



行政院環境保護署

110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

開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋 整治工法：現地模場試驗

期末報告（定稿）

主辦單位：  行政院環境保護署
專案執行單位： 國立中央大學／生命科學系
專案主持人： 陳師慶 教授
專案執行期間： 110年02月24日起至
111年02月28日止

中 華 民 國 111 年 02 月 印製





110 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申請書

一、專案基本資料表

申請編號： (由本署填寫)

專案性質	☒ 實驗性質 ☐ 非實驗性質		專案技術編碼	LAB - S - R - C1 - B	
專案類別(單選)	☐ 研究型 ☒ 模場型		研究主題	☒ 整治 ☐ 調查 ☐ 其他	
申請機構系所	國立中央大學 生命科學系 楊國周				
機構地址	桃園市中壢區中大路 300 號				
專案主持人	陳師慶	職等/職稱	教授		
協同主持人	張志豪	職等/職稱	專案副理		
專案名稱	中文	開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法-現地模場試驗			
	英文	Develop high-efficiency dechlorination bio-gel and optimize the immobilized strategy of bioremediation in chlorinated contamination: pilot study			
	關鍵字	脫鹵球菌,生物膠體,氯乙烯,完全脫氯			
執行期程	自民國 110 年 02 月 24 日起 至民國 111 年 02 月 28 日止				
專案主持人	姓名：陳師慶	E-mail： osycchna@ksts.seed.net.tw	專線：03-4227151#65083 手機：0929057590		
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 申請金額	第二年 申請金額	編列說明
	1.	人事費用	700,000	800,000	(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	1,320,909	1,130,000	(與計畫主體相關)
	4.	其它研究相關費用	50,000	50,000	(含差旅與租賃費用)
	5.	雜項費用	20,000	20,000	(1~6 項相加之 5%為限)
	6.	行政管理費	209,091	200,000	(1~5 項相加之 10%為限)
	7.	自籌款	0	0	(申請單位自行籌備款項)
	申請補助金額(1~6 項)		2,300,000	2,200,000	總金額：4,500,000
	計畫總金額(1~7 項)		2,300,000	2,200,000	總金額：4,500,000

說明：

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

專案主持人： 陳師慶 **陳師慶** (簽名及蓋章)

日期：2021/03/05

(請蓋上申請單位大小章)





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

110年度專案成果績效自評表

一、專案基本資料

填表日期：111 年 01 月 26 日

專案性質	☒ 實驗性質 ☐ 非實驗性質	專案類別	☐ 研究型 ☒ 模場型
研究主題	☒ 整治 ☐ 調查 ☐ 其他		
申請機構系所	國立中央大學生命科學系	計畫主持人	陳師慶
專案名稱	開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗		
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

目標達成程度			申請 預估 數	工作進 度達成 數	期中 達成數	期末 達成數	結案 達成率	備註 (說明未達成 原因或學術產 出發表日期名稱)
項目	A 學術 產出 及 活動	(1)論文	0	0	0	0	0	
		1.國內投稿 (篇數)						
		(2)研討會論文	1	0	0	1	100%	台灣本土新穎 脫鹵球菌分離 及其污染物降 解特性, 2021, 中華民國環境 工程學會 2021 土壤與 地下水研討會
		2.國外投稿 (篇數)						
		(1)期刊論文	1	1	1	1	100%	投稿期刊 Journal of Hazardous Materials (IF = 10.588), 論文名 稱為 Long-term Dechlorination of cis-DCE to Ethene with Co- immobilized Dehalococcoides mccartyi and Clostridium butyricum in Silica Gel System. 2022/01/23 已被



項目 \ 目標達成程度			申請 預估 數	工作進 度達成 數	期中 達成數	期末 達成數	結案 達成率	備註 (說明未達成 原因或學術產 出發表日期名稱)
								接受。
		(2)研討會論文	0	0	0	0	0	
	3.報告 (篇數)	(1)技術報告	0	0	0	0	0	
		(2)研究報告	0	0	0	0	0	
	4.專著 (本數)		0	0	0	0	0	
	5.辦理學術 會議(場數)	(1)研討/說明會	0	0	0	0	0	
		(2)成果發表會	0	0	0	0	0	
		(3)論壇	0	0	0	0	0	
	6.研發改良 技術(項數)	(1)已開發技術	0	0	0	0	0	
		(2)技術平台	0	0	0	0	0	
B 人 才 培 育	7.研發人員 (人數)	(1)碩士	2	3	3	3	100%	陳庭萱、莊旻軒、何欣澄
		(2)博士	1	1	1	1	100%	呂哲瑋
	8.研究團隊 (個數)	(1)跨領域團隊	0	0	0	0	0	
		(2)跨機構團隊	0	0	0	0	0	
		(3)形成研究中心	0	0	0	0	0	
		(4)形成實驗室	0	0	0	0	0	
	9.其他指標 (請自行命名)		(請自填)	0	0	0	0	0



(二) 產業面

目標達成程度				申請 預估 數	工作進 度達成 數	期中 達成數	期末 達成數	結案 達成率	備註 (說明未達成 原因或學術產 出發表日期名稱)
項目									
A 智慧財產權	1.專利 (件數)	已核准	發明	1	1	1	1	1	包埋微生物膠體、其製備方法以及降解含氯有機物的組合物,發明專利證號 I701324
			新型/設計	0	0	0	0	0	
			合計	0	0	0	0	0	
		申請中	發明	0	0	0	0	0	
			新型/設計	0	0	0	0	0	
			合計	0	0	0	0	0	
	B 研發技術轉移	2.先期技術 成果移轉	件數		0	0	0	0	0
授權金(仟元)			0	0	0	0	0		
衍生利益金(仟元)			0	0	0	0	0		
3.技術移轉 (專利)		件數		0	0	0	0	0	
		授權金(仟元)		0	0	0	0	0	
		衍生利益金(仟元)		0	0	0	0	0	
4.技術移轉 (應用技術)		件數		0	0	0	0	0	
		授權金(仟元)		0	0	0	0	0	
		衍生利益金(仟元)		0	0	0	0	0	
5.可移轉 產業技術		(1)技術(件數)		0	0	0	0	0	
		(2)品種/系(件數)		0	0	0	0	0	
C 產學研合作	6.促成合作 研究	件數		0	0	0	0	0	
		金額(仟元)		0	0	0	0	0	
	7.促成投資	件數		0	0	0	0	0	
		投資金額(仟元)		0	0	0	0	0	
	8.促成取得 業界科專	件數		0	0	0	0	0	
		業界投資金額(仟元)		0	0	0	0	0	
9.其他指標 (請自行命名)		(請自填)							



(三) 政策面

項目		目標達成程度	申請預估數	期中達成數	期末達成數	結案後半年達成率	備註 (說明未達成原因或其他詳細資料)
A 服務 便民	1.技術服務	次數	0	0	0	0	
		收入(仟元)	0	0	0	0	
	2.諮詢服務	次數	0	0	0	0	
		收入(仟元)	0	0	0	0	
B 政策 推動	3.協助政府推動 (件數)	(1)政策	0	0	0	0	
		(2)法規	0	0	0	0	
C 技術 效益	4.整治技術提升(%)		0	0	0	0	
	5.整治成本降低(%)		0	0	0	0	
	6.提升能源效率(%)		0	0	0	0	
7.其他指標 (請自行命名)		(請自填)					

三、請依前述學術面、產業面、政策面等預期量化成果，具體敘明研究成

果對本署政策推動之助益。(200字為限)

學術面(如國內外研討會、期刊投稿件數、或人才培育碩博士生說明) 本計畫預期會投稿國外期刊至少一件，並且將計畫成果發表於國內環工年會，人才預計培育2名碩士生及一名博士生學習執行專案及各項生物整治之必要技術。
產業面(如合作研發產業、申請專利、洽談技術移轉廠商件數說明) 本計畫之脫氯包埋膠體已經獲得發明專利(I701324)，並與業界廠商進行進一步商品化。
政策面(如整治費用降低、特定污染物整治效益提升、或提供政府作為監測/管制標準、污染場址管理等政策及法規研訂之參考) 本研究將優化矽膠生物固定材質配方，改良包埋整治工法，使用關鍵脫鹵球菌於包埋膠體之中，有效解決現地脫鹵球菌菌數不足之問題，加速多氯乙析整治速率，減少整治期程降低整治成本。此外，脫鹵球菌可以將氯乙烯完全脫氯至無毒的乙烯，冀透過本模場試驗之成果有效解決現地氯乙烯累積之問題。



專案執行績效審核－自評表

專案主持人		陳師慶		專案名稱		開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋 整治工法：現地模場試驗			
專案類型		☐ 研究型 ☒ 模場型		專案主題		☐ 調查 ☒ 整治 ☐ 其他			
項次	類別	缺失 點數	自評項目	執行單位 檢核		本署 審核			
				是	否				
一	計畫書 核定修正	1 點	依規定期限內備文提送	☒	☐				
		1 點	書面資料完整且無補件情況	☒	☐				
		1 點	報告依格式規定撰寫	☒	☐				
		1 點	依規定期限內上傳電子檔	☒	☐				
		1 點	系統資料依規定期限內登錄且資料登錄完整(含本署專案系統與 GRB 系統)	☒	☐				
二	期中及期末	1 點	依規定期限內備文提送	☒	☐				
		1 點	書面資料完整且無補件情況	☒	☐				
		1 點	報告依格式規定撰寫	☒	☐				
		1 點	依規定期限內上傳電子檔	☒	☐				
		1 點	系統資料依規定期限內登錄且資料登錄完整(含本署專案系統與 GRB 系統)	☒	☐				
三	結案及核銷	1 點	依規定期限內備文提送	☒	☐				
		4 點	結案提送原始憑證清冊及相關資料完整且無補件情況	☒	☐				
四	其他	4 點	計畫主持人配合出席本專案成果發表活動(或指定代理人如協同主持人、同專業且為助理研究員以上職等，備文經本署同意者)	☒	☐				
		1 點	計畫執行者於執行期間與單位內各處室溝通良好，行政作業效率良好。	☒	☐				
合計		20 點		0 缺失點					

註：執行單位於計畫執行期間進行缺失檢核於期中及期末送本署審核，並於期末統一計算。
未依實況登錄者，由本署補登依各階段執行紀錄進行缺失點數扣款。



行政院環境保護署土壤及地下水污染整治基金管理會

109 年度土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案

構想書審查意見表

專案類型	☐ 研究型 ☒ 模場型		申請經費	3,300,000	NO : D2
專案主持人	陳師慶 教授	專案主題	☒ 整治 ☐ 調查 ☐ 其它		
服務單位	國立中央大學 生命科學系				
專案名稱	開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗				
委員一： 1. 本研究案屬 2 年期模場型專案，本計畫團隊目前技術處於 TRL4-6，研究後可達 6-7。 2. 107 年及 108 年已運用土基會經費作研究，已至現地模場。 3. 本團隊之技術第 1 項次已獲得 2019 年臺灣創新技術競賽銅牌。 4. 本模場型專案可予支持。			1. 感謝委員指教。 2. 感謝委員指教。 3. 感謝委員指教。 4. 感謝委員支持。		
委員二： 1. 此為延續性改進現有作業系統計畫，重點在增進現有作業模組之效能。 2. 此團隊有專利技術，技術成熟。 3. 使用方法相對的環境友善，但施作的實質效益仍有待評估。			1. 感謝委員指教。 2. 感謝委員指教。 3. 感謝委員指教，本團隊將會加強效益評估。		



專案類型	☐ 研究型 ☒ 模場型		申請經費	3,300,000	NO : D2
專案主持人	陳師慶 教授	專案主題	☒ 整治 ☐ 調查 ☐ 其它		
服務單位	國立中央大學 生命科學系				
專案名稱	開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗				
委員三： 本研究團隊於前期成果成功開發本土脫氯菌，證實並確認其含氯有機溶劑去除率，本研究擬進一步研究技術優化為商業化產品開發之測試；構想完整、可行性為應用性高。		1. 感謝委員指教。			
委員四： 1. 本計畫屬於模場型與部分研究導向，國內已有相關研究，但對於地下水現地整治的應用仍待驗證。 2. 本計畫屬於模場型與部分研究導向，對現行國內土水污染技術的突破性與技術應用，仍待驗證。 3. 本計畫是否有專利之價值目前不易評估，待有具體的研究成果後，再加以完整的說明。 4. 本計畫的研究成果具有技術轉移、實場應用性的可能性。 5. 本計畫書中對研究工作的構想與規劃的說明完整。 6. 本計畫對研究方法的說明具體，研究工作與執行流程具可執行性。		1. 感謝委員指教，本團隊會加強現地整治應用方面之驗證。 2. 感謝委員指教，目前國內較少直接利用脫鹵球菌於現地，但是國外已有許多成功的案例，因此可以藉由本計畫使我國土水污染技術再更上一層樓。 3. 感謝委員指教，本團隊會加強專利方面之價值成果。 4. 感謝委員指教。 5. 感謝委員指教。 6. 感謝委員指教。			



專案類型	☐ 研究型 ☒ 模場型		申請經費	3,300,000	NO : D2
專案主持人	陳師慶 教授	專案主題	☒ 整治 ☐ 調查 ☐ 其它		
服務單位	國立中央大學 生命科學系				
專案名稱	開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗				
委員五： 1. 關鍵核心技術待釐清。 2. 研究/實際流程未提列。 3. 關鍵參數之控制待釐清。 4. 預期成果待釐清。		1. 感謝委員指教，本計畫關鍵技術為培養脫鹵球菌並且結合包埋法應用到現地整治。 2. 感謝委員指教，本計畫第一年將會先在實驗室中進行脫鹵球菌包埋最佳化測試，並且進場調查以及設井，並於第二年將膠體投入實場測試。 3. 感謝委員指教，脫鹵球菌適合生長於厭氧(ORP< -100mV)且 pH>5.5 之環境，相關環境參數如 TCO、ORP、pH、DO 等等，本團隊會加強相關參數之控制。 4. 感謝委員指教，本計畫之目標將發展創新生物膠體並結合分子生物技術與理念，將計畫結果應用於 TCE 污染以及其他環境整治的生物復育應用。預期成果將產出一脫氯生物膠體，一脫鹵球菌培養技術以及現地包埋整治工法之優化。			



行政院環境保護署土壤及地下水污染整治基金管理會

109 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

☒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	109 年度	計畫類型	☐ 研究型 ☒ 模場型
計畫類別	☒ 整治 ☐ 調查 ☐ 其它		主持人：陳師慶 NO：S-1-4
計畫名稱	開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗		
委員審查意見		計畫單位回覆	
委員一 1. 主持人與計畫執行團隊 (1) 主持人的學術研究能力與技術發展能力均佳，其專業能力足以勝任本專案計畫。 (2) 主持人近五年的研究成效與(或)土水污染技術發展績效佳。 (3) 主持人與計畫執行團隊的學術研究能力與(或)土水污染技術發展能力佳，其專業能力足以勝任本計畫。 2. 送審的專案計畫價值、意義與專案計畫的可行性 (1) 本專案對未來土壤及地下水污染調查及整治等相關工作之推動具有貢獻。 (2) 由計畫申請書內的成果績效自評表可推知，本專案所預估的成果與績效對土水污染整治具有貢獻，但確切的成果仍有待於未來的執行成果中加以詳細說明。 (3) 本專案計畫書撰寫具體，所研擬的研究方法(流程)可行。研究成果於未來實場的實際可能應用性則未具體說明（確切的應用性有待執行成果中加以明確說明）（操作參數、固定化的傳輸因子、耐受性、		1. 感謝委員指教。 2. 感謝委員指教。 (1) 感謝委員指教。 (2) 感謝委員指教，本團隊會加強此部分。 (3) 感謝委員指教，現地脫鹵球菌菌數不足之問題，其關鍵因子為該類菌之生長速率緩慢，目前已知文獻脫鹵球菌 FL2 複製時間為 2.4 天(He et al. AEM, 2005)，脫鹵球菌 VS 複製時間為 2.5 天(Cupples et al. AEM 2003)，脫鹵球菌 BAV1 複製時間為 2.2 天(He et al. Nature, 2003)，因此即便環境因子適當(如 pH、ORP、DO、鹽度、甲烷菌控制等等)，現地之脫氯速率依然不快，且容易累積氯乙烯於現場。 脫氯生物膠體從根本上解決脫鹵球菌不足之問題，且透過膠體之固定減少菌液之使用及避免受到地下水之物理性稀釋，有效的利用包埋之脫鹵球菌。膠體之相關參數如操作參數、固定化的傳輸因子、耐受性、環境因子之干擾等會在未來的計畫中加以釐清。 (4) 感謝委員指教。	



環境因子…等建議評估)(建議評估現場的限制因子為何? 即計畫書中所述之: “…有效解決現地脫鹵球菌菌數不足之問題…”的主要關鍵因子為何? 若是環境因子所致,則本計畫的應用性就有待再評估)。 (4) 本專案計畫書中對相關文獻蒐集與整理尚完整。主持人對國內外本研究領域的發展現況了解。 (5) 本專案計畫的執行期限合理,計畫書中對執行的預期成果也已說明。 (6) 本專案計畫屬延續性計畫的第一年度。	(5) 感謝委員指教。 (6) 感謝委員指教。
委員二 1. 本項計畫擬以二年期程研發高效脫氧生物膠體,並辦理實場測試,計畫書內容完整,目標、工項及期程明確。 2. 本計畫研發團隊包含產業界專業人士,具備學術背景與實務經驗,應可順利執行本案研發工作,並獲致預期成果,提升本土整治技術能力與水平。 3. 計畫書已針對前期審查意見回復,說明並補充相關資料。 4. 模場試驗使用場址已獲業主出具使用同意文件。	1. 感謝委員指教。 2. 感謝委員指教。 3. 感謝委員指教。 4. 感謝委員指教。
委員三 1. 兩年工作目標明確,第一年(實驗室優先)、第二年(模場整治)惟對模場資料掌握彙整不完整。 2. 第一年研究方法五項,未有具體實驗設計及參數掌控,提及後半年現地模場調查,亦無具體方法參數說明。 3. 第二年研究方法皆未提及可行性待釐清。 4. 經費編列欠缺具體需求說明(330 萬 /), 協同主持人(業界)、研究生 7 人	1. 感謝委員指教,模場整治調查資料包含於第一年之後半部,項目有:現地環境參數之測定,菌相測定,污染物測定等等,模場將於第一年之前半年進場測試。 2. 感謝委員指教,本計畫書僅擬定預期完成工作項目,詳細之實驗設計及參數掌控將會詳細說明於期中報告之中。 3. 感謝委員指教,第二年之相關策略及方法將因應第一年之成果後擬定。



工作配置， 5. 專任助理(1 人)、耗材(223 萬)項目，數量需求亦未對稱研究內容負荷編列。	4. 感謝委員指教，協同主持人之工作配置：協助研究計畫環境工程技術之規劃、設計、執行、數據分析判讀與諮詢討論；研究生之工作配置：相關專題與實驗進行之文件文獻整理、菌相大數據分析，研究與實驗工作進行結果討論及整理，協助實驗採樣及定量 PCR 分析，協助培養脫鹵球菌、GC 檢測以及固定化膠體測試及行政作業。 相關人員對應工作則詳細說明於研究經費中的人事費用中。 5. 感謝委員指教，本次計畫並無聘請專任助理，且耗材費經核定為 123 萬，應符合研究內容負荷編列。
委員四 1. 與科技部計畫「開發高效能生物晶片應用在含氯化物生物整治及策略評估」相輔相成，經本計畫現地模場試驗，目標應訂在完成建立監測模式套件並將之商品化。	1. 感謝委員指教。
委員五 1. 已就委員意見回復說明，無進一步意見。	1. 感謝委員指教。



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

審查意見回復對照表

計畫年度	109 年度	計畫類型	☒ 研究型 ☐ 模場型
計畫類別	☒ 整治 ☐ 調查 ☐ 其它	主持人：陳師慶 NO：A10	
計畫名稱	開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗		
委員審查意見		計畫單位回覆	
委員一 1. 期中報告應有進展說明與階段成果展現。 2. 本計畫為「現場模場試驗」，研究方法應有照片(設備)，實作日期等說明。 3. 工作項目-成果宜掌握。		1. 感謝委員指教，本團隊會加強此部分 2. 感謝委員指教，因本計畫之初期為實驗室開發，本團隊未來於現地模場試驗中會加強此部分。 3. 感謝委員指教，本團隊會加強此部分。	
委員二 1. 批次實驗目前仍在進行中尚未完成，似與期中預定查核點有差異。 2. 目前進行之項目，不知哪些工作該團隊於 107 年執行之計畫成果，亦或本計畫執行之成果，寫明確分別出來。 3. 於報告中宜多提供現場工作之照片，較易了解其工作進行之方式。 4. 本計畫於 KPI 之承諾，缺少了計畫衍生之效益指標，以經驗之規模，沒有效益之指標，實屬可惜。 5. 報告書內容涉及之原理原則太多，不易閱讀。		1. 感謝委員指教，批次實驗將於 8 月份前全數完成，目前進度符合查核點。 2. 感謝委員指教，目前進行之項目皆為本計畫執行之結果，並無重複使用到 107 年執行成果，將會在修正稿中補充表列本次計畫與先前計畫差異之處，並評估可能獲得成果。 3. 感謝委員指教，因本計畫之初期為實驗室開發，本團隊未來於現地模場試驗中會加強此部分。 4. 感謝委員指教，本計畫之技術已成功申請到發明專利一件，已獲初審核准(申請號:108114190)，未來本計畫之技術將可以與公司協商技轉或者商業化的可能性。 5. 感謝委員指教，脫鹵球菌之培養所需要的相關知識非常的多，許多文獻皆報導本菌非常難培養，本團隊彙整了培養脫鹵球菌的重要參數，藉由本團隊之成功案例，提供台灣未來於含氯有機物之研究者參考，已提升我國土水整治實力。	



委員三 1. P.14 宜列明所開發高效脫氯生物膠體適用場域。 2. P.33 宜列明脫鹵球菌穩定性與生長變異性。 3. P.41 宜評析各種含氯有機物濃度對微生物生長與污染物處理效能之影響。 4. P.45 宜規劃進行實場測試與處理效能分析。 5. P.46 宜規劃進行連續管柱測試，以利了解實用性。	1. 感謝委員指教，本膠體預計使用於多氯乙烯污染地下水之場域。 2. 感謝委員指教，本團隊可以穩定培養脫鹵球菌，並且可以持續繼代數十代，由於脫鹵球菌於解凍後須再花費半年重新活化，目前本團隊需辛勤繼代高活性脫鹵球菌，其脫氯活性每一代皆穩定。 3. 感謝委員指教，本團隊將會評估其他種類的含氯有機物用於篩選脫氯菌群。 4. 感謝委員指教，本實驗將以現地地下水作為實場測試之效能評估，將會測定多氯乙烯變化、qPCR 菌數分析、菌相分析，最終結果將形成整治策略。 5. 感謝委員指教，本計畫目前無規劃進行連續管柱測試，將會挖井並進行現地整治以了解實用性。
委員四 1. P.35 章節 4.4 及 P.40 章節 4.5 均有提及 107 年度執行計畫，在先前執行成果下進行精進研究，故建議報告書內文表列本次計畫與先前計畫差異之處，並評估可能獲得成果。 2. 本技術具有實場應用性，但是因實場整治應用時，三氯乙烯可能降解為毒性更高的氯乙烯，若未妥善進行水力控制並掌握整治時效，可能造成毒性較大污氯乙烯污染擴散，故建請列入評估。	1. 感謝委員指教，本團隊將會表列本次計畫與先前計畫差異之處，並評估可能獲得成果。 2. 感謝委員指教，本團隊針對氯乙烯之部份，已特別選用特化氯乙烯降解之脫鹵球菌 BAV1，該菌擁有脫氯酵素 <i>bvcA</i> 可即時降解二氯乙烯及氯乙烯，產生無毒之乙烯，此菌為本次高效脫氯膠體之重要核心，水力控制及整治時效之部份，本團隊會加強監測力度，確保無二次污染產生。
委員五 1. 本研究培養脫鹵球菌，開發本土脫氯共生菌群，同時開發高效脫氯生物膠體，包埋脫鹵球菌與產氫菌，以污染攔截牆工法，提升整治成效。 2. 脫鹵球菌可以包埋後，球菌的活性維持時間，應進行評析。	1. 感謝委員肯定。 2. 感謝委員指教，膠體內之脫鹵球菌的脫氯活性可以維持超過 68 天，此項特性已於膠體長效性及再利用性批次實驗證明，並且同時該實驗持續進行中，目前已超過 90 天膠體內的脫鹵球菌皆保有脫氯活性，因此本膠體非常適合



3. 本計畫擬大量培養脫鹵球菌，使得菌量達可以達應用於現地整治之標準，建議說明相關欲達成的指標。 4. 包埋菌數是否影響脫氯效率，如何控制菌數進行脫氯膠體包埋，建議補充說明。 5. 期中報告指出，膠體可以重複使用至少 9 次以上，建議補充說明現地應用時，如何將膠體重複使用。	應用於實務中長時間整治之需求。 3. 感謝委員指教，本團隊已可以在 9 天大量培養 1L 飽和脫鹵球菌，其菌量可達 10^{11} copies/L，未來在填充每根膠體管柱時需要接近 10 公升之飽和脫鹵球菌，平均每根脫氯膠體管柱總菌數將可達 10^{12} copies，足以利用於現地整治。 4. 感謝委員指教，包埋菌數的確影響脫氯速率，本研究測得當膠體菌數密度達 10^{10}/mL 時，有最佳之脫氯速率，包埋菌數將控制於凝膠前的濃縮菌液之添加量，可以使用離心或者過濾達到菌液濃縮之目的。 5. 感謝委員指教，污染物回流或者溶出是現地整治常見之現象，經常使得污染物濃度再一次上升，同時地下水活化之脫鹵球菌亦會被地下水沖刷而散失，本實驗在模擬現地若有上述之情況發生時，膠體是否可以再一次維持其脫氯活性，本膠體之重複使用及長效之特性已於膠體長效性及再利用性批次實驗證明，因此本膠體非常適合應用於實務中因應污染物變化之需求。
委員六 本計畫期中報告查核點符合預定進度。	感謝委員肯定。
專案主持人：_____（簽名及蓋章）	



行政院環境保護署「土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案」

☐申請計畫書 ☐期中報告

☐修正計畫書 ☒期末報告

審查意見回復對照表

計畫年度	109 年度	計畫類型	☒ 研究型 ☐ 模場型
計畫類別	☒ 整治 ☐ 調查 ☐ 其它	主持人：陳師慶 NO：A10	
計畫名稱	開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗		
委員審查意見		計畫單位回覆	
委員一： 1. 研究成果展現請檢視研究目的/內容(5項)對照說明。 2. 新型膠體配方之有效性/改進效果為何？		1. 感謝委員指教，已將研究成果對應研究目的補充於第五章中。 2. 感謝委員指教，經本團隊優化之脫氯膠體，可成功包埋產氫菌及脫鹵球菌於膠體之中，並且確認本膠體可以長時間使用長達 183 天以上，並且可以維持脫鹵球菌及產氫菌之活性，膠體可以重複使用至少 26 次以上，因此具有現地應用之潛力。	
委員二： 1. 本計畫書撰寫邏輯請重新整理，尤其是前言與目的宜就緣起及為解決什麼問題，而不是撰寫教科書方式，與抬頭並無關聯。 2. 目前所得之實驗結果及數據，與當初之預期是否有落差。惟第二年模場之實驗之規劃要如何進行，可能會遭遇之問題，宜先提出預作準備。 3. P.65 頁所提出之甘特圖為預期之期程及工作項目，宜補充實際執行有無差異，差異在哪裡，如何克服等等，請於報告中補充。		1. 感謝委員指教，第一章已修正為計畫前言與文獻探討，第二章維持研究目的。 2. 感謝委員指教，本計畫第一年之執行結果符合計畫預期，在脫氯膠體的長效性及脫氯活性驗證上有豐碩的成果。第二年的模場實驗本團隊在 108 年度環保署計畫中已有執行經驗，將會對於氯乙炔，pH 及 ORP 進行嚴格監控，提前排除各種整治失敗的相關問題。 3. 感謝委員指教，已修正第六章之查核點檢驗，並註記已完成之項目，並且標註對應之第四章及第五章頁數，即可對應執行差異度及解決方法等，報告內皆有詳盡討論。	
委員三： 1. 第一章計畫前言與研究目的、第二章研究目的，兩者是否為重複敘述；綜審目前第一章大部分內容偏向文獻回顧，建議相關內容移至第二章，並將第		1. 感謝委員指教，第一章已修正為計畫前言與文獻探討，第二章維持研究目的。 2. 感謝委員指教，已修正第六章之查核點檢驗，並註記已完成之項目，並且標	



二章名改為文獻回顧。 2. 第六章僅放研究甘特圖，且無文字說明，建議補充並合併至第四章或第五章，最後章節建議為全案計畫結果與討論、建議；另外 P.63 右上標為「結果與建議」，建議修正章節名稱相同(結論與建議)。 3. 本計畫結論未評估三氯乙烯若降解為毒性更高的氯乙炔，故需要規劃各項對策(如水力控制或複合式整治等技術)，可能造成毒性較大之氯乙炔污染擴散，造成本技術於實場應用之障礙，應結合適當監測，以減少危害風險。 4. 本研究之目的明確，實驗方法架構清晰，結論具體可行，成果豐碩，達成計畫之預期目標。 5. 建議於模場試驗後，建立整治技術之整治成本與相關參數，以供大規模應用參考。	註對應之第四章及第五章頁數，完成章節合併，因此，計畫結果與建議則維持原本第五章，並且將第五章之標題修正為結論及建議。 3. 感謝委員指教，這個部分已經補充於 P64，三氯乙烯若降解為毒性更高的氯乙炔，倘若氯乙炔維持時間過長足以影響計畫期程，本團隊將使用生物添加方法將本團隊所開發之高效脫氯菌群，直接提升現地脫氯速率，達到完全脫率，氯乙炔及相關污染物將會密集監控。 4. 感謝委員肯定。 5. 感謝委員肯定，本團隊將會於第二年期末報告檢附本整治技術之整治成本，以利於未來相關從業者可以參考應用於大規模場地。
委員四： 1. 計畫報告完整，成果豐碩。 2. 建議評估脫鹵球菌的培養成本分析。 3. 本研究目前可以進行單批次之厭氧培養，所使用的厭氧培養液體積可達1公升，建議未來進一步探討大量生產的相關參數及反應器設計。 4. 建議針對包埋的載體特性做更完整的分析，以了解相關的質傳參數及效果。 5. 建議補充說明共包埋產氫菌及脫鹵球菌的相關數據。 6. 建議未來評估本整治方法的成本分析。 7. 如何控制 ORP<-200mV 8. 包埋菌種的營養源，如何在現地進行提供。	1. 感謝委員肯定。 2. 感謝委員指教，脫鹵球菌的成本分析，由於培養脫鹵球菌為高門檻之技術，因此初步分析人力成本將佔 50%，設備耗材佔 20%，培養基佔 20%以及 10%相關場地費用。 3. 感謝委員指教，本團隊已經研發出可量產之脫氯菌群製程，未來可達到百升以上的量產規模，可參考呂等 (2020)，脫鹵球菌生物添加應用及本土高效氯群篩選，2020 環工學會第 32 屆年會暨各專門學術研討會，中央大學。 4. 感謝委員指教，本團隊所開發之膠體並不會在地下水中移動，因此無法討論膠體顆粒的質傳參數，但是，本膠體所包埋的微生物可藉由擴散釋放到地下水中，且細菌具有化學趨向性，往高



	濃度的污染處移動，因此，可以藉由分子生物工具監測菌數的分布探討本膠體的效果。 5. 感謝委員指教，共包埋產氫菌及脫鹵球菌以詳盡研究於 4.4 章中，本膠體是目前首度將脫鹵球菌及產清菌包埋的技術。 6. 感謝委員指教，本團隊將會於第二年之期末報告中加入成本分析。 7. 感謝委員指教，透過加入還原劑(如 Na_2S)即可達到 ORP 約-200，另外藉由厭氧指示劑(刃青天)可確認厭氧狀態，相關學理機制計載於 P28 中。 8. 感謝委員指教，本包埋膠體將會搭配生物刺激法，因此營養源將會來自外部添加。
委員五： 1. 團隊已成功建立脫鹵球菌培養之絕對厭氧系統，可於 10 天內降解 TCE 至 VC。 2. 中文摘要宜含研究成果，期中意見 1(適用場域)、意見 2(穩定性與生長變異性分析)、意見 5(連續管柱測試)尚未列明，宜再予以補充。 3. 第一代與第五代反應差異頗大，尤其 VC 濃度，宜加強探討所培養細菌是否變異及其穩定性。 4. 宜評估其他污染物對本系統之影響，尤其最佳條件建立(尤其乳糖脫氯膠體比例)。 5. 宜列明本系統反應前後菌相變化之差異性，尤其長期(超過 10 天)運轉變化。	1. 感謝委員肯定，本計畫的結果並非 10 天內降解 TCE 至 VC，而是 10 天內降解 cDCE 至乙烯(Ethene)，兩者實場貢獻意義差異甚大，本團隊的技術可解決業界常見的 cDCE 及氯乙烯累積問題。 2. 感謝委員指教，摘要部分已經補充研究成果，期中意見 1: 本膠體預計使用於多氯乙烯污染地下水之場域。；意見 2: 本團隊可以穩定培養脫鹵球菌，並且可以持續繼代數十代，由於脫鹵球菌於解凍後須再花費半年重新活化，目前本團隊需辛勤繼代高活性脫鹵球菌，其脫氯活性每一代皆穩定活性。；意見 5: 本計畫目前無規劃進行連續管柱測試，將會挖井並進行現地整治以了解實用性。 3. 感謝委員指教，這裡指的第一代是剛從環境中或者冷凍管中接種的細菌，其生理狀況較差，因而會影響 VC 的脫氯程度，但是隨著繼代後，通常於第



五代後可以達到穩定的活性及快速脫率，時常的繼代為保持高活性脫鹵球菌的秘訣。

4. 感謝委員指教，本團隊將會評估其他污染物對於系統之影響，如常見污染物 1,2-DCA，但是由於場地已確認關鍵污染物為 TCE 並無其他污染物，因此相關實驗將會在未來其他計畫中進行。

5. 感謝委員指教，由於本次批次實驗已於 30 天內將污染物完全降解，因此，取樣的時間點設定為第 30 天，反應前的菌相應與自然降解組做對照，其變化差異性已撰寫於 4.6.1 中。

專案主持人：_____（簽名及蓋章）



行政院環境保護署土壤及地下水污染整治基金管理會

110 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

☒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	110 年度	計畫類型	☐ 研究型 ☒ 模場型
計畫類別	☒ 整治 ☐ 調查 ☐ 其它	主持人：陳師慶 NO：S4	
計畫名稱	開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗		
委員審查意見		計畫單位回覆	
委員一 1. 第二年著重於現地整治，工作重點為評估脫氯生物膠體之速率。如何採樣與觀測頻率以及對照組為何，應說明是如何評估。		1. 感謝委員指教，本團隊會定期(1-2 周)以貝勒管於簡易井中進行微洗井採樣，監測各項水質參數、關鍵脫氯菌數以及污染物 VOCs 之變化，對照組設定為生物刺激法。	
委員二 1. 初審意見說明對稱，惟未具體說明修正內容。		1. 感謝委員指教，本團隊會具體說明已修正之內容。	
委員三 1. 主持人與計畫執行團隊 (1) 主持人(協同主持人)與執行團隊的研究及技術研究發展績效良好。 (2) 主持人與執行團隊的研究能力及技術發展能力佳，足以勝任本計畫(延續性)。 2. 送審的專案計畫價值、意義與專案計畫的可行性 (1) 本專案對未來土壤及地下水污染調查及整治等相關工作之推動具有貢獻。 (2) 本計畫書撰寫具體(延續性)，對研究方法的說明完整，研究方法與試驗流程具可行性。 (3) 本計畫的成果具有潛在的實場應用性。 (4) 本計畫為多年期的模場試驗計		1. 感謝委員指教。 (1) 感謝委員肯定。 (2) 感謝委員肯定。 2. 感謝委員指教。 (1) 感謝委員肯定。 (2) 感謝委員肯定。 (3) 感謝委員肯定。 (4) 感謝委員肯定。 (5) 感謝委員肯定。 (6) 感謝委員指教，本計畫所開發之高效脫氯膠體中包埋了珍貴的脫鹵球菌以及輔助菌株產氫菌，提供膠體內共生脫氯的環境，然而，脫鹵球菌為絕對厭氧細菌，因此，本膠體適用於場地已處理生物藥劑呈現厭氧態(ORP < -50mV)。同時，脫鹵球菌需要中性環境(pH 6~8)，因此場地之水質參數監控為本工法之重點。本	



畫，具計畫的延續性。 (5) 主持人與執行團隊曾執行過土污基金會的模場(或研究)研究計畫，之前的專案執行績效佳。 (6) 建議說明本計畫成果實務應用的適用情境(例如：地下水質的背景條件與合理的參數範圍)與應用的限制條件(例如：濃度的影響膠體的使用期限、膠體的質傳限制...等等)。 (7) 建議說明本計畫成果實務應用的適用情境及該情境下與其他可行整治工法的成本效益比較。 (8) 建議說明(初步的，簡要的)操作的 SOP (例如：系統的厭氧環境的維持與監測...等等)。	膠體在實驗室的研究中已證實膠體可以使用超過半年(>180 天)，耐受環境污染物濃度可超過 400ppm，可維持脫氯活性。由於膠體為固定材質，將會被固定於簡易井中，本體不會進行傳輸，然而，膠體中的脫鹵球菌可以生長且釋放於膠體外，於過去文獻中直接添加脫鹵球菌於地下水層中，可被觀測到傳遞超過 30m(Major et al., 2002)，因此，脫鹵球菌的傳輸範圍可以評估本脫氯膠體的反應範圍。 (7) 感謝委員指教，本團隊目前已開發高效本土脫鹵球菌群以及本計畫之脫鹵球菌固定化膠體，適用於上述之地下水環境，其中，本計畫之膠體更適合應用於地下水流速較快之場地，倘若直接添加菌液，在高流速之環境中容易流失，補充菌液之頻率高，然而，固定化膠體可以有效處理此問題，提供使用者需要緩慢釋放脫鹵球菌之功效，因此可以降低細菌補充之成本。 (8) 感謝委員指教，本工法可以與目前業界之整治工法相容，僅需在整治營養鹽添加後一周確認場地符合厭氧環境且 pH 中性，即可將管柱綁至井蓋中，懸掛於地下水井進行整治。
委員四 1. 計畫書提出主要研究目標有六，然此六項均為研究項目及目的，非目標，	1. 感謝委員指教，研究目標為本計畫之研究方向，具體工作目標撰寫於第五章之預期工作項目，今年具體的工作目標如下： (1) 持續培養脫鹵球菌，開發共生脫氯菌群。



建議更改用詞並提出具體的目標。 2. 上述哪些研究項目及目的在第一年已達成，宜有明確的說明。 3. 第二年計畫書提出主要研究「目標」之五為「優化矽膠生物固定材質配方，降低固定化產氫菌顆粒成本將技術商品化，第一年度已完成之「評估新型矽膠配方、改良基質與混和包覆生物膠體應用於實場策略」工項，而在工作項目甘特圖內，在兩年的工作項目中，僅有在第一年有「固定化材質測試」的工作項目，是否這些工作項目(研究目的)都是指向同一件事，請釐清。 4. 第一年工作項目有「模場整治策略與成本效益評估」，此和第二年工作項目「生物復育技術整治成本與效益評估」之間的差異，請補充說明之。	(2) 添加灌注改良型釋碳基質與脫氯生物膠體管柱，定期監測模場 TCE 降解速率與地下水性質分析。 (3) 利用次世代定序技術檢測多氯乙烯污染物在水相降解過程中微生物相 (Microbiota) 之變化。 (4) 利用即時定量 PCR 測定模場內脫氯菌與三種多氯乙烯降解基因變化。 (5) 定期監控地下水中氫氣競爭菌群變化。 2. 感謝委員指教，於第五章之預期工作項目中已標註第一年已達成之項目，如下： (1) 改良固定化矽膠材質配方大幅降低成本並分析矽膠特性與產氫效率關係。 (2) 建立絕對厭氧操作平台，大量培養 <i>Dehalococcoides</i> 菌株。 (3) 混和包覆產氫菌與脫氯球菌，以批次實驗測試脫氯生物膠體操作條件與 TCE 降解變化。 (4) 評估新型矽膠配方、改良基質與混和包覆生物膠體應用於實場策略，做為第二年度現地模場試驗整治工法使用。 (5) 設置現地模場整治灌注井以及監測井，進行初步場地地下水性質分析、污染物分析以及菌相分析。 3. 感謝委員指教，膠體優化的部分的確為第一年之工作項目，本計畫書內容為兩年期，具體已完成及未完成之工作項目已明列於第五章之預期工作項目，第二年為場地驗證。 4. 感謝委員指教，第一年的工作項目「模場整治策略與成本效益評估」主要為場地水質及菌相資訊之前期調
---	--



	查，用以提供第二年的生物整治策略。第二年的工作項目「生物復育技術整治成本與效益評估」主要在於評估實際於場地整治後的整體效益評估。
委員五 1. 第1年著重於球菌之培養及水質水樣污染物之分析，第2年進入模場試驗整治工法之使用，其成果令人期待，惟宜仍注意未來實場整治之可操作性。	1. 感謝委員肯定。
委員六 1. 需注意成本效益分析。	1. 感謝委員指教，本團隊會於期末報告評估實際於場地整治後的整體效益。
委員七 1. 本案為第二年實場整治，可於實場取得具體驗證成果，結合過往研究成果，具體與實際需求結合。 2. 成果績效自評表，產業面項目均為0，惟預期成果有降低固化產氫菌之商品化，應可再評估填列。	1. 感謝委員指肯定。 2. 感謝委員提醒，本計畫於第一年期已獲得本包埋產氫菌株之發明專利(I701324)，為本計畫之重要成果，修訂稿中將填列。



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

審查意見回復對照表

計畫年度	110 年度	計畫類型	☐ 研究型 ☒ 模場型
計畫類別	☒ 整治 ☐ 調查 ☐ 其它	主持人：陳師慶 NO：D8	
計畫名稱	開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗(二)		
委員審查意見		計畫單位回覆	
委員一 4. 生物菌相之變化與現地條件、試驗條件之連結，宜有深入之討論。 5. 後續此技術之應用範圍或限制，宜有進一步討論與說明。		1. 感謝委員指教，相關論述已經補充於章節 4.8.2。 2. 感謝委員指教，使用範圍討論在章節 4.7。在使用限制上，脫氯膠體是基於生物刺激功法的延伸，因此本功法適用於生物整治的場地。	
委員二 6. 脫氯膠體除能有效移除污染物外，也能持續對新流進的外源污染物持續降解，惟持續期間與效果建議能多加著墨。 7. 期末報告建議能對成本效益進行完成評估。		1. 感謝委員指教，本研究之脫氯膠體可以長效使用將近 260 天，直到地下水污染物完全移除，並且可以持續維持整治效果。 2. 感謝委員指教。	
委員三 6. P.17 圖 4 中似未標示出地下水流向，另外，P.27 圖 6 與圖 4 的相對關係，建議能進一步補充說明。 7. P.22 至 P.24 文字敘述中的表編號，與實際表編號不一致，請檢核修正。另外，P.40 倒數第 5 行的圖 6，似應改為圖 7，請修正。 8. 本研究已有 1 篇國際期刊論文發表，值得肯定。 9. 本計畫以實際污染場址進行實地研究，期望所開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋技術，可提供更多相同型式污染場址應用。		1. 感謝委員指教，已於圖 4 補充地下水流向，並於內文增加補充說明。 2. 感謝委員提醒，已修正圖表編號。 3. 感謝委員肯定。 4. 感謝委員肯定。	
委員四 3. P.58 工作預期進度與完成之項目宜詳		1. 感謝委員指教，詳細完成部分已撰寫於 P.57，實際進度於甘特圖中已標示	



細說明，以利了解實際進度。 4. 經費支出進度亦應說明。 5. 章節編排 Ch2、Ch5、Ch6 各只有 2 頁， 期末報告可再重新修正。	完成度。 2. 感謝委員指教，經費支出符合計畫預期。 3. 感謝委員指教，已依照期末報告格式標準撰寫。
委員五 2. 期中報告進度符合預期進度。 3. 自評表執行期程請更正為期中。 4. 已獲得包埋微生物膠體、其製備方法 以及降解含氯有機物專利發明。 5. 使用脫氯膠體搭配生物刺激工法，可 以迅速改善地下水污染成效，cis-DCE 降解率可以達到 80-100%。 6. 建議期末報告能列出最佳操作條件及 比較目前方法之成本效益。	1. 感謝委員肯定。 2. 感謝委員指教，已修正自評表。 3. 感謝委員肯定。 4. 感謝委員肯定。 5. 感謝委員指教。



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

審查意見回復對照表

計畫年度	110 年度	計畫類型	☐ 研究型 ☒ 模場型
計畫類別	☒ 整治 ☐ 調查 ☐ 其它	主持人：陳師慶 NO：D8	
計畫名稱	開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗(二)		
委員審查意見		計畫單位回覆	
委員一 6. 目前執行之計畫為第 2 年計畫，著重於應用取得專利之脫氯膠體，包埋脫鹵球菌搭配生物刺激工法進行現地模場實驗，並提供成本效益分析比較。 7. 現地井位配置密集，如何確認地下水逕流未造成混合，而影響成果分析？ 8. 脫氯膠體本身對含氯有機物是否有吸附作用？序列降解中是否有估算質量平衡，以了解如揮發、吸附等其他非生物作用可能影響之處理效益？ 9. 本計畫延續先前研究，並於現地得到效益驗證，符合年度進度，並完成所預期之研究目的，值得肯定。 10. P.38 圖 19 誤植為圖 20；內容建議以實際完成方式修改陳述。		1. 感謝委員肯定。 2. 感謝委員指教，由圖 19 的生物膠體階段可以得知，IW01 有脫氯反應產生，然而 IW02 並無脫氯反應，因此可以證明地下水井間無地下水逕流混合的狀況。 3. 感謝委員指教，本計畫已於第一年研究成果中證實本膠體並無吸附作用。本團隊於本現地實驗中設計不同階段如生物刺激、生物膠體以及整治後等，證實非生物性作用在這個場地影響較少，本場地經過生物膠體處理後顯示厭氧脫氯為主要降解反應。 4. 感謝委員肯定。 5. 感謝委員指教，已按委員意見修正完成。	
委員二 8. 本計畫所執行的工作項目及內容說明具體詳盡，整體的研究成果符合預期，值得肯定。 9. 脫氯膠體及包埋整治工法能有效移除污染物，亦能持續對新流進的外源污染物持續降解；對技術上的成本效益與產學合作效果亦有具體成效。 10. 建議能在社會影響及政策建議上多加著墨。		1. 感謝委員肯定。 2. 感謝委員肯定。 3. 感謝委員指教，已按委員建議將政策建議撰寫於第 5.3 小節，生物添加法可以大幅減少整治期程及成本，並且可與目前台灣地下水整治工法結合，大幅提升整治成效。	



委員三 10. 第一章標頭與實際名稱不一致，請修正。 11. P.14 第 13 行，期中報告應改為期末報告，請修正。 12. 現地模場場址之汙染來源，根據地下水流向為來自廠外，對於該廠址之後續整治工作，建議能進一步提供意見，以供廠商參考。	1. 感謝委員指教，已修正標頭名稱。 2. 感謝委員指教，已修正內容。 3. 感謝委員指教，本團隊已建議模場可以增設脫氯膠體汙染攔截牆去對抗外來汙染源的侵害，已與廠商有進一步的設井規劃。
委員四 6. 通過專利並與業界廠商進一步商品化，值得鼓勵。 7. 自評表未填寫期末達成數，建議補充。 8. 經費使用狀況。 9. 場址補充資料整理清楚，值得其他計畫參考，是否移到前面章節，更清楚理解。	1. 感謝委員肯定。 2. 感謝委員肯定。 3. 感謝委員指教，本計畫經費已全數使用完畢，將繳交經費使用總表於土基會。 4. 感謝委員指教，由於場址資料繁多，礙於篇幅，本團隊將內文標注出處補充資料，增加讀者閱讀性。
委員五 7. 計畫執行工作項目及內容說明具體詳細。 8. 計畫進度達成預定目標。 9. 計畫成果已發表論文及獲得發明專利，成效良好。 10. 使用脫氯膠體搭配生物刺激工法，可以迅速改善地下水汙染物之整治成效，減少整治時間及成本。 11. 研究成果後續可與廠商合作商品化，進行技術轉移。另對於生物膠體之持久性多長，建議進一步瞭解。 12. 土基會基金補研究計畫已有多項涉及生物菌種，建議先將本年度計畫研究成果生物菌種，先送土基會彙整，未來再建立平台。	1. 感謝委員肯定。 2. 感謝委員肯定。 3. 感謝委員肯定。 4. 感謝委員肯定。 5. 感謝委員指教，本膠體的持久性已於計畫第一年提出證明可至少連續使用 180 天以上，因此建議現地使用膠體可以半年更換一次。 6. 感謝委員指教，本計畫中使用的是脫鹵球菌 <i>Dehalococcoides mccartyi</i> strain BAV1，本菌株過去發表於 Nature 期刊，是一株值得用於研究分析脫氯反應的模式物種。此外，本團隊亦陸續分離相關本土地下水功能性菌種，如產氫菌、脫鹵球菌或維他命 B12 生成菌等等，未來將會成立台灣之整治菌種資料庫以利於台灣未來多變的生物整治工法研究。



二、研究成果中英文摘要

中文摘要

三氯乙烯含氯有機物因其特性為比水重之非水相液體(dense non-aqueous phase liquid, DNAPL)，進入地下環境後，因其低黏滯性使其可在地表下快速移動，低表面張力使其容易穿入土壤小孔隙或岩石裂隙，造成整治困難度高。生物整治法被喻為自然、環保及節能的處理技術，也是目前環境污染整治的趨勢。現地生物復育技術可行性其中最重要條件之一為場址本身須具有可降解污染物之微生物。當場址中可降解污染物微生物數量較低或場址整治急迫性高時，可額外添加微生物進行生物強化(Bioaugmentation)整治受污染之場址。雖然許多微生物已證明可降解 TCE 至中間產物 Vinyl chloride (VC)，但 VC 具有更高毒性和累積性，因此如何去除環境中 VC 污染，是生物復育一項重要課題。本研究第二年度欲應用本團隊所開發之脫氯膠體於現地地下水污染整治，本場地使用生物刺激工法無法達到改善地下水污染物之成效，會導致地下水累積 *cis*-DCE。然而，使用脫氯膠體搭配生物刺激工法，可以迅速改善地下水污染物之整治成效，*cis*-DCE 可以被完全脫氯成乙烯，*cis*-DCE 降解率可以達到 80-100%，同時，位於上游之脫氯膠體反應井功效範圍至少可以影響到下游 6m 的下游井。並且對於新流進的外源污染物可以持續降解，單一脫氯膠體可以使用超過 250 天以上，本生物膠體整治工法可以達到良好的污染攔截效果。

關鍵字：脫氯球菌、生物膠體、氯乙烯、完全脫氯





英文摘要

Chlorinated organic compounds such as trichloroethene (TCE), which characteristic is dense non-aqueous phase liquid (DNAPL). When entering the underground environment, it can move rapidly under the surface due to its low viscosity, and its low surface tension makes it easy to penetrate the soil small pores or rock cracks, causing remediation difficult. Bioremediation has been hailed as a natural, eco-friendly and energy-saving treatment technology, and also the current trend of environmental pollution remediation. One of the most important conditions for on-site bioremediation technology is that the site itself must have microbes that can degrade contaminants. When the number of the degradable microbes at the site is low or the remediation site is of high urgency, additional microorganisms may be added for bioaugmentation to remediate contaminated sites. Although many microorganisms have been shown to degrade TCE to the intermediate product Vinyl chloride (VC), VC is more toxic and cumulative, so how to remove VC contamination in the environment is an important issue in biological breeding. In the second year of this study, we intend to apply the dechlorinated colloid developed by our team to groundwater pollution remediation on-site. In the mid-term progress, it was verified that the biostimulation method used in this site could not achieve the effect of improving groundwater pollutants, and it would cause groundwater to accumulate *cis*-DCE. However, the use of dechlorinated colloids with biological stimulation methods can quickly improve the effectiveness of groundwater pollutants remediation. *cis*-DCE can be completely dechlorinated into ethylene, and the degradation rate of *cis*-DCE can reach 80-100%. The efficiency range of the dechlorinated bio-gel reaction well can affect the downstream wells at least 6m downstream. In addition, the newly introduced exogenous pollutants can be continuously degraded. A single dechlorinated bio-gel can be used for more than 100 days. The dechlorinated bio-gel remediation method can achieve a good pollution interception effect.

Keywords: Dehalococcoides, Bio-gel, Vinyl Chloride, Completed Dechlorination





行政院環境保護署

110 年度土壤及地下污染整治基金補助研究與模場試驗專案

目次

第一章：計畫前言與文獻探討	1
1.1 三氯乙烯 (TCE)	1
1.2 含氯場址整治方法	2
1.3 厭氧還原脫氯生物研究	5
1.4 無氧代謝降解-還原脫氯	6
1.5 參與厭氧降解的細菌	6
1.6 酵素和功能性基因參與 PCE/TCE 厭氧脫氯作用	7
1.7 產氫菌加強 TCE 分解	9
1.8 包埋固定化菌株技術應用	10
第二章：研究目的	14
第三章：研究方法與過程	16
3.1 試驗地下水之介紹	16
3.1.1 目前場址營運狀況	16
3.2 模場試驗設井規劃	17
3.3 絕對厭氧操作方法	18
3.4 脫鹵球菌培養方法	19
3.5 地下水基本性質分析	19
3.5.1 地下水水質參數分析 (酸鹼值 (pH)、導電度 (EC)、氧化還原電位 (ORP)、溶氧量 (DO))	19
3.5.2 地下水總溶解性有機碳分析	19
3.5.3 地下水樣品 genomic DNA 萃取	19
3.6 DNA 純化	20
3.7 基因選殖	20
3.8 即時聚合酶鏈鎖反應(Real-time PCR)	22
3.8.1 標準品製備	22
3.8.2 qPCR 上機步驟	23
3.9 TCE 相關代謝物 GC 層析檢測	25
3.10 次世代定序菌相分析組裝流程	25
第四章：實驗結果	27
4.1 地下水井設置及整治期程設置	27
4.2 模場運轉前現地菌群特性解析	30



4.3 脫氯膠體管柱配置及現場設置圖	31
4.4 整治基本環境參數分析	32
4.5 電子提供者及電子競爭者分析	37
4.6 關切污染物及整治成效分析	40
4.7 現地脫鹵球菌菌數及功能性基因分析	45
4.8 模場整治之菌相分析	47
4.8.1 原始數據品質檢測及有效序列分析	47
4.8.2 Metagenome 菌相分析結果.....	48
4.9 模場整治效益及策略評估	58
第五章： 結論與建議	60
5.1 現地地下水菌群特性	60
5.2 脫氯膠體生物整治工法成效	60
5.3 建議.....	61
第六章： 研究進度及預期完成之工作項目（甘特圖）	62
第七章： 參考文獻	64



行政院環境保護署

110 年度土壤及地下污染整治基金補助研究與模場試驗專案

圖次

圖 1. 含氯有機物降解路徑與代謝基因圖	8
圖 2. 細胞固定方式示意圖.....	11
圖 3. 研究架構與實驗流程圖.....	15
圖 4. 本計畫場址位置圖、地下水流向、灌注井與監測井示意圖	17
圖 5. 厭氧培養用之加氣站設計圖(A) 操作面板，包含流量調節計、壓力計、氣體控制伐(B) 操作面板背面管線配置圖 (C) 銅管加熱器 (Speers, et al., 2009)	18
圖 6. 灌注井及監測井之設置圖.....	27
圖 7. 場地期程階段示意圖.....	28
圖 8. 整治階段生物刺激井及脫氯反應井配置示意圖(GW 代表地下水流向) ..	28
圖 9. 現地菌群降解 TCE 之批次實驗及優勢菌相分析(Hermon, et al. 2019)...	30
圖 10. 脫氯膠體菌棒設置示意圖.....	31
圖 11. 反應井及監測井之 pH 變化圖	32
圖 12. 反應井及監測井之導電度變化圖	33
圖 13. 反應井及監測井之溶氧變化圖	34
圖 14. 反應井及監測井之氧化還原電位變化圖	35
圖 15. 反應井及監測井之總碳源濃度變化圖	36
圖 16. 反應井及監測井之氫氣變化圖	37
圖 17. 反應井及監測井之甲烷變化圖	38
圖 18. 土壤及地下水環境之氧氣與氧化還原之條件之相關術語示意圖，紅框代表為脫氯反應產生之氧化還原位階，藍框代表甲烷生成之氧化還原位階 (Bradley and Löffler, 2008).....	39
圖 19. 反應井及監測井之關切污染物三氯乙烯(TCE)、順-二氯乙烯(cis-DCE)、氯乙烯(VC)和最終產物乙烯(Ethene)之降解變化圖	40
圖 20. 反應井及監測井之脫鹵球菌功能性基因 qPCR 分析趨勢圖.....	45
圖 21. 反應井位置圖對於脫鹵球菌菌數分布圖，紅色區域為脫鹵球菌菌數大於每公升 10^8 以上.....	46
圖 22. 反應井以屬為分類之菌相累積變化圖	51
圖 23. 反應井以屬為分類之菌相熱圖	52
圖 24. 各階段之反應井及菌屬關係之主成分分析	54
圖 25. 各階段之反應井菌相及水質參數之冗餘分析(Redundancy Analysis, RDA)	



.....	57
圖 26. 、脫氯膠體生物整治工法之現地整治示意圖	58



行政院環境保護署

110年度土壤及地下污染整治基金輔助研究與模場試驗專案

表次

表 1. 地下水整治方法統計表	4
表 2. 聚合酶連鎖反應 (PCR)混合液配置	22
表 3. realtime-PCR 反應 SYBR Green 系統之混合液配方	23
表 4. realtime-PCR 反應 TaqMan 系統之混合液配方	23
表 5. 本計畫所使用之引子與探針序列	24
表 6. 場地水力傳導係數表	28
表 7. 模場試驗地下水水質及菌相分析採樣規劃表	29
表 8. 原始數據品質檢測表	47
表 9. 以種為分類階層之菌相變化表	48
表 10. 本計畫工法成效比較表	59





第一章：計畫前言與文獻探討

1.1 三氯乙烯 (TCE)

三氯乙烯 (TCE)具有獨特的溶劑特性，因此適用於廣泛的工業應用 (Ohlen 等，2005)。TCE 的使用開始於 20 世紀。目前，它被廣泛用於金屬脫脂 (佔 TCE 總消耗量的 80-90%)，清潔和乾燥有關航空領域電子元件操作 (用於沖洗液態氧)，塗料和塗料印刷油墨生產，在紡織品作為熏蒸劑和冷藏等 (Ohlen et al., 2005 ; Hazen et al., 2009)。TCE 的年度全球生產 2005 年為 6.7×10^5 公噸，消費量為 4.3×10^5 公噸 (Lacson, 2005)。它是一種密集且無色具有類似氯仿氣味的液體 (Jacoby et al., 1998)。TCE 是進入生物圈的有毒污染物，主要是由於處理不當導致洩漏溢出和處理含各種來源 TCE 的流出物 (Fernandes et al., 2009 ; Haest et al., 2010)。根據美國環保局 (2006 年)，在 2005 年 TCE 在美國的環境釋放量超過 2.5×10^3 公噸。1970 年，TCE 首次在地下水中被發現 (美國環保局，2001 年)。如美國環保保護局 (美國環保署，2001 年)，毒品局美國物質和疾病登記處 (美國毒物和疾病登記署，2003 年)和印度中央污染控制委員會 (CPCB，2007)等等。美國環保局和印度 CPCB 已經設定了空氣中三氯乙烯的允許限制最大值分別為 0.003 毫克/立方米和 270 毫克/立方米。由於其釋放到環境中，TCE 對人體健康構成威脅。它是其中之一最危險的揮發性有機(VOCs)化合物之一，已被證明具有致癌性和致突變性 (USEPA, 1997)。幾種慢性疾病包括眩暈、震顫、噁心、嗜睡、疲勞、肝癌、肝炎和心力衰竭等 (美國 EPA，2007)。

TCE 在環境中的命運取決於釋放它的介質 (空氣，土壤或水)。它在正常條件下不水解，但可在水中緩慢被光氧化 (HSDB，2002)。土壤中的三氯乙烯，在不同地點之生物降解分解過程速率較慢，約幾個月至幾年的半衰期。但因 TCE 有較高蒸氣壓，因此主要存在於氣相而不是吸附在大氣中微粒狀態。一旦 TCE 被釋放到空中，它可通過光氧化過程被破壞。在夏季約 3-8 天的半衰期，冬季則是 2 週。由於 TCE 在環境中具有持久性，因此，如何開發有效和經濟的方法去清除 TCE 污染，已成為研究人員主要關切課題。幾種物理和化學方法如泵處理、氣提、活性炭吸附和高級氧化過程已經被開發並應用於清除 TCE 污染的環境 (Yuan et al., 2012)。但這些過程大多耗時、污染並且昂貴 (Abumaizer et al., 1998)。生物修復是一種具有吸引力去除 TCE 方法。微生物降解具有許多優點如成本效益、高效能性及環保性等優點，可將 TCE 完全礦化成二氧化碳和氯 (Russell et al. 1992; Atlas & Philip, 2005)。



開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗

Pant & Pant (2010) 整理過去 20 年中有關 TCE 生物降解研究報告，發現在厭氧條件下的還原脫氯條件以氯化乙烯充當電子受體。然而，其代謝作用需要氧氣用於 TCE 酵素降解。在有氧條件微生物可以直接氧化氯化乙烯，因此可將氯化乙烯充當電子供給者。Shulaka et al. (2014) 指出固氮菌可在微氣候條件生長，並可在缺氮環境中固定氮氣提供氮源，支持相關脫氯菌生長 (Roesch et al., 2008)。甲烷營養菌可在各種不同生存條件下生長，可適應不同的 pH 值，溫度，O₂ 和重金屬濃度 (Dubey, 2005)。利用不同微生物特性，來強化 TCE 降解能力，已經成為生物降解 TCE 之重要方向。

1.2 含氯場址整治方法

依污染物處理實施場所劃分，可分為現地 (*in situ*)、現場 (*on site*) 與離場 (*off site*) 三種，現地處理係指直接於土壤及地下水污染區進行整治工作；離地處理則需先將遭受污染之土壤挖出或地下水抽出至地表面上，再進行整治處理；離場處理係指將遭受污染之土壤及地下水由地表下暴露出後，經由運輸系統運離污染場址後進行處理 (環保署，98 年)。現地處理不需挖掘土壤，且對大範圍污染區域只需以生物、化學進行重複操作的步驟，故可節省大量離場成本且在污染現場即可操作，近年來被大量應用在台灣的含氯有機物污染場址。

依處理方法而言，含氯有機污染物整治方法可分為物理技術、化學處理技術及生物處理技術等三大類別。物理處理技術係利用污染物的物理特性進行整治作業，涵括土壤開挖法、空氣曝氣法、DNAPL 純相回收、地下水抽除處理法及熱處理技術等。化學處理技術係利用氧化還原機制，降低污染物質量、移動性或毒性的方法，包含現地化學氧化法、現地化學還原法、透水性反應牆、零價鐵還原及界面活性劑等。生物處理技術係利用生物代謝轉化並降解污染物，涵蓋植生復育及地下水生物整治等 (工業局，93 年)。

現地生物處理的優點包涵可整治去除污染區溶解相及可脫附的吸附相污染物、對場址的破壞干擾程度較低、成本低廉、現地生物復育整治工程結束後，原場址仍可藉由自然衰減方式，將污染狀況更進一步的加以改善、整治低溶解度及高吸附性的污染物時，整治時程會比抽取處理法為短、較無衍生二次污染物的問題等 (USEPA, 1994)。

根據美國 USEPA 統計 Superfund (超級基金) 整治場址資料顯示，由 2009 年至 2011 年，現地地下水整治方法的趨勢以生物整治及化學氧化為主 (USEPA,



第一章：計畫前言與文獻探討

2013)。依前述統計資料，現地地下水整治作業中，生物整治所使用的比例為最多，佔 24%；其次為化學氧化法 (14%)，相關統計資料表如表 1。顯現現地生物復育為美國地下水整治之主要趨勢，而國內代表性場址如桃園 RCA、台中漢翔公司及高雄福德爺廟等地下水含氯有機污染場址，皆採用厭氧還原脫氯之生物處理法為整治方案。



開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗

表 1. 地下水整治方法統計表

Technologies	Total (FY05-08)	Percent Groundwater Decision Documents (FY05-08)	Total(FY09-11)	Percent Groundwater Decision Documents (FY09-11)
Pump and Treat	85	26%	45	22%
Groundwater Pump and Treat	82	25%	44	21%
Surface Water Collect and Treat	5	2%	1	<1%
In Situ Treatment	97	30%	79	38%
Bioremediation	60	19%	49	24%
Chemical Treatment	38	12%	28	14%
Air Sparging	10	3%	12	6%
Permeable Reactive Barrier	7	2%	8	4%
In Well Air Stripping	0	0%	2	1%
Multi-Phase Extraction	1	<1%	2	1%
Phytoremediation	3	1%	0	0%
Fracturing	1	<1%	0	0%
MNA of Groundwater	116	36%	56	27%
Groundwater Containment (VEB)	16	5%	6	3%
Constructed Treatment Wetland	1	<1%	4	2%
For Groundwater Treatment	1	<1%	3	<1%
For Surface Water Treatment	0	0%	1	<1%
Other Remedies	281	87%	177	86%
Institutional Controls	274	85%	173	84%
Alternative Water Supply	26	8%	13	6%
Engineering Control	4	1%	2	1%
Technologies	Total (FY05-08)	Percent Groundwater Decision Documents (FY05-08)	Total(FY09-11)	Percent Groundwater Decision Documents (FY09-11)

備註:各場址選用之整治方案可能為 1 個以上。

資料來源:Superfund Remedy Report 14th Edition, USEPA, 2013



1.3 厭氧還原脫氯生物研究

四氯乙烯 (PCE)和三氯乙烯 (TCE)已是環境中常見工業污染物 (Moran et al.2007)。它們具有特殊的化學性質和很多優點，在工業、農業和軍事領域有廣泛的應用，但它們對環境可造成持久性的毒性影響 (Henschler 1994)。由於 PCE 和 TCE 的密度和粘度高於水，及 PCE 和 TCE 都是疏水性的且溶解度相對較低；因此，在地下水中仍然存在。此外，相對較高的揮發性使其可以釋放到非飽和土壤區 (Wittlingerova et al., 2013)和大氣中。

受污染含水層中的 PCE 和 TCE 來於人工合成，但順式 1,2-二氯乙烯 (cDCE)和氯乙烯 (VC)主要來源於污染環境內微生物降解 (Nijenhuis et al., 2007; Vogel and McCarty, 1985); 但 PVC 塑料的工業生產也可能是 VC 的直接來源 (Hartmans et al.1985)。氯乙烯在含水層中通常可造成持久性污染物，被許多微生物降解產生副產品如 cDCE 和 VC，其毒性比原本 PCE 和 TCE 具有更高的毒性 (Mattes et al.2010)。少量的氯乙烯也可天然產生的。例如，VC 可由土壤內耐腐酸、鐵 (III)和氯化物 (Keppler et al.2002)之間的化學反應產生的，並且 PCE 和 TCE 可通過海藻生物合成產生 (Abrahamsson et al., 1995)。

微生物對 PCE 和 TCE 的厭氧降解都是通過一系列步驟進行的，每個步驟都包括逐一移除氯原子，即反式 1,2-和 1,1-二氯乙烯 (tDCE 和 1,1-DCE) 和 VC 到乙烯。cDCE 是有機鹵化物呼吸過程中產生的主要 DCE 異構體，這一過程稱為「微生物還原脫氯」或「生物還原脫鹵」(Tandoi et al., 1994)。各種不同的細菌類群，各自對氯乙烯具有不同的代謝活性，常與氯乙烯污染的含水層共存，它們的實際活性取決於當地的環境條件，即需氧或厭氧 (Imfeld et al., 2011)。氯乙烯的細菌降解可以通過厭氧和有氧代謝降解 (用作電子供體的氯乙烯)、通過厭氧有機鹵化物呼吸作用 (用氯乙烯作為電子受體) (Hug et al.2013; Paul et al., 2016)，或有氧及厭氧共代謝有機鹵化物。這些細菌在微生物代謝過程中可發生，且這過程中沒有提供碳源或能量提供細菌生長 (Mohn and Tiedje 1992; Wilson and Wilson 1985.)。有研究報告 VC 和 DCE 可被厭氧氧化 (Bradley and Chapelle 1998)，但實際上，在低氧濃度仍屬有氧氧化作用 (Fullerton et al., 2014)。同樣，一些細菌，在低氧條件下對氯乙烯通過厭氧氧化降解(Tiehm and Schmidt, 2011)。

有許多研究參與了氯乙烯降解的代謝途徑;為強化目前的生物修復過程，部分研究涉及細菌多樣性，細菌生長和特定細菌群的特定活性的測定 (Dolinová et al., 2016)。許多能夠將氯乙烯降解相關的細菌菌株，現在已被



開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗

分離出來，並且該類許多細菌菌株的全基因組也完全被定序 (Dolinová et al., 2016)。未來有助於對該類菌種作詳細基礎和應用研究，開發該類菌種對 TCE 降解能力之潛能。

1.4 無氧代謝降解-還原脫氯

有機鹵化物呼吸作用是厭氧環境中氯乙烯降解的主要手段 (Dollinova et al., 2016)。在厭氧有機鹵化物呼吸期間，使用氯乙烯作為電子受體，並且使用來自脫鹵反應產生的能量，用於微生物生長最終的電子提供者通常是氫氣，許多不同的釋氫化合物可以用作主要電子提供者，例如，單化合物如乙酸鹽，苯甲酸鹽，丁酸鹽、甲醇、乙醇、葡萄糖、乳酸鹽或丙酸鹽；或所謂的複合化合物如乳化植物油，有機護膜、糖蜜、乳清和麵粉。因 cDCE 和 VC 不易被細菌通過有機鹵化物呼吸作用而降解，因此，容易在污染場址累積 (Dollinova et al., 2016)。有機鹵化物的呼吸速率可以與生物地球化學過程的相互作用和通過不同微生物群體間氫的競爭會影響 (Dollinova et al., 2016)。因此，加入電子供給者可能不會刺激脫鹵微生物的活性，但可刺激競爭微生物群體的活性，如甲烷菌及乙酸菌之於硫酸鹽，硝酸鹽，鐵和錳還原劑。例如，如果有較高的氫濃度，產甲烷菌就可以競爭氫氣，並將其用於甲烷生成 (Aulenta et al., 2005; Ballapragada et al. 1997)。在低氫濃度下，脫氯細菌對氫氣有很高的親和力，可能與產甲烷菌競爭 (Yang and McCarty 1998)。因此，氫供應的緩慢釋放有利於脫氯細菌 (Fennell et al., 1997; Yang and McCarty 2002)。因此，還原脫氯和氧化還原過程 (如硫酸鹽和鐵還原) 之間的關係對降解過程有重要影響。一些研究證明，硫酸鹽和鐵的還原作用可競爭氫氣，降低脫氯作用 (Aulenta et al., 2008; Azizian et al., 2010)。另外，硫酸鹽還原亦可以減緩 cDCE 和 VC 的脫氯，可能會導致硫化物的累積 (Pantazidou et al., 2012)。除了硫化物和/或氫的競爭 (Berggren et al., 2013)，硫酸鹽的添加可降低 PCE、cDCE 和 VC 脫氯作用。然而，一些研究中顯示添加硫酸鹽反而可提高脫氯效率 (Harkness et al., 2012)。這些矛盾的結果可能是由於在硫酸鹽還原過程中產生了微鹼性條件，使脫氯作用不受影響 (Robinson et al., 2009)。

1.5 參與厭氧降解的細菌

大多數細菌僅能夠通過還原脫氯將 PCE 和 TCE 部分降解為 cDCE 或 VC。



第一章：計畫前言與文獻探討

儘管 VC 被認為是脫氯作用代謝產物，但是 *D. mccartyi* strain 195 能夠將 PCE 完全還原脫氯為乙烯 (Maymó-Gatell et al.,2001)。從污染沉積物中分離出兩種其他菌株，*Propionibacterium* sp. HK-1 和 *Propionibacterium acnes* HK-3 顯示出可將 PCE 和 cDCE 降解成為乙烯的兩種厭氧菌 (Chang et al.,2011)。該研究首次證明除 *Dehalococcoides* (Chloryl Chloroflexi) 以外的其他菌株，亦能夠降解 PCE 而不產生有毒的副產物。因此，具有上述這種能力的更多菌種，可能還在等待被發現。儘管如此，*Dehalococcoides* 仍然是三氯乙烯污染場地發現主要菌種，它們的存在與乙烯的形成密切相關。cDCE 和/或 VC 的累積與 *Dehalococcoides* 存在有正相關性 (Hendrickson et al.,2002; Kranzioch et al., 2013)。因此，*Dehalococcoides* 的存在，可證明污染場地具有三氯乙烯的生物降解潛力 (Major et al.2002; van der Zaan et al., 2010)。以氯乙烯作為電子受體和氫作為電子供體的 *Dehalococcoides* 菌株為 *D. mccartyi* (Löffler et al., 2013)。*Dehalococcoides* 限於厭氧條件，並受到氧氣的抑制 (Kaster et al., 2014)一些 *Dehalococcoides* 菌株能夠部分氯乙烯降解，例如，BAV1、CBDB1、FL2、GT、KB-1、MB 和 VS，個別 *Dehalococcoides* 菌株不能完成氯乙烯厭氧降解。

幾種脫鹵球菌屬基因組序列已被測序並描述 (Hendrickson et al., 2002; Kube et al.,2005)。雖然可通過分析 16S rRNA 基因來確定微生物群落成員，但這不適用於解決不同的 *Dehalococcoides* 菌株，因為它們的 16S rRNA 基因序列差異非常小 (He et al.2005; Löffler et al.,2013)。因此，通過 16S rRNA 分析得到的親緣關係測試結果與使用 RDase 基因的水平轉移功能性還原性脫鹵素酶 (RDases)的親緣分析結果比較並不相關 (McMurdie et al., 2009)。儘管脫氯菌產生脫氯效率差異很大，但 *Dehalococcoides* 基因組具有高度保守性，因此，幾乎不可能使用基因組的一小部分來區分個別脫鹵球菌，必須再測定 RDases 基因的存在與活性，來證明 *Dehalococcoides* 脫氯作用。

1.6 酵素和功能性基因參與 PCE/TCE 厭氧脫氯作用

RDase 是有機鹵素呼吸的關鍵酶，因為它們直接催化碳-氯鍵的裂解 (Futamata et al., 2009)。儘管大多數 RDase 都與細胞膜結合，但是在 *Desulfitobacterium*，*Dehalobacter* 和 *Sulfurospirillum multivorans* (Jugder et al.,2015; Maphosa et al.,2012)，可在細胞質發現 RDases 存在。PCE 還原脫鹵素酶 (PCE-RDase) 可將 PCE 和 / 或 TCE 還原脫氯成 cDCE



開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗

(Neumann,1996)，TCE-RDase 還原 TCE，通過 cDCE 至 VC (Magnuson 等人 1998)，VC-RDase (VcrA) 將 cDCE 和 VC 脫氯成乙烯 (Müller 2004)，1,2-二氯乙烷轉化為乙烯 (Parthasarathy 等, 2015)。VC-RDase (BvcA) 將 VC 氯化為乙烯 (Krajmalnik-Brown 等 2004)。這些 RDase 可能具有更多不同的催化反應 (Lee et al.2013)。例如，VCRDase (BvcA) 對所有 DCE 異構物進行脫氯作用 (Tang 等, 2013)。

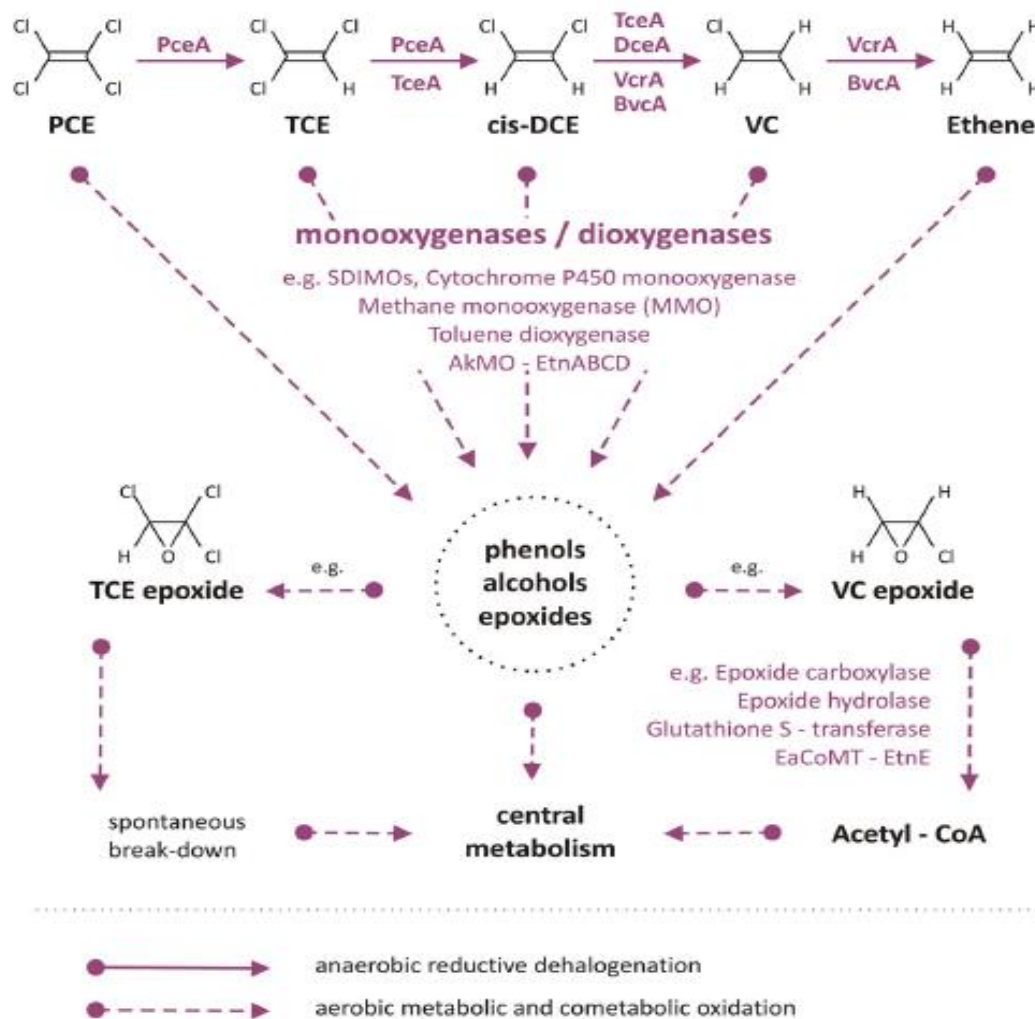


圖 1. 含氯有機物降解路徑與代謝基因圖

測定 RDase 基因的存在和表達可反應脫氯活性程度，並可以克服以 16S rRNA 為主要測定基因方法的局限性。 *pceA*、*tceA*、*vcrA* 和 *bvcA* 於 RDase 基因，分別對不同氯化物具有不同特異性如上圖 1 所示，可用於確定不同脫氯菌生長和脫氯活性。編碼 RDase 的多種基因，可在細胞中存在並表達，通常以多個拷貝的形式出現 (Hug et al., 2013)。大約 650 種已知 *rdhA* 基因存在 *Dehalococcoides* (Hölscher et al., 2004; Hug et al., 2013; Kube et al., 2005)。因此，設計合成 *pceA*、*tceA*、*vcrA* 和 *bvcA* 等 RDase 基因的 primer，可用於

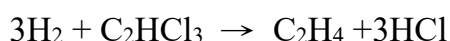


確定氯乙烯降解菌。

三種不同的生物復育方法被應用於降解氯乙烯。首先是「受監控的自然衰減」(MNA)，它採用天然的非生物和再污染現址原微生物降解過程策略。MNA 包括在預測的時間範圍內監測污染場址污染物濃度是否衰減。Wiedemeier 等人 (1998)年制定了評估和實施 MNA 方法。該方法專注於生物還原脫氯。用於評估 MNA 的分析技術僅限於有機和無機化學和無機化學/地球化學 (VOCs、溶解氧、硝酸鹽、Fe(II)、硫酸鹽、甲烷、乙烯、ORP、pH、溫度和鹽度)，並沒有考慮微生物參數。在 MNA 不足以降低污染物濃度到期望目標時，第二種方法被稱為「增強自然衰減」或「生物刺激」。它包括監測自然衰減的原理，但包括碳源或其他電子供體的添加，進一步加速天然氯乙烯的降解 (Dolinová et al., 2016; Lacinová et al., 2013)。為了確認生物刺激法之成功，微生物群體必須已經存在於含水層中。分子生物技術常用來評估污染場地的微生物群體。在實施生物刺激法前，先檢測是否在污染場址是否有分解 TCE 微生物或相關基因。例如，對將氯乙烯轉化成有害的 VC 菌株進行評估。進一步在整治過程中，分析量化特定基因和微生物的變化，可在污染含水層，來評估生物刺激和生物強化效能。第三種方法可以用於目標含水層不含具有分解 TCE 的菌種。生物刺激涉及到添加已知具有降解活性的預培養的細菌，強化污染場址生物復育。目前，具有高效能分子生物技術如 metagenome，可評估污染廠址微生物菌相，不論在整治前後，可決定生物強化或生物刺激成效。

1.7 產氫菌加強 TCE 分解

利用生物代謝含氯碳氫化合物，由於添加基質種類不同，提供微生物代謝生長的自由能則不同，不僅使污染物的生物轉換情形有所差異，同時影響生物代謝途徑。在很多研究中發現，隨著基質種類及濃度不同，會影響含氯碳氫化合物的生物降解情形 (Tsai et al., 2014)。厭氧菌除了利用含氯化合物為電子接受者外，在脫鹵呼吸之過程中，亦需要有電子供給者 (electron donor) 存在以提供電子，一般之電子供給者為氫氣 (hydrogen)、甲醇 (methanol)、乙酸 (acetate) 或甲酸鹽 (formate) 等，下式為三氯乙烯以氫氣作為電子接受者之反應方程式：





開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗

氫氣為脫氯反應中電子提供者，微生物經由基質磷酸化之過程產生 ATP。大部分能降解多氯乙烯之微生物其脫氯呼吸之氧化還原電位介於+250 至 +600mV，因此，由熱力學之角度來看，含氯有機化合物在厭氧之狀態下是傾向於作為電子接受者 (Dugat-Bony et al., 2012)；此外，含氯有機物接受電子為自發性反應，並可於反應過程中產生能量。氫氣在還原環境中常常是一個快速且直接的電子供給者，因此氫氣會被許多的微生物族群所競爭，除了脫氯菌 (Hydrogenotrophic dechlorinators) 外，像甲烷菌、硫酸鹽還原菌、氯化菌、脫硝菌、Fe (III) 還原菌等 (Panagiotakis et al., 2015) 都會利用氫氣，尤其是甲烷菌，在很多的厭氧混合族群中，甲烷菌常常是優勢菌種，加上甲烷菌在氫氣的競爭上 (特別是高濃度下) 佔有絕對的優勢，因此是脫氯菌在競爭氫氣上的主要對手。雖然很多的有機物都可以扮演電子提供者的角色，但在近幾年的研究中發現，氫氣在還原脫氯反應中常扮演直接供給電子的角色，而且被認為是促使還原脫氯反應進行的關鍵因子，可直接增加含氯有機物污染場址中的脫氯菌 *Dehalococcoides* 之數量，強化多氯乙烯整治成效。微生物一般將四氯乙烯脫氯到三氯乙烯時的氫氣還足夠，因此脫氯的時間較為快速，但到了後期氫氣逐漸地被消耗殆盡，此時必須透過額外添加氫氣的方式來幫助 *Dehalococcoides* 菌屬的還原脫氯反應。但是額外添加氫氣的成本相對來說較高，已經不符合生物復育的原則。因此可利用額外添加產氫菌株 (例如: *Clostridium butyricum*) 來幫助 *Dehalococcoides* 菌屬的還原脫氯反應，氫化酶 (hydrogenase) 對於微生物發酵產生氫氣來說是一個關鍵的酵素，氫化酶的基因為 *hydA* (Wang et al., 2008)，利用 qPCR 進行定量監測，可了解污染場址中產氫氣的能力，以便對污染場址進行適當的調控。幫助含氯有機物污染場址的整治 (Aulenta et al., 2006)。

1.8 包埋固定化菌株技術應用

固定化微生物技術利用物理或化學手段將具有特定生理功能的游離微生物固定於載體材料內部或表面，使其高濃度密集、保持較高生物活性且可持續使用的一種新型生物工程技術。固定化微生物技術可將選定的高效優勢菌固定在載體上，使該菌在特定處理系統中具有活性高、專一性強、耐受性強 (如 pH、溫度、有毒有害物質)、處理效果穩定、有毒有害物質去除速率快等優點。同時，固定化微生物技術還可以將混合菌屬集於同一載體，使混合菌屬協同處理污染物。固定化微生物技術以其自身的巨大優勢在廢水處理領域中引起普遍的關注，但目前尚處於實驗室水平，要實現由室內模擬階段進入



第一章：計畫前言與文獻探討

實際工程應用，還需在以下方面取得突破：(1)篩選對特定污染物去除效率高、耐受能力強的微生物，加強極端微生物的研究，或充分利用複合菌群 (2)研發新型的耐用廉價、強度高、傳質好、性能穩定、環境友好型複合固定化載體 (3)深入研究和探討固定化微生物去除污染物的作用機制。

固定化細胞系統具有許多優點已有報導，其中一些主要原因如下：(1)提供高生物量。(2)提供細胞再利用並減少昂貴的過程。(3)細胞回收和細胞再循環。(4)在高稀釋度下消除細胞清洗問題。(5)高流量允許高體積生產率。(6)提供適合的微環境條件。(7)提高遺傳穩定性。(8)防止剪切損壞。(9)高耐毒性化學品、pH、溫度、溶劑和重金屬 (Bayat et al., 2015)。載體選擇常重要。載體必須具有以下標準：(1)無毒、無污染、不可生物降解。(2)高濃度菌數載重能力。(3)機械，生物和化學穩定性高。(4)長保存期。(5)充足的功能。(6)低成本價格。(7)從流動介質到載體中心的最佳擴散距離。(8)容易從介質中分離細胞和載體。(9)易於處理和再生 (Bayat et al., 2015)。Alginate (藻酸鹽) (由不同比例製成的聚合物和從棕色藻類提取的甘露糖醛酸和古洛糖醛酸的序列)是大多數固定系統中選擇的聚合物，因為它們易於處理，對人類無害，對環境傷害低，可大量生產且價格便宜。從生理學角度來看，藻酸鹽的主要優點是細胞在固定化過程中不會發生物理化學條件的極端變化，不影響凝膠反應體系統和通透性 (Buque et al. 2002)。已經使用許多不同形式的細胞固定如下圖 2，包括從左到右：(1).吸附 (2).共價結合 (3).包埋 (4).包封。在這些方法中，Entrapping 已被廣泛研究 (Jack and Zajiv, 1977)。

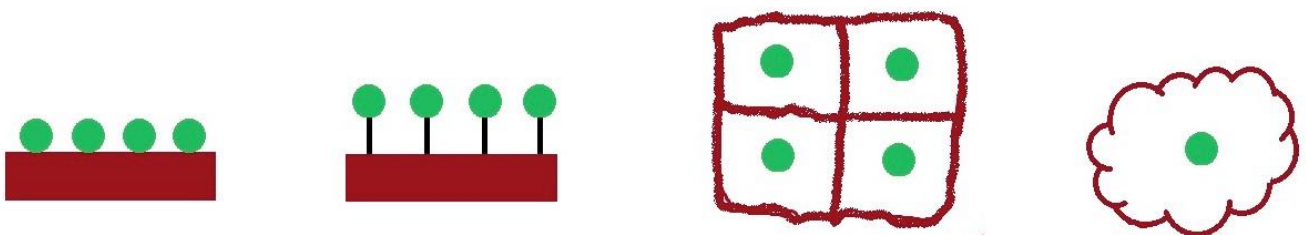


圖 2. 細胞固定方式示意圖

增加了可用的表面積，以促進生物量的生長並且還提高降解速率。Obuekwe 和 Al-Muttawa (2001)發現節桿菌屬和從科威特油湖分離的革蘭氏陰性芽孢桿菌，然後在低營養條件下將這些細菌與木屑，發泡膠或麥麩一起作為載體孵育，形成穩定的外多醣介導的固定化培養物。作者測試了在 45°C



開發高效脫氮生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗

下生存和降解碳氮化合物 6 週的能力。新鮮固定的細胞比自由細胞的懸浮液具有更高降低原油的能力。在其他研究中 Quek 等 (2006)報導了 *Rhodococcus* sp.的固定在 F92 聚氨酯泡沫 (PUF)在石油烴生物修復中的應用。Radwan 等人固定化油降解細菌之生物膜塗覆大型藻類。這種天然固定可以保護細菌免受洗滌和稀釋，也可以提供氧氣，以及可能的含氮和磷化合物和維生素提供油降解細菌之用 (Radwan et al., 2002)。Gentili 等 (2002)使用幾丁質和殼聚糖薄片來固定棒桿菌 QBT0。這種支持物是從蝦和螃蟹獲得的天然無毒無污染的可生物降解的生物材料。固定在殼多醣和殼聚糖薄片上的棒桿菌 QBT 顯著增加了原油生物降解。Wiesel 等 (1993)觀察到混合細菌培養固定在顆粒狀粘土上表現出良好的生長，並證明了與模型土壤系統中的自由懸浮細胞相比，表現出對多芳烴 (PAH)的同等降解潛力。Diaz 等人在聚丙烯纖維上固定化細菌團聚體 MPD-M，他們觀察到固定化細胞與自由活細胞相比顯著提高了原油的生物降解率，細菌團聚體 MPD-M 在固定化體系中高度穩定，不受添加鹽度的影響 (Diaz et al., 2002)。

Xu 和 Lu (2010)表明，通過將固定在花生殼粉末上的碳氮化合物降解細菌作為生物載體應用，原油污染土壤中的除油量增加。該生物載體具有較大的表面積和較強的吸附能力，另外提高了氧氣擴散，提高了土壤中的脫氮酶活性。Cocquempot 等人 (1981)檢查了固定化細胞在 PUF 中比固定在藻酸鹽中更好，因為儲存穩定性和微生物活性。由於聚氨酯泡沫的孔隙率，機械性能，疏水性和親水性的廣泛範圍而開發的聚氨酯泡沫的使用。例如 Oh 等人 (2000)固定的解脂耶氏酵母在用於原油降解的聚氨酯泡沫中。Liang 等人 (2009)比較了含有自由活體細菌培養物和活性炭生物載體的污染土壤中原油的降解量。結果表明，活性炭生物載體固定化可以提高土壤的氧氣，營養物質傳質和保水能力，從而提高原油生物降解，細菌群體和總微生物活性。固定化細胞用於其他化合物的生物降解。最近，Maliji 等人使用天然支持物，如 luffa 和海綿來固定蠟樣芽孢桿菌在柴油降解應用。該吸附系統可以控制污染，並且可以很容易地以低成本使用。Kim 等人 (2006)研究了污染物 (苯酚)對游離藻酸鈣和固定化惡臭假單胞菌 MK1 (KCTC12283)對吡啶生物降解的影響。他們證明，固定化的細胞可以有效地增加對苯酚的耐受性，並導致吡啶的降解增加。在某些情況下，石油碳氮化合物的微生物代謝可能會產生有毒的代謝物，如環烷酸，這可能會阻礙隨後的生物降解，因為它們會抑制微生物代謝的毒性 (Lu et al. 2010)。Weir 等人 (1995)使用藻酸銅綠假單胞菌 UG14，粘土和脫脂乳來降解菲。他們觀察到 30 天后包封細胞的存活率較高，而游離細胞持續 18 天。O'Reilly 等人 (1989)通過假單胞菌屬



第一章：計畫前言與文獻探討

(*Pseudomonas* sp.)研究了 p-Cresol 的降解。固定在藻酸鈣和聚氨酯中。結果表明，由於其具有較高的機械強度和改善的氧傳遞特性，聚氨酯是一種比藻酸鈣更好的固定基質。 Bay et al. (2015) 整理出固定化菌種對生物降解之應用如下表。

Table 1. Some immobilized cells for use in biodegradation compounds.

Compounds Degraded	Carriers	Microorganisms	References
acrylamide	alginate	<i>Pseudomonas</i> sp. and <i>Xanthomonas maltophilia</i>	[54]
Cadmium and Zinc	alginate	<i>Pseudomonas fluorescens</i> G7	[55]
2-chloroethanol	sand	<i>Pseudomonas putida</i> US2	[56]
cyanuric acid	Granular clay	<i>Pseudomonas</i> sp. NRRL B-12228	[57]
Diesel oil	Polyvinyl alcohol	Hydrocarbon-degrading bacteria	[58]
Ethylbenzene	Alginate, agar, polyacrylamide	<i>Pseudomonas fluorescens</i> -CS2	[59]
Mercury	alginate	nitrogen-fixing bacteria (NFB)	[60]
naphthalene	alginate, agar and polyacrylamide	<i>Pseudomonas</i> sp. strain NGK 1	[61]
p-Nitrophenol	diatomaceous earth	<i>Pseudomonas</i> sp.	[62]
pentachlorophenol	polyurethane	<i>Flavobacterium</i> sp.	[63]
Pentachlorophenol	alginate	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	[64]
Pentachlorophenol	k-Carrageenan	<i>Pseudomonas</i> sp. UG30	[65]
phenol	Polyvinyl alcohol (PVA)	<i>Acinetobacter</i> sp. strain PD12	[66]
phenol	agar	methanogenic consortium	[67]
Phenol, trichloroethane	Chitosan	<i>Pseudomonas putida</i> BCRc14349	[68]
sodium cyanide and acetonitrile	alginate	<i>Pseudomonas putida</i>	[69]
Sodium dodecyl sulfate (SDS)	polyacrylamide	<i>Pseudomonas</i> C12B	[70]
2,4,6-trinitrotoluene (TNT)	alginate	<i>Arthrobacter</i> sp.	[71]
2,4,6-Trichlorophenol	k-Carrageenan/gelatin gel	Microbial consortium	[72]



第二章：研究目的

地下水含氯有機物污染場址為我國污染公告解列比例最低者，目前現地使用生物整治工法其費用較離地處理低廉、可持續降解含氯有機物、將污染物轉為無害物質等優點。本團隊在過去的研究發現，即使我們有效地提供氫氣給予現地的脫鹵球菌使用，現地脫鹵球菌的數量依舊太少，導致整治期程並未如預期顯著降低。同樣的，目前業界中以添加生物基質行多氯乙烯的生物整治工法，也面臨同樣的問題，現地脫鹵球菌的數量不足。

因此，本計劃將結合生物刺激法和生物強化法並配合次世代定序法等，建立完整系統評估監測機制，使現地地下水含氯有機物厭氧生物整治狀態達最佳化，同時將結合過去的研究成果，改良包埋整治工法，使用關鍵脫鹵球菌於包埋膠體之中，並將本技術應用於實場中加以驗證，有效解決現地脫鹵球菌菌數不足之問題。此外，脫鹵球菌可以將氯乙烯完全脫氯至無毒的乙烯，希冀透過本模場試驗之成果有效解決現地氯乙烯累積之問題。

第二年針對期末報告我們所主要研究的內容及目的如下：

1. 利用生物刺激法和生物強化法探討地下水含氯有機物生物降解效能及相關環境控制參數。
2. 建構絕對厭氧操作技術，大量培養脫鹵球菌，使得菌量達可以達應用於現地整治之標準，延伸開發本土脫氯共生菌群。
3. 開發高效脫氯生物膠體，包埋脫鹵球菌及產氫菌，結合污染攔截牆工法，有效提升生物基質之利用。
4. 優化矽膠生物固定材質配方，降低固定化產氫菌顆粒成本將技術商品化，優化污染攔截牆範圍以及搭配抽水井使用，提升包埋整治工法的反應範圍。
5. 利用 Metagenomics 建立污染場址之環境生物菌相，測定脫氯菌與其他氫氣利用菌 (如甲烷菌) 對氫氣競合關係，找出脫氯菌在模場生長最佳條件。
6. 利用 qPCR 定量 *Dehalococcoides* 菌之數量及測定還原脫氯基因 *vcrA*、*bvcA*、*tceA* 之表現量，預測污染場址脫氯效能。



研究架構與實驗流程

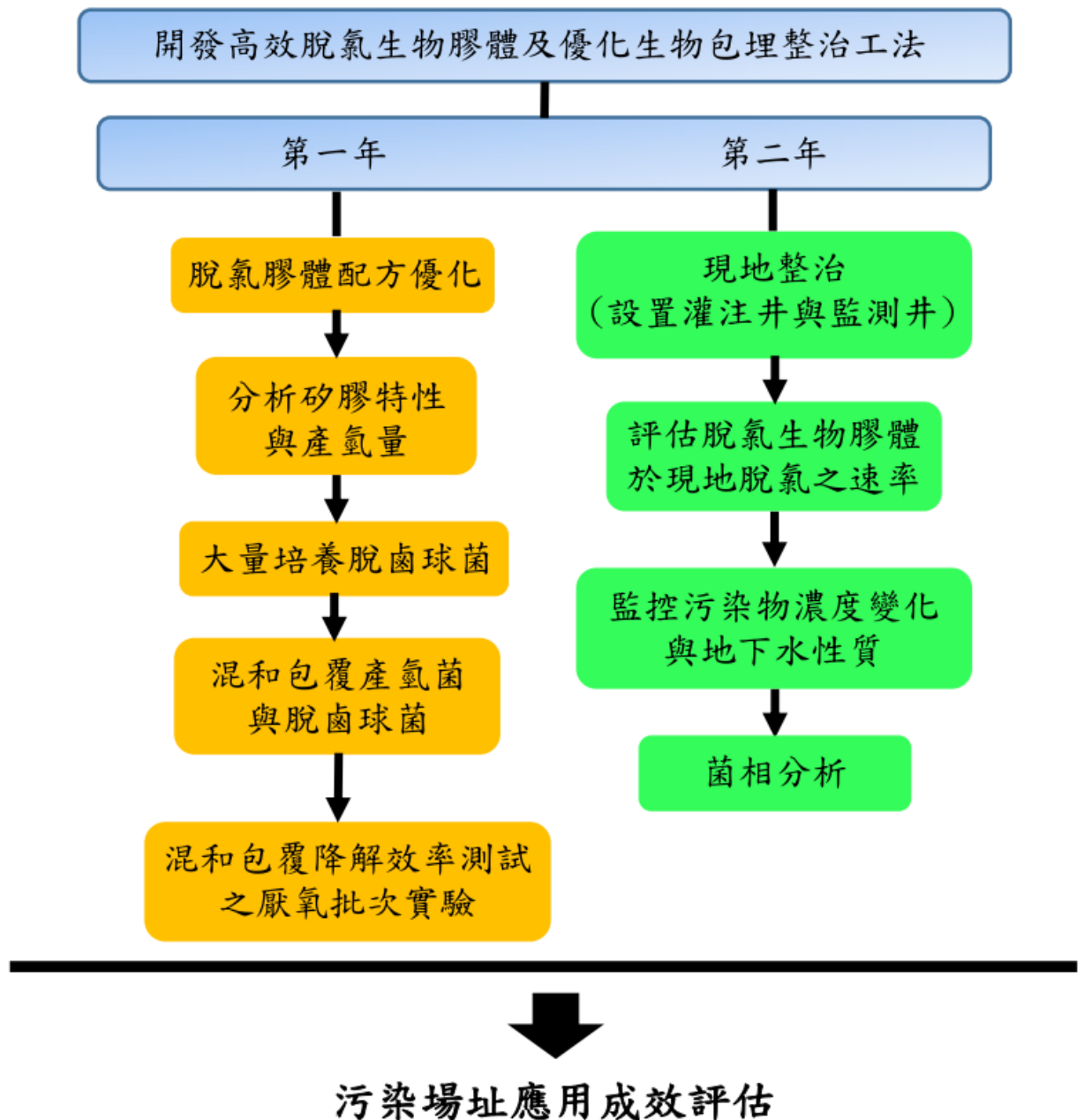


圖 3. 研究架構與實驗流程圖



第三章：研究方法與過程

3.1 試驗地下水之介紹

3.1.1 目前場址營運狀況

本場址於 104 年 7 月 13 日公告地下水受污染限制使用地區及限制事項；位於桃園市平鎮區平鎮里，本場址所在土地使用分區屬於工業用地，而周遭毗鄰區域北側為工業用地；東側主要為住宅用地及商業地；西側則以農業用地；南側主要為農地用地及低密度住區等。

台鈴工業股份有限公司平鎮廠以生產二輪機車、ATV（四輪沙灘車）、四行程重型機車及相關機車五金零組件為主，本廠曾在熱處理單元使用有機溶劑做為金屬表面清洗脫脂之使用，且主要製作流程皆於密閉設備中進行，而本熱處理單元已於 98 年 4 月停止使用，於本單元運作期間三氯乙烯運作、回收、清運與處理，均依照政府法令之規定申報處理，未有任何洩漏及棄置廢棄物於廠區之事宜，現況為運作中工廠。。

目前本場址之列管狀態為調查中場址，尚未確認污染行為人。惟有桃園市平鎮區鎮安段 323 地號(部分區域)執行土污法第 7 條第 5 項規定辦理應變必要措施計畫，執行 12 個月之改善期程，經環保局驗證，已於 108 年 6 月 24 日函覆驗證結果污染物濃度已低於管制標準。現今台鈴公司平鎮廠北側區外仍有污染，成因尚需釐清，惟為避免地下水污染而影響人體健康，台鈴工業股份有限公司願意配合相關調查及勘查工作，提供本場址作為模場試驗計畫，相關場址資料記載於補充資料章節中。

地下水流向

The map illustrates the layout of the Shuangzi Industrial Park, including various functional zones such as the Material Warehouse, Manufacturing Area, Equipment Manufacturing Area, Surface Treatment Area, Finished Product Warehouse, Office, and Guest Room. A red rectangle highlights the '本模場攔截系統範圍' (Interception system range). Monitoring wells are marked with symbols: green circles with an 'X' for existing wells from Taichung City, black circles with an 'X' for existing wells from the Environmental Protection Administration, and blue circles with an 'X' for wells established in 2018. A large blue arrow indicates the '地下水流向' (Groundwater flow direction) from the top left towards the bottom right. A compass rose and a scale bar (0 to 40m) are located in the top right corner.

圖例

- 本模場攔截系統範圍
- 台鈴公司既有監測井
- 環保局既有監測井
- 108年環保署地物井

圖 4. 本計畫場址位置圖、地下水流向、灌注井與監測井示意圖



3.3 絕對厭氧操作方法

本團隊使用 Hungate 厭氧培養法(Hungate, 1944)進行厭氧培養操作。本操作技術主要使用橡膠塞以及煮沸後之厭氧還原培養液，透過完全厭氧的氣體以移除培養液中的氧氣達到絕對厭氧。首先，將欲使用的氣體使用流量調節劑在混和器中進行混和(氮氣、氫氣及二氧化碳)，再者，將混和後的氣體通入加熱 300°C 之銅管之中，加熱後之銅管會與通過氣體中的氧氣進行反應產生氧化銅，而通過的氣體將可以達到完全無氧之狀態，因此，此厭氧氣體足以用於進行絕對厭氧培養實驗。當操作完畢後，在加熱的銅管中通入微量氫氣，氫氣會迅速與氧化銅上的氧進行反應，形成水氣後被氣體帶走，因此銅管內的銅將會全部回復到未被氧化的狀態，因此本銅管可以重複使用，厭氧加氣站管線配置及操作方法皆參考(Speers, et al., 2009)，如下圖 5 所示。在操作的過程中，所有的針頭需要以厭氧還原劑($\text{Na}_2\text{S} \times 9\text{H}_2\text{O}$)進行潤洗去除表面附著之氧氣，並且針筒內部需要使用去氧氣體進行洗針移除針筒內殘留之氧氣，所有操作過程必須要在有火源的無菌圈中進行。

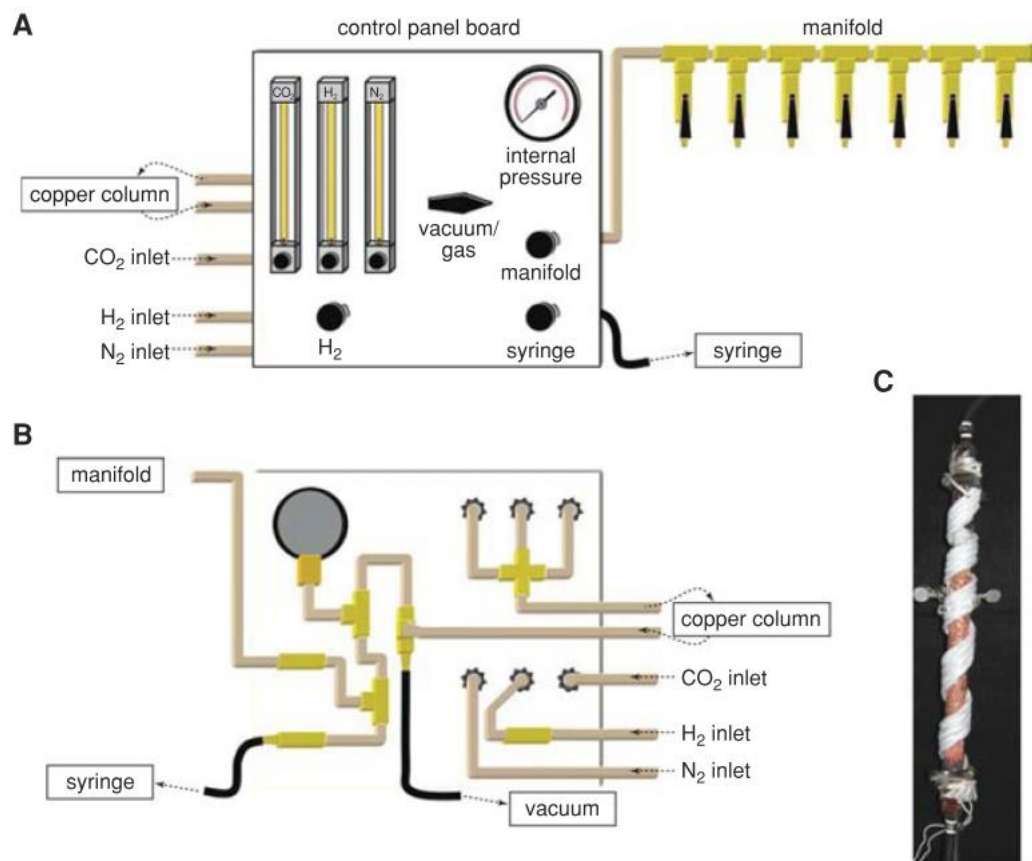


圖 5. 厭氧培養用之加氣站設計圖(A) 操作面板，包含流量調節計、壓力計、氣體控制伐(B) 操作面板背面管線配置圖 (C) 銅管加熱器 (Speers, et al., 2009)



3.4 脫鹵球菌培養方法

脫鹵球菌培養液使用碳酸緩衝系統培養液(Löffler, et al., 2005)，包含鹽類溶液(NaCl 、 $\text{MgCl}_2 \times 6 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 、 KH_2PO_4 、 NH_4Cl 、 KCl 及 $\text{CaCl}_2 \times 2 \cdot \text{H}_2\text{O}$)、Se/Wo 溶液($\text{Na}_2\text{SeO}_3 \times 5 \text{H}_2\text{O}$ 及 $\text{Na}_2\text{WO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$)、維他命溶液(維他命 B3、維他命 B6 及維他命 B12)、厭氧指示劑(Resazurin)、10mM 醋酸及微量元素溶液，混合上述溶液後，煮沸溶液並且使用 N_2/CO_2 (80/20)曝氣將氧氣從溶液中趕出，加入 30mM NaHCO_3 並以 CO_2 調整 pH 至 7.2~7.3，調整曝氣用 N_2/CO_2 比例使得 pH 穩定，加入還原劑 0.2mM L-cysteine 及 0.2mM $\text{Na}_2\text{S} \times 9 \text{H}_2\text{O}$ 使得培養液達厭氧態，將培養液封瓶並確保頂空包含 $\text{N}_2/\text{CO}_2/\text{H}_2$ (70/10/20)，高溫高壓滅菌 30 分鐘，此時培養液應呈現無色澄清(絕對厭氧態, $E_h < -140\text{mV}$)，加入 cis-DCE 或 TCE 靜置過夜後，培養液若無變色即可接種脫鹵球菌，每隔數天抽取頂空樣本測定多氯乙烯及乙烯之變化，抽取 gDNA 後以 qPCR 測定 16s rRNA 基因拷貝數監測生長狀況。

3.5 地下水基本性質分析

3.5.1 地下水水質參數分析 (酸鹼值 (pH)、導電度 (EC)、氧化還原電位 (ORP)、溶氧量 (DO))

取出 100 mL 現地地下水倒入於 250 mL 燒杯內，並將已洗淨校正及擦拭乾淨之 pH、EC、ORP 及 DO 電極偵測端完全浸入水樣的中間層及以封口膜封密，計時五分鐘待所有參數穩定，紀錄各儀器所顯示之單位數值 (NIEA W424.52A；NIEA W203.51B；NIEA W455.52C)。

3.5.2 地下水總溶解性有機碳分析

本分析以參考水中總有機碳檢測方法—燃燒/紅外線測定法，取 10 mL (或適量體積)以 0.45 μm 孔徑玻璃纖維濾紙過濾樣品中大顆粒、不溶質物質與微生物細胞殘骸所造成的干擾，並取得澄清除菌的水樣，將其使用試劑水適當稀釋混合均勻並上機進行重複分析測試，得出具代表性樣品數據 ($\text{mg CO}_2\text{-C/L}$)。

3.5.3 地下水樣品 genomic DNA 萃取

將 1 公升的地下水樣品以轉速(25000 $\times$ g)高速離心的方式，離心 10 分鐘，並收集沉積物以及微生物。利用傳統法(CTAB DNA extraction method)來萃取污染地下水中的微生物之 genomic DNA，此方法改良自 1996 年 Zhou 等人所提出的酵素法(Zhou et al.,1996)。

首先加入 DNA extraction buffer，加入的量以蓋過沉積物為主，再以震盪器



開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗

(vortex)將已加入 DNA extraction buffer 之樣品震盪至均勻為止，再加入 100 μ L 之 Lysozyme (100mg/mL)，將混合完成的液體放置於 37 $^{\circ}$ C 水浴槽中反應 1 小時，在 1 小時的反應時間內，每 15 分鐘以震盪器均勻的震盪萃取 DNA 之溶液。結束 1 小時的反應後，加入 20 μ L proteinase K (20mg/mL)以及 30 μ L SDS(20%)，以震盪器將混合好的溶液震盪均勻，再將混合完成的液體放置於 37 $^{\circ}$ C 水浴槽中反應 2 小時，2 小時的反應時間，和上述一樣每 15 分鐘需以震盪器，震盪正在萃取 DNA 之溶液。反應 2 小時後，加入 100 μ L NaCl 以及 75 μ L CTAB 至正在萃取之溶液中，以震盪器均勻震盪後。放置於 65 $^{\circ}$ C 之水浴槽反應 30 分鐘，同樣也是每 15 分鐘以震盪器均勻震盪，反應結束後加入等體積的冰 phenol/chloromform/Isoamyl alcohol (25:24:1)，上下緩慢搖晃大約 20 下，以轉速(25000xg)離心 10 分鐘，重複此步驟直到中間層的蛋白質消失，將離心過後的上清液取至新的離心管內，加入 chloromform/Isoamyl alcohol (24:1)，上下緩慢搖晃大約 20 下。以轉速(25000xg)離心 10 分鐘，再將離心過後的上清液取至新的離心管內，加入 2 倍體積的冰 Isoprpanol，上下緩慢搖晃讓液體充分混合均勻，將樣品放置於 -20 $^{\circ}$ C 冰箱 overnight 讓 DNA 沉澱。

隔日將樣品取出，以轉速(25000xg)離心 10 分鐘讓 DNA 沉澱，此時將上清液去除，留下沉澱物，利用 500 μ L 之 75%酒精清洗沉澱物，再以轉速(25000xg)離心 15 分鐘後將酒精上清液去除，並在重複此步驟 1 次，再將含有沉澱物的離心管放入冷凍乾燥機中將水分以及酒精去除乾淨，將已滅好菌並且過濾過的二次水(ddH₂O)加入，使 DNA 沉澱物回溶成液態，將液態的 DNA 保存於 -20 $^{\circ}$ C 冰箱。

3.6 DNA 純化

土壤或是地下水中有很多的干擾物質，例如腐植酸，可能會影響聚合酶鏈鎖反應(PCR)或是即時定量(real-timePCR)等其他實驗，因此在萃取完 DNA 後必須經過純化的步驟，萃取完的 DNA，使用捷恩麥克公司之 DNA Clean/Extraction kit 來進行純化的步驟。或是進行 cloning 實驗的 ligation 步驟，進行 ligation 此步驟之前會先將目標 DNA 利用 PCR 放大，由於 PCR 的 Taq 以及 buffer 可能會影響 PCR 的產物和載體(vector)之間的黏合，因此在做 ligation 之前也必須進行 DNA 純化的步驟，膠體的純化也是使用捷恩麥克公司 DNA Clean/Extraction kit 來進行純化。

3.7 基因選殖

以 PCR 的方式將目標片段放大，以膠體純化套組進行目標 PCR 產物純化，PCR 產物依照 pGEM-T easy cloning kit 進行接合反應，將混合試劑放入 4 $^{\circ}$ C 冰箱



第三章：研究方法與過程

overnight 進行 ligation，使 PCR 的產物可以黏合在 pGEM-T Easy Vector 上以利於進行 transformation 的實驗。

將 ligation 混和液與 *E.coli* competent cell 混合均勻後放置冰上 20 分鐘，以熱休克(heat shock)的方式，42°C 加熱 45 秒，將黏合好的 plasmid 送入 *E.coli* competent cell，熱休克完成後再將混合液放置冰上 10 分鐘，此時將混合液加入含有 1mL SOC 培養基之 1.5 mL 離心管，移入 37°C 培養箱進行培養，培養大約一個半小時至兩個小時後，將培養完成的菌液取出。將 100 μ L 菌液塗於含 X-Gal、IPTG、ampicillin 之 LB 培養基上，以 37°C 培養 overnight 進行藍白篩培養，隔日挑選白色菌落使用 T7 以及 SP6 primer 進行 PCR 確認，確認目標的片段是否有成功的接合在 pGEM-T Easy Vector 上，正確的菌落送至基龍米克斯公司進行後續的定序工作。



開發高效脫氮生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗

3.8 即時聚合酶鏈鎖反應(Real-time PCR)

3.8.1 標準品製備

先利用各目標序列引子 (表 7.)進行 PCR 將目標片段放大，反應混和液配方如表 4 所示，再依照 3.7 步驟將挑出的菌落培養，並送至明欣生技公司進行後續的定序工作。比對確認含有正確序列質體之菌落，以含有抗生素 LB 培養基以 37℃ 進行搖晃培養，再以小量質體純化套組進行質體純化，將純化後的質體使用分光光度計測量 DNA 的濃度。

將得到的 DNA 濃度帶入公式(A)換算成 gene copies (Ritalahti et al.,2006)。

$$(A) \quad \text{gene copies} = (\text{DNA concentration [ng/}\mu\text{L]}) \left(\frac{1 \text{ g}}{1,000^3 \text{ ng}} \right) \left(\frac{1 \text{ mol bp DNA}}{660 \text{ g DNA}} \right) \\ \times \left(\frac{6.023 \times 10^{23} \text{ bp}}{\text{mol bp}} \right) \left(\frac{1 \text{ copy}}{\text{genome or plasmid size [bp]}} \right) \\ \times (\text{volume of template } [\mu\text{L}])$$

表 2. 聚合酶連鎖反應 (PCR)混合液配置

Reagent	Volume
ddH ₂ O	18.4μL
10x buffer	2.5μL
dNTP (2.5mM)	2μL
forward primer (50μM)	0.4μL
reverse primer (50μM)	0.4μL
Taq polymerase(5U)	0.3μL
DNA template	1μL

將 DNA 序列稀釋到適當的濃度，將稀釋完成的標準曲線進行 real-time PCR 上機，確認目標序列之標準曲線達到 $R^2 = 0.995$ 以上，以利於後續針對目標序列之濃度定量。



3.8.2 qPCR 上機步驟

將製備完成的標準品由濃度 10^8 以十倍序列稀釋至 10^2 gene copies/ μL ，再依照 (表 5.)配置 real-time PCR SYBR Green 系統之混合液，或是依照 (表 6.)配置 real-time PCR TaqMan 系統之混合液，將混合液分裝到八連排中。

表 3. realtime-PCR 反應 SYBR Green 系統之混合液配方

Reagent	Volume
2X Master Mix Fast SYBR	5 μL
forward primer (25 μM)	0.04 μL
reverse primer (25 μM)	0.04 μL
ddH ₂ O	3.92 μL
DNA template	1 μL

表 4. realtime-PCR 反應 TaqMan 系統之混合液配方

Reagent	Volume
2X Master Mix Fast SYBR	5 μL
forward primer (25 μM)	0.12 μL
reverse primer (25 μM)	0.12 μL
probe(25 μM)	0.12 μL
ddH ₂ O	3.92 μL
DNA template	1 μL



開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗

表 5. 本計畫所使用之引子與探針序列

Target	Primer	Sequence (5'→3')
<i>Dehalococcoides</i> sp.16S rRNA gene	730F	GCGGTTTTCTAGGTTGTC
	1350R	CACCTTGCTGATATGCGG
	1200F	CTGGAGCTAATCCCCAAAGCT
<i>Dehalococcoides</i> qpcr	DHC Probe	FAM-TCCTCAGTTCGGATTGCAGGTGAA-TAMRA
	1271R	CAACTTCATGCAGGCGGG
<i>TceA</i> gene	797F	ACGCCAAAGTGCGAAAAGC
	2490R	TAATCTATTCCATCCTTTCTC
<i>TceA</i> gene qpcr	TceA1270F	ATCCAGATTATGACCCTGGTGAA
	TceA1336R	GCGGCATATATTAGGGCATCTT
	TceA1294Pro	FAM-TGGGCTATGGCGACCGCAGG-
	be	TAMRA
<i>VcrA</i> gene	vcrAF	CTATGAAGGCCCTCCAGATGC
	vcrAR	GTAACAGCCCCAATATGCAAGTA
<i>VcrA</i> gene qpcr	Vcr1022F	CGGGCGGATGCACTATTTT
	Vcr1093R	GAATAGTCCGTGCCCTTCCTC
		FAM-
	Vcr1042Probe	CGCAGTAACTCAACCATTTCCTGGTAGTGG-TAMRA
<i>BvcA</i> gene	bvcAF	TGCCTCAAGTACAGGTGGT
	bvcAR	TTGTGGAGGACCTACCT
<i>BvcA</i> gene qpcr	Bvc925F	AAAAGCACTTGGCTATCAAGGAC
	Bvc1017R	CCAAAAGCACCACCAGGTC



Bvc977Probe		FAM-TGGTGGCGACGTGGCTATGTGG-TAMRA
hydA gene	hydA_f	GCWGATATGACWATWATGGAAGAAG
	BHR	GCWGCTTCCATWACTCCACC
hydA gene qpcr	hydA_f	GCWGATATGACWATWATGGAAGAAG
	hydA_R	CCAAAWATTTGTTGWGGTGA

3.9 TCE 相關代謝物 GC 層析檢測

以針筒抽取 microcosm 瓶中之上層液體，並依不同稀釋倍數抽取合適之體積，注入裝滿超純水的 40 mL 棕色瓶中，將稀釋之樣品放入吹氣捕捉裝置(purge and trap concentrator)和氣相層析儀中，進行氯乙烯類之分析。

三氯乙烯之分析儀器為 GC-ECD (Agilent, 6890 GC/ μ ECD)。採用長度 30 m、膜厚 3.0 μ m、內徑 0.53 mm 之毛細管層析管柱(Agilent DB624)，可承受最高溫度 260°C。載流氣體(carrier gas)及輔助氣體(makeup gas)為零級氮(純度 99.9995%)，流量為 18.8 mL/min，氣體分流比(split ratio)為 10:1，氣體分流量(split flow)為 115 mL/min。注射口溫度 180°C，偵測器溫度 250°C。溫度控制條件為 40°C 維持 3 分鐘後，以每分鐘 8°C 之升溫速度升溫至 200°C 並維持 3 分鐘，分析時間共 26.00 分鐘。三氯乙烯平均停留時間為 2.53 分鐘，經由偵測器測而得之訊號傳送至所連接之電腦分析軟體(HP ChemStation)，可得分析結果。

3.10 次世代定序菌相分析組裝流程

微生物 16S rDNA V3-V4 區域放大純化

使用專一性引子以 PCR 擴增微生物 16S rDNA V3-V4 區域後，使用 2% 瓊脂凝膠進行電泳檢測。切下 400-450bp 的明亮條帶，以 Qiagen Gel Extraction Kit (Qiagen, Germany) 純化 PCR 產物。所有 PCR 反應均用 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation Kit (Illumina, San Diego, CA, USA) 進行。

建庫與定序

使用 Nextera XT Index Kit 樣品製備試劑盒 (Illumina, USA) 按照製造商的建議進行建庫與接上 barcode，建庫後之樣品使用與 4200 TapeStation System 系統進行建庫品質評估，品質良好之樣品使用 Illumina MiSeq 平台進行 300 bps pair-end 定序。

定序結果組裝



開發高效脫氮生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗

將定序完成之 raw data 去除 barcode 與 primer 序列後，以 FLASH(Caporado et al., 2011)軟體進行組裝，組裝完成之序列以 USEARCH (Youssef et al., 2009)進行 quality control 以獲得品質良好之序列 (Segata et al., 2011)，具有 $\geq 97\%$ 相似性的序列被分配給相同的 OTU。篩選每個 OTU 的代表性序列使用基於 Silva 數據庫 v 123。

OTU 群集與物種註釋

序列分析由 Qiime 軟體 (Edgar et al., 2013)進行。使用 mothur 計算 α 多樣性指數 (Richness、Chao1、ACE、Shannon 多樣性、Simpson 多樣性、Inverse Simpson, Shannon 均勻度、Simpson 均勻度和 Good's 覆蓋率)。使用 VEGAN9 之 R 套件計算稀疏曲線和物種積累曲線， β 多樣性指數 (Bray-Curtis 矩陣，PCoA 和 NMDS) 也是如此。



第四章：實驗結果

4.1 地下水井設置及整治期程設置

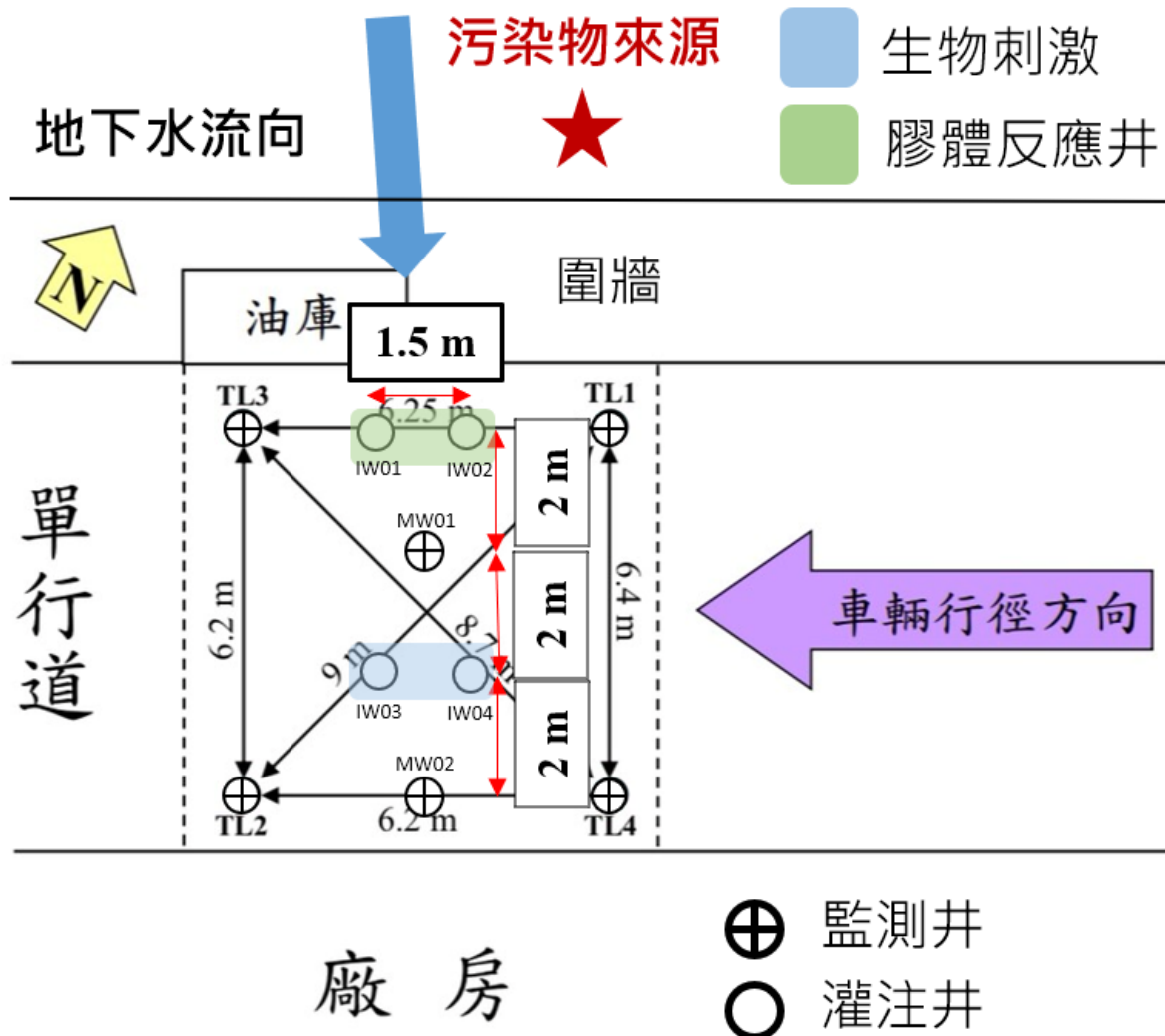


圖 6. 灌注井及監測井之設置圖

本場地設計六口井，其設置圖如圖 6 所示，以上設井已於 109 年 8 月進場施作完成，場地靜至於 110 年 1 月後進行地下水流速測定，觀察到本場址水力傳輸佳，場地平均水利傳導係數為 $2.96E-03 \text{ cm/s}$ ，如下表 6 所示。

由於靠近廠房下游井如 IW03 和 MW02 流速漸快，本研究採用固定化脫鹵球菌及產氫菌加強現地脫氯生物整治技術，思量流速對於生物膠體之影響，因此將上游灌注井(IW01-2)作為脫氯反應井，會添加生物基質以及本研究所開發的高效脫氯膠體，位於下游灌注井(IW03-4)作為生物刺激法之對照組，僅添加生物基質，同時用於監測脫氯膠體下游成效評估，設置 MW01 以及 MW02 做為無整治工法施做之監測井。



開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗

表 6. 場地水力傳導係數表

井號	水力傳導係數(cm/s)	井號	水力傳導係數(cm/s)
IW01	4.00E-04	IW04	4.50E-04
IW02	1.17E-04	MW01	5.17E-04
IW03	1.28E-03	MW02	1.50E-02

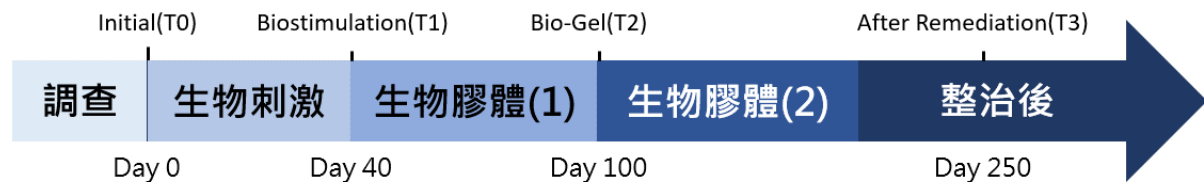


圖 7. 場地期程階段示意圖

本案期程規畫如上圖 7 所示，整治前會經過調查階段，以厭氧培養技術培養現地地下水進行模場運轉前現地菌群特性解析(Chapter 4.2)，作為後續使用菌種及相關工法之依據。進入整治階段後，將分為階段性處理，各個階段有相對的實驗對照組別設置，整治期程依據灌注藥劑後 TOC 變化決定期程長度，當場地平均 TOC 低於 10ppm 將不利於生物整治，期程將進入下一階段，補充生物基質以維持場地厭氧狀態利於脫氯反應進行。各階段說明如下，配置示意圖如下圖 8 所示：

- (1) **生物刺激**：本階段於 4 口灌注井(IW01-04)注入生物基質各 100L，觀察場地原生菌群脫氯成效，此階段作為後續脫氯反應井之對照組。
- (2) **生物膠體(1)**：本階段於 4 口灌注井(IW01-04)注入生物基質各 100L，於 IW01 放置脫氯膠體菌棒作為脫氯反應井，IW02 並無放菌棒做為生物膠體有無處理之對照組。
- (3) **生物膠體(2)**：本階段於 4 口灌注井(IW01-04)注入生物基質各 100L，於 IW01 和 IW02 放置脫氯膠體菌棒作為脫氯反應井，以 IW02 進行同一場地脫氯反應井第二重覆之實驗組。

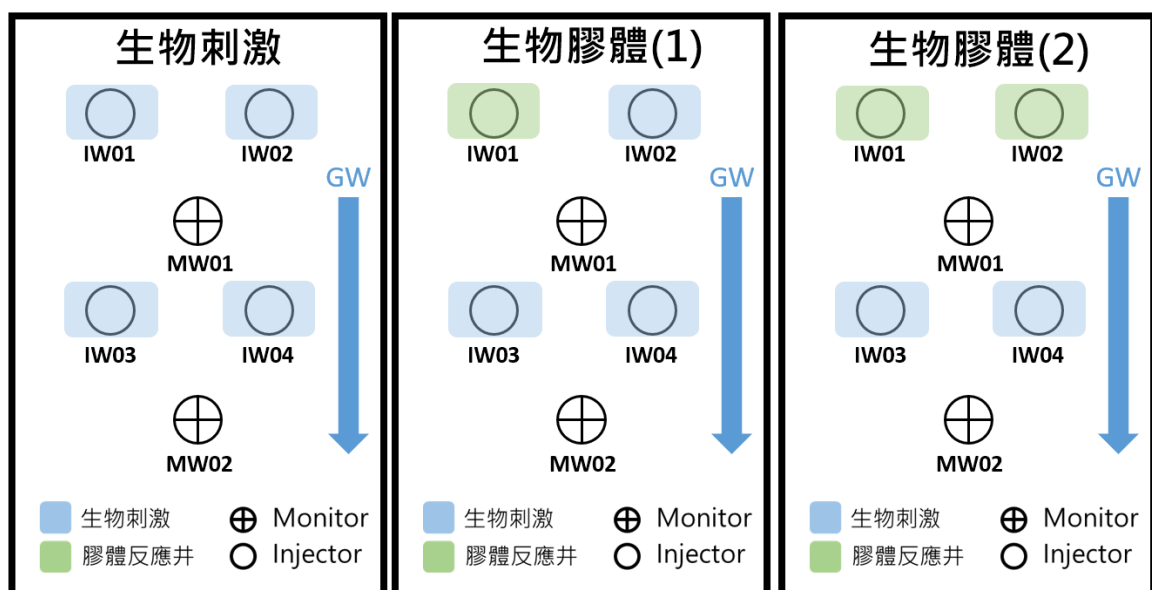


圖 8. 整治階段生物刺激井及脫氯反應井配置示意圖(GW 代表地下水流向)



第四章：實驗結果

本案採樣頻率規劃為每周一次，詳細規劃表如下表 7 所示，針對水質參數如 pH、導電度(EC)、氧化還原電位(ORP)、溶氧量(DO)、總有機碳量(TOC)、關切污染物(TCE、*cis*-DCE、VC)、氫氣、甲烷、乙烯等項目進行採樣分析，同時，針對關鍵脫氯降解基因(*tceA*、*bvcA*、*vcrA*)以過濾地下水抽取 DNA 進行 qPCR 分析，於本期末報告書中已採樣 31 個時間點。

同時本案針對運轉前(Initial)、生物刺激(Biostimulation)、生物膠體(1)(Bio-Gel)及整治後階段進行次世代菌相分析 (Metagenome Analysis)，分別位於天數第 0、40、100 及 200 天進行採樣，於本期末報告書中已分析 4 個時間點。

表 7. 模場試驗地下水水質及菌相分析採樣規劃表

分析項目	運轉前	生物刺激	生物膠體 (1)		生物膠體 (2)		運轉後	小計
	2 月	3 月	4 月	5 月	6 月	7 月	8 月 -12 月	
一般水質項目	1	4	5	4	5	4	8	31
關切污染物 (VOCs)	1	4	5	4	5	4	8	31
最終產物 (氫氣(H ₂)、 甲烷(CH ₄)、乙烯 (C ₂ H ₄))	1	4	5	4	5	4	8	31
Metagenome Analysis	1	1	-	1	-	-	1	4
qPCR Analysis	1	4	5	4	5	4	8	31



開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗

4.2 模場運轉前現地菌群特性解析

為研究現地地下水菌群是否擁有脫氯降解之能力，因此將從地下水井 MW01 蒐集到之地下水以加入緩衝試劑、醋酸鈉、維他命 B12、微量元素以及厭氧還原劑等脫氯球菌專用配方，並且在頂空添加足量氫氣，測試該地地下水是否擁有原生菌群可以達到完全脫氯，添加 80 μ mole TCE 後經過約 70 天的批次培養，實驗結果可知 TCE 得以在 10 天順利被降解成 *cis*-DCE，但是隨後就維持在 *cis*-DCE 後不再降解，現地菌群無法脫氯至 VC 或乙烯，其結果如圖 9 所示。

本團隊進一步將 70 天 TCE 降解至 *cis*-DCE 之優勢菌群進行 NGS 次世代菌相分析(圖 9)，可以見得該菌群之優勢菌屬為 *Geobacter* 屬，占比高達 60%，該屬已於過去文獻證明僅可以將 TCE 或 PCE 降解成 *cis*-DCE (Hermon, et al. 2019)，由此可以解釋本地地下水菌群應無法自行進行厭氧還原脫氯至乙烯，此為導致場地累積 *cis*-DCE 之主要原因，整治策略需要仰賴外部提供有活性的脫氯球菌進行環原脫氯反應，因此，本場址將非常適合用於脫氯膠體的現地測試，主要需要 *cis*-DCE 後續之脫氯降解，使用包埋功法進行生物添加脫氯球菌 BAV1 應可以幫助現地整治，達到完全脫氯至乙烯。

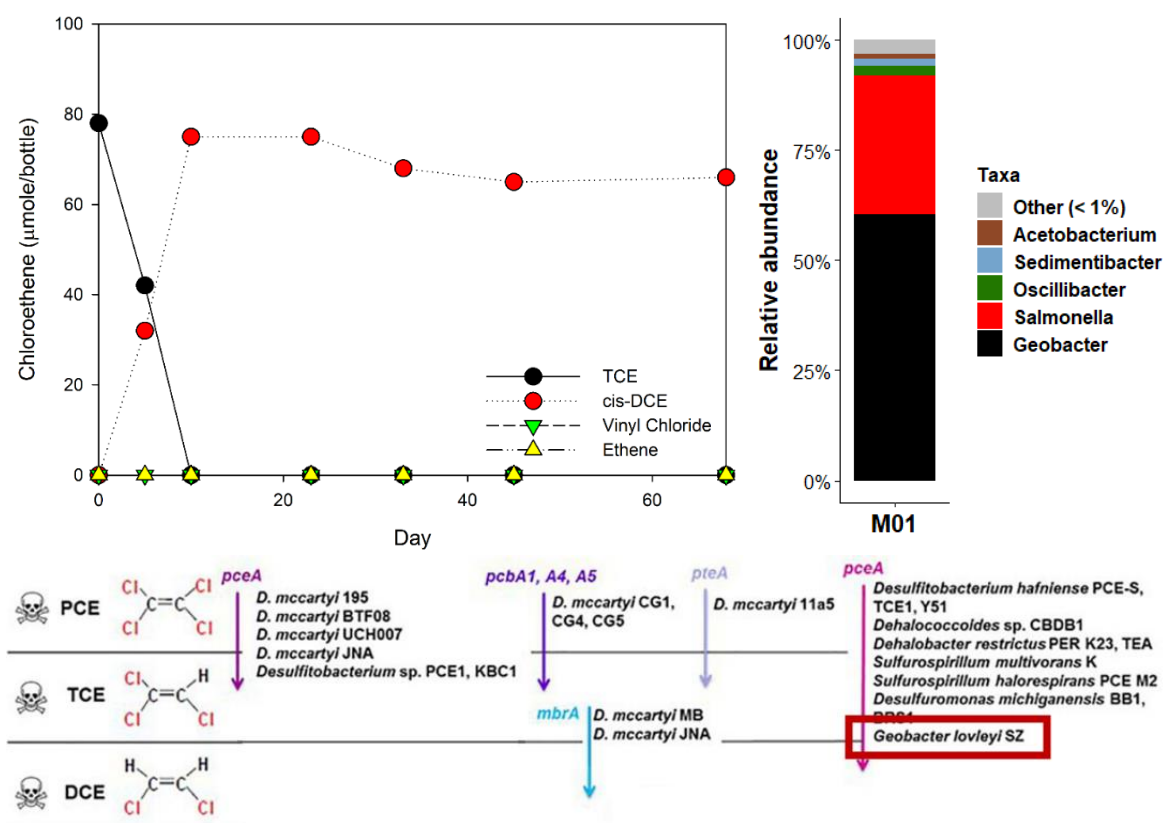


圖 9. 現地菌群降解 TCE 之批次實驗及優勢菌相分析(Hermon, et al. 2019)



4.3 脫氯膠體管柱配置及現場設置圖

本研究之脫氯膠體安裝設置圖如下圖 10，本脫氯膠體已獲得台灣專利 I701324，因此此處只簡易敘述。脫鹵球菌及產氫菌株經培養完成後，離心收集菌體，再以厭氧之脫鹵球菌培養液回溶後與矽膠材料填充至管柱內，待凝固後即完成脫氯膠體菌棒，加入厭氧之脫鹵球菌培養液維持菌體新鮮度，製造過程必須全程保持厭氧，最後封裝於塑膠管中，填充氮氣可儲存於冰箱至少 2 周，到現場拆開包裝即可投放於現地反應井使用，搭配懸掛系統可以固定於井塞。

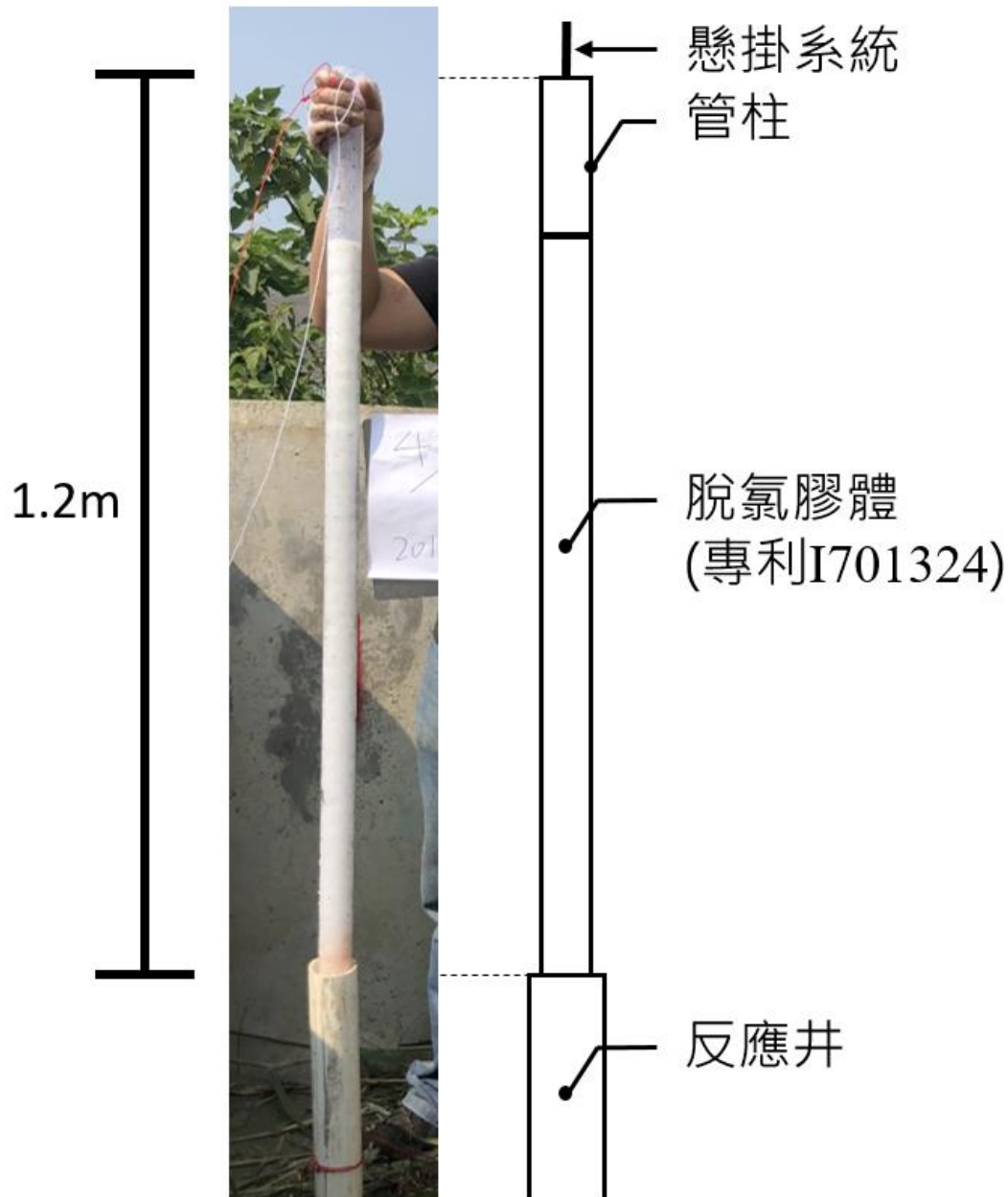


圖 10. 脫氯膠體菌棒設置示意圖



開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗

4.4 整治基本環境參數分析

利用中華民國行政院環境保護署檢驗所(NIEA)公告之地下水採樣及分析方法執行。分析項目包含 pH 值、還原電位(ORP)、導電度(EC)及溶氧(DO)，樣本為反應井(IW1-4)以及下游監測井(MW1-2)。

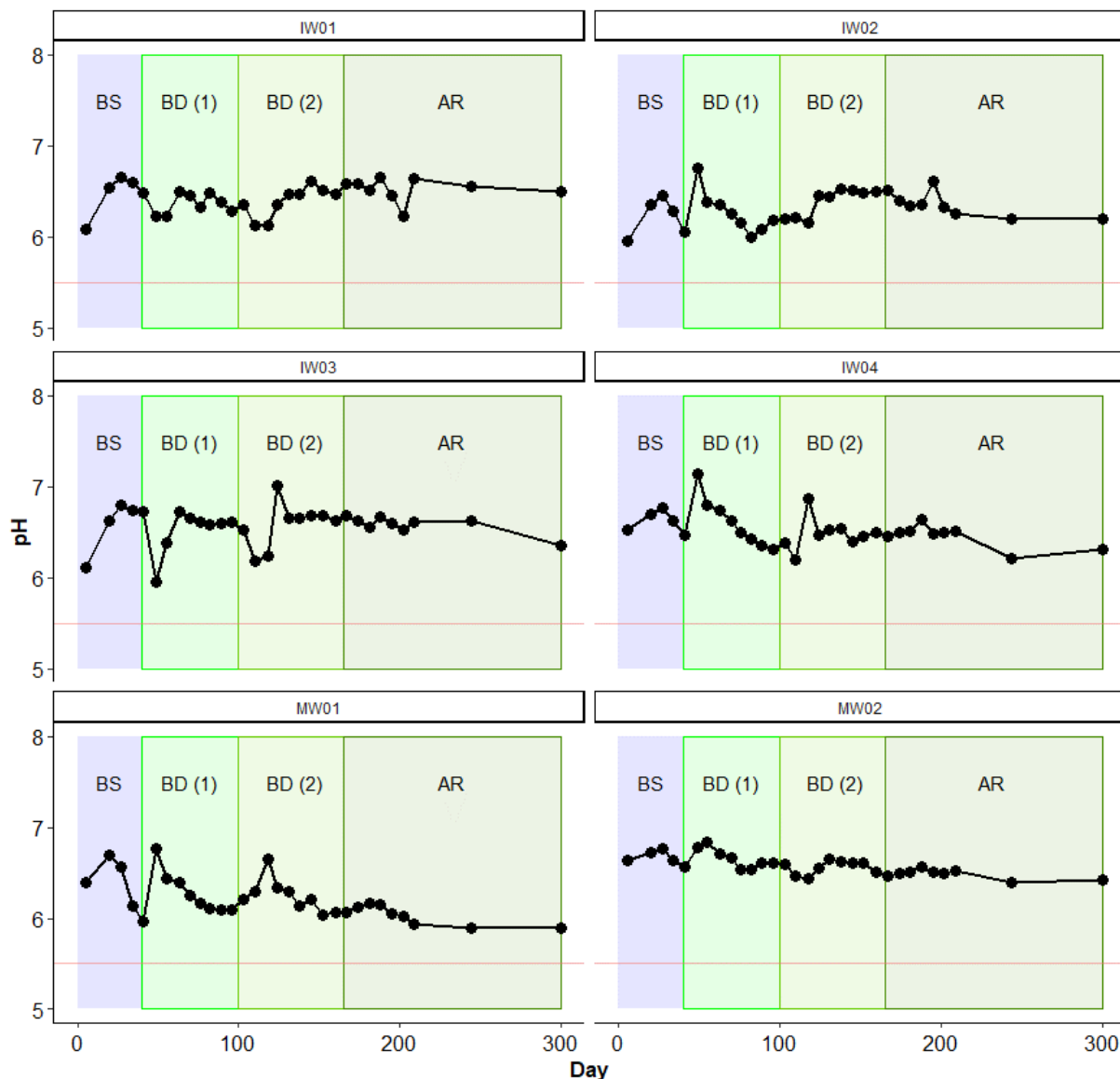


圖 11. 反應井及監測井之 pH 變化圖

pH 之趨勢圖如圖 11 所示，本研究於每一個階段初始於灌注井中添加生物基質，pH 的監控極為重要，根據前人研究當現地如果 pH 低於 5.5 則不會有脫氯反應(Yi, et al., 2017)，當藥劑作用於 IW01-04 中時，pH 會呈現下降的趨勢，因此，本團隊會加強補充碳酸氫鈉緩衝試劑於現地，往後場地的 pH 值則會維持於 pH 6 以上，確保場地水質狀態適合脫氯反應的進行。



第四章：實驗結果

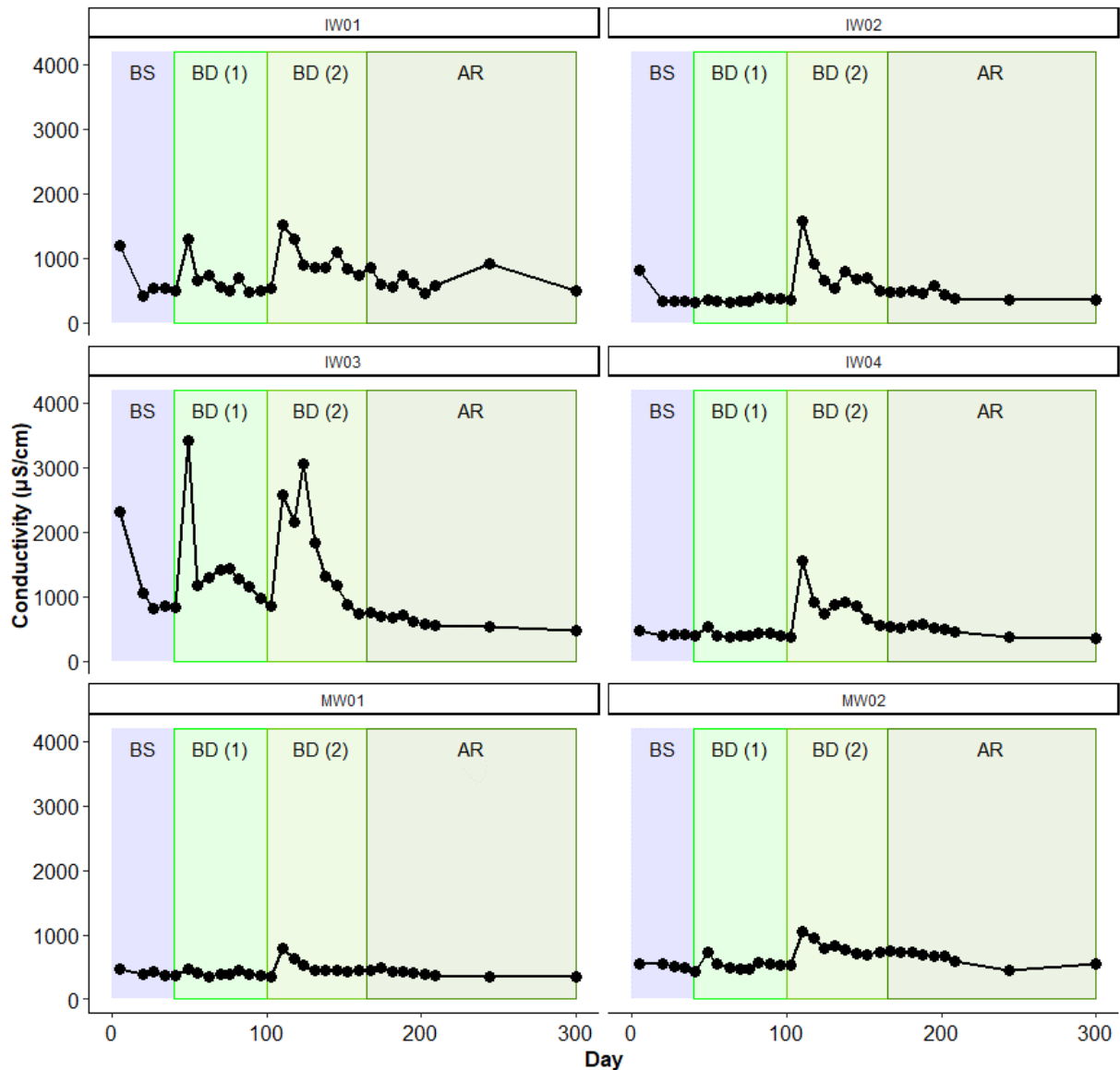


圖 12. 反應井及監測井之導電度變化圖

導電度變化趨勢圖如圖 12 所示，導電度會因生物基質中鹽類、生物反應後產生的代謝物以及微生物增長而改變，因此導電度與 TOC 的變化非常有關，可以從導電度變化看到灌注生物藥劑後皆有上升，隨後就會回到灌注前的狀態，搭配 TOC 的分析，可以確認下一期添加生物基質的時機。



開發高效脫氮生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗

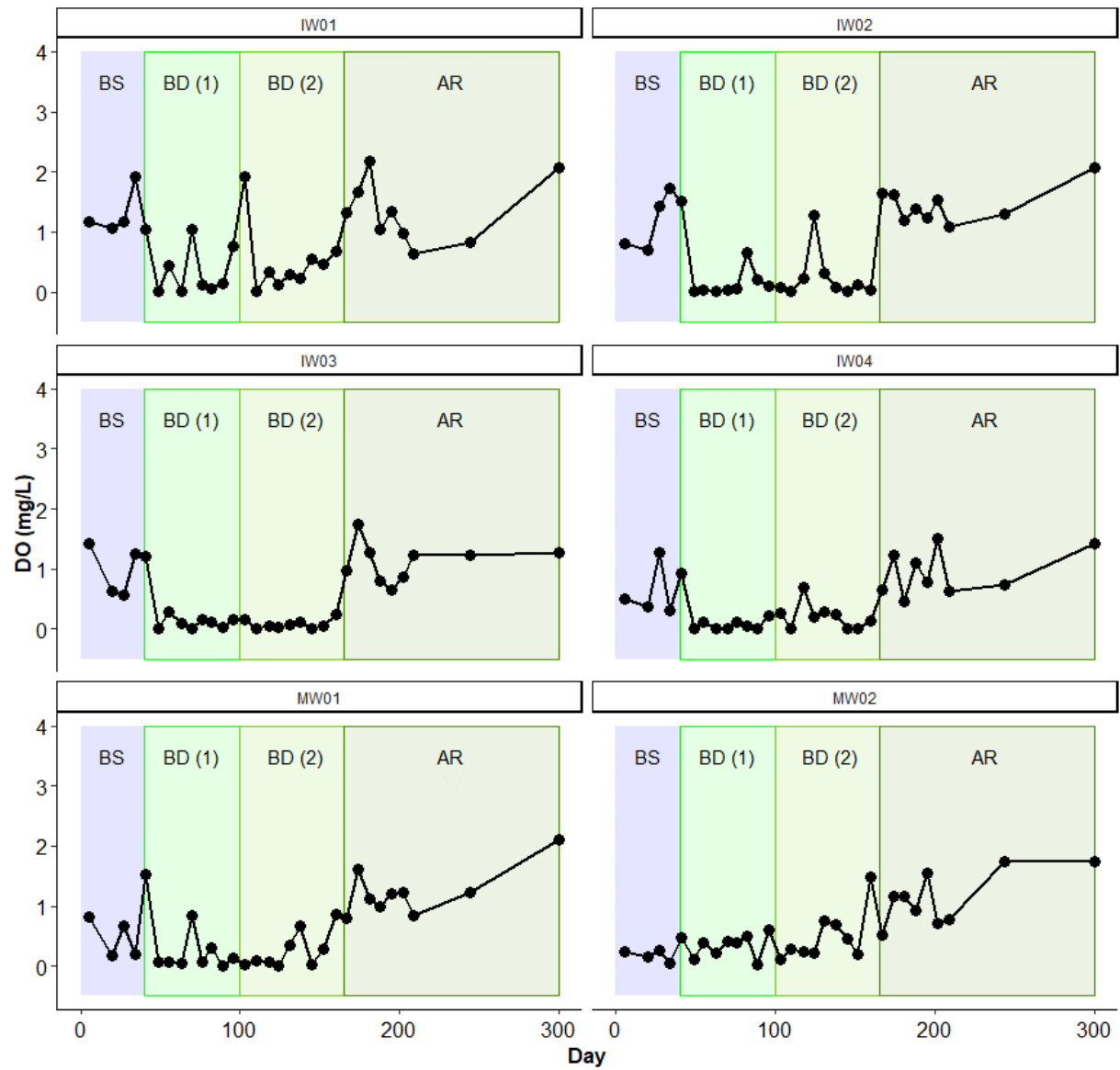


圖 13. 反應井及監測井之溶氧變化圖



第四章：實驗結果

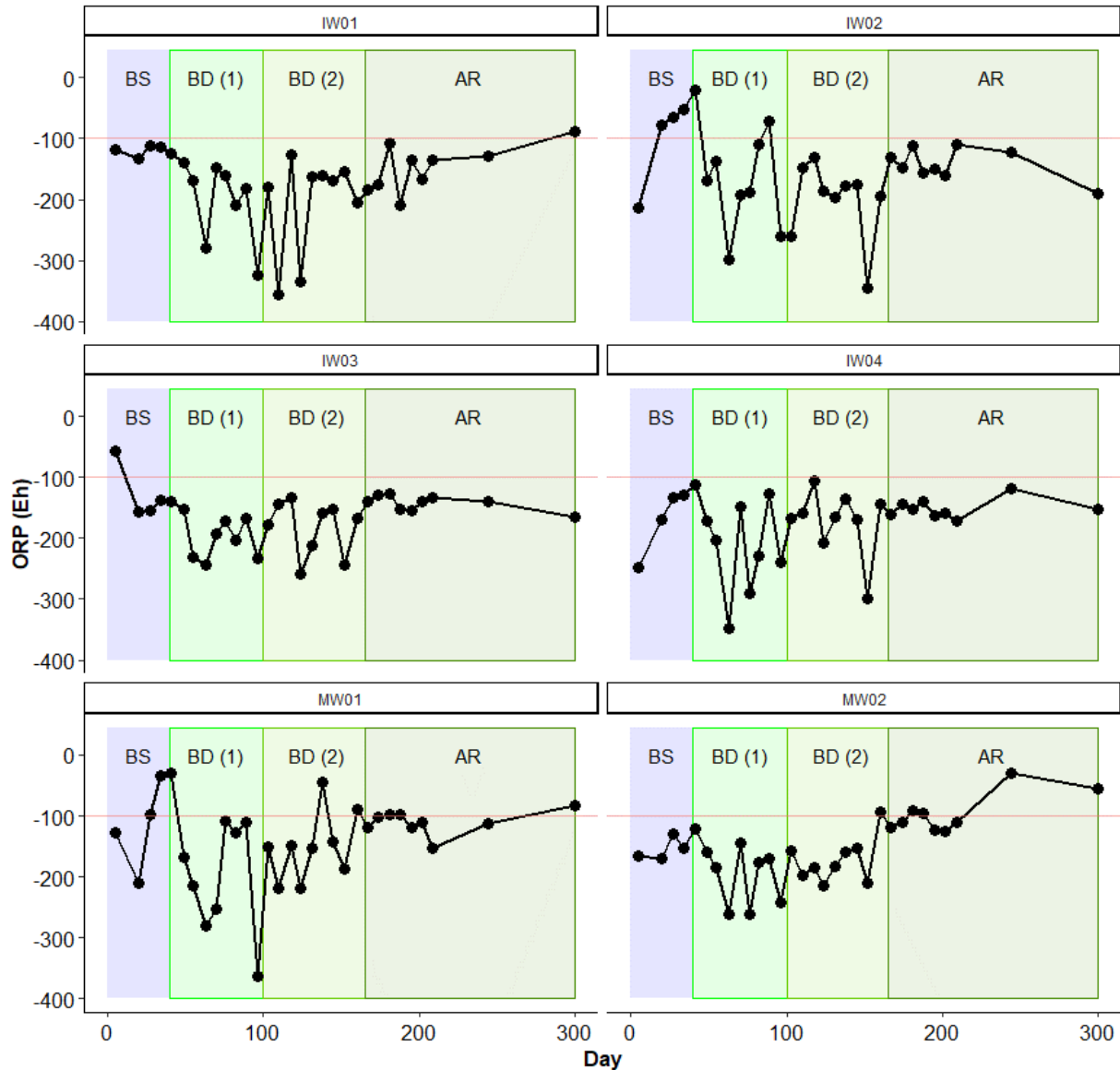


圖 14. 反應井及監測井之氧化還原電位變化圖

溶氧與氧化壓力變化圖如圖 13 和圖 14 所示，氧化還原電位(ORP)以及溶氧量(DO)顯示，經由添加生物基質後於各口井皆維持在厭氧狀態，DO 顯示低於 1ppm 以及 ORP 低於-100mV，顯示該環境適合脫氯菌進行脫氯，整治後的階段 ORP 及 DO 也回復到生物刺激前的數值。



開發高效脫氮生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗

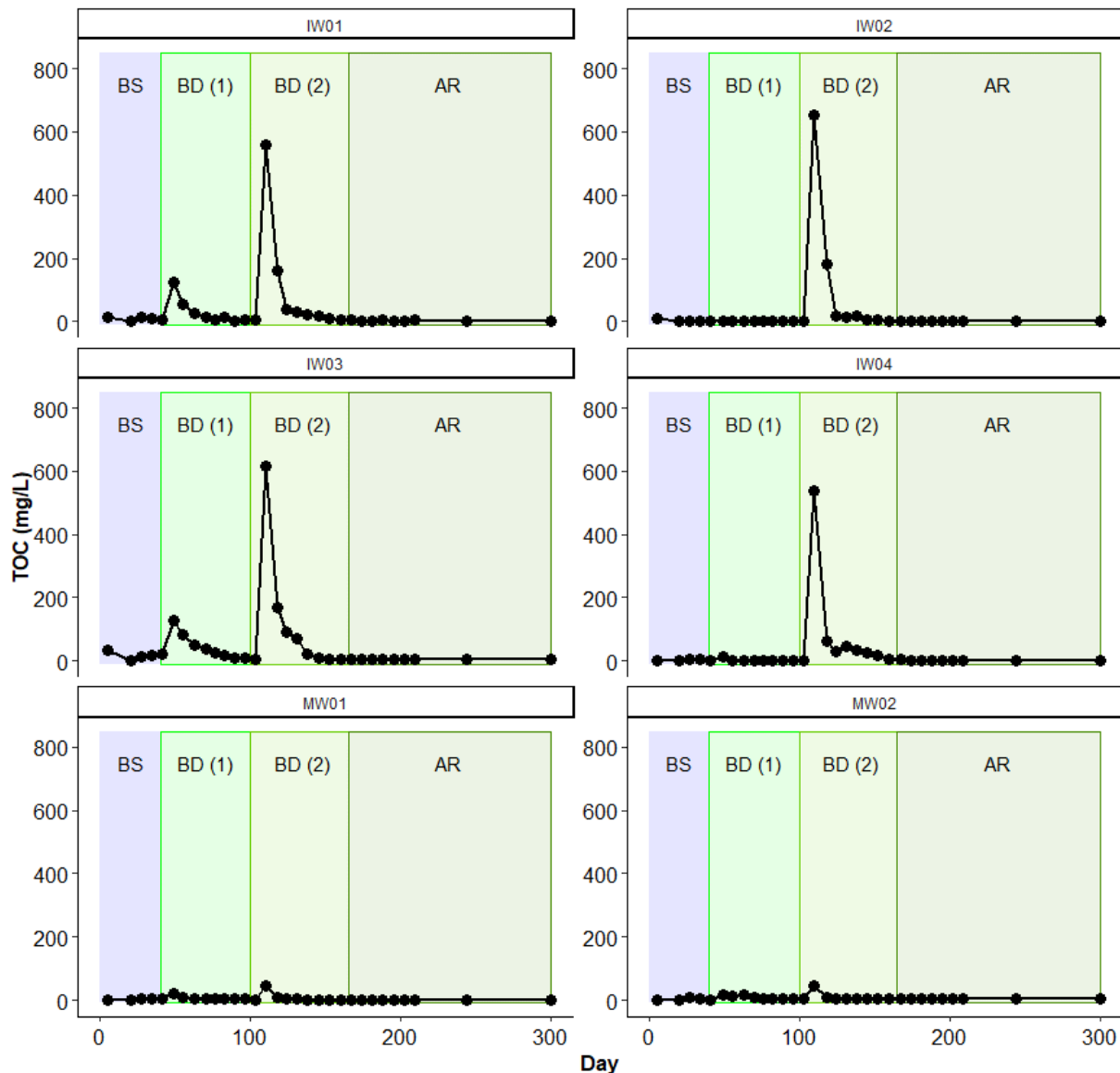


圖 15. 反應井及監測井之總碳源濃度變化圖

總碳源濃度(TOC)變化圖如圖 15 所示，TOC 受到地下水生物基質濃度影響，可以於灌注井中看到添加藥劑後 TOC 有上升趨勢，隨著菌群作用而逐漸下降，然而，在生物刺激以及生物膠體(1)階段皆有添加生物基質，TOC 卻維持在低濃度，推測為當時地質條件傳輸較快，使得藥劑停留時間較短，透過 qPCR 檢測微生物數量已有上升(Chapter 4.7)，此結果說明藥劑已有作用，到了生物膠體(2)階段，灌注井(IW01-04)之 TOC 皆已明顯上升，隨著菌群作用而逐漸下降，從 qPCR 分析可以見得菌群添加生物基質後可以維持在高菌數(圖 20)，同時，在生物膠體整治階段脫氮反應明顯產生(圖 19)，顯示該地菌群經過生物基質以及脫氮膠體的相互作用維持高度脫氮活性，當灌注井 TOC 低於 5ppm 後，本團隊將會再灌注井補充新的生物基質用以延續地下水菌群之脫氮活性，第 170 天後停止添加生物基質。



4.5 電子提供者及電子競爭者分析

利用中華民國行政院環境保護署檢驗所(NIEA)公告之地下水採樣及分析方法執行。分析項目包含關切電子提供者:氫氣(H_2)以及關切競爭者甲烷(CH_4)。

目前已知脫鹵球菌僅可以使用的電子提供者為氫氣(H_2)，脫鹵球菌能使用之碳源已知為醋酸(Acetate) (Loffler, et al., 2005)。一般在脫氯菌群中，氫氣可以透過發酵反應獲得，因此使用生物基質進行發酵產生氫氣是可行的 (He, et al., 2002)，透過發酵一同產生氫氣和醋酸提供脫鹵球菌使用，然而，過多的氫氣會使得電子優先導向甲烷生成菌以及醋酸生成菌。

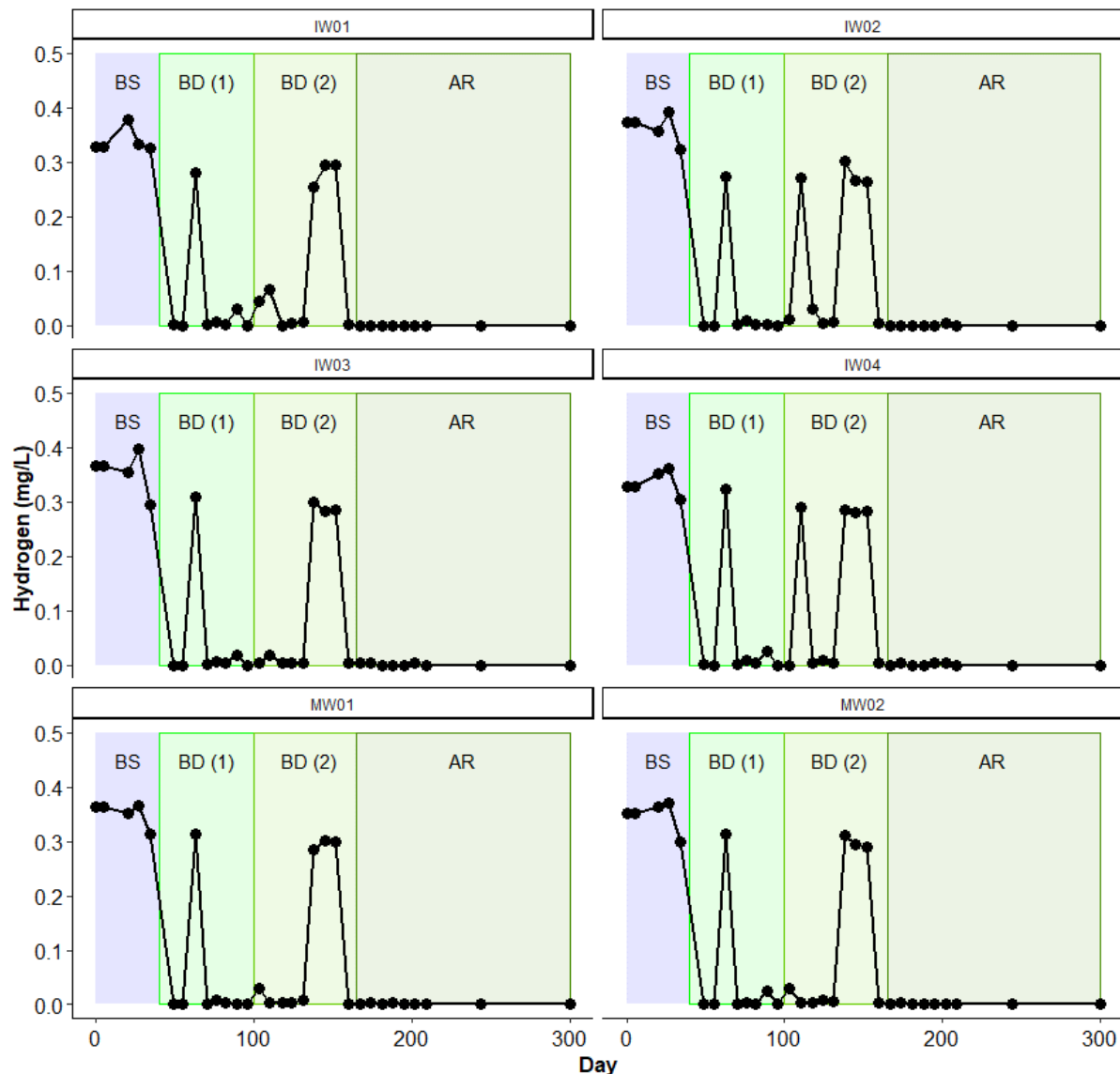


圖 16. 反應井及監測井之氫氣變化圖



開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗

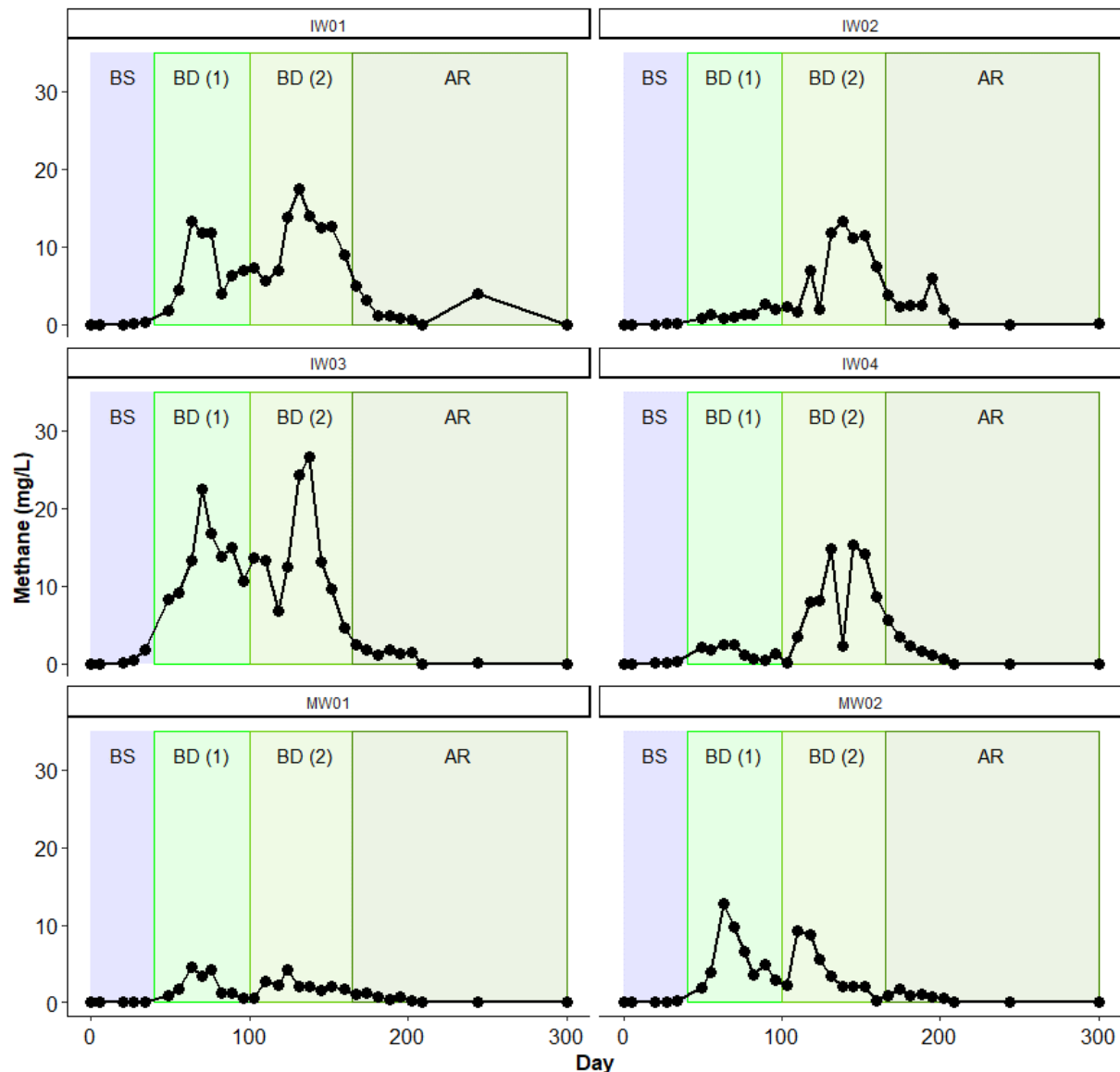


圖 17. 反應井及監測井之甲烷變化圖

氫氣消長可以顯示場地之生物基質是否有足夠的發酵反應，從圖 16 可得知各整治階段中皆有氫氣產生($0.3\text{ppm}\pm 0.1$)，然而，介於 40 天至 120 天之間氫氣的量相對較低，在這個階段中，從圖 17 可以見得甲烷生成反應較為明顯，最高可以到達 28ppm ，並於 120 天甲烷生成量逐漸下降並維持在 10ppm 左右，同時氫氣又回升到 0.3ppm 的水準，此時甲烷與氫氣的皆維持在平衡狀態，對照脫氯反應的關係，圖 19 顯示於 40 天至 250 天皆有觀察到高效的脫氯反應(乙烯的產生)，顯示氫氣與甲烷的消長並不太影響脫氯菌達到完全脫氯。

過去有許多文獻顯示甲烷生成菌屬於脫氯菌的電子競爭者，過多的甲烷菌會影響脫氯反應(Lin et al., 2021)，然而，過多的氫氣累積產生會導致現地發酵者抑制發酵反應，使得發酵不完全，發酵者不能產生足夠的有機酸(如醋酸)給予脫氯菌使用(Men et al., 2012)，因此，氫氣的消耗對於發酵菌群來說是相當重要的。

甲烷菌即是一種重要的氫氣使用者，甲烷的生成可以確保地下水狀態屬於脫



第四章：實驗結果

氣反應所需要的絕對厭氧狀態(圖 18)(Bradley and Löffler, 2008)，過去亦有許多文獻報導甲烷生成菌的存在會提升還原脫氯反應(Vogel and McCarty, 1985, Heimann et al., 2006)，同時也有文獻報導甲烷菌對於維他命 B12 的提供有著相當重要的地位(Stupperich et al., 1987)，維他命 B12 之存在亦對脫氯反應十分重要(Men et al., 2012)，因此，甲烷生成菌的存在對於脫氯反應並不全然為競爭關係，而在菌相變化圖(圖 20)中整治後階段的菌相發現甲烷菌的數量大幅度的下降，此結果也呼應了溶氧及氧化還原電位上升的結果，說明地下水環境整治後又回到微厭氧的原始狀態。

Relative Redox Condition	Oxygen Status	Succession of Electron Accepting Processes	Example Subdiscipline Usage	
			Geochemistry	Microbiology
Strongly Oxidizing  Strongly Reducing	Oxic	O ₂ -reduction	Oxic	Aerobic (strictly oxidizing)
	MDL ^a [O ₂] = 0 ^b Practical Anoxic Strict Anoxic	NO ₃ -reduction Mn(IV)-reduction Fe(III)-reduction Chlororespiration SO ₄ -reduction Methanogenesis	Post-Oxic Anoxic	Anaerobic (partially oxidizing or reducing) Anaerobic (strictly reducing)

^aMDL: Minimum detection limit as defined by the analytical method.

^b[O₂] = 0: Theoretical point at which the dissolved oxygen concentration falls to zero.

圖 18. 土壤及地下水環境之氧氣與氧化還原之條件之相關術語示意圖，紅框代表為脫氯反應產生之氧化還原位階，藍框代表甲烷生成之氧化還原位階(Bradley and Löffler, 2008)



開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗

4.6 關切污染物及整治成效分析

利用中華民國行政院環境保護署檢驗所(NIEA)公告之地下水採樣及分析方法執行。分析項目包含關切污染物三氯乙烯(TCE)、順-二氯乙烯(*cis*-DCE)、氯乙烯(VC)以及最終產物: 乙烯(C_2H_4)。

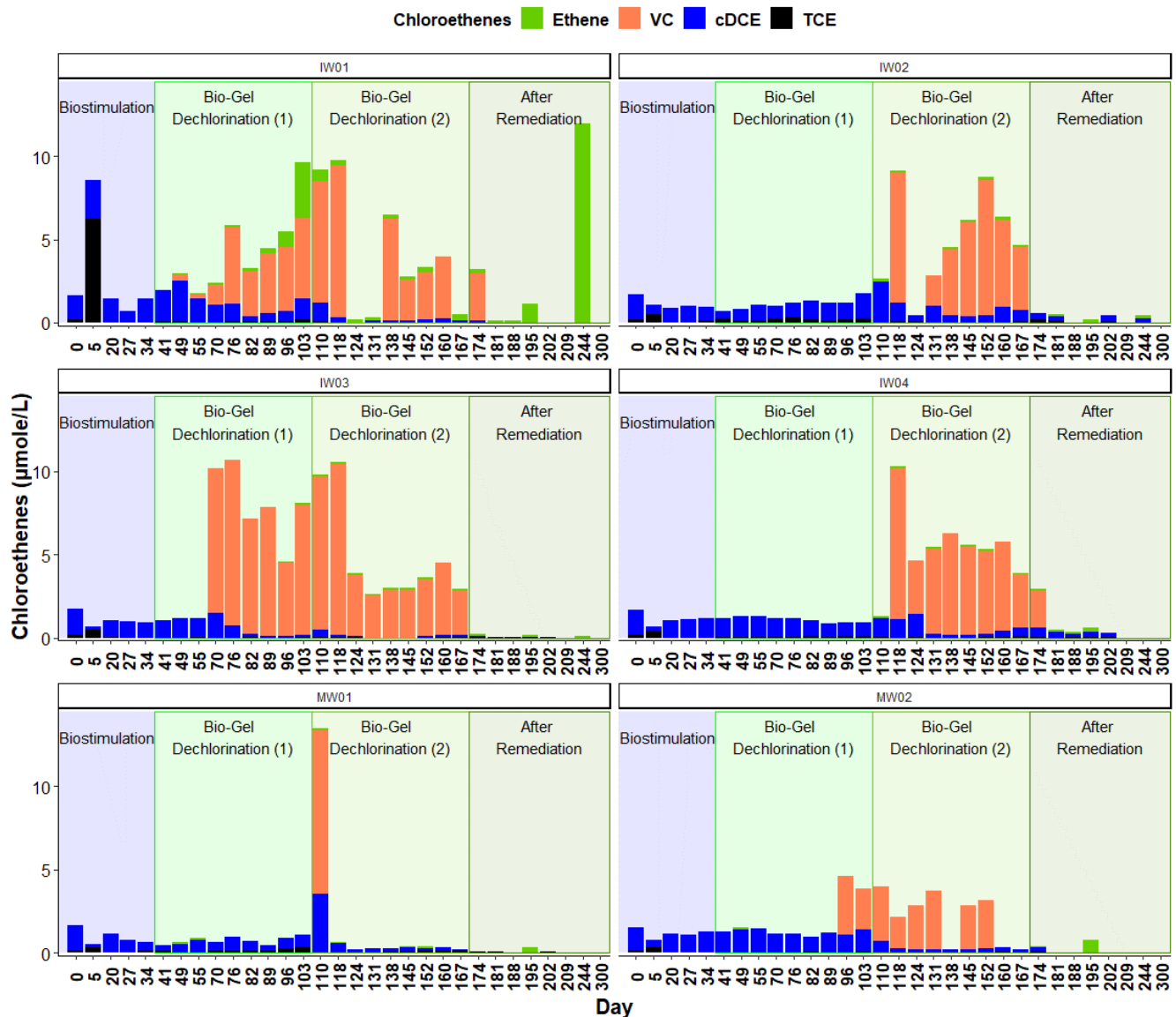


圖 19. 反應井及監測井之關切污染物三氯乙烯(TCE)、順-二氯乙烯(*cis*-DCE)、氯乙烯(VC)和最終產物乙烯(Ethene)之降解變化圖

按照本案期程規畫圖(圖 6)以及整治階段反應井配置設計配置圖(圖 8)，整治階段將分為階段性處理，於期末進度 300 天為止，總共進行了三個階段：

- (1) 生物刺激(Biostimulation, BS)
- (2) 生物膠體(1)(Bio-Gel Dechlorination (1), BG (1))
- (3) 生物膠體(2)(Bio-Gel Dechlorination (2), BG (2))
- (4) 整治後(After Remediation, AR)



第四章：實驗結果

關切污染物以每公升污染物及乙烯之莫爾數做堆疊柱狀圖進行分析(圖 19)，此種做圖利於觀察污染物降解樣態以及污染物離開地下水系統之比例，下列根據各階段的關切污染物說明整治成效：

(1) 生物刺激(第 1 天~第 34 天)：

本階段於 4 口灌注井(IW01-04)注入生物基質各 100L，並無添加脫氯膠體，用以觀察場地原生菌群脫氯成效，此階段作為後續生物膠體反應井之對照組。

場地在添加生物藥劑後，於第 5 天可以見得土壤中的 TCE 受到藥劑的影響有脫附之現象，於 IW01 可以見得 TCE 明顯的上升($6.23\mu\text{mole/L}$)，並且 TCE 開始被降解成 *cis*-DCE，其餘的井 TCE 上升的幅度不高($0.43\pm 0.076\mu\text{mole/L}$)，TCE 亦被降解成 *cis*-DCE。

然而，場地並無進一步降解成 VC 或乙烯，於第 34 天場地 6 口井之 *cis*-DCE 濃度穩定維持在($0.52\pm 0.63\mu\text{mole/L}$)，生物刺激之成效與實驗室之脫氯活性結果相同(Chapter 4.2, 圖 9)，現地菌群優勢菌屬為 *Geobacter* 只能夠脫氯到 *cis*-DCE，無脫氯到 VC 或乙烯之能力，使用生物基質僅導致 *cis*-DCE 累積，與原始濃度相比降解率僅落在 10% 左右，因此，本場地使用生物刺激工法並無法達到改善地下水污染物之成效。

(2) 生物膠體(1)(第 41~第 103 天)：

本階段於 4 口灌注井(IW01-04)注入生物基質各 100L，於 IW01 放置脫氯膠體菌棒作為脫氯反應井，IW02 並無放菌棒做為生物膠體相對應之對照組(Control)。

由於 4 口灌注井平均 TOC 在第 34 天時下降到 7.81ppm，初步判斷藥劑因地下水流快速而流失，此時場地已進入厭氧狀態($\text{ORP} < -100\text{mV}$)，因此，在第 41 天重新添加藥劑以及在 IW01 放入脫氯膠體菌棒開始進行實驗。

在 IW01 污染物降解趨勢中，可見得當脫氯膠體菌棒放置後隔周(第 49 天)開始測得 VC 以及乙烯產生，此時，*cis*-DCE 因藥劑添加產生脫附現象 *cis*-DCE 濃度測得最高($2.32\mu\text{mole/L}$)。*cis*-DCE 隨著脫氯反應開始降解成 VC 及乙烯，在第 82 天 *cis*-DCE 濃度下降至 $0.34\mu\text{mole/L}$ ，降解了 85% 的 *cis*-DCE，並且持續產生乙烯，TCE 幾乎沒有測得($< 0.01\mu\text{mole/L}$)。然而，我們在第 103 天測得 TCE 和 *cis*-DCE 濃度上升(分別是 $0.12\mu\text{mole/L}$ 和 $1.24\mu\text{mole/L}$)，應為新的外源污染物流進場地，此時，乙烯的生成量達到最高($3.31\mu\text{mole/L}$)，脫氯反應活性很高。IW01 因加入脫氯膠體，在生物膠體(1)階段中擁有高活性的脫氯反應，顯示使用脫氯膠體搭配生物刺激工法，可以迅速改善地下水污染物之整治成效。



在 IW01 的下游井 IW03 以及 MW01 中，由圖 19 見得 IW03 與 IW01 的污染物降解樣態接近，顯示兩口井的上下游關係明顯，雖 MW01 較 IW01 接近，但是兩者降解趨勢較不相近，MW01 應也受 IW02 之影響，IW01 和 IW03 彼此之間應存在優勢流。從 IW03 的污染物降解趨勢得知，在生物刺激階段未看到 VC 或乙烯的產生，然而，進入生物膠體(1)階段，在脫氯膠體安裝在 IW01 後第三周(第 70 天)，可以見得 VC 突然上升，*cis*-DCE 並無明顯下降，顯然是受到脫氯膠體反應過後的地下水流經下游 IW03，此時，*cis*-DCE 之濃度為本階段最高(1.5 $\mu\text{mole/L}$)，隨後可以看到 *cis*-DCE 明顯下降，隨著 IW01 脫氯反應之進行，流到 IW03 之污染物也隨之下降，於第 96 天看到 *cis*-DCE 濃度來到本階段最低點(0.1 $\mu\text{mole/L}$)，*cis*-DCE 濃度下降 93%，沒有測得 TCE(<0.01 $\mu\text{mole/L}$)，同時也測到乙烯。由此可以得知位於上游之脫氯膠體其反應井的功效範圍至少可以影響到下游 4m 的下游井，隨著上游污染物被脫氯膠體降解，下游污染物之濃度也會隨之下降。

分析本階段之對照組之 IW02 和 IW04 組別污染物降解趨勢，可以得知，於灌注井再添加營養基質刺激原生地下水菌群，IW02 的 *cis*-DCE 濃度不減反增，IW02 之 *cis*-DCE 濃度從第 41 天之 0.45 $\mu\text{mole/L}$ 到第 103 天之 1.5 $\mu\text{mole/L}$ ，整體提升近 3 倍，IW02 亦持續測得 TCE 流入，這即可呼應此階段 IW02 持續有 *cis*-DCE 新污染物流入的現象，顯示單純使用生物刺激法一旦有外來污染源，會導致場地污染物持續累積。IW02 和 IW04 此兩口井的污染物降解樣態較為相似，相同的趨勢同樣可以在 IW04 看到，然而，IW04 的 *cis*-DCE 濃度有些微的下降，從本階段開始第 41 天之 1.13 $\mu\text{mole/L}$ 到第 103 天之 0.75 $\mu\text{mole/L}$ ，*cis*-DCE 濃度僅下降 33%，並且還有 TCE 存在(0.34 $\mu\text{mole/L}$)。

監測井 MW01 和 MW02 兩口井從降解樣態分析，並無看到 VC 流經，然而，MW01 和 MW02 於本階段初期，皆有測得微量的乙烯，顯示當 IW01 和 IW03 處理過後的地下水流經 MW01 和 MW02，VC 的殘餘量極低並殘存乙烯，對於下游井危害較小。

(3) 生物膠體(2)(第 110~第 152 天)：

本階段於 4 口灌注井(IW01-04)注入生物基質各 100L，於 IW02 新增脫氯膠體菌棒作為脫氯反應井，IW02 進行同一場地脫氯反應井第二重覆之實驗組，IW01 以原先的菌棒持續降解污染物測試脫氯膠體持久性。

首先，IW01 於本階段初期(第 110 天)受到新的外源污染物 *cis*-DCE(1.14 $\mu\text{mole/L}$)影響，此時反應井依舊有能力將 *cis*-DCE 降解到 VC 和乙烯，並且在兩周後(第 124 天)之 *cis*-DCE 降解率達到 100%，當污染物被清除完畢後，VC 也未被測得(<0.01 $\mu\text{mole/L}$)，此時還可以測得乙烯濃度為 0.19 $\mu\text{mole/L}$ ，顯示所有的污染物被完全脫氯到乙烯後，離開了地下水系統，因此，截至第 124 天為止，證實本團隊開發之脫氯膠體應用於



第四章：實驗結果

現地地下水中，能夠確實改善二氯乙烯累積之問題，並且完全清除現地地下水之多氯乙烯污染，IW01 之脫氯膠體已使用超過 100 天以上，可長時間使用，於 152 天持續移除污染物。

IW02 於本階段新增脫氯膠體於灌注井中，從圖 19 可以見得放入膠體後一周(第 118 天)即可看到 *cis*-DCE 被降解成 VC 和乙烯，從本階段一開始最高 *cis*-DCE 濃度 2.44 $\mu\text{mole/L}$ ，兩周(第 124 天)後快速降解到 0.42 $\mu\text{mole/L}$ ，降解了 83% 的 *cis*-DCE，降解效果與 IW01 於生物膠體(1)階段的降解效果接近，隨後於第 131 天之 *cis*-DCE 濃度又上升到 1.02 $\mu\text{mole/L}$ ，顯示此時有新的外源污染物流進場地，脫氯反應隨之啟動，持續降解 *cis*-DCE。IW02 放入脫氯膠體後的整治成效與先前將近 100 天的生物刺激工法相比，明顯改善場地 *cis*-DCE 累積問題，達到了完全移除污染物以及減少整治期程之成效。

位於下游井之 IW03、IW04、MW01 和 MW02 皆在此階段 *cis*-DCE 濃度大幅下降，其中 IW03 的 *cis*-DCE 在第 138 和 145 天無測得 ($<0.01 \mu\text{mole/L}$)，降解率達到 100%，同時還是持續產生 VC 和乙烯，顯示受到 IW01 新流進的外源污染物影響。這裡值得注意的是下游井 IW04、MW01 和 MW02，當 IW01 和 IW02 同時放入脫氯膠體後，*cis*-DCE 的最高降解率分別是 90%、95% 以及 86%，下游井之平均 *cis*-DCE 維持在 $0.15 \pm 0.05 \mu\text{mole/L}$ ，最遠之 MW02 亦受到脫氯膠體的影響，改善 *cis*-DCE 累積的現象，可以見得生物膠體整治工法最遠傳輸範圍可以影響到 6m 以上，從下游井的污染物降解成效評估，本脫氯膠體可以達到良好的污染攔截效果。

(4) 脫氯膠體整治後 (第 167~第 300 天)：

本階段開始停止於 4 口灌注井(IW01-04)注入生物基質，維持於 IW01 和 IW02 設置脫氯膠體菌棒作為二重覆的脫氯反應井，也證明了 IW01 之脫氯膠體已使用超過 200 天以上。

從 6 口井的降解趨勢中可以見得，在生物膠體使用 100 天後污染物的降解已經從 *cis*-DCE 到乙烯的階段，此趨勢持續到整治第 174 天，值得注意的是，當停止於灌注井內的生物基質添加後，我們從第 180 天持續進行污染物的追縱，並發現在 6 口井內原本殘留的 VC 都已經被完全降解，降解率達到 100%，並且無污染物回升的跡象，尤其在反應井 IW01 中也監測到最終產物高濃度的乙烯生成，透過此結果得知低濃度的碳源依然可以維持脫氯反應進行(圖 15)，我們也合理推測包埋於膠體內的脫鹵球菌及丁酸梭菌都可以維持在一定的活性，並且透過污染物降解趨勢的比對，也證明了兩種細菌從上游井到下游井具有良好的擴散效果(圖 20)。位於下游井之 IW03、IW04、MW01 和 MW02 在此階段 *cis*-DCE 濃度皆維持在非常微量的濃度殘留 ($<0.01 \mu\text{mole/L}$)，可以見得在水流方向



開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗

上游 IW01 及 IW02 兩口反應井設置的脫氯膠體具有高效率的污染物攔截效果。

以下彙整上述各階段以及關切污染物整治成效：

- (1) 本場地使用生物刺激工法無法達到改善地下水污染物之成效，會導致地下水累積 *cis*-DCE。
- (2) 使用脫氯膠體搭配生物刺激工法，可以迅速改善地下水污染物之整治成效，*cis*-DCE 可以被完全脫氯成乙烯，*cis*-DCE 降解率可以達到 80-100%。
- (3) 位於上游之脫氯膠體反應井功效範圍至少可以影響到下游 6m 的下游井，隨著上游污染物被脫氯膠體降解，下游污染物之濃度也會隨之下降。
- (4) 使用脫氯膠體最終可以完全移除污染物(IW01 第 124 天)，並且對於新流進的外源污染物可以持續降解，本生物膠體整治工法可以達到良好的污染攔截效果。
- (5) 單一脫氯膠體可以使用超過 250 天以上，適當添加生物基質可以持續維持其脫氯活性。



4.7 現地脫鹵球菌菌數及功能性基因分析

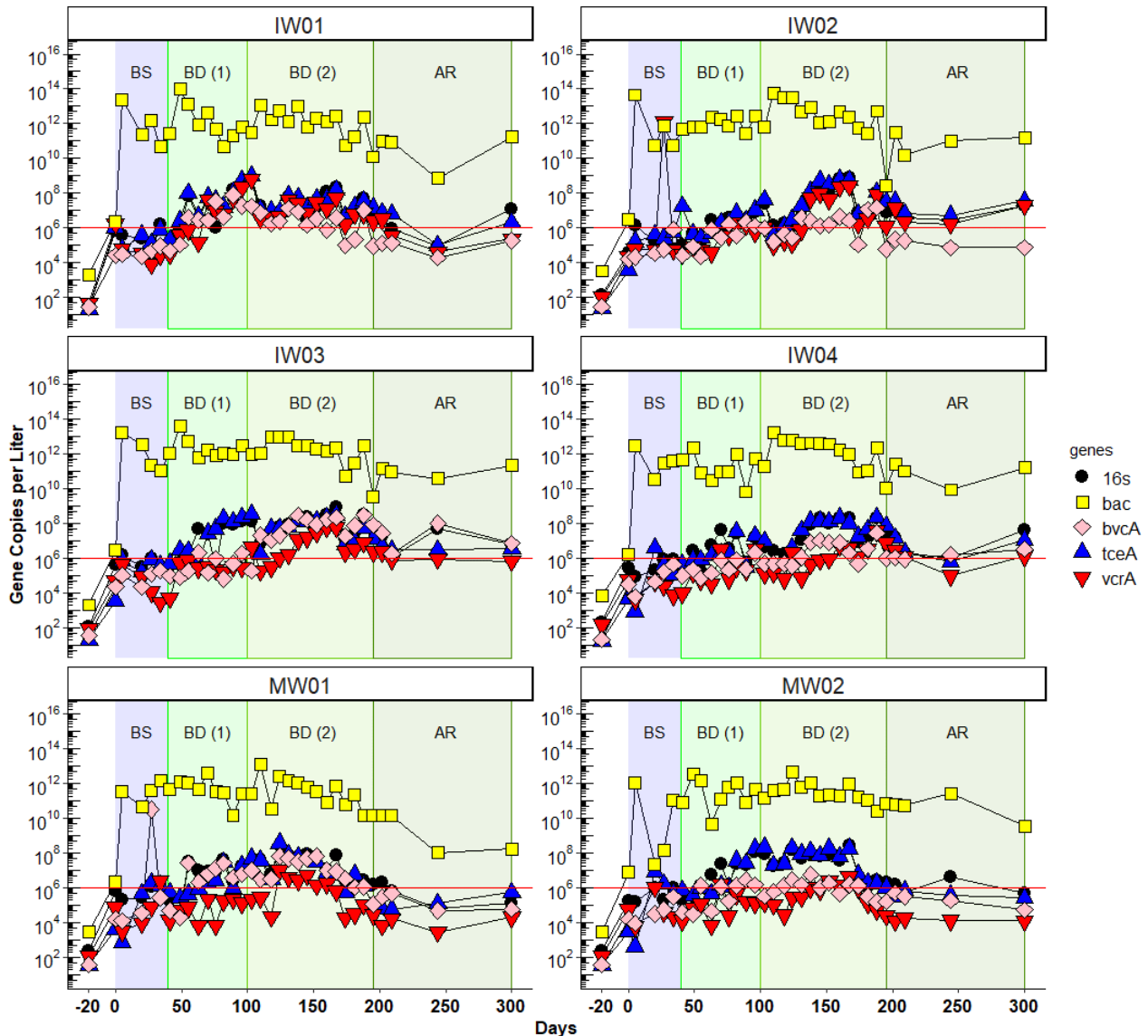


圖 20. 反應井及監測井之脫鹵球菌功能性基因 qPCR 分析趨勢圖

脫氯之功能性基因 qPCR 分析圖如圖 20 所示，*bac* 基因測定的是總體細菌 16S 基因，用於檢測場地總細菌量，可以見得場地初期細菌量不多，隨著生物藥劑添加後地下水總細菌量維持在每公升 10^{12} 。

脫鹵球菌的基因測定 16S、*bvcA*、*tceA* 以及 *vcrA*，可以見得在生物刺激 (Biostimulation) 之階段，總體的脫鹵球菌菌數落在每公升 10^6 以下，對應污染物降解圖 20，可以見得該階段之降解應為脫鹵球菌以外之細菌，此處現地菌群優勢菌屬為 *Geobacter*，該菌只能夠脫氯到 *cis*-DCE，無脫氯到 VC 或乙烯之能力，使用生物基質僅導致 *cis*-DCE 累積，因此，本場地使用生物刺激工法並無法達到改善地下水污染物之成效。



開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗

在生物膠體(1)階段(Bio-Gel Dechlorination (1))，本團隊於 IW01 添加脫氯膠體，可以看見脫鹵球菌 *bvcA* 和 16S 迅速上升，由於場地轉為脫氯反應適合的條件，相對應的脫氯基因如 *tceA* 及 *vcrA* 亦有上升趨勢，整體脫氯功能性基因皆維持在每公升 10^8 以上，對應污染物降解圖 19，可以見得 *cis*-DCE 被降解成氯乙烯及乙烯，場地具有脫氯活性。IW03 為 IW01 下游方向的灌注井，並無放置脫鹵球菌膠體，然而，隨著地下水流流動，可以見得脫鹵球菌的菌數亦持續上升，應為 IW01 上游流動過來的脫鹵球菌以及現場因脫氯膠體而提升菌數的現地脫氯菌。

到了生物膠體(2)階段(Bio-Gel Dechlorination (2))，本團隊進一步於 IW02 添加脫氯膠體，可以見得與上述成果有相似的結果，同時對應污染物降解圖 20，IW02 以及 IW04 皆測到氯乙烯及乙烯產生。同時，位於最遠處的 MW02 亦有測得每公升 10^6 之 *bvcA* 基因，顯示脫鹵球菌會隨著地下水流動傳輸到下游區域。當進入整治後\階段(After Remediation)，污染物皆被處理完後，地下水菌數下降至每公升 10^6 ，但是在污染物檢測亦測得乙烯產生(圖 19)，本脫氯膠體工法仍持續反應中。

按照時間和反應井位置圖對於脫鹵球菌菌數做菌數分布圖，結果如圖 21 所示，可以見得當加入脫氯膠體於 IW01 時約莫兩周左右(第 50 天)，可以在下游井 MW01 測得每公升 10^6 以上的脫鹵球菌。再經過 50 天的整治後(第 100 天)，可以見得脫鹵球菌以達到 4m 外的 IW03 測得每公升 10^6 以上的脫鹵球菌，最後，當整治到第 150 天時，位於 6m 外最下游井之 MW02 亦測得每公升 10^6 以上的脫鹵球菌，脫鹵球菌菌數分布圖與 Chapter 4.6 之關切污染物整治成效相呼應，由此可以再一次證明本脫氯膠體的生物攔截反應傳輸範圍可以達 6m 以上。

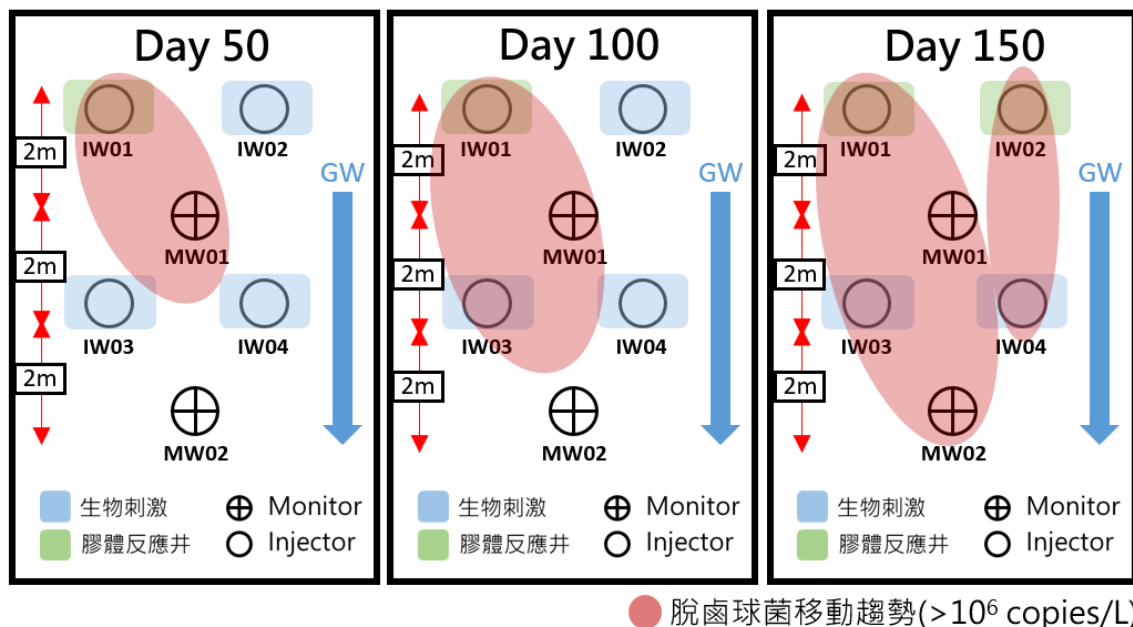


圖 21. 反應井位置圖對於脫鹵球菌菌數分布圖，紅色區域為脫鹵球菌菌數大於每公升 10^6 以上



4.8 模場整治之菌相分析

4.8.1 原始數據品質檢測及有效序列分析

表 8. 原始數據品質檢測表

#.	Sample	Raw Reads	Clean Reads	Q20%	Align Reads	Effective Tags(%)
1.	IW01_T0	163466	121970	74.61%	54986	45.08%
2.	IW02_T0	60545	41304	68.22%	15029	36.39%
3.	IW03_T0	109044	78687	72.16%	25289	32.14%
4.	IW04_T0	162815	123572	75.90%	68992	55.83%
5.	MW01_T0	125443	93159	74.26%	24411	26.20%
6.	MW02_T0	91679	63012	68.73%	12950	20.55%
7.	IW01_T1	162021	139977	86.39%	71042	50.75%
8.	IW02_T1	196666	168709	85.78%	74822	44.35%
9.	IW03_T1	238089	205736	86.41%	104283	50.69%
10.	IW04_T1	203402	172816	84.96%	85437	49.44%
11.	MW01_T1	189397	162251	85.67%	55432	34.16%
12.	MW02_T1	192386	165567	86.06%	70227	42.42%
13.	IW01_T2	309602	267181	86.30%	148545	55.60%
14.	IW02_T2	333017	282673	84.88%	137606	48.68%
15.	IW03_T2	264748	231424	87.41%	124541	53.82%
16.	IW04_T2	297568	252117	84.73%	110413	43.79%
17.	MW01_T2	282366	243281	86.16%	107002	43.98%
18.	MW02_T2	311182	271037	87.10%	137815	50.85%
19.	IW01_T3	89664	63501	70.82%	20788	32.74%
20.	IW02_T3	150613	103652	68.82%	27296	26.33%
21.	IW03_T3	227088	165271	72.78%	50066	30.29%
22.	IW04_T3	198421	143969	72.56%	35059	24.35%
23.	MW01_T3	136119	90414	66.42%	30708	33.96%
24.	MW02_T3	157323	110468	70.22%	20159	18.25%

Clean reads: 將原始序列移除 PhiX 序列後，篩選 QV<20 之總讀數

Q20 %: #merged tags / #clean pairs

Align Reads: 將原始序列清除引子、adaptors、低品質序列(QV<20)以及過短之序列後所得之序列總數

Effective%: #effective tags / #clean pairs

4.8.2 Metagenome 菌相分析結果

V3-V4 區域 OTU Taxonomy

將 OTU 以種階層菌量排名前 50 之詳細數據如表 9，其中將與 TCE 降解相關且之菌種以紅色字體標註，以利於後續討論，我們將有 unclassified 的 Taxonomy 剔除後，將占比低於 1%之 Taxonomy 歸納至 Other(<1%)。(此表順序依照 OUT 讀值數總和進行排列)

表 9. 以種為分類階層之菌相變化表

Taxonomy	Read of Sample																							
	Initial						Biostimulation						Bio-Gel Dechlorination						After Remediation					
	IW01	IW02	IW03	IW04	MW01	MW02	IW01	IW02	IW03	IW04	MW01	MW02	IW01	IW02	IW03	IW04	MW01	MW02	IW01	IW02	IW03	IW04	MW01	MW02
	T0	T0	T0	T0	T0	T0	T1	T1	T1	T1	T1	T1	T2	T2	T2	T2	T2	T2	T3	T3	T3	T3	T3	T3
<i>Desulforegula</i>	0	0	0	0	0	0	5531	5045	6086	19668	2533	18735	775	0	0	0	1182	165	0	0	0	0	0	0
<i>Sulfurimonas</i>	0	0	0	0	0	0	1830	11060	0	8342	4294	9722	15591	6865	936	3312	2900	4861	1046	3538	5367	953	0	0
<i>Candidatus Omnitrphus</i>	0	92	742	855	4203	0	0	0	0	0	0	0	418	7722	0	13366	3550	17522	468	885	2759	0	0	0
<i>Methanobacterium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	2242	333	0	619	9129	22113	15328	4150	3213	14292	0	734	2142	462	0	207
<i>Macellibacteroides</i>	0	0	0	0	0	0	14472	3485	24002	1008	0	1061	518	2590	0	0	1614	0	0	0	0	0	0	329
<i>Delftia</i>	0	1592	2547	3039	1617	1422	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>GWA2-50-13_fa</i>	0	2413	2925	0	3467	0	0	48	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>WCHB1-32</i>	1626	0	0	0	0	0	1475	9101	2067	5794	882	1995	1405	3177	0	5064	1978	1207	0	0	0	0	0	0

第四章：實驗結果

<i>Dechloromonas</i>	0	0	0	0	0	0	913	2205	0	1023	5378	4866	3276	20231	621	0	1426	0	0	0	0	0	0	0
<i>Methanosarcina</i>	0	0	0	0	0	0	1587	0	0	0	0	0	20454	3514	4866	5094	6610	9097	401	4169	0	1193	0	0
<i>Geothrix</i>	0	0	0	0	0	0	5406	4195	5315	1738	3511	580	676	11467	0	755	2345	0	0	0	0	893	1465	0
<i>Staphylococcus</i>	0	776	1054	8871	1155	1455	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sulfuricurvum</i>	17055	0	0	0	0	0	0	0	0	726	308	2502	0	1467	0	0	601	489	0	0	0	0	0	0
<i>Nocardioides</i>	0	0	8421	0	606	0	0	628	0	0	0	583	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Escherichia</i>	0	683	950	16955	0	516	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Ferritrophicum</i>	0	0	0	0	0	0	0	343	0	7627	995	2465	5926	7824	0	6844	3427	4114	316	0	167	1577	802	0
<i>Desulfofarcimen</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17951	0	9759	2197	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Rhodocyclaceae_fa</i>	0	0	0	0	0	533	0	9530	684	371	3873	957	1917	3951	0	892	0	105	0	512	779	2301	2200	0
<i>Parcubacteria_cl</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1628	0	4478	719	4704	12932	119	11876	2035	1121	3427	603	0	2409
<i>Trichlorobacter</i>	15107	0	0	0	0	0	0	1330	0	0	278	0	482	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Babeliales_or</i>	907	0	0	1122	1198	2753	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Spirochaetaceae_fa</i>	0	0	0	0	0	0	1296	0	2488	2384	328	2499	3800	2170	5165	3110	3562	3895	0	742	1546	0	0	832
<i>Kandleria</i>	0	2231	0	4065	1078	411	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Trichococcus</i>	0	0	0	0	0	0	1679	452	9150	749	0	1212	0	2757	0	6389	2413	3946	0	0	0	412	525	812
<i>Clostridium</i>	0	0	0	555	0	0	0	0	2845	0	0	0	11688	604	5454	1107	4650	5159	810	8037	699	8629	12822	2123
<i>Sulfurospirillum</i>	13279	0	0	0	0	0	0	0	518	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Microgenomatia_cl</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9406	0	3718	0	16199	47	0	748	3805	570	0	1002
<i>Methanoregula</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1359	0	21160	1031	1432	3885	0	0	0	0	0	0

開發高效脫氮生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗

<i>Pseudomonas</i>	2512	0	0	0	3283	0	1610	1040	72	95	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Citrifermentans</i>	0	0	0	0	0	0	9845	0	5424	0	0	1254	602	0	0	0	0	0	0	0	0	371	71	0
<i>Romboutsia</i>	0	0	0	0	0	2514	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Methylovulum</i>	0	2541	0	524	183	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lacunisphaera</i>	0	0	0	0	0	0	0	2243	0	0	1690	145	585	4624	0	1649	6070	1007	0	0	0	0	0	0
<i>Pelospora</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	458	0	0	0	1840	1128	11472	0	4789	2245	0	0	0	0	0	0
<i>env_fa</i>	0	0	0	0	0	0	0	1279	0	0	7424	0	0	782	0	0	0	1355	0	0	0	0	0	0
<i>Fusobacterium</i>	0	553	318	6063	655	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hydrogenophilaceae_fa</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1204	1860	225	1591	5748	0	2200	3352	779	0	0	0	0	737	0
<i>KD4-96_cl</i>	0	505	2394	0	531	96	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Azospira</i>	712	0	0	0	0	0	4769	651	2107	1405	0	1577	0	0	0	0	55	0	0	0	0	0	0	0
<i>Reyranella</i>	0	197	166	0	2987	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Desulfatirhabdium</i>	0	0	0	0	0	0	999	192	246	2033	0	2813	1141	0	0	1732	0	4370	0	448	0	0	0	0
<i>ABY1_cl</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1336	0	1177	2954	774	0	2300	6061	0	631	135	2287	0	1667
<i>Syntrophomonas</i>	0	0	0	0	0	0	493	0	0	0	0	0	6198	2294	5132	0	0	2266	0	0	394	0	0	0
<i>Desulfosarcinaceae_fa</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2871	3685	0	2417	1018	5990	458	1020	429	0	0	0
<i>Lentimicrobium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9643	781	3621	0	1616	0	0	0	0	0	0	0
<i>Saccharimonadales_or</i>	0	0	0	0	0	0	3705	2373	867	1258	280	0	0	0	0	0	0	0	0	79	0	5202	0	0
<i>Comamonas</i>	0	349	838	813	0	484	0	220	0	0	124	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Other (<1%)	3788	3097	4934	26130	3448	2766	15432	19396	39712	11728	18710	6658	29402	18439	41590	38369	30581	33082	386	795	4123	2917	3538	2051



第四章：實驗結果

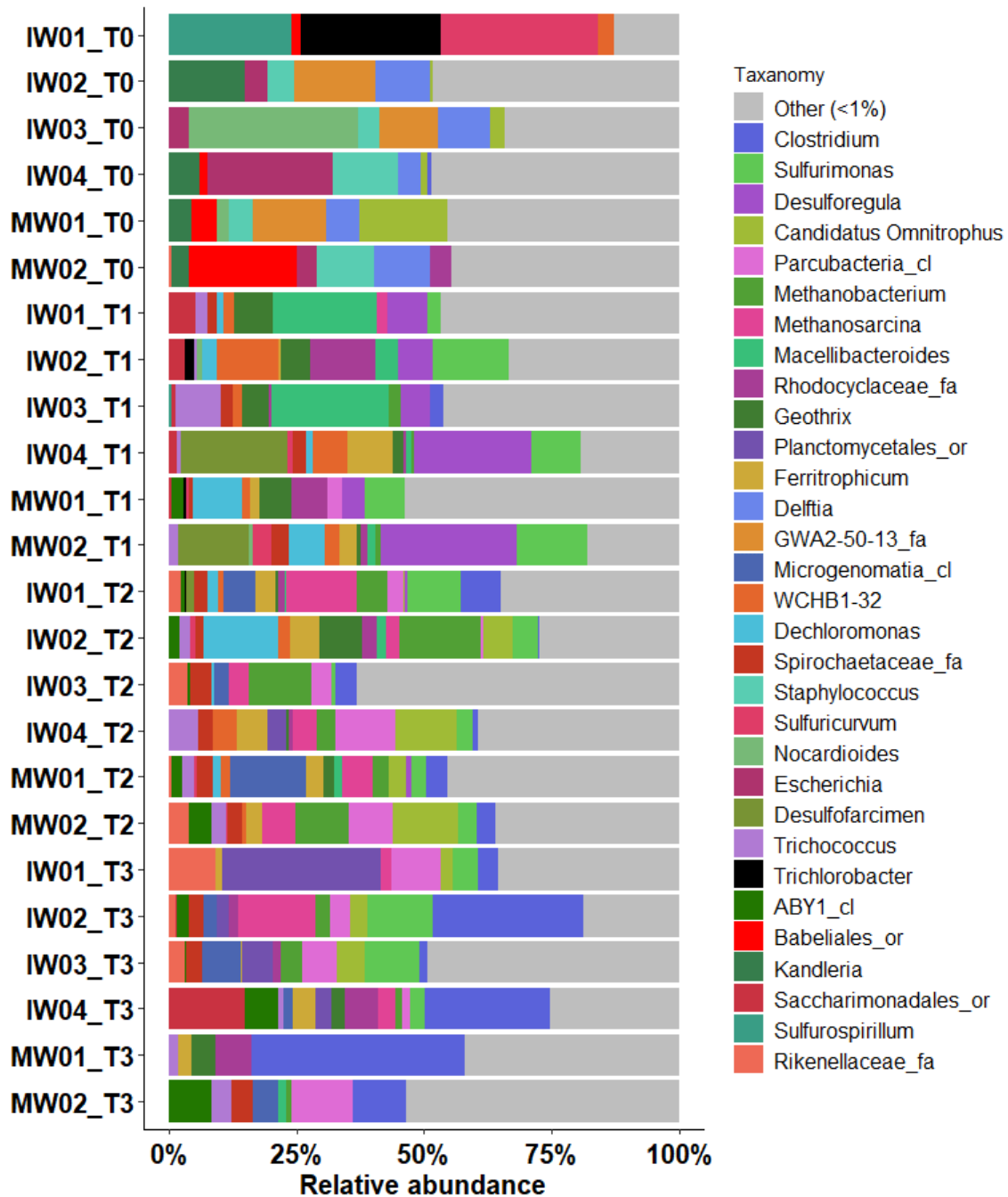


圖 22. 反應井以屬為分類之菌相累積變化圖



開發高效脫氮生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗

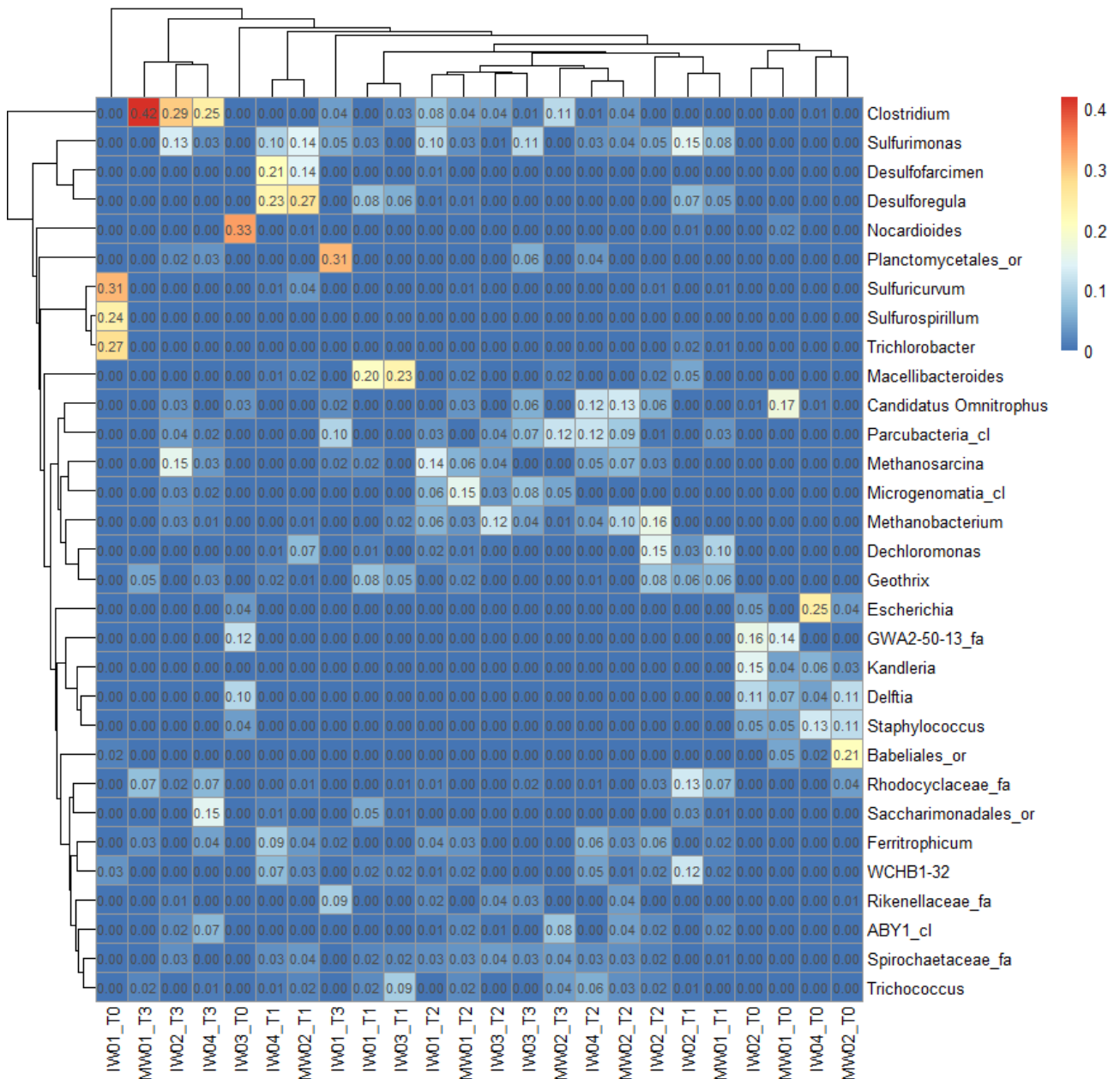


圖 23. 反應井以屬為分類之菌相熱圖



第四章：實驗結果

由菌相變化分析表(表 9)、菌相累積變化圖(圖 22)得出在三個不同整治階段：

- 甲、 生物刺激前 (T0 階段，第 0 天)
- 乙、 生物刺激後 (T1 階段，第 41 天)
- 丙、 脫氯膠體添加後 (T2 階段，第 103 天)
- 丁、 整治後 (T3 階段，第 250 天)

(1) 生物刺激前 (未給予藥劑添加，第 0 天)

透過第一階段未給予藥劑前的地下水樣蒐集，並從次世代定序的檢測結果可以得知在未處理藥劑階段，其原始地下水中的菌種豐富度較藥劑處理後及脫氯膠體處理後低，並且此階段中優勢菌種主要分布於耗氧菌以及兼性厭氧菌，如 *Delftia*、*Staphylococcus*、*Reyranella*、*Kandleria* (Bilgin et al., 2015; Masalha et al., 2001; Lee et al., 2017; Thackray, 2019)；反觀專一性厭氧的菌種則為少數，如 *Fusobacterium*、*Comamonas* (George et al., 1981; Gerritse et al., 1992)。由此結果可以推測本場地在未經任何整治以及藥劑添加前，原始地下水中的氧化還原態較高，對於目前已知可以針對含氯污染物進行分解的脫鹵球菌 *Dehalococcoides* 來說是不適合生長的(Lu, 2006)。



開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗

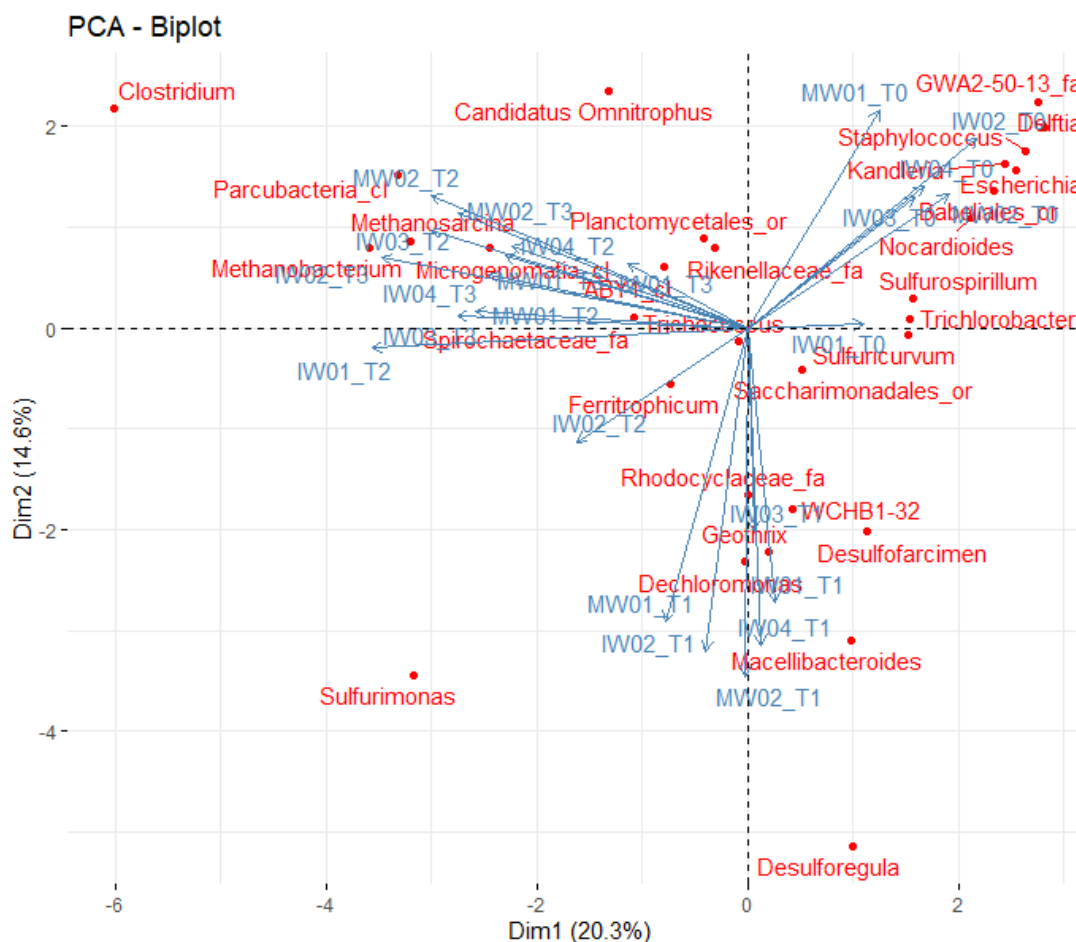


圖 24. 各階段之反應井及菌屬關係之主成分分析

(2) 生物刺激後 (第 41 天)

因此在生物刺激法進行生物基質添加的階段，預期可以利用藥劑的添加改變現有菌群，並建立有利於脫鹵球菌生長的厭氧氧化還原電位 (Saiyari et al., 2018)。於菌相累積變化圖(圖 22)、菌相熱圖(圖 23)和主成分分析(圖 24)比較生物刺激前與生物刺激後的菌種分布，我們可以觀察到，一旦進行藥劑添加，硝酸鹽、硫酸鹽還原相關菌群則會被活化，如 *Desulforegula*、*Sulfurimonas*、*Geothrix*、*Trichococcus*、*Hydrogenophilaceae_fa* 等等 (Gihring et al., 2011; Zhang et al., 2010; Lu et al., 2015; Orlygsson & Kristjansson, 2014)，另外也觀察到部分甲烷菌種也被活化，如 *Methanobacterium*、*Methanosarcina*。

此結果驗證添加生物基質能夠刺激原生菌群，並成功改變地下水中的菌種分布，已經有相關文獻證明硝酸鹽、硫酸鹽還原菌以及甲烷菌的生長條件必須絕對厭氧，其氧化還原態甚至要低於-200mV (Beeman and Suflita, 1990; Hao, 2003)，總結在生物基質添加後，優勢菌種由好氧、兼性厭氧菌群轉變為硝酸鹽還原菌等等的專性厭氧菌群為主，間接的證明此場址的地下水已還原成適合脫鹵球菌生長的環境。



(3) 脫氯膠體處理後 (第 103 天)

脫氯膠體添加後，從菌相累積變化圖(圖 22)、菌相熱圖(圖 23)以及主成分分析圖(圖 24)的結果發現 *Citrobacter*, *Geobacter*, *Desulfitobacterium*, *Desulfovibrio* and *Clostridium* 等等的菌群被活化，其中多種細菌已經被文獻證明可以直接或間接幫助脫氯反應進行 (El-Sayed, 2016; Lo et al., 2020; Sung et al., 2006)。

另外在氫氣變化圖(圖 16)的監測結果中可以發現，在生物刺激階段後地下水與氫氣生成的相關菌群被活化，包括了 *Trichococcus*、*Clostridium* 等等產氫細菌 (Pikuta & Hoover, 2014; Lo et al., 2020)，進而導致監測到很高濃度的氫氣含量，有趣的是在脫氯膠體添加後，氫氣濃度有明顯的上升與下降的規律性波動，比對氯化物降解變化圖(圖 19)與現地脫鹵球菌與功能性基因監測圖(圖 20)，我們發現氫氣濃度的波動可能與脫氯膠體內包埋的脫鹵球菌進行的脫氯反應有關，多氯乙烯的降解趨勢與脫鹵球菌的菌數變化在結果也呈現正相關 (Groster & Edwards, 2006)。

為了提供足夠的氫氣給予脫鹵球菌進行脫氯反應，我們在脫氯膠體中加入丁酸梭菌(*Clostridium butyricum*)作為長效型固定化氫氣提供者，持續在脫氯反應中提供氫氣。另外我們比對氫氣變化圖(圖 16)與甲烷變化圖(圖 17)，發現氫氣與甲烷的生成上具有正相關的結果，並且在脫氯膠體添加後也監測到甲烷菌數量的增加，如 *Methanobacterium* 和 *Methanosarcina*，過去有相關文獻提到當氫氣維持在高濃度時，甲烷菌會與使用氫氣作為電子供體並生成甲烷，下式為甲烷菌以氫氣作為電子供給者之反應方程式：



雖然甲烷菌 *Methanobacterium* 在脫氯環境中扮演著與脫鹵球菌競爭氫氣的角色，但是在許多文獻中已經被證實甲烷菌存在不但可以維持高脫氯效率，另外也是提供脫鹵球菌合成脫氯酵素與維生素 B12 相關的輔因子的重要提供者 (Wen et al., 2015; Daniels et al., 1980; Heimann et al., 2006)。

(4) 整治完成後 (第 250 天)

脫氯膠體添加約 4 個月後，從氯化物降解變化圖(圖 19)的結果可以得知，包括反應井與監測井在內共 6 口井的污染物都已經幾乎被完全降解，在離地試驗與現地整治上都證明了脫氯膠體具有長達半年的長效脫氯能力(Lo et al., 2020)。

在脫氯膠體處理的第二階段後開始停止生物基質的添加，透過電導度變化圖(圖 12)以及總碳源濃度變化圖(圖 15)可以發現總碳源濃度及電導度數值都有明顯的下降，此結果也證明了僅透過地下水中微量的低濃度碳源依然可以幫助脫氯反應維持，另外在菌相累積變化圖(圖 22)中也監測到部分的兼性耗氧菌出現，如



開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗

Pirellula 和 *Rhodocyclaceae* 等等 (Lindsay et al., 1997; Shi et al., 2021)，另外也發現硝酸鹽、硫酸鹽還原相關菌群富集度開始下降，如 *Desulforegula*、*Sulfurimonas*、*Geothrix*、*Trichococcus*、*Hydrogenophilaceae_fa* 等等 (Gihring et al., 2011; Zhang et al., 2010; Lu et al., 2015; Orlygsson & Kristjansson, 2014)，此菌相的變化也呼應了溶氧變化圖(圖 13)及還原電位變化圖(圖 14)中溶氧和還原電位數值的上升。

在模場地下水的菌相結果中也可以觀察到，我們在脫氯膠體中加入的丁酸梭菌(*Clostridium butyricum*)在整體的菌相中有高達 20% 占比，成為此場域中的優勢菌種並持續提供脫氯膠體內包埋的脫鹵球菌進行污染物的降解。

綜合以上分析與結果，可以推斷出在未給予生物刺激或是脫氯膠體添加等工法進行整治前，存在於此場地的 TCE 污染是無法利用原生菌群進行生物降解的，在灌注井及監測井氯化物降解變化圖(圖 19)可以觀察到，雖然生物刺激所添加的藥劑可以有效的活化具有厭氧還原能力的相關菌群，但是從污染物以及代謝產物的角度可以發現，在生物刺激的階段中，TCE 代謝後的最終產物始終停留在 *cis*-DCE，無法達到完全脫氯，可以推測此場地所富含的地下菌群並不包含足夠數量的脫鹵球菌，另外 TCE 到 *cis*-DCE 的降解可能是由 *Geobacter* 等等已經被文獻證明具有不完整脫氯能力的相關菌群所誘導的(Sung et al., 2006)，在 RDA 分析中(圖 25)，添加藥劑與 TOC 的上升有著正相關，同時，與 DO 和 ORP 呈現負相關，顯示場地因為添加藥劑而導致厭氧反應，TCE 與生物刺激的關係呈現負相關，可以顯示添加藥劑確實可以降解 TCE，但是與 *cis*-DCE、VC 和乙烯較無相關性。

脫氯包埋膠體的整治策略透過丁酸梭菌提供給脫鹵球菌足夠的氫氣量，以維持高效率的脫氯反應(Lo et al., 2020)，另外膠體內的丁酸梭菌所提供的氫氣也活化了 *Methanobacterium* 等等的甲烷菌並提供脫鹵球菌有利於生長的輔因子(Wen et al., 2015; Daniels et al., 1980; Heimann et al., 2006)。

在脫氯膠體添加後，下游的 *cis*-DCE 降解產物 VC 和乙烯大量增加，在 RDA 分析中(圖 25)，與脫氯膠體呈部分正相關的水質參數如 pH，導電度以及 TOC，與 DO 和 ORP 呈現負相關，然而，脫氯膠體組別與 VC 和乙烯呈現強烈的正相關，顯示添加脫氯膠體可以使得場地達到完全脫氯外，也看出藥劑必須要有菌株搭配才可以有效達到脫氯反應，因此，在本計畫所使用的生物刺激結合新穎的脫氯膠體整治工法，從灌注井及監測井氯化物降解變化圖(圖 19)上的結果可以看到顯著的效果。

最後，當污染物消失，藥劑使用完成後，水質參數則回到與整治前的狀態(圖 25)，半年整治結果除了可以證明脫氯膠體具有高效率的還原脫氯功效並且膠體材料在地下水的環境中也可以長時間的使用不需替換，另外在菌相變化圖(圖 22)各個階段的結果比對後，我們也發現在整治完成後的菌相變化除了從外部添加的丁酸梭菌成為優勢菌種協助污染物移除外，整體菌相的組成會相似於此模場地下水



第四章：實驗結果

環境在進行任何整治之前的原始菌相，不改變原始地下水環境達到環境友善，因此可以證實本脫氯膠體整治工法並不會影響地下水的生態，屬於綠色科技。

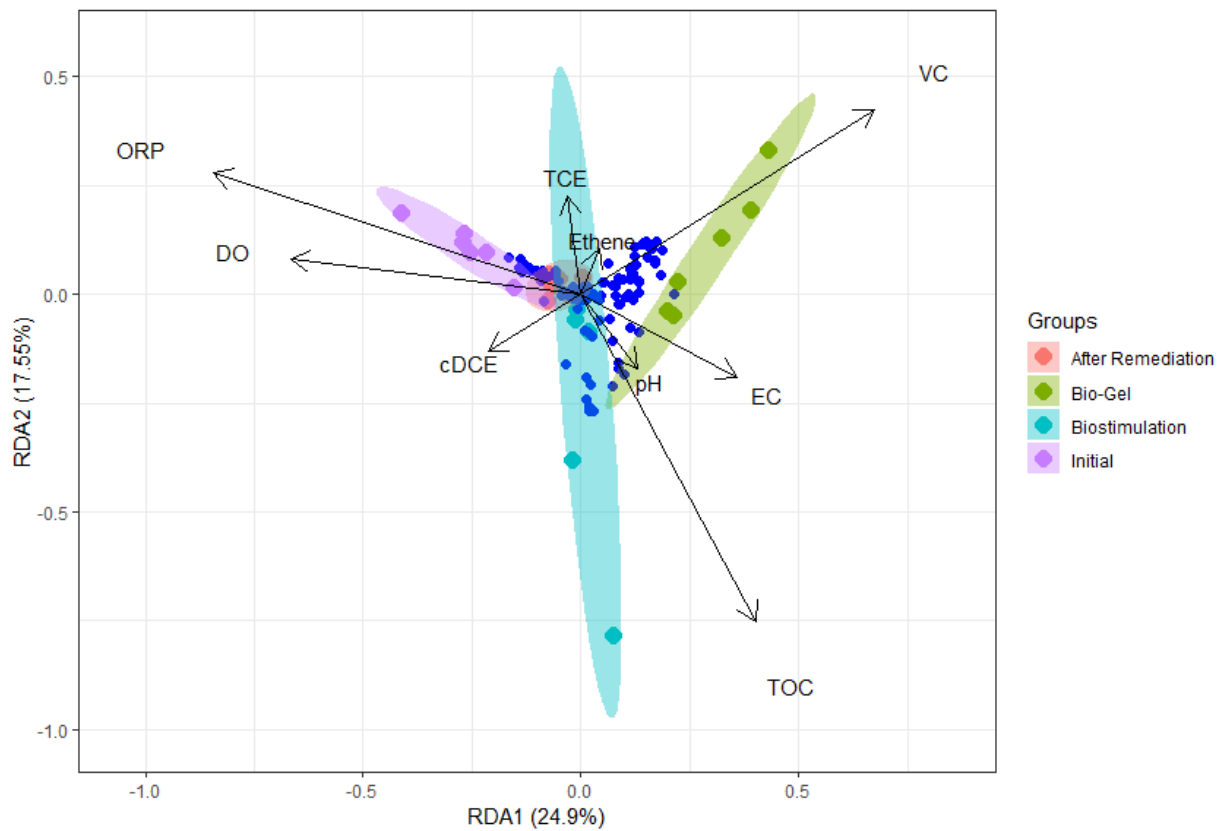


圖 25. 各階段之反應井菌相及水質參數之冗餘分析(Redundancy Analysis, RDA)



開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗

4.9 模場整治效益及策略評估

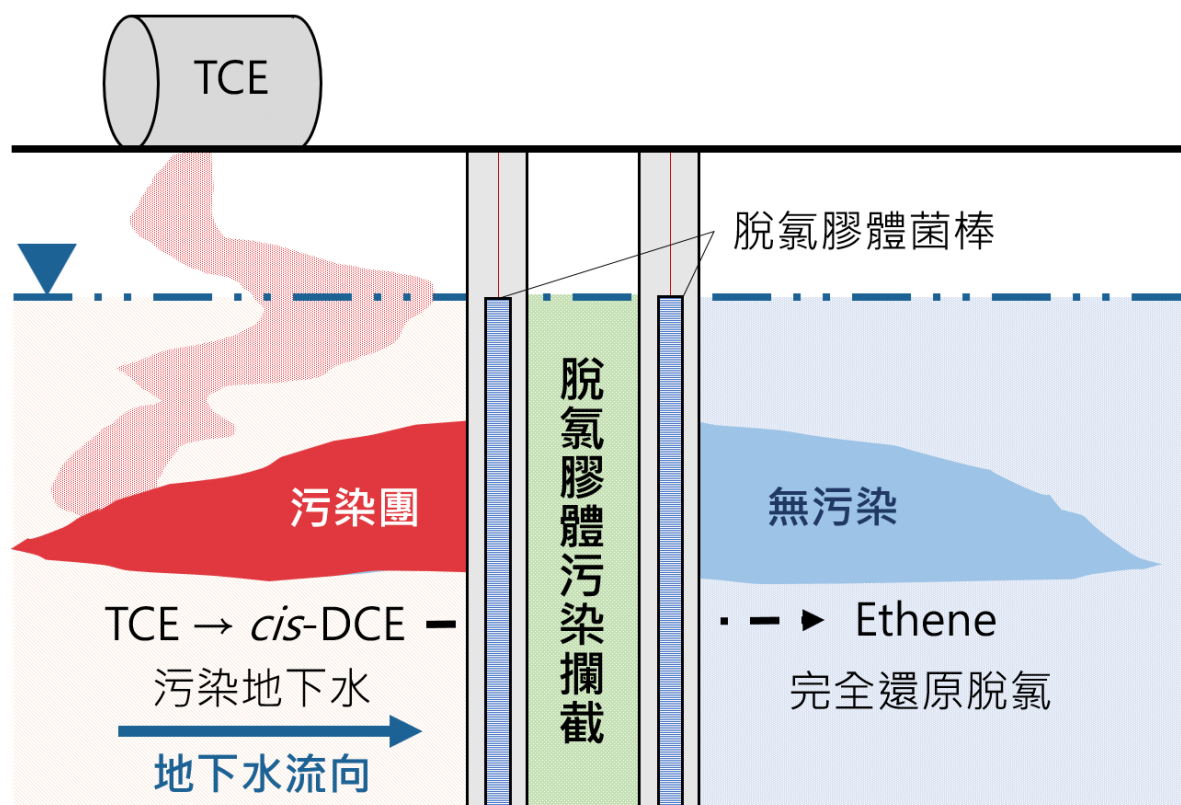


圖 26. 、脫氯膠體生物整治工法之現地整治示意圖

本計畫延續第一年之成果，將脫鹵球菌及產氫菌包埋於生物膠體中，開發出新穎之脫氯膠體，透過產氫菌利用生物基質進行發酵產生氫氣，提供脫鹵球菌生長及脫氯。

透過調查階段的地下水脫氯活性以及菌相分析，我們可以確定場地缺乏完全脫氯的脫鹵球菌及功能，場地僅只能將 TCE 降解成 *cis*-DCE，經過初步驗證，本場地使用生物刺激工法無法達到改善地下水污染物之成效，會導致地下水累積 *cis*-DCE，呼應調查階段的結果，額外添加脫鹵球菌是本計畫主要策略之一，本計畫選用可將 *cis*-DCE 完全降解到乙烯之菌株 BAV1，將脫鹵球菌包埋至膠體並實施到本場址。

使用脫氯膠體搭配生物刺激工法，可以迅速改善地下水污染物之整治成效，*cis*-DCE 可以被完全脫氯成乙烯，降解率可以達到 80-100%。位於上游之脫氯膠體反應井功效範圍可以影響到下游 6m 的下游井。透過灌注井及監測井設置圖和降解變化圖(圖 6、19)中可以觀察到，整治期程中外源污染物是由北向南側的方向不斷流入的，從脫氯降解變化圖(圖 19)的結果可以觀察到，脫氯膠體可以維持超過 250 天，由此結果可以得知脫氯膠體整治策略在處理長期污染物累積或是做為污染攔截，都是非常具有可行性及優勢的整治工法，脫氯膠體生物整治工法現地整治示意圖如圖 26 所示。



第四章：實驗結果

最後，我們將進行傳統生物刺激工法以及生物整治使用脫氯膠體工法的成本效益比較，比較表如下表所示。透過使用脫氯膠體，我們可預估減少 60% 的整治成本，經費使用效益提升至 250%，同時提升整治降解速率 3 倍以上，可以減少 2/3 的整治時間，因此，使用本脫氯膠體工法可以有效改善目前台灣含氯有機物整治之瓶頸。

表 10. 本計畫工法成效比較表

項目	生物刺激	脫氯膠體工法
場地脫氯功能	場地缺少脫氯菌，僅能脫氯到二氯乙烯	膠體中還有脫氯菌，可完全降解到乙烯
降解效率	約 10%	約 100%
單次使用藥劑量	每口井 100L	每口井 100L
4 口井單次注藥藥劑成本	新台幣 40,000	新台幣 40,000
預估整治完成注藥次數	10 次	3 次
單次藥劑有效時間	2 個月	2 個月
預估整治時間	20 個月	6 個月
單支脫氯膠體成本	-	20,000
脫氯膠體使用數量	-	2
脫氯膠體使用時效	-	250 天以上
整治完成之總成本	新台幣 400,000	新台幣 160,000
模場污染體積(m ³)	200 (地下水位 10m)	200 (地下水位 10m)
單位體積成本(m ³)	新台幣 2,000	新台幣 800
效益	100%	250%
風險	因無脫氯菌株，整治有無法再進一步降解的問題，需要再花費額外成本搭配其他工法。	膠體中還有脫氯菌，可以穩定使降解反應持續進行，可大幅減少整治失敗之風險。

效益計算: $(2,000 / 800) * 100\%$



第五章：結論與建議

本計劃將結合生物刺激法和生物強化法並配合次世代定序法等，建立完整系統評估監測機制，使用關鍵脫鹵球菌於包埋膠體之中，並將本技術應用於實場中加以驗證，有效解決現地脫鹵球菌菌數不足之問題，並提供永續整治方針及分子生物技術於三氯乙烯污染地下水場址整治規劃。根據此次計畫結果，將其整理如下：

5.1 現地地下水菌群特性

1. 透過菌群培養批次實驗，現地細菌(*Geobacter*)不具有降解 *cis*-DCE 之能力，因此需要仰賴外部提供有活性的脫鹵球菌進行還原脫氯反應。(研究目的 1)
2. 經由本場地使用生物刺激工法無法達到改善地下水污染物之成效，會導致地下水累積 *cis*-DCE。(研究目的 1)

5.2 脫氯膠體生物整治工法成效

1. 使用脫氯膠體搭配生物刺激工法，可以迅速改善地下水污染物之整治成效，*cis*-DCE 可以被完全脫氯成乙烯，*cis*-DCE 降解率可以達到 80-100%。(研究目的 2、3)
2. 透過菌相及 qPCR 菌數分布分析，位於上游之脫氯膠體反應井功效範圍至少可以影響到下游 6m 的下游井，隨著上游污染物被脫氯膠體降解，下游污染物之濃度也會隨之下降。(研究目的 5、6)
3. 使用脫氯膠體最終可以完全移除污染物，並且對於新流進的外源污染物持續降解，本生物膠體整治工法可以達到良好的污染攔截效果。(研究目的 3、4)
4. 單一脫氯膠體可以使用超過 250 天以上，適當添加生物基質可以持續維持其脫氯活性。(研究目的 3)
5. 脫鹵球菌及丁酸梭菌包埋於脫氯膠體中，膠體不僅有保護以及維持脫氯活性的能力，緩慢的釋出菌體也可以藉由原始地下水流達到良好的傳輸效果，延續整治效果。(研究目的 5、6)
6. 在整治完成的階段(第 244 天)，透過污染物的變化趨勢得出結論，脫氯膠體具有攔截污染物，並且持續保持脫氯反應等兩項優勢。(研究目的 3、4、5)



5.3 政策建議

1. 建議未來進行有關含氯有機物污染之生物整治場地，在調查階段需要先進行現地地下水菌群培養測試以評估整治場地之原生菌群脫氯能力，場地若缺少有脫氯活性之脫氯菌群的情況下，使用生物刺激法將會導致污染物累積以及浪費成本，脫鹵球菌之生物添加法將會是更有效的整治工法，反之，倘若現地地下水已具備高脫氯活性，則可以安心使用生物刺激工法。
2. 使用脫鹵球菌整治需要場地維持幾個關鍵水質參數，如下。
 - (1) pH 須介於 6~8 之間，可以使用小蘇打作為調整地下水緩衝劑。
 - (2) ORP 需要低於-100mV 適於厭氧脫氯反應進行。
 - (3) 結合 TOC 和導電度的趨勢可以評估藥劑使用情形。
3. 建議使用 qPCR 做為關鍵性脫氯功能性監測工具，當現地地下水脫鹵球菌大於每公升 10^6 脫氯反應較為明顯，使用 qPCR 亦可以做為脫氯反應流佈分析。
4. 生物添加法可以大幅減少整治期程及成本，並且可與目前台灣地下水整治工法結合，大幅提升整治成效。



開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗

第六章：研究進度及預期完成之工作項目（甘特圖）

第二年進度

年月 工作項目	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	備註
文獻蒐集											※		
營養基質與固定化脫氯菌株灌注		※											
定量 PCR 監測脫氯基因變化									※				
含氯有機物濃度與水質參數監測									※				
次世代定序分析模場整治前後菌相變化									※				
生物復育技術整治成本與效益評估											※		
成果報告撰寫與發表												※	
工作進度估計百分比 (累積數)	7%	15%	25%	35%	45%	55%	65%	75%	85%	95%	100%		
預定查核點	期中		1. 現地灌注營養基質與固定化脫氯球菌株 (已完成) 2. 監測含氯有機物濃度與水質參數變化，繳交期中報告 (已完成)										



第六章：研究進度及預期完成之工作項目（甘特圖）

	期末	1. 完成整治前後地下水菌相變化分析 (已完成) 2. 完成整治前後脫氯基因 qPCR 變化分析 (已完成) 3. 評估生物復育技術整治成本與效益 (已完成) 4. 繳交期末報告
--	----	---



第七章：參考文獻

- Abrahamsson K, Ekdahl A, Collen J, Pedersen M (1995) Marine algae-a source of trichloroethylene and perchloroethylene. *Limnol Oceanogr* 40:1321–1326
- Abou-Zeid, D.M. (2004). *Propionispora hippei* sp. nov., a novel Gram-negative, spore-forming anaerobe that produces propionic acid. *INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY* 54, 951–954.
- Abumaizer RJ, Kocher W, Smith EH. (1998). Biofiltration of BTEX contaminated air streams using compost activated carbon filter media. *J. Hazard. Mater.* 60: 111–126.
- Alur, M. (1999). *DESULFOVIBRIO*.
- ATSDR. 2003. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. USA: Department of Health and Human Services
- Aulenta, F., Gossett, J. M., Papini, M. P., Rossetti, S., and Majone, M. (2005). Comparative study of methanol, butyrate, and hydrogen as electron donors for long-term dechlorination of tetrachloroethene in mixed anerobic cultures. *Biotechnol. Bioeng.* 91(6), 743-753.
- Adrian, L., & Marco-Urrea, E. (2016). Isotopes in geobiochemistry: tracing metabolic pathways in microorganisms of environmental relevance with stable isotopes. *Current opinion in biotechnology*, 41, 19-25.
- Ballerstedt, H., Hantke, J., Bunge, M., Werner, B., Gerritse, J., Andreesen, J.R., and Lechner, U. (2004). Properties of a trichlorodibenzo-p-dioxin-dechlorinating mixed culture with a *Dehalococcoides* as putative dechlorinating species. *FEMS Microbiology Ecology* 47, 223-234.
- Battumur, U., Yoon, Y. M., & Kim, C. H. (2016). Isolation and Characterization of a New *Methanobacterium formicum* KOR-1 from an Anaerobic Digester Using Pig Slurry. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 29(4), 586–593.
- Beeman, R.E., and Suflita, J.M. (1990). Environmental factors influencing methanogenesis in a shallow anoxic aquifer: a field and laboratory study. *J Ind*



- Microbiol 5, 45-57.
- Berggren, D. R., Marshall, I. P., Azizian, M. F., Spormann, A. M., and Semprini, L. (2013). Effects of sulfate reduction on the bacterial community and kinetic parameters of a dechlorinating culture under chemostat growth conditions. *Environ. Sci. Technol.* 47(4), 1879-1886.
- Bilgin, H., Sarmis, A., Tigen, E., Soyletir, G., and Mulazimoglu, L. (2015). Delftia acidovorans: A rare pathogen in immunocompetent and immunocompromised patients. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 26, 277-279.
- Bradley, P. M., Chapelle, F. H., and Lovley, D. R. (1998). Humic acids as electron acceptors for anaerobic microbial oxidation of vinyl chloride and dichloroethene. *Appl. Environ. Microbiol.* 64(8), 3102-3105.
- Burstein, D., Amaro, F., Zusman, T., Lifshitz, Z., Cohen, O., Gilbert, J. A., ... Segal, G. (2016). Genomic analysis of 38 Legionella species identifies large and diverse effector repertoires. *Nature genetics*, 48(2), 167–175. doi:10.1038/ng.3481
- Calusinska, M., Hamilton, C., Monsieurs, P., Mathy, G., Leys, N., Franck, F., Joris, B., Thonart, P., Hilgsmann, S., and Wilmotte, A. (2015). Genome-wide transcriptional analysis suggests hydrogenase- and nitrogenase-mediated hydrogen production in Clostridium butyricum CWBI 1009. *Biotechnol Biofuels* 8, 27.
- Chang, Y. C., Ikeutsu, K., Toyama, T., Choi, D., and Kikuchi, S. (2011). Isolation and characterization of tetrachloroethylene- and cis-1,2-dichloroethylene-dechlorinating propionibacteria. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 38(10), 1667-1677.
- CPCB (Central Pollution Control Board). 2007. Ministry of Environment and Forests, Govt of India. Material safety data sheets.
- Chen, J. L., Ortiz, R., Steele, T. W., & Stuckey, D. C. (2014). Toxicants inhibiting anaerobic digestion: A review. *Biotechnology Advances*, 32, 1523-1534.
- Chen, M., Liu, C., Li, X., Huang, W., and Li, F. (2014). Iron Reduction Coupled to Reductive Dechlorination in Red Soil: A Review. *Soil Science* 179, 457–467.
- Collet, C., Gaudard, O., Péringer, P., and Schwitzguébel, J.-P. (2005). Acetate



- production from lactose by *Clostridium thermolacticum* and hydrogen-scavenging microorganisms in continuous culture—Effect of hydrogen partial pressure. *Journal of Biotechnology* 118, 328–338.
- Daniels, L., Fulton, G., Spencer, R.W., and Orme-Johnson, W.H. (1980). Origin of hydrogen in methane produced by *Methanobacterium thermoautotrophicum*. *J Bacteriol* 141, 694-698.
- Della-Negra, O., Chaussonnerie, S., Fonknechten, N., Barbance, A., Muselet, D., Martin, D.E., Fouteau, S., Fischer, C., Saaidi, P.-L., and Le Paslier, D. (2020). Transformation of the recalcitrant pesticide chlordecone by *Desulfovibrio* sp. 86 with a switch from ring-opening dechlorination to reductive sulfidation activity. *Scientific reports* 10, 1-14.
- Dickson, R. P., Erb-Downward, J. R., & Huffnagle, G. B. (2013). The role of the bacterial microbiome in lung disease. *Expert review of respiratory medicine*, 7(3), 245–257. doi:10.1586/ers.13.24
- Dolinova, I., Strojsova, M., Cernik, M., Nemecek, J., Machackova, J., and Sevcu, A. (2017). Microbial degradation of chloroethenes: a review. *Environmental science and pollution research international* 24(15), 13262-13283.
- Dubey SK. 2005. Microbial ecology of methane emission in rice agroecosystem: a review. *Appl Ecol Environ Res* 3: 1–27.
- Duhamel, M., and Edwards, E.A. (2007). Growth and Yields of Dechlorinators, Acetogens, and Methanogens during Reductive Dechlorination of Chlorinated Ethenes and Dihaloelimination of 1,2-Dichloroethane. *Environ. Sci. Technol.* 41, 2303–2310.
- El-Sayed, W.S. (2016). Characterization of a highly enriched microbial consortium reductively dechlorinating 2, 3-dichlorophenol and 2, 4, 6-trichlorophenol and the corresponding cprA genes from river sediment. *Polish journal of microbiology* 65.
- Ehling-Schulz, M., Lereclus, D., & Koehler, T. M. (2019). The *Bacillus cereus* Group: *Bacillus* Species with Pathogenic Potential. *Microbiology spectrum*, 7(3), 10.1128/microbiolspec.GPP3-0032-2018.
- Fernandes, V. C., Albergaria, J. T., Oliva-Teles, T., Delerue-Matos, C., and De Marco, P. (2009). Dual augmentation for aerobic bioremediation of MTBE and TCE pollution



- in heavy metal-contaminated soil. *Biodegradation* 20(3), 375-382.
- Fullerton, H., Rogers, R., Freedman, D. L., and Zinder, S. H. (2014). Isolation of an aerobic vinyl chloride oxidizer from anaerobic groundwater. *Biodegradation* 25(6), 893-901.
- Futamata, H., Kaiya, S., Sugawara, M., and Hiraishi, A. (2009). Phylogenetic and Transcriptional Analyses of a Tetrachloroethene-Dechlorinating "Dehalococcoides" Enrichment Culture TUT2264 and Its Reductive-Dehalogenase Genes. *Microbes Environ.* 24(4), 330-337.
- George, W.L., Kirby, B.D., Sutter, V.L., Citron, D.M., and Finegold, S.M. (1981). Gram-negative anaerobic bacilli: Their role in infection and patterns of susceptibility to antimicrobial agents. II. Little-known *Fusobacterium* species and miscellaneous genera. *Rev Infect Dis* 3, 599-626.
- Gerritse, J., Schut, F., and Gottschal, J.C. (1992). Modelling of mixed chemostat cultures of an aerobic bacterium, *Comamonas testosteroni*, and an anaerobic bacterium, *Veillonella alcalescens*: comparison with experimental data. *Appl Environ Microbiol* 58, 1466-1476.
- Gihring, T.M., Zhang, G., Brandt, C.C., Brooks, S.C., Campbell, J.H., Carroll, S., Criddle, C.S., Green, S.J., Jardine, P., and Kostka, J.E. (2011). A limited microbial consortium is responsible for extended bioreduction of uranium in a contaminated aquifer. *Applied and environmental microbiology* 77, 5955-5965.
- Groster, A., and Edwards, E.A. (2006). Growth of *Dehalobacter* and *Dehalococcoides* spp. during Degradation of Chlorinated Ethanes. *Applied and Environmental Microbiology* 72, 428-436.
- Guo, N., Ma, X., Ren, S., Wang, S., and Wang, Y. (2019). Mechanisms of metabolic performance enhancement during electrically assisted anaerobic treatment of chloramphenicol wastewater. *Water Research* 156, 199-207.
- Gupta, R.S., and Gao, B. (2009). Phylogenomic analyses of clostridia and identification of novel protein signatures that are specific to the genus *Clostridium sensu stricto* (cluster I). *INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY* 59, 285-294.



開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗

- Haest, P. J., Springael, D., and Smolders, E. (2010). Dechlorination kinetics of TCE at toxic TCE concentrations: Assessment of different models. *Water Res.* 44(1), 331-339.
- Hakemian, A. S., and Rosenzweig, A. C. (2007). The biochemistry of methane oxidation. *Annu. Rev. Biochem.* 76, 223-241.
- Harkness, M., Fisher, A., Lee, M. D., Mack, E. E., Payne, J. A., Dworatzek, S., Roberts, J., Acheson, C., Herrmann, R., and Possolo, A. (2012). Use of statistical tools to evaluate the reductive dechlorination of high levels of TCE in microcosm studies. *J. Contam. Hydrol.* 131(1-4), 100-118.
- Heimann, A.C., Batstone, D.J., and Jakobsen, R. (2006). *Methanosarcina* spp. Drive Vinyl Chloride Dechlorination via Interspecies Hydrogen Transfer. *Applied and Environmental Microbiology* 72, 2942-2949.
- He, J., Sung, Y., Dollhopf, M.E., Fathepure, B.Z., Tiedje, J.M., and Löffler, F.E. (2002). Acetate versus Hydrogen as Direct Electron Donors To Stimulate the Microbial Reductive Dechlorination Process at Chloroethene-Contaminated Sites. *Environ. Sci. Technol.* 36, 3945–3952.
- He, J., Sung, Y., Krajmalnik-Brown, R., Ritalahti, K. M., and Löffler, F. E. (2005). Isolation and characterization of Dehalococcoides sp. strain FL2, a trichloroethene (TCE)- and 1,2-dichloroethene-respiring anaerobe. *Environ. Microbiol.* 7(9), 1442-1450.
- Henschler D (1994) Toxicity of chlorinated organic compounds: effects of the introduction of chlorine in organic molecules. *Angew Chem Int Ed* 33:1920–1935
- Hendrickson, E. R., Payne, J. A., Young, R. M., Starr, M. G., Perry, M. P., Fahnestock, S., Ellis, D. E., and Ebersole, R. C. (2002). Molecular analysis of Dehalococcoides 16S ribosomal DNA from chloroethene-contaminated sites throughout North America and Europe. *Appl. Environ. Microbiol.* 68(2), 485-495.
- Holscher, T., Krajmalnik-Brown, R., Ritalahti, K. M., Von Wintzingerode, F., Gorisch, H., Löffler, F. E., and Adrian, L. (2004). Multiple nonidentical reductive-dehalogenase-homologous genes are common in Dehalococcoides. *Appl. Environ. Microbiol.* 70(9), 5290-5297.



第七章：參考文獻

- HSDB. (Hazardous Substances Data Bank). 2002. Trichloroethylene. National Library of Medicine. National Institutes of Health. Washington, DC, USA: Department of Health and Human Services
- Hug, L. A., Maphosa, F., Leys, D., Löffler, F. E., Smidt, H., Edwards, E. A., and Adrian, L. (2013). Overview of organohalide-respiring bacteria and a proposal for a classification system for reductive dehalogenases. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 368(1616), 20120322.
- Hug LA, Maphosa F, Leys D, Löffler FE, Smidt H, Edwards EA, Adrian L (2013) Overview of organohalide-respiring bacteria and a proposal for a classification system for reductive dehalogenases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, Biological sciences* 368:20120322.
- Hungate, R.E. (1944). Studies on Cellulose Fermentation: I. The Culture and Physiology of an Anaerobic Cellulose-digesting Bacterium. *J. Bacteriol.* 48, 499–513.
- Imfeld G, Pieper H, Shani N et al (2011) Characterization of groundwater microbial communities, dechlorinating bacteria, and in situ biodegradation of chloroethenes along a vertical gradient. *Water Air Soil Pollut* 221:107–122.
- Jabari, L., Gannoun, H., Cayol, J.-L., Hedi, A., Sakamoto, M., Falsen, E., Ohkuma, M., Hamdi, M., Fauque, G., Ollivier, B., et al. (2012). *Macellibacteroides fermentans* gen. nov., sp. nov., a member of the family Porphyromonadaceae isolated from an upflow anaerobic filter treating abattoir wastewaters. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 62, 2522–2527.
- Ji, Y., Liu, P., and Conrad, R. (2018). Response of fermenting bacterial and methanogenic archaeal communities in paddy soil to progressing rice straw degradation. *Soil Biology and Biochemistry* 124, 70-80.
- Jin, D., Zhang, F., Shi, Y., Kong, X., Xie, Y., Du, X., Li, Y., and Zhang, R. (2020). Diversity of bacteria and archaea in the groundwater contaminated by chlorinated solvents undergoing natural attenuation. *Environmental Research* 185, 109457.
- Jugder, B. E., Ertan, H., Lee, M., Manefield, M., and Marquis, C. P. (2015). Reductive Dehalogenases Come of Age in Biological Destruction of Organohalides. *Trends Biotechnol.* 33(10), 595-610.



- Kang, Y., Li, Y., Du, Y., Guo, L., Chen, M., Huang, X., Yang, F., Hong, J., and Kong, X. (2019). Konjaku flour reduces obesity in mice by modulating the composition of the gut microbiota. *Int J Obes* 43, 1631–1643.
- Karami, A., Sarshar, M., Ranjbar, R., and Zanjani, R.S. (2014). The Phylum Spirochaetaceae. In *The Prokaryotes: Other Major Lineages of Bacteria and The Archaea*, E. Rosenberg, E.F. DeLong, S. Lory, E. Stackebrandt, and F. Thompson, eds. (Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg), pp. 915-929.
- Kaster, A. K., Mayer-Blackwell, K., Pasarelli, B., and Spormann, A. M. (2014). Single cell genomic study of Dehalococcoides species from deep-sea sediments of the Peruvian Margin. *The ISME journal* 8(9), 1831-1842.
- Keppler, F., Borchers, R., Pracht, J., Rheinberger, S., and Scholer, H. F. (2002). Natural formation of vinyl chloride in the terrestrial environment. *Environ. Sci. Technol.* 36(11), 2479-2483.
- Krajmalnik-Brown, R., Holscher, T., Thomson, I. N., Saunders, F. M., Ritalahti, K. M., and Löffler, F. E. (2004). Genetic identification of a putative vinyl chloride reductase in Dehalococcoides sp. strain BAV1. *Appl. Environ. Microbiol.* 70(10), 6347-6351.
- Kranzioch, I., Stoll, C., Holbach, A., Chen, H., Wang, L., Zheng, B., Norra, S., Bi, Y., Schramm, K. W., and Tiehm, A. (2013). Dechlorination and organohalide-respiring bacteria dynamics in sediment samples of the Yangtze Three Gorges Reservoir. *Environmental science and pollution research international* 20(10), 7046-7056.
- Kruse, T., van de Pas, B.A., Atteia, A., Krab, K., Hagen, W.R., Goodwin, L., Stams, A.J. (2015). Genomic, Proteomic, and Biochemical Analysis of the Organohalide Respiratory Pathway in Desulfitobacterium dehalogenans. *Journal of bacteriology*, 197(5), 893-904.
- Kruse, S., Türkowsky, D., Birkigt, J., Matturro, B., Franke, S., Jehmlich, N., Bergen, M. von, Westermann, M., Rossetti, S., Nijenhuis, I., et al. (2019). Interspecies metabolite transfer in a co-culture of Dehalococcoides and Sulfurospirillum leads to rapid and complete tetrachloroethene dechlorination. *BioRxiv* 526210.
- Kunze, C., Bommer, M., Hagen, W.R., Uksa, M., Dobbek, H., Schubert, T., and Diekert, G. (2017). Cobamide-mediated enzymatic reductive dehalogenation via long-range



- electron transfer. *Nature Communications* 8, 15858.
- Lee, P. K., Cheng, D., West, K. A., Alvarez-Cohen, L., and He, J. (2013). Isolation of two new *Dehalococcoides mccartyi* strains with dissimilar dechlorination functions and their characterization by comparative genomics via microarray analysis. *Environ. Microbiol.* 15(8), 2293-2305.
- Lee, H., Kim, D.U., Lee, S., Park, S., Yoon, J.H., Seong, C.N., and Ka, J.O. (2017). *Reyranella terrae* sp. nov., isolated from an agricultural soil, and emended description of the genus *Reyranella*. *Int J Syst Evol Microbiol* 67, 2031-2035.
- Lee, I. S., Bae, J. H., & McCarty, P. L. (2007). Comparison between acetate and hydrogen as electron donors and implications for the reductive dehalogenation of PCE and TCE. *Journal of Contaminant Hydrology*, 94, 76-85.
- Lo, K.-H., Lu, C.-W., Lin, W.-H., Chien, C.-C., Chen, S.-C., and Kao, C.-M. (2020). Enhanced reductive dechlorination of trichloroethene with immobilized *Clostridium butyricum* in silica gel. *Chemosphere* 238, 124596.
- Löffler, F. E., Yan, J., Ritalahti, K. M., Adrian, L., Edwards, E. A., Konstantinidis, K. T., Muller, J. A., Fullerton, H., Zinder, S. H., and Spormann, A. M. (2013). *Dehalococcoides mccartyi* gen. nov., sp. nov., obligately organohalide-respiring anaerobic bacteria relevant to halogen cycling and bioremediation, belong to a novel bacterial class, *Dehalococcoidia classis nov.*, order *Dehalococcoidales ord. nov.* and family *Dehalococcoidaceae fam. nov.*, within the phylum *Chloroflexi*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 63(Pt 2), 625-635.
- Lu, Q., Zhu, R.-L., Yang, J., Li, H., Liu, Y.-D., Lu, S.-G., Luo, Q.-S., and Lin, K.-F. (2015). Natural attenuation model and biodegradation for 1,1,1-trichloroethane contaminant in shallow groundwater. *Frontiers in Microbiology* 6.
- Lu, X., Kampbell, D.H., and Wilson, J.T. (2006). Evaluation of the role of *Dehalococcoides* organisms in the natural attenuation of chlorinated ethylenes in ground water (National Risk Management Research Laboratory, Office of Research and ...).
- Löffler, F.E., Sanford, R.A., and Ritalahti, K.M. (2005). Enrichment, Cultivation, and Detection of Reductively Dechlorinating Bacteria. In *Methods in Enzymology*,



(Elsevier), pp. 77–111.

- Madsen, T., and Aamand, J. (1991). Effects of sulfuroxy anions on degradation of pentachlorophenol by a methanogenic enrichment culture. *Appl. Environ. Microbiol.* 57(9), 2453-2458.
- Magnuson, J. K., Stern, R. V., Gossett, J. M., Zinder, S. H., and Burris, D. R. (1998). Reductive dechlorination of tetrachloroethene to ethene by a two-component enzyme pathway. *Appl. Environ. Microbiol.* 64(4), 1270-1275.
- Major, D. W., McMaster, M. L., Cox, E. E., Edwards, E. A., Dworatzek, S. M., Hendrickson, E. R., Starr, M. G., Payne, J. A., and Buonamici, L. W. (2002). Field demonstration of successful bioaugmentation to achieve dechlorination of tetrachloroethene to ethene. *Environ. Sci. Technol.* 36(23), 5106-5116.
- Masalha, M., Borovok, I., Schreiber, R., Aharonowitz, Y., and Cohen, G. (2001). Analysis of transcription of the *Staphylococcus aureus* aerobic class Ib and anaerobic class III ribonucleotide reductase genes in response to oxygen. *J Bacteriol* 183, 7260-7272.
- Matthies, C., Springer, N., Ludwig, W., and Schink, B. (2000). *Pelospira glutarica* gen. nov., sp. nov., a glutarate-fermenting, strictly anaerobic, spore-forming bacterium. *Int J Syst Evol Microbiol* 50 Pt 2, 645-648.
- Matturro, B., Ubaldi, C., and Rossetti, S. (2016). Microbiome Dynamics of a Polychlorobiphenyl (PCB) Historically Contaminated Marine Sediment under Conditions Promoting Reductive Dechlorination. *Frontiers in Microbiology* 7.
- Mattes, T. E., Alexander, A. K., and Coleman, N. V. (2010). Aerobic biodegradation of the chloroethenes: pathways, enzymes, ecology, and evolution. *FEMS Microbiol. Rev.* 34(4), 445-475.
- Maymo-Gatell, X., Anguish, T., and Zinder, S. H. (1999). Reductive dechlorination of chlorinated ethenes and 1, 2-dichloroethane by "Dehalococcoides ethenogenes" 195. *Appl. Environ. Microbiol.* 65(7), 3108-3113.
- McMurdie, P. J., Behrens, S. F., Muller, J. A., Goke, J., Ritalahti, K. M., Wagner, R., Goltsman, E., Lapidus, A., Holmes, S., Löffler, F. E., et al. (2009). Localized plasticity in the streamlined genomes of vinyl chloride respiring *Dehalococcoides*. *PLoS Genet.* 5(11), e1000714.



第七章：參考文獻

- Men, Y., Seth, E.C., Yi, S., Allen, R.H., Taga, M.E., and Alvarez-Cohen, L. (2014). Sustainable Growth of *Dehalococcoides mccartyi* 195 by Corrinoid Salvaging and Remodeling in Defined Lactate-Fermenting Consortia. *Appl. Environ. Microbiol.* 80, 2133–2141.
- Mohn, W. W., and Tiedje, J. M. (1992). Microbial reductive dehalogenation. *Microbiological reviews* 56(3), 482-507.
- Moller, B., OBmer, R., Howard, B.H., Gottschalk, G., and Hippe, H. (1984). *Sporomusa*, a new genus of gram-negative anaerobic bacteria including *Sporomusa sphaeroides* spec. nov. and *Sporomusa ovata* spec. nov. *Arch. Microbiol.* 139, 388–396.
- Molenda, O., Tang, S., Lomheim, L., and Edwards, E.A. (2018). Eight new genomes of organohalide-respiring *Dehalococcoides mccartyi* reveal evolutionary trends in reductive dehalogenase enzymes. *bioRxiv*, 345173.
- Muyzer, G., and Stams, A.J. (2008). The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria. *Nat Rev Microbiol* 6, 441-454.
- Munder, M., Vogt, J.R.A., Vogler, B., and Renz, P. (1992). Biosynthesis of vitamin B12 in anaerobic bacteria, Experiments with *Eubacterium limosum* on the origin of the amide groups of the corrin ring and of N-3 of the 5,6-dimethylbenzimidazole part. *European Journal of Biochemistry* 204, 679–683.
- Nelson, W., and Stegen, J. (2015). The reduced genomes of *Parcubacteria* (OD1) contain signatures of a symbiotic lifestyle. *Frontiers in Microbiology* 6.
- Neumann, A., Wohlfarth, G., and Diekert, G. (1998). Tetrachloroethene dehalogenase from *Dehalospirillum multivorans*: cloning, sequencing of the encoding genes, and expression of the *pceA* gene in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 180(16), 4140-4145.
- Nijenhuis, I., and Kuntze, K. (2016). Anaerobic microbial dehalogenation of organohalides-state of the art and remediation strategies. *Curr. Opin. Biotechnol.* 38, 33-38.
- Orlygsson, J., and Kristjansson, J.K. (2014). The Family Hydrogenophilaceae. In *The Prokaryotes: Alphaproteobacteria and Betaproteobacteria*, E. Rosenberg, E.F. DeLong, S. Lory, E. Stackebrandt, and F. Thompson, eds. (Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg), pp. 859-868.



開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗

- Ohlen, K., Chang, Y. K., Hegemann, W., Yin, C. R., and Lee, S. T. (2005). Enhanced degradation of chlorinated ethylenes in groundwater from a paint contaminated site by two-stage fluidized-bed reactor. *Chemosphere* 58(3), 373-377.
- Pant, P., and Pant, S. (2010). A review: advances in microbial remediation of trichloroethylene (TCE). *J. Environ. Sci. (China)* 22(1), 116-126.
- Paraíso, I.L., Plagmann, L.S., Yang, L., Zielke, R., Gombart, A.F., Maier, C.S., Sikora, A.E., Blakemore, P.R., and Stevens, J.F. (2019). Reductive Metabolism of Xanthohumol and 8-Prenylnaringenin by the Intestinal Bacterium *Eubacterium ramulus*. *Mol. Nutr. Food Res.* 63, 1800923.
- Parthasarathy, A., Stich, T. A., Lohner, S. T., Lesnefsky, A., Britt, R. D., and Spormann, A. M. (2015). Biochemical and EPR-spectroscopic investigation into heterologously expressed vinyl chloride reductive dehalogenase (VcrA) from *Dehalococcoides mccartyi* strain VS. *J. Am. Chem. Soc.* 137(10), 3525-3532.
- Pantazidou M, Panagiotakis I, Mamais D, Zikidi V (2012) Chloroethene in the presence of different sulfate concentrations. *Ground water Monit Remediat* 32:106–119
- Pikuta, E.V., and Hoover, R.B. (2014). The genus *Trichococcus*. In *Lactic Acid Bacteria*, pp. 135-145.
- Poehlein, A., Gottschalk, G., and Daniel, R. (2013). First Insights into the Genome of the Gram-Negative, Endospore-Forming Organism *Sporomusa ovata* Strain H1 DSM 2662. *Genome Announcements* 1.
- Plugge, C.M. (2005). Anoxic Media Design, Preparation, and Considerations. In *Methods in Enzymology*, (Elsevier), pp. 3–16.
- Puentes Jácome, L.A., Wang, P.-H., Molenda, O., Li, Y.X. (Jine-J., Islam, M.A., and Edwards, E.A. (2019). Sustained dechlorination of vinyl chloride to ethene in *Dehalococcoides*-enriched cultures grown without addition of exogenous vitamins and at low pH. *Environ. Sci. Technol.*
- Rast, P., Glöckner, I., Boedeker, C., Jeske, O., Wiegand, S., Reinhardt, R., Schumann, P., Rohde, M., Spring, S., Glöckner, F.O., et al. (2017). Three Novel Species with Peptidoglycan Cell Walls form the New Genus *Lacunisphaera* gen. nov. in the Family *Opitutaceae* of the Verrucomicrobial Subdivision 4. *Frontiers in*



Microbiology 8.

- Russell HH, Mathews JE, Sewell GW. 1992. Groundwater issue: TCE removal from contaminated soil and groundwater. In: Research Report No.EPA/540/S-92/002 of USEPA. USEPA: Washington DC, USA
- Robinson, C., Barry, D. A., McCarty, P. L., Gerhard, J. I., and Kouznetsova, I. (2009). pH control for enhanced reductive bioremediation of chlorinated solvent source zones. *Sci. Total Environ.* 407(16), 4560-4573. Shukla, A. K., Upadhyay, S. N., and Dubey, S. K. (2014). Current trends in trichloroethylene biodegradation: a review. *Crit. Rev. Biotechnol.* 34(2), 101-114.
- Saiyari, D.M., Chuang, H.-P., Senoro, D.B., Lin, T.-F., Whang, L.-M., Chiu, Y.-T., and 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* 28, 149–157.
- Shibasaki-Kitagawa, N., Iizuka, Y., and Yonemoto, T. (2000). Intraparticle cell growth and cell leakage in cultures of *Nicotiana tabacum* cells immobilized in calcium alginate gel beads. *J Chem Technol Biotechnol* 7.
- Speers, A.M., Cologgi, D.L., and Reguera, G. (2009). *Anaerobic Cell Culture. Current Protocols in Microbiology* 12.
- Stupperich, E., Eisinger, H.J., and Kräutler, B. (1988). Diversity of corrinoids in acetogenic bacteria. P-cresolylcobamide from *Sporomusa ovata*, 5-methoxy-6-methylbenzimidazolylcobamide from *Clostridium formicoaceticum* and vitamin B12 from *Acetobacterium woodii*. *Eur J Biochem* 172, 459–464.
- Suh, M.-J., Kuntumalla, S., Yu, Y., and Pieper, R. (2014). Proteomes of pathogenic *Escherichia coli*/Shigella group surveyed in their host environments. *Expert Review of Proteomics* 11, 593–609.
- Sun, B., Cole, J.R., Sanford, R.A., and Tiedje, J.M. (2000). Isolation and characterization of *Desulfovibrio dechloracetivorans* sp. nov., a marine dechlorinating bacterium growing by coupling the oxidation of acetate to the reductive dechlorination of 2-chlorophenol. *Appl Environ Microbiol* 66, 2408-2413.
- Sung, Y., Fletcher, K.E., Ritalahti, K.M., Apkarian, R.P., Ramos-Hernández, N., Sanford,



開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗

- R.A., Mesbah, N.M., and Löffler, F.E. (2006). *Geobacter lovleyi* sp. nov. strain SZ, a novel metal-reducing and tetrachloroethene-dechlorinating bacterium. *Appl Environ Microbiol* 72, 2775-2782.
- Tan, H., Zhao, J., Zhang, H., Zhai, Q., and Chen, W. (2018). Isolation of Low-Abundant Bacteroidales in the Human Intestine and the Analysis of Their Differential Utilization Based on Plant-Derived Polysaccharides. *Front. Microbiol.* 9, 1319.
- Tsai, T.t., Liu, j.k., Chang, YM, Chen, K.F., Kao, C.M. (2014) Application of polycolloid-releasing substrate to remediate trichloroethylene-contaminated groundwater: a pilot-scale study. *J Hazard Mater* 68:92-101.
- Tang, S., Chan, W. W., Fletcher, K. E., Seifert, J., Liang, X., Löffler, F. E., Edwards, E. A., and Adrian, L. (2013). Functional characterization of reductive dehalogenases by using blue native polyacrylamide gel electrophoresis. *Appl. Environ. Microbiol.* 79(3), 974-981.
- Thackray, V.G. (2019). Sex, Microbes, and Polycystic Ovary Syndrome. *Trends Endocrinol Metab* 30, 54-65.
- Tiehm, A., and Schmidt, K. R. (2011). Sequential anaerobic/aerobic biodegradation of chloroethenes--aspects of field application. *Curr. Opin. Biotechnol.* 22(3), 415-421.
- Uchino, Y., Miura, T., Hosoyama, A., Ohji, S., Yamazoe, A., Ito, M., Takahata, Y., Suzuki, K., and Fujita, N. (2015). Complete genome sequencing of *Dehalococcoides* sp. strain UCH007 using a differential reads picking method. *Standards in genomic sciences* 10, 102.
- US Environmental Protection Agency. 2001. National Air Toxics Program: The integrated urban strategy: Report to Congress
- USEPA (United States Environmental Protection Agency). 1997. Use of monitored natural attenuation at superfund, RCRA corrective action and underground storage tank sites. In: Directive No.9200.4-17 P of office of Solid Waste and Emergency Response, Washington DC, USA: USEPA.
- Wang, S., Qiu, L., Liu, X., Xu, G., Siegert, M., Lu, Q., Juneau, P., Yu, L., Liang, D., He, Z., et al. (2018). Electron transport chains in organohalide-respiring bacteria and bioremediation implications. *Biotechnology Advances* 36, 1194–1206.



第七章：參考文獻

- Wagner, A.O., Markt, R., Mutschlechner, M., Lackner, N., Prem, E.M., Praeg, N., and Illmer, P. (2019). Medium Preparation for the Cultivation of Microorganisms under Strictly Anaerobic/Anoxic Conditions. *JoVE* 60155.
- Watanabe, M., Kojima, H., and Fukui, M. (2018). Review of *Desulfotomaculum* species and proposal of the genera *Desulfallas* gen. nov., *Desulfofundulus* gen. nov., *Desulfofarcimen* gen. nov. and *Desulfohalotomaculum* gen. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 68, 2891-2899.
- Weiss, J.V., Rentz, J.A., Plaia, T., Neubauer, S.C., Merrill-Floyd, M., Lilburn, T., Bradburne, C., Megonigal, J.P., and Emerson, D. (2007). Characterization of Neutrophilic Fe(II)-Oxidizing Bacteria Isolated from the Rhizosphere of Wetland Plants and Description of *Ferritrophicum radiculicola* gen. nov. sp. nov., and *Sideroxydans paludicola* sp. nov. *Geomicrobiology Journal* 24, 559-570.
- Wen, L.-L., Zhang, Y., Pan, Y.-W., Wu, W.-Q., Meng, S.-H., Zhou, C., Tang, Y., Zheng, P., and Zhao, H.-P. (2015). The roles of methanogens and acetogens in dechlorination of trichloroethene using different electron donors. *Environmental Science and Pollution Research* 22, 19039-19047.
- Wilson, J. T., and Wilson, B. H. (1985). Biotransformation of trichloroethylene in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 49(1), 242-243.
- Wittlingerova, Z., Machackova, J., Petruzalkova, A., Trapp, S., Vlk, K., and Zima, J. (2013). One-year measurements of chloroethenes in tree cores and groundwater at the SAP Mimon Site, Northern Bohemia. *Environmental science and pollution research international* 20(2), 834-847.
- Woo, P.C.Y., Teng, J.L.L., Leung, K., Lau, S.K.P., Woo, G.K.S., Wong, A.C.Y., Wong, M.K.M., and Yuen, K. (2005). *Anaerospira hongkongensis* Gen. Nov. Sp. Nov., a Novel Genus and Species with Ribosomal DNA Operon Heterogeneity Isolated from an Intravenous Drug Abuser with Pseudobacteremia. *Microbiology and Immunology* 49, 31–39.
- Xu, Y., Yang, S., You, G., and Hou, J. (2021). Antibiotic resistance genes attenuation in anaerobic microorganisms during iron uptake from zero valent iron: An iron-dependent form of homeostasis and roles as regulators. *Water Research* 195, 116979.



- Xue, C., Zhao, J., Lu, C., Yang, S. T., Bai, F., & Tang, I. (2012). High-titer n-butanol production by *Clostridium acetobutylicum* JB200 in fed-batch fermentation with intermittent gas stripping. *Biotechnology and bioengineering*, 109(11), 2746-2756.
- Yan, J., Bi, M., Bourdon, A.K., Farmer, A.T., Wang, P.-H., Molenda, O., Quaile, A.T., Jiang, N., Yang, Y., Yin, Y., et al. (2018). Purinyl-cobamide is a native prosthetic group of reductive dehalogenases. *Nature Chemical Biology* 14, 8–14.
- Yan, J., Im, J., Yang, Y., and Löffler, F.E. (2013). Guided cobalamin biosynthesis supports *Dehalococcoides mccartyi* reductive dechlorination activity. *Phil. Trans. R. Soc. B* 368, 20120320.
- Yan, J., Şimşir, B., Farmer, A.T., Bi, M., Yang, Y., Campagna, S.R., and Löffler, F.E. (2016). The corrinoid cofactor of reductive dehalogenases affects dechlorination rates and extents in organohalide-respiring *Dehalococcoides mccartyi*. *The ISME Journal* 10, 1092–1101.
- Yang, Y., and McCarty, P. L. (2002). Comparison between donor substrates for biologically enhanced tetrachloroethene DNAPL dissolution. *Environ. Sci. Technol.* 36(15), 3400-3404.
- Yang, Y., Higgins, S. A., Yan, J., Şimşir, B., Chourey, K., Iyer, R., & Löffler, F. E. (2017). Grape pomace compost harbors organohalide-respiring *Dehalogenimonas* species with novel reductive dehalogenase genes. *The ISME journal*, 11(12), 2767–2780. doi:10.1038/ismej.2017.127
- Yi Yang, Natalie L. Cápiro, Jun Yan, Tyler F. Marcet, Kurt D. Pennell, Frank E. Löffler, Resilience and recovery of *Dehalococcoides mccartyi* following low pH exposure, *FEMS Microbiology Ecology*, Volume 93, Issue 12, December 2017, fix130,
- Yohda, M., Yagi, O., Takechi, A., Kitajima, M., Matsuda, H., Miyamura, N., Aizawa, T., Nakajima, M., Sunairi, M., Daiba, A., et al. (2015). Genome sequence determination and metagenomic characterization of a *Dehalococcoides* mixed culture grown on cis-1,2-dichloroethene. *J. Biosci. Bioeng.* 120(1), 69-77.
- Yu, H., Wan, H., Feng, C., Yi, X., Liu, X., Ren, Y., and Wei, C. (2017). Microbial polychlorinated biphenyl dechlorination in sediments by electrical stimulation: The effect of adding acetate and nonionic surfactant. *Science of The Total Environment* 580, 1371-1380.



第七章：參考文獻

- Yuan, S., Mao, X., and Alshawabkeh, A. N. (2012). Efficient degradation of TCE in groundwater using Pd and electro-generated H₂ and O₂: a shift in pathway from hydrodechlorination to oxidation in the presence of ferrous ions. *Environ. Sci. Technol.* 46(6), 3398-3405.
- Zhao, S., and He, J. (2018). Reductive Dechlorination of High Concentrations of Chloroethenes by a *Dehalococcoides mccartyi* Strain 11 G. *FEMS Microbiology Ecology*.
- Zhang, H., Ziv-El, M., Rittmann, B.E., and Krajmalnik-Brown, R. (2010). Effect of Dechlorination and Sulfate Reduction on the Microbial Community Structure in Denitrifying Membrane-Biofilm Reactors. *Environmental Science & Technology* 44, 5159-5164.
- Zhou, Y.-Z., Yang, J., Wang, X.-L., Pan, Y.-Q., Li, H., Zhou, D., Liu, Y.-D., Wang, P., Gu, J.-D., Lu, Q., et al. (2014). Bio-beads with immobilized anaerobic bacteria, zero-valent iron, and active carbon for the removal of trichloroethane from groundwater. *Environ Sci Pollut Res* 21, 11500–11509.
- Zoetendal, E.G., Plugge, C.M., Akkermans, A.D.L., and de Vos, W.M. (2003). *Victivallis vadensis* gen. nov., sp. nov., a sugar-fermenting anaerobe from human faeces. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 53, 211–215.



開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗

附件一、 場試驗專案工作污染防治及場址衛生安全措施



污染防治及場址衛生安全措施

本模場試驗計畫之現地安全衛生管理除遵守試驗場址規範之安全衛生工作守則外，另針對本執行計畫之相關工作內容，訂定安全衛生管理及緊急應變計畫說明如下。

一、安全衛生管理架構及各級權責

本計畫將擬定現場工作方法及安全衛生工作守則，現場負責人推動各項工作之執行，依現場執行狀況隨時回報計畫主持人，以決定是否需修正工作內容。此外，現場指派一安全負責人專責安全衛生管理工作，負責作業環境安全衛生之監督與檢討，各級負責人的職掌如表 1 所述。

表 1 各級負責人安全衛生權責表

計畫主持人	● 計畫之執行與協調。 ● 研擬及修改安全與衛生計畫。 ● 管理與運作。 ● 專案之組成與運作。 ● 安全與衛生計畫之製定與執行。 ● 與場址單位管理人員之聯繫。
現場負責人	● 現場工作之運作執行。 ● 協助督導勞工安全衛生工作。 ● 現場管制。 ● 運作紀錄。 ● 代理計畫主持人。
安全負責人	● 安全衛生計畫之現場執行，若現場人員之行為逾越本規範，應予以制止且記錄，並向計畫主持人報告。 ● 安全防護設備之檢視。 ● 安全防護設備之維修與保存。 ● 人員是否適於現場工作之安全考量。 ● 緊急應變聯絡者。 ● 現場緊急急救之協調與執行。 ● 工地管制之區劃。 ● 意外紀錄之撰寫與保存。
現場工作	● 注意自身與隊員之健康衛生與安全。 ● 遵守現場衛生與安全計畫之規定。 ● 服從安全衛生管理員之糾正。 ● 依工作計畫書之規定執行其所負責之工作，切勿單獨工作。 ● 若有安全疑慮應向現場經理報告或與安全衛生組討論。



開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗

人員	● 若遇意外發生，立即向現場負責人或安全負責人報告。
----	----------------------------



二、現場安衛作業與程序

根據本計畫內容分析於調查現場可能面臨之危害種類包括：A.物理性危害(如能量傷害：割傷、觸電等、爆炸、火災、噪音)；B.化學性傷害(如揮發性有機物、或其他現場運作化學物質、貯存油料等：外洩、噴濺)；C.人因工程傷害(因作業方式或操作不當：肌肉拉傷、挫傷)及 D.其他作業傷害等 4 種。依據現場處理能力分成 3 級應變措施，並依上述 4 種危害依程度分級擬定對應應變措施。

1. 個人安全防護設備

現場工作人員應依現場負責人或安全衛生負責人建議穿著適當之防護裝備，本整治計畫之個人基本安全防護裝備包括安全帽、安全鞋，安全手套、護目鏡及活性炭口罩則視需要穿戴。並於現場準備半面式過濾防毒面具、氧氣瓶、簡易消防設備（小型乾粉滅火器）、急救箱等，數量與穿用時機如表 2。

2. 個人現場安全防護訓練

現場安全衛生負責人必須對現場工作人員施予防護訓練，使其瞭解正確之個人防護裝備使用方法與作業安全準則。如有須要，本計畫在實施前，並將針對主要污染物依「危險物及有害物質通識規則」，製作質物安全資料表，並標示張貼於作業人員明顯可視之處。

表 2 個人防護設備數量與穿用時機

項目	單位	穿用時機
D 級防護設備(安全帽、棉手套、安全鞋、工作服、活性碳口罩)	套	工地內必備
C 級防護設備(安全帽、連身防護衣、矽膠手套、安全鞋、護目鏡、N95 口罩)	套	有害氣體濃度>100 ppmV
半面式過濾防毒面具	組	有害氣體濃度>500 ppmV
氧氣瓶	組	有害氣體濃度>1000ppmV

三、作業區管制

除一般性勞工作業可能發生意外之防止外，於現場操作時，另應考量預防作業人員受來自作業環境中主要污染物之暴露與接觸危害，原則上至少需達符合國內有關作業場所之勞工安全衛生之法令規定。為維護計畫執行期間之人員安全，將配合工廠內之安全管制措施，例如下述：

1. 凡進入工地工作，所有人員均應配戴安全帽及其他必要之防護具。
2. 每日現場作業執行前應先進行作業安全宣導與當日工作重點提醒。
3. 工作開始前應先執行工作場所與使用設備安全點檢。
4. 每日工作結束後，將工區之施工廢棄物及垃圾清運出場，確保場地整潔。
5. 工廠區內嚴禁煙火，人員不得吸煙、飲食。



開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗

6.自備滅火器等設備，並了解工廠內消防安全設施位置。

7.於作業區四周設置警示錐或黃色塑膠警示帶。

8.若正進行作業時，接受調查場址之工作人員應管制於警示帶外圍，如有非工作人員或本計畫業務單位進入作業區時，應協調暫時停工並告知。



四、 危害與災害預防

任何工地安全衛生事故之經驗均顯示事前之預防較事後之處理更為重要。本計畫執行期間有關危害與災害預防措施之內容包括以下各點：

- 1.防災設施器材之事前準備，並須留意定期檢查與維護，確保堪用。
- 2.現場操作人員之各項作業制定標準作業程序，避免不當操作造成意外。
- 3.各種應用作業設備定期進行安全檢查，防止支撐鬆動及漏電、短路等意外狀況。
- 4.制定防災措施與執执行程序，並製作書面資料要求作業人員熟悉。
- 5.建立救護與通報程序。
- 6.定期進行防災演練及防災檢查工作。

五、 緊急應變措施

如發生危害事故，但能於現場自行應變進行處理改善者為 1 級，如割傷、噪音、挫傷、中暑等，由現場安全負責人下令暫停作業，並通報轄區環安單位及本計畫主持人，並給予適當之醫療協助；發生現場不能自行處理需由轄區廠商協助者為 2 級，如觸電、遭化學品噴濺等，由現場安全負責人下令停止作業及人員退至安全區域，並通報工廠環安單位及本計畫主持人，並由工廠環安單位給予協助(如回路斷電、管路關閉及或化學品辨視)，並給予適當之後送醫療(毒化災害急救責任醫院優先)；現場發生危害事故其程度需工廠環安單位及專業救災單位進行應變處理者為 3 級，如爆炸、火災、化學品外洩等，由現場安全負責人下令停止作業及人員退至管制區外，並通報工廠環安單位及本計畫主持人，並給予適當之後送醫療(毒化災害急救責任醫院優先)，規劃緊急應變措施，具體內容說明如下：



開發高效脫氯生物膠體及優化生物包埋整治工法：現地模場試驗

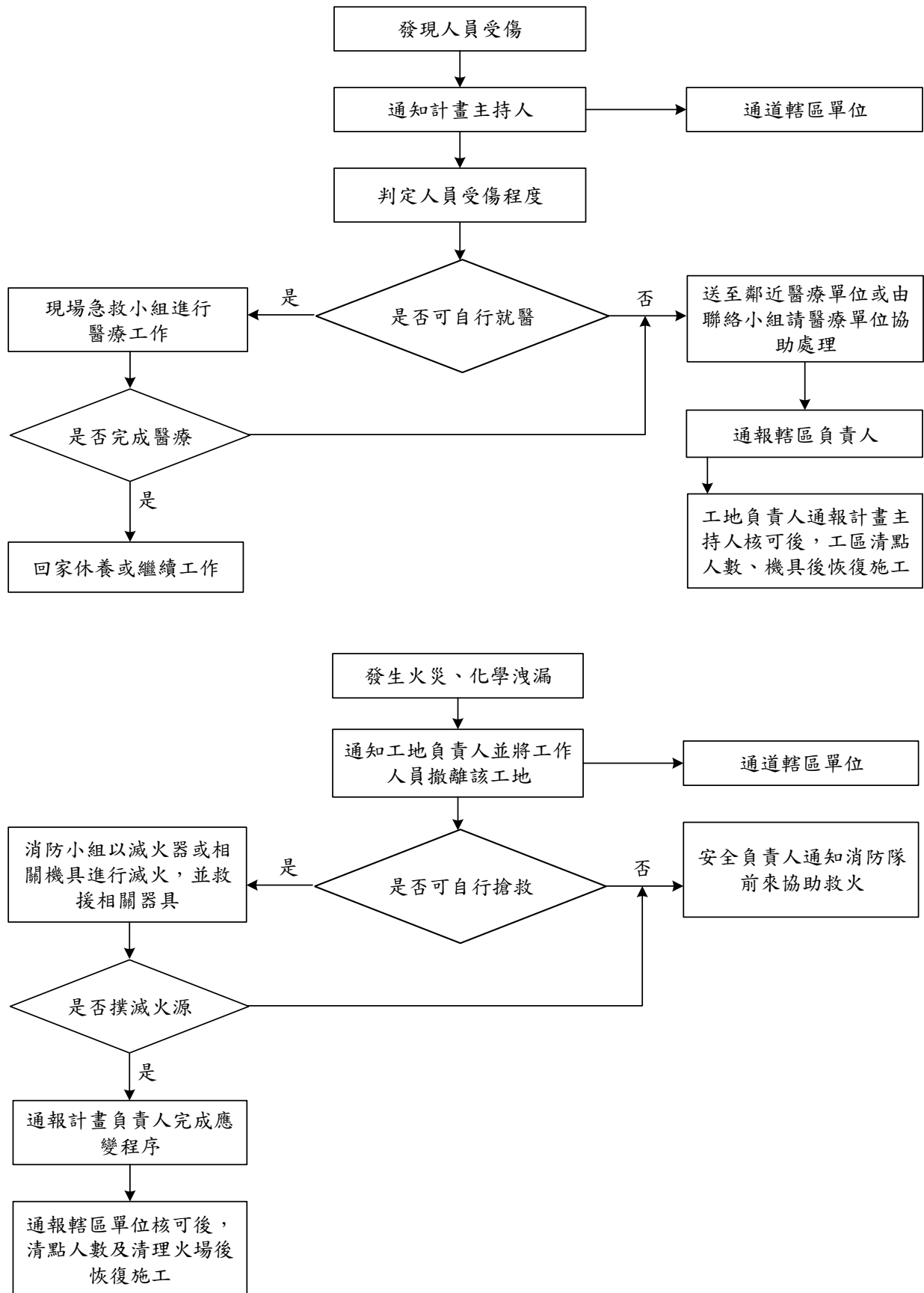


圖 1 施工人員受傷應變程序圖 2 工區發生火災、化學洩漏應變程序



六、訓練與宣導

緊急事件隨時可能發生，因此應變措施應納入平時教育訓練課程中，且每季定時舉行一次實地演練，以使所有人員均能熟練各程序。在工作現場如發生緊急事故時，應依照本節所述之標準程序處理之。安全衛生負責人應在現場施作區提供一份緊急通報表，並且對所有之工作人員提供緊急應變課程使其瞭解應變程序。可能發生之緊急狀況包括：

- 1.作業人員發生意外或高濃度污染物之感染，使其健康遭受威脅應變。
- 2.其它意外事件如火災、化學洩漏事件等逃生與應變。
- 3.不慎打到地下管線、電纜處置流程。
- 4.作業場所應注意事項與潛在危害。
- 5.人員受傷的應變與急救處理。
- 6.緊急事件處置與連絡方式。



附件二、 場地補充資料



1.1 場址基本資料

1.1.1 場址沿革

本場址之前緣為原公告為土壤及地下水污染控制場址之鎮安段 317 等 9 筆地號，因其污染來源不明確，台北高等行政法院撤銷原地下水處分，環保局遂將此 9 筆地號修正為地下水受污染使用限制區，並執行污染來源鑑識調查計畫，依調查結果認定台鈴平鎮廠內鎮安段 323（部分）地號範圍內之地下水污染為獨立之污染源，因而建立之列管場址，目前尚非屬公告場址，相關之場址大事記整理如表 1.1-2 所示，簡要說明於下。

表 1.1-2 場址大事記彙整表 (1/2)

項次	時間	執行單位	說明
1	99 年 11 月	環保署	行政院環境保護署執行「運作中工廠土壤及地下水含氣有機溶劑污染潛勢調查及查證計畫（第 2 期）」，認定台鈴平鎮廠土壤重金屬鉛 3,040 mg/kg 及地下水三氯乙烯 2.22 mg/L 污染濃度超過管制標準。
2	100 年 4 月	環保局	桃園縣環保局來函要求台鈴平鎮廠提出土壤及地下水污染之應變必要措施。
3	100 年 5 月	台鈴公司	台鈴公司提送「台鈴工業股份有限公司平鎮廠土壤及地下水緊急應變監測計畫」審查通過，立即執行污染補充調查及緊急應變必要措施。
4	100 年 6 月	環保局	桃園縣環保局來函公告台鈴平鎮廠鎮安段 317、318、319、320、321、322、323、324、325 等 9 筆地號為土壤、地下水污染控制場址及污染管制區。另來函要求台鈴公司提送「污染控制計畫」供桃園縣環保局核定。
5	100 年 9 月	台鈴公司	台鈴公司提送「土壤及地下水控制計畫書」呈桃園縣環保局審查。
6	100 年 9 月	環保局	桃園縣環保局檢還「土壤及地下水控制計畫書」，將變更公告場址類別，暫不審理該計畫，俟環保署公告為整治場址後依相關規定辦理。
7	100 年 11 月	環保署	環保署召開「台鈴工業控制場址研商會」，依其協商結論協助辦理後續場外污染來源調查。
8	101 年 1 月	環保局	桃園縣環保局來函要求台鈴公司提送「健康風險評估」報告，並應同時採取相關應變必要措施。
9	101 年 3 月	台鈴公司	台鈴公司提送「土壤及地下水應變必要措施計畫」供桃園縣環保局審查。
10	101 年 10 月	環保局	桃園縣環保局來函表示台鈴公司所提「土壤及地下水應變必要措施計畫」（修正三版）同意備查，並要求台鈴公司每季 15 日前提送工作執行進度。
11	102 年 1 月	環保局	桃園縣環保局來表示台鈴公司所提「土壤及地下水健康風險評估計畫」（修正四版）同意備查，並於文到 6 個月



項次	時間	執行單位	說明
			檢送「土壤及地下水污染控制計畫」。
12	102 年 5 月	台鈴公司	提送「台鈴工業股份有限公司平鎮廠土壤及地下水污染控制計畫書」予環保局審查

表 1.1-2 場址大事記彙整表 (2/2)

項次	時間	執行單位	說明
13	103 年 1 月	行政法院	台北高等行政法院撤銷原地下水處分。
14	103 年 3 月	環保局	核訂「台鈴工業股份有限公司平鎮廠土壤及地下水污染控制計畫書(定稿本)」
15	104 年 7 月	環保局	公告修正台鈴工業股份有限公司平鎮廠所在平鎮區鎮安段 323 地號土地為土壤污染控制場址
16	104 年 7 月	環保局	鎮安段 317、318、319、320、321、322、323、324、325 地號公告修正為地下水受污染使用限制地區及限制事項
17	105 年 2 月	台鈴公司	台鈴公司提送「土壤污染控制計畫完工報告書(修正二版)」供桃園縣環保局審查。
18	105 年 8 月	環保局	土壤污染控制場址解除列管。
19	106 年 3 月	環保局	桃園市環保局來函平鎮區鎮安段 323 地號(部分區域)地下水三氯乙烯項目檢出濃度為 0.0787 毫克/公升,將依土污法第 12 條第 2 項規定公告為控制場址,通知陳述意見。
20	106 年 5 月	台鈴公司	台鈴公司函請願意負責本場址後續改善工作之執行,同時配合環保局相關調查及勘查工作,陳請准予依土污法第 7 條第 5 項進行應變必要措施。
21	106 年 7 月	環保局	桃園市環保局函覆請立即採取應變必要措施並於 107 年 7 月 31 日前完成污染改善,並要求台鈴公司每季 15 日前提送工作執行進度,提供環保局審查。。
22	106 年 8 月	台鈴公司	台鈴公司提送「台鈴工業股份有限公司(平鎮廠)桃園市平鎮區鎮安段 323(部分)地號地下水污染場址應變必要措施計畫之執行計畫書」,供桃園市環保局審查。
23	106 年 9 月	環保局	桃園市環保局函覆同意台鈴公司提送台鈴工業股份有限公司(平鎮廠)桃園市平鎮區鎮安段 323(部分)地號地下水污染場址應變必要措施計畫(修正一版),予以備查。
24	107 年 7 月	台鈴公司	台鈴公司申請「台鈴工業股份有限公司(平鎮廠)桃園市平鎮區鎮安段 323(部分)地號地下水污染場址應變必要措施計畫」改善期限展延至 108 年 1 月 31 日前完成。
25	107 年 8 月	環保局	桃園市環保局函覆同意「台鈴工業股份有限公司(平鎮廠)桃園市平鎮區鎮安段 323(部分)地號地下水污染場址應變必要措施計畫」污染改善後因部分地下水污染濃度值有回升等因素,展延至 108 年 1 月 31 日前完成。



項次	時間	執行單位	說明
26	108 年 1 月	台鈴公司	台鈴公司提送「台鈴工業股份有限公司（平鎮廠）桃園市平鎮區鎮安段 323（部分）地號地下水場址應變必要措施計畫」改善完成報告，予環保局審查
27	108 年 6 月	環保局	桃園市環保局來函平鎮區鎮安段 323（部分）地號地下水污染一案，經環保局驗證結果，地下水污染濃度已低於地下水污染管制標準，故不公告為地下水污染控制場址。



1.1.2 場址公告資料

行政院環境保護署（以下簡稱環保署）鑒於工廠使用含氯有機溶劑時易造成土壤及地下水污染，於民國 99 年執行之「運作中工廠土壤及地下水含氯有機溶劑污染潛勢調查及查證計畫（第 2 期）」，認定台鈴工業股份有限公司（以下簡稱台鈴公司）於桃園縣平鎮市延平路三段 411 巷 75 號（以下簡稱台鈴平鎮廠）地下水三氯乙烯（TCE）已超過第二類地下水污染管制標準之管制值 0.05 mg/L。為釐清污染來源，桃園市政府環境保護局（以下簡稱環保局）於 103 年度執行「103 年度桃園縣地下水含氯場址污染來源鑑識及公告範圍界定計畫」（以下簡稱鑑識計畫），調查結果指出，台鈴平鎮廠內 1 口監測井 MW-11 的地下水 TCE 濃度超標，北邊廠外另有兩口 TCE 超標井（MW-EX-01、MW-EX-02），顯示有兩個污染團存在，經 TCE 之 $\delta^{13}\text{C}$ 比對，南、北兩團 TCE 屬不同來源，而下游 MW11 所屬之 TCE 污染團並非受上游北邊 TCE 污染團所影響。

依據鑑識計畫結果，位於桃園市平鎮區鎮安段 323 地號之監測井 MW-11，地下水三氯乙烯項目檢出濃度為 0.0787 mg/L，超過第二類地下水污染管制標準 0.05 mg/L，桃園市政府將依土壤及地下水污染整治法（以下簡稱土污法）第 12 條第 2 項規定，公告「桃園市平鎮區鎮安段 323 地號（部分區域）」土地為地下水污染控制場址（以下簡稱本場址），範圍如圖 1.1-1 所標示，劃定區域面積為 2,372 平方公尺，並依行政程序法第 102 條於作成土污法行政處分前發函通知台鈴公司陳述意見（106 年 3 月 27 日以府環水字第 10600062375 號函）。

目前本場址之列管狀態為調查中場址，尚未確認污染行為人。雖然本場址地下水污染成因尚需釐清，惟為避免本場址之地下水污染而影響人體健康，台鈴公司願意負責本場址後續改善工作之執行，同時配合環保局相關調查及勘查工作，於 106 年 5 月 5 日以台鈴字第 10605008 號函請環保局同意依土污法第 7 條第 5 項規定辦理（以下簡稱 7 條 5），並給予 12 個月之改善限期，台鈴公司將依污染特性及水文地質條件，選擇積極有效之改善工法，提出應變必要措施計畫，經環保局同意後執行，於期限內達到本場址之地下水污染物濃度低於第二類管制標準，期能得以不公告為控制場址。

環保局於 106 年 7 月 31 日府環水字第 1060179670 號函覆，命台鈴公司依土污法第 7 條第 5 項及第 15 條第 1 項第 7 款規定移除或清理污染物，以減輕污染影響或避免污染擴大，並請台鈴公司應於文到 20 日內提送緊急應變必要措施計



畫報府審查，核定後據以實施。台鈴公司遂委託瑞昶科技股份有限公司（以下簡稱瑞昶公司）進行污染補充調查以及撰寫緊急應變必要措施計畫，提送環保局審查。場址位置如圖 1.1-1 所示，相關公文請見附件附件一。

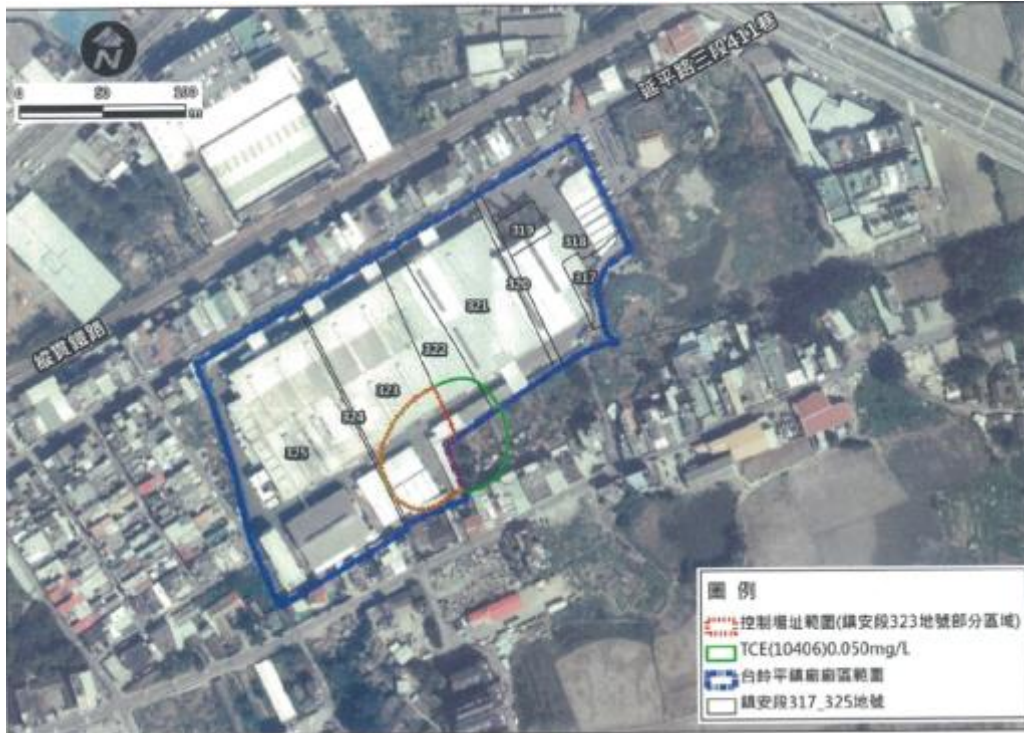
1.2 場址特徵及曾實施調查結果

1.2.1 環保署調查結果

環保署於 99 年執行「運作中工廠土壤及地下水含氯有機溶劑污染潛勢調查及查證計畫（第 2 期）」（以下簡稱 99 年環保署計畫），於本場址設置 3 口監測井（MW9920-01、MW9920-03 及 MW9920-05）進行揮發性有機物採樣檢測作業，採樣監測井位置如圖 1.2-1 所示，其中 MW9920-01 及 MW9920-05 等 2 口檢出三氯乙烯超過地下水污染管制標準（如表 1.2-1 所示），MW9920-05 監測井即位於本場址範圍內，當時所測得之濃度為 0.714 mg/L。而另一超標井 MW9920-01 位於台鈴平鎮廠北測邊界，三氯乙烯濃度為 2.22 mg/L，此兩監測井亦檢出三氯乙烯之還原脫氯途徑之降解產物順-1,2-二氯乙烯，濃度為 0.103~0.139 mg/L。

99 年環保署計畫，佈置 5 條地電阻法測線探測土壤及地下水污染潛勢，其中 L9920-05 測線為位於本場址內之測線，如圖 1.2-2 所示。由於廠區地下管線與地上（下）構造物分佈廣，存在干擾大。地電阻剖面測線均同時採用兩種電極排列分析：四極法、梯度法。

1. 汽柴油儲存區沿線（L9920-01）：圖 1.2-3 之 L9920-01，四極法與梯度法之探測剖面均顯示距測線起點處（東側為起點）24~27 m 處下方為異常高電阻率區域，顯示超過上千 Ohm-m，經由透地雷達法探測推測應屬金屬類之管線所呈現之異常繞射，經由研判該處為汽油輸油管，且油管實際位於測線起點 24~25 m，該處存在異於周遭之高電阻率，呈現向下延伸之相對高電阻率區域，深度約自地表下 4 m 至地下約 15 m 處。
2. 重油儲存區沿線（L9920-02）：圖 1.2-3 之 L9920-02 四極法與梯度法之探測剖面均顯示距測線起點處（西側為起點）18~20 m 處下方為異常高電阻率區域，深度約在地表下 1.5~3 m 內，附近水位初步研判約在地下 4~5 m，推測為淺層較堅硬紅土或粗礫造成。



資料來源：桃園市政府 106 年 3 月 27 日府環水字第 1060062375 號函。

圖1.1-1 桃園市平鎮區鎮安段323地號（部分區域）違反土污法之範圍圖

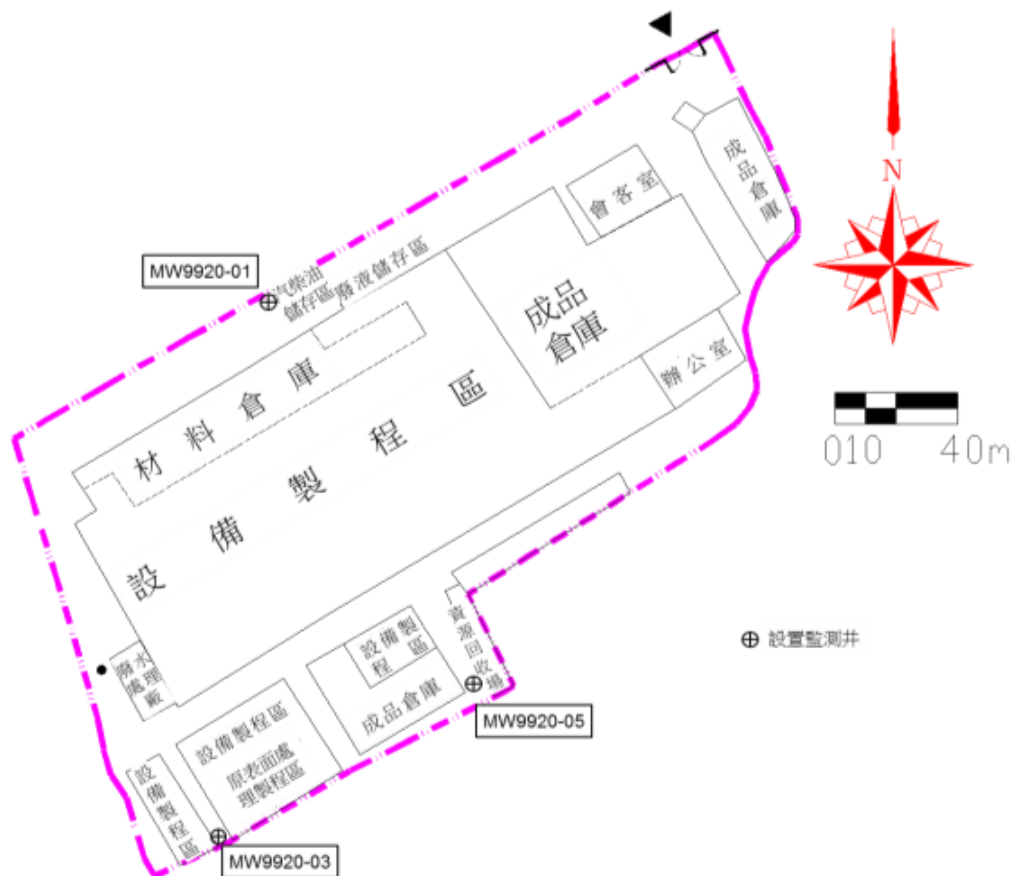


圖 1.2-1 環保署設置監測井位置圖

表 1.2-1 監測井地下水質分析結果表

採樣點位				MW9920-01 ¹ (微洗井)	MW9920-03 (微洗井)	MW9920-05 ¹ (微洗井)	地下水第二類 污染管制標準
採樣座標 ⁵				E : 269,970.749 N : 2,757,991.48	E : 269,951.223 N : 2,757,818.403	E : 270,031.824 N : 2,757,865.015	
檢驗項目	檢驗方法	MDL	單位	PGB015401	PGB015402	PGB015403	
	NIEA W424.52A	-	-	6.0	6.3	5.5	—
水溫	NIEA W217.51A	-	℃	24.8	22.8	23.0	—
導電度	NIEA W203.51B	-	μmho/cm	337	390	304	—
水位	NIEA W103.54B	-	m	4.110	6.332	6.125	—
溶氧量	NIEA W103.54B	-	mg/L	0.6	1.8	2.9	—
氧化還原電位	NIEA W103.54B	-	mv	12.2	141	227	—
1,1,2-三氯乙烷	NIEA W785.54B	0.00074	mg/L	<0.0100	ND ⁴	<0.0100	0.05
1,1-二氯乙烷	NIEA W785.54B	0.00067	mg/L	<0.0100	ND	<0.0100	8.5
1,2-二氯乙烷	NIEA W785.54B	0.00065	mg/L	<0.0100	ND	<0.0100	0.05
氯甲烷	NIEA W785.54B	0.00060	mg/L	<0.0100	ND	<0.0100	0.30
二氯甲烷	NIEA W785.54B	0.00085	mg/L	<0.0100	ND	<0.0100	0.05
氯仿	NIEA W785.54B	0.00083	mg/L	<0.0100	ND	<0.0100	1.0
1,1-二氯乙烯	NIEA W785.54B	0.00062	mg/L	<0.0100	ND	<0.0100	0.07
順-1,2-二氯乙烯	NIEA W785.54B	0.00066	mg/L	0.139	ND	0.103	0.7
反-1,2-二氯乙烯	NIEA W785.54B	0.00063	mg/L	<0.0100	ND	<0.0100	1.0
氯乙烯	NIEA W785.54B	0.00069	mg/L	<0.0100	ND	<0.0100	0.02
三氯乙烯	NIEA W785.54B	0.00061	mg/L	<u>2.22³</u>	0.00101	<u>0.714</u>	0.05
四氯乙烯	NIEA W785.54B	0.00075	mg/L	<0.0100	ND	<0.0100	0.05
苯	NIEA W785.54B	0.00061	mg/L	<0.0100	ND	<0.0100	0.05
乙苯	NIEA W785.54B	0.00059	mg/L	<0.0100	ND	<0.0100	7.0
甲苯	NIEA W785.54B	0.00068	mg/L	<0.0100	ND	<0.0100	10
二甲苯 ²	NIEA W785.54B	0.00164	mg/L	<0.0300	ND	<0.0300	100
1,4-二氯苯	NIEA W785.54B	0.00064	mg/L	<0.0100	ND	<0.0100	0.75
氯苯	NIEA W785.54B	0.00062	mg/L	<0.0100	ND	<0.0100	1.0
四氯化碳	NIEA W785.54B	0.00059	mg/L	<0.0100	ND	<0.0100	0.05
茶	NIEA W785.54B	0.00062	mg/L	<0.0100	ND	<0.0100	0.40

註：1.在 VOC 分析的部份，PGB015401,03，以稀釋倍數 10 倍定量。

2.二甲苯=間二甲苯+對二甲苯+鄰二甲苯。

3.檢測值超過管制標準者以“x.xx”表示。

4.ND (Not Detect)；低於方法偵測極限 (Method Detection Limit,MDL)。

5.座標系統使用內政部公佈之「1997 台灣大地基準 (TWD97) 座標系統」。

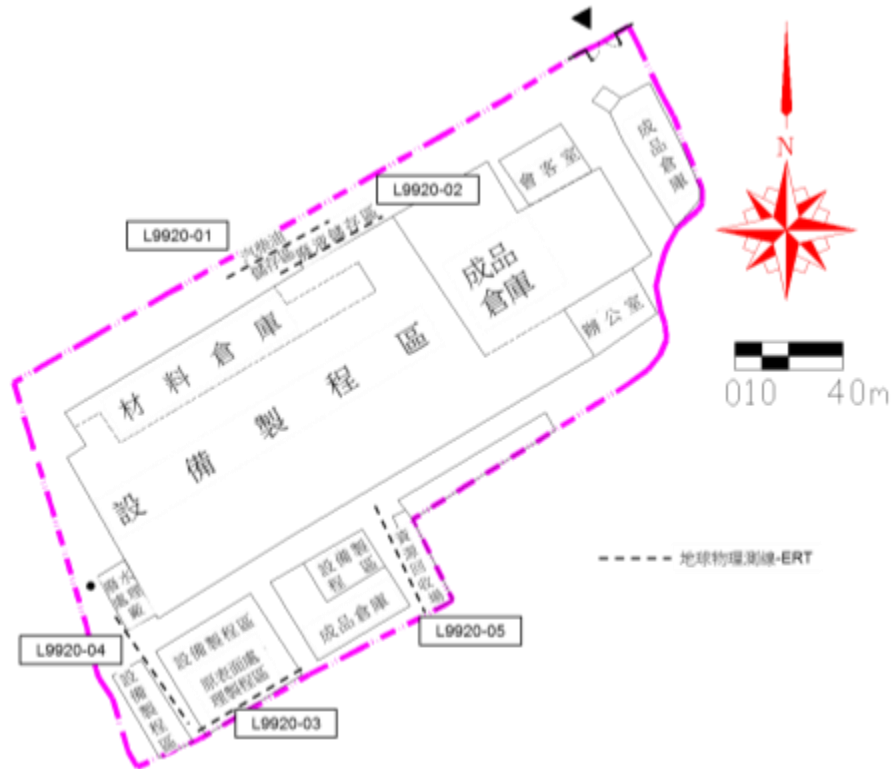


圖 1.2-2 地電阻影像探測布設位置圖

汽柴油儲存區沿線(L9920-01)

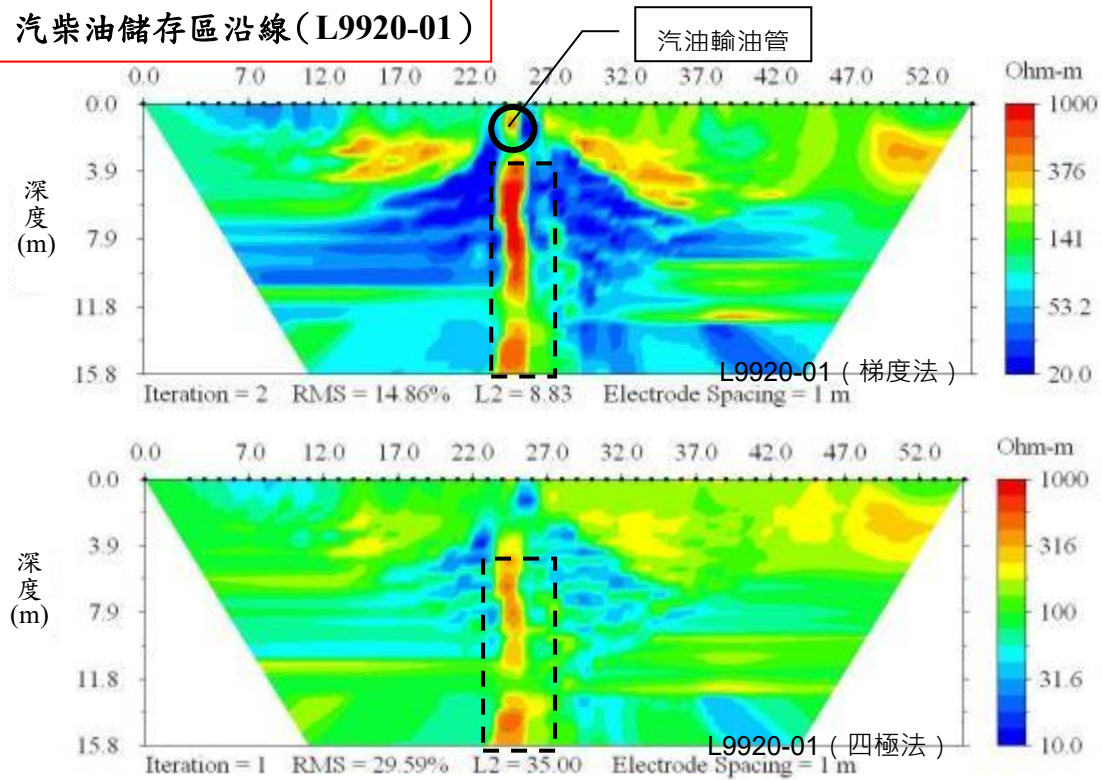
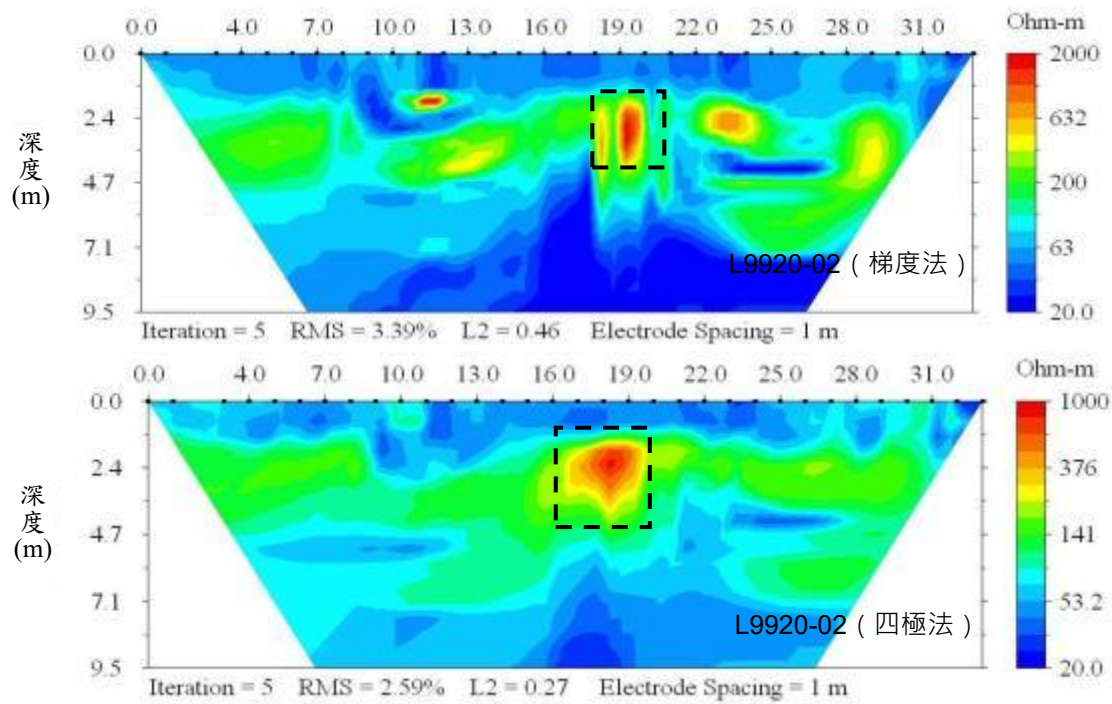


圖 1.2-3 地電阻影像剖面法探測圖 (1/3)



重油儲存區沿線 (L9920-02)



原三氯乙烯使用及儲存區沿線 (L9920-03)

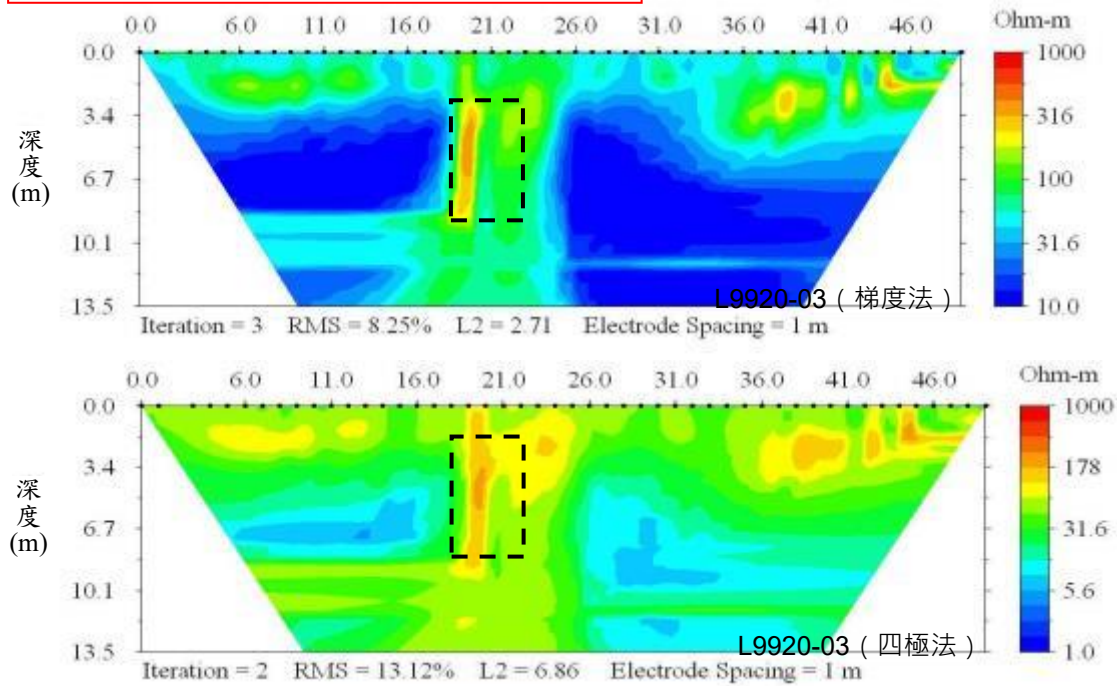
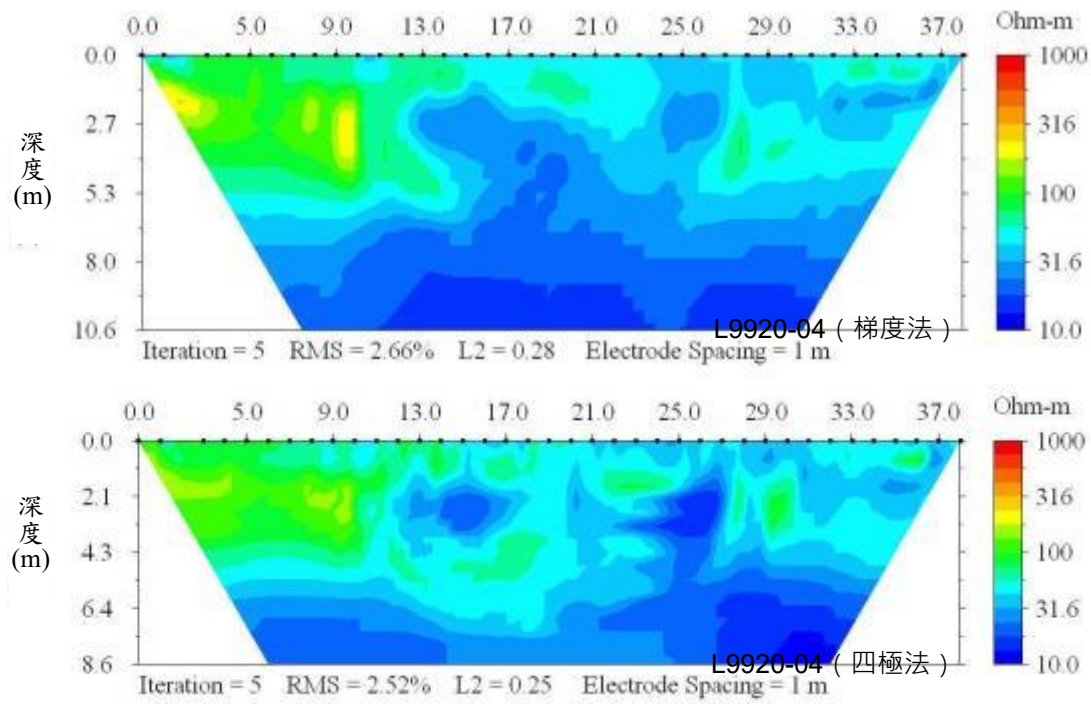


圖 1.2-3 地電阻影像剖面法探測圖 (2/3)



廢水處理廠至原三氯乙烯使用及儲存區沿線 (L9920-



資源回收場沿線(L9920-05)

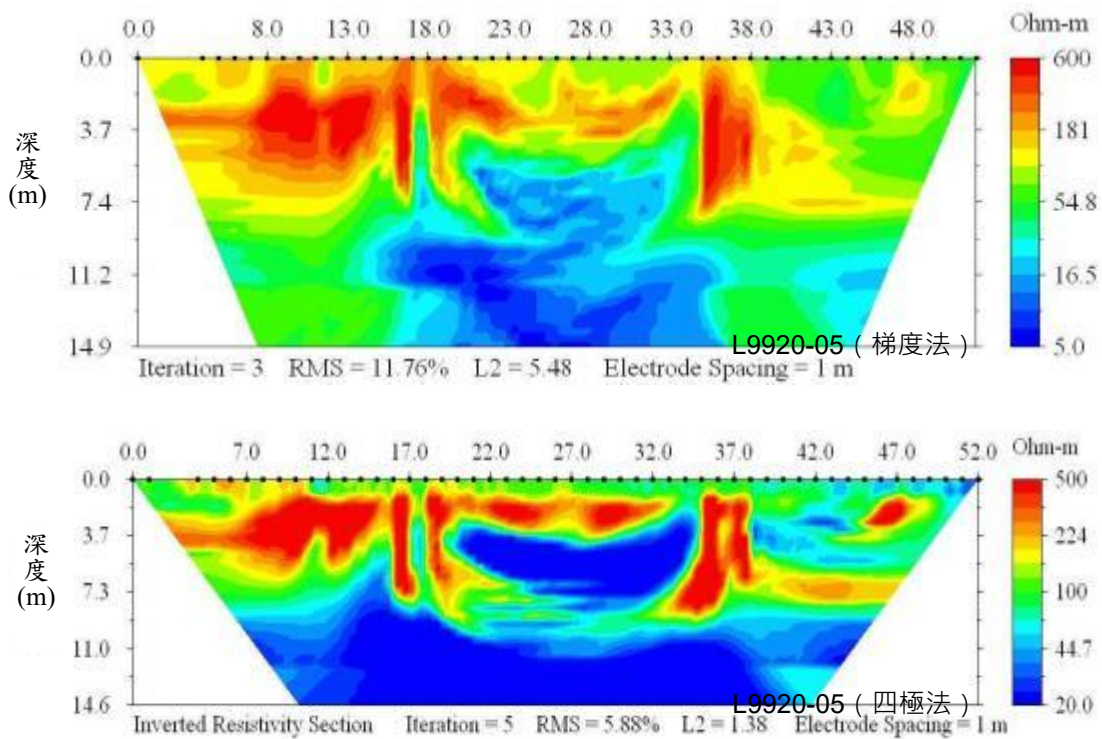


圖 1.2-3 地電阻影像剖面法探測圖 (3/3)



3. 原三氯乙烯使用及儲存區沿線 (L9920-03)：圖 1.2-3 之 L9920-03 四極法與梯度法之探測剖面均顯示距測線起點處（西側為起點）19~21 m 處下方為異常高電阻率區域，呈現向下延伸之相對高電阻率區域，深度約在地表下 2~8 m 內，附近水位初步研判約在地下 6~7 m。不排除為地質較堅硬紅土或粗礫造成，亦不排除有污染物往下延伸。
4. 廢水處理廠至原三氯乙烯使用及儲存區沿線 (L9920-04)：圖 1.2-3 之 L9920-04，本測線位於廢水處理廠至原三氯乙烯使用及儲存區，四極法與梯度法之探測剖面均顯示電性地層分佈接近礫石背景值，電阻率顯示地質滲透性有往下逐漸降低的趨勢，代表砂土或黏土逐漸增多。
5. 資源回收場沿線 (L9920-05)：圖 1.2-3 之 L9920-05 四極法與梯度法之探測剖面均顯示距測線起點處（西側為起點）18、37、48 m 處下方為異常高電阻率區域，顯示超過上百 Ohm-m，呈現向下延伸之相對高電阻率區域，深度約在地表下 1~7 m 內。三處異常區域皆鄰近資源回收場，其中 48 m 鄰近廢溶劑儲存區與雨水溝，淺地層 1~4 m 電阻率多數超過 5 百 Ohm-m，不排除為地質較堅硬紅土或粗礫造成，亦不排除有污染物往下延伸。經考量區域性地下水流方向（大致由北向南），發現 MW9920-05 位於 MW9920-01 下游，含氯有機污染物是否來自上游，導致 MW9920-05 之三氯乙烯超過污染管制標準；但亦不排除此區域曾堆置三氯乙烯空桶或相關廢液洩漏所致。

1.2.2 環保局調查結果

環保局執行「103 年度桃園縣地下水含氯場址污染來源鑑識及公告範圍界定計畫」於台鈴平鎮廠進行 7 口地下水監測井（MW-4、MW-11、MW9920-1、MW9920-5、MW-EX-01、MW-EX-02、TL-1）揮發性有機物檢測及同位素鑑定作業。結果顯示 MW11 及 MW-EX-02 之三氯乙烯濃度超過管制標準，分別為 0.0787 mg/L 及 0.107 mg/L。南、北兩區塊污染團，在三氯乙烯之 $\delta^{13}C$ 出現穩定同位素分餾現象，顯示南、北兩團三氯乙烯為不同來源。

1.2.3 自主調查結果

台鈴公司為瞭解平鎮廠之地下水水質情況，於 100 年開始委託取得環保署認



證合格之檢測機構進行地下水中揮發性有機物檢測，針對自行增設 11 口監測井及環保署既設 3 口監測井每季進行一次採樣分析，採樣期間為 100 年 9 月至 102 年 9 月，共計 7 次採樣分析，採樣監測井位置如圖 1.2-4，分析結果如圖 1.2-5。

圖中顯示原最高污染區域位於廠區北側，形成之污染團包含至本場址範圍，比較歷次污染團分布圖，顯示北側廠區外似乎有污染源持續的流入廠區，而此北側污染團似乎來自間歇性之污染源，因此濃度起伏不定。台鈴平鎮廠曾以為廠內有污染源，而於廠區南側設置水力控制之抽水處理，以防止污染向廠外擴大。推測因而將北側廠區外之污染團加速帶入廠內，並向下游（含本場址區）移動，研判本場址之污染來源可能係與廠外污染團有關。

台鈴公司於應變計畫期間，為防止地下水下游污染有擴散之疑慮，102 年於廠區南面地下水下游區域設置水力控制系統，該系統由 6 口抽水井組成（實際操作 4 口，PT-01、PT-06 抽水區污染物濃度低而未操作），其後於 103 年所提控制計畫中考量污染源於廠區外地下水上游區域，為阻絕污染持續擴散至廠內，於廠區內地下水上游圍牆周界區設置 5 口抽水井，合計共 11 口水力控制抽水井，其配置如圖 1.2-6 所示，運轉者 9 口，其抽水操作如表 1.2-2 所示，每天總抽水量為 122.4 立方公尺（CMD），抽水系統皆由專管導引至污水前處理設備進行化學氧化前處理，待前處理完成後再導入污染處理場進行後續處理。廢水處理廠總處理量為 240 CMD，扣除製程所需 115 CMD，本計畫可用處理量為 125 CMD。

表 1.2-2 廠內水力控制系統運作彙整表

區域	組別	井號	每次運轉時間 (小時)	每天運作 次數	抽水量 (CMD)
南側	第一組	PT-02、PT-04	6	2	21.6
	第二組	PT-03、PT-05	6	2	46.8
北側	第一組	PT-07、PT-09、PT-11	6	2	32.4
	第二組	PT-08、PT-10	6	2	21.6
一天總抽水量					122.4



圖 1.2-4 台鈴平鎮廠地下水監測井設置圖

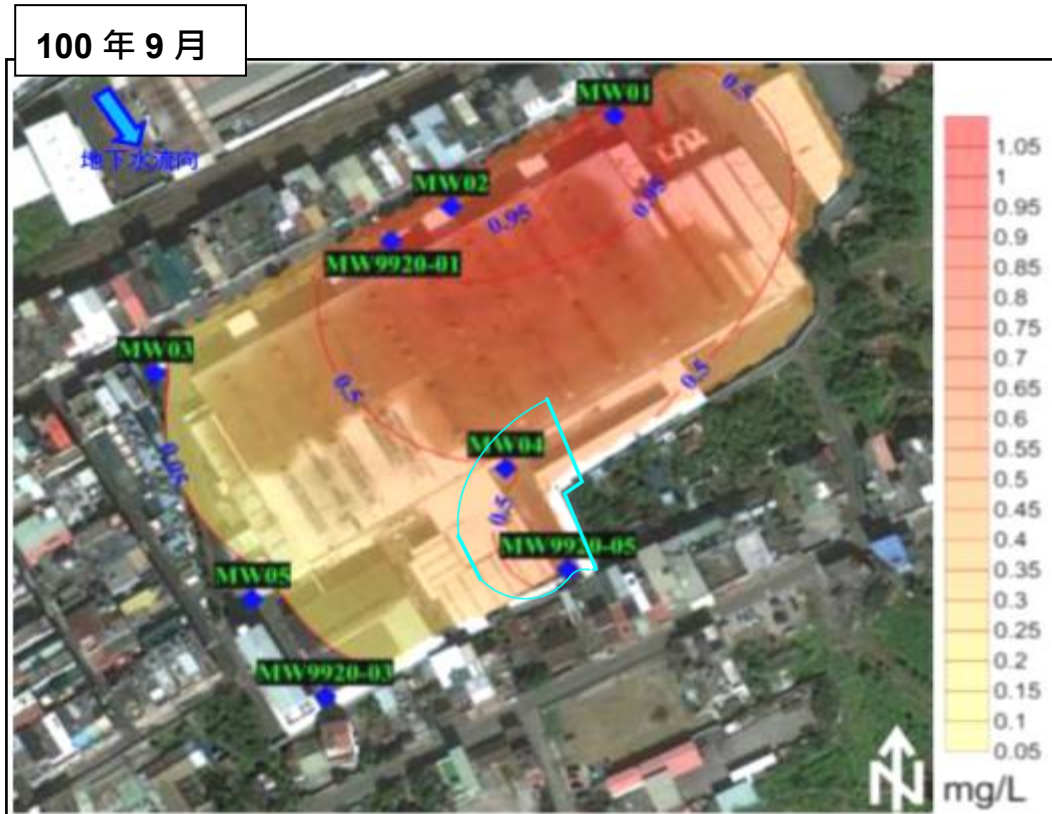


圖 1.2-5 台鈴平鎮廠三氯乙烯濃度推估圖 (1/7)

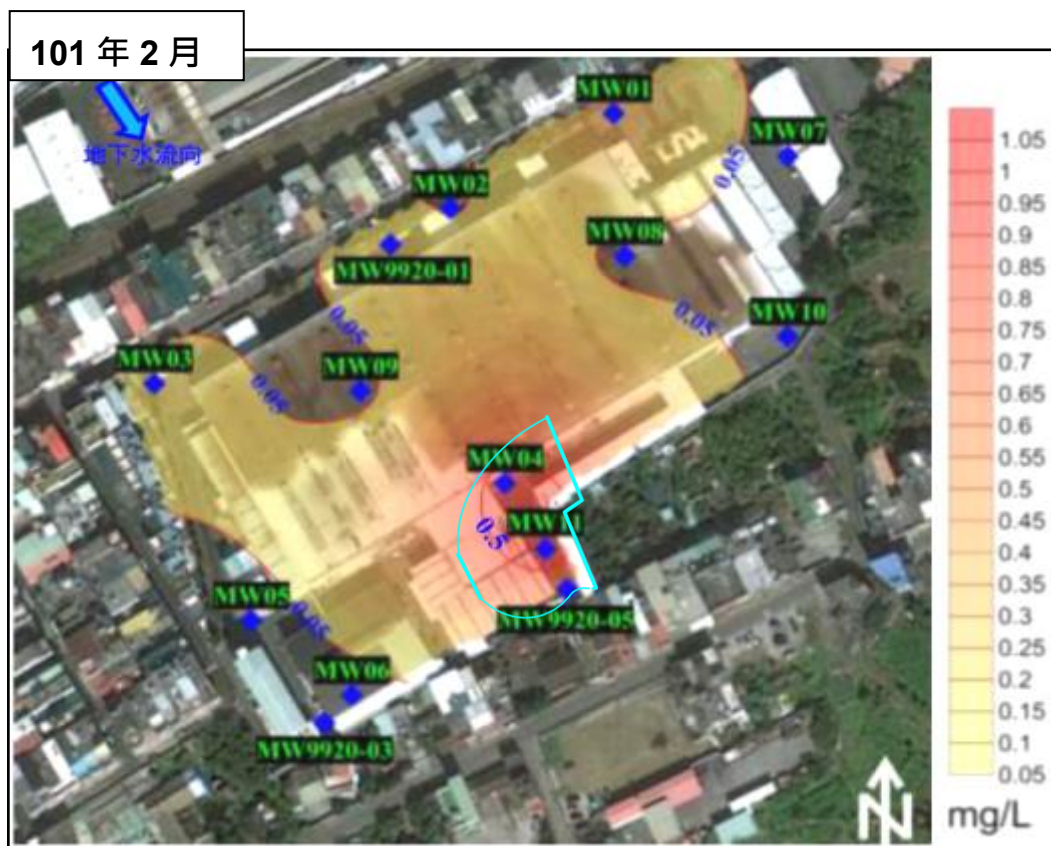


圖 1.2-5 台鈴平鎮廠三氯乙烯濃度推估圖 (2/7)

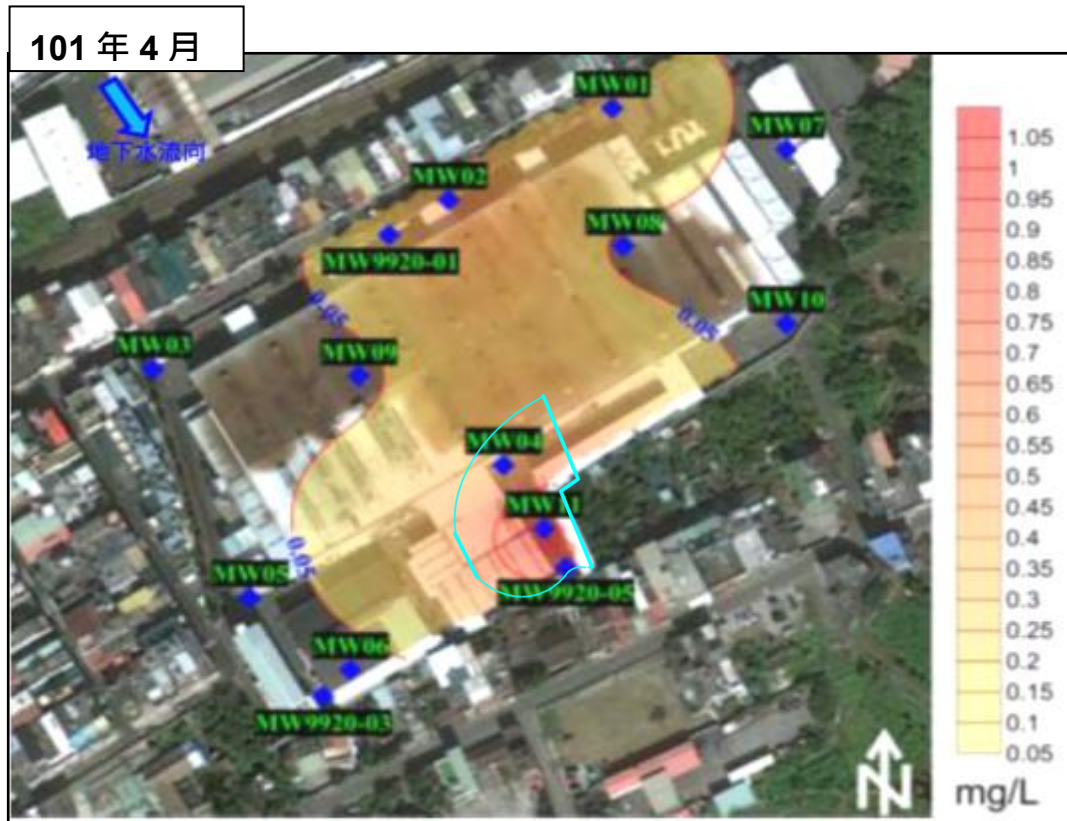


圖 1.2-5 台鈴平鎮廠三氯乙烯濃度推估圖 (3/7)





圖 1.2-5 台鈴平鎮廠三氯乙烯濃度推估圖 (4/7)

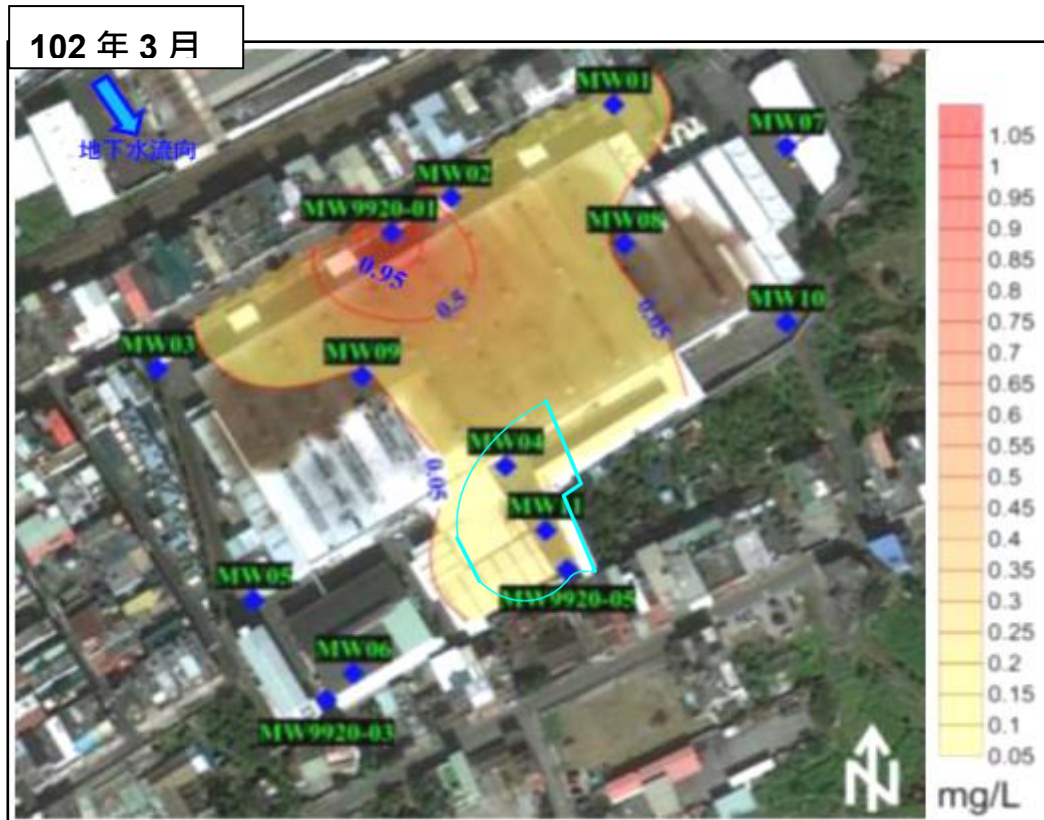


圖 1.2-5 台鈴平鎮廠三氯乙烯濃度推估圖 (5/7)



圖 1.2-5 台鈴平鎮廠三氯乙烯濃度推估圖 (6/7)



圖 1.2-5 台鈴平鎮廠三氯乙烯濃度推估圖 (7/7)



圖 1.2-6 水力控制系統平面配置圖

1.2.4 地下水污染範圍

依據環保局「103 年度桃園縣地下水含氯場址污染來源鑑識及公告範圍界定計畫」調查結果顯示，在一般水質項目上，檢測 7 口監測井均無異常；但在 VOC 檢測上，7 口均有三氯乙烯（TCE）、順-1,2-二氯乙烯檢出，且其中有 3 口（MW-11、MW-EX-01、MW-EX-02）仍達管制標準，本場址內僅有 MW-11 超標，另外超標兩口（MW-EX-01、MW-EX-02）位在廠區北邊之道路上。經 TCE 穩定同位素特徵比較顯示，其為兩不同污染來源且下游南邊污染團非受上游北邊污染團所影響。

惟以歷年台鈴公司之監測井檢測分析，廠區北邊污染團之影響可及本場址之現象，為更瞭解本場址污染團分布，彙整本場址既有監測井（MW04、MW11 及 MW9920-05）歷次調查（99 年度環保署、103 年度環保局、台鈴公司歷年調查），歷年三氯乙烯分析濃度結果如表 1.2-3 所示，濃度隨時間變化如圖 1.2-7 所示。由圖中顯示三氯乙烯濃度有下降趨勢，本場址既有監測井檢測出仍有三氯乙烯濃度



但未超出地下水污染管制標準。惟廠區北側污染團能持續流進廠內，而造成三氯乙烯濃度動態性變化。

目前本場址地下水受三氯乙烯污染，地下水污染深度範圍大致在 6~12 m 處，推測造成本場址地下水三氯乙烯污染的原因，可能為北側廠區外污染團擴散至本場址上游處區域，其餘區域較無顯著污染情形。研判北側廠區外地下水檢測出三氯乙烯污染，其受污染團影響造成本場址上游處的監測井三氯乙烯超出地下水污染管制標準。保守評估受污染含水層平均面積至少達 2,372 m² 以上，受污染含水層平均厚度約 8 m，受污染含水層污染體積約 18,976 m³ 以上。

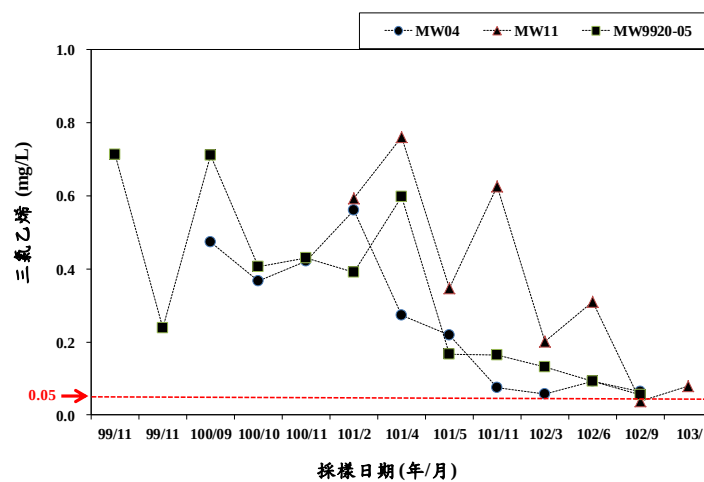


圖 1.2-7 本場址歷年既有監測井三氯乙烯濃度變化趨勢圖

表 1.2-3 歷年三氯乙烯分析結果

執行計畫	99 年環保署 ⁴		台鈴公司（自行調查）										103 年 環保局	補充 調查 ⁵
採樣時間 （年/月）	99/11 _a	99/11 _b	100/09	100/10	100/11	101/2-3	101/4	101/5	101/11	102/3	102/6	102/9	104/8	106/6
MW04	—	—	<u>0.4740</u>	<u>0.3670</u>	<u>0.422</u>	<u>0.5610</u>	<u>0.274</u>	<u>0.219</u>	<u>0.0757</u>	<u>0.0586</u>	<u>0.093</u>	<u>0.0643</u>	0.0375	0.034
MW11	—	—	—	—	—	<u>0.5940</u>	<u>0.762</u>	<u>0.347</u>	<u>0.625</u>	<u>0.201</u>	<u>0.311</u>	0.0371	<u>0.0787</u>	0.0378
MW9920-05	<u>0.714</u>	<u>0.238</u>	<u>0.7100</u>	<u>0.4060</u>	<u>0.43</u>	<u>0.3910</u>	<u>0.598</u>	<u>0.166</u>	<u>0.165</u>	<u>0.131</u>	<u>0.0931</u>	<u>0.0553</u>	ND	0.0064

註：1. 單位：mg/L。

2. “—”表示無採樣分析或無資料。

3. **粗體底線**表示超過第二類地下水污染管制標準。

4. 99 年環保署執行運作中工廠土壤及地下水含氯有機溶劑污染潛勢調查及查證計畫，分別以^a微洗井及^b貝勒管採樣分析

5. 106 年 6 月地下水品質調查結果取此監測井該次採樣濃度最高數值。

