



行政院環境保護署

108 年度土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案

以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗 (第2年) 期末報告(定稿)

主辦單位： 行政院環境保護署

專案執行單位：國立中山大學／環境工程研究所

專案主持人：高志明 教授

專案執行期間：107 年 01 月 10 日起至

108 年 11 月 30 日止

中 華 民 國 108 年 12 月 印製



行政院環境保護署「土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案」

□申請計畫書□期中報告
□修正計畫書■期末報告 審查意見回覆對照表

計畫年度	107 年度	計畫類型	□ 研究計畫■ 模場試驗
計畫類別	■ 整治 □ 預防 □ 其他	主持人：高志明	NO：
計畫名稱	以聚麩胺酸基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗		
委員 1 審查意見		計畫單位回覆	
1. γ -PGA 基質改質後在實驗室或現場試驗均呈現有效的效果，克服藥劑添加後產生的問題，成果值得肯定。 2. 處理的成本可否再評估取代 γ -PGA 物質？ 3. 可否評估施用 γ -PGA 物質長期對地下環境菌群之改變？		1. 感謝委員指導和肯定。 2. 感謝委員指導，目前生物整治技術是較經濟可行的整治工法，惟氯烯類污染物之生物降解需長期注入基質，藥劑成本為處理成本其中一部分，若減少藥劑灌注次數，其人事與機械成本可大幅降低，進而降低處理成本。目前本團隊針對 γ -PGA 基質流動性與長效性之評估，以利於可應用於不同地質條件與基質選擇多樣性。 3. 感謝委員指導，過去永康場址進行 γ -PGA 基質模場試驗，經由次世代定序菌相結果發現， γ -PGA 基質菌群較顯著變化，其菌群變化有利於脫氯菌群快速生長，有效降解含氯有機污染物。日後加強式自然生物技術， γ -PGA 可作為基質參考選項之一。	
委員 2 審查意見		計畫單位回覆	
1. 本計畫在開發 TCE 污染場址之微生物促進劑，實場應用時要有「能傳輸」、「分佈均勻」、「能保留（存）」功能的同時解決，用許多試驗來證明。 2. 宜參照 TRL 評估技術成熟度。 3. 開發技術定位在客製化之技術服務，還是技術發展成商品化之產品。		1. 感謝委員指導，目前本團隊針對 γ -PGA 基質流動性與長效性之評估，以利於日後應用於不同地質條件，日後會推廣 γ -PGA 基質應用現地試驗證實基質可行性。 2. 感謝委員指導，本團隊研究 γ -PGA 基質可行性，參照 TRL 評估技術成熟度，目前研究階段為 TRL 5-準系統於相似環境測試與 TRL 6-原型於相似環境測試階段，本團隊積極應用現地試驗進行證明，亦期盼 γ -PGA 基質日後可為 TRL 9-商業化階段。 3. 感謝委員指導，本團隊目前構思為技術發展成商品化之產品，若能發展經濟有效、	



	生物可分解且對環境友善之基質，將可提供業者更多選項因應不同地質條件。
委員 3 審查意見	計畫單位回覆
1. 完成改變 γ-PGA 進行現地的灌注，以厭氧還原脫氯機制，進行污染區域改質後 γ-PGA 模場整治成效及成本效益評估。 2. 有關目前批次實驗之菌量分析有發現有益菌的大量成長，是否有比較長期的觀測變化情形。 3. 建議對聚麩胺酸基質加入在土壤地下水中，是否會吸附重金屬情形，長久的最終情形探討。	1. 感謝委員指導，本計畫二年規劃為改質前後 γ-PGA 基質應用同一污染場址進行評估整治成效及成本效益。 2. 感謝委員指導，先前本團隊實驗室管柱試驗觀測約 140 天菌量變化趨勢，其菌群生長較顯著變化，可證實 γ-PGA 有效作為微生物碳源，期盼實際應用現地可類似良好生長趨勢。 3. 感謝委員建議，過去文獻指出 γ-PGA 基質可吸附重金屬，日後針對 γ-PGA 基質吸附重金屬進一步探討。
委員 4 審查意見	計畫單位回覆
1. 研究進度符合規劃，期末報告撰寫品質良好，僅第 3 頁(2)與(5)重覆誤植。 2. 改變 γ-PGA 與添加不同替代基質進行混煉，請問成品為物理性混合或發生化學性質變？ 3. 流通性實驗結果能否確認釋出之 TOC 在不同時間之組成，以確認 γ-PGA 非於初期即流逝，有提升其長效性，建議延長實驗監測時間以確認成效。	1. 感謝委員指導，第 3 頁(2)為改質前整治成效及成本效益評估與(5)為改質後整治成效及成本效益評估，本計畫為同一場址改質 γ-PGA 前後進行整治成效評估。 2. 感謝委員指導，混煉是降低混合物不均勻度的程序，更為高分子材料加工程序上非常重要的一環。材料之物理及化學性質皆與組成之均勻度有密切的關係。 3. 感謝委員建議，後續延長實驗監測時間，以利確認成效。
委員 5 審查意見	計畫單位回覆
1. 第一頁，advection→advection 2. 本研究對 γ-PGA 進行改質，改質的目的是調整黏度，請補充說明除了黏度以外，改質劑對於 γ-PGA 其他性質的影響(例如酸化控制等)。 3. 建議補充說明乳化型 γ-PGA 的基本結構 4. 使用澱粉作為改質劑，建議補充說明澱粉本身受土壤中生物降解的影響。 5. 建議補充說明 pH 值對於粒徑及介達電位	1. 感謝委員指導，有修正為 advection。 2. 感謝委員指導，γ-PGA 基質具有酸化控制，添加改質劑主要為改變基質穩定性及顆粒大小，文獻指出當黏度愈大時，基質傳輸速度亦愈慢，可將 γ-PGA 基質更具長效性。 3. 感謝委員指導，乳化型 γ-PGA 為乳化油與 γ-PGA 進行製備，由於乳化油特性可有效快速攔阻 TCE 包附於油滴顆粒中，形成



的影響。	水相與油相間之相轉移作用，γ-PGA 具有 pH-responsivity 之特性，微生物可利用碳源後迅速增長，而提高污染物降解效率， 4. 感謝委員指導，澱粉是一種多糖類物質。澱粉結構通常有兩種：直鏈澱粉和支鏈澱粉，是聚合的多糖類物質。通常因為延展性大，粘結性能強、吸濕性能低及水溶性差，故嘗試將澱粉列為改質劑。 5. 感謝委員指導，粒徑未受 pH 值變化之影響，介達電位受 pH 值影響相當大，通常電位值越高代表溶液狀態越穩定。若粒子間存在足夠斥力，可防止粒子相互連結，形成團聚現象。
本署審查意見	計畫單位回覆
1. 依據目前現地試驗水文地質條件與水質分析結果，補充說明未來預估改質後之成效。 2. 國外投稿對象與題目建請補充說明。 3. 第 30 頁第一年研究進度及預期完成工作項目包含改質前模場之成本效益評估，建請補充。	1. 感謝貴署指導，目前試驗場址土壤性質為砂質壤土有利於本團隊研究 γ-PGA 基質改質後適用性，目前實驗室管柱流通性試驗土壤分配與現地場址地質條件是為一致，且實驗室改質後成效顯著變化，未來應用現地期盼有類似成效。 2. 感謝貴署指導，備註部份會補充說明，目前投稿期刊名稱：Chemical Engineering Journal，發表題目：Application of γ-PGA as the primary carbon source to bioremediate a TCE-polluted aquifer: A pilot-scale study。 3. 感謝貴署指導，由於今年進行更換場址，目前改質前整治成效正進行中，故評估第二年期中可提出改質前成本效益評估。



行政院環境保護署「土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案」

□申請計畫書□期中報告
 ■修正計畫書□期末報告 審查意見回覆對照表

計畫年度	108 年度	計畫類型	□ 研究計畫 ■ 模場試驗
計畫類別	■ 整治 □ 預防 □ 其他	主持人：	高志明 NO：
計畫名稱	以聚麩胺酸基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第 2 年)		
委員 1 審查意見		計畫單位回覆	
1. 依據第一年的研究成果 γ -PGA 基質及改質的 γ -PGA 基質等注入加強對 TCE 污染物確實達到脫氯的效果，在本年度的模場試驗之預期效果高。 2. 建議依模場試驗結果能找出分解污染物相關有效的生物菌種，作為將來在其他地區 TCE 污染場址的應用。 3. 建議期末報告能進行模場試驗的經濟效益評估，並與其他各 TCE 污染場址整治工法之比較，是否具競爭力？ 4. 建議評估注入 γ -PGA 基質及改質的 γ -PGA 基質等對 TCE 污染物確實達到脫氯的分解等副產物之累積，是否對環境造成影響？		1. 感謝委員指導，本團隊會以嚴謹原則達到預期目標。 2. 感謝委員指導，本團隊有進行次世代定序 (next generation sequencing, NGS) 進行菌種分析，可評估場址整治過程整體菌種趨勢變化，預計今年期末與期末報告可呈現改質前 γ -PGA 灌注後場址菌種趨勢變化與改質後 γ -PGA 灌注後場址菌種趨勢變化。 3. 感謝委員指導，將依照委員建議進行評估，期末報告會提出成本效益分析，探討不同基質適用性。 4. 感謝委員指導，後續基質應用於含氯污染場址將會評估副產物累積現象以及觀察 <i>Dehalococcoides</i> 菌屬。由 <i>Dehalococcoides</i> 菌屬還原基因 (Vinyl chloride reductase A gene, <i>vcrA</i>)， <i>vcrA</i> 基因可產生還原脫氯酵素將氯乙烯脫氯為乙烯。整治過程持續觀察副產物是否累積現象發生。	
委員 2 審查意見		計畫單位回覆	
1. 模場計畫在成果績效自評項目中(二)產業面與(三)政策面，諸多選項中不宜完全空白。		1. 感謝委員指導，今年欲進行專利申請等項目，成果績效自評表，已填寫說明。	
委員 3 審查意見		計畫單位回覆	



1. 主持人之學術研究能力與土水污染技術發展能力均佳，足以勝任本專案計畫。計畫主持人近五年研究與土水技術發展績效亦佳。 2. 本專案計畫執行團隊學術研究能力與土水污染技術發展能力佳，本團隊足以勝任本專案計畫。本計畫團隊近年對土水污染相關計畫執行績效佳。 3. 本專案計畫對未來土壤及地下水污染調查及整治工作推動有貢獻。 4. 依本計畫申請書中所列的成果與績效自評表可推知，本計畫執行所獲得的研究成果以論文發表與專利為主。本計畫對國內土水污染領域的主要貢獻仍待藉由實務應用的成果加以驗證。 5. 本專案計畫書撰寫具體，研究方法具可行性。 6. 本專案計畫書執行後所獲得的研究成果預期對未來土水污染實場具有應用潛力。 7. 本專案計畫書中的文獻蒐集完整，計畫主持人對國內外本研究領域的現況了解。 8. 專案執行期限合理，計畫書中也已說明計畫執行的預期成果。 9. 本計畫為延續性計畫，本年度之前的歷年專案執行成果已有學術論文發表，並已提出專利申請。 10. 本計畫書已依計畫構想審查委員意見調整(修正)。	1. 感謝委員指導與肯定。 2. 感謝委員指導，後續將以嚴謹原則進行計畫成果評估。 3. 感謝委員指導，若計畫成果達到預期成效，將發表國內外文章外，亦將配合土基會進行技術宣導，以期達到技術外溢目的。 4. 感謝委員指導，本團隊尚待現地成果，目前計畫進行模場試驗，若整治成效較顯著，日後推廣可提供業者更多選項。 5. 感謝委員指導。 6. 感謝委員指導，後續將以此方向更深入探討。 7. 感謝委員指導，後續計畫執行階段會持續更新文獻。 8. 感謝委員指導，後續會依照撰寫工作項目進行完成。 9. 感謝委員指導，本計畫進行改質基質為高分子之綠色產品(乳化型 γ-PGA)，若經由實驗室與現地模場成效顯著，乳化型 γ-PGA 可作為基質參考選項之一。將進行乳化型 γ-PGA 專利申請，以利於未來研究避免衍生爭議問題。。 10. 感謝委員指導。
委員 4 審查意見	計畫單位回覆
1. 欠缺計畫執行同意書，自我檢核表。 2. 二年度計畫，請將第一年計畫期末審查意見回覆納入報告。 3. 期中報告，請針對各種 γ-PGA 改質後的物性變化說明。 4. 建議針對長期效益之評估一併考量。	1. 感謝委員指導，申請計畫書修正稿進行補齊資料。 2. 感謝委員指導，已將第一年計畫期末審查意見回覆納入申請計畫書修正稿。 3. 感謝委員指導，後續期中報告提出改質後的物性變化說明。



	4. 感謝委員指導，整治成效評估主要以目標污染物降解效率、基質長效性、地質化學參數變化、基質擴散範圍等幾項主要整治成效評估依據，後續常用基質進行比較。
委員 5 審查意見	計畫單位回覆
1. 本計畫主要之目的為評估以聚麩胺酸(γ-PGA)為基質，以整治受含氯有機溶劑污染地下水之可行性。 2. 本研究主要項目之一為 γ-PGA 基質改質試驗。建議補充說明改質所欲達到的性質目標，例如粘度、粒徑等。 3. 改質的目的是為了使基質可應用於不同場址地形。建議根據整治場址的特性，明定改質基質的穩定性、緩釋性、可分解性與長效性的量化指標。 4. 計畫書提及改質的方式主要為 γ-PGA 基質以不同比例和不同混煉方式添加不同性質(包括羧甲基纖維素、澱粉、瓊脂、明膠、大豆油和界面活性劑等)，建議減少改質劑的種類，以減少現場整治時所探討參數量。 5. 建議查核點增加現場整治時，γ-PGA 對於酸化控制及臭味抑制的效果。 6. 建議查核點增加探討含多價陰離子特性之 γ-PGA，對於生物絮凝及吸附去除水中重金屬之效果。	1. 感謝委員指導，日後計畫將以嚴謹原則進行計畫成果評估 2. 感謝委員指導，依照委員建議進行性質目的量化指標，期中報告詳細說明。 3. 感謝委員指導，依照委員建議針對整治場址的特性，分段說明評估改質基質的穩定性、緩釋性、可分解性與長效性的量化指標，期中與期末報告進行說明。 4. 感謝委員指導，目前試驗場址土壤性質為砂質壤土有利於本團隊研究 γ-PGA 基質改質後適用性，目前實驗室管柱流通性試驗土壤分配與現地場址地質條件是為一致，於實驗室不同參數試驗探討，以最適參數再進行現地模場試驗。 5. 感謝委員指導，γ-PGA 具有帶正電及負電官能基之特性，使 γ-PGA 在整治過程中，可同時鍵結氫離子及硫離子，達到酸化控制及臭味抑制。 6. 感謝委員指導，目前實驗室初步對重金屬進行研究，日後期盼可應用現地場址。
委員 6 審查意見	計畫單位回覆



1. 相關文獻資料收集完善，規劃實驗方法清楚可行。 2. 以取得土地使用同意書。 3. 現場規劃之觀測井依地下水流向來看，位於注藥井的 0 相對下游區，請確認規劃位置是否合適。 4. 建議補述實驗室長時間注入 γ-PGA 的操作成效，以確認分解時間且不會造成地下水阻塞。	1. 感謝委員指導，本團隊亦期望可達到預期目標，日後撰寫相關期刊論文供各先進作為參閱。 2. 感謝委員指導。目前模場試驗下游監測井可測出藥劑總有機碳 (total organic carbon, TOC)，後續第二年會下游 5-10 m 增設監測井，評估藥劑是否有效向下傳輸。 3. 感謝委員指導，本團隊過去研究管柱試驗結果，120 天未有造成阻塞現象發生與永康模場試驗 70 天灌注藥劑下游監測井均可藥劑流動，今年模場試驗評估藥劑傳輸成效。
--	---



行政院環境保護署「土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案」

□申請計畫書■期中報告
□修正計畫書□期末報告 審查意見回覆對照表

計畫年度	108 年度	計畫類型	☐ 研究計畫 ☒ 模場試驗
計畫類別	☒ 整治 ☐ 預防 ☐ 其他		主持人：高志明 NO：
計畫名稱	以聚麩胺酸基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第 2 年)		
委員 1 審查意見		計畫單位回覆	
1. 研究計畫的執行現況、流程及方法已具體說明(Chap.3)。		1. 感謝委員指導，本團隊執行會依照計畫書內容執行。	
2. 計畫後續執行工作項目及內容已說明(P.85)。		2. 感謝委員指導，本團隊依照計畫書內容執行後續工作項目。	
3. 計畫執行進度與預定進度符合，執行進度並無延遲。		3. 感謝委員指導，本團隊會以嚴謹原則達到預期目標。	
4. 依期中報告所說明的成果，研究內容與計畫目的相符。		4. 感謝委員指導，本團隊會以計畫書內容執行進度。	
5. 本次報告屬於期中報告，完整的研究成果建議與前期的成果整合討論說明。建議期末報告能根據研究內容提出具體的討論與建議(尤其是相關的控制參數)，並建議說明研究成果與工程實務應用的關係。(實驗室與實際模廠間的異同)(添加前後 K 值變化與對後續傳輸的影響，建議討論)(圖 17，ORP 與 TOC 之間的關係建議討論)		5. 感謝委員建議，後續期末報告會將實驗室與模場試驗，基質改質前後應用現地模場傳輸的影響提出具體的討論與建議。	
6. 依期中報告的成果所示，本計畫目前的研究成果符合預期。		6. 感謝委員指導，日後計畫將以嚴謹原則進行計畫成果評估。	
7. 有助理(或學生)參與本計畫的執行，符合土水污染人才培育的預期。		7. 感謝委員指導，日後配合各單位進行技術宣導，以期達到技術外溢目的。	
8. 土水污染為國內目前所面臨的議題，本計畫的執行對污染整治技術發展，環境整治政策與社會經濟發展有所助益。		8. 感謝委員指導，若計畫成果達到預期成效，除將發表國內外文章外，亦將配合土基會進行技術宣導，以期達到技術外溢目的。	



委員 2 審查意見	計畫單位回覆
1. 報告撰寫內容優良。 2. 請說明在實場應用上，例如應用井灌注方式注入基質，所配置之試劑以黏滯度為參數指標，是否有所限制或限值。	1. 感謝委員指導，本團隊會以計畫書內容執行進度。 2. 感謝委員指導，文顯指出添加改質劑主要為改變基質穩定性及顆粒大小，當黏度愈大時，基質傳輸速度亦愈慢，可將 γ-PGA 基質更具長效性。目前注入基質二個階段，分為二種黏度原本 γ-PGA 為 2-10 cp，改質後 γ-PGA 約 250 cp。本團隊會選擇 250 cp，其原因主要實驗室管柱流通性試驗模擬現地情況，發現配置 300 cp 以上容易造成阻塞現象，評估應用現地模場可能亦會造成此現象發生，故選擇 250 cp 進行後續試驗。
委員 3 審查意見	計畫單位回覆
1. 本報告撰寫品質良好，內容與成果值得肯定。 2. 第四章內容之段落區分不明確，建議宜依內容予以適時斷句，以利閱讀。 3. 模場試驗結果，部分數據(如 IW 之副產物)呈現突增減之現象，建議內容中應予以說明可能之原因。 4. 請補強說明有關基質或本效益之評估，建議宜將工程成本等一併列入評估。	1. 感謝委員指導，本團隊會以計畫書內容執行進度。 2. 感謝委員指導，後續會依照委員建議進行修正報告。 3. 感謝委員指導，由於現地模場背景濃度數據顯示，該場址已呈現厭氧環境，故背景副產物背景濃度亦較高。當灌注基質後數據顯示，前期副產物有降低主要推估原因，灌注基質整體濃度均下降，持續觀察副產物濃度升高主要為降解成效。 4. 感謝委員指導，目前生物整治技術是較經濟可行的整治工法，惟氯烯類污染物之生物降解需長期注入基質，藥劑成本為工程成本其中一部分，若減少藥劑灌注次數，其人事與機械成本可大幅降低，進而降低工程成本，後續將工程成本一併列入評估。目前本團隊針對 γ-PGA 基質流動性與長效性之評估，以利於可應用於不同地質條件與基質選擇多樣性。



委員 4 審查意見	計畫單位回覆
1. 本計畫延續前年度計畫，現地測試開發之藥劑，對於模場中三氯乙烯之整治成效。實驗內容包括模場注入實驗及監測，菌量分析，NGS 測試，成本效益評估等，計畫實驗內容豐富、成果應用性強。 2. 本計畫前年度模場實驗結果顯示(第 4.3.4 節)，PCE 及 TCE 降解成效佳，惟圖中亦可以看出 VC 濃度仍維持在 0.5mg/L 附近，建議在本年度模場實驗中，後續可以持續監測或是討論如何因應。 3. 模場測試脫氯球菌(或脫鹵球菌)結果，有效提升菌數，是一項很好的結果。建議能適度說明其中能將含氯烯類脫至乙烯之菌數比例，以評估整體污染整治效能。 4. 本年度測試之改質之藥劑以緩釋及長效為目的，在模場實驗中，建議能確認如何評估此二目標，並提出比較成果。	1. 感謝委員指導，本計畫主要為基質改質前後應用於現地場址生物整治之基質適用性，本團隊亦期望可建立完整資料庫，以利於日後整治之基質選擇多樣性。 2. 感謝委員指導，本團隊會持續觀察 VC 是否濃度較高或累積現象發生，觀察發現 VC 濃度偏高會評估現地脫氯菌菌量不足或是碳源不足。若脫氯菌不足可藉由實驗室培養之脫氯菌應用於現地試驗，若碳源不足會再進行灌注基質，以利微生物快速生長。 3. 感謝委員指導，本團隊會嘗試當現地脫氯菌菌數與乙烯比列進行探討說明。 4. 感謝委員指導，目前現地模場緩釋長效性基質現地試驗進行中，後續期末報告可提出一個完整報告。
委員 5 審查意見	計畫單位回覆
1. 整體而言，期中報告進度符合預期且報告內容成果豐碩。 2. 表 4.6 水質分析結果中磷的濃度相當高的原因為何？ 3. 有關 P.69，主成分分析的說明建議可再補充。 4. 有關生物注劑改質前後的模場測試結果，因現場條件已經不同，將如何評估其功效之差別？	1. 感謝委員指導，本團隊會以計畫書內容執行進度。 2. 感謝委員指導，表 4.6 為現地磷背景濃度偏高，該廠址原先未進行整治，只有定期監測，推估原因可能土壤異質性關係，或該地質屬於回填土，可能土壤磷濃度較高。 3. 感謝委員指導，本團隊會再進行補充說明。 4. 感謝委員指導，改質前後的模場測試結果，主要評估藥劑停留時間，再評估整治成效，整體評估脫氯菌菌量與 NGS 菌種趨勢變化。目前灌注二種基質，分別為乳化型 γ-PGA 為乳化油與 γ-PGA 進行製備，由於乳化油特性可有效快速攔阻 TCE 包附於油滴顆粒中，形成水相與油相間之相轉移作用，γ-PGA 具有 pH-responsivity



	之特性，微生物可利用碳源後迅速增長，而提高污染物降解效率，主要應用於現地，評估成效是否與實驗室成效類似。
委員 6 審查意見	計畫單位回覆
1. 本案第 3 次灌注將視相關基質均已流失後再進行，大約於 7 月底 8 月初，惟成效監測次數有限，建議及早進行。 2. 依業興公司執行之地電阻作業顯示，地下水層可能以 3 米為界線，有上下分層情形(淡水及海水)，建議下次執行採樣分析時進行確認，尤其菌相可能會有差異。 3. 國內外投稿部分建請儘早規劃。 4. 研發人數部分未達原核定，備註欄宜說明。	1. 感謝委員指導，會依照委員建議進行評估，若現地基質已流失，會提早進行灌注藥劑，以利後續監測數據，避免影響計畫執行期程。 2. 感謝委員指導，後續採樣會進行分層採樣評估水質、化學參數是否有顯著變化，若發現有顯著變化會進行調整採樣方式，以 3 米分為界線進行分層採樣。 3. 感謝委員指導，目前國內準備投稿目前準備投稿第 31 屆環工年會，其國外投稿發表題目：Application of γ-PGA as the primary carbon source to bioremediate a TCE-polluted aquifer: A pilot-scale study，日後期末報告會附上備註部份會補充說明。 4. 感謝委員指導，目前碩士已有 2 位研發人員，填表會進行修正。



行政院環境保護署「土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案」

□申請計畫書□期中報告
□修正計畫書□期末報告 審查意見回覆對照表

計畫年度	108 年度	計畫類型	☐ 研究計畫 ☒ 模場試驗
計畫類別	☒ 整治 ☐ 預防 ☐ 其他		主持人：高志明 NO：
計畫名稱	以聚麩胺酸基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第 2 年)		
委員 1 審查意見		計畫單位回覆	
1. γ-PGA 是適地下水 pH 為 6~6.5，對非屬地下水環境下，添加其他緩衝液之建議及添加時間可強化論述之。 2. 模場試驗結果豐碩，可增述各配方 γ-PGA 與國外生物藥劑灌注評估其數量、成本及效益。 3. 乳化液添加量是否造成後續持續灌注後產生物膜而造成後期降解效果較不佳？ 4. 建議補述不同配方 γ-PGA 灌注實場之操作參數。 5. 各項 γ-PGA 之穩定性，與含氯污染物反應週期(PCE、TCE、VC 等)。 6. 灌注 γ-PGA 是否造成氨態氮污染地下水污染疑慮？ 7. 依目前對含氯污染物降解成果，是否對低濃度含氯污染物場址作液化自然衰減之效益？		1. 感謝委員指導，由於 γ-PGA 結構上有 NH_2 胺基之官能基解離後和水反應形成氨 NH_3 是鹼性物質，造成 pH 值上升主要原因，灌注地下水中有效將水質參數 pH 維持中性條件，是本基質主要優勢之一。 2. 感謝委員指導，本計畫內容 P.102 有列表各基質單價、優缺點與適合土壤類型，供業者選擇藥劑多樣性與適用性。 3. 感謝委員指導，由本計畫現地試驗灌注乳化型 γ-PGA 約 7-8 月並未有發現此現象發生，可能乳化液添加量較低，因此未影響成效。 4. 感謝委員指導，本計畫內容 P.101 有說明本研究灌注不同配方 γ-PGA 操作參數，可供業者作為參考。 5. 感謝委員指導，本研究基質有效供微生物利用，營照適合脫氯菌生長環境進而有效降解目標汙染物，日後污染場址可先調查土壤性質與菌量濃度，評估是否需額外添加菌種與較適用該場址之基質。 6. 感謝委員指導，現地灌注 γ-PGA 發現 pH 值均有顯著上升變化，系 γ-PGA 結構上有 NH_2 胺基之官能基，解離後和水反應形成氨 NH_3 是鹼性物質，灌注後 NH_3 濃度會明顯增加，隨著基質往下游傳輸，NH_3 濃度會逐漸降低至符合法規標準，於灌藥井未發現 NH_3 濃度累積現象，因此本團隊認為並未造成地下水體二次污染之疑慮。 7. 感謝委員指導，基質灌注後高濃度污染物轉為低濃度，後續可先評估脫氯菌群是否維持一定菌量，再評估是否適合應用自然衰減為最佳效益。	
委員 2 審查意見		計畫單位回覆	



- 計畫改質基質的現地灌注效益良好，達到 γ-PGA 副產品再利用，具環境友善性及經濟效益。 γ-PGA 具 α-NH₂、α-COOH 及 γ-COOH 三種活性官能基，pH 6.2~6.5 為何現地灌注後地下水 pH 值均落在 7~8？ - 可增加對現地整治時適當添加量、頻率、有效範圍評估的方法，以提高實場應用性。 - 請確認為何灌注後，TCE 降解之副產物濃度多持平，無明顯上升情況？ - 本計畫成功開發以食品和生技業副產品-γ-PGA 及其次質乳化型作為現地還原降解 TCE 的有效碳源供應，且可避免地下水酸化及傳輸阻塞的問題，具長效、經濟性及環境有善性，值得肯定。 - 可補充說明本方法是否可考量生產供應實場整治所需用量，及是否有技術門檻。 - 自評表三，價值說明中部份文字文意不清。 - 過去文獻顯示基質後微生物反應將經常造成阻塞.... - 另外將改質進	- 感謝委員指導，將以嚴謹原則進行計畫成果評估。 - 感謝委員指導，由於 γ-PGA 結構上有 NH₂ 胺基之官能基解離後和水反應形成 NH₃ 是鹼性物質，造成 pH 值上升主要原因，灌注地下水中有有效將水質參數 pH 維持中性條件，亦中和微生物產生之有機酸問題，是為本基質主要優勢之一。 - 感謝委員指導，本計畫內容 P.102 有列表各基質單價、優缺點與適合土壤類型，現地整治可先評估土壤性質與菌種數量，再評估選擇較適合該場址之基質，供日後生物整治選擇藥劑多樣性與適用性。 - 感謝委員指導，本計畫 P.71 數據顯示，副產物顯著變化，再 P.88 低濃度之 TCE 污染物，副產物持平沒有明顯上升，主要推估原因，原先副產物濃度較高，因此低濃度 TCE 降解副產物濃度增加不高，才顯示副產物持平狀態。 - 感謝委員肯定。 - 感謝委員指導，本計畫使用之 γ-PGA 基質，系某公司合作提供本團隊藥劑，另，本團隊亦開發乳化型 γ-PGA 或是 CMC γ-PGA，日後本團隊當製備基質，可供應實場整治需用量，並未有技術門檻問題產生。 - 感謝委員指導，已進行修正文意不清部分。
委員 3 審查意見	計畫單位回覆
- 有關聚麩胺酸(γ-PGA)經由改質基質後，試驗更穩定，有效控制 H₂S 的產生，提升處理效率。 - 注入改質基質(γ-PGA)後距離最近井，DW1 之降解效率不佳之原因，請於報告內說明，另設井對四氯乙烯與三氯乙烯之降解差異大之原因，建議能探討說明。 - 建議將試驗的結果整理各地質類型，較適用之基質，另並列出產出之副產物。 - 實際進度符合預定進度，自評表 A 學術產出填寫完整。 - 計畫成果申請該基質專利。	- 感謝委員指導和肯定。 - 感謝委員指導，本計畫 P.86 有進行補充說明，經由本計畫次世代定序分析結果顯示可降解 PCE 與 TCE 濃度菌種顯著增加。TCE 有顯著降低變化，但 PCE 未有顯著變化，評估差異較大可能原因為該地區疑適純相 DNAPL 此地區，導致 PCE 濃度一值無法下降。 - 感謝委員指導，本計畫內容 P.102 有列表各基質單價、優缺點與適合土壤類型，如黏壤土類型可使用 γ-PGA 基質，砂土類、壤土類可使用乳化型 γ-PGA 或是 CMC γ-PGA 等。另，現地整治可先評估土壤性質與菌種數量，再評估選擇較適合該場址之基質。本計畫內容 P.12 有補充生物整治，含氯有機物厭氧還原脫氯反應途徑，列出產出之副產物。



	4. 感謝委員指導。 5. 感謝委員指導，本計畫進行改質基質為高分子之綠色產品(乳化型 γ-PGA)，若經由實驗室與現地模場成效顯著，乳化型 γ-PGA 可作為基質參考選項之一。目前乳化型 γ-PGA 專利審查中，以利於未來研究避免衍生爭議問題。
委員 4 審查意見	計畫單位回覆
1. 表 4.1 不同組別粒徑分析。建議補充說明不同組別具不同粒徑之原因。根據 zeta potential(圖 4.3)似乎乳化液組別應有最小的粒徑。 2. 表 4.2 不同基質組別之營養鹽分析：增加 PGA 的比例對碳氮磷含量的影響趨勢，請補充說明。 3. P.46，注入基質部分附著於土壤顆粒表面，並無法完全沖排。建議補充說明其對環境可能造成的影響。 4. P.47，報告提及改質基質黏度值較高則有效將基質更長效分佈土壤顆粒間，其基質吸附於土壤中之可能性，上述試驗中得到證實改質基質具長效性。但是由相關研究成果顯示，黏度又會影響基質在土壤孔隙間之傳輸性。建議補充說明。 5. 圖 4.8 不同組別吸附 TCE 變化趨勢圖。但圖中的縱軸為 pH。請修正。 6. 圖 4.18 模場試驗氨氮變化趨勢圖。建議補充說明 20-30 天期間，氨氮增加的原因。	1. 感謝委員指導，本團隊有再進行重新量測粒徑大小，顯示乳化油粒徑約 824 nm。後續會再重新測量 zeta 濃度，再進行修正參數。 2. 感謝委員指導，γ-PGA 基質成分較多碳、氮、磷，故改質 γ-PGA 劑量比例增加進而增加碳氮磷含量。 3. 感謝委員指導，黏度值較高則有效將基質更長效分佈土壤顆粒間，其基質吸附於土壤中之可能性改質基質有效停留在孔隙間，前期並未無法完全沖排，後期完全沖排。 4. 感謝委員指導，文顯指出添加改質劑主要為改變基質穩定性及顆粒大小，當黏度愈大時，基質傳輸速度亦愈慢，可將 γ-PGA 基質更具長效性。本團隊會選擇 250 cp，其原因主要實驗室管柱流通性試驗模擬現地情況，發現配置 300 cp 以上容易造成阻塞現象，評估應用現地模場可能亦會造成此現象發生，故選擇 250 cp 進行後續試驗。 5. 感謝委員指導，圖 4.8 已修正完畢。 6. 感謝委員指導，由於 γ-PGA 結構上有 NH_2 胺基之官能基解離後和水反應形成氨 NH_3 是鹼性物質，造成 pH 值上升主要原因，灌注地下水中有效將水質參數 pH 維持中性條件。



專案基本資料表

專案性質	☒ 實驗性質 ☐ 非實驗性質		專案類別 (單選)	☐ 研究專案 ☒ 模場試驗	
研究主題	☒ 整治 ☐ 預防 ☐ 其他				
申請機構系所	國立中山大學環境工程研究所				
機構地址	804 高雄市鼓山區蓮海路70號				
專案主持人	高志明		職等/職稱	西灣講座教授	
協同主持人	董天行		職等/職稱	經理	
專案名稱	中文	以聚麩胺酸基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗			
	英文	Application of poly-γ-glutamic acid to enhance the in situ bioremediation of chlorinated-solvent contaminated groundwater: matrix development and pilot-scale study			
	關鍵字	三氯乙烯、現地生物復育、次世代定序、綠色整治			
執行期程	自民國 107 年 01 月 10 日起 至民國 108 年 11 月 30 日止				
專案主持人	姓名：高志明 E-mail：jkao@mail.nsysu.edu.tw		專線：07-5254413 手機：0935989780		
專任助理	姓名： E-mail：		專線： 手機：		
經費分析總表 (僅模場試驗專案需填寫兩年度金額)	專案預估總經費		第一年 金額	第二年 金額	編列說明
	1.	人事費用	528,000	528,000	(1-5項相加之50%為限)
	2.	貴重儀器使用含維護費	0	0	(與計畫實驗相關)
	3.	消耗性器材與主要費用	521,700	544,000	(與計畫主體相關)
	4.	其它研究相關費用	9,000	9,000	(差旅與租賃費用)
	5.	雜項費用	5,000	10,000	(1-6項相加之5%為限)
	6.	行政管理費	106,300	109,000	(1-5項相加之10%為限)
	專案計畫申請總金額		1,170,000	1,200,000	

專案主持人(簽名及蓋章)：

高志明

日期：2019/2/18



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

108 年度專案成果績效自評表

一、專案基本資料

填表日期：108 年 10 月 01 日

專案性質	☒ 實驗性質 ☐ 非實驗性質	專案類別	☐ 研究專案 ☒ 模場試驗
研究主題	☒ 整治 ☐ 預防 ☐ 其他		
申請機構系所	國立中山大學環境工程研究所	計畫主持人	高志明
專案名稱	以聚麩胺酸基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗 (第 2 年)		
專案執行期程	☐ 申請階段 ☐ 期中 ☒ 期末		

二、成果績效自評

「計畫總預估數」應與計畫審查核定值相符，請執行單位依實際達成之量化成果填寫於「結案達成數」欄位中。

(一) 學術面

項目		目標達成程度	申請 預估數	期中 達成數	期末 達成數	結案 達成率	備註 (說明未達成原因或學術 產出發表日期、發表處、 發表名稱、影響指數等)
A 學術 產出 及 活動	1.國內投稿 (篇數)	(1)論文	1	1	1		應用聚麩胺酸基質 加強含氯有機物污 染地下水之生物復 育成效
		(2)研討會論文	1	1	1		應用改質技術提升 γ - PGA 緩釋機制以加 強含氯有機物污 染 場址之生物整治成 效
	2.國外投稿 (篇數)	(1)期刊論文	1	0	1		Application of γ -PGA as the primary carbon source to bioremediate a TCE- polluted aquifer: A pilot-scale study
		(2)研討會論文					
	3.報告 (篇數)	(1)技術報告					
		(2)研究報告					
	4.專著 (本數)						
	5.辦理學術 會議(場數)	(1)研討/說明會					
		(2)成果發表會					
		(3)論壇					
	6.研發改良	(1)已開發技術					



項目 \ 目標達成程度			申請 預估數	期中 達成數	期末 達成數	結案 達成率	備註 (說明未達成原因或學術 產出發表日期、發表處、 發表名稱、影響指數等)
	技術(項數)	(2)技術平台					
B 人 才 培 育	7.研發人員 (人數)	(1)碩士	2	2	2		
		(2)博士	1	1	1		
	8.研究團隊 (個數)	(1)跨領域團隊					
		(2)跨機構團隊					
		(3)形成研究中心					
		(4)形成實驗室					
9.其他指標 (請自行命名)		(請自填)					

(二) 產業面

項目 \ 目標達成程度			申請 預估數	期中 達成數	期末 達成數	結案 達成率	備註 (說明未達成原因或專利、 技術轉移相關詳細資料)
A 智 慧 財 產 權	1.專利 (件數)	已核准					
		發明					
		新型/設計					
		合計					
		申請中	1	1	1		目前申請審查中
		合計					
B 研 發 技 術 轉 移	2.先期技術 成果移轉	件數					
		授權金(仟元)					
		衍生利益金(仟元)					
	3.技術移轉 (專利)	件數					
		授權金(仟元)					
		衍生利益金(仟元)					
	4.技術移轉 (應用技術)	件數					
		授權金(仟元)					
		衍生利益金(仟元)					
	5.可移轉 產業技術	(1)技術(件數)					
		(2)品種/系(件數)					
C 產 學 研 合 作	6.促成合作研 究	件數					
		金額(仟元)					
	7.促成投資	件數					
		投資金額(仟元)					



目標達成程度			申請 預估數	期中 達成數	期末 達成數	結案 達成率	備註 (說明未達成原因或專利、 技術轉移相關詳細資料)
項目							
8.促成取得業 界科專	件數						
	業界投資金額 (仟元)						
9.其他指標 (請自行命名)	(請自填)						

(三) 政策面

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

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



近年來，造成土壤及地下水污染主要污染來源之一為含氯有機溶劑，由於含氯有機溶劑污染場址需要較長之整治時程，且採用傳統之物理化學整治方法，需要投入較高之整治經費。因此應用生物整治乃成為一種較為經濟且務實的整治方式，含氯有機溶劑之生物降解需長期注入基質，過去文獻顯示現地灌注基質供微生物反應後，經常發生造成地下水水質 pH 值酸化現象與地下水阻塞問題，且硫酸鹽還原作用亦會產生硫化物之臭味問題，造成基質傳輸效果和地下水質不佳以及操作維護費用增加。

針對含氯有機溶劑污染場址，本團隊結合微生物、分子生物及環境工程之理論，將學術與應用結合，實際將研發之技術應用於污染場址實場驗證。目前已研發一系列的污染場址整治系統及基質，可有效整治含氯有機溶劑污染場址。本計畫主要之目的為評估以聚麩胺酸(poly- γ -glutamic acid, γ -PGA)為基質，以整治受含氯有機溶劑污染地下水之可行性。另，將 γ -PGA 基質進行改質，經由改質試驗預期可將基質更加穩定性、緩釋性、可分解性與長效性，日後基質可應用於不同場址地形。

此基質將可有效降解含氯有機物及其降解副產物，達到污染場址整治及防止污染物擴散目的。因 γ -PGA 具有同時帶正電及負電官能基之特性，使 γ -PGA 在整治過程中，可同時鍵結氫離子及硫離子，從而可進行酸化控制及臭味抑制。所開發之技術符合目前國內外推動的現地、被動及生物之綠色整治要項，可有效降低整治成本，為一種更具經濟效益且突破傳統設計思維之節能及環境友善工法。



摘要

本計畫以三氯乙烯(trichloroethylene, TCE)為目標污染物，研究發展處理重質非水相溶液(dense non-aqueous phase liquids, DNAPL)污染地下水之整治技術。由於 DNAPL 污染場址之整治是屬於長期性的工作，選擇生物整治工法是較為經濟可行的整治方式。惟 DNAPL 之生物降解需長期注入主要基質，但基質注入往往造成地下水阻塞及酸化問題。聚麩胺酸(poly- γ -glutamic acid, γ -PGA)是一種經由生化作用合成之高分子聚合物，由於具有保濕性、無毒性、金屬螯合性、生物可分解性及生體相容性等特性，已在各工業領域上有廣泛之運用性。因此 γ -PGA 具有發展做為加強含氯有機物污染地下水之厭氧生物整治基質之優勢和潛力。本計畫目的為評估以 γ -PGA 為基質改質性質前後，整治 TCE 污染地下水之可行性。本計畫為二年工作項目包括(1)以評估 γ -PGA 改質試驗後基本特性分析與物化和生物特性；(2)改質後基質厭氧批次生物降解試驗，以評估 γ -PGA 加強 TCE 還原脫氯之可行性；及(3)以 γ -PGA 改質前後進行現地模場試驗，以獲得實場應用之成果並驗證實驗室數據。第一年本計畫在改質 γ -PGA 基本特性分析結果顯示，各組別粒徑均為 400 nm~5,500 nm 之間，粒徑分布於奈米到微米之間。推估改質組別粒徑大小有效分佈到粗細顆粒間(包括黏土到砂粒)，達到均勻分佈及增加生物可及性目標。改質後組別測量介達電位均為負電位，可使基質有效向下游傳輸，不會被主要帶負電的土壤顆粒吸附在注入點附近。管柱流通性試驗結果顯示 γ -PGA 基質注入體積約 6~7 pore volume (PV)，總有機碳(total organic carbon, TOC)濃度達到平衡趨勢。添加羧甲基纖維素(carboxymethyl cellulose, CMC)之改質組別，約 11~13 PV TOC 濃度達到平衡趨勢，較 γ -PGA 高出 5 PV 貫穿時間，顯示添加羧甲基纖維素之改質可提升其分佈係數(partition coefficient)，增加基質和土壤吸附性。 γ -PGA 與乳化油混合組別，在注入體積約 13~15 PV 後，TOC 濃度可達到平衡，均較 γ -PGA 更能達到緩釋 TOC 效果。以乳化油進行 γ -PGA 改質，pH 則有緩慢降低情形，顯示乳化油之分解性較佳，因其生物降解產生有機酸而使 pH 降低。TCE 生物分解實驗結果顯示，各組別均迅速達到厭氧狀態，TCE 在 35 天降解率均可達 77%以上，其中又以乳化型 γ -PGA 基質組中之 TCE 降解產率最高(35 天達 85%TCE 去除率)。主要原因為 TCE 具有與油脂較高親和性，當乳化型基質注入地下水中可有效快速攔阻 TCE 包附於油滴顆粒中，形成水相與油相間之相轉移作用，此時微生物可利用碳源後迅速增長，而提高污染物降解效率。現地模場評估結果顯示，本場址地下水 TCE 濃度介於 0.439 至 5.89 mg/L 之間，水力傳導係數為 3.9×10^{-3} cm/s，地下水流向由東向西流動，土壤組成份以砂質壤土。107 年現地模場試驗中設置 1 口 γ -PGA 灌注井(IW)、2 口下游監測井(DW1 及 DW2) 及一口上游監測井(UW)，改質前現地試驗中於 IW 注入 10 L γ -PGA 藥劑並稀釋 36



倍藥劑量的推進水。108 年現地模場試驗再新設 3 口下游監測井(DW3、DW4 及 DW5)。於 3 月與 8 月灌注藥劑，其注入 20 L 改質 γ -PGA 藥劑並稀釋 27 倍藥劑量的推進水。本研究現地注藥後 1 年，於注藥(IW)井 TCE 濃度為 1.423 mg/L 改善 0.012 mg/L。監測井結果顯示，DW2 井（距離注藥井 2.5 m）TCE 濃度由 1.993 降至 0.014 mg/L，經灌注基質後各井位均有變化趨勢，IW 井脫氯菌菌屬維持於 $10^6 \sim 10^7$ gene copies/L，各井 TCE 濃度有下降趨勢，而副產物濃度亦有上升情形，地下水未有酸化現象發生。實驗結果顯示上游注藥井降解效果顯著。現地次世代定序結果顯示，本場址於注藥後皆有豐富的 *Proteiniclasticum* 可降解三氯乙烯之菌種，亦發現可進行氮還原、硫酸還原及其他可以消耗環境中氧氣之菌種，快速營造適合脫氯菌生長及還原脫氯之環境。本研究顯示：(1)實驗室成果顯示以 γ -PGA 結合乳化油或 CMC 作為基質，可有效控制 pH，加速 TCE 之還原脫氯效率縮短整治期程，並有緩釋及長效性效果。(2)以 γ -PGA 基質具有極佳之傳輸性，並可釋出高濃度 TOC，達到還原脫氯目標；(3)改質前後 γ -PGA 具有緩衝 pH 之效果，使 pH 維持中性，解決過去生物基質分解後造成水質酸化之問題；(4) γ -PGA 可有效促進現場 TCE 之生物降解，使 γ -PGA 成為一種更具經濟效益及環境友善之綠色基質；(5)推估基質可應用性質，黏壤土類型可使用 γ -PGA 基質，砂土類、壤土類可使用乳化型 γ -PGA 或是 CMC γ -PGA 均較長效性，未來可評估土壤各項參數選擇較適合基質。

關鍵字：三氯乙烯、聚麩胺酸、還原脫氯、現地生物整治



Abstract

Soil and groundwater at many existing and former industrial areas and disposal sites are contaminated by halogenated organic compounds that were released into the environment. When they are released into the subsurface, they tend to adsorb onto the soils and cause the appearance of dense-non-aqueous phase liquid (DNAPL) pool. In situ bioremediation of DNAPLs sites need to inject carbon substrates into the subsurface, which would cause the acidification and odor problems of the subsurface environment. This would deteriorate the groundwater quality and cause the increase in maintenance cost. The poly- γ -glutamic acid (γ -PGA) is a biopolymer synthesized by biochemical processes. Due to its characteristics of moisture resistance, no toxicity, and chelating ability with metals, it has been widely applied by the industry. The objective of this proposed study is to evaluate the feasibility of applying the γ -PGA before and after the modified as the primary substrate to enhance the trichloroethylene (TCE) reductive dechlorination. The two-year project includes three major tasks: (1) analysis of modified basic physical, chemical, and biological characteristics of γ -PGA, (2) performance of anaerobic microcosm experiments, and (3) in situ pilot-scale study. First year results project results from the particle size distribution of modified group show that scope major diameters of modified group were observed, which were around 400 nm and 5,500 nm. Thus, the diameter of modified group globule was in nano to micro-scale ranges. These two different size ranges of modified group globule allowed it to distribute evenly in soil particles. The average zeta potentials of modified group was negative potential. This result implies that modified group globule was in a reduced state, and the reduced zeta potential would result in the increase in the repulsion and friction force between modified group globule and soil particles. This would promote modified group to migrate to farther downgradient area, and thus, the influence zone can be enlarged. The column flow test results show that the γ -PGA matrix injection volume is about 6~7 pore volume (PV). In the modified carboxymethyl cellulose (CMC) group, about 11-13 PV were observed. The trend of total organic carbon (TOC) concentration reached equilibrium. Compared with γ -PGA, there was about 5 PV breakthrough time. It is shown that the addition of carboxymethyl cellulose improves the partition coefficient and increases the matrix and soil adsorption. Subsequent observation of γ -PGA and emulsified oil mixed group injection volume of about 13 ~ 15 PV compared to γ -PGA about 7 PV breakthrough time. The sustained release TOC effect is better than γ -PGA. The γ -PGA was modified with emulsified oil, and the pH was slowly lowered, indicating



that the decomposition property of the emulsified oil was better. The microcosm study was conducted to evaluate the feasibility and effectiveness of using modified group for the enhancement of TCE dechlorination. Each group quickly reached the anaerobic state, and the degradation rate of TCE in 35 days was over 77%. Among them, the degradation yield of TCE in the emulsified γ -PGA matrix group was the highest (85% TCE removal rate at 35 days). The main reason is that TCE has higher affinity with grease. When emulsified matrix is injected into groundwater, it can effectively block TCE from being attached to oil droplets, forming phase transfer between water phase and oil phase. At this time, microorganisms can use carbon source. After rapid growth, the efficiency of pollutant degradation is efficiency. In this study, a DNAPL-contaminated site (TCE-contaminated site) is selected to apply γ -PGA as the primary substrate for field application. The TCE concentrations in groundwater at the selected site ranged from 0.439 to 5.890 mg/L. The site hydraulic conductivity is around 3.9×10^{-3} cm/s, and the groundwater flows to the west direction, The soil composition is sandy loam. 107 years one upgradient well(IW) and two downgradient wells(DW1 and DW2) are selected as the substrate injection and monitoring wells, respectively. Moreover, an upgradient well with TCE contamination is used as a control well for comparison. In-situ test, before modifying 10 L γ -PGA agent was injected into the IW and the 36-fold dose of propellant water was diluted. 108 years Add three new downgradient wells(DW3、DW4 and DW5) are selected as the substrate injection and monitoring wells, respectively. In-situ test, infused with matrix in March and August, after modifying 20 L γ -PGA agent was injected into the IW and the 27 fold dose of propellant water was diluted. Results from the contaminated site show that the TCE concentration in the degradation dropped from the initial concentration of 1.423 mg/L to below 0.012 mg/L after 1 year of operation in IW wells Perfusion matrix, results from the monitoring wells study show that the TCE concentration in the degradation dropped from the initial concentration of 1.993 mg/L to below 0.014 mg/L operation in DW2 wells (2.5 m from the IW wells). Increase in *Dehalococcoides* spp.(DHC) population indicates that the supplement of γ -PGA enhanced the growth of DHC. The IW well dechlorinogen was maintained at $10^6 \sim 10^7$ gene copies/L. The TCE concentration of each well decreased, and the by-products showed an upward trend. The water quality parameter pH did not acidification. The experimental results confirmed that the degradation of the upstream injection wells was significant, and from groundwater samples will be collected from these wells and analyzed for contaminant concentrations, geochemical indicators, DHC, and microbial diversity. The results of the next-generation sequencing show that the site is rich in



Proteiniclasticum degradable trichloroethylene species after injection, and it has also been found that nitrogen reduction, sulfuric acid reduction and other strains that can consume oxygen in the environment can be quickly constructed. Suitable for the growth and dechlorination of dechlorination bacteria. The results of this study show: (1)The results of the laboratory show that γ -PGA combined with emulsified oil or CMC as matrix can effectively control pH, accelerate the reduction and dechlorination efficiency of TCE, and shorten the remediation period, the modified matrix has a slow release and long-lasting effect; (2)The γ -PGA matrix has excellent transmission and can release high concentration TOC to achieve the reductive dechlorination target; (3)Before and after the modification γ -PGA has the effect of buffering the pH, solving the problem that the biological matrix will cause acidification of water in the past; (4) The γ -PGA can effectively promote the biodegradation of TCE In site. The proposed treatment scheme would be expected to provide a more cost effective alternative to remediate chlorinated-solvent contaminated aquifers; (5) The current estimation of matrix is applicable, the clay loam type can use γ -PGA matrix, sand soil and loam soil can be emulsified γ -PGA or CMC γ -PGA, the parameters can used for long-term effects. In the future, the soil can be evaluated to make the parameters more suitable for the matrix.

Keywords: trichlorethylene; poly- γ -glutamic acid (γ -PGA); reductive dechlorination; in situ bioremediation



目錄

摘要.....	I
ABSTRACT.....	III
圖目錄.....	VIII
表目錄.....	X
第一章：計畫前言與研究目的	1
1.1 計畫緣起	1
1.2 研究目的	2
1.3 研究重要性	3
第二章：文獻回顧.....	5
2.1 含氯有機物地下水傳輸與特性及危害	5
2.2 地下水污染物處理技術之種類	6
2.3 含氯有機物生物降解反應機制	9
2.4 不同基質於土壤地下水之應用性	12
2.5 地下水 PH 緩衝溶液與甲烷抑制劑探討	16
2.6 高分子聚合物之應用性	18
2.7 應用不同基質進行改質試驗	22
2.8 分子生物技術於污染整治上的重要性與應用	29
2.9 現地場址背景簡介	31
第三章：研究方法及步驟	33
3.1 Γ -PGA 基本特性分析	34
3.2 以改質試驗探討基質於現地基質傳輸性	35
3.3 現地添加 Γ -PGA 基質之設計	36
3.4 現地之模場試驗	36
3.5 現地微生物資訊分析	37
3.6 本計畫使用儀器使用廠牌	38
第四章：結果與討論	41
4.1 改質 Γ -PGA 基本特性分析	41
4.1.1 基質配製黏度試驗	41
4.1.2 粒徑與界達電位分析	42
4.1.3 均質試驗	44
4.1.4 流通性試驗	46
4.1.5 pH 酸化試驗	48



4.1.6 吸附試驗	50
4.2 微生物批次實驗	51
4.2.1 水質參數變化趨勢	51
4.2.2 各組別降解三氯乙烯	55
4.2.3 各組別降解效率比較	56
4.2.4 各組批次試驗菌量分析	57
4.3 模場試驗(改質前).....	59
4.3.1 現地場址基本水質與微生物分析	61
4.3.2 現地灌注試驗水質分析	62
4.3.3 地下水厭氧環境下化學參數變化	65
4.3.4 含氯有機物降解趨勢	68
4.3.5 模場分子生物技術分析	72
4.4 模場試驗(改質後).....	80
4.4.1 現地灌注試驗水質分析	83
4.4.2 含氯有機物降解趨勢	86
4.4.3 地下水厭氧環境下化學參數變化	90
4.4.4 模場分子生物技術分析	94
4.5 基質成本效益評估	101
第五章 結論	105
參考文獻	1



圖目錄

圖 2.1 含氯脂肪組碳氫化合物現地生物復育之示意圖(本團隊繪製).....	9
圖 2.2 微生物利用電子供給者產氫及醋酸形成之主要代謝途徑(本團隊繪製).....	12
圖 2.3 含氯有機物厭氧還原脫氯反應途徑(Kranzioch et al., 2015).....	12
圖 2.4 聚麩胺酸(γ -PGA)之結構物(Cao et al., 2018).....	19
圖 2.5 γ -PGA 之鹽類結構(a)與一價金屬鍵結；(b) γ -PGA 與二價金屬鍵結(Mu et al., 2018)	20
圖 2.6 明膠化學結構.....	26
圖 2.7 澱粉結構.....	27
圖 2.8 瓊脂結構.....	27
圖 2.9 前鎮區興邦段場址範圍示意圖.....	31
圖 2.10 現場注藥的示意圖.....	32
圖 3.1 γ -PGA 基質流通性試驗裝置示意圖.....	35
圖 4.1 不同組別監測黏度變化圖.....	42
圖 4.2 管柱土壤與粒徑分布百分比圖.....	43
圖 4.3 改質基質介達電位圖.....	43
圖 4.4 不同組別靜置 48 小時後基質變化圖.....	44
圖 4.5 不同時間各組別 TOC 濃度變化趨勢圖.....	45
圖 4.6 不同基質於土壤管柱傳輸與 TOC 濃度之變化.....	47
圖 4.7 不同組別 pH 與 TOC 變化趨勢圖.....	50
圖 4.8 不同組別吸附 TCE 變化趨勢圖.....	51
圖 4.9 微生物厭氧批次實驗 pH 變化趨勢圖.....	53
圖 4.10 微生物厭氧批次實驗 ORP 變化趨勢圖.....	53
圖 4.11 微生物厭氧批次實驗 DO 變化趨勢.....	54
圖 4.12 微生物厭氧批次實驗 TOC 濃度變化趨勢圖.....	54
圖 4.13 各組別降解 TCE 濃度變化趨勢圖.....	56
圖 4.14 各組別副產物濃度變化趨勢圖.....	57
圖 4.15 批次實驗各組別 <i>DHC</i> 菌屬之變化圖.....	58
圖 4.16 107 年模場試驗井位示意圖.....	60
圖 4.17 模場試驗之基本水質監測趨勢圖.....	64
圖 4.18 模場試驗氨氮變化趨勢圖.....	64
圖 4.19 模場試驗化學參數變化趨勢圖.....	67
圖 4.20 模場試驗 PCE 濃度變化趨勢圖.....	70
圖 4.21 模場試驗 TCE 濃度變化趨勢圖.....	70
圖 4.22 模場試驗副產物變化趨勢圖.....	71
圖 4.23 模場試驗 <i>DHC</i> 菌屬變化趨勢圖.....	72
圖 4.24 各井位灌注基質前後菌相豐富度變化圖.....	76
圖 4.26 各井位灌注基質前後菌群 Heatmap 圖.....	77



圖 4.27 108 年模場試驗井位示意圖	81
圖 4.28 模場現地灌注地表 ERT 探測分析結果(業興公司提供).....	81
圖 4.29 模場試驗之基本水質監測趨勢圖	85
圖 4.30 模場試驗之氨氮監測趨勢圖	85
圖 4.31 模場試驗 PCE 濃度變化趨勢圖	88
圖 4.32 模場試驗 TCE 濃度變化趨勢圖	88
圖 4.33 模場試驗副產物變化趨勢圖	89
圖 4.34 模場試驗化學參數變化趨勢圖	93
圖 4.35 模場試驗 <i>DHC</i> 菌屬變化趨勢圖	95
圖 4.36 各井位灌注基質前後菌群 Heatmap 圖	98



表目錄

表 2.1 市售乳化基質種類及特性 (本團隊繪製).....	15
表 2.2 γ -PGA 應用之工業類別(本團隊繪製).....	19
表 2.3 歷年學者在環境上應用 γ -PGA 之彙整(本團隊彙整).....	21
表 2.4 應用於土壤及地下水脫氯微生物菌相之分子生物技術.....	30
表 2.5 場址土壤地質特性.....	32
表 2.6 場址各簡易井設置規格.....	32
表 3.1 彙整不同設備儀器之廠牌及型號.....	38
表 4.1 不同組別粒徑分析.....	43
表 4.2 不同基質組別之營養鹽分析.....	45
表 4.3 基質流通性試驗之管柱基本操作參數.....	47
表 4.4 場址土壤地質特性.....	60
表 4.5 場址各簡易井設置規格.....	60
表 4.6 模場試驗地下水脫鹵球菌分析.....	61
表 4.7 PCE 與 TCE 降解效率.....	71
表 4.8 彙整各菌種功能.....	77
表 4.9 場址各簡易井設置規格.....	82
表 4.10 PCE 與 TCE 降解效率.....	89
表 4.11 為本場址所含有之菌屬以及該菌種之功能.....	99
表 4.12 常見基質單價比較.....	103



第一章：計畫前言與研究目的

1.1 計畫緣起

過去數十年經濟發展帶來的高科技物品亦給人民帶來便利的生活，但背後亦產生大量有害污染物，使得環境污染問題層出不窮，造成污染之原因絕大部分是因工廠未妥善處理這些含氯脂肪族碳氫化合物(chlorinated aliphatic hydrocarbons, CAHs)與廢棄物，甚至是惡意非法棄置、掩埋或灌注等(Chen et al., 2019a)。造成地下水環境遭受破壞，近幾年來研究證實含氯有機物對健康具高風險及不良影響，在國內外皆備受重視，含氯有機溶劑為地下水中最常見之重質非水相溶液(dense non-aqueous phase liquids, DNAPLs)污染物，有低可燃、低沸點、高蒸氣壓及對脂類有高溶解力，其比重大於水，對水溶解度較低(Kim et al., 2019b)。溶劑亦緩慢釋出至地下水體中，導致地下水長期遭受嚴重污染，又因黏滯性大、密度高且溶解性低等特性，在地下水層內不容易隨水移動，因此傳統的土壤與地下水整治技術難以有效處理(Wang et al., 2016a; Liu et al., 2017; Field, 2018)。目前已被國際癌症研究局(international agency of research on cancer, IARC)歸類為極可能導致人體致癌之物質，若人體長期暴露時，則會對肝、腎等臟器及神經、血液方面造成損害(Cheng et al., 2019)。

目前國內外最具代表性之含氯有機溶劑為四氯乙烯(tetrachloroethene, PCE)、三氯乙烯(trichloroethylene, TCE)及 1,2-二氯乙烷(1,2-dichloroethane, 1,2-DCA)，污染物於地下水中因其特性而常以比水重之非水相液體存在，此類型污染物極可能因受重力與毛細壓力影響逐漸滲透至未飽和含水層而污染地下水，尤其是疏水性之含氯有機物，容易吸附在土壤中並緩慢脫附而形成長期污染源，對地下水之水質造成長期危害，且增加生物整治之困難度(Chang et al., 2017; Dolinová et al., 2017; Arora, 2018)。現今國內外學者運用加強式生物整治技術(enhanced bioremediation)處理受污染場址之案例已十分普遍，其中以自然生物復育作為整治優先之選擇，是綠色整治概念及對環境友善之目標。此方法經由基質或營養鹽添加的方式，達到促進現地微生物生長、加強生物降解反應及達到分解污染物的目的，此技術藉由微生物代謝污染物之能力，來轉換或礦化污染物，以達到降低或去除目標場址中污染物濃度與毒性、控制污染擴散及降低污染範圍之目的(Mayer-Blackwell et al., 2017; Němeček et al., 2018; Borden et al., 2019)。由於地下水中 DNAPLs 污染物傳輸流佈包含移流(advection)與延散(dispersion)/擴散(diffusion)作用機制，其主要受到土壤結構及地下水層孔隙之影響，大部分 DNAPLs 傳輸以移流及擴散作用為主，在低滲透性地層可視為地下水停滯區或非移動區域(immobile zone)，此地層將影響污染物及生物基質之傳輸(Badin et al.,



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

2016; Schaefer et al., 2018)目前主要加強生物分解的方式可分為以下三點：(1)添加生物可分解之營養鹽或電子接受者於污染場址，其活化場址內既有的微生物族群；(2)於污染場址額外添加對污染物具有分解能力的特殊菌種，或利用基因工程技術，發展具特定污染物分解能力之基因重組微生物；(3)利用生物處理工法將污染物經通氣或土壤洗滌後送至特殊生物反應器或是生物濾床、生物洗滌塔去除污染物，或改用地耕法、堆肥處理法(Cecchin et al., 2017; Guo and Brusseau, 2017; Kumar et al., 2018b; Wang et al., 2019)。

目前國內外發展許多土壤與地下水整治的技術，整治工法主要可分為現地處理及離地處理兩大類，由於離地處理方式需要的費用及時間比現地處理方式更高，故目前均趨向於現地處理。現地處理目前發展出多項技術，生物整治為現今整治工法方式中較為經濟實惠且對環境衝擊較小的技術(Lien et al., 2016; Akash et al., 2018; Gruiz et al., 2019)。微生物在厭氧的環境下，可藉由添加營養基質促進微生物生長加強還原脫氯作用而降解目標污染物，當基質經微生物代謝分解後，可將有機物降解或轉化成其他產物如甲烷及二氧化碳之最終產物，以提供微生物生長所需之能量。過去研究發現，於整治期間，常常會遇到甲烷化階段，此時甲烷生成菌(methanosarcina)生長會抑制脫氯菌之生長，抑制脫氯菌將會導致無法完全還原脫氯或降低還原脫氯效率(Nobre et al., 2017; Scalzi et al., 2018)。近年來研究聚麩胺酸(poly- γ -glutamic acid, γ -PGA)廣泛應用於不同領域如食品品質改良、醫藥、化妝品及農業等，各領域當中亦有良好成果，係利用微生物(*Bacillus* sp.)或酵素(glutamyl transpeptidase)將麩胺酸經由生化過程中聚合而成的一種生物可分解高分子材料，具有保濕性、無毒性、金屬螯合性、生物可分解性及生體相容性等多項特性(Chen et al., 2019b; Liang et al., 2019)。 γ -PGA 結構上功能性具經濟價值，具有跨領域應用之可行性，於環境領域應用上可藉由 γ -PGA 含多價陰離子之特性，亦是一種良好的生物絮凝劑具有吸附去除水中重金屬之效果，對於目前化學合成高分子具有較優異的取代性(Yang et al., 2018c)。因此，本計畫將以此區域為模場試驗區，第一年將有評估以 γ -PGA 做為加強 TCE 還原脫氯基質之可行性，以生物還原脫氯技術整治本區域之 TCE 污染，並評估其成效及成本效益。此外，本計畫第二年將以不同的改質技術改質 γ -PGA，使其除發揮本身的特性外，並可提升改質後的 γ -PGA 在長效性方面的優勢，使使其更具應用潛力，以提升整治成效。本團隊將利用模場試驗區進行改質前後的 γ -PGA 的測試，驗證改質前後的 γ -PGA 對 TCE 污染場址的整治成效與效益評估。

1.2 研究目的

整治場址中 DNAPLs 之處理具有相當高之難度及挑戰性，PCE、TCE 為地



下水中最常見 DNAPLs 污染物，我國法規規範 TCE 濃度在地下水為 0.050 mg/L 及飲用水為 0.005 mg/L。 γ -PGA 為生物合成之高分子聚合物，具有生體相容性、無毒性，加上生物學上之多功能性，已開始應用在各個領域之研究，目前在環境上處理重金屬具有相當良好之成效(Yang et al., 2018c)亦應用生物整治作為基質良好成效(Sheu et al., 2018a)。 γ -PGA 具有可生物分解之特性，故本計畫將 γ -PGA 作為基質針對降解 TCE 進行規劃設計。藉由添加 γ -PGA 作為電子提供物質及營養基質，加強現地微生物對四氯乙烯及三氯乙烯之厭氧還原脫氯。由於 γ -PGA 為一生物性聚合產品，在環境中無毒及可生物降解之特性，故可作為豐富碳源供給微生物利用，因此本計畫目的如下：

- (1) 場址地質水文資料收集外，並將規劃設計模場試驗區
- (2) γ -PGA 進行現地的灌注，以厭氧還原脫氯機制，進行污染區域改質前 γ -PGA 模場整治成效及成本效益評估
- (3) 實驗室 γ -PGA 基質改質試驗。
- (4) 改質後 γ -PGA 管柱流通性試驗與其他相關試驗了解 γ -PGA 物化及生物特性。
- (5) γ -PGA 進行現地的灌注，以厭氧還原脫氯機制，進行污染區域改質後 γ -PGA 模場整治成效及成本效益評估
- (6) 完成以整治牆的概念，發展出以被動式現地生物還原脫氯法整治 TCE 污染之地下水之設計準則。
- (7) 研究即時定量聚合酶連鎖反應(real-time polymerase chain reaction, qPCR) 搭配次世代定序(next generation sequencing, NGS)分析技術以瞭解特徵基因和優勢菌之變化，做為應用 γ -PGA 整治 TCE 之成效驗證參考依據。
- (8) 改良式基質，突破過去基質衍生之影響，日後生物復育選定基質灌注更具多樣性。

1.3 研究重要性

含氯有機溶劑為造成土壤及地下水污染之主要污染來源之一，由於含氯有機溶劑污染場址需要較長之整治時程，若採用傳統之物理化學整治方法，需要投入較高之整治經費。現今以生物整治乃成為一種較為經濟且務實的整治方式，含氯有機溶劑之生物降解需長期注入主要基質，過去研究發現基質注入將造成阻塞及地下水酸化問題產生，且硫酸鹽還原作用亦會產生硫化物之臭味問題，造成基質傳輸效果和地下水質不佳以及操作維護費用增加。針對含氯有機溶劑污染場址，



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

本團隊結合微生物、分子生物及環境工程之理論，將學術與應用結合，實際將研發之技術應於污染場址實場驗證。目前已研發一系列的污染場址整治系統及基質，可有效整治含氯有機溶劑污染場址，本計畫主要之目的為評估以聚麩胺酸為基質，以整治受含氯有機溶劑污染地下水之可行性。 γ -PGA 具有胺基，胺基釋放後為和水反應產生氨，由於氨為鹼性物質，因此可中和有機碳在厭氧反應後產生的酸，解決以往生物基質會造成水質酸化之問題。所開發之技術符合目前國內外推動的現地、被動及生物之綠色整治要項，可有效降低整治成本，為一種更具經濟效益且突破傳統設計思維之節能及環境友善工法。



第二章：文獻回顧

2.1 含氯有機物地下水傳輸與特性及危害

CAHs 具有沸點低、可燃性低、高脂溶性、蒸氣壓密度高以及高化學穩定性等特殊物化性質，是工業上大量被使用的有機溶劑常廣泛的被作為金屬脫脂溶劑，常用在金屬電子零件之清洗、去油等製造過程、稀釋劑或零件洗滌劑及乾洗店的去漬劑等(Lai et al., 2017; Dumas et al., 2018; Lin et al., 2018; Chen et al., 2019a)，當 CAHs 污染源釋出而侵入地下環境後，首先到達通氣層土壤，此層土壤之孔隙中，同時含有空氣及吸附水，TCE 在通氣層時可能揮發成蒸氣相、溶解於水中形成溶解相、殘留於所通過之路徑而形成殘留量、或受重力影響而形成向下沉降的移動相。當 CAHs 穿過毛細作用帶及地下水位面，進入飽和含水層後，由於飽和含水層的土壤孔隙完全為水所充滿，因此 CAHs 無法揮發成氣相，而以溶解相，殘留量及移動相存在於此飽和含水層中，且在飽和含水層會繼續向下沈陷(Srirattana et al., 2017; Cheng et al., 2019; Kim et al., 2019b)。CAHs 於地表下之分佈極其複雜，使得部分污染場址，並無法以現有技術整治達到特定之水質標準，其整治困難度亦較一般地下水污染為高，因此其相關技術之研究，持續有相當高的需求(Maire et al., 2018)。地下水中常見的污染物種類包括有機溶劑、重金屬及油品污染物等。其中有機溶劑可分為溶於地下水而分為水相液體(aqueous phase liquid, APL)與非水相液體(non-aqueous phase liquid, NAPL)兩種類型，其兩種類型有機溶劑的物化性質並不相同，對環境傷害及人體健康有不同程度的影響，於含水層中與地下水共存的情況亦全然不同。NAPL 呈現難溶解的情況，依密度特性又可分為密度小於水(1 g/cm^3)，稱之為輕質非水相液體(light non aqueous phase liquid, LNAPL)，以及前述密度大於水之 DNAPL，其中以 DNAPL 污染物對環境影響最嚴重。若 DNAPL 傳輸至地表下，在不同的地質條件下(土壤層或岩層)，殘留相 DNAPL 溶出分布於地下水中欲將所有的殘留相回收相當困難的，而這些殘留物在土壤孔隙中的 DNAPL 即成為地下水之污染源(Wang et al., 2016a; Liu et al., 2017; Field, 2018; Brusseau, 2019)。過去知名的案例如美國 RCA 桃園廠的含氯碳氫化合物污染、中石化台南安順廠之五氯酚、汞及戴奧辛污染、彰化裕台化工之有機氯農藥污染、桃園中油煉油廠之燃料油外洩及觀音鄉高銀化工之鉛及鎘污染等，這些污染事件的發生不但對環境與自然資源造成直接的衝擊，相對的使人體的健康受到威脅，民眾的大規模抗爭不僅浪費社會成本，間接的造成社會的動盪與不安。

當地下水中發現之有機化合物多為非水相液體，非水相液體因為與水不相溶解或僅微溶於水，進入地下水層，而形成獨立之液相。由於 CAHs 具有密度大、



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

難溶於水、低黏滯性與高移動性等特性，因此當 CAHs 進入地表下時會迅速向下移動，而在沈移過程中將形成蒸氣相(vapor phase)、自由相(mobile phase)、殘留相(residues phase)及溶解相(dissolved phase)之不連續分布層。NAPLs 和水交界處會形成一界面，於此二種液體交界面上有「界面張力」，促使 NAPLs 和水相互不混合互溶(Leharne, 2019)。當 NAPLs 污染量大時，未溶於水且未揮發的部分，即以液相存在，被稱為自由相物質，NAPLs 會因為重力及毛細作用而在土壤顆粒孔隙中移動。當 NAPLs 以液態在土壤顆粒的孔隙中移動時，一部分的 NAPLs 會在極小的孔隙中被侷限住，而未能隨著主要的 NAPLs 物質持續移動，而形成土壤中的 NAPLs 的非移動性物質，此殘留物質會因土壤含水量的改變而再度溶於水中、再度揮發或再進入更細緻的孔隙內。不論是以何種型態存在，只要有 NAPLs 的自由相存在，該區域即存在著氣、液、固相的污染與 NAPLs 自由相的污染源(Dafny, 2017; Leharne, 2019)，NAPL 殘留量將緩慢地溶於水，形成溶解相的 DNAPL，完全溶解可能需要數十年至數百年之久，造成土壤與地下水環境嚴重之危害。此外，DNAPL 可以穿透黏土層或岩盤極細的裂隙，經由這些裂隙而向下滲透污染很深的含水層，此將增加整治上的困難度(Buckley, 2017; Maire et al., 2018; Parker et al., 2018)。DNAPLs 的物質具有特殊的物化特性，例如高密度、低黏滯性、高揮發性、低溶解度及低吸附性等，因此，以工程技術而言，DNAPLs 污染的整治就更具挑戰性。由於 TCE 具滲透、揮發、脂溶等特性，且具致基因突變性、致癌性等毒性特徵，故經由人體直接接觸或呼吸道吸入，會對呼吸、消化、造血系統及中樞神經、皮膚、肺、肝、腎、心臟等器官造成危害(Lerner et al., 2018; Cheng et al., 2019)。

2.2 地下水污染物處理技術之種類

土壤及地下水污染場址整治技術種類繁多，以整治工法可分為三類：(1)是移除污染物或使其轉化為無害物質；(2)是防止污染物釋出；(3)是減少污染物釋出。主要原理可分為物理、化學與生物等三種，每種方法必須依據整治場址的需求與現地情況，應用最適的方法加以整治才能獲得最大的效益(Guo and Brusseau, 2017; Boulding, 2019; Gruiz, 2019)。

物理化學處理方法(physical/chemical treatment)具整治時間較短、設備普及等優點，惟無法將污染整治至完全無害，有增加整治計畫成本之虞慮。物化處理技術可分為現地(in situ)處理及離地(ex situ)處理兩大類，現地整治技術是在污染場址現場直接將污染物加以處理，或將污染物加以固定以避免污染物擴散，例如：土壤氣體抽取法(soil vapor extraction, SVE)、現地化學氧化法(in-situ chemical oxidation, ISCO)和透水性反應牆法(permeable reactive barrier, PRB)，化學氧化處



理技術(chemical oxidation)被廣泛的運用於土壤及地下水污染的場址，其原理是將化學氧化劑注入地下污染區，經由破壞或轉化污染物，並降低其質量、移動性及毒性的方法(Liao et al., 2018)，往往可快速降解污染物及符合經濟成本之效果，化學氧化劑主要應用為過氧化氫(H_2O_2)、高錳酸鉀($KMnO_4$)及臭氧(O_3)(Akbar et al., 2019)。

生物整治技術又稱作生物復育技術生物復育(bioremediation technology)是利用微生物分解土壤或地下水中之污染物，為一最自然的淨化程序 (Wong et al., 2017; Parween et al., 2018; Brusseau, 2019)。整治與復育經常交替使用，但整治較著重於污染物的去除，以降低污染風險為主要目標；而復育著重的不只是污染的去除，更期望能恢復受污染場址的原有用途。相對而言，生物復育技術因其本身特性而較能符合後者的需求。對於物化整治程序而言，生物復育程序的整體反應速率較低，但長期而言，生物復育對場址的破壞性較小，較符合復育的需求 (Dubchak and Bondar, 2019)。現地應用自然衰減之整體反應速率較低，因此加強式生物復育技術備受重視，加強式生物復育是將生物復育技術加以改善、強化，使其反應速率更合於工程化的需求。目前常見加強生物分解的方式大致可分為以下：(1)添加生物可分解之營養鹽或電子接受者於污染場址，活化場址內既有的微生物族群；(2)在污染場址內直接添加對污染物具有分解能力的特殊菌種，或利用基因工程技術，發展具特定污染物分解能力之基因重組微生物；(3)利用生物處理將污染物經通氣或土壤洗滌後送至特殊生物反應器或是生物濾床、生物洗滌塔去除污染物，或是採用地耕法、堆肥處理 (Hermon et al., 2019)。復育法 (phytoremediation)、監測式自然衰減法(monitored natural attenuation, MNA)、現地地下水整治法及生物整治牆(emulsified biobarrier) (Kwon et al., 2016; Dong et al., 2018)。MNA 定義在無人為作用介入下，因現地自然發生的物理化學及生物作用，使得污染物的移動性、體積、毒化性、質量或濃度，降低到足以保護人體健康和自然環境的水準(Hazen, 2019; Kawabe and Komai, 2019)。在地下自然環境之中，可將自然衰減分為吸附、稀釋、延散、生物降解及化學反應等五個主要作用，前三項為非破壞性的作用後兩項為可對污染物進行破壞性作用，其中最重要的降解因子為生物降解作用，然而，自然衰減依據污染源位置與地下水流方向判定區域不同，可能有不同的機制存在。含氯化合物污染場址之現地生物復育方式又可分為好氧生物復育、厭氧生物復育二種，則以生物性的厭氧還原脫氯反應為最重要。進行現地生物復育時污染場址需具備有生物生長必須之營養鹽、碳源、電子供給者、電子接受者以及適當之生長環境，否則需額外提供以刺激微生物生長。污染物在不同的條件下如：好氧或厭氧，有不同的反應途徑，在厭氧的環境下，含氯碳氫化合物是作為電子接受者(electron acceptor)，氯離子將逐漸被氫離子取



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

代。TCE 會依序降解成二氯乙烯(dichloroethene, DCE)及氯乙烯(vinyl chloride, VC)，環境如持續維持在厭氧的條件下且有足夠電子供給者，則可能依序降解為乙烯及乙烷，但若環境轉變為偏好氧的條件時，則會以好氧直接共代謝反應成二氧化碳(Chang et al., 2018; Wilson et al., 2019)。在厭氧還原脫氯程序中，由於含氯碳氫化合物是扮演著電子接受者的角色，若環境中無持續性提供碳源及電子供給者，則厭氧還原脫氯程序難以將 VC 分解完全，所以環境中必需要有適當的碳源，以做為微生物生長所需持續還原脫氯降解之程序，避免中間產物之毒性較原污染物更高(Jiang et al., 2019; Maier, 2019)。近年來 DNAPLs 污染場址選擇應用生物整治技術較多，其 TCE 在厭氧下進行還原脫氯生物降解反應下，產生之低氯數副產物例如順式-1,2-二氯乙烯(cis-1,2-dichloroethene, c-DCE)、反式-1,2-二氯乙烯(trans-1,2-dichloroethene, t-DCE)、1,1-二氯乙烯(1,1-dichloroethene, 1,1-DCE)與 VC。證實現地生物整治技術可行性，由於現地生物整治可藉由基質藥劑的注入提高其還原能力與脫氯速率例如乳酸(lactate)、糖蜜(molasses)或食用油 (Yang et al., 2018b)或固態基質例如堆肥(compost)或稻殼(rice husk) (Jawaid et al., 2017)。過程中需要頻繁的注入水溶性基質以保持其在地下水中符合濃度，將導致在整治執行和維護成本顯著增加，若使用固態基質，被限制於淺層地下水整治處理系統堵塞亦可能導致現場應用中維護問題與增加成本(Jawaid et al., 2017)。

生物整治技術是以添加、植入或自然發生的過程促進微生物生長，將受污染的土壤或污泥中的有機物經共代謝或氧化還原作用，降解或轉化成較低毒性或是二氧化碳及水等無毒性之產物，以達到整治之目標。目前新穎整治技術方面，應優先採用現地(in situ)、被動式(passive)及生物(bio)為主之整治系統(Jeon et al., 2016; Dangi et al., 2019)，而美國環保署認為較符合現地、被動及生物整治概念之技術即包括現地生物復育(in situ bioremediation, ISB)結合透水性反應牆(permeable reactive barrier, PRB)(Gholami et al., 2019)。PRB 進行地下水整治時，可在污染源的下流設立一道垂直於地下水水流方向之溝渠或反應牆、一排垂直式或水平式之整治井、或一個漏斗式及水處理系統，溝渠、整治井或漏斗式集水處理系統內置反應物質，這些系統統稱被動式現地透水性反應牆如圖 2.1 所示。當污染之地下水流過此透水性之反應牆時，污染物和反應牆內之反應物質發生生物或物理吸附反應而被分解或移除，流過反應牆地下水即為整治過之地下水。在透水性反應牆內可能包含某些物質，以利用生物及物理的處理程序處理污染物，當污染帶隨地下水通過反應牆時，反應牆中之反應物質會對污染物產生生物性降解，使污染物被分解成較無害之副產物，進而阻止污染物穿過污染場區邊界或切斷污染帶來源，再由自然衰減過程之侷限污染帶(Weatherill et al., 2018)。對於含氯碳氫化合物整治而言，可分為植生復育法、透水性整治牆、監測式自然衰減法、現地地下



水整治法及乳化油生物屏障(emulsified biobarrier)，其中以緩釋型聚合膠體基質生物屏障整治技術較為經濟實惠，因注入緩釋型聚合膠體基質不僅提供微生物所需之生長基質，能快速使 TCE 包覆於油滴中，並阻攔其擴散範圍，且對環境衝擊較小。目前利用生物可分解之有機基質注入整治區，藉以刺激現地厭氧生物降解整治受污染之地下水，現已有多個案例(Jeon et al., 2016; Cecchin et al., 2017; He et al., 2018)。

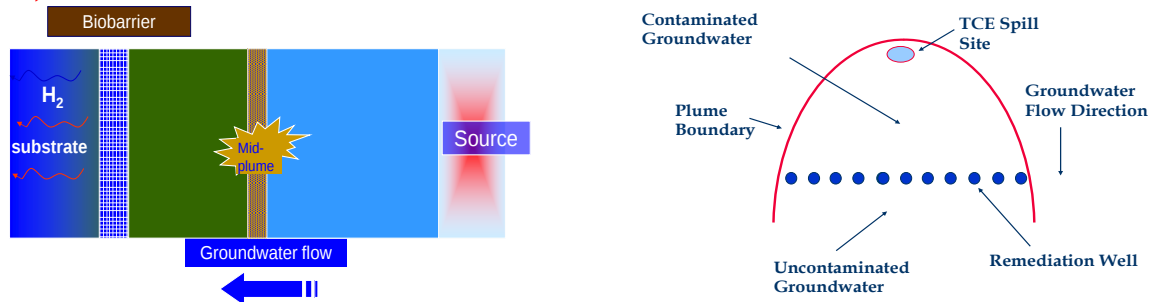


圖 2.1 含氯脂肪組碳氫化合物現地生物復育之示意圖(本團隊繪製)

2.3 含氯有機物生物降解反應機制

含氯脂肪族化合物的生物復育法有兩種：(1)以透過天然的機制，污染物以自然衰減的形式，降解為毒性較小或是無毒性的物質；(2)生物復育形式，以透過添加最適的物質，活化生物系統中的微生物，達到強化天然衰減之目的。許多生物降解的機制已經經過理論和實驗的驗證，而且根據文獻資料整理的結果，可將含氯脂肪族化合物在生物系統中的降解機制，區分為兩大類：(1)好氧氧化作用(aerobic oxidation)：分為好氧直接氧化作用(direct)與好氧共代謝(cometabolic)氧化作用；(2)厭氧還原脫氯作用(anaerobic reductive dechlorination)分為厭氧直接還原脫氯(direct)與厭氧共代謝(cometabolic)還原脫氯。若提供生物系統適當的條件，不管好氧氧化或是厭氧還原脫氯都會自然的發生，例如添加電子供給者，添加電子接受者或是添加營養鹽。PCE、TCE 由於含氯數較高，其降解方式是以還原反應為主，而 VC 含氯數較低，其降解方式則是主要以氧化反應或是還原反應，但還原反應若脫氯菌群未顯著成長，容易造成低氯數污染物累積現象發生，故低氯數污染物可觀察脫氯菌群量若不足可額外添加有利於脫氯菌群生長之最適的物質(Johansson, 2017; Chang et al., 2018; Saiyari et al., 2018)。

(1) 好氧氧化與好氧共代謝作用

好氧直接氧化作用，是將污染物利用生物分解的方式降解，污染物同時作為電子供給者和主要生長基質，在此環境因素中，需要有微生物來驅動反應的發生。電子由污染物傳遞至電子接受者，此時的電子接受者為氧，VC 被氧化成二氧化



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

碳，同時將氧還原為水。當地表下有氧存在的好氧區，CAHs 污染物中僅 VC 可以直接氧化的方式，被氧化成無毒害性的二氧化碳與水(Kumar et al., 2018c)。但在環境微生物中，具有直接氧化至 VC 的菌株卻很少，文獻彙整迄今，僅 *Mycobacterium aurum* L1、*Mycobacterium* sp. E20、*Xanthobacter* sp.和 *Pseudomonas aeruginosa* MF1(Stroo et al., 2014)。於好氧狀態下藉由好氧共代謝使主要生長基質所誘導產生的氧化酵素，藉以分解 TCE 的處理方式，雖然 TCE 能夠藉由氧化酵素加以分解，但其無法做為微生物的能量及碳源，且在 TCE 的分解過程中，不僅無法如分解主要生長基質時具有再生還原能的能力，其分解過程所產生的有毒中間產物亦可能會對微生物產生毒性抑制的作用，一旦微生物無法持續獲得主要生長基質，微生物活性會逐漸衰減，同時，氧化酵素還原能無法再生，以及中間產物毒性抑制的作用下，微生物共代謝分解 TCE 的能力將會逐漸消失。因此，適當添加營養基質可持續提供微生物利用行共代謝，不但可提升微生物活性，還可以降低中間產物毒性抑制的作用，使污染物有效被微生物共代謝降解。在好氧狀況下，TCE 和 VC 均可以利用此種共代謝機制降解。VC 的共代謝作用，已有相當多的研究，可作為其共代謝初級基質的物質，包括乙烯、丙烯、異戊二烯、甲烷、乙烷、丙烷、3-氯丙醇和氨(Luo et al., 2014)。另外，研究證實以間歇的供給氧和甲烷到地表下的方式，可以刺激含水層中 TCE、c-DCE 和 VC 的生物降解(Frascari et al., 2015)。過去研究結果顯示，甲烷的添加對促進共代謝生物降解非常好，但是其他的研究結果卻認為添加甲苯與酚作為電子供給者，比添加甲烷更能有效的促進地下水中 TCE、c-DCE 和 VC 的共代謝生物降解 (Chheda and Sorial, 2017)。可共代謝 TCE 之菌株及其使用之生長基質如 *Pseudomonas cepacia* strain G4 (phenol, toluene, o-cresol), *Pseudomonas putida* F1 (toluene), *Methylosinus trichosporium* OB3B (formate, methanol), *Methylocystis* sp. strain M (methane), *Mycobacterium vaccae* JOB5 (propane), *Nitrosomonas europaea* (ammonia), *Xanthobacter* strain Py2 (propylene)和 *Escherichia coli* (toluene) (Mao et al., 2015)。

(2) 厭氧還原脫氯作用

受污染之地下水場址中已被發現涉及到生物還原脫氯作用有幾個重要因素：在場址內有無脫氯菌種，有無產氫菌的存在與活動，提供足夠的電子接受者使脫氯、硫酸鹽還原和甲烷菌所需的營養維持其活性 (Mao et al., 2017; Shapiro et al., 2018; Sheu et al., 2018a)。厭氧性的程序是使用不同的生物降解機制，於厭氧分解過程可包含三階段，分別為水解酸化、醋酸形成及甲烷化，以提供之後的還原脫氯作用所需的電子接收者及電子供給者(如乳酸鹽、糖蜜、醇類、氫氣及砂糖等)。利用硝酸鹽、硫酸鹽、三價鐵、氫離子及二氧化碳當作最終電子接受者。此時氯原子會被氫原子所取代，慢慢由 PCE 降解成 TCE、c-DCE、t-DCE、VC 及乙烯



(ethene)，接著再進行礦化作用，將化合物轉變為成 CO_2 、 H_2O 、 Cl^- 等無機物，此過程稱為直接代謝還原脫氯又稱為鹵化呼吸作用 (Yang et al., 2017c; Liu et al., 2018)，微生物利用電子供給者產氫及醋酸形成之主要代謝途徑(本團隊繪製)如圖 2.2 所示。微生物直接利用 TCE 和 VC 作為電子接受者，驅動氧化還原反應的發生，這個過程中伴隨著能量的產生。在共代謝還原脫氯反應中，微生物利用其他物質作為電子接受者，驅動氧化還原反應的發生。理論上，大部分的厭氧狀況下，還原脫氯作用都會發生，但是研究發現，最有效的厭氧還原脫氯作用，是透過還原硫酸並生成甲烷的方式，而且如同好氧氧化作用，直接還原脫氯比共代謝還原脫氯快。每一階段之還原脫氯產生時，其反應所生成之能量則可被微生物所利用生長，當添加營養基質促進微生物生長而降解污染物效率最佳 (McLean et al., 2015; Varjani, 2017)。過去研究發現受污染之地下水不僅體積龐大且大多屬於無氧狀態，且地表下厭氧性之微生物可轉化不同種類之有機及無機污染物，因此厭氧之微生物降解對現地生物整治十分重要 (Maire et al., 2018)。由過去現場量測數據顯示，污染源存在於地下水中一段時間後，有機污染物之厭氧降解反應將自然發生，換言之，厭氧反應可以有效的整治政府所表列優先處理之污染物，如氯化乙烯類化合物等嚴重污染之含水層，亦可經由厭氧處理將高毒性氧化價位型態轉化為低毒性還原價位型態。因此，現地厭氧生物處理已成為地下水污染整治之主要替代方案。另外，在某些情況下，硝酸還原菌或是硫酸還原菌與甲烷生成菌競爭的結果，會抑制甲烷生成菌的活性和厭氧還原脫氯作用的程度。研究發現，*Dehalorespiring* 菌屬之微生物可進行還原脫氯反應，另外被發現亦可進行還原脫氯之菌群如 *Anaeromyxobacter*, *Desulfitobacterium*, *Trichlorobacter* 和 *Dehalobacter*。除此之外，已被發現相關菌株可針對 PCE 和 TCE 進行還原脫氯產生 c-DCE 如 *Sulfurospirillum multivorans*, *Dehalobacter restrictus*, *Desulfuromonas michiganensis*, *Desulfitobacterium* spp. PCE-1, *Geobacter* strain SZ，若脫氯不完全會產生二氯乙烯、氯乙烯的累積，其中氯乙烯屬於致癌物且毒性較 TCE 更高 (Pérez-de-Mora et al., 2018)，近年來多數研究發現脫氯菌屬 (*Dehalococcoides* spp., DHC)，該菌屬可完全使氯化乙烯完全脫氯形成乙烯 (Schaefer et al., 2018; Shapiro et al., 2018)。目前已知有五種 *Dehalococcoides* 菌種如 strain 195, strain CBDB1, strain BAV1, strain FL-2, and strain GT (Matturro et al., 2016)，這些 *Dehalococcoides* 菌種皆可將 PCE 和 TCE 還原脫氯形成 VC 如圖 2.3 所示。然而，僅有 BAV1 和 GT 可將 VC 完全脫氯形成乙烯 (Kranzioch et al., 2015)，且不同之菌種其脫氯步驟亦不相同。若整治場址中並無存在相關微生物菌群時，則需要生物刺激促使現地微生物生長降解污染物。



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

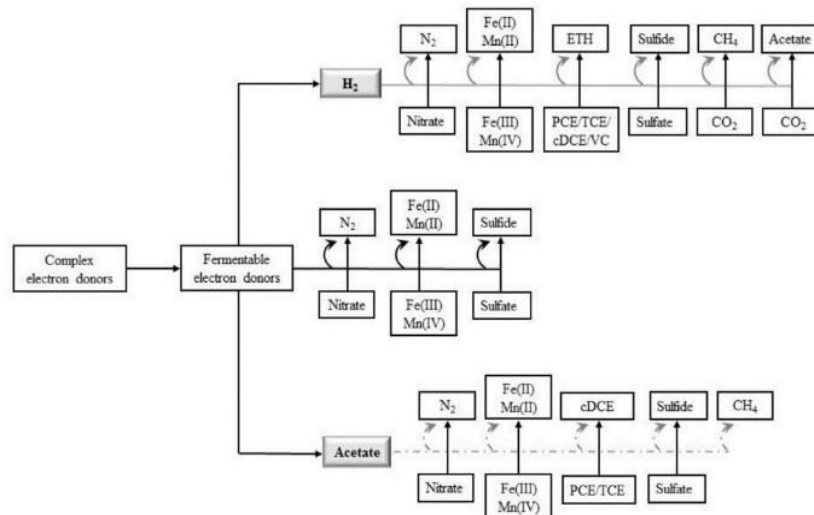


圖 2.2 微生物利用電子供給者產氫及醋酸形成之主要代謝途徑(本團隊繪製)

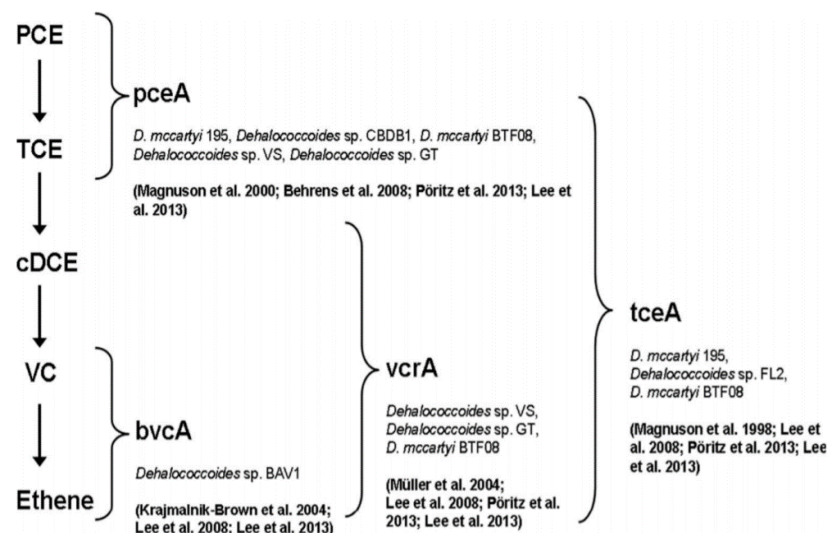


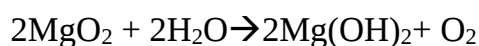
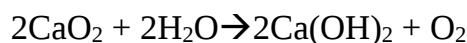
圖 2.3 含氯有機物厭氧還原脫氯反應途徑(Kranzioch et al., 2015)

2.4 不同基質於土壤地下水之應用性

近年針對含氯有機物污染整治所使用之基質多選擇具緩慢釋放有機基質特性之產品，因可長期促進厭氧生物降解目標污染物。緩慢釋放基質包括纖維素、幾丁質、釋氫物質(Hydrogen Release Compound, HRC®)及乳化油，如表 2.1 彙整市售乳化基質種類及特性 (本團隊繪製)所列。釋氫物質為聚合酯合成物，可在水中長期釋放乳酸物質維持厭氧生物降解含氯溶劑或其他污染物(Yang et al., 2018b)滲透性反應牆除了對有機物之去除，常用來以吸附和沉澱等方式去除地下水中之重金屬及營養鹽等物質(Shoji et al., 2016; Kumar et al., 2018a)。因此，現地整治牆



之技術並不侷限在某一種反應，廣義解釋，任何能在現地以被動之方式造成污染物濃度降低之方法均可稱之為現地整治牆技術。由於整治牆是符合經濟效益之整治技術，因此受到美國環保署之推動和鼓勵，根據美國環保署對地下水整治之研究報告指出，釋氧物質(oxygen release compound)的添加是適合增加地下水中溶氧之方法之一。近年許多研究報告指出，在污染區添加該物質，確實可達到釋氧的效果，並能夠節省設備成本及操作費用，而釋氧物質能長期提供有氧分解所需之氧氣。釋氧物質主要使用原理是添加 CaO_2 或 MgO_2 等過氧物質，其中 CaO_2 或 MgO_2 將被用為釋氧化學物質。使用水泥或粉狀黏土凝結其他組成以製做塊狀釋氧物質，可將設計之釋氧物質放入整治井、整治渠、或 funnel and gate system 內以處理污染之地下水。 CaO_2 或 MgO_2 和水接觸後將產生以下的反應：



經由相關文獻指出，當注入乳化油至受污染之地下水層時，可有效處理污染物評估注入乳化植物油進行現地生物整治技術處理受過鉻污染、碳氫化合物及含氯有機物污染之地下水(Frascari et al., 2015; Chheda and Sorial, 2017)。研究中，於 2 天內將食用油基質(Edible Oil Substrate, EOS®)連續注入 10 口注入井中，建立一個 15 m 長的生物透水性整治牆(bio-barrier)。經由 2.5 年監測發現，在 EOS®注入處發現強還原反應區，區域間之溶氧、硝酸鹽及硫酸鹽皆被消耗殆盡，同時發現溶解性鐵錳及甲烷濃度增加，而注入井之過氯酸鹽在注入 EOS®約 5 天後由原本濃度約 3,100-20,000 降解至 $<4 \mu\text{g/L}$ ，2 年後注入井下游之過氯酸鹽濃度約 $6 \mu\text{g/L}$ ，遠低於注入井上游濃度 $13,100 \mu\text{g/L}$ 。因此得知注入 EOS®後可大量轉移氯化溶劑及生物菌落轉移適應情形發生。其所加入之乳化油可以經由發酵後產生之氫氣及低分子量之脂肪酸(醋酸鹽、乳酸鹽、丙酸及丁酸)，用以提供厭氧生物降解污染物時所需之碳源及能量。目前常見之市售基質皆具有生物可降解性，並可以完全促使污染物還原脫氯，可緩慢釋放有機基質，長期促進厭氧生物降解目標污染物(Sharma et al., 2017; Kumar et al., 2018a)。

若食用油以乳化型態注入時，其液滴細小且均勻，因此更容易擴散至不同種類之土壤孔隙間(Muller et al., 2018)。當食用油注入至地下含水層時，三酸甘油酯會經由厭氧發酵水解出甘油(醇類)和多鏈脂肪酸(Long-Chain Fatty Acids, LCFAs)，由於甘油具有生物分解性且易溶於水，因此當甘油存在於系統中時，則會被快速分解或刺激微生物。因 LCFAs 水溶性較差則吸附於土壤孔隙間，並緩慢氧化成短鏈脂肪酸、醋酸鹽(CH_3COO^-)及氫氣(H_2)，其持續生成氫氣及醋酸鹽有助於污染物削減。另外這些脂肪酸通常以亞麻油酸(linoleic acid)型態存在於蔬菜油中



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

(Mayer-Blackwell et al., 2017)，亞麻油酸可用於生物整治之化學平衡計量表示之，1 mole 亞麻油酸經生物分解可產生 9 mole 醋酸及 14 mole 氫氣，當醋酸完全氧化分解產生 CO₂ 時，則產生 28 mole 氫氣；但醋酸鹽並無法作為還原脫氯之電子供應者(Ziels et al., 2016)。不過醋酸可進行硫酸鹽還原及乙酸甲烷化，由完全反應式得知這些化合物之最大氫氣生成量，市售乳化基質種類及特性如表 1 所示。綜觀上述市售乳化基質，其特點多為緩釋碳源、可食用油與部分生物生長刺激元素，其中多數藥劑皆會釋放脂肪酸、乳酸鹽、醋酸鹽等有機酸，易使得水體酸化，而乳化油品亦因油滴吸附與黏滯度較高之特性而不易於地下水中之土壤層移動；另一方面，氣候變遷與糧食危機的全球化議題，持續發展食品級蔬菜油、大豆油等乳化基質產品勢必暫緩腳步，轉換為更多元化之生物基質發展空間， γ -PGA 為全天然生物可分解性高分子，由於其構成成份相當奇特，因而具有許多一般意想不到的結構特性和多功能特性，極適合於跨領域的工業應用，具高度經濟價值。 γ -PGA 的工業化生產技術平台已在台灣成形，但其特殊的化學、生化、營養、生醫、農業和工業上應用則有待積極開發和進一步加以商業化推廣應用(Saiyari et al., 2018)。



表 2.1 市售乳化基質種類及特性 (本團隊繪製)

名稱	成分	特點
RS TM Emulsified Vegetable Oil Substrate (C)	food oil: 45-60% lactic acid: 4% food Additive/Emulsifiers/ preservatives: 10%	緩釋基質(Slow Release Substrates, SRS [®]) 亦稱乳化植物油基質(Emulsified Vegetable Oil Substrate, EVO)，於還原脫 氯或厭氧降解過程中可當作電子供給 者，以緩慢釋放營養物質長達3-5年供給 微生物利用
LactOil [®] Soy microemulsion	food oil: 30% lactic acid: 35% emulsifier: 10%	LactOil [®] 是利用穩定熱力學所配製而成 的微乳液配方，方便於現場混合注入使 用，以提高於含水層內的分佈，成本較 於其他市售乳化植物油便宜。
3-D Microemulsion (3DMe TM)	glycerides	3DMe TM 可長期釋放乳酸並產生氫氣，使 得厭氧生物降解含氯有機物和脂肪酸， 提高還原脫氯之效率。3DMe TM 結合 Hydrogen Release Compound (HRC [®])技 術，其產氫可長達3-4年。
EOS [®]	soybean Oil: 59.8% soluble Substrate: 4% Emulsifier: 10%	EOS使用天然無害的植物油及食品級界 面活性劑，黏性低易於注入與傳輸，注 入後效果可持續3-5年。
EcoClean /EcoClean- E TM	食品級高分子量碳 氫化合物	EcoClean /EcoClean-E為乳膠狀，可當作 微生物的營養源，能緩慢並持續的維持 淨化環境。針對難透水性的土壤和VOCs 濃度高的污染有效，整治時間約3-12個 月。
EHC [®]	organic amendment: 52-82% iron: 18-48%	EHC [®] 以食品級之碳源及營養物質包覆 零價鐵(zero valent iron, ZVI)，利用生物 與非生物還原脫氯機制刺激厭氧環境下 生物降解能力，可減少副產物的產生， 並可調整地下水中pH值避免酸化。



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

Newman Zone [®]	vegetable oil: 46% sodium lactate: 4%	Newman Zone [®] 為具有快速分解(乳酸鹽)及緩慢分解(蔬菜油)之產品，此外具有能有效刺激微生物生長，並且長期提供還原脫氯降低化有機物濃度。 快速分解機質可短時間內建立厭氧條件，此緩釋機質可提供長達5年。
CAP-18 TM	天然蔬菜油	CAP-18 TM 產品應用於厭氧生物復育環境，如土壤復育和地下水等相關環境。此產品可用於降解多種污染物之地下水，包括氯化溶劑，硝酸鹽，硫酸鹽，高氯酸鹽，爆炸物和其它化合物。此生物激活劑提供了100%的天然碳源，可使脂肪酸長期釋放，並創造厭氧生物復育所需要的環境條件。

2.5 地下水 pH 緩衝溶液與甲烷抑制劑探討

地下水水質參數中 pH 值被認為是對微生物進行還原脫氯反應的一個強烈影響因素；c-DCE、VC 到 ethene 已經有研究顯示，當 pH 值低於 6.2 時能夠被抑制(Badin et al., 2016; Yang et al., 2017b; Yang et al., 2018b)，當進行 TCE 厭氧還原脫氯時，維持地下水中的 pH 對還原脫氯是一個重要之影響因素，每一種微生物都有專屬最適生長之 pH 值環境，雖然在低(高)pH 值環境中之嗜酸(鹼)菌已被篩出，但大多數之微生物皆適於中性環境，有利於微生物生長反應(Yang et al., 2017a)。許多可進行還原脫氯之重要菌群皆適於中性生長環境，如 *Dehalococcoides* 菌群，目前唯一已知能夠完整還原乙烯，四氯乙烯脫氯菌群之生長 pH 值為 6.8-7.5 之間，可進行還原脫氯氯化乙烯和乙烷之 *Desulfotobacterium* 菌群之最適 pH 值範圍亦接近中性的，維持穩定的 pH 環境是促進脫氯反應一個重要的環節。快速的脫氯反應將會產生出大量的鹽酸(HCl)和碳酸(H₂CO₃)，是可能會導致 pH 值下降原因之一，相關研究證實 pH 值酸化會導致脫氯之效率變差或抑制之可能性(Yang et al., 2017b)。由過去文獻顯示一個富集培養實驗，於現場利用乳化油基質(EOS[®])，其中包含了新型的 DHC 菌株進行生物整治處理，最後可能使 PCE 降解到 ethene。EOS[®] 以乳酸作為電子提供者為最優異的，其可促進更快的脫氯反應，使較少 c-DCE 和 VC 的累積。不同 pH 值的影響(5.5、6.0、6.5、7.0、8.5 和沒有 pH 緩衝液)在 VC 脫氯成 ethene 情況下，在緩衝介質保持 pH 6.5-7.5 時進



行富集培養。最高 ethene 的產生發生於緩衝介質到 pH 7 時，當 pH 值下降到 6 或更低時 ethene 的產量最少，發現 c-DCE 的脫氯反應在 pH 5.5 時完全被抑制。然而，在低 pH 值下仍然有顯著的甲烷化產生。在 pH 8.5 的培養中有較強的抑制作用，使得 TCE 的產量最少，但持續產生甲烷。當培養物產生鹽酸而沒添加 pH 緩衝液時，pH 值會下降且低於 6 造成 ethene 的產生但利於硫酸鹽、甲烷及脫氯菌還原反應(Liang et al., 2013)。於還原脫氯反應時，鹽酸的產生使重碳酸鹽生成二氧化碳(碳酸)，且不易逸散致大氣而殘留於水體中。當厭氧還原脫氯菌群需要與其他非氯化電子接受者(如硫酸鹽及三價鐵)競爭氫，這些非氯化電子接受者不僅使基質使用量增加，更影響還原作用中酸化反應的生成。為確保厭氧還原脫氯作用的產生，土壤緩衝能力是維持 pH 穩定之必要的考量。而反應中 DNAPL 還原脫氯需要大量的鹼度，其反應產生的酸化物質可能使現地緩衝能力飽和，因此在現場施作時常需要添加大量的化學品維持 pH 穩定(Harkness and Fisher, 2013; McLean et al., 2015)。地下水提高緩衝能力通常以注入高溶解性基質或鹼(酸)性物質，提高地下水之鹼(酸)度，因此，必須克服維持地下水中之緩衝能力維持一個相對穩定 pH。目前提高地下水之緩衝能力，有兩種普遍被接受的方法用於提高含水層中 pH，第一種最常用之方法為，利用循環式抽取將鹼性水溶液通過注基質區，以提高地下水之鹼(酸)度，常用的藥劑包括氫氧化鈉水溶液、氫氧化鉀(KOH)、碳酸鈉(Na_2CO_3)、碳酸氫鈉(NaHCO_3)及矽酸鈉(Na_2SiO_3)。以循環抽取方式灌注鹼性溶液可有效提高水中 pH，但水體中酸性礦物質會消耗鹼性溶液，避免鹼性溶液被大量消耗，必須再灌注大量緩衝溶液以提高地下水 pH 值，注入過量緩衝溶液會超過地下水體所能負荷之酸鹼值，且增加整治成本，亦會造成環境與現場操作之隱憂。第二種提高水中鹼度之方法為，透過鑽井機以重力流或是壓力流的方式，將鹼性泥漿相的物質灌入含水層中，pH 調整藥劑為氧化鎂(MgO)、氫氧化鎂($\text{Mg}(\text{OH})_2$)、碳酸鎂(MgCO_3)、氧化鈣(CaO)、氫氧化鈣($\text{Ca}(\text{OH})_2$)和碳酸鈣(CaCO_3)但鹼性藥劑，須額外支出機具費用進而增加整治成本(McLean et al., 2015; Kissell, 2017)。鹼度亦可由硝酸鹽還原、硫酸鹽還原和氫氧化鐵 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 來產生，黏土中的離子交換和氫氧化鐵可提供強烈的緩衝 pH 能力。在 pH 值接近中性時， H^+ 會往黏土和鐵的氧化物有吸附的作用，可以限制 pH 值的下降。如果含水層中的 pH 值很低時，便要加入大量的鹼來提供它的鹼度，使地下含水層維持在中性的條件下，以利微生物生長。



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

2.6 高分子聚合物之應用性

(1) 聚麩胺酸簡介

聚麩胺酸(γ -PGA)是以麩胺酸(glutamic acid, GA)為基礎原料，經由微生物(*Bacillus* sp.)或酵素(glutamyl transpeptidase)並結合有機碳源、氮源及礦物質以液態醱酵行生物聚合而成的一種生物可分解性的高分子材料(Gates-Hollingsworth et al., 2015; Sheu et al., 2018a; Yang et al., 2018a)，本研究使用味丹公司開發之 PGA 發酵液產品，係以麩胺酸(L-glutamic acid)為原料加入納豆菌(*Bacillus subtilis* var. natto)進行液態醱酵而成(Pang et al., 2018; Wang et al., 2018a)，內含豐富的 γ -PGA，以及麩胺酸、葡萄糖、蛋白質、礦物質、維生素及多種生化活性物質，是取之天然、有機、用之環保的植物營養促進劑，其結構如圖 2.4 所示，內含豐富的聚麩胺酸是一種高分子之綠色產品。

最早 γ -PGA 被發現於 *Bacillus anthracis* 的莢膜，在日本傳統發酵食品納豆的黏性物質中亦發現含有大量的 γ -PGA。聚麩胺酸為生物性高分子聚合物，其化學結構特殊，因此已廣泛的應用於食品工業、健康食品、化妝品、醫藥工業、農業應用及環境保護等領域(Saiyari et al., 2018)。 γ -PGA 主要是經由二種不同的生物化學轉化機制聚合而成。一種為 de novo Bioconversion Pathway，此為固態醱酵生產所進行者，不需要 L-GA (L-Glutamic acid) 作誘導物質。另一種方法為液態醱酵生產，以 L-GA 當作誘導物質進行的生化轉化聚合機制為 Salvage Bioconversion Pathway。液態醱酵方法適用於大量生產 γ -PGA，所以也是工業上大量生產唯一之選擇製法。 γ -PGA 的分子式為 $(-[-NH-CH(COOH)-(CH_2)_2-CO-]_n-)$ ，其結構組成為 α -螺旋和 β -折疊，其分子鏈上具有活性較高的側鏈羧基(-COOH)、胺基(-NH)及羰基(-CO)等多種官能基團。三個官能基的 H^+ 解離常數各為 $pK\alpha = pK_1 = 2.13 \sim 2.2$ 、 $pK\gamma = pK_2 = 4.25 \sim 4.32$ 、 $pK_3 = 9.7 \sim 9.95$ ，其各官能基活性依序為 $\alpha-NH_2 > \alpha-COOH > \gamma-COOH$ ，這些官能基團提供聚麩胺酸進行化學或生物反應的活性。在 γ -PGA 分子結構中， $\alpha-COOH$ 與 $\alpha-NH_2$ 縮水結合成為 α -peptide bond (α -蛋白鍵)； $\gamma-COOH$ 與 $\alpha-NH_2$ 縮水結合成為 γ -peptide bond (γ 蛋白鍵) (Hisada and Kawase, 2017; Cao et al., 2018)。由於強力 $\alpha-COOH$ 與 γ -peptide 鍵之 $-NH_2$ -所形成的氫鍵(hydrogen bonding)，再加上分子結構上之外在形態改變(conformational change)，使得 $\alpha-COOH$ 基變成不解離狀態以至 $pK\alpha = pK_1 = 0$ ，使整個 γ -PGA 分子成為極緊密而收縮的 α -helix conformation，因而呈現強烈的疏水性(hydrophobic)。由於 γ -PGA 為全天然生物可分解之分子材料，可以工業化大量生產。天然的 γ -PGA 之分子量約為 10000~1000000 Da，其分子大小取決於醱酵時間及水解酶等因素(Guo and Brusseau, 2017)，聚合度(degree of polymerization)約為 1,000 至 15,000 個麩胺酸。在醫藥、農業和化妝品工業及環境等應用效果非常顯著。由此可知 γ -PGA 所具有的結構上功能性其極具經濟價值，可以在跨工業領域地方的應用(Cao et al., 2018)。表 2.2 列述 γ -PGA 在各種工業上的潛在應用，由於用途廣泛，



第二章 文獻回顧

對於目前化學合成高分子具有較優異的取代性，且在安全及環保上有其絕對的必要性，展望未來 γ -PGA 將成為全球最重要的高分子素材之一。

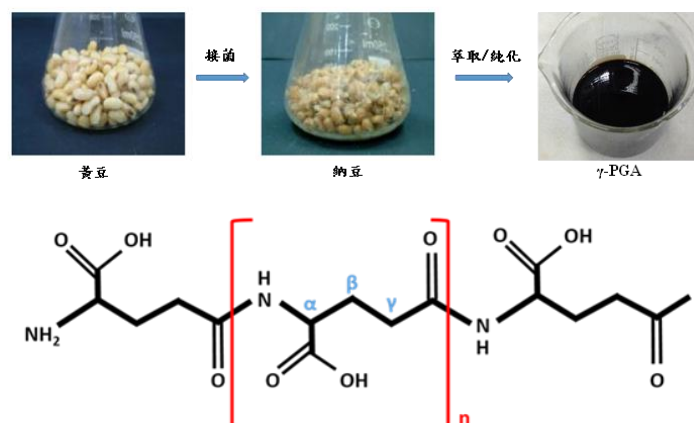


圖 2.4 聚麩胺酸(γ -PGA)之結構物(Cao et al., 2018)

表 2.2 γ -PGA 應用之工業類別(本團隊繪製)

工業別	產品別	化學與生化功能特性
食品工業	增粘劑/安定劑	改進液體食品之粘性，改進食品質地及口感等。
	動物飼料營養助劑	促進鈣吸收與骨質成長，增加蛋殼硬度，改善蛋白及蛋黃品質。
	抗凍劑	提昇冷凍食品之抗凍性。
健康與保健食品	健康營養助劑	促進鈣吸收，改善骨質疏鬆問題。
化妝品工業	保溼劑	改善保養皮膚，減少皺紋。
淨水處理/都市用水	吸附重金屬	去除水中重金屬和放射性金屬離子。
污水處理工程	生物可分解性絮凝劑	可代替 polyacrylamide 或 PAC。
醫藥工業	緩釋藥物載體	眼用藥劑、癌症藥劑或基因療法之生物相容性的載體。
農業應用	土壤改良，種子被覆	高吸水/保水功能。
衛生器材製品	尿布，衛生棉	高吸水劑。
特種功能性製品	生物晶片，LCD 面板	生物體相容性。



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

(2) γ -PGA 在環境上之應用

γ -PGA 於水處理之應用上，因 γ -PGA 為多價陰離子聚合物，其 COOH 官能基所帶的靜電會與金屬離子相互影響，故具有可螯合重金屬之特性，對於二價、三價金屬離子(Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Cr^{2+})具有相當良好之處理效果(Mu et al., 2018; Nguyen et al., 2018; Yang et al., 2018c)，其結合後所形成之鹽類結構如圖 2.5 所示。所以 γ -PGA 除了應用於吸附土壤、海洋、垃圾以及廢水重金屬外，亦逐步應用在生物膜(biofilm)上來處理水中重金屬之成效，表 2.3 為過去學者將 γ -PGA 應用在環境上處理污染物之整理，均有不錯之成效。另有學者研究發 γ -PGA 具有 pH-responsivity 之特性，當環境中之 pH 值產生變化時， γ -PGA 能與溶液中之氫離子(H^+)結合或分離達到平衡之狀態，在這種結合和分離中，其微觀分子結構的變化會導致其體積、形態或結構的變化(Yang, 2015; Luo et al., 2016)。因此 γ -PGA 在農業肥料使用上具有緩衝之作用，能夠有效平衡土壤之酸鹼性，避免長期使用化學肥料所引起之土壤酸化問題(Johansson, 2017; Kumar et al., 2018c)。綜觀上述， γ -PGA 應具有提供電子之功能促進氯乙炔還原脫氯成乙烯之功能，因 γ -PGA 為高分子聚合物，本身可做為一豐富碳源供給微生物利用，因此其應用於現地地下水厭氧生物處理技術應有其適用性與優勢。 γ -PGA 與其他基質比較，在處理 TCE 污染物時具備以下之優勢：(1)整治時程短，不須大量之灌注量即可達到法規標準；(2) γ -PGA 本身具備有緩衝地下水酸鹼值之能力，可以解決以往釋碳基質經微生物利用後會有逐漸酸化之情形。

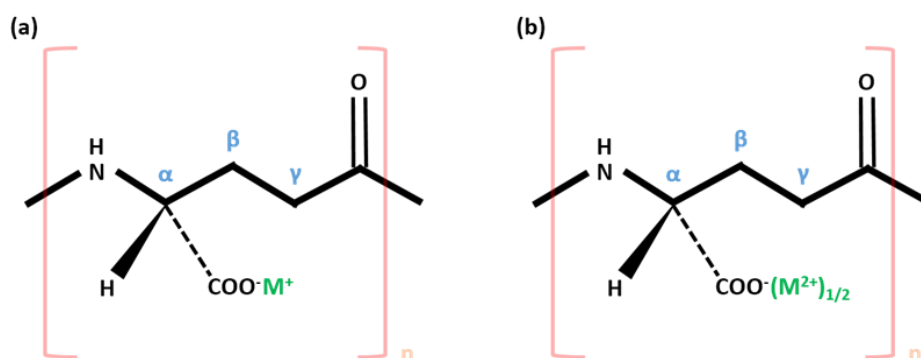


圖 2.5 γ -PGA 之鹽類結構(a)與一價金屬鍵結；(b) γ -PGA 與二價金屬鍵結(Mu et al., 2018)

表 2.3 歷年學者在環境上應用 γ -PGA 之彙整(本團隊彙整)

γ -PGA 研究內容	處理對象	結果摘要	作者
γ -PGA 與天然棉絮進行聚合物的交聯，處理重金屬。	鐵離子	當樣品水溶液 pH=6 時經過抽濾，其去除水中鐵離子效果最佳。	陳氏，2011
γ -PGA 溶液與明膠交聯製成明膠膜處理重金屬。	銅、鈷離子	γ -PGA 與明膠交聯製成的明膠膜具有吸附重金屬 (Cu^{2+} 、 Co^{2+}) 的能力。	王等，2011
γ -PGA 不同參數下對重金屬汞之吸附效應。	汞離子	使用鹽酸調節 γ -PGA 之 pH 值至 2，可回收 98% 汞。	(Inbaraj et al., 2009)
銅、鈷離子	γ -PGA 與明膠交聯製成明膠膜處理重金屬。	γ -PGA 與明膠交聯製成的明膠膜具有吸附重金屬 (Cu^{2+} 、 Co^{2+}) 的能力。	(WANG et al., 2011)
三氯乙烯	以 γ -PGA 為生長基質，瞭解生物降解污染物能力。	γ -PGA 具有 pH 衝能力避免酸化現象，可營造適合脫氯菌生長之環境，達到降解 TCE 目的。	(Chiu, 2015)
以三種形式的 γ -PGA 作為清洗劑探討土壤中重金屬去除效率。	鉻、鎳、銅及鋅離子	三種聚麩胺酸(RB、NHP 以及 NLP)清洗土壤中 Cr、Ni、Cu、Zn 等金屬之結果顯示，RB 對目標金屬有最佳之去除效果。	(Yang et al., 2017d)
鎘、銅、鎳離子	試驗各種 pH 值、接觸時間和初始離子濃度下吸附溶液中的鎘、銅、鎳離子的濃度。	混合吸附劑可以作為吸附各種重金屬離子的吸附材料，並且在 pH 2~10 的範圍內表現出更高的吸附能力。	(Wang et al., 2018a)
γ -PGA 作為基質針對降解 TCE	三氯乙烯	添加 γ -PGA 使 DHC 的生長從 1.03×10^4 增加到 2.6×10^6 gene copies/g soil，三氯乙烯脫氯率提高。 γ -PGA 作為釋碳基質，提高	(Sheu et al., 2018a)



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

		氯化物的還原脫氯效率。	
--	--	-------------	--

2.7 應用不同基質進行改質試驗

應用天然生物聚合物與聚麩胺酸 γ -PGA 混和形成半膠體增加 γ -PGA 黏稠度，天然生物聚合物曾引起眾多學者討論，因其實用性高且成本低，對於環境之危害影響也較低。曾有文獻以瓜爾膠、黃原膠、核藻酸鈉、澱粉、羧甲基纖維素做為生物聚合物(Biju and Arnepalli, 2019)。天然聚合物(生物聚合物)，已經引起許多研究者相當大之興趣，由於高可塑性，成本低廉，並且對環境之危害性較低，曾被廣泛使用之生物聚合物如：瓜爾豆膠(Thombare et al., 2018; Dehghan et al., 2019)、黃原膠(de Castro et al., 2018; Dehghan et al., 2019)、海藻酸鈉(Lan et al., 2018; Thakur et al., 2018)、澱粉(Kim et al., 2013)與羧甲基纖維素(da Silva et al., 2018; Lan et al., 2018)。

膠體為一種物質之形態，其不像傳統物質三態可用單一成分之原子或分子來描述，所謂之「膠體態」，是由分散相之膠體粒子和膠體粒子所懸浮其中之連續相兩者共同構成，因此「微非均質性」(micro heterogeneous)此一概念，可形容大多數之膠體溶液系統。膠體系統大多是所謂之「多成分系統」(multi-component system)，這樣之系統諸如：氣膠(aerosols)、化妝品(cosmetics)、染料(dyestuff)、印墨(ink)、油漆(paint)，膠體粒子之大小差異甚大，其粒徑廣義定義範圍可從 1 奈米(nm)到 10 微米(μm)。懸浮於水溶液中之膠體粒子通常具有三大特性，分別為布朗運動(brownian motion)、廷得耳效應(tyndall effect)、和帶電性。布朗運動指膠體粒子會受到連續相分子之碰撞，產生隨機性之運動，而且膠體粒子愈大，其不規則之碰撞與運動會愈明顯；廷得耳效應則是指膠體粒子散射光線，使得膠體粒子顯現出散射光之顏色；帶電性指膠體粒子常因表面分子解離而導致膠體粒子表面帶電，而水溶液中也分布著膠體粒子所解離出來之反離子，其於膠體粒子周圍之電荷分布狀況，可以用電雙層理論(double layer theory)來描述之(Chen et al., 2018)。凝膠宏觀上之定義，其中提到當物質溶於液體後可形成無法流動並像是固體之狀態，且具有三維之網狀結構，而溶質含量僅介於 0.1-10 wt%之間時，便稱此物為膠凝劑。當膠體粒子互相吸引與連結搭起空間網狀結構，而連續相(液體或氣體)充滿於結構之空隙中時，會形成一個介於固體與液體之間之特殊狀態稱為凝膠(gel)，而溶液於適當條件下轉變成凝膠之過程，即稱為凝膠化或膠凝(gelation)現象。

膠凝劑之分類是依據溶劑之種類，若以水為溶劑者稱之為水凝膠劑



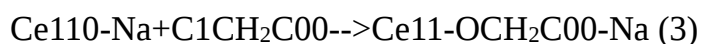
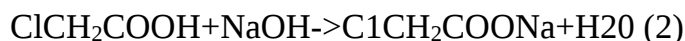
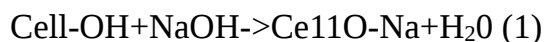
(hydrogelator)；反之，以有機溶劑者則為有機膠凝劑此兩種(Ract et al., 2019)。而連續相為氣體之凝膠則較少。凝膠之結構有許多類型，由小分子聚集而成之膠體粒子，通常藉由結晶或形成棒狀之方式，再者是透過化學或物理鍵結之方式而形成凝膠，其中可依分子鍵結方式概分成兩大類：物理型凝膠(physical gel)以及化學型凝膠(chemical gel)。對於物理型凝膠而言，不同於以共價鍵方式形成之化學型凝膠，其分子彼此之間之作用力較為微弱，像是以凡德瓦爾力(Van der Waals interactions)或氫鍵(hydrogen bond)作用力構成之凝膠(其能量約為 2 kcal/mole)，故彼此之連接點將不會侷限於固定位置上。之於上述原因，發現其鍵結能量較低之物理型凝膠則多為熱可逆性型凝膠(thermoreversible gel)，如：明膠(gelatin)、鹿角菜膠(carrageenan)及酪蛋白(casein)等(Dille et al., 2018; Verheyen et al., 2018)。凝膠行為於微小之外力作用下，會表現出類似固體之行為。凝膠通常也可依照鍵結方式之不同，分為兩大類：物理性凝膠(physical gel)和化學性凝膠(chemical gel)。對於物理性凝膠而言，形成凝膠之作用力為較弱之物理作用力，如凡德瓦爾力和氫鍵等($E \sim 2$ kcal/mol)，因此整體結構較弱且通常具熱可逆性；而化學性凝膠則是由化學鍵所形成之，結構較強屬於強凝膠(strong gel)，其膠凝行為是不可逆之，且可長時間存在(Huang et al., 2018)。

(1) 羧甲基纖維素

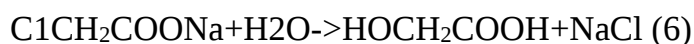
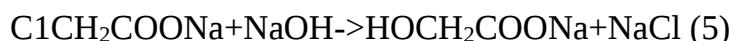
羧甲基纖維素(carboxy methyl cellulose, CMC)是當今世界上使用範圍最廣、用量最大的纖維素種類，是葡萄糖聚合度為 100~2000 的纖維素衍生物，相對分子質量 242.16，結構式： $C_6H_7O_2(OH)_2OCH_2COONa$ 分子式： $C_8H_{11}O_7$ 屬陰離子型纖維素醚，為白色或乳白色纖維狀粉末或顆粒，密度 0.5-0.7 克/立方厘米，具有粘合、增稠、增強、乳化、保水、懸浮等作用，食品工業中用作增稠劑，醫藥工業中用作藥物載體，日用化學工業中用作黏結劑、抗再沉凝劑。印染工業中用作上漿劑和印花糊料的保護膠體等，在石油化工中可作為採油壓裂液成分。易於分散在水中成透明膠狀溶液，在乙醇等有機溶媒中不溶。1%水溶液 pH 為 6.5~8.5，當 pH 10 或 5 時，膠漿粘度顯著降低，在 pH=7 時性能最佳。對熱穩定，在 20℃ 以下粘度迅速上升，45℃ 時變化較慢，80℃ 以上長時間加熱可使其膠體變性而粘度和性能明顯下降。易溶於水，溶液透明；在鹼性溶液中很穩定，遇酸則易水解，pH 值為 2-3 時會出現沉澱，遇多價金屬鹽也會反應出現沉澱。羧甲基纖維素鈉與明膠及果膠可以形成共凝聚物，也可以與膠原形成複合物，能沉澱某些帶正電的蛋白具有粘合、增稠、增強、乳化、保水、懸浮等作用(吳等, 2018、劉等, 2019)。羧甲基纖維素鈉製備方法：以纖維素為原料，採用兩步法製備 CMC。首先是纖維素的鹼化過程，反應方程式見式(1)，其中 Cell 表示葡萄糖結構單元之後鹼纖維素與氯乙酸反應生成 CMC，稱為醚化反應，反應方程式見式(2)和式(3)。



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)



該反應體系必須為鹼性。該過程屬於 Williamson 醚合成法。反應機制為 SN2 親核取代。反應體系屬鹼性，在水的存在條件下伴隨一些副反應，如經乙酸鈉、經乙酸等副產物生成，用化學方程式表示為：



由於副反應的存在，會增加鹼和醚化劑的消耗，進而降低醚化效率；同時，副反應中會生成經乙酸鈉、經乙酸和更多的鹽類雜質，造成產物的純度和性能降低。想要抑制副反應，不僅要合理用鹼，控制水系用量、鹼的濃度和攪拌方式，以鹼化充分為目的，同時還要考慮到產品對載度和取代的要求，綜合考慮攪拌速度、溫度控制等因素，提高醚化速率，抑制副反應發生(王惟帥和陽世琦，2018)。將 CMC 直接與水混合，配製成糊狀膠液後，備用在配置 CMC 糊膠時，先在帶有攪拌裝置的配料缸內加入一定量的乾淨的水，在開啟攪拌裝置的情況下，將 CMC 緩慢均勻地撒到配料缸內，不停攪拌，使 CMC 和水完全融合、CMC 能夠充分溶化。在溶化 CMC 時，之所以要均勻撒放、並不斷攪拌，目的是為了防止 CMC 與水相遇時，發生結團、結塊、降低 CMC 溶解量的問題，並提高 CMC 的溶解速度。攪拌的時間和 CMC 完全溶化的時間並不一致，是兩個概念，一般來說，攪拌的時間要比 CMC 完全溶化所需的時間短得多，二者所需的時間視具體情況而定。確定攪拌時間的依據是：當 CMC 在水中均勻分散、沒有明顯的大的團塊狀物體存在時，便可以停止攪拌，讓 CMC 和水在靜置的狀態下相互滲透、相互融合。確定 CMC 完全溶化所需時間的依據有這樣幾方面：

- (1) CMC 和水完全粘合、二者之間不存在固—液分離現象；
- (2) 混合糊膠呈均勻一致的狀態，表面平整光滑；
- (3) 混合糊膠色澤接近無色透明，糊膠中沒有顆粒狀物體。從 CMC 被投入到配料缸中與水混合開始，到 CMC 完全溶解，所需的時間在 10~20 小時之間。



(2) 明膠

明膠存在於動物的組織中，可通過部分加熱水解從膠原蛋白中衍生的變性纖維蛋白，最早在公元前 6000 年首次被作為膠水使用，隨著時間推移，合成明膠在工業上已發現許多不同應用如製藥業、食品、醫療業等(Duconseille et al., 2015)，明膠的主要生產材料多數來源自豬皮(46%)、豬和牛骨(23.1%)和牛皮(29.4%)，近年來人們將魚皮、魚鱗和其魚骨提煉做為水生明膠替代原本陸生動物的明膠(Lin et al., 2017)。明膠具有複雜的化學結構如圖 2.6 所示，具有與膠原蛋白相似的組成其組成的變化在於其製造過程明膠，文獻證實明膠含有半胱氨酸膠原蛋白的形成與許多胺基酸組成的變化有關，因此存在於明膠中的氨基酸的量及類型並沒有準確的定義(Thakur et al., 2017)。在明膠製造的過程中膠原蛋白會失去原本的結構(因熱水解)，膠原纖維於加熱時構相的變化導致螺旋形結構伸展，並在冷卻時部份恢復其形狀，當水被滯留於明膠網路結構時則形成凝膠。明膠與膠原蛋白結構差異是部份的螺旋結構不同，膠凝後的狀態可透過空間分佈位置與相互作用來確定，其結構變化可分成：(a)主要單鏈 α -鏈、(b)次要鏈，包含兩個單一的 α 鏈或具環的單個 α -鏈及(c)三個單一的 α -鏈或兩個單一的 α -鏈中一個已形成兩個環或單個 α -鏈等形式存在。明膠的一級、二級與三級結構的存在取決於溫度能量與明膠的濃度(Thakur et al., 2017)。明膠分子間的鍵結取決存在於 α -鏈中的甘氨酸殘基形成氫鍵，如圖 2-6 (a)所示，氫鍵在甘氨酸的氮原子及羧基的氧原子之間形成鍵結，文獻另外提及明膠結構中的氫鍵可透過-NH 基團和-CO 基團以及水分子與明膠形成氫鍵鍵結；表示明膠內的殘留官能基亦能產生氫鍵因此水分子可以透過以下方式在明膠結構中形成氫鍵：(a)具有兩個羧基的-OH，(b)具有明膠結構的 $-C=O$ 和羧基的-OH。

明膠的質量取決於流變學和基本物理化學性質，例如組成參數、溶解度、透明度、顏色、氣味和味道以及膠凝和熔化溫度，已知明膠的熔點為 35°C 非常接近人體溫度，明膠膠凝後所形成三維網狀結構中所含有的肽及蛋白質中的官能團，具有吸附金屬離子的特性。因明膠的結構單元通常由 (-Ala-Gly-Pro-Arg-Gly-Glu-4Hyp-Gly-Pro-) 所組成，主要擁有蛋白質側鏈相關的一些功能性和帶電荷的基團存在，因此可作為重金屬的吸附材料之一。明膠具有作為生物整治材料的潛力，可以去除水中因為造紙、紡織、制革、塑料及食品加工業所產生的污染物，由於明膠本身的獨特性能亦能作為去除廢水中不同類型污染物的吸附劑(Thakur and Thakur, 2015)，但仍因機械強度較差而限制其在不同類型上的應用，因此研究人員多以明膠做為基底改良或搭配其它材料增加其機械強度提高明膠的應用性，明膠亦屬於生物性材料本身無毒性且具有生物相容性，整體除了具吸附重金屬污染物的能力外，也可作為碳源供給微生物利用還原六價鉻，為相當優良的整治材



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

料。

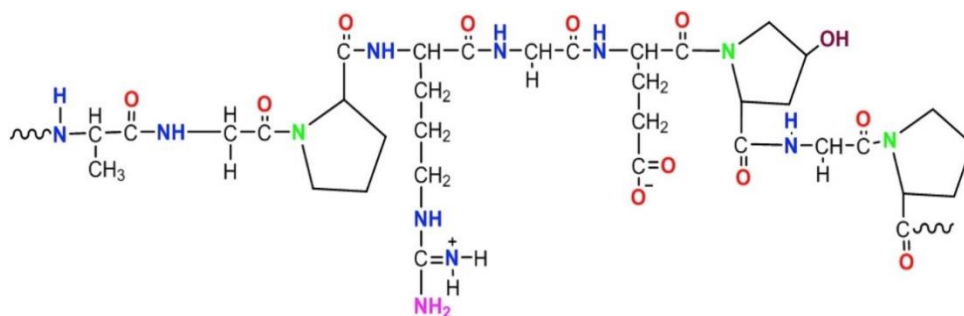


圖 2.6 明膠化學結構

(3) 澱粉

土豆澱粉亦稱為馬鈴薯澱粉，是家庭最多應用質量最穩定的勾芡澱粉，台灣地區叫太白粉。特點是黏性強，質地細膩，色潔白，光澤優於綠豆澱粉，但吸水性差。加水遇熱會凝結成透明的粘稠狀，在中式烹調（尤其是台菜）上經常將太白粉加冷水調勻後加入煮好的菜餚中做勾芡，使湯汁看起來濃稠，同時使食物外表看起來有光澤。在馬鈴薯澱粉中，磷酸含量最高，從馬鈴薯中分離得到了有關的酶， α 葡聚糖水二激酶(α -glucan water dikinase, GWD)這個沒受到抑制，澱粉中磷酸含量降低，澱粉的黏度也下降，同時還可觀察到直鏈澱粉增加，支鏈澱粉結構改變通過改造，可以使澱粉中的磷酸含量增加 5 倍，對於澱粉顆粒的大小和數目是受哪些因素的控制，目前還不太清楚，澱粉顆粒的大小對其的應用是有影響的，例如澱粉大小的數目可以影響到麵條的品質。在一些穀物的突變株中，發現去分支酶的澱粉顆粒的數目和形態有影響。土豆澱粉是一種優質澱粉，擁有一系列的獨特性能，它具有其他任何澱粉不能代替的獨特品質和功能。直鏈澱粉是一種由葡萄糖組成的線性聚合物，各葡萄糖單體主要以 $\alpha(1 \rightarrow 4)$ 糖苷鍵連接，每個直鏈澱粉分子通常含有數千個葡萄糖單體。直鏈澱粉與支鏈澱粉（膠澱粉）組成生物中常見的澱粉。 $\alpha(1 \rightarrow 4)$ 糖苷鍵導致直鏈澱粉應承螺旋狀結構，其分子結構式如圖 2.7 所示，其重複的葡萄糖單體數目通常為 300 個到 3000 個。直鏈澱粉的水解消化作用比支鏈澱粉緩慢，但作為能量儲存物質，直鏈澱粉佔據較少空間，因而植物中有約 20% 的澱粉是直鏈澱粉。澱粉酶在直鏈澱粉分子的末端，通過水解作用把直鏈澱粉拆散為葡萄糖單體，因支鏈澱粉擁有更多的末端，所以相對水解速度較快。

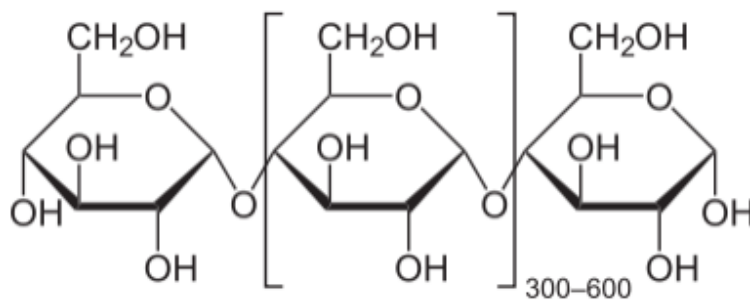


圖 2.7 澱粉結構

(4) 瓊指

瓊脂是藻類能夠將大氣的二氧化碳轉為大量的代謝物及化學物質，包括甲烷、氫、多醣或脂質藻類如：褐藻、海藻等物種，可以提煉出瓊脂、藻酸鹽等材料均具有各種官能團，具有與陽離子互相作用的能力同時本身由多醣組成，因此可作為微生物電子供體，且可應用於微生物、生物催化劑(酶)固定技術的材料(Ota et al., 2018)。從紅藻、褐藻等藻類細胞壁所獲得的多醣，是由 3-linked β -d-galactose (G)與 4-linked 3,6-anhydro-l-galactopyranose 兩種形式的半聚乳糖所組成的生物聚合物(Sattar et al., 2018)，如圖 2.8 所示，當中可能存在硫酸鹽(sulphate)、甲氧基(Methoxyl)或多醣鏈中不同位置的丙酮酸取代基(pyruvate Substituents)，文獻中曾有學者利用包埋技術來保存黑曲霉 KIBGE-IB36 產生的蛋白酶在瓊脂上的催化行為進行研究，並證實了瓊脂中惰性微環境內包覆蛋白酶的穩定性，並且在溫度 60 °C 之溫度下仍存在催化性能(Sattar et al., 2018)。

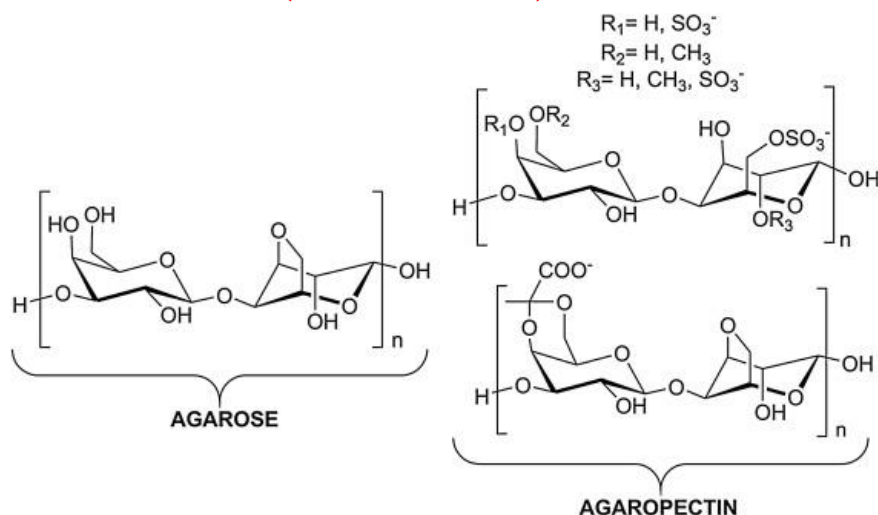


圖 2.8 瓊脂結構

熱可逆性凝膠在許多民生工業上一直扮演著重要的角色，它在食品工業、醫藥工業、日用化工、生物工程等方面有廣泛之應用。例如鹿角菜膠具有親水性以及高黏度，主要被用來作為增稠劑、乳化劑或凝固劑等，無論是在製作優格、牙膏或是空氣清新劑上都可以看見它的存在。因此，上述膠體普遍具有熱溶性，為



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

使膠凝劑能完全溶解，在製備凝膠的過程中皆透過增加溶液溫度，再降低溫度的過程中，系統會由溶液態變為彈性凝膠體，此過程即為溶膠-凝膠態轉換(sol-gel transition)，而轉換時的臨界溫度即定義為凝膠相轉變溫度(gel transition temperature, Tgel)(Alnaief et al., 2018)。另外，從海藻萃取出來的洋菜膠就是一個標準的熱可逆性凝膠，洋菜則是由紅褐藻類提煉而來，生洋菜是白色半透明的，市面上可買到粉狀、條狀、塊狀等不同型態(Sattar et al., 2018)。在食品加工用途上，亦可做布丁、果凍、茶凍、咖啡凍等等，洋菜除了含有高量之膳食纖維以外，也含有豐富之微量元素如鐵、鎂、鈣、銅及鉀等，其中尤以鈣與鎂含量最多，洋菜亦常用於實驗室，可作為細菌的培養基或用於分子生物學實驗，如膠體電泳。

由於各種親水膠體的膠凝特性不同主要原因為分子鏈結強弱與不同溶劑作用下所產生之變化，從理論到應用對它的研究已有近二百年的歷史，研究迄今，對它的膠凝機理還未完全清楚，一般認為明膠成膠時，蛋白質中的多肽鏈相互交聯使得每分子能形成約五或六個結晶性區域，這些交聯可能是由於氨基酸與側鏈羧基之間發生的鹽鍵作用力而產生的。明膠在任何 pH 情況下和無需其他物質如 Ca^{2+} 、糖的協助都能同水作用形成均一的凝膠，該凝膠為熱可逆性的，加熱可以融化，冷卻後又會再次成膠(Semasaka et al., 2018)；(2)熱凝膠(如鹿角菜膠、洋菜膠等)：紅藻提取物膠體都是這種膠凝方式，它們的共同組分硫酸酯半乳聚糖在形成這種凝膠時往往要經歷三個明顯的階段：自由纏繞，雙重螺旋，聚集，其中所形成的雙重螺旋結構是形成這類凝膠網路的基礎(Sattar et al., 2018)；(3)化學凝膠(如海藻酸)：在有高價金屬離子存在下可以形成凝膠，而與溫度高低沒有關係。海藻酸鈉和低酯果膠都是通過與鈣離子發生化學反應交聯而獲得一種特殊的凝膠。一般而言，這種交聯是由於鄰近聚合物鏈上的兩個羧基基團與鈣離子作用形成離子橋或通過每一對聚合物鏈上的羥基和羧基基團同鈣離子發生螯合作用而形成的(Cataldo et al., 2016)。瓊脂為海洋中藻類之提煉物質，大多數可分解瓊脂之微生物生長於海洋環境中，但亦有許多研究指出，部分可分解瓊脂之微生物則是由陸地上之淡水、廢水及土壤中發現。



2.8 分子生物技術於污染整治上的重要性與應用

過去分子生物利用分析核酸、磷脂、或其他的生物指標(microbial biomarker)來提供何種菌種及其數量能使污染物有效分解。因此，分子生物之監測技術可用以做為評估現地生物分解之方法之一(Lien et al., 2016)。為了評估環境微生物是否有降解污染物的潛能，利用分子生物技術偵測環境中的特定微生物、基因或酵素活性。使用 DNA 探針與環境 DNA 或 RNA 雜合，可了解場址中酵素的分布、改變。另有酵素活性探針，這種探針為非螢光化合物，經過降解酵素轉化後變成螢光物質，偵測螢光量，便可知道降解酵素的活性(Kuo et al., 2013)。萃取環境微生物 RNA 或 DNA，以即時定量聚合酶連鎖反應 qPCR 降解基因或 16S rRNA 之保留區片段，定量環境中降解基因套數或微生物數量，藉以監測環境微生物降解污染物潛能，彙整應用於土壤及地下水脫氯微生物菌相之分子生物技術如表 2.4 所列。總體基因體(Metagenomics)是近年來才發展出來的興新學門，主要是透過研究分析環境基因體，進而描繪環境生物的代謝特性。一個完整的環境系統，是由許多種生物所組成，除了看的見的生物之外，當然也包括看不見的微生物族群，這些族群的數量遠比動植物多，然而，如要描繪一個真實的環境生化代謝圖譜，最有效的方式就是直接萃取環境中的總 DNA 或 RNA 加以分析，藉由基因體的資訊，對環境做全面性的了解。環境基因體具有高多樣性及複雜度，最著名的例子是 Craig Venter 在一桶海水中萃取細菌 DNA，經 NGS 分析後，發現含有高達 150,000,000 bp 非重複性的鹼基對，1,800 個 genotype 以及 1,200,000 個過去沒有被記錄過的基因，因此，要描繪出真實完整的環境基因體特性，需要大量的資料(Akash et al., 2018)。一般來說，一群微生物可能是相互合作降解環境污染物。然而，不是所有菌種可降解各種各樣的污染物，可藉 NGS 測定在污染廠址內具有分解污染物潛力菌種種類和其在所有菌種種類分佈比率，然而透過分析工業污染場地的微生物群落基因序列，並經由生物分類資訊軟體分析，可提供污染物及其化合物存在的污染場址，其微生物群落組成。這種做法將有利於鑑定是否具有特定微生物，參與降解途徑的關鍵生化反應步驟。這項研究的目的是評估內生性土壤及水體微生物群落，並預測受污染的場址之微生物復育前和後的菌相分析，當我們對於環境中菌相的分佈以及優勢菌種可以有非常完整瞭解後，便可有利於特定菌種的分離、純化與培養，並進而利用這些菌種來進行各類環境污染的生物復育。利用 PCR 的方式放大 16S rDNA 之後，搭配 NGS 來獲得微生物的組成群落，是目前最有效率且精準的方式(Nobre et al., 2017; Scalzi et al., 2018)。



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

表 2.4 應用於土壤及地下水脫氯微生物菌相之分子生物技術

分子技術	訊息	文獻
直接巢式聚合酶連鎖反應 direct and nested polymerase chain reaction (PCR)	定性：微生物 DNA 定性和檢測	(Chang et al., 2017)
定量即時聚合酶連鎖反應 quantitative polymerase chain reaction (qPCR)	定量：目標菌種之 16S rRNA、mRNA 及功能基因	(Xiu et al., 2010)
生物複製資料庫 clone library (phylogenetic analysis)	定性：生物基因多樣性資料庫 (16S rRNA 基因及功能基因)	(Wang et al., 2016a)
次世代定序 next-generation sequencing (NGS)	定性：生物基因多樣性資料庫 (16S rRNA 基因、功能基因及基因定序)	(Němeček et al., 2018)
磷脂脂肪酸法 phospholipid fatty acid (PFLA)	定性及定量：微生物菌落多樣性，與其他技術結合可分析營養狀況及代謝活性	(Field, 2018)
變性梯度膠體電泳 denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE)	定性：微生物菌相分析	(Chang et al., 2017)
螢光原位雜合技術 fluorescent in situ hybridization (FISH)	定量：生物活性、空間分佈及整個生物多樣性訊息	(Dolinová et al., 2017)
訊號增幅螢光原位雜合技術 catalyzed reporter deposition-fluorescence in situ hybridization (CARD-FISH)	定量：生物活性、空間分佈及整個生物多樣性訊息	(Huang et al., 2016a)



2.9 現地場址背景簡介

原先申請計畫場址位於台南永康工業區以鹽行段永安路 12 巷道路區為模場試驗區為主並已獲得台南區公所同意，因台南市永康區鹽行地段場址今年進行道路施工經由商確不便此場址進行現地試驗，後續改為高雄市前鎮區興邦段 340 及 341 部分地號進行模場試驗如圖 2.9 所示。本團隊已取得相關單位同意，該場址遭受含氯有機物污染較高，主要目標污染物為 PCE 及 TCE，為加速地下水污染團之還原脫氯作用，添加 γ -PGA 基質進行加強式生物復育整治成效，場址井位示意圖如圖 2.10 所示。本場址水力傳導係數為 3.90×10^{-3} cm/s，地下水流向由東向西流動，土壤組成份是為砂質壤土如表 2.5 所列。本計畫 107 年規劃設置 1 口上游監測井與 1 口注藥井及 2 口下游監測井；108 年規劃設置新增 3 口下游監測井，後續本團隊將評估整治成效及場址狀況，若監測井不足或位置不適當，增設數口臨時監測井作為整治井。本計畫將依現場之微生物反應速率，做必要之整治技術之調整，以提高微生物活性及數量，注藥井(IW)提供現地試驗，並於其地下水下游處約 1~2 公尺設置二口監測井 DW1（距離注藥井 1.5 m）、DW2（距離注藥井 2.5m）、DW3（距離注藥井 4.2 m）、DW4（距離注藥井 5.3 m）、DW5（距離注藥井 6m），並選 UW（距離注藥井 1 m）為污染的上游井做為控制井，各井設置規格如 2.6 所列。本團隊 107 年進行第 1 次 γ -PGA 藥劑灌注，其灌注量為 10 L γ -PGA 藥劑並稀釋 36 倍藥劑量的推進水後灌入井中基質同心圓向外擴散，將 γ -PGA 基質 TOC 濃度控制於 2400 mg/L。本團隊第二年主要針對注藥井及 3 口監測井定期採樣外依現場水文與地質狀況進行評估藥劑傳輸，預估下游增設 2 至 3 監測井如圖 2.7 所示。模場試驗階段將注藥(γ -PGA)前後，進行監測井的採樣分析，其監測項目包括污染物濃度、地質化學參數變化及 DHC 分析搭配 NGS，以評估以 γ -PGA 為基質的整治成效(Lai et al., 2017)。

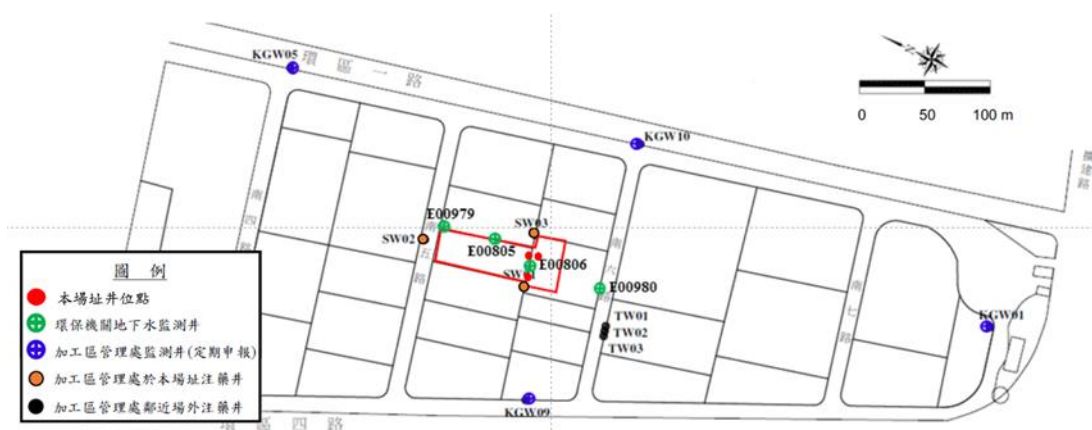


圖 2.9 前鎮區興邦段場址範圍示意圖



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

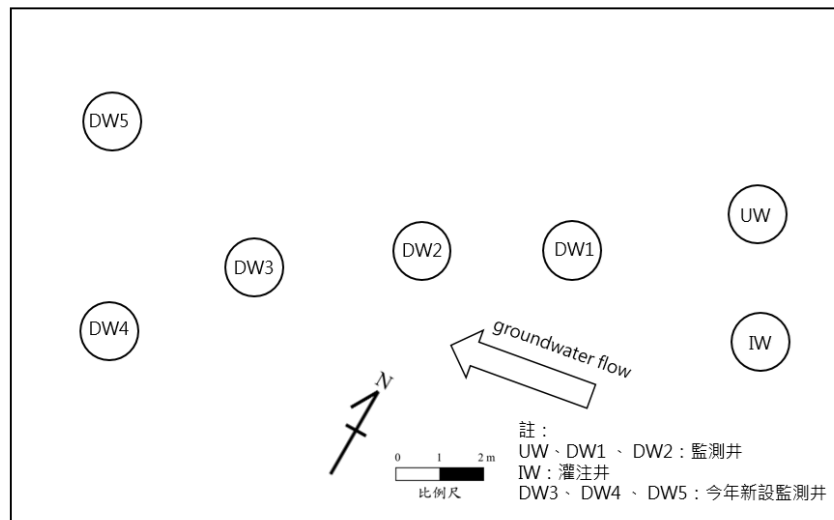


圖 2.10 現場注藥的示意圖

表 2.5 場址土壤地質特性

上限深度(M)	下限深度(M)	岩石或土壤性質描述
0	0.7	回填粉土質砂夾礫石
0.7	2.8	粗中細砂夾少量貝屑
2.8	7.6	粗中細砂夾黏土及貝屑
7.6	8.1	粗中細砂夾大量貝屑

表 2.6 場址各簡易井設置規格

井編號	井徑 (吋)	井深 (m)	開篩 深度 (m)	型式	管理單位
UW	2	7.5	3-7.5	隱藏式 簡易井	本計畫設井
IW	2	7.5	3-7.5	隱藏式 簡易井	本計畫設井
DW1 (E00806)	2	6.6	0.5-6.5	隱藏式 標準井	高雄市環保局
DW2	2	7.5	3-7.5	隱藏式 簡易井	本計畫設井



第三章：研究方法及步驟

本計畫工作包含蒐集國內外 γ -PGA 相關研究文獻、利用 γ -PGA 作為生物生長基質及現地 pH 緩衝溶液，並實際將 γ -PGA 在高雄市前鎮區興邦段 340 及 341 部分地號進行模場試驗，將 γ -PGA 作為 PCE、TCE 污染擴散控制的基質。此外，本計畫將 γ -PGA 進行改質，擴大 γ -PGA 之應用層面及效益，並將之改質之 γ -PGA 進行模場測試。本計畫之工作內容主要包含 γ -PGA 原液及改質之 γ -PGA 進行基本特性分析及現地生物復育試驗成效評估。

本計畫之工作內容包括四個階段，各階段的主要工作如下：

第一階段

第一階段為 γ -PGA 現地模場試驗。在此階段中，本團隊將以前鎮區興邦段 340 及 341 部分地號作為試驗區，除了進行相關地質水文資料收集外，並將規劃設計模場試驗區，將 γ -PGA 進行現地的灌注，以厭氧還原脫氯機制，進行污染區域的整治，並評估整治成效。此外，本計畫將依現場之微生物反應速率，做必要之整治技術之調整，以提高微生物活性及數量，地下水之分析項目將包括含氯有機物濃度、地質化學參數、脫氯菌群的變化分析。此外，本計畫邀請董天行經理(瑞昶公司)擔任本計畫的協同主持人。由於董天行經理對水文地質及污染情況經驗豐碩，因此可協助本計畫的模場試驗規劃和研究。圖 2.7 為現場注藥的示意圖，本團隊將在一口注藥井進行灌注，評估用 γ -PGA 作為整治前鎮區興邦段 340 及 341 部分地號 TCE 污染和邊界控制的可行性。第一年已完成設井及改質前灌注 γ -PGA 整治成效，第二年會評估擴散範圍，若場址中監測井不足或位置不適當，本團隊將視場址狀況，增設數口臨時監測井作為整治井。

第二階段

第二階段將進行 γ -PGA 改質試驗，使改質後的 γ -PGA 具有長效及緩釋的功能，並使 γ -PGA 具有更廣泛的應用性，以適用不同的地質水文條件。在第二階段將進行厭氧還原脫氯之生物分解試驗，評估以改質後的 γ -PGA 做為加強 TCE 還原脫氯基質之可行性。生物分解試驗將探討在不同環境及控制條件下(包括 γ -PGA 濃度、硫酸鹽濃度、污染物濃度及 pH 值)TCE 之分解效率。此外，亦將進行管柱流通試驗，以及改質後 γ -PGA 的特性分析，以批次實驗、粘度試驗、粒徑分析、元素分析、成分分析、吸附試驗、均質試驗、流通試驗及分配係數批次實驗等評估改質後 γ -PGA 之物化及生物特性。改質試驗主要為 γ -PGA 基質以不同比例和不同混煉方式添加不同性質(包括羧甲基纖維素、澱粉、瓊脂、明膠、大豆油和界



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

面活性劑等)，以改變 γ -PGA 物理化學及生物特性。此外，並以管柱流通性試驗、批次生物分解實驗、粘度試驗、粒徑分析、元素分析、成分分析、吸附試驗、均質試驗、分配係數批次實驗等評估 γ -PGA 之基本特性。改質試驗中將以上述之不同性質藥劑以不同比例(1~5%)和不同的混煉和配置方式製備固定比例 γ -PGA 基質，以進行 γ -PGA 基本特性改質，後續以上述之不同試驗，評估形成性能穩定性、緩釋性、可分解性與長效性。此外，在第二階段中，將進行厭氧還原脫氯之生物分解試驗，評估以改質後的 γ -PGA 做為加強 TCE 還原脫氯基質之可行性。生物分解試驗將探討在不同環境及控制條件下(包括 γ -PGA 濃度、硫酸鹽濃度、污染物濃度及 pH 值)對 TCE 之分解效率，第二階段的成果將作為設計第三階段模場試驗的依據。

第三階段

於第二年期主要針對第三階段進行，其利用第一階段的模場試驗區進行改質後的 γ -PGA 的測試，驗證改質後的 γ -PGA 對 TCE 污染場址的整治成效。模場試驗的程序和監測及評估方式與第一階段相同。本團隊將比較兩個階段的模場試驗結果，評估改質後的 γ -PGA 的適用性以及整治成效提升的程度。

第四階段

於第二年期進行第四階段經濟效益分析，評估應用 γ -PGA 以及改質後的 γ -PGA 作為厭氧脫氯基質之操作成本，並和其他常用之基質進行成本分析，評估 γ -PGA 以及改質後的 γ -PGA 之市場競爭力。

本計畫在各階段中，將利用 NGS 技術結合即時定量聚合酶連鎖反應於實驗中進行菌量分析，以瞭解脫氯菌之變化，做為應用 γ -PGA 整治 TCE 之成效驗證參考依據。

3.1 γ -PGA 基本特性分析

聚麩胺酸(γ -PGA)是以麩胺酸(GA)為基礎原料，經由微生物(*Bacillus* sp.)或酵素(glutamyl transpeptidase)並結合有機碳源、氮源及礦物質以液態醱酵行生物聚合而成的一種生物可分解性的高分子材料。

(1) 黏度試驗

添加 γ -PGA 基質與不同性質藥劑組別，利用粘度分析儀於轉速 20 rpm 下，分析 γ -PGA 基質不同性質藥劑組別變化。

(2) 粒徑分析



土壤樣品經充份攪拌混合後經風乾、破碎後，先以 10 mesh，孔徑 2 mm 的篩網篩除石礫及雜質。土壤有機質含量與 γ -PGA 基質作研究，主要先建立不同粒徑土壤特性的資料，提供做為後續研究之基本參考。

(3) 流通性試驗

針對流通性試驗主要評估改質試驗最適操作條件，於土壤孔隙間之吸附能力。因此，本計畫所採集之土壤為南部某工業場區內之現地土壤含水層，採集後之土壤樣品於現場經破碎及充分混篩，並去除大型萃石及雜質後。並添加 γ -PGA 進行管柱傳輸流通性之試驗評估，以一管柱長 (cm) $\times$ 寬 (cm) = 25(cm) $\times$ 5 (cm) 填充現地土壤並模擬基質灌注於地下含水層土壤中之傳輸情形(如圖 3.1)。首先，實驗進行時先將管柱內注入超純水測定其流量，之後注入 γ -PGA，並於出水端測定該物質之總有機碳(total organic carbon, TOC)出流濃度及出流量，觀察基質於土壤孔隙間之傳輸情形，並於進出流濃度達平衡時，再以超純水注入，觀察基質釋出情形。

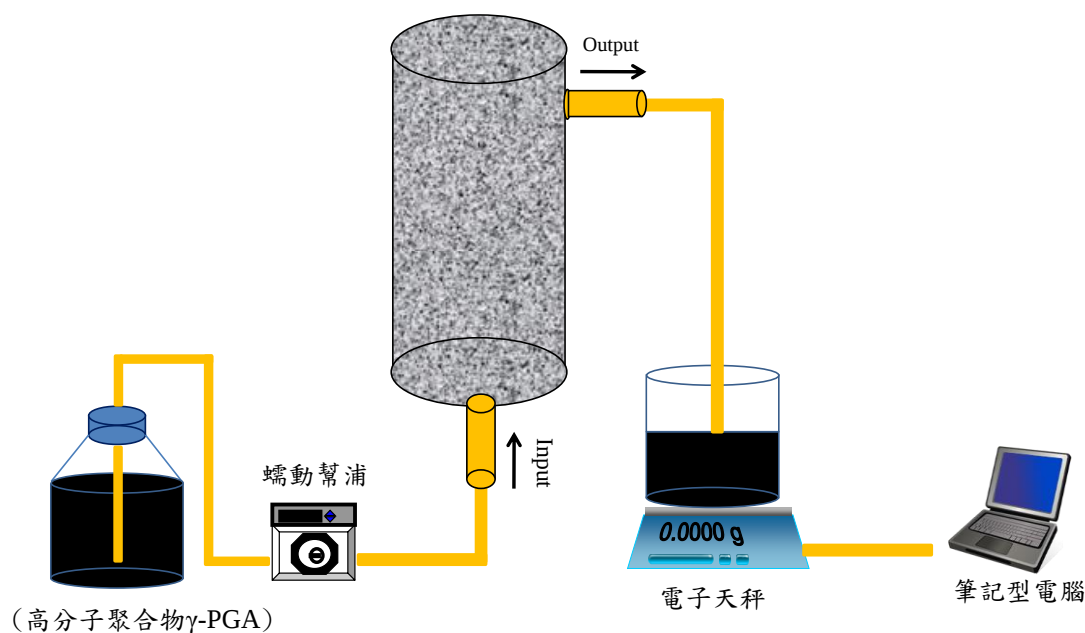


圖 3.1 γ -PGA 基質流通性試驗裝置示意圖

3.2 以改質試驗探討基質於現地基質傳輸性

改質實驗主要目的探討現地試驗中提供 γ -PGA 基質下，其基質傳速率與目標污染物降解速率。改質試驗主要為 γ -PGA 基質添加不同性質藥劑組別(分別為羧甲基纖維素組、澱粉組、瓊指組、明膠組、大豆油和界面活性劑組)，再以流通性試驗評估最適黏稠條件以利於後續現地生物復育技術之設計參考依據。



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

第一組：羧甲基纖維素組，將水與 γ -PGA 基質混合，調配 TOC 約 2000 mg/L，再以添加不同比例(1%~5%)羧甲基纖維素 (carboxymethyl cellulose, CMC) 進行改質試驗，後續監測不同比例之黏度，評估形成性能穩定性與黏稠度。

第二組：澱粉組，將水與 γ -PGA 基質混合，調配 TOC 約 2000 mg/L，再以添加不同比例(1%~5%)澱粉進行改質試驗，後續監測不同比例之黏度，評估形成性能穩定性與黏稠度。

第三組：瓊指組，將水與 γ -PGA 基質混合，調配 TOC 約 2000 mg/L，再以添加不同比例(1%~5%) Agar 進行改質，後續監測不同比例之黏度，評估形成性能穩定性與黏稠度。

第四組：明膠組，將水與 γ -PGA 基質混合，調配 TOC 約 2000 mg/L，再以添加不同比例(1%~5%)明膠進行改質試驗，後續監測不同比例之黏度，評估形成性能穩定性與黏稠度。

第五組：大豆油和界面活性劑組，將水與 γ -PGA 基質混合，再以添加不同比例進行改質試驗，後續監測不同比例之黏度，評估形成性能穩定性與黏稠度。

以上試驗皆進行改質後續進行流通性試驗，評估本場址最適基質改質參數，以利於日後藥劑於土壤中之維持性，且評估藥劑改質後所衍生相關問題。

3.3 現地添加 γ -PGA 基質之設計

本計畫將擬定以現地受含氯污染之地下水中進行添加 γ -PGA 基質作為設計，包括(1)灌注 γ -PGA 基質時，可能面臨到的問題；(2)先期評估；(3)反應性物質之選擇；(4)成效評估；(5)後續之監測；(6)所需之反應時間；(7)經費評估等。此設計將可作為實場應用前之設計依據。由於 γ -PGA 基質添加之位置應在含氯有機物污染團的範圍中，且不致影響地下水之自然流動坡度。但影響反應牆之因子如下：(1)污染物種類、特性、濃度及污染團分布；(2)地下水流向及流速；(3)提供電子接受者反應情形及(4)含水層之地質、化學、微生物及水文特性，因此模場之現場水文水質調查極具重要性。

3.4 現地之模場試驗

目前本計畫於場址選擇 1 口控制井 1 口灌藥井及 4 口監測井，注藥井(IW)提供現地試驗，並於其地下水下游處約 1~2 公尺設置二口監測井 DW1 (距離注藥



井 1.5 m)、DW2 (距離注藥井 2.5m)、DW3 (距離注藥井 4.2 m)、DW4 (距離注藥井 5.3 m)、DW5 (距離注藥井 6m)，並選 UW (距離注藥井 1 m) 為污染的上游井做為控制井，並於灌注井添加 γ -PGA 基質，研究將 2~3 周進行採樣及監測工作，以評估其成效。若場址中監測井不足或位置不適當，我們將視場址狀況，增設數口臨時監測井作為整治井。此外，本計畫將依現場之微生物反應速率及藥劑傳輸效率，做必要之整治技術之調整，以提高微生物活性及數量。地下水之分析監測項目包括含氯有機污染物濃度、生物降解後產生之副產物、溶氧、pH 值、導電度、氧化還原電位、總有機碳、硫酸鹽、硫化氫、氨氮、氫氣、甲烷等。

3.5 現地微生物資訊分析

為了瞭解實驗過程中其微生物之生長情形，故以分子生物技術分析其各組實驗之菌相變化，本計畫利用 NGS 分析技術結合 qPCR 等分子生物分析技術，分子生物分析實驗包含 DNA 萃取、PCR 放大、qPCR 微生物定量分析、現地微生物定序分析。

- (1) DNA 萃取及聚合酶連鎖反應：將樣品加入酚及氯仿(phenol/chloroform)除去蛋白質及其他成分，使蛋白質變性來進行 DNA 萃取之步驟。將萃取 DNA 進行聚合酶連鎖反應(PCR)，利用溫泉菌(Taq polymerase)耐高溫特性，以升降溫度的循環方式來控制 DNA 聚合酶的酶活性，針對細菌的 16SrDNA 中變異的區段序列所設計的 V6-V8 region 的 primer：968fgc、1401r，大量複製目標 DNA 序列的方法。
- (2) 定量即時聚合酶連鎖反應 qPCR：偵測 *Dehalococcoides* spp.以 TaqMan probe 法分析，使用的 primer 與 probe 選用引子 1200 f 與 1271 r 進行 PCR 放大 *Dehalococcoides* spp.16S rDNA 基因片段。將此 PCR 產物接合到 pGEM-T Easy Vector (50 ng/ μ L)上，進行定序確認物種，當確定為 *Dehalococcoides* spp.的質體做為標準品進行後續的標準曲線建立。依下方公式(1)，將序列稀釋的各種濃度換算成 gene copies，做出一條標準曲線 (gene copies 對 Ct 值做圖)。此實驗進行二重複的反應以做出較為準確的標準曲線，配製好後以 StepOnePlus™ Real-time PCR system (Applied Biosystem)進行實驗反應，反應中 annealing 溫度為 58°C，時間為 1 分鐘，進行 40 個 cycles 的反應。
- (3) 次世代定序分析：次世代基因定序技術已然發展 10 年，次世代定序是新的核酸定序技術，本計畫將利用 illumina HiScan 平台，每日最多可以得到 15 Gb 的數據，每批次實驗可獲得的資料總量為 150 Gb。在完成實驗取得資料後能



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

藉由專業生物資訊團隊依照實驗目的需求進行分析與探討。

3.6 本計畫使用儀器使用廠牌

本計畫主要以氣相層析/電子捕捉偵測器進行 TCE 與副產物之分析(如表 3.1 所示)，並將以貴儀中心之掃描式電子顯微鏡及 X 光繞射分析觀察分析批次瓶沉澱物及填充土壤於實驗過程之型態及種類變化，並以 NGS/qPCR 分析技術與設備進行相關分子生物技術之研究。

表 3.1 彙整不同設備儀器之廠牌及型號

設備名稱	用途說明	廠牌/型號/備註
冷凍乾燥機	樣本預備	台灣泛群科技有限公司，型號 FD-5030
GC-ECD 氣相層析/ 電子捕捉偵測器	氣態產物 分析	Agilent，型號 6890 (層析管柱：Agilent MXT-5，0.53 mm，30 m)。
吹氣捕捉裝置 (Purge and Trap concentrator)	樣本預備	Tekmar，型號 3000。
GC-TCD 氣相層析 儀	氣態產物 分析	Agilent，6890N
GC-FID 火焰離子偵 測儀	液態產物 分析	Agilent，6850
掃描式電子顯微鏡 (SEM)	觀測材料 型態	中山大學貴儀中心
高速離心機	樣本預備	-
黏度分析儀	材料型態 特性分析	Brookfield，型號 DV3T
粒徑分析儀	材料型態 特性分析	-
變性梯度電泳槽	分子生物 分析	BIO-RAD
照膠分析系統	分子生物 分析	Major Science
聚合酶連鎖反應器	分子生物 分析	eppendorf

可能遭遇之困難及解決途徑

如前所述，較可能遭遇之困難為(1)場址之選擇及業者之配合及(2)反應速率無法達到預期成效。由於本計畫團隊曾參與相關污染場址之先期調查，未來有可能



第三章 研究方法及步驟

以這些場址為研究對象。另外，現場狀況不易掌握，故本團隊將盡可能收集現有之先期資料，以作完整之先期評估，以減低此部分之風險。此外，並將以基質添加量增加或脫氯菌種之添加等方式作為應變方式，以減低此部分之風險。

重要儀器之配合使用情形

在本工作計畫中，本團隊將需要地下水之採樣及現場分析設備。另外，若需增設數口臨時監測井，則需鑽井設施本團隊將向其他單位洽借。此外，將以本校貴儀中心之掃描式電子顯微鏡及 X 光繞射分析觀察分析現地土壤中微生物型態及種類。本年度仍將以 GC/purge and trap 進行污染物之分析，並將以 GC/MS 檢測生物降解後產生之副產物。



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

108 年預定進度甘特圖

年月 工作項目	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	備註
文獻蒐集												
改質前 γ -PGA 模場整治成效及成本效益評估												
灌注改質後之 γ -PGA												
含氯有機物濃度、地質化學參數、脫氯菌群的變化分析												
期中報告撰寫												
改質後 γ -PGA 模場整治成效及成本效益評估												
分子生物及定序分析												
生物復育技術整體分析評估												
期末報告撰寫												
工作進度估計百分比 (累積數)	5%	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%	100%	
預定查核點	第 3 個月完成；改質前 γ -PGA 模場整治成效及成本效益評估											
	第 6 個月完成；期中報告撰寫											
	第 9 個月完成；改質後 γ -PGA 模場成效評估與分子生物及定序分析。											
	第 11 個月完成；現地生物降解整治效益評析，並提出期末報告。											



第四章：結果與討論

4.1 改質 γ -PGA 基本特性分析

4.1.1 基質配製黏度試驗

文獻顯示添加乳化型釋碳基質(emulsified carbon-releasing substrate, ECS)於土壤傳輸為良好緩釋性基質，且具有長時效供應現地微生物生長時所需之營養鹽但 ECS 需額外添加緩衝藥劑才有效控制 pH 維持中性範圍(Liang et al., 2013)。文獻顯示 γ -PGA 基質具有 pH-responsivity 之特性，當環境中之 pH 值產生變化時， γ -PGA 能與溶液中之氫離子(H^+)結合或分離達到平衡之狀態，在這種結合和分離中，其微觀分子結構的變化會導致其體積、形態或結構的變化(Khalil et al., 2016; Luo et al., 2016; Sheu et al., 2017)。本研究黏度試驗為改質實驗測試不同性質藥劑與 γ -PGA 結合，提升 γ -PGA 基本特性，改質試驗為 γ -PGA 基質添加不同性質藥劑組別(分別為 CMC 組、澱粉組、瓊指組、明膠組、 γ -PGA 與乳化油混合組)，測試最適參數再以流通性試驗評估最適黏稠條件以利於後續現地生物復育技術之設計參考依據。

實驗分析結果如圖 4.1 所示不同組別黏度監測值。 γ -PGA 原始黏度為 1.2 cp，乳化型釋碳基質黏度為 520 cp，以乳化型釋碳基質作為基準嘗試不同配製，以黏度試驗搭配管柱流通性試驗，評估最適配比參數。本研究實驗 CMC 組別 γ -PGA 添加 0.3~0.5% CMC 藥劑量，監測黏度為 200~330 cp，CMC 藥劑往上增加發現 CMC 與 γ -PGA 無法完全混合，故添加 CMC 藥劑 1~3%之組別黏度數據無法測出。明膠組別分別添加 1、3 與 5%明膠藥劑，測出黏度最高約 300 cp，澱粉組別分別添加 5、10 與 15%澱粉藥劑，測出黏度最高為 250 cp，瓊指組別分別添加 0.5、1、3%瓊指藥劑，測出黏度黏度最高約 300 cp，實驗發現瓊指性質關係於室溫狀態下瓊指會呈現凝固現象，推測瓊指組別流通性試驗會發生阻塞現象。乳化型 γ -PGA 以不同比例配製，監測黏度範圍為 120~450 cp。後續乳化型 γ -PGA 以 (1:20)比例進行流通性試驗，其評估改質組別於土壤中維持之差別，且評估藥劑改質後造成阻塞等問題衍生。不同藥劑組別基質黏度值範圍約 250~300 cP，黏度值由高至低分別為：CMC 組別>乳化型 γ -PGA>明膠組別>瓊指組別>澱粉組別，推估澱粉與明膠組別流動性為最佳，推測其應可快速傳輸於土壤孔隙間，若需要長時效供應基質選擇 CMC 組別或是乳化型 γ -PGA，並於後續管柱流通性試驗中進行探討。基質灌注於地下水中之傳輸，不僅受限於基質穩定性及顆粒大小，當黏度愈大時，基質傳輸速度亦愈慢(Tsai et al., 2014; Tang et al., 2017)。後續會以 CMC(0.5%)組別、明膠(5%)組別、澱粉(15%)組別、乳化型 γ -PGA(1: 25)比例組別



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

進行流通性試驗，評估改質藥劑應用現地場址之適用性。

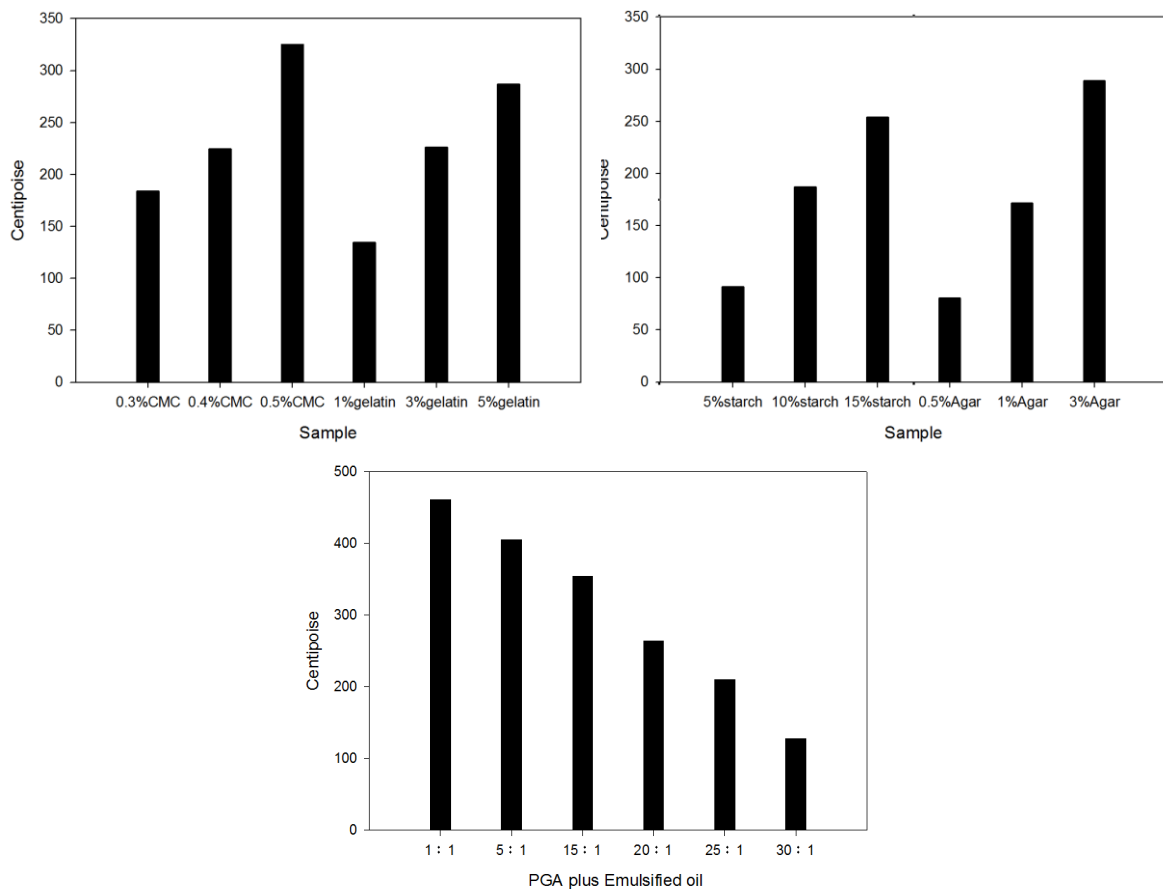


圖 4.1 不同組別監測黏度變化圖

4.1.2 粒徑與界達電位分析

流通性試驗土壤進行顆粒組成份分析以黏粒(<2 μm)、粉粒(2~63 μm)及砂粒(>63 μm)所佔的百分比如圖 4.2 所示。土壤黏粒、粉粒及砂粒所佔的百分比分別介於 0.8%、10.2%及 89%，其本試驗土壤組成份為砂質壤土。近年推動加強式生物整治廣泛應用於處理受污染之地下水，不僅可省下大筆整治費用，對於現地環境衝擊亦較小，且可有效降解污染物。本研究針對改質後基質，進行粒徑分析如表 4.1 所列。經由此結果得知， γ -PGA 之二個主要粒徑包含 437 nm 及 5,423 nm，明膠組別為 3075 nm、CMC 組別為 1568 nm、澱粉組別 1994 nm、乳化油組別 824 nm，各基質性質介於奈米到微米之間。改質組別粒徑大小可有效分佈到粗細顆粒間(包括黏土到砂粒)，可達到均勻分佈及增加生物可及性目標。另外，本研究改質後基質監測界達電位皆為負值介於(-9.8 mV 到 -95.5 mV)如圖 4.3 所示，過去研究顯示大多數土壤多帶負電(Sairam et al., 2016; Barrow, 2017)，故基質之電位值越低，可有效傳輸至下游不會停留灌注區，若運用於地下水污染整治上，應皆可有良好之傳輸性。



第四章：結果與討論

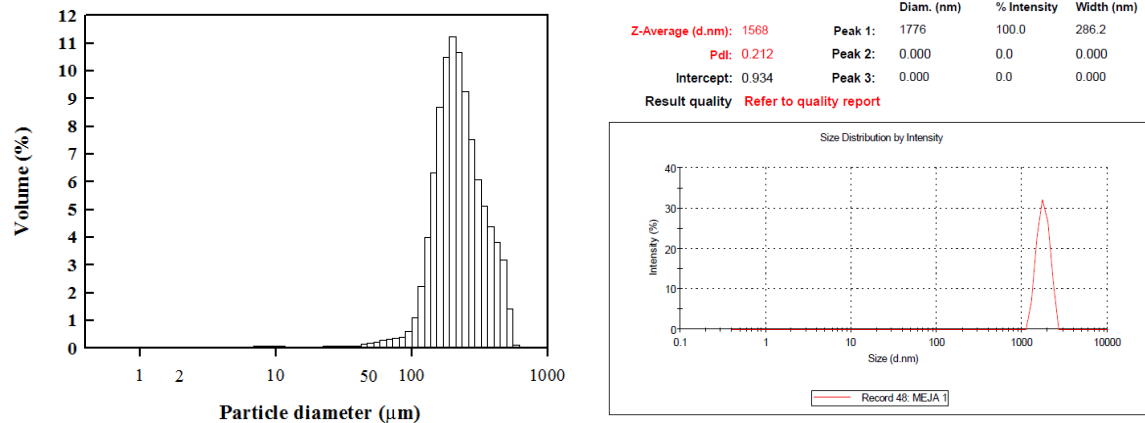


圖 4.2 管柱土壤與粒徑分布百分比圖

表 4.1 不同組別粒徑分析

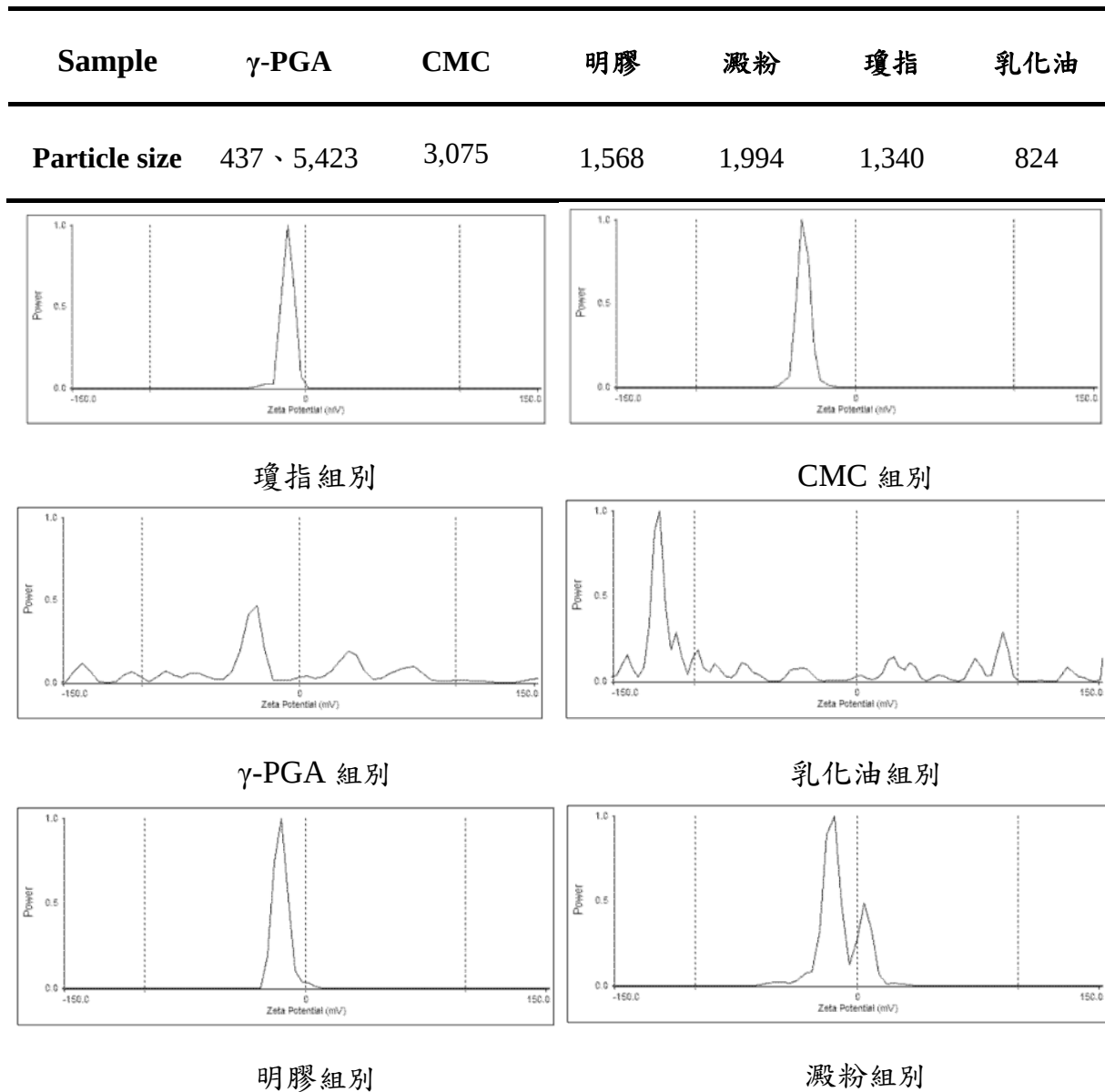


圖 4.3 改質基質介達電位圖



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

4.1.3 均質試驗

本研究使改質後基質進行均質試驗，目前適用於土層之生物基質皆為水溶性反應物質，以量筒測試不同高度(0、15 及 30 公分)，分析不同小時之 TOC 濃度變化趨勢，藉此可評估 γ -PGA 經由改質後基質之均質穩定度。由圖 4.4 顯示改質組別經靜置 48 小時後基質均未有分層之情形，可有效維持基質穩定性。另外，以不同小時分析 TOC 濃度變化趨勢數據顯示如圖 4.5 所示。 γ -PGA 改質試驗經 48 小時試驗，各組別 TOC 濃度均維持初始濃度之間，並未有明顯 TOC 濃度改變趨勢，可證實未有分布不均之現象發生，由試驗結果得知改質組別均質穩定為一致性。使用不同生物基質時，需考量藥劑有效傳輸距離外，營養鹽濃度是否足以提供微生物新陳代謝所需之能量，亦為現地整治時需考量之因素之一。地層中碳及氮含量是限制微生物生長之重要因子，碳源主要提供微生物能量，而氮源為微生物合成蛋白質之來源，故 C/N 比不僅可代表基質富含的養分，亦可作為了解現地土壤及地下水中之碳/氮/磷循環及礦化作用等機制之參考(Ghaly and Ramakrishnan, 2015)，各組別可提供營養鹽如表 4.2 所列。本研究使用之基質應能有效提供微生物生長之營養鹽，可有助於提升微生物生長及代謝功能。



圖 4.4 不同組別靜置 48 小時後基質變化圖



第四章：結果與討論

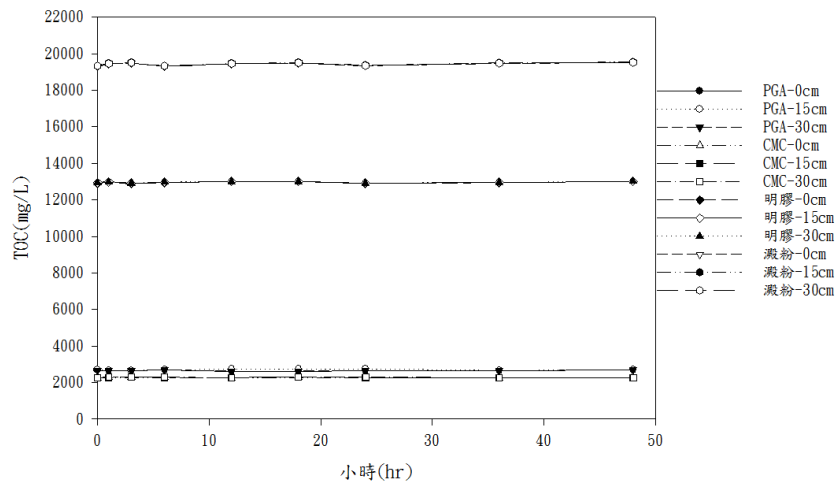


圖 4.5 不同時間各組別 TOC 濃度變化趨勢圖

表 4.2 不同基質組別之營養鹽分析

基質	碳 (mg/L)	氮 (mg/L)	磷 (mg/L)	乳化型 γ -			
				PGA 基質 組別 (比例)	碳 (mg/L)	氮 (mg/L)	磷 (mg/L)
ECS	40,710	2,880	307	(1:1)	16,855	47	1,251
CMC	2,672	76	10	(15:1)	3,650	73	1,151
明膠	19,590	165	29	(20:1)	4,047	74	1,098
澱粉	13,060	74	862	(25:1)	4,041	78	1,055
-	-	-	-	(30:1)	4,063	74	1,057



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

4.1.4 流通性試驗

本試驗用以評估改質後基質組別模擬於地下水之傳輸性，本計畫選用 γ -PGA 改質前後進行管柱試驗來模擬基質注入地下水中傳輸成效。由於改質前作為示蹤劑可有效作為判別管柱中與基質後傳輸差異上之依據。 γ -PGA 基質進行管柱傳輸試驗，以一填充管柱模擬地下含水層土壤，實驗進行時先將管柱內注入超純水測定其流量，之後將改質後基質注入，並於出水端測定該物質之出流 TOC 濃度及出流量，當進出流量濃度達平衡時，再以超純水注入，觀察不同基質於土壤孔隙間之傳輸與 TOC 濃度之變化如圖 4.6 所示。基質流通性試驗之管柱基本操作參數如表 4.3 所列，流通性試驗可作為後續現地模場基質注入量與時間性參考之依據，經由實驗試驗管柱每日出流量為 144 mL/day，計算管柱 1 pore volume (PV) 約 178 mL，換言之管柱出流量 1 PV 需要 29 小時。

各物質出流濃度如圖 4.6 所示， γ -PGA 基質其出流 TOC 濃度與入流 TOC 濃度達平衡時之注入體積約 6~7 PV。當基質注入體積達 11 PV，再注入超純水出流體積約 14 PV 時 γ -PGA 基質實驗組 TOC 已流出 85%，其原因由 γ -PGA 為水溶性基質，其易容易流失基質，由管柱流通性使用之現地土壤顆粒為砂質壤土，可證實 γ -PGA 基質注入於地下水可有效的傳輸至下游。因此 γ -PGA 基質可應用於地下水流速較緩慢之場址，其地下水流速緩慢配合水溶性基質，可有效將基質均勻分散土壤顆粒間。本研究嘗試使用瓊指組別進行流通性試驗發現瓊指特性，室溫狀態下呈現凝固現象，後續瓊指組別未進行流通性試驗測試。CMC 組別、澱粉組別與明膠組別數據明顯發現，添加澱粉與明膠對於 TOC 濃度有大幅度提升，因明膠與澱粉含有豐富碳源，故添加藥量越高整體 TOC 濃度越高。管柱流通性試驗顯示，明膠與澱粉組別注入體積約 6~7 PV，TOC 濃度已達到 90% 與 γ -PGA 基質一樣約 6~7 PV 情況下 TOC 濃度達到平衡。CMC 組別觀察約 11~13 PV 情況 TOC 濃度達到平衡，明顯相較原先基質多約 5 PV 貫穿時間較原先多出約 6 天時間，顯示添加羧甲基纖維素之改質可提升其分佈係數(partition coefficient)，增加基質和土壤吸附性。乳化型 γ -PGA 組別，注入 9~11 PV 體積 TOC 濃度達到平衡，顯示乳化油與 γ -PGA 結合有效將基質停流於土壤顆粒不易流失，推測可能原因為基質內皆含有油與界面活性劑(親水及親油)特性，有助於降低基質與土壤間吸附之物理作用。此外，利用黏度計量測乳化型 γ -PGA 組別黏度值 250 cp。由此結果顯示，基質可相較長效於土壤孔隙，其出流與入流 TOC 濃度達平衡時之注入體積約 9~11 PV，顯示基質之殘餘有機質含量較其他組別高，約 25 PV 測出 TOC 濃度約 300 mg/L，其原因可能與注入基質部分附著於土壤顆粒表面，並無法完全沖排。由相關研究成果顯示，當油滴粒徑小有助於土壤孔隙間之傳輸性(Shen et al., 2015; Zhong et al., 2015; Muller et al., 2018)。綜合上述結果得知，經由 PV 換算成



第四章：結果與討論

天數可得知 γ -PGA 基質停流土壤孔隙間約 6 天，CMC γ -PGA 基質停流土壤孔隙間約 9-10 天，乳化型 γ -PGA 基質停流土壤孔隙間約 13 天，相較之下比 γ -PGA 更可停留土壤顆粒一倍時間。因各組別基質與土壤顆粒表面之界達電位皆為負值，故吸附於界達電位為正值之部分土壤顆粒上，亦不易於土壤顆粒表面累積，因此傳輸性較佳(Liang et al., 2013)。另外，改質基質黏度值較高則有效將基質更長效分佈土壤顆粒間，其基質吸附於土壤中之可能性，上述試驗中得到證實改質基質具長效性。

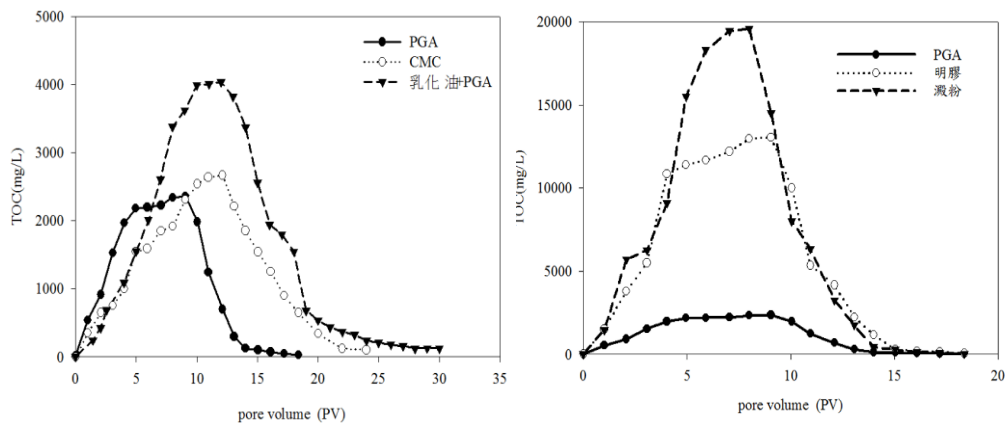


圖 4.6 不同基質於土壤管柱傳輸與 TOC 濃度之變化

表 4.3 基質流通性試驗之管柱基本操作參數

管柱基本操作參數	數值	土壤基本性質	數值
管柱土壤填充量 (g)	1000	pH 值	6.25
管柱尺寸 (cm)	Ø6.5、L 30	砂粒(%)	89
土壤密度 (g/cm ³)	1.6	粉粒(%)	10.2
孔隙體積 (mL)	178	黏粒(%)	0.8
流量 (mL/min)	0.1	-	-



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

4.1.5 pH 酸化試驗

本實驗主要是以改質後組別進行酸化試驗，評估改質後各組別是否造成酸化現象發生。由於環境微生物在工業發展應用上為一重要之工具，主要探討不同環境中族群分佈及生物多樣性，當微生物利用現地微量元素(碳源與氮源)，作物養分攝取，物質分解與轉換等不同機制，可產生具有降解污染物功能之還原酵素基因。因此，本研究於實驗進行前蒐集相關文獻得知，多數營養基質如大豆油、蔬菜油及其他食用油皆可提供長效且增進厭氧生物降解(Kuo et al., 2013)。以加強式生物復育添加基質作為微生物碳源外，在厭氧發酵過程會產生大量 H_2 有效提供電子可供給微生物利用，當微生物分解後產生有機酸(乙酸、丙酸、丁酸及醋酸)，進而導致地下水質 pH 酸化情形，間接抑制微生物生長環境。本研究中針對改質後基質進行生物可利用性進行相關試驗，評估基質添加於地下水中之 pH 及 TOC 消耗率變化，且試驗結果可作為後續微生物批次試驗設計添加量之參考依據。

本研究利用現地地下水設計不同基質進行批次酸化試驗評估，組別分別為 CMC 組別、澱粉組別、明膠組別、乳化型 γ -PGA 組別(1:1、1:20、1:25、1:30)，由 pH 監測結果顯示圖 4.7 所示，反應初期 pH 值為 6.0~6.5，反應期間改質後基質 pH 值均有上升趨勢，其中 CMC 組別、澱粉組別、明膠組別、乳化型 γ -PGA 組別(1:25、1:30)這幾種組別經過 30 天監測 pH 為 6.8~7.2 之間。推估提高乳化型 γ -PGA 組別劑量為 1:15 以上， γ -PGA 氨基可平衡酸化現象。微生物在代謝過程中可緩慢分解油滴後持續提供營養源，並達到具有長效緩慢釋碳之特性。由相關文獻指出，當基質在反應過程中因發酵作用產生 H_2 及微生物分解後產生有機酸(乙酸、丙酸、丁酸及醋酸....等)易導致地下水中緩衝鹼度能力受限，便會造成 pH 值下降情形(Detman et al., 2018)，若將 γ -PGA 替代緩衝試劑使用可大幅度降低成本，亦證實添加基質可作為微生物反應碳源與電子供給。由乳化油組別顯示若沒有添加緩衝溶液，反應期間觀察 pH 為持續下降，推估微生物在初期生長過程中可快速分解水中有機物質及營養鹽所產生有機酸、脂肪酸等機制作用下造成 pH 降低。

由不同基質組別觀察其 TOC 變化由圖 4.7 所示，初始 TOC 的濃度有所差異，監測第 30 天 TOC 消耗率 CMC 組別為 21%、澱粉為 8%、明膠為 17%。乳化型 γ -PGA 組別組別(1:15)為 32%、(1:20)為 11%、(1:25)為 10%、(1:30)為 10%。亦發現乳化油組別未添加 γ -PGA 或是緩衝溶液監測於 30 天 pH 低於 6.0 有酸化現象發生，推估為反應期間因基質快速產氫導致 pH 酸化，間接影響微生物活性，而造成 TOC 消耗率不佳。如當現地 TOC 能維持一定濃度於地下水中可作為微生物生長及電子提供者，並維持生物反應進行達到降解污染物之潛勢(Kwiatkowska-



Malina, 2018)。綜合上述實驗結果可得知，藉由添加不同基質供給皆可被微生物所消耗，而在生物反應過程中 pH 值明顯產生變化趨勢，改質後試驗結果能維持在中性環境下，而乳化油組別酸化程度較為明顯。後續為瞭解不同基質對 TCE 降解效率之比較。後續會以改質組別進行批次試驗，探討改質前後組別對 TCE 還原脫氯成效。由於每一種微生物都有專屬最適宜生長之 pH 值環境，雖然在低(高)pH 值環境中之嗜酸(鹼)菌已被篩出，但多數之微生物皆適於 pH 值中性環。相關研究指出，厭氧生物反應中扮演重要指標性脫氯菌種為 DHC，此株菌種為目前唯一已知能將 PCE 與 TCE 完全脫氯至乙烯過程(Sudheesh, 2018)，而 DHC 菌種適宜生長 pH 環境為 6.8~7.2 之間。研究控制地下水質 pH 來維持微生物適營性與所需添加鹼劑選擇極為相當重要設計之準則。然而，當添加高鹼度物質若使用劑量不當會造成地下水層 pH 值過高，抑制微生物生長反應而間接影響生物復育效率降低，可提供未來應用於現地生物整治場址中提升污染物降解與生物可行性。由於電子供體發酵和增強的脫氯活性，生物復育常常有地下水酸化現象，微生物還原脫氯過程在環境中性 pH 下穩定，但在地下水 pH 值低於 6.0 時活性會下降。文獻顯示 PCE 降解至乙烯，在 pH 7.2 可脫氯至乙烯，但在 pH 5.5 時不產生乙烯，而是 PCE 脫氯至 c-DCE 作為最終產物(Yang et al., 2017b)。如當採用加強式生物復育處理 DNAPLs 含氯溶劑時，pH 問題通常難以解決。因此，必須克服維持地下水中之緩衝能力保持 pH 穩定。當環境中微生物分解基質後可快速增長，且相對發酵作用持續進行，將導致地下水中鹼度消耗殆盡，而造成水質酸化情況之發生。綜合以上所述，要維持地下水中 pH 值平衡不僅需依靠現地地殼元素所提供鹼性離子外，須適宜緩衝溶液輔助搭配下，亦能夠長期維持地下水中性條件且適宜微生物生長環境，因此以乳化油搭配 γ -PGA 形成乳化型 γ -PGA 具長效性且緩衝溶液成效。另，可評估整治場址的土壤性質與污染物種類，若地下水流速較慢場址可選擇 γ -PGA 基質灌注進行生物整治，地下水流速較快可選擇 CMC γ -PGA 或是乳化型 γ -PGA，但是地下水多種污染物同時存在可選擇使用乳化型 γ -PGA，本研究乳化型 γ -PGA 製備基質 HLB 值為 8-9，為乳液的小液滴為油性分散在水溶液，稱為水中油相(O/W)型乳化劑，乳化型 γ -PGA 微米級小粒徑之特性，可有效土壤間傳輸，使得能吸附汙染物及提供微生物生長碳源，相較其他基質具環境友善且降低整治成本。



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

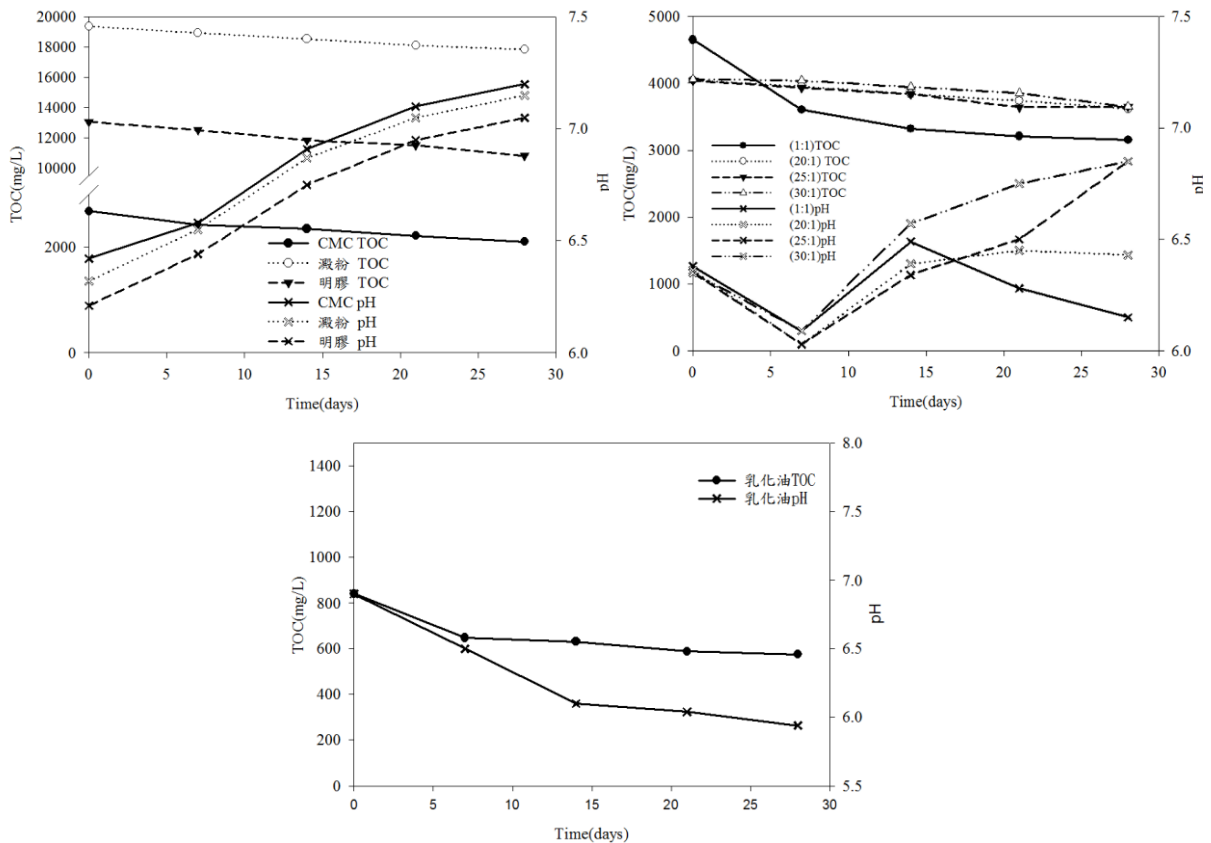


圖 4.7 不同組別 pH 與 TOC 變化趨勢圖

4.1.6 吸附試驗

本試驗為瞭解基質對於吸附 TCE 之機制，後續生物整治評估基質吸附約占多少比例。試驗組別共分成 6 組分別為，控制組(代號 A)、 γ -PGA(代號 B)、CMC γ -PGA(代號 C)、澱粉 γ -PGA(代號 D)、明膠 γ -PGA(代號 E)、乳化型 γ -PGA(代號 F)，含鐵氟龍墊片之棕色血清瓶內裝有基質 20 g，及所配置之 TCE 濃度約 25 mg/L 溶液取 25 mL，6 組試驗係於不同吸附反應時間下進行取樣，並分析殘餘之 TCE 濃度，初始濃度為 25-26 mg/L 不同組別吸附 TCE 變化趨勢如圖 4.8 所示。控制組(A)100 天未顯著變化，B-E 組別分析殘餘之 TCE 濃度約 23 mg/L，其最大吸附量約 3 mg/L，乳化型 γ -PGA (E)組別，100 天分析殘餘之 TCE 濃度約 17 mg/L，吸附量達到 8 mg/L 顯示添加乳化油可增加物理吸附成效，若污染場址配合藥劑物理吸附與生物整治，於注藥區建立一個透水性反應牆，可有效將污染物攔截於灌注井周圍，防止汙染物繼續擴大至下游，使得微生物分解污染物的速度得以提升，繼而提高生物整治的效益。

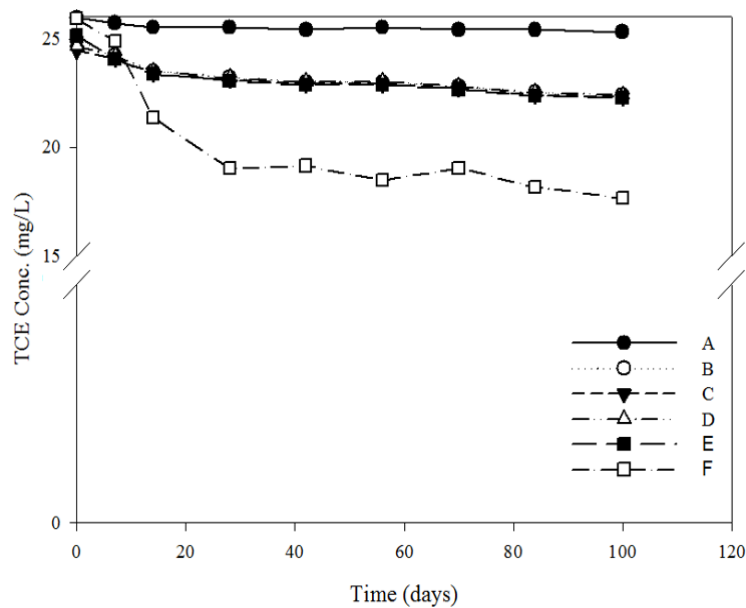


圖 4.8 不同組別吸附 TCE 變化趨勢圖

4.2 微生物批次實驗

4.2.1 水質參數變化趨勢

批次試驗為瞭解現地地下水添加改質後基質與未添加基質情況下，微生物利用自然環境代謝 TCE 之可行性。因此，以微生態批次系統模擬現地環境，分別批次試驗分別為：自然降解組(代號 A)、CMC 組別(代號 B)，乳化型 γ -PGA 比例 1:1(代號 C)，乳化型 γ -PGA 比例 1:5(代號 D)，乳化型 γ -PGA 比例 1:25(代號 E)，作為評估現地自然環境對污染物降解效率。

各組別 pH 值實驗結果如圖 4.9 所示，自然降解組(A)初期測得 pH 值 7.35 反應 14 天 pH 下降至 7.21，此組別無額外添加基質，推測初期 pH 下降主因為土壤中微量營養鹽供微生物利用後將污染物代謝過程產生 HCl 所致，反應後期地下水中 pH 並無明顯變化。CMC 組別(代號 B)初期測得 pH 值 6.77，反應 14 天 pH 上升至 6.91，此組別添加 γ -PGA 與 CMC 監測 70 天 pH 未有酸化現象，與過去 γ -PGA 數據比較發現類似成效。當環境中之 pH 值產生變化時， γ -PGA 能與溶液中之氫離子(H^+)結合或分離達到平衡之狀態，在這種結合和分離中，其微觀分子結構的變化會導致其體積、形態或結構的變化(Khalil et al., 2016; Luo et al., 2016; Sirisansaneeyakul et al., 2017; Anju et al., 2018)。因此 γ -PGA 當作基質具緩衝 pH 值之作用，能夠有效解決地下水水質參數 pH 酸化現象，乳化型 γ -PGA 不同比例組別(C、D、E)。C 組別初始 pH 值為 6.7 反應期間 pH 逐漸下降，D 組別初始 pH 值為 7.05 反應期間亦逐漸下降趨勢，其推估原因基質可快速供微生物利用產生有機



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

酸，以 γ -PGA 當作緩衝 pH 值與地殼環境緩衝鹼度無法綜合微生物所產生之有機酸。E 組別初始為 6.64 實驗前期下降至 6.42 但第 14 天後開始上升趨勢，此組別為 25 mL γ -PGA 加入 1 mL 乳化油，數據顯示增加 γ -PGA 藥劑量對於 pH 上升是正相關性。顯示 γ -PGA 與乳化油混合作為碳源比較，本身具有緩衝 pH 之效果。因此 γ -PGA 當作基質有緩衝 pH 值之作用，能夠有效解決基質導制 pH 酸化問題環境中 pH 的變化決定微生物行還原脫氯的效率，一般脫氯是最佳 pH 值為 6.8~7.2，但 pH 值低於 6.2 會受到抑制之情形(Meckenstock et al., 2015; Yang et al., 2018b)。因此，控制酸化現象即為相當重要之因子。於生物基質反應期間因微生物生長過程中可快速分解水中有機物質及營養鹽所產生有機酸、脂肪酸等機制作用下而造成 pH 值降低，由相關文獻指出，當基質在反應過程中因發酵作用產生 H_2 及微生物分解後產生有機酸(乙酸、丙酸、丁酸及醋酸等)易導致地下水質酸化程度大於地殼環境緩衝鹼度，便會造成 pH 值下降情況(Detman et al., 2018)。

由氧化還原電位(oxidation reduction potential, ORP)監測結果如圖 4.10 所示，自然降解組(A)初始測得 ORP 為 245 mV，並於反應 70 天測得 ORP 為 185 mV 主要於微氧型態。CMC 組別(B)、 γ -PGA 與乳化油混合組別(C、D、E)反應期間 ORP 下降趨勢，於第 35 天皆維持在負值介於-175 到-230 mV 之間。證實添加基質將有助於快速營造地下水中環境由微氧型態轉換為厭氧還原態。各組別溶氧(dissolved oxygen, DO)監測結果如圖 4.11 所示，自然降解組(A)初期測得 DO 為 1.65 mg/L，反應過程中因微生物反應消耗地下水中 DO 濃度，監測 DO 皆維持在 1.55~1.95 mg/L 之間並無明顯改變。CMC 組別(B)、 γ -PGA 與乳化油混合組別(C、D、E)初期測得 DO 為 0.68~1.2 mg/L，反應過程中監測 DO 皆維持在 0.5 mg/L 左右，顯示 γ -PGA 添加乳化油提供豐富營養基質與產氫作用下可刺激微生物生長，快速消耗水中 DO，進而形成穩定性且均維持厭氧環境之狀態。故從 DO 及 ORP 水質參數數據顯示，各組別皆為厭氧環境有利於微生物在厭氧的環境還原脫氯降解 TCE 污染物之效率。各組別 TOC 濃度結果如圖 4.12 所示，數據顯示各組別反應 70 天均有較豐富碳源，表示為生物能夠有效利用基質且反應期間可持續提供碳源。厭氧性生物降解機制過程中，二氧化碳當作最終電子接受者而形成甲烷，因此甲烷的生成亦可顯示此環境為厭氧環境評估。可估微生物利用碳源之情形，批次試驗反應期間，添加基質組別(B、C、D、E)均有微量甲烷之生成，表示厭氧微生物降解成效。綜合各組別基本水質參數顯示，含微生物分解後所產生有機酸產物及污染物降解過程產生 HCl 等機制作用會導致地下水中 pH 值微幅下降。於反應期間有添加適量 γ -PGA 基質可維持 pH 中性範圍。自然降解組之水中碳源濃度不足亦是受限微生物生長主因，添加基質組別將明顯提高生物降解可行性。



第四章：結果與討論

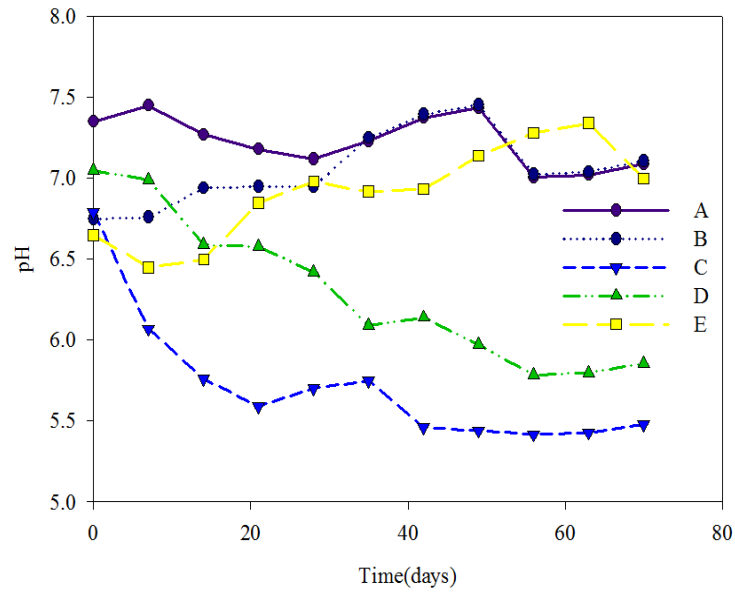


圖 4.9 微生物厭氧批次實驗 pH 變化趨勢圖

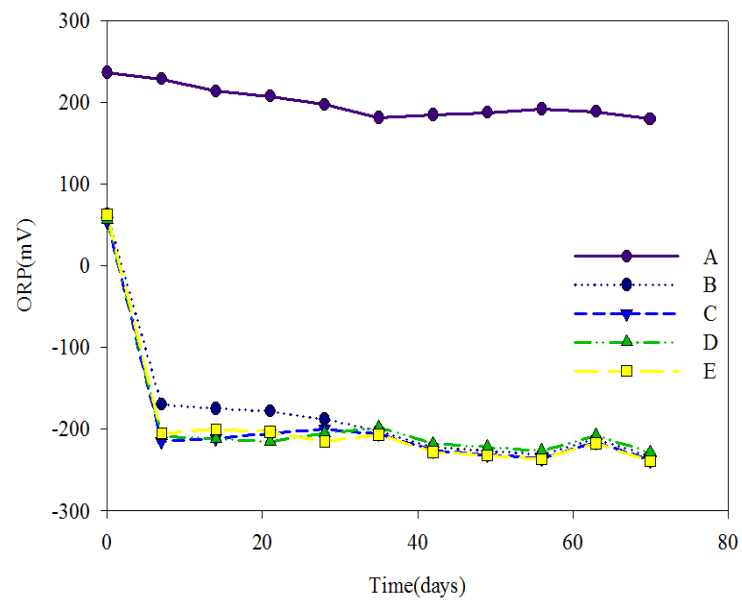


圖 4.10 微生物厭氧批次實驗 ORP 變化趨勢圖



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

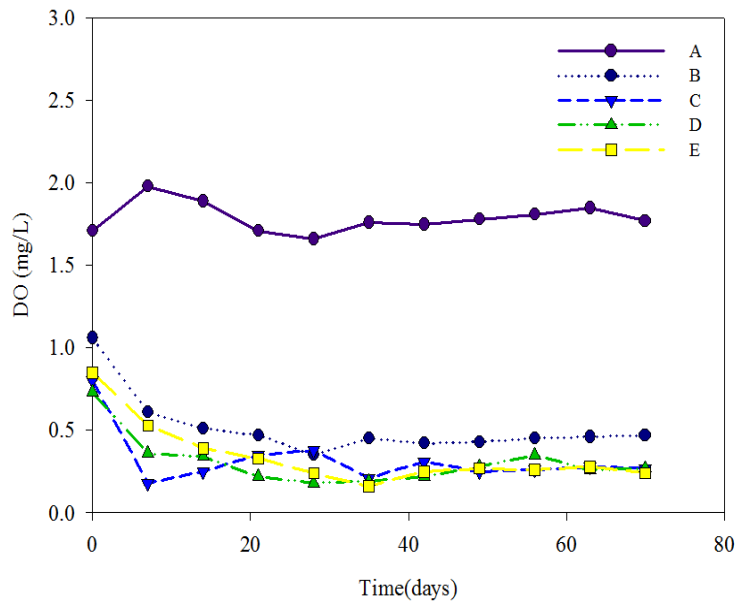


圖 4.11 微生物厭氧批次實驗 DO 變化趨勢

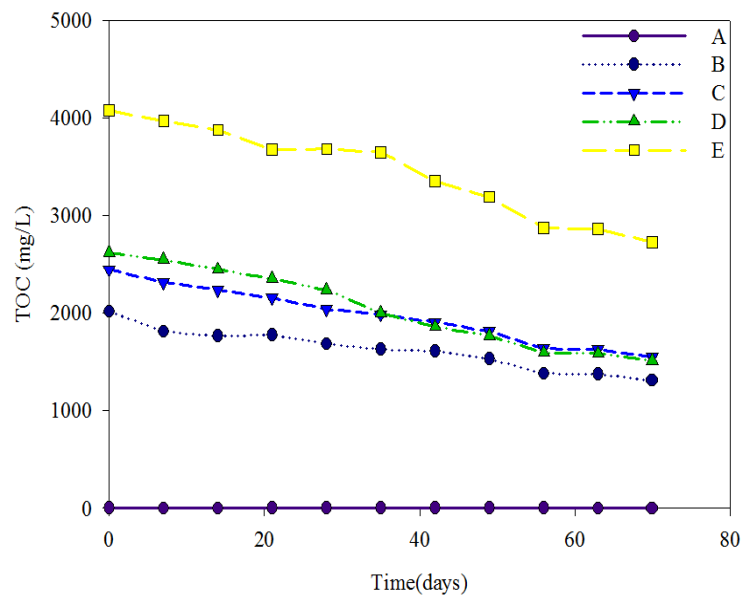


圖 4.12 微生物厭氧批次實驗 TOC 濃度變化趨勢圖



4.2.2 各組別降解三氯乙烯

各組別監測結果顯示如圖 4.13 所示，自然降解組初始濃度 1.2 mg/L，反應第 35 天可顯示降解成效約 20%，後續會持續觀察。推估後期反應期間 TCE 趨於平衡曲線，亦表示 TCE 吸附平衡曲線中氣相與液相間平衡狀態。文獻指出，現地生物整治場址中，提供於地下水之基質 TOC 應大於 100 mg/L，方能確保微生物進行發酵產氫作用，並刺激微生物生長達到還原脫氯之效果，若是低於 20 mg/L，需再適度灌入營養基質，才能確保有足夠之電子提供(Dahan et al., 2017)。因此，本計畫利用自然降解組別試驗結果可知，現地地下水中 TOC 略顯不足，惟有添加足夠基質可有利於生物反應成效。

CMC 組別(B)數據顯示第 35 天降解成效約 77%，持續觀察反應 50 天降至法規標準 0.05 mg/L，CMC 組別反應期間水質參數 ORP -210 mV、DO 為厭氧狀態、TOC 濃度的變化及甲烷的生成，顯示 γ -PGA 搭配 CMC 結合適合作為微生物生長之碳源並加強三氯乙烯之厭氧還原脫氯。故從 γ -PGA 之 pH 數據顯示具有平衡地下水體之酸鹼值，能解決以往釋碳基質經微生物分解後會有酸化之問題，能使微生物不受到抑制生長。後續 CMC 改質組別可評估應用於現地進行試驗。乳化型 γ -PGA 組別(C、D、E)，評估改質後加強式自然生物技術對污染物降解之情形以及對自然環境的影響。三種組別 TCE 濃度呈現逐漸下降趨勢於 35 天降解效率約 85%，觀察水質參數亦發現環境轉化成厭氧環境狀態。持續觀察 70 天降解效率達 95%以上。推測降低可能原因為 TCE 具有與油脂較高親和性，當乳化型基質注入地下水中可有效快速攔阻 TCE 包附於油滴顆粒中，形成水相與油相間之相轉移作用，此時微生物可利用碳源後迅速增長，而提高污染物降解效率，造成濃度前期快速下降。然而，反應第 28 天後 TCE 濃度呈現平穩下降之趨勢，數據顯示乳化型 γ -PGA 可作為微生物生長之碳源並加強三氯乙烯之厭氧還原脫氯，基質經微生物分解後會釋出有機酸造成 pH 值下降， γ -PGA 基質特性氨基可綜合有機酸，未影響微生物生長及降解物染物之效率，故可排除過去研究地下水水質參數 pH 值酸化現象。結果顯示 CMC 結合 γ -PGA 組別與乳化型 γ -PGA 相較之下，乳化型 γ -PGA 降解效率較高。另外，可排除過去乳化油衍生酸化現象，處理 TCE 之地下水時不需添加緩衝物質平衡水體之 pH 值，即可達到最佳之降解效果。



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

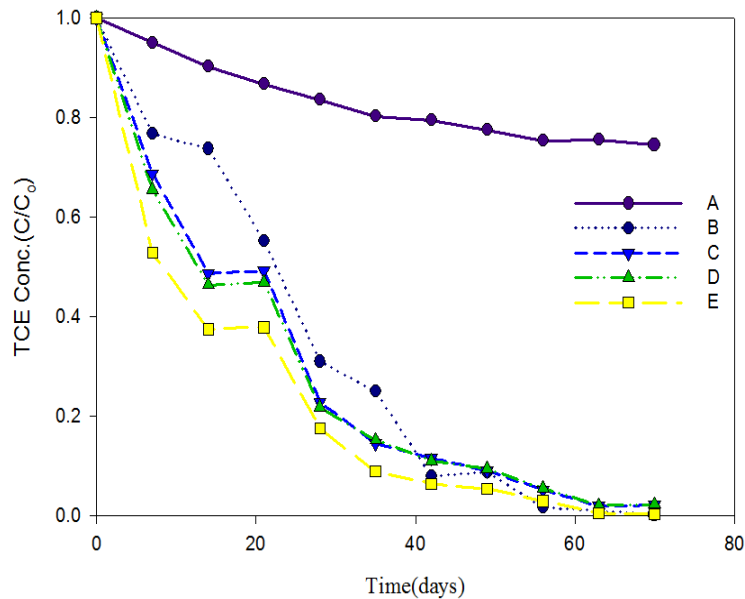


圖 4.13 各組別降解 TCE 濃度變化趨勢圖

4.2.3 各組別降解效率比較

本批次試驗藉由添加不同改質後基質對 TCE 的還原脫氯之情形，比較整體降解效率之情形，各組別在第 70 天之降解效率為 $E > D > C > B$ 。實驗結果顯示乳化型 γ -PGA 降解成效相較單獨基質 γ -PGA 或乳化油較為優勢，其各有特性使用乳化油緩衝液組之成分中，大豆油對 TCE 有較強富集性，具有物理吸附特性使 TCE 被乳化油包覆住，後續乳化油滴經微生物利用部分 TCE 慢慢釋出。後期因乳化油持續釋出有機酸，造成環境酸化而使微生物受到抑制，導致影響對 TCE 還原脫氯之效益。 γ -PGA 基質可快速供微生物微生物利用使 TCE 濃度呈現平穩下降之趨勢。雖然 γ -PGA 不具備像乳化油一樣能包覆住污染物之能力，但相較於乳化油可以提供較高量之 TOC，可長期下提供豐富碳源供微生物利用且未造成水質酸化之問題產生。若乳化型 γ -PGA 與其他基質比較，於處理 TCE 污染物時具備以下優勢：(1) 整治時程短，不須大量之灌注量即可達到法規標準；(2) γ -PGA 本身具備有緩衝地下水酸鹼值之能力，可以解決以往釋碳基質經微生物利用後產生逐漸酸化之情形發生；(3) 乳化型 γ -PGA 推估可長效性且均勻分布於土壤顆粒間。從各組別之中間產物結果如圖 4.14 所示，三氯乙烯經微生物行脫氯之作用會有副產物如 c-DCE、t-DCE、1,1-DCE 和 VC 等之生成及累積，其中各組別之 c-DCE 及 t-DCE 在初期有明顯之生成，批次試驗反應 60 天後均低於法規標準，顯示微生物在厭氧情形下還原脫氯 TCE，未有副產物之累積而造成毒性問題。



第四章：結果與討論

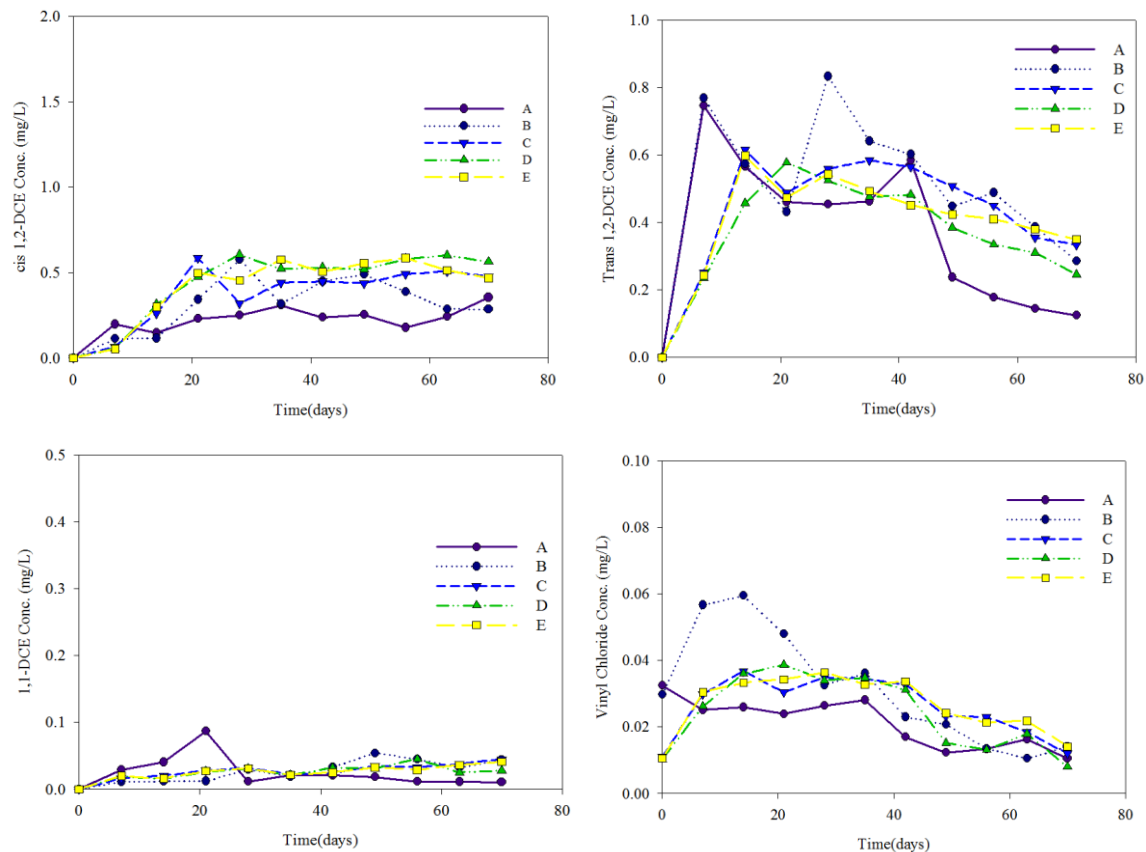


圖 4.14 各組別副產物濃度變化趨勢圖

4.2.4 各組批次試驗菌量分析

加強式生物處理係指利用基質提供土壤中的微生物足夠碳源將污染物分解去除，同時亦達到降低污染物對環境及人類健康危害之目的，現地土壤中含有眾多的微生物族群，其大多數菌數約 $10^3 \sim 10^7$ cells/g。本實驗為瞭解微生態系統 (microcosm) 模擬現地環境微生物種類、特性及批次試驗 *DHC* 菌種之變化趨勢，批次試驗中各組分別以前、中、後三個時期進行微生物菌相分析，利用 PCR 技術放大 16S rDNA 的 V6-V8 片段，將 PCR 之產物搭配 qPCR 技術觀察各批次瓶中 *DHC* 菌量變化，瞭解添加基質刺激與馴化現地微生物消長情形，利於微生物還原脫氯降解污染物之成效之依據。

本研究利用 qPCR 定量技術不僅可瞭解指標性菌株稍長，且若能於污染物降解途徑場址中鑑定出具有降解之脫鹵球菌之種類及數量等，有助於提升生物整治成效，提供未來應用於受含氯有機污染之場址進行生物復育之參考依據。本研究於批次生物整治期間偵測不同反應天數之降解組別，分別為 CMC γ -PGA 組、乳化型 γ -PGA 不同比例組別，採樣天數為第 0、28 及 70 天進行 *DHC* 菌量分析，可



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

進一步瞭解厭氧還原脫氯過程中針對 *DHC* 菌屬稍長變化之情形。此外，相關研究亦證實 *DHC* 在含氯有機污染場址中為最常見之代表性菌株，目前僅有 *DHC* 菌屬能夠完全將污染物降解至乙烯(Dolinová et al., 2017; Pérez-de-Mora et al., 2018; Schaefer et al., 2018; Yu et al., 2018)。批次實驗組別 *DHC* 之菌量結果如圖 4.15 所示，各組別之初期之菌量在約 $10^3 \sim 10^4$ gene copies/g，於第 70 天 B、D 組別菌量大於 10^5 gene copies/g，其中以 B 組別的菌量較高為 1.3×10^6 gene copies/g，污染物濃度對照結果顯示具最佳 TCE 降解成效，表示 γ -PGA 適合 *DHC* 之菌群生長及利用。另外，C、D 組別因水質參數 pH 值低於 6.2，*DHC* 菌量成長可能受到抑制，菌量均低於 10^5 gene copies/g，*DHC* 菌屬對於環境酸鹼較為敏感 pH 值低於 6.2 會受到抑制之情形(Meckenstock et al., 2015; Yang et al., 2018b)。當環境中 pH 值產生明顯的變化會降低還原脫氯效率，因此維持環境中 pH 值為中性可達到最大還原脫氯成效，由批次試驗之結果顯示，若未有酸化現象組別 *DHC* 菌屬成長較顯著變化，故適合還原脫氯之菌群生長，對污染物之降解亦具有最佳之降解效果。

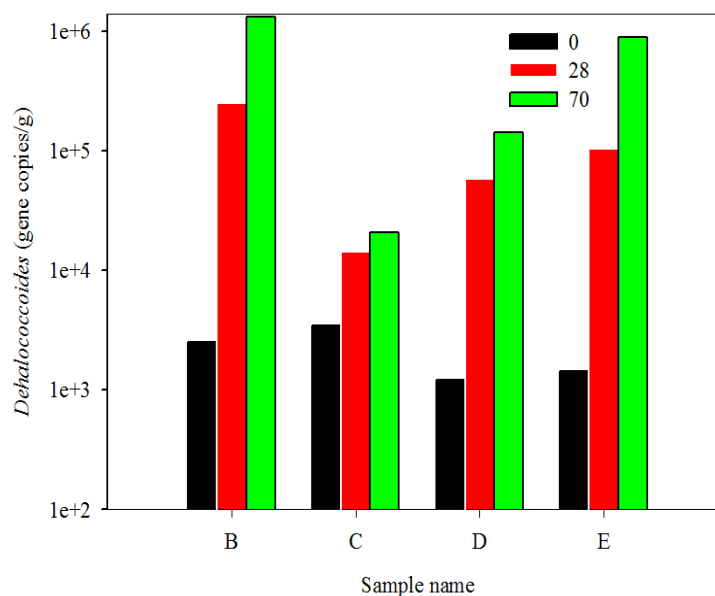


圖 4.15 批次實驗各組別 *DHC* 菌屬之變化圖



4.3 模場試驗(改質前)

本研究模場試驗(field scale study)將整合實驗室試驗評估使用 γ -PGA 處理含氯有機物污染之場址進行模場試驗探討其操作條件及整治成效。原先以台南市永康區鹽行地段受含氯有機污染物污染場址進行現地生物復育試驗，驗證以 γ -PGA 加強含氯污染物還原脫氯之成效。因台南市永康區鹽行地段場址 107 年期間進行道路施工經由商確不便此場址進行現地試驗，後續改為高雄市前鎮區興邦段 340 及 341 部分地號進行模場試驗亦已取得相關單位同意。本場址遭受含氯有機物污染較高，主要目標污染物為 PCE 及 TCE，為加速地下水污染團之還原脫氯作用，添加 γ -PGA 基質進行加強式生物復育整治成效，灌注於現地形成一道透水性反應牆，有助於侷限污染物團，避免污染物持續擴散，現地生物整治技術的優點主要是降低暴露風險，且對場址的破壞干擾較低。 γ -PGA 藥劑為環境生物友善生物助劑，對環境、人體及生態皆不會造成危害與影響，亦可作為電子供給者，或供應現地微生物生長時所需之營養鹽，有助於提高脫氯之效率。本場址井位示意圖如圖 4.16 所示。本場址水力傳導係數為 $3.90 \times 10^{-3} \text{ cm/s}$ ，地下水流向由東向西流動，土壤組成份以砂質壤土為主如表 4.4 所列。本計畫第一年規劃設置一個上游監測井、一個注藥井、二個下游監測井(其中一口管理單位為高雄市環保局)，後續本團隊將評估整治成效及場址狀況，若監測井不足或位置不適當，增設數口臨時監測井作為整治井。此外，本計畫將依現場之微生物反應速率，做必要之整治技術之調整，以提高微生物活性及數量。注藥井(IW)提供現地試驗，並於其地下水下游處約 1~2 公尺設置二口監測井 DW1 (距離注藥井 1.5 m)、DW2 (距離注藥井 2.5m)，並選 UW (距離注藥井 1 m) 為污染的上游井做為控制井，各井設置規格如 4.5 所列。107 年本團隊進行第 1 次 γ -PGA 藥劑灌注，其灌注量為 10 L γ -PGA 藥劑並稀釋 36 倍藥劑量的推進水後灌入井中基質同心圓向外擴散，將 γ -PGA 基質 TOC 濃度控制於 2400 mg/L。於注藥井及 3 口監測井定期採樣，其監測項目包括污染物濃度、地質化學參數變化及分子生物相關技術 qPCR 觀察 DHC 分析搭配 NGS，藉由上述監測項目評估灌注 γ -PGA 基質後對地下水中 PCE 與 TCE 之降解影響和菌種變化趨勢。模場試驗以現地生物復育法，將電子提供者到地底下，以刺激微生物生長，藉由發酵作用產生氫而創造厭氧地下水環境評估整治成效。



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

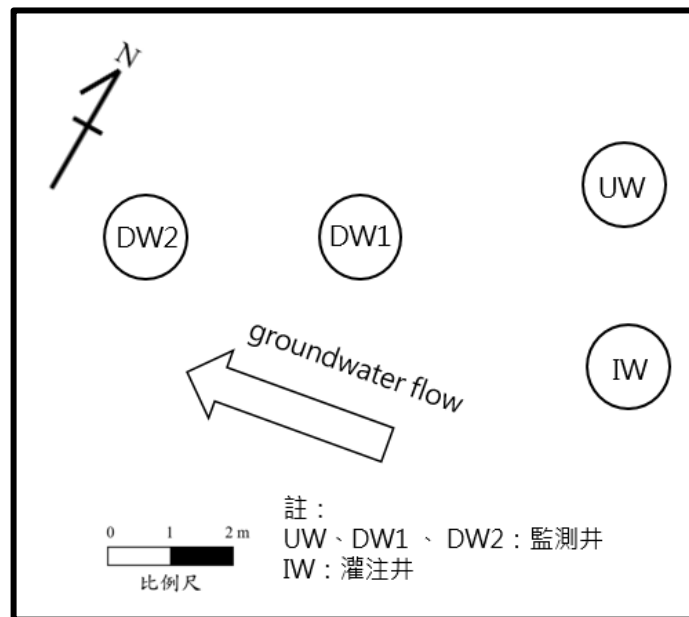


圖 4.16 107 年模場試驗井位示意圖

表 4.4 場址土壤地質特性

上限深度(M)	下限深度(M)	岩石或土壤性質描述
0	0.7	回填粉土質砂夾礫石
0.7	2.8	粗中細砂夾少量貝屑
2.8	7.6	粗中細砂夾黏土及貝屑
7.6	8.1	粗中細砂夾大量貝屑

表 4.5 場址各簡易井設置規格

井編號	井徑 (吋)	井深 (m)	開篩 深度 (m)	型式	管理單位
UW	2	7.5	3-7.5	隱藏式 簡易井	本計畫設井
IW	2	7.5	3-7.5	隱藏式 簡易井	本計畫設井
DW1 (E00806)	2	6.6	0.5-6.5	隱藏式 標準井	高雄市環保局
DW2	2	7.5	3-7.5	隱藏式 簡易井	本計畫設井



4.3.1 現地場址基本水質與微生物分析

經由地下水採樣分析結果顯示如表 4.6 所示，5 口監測井地下水 C : N : P 比約為 100 : 8-25 : 8-95，氮、磷含量符合生物整治之需求無需額外添加，但碳含量明顯偏低。本計畫擬以 γ -PGA 作為灌注藥劑，期望現地試驗與實驗室類似結果成效，提供脫氯菌生長所需之碳源，藉由增加地下水環境微生物菌量及活性，提高污染物降解速率。模場試驗前經由分子生物技術分析現地環境中 *DHC* 菌量，實驗數據得知本場址環境中確實含氯有機物之脫鹵球菌，*DHC* 的數量顯示可作為該場址生物降解指標。

表 4.6 模場試驗地下水脫鹵球菌分析

Well number	UW	IW	DW1	DW2
TOC	21	15	7	7
N	0.594	0.522	0.542	0.570
P	1.729	7.650	4.921	6.431
C : N : P	100:8:8	100:10:51	100:22:70	100:22:92
Strain	<i>Dehalococcoides</i> spp			
Amount of bacteria (Gene copies/L)	1.502E+03	5.640E+04	6.842E+04	4.211E+04



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

4.3.2 現地灌注試驗水質分析

模場試驗以現地生物復育法將 γ -PGA 灌注於現場，形成一個生物整治區，水質監測結果顯示圖 4.17 所示，模場地下水背景 pH 值介於 5.0~6.0；DO 介於 1.3~2.12 mg/L；ORP 介於 -285~35 mV。注藥井(IW)7 天後 pH 值上降至 8.5；DO 降至 0.65 mg/L；ORP 降至 -247 mV，pH 值灌注基質後上升現象，過去實驗室批次與管柱試驗均亦類似情形，其推估是導致 pH 值上升為 γ -PGA 結構上有 NH_2 胺基之官能基，解離後和水反應形成氨 NH_3 是鹼性物質，實驗監測氨氮濃度確定有增加之趨勢，以佐證上述之推測原因。整治反應期間數據顯示注藥井內已產生厭氧環境，各項基本水質參數明顯變化；注藥第 7 天後注藥井與監測井地下水環境已呈現厭氧狀態 (DO 0.3~0.5 mg/L；ORP -263 ~ -161 mV)，藉由 γ -PGA 藥劑添加，使現地地下水氧氣逐漸被微生物消耗呈現厭氧狀態，根據文獻指出於厭氧還原脫氯條件下，DO 需小於 0.5 mg/L，當 DO 過高的環境下會抑制厭氧微生物生長，進而影響整治成效(Kumar et al., 2018c)。由模場試驗獲知添加 γ -PGA 藥劑可刺激微生物生長，並消耗水中 DO 形成厭氧環境，同時亦證實地下水流向下游移動，灌藥井形成透水性生物反應牆及厭氧還原環境。經由 DO 濃度逐漸下降趨勢，亦顯示已經還原反應，首先為消耗氧氣接續鐵還原、硫酸鹽還原或甲烷化等反應產生(Hazen, 2018)，基質可快速供微生物營造最佳脫氯條件之環境。

模場生物整治區現場地下水屬於中性，經灌注 γ -PGA 後，各井位所測得的 pH 值為 7.5-8.8 之間，經由數據觀察獲悉，隨著整治時間增加，到了第 120 天 pH 上升 8-8.8 之間，其 4 口井 pH 皆維持於中性，亦顯示本藥劑 γ -PGA 可解決過去場址灌注後造成酸化現象產生。地下含水層中，pH 是含氯溶劑生物轉化過程中極具影響的重要因子，許多生物復育技術中，微生物降解污染物之最適 pH 介於 6-8 之間，且許多可進行還原脫氯之重要菌群皆適於中性生長環境，如 *Dehalococcoides* 菌群，唯一已知能夠完整還原乙烯，模場整治注入基質於目前整治期間地下水中環境 pH 值維持中性範圍，推估原因是 γ -PGA 結構上有 NH_2 胺基之官能基解離後和水反應形成氨 NH_3 是鹼性物質，造成 pH 值上升主要原因，亦同時達到緩衝效果。於地下含水層中 pH 是含氯污染物，於生物轉化過程中極具影響的重要因子，許多生物復育微生物降解污染物之最適 pH 介於 6-8 且較多可還原脫氯之重要菌群皆適合中性環境生長。過去研究指出，污染物降解過程中會因基質快速被微生物分解產生有機酸、脂肪酸之影響，而導致水質 pH 酸化程度之影響(Detman et al., 2018)，當 pH 值小於 6.2 會降低脫氯反應速率且脫氯菌群容易受到抑制之情形(Borden et al., 2019)。當微生物應用後產生之有機酸累積時，經常造成地下水體 pH 無法維持於微生物最適 pH 反應區間，進而影響微生物降解污染物之效率及期程，因此調整及維持地下水體環境中最適微生物反應 pH 值是具挑戰的工法。本



模場試驗選用 γ -PGA 基質可中和厭氧微生物反應產生之有機酸，維持最適生物反應之 pH，避免厭氧整治期間之酸化問題造成脫氯菌之生長抑制。

各監測井 TOC 監測數據顯示，藥劑灌注經由水流，流向下游監測井，於各監測井測得 TOC 濃度，可證實上游注藥井降解效果顯著亦成功形成透水性生物整治牆，符合現地、被動及生物整治概念之技術即包括現地生物復育(in situ bioremediation, ISB)結合透水性反應牆(permeable reactive barrier, PRB) (Gholami et al., 2019)模場所測得的氧化還原電位數值，可以用來評估量地下水中電子活動之情形，ORP 越高，則氧化反應越容易發生，反之則還原反應越容易發生，監測此數據以做為好氧或厭氧作用之指標參數。現場注入的基質後 ORP 維持於-247mV 至-157 mV，亦表示此地下水環境下，能有助於提供鐵還原、硫酸鹽還原或甲烷化等反應產生，營造最佳脫氯條件之環境。由目前模場監測數據獲知，灌注井在整治期監所測得 ORP 由氧化態轉為還原態，ORP 持續下降能低於-200 mV 能有效促進還原脫率之反應，同時亦顯示地下環境已逐漸形成厭氧狀態，有利於現地在短期內提供厭氧生物循環代謝途徑降解污染物。後期 120 天測得之 ORP 已由還原態轉為偏氧化態，由於基質往下游傳輸各井位測得 TOC 濃度皆低於 100 mg/L。現地生物整治場址中，提供於地下水之基質 TOC 應大於 100 mg/L，方能確保微生物進行發酵產氫作用，並刺激微生物生長達到還原脫氯之效果，若是低於 20 mg/L，需再適度灌入營養基質，才能確保有足夠之電子提供(Dahan et al., 2017)。須再進行灌注藥劑確保 ORP 持續低於-200 mV 能有效促進還原脫率之反應，後續第二次灌注基質會選用改質基質，評估基質傳輸成效以及基質長效性。

目前監測氮氮變化趨勢如圖 4.18 所示，其驗證前述推估 pH 值上升原因是否有相關性，經由監測結果得知，於灌注基質後除了 UW 井以外其餘井位氮氮濃度均有上升趨勢。基質隨著地下水流流動，其 IW 井濃度氮氮最高，因 IW 井基質灌注井，因基質流入監測井需一段時間以及土壤異質性關係，隨著孔隙流入監測井之基質可能僅有一部分而已，才導致監測井之氮氮濃度並未提升很多，後續須進一步深入了解地下水水文狀況，主要基質有效往下游傳輸亦維持良好中性範圍。



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

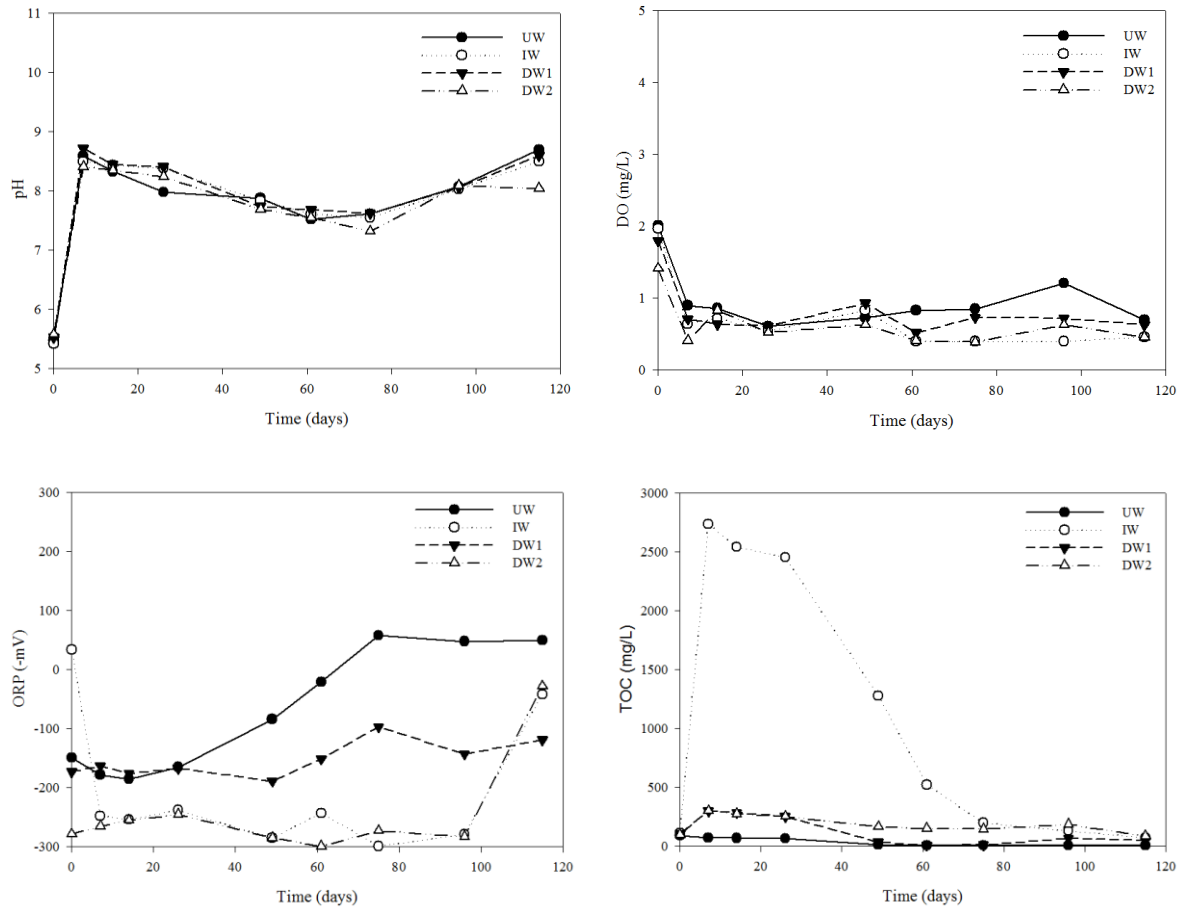


圖 4.17 模場試驗之基本水質監測趨勢圖

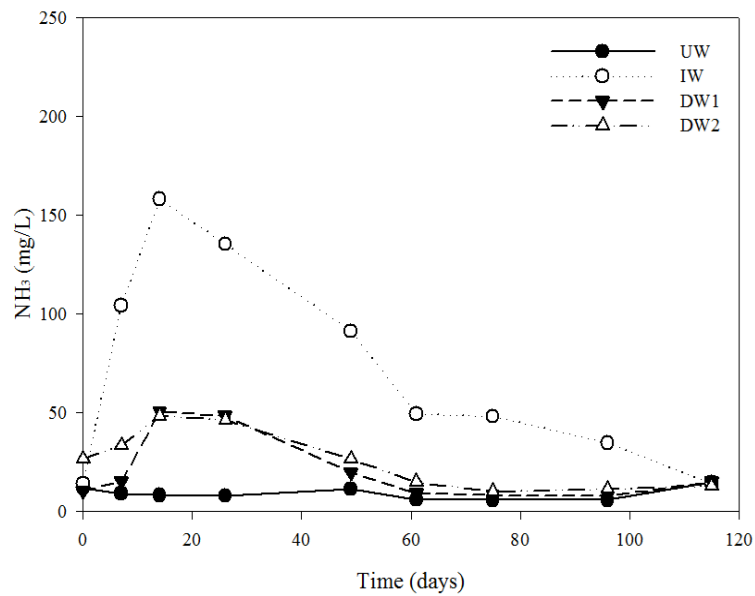


圖 4.18 模場試驗氨氮變化趨勢圖



4.3.3 地下水厭氧環境下化學參數變化

地下水應用生物整治工法，當環境達到厭氧狀態中水質參數(pH、DO、ORP)可方便檢視之指標性參數，在還原態的地下環境當中，過去亦有許多文獻指出，現地環境中消耗氧、硝酸鹽、二價鐵、三價鐵、硫酸鹽、硫化物以及甲烷等，亦是厭氧生物整治過程中重要的化學變化參數(Azubuike et al., 2016; Wen et al., 2017; Shapiro et al., 2018; Sheu et al., 2018a)。本模場試驗以 γ -PGA 基質作為電子提供者，營造地下水環境為厭氧狀態，地下水缺乏溶氧，故先發生脫硝反應，接著進行鐵還原作用、硫酸鹽還原作用及最終的甲烷化作用(Hazen, 2018)，因此於厭氧生物整治過程中，監測硫酸鹽、硫化物、甲烷、總菌落數等指標參數，藉此了解厭氧生物整治過程中，地下水環境因脫氯反應產生等變化情形。文獻指出對於含氯有機污染物的轉換，硫酸鹽還原作用扮演著關鍵的重要角色，當能量不足情況下還原脫氯反應較硫酸鹽還原反應低，以下列出幾種情況(1)硫還原菌的電子供應者在供給時受到競爭；(2)硫酸鹽還原酵素的抑制會影響還原脫氯反應；(3)優先使用硫酸鹽做為電子供應者，相關微生物群(如 *Desulfitobacterium* spp.)取代還原脫氯反應或(4)在富硫酸鹽環境下，硫還原菌反應數量及反應動力較還原脫氯反應快(Pokorna and Zabranska, 2015)。硫酸還原菌(sulfate reducing bacteria, SRB)於異營菌的絕對厭氧菌，有利於硫酸鹽或者其他氧化態硫化物作為電子受體來異化有機物質(Qian et al., 2018)，能將硫酸鹽還原為硫化氫(H_2S)、氫硫根離子(HS^-)及硫離子(S_2^{2-})，其毒性依序為 $H_2S > HS^- > S_2^{2-}$ ，當水中的 pH 值增加時，硫化氫的毒性會降低，因為未解離的強毒性 H_2S 變成毒性較低的 S_2^{2-} 型態。

模場試驗厭氧生物整治區，各監測化學參數濃度監測圖 4.19 所示，四口井硫酸鹽背景值為 20-80 mg/L，IW 井經灌注基質，經由數據可發現硫酸鹽於監測第 7 天有上升之現象，最高濃度為 147 mg/L 監測至第 120 天濃度有緩慢下降為 75 mg/L，當地下水為厭氧環境下，多數兼性厭氧菌以水中的硝酸鹽或硫酸鹽為電子受體，持續進行厭氧還原脫氯能力。文獻指出當硫酸鹽存在於受含氯溶劑污染之地區，其含量會影響還原脫氯作用之成效，而模場所測得的硫酸濃度是呈現下降情形，亦不會影響脫氯之成效(Gupta et al., 2017)。然而，UW 井沒有灌注於整治期間硫酸鹽濃度 20-25mg/L 沒有顯著變化。當土壤中蛋白質、碳水化合物、木質素等大分子化合物的厭氧降解過程中，首先會水解較小分子的氨基酸、長鏈脂肪酸等物質，再經過厭氧發酵，生成揮發性脂肪酸，環境中如有足夠的硫酸鹽，SRB 就可轉化硫酸鹽。由硫酸鹽消耗得悉，反應環境中應該含有硫酸鹽還原菌等菌種，目前已知可行脫氯呼吸作用之硫酸鹽還原菌如 *Desulfitobacterium frappieri* TCE1、*Desulfitobacterium* sp. strain PCE1、*Desulfitobacterium* sp. strain Y51、



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

Desulfuromonas michiganensis BB1、*Desulfuromonas michiganensis* BRS1、*Desulfuromonas chloroethenica* TT4B 及 *Sulfurospirillum multivorans*，這些菌種皆可以氫氣做為電子接受者，將 PCE 及 TCE 還原脫氯生 c-DCE。顯示 SRB 可利用之基質種類相當多元化。硫酸鹽於還原態狀態下，會進行還原反應轉換成硫化物，此反應可得知微生物行硫酸鹽還原作用，經各井硫化物濃度有微量上升，最高為 1.8 mg/L，由此得知，因硫酸根離子被硫酸鹽還原菌還原而會形成硫化物，模場監測數據有發現硫化物之形成濃度介於 0.3-1.8 mg/L 之間，並沒有造成硫化物累積現象的產生，添加基質可有效提供硫酸鹽還原菌還原及生長，反應後期當土壤中鐵離子釋出與硫化氫作用反應下，易生成硫化鐵(Fe_2S_3)沉澱於地下水體。硫化物不僅會造成井管的腐蝕，容易使得地下水水質產生惡臭，且對生物體造成毒性的一種無機化合物，在水中為一個具有高毒性之物質，任何水系統中只要存在有機物及硫酸鹽類，便有硫化物之生成(Gong et al., 2016)。因此， γ -PGA 基質所釋出的氫氧根離子有中和水中酸性及沉澱厭氧產生的硫化物，以減緩地下水酸化及硫化物所造成的臭味問題之潛勢，也可避免硫化物之累積而抑制脫氯菌之生長。文獻指出硫化物濃度高於 50 mg/L(黃加年, 2016)可能會抑制甲烷化作用。相關研究指出，硫化物在不同 pH 環境下所生成的產物亦不相同，當 $\text{pH} > 7$ ，以 HS^- 及 S^{2-} 為主要產物； $\text{pH} < 7$ ，以 H_2S 為主要產物(Pokorna and Zabranska, 2015)，由此結果顯示， γ -PGA 具有效控制 pH 值維持中性環境條件，並控制硫化氫所產生的臭味問題，增加環境友善性。

由 CH_4 監測結果顯示，灌注前各井濃度皆小於 0.01 mg/L，於好氧情況下地下水中 CH_4 濃度均較低，在一個高濃度污染場址中，多數微生物會先消耗地下水中氧氣，緊接著進行的厭氧反應是脫硝作用、鐵還原、硫酸鹽還原及最終的甲烷化反應。因此在一般典型缺乏溶氧的地下水，會先發生脫硝反應，接著進行鐵還原作用、硫酸鹽還原作用及最終的甲烷化作用(Hazen, 2018)。二氧化碳為生物代謝作用和發酵過程的產物，它在厭氧環境下可經由生物作用還原成甲烷氣，甲烷為二氧化碳還原後的產物($4\text{H}_2 + \text{CO}_2(\text{g}) \rightarrow \text{CH}_4(\text{g}) + 2\text{H}_2\text{O}$)，且它在有溶氧之狀態下，可被嗜甲烷之微生物當作碳源而吸收(Strapoć, 2017)。由模場厭氧生物整治區監測數據結果得知，額外添加基質會刺激微生物發生硫酸還原及甲烷化的現象，進而基質所釋出的氫氧根離子有中和水中酸性及沉澱厭氧產生的硫化物，可減緩地下水酸化及硫化物所造成的臭味問題，並能有效控制地下水環境，營造適合脫氯菌生長之環境條件。此時會有大量 CH_4 產生， CH_4 的產生亦表示硫酸根(SO_4^{2-})還原作用減少。因此，在 120 天監測 CH_4 濃度皆小於 1 mg/L，然而 SO_4^{2-} 濃度介於 70-75 mg/L，此結果可證實微生物進行未到達甲烷化現象反應。為了瞭解添加基質是否能使微生物利用生長，因此利用混和稀釋法分析總菌數，以得知



第四章：結果與討論

微生物生長之情形，由圖 4.19 得知四口監測井初期第 0 天總菌落數分別為 2.8×10^2 - 8.3×10^3 CFU/mL，經灌注基質後 IW 井在 120 天整治期間監測最高之總菌落數約 6.9×10^6 CFU/mL，由此可知，伴隨著整治時間的增添，總菌落數維持上升，因此可證明本研究基質有助於提供現地微生物生長所需之碳源，並刺激現地微生物生長，並不會抑制微生物之生長且可以有效利用。

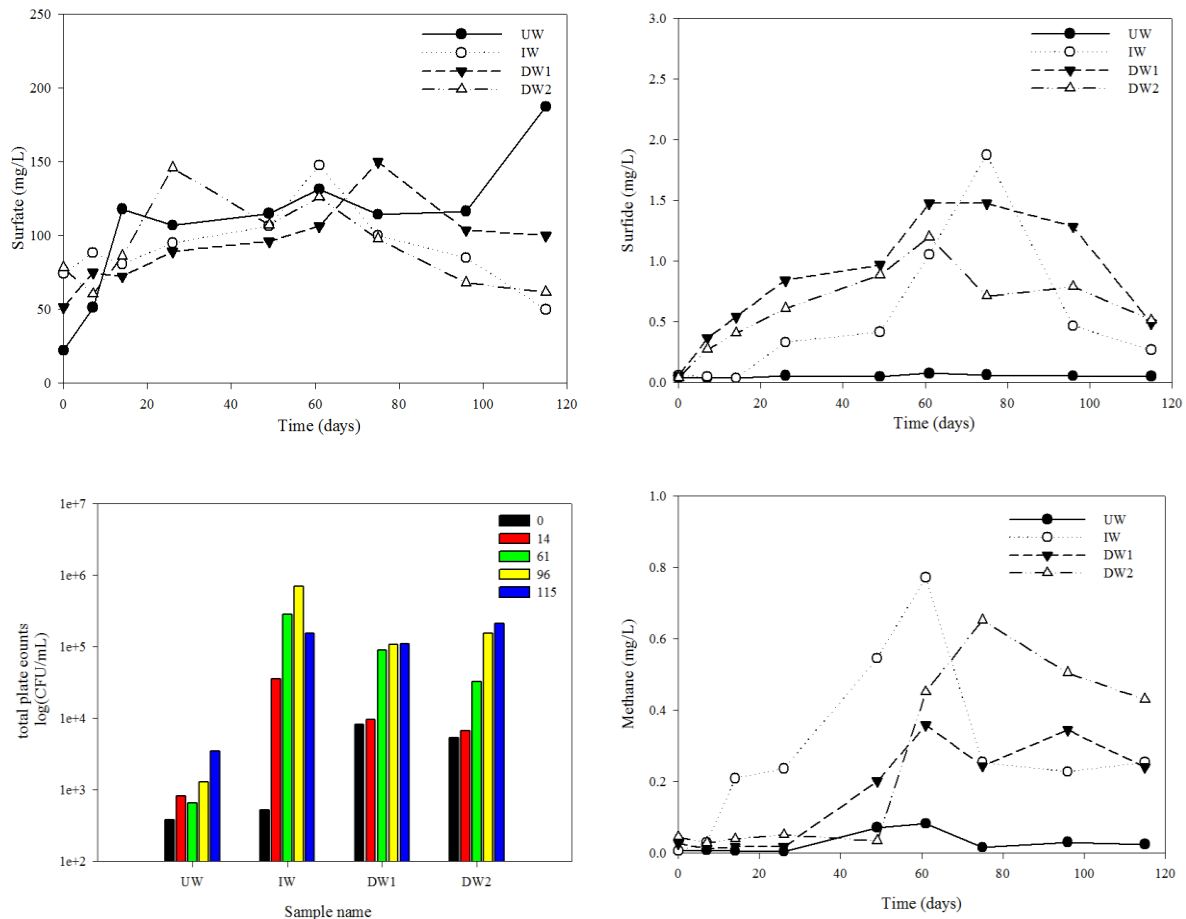


圖 4.19 模場試驗化學參數變化趨勢圖



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

4.3.4 含氯有機物降解趨勢

本模場試驗於厭氧生物整治區內，針對污染之飽和層注入 γ -PGA 基質，評估 DNAPL 之降解情形。選定井號 IW、DW1、DW2 為整治井，於 UW 井灌注 360 L 基質，而 UW 不灌注基質以作為背景，與其他井同時監測並比較目標污染物 PCE 及 TCE 之降解效率及其他副產物生成與削減。由圖 4.20 與 21 結果顯示及表 4.7 所列，PCE 背景濃度介於 0.5-8.6 mg/L，注藥整治 120 天後 IW 井 PCE 濃度由 5.043 降至 0.738 mg/L；降解效率約 85%，DW1(距離注藥井 1.5 m) PCE 濃度由 8.680 降至 4.446 mg/L；降解效率約 48.8%，DW2 (距離注藥井 2.5 m) PCE 濃度由 1.250 降至 0.383 mg/L；降解效率約 69%。注入基質處理含氯有機物，以生物整治方式，可有效降低水中污染物濃度及移動性，刺激污染物厭氧生物降解，降低污染物毒性但需長時間觀察與注入基質。基質進行相關吸附作用研究，亦發現基質吸附目標污染物效果有限，因此基質須待微生物利用基質迅速增長後降解目標物。而且基質沒有毒性亦為食品級的材料、具有生物可降解性、並可以完全促使污染物還原脫氯，可釋放有機基質，促進厭氧生物降解目標污染物。於注藥後分析 IW 井 120 天 TCE 濃度由 1.423 降至 0.418 mg/L；降解效率約 70%，DW1(距離注藥井 1.5 m) TCE 濃度由 5.890 降至 3.377 mg/L；降解效率約 48.8%，DW1(距離注藥井 1.5 m) TCE 濃度降解緩慢，推估可能 PCE 降解 TCE 效率較快，TCE 降解至 DCE 效率較慢，因此才有 TCE 濃度降解較慢情形發生。由現地地下水中 TOC 濃度測得濃度高於 100 mg/L 可供給微生物碳源利用(de Vries and Nipshagen, 2015)，DW1 與 DW2 兩口井監測到 TOC 濃度上升趨勢，推測注藥井基質流向下游；數據顯示 DW2 (距離注藥井 2.5 m) TCE 濃度由 1.993 降至 0.217 mg/L；降解效率約 90%，實驗結果可證實上游注藥井基質有隨著地下水流動將基質帶入下游，監測井污染物濃度均有下降趨勢，其降解效果顯著亦成功形成透水性生物整治牆。UW 井為污染的上游井做為控制井，試驗 18 天 TCE 濃度呈現下降之趨勢，推估原因為現地土壤中之原先營養源被微生物利用，或是注藥井基質注入時是由壓力灌注，基質為同心圓擴散，但由於上游 UW 井距離灌藥井較近，因此部分基質由流入情況，後續營養源不足，降低降解效率。

由圖 4.22 結果顯示，UW 井副產物監測結果顯示現地環境背景主要存在之低氯數污染物為 c-DCE、1,1-DCE、VC，目前副產物濃度均有上升趨勢，顯示注藥井副產物上升證實現地 PCE 與 TCE 有效被微生物降解，後續會持續觀察副產物濃度是否造成累積現象情況。目前數據顯示注藥井中高氯數污染物降解至低氯數污染物，注藥井研究結果顯示 γ -PGA 藥劑良好之成效。DW1 井副產物監測結果顯示，數據證實注藥井副產物上升證實現地 TCE 有效被微生物降解，下游井(DW1、DW2)結果顯示可能上游部分之降解副產物向下游移動，亦證實上游注藥



第四章：結果與討論

井有效阻止污染物 PCE 與 TCE 向下游移動。目前研究顯示下列幾點現象證實含氯有機物脫氯反應發生：(1) PCE 與 TCE 濃度下降趨勢與地下水流動路徑相關；(2) 電子接受者被消耗濃度降低(3) 降解 PCE 與 TCE 產生副產物。以上結果證實 γ -PGA 藥劑與現地生物降解能有效移除目標污染物 TCE 及 DCE，後續會持續監測濃度是否持續下降趨勢。本模場所灌注之基質，目前確實可穩定且有效降解 TCE 及其副產物，持續觀察是否副產物累積現象，以達環境友善之成效並能阻止污染物 TCE 向下游傳輸。含氯乙烯類是地下水中常見之污染物，以厭氧生物復育技術處理受污染之地下水時，含有較高氯數的 PCE 和 TCE 並不能有效的完全降解，在此情況下會降解成有毒副產物 DCE 或是 VC，同時會增加健康風險之虞慮。TCE 由於含氯數較高，其降解方式是以還原反應為主，而 VC 含氯數較低，其降解方式則是主要以氧化反應(Johansson, 2017; Chang et al., 2018; Saiyari et al., 2018)，因為在高氯數的含氯乙烯類化合物，其碳原子的氧化電位較高，所以較容易被還原，整治後期若須快速使 VC 濃度下降，可添加微量零價金屬，其中又以零價鐵的應用範圍最廣，因零價鐵的價格低廉且容易取得以及能夠有效地分解污染物，零價鐵對含鹵素之有機化合物的去除機制，主要藉由氧化降解作用所產生的電子轉移，使有機物經由轉化作用(transformation)形成危害物較低的物質。綜合上述結果獲知，本模場所灌注之基質，確實可穩定且有效降解 PCE 與 TCE 及其副產物，並不會產生副產物累積現象，以達環境友善之效果。



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

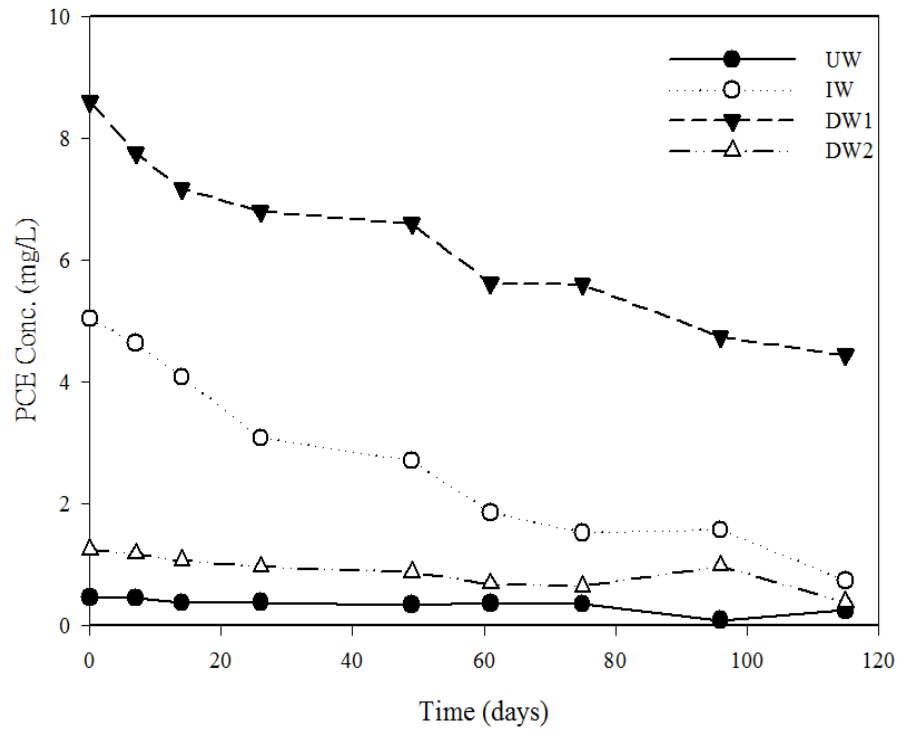


圖 4.20 模場試驗 PCE 濃度變化趨勢圖

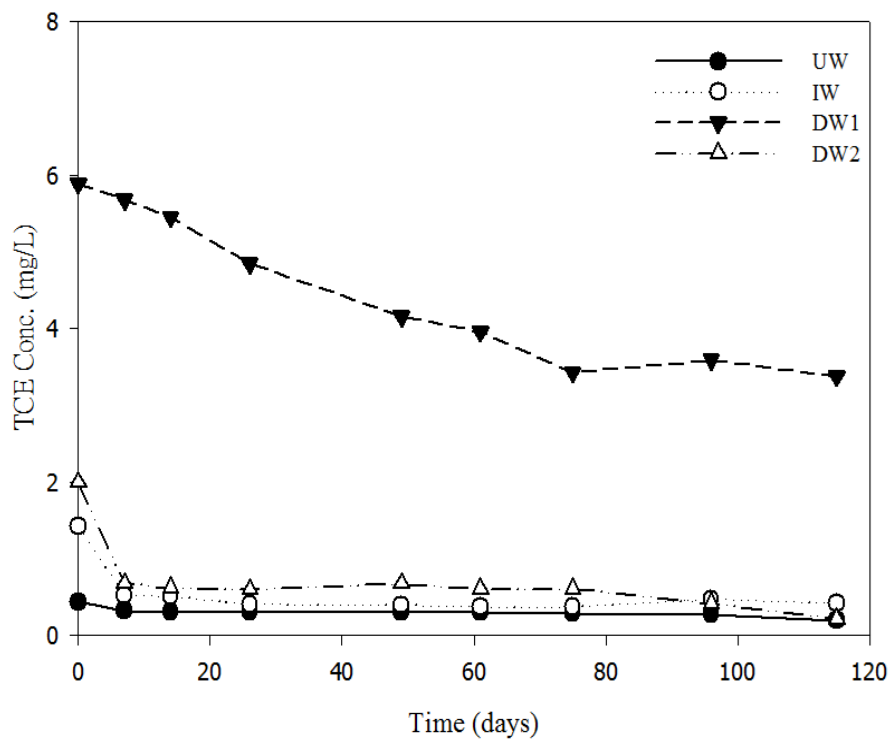


圖 4.21 模場試驗 TCE 濃度變化趨勢圖



第四章：結果與討論

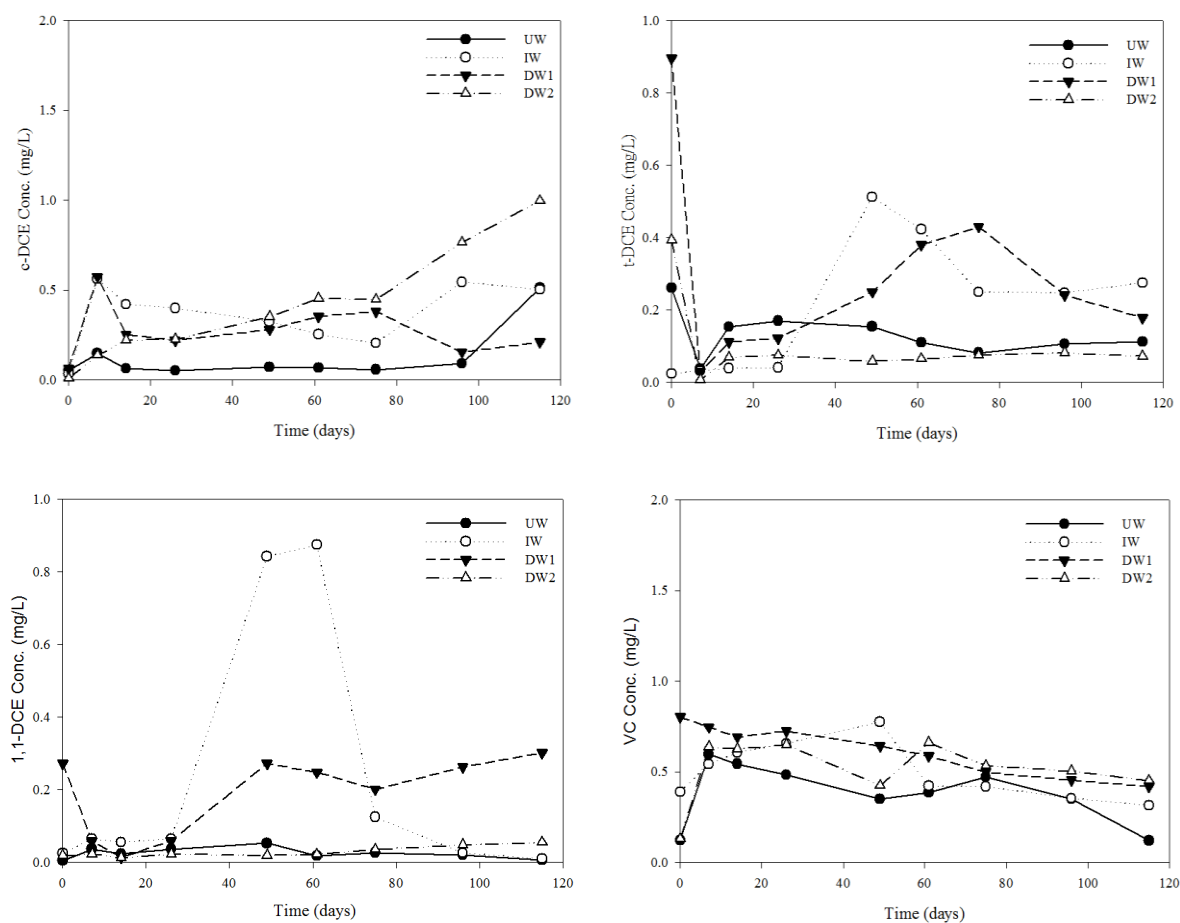


圖 4.22 模場試驗副產物變化趨勢圖

表 4.7 PCE 與 TCE 降解效率

污 染 物	單 位	UW (背景井)	IW (注藥井)	DW1 (距離注藥 井 1.5 m)	DW2 (距離注藥 井 2.3 m)
四氯乙烯 (整治前)	mg/L	0.468	5.043	8.680	1.250
四氯乙烯 (120 天)	mg/L	0.256	0.738	4.446	0.383
降解效率	%	45.4	85.4	48.8	69.4
三氯乙烯 (整治前)	mg/L	0.439	1.423	5.890	1.993
三氯乙烯 (120 天)	mg/L	0.200	0.418	3.377	0.217
降解效率	%	54.5	70.6	42.7	89.1



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

4.3.5 模場分子生物技術分析

(1) DHC 菌屬數量變化趨勢

模場試驗在厭氧生物整治期間，以分子生物技術 qPCR 偵測不同時間點 DHC 菌屬之含量，因 DHC 可將 PCE 和 TCE 還原脫氯形成 VC，並繼續降解成無毒副產物乙烯，因此，可藉此偵測結果，了解現場地下水中 DHC 菌屬之含量，並得悉此菌屬在環境中的生長情形，亦可作為評估現地生物整治成效的依據。

模場試驗於厭氧生物區四口井 DHC 的 gene copies 數量變化趨勢如圖 4.23 所示，經灌注基質後各井位均有變化趨勢，於第 14 天監測其 DHC 菌屬數量均有上升之現象，到了後期第 61 天 DHC 菌屬數量大概維持於 $5.5 \times 10^5 \sim 3.8 \times 10^7$ gene copies/L；UW 井無灌注基質，整治期間菌屬數量介於 $5.6 \times 10^4 \sim 6.5 \times 10^4$ gene copies/L 之間，整體而言。由上述結果得知，因 γ -PGA 的灌注有助於提升地下水環境中之 TOC，而 DHC 菌屬數量也隨著基質添加而成長許多，整治期間地下水環境 pH 維持於中性，得悉此模場厭氧生物整治區，並不會因基質灌注而造成地下水酸化，進而抑制脫氯菌 DHC 菌屬之生長。過去研究指出，地下含水層中 pH 是含氯溶劑生物轉化過程中極具影響的重要因子，許多生物復育技術中，微生物降解污染物之最適 pH6~8 之間，當地下水環境中 pH 逐漸下降，有可能是所注入的基質已被微生物分解，且進一步產生有機酸而抑制脫氯菌之生長 (Wang et al., 2016a)，故 pH 確實影響著脫氯菌生長之重要因素之一，本模場所灌注之基質有助於中和厭氧微生物反應產生有機酸，避免地下水酸化以維持最適生物成長之 pH 環境。本計畫選用基質亦突破過去研究，基質須額外添加微量緩衝藥劑才能改善快速酸化問題。

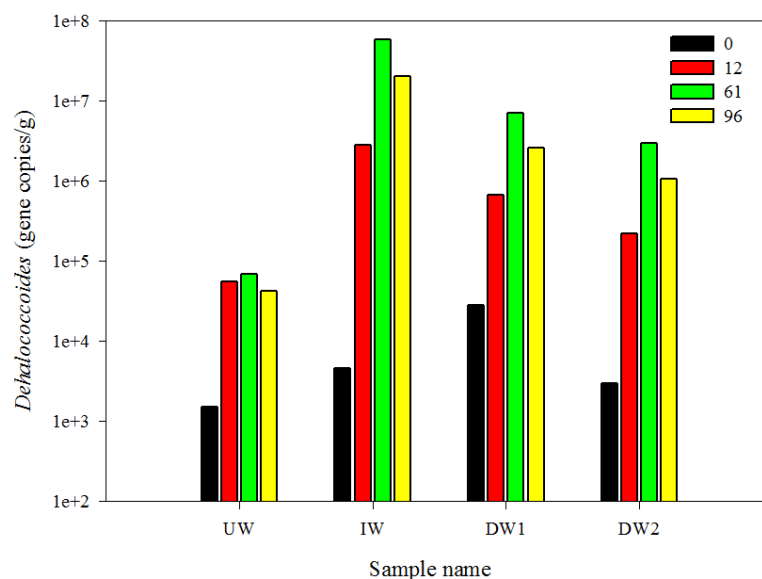


圖 4.23 模場試驗 DHC 菌屬變化趨勢圖



(2)NGS 變化趨勢

本研究欲應用 NGS 觀察現地地下水微生物菌種種類，過去文獻指出 PCE 與 TCE 的降解可直接被 *DHC* 菌屬完全還原脫氯成無毒的乙烯(Baldwin et al., 2017)，基質亦可以間接被產氫菌產生的氫氣，以及其他可營造適合 *DHC* 菌生長環境之菌種，達到加快整治效率的成效。根據文獻指出，*DHC* 菌的生長需要輔酶因子 B12 來營造適合 *DHC* 菌生長的環境(Yan et al., 2015; Teng et al., 2019)，且氫氣可以加速 *DHC* 菌進行還原脫氯作用(Shapiro et al., 2018)。在 16S metagenomics 中，操作分類單元(Operational taxonomic unit, OTU)是根據序列的相似性做分類，其方法為叢集相似的 16S rDNA 基因序列的定序的片段。在每一個叢集中根據設定的序列相似性程度呈現一個 OTU，形成的 OTU 可能為細菌的屬或種層級。一般而言，在 16S metagenomics 分析中 97%或 99%的序列相似性為典型的 OTU 叢集分析的門檻。在進行 16S 序列相似性分類後，將得到的每一個 OTU 視為與資料庫對應相符的細菌種層級上的分類物種，並繼續進行 16S metagenomics 分析流程。然而實際上其解析度是有所限制，並非單一 OTU 為完全對應對單一菌種。應用 NGS 探討現地模場灌注藥劑前後，菌群變化之情況，主要以屬作區分探討各井位於灌注前後菌屬的變化。在各井位灌注前與灌注後後中分別觀察到總共 143,382 個高質量讀數群集 OTU。

表 4.8 為本場址所含有之菌屬以及該菌種之功能，*Acidovorax*, *Clostridium*, *Comamonas*, *Hydrogenophaga*, *Pseudomonas*, *Rhodoferrax* 以及 *Stenotrophomonas* 都有降解 TCE 的能力。*Geobacter*, *Rhodoferrax* 以及 *Sphingobium* 都有將氯化碳氫化合物脫氯的能力。*Clostridium* 可以合成輔酶因子 B12 營造出適合 *DHC* 菌生長的環境。*Anaerovorax*, *Bacillus*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Gracilibacter*, *Hydrogenophaga*, *Macellibacteroides* 以及 *Propionispora* 具有產生氫氣的功能。而在本場址發現可進行氮還原、硫酸還原及其他可以消耗環境中氧氣之菌種，快速營造適合 *Dehalogenimonas* 生長及還原脫氯之環境，包括菌種為 *Acidovorax*, *Bacillus*, *Comamonas*, *Curvibacter*, *Desulfosporosinus*, *Desulfovibrio*, *Hydrogenophaga*, *Methylobacter* 以及 *Thauera*。

注藥井 UW 之 NGS 菌相豐富變化圖如圖 4.24 所示，*Acinetobacter*, *Anaerovorax*, *Bacillus*, *Brevundimonas*, *Clostridium*, *Citrobacter*, *Comamonas*, *Desulfovibrio*, *Diaphorobacter* 以及 *Proteiniclasticum*，菌種豐富度於灌藥後皆有增加的現象，而這些菌種當中 *Clostridium* 增加比例最高，從灌藥前低於 0.01%提升至 17%，*Citrobacter* 從灌藥前 0.01%提升至 1.7%，亦顯示 γ -PGA 基質可營造適合 *Clostridium* 生長的環境，而 *Clostridium* 與 *Citrobacter* 產生的氫氣可以加速



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

DHC 菌進行還原脫氯作用，以及合成的輔酶因子 B12 為 *DHC* 菌生長的必要因子；*Desulfovibrio* 從灌藥前 0.01% 提升至 0.3%，而 *Desulfovibrio* 還原硫酸鹽與還原鐵，*Proteiniclasticum* 從灌藥前低於 0.01% 提升至 19%，配合水質參數 ORP 可得知介於硝酸鹽及硫酸還原狀態之間。*Acidovorax* 從灌藥前 0.01% 提升至 0.7%，*Comamonas* 從灌藥前 0.01% 提升至 10%，文獻顯示 *Acidovorax* 與 *Comamonas* 可降解三氯乙烯，亦明顯該場址三氯乙烯有顯著下降趨勢。顯示含有豐富菌種可有效將 TCE 進行降解及可產生氫氣協助脫氯菌進行還原脫氯之菌種，顯示含有豐富可營造適合脫氯菌進行還原脫氯之菌種；其餘可進行還原反應且消耗溶氧之菌種，顯示本場址為厭氧還原脫氯環境，適合脫氯菌之生長。綜觀上述結論， γ -PGA 基質可以提供良好的生長環境，進而提升脫氯菌進行還原脫氯作用，以達到良好的降解效率。

下游井 DW1(距離注藥井 1.5 m) 之 NGS 菌相豐富變化圖如圖 4.24 所示，*Alkanindiges*, *Azoarcus*, *Brevundimonas*, *Citrobacter*, *Comamonas* 以及 *Dethiobacter* 於灌藥後皆有增加的現象，其中 *Brevundimonas* 增加比例最高，灌藥前期到後期從 2.2% 提升至 9.2%，*Brevundimonas* 是可降解喹啉化合物，本研究推估可能該井位附近可有喹啉化合物或 γ -PGA 有利於 *Brevundimonas* 生長使得菌量增加 7%，其次增加最多為 *Citrobacter* 灌藥前期到後期從 0.06% 提升至 0.29%，產生的氫氣可以加速 *DHC* 菌進行還原脫氯作用，以及合成的輔酶因子 B12 為 *DHC* 菌生長的必要因子；*Comamonas* 灌藥前期到後期從 0.11% 提升至 1.2%，而 *Comamonas* 是可降解 TCE。下游井 DW2(距離注藥井 2.5 m) 有效增加脫氯菌種生長之菌種乳下；*Clostridium*, *Dethiobacter*, *Propionispora*, *Paracoccus* 以及 *Syntrophomonas* 於灌藥後皆有增加的現象，其中 *Dethiobacter* 增加比例最高，灌藥前期到後期從 4.51% 提升至 6.76%，顯示含有豐富菌種可有效將 TCE 進行降解；可將含氯有機物進行降解之菌種於灌藥前期到後期從 4.51% 提升至 6.76%，*Propionispora*，灌藥前期到後期從 0.4% 提升至 0.92%；*Clostridium* 可灌藥前期到後期從 1.1% 提升至 2.29%，顯示 γ -PGA 基質可營造產氫菌的生長可以加速 *DHC* 菌進行還原脫氯作用，以及合成的輔酶因子 B12 為 *DHC* 菌生長的必要因子，顯示本場址為厭氧還原脫氯環境，適合脫氯菌之生長。綜觀上述結論，下游井 DW1 與 DW2 於灌藥後的菌種豐富度變化沒有灌藥井 UW 較顯著變化，推估原因為 γ -PGA 基質具有良好的流通性，灌注於地下水中呈現同心圓擴散，故 γ -PGA 基質傳輸至下游井藥劑量較少且藥劑土壤顆粒間較快流失。藥劑停流井位可能僅有一部分而已，後續嘗試使用改質基質，更有效讓基質停流土壤孔隙之間。由圖 4.24 顯示，彙整相關菌種可發現本場址含有以下四種菌種：(1)可以完全還原脫氯之菌種；(2)可以將含氯有機物脫氯之菌種；(3)合成輔酶因子 B12 營造適合 *DHC* 菌生長環境之菌種；(4)



產生氫氣進而加速 *DHC* 菌種進行還原脫氯作用之菌種。結合水質分析數據，證實本場址環境為厭氧還原狀態，且 PCE 以及 TCE 及其副產物皆有降解的現象發生，未有累積的現象。研究過程中未發生酸化現象，pH 維持中性範圍，顯示脫氯菌未因為酸化現象而抑制生長影響了整治成效。根據文獻指出，*Desulfosporosinus* 以及 *Desulfovibrio* 可進行硫酸還原作用，而 *Sulfuricurvum* 則會進行硫氧化的反應，故推測硫酸鹽以及硫化物濃度沒有明顯變化之原因(Lien et al., 2016; Matassa et al., 2016; Gam et al., 2018)。綜觀上述結論， γ -PGA 基質可快速提供微生物利用，快速營造厭氧還原環境有利於脫氯菌生長，進而有效降解含氯有機物成效。

經由圖 2.24 各井口彙整菌種進行主成分分析 (principal components analysis, PCA)，更加了解地下水菌群變化趨勢，PCA 通過提取少量潛在因子來減少變量，以尋求灌注前後的分佈變化。PCA 將高維複雜數據減少到稱為主成分 (PC) 的低維組成，以識別主要模式而不會顯著丟失原始數據，並且可以在二維或三維空間中可視化多變量數據，基於投影追蹤的思想(Kim et al., 2019a)，PCA 為具有最大特徵值的低維子空間 (即 PC) 提供了基礎，以找到最大方差的方向。第一 PC 使原始數據的方差最大化，並且下一個 PC 與先前的 PC 正交，並解釋第一 PC 未捕獲的方差，在該研究中，每個井位與菌種分布作為參數用於 PCA，使用 PCA 的正交回歸找到最小化原始數據 (高維) 與新子空間 (低維) 中的投影數據之間的垂直距離的線。如果樣品在第一 PC (PC_1) 中的原始值和預計值之間存在較大的殘留誤差，則其他 PC 具有第二大特徵值的第二 PC (PC_2) 可以解釋樣本的大誤差。根據 PCA 分析結果， PC_1 與 PC_2 解釋總變異的 86.9% (圖 4.24)。提取特徵值的 PC_1 和 PC_2 分別為 76.9% 和 20%，IW 灌藥井灌注前後顯著變化分布於不同群落區，下游 DW1 與 DW2 也有明顯變化，亦配合熱點圖明顯顯示灌注前為一個群落灌注後成另一個群落區。



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

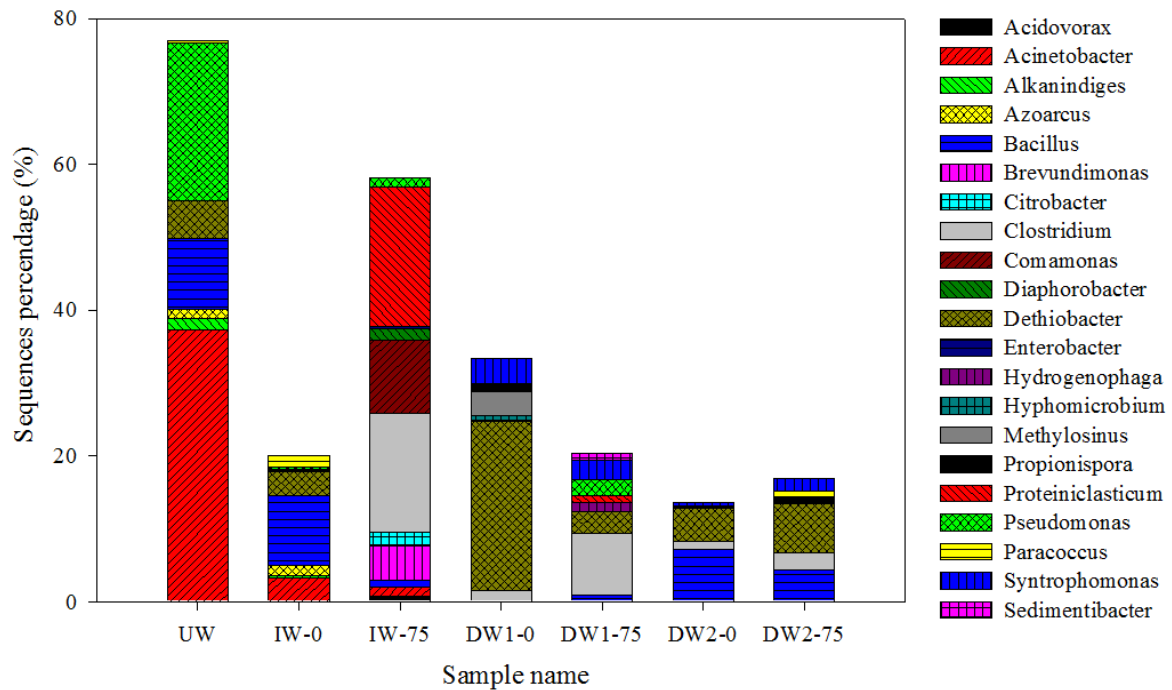


圖 4.24 各井位灌注基質前後菌相豐富度變化圖

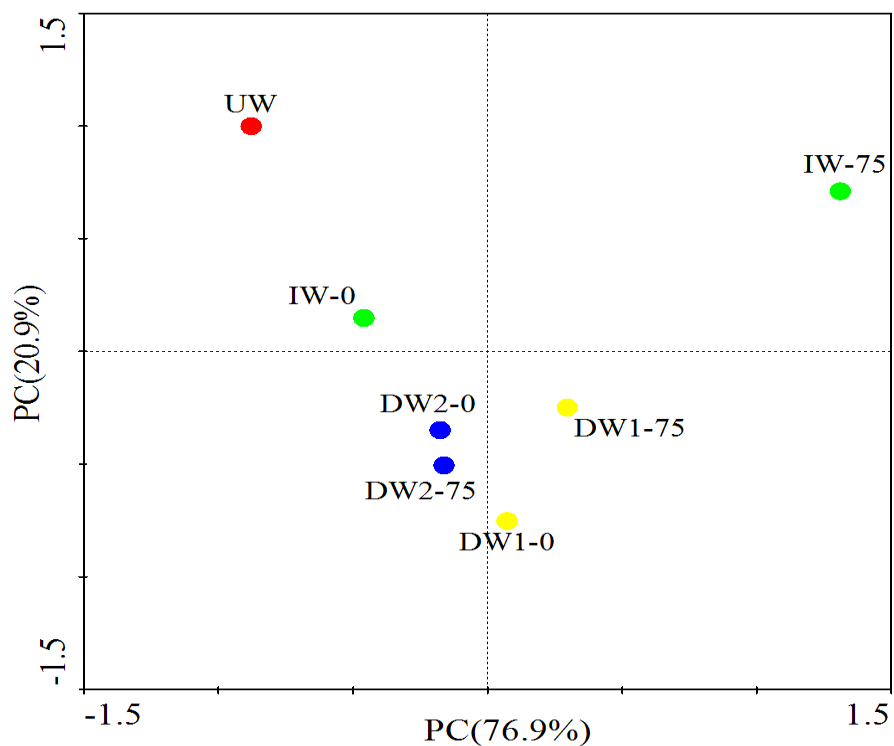


圖4.25 各井位灌注基質前後菌群主成分分析分布圖



第四章：結果與討論

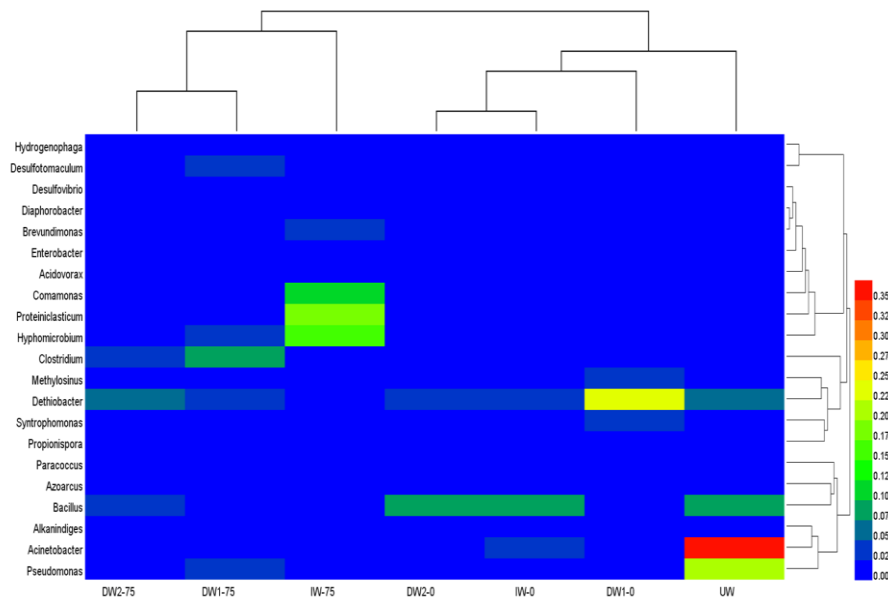


圖 4.26 各井位灌注基質前後菌群 Heatmap 圖

表 4.8 彙整各菌種功能

菌屬名稱	菌功能	文獻來源
<i>Acidaminobacter</i>	加入乳酸後還原 NO_3^-	(Li et al., 2016)
<i>Acidovorax</i>	脫硝	(Sheu et al., 2017)
	降解氯苯	(Sheu et al., 2017)
	降解 TCE	(Sheu et al., 2017)
	降解多氯聯苯	(Sheu et al., 2017)
<i>Acinetobacter</i>	降解苯酚	(Ahmad et al., 2017)
	降解烴類	(Dahal et al., 2017)
<i>Anaerovorax</i>	發酵產氫	(Liu et al., 2014)
<i>Arthrobacter</i>	降解酚衍生物	(Hassan et al., 2016)
<i>Bacillus</i>	發酵產氫	(Ozaki et al., 2017)
<i>Brevundimonas</i>	降解喹啉	(Pham et al., 2016)
<i>Butyricicoccus</i>	產生丁酸	(Takada et al., 2016)
<i>Cellulosibacter</i>	分解纖維素、木聚糖	(Aikawa et al., 2018)
<i>Citrobacter</i>	產生氫氣	(Ramprakash and Muthukumar, 2018)



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

<i>Clostridium</i>	受半胱胺酸刺激後產生氫氣	(Ainala et al., 2016)
	產生氫氣	(Rabemanolontsoa et al., 2017)
	酒精發酵產氫	(Veeravalli et al., 2017)
	合成 B ₁₂	(Helliwell et al., 2016)
	降解 TCE	(Kuo et al., 2013)
<i>Comamonas</i>	降解 TCE	(Kuo et al., 2013)
	利用苯酚作為碳源降解 cis-DCE 跟 trans-DCE	(Shimodaira et al., 2016)
	還原三價鐵	(Sheu et al., 2017)
	降解多氯聯苯	(Sheu et al., 2017)
<i>Curvibacter</i>	脫硝	(Sheu et al., 2017)
<i>Dehalogenimonas</i>	將 TCE 完全還原脫氯	(Baldwin et al., 2017)
<i>Desulfosporosinus</i>	硫酸還原	(Baldwin et al., 2017)
	降解 PCE	(Lien et al., 2016)
<i>Desulfovibrio</i>	還原硫酸鹽	(Lien et al., 2016)
	還原鐵	(Li et al., 2016)
<i>Geobacter</i>	將氯化碳氫化合物脫氯	(Lien et al., 2016)
<i>Gracilibacter</i>	發酵產氫	(Lee et al., 2006)
<i>Hydrogenophaga</i>	發酵產氫	(Eamrat et al., 2017)
	脫硝	(Sheu et al., 2017)
	降解 TCE	(Sheu et al., 2017)
<i>Macellibacteroides</i>	發酵產氫	(Rout et al., 2017)
	代謝單醣和二糖，主要發酵產物為乙酸	(Huang et al., 2016b)
<i>Methylobacter</i>	固氮、還原硝酸鹽以及亞硝酸鹽	(Hernandez et al., 2015)
<i>Oscillospira</i>	產生丁酸	(Gophna et al., 2017)
<i>Oxobacter</i>	將甲氧基化的芳香族化合物分解為丁酸鹽	(Bengelsdorf et al., 2015)
<i>Propionispora</i>	發酵產氫	(Bengelsdorf et al., 2015)
<i>Proteiniclasticum</i>	加入乳酸後還原 NO ₃ ⁻	(Li et al., 2016)
<i>Pseudomonas</i>	降解高分子量多環芳烴	(Sheu et al., 2017)



第四章：結果與討論

	降解 PCE	(Sheu et al., 2017)
	降解 TCE	(Sheu et al., 2017)
	降解 1,1-DCE	(Sheu et al., 2017)
	降解 cis-DCE	(Sheu et al., 2017)
	降解 trans-DCE	(Sheu et al., 2017)
<i>Rhodoferrax</i>	降解 TCE	(Lien et al., 2016)
<i>Ruminococcus</i>	分解纖維素、木聚醣	(Weinstein et al., 2015)
<i>Sedimentibacter</i>	發酵為乙酸，丙酸和丁酸作為主要終產物	(Imachi et al., 2016)
<i>Sphingobium</i>	降解烷基酚和雙酚	(Kuroda et al., 2017)
	水解有機磷酸酯阻燃劑	(Bigley et al., 2016)
	降解芴	(Augelletti et al., 2018)
	降解多環芳烴	(Maeda et al., 2015)
	脫鹵	(Singha et al., 2017)
<i>Stenotrophomonas</i>	降解 TCE	(Sheu et al., 2017)
<i>Sulfuricurvum</i>	氧化硫	(Matassa et al., 2016)
<i>Thauera</i>	脫硝	(Sheu et al., 2017)



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

4.4 模場試驗(改質後)

本團隊以高雄市前鎮區興邦段 340 及 341 部分地號作為試驗區，第二年將 γ -PGA 改質前後進行現地的灌注，以厭氧還原脫氯機制進行污染區域的整治並評估整治成效。此外，本計畫將依現場之微生物反應速率，做必要之整治技術之調整，以提高微生物活性及數量，地下水之分析項目將包括含氯有機物濃度、地質化學參數、脫氯菌群的變化分析。本研究模場試驗將整合實驗室試驗評估使用 γ -PGA 處理含氯有機物污染之場址進行模場試驗探討其操作條件及整治成效。 γ -PGA 藥劑為環境生物友善生物助劑，對環境、人體及生態皆不會造成危害與影響，亦可作為電子供給者，或供應現地微生物生長時所需之營養鹽，有助於提高脫氯之效率。另，評估改質後藥劑傳輸效率，是否有效傳輸至下流，本場址井位示意圖如圖 4.27 所示，本場址水力傳導係數及土壤組成份前述改質前已有說明。本計畫第二年規劃新增 3 口監測井，該場址設置一個上游監測井、一個注藥井、五口下游監測井(其中一口管理單位為高雄市環保局)，後續本團隊將評估整治成效及場址狀況，若監測井不足或位置不適當，增設數口臨時監測井作為整治井。此外，本計畫將依現場之微生物反應速率，做必要之整治技術之調整，以提高微生物活性及數量。注藥井(IW)提供現地試驗，並於其地下水下游處約 1-6 公尺設置 5 口監測井 DW1 (距離注藥井 1.5 m)、DW2 (距離注藥井 2.5 m)、DW3 (距離注藥井 4.2 m)、DW4 (距離注藥井 5.3 m)、DW5 (距離注藥井 6m)，並選 UW (距離注藥井 1m) 為污染的上游井做為控制井，各井設置規格如 4.9 所列。108 年 3 月本團隊進行改質 γ -PGA 藥劑第 1 次灌注，其灌注量為 20 L 乳化型 γ -PGA 藥劑並稀釋 27 倍藥劑量的推進水後灌入井中基質同心圓向外擴散，將 γ -PGA 基質 TOC 濃度控制於 850 mg/L。108 年 8 月本團隊進行改質 γ -PGA 藥劑第 2 次灌注，其灌注量維持 20 L 乳化型 γ -PGA 藥劑並稀釋 30 倍藥劑量的推進水後灌入井中基質同心圓向外擴散，於注藥井及 6 口監測井定期採樣，其監測項目包括污染物濃度、地質化學參數變化及分子生物相關技術 qPCR 進行 DHC 菌種分析搭配 NGS，藉由上述監測項目了解，灌注 γ -PGA 基質後對地下水中 PCE 與 TCE 之降解影響和菌種變化趨勢。模場試驗以現地生物復育法，將電子提供者到地底下，以刺激微生物生長，藉由發酵作用產生氫而創造厭氧地下水環境評估整治成效。

今年 108 年第 1 次灌注改質後基質，配合藥劑灌注過程執行地電阻影像法，以電性變化量時序分析評估藥劑流布。本團隊配合業興公司計畫進行現地電阻影像掃描法 (electrical resistivity tomography, ERT)，過程將於地表配置一條長約 60 公尺的電極線，其灌注井為中心上下游各拉 30 公尺傳輸至接近模場最下游的邊界。現地模場灌注期間為 108 年 03 月 26 日，地表 ERT 自 03 月 25 即收集導電率訊號，作為比對之背景值。其灌藥時開始時、灌注完成及灌注後一周收集



第四章：結果與討論

訊號，並與背景導電率比對，推算出累積導電率差異變化（導電率差異率），由導電率差異率之大小判斷藥劑傳輸抵達之範圍。經由圖 4.28 ERT 分析結果顯示，一周後可以觀察到藥劑可以傳輸距離灌注井至下游 4-5 m，可佐證基質有效往下游傳輸後續可持續觀察藥劑停留時間，評估改質前後基質之差別。

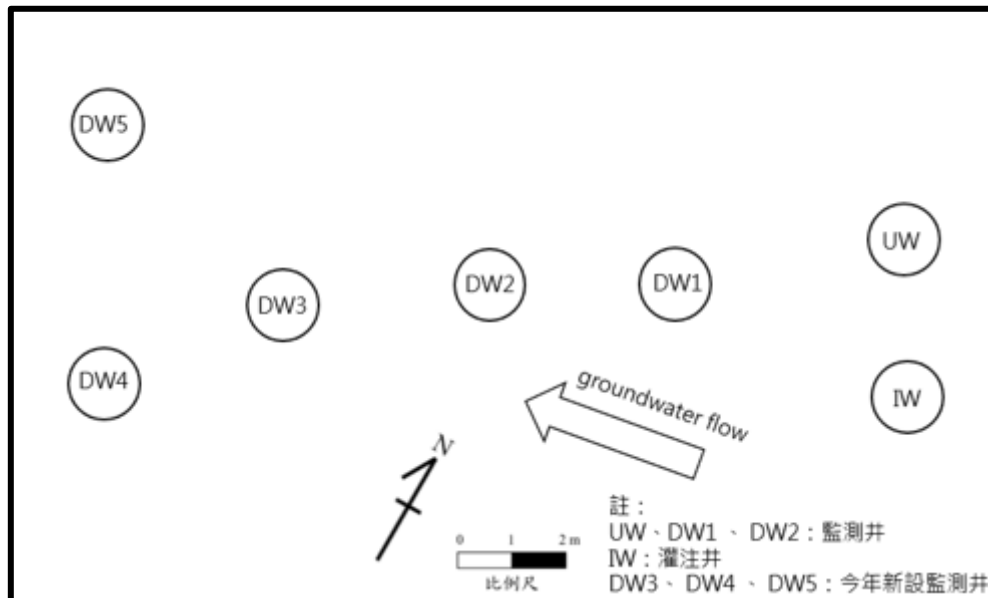


圖 4.27 108 年模場試驗井位示意圖

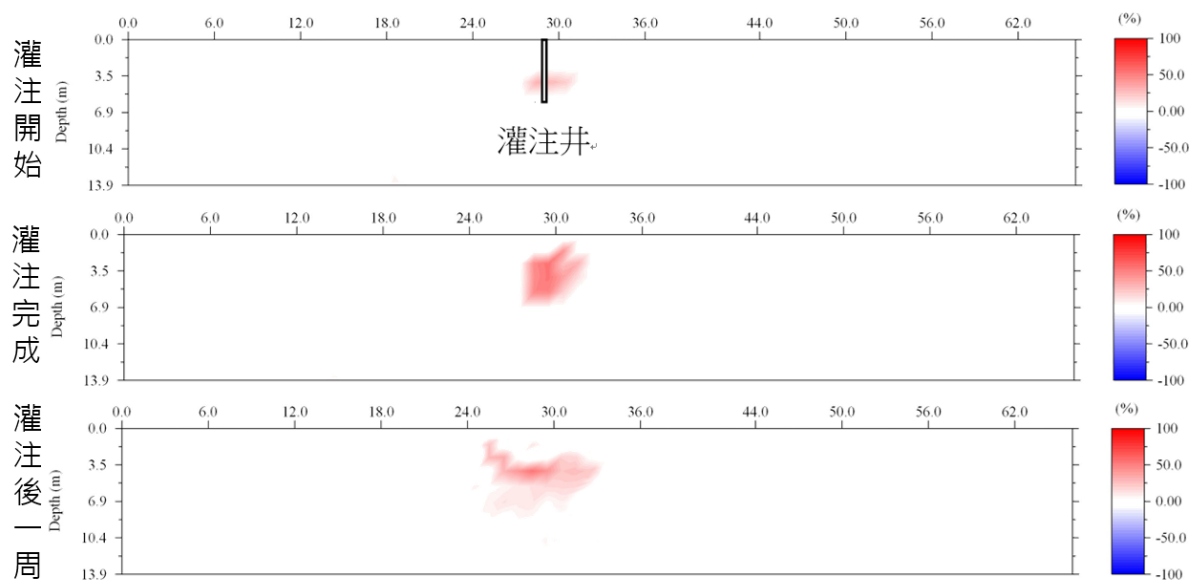


圖 4.28 模場現地灌注地表 ERT 探測分析結果(業興公司提供)



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

表 4.9 場址各簡易井設置規格

井編號	井徑 (吋)	井深 (m)	開篩 深度 (m)	型式	管理單位
UW	2	7.5	3-7.5	隱藏式 簡易井	本計畫設井
IW	2	7.5	3-7.5	隱藏式 簡易井	本計畫設井
DW1 (E00806)	2	6.6	0.5-6.5	隱藏式 標準井	高雄市環保局
DW2	2	7.5	3-7.5	隱藏式 簡易井	本計畫設井
DW3	2	7.5	3-7.5	隱藏式 簡易井	本計畫設井
DW4	2	7.5	3-7.5	隱藏式 簡易井	本計畫設井
DW5	2	7.5	3-7.5	隱藏式 簡易井	本計畫設井



4.4.1 現地灌注試驗水質分析

現地試驗之水質監測結果顯示圖 4.29 所示，模場地下水 pH 值介於 6.0~9.8；DO 介於 0.1~1.78 mg/L；ORP 介於-285~145 mV。本場址 108 年 3 月進行改質基質第 1 次灌注藥劑，其灌注量為 20 L 乳化型 γ -PGA 藥劑並稀釋 27 倍藥劑量的推進水後，由灌注井中基質同心圓向外擴散，將 γ -PGA 基質 TOC 濃度控制於 850 mg/L。由於現地整治 120 天各井 TOC 濃度低於 100 mg/L，108 年 8 月進行改質基質第 2 次灌注藥劑，其灌注量為 20 L 乳化型 γ -PGA 藥劑並稀釋 30 倍藥劑量的推進水後，由灌注井中基質同心圓向外擴散，灌注半徑約 0.37 m。由數據觀察藥劑量注藥井(IW)反應過程 pH 值為中性範圍；DO 降至 0.12 mg/L；ORP 降至-235 mV，數據顯示基質有效將 pH 控制中性範圍，基質比例有效緩釋 pH 大幅度變化，先前現地灌注 γ -PGA 發現 pH 值均有顯著上升變化，系 γ -PGA 結構上有 NH_2 胺基之官能基，解離後和水反應形成氨 NH_3 是鹼性物質，實驗與現地監測氨氮濃度確定有增加之趨勢，以佐證上述之推測原因。若未來可針對場址水質參數 pH 與土壤性質，決定投入較適合基質性質以利於控制藥劑成本。

由 DO 濃度數據顯示除了控制井以外，其餘各井已產生厭氧環境，各項基本水質參數明顯變化；注藥後注藥井與監測井 DW1（距離注藥井 1.5 m）、DW2（距離注藥井 2.5 m）、DW3（距離注藥井 4.2 m）、DW4（距離注藥井 5.3 m）、DW5（距離注藥井 6m），地下水水質參數 DO：0.3~0.5 mg/L；ORP -289~-150 mV），背景井濃度變化因灌注藥劑系使用加壓灌注，基質同心圓擴散但背景井距離灌注井較近，導致部分基質流入背景井，基質後續隨著水流向下流傳輸，故背景井 TOC 濃度就無明顯變化。藉由投入乳化型 γ -PGA 使現地地下水氧氣逐漸被微生物消耗呈現厭氧狀態，根據文獻指出於厭氧還原脫氯條件下，DO 需小於 0.5 mg/L，當 DO 過高的環境下會抑制厭氧微生物生長，進而影響整治成效(Panagiotakis et al., 2015)。由模場試驗獲知添加乳化型 γ -PGA 藥劑可刺激微生物生長，並消耗水中 DO 形成厭氧環境，同時亦證實基質經由地下水流向下游移動，灌藥井形成透水性生物反應牆及厭氧還原環境。模場整治注入基質於灌藥井整治期間地下水中環境 pH 值維持中性範圍，推估原因是 γ -PGA 結構上有 NH_2 胺基之官能基解離後和水反應形成氨 NH_3 是鹼性物質，造成 pH 值上升主要原因。

本場址灌注改質後基質亦發現，整治期程中 pH 有顯著起伏變化，其推估原因乳化油相較 γ -PGA 更有利提供維生物利用，故前期 pH 下降較顯著，但 γ -PGA 水反應形成氨 NH_3 中和有機酸，有效地下水水質參數 pH 維持中性條件，乳化型 γ -PGA 添加乳化油，其乳化油為酸性同時達到緩衝效果 pH 效果。若地下水水質參數 pH 值偏高可嘗試使用本基質，於地下含水層中 pH 是含氯污染物，於生物



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

轉化過程中極具影響的重要因子，許多生物復育微生物降解污染物之最適 pH 中性環境，且較多可還原脫氯之重要菌群皆適合中性環境生長。過去研究指出，污染物降解過程中會因基質快速被微生物分解產生有機酸、脂肪酸之影響，而導致水質 pH 酸化程度之影響(Wen et al., 2017)，當 pH 值小於 6.2 會降低脫氯反應速率且脫氯菌群容易受到抑制之情形(Yang et al., 2018a)。另外也有文獻顯示若 pH 小於 5.5 脫氯菌受到抑制，若 pH 回升至中性條件也無法將脫氯菌活性激活(文獻)，當這些有機酸累積時，經常造成地下水體 pH 無法維持於微生物最適 pH 反應區間，進而影響微生物降解污染物之效率及期程，因此調整及維持地下水體環境中最適微生物反應 pH 值是具挑戰的工法。本模場試驗基質選用 γ -PGA 或乳化型 γ -PGA 可中和厭氧微生物反應產生之有機酸，維持最適生物反應之 pH，避免厭氧整治期間之酸化問題造成脫氯菌之生長抑制，乳化型 γ -PGA 較為 γ -PGA 更為長效性，因此可評估場址土壤性質，再選擇較適合之生物可分解之基質。

各監測井 TOC 監測數據顯示，改質基質藥劑灌注經由地下水流向往下游監測井傳輸，於各監測井測得 TOC 殘餘量，可證實上游注藥井降解效果顯著亦成功形成透水性生物整治牆，符合現地、被動及生物整治概念之技術即包括現地生物復育(in situ bioremediation, ISB)結合透水性反應牆(permeable reactive barrier, PRB)(Gholami et al., 2019)。現場灌注基質後各監測井 ORP 維持於-295mV 至-135 mV，這表示此地下水環境下，能有助於提供鐵還原、硫酸鹽還原或甲烷化等反應產生，將環境條件營造於硫酸鹽還原階段是營造最佳脫氯條件(Hazen, 2018)。由模場監測數據獲知，灌注井在整治期監所測得 ORP 由氧化態轉為還原態，ORP 持續下降能低於-200 mV 能有效促進還原脫率之反應，同時亦顯示地下環境已逐漸形成厭氧狀態，有利於現地在短期內提供厭氧生物循環代謝途徑降解污染物，目前後續持續監測評估整體成效。監測氮氮變化趨勢如圖 4.30 所示，驗證前述推估 pH 值上升原因是否有相關性，經由監測結果得知，於灌注基質後背景井以外其餘監測井位氮氮濃度均有上升趨勢。基質隨著地下水流流動，其灌注井濃度氮氮最高，基質性質與地下水流速影響，監測井均部分基質流入氮氮濃度有上升趨勢亦證實基質確實有往下游傳輸，經由改質前後灌注基質進行探討發現，改質後乳化型 γ -PGA 基質於 120 天完全流失相較原先 γ -PGA 基質僅約 60 天，經由試驗結果顯示乳化型 γ -PGA 更可長效性與緩釋成效。



第四章：結果與討論

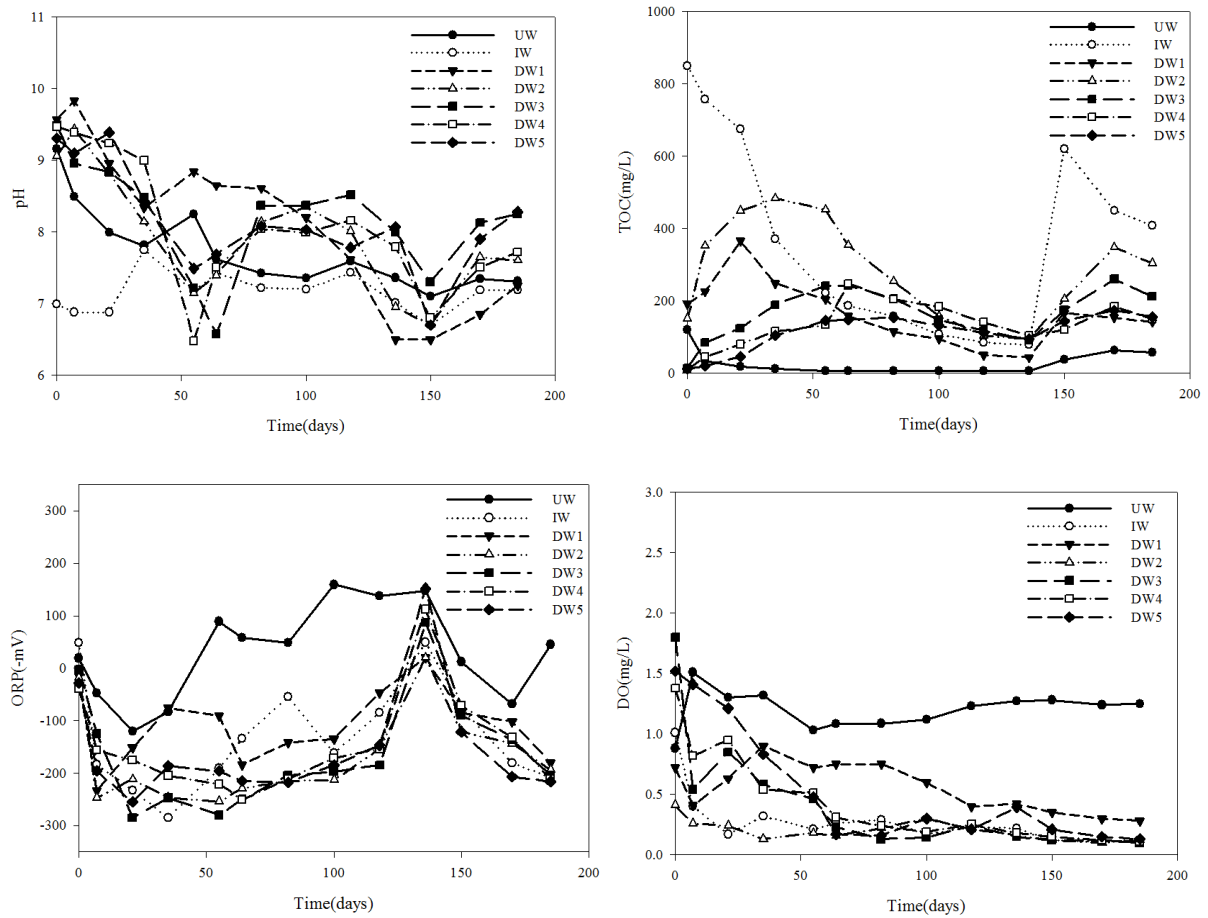


圖 4.29 模場試驗之基本水質監測趨勢圖

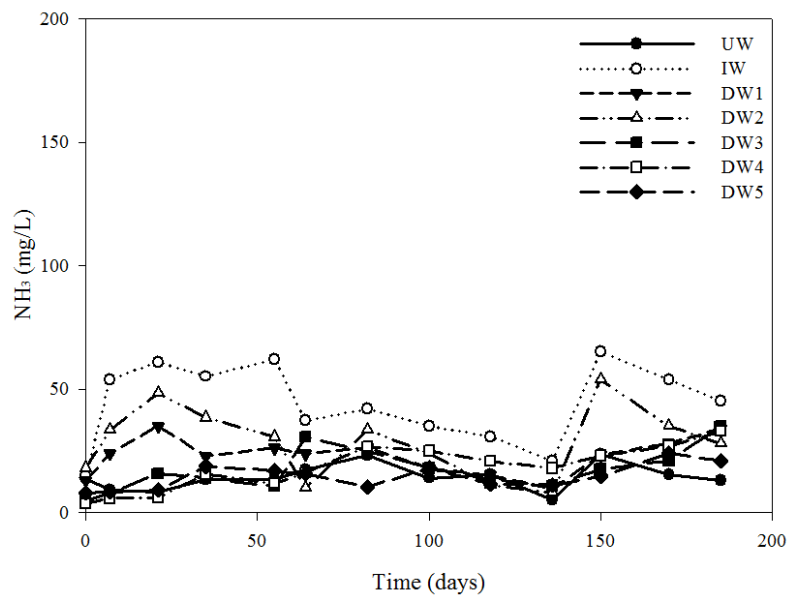


圖 4.30 模場試驗之氨氮監測趨勢圖



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

4.4.2 含氯有機物降解趨勢

本模場試驗於厭氧生物整治區內，針對污染之飽和層注入改質基質(乳化 γ -PGA)，評估 DNAPL 之降解情形。選定井號 IW 為注藥井，DW1、DW2、DW3、DW4、DW5 為下游監測井。108 年於 IW 井灌注 2 次基質，而 UW 不灌注基質作為背景，與其他井同時監測並比較目標污染物 PCE 及 TCE 之降解效率及其他副產物生成與削減，由圖 4.31 與 4.32 結果顯示及表 4.10 所列。由圖 4.31 結果顯示，於注藥後 65 天分析 IW 井 PCE 濃度由 0.035mg/L 降至法規標準，觀察到灌注井 PCE 與 TCE 濃度均符合法規標準，持續觀察副產物濃度變化趨勢。監測井結果顯示，DW1(距離注藥井 1.5 m) PCE 濃度降解緩慢，監測井各井監測到 TOC 濃度均有上升趨勢，推測注藥井基質流向下游；數據顯示 DW2 井(距離注藥井 2.5 m)、DW3(距離注藥井 4.2 m)及 DW4(距離注藥井 5.3 m) PCE 濃度 185 天內降至法規標準以下，DW5(距離注藥井 6m) TCE 濃度由 1.006 mg/L 降至 0.057 mg/L，持續觀察推估可降至法規標準。由圖 4.32 結果顯示，於注藥後第 35 天分析 IW 井 TCE 濃度由 0.069 mg/L 降至低於 0.05 mg/L，符合法規標準，後續持續觀察分析 IW 井，是否一直維持法規範圍內。監測井結果顯示，DW1(距離注藥井 1.5 m) TCE 濃度降解緩慢，評估可能 PCE 持續降解 TCE 降解較緩慢。由現地地下水中 TOC 濃度測得濃度高於 100 mg/L 可供給微生物碳源利用，DW1 與 DW2 兩口井監測到 TOC 濃度上升趨勢，推測注藥井基質流向下游；數據顯示 DW2 井(距離注藥井 2.5 m) 150 天 TCE 濃度由 0.335 mg/L 降解至 0.052 mg/L，**補充效果不佳狀況**實驗結果可證實上游注藥井基質有隨著地下水流動將基質帶入下游，監測井污染物濃度均有下降趨勢，其降解效果顯著亦成功形成透水性生物整治牆。UW 井為污染的上游井做為背景控制井，試驗 185 天 TCE 濃度呈現下降之趨勢，推估原因控制井離灌注井較近，當灌注藥劑時部分基質流入，後續基質已流失導致營養源不足。現地模場環境因素導致控制井設置於現在位置。DW3(距離注藥井 4.2 m) 試驗 185 天分析 TCE 濃度由 0.154 mg/L 降至 0.042 mg/L，DW4(距離注藥井 5.3 m) TCE 濃度由 0.439 mg/L 降至 0.081 mg/L，DW5(距離注藥井 6m) TCE 濃度由 0.281 mg/L 降至 0.074 mg/L，目前 DW3-5 井雖然未符合法規標準，但整體有明顯降解趨勢，未來持續觀察推估可降至法規標準。PCE 背景濃度介於 0.5-8.6 mg/L，注藥整治 185 天後 IW 井 PCE 濃度由 0.738 降至 0.016 mg/L；降解效率約 98%，DW2-5 去除效率達到 90%。於注藥後分析 IW 井 185 天 TCE 濃度由 0.418 降至 0.01mg/L；降解效率約 99%，TCE 濃度降解緩慢注入基質處理含氯有機物，以生物整治方式，可有效降低水中污染物濃度及移動性，刺激污染物厭氧生物降解，降低污染物毒性但需長時間觀察與注入基質。基質進行相關吸附作用研究，亦發現基質吸附目標污染物效果有限，因此基質須待微生物利用基



質迅速增長後降解目標污染物。而且基質沒有毒性亦為食品級的材料、具有生物可降解性、並可以完全促使污染物還原脫氯，可釋放有機基質，促進厭氧生物降解目標污染物。

由圖 4.33 結果顯示，UW 井副產物監測結果顯示現地環境背景主要存在之低氯數污染物為 c-DCE、1,1-DCE、VC，均有副產物濃度均有上升趨勢，顯示注藥井副產物上升證實現地 PCE 與 TCE 有效被微生物降解，持續觀察副產物濃度並未造成累積現象情況。數據顯示注藥井中高氯數污染物降解至低氯數污染物，注藥井研究結果顯示基質藥劑良好之成效。DW1 井副產物監測結果顯示，數據證實注藥井副產物上升證實現地 PCE 與 TCE 有效被微生物降解，下游井(DW1、DW2、DW3、DW4、DW5)結果顯示副產物有增加後下降趨勢。本模場所灌注之基質，確實可穩定且有效降解 TCE 及其副產物，持續觀察未副產物累積現象，以達環境友善之成效並能阻止污染物 TCE 向下游傳輸。含氯乙烯類是地下水中常見之污染物，以厭氧生物復育技術處理受污染之地下水時，含有較高氯數的 PCE 和 TCE 並不能有效的完全降解，在此情況下會降解成有毒副產物 DCE 或是 VC，同時會增加健康風險之虞慮。綜合上述結果獲知，本模場所灌注之基質，確實可穩定且有效降解 PCE 與 TCE 及其副產物，並不會產生副產物累積現象，以達環境友善之效果。研究顯示下列幾點現象證實含氯有機物脫氯反應發生：(1) PCE 與 TCE 濃度下降趨勢與地下水流動路徑相關；(2)電子接受者被消耗濃度降低(3)降解 PCE 與 TCE 產生副產物；(4)副產物未有累積現象發生。以上結果證實本研究基質藥劑可有效供微生物利用，現地有效生物降解移除目標污染物與副產物。



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

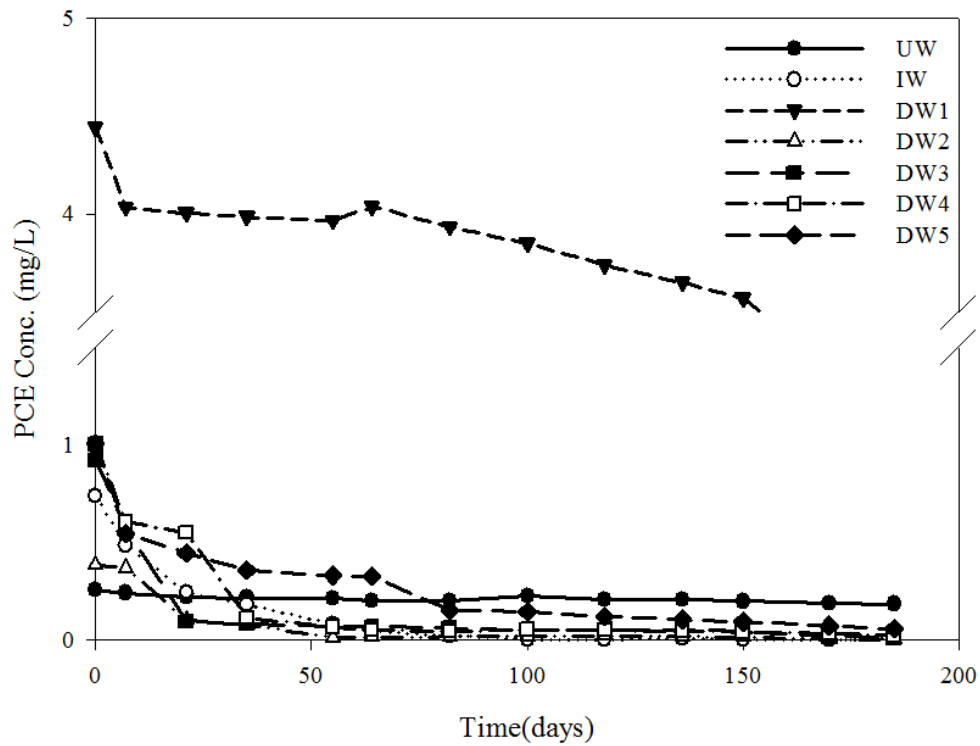


圖 4.31 模場試驗 PCE 濃度變化趨勢圖

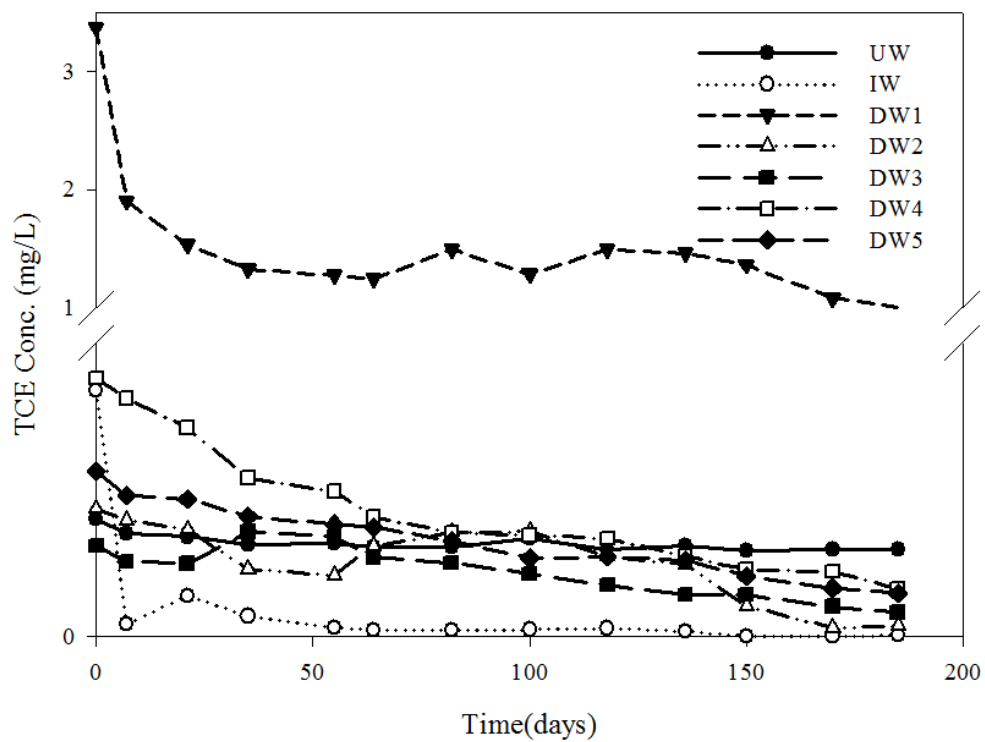


圖 4.32 模場試驗 TCE 濃度變化趨勢圖



第四章：結果與討論

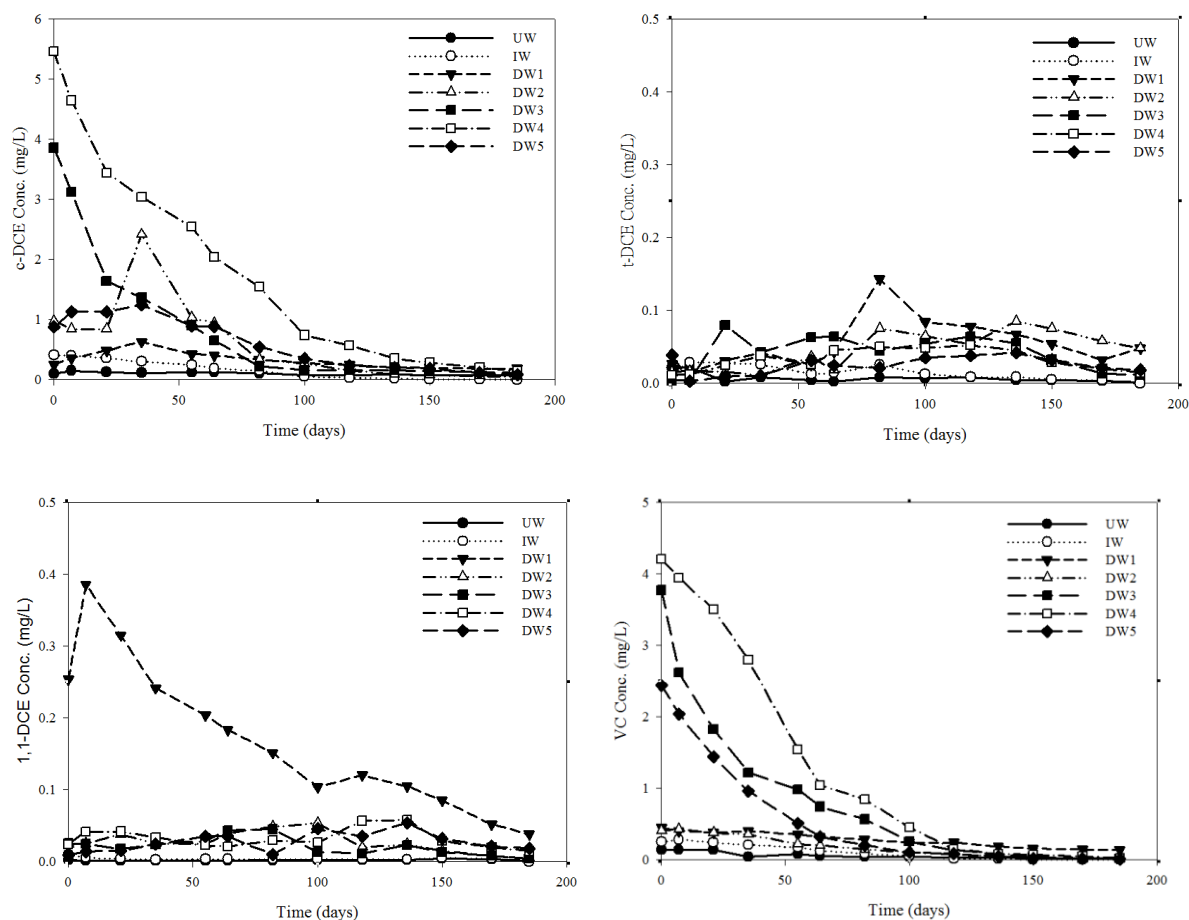


圖 4.33 模場試驗副產物變化趨勢圖

表 4.10 PCE 與 TCE 降解效率

污染物	單位	UW 背景井	IW 注藥井	DW1 距離 IW 1.5 m	DW2 距離 IW 2.3 m	DW3 距離 IW 4.2 m	DW4 距離 IW 5.3 m	DW5 距離 IW 6m
四氯 乙烯 (整治前)	mg/L	0.256	0.738	4.445	0.383	0.923	1.003	1.006
四氯 乙烯 (180 天)	mg/L	0.185	0.016	3.102	0.014	0.011	0.025	0.057
降解 效率	%	28	98	30	96	99	98	94
三氯 乙烯	mg/L	0.2	0.418	3.377	0.217	0.1549	0.4392	0.2815



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

(整治前)

三氯 乙烯	mg/L	0.149	0.012	0.998	0.018	0.042	0.081	0.074
(185 天)								
降解 效率	%	26	99	70	92	73	82	74

4.4.3 地下水厭氧環境下化學參數變化

地下水應用生物整治工法，當環境達到厭氧狀態中水質參數(pH、DO、ORP)可方便檢視之指標性參數，在還原態的地下環境當中，過去亦有許多文獻指出，現地環境中消耗氧、硝酸鹽、二價鐵、三價鐵、硫酸鹽、硫化物以及甲烷等，亦是厭氧生物整治過程中重要的化學變化參數(Azubuike et al., 2016; Wen et al., 2017; Shapiro et al., 2018; Sheu et al., 2018a)。本模場試驗 108 年以乳化型 γ -PGA 基質作為電子提供者，營造地下水環境為厭氧狀態，地下水缺乏溶氧，故先發生脫硝反應，接著進行鐵還原作用、硫酸鹽還原作用及最終的甲烷化作用，維持硫酸鹽還原階段較為重要(Hazen, 2018)，因此於厭氧生物整治過程中，監測硫酸鹽、硫化物、甲烷、總菌落數等指標參數，藉此了解厭氧生物整治過程中，地下水環境因脫氯反應產生等變化情形。文獻指出對於含氯有機污染物的轉換，硫酸鹽還原作用扮演著關鍵的重要角色，當能量不足情況下還原脫氯反應較硫酸鹽還原反應低，以下列出幾種情況(1)硫還原菌的電子供應者在供給時受到競爭；(2)硫酸鹽還原酵素的抑制會影響還原脫氯反應；(3)優先使用硫酸鹽做為電子供應者，相關微生物群(如 *Desulfitobacterium* spp.)取代還原脫氯反應或(4)在富硫酸鹽環境下，硫還原菌反應數量及反應動力較還原脫氯反應快(Pokorna and Zabranska, 2015)。硫酸還原菌(sulfate reducing bacteria, SRB)於異營菌的絕對厭氧菌，有利於硫酸鹽或者其他氧化態硫化物作為電子受體來異化有機物質(Qian et al., 2018)，能將硫酸鹽還原為硫化氫(H_2S)、氫硫根離子(HS^-)及硫離子(S_2^{2-})，其毒性依序為 $H_2S > HS^- > S_2^{2-}$ ，當水中的 pH 值增加時，硫化氫的毒性會降低，因為未解離的強毒性 H_2S 變成毒性較低的 S_2^{2-} 型態。相關研究指出，硫化物在不同 pH 環境下所生成的產物亦不相同，當 $pH > 7$ ，以 HS^- 及 S_2^{2-} 為主要產物； $pH < 7$ ，以 H_2S 為主要產物(Pokorna and Zabranska, 2015)，若有效控制 pH 值維持大於 7 以上環境條件，並控制硫化氫所產生的臭味問題，增加環境友善性。



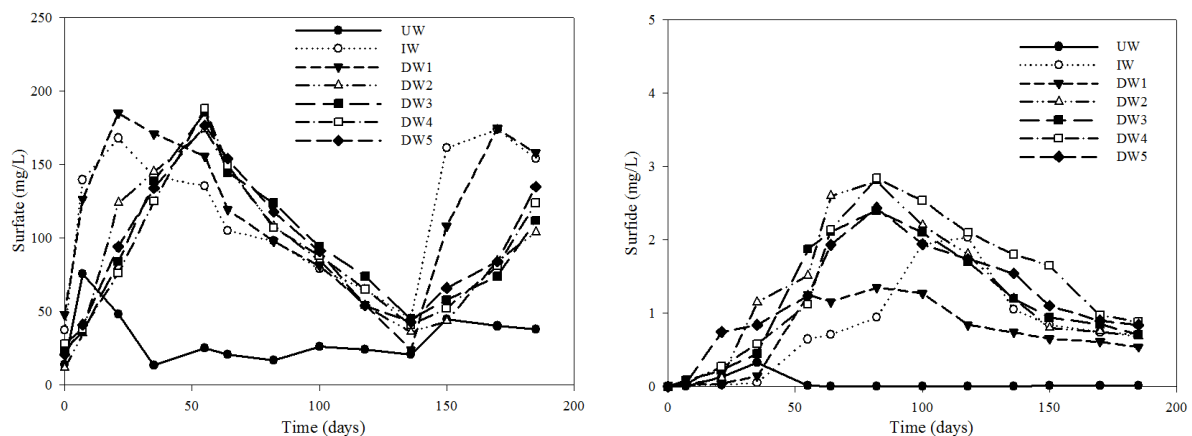
模場試驗厭氧生物整治區，各監測化學參數濃度監測圖 4.34 所示，IW 井經灌注基質，經由數據可發現反應過程中各監測井硫酸鹽有上升之趨勢，最高濃度約 194mg/L 監測至第 120 天濃度有緩慢下降低於 50mg/L，於 120 天後進行第 2 次灌注藥劑，硫酸鹽持續上升趨勢，當地下水為厭氧環境條件，多數兼性厭氧菌以水中的硝酸鹽或硫酸鹽為電子受體，持續進行厭氧還原脫氯能力。文獻指出當硫酸鹽存在於受含氯溶劑污染之地區，其含量會影響還原脫氯作用之成效，而模場所測得的硫酸濃度是呈現下降情形，亦不會影響脫氯之成效(Gupta et al., 2017)。然而，UW 井沒有灌注前期有上升主要應該灌注過程部分藥劑有流入背景控制井，於整治前期硫酸鹽上升趨勢第 7 天後開始下降趨勢，持續觀察並未沒有顯著變化。當土壤中蛋白質、碳水化合物、木質素等大分子化合物的厭氧降解過程中，首先會水解較小分子的氨基酸、長鏈脂肪酸等物質，再經過厭氧發酵，生成揮發性脂肪酸，環境中如有足夠的硫酸鹽，SRB 就可轉化硫酸鹽。由硫酸鹽消耗得悉，反應環境中應該含有硫酸鹽還原菌等菌種，目前已知可行脫氯呼吸作用之硫酸鹽還原菌如 *Desulfotobacterium frappieri* TCE1、*Desulfotobacterium* sp. strain PCE1、*Desulfotobacterium* sp. strain Y51、*Desulfuromonas michiganensis* BB1、*Desulfuromonas michiganensis* BRS1、*Desulfuromonas chloroethenica* TT4B 及 *Sulfurospirillum multivorans*，這些菌種皆可以氫氣做為電子接受者，將 PCE 及 TCE 還原脫氯生成 c-DCE 與及 VC。顯示 SRB 可利用之基質種類相當多元化。硫酸鹽於還原態狀態下，會進行還原反應轉換成硫化物，此反應可得知微生物行硫酸鹽還原作用，經各井硫化物濃度有微量上升，最高為 2.91mg/L，由此得知，因硫酸根離子被硫酸鹽還原菌還原而會形成硫化物，模場監測數據有發現硫化物之形成濃度介於 0.5-2.91 mg/L 之間，並沒有造成硫化物累積現象的產生，添加基質可有效提供硫酸鹽還原菌還原及生長，反應後期當土壤中鐵離子釋出與硫化氫作用反應下，易生成硫化鐵(Fe_2S_3)沉澱於地下水體。硫化物不僅會造成井管的腐蝕，容易使得地下水水質產生惡臭，且對生物體造成毒性的一種無機化合物，在水中為一個具有高毒性之物質，任何水系統中只要存在有機物及硫酸鹽類，便有硫化物之生成(Gong et al., 2016)。因此，基質所釋出的氫氧根離子有中和水中酸性及沉澱厭氧產生的硫化物，以減緩地下水酸化及硫化物所造成的臭味問題之潛勢，也可避免硫化物之累積而抑制脫氯菌之生長。文獻指出硫化物濃度高於 50 mg/L(黃加年, 2016)可能會抑制甲烷化作用。相關研究指出，硫化物在不同 pH 環境下所生成的產物亦不相同，當 $\text{pH} > 7$ ，以 HS^- 及 S^{2-} 為主要產物； $\text{pH} < 7$ ，以 H_2S 為主要產物(Pokorna and Zabranska, 2015)，由此結果顯示，本研究基質具有有效控制 pH 值維持中性環境條件，並控制硫化氫所產生的臭味問題，增加環境友善性。

由 CH_4 監測結果顯示，於 107 年 10 月進行灌注 1 次基質，於 108 年 3 月進



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

行第2次灌注藥劑，灌注前各井濃度皆小於 0.02 mg/L。在一個高濃度污染場址中，多數微生物會先消耗地下水中氧氣，緊接著進行的厭氧反應是脫硝作用、鐵還原、硫酸鹽還原及最終的甲烷化反應。因此在一般典型缺乏溶氧的地下水，會先發生脫硝反應，接著進行鐵還原作用、硫酸鹽還原作用及最終的甲烷化作用 (Hazen, 2018)。二氧化碳為生物代謝作用和發酵過程的產物，它在厭氧環境下可經由生物作用還原成甲烷氣，甲烷為二氧化碳還原後的產物($4\text{H}_2 + \text{CO}_2(\text{g}) \rightarrow \text{CH}_4(\text{g}) + 2\text{H}_2\text{O}$)，且它在有溶氧之狀態下，可被嗜甲烷之微生物當作碳源而吸收 (Strapoć, 2017)。由模場厭氧生物整治區監測數據結果得知，額外添加基質會刺激微生物發生硫酸還原及甲烷化的現象，進而基質所釋出的氫氧根離子有中和水中酸性及沉澱厭氧產生的硫化物，可減緩地下水酸化及硫化物所造成的臭味問題，並能有效控制地下水環境，營造適合脫氯球菌生長之環境條件。此時會有大量 CH_4 產生， CH_4 的產生亦表示硫酸根(SO_4^{2-})還原作用減少。因此，在 185 天監測 CH_4 濃度皆小於 0.5 mg/L，然而 SO_4^{2-} 濃度高於 50 mg/L 以上，此結果可證實微生物進行未到達甲烷化現象反應。為瞭解添加基質是否能使微生物利用生長，因此利用混和稀釋法分析總菌數，以得知微生物生長之情形，由圖 4.34 得知 7 口監測井初期總菌落數分別為 10^3 CFU/mL，經灌注基質後 IW 井在 185 天整治期間監測最高之總菌落數約 10^6 CFU/mL，由此可知，伴隨著整治時間的增添，總菌落數維持上升，因此可證明本研究基質有助於提供現地微生物生長所需之碳源，並刺激現地微生物生長，並不會抑制微生物之生長且可以有效利用。





第四章：結果與討論

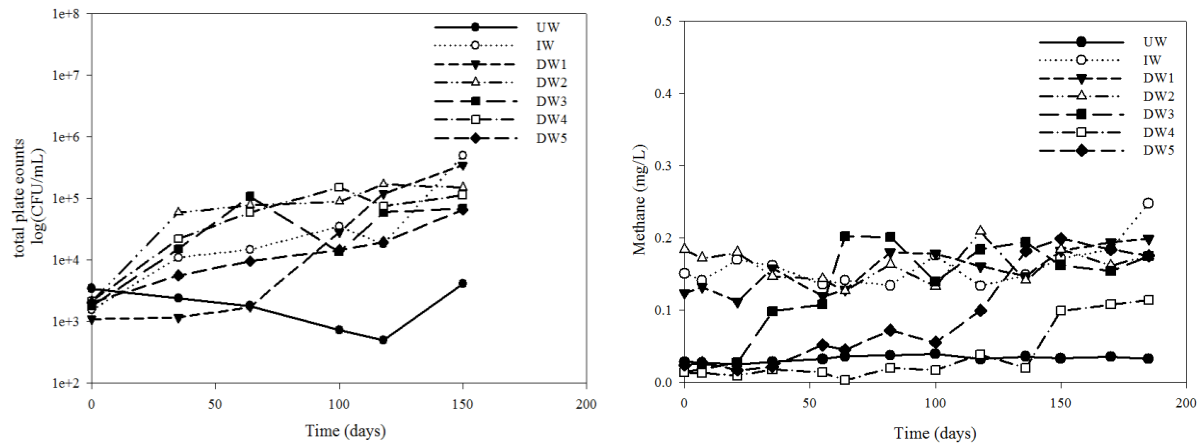


圖 4.34 模場試驗化學參數變化趨勢圖



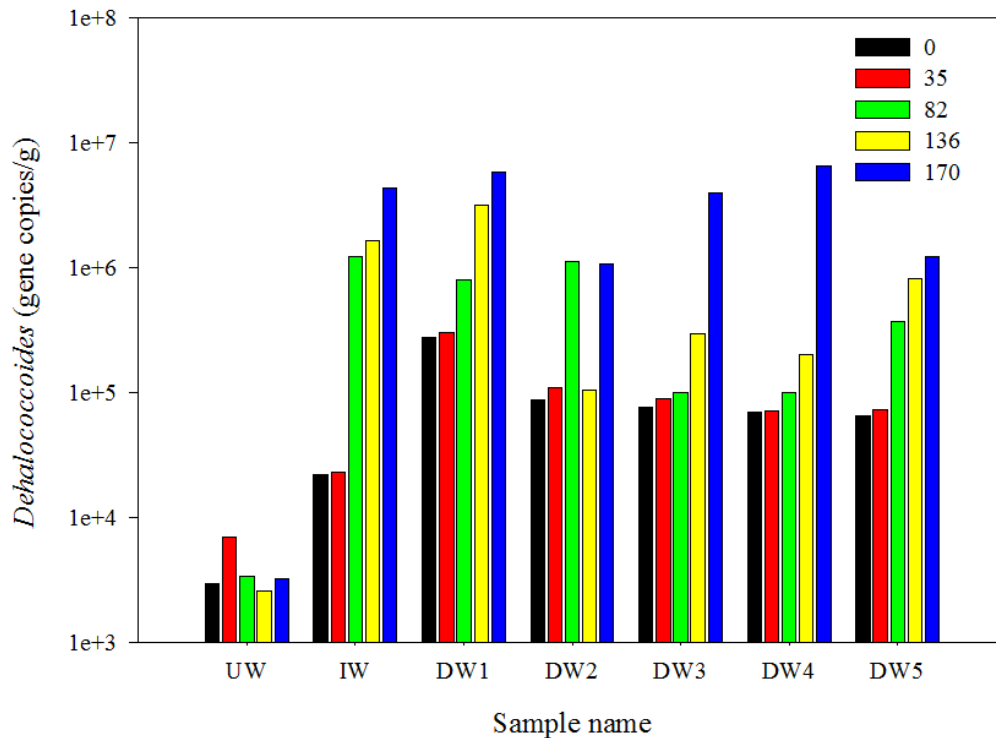
以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

4.4.4 模場分子生物技術分析

(1) DHC 菌屬數量變化趨勢

模場試驗在厭氧生物整治期間，以分子生物技術 qPCR 偵測不同時間點 DHC 菌屬之含量，因 DHC 可將 PCE 和 TCE 還原脫氯形成 VC，並繼續降解成無毒副產物乙烯。因此，可藉此偵測結果了解現場地下水中 DHC 菌屬之含量，並得悉此菌屬在環境中的生長情形，亦可作為評估現地生物整治成效的依據。

模場試驗於厭氧生物區 7 口井 DHC 的 gene copies 數量變化趨勢如圖 4.35 所示，經灌注第 1 次與第 2 次基質後各井位均有變化趨勢，於第 35 天監測其 DHC 菌屬數量均有上升之現象，到了後期第 82 天 DHC 菌屬數量大概維持於 $1.01 \times 10^5 \sim 1.25 \times 10^6$ gene copies/L；UW 井無灌注基質，整治期間菌屬數量介於 $2.99 \times 10^3 \sim 3.4 \times 10^3$ gene copies/L。第 2 次灌注基質，於第 170 天 DHC 菌屬數量大概維持於 $1.24 \times 10^6 \sim 5.85 \times 10^6$ gene copies/L。由上述結果得知，因改質 γ -PGA 的灌注有助於提升地下水環境中之 TOC，而 DHC 菌屬數量也隨著基質添加而顯著成長，整治期間地下水環境 pH 維持於中性，得悉此模場厭氧生物整治區，並不會因基質灌注而造成地下水酸化，進而抑制脫氯菌 DHC 菌屬之生長。因過去研究指出，地下含水層中 pH 是含氯溶劑生物轉化過程中極具影響的重要因子，許多生物復育技術中，微生物降解污染物之最適 pH6~8 之間，當地下水環境中 pH 逐漸下降，有可能是所注入的基質已被微生物分解，且進一步產生有機酸而抑制脫氯菌之生長(Wang et al., 2016a)，故 pH 確實影響著脫氯菌生長之重要因素之一，本模場所灌注之基質有助於中和厭氧微生物反應產生有機酸，避免地下水酸化以維持最適生物成長之 pH 環境。本計畫選用基質亦突破過去研究，基質須額外添加微量緩衝藥劑才能改善快速酸化問題。

圖 4.35 模場試驗 *DHC* 菌屬變化趨勢圖

(2)NGS 變化趨勢

本研究欲應用 NGS 觀察現地地下水微生物菌種種類，過去文獻指出 PCE 與 TCE 的降解可直接被 *DHC* 菌完全還原脫氯成無毒的乙烯(Baldwin et al., 2017)，基質亦可以間接被產氫菌產生的氫氣，以及其他可營造適合 *DHC* 菌生長環境之菌種，達到加快整治效率的成效。根據文獻指出，*DHC* 菌的生長需要輔酶因子 B12 來營造適合 *DHC* 菌生長的環境(Yan et al., 2015; Teng et al., 2019)，且氫氣可以加速 *DHC* 菌進行還原脫氯作用(Shapiro et al., 2018)。在 16S metagenomics 中，操作分類單元(Operational taxonomic unit, OTU)是根據序列的相似性做分類，其方法為叢集相似的 16S rDNA 基因序列的定序的片段。在每一個叢集中根據設定的序列相似性程度呈現一個 OTU，形成的 OTU 可能為細菌的屬或種層級。一般而言，在 16S metagenomics 分析中 97%或 99%的序列相似性為典型的 OTU 叢集分析的門檻。在進行 16S 序列相似性分類後，將得到的每一個 OTU 視為與資料庫對應相符的細菌種層級上的分類物種，並繼續進行 16S metagenomics 分析流程。然而實際上其解析度是有所限制，並非單一 OTU 為完全對應單一菌種。應用 NGS 探討現地模場灌注藥劑前後，菌群變化之情況，主要以屬作區分探討各井位於灌注前後菌屬的變化。在各井位灌注前與灌注後後中分別觀察到總共 124,931 個高質量讀數群集 OTU。

本場址所含有之菌屬以及該菌種之功能表 4.11 所列，*Acidovorax*,



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

Dehalogenimonas, *Desulfosporosinus*, *Hydrogenophaga*, *Pseudomonas*, *Variovorax* 以及 *Stenotrophomonas* 都有降解 TCE 的能力。*Geobacter* 及 *Hyphomonas* 都有將氯化碳氫化合物脫氯的能力。*Clostridium* 可以合成輔酶因子 B12 營造出適合 *DHC* 菌生長的環境。*Hydrogenophaga* 具有產生氫氣的功能。而在本場址發現可進行氮還原、硫酸還原及其他可以消耗環境中氧氣之菌種，快速營造適合 *Dehalogenimonas* 生長及還原脫氯之環境，包括菌種為 *Acidovorax*, *Agrobacterium*, *Azoarcus*, *Alishewanella*, *Comamonas*, *Denitromonas*, *Desulfobotulus*, *Desulfosporosinus*, *Desulfovibrio* 以及 *Gallionella*。本場址亦發現 *Arenimonas*, *Pseudomonas* 降解芳族化合物，*Azoarcus*, *Acidovorax* 氯苯降解，*Acinetobacter* 苯酚降解，*Comamonas* 多氯聯苯降解，*Geobacter* 氯化烴脫氯，*Hyphomonas* 降解碳氫化合物。

注藥井 UW 之 NGS 菌相豐富變化圖如圖 4.36 所示，*Pseudomonas*, *Denitromonas*, *Delftia*, *Wolinella*, *Agrobacterium*, *Azoarcus*, *Alishewanella*, *Comamonas*, *Acinetobacter*, *Desulfovibrio*, *Desulfobotulus*, *Bordetella*, *Acidovorax*, *Trabulsiellau* 以及 *Desulfosporosinus* 菌種豐富度於灌藥後皆有增加的現象，而這些菌種當中 *Pseudomonas* 增加比例最高，從灌藥前低於 0.17% 提升至 73.25%，*Denitromonas* 從灌藥前低於 0.01% 提升至 0.23%，*Delftia* 從灌藥前 0.02% 提升至 5.10%，亦顯示改質 γ -PGA 基質可營造適合 *Pseudomonas* 生長的環境，*Desulfovibrio* 從灌藥前 0.29% 提升至 0.75%，而 *Desulfovibrio* 還原硫酸鹽與還原鐵，*Desulfosporosinus* 從灌藥前低於 0.01% 提升至 0.07%，配合水質參數 ORP 可得知介於硝酸鹽及硫酸還原狀態之間。*Acidovorax* 從灌藥前低於 0.01% 提升至 0.13%，*Comamonas* 從灌藥前 0.02% 提升至 0.06%，文獻顯示 *Acidovorax* 與 *Comamonas* 可降解三氯乙烯，亦明顯該場址三氯乙烯有顯著下降趨勢。顯示含有豐富菌種可有效將 TCE 進行降解及可產生氫氣協助脫氯菌進行還原脫氯之菌種，顯示含有豐富可營造適合脫氯菌進行還原脫氯之菌種；其餘可進行還原反應且消耗溶氧之菌種，顯示本場址為厭氧還原脫氯環境，適合脫氯菌之生長。綜觀上述結論，改質 γ -PGA 基質可以提供良好的生長環境，進而提升脫氯菌進行還原脫氯作用，以達到良好的降解效率。

下游井 DW1(距離注藥井 1.5 m) 之 NGS 菌相豐富變化圖如圖 4.36 所示，*Pseudomonas*, *Denitromonas*, *Delftia*, *Acinetobacter*, *Desulfovibrio*, *Desulfobotulus*, *Acidovorax*, *Trabulsiella*, *Desulfobulbus*, *Diaphorobacter*, *Variovorax*, *Aquabacterium*, *Hydrogenophaga*, *Geobacter*, *Gallionella*, *Dehalogenimonas*, *Desulfosporosinus* 以及 *Stenotrophomonas* 於灌藥後皆有增加的現象，其中 *Pseudomonas* 增加比例最高，灌藥前期到後期從 10.1% 提升至 44.26%，*Pseudomonas* 是可氯化物的脫氯與降解



高分子量多環芳烴，本研究推估可能該井位附近可有多環芳烴或改質 γ -PGA 有利於 *Pseudomonas* 生長使得菌量增加 34%，其次增加最多為 *Delftia* 灌藥前期到後期從 0.11% 提升至 0.28% 可降解苯胺；*Acidovorax* 灌藥前期到後期從 0.06% 提升至 0.25%，而 *Acidovorax* 是氯苯降解與 TCE 降解，*Diaphorobacter* 灌藥前期到後期從 0.06% 提升至 0.81%，而是 *Diaphorobacter* 是硝酸鹽去除與 Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate), PHBV 降解，*Aquabacterium* 灌藥前期到後期從 0.00% 提升至 0.16%，而 *Aquabacterium* 是硝酸鹽反應，*Hydrogenophaga* 灌藥前期到後期從 0.18% 提升至 0.44%，而 *Hydrogenophaga* 是可降解 TCE 與硝化反應 *Dehalogenimonas* 灌藥前期到後期從 0.11% 提升至 0.34%，而 *Dehalogenimonas* 是降解到乙烯，*Desulfosporosinus* 灌藥前期到後期從 0.00% 提升至 0.07%，而 *Dehalogenimonas* 是可硫酸鹽還原與氯乙烯降解。

下游井 DW2（距離注藥井 2.5 m）之 NGS 菌相豐富變化圖如圖 4.36 所示，*Pseudomonas*, *Denitromonas*, *Delftia*, *Agrobacterium*, *Azoarcus*, *Alishewanella*, *Comamonas*, *Hyphomonas*, *Acidovorax*, *Desulfobulbus*, *Diaphorobacter*, *Variovorax*, *Aquabacterium*, *Hydrogenophaga*, *Geobacter*, *Arenimonas*, *Rhodobacter*, *Dehalogenimonas* 以及 *Desulfosporosinus* 於灌藥後皆有增加的現象，其中 *Pseudomonas* 增加比例最高，灌藥前期到後期從 13.07% 提升至 43.92%，*Pseudomonas* 是可氯化物的脫氯與降解高分子量多環芳烴，*Denitromonas* 灌藥前期到後期從 0.02% 提升至 0.66%，而 *Denitromonas* 是硝酸鹽反應，*Comamonas* 灌藥前期到後期從 0.05% 提升至 10.6%，而 *Comamonas* 是降解多氯聯苯與鐵還原，*Acidovorax* 灌藥前期到後期從 0.01% 提升至 0.62%，而 *Acidovorax* 是氯苯降解與 TCE 降解，*Desulfobulbus* 灌藥前期到後期從 0.02% 提升至 0.27%，而 *Acidovorax* 是氯苯降解與 TCE 降解，*Diaphorobacter* 灌藥前期到後期從 0.03% 提升至 2.05%，而 *Diaphorobacter* 是硝酸鹽去除與 Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate), PHBV 降解，*Aquabacterium* 灌藥前期到後期從 0.01% 提升至 0.22%，而 *Aquabacterium* 是硝酸鹽反應，*Hydrogenophaga* 灌藥前期到後期從 0.02% 提升至 0.97%，而 *Hydrogenophaga* 是硝化作用與 TCE 降解，*Geobacter* 灌藥前期到後期從 0.02% 提升至 1.65%，而 *Geobacter* 是氯化烴脫氯，*Desulfosporosinus* 灌藥前期到後期從 0.00% 提升至 1.73%，而 *Desulfosporosinus* 是氯乙烯降解與硫酸鹽還原，顯示含有豐富菌種可有效將 TCE 進行降解，顯示本場址為厭氧還原脫氯環境，適合脫氯菌之生長。

下游井 DW4（距離注藥井 5.3 m）NGS 菌相豐富變化圖如圖 4.36 所示，*Acinetobacter*, *Desulfovibrio* 以及 *Aquabacterium* 於灌藥後皆有增加的現象，



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

Acinetobacter 灌藥前期到後期從 1.45% 提升至 9.74%，而 *Acinetobacter* 是降解苯酚與烴，*Desulfovibrio* 灌藥前期到後期從 0.08% 提升至 1.65%，而 *Desulfovibrio* 是硫酸鹽還原與鐵還原，*Aquabacterium* 灌藥前期到後期從 0.02% 提升至 2.1%，而 *Aquabacterium* 是硝酸鹽反應，*Xanthomonas* 灌藥前期到後期從 0.00% 提升至 0.16%，而 *Xanthomonas* 是代謝聯苯菊酯。由圖 4.36 顯示，彙整相關菌種可發現本場址含有以下四種菌種：(1) 可以完全還原脫氯之菌種；(2) 可以將含氯有機物脫氯之菌種；(3) 合成輔酶因子 B12 營造適合 *DHC* 菌生長環境之菌種；(4) 產生氫氣進而加速 *DHC* 菌種進行還原脫氯作用之菌種。結合水質分析數據，證實本場址環境為厭氧還原狀態，且 PCE 以及 TCE 及其副產物皆有降解的現象發生，未有累積的現象。研究過程中未發生酸化現象，pH 維持中性範圍，顯示脫氯菌未因為酸化現象而抑制生長影響了整治成效。根據文獻指出，*Desulfosporosinus* 以及 *Desulfovibrio* 可進行硫酸還原作用，而 *Sulfuricurvum* 則會進行硫氧化的反應，故推測硫酸鹽以及硫化物濃度沒有明顯變化之原因(Lien et al., 2016; Matassa et al., 2016; Gam et al., 2018)。綜觀上述結論， γ -PGA 基質可快速提供微生物利用，快速營造厭氧還原環境有利於脫氯菌生長，進而有效降解含氯有機物成效。

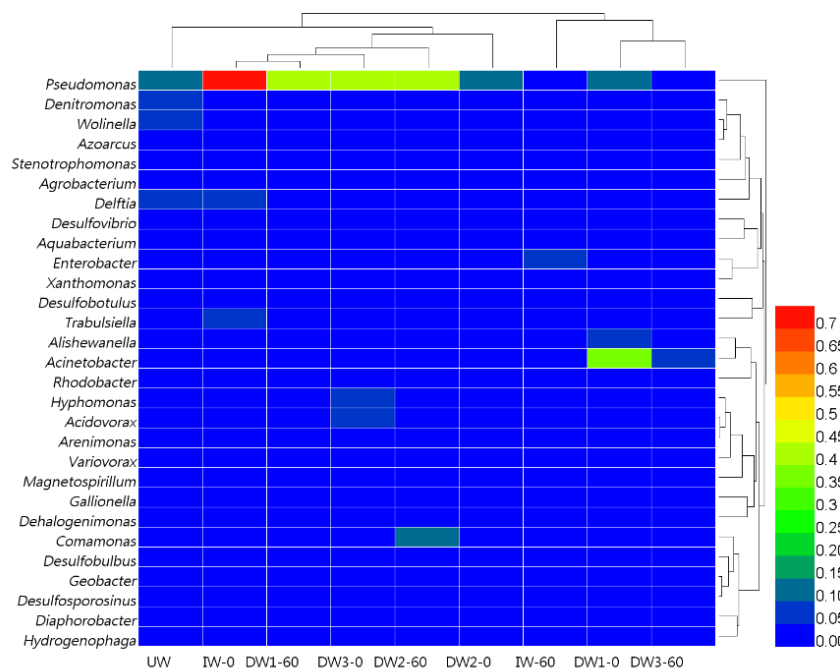


圖 4.36 各井位灌注基質前後菌群 Heatmap 圖



表 4.11 為本場址所含有之菌屬以及該菌種之功能

菌屬名稱	菌功能	文獻來源
<i>Azospira</i>	Denitrification	(Xie et al., 2017)
<i>Aquabacterium</i>	Nitrate reduction	(Zhang et al., 2017)
<i>Arenimonas</i>	Degrade aromatic compounds.	(Wang et al., 2018b)
<i>Agrobacterium</i>	Combined nitrate reduction	(Lee et al., 2018)
<i>Acidovorax</i>	Chlorobenzenes degradation	(Sheu et al., 2017)
	TCE degradation	(Sheu et al., 2017)
<i>Acinetobacter</i>	Phenol degradation	(Ahmad et al., 2017)
	Hydrocarbon degrading	(Dahal et al., 2017)
<i>Azoarcus</i>	Chlorobenzenes degradation	(Song et al., 2001)
	Denitrification	
<i>Alishewanella</i>	Denitrifiers	(Wang et al., 2016b)
<i>Comamonas</i>	Cometabolization <i>cis</i> - and <i>trans</i> -dichloroethenes	(Shimodaira et al., 2016)
	Iron reduction	(Sheu et al., 2017)
	Polychlorinated biphenyl degradation	(Sheu et al., 2017)
<i>Denitromonas</i>	Nitrate removal	(Miao et al., 2017)
<i>Delftia</i>	Aniline degradable	(Wen et al., 2015)
<i>Dehalogenimonas</i>	Capable of dihaloelimination to VC and ethene	(Baldwin et al., 2017)
<i>Desulfobotulus</i>	Sulfate reduction	(Grant and Jones, 2016)
<i>Desulfosporosinus</i>	Sulfate reduction	(Baldwin et al., 2017)
	Perchloroethene degradation	(Lien et al., 2016)
<i>Desulfovibrio</i>	Sulfate reduction	(Lien et al., 2016)
	Iron reduction	(Li et al., 2016)
<i>Geobacter</i>	Chlorinated hydrocarbon dechlorination	(Lien et al., 2016)
<i>Hydrogenophaga</i>	Denitrification	(Eamrat et al., 2017)
	TCE degradation	(Sheu et al., 2017)
	Iron reducing	



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

<i>Gallionella</i>	Sulfur oxidizing	(Dann et al., 2009)
<i>Hyphomonas</i>	Degrade hydrocarbons.	(Huettel et al., 2018)
<i>Magnetospirillum</i>	Perchlorate mineralization	(Thrash et al., 2010)
<i>Pseudomonas</i>	Dechlorination of chlorinated compounds	(Sheu et al., 2017)
	Degradation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons	(Sheu et al., 2017)
<i>Rhodobacter</i>	Hydrogen production	(Ramprakash and Muthukumar, 2018)
<i>Stenotrophomonas</i>	Degradation TCE	Sheu et al., 2017
<i>Variovorax</i>	VC Degradation	(Lien et al., 2016)
<i>Wolinella</i>	As (V) reducers	(Biswas et al., 2019)
<i>Xanthomonas</i>	Metabolize bifenthrin.	(Ahmed et al., 2015)
<i>Trabulsiella</i>	PAH degrader.	(Kuppusamy et al., 2016)
<i>Diaphorobacter</i>	PHBV-degrading	(Zhang et al., 2018)
	nitrate removal	



4.5 基質成本效益評估

整治工程規劃之成本效益主要取決於所訂定之整治目標與選擇整治技術，訂定場址整治目標決定攸關整治技術與整治經費多寡，而整治技術必須依場址特性進行評估，考量此整治技術是否適用於該污染場址，以避免花費時間與經費，亦無法達到預期效益。對各項整治技術所需費用而言，可細分為工程費用及處理費用，前者係指挖除受污染土壤及其他整治技術所需設備之初期成本，後者則指整治復育進行所需之藥劑、能源、人力操作與管理等。以工程費用而言，現場處理方法因開挖污染土壤再進行處理，故費用高於現地處理方式，另生物處理所需進行之工程僅有初期整地，故費用較低。現地地下水生物整治法與其他整治方法比較起來較具經濟效益，因此本研究以現地地下水生物整治法整治受三氯乙烯污染之地下水，而美國環保署認為此整治方法較符合現地、被動及生物整治概念之技術即包括現地生物復育結合透水性反應牆(Gholami et al., 2019)。當污染之地下水流過透水性之反應牆時，污染物和反應牆內之反應物質發生生物或物理吸附反應而被分解或移除，流過反應牆地下水即為整治過之地下水。當污染帶隨地下水通過反應牆時，反應牆中之反應物質會對污染物產生生物性降解，使污染物被分解成較無害之副產物，進而阻止污染物穿過污染場區邊界或切斷污染帶來源，再由自然衰減過程之侷限污染帶(Weatherill et al., 2018)。

表 4.12 所列用於增強 TCE 還原性脫氯的 γ -PGA 與乳化型 γ -PGA 和其他常用底物的成本比較和特性。表 4.11 的結果顯示，在通常使用的基質中，甘蔗糖蜜的成本最低，但僅使用蔗糖蜜會引起地下水酸化問題，並且厭氧生物降解過程而導致的低 pH 值會抑制脫氯細菌的生長。故應用糖蜜須與緩衝溶液一起使用，則總成本將高於 γ -PGA 應用的成本。其他基質亦會有類似的地下水酸化問題，通過添加鹼性化學物質控制 pH 以調整 pH 值中性條件，脫氯效率於中性範圍的必要條件，這亦是導致整治總成本增加其中一部分。因此，當選擇厭氧生物整治來處理受 TCE 污染的場址時， γ -PGA 是一種具潛力的生物基質。如果使用乳化油(RS™ 或 EOS®)則需要添加鹼性化學品來緩衝溶液。

本研究計算 γ -PGA 基質其 1 公升成本約 NT\$ 30，單口井約注入 20 公升基質，基質費用約 NT\$ 600，本研究主要提供藥劑成本，若可以減少灌注次數，同時亦減少人力操作成本， γ -PGA 基質應用現地砂質壤土地形，灌注一次藥劑可維持約 1 個月時間。本研究以 γ -PGA 生物整治技術較為經濟實惠，因注入水溶性基質不僅快速提供微生物所需之生長基質，且對環境衝擊較小，並符合綠色整治，不會對環境造成二次污染，現地地下水生物整治法與其他整治方法比較起來較具經濟效益。每個實場性質皆有不同， γ -PGA 釋碳基質之基質優勢，使用既有基質



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

融合現地條件，製備該場最佳化藥劑，其中 γ -PGA 釋碳基質可排除如過去釋碳基質快速酸化問題，亦較大豆油型基質之傳輸流暢及性質穩定，同時還可維持高量之生物可利用碳並不會對環境造成二次污染。本研究改質基質(乳化型 γ -PGA)其 1 公升成本約 NT\$40，單口井約注入 20 公升基質，基質費用約 NT\$800，本研究主要提供藥劑成本，若可以減少灌注次數，同時亦減少人利操作成本，本場址土壤性質砂質壤土灌注 γ -PGA 基質可維持 1-1.5 個月時間，灌注改質基質乳化型 γ -PGA 可維持 3-4 個月，同時減少可減少灌注次數。若地下水 pH 偏高較不適合投入 γ -PGA 較適合乳化型 γ -PGA，因可有效將 pH 值降下來，若地下水 pH 值約 6-6.5 就較適合用 γ -PGA。

本團隊研究之基質與其他基質比較成效，發現使用 γ -PGA 或是乳化型作為基質以增強 TCE 的還原性脫氯具有以下優點：(1) 可用於長時間提供碳源（電子給體）且 TOC 濃度較高。(2) 是無毒的細胞外聚合物，可以直接添加到地下水體中，而無需添加用於化學性質的添加劑（例如乳化劑，穩定劑，表面活性劑，pH 緩沖劑）。因此，可降低現場應用的成本。(3) 地衣芽孢桿菌或枯草芽孢桿菌通過發酵或自然發生的過程產生 γ -PGA，是食品和生物技術工業的副產品。(4) 本研究基質在生物整治中的應用符合資源回收，可持續發展和零浪費/零排放的概念。



表 4.12 常見基質單價比較

	基質	成本 (NT\$:)	推薦適合 土壤類型	常見問題
市 售 藥 劑	大豆/乳酸納 乳化油	118/kg	砂、壤 質土	需添加酸鹼緩衝溶液， 以防止地下水發生酸化現象。
	Edible Oil Substrate, EOS	350- 400/kg	砂、壤 質土	需添加酸鹼緩衝溶液， 以防止地下水發生酸化現象。
	Eco Clean	350/kg	砂、壤 質土	需添加酸鹼緩衝溶液， 以防止地下水發生酸化現象。
	Slow Release Substrates, SRS®	250- 300/kg	砂、壤 質土	需添加酸鹼緩衝溶液， 以防止地下水發生酸化現象。
食 品 化 學 工 業	大豆油	30/kg	砂、壤 質土	須配合乳化劑、介面活性劑與 酸鹼緩衝劑以防止地下水酸化 及土壤孔隙發生阻塞現象。
	糖蜜	25/kg	黏、壤 質土	需添加酸鹼緩衝溶液， 以防止地下水發生酸化現象。
	γ -PGA	27/kg	黏、壤 質土	可直接應用， 無須添加緩衝溶液。
	乳化型	40/kg	砂、壤	可直接應用，



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

	γ -PGA		質土	無須添加緩衝溶液。
	CMC γ -PGA	33/kg	砂、壤 質土	可直接應用， 無須添加緩衝溶液。

酸鹼緩衝劑-碳酸氫鉀 KHCO_3 (NT\$:198/kg)，使用 10–30% 的 KHCO_3 (NT\$: 18)



第五章 結論

5.1 結論

本計畫主要之目的為評估以 γ -PGA 為基質，應用改質前後整治受 TCE 污染地下水之可行性與傳輸效率，本計畫在實驗室試驗與模場試驗除了分析污染物濃度和地質化學參數變化外，並以分子生物技術(qPCR 結合 NGS)探討 γ -PGA 對脫氯菌量與菌相的變化趨勢。目前主要的結論包括以下各項：

第一年

- (1) 改質後組別基本特性分析之結果顯示，各組別粒徑均介於 400 nm 至 5,500 nm 之間分布於奈米到微米之間，改質組別粒徑大小有效分佈到土壤顆粒間，達到均勻分佈及增加生物可及性目標。
- (2) 改質後組別介達電位均為負電位，可使基質有效向下游傳輸，改質後基質未有不均質現象且均含具豐富碳源供於微生物利用。
- (3) 管柱流通性試驗結果顯示 γ -PGA 基質注入體積約 6~7 PV，TOC 濃度達到平衡趨勢。添加 CMC 之改質組別，約 11~13 PV TOC 濃度達到平衡趨勢，較 γ -PGA 高出 5 PV 貫穿時間，約增加 6-8 天土壤停留時間，顯示添加羧甲基纖維素之改質可提升其分佈係數(partition coefficient)，增加基質和土壤吸附性。乳化型 γ -PGA 組別，在注入體積約 9~11 PV 後，TOC 濃度可達到平衡，均較 γ -PGA 更能達到緩釋 TOC 效果。以乳化油進行 γ -PGA 改質，pH 則有緩慢降低情形，顯示乳化油之分解性較佳，其因生物降解產生有機酸而使 pH 降低。
- (4) 實驗室乳化型 γ -PGA 作為碳源， γ -PGA 基質具緩衝 pH 值之作用，原因為 γ -PGA 具有胺基，胺基釋放後為和水反應產生氨(NH₃)，由於氨為鹼性物質，因此可中和生物降解產生有機酸，乳化油長效均勻分布土壤顆粒間，能夠有效解決基質導制 pH 酸化問題環境中 pH 的變化決定微生物行還原脫氯的效率。
- (5) 批次各組別 TCE 生物分解實驗結果顯示，各組別均迅速達到厭氧狀態，TCE 在 35 天降解率均可達 77%以上，其中又以乳化型 γ -PGA 基質組中之 TCE 降解產率最高(35 天達 85%TCE 去除率)。主要原因為 TCE 具有與油脂較高親和性，當乳化型基質注入地下水中可有效快速攔阻 TCE 包附於油滴顆粒中，形成水相與油相間之相轉移作用，此時微生物可利用碳源後迅速增長，而提高污染物降解效率。
- (6) 實驗室成果顯示以 γ -PGA 結合乳化油或 CMC 結合 γ -PGA 作為基質，可有效



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

控制 pH，加速 TCE 之還原脫氯效率，並縮短整治期程。此外，改質基質並有緩釋及長效性效果。

第二年

- (1) 現地試驗 1 年於注藥(IW)井 TCE 濃度為 1.423 mg/L 改善 0.012 mg/L。監測井結果顯示，DW2 井（距離注藥井 2.5 m）、DW3 井（距離注藥井 4.2 m）濃度均低於法規標準，實驗結果證實上游注藥井降解效果顯著亦成功形成透水性生物整治牆，符合現地、被動及生物整治概念之技術即包括現地生物復育結合透水性反應牆。
- (2) 由模場試驗菌量分析結果可知，灌注前各井脫氯菌量在約 10^3 gene copies/L，經灌注基質後各井位均有變化趨勢，IW 井脫氯菌菌屬維持於 $10^6 \sim 4.6 \times 10^7$ gene copies/L，結果顯示本研究基質可作為碳源，有效促進脫氯菌的生長。
- (3) 現地 NGS 結果顯示，本場址於注藥後皆有豐富的 *Proteiniclasticum* 可降解三氯乙烯之菌種。而在本場址發現可進行氮還原、硫酸還原及其他可以消耗環境中氧氣之菌種，快速營造適合脫氯菌生長及還原脫氯之環境。
- (4) γ -PGA 基質操作成本效益評估， γ -PGA 作為微生物生長基質可排除過去大豆油型基質或是糖蜜型釋碳基質造成地下水體酸化的問題，亦較大豆油型基質之傳輸流暢及性質穩定，同時可維持高量之生物可利用碳物質。
- (5) 灌注改質後基質於現地模場，若基質達到長效性且有效供微生物應用，未來可評估土壤各項參數，黏壤土類型可使用 γ -PGA 基質，若是砂土類、壤土類可使用乳化型 γ -PGA 或是 CMC γ -PGA 均較長效性。
- (6) 本場址土壤性質砂質壤土灌注 γ -PGA 基質可維持 1-1.5 個月時間，灌注改質基質乳化型 γ -PGA 可維持 3-4 個月，同時減少可減少灌注次數。若地下水 pH 高於 8 較不適合投入 γ -PGA 較適合乳化型 γ -PGA，可有效控制中性條件，若地下水 pH 值約 6-6.5 就較適合用 γ -PGA。
- (7) 綜合上述之成果，本計畫模場試驗發現包括：(1)以 γ -PGA 為基質黏度低，可提升藥劑傳輸之能力並具有緩衝 pH 之效果，解決以往生物基質會造成水質酸化之問題，維持良好之中性環境；(2) γ -PGA 可有效促進厭氧分解反應，維持厭氧環境和菌種豐富度；(3)改質 γ -PGA 更具有長效性，使 γ -PGA 成為一種更具經濟效益及環境友善之綠色基質；(4) 未來可評估土壤各項參數選擇較適合基質，黏、壤質土可使用 γ -PGA 基質，砂質土、壤質土可使用乳化型 γ -PGA 或是 CMC γ -PGA 均較長效性。



(8) 已彙整本計畫成果申請該基質專利，以利於未來研究避免衍生爭議。

5.2 建議

- (1) 未來可將改質前後 γ -PGA 應用現地模場試驗，更多實場驗證應用之成果，則將使本研究之基質系統成為一種更具經濟效益及環境友善之綠色整治工法。
- (2) 後續可將研發改質 γ -PGA 應用於不同地質之現地場址，評估改質 γ -PGA 應於各種場址之可行性，使以 γ -PGA 為緩衝釋碳基質之系統成為一種更具經濟效益及環境友善之綠色整治工法。
- (3) γ -PGA 官能基可顯示緩衝 pH 效果為 γ -PGA 之主要優勢之一，後續將針對 γ -PGA 與對地下水 pH 緩衝之特性做深入探討。
- (4) γ -PGA 以在各個領域均有廣泛之應用，已有學者利用不同之環境條件下衍生製造出不同類型 γ -PGA，如分子量不同而發展出的高分子及低分子之 γ -PGA，故未來針對不同類型之 γ -PGA 對含氯有機物或其他類型之污染物之處理效益做深入研究。



參考文獻

- Ahmad, S.A., Shamaan, N.A., Syed, M.A., Khalid, A., Ab Rahman, N.A., Khalil, K.A., Dahalan, F.A., Shukor, M.Y., 2017. Meta-cleavage pathway of phenol degradation by *Acinetobacter* sp. strain AQ5NOL 1. *Rendiconti Lincei* 28, 1-9.
- Ahmed, M., Jabeen, F., Ali, M., Ahmad, Z., Ahmed, F., Sarwar, M.B., ud Din, S., Hassan, M., Jahan, S., 2015. Analysis of Bifenthrin Degrading Bacteria from Rhizosphere of Plants Growing at Tannery Solid Waste. *American Journal of Plant Sciences* 6, 2042.
- Aikawa, S., Baramée, S., Sermasathanaswadi, J., Thianheng, P., Tachaapaikoon, C., Shikata, A., Waeonukul, R., Pason, P., Ratanakhanokchai, K., Kosugi, A., 2018. Characterization and high-quality draft genome sequence of *Herbivorax saccincola* A7, an anaerobic, alkaliphilic, thermophilic, cellulolytic, and xylanolytic bacterium. *Systematic and applied microbiology*.
- Ainala, S.K., Seol, E., Kim, J.R., Park, S., 2016. Effect of culture medium on fermentative and CO-dependent H₂ production activity in *Citrobacter amalonaticus* Y19. *International Journal of Hydrogen Energy* 41, 6734-6742.
- Akash, Vinay Mohan, P., Neelesh, B., Navneet, 2018. Bioremediation of Environmental Pollutants. in: Vinay Mohan, P., Navneet (Eds.). *Handbook of Research on Microbial Tools for Environmental Waste Management*. IGI Global, Hershey, PA, USA, pp. 80-104.
- Akbar, N.A., Matsin, Z.B., Ramli, S.F.B., 2019. Groundwater Treatment via Ozonation. *Advanced Oxidation Processes (AOPs) in Water and Wastewater Treatment*. IGI Global, pp. 200-225.
- Alnaief, M., Obaidat, R., Mashaqbeh, H., 2018. Effect of processing parameters on preparation of carrageenan aerogel microparticles. *Carbohydrate polymers* 180, 264-275.
- Anju, A.J., Sindhu, R., Parameswaran, B., Pandey, A., 2018. Production, Characterization, and Applications of Microbial Poly- γ -Glutamic Acid. *Biosynthetic Technology and Environmental Challenges*. Springer, 105-126.
- Arora, N.K., 2018. *Bioremediation: a green approach for restoration of polluted ecosystems*. Springer.
- Augelletti, F., Tremblay, J., Agathos, S.N., Stenuit, B., 2018. Draft Whole-Genome Sequence of the Fluorene-Degrading *Sphingobium* sp. Strain LB126, Isolated from Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-Contaminated Soil. *Genome announcements* 6, 00249-00218.
- Azubuike, C.C., Chikere, C.B., Okpokwasili, G.C., 2016. Bioremediation techniques—classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 32, 180.



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

- Badin, A., Broholm, M.M., Jacobsen, C.S., Palau, J., Dennis, P., Hunkeler, D., 2016. Identification of abiotic and biotic reductive dechlorination in a chlorinated ethene plume after thermal source remediation by means of isotopic and molecular biology tools. *Journal of contaminant hydrology* 192, 1-19.
- Baldwin, B.R., Taggart, D., Chai, Y., Wandor, D., Biernacki, A., L Sublette, K., T Wilson, J., Walecka-Hutchison, C., Coladonato, C., Goodwin, B., 2017. Bioremediation management reduces mass discharge at a chlorinated DNAPL site. *Groundwater Monitoring & Remediation* 37, 58-70.
- Barrow, N., 2017. The effects of pH on phosphate uptake from the soil. *Plant and soil* 410, 401-410.
- Bengelsdorf, F.R., Poehlein, A., Schiel-Bengelsdorf, B., Daniel, R., Dürre, P., 2015. Genome sequence of the acetogenic bacterium *oxobacter pfennigii* DSM 3222T. *Genome announcements* 3, 01408-01415.
- Bigley, A.N., Xiang, D.F., Ren, Z., Xue, H., Hull, K.G., Romo, D., Raushel, F.M., 2016. Chemical mechanism of the phosphotriesterase from *Sphingobium* sp. strain TCM1, an enzyme capable of hydrolyzing organophosphate flame retardants. *Journal of the American Chemical Society* 138, 2921-2924.
- Biju, M., Arnepalli, D., 2019. Biopolymer-Modified Soil: Prospects of a Promising Green Technology. *Geotechnical Characterisation and Geoenvironmental Engineering*. Springer, 163-169.
- Biswas, R., Majhi, A.K., Sarkar, A., 2019. The role of arsenate reducing bacteria for their prospective application in arsenic contaminated groundwater aquifer system. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 101218.
- Borden, R.C., Richardson, S.D., Bodour, A.A., 2019. Enhanced reductive dechlorination of trichloroethene in an acidic DNAPL impacted aquifer. *Journal of environmental management* 237, 617-628.
- Boulding, J.R., 2019. EPA environmental engineering sourcebook. Routledge.
- Brusseau, M.L., 2019. Soil and groundwater remediation. *Environmental and Pollution Science*. Elsevier, 329-354.
- Buckley, A.K., 2017. Contaminant Mass Distribution of a Mixed Organic Contaminant Plume Down-Gradient of an Aged DNAPL Source Zone in Sedimentary Rock.
- Cao, M., Feng, J., Sirisansaneeyakul, S., Song, C., Chisti, Y., 2018. Genetic and metabolic engineering for microbial production of poly- γ -glutamic acid. *Biotechnology advances*.
- Cataldo, S., Gianguzza, A., Pettignano, A., 2016. Sorption of Pd (II) ion by calcium alginate gel beads at different chloride concentrations and pH. A kinetic and equilibrium study.



- Arabian Journal of Chemistry 9, 656-667.
- Cecchin, I., Reddy, K.R., Thom  , A., Tessaro, E.F., Schnaid, F., 2017. Nanobioremediation: Integration of nanoparticles and bioremediation for sustainable remediation of chlorinated organic contaminants in soils. *International Biodeterioration & Biodegradation* 119, 419-428.
- Chang, C.H., Yang, H.Y., Hung, J.M., Lu, C.J., Liu, M.H., 2017. Simulation of combined anaerobic/aerobic bioremediation of tetrachloroethylene in groundwater by a column system. *International Biodeterioration & Biodegradation* 117, 150-157.
- Chang, Y.C., Chen, T.Y., Tsai, Y.P., Chen, K.F., 2018. Remediation of trichloroethene (TCE)-contaminated groundwater by persulfate oxidation: a field-scale study. *RSC Advances* 8, 2433-2440.
- Chen, F., Li, Z.L., Liang, B., Yang, J.Q., Cheng, H.Y., Huang, C., Nan, J., Wang, A.-J., 2019a. Electrostimulated bio-dechlorination of trichloroethene by potential regulation: Kinetics, microbial community structure and function. *Chemical Engineering Journal* 357, 633-640.
- Chen, M., Goodwin, Z.A., Feng, G., Kornyshev, A.A., 2018. On the temperature dependence of the double layer capacitance of ionic liquids. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 819, 347-358.
- Chen, Y., Jiang, Z., Wu, D., Wang, H., Li, J., Bi, M., Zhang, Y., 2019b. Development of a novel bio-organic fertilizer for the removal of atrazine in soil. *Journal of environmental management* 233, 553-560.
- Cheng, K.Y., Karthikeyan, R., Wong, J.W., 2019. Microbial Electrochemical Remediation of Organic Contaminants: Possibilities and Perspective. *Microbial Electrochemical Technology*. Elsevier, pp. 613-640.
- Chheda, D., Sorial, G.A., 2017. Evaluation of co-metabolic removal of trichloroethylene in a biotrickling filter under acidic conditions. *Journal of Environmental Sciences* 57, 54-61.
- Chiu, D.-W., 2015. Using poly-glutamic acid to enhance the anaerobic dechlorination of trichloroethylene. MS Thesis, Institute of Environmental Engineering, National Sun Yat-Sen University, Taiwan.
- da Silva, G.M., da Rocha, R.F.P., da Costa, M.P.M., de Mello Ferreira, I.L., Delpech, M.C., 2018. Evaluation of viscometric properties of carboxymethylcellulose and gellan. *Journal of Molecular Liquids* 268, 201-205.
- Dafny, E., 2017. TCE longevity in the vadose zone and loading to the groundwater—The case of episodic NAPL releases from near-surface source. *Environmental Technology & Innovation* 7, 128-140.
- Dahal, R.H., Chaudhary, D.K., Kim, J., 2017. *Acinetobacter halotolerans* sp. nov., a novel



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

- halotolerant, alkalitolerant, and hydrocarbon degrading bacterium, isolated from soil. *Archives of microbiology* 199, 701-710.
- Dahan, O., Katz, I., Avishai, L., Ronen, Z., 2017. Transport and degradation of perchlorate in deep vadose zone: implications from direct observations during bioremediation treatment. *Hydrology and Earth System Sciences* 21, 4011-4020.
- Dangi, A.K., Sharma, B., Hill, R.T., Shukla, P., 2019. Bioremediation through microbes: systems biology and metabolic engineering approach. *Critical reviews in biotechnology* 39, 79-98.
- Dann, A.L., Cooper, R.S., Bowman, J.P., 2009. Investigation and optimization of a passively operated compost-based system for remediation of acidic, highly iron-and sulfate-rich industrial waste water. *water research* 43, 2302-2316.
- de Castro, A.R., Ahmadi-Sénichault, A., Omari, A., 2018. Using Xanthan Gum Solutions to Characterize Porous Media with the Yield Stress Fluid Porosimetry Method: Robustness of the Method and Effects of Polymer Concentration. *Transport in Porous Media* 122, 357-374.
- de Vries, H., Nipshagen, A., 2015. Bioremediation of chloroethylenes: An evaluation of groundwater recirculation systems. Chapter.
- Dehghan, H., Tabarsa, A., Latifi, N., Bagheri, Y., 2019. Use of xanthan and guar gums in soil strengthening. *Clean Technologies and Environmental Policy* 21, 155-165.
- Detman, A., Bucha, M., Simoneit, B.R.T., Mielecki, D., Piwowarczyk, C., Chojnacka, A., Błaszczuk, M.K., Jędrysek, M.O., Marynowski, L., Sikora, A., 2018. Lignite biodegradation under conditions of acidic molasses fermentation. *International Journal of Coal Geology* 196, 274-287.
- Dille, M.J., Hattrem, M.N., Draget, K.I., 2018. Bioactively filled gelatin gels; challenges and opportunities. *Food hydrocolloids* 76, 17-29.
- Dolinová, I., Štrojsová, M., Černík, M., Němeček, J., Macháčková, J., Ševců, A., 2017. Microbial degradation of chloroethenes: a review. *Environmental Science and Pollution Research* 24, 13262-13283.
- Dong, S., Feng, C., Cui, W., Chen, N., Liu, Y., Liu, T., 2018. Anaerobic Bioremediation Performance and Indigenous Microbial Communities in Treatment of Trichloroethylene/Nitrate-Contaminated Groundwater. *Environmental Engineering Science* 35, 311-322.
- Dubchak, S., Bondar, O., 2019. Bioremediation and phytoremediation: Best approach for rehabilitation of soils for future use. *Remediation measures for radioactively contaminated areas*. Springer, pp. 201-221.



- Duconseille, A., Astruc, T., Quintana, N., Meersman, F., Sante-Lhoutellier, V., 2015. Gelatin structure and composition linked to hard capsule dissolution: A review. *Food Hydrocolloids* 43, 360-376.
- Dumas, O., Despreaux, T., Perros, F., Lau, E., Andujar, P., Humbert, M., Montani, D., Descatha, A., 2018. Respiratory effects of trichloroethylene. *Respiratory Medicine* 134, 47-53.
- Eamrat, R., Tsutsumi, Y., Kamei, T., Khanichaidecha, W., Tanaka, Y., Kazama, F., 2017. Optimization of Hydrogenotrophic Denitrification Behavior Using Continuous and Intermittent Hydrogen Gas Supply. *Journal of Water and Environment Technology* 15, 65-75.
- Field, M.S., 2018. Investigating and Remediating Contaminated Karst Aquifers. *Karst Groundwater Contamination and Public Health*. Springer, 101-115.
- Fascari, D., Zanaroli, G., Danko, A.S., 2015. In situ aerobic cometabolism of chlorinated solvents: a review. *Journal of hazardous materials* 283, 382-399.
- Gam, Z.B.A., Thioye, A., Cayol, J.-L., Joseph, M., Fauque, G., Labat, M., 2018. Characterization of *Desulfovibrio salinus* sp. nov., a slightly halophilic sulfate-reducing bacterium isolated from a saline lake in Tunisia. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*.
- Gates-Hollingsworth, M.A., Perry, M.R., Chen, H., Needham, J., Houghton, R.L., Raychaudhuri, S., Hubbard, M.A., Kozel, T.R., 2015. Immunoassay for capsular antigen of *Bacillus anthracis* enables rapid diagnosis in a rabbit model of inhalational anthrax. *PloS one* 10, 0126304.
- Ghaly, A., Ramakrishnan, V., 2015. Nitrogen sources and cycling in the ecosystem and its role in air, water and soil pollution: a critical review. *Journal of Pollution Effects & Control*, 1-26.
- Gholami, F., Mosmeri, H., Shavandi, M., Dastgheib, S.M.M., Amoozegar, M.A., 2019. Application of encapsulated magnesium peroxide (MgO₂) nanoparticles in permeable reactive barrier (PRB) for naphthalene and toluene bioremediation from groundwater. *Science of The Total Environment* 655, 633-640.
- Gong, Y., Tang, J., Zhao, D., 2016. Application of iron sulfide particles for groundwater and soil remediation: A review. *Water research* 89, 309-320.
- Gophna, U., Konikoff, T., Nielsen, H.B., 2017. *Oscillospira* and related bacteria—From metagenomic species to metabolic features. *Environmental microbiology* 19, 835-841.
- Grant, W.D., Jones, B.E., 2016. Bacteria, archaea and viruses of soda lakes. *Soda Lakes of East Africa*. Springer, 97-147.
- Gruiz, K., 2019. Contaminated site remediation: Role and classification of technologies.



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

Engineering Tools for Environmental Risk Management: 4. Risk Reduction Technologies and Case Studies, 1.

Gruiz, K., Meggyes, T., Fenyvesi, É., 2019. Engineering Tools for Environmental Risk Management: 4. Risk Reduction Technologies and Case Studies. CRC Press.

Guo, Z., Brusseau, M.L., 2017. The impact of well-field configuration and permeability heterogeneity on contaminant mass removal and plume persistence. *Journal of Hazardous Materials* 333, 109-115.

Gupta, V., Sengupta, M., Prakash, J., Tripathy, B.C., 2017. Environmental Biotechnology. Basic and Applied Aspects of Biotechnology. Springer Singapore, Singapore, 385-413.

Hassan, I., Eastman, A.W., Weselowski, B., Mohamedelhassan, E., Yanful, E.K., Yuan, Z.-C., 2016. Complete genome sequence of *Arthrobacter* sp. strain LS16, isolated from agricultural soils with potential for applications in bioremediation and bioproducts. *Genome announcements* 4, 01586-01515.

Hazen, T.C., 2018. In situ: groundwater bioremediation. Consequences of microbial interactions with hydrocarbons, oils, and lipids: Biodegradation and bioremediation, 1-18.

Hazen, T.C., 2019. Environmental Systems Biology Approach to Bioremediation. Understanding Terrestrial Microbial Communities. Springer, 103-127.

He, B.N., He, J.T., Wang, F., Lian, Y.q., Zhao, Y.K., 2018. Migration, clogging, and carbon source release of nano emulsified vegetable oil in porous media, evaluated by column experiments. *Bioremediation journal* 22, 53-62.

Helliwell, K.E., Lawrence, A.D., Holzer, A., Kudahl, U.J., Sasso, S., Kräutler, B., Scanlan, D.J., Warren, M.J., Smith, A.G., 2016. Cyanobacteria and eukaryotic algae use different chemical variants of vitamin B12. *Current Biology* 26, 999-1008.

Hermon, L., Hellal, J., Denonfoux, J., Vuilleumier, S., Imfeld, G., Urien, C., Ferreira, S., Joulain, C., 2019. Functional genes and bacterial communities during organohalide respiration of chloroethenes in microcosms of multi-contaminated groundwater. *Frontiers in microbiology* 10.

Hernandez, M.E., Beck, D.A., Lidstrom, M.E., Chistoserdova, L., 2015. Oxygen availability is a major factor in determining the composition of microbial communities involved in methane oxidation. *PeerJ* 3, 801.

Hisada, M., Kawase, Y., 2017. Mucilage extracted from wasted natto (fermented soybeans) as a low-cost poly- γ -glutamic acid based biosorbent: Removal of rare-earth metal Nd from aqueous solutions. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 5, 6061-6069.

Huang, J., Wu, M., Tang, J., Zhou, R., Chen, J., Han, W., Xie, Z., 2016a. Enhanced bio-reduction of hexavalent chromium by an anaerobic consortium using henna plant biomass



- as electron donor and redox mediator. *Desalination and Water Treatment* 57, 15125-15132.
- Huang, T., Tu, Z.-c., Shangguan, X., Wang, H., Sha, X., Bansal, N., 2018. Rheological behavior, emulsifying properties and structural characterization of phosphorylated fish gelatin. *Food chemistry* 246, 428-436.
- Huang, X., Mu, T., Shen, C., Lu, L., Liu, J., 2016b. Effects of bio-surfactants combined with alkaline conditions on volatile fatty acid production and microbial community in the anaerobic fermentation of waste activated sludge. *International Biodeterioration & Biodegradation* 114, 24-30.
- Huettel, M., Overholt, W.A., Kostka, J.E., Hagan, C., Kaba, J., Wells, W.B., Dudley, S., 2018. Degradation of Deepwater Horizon oil buried in a Florida beach influenced by tidal pumping. *Marine pollution bulletin* 126, 488-500.
- Imachi, H., Sakai, S., Kubota, T., Miyazaki, M., Saito, Y., Takai, K., 2016. *Sedimentibacter acidaminivorans* sp. nov., an anaerobic, amino-acid-utilizing bacterium isolated from marine subsurface sediment. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 66, 1293-1300.
- Inbaraj, B.S., Wang, J., Lu, J., Siao, F., Chen, B., 2009. Adsorption of toxic mercury (II) by an extracellular biopolymer poly (γ -glutamic acid). *Bioresource Technology* 100, 200-207.
- Jawaid, M., Paridah, M., Saba, N., 2017. Introduction to biomass and its composites. *Lignocellulosic Fibre and Biomass-Based Composite Materials*. Elsevier, pp. 1-11.
- Jeon, J.R., Murugesan, K., Baldrian, P., Schmidt, S., Chang, Y.-S., 2016. Aerobic bacterial catabolism of persistent organic pollutants—potential impact of biotic and abiotic interaction. *Current opinion in biotechnology* 38, 71-78.
- Jiang, X., Shen, J., Mu, Y., Zhang, L., Wang, L., 2019. Bioelectrodegradation of Hazardous Organic Contaminants from Industrial Wastewater. *Bioelectrochemistry Stimulated Environmental Remediation*. Springer, 93-119.
- Johansson, G., 2017. Using PCA to reveal hidden structures in the remediation steps of chlorinated solvents.
- Kawabe, Y., Komai, T., 2019. A Case Study of Natural Attenuation of Chlorinated Solvents Under Unstable Groundwater Conditions in Takahata, Japan. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 102, 280-286.
- Khalil, I., Irorere, V., Radecka, I., Burns, A., Kowalczyk, M., Mason, J., Khechara, M., 2016. Poly- γ -Glutamic Acid: Biodegradable Polymer for Potential Protection of Beneficial Viruses. *Materials* 9, 28.
- Kim, D.G., Kim, M., Jang, J.H., Bong, Y.H., Kim, J.H., 2013. Monitoring of environmental contaminants in raw bovine milk and estimates of dietary intakes of children in South



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

- Korea. *Chemosphere* 93, 561-566.
- Kim, H.R., Yu, S., Oh, J., Kim, K.H., Lee, J.H., Moniruzzaman, M., Kim, H.K., Yun, S.-T., 2019a. Nitrate contamination and subsequent hydrogeochemical processes of shallow groundwater in agro-livestock farming districts in South Korea. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 273, 50-61.
- Kim, U., Parker, J.C., Borden, R.C., 2019b. Stochastic cost-optimization and risk assessment of in situ chemical oxidation for dense non-aqueous phase liquid (DNAPL) source remediation. *Stochastic Environmental Research and Risk Assessment* 33, 73-89.
- Kissell, S.M., 2017. Comparing the Effect of Carbon Sources, Lactate and Whey, on Biological Reductive Dechlorination of TCE in Laboratory Flow Through Columns.
- Kranzioch, I., Ganz, S., Tiehm, A., 2015. Chloroethene degradation and expression of Dehalococcoides dehalogenase genes in cultures originating from Yangtze sediments. *Environmental Science and Pollution Research* 22, 3138-3148.
- Kumar, A., Devi, S., Singh, D., 2018a. Significance and Approaches of Microbial Bioremediation in Sustainable Development. *Microbial Bioprospecting for Sustainable Development*. Springer, 93-114.
- Kumar, N.M., Muthukumar, C., Sharmila, G., Gurunathan, B., 2018b. Genetically Modified Organisms and Its Impact on the Enhancement of Bioremediation. *Bioremediation: Applications for Environmental Protection and Management*. Springer, pp. 53-76.
- Kumar, V., Shahi, S., Singh, S., 2018c. Bioremediation: An Eco-sustainable Approach for Restoration of Contaminated Sites. *Microbial Bioprospecting for Sustainable Development*. Springer, pp. 115-136.
- Kuo, Y., Liang, S., Wang, S., Chen, S., Kao, C., 2013. Application of emulsified substrate biobarrier to remediate TCE-contaminated groundwater: Pilot-scale study. *Journal of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste* 18, 04014006.
- Kuppusamy, S., Thavamani, P., Megharaj, M., Lee, Y.B., Naidu, R., 2016. Kinetics of PAH degradation by a new acid-metal-tolerant *Trabulsiella* isolated from the MGP site soil and identification of its potential to fix nitrogen and solubilize phosphorous. *Journal of hazardous materials* 307, 99-107.
- Kuroda, M., Ogata, Y., Yahara, T., Yokoyama, T., Ishizawa, H., Takada, K., Inoue, D., Sei, K., Ike, M., 2017. Draft Genome Sequence of *Sphingobium fuliginis* OMI, a Bacterium That Degrades Alkylphenols and Bisphenols. *Genome announcements* 5.
- Kwiatkowska-Malina, J., 2018. Qualitative and quantitative soil organic matter estimation for sustainable soil management. *Journal of Soils and Sediments* 18, 2801-2812.
- Kwon, K., Shim, H., Bae, W., Oh, J., Bae, J., 2016. Simultaneous biodegradation of carbon



- tetrachloride and trichloroethylene in a coupled anaerobic/aerobic biobarrier. *Journal of Hazardous Materials* 313, 60-67.
- Lai, A., Aulenta, F., Mingazzini, M., Palumbo, M.T., Papini, M.P., Verdini, R., Majone, M., 2017. Bioelectrochemical approach for reductive and oxidative dechlorination of chlorinated aliphatic hydrocarbons (CAHs). *Chemosphere* 169, 351-360.
- Lan, W., He, L., Liu, Y., 2018. Preparation and properties of sodium carboxymethyl cellulose/sodium alginate/chitosan composite film. *Coatings* 8, 291.
- Lee, B.D., Ellis, J.T., Dodwell, A., Eisenhauer, E.E., Saunders, D.L., Lee, M.H., 2018. Iodate and nitrate transformation by *Agrobacterium/Rhizobium* related strain DVZ35 isolated from contaminated Hanford groundwater. *Journal of hazardous materials* 350, 19-26.
- Lee, Y.J., Romanek, C.S., Mills, G.L., Davis, R.C., Whitman, W.B., Wiegel, J., 2006. *Gracilibacter thermotolerans* gen. nov., sp. nov., an anaerobic, thermotolerant bacterium from a constructed wetland receiving acid sulfate water. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 56, 2089-2093.
- Leharne, S., 2019. Transfer phenomena and interactions of non-aqueous phase liquids in soil and groundwater. *ChemTexts* 5, 5.
- Lerner, J.E.C., de los Angeles Gutierrez, M., Mellado, D., Giuliani, D., Massolo, L., Sanchez, E.Y., Porta, A., 2018. Characterization and cancer risk assessment of VOCs in home and school environments in gran La Plata, Argentina. *Environmental Science and Pollution Research* 25, 10039-10048.
- Li, X., Zhang, W., Liu, T., Chen, L., Chen, P., Li, F., 2016. Changes in the composition and diversity of microbial communities during anaerobic nitrate reduction and Fe (II) oxidation at circumneutral pH in paddy soil. *Soil Biology and Biochemistry* 94, 70-79.
- Liang, J., Shi, W., He, Z., Pang, L., Zhang, Y., 2019. Effects of poly- γ -glutamic acid on water use efficiency, cotton yield, and fiber quality in the sandy soil of southern Xinjiang, China. *Agricultural Water Management* 218, 48-59.
- Liang, S., Kuo, Y., Chen, S., Chen, C., Kao, C., 2013. Development of a slow polycolloid-releasing substrate (SPRS) biobarrier to remediate TCE-contaminated aquifers. *Journal of hazardous materials* 254, 107-115.
- Liao, X., Yan, X., Ma, D., Zhao, D., Sun, L., Li, Y., Fei, Y., Li, P., Lin, L., Tao, H., 2018. The Research and Development of Technology for Contaminated Site Remediation. *Twenty Years of Research and Development on Soil Pollution and Remediation in China*. Springer, pp. 785-798.
- Lien, P., Yang, Z., Chang, Y., Tu, Y., Kao, C., 2016. Enhanced bioremediation of TCE-contaminated groundwater with coexistence of fuel oil: effectiveness and mechanism study.



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

- Chemical Engineering Journal 289, 525-536.
- Lin, K.S., Mdlovu, N.V., Chen, C.Y., Chiang, C.L., Dehvari, K., 2018. Degradation of TCE, PCE, and 1, 2-DCE DNAPLs in contaminated groundwater using polyethylenimine-modified zero-valent iron nanoparticles. *Journal of Cleaner Production* 175, 456-466.
- Lin, L., Regenstein, J.M., Lv, S., Lu, J., Jiang, S., 2017. An overview of gelatin derived from aquatic animals: Properties and modification. *Trends in food science & technology* 68, 102-112.
- Liu, F., Huang, G., Fallowfield, H., Guan, H., Zhu, L., Hu, H., 2014. Bacterial Community in the Inoculum. Study on Heterotrophic-Autotrophic Denitrification Permeable Reactive Barriers (HAD PRBs) for In Situ Groundwater Remediation. Springer, pp. 93-103.
- Liu, N., Ding, L., Li, H., Zhang, P., Zheng, J., Weng, C.-H., 2018. Stable carbon isotope fractionation of chlorinated ethenes by a microbial consortium containing multiple dechlorinating genes. *Bioresource technology* 261, 133-141.
- Liu, S., Yang, Q., Yang, Y., Ding, H., Qi, Y., 2017. In situ remediation of tetrachloroethylene and its intermediates in groundwater using an anaerobic/aerobic permeable reactive barrier. *Environmental Science and Pollution Research* 24, 26615-26622.
- Luo, W., Zhu, X., Chen, W., Duan, Z., Wang, L., Zhou, Y., 2014. Mechanisms and strategies of microbial cometabolism in the degradation of organic compounds—chlorinated ethylenes as the model. *Water Science and Technology* 69, 1971-1983.
- Luo, Z., Guo, Y., Liu, J., Qiu, H., Zhao, M., Zou, W., Li, S., 2016. Microbial synthesis of poly- γ -glutamic acid: current progress, challenges, and future perspectives. *Biotechnology for Biofuels* 9, 134.
- Maeda, A.H., Kunihiro, M., Ozeki, Y., Nogi, Y., Kanaly, R.A., 2015. *Sphingobium barthaii* sp. nov., a high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacterium isolated from cattle pasture soil. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 65, 2919-2924.
- Maier, R., 2019. Biological Processes Affecting Contaminants Transport and Fate. *Environmental and Pollution Science*. Elsevier, 131-146.
- Maire, J., Joubert, A., Kaifas, D., Invernizzi, T., Marduel, J., Colombano, S., Cazaux, D., Marion, C., Klein, P.-Y., Dumestre, A., 2018. Assessment of flushing methods for the removal of heavy chlorinated compounds DNAPL in an alluvial aquifer. *Science of the Total Environment* 612, 1149-1158.
- Mao, X., Polasko, A., Alvarez-Cohen, L., 2017. The Effects of sulfate reduction on TCE dechlorination by Dehalococcoides-containing microbial communities. *Applied and environmental microbiology, AEM*. 03384-03316.



- Mao, X., Stenuit, B., Polasko, A., Alvarez-Cohen, L., 2015. Efficient metabolic exchange and electron transfer within a syntrophic TCE degrading co-culture of *Dehalococcoides mccartyi* 195 and *Syntrophomonas wolfei*. *Applied and environmental microbiology*, 03464-03414.
- Matassa, S., Verstraete, W., Pikaar, I., Boon, N., 2016. Autotrophic nitrogen assimilation and carbon capture for microbial protein production by a novel enrichment of hydrogen-oxidizing bacteria. *Water research* 101, 137-146.
- Matturro, B., Presta, E., Rossetti, S., 2016. Reductive dechlorination of tetrachloroethene in marine sediments: biodiversity and dehalorespiring capabilities of the indigenous microbes. *Science of the Total Environment* 545, 445-452.
- Mayer-Blackwell, K., Azizian, M.F., Green, J.K., Spormann, A.M., Semprini, L., 2017. Survival of vinyl chloride respiring *Dehalococcoides mccartyi* under long-term electron donor limitation. *Environmental science & technology* 51, 1635-1642.
- McLean, J.E., Ervin, J., Zhou, J., Sorensen, D.L., Dupont, R.R., 2015. Biostimulation and Bioaugmentation to Enhance Reductive Dechlorination of TCE in a Long-Term Flow Through Column Study. *Groundwater Monitoring & Remediation* 35, 76-88.
- Meckenstock, R.U., Elsner, M., Griebler, C., Lueders, T., Stumpp, C., Aamand, J., Agathos, S.N., Albrechtsen, H.-J., Bastiaens, L., Bjerg, P.L., Boon, N., Dejonghe, W., Huang, W.E., Schmidt, S.I., Smolders, E., Sørensen, S.R., Springael, D., van Breukelen, B.M., 2015. Biodegradation: Updating the Concepts of Control for Microbial Cleanup in Contaminated Aquifers. *Environmental Science & Technology* 49, 7073-7081.
- Miao, Y., Wang, Z., Liao, R., Shi, P., Li, A., 2017. Assessment of phenol effect on microbial community structure and function in an anaerobic denitrifying process treating high concentration nitrate wastewater. *Chemical Engineering Journal* 330, 757-763.
- Mu, R., Zhang, Z., Li, X., Liu, D., Zhao, Y., 2018. Preparation of new biosorbents based on poly- γ -glutamic acid and its adsorption of heavy metal ions. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. IOP Publishing, 012061.
- Muller, K.A., Esfahani, S.G., Chapra, S.C., Ramsburg, C.A., 2018. Transport and Retention of Concentrated Oil-in-Water Emulsions in Porous Media. *Environmental science & technology* 52, 4256-4264.
- Němeček, J., Steinová, J., Špánek, R., Pluhař, T., Pokorný, P., Najmanová, P., Knytl, V., Černík, M., 2018. Thermally enhanced in situ bioremediation of groundwater contaminated with chlorinated solvents – A field test. *Science of The Total Environment* 622-623, 743-755.
- Nguyen, S.L.T., Kimura, K., Do, T.T., Le, T.N.A., 2018. Isolation, characterization of *Bacillus* sp. producing heavy metal absorption γ -PGA. *Journal of Vietnamese Environment* 9, 49-



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

54.

- Nobre, R.C.M., Nobre, M.M.M., Campos, T.M.P., Ogles, D., 2017. In-situ biodegradation potential of 1,2-DCA and VC at sites with different hydrogeological settings. *Journal of Hazardous Materials* 340, 417-426.
- Ota, A., Istenič, K., Skrt, M., Šegatin, N., Žnidaršič, N., Kogej, K., Ulrih, N.P., 2018. Encapsulation of pantothenic acid into liposomes and into alginate or alginate-pectin microparticles loaded with liposomes. *Journal of Food Engineering* 229, 21-31.
- Ozaki, T., Abe, N., Kimura, K., Suzuki, A., Kaneko, J., 2017. Genomic analysis of *Bacillus subtilis* lytic bacteriophage ϕ NIT1 capable of obstructing natto fermentation carrying genes for the capsule-lytic soluble enzymes poly- γ -glutamate hydrolase and levanase. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry* 81, 135-146.
- Pérez-de-Mora, A., Lacourt, A., McMaster, M.L., Liang, X., Dworatzek, S.M., Edwards, E.A., 2018. Chlorinated electron acceptor abundance drives selection of *Dehalococcoides mccartyi* (D. mccartyi) strains in dechlorinating enrichment cultures and groundwater environments. *Frontiers in microbiology* 9.
- Pang, X., Lei, P., Feng, X., Xu, Z., Xu, H., Liu, K., 2018. Poly- γ -glutamic acid, a bio-chelator, alleviates the toxicity of Cd and Pb in the soil and promotes the establishment of healthy *Cucumis sativus* L. seedling. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-14.
- Parker, B.L., Chapman, S.W., Goldstein, K.J., Cherry, J.A., 2018. Multiple lines of field evidence to inform fracture network connectivity at a shale site contaminated with dense non-aqueous phase liquids. *Geological Society, London, Special Publications* 479, SP479. 478.
- Parween, T., Bhandari, P., Sharma, R., Jan, S., Siddiqui, Z.H., Patanjali, P., 2018. Bioremediation: A Sustainable Tool to Prevent Pesticide Pollution. *Modern Age Environmental Problems and their Remediation*. Springer, pp. 215-227.
- Pham, V., Jeong, S., Chung, S., Kim, J., 2016. *Brevundimonas albigilva* sp. nov., isolated from forest soil. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 66, 1144-1150.
- Pokorna, D., Zabranska, J., 2015. Sulfur-oxidizing bacteria in environmental technology. *Biotechnology Advances* 33, 1246-1259.
- Qian, Z., Tianwei, H., Mackey, H.R., van Loosdrecht, M.C., Guanghao, C., 2018. Recent advances in dissimilatory sulfate reduction: From metabolic study to application. *Water research*.
- Rabemanolontsoa, H., Van Nguyen, D., Jusakulvit, P., Saka, S., 2017. Effects of gas condition on acetic acid fermentation by *Clostridium thermocellum* and *Moorella thermoacetica* (C.



- thermoaceticum). *Applied microbiology and biotechnology* 101, 6841-6847.
- Ramprakash, B., Muthukumar, K., 2018. Influence of sulfuric acid concentration on biohydrogen production from rice mill wastewater using pure and coculture of *Enterobacter aerogenes* and *Citrobacter freundii*. *International Journal of Hydrogen Energy* 43, 9254-9258.
- Rout, S.P., Salah, Z.B., Charles, C.J., Humphreys, P.N., 2017. Whole-Genome Sequence of the Anaerobic Isosaccharinic Acid Degrading Isolate, *Macellibacteroides fermentans* Strain HH-ZS. *Genome biology and evolution* 9, 2055-2059.
- Sairam, R., Tyagi, A., Chinnusamy, V., 2016. Salinity tolerance: cellular mechanisms and gene regulation. *Plant-environment interactions*, 137-191.
- Saiyari, D.M., Chuang, H.-P., Senoro, D.B., Lin, T.-F., Whang, L.-M., Chiu, Y.-T., Chen, Y.-H., 2018. A review in the current developments of genus *Dehalococcoides*, its consortia and kinetics for bioremediation options of contaminated groundwater. *Sustainable Environment Research*.
- Sattar, H., Aman, A., Qader, S.A.U., 2018. Agar-agar immobilization: An alternative approach for the entrapment of protease to improve the catalytic efficiency, thermal stability and recycling efficiency. *International journal of biological macromolecules* 111, 917-922.
- Scalzi, M., Mueller, J., Karachalios, A., 2018. Inhibition of methanogenesis in reducing environments. *Google Patents*.
- Schaefer, C.E., Lavorgna, G.M., Haluska, A.A., Annable, M.D., 2018. Long-Term Impacts on Groundwater and Reductive Dechlorination Following Bioremediation in a Highly Characterized Trichloroethene DNAPL Source Area. *Groundwater Monitoring & Remediation* 38, 65-74.
- Semasaka, C., Mhaske, P., Buckow, R., Kasapis, S., 2018. Modeling water partition in composite gels of BSA with gelatin following high pressure treatment. *Food chemistry* 265, 32-38.
- Shapiro, A.M., Tiedeman, C.R., Imbrigiotta, T.E., Goode, D.J., Hsieh, P.A., Lacombe, P.J., DeFlaun, M.F., Drew, S.R., Curtis, G.P., 2018. Bioremediation in Fractured Rock: 2. Mobilization of Chloroethene Compounds from the Rock Matrix. *Groundwater* 56, 317-336.
- Sharma, J.K., Gautam, R.K., Nanekar, S.V., Weber, R., Singh, B.K., Singh, S.K., Juwarkar, A.A., 2017. Advances and perspective in bioremediation of polychlorinated biphenyl-contaminated soils. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-21.
- Sheu, Y.T., Tsang, D.C., Dong, C.D., Chen, C. W., Luo, S.G., Kao, C.M., 2017. Enhanced Bioremediation of TCE-contaminated Groundwater Using Gamma Poly-glutamic Acid as



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

- the Primary Substrate. *Journal of Cleaner Production*.
- Sheu, Y.T., Tsang, D.C., Dong, C.D., Chen, C.W., Luo, S.G., Kao, C.M., 2018a. Enhanced bioremediation of TCE-contaminated groundwater using gamma poly-glutamic acid as the primary substrate. *Journal of Cleaner Production* 178, 108-118.
- Sheu, Y., Chen, S., Chien, C., Chen, C., Kao, C., 2015. Application of a long-lasting colloidal substrate with pH and hydrogen sulfide control capabilities to remediate TCE-contaminated groundwater. *Journal of hazardous materials* 284, 222-232.
- Shimodaira, J., Yonezuka, K., Tabata, M., Nagase, S., Kasai, D., Hosoyama, A., Yamazoe, A., Fujita, N., Fukuda, M., 2016. Draft genome sequence of *Comamonas thiooxydans* strain PHE2-6 (NBRC 110656), a chlorinated-ethene-degrading bacterium. *Genome announcements* 4, e00487-00416.
- Shoji, M., Isobe, H., Shen, J.-R., Yamaguchi, K., 2016. Geometric and electronic structures of the synthetic Mn_4CaO_4 model compound mimicking the photosynthetic oxygen-evolving complex. *Physical chemistry chemical physics : PCCP* 18, 11330-11340.
- Singha, L.P., Kotoky, R., Pandey, P., 2017. Draft Genome Sequence of *Pseudomonas fragi* Strain DBC, Which Has the Ability To Degrade High-Molecular-Weight Polyaromatic Hydrocarbons. *Genome announcements* 5, e01347-01317.
- Sirisansaneeyakul, S., Cao, M., Kongklom, N., Chuensangjun, C., Shi, Z., Chisti, Y., 2017. Microbial production of poly- γ -glutamic acid. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 33, 173.
- Song, B., Palleroni, N.J., Kerkhof, L.J., Häggblom, M.M., 2001. Characterization of halobenzoate-degrading, denitrifying *Azoarcus* and *Thauera* isolates and description of *Thauera chlorobenzoica* sp. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 51, 589-602.
- Srirattana, S., Piaowan, K., Lowry, G.V., Phenrat, T., 2017. Electromagnetic induction of foam-based nanoscale zerovalent iron (NZVI) particles to thermally enhance non-aqueous phase liquid (NAPL) volatilization in unsaturated porous media: Proof of concept. *Chemosphere* 183, 323-331.
- Strapoć, D., 2017. Biogenic methane. *Encyclopedia of Geochemistry: A Comprehensive Reference Source on the Chemistry of the Earth*, 1-9.
- Stroo, H.F., West, M.R., Kueper, B.H., Borden, R.C., Major, D.W., Ward, C.H., 2014. In situ bioremediation of chlorinated ethene source zones. *Chlorinated solvent source zone remediation*. Springer, pp. 395-457.
- Sudheesh, A., 2018. Bioaugmentation of Chlorinated Solvents in Groundwater Using *Dehalococcoides*.



- Takada, T., Watanabe, K., Makino, H., Kushiro, A., 2016. Reclassification of *Eubacterium desmolans* as *Butyricicoccus desmolans* comb. nov., and description of *Butyricicoccus faecihominis* sp. nov., a butyrate-producing bacterium from human faeces. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 66, 4125-4131.
- Tang, Y., Zhou, J., Yang, P., Yan, J., Zhou, N., 2017. *Groundwater*. Groundwater Engineering. Springer Singapore, Singapore, pp. 1-34.
- Teng, Y., Xu, Y., Wang, X., Christie, P., 2019. Function of Biohydrogen Metabolism and Related Microbial Communities in Environmental Bioremediation. *Frontiers in microbiology* 10.
- Thakur, S., Govender, P.P., Mamo, M.A., Tamulevicius, S., Thakur, V.K., 2017. Recent progress in gelatin hydrogel nanocomposites for water purification and beyond. *Vacuum* 146, 396-408.
- Thakur, S., Sharma, B., Verma, A., Chaudhary, J., Tamulevicius, S., Thakur, V.K., 2018. Recent progress in sodium alginate based sustainable hydrogels for environmental applications. *Journal of cleaner production* 198, 143-159.
- Thakur, V.K., Thakur, M.K., 2015. Recent advances in green hydrogels from lignin: a review. *International Journal of Biological Macromolecules* 72, 834-847.
- Thombare, N., Mishra, S., Siddiqui, M., Jha, U., Singh, D., Mahajan, G.R., 2018. Design and development of guar gum based novel, superabsorbent and moisture retaining hydrogels for agricultural applications. *Carbohydrate polymers* 185, 169-178.
- Thrash, J.C., Ahmadi, S., Torok, T., Coates, J.D., 2010. *Magnetospirillum bellicus* sp. nov., a novel dissimilatory perchlorate-reducing alphaproteobacterium isolated from a bioelectrical reactor. *Appl. Environ. Microbiol.* 76, 4730-4737.
- Tsai, T., Liu, J., Chang, Y., Chen, K., Kao, C., 2014. Application of polycolloid-releasing substrate to remediate trichloroethylene-contaminated groundwater: a pilot-scale study. *Journal of hazardous materials* 268, 92-101.
- Varjani, S.J., 2017. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons. *Bioresource technology* 223, 277-286.
- Veeravalli, S.S., Lalman, J.A., Chaganti, S.R., Heath, D.D., 2017. Continuous hydrogen production using upflow anaerobic sludge blanket reactors: effect of organic loading rate on microbial dynamics and H₂ metabolism. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 92, 544-551.
- Verheyen, D., Bolívar, A., Pérez-Rodríguez, F., Baka, M., Skåra, T., Van Impe, J.F., 2018. Effect of food microstructure on growth dynamics of *Listeria monocytogenes* in fish-based model systems. *International journal of food microbiology* 283, 7-13.



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

- WANG, H.b., CHENG, M., SHENG, J., YANG, Y.y., LI, S.h., YAN, B.l., 2011. Study on the Adsorption Characteristic of Metal Ions on Gelatin Membrane Cross-linked Poly- γ -glutamic Acid. *Hubei Agricultural Sciences* 19, 021.
- Wang, L., Hu, D., Kong, X., Liu, J., Li, X., Zhou, K., Zhao, H., Zhou, C., 2018a. Anionic polypeptide poly (γ -glutamic acid)-functionalized magnetic Fe₃O₄-GO-(o-MWCNTs) hybrid nanocomposite for high-efficiency removal of Cd (II), Cu (II) and Ni (II) heavy metal ions. *Chemical Engineering Journal* 346, 38-49.
- Wang, P., Lun, X., Rene, E.R., Ma, W., Ma, M., Yu, Z., 2018b. Hydrocortisone biotransformation pathway in three types of river-based aquifers media and changes in microbial community. *International Biodeterioration & Biodegradation* 130, 76-83.
- Wang, S., Chen, S., Lin, Y., Kuo, Y., Chen, J., Kao, C., 2016a. Acidification and sulfide formation control during reductive dechlorination of 1, 2-dichloroethane in groundwater: Effectiveness and mechanistic study. *Chemosphere* 160, 216-229.
- Wang, Y., Li, P., Jiang, Z., Sinkkonen, A., Wang, S., Tu, J., Wei, D., Dong, H., Wang, Y., 2016b. Microbial community of high arsenic groundwater in agricultural irrigation area of Hetao Plain, Inner Mongolia. *Frontiers in microbiology* 7, 1917.
- Wang, Y., Yang, H., Liu, X., Mu, Y., 2019. Microbial Electro-respiration Enhanced Biodegradation and Bioremediation: Challenges and Future Perspectives. *Bioelectrochemistry Stimulated Environmental Remediation*. Springer, pp. 293-300.
- Weatherill, J.J., Atashgahi, S., Schneidewind, U., Krause, S., Ullah, S., Cassidy, N., Rivett, M.O., 2018. Natural attenuation of chlorinated ethenes in hyporheic zones: a review of key biogeochemical processes and in-situ transformation potential. *Water research* 128, 362-382.
- Weinstein, J.Y., Slutzki, M., Karpol, A., Barak, Y., Gul, O., Lamed, R., Bayer, E.A., Fried, D.B., 2015. Insights into a type III cohesin-dockerin recognition interface from the cellulose-degrading bacterium *Ruminococcus flavefaciens*. *Journal of Molecular Recognition* 28, 148-154.
- Wen, C., Sheng, H., Ren, L., Dong, Y., Dong, J., 2017. Study on the removal of hexavalent chromium from contaminated groundwater using emulsified vegetable oil. *Process Safety and Environmental Protection* 109, 599-608.
- Wen, Y., Yang, Y., Ren, H., Du, X., Yang, X., Zhang, L., Wang, X., 2015. Chemical-biological hybrid reactive zones and their impact on biodiversity of remediation of the nitrobenzene and aniline contaminated groundwater. *Chemical Engineering Journal* 280, 233-240.
- Wilson, J.T., Mills IV, J.C., Wilson, B.H., Ferrey, M.L., Freedman, D.L., Taggart, D., 2019. Using qPCR Assays to Predict Rates of Cometabolism of TCE in Aerobic Groundwater.



Groundwater Monitoring & Remediation.

- Wong, J.W.-C., Rajeshwar, D., Tyagi, A., 2017. Current developments in biotechnology and bioengineering. Elsevier.
- Xie, Y., Zhang, D., Lou, S., He, F., Yin, L., 2017. Slowly released carbon source from composite materials system for removing nitrate pollution in groundwater. RSC Advances 7, 10215-10220.
- Xiu, Z.m., Gregory, K.B., Lowry, G.V., Alvarez, P.J., 2010. Effect of bare and coated nanoscale zerovalent iron on tceA and vcrA gene expression in Dehalococcoides spp. Environmental science & technology 44, 7647-7651.
- Yan, J., Şimşir, B., Farmer, A.T., Bi, M., Yang, Y., Campagna, S.R., Löffler, F.E., 2015. The corrinoid cofactor of reductive dehalogenases affects dechlorination rates and extents in organohalide-respiring Dehalococcoides mccartyi. The ISME journal 10, 1092.
- Yang, J., Kim, E., Kim, J., Poo, H., 2018a. Orally administered poly- γ -glutamic acid enhances mucosal immune responses through production of intestinal chemokines and activation of mucosal dendritic cells. Am Assoc Immunol.
- Yang, J., Meng, L., Guo, L., 2018b. In situ remediation of chlorinated solvent-contaminated groundwater using ZVI/organic carbon amendment in China: field pilot test and full-scale application. Environmental Science and Pollution Research 25, 5051-5062.
- Yang, L., 2015. Exploring the Influence of Sorption and Back Diffusion on Dense Nonaqueous Phase Liquid (DNAPL) Source Zone Plume Persistence in Heterogeneous Formations. Tufts University.
- Yang, Y., Cápiro, N.L., Marcet, T.F., Yan, J., Pennell, K.D., Löffler, F.E., 2017a. Organohalide respiration with chlorinated ethenes under low pH conditions. Environmental Science & Technology 51, 8579-8588.
- Yang, Y., Cápiro, N.L., Yan, J., Marcet, T.F., Pennell, K.D., Löffler, F.E., 2017b. Resilience and recovery of Dehalococcoides mccartyi following low pH exposure. FEMS microbiology ecology 93, fix130.
- Yang, Y., Higgins, S.A., Yan, J., Şimşir, B., Chourey, K., Iyer, R., Hettich, R.L., Baldwin, B., Ogles, D.M., Löffler, F.E., 2017c. Grape pomace compost harbors organohalide-respiring Dehalogenimonas species with novel reductive dehalogenase genes. The ISME journal 11, 2767.
- Yang, Z.H., Dong, C.D., Chen, C.W., Sheu, Y.T., Kao, C.M., 2017d. Using poly-glutamic acid as soil-washing agent to remediate heavy metal-contaminated soils. Environmental Science and Pollution Research, 1-12.
- Yang, Z.H., Dong, C.D., Chen, C.W., Sheu, Y. T., Kao, C.M., 2018c. Using poly-glutamic acid



以聚麩基質生物復育受含氯有機物污染地下水：基質開發及現地模場試驗(第2年)

- as soil-washing agent to remediate heavy metal-contaminated soils. *Environmental Science and Pollution Research* 25, 5231-5242.
- Yu, L., Lu, Q., Qiu, L., Xu, G., Zeng, Y., Luo, X., Wang, S., Mai, B., 2018. Enantioselective Dechlorination of Polychlorinated Biphenyls in *Dehalococcoides mccartyi* CG1. *Appl. Environ. Microbiol.*, 01300-01318.
- Zhang, S., Sun, X., Wang, X., Qiu, T., Gao, M., Sun, Y., Cheng, S., Zhang, Q., 2018. Bioaugmentation with *Diaphorobacter polyhydroxybutyrativorans* to enhance nitrate removal in a poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)-supported denitrification reactor. *Bioresource technology* 263, 499-507.
- Zhang, X., Szewzyk, U., Ma, F., 2017. Characterization of *Aquabacterium parvum* sp. Strain B6 during Nitrate-Dependent Fe (II) Oxidation Batch Cultivation with Various Impact Factors. *Transactions of Tianjin University* 23, 315-324.
- Zhong, L., Truex, M.J., Kananizadeh, N., Li, Y., Lea, A.S., Yan, X., 2015. Delivery of vegetable oil suspensions in a shear thinning fluid for enhanced bioremediation. *Journal of Contaminant Hydrology* 175-176, 17-25.
- Ziels, R.M., Karlsson, A., Beck, D.A.C., Ejlerthsson, J., Yekta, S.S., Bjorn, A., Stensel, H.D., Svensson, B.H., 2016. Microbial community adaptation influences long-chain fatty acid conversion during anaerobic codigestion of fats, oils, and grease with municipal sludge. *Water Research* 103, 372-382.
- 王洪斌、成明、盛菊、楊艷艷、李士虎、閻斌倫，2011， γ -聚谷氨酸明膠膜對重金屬離子吸附特性研究，*湖北農業科學*，第19期。
- 林書弘、胡凱康、劉力瑜，2013，次世代定序資料模擬軟體的比較，*作物、環境與生物資訊*。
- 張文，張樹清，王學江，2014， γ -聚谷氨酸的微生物合成及在農業生產中的應用，*中國農學通報(Chinese Agricultural Science Bulletin)*，30(6) 122，P40-45。
- 陳勇志 2011，以天然棉絮交聯聚麩胺酸去除水中鐵離子，高雄師範大學化學系，碩士論文。
- 陳俊位，2014，聚麩胺酸之特性及其在農業上之應用，*臺中區農業改良場特刊*，122 期，237- 244。
- 黃加年，2016. 以複合型碳源基質加強 1, 2-二氯乙烷之厭氧降解成效. *中山大學環境工程研究所學位論文*, 1-107.
- 王惟帥，楊世琦，2018，羧甲基纖維素鈉製備及改性研究，*合成纖維*，(10):24-30.



參考文獻

吳淑茗，柯萍萍，黃俊祥，2018，羧甲基纖維素鈉的研究進展，化學工程與裝備，
261(10):249-250.

劉淑萍，李亮，劉讓同，2019，羧甲基纖維素鈉改性角蛋白膜的結構與性能，紡織學報.