.6~5.14(Y 軸為降解效率)之表示方法不同，建議應統一圖表之呈現方式。	2. 感謝委員建議。圖 5-4 及 5-5 為臭氧降解機油成效，係以機油殘餘濃度及機油相對殘餘濃度做表示，而圖 5-6 至 5-14 為其他相關試驗，因此 Y 軸以不同方式呈現。
3. 由圖 5.13 之 Y 軸數值似有錯誤(應為 20、40、60...)，請再確認。	3. 感謝委員建議。圖 5-13 為生物復育之機油相對殘餘濃度，本研究利用(機油殘餘濃度/機油初始濃度)做為呈現，藉以比較不同批次之生物復育試驗效率。
4. 本計畫除因故未能執行實場試驗外，相關執行成果已大致符合第二章所提之研究目的，建議後續可持續辦理實場試驗，確認商業化模組之實際效能，以利本尾氣處理技術的推廣與應用	4. 感謝委員肯定。本團隊希望將此技術應用於實際油品污染之場址上，並實際評估其技術之實際效益，望能成功應用於實場上。