



環境部環境管理署

112 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

整合泥火山與生物炭於微生物燃料電池系統進行三氯乙烯地下水污染生物整治

期末報告（定稿）

主辦單位： 環境部環境管理署

專案執行單位：國立中正大學 地球與環境科學系

專案主持人：許曷慕 教授

專案執行期間：112 年 12 月 15 日起至 113 年 11 月 29 日止

中 華 民 國 113 年 12 月 印製



專案基本資料表

專案性質		☒ 實驗性質 ☐ 非實驗性質		專案類別(單選)		☒ 研究型 ☐ 模場型	
研究主題		☒ 調查 ☐ 整治 ☐ 其他					
申請機構系所		國立中正大學 地球與環境科學系					
機構地址		621 嘉義縣民雄鄉大學路一段 168 號					
專案主持人		許曷慕		職等／職稱		特聘教授	
協同主持人		陳榮盛		職等／職稱		助理研究員(博士級)	
協同主持人		黃士偉		職等／職稱		副教授	
協同主持人		簡華逸		職等／職稱		協理	
專案名稱	中文	整合泥火山與生物炭於微生物燃料電池系統進行三氯乙烯地下水污染生物整治					
	英文	Integrating Volcanic Mud and Biochar in MFC Systems for the Bioremediation of TCE Contaminated Groundwater					
	關鍵字	Microbial Fuel Cell, Electrokinetic Remediation, Microbial Remediation, Hybrid Remediation, Mud Volcanoes, Bacterial Flora, Chloride Pollutant					
執行期程		自民國 112 年 12 月 15 日起至民國 113 年 11 月 29 日止					
專案主持人		姓名：許曷慕		Email：bmhsu@eq.ccu.edu.tw		專線：052720411#66218 手機：0952840868	
專任助理		姓名：林重延		E-mail：nmsaulin@gmail.com		專線：05-2720411#61233 手機：0929402267	
經費分析總表	專案預估經費		第一年金額	第二年金額	編列說明		
	1.	人事費用	373,822		(1~5 項相加之 50%為限)		
	2.	貴重儀器使用含維護費	0		(與計畫實驗相關)		
	3.	消耗性器材與主要費用	512,000		(與計畫主體相關)		
	4.	其它研究相關費用	0		(含差旅與租賃費用)		
	5.	行政管理費	90,000		(1~5 項相加之 10%為限)		
	6.	自籌款	0		(自行籌備款項)		
	申請補助金額(1~5 項)		975,822		總金額：975,822		
	計畫總金額(1~6 項)		975,822		總金額：975,822		

專案主持人(簽名及蓋章)：_____

日期：113/12/06



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

112 年度專案成果績效自評表

一、專案基本資料

填表日期：113 年 12 月 6 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	研究主題	
申請機構系所	國立中正大學地球與環境科學系	專案主持人	許曷慕
專案名稱	整合泥火山與生物炭於微生物燃料電池系統進行三氯乙烯地下水污染生物整治		
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欄位中

(一) 學術面

目標達成程度			申請 預估數	期中 達成數	成果 達成數	結案後半年 達成率	備註 (說明未達成 原因或學術產 出發表名稱)
項目							
A 學術產 出及活 動	1.國內投稿 (篇數)	(1)論文	0	0	0		
		(2)研討會論文	1	1	1		
	2.國外投稿 (篇數)	(1)期刊論文	1	0	1		
		(2)國際研討會 論文發表	0	0	0		
	3.報告 (篇數)	(1)技術報告	0	0	0		
		(2)研究報告	1	0	1		
	4.專著(本數)		0	0	0		
	5.辦理學術 會議(場數)	(1)研討/說明會	0	0	0		
		(2)成果發表會	0	0	0		
		(3)論壇	0	0	0		
B 人才 培育	6.研發改良 技術(項數)	(1)已開發技術	1	0	1		
		(2)技術平台	0	0	0		
	7.技術獎項(項數)		0	0	0		
	8.研發人員 (人數)	(1)碩士	2	1	2		
		(2)博士	1	1	1		
	9.研究團隊 (個數)	(1)跨領域團隊	0	0	0		
		(2)跨機構團隊	1	0	1		
		(3)形成研究中 心	0	0	0		



目標達成程度			申請 預估數	期中 達成數	成果 達成數	結案後半年 達成率	備註 (說明未達成 原因或學術產 出發表名稱)
項目							
		(4)形成實驗室	0	0	0		
10.其他指標 (請自行命名)		(請自填)					



(二) 產業面

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



(三) 政策面

目標達成程度			申請預估數	期中達成數	成果達成數	結案後半年達成率	備註 (說明未達成原因或其他詳細資料)
項目							
A 服務 便民	1.技術服務	次數	0	0	0		
		收入(仟元)	0	0	0		
	2.諮詢服務	次數	2	1	2		
		收入(仟元)	0	0	0		
B 政策 推動	3.協助政府推動 (件數)	(1)政策	0	0	0		
		(2)法規	0	0	0		
C 技術 效益	4.整治技術提升(%)						
	5.整治成本降低(%)						
	6.提升能源效率(%)						
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)
1.投稿國際期刊1篇、參與研討會發表論文1篇。 2.培育2名碩士生、1名博士生。 3.形成一個跨機構研究團隊。
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)
1.協助產業加速整治與整治方法開發。 2.洽談產業合作開發複合式電動力生物整治技術。
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、污場址管理等政策及法規研訂之參考)
1.務實改善含氯污染物降解速率，降低長期營運成本並有效提升處理率。 2.增進混合式整治方法開發，對污染物降解及現地整治有正面的助益。



二、計畫摘要

(一) 中文部分：

三氯乙烯 (TCE) 因其具有持久性和毒性，當其污染地下水會對環境和健康構成重大風險。因此，開發有效的技術以進行受污染地下水之整治至關重要。本研究乃評估以整合生物炭的管柱微生物燃料電池 (TMFCs) 用於 TCE 污染地下水整治之可行性，並透過甲烷氧化菌之接種進行強化。研究結果顯示，在實驗室規模的處理組 (T) 中，與無生物炭的處理組 (TWB 組) 和對照組 (C) 相比，T 組的 TCE 降解能力有所提升，而 TWB 和 C 組的 TCE 降解不完全。T 組中，*Methylococcus capsulatus*、*Hydrogenophaga pseudoflava*、*Dehalococcoides mccartyi*、*Geobacter sulfurreducens* 和 *Desulfovibrio oxamicus* 的豐度顯著增加，特別是在培養時間為 15 天、30 天和 45 天的樣本中，而 TWB 組中則次之。相比之下，C 組中，以 *Methanococcus jannaschii*、*Methanobacterium subterraneum* 和 *Brevundimonas diminuta* 豐度較為突出。qPCR 結果顯示，T 組中與甲烷氧化 (*mmoX*、*mmoA*)、電子轉移 (*omcX*) 和還原脫氯 (*rdhA*、*tceA*、*vcrA*) 相關的功能基因豐度顯著增加。相比之下，C 組中與甲烷生成活性相關的 *mcrA* 基因量較高。在現地管柱微生物燃料電池中，我們觀察到相似的模式，特別是在 90 天樣本中甲烷氧化 (*mmoX*、*pmoA*)、電子轉移 (*omcX*) 和還原脫氯 (*rdhA*、*tceA*、*vcrA*) 基因顯著增加，*mcrA* 基因量較低，顯示甲烷生成活性顯著降低。此外，硫酸鹽、鐵和錳的代謝在 T 組中較 TWB 和 C 組更加活躍。在還原條件下，管柱微生物燃料電池展現了良好的分解效果，其水質參數條件分別為：pH 值為 7.5、溫度為 25.2°C、氧化還原電位(ORP)為-517 mV。實驗室規模的管柱微生物燃料電池展示了對 TCE 生物修復的有效性，也突顯了以整合生物炭和甲烷氧化菌群的管柱微生物燃料電池作為 TCE 污染地下水整治是環保且永續的解決方案。

關鍵詞：三氯乙烯 (TCE)、管柱微生物燃料電池 (TMFC)、生物修復、泥火山、甲烷氧化菌接種



(二)英文部分：

Trichloroethylene (TCE) contamination in groundwater poses a significant environmental and health risk due to its persistence, and toxicity. Therefore, it is important to develop effective technologies to remediate contaminated groundwater. This study evaluated biochar-integrated tubular microbial fuel cells (TMFCs) for TCE-contaminated groundwater remediation, enhanced by methanotrophic inoculation. Results showed that in the lab-scale treatment (T) group had improved TCE degradation compared to treatment without biochar (TWB) and control (C) groups, which showed incomplete TCE degradation. The T group had significantly higher abundances of *Methylococcus capsulatus*, *Hydrogenophaga pseudoflava*, *Dehalococcoides mccartyi*, and *Geobacter sulfurreducens* and *Desulfovibrio oxamicus* and second most abundant in TWB group particularly evident on D-15, D-30, and D-45. Whereas, *Methanococcus jannaschii*, *Methanobacterium subterraneum* and *Brevundimonas diminuta* were prominent in C group. qPCR analysis revealed significantly higher abundances of functional genes associated with methane oxidation (*mmoX*, *mmoA*), electron transfer (*omcX*), and reductive dechlorination (*rdhA*, *tceA*, *vcrA*) in the T group. In contrast, the C group exhibited higher levels of the *mcrA* gene associated with methanogenic activity. In the in-situ (IS) TMFC reactor, a similar pattern was observed, with significant increased in methane-oxidizing (*mmoX*, *pmoA*), electron transfer (*omcX*), and reductive dechlorination (*rdhA*, *tceA*, *vcrA*) genes, particularly at D-90. This reactor exhibited low *mcrA* gene levels, indicating a noticeable decreased in methanogenic activity in the reactor. Additionally, sulfate, iron, and manganese metabolism were highly active in T group compared to TWB and C groups. The TMFC reactors showed promising results under reducing conditions, with a pH of 7.5, a temperature of 25.2°C, and an oxidation-reduction potential (ORP) of -517 mV. The TMFCs demonstrated effectiveness for TCE bioremediation, highlighting the potential of biochar and methanotrophic consortia integrated TMFCs as an eco-friendly and sustainable solution for TCE-contaminated groundwater remediation.

Keyword : Trichloroethylene (TCE), Tubular Microbial Fuel Cell (TMFC), Bioremediation, Mud Volcanoes, Methanotrophic Inoculation



三、計畫目的

(一) 研究背景與文獻回顧

全球工業化導致土壤和水資源受到污染 [1, 2]，其中氯化揮發性有機化合物 (CVOCs) 的污染常在數類環境介質中 (如土壤、空氣、地表水和地下水) 被發現 [3, 4]。這些氯化揮發性有機化合物被大量製造且廣泛應用於溶劑、防腐劑、殺蟲劑、乾洗劑和去脂劑、合成樹脂生產以及製藥工業 [5, 6]。然而，因意外泄漏、操作過程中的洩露以及不當處理，這些化合物進入生物圈，並在環境中廣泛擴散。氯化溶劑的存在對地下水質量構成重大風險，並對人類健康產生不利影響 [8, 9]。在這些氯化溶劑中，三氯乙烯 (TCE) 因其致癌性及其在地下水中經常被檢測到而備受關注 [10]。主要包含全氯乙烯 (PCE)、三氯乙烯及其中間體 (包括順-1,2-二氯乙烯 (DCE)、氯乙烯 (VC) 及氯苯) [11]。因此，從環境監測和整治的角度來看，評估這些污染物的污染來源和環境宿命是至關重要的。此外，發展可持續且有效的修復策略將是全球範圍內清理 TCE 污染地下水技術的關鍵。

雖然各種化學和物理技術常用於整治這類地下水污染物，但這些技術通常耗能、昂貴、耗時，且無法提供全面解決方案，從而限制了其實際應用 [12]。這些技術的複雜性，加上其巨大的運營成本，進一步阻礙了其在現實中的實用性。此外，一些物理化學方法已被發現對當地生態系統和環境產生不利影響 [13]。這些局限性促使人們探索替代方法，如生物整治，該方法因其成本效益、環保性以及對揮發性有機污染物的高生物降解效率，而成為一種有希望的解決方案 [14-20]。然而，對於像 PCE、TCE、順-1,2-DCE、VC 和氯苯等污染物，生物整治的效果高度依賴於污染場地中微生物群落的組成和功能，因為這些微生物在這些有機化合物的各種代謝途徑中扮演著關鍵角色 [16, 21]。先前的報告顯示，特定類群的微生物及其豐富度比例能決定 TCE 的脫氯過程的有效性 [25]。另外，某些特定類群的微生物能有效地將 TCE 降解為無害的最終產物。這些微生物中，大多屬於細菌屬，包括 *Desulfuromonas*、*Desulfitobacterium* 和 *Dehalobacter*，具有將 TCE 部分還原脫氯為順-DCE 的能力 [26, 27]。然而，目前僅有 *Dehalogenimonas* 和 *Dehelococcoides* 兩種細菌屬被認為能將 TCE 降解為更少氯化的乙烯 [28]。這可能與氫氣的可獲性較低有關，氫氣被視為厭氧脫氯中最重要的電子供體，且去除氯化溶劑中的一個氯原子需要一個氫氣原子和兩個電子 [29]。



部分 TCE 降解效率依賴於與甲烷相關的微生物群落，這些群落能夠產生甲烷或將其氧化。然而，厭氧基質降解過程中，大部分有機碳被轉化為甲烷，這些碳來源於像醋酸這類化合物[30]。最近的報告顯示，幾種與甲烷相關的微生物，如甲烷氧化菌，能消耗甲烷並增加氫氣的產量，支持 TCE 降解者完成污染場地的成功脫氯過程 [31]。相反，一些與甲烷代謝相關的微生物群落已被觀察到會競爭氫氣的消耗，這可能導致 TCE 脫氯速率的下降 [32]。尤其是甲烷產生菌被認為是脫氯細菌的主要競爭者，爭奪基質和電子供體，主要消耗氫氣，導致甲烷產量上升，並抑制脫氯細菌的生長，從而阻礙脫氯過程的啟動 [33, 34]。最新的研究證據表明，在某些脫氯微生物群落中，甲烷產生菌的存在會導致脫氯過程的減少 [35, 36]。因此，為了促進污染場地中成功的脫氯過程，減少氫氣的消耗或增加其產量至關重要。為了克服甲烷產生菌的影響，可考慮以硫酸鹽還原菌（SRB）與甲烷氧化菌增強 TCE 的還原脫氯過程 [37, 38]。SRB 能夠通過利用氫氣進行硫酸鹽還原，與甲烷產生菌競爭氫氣，從而抑制氫氣對甲烷產生菌的可用性，並促進脫氯細菌的生長 [39]。SRB 如 *Desulfitobacteria* 和 *Desulfobacterota* 被認為是具有潛力的微生物，能夠通過與甲烷產生菌競爭氫氣來增強 TCE 的脫氯作用 [40, 41]。在這個過程中，甲烷氧化菌與 SRB 一起發揮了重要作用，它們通過利用甲烷並增加氫氣的可用性來促進脫氯過程。它們在甲烷厭氧氧化過程中形成共營養關係 [42]，甲烷氧化菌提供終端電子受體（硫酸鹽），而 SRB 利用生成的硫化物進行硫酸鹽還原。兩種類型的微生物在自然極端環境中都很豐富，特別是泥火山中存在著獨特且高度豐富的 SRB（包括嗜中溫菌和嗜熱菌）和甲烷氧化菌群落 [44-47]，它們在自然界中更具適應性和潛力 [48-52]。根據最新的報告，TCE 的生物降解有可能在極端環境下發生，例如在酸性含水層中，既可在有氧條件下，也可在無氧條件下，利用極端環境中的微生物（如甲烷氧化菌）並抑制甲烷產生菌的活性 [53]。這表明，使用泥火山的污泥作為修復劑可能是一種有效的原位 TCE 生物整治的生物刺激策略。

許多位於台灣南部的陸域泥火山已被記錄其持續排放泥漿、懸浮液及氣體[50]。其中，甲烷及二氧化碳為主要之排放氣體，通常亦伴隨有較高的碳氫化合物及複雜的石油衍生有機化合物。因此，這些泥火山相較於其他環境，成為富含高度適應性甲烷氧化菌的豐富來源[48-50]。將富含甲烷氧化菌的泥火山污泥納入應用，提供了一種新穎的現地生物整治策略，乃意圖透過將過量的甲烷轉化為氫氣，以促進 TCE 及其他氯化化合物的成功去氯化。另一種增強氫氣對於



TCE 去氯微生物的直接可用性的方法是利用微生物燃料電池（MFC）。這些微生物燃料電池具有直接且選擇性地將電子及氫氣送達去氯化微生物群落的能力，促進目標去氯化過程[54]。此外，微生物燃料電池目前被認為是進行 TCE 還原去氯化的高度偏好現地生物整治方法，最終可將 TCE 還原為順式二氯乙烯（cis-DCE）、氯乙烯（VC）及非氯化乙烯[55-58]。微生物燃料電池系統能刺激原生細菌的活性，這些細菌在受污染環境中常因養分稀缺及生長緩慢而受到抑制[59]。近期研究顯示，將生物炭電極整合進微生物燃料電池系統中，可以提供導電基質，進一步支持微生物活性及電子傳遞，最終提高修復效率[60]。生物炭的多孔結構、生物相容性及穩定性促進了生物刺激及生物增強，能夠容納功能性微生物[61]。其高表面積能吸附 TCE，增加其對降解微生物的可用性，從而改善整體降解過程[62-64]。此外，生物炭選擇性地促進了 TCE 去氯化微生物如梭狀芽孢桿菌（*Clostridium*）及去氯微生物（*Dehalococcoides*）在其表面的定殖[65]。生物炭與這些去氯化微生物群落之間的共生關係促進了它們的生長及活性，進而提高了 TCE 的降解效率[66]。最重要的是，它能抑制氫氣競爭微生物的增長，從而增強有益 TCE 降解微生物的生長，因為缺乏氫氣會阻礙它們的去氯化過程。通過減少氫氣消耗微生物的豐度，生物炭提高了 TCE 降解微生物可利用的氫氣，創造了有利於有效去氯化的環境。因此，生物炭的整合可以成為整治 TCE 污染場地的有效可持續方法。

針對 TCE 污染的地下水，常見的設計是單室管柱微生物燃料電池（SC-TMFC），其具備簡單性、成本效益及易於安裝於現有生物整治井的優勢[60]。該 SC-TMFC 由兩個同心圓柱形腔室（陽極和陰極）組成，並由可滲透電子膜（PEM），如 Nafion 分隔開來[67]。這種設計允許電子通過電極流動，質子則透過 PEM 流向陰極，同時防止氧氣擴散進入陽極。利用此裝置，微生物燃料電池能夠直接且選擇性地將電子送達去氯化微生物群落，為其代謝活動創造有利環境。總體而言，碳布生物炭電極整合的管柱微生物燃料電池系統應可應用於現地 TCE 生物整治，通過增強微生物活性和電子傳遞過程提供有效的 TCE 去除成果[68]。在此背景下，我們在本研究中建立了單室管柱微生物燃料電池，並在實驗室進行了三種不同條件下的整合：無生物炭的處理組、有生物炭的處理以及對照組，作為現地模組設置的評估基礎。根據其運作性能分析，我們隨後在 TCE 污染場址的地下水井中安裝了現地管柱微生物燃料電池以進行實際現地應用及評估。在實驗室和現地的微生物燃料電池實驗中，陽極作為電子供體，基質的厭氧發酵在電



活性細菌的存在下釋放自由電子和氫離子。陰極則利用陽極產生的自由電子和氫離子促進 TCE 的還原去氯化。為了應對受污染環境中原生細菌的低代謝活性(通常養分稀缺)外部添加醋酸作為養分來源以刺激細菌生長。此外，以泥火山污泥作為甲烷氧化菌的來源，亦被引入以增加陽極的氫氣產生，從而加速陰極的 TCE 去氯化過程。生物炭電極的整合進一步增強了微生物電子傳遞、支持生物膜生長、吸附 TCE 並創造了有效 TCE 去氯化的最佳條件。

(二) 國內外相關執行情形

目前雖有許多物理，化學和生物學方法已用於消除工業廢水中的有機氯化物，其中仍以化學方法相對有效且快速，但因成本較為昂貴，且容易產生具危害之副產物，乃為其缺點。生物整治法通常比化學方法便宜，且被喻為自然、環保及節能的處理技術，也是目前環境污染整治的趨勢。美國環保署及其許多州政府皆將自然生物處理當作污染場址整治之最優先選擇。加強式生物整治法是一種於現地藉由添加微生物生長所需之基質如碳源及營養鹽或添加而額外菌株，進而加速自然生物處理的方法，可區分為生物刺激(Biostimulation)及生物強化(Bioaugmentation)兩種模式。地下水中的含氯有機溶劑因毒性強，一般微生物無法像分解石油烷烴類一樣容易。一旦地下水遭受含氯溶劑的污染，就很難單靠地下水中的現有微生物自然分解，往往須藉由微生物共代謝方式將其分解去除。生物整治方法較為人詬病的是因其有不可回復性，外加細菌可能造成的生態問題。但是許多國內外文獻均指出，在一般有機物自然衰減的污染場址就有具降解能力之菌群存在其土壤環境中。於有機氯化物污染場址常見的細菌包括鞘氨醇單胞菌屬(*Sphingomonas* spp.)、產鹼菌屬(*Alcaligenes* spp.)、紅球菌屬(*Rhodococcus* spp.)、假單胞菌屬(*Pseudomonas* spp.)、脫鹵菌屬(*Dehalococcoides* spp.)、甲烷營養細菌(Methanotrophic bacteria)及乙烯營養菌(Etheneotrophic bacteria)，大多為厭氧細菌，其中 *Dehalococcoides* 菌屬被認為是降解氯乙烯類化合物的關鍵細菌，在厭氧環境下可以有效的降解四氯乙烯或三氯乙烯等較高毒性氯乙烯化合物，但對於氯乙烯的還原分解則以甲烷氧化細菌以及乙烯營養菌共代謝作用(Cometabolism)最為有效。以長遠角度而言，建立台灣本土有機氯化物污染降解之微生物資料庫有其前瞻性與重要性，可作為有機氯化物污染場址整治時本土菌種之添加依據。相關研究更可了解菌株特性與其有機氯化物毒性降解能力，進而作為污染場址選擇自然降解或加強式降



解之參考依據。另外，透過現地調查與菌種分析，亦可估算選擇自然降解所需之時間。本研究在先前已累積台灣有機物污染場址數個不同深度土壤及地下水中微生物菌群及與含氯有機物代謝具關連性菌群之背景資訊，透過菌株代謝路徑預測分析與分離培養，可做為篩選添加菌種/群或土壤改質之參考。未來將可更精確評估有機氯化物污染場址之整治成果。目前化學整治方法仍有其限制，例如：化學轉化效率與地下水流等化學動力問題等，但目前許多期刊指出在自然降解情況下，只要改變地下水中微生物生長之環境條件，即可透過本身微生物將水中氯乙烯等污染降解。故生物整治法應用於有機氯化物污染場址有其重要性，但為了消除微生物物種污染之疑慮，對於台灣本土污染場址的背景調查與本土(現地)功能菌群篩選就顯得相當重要。另外，本研究強調利用本土菌株進行整治及現地整治技術開發，將著重於瞭解現地狀況，透過基質改良來改善現地微生物組成，以強化整治速率並兼顧生態永續議題。

(三) 研究目的

1. 比較泥火山和生物炭添加對 MFC 系統的影響：評估不同添加物對 MFC 系統的性能、TCE 的降解效率以及微生物群落結構的影響。
2. 實地模擬操作測試：選擇合適的 TCE 地下水污染場址，實際進行 MFC 系統的模場規模操作測試，並觀察系統的性能和效益。
3. 地下水參數和污染物影響：收集地下水參數、TCE 濃度以及其他污染物對 MFC 系統的性能和脫氯效果的影響，以了解本系統的適用性。
4. 系統優化和改良：通過研究結果，優化 MFC 系統，提高系統的效能和持久性。
5. 時序微生物群落分析：通過定期分析現地 MFC 系統中的微生物群落，了解其變化和對系統效能和穩定度的影響。



四、研究方法及步驟

4.1 採樣地點描述與樣本收集

本研究的泥火山樣本取自於高雄市燕巢區的新養女湖泥火山池(22°39'37.7" N; 120°22'01.3" E)。這是一個活躍且劇烈的泥火山，為持續噴發的小型圓錐狀的高溫泥池。泥火山採樣地點的地理位置如圖 1 所示。泥火山樣本是從中心類似火山口的沸騰池中使用六個預稱重的聚丙烯 (PP) 離心管收集，每個離心管的容量為 50 ml。本採樣乃針對兩個特定分層：一個介於地表下 40-80 cm 之間，另一個介於地表下 10-20 cm 之間。這些深度被認為適合甲烷氧化菌與硫酸鹽還原菌群落生存之處[69]。本研究總共收集了八個樣本，來自四個泥火山池，並分別在 10-20 cm 及 40-80 cm 深度採樣。此外，本研究的水樣來自於位於彰化市某 TCE 污染整治場址之地下水井，標記為 C1 (GW-C1)，如圖 2 所示。樣本均以三次重複進行收集並分別分析。樣本根據採集地點標記後，在 4°C 條件下運送至實驗室進行進一步分析。現地測量溫度、pH 值、電導率 (EC) 和氧化/還原電位 (ORP)。地下水樣本的化學分析以氣相色譜質譜儀 (GC-MS: Thermo Fisher TSQ 9610) 進行，依照 TEPA 指導方針 (TEPA, 2020) 評估總有機物 (TOC) 以及 TCE 及其降解產物的狀態。

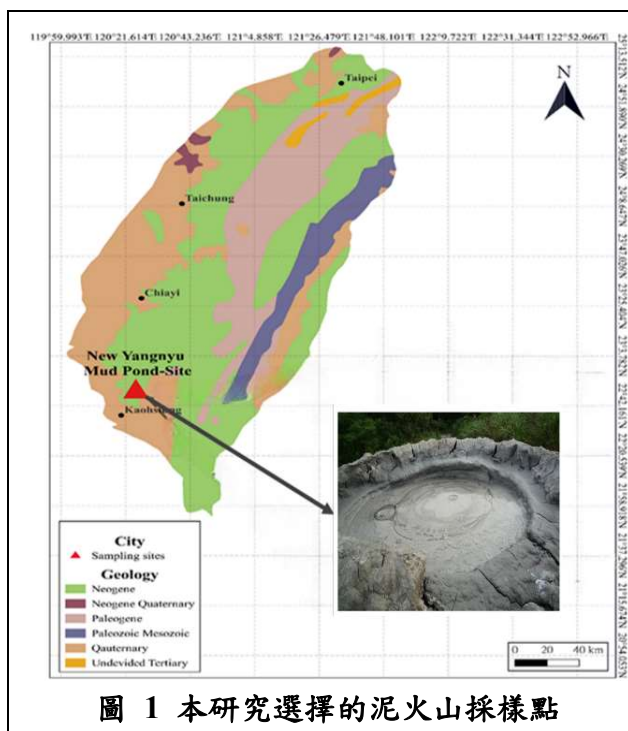


圖 1 本研究選擇的泥火山採樣點

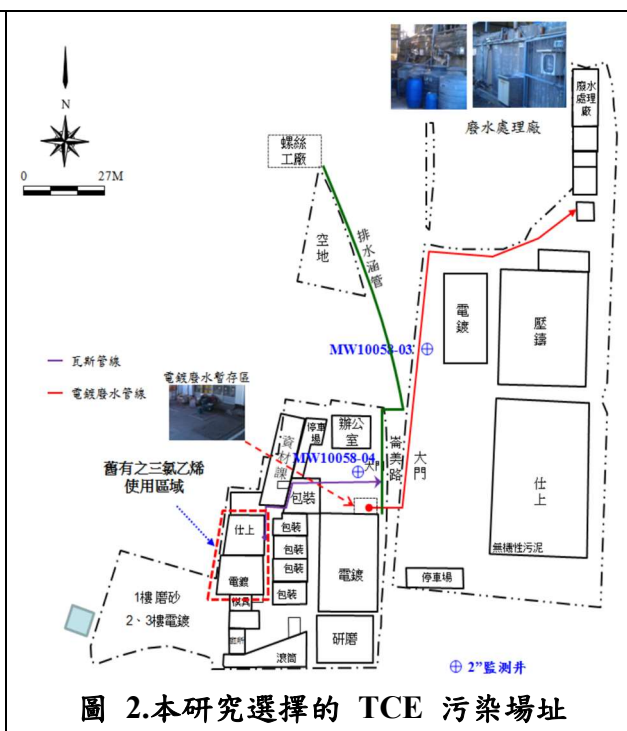


圖 2.本研究選擇的 TCE 污染場址



4.1.1 使用定量 PCR 進行微生物生態功能分析

本研究收集的泥火山及污染場址地下水樣本用於分析在微生物燃料電池(MFC)實驗應用之前的功能性微生物群落及相關基因。從這兩類樣本中提取 DNA 以進行功能豐度及分析。地下水樣本先通過 0.4 μm 孔徑的膜過濾器 (GN-6 Metricel, PALL® Corporation, New York, USA) 過濾, 以收集細菌。保留在過濾器上的細菌隨後用 25 mL 的磷酸鹽緩衝液洗滌, 並將所得的懸浮液以 $2600 \times g$ 離心 30 分鐘。隨後使用自動化 DNA 提取試劑盒 (ZP02006, ZINEXTS Life Science Corp), 依照製造商的說明進行 DNA 提取。泥火山樣本的 DNA 是從 0.5 g 土壤中使用 NucleoSpin® Soil gDNA 提取試劑盒 (Macherey-Nagel GmbH & Co., Düren, Germany) 按照提供的說明書進行提取。提取出的泥火山及水樣本的 DNA 隨後用於定量 PCR (qPCR) 分析, 針對功能基因進行檢測。在泥火山樣本中, 通過靶向 *mmoA* 和 *mmoX* 基因檢測甲烷氧化菌, 並通過靶向 *mcrA* 基因評估甲烷生成活性, 以了解 MFC 實驗選定泥火山添加劑的微生物狀態。同樣, 對地下水樣本進行 qPCR 以確認特定 TCE 降解菌的功能基因 (包括 *rdhA1*、*tceA* 及 *bvcA*) 的存在性及豐度, 這些基因被認為是了解 TCE 降解微生物群落豐度及表達水平的重要標記。

4.2 微生物燃料電池設置與操作參數評估

4.2.1 竹炭塗層電極的製備

本研究選擇了帶有鈦棒的碳布刷作為陽極電極, 碳布薄膜用作陰極電極, 並選用竹炭進行表面改性。竹炭電極是使用 10% PVDF 溶液製備的。將竹炭加入 PVDF 溶液中以 8:2 的比例 (80g 竹炭:20ml PVDF 溶液) 製成漿液, 然後將該漿液均勻塗覆在陰極及陽極電極的表面上。塗層電極浸泡在蒸餾水中 15 分鐘, 以確保適當附著。隨後, 將電極在 80°C 的烘箱中乾燥 24 小時, 以去除水分並確保穩定性。在乾燥過程後, 電極以 1% HCl 及 1% NaOH 進行處理, 去除有機及無機雜質, 進而提升其純度與性能。我們使用了竹炭顆粒改性的碳布電極[70], 這些改性的竹炭電極被應用於實驗室規模及現地管柱微生物燃料電池(TMFC)中。此前已有研究報告指出, 竹炭柱生物炭系統能達到 $\geq 99.7\%$ 的 TCE 去除效果, 並且竹炭表面吸附了 cis-1,2 DCE, 顯示出富含脫氯微生物膜 (主要是 *Dehalococcoides*) 的選擇性。微生物膜使用竹炭作為代謝的電子受體; 在陽極的生物電化學界面上進行反應, 而在陰極中, 竹炭則作為微生物代謝的電子



供體[66]。

4.2.2 用於實驗室規模應用之微生物燃料電池的結構與設計

實驗室中使用 PVC 管作為管柱微生物燃料電池 (TMFC) 反應器的本體，內部固定有碳布刷和鈦線作為陽極室，並使用 2000 mL 瓶裝 TCE 污染地下水作為陰極室。製備步驟首先從 PVC 在管壁上均勻鑽孔。隨後用 Nafion 交換膜 (CMI-7000, Membrane International, NJ, USA) 包裹 PVC 管，並隨後將其封裝至陰極。水凝膠被用作陽極與陰極電極之間的導電介質。這個包裹了陰極的陽極室直接浸入裝有 TCE 污染地下水的 2000 mL 塑膠瓶中，作為陰極室。在我們的研究中，陽極被設計為產生氫氣和電子之處所，從而在陰極處增強 TCE 的還原脫氯反應，導致陰極處發生 TCE 降解。隨後將相同的管柱微生物燃料電池模組經加長及放大後安裝於污染場址之地下水井中。

4.2.3 實驗室規模之微生物燃料電池的接種與操作程序

本研究三種實驗室規模的管柱微生物燃料電池及現地管柱微生物燃料電池其反應器代號、接種培養基、樣品類型、樣本代號以及操作日期之資訊如表 1 所示。在實驗室規模的管柱微生物燃料電池(TMFC)中，我們以在污染場址取得的 TCE 污染地下水和沉積物進行接種，並依據三種反應器類型進行不同操作參數的設定。第一種裝置，稱為泥火山及生物炭處理組 (T; Treatment)：在其陰極室中包含 20 g 地下水沉積物及 1 L TCE 污染地下水。陽極室內填充 80 g 泥火山污泥與 20 mL TCE 污染地下水，比例為 8:2，並加入生物炭電極。第二種裝置為無生物炭處理組 (TWB; Treatment w/o Biochar)：遵循與第一個反應器相同的操作程序，但不加入生物炭電極。第三種裝置為無泥火山對照組 (C; Control: 包含生物炭電極，但陽極室中不含泥火山污泥。所有三組實驗室規模之管柱微生物燃料電池設置在搖床中以 180 rpm、30°C 搖動隔夜培養。此外，於接種過程中於陽極室加入濃度為 1 g/L 的乙酸鹽，以提供充足的有機碳源供細菌生長。另外，Wolfe 維生素溶液 (12.5 mL/L) 及 Wolfe 微量礦物質溶液 (12.5 mL/L)，以磷酸鹽緩衝鹽水 (PBS, 50 mM, pH 7) 溶解，加入至陰極及陽極室以促進生物膜的富集[70, 71]。由於我們收集到的地下水樣本中 TCE 含量較低，陰極室中含有的 1L TCE 污染地下水 (包含原



生菌群) 中額外添加了 5 mg/L (0.0034 mL) 的 TCE。乙酸鹽未加入至陰極室，因為 TCE 降解微生物在其代謝過程中以 TCE 作為電子受體，因此不需要額外的基質。在所有管柱微生物燃料電池中，pH 值維持在 7.2 ± 0.2 之間，必要時添加 1 mol/L 的鹽酸或氫氧化鈉進行調整。反應器在不添加 TCE 的情況下經歷了 24 小時的適應期。在此階段結束後，添加 TCE 並將反應器置於受控厭氧條件下運行 0、15、30 及 45 天。本研究中，處理組(T)的陽極及陰極分別表示為 TA 和 TC，無生物炭處理組(TWB)表示為 TWBA 和 TWBC，對照組(C)則分別表示為 CA 和 CC，如表 1 所示。

表 1 本研究中三種實驗室規模的管柱微生物燃料電池及現地管柱微生物燃料電池其反應器代號、接種培養基、樣品類型、樣本代號以及操作日期之資訊

TMFC reactors	Inoculation medium	Sample type	Sample ID	Sampling time (days)
Treatment (T)	Groundwater + mud volcano sludge + biochar	Treatment anode	TA	D-0, D-15, D-30, D-45
		Treatment cathode	TC	D-0, D-15, D-30, D-45
		Treatment w/o biochar anode	TWBA	D-0, D-15, D-30, D-45
Treatment w/o biochar (TWB)	Groundwater + mud volcano sludge but without biochar	Treatment w/o biochar cathode	TWBC	D-0, D-15, D-30, D-45
		Control anode	CA	D-0, D-15, D-30, D-45
Control (C)	Groundwater + biochar but without mud volcano sludge	Control cathode	CC	D-0, D-15, D-30, D-45
		In-situ anode	ISA	D-0, D-45, D-90
In-situ	Groundwater + mud volcano sludge + biochar	In-situ cathode	ISC	D-0, D-45, D-91

4.2.4 用於現地地下水井的管柱微生物燃料電池配置與設計

用於現地地下水井的管柱微生物燃料電池乃基於實驗室規模的 TMFC 的操作與性能進行修正設計以便能在污染場址現有直徑 2 英吋的水井中安裝。反應器設計遵循實驗室中的配置，包括垂直放置的陽極與繞在陽極室外的陰極，如圖 2 所示。相關反應器及樣本代號資訊如表 1 所示。兩個電極由 Nafion 膜 (CMI-7000, Membrane International, NJ, USA) 隔開。TMFC 反應器以直徑 1.5 英吋的聚氯乙烯 (PVC) 管製成[71]，直徑較水井小以確保易於插入[72]。PVC 管上鑽有 1.5 cm 的孔，每隔 1 英吋間隔，以促進基質和微生物的混合，從而支持地下水中 TCE



的脫氯。根據其他文獻之建議描述[73]，反應器高度調整為 1.5 米。陽極固定於管內，陰極繞於其外，並由 Nafion 膜隔開。反應器外部包覆不銹鋼網，並以不銹鋼絲及 Swagelok®接頭使用不銹鋼螺母及螺栓固定[72]。反應器以絕緣材料適當密封，以防止水漏及短路，並確保在 TCE 生物整治過程中的穩定性。兩個電極均連接至數據採集伏特計（Jiehan 5020, Taiwan）[70]，並通過設置為 $50\ \Omega$ 的外部電阻盒連接至地下水外的電阻器，以促進電子從陽極傳遞至陰極[74]。然後將管柱微生物燃料電池(TMFC)插入地下水中，進行為期 90 天的運行。現地分析的陽極及陰極樣本分別表示為 ISA 和 ISC (表 1)。

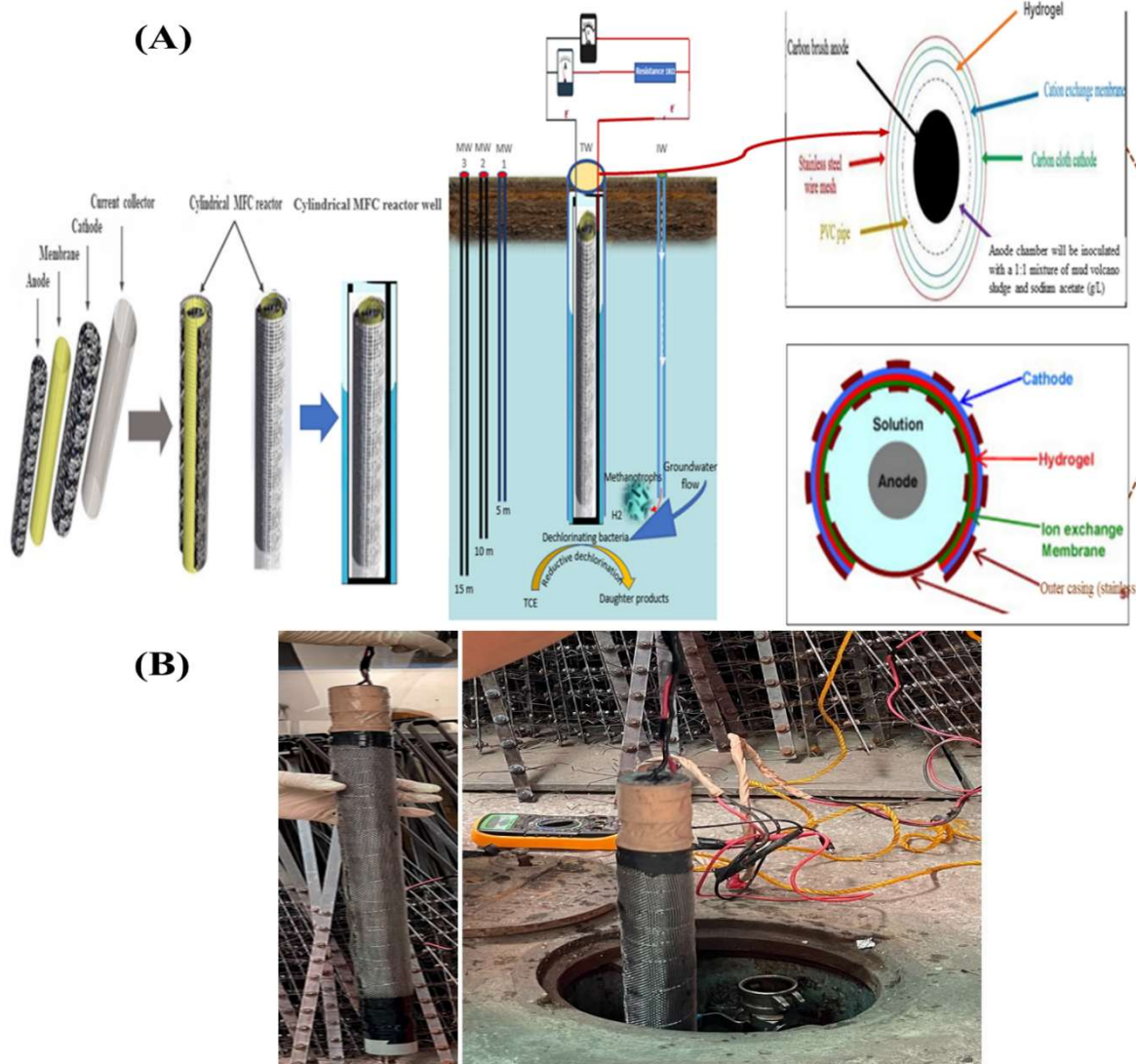


圖 2. (A) 現地管柱微生物燃料電池的詳細構建與配置程序，(B) 現地管柱微生物燃料電池裝設圖



4.2.5 現地管柱微生物燃料電池接種及操作程序

現地管柱微生物燃料電池之陽極室以泥火山污泥及 TCE 污染地下水按 8:2 比例（800 mL 污泥與 200 mL 地下水）進行接種，而陰極直接置於地下水界面，作為陰極室。我們在前期實驗中，設計了不同的泥火山污泥與污染地下水的混合比例，並測試了各比例對微生物降解效果的影響。經多次測試後，發現 8:2 的比例能夠最大化提供有效的微生物群落，並且在 TCE 降解過程中表現出最佳的降解效率。因此，這一比例被選定為最佳接種條件。泥火山污泥以 800 mL/L 濃度作為富集培養基，並加入濃度為 1 g/L 的乙酸鹽作為微生物生長的有機碳源。此外，Wolfe 維生素溶液（12.5 mL/L）及 Wolfe 微量礦物質溶液（12.5 mL/L），以磷酸鹽緩衝鹽水（PBS，50 mM，pH 7）溶解，加至陽極溶液中以增強生物膜的形成。隨後，陽極溶液的 pH 值被維持在 7.2 ± 0.2 ，必要時使用 1 mol/L 的鹽酸或氫氧化鈉進行調整。TMFC 反應器經歷了 24 小時的適應期，以允許微生物群落在控制條件下進行調整並穩定，從而優化其代謝活動和生物膜形成。在此階段結束後，反應器被插入地下水井中，進行連續為期 90 天的運作。

4.3 實驗室規模及現地管柱微生物燃料電池樣本的物理化學特性分析

透過多參數數位測試儀測量 10 mL 樣品，來確定實驗室規模管柱微生物燃料電池及現地管柱微生物燃料電池的氧化還原電位（ORP）、電導率（EC）、溫度及 pH 等物理化學參數。對於實驗室規模反應器，在每次取樣時間（0 天、15 天、30 天、45 天）取樣後立即進行測量。對於現地管柱微生物燃料電池，則在 0 天、45 天、90 天進行現地分析。實驗室規模反應器的電壓測量每天監測，而現地系統則在每次取樣時記錄電壓。隨後，根據 Ohm 定律 $I = V/R$ 計算電流。

4.4 實驗室規模及現地管柱微生物燃料電池陰極室內 TCE 降解之化學分析

使用 GC-MS (Thermo Fisher TSQ 9610) 分析陰極樣品中的 TCE 降解及其子產物濃度。每個 MFC 反應器的陰極採集 40 mL 樣品，在每次取樣點進行分析。實驗室規模的分析在 0 天、15 天、30 天、45 天進行，而現地則在 0 天、45 天、90 天進行。0 天之樣品的採集為兩個系統提供初始 TCE 及相關化學濃度的背景資訊。



4.5 實驗室規模及現地管柱微生物燃料電池陰極及陽極樣品的 DNA 提取及全長 16S rRNA 測序

為分析實驗室規模管柱微生物燃料電池反應器的微生物群落結構，包括兩個處理組和一個對照組，以及現地管柱微生物燃料電池，於每次取樣時收集每個陽極室的 20 mL 污泥樣品及每個陰極室的 20 mL 地下水樣品進行基因組 DNA 提取。陰極水樣經過濾膜（GN-6 Metricel®, PALL Corporation, New York, USA）過濾，保留在濾膜上的細菌細胞經 25 mL 磷酸鹽緩衝鹽水（PBS）溶液沖洗，隨後以 2600 $\times g$ 離心 30 分鐘。所得沉澱物與 400 μL 的商業製備裂解液（ZP02006 kit, Taipei, Taiwan）混合以裂解細菌細胞。隨後使用 MagPurix® Auto DNA Extraction Kit (ZINEXTS Life Science Corp, Taiwan) 按照製造商的說明從裂解液中提取 gDNA。同樣，使用 NucleoSpin® Soil kit (Macherey-Nagel GmbH & Co., Düren, Germany) 從陽極污泥樣品中提取 gDNA，如[75]先前所述。簡而言之，0.5 g 污泥與 700 μL 裂解液（SL1）及 150 μL 增強劑（SX）混合後，以 11,000 $\times g$ 離心 3 分鐘。棄去上清液，將沉澱物轉移至乾淨的 5 mL 離心管中，然後使用 NucleoSpin® Soil kit 進行細菌 gDNA 提取。提取的 gDNA 質量及濃度在 260/280 nm 下使用 Nanodrop 分光光度計（Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA）測量。隨後，使用每個樣品的 20 μL 擴增子於 PacBio 平台 (Genomics BioSci & Tech Co., New Taipei City, Taiwan) 進行全長 16S rRNA 測序。最後，使用 QIIME2 分析流程分析原始單端讀序，如[76]先前所述。從 PacBio 測序數據中得到的環形共識序列（CCS）使用 DADA2 進行修剪，以去除嵌合和噪音序列。高質量序列根據 98% 的相似性標準聚類為擴增子序列變體（ASVs），並使用 SILVA 參考數據庫進行分類。

4.6 特定微生物群落分析及其在陽極和陰極室中的功能角色

原始序列檔案使用 Pacific Biosciences 的單分子即時（SMRT）Link 軟體版本 5.1.0.26412 進行處理。隨後，使用 QIIME2 View (<https://view.qiime2.org/>) 分析 TMFC 反應器中陽極和陰極室內特定微生物群落的多樣性和豐富度。此外，使用 FAPROTAX 流程 (<http://www.zoology.ubc.ca/louca/FAPROTAX>) 註釋其相關的特定代謝與生態功能。這些特定群落在陽極和陰極室中的分布與豐富度透過 SRPlot (<https://www.bioinformatics.com.cn/en>)



生成的氣泡圖進行視覺化呈現。為了瞭解物理化學參數對不同 TMFC 設置中陽極和陰極室內特定細菌群落分布的影響，使用 Canoco 5.1 軟體進行典型對應分析 (CCA)。此外，我們亦對 TMFC 反應器的陽極室和陰極室之樣本使用 CFX Connect™ 即時 PCR 檢測系統，通過 qPCR 對細菌 16S rRNA 基因和與甲烷氧化菌、產甲烷菌、電活性細菌、氫營養細菌和 TCE 降解菌的相關特定功能基因進行定量分析。



五、成果報告完成之結果與討論

5.1 泥火山與地下水樣本的理化分析

本研究所選定的泥火山樣本及整治場址地下水樣本的理化分析結果如表 2 所示。其中地下水樣本 (GW-C1) 分析項目尚包括總有機碳 (TOC)、三氯乙烯 (TCE) 及其衍生物的濃度。泥火山樣本的分析結果顯示，泥火山不同深度與位置的樣本存在變異。pH 值範圍為 6.5 至 7.2，其中 MV3 樣本的 pH 值稍高 (7.0-7.2)；溫度範圍為 13°C 至 19°C。電導率 (EC) 和總溶解固體 (TDS) 在 MV3 和 MV4 樣本中較高，顯示出離子含量較多。氧化還原電位 (ORP) 在所有樣本中均為負值，MV3 和 MV4 樣本顯示出強還原性條件。而整治場址地下水樣本的理化參數中，其 pH 顯示出弱鹼環境 (pH 值為 7.5)，溫度為 26°C。地下水樣本測出 395 ms/cm 的電導度與 7950 ppm 的總溶解固體濃度顯示其含高量的離子與礦物質。ORP 值為 -328 mV，表明強還原性條件。地下水 GW-C1 的化學分析顯示乙烯 (ETH) 的濃度為 894 µg/L、總有機碳 (TOC) 濃度為 232 mg/L，皆顯示其豐富的有機物含量。此外，檢測出多種 TCE 的衍生物，包括 1,1-二氯乙烯 (1,1-DCE，濃度為 0.0346 mg/L)、1,1-二氯乙烷 (1,1-DCA，濃度為 0.00216 mg/L)、順式 1,2-二氯乙烯 (cis-1,2-DCE，濃度為 0.0232 mg/L)、反式 1,2-二氯乙烯 (trans-1,2-DCE，濃度為 0.193 mg/L)、TCE (濃度為 0.0434 mg/L) 及乙烯基氯化物 (VC，濃度為 0.081 mg/L)，顯示出地下水環境中 TCE 持續降解。其他相關的 TCE 化學延伸物濃度由於低於偵測極限，因此數值未列入。



表 2 泥火山與地下水樣本的理化性質，以及選定地下水樣本中 TCE 及其衍生物濃度 (mg/L)

Parameters	MV1-D1	MV1-D1	MV2-D1	MV2-D2	MV3-D1	MV3-D2	MV4-D1	MV4-D2	GW-C1
	(10-20cm)	(40-80cm)	(10-20cm)	(40-80cm)	(10-20cm)	(40-80cm)	(10-20cm)	(40-80cm)	
pH	6.8	6.7	6.5	6.6	7	7.2	6.5	6.7	7.5
Temp (°C)	13	15	17	16	18	19	18	17	26
EC (ms/cm)	12.17	13.25	12.58	13.2	17.27	16.98	19.71	19.79	395
TDS (ppm)	4000	6580	4330	3650	9590	8320	6500	9930	7950
ORP (mV)	-27	-57	-56	-87	-74	-84	-89	-98	-328
ETH (µg/L)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	894
TOC	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	232
1,1-DCE	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	0.0346
1,1-DCA	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	0.00216
Cis-DCE	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	0.0232
Trans-DCE	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	0.193
TCE	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	0.0434
VC	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	0.081

(註: N/A 表示該實驗組不適用此分析，Not applicable)

5.2 火山泥與地下水樣品中特定功能基因的 qPCR 分析

為了定量火山泥與地下水樣品中與 TCE 降解相關的重要功能基因，本研究進行了 qPCR 分析，並以陰極與陽極微生物燃料電池 (MFC) 的應用為基礎。火山泥與地下水樣品中目標功能基因的濃度如表 3 所示。結果顯示，火山泥樣品中存在顯著的產甲烷活性，其中 MV3-D2 (40-80 cm) 層的 *mcrA* 基因濃度最高，達到 $9.7\text{E}+04$ copies/L。此外，與電子轉移相關的 *omcX* 基因在 MV3-D2 層的濃度也最高。甲烷氧化基因 (*mmoX* 與 *pmoA*) 在 MV3-D1 (10-20 cm) 層濃度最高，表明該層具有較強的甲烷氧化潛力。總體而言，MV3 樣品中的特定功能基因濃度較高，因此這些樣品被選定用於 TMFC (Tubular Microbial Fuel Cell; 管柱微生物燃料電池) 反應器的陽極。另外，地下水 (GW-C1) 樣品中顯示出較高濃度的 TCE 降解基因，其中 *tceA* 基因達到 $5.1\text{E}+06$ copies/L，*rdhA* 基因為 $1.8\text{E}+06$ copies/L，表明當地下水用於 TMFC (管柱微生物燃料電池) 的陰極腔時，TCE 降解相關的功能基因將相對豐富。



表 3 火山泥與地下水樣品中特定功能基因的濃度 (註: N/A 表示該樣品中未針對該基因進行測量)

Sample	<i>mcrA</i>	<i>omcX</i>	<i>mmoX</i>	<i>pmoA</i>	<i>tceA</i>	<i>rdhA</i>	<i>bvcA</i>
MV1-D1 (10-20)	3.6E+04	3.4E+02	1.0E+02	1.2E+05	N/A	N/A	N/A
MV1-D2 (40-80)	4.2E+04	3.8E+01	2.6E+03	1.0E+03	N/A	N/A	N/A
MV2-D1 (10-20)	7.4E+04	1.8E+01	3.7E+03	2.2E+03	N/A	N/A	N/A
MV2-D2 (40-80)	5.0E+04	5.7E+01	3.7E+03	1.3E+03	N/A	N/A	N/A
MV3-D1 (10-20)	1.4E+04	1.2E+03	2.5E+04	1.9E+05	N/A	N/A	N/A
MV3-D2 (40-80)	9.7E+04	2.2E+03	1.9E+04	1.6E+05	N/A	N/A	N/A
MV4-D1 (10-20)	2.5E+04	2.6E+01	2.8E+03	1.5E+05	N/A	N/A	N/A
MV4-D2 (40-80)	2.4E+04	5.5E+01	2.2E+04	3.8E+03	N/A	N/A	N/A
GW-C1	N/A	N/A	N/A	N/A	5.1E+06	1.8E+06	3.2E+02

Specific gene concentration (copies/L)

5.3 實驗室規模與現地管柱微生物燃料電池反應器之理化分析

表 4 顯示了實驗室規模與現地管柱微生物燃料電池(TMFC)中各陰極與陽極樣本在不同時序的理化分析結果。在三種實驗室規模 TMFC 的陽極樣本中 (CA: 控制組陽極樣本、TA: 處理組陽極樣本、TWBA: 未含生物炭的處理組陽極樣本), 0 天樣本的 pH 值為 6.4, 表明樣本呈現輕微酸性。在 15 天樣本中, CA 的 pH 值保持穩定在 6.3, 但 TA 和 TWBA 的 pH 值上升至 6.6, 顯示處理組樣本趨於中性。在 35 天樣本和 45 天樣本中, pH 值進一步上升至 7.5 至 7.8, 表明樣本呈現輕微鹼性。此外, 陽極樣本中的溫度在 24°C 至 27.6°C 之間保持穩定, 為微生物活動提供了理想的環境。ORP (氧化還原電位) 在 0 天時為正值 (127 至 177 mV), 表明實驗初期處於氧化狀態。然而, 在 15 天、30 天和 45 天時, 所有樣本的 ORP 顯示出更高的負值, 特別是 TA-D15 和 TA-D30 (分別為 -517 mV 和 -400 mV), 這表明此時處於強還原狀態, 有利於厭氧 TCE 降解。同樣的, 陰極樣本在不同時間點的 pH 值、ORP 和溫度也呈現出相似的趨勢。然而, TC 和 TWBC 在 15 天、30 天和 45 天時的 ORP 顯示出高負值, 表明陰極處的還原條件更強, 可能會促進 TCE 的還原脫氯反應。此外, 在現地 TMFC 中, 現地管柱微生物燃料電池陽極(ISA)和現地管柱微生物燃



料電池陰極(ISC)的 pH 從在 0 天的輕微酸性狀態 (6.4–6.5) 上升至 45 天和 90 天的微鹼性狀態 (7.5–7.9)。實驗期間，溫度範圍在 25.2°C 至 27.6°C 之間。ORP 值在 0 天時為 145 至 152 mV，表明樣本處於氧化狀態，隨著時間推移 ORP 顯示出更高負值，特別是在 45 天時，ISA 為 -256 mV，ISC 為 -215 mV，在 90 天時進一步下降。總體而言，無論是實驗室規模還是現地的 TMFC 反應器，其陰極和陽極樣本中的 pH 值、溫度和 ORP 變化表明 TMFC 反應器可維持有利於微生物活動和 TCE 降解的條件。另一方面，實驗室規模 TMFC 反應器中的電壓輸出在 0 天至 30 天在所有裝置皆有增加，但到 45 天則顯著下降，結果如圖 3 所示。三者之中，處理組的電壓最高，其次是無生物炭的處理組，而對照組的電壓最低。在 45 天時，對照組的電壓持續上升，這與處理組設置中觀察到的突然下降形成對比。這一發現表明，在 30 天前處理組的電子生成量較高，之後可能由於碳源限制而下降。

表 4 實驗室規模與現地管柱微生物燃料電池反應器陰極與陽極樣本之理化參數分析結果

Samples	pH	Temp (°C)	EC (ms/cm)	TDS (ppm)	ORP (mV)
CA-D0	6.4	27.6	11.32	5650	177
TWBA-D0	6.4	27.6	12.6	6220	145
TA-D0	6.4	27.5	11.8	6210	127
CA-D15	6.3	25.5	13.12	6650	-32
TWBA-D15	6.6	26.5	12.82	6420	-101
TA-D15	6.6	24.3	709	1660	-517
C-D30	7.6	24	14.12	7100	-500
TWBA-D30	7.8	24.5	13.95	6970	-468
TA-D30	7.8	24	70	5880	-400
CA-D45	7.6	25.1	13.45	6740	-147
TWBA-D45	7.4	25.3	12.5	6260	-381
TA-D45	7.5	25.2	13.2	6590	-256
CC-D0	6.5	27.6	11.8	6110	151
TWBC-D0	6.5	27.4	11.21	5940	152
TC-D0	6.6	27.5	12.4	6220	158
CC-D15	6.8	25	12.72	6390	-221
TWBC-D15	6.6	25.3	11.18	6180	-126
TC-D15	6.3	24.5	13	6050	-150
CC-D30	7.8	24	12.39	6190	-383
TWBC-D30	7.7	23.5	13.22	6590	-289



Samples	pH	Temp (°C)	EC (ms/cm)	TDS (ppm)	ORP (mV)
TC-D30	7.5	24.6	13.86	6850	-468
CC-D45	7.5	26.1	13.23	6620	-233
TWBC-D45	7.5	25.5	13.67	6830	-367
TC-D45	7.7	25.6	13.8	6920	-215
ISA-D0	6.4	27.6	12.6	6220	145
ISC-D0	6.5	27.6	11.21	5940	152
ISA-D45	7.5	25.2	13.2	6590	-256
ISC-D45	7.7	25.6	13.8	6920	-215
ISA-D90	7.9	25.6	6.31	321	-253
ISC-D90	7.6	26.5	1.01	51	-90

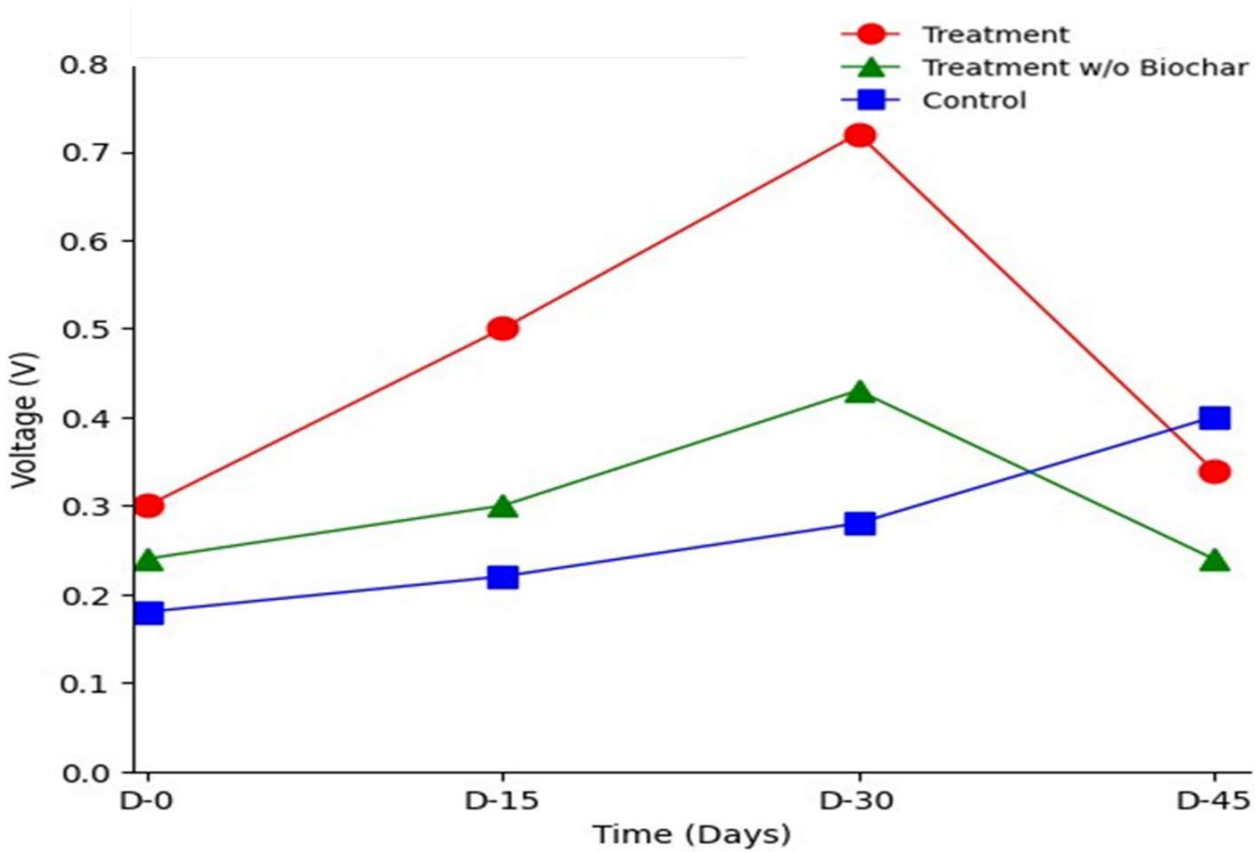


圖 3. 實驗室規模管柱微生物燃料電池在 0 天、15 天、30 天、45 天的處理組(T)、無生物炭之處理組(TWB)和正控制組(C)之電壓輸出



5.4 實驗室規模與現地管柱微生物燃料電池反應器陰極室中 TCE 的降解

TCE 的連續還原脫氯作用發生於實驗室規模與現地管柱微生物燃料電池的陰極室中。在實驗室規模的反應器中，處理組(T)觀察到最快的 TCE 降解，接著是無生物炭之處理組(TWB)，而控制組(C)則表現出最少的降解，如圖 4 所示。在處理組(T)中，初始 TCE 濃度 (5 mg/L) 隨時間逐漸減少，最終降至偵測極限以下，接近於零。此外，在處理組(T)中，Cis-DCE 和 VC 的濃度最初增加，分別在 15 天 和 30 天達到峰值，然後在 45 天下降。在無生物炭之處理組(TWB)中，TCE 隨時間逐漸減少，Cis-DCE 濃度在 30 天和 45 天達到峰值，顯示出不完全的降解。VC 在 15 天和 30 天時略有增加，但在 45 天時減少。控制組(C)顯示出最低的 TCE 降解，Cis-DCE 濃度在初期上升，在 15 天和 30 天達到峰值，隨後在 45 天略有下降。VC 在早期略有增加，但在 45 天時顯著增加。總體來看，處理組(T)在 45 天時實現了對 TCE、Cis-DCE 和 VC 的完全降解，而無生物炭之處理組(TWB)在 45 天時 Cis-DCE 濃度增加。相比之下，控制組(C)在 45 天時 VC 濃度增加。研究結果表明，生物炭在 T 組中對成功降解 TCE 發揮了重要作用，有效防止了 Cis-DCE 和 VC 的積累。

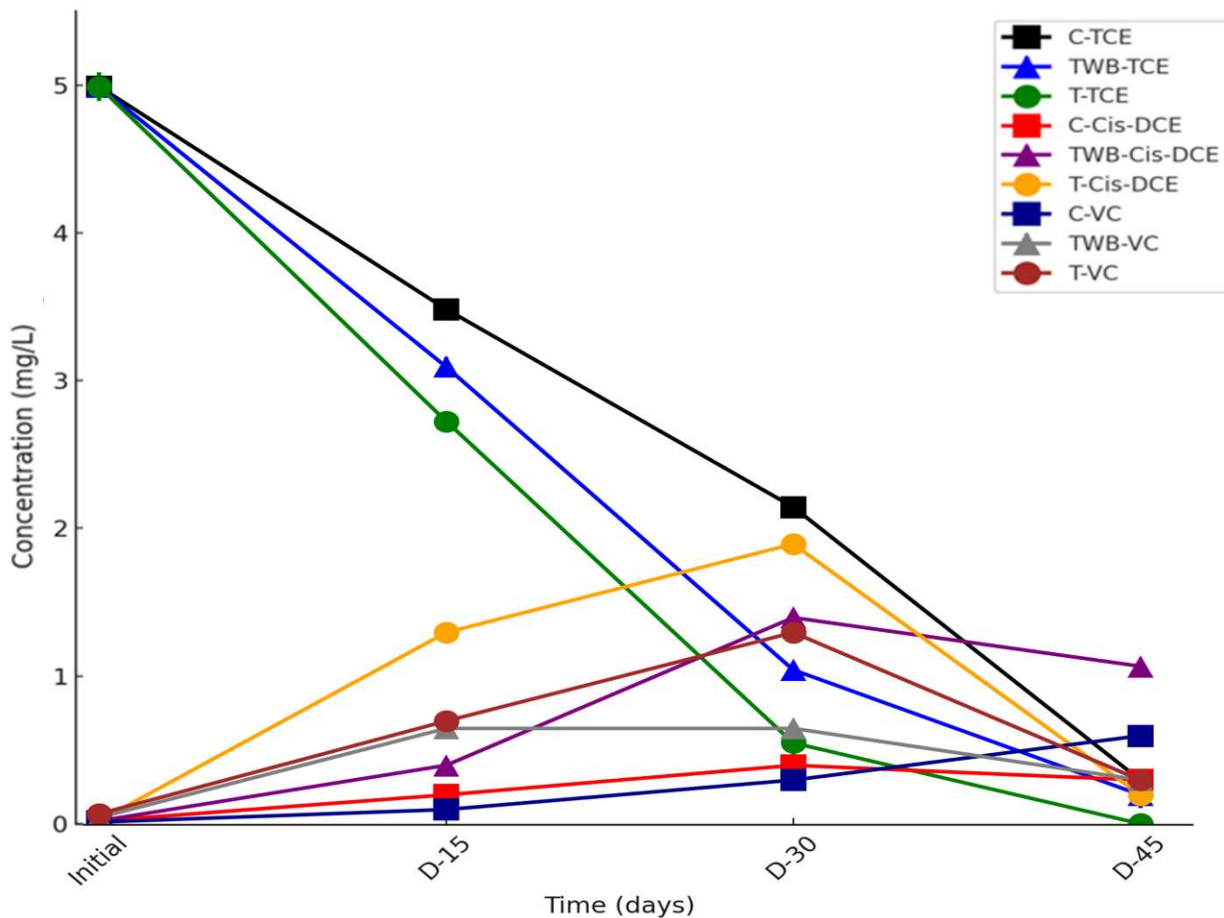


圖 4. 實驗室規模管柱微生物燃料電池(包括處理組(T)、無生物炭之處理組(TWB)和正控制組(C))於陰極室中 TCE、Cis-DCE 和 VC 的連續還原降解

5.5 管柱微生物燃料電池中陰極和陽極室的特定細菌群落組成

16S rRNA 全長序列的分析結果提供了 0 天、15 天、30 天、45 天時取自三個不同實驗室規模反應器包括處理組(T)、無生物炭之處理組(TWB)和正控制組(C)的陰極和陽極樣本的物種層級的細菌多樣性結果(如圖 5 和圖 6)。我們從陰極和陽極樣本中選擇了 10 種與 TCE 降解相關的特定細菌物種整理於圖 5。在圖 5 對陽極樣本的實驗結果顯示，處理組陽極樣本(TA)中 *Methylococcus_capsulatus*、*Methylomonas_methanica* 和 *Methylotheobacterium_alcaliphilum* 的豐度最高，其次是無生物炭之處理組陽極樣本(TWBA)。正控制組陽極樣本(CA)則顯示 *Methanococcus_jannaschii*、*Methanobacterium_subterraneum*



和 *Methanobacterium_oryzae* 為優勢物種。與 TA 和 TWBA 組相關的三種優勢物種在 15 天和 30 天時最為普遍，於 45 天時豐度下降，而在 0 天時則不常見。同樣地，在 CA 組中，*Methanococcus_jannaschii* 在 15 天、30 天和 45 天時最為豐富。*Methanobacterium_subterraneum* 的豐度從 0 天到 45 天逐漸減少，而 *Methanobacterium_oryzae* 則在同一期間豐度增加。這些結果表明，甲烷氧化菌在 TA 組中為優勢，而在 TWBA 組中則為第二多的優勢物種。相比之下，與甲烷生成活動相關的甲烷菌是 CA 組中最為普遍的細菌物種。TA 組陽極樣本中的豐富細菌物種可能與 TCE 的降解有關，而 CA 組陽極樣本中的甲烷生成菌豐度則可能是 TCE 降解的障礙。產甲烷菌已被證明是脫氯細菌的主要競爭者，當產甲烷菌豐度較高時，即會影響 TCE 脫氯效率[33]。另一方面，甲烷氧化菌則能透過產生氫來協助脫氯菌降解地下水中的 TCE [80]。

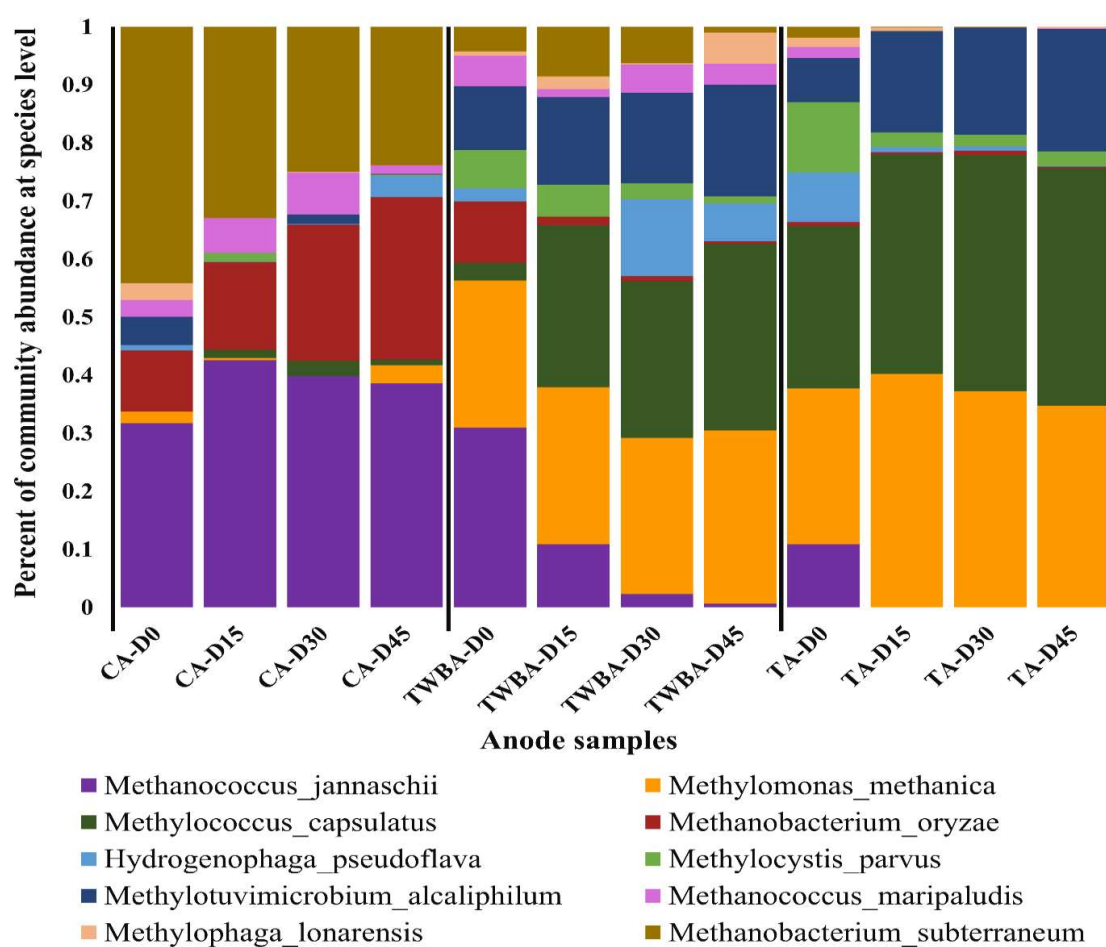


圖 5. 實驗室規模管柱微生物燃料電池之陽極樣本在 0-45 天之 10 種特定細菌物種的豐度
 時序分析



圖 6 顯示來自三個不同組別陰極樣本的 10 種與 TCE 降解相關的特定細菌物種中，*Dehalococcoides_mccartyi*、*Trichlorobacter_lovleyi* 和 *Geobacter_sulfurreducens* 在處理組陰極樣本(TC)中豐度最高，並且在無生物炭之處理組陰極樣本(TWBC)中豐度第二高。*Azotobacter_chroococcum*、*Desulfovibrio_oxamicus* 和 *Lentimicrobium_saccharophilum* 在 TWBC 組中豐度最高。另外，*Brevundimonas_diminuta* 在正控制組陰極樣本(CC)中最為顯著。總體來看，TC 和 TWBC 組中的優勢物種在 15 天和 30 天時較為普遍，而在 0 天和 45 天較少見。值得注意的是，CC 組中 *Brevundimonas_diminuta* 在每個時間點的豐度都很高。研究結果顯示，TC 組樣本中的特定細菌物種豐度可能與泥火山和生物炭的協同作用有關，這可能有助於在 15 天 和 30 天時期實現 TCE 的完全降解。

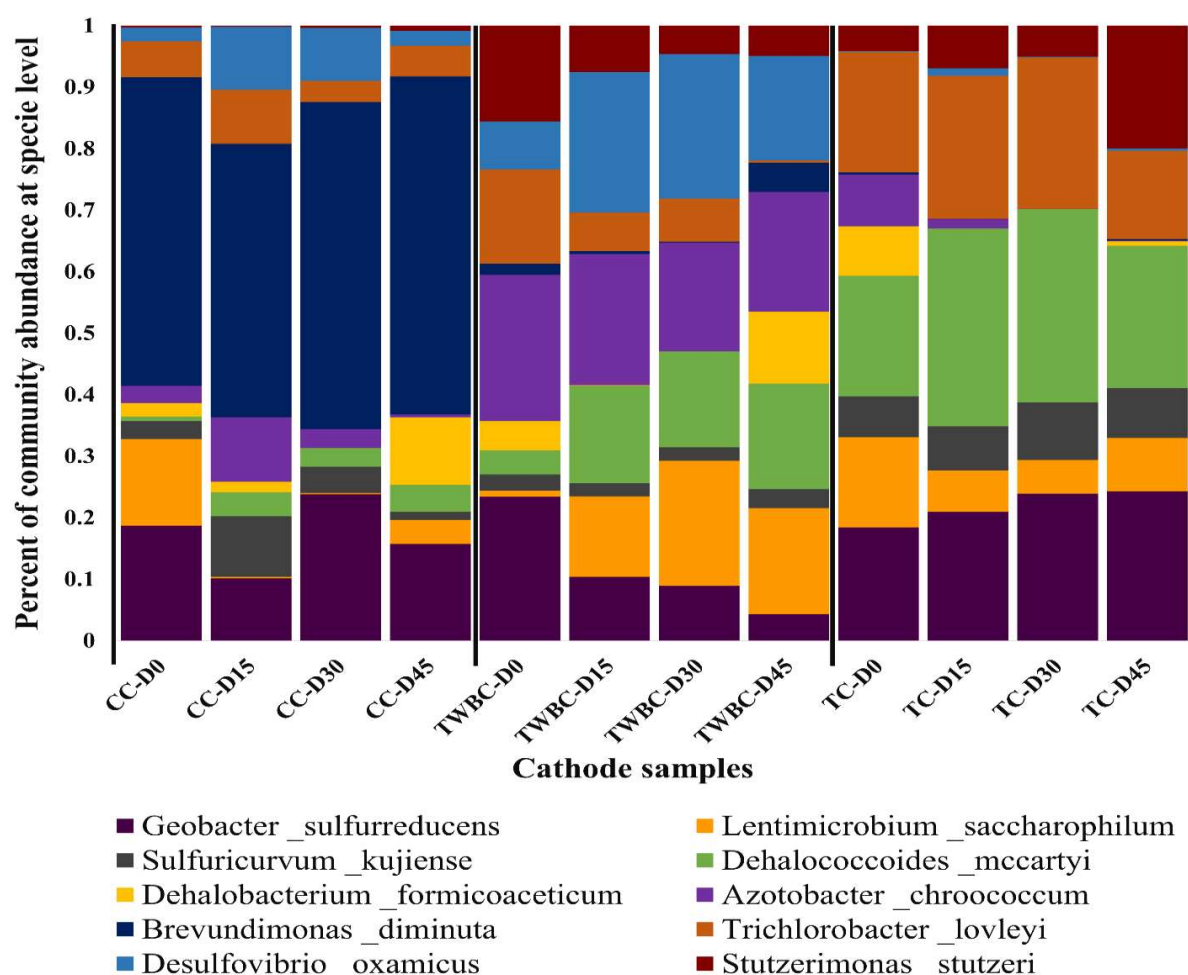


圖 6. 實驗室規模管柱微生物燃料電池之陰極樣本在 0-45 天之 10 種特定細菌物種的豐度
 時序分析



5.6 實驗室管柱微生物燃料電池陽極與陰極室細菌群落功能分析

根據 FAPROTAX 分析，實驗室規模的管柱微生物燃料電池中與陽極與陰極室相關的細菌群落展現了多樣的代謝與生態功能（圖 7A 與 7B）。圖中所鑑定的功能中有相當部分與硫和甲烷氧化、發酵及碳氫化合物降解有關。在圖 7A 的陽極樣本中，15 天、30 天、45 天的在處理組陽極樣本(TA)主要顯示甲烷氧化、甲醇氧化、甲基營養、硫化物異化還原、發酵和化學異養等代謝功能，而無生物炭之處理組陽極樣本(TWBA)的功能比例相較於在正控組陽極樣本(CA)低。造成此因素應與甲烷氧化菌和硫酸鹽還原細菌有關，它們在地下水中的厭氧條件下能共生降解 TCE [89, 90]。圖 7B 陰極樣本顯示，所有組別中處理組陰極樣本(TC)在 15 天、30 天、45 天階段具有顯著的硫酸鹽呼吸、硫化物呼吸、反硝化作用、錳呼吸、鐵呼吸、發酵及化學異養功能，並且在無生物炭之處理組陰極樣本(TWBC)中這些功能次之，而在正控組陰極樣本(CC)中則最少。處理組陽極樣本(TA)與處理組陰極樣本(TC)中特定代謝和生態功能的較高豐度，可能對 TCE 的協同降解起到顯著作用。

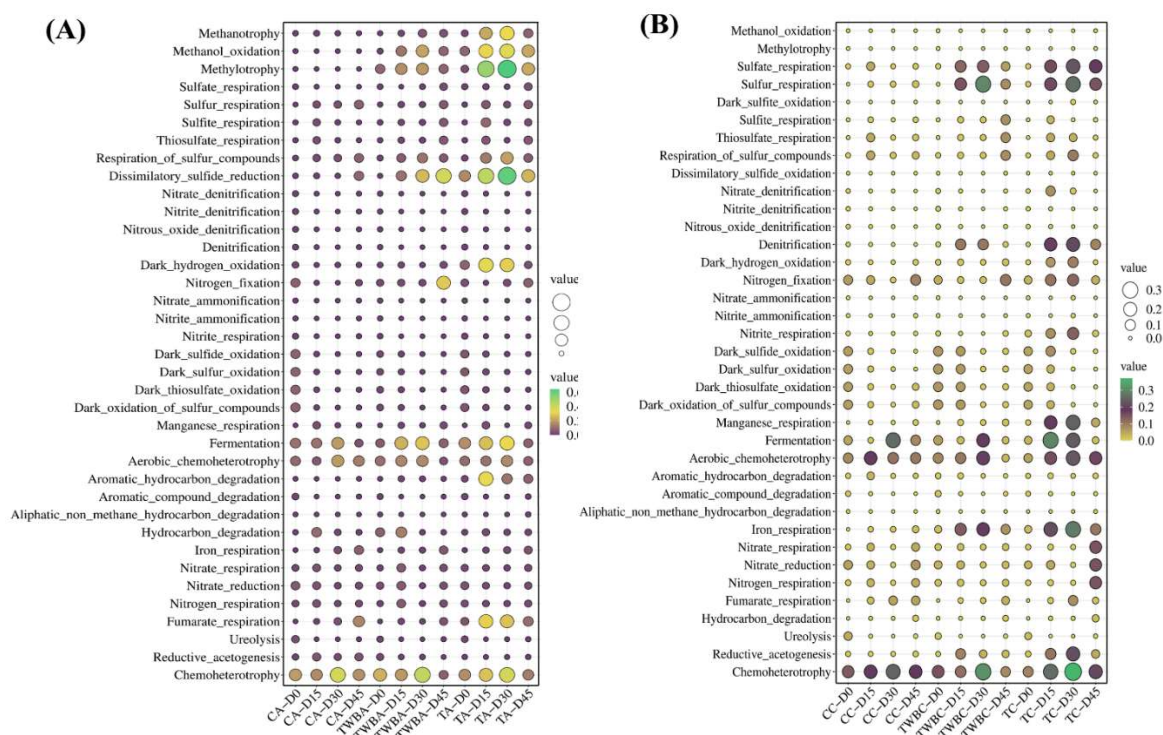


圖 7. 實驗室規模管柱微生物燃料電池的陽極與陰極樣本細菌群落的生態及代謝特徵。氣泡

圖(A)顯示陽極樣本中細菌功能的相對豐度，而(B)則顯示陰極樣本的相對豐度。



根據 KEGG 數據庫對陽極與陰極室相關功能基因綜合鑑定結果如表 5 所示。處理組陽極樣本(TA)與甲烷氧化、氫氣生產、電子轉移及硫酸鹽異化還原相關的基因 *mmoA*、*hydA*、*omcX* 和 *dsrA* 的豐度較高，其次為無生物炭之處理組陽極樣本(TWBA)。而正控組陽極樣本(CA)中 *mcrA* 基因的豐度高。與 TCE 還原脫氯相關的特定基因如 *bvcA*、*tceA*、*rdhA* 和 *vcrA* 在處理組陰極樣本(TC)中表現出高豐度，其次為處理組陰極樣本(TWBC)，相較於正控組陰極樣本(CC)豐度較低。這些發現與處理組陽極樣本(TA)中甲烷氧化菌的豐度、正控組陽極樣本(CA)中甲烷菌的豐度以及處理組陰極樣本(TC)中 TCE 降解菌的高豐度一致。

表 5 三種實驗室管柱微生物燃料電池陽極與陰極樣本中特定功能基因的相對豐度

Anode samples	<i>mcrA</i>	<i>hydA</i>	<i>mmoX</i>	<i>mmoA</i>	<i>dsrA</i>	<i>omcX</i>
CA-D0	0.001148	0.000283	4.95E-05	0.000197	1.16E-05	0.000348
CA-D15	0.002091	0.000558	0.000254	0.000333	1.16E-05	0.000503
CA-D30	0.003331	0.000376	0.000295	0.000599	1.16E-05	0.000369
CA-D45	0.001856	0.000538	0.000193	0.000293	1.16E-05	0.000503
TWBA-D0	0.000151	0.000507	0.00014	0.000214	1.16E-05	0.000365
TWBA-D15	0.00013	0.000416	0.000367	0.000527	1.16E-05	0.000504
TWBA-D30	0.002634	0.000357	0.000311	0.000999	1.16E-05	0.00039
TWBA-D45	0.000838	0.000354	0.000648	0.000572	1.16E-05	0.000536
TA-D0	0.000119	0.00032	0.001254	0.001402	1.16E-05	0.00049
TA-D15	0.00098	0.000484	0.001812	0.00508	0.002156	0.008221
TA-D30	0.000443	0.000506	0.001717	0.00726	0.001116	0.003529
TA-D45	0.000221	0.000537	0.000893	0.004524	1.16E-05	0.003318

Cathode samples	<i>bvcA</i>	<i>tceA</i>	<i>vcrA</i>	<i>rdhA</i>
CC-D0	0.007242	0.000175	8.05E-05	4.33E-05
CC-D15	0.000104	9.97E-05	2.01E-06	1.95E-05
CC-D30	0.000208	3.47E-05	5.27E-07	6.03E-06
CC-D45	3.23E-06	0.000206	1.83E-05	2.77E-05
TWBC-D0	0.000126	0.000191	5.91E-05	3.73E-05
TWBC-D15	0.000692	0.000111	3.5E-05	1.27E-05
TWBC-D30	0.000183	0.000195	1.32E-06	9.2E-06
TWBC-D45	0.000277	0.000325	4.63E-06	1.1E-05
TC-D0	0.000592	0.000145	0.000138	2.51E-05



Cathode samples	<i>bvcA</i>	<i>tceA</i>	<i>vcrA</i>	<i>rdhA</i>
TC-D15	0.001482	0.006129	7.62E-06	1.53E-05
TC-D30	0.003057	0.005014	1.15E-07	2.72E-06
TC-D45	0.002772	0.000344	0.000131	0.000121

5.7 實驗室規模管柱微生物燃料電池之理化參數、特定陽極與陰極細菌及其功能基因之間的關聯性分析

本研究對實驗室規模管柱微生物燃料電池的陽極與陰極樣本進行了 CCA 分析，以探討理化參數對特定細菌物種及其功能基因分佈的影響（圖 8A 與 8B）。圖 8A 中，分析了理化參數與處理組陽極樣本(TA)、無生物炭之處理組陽極樣本(TWBA)以及正控組陽極樣本(CA)中陽極細菌及其功能基因相對豐度之間的關聯。結果顯示，*Methylococcus_capsulatus*、*Methylomonas_methanica*、*Methylovumimicrobium alcaliphilum*、*Hydrogenophaga_pseudoflava* 及其相關基因如 *dcrA*、*omcX*、*pmoA*、*mmoX* 和 *hydA* 與 TA 和 TWBA 樣本具有強烈相關性，這表明這些基因在提升管柱微生物燃料電池陽極室的性能中扮演了重要角色。此外，TA 樣本顯示出較高的電導率（EC）和較低的 pH 值強烈相關，這可能對陽極細菌活性有利。TA 樣本中的較高 EC 值提供了一個有利於甲烷氧化活性的環境，從而可能導致處理組中電壓增加（如圖 3）。CA 樣本則顯示出與 *Methanococcus_jannaschii*、*Methanobacterium_subterraneum*、*Methanobacterium_oryzae* 及其相關基因 *mcrA* 的強烈相關性，並與大多數其他功能基因及理化參數呈負相關，但與總溶解固體（TDS）呈現強烈相關性。最近的研究報告稱，抑制產甲烷菌生長可以促進 TCE 降解 [53,93]。這與我們目前的研究一致，在 TCE 降解較低且不完全的地區，產甲烷菌豐度很高。值得注意的是，所有陽極樣本（TA-0 天、TWBA-0 天和 CA-0 天）與氧化還原電位（ORP）和溫度呈正相關。圖 8B 則展示了陰極細菌群落、其功能基因及理化參數與 TCE、Cis-DCE 及 VC 濃度之間的關係。分析顯示，*Dehalobacterium_formicoaceticum*、*Dehalococcoides_mccartyi*、*Geobacter_sulfurreducens*、*Trichlorobacter_lovleyi* 及 *Stutzerimonas_stutzeri* 等細菌物種以及功能基因 *bvcA*、*tceA*、*vcrA* 和 *rdhA* 與處理組陰極樣本(TC)具有強烈相關性，強調了它們在



TCE 降解中的重要性。此外，這些細菌和基因與 TCE 和 Cis-DCE 呈現強烈負相關，表明這些細菌和基因的較高豐度對應於 TCE 和 Cis-DCE 濃度的降低，而對 VC 則沒有顯著影響。此外，EC、TDS 和 pH 值與 TC 降解細菌及其功能基因呈現強烈正相關。總體而言，EC、ORP 和 pH 值可能在 TCE 降解中發揮了重要作用(相關數據請參閱表 2)。由前人的研究結果亦得知，較高的 EC 值、ORP 值約在 -500 mV 附近和 pH 值介於 6.5 和 7.5 之間，將有利於 TCE 的微生物還原脫氯 [94, 95]。此外，正控組陰極樣本(CC)顯示出與 TCE 和 Cis-DCE 的強烈相關性，表明這些樣本中的 TCE 和 Cis-DCE 降解過程較慢，這可能也受到溫度和 ORP 的影響。

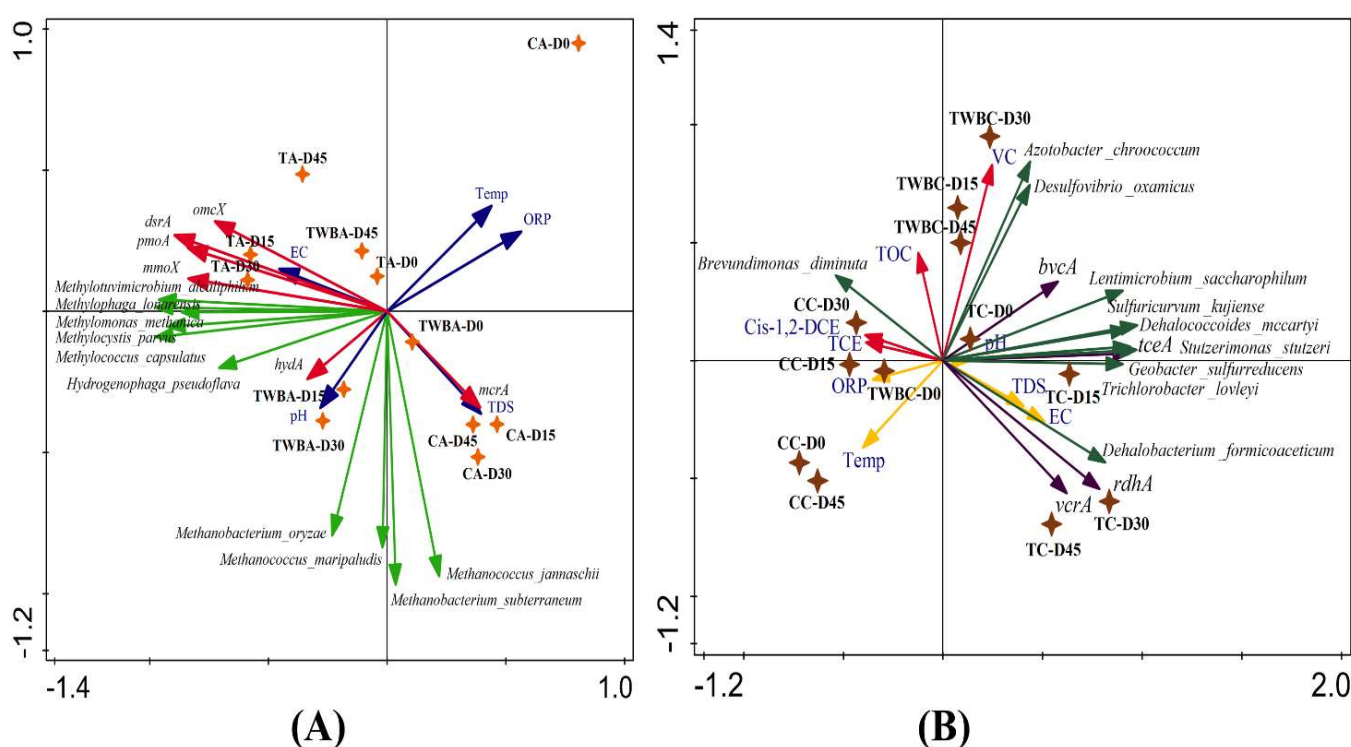


圖 8. 三種實驗室管柱微生物燃料電池的典型對應分析 (CCA) 圖。(A) 代表了理化參數、特定陽極細菌物種及其功能基因之間的關係。(B) 展示了理化參數、特定陰極細菌物種及功能基因與 TCE、Cis-DCE 和 VC 濃度之間的關係。(註:陽極細菌物種用淺綠色箭頭表示，而它們的功能基因用紅色箭頭表示；陰極細菌物種用深綠色箭頭表示，其功能基因用紫色箭頭表示，而 TOC、TCE、Cis-DCE 和 VC 濃度用紅色箭頭表示)。



5.8 實驗室與現地管柱微生物燃料電池陽極與陰極室中特定功能基因的 qPCR 分析

本研究選定的陽極細菌功能基因 (*omcX*, *mcrA*, *hydA*, *dsrA*, *mmoA*, *mmoX*) 及總細菌豐度 (由 16S rRNA 基因評估) 於實驗室規模的三個實驗組中進行 qPCR 檢測結果如圖 9A 所示。總細菌豐度從 0 天至 45 天呈現增加，從 10^8 copies/g 增至 10^9 copies/g，並在三組實驗中持續保持至實驗結束。甲烷氧化細菌、硫酸鹽還原菌及電活性氫營養細菌攜帶的基因以 *omcX*, *hydA*, *dsrA*, *mmoA* 和 *mmoX* 進行評估，其初始豐度約為 10^3 copies/g，在處理組陽極樣本(TA)組中從 0 天至 45 天增加至約 10^3 copies/g。無生物炭之處理組陽極樣本(TWBA)組亦有相似變化。相比之下，*mcrA* 基因 (由產甲烷菌攜帶) 在處理組陽極樣本(TA)組中從 10^5 copies/g 下降至 10^2 copies/g，而在 TWBA 和正控組陽極樣本(CA)組中則在實驗全程保持在 10^5 copies/g 之間。值得注意的是，在 CA 組中，*omcX*, *hydA*, *dsrA*, *mmoA* 和 *mmoX* 的豐度始終低於 10^4 copies/g。然而，*dsrA* 基因在 15 天和 30 天從 10^4 copies/g 稍微增加至略高於 10^5 copies/g，並在 45 天略有下降。此外，選定的還原脫鹵酶基因 (*tceA*, *rdhA*, *bvcA* 和 *vcrA*) 及總細菌豐度 (由 16S rRNA 基因評估) 在陰極樣本中進行 qPCR 檢測結果如圖 9B 所示。所有三組管柱微生物燃料電池的總細菌豐度持續保持在 10^7 至 10^9 copies/mL。由 *Dehalococcoides* 及其他 TCE 降解菌攜帶的 *tceA*, *vcrA*, *bvcA*, 和 *rdhA* 基因在各組中表現出不同趨勢。在處理組陰極樣本(TC)組中，這些基因顯著增加，從 10^4 copies/ml 增至 10^8 copies/ml，在 15 天和 30 天樣本中顯示出顯著的增長。在無生物炭之處理組陰極樣本(TWBC)組中，其豐度相對穩定，範圍在 10^2 copies/ml 至 10^5 copies/ml 之間。而在正控組陰極樣本(CC)組中，豐度呈下降趨勢，濃度降至 10^1 至 10^4 copies/ml 之間，且 *rdhA* 基因的水平幾乎不可檢測。這些發現表明，在 TMFC 反應器中，與甲烷氧化活性、氫氣產生、電子轉移及還原脫鹵酶相關的特定功能基因高度豐富，顯示其在提高 TCE 降解中的重要作用。

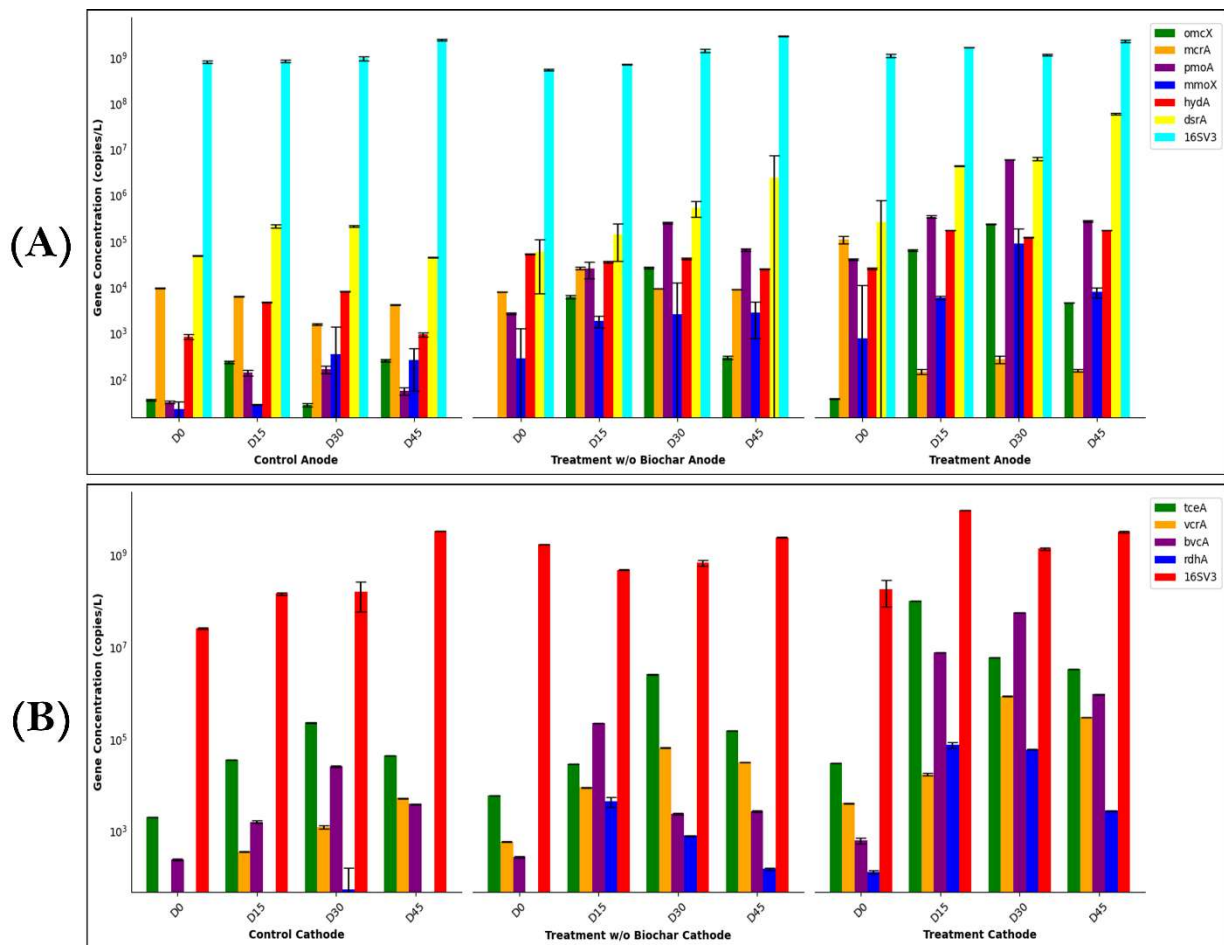


圖 9. 實驗室規模管柱微生物燃料電池反應器中針對對照組、處理組及不含生物炭組在 0 天、15 天、30 天、45 天的陽極與陰極樣本特定功能基因的 qPCR 分析結果(A) 與陽極樣本相關的功能基因濃度分析(B) 陰極樣本中 TCE 降解功能基因的濃度分析。

本研究選定的陽極及陰極細菌活性基因以及由 16S rRNA 基因評估的總細菌豐度在現地 (IS) 管柱微生物燃料電池的 0 天、45 天和 90 天進行 qPCR 定量結果如圖 10 所示。圖 10A 顯示了陽極室中選定的功能基因 (如 *omcX*, *mcrA*, *hydA*, *dsrA*, *mmoA* 和 *mmoX*) 及總細菌豐度的變化。總細菌豐度在 0 天至 45 天間保持在 10^7 至 10^8 copies/g, 然後在 90 天下降至接近 10^6 copies/g。*omcX*, *hydA*, *mmoA* 和 *mmoX* 的初始豐度約為 10^2 至 10^4 copies/g, 而 *dsrA* 基因 0 天的豐度較高, 約為 10^5 copies/g。在 45 天時, *omcX* 增至接近 10^4 copies/g, 而 *hydA*, *mmoA* 及 *dsrA* 保持在 10^5 至 10^6 copies/g 之間。在 90 天, 除 *omcX*, *dsrA* 和 *mmoX* 外, 大多數功能基因的濃度與其在 45 天的峰值相比略有下降, 這表明電活性細菌、硫酸鹽



還原菌及甲烷氧化菌仍具有持續的活性。然而，*hydA* 顯著下降至低於 10^2 copies/g，反映出氫氣產生細菌活性減弱。*mcrA* 基因保持在較低水平，約為 10^1 copies/g，顯示產甲烷菌的活性較低，而 *pmoA* 基因在整個操作期間的豐度穩定保持在 10^3 至 10^4 copies/g 之間。此外，圖 10B 顯示了陰極室中選定的還原脫鹵酶基因（*rdhA*, *tceA*, *vcrA* 和 *bvcA*）及總細菌豐度（基於 16S rRNA 基因）的變化。在 0 天時，陰極室中的總細菌豐度約為 10^8 copies/mL，至 45 天時略微下降至 10^7 copies/mL，而在 90 天顯著增加至接近 10^{11} copies/mL，表明隨著時間的推移細菌活性顯著增強。參與 VC 還原脫氯的 *vcrA* 基因在操作期間顯示出較高的豐度。0 天時，*vcrA* 豐度約為 10^6 copies/mL，45 天時略微增加至 10^7 copies/mL，並在 D-90 進一步增加至 10^{11} copies/mL，表明在操作後期還原脫氯活性顯著增強。與 VC 降解相關的 *bvcA* 基因在 0 天時豐度較低，約為 10^1 copies/mL，在 45 天時增至 10^5 copies/mL，並在 90 天時進一步增至 10^7 copies/mL。與 TCE 降解相關的 *tceA* 基因初始濃度為 10^1 copies/mL，並在 45 天和 90 天時增至 10^6 copies/mL。此外，與還原脫氯作用相關的 *rdhA* 基因在 0 天至 90 天期間持續增加，從 0 天的 10^2 copies/mL 增至 45 天的 10^5 copies/mL，並在 90 天時達到 10^7 copies/mL。總體而言，*rdhA* 和 *bvcA* 基因的豐度模式在現地操作期間的陰極室中保持相似。

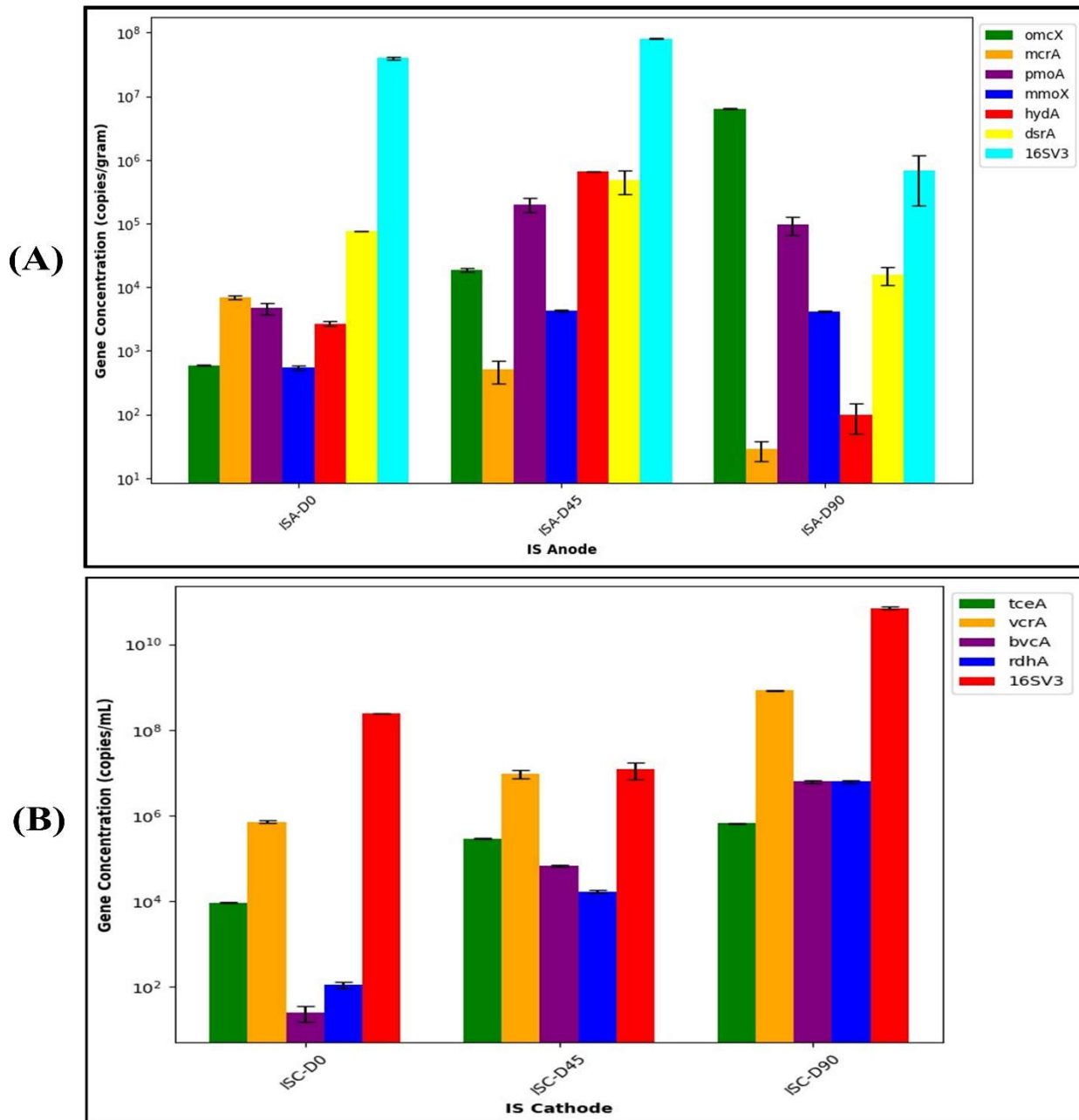


圖 10. 在原位管柱微生物燃料電池反應器中，操作 90 天的污染場址內，測定陽極和陰極室中 16S rRNA 基因以及陽極和陰極活性細菌生物標誌功能基因的豐度。基因豐度在三個時間點進行測量：0 天、45 天和 90 天。圖(A)顯示了陽極室中的基因豐度，而圖(B)則顯示了陰極室中的基因豐度。



5.9. 使用管柱微生物燃料電池對受污染地下水進行現地生物整治的性能

管柱微生物燃料電池的實驗結果表明，它有效且逐步地降解三氯乙烯及其中間產物，如順式 1,2-二氯乙烯（Cis-DCE）和氯乙烯。TCE 濃度從第 0 天的 0.0423 mg/L 減少到第 45 天的 0.0184 mg/L，並在第 90 天降至檢測限以下（ <0.00400 mg/L），表明其接近完全分解。同樣地，Cis-DCE 濃度從第 0 天的 0.77 mg/L 減少至第 45 天的 0.288 mg/L，並進一步降至第 90 天的 0.111 mg/L。而最具毒性的中間產物氯乙烯，其濃度從第 0 天的 8.17 mg/L 顯著下降至第 45 天的 0.154 mg/L，並在第 90 天降至 0.0249 mg/L，這突顯了管柱微生物燃料電池在整治氯化物污染地下水中的高效性。

這些結果與 qPCR 數據一致，qPCR 數據揭示了與降解途徑相關的微生物功能基因的動態變化。特別是還原脫鹵酶基因（如 *rdhA* 和 *tceA*）在陰極室中呈現增長趨勢，其中 *rdhA* 基因的含量從第 0 天的 10^2 copies/mL 增加到第 90 天的 10^7 copies/mL，而 *tceA* 基因在同一時期內增長至 10^6 copies/mL，顯示其在 TCE 脫氯過程中的積極作用。同樣，與氯乙烯降解相關的 *vcrA* 和 *bvcA* 基因顯著增強，其中 *vcrA* 基因在第 90 天達到 10^{11} copies/mL，*bvcA* 基因則增至 10^7 copies/mL，證實了微生物群落在降解 TCE 中間產物方面的增強能力。

這些趨勢還得到了陽極中 *dsrA* 和 *mmoX* 基因持續活性的支持，強調了硫酸鹽還原菌和甲烷氧化菌（甲烷營養菌）在為脫氯過程提供電子方面的作用。綜合化學和微生物證據表明，MFC 系統能夠將氯化物化合物幾乎完全解毒為無毒終產物，如乙烯或乙烷，展示了其在氯化物污染地下水可持續和高效生物修復中的可擴展應用潛力。

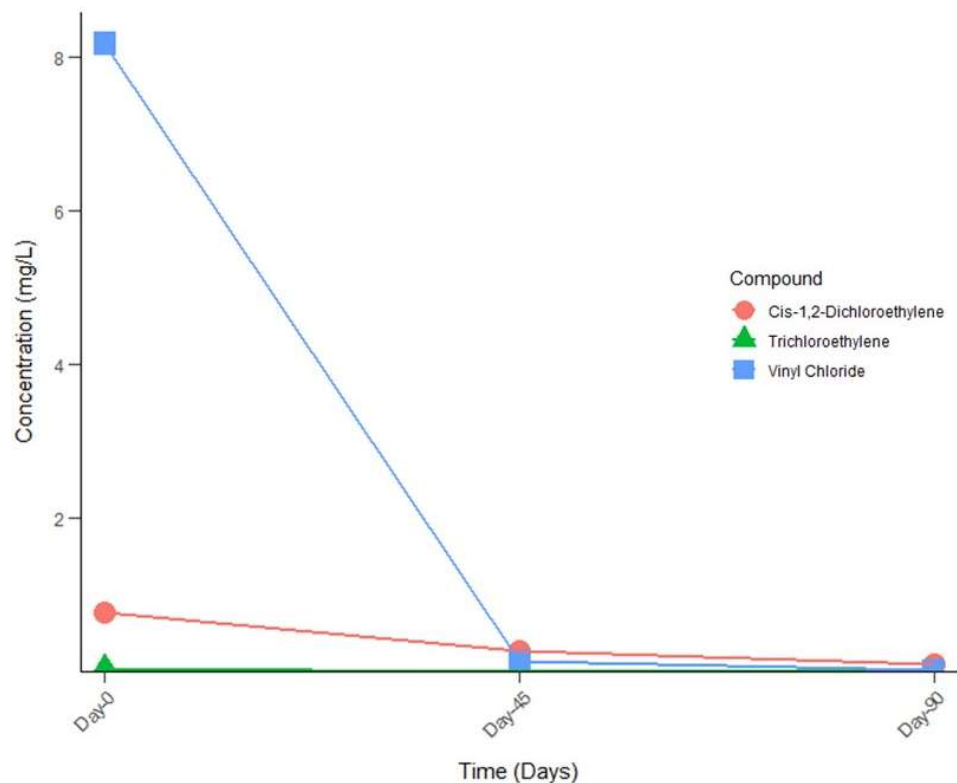


圖 11. 使用添加泥火山泥漿和生物炭的管柱微生物燃料電池對受污染地下水進行現地生物整治。

5.10 本計畫兩次諮詢服務的內涵與效果

1. 針對三氯乙烯地下水污染廠家討論其目前整治進度

根據目前的整治進度，三氯乙烯地下水污染的修復工作已經進行一段時間，但仍需進一步加強進度和成效評估。現階段的整治工作主要依賴傳統的物理和化學方法，然而，這些方法雖能有效去除部分污染物，但對於更深層次的地下水污染，可能效果有限。若考慮採用微生物燃料電池方法來處理三氯乙烯地下水污染，將會是具前景的技術選項。MFC 方法可利用微生物的代謝作用將有機污染物轉化為無害物質，並同時產生電能，具備環保及能源回收的雙重優勢。預期若採用 MFC 技術，所需的設施和裝備包括：

- (1) MFC 反應器：設計適合地下水污染場地的反應器，確保微生物能有效降解三氯乙烯。
- (2) 微生物菌群：選擇適合分解三氯乙烯的微生物菌群，並監控其活性與穩定性。



(3) 水質監測系統：搭建水質監測設備，以實時追蹤整治效果。

在預期達成的時效方面，假設選擇適合的 MFC 系統，並且進行合理的設置與操作，一般可在 6 至 12 個月內達到明顯的整治效果，具體時間依場址的污染程度和系統的運作效率而定。

2. 針對目前負責整治之顧問公司交換生物整治法、MFC 整治概念、生物菌群分析及數據解讀方法，以便尋求在未來新場址整治上合作之機會在與目前負責整治的顧問公司進行諮詢服務中，針對下列議題進行交流：

- (1) 生物整治法與 MFC 技術的整合：生物整治法（如利用微生物分解污染物）與 MFC 技術的結合，能有效提升地下水污染的修復效率。討論如何根據不同的場址特點來選擇最合適的技術路徑，並進行混合模式的應用。
- (2) 生物菌群分析：針對目前場址的微生物群落結構進行詳細分析，確保所使用的微生物能夠有效降解三氯乙烯及其他可能的污染物。分析方法可包括基因組學技術、16S rRNA 基因測序等，從而選擇最具降解能力的菌群。
- (3) 數據解讀方法：對整治過程中的監測數據進行科學解讀，確保數據能夠準確反映整治效果，並根據數據調整微生物菌群配置和 MFC 系統運行參數。這不僅有助於監控現場的整治進度，也有助於未來的持續改進。



六、結論

在本研究中，我們評估了將管柱微生物燃料電池(TMFC)與生物炭和甲烷氧化菌群源(泥火山樣本)結合作為主要產氫來源，進行 TCE 脫氯反應於厭氧條件下的有效性研究。實驗室規模的 TMFC 系統顯示出對 TCE 污染地下水進行生物整治具顯著潛力。本研究中整合生物炭和甲烷氧化菌群設計顯著提升 TMFC 反應器的效能，導致更高的微生物活性、電子轉移效率，並實現含生物炭和泥活山甲烷氧化菌群源處理組(T)中 TCE 的完全降解。與無生物炭的處理組(TWB)及對照組(C)相比，泥火山污泥和生物炭整合系統促進了關鍵微生物物種的富集，如 *Methylococcus capsulatus*、*Hydrogenophaga pseudoflava*、*Dehalococcoides mccartyi* 和 *Geobacter sulfurreducens*，這些微生物在 T 組 TMFC 反應器中的 TCE 降解過程中發揮了關鍵作用。甲烷氧化、碳氫化合物降解以及硫酸鹽、鐵和錳代謝相關的細菌代謝功能在 T 組中顯示出更高的豐度。通過分析在陽極和陰極樣本中關鍵細菌及其生物標記基因的關係，顯示 T 組 TMFC 反應器與 TWB 和 C 相比具有更強的相關性。特定細菌群落的組成和豐度在不同的反應時間間隔中有所變化，TCE 降解菌、硫酸鹽還原菌、甲烷氧化菌和產甲烷菌的變化尤為顯著。基於實驗室規模 TMFC 的實驗結果，我們設計現地 TMFC 並安裝於地下水井中進行現地整治。生物標記基因的定量結果顯示，現地 TMFC 反應器中的基因表現顯著升高，但與產甲烷活性相關的基因，如 *mcrA*，濃度極低。本研究結果表明，整合生物炭的 TMFC 是一種可行的、環保的、且具有可持續性的 TCE 污染地下水生物修復解決方案。我們建議進行長期的現地研究，並對特定的細菌群落進行培養和鑑定，以驗證該技術在實際應用時的有效性。



七、未來策略與建議

1. 本團隊後續優化 MFC 系統方法之建議，具體方法策略將包括：

- (1) 強化微生物種群的穩定性：透過優化操作條件、微生物培養基的配方，並探索更適合的微生物株來提升能量轉換效率。
- (2) 電極材料改良：選擇更具導電性的材料，並進行表面處理，以提高電極與微生物的互動效果。
- (3) 系統設計優化：改善反應槽的設計，提升電流密度及質量傳遞效率，並減少能量損失。
- (4) 長期運行測試：進行長時間運行測試，觀察系統的穩定性，並針對不同條件下的效能進行調整。

2. 整合泥火山與生物炭於微生物燃料電池系統中的成本效益，未來之策略建議將包括：

- (1) 系統建置成本：討論所需材料、設備投資、安裝成本等。
- (2) 運營成本：考量能源消耗、維護費用及替換成本等。
- (3) 效益評估：包括污染去除效率與處理時間等指標，並與傳統處理方法（如化學氧化、物理吸附等）進行比較。
- (4) 商業化潛力：根據成本效益分析，探討該方法在商業化及規模化發展中的可行性，並提出可能的市場應用方向。

3. 本計畫在未來積極尋求產業界的合作機會之策略規劃：

- (1) 合作研發：與環保科技公司、污染治理機構等進行技術合作，進一步完善三氯乙烯地下水污染治理技術。
- (2) 專利申請：在技術穩定與應用方面，將積極申請相關專利，保護創新成果並推動技術商業化。
- (3) 技術移轉：與產業界的技術移轉廠商洽談，探索技術商業化路徑，並加速將本計畫成果轉化為實際應用。

4. 未來應用中可能遇到的困難及相應的解決方案策略：

- (1) 地下水變異性與污染物分佈：地下水成分（如 pH、溶解離子、有機物等）和 TCE 污染物的空間分佈變化會影響 TMFC 系統的性能。**解決策略：**進行全面的場址地下水分析，以針對不同場所調整 TMFC 配置。開發可適應設計的 TMFC 系統，可根據現場條件調整參數（如電極



間距、生物炭添加量)。

- (2)長期穩定性與耐用性:確保 TMFC 系統在現場條件下的長期功能和耐用性，對於大規模應用至關重要。**解決策略**:使用耐腐蝕的材料製作電極和膜，以抵抗長期暴露於地下水中的腐蝕。進行長期試驗，評估降解過程中的性能，並優化維護方案。
- (3)與現有基礎設施的整合:TMFC 系統是否能有效地與現有的污染整治設施相結合，會因場地而異。**解決策略**:設計可模組化的 TMFC 單元，便於與現有的污染場址整治井結合。開發簡易安裝和監控的部署套件，便於現場使用。
- (4)將實驗室規模的效率提升到現場應用規模，需要解決許多操作和實際問題。**解決策略**:進行系統的現場試驗，收集規模化後的數據，了解其在現實環境下的效果。與產業界合作，開發適合現場應用的原型設備，並優化性能。
- (5)成本效益與市場接受度:高額的初期成本和長期效益的不確定性可能會限制市場的採用。**解決策略**:進行成本效益分析，將 TMFC 技術與傳統整治方法進行比較。在向相關利害關係人和潛在使用者進行推廣時，強調其環保效益（例如：降低能源消耗和化學品使用）。



八、參考文獻

1. Bala S, Garg D, Thirumalesh BV, Sharma M, Sridhar K, Inbaraj BS, Tripathi M: Recent Strategies for Bioremediation of Emerging Pollutants: A Review for a Green and Sustainable Environment. *Toxics* 2022, 10(8):484.
2. Atlas R, Philp J: Bioremediation: Applied microbial solutions for realworld environmental cleanup [en línia]. Washington, DC: American Society of Microbiology. In.; 2005.
3. Ebrahimbabaie P, Pichtel J: Biotechnology and nanotechnology for remediation of chlorinated volatile organic compounds: Current perspectives. *Environmental Science and Pollution Research* 2021, 28:7710-7741.
4. Huang B, Lei C, Wei C, Zeng G: Chlorinated volatile organic compounds (Cl-VOCs) in environment—sources, potential human health impacts, and current remediation technologies. *Environment international* 2014, 71:118-138.
5. Doherty RE: A history of the production and use of carbon tetrachloride, tetrachloroethylene, trichloroethylene and 1, 1, 1-trichloroethane in the United States: part 1—historical background; carbon tetrachloride and tetrachloroethylene. *Environmental forensics* 2000, 1(2):69-81.
6. Doherty RE: A history of the production and use of carbon tetrachloride, tetrachloroethylene, trichloroethylene and 1, 1, 1-trichloroethane in the United States: Part 2--Trichloroethylene and 1, 1, 1-trichloroethane. *Environmental Forensics* 2000, 1(2):83-93.
7. Biswas AK: Urban water security for developing countries. *River* 2022, 1(1):15-24.
8. Matteucci F, Ercole C, Del Gallo M: A study of chlorinated solvent contamination of the aquifers of an industrial area in central Italy: a possibility of bioremediation. *Frontiers in microbiology* 2015, 6:924-924.
9. Brusseau ML, Carroll KC, Truex MJ, Becker DJ: Characterization and remediation of chlorinated volatile organic contaminants in the vadose zone. *Vadose Zone Journal* 2013, 12(4).
10. Sun B, Li Q, Zheng M, Su G, Lin S, Wu M, Li C, Wang Q, Tao Y, Dai L: Recent advances in the removal of persistent organic pollutants (POPs) using multifunctional materials: a review.



Environmental Pollution 2020, 265:114908.

11. Yu S, Lee P-K, Hwang S-I: Groundwater contamination with volatile organic compounds in urban and industrial areas: analysis of co-occurrence and land use effects. *Environmental earth sciences* 2015, 74:3661-3677.
12. Kumar V, Shahi SK, Singh S: Bioremediation: An Eco-sustainable Approach for Restoration of Contaminated Sites. In: *Microbial Bioprospecting for Sustainable Development*. Edited by Singh J, Sharma D, Kumar G, Sharma NR. Singapore: Springer Singapore; 2018: 115-136.
13. Pant P, Pant S: A review: Advances in microbial remediation of trichloroethylene (TCE). *Journal of Environmental Sciences* 2010, 22(1):116-126.
14. Kaown D, Koh E-H, Mayer B, Ju Y, Kim J, Lee H-L, Lee S-S, Park DK, Lee K-K: Differentiation of natural and anthropogenic contaminant sources using isotopic and microbial signatures in a heavily cultivated coastal area. *Environmental Pollution* 2021, 273:116493.
15. Kurisu F, Yagi O: Bioremediation of Soil and Groundwater Contaminated by Volatile Organic Compounds. *Sustainability in Food and Water: An Asian Perspective* 2010:411-416.
16. Dolinová I, Štrojsová M, Černík M, Němeček J, Macháčková J, Ševců A: Microbial degradation of chloroethenes: a review. *Environmental Science and Pollution Research* 2017, 24(15):13262-13283.
17. Kumar V, Thakur IS, Singh AK, Shah MP: Chapter 8 - Application of metagenomics in remediation of contaminated sites and environmental restoration. In: *Emerging Technologies in Environmental Bioremediation*. Edited by Shah MP, Rodriguez-Couto S, Şengör SS: Elsevier; 2020: 197-232.
18. Hermon L, Hellal J, Denonfoux J, Vuilleumier S, Imfeld G, Urien C, Ferreira S, Joulain C: Functional genes and bacterial communities during organohalide respiration of chloroethenes in microcosms of multi-contaminated groundwater. *Frontiers in Microbiology* 2019, 10:89.
19. Lhotský O, Krákorová E, Linhartová L, Křesinová Z, Steinová J, Dvořák L, Rodsand T, Filipová A, Kroupová K, Wimmerová L *et al*: Assessment of biodegradation potential at a site



- contaminated by a mixture of BTEX, chlorinated pollutants and pharmaceuticals using passive sampling methods – Case study. *Science of The Total Environment* 2017, 607-608:1451-1465.
20. Patil SS, Adetutu EM, Sheppard PJ, Morrison P, Menz IR, Ball AS: Site-specific pre-evaluation of bioremediation technologies for chloroethene degradation. *International Journal of Environmental Science and Technology* 2014, 11(7):1869-1880.
 21. Miao Y, Johnson NW, Gedalanga PB, Adamson D, Newell C, Mahendra S: Response and recovery of microbial communities subjected to oxidative and biological treatments of 1,4-dioxane and co-contaminants. *Water Research* 2019, 149:74-85.
 22. Imfeld G, Pieper H, Shani N, Rossi P, Nikolausz M, Nijenhuis I, Paschke H, Weiss H, Richnow HH: Characterization of Groundwater Microbial Communities, Dechlorinating Bacteria, and In Situ Biodegradation of Chloroethenes Along a Vertical Gradient. *Water, Air, & Soil Pollution* 2011, 221(1):107-122.
 23. Wang SY, Kuo YC, Huang YZ, Huang CW, Kao CM: Bioremediation of 1,2-dichloroethane contaminated groundwater: Microcosm and microbial diversity studies. *Environmental Pollution* 2015, 203:97-106.
 24. Wright J, Kirchner V, Bernard W, Ulrich N, McLimans C, Campa MF, Hazen T, Macbeth T, Marabello D, McDermott J *et al*: Bacterial Community Dynamics in Dichloromethane-Contaminated Groundwater Undergoing Natural Attenuation. *Frontiers in Microbiology* 2017, 8.
 25. Sheu Y-T, Tsang DC, Dong C-D, Chen C-W, Luo S-G, Kao C-M: Enhanced bioremediation of TCE-contaminated groundwater using gamma poly-glutamic acid as the primary substrate. *Journal of cleaner production* 2018, 178:108-118.
 26. Chambon JC, Bjerg PL, Scheutz C, Bælum J, Jakobsen R, Binning PJ: Review of reactive kinetic models describing reductive dechlorination of chlorinated ethenes in soil and groundwater. *Biotechnology and Bioengineering* 2013, 110(1):1-23.
 27. Fraraccio S, Strejcek M, Dolinova I, Macek T, Uhlik O: Secondary compound hypothesis



- revisited: Selected plant secondary metabolites promote bacterial degradation of cis-1,2-dichloroethylene (cDCE). *Scientific reports* 2017, 7(1):8406-8406.
28. Ottosen CB, Bjerg PL, Hunkeler D, Zimmermann J, Tuxen N, Harrekilde D, Bennedsen L, Leonard G, Brabæk L, Kristensen IL, Broholm MM: Assessment of chlorinated ethenes degradation after field scale injection of activated carbon and bioamendments: Application of isotopic and microbial analyses. *Journal of Contaminant Hydrology* 2021, 240:103794.
 29. Rodrigues R, Betelu S, Colombano S, Tzedakis T, Masselot G, Ignatiadis I: In situ chemical reduction of chlorinated organic compounds. In: *Environmental Soil Remediation and Rehabilitation*. Springer; 2020: 283-398.
 30. Heimann AC, Batstone DJ, Jakobsen R: *Methanosarcina* spp. Drive Vinyl Chloride Dechlorination via Interspecies Hydrogen Transfer. *Appl Environ Microbiol* 2006, 72(4):2942-2949.
 31. Shukla AK, Upadhyay SN, Dubey SK: Current trends in trichloroethylene biodegradation: a review. *Critical reviews in biotechnology* 2014, 34(2):101-114.
 32. Li J, Hu A, Bai S, Yang X, Sun Q, Liao X, Yu C-P: Characterization and performance of lactate-feeding consortia for reductive dechlorination of trichloroethene. *Microorganisms* 2021, 9(4):751.
 33. Wen L-L, Li Y, Zhu L, Zhao H-P: Influence of non-dechlorinating microbes on trichloroethene reduction based on vitamin B12 synthesis in anaerobic cultures. *Environmental Pollution* 2020, 259:113947.
 34. Lin WH, Chien CC, Lu CW, Hou D, Sheu YT, Chen SC, Kao CM: Growth inhibition of methanogens for the enhancement of TCE dechlorination. *Science of The Total Environment* 2021, 787:147648.
 35. Kong J-Y, Bai Y, Su Y, Yao Y, He R: Effects of trichloroethylene on community structure and activity of methanotrophs in landfill cover soils. *Soil Biology and Biochemistry* 2014, 78:118-127.



36. Teng Y, Xu Y, Wang X, Christie P: Function of Biohydrogen Metabolism and Related Microbial Communities in Environmental Bioremediation. *Frontiers in Microbiology* 2019, 10.
37. Najmanová P, Steinová J, Czinnerová M, Němeček J, Špánek R, Knytl V, Halecký M: Thermally Enhanced Biodegradation of TCE in Groundwater. *Water* 2022, 14(21):3456.
38. Lin W-H, Chen C-C, Sheu Y-T, Tsang DC, Lo K-H, Kao C-M: Growth inhibition of sulfate-reducing bacteria for trichloroethylene dechlorination enhancement. *Environmental Research* 2020, 187:109629.
39. Altizer ML: Enhancing Reductive Dechlorination Through Electrokinetic Transport and Microbially Driven H₂ Cycling in the Subsurface. Arizona State University; 2020.
40. Zhang C, Atashgahi S, Bosma TN, Peng P, Smidt H: Organohalide respiration potential in marine sediments from Aarhus Bay. *FEMS Microbiology Ecology* 2022, 98(8):fiac073.
41. Drzyzga O, Gottschal JC: Tetrachloroethene dehalorespiration and growth of *Desulfitobacterium frappieri* TCE1 in strict dependence on the activity of *Desulfovibrio fructosivorans*. *Applied and environmental microbiology* 2002, 68(2):642-649.
42. Elvert M, Boetius A, Knittel K, Jørgensen BB: Characterization of specific membrane fatty acids as chemotaxonomic markers for sulfate-reducing bacteria involved in anaerobic oxidation of methane. *Geomicrobiology Journal* 2003, 20(4):403-419.
43. Li L, Xue S, Xi J: Anaerobic oxidation of methane coupled to sulfate reduction: Consortium characteristics and application in co-removal of H₂S and methane. *Journal of Environmental Sciences* 2019, 76:238-248.
44. Merkel AY, Chernyh NA, Pimenov NV, Bonch-Osmolovskaya EA, Slobodkin AI: Diversity and Metabolic Potential of the Terrestrial Mud Volcano Microbial Community with a High Abundance of Archaea Mediating the Anaerobic Oxidation of Methane. *Life* 2021, 11(9):953.
45. Hsu HC, Chen JS, Nagarajan V, Hussain B, Huang SW, Rathod J, Hsu BM: Assessment of Temporal Effects of a Mud Volcanic Eruption on the Bacterial Community and Their Predicted Metabolic Functions in the Mud Volcanic Sites of Niasong, Southern Taiwan. *Microorganisms*



2021, 9(11).

46. Webster G, Cragg BA, Rinna J, Watkins AJ, Sass H, Weightman AJ, Parkes RJ: Methanogen activity and microbial diversity in Gulf of Cádiz mud volcano sediments. *Frontiers in Microbiology* 2023, 14.
47. Nagarajan V, Tsai H-C, Chen J-S, Koner S, Kumar RS, Chao H-C, Hsu B-M: Systematic assessment of mineral distribution and diversity of microbial communities and its interactions in the Taiwan subduction zone of mud volcanoes. *Environmental Research* 2023, 216:114536.
48. Sun C-H, Chang S-C, Kuo C-L, Wu J-C, Shao P-H, Oung J-N: Origins of Taiwan's mud volcanoes: Evidence from geochemistry. *Journal of Asian Earth Sciences* 2010, 37(2):105-116.
49. Chang Y-H, Cheng T-W, Lai W-J, Tsai W-Y, Sun C-H, Lin L-H, Wang P-L: Microbial methane cycling in a terrestrial mud volcano in eastern Taiwan. *Environmental Microbiology* 2012, 14(4):895-908.
50. Hsu H-C, Chen J-S, Nagarajan V, Hussain B, Huang S-W, Rathod J, Hsu B-M: Assessment of Temporal Effects of a Mud Volcanic Eruption on the Bacterial Community and Their Predicted Metabolic Functions in the Mud Volcanic Sites of Niasong, Southern Taiwan. *Microorganisms* 2021, 9(11):2315.
51. Kushkevych I, Cejnar J, Treml J, Dordević D, Kollar P, Vítězová M: Recent advances in metabolic pathways of sulfate reduction in intestinal bacteria. *Cells* 2020, 9(3):698.
52. Green-Saxena A, Feyzullayev A, Hubert C, Kallmeyer J, Krüger M, Sauer P, Schulz HM, Orphan V: Active sulfur cycling by diverse mesophilic and thermophilic microorganisms in terrestrial mud volcanoes of Azerbaijan. *Environmental Microbiology* 2012, 14(12):3271-3286.
53. Lin W, Chien C, Lu C, Hou D, Sheu Y, Chen S, Kao C: Growth inhibition of methanogens for the enhancement of TCE dechlorination. *Science of the Total Environment* 2021, 787:147648.
54. Lovley DR: Powering microbes with electricity: direct electron transfer from electrodes to microbes. *Environmental microbiology reports* 2011, 3(1):27-35.
55. Chen F, Li Z-L, Liang B, Yang J-Q, Cheng H-Y, Huang C, Nan J, Wang A-J: Electrostimulated



- bio-dechlorination of trichloroethene by potential regulation: kinetics, microbial community structure and function. *Chemical Engineering Journal* 2019, 357:633-640.
56. Liu M-H, Hsiao C-M, Lin C-E, Leu J: Application of Combined In Situ Chemical Reduction and Enhanced Bioremediation to Accelerate TCE Treatment in Groundwater. *Applied Sciences* 2021, 11(18):8374.
 57. Borello D, Gagliardi G, Aimola G, Ancona V, Grenni P, Bagnuolo G, Garbini GL, Rolando L, Barra Caracciolo A: Use of microbial fuel cells for soil remediation: A preliminary study on DDE. *International Journal of Hydrogen Energy* 2021, 46(16):10131-10142.
 58. Hedbavna P, Rolfe SA, Huang WE, Thornton SF: Biodegradation of phenolic compounds and their metabolites in contaminated groundwater using microbial fuel cells. *Bioresource Technology* 2016, 200:426-434.
 59. Bagchi S, Behera M: Microbial fuel cells: A sustainable technology for pollutant removal and power generation. *Bioelectrochemical interface engineering* 2019:91-116.
 60. Bhadra S, Seveda S: Integrated bioelectroremediation: Simultaneous treatment of industrial effluents and bioenergy generation. *Environmental Engineering Research* 2024, 29(4).
 61. Chen X, Hu J, Cao D, Yang W, Zhang Z, Zu Y, Chen F, Wang A, Li Z: Construction of biochar-based organohalide-respiring bacterial agent for remediation of 2, 4, 6-trichlorophenol contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials* 2024:134438.
 62. Mukherjee S, Sarkar B, Aralappanavar VK, Mukhopadhyay R, Basak BB, Srivastava P, Marchut-Mikołajczyk O, Bhatnagar A, Semple KT, Bolan N: Biochar-microorganism interactions for organic pollutant remediation: Challenges and perspectives. *Environmental Pollution* 2022, 308:119609.
 63. Liu Y, Chen H, Zhao L, Li Z, Yi X, Guo T, Cao X: Enhanced trichloroethylene biodegradation: Roles of biochar-microbial collaboration beyond adsorption. *Science of the Total Environment* 2021, 792:148451.
 64. Rossi MM, Matturro B, Amanat N, Rossetti S, Petrangeli Papini M: Coupled Adsorption and



- Biodegradation of Trichloroethylene on Biochar from Pine Wood Wastes: A Combined Approach for a Sustainable Bioremediation Strategy. *Microorganisms* 2022, 10(1):101.
65. Wu Z, Man Q, Niu H, Lyu H, Song H, Li R, Ren G, Zhu F, Peng C, Li B, Ma X: Recent advances and trends of trichloroethylene biodegradation: A critical review. *Frontiers in Microbiology* 2022, 13.
 66. Rossi MM, Dell'Armi E, Lorini L, Amanat N, Zeppilli M, Villano M, Petrangeli Papini M: Combined strategies to prompt the biological reduction of chlorinated aliphatic hydrocarbons: new sustainable options for bioremediation application. *Bioengineering* 2021, 8(8):109.
 67. Tamboli E, Eswari JS: Microbial fuel cell configurations: An overview. *Microbial Electrochemical Technology* 2019:407-435.
 68. Rushimisha IE, Li X, Han T, Chen X, Abdoul Magid ASI, Sun Y, Li Y: Application of biochar on soil bioelectrochemical remediation: behind roles, progress, and potential. *Critical Reviews in Biotechnology* 2024, 44(1):120-138.
 69. Bhattarai S, Cassarini C, Rene ER, Zhang Y, Esposito G, Lens PN: Enrichment of sulfate reducing anaerobic methane oxidizing community dominated by ANME-1 from Ginsburg Mud Volcano (Gulf of Cadiz) sediment in a biotrickling filter. *Bioresource technology* 2018, 259:433-441.
 70. Wang C-T, Sangeetha T, Ding D-Q, Chong W-T, Yan W-M: Implementation of surface modified carbon cloth electrodes with biochar particles in microbial fuel cells. *International Journal of Green Energy* 2018, 15(13):789-794.
 71. Adelaja O, Keshavarz T, Kyazze G: Treatment of phenanthrene and benzene using microbial fuel cells operated continuously for possible in situ and ex situ applications. *International Biodeterioration & Biodegradation* 2017, 116:91-103.
 72. Morris JM, Jin S: Feasibility of using microbial fuel cell technology for bioremediation of hydrocarbons in groundwater. *Journal of Environmental Science and Health, Part A* 2007, 43(1):18-23.



73. Sajana T, Ghangrekar M, Mitra A: Application of sediment microbial fuel cell for in situ reclamation of aquaculture pond water quality. *Aquacultural Engineering* 2013, 57:101-107.
74. Velasquez-Orta S, Werner D, Varia J, Mgana S: Microbial fuel cells for inexpensive continuous in-situ monitoring of groundwater quality. *Water research* 2017, 117:9-17.
75. Asif A, Koner S, Chen J-S, Hussain A, Huang S-W, Hussain B, Hsu B-M: Uncovering the microbial community structure and physiological profiles of terrestrial mud volcanoes: a comprehensive metagenomic insight towards their Trichloroethylene biodegradation potentiality. *Environmental Research* 2024:119457.
76. Huang S-W, Hussain B, Chen J-S, Asif A, Hsu B-M: Evaluating groundwater ecosystem dynamics in response to post in-situ remediation of mixed chlorinated volatile organic compounds (CVOCs): An insight into microbial community resilience, adaptability, and metabolic functionality for sustainable remediation and ecosystem restoration. *Science of The Total Environment* 2024, 920:170874.
77. Yamazaki Y, Kitamura G, Tian X, Suzuki I, Kobayashi T, Shimizu T, Inoue D, Ike M: Temperature dependence of sequential chlorinated ethenes dechlorination and the dynamics of dechlorinating microorganisms. *Chemosphere* 2022, 287:131989.
78. Smith GJ, Wrighton KC: Metagenomic approaches unearth methanotroph phylogenetic and metabolic diversity. *Current Issues in Molecular Biology* 2019, 33(1):57-84.
79. Wang C-C, Li C-H, Yang C-F: Acclimated methanotrophic consortia for aerobic co-metabolism of trichloroethene with methane. *International Biodeterioration & Biodegradation* 2019, 142:52-57.
80. Shao Y, Hatzinger PB, Streger SH, Rezes RT, Chu K-H: Evaluation of methanotrophic bacterial communities capable of biodegrading trichloroethene (TCE) in acidic aquifers. *Biodegradation* 2019, 30:173-190.
81. Thapa BS, Kim T, Pandit S, Song YE, Afsharian YP, Rahimnejad M, Kim JR, Oh S-E: Overview of electroactive microorganisms and electron transfer mechanisms in microbial



- electrochemistry. *Bioresource Technology* 2022, 347:126579.
82. Marandola C, Cristiani L, Zeppilli M, Villano M, Majone M, Fantini E, Daddiego L, Lopez L, Ciccoli R, Signorini A: Harvesting Biofuels with Microbial Electrochemical Technologies (METs): State of the Art and Future Challenges. *Wastewater Exploitation: From Microbiological Activity to Energy* 2024:305-348.
 83. Zhang S, You J, Kennes C, Cheng Z, Ye J, Chen D, Chen J, Wang L: Current advances of VOCs degradation by bioelectrochemical systems: a review. *Chemical Engineering Journal* 2018, 334:2625-2637.
 84. Zhang Z, Ali M, Tang Z, Sun Q, Wang Q, Liu X, Yin L, Yan S, Xu M, Coulon F: Unveiling complete natural reductive dechlorination mechanisms of chlorinated ethenes in groundwater: Insights from functional gene analysis. *Journal of Hazardous Materials* 2024, 469:134034.
 85. Wu Y-J, Liu P-WG, Hsu Y-S, Whang L-M, Lin T-F, Hung W-N, Cho K-C: Application of molecular biological tools for monitoring efficiency of trichloroethylene remediation. *Chemosphere* 2019, 233:697-704.
 86. Dugat-Bony E, Biderre-Petit C, Jaziri F, David MM, Denonfoux J, Lyon DY, Richard JY, Curvers C, Boucher D, Vogel TM: In situ TCE degradation mediated by complex dehalorespiring communities during biostimulation processes. *Microbial biotechnology* 2012, 5(5):642-653.
 87. Rowe AR, Heavner GL, Mansfeldt CB, Werner JJ, Richardson RE: Relating chloroethene respiration rates in Dehalococcoides to protein and mRNA biomarkers. *Environmental science & technology* 2012, 46(17):9388-9397.
 88. Chen X, Bai C, Li Z, Cao D, Zu Y, Zhang Z, Zhao G, Nan J, Wang H, Liang B: Directional bioelectrochemical dechlorination of trichloroethene to valuable ethylene by introduction poly-3-hydroxybutyrate as a slow release carbon source. *Chemical Engineering Journal* 2023, 455:140737.
 89. Bhattarai S, Cassarini C, Lens P: Physiology and distribution of archaeal methanotrophs that



- couple anaerobic oxidation of methane with sulfate reduction. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 2019, 83(3):10.1128/mmbr. 00074-00018.
90. Giri DD, Singh SK, Giri A, Dwivedi H, Kumar A: Bioremediation potential of methylotrophic bacteria. In: *Microbe Mediated Remediation of Environmental Contaminants*. Elsevier; 2021: 199-207.
91. Vodyanitskii YN: Biochemical processes in soil and groundwater contaminated by leachates from municipal landfills (Mini review). *Annals of agrarian science* 2016, 14(3):249-256.
92. Murray AM, Ottosen CB, Maillard J, Holliger C, Johansen A, Brabæk L, Kristensen IL, Zimmermann J, Hunkeler D, Broholm MM: Chlorinated ethene plume evolution after source thermal remediation: Determination of degradation rates and mechanisms. *Journal of contaminant hydrology* 2019, 227:103551.
93. Wen L-L, Zhang Y, Pan Y-W, Wu W-Q, Meng S-H, Zhou C, Tang Y, Zheng P, Zhao H-P: The roles of methanogens and acetogens in dechlorination of trichloroethene using different electron donors. *Environmental Science and Pollution Research* 2015, 22:19039-19047.
94. Wu N, Zhang W, Wei W, Yang S, Wang H, Sun Z, Song Y, Li P, Yang Y: Field study of chlorinated aliphatic hydrocarbon degradation in contaminated groundwater via micron zero-valent iron coupled with biostimulation. *Chemical Engineering Journal* 2020, 384:123349.
95. Ouyang W, Huang Y, Li C, Xue C, Liu M, Ma J, Yuan S, Liu H: Response of TCE biodegradation to elevated H₂ and O₂: Implication for electrokinetic-enhanced bioremediation. *Environmental Research* 2024, 248:118338.



八、研究進度及預期完成之工作項目（甘特圖）

年月 工作項目	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	備註
實驗室及現地微生物燃料電池系統之開發與建置													
菌群之生物資訊分析(第三代定序)													
微生物燃料電池整治方法之整合評估													
現地整治技術於實驗室測試及改良													
TCE 降解關聯之微生物基因定量分析													
化學及水文地質分析評估													
實驗室 MFC 模組操作參數之分析與評估													
現地 MFC 模組 TCE 降解效力及其電極對降解 TCE 微生物菌群之影響評估													
現地 MFC 模組微生物群落的時序分析，理解微生物群落的動態變化													
期中報告撰寫													※報告文件
結案報告撰寫													※報告文件
工作進度估計百分比 (累積數)	5%	10%	15%	20%	40%	45%	55%	65%	75%	85%	95%	100%	
預定查核點	期中		以小型 MFC 模組分析泥火山灰和生物炭添加對 MFC 系統之 TCE 脫氯作用及微生物群落影響，以瞭解此二因子對 MFC 系統性能的影響。										



	成果	藉由污染場址的 MFC 模組操作測試，瞭解 MFC 模組對受污染之地下水中 TCE 脫氯效果之影響，並進行現地 MFC 模組微生物群落的時序分析，深入瞭解微生物群落的動態變化。
說明： 1、工作項目請視專案性質及需要自行訂定。預定進度以粗線表示其起迄日期。 2、「工作進度百分比」欄係為配合管考作業所需，累積百分比請視工作性質就以下因素擇一估計訂定：(1)工作天數，(2)經費之分配，(3)工作量之比重，(4)擬達成目標之具體數字。 3、「預定查核點」，請在條形圖上標明※符號，並在「預定查核點」欄具體註明關鍵性工作要項。 4、以 12 個月作規劃，其中期中報告書初稿提送要件需達計畫執行進度 50%以上，成果報告書初稿需於計畫結束前 1.5 個月提送。		

註：表格不敷使用時，請自行增列。



環境部環境管理署「土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案」

■構想書 □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	112 年度	計畫類型	□先導型 ■研究型 □模場型
計畫類別	■調查 □整治 □其他	主持人：許曷慕	NO：R5
計畫名稱	整合泥火山與生物炭於微生物燃料電池系統進行三氯乙烯地下水污染生物整治		
審查意見		執行單位回覆	
委員一		感謝審查委員提醒，已在新版計畫書中更新費用說明。	
1. 請詳述費用編列說明。			
委員二		感謝審查委員建議。已在新版計畫書中提及本團隊的研究假設即以微生物菌群共同代謝概念，評估泥火山灰的添加對於 TCE 的降解效率是減損還是助益？由於產甲烷菌會顯著干擾 TCE 降解，因此在選擇添加泥火山作為 TCE 整治降解的材料同時，需對於當中的產甲烷菌以及甲烷氧化菌之菌群作用進行更深入的評估。本團隊之前期研究結果顯示，相較於未添加泥火山的微生物燃料電池（MFC），添加泥火山的 MFC 不僅具有更豐富的物種多樣性，還在 TCE 脫氯能力表現出顯著優勢。實驗結果亦凸顯以泥火山灰添加與 MFC 做結合，用於整治受 TCE 污染的土壤和地下水應具有前景與應用潛力。另外，本文亦述及生物炭是一種經由有機物熱解產生的材料，其關鍵屬性是其多孔結構和高表面積，這使其成為在地下水中吸附 TCE 的絕佳候選物。生物炭的多孔基質可以吸附 TCE 分子，從而增加其對降解微生物的可及性。此外，生物炭亦可創造脫氯微生物好的定殖環境，促成 TCE 分解。文獻中即有研究團隊以活性炭作為梭狀芽孢桿菌和脫氯球菌等 TCE 脫氯微生物之定殖及富集環境，提升 TCE 降解效率。除了增強有益脫氯微生物的生長外，生物炭還具有抑制氫競爭微生物增殖的效果。因	
1. 欲探討如何在模場規模的 MFC 系統中，整合泥火山材料和生物炭等添加物，以提高 TCE 地下水污染的生物整治效率。應說明添加這兩種材料的邏輯、現場取得與使用的合理性。			



	此，生物炭極具成為特殊代謝細菌現地培養增殖之策略工具。
委員三 - 計畫團隊發展之基因定序及生物資訊技術具有診斷污染場址現場微生物族群之應用性。 - 建議後續能評估與傳統技術在技術、及能耗上之優勢。	感謝審查委員肯定，我們在後續成果報告中會呈現本技術與其他傳統技術之優劣分析。
委員四 - 附件 1-12，有關本計畫之研究專案類型，其執行內容包含選定現地之地下水 TCE 污染整治場址，並有相關實驗規劃，且核心技術皆趨成熟，建議宜確認構想書之專案類型填寫為研究型而非模場型，並應有模場整治相關合規文件說明。 - 附件 1-13，實驗室規模之 MFC 設置及操作參數設定有關與評估，該敘述內說明 MFC 將進行為期 2 個月之培養及觀測，建議可針對觀測週期規劃及檢測相關執行流程補充說明，以提升本構想書之完整性。 - 有關實驗室規模之 MFC 設置及操作參數設定與評估，其敘述將模擬研究地點之底部沉積物條件，有關該沉積物之樣本來源為現地採集抑或採自行配置方式，建議宜補充說明。	- 感謝委員建議。由於我們今年的研究屬於由實驗室規模進入實場的過渡階段，因此乃申請”研究型”之專案計畫類別。依據本團隊 6 年期研究計畫進度，將於明年度進入模場型計畫之申請。 - 有關實驗室規模之實驗組和對照組的 MFC 將進行為期 2 個月的培養及觀測，並於培養 20 天後，開始進行 TCE 降解和相關的理化分析。其採樣周期為 5 天，主要分析項目為 TCE 及產甲烷菌、甲烷氧化菌、產氫細菌和 TCE 降解菌特殊基因之定量分析。相關敘述已補充於本文。 - 有關實驗室規模之 MFC 設置及操作條件，我們將延續上一期計畫之設定，沉積物來源將以受 TCE 污染場址之土壤樣本做為沉積物之模擬樣本，並以添加泥火山灰樣本作為實驗組，無添加泥火山灰的樣本作為對照組。相關敘述已補充於本文。
委員五 - 添加營養源對燃料電池硬體單元的影響。 - 計畫規劃詳實，具未來進入模場試驗的潛力。 - 符合專案徵求主題，具後續實場應用潛力。	感謝委員肯定。我們在後續報告中將對營養源添加對於 MFC 電極菌落的影響進行分析。
委員六 計畫書中說明：“...本研究團隊期待開發現地	1.感謝委員對此研究之學理依據及研究想定之支持。



菌群增殖(取代單一菌種概念)，經過實驗室放大後放回現地整治的做法...”&“...使用好氧共代謝策略處理 TCE 厭氧污染場址應屬可行...”

2. 計畫書中說明：“...如何設計 MFC 融入現地整治技術，必須經過測試與改進，以確保它們在污染場址之實際應用具可行性...”&“...本技術將藉由整合泥火山與生物炭於微生物燃料電池系統以及改變脫氯微生物生存環境之電子供體及受體提供率，提升微生物降解含氯污染物之速率...”。其中泥火山與生物炭的品質的穩定性相對關鍵，建議說明如何評估其品質的穩定？

2. 感謝委員之建議。添加之火山泥之品質穩定性將以(1)靶向負責產甲烷菌的甲基輔酶 M 還原酶 (mcrA) 產甲烷菌基因、靶向顆粒甲烷單加氧酶 (pMMO) 和可溶性甲烷單加氧酶 (sMMO) 兩類甲烷氧化菌之基因來評估所使用不同批次泥火山改良劑之品質穩定度。生物炭添加由於今年第一次嘗試使用，目前仍難達成進行品質穩定度評估之目標。



環境部環境管理署「土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案」

☐構想書 ☒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	112 年度	計畫類型	☐ 先導型 ☒ 研究型 ☐ 模場型
計畫類別	☒ 調查 ☐ 整治 ☐ 其他		主持人：許昺慕 NO：R12
計畫名稱	整合泥火山與生物炭於微生物燃料電池系統進行三氯乙烯地下水污染生物整治		
審查意見		執行單位回覆	
委員一			
1. 計畫可對受污染之區域提供解決方案，望未來有助於污染整治，故建議後續可評估實場應用可行性。		感謝委員建議。實場應用可行性分析，將於期末報告中展現。	
委員二			
1. 在 MFC 系統中添加火山泥以增加生物多樣性，唯應評估不同取泥位置所獲得生物菌相是否會有明顯差異、及釐清可提高 TCE 共代謝的關鍵菌群為何。		感謝委員建議。不同取泥位置所獲得生物菌相是否會有明顯差異及釐清可提高 TCE 共代謝的關鍵菌群實場應用可行性分析，將於期末報告中以泥火山不同採樣點菌群 NGS 分析結果及甲烷生成及代謝基因之定量分析結果來釐清 TCE 共代謝的關鍵菌群。	
委員三			
1. 建議應評估技術在實場應用時，其可行性，包括處理效率、成本、以及環境之影響性。		感謝委員建議。本技術在實場應用時，其處理效率、成本、環境影響性以及本技術與傳統處理方法優劣情形比較，將於期末報告中展現。	
2. 若與傳統處理方法，本技術之優劣情形，建議也納入計畫報告中討論。			
委員四			
1. 主持人近三年已發表 10 篇 SCI 期刊。近三年主持人獲受補助計畫 3 件及其他機關補助計畫 3 件研究聚焦微生物代謝及整治，足以勝任本研究計畫，惟建議強化協同主持人學術研究相關經驗。		1.感謝委員建議。協同主持人學術研究相關經驗已於修正計畫書中進行新增。 2.本計畫補助經費已依環境部核定金額進行修正。	
2. 本研究藉由污染場址的 MFC 模組操作測試，瞭解 MFC 模組對受污染之地下水中 TCE 脫氯效果之影響，並進行現地 MFC 模			



組微生物群落的時序分析，深入瞭解微生物群落的動態變化。研究方法及步驟具體詳盡。 3. 本計畫預估之成果績效貢獻包括學術產出國外期刊、國內研討會各一篇、研究報告1篇、已開發技術1項、人才培育研發人員3人、跨領域團隊1個等。 4. 本計畫申請補助經費耗材與主要費用偏高建議調整費用。	
委員五 1. 建議應考慮未來應用時所遇到的困難進行研究。 2. 本研究與前期計畫之差異為何。	感謝委員建議。本期實驗室規模之MFC設計及操作條件，主要根據上一期計畫之結果與缺點進行修改，並進行污染場址之現場MFC操作設置。
委員六 1. 與產業界合作，針對實際場址設計實驗參數，研究成果具實務運用潛力。	感謝委員鼓勵。
委員七 1. 選定場址是否已與所有人/顧問公司達成協議進行試驗。 2. 化學及水文地質分析延續至第11個月，期程對應實驗室系統與現地試驗是否能提供即時有效資訊建議提前規劃。	本期計畫選定場址位於彰化市，已與業主及顧問公司(寰靖綠色科技股份有限公司)達成協議進行試驗。為配合業主對污染場址地下水監測之時程，相關分析雖然會延續至第11月，但本計畫中MFC對應之實驗室操作參數測試及現地試驗之研究成果會依委員建議提前準備。
委員八 1. 計畫主持人及本計畫執行團隊的學術研究能力佳，足以勝任本計畫。主持人及本計畫執行團隊近五年的研究績效佳。 2. 本計畫對國內土壤及地下水污染整治的推動有貢獻。 3. 本計畫書撰寫具體完整，計畫書中已經說明本計畫的執行方式。 4. 計畫書所述的構想具可行性，且具有實務應用潛力(本計畫擬：“...務實改善含氯污染物降解速率，降低長期營運成本並有效提升處理率...”，建議說明可能的操作方式)。	感謝審查委員之肯定與鼓勵。對於委員第4及6項次之建議，本團隊在後續計畫報告之呈現中會特別留意。



5. 計畫執行期限合理，也已經說明預期的研究成果。 6. 學術上的專有名詞建議用國內常用的專有名詞。	
委員九 1. 計畫書請雙面列印。 2. 人事費:兼任人員工作月數 12 個月*月支酬金 10,000 元應為 120,000 元，小計有誤請確認。	感謝委員提醒，在修正計畫書之預算編列時已勘誤修正。



環境部環境管理署「土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案」

□構想書 □申請計畫書 ■期中報告 審查意見回覆對照表
□修正計畫書 □成果報告

計畫年度	112 年度	計畫類型	□先導型 ■研究型 □模場型
計畫類別	■調查 □整治 □其他	主持人：許曷慕	NO：C3
計畫名稱	整合泥火山與生物炭於微生物燃料電池系統進行三氯乙烯地下水污染生物整治		
審查意見		執行單位回覆	
委員一		1. 「雜支費用」之編列以依委員意見進行修正。 2. 甘特圖之顯示以依委員意見進行修正。	
1. 計畫書 P.2,「雜支費用」之編列說明表示,該經費應以 1~6 項相加金額為 990,000 元,該金額之 5%為 49,500 元,故該計畫雜支費用(90,000 元)已超過規定上限,請修正。			
2. 計畫書 P.39,甘特圖之列標題欄位顯示「年月」,惟該表格未將年列入,故建議於該表格加入年份。			
委員二		1. 感謝審查委員的指正。我們已重新檢查經費分析總表,發現確實有計算錯誤,現已修正合計金額。此外,專案主持人簽章也已補上。修正後的基本資料表和經費分析總表已重新提交。	
1. 有關 112 年度專案專案基本資料表,經費分析總表之合計似有誤,且尚缺專案主持人簽章,建議宜重新計算並修正。			
2. 有關 112 年度專案成果績效自評表,未見執行單位回覆之已完成補充之主要研究人力,建議依計畫執行之人力分配,補充說明主要研究人力表。		2. 我們已依照計畫執行之人力分配,補充說明主要研究人力表。現已將主要研究人力表補充於專案成果績效自評表中,並詳細列出各項工作之主要負責人及其所投入之工作內容。	
3. 建議宜補充計畫執行進度與預定進度查核表,是否相符或執行進度落後原因及困難點進行說明(含工作進度甘特圖),以利瞭解本計畫整體執行之現況。		3. 已根據建議補充計畫執行進度與預定進度查核表。當中說明了目前執行進度與預定進度之差異,包括執行進度落後的原因及遇到的困難點。同時,已附上工作進度甘特圖,提供更直觀的進度分析。	
4. 研究內容規劃於污染場址分析地下水參數及污染物種類與濃度對 MFC 模組之性能和脫氯效果的影響,並未針對此說明,建議強化說明之。		4. 針對污染場址分析地下水參數及污染物種類與濃度對 MFC 模組性能和脫氯效果的影響,我們已補充了具體的分析方法、數據來源及	



5. 本計畫整合生物炭和泥火山改良劑的微生物燃料電池模組系統進行受有機物污染的地下水之整治技術，建議應同步進行地下水水質等背景參數之分析，進一步分析降解效果及適用性。	初步結果，強化了對此部分研究內容的說明。 5. 為了分析地下水參數和污染物類型和濃度對污染場地 MFC 模組的性能和脫氯效果的影響，期末報告中已列出地下水水質背景參數，並評估它們對不同 MFC 模組的性能和脫氯效果的影響及其 TCE 降解潛力。水質參數包括總有機碳 (TOC)、三氯乙烯 (TCE)、順式二氯乙烯 (cis-DCE)、氯乙烯 (VC)、溫度、pH 值、電導率 (EC)、總溶解固體 (TDS) 和氧化還原電位 (ORP)。這些分析為地下水條件與 MFC 系統的脫氯功效之間的相互作用提供了有價值的見解。
委員三 本計畫整合泥火山和生物炭等添加物至 MFC 系統，用於提高地下水 TCE 污染的生物整治效率，策略包含以小型 MFC 模組分析添加物對系統之 TCE 脫氯及微生物群落影響，以瞭解此二因子對系統性能影響，而後整合到現地規模的 MFC 系統中，提高系統效能和持久性。計畫成果預期可為地下水 TCE 污染場域提供一種環境友好且具長期經濟效益的現地生物整治技術，有效降低污染物濃度並促進生態環境恢復。針對期中報告有以下幾點建議： 1. 執行團隊已在前期計畫開發單室 MFC 反應器，比較添加泥火山對 TCE 脫氯的探討。本期計畫新增生物炭主要用於電極塗層，將漿料混合物均勻地塗布到陰極和陽極電極的表面上，因此建議考量分析生物炭電極特性對 MFC 的影響，一來可以提供未來選用生物炭的基準參考，二來在比較不同反應器時也可有更多討論，比如實驗組(w/o Bcr)和對照組(w/o MV)的差異。 2. 原則上，三組 MFC 系統是選用受 TCE 污染的地下水樣品，依據表 3 的地下水 TCE 及副產物結果分析來看，C1 明顯與 C6 及 B34 狀況不同，C1 大多以 TCE 形式存在，C6	1.關於生物炭電極特性對 MFC 影響的分析，例如比較實驗組(w/o Bcr)和對照組(w/o MV)的差異，我們將在後續研究中呈現。 2.關於 TCE 還原脫氯反應的長期效率之議題，感謝委員指出 C1、C6 及 B34 地下水樣品的差異及其對脫氯效率的影響。由於考量和業主協調實驗動線之結果及水井 TCE 初始濃度，我們今年度選擇了 C1 地下水井進行 90 天實場 MFC 模組實驗。我們觀察到還原脫氯反應中 TCE 中間產物（如 cis-DCE 和 VC）的形成，並分析這些副產物及其濃度的時序變化，並分析 MFC 系統的長期還原脫氯效率。此外，我們將持續監測脫氯的進展，以評估系統隨著時間的推移中間產物的濃度變化。 3.感謝委員細心審查，我們會仔細檢視報告中的實驗方法與結果，確保前後一致。我們會補充圖 7 地下水質分析結果及 mcrA 基因的討論，並在期末報告中詳細描述這些結果對研究結論的支持。 4.我們認同地下水質特性對 MFC 系統性能有顯著影響。在實驗室模組階段，我們進行詳細的水質參數分析，並探討這些參數如何影響 MFC 系統的性能。這些結果將為後續現地操作提供有價值的參數調整依據。 5. 我們將加強對不同功能基因分析結果的討論，



及 B34 則是已有部分還原脫氯成 DCE 或 VC 形式，在 P.9 有提及還原脫氯反應常伴隨大量有毒中間產物如 DCE 或 VC 的出現，此狀況是否會對系統長時間保持高脫氯效率投下變數，建議針對此部分作說明。 3. 實驗方法與結果討論有多處地方前後不一，例如圖 7 地下水質分析結果並未在報告中出現，及 p.26 的 <i>mcrA</i> 基因雖在表 6 提到已完成，但結果圖與內文也並無討論等，建議重新檢視並修正之。 4. 地下水條件應是明顯影響現地 MFC 系統性能的原因之一，目前結果並無提供地下水質特性，建議在實驗室模組階段就完成水質參數對 MFC 系統的影響探討，以利後續現地操作的參數調整。 5. 建議針對不同功能基因分析的結果討論有更多著墨，有利於比較不同反應器或不同水質條件的微生物變化。 6. 在泥火山污泥採樣過程，理論上採集表面應有較多甲烷氧化菌存在，硫酸鹽還原菌則在較深的區域，但從圖 19 可看出採樣地點 NYH-B-5 不論採樣深度都有檢測到 <i>pMMO</i>，然而其他採樣點不論 <i>pMMO</i> 或 <i>sMMO</i> 均沒有明顯的條帶顯示目標基因的存在，請探討使得泥火山未必會有甲烷氧化菌(與 P.10 提及泥火山甲烷代謝菌豐度很高之論點矛盾)的原因。	以便更清楚地比較不同反應器或水質條件下的微生物變化。這將有助於理解微生物群落在不同環境條件下的動態變化，並為優化系統性能提供依據。 6. 關於泥火山污泥採樣中甲烷氧化菌的分布問題，我們已進一步探討不同採樣點和深度對甲烷氧化菌檢測結果的影響。在期末報告中，我們選擇了顯示較高功能基因豐度的樣本，例如 <i>pMMO</i> (<i>mmoA</i>) 或 <i>sMMO</i> (<i>mmoX</i>)，以確保準確評估泥火山中存在的甲烷氧化細菌。這些項目的定量分析，解決了在不同採樣點觀察到的變化。此外，甲烷氧化基因檢測取決於環境因素，如溫度、pH 值、營養物質可用性和氧氣水準，這些因素會影響基因表達並導致檢測不到或低數值。
委員四 1. 整體進度合理，仍續注意後續進度完成情形。 2. 建議後續應評估不同操作條件對去除三氯乙烯的影響。 3. 建議應考量本技術未來於實場應用時該如何進行。	1.感謝委員的肯定。我們會繼續密切關注後續進度，確保按計劃完成所有階段的工作。 2.感謝委員給予評估不同操作條件對三氯乙烯去除影響的建議。在後續的研究中，我們將系統性地評估不同操作條件對三氯乙烯去除效果的影響，從而優化系統性能。分析結果已呈現在期末報告中。 3.感謝委員建議。在本年度計畫中，我們將逐步建立實場應用的可行性評估模型。目前，我們



	正進行小規模的現地試驗，以驗證實驗室結果在實場條件下的適用性和有效性，並根據試驗結果進行調整和改進，以確保技術在實場應用中的可行性和穩定性。實場進度的部份，在本期計畫中，我們已經成功將 MFC 系統裝設於污染場址，並完成 90 天連續操作的評估。
委員五 1. 本計畫 MFC 反應器第 45 天數據預計 6 月中取得，為符合原規劃研究進度，請加速建置 MFC 現地模組進入實場試驗。 2. 第 39 頁之甘特圖進度條皆為預期完成時間，建請補上各工項實際完成進度條。另，依甘特圖顯示，結案報告撰寫預計 11 月開始，礙於 10 月 21 日須提交成果報告，建議可提前執行該工項。 3. 第 2 頁之「專案基本資料表」為舊版表格，因此誤繕部分欄位，建議可直接套用申請計畫書（定稿）中第 1 頁已簽名蓋章之「專案基本資料表」即可。 4. 第 3 頁之「112 年度專案成果績效自評表」中的人才培育之研發人數，係指於本專案計畫期內培育或培養之人力，即參與本專案人數，故建議將「期中達成數」修正為「2」人。 5. 申請計畫審查意見回覆表請於定稿補上。	1.感謝委員的指導。目前我們已經安排加速建置 MFC 現地模組的工作，並已在 6 月底進行 MFC 現地模組試驗。 2.我們將根據建議，於期末報告甘特圖中顯示各工項的實際完成進度，以便更清晰地反映計畫進展狀況。此外，考慮到 10 月 21 日須提交成果報告，我們會提前開始結案報告的撰寫工作。 3.感謝您的提醒。我們將直接套用申請計畫書（定稿）中第 1 頁已簽名蓋章的「專案基本資料表」，以確保資料的準確性並避免誤繕問題。 4.我們將於期末報告中完成專案成果績效自評表的修正，以準確反映本專案計畫期內培養的人力，即參與本專案的人數。 5.感謝委員提醒，我們將在定稿時補上申請計畫審查意見回覆表。



環境部環境管理署「土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案」

□構想書 □申請計畫書 □期中報告
□修正計畫書 ■成果報告

審查意見回覆對照表

計畫年度	112 年度	計畫類型	□先導型 ■研究型 □模場型
計畫類別	■調查 □整治 □其他	主持人：許曷慕	NO：C3
計畫名稱	整合泥火山與生物炭於微生物燃料電池系統進行三氯乙烯地下水污染生物整治		
審查意見		執行單位回覆	
委員一		1. 感謝審查委員對於本計畫成果的肯定。 2. 關於本團隊後續優化 MFC 系統方法之建議，我們已於定稿版中列入未來的優化方向，具體方法包括： (1) 強化微生物種群的穩定性：透過優化操作條件、微生物培養基的配方，並探索更適合的微生物株來提升能量轉換效率。 (2) 電極材料改良：選擇更具導電性的材料，並進行表面處理，以提高電極與微生物的互動效果。 (3) 系統設計優化：改善反應槽的設計，提升電流密度及質量傳遞效率，並減少能量損失。 (4) 長期運行測試：進行長時間運行測試，觀察系統的穩定性，並針對不同條件下的效能進行調整。	
委員二		1. 感謝審查委員對結論與建議部分的寶貴建議，我們將依照要求，將結論與建議部分進行條列式整理，並新增「建議」章節，具體說明未來計畫中將如何進行優化，以提升三氯乙烯的去除效率。具體優化方向包括： (1) 進一步優化微生物燃料電池系統，提升其對三氯乙烯的降解效率。 (2) 探討新型材料（如生物炭、泥火山等）的改良方案，提升其與微生物燃料電池系統的整合效果。 (3) 強化系統的穩定性與持久性，保證長期運行中的高效能。	
1. 本計畫成果績效皆完成，如投稿國內外研討會/期刊論文、人才培育等，予以肯定。 2. 建議於報告中說明後續優化 MCF 系統之方法，以提高系統之效能與持久性。		1. 本計畫結論與建議部分，建議以條列式說明；並新增「建議」章節，說明本計畫未來將如何優化，以提升三氯乙烯之去除效率。 2. 建議宜針對整合泥火山與生物炭於微生物燃料電池系統進行三氯乙烯地下水污染生物整治方法的成本效益詳細說明，並與傳統整治方法進行成本比較，以利務實評估未來商業化及規模化發展性。 3. 成果績效自評表之產業面無相關績效，本計畫未來是否朝如合作研發產業、申請專利、	



洽談技術移轉廠商等方向持續努力。 4. 本計畫提供 2 次的諮詢服務，建議宜於期末報告中說明。 5. 透過混合式整治方法，對於提升含氯污染物降解效率有相當助益。	2. 感謝審查委員提出的建議。我們將在期末報告中，我們將”詳細分析整合泥火山與生物炭於微生物燃料電池系統中的成本效益，並將其與傳統三氯乙烯地下水污染整治方法進行比較”之策略列入新增「建議」章節，後續成果說明將於本計畫進入實場規模前提出說明報告。目前提出之評估策略包括： (1) 系統建置成本：討論所需材料、設備投資、安裝成本等。 (2) 運營成本：考量能源消耗、維護費用及替換成本等。 (3) 效益評估：包括污染去除效率與處理時間等指標，並與傳統處理方法（如化學氧化、物理吸附等）進行比較。 (4) 商業化潛力：根據成本效益分析，探討該方法在商業化及規模化發展中的可行性，並提出可能的市場應用方向。 3. 感謝審查委員的指導。針對本計畫在未來積極尋求產業界的合作機會，我們已在本期末報告「建議」章節，提出如下之策略規劃： (1) 合作研發：與環保科技公司、污染治理機構等進行技術合作，進一步完善三氯乙烯地下水污染治理技術。 (2) 專利申請：在技術穩定與應用方面，將積極申請相關專利，保護創新成果並推動技術商業化。 (3) 技術移轉：與產業界的技術移轉廠商洽談，探索技術商業化路徑，並加速將本計畫成果轉化為實際應用。 4. 感謝審查委員的提醒。我們已在期末報告中，說明提供的兩次諮詢服務的內容與效果。相關諮詢服務內容如下： (1) 針對三氯乙烯地下水污染廠家討論其目前整治進度 根據目前的整治進度，三氯乙烯地下水污染的修復工作已經進行一段時間，但仍需進一步加強進度和成效評估。現階段的整治工作主要依賴傳統的物理和化學方法，然而，這些方法雖能有
---	---



效去除部分污染物，但對於更深層次的地下水污染，可能效果有限。若考慮採用微生物燃料電池方法來處理三氯乙烯地下水污染，將會是具前景的技術選項。MFC 方法可利用微生物的代謝作用將有機污染物轉化為無害物質，並同時產生電能，具備環保及能源回收的雙重優勢。預期若採用 MFC 技術，所需的設施和裝備包括：

- A. MFC 反應器：設計適合地下水污染場地的反應器，確保微生物能有效降解三氯乙烯。
- B. 微生物菌群：選擇適合分解三氯乙烯的微生物菌群，並監控其活性與穩定性。
- C. 水質監測系統：搭建水質監測設備，以實時追蹤整治效果。

在預期達成的時效方面，假設選擇適合的 MFC 系統，並且進行合理的設置與操作，一般可在 6 至 12 個月內達到明顯的整治效果，具體時間依場址的污染程度和系統的運作效率而定。

- (2) 針對目前負責整治之顧問公司交換生物整治法、MFC 整治概念、生物菌群分析及數據解讀方法，以便尋求在未來新場址整治上合作之機會在與目前負責整治的顧問公司進行諮詢服務中，針對下列議題進行交流：

- A. 生物整治法與 MFC 技術的整合：生物整治法（如利用微生物分解污染物）與 MFC 技術的結合，能有效提升地下水污染的修復效率。討論如何根據不同的場址特點來選擇最合適的技術路徑，並進行混合模式的應用。
- B. 生物菌群分析：針對目前場址的微生物群落結構進行詳細分析，確保所使用的微生物能夠有效降解三氯乙烯及其他可能的污染物。分析方法可包括基因組學技術、16S rRNA 基因測序等，從而選擇最具降解能力的菌群。
- C. 數據解讀方法：對整治過程中的監測數據進行科學解讀，確保數據能夠準確反映整治效果，並根據數據調整微生物菌群配置和 MFC 系統運行參數。這不僅有助於監控現場的整治進度，也有助於未來的持續改進。



	5. 感謝審查委員對混合式整治方法的肯定。我們會在延續型計畫中進一步詳細說明混合式整治方法的具體應用情境，並強調其在提升含氯污染物降解效率方面的優勢。透過將不同技術進行有效整合，我們預期能夠實現更高的污染處理效率。
委員三 本計畫整合生物炭管柱微生物燃料電池(TMFCs)用於 TCE 污染地下水整治，評估其可行性並透過甲烷氧化菌之接種進行強化。研究成果顯示計畫所設計的 TMFC 反應器效能具有更高的微生物活性、電子轉移效率，可作為一種環保且具可持續性的生物整治技術。針對期末報告有以下幾點建議： 1. 請確認表 4 TA-D15 的 EC 單位為 mS/cm 或是 $\mu\text{S}/\text{cm}$？因 TA-D15 對應的 TDS 濃度相對較低；也請確認 TA-D30 的 EC 值是否有誤植，此樣本 TDS 濃度與其他樣本相近，但 EC 卻存在差異。 2. 表 4 結果顯示在現地處理第 90 天時，陽極和陰極的 TDS 由 6590 和 6920ppm 大幅降至 321 和 51ppm，是否有相關文獻解釋此現象？另外，建議 ppm 以 mg/L 表示之。 3. 期末報告表 2 的 TCE 及衍生物濃度為依據期中報告的分析結果換算，但部分衍生物濃度似乎有換算錯誤，請確認濃度是否有誤植；在方法 P.17 有提到「額外添加了 5mg/L(0.0034mL)的 TCE。」，如依照括號的體積所述，添加 0.0034mL 配製成 5mg/L，則添加溶液的 TCE 濃度會比市售 TCE 標準品高出許多，請確認是否計算有誤。 4. 期末報告已補上地下水質的分析結果，但對於地下水質如何影響 MFC 系統的性能沒有更多描述，建議補充說明之。 5. 如有分析現地規模反應器 TCE 及其衍生物	1. 感謝審查員的建議。關於表 4 中 TA-D15 的 EC 單位，我們已檢查並確認所有值（包括 TA-D15）的 EC 單位均為 mS/cm。針對 TA-D15 和 TA-D30 的 EC 值，我們已在修訂版的最終報告中進行了全面修正。 2. 在修訂版的最終報告中，表 4 中的 TDS 值已由 ppm 轉換為 mg/L。高 TDS 值的突然下降可能表明微生物燃料電池成功實現了 TCE 的整治。碳氫化合物污染水中低 TDS 是一種有利於生物處理的標誌，並強烈支持生物電化學降解的活性（參考 Chandrasekhar & Mohan, 2012; Kondaveetiet al., 2023）。此外，由於 MFC 系統中的電位差，陰離子和陽離子會向陽極和陰極室擴散，導致 TDS 水平降低（Kondaveeti et al., 2023）。先前的一項研究表明，在處理碳氫化合物污染廢水的生物電化學系統中，TDS 去除率可達 80%（Chandrasekhar & Mohan, 2012）。低 TDS 也與含有較少溶解雜質的水質相關。例如，飲用水的 TDS 水平在 50 至 150 mg/L 之間被認為是安全且適合飲用的（Mohsin et al, 2013）。在我們的研究中，第 90 天現場陰極（ISC-90）顯示出 TDS 值為 51 mg/L。而現場陽極（ISA-90）的 TDS 值比 ISC-90 高，因為陽極含有泥火山泥漿，該泥漿由於其成分和高礦物質含量，自然具有較高的 TDS 值。另外，第 90 天採集的水樣比第 0 天和第 45 天的水樣更清澈透明。這一觀察進一步支持了 MFC 系統在改善水質方面的效率。 3. 表 2 中 TCE 及其衍生物的濃度以地下水的 mg/L 表示，這在表 2 的描述中已有明確說明。將 5 mg/L 的 TCE 轉換為 mL/L 時，我們使用了液態 TCE 的密度 1.46 g/mL。首先，將所需



的濃度變化趨勢，建議整理成圖表(如圖 4)並搭配圖 10 解釋其降解過程。

6. qPCR 結果顯示實驗室反應器(TC 組)和現地處理反應器的組成相近，表示具有一定的微生物活性，然而兩者處理的 TCE 濃度不同(5mg/L v.s. 0.0434mg/L)，且現地規模處理的時間相較於實驗室規模延長至 90 天，建議加強現地規模 v.s.實驗室規模差異的討論，以確保未來在不同地質條件、污染濃度及場址特性下的適應性與靈活性。

濃度 5 mg/L 轉換為每升的克數，得到 0.005 g/L。根據公式：

$$\text{體積 (mL)} = \text{質量 (g)} / \text{密度 (g/mL)}$$

計算得到所需的液態 TCE 體積為： $0.005 / 1.46 \approx 0.0034 \text{ mL/L}$ 。這意味著要在 1 升地下水中達到 5 mg/L 的 TCE 濃度，僅需 0.0034 mL 液態 TCE。由於實驗室中的 TCE 為液態形式，我們通過計算液態 TCE 的所需體積來達到 5 mg/L 的濃度。根據 TCE 的密度 (1.46 g/mL)，我們確認 0.0034 mL 液態 TCE 溶於 1 升地下水即能達到 5 mg/L 的 TCE 濃度。因此，計算結果沒有錯誤。固態形式的 5 mg/L 濃度對應液態形式的 0.0034 mL/L，確保了計算和報告數據的一致性。

4. 在我們的研究中，通過典範對應分析 (CCA) 詳細分析了實驗室規模下適宜的環境因子及其與 MFC 系統性能的關係。我們結果表明，陽極樣品中較高的電導率 (EC)、較低的 pH 值與甲烷營養細菌 (如 *Methylococcus capsulatus* 等) 的增強活性密切相關。陰極樣品顯示 TDS、pH 值與 TCE 降解菌 (如 *Dehalococcoides mccartyi*) 之間有顯著相關性。這些結果表明在最佳地下水條件下還原性脫氯效率得到增強。
5. 我們在圖 11 中提供了現地反應器中 TCE 及其衍生物的濃度趨勢，並已在內文中進行了詳細描述。
6. 我們已在最終報告中詳細討論了實驗室反應器的結果。然而，由於現地規模反應器相關的 DNA 測序數據尚未完全獲得，目前無法深入比較田間與實驗室反應器的適應性和靈活性，我們將在未來期刊論文撰寫與發表中充分考慮此一關係。

參考文獻

Chandrasekhar, K., Mohan, S.V., 2012. Bio-electrochemical remediation of real field petroleum sludge as an electron donor with simultaneous power generation facilitates biotransformation of PAH: effect of substrate concentration. *Bioresource technology* 110, 517-525.



	Kondaveeti, S., Govindarajan, D., Mohanakrishna, G., Thatikayala, D., Abu-Reesh, I.M., Min, B., Nambi, I.M., Al-Raoush, R.I., Aminabhavi, T.M., 2023. Sustainable bioelectrochemical systems for bioenergy generation via waste treatment from petroleum industries. Fuel 331, 125632. Mohsin, M., Safdar, S., Asghar, F., Jamal, F., 2013. Assessment of drinking water quality and its impact on residents health in Bahawalpur city. International Journal of Humanities and Social Science 3, 114-128.
委員四 1. 建議應考慮未來應用時所遇到的困難進行研究並提出解決方案。	感謝審查委員提出的寶貴建議。為回應委員建議，我們已於本期末報告「建議」章節，針對未來應用中可能遇到的困難，根據下列面相，提出相應的解決方案策略： 1. 地下水變異性與污染物分佈:地下水成分（如 pH、溶解離子、有機物等）和 TCE 污染物的空間分佈變化會影響 TMFC 系統的性能。 解決策略：進行全面的場址地下水分析，以針對不同場所調整 TMFC 配置。開發可適應設計的 TMFC 系統，可根據現場條件調整參數（如電極間距、生物炭添加量）。 2. 長期穩定性與耐用性:確保 TMFC 系統在現場條件下的長期功能和耐用性，對於大規模應用至關重要。 解決策略：使用耐腐蝕的材料製作電極和膜，以抵抗長期暴露於地下水中的腐蝕。進行長期試驗，評估降解過程中的性能，並優化維護方案。 3. 與現有基礎設施的整合:TMFC 系統是否能有效地與現有的污染整治設施相結合，會因場地而異。 解決策略：設計可模組化的 TMFC 單元，便於與現有的污染場址整治井結合。開發簡易安裝和監控的部署套件，便於現場使用。 4. 將實驗室規模的效率提升到現場應用規模，需要解決許多操作和實際問題。



	解決策略：進行系統的現場試驗，收集規模化後的數據，了解其在現實環境下的效果。與產業界合作，開發適合現場應用的原型設備，並優化性能。 5. 成本效益與市場接受度：高額的初期成本和長期效益的不確定性可能會限制市場的採用。 解決策略：進行成本效益分析，將 TMFC 技術與傳統整治方法進行比較。在向相關利害關係人和潛在使用者進行推廣時，強調其環保效益（例如：降低能源消耗和化學品使用）。
委員五 1. 本計畫研究進程符合預期完成進度，且成果報告內容撰寫完整，具豐富階段性成果，對未來模場型計畫亦有助益。 2. 請補充說明生物炭 coating 於電極上的 coating 方式、成分測試條件及成品最佳條件為何？ 3. 請說明實驗室最佳化條件之管柱微生物燃料電池裝置移至現地模場試驗後，是否有改變裝置參數？ 4. 目前現地模場試驗執行 90 天，未來對於試驗天數拉長是否有規劃？如天數拉長為 135 天或 180 天等，其成效預估為何？ 5. 第 19 頁提及陽極室以泥火山污泥及三氯乙烯污染地下水按 8:2 比例進行接種，請補充說明 8:2 的比例如何實驗得到？ 6. 其他格式建議： (1) 表格如有跨頁，請重複標題列。 (2) 表 2 中關於備註「N/A」說明，請再精準描述，避免造成誤解。 (3) 圖 5 與圖 6 之圖標題應於圖片下方，勿跨頁顯示。	1. 感謝審查委員對本計畫研究進程與成果報告的肯定。 2. 感謝審查委員的提問。關於生物炭電極的 coating 方式，具體操作方法如下： (1) Coating 方式：我們使用竹炭與聚偏二氟乙烯 (PVDF) 溶液混合，按 8:2 的比例製成塗層漿液，並將其均勻塗覆於碳布或鈦電極表面。塗覆後，將電極浸泡在蒸餾水中約 15 分鐘，確保良好的附著性，隨後在 80°C 下乾燥 24 小時。 (2) 最佳條件：經過實驗室測試，我們發現生物炭與電極的最佳 coating 比例為 80g 竹炭與 20ml PVDF 溶液的比例，這樣的比例能夠保證電極的高導電性與穩定性。 3. 在將實驗室最佳化條件的管柱微生物燃料電池 (TMFC) 裝置移至現地模場試驗後，我們對裝置參數進行了適當調整： (1) 電極配置：現地模場試驗中，為了適應地下水井的實際環境，我們調整了陽極和陰極的尺寸和配置，以便更有效地覆蓋污染區域。 (2) 反應器體積：現地反應器的體積相比實驗室規模有所增大，以容納更多的地下水樣本，確保能夠處理更大範圍的污染。 (3) 生物炭添加量：在現地試驗中，我們稍微增加了生物炭的添加量，以增強電極的穩定性和增進微生物降解 TCE 的效果。 4. 感謝審查委員的建議。未來我們確實計劃延長現地模場試驗的時間，以便進一步觀察系統的



長期效能。預計將延長至 135 天或 180 天，這樣能夠深入了解系統在長期運行下的穩定性與效果。根據先前的實驗結果，我們預計：

- (1) 135 天：我們預期 TCE 降解的效率會逐漸穩定，並且在長期運行下，系統的微生物群落將進一步優化，提升降解效果。
- (2) 180 天：隨著試驗天數的延長，系統有望達到穩定的生物降解平衡，進一步降低 TCE 及其衍生物的濃度。

5. 感謝審查委員的提問。關於 8:2 比例的實驗確定，我們已補充說明，並通過以下步驟進行：

- (1) 實驗設計：我們設計了不同的泥火山污泥與污染地下水的混合比例，並測試了各比例對微生物降解效果的影響。
- (2) 結果分析：在多次測試後，我們發現 8:2 的比例能夠最大化提供有效的微生物群落，並且在 TCE 降解過程中表現出最佳的降解效率。因此，這一比例被選定為最佳接種條件。

6. 感謝委員對於格式之建議。修正如下：

- (1) 我們將已在期末報告中對表格進行格式調整，確保標題列在跨頁表格中能夠重複顯示。
- (2) 我們已明確說明「N/A」的含義，並且在表格中提供具體的說明，避免讀者對數據的理解造成困惑。
- (3) 我們已將圖標題移至圖片下方，並避免跨頁顯示，提升報告的整體可讀性。