



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

以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物 整治技術試驗計畫

期末報告(第一年定稿本)

主辦單位： 行政院環境保護署
專案執行單位：國立高雄師範大學／生物科技系(所)
專案主持人：陳士賢 教授
專案執行期間：2018 年 01 月 10 日起至
2019 年 11 月 30 日止

中 華 民 國 107 年 12 月 印製





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：陳士賢
計畫名稱	以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物整治技術試驗計畫		
委員審查意見		計畫單位回覆	
委員一 - 高溶氧水在砂箱試驗及開放或密閉條件下之溶氧濃度確實會明顯減少，此結果如何應用於模場試驗？如何改善？是否有必要？ - 建議污染場址之土壤特性與地下水文相關資料，此對於未來實場評估，如土壤質地、土壤孔隙率在剖面之分佈與地下水位變動等。 - 高溶氧水在現地模場試驗在過去 2 個月之成效並先評估生物降解之效益？在多氣泡條件下配合土壤質地分佈是否有效？是否有必要連續注入或更好的調整？ 委員二 - 期末報告對研究計畫的執行現況、研究流程及方法說明具體完整。 - 計畫後續執行工作項目及內容已於報告書中第 59 頁說明（第二年度），並已提出相關建議。 - 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。 - 期末報告所說明的研究內容與原計畫目的大致相符。 - 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		委員一 - 誠然砂相試驗之水文地質條件與污染場址不同，但了解高溶氧水在砂箱孔隙介質中傳輸，分別在開放系統或密閉系統條件下之溶氧濃度，對應時間期程之溶氧減少情形，有助於模場操作時，提供作為現場高溶氧水遞送至地下環境之參考依據。模場試驗中將透過操作參數之調整以獲得較佳之溶氧濃度。 - 感謝建議，本污染場址之土壤特性與地下水文相關資料、土壤質地、土壤孔隙率在剖面之分佈與地下水位變動等將參考場址控制計畫書及量測後補充於後續報告中。 - 模場試驗於九月開始進行，高溶氧水初期規劃採用連續注入八小時，同步於鄰近監測井監測地下水溶氧以了解高溶氧水其傳輸成效，對於採用較長灌注時間或間歇性注入方式目前仍透過操作，在嘗試評估中。灌注前之微生物菌相已進行分析作為灌注後之微生物菌相比較。 委員二 - 敬悉。 - 敬悉。 - 感謝肯定。 - 敬悉。 - 模場試驗於九月開始進行，高溶氧水初期規劃採用連續注入八小時，同步於鄰近監測井監測地下水溶氧，以了解高溶氧水其傳輸成	



上，仍待本年度模場試驗結果的進一步說明討論。 6. 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。其中的關鍵是「必要性」仍待說明，例如：提高溶氧至過飽和的目的為何？降低氣泡粒徑以利於傳輸的驗證...等，建議討論。 7. 本研究計畫的學術產出及活動、人才培育符合預期。 8. 本計畫的研發成果在獲得專利、技術轉移...等仍待持續評估。 9. 本計畫對國內土壤地下水污染領域的研究發展有所助益。	效，對於後續是否採用較長灌注時間、或間歇性注入方式、或多井灌注以單井抽除以提高影響半徑，目前仍在試驗評估中。 6. 工程實務的應用性須待本年度模場試驗進行中參數及操作條件修正後，視結果進一步討論。提高溶氧至過飽和濃度目的為希望在高溶氧地下孔隙環境中，刺激好氧性微生物生長以協助分解本場址之目標污染物(苯、甲苯、乙苯)，而降低氣泡粒徑係希望溶氧可以在地下水環境中維持較高濃度及較久時間。俟模場試驗具體結果會加以討論。 7. 感謝肯定。 8. 研發成果、專利、技術轉移將俟模場試驗具體結果以評估其方式。 9. 工程實務的應用性及技術移轉將視本年度模場試驗結果，進一步說明討論。
委員三 1. 自評表請更正為 107 年度專案成果。 2. 第 22 頁圖 3-4 有關模場試驗預定執行位置，請標示清楚。 3. 現場之地質水條件不同，且土壤粒徑不同，高溶氧水維持能力是否有測試與實驗室相同。 4. 簡報資料 9 月地下水監測資料中，乙苯濃度很高，到 11 月地下水監測結果乙苯濃度降低很多，建議討論有效降低的相關因素貢獻情形。	委員三 1. 已更正自評表。 2. 已標示圖 3-4 模場試驗執行位置示意圖中，藍色區域為模場試驗區域。圖 4-5 亦註記模場試驗區域 3. 模場試驗於九月開始進行，高溶氧水初期規劃採用連續注入八小時，同步於鄰近監測井監測地下水溶氧，以了解高溶氧水其傳輸成效，對於後續採用較長灌注時間、或間歇性注入方式、或多井灌注以單井抽除以提高影響半徑，目前仍在試驗評估中，以求得最佳操作模式。 4. 模場區域中目標污染物仍甚高，9 月地下水監測資料中乙苯濃度超過其飽和溶解度顯示污染場址仍具有殘留相存在，11 月地下水監測結果乙苯濃度降低很多，據推測並非整治成效而是地下水採樣時沒有採樣到乙苯殘留相，將持續觀察目標污染物濃度之變化。
委員四 1. 建議補充奈米氣泡的大小檢測數據。	委員四 1. 奈米氣泡大小之量測需倚賴儀器，如顆粒追蹤分析(particle tracking analysis method)、電阻測定方法(electrical resistance method)、雷射分散式散射法(laser diffraction scattering method)或動態光散射粒徑分析，執行團隊目前並無相關儀器，正接洽可提供分析單



2. 奈米氣泡溶氧試驗是否使用純氧。 3. 建議補充圖 2-2 實測實驗的條件。 4. 建議補充說明奈米氣泡在環境中可以維持的時間。 5. 本研究以溶氧為指標，監測奈米氣泡水的流布情況。建議補充說明兩者之間的相關性。 6. 圖 3-2：管柱實驗的條件對於氧溶解量，以及現場整治時的條件的氧溶解量可能不同，建議考量兩者之間的差異性。 7. 本研究所使用之高濃度氣體溶解裝置之水之飽和溶氧量最高可達 55.3mg/L，而氧的飽和濃度為 9.03mg/L。請補充說明達到此高濃度氧的產生機制。 8. 建議未來可以針對不同深度之地下水溶氧量進行偵測。 9. 建議未來可以探討高溶氧量對於土壤中菌種之影響。	位，目前雖未直接量測奈米氣泡的大小，但本計畫量測水中溶氧濃度，畢竟將產生高溶氧水並將其有效地送至污染區塊才是本計畫訴求。 2. 奈米氣泡溶氧試驗使用純氧 3. 圖 2-2 為先導試驗的溶氧提升能力測試，經過 30 分鐘的曝氣與水循環，可將 250L 自來水中的溶氧從 7.3 mg/L 提升至 20 mg/L，經過 5 天的靜置，曝氣後的自來水溶氧仍然可以維持 11 mg/L。 4. 4.3.2 節管柱實驗顯示高溶氧水在水平及垂直管柱中傳輸會造成溶氧損失，注入水經滯留時間 24 hr 後所偵測到的溶氧值分別為 10.8 mg/L 及 9.38 mg/L，在前二十四小時溶氧劇烈減少，從 27 mg/L 降至 9-10 mg/L，但此後溶氧減少就趨於和緩，滯留時間 120 hr 後水平及垂直管柱中所偵測的溶氧值分別為 8.26 及 8.54 mg/L。砂箱實驗顯示注水點溶氧值為 40.2 mg/L，經 16 天後注水點溶氧降至 7.83 mg/L，末端監測點溶氧值為 17.2 mg/L，經 16 天後溶氧降至 6.72 mg/L。實場溶氧之傳輸有效性及滯留時間正進行評估中。 5. 本研究以溶氧為指標，奈米氣泡水的流布情況將透過各監測井溶氧測定對照場址地下水溶氧以進行了解。 6. 管柱實驗就尺度及規模和實場不同，僅提供溶氧變化之基線資料。 7. 本計畫使用之小型奈米氣泡產生機，其高濃度氧的產生機制係生產者專利，微米氣泡或奈米氣泡的生成為多孔性薄膜產生方式，如圖 2-1 所示，依據原廠提供的資訊及實際操作，該設備可以利用氧氣鋼瓶在短時間內產生超高濃度的溶氧。 8. 感謝建議，將納入規劃不同深度之地下水溶氧量進行偵測。 9. 高溶氧量對於土壤中菌種之影響，將進行菌相分析。
--	---



委員五

1. 污染場址之高氧水注入量、灌入深度等請補充說明，並確認污染物濃度下降是因為高生物活性降解，還是注入水稀釋揮發所造成。
2. 以目前小尺度的實驗成果，建議估計實廠操作之灌注條件及有效半徑，及現地使用為點批次灌注的效益。
3. 水質參數測出 EC 為負值的意義？

土污基管會

1. 建議將第四章標題改為「執行方法與成果」，第五章改為「結論與未來工作重點」較為合適。

委員五

1. 模場試驗方啟動一個月，對於採用較長灌注時間或間歇性注入方式目前仍透過操作，在嘗試評估中，污染場址之高氧水注入量、灌入深度將視操作條件穩定執行後紀錄及呈現於後續報告中，同時污染物濃度下降是因為高生物活性降解，還是注入水稀釋揮發所造成，灌注前之微生物菌相已進行分析作為灌注後之微生物菌相比較，將持續觀察。
2. 匯集模場試驗成果後將建議實廠操作之灌注方式、條件及有效半徑，及進行效益評估。
3. 表 4-11 中地下水監測顯示 5 個採樣點之地下水水位為 2.07—2.33 米，而而 EC 之測值則為 435—909 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 。

土污基管會

1. 感謝建議已修正



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：陳士賢
計畫名稱	以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物整治技術試驗計畫		
委員審查意見		計畫單位回覆	
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。 2. 本計畫無自籌款。 3. 期中報告對本計畫後續執行工作項目已說明 (p. 45)。 4. 計畫執行進度與預定進度相符，並未落後。 5. 期中報告顯示計畫研究內容與原計畫目的相符。 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。 (1) 過飽和溶氧是否易有氣泡生成(以氣體型態逸散致浪費了溶氧?) (微細氣泡反而可能阻塞地下水移動?)? 表 4.9，前一週，幾乎均處於過飽和 (DO 與所處深度的關係? 不同深度的壓力下的 DO?)。 (2) 管柱試驗的侷限環境與實務上開放環境對 DO 遞減速率(影響傳輸距離)是否一致? 建議討論。		1. 感謝委員肯定。 2. 敬悉。 3. 敬悉。 4. 敬悉。 5. 敬悉。 6. 感謝委員肯定。 (1) 高溶氧生成機在產生高溶氧水時，依據現場操作觀察奈米氣泡其尺寸甚小，且會快速溶於水中，因土壤孔隙較奈米氣泡尺寸為大，因此在現階段實驗室管柱實驗中，並無阻塞地下水移動情形，未來在實場操作上，將持續觀察是否會造成對地下水流場改變之潛勢。表 4.9 顯示為對照實驗，其設計為了解水中高溶氧分別在開放與密閉環境條件下衰減情形，水中高溶氧 35-40 mg/L 在 48 小時減少最快，約於一週期程衰減至略高於飽和溶氧之濃度 9-9.5 mg/L，之後維持飽和溶氧狀態，深度及壓力對 DO 影響，將於目前正執行之污染場址實場中觀察記錄，未來可進行比較及探討。 (2) 管柱實驗及砂箱實驗並無法與污染場址水文及地質環境雷同或相似，但其目的為了解在良好控制條件下(均質孔隙介質、穩定地下水流速及溫度)超高溶氧水之溶氧濃度對應時間及距離變化，提供基線資訊，因此並無與實場比較之必要，實場 DO 遞減速率於現場灌注施作將進行比較及探討。	



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。 8. 期中報告的初步成果顯示，本計畫已有初步研究成果，報告中尚未說明研究生或助理參與試驗。 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。 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。也可提升國內土水整治事業的發展，對社會經濟發展有助益。	7. 感謝委員肯定。 8. 本計畫於實驗室建立奈米氣泡水量測技術，設立及試車高濃度氣體溶解裝置，比較二種溶氧計偵測溶氧，管柱實驗及砂箱試驗，均由兩位碩士班研究生協助，污染場址實場工作由專任助理、研究生及業興公司協助執行。 9. 本計畫為兩年期計畫，除環保署定期每兩個月成效評估及執行團隊之自我成效檢核外，未來在技術轉移、國際期刊發表或進行專利申請(則須排除國際期刊發表)，將視計畫成果決定其形式，並於期末報告中述明。 10. 感謝委員肯定。
委員二 1. 請補充說明奈米氣泡水量測技術之穩定性及可靠度？其中溶氧測定之準確性，亦應予以說明。 2. 請補充說明於管柱試驗，溶氧量變化之影響因素，改善溶氧量變化(減少)之作為為何？ 3. 未來應用於現地生物整治技術時，如何有效控制為超高溶氧之奈米氣泡，應有較為完善之驗證機制。	1. 量測溶氧係作為污染場址實場灌注高溶氧水時之參數，高濃度氣體溶解裝置生產高溶氧水可於 30 分鐘將 300 公升水中之溶氧提升至 40 mg/L 以上，溶氧量測係使用德國 WTW 的手提式溶氧計 (Handheld Oxygen Meters)，本裝置偵測溶氧最高值可達 50 mg/L，除依照廠商建議之校正方法外，溶氧測定除使用溶氧計外部分樣品分樣以 Winkler test 滴定法進行比較。 2. 管柱試驗目的為提供基線資料，觀察不同滯留時間下其溶氧變化，溶氧量變化之影響因素可能包括地下環境孔隙度、地下水水位高度，並不擬規畫改善管柱試驗中溶氧量損失，面對污染場址水文地質條件不同，將透過不同高溶氧水灌注方式，以了解溶氧量在地下環境之變化，視操作情形作為改善高溶氧損失之策略擬定參考。 3. 實場操作將透過不同高溶氧水灌注方式(灌注水量、灌注時間)以了解溶氧量變化，抽取井地下水溶氧濃度將作為修正灌注方式、評估影響半徑擬定參考。



委員三 - 數據呈現似有前後矛盾之處，表 4-4 顯示高溶氧水於製程時間為 30 分鐘時可得最高溶氧值為 40.9 mg/L，延長製程時間並無法提升溶氧量，但表 4-5 與表 4-6 卻分別出現 45.6 與 47.4 mg/L 的溶氧值，是否合理？ - 水平及垂直管柱之溶氧變化(表 4-5 與表 4-6)顯示飽和溶氧水經過 pump 後溶氧值即明顯下降，原因為何？如何克服？	- 高濃度氣體溶解裝置目前在國內多用於養殖業，在本實驗室試車階段會有溶氧高低起伏，最高可將水中溶氧提升至 50 mg/L，但基本上執行團隊經多次測試，發現最佳操作條件是 30 分鐘使 300 公升水溶氧提升至 41 mg/L 為最經濟方式，表 4-5 與表 4-6 為當時生產兩批次含氧水其濃度較高，分別達 47.4 mg/L 與 45.6 mg/L。仍在本裝置提升溶氧範圍內 - 飽和溶氧水經過 pump 後溶氧值即明顯下降，原因可能為水經 piston pump 造成溶氧逸散，因為此部分為實驗室工作，本團隊並不計畫克服此問題，實場水量注入量較大若有類似溶氧逸散問題再予以克服。
委員四 - 宜由目前砂箱溶氧傳輸結果，於實際模場如何規劃論述之。 - 依試驗結果是否符合預期規劃與效益？	- 管柱實驗及砂箱實驗對於水中其溶氧變化對應時間及距離提供基線資訊，特別是水中溶氧衰減情形，污染場址實際灌注將透過監測以了解其傳輸後溶氧變化情形，並評估影響半徑以作為修正及調整灌注方式之操作參考。 - 管柱實驗及砂箱實驗使團隊獲得水中溶氧變化對應時間及距離之基線資訊，作為目前進行之實場規劃之參考。
委員五 - P.10-15 圖解析度得提升，P.14、P.19 圖號誤植。 - 進度符合規劃。 - 選用 0.01N CaCl₂ 沖洗管柱 4hrs 模擬飽和層之原因？(與一般背景電解質的組成不甚相同)。 - 能否由目前管柱實驗結果估算實場可達之 ROI？	- 已修正。 - 敬悉 0.01N CaCl₂ 可破壞土壤離子強度及聚集程度 - 將透過污染場址實場實際灌注工作來估算溶氧變化情形，並評估影響半徑 ROI。



委員六

- | | |
|---|--|
| <p>1. 請說明超高溶氧奈米氣泡水對強化生物之效果如何？</p> <p>2. 本計畫之實驗室試驗似乎皆只注重奈米氣泡水之溶氧情形，建議可加入生物菌群模擬於地面下之狀態，觀察生物去除污染物效果如何？</p> | <p>1. 透過污染場址實場工作菌相分析，評估灌注高溶氧水後對應時間場址之菌相變化情形。</p> <p>2. 實驗室土壤中菌相與污染場址不同，實驗室模擬菌相變化工作因分子生物花費龐大，且在微生物多樣性及變異性下，所模擬條件除主要菌種外，無法與場址類似但本計畫經費被大幅縮減，故將直接進行污染場址菌相變化觀察高溶氧條件下對好氧性分解菌之刺激作用。</p> |
|---|--|



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：陳士賢	服務單位：國立高雄師範大學生物科技系(所)	模場類 05		
專案名稱：以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物整治技術試驗計畫				
<table border="1"> <tr> <td data-bbox="213 568 788 1637"> 委員一 1. 建議宜增加滲透性差之坵黏土作為評估試驗，以利能應用在對溶氧需求高之整治場址。 2. 本研究第一年為實驗室砂箱之型模場，另地下水菌相分析費用高達 270 萬，建議經費宜大幅調降。 </td> <td data-bbox="788 568 1410 1637"> 1. 針對國喬化工場址將嘗試尋找是否有坵黏土污染區域以進行試作，唯試驗位置、場址受限於計畫徵求書內容規範與限制而無法任意選擇，且核定費用不足以支應額外之現場工作執行，將視實際情況而定。 2. 本計畫第一年規劃為實驗室砂箱試驗及污染場址實作，並非只有砂箱實驗。為了解高氧奈米氣泡對污染場址土壤及地下水菌相改變及影響，因此本計畫規劃應用次世代定序 (Next Generation Sequencing, NGS)，透過 NGS 對於地下環境(土壤及地下水)菌相之消長及改變進行通盤了解，由於分子生物其實驗材料均很昂貴，因此造成本計畫編列費用較高，大幅調降只是造成本計畫無法照原規劃及規模執行，因為分子生物實驗藥品、試劑、test kit 往往花費龐大，不是單純只涉及工程設計。 </td> </tr> </table>			委員一 1. 建議宜增加滲透性差之坵黏土作為評估試驗，以利能應用在對溶氧需求高之整治場址。 2. 本研究第一年為實驗室砂箱之型模場，另地下水菌相分析費用高達 270 萬，建議經費宜大幅調降。	1. 針對國喬化工場址將嘗試尋找是否有坵黏土污染區域以進行試作，唯試驗位置、場址受限於計畫徵求書內容規範與限制而無法任意選擇，且核定費用不足以支應額外之現場工作執行，將視實際情況而定。 2. 本計畫第一年規劃為實驗室砂箱試驗及污染場址實作，並非只有砂箱實驗。為了解高氧奈米氣泡對污染場址土壤及地下水菌相改變及影響，因此本計畫規劃應用次世代定序 (Next Generation Sequencing, NGS)，透過 NGS 對於地下環境(土壤及地下水)菌相之消長及改變進行通盤了解，由於分子生物其實驗材料均很昂貴，因此造成本計畫編列費用較高，大幅調降只是造成本計畫無法照原規劃及規模執行，因為分子生物實驗藥品、試劑、test kit 往往花費龐大，不是單純只涉及工程設計。
委員一 1. 建議宜增加滲透性差之坵黏土作為評估試驗，以利能應用在對溶氧需求高之整治場址。 2. 本研究第一年為實驗室砂箱之型模場，另地下水菌相分析費用高達 270 萬，建議經費宜大幅調降。	1. 針對國喬化工場址將嘗試尋找是否有坵黏土污染區域以進行試作，唯試驗位置、場址受限於計畫徵求書內容規範與限制而無法任意選擇，且核定費用不足以支應額外之現場工作執行，將視實際情況而定。 2. 本計畫第一年規劃為實驗室砂箱試驗及污染場址實作，並非只有砂箱實驗。為了解高氧奈米氣泡對污染場址土壤及地下水菌相改變及影響，因此本計畫規劃應用次世代定序 (Next Generation Sequencing, NGS)，透過 NGS 對於地下環境(土壤及地下水)菌相之消長及改變進行通盤了解，由於分子生物其實驗材料均很昂貴，因此造成本計畫編列費用較高，大幅調降只是造成本計畫無法照原規劃及規模執行，因為分子生物實驗藥品、試劑、test kit 往往花費龐大，不是單純只涉及工程設計。			



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(本計畫屬於模場試驗計畫，補助經費較高，研究成果在實務應用性的說明應更具體完整)(尤其是採此系統的場址所需的關鍵條件為何?)(若只是為了增加 ROI，本系統與增設注氣井有何差異?)(增加溶氧的必要性，建議討論。溶氧過飽和是否必要?溶氧的利用速率與供應速率間的關係建議討論)(生物分解與供氧速率間的關係建議討論)(短時間顯著提高地下水中溶氧對生物整治的效益?建議討論)(研究成果在實務應用性的說明應更具體完整)。

1. 感謝肯定
2. 敬悉
3. 本研究應用奈米級氣泡進行整治技術開發，期望應用新穎技術以提升我國污染整治技術水準。在實務應用上，預期應用奈米級氣泡的特性來突破氣體於地下環境中傳輸的問題。AS 搭配 SVE 方法，是將大量氣體注入地下環境中，任由氣泡自行傳輸，透過揮發性污染物於氣相、溶解相與吸附相的分配，使污染物進入不飽和層中，再由 SVE 抽除，僅為物理機制，其成效受限於氣泡傳輸的影響範圍。而本計畫擬採用奈米級氣泡顆粒小、穩定而略帶負電的特性，配合水力控制系統，使得氣泡進入土壤間隙中傳輸，而強化氣體於地下環境中的傳輸，使得氣體得已與污染物及微生物有更多的接觸，而擴大好氧生物整治作用。相較於 AS 方法，ROI 受到的氧氣的傳輸效率與地質構造的影響，奈米氣泡則可以透過水力控制方式達到氧氣傳輸效果，且預期可使氧氣進入一般氣泡無法進入的土壤間隙中，而使本技術得以應用於地下水傳輸情況較差的土壤質地或複雜的地質組成上。然而溶氧的增加造成的氧分壓，對於微生物的生長與污染物降解效率的影響，或需要配合其他的方法來控制微生物的生長，則需要在本研究中進行探討。在未來應用上，奈米級氣泡可以嘗試整合其他種類氣體，如臭氧，嘗試強化現地化學氧化的效果，亦可作為未來研究的課題。本研究將區分 2 個階段，首先利用實驗室沙箱試驗進行效率的測試，於此階段可利用不同土壤質地的組成與構造，尋找最佳的操作條件。第二階段則於實場中進行測試，驗證實驗室所建立的操作條件，並建立模組化系統，以做為未來大規模實場應用的基礎。



4. 本專案預估之成果績效包含論文發表(研討會或期刊論文)(本計畫屬於模場試驗計畫，研究成果的實務應用性相對關鍵)。 5. 本研究計畫書撰寫具體。 6. 本研究計畫書所擬定的研究方法可行。 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，有待未來執行成果的說明)。 8. 本研究計畫書的文獻蒐集尚完整，對國內外本研究領域的現況了解。 9. 本研究專案執行期限合理。 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。	4. 敬悉 5. 敬悉 6. 敬悉 7. 對整治場址的應用性，將依計畫產出進行成效評估 8. 敬悉 9. 敬悉 10. 在實務應用上，預期應用奈米級氣泡的特性來突破氣體於地下環境中傳輸的問題。AS 搭配 SVE 方法，是將大量氣體注入地下環境中，任由氣泡自行傳輸，透過揮發性污染物於氣相、溶解相與吸附相的分配，使污染物進入不飽和層中，再由 SVE 抽除，僅為物理機制，其成效受限於氣泡傳輸的影響範圍。而本計畫擬採用奈米級氣泡顆粒小、穩定而略帶負電的特性，配合水力控制系統，使得氣泡進入土壤間隙中傳輸，而強化氣體於地下環境中的傳輸，使得氣體得已與污染物及微生物有更多的接觸，而擴大好氧生物整治作用。相較於 AS 方法，ROI 受到的氧氣的傳輸效率與地質構造的影響，奈米氣泡則可以透過水力控制方式達到氧氣傳輸效果，且預期可使氧氣進入一般氣泡無法進入的土壤間隙中，而使本技術得以應用於地下水傳輸情況較差的土壤質地或複雜的地質組成上。此外，奈米級氣泡可以嘗試整合其他種類氣體，如臭氧，嘗試強化現地化學氧化的效果，亦可作為未來技術發展方向。
---	--



11. 本研究專案經費編列過高。 12. 本計畫並不是延續性計畫 13. 本研究計畫對預期成果的呈現說明以學術發表、技術轉移、專利取得為主 14. 本研究計畫已依原計畫構想書時的審查意見修正	11. 由於本計畫規劃應用次世代定序(Next Generation Sequencing, NGS)，透過 NGS 對於地下環境(土壤及地下水)菌相之消長及改變進行通盤了解，由於分子生物實驗其材料均很昂貴，因此造成本計畫編列費用較高，因為分子生物實驗所需藥品、試劑、test kit 往往花費龐大，並非單純只以工程計價考量方式。 12. 本計畫為新研提計畫 13. 本計畫以技術轉移、專利取得為主 14. 敬悉
委員三 1. 所篩選模場及其試驗對象，應先確認是受限於溶氧或氧氣供應量不足所造成之整治成效阻礙。	1. 本研究主要目標乃建立奈米氣泡整治技術，故在場址選擇上以技術可行性之試驗為主要選擇方向，並以場址同意本研究執行為第一優先。模場試驗選擇之場址，其地下水傳輸情形較佳，其水力控制方法之執行較為容易，此外，場址同時有多種整治技術執行，包含傳統之 SVE/AS 方法與生物整治方法，可與本研究結果進行比對，以確認本技術之成效。而受到補捐助計畫對場址之要求，需先取得場址同意，為本研究之基本限制，未來如環保署可媒合其他受限於溶氧或氧氣供應不足等整治成效受阻礙之場址，並取得場址同意書前提下，本研究團隊樂意調整本計畫內容於該場址進行試驗。



委員四

- | | |
|--|--|
| <ol style="list-style-type: none"> 1. 本計畫對於現地應用時，超高溶氧奈米氣泡之驗證與傳輸行為並未詳加說明。另超高溶氧之定義為何？應有明確之量化參考數值。 2. 對於生物降解反應過程，除計畫內容所欲控制溶氧傳輸之影響外，微生物種類及相關環境因子等因素，均會影響生物降解有機物之成效，本計畫於現地試驗如何釐清與評估？ 3. 生物反應過程之供氧量，亦是影響反映成效之重要因子，應列入計畫中討論。 | <ol style="list-style-type: none"> 1. 本研究原則上依據奈米氣泡水特性，可以使水中溶氧大量增加，初步定義產生之奈米氣泡水可以使水中溶氧過飽和，並達到 1.5 倍飽和溶氧濃度以上，稱之為超高溶氧。在沙箱與現地試驗上，原則上可應用 2 種方式證明奈米氣泡水之傳輸效果；(1)可利用手持式溶氧計監測不同深度地下水中溶氧值變化，接著可嘗試以氮氣作為奈米氣泡產生機的產氣來源，此時應可觀察到水中溶氧從原本的高溶氧轉為厭氧狀態，用以確認高溶氧水傳輸情況。(2)本計畫擬應用一攜帶式奈米粒徑分析儀，量測水中的顆粒，可有效區隔大型顆粒與奈米顆粒，以確認地下水水中的顆粒分布狀態。 2. 本計畫選定之場址目前正執行 SVE/AS 等工法，可透過其他工法執行區域、無執行整治之區域的地下環境微生物監測、有機物濃度監測、水質參數監測等，與本研究執行區域之監測結果比較，以確認本研究設計之成效。 3. 敬悉 |
|--|--|

本署意見

- | | |
|--|---|
| <ol style="list-style-type: none"> 1. 第一年雜費編列超過 5%，請修正。 2. 經費未依徵求書規定分兩年編列，請修正。 3. 請於計畫書修定稿中補充說明與協同主持人之合作方式。 | <ol style="list-style-type: none"> 1. 已修正 2. 已修正 3. 計畫主持人進行規劃計劃方向及實驗設計、進度追蹤及計畫報告撰寫，本場址目前由業興公司進行整治中，因此為確保不干擾整治工作又須兼具模場試驗進行，將由協同主持人規劃現場工程設計、現場工作進度查核及計畫協調。 |
|--|---|



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」

構想書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：陳士賢 NO：29
計畫名稱	以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物整治技術試驗計畫		
委員審查意見		計畫單位回覆	
委員一			
1. 測試奈米氣泡達 20 mg/L 之環境是否過飽和？作奈米製造耗能？提供多少奈米氧可在飽和層或未飽和層之停留時間？		1. 傳統 Air Sparging 的影響半徑(ROI)較小，且大部分的機制是使揮發性有機物 VOC 揮發，而非生物降解。本計畫擬供應奈米氣泡水的目的是希望藉由奈米氣泡及水力控制，期使氧氣擴散距離更遠，提供地下環境多的溶氧及較佳之耗氧環境，有助於好氧之石化分解菌之增生，具有 enrichment 之概念。奈米氧可在飽和層或未飽和層之停留時間將先透過管柱及沙箱實驗進行評估，並在污染場址現地實作了解其滯留時間。	
2. 對砂箱、管粒與奈米氣泡注入對現地差異及對生物是否對微生物有負影響？		2. 砂箱試驗原則上會設法模擬場址水文情況進行，但微生物因生物多樣性因素並其主要目的是確認奈米氣泡水的傳輸，並建立可行之監測方法。高濃度溶氧或奈米氣泡是否對微生物有負面影響，亦為本計畫先進行砂箱試驗的目的，惟已有許多奈米氣泡應用於廢水處理上，增加活性污泥處理效果的應用，對好氧微生物的影響應較低。	
3. 灌注或阻隔效應？		3. 本計畫於砂箱試驗與模場試驗均已設計抽、注井，以控制地下水流動，確認奈米氣泡水的分散情況，灌注效應類似地下水循環井之概念，此外將依據場址特性與需求，必要時設置鋼板樁阻隔，避免試驗過程與其他污染區域發生交互影響。	



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」

構想書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：陳士賢 NO：29
計畫名稱	以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物整治技術試驗計畫		
委員審查意見		計畫單位回覆	
委員二			
1. 瞬間供應過量的溶氧的必要性?		1. 由於傳統的 AS 大多採用細氣泡產生器，並由井篩傳輸至環境中，因此影響半徑較小，本計畫利用奈米級氣泡供給氧氣，期望奈米氣泡可傳輸至更遠的位置，提供微生物分解污染物所需要的氧氣，並促使石化分解菌生長較快，族群數量較多，土壤中存在的有機物或離子，預期可能會消耗溶氧，因此本計畫透過砂箱試驗及模場試驗進行奈米氣泡水於環境中傳輸的研究同時，研究對微生物之影響。	
2. 過飽和溶氧所致的氣體性(尤其是微氣泡於細顆粒土壤中)阻塞，建議評估。		2. 感謝委員提醒，奈米級的氣泡特性與傳統曝氣的氣泡特性不同在於氣體顆粒較小，帶負電荷，因此接觸面積較大，理論上較容易於地下環境中傳輸，與傳統細氣泡機產生之氣泡不同，本計畫將應用砂箱及模場試驗進行研究，確認本技術的可行性，並研判可能造成的孔隙阻塞及因應之道。	
3. 傳輸是一般整治的最主要限制因子，本計畫所擬探討的 K 值約 10(E-2)~10(E-4) cm/sec，就整治而言，傳統的技術足以勝任，本計畫所擬克服的因子(或不當的實場條件)為何?		3. 擴大影響範圍及營造微生物 enrichment 是本計畫訴求，由於傳統的氣提法大多採用細氣泡產生器，並由井篩傳輸至環境中，因此影響半徑較小，本計畫利用奈米級氣泡供給氧氣，期望奈米氣泡可傳輸至更遠的位置，滯留時間較長提供微生物分解污染物所需要的氧氣。	
4. ROI?		4. 影響半徑需經過試驗後才能得知。惟奈米氣泡之分散乃透過水力控制，預期影響半徑將較傳統 Air Sparging 大。	



5. 經費編列過高。	5. 為了確保模場試驗區域與場址整治區之隔離，避免影響原訂整治計畫之工作，本計畫擬租用鋼板樁、並重新設井，配合定期採樣分析工作，故費用已經過合理計算，並無過高之虞。
6. 以傳輸而言較具意義，以供氧而言則須討論。	6. 感謝委員意見，本計畫利用奈米級氣泡供給氧氣，期望可利用奈米氣泡顆粒小、帶負電荷的特性，藉由水力控制可傳輸至更遠的位置，提供微生物分解污染物所需要的氧氣。
7. 建議討論氧需求及氧供應。	7. 感謝委員意見，土壤中存在的有機物或離子，預期可能會消耗溶氧，因此本計畫透過砂箱試驗及模場試驗進行奈米氣泡水於環境中傳輸的研究，探討氧氣供給與需求的特性，同時，研究對奈米溶氧水對於微生物之影響。
8. 此研究的經濟性必要條件需評估。	8. 感謝委員建議，本計畫於模場試驗過程，將評估與計算其能耗、氣體消耗量及總體費用，並與傳統 SVE/AS 的費用進行比較。



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」

構想書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：陳士賢 NO：29
計畫名稱	以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物整治技術試驗計畫		
委員審查意見		計畫單位回覆	
委員三			
1. 既有目標場址，第一年所有之設計操作條件，應依據實場來設計、以利所取得參數能順利於第二年在模場使用		1. 本計畫將依據管柱試驗設計了解奈米氣泡水於飽和層之滯留時間、影響範圍、溶氧濃度範圍等參數，以應用於第二年模場之實作。	



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」

構想書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：陳士賢 NO：29
計畫名稱	以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物整治技術試驗計畫		
委員審查意見		計畫單位回覆	
委員四			
1. 本計畫特色為超高溶氧奈米氣泡之形成與應用，惟計畫中未具體說明如何驗證於現地應用時，確實產生超高溶氧之奈米氣泡？		1. 在目前的量測方法中，可以選用顆粒追蹤法 (particle tracking analysis)、電阻法 (Electrical resistance method)、雷射散射光柵法(Laser diffraction scattering method)、動態光柵法等(Dynamic light scattering method)方法進行超高溶氧奈米氣泡分析，本計畫於實驗室規模試驗中，將選用合適之方法進行量測，以確認奈米氣泡的傳輸情況，同時建立溶氧及氧化還原電位的關係。現場的地下水可能存在許多顆粒，因此本計畫應用之設備產生之奈米氣泡水，可取代水分子結構空隙中的氣體分子，將大幅提升溶氧，因此現地量測則以溶氧、氧化還原電位及氫氣濃度為指標。	
2. 奈米氣泡之傳輸試驗如何進行與驗證？若僅以微生物菌落或污染物降解，似無法完整驗證奈米氣泡之影響。		2. 先透過管柱及砂箱試驗，模擬奈米氣泡水灌注，量測奈米氣泡水的分布，量測溶氧、氧化還原電位等一般水質項目，以求得操作參數，模場試驗將透過監測井量測溶氧、氧化還原電位等一般水質項目，並觀察微生物菌相分布情形，以驗證其影響方式。	
3. 添加之微生物菌種為何？是否為本技術之關鍵因素？		3. 微生物添加為一輔助方法，當奈米氣泡水的供給仍無法對油品污染有良好的分解效果時，模場試驗將再額外添加微生物至場址中。在菌株的部分，本計畫擬添加研究團隊過去所分離出之油品分解菌 <i>Pseudomonas</i> sp. NKNU01 作為主要的添加菌株，先於批次試驗與砂箱試驗中進行測試，確認奈米氣泡水對該菌株的影響，另外，研究中另將應用分子生物技術，確認奈米氣泡水對於批次試驗、砂箱試驗中，菌群結構與代謝特性的影響。	



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」

構想書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：陳士賢 NO：29
計畫名稱	以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物整治技術試驗計畫		
本署審查意見		計畫單位回覆	
1. 請說明本研究預計申請之專利項目及申請之方式為何? 2. 請說明砂箱及管柱試驗是否能完整模擬實際場址之狀況?		1. 應用奈米高溶氧氣泡水加強現地好氧生物整治技術唯一新穎技術，經測試後，預期將可申請發明與新型專利，另外應用之工法如搭配流場控制與循環井之方法，則將以申請新型專利為目標進行申請。 2. 將依據管柱及砂箱試驗設計了解奈米氣泡水於飽和層之滯留時間、影響範圍、溶氧濃度範圍等參數，管柱試驗將以石英砂建立近似現場水文地質條件的試驗，並以示蹤劑試驗進行流場確認，在灌注奈米氣泡水確認奈米氣泡水分散情況，盡可能取得可以應用於場址的參數，以應用於後續模場試驗。	





專案基本資料表

一、專案基本資料表

申請編號：

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	國立高雄師範大學生物科技系(所)				
機構地址	高雄市燕巢區深中路 62 號 生科 B 館生物科技系				
專案主持人	陳士賢	職等／職稱	教授		
協同主持人	鄭志鴻	職等／職稱	業興環境科技公司副總經理		
專案名稱	中文	以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物整治技術試驗計畫			
	英文	Field Study of Enhanced Bioremediation by Injection of Water Saturated with Nano-scale Oxygen Bubbles			
	關鍵字	超高溶氧奈米氣泡水、現地生物復育技術、石化污染場址			
執行期程	自民國 107 年 01 月 10 日起至民國 108 年 11 月 30 日止				
專案主持人	姓名：陳士賢 E-mail：cschen@nknk.edu.tw	專線：07-7172930#7312 手機：0935236622			
專任助理	姓名：黃琬瑜 E-mail：afatelu08010@gmail.com	專線：07-7172930#7312 手機：0963818558			
經費分析總表	專案預估總經費		第一年 申請金額	第二年 申請金額	編列說明
	1.	人事費用	492,032	678,490	(1~5 項相加之 50%為限)
	2.	貴重儀器使用含維護費	0	0	(與計畫實驗相關)
	3.	消耗性器材與主要費用	1,104,354	623,146	(與計畫主體相關)
	4.	其它研究相關費用	6,960	53,000	(差旅與租賃費用)
	5.	雜項費用	5,745	9,000	(1~6 項相加之 5%為限)
	6.	行政管理費	160,909	136,364	(1~5 項相加之 10%為限)
	專案計畫申請總金額		1,770,000	1,500,000	總金額：3,270,000

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：12/20/2018





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 26 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	☐ 整治 ☒ 預防 ☐ 其他		
申請機構系所	國立高雄師範大學	計畫主持人	陳士賢
專案名稱	以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物整治技術試驗計畫		
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	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 產出發表日期、發表處、 發表名稱、影響指數等)
A 學 術 產 出 及 活 動	1.國內投稿 (篇數)	(1)論文	1		0	0%	第一年計畫現地試驗目前進行中，仍處於試驗及收集模場試驗數據階段，將於第二年發表。
		(2)研討會論文					
	2.國外投稿 (篇數)	(1)期刊論文	1		0	0%	
		(2)研討會論文					
	3.報告 (篇數)	(1)技術報告					
		(2)研究報告					
	4.專著 (本數)						
	5.辦理學術 會議(場數)	(1)研討/說明會					
		(2)成果發表會					
		(3)論壇					
B 人 才	7.研發人員 (人數)	(1)已開發技術	1		0	0%	第一年計畫現地試驗目前進行中，仍處於收集現場數據階段，將於第二年發表。
		(2)技術平台					
	8.研究團隊	(1)跨領域團隊					



項目 \ 目標達成程度			申請 預估數	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 產出發表日期、發表處、 發表名稱、影響指數等)
培育	(個數)	(2)跨機構團隊					
		(3)形成研究中心					
		(4)形成實驗室					
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	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					
			新型/設計					
			合計					
		申 請 中	發明					
			新型/設計	1		0	0%	預計第二年申請
			合計					
B 研 發 技 術 移 轉	2.先期技術 成果移轉	件數						
		授權金(仟元)						
		衍生利益金(仟元)						
	3.技術移轉 (專利)	件數						
		授權金(仟元)						
		衍生利益金 (仟元)						
	4.技術移轉 (應用技 術)	件數						
		授權金(仟元)						
		衍生利益金(仟元)						
	5.可移轉 產業技術	(1)技術(件數)		1		0	0%	
(2)品種/系(件數)								
C 產 學 研 合 作	6.促成合作 研究	件數						
		金額(仟元)						
	7.促成投資	件數						
		投資金額 (仟元)						
	8.促成取得 業界科專	件數						
		業界投資金額 (仟元)						
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	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					
		收入(仟元)					
	2.諮詢服務	次數					
		收入(仟元)					
B 支 援 合 作	3.協助政府制定 (件數)	(1)政策					
		(2)法規					
		(3)規範					
		(4)標準					
D 社 會 效 益	4.獲得認證(件數)						
	5.獲得獎項(件數)						
	6.提升能源效率(%)						
	7.節能減碳效率(%)						
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）

我國現地好氧生物整治技術在土壤及地下水復育應用廣泛，但在技術上大多仍依賴營養鹽之注入及分解菌之植種，本研究擬開發一新穎現地好氧生物整治技術，透過高溶氧奈米氣泡配合抽、注井場及循環井之設置，提升地下水中的溶氧，刺激地下環境中的微生物在好氧的條件下分解油品類污染物，應用奈米氣泡顆粒小、持續時間較長的特性，利用水力控制使氣泡通過微小的土壤間隙，抵達細氣泡難以抵達的土壤間隙中，使微生物可獲得氧氣，另一方面，也突破目前氣提法(air sparging)中，曝氣影響半徑不足的問題。在本研究中將同時利用分子生物技術觀測場址過飽和溶氧誘導下地下環境中的微生物菌群變化，與石油碳氫化合物分解酶的功能性基因特性，配合場址環境因子與營養條件的營造，建立現地操作條件，期望透過所發展之超高溶氧奈米氣泡水現地生物整治技術，結合循環井及強化性生物復育加快現有石化場址整治期程，發展本土化實際可行之整治技術，提升我國土壤及地下水污染整治技術水準。



中文摘要

本研究目的為開發一新穎現地好氧生物整治技術，應用奈米氣泡顆粒小、持續時間較長的特性，利用水力控制使氣泡通過微小的土壤間隙，抵達細氣泡難以抵達的土壤間隙中，使微生物可獲得氧氣，透過奈米氣泡配合抽、注井場，提升地下水中的溶氧，刺激地下環境中的微生物在好氧環境下分解油品類污染物，另一方面，也突破目前氣提法(air sparging)中曝氣影響半徑不足的問題，最終則是開發出一新穎之本土化的石化場址現地生物整治技術。本研究主要分為實驗室試驗以及污染場址模場試驗等二個部份，實驗室試驗主要區分為管柱與砂箱試驗等 2 個部份以收集實場操作之參數，管柱及砂箱試驗乃是參考場址環境特性，填充土壤，建立相似之地質條件、孔隙度與污染情況，並模擬地下水流場與抽注井場情況建立流場，透過觀察奈米氣泡水的傳輸情況，了解高濃度溶氧停滯及消散之情形，同時建立系統操作參數基線資訊、監測技術與方法。模場試驗則是選取高雄市大社工業區中的石化污染場址進行技術試驗，應用砂箱試驗階段所建立之參數與監測方法，設計抽、注井場與循環井場，利用模場試驗方法，建立與發展超高濃度溶氧奈米泡水平地生物整治技術的操作參數與方法，開發一完整之新穎整治技術，提升我國土壤及地下水污染整治技術水平。

管柱實驗顯示飽和溶氧水滯留時間經 24 hr 至 72 hr，其溶氧量損失約 1.0 mg/L，而經滯留時間 96 hr 與 120 hr，其溶氧量損失分別約 1.98 mg/L 與 1.90 mg/L，相對而言垂直管柱之溶氧變化較為和緩，歷經 120 小時後溶氧約下降 1.39 mg/L，故推測垂直狀態下之溶氧較不易消散。進行測試高濃度氣體溶解裝置循環製造高濃度溶氧水，藉由 100 公升水箱(80 cm×60 cm×21 cm)測試溶氧升高能力，測試製造時間分別以 5、10、15、20、30 與 60 分鐘來觀察溶氧濃度變化，本試驗高溶氧水之製程時間經選擇為 30 分鐘，溶氧濃度大於 40.9 mg/L 方進行管柱、砂箱試驗及高溶氧水於開放狀態與密閉狀態條件之衰變試驗

奈米氣泡高溶氧水在開放與密閉的溶氧量皆維持在一定濃度，長期觀察 20 天溶氧無顯著差異。奈米氣泡高溶氧水之水平管柱實驗顯示，注入水經滯留時間 24 小時後所偵測到的溶氧值為 10.8 mg/L，注水後之二十四小時溶氧劇烈減少，從 27 mg/L 降至 10 mg/L，但此後溶氧減少就趨於和緩，滯留時間 96 小時後所偵測到的溶氧值為 9.24 mg/L，歷經 120 小時高溶氧水仍能維持原溶氧之 80% 以上。高溶氧水在垂直



管柱中傳輸亦會造成溶氧損失，注入水經滯留時間 24 hr 後所偵測到的溶氧值為 9.38 mg/L，在前二十四小時溶氧劇烈減少，從 27 mg/L 降至 9 mg/L，但此後溶氧減少就趨於和緩，滯留時間 120 hr 後所偵測的溶氧值 8.54 mg/L，仍是高於常溫飽和溶氧水。

以長 60 公分、寬 51 公分、高 65 公分之砂箱進行傳輸試驗，砂箱每 15 公分處放入一支篩管，各篩管在第一天其溶氧降低最多，在 96 小時後，溶氧僅剩原始之 40%，第四天至第十六天其溶氧減少呈現趨緩，且從距離對應天數來看，不同距離之溶氧量消散速度不同。

本計畫之裝置、監測井及注水井於 2018 年 8 月均已建置完並且完成試車，而於 2018 年 9 月 7 日進行土壤及地下水採樣並建立該模場之基線資料，欲了解之基線資料包含該模場之污染濃度、酸鹼值、總氮、總磷及菌相分析。土壤採樣點位編號分別為 S1、S2 及 S3，每個樣點採樣深度為 4 至 6 公尺，每 50 公分為一單位。首先土壤之酸鹼值約為 6.54—7.72，平均 7.40，土壤酸鹼值為中性；氮氮約為 0.018%—0.027%，平均為 0.015%；磷約為 241—444 mg/kg，平均為 390 mg/kg。

地下水採樣點位編號分別為 GW1、GW2、GW3、MW1 及 MW2，檢測之項目包含點位井深、水位、溫度、酸鹼值、溶氧（Dissolved Oxygen, DO）、氧化還原電位（Oxidation – Reduction Potential, ORP）、導電度（Electrical Conductivity, EC）、氨氮、硝酸鹽氮、亞硝酸鹽氮及磷酸鹽等 11 個檢測項目。

本場址之地下水水位為 2.07—2.33 米，而溫度、酸鹼值及溶氧均差異不大，應為同一區域之水源，故其數值較為相近，ORP 之檢測中，正值即為氧化，反之數值為負則為還原，檢測數據則為 -2.30—84.4 mV，EC 之測值則為 435 μ S/cm。

模場試驗於 2018 年 10 月 8 日開始進行高溶氧水注入試驗，此階段分為三個月進行，第一個月每日注水 8 小時，第二個月每日注水 12 小時，第三個月為 24 小時不間斷注水，在此一階段為測試何種操作參數適合用於本場址中，並且能夠使用最少之氧氣以達到最節能並且能最有效之結果。於 10 月 8 日後亦有密集進行檢測水質之資訊，其 MW1 溶氧由一開始 1.11 mg/L 上升至 9.21 mg/L，溶氧有明顯上升趨勢，而 MW2 則由 1.08 mg/L 上升至 2.01 mg/L，上升趨勢不如 MW1，因本場址之地下水流向為東南向西北流，而 MW1 位於 GW1 西北方約 30 公分處，而 MW2 位於 GW1 西北方約 1 公尺處，推測因傳輸距離較遠而使溶氧在傳輸過程中造成一定之消散。



後續工作將完成第一階段之規劃，第一個月灌注頻率為每日 8 個小時，日灌注量為 2.4 公噸的高溶氧水，其灌注時間為 9 時至 17 時；第二個月每日灌注 12 小時；第三個月每日灌注 24 小時，確認何種灌注高溶氧水之頻率及水量對提高地下水中溶氧量為最佳操作參數，於往後模場試驗使用該操作參數進行後續之實驗。

本計畫預計於 2019 年 5 月至 2019 年 7 月進行油品分解菌添加測試，測試所添加之菌種是否能加速降解該場址地下環境中之污染物。2019 年 8 月至 2019 年 9 月進行三口注入口及一口抽水井高溶氧水傳輸試驗。2019 年 10 月至 2019 年 11 月以 8 月至 9 月條件進行石化分解菌添加測試。





英文摘要

Microbubble (MBs) and nanobubble (NBs) technologies have drawn great attention due to their wide applications in water treatment, biomedical engineering, and nanomaterials in recent years. In particular, the focuses were on degradation of toxic compounds, water disinfection, and cleaning/defouling of solid surfaces including membrane from environmental aspects. The main purpose of water pretreatment is to reduce biological, chemical and physical loads in order to reduce the running costs and increase the treated water quality. In this context, air MBs/NBs as a pretreatment means has been shown to be highly beneficial for downsizing the water/wastewater treatment plants and improving the quality of product water. Use of oxygen NBs has been anticipated due to their extremely high bioactivity and mass transfer efficiency. It is reasonable to consider that NBs would have great potential implication in soil and groundwater remediation. Hence, the objective of this study is to develop the use of NBs in petroleum hydrocarbon contaminated site to enhance bioremediation.

Laboratory experiments were conducted to investigate flow of discrete microbubbles through a water-saturated porous medium by column and sand box experiments in this study. NBs was release from a diffuser, move upward through a column filled with packed soil. Outflowing bubbles were collected for flux measurements. The scaling behaviors between the gas (bubble) release rates and various characteristic parameters of the bubble plume, including plume tip velocity, plume width, and breakthrough time of the plume front will be quantified. The experiments also revealed circulations of ambient pore water induced by the bubble flow.

The results of column experiments indicated that loss of dissolved oxygen (DO) in air-saturated water was about 1 mg/L after 72 hours. After 120 hour of retention time in the packed column, DO loss in air-saturated water was about 1.90 mg/L. Vertical columns tended to retain oxygen for longer time than horizontal one.

Dissolved oxygen was measured to be 40.9 mg/L after nano-scale oxygen bubble was produced for 30 min. Longer exposure time did not significantly increase the level of DO. DO depletion was not observed in either open or closed system after 20 days when dissolved oxygen level in the water was raised by nano scale bubble. Dramatic depletion of DO from 27 mg/L to 10 mg/L was observed in the first 24 hours of the column experiment. After the time period, the depletion was slow down. After 120 hours, DO was maintained higher than saturated water of room temperature. Forty percent of DO depletion was observed



after 96 hours in the sand box experiment. However, the depletion was slower between 4 to 16 days.

Field study was conducted s from August 2018. Test cells was designed and employed in one of the petroleum hydrocarbon contaminated site in Kaohsiung. Injection of NBs was conducted in the test zone with three injection wells and two monitoring wells. Injection of high DO water was designed to be 8 hours per day in the first month. It will be increased to 12 hours per day in the second months. Finally it will be continuous injection. Monitoring of pH, dissolved oxygen, nutrients and change of population/diversity of microorganisms was performed. Retention time of NBs, concentration of dissolved oxygen, and change of petroleum degrading bacteria including degradation enzyme will be observed on a fixed period of time. It is anticipated that functions of enhanced bioremediation can be achieved through injection and circulation of NBs by field practices. The application of NBs in assisting enhanced bioremediation will be explored. Feasibility, performance and cost analysis will be assessed in this study. This study will serve as a leading project for future investigations to employ nanobubbles in the field of soil and groundwater remediation.



目錄

第一章、研究背景與目的.....	1
1.1 研究背景.....	1
1.2 研究目的.....	4
第二章、原理與設計.....	5
2.1 奈米氣泡特性與產生技術.....	5
2.2 超高溶氧奈米氣泡水現地生物整治技術系統設計.....	7
2.3 模場試驗場址環境特性.....	9
2.3.1 場址現況與特性.....	9
2.3.2 污染物種類與濃度.....	11
2.3.3 地質條件.....	15
2.3.4 水文條件.....	16
2.4 技術可行性、新穎性及未來性.....	17
第三章、研究方法.....	18
3.1 研究架構.....	18
3.1.1 實驗室試驗.....	19
3.1.2 模場試驗.....	21
3.2 實驗設備.....	23
3.3 實驗方法.....	26
3.3.1 土壤基本性質分析.....	26
3.3.2 目標污染物.....	26
3.3.3 菌相分析方法.....	27
3.3.4 功能性降解酶分析方法.....	27
3.3.5 土壤及地下水採樣方法.....	30
3.4 實驗品保/品管.....	31
3.5 進度及預期完成之工作項目.....	32
第四章、執行方法與成果.....	35
4.1 奈米氣泡水之量測技術校正.....	35
4.2 飽和溶氧水之管柱試驗.....	37
4.2.1 飽和溶氧水之水平管柱溶氧變化.....	38



4.2.2 飽和溶氧水之垂直管柱溶氧變化.....	38
4.3 高溶氧水之管柱試驗.....	40
4.3.1 高溶氧水製程時間.....	40
4.3.2 高溶氧水之水平管柱溶氧變化.....	40
4.3.3 高溶氧水之垂直管柱溶氧變化.....	41
4.4 高溶氧水之砂箱傳輸試驗.....	42
4.5 高溶氧水在開放與密閉條件之溶氧變化.....	46
4.6 模場試驗之設備建置.....	47
4.7 污染場址之基線資料建立.....	50
4.7.1 土壤之基線資料分析.....	52
4.7.2 地下水之基線資料分析.....	54
4.8 奈米氣泡水傳輸試驗.....	56
第五章、結論與未來工作重點.....	61
第六章、參考文獻.....	62



圖目錄

圖 1-1	現地生物整治法處理系統.....	3
圖 1-2	氣泡、微米氣泡與奈米氣泡於水體環境中變化特性.....	3
圖 2-1	微米氣泡與奈米氣泡生產方法示意.....	5
圖 2-2	奈米氣泡溶氧能力測試.....	6
圖 2-3	超高溶氧奈米氣泡水之現地生物整治技術系統設計.....	8
圖 2-4	場址之控制計畫執行範圍.....	10
圖 2-5	本場址苯污染土壤調查結果(2005 年).....	12
圖 2-6	本場址甲苯污染土壤調查結果(2005 年).....	12
圖 2-7	本場址乙苯污染土壤調查結果(2005 年).....	13
圖 2-8	本場址苯污染土壤調查結果(2010 年).....	13
圖 2-9	本場址甲苯污染土壤調查結果(2010 年).....	14
圖 2-10	本場址乙苯污染土壤調查結果(2010 年).....	14
圖 2-11	模場試驗模擬場址之地質條件.....	15
圖 2-12	模場試驗模擬場址之地質條件.....	16
圖 3-1	實驗室與污染場址工作架構.....	19
圖 3-2	管柱實驗裝置圖.....	20
圖 3-3	砂箱試驗裝置圖.....	21
圖 3-4	模場試驗預定執行位置示意圖.....	22
圖 3-5	第一階段模場井場規劃.....	23
圖 3-6	本實驗使用之 Headspace 平衡頂空裝置.....	24
圖 3-7	高濃度氣體溶解裝置.....	25
圖 3-8	手提式溶氧測定器.....	26
圖 3-9	溶氧測量儀.....	26
圖 3-10	活塞幫浦.....	26
圖 3-11	玻璃管柱.....	26
圖 4-1	不同溶氧計測值之變化.....	36
圖 4-2	水平管柱與垂直管柱.....	37
圖 4-3	砂箱之篩管編號與位置示意圖.....	42
圖 4-4	砂箱各測點之溶氧濃度變化.....	45



圖 4-5	實驗模場位置.....	47
圖 4-6	模場試驗之設備建置.....	48
圖 4-7	注入井及監測井.....	48
圖 4-8	注入井及監測井之建置情形.....	49
圖 4-9	採樣點位及編號.....	50
圖 4-10	土壤樣品.....	51
圖 4-11	地下水樣品.....	51
圖 4-12	地下水採樣.....	56
圖 4-13	現地監測地下水.....	56



表目錄

表 1-1 我國石化污染場址整治技術使用統計.....	2
表 3-1 RT-PCR 實驗中相關降解基因之 primer 序列.....	29
表 3-2 RT-PCR 反應條件.....	30
表 3-3 研究進度及預期完成之工作項目（甘特圖）.....	33
表 4-1 飽和溶氧水之玻璃管柱基礎資訊.....	37
表 4-2 水平管柱中飽和溶氧水之溶氧變化.....	38
表 4-3 飽和溶氧水之垂直管柱不同時段之溶氧變化.....	39
表 4-4 高溶氧水製程時間對應溶氧濃度.....	40
表 4-5 高溶氧水在水平管柱之溶氧變化.....	41
表 4-6 高溶氧水在垂直管柱之溶氧變化.....	41
表 4-7 砂箱系列篩管溶氧變化量.....	43
表 4-8 砂箱系列篩管溶氧變化量.....	44
表 4-9 高溶氧水在開放與密閉條件之不同天數溶氧變化.....	46
表 4-10 土壤之基線資料.....	53
表 4-11 地下水基線資料.....	55
表 4-12 地下水目標污染物濃度.....	55
表 4-13 模場試驗定期監測數據.....	58
表 4-14 十一月地下水監測.....	60
表 4-15 十一月地下水目標污染物濃度.....	60



以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物整治技術試驗計畫



第一章、研究背景與目的

1.1 研究背景

現地生物整治法或現地生物復育法(In-situ bioremediation)乃是透過促進地下環境(土壤及地下水中)之微生物之生長，強化生物分解作用，通常可以應用來有效處理有機污染物，為了加強生物分解作用，通常必須將環境中的微生物加以馴養，提供足量的電子接受者(如氧氣、硝酸鹽)、營養鹽類(如氮、磷等)以及能量來源(碳源)。一般而言，污染場址中存在碳源，也就是有機污染物，而電子接受者與營養鹽類就成為生物降解作用最重要的兩個限制性因子。

過去國內在面對層出不窮的石化污染物場址時，大多會選用物理性的方法(如土壤氣體抽除法或雙相抽除法搭配空氣注入法)、化學氧化法、或加強式好氧生物整治方法來進行整治工作，常選擇的整治工法如表 1-1 所示。依據 2014 年環保署統計資料，石化及油品污染整治技術除了離場處理外，圖 1-1 為常見之加強式好氧生物整治方法，其中微生物菌群的維持、營養鹽提供與氧氣供給，為加強式好氧生物整治成功與否的三項重要關鍵。

在有機污染物的生物分解中，具有分解能力的微生物菌群是否存在，是否發生作用，為現地生物整治的重要關鍵因子，隨著分子生物技術的發展，有越來越多的分子生物技術可以有效的偵測與分析環境中的微生物菌群，並且透過功能性基因的檢測，可以得知環境中的微生物是否具有降解標的污染物的能力。然而，在實際現地整治工程執行上，除了添加具有分解能力的菌群外，僅可透過環境的調控(如 pH、溶氧、氧化還原電位)與營養鹽的供給，來提供適合具有分解目標污染物能力之菌群生長的環境。

在營養鹽的提供上，可以利用水平井或豎井，將調配好之營養鹽散佈至不飽和層與飽和層中，並透過抽、注水的控制，使污染物得以均勻分散至地下環境中。由於有機污物的好氧生物降解過程，氧氣將作電子接受者而被大量消耗，使得地下環境在整治過程中，逐漸轉為厭氧環境，因此在石化污染現地生物整治中，氧氣的提供亦為影響現地生物整治工法成效的重要關鍵因子。

傳統上氧氣的供給方式包含現地曝氣法、投入釋氧物質及抽出曝氣法，整體而言，現地曝氣法因為氣泡上浮的因素，在地下環境中不易有水平向的傳輸；緩釋型的釋氧物質所產生的氧氣則受限於地下水傳輸而不易擴散；過氧化物則是反應過快，氧氣無法持續供給；抽出曝氣法過去大多採用曝氣盤等散氣設備供給氧氣，雖可在短時間內

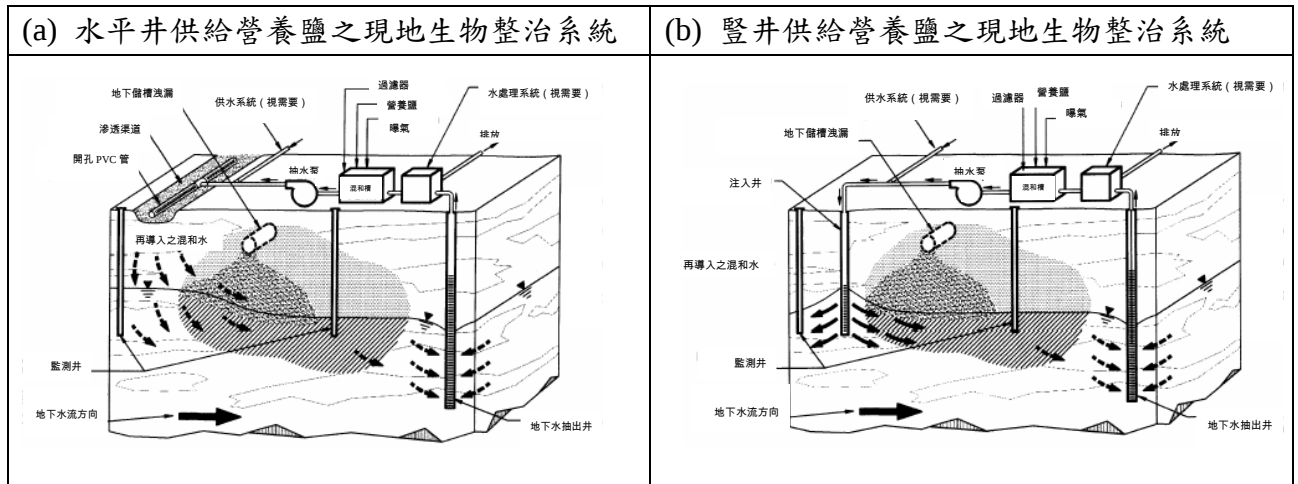


達到飽和溶氧，但因為氣泡顆粒較大，溶氧不易維持，因此在抽、注循環的過程中需持續針對抽出水進行曝氣，以維持注入水中的溶氧。

表 1-1 我國石化污染場址整治技術使用統計

整治技術		使用場址		
土壤污染整治				
主要	搭配使用	數量	百分比	
開挖處理	排客土	94	54.3%	69.9%
	生物復育	18	10.4%	
	化學氧化	6	3.5%	
	土壤清洗	5	1.2%	
	熱脫附	5	1.2%	
	生物堆法	1	0.36%	
土壤氣體抽除法	-	38	22%	51.4%
	空氣注入法	43	24.9%	
	生物曝氣法	8	4.6%	
現地化學氧化法		48	27.7%	
雙相抽除法	-	27	15.6%	16.8%
	空氣注入法	2	1.2%	
加強好氧生物整治法		26	15%	
介面活性劑沖排法	-	4	2.3%	4.6%
	抽出處理法	2	1.2%	
	雙相抽除法	2	1.2%	
生物曝氣法		1	0.6%	
現地電熱法	雙相抽除法	1	0.6%	
地下水污染整治				
現地化學氧化法		60	52.2%	
空氣注入法	-	10	8.8%	49.1%
	土壤氣體抽除法	46	40.4%	
抽出處理法		39	34.2%	
雙相抽除法		29	25.4%	
加強好氧生物整治法		26	22.8%	
現地地下水生物整治		6	5.3%	
生物曝氣法	-	1	0.9%	5.3%
	土壤氣體抽除法	5	4.4%	
界面活性劑沖排法		5	4.4%	
現地電熱法	雙相抽除法	1	0.9%	

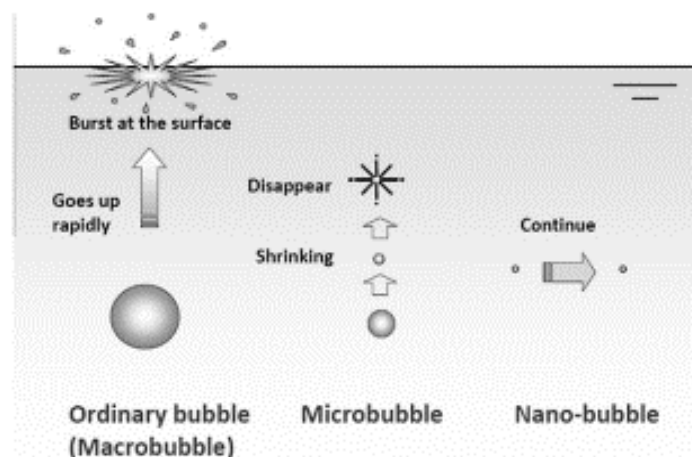
參考文獻：全國土壤及地下水污染整治策略旗艦領航計畫(行政院環保署，2014)



參考資料：“How to evaluate alternative cleanup technologies for underground storage tank sites - A guide for corrective action plan reviewers”, USEPA, EPA 510-R-04-002, May 2004.

圖 1-1 現地生物整治法處理系統

微米氣泡(Microbubbles, MBs)及奈米氣泡(Nanobubbles, NBs)為微小的氣泡，微米氣泡的直徑大小約為 $10\text{-}50\ \mu\text{m}$ ，而奈米氣泡則指是氣泡直徑 $<200\ \text{nm}$ 的氣泡。相較於一般的氣泡產生後，會在很短的時間內因浮力上升而因為壓力改變而破裂，微米氣泡通常會長時間存在水中，這個過程中微米氣泡的體積會逐漸縮小最後崩潰，此時存在於氣泡中的氣體會逐漸溶解於水中，而奈米氣泡因直徑更小則可以在環境中存在更久的時間，甚至數個月，氣泡、微米氣泡與奈米氣泡於水中變化的特性如圖 1-2 所示。



參考文獻：Degradation of methyl orange using short-wavelength UV irradiation with oxygen microbubbles. (Takahashi et al., 2007)

圖 1-2 氣泡、微米氣泡與奈米氣泡於水體環境中之變化特性



因為奈米氣泡及微米氣泡獨特的物理特性，當以氧氣作為氣泡產生源時，可以大量增加水中的溶氧，因此奈米氣泡及微米氣泡被大量應用於水產養殖、農產品耕作、水處理或河川治理工作中，透過奈米或微米氣泡水供給的高濃度溶氧，提升水產及農產品產量，或提供足夠的溶氧使水中的污染物得以更順利的被進行好氧分解。此外微米氣泡在破裂過程中，可能會產生自由基而具有氧化能力，可進一步破壞水中的污染物，因此被應用於農產品的清洗。

1.2 研究目的

我國現地好氧生物整治技術應用廣泛，但在技術上大多仍遵循歐美先進國家所開發之技術與方法，本研究擬應用前述之奈米氣泡產生技術，開發新穎現地生物整治方法，利用奈米氣泡顆粒小、持久性高的特性，配合地下水抽注循環方式，改變現行現地生物整治的提供方法，強迫奈米級氣泡進入土壤間隙中傳輸，進而強化氣體於地下環境中的傳輸，使得氣體得已與污染物及微生物有更多的接觸，而擴大好氧生物整治作用，期能突破現地好氧生物整治技術溶氧供給與維持的技術瓶頸。

本研究將區分二個階段，第一階段利用實驗室砂箱試驗進行高溶氧水傳輸效率的測試，於此階段利用管柱試驗與砂箱試驗，模擬地下環境及不同土壤質地的組成與構造，建立操作條件，並確認技術可行性，同時尋找最佳的操作條件。第二階段則以大社工業區某一石化污染場址為模場試驗場址，依據實驗室所建立的操作條件，建立模組化系統，以作為未來大規模實場應用的基礎，在本研究中將同時利用分子生物技術觀測場址中在過飽和溶氧誘導下，地下環境中的微生物菌群變化，與觀測石油碳氫化合物降解酶的功能性基因特性，配合場址環境因子與營養條件的營造，建立現地操作條件與套裝設備，發展本土化且實際可行之整治技術。



第二章、原理與設計

2.1 奈米氣泡特性與產生技術

微米氣泡或奈米氣泡的顆粒小、比表面積大，在污水處理的應用上，微米氣泡或奈米氣泡可應用於溶解空氣浮除法中，這些微小的氣泡可與水中的顆粒發生陷入(Entrapment)、成長(Growth)、碰撞(Collision)與黏著(Adhension)反應，再因為密度變小達到去除顆粒的效果(Edzwald, 1995)。而也因為氣泡顆粒小，因此亦有應用奈米氣泡水或微米氣泡水進行半導體製程中的表面顆粒清洗的應用(小林秀彰等，2014 年)。

微米氣泡或奈米氣泡的生成在實務上主要可區分為多孔性薄膜產生、壓力差生產法及渦流混合法等 3 種方式，如圖 2-1 所示，在本研究中，將應用國內某代理廠商所提供之小型奈米氣泡產生機(型號 OD-110，產量 2.1 t/hr)，依據原廠提供的資訊，該設備可以利用氧氣鋼瓶在短時間內產生超高濃度的溶氧，相較於傳統的曝氣設備或微米氣泡散氣設備，消耗的氧氣量較低，為一較環境友善的技術(如圖 2-1(a))。

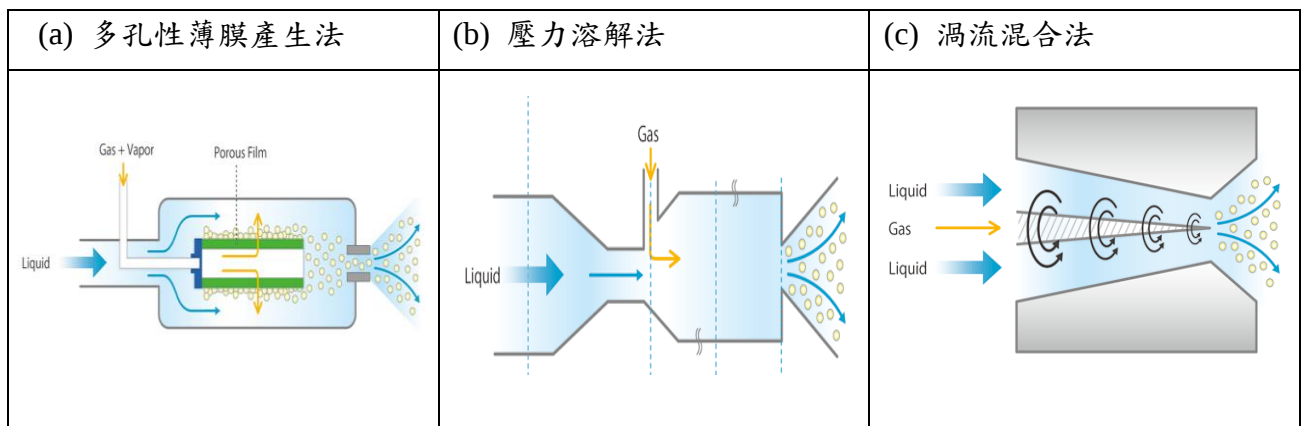


圖 2-1 微米氣泡與奈米氣泡生產方法示意圖



奈米氣泡因其顆粒較小，相較於傳統的曝氣方法，可提供環境較高的溶氧，且因其氣泡顆粒小，因此停留於水中滯留時間較長，使得溶氧得以長時間存在，因此奈米氣泡已被大量應用在水產養殖、農業生產，可有效增加漁產及農產收穫量，如與臭氧產生機結合，則可以提供持續性的氧化能力，達到除污的效果，因此亦被應用於農產品的清洗。由於奈米氣泡水可持續提供高溶氧的特性，目前已有許多先進國家將其用於河川污染整治領域，另外，也因為奈米氣泡顆粒小、比表面積大，因此國內亦有研究將之應用於溶解空氣浮除法中，強化污染物的分離效果。

依據製造商提供資料，比較傳統曝氣、氧氣曝氣及奈米氣泡曝氣(如圖 2-2(b)所示)，顯示奈米氣泡曝氣可提供較高溶氧等級，在本研究先導試驗的溶氧提升能力測試中顯示，經過 30 分鐘的曝氣與水循環，可將 250 L 自來水中的溶氧從 7.3 mg/L 提升至 20 mg/L，此外經過 5 天的靜置，曝氣後的自來水溶氧仍然可以維持 11 mg/L(如圖 2-2(b)所示)，顯示其產生之穩定性溶氧，因此本研究將應用該廠牌奈米氣泡產生機，作為本計畫實驗室及模場試驗之奈米氣泡產生設備。

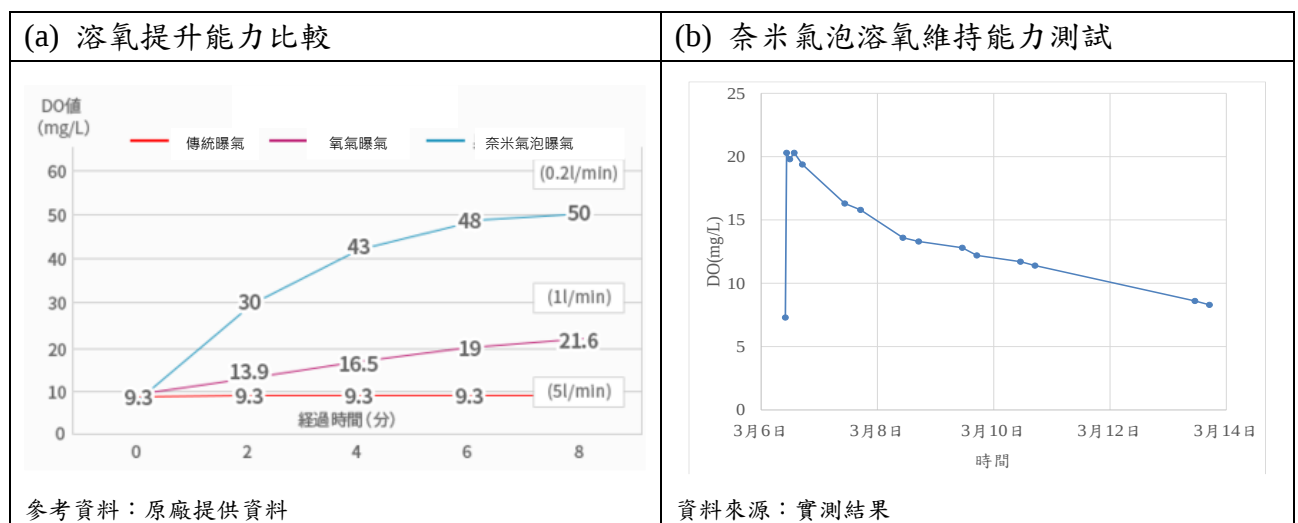


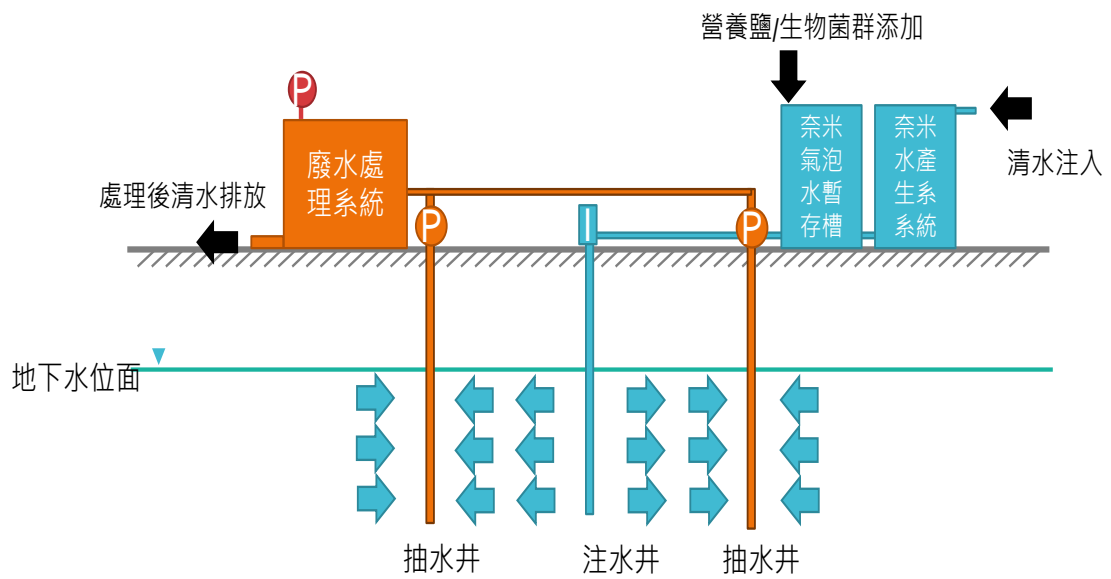
圖 2-2 奈米氣泡溶氧能力測試



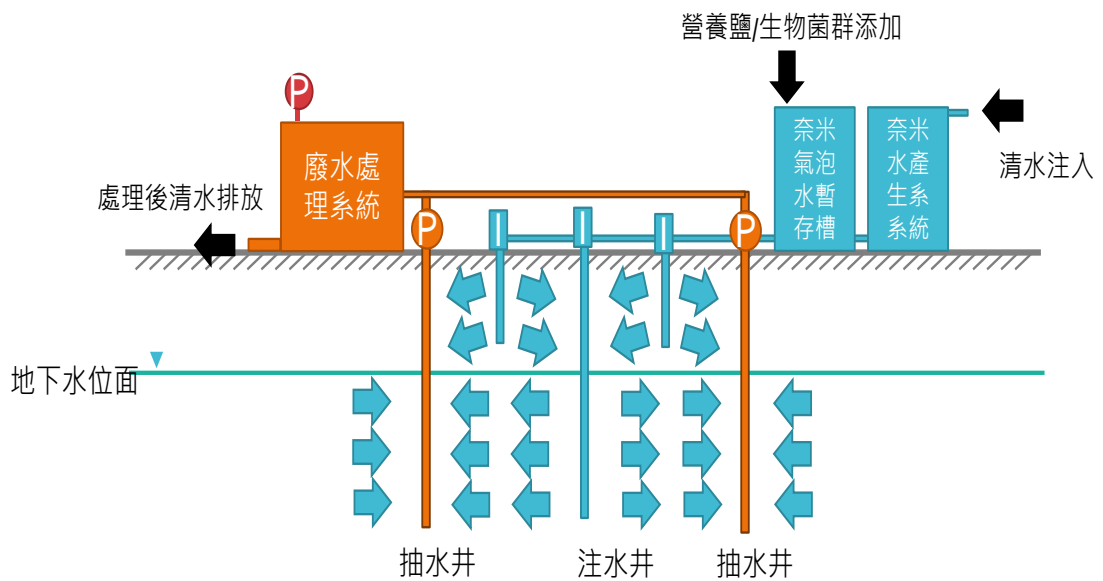
2.2 超高溶氧奈米氣泡水現地生物整治技術系統設計

由於微米或奈米氣泡相較於傳統的散氣盤或曝氣設備，可以提供高濃度溶氧濃度，同時依據前述文獻與先導試驗內容可知奈米氣泡在環境中可以維持較長的時間，同時因為奈米氣泡的直徑落於 10 nm-100 nm 間，一但進入地下環境中，預期這些微小的氣泡顆粒將較容易通過土壤間隙而達到氧氣傳輸的效果。因此只要透過抽水與注水的控制，可以使含有超高溶氧的注入水傳輸至高污染區域，提供足夠的氧氣作為好氧生物降解的電子接受者。

圖 2-3(a)為本研究預定發展之超高溶氧奈米氣泡水現地生物整治技術系統示意圖，未來將規劃以抽出之地下水或自來水作為水源生成奈米氣泡水，產生之奈米氣泡水再以注入井注入地下水中，注入井的開篩位置原則尚須涵蓋地下水位面，但可依據污染範圍、預定影響範圍調整，改以不同開篩區間進行注水。奈米氣泡水產生後，可依據水化學環境、土壤特性與微生物族群狀況，添加營養鹽、碳源或具有分解石油碳氫化合物的菌群。當污染物位於不飽和層時，則可參考圖 2-3(b)，以水平井或淺層豎井進行奈米氣泡水注入，提供水份、氧氣與營養鹽至不飽和含水層中，進行現地生物整治。當奈米氣泡水注入地下環境後，將利用抽水井進行低流量抽水控制，迫使奈米氣泡水於地下環境中移動，在抽注井場間，則設置監測井，可以溶氧為指標，監測奈米氣泡水的流布情況。



(a) 超高溶氧奈米氣泡水飽和層生物整治技術示意圖



(b) 超高溶氧奈米氣泡水不飽和層生物整治技術示意圖

圖 2-3 超高溶氧奈米氣泡水之現地生物整治技術系統設計



2.3 模場試驗場址環境特性

本整治技術發展之目標，優先以強化石化類污染場址的生物降解為主，預計可強化生物整治的地下水目標污染物包含：汽、柴油造成之總石油碳氫化合物、甲基三丁基醚、苯、甲苯、乙苯、二甲苯、取代基苯、萘等，在場址環境特性部份，原則上以土壤質地為砂質或粉土質砂，且地下水補注良好、透水性佳之場址優先。依據徵求書中所列之要求，場址需為控制或整治場址，故本計畫篩選國內石化類污染場址，初步擬定以大社工業區一石化污染場址為主要試驗標的，以下說明本研究模場試驗所需之污染物種類、水文地質條進行說明：

2.3.1 場址現況與特性

本計畫選定位於高雄市大社工業區某石油化學公司(以下簡稱本場址)作為主要的試驗標的，該場址位於大社工業區中，用地類別為非都市工業區，其行業分類屬工業、營造業，所有權分類屬民營事業，從事乙苯、苯乙烯、ABS 塑膠、SAN 樹脂等石化原料製造、儲槽與販售工作。

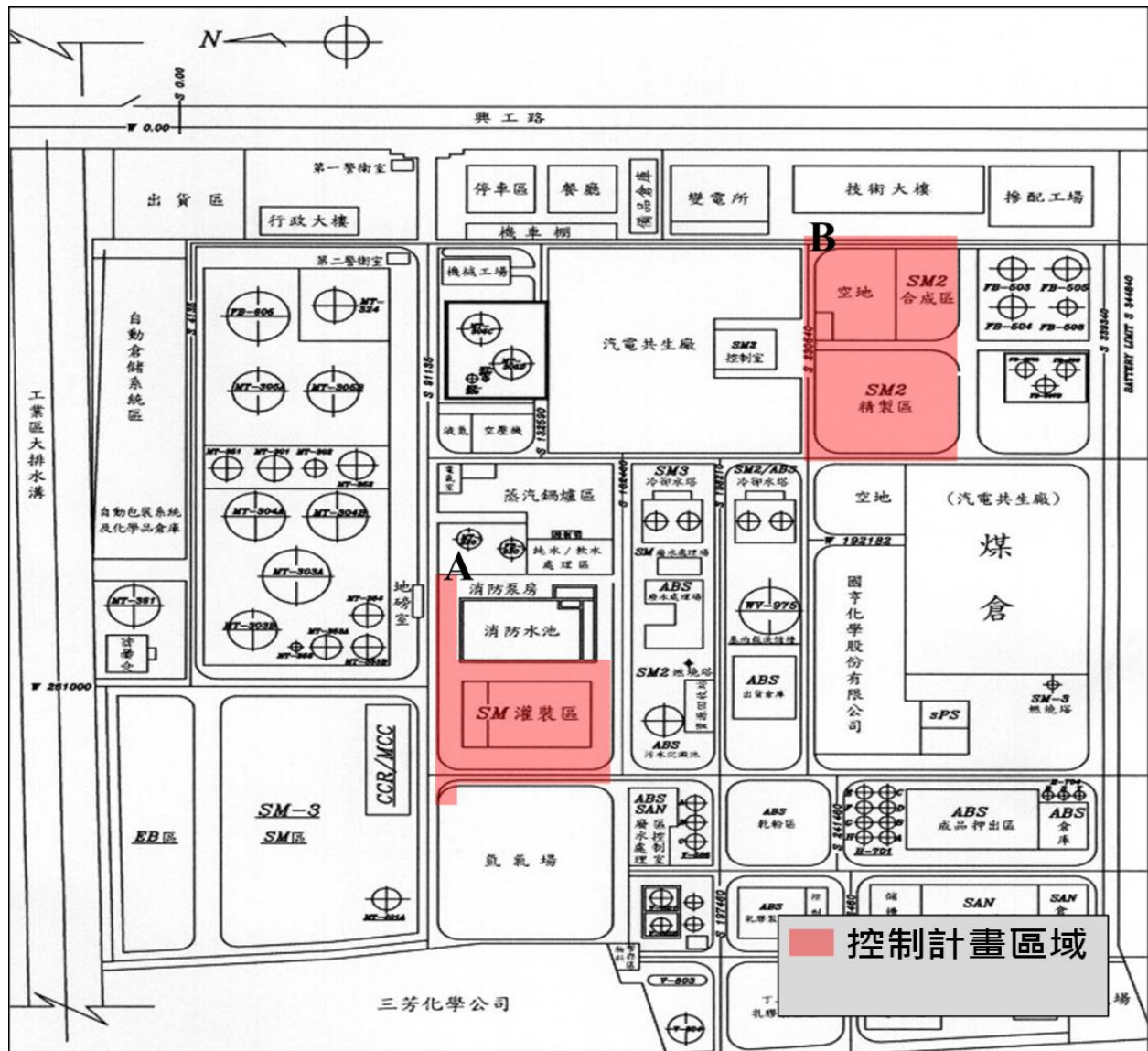
以下簡單說明本場址主要進行何種製程與產品，SM 為石化工業重要的中間原料，可用以生產 PS 塑膠、ABS 塑膠、苯乙烯 / 丁二烯橡膠(SBR)、不飽和聚酯(UPS)等。SM 製造方法係由苯(Benzene)和乙烯(Ethylene)兩種石化原料先經烷化反應形成乙苯(Ethylbenzene)，再經脫氫反應後形成苯乙烯產品，並有副產品甲苯(Toluene)及氫氣產生；而 ABS 塑膠製造方法係以丙烯(Acrylonitrile,AN)、丁二烯(Butadiene,BD)、SM 三種化合物經乳化、聚合及連續性聚合反應共聚而成的樹脂，全名為丙烯腈-丁二烯-苯乙烯共聚物，簡稱為 ABS；SAN 塑膠(Styrene - Acrylonitrile resin)又稱 AS 聚脂，製造方法係以丙烯腈(Acrylonitrile,AN)與 SM 共聚而成的塑膠，具有良好的透明度、高抗張強度及硬度。由本廠相關製程推測導致污染發生之來源，可能為苯乙烯製程中使用之原物料與產生之中間或最終產品，其廢油水分離與貯存設備管線破損滲漏於地表下，造成地下水污染。

本場址目前有兩處區域公告為土壤地下水控制場址，以苯、甲苯、乙苯為主要污染物質；場址淺層屬粉土質地質，深層則為砂質地層，地下水流向依枯豐水季由東向西轉為東南向西北流動。本場址自 2002 年起進行污染調查工作，迄今已進行 15 年之污染改善工作，2015 年提出「土壤及地下水污染控制變更計畫」，展延計畫執行期程 2018 年 6 月。本次控制計畫變更核定高濃度熱區採界面活性劑沖排，中低濃度區域採



以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物整治技術試驗計畫

空氣注入搭配土壤氣體抽除，並於局部死角區域以化學氧化強化處理，並接續採生物復育方式處理；污染團下游邊界區域以釋氧劑建置隔離帶，避免污染擴散，本場址目前控制計畫執行範圍如圖 2-4 所示。





2.3.2 污染物種類與濃度

模場試驗之場址以石化污染物為主，地下水曾檢出苯濃度(0.777 mg/L)，超過地下水污染管制標準，預估受污染含水層面積達 5,988m²，受污染含水層厚度約為 3m，土壤中曾檢出苯最高濃度 14.3 mg/kg 及乙苯濃度 4,320 mg/kg，超過土壤污染管制標準，預估污染土壤面積 5,988m²，污染深度達 5m (bgs)。

本場址之實驗區塊為位於圖 2-4 中之標號 A 區塊，此區塊於 2005 年調查結果發現有苯、甲苯及乙苯存在，如圖 2-5、2-6 及 2-7。而於 2010 年亦將此區塊進行污染調查發現僅剩於乙苯之污染較為明顯，如圖 2-8、2-9 及 2-10。



以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物整治技術試驗計畫

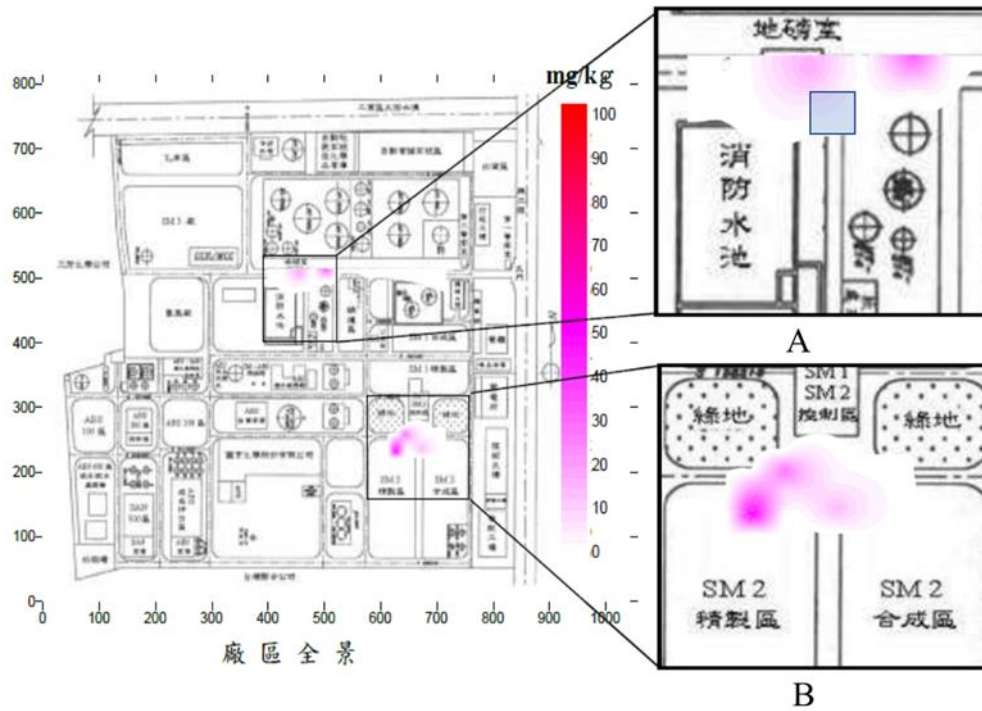


圖 2-5 本場址苯污染土壤調查結果(2005 年)

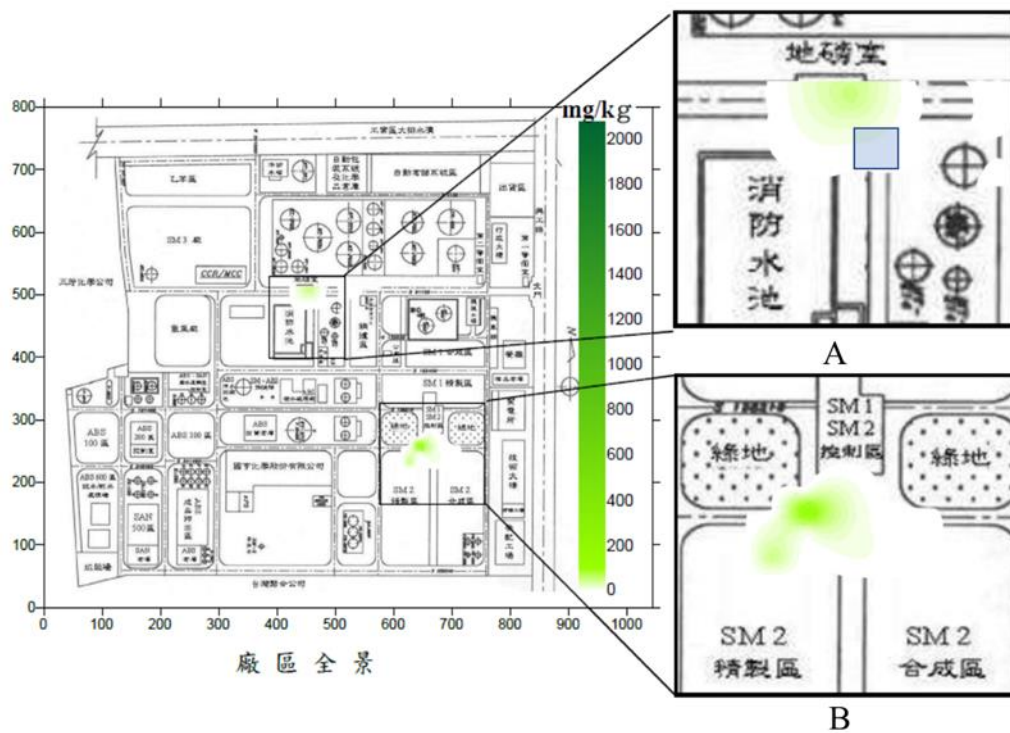


圖 2-6 本場址甲苯污染土壤調查結果(2005 年)

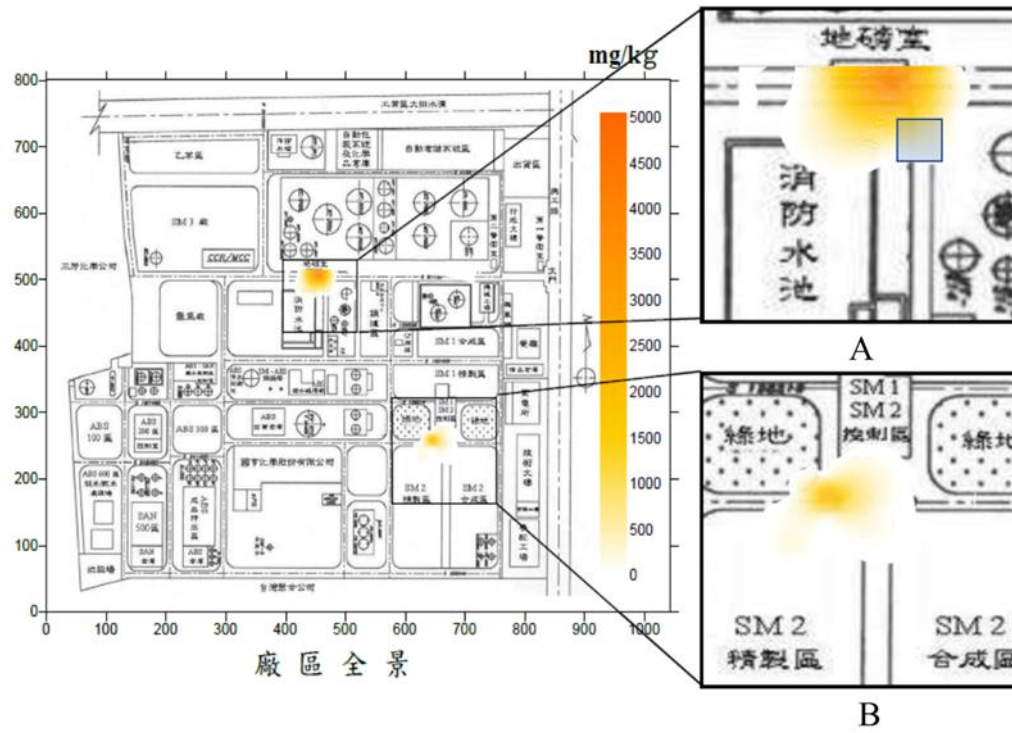


圖 2-7 本場址乙苯污染土壤調查結果(2005 年)

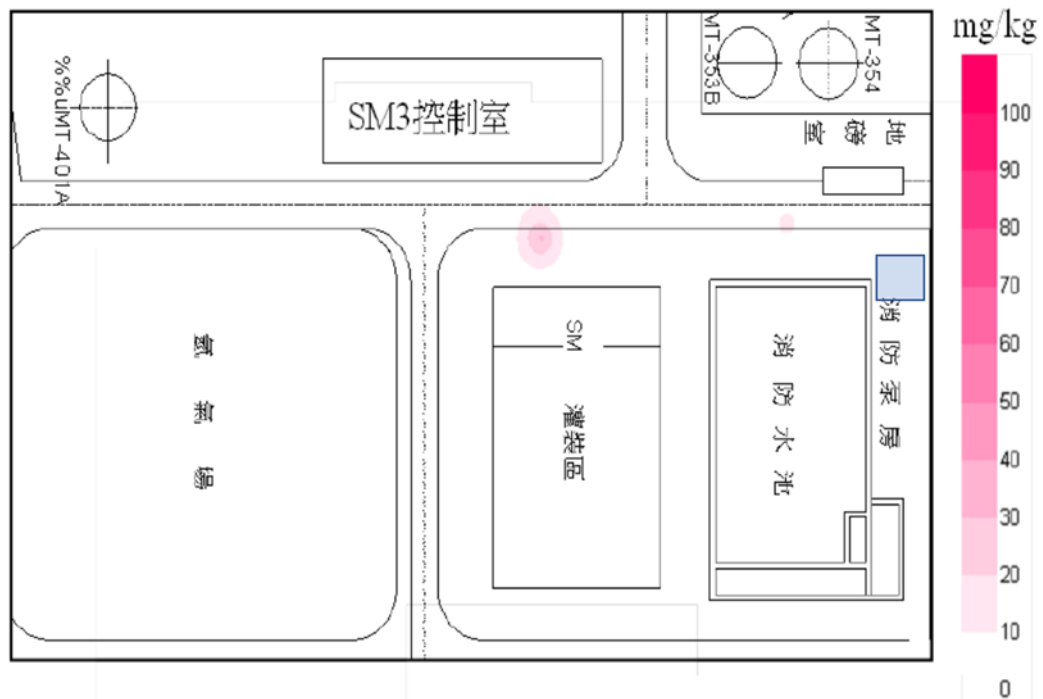


圖 2-8 本場址苯污染土壤調查結果(2010 年)

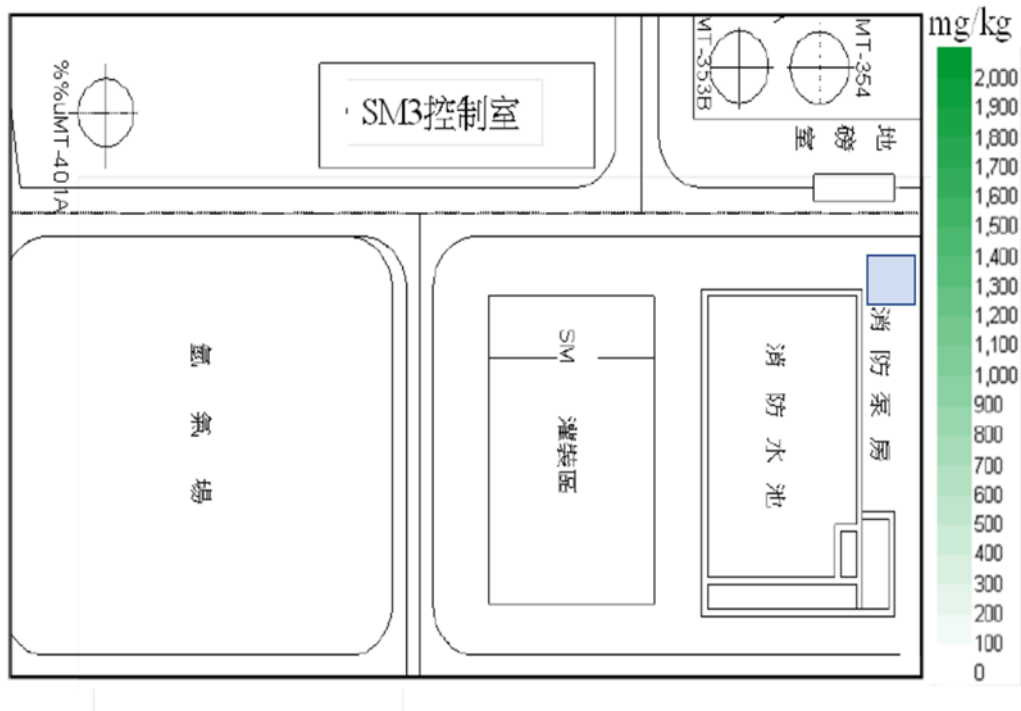


圖 2-9 本場址甲苯污染土壤調查結果(2010 年)

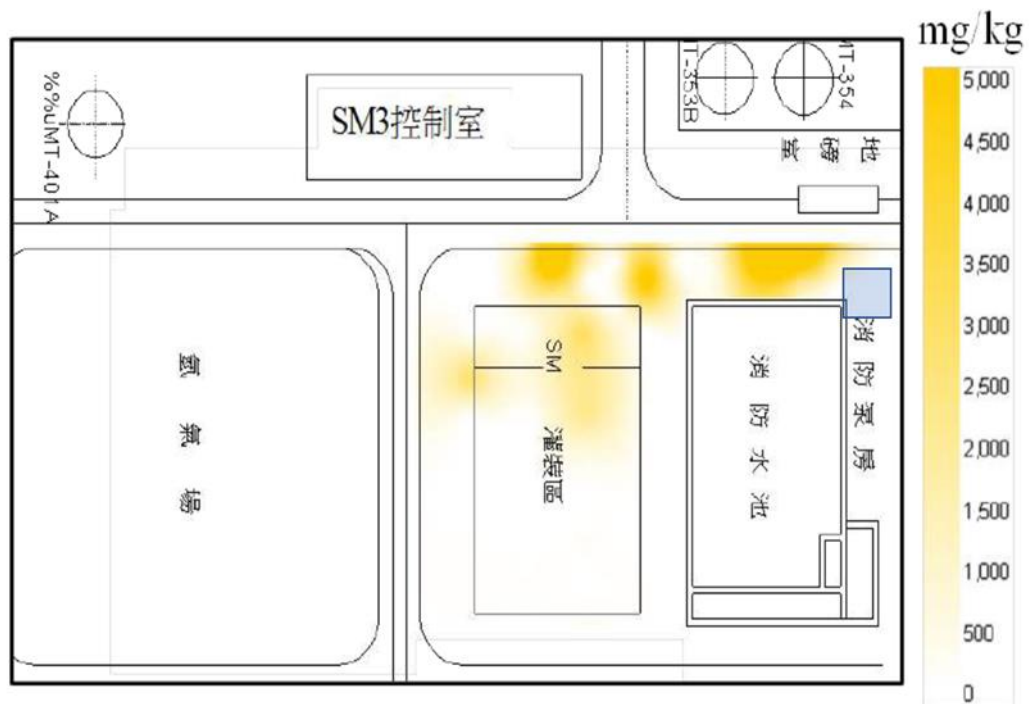


圖 2-10 本場址乙苯污染土壤調查結果(2010 年)



以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物整治技術試驗計畫

2.3.4 水文條件

本場址位於大社工業區內，流經廠區北側之大排水溝，為楠梓溪之上游，依水利局之河川分類屬區域排水。楠梓溪發源於廠區東南方約 2 公里處之大社區與仁武區交界處，流經大社工業區後，穿越高速公路，向西北方進入高雄市楠梓區，於錦屏里附近匯流入後勁溪。地面水體平均水位坡降極為平緩，約在 1：780 左右。由場址第一區及第二區的地質柱狀圖抽水試驗的結果顯示，本場址通水係數介於 $0.0014 \text{ m}^2/\text{s}$ 至 $0.0092 \text{ m}^2/\text{s}$ 之間。由場址地下水水位之定期觀測資料顯示(圖 2-12)，枯水期地下水位高程約介於 10.35~10.92 公尺，地下水流向係由東向西；豐水期時則地下水位高程上升，約介於 10.56~11.31 公尺，場址地下水呈現向大社工業區大排方向流動的趨勢。

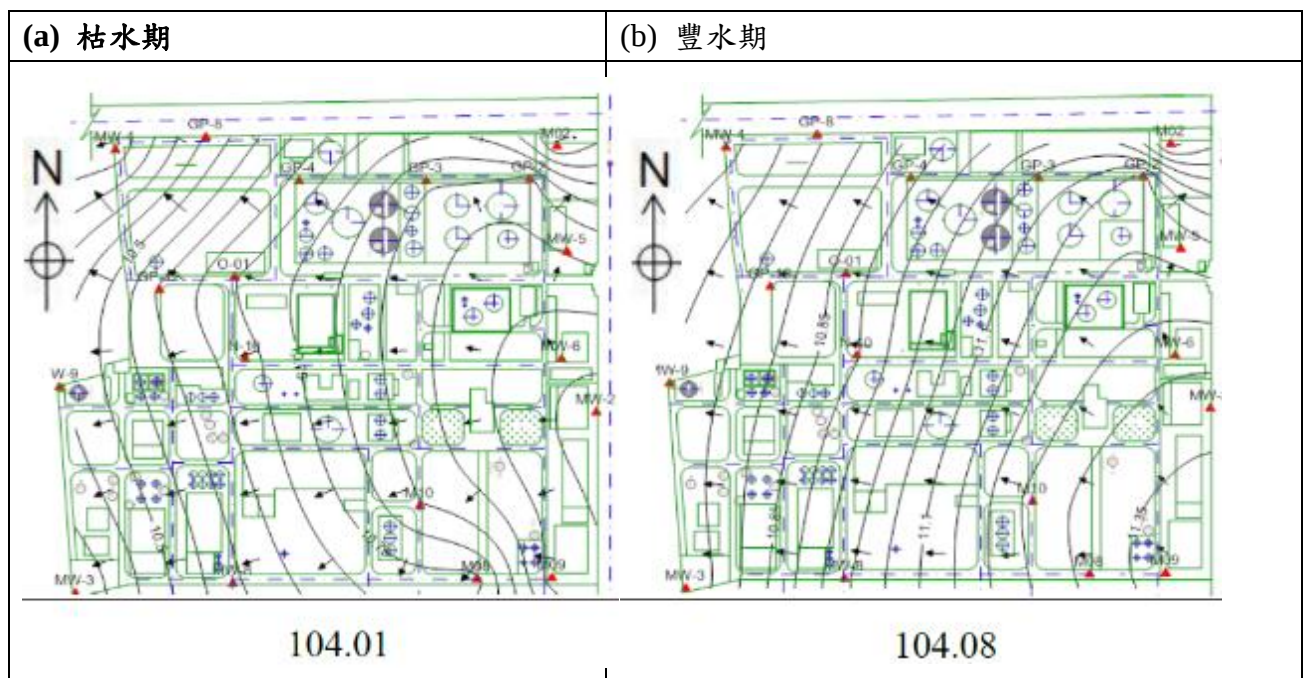


圖 2-12 模場試驗模擬場址之地質條件



2.4 技術可行性、新穎性及未來性

基於過去對於石化污染現地生物整治技術之研究成果，擬應用奈米氣泡產生設備作為一新穎的氧氣供給方式，並利用奈米級氣泡顆粒小、持久性高的特性，讓產生之氧氣得以透過水力控制的方式通過微小的土壤孔隙，相較於傳統利用現地曝氣井方式，氣泡無法有效進行水平傳輸，故本研究之方法將可突破傳統曝氣法氣體無法達到有效傳輸的限制。在技術應用的可行性上，本研究立基於水力控制方法，因此只要水文地質環境適宜，便可以應用本研究所發展之技術。本研究所發展之技術，在未來發展上可以預期有更多之技術發展方向：(1)配合循環井或抽注井場，可做為未來被動式整治之工法，對於未來工業區或運作中場址之周界污染控制將產生極大貢獻。(2)奈米氣泡之產生設備如與臭氧產生機結合，預期可提生臭氧於水中的濃度與持久性，而突破傳統臭氧現地化學氧化方法的限制。(3)本計畫所採用之奈米氣泡產生技術，乃是利用物理方法取代水分子團間繫的氮氣，而產生極小的奈米氣泡，因此一方面可加速揮發性有機物的揮發，另一方面可能可進一步應用超音波特性，利用能量強氧化或破壞水中的污染物。

目前奈米氣泡水於土壤及地下水污染整治之研究於國內外應用亟少，本計畫為一創新性之研究，期望可透過本研究之成果，開啟奈米氣泡水於我國土壤及地下水污染整治工作的應用，預期可提升我國土壤及地下水污染整治技術水平。



以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物整治技術試驗計畫



第三章、研究方法

3.1 研究架構

本計畫擬進行二階段之技術開發工作，以技術開發與操作條件建立為前提，規劃整體研究內容。本研究主要區分為實驗室研究及模場試驗兩個部份，預定執行 2 年之技術試驗計畫工作，實驗規劃如圖 3-1 所示，分述如下：

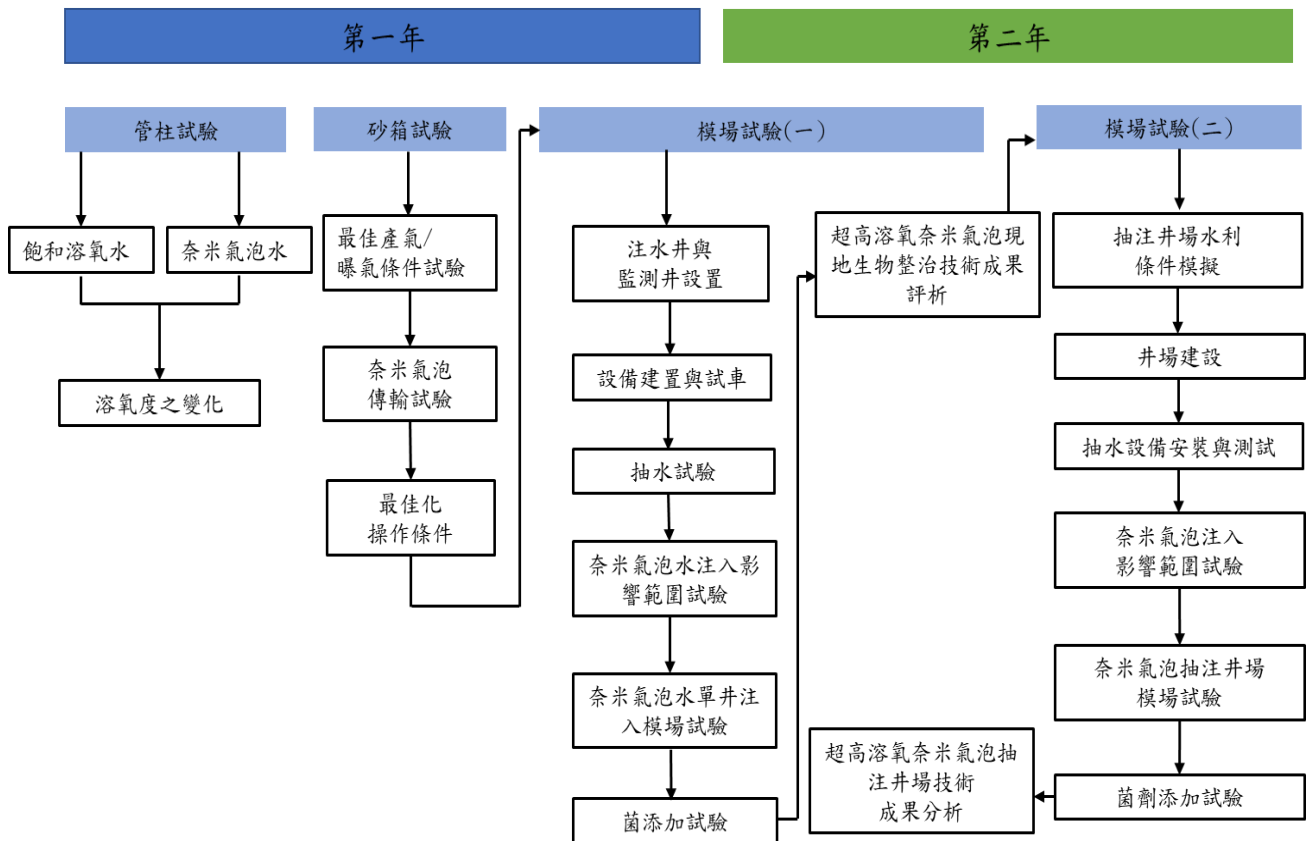


圖 3-1 實驗室與污染場址工作架構



3.1.1 實驗室試驗

實驗室試驗的第一階段為進行玻璃管柱試驗，以填充土壤的玻璃管柱模擬飽和溶氧地下水於地下環中伴隨時間之溶氧變化量，故以內徑 4.8 cm、長度 15 cm 之玻璃管柱緊實填充供試土壤，模擬未受污染的地下環境(如圖 3-2)。兩側蓋上附有鐵氟龍濾網之塞蓋後稱重紀錄，一端接上幫浦(piston pump)以 0.576 mL/min 流速之 0.01N 氯化鈣 (CaCl_2) 溶液沖洗填充供試土壤 4 小時，使管柱成為飽和狀態，藉以模擬土壤之飽和層 (saturated zone)。靜置 24 小時後稱重，二次稱重之重量差即為管柱中孔隙體積，再取飽和溶氧水模擬地下水注入管柱，分別觀察在水平管柱與垂直管柱中飽和溶氧地下水在不同時間條件下(24hr、48hr、72 hr、96 hr 及 120 hr)之溶氧變化量。

實驗設計以定量 pump 將飽和溶氧水持續注入管柱，並持續收集 20 mL、40 mL、60 mL 及 80 mL 流出液，並檢測及記錄其溶氧，如圖 3-2 所示，繼續使用 pump 將飽和溶氧水注入管柱一段時間，以確保管柱中之飽和溶氧水為新注入，並且無前次試驗之殘留地下水，靜置一段時間，以作為觀察地下水不同滯留時間下其溶氧變化。

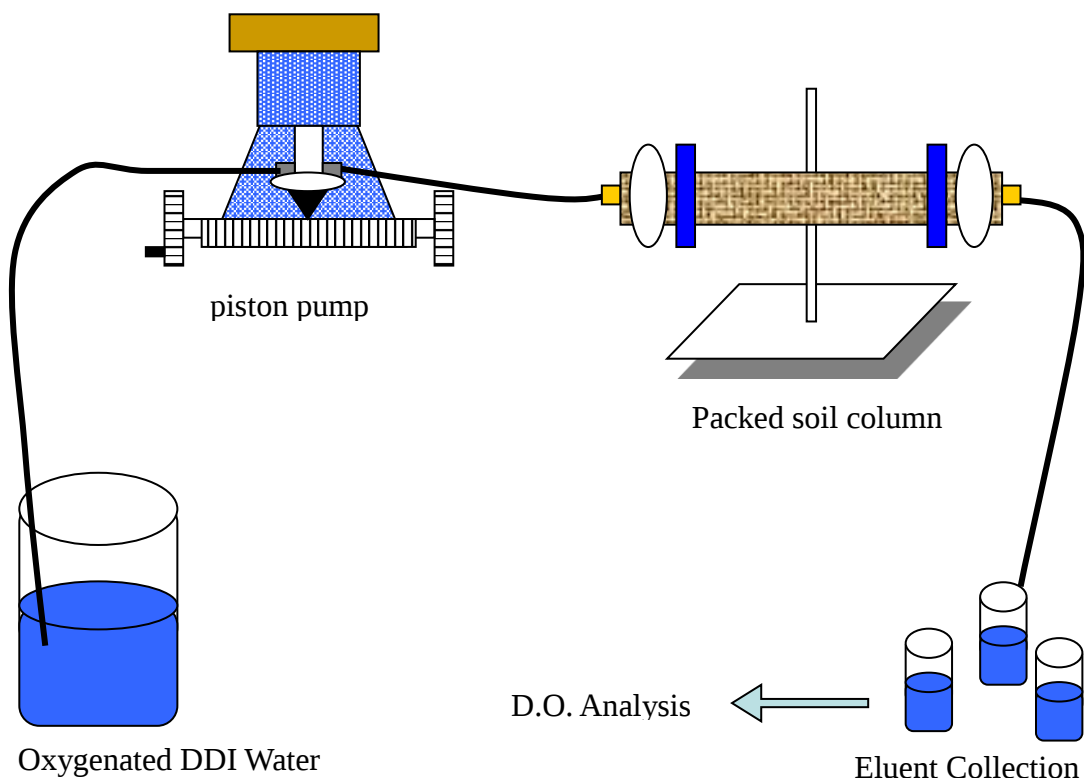


圖 3-2 管柱實驗裝置圖



實驗室規模試驗的第二階段，則是依據設計奈米氣泡水產生與灌注條件，透過砂箱試驗設計，了解超高溶氧奈米氣泡在地下水中於土壤孔隙介質之傳輸情形，如圖 3-2 所示，特別是觀察地下水流速快慢對奈米氣泡之維持及影響，透過不同測點(模擬地下水監測井)，了解奈米氣泡在土壤孔隙介質之滯留時間，及溶氧對應時間序列之變化情形，以作為模場試驗超高溶氧奈米氣泡曝氣頻率、注入量及模場試驗之參考。砂箱試驗主要監測項目為水位、DO 等水質項目，並確認奈米氣泡水於土壤孔隙介質之傳輸及溶氧消散情況。



圖 3-3 砂箱試驗裝置圖



以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物整治技術試驗計畫

3.1.2 模場試驗

(1) 研究目的

模場試驗係建立超高溶氧奈米氣泡現地生物整治技術井場配置之最佳化條件，依據實驗室試驗所建立之曝氣條件，於現場進行測試，觀察奈米氣泡於地下環境的傳輸狀況，同時確認場址環境中污染物濃度的變化，並進行質量平衡計算及微生物族群變化、石油碳氫化合物功能性降解酶之變化，以確認生物整治之成效。

(2) 模場試驗所在位置

為確保本計畫執行之模場研究不致影響場址現階段污染改善工作，與場址所有人磋商後，選定場址第一區東北側污染區域周界附近 5m×5m 之範圍進行試驗，並且選擇該區域 SVE/AS 影響半徑之外之區域設置本計畫執行之井場，以避免計畫執行期間相互干擾，同時亦可比較場址 SVE/AS 及後續生物整治之效果，本計畫模場試驗預定執行之區域如圖 3-4 所示藍色方形區塊。

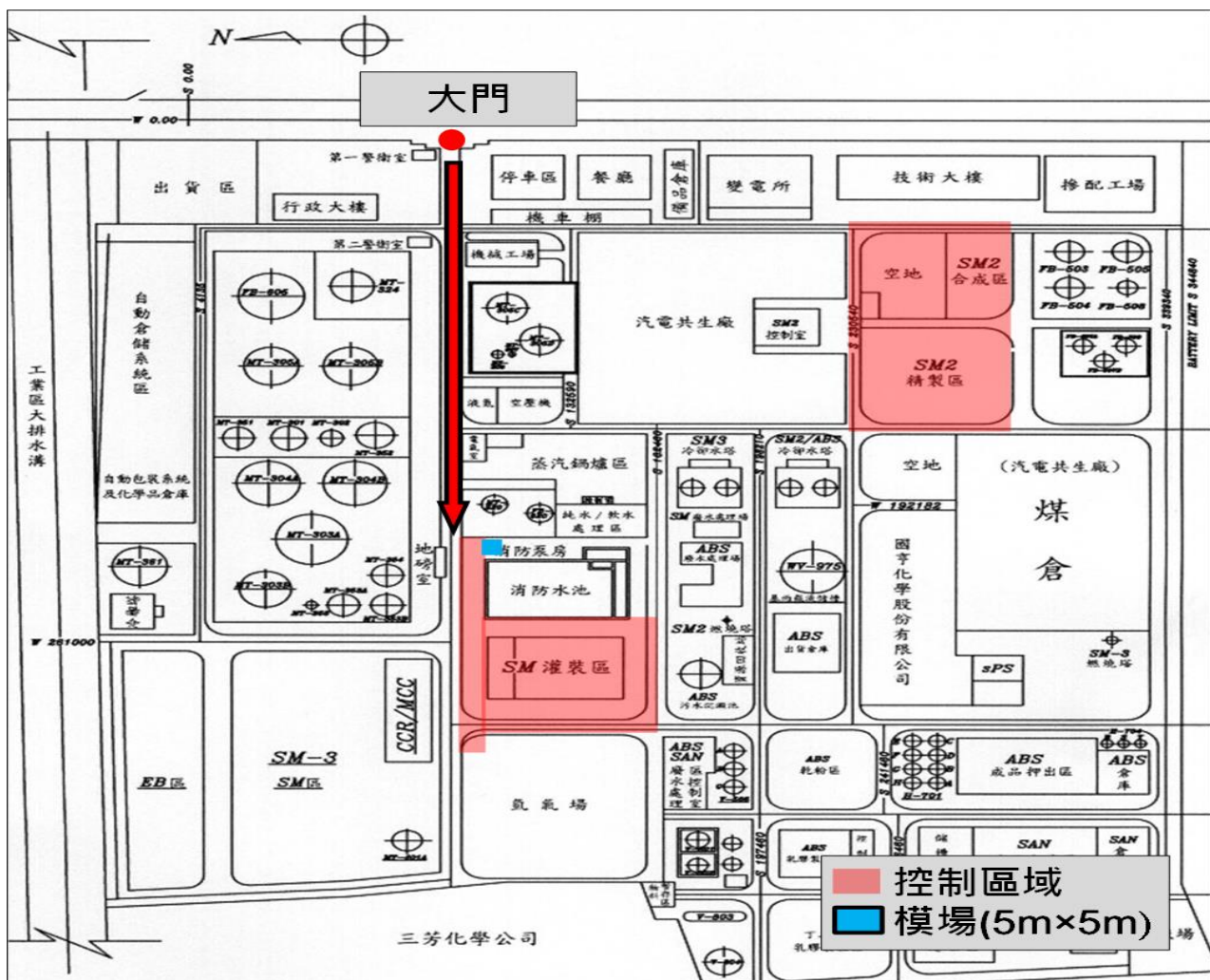


圖 3-4 模場試驗預定執行位置示意圖



(3) 井場配置與規劃

本研究第一階段模場試驗井場規劃如圖 3-5 所示，預定於場址設置 3 口注水井（GW1、GW2 及 GW3）並分別於距離注水井 0.5 公尺（MW1）及 1 公尺（MW2）處，設置水質採樣及觀測井，並於井場規劃區域外設置對照組區域。

模場試驗 I 預定進行 12 個月，前 2 個月進行井場建立與設備試車，第 3 個月至第 8 個月進行奈米氣泡水傳輸試驗，分別以氧氣與氮氣做為高溶氧與低溶氧奈米氣泡產生源，先注入高溶氧奈米氣泡水，再注入厭氧氣泡水，最後以高溶氧奈米氣泡水恢復地下環境之好氧狀況，併以不同注入頻率與時間(連續注入/12 小時間歇注入)，測試注水強度，相關參數將視現場執行進行調整。第 9 個月至第 12 個月則於高溶氧奈米氣泡水中加入油品分解菌，進行油品分解菌添加測試。每周進行 1 次基本地下水水質參數測定(pH、ORP、DO、EC)，每個月進行 1 次地下水採樣，地下水計共 3 個採樣點，分析水中 TPH 及 VOCs。在微生物分析部份，則分別於連續注入試驗前、中、後及油品分解菌添加並操作一段時間後，針對注入井與觀測井各進行 1 次微生物族群分析，功能性降解酶 qPCR 分析。

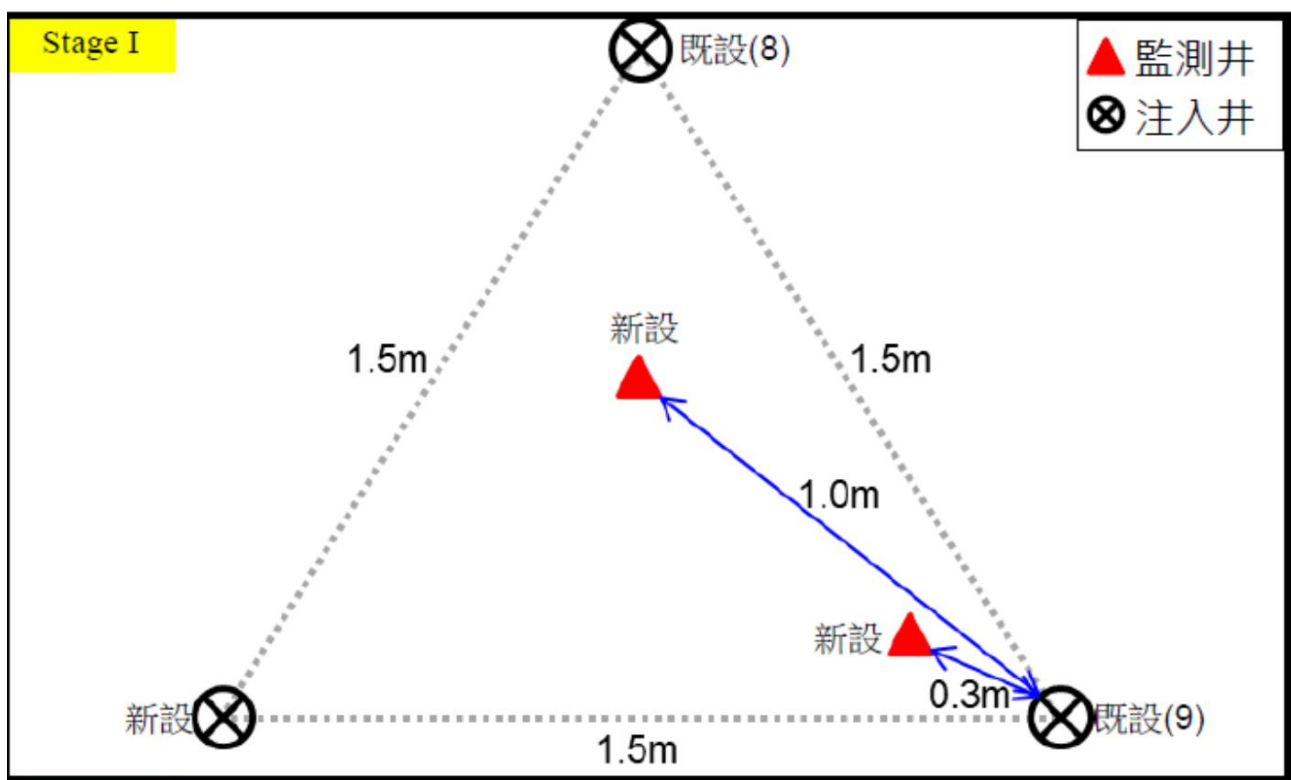


圖 3-5 第一階段模場井場規劃



3.2 實驗設備

(1) 氣相層析/質譜儀

本研究使用氣相層析/質譜儀(gas chromatograph/mass spectrometer, GC/MS) (HP 6890/5973, Agilent, USA)進行污染物之定性及定量分析，所使用的分離管柱內部管柱(capillary column DB-624, Agilent J&W, USA)，長 60 m，管柱內徑 0.32mm，薄膜厚度 1.8 μm ，材質 6% Cyanopropyl-phenyl，94%dimethyl polysiloxane，可使用的溫度範圍從-20°C 到 260°C，攜帶氣體為高純度氦氣。

(2) 平衡頂空裝置

本實驗利用平衡頂空裝置來分析水中揮發性有機待測物，使用的平衡頂空裝置(Static/Dynamic Headspace System)是 Teledyne Tekmar 公司製造，見圖 3-6，設計檢測固體基質樣品製備揮發性有機待測物前處理。其原理為土壤或地下水樣品由系統加熱平衡後，其中內含之揮發性物質由樣品中揮發成氣體狀態，在揮發性有機待測物於土壤或地下水及氣體中達到一平衡狀態，儀器利用加壓將樣品送入氣相層析儀中(行政院環保署，2002)。

平衡頂空裝置之設定條件參數如下:oven 溫度設定 120°C；platen 平衡溫度設定 85°C 停留 45 分鐘，樣品混合時間 5 分鐘；transfer line 溫度設定 120°C，使用高純度氦氣流速設定每分鐘 50 mL，以免樣品殘留在管線中；G.C. cycle 時間設定 30 分鐘；pressurize 平衡時間 0.50 分鐘加上 loop fill pressurize、pressurize 與 stabilize 等之時間，平衡頂空裝置處理一個樣品時間約為 1 小時。



圖 3-6 本實驗使用之 Headspace 平衡頂空裝置



(3) 高濃度氣體溶解裝置

本實驗使用的高濃度氣體溶解裝置(High Density Aero Dissolution Equipment)是日本奧誠商事株式會社出品，型號:OD-110，見圖 3-7，為因應本計畫使用，訂購後由日本空運來台。使用方式為將水抽入白色反應槽中並將氧氣灌入，利用白色反應槽內構造將大量氧氣溶入水中，因此所產出來的水為高溶氧水。高濃度氣體溶解裝置每小時處理水量可達2.1 噸，每日可處理水量 50 噸/天、氧氣使用量為 1.8 公斤/天，水之飽和溶氧量最高可達 55.3 mg/L。



圖 3-7 高濃度氣體溶解裝置

(4) 手提式溶氧計

本實驗使用的溶氧計(Dissolved Oxygen Meter)是美國 YSI 出品，型號: Model 55，見圖 3-8，本裝置溶氧測定器偵測溶氧最高值可達 20mg/L，可能無法偵測奈米氣泡高溶氧，因此本裝置僅可使用於偵測一般水樣之溶氧量。使用方式為先確認電極薄膜與電解液是否需要更換，確認完後在將溶氧測定器進行校正，其校正值符合溶氧標準值之水溫對應溶氧值後將可使用。

為測定水中奈米氣泡高溶氧，本實驗使用德國 WTW 出品，型號為 Oxi 3205 的手提式溶氧計(Handheld Oxygen Meters)，見圖 3-9，本裝置偵測溶氧最高值可達 50 mg/L，因此將本裝



以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物整治技術試驗計畫

置使用於偵測奈米氣泡高溶氧水之溶氧量。使用方式為先確認電極薄膜與電解液是否需要更換，確認完後再將溶氧計進行校正，其校正值符合溶氧標準值之水溫對應溶氧值後將可使用。



圖 3-8 手提式溶氧測定器



圖 3-9 高濃度手提式溶氧計

(5) 活塞幫浦與玻璃管柱

本實驗使用的活塞幫浦(Piston Pump)與玻璃管柱(Glass Column)分別為美國 FMI 與 Thomas Scientific 出品，見圖 3-10 與圖 3-11。活塞幫浦型號為 QG-6，流速可分十段調整，本實驗使用流速經測試為 1.58 mL/min。玻璃管柱內徑 4.8 公分，長度 15 公分，最大容量 271 毫升，管柱兩側之濾蓋為鐵氟龍材質。



圖 3-10 活塞幫浦



圖 3-11 玻璃管柱



3.3 實驗方法

3.3.1 土壤基本性質分析

(a) 含水量

先將坩鍋以微量天秤秤重並記錄其重量，再秤取 10 g 之土壤樣品置於其中，放入 105°C 之烘箱中，持續烘乾 24 小時後，將土壤樣品移至乾燥箱中，讓土壤樣品自然冷卻後以微量天秤秤重，計算烘乾前後重量差求得含水率。

(b) 有機碳含量

取 10 g 土壤樣品置於秤重並記錄之坩鍋內，放入 105°C 的烘箱中烘乾 24 小時後，取出樣品，再放入 550°C 之高溫烘箱中連續烘 24 小時，待其冷卻後，取出樣品並稱重，計算前後的重量差即可得土壤中有機碳含量。

3.3.2 目標污染物

以場址常見之揮發性有機化合物為主，包括苯、甲苯、乙苯。原則上揮發性有機物將以 GC/MS 分析，GC/MS 儀器設定，使用分流進樣，分流比為 20:1，管柱流速 1 mL/min，注射口 200°C，掃描範圍 50-650 amu，倍增器電壓 1565 eV。起始的溫度為 35°C 維持 4 分鐘，接著每分鐘上升 5°C 到達 100°C，接著每分鐘上升 30°C 到達 220°C，於該溫度維持 5 分鐘，依此升溫模式，樣品分析共需 27 分鐘。

3.3.3 菌相分析方法

此分析之目的是要了解土壤與地下水中微生物族群之多樣性與主要出現之菌種變化。首先進行土壤樣本與地下水樣本之 DNA 萃取，針對土壤樣本之 DNA 萃取是秤取約 1 g 土壤，以 DNA 萃取套組(Power Soil DNA Isolation kit)依據產品提供之標準方法來萃取 DNA。而針對地下水樣本則是將 500 mL 地下水樣本以已滅菌 0.2 μm 孔徑的濾紙過濾後，再以同樣的 DNA 萃取套組萃取濾紙上微生物的 DNA。之後利用 UV spectrophotometer 來測定 DNA 萃取液中基因組 DNA 濃度與純度，以評估樣本中基因組 DNA 的萃取效果。

將萃取之 DNA 進行聚合酶鏈鎖反應 (Polymerase chain reaction, PCR)來擴增 V3-V4 region 的序列，所使用之引子對為含 barcode 之 341F (CCTAYGGGRBGCASCAG) 與 806R (GGACTACNNGGTATCTAAT)，PCR 反應試劑為 Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix (New England Biolabs)。PCR 反應條件為 95°C 持續 7 分鐘，再進行 30 cycles 反應程序[i.e., 98°C 持續 10 秒(Denaturation)、50°C 持續 30 秒(Annealing)、72°C 持續 60 秒(Extension)，重覆



以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物整治技術試驗計畫

30 cycles]，最後再以 72°C 持續 5 分鐘後降溫至 4°C 來完成 PCR program。當 PCR 完成後進行 2%瓊脂膠體電泳測試，實驗所擴增之 16S rDNA 片段大小約為 466 bp，因此如果電泳後 466 bp 的位置有 band 的話，則代表萃取樣品 DNA 為成功。

將 PCR 產物進行次世代定序(next generation sequencing)，使用定序平台為 illumina Hiseq2500 (PE250)系統，以 250bp 的片段雙端讀取 16S rDNA 的 V3-V4 region (341F-806R)序列。定序前先以 NEB Next® Ultra™ DNA Library Prep Kit for Illumina (NEB, USA)建立 sequencing libraries，並以 Qubit® 2.0 Fluorometer (Thermo Scientific) and Agilent Bioanalyzer 2100 system 來評估 library 品質。將 250 bp paired-end reads 以 FLASH (V1.2.7)整併成 Raw Tags，再利用 QIIME(V1.7.0) quality controlled process 將 Raw Tags 轉換成 Clean Tags，以 UCHIME algorithm 偵測與移除 Clean Tags 上的 chimeric sequences，而可獲得 Effective Tags。

利用 Uparse software (Uparse v7.0.1001)將所有 Effective Tags 在≥97% similarity 基礎上群集成不同 OTUs (Operational Taxonomic Units)，取每個 OTU 的代表序列以 GreenGene Database (based on RDP classifier, V 2.2) 註解該 OUT 之 taxonomic information。利用 In-house Perl scripts 來分析 alpha (within samples) 與 beta (among samples) diversity。

3.3.4 功能性降解酶分析方法

此分析之目的是要定量土壤中石化污染物功能性降解酶基因序列出現之變化，以建立石化污染物可能降解途徑。本實驗規劃偵測之降解酶有 Alkane hydroxylase、Catechol 2,3 dioxygenase、Naphthalene dioxygenase、Toluene dioxygenase、Xylene monooxygenase、Biphenyl dioxygenase、Toluene monooxygenase 與 Phenol monooxygenase，這些酶皆是柴油碳氫化合物降解流程之起始酶，透過分析這些酶的分佈情形，將可瞭解柴油在風化過程中各化合物生物降解之狀況。已有文獻依據具有這些酶之菌種基因序列設計該降解酶基因擴增所需之引子對如表 3-1 所示，多數文獻已將該引子對應用於實際污染場址之降解酶基因分析，確認具有專一性。



表 3-1 RT-PCR 實驗中相關降解基因之 primer 序列

Enzyme	Gene	Primer	Reference
Alkane hydroxylase	alkB	Forward 5'-GTTCTGGATTCCGCTCCAGAGTACG Reverse 5'-GCGCTAGTCCGTTACGATACCCAG	Kok et al., 1989
Catechol dioxygenase ^{2,3}	XylE	Forward 5'-TGGCCGCGCGATCTGAAAGGTATGG Reverse 5'-GATATCGAT(A/C)GA(T/G)GTGTCCGGTCATG	Nakai et al., 1983
Naphthalene dioxygenase	NAH	Forward 5'-CAAAA(A/G)CACCTGATT(C/T)ATGG Reverse 5'-A(C/T)(A/G)CG(A/G)G(C/G)GACTTCTTTCAA	Baldwin et al., 2003
Toluene dioxygenase	TOD	Forward 5'-ACCGATGA(A/G)GA(C/T)CTGTACC Reverse 5'-CTTCGGTC(A/C)AGTAGCTGGTG	Baldwin et al., 2003
Xylene monooxygenase	TOL	Forward 5'-TGAGGCTGAAACTTTACGTAGA Reverse 5'-CTCACCTGGAGTTGCGTAC	Baldwin et al., 2003
Biphenyl dioxygenase	BPH1	Forward 5'-GGACGTGATGCTCGA(C/T)CGC Reverse 5'-TGTT(C/G)GG(C/T)ACGTT(A/C)AGGCCCAT	Baldwin et al., 2003
		Forward 5'-GACGCCCCGCCCTATATGGA Reverse 5'-AGCCGACGTTGCCAGGAAAAT	
	BPH3	Forward 5'-CCGGGAGAACGGCAGGATC Reverse 5'-TGCTCCGCTGCGAACTTCC	
Toluene monooxygenase	RMO	Forward 5'-TCTC(A/C/G)AGCAT(C/T)CAGAC(A/C/G)GACG Reverse 5'-TT(G/T)TCGATGAT(C/G/T)AC(A/G)TCCCA	Baldwin et al., 2003
	RDEG	Forward 5'-T(C/T)TC(A/C/G)AGCAT(A/C/T)CA(A/G)AC(A/C/G)GA(C/T)GA Reverse 5'-TT(A/G/T)TCG(A/G/T)AT(C/G/T)AC(A/G)TCCCA	
Phenol monooxygenase	PHE	Forward 5'-GTGCTGAC(C/G)AA(C/T)CTG(C/T)TGTTTC Reverse 5'-CGCCAGAACCA(C/T)TT(A/G)TC	Baldwin et al., 2003

首先利用萃取的 DNA 為模板進行相關功能性降解酶基因的 PCR 擴增來偵測是否有降解酶基因的存在。接著取 2 g 土壤以 RNA 萃取套組(Power Soil RNA Isolation kit)依據產品提供之標準方法來萃取 RNA，同時為了避免 RNA 於環境中無法保存，須馬上進行反轉錄聚合酶鏈鎖反應(Reverse transcription-PCR, RT-PCR)，其方法是利用 RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo, EU) 依據產品提供之標準方法，取 4 μ L 5X Reaction Buffer、1 μ L RiboLock RNase inhibitor、2 μ L 10X dNTP Mix、1 μ L RevertAid M-MuLV Reverse Transcriptase、1 μ L random primer 和 11 μ L RNA 配置成混合液進行 PCR，PCR 設定為先以 25°C 持續 5 分鐘之後，以 42°C 加熱 60 分鐘，最後以 70°C 加熱 5 分鐘，將 RNA 反轉錄成 cDNA，將所得的 cDNA 置於-20°C 保存以待分析。最後分別進行 DNA 及 cDNA 的 real-time PCR 降解酶基因的 copy numbers 的測定。

本實驗 real-time PCR 所使用的機型為 LightCycler® 1.5 Instrument (Roche, USA)，採用的 kit 為 LightCycler® FastStart DNA MasterPLUS SYBR Green I (Roche, Germany)，包含 vial 1a (LightCycler® FastStart Enzyme)、vial 1b (LightCycler® FastStart DNA MasterPLUS Reaction



以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物整治技術試驗計畫

Mix)、vial 2 (H₂O, PCR-grade)，使用時先取 14 μ L 的 vial 1a 加入 kit 套組內的 vial 1b 管中混合成試劑 vial 1(LightCycler® FastStart DNA MasterPLUS SYBR Green I Master Mix)，vial 1 於實驗過程中都需避光；然後取 5 μ L 的 DNA 樣本，加入 9 μ L 的 vial 2、4 μ L 的 vial 1 與 2 μ L 的 PCR primer mix (最終濃度介於 0.2 至 1 μ M)，混和均勻之後置入專用毛細管中。將含反應物之專用毛細管放入 LightCycler® 1.5 Instrument，如表 3-2 所示。

設定 real-time PCR 反應條件(如表) 為 95°C 持續 10 分鐘的 Preincubation 階段；之後進行 95°C 持續 10 秒鐘、依照 PCR primer 的 annealing 溫度持續 10 秒鐘、72°C 持續之時間為 PCR 的產物 DNA bp 數/25 秒鐘 (單點收光)，此階段共計 45 個循環；再進行 95°C 持續 0 秒鐘、65°C 持續 60 秒鐘、95°C 持續 0 秒鐘 (以每秒 0.1°C 的速率自 65°C 升溫，並連續收光)，此階段共計 1 個循環；最後再以 40°C 持續 30 秒鐘的降溫。將各樣本中所含目標基因於 real-time PCR 過程中產出螢光值以 GAPDH housekeeping gene 螢光值進行校正後，相對於校正後的控制組(未污染土)中所含目標基因產出螢光值，以 LightCycler® software 4.1 (Roche, Germany)軟體進行相對定量分析，計算其相對比值。

表 3-2 RT-PCR 反應條件

	Temperature	Time	Cycle numbers	Acquisition mode
Preincubation	95°C	10 mins	1 cycle	none
Quantification	95°C	10 sec	45 cycles	none
	primer annealing Temp.	10 sec		none
	72°C	$= \frac{\text{amplicon[bp]}}{25}$ sec		single
Melting curve	95°C	0 sec	1 cycle	none
	65°C	15 sec		none
	95°C (Tamp Rate=0.1 °C/sec)	0 sec		continuous
Cooling	40°C	30 sec	1	none

3.3.5 土壤及地下水採樣方法

本計畫之地下水採樣乃依環檢所最新公告之「監測井地下水採樣方法(NIEA W103.54B)」，以抽水機或貝勒管(Bailers)為採樣設備，在品保品管的規範下，進行地下水採樣，以確保採得具有代表性之地下水水樣。



3.4 實驗品保/品管

(1) VOCs 檢量線製備

VOCs 標準混合液 1 mL 中，每種化合物之濃度皆為 2000 mg/L。將 2000 mg/L 之標準液以甲醇稀釋為高濃度儲備溶液後，儲存於-20°C 的冰箱中，待測時自冰箱中取出，以去離子水將之稀釋成 0.030 mg/L、0.040 mg/L、0.050 mg/L、0.080 mg/L、0.100 mg/L、0.200 mg/L、0.400 mg/L 及 0.500 mg/L 八種濃度，以 GC/MS 進行定性及定量分析。

(2) 方法偵測極限

首先以實驗室標準品製作標準濃度檢量線，之後配置七個標準品，經過完整分析步驟，將此分析值經過運算，可得到標準偏差(standard deviation, SD)，3.14 倍標準差即為此研究之初步方法偵測極限。確認 MDL 之計算為將各個最低濃度之標準品進行第二次分析，計算其變異度(S^2)，與前次分析之 S^2 值比較，將較大值記為 S_A^2 為分子，較小值為 S_B^2 ，若 $S_A^2/S_B^2 < 3.05$ ，則利用下述公式(1)計算共同標準偏差 (Pooled standard deviation, Spooled)。最後以公式(2)將 Spooled 之值代入，即可求出 MDL。

$$S_{pooled} = \left[\frac{6S_A^2 + 6S_B^2}{12} \right]^{1/2} \text{----- (1)}$$

$$MDL = 2.681 \times S_{pooled} \text{----- (2)}$$

(3) 精密度(Precision)

精密度為一批次重複分析所得到測量值之間的差異性，一般而言會重複分析相同濃度的標準溶液七次，計算所得結果的平均值與標準偏差，再將標準偏差值除以平均值，所得之值稱為相對標準偏差(RSD)，以此表示分析系統的精密度，其值必須低於 25%。

$$\text{相對標準偏差(RSD, \%)} = (\text{標準偏差}/\text{平均值}) \times 100\%$$

本研究分析校正曲線最低濃度七次，將所得結果依照上式計算本方法之精密度。

(4) 準確度(Accuracy)

為一批次所得之分析平均值與真值的差異程度，以百分比表示，需低於 30%，計算公式如下：

$$\text{準確度(Accuracy)} = | \text{分析平均濃度} - \text{配置理論濃度} | / \text{配置理論濃度} \times 100\%$$

本研究取校正曲線的最低濃度並分析七次，並將所得結果依照上式計算之。



以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物整治技術試驗計畫

(5) 回收率(Recovery)

使用 VOCs 分別以甲醇配置成濃度為 100 $\mu\text{g/mL}$ 之溶液，秤取 10 g 之配置土壤加入 1 mL 溶液並攪拌均勻，進行連續萃取，所得結果以 GC/MS 分析，再對照原加入之目標污染物濃度可得其回收率。

3.5 進度及預期完成之工作項目

本計畫研究進度及預期完成之工作項目(甘特圖)如表 3-3 所示，截至期中報告提送為止，目前已完成奈米氣泡水量測技術建立測試、高濃度氣體溶解裝置設立及試車，並分別進行管柱試驗及砂箱試驗，以了解奈米氣泡高溶氧水在孔隙介質之流布試驗，目前進行實場設置，預計七月開始現場工作，各項進度均符合規畫時程。



表 3-3 研究進度及預期完成之工作項目（甘特圖）

月	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	備註
工作項目													
(一)奈米氣泡水量測技術建立													
(二)高濃度氣體溶解裝置設立及試車													
(三)管柱試驗													
1. 奈米氣泡流布試驗													
(四)砂箱試驗													
1.奈米氣泡流布試驗													
(五)模場試驗													
1.注水井與觀測井建置													
2.注水設備建置與設備試車													
3.第一階段模場試驗													
4.抽水井設置與抽水設備安裝													
5.抽注井場試車與操作最佳化													
6.第二階段模場試驗													
成果報告						◎						◎	
工作進度估計百分比 (累積數)	5 %	10 %	25 %	30 %	40 %	50 %	55 %	60 %	70 %	80 %	90 %	100 %	
預定查核點	期中	(1) 高濃度氣體溶解裝置建置及試車。 (2) 建立高濃度氣體溶解裝置基本操作參數。 (3) 以奈米氣泡水進行管柱及沙箱實驗											
	期末	(1) 模場試驗注入井與監測井設置，設備安裝及試車。 (2) 確認水文地質參數，注水操作條件。											
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。													





第四章、執行方法與成果

本計畫目的為建立超高溶氧奈米氣泡現地生物整治技術井場配置之最佳化條件，依實驗室試驗所建立之曝氣條件與水中溶氧量之變化，以便於現場進行測試與觀察奈米氣泡於地下環境的傳輸狀況，同時確認模場環境中污染物濃度的變化，並進行質量平衡計算及微生物族群變化、石油碳氫化合物功能性降解酶之變化，以確認生物整治之成效。

截至期中報告提送為止，目前已完成奈米氣泡水量測技術建立測試、高濃度氣體溶解裝置設立及試車，探討二種溶氧計偵測溶氧之比較，並分別進行管柱試驗了解飽和溶氧與高溶氧水於填滿石英砂的玻璃管柱中之溶氧變化，進行砂箱試驗在密閉與未密閉空間下，了解奈米氣泡高溶氧水在孔隙介質之流布及在不同測點之溶氧變化，各項工作執行截至第一年期中之成果如下詳述。

4.1 奈米氣泡水之量測技術校正

由於一般環境監測所使用之 YSI 溶氧計僅能偵測到之溶氧濃度最大值為 20 mg/L，因此只能使用於飽和溶氧水，但無法偵測到超高溶氧奈米氣泡水之溶氧量測值，所以必須使用另一型 WTW 溶氧計來偵測超高溶氧奈米氣泡水，此溶氧計能偵測到最高濃度為 50 mg/L，可以使用於高溶氧水中，因此在溶氧分析工作中一般使用 YSI 溶氧計於飽和溶氧水中測定，而使用 WTW 溶氧計於超高溶氧奈米氣泡水。

為了確認兩台溶氧計之測值是否有所差別，因此將兩台溶氧計同時放入飽和溶氧水中並於每十秒偵測一次數值，以作為比較，所得數值如圖 4-1 所示，可從發現兩台所測得的值相差不大，而差值最大值是在第 10 秒時相差 0.13 mg/L，而之後測值相差均低於 0.13 mg/L。從 YSI 與 WTW 溶氧計在飽和溶氧水所得溶氧量測值之比較，兩台溶氧計測值相差不大，其測值具相容性。



以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物整治技術試驗計畫

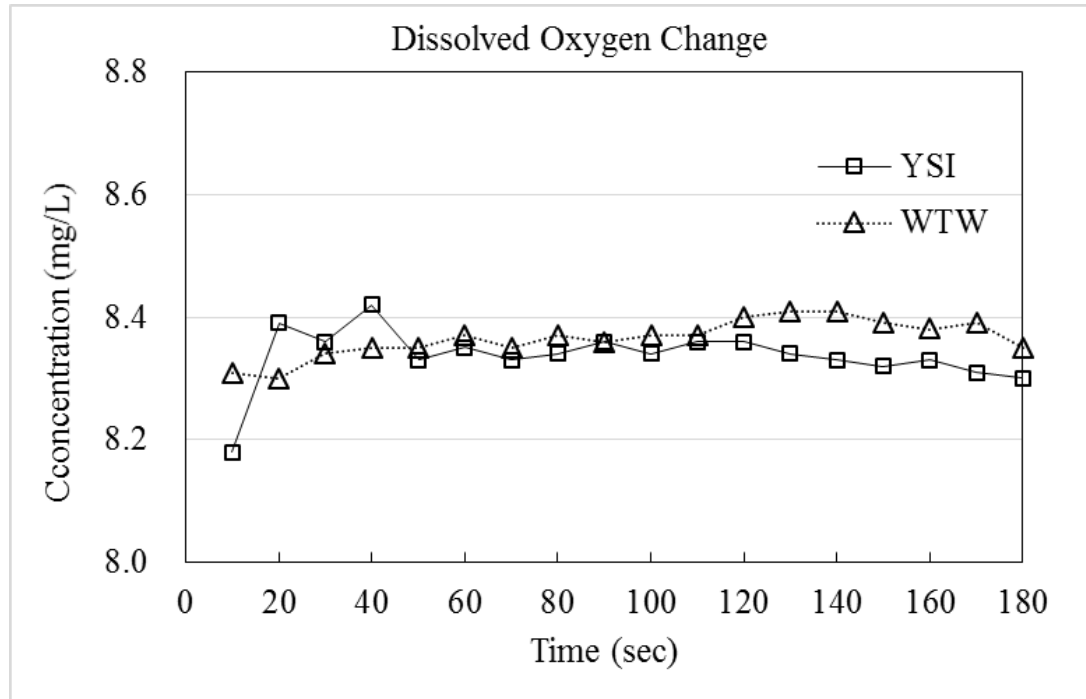


圖 4-1 不同溶氧計測值之變化



4.2 飽和溶氧水之管柱試驗

實驗室試驗的第一階段為進行玻璃管柱試驗，以填充土壤的玻璃管柱模擬飽和溶氧地下水於地下環境中伴隨時間之溶氧變化量，故以內徑 4.8 cm、長度 15 cm 之玻璃管柱緊實填充供試土壤，模擬未受污染的地下環境(如圖 4-2)。兩側蓋上附有鐵氟龍濾網之塞蓋後稱重紀錄，一端接上幫浦(piston pump)以 0.576 mL/min 流速之 0.01N 氯化鈣 (CaCl_2) 溶液沖洗填充供試土壤 4 小時，使管柱成為飽和狀態，藉以模擬土壤之飽和層 (saturated zone)。靜置 24 小時後稱重，二次稱重之重量差即為管柱中孔隙體積，水平管柱之孔隙體積為 97.6 mL 而垂直管柱為 87.6 mL。飽和溶氧水之管柱基礎資訊如表 4-2 所示。

實驗設計以定量 pump 將飽和溶氧水持續注入管柱，並持續收集 20 mL、40 mL、60 mL 及 80 mL 流出液，並檢測及記錄其溶氧，繼續使用 pump 將飽和溶氧水注入管柱一段時間，以確保管柱中之飽和溶氧水為新注入，並且無前次試驗之殘留地下水，靜置一段時間，以作為觀察地下水不同滯留時間下其溶氧變化。

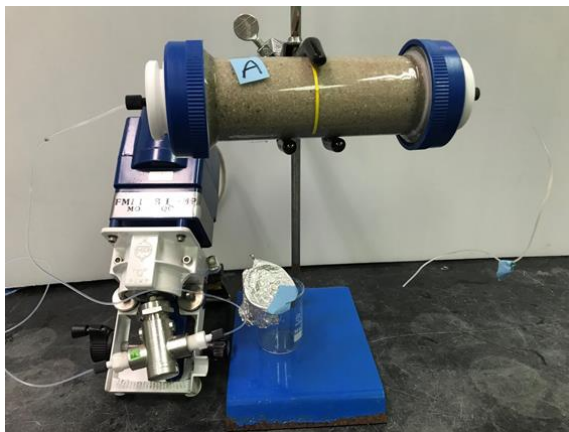


圖 4-2 水平管柱與垂直管柱

表 4-1 飽和溶氧水之玻璃管柱基礎資訊

	管柱空重(g)	管柱+土壤重 (g)	管+土壤+水重 (g)	孔隙體積(mL)
A 管柱(水平)	570.3	988.7	1086.3	97.6
B 管柱(垂直)	600.1	1015.6	1103.2	87.6
Pump 之流速 (mL/min)	1.58			



以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物整治技術試驗計畫

4.2.1 飽和溶氧水之水平管柱溶氧變化

本實驗經由 pump 注入飽和溶氧水至水平管柱，陸續觀察 24hr、48hr、72 hr、96 hr 及 120 hr 水中之溶氧變化，於表 4-2 之平均值可得知，飽和溶氧水於管柱中滯留時間越久，所測得之溶氧值越低，其誤差約為 0.05-0.45 之間，此實驗結果試驗證明溶氧於密閉環境中持續時間越長，其溶氧濃度越低，歷經 120 小時溶氧約下降 1.85 mg/L，此參數可作為模場試驗之參考。

從不同時段觀察飽和溶氧水滯留時間在 24 hr 至 72 hr，其溶氧量損失約 1.00 mg/L，而經滯留時間 96 hr 與 120 hr，其溶氧量損失分別約 1.98 mg/L 與 1.90 mg/L，可見水平管柱之溶氧量在 72 hr 以前溶氧消散平緩，而在 96 hr 後溶氧開始持續消散。在 24 hr 至 48 hr 期間其溶氧變化量減少 0.98 mg/L，但 48 hr 至 96 hr 期間可發現到其溶氧量變化並不大，直到 120 hr 之溶氧量又開始消散 0.63 mg/L，可觀察到飽和溶氧水在水平管柱中滯留時間 48 hr 至 96 hr 之溶氧量可保持一定濃度後，才又持續消散。

表 4-2 水平管柱中飽和溶氧水之溶氧變化

水平管柱									
滯留時間 (hr)	溫度 (°C)	溶氧計飽和溶氧校正值 (mg/L)	飽和溶氧水實際溶氧 (mg/L)	經 pump 後溶氧 (mg/L)	管柱流出液 20mL (mg/L)	管柱流出液 40mL (mg/L)	管柱流出液 60mL (mg/L)	管柱流出液 80mL (mg/L)	平均 (mg/L)
24	21.9	8.71	8.61	7.87	7.69	7.05	7.00	7.62	7.34
48	21.6	8.82	8.06	7.37	6.25	6.22	6.41	6.56	6.36
72	23.2	8.51	8.61	7.28	6.53	6.20	6.03	6.81	6.39
96	25.0	8.27	8.31	8.10	6.07	5.92	6.30	6.20	6.12
120	21.6	8.86	8.36	7.39	5.94	5.30	5.30	5.40	5.49

4.2.2 飽和溶氧水之垂直管柱溶氧變化

本實驗經由 pump 注入飽和溶氧水至垂直管柱觀察 24 hr、48 hr、72 hr、96 hr 及 120 hr 之溶氧變化，於表 4-3 之平均值可得知，溶氧濃度於管柱中時間越久，所測得之讀值越低，本實驗之誤差約於 0.02-0.42 之間，以此實驗結果證明溶氧於密閉環境中持續時間越長，其溶氧濃度越低，此結果與水平管柱之溶氧變化狀況相同。

從不同時段觀察垂直管柱飽和溶氧水滯留時間，在 24 hr 至 72 hr 其溶氧量損失約 0.6 mg/L 至 1.05 mg/L，而經滯留時間 96 hr 與 120 hr，其溶氧量損失分別約 0.4 mg/L 與 1.05 mg/L，相



對而言垂直管柱之溶氧量消散較慢。比較水平及垂直狀態後發現，垂直管柱之溶氧變化較為緩和，歷經 120 小時溶氧約下降 1.39 mg/L，故推測垂直狀態下之溶氧較不易消散。

表 4-3 飽和溶氧水之垂直管柱不同時段之溶氧變化

垂直管柱									
滯留時間 (hr)	溫度 (°C)	溶氧計 飽和溶氧 校正值 (mg/L)	飽和溶氧水 實際溶氧 (mg/L)	經 PUMP 後溶氧 (mg/L)	管柱 流出液 20mL (mg/L)	管柱 流出液 40mL (mg/L)	管柱 流出液 60mL (mg/L)	管柱 流出液 80mL (mg/L)	平均 (mg/L)
24	21.9	8.71	8.61	8.28	8.05	7.38	7.41	7.93	7.69
48	21.6	8.82	8.34	7.34	7.01	6.97	6.66	6.80	6.86
72	22.1	8.72	8.47	7.85	7.26	6.67	6.77	6.67	6.84
96	22.0	8.74	8.32	7.35	7.10	6.75	6.85	6.88	6.90
120	21.6	8.86	8.51	7.35	6.22	6.38	6.17	6.41	6.30



以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物整治技術試驗計畫

4.3 高溶氧水之管柱試驗

4.3.1 高溶氧水製程時間

藉由 100 公升水箱(80 cm×60 cm×21 cm)經高濃度氣體溶解裝置循環製造高濃度溶氧水，高濃度氣體溶解裝置其製造高溶氧水之效率如表 4-4，本實驗測試製造時間分別以 5、10、15、20、30 與 60 分鐘來觀察溶氧濃度變化，可發現 5 分鐘後，水中溶氧濃度提高至 29.3 mg/L，已高於一般常溫之飽和溶氧 3 倍左右。經 10 分鐘與 15 分鐘後之水中溶氧濃度只提升到 35.3 mg/L 及 35.9 mg/L，到 30 分鐘提昇到 40.9 mg/L，但經 60 分鐘偵測水中溶氧濃度是 39.4 mg/L，從 30 分鐘至 60 分鐘由裝置不斷循環增加奈米氣泡及水中溶氧量，但卻沒有比 30 分鐘所測的溶氧量還高，因此本試驗高溶氧水之製程時間選擇 30 分鐘，溶氧濃度大於 40.9 mg/L 方進行管柱、砂箱試驗及高溶氧水於開放狀態與密閉狀態條件之衰變試驗。

表 4-4 高溶氧水製程時間對應溶氧濃度

Time (min)	0	5	10	15	20	30	60
溶氧值(mg/L)	9.37	29.3	35.3	35.9	36.2	40.9	39.4

4.3.2 高溶氧水之水平管柱溶氧變化

本實驗經由 pump 注入高溶氧水至水平管柱觀察 24 hr、48 hr、72 hr、96 hr 及 120 hr 之溶氧變化，高溶氧水雖濃度高達 42.2 mg/L，但經 pump 傳輸前即已造成損耗，濃度約降為 27 mg/L，目前正思考未來如何在現場克服此損失。

由表 4-5 之結果可得知，注入水經滯留時間 24 hr 後所偵測到的溶氧值為 10.8 mg/L，在前二十四小時溶氧劇烈減少，從 27 mg/L 降至 10 mg/L，但此後溶氧減少就趨於和緩，滯留時間 96 hr 後所偵測到的溶氧值 9.24 mg/L，但可見高溶氧水在水平管柱中傳輸會造成溶氧損失，仍是高於飽和溶氧水，歷經 120 小時高溶氧水仍能維持原溶氧之 80%以上。



表 4-5 高溶氧水在水平管柱之溶氧變化

水平管柱									
滯留時間 (hr)	溫度 (°C)	溶氧計飽和溶氧校正值 (mg/L)	飽和溶氧水實際溶氧 (mg/L)	經 pump 後溶氧 (mg/L)	管柱流出液 20mL (mg/L)	管柱流出液 40mL (mg/L)	管柱流出液 60mL (mg/L)	管柱流出液 80mL (mg/L)	平均 (mg/L)
24	23.5	8.30	42.2	27.5	10.3	10.9	10.8	11.2	10.8
48	24.4	8.29	41.9	27.3	9.55	9.96	10.5	10.4	10.1
72	23.1	8.51	47.4	27.1	10.3	10.6	10.4	10.3	10.4
96	22.8	8.50	45.6	22.7	8.63	9.30	9.57	9.47	9.24
120	22.1	8.70	40.2	20.3	7.84	8.30	8.49	8.39	8.26

4.3.3 高溶氧水之垂直管柱溶氧變化

本實驗經由 pump 注入高溶氧水至垂直管柱觀察 24 hr、48 hr、72 hr、96 hr 及 120 hr 之溶氧變化，與水平管柱實驗類似，高溶氧水雖濃度高達 42.2 mg/L，但經 pump 傳輸前即已造成損耗，濃度約降為 27 mg/L，目前正思考未來如何在現場克服此損失。

由表 4-6 之結果可得知，與水平管柱實驗類似，高溶氧水在垂直管柱中傳輸會造成溶氧損失，注入水經滯留時間 24 hr 後所偵測到的溶氧值為 9.38 mg/L，在前二十四小時溶氧劇烈減少，從 27 mg/L 降至 9 mg/L，但此後溶氧減少就趨於和緩，滯留時間 120 hr 後所偵測的溶氧值 8.54 mg/L，仍是高於飽和溶氧水。

表 4-6 高溶氧水在垂直管柱之溶氧變化

垂直管柱									
滯留時間 (hr)	溫度 (°C)	溶氧計飽和溶氧校正值 (mg/L)	飽和溶氧水實際溶氧 (mg/L)	經 pump 後溶氧 (mg/L)	管柱流出液 20mL (mg/L)	管柱流出液 40mL (mg/L)	管柱流出液 60mL (mg/L)	管柱流出液 80mL (mg/L)	平均 (mg/L)
24	23.5	8.30	42.2	27.9	9.44	9.24	9.33	9.51	9.38
48	24.4	8.29	41.9	26.5	9.48	9.02	9.72	9.84	9.52
72	23.1	8.51	47.4	28.2	9.64	9.99	9.39	8.99	9.50
96	22.8	8.50	45.6	22.3	8.29	8.50	8.65	8.79	8.56
120	22.1	8.70	40.2	20.5	8.83	8.47	8.35	8.52	8.54



以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物整治技術試驗計畫

4.4 高溶氧水之砂箱傳輸試驗

砂箱長、寬、高分別為 60 公分、51 公分、65 公分，砂箱內插入 6 支篩管作為偵測溶氧量之孔，砂箱每 15 公分處放入一支篩管，每支篩管編號，見圖 4-3 所示，砂箱內填沙高度為 40 公分，將高溶氧水由砂箱左邊開始灌入，等水位達到 20 公分即停止灌水，並每天檢測各編號篩管之溶氧量持續 16 天。

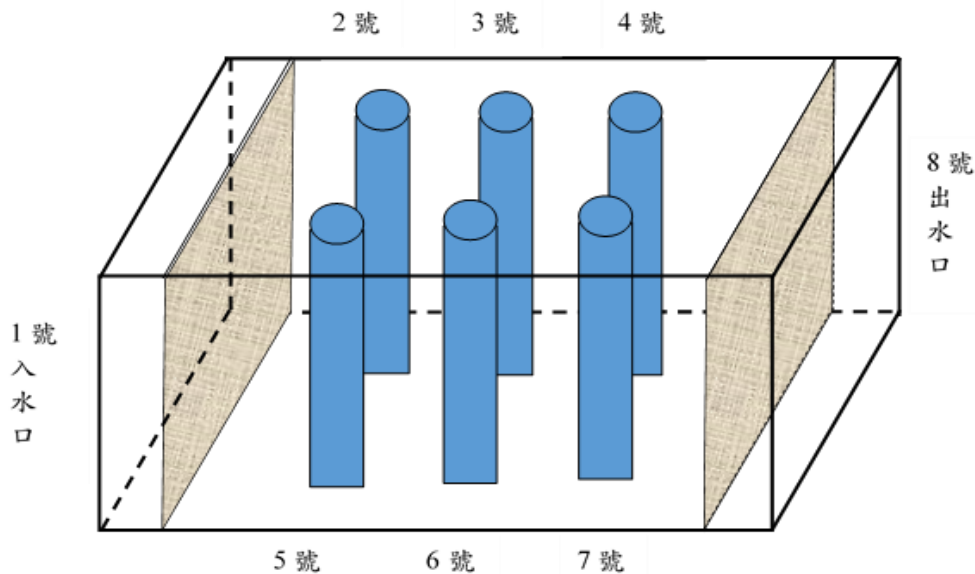


圖 4-3 砂箱之篩管編號與位置示意圖

砂箱之各位置之溶氧之數據見表 4-8 與表 4-9，一開始高溶氧水之溶氧量濃度偵測為 40.2 mg/L，從 1 號開始灌入高溶氧水，經過砂箱內到 8 號為出水口，從由入水口至出水口的距離可觀察到各個篩管內偵測到高溶氧水的濃度會因距離而逐漸減少，高溶氧水由 1 號入水口至 8 號出水口僅 60 公分之距離，並於其中填滿均質之石英砂，但其溶氧濃度減少 22.8 mg/L，8 號出水口經偵測後高溶氧水之溶氧量只剩 17.4 mg/L，僅剩原注入濃度之 40%。

各篩管在第一天其溶氧降低最多，在 96 小時後，溶氧僅剩原始之 40%，第四天至第十六天其溶氧減少呈現趨緩，從不同天數觀察各篩管內之高溶氧水變化，可看出溶氧量消耗速度並不快，2 號、3 號、5 號與 6 號篩管在第十一天後才會到達飽和溶氧水的濃度，4 號與 7 號則因距離傳輸使一開始溶氧量不高而在第三天就到達飽和溶氧水的濃度。從表 4-7 與表 4-8 之濃度來看，2 號與 5 號樣點距離 1 號注入口較近，地下水傳輸距離較短，因此溶氧值較高，而 4 號與 7 號之溶氧值就較少，且從距離對應天數來看，不同距離之溶氧量消散速度不同。從各



對應篩管來看溶氧量消耗速度，更可發現傳輸距離越遠，其位置溶氧量會越少且消耗速度快，因傳輸距離與介質使水中溶氧量之穩定性受到影響。

表 4-7 砂箱系列篩管溶氧變化量

篩管編號 天數	溶氧濃度(單位:mg/L)				
	1	2	3	4	8
0	40.2	30.7	25.4	21.2	17.4
1	23.0	19.8	16.7	11.8	12.7
2	18.5	18.6	14.8	11.4	11.0
3	13.2	13.3	10.7	8.43	8.80
4	10.8	14.1	10.4	7.46	7.64
5	9.89	17.8	11.3	6.59	7.36
6	9.56	12.3	11.8	5.62	7.11
7	12.4	10.9	7.61	7.01	6.02
8	9.75	10.0	9.37	5.60	6.35
9	10.2	10.4	11.4	6.05	5.96
10	9.26	9.88	7.57	5.67	5.98
11	8.73	9.70	9.71	4.20	5.90
12	9.10	8.74	5.73	3.47	7.34
13	8.22	7.89	5.77	2.90	6.63
14	8.22	8.28	5.94	3.84	5.88
15	8.74	8.04	5.32	2.38	7.52
16	7.83	8.55	6.87	3.55	6.35



以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物整治技術試驗計畫

表 4-8 砂箱系列篩管溶氧變化量

篩管編號 天數	溶氧濃度(單位:mg/L)				
	1	5	6	7	8
0	40.2	29.5	24.9	18.9	17.4
1	23.0	18.7	15.2	13.2	12.7
2	18.5	18.3	14.6	9.91	11.0
3	13.2	14.7	10.1	8.23	8.80
4	10.8	14.6	10.0	7.24	7.64
5	9.89	14.4	9.41	6.62	7.36
6	9.56	13.8	9.82	5.86	7.11
7	12.4	9.30	8.13	6.05	6.02
8	9.75	11.3	7.26	5.40	6.35
9	10.2	10.6	10.0	2.77	5.96
10	9.26	9.25	8.05	5.98	5.98
11	8.73	9.75	8.24	4.40	5.90
12	9.10	10.6	5.11	3.03	7.34
13	8.22	9.87	5.49	1.70	6.63
14	8.22	10.4	5.09	2.22	5.88
15	8.74	10.3	4.83	1.27	7.52
16	7.83	10.9	5.77	2.91	6.35



從圖 4-8 可觀察出各編號篩管之溶氧濃度隨天數逐漸下降，且 4 號與 7 號篩管因傳輸距離較遠，所以在第三天時水中溶氧量就到達飽和溶氧水的濃度，從距離較近的 2 號與 5 號之溶氧量變化，發現到第十一天時才會到達飽和溶氧水的濃度，砂箱試驗觀察到高溶氧水會因傳輸距離越長而減少水中溶氧量，其溶氧遞減率可作為未來污染場址實場操作之參考。

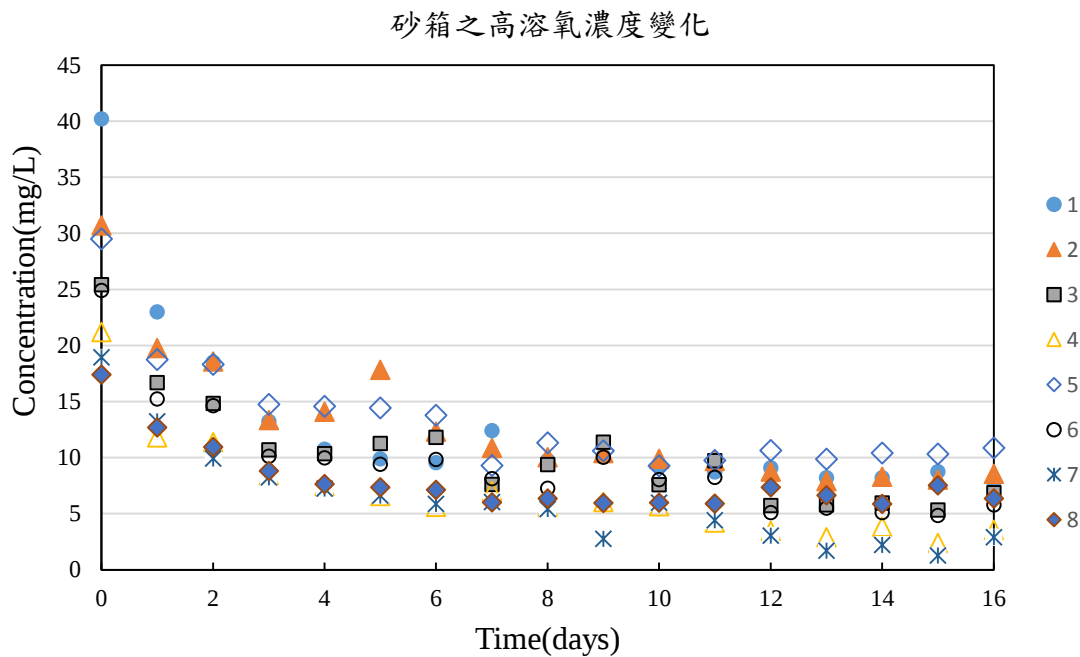


圖 4-4 砂箱各測點之溶氧濃度變化



以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物整治技術試驗計畫

4.5 高溶氧水在開放與密閉環境條件之溶氧變化

本實驗觀察高溶氧水在開放與密閉的環境下溶氧之變化量，以作為實場操作時高溶氧水製造與保存方式之參考。實驗組別編號 A 與 B 為開放狀態，實驗組別編號 C 與 D 為密閉狀態，如表 4-9 所示，試驗開始時水中之溶氧濃度均高於 35.0 mg/L，一般認為開放環境溶氧消耗會比密閉環境還要快，但從本試驗之數據觀察來看，兩種環境下之溶氧遞減速度差異不大，雖然一開始密閉環境所偵測到之溶氧濃度比開放環境要高，經過一天後之溶氧減少約 20-30%，但從第三天觀察起，可發現兩者之溶氧量消耗速度大致相同，由高溶氧水濃度消散至飽和溶氧水僅需八天，實驗至第八天可發現兩個條件之溶氧濃度皆接近大氣飽和溶氧濃度。開放環境與密閉環境的條件下之溶氧量消散至飽和溶氧水之溶氧量的天數也是一樣，而之後開放與密閉系統的溶氧量皆維持在一定濃度，長期觀察 20 天溶氧無顯著差異。

表 4-9 高溶氧水在開放與密閉條件之不同天數溶氧變化

編號 天數	單位:mg/L				編號 天數	單位:mg/L			
	A	B	C	D		A	B	C	D
0	35.6	35.3	39.5	37.9	11	8.15	8.17	8.15	7.85
1	28.1	26.0	28.5	27.6	12	8.04	8.39	8.25	8.19
2	20.4	20.8	21.3	20.6	13	8.05	8.03	8.04	8.11
3	20.0	20.4	20.4	20.6	14	7.92	7.98	8.03	7.97
4	12.3	12.4	13.1	12.6	15	8.16	7.97	8.08	8.15
5	10.7	10.8	11.2	11.3	16	8.26	8.17	8.38	8.26
6	9.75	9.83	10.3	10.2	17	7.99	8.04	8.35	8.41
7	8.96	9.16	9.50	9.45	18	7.87	7.85	7.96	8.04
8	8.32	8.43	8.72	8.57	19	8.02	8.22	8.39	8.61
9	8.22	8.24	8.32	8.30	20	8.07	7.84	7.73	7.74
10	8.07	8.11	8.18	8.11					



4.6 模場試驗之設備建置

試驗之場址位於圖 4-5 中灰色區塊位置，本試驗於 2018 年 8 月開始進行試驗場地之設備建置，將主要使用之高濃度氣體溶解裝置安裝並且試車完畢（圖 4-6），以及建置 2 口監測井及 3 口注水井（圖 4-7、圖 4-8）。

本計畫於 2018 年 10 月試驗場址中進行注入高溶氧水，以觀測是否能使地下環境中之石化分解菌增生，使之達成降解污染場址中之污染物降解，並使場址之污染濃度下降。

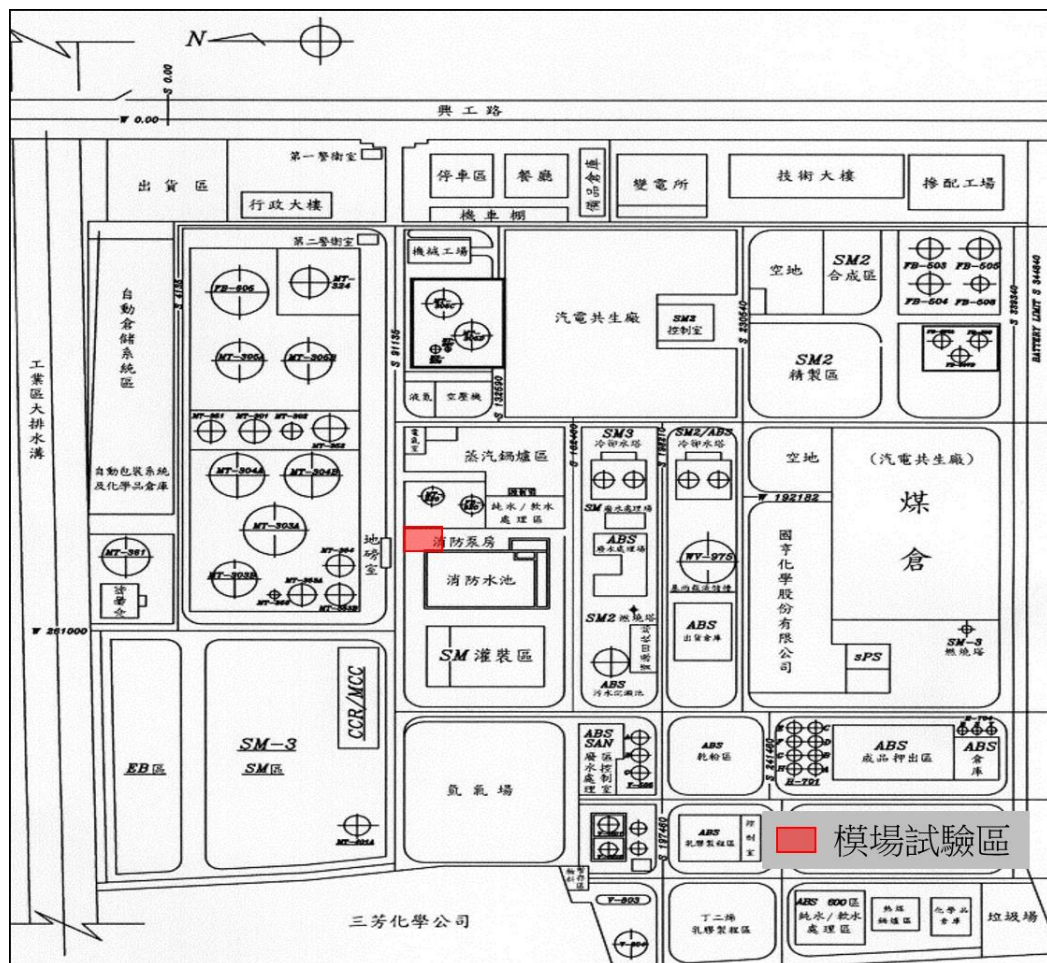


圖 4-5 實驗模場位置



以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物整治技術試驗計畫



圖 4-6 模場試驗之設備建置



圖 4-7 注入井及監測井



(a) GW1



(b) GW2



(c) GW3



(d) MW2

圖 4-8 注入井及監測井之建置情形



以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物整治技術試驗計畫

4.7 污染場址之基線資料建立

本計畫於 2018 年 9 月 7 日至污染場址進行第一次採樣蒐集相關土壤及地下水基線資料，以利於後續實驗之進行比對。本次採樣採集土壤及地下水，並且進行酸鹼值、總氮、總磷及菌相分析，採集之點位如圖 4-9。土壤採集 3 個點位，編號分別為 S1、S2 及 S3（圖 4-10），其深度為 4 至 6 米並以每 50 公分為一單位，共有 12 組土壤樣本，而地下水則採集 5 點，編號為 GW1、GW2、GW3、MW1 及 MW2（圖 4-11）。

為了解試驗場址中土壤及地下水之基本資訊，進行將採集之土壤及地下水樣本分別進行酸鹼值、總氮、總磷以及菌相之分析，本次結果僅呈現土壤及地下水之酸鹼值、總氮及總磷之分析結果，菌相分析因所需定序時間較長，目前仍於定序工作中，無法於本期期末報告中展現，將於後續報告中將結果呈現。

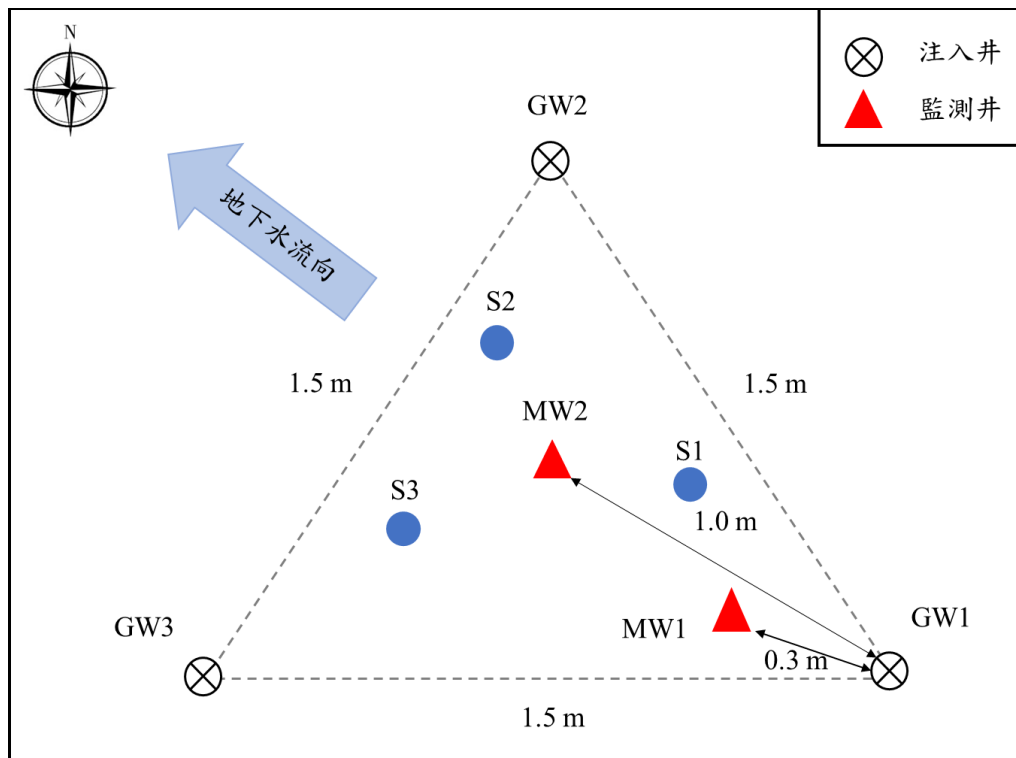


圖 4-9 採樣點位及編號



圖 4-10 土壤樣品



圖 4-11 地下水樣品



以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物整治技術試驗計畫

4.7.1 土壤之基線資料分析

於章節 4.7 之初闡述土壤樣品分為 S1、S2 及 S3，採樣深度為 4-6 米，並且每 50 公分收取一段土壤，每個採樣點共有 4 段土壤，編號分別為 S1-1、S1-2、S1-3、S1-4、S2-1、S2-2、S2-3、S2-4、S3-1、S3-2、S3-3 及 S3-4 共 12 的點位，分析時進行 2 重複（表 4-10）。

酸鹼值為土壤的基本特性，亦是影響生物生長於地下環境中的重要因素之一，土壤微生物一般最適宜之酸鹼值為 6.5—7.5 之間的中性範圍，過酸或過鹼之土壤酸鹼值均會抑制土壤中微生物之生長及活動。於實驗數據中可發現此地之土壤酸鹼度約為 6.54—7.72 之間，平均為 7.40，土壤之酸鹼值為中性，依前所述，此酸鹼值環境適合土壤中微生物生長。

氮為微生物生長之必要元素之一，土壤中之氮含量通常 0.02%（土壤底土層）—2.5%（泥炭土）之間，一般土壤約為 0.02%—0.20%之間，主要以有機態存在（賴，2011）。而於本場址中所得之試驗結果範圍約為 0.008%—0.027%之間，平均為 0.015，地下環境中之氮含量略低於一般土壤之含氮量。

磷元素在土壤中移動性較低，其會鍵結或沉澱於土壤黏粒、有機質以及礦物質表面上，故磷元素不易因淋融作用及地下水流動而流失，其在土壤中之濃度約為 600 mg/kg（Lindsay, 1979）。於本實驗之分析結果中發現此區之總磷濃度範圍約為 241—444 mg/kg，平均為 390 mg/kg。地下環境中之磷含量低於土壤之含磷之平均濃度。



表 4-10 土壤之基線資料

	酸鹼值	總氮(%)	總磷 (mg/kg)	有機磷 (mg/kg)	無機磷 (mg/kg)
S1-1	7.52	0.013	364	60.6	303
S1-2	6.80	0.017	409	99.1	310
S1-3	7.36	0.010	425	116	309
S1-4	7.74	0.008	426	64.1	362
S2-1	7.26	0.014	400	70.8	329
S2-2	6.56	0.014	412	112	300
S2-3	7.60	0.011	362	12.3	350
S2-4	7.71	0.015	399	83.0	318
S3-1	7.58	0.018	258	2.58	263
S3-2	7.48	0.008	400	63.9	336
S3-3	7.60	0.027	426	83.7	343
S3-4	7.70	0.015	402	83.4	319



以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物整治技術試驗計畫

4.7.2 地下水之基線資料

於章節 4.7 之初闡述地下水則採集 5 點，編號為 GW1、GW2、GW3、MW1 及 MW2 每個樣點均做 2 重複（表 4-11）。於地下水之基線資料所做之檢測包含點位的井深、水位、溫度、酸鹼值、溶氧（Dissolved Oxygen, DO）、氧化還原電位（Oxidation - Reduction Potential, ORP）、導電度（Electrical Conductivity, EC）、氨氮、硝酸鹽氮、亞硝酸鹽氮及磷酸鹽等 11 項測試。

於表 4-11 中得知此 5 個採樣點之地下水水位為 2.07—2.33 米，而採樣之溫度、酸鹼值及溶氧均差異不大，應為同一區域之水源，故數值較為相近。於氧化還原電位中，檢測之數據為正值即為氧化，反之數據若呈現負值即為還原。觀看試驗場址之監測數據可發現該場地之濃度約為 -2.30—84.4 mV，而 EC 之測值則為 435—909 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 。

依據台灣之地下水管制標準，地下水中之硝酸鹽及亞硝酸鹽有明確之規定，本污染場址為地下水分類第二類：飲用水水源水質保護區外之地下水。硝酸鹽氮管制標準為 100 mg/L，而亞硝酸鹽氮則為 10.0 mg/L。數據中可發現該地之硝酸鹽濃度並未超出地下水管制標準，而亞硝酸鹽皆超出地下水管制標準，濃度範圍約為 9.12—75.0 mg/L。

於本次地下水採樣中亦將針對此污染場址之污染物苯（Benzene）、甲苯（Toulene）、乙苯（Ethylbenzene）及苯乙烯（Stryene）進行污染濃度分析（表 4-12），同一樣點之分析均採 2 重複進行確認。於數據中可發現乙苯之污染濃度為最高，其次則為苯再其次為甲苯，其中乙苯污染濃度範圍為 3965 mg/L 至 5398 mg/L，但乙苯之水溶解度約為 170 mg/L，數據所測得之檢測值均超出乙苯之水溶解度，故推測應有純相污染物於水中，故造成檢測水中乙苯濃度高於本身之水溶解度。

表 4-11 地下水之基線資料

	水位 (m)	井深 (m)	溫度 (°C)	酸鹼值	DO (mg/L)	ORP (mV)	EC (µs/cm)	氨氮 (mg/L)	硝酸鹽 (mg/L)	亞硝酸鹽 (mg/L)	磷酸鹽 (mg/L)
GW1	2.074	6.23	31.2	6.97	1.90	8.30	435	12.4	0.26	16.7	3.25
GW2	2.092	5.90	31.2	6.93	2.08	-2.30	560	7.97	2.25	38.0	2.70
GW3	2.332	7.08	30.7	7.12	1.79	84.4	620	10.4	0.35	13.7	2.50
MW1	2.300	7.02	31.5	6.86	1.11	20.6	909	54.3	8.43	47.1	2.60
MW2	2.170	7.09	31.0	7.01	1.08	44.6	677	20.4	4.85	33.4	2.30

表 4-12 地下水目標污染物濃度

(單位：mg/L)

	GW1-1	GW1-2	GW2-1	GW2-2	GW3-1	GW3-2	MW1-1	MW1-2	MW2-1	MW2-2
Benzene	217	235	198	219	213	266	197	192	243	258
Toulene	16.0	14.0	16.0	11.0	ND	ND	16.0	15.0	13.0	13.0
Ethylbenzene	4890	5398	5269	5055	4595	4336	4984	4805	3965	4121
Styrene	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND



以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物整治技術試驗計畫

4.8 奈米氣泡水傳輸試驗

本計畫於 2018 年 8 月至 9 月進行井場建立與設備試車，於 2018 年 10 月至 2019 年 4 月進行高溶氧水注入試驗。計畫於 2018 年 10 月 8 日開始進行高溶氧水注入試驗。首先第一個月為觀察試驗期，每日注水時間為 8 小時，灌注量為每日 2.4 m^3 ，在此及間將會較為密集地進行地下水之水位、溫度、pH、DO、ORP 及 EC，觀察其變化。注入之點位則為 GW1、GW2 及 GW3，而在數據中僅檢測由高濃度氣體溶解裝置中流出之水，觀測井為 MW1 及 MW2。

採樣方法如 3.3.5 節所提及，採用環保署最新公告之「監測井地下水採樣方法(NIEA W103.54B)」採集水樣（圖 4-12），在品保及品管規範下，確保採得之水樣具代表性。監測數據為水樣採集後於現地進行檢測（圖 4-13），以確保樣品不因保存問題而影響檢測值。



圖 4-12 地下水採樣



圖 4-13 現地監測地下水數值



由表 4-13 可發現在溶氧部分，在基線資料蒐集所得到之數據 MW1 之溶氧為 1.11 mg/L，而經過注入高溶氧水後溶氧上升至 5.38 mg/L 及 9.21 mg/L，而 MW2 亦有相同之情形，但此監測井之溶氧上升幅度較沒有 MW1 之幅度大，因本場址之地下水流向為東南往西北方向流，故主要影響 MW2 之溶氧變化為推測為注水井 GW1，而 MW2 距離注水點 GW1 約 1 公尺，高溶氧水在地下環境中經過傳輸造成一定量的消散，而無法使數據較為明顯之上升，此一結果與 4.4 節中之結果相近，亦為開始之溶氧濃度較高，經由地下環境中之土壤孔隙後，溶氧濃度可能因撞擊土壤孔隙後消散。高溶氧水初期規劃採用連續注入八小時，同步於鄰近監測井監測地下水溶氧，以了解高溶氧水其傳輸成效，對於後續採用較長灌注時間、或間歇性注入方式、或多井灌注以單井抽除以提高影響半徑，目前仍在試驗評估中，以求得最佳操作模式。



以超高溶氧奈米氣泡水強化現地生物整治技術試驗計畫

表 4-13 模場試驗定期監測數據

監測日期	監測井	水位 (m)	井深 (m)	溫度 (°C)	酸鹼值	DO (mg/L)	ORP (mV)	EC (μS/cm)
2018/09/07	GW1	2.07	6.23	31.2	6.97	1.90	8.30	435
	GW2	2.09	5.90	31.2	6.93	2.08	2.30	560
	GW3	2.33	7.08	30.7	7.12	1.79	84.4	620
	MW1	2.30	7.02	31.5	6.86	1.11	20.6	909
	MW2	2.17	7.09	31.0	7.01	1.08	44.6	677
2018/10/09	注水口	-	-	29.0	7.75	14.4	-64.4	460
	MW1	2.845	7.022	29.5	6.90	5.38	-112	595
	MW2	2.896	7.095	30.2	6.92	1.15	-101	915
2018/10/12	注水口	-	-	30.8	7.83	24.5	-43.9	467
	MW1	2.956	7.021	30.6	7.02	9.02	-36.5	459
	MW2	3.048	7.098	30.3	7.02	1.80	-122	558
2018/10/16	注水口	-	-	30.8	7.66	25.5	-61.3	479
	MW1	3.075	7.022	30.6	6.89	9.21	-94.3	474
	MW2	3.154	7.096	30.7	7.06	2.01	-98.8	562
2018/10/19	注水口	-	-	29.1	7.78	520	22.4	46.6
	MW1	3.203	7.022	30.3	6.96	476	6.02	-21.8
	MW2	3.295	7.094	30.4	7.02	539	1.93	-100.2
2018/10/25	注水口	-	-	28.7	7.98	511	21.9	47.4
	MW1	3.42	7.021	30.3	7.07	485	6.32	-18.8
	MW2	3.319	7.097	30.2	7.06	549	1.83	-92.9



本計畫於 11 月 8 日進行地下水監測，結果如表 4-14 及 4-15，由於模場區域中目標污染物濃度仍甚高，因此 9 月地下水監測資料中乙苯濃度超過其飽和溶解度，顯示污染場址仍具有殘留相存在，11 月地下水監測結果乙苯濃度降低很多，據推測並非整治成效，而是地下水採樣時沒有採樣到乙苯殘留相，將持續觀察目標污染物濃度之變化。

表 4-14 十一月地下水定期監測

	水位 (m)	井深(m)	溫度(°C)	pH	DO(mg/L)	ORP(mV)	EC (μ S/cm)	氨氮 (mg/L)	硝酸鹽 (mg/L)	亞硝酸鹽 (mg/L)	磷酸鹽 (mg/L)
GW1	3.28	6.242	28.7	7.74	17.61	526	160.3	0.21	28.13	0.00	3.75
GW2	3.308	5.884	29.1	7.84	17.38	176.1	517	0.10	7.75	0.00	5.35
GW3	3.522	6.988	29.1	7.61	16.2	127.9	517	0.04	43.86	0.23	3.75
MW1	3.502	6.896	29.7	7.17	5.6	145.8	499	0.21	43.19	0.03	2.58
MW2	3.359	7.085	29.7	7.12	3.4	-68	642	0.38	44.74	0.00	3.70

表 4-15 十一月地下水目標污染物濃度

	(單位：mg/L)									
	GW1-1	GW1-2	GW2-1	GW2-2	GW3-1	GW3-2	MW1-1	MW1-2	MW2-1	MW2-2
Benzene	ND	ND	ND	ND	ND	ND	9.00	8.00	60.0	40.0
Toluene	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ethylbenzene	52.0	67.0	ND	ND	ND	ND	1777	1916	470	300
Styrene	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND



第五章、結論與未來工作重點

未來工作重點如以下各項：

1. 模場試驗第一個月灌注頻率為每日 8 個小時，其時間為 9 時至 17 時，第二個月每日灌注 12 小時，第三個月每日灌注 24 小時，確認何種頻率對地下水中溶氧量的提高會有最佳效果，於往後的模場試驗使用該頻率注水，以節省氧氣鋼瓶的使用量。
2. 2019 年 5 月至 2019 年 7 月進行油品分解菌添加測試，測試所添加之菌種是否能加速降解該場址地下環境中之污染物。
3. 2019 年 8 月至 2019 年 9 月進行三口注入口及一口抽水井高溶氧水傳輸試驗。
4. 2019 年 10 月至 2019 年 11 月以 8 月至 9 月條件進行石化分解菌添加測試。



第六章、參考文獻

- 賴鴻裕、劉程煒及陳柏青，(2011)，農業上的氮，科學發展，2011/11-467，台北。
- Agarwal, A., Ng, W.J., Liu., Y. (2011) Principle and applications of microbubble and nanobubble technology for water treatment, *Chemosphere*, 84, 1175-1180.
- Li H, et al. (2014) Subsurface transport behavior of micro-nano bubbles and potential applications for groundwater remediation. *Int J Environ Res Public Health*, 11, 473.
- Lindsay, W.L. (1979) Chemical Equilibrium in Soils. A Wiley-Interscience Publication, New York.
- Ma, Y., Kong, X.-Z. Scheuermann, A., Galindo-Torres, S.A., Bringemeier, D., Li, L. (2015) Microbubble transport in water-saturated porous media, *Water Resources Research*, 51, 4359-4373.
- Santos, I.R., Eyre, B.D., Huettel M. (2012) The driving forces of porewater and groundwater flow in permeable coastal sediments: A review, *Estuarine Coastal Shelf Science*, 98, 1–15.
- Saunders, D.F., Burson, K.R., Thompson C.K. (1999) Model for hydrocarbon microseepage and related near-surface alterations, *AAPG Bull.*, 83, 170–185.
- Selker, J., Niemet, M., McDuffie, N., Gorelick, S., Parlange, J.-Y. (2007) The local geometry of gas injection into saturated homogeneous porous media, *Transp. Porous Media*, 68, 107–127.
- Sumikura M., et al. (2007) Ozone micro-bubble disinfection method for wastewater reuse system. *Water Science and Technology*, 56, 53–61.
- Temesgen, T., Bui, T.T., Mooyoung Han, M., Kim, T., Park, H. (2017) Micro and nanobubble technologies as a new horizon for water-treatment techniques: A review, *Advances in Colloid and Interface Science*, 246, 40-51.