

# 行政院環境保護署

## 「99 年度土壤及地下水污染研究與技術提昇計畫」

### 應用現地油污染土壤復育之系統化方法

期末報告

**EPA-99-GA103-03-A236-20**

主 辦 單 位： 行政院環境保護署

受 託 單 位：國立成功大學

計 畫 主 持 人：鄭幸雄

協 同 主 持 人：張長泉

計 畫 執 行 人 員：陳昀安、蔡曜輝、邱瓊芳、Hermala、蘇淑琍、  
田育民、林翰璘

計 畫 執 行 期 間：99/12/31 ~ 100/12/30

中 華 民 國 100 年 12 月

行政院環境保護署計畫成果中英文摘要(簡要版)

- 一、中文計畫名稱：應用現地油污染土壤復育之系統化方法
- 二、英文計畫名稱：Systematic Bioremediation Strategy in Total Petroleum Hydrocarbon Contaminated Soil
- 三、計畫編號：EPA-99-GA103-03-A236-20
- 四、執行單位：國立成功大學環境工程學系
- 五、計畫主持人(包括共同主持人)：鄭幸雄、張長泉
- 六、執行開始時間：民國 99 年 12 月 31 日
- 七、執行結束時間：民國 100 年 12 月 30 日
- 八、報告完成時間：民國 100 年 12 月 21 日
- 九、報告總頁數：62 頁(本文)+ 13 頁(附件)
- 十、使用語文：中文
- 十一、報告電子檔名稱：應用現地油污染土壤復育之系統化方法
- 十二、報告電子檔格式：WORD
- 十三、中文摘要關鍵詞：系統化環境分子生物復育技術、總石油碳氫化合物、土壤污染
- 十四、英文摘要關鍵詞：Systematic environmental molecular biotechnology, Total petroleum hydrocarbon, Soil contaminated
- 十五、中文摘要(簡易版)：

台灣土壤及地下水受油品污染日益嚴重，污染案例不勝枚舉，油品污染一般污染途徑以地下儲油槽(Underground Storage Tanks, USTs)受腐蝕而破裂產生漏油、油管破裂、地面油品意外洩漏、及廢油品任意傾倒或掩埋等。本計畫團隊研發出的系統化環境分子生物復育技術(Systematic Environmental Molecular Bioremediation Technology, SEMBT)，對於土壤污染檢測甚至土壤及地下水復育，將配合環保產業的需要，降低監測、整治的成本，縮短離址油污土壤復育時程，提供本土化的生物技術服務。本計畫延續前所開發出之分子生物技術，利用已建立之 SEMBT 為技術平台，進行離址整治模型場規模現地驗證及示範之污土生物復育。污染物的種類含柴油(C8-12 ~ C16-28)及燃料油(C28-C40)為主要污染物、BTEX 為次要污染物之外，將推進並善用現址原生微生物，含柴油分解菌、重油分解菌及堆肥真菌類等，至不具揮發性、由 20 個碳以上的烴類混合物和其他較重的分子

且較難被降解的重油(heavy fuel oil)污染場之整治。

本研究整治目標土方為  $20\text{m}^3$ ，在土方第 0 天時，預計完成各  $5\text{m}^3$  土堆兩個，分別為控制組 BAS0 與添加 150L 之新鮮生物堆肥組 BAS1；第 7 天時，BAS1 經過 7 日生物優植與刺激後，將會產生適應土堆中碳氫化合物污染之油分解菌，將 BAS1 移出約  $1\text{m}^3$  之土方至 BAS2，同時置入  $1\text{m}^3$  新污染土方(BAS1)，並於 BAS2 加入  $4\text{m}^3$  新污染土方混合約  $5\text{m}^3$  土堆，此時現場將產生  $5\text{m}^3$  土堆三個；爾後以此類堆，根據相同推進工法，每 7 天作為一間隔進行土方推進，最後將完成  $20\text{m}^3$  土方整治生物堆。針對 Case 6(KH-20)現場土方，經過篩器的篩選，再以日光曝曬後，所篩選出約  $40\text{m}^3$  土方，進行初步土方的污染物濃度調查，其含水率約為 15% 以內，結果得知過篩後土方的濃度約為 1100~3700 mg TPH/kg，總石油碳氫化合物污染濃度分布頗不均質，土方主要以高碳數碳氫化合物污染為主，預期能作為後續土方復育之整治目標。

#### 十六、英文摘要：

Most of petrochemical oil pollutants contain aliphatic lipid and aromatic hydrocarbon compounds that are hydrophobic to water but sticky to surface of certain materials. These widespread fuel oil pollutants (total petroleum hydrocarbon, TPH) are difficult to be removed and need to be degraded with specific microorganisms associated with abundant quantity of extracellular polymer and secreted biosurfactant. Biosurfactant with the extracellular polysaccharide and the polypeptide promoted biofilm can be developed from diverse microbial consortia that are most found in hydrocarbon contaminated soil. With the secreted biosurfactants dissolving and penetrating into the oil layer, a biodegradation process can be enhanced with the enriched microorganisms which can drill channels for mass transport of nutrients and bioproducts. In order to carry out a systematic environmental molecular biotechnological (SEMBT) remediation, three research groups are established: (1) bioagent development with molecular biotechnology, (2) molecular biomonitoring technology, and (3) biotechnology integration for environmental engineering. This research group will work out the systematic technologies of the bioagent augmentation, the biomonitoring, and the biofilm stimulation to perform an useful bioremediation process (SEMBT) in a petroleum contaminated site. Within one year, a set of ex-situ bioremediation demonstration will be established with a pilot scale plant of  $20\text{m}^3$  biopile treating the total petroleum hydrocarbon (TPH). These biotechnologies of ex-situ bioremediation will be transferred to the Taiwan China Petroleum Corporation, and the CHC environmental engineering firm for scale-up application in the near future. The project goal is to demonstrate a systematic environmental molecular biotechnology (SEMBT) for biodegradation technology that is feasible for remediating a large area of hydrocarbon contaminated site.

## 行政院環境保護署計畫成果中英文摘要(詳細版)

計畫名稱：應用現地油污染土壤復育之系統化方法

計畫編號：EPA-99-GA103-03-A236-20

計畫執行單位：國立成功大學環境工程學系

計畫主持人(包括協同主持人)：鄭幸雄、張長泉

計畫期程：99 年 12 月 31 日 至 100 年 12 月 30 日

計畫經費：990,000 元

### 摘要

台灣土壤及地下水受油品污染日益嚴重，污染案例不勝枚舉，以高雄煉油廠污染案為例，2005 年四月，高雄市楠梓區的中油煉油廠由於油槽基礎地質侵蝕及油管破裂，造成周邊土壤及地下水受到嚴重的油漬污染，面積約為一點六公頃。當地居民因而飽受用水及土壤污染，現已被環保署列為管制區域，並要求改善復育同時要求於民國 104 年遷廠。油品污染一般污染途徑以地下儲油槽(Underground Storage Tanks, USTs)受腐蝕而破裂產生漏油、油管破裂、地面油品意外洩漏、及廢油品任意傾倒或掩埋等。

因此，過去八年，經由經濟部學界科專計畫補助，本計畫團隊研發出的系統化環境分子生物復育技術(Systematic Environmental Molecular Bioremediation Technology, SEMBT)，對於土壤污染檢測甚至土壤及地下水復育，將配合環保產業的需要，降低監測、整治的成本，縮短離址油污土壤復育時程，提供本土化的生物技術服務。本計畫延續前所開發出之分子生物技術，利用已建立之 SEMBT 為技術平台，進行離址整治模型場規模現地驗證及示範之污土生物復育。污染物的種類含柴油(C8-12 ~ C16-28)及燃料油(C28-C40)為主要污染物、BTEX 為次要污染物之外，將推進並善用現址原生微生物，含柴油分解菌、重油分解菌及堆肥真菌類等，至不具揮發性、由 20 個碳以上的烴類混合物和其他較重的分子且較難被降解的重油(heavy fuel oil)污染場之整治。

本研究整治目標土方為  $20\text{m}^3$ ，在土方第 0 天時，預計完成各  $5\text{m}^3$  土堆兩個，分別為控制組 BAS0 與添加 150L 之新鮮生物堆肥組 BAS1；第 7 天時，BAS1 經過 7 日生物優植與刺激後，將會產生適應土堆中碳氫化合物污染之油分解菌，將 BAS1 移出約  $1\text{m}^3$  之土方至 BAS2，同時置入  $1\text{m}^3$  新污染土方(BAS1)，並於 BAS2 加入  $4\text{m}^3$  新污染土方混合約  $5\text{m}^3$  土堆，此時現場將產生  $5\text{m}^3$  土堆三個；爾後以此

類堆，根據相同推進工法，每 7 天作為一間隔進行土方推進，最後將完成 20m<sup>3</sup> 土方整治生物堆。針對 Case 6(KH-20)現場土方，經過篩器的篩選，再以日光曝曬後，所篩選出約 40m<sup>3</sup> 土方，進行初步土方的污染物濃度調查，其含水率約為 15%以內，結果得知過篩後土方的濃度約為 1100~3700 mg TPH/kg，總石油碳氫化合物污染濃度分布頗不均質，土方主要以高碳數碳氫化合物污染為主，預期能作為後續土方復育之整治目標。由微矩陣生物晶片檢測，Case 1~Case 6 之土堆發現 *Gordonia alkanivorans*、*Bacillus subtilis*、*Pseudomonas* sp.、*Sphingomonas yanoikuyae* 等菌，*Gordonia desulfuricans* 等原生油分解菌屬，均已廣泛被報導為具有分解碳氫化合物能力之細菌類微生物(Atlas, 1984; Bossert and Bartha., 1984; Cullen et al., 1994)。在真菌的部分，Case 1~6 之土堆皆可發現 *Aspergillus fumigatus*、*Candida tropicalis* 與 *Pseudallescheria boydii* 三菌種，研判可能與該土堆定期添加之活化劑有關。

### 英文摘要

Most of petrochemical oil pollutants contain aliphatic lipid and aromatic hydrocarbon compounds that are hydrophobic to water but sticky to surface of certain materials. These widespread fuel oil pollutants (total petroleum hydrocarbon, TPH) are difficult to be removed and need to be degraded with specific microorganisms associated with abundant quantity of extracellular polymer and secreted biosurfactant. Biosurfactant with the extracellular polysaccharide and the polypeptide promoted biofilm can be developed from diverse microbial consortia that are most found in hydrocarbon contaminated soil. With the secreted biosurfactants dissolving and penetrating into the oil layer, a biodegradation process can be enhanced with the enriched microorganisms which can drill channels for mass transport of nutrients and bioproducts. In order to carry out a systematic environmental molecular biotechnological (SEMBT) remediation, three research groups are established: (1) bioagent development with molecular biotechnology, (2) molecular biomonitoring technology, and (3) biotechnology integration for environmental engineering. This research group will work out the systematic technologies of the bioagent augmentation, the biomonitoring, and the biofilm stimulation to perform an useful bioremediation process (SEMBT) in a petroleum contaminated site. Within one year, a set of ex-situ bioremediation demonstration will be established with a pilot scale plant of 20 m<sup>3</sup> biopile treating the total petroleum hydrocarbon (TPH). These biotechnologies of ex-situ bioremediation will be transferred to the Taiwan China Petroleum Corporation, and the CHC environmental engineering firm for scale-up application in the near future. The project goal is to demonstrate a systematic environmental molecular biotechnology (SEMBT) for biodegradation technology that is feasible for remediating a large area of hydrocarbon contaminated site.

## 前言

台灣常見的土壤汙染事件，包括農地重金屬汙染、工廠或其他非法棄置場的有機物汙染、儲槽、工廠及加油站甚至輸油管線的總石油碳氫化合物汙染，其中以總石油碳氫化合物之汙染最為嚴重。油品汙染其汙染途徑以地下儲油槽(Underground Storage Tanks, USTs)受腐蝕而破裂產生漏油、油管破裂、地面油品意外洩漏、及廢油品任意傾倒或掩埋等，不僅占地面積廣且對環境生態有立即性之危害。除了 18 處的整治場址與 45 處的控制場址，據統計至 99 年 4 月底全台尚有 2,605 座加油站，每座加油站依大小而有 4 到 6 個地下儲油槽，所以至少有一萬座的地下儲槽，都是油槽普遍潛在的汙染源。

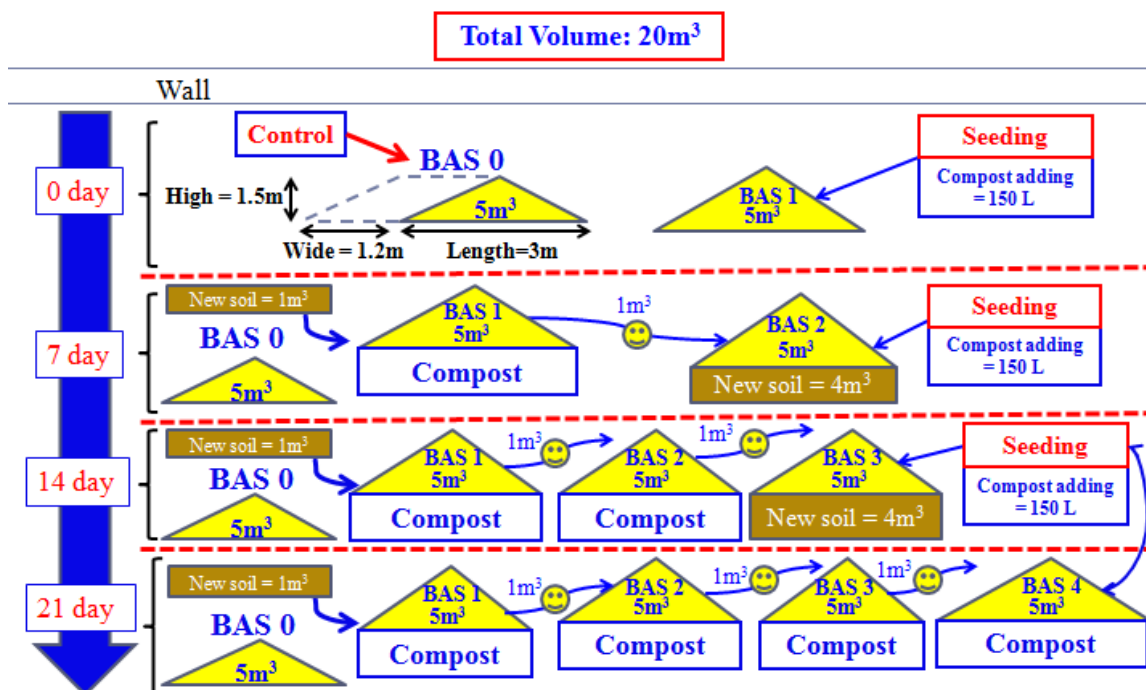
本計畫目的為推廣系統化環境分子生物技術至實場運用規模，結合生物優植法(bioaugmentation)與生物促進法(biostimulation)之生物優植促進法(BAS)策略，進行生物土堆翻耕法(Biopile Landfarming)處理柴重油汙染土壤之生物復育，整治規模為 20 m<sup>3</sup>之汙染土方，目標汙染物為柴油(TPH<sub>C10~C40</sub>)降至法規 1,000 mg/kg dry soil 以下，符合土壤管制標準。

隨著離場整治的工程作業經驗及施工規範、分析技術的推進、實驗室技術開發團隊配合現場作業策略的操作，將系統化環境分子生物復育技術(Systematic Environmental Molecular Bioremediation Technology, SEMBT)持續的改良強化。同時應用實驗室規模之土壤反應瓶批次試程，藉由汙染物各時期的三成分組成，及微生物細菌類菌相的差異演進，包括真菌類的蹤跡對殘餘的汙染物降解有很大的關聯，因此建立兩階段生物整治的最佳化策略，顯著縮短整治的時間，為本計畫重要性關鍵技術之現地驗證。希望藉此現地示範結果能進一步重整碳氫化合物汙染土壤之生物整治的工程概念，並推廣放大工程化施用於未來汙染的場址，建立最適化的施工條件，縮短整治的工期，可加速強化汙染土壤的自然衰減，以達到恢復土壤生機(bioremediation)及國土再造的目標。

## 研究方法

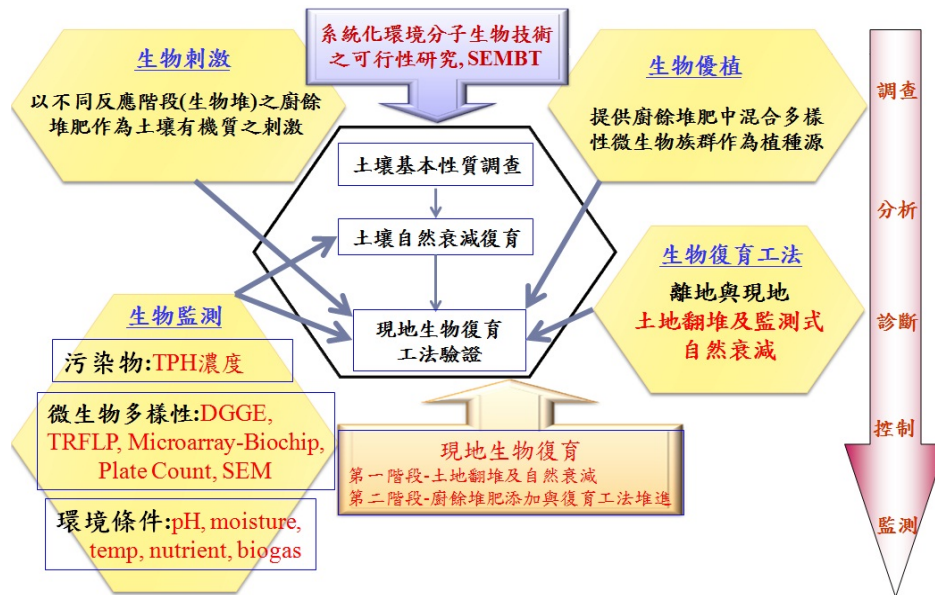
場區規劃為求節省離場土地使用面積，本計畫改良土堆工法將土堆堆高達 1m，利用柱栓流反應(Plug flow reaction, PFR)理論方法與迴流污泥(recirculated seeding)概念如 Fig.1，本計畫因土方較小故將汙染土壤依序分為 5 土堆延續推進工法，其中各有 1 堆為串連控制組(control)，其餘 4 堆為推進組(BAS1、BAS2、BAS3、BAS4)，每堆設計尺寸為 3m\*1.2m\*1.5m (LxWxH)。整治目標土方為 20m<sup>3</sup>，在土方第 0 天時，預計完成各 5m<sup>3</sup>土堆兩個，分別為控制組 BAS0 與添加 150L 之新鮮生物堆肥組 BAS1；第 7 天時，BAS1 經過 7 日生物優殖與刺激後，將會產生適應土

堆中碳氮化合物污染之油分解菌，將 BAS1 移出約  $1\text{m}^3$  之土方至 BAS2，同時置入  $1\text{m}^3$  新污染土方(BAS1)，並於 BAS2 加入  $4\text{m}^3$  新污染土方混合約  $5\text{m}^3$  土堆，此時現場將產生  $5\text{m}^3$  土堆三個；爾後以此類堆，根據相同推進工法，每 7 天作為一間隔進行土方推進，最後將完成  $20\text{m}^3$  土方整治生物堆。現場實際為將來擴大整治面積與土方考量，以及工程規範之建立，可做為離場生物復育之整治基準與技術平台。



**Fig.1 Illustration of counter current plug flow**

每星期進場啟動一土堆，每次都是首先製備 250L 生物堆肥，並每日撒水，以保持土壤含水率為 15~20%。採樣時機為每次土堆添加生物堆肥之前，依土堆編號每次先由 BAS1 開始，再依序串連進行土堆 BAS1、BAS2、BAS3 及 BAS4 各堆之採樣，採樣後再進行撒水翻堆動作，以維持氧氣濃度在 10~18%，使適合於好氧微生物生長之環境因子。驗證規模中控制組(BAS0)不施生物堆肥於土堆中，並無翻堆與撒水。而串連推進組(BAS1、BAS2、BAS3 及 BAS4)則各土堆之生物界面活性劑(Rhamnolipid)與生物菌劑 Consortia BA-3，包含四株油分解菌株(CC-BC11、CC-JG39、CC-FH2 及 CC-LSH4)，可以促進生物降解效果。整治期間定期監測之項目，包括土壤中目標污染物重油  $\text{TPH}_{\text{C}_{10}\sim\text{C}_{40}}$  與柴油  $\text{TPH}_{\text{C}_{10}\sim\text{C}_{28}}$  之濃度，油分解菌微生物總菌落數，以及土壤環境因子如土壤中溫度、水份(%)、氣體  $\text{O}_2$ (%)、 $\text{CO}_2$ (%) 及 pH 等。同時利用分子生物技術微矩陣生物晶片(Microarray biochip)方法監測微生物在整治期間之族群變化，以了解微生物族群之消長。



以上微生物復育工法係根據本團隊前四年來執行學界科專計畫之個案經驗 (SEMBT)，改良為最佳化連續植種推進工法，以每堆  $5\text{m}^3$  串連推進至少共  $20\text{m}^3$  規模之示範模場。此生物復育工法如 Fig. 2，包括四項關鍵性技術：①生物優植法 (Bioaugmentation) ②生物促進法 (Biostimulation) ③分生檢測法 (Molecular) ④系統化復育法 (SEMBT)。已於高雄楠梓某石化廠三場址完成五組現地驗證計畫，FD、KH-5、KH-10、KH-100、KH-200，針對不同土質(砂土、壤土、粉土)，不同 TPH 油污成份(C10~C28、C28~C40、柴油、燃料油)，不同油污齡(fresh、aged)等原生條件，使用不同微生物植種(indigenous、bacteria & fungi)及助劑添加等工法，完成不同模型場規模之驗證。

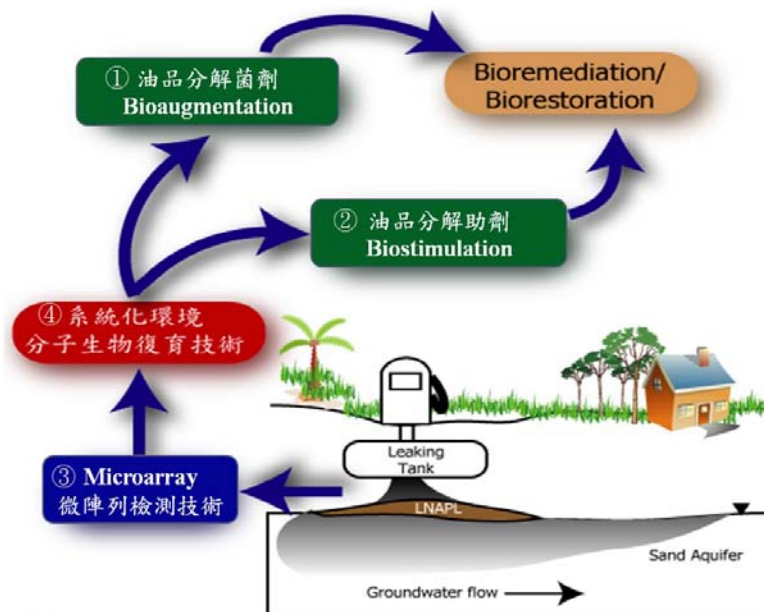


Fig.2 A flow chart for systematic environmental molecular bioremediation technology of four critical technology



## 結 果

本研究主要分為第一階段監測式自然衰減土方污染調查與第二階段 SEMBT 工法試驗。在第一階段調查結果發現(5 個月期間)，KH92 土方(黏質壤土)之總石油碳氫化合物(TPH)濃度為 3000~5000 mg/kg dry soil，明顯高於 KH20 土方(砂質壤土)之 TPH 濃度 1000~2000 mg/kg dry soil，兩者在初始濃度有明顯差異，在經過自然衰減的過程中，TPH 濃度有逐漸下降趨勢。針對 Case 6(KH-20)現場土方，進行微矩陣生物晶片檢測，Case 1~Case 6 之土堆發現 *Gordonia alkanivorans*、*Bacillus subtilis*、*Pseudomonas* sp.、*Sphingomonas yanoikuyae* 等菌，*Gordonia desulfuricans* 等原生油分解菌屬，均已廣泛被報導為具有分解碳氫化合物能力之細菌類微生物 (Atlas, 1984; Bossert and Bartha., 1984; Cullen et al., 1994)。在真菌的部分，Case 1~6 之土堆皆可發現 *Aspergillus fumigatus*、*Candida tropicalis* 與 *Pseudallescheria boydii* 三菌種，研判可能與該土堆定期添加之活化劑(KH-92)有關。

在後期濃度也接近穩定，因此開始進行第二階段復育程序(SEMBT 結合反推式柱塞流施工法)，研究整治目標土方為 20m<sup>3</sup>，在土方第 0 天時，此時 BAS0(CT 組來自 KH-92 土方)TPH 濃度接近 3000 mg/kg dry soil 高於 BAS1(來自 KH-20)之 TPH 濃度 1000 mg/kg dry soil；第 7 天時，BAS1 經過 7 日生物優植與刺激後，TPH 濃度降至 500 mg/kg dry soil，研判可能 BAS1 主要以砂質壤土為主，因此較多孔隙能夠使堆肥中微生物進行移動與利用 TPH 作為碳源，達到快速 TPH 之降解。第 14 天時，由於現場土方不足目標復育量，因此原 BAS0(CT 組)土方再添加額外 1/2 量之 KH-92 黏質壤土，使其 TPH 濃度些微提高，BAS1 之 TPH 濃度則有回升趨勢，研判可能為土壤不均質所產生現象。另外，新推進至 BAS2 土方之 TPH 濃度則有偏低於 500 mg/kg dry soil。經過 29 天土方啟動期，完成 20m<sup>3</sup> 土方整治生物堆，BAS0(CT 組)污染濃度維持約為 2000 mg/kg dry soil；BAS1~4 之 TPH 濃度則皆低於 1000 mg/kg dry soil。針對第二階段 SEMBT 工法試驗(土方啟動期)，進行微矩陣生物晶片檢測，在土方啟動期之前，第-7 天之分分析結果，KH-20 與 KH-92 所發現之細菌皆為 *Gordonia alkanivorans* 與 *Gordonia desulfuricans* 等原生油分解菌屬；土方啟動之第 0 天，BAS0(CT 組來自 KH92 土方)與 BAS1(來自 KH20 土方)，兩者發現之細菌同樣也是 *Gordonia alkanivorans*、*Gordonia desulfuricans* 與 *Pseudomonas* sp. 等原生油分解菌屬；在真菌的部分，在土方啟動期之前，第-7 天之分分析結果，KH-20 與 KH-92 皆可發現 *Aspergillus fumigatus*、*Pseudallescheria boydii* 及 *Candida tropicalis* 等菌種，惟 KH-20 則存在 *Aspergillus flavus* 之真菌；土方啟動之第 0 天，BAS0(CT 組來自 KH92 土方)與 BAS1(來自 KH20 土方)，兩者之菌相與第-7 天菌種相同，另在 KH92-活化劑添加組(CT 組)，則特有 *Aspergillus niger* 之真菌，其存在可能與固定添加之活化劑作為營養源有關。

## **結 論**

1. 根據第一階段監測式自然衰減土方污染調查與第二階段 SEMBT 工法 試驗之成果可知，利用本研究所提出之反推式柱塞流式復育工法結合 SEMBT，將可快速整治較為黏質與高碳數污染之土壤。實驗結果顯示，第一階段土壤之 TPH 濃度降解僅能達到約 40~50% 之 TPH 去除率；而第二階段之 SEMBT 工法最高可再增加 46% 之 TPH 去除率。
2. 本研究遭遇黏質壤土之 TPH 濃度不穩定現象，其主要原因為：(1)本研究土方主要為黏質壤土，土壤孔隙度較小，使其微生物與污染物之間無法達到有效之接觸，進而利用 TPH 或其基質作為碳源，污染物分佈頗為不均質；(2)本研究土方主要來自燃料油或柴油，其成分較為複雜，且加上與黏質壤土形成高黏滯狀態，因此使得局部高濃度區域與低濃度污染分佈跳動頗大。

## **建議事項**

1. 由於本研究於第二階段採用生物刺激(堆肥)，其本身含有部分動植物性油脂，在進行 GC-FID 分析時，可能產生濃度增加或誤判的情形發生，如能於前處理萃取時進行純化之步驟，將能有效減少高估的情形發生。
2. 本研究主要以兩種不同質地之土方進行混合，即砂質壤土與黏質壤土，造成污染物之分布不均，若能以進行多次混合(翻耕動作)、破碎及曬乾，將能有效地提高土壤的分佈與均質性。



## 第一章 研究緣起

台灣常見的土壤污染事件，包括農地重金屬污染、工廠或其他非法棄置場的有機物污染、儲槽、工廠及加油站甚至輸油管線的總石油碳氫化合物污染，其中以總石油碳氫化合物之污染最為嚴重。油品污染其污染途徑以地下儲油槽(Underground Storage Tanks, USTs)受腐蝕而破裂產生漏油、油管破裂、地面油品意外洩漏、及廢油品任意傾倒或掩埋等，不僅占地面積廣且對環境生態有立即性之危害。除了 18 處的整治場址與 45 處的控制場址，據統計至 99 年 4 月底全台尚有 2,605 座加油站，每座加油站依大小而有 4 到 6 個地下儲油槽，所以至少有一萬座的地下儲槽，都是油槽普遍潛在的污染源。

環保署於 89 年 2 月 2 日公布實施「土壤及地下水污染整治法」後，過去於台灣受到污染的土壤及地下水場址，開始受到各界的關注。加上近年來，煉油廠附近環保與工安問題不斷發生，以高雄煉油廠為例，2008 年一月，高雄市楠梓區的中油煉油廠的第二真空製氣油工廠由於高壓分離槽油氣管線老化造成爆裂，造成氣爆火警，並使周邊土壤及地下水受到嚴重的油品洩漏污染，因此相關單位開始重視管線老化與油品洩漏所衍生的各類問題。當地居民因而飽受用水及土壤污染，現已被環保署列為管制區域，並要求改善復育同時要求於民國 104 年遷廠。此等油污場區已被環保當局列管整治中，被列為「土壤污染控制場址」。許多受油品污染場址，其總石油碳氫化合物濃度超過環保署土壤管制標準十六倍以上之多，污染的面積更超過公頃級以上。

總石油碳氫化合物之污染為當前占地面積最廣且對人體及環境有立即性危害的污染問題。包括有加油站、儲槽、及工廠污染，27 處整治場址就有多數屬於此類污染，其中高雄煉油廠 P-37 油槽區自 93 年 3 月起至今已有 8 年仍未解決。另在中國石油公司苓雅寮儲運所、楠梓廠區、林園廠區、新竹縣峨眉鄉、中石化高雄廠區、大社工業區、國喬石化高雄廠區亦有 3,547,7831 m<sup>2</sup> 不等的土地面積遭受總石油碳氫化合物之污染而被列為控制場址，這其中還不包含各地加油站及輸油管線之漏油污染區。顯示國內土壤受總石油碳氫化合物污染的問題著實嚴重，而總石油碳氫化合物(TPH)內包含有柴油(diesel)、燃料油(fuel oil)、單環芳香族碳氫化合物(monocyclic aromatic hydrocarbons)，如 BTEX (benzene, toluene, ethylbenzene, xylenes)與多環芳香族碳氫化合物 PAH (polycyclic aromatic hydrocarbons)等污染土壤與地下水問題，一經洩漏進入土壤或地下水中發生脫附、蒸發、擴散等作用後，將會對人體造成危害。可見污染問題之嚴重，這在地狹人稠的台灣更是迫切需要整治改善。



## 第二章 計畫目的

過去六年本團隊以所研發出的系統化環境分子生物復育技術(Systematic Environmental Molecular Bioremediation Technology, SEMBT)來進行土壤污染之整治，成功的整治了多處的污染場址之土壤；但也從中發現在(KH100 計畫中分別為 T 和 S 兩種土堆)，而在土堆較為黏土質的部分，其整治效果較彰顯；因此本研究將針對黏土質之污染土壤進行深入研究與探討。黏土質之土壤特性具有：(1)含水率高的特性將不利於熱脫附的處理方式；(2)黏土質之污染土壤若有較高濃度的 TPH，這表示土壤中存在著較難氧化的惰性污染，而此特性也將不利於化學氧化法；因此本研究將以開發複合性負資材(廚餘堆肥)來進行受污染土壤(黏土質)之生物復育。複合性負資材之特性具有：(1)物理性-微小顆粒之廚餘堆肥具有能夠改變黏土質土壤之結構，減弱鍵與鍵之間的強度，以提升污染物之溶出；(2)化學性-廚餘堆肥中具有足夠的氮、磷等營養源以提供微生物之生長，即所謂的生物刺激法；(3)生物性-廚餘堆肥中具有豐富的微生物，即所謂的生物優植法。

本計畫目的為延續系統化環境分子生物技術至實場運用規模，結合生物優植法(bioaugmentation)與生物促進法(biostimulation)之生物優植促進法(BAS)策略，進行生物土堆翻耕法(Biopile Landfarming)處理柴重油污染土壤之生物復育。根據過去本團隊六年的研究成果，可應用在實際工程上，整治規模為每年 10,000 m<sup>3</sup> 之污染土方(約為 20,000 公噸土)，參照美國環保署(USEPA)所提供的生物復育手冊計算，至少需要 5%以上的有機質與菌種添加，本研究所能提供的規模約為 10%以內的體積添加，約為 1,000 公噸(2000 m<sup>3</sup>)，根據未來一年內約 10 個月的持續性植種，即生物刺激(biostimulation)與生物優植(bioaugmentation)，每個月至少有 100 公噸的量化植種，換算為每個禮拜約需提供 25 公噸的植種，同步培養 1%比例的菌液(實驗室規模提供 100~250L/week)。最終生物復育目標，其污染物為柴油(TPH<sub>C10~C40</sub>)降至法規 1,000 mg/kg dry soil 以下，符合土壤管制標準。

因此為了將經濟部技術處所資助在成功大學環境研究中心下的學界科專計畫：分子生物技術於環境工程應用研究兩期六年計畫中之技術成效驗證於實場的油品污土生物復育，本模場計畫將延續過去一年與中國石油公司高雄煉油廠(簡稱高廠)內合作進行一工程化離場生物復育的實證示範計畫，在第二年將土壤復育程序改良其生物刺激(biostimulation)與生物優植(bioaugmentation)，期以複合性副資材作為後續推進之植種源，並提高生物復育過程中微生物多樣性的種類以及微生物本身之調控。本計畫中的污染土來源為高雄楠梓某石化廠段所提供之油污染土壤，並在高廠廠內之地號 202 號污染土壤整治作業場現地實場進行。期間，中聯資源公司為協助工程化廠商，提供污土翻推機具及勞務支援，並接受技術移轉 SEMBT 系統化方法。

生物復育處理油污土壤，由於整治費用便宜，廣為國外所用；但由於台灣寸土寸金，往往因生物復育所需工程時間過長，且占地面積過大而不被青睞。分析生物復育所需工程時間較長的原因，為降解過程中有遲滯的現象產生，造成此現象的原因包括(1)易分解化合物已先被原生微生物分解(2)缺少可共代謝基質(3)微生物接觸化合物機率減低(4)缺少具有分解此類化合物之微生物存在(5)土壤中營養鹽限制(6)中間有毒物質累積。若其中無一個工程上或自然演化過程的改變，則污染物遲滯的現象時間就會拉長。若克服此問題可以縮短整治的時間，提高生物復育法的優勢，為本計畫目的之一。

隨著離場整治的工程作業經驗、分析技術的推進、實驗室技術開發團隊現場作業策略的操作，將系統化環境分子生物復育技術(Systematic Environmental Molecular Bioremediation Technology, SEMBT)持續的強化，同時應用實驗室規模之土壤反應瓶批次試程，藉由污染物各時期的三成分組成及微生物細菌類菌相的差異演進，包括真菌類的蹤跡對殘餘的污染物降解有很大的關聯，因此建立兩階段生物整治的最佳化策略，縮短整治的時間。為本計畫重要性關鍵技術之驗證。並希望藉此結果能進一步重整碳氫化合物污染土壤之生物整治的工程概念，並推廣工程化施用於未來污染的場址，藉由最適化的條件，縮短整治的工期，並強化污染土壤的自然衰減，以達到恢復土壤生機(biorestoration)的目標。

本計畫係行政院環境保護署土壤與地下水整治基金會委託之研發計畫，宗旨為本計畫擬結合污染源產業環保單位(中油高廠環特小組)，環境工程業(中聯資源公司)，與學界科專研究團隊(成大環工系)以策略聯盟方式，進行 SEMBT 現地模場驗證，雖然計畫經費規模小，乃是模場示範性質之成果展示，可供環保署推廣應用之參考。為本計畫重要性之一。

### 第三章 文獻回顧

#### 3.1 油污染土壤概況介紹

行政院環保署土水整治基金管理會明定污染場址判定流程由發現場址開始，經查證有未依規定排放、洩漏、灌注或棄置之污染物時，則予以公告並定期監測。Fig. 1 為污染場址判定流程，當污染來源明確且超過管制標準時該場址則被列為控制場址，而有危害國民健康及生活環境之虞時，則進一步列為整治場址並提出整治計畫來處理。

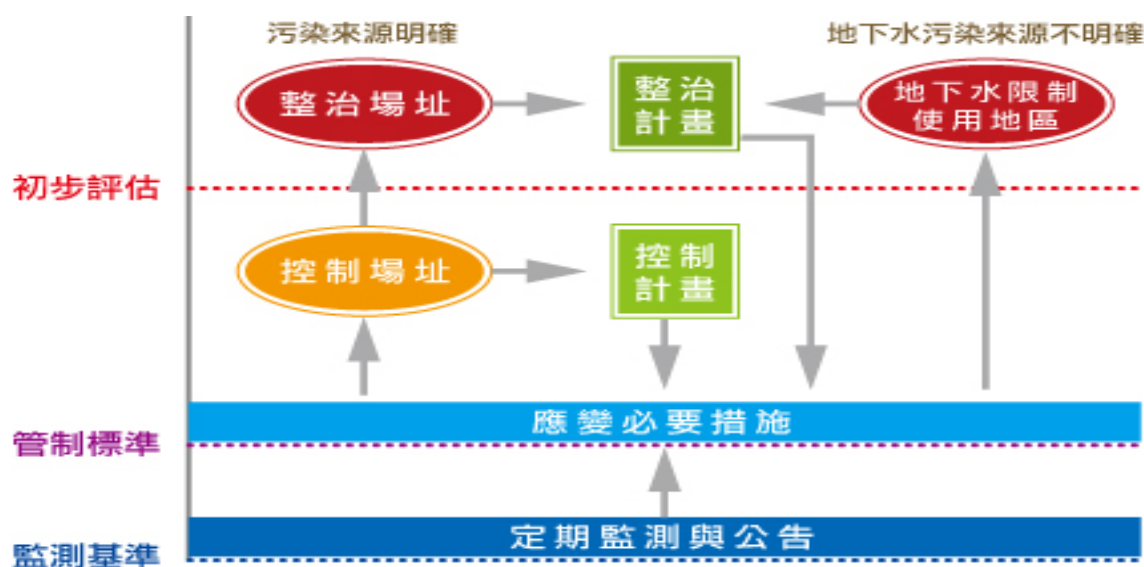


Fig.3-1-1 污染場址判定流程圖，由行政院環保署土壤與地下水污染整治基金管理會明定公告(環保署土壤及地下水污染整治網 2011/2/16)

#### (一) 土壤污染案例介紹

目前全國土壤污染以筆數計(Table.3-1-1)，共有 632 處列為控制場址，其中以農地污染占大宗。另有 18 處列為整治場址，其中就有 18 處為加油站及儲槽。若以土地面積計，則以加油站及儲槽占地面積最大(包含控制及整治場址)，且大部分集中在高雄縣市。

Table.3-1-1 全國土壤污染場址統計表(環保署土壤及地下水污染整治網 2011/2/16)

| 列管狀態\場址類別 | 農地  | 加油站 | 儲槽 | 工廠 | 非法棄置場址 | 其他 | 總數  |
|-----------|-----|-----|----|----|--------|----|-----|
| 公告為控制場址   | 489 | 52  | 5  | 61 | 11     | 14 | 632 |



| 列管狀態\場址類別           | 農地   | 加油站 | 儲槽 | 工廠 | 非法棄置場址 | 其他 | 總數   |
|---------------------|------|-----|----|----|--------|----|------|
| 公告為整治場址             | 1    | 16  | 2  | 9  | 2      | 3  | 33   |
| 公告地下水受污染限制使用地區及限制事項 | 0    | 0   | 0  | 6  | 0      | 13 | 19   |
| 解除列管場址              | 1593 | 10  | 1  | 12 | 1      | 2  | 1619 |

\*註：農地多為重金屬污染、加油站多為碳氫化合物污染、儲槽多為碳氫化合物污染、工廠(各種污染源皆有)、非法棄置場址則多為有機溶劑之污染。總石油碳氫化合物之污染為當前占地面積最廣且對人體及環境有立即性危害的污染問題。包括有加油站、儲槽、及工廠污染，27 處整治場址就有多數屬於此類污染，其中高雄煉油廠 P-37 油槽區自 93 年 3 月起至今已有 8 年仍未解決。另在中國石油公司苓雅寮儲運所、楠梓廠區、林園廠區、新竹縣峨眉鄉、中石化高雄廠區、大社工業區、國喬石化高雄廠區亦有 3,547,7831 m<sup>2</sup> 不等的土地面積遭受總石油碳氫化合物之污染而被列為控制場址，這其中還不包含各地加油站及輸油管線之漏油污染區。顯示國內土壤受總石油碳氫化合物污染的問題著實嚴重，而總石油碳氫化合物(TPH)內包含有柴油(diesel)、燃料油(fuel oil)、單環芳香族碳氫化合物(monocyclic aromatic hydrocarbons)，如 BTEX (benzene, toluene, ethylbenzene, xylenes)與多環芳香族碳氫化合物 PAH (polycyclic aromatic hydrocarbons)等污染土壤與地下水問題，一經洩漏進入土壤或地下水中發生脫附、蒸發、擴散等作用後，將會對人體造成危害。可見污染問題之嚴重，這在地狹人稠的台灣更是迫切需要整治改善。

### 3-2 總石油碳氫化合物介紹

石油(Petroleum)，是由 Petra Oleum 所得，原義為 Rock Oil(頁油)，根據大英百科全書的敘述「石油是烴類的複雜混合物，以氣固液三態存在地球中。」一般多呈液態狀，通常將未加提煉的液態石油泛稱為「原油」(Crude oil)。而原油的組成並不固定，一般為帶有異臭、比重約 0.8~1.0 的黑褐色流體，大部分由碳(85%)和氫(13%)元素的組成的混合體，另外還有少量的氮(1%)、氧(1%)、硫(3%)以及金屬成分(Table.3-2-1)，因主要為碳、氫兩元素，所以我們統稱這些各式的石油類物質、產品為「總石油碳氫化合物」(Total Petroleum Hydrocarbon)以下簡稱「TPH」。

Table.3-2-1 The ultimate atomic fraction analysis of crude oil

|           | Element          | Content (%) |
|-----------|------------------|-------------|
| Crude Oil | <u>C</u> arbon   | 83.0~87.0   |
|           | <u>H</u> ydrogen | 11.0~14.0   |
|           | <u>N</u> itrogen | 0.1~2.0     |
|           | <u>O</u> xygen   | 0.05~1.5    |
|           | <u>S</u> ulfur   | 0.05~6.0    |
|           | Metals           | 0.03        |

隨著使用、利用、加工、分析等各領域的不同，TPH 也有很多分類的方法，工業上常用的是 PONA 法，即四種分類之 TPH 的縮寫，分別為石蠟烴(Paraffins)、烯烴(Olefins)、環烷烴(Naphthenes)、芳香烴(Aromatic)，近年甚至多了二烯烴(Diolefins)、炔烴(Acetylenes)，此法在觸媒重組、輕油裂解工廠研討其進料組是否適宜該工廠之煉製製程時常用到。

中油公司在其污染整治或控制場址中，污染土壤的背景資料建立也會針對油品污染源特性配合其分類產品進行污染源歸屬的動作，了解各區的污染土壤是屬於何種油品污染。

再者，依TPH的組成結構特性，可分為三類碳氫化合物 (Table.3-2-2)

(1)脂肪族(Aliphatics)，包含飽和的Alkane(Paraffin)及及不飽和Alkene (Olefin)，前者不含任何雙鍵，因此碳氫鍵結皆為飽和的(saturated)，後者含有單一或多個雙鍵但無任何芳香族的結構，此類化合物在原油中極少見，除非經過加熱作用，因此第一類脂肪族的碳氫化合物也常看到有直接以飽和烴類(Saturated)取代。

(2)芳香族(Aromatics)，含有共振的 $\pi$ 鍵系統的環狀化合物，包含單環及多環的。

(3)極性物質與瀝青類(Polars and Asphaltenes)，含高有機質的複雜混合體，一般為自然衰減產生，脂肪族或芳香族碳氫化合物的裂解或生物分解時的中間產物與氮、氧、硫等富電子元素結合而成，包含些許脂肪族及芳香族物質還有大量的瀝青類結構物(bitumens)。因與氮、氧、硫鍵結而富極性，且大量為瀝青柏油類(Asphalts)物質，因而以此命名。

另外，存在礦物油品中大群的極性結構物也被命名為”Resins”。

Table.3-2-2 The composition of the total petroleum hydrocarbon.

|                     | 組成分類                                      |       | 主要成分                                                                      |
|---------------------|-------------------------------------------|-------|---------------------------------------------------------------------------|
| 總石油<br>碳氫化合物<br>TPH | 脂肪族<br>Aliphatics                         | 飽和烴類  | 正烷類(n-alkane)<br>支鏈烷類(branched alkane)<br>環烷類(cycloalkane)                |
|                     |                                           | 不飽和烴類 | 烯、炔(原油中極少見)                                                               |
|                     | 芳香族<br>Aromatics                          |       | 單環<br>多環                                                                  |
|                     | 極性物質及柏<br>油類 Polars<br>and<br>Asphaltenes | 極性物質  | 含氮(N-heterocyclic)<br>含氧(O-heterocyclic)<br>含硫(S-heterocyclic)            |
|                     |                                           | 柏油類   | phenols、fatty acids、ketones、esters、<br>alcohols and monoaromatic steroids |

### 3-3 總石油碳氫化合物之生物降解性研究

#### 三類碳氫化合物之生物降解性探討

上文提及，總石油碳氫化合物可依結構分為 Aliphatics、Aromatics、Resins and Asphaltenes 三類，而這些碳氫化合物依其結構的複雜程度，受微生物降解的難易度也大不相同。早在 1984 年就有相關的研究，Connan 的研究中指出，三類碳氫化合物經過生物降解後，殘留的部分大多是極性物質(Resins)，約占了 60~90%不等 (Fig. 3-3-1)。

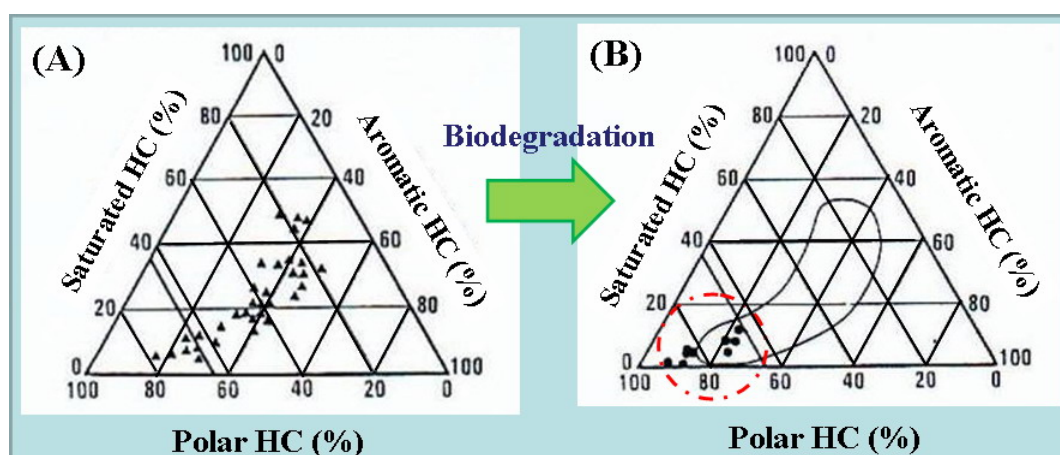


Fig.3-3-1 Three groups hydrocarbon distribution after biodegradation. (Connan, 1984)

Oudot 在 1984 年的研究中則對各種碳氫化合物的分類降解做了更詳細的描述，Arabian light crude oil 經過 60 天的生物降解後 Saturated hydrocarbon 去除率最高，約為 76%，Aromatic hydrocarbon 則次之，約有 50%，而 Resins 及 Asphaltenes 則只有 < 5% 及 30% 的去除率，降解極緩慢，再配合氣相層析儀更進一步分析出 (1) highly susceptible, normal and iso-alkanes. (2) susceptible, 6, 1, 5 and 2 ring alkanes, 1 ring and sulphur aromatics. (3) moderately susceptible, 3 and 4 ring alkanes, 2 and 3 ring aromatics. (4) resistant, tetra-aromatics, steranes, triterpanes, naphtheno-aromatics. (5) highly resistant, penta-aromatics, asphaltenes and resins 等五群生物可降解性不同的碳氫化合物。

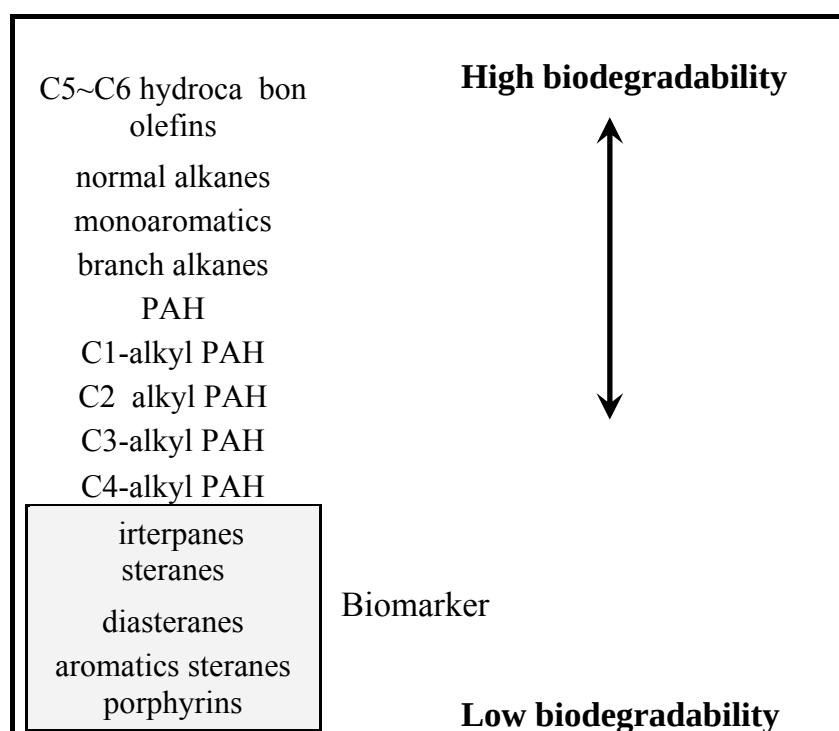


Fig. 3-3-2 Three groups hydrocarbon biodegradability research.

而在 Chaîneau, 1995 年的研究中則把各類 Aliphatics 及 Aromatics 的生物降解性做更細一步的確認，Aliphatics 的降解性大致是 n-alkanes > iso-alkanes > cyclo-alkanes，Aromatics 則是隨著環數多而降解性越差。其他如 triterpanes、steranes 等則是因為降解性極差，而被列為 biomarker (Fig. 3-3-2)，意即經生物降解、風化作用變動後仍保其完整性，再被偵測到的機率極高而可以當作指標的一些物質。

Oudot 等人在 1999 年時亦將此概念實際運用至模場的未知油品污染土壤的風化速率及程度上的研究；Lee 等人也在 2005 年時將三類碳氫化合物的監測運用於受 Lubricant oil 污染土壤與不同營養鹽條件造成的降解特性研究。兩研究都發現有相同的降解趨勢 (Fig. 3-3-3)，結果顯示碳氫化合物主要的降解還是來自於飽和族 (Saturated hydrocarbon)，其降解趨勢與 TPH 一致；Aromatics 的降解則較緩慢；而

Resins & Asphaltenes 還有先累積的情形發生，由 110 天的結果來看，Resins 的濃度甚至比初始值還高，於此也大致了解 Resins 在後期有高濃度殘留率的原因。

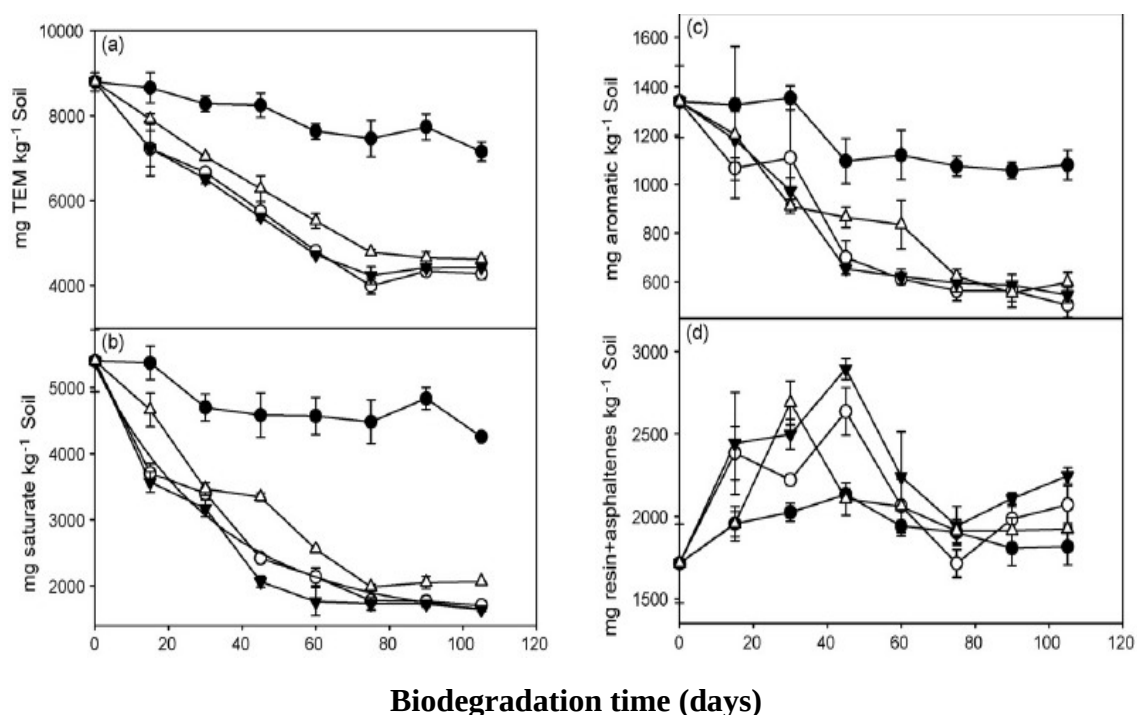


Fig.3-3-3 Three groups hydrocarbon biodegradability research.

( Effect of nutrient levels on the degradation of lubricants and each fraction in soil microcosm. ● non-fertilized, ○ C/N/P = 500/10/1, ▼ C/N/P = 200/10/1, and □ C/N/P = 100/10/1)

由上述各文獻的累積經驗，至此已了解三類碳氫化合物的分類及其重要性，以及其生物可降解性(Biodegradability)由高到低依序為 Aliphatic hydrocarbon > Aromatic hydrocarbon > Resins & Asphaltene hydrocarbon。

至於上述 Resins 的累積，則來自於 Aliphatics 及 Aromatics 的生物降解。在 Aliphatics 及 Aromatics 遭生物降解的過程中，會產生些許中間產物，與土壤中的氮、氧、硫等元素鍵結後就此形成。因為氮、氧、硫等元素的電負度較高，與碳氫化合物降解的中間產物鍵結後外圍會留有孤對電子，造成整個化合物的電子勢能失衡，產生極性，而這些在土壤中存在的極性物質則統稱 Resins；Asphaltenes 則屬於類似瀝青、柏油這些結構複雜、碳數極高、沸點極高的複雜混合物，在石油化學品煉製的過程中也無法被分離出來，在現有的微生物菌相中兩者的降解非常緩慢，再加上有增加的來源，因此在生物整治後期，此類碳氫化合物常被發現殘留有高比例的濃度。

### 3-4 分解石油碳氫化合物之微生物

土壤在長期受碳氫化合物污染的情況下，皆可以篩選出具有碳氫化合物降解能力的微生物，而這些微生物不乏有細菌及真菌(酵母菌)，另外還有些黴菌類的真菌也具有降解石油碳氫化合物的功能，各別整理如下。

#### 碳氫化合物降解菌介紹 (Bacteria)

Table.3-4-1 Hydrocarbon degrading Bacteria research.

| Bacteria                           | Target HC.               |
|------------------------------------|--------------------------|
| <b><i>Arthrobacter</i></b>         | Cycloalkanese            |
| <i>Arthrobacter sp.</i>            | dodecyclohexane          |
| <b><i>Acinetobacter</i></b>        | Normal alkanes           |
| <i>Acinetobacter sp.</i>           | Normal alkanes           |
| <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> | benzene                  |
| <b><i>Bacillus</i></b>             | Aromatics                |
| <i>Bacillus cereus</i>             | Aromatics                |
| <b><i>Brevibacterium</i></b>       | Branched alkanese        |
| <i>Brevibacterium sp.</i>          | pristane                 |
|                                    | dibenzothiophene         |
| <b><i>Corynebacterium</i></b>      | Aliphatics and Aromatics |
| <i>Corynebacterium sp.</i>         | pristane                 |
|                                    | Aromatics (o-xylene)     |
| <i>Desulfovibrio sp.</i>           | Aromatics                |
| <i>Flavobacterium sp.</i>          | Cycloalkanese            |
| <i>Gordonia nitida</i>             | Aromatics                |
| <i>Micrococcus</i>                 | Aromatics                |

| Bacteria                        | Target HC.                           |
|---------------------------------|--------------------------------------|
| <i>Mycobacterium sp.</i>        | Branched alkanese (phytane)          |
|                                 | Cycloalkanese                        |
|                                 | Aromatics                            |
| <i>Nocardia</i>                 | Cycloalkanese                        |
| <i>Pseudomonas sp.</i>          | Normal alkanes                       |
|                                 | Sulphur-containing compounds         |
| <i>Pseudomonas sp.</i> PGI      | Cycloalkanese                        |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>   | Normal alkanes                       |
|                                 | Aromatics                            |
| <i>Pseudomonas fluorescenes</i> | Aromatics                            |
| <i>Pseudomonas paucimobilis</i> | Aromatics                            |
| <i>Pseudomonas vesicularis</i>  | phenanthrene, fluorene, fluoranthene |
| <i>Pseudomonas putida</i>       | Aromatics                            |
|                                 | Sulphur-containing compounds         |
| <i>Pseudomonas stutzeri</i>     | Aromatics                            |
| <i>Rhodococcus erythropolis</i> | Normal alkanes                       |
| <i>Rhodococcus sp.</i>          | Branched alkanese (phytane)          |
|                                 | Cycloalkanese                        |
|                                 | Aromatics                            |
|                                 | Sulphur-containing compounds         |
| <i>Sphingomonas</i>             | Aromatics                            |
| <i>Xanthomonas</i>              | Aromatics                            |

常見能分解直鏈烷類的菌屬有 *Acinetobacter* 及 *Pseudomonas*，Miller and Bartha 指出 *Pseudomonas sp.* 具有降解 *n*-hexatriacontane(C36) 的能力，*Acinetobacter sp.* 亦能快速降解 *n*-paraffins；能分解支鏈烷類的菌屬則為 *Rhodococcus*、*Mycobacterium*，包括 *Rhodococcus sp.* 及 *Mycobacterium sp.* 都能分解難降解的 phytane 能分解環烷類的菌屬則有 *Arthrobacter*、*Flavobacterium*、*Nocardia*、*Rhodococcus*、*Pseudomonas*、*Mycobacterium* 等。

Table.3-4-2 Polyaromatic hydrocarbon degrading bacteria research

|                                     | Naphthalene | Phenanthrene | Fluoranthene、Pyrene、<br>Chrysene and Benzanthrane |
|-------------------------------------|-------------|--------------|---------------------------------------------------|
| <i>Arthrobacter polychromogenes</i> |             | *            |                                                   |
| <i>Mycobacterium sp.</i>            | *           | *            | *                                                 |
| <i>Micrococcus sp.</i>              |             | *            |                                                   |
| <i>Pseudomonas putida</i>           | *           | *            |                                                   |
| <i>Pseudomonas fluorescenes</i>     | *           |              |                                                   |
| <i>Pseudomonas paucimobilis</i>     | *           | *            |                                                   |
| <i>Pseudomonas vesicularis</i>      | *           |              |                                                   |
| <i>Rhodococcus sp.</i>              | *           | *            | *                                                 |
| <i>Corynebacterium venale</i>       | *           |              |                                                   |
| <i>Bacillus cereus</i>              | *           | *            |                                                   |
| <i>Gardonia sp.</i>                 |             |              | *                                                 |

而因結構含有共振的 $\pi$ 鍵且結構穩定，多環芳香族碳氫化合物(Aromatics)相較於脂肪族碳氫化合物(Aliphatics)而言被降解的難度稍高，因此近年多為Aromatics的研究，包括 *Acinetobacter*、*Bacillus*、*Corynebacterium*、*Desulfovibrio*、*Pseudomonas*、*Xanthomonas*等菌屬都有針對Aromatics的菌種。在文獻也特別對能分解各環數PAH的菌株做文獻回顧，整理如Table.3-4-2。

由上可見*Pseudomonas*菌屬最為多才多藝，可降解直鏈烷類、環烷類、多環芳香族、含氮硫氧之極性物質等，*Pseudomonas aeruginosa*具有分解PAH的能力；*Pseudomonas putida*可分解1,2,4-trimethylbenzene、 $\alpha$ -methylstyrene、單環、雙環及三環的PAH；*Pseudomonas vesicularis*也具有降解phenanthrene, fluorene, fluoranthene的能力。*Rhodococcus sp.*也有多方面的碳氫化合物降解能力，包括Branched alkanes (phytane)、Cyclo-alkanes。*Bacillus cereus*則能分解雙環的多環芳香族碳氫化合物。

另外，本研究中生物優植之目標菌株，也皆為降解碳氫化合物之優勢菌株。在Mohanty and Mukherji的研究結果顯示 *Exiguobacterium aurantiacum*這株菌對於柴油很有好的降解能力，特別是針對其中C12 ~ C26的直鏈烷類，對C20的支鏈烷 phytane 也有降解效果；*Rhodococcus erythropolis* 則是專門針對直鏈烷類的菌株；



在Kwapisz et al.,的研究中則認為Gordonia alkanivorans是對柴油降解很有幫助的菌種，但nitrate 與 ammonium ions的濃度有可能會影響起菌株的降解效率；Bidlan and Manonmani利用Serratia marcescens DT-1P進行DDT (dichlorodiphenyltrichloroethane) 的降解測試，結果發現效果更優於 *Pseudomonas aeruginosa* DT-Ct2 及 *Pseudomonas fluorescens*。

### 碳氫化合物降解菌介紹 (Yests and Fungi)

包含酵母菌及真菌，至今已有許多菌屬在總石油碳氫化合物的污染土壤中被偵測到。Radwan等人在石化油品污染土壤中偵測到有 *Aspergillus* 及 *Penicillium* 的蹤跡；Oudot 等人也研究在印度的油污染底泥中觀察到的 *Aspergillus*, *Penicillium*, *Gliocladium*, *Emericella*, *Graphium*, *Acremonium*, *Eupenicillium* and *Talaromyces* 等菌屬，發現 *Emericella nidulans*, *Graphiwn putredinis*, *Eupenicillium javanicum* and *Aspergillus flavipes* 等菌株對於Aliphatics及Aromatics的降解性極佳，甚至有去除Resins及Asphaltenes的能力；Chaineau等人1995年時也在法國境內的油品污染土壤中觀察到有 *Aspergillus*, *Penicillium*, *Beauveria*, *Acremonium*, *Cladosporium*, *Fusarium*, and *Trichoderma* 等真菌菌屬存在，在Zinjarde和Pant 2002年，Chaillan等人2004年的研究中也探討了酵母菌如 *Candida* 及 *Yarrowia* 等菌屬對碳氫化合物的降解能力；而有關白腐真菌對多環芳香族碳氫化合物降解可行性的研究，整理如下。

Table.3-4-3 Hydrocarbon degrading Yests with Aliphatics and Aromatics degradability research.

| Yests                               | Target hydrocarbon |
|-------------------------------------|--------------------|
| <b><i>Candida</i></b>               |                    |
| <i>Candida albicans</i>             |                    |
| <i>Candida fukuyamaensis</i>        | Asphaltenes        |
| <i>Candida palmioleophila</i>       | Asphaltenes        |
| <u><i>Candida parapsilosis</i></u>  |                    |
| <i>Candida tropicalis</i>           |                    |
| <i>Candida intermedia</i>           |                    |
| <i>Candida viswanathii</i>          |                    |
| <i>Candida xestobii</i>             | Asphaltenes        |
| <u><i>Pichia guilliermondii</i></u> | Asphaltenes        |
| <b><i>Yarrowia</i></b>              |                    |
| <i>Yarrowia lipolytica</i>          |                    |

\* 註：底線標號為本研究中有發現的酵母菌。

Table.3-4-4 Hydrocarbon degrading Fungi with Aliphatics and Aromatics degradability research.

| <b>Fungi</b>                        | <b>Target hydrocarbon</b> |
|-------------------------------------|---------------------------|
| <b><i>Aspergillus</i></b>           |                           |
| <i>Aspergillus clavatus</i>         |                           |
| <i>Aspergillus flavipes</i>         | Resins                    |
| <i>Aspergillus fumigatus</i>        | Diesel 、Fuel oil          |
| <i>Aspergillus niger</i>            | Diesel 、Fuel oil          |
| <i>Aspergillus sydowii</i>          | Asphaltenes               |
| <i>Aspergillus terreus</i>          | Resins                    |
| <i>Aspergillus versicolor</i>       |                           |
| <i>Amorphoteca resinae</i>          | Resins                    |
| <b><i>Cunninghamella</i></b>        |                           |
| <i>Cunninghamella echinulata</i>    |                           |
| <i>Emericella nidulans</i>          | Resins                    |
| <b><i>Eupenicillium</i></b>         |                           |
| <i>Eupenicillium javanicum</i>      | Resins                    |
| <i>Eupenicillium ochrosalmoneum</i> | Resins & Asphaltenes      |
| <b><i>Fusarium</i></b>              |                           |
| <i>Fusarium oxysporum</i>           | Resins                    |
| <i>Fusarium decemcellulare</i>      | Resins & Asphaltenes      |
| <i>Graphium putredinis</i>          | Resins                    |
| <i>Neosartorya fischeri</i>         |                           |
| <i>Paecilomyces variotii</i>        | Resins & Asphaltenes      |
| <b><i>Penicillium</i></b>           |                           |
| <i>Penicillium funiculosum</i>      |                           |
| <i>Penicillium oxalicum</i>         |                           |
| <i>Penicillium simplicissimum</i>   |                           |
| <i>Penicillium verruculosum</i>     | Resins                    |
| <i>Penicillium montanense</i>       | Asphaltenes               |
| <i>Penicillium pinophilum</i>       |                           |
| <i>Penicillium janthinellum</i>     |                           |

| Fungi                             | Target hydrocarbon   |
|-----------------------------------|----------------------|
| <i>Penicillium restrictum</i>     | Resins & Asphaltenes |
| <i>Phizopus sp.</i>               |                      |
| <i>Pseudallescheria boydii</i>    | dioxin               |
| <i>Talaromyces flavus</i>         |                      |
| <i>Trichoderma pseudokoningii</i> | Resins & Asphaltenes |

\* : 底線標號為本研究中有發現的真菌。

Table.3-4-3中可見酵母菌菌屬主要以*Candida*為主，而真菌菌屬則以*Aspergillus*及*Penicillium*為主，兩表中所看到皆是有能力降解Aliphatics及Aromatics的真菌，且各菌株降解之後所累積的Resins及Asphaltenes的量都不相同，其他降解能力則各自不一，如表所示。就其特殊降解目標物而言，可發現酵母菌主要是針對Asphaltenes，並沒有Resins的降解能力，相對的真菌類則以富有Resins降解能力者居多。*Eupenicillium ochrosalmoneum*、*Fusarium decemcellulare*、*Penicillium restrictum*、*Trichoderma pseudokoningii*、*Paecilomyces variotii*等菌株則兩者兼備；在Mancera-Lopez等人的研究中，選用*Penicillium funiculosum*、*Aspergillus sydowii* and *Phizopus sp.*等三菌株做生物優植的降解測試，發現對已經過長期自然衰減且Asphaltenes有35 ~ 53%的碳氫化合物污染土壤環境下，對於Aliphatics及Aromatics仍能有很好的降解能力，其中以*Penicillium funiculosum*及*Phizopus sp.*的表現較佳，35天後Aliphatics的去除各有84%及90%，Aromatics的去除率也有64%及70%，但需配合原生菌種(以三株純菌對滅過菌的土壤進行生物優植)，表示此三菌株在高濃度的Asphaltenes環境下能幫助降解。

其他如*Pseudallescheria boydii*在微量的環境下，有分解Dioxin的能力；*Fusarium oxysporum*對於降解Aromatics及Aliphatics有很好的活性，對於Resins也有很好的去除能力；*Aspergillus fumigatus*則被實際運用於油品精煉廠的diesel、fuel oil的污染處理。*Aspergillus versicolor*除了被證實具有分解碳氫化合物的能力之外，許多研究也指出其具有分泌聚木糖酶(xylanase)水解大分子的聚木糖類半纖維素的能力，此株真菌多在一般土壤環境或是廚餘堆肥中發現，而添加廚餘堆肥或是composting處理法的應用也對於原始的土壤菌相有很大的影響，菌相會由細菌為主轉變為真菌為主。

由上述，各菌相大致有其階段性的任務，以Aliphatics的降解性來說，細菌類菌相較為適合，反應較快且所需的環境條件較不嚴苛，因真菌性喜酸性環境，對於土壤環境的pH變化較敏感；Aromatics降解則須仰賴某些特定的菌群如*Pseudomonas*、*Mycobacterium*、*Rhodococcus*及真菌類；Resins的降解由真菌來完成*Aspergillus*及*Penicillium*；而Asphaltene則可藉真菌或酵母菌如*Candida*菌屬降解。

### 3-5 土壤質地

依美國農部法之定義：土壤質地是土壤粗細的程度或指土壤中大小粒子之分佈，亦即土壤中砂粒(Sand)、粉粒(Silt)、粘粒(Clay)含量之相對百分比。依據美國土壤學會的規定，砂粒之大小直徑為 0.05~2mm，粉粒之大小直徑為 0.002~0.05mm，黏粒之大小直徑為小於 0.002mm。因此，土壤質地乃土壤粒子小於 2mm 部分，依砂粒、粉粒及黏粒含量之相對百分比分佈(如 Fig. 5)總共分 12 種：黏土(clay)、黏壤土(clay loam)、壤土(loam)、砂質黏土(sandy clay)、砂質黏壤土(sandy clay loam)、砂質壤土(sandy loam)、壤質砂土(loamy sand)、砂土(sand)、粉質黏土(silty clay)、粉質黏壤土(silty clay loam)、粉質壤土(silty loam)、粉土(silt)。一般而言粒徑大之土壤排水通氣好，但吸水能力較差；粒徑小之土壤易造成排水差、通氣不好，但吸水能力較好。

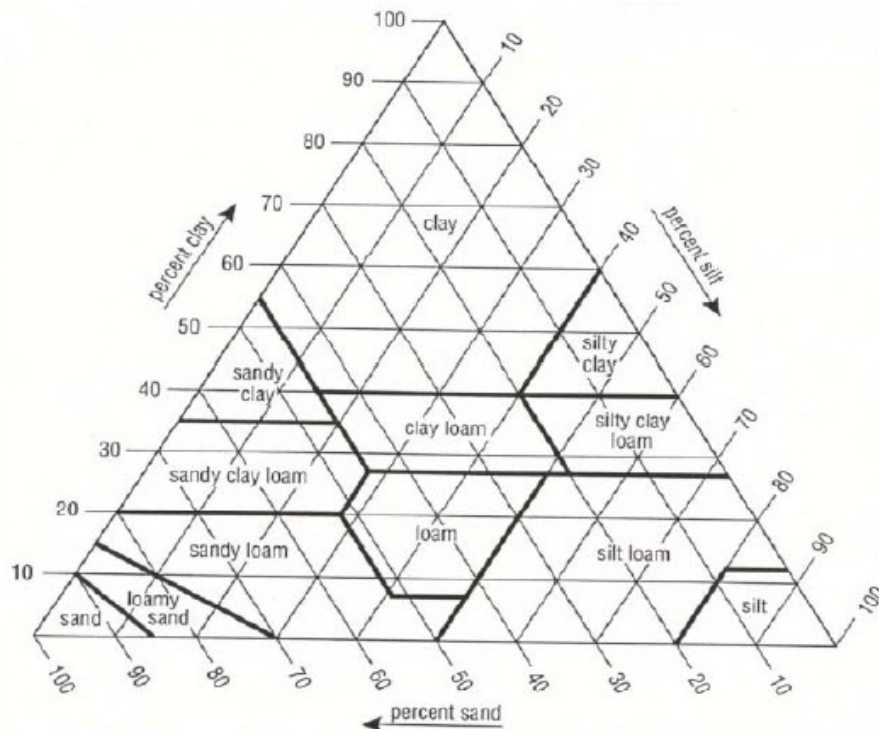


Fig.3-5-1 The equilateral soil textural triangle(USDA Soil Survey Manual, 1993.)

根據中油廠址中不同土壤質地可建立該廠之土壤資料庫，未來可針對不同污染土方進行快速檢測之依據。另以系統化分子生物技術檢測土壤受污染情形，能夠得知 TPH-d 與微生物多樣性分佈與種類，便於各種生物復育場址之生物菌劑來源，Table.3-4-4 為過去本團隊與中油高雄煉油廠，進行生物復育之污染場址土壤質地分佈。

### 3-6 土壤生物復育技術介紹

多樣的生物復育技術需視上述三者的變化做適當的調整及選擇，一般而言可將生物復育技術分為離場(*ex-situ*)及現地(*in-situ*)整治兩類，常見的離場生物復育技術有土耕法(Land farming)、生物堆法(biopiles)及堆肥法(composting)。

#### 土耕法(Land farming)

將土壤以20~50 cm的厚度鋪置於大面積的平面上，利用物理翻動增加土壤含氧及灑水提升土壤含水率等強化自然衰減的方式進行整治，此整治方法即稱為土耕法。適用的污染土壤必須是非揮發性的污染源，且在整治過程中需要大面積的平面置放翻動土壤，下方設置透水層及不透水的集水裝置，避免灑水時的滲出水造成二次污染(Fig.3-6-1)。優點是設置及操作方便，整治費用便宜約為\$30-60/ton (USEPA, 1994)，整治時程約為六個月到兩年不等；但對於污染物的濃度限制為5,000 mg/kg soil，不管污染濃度有多少，最高可有95%的去除率卻無法完全去除，需要大面積的土地鋪置翻堆。

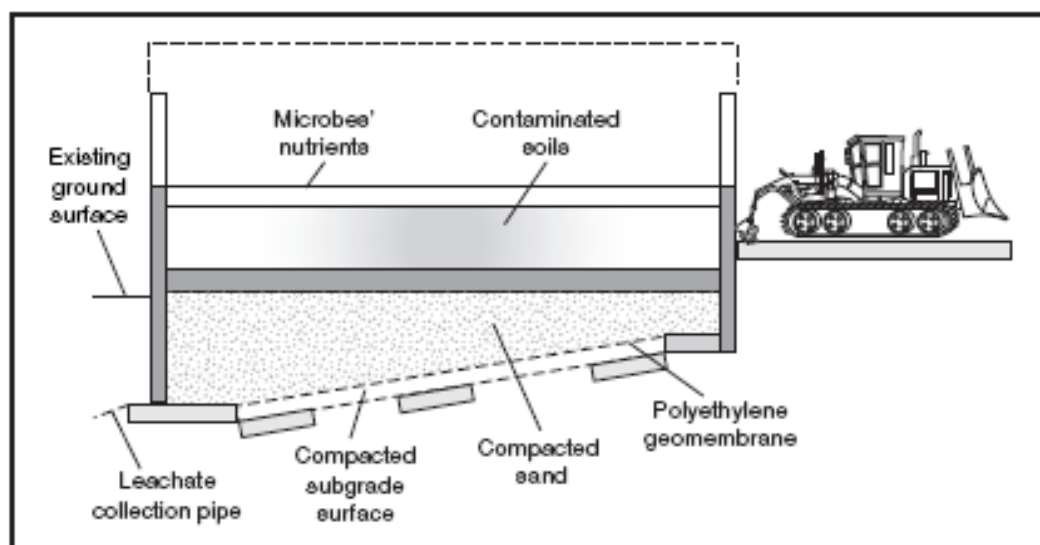


Fig.3-6-1 Land farming operation scheme. (Adapted from USEPA, 2004)

文獻指出，利用土耕法處理油品精煉廠的初流污泥，可以大幅提升微生物的活性，包括ATP、 $qCO_2$ (產率與Biomass)的比值及各種酵素的活性如b-glucosidase、urease and protease、dehydrogenase等都明顯優於未使用土耕法個控制組，在11個月的整治時程中達到80%以上的去除率。

### 生物堆法(Biopiles)

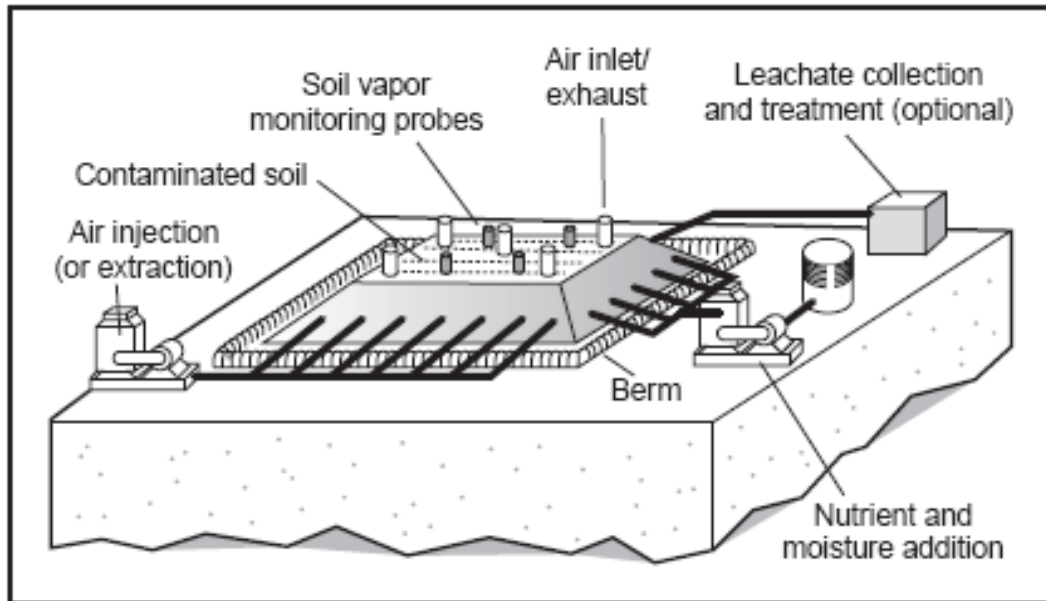


Fig. 3-6-2 Typical biopile operation scheme. (Adapted from USEPA, 2004)

相較於土耕法需大面積鋪置的問題，生物堆法則以立體空間的堆置取代，因此所需土地相對較小，且可設置為密閉式。會面臨供氧不足的問題，因此需以機械供氧，在土堆中安插設置通氣管，以加壓的方式將空氣、水分等送入土堆。因此設置費用較高，還需負擔設備維護及動力損失等成本消耗，而持續的加壓通氣則需監控散發出的氣體，避免有空氣二次污染的疑慮，處理費用約為\$30-90/ton。

而結合兩整治技術的優點，現行土壤整治常以生物土堆的方式進行，但礙於通氣管的設置操作維護等問題，供氧仍以土耕法翻堆的方式處理，且以翻堆的頻率來解決供氧不足的困境，如此則整治較為靈活，便於現址之離場整治，且配合生物優植(Bioaugmentation)或生物刺激(Biostimulation)等整治策略則更能依土壤污染狀況之不同對症下藥，縮短整治時程，提高復育成效。

### 堆肥法(Composting)

堆肥法與生物堆法的差異，主要在於溫度的不同(thermophilic conditions)，以添加生物易利用的碳源(organic amendments)刺激微生物的活性，並於混堆的同時配合膨鬆劑(bulking agent)的應用如木屑、稻桿、蔬菜纖維等以增加土壤孔隙，幫助通氣。而在微生物利用這些膨鬆劑及降解易利用的碳源的同時便會產熱，提供中溫條件，操作期間將溫度控制於 40° ~ 50°C 之間，且需特別注意溫度、氧氣與含水率等環境條件。而堆肥法的應用也被證實能幫助 Aromatics 的降解(USEPA, 1996)。尚有其他整治技術及相應的生物復育策略整理如下(Table.3-6-1)。

Table.3-6-1 Characteristics research of contaminated soil bioremediation technology (USEPA, 2004)

| 名稱                                                   | 原理                            | 適用範圍及注意事項                                                   | 類型    |
|------------------------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------------------------------------|-------|
| 土耕法<br>Land farming                                  | 藉由翻動增加氧氣提供、灑水增加含水率等方式強化自然衰減。  | 污染濃度低、毒性低及操作於深度 0~50cm 土壤，需有大面積土地供應。可配合環境因子控制及生物復育策略進行整治。   | 離地    |
| 生物堆法<br>Biopiles                                     | 以設置通氣管及水管的方式強化自然衰減。           | 相對於土耕法所需面積較小，但需考慮動力損失及設備的維修以及空氣二次污染的疑慮。也可配合復育策略進行整治。        | 離地    |
| 堆肥法<br>Composting                                    | 微生物利用易利用的碳源輔助降解目標有機物。         | 中溫好氧或厭氧。須注意 C/N 比例變化、需氧條件、含水率控制等。                           | 離地    |
| 生物反應槽<br>Bioreactors                                 | 液相處理，於槽體內利用微生物在高含水條件下的質傳優勢降解。 | 適用於較少量之污染體。主要是處理液體及高含水如泥漿化之固體物，需有曝氣及攪拌等硬體設備設置及維護，費用較為昂貴。    | 離地    |
| 植物復育<br>Phytoremediation<br>植生復育<br>Rhizoremediation | 利用植物吸收、固定、轉化或吸收後搭配根圈微生物分解污染物。 | 適用於植物根圈可及的淺層土壤，需要污染濃度低搭配不受污染物毒性影響的植物為主體進行處理。                | 現地或離地 |
| 自然衰減<br>Natural attenuation                          | 經自然的物理、化學、生物作用慢慢去除污染物。        | 適用於低毒性、低污染、低風險、低流動性、低急迫性之污染處理，只需監測即可。                       | 現地或離地 |
| 生物優植<br>Bioaugmentation                              | 植種具有降解污染物能力之微生物，縮短遲滯期及整治時程。   | 超量植種現地原有微生物或酌量植種現地缺乏之優勢菌種，分別針對菌量不足或菌相不豐之污染土壤。               | 現地或離地 |
| 生物刺激<br>Biostimulation                               | 改造土壤環境至適於微生物降解污染物的條件。         | 視土壤條件而定選擇適當之刺激策略如營養源強化、碳源強化、生物界面活性劑的刺激或膨鬆劑的添加、不同土壤的混合改變土質等。 | 現地或離地 |

生物復育的靈活就在於上述各整治技術及復育策略都可視污染情況搭配進行，而復育策略漸趨多樣性也成就了生物整治技術的效率提升。

Providenti 等人在 1993 年的報告指出，生物復育之進行至少需有  $10^3$  CFU/g dry soil 的碳氫化合物降解菌，而在土壤與地下水污染的氧傳限制條件下，菌量通常都會嚴重不足，或是在污染剛發生的土壤中，碳氫化合物利用菌相及菌量也都會有明顯不足的情況，而生物優植則在於利用預先培養的優勢菌種添加，去貢獻目標污染物的降解，因此可就優植菌相及菌量的需求做彈性的調整。

而即使初始菌量足夠，仍有其他限制因子需要被考慮，如污染物的分子結構、生物可利用性、在土壤中的傳輸能力或是微生物生長條件不足等，因此各式各樣的生物刺激策略因應而生，常見的有(1)營養鹽添加(Nutrient Enhancement)，添加微生物生長所需之氮源、磷等營養鹽提升微生物活性，刺激生長幫助降解；(2)易利用之碳源強化(Biodegradable carbon amendment)，同為生物生長所必備之元素，亦有助於提升微生物活性；(3)生物界面活性劑(Biosurfactant)的刺激，添加生物界面活性劑幫助非水相液體污染物的質傳，提升污染物與微生物接觸的機會及生物可降解性，促進石油碳氫化合物之降解。

生物復育的方法，能夠提升與加速自然降解的進行，使用微生物去降解或吸收土壤及地下水中的污染物，其通常有幾項特點：(1)處置的費用較少(2)利用微生物來進行作用，並不需用到化學的方式，可使其自然的進行(3)跟其他的復育方法相比，只需最少的設備或實驗室即可完成。根據美國環保署(USEPA)於 1998 年提出的準則提到，在生物復育的過程中，針對土壤中的有機污染物進行降解時，微生物通常是做為第一階段的菌劑，以進行生物降解，藉此來加速污染物的降解，使微生物的密度增加。藉由輔助微生物的生長與控制理想的環境狀態，以達到有機物質的生物降解機制，使污染物經過降解後，轉變為二氧化碳，以及其他的氣體、無機的基質、水、並產生微生物的生物質量(biomass)。

在污染土壤的生物降解期間，添加有機物將有助於多環芳香碳氫化合物(Poly-cyclic aromatic hydrocarbon, PAH)的降解反應。新鮮或部分降解的廚餘堆肥，能夠提供微生物足夠的熱源，以促使高溫菌的生物降解過程。然而，目前在堆肥添加混合的方式上，仍有一個重要的問題必須去克服，也就是說，如果生物復育失敗，將未受污染的物质混合到受污染的土壤時，將會產生更大量的污染物質。堆肥就是添加經過改良後的土壤，至受污染的土壤中，以進行生物復育的程序(1)根據 Isabella 學者等人於 2010 年發表，在進行生物復育時，微生物所需的營養來源以及適合的微生物，並能夠在土壤中活躍。(2)過去的研究中，Miller 學者早已於 1996 年提出，一般在堆肥中，有 66 種常見的微生物種類，*Acremonium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Malbranchea*, *Penicillium*, *Pseudallescheria* and *Thermomyces* 等屬，許多菌種都存在於常見的堆肥物質當中，由於這些微生物具有耐熱受性以及/或其，廣泛對有機廢棄物皆具降解的能力。



對於土壤與地下水整治而言，生物復育(Bioremediation)是種對大自然較無傷害的整治方式。過去本研究團隊也提到，在生物復育的後期，總石油碳氫化合物會分佈(partition)於土壤有機質中形成未解析之複雜物質(UCM)，因此有賴於生物助劑溶解釋出以利微生物之降解作用。即添加菌劑(細菌)及助劑(生物界面活性劑)的方式來降解土壤中的總石油碳氫化合物，一階反應降解曲線會有兩階段的降解情形發生，如 Fig. 3-6-3 所示。對於第一階段趨於平緩的情形，文獻中指出可能是由於細菌在降解直鏈碳氫化合物(Aliphatics)的過程中，會造成極性物質(Resins)的累積，使細菌無法再作為碳源用。

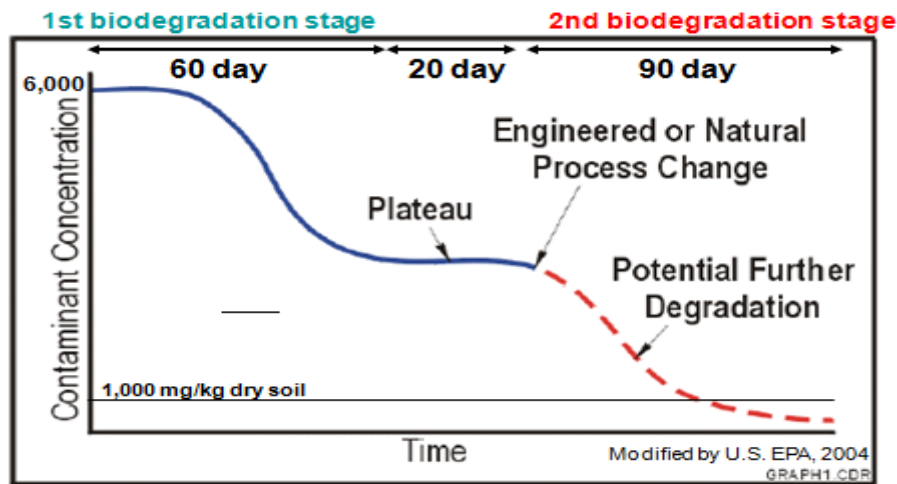


Fig. 3-6-3 Contaminated degradation plateau.

現行整治技術可廣義分成離場整治(*ex-situ*)及現地整治(*in-situ*)。由於離場整治便於監控及控制整體整治過程及效果，且也有助於防範於影響範圍內地下水的二度污染問題，污染源(土壤)的處理於 2005 年前仍以離場為主，受污染之地下水主要也以抽出處理的方式進行(*pump & treat*)。而餘下三成(32%)則是以現地整治技術處理，優點則是遇到不可移除之地面建築物時不必大規模開挖，也不必承擔離場整治場址的二次污染風險。但在最近幾年的統計中，由於技術的開發及地下污染物的監控技術漸趨成熟，現址整治技術應用的比例逐年上升。

土壤污染整治技術繁多，而生物復育(Bioremediation、Bio restoration)主要利用提升土壤內含水率及含氧強化自然衰減之進行(如：土耕法)配合其他生物優質及生物刺激之策略提升微生物活性，將受石油碳氫化合物污染土壤之污染物礦化成最中的二氧化碳。而生物復育之整治技術屬於非破壞性的處理方式，除了對環境衝擊較小，整治後富有生機之土壤更能再供應於其他用途，達到永續經營的精神。就土壤環境之特性及原生微生物與各污染物種的關係，生物復育之應用亦較為靈活，可視污染土壤之初始條件，塑造適合微生物生存與代謝之環境達到土壤復育再貯存的目標，因此生物復育技術的發展較傳統物理化學處理方式來的多元化。

雖然生物復育成本較低，然而往往需要較長的整治時間，同時整治過程中無法提供有效之微生物活性資訊，增加失敗風險。並且由於缺乏確實的本土菌種之應用實例，業者必須仰賴國外生物菌劑，增加整體整治成本。鄭幸雄教授研究團隊(國立成功大學 永續環境科技研究中心)所研發之系統化環境分子生物復育技術(Systematic Environmental Molecular Bioremediation Technology, SEMBT)，係整合開發出”本土性分解菌劑與助劑量產技術”、”土壤污染生物檢測技術”與”土壤及地下水生物復育技術”，可配合油品污染場址整治之需求，有效評估整治方法，擬定最佳生物整治策略，降低監測、整治成本與時程；進行流程如 Fig. 3-6-4 所示，面對一油品污染場址時，首先利用分子生物技術與儀器分析技術，進行微生物多樣性與污染物屬性分析，爾後研擬整治策略(生物添加(Bioaugmentation)與生物刺激(Biostimulation))，整治過程中持續監測關鍵微生物數量與種類，同時監測污染物質分解走向，適時調整整治方法，以加速並確保生物復育之成效。

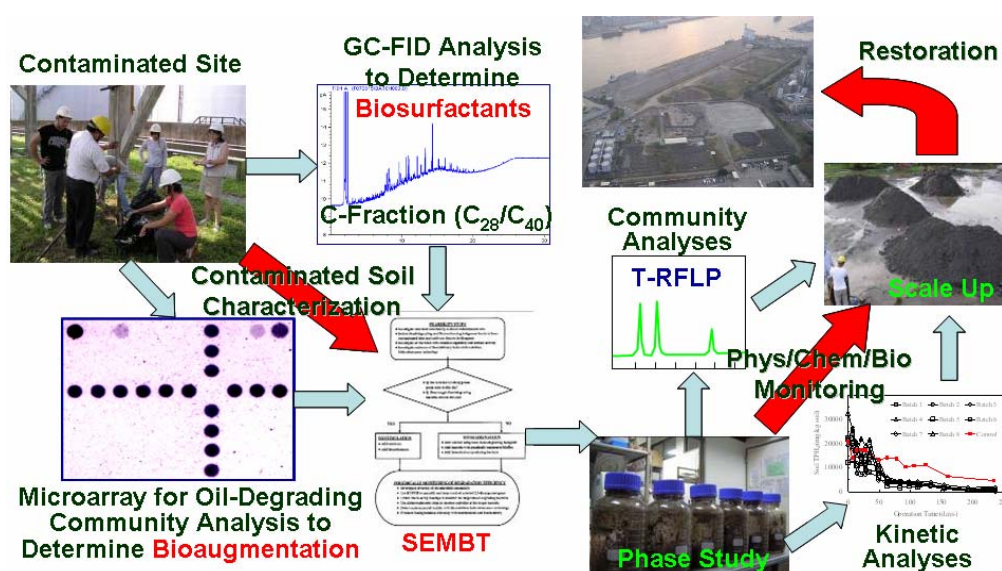


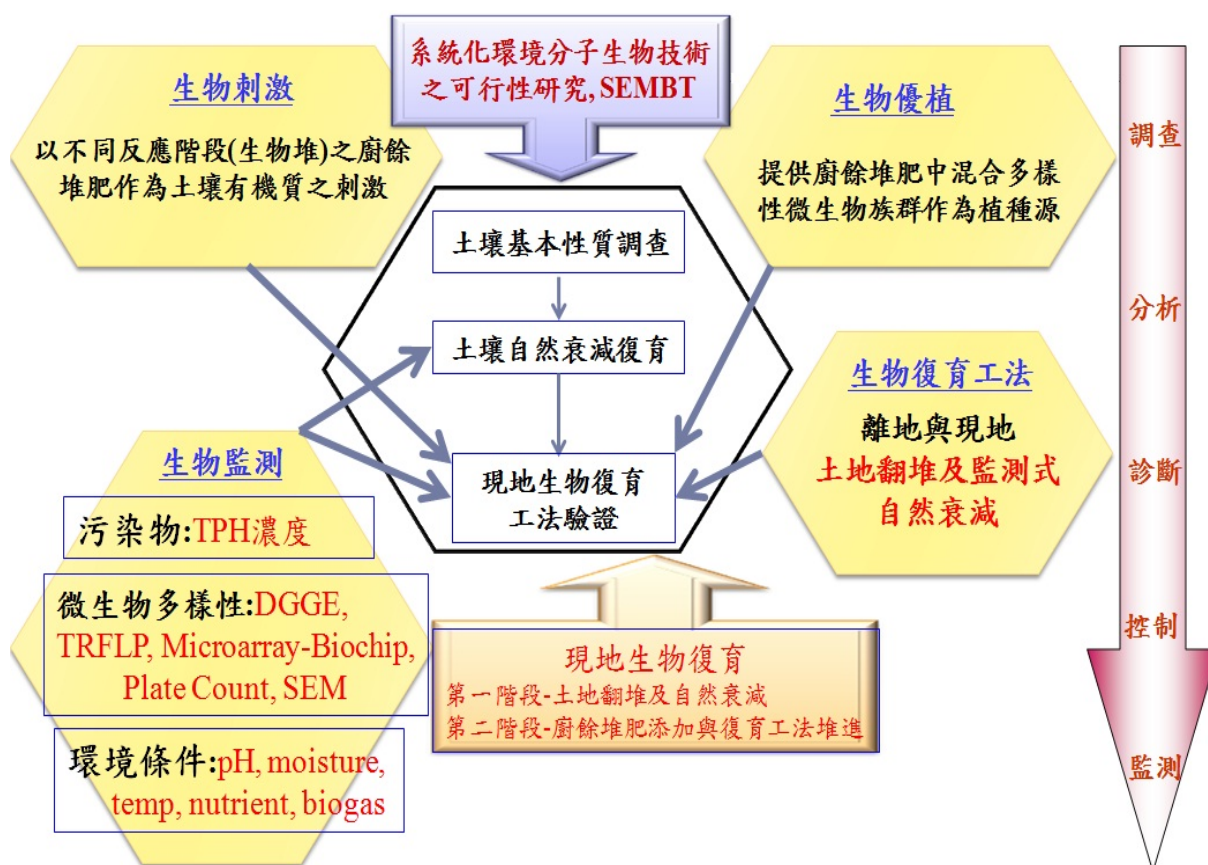
Fig. 3-6-4 SEMBT 應用於整治受油品污染土壤之流程圖

提到國內相關研究領域現況，楊秋忠教授研究團隊(國立中興大學)，也於重質燃料油污染場址分離篩選出多功能油污分解菌，並利用生物優植法探討菌種對油品污染物之分解能力。期以純系培養多種具降解能力之菌種，降低油水表面張力，並將黏稠重質燃料油乳化為小顆粒或棉絮狀以利分解。以生物復育策略降低有機污染物對環境之負面影響。林啟文教授研究團隊(國立雲林科技大學)針對油品中常見的污染物 BTEX(benze, toluene, ethylbenzene, and xylenes)，利用生物復育方法結合細胞固定化技術(cell-immobilized technology)於生物處理單元，以固定化顆粒保護

菌體、菌體易回收或重覆利用等優點，提升對 BTEX 污染物的處理效率。劉保文副教授研究團隊(中華醫事科技大學)針對土壤中微生物與有機碳成分對柴油降解之影響，以實驗室規模類似生物翻堆的方法來進行總石油碳氫化合物的生物復育研究，得知在不同土壤的有機質下，可能導致生物可及性受影響，亦會使細菌社群的多樣性和豐富性產生變化。蔡易縉教授研究團隊(台灣首府大學)應用界面活性劑微泡水整治地下水中 LNAPL 污染物，期以管柱實驗將空氣混入界面活性劑溶液中，讓其產生泡沫及氣體，藉此增加氣-液兩相之接觸面積，移除有機污染物。張怡塘副教授研究團隊(東吳大學)應用分子生物技術探討整合型復育技術-Fenton 法/生物分解處理高濃度高環數多環芳香族化合物(Pyrene)污染土壤之微生物族群結構，利用整合型土壤復育技術，於短時間內迅速處理高濃度 PAH 污染之土壤。陳谷汎助理教授研究團隊(國立暨南國際大學)針對受汽油污染場址中 MTBE 及 BTEX 生物降解潛能進行評估，利用加強式好氧生物復育法計進行場址整治，以氧氣或空氣直接灌注，或以釋氧物質提高地下水中溶氧，提高污染物之移除效率。

## 第四章 執行方法

## 4-1 計畫流程



## 4-2 土壤基本性質分析

## (一). 土壤性質分析

本研究擬使用長期受污染土壤乃取自高雄楠梓某石化廠，土壤性質經委託中興大學農業暨自然資源學院土壤調查試驗中心檢驗，根據 2010 至 2011 之間兩年所取得的土壤樣本共有七個不同位置，分布於中油高雄廠區。本研究之土壤基本性質分析項目包含：土壤粒徑分析(土壤質地)、土壤有機質、土壤中總氮/磷/鉀含量及碳氮磷比、陽離子交換容量。

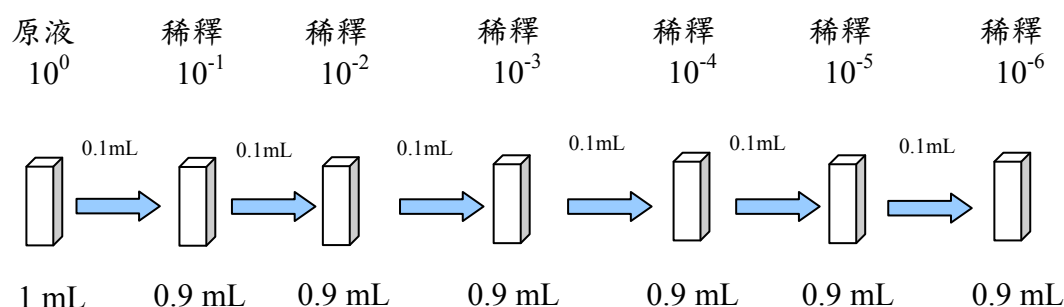
## (二). 土壤中總菌落數測定

本研究測定油污土樣中微生物菌落數，使以傳統之平皿培養定量法(CFU)，來估算總異營性細菌與真菌數目。培養分解柴油之微生物菌落數(Diesel aerobic bacteria)之培養基組成：MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O (0.5 g/L)、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (5 g/L)、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (5 g/L)、

$\text{NH}_4\text{NO}_3$  (1.3 g/L)、 $\text{CaCl}_2$  (0.2 g/L)、Agarpowder(13 g/L)及 Diesel oil (2% v/v)，用以計數碳氫化合物利用菌之菌量；培養總異營菌菌落數(total heterotrophic bacteria)之培養基組成：Nutrient Broth(NB)(8 g/L)及 Agarpowder(13 g/L)，則代表總異營菌量。

實驗步驟為修訂 NIEA E203.54B 之方法，培養基需先行配製，經過滅菌之後以倒碟法製作培養基，並放置 48 hours 確定配製過程中未遭污染方可使用，塗碟過程如下所示：

1. 秤取 10 g 土壤 (濕重)。另取土壤測量含水率，可換算得土壤乾重。
2. 將上述土壤置入已滅菌之 40ml 褐色瓶。
3. 在瓶中加入一滴 Tween 80 及 20 mL 之已滅菌磷酸緩衝溶液( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  及  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  各 1 g 溶於 1 L 二段水)。
4. 以 vortex 強力震盪 3 min。
5. 取震盪後液體 1 mL 至 1.5 mL tube 進行序列稀釋。



6. 塗碟
  - a. 以滅過菌 pipette 吸取 0.1 mL 上澄液滴於培養皿上
  - b. 以滅菌之三角玻璃棒塗抹，將 plate 塗抹至乾為止
  - c. 密封倒置培養皿並置於  $30^\circ\text{C}$  培養 72 小時 (HAB 需 120 小時)。
7. 72 小時後取出計數，計算菌落數介於 30~300，經過換算後可得此土壤樣品菌落數 (CFU/g dry soil)。

本研究於實驗中使用之相關培養基如下：

Table 4-2-1. BH (Bushnell Hass) medium

| Components                                | Concentration (g/L) |
|-------------------------------------------|---------------------|
| $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 0.2                 |
| $\text{K}_2\text{HPO}_4$                  | 1.0                 |



| Components                      | Concentration (g/L) |
|---------------------------------|---------------------|
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> | 1.0                 |
| FeCl <sub>3</sub>               | 0.05                |
| NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> | 1.0                 |
| CaCl <sub>2</sub>               | 0.005               |

註：Adjust pH to 7.0~7.2 with HCl

Table 4-2-2. The composition of BH medium for microbial count.

| Difco™ NB(Nutrient Broth) Medium             |                     | The composition of Synthetic medium<br>( Marshall et al., 1993) |                     |
|----------------------------------------------|---------------------|-----------------------------------------------------------------|---------------------|
| Component                                    | Concentration (g/L) | Component                                                       | Concentration (g/L) |
| Beff Extract                                 | 3                   | (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> NO <sub>3</sub>                 | 1.3                 |
|                                              |                     | KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                                 | 5                   |
|                                              |                     | K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>                                 | 5                   |
| Peptone                                      | 5                   | MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O                           | 0.5                 |
|                                              |                     | CaCl <sub>2</sub>                                               | 0.2                 |
|                                              |                     | Diesel                                                          | 2                   |
| For (Total hetertrophic bacterium)THB counts |                     | For (Hydrocarbon adapted bacterium)<br>HDB counts               |                     |

#### 4-3 現地模場之設置

如 Fig.4-3-1 所示，先篩選約 40m<sup>3</sup> 之砂質壤土(此土壤先前為油品污染土壤)，簡稱為 KH-20，先進行人工破碎後，再利用現場之過篩機(過篩孔徑約為 3 cm)，如 Fig.4-3-2 所示，完成篩選的程序，過篩後測得的總碳氫化合物濃度為 2,000 mg-TPH/kg-soil，土堆先以人工方式添加水份並充分攪拌，土壤預設溼度為 20%。再將土堆區分為五堆(由 BAS0 漸次推進至 BAS4)各 5m<sup>3</sup>。

為防止土壤因氣候炎熱過度乾燥，土堆以帆布加以覆蓋，然而此舉亦減少土堆與週遭空氣氧氣交換效果；土堆中氧氣量不足，將使生物活性降低。因此實驗初期每週以人工方式，進行 2 次土壤水分添加與翻堆動作，補充土壤蒸散之水分與含氧量，預計 30 天後再將頻率降為每週一次。

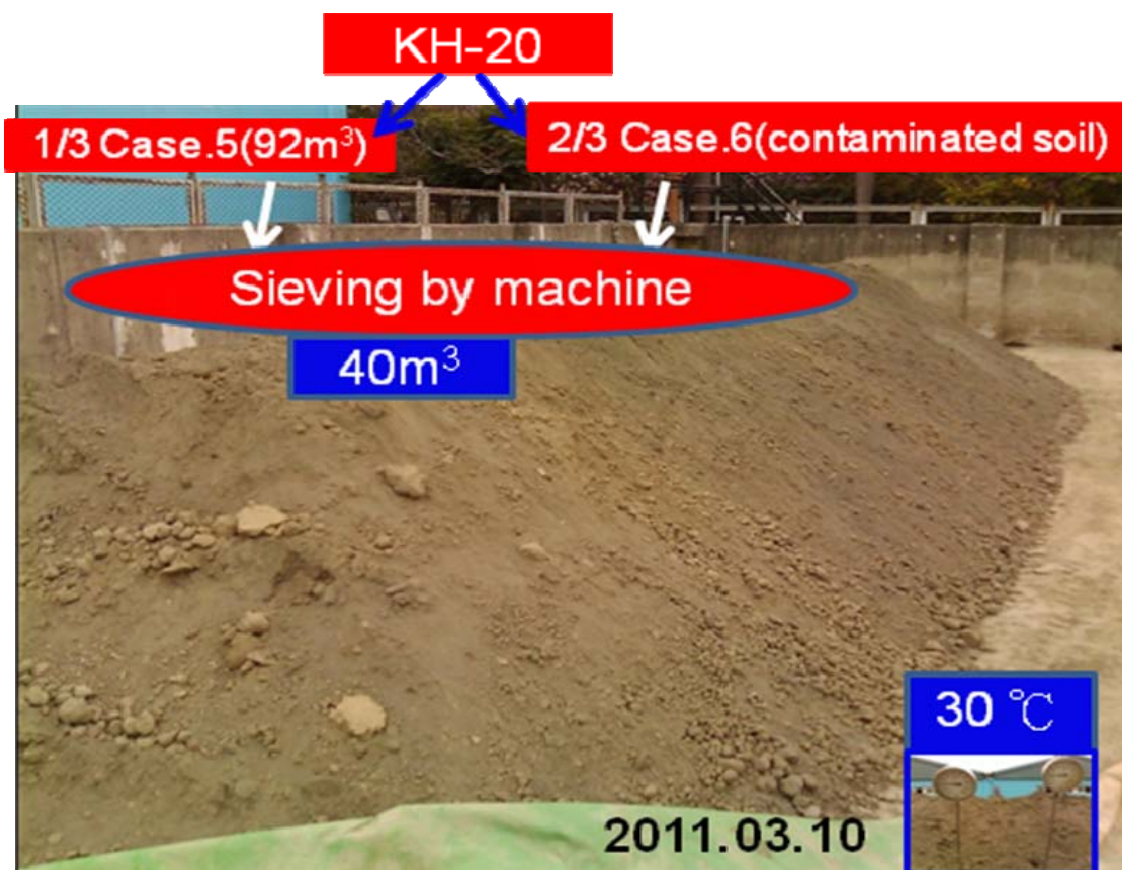


Fig. 4-3-1 現地模場之設置



Fig. 4-3-2 現地復育場址之土壤過篩機

#### 4-4 生物製劑

本次實驗添加之生物製劑，係採自果菜廢棄物發酵後之堆肥成品；根據先前研究，堆肥中含有大量油品污染降解微生物，同時堆肥中之養分，亦可提供土壤中相關微生物之活性，加速生物分解效率。

本研究所使用之生物製劑，來自一生物堆肥處理程序(Plug Flow Reactor)，經過六個不同時間與溫度之腐熟作用，因此大型反應槽中，每個反應程序中所產生之總異營菌(NB 營養源)、總異營柴油分解菌(Diesel 營養源)、真菌(PDB 營養源)多樣性皆為不同，由於大量廚餘基質的提供，使得反應槽不同階段微生物皆為豐富，並且富含具有分解碳氫化合物之微生物與生物介面活性劑。

故本研究利用六個不同階段式反應槽(KW1~KW6)，取出固定量之生物製劑，並以 150L 體積之廚餘桶裝備(如 Fig.4-4-1)，期以每週進料現場整治土方，共計 4 週完成土方啟動之程序，達到共計 600L 之生物製劑添加(約佔土方 5~10% w/w, dry mass 之生物製劑)。



Fig.4-4-1 生物製劑來源與置備

Table 4-4-1 各反應階段知微生物菌落數(CFU)表現與適應溫度(7~8 月份)

|                          | KW1  | KW2  | KW3  | KW4  | KW5  | KW6  |
|--------------------------|------|------|------|------|------|------|
| HAB (Log <sub>10</sub> ) | 7.74 | 7.32 | 7.44 | 7.96 | 7.80 | 7.94 |
| THF (Log <sub>10</sub> ) | 7.44 | 6.76 | 6.88 | 6.74 | 6.72 | 6.66 |
| DAB (Log <sub>10</sub> ) | 6.96 | 6.82 | 7.24 | 7.32 | 7.62 | 7.38 |
| 溫度 (°C)                  | 42   | 50   | 57   | 61   | 59   | 50   |



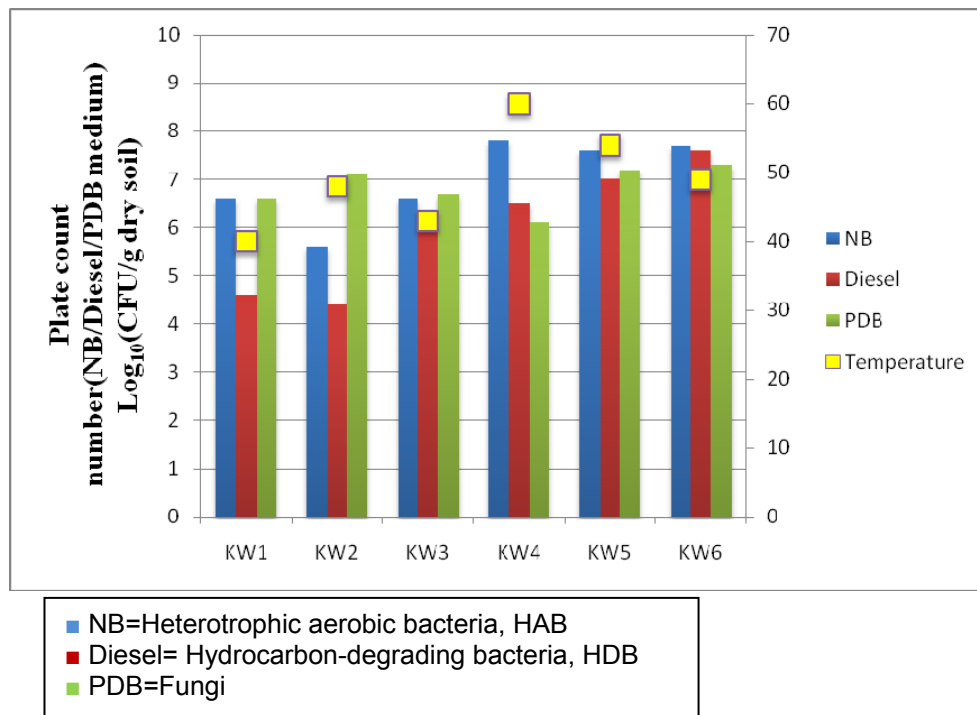


Fig. 4-4-2 生物製劑來源之特性分析  
(2011/7/4)

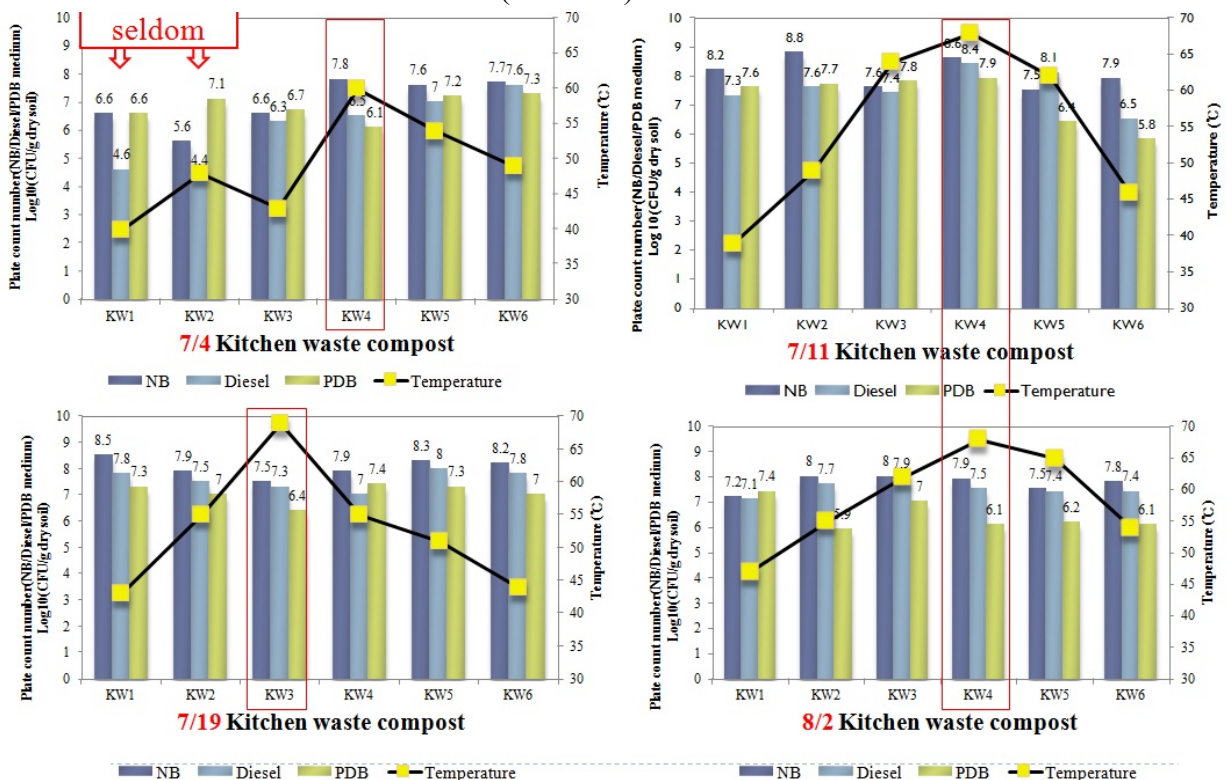


Fig. 4-4-3 7~8 月份生物製劑之變化(2011/7/4 ~ 8/2)

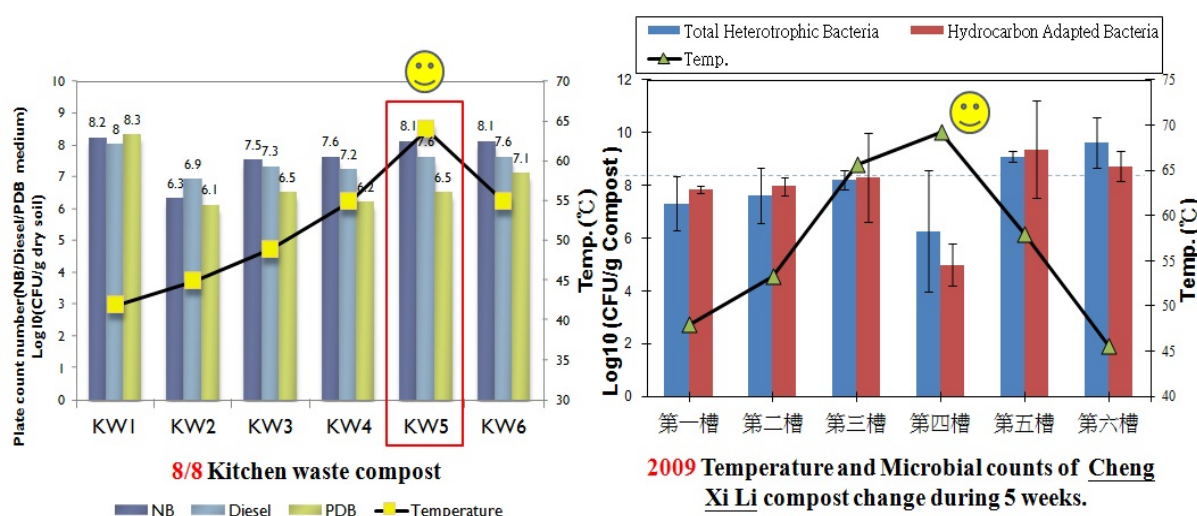


Fig. 4-4-4 生物製劑之變化(2011/8/8 與 2009 年)

#### 4-5 第二階段-現地復育工法設計

場區規劃為求節省離場土地使用面積，本計畫改良土堆工法將土堆堆高達 1m，利用柱栓流反應(Plug flow reaction, PFR)理論方法與迴流污泥(recirculated seeding)概念如 Fig. 4-5-1，本計畫因土方較小故將污染土壤依序分為 5 土堆延續推進工法，其中各有 1 堆為串連控制組(control)，其餘 4 堆為推進組(BAS1、BAS2、BAS3、BAS4)，每堆設計尺寸為 3m\*1.2m\*1.5m (LxWxH)。整治目標土方為 20m<sup>3</sup>，在土方第 0 天時，預計完成各 5m<sup>3</sup> 土堆兩個，分別為控制組 BAS0 與添加 150L 之新鮮生物堆肥組 BAS1；第 7 天時，BAS1 經過 7 日生物優殖與刺激後，將會產生適應土堆中碳氫化合物污染之油分解菌，將 BAS1 移出約 1m<sup>3</sup> 之土方至 BAS2，同時置入 1 m<sup>3</sup> 新污染土方(BAS1)，並於 BAS2 加入 4m<sup>3</sup> 新污染土方混合約 5 m<sup>3</sup> 土堆，此時現場將產生 5m<sup>3</sup> 土堆三個；爾後以此類堆，根據相同推進工法，每 7 天作為一間隔進行土方推進，最後將完成 20m<sup>3</sup> 土方整治生物堆。現場實際為將來擴大整治面積與土方考量，以及工程規範之建立，可做為離場生物復育之整治基準與技術平台。每星期進場啟動一土堆，每次都是首先製備 150L 生物堆肥，並每日撒水，以保持土壤含水率為 15~20%。採樣時機為每次土堆添加生物堆肥之前，依土堆編號每次先由 BAS1 開始，再依序串連進行土堆 BAS1、BAS2、BAS3 及 BAS4 各堆之採樣，採樣後再進行撒水翻堆動作，以維持氧氣濃度在 10~18%，使適合於好氧微生物生長之環境因子。驗證規模中控制組(BAS0)不施生物堆肥於土堆中，並無翻堆與撒水。而串連推進組(BAS1、BAS2、BAS3 及 BAS4)則各土堆之生物界面活性劑(Rhamnolipid)與生物菌劑 Consortia BA-3，包含四株油分解菌株(CC-BC11、CC-JG39、CC-FH2 及 CC-LSH4)，可以促進生物降解效果。

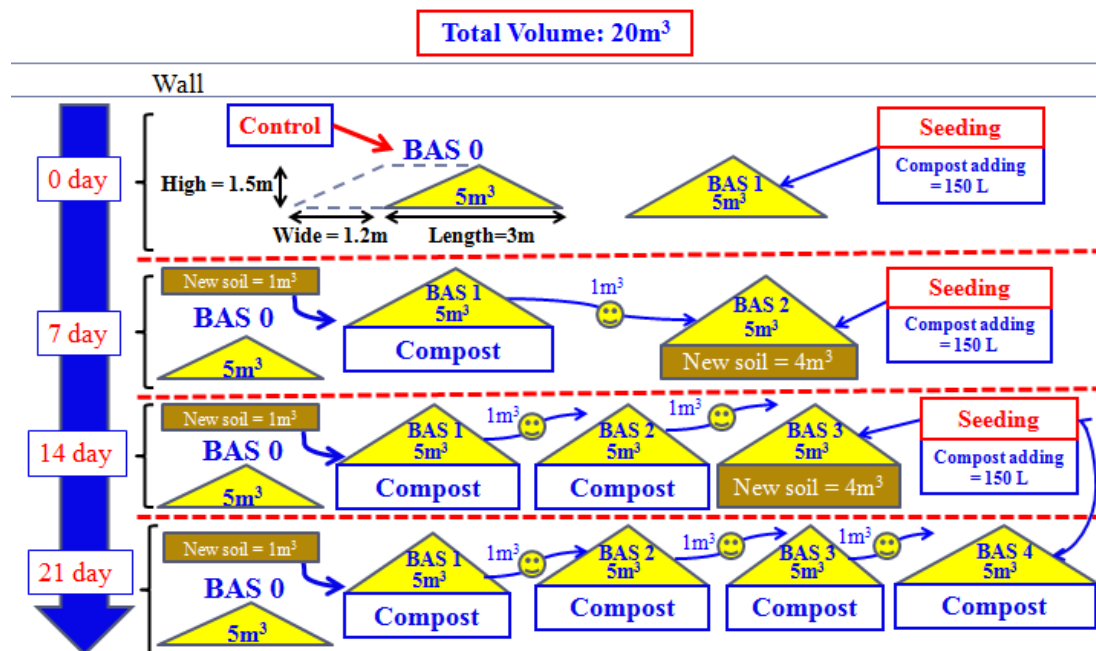


Fig. 4-5-1 現地復育工法-反堆式柱塞流生物反應堆

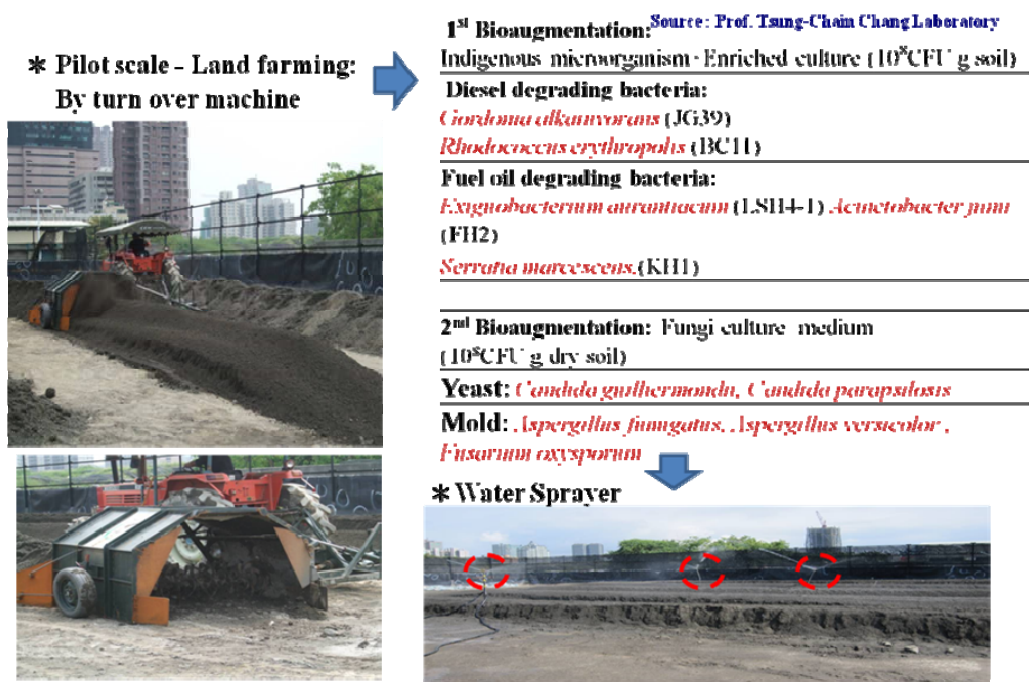


Fig. 4-5-2 現地生物復育整治流程簡介

#### 4-6 油污(TPH)土樣分析方法與步驟

##### (1)TPH 石油碳氫化合物 GC-FID 儀器分析法

採用環保署公告之檢測方法 NIEA W802.50B，以二氯甲烷為萃取溶劑、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  配合超音波萃取機(VCX-750)之超音波萃取法(NIEA M167.00C)萃取總石油碳氫化合物。以氣相層析儀進行分析，並以火焰離子偵測器來偵測解析結果(GC-FID)(NIEA S703.60B)，分析儀器的型號：Varian CP-3800 GC-FID。使用之毛細管為：DB-1(HT) (型號 No.123-1131, Agilent, USA)，規格：30 m, ID: 0.32 mm, film: 0.1  $\mu\text{m}$ 。

##### TPH analysis ( $\text{TPH}_{\text{C}_{10}\sim\text{C}_{28}}$ & $\text{TPH}_{\text{C}_{10}\sim\text{C}_{40}}$ )

Table.4-6-1.  $\text{TPH}_{\text{C}_{10}\sim\text{C}_{28}}$  &  $\text{TPH}_{\text{C}_{10}\sim\text{C}_{40}}$  analysis condition of GC-FID

|          | Temperature program                               | $\text{TPH}_{\text{C}_{10}\sim\text{C}_{40}}$ (H) | $\text{TPH}_{\text{C}_{10}\sim\text{C}_{28}}$ (D) |
|----------|---------------------------------------------------|---------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| Injector | Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )                | 350                                               | 280                                               |
| Oven     | Initial temp. ( $^{\circ}\text{C}$ )              | 50 (hold 5 min)                                   | 40 (hold 1 min)                                   |
|          | Temperature rate( $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ) | 10                                                | 10                                                |
|          | Final temp. ( $^{\circ}\text{C}$ )                | 350 (hold 10 min)                                 | 280 (hold 10 min)                                 |
| Detector | Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )                | 350                                               | 280                                               |
|          | Total analysis time (min)                         | 50                                                | 35                                                |

\*註：分別以 D 條件及 H 條件製作不同濃度超級柴油及低硫燃料油減量線。

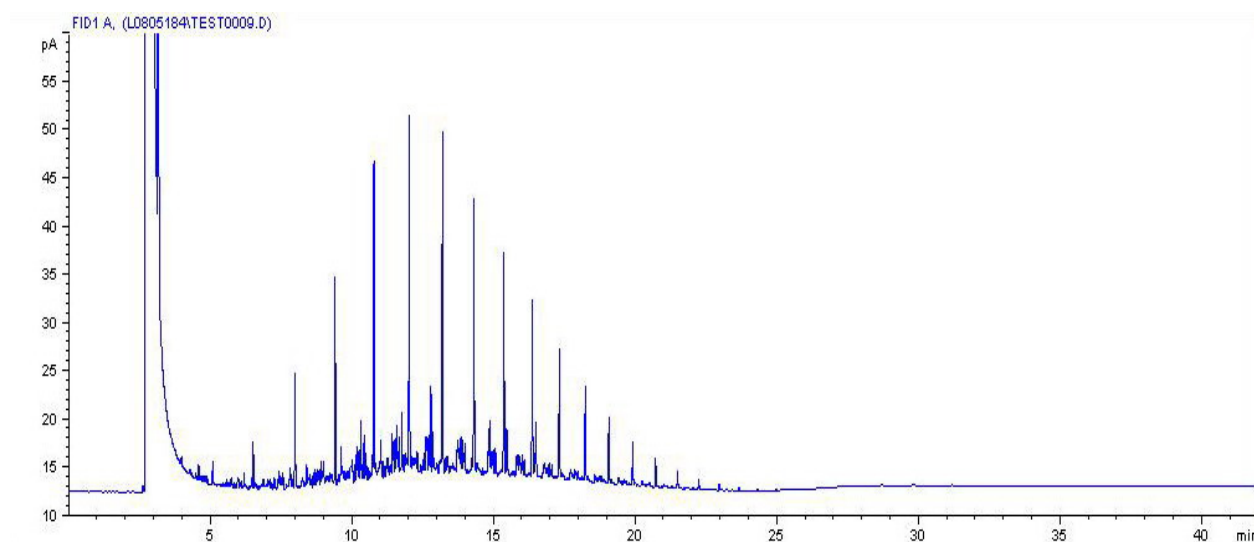


Fig. 4-6-1. Illustration of 1000 ppm Diesel for D program analysis by GC-FID

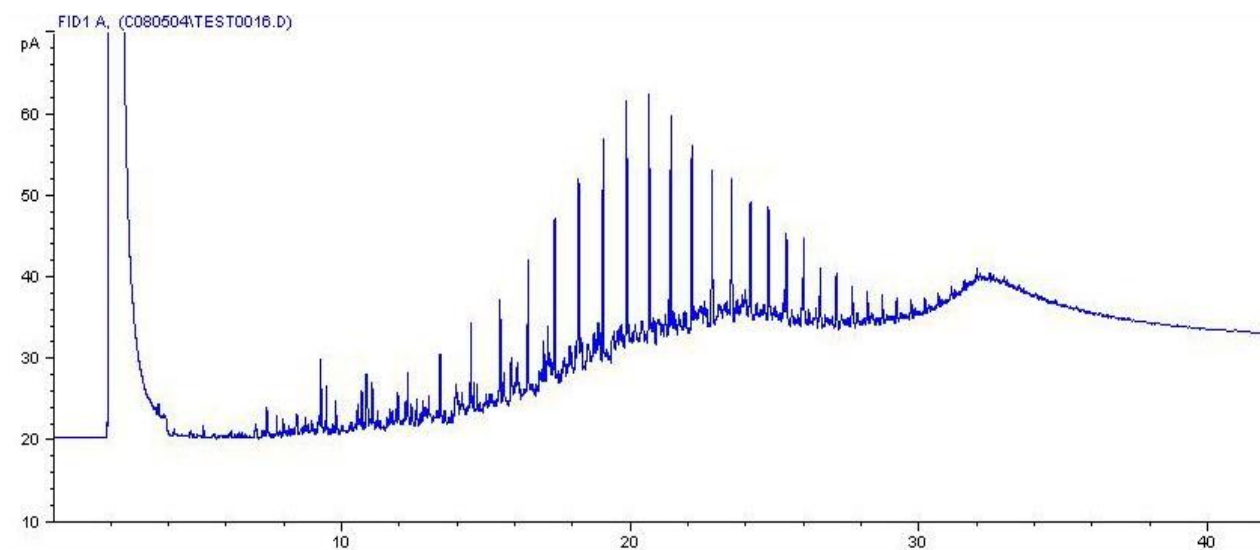


Fig.4-6-2. Illustration of 2000 ppm fuel oil for H program analysis by GC-FID

#### 4-7 生物土堆多樣性微生物分生檢測法

##### (1) 土樣 DNA 萃取法

本研究中總 DNA 萃取使用專用於土壤樣本的 Miller-modify method 方法源自成大生科系曾怡禎 教授研究室，操作步驟如下所示：

(1) 用 1X-PBS (1mL)清洗樣品三次。(前置工作：水浴槽加熱至 70°C)

-秤 0.5 g 之土壤

-離心 13000rpm，3 ~ 5 min (以 4 min)

-以 Pipette 抽取離心過後之上層液。(勿抽到土壤)

-若為土樣 sample 則以 2 mL 之 tube 裝。

(2) 加入 extraction buffer 後 mix well。

-extraction buffer 含(1)phosphate buffer 300  $\mu$ L

(2)Lysis buffer 300  $\mu$ L

(3) 將 Eppendof 置入 70°C 之水浴槽，加熱 5 min。

<註>若一般 1.5 mL 之 tube 為避免爆開，需以 parafilm 封口

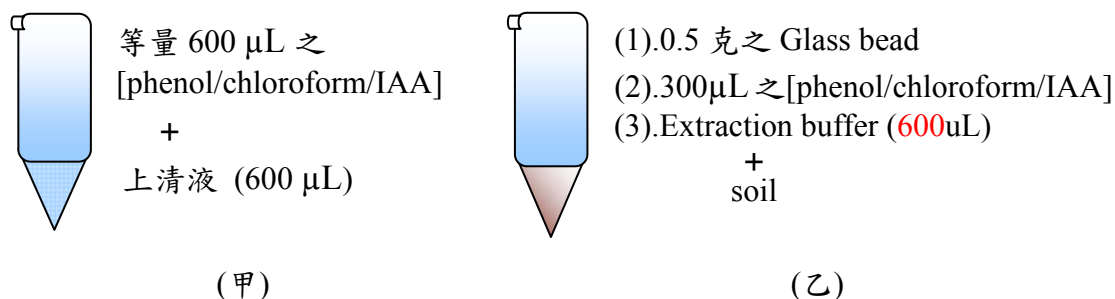
(4) 離心 13000 rpm，5 min。

(5) 分成兩管

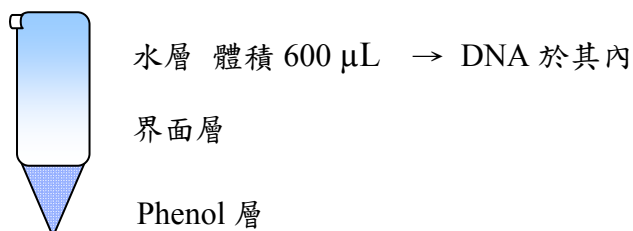
甲：上清液，取上清液加入等量之[phenol /chloroform /IAA]，mix well。



乙:soil, 沉澱之土壤 + Extraction buffer(600  $\mu$ L), 將其置於含有 0.5 克之 Glass bead 管子中, 使用 bead 機 1 ~ 3 min(轉速 25 時間 18)。再加入 [phenol/chloroform/IAA] 300  $\mu$ L。



(6)將(5)中之 sample 離心(13000 rpm, 5 min)。



(7) 將離心過後甲、乙兩管之上層液(水層)各約 500  $\mu$ L, mix 成一管置於 New tube。

(8) 加入與(7)之液體等量 [phenol /chloroform /IAA] 1000  $\mu$ L, mix well。

(9) 離心 13000 rpm, 5 min。

(10) 取上層液, 加入等量之 chloroform 900  $\mu$ L 後, mix well。

(11) 離心 13000 rpm, 5 min。

\* 準備 1.5 mL - tube

(12) 取上層液, 加入 2 倍體積(11 約 1mL)之 100 %酒精, 常溫靜置 30 ~ 60 min。 < 註>酒精於 4 $^{\circ}$ C 保存

(13) 4 $^{\circ}$ C 離心 13000 rpm、10 min, 丟掉上層液。

-以 pipette 吸取

(14) 加 70%酒精 600  $\mu$ L 將 pellet 懸浮。

(15) 4 $^{\circ}$ C 離心 13000 rpm、5 min, 丟掉上層液。

<註>先用 1 mL pipette 抽，再換 100  $\mu$ L pipette 抽

(16) 抽真空風乾。 <註>若無此機器，於通風櫥風乾約 2 hours

(17) 加入 50  $\mu$ L 之 TE buffer 溶 DNA。

<註>室溫下置放 overnight 或將 TE buffer 以 65°C 水浴加熱 10 min 後使用

## (2) 菌群 DNA-PCR 放大法

由於原樣本中 DNA 的濃度相當低，為進行指紋譜建立，將進行 PCR 把由土壤所萃取出之 DNA 進行所需要片段 (16S) 之 DNA 擴增放大。本研究中因接下來欲進行 T-RFLP 之分析，所使用的引子為帶有螢光的 EUB 338\*、1392R\*，PCR 熱循環儀升溫條件如(Table 4-7-1)所示。

Table 4-7-1. Condition of various primers used in PCR

| EUB338* & 1392R* for TRFLP analysis                    |         |       |
|--------------------------------------------------------|---------|-------|
| Condition                                              |         | Cycle |
| 94°C                                                   | 5 min   | 1     |
| 94°C                                                   | 60 sec  | 30    |
| 55°C                                                   | 60 sec  |       |
| 72°C                                                   | 90 min  |       |
| 72°C                                                   | 3 min   | 1     |
| 2F & 10R or 1512F & 6R for Microarray biochip analysis |         |       |
| Condition                                              |         | Cycle |
| 94°C                                                   | 2 min   | 1     |
| 94°C                                                   | 1 min   | 35    |
| 45°C                                                   | 1 min   |       |
| 72°C                                                   | 1.5 min |       |
| 72°C                                                   | 7 min   | 1     |



儀器設備：

離心機：Z 200 M/H，Hermle；J2-21 M/E，Beckman

瓊脂凝膠電泳槽：Mupid-2，Cosmo

紫外光燈箱：Macro Vue UV-25，Hoefer

### (3)多樣性分生微矩陣鑑定法

本技術由成功大學醫技系張長泉教授實驗室所研發及指導應用，包含有三個部份，PCR 反應、寡核甘酸微矩陣(DNA 晶片)之製作、寡核甘酸微矩陣之雜交反應。

16S-23S 核糖體核酸基因間隔區 (ITS) 之擴增及定序

在50  $\mu$ L的PCR反應物中含有模板DNA、PCR緩衝液(10 $\times$ )、dNTP、無菌水等及引子，若為葡萄糖非發酵菌則使用引子2F及10R，若為不動桿菌屬之菌種則使用引子1512F及6R。循環加熱器之反應條件如表19所示。PCR產物以2 % agarose進行電泳，並以100 bp ladder當作標準，以50V電壓進行電泳約90 min，以ethidium bromide在搖動情況下染色20分鐘，利用UV光影像處理系統 (IS-2000 Digital Imaging System, Alpha Innotech Corporation, San Leandro, Ca.) 記錄結果。

#### 1. 寡核甘酸微矩陣(DNA 晶片)之製作

於本研究中所使用的寡核甘酸探針，全部位於細菌16S-23S核糖體核酸基因間隔區，經由美國生物資訊網頁 (GeneBank) 資料庫搜尋後再決定，DNA晶片之製作利用微矩陣點製機(Wittech, Taipei)，其上之實心針頭直徑為400  $\mu$ m，點與點間中心之距離為1,000  $\mu$ m，使用的材質為帶有正電荷之尼龍膜 (Roche)。在寡核甘酸探針中有4 個位置只含有色素(不含探針)，當做負對照組，而位置標記 (position marker, M)，其為5'端標記一個毛地黃素分子的6 R引子 (最終濃度為2  $\mu$ M)。尼龍膜點上探針後可以在短波長之UV箱(UV Stratalinker 1800, Stratagen) 中照射30秒，用以固定探針在尼龍膜上，未固定之寡核甘酸探針以0.5 $\times$  SSC (1 $\times$  SSC 為0.15 M NaCl, 0.015 M sodium citrate)-0.1% SDS清洗，乾燥後室溫儲存備用。

#### 2. 寡核甘酸微矩陣之雜交反應

(1) Prehybridization: 將點好的 DNA chip 用 UV 照射 30 秒，以 5-10 毫升的 0.5 $\times$  SSC (1 $\times$  SSC 為 0.15 M NaCl, 0.015M sodium citrate, pH 7.0) + 0.1% SDS buffer 洗兩次，每次搖晃 2 min，將 chip 放在培養皿上，加 5-10 ml hybridization solution (取 25 ml 20 $\times$  SSC，加 1 ml 10% N-lauroylsarcosine，加 0.2 ml 10% SDS，加 10 ml

- 10 × blocking reagent [Roche]，及 63.8 ml 水)，震盪 2 hours，然後倒出 hybridization solution。
- (2) Hybridization：PCR 產物以 95°C 加熱 5 min 後，立即放於碎冰上冷卻，將每一 chip 放入 24-well 培養盤中，每一個 well 加入 0.5 ml 的 hybridization solution，再取 10 µl PCR 產物加入離心管中的每一 well，在 50°C 振盪情況下進行 1.5 h 的雜交反應。許多 chips 可以集中放在一小培養皿中 5-10 ml washing solution (100 ml maleic acid buffer [0.1 M maleic acid + 0.15 M NaCl, pH 7.5]) 洗 4 次，每次在室溫震盪 5 min。
- (3) 酵素呈色反應：倒掉 wash solution，加入 5-10 ml blocking solution (以 blocking reagent [Roche]: maleic acid buffer [1/10, w/v] 溶解後 121°C 滅菌) 輕微搖晃 1 小時，倒掉 blocking solution，加入 5-10 ml 以 blocking solution 稀釋 2500 倍之 alkaline phosphatase conjugated anti-digoxigenin antibody (Fab fragment, Roche, Cat. No. 1093274) 輕微搖晃，使其反應 1 小時。倒掉 antibody solution，以 5-10 ml washing solution 洗 3 次，每次搖晃 15 分鐘。倒掉 washing solution，加入 5-10 ml detection buffer (0.1 M Tris-HCl, pH 9.5; 0.1 M NaCl) 輕微震盪，使其反應 5 分鐘。將 chip 移到新培養皿中，加入 150 µl substrate solution (以 detection buffer 稀釋 NBT/BCIP stock solution [Roche] 50 倍) 於每一張晶片上使其呈色，在呈色時必須在黑暗中進行且不可搖晃容器，大約 10 分鐘後，觀察其呈色情形，要呈色完全需 30-45 分鐘的時間。最後以去離子水清洗膜片以終止反應，將 DNA 晶片放在濾紙上晾乾，並分析雜交反應之結果。

## 第五章 結果與討論

### 5-1 土壤基本性質分析

#### (一). 現地調查

2010/2/10 初次前往現場採集高雄楠梓某石化廠油污染區域不同深度土壤及土方復育場之「Case 1」、「Case 2」、「Case 3」、「Case 4」、「Case 5」與「Case 6」六處區域污染土壤(深度依序約為 1~2m、2~2.5m、2.5~3m、3~3.5m、Case.5 與 Case.6 為復育場土方)作為現地離場整治土樣來源依據。六個區域濃度分佈情形(如 Table 5-1-1 所示)，總石油碳氫化合物濃度範圍為 200~5,000 mg/kg dry soil，除了 Case 5 污染土含有更高碳數碳氫化合物外，其餘四個區域碳數主要 C10~C28 範圍，且因 GC-FID 層析圖解析土壤樣品主要顯著 peak 為支鏈碳氫化合物(branched alkanes)。

根據中興土壤調查中心分析的結果得知，主要以 Case 1 與 Case 5 所佔黏粒比例最高，因此在土壤質地的表現屬於黏質壤土，兩者在土壤的肥沃度，則以 Case 5 最為明顯，與現場實際操作情況吻合。其他樣本則以砂質或粉質為主。因此，本研究大致土方來源能以 Case 1 為黏質壤土，其適合做為一油污染復育黏土性質探討(Phase study)；Case 5 與 Case 6 則以混合方式進行現地土方復育(Pilot scale)之來源。

Table 5-1-1. 高雄楠梓某石化廠土壤調查分析結果(2010/2/10)

| 分析項目 \ 樣品        | Case 1<br>1~2m | Case 2<br>2~2.5m | Case 3<br>2.5~3m | Case 4<br>3~3.5m | Case 5<br>92m <sup>3</sup> | Case 6<br>KH-20 |
|------------------|----------------|------------------|------------------|------------------|----------------------------|-----------------|
| 有機碳(%)           | 0.310          | 0.349            | 0.245            | 0.454            | 2.80                       | 0.417           |
| 土壤質地             | 黏質壤土           | 砂質黏壤土            | 砂質壤土             | 粉質壤土             | 黏質壤土                       | 砂質壤土            |
| 砂粒 Sand(%)       | 20.9           | 50.3             | 73.9             | 4.8              | 33.1                       | 67.9            |
| 粉粒 Silt(%)       | 46.0           | 20.7             | 9.4              | 68.3             | 31.6                       | 13.4            |
| 黏粒 Clay(%)       | 33.1           | 29.0             | 16.7             | 26.9             | 35.3                       | 18.7            |
| 陽離子交換能力(cmol/kg) | 6.95           | 7.58             | 5.21             | 6.49             | 15.1                       | 5.24            |
| 全氮 N(%)          | 0.0575         | 0.0568           | 0.0273           | 0.0554           | 0.155                      | 0.0257          |
| 全磷 P(mg/kg)      | 360            | 514              | 295              | 558              | 1455                       | 405             |
| 全鉀 K(mg/kg)      | 3307           | 2196             | 1730             | 2736             | 3497                       | 2115            |

本計畫使用長期受污染土壤乃取自高雄市楠梓區某石化廠，土壤性質經委託中興大學農業暨自然資源學院土壤調查試驗中心檢驗，土壤基本性質分析結果如表 3-2 所示。根據 2010 至 2011 之間兩年所取得的土壤樣本共有七個不同位置，分布於高雄楠梓某石化廠區。KHWN 的土壤成分組成：砂(sand)佔 89.4%、粉粒(silt)佔 4.5%、黏粒(clay)佔 6.1%；KHS2 的土壤組成：砂(sand)佔 20.9%、粉粒(silt)佔 46.0%、黏粒(clay)佔 33.1%；KHS2.5 的土壤組成：砂(sand)佔 50.3%、粉粒(silt)佔 20.7%、黏粒(clay)佔 29.0%；KHM3 的土壤組成：砂(sand)佔 73.9%、粉粒(silt)佔 9.4%、黏粒(clay)佔 16.7%；KHD3.5 的土壤組成：砂(sand)佔 4.8%、粉粒(silt)佔 68.3%、黏粒(clay)佔 26.9%；KH92 的土壤組成：砂(sand)佔 33.1%、粉粒(silt)佔 31.6%、黏粒(clay)佔 35.3%；KH20 的土壤組成：砂(sand)佔 67.9%、粉粒(silt)佔 13.4%、黏粒(clay)佔 18.7%。根據以上土壤分析可知，隨著不同時間與土壤深度之土質特性，頗為不同。依據美國農業部 (U.S. Department of Agriculture, USDA) 的土壤質地分類法七個土樣，KHWN、KHS2、KHS2.5、KH3、KHD3.5、KH92、KH20，分別屬於壤質砂土(Loamy sandy)、黏質壤土(Clay Loam)、砂質黏壤土(Sandy clay loam)、砂質壤土(Sandy loam)、粉質壤土(Silt loam)、黏質壤土(Clay loam)、砂質壤土(Sandy loam)。此次土壤背景調查質地分析，可於現場發現黏質壤土，為 KHS2 與 KH92 兩土樣。本研究目標期以黏質土作為此次試驗重點。根據 KHS2 與 KH92 兩樣本之土壤化學性質分析結果，土壤中營養成分中有機碳(Organic Carbon)為 0.31 與 2.80%，總氮(N)佔 0.0575 與 0.155%，磷(P)佔 0.036 與 0.1455%。平衡其 C：N：P 分別為 KHS2=100：18.5：11.6 與 KH92=100：5.5：5.2，比較微生物最佳適合生物復育之 C：N：P=100：10：1。根據此結果得知，KHS2 在氮與磷的含量皆呈現較為豐富的情況；KH92 的土樣則呈現氮含量較為缺乏。本結果可說明 KH92 為長期受到總石油碳氫化合物污染之土壤常有的現象(Brook et al.,2001)。

## 5-2 第一階段自然衰減土方(KH-20&KH-92)

KH92(Brown 紅褐色土壤，92m<sup>3</sup>，溫度約為 31℃)來自楠梓石化廠生物復育場，所堆置的土壤，有經過長時間之生物復育工法之土方，另添加活化劑提升復育程序，根據目測土方中出現顆粒的現象，初步推斷活化劑未能充分與碳氫化合物接觸，產生之顆粒現象。KH92 土樣的土壤化學性質分析結果，土壤中營養成分中有機碳 0.31%，總氮佔 0.155%，磷佔 0.1455%。平衡其 C：N：P = 100：5.7：5.2，比較微生物最佳適合生物復育之 C：N：P = 100：10：1(Table 5-2-1)。由此得知，KH92 的氮含量較為缺乏，推測此為長期受到碳氫化合物污染之土壤常有現象(Brook et al.,2001)。另外，該土壤有機碳含量有較高比例，推測與現場固定添加麥麩作為生物活化劑有關，使微生物能利用之有機碳源增加。然而，是否能夠藉此提升總石油碳氫化合物降解菌之生長，仍需經由後續之分析確認。

KH20(Dark gray 灰黑色土壤)同樣來自生物復育場，所堆置的土壤，其土方為受總石油碳氫化合物污染，經過現場工程師推斷約為 1000 mg- TPH/kg-soil，但詳細結果仍須分析後確認。KH-92 與 KH-20 皆來自生物復育場中污染土壤，根據現場工程人員描述，KH-92m 之生物復育土堆研判為粉質黏土，並添加活化劑的反應所進行的生物復育程序；KH-20 則為未經處理之污染土方，為本計畫主要油污土方，推斷濃度約為 1000 mg- TPH/kg-soil。

KH20 的土壤化學性質分析結果，土壤中營養成分中有機碳 0.417 %，總氮佔 0.0257%，磷佔 0.0405%( Table 5-2-1)。平衡其 C : N : P = 100 : 5.8 : 9.7。由此得知，KH20 的氮含量也呈現缺乏的現象。然而，相較於 KH92，KH20 在 C : N : P 比例皆為偏低的情況，符合未經處理之污染土質特性，加上 KH20 土壤質地為砂質壤土，土壤孔隙較 KH92 為大，營養物較難含容於土壤中。

Table 5-2-1. Initial soil analysis report for characteristics and properties of KH samples.

| Item of soil analysis                                       | KHWN (2010)  | KHS2 (2011) | KHS2.5 (2011)   | KHM3 (2011) | KHD3.5 (2011) | KH92 (2011) | KH20 (2011) |
|-------------------------------------------------------------|--------------|-------------|-----------------|-------------|---------------|-------------|-------------|
| Physical analysis (中興土壤調查試驗中心)                              |              |             |                 |             |               |             |             |
| Sand(%)                                                     | 89.4         | 20.9        | 50.3            | 73.9        | 4.8           | 33.1        | 67.9        |
| Silt(%)                                                     | 4.5          | 46.0        | 20.7            | 9.4         | 68.3          | 31.6        | 13.4        |
| Clay(%)                                                     | 6.1          | 33.1        | 29.0            | 16.7        | 26.9          | 35.3        | 18.7        |
| Soil texture                                                | Loamy sand   | Clay Loam   | Sandy clay loam | Sandy loam  | Silt loam     | Clay Loam   | Sandy loam  |
| Organic Carbon (%)                                          | 1.34         | 0.310       | 0.349           | 0.245       | 0.454         | 2.80        | 0.417       |
| Total Nitrogen (N, %)                                       | 0.062        | 0.0575      | 0.0568          | 0.0273      | 0.0554        | 0.155       | 0.0257      |
| Total P (%)                                                 | 0.0416       | 0.036       | 0.0514          | 0.0295      | 0.0558        | 0.1455      | 0.0405      |
| C:N:P                                                       | 32.2 :1.5 :1 | 8.6:1.6:1   | 6.8:1.1:1       | 8.3:0.9:1   | 8.1:0.99:1    | 19.2:1.1:1  | 10.3:0.6:1  |
| Extraction Potassium (Ammonium acetate extraction, cmol/kg) | 36.7         | 33.07       | 21.96           | 17.3        | 27.36         | 34.97       | 21.15       |
| Cation Exchange Capacity (CEC, cmol/kg)                     | 4.37         | 6.95        | 7.58            | 5.21        | 6.49          | 15.1        | 5.24        |

Table 5-2-2. 高雄楠梓某石化廠第一次土壤調查污染物特性分析

| I.Biopile (since 2/10)        | Residual TPH <sub>C10~C40</sub> (mg TPH/kg) |
|-------------------------------|---------------------------------------------|
| Case 5 (KH-92m <sup>3</sup> ) | 4424±605                                    |
| Case 6 (KH-20)                | 1154±764                                    |

Table 5-2-3. 高雄楠梓某石化廠污染物與微生物分析結果(2010/2/10)

| 分析項目                         | Case 1<br>1~2 m       | Case 2<br>2~2.5 m     | Case 3<br>2.5~3 m     | Case 4<br>3~3.5 m     | Case 5<br>92 m <sup>3</sup> | Case 6<br>KH-20        |
|------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------------|------------------------|
| 總碳氫化合物濃度<br>(mg/kg dry soil) | 135 ± 54              | 479 ± 119             | ND                    | 951 ± 379             | 4424 ± 605                  | 1154 ± 764             |
| 土壤含水率 (%)                    | 11.9                  | 4.6                   | 4.2                   | 29.7                  | 14.1                        | 9.1                    |
| 原生細菌<br>(CFU/g dry soil)     | 6.9 x 10 <sup>3</sup> | 1.3 x 10 <sup>7</sup> | 2.5 x 10 <sup>7</sup> | 1.7x 10 <sup>7</sup>  | 1.1 x 10 <sup>8</sup>       | 4.1x 10 <sup>7</sup>   |
| 原生真菌<br>(CFU/g dry soil)     | 3.9 x 10 <sup>2</sup> | 4.2 x 10 <sup>6</sup> | 2.9 x 10 <sup>5</sup> | 2.3 x 10 <sup>4</sup> | 1.2 x 10 <sup>7</sup>       | 1.03 x 10 <sup>7</sup> |

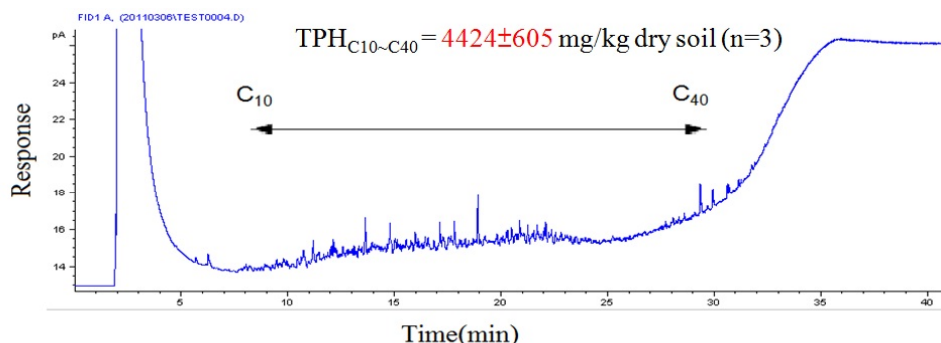


Fig.1 Initial gas chromatographic scheme of KH-92 soil site(2011).

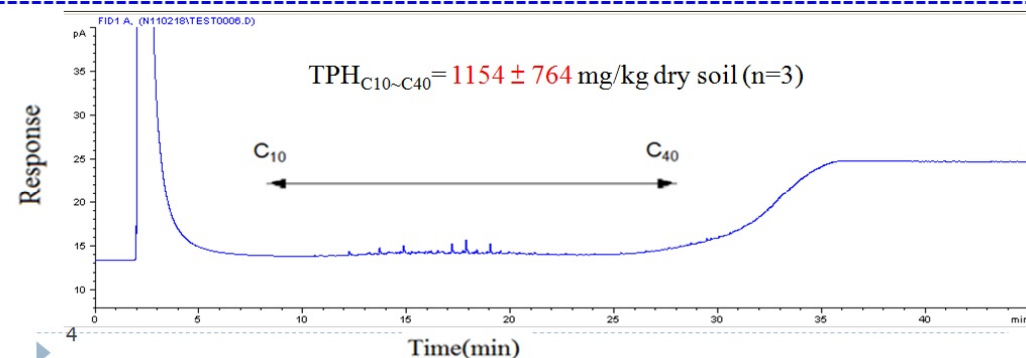


Fig.2 Initial gas chromatographic scheme of KH-20 soil site(2011).

Fig 5-2-1.高雄楠梓某石化廠之 KH-92&KH-20 土樣，總碳氫化合物濃度分析結果

## KH-92&amp;KH-20 土樣之微生物組成分析(2011/2/10)

根據塗碟法顯示每克現地土壤中(Fig.5-2-2)，約有  $10^{6-8}$  個微生物，柴油降解菌與細菌數量最為豐富，其中總異營菌的表現(NB)，以 KH-92 的土壤微生物有  $10^8$  個微生物最多，由於 KH-92 之土壤有經過生物復育程序，並添加活化劑，在總異營菌的表現較為旺盛，另外柴油降解菌的表現(Diesel)，也高於 KH-20 土壤微生物的表現，真菌的表現(PDB)兩者則無差異。

雖然 KH-92 經過生物復育程序，但與未經過任何生物復育工法之 KH-20 土方，兩者比較上，總異營菌(NB)表現較佳，但僅能表示占有較多之微生物，不一定能突顯出總石油碳氫化合物受到微生物降解之能力。

在柴油降解菌的表現中，KH-92 僅些微高於 KH-20 的微生物菌落數，頗難證明 KH-92 經過活化劑的添加，具有明顯之效能。而根據真菌表現，能夠得知有無添加活化劑，對於總碳氫化合物降解的第二階段(真菌生長)，並無明顯之表現。因此根據此結果研判，必須對該污染土壤進行生物添加手段，以加強生物復育效果。

針對 KH-20 的過篩土方，進行三種不同培養基之微生物生長探討。根據結果得知(Fig. 5-2-2)，總異營菌(NB)的生長在不同段的採樣點，結果皆接近於  $10^8$  菌落數；柴油降解菌(Diesel)約為  $10^{6-8}$  菌落數；真菌(PDB)也接近  $10^{6-8}$  菌落數。在 6-4 樣本中真菌表現為最低，但仍有  $10^6$  以上的菌落數；KH-20 樣本中柴油降解菌表現則為最低，僅接近  $10^6$  菌落數，研判此因土壤初步尚未進行翻堆程序，而造成土方各不同區域之微生物分佈些微不平均。

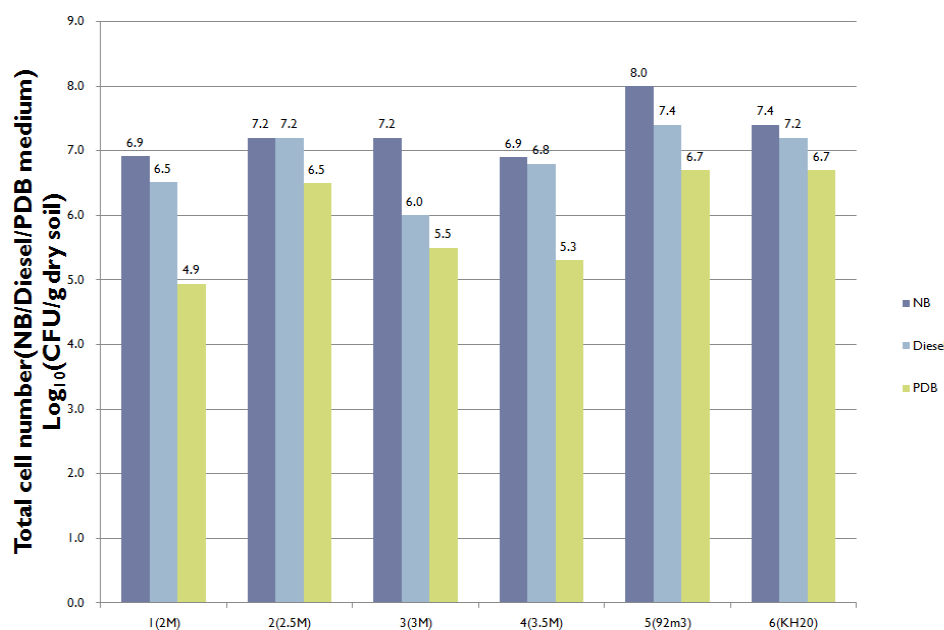


Fig.5-2-2. 高雄楠梓某石化廠之土壤原生菌落(CFU)計數結果(2010/2/10)



## 第一階段-監測式自然衰減土方污染調查綜合探討

### ( Monitoring Nature Attenuation , 2011/2/10~2011/7/4 )

經過 5 個時間區隔(月)所分析的總石油碳氫化合物污染濃度，針對 KH-92 而言，由於該土方初始濃度接近 5,000mg TPH/kg，再經過 5 個月的週期性土壤翻堆、灑水與活化劑之添加的生物復育之下，濃度呈現明顯之下降趨勢(已低於 3,000 mg TPH/kg 左右)，在整個生物復育過程中，去除率(C/C0)可達約 40~50%。KH-20 土方則以監測式自然衰減進行，初期濃度約為 2,000 mg TPH/kg，直到 3 月中土方進行混合與過篩的處理後，設定為本研究之目標復育土方，濃度設定為 2,000 mg TPH/kg，爾後經過 3 個月的自然衰減過程，濃度雖有些微下降趨勢，但仍能測得 2,000 mg TPH/kg 以上之總碳氫化合物濃度(Fig 5-2-3)。

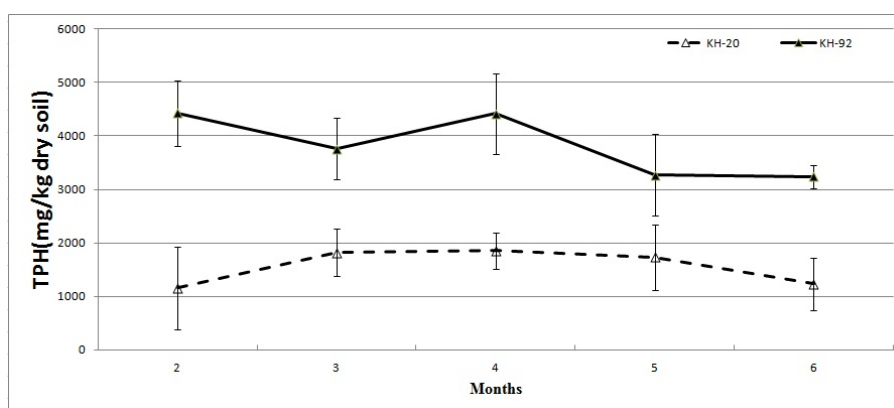


Fig. 5-2-3. 土方總石油碳氫化合物濃度監測 ( 2011/2/10 ~ 2011/7/4, n=3 )

比較 KH-92 與 KH-20 土方中總菌落數。根據結果得知(Fig. 5-2-4)，兩者總異營菌(NB)的生長在不同段的採樣點，結果皆接近於  $10^{7-8}$  個菌落數，研判土壤中原生菌落數頗高，但可看出 KH-92 土方中，總異營菌表現皆高於  $10^8$  個菌落數，在添加活化劑與土方復育程序上能表現明顯之差別。

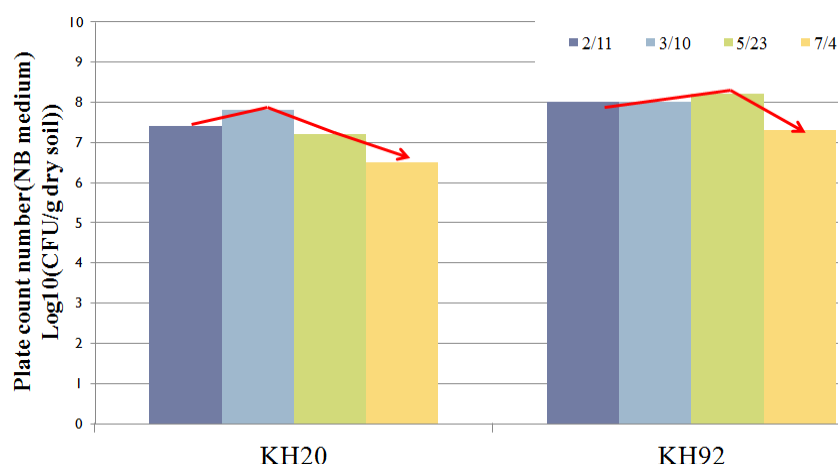


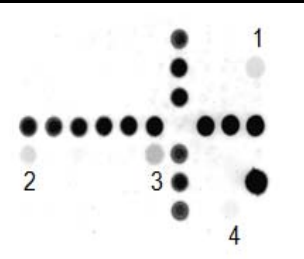
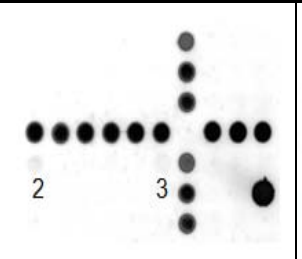
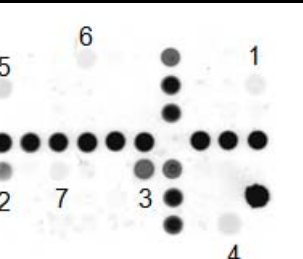
Fig.5-2-4. 土方總異營菌微生物菌落數(CFU)調查 ( 2011/2/11 ~ 2011/7/4 )

### 分生技術檢測

由微矩陣生物晶片檢測結果如表顯示(Table 5-2-4 與 5-2-5)比較各案例土樣，Case 1~Case 6 之土堆皆可發現 *Gordonia alkanivorans* 菌種；Case 1、Case 3 與 Case 6(KH-20)之土堆皆可發現 *Bacillus subtilis* 菌種；Case 1、Case 2、Case 3、Case 4 與 Case 6(KH-20)之土堆皆可發現 *Pseudomonas* sp.；Case 1、Case 3、Case 6(KH-20)之土堆皆可發現 *Sphingomonas yanoikuyae*；另外，Case 3 也發現與其他土樣不同的 *Acinetobacter* sp.、*Acinetobacter junii*、*Gordonia desulfuricans* 等原生油分解菌屬，均已廣泛被報導為具有分解碳氫化合物能力之細菌類微生物(Atlas, 1984; Bossert and Bartha., 1984; Cullen et al., 1994)。根據此結果得知，在一污染土方中之油降解菌，能在受油污染之環境中自然誘導，因而成為原生菌群並利用碳氫化合物做為其碳源。

在真菌的部分，Case 1~6 之土堆皆可發現 *Aspergillus fumigatus*、*Candida tropicalis* 與 *Pseudallescheria boydii* 三菌種；Case 3 土堆中則發現 *Candida guilliermondii* 與 *Candida parapsilosis* 與其他土堆不同的特有油分解菌種；Case 5(KH-92)土堆中也發現一特有 *Aspergillus versicolor* 菌種，研判可能與該土堆定期添加之活化劑有關。

Table 5-2-4. 高雄楠梓某石化廠污染土樣之分生技術檢測結果(Case 1~3)

| 樣本<br>微生物<br>(屬種名) | Case 1                                                                                                                                                                                                                  | Case 2                                                                                                                                         | Case 3                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 細菌類                | <br>1. <i>Bacillus subtilis</i><br>2. <i>Gordonia alkanivorans</i><br>3. <i>Pseudomonas</i> sp.<br>4. <i>Sphingomonas yanoikuyae</i> | <br>2. <i>G. alkanivorans</i><br>3. <i>Pseudomonas</i> sp. | <br>1. <i>B. subtilis</i><br>2. <i>G. alkanivorans</i><br>3. <i>Pseudomonas</i> sp.<br>4. <i>S. yanoikuyae</i><br>5. <i>Acinetobacter</i> sp.<br>6. <i>Acinetobacter junii</i><br>7. <i>Gordonia desulfuricans</i> |

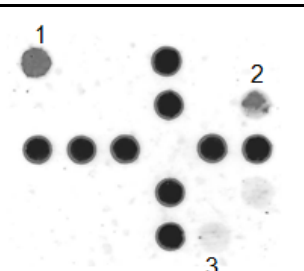
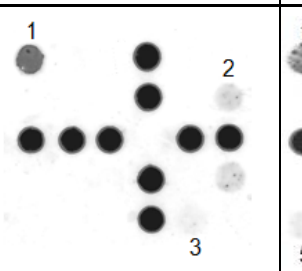
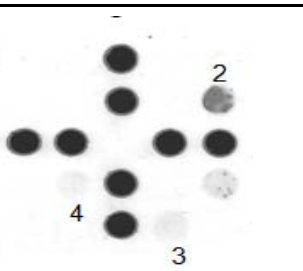
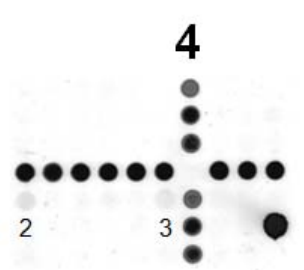
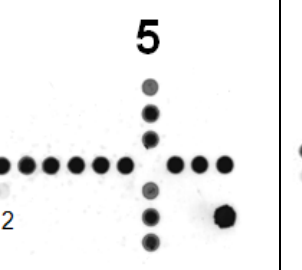
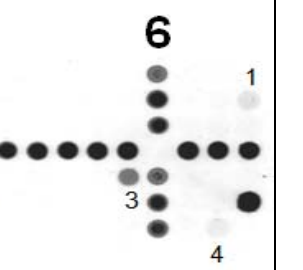
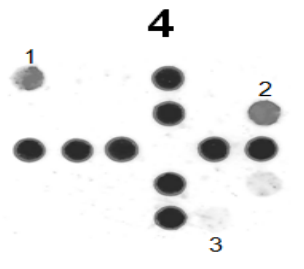
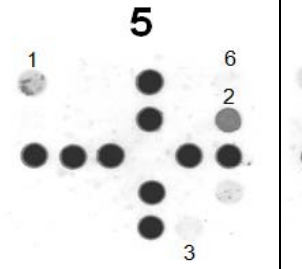
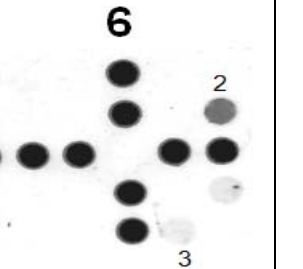
| 樣本<br>微生物<br>(屬種名) | Case 1                                                                                                                                                                                          | Case 2                                                                                                                                                               | Case 3                                                                                                                                                                                                                                        |
|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 真菌類                |  <p>1. <i>Aspergillus fumigatus</i><br/>2. <i>Pseudallescheria boydii</i><br/>3. <i>Candida tropicalis</i></p> |  <p>1. <i>A. fumigatus</i><br/>2. <i>P. boydii</i><br/>3. <i>C. tropicalis</i></p> |  <p>1. <i>A. fumigatus</i><br/>2. <i>P. boydii</i><br/>3. <i>C. tropicalis</i><br/>4. <i>Candida guilliermondii</i><br/>5. <i>Candida parapsilosis</i></p> |

Table 5-2-5. 高雄楠梓某石化廠污染土樣之分生技術檢測結果(Case 4~6)

| 樣本<br>微生物<br>(屬種名) | Case 4                                                                                                                                                                | Case 5                                                                                                                                                                                                      | Case 6                                                                                                                                                                                                     |
|--------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 細菌類                |  <p>2. <i>G. alkanivorans</i><br/>3. <i>Pseudomonas</i> sp.</p>                    |  <p>2. <i>G. alkanivorans</i></p>                                                                                       |  <p>1. <i>B. subtilis</i><br/>2. <i>G. alkanivorans</i><br/>3. <i>Pseudomonas</i> sp.<br/>4. <i>S. yanoikuyae</i></p> |
| 真菌類                |  <p>1. <i>A. fumigatus</i><br/>2. <i>P. boydii</i><br/>3. <i>C. tropicalis</i></p> |  <p>1. <i>A. fumigatus</i><br/>2. <i>P. boydii</i><br/>3. <i>C. tropicalis</i><br/>6. <i>Aspergillus versicolor</i></p> |  <p>1. <i>A. fumigatus</i><br/>2. <i>P. boydii</i><br/>3. <i>C. tropicalis</i></p>                                    |

## 5-3 第二階段復育程序(柱塞流式 SEMBT 工法)

2010/7/11 於高雄楠梓某石化廠現場復育地油污染土方進行啟動程序,「BAS 0」為控制組( $5\text{m}^3$ ),不進行翻堆與灑水,僅利用自然降解方式,並作為對照之土方。「BAS 1」( $5\text{m}^3$ )則為實驗組,將昨天已量產之生物製劑( $150\text{L}$ )添加入土方中,並進行灑水與翻堆(來回三次移動)。在後期濃度也接近穩定,因此開始進行第二階段復育程序(SEMBT 結合反推式柱塞流施工法),研究整治目標土方為  $20\text{m}^3$ ,在土方第 0 天時,此時 BAS0(CT 組來自 KH-92 土方)TPH 濃度接近  $3000\text{ mg/kg dry soil}$  高於 BAS1(來自 KH-20)之 TPH 濃度  $1000\text{ mg/kg dry soil}$ ;第 7 天時,BAS1 經過 7 日生物優植與刺激後,TPH 濃度降至  $500\text{ mg/kg dry soil}$ ,研判可能 BAS1 主要以砂質壤土為主,因此較多孔隙能夠使堆肥中微生物進行移動與利用 TPH 作為碳源,達到快速 TPH 之降解。第 14 天時,由於現場土方不足目標復育量,因此原 BAS0(CT 組)土方再添加額外 1/2 量之 KH-92 黏質壤土,使其 TPH 濃度些微提高,BAS1 之 TPH 濃度則有回升趨勢,研判可能為土壤不均質所產生現象。另外,新推進至 BAS2 土方之 TPH 濃度則有偏低於  $500\text{ mg/kg dry soil}$ 。經過 29 天土方啟動期,完成  $20\text{m}^3$  土方整治生物堆,BAS0(CT 組)污染濃度維持約為  $2000\text{ mg/kg dry soil}$ ;BAS1~4 之 TPH 濃度則皆低於  $1000\text{ mg/kg dry soil}$ 。

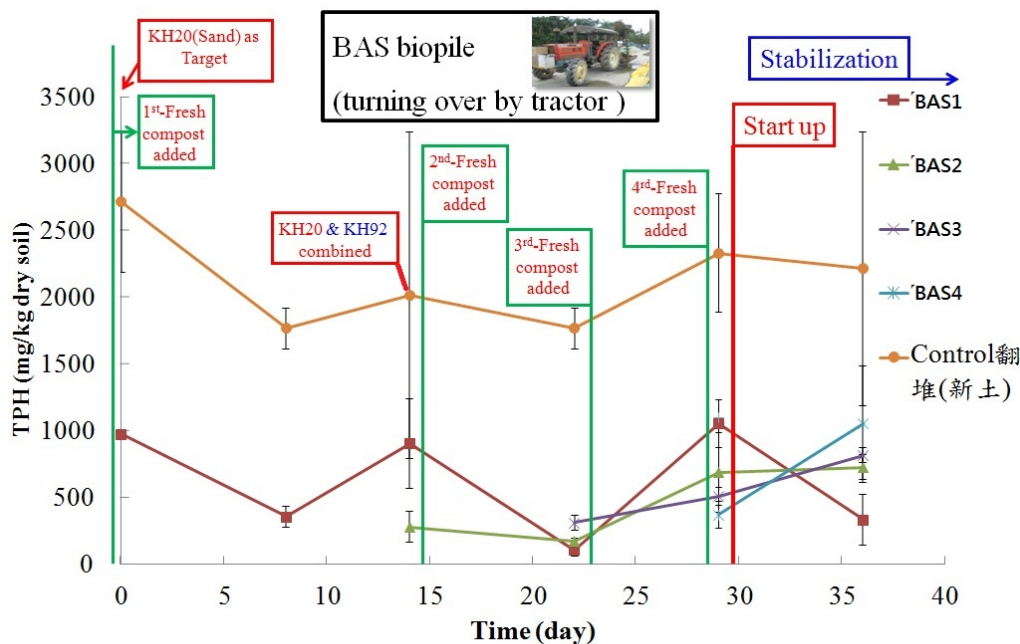
2<sup>nd</sup>- Field study- 生物復育工法啟動與生物刺激

Fig. 5-3-1. 第二階段復育程序 TPH 濃度變化

### 土堆中環境因子及生物呼吸反應之觀測

模場土堆中微生物活性可以藉由氧氣( $O_2$ )與二氧化碳( $CO_2$ )的變化間接佐證。由於呼吸作用是較為籠統之指標，僅能針測總微生物的呼吸作用，而無法單一監測特定微生物。況且模場土堆為開放系統，所以氧氣的消耗可能透由週遭環境之遞補，二氧化碳生成也會逸散至空氣中，因此呼吸作用的現象只能夠表示當時土堆的氣體組成，無法直接說明二氧化碳含量與殘餘之氧氣量。

Fig.5-3-2 為 BAS 系列之氧氣變化分佈圖。由圖中可以發現，BAS 系列在經過一個月的啟動期(每個禮拜進行一次生物刺激頻率)，均有明顯的氧氣消耗情況發生。在第 36 天時，得知此時的生物呼吸作用最為旺盛，由於 BAS 系列中個反應堆，皆於此時完成生物製劑之添加與刺激，氧氣的含量降至 5~15%之間，最低有接近 5%的氧氣量。隨著 TPH 後期的變化，微生物呼吸作用漸漸的降低。直至 92 天，氧氣的含量又逐漸回復穩定的 15%左右。

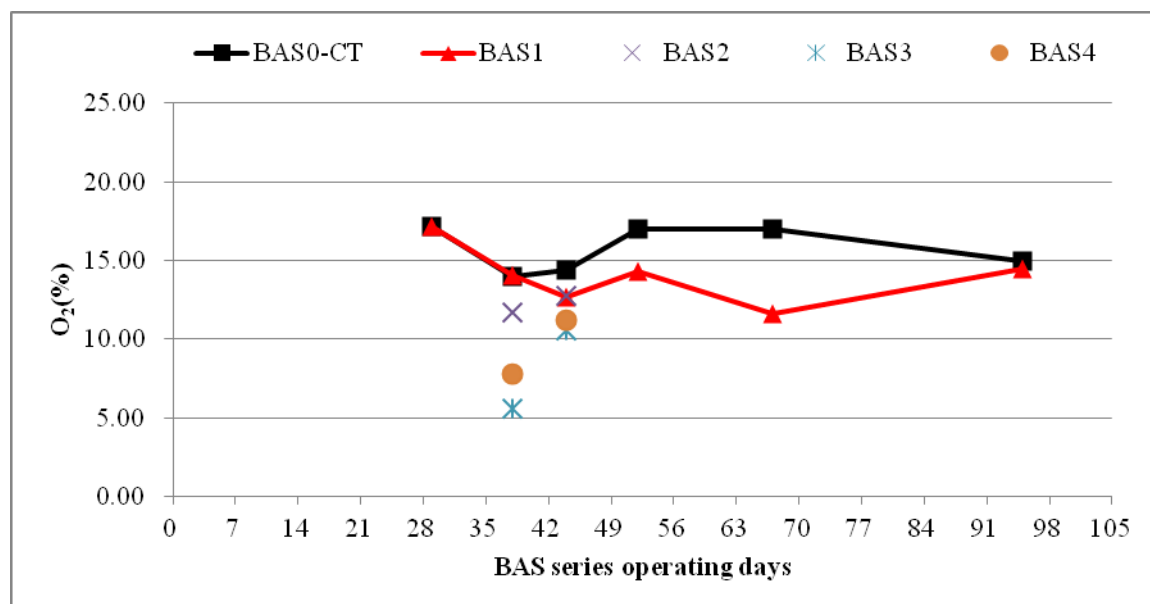


Fig. 5-3-2. BAS 系列之氧氣變化分佈圖

Fig. 5-3-3 為 BAS 系列之二氧化碳變化分佈圖。由圖中可以發現，土堆經生物刺激的第一個月，有明顯的二氧化碳生成，其含量在 5~23%左右，第 30 天時，BAS4 有最高接近 23%的二氧化碳生成，由於此時為 BAS4 剛完成生物製劑之添加，因此合理推論為製劑中提供相當量之微生物與基質，幫助土堆中微生物利用基質所產生旺盛的代謝呼吸作用。

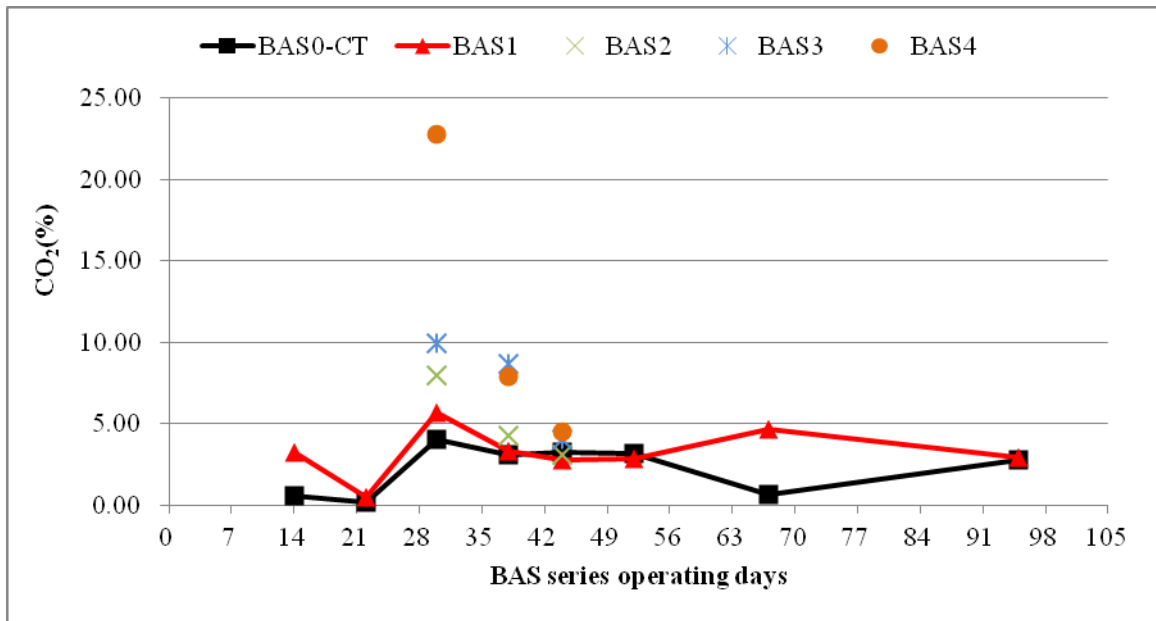


Fig. 5-3-3. BAS 系列之二氧化碳變化分佈圖

### 土壤含水率

土堆尚未啟動前，其含水率約為 10% 左右，之後經過啟動期的定期灑水(每個禮拜 2 次)，BAS 系列的各生物堆含水率皆有維持 15% 左右。在第 7 天時，含水率有明顯下降現象，乃由於現場施工遭遇行政之問題，故無法進行含水率之維持。但在 14 天後，現場施工回復，則含水率則又控制於 15~20% 的適佳狀態。在經過約 120 天的第二階段 SEMBT 工法後，含水率皆控制在 15% 左右(Fig. 5-3-4)。

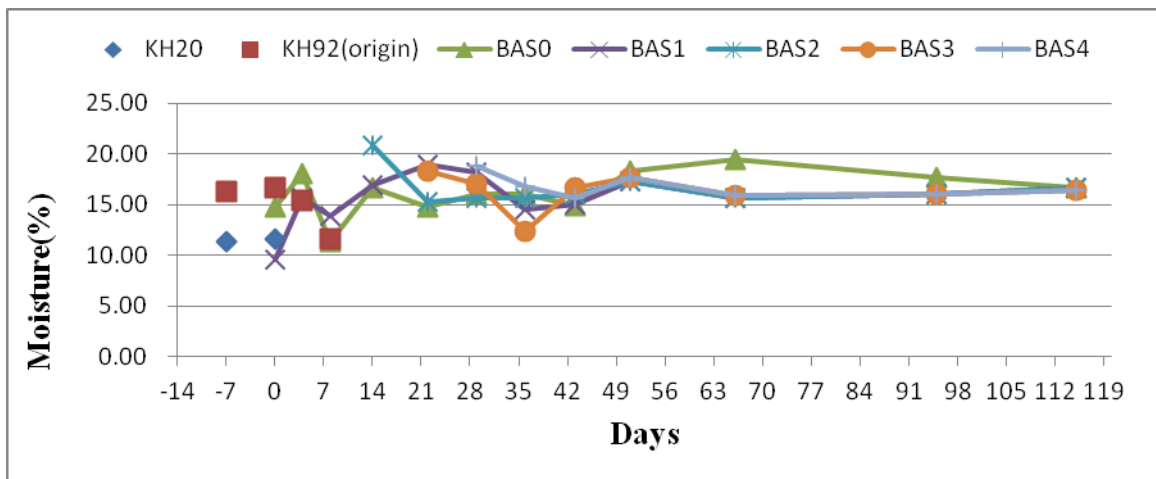


Fig. 5-3-4. 土壤含水率

含水率的變動範圍會隨著土壤性質改變，也就是飽和含水率會有所不同，觀察現場中的土堆發現，當含水率高於 20% 時，即會有些許滲出水的情形。因此本研究含水率之控制仍以 20% 以內為基準。依據美國環保署(USEPA)的評估方法中，



可知含水率 12%以上為較佳的操作條件。本研究進行翻堆時所噴灑的自來水即為土堆中水分的主要來源，每次灑水的量約為 200L。推測翻堆時噴灑自來水水量少於水分蒸發量，故不能保持土壤中的含水率，本階段研究後期含水率則有稍微下降趨勢。可知開放式整治模場，其含水率容易受限於環境氣候之影響。

### 土壤溫度

一般而言，土壤中最佳的降解溫度為 20-40°C (U.S., EPA 510-B94.003, 1994)，根據本研究所監測的溫度(如 Fig. 5-3-5)，可知現場的土壤溫度隨著季節變化僅有些許不同，但仍然維持在 30°C 上下的環境中，可以預期微生物適合於此進行碳氫化合物之降解。

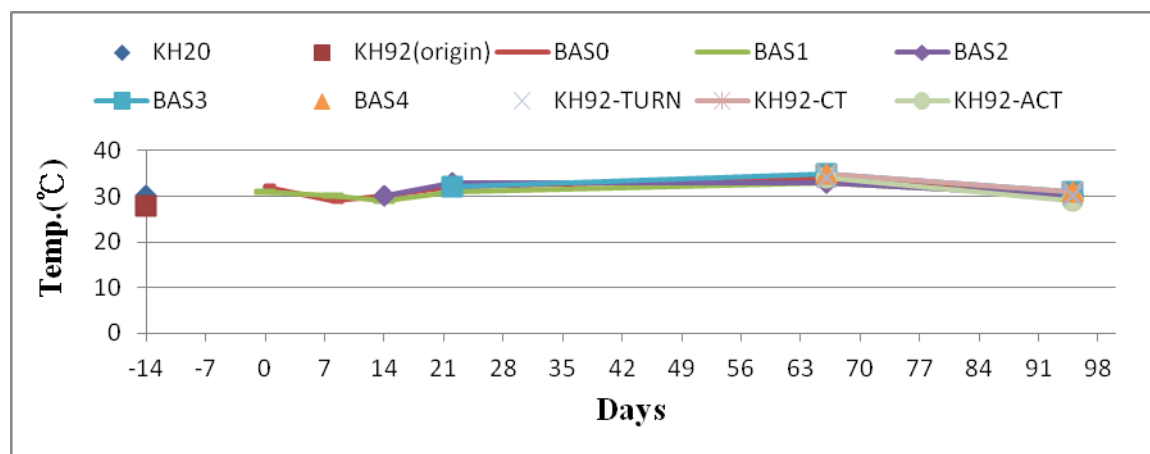


Fig. 5-3-5. 土壤溫度

### 分生技術檢測

針對第二階段 SEMBT 工法試驗(土方啟動期)，進行微矩陣生物晶片檢測，在土方啟動期之前，第-7 天之分析結果，KH-20 與 KH-92 所發現之細菌皆為 *Gordonia alkanivorans* 與 *Gordonia desulfuricans* 等原生油分解菌屬；土方啟動之第 0 天，BAS0(CT 組來自 KH92 土方)與 BAS1(來自 KH20 土方)，兩者發現之細菌同樣也是 *Gordonia alkanivorans*、*Gordonia desulfuricans* 與 *Pseudomonas sp.* 等原生油分解菌屬；在真菌的部分，在土方啟動期之前，第-7 天之分析結果，KH-20 與 KH-92 皆可發現 *Aspergillus fumigatus*、*Pseudallescheria boydii* 及 *Candida tropicalis* 等菌種，惟 KH-20 則存在 *Aspergillus flavus* 之真菌；土方啟動之第 0 天，BAS0(CT 組來自 KH92 土方)與 BAS1(來自 KH20 土方)，兩者之菌相與第-7 天菌種相同，另在 KH92-活化劑添加組(CT 組)，則特有 *Aspergillus niger* 之真菌，其存在可能與固定添加之活化劑作為營養源有關。



Table 5-3-1. 高雄楠梓某石化廠污染土樣之分生技術檢測結果(-7 天)

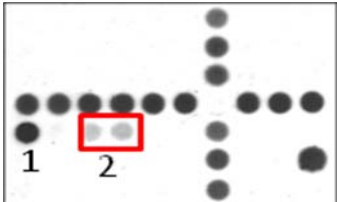
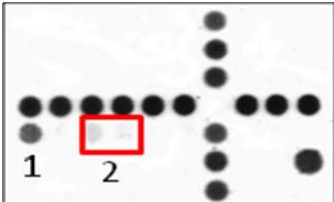
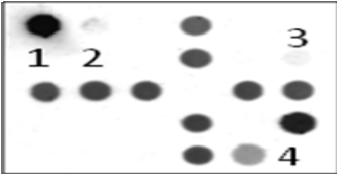
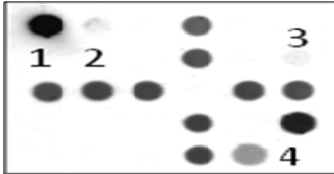
| 樣本<br>微生物<br>(屬種名) | KH-20(-7 天)                                                                                                                                                                                                                      | KH-92(-7 天)                                                                                                                                                                                      |
|--------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 細菌類                |  <p>1. <i>Gordonia alkanivorans</i><br/>2. <i>Gordonia desulfuricans</i></p>                                                                    |  <p>1. <i>Gordonia alkanivorans</i><br/>2. <i>Gordonia desulfuricans</i></p>                                   |
| 真菌類                |  <p>1. <i>Aspergillus fumigatus</i><br/>2. <i>Aspergillus flavus</i><br/>3. <i>Pseudallescheria boydii</i><br/>4. <i>Candida tropicalis</i></p> |  <p>1. <i>Aspergillus fumigatus</i><br/>3. <i>Pseudallescheria boydii</i><br/>4. <i>Candida tropicalis</i></p> |

Table 5-3-2. 高雄楠梓某石化廠污染土樣之分生技術檢測結果(0 天)

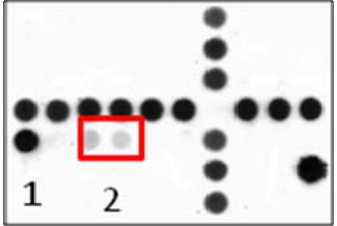
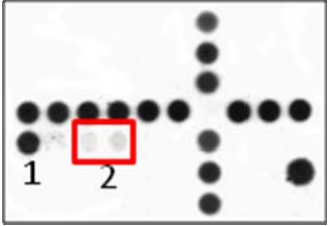
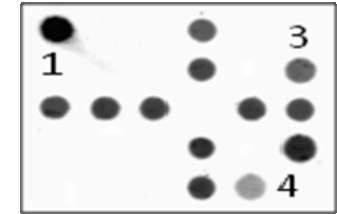
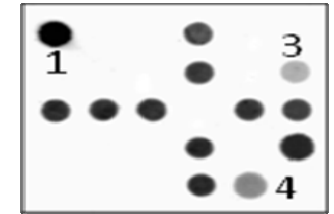
| 樣本<br>微生物<br>(屬種名) | BAS-0 (0 天)                                                                                                                                                                                       | BAS-1 (0 天)                                                                                                                                                                                        |
|--------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 細菌類                |  <p>1. <i>Gordonia alkanivorans</i><br/>2. <i>Gordonia desulfuricans</i></p>                                   |  <p>1. <i>Gordonia alkanivorans</i><br/>2. <i>Gordonia desulfuricans</i></p>                                   |
| 真菌類                |  <p>1. <i>Aspergillus fumigatus</i><br/>3. <i>Pseudallescheria boydii</i><br/>4. <i>Candida tropicalis</i></p> |  <p>1. <i>Aspergillus fumigatus</i><br/>3. <i>Pseudallescheria boydii</i><br/>4. <i>Candida tropicalis</i></p> |

Table 5-3-3. 高雄楠梓某石化廠污染土樣之分生技術檢測結果(3 天)

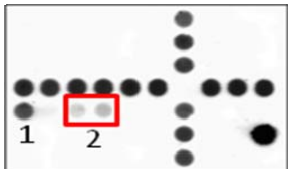
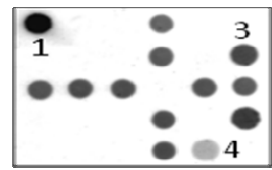
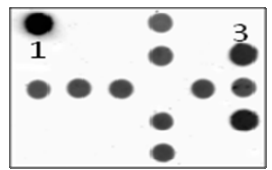
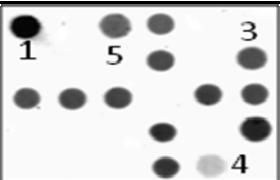
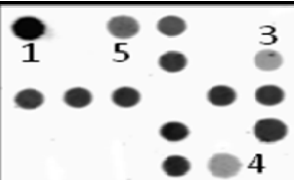
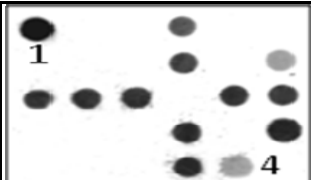
| 樣本<br>微生物<br>(屬種名) | BAS-0 (3 天)                                                                                                                                                                                     | BAS-1 (3 天)                                                                                                                                                     |
|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 細菌類                |  <p>1. <i>Gordonia alkanivorans</i><br/>2. <i>Gordonia desulfuricans</i></p>                                   |  <p>1. <i>Gordonia alkanivorans</i><br/>2. <i>Gordonia desulfuricans</i></p>  |
| 真菌類                |  <p>1. <i>Aspergillus fumigatus</i><br/>3. <i>Pseudallescheria boydii</i><br/>4. <i>Candida tropicalis</i></p> |  <p>1. <i>Aspergillus fumigatus</i><br/>3. <i>Pseudallescheria boydii</i></p> |

Table 5-3-4. 高雄楠梓某石化廠污染土樣之分生技術檢測結果(3 天)

| 樣本<br>微生物<br>(屬種名) | KH92<br>(翻堆過)                                                                                                                                                                                                                     | KH92<br>(活化劑)                                                                                                                                                                                                                      | KH92<br>(CT 組)                                                                                                                                                                                      |
|--------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 細菌類                |  <p>1. <i>Gordonia alkanivorans</i></p>                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                     |
| 真菌類                |  <p>1. <i>Aspergillus fumigatus</i><br/>3. <i>Pseudallescheria boydii</i><br/>4. <i>Candida tropicalis</i><br/>5. <i>Aspergillus niger</i></p> |  <p>1. <i>Aspergillus fumigatus</i><br/>3. <i>Pseudallescheria boydii</i><br/>4. <i>Candida tropicalis</i><br/>5. <i>Aspergillus niger</i></p> |  <p>1. <i>Aspergillus fumigatus</i><br/>3. <i>Pseudallescheria boydii</i><br/>4. <i>Candida tropicalis</i></p> |

## 5-4 兩階段生物復育整治後(柱塞流式 SEMBT 工法)

經過啟動期生物優植與刺激後(如 Fig. 5-4-1 所示),BAS 序列(infront,back)TPH 濃度皆降至 1,000 mg/kg dry soil 污染,皆低於法規標準。對照於 KH92-CT(控制組)能夠明顯發現,該土方 TPH 碳數組成主要以 C28-C40 為主,屬於高碳數的難分解物質,推估可能含有大量的極性物質存在。BAS 序列所表現的 TPH 碳數組成則不明顯,但根據分析圖研判屬於中低碳數之碳氫化合物存在,所含的成分則為低濃度。

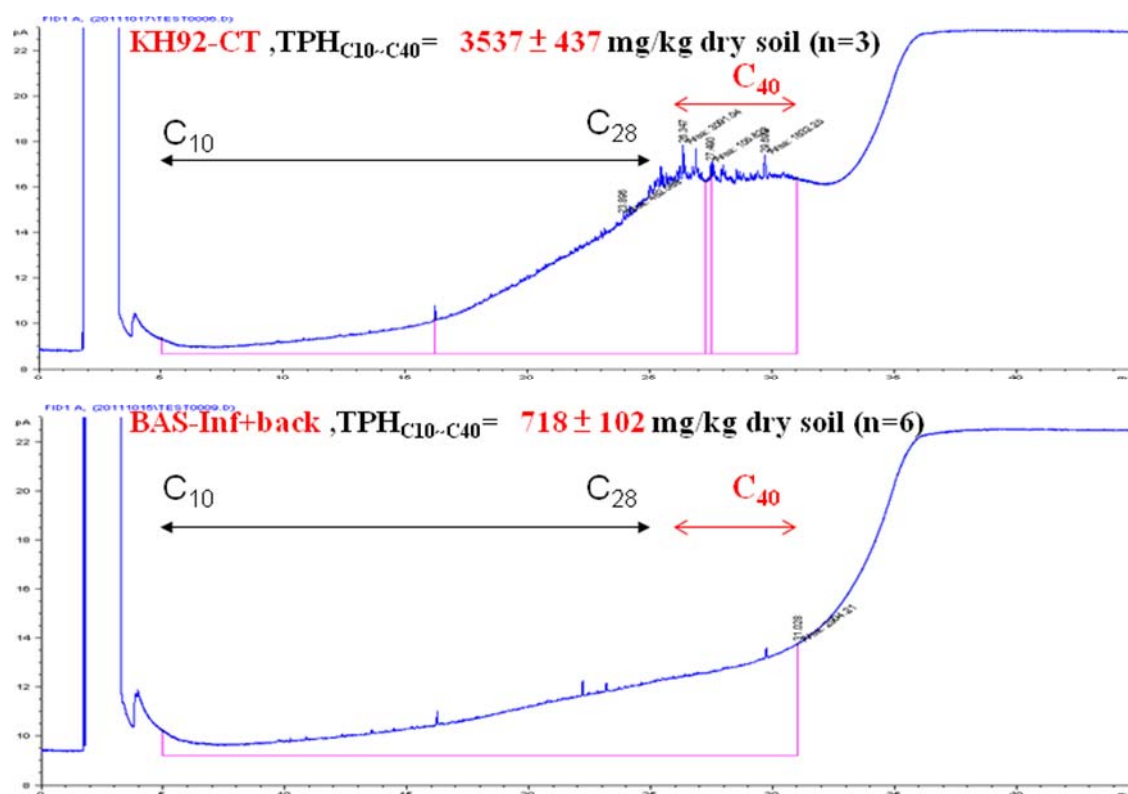


Fig. 5-4-1 兩階段復育整治後 TPH 濃度組成與分佈

根據 Fig. 5-4-2 所示,兩階段復育整治後土方 TPH 濃度皆隨著時間,有朝穩定的降解趨勢進行,且污染濃度皆以符合法規標準(1,000mg/kg dry soil)。經過 52 天後的时间,可知 BAS 序列已有降至 500mg/kg dry soil 污染濃度,相信已達到 TPH 降解之一定程度(約 80%的去除率),以工程的層面而言,已達到相當的 TPH 降解成效。

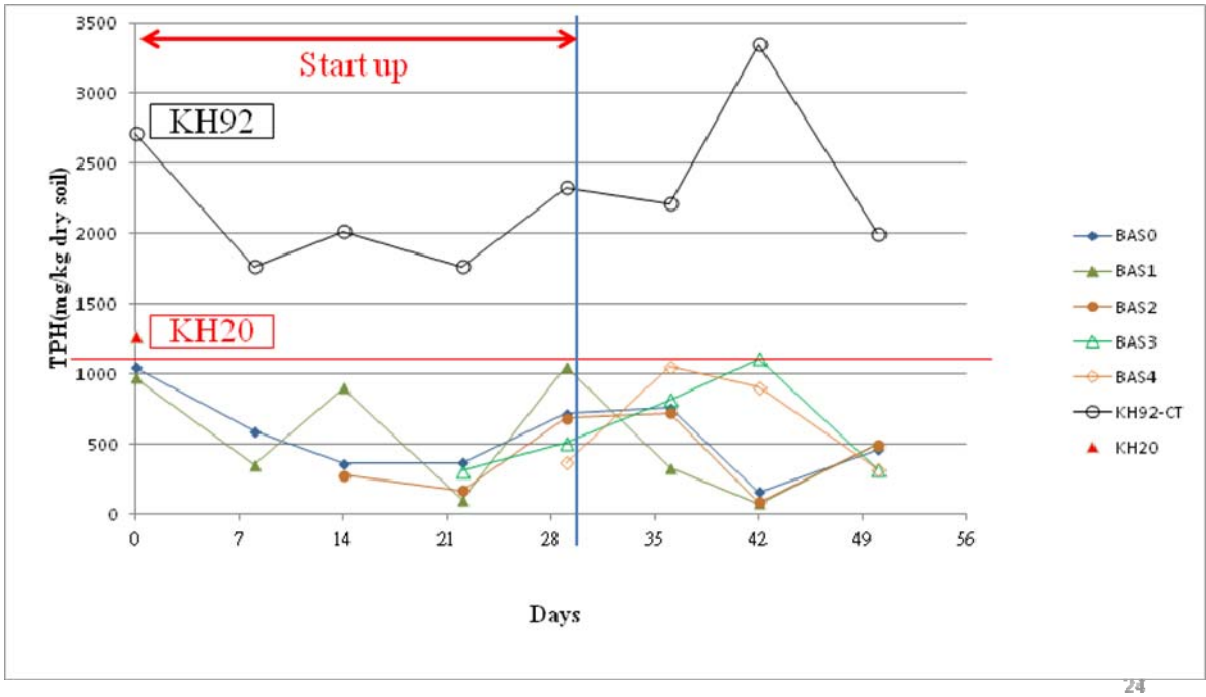


Fig. 5-4-2 兩階段復育整治後 TPH 濃度變化

## 第六章 結論與建議

### 結論

1. 根據第一階段監測式自然衰減土方污染調查與第二階段 SEMBT 工法試驗之成果可知，利用本研究所提出之反推式柱塞流式復育工法結合 SEMBT，將可快速整治較為黏質與高碳數污染之土壤。實驗結果顯示，第一階段土壤之 TPH 濃度降解僅能達到約 40~50% 之 TPH 去除率；而第二階段之 SEMBT 工法最高可再增加 46% 之 TPH 去除率。
2. 本研究遭遇黏質壤土之 TPH 濃度不穩定現象，其主要原因為：(1) 本研究土方主要為黏質壤土，土壤孔隙度較小，使其微生物與污染物之間無法達到有效之接觸，進而利用 TPH 或其基質作為碳源，污染物分佈頗為不均質；(2) 本研究土方主要來自燃料油或柴油，其成分較為複雜，且加上與黏質壤土形成高黏滯狀態，因此使得局部高濃度區域與低濃度污染分佈跳動頗大。

### 建議

1. 由於本研究於第二階段採用生物刺激(堆肥)，其本身含有部分動植物性油脂，在進行 GC-FID 分析時，可能產生濃度增加或誤判的情形發生，如能於前處理萃取時進行純化之步驟，將能有效減少高估的情形發生。
2. 本研究主要以兩種不同質地之土方進行混合，即砂質壤土與黏質壤土，造成污染物之分布不均，若能以進行多次混合(翻耕動作)、破碎及曬乾，將能有效地提高土壤的分佈與均質性。



## 第七章 參考文獻

鄭幸雄、潘柏岑、廖翊廷、高俊璿、黃良銘、林大成，生物促進受燃料油(已風化)污染土壤生物復育之成效，第五屆土壤及地下水污染整治研討會，九十六年十一月，高雄。

鄭幸雄、廖翊廷、高俊璿、潘柏岑、黃良銘，受不同比例之柴油與燃料油污染土壤之生物降解探討，第五屆土壤及地下水污染整治研討會，九十六年十一月，高雄。

鄭幸雄、林大成、張長泉、黃良銘、廖翊廷、潘柏岑，分生監控式油污染土壤生物復育之實場研究，第五屆土壤及地下水污染整治研討會，九十六年十一月，高雄。

鄭幸雄、潘柏岑、廖翊廷、劉保文、黃良銘，應用生物界面活性劑促進柴油污染土壤生物復育之可行性評估及現場驗證，第四屆土壤與地下水研討會論文集，九十五年十一月，台中。

林大成、鄭幸雄、黃良銘、潘柏岑、廖翊廷、方彥程，柴油污染土壤離場生物復育技術之實場驗證案例研究，第四屆海峽兩岸土壤及地下水污染整治研討會，九十五年十一月，台中。

鄭幸雄、林大成、廖翊廷、潘柏岑、方彥程、黃良銘，生物土堆翻耕法應用於油污染土壤整治之案例研究，第四屆土壤與地下水研討會論文集（論文發表獎），九十五年十一月，台中。

鄭幸雄、黃良銘、曾怡禎、林大成、潘柏岑、廖翊廷，柴油污染土壤之離場土堆生物復育實驗研究，第四屆土壤與地下水研討會論文集，九十五年十一月，台中。

鄭幸雄、馬志強、劉保文、潘柏岑、黃良銘，以生物界面活性劑促進柴油污染土壤中原生菌生物降解效率，第三屆土壤地下水研討會論文集，九十四年十一月，中壢。

鄭幸雄、潘柏岑、吳龍泉、劉保文、黃良銘、馬志強，評估受柴油污染土壤離場生物復育之成效，第三屆土壤地下水研討會論文集，九十四年十一月，中壢。



- Ang, C. C. and Abdul, A. S., Aqueous Surfactant Washing of Residual Oil Contamination from Sandy Soil. *Ground Water Monitoring and Remediation* **11**(2): 121-127(1991).
- April, T. M., Abbott, S. P., Foght, J. M. and Currah, R. S., Degradation of hydrocarbons in crude oil by the ascomycete *Pseudallescheria boydii* (Microascaceae). *Canadian Journal of Microbiology* **44**(3): 270-278(1998).
- Atlas, R. M., Microbial-Degradation of Petroleum-Hydrocarbons - an Environmental Perspective. *Microbiological Reviews* **45**(1): 180-209(1981).
- Atlas, R. M., Petroleum Microbiology. *Macmillan Publishing Company* New York(1984).
- Atlas, R. M., Assessment of the biodegradation of petroleum in the Arctic. *Microbial Ecology*, Springer-Verlag, Berlin, : 86-90(1987).
- Atlas, R. M., Petroleum biodegradation and oil spill bioremediation. *Marine Pollution Bulletin* **31**(4-12): 178-182(1995).
- Banat, I. M., Makkar, R. S. and Cameotra, S. S., Potential commercial applications of microbial surfactants. *Applied Microbiology and Biotechnology* **53**(5):495-508(2000).
- Bento, F. M. and Gaylarde, C. C., Biodeterioration of stored diesel oil: studies in Brazil. *International Biodeterioration & Biodegradation* **47**(2): 107-112(2001).
- Bidlan, R. and Manonmani, H. K., Aerobic degradation of dichlorodiphenyltrichloro ethane (DDT) by *Serratia marcescens* DT-1P. *Process Biochemistry* **38**(1): 49-56(2002).
- Bossert, I and Bartha, R., The fate of petroleum in soil ecosystems. In: Atlas RM (Ed.). *Petroleum Microbiology* Macmillan Publishing Company, New York: 435-476(1984).
- Chaîneau, C.H., Morel, J. , Dupont, J., Bury, E. and Oudot, J., Comparison of the fuel oil biodegradation potential of hydrocarbon-assimilating microorganisms isolated from a temperate agricultural soil. *The Science of the Total Environment* **227**(2-3): 237-247(1999).
- Chaîneau, C.H., Rougeux, G., Yéprémian, C. and Oudot, J., Effects of nutrient concentration on the biodegradation of crude oil and associated microbial populations in the soil. *Soil Biology and Biochemistry* **37**(8): 1490-1497(2005).

- Chaillan, F., Chaîneau, C.H., Point, V., Saliot, A. and Oudot, J., Factors inhibiting bioremediation of soil contaminated with weathered oils and drill cuttings. *Environmental Pollution* **144**(1):255-265(2006).
- Chaillan, F., Gugger, M., Saliot, A., CoutÃÃ, A. and Oudot, J., Role of cyanobacteria in the biodegradation of crude oil by a tropical cyanobacterial mat. *Chemosphere* **62**(10): 1574-1582(2006).
- Chaillan, Frédéric, Le Flèche, Anne, Bury, Edith, Phantavong, Y-hui, Grimont, Patrick, Saliot, Alain and Oudot, Jean, Identification and biodegradation potential of tropical aerobic hydrocarbon-degrading microorganisms. *Research in Microbiology* **155**(7): 587-595(2004).
- Chaîneau, C. H., Morel, J.-L. and Oudot, J., Microbial degradation in soil microcosms of fuel oil hydrocarbons from drilling cuttings. *International Journal of Rock Mechanics and Mining Sciences & Geomechanics Abstracts* **33**(3): 145A(1996).
- Chaîneau, C. H., Morel, J. L. and Oudot, J., Microbial-Degradation in Soil Microcosms of Fuel-Oil Hydrocarbons from Drilling Cuttings. *Environmental Science & Technology* **29**(6): 1615-1621(1995).
- Colwell, RR and Walker, JD, Ecological aspects of microbial degradation of petro leum in the marine environment. *CRC critical reviews in microbiology* **15**: 423-445(1977).
- Cooper, DG and Zajic, JE, Surface-active compounds from microorganisms. *Advances in applied microbiology* **26**: 229-253(1980).EPA, US, Aerobic Biodegradation of Oily Wastes A Field Guidance Book For Federal On-scene Coordinators. (2003).
- Gilgado, F., Cano, J., Gene, J. and Guarro, J., Molecular phylogeny of the *Pseudallescheria boydii* species complex: Proposal of two new species. *Journal of Clinical Microbiology* **43**(10):4930-4942(2005).
- Herman, D. C., Artiola, J. F. and Miller, R. M., Removal of Cadmium, Lead, and Zinc Fron Soil by a Rhamnolipid Biosurfactant. *Environmental Science & Technology* **29**(9): 2280-2285(1995).
- Kanga, S. A., Bonner, J. S., Page, C. A., Mllls, M. A. and Autenrieth, R. L., Solubilization of naphthalene and methyl-substituted naphthalenes from crude oil using biosurfactants. *Environmental Science & Technology* **31**(2): 556-561(1997).
- Leahy, J. G. and Colwell, R. R., Microbial-Degradation of Hydrocarbons in the Environment. *Microbiological Reviews* **54**(3): 305-315(1990).

Lee, Sang-Hwan, Lee, Seokho, Kim, Dae-Yeon and Kim, Jeong-gyu, Degradation characteristics of waste lubricants under different nutrient conditions. *Journal of Hazardous Materials* **143**(1-2):65-72(2007).

Lee, Sunggyu and Cutright, Teresa, Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated soil. *Journal of Cleaner Production* **3**(4): 255(1995).

Mancera-Lopez M.E., Esparza-Garcia F. , Chavez-Gomez B., Rodriguez-Vazquez R., Saucedo-Castaneda G. and Barrera-Cortes J. , Bioremediation of an aged hydrocarbon-contaminated soil by a combined system of biostimulation-bioaugmentation with filamentous fungi. *Biodeterioration & Biodegradation* **61**: 151-160(2008).

Marin, J. A., Hernandez, T. and Garcia, C., Bioremediation of oil refinery sludge by landfarming in semiarid conditions: Influence on soil microbial activity. *Environmental Research* **98**(2):185-195(2005).

Menzie, C. A., Potocki, B. B. and Santodonato, J., Exposure to Carcinogenic Pahs in the Environment. *Environmental Science & Technology* **26**(7): 1278-1284(1992).

Namkoong, W., Hwang, E. Y., Park, J. S. and Choi, J. Y., Bioremediation of diesel-contaminated soil with composting. *Environmental Pollution* **119**(1): 23-31(2002).

Ortega-Calvo, J. J., Lahlou, M. and Saiz-Jimenez, C., Effect of organic matter and clays on the biodegradation of phenanthrene in soils. *International Biodeterioration & Biodegradation* **40**(2-4):101-106(1997).

Oudot J, Rates of microbial degradation of petroleum components as determined by computerized capillary gas chromatography and computerized mass spectrometry. *Mar Environ Res* **13**:277-302(1984).

Pacheco, Adriana de O., Kagohara, Edna, Andrade, Leandro H., Comasseto, João V., Crusius, Iracema H.-S., Paula, Claudete R. and Porto, André L.M., Biotransformations of nitro-aromatic compounds to amines and acetamides by tuberous roots of *Arracacia xanthorrhiza* and *Beta vulgaris* and associated microorganism (*Candida guilliermondii*). *Enzyme and Microbial Technology* **42**(1):65-69(2007).

Perfumo, A., Banat, I. M., Marchant, R. and Vezzulli, L., Thermally enhanced approaches for bioremediation of hydrocarbon-contaminated soils. *Chemosphere* **66**(1): 179-184(2007).

- Providenti, M. A., Lee, H. and Trevors, J. T., Selected Factors Limiting the Microbial-Degradation of Recalcitrant Compounds. *Journal of Industrial Microbiology* **12**(6): 379-395(1993).
- Rahman, K. S. M., Rahman, T. J., Kourkoutas, Y., Petsas, I., Marchant, R. and Banat, I. M., Enhanced bioremediation of n-alkane in petroleum sludge using bacterial consortium amended with rhamnolipid and micronutrients. *Bioresource Technology* **90**(2): 159-168(2003).
- Reid, B. J., Jones, K. C. and Semple, K. T., Bioavailability of persistent organic pollutants in soils and sediments - a perspective on mechanisms, consequences and assessment. *Environmental Pollution* **108**(1): 103-112(2000).
- Roling, W. F. M., Milner, M. G., Jones, D. M., Fratepietro, F., Swannell, R. P. J., Daniel, F. and Head, I. M., Bacterial community dynamics and hydrocarbon degradation during a field-scale evaluation of bioremediation on a mudflat beach contaminated with buried oil. *Applied and Environmental Microbiology* **70**(5): 2603-2613(2004).
- Semple, K. T., Cain, R. B. and Schmidt, S., Biodegradation of aromatic compounds by microalgae. *Fems Microbiology Letters* **170**(2): 291-300(1999).
- Taylor, L.T. and Jones, D.M., Bioremediation of coal tar PAH in soils using biodiesel. *Chemosphere* **44**(5): 1131-1136(2001).
- Van Beilen, J. B., Li, Z., Duetz, W. A., Smits, T. H. M. and Witholt, B., Diversity of alkane hydroxylase systems in the environment. *Oil & Gas Science and Technology-Revue De L Institut Francais Du Petrole* **58**(4): 427-440(2003).
- Vandyke, M. I., Couture, P., Brauer, M., Lee, H. and Trevors, J. T., Pseudomonas-Aeruginosa Ug2 Rhamnolipid Biosurfactants – Structural Characterization and Their Use in Removing Hydrophobic Compounds from Soil. *Canadian Journal of Microbiology* **39**(11): 1071-1078(1993).
- Venosa, Albert D. and Zhu, Xueqing, Biodegradation of Crude Oil Contaminating Marine Shorelines and Freshwater Wetlands. *Spill Science and Technology Bulletin* **8**(2): 163-178(2003).
- Zhang, Y. M. and Miller, R. M., Enhanced Octadecane Dispersion and Biodegradation by a Pseudomonas Rhamnolipid Surfactant (Biosurfactant). *Applied and Environmental Microbiology* **58**(10): 3276-3282(1992).

Zinjarde, S. S. and Pant, A. A., Hydrocarbon degraders from tropical marine environments. *MarinePollution Bulletin* **44**(2): 118-121(2002).

## 附件四預定進度及查核點

### 一、契約書中計畫預定進度及查核點

| 預定進度(以甘特圖表示)                                      |           |                                                                                             |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|---------------------------------------------------|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 工作內容項目                                            | 月次        |                                                                                             |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|                                                   | 年別        | 100                                                                                         | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
|                                                   | 月份        | 1                                                                                           | 2   | 3   | 4   | 5   | 6   | 7   | 8   | 9   | 10  | 11  | 12  |
| 1.土壤初篩、混合、性質背景分析                                  |           |                                                                                             | ※1  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 2.土堆並 1st 添加菌劑與助劑<br>(已添加 150L 生物製劑)              |           |                                                                                             |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 3.採樣、灑水及翻堆、監測氣體(CO <sub>2</sub> 、O <sub>2</sub> ) |           |                                                                                             |     |     |     | ※2  |     |     | ※4  |     |     | ※6  |     |
| 4.樣品 TPH 分析、分生技術檢測分析                              |           |                                                                                             |     |     |     | ※3  |     |     | ※5  |     |     | ※7  |     |
| 5.2nd 添加菌劑<br>(已累積添加 300L 生物製劑)                   |           |                                                                                             |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 6.3rd 添加菌劑<br>(已累積添加 450L 生物製劑)                   |           |                                                                                             |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 7.期中報告撰寫                                          |           |                                                                                             |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 8.期末報告撰寫                                          |           |                                                                                             |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 預定進度累積百分比(%)                                      |           | 10                                                                                          | 15  | 20  | 25  | 30  | 40  | 50  | 60  | 70  | 80  | 90  | 100 |
| 查核點                                               | 預定完成時間    | 查核點內容說明                                                                                     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 第一季                                               | 2 月 25 日  | ※1.(一批)土壤特性分析                                                                               |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 期中(第一次進度)                                         | 5 月 2 日   | ※2.(4 組)現地土樣調查採樣                                                                            |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 散三季(第二次進度)                                        | 8 月 1 日   | ※3.(4 組)樣品 TPH 分析、分生技術檢測分析                                                                  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 期末                                                | 10 月 31 日 | ※4.(7 組)採樣、灑水及翻堆、監測氣體(CO <sub>2</sub> 、O <sub>2</sub> )<br>※5.(7 組)樣品 TPH 分析、分生技術檢測分析       |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|                                                   | 12 月底     | ※6.(10 組)現地採樣、灑水及翻堆、監測氣體(CO <sub>2</sub> 、O <sub>2</sub> )。<br>※7.(10 組)樣品 TPH 分析、分生技術檢測分析。 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

備註：一、上表須經執行單位確認，並明訂於契約書中。二、期中、期末應明列查核重點。

## 二、實際預定進度及查核點

| 契約書之預定進度累積百分比<br>(%)                            |                          | 100                                                              |    |    | 實際執行進度<br>(%) | 100         |              |
|-------------------------------------------------|--------------------------|------------------------------------------------------------------|----|----|---------------|-------------|--------------|
| 工作內容項目                                          | 實際執行情形                   | 差異分析 (打√)                                                        |    |    | 落後原因          | 困難檢討及<br>對策 | 預計改善完<br>成日期 |
|                                                 |                          | 符合                                                               | 落後 | 超前 |               |             |              |
| 土壤初篩、混合、性質背景分析                                  | 已完成，並於報告中呈現              | √                                                                |    |    |               |             |              |
| 土堆並 1st 添加菌劑與助劑、                                | 已於現場整治土方中添加 150L 生物製劑    | √                                                                |    |    |               |             |              |
| 採樣、灑水及翻堆、監測氣體(CO <sub>2</sub> 、O <sub>2</sub> ) | 已完成※2 各 7 組數據分析。         | √                                                                |    |    |               |             |              |
| 樣品 TPH 分析、分生技術檢測分析                              | 已完成※3 各 7 組數據分析。         | √                                                                |    |    |               |             |              |
| 2nd 添加菌劑                                        | 已於現場整治土方中累積添加 300L 生物製劑。 | √                                                                |    |    |               |             |              |
| 3rd 添加菌劑                                        | 已完成置備，待設定日期進行。           |                                                                  |    | √  |               |             |              |
| 期中報告撰寫                                          | 已完成，並於 8 月 1 日繳交。        | √                                                                |    |    |               |             |              |
| 期末報告撰寫                                          | 已完成，並於 12 月 21 日繳交。      | √                                                                |    |    |               |             |              |
| 查核點                                             | 預定完成時間                   | 查核點內容說明                                                          |    |    |               |             |              |
| 第 1 季，土壤特性分析                                    | 2/25                     | 現場土方背景調查，設定生物復育土方並混合過篩，土壤特性分析(有機碳、土壤質地、全氮、全磷、全鉀及陽離子交換能力分析)       |    |    |               |             |              |
| 期中報告繳交                                          | 5/2                      | 第 2 批:採樣、灑水及翻堆、監測氣體(CO <sub>2</sub> 、O <sub>2</sub> )等項目各 4 組樣品。 |    |    |               |             |              |



|                              |       |                                                                                                                |
|------------------------------|-------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 第 3 季，3 <sup>rd</sup> 生物菌劑添加 | 8/1   | 第 3 批: TPH 分析、分生技術檢測分析等項目各 4 組樣品。                                                                              |
| 期末報告繳交                       | 10/31 | 第 4 批: 現地採樣、灑水及翻堆、監測氣體(CO <sub>2</sub> 、O <sub>2</sub> )等項目各 7 組樣品。<br>第 5 批: 樣品 TPH 分析、分生技術檢測分析等項目各 7 組樣品。    |
|                              | 12 月底 | 第 6 批: 現地採樣、灑水及翻堆、監測氣體(CO <sub>2</sub> 、O <sub>2</sub> ) 等項目各 10 組樣品。<br>第 7 批: 樣品 TPH 分析、分生技術檢測分析等項目各 10 組樣品。 |

備註：上表於期中、期末審查時，由執行單位提出實際執行情形，明列於報告中，做為審查依據。