



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

開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生 物加強傳輸工法：現地模場試驗 期末報告（定稿）

主 辦 單 位：  環境部環境管理署

專案執行單位：國立中央大學/生命科學系

專案主持人：陳師慶 教授

專案執行期間：112 年 12 月 18 日起至
113 年 11 月 29 日止

中 華 民 國 113 年 12 月 印製





112年度土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗申請計畫書

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-RE-C77-M	
專案類別(單選)	☐ 先導型 ☐ 研究型 ☒ 模場型		研究主題	☒ 整治 ☐ 調查 ☐ 政策類或其他	
申請機構系所	國立中央大學/生命科學系				
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	特聘教授	
協同主持人	董天行		職等/職稱	經理	
專案名稱	中文	開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗			
	英文	Develop high-efficiency dechlorination consortia and optimize the bioaugmentation strategy of bioremediation in chlorinated contamination: pilot study			
	關鍵字	脫氯球菌、生物加強、生物整治、三氯乙烯、完全脫氯			
執行期程	自民國 112 年 12 月 18 日起至民國 113 年 11 月 29 日止				
專案主持人	姓名：陳師慶	E-mail：osychna@ksts.seed.net.tw	專線：03-4227151#65083	手機：0929057590	
	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		第一年申請經費	第二年申請經費	編列說明
	1.	人事費用	542,708	580,000	(1~5項相加之50%為限)
	2.	設備使用含維護費	0	0	(與計畫實驗相關)
	3.	耗材與主要費用	1,113,292	1,419,200	(與計畫主體相關)
	4.	其它研究相關費用	0	25,800	(含差旅與租賃費用)
	5.	行政管理費	184,000	225,000	(1~5項相加之15%為限)
	6.	自籌款	0	0	(申請單位自行籌備款項)
	申請補助經費(1~6項)		1,840,000	2,250,000	總金額：4,090,000
計畫總經費(1~7項)		1,840,000	2,250,000	總金額：4,090,000	

- 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，須於申請公文內向本署說明，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 (簽名及蓋章) 日期：2024/2/15

(請蓋上申請單位大小章)



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

二、成果績效自評表：「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

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 或學術產出發表名 稱)
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	0	1		投稿113年台灣環境工程年會，論文名稱：以脫氯晶片監測於多氯乙烯污染場址之生物添加工法成效
	2.國外投稿 (篇數)	(1)期刊論文	1	0	1		投稿國際期刊 Environmental Pollution, 論文名稱: Analyzing Dehalochip: A Functional DNA Microarray for Reductive Dichlorination in Chloroethene-Contaminated Sites
		(2)國際研討會 論文發表	1	0	1		於113月9月29-10月4至新加坡參與 Dioxin 2024 - 44th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (POPs), 投稿論文名稱: An innovative permeable reactive bio-barrier to remediate trichloroethene-contaminated groundwater: A field study
	3.報告 (篇數)	(1)技術報告	0	0	0		
		(2)研究報告	0	0	0		
	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		
	6.研發改良 技術(項數)	(1)已開發技術	0	0	0		
		(2)技術平台	0	0	0		
	7.技術獎項(項數)			0	0		
B 人才	8.研發人員 (人數)	(1)碩士	3	3	3		丁律妤、郭柏陞、李妍蓓
		(2)博士	1	1	1		呂哲璋



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 或學術產出發表名稱)
項目							
培育	9.研究團隊 (個數)	(1)跨領域團隊	0	0	0		
		(2)跨機構團隊	0	0	0		
		(3)形成研究中心	0	0	0		
		(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	期末 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	1	1		I789838
			新型/設計	0	0	0		
			合計	0	0	0		
		申請中	發明	1	1	1		110126967
			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	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		
		收入(仟元)	0	0	0		
	2.諮詢服務	次數	0	0	0		
		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(%)		10	10	10		經 DPI 灌注工法後，污染物1,1-二氯乙烯濃度下降低於管制標準。
	5.整治成本降低(%)		10	10	10		經 DPI 灌注工法後，污染物1,1-二氯乙烯濃度下降低於管制標準。
	6.提升能源效率(%)		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)
1. 投稿國外研討會1篇，於113月9月29-10月4至新加坡參與 Dioxin 2024 - 44th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (POPs)，投稿論文名稱：An innovative permeable reactive bio-barrier to remediate trichloroethene-contaminated groundwater: A field study， 2. 投稿113年台灣環境工程年會1篇，論文名稱：以脫氯晶片監測於多氯乙烯污染場址之生物添加工法成效 3. 投稿國際期刊 Environmental Pollution 1篇，論文名稱：Analyzing Dehalochip: A Functional DNA Microarray for Reductive Dichlorination in Chloroethene-Contaminated Sites



4. 主要研究人力為3名碩士生及1名博士生學習執行專案及生物整治工程技術。

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)

- 1.申請及取得發明專利1件，並且該專利已技轉至歐氣科技股份有限公司。
- 2.與瑞昶科技股份有限公司洽談產業合作開發生物加強灌注工法。

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. 務實改善含氯有機物污染生物整治程序，預估可降低10-30%成本並提升10-30%整治效率。
2. 開發本土脫氯菌劑綠色產品，對於整治含氯有機物污染有正面發展。

四、產業界資源投入表

專案執行若有與產業界合作，請執行單位依實際量化成果填寫於欄位中。

投入資源類別	數量	說明
1.自籌款	0 元	
2.人力	0 人月	
3.設備	0	
4.其他資源 (請自行增列)	(請自填)	



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	111 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：陳師慶 NO：A8	
計畫名稱	開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗		
審查意見		執行單位回覆	
委員一 1. 計畫研究生物/菌劑潛在生態影響宜檢核。 2. 實驗參數掌控應再確認。		1. 感謝委員指教，本計畫會通過 qPCR 及 NGS 菌相分析去監測菌劑對環境的影響。 2. 感謝委員指教。	
委員二 1. 本計畫為以注入方式改善環境及添加菌種為與前年度被動式整治技術有明顯差異，具有新穎性。 2. 研究團隊已獲補助多年，成果良好；建議團隊執行時能推動技術轉移及實廠應用，加強技術應用實績。		1. 感謝委員肯定。 2. 感謝委員肯定。	
委員三 1. 有關開發高效本土脫氯菌劑去除含氯有機溶劑，該計畫構想書內載明目前國外技術成熟度已達 TRL9，為可商業化及量產之技術，而本計畫團隊之技術成熟度為 TRL6，建議宜參考國外相關菌種選擇及培育技術，將其所選之菌種與本土菌種之脫氯機制及商轉之成本效益做對比評估，並補充說明於構想書內，以利相關單位參考。		1. 感謝委員指教，本土菌劑之商轉優勢在於，國外菌劑需要透過進口至國內使用，其保存時效短、需進行外來物種檢疫、環境衝擊評估以及售價較高，同時，對於本土菌劑以及國外菌劑主要核心在於脫鹵球菌，由於本土脫鹵球菌已適應台灣之水土環境，其應用性及適應性將會更佳，同時在地增殖亦可降低運輸及保存之成本。	



委員四 1.研究主題符合土壤及地下水污染整治基金補助精神、探討課題實際、整體研究架構明確方法可行、技術未來應用及推廣性應加強。	1. 感謝委員肯定。
委員五 1.請補充說明有關脫氯生物菌種之環境限制條件或應用限制，以利後續技術應用之推廣。 2.有關含氯有機物之分解物種監測及反應機制之探討規劃為何？	1. 感謝委員指教，脫氯菌群需使用於 ORP<-100mV，pH 介於 6~8 之間，因此施做菌劑前需要先進行生物刺激將地下水轉變為厭氧態才可注入，可以搭配目前大部分之生物刺激藥劑，菌劑對於地下水之適應性將有利於技術推廣。 2. 感謝委員指教，使用脫氯菌劑將會進行厭氧還原脫氯反應，可將三氯乙烯降解成無毒的乙烯，因此在過程中將會持續監測相關代謝產物的消長，確認最終所有的目標污染物濃度皆低於管制標準。



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」

☒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	111 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：陳師慶 NO：SA7	
計畫名稱	開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗		
委員審查意見		計畫單位回覆	
委員一 1. 計畫主持人研究能力佳。 2. 採用新方法進行模場整治實驗。		1. 感謝委員肯定。 2. 感謝委員肯定	
委員二 1. 本計畫係延續先前研究成果，並進行改良，研究議題在國內具重要性。 2. 計畫團隊在此領域已執行多年計畫，經驗豐富，對於實場應用上，有其價值。對於發表期刊文章上，應無問題。 3. 建議計畫團隊後續可以尋求企業共同投入共同研究，並研究技轉可行性。		1. 感謝委員肯定。 2. 感謝委員肯定。 3. 感謝委員肯定，目前已經與幾間企業商討技轉事宜。	
1. 本計畫運用純熟厭氧培養技術培養國內外純種脫鹵球菌株，以收集我國各污染場址之地下水，進行優勢菌群之培養並加以分析其菌相結構及脫鹵球菌總類，且計畫團隊已培育相關脫氯菌群，可將三氯乙烯還原至乙烯且過程不易產生有毒污染物，其成效有助於強化我國實場整治技術。 2. 有關未來產出技術之應用規劃，建議宜補充本計畫所培養之脫鹵球菌菌群之應用條件及限制，於高濃度或低濃度污染場址作業之影響，並評估與現地菌群之競合關係是否降低該處理技術之成效，以利相關單位參考。 3. 有關計畫說明書，建議宜針對文章格式及文字內容進行重新校正，以提升報告書之完整度及準確性。		1. 感謝委員肯定。 2. 感謝委員指教，本團隊將會將這些事項加入我們的研究項目中，並在報告書中呈現成效評估。 3. 感謝委員指教，本團隊會再加強計畫書撰寫。	



委員四 1. 研究主題符合土壤及地下水污染整治基金補助精神、探討課題實際、整體研究架構明確方法可行、技術未來應用及推廣性應加強。	1. 感謝委員肯定。
委員五 1. 執行方式規劃得宜，現地試驗時對菌相的改變與實驗室的比較可進一步觀察。	1. 感謝委員肯定，未來進入場地後會比較現地菌相以及實驗室的菌相差異。
委員六 1. 開發本土脫氯菌群該菌群 能夠將三氯乙烯於 15 天內還原至無毒乙烯，現地降解的成效可進一步分析並展現。 2. DPI 灌注工法，能夠將含關鍵脫鹵球菌之脫氯菌群以加壓滲透方式輸送至不同深度。建議現地整治時，詳細評估可以處理的深度。	1. 感謝委員肯定。 2. 感謝委員指教，DPI 目前最深施作深度可達 100 米，適用於我國大部分場地需求，屆時將會表列每個深度的施做參數。
委員七 1. 請補充說明本計畫現地模場試驗，有關工程條件之掌控，研究團隊之專業領域為微生物，如何有效執行？ 2. 請具體說明本計畫針對現地生物加強傳輸工法，相關執行方法、實施步驟以及驗證成效之指標為何？ 下列意見請確認，並於計畫書修正稿中修正： 3. p.39~41 耗材費用：設井工程建議優先使用既有井為原則，如有設井需求請以簡易井為優先。 4. p.42 雜項費用：碳粉匣編列以 2 支為上限，請再確認修正。	1. 感謝委員指教，團隊過去已執行多次貴署之模場計畫，已累積豐富的模場工程經驗，並且相關成果已發表國際期刊，同時，協同主持人為環工專業並有多年業界經驗，可以協助我們有效執行本計畫。 2. 感謝委員指教，由於 DPI 施作為第二年之計畫內容，屆時我們將會以污染物降解比例做為成效評估之指標，監測 qPCR 添加脫鹵球菌的數量可以做為傳輸範圍的評估依據。 3. 感謝委員指教，我們已與協同主持人討論後，將使用既有井作為測試，並且設兩口簡易井作為監測井。 4. 感謝委員指教，我們已修正經費編列。



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	111 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：陳師慶
計畫名稱	開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法:現地模場試驗（第一年）		
審查意見		執行單位回覆	
1. 經審閱階段成果報告已依申請計畫書定稿本執行,符合預期執行進度。		感謝委員肯定。	



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	111 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：陳師慶 NO：C7	
計畫名稱	開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法:現地模場試驗(第 1 年)		
審查意見		執行單位回覆	
委員一 1. 研究成果豐碩，符合預期工作進度。 2. 本計畫模場場址地下水主要污染物累積為 1,1-二氯乙烯，是否有針對現地進行脫氯菌群分析之資料，包括定性(NGS)與定量(qPCR)? 3. 除了菌群的因素，現地環境條件應會影響降解效能，建議應提供相關調查資料。 4. 建議應考量脫綠菌劑在不同現地環境條件下之降解效能評估。		1. 感謝委員肯定。 2. 感謝委員指教，在期末報告第 4.6 章有進行次世代菌相分析實驗以及 qPCR 分析脫鹵球菌功能性基因。 3. 感謝委員指教，現地環境條件亦對厭氧還原脫氯也是很重，關鍵的水參數為 pH 需中性、ORP 需小於-100mV，我們將會討論在期末報告中第 4.6 章節。 4. 感謝委員指教，未來會尋求更多的場址進行不同現地環境條件進行菌劑之脫氯降解效能測試。	
委員二 1. 請以預定進度及查核點說明期中報告達成狀況。 2. 建議系統性說明研究設計與執行流程。 3. 本模場試驗場址於 101 年公告後經過多年整治，應彙整說明其原始污染狀況及例年整治的變化，以釐清本計畫試驗的現況與條件設計。 4. 初步結果與討論建議應有系統性撰寫，分析實驗室研究結果是否符合期中預定進度應 5. 後續請提出規劃預定執行工作。		1. 感謝委員指教，預定進度及查核點已於第六章標註說明。 2. 感謝委員指教，本計畫透過本實驗室從現地模場建立的厭氧脫氯菌群資料庫中，開發應用於現地的脫氯菌劑並量產，使得菌量達可以達應用於現地整治之標準，同時確立脫氯菌劑的降解效能，並完成場地設置及菌劑 DPI 灌注規劃。 3. 感謝委員指教，模場區域現況已補充於第 4.6 章。 4. 感謝委員指教，目前相關分析結果皆按第六章之研究進度規劃完成，目前執行率為 100%。 5. 感謝委員指教，後續預第執行工作將會補充於第 4.7 章以及第六章(第二年)。	



委員三 1. P. 1 第一行「…被廣泛” 廣泛” 用於清洗」；P. 3 第三段第二行「…類型” 被” 」，贅字請刪除。 2. P. 1 第二行「…以及土” 壤” 中常見」；P. 2 第一段第六行「…225000” 頓” 」；P. 4 第三段倒數第三行「…減少二” 物” 傷害」；P. 12 第五行「…目前場” 池” 整治需求」；P34 圖 C 「40 天” 陪” 養」；P35 最後一行「…可直接選用” 天” 加菌劑」，誤繕請修正。 3. P3. 最後一段「…進行快速有效且環保的地下水處” “」，文句缺漏請補充；P. 10 第二段「作為最根本的整治策略」，文句跳行請修正。 4. P. 37 甘特圖說明已完成場址背景調查，建議詳述模場試驗場址之地質鑽探資料、現況地下水污染情形，以利規劃後續灌注深度及預計整治範圍。	1. 感謝委員指教，贅字已刪除。 2. 感謝委員指教，誤繕已修正。 3. 感謝委員指教，文句跳行已修正。 4. 感謝委員指教，現地地下水污染情形已補充於第 4.6 章。
委員四 1. 第一年期中查核目標已達成，本土脫氯菌群篩選、富集及效率分析已完成，可為下一階段現地模場試驗之基礎。	1. 感謝委員肯定。
委員五 1. P. 15 頁在圖 3 模場試驗區位置圖可知 M13 與 M19 為鄰近兩井，比對 P. 24 頁表 6 之含氯化物物種與濃度兩井相似符合預期。然 P. 25 頁圖 5 兩井在批次試驗相同條件下對 TCE 降解結果卻不一致，請補充說明可能影響。 2. 續上，圖 5 之 M20 與 M13 之 TCE 濃度下降	1. 感謝委員指教，雖 M13 與 M19 相近，但是兩口井約相距 3 米，因此其採樣之菌相亦可能有所不同，從結果顯示 M19 具有可以降解 TCE 至二氯乙烯能力的菌種，然而，M13 並沒有此類細菌，因此兩者降解結果不一致。 2. 感謝委員指教，我們會再深入釐清橡膠塞吸附 TCE 之問題，未來將會改成有含鐵芙蓉之塞子避免 TCE 非生物性



宜再釐清，若是橡膠吸收宜提出證明。 3. 依常態含氯烯類降解程序 1,1 二氯乙烯非 TCE 的主要降解代謝物，從現有數據顯示 1,1 二氯乙烯與三氯乙烯在本案場址可能分屬不同兩條含氯化物降解(或分解)之途徑請再討論後續可能衍生之影響。 4. P.24 頁表 6 之單位表示建議使用 mg/L，同頁未見「圖 5」表示。	影響。 3. 感謝委員指教，TCE 降解過程中確實會產生數種 DCE，1,1-DCE 是其中一種，然而，大多場地會累積於 <i>cis</i>-DCE，在本場地過去有 1,1,1 三氯乙烷的存在，本團隊認為該污染物亦貢獻一部分的 1,1-DCE。 4. 感謝委員指教，我們已經修正內容。
委員六 1. 經審閱期中報告內容，符合預期執行進度。 2. 請依徵求書附件 12 格式補充主要研究人力、產業界資源投入表。	1. 感謝委員肯定。 2. 感謝委員指教，已經補充主要研究人力以及產業界資源投入表。



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 ☒期末報告

審查意見回覆對照表

計畫年度	111 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：陳師慶 NO：C7	
計畫名稱	開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗(第 1 年)		
審查意見		執行單位回覆	
委員一 1. 建議應針對模場使用之藥劑或菌劑詳細說明，另針對碳源相關操作條件亦應說明清楚。 2. P45 圖 16 添加菌劑前後相關數據在統計上是否有差異？且此圖之資料如何計算得到亦應說明清楚，建議應針對每一點位添加菌劑前後進行統計分析比較合理。 3. P43 各點位脫氯菌相關 QPCR 資料，在添加菌劑前其實數值已相當高，如何區分降解氯烯類物質是因藥劑添加或是菌劑添加的貢獻。 4. 建議本計畫應建立現地添加降解氯烯菌劑的時機點，如低於多少數值需添加至多少方能有效降解氯烯類物質。 5. 建議應提供添加降解氯烯菌劑的成本及頻率等參數。 6. P40 ORP 與 P41 DO 值，是否符合厭氧脫率環境條件？		1. 感謝委員指教，因脫鹵球菌脫氯型態皆不盡相同，故在考量選擇適合模廠計畫之菌劑，以挑選可完全降解含氯有機物至無毒乙烯及脫氯過程中不累積中間產物之菌劑為主，菌劑之挑選已說明於章節 4.3-4.5，現地所使用的碳源為商用藥劑 Ecoclean，補充於章節 4.7.1。 2. 感謝委員指教，圖 16 脫鹵球菌菌數及關鍵脫氯基因檢測數據已修正為箱型圖，以利了解每一口井功能性基因上升的統計分布。 3. 感謝委員指教，瑞昶公司整治範圍與本專案實施菌劑模場測試區域互為獨立，且瑞昶公司整治區域污染物為三氯乙烯，模場試驗主要污染物為 1,1-二氯乙烯，在菌劑添加後 1,1-二氯乙烯濃度下降，關鍵脫氯基因 tceA 及 vcrA 上升，可以說明為菌劑發揮作用。 4. 感謝委員指教，未來將搭配分子生物技術 qPCR 檢測相關關鍵脫氯基因數及檢測污染物降解情形，文獻中於現地下水脫氯之有效菌數為每公升 106~107，因此建議現地脫鹵球菌若低於這個範圍應添加菌劑。 5. 感謝委員指教，我們將根據第二年計畫成果對成本及添加菌劑頻率進行統計及建立添加菌劑之標準。 6. 感謝委員指教，現地環境條件與厭氧還原脫氯息息相關，ORP 需低於-100mV，ORP 數據顯示模場試驗全部監測井 ORP 皆低於-100mV，僅 M25 之 ORP 數值較高，仍在容許範圍，故在此模場試驗符合厭氧脫氯條件。	
委員二 1. 研究成果豐富，研究內容符合原定研究需求。 2. 建議第一年的成果在第四章結果與討論中提供小結說明，並彙整整個階段性研究獲得		1. 感謝委員肯定。 2. 感謝委員指教，小節說明、參數條件、應用範圍及可行性結果分析皆彙整於第五章。 3. 感謝委員指教，第二年工作規劃及各項參數已補充說明於 P.60，第二年計畫會將經濟可行性及應用規模納入研究範圍內。	



的參數條件、應用範圍、及可行性分析結果，提供作為後續研究的參考依據。 3. 第二年期工作規劃，建議詳列個階段工作內容，各階段執行的參數條件的資訊，及整治應用規模的分析，同時也建議第二年研究應包括經濟可行性分析。	
委員三 1. 本案成果績效自評表中，產業面專利件數及技術移轉件數，達成數皆優於預估申請數，值得鼓勵，另政策面整治技術提升、成本降低目標各 10%，惟期末達成數為 0，若未達成請備註說明原因。 2. P. 12 倒數第四行及 P. 56 結論第三行「使得菌量”達”可以達應用…」，贅字請修正；P. 51 第一段第二行「…歸納”制”…」，誤繕請修正；倒數第二行「…更能”凸”添加脫氯菌劑…」，漏字請修正。 3. P. 34 本案已完成本土脫氯菌劑量產，建議可加強說明其有效使用濃度、如何確定影響範圍、使用限制條件及保存方式？ 4. P. 37 有關本案模場監測井深度及開篩範圍為何？如何維持脫氯菌壽命，確保菌劑可有效達到污染熱點，以發揮整治功效；整治完成後，該菌種是否造成其他生物影響。 5. 本案使用生態工法進行整治有利於整體環境復育，此計畫具有創新性與上位政策關聯性，有效優化整治程序且符合永續韌性理念；建議可與傳統整治工法(如：化學氧化法)進行成本效益分析，比較本技術和其他技術是否具成本上的優勢。 6. 建議未來現地試驗可評估選取有一定濃度以上多氯乙烯污染場址，以利在量測出脫鹵球菌數量成長的同時，亦可測得污染物的顯著降低，用以判別具有污染整治效果。	1. 感謝委員肯定及指教，將於第二年計畫中取得完整數據後評估達成數，已補充說明。 2. 感謝委員指教，贅字已刪除，誤繕已修正，漏字已更正。 3. 感謝委員指教，脫氯反應需過程仰賴脫鹵球菌，脫鹵球菌生長環境需 pH 為中性，ORP 小於-100mV，菌劑可常溫保存，地下水流向可影響菌劑傳輸範圍，可利用分子技術 qPCR 檢測脫鹵球菌菌數及脫氯基因確認影響範圍，經實驗室證明菌群可以降解大於 100 ppm 之三氯乙烯，依此本菌劑適用於大多數的模場。 4. 感謝委員指教，井深 10 米全開篩，脫鹵球菌只需要維持適當的厭氧環境以及給予合適的碳源，即可以維持其脫氯活性。要達到污染熱區，傳輸極其重要，因此本計畫所使用之 DPI 工法即可確保菌劑可有效達到污染熱點，完成精準整治。整治完成後，因脫鹵球菌將含氯有機物作為能量來源，一旦污染濃度下降，脫鹵球菌則因無能量來源菌數減少，故評估無生態危害之風險。 5. 感謝委員指教，因化學及物理整治方式往往整治期程長且藥劑及機器成本昂貴，然而整治效果差，在生物整治上成本較低且整治成功率高，詳細的成本統計說明將於第二年計畫結束後製表統計。 6. 感謝委員指教，在未來選擇模場區域會更注意場地污染物濃度。



委員四 1. 脫氯菌的批次試驗相當完整，然而模場的試驗效果並未呈現，且現地地下水環境條件之關係也未說明。 2. 學術論文發表尚未達標，且技術轉移沒有授權金產生。	1. 感謝委員指教，已於 p.37 更新表 10 整治前後灌注井及監測井之地下水濃度，1,1-二氯乙烯污染濃度經整治後，M25 降解率達 80%，M26 降解率達 59%，M27 降解率達 33%，補充說明於 4.7.1。 2. 感謝委員指教，目前授權金還在商討，第二年計畫將完善學術論文及授權金處理。
委員五 1. P30 頁從圖 8 的含氯化物變化趨勢，ASEK12 之降解表現優於 D345，例如 TCE 在 ASEK12 菌存在下約 7 天既下降至 0，而 D345 在 20 天後才下降至 0。另 VC 的趨勢兩者相當，請補充說明屏除 ASEK12 的原因。 2. 請補充說明 P38 頁 pH 值在井 25 與井 26 試驗過程中出現 pH>10 之可能原因及對實驗可能之影響。	1. 感謝委員指教，因菌群 D345 在菌群結構中可以看出產氫類細菌比例較多，可提供脫鹵球菌在脫氯過程所需之氫氣，而菌群 ASEK12 因發酵細菌比例較少，在量產過程菌群結構較不穩定，因此本菌群不易量產，故選擇經量產後仍可穩定脫氯之菌群 D345 作為模場試驗之菌劑。 2. 感謝委員指教，此模場區域經現地試驗時發現有 pH 值較高的情況，目前以緩衝溶劑調整 pH，但在表 12 以 qPCR 檢測脫鹵球菌菌數及功能性基因皆有比整治前高，污染物亦有降解，說明菌劑在此二井仍有脫氯功能，可以再持續觀察。
委員六 1. 報告 30 頁顯示 ASEK12 菌群脫氯效果比 D345 菌群好，請說明為何非量產 ASEK12 菌群。	1. 感謝委員指教，因菌群 D345 在菌群結構中可以看出產氫類細菌比例較多，可提供脫鹵球菌在脫氯過程所需之氫氣，而菌群 ASEK12 因發酵細菌比例較少，在量產過程菌群結構較不穩定，因此本菌群不易量產，故選擇經量產後仍可穩定脫氯之菌群 D345 作為模場試驗之菌劑。



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：陳師慶 NO：S6	
計畫名稱	開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗(第 2 年)		
審查意見		執行單位回覆	
委員一 1. 本案專案成果績效自評表中，第三大項產業面預期研究成果說明，本案將申請發明專利，與瑞昶科技洽談產業合作，惟產業面無預估目標達成度，計畫內容亦未提及專利申請，是否為前期計畫成果，另模場計畫中瑞昶科技參與情形為何？建議是否由其提供成本效益分析中傳統工法整治費用及效益，以協助務實評估未來商業化及規模化發展性。 2. 本案第一年度已進行場址前期調查，建議摘述模場試驗場址之地質現況、地下水污染情形、菌相分析結果及前期研究成果重點，以利後續評估傳統工法與本整治工法之成效優勢。 3. 專案成果績效自評表中政策面，整治技術提升及整治成本降低各 10%，建議述明比較基準及評估方式。 4. P.22 學術成果表示可培訓 2 至 4 位碩士班研究生，與專案成果績效自評表中，人才培育 3 位碩士及 1 位博士不符，另產出 2 篇碩士論文、2 篇國內外會議論文並衍生 1~2 篇 SCI 國際論文，建議可納入專案成果績效自評表中預估達成目標。		1. 感謝委員指教，本菌劑包含關鍵脫氯酶素基因 <i>vcra</i> 之脫鹵球菌，已核准台灣專利專利(I789838)，為第一年度計畫成果，模場計畫中瑞昶公司主要提供 DPI 技術指導、採樣與監測分析協助計畫進行，本團隊將會在第二年度結束後將詳細成本效益分析加入報告書中呈現，以利後續評估未來商業化及規模化發展性。 2. 感謝委員指教，已將第一年度研究成果針對地下水水質及脫氯特性、脫氯菌劑篩選及量產測試與脫氯菌劑 DPI 灌注工法模場試驗摘述至 P.13。 3. 感謝委員指教，第二年度將收集更全面的數據建立更詳實的評估方式。 4. 感謝委員指教，已更新 P.23 學術成果可培訓 3 位碩士班研究生及 1 位博士，將 1~2 篇 SCI 國際論文納入專案成果績效自評表中。	
委員二 1. 培養本土脫鹵球菌以降解含氯污染物，具實場應用性。 2. 建以強化說明由實驗室效能生產模場處理規模所需 1 批次菌量所需的培養時間、菌種保存方式及與傳統生物刺激法的實		1. 感謝委員肯定。 2. 感謝委員指教，脫鹵球菌一批次培養週期為 40 天，可常溫保存 3 個月以上，傳統生物刺激法需要添加藥劑以利微生物進行生長，然而市售藥劑無法確保現地	



際成本效益差別。 3. 請修正報告中誤植處 (1)P.11 競爭”氣”氣。 (2)P.13 本計畫將於”桃園市龍潭區受 TCE 污染…進行模場試驗”，但 P.18 與文本文件均為萬寶至公司(高雄)。	微生物可完全脫氯，因此，使用可完全脫氯的生物強化法可大幅提升藥劑的使用效率，檢賞整治時間降低整治成本的方式。 3. 感謝委員指教，誤繕已修正，模場試驗為高雄市萬寶至公司已進行修正。
委員三 1. 本計畫擬以兩年時間執行，第一年擬篩選及蒐集脫鹵球菌菌群，並進行降解效率測試，以及量產；第二年則於模場測試，進行灌注、以及成效監測、及應用性評估。主持人過去在此領與累積相當多的經驗，研究成果佳，執行本計畫應可以勝任。 2. 計畫書中對於第一年研究成果，並未說明，無法判定第一年的脫鹵菌群量產及現場水質調查成果。 3. 研究中擬執行相當多的分子生物分析工作，建議應該檢討其合適性及必要性。 4. 計畫中有顧問公司參與，且領有主持人費用，建議顧問公司應有適度投入經費。	1. 感謝委員肯定。 2. 感謝委員指教，經現場水質調查現地下水水樣，該地主要為 1,1-二氯乙烯污染，其濃度為 0.0888mg/L，超過管制標準，TCE 之濃度為 0.0039mg/L，低於管制標準，透過培養現地地下水微生物，發現無可還原脫氯三氯乙烯與二氯乙烯之微生物，因此判斷該地須透過生物強化法加入優勢菌種進行脫氯反應，本團隊過去收集全台地下水進行培養，最終培養出在脫氯過程中，不累積中間產物之 D345 菌群，進而進行量產，其菌數可達 10^{11} cells/L。 3. 感謝委員指教，分子生物分析如 qPCR 可幫助了解現地地下水脫氯功能性基因表現，同時，在生物強化法施行後，監測功能性基因，可藉由 qPCR 監測脫鹵球菌生長之多寡，作為脫氯的生物指標，也可做為灌注後流佈變化的依據，宏觀基因體學則可協助瞭解環境菌相，以利了解菌種間對於脫氯的貢獻。 4. 感謝委員指教，顧問公司作為協同主持人提供 DPI 技術指導、採樣與監測分析，故已對本計畫有相當的貢獻。
委員四 1. 有關成果績效自評表要求說明學術面、產業面、政策面等預期量化成果，其中產業面提及欲申請發明專利 1 件，然表內無相關申請目標，建議宜補充之。 2. P.22，有關預期所獲成果與貢獻，內文說明本計畫可達成之效益，除針對學術面的部份說明，建議宜針對產業面及政策面期望可達成之效益及方向進行說	1. 感謝委員指教，自評表已更新已核准發明專利 I789838，已補充在檢附專案主持人近 3 年成果績效佐證資料中。 2. 感謝委員指教，在產業面本計畫將於第二年度將菌劑製成商品化產品，提供環境整治公司使用於含氯有機污染場址中，在政治面本計畫成果將提供政府單位建立以生物整治含氯有機污染場址之



明，以瞭解本計畫執行成效。 3. P.34，有關專兼任人員學經歷說明，因本計畫於 P.26 主要人力計畫中說明各項人力執行內容，針對兼任人力建議宜補充學經歷證明，以供審查單位查閱。 4. P.41，有關第一年耗材與主要費用，表內消耗性器材：厭氧菌特殊容器單價為 23,400 元，但其共購入 3 批，總價部分仍為 23,400 元，建議宜修正之。 5. 本研究發展創新生物加強整治工法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，有助於我國未來污染場所生物復育與整治改善。	數據指標。 3. 感謝委員指教，已將有關專兼任人員學經歷說明補充在 P.34。 4. 感謝委員指教，我們已修正經費編列。 5. 感謝委員肯定。
委員五 1. 研究主題符合土壤及地下水污染整治基金補助精神、探討課題實際、整體研究架構明確方法可行、技術未來應用及推廣性應加強。	1. 感謝委員肯定，本團隊會再加強技術未來應用及推廣性。
委員六 1. 績效自評表未納入申請專利 1 件(二、三產業面不一致)。 2. 選定場址的水文地質及污染資料未見，是否於注菌藥劑前完成，營養基質與藥劑灌注在前 1~2 個月是否需調整時間。 3. 耗材經費編列詳實。	1. 感謝委員指教，已將自評表納入已核准專利標號為 I789838。 2. 感謝委員指教，本研究抽取場址中有監測井 M13、M19 及 M20 三口，檢測地下水含氯揮發性有機物 (VOC) 分析結果主要污染物為污染物 1,1-DCE 累積，在施行 DPI 工法灌注菌劑前，本團隊先以藥劑進行生物刺激，將現地環境調整為厭氧態以及適合脫鹵球菌生長之環境，再進行菌劑灌注，第一次菌劑灌注於 112 年 3 月 27 日，第二年度將進行第二次灌注，將強脫氯活性，觀察其菌相變化與污染物濃度變化，確保污染物能夠被完全移除。 3. 感謝委員肯定。
委員七 1. 第二年試驗為第一年計畫之延續，運用第	1. 感謝委員指教，第二年度將 DPI 工法灌注第二次灌注菌劑，觀察加入菌劑後，



一年開發之菌種結合 DPI 於實場測試效果。第二年計畫實驗規劃與執行方法可再詳細敘明。	對於地下水環境菌相影響，建立脫鹵球菌在模場生長最佳條件，透過結合 DPI 灌注工法達到精準整治，並且建立相關環境控制參數。
委員八 1. 主持人已有相關研究經驗與績效，對土水污染整治技術發展能力佳，足以勝任本專案計畫。 2. 本專案計畫著重於：已培養完成的脫鹵球菌的模場試驗。本計畫的執行對國內未來地下水污染整治工作推動有貢獻。 3. 計畫書撰寫具體，所提出的研究方法可行。 4. 本計畫具有潛在的實務應用潛力。 5. 主持人已有相關研究經驗，本計畫書中對文獻的蒐集整理頗完整。計畫書中對國內外本研究領域現況有所了解。 6. 本計畫屬於延續性的第二年度計畫，計畫執行期限的規劃合理。 7. 專案經費編列的合理性：本年度以現場試驗為主，經費略增。	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. 感謝委員肯定。 7. 感謝委員肯定。



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：陳師慶 NO：C7	
計畫名稱	開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗		
審查意見		執行單位回覆	
委員一 1. 執行重力灌注補強菌劑，除菌劑選擇外，是否還有其他限制因子？ 2. 目前已完成脫氯菌劑灌注補強試驗，且成效尚良好，請簡述後續如何評估生物復育技術整治成本效益。 3. P.66 本次提出建議略以，有關含氯有機物污染之生物整治場地，都需要先進行現地下水菌群培養測試以評估整治場地之脫氯能力，脫氯能力是否有可量化之評估指標。		1. 感謝委員指教，重力灌注補強之菌劑選擇外，現地地下水質參數也是參考重點，如 ORP、地下水流向及速度。 2. 感謝委員肯定，生物復育技術整治成本效益，主要以單位整治面積、藥劑投入成本、整治時間成本與菌劑成本，作為考量，詳細評估內容將與傳統生物刺激進行比較並列表於計畫書 p.77。 3. 感謝委員指教，地下水菌群培養測試在於評估該處地下水微生物原生菌群是否具脫氯活性，以評估後續生物整治策略，脫氯能力的評估主要在於脫氯的完全性，是否會累積於副產物以及時間長短，量化評估指標可針對現地微生物進行核酸萃取，經 qPCR 偵測脫鹵球菌數、還原脫氯功能性基因達 $10^7/L$ 。	
委員二 1. 本計畫所使用灌注井為固定深度注入方式，建議宜評估如何有效解決低透水性區域，或避免高/低透水性夾雜互層區域之污染。 2. 研究進度及預期完成之工作項目皆已完成，請持續進行後續監測，包括地下水水質參數量測(pH,EC,DO,ORP)及地下水 VOC 採樣分析，彙整數據、比較施作前後之變化。 3. 建議彙整本工法應用場址特性、操作參數、使用限制(如：環境因子、適用污染物物化特性等)及優缺點等，作為後續於實場應用之參考。		1. 感謝委員指教，DPI 灌注工法可同時針對高透水性區域低透水性區域進行灌注，並以灌注井之均勻深度進行灌注，因此可有效解決低透水性區域難處理之問題。 2. 感謝委員指教，將會持續監測地下水質與 VOC 變化，以利後續評估。 3. 感謝委員指教，ORP 建議低於-100mV，pH 介於 6~8 之間，與現場地下水環境建議無高濃度重金屬、硝酸鹽以及硫酸鹽之形況下進行施作，避免影響生物菌劑之活性。	



4. 建議針對本計畫整治結果進行效益評估及經濟可行性分析，並探討對於不同場址應用性以及後續應用適用範圍，以利務實評估未來商業化及規模化發展性。 5. 本計畫由現地模場建立之厭氧脫氯菌群資料庫中，開發應用於現地的脫氯菌劑，並透過開發量產製程使得菌量可以達應用於現地整治之標準及脫氯菌劑的降解效能，將有助於改善我國含氯有機物之整治瓶頸。	4. 感謝委員指教，將於計畫書 p.77 進行效益評估分析，以利後續評估生物菌劑之商業化及規模化發展性。 5. 感謝委員肯定。
委員三 1. 報告中有許多贅字，語句不夠通順，還有些許錯字及漏字，例如 P.9 第二段第 12 行及 16 行，請更正。 2. 基於脫鹵球菌中不同基因(vcrA, tceA...)影響降解三氯乙烯及其副產物之選擇性，建議說明是否影響脫氯能力。 3. 第四章以「實驗結果」做標題也是比較少見，建議改成「結果與討論」。 4. 由於是期中報告，最後以使用結論與建議做結束，比較少見，然而在結論中，並未提及脫氯菌劑於實場中之脫氯速率，且結論還有分小節，宜避免之。 5. M26 在 6/19 之二氯乙烯濃度略高於監測標準，對照表 9 所採集之水質參數，建議討論污染物濃度變化與其他地下水水質的關係。	1. 感謝委員指教，錯字已更正。 2. 感謝委員指教，vcrA 脫氯基因主要可將三氯乙烯脫氯成無毒乙烯，而 tceA 脫氯基因在一些脫鹵球菌菌株中發現會累積在氯乙烯造成二次污染，因此在生物整治中 vcrA 脫氯基因是脫氯完全生物整治之指標性基因。 3. 感謝委員指教，標題已做更正。 4. 感謝委員指教，因場址地下水環境屬於開放性空間，無法進行質量守恆計算，因此較難計算出實場脫氯速率，因而藉由評估考慮降解時間與濃度進行脫氯效果評估。 5. 感謝委員指教，M26 井在 6/17 時 pH 為 10，較為鹼性，因脫鹵球菌適合在 pH 為 7 時生長，因此推測可能 pH 過低而導致脫氯效率較差。
委員四 1. 整體進度說明並不清楚，除了說明前期計畫之成果外，建議應清楚說明本期計畫(112 年 12 月 18 日起)之進度完成情形。 2. 建議應清楚說明本期計畫第一年和第 2 年之關係為何?若從報告中來看，112 年 12 月 18 日後僅進行灌注與採樣分析。 3. 建議應釐清本期計畫與前期計畫在技術上之差異為何?除了整治地點不同外，在技術上的主要差異為何? 4. P.62 圖 14 提到透過 DPI 灌注可提升影響範圍，是否有相關數據證明。	1. 感謝委員指教，第一年主要在於生物脫氯菌劑的培養研發及量產，DPI 灌注菌劑測試，因時程關係於第一年度先進場測試，而第二年計畫因流程關係從 9 月份延後至 12 月，在這三個月期間本計畫仍持續執行監測、採樣以及分生測試。 2. 感謝委員指教，第一年主要在於生物脫氯菌劑的培養研發、量產、現場設井與 DPI 灌注菌劑，第二年工作目標在於持續監測 DPI 灌注後的 VOCs 數值、重力補強菌劑、分析功能性基因表現與分析現地微生物菌群經由 DPI 灌注後的菌相改變，探討生物菌劑對於



	現地微生物之影響程度，最後評估 DPI 灌注菌劑的經濟成本、商業化可能性以及環境影響評估。 3. 感謝委員指教，差異在於第一年度主要以開發與量產菌劑與 DPI 灌注為主，第二年將持續監測 VOCs、各項水質參數與脫氯功能性基因變化，並且使用第三代定序觀測現地微生物菌相改變程度。 4. 感謝委員指教，可透過萃取現地 DNA 分析生物菌劑可傳送之範圍進而評估。
委員五 1. 112 年度專案成果績效自評表之「B 人才培育」研發人數為 0，請再釐清。 2. p.31 表 8. 灌注井及監測井之地下水污染濃度表，請釐清採樣日期 112.12.28 之 GW04 三氯乙烯出現之可能原因(先前無濃度)。	1. 感謝委員指教，已於專案成果績效自評表進行更正。 2. 感謝委員指教，此處三氯乙烯濃度不高，後續測試皆低於監測標準，可能是土壤中還吸附些微的三氯乙烯，然而，對模場的成果影響不大。



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：陳師慶 NO：C7	
計畫名稱	開發高效本土脫氮菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗		
審查意見		執行單位回覆	
委員一 4. 專案自評表顯示，計畫期間如期達成國內外投稿數量與人才培育目標，且成功完成專利申請並獲核准，予以肯定。 5. P.1~P.14 前言與文獻探討內容未作明確區分，建議將內容分為「前言」與「文獻回顧」兩部分撰寫，以利閱讀。 6. 本計畫書內文多次提及「行政院環保署」，惟環保署已升格為環境部，宜重新檢視本報告並修正。 7. 本計畫係為二年期之計畫，故建議於 P.16 模場試驗地下水水質及菌相分析的採樣規劃表中加入具體年份，以利閱讀。 8. 本報告為期末報告，故建議避免使用如「目前規劃」等字眼，如 P.17 內文提及「目前規劃設置 4 口注藥及注菌井」。 9. P.29 內文說明本計畫採樣方式係依照標準方法 NIEA W108.50C，惟本標準方法業於 113.01.12 公告廢止，並整併納入「監測井地下水揮發性有機物被動式擴散採樣方法 (NIEA W108.51C)」，建議再重新檢視並修正。 10. P.30~P.32 表 8 彙整灌注井及監測井之地下水濃度，建議於本表中加入地下水監測標準及管制標準，以利檢視本試驗成效。 11. P.81~P.83 利用甘特圖說明本計畫期程，建議本表標示年份，以利檢視是否依照預定期程完成各工項；另本計畫之執行期程係為 112.12.18~113.11.29，惟本計畫多數工項未依照第二年度工作規劃進行，如本年度之進度圖顯示「營養基質與脫氮菌劑 DPI」規		1. 感謝委員肯定。 2. 感謝委員指教，此部分標題已修正。 3. 感謝委員指教，內文中的「行政院環保署」已修正為環境部。 4. 感謝委員指教，已於表 2 加入具體年份。 5. 感謝委員指教，已修正此處錯誤。 6. 感謝委員指教，已修正此處錯誤。 7. 感謝委員指教，已補充說明監測標準及管制標準。 8. 感謝委員指教，已補充說明計畫年份。執行計畫時，為了確保能順利執行完畢，大部份工項皆提早完成，此部分將補充於備註中。	



劃於 113.01~113.02 完成灌注，而於內文中表示第一次灌注時間為 113.03.27(P.29)，第二次重力灌注補強則於 113.09.18(P.42)進行，上述時間點皆並非為本計畫期程時間；「定量 PCP 監測脫氯基因變化」、「含氯有機物濃度與水質參數監測」及「次世代定序分析模場整治前後菌項變化」於進度圖中顯示將監測至 113.09，惟上述三者皆僅監測至 113.08，建議於備註中說明原因。。

委員二

6. 有關 qPCR 功能性基因分析數據顯示，在 DPI 灌注後脫鹵球菌(DHC)菌數雖有增加至 10^8 - 10^9 copies/L 的水平，後續數據顯示有逐漸下降的趨勢，建議應探討菌數下降的原因，並評估是否需要調整菌劑添加頻率或劑量，以維持足夠的脫氯菌群數量，確保整治效果之持續性。
7. 有關成本效益分析，雖生物強化法相較傳統生物刺激法可提升 194%效益，但建議應補充說明在不同地質條件、污染物濃度範圍下的適用性評估，以及 DPI 工法的深度限制等技術參數，以利後續技術推廣應用時之參考依據。
8. 有關菌相分析結果顯示，添加菌劑後確實改變現地微生物群落結構，但對於最終菌相回復原始狀態的時程尚未有完整評估，建議應持續追蹤監測更長期的菌相變化，以確認此生物強化技術對環境的長期影響與生態友善性。
9. 根據成本效益分析結果顯示，採用強生物強化法比起傳統生物刺激法可提升 194%效益，但建議需要補充說明在不同地質條件、污染物濃度範圍下的適用性評估，以及 DPI 工法的深度限制等技術考數，以作為後續技術推廣應用時之參考依據。

1. 感謝委員指教，菌數下降有需多因素，可能是營養基質使用完畢、新流進地下水物理稀釋或者污染物降解完畢使得脫鹵球菌數量下降，本次計畫所觀測到的情況應是最後者。未來若能持續監測維持後脫鹵球菌(DHC)菌數達 10^7 copies/L 以上的水平即可保持觀測，若是以下則可以額外利用重力流灌注補充少量菌劑或者規劃下次 DPI 灌注。
2. 感謝委員指教，未來若能使用在更多的場址本團隊將能獲得更多的使用參數以及技術限制，以本次計畫之成果，DPI 工法灌注脫氯菌劑應能應用至大多數的工業區。
3. 感謝委員指教，因限於本計畫期程僅兩年，我們僅能規劃約半年的回復期，已目前計畫成果看來本場地的菌相已逐步回復原始狀態，因此，對於使用生物強化技術對於生態的友善性我們是給於信任。
4. 感謝委員指教，未來若能使用在更多的場址本團隊將能獲得更多的使用參數以及技術限制，以本次計畫之成果，DPI 工法灌注脫氯菌劑應能應用至大多數的工業區。



委員三

5. 請說明在 M13 與 M20 監測井中，TCE 的濃度差異明顯且未觀察到脫氯產物生成，這是否與場址中的微生物群落差異或環境條件（如氧化電位）有關？環境條件是否影響脫氯效果？
6. 請說明 M25、M26 及 M27 已透過人為調整碳酸氫鈉緩衝試劑控制 pH，但其採樣的 pH 皆不穩定，是否會間接影響 1,1-二氯乙烯濃度或後續的菌項分析？如 M25 之 pH 最低為 6.78 最高為 10.20；M26 之 pH 最低為 7.36 最高為 11.27。
7. 圖 10 之圖表數據之採樣時間未標示清楚，無法得知此結果為連續採樣後的平均數值，還是僅採樣一次數值，請標示完整。
8. 在模場整策略治理的成本效益評估中，建議說明脫鹵球菌劑添加比例及其二氯乙烯降解效率之關係；另外，建議可統整添加脫鹵球菌劑之最佳化條件(包含處理濃度、時間、溫度、pH 等條件)。
9. 結論比較像是總論(summary)，建議依據研究目的，提出明確的結論。

1. 感謝委員指教，在本計畫的試驗期間，M13 與 M20 的 TCE 濃度皆低於監測標準，因此推測可能是背景中還殘留很微量的 TCE，無脫氯產物的產生可能是因為本菌劑所使用的脫鹵球菌菌種主要含有功能性基因 *vcrA*，其對於降解四氯乙烯及三氯乙烯的過程中具有不易累積二氯乙烯及氯乙烯之功效，可以在部份井中測得非常微量的 VC(低於監測標準)，可以見得為場地中菌劑持續降解污染物。
2. 感謝委員指教，本場址過去經過數間公司整治，使用過眾多工法，最終都沒能完成解列，因此場地初期可能還有殘留過去的一些藥劑影響到初期的水質參數，經過使用本次生物加強法的整治後，場址 pH 回歸中性且後其皆穩定無太大的變化，這也證明了使用生物整治工法的環性友善性及安全性，因此 pH 的部份對 1,1-二氯乙烯的降解及菌項分析皆無太大的影響。
3. 感謝委員指教，已經標示完整。
4. 感謝委員指教，添加比例的部分已於表 15 之公式說明，二氯乙烯的降解效率已於第一年成果中完成。脫鹵球菌的最佳化添加條件為 pH 6~8，ORP < -100 mV，根據本團隊 2022 所發表的文獻，脫鹵球菌濃度適用範圍將為三氯乙烯 3.5mM(約 3,000 ppm)以下，因此本菌劑應能用於高濃度污染場址。
5. 感謝委員指教，結論部份已加強在 5.3 中，提出明確的結論。



委員四 6. 建議表 8-表 10 結果應整理成有意義的圖方便理解。 7. 圖 18 建議應有更明確的說明，包括各項水質(包括含氯有機物)和整治前後微生物族群的相關性。 8. 建議應說明針對所開發技術於實場應用時之改進策略。	1. 感謝委員指教，未來發表國際期刊中我們會再重新統整水質參數表。 2. 感謝委員指教，由於本次試驗中，污染物濃度降解快速，因此再 RDA 數據中看不出有特別明確的關聯性，故我們並沒有在此處討論污染物與菌群的關聯性，然而，我們發現脫鹵球菌的菌數和污染物的關係較為密切，因此我們討論在 qPCR 數據的部份。 3. 感謝委員指教，已補充未來改善的方向，本工法未來於現地改良於現地整治將針對共污染問題進行強化，大多數場址可能包含氯烯、氯烷、氯苯等共污染，以及水質參數的干擾如硫酸鹽濃度過高等問題，本團隊將會開發更多的菌種及解決方案，使得生物強化法能夠地應用範圍可以再更廣泛。
委員五 2. 請說明使用本土脫氯菌劑進行生物整治後之相關副產物。 3. 若場址有其他菌種，請說明是否仍可以用本土脫氯菌劑進行生物整治。 4. 報告書多有單面列印，建議雙面列印方式辦理。 5. 請在全部確認報告書內文及表編號(例如 p.27，內文寫表 6，表標示為表 7)。	1. 感謝委員指教，本菌劑所使用的脫鹵球菌菌種主要含有功能性基因 <i>vcrA</i>，其對於降解四氯乙烯及三氯乙烯的過程中具有不易累積二氯乙烯及氯乙烯之功效，因此，對於現地整治有相當好的應用性以及環境友善性。 2. 感謝委員指教，一般而言，現地一定會具有原始菌群，大部分的菌種並不會對脫氯有所貢獻，因此，若缺少脫氯菌種，添加菌劑則可以有效提升整治效率。若場地已具備原生的脫氯菌種，我們也必須確認其是否會導致 VC 累積，如功能性基因 <i>tceA</i> 和 <i>bvcA</i> 則容易累積 VC，因此，在這個情況下，添加本菌劑(具功能性基因



vcrA)也能夠有效提升脫氯效率並且減少 VC 等二次污染的產生。

3. 感謝委員指教，我們將在定稿中修正這個問題。

4. 感謝委員指教，我們已修正這個錯誤。



二、研究成果中英文摘要

中文摘要

含氯有機物如三氯乙烯為難降解之污染物，常污染我國地下水並且整治難度高，污染場址的解列率僅不到兩成。目前現地整治遇到最大的瓶頸是業者多使用化學藥劑進行生物整治，整治最終導致毒性更強並能致癌的氯乙烯(Vinyl chloride)的累積，這個因素常常讓一個場地的整治失敗。本團隊透過過去與產業端合作，收集全台含氯有機物污染之地下水，進一步培養台灣本土脫氯菌群，使用本團隊獨有的脫鹵球菌(*Dehalococcoides*)培養平台，我們成功地找到數個菌群可以快速且不易產生二次污染如氯乙烯的菌群，用以開發創新本土菌劑生物強化(Bioaugmentation)整治工法。本研究第一年度，透過本實驗室從現地模場建立的厭氧脫氯菌群資料庫中，去開發應用於現地的脫氯菌劑，我們將會在這個計畫中去使用發酵槽開發量產製程，使得菌量達可以達應用於現地整治之標準，同時確立脫氯菌劑的降解效能。於期中報告中，本團隊開發一不易累積氯乙烯之菌群，該菌群不含致病菌，具有豐富產氫菌及眾多發酵者，適合應用於地下水環境，由此菌群所開發之脫氯菌劑製程可以以 40 天培養週期穩定量產，每一批次可以生產 100 公升，脫鹵球菌菌數可達 10^{11} cells/L，包含脫氯功能性基因 *tceA* 以及 *vcrA*。本計畫以雙環塞灌注工法進行脫氯菌劑現地生物強化，加入菌劑後 3 個月現地地下水之脫鹵球菌菌數、*tceA* 以及 *vcrA* 皆有所增長，污染物降解率可達 80%。本計畫第二年度持續觀察污染物降解情形，針對脫鹵球菌菌數較低的灌注井進行重力灌注補強。重力灌注後，污染物成功降解並低於監測標準，在脫鹵球菌充足情況下，使得污染物濃度不容易在回升，顯示菌種的活性可維持長達一年。持續觀察地下水菌相變化情形，發現灌注後菌劑菌種會暫時成為現地的優勢菌群，但在污染物降解完畢後，現地地水微生物菌群將逐漸回復至原始生態，以上成果證明使用本土脫鹵球菌菌劑結合 DPI 灌注工法之可行性及環境友善性。最終，使用本工法進行整治，已成功降解場址目標污染物 1,1-二氯乙烯，降解率高達 96%，與傳統生物刺激工法進行效益比較，使用生物菌劑進行整治效益將提升整體效益 194%，整治大幅縮短整治時程且能達到完全脫氯，因此，我們為台灣提供一項嶄新脫氯菌劑生物強化工法，以提升我國多氯乙烯污染整治之能力。

關鍵字：脫鹵球菌、脫氯菌劑、氯乙烯、完全脫氯





英文摘要

Organic halide compounds such as trichloroethylene are refractory pollutants, which often pollute the groundwater in our country and are difficult to remediate. The decommissioning rate of polluted sites is less than 20%. At present, the biggest bottleneck encountered in remediation is that operators often use chemical agents for biological remediation. Remediation eventually leads to the accumulation of vinyl chloride, which is more toxic and carcinogenic. This factor often makes the remediation of a site fail. Through cooperation with the industry in the past, our team has collected groundwater contaminated by chlorinated organic compounds throughout Taiwan, and further cultivated Taiwan's native dechlorination bacteria. Using our unique *Dehalococcoides* culture platform, we have successfully found several consortia. These consortia can quickly and less produce secondary pollution such as vinyl chloride, to develop innovative novel bioaugmentation strategies. In the first year of this project, through the laboratory of the anaerobic dechlorination bacteria database established by the on-site model field, we will develop the dechlorination consortia used in the field. We will use the fermentation tank in this project to develop. The production process enables the consortia to reach the standard that can be applied to on-site remediation, and at the same time establishes the degradation efficiency of the dechlorination bacteria agent. In the second year of this project, we continued to monitor the degradation of pollutants and reinforced injection wells with low *Dehalococcoides* counts by performing gravity injections. After these gravity injections, pollutants were successfully degraded to levels below the monitoring standards. Although a temporary rebound of pollutants occurred during the process, they were effectively degraded again when *Dehalococcoides* counts were sufficient, indicating that the activity of the bacterial strains could be sustained for up to a year. Ongoing monitoring of groundwater microbial communities revealed that the injected bacterial strains altered the local microbiota, but after the pollutants were completely degraded, the local microbial community gradually returned to its original state. This demonstrates the feasibility and environmental friendliness of using native *Dehalococcoides* combined with the DPI injection method. Ultimately, this method successfully degraded the target pollutant, 1,1-dichloroethylene, with a degradation rate of 96%, leading to the successful delisting of the Wanbao site. This innovative dechlorination bioaugmentation method provides a new approach to enhance the remediation of chlorethenes pollution in Taiwan.

Keywords: *Dehalococcoides*, Consortia, Vinyl Chloride, Completed Dechlorination





環境部環境管理署

112 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

112 年度專案成果績效自評表	2
第一章：計畫前言	1
1.1 含氯有機污染物	1
1.1.1 多氯乙烯之特性	1
1.1.2 多氯乙烯實場整治之困境	3
1.2 多氯乙烯整治工法	4
1.2.1 生物刺激法及生物強化法 (Biostimulation & Bioaugmentation)	6
1.2.2 厭氧還原脫氯微生物(OHRB).....	6
1.3 脫鹵球菌厭氧生物降解多氯乙烯	7
1.3.1 還原脫氯酵素基因	8
1.3.2 微生物群落促進還原脫氯多氯乙烯	9
1.4 生物強化法應用於多氯乙烯污染	10
1.5 脫氯微生物菌群結合雙環塞滲透灌注工法(DPI)	11
1.6 第一年計畫研究成果	12
第二章：研究目的	14
第二年期工作規劃	16
第三章：研究方法與過程	17
3.1 試驗地下水之介紹	17
3.1.1 目前場址營運狀況	17
3.2 模場試驗設井規劃	17
3.3 絕對厭氧操作方法	19
3.4 脫鹵球菌培養方法	20
3.5 地下水基本性質分析	20
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))	20
3.5.2 地下水總溶解性有機碳分析	20
3.5.3 地下水樣品 genomic DNA 萃取	20
3.6 DNA 純化	21
3.7 即時聚合酶鏈鎖反應(Real-time PCR)	22
3.7.1 標準品製備	22
3.7.2 qPCR 上機步驟	23



3.8 TCE 相關代謝物 GC 層析檢測	25
3.9 次世代定序菌相分析組裝流程	25
第四章：結果與討論	27
4.1 模場運轉前水質調查及現地菌群脫氯特性解析	27
4.2 脫氯菌劑 DPI 灌注工法場地設置及水質參數調查	29
4.3 脫氯菌劑 DPI 灌注工法之脫鹵球菌 qPCR 監測	42
4.4 脫氯菌劑 DPI 灌注前之菌相調查 (112 年 2 月)	49
4.5 脫氯菌劑 DPI 灌注後之菌相調查 (112 年 9 月)	57
4.6 脫氯菌劑 DPI 灌注一年(整治後期第一階段)之菌相調查 (113 年 4 月)	64
4.7 脫氯菌劑 DPI 灌注一年半後(整治後期第二階段)之現地環境微生物菌相調查 (113 年 8 月)	70
4.8 脫氯菌劑 DPI 灌注工法模場整治策略評估	73
第五章：結論與建議	78
5.1 整治前地下水水質及脫氯特性解析	78
5.2 脫氯菌劑 DPI 灌注工法模場試驗	78
5.3 結論	79
5.4 建議	79
第六章：研究進度及預期完成之工作項目 (甘特圖)	81
第七章：參考文獻	85



環境部環境管理署

112 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. 含氯污染物於地下環境中的傳輸型態 (Siegrist et al., 2011)	2
圖 2. (A) 菌群 D345 氯烯降解菌群之三氯乙烯(TCE)、順-二氯乙烯(<i>cis</i> -DCE)、氯 乙烯(VC)和最終產物乙烯(Ethene)變化圖；(B) D345 之 40 天優勢培養並以屬為 分類之菌相累積變化圖	12
圖 3. 台灣本土脫氯菌劑 D345 之(A) 1L 厭氧培養瓶照；(B) 完全脫氯菌群脫氯反 應以及(C) 菌群增殖步驟示意圖	13
圖 4. 研究架構與實驗流程圖	15
圖 5. 場地期程階段示意圖	16
圖 6. 本計畫場址位置圖、地下水流向、灌注井與監測井示意圖	18
圖 7. 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)	19
圖 8. 現地地下水菌群降解三氯乙烯之批次實驗	28
圖 9. 脫氯菌劑 DPI 灌注工法場地設計圖，其中 M25、M26 和 M27 為本次模場 新增之模場監測井(紅框)，DPI-15、DPI-16 以及 DPI-17 為 DPI 灌注井(綠框)， 其餘既有井作為本次傳輸範圍調查之監測井	29
圖 10. 分析脫氯菌劑 DPI 灌注前後、重力灌注與整治後污染物 1,1-二氯乙烯濃度 變化，M25、M26 及 M27 濃度皆已低於管制標準	33
圖 11. 以 qPCR 分析脫氯菌劑 DPI 灌注前後、重力灌注與整治後	43
圖 12. 以屬為分類之菌相累積變化圖，Total 組別為 6 組樣本之菌種加總	50
圖 13. 經脫氯菌劑 DPI 灌注後的地下水微生物菌相，以屬為分類。	59
圖 14. 經脫氯菌劑 DPI 灌注一年後(整治後期第一階段)的地下水微生物菌相，以 屬為分類。	66
圖 15. 經脫氯菌劑 DPI 灌注一年半(整治後期第二階段)後的地下水微生物菌相， 以屬為分類。	72
圖 16. (A) 脫鹵球菌 DPI 灌注工法示意圖；(B) DPI 灌注設備操作圖；(C) DPI 菌 劑灌注深度調正施工照；(D) 脫鹵球菌菌劑現地施作圖；(E) 以厭氧水保護脫鹵 球菌菌劑進行 DPI 灌注工法	73
圖 17. 重力灌注工法(A) 透過氮氣曝氣將現地地下水調整為厭氧環境；(B) 現地 植菌；(C) 脫鹵球菌菌劑現場施作圖	74
圖 18. 各階段之反應井菌相及水質參數之冗餘分析(Redundancy Analysis, RDA)	76



環境部環境管理署

112 年度土壤及地下污染整治基金補助研究與模場試驗專案 表次

表 1. 地下水整治方法統計表 (Superfund Remedy Report 16th Edition, USEPA,2020)	5
表 2. 模場試驗地下水水質及菌相分析採樣規劃表	16
表 3. 聚合酶連鎖反應 (PCR)混合液配置.....	22
表 4. realtime-PCR 反應 SYBR Green 系統之混合液配方	23
表 5. realtime-PCR 反應 TaqMan 系統之混合液配方	23
表 6. 本計畫所使用之引子與探針序列	24
表 7. 地下水污染物分析結果 (mg/L)，111 年 9 月	27
表 8. 灌注井及監測井之地下水污染濃度表	30
表 9. 模場試驗區一般水質參數 (1/4).....	34
表 10. 模場試驗區 qPCR 分析	44
表 11.以屬為分類階層之菌相變化表.....	51
表 12、現地地下水菌群之功能性菌種表	55
表 13、現地地下水菌群之功能性菌種表	60
表 14、現地地下水菌群之功能性菌種表	67
表 15、脫鹵球菌菌劑數量計算公式表	74
表 16、本計畫工法成效比較表.....	77





第一章：計畫前言

1.1 含氯有機污染物

1.1.1 多氯乙烯之特性

多氯乙烯被應用在許多工業上，被廣泛用於清洗、萃取、泡沫、噴霧和溶劑製造行業。多氯乙烯是全球地下水以及土壤中常見的有機污染物質 (Dong et al., 2016)，像是四氯乙烯 (Perchloroethylene, PCE)、三氯乙烯 (Trichloroethylene, TCE)、二氯乙烯 (Dichloroethylene, DCE)、及氯乙烯 (vinyl chloride, VC) (Yan et al., 2021)。多氯乙烯及其他含氯有機污染物質，因為其低水溶性以及密度比水大等物理特性 (Lin et al., 2018)，故含氯有機化合物通常視為「重質非水相液體」(Dense non-Aqueous Phase Liquid, 簡稱 DNAPL)。由於其獨特的物理特性，污染物順著地層往更深的地下移動，當遇到緻密的阻水層時，帶有污染物質的地下水會向上累積，且地下水會帶動污染物質向水平方向擴散，進而造成污染範圍擴大 (Li et al., 2021)，受污染區域就會成為地下水污染的持續來源 (Heron et al., 2016)。而揮發的含氯有機物質，會因經由溶解作用再次回到地表，或進入地下水中，如此循環，會造成含氯有機物質在整治上的作業困難 (Yue Pan et al., 2020)，DNAPL 傳輸示意圖如下圖 1 所示。

綜上所述，含氯有機污染物質的地下水整治是有一定困難的，但地下水對於全人類來說又是至關重要，且美國癌症研究總署 (IARC) 將其中四氯乙烯、三氯乙烯及氯乙烯等多種含氯污染物及其代謝產物分類為「很可能對人體具致癌性 (2A)」或「確定對人體具致癌性 (Group 1)」 (IARC, 2012)。尤其是當四氯乙烯、三氯乙烯在降解的過程中產生的副產物順-1,2-二氯乙烯以及氯乙烯，特別是氯乙烯的毒性以及致癌性都是遠大於他們的原始化合物 (Bradley et al., 2007)，所以在整治含氯有機污染時，必須謹慎處理以防副產物的二次污染。在台灣，這些含氯有機溶劑的污染也是在多處可見，尤其是桃園、新竹、彰化、高雄等多處皆有受列管的污場址存在 (行政院環境部)。



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

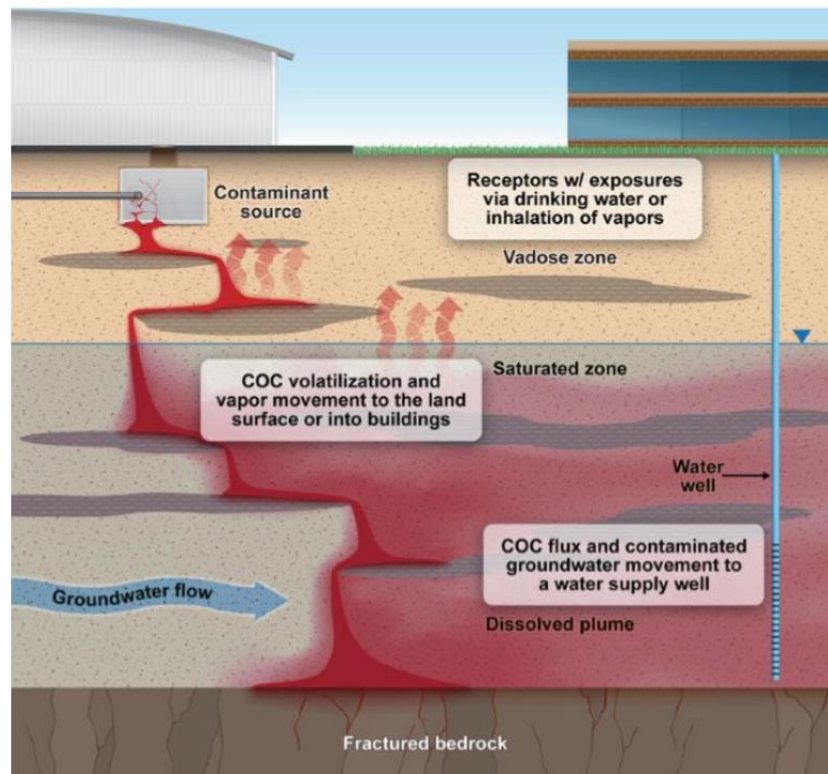


圖 1. 含氯污染物於地下環境中的傳輸型態 (Siegrist et al., 2011)

在多氯乙烯的降解途徑中四氯乙烯會經由還原脫氯最後到無毒的乙烯，三氯乙烯可能會因為降解不完全，而讓副產物順-1,2-二氯乙烯、氯乙烯過度累積，所以三氯乙烯的完整脫氯降解成為了在整治過程中重要的議題。且三氯乙烯為全世界嚴重的地下水污染物之一，自 1920 年代以來，許多國已通過乙烯或乙炔的氯化進行商業生產，雖然在 1950 年代三氯乙烯的使用受到限制，但在 1990 年代三氯乙烯的使用量，還可以到達 225000 噸，是一個非常龐大的使用量。在台灣也有多處土壤以及地下水受到三氯乙烯的污染，2022 年台灣行政院環境部公布的三氯乙烯地下水污染場址多達 120 多處，而這些三氯乙烯污染的地下水釋放到環境中之後隨著土壤、空氣、水到處擴散，經由研究發現經過傳播三氯乙烯將會在累積在動物組織中(Tabrez and Ahmad et al., 2009)。且許多研究表明，TCE 對於人類的健康影響廣泛且複雜，包括中樞神經、肝臟、腎臟等器官都有可能受到影響(Chiu et al., 2013)。根據美國研究(USEPA, 2011d)三氯乙烯甚至有致癌的風險。更有研究指出，在暴露在三氯乙烯下與腎癌以及肝癌等有非常大的關聯(Scott et al., 2006)。



1.1.2 多氯乙烯實場整治之困境

在台灣曾公告且含多氯乙烯之場址共 162 處，因改善完成而解除列管僅有 23 處，加上 17 處因公告撤銷或廢止之場址，解除列管比例為 15.9%，因此，多氯乙烯污染場址，為我國土水污染中解列比例最低者，極為迫切需要解決如此瓶頸。(環境部，2022)，傳統地下水整治方式如抽水修復法(pump and treat)已被證實應用於多氯乙烯污染之效率不佳且費用昂貴(Löffler et al., 2000)，所以現地整治工法大量取代之(USEPA, 2022)。現地處理係指直接於土壤及地下水污染區進行整治工作，而現地處理，又以現地化學整治以及現地生物整治為主。

其中化學整治又包括：現地化學氧化法、現地化學還原法、零價鐵還原及界面活性劑等。化學整治的方式雖然相對快速，但是也有一些潛在的問題：

1. 非選擇性氧化，即氧化劑不僅可以與確定的污染物發生反應，還可以與土壤或是地下水中容易氧化的物質發生反應。
2. 需要控制 pH、溫度和接觸時間以確保所需的氧化程度，必須要精準的控制。
3. 實施這一過程所需的成本相當高(Karpenko et al., 2009)。另外化學藥劑的劑量控制也是一門學問，且會有殘留的風險。

生物整治是指生物體(主要是細菌和真菌)將環境污染物降解為危害較小的類型 (Sharma et al., 2021)。根據其使用方式，生物修復被稱為異位或原位生物修復。

1. 異地生物修復技術用於收集且控制從污染場地的廢水並使用生物和物理化學過程在單獨位置進行處理。
2. 原位生物修復方法可用於現場污染的水或土壤，只需最少的挖掘。
3. 異地生物修復是通過泵送或挖掘將污染物輸送到適當位置後對其進行清理的過程(Tripathi et al., 2021)。



1.2 多氯乙烯整治工法

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，現地處理主要是直接作用在受污染的土壤及地下水區域，進行整治；離地處理須先將受污染的土壤或地下水抽出之地表，再進行整治；離場處理是將受污染之土壤和地下水，經由運出系統搬離污染場址進行整治處理。現地處理因為不須挖掘土壤，且可利用生物、化學針對大範圍污染場址區域重複操作進行整治，節省離場的運輸和挖掘成本，且可在現場直接操作，近年來被大量應用在台灣的含氯有機物污染場址(Simon et al., 2002)。

多氯乙烯污染場址目前多現地處理，目前主要使用的處理方法為物理處理技術，化學處理技術，生物處理技術等三個類別。物理處理技術針對污染物質的物理特性進行分離或固定污染物，包括土壤開挖法、空氣曝氣法、DNAPL 純相回收、地下水抽除處理法、電動力法分離、沖洗法及熱處理技術；化學處理技術將有害物質轉換成較穩性、低移動性、毒性低的物質，包含化學固定、現地化學氧化還原法、透水性反應牆、零價鐵還原及界面活性劑等(Lofrano et al., 2017; Madhupriya et al., 2020)。

生物修復法(bioremediation)的定義是利用生物機制將場址的污染物降低移除(降解、解毒、礦化、轉化)。考量生物修復應用區域，可分為：非原位或原位。污染物性質、污染深度和程度、環境類型、位置、成本和環境政策是選擇任何生物修復技術需考慮(Azubuike et al., 2016)，經由微生物的氧化還原作用及共代謝作用，包括呼吸作用及其他生物性功能以利於細胞維持及再生，不同類型的微生物電子受體涉及多種，如氧、硝酸鹽、錳、鐵(III)、硫酸鹽，轉化分解為簡單的分子如二氧化碳和水等無害產物(Adams et al., 2015)，使微生物達到降解污染物的工法，使用生物處理優點是通常可在現地進行，無須將污染物運送至場外，降低在運送過程的潛在對人類與環境污染的風險，且無添加其他化學品，減少二次污染，生物處理有助於污染物的根本去除，非像其他處置方法將污染物移至其他環境介質，可轉化成無害產物，在環境中自然作用，成本低，對環境友好且可持續作用(Abatenh et al., 2017)。

自然衰減法(natural attenuation)是生物處理的其中一種工法，自然衰減法的定義是利用自然發生無人為性的干預，現地的土壤和地下水進行的物理、化學和生物反應，如生物降解、擴散、稀釋、吸附及蒸發等，控制污染物的傳播，但通常針對現地污染物的原生適合微生物系統較為不足的場址，效益是較差的，往往整治時長久(Maitra, 2018)，整治過程會受限於污染的程度，且降解速率慢，不符合成本效益，故搭配**生物刺激法(biostimulation)**和**生物**



第二章：研究目的

強化法(bioaugmentation)是現在生物復育法中常使用的工法。

根據美國 USEPA 統計 Superfund(超級基金)整治場址資料顯示，由 2012 年至 2017 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。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 27%；其次為化學氧化法 (24%)，顯示現地生物復育為美國地下水整治之主要趨勢，統計資料如下表 1 所示。

表 1. 地下水整治方法統計表(Superfund Remedy Report 16th Edition, USEPA,2020)

技術	Total (FY12-14)	Percent Groundwater Decision Documents (FY12-14)	Total (FY15-17)	Percent Ground water Decision Docume nts (FY15-17)
Ex Situ Treatment (P&T)離地處理	37	23%	22	20%
In Situ Treatment 現地處理	81	51%	56	51%
Bioremediation 生物修復	46	29%	30	27%
Chemical treatment 化學處理	37	23%	26	24%
Permeable reactive barrier	7	4%	5	5%
Air sparging 氣逸法	5	3%	3	3%
Thermal treatment 熱處理	4	3%	6	5%
Multi-Phase Extraction	2	1%	4	4%
Phytoremediation 植物修復	2	1%	1	1%
Flushing 沖洗	1	1%	1	1%
Unspecified in situ treatment	3	2%	3	3%
Monitored Natural Attenuation 監測式自然衰減	53	33%	22	20%
Containment(Vertical	5	3%	1	1%



Engineered Barrier)				
Institutional Controls 監管	126	79%	78	71%
Alternative Water Supply	10	6%	5	5%

1.2.1 生物刺激法及生物強化法 (Biostimulation & Bioaugmentation)

生物刺激法(biostimulation)的定義是以人工提供碳源等限制營養鹽及界面活性劑，以刺激活化場址中的現地微生物生長，增強原污染場地的微生物菌種對於原本場地的污染物降解能力，生物刺激法的優點是提供利於現地微生物合宜的生長環境，使在原本存在於現地的微生物可在原場地進行降解，降低外源微生物對於現地環境生態改變的潛在風險，生物刺激法的限制：(1)仍受外界因素影響，如營養鹽、酸鹼值、溫度、水分、濕度、土壤特性及污染物等可能因素影響場地整治效率，(2)現地培養微生物所耗時間長，且培養不一定可成功(Adesodun and Mbagwu, 2008; Al-Sulaimani et al., 2011)。

生物強化法(bioaugmentation)是可直接在污染場址添加具有分解污染物之特殊菌種，或利用基因工程技術合成可分解污染物之重組微生物，以增強污染區域的微生物降解能力 (Abatenh et al., 2017; Pal et al., 2020)，運用本土已培養成功的微生物菌群投放至場地中，可縮短重新培養的時間及風險，且可以利用馴化過的微生物菌群針對場地污染物進行快速降解，然而，添加外源微生物或基因改造微生物，需謹慎考量對於環境破壞的風險(Nzila et al., 2016)。

生物強化法的限制原因，與許多因素有關：(1)細菌的增長量與地下水流的沖洗率失衡，造成細菌菌數不足以提供降解現地污染物；(2)投放至現地的細菌接種量不足(Heavner, G.L. et al., 2019)；(3)投入之細菌與場址既有之細菌相互競爭造成細菌數量迅速減少；(4)微生物投入後難以擴散，造成生存空間不足(Gentry et al., 2001)。

1.2.2 厭氧還原脫氯微生物(OHRB)

生物強化法可添加好氧與厭氧代謝菌群或菌種，但在地下水的環境很難有充足的氧氣條件，故在地下水層中利用好氧微生物降解多氯乙烯時常受限於氧氣(Bradley, 2003)，故若利用本身可以生存在厭氧條件下的細菌進行降解多氯乙烯，可以使整治成本大幅下降，有機鹵化呼吸細菌 Organohalide respiring bacteria (OHRB)，透過有機鹵化呼吸作用(OHR)進行還原脫氯，還



第二章：研究目的

原性脫氯反應過程中，多氯乙烯作為電子接收者，氫氣作為電子提供者，將多氯乙烯上的氯離子與氫離子置換，有機鹵化呼吸細菌(OHRB)在此過程中得到能量，提供細胞代謝及生長。三氯乙烯因還原性脫氯而形成順-1,2-二氯乙烯 (*cis*-1,2-dichloroethene)、反-1,2-二氯乙烯 (*trans*-1,2-dichloroethene)及1,1-二氯乙烯 (1,1-dichloroethene)，最後形成氯乙烯 (vinyl chloride)及乙烯 (ethene)。

可降解多氯乙烯污染物的有機鹵化呼吸細菌(OHRB)有多種菌種，包含 *Geobacter*, *Desulfuromonas*, *Anaeromyxobacter*, *Desulfotomaculum*, *Desulfomonile*, *Desulfovibrio*, *Sulfurospirillum*, *Shewanella*, *Comamonas*, *Dehalobacter*, *Desulfobacterium*, *Dehalococcoides*, *Dehalogenimonas* 和 *Dehalobium* (Molenda et al., 2020)，但是上述的大多菌種降解多氯乙烯的還原脫氯反應，往往都會有中間產物氯乙烯 VC 的累積，VC 毒性極高，所以被視為還原脫氯的限制決定步驟(Scheutz et al., 2008; Wu et al., 2020; Yu et al., 2018)，且美國 EPA 已將氯乙烯列為致癌性物質，然而，目前只有脫鹵球菌 *Dehalococcoides*(Duhamel et al., 2004)和 *Dehalogenimonas* (Yang et al., 2017)，可以完全將氯乙烯 VC 降解至無毒的乙烯(Adrian and Löffler, 2016)，與 VC 到還原脫氯的乙烯步驟相關的還原脫氯酵素基因 (*vcrA*、*bvcA*) 是監測氯化乙烯完全修復的最佳生物標誌物(Scheutz et al., 2008; Tang et al., 2013)。

1.3 脫鹵球菌厭氧生物降解多氯乙烯

脫鹵球菌(*Dehalococcoides mccartyi*, Dhc)生存環境需絕對厭氧，脫鹵球菌以多氯乙烯(PCE、TCE、DCE 或 VC)作為電子受體和氫作為電子供體，氧化電位(ORP)須落在-100mV-250mV 間，pH 值須落在 6~8 範圍間，最適溫度 30℃，以醋酸當作碳源，脫鹵球菌在脫氯的過程中需利用維他命 B12 作為輔酶，幫助電子至還原脫氯酵素上，進而啟動還原脫氯酵素(reductive dehalogenase, RDase)進行脫氯(Hug et al., 2013)。

脫鹵球菌的 16s rRNA 具高度保守性(Löffler et al., 2013)，脫鹵球菌基因大小約落在 1.34 到 1.5 MB，在生物中是最小的基因組之一，但儘管脫鹵球菌基因組精簡，但脫鹵球菌基因組中包含 10 - 36 個 *rdhAB* 操縱子，可以去預測編碼還原脫氯酵 RDase，每株脫鹵球菌都含有多個 RDase 基因，RDase 基因在這些菌株中的分佈也是不同的(Zinder, 2016)。迄今為止所描述的每個分離株都具有獨特的 RDase 基因，僅與其他菌株部分重疊，大多數 RDase 基因位於複製起點附近的“高可塑性”區域，多數的脫鹵球菌遵循這種模式，



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

脫鹵球菌菌株之間經常在高可塑性區域發生快速的 RDase 基因交換 (McMurdie et al., 2009; McMurdie et al., 2011)。透過 *rdhAB* 周邊的基因轉錄調節因子，調節還原脫氯的發生，例如氫氣是作為脫鹵球菌唯一電子供體和 Ni-Fe hydrogen uptake hydrogenase(HUP)，HUP 可以作為有機鹵化呼吸(OHR)活性的潛在生物標誌物(Heavner, G.L. et al., 2019)，RDase 基因通常具有編碼雙組分或 MarR 轉錄調節因子的相鄰基因，表明它們是高度調節的代謝網絡的一部分。脫鹵球菌的有機鹵化呼吸作用具有高度演化性，特化使用有機鹵化物作為電子受體，同時還原脫氯反應也受到嚴密的監控(Adrian and Löffler, 2016)。

1.3.1 還原脫氯酵素基因

脫鹵球菌 *Dehalococcoides mccartyi* (Dhc) 在進行有機鹵化物呼吸作用時需要還原性脫鹵酶(Reductive Dehalogenase, Rdh)的參與，Rdh 可在脫鹵球菌以及其他脫氯細菌身上發現不同的 RdhA 能把一或一個以上鹵化物作為電子接受者，像是 *vcrA* 還原性脫鹵酶可以使二氯乙烯脫氯成氯乙烯(Kranzioch et al., 2015)甚至到乙烯；*tceA* 還原性脫鹵酶可以使三氯乙烯脫氯到氯乙烯，而 *bvcA* 還原性脫鹵酶參與二氯乙烯到乙烯的降解。因為每種還原脫鹵酶對於各種有機鹵化物都具有不同的特異性，會影響到不同鹵化物的降解能力。在脫鹵球菌中，幾乎所有菌株都具有將多氯乙烯降解到乙烯的能力，但是只有 Dhc MB 是以順-1,2-二氯乙烯和反-1,2-二氯乙烯作為最終產物(Saiyari et al., 2018)以及 Dhc CG1、CG4 和 CG5 皆以 TCE 作為降解最終產物(Wang et al. 2014)。在可完全降解多氯乙烯的脫鹵球菌中多含有 *vcrA*、*tceA*、*bvcA* 三種基因的一種甚至多種，因此這些基因的含量也常作為多氯乙烯污染場址中的一種生物指標(Heavner, G.L.W. et al., 2019)，如 Dhc 11a 具有 *tceA* 基因，可以降解三氯乙烯、順-1,2-二氯乙烯、反-1,2-二氯乙烯至乙烯(Lee et al., 2013)；Dhc VS 具有 *vcrA* 基因，可以降解順-1,2-二氯乙烯和氯乙烯到乙烯(Saiyari et al., 2018)；Dhc BAV1 含有 *bvcA* 基因可將二氯乙烯、氯乙烯甚至溴乙烯和二氯乙烷降解至乙烯(Behrens et al., 2008)。在諸多脫鹵球菌中，Dhc 195、BAV1 和 11a 相較於其他菌株是可以降解更多種的氯化物(Saiyari et al., 2018)。解析這些脫鹵球菌所帶有的基因可以幫助在不同污染場址做不同種類的生物加強法，如含有 *tceA* 和 *vcrA* 基因的微生物菌群就可應用於三氯乙烯污染的場址，而為了防止二氯乙烯或氯乙烯的累積 Dhc BAV1 或 VS 菌株也會被選擇混合培養並應用於污染場址中(He et al., 2003; Yohda et al., 2015)。



1.3.2 微生物群落促進還原脫氯多氯乙烯

微生物群落(microbial consortia)的概念是約莫於 1872 年由 Johannes Reinke 所提出。微生物大多會在複雜的微生物群落中一起生存並繁衍，而物種之間的交互作用也決定了微生物菌群結構以及功能(Klitgord and Segrè, 2011)，而其中的交互作用包含代謝產物的轉移和消耗。例如，氫氣分子是微生物共生群落中的重要電子提供者，其中氫通過例如發酵作用產生並再被能消耗氫的其他微生物吸收利用(Kruse et al., 2021)。生物應用方面，單一物種通常具備有限的能力，但是在微生物群落中，物種成員間可以提供重要的生長因子給彼此，因而達到互利使微生物群落顯得更具生存優勢，因此微生物菌群中的物種間功能性差異以及交換代謝物的模式的不同使微生物能夠有彈性去抵抗自然環境的擾動(Kato et al., 2008)。

在多氯乙烯污染的場址中，脫鹵球菌 *Dehalococcoides mccartyi* (Dhc) 的存在以及環境中能否持續提供脫鹵球菌生長所需物質就顯得尤為重要。然而，脫鹵球菌因為自身沒辦法合成必要的生長物質，所以其生長時必須要依賴其他微生物去提供(Maphosa et al., 2012)，其進行多氯乙烯厭氧呼吸時，需要氫氣作電子提供者並且使用醋酸作為生長碳源，並且還需要合成還原性脫鹵醌素所需的輔酶維他命 B12，因此多數研究認為量產純種脫鹵球菌是相當困難(Yohda et al., 2017)。在自然環境中，當厚壁菌(*Firmicutes*)及變形菌門(*d/ε-Proteobacteria*)常與脫鹵球菌共同存在(Hatt and Löffler, 2012)，這類細菌常常扮演者發酵者的角色，將不同營養基質發酵成醋酸與氫氣，提供給脫鹵球菌去進行多氯乙烯還原脫氯反應。菌群中細菌也會去維持環境中適合脫鹵球菌的氫氣濃度。然而有些特定類的甲烷菌以及硫酸還原菌會與脫鹵球菌去競爭氧氣(Maymó-Gatell et al., 1997)，這現象也會發生在其他不同的脫鹵細菌像是 *Dehalobacter restrictus* 與 *Dehalospirillum multivorans* (Luijten et al., 2004)，脫鹵球菌除了依賴其他微生物所製造的氫氣外，也依賴菌群中其他微生物去製造合適環境給脫鹵球菌生存，像是有些細菌會做為還原劑的角色，會將環境中殘存的氧氣去消耗掉，從而使環境更加厭氧，或著另一部分細菌扮演著提供脫氯反應所需的輔酶 B12(Yi et al., 2012)。然而在其他類的細菌如 *Methanosaetaceae*、*Geobacteraceae*、*Desulfobacteraceae* 和 *Desulfobulbaceae* 科裡部分的細菌也有部分脫氯的能力(Saiyari et al., 2018)。在 He 等人的實驗中，發現脫鹵球菌與其他細菌共培養時，生長較單獨培養來的快(He et al., 2007)，也說明脫鹵球菌與其他細菌的交互作用的確可以使其更具生存優勢，進而在多變的現地環境及藥劑中維持其生長並且進行多氯乙烯的降解，藉以



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

達到現地實場應用之需求。

1.4 生物強化法應用於多氯乙烯污染

目前台灣現有生物整治含氯有機物所使用的技術主要為生物刺激法，透過添加營養鹽或者生物可利用基質提升地下水菌群，用以降解多氯乙烯污染物。然而如先前所述，生物刺激法之成效僅依靠場地現有細菌，取決於關鍵脫氯細菌之存在與否，整治應用上存在其限制，因此目前的生物整治工法可能無法符合目前場池整治需求。為解決此問題，生物強化法可以不同脫氯球菌株具有不同的脫氯能力，因此可以依據相應的污染物(多氯乙烯)投入應對的生物菌劑，在國外已經有商業化的菌劑 KB-1(Polasko et al., 2019)和 SDC-9(Schaefer et al., 2010)並且該菌劑中皆有多株的脫氯球菌去降解多氯乙烯(Kanitkar et al., 2016; Kucharzyk et al., 2020)，但是根據環境部毒物及化學局的「環境用藥許可證及病媒防治業網路查詢系統中」，正面表列「不得含有微生物」(151 項)與「環境用藥微生物製劑成分禁止含有微生物種類」(10 項)，這些涵蓋了大多的致病微生物、真菌以及病毒，這也使的國外的生物菌劑因無法確定其是否含有相關管制微生物，而難以進口至台灣本土做生物整治使用。目前國外已有許多研究表明生物菌劑可以有效的應用，如 KB-1 生物菌劑結合零價鐵藥劑投放於多氯乙烯的污染場址內，在十二個月內將 592 ppm 的三氯乙烯降至 11 ppm 左右(Peale et al., 2010)。KB-1 菌群更是可以在酸鹼值為 6.0 時持續將氯乙烯降解到乙烯(Puentes Jácome et al., 2019)。而 Li 等人的研究中，使用 SDC-9 菌群以及 *Azoarcus* sp. DD4 菌株去分兩階段去完全降解三氯乙烯以及 1,4-二噁烷(Li et al., 2021)。這些菌劑成功改變土壤內的菌群生態，可以有效解決污染物降解的問題，一旦生物菌劑停止供應後，憑靠在地菌種間互相制衡的特性，脫氯菌群不能再利用污染物作為能量來源，菌群會再一次回到自然平衡的狀態，使得土壤恢復最原始的風貌，不會有二次污染的問題。



1.5 脫氯微生物菌群結合雙環塞滲透灌注工法(DPI)

雙環塞滲透為一種改良式灌注工法，其原理是透過滲透方式將藥劑輸送至地下水土壤縫隙中(Palmén et al. 2004)，相較於傳統經常使用的重力或加壓灌注法而言，具有能夠進行多深度灌注之優勢，適用於礫石或砂質類型之地下環境，已被證實能夠在多氯乙烯污染場址中解決場地因透過生物刺激法灌注糖蜜等營養源所造成之藥劑阻塞的問題。另外，DPI 在不同深度區間以數個大氣壓至十幾大氣壓(因應不同地質條件及灌注深度)使整治藥劑被有效水平滲透傳輸，並向周遭地層滲透移動(同時增加上、下方向之分布)產生 360 度之放射狀灌注(車明道 et al. 2018)。因此，DPI 整治工法除了克服藥劑阻塞，其優點之一是能夠將藥劑或菌劑傳輸至特定目標區域而達到精準整治之目標，提升整治成效的同時亦減少了藥劑使用上的浪費。



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

1.6 第一年計畫研究成果

第一年主要研究的內容及目的如下：

1. 從本實驗室之厭氧脫氯菌群資料庫中篩選適合應用於台灣地下水之脫氯菌群，對其進行培養優化及菌相分析，從眾多台灣脫氯菌群中選擇 D345 作為量產目標菌群，因其脫氯行為在脫氯三氯乙烯時不會有氯乙炔累積，而菌群結構中可以見得本占比最大的屬為 *Clostridium* (50-97%)，其主要功能為產氫以及提供發酵有機酸 (Lu et al., 2022)，顯然此菌群可以依靠自身的菌種進行現地產氫提供脫氯反應進行。在發酵者方面，*Acetobacterium*、*Citrobacter*、*Macellibacteriodes*、*Lentimicrobium* 等菌種，可以做為發酵者提供脫氯球菌必要的醋酸碳源，多樣的發酵者可以適應場地中多變的環境以及藥劑種類，也將 D345 菌群送至第三方檢驗單位檢測相關致病菌，其結果並無測得本菌群存在導致人類疾病之相關致病菌。(已完成)

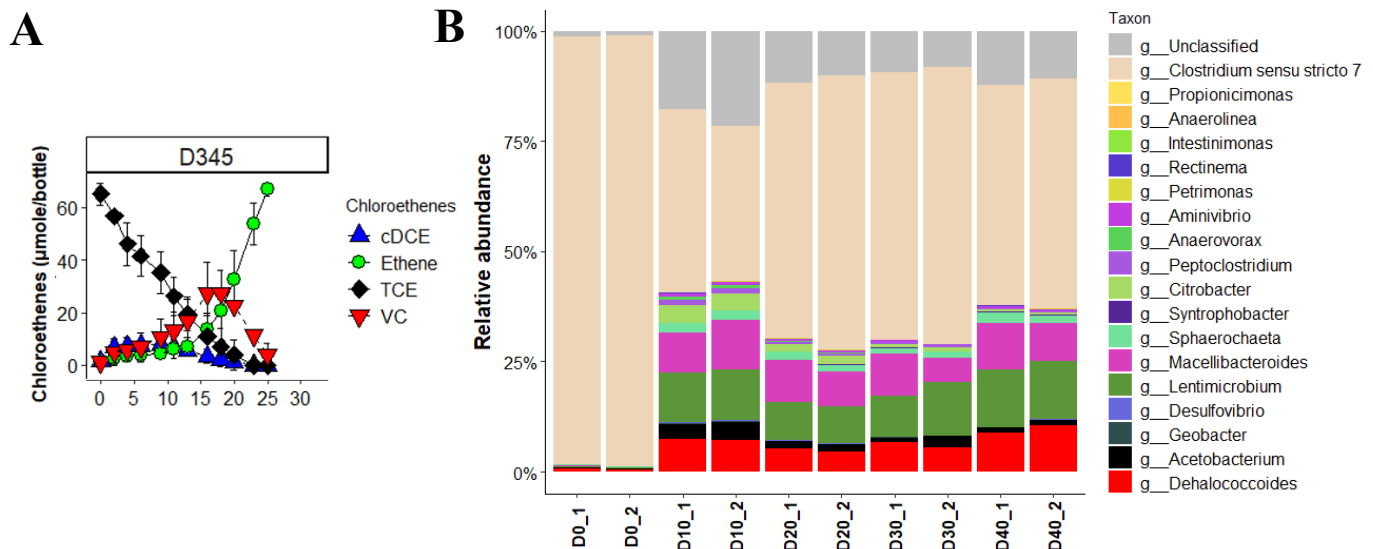


圖 2. (A) 菌群 D345 氯烯降解菌群之三氯乙烯 (TCE)、順-二氯乙烯 (*cis*-DCE)、氯乙炔 (VC) 和最終產物乙烯 (Ethene) 變化圖；(B) D345 之 40 天優勢培養並以屬為分類之菌相累積變化圖



第二章：研究目的

2. 建構脫氯菌劑量產平台，使得菌量可以達應用於現地整治之標準，將本技術商品化以提升台灣對含氯有機物之生物整治實力，本團隊透過持續穩定的擴增培養法，常備固定庫存的高活性母液，每一批次需花 40 天，目前已於 3 月完成 100 公升之菌劑之量產，並確認脫氯球菌菌數達 10^{11} copeis/L。(已完成)

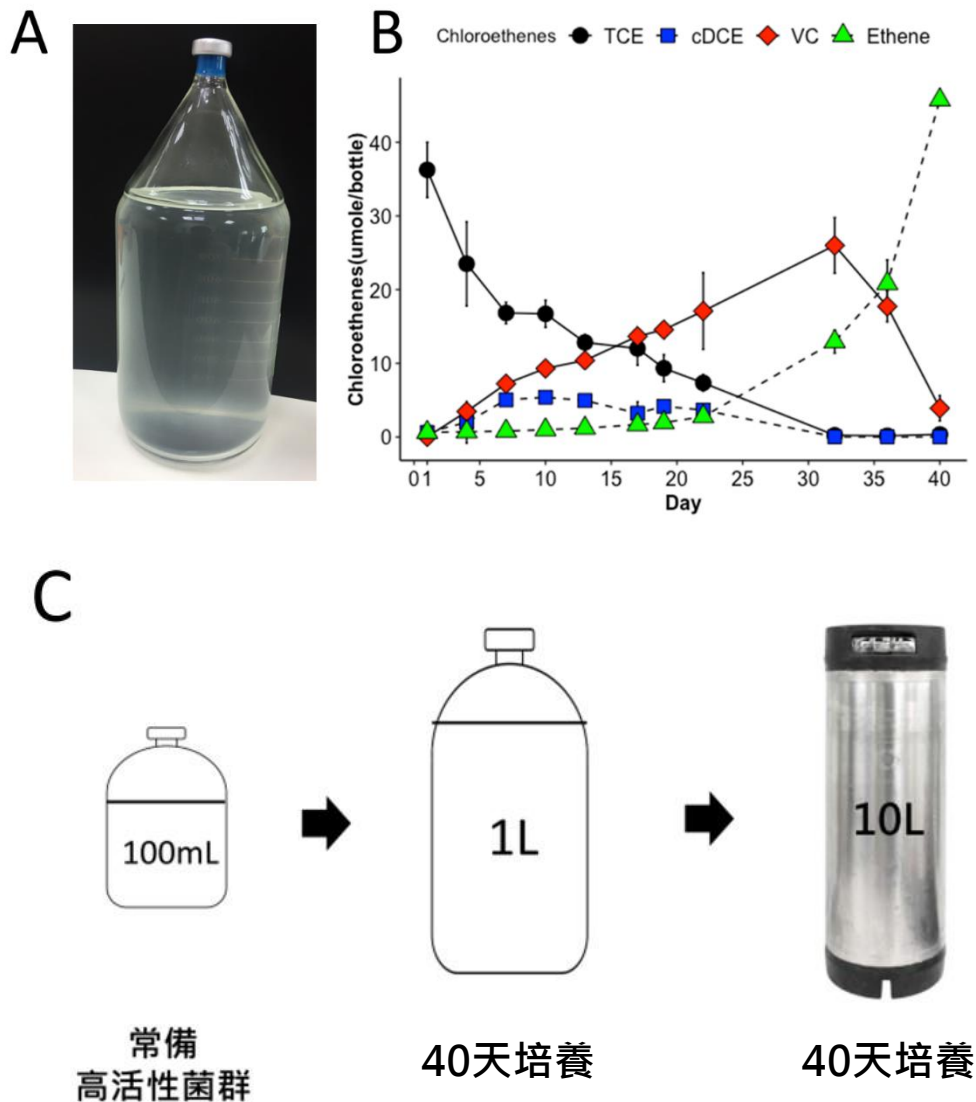


圖 3. 台灣本土脫氯菌劑 D345 之(A) 1L 厭氧培養瓶照;(B) 完全脫氯菌群脫氯反應以及(C) 菌群增殖步驟示意圖



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

3. 初步規劃主動式生物加強工法，於模場設置雙環塞灌注工法所需之灌注井及監測井，制定整治前之策略。並以次世代定序分析地下水原生微生物菌群結構與地下水活性測試，評估現地添加脫氯菌劑之脫氯效能，並觀測地下水基本性質，包含酸鹼值 (pH)、導電度 (EC)、氧化還原電位 (ORP)、溶氧量 (DO)，確保各項水質參數符合脫氯菌劑施做條件。(已完成)

第二章：研究目的

目前台灣現有生物整治含氯有機物所使用的技術主要為生物刺激法，透過添加營養鹽或者生物可利用基質提升地下水菌群，用以降解多氯乙烯污染物。然而如先前所述，生物刺激法之成效僅依靠場地現有細菌，取決於關鍵脫氯細菌之存在與否，整治應用上存在其限制，因此目前的生物整治工法可能無法符合目前場址整治需求。為解決此問題，生物強化法可以作為最根本的整治策略，不同脫氯球菌株具有不同的脫氯能力，因此可以依據相應的污染物(多氯乙烯)投入應對的生物菌劑，改變土壤內的菌群生態，可以有效解決污染物降解的問題，一旦生物菌劑停止供應後，憑靠在地菌種間互相制衡的特性，脫氯菌群不能再利用污染物作為能量來源，菌群會再一次回到自然平衡的狀態，使得土壤恢復最原始的風貌，故不會有二次污染的困擾，創造雙贏的局面。

本團隊具備之純熟厭氧培養技術，已有能力持續培養國內外純種脫氯球菌株包含 FL2、BAV1、195 等，將於本計畫中收集來自台灣各污染場地之地下水，進行優勢菌群培養並加以分析其菌相結構及脫氯球菌種類。本土脫氯菌群其優勢在於對於環境衝擊低，環境適應能力強，於實場整治上具有極大之優勢。因此本計畫規劃將於高雄楠梓工業區之受 TCE 污染之公告場址進行模場試驗(圖 6)，驗證實驗室所開發技術是否可實際應用現地並且評估現地模場整治成效。本專案將會優化並大量培養本土脫氯菌群應用於生物強化法，並且與 DPI 灌注工法結合，透過 DPI 灌注工法，能夠將含關鍵脫氯球菌之脫氯菌群以加壓滲透方式輸送至不同深度之污染熱區進行降解，精準整治地下水中的污染團，使菌劑以及藥劑能發揮最大整治效果。



研究架構與實驗流程

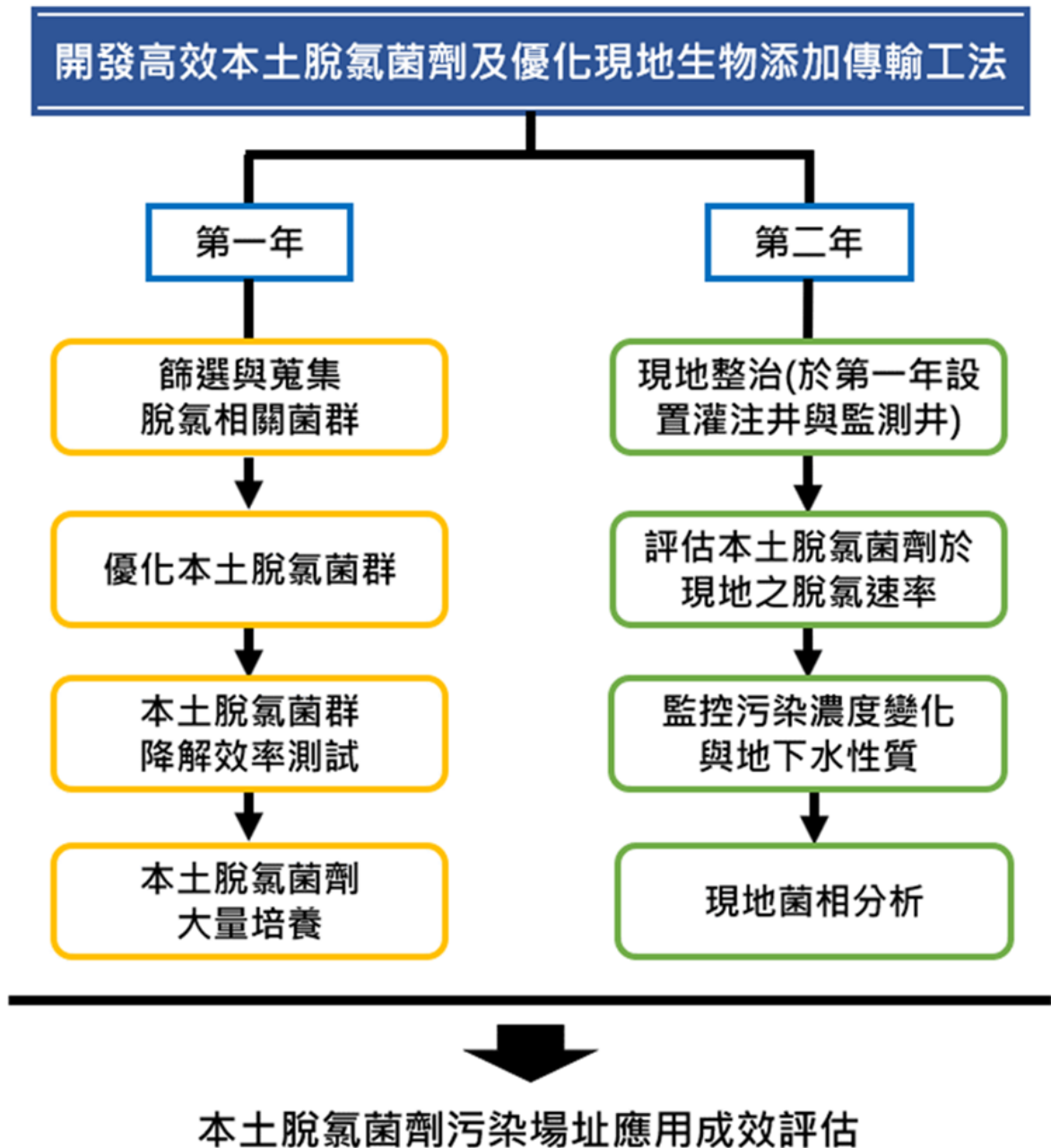


圖 4. 研究架構與實驗流程圖



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

第二年期工作規劃



圖 5. 場地期程階段示意圖

本案期程規畫如上圖 5 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(於第一年計畫中已完成)，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，各階段說明如下：

- (1) **第一階段生物刺激&DPI 生物強化：**本階段於 3 口 DPI 灌注井注入生物基質各約 100L，同時以 DPI 灌注 100L 脫鹵球菌菌劑，用以確認 DPI 工法傳輸脫鹵球菌菌劑之流布及效力(第一年計畫已完成)。
- (2) **第二階段生物強化：**本階段將再準備 20L 脫鹵球菌菌劑以及少量生物基質，以重力灌注的方式補強 DPI 工法傳輸較差之區域，用以比較重力灌注以及 DPI 工法兩者之間之流布及效力，同時確保現地污染物可以被降解完畢(第二年計畫，已完成)。
- (3) **整治後：**本階段將停止添加生物基質以及菌劑，用以評估污染物是否有回升，同時，確保場地於整治後回歸初始狀態，完成綠色生物整工法之訴求。(第二年計畫，已完成)

表 2. 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	DPI 生物強化(1)	DPI 生物強化(2)	運轉後	小計
	112 年 2 月	112 年 3 月	112 年 3 月 - 11 月	112 年 12 月 - 113 年 3 月	113 年 4 月 - 11 月	
一般水質項目	2	1	15	15	15	48
關切污染物 (VOCs)	1	-	3	3	3	10
最終產物 乙烯(C ₂ H ₄)	1	4	3	3	3	14
Metagenome Analysis	1	-	1	1	1	4
qPCR Analysis	1	4	6	6	6	23



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

萬寶至馬達股份有限公司（以下簡稱萬寶至公司）現正營運中，高雄分公司負責直流馬達內部關鍵零組件製造及生產設備的開發、製作，過去於生產製程中以三氯乙烯作為主要清洗零件之溶劑，後已於 101 年 8 月 30 日完成毒性化學物質使用許可之註銷。

萬寶至公司所在土地於 101 年 8 月 31 日公告為土壤及地下水污染控制場址（公告文號：環土字第 10139398503 號），污染物為三氯乙烯，現正執行「地下水污染控制計劃（第三次變更）」，核定計畫期程為 110 年 3 月 30 日至 112 年 9 月 30 日，採用工法為「加強式厭氧生物復育法」併用「生物地化轉化法」之現地生物復育整治工法，灌注採用雙環塞滲透灌注及重力灌注兩種方法。本場址之污染物種類、整治工法及灌注方式，都符合本模場之需求，萬寶至公司願意配合提供場地相關資料，提供本場址作為模場試驗計畫。

3.2 模場試驗設井規劃

圖 6 為預定現場注藥的示意圖。本計畫設置 4 口注藥及注菌井，間距 1 至 2 公尺，上下游存在既有監測井十三口，參與計畫總計十七口井以進行灌注與監測，後續設井依現場水文狀況進行調整。此外並將選擇一口上游監測井作為背景監測井。本試驗會先於第一年將會進場進行設井及調查，確認污染物濃度後，將會進行生物刺激工法，讓場地轉為利於菌劑使用的厭氧態，之後分別進行 DPI 注菌，同時比較無添加菌劑、重力灌注以及 DPI 灌注等工法對於整治的成效，最後設置整治後的恢復期，以確認場址的污染物不會再回升。

開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

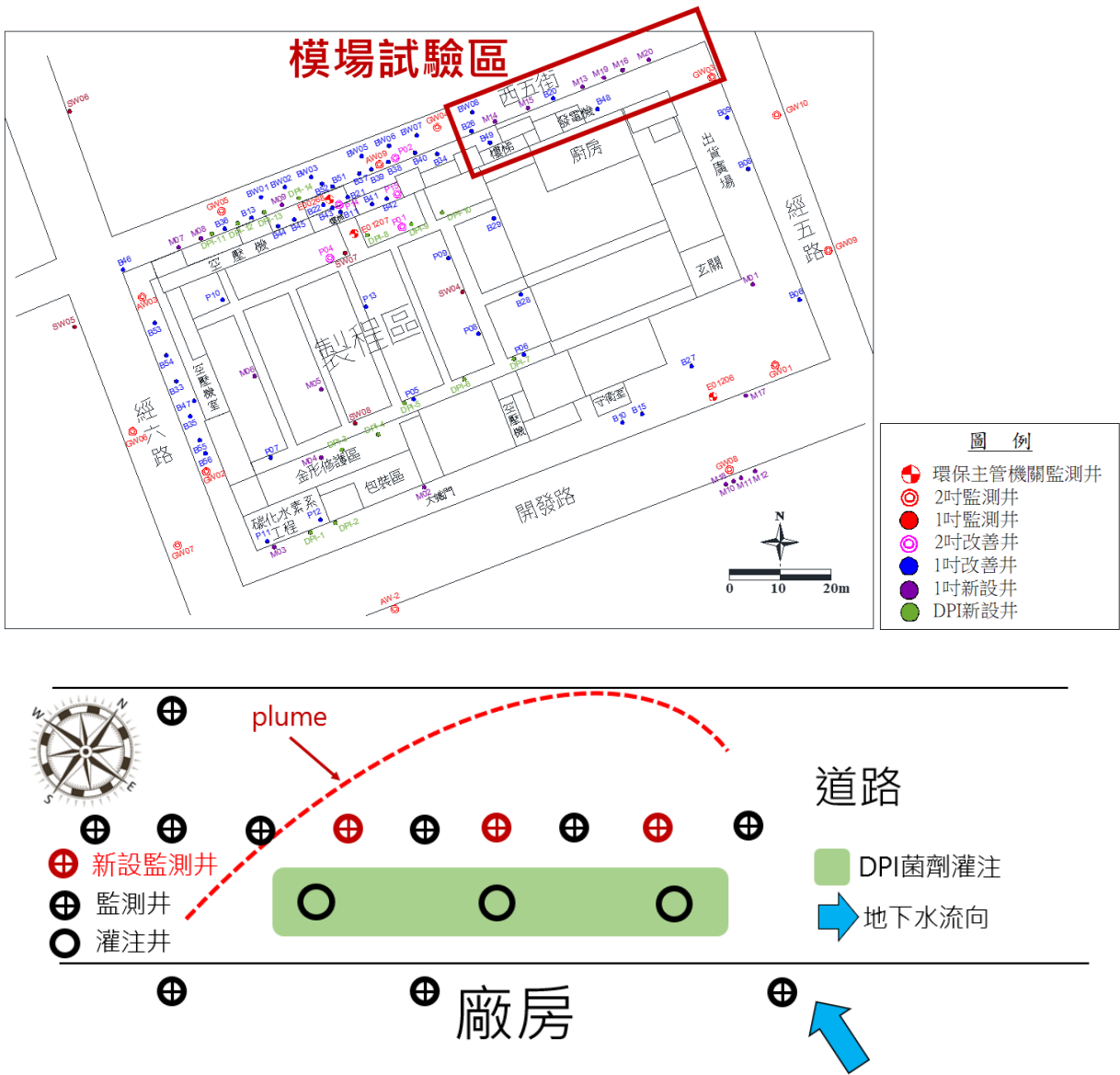


圖 6. 本計畫場址位置圖、地下水流向、灌注井與監測井示意圖



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 7 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。

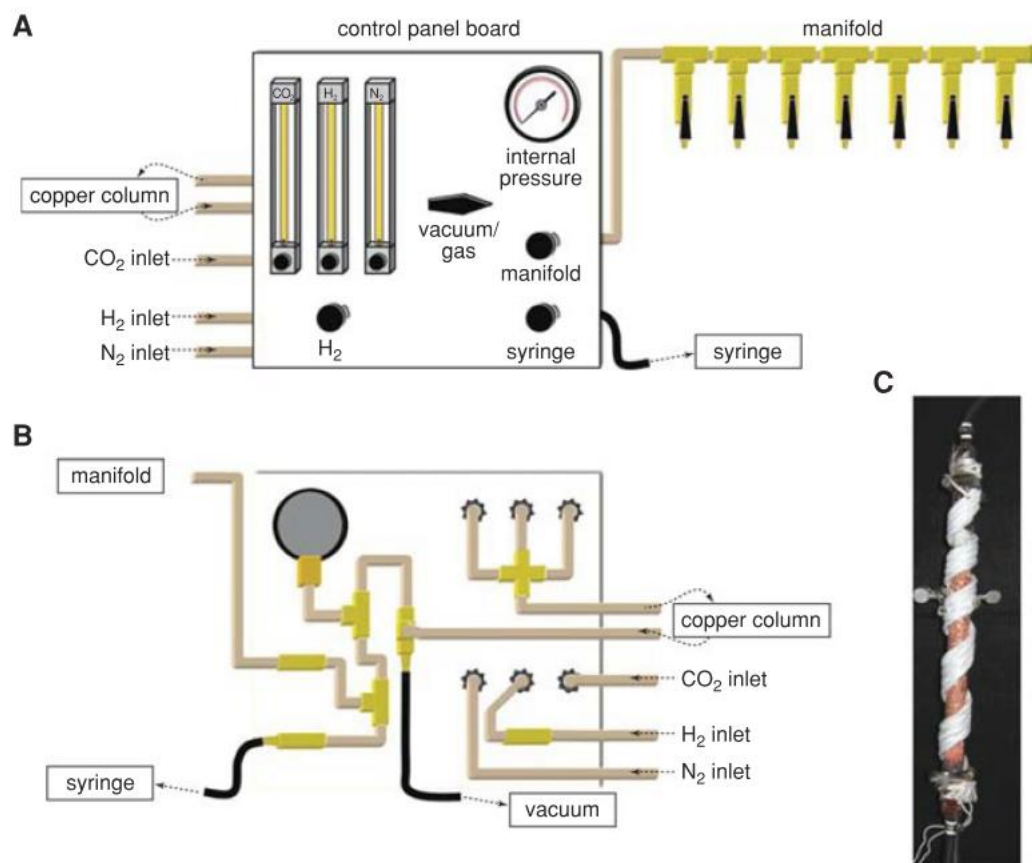


圖 7. 厭氧培養用之加氣站設計圖(A) 操作面板，包含流量調節計、壓力計、氣體控制伐(B) 操作面板背面管線配置圖 (C) 銅管加熱器 (Speers, et al., 2009)



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

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



(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°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°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°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°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°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。



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

3.7 即時聚合酶鏈鎖反應(Real-time PCR)

3.7.1 標準品製備

先利用各目標序列引子 (表 6)進行 PCR 將含有標準品質體之片段放大，反應混和液配方如表 4 所示，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)。

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

表 3. 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。



3.7.2 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 4) 配置 real-time PCR SYBR Green 系統之混合液，或是依照 (表 5) 配置 real-time PCR TaqMan 系統之混合液，將混合液分裝到八連排中。

表 4. 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 5. 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



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

表 6. 本計畫所使用之引子與探針序列

Target	Primer	Sequence (5'→3')
<i>Bacteria</i> 16S rRNA gene	730F	GCGGTTTTCTAGGTTGTC
	1350R	CACCTTGCTGATATGCGG
<i>Dehalococcoides</i> 16S rRNA qpcr	1200F	CTGGAGCTAATCCCCAAAGCT
	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
	Vcr1042Probe	FAM-CGCAGTAACTCAACCATTTCCTGGTAGTGG-
		TAMRA
<i>BvcA</i> gene	bvcAF	TGCCTCAAGTACAGGTGGT
	bvcAR	TTGTGGAGGACCTACCT
<i>BvcA</i> gene qpcr	Bvc925F	AAAAGCACTTGGCTATCAAGGAC
	Bvc1017R	CCAAAAGCACCACCAGGTC
	Bvc977Probe	FAM-TGGTGGCGACGTGGCTATGTGG-TAMRA



3.8 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。

3.9 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

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，



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

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：結果與討論

4.1 模場運轉前水質調查及現地菌群脫氯特性解析

本研究抽取場址中現有監測井 M13、M19 及 M20 作為後續實驗使用之現地地下水。地下水含氯揮發性有機物 (VOC) 分析結果如下表 7 所示，結果顯示 M20 地下水含氯揮發性有機物仍超出第二類地下水管制標準，主要污染物為 TCE 之次級代謝物 1,1-DCE 累積。

表 7. 地下水污染物分析結果 (mg/L)，111 年 9 月

污染物\井	M13	M19	M20
三氯乙烯	0.0042	0.0039	<0.0050
1,1,1-三氯乙烷	0.0021	0.0014	<0.0050
1,1-二氯乙烯	0.0415	0.0688	0.0888
反-1,2-二氯乙烯	N.D.	N.D.	<0.0050
順-1,2-二氯乙烯	N.D.	N.D.	<0.0050
氯乙烯	N.D.	N.D.	<0.0050

為研究現地地下水菌群是否擁有脫氯降解之能力，因此將蒐集到之地下水以加入緩衝試劑、乳酸鈉、維他命 B12、微量元素以及厭氧還原劑等脫氯菌專用配方，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 50μmole TCE 後經過約 60 天的批次培養，M13 及 M20 並無見得脫氯產物產生，TCE 下降可能是被封瓶之像膠塞吸收，然而，在 M19 組別可以見得 TCE 在 5 天降解成 *cis*-DCE，但是隨後就維持在 *cis*-DCE 後不再下降，其結果如圖 8 所示。本次實驗與現地 VOCs 分佈吻合(表 7)，本地地下水菌群應無法自行進行厭氧還原脫氯至乙烯，累積於 1,1-二氯乙烯，需要仰賴外部提供有活性的脫氯菌進行環原脫氯反應，因此，本場址將非常適合用於脫氯菌劑的現地測試，主要需要 TCE 及 1,1-二氯乙烯後續之脫氯降解。



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

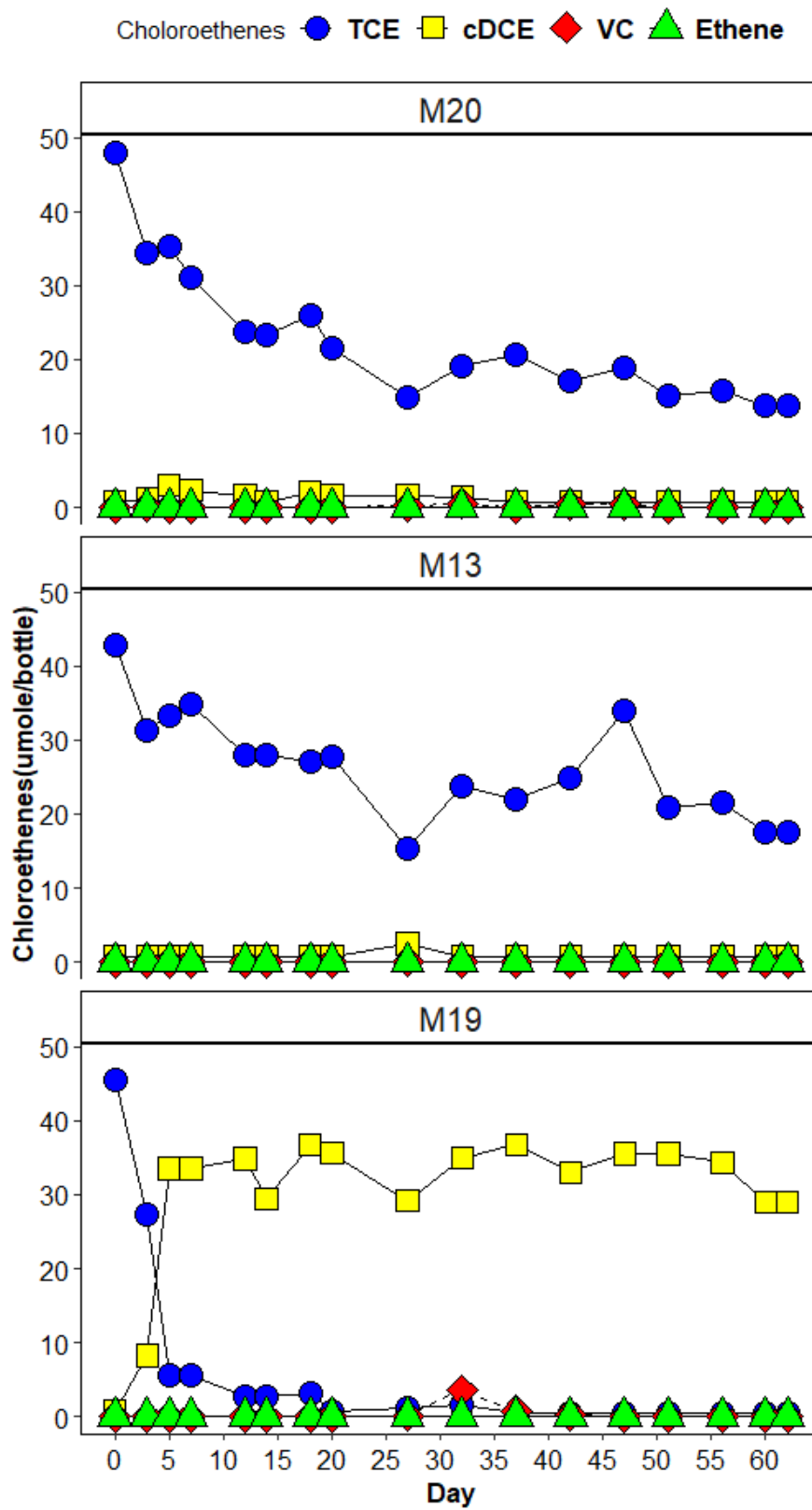


圖 8. 現地地下水菌群降解三氯乙烯之批次實驗



4.2 脫氯菌劑 DPI 灌注工法場地設置及水質參數調查

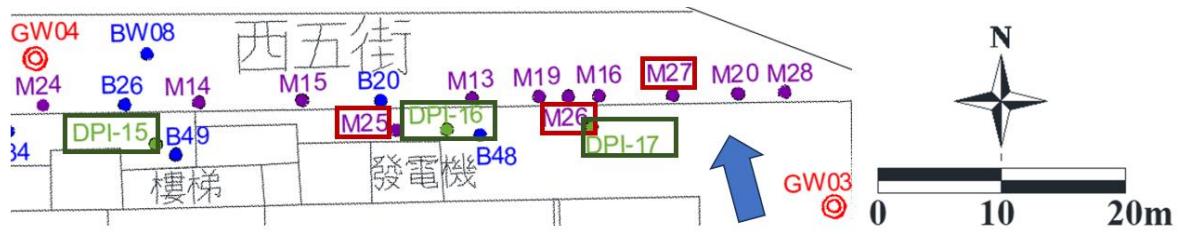


圖 9. 脫氯菌劑 DPI 灌注工法場地設計圖，其中 M25、M26 和 M27 為本次模場新增之模場監測井(紅框)，DPI-15、DPI-16 以及 DPI-17 為 DPI 灌注井(綠框)，

其餘既有井作為本次傳輸範圍調查之監測井

本研究採用雙環塞灌漿工法(Double Packer Injection, DPI)將脫鹵球菌菌劑對地下水進行生物加強整治技術，本團隊設計一地下水整治系統，透過 DPI 灌注井(DPI-15、DPI-16 以及 DPI-17)將脫鹵球菌菌劑以 5 atm 之壓力進行灌注，包含生物刺激用藥劑，並每隔 1 米深度分批灌注藥劑及菌劑，確保脫鹵球菌能夠分布均勻，位於上下游的新設 M25、M26 及 M27 監測井搭配現場既有井作為採樣觀測對象，其設計圖如圖 14 所示，以上新設井已於 112 年 2 月進場施作並且完工後靜置 1 個月確保減少人為干擾，第一次菌劑灌注已於 112 年 3 月 27 日進行。針對此次的污染物進行地下水分析，本次採樣依照標準方法 NIEA W108.51C 進行採樣，包含地下水污染濃度(表 8)、地下水質參數分析 pH 值、還原電位(ORP)、導電度(EC)及溶氧(DO)(表 9)以及脫鹵球菌功能性基因(表 12)以及地下水菌群分析(表 13-14)，現場的三氯乙烯濃度皆低於管制標準(0.05 ppm)，然而，新設井 M25、M26 及 M27 有測得微量的 1,1-DCE(112 年 3 月 17 日)，該濃度略高於管制標準(0.05 ppm)，因此，後續會以 1,1-DCE 濃度變化作為本整治工法之功效評估依據。

pH 之趨勢如表 9 所示，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)，pH 的監控極為重要，當藥劑作用於地下水中時，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。

導電度變化趨勢如表 9 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。

溶氧與氧化壓力變化圖如表 9 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。



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

表 8. 灌注井及監測井之地下水污染濃度表

井位 化合物	三氯乙烯	順-1,2- 二氯乙烯	反-1,2- 二氯乙烯	1,1-二氯乙烯	氯乙烯	總有機碳
採樣日期	111.12.26					
M13	ND	ND	ND	0.0186	0.0019	1.2
GW03	ND	ND	ND	0.0019	0.0017	ND
GW04	ND	0.0043	ND	ND	ND	ND
採樣日期	112.03.17					
M13	ND	ND	ND	ND	0.0019	33.2
GW03	ND	0.0011	ND	0.0046	0.0106	2.9
GW04	ND	0.0043	ND	ND	ND	4.0
M25	0.0079	0.0015	ND	<u>0.1043</u>	ND	2.5
M26	<0.0050	<0.0050	<0.0050	<u>0.1173</u>	<0.0050	3.3
M27	<0.0050	<0.0050	<0.0050	<u>0.0892</u>	0.0089	4.9
採樣日期	112.06.19					
M13	ND	ND	ND	ND	0.0014	4.4
GW03	ND	ND	ND	ND	ND	ND
GW04	ND	0.0012	ND	ND	0.0012	7.7
M25	0.0193	0.0044	ND	0.0202	0.0050	8.9
M26	ND	0.0013	ND	<u>0.0482</u>	<u>0.0137</u>	604.2
M27	ND	ND	ND	<u>0.0600</u>	0.0096	31.1
M13	ND	ND	ND	ND	0.0014	4.4
採樣日期	112.10.14					
M13	ND	ND	ND	ND	ND	7.6
GW03	ND	ND	ND	ND	0.0011	3.1
GW04	ND	ND	ND	ND	0.015	5.7

紅字：濃度大於管制標準；藍字：濃度大於監測標準



第四章：實驗結果

井位 化合物	三氯乙烯	順-1,2- 二氯乙烯	反-1,2- 二氯乙烯	1,1-二氯乙烯	氯乙烯	總有機碳
採樣日期	112.12.28					
GW03	ND	ND	ND	0.0024	0.0023	ND
GW04	0.0013	0.0019	ND	ND	0.0028	1.6
BW08	ND	ND	ND	ND	ND	17.6
B20	ND	ND	ND	ND	0.0017	4.5
B26	ND	0.0022	ND	0.0016	0.0027	2.0
B48	ND	ND	ND	ND	0.0037	6.7
B49	ND	0.0182	ND	0.0021	0.0099	ND
M13	ND	ND	ND	0.0011	ND	ND
M14	ND	ND	ND	ND	0.0016	1.9
M15	ND	ND	ND	ND	ND	4.7
M16	ND	ND	ND	0.0011	0.0014	9.0
M19	ND	ND	ND	ND	ND	8.7
M20	ND	ND	ND	ND	0.0034	21.3
M25	0.0060	0.0058	ND	0.0100	0.0086	2.0
M26	ND	ND	ND	0.0090	0.0097	17.3
M27	ND	ND	ND	0.0191	0.0062	ND
M28	ND	ND	ND	ND	0.0024	34.6
採樣日期	113.04.15					
GW03	ND	ND	ND	0.0032	0.0050	1.6
GW04	0.0014	0.0018	ND	ND	0.0014	6.0
BW08	ND	ND	ND	ND	<u>0.0106</u>	8.1
B20	ND	ND	ND	ND	ND	7.1
B26	ND	ND	ND	ND	ND	ND
B48	ND	ND	ND	ND	ND	10.0
B49	ND	0.0357	ND	0.0048	0.0088	ND
M13	ND	ND	ND	ND	0.0016	2.3
M14	ND	ND	ND	ND	0.0017	3.9
M15	ND	ND	ND	ND	0.0012	3.4
M16	ND	ND	ND	ND	0.0019	6.3



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

井位 化合物	三氯乙烯	順-1,2- 二氯乙烯	反-1,2- 二氯乙烯	1,1-二氯乙烯	氯乙烯	總有機碳
採樣日期	113.04.15					
M19	ND	ND	ND	ND	ND	15.8
M20	ND	ND	ND	ND	0.0016	22.7
M25	0.0072	0.0020	ND	0.0081	0.0030	10.6
M26	ND	ND	ND	0.0170	<u>0.0124</u>	6.2
M27	ND	ND	ND	0.0282	0.0069	1.2
M28	ND	ND	ND	ND	0.0029	23.7
M19	ND	ND	ND	ND	ND	15.8
GW05	ND	ND	ND	ND	0.0021	29.3
GW08	ND	0.0013	ND	ND	ND	7.4
B48	ND	ND	ND	ND	ND	10.0
M06	ND	ND	ND	ND	0.0011	9.9
採樣日期	113.08.27					
M13	ND	ND	ND	ND	ND	1.8
M14	ND	ND	ND	ND	ND	1.1
M20	ND	ND	ND	ND	0.0011	13.4
GW03	ND	ND	ND	0.0032	0.0023	1.0
GW04	0.0013	0.0012	ND	ND	ND	2.2
BW08	ND	ND	ND	ND	0.0018	ND
B26	ND	ND	ND	ND	ND	2.4
B49	ND	ND	ND	ND	ND	2.3
B20	ND	ND	ND	ND	ND	2.6
B48	ND	ND	ND	ND	ND	3.2
M19	ND	ND	ND	ND	ND	20.4
M16	ND	ND	ND	ND	ND	4.0
M15	ND	ND	ND	ND	ND	3.1
M25	0.0051	0.0021	ND	0.0061	0.0018	1.2
M26	ND	ND	ND	0.0037	0.0046	2.7
M27	ND	ND	ND	0.0051	0.0013	ND
M28	ND	ND	ND	ND	0.0019	11.3

紅字：濃度大於管制標準；藍字：濃度大於監測標準



第四章：實驗結果

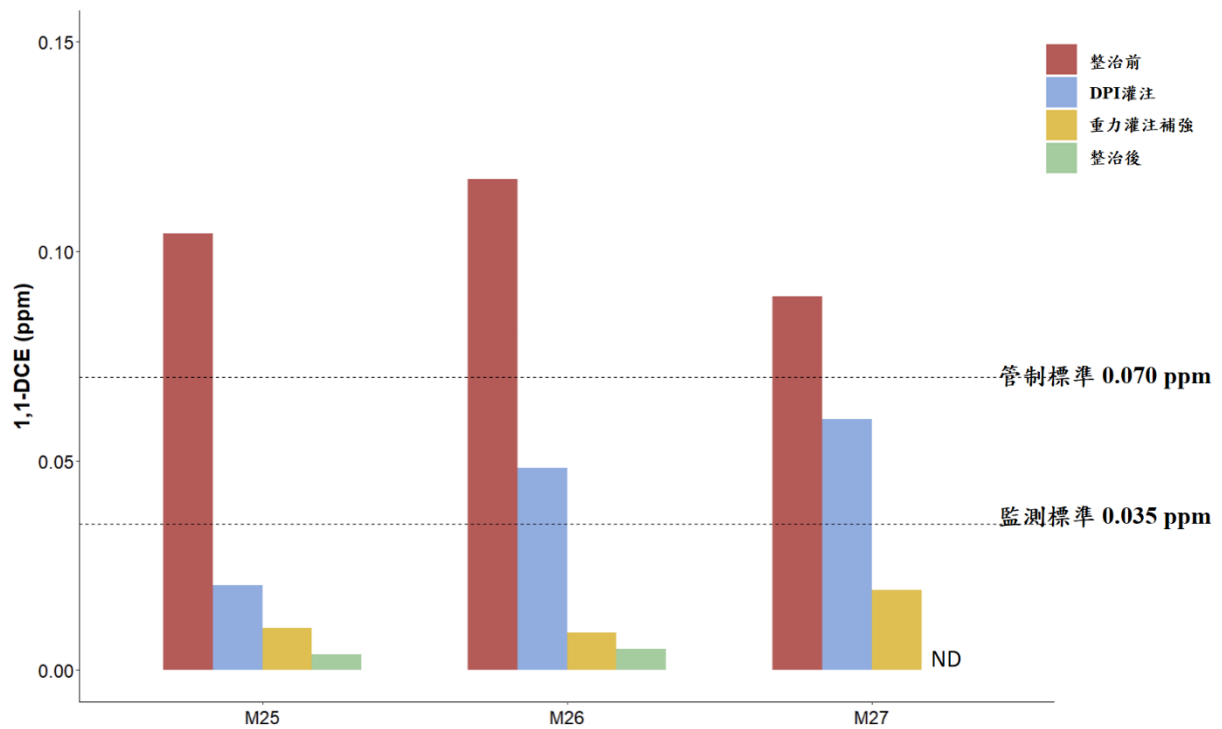


圖 10.分析脫氯菌劑 DPI 灌注前後、重力灌注與整治後污染物 1,1-二氯乙烯濃度變化，M25、M26 及 M27 濃度皆已低於管制標準(每個數據點皆為 3 重複樣本之均值)

表 9. 模場試驗區一般水質參數 (1/4)

項目	pH																
日期/井號	M13	M14	M20	GW03	GW04	BW08	B26	B49	B20	B48	M19	M15	M16	M25	M26	M27	M28
111.12.26	7.31	7.48	7.49	7.75	7.74	7.64	7.57	—	7.26	7.72	7.49	7.35	7.46	—	—	—	—
112.01.16	7.08	7.03	6.58	7.03	7.99	7.84	7.80	—	6.97	7.00	6.86	6.79	6.82	—	—	—	—
112.02.06	7.70	7.22	7.06	7.30	7.85	7.58	7.64	7.80	7.61	7.47	7.42	7.55	7.31	—	—	—	—
112.02.23	7.59	7.27	7.36	7.88	7.72	7.66	7.70	7.71	7.30	7.31	7.32	7.36	7.38	—	—	—	—
112.03.14	8.07	7.76	7.70	7.45	7.24	8.11	8.12	7.52	8.03	7.77	7.74	7.63	7.76	8.35	8.12	8.19	8.06
112.04.10	8.52	6.97	7.39	6.56	7.09	7.93	8.18	7.46	7.17	7.43	7.25	7.39	7.64	10.12	10.75	7.60	6.90
112.04.20	8.23	6.91	7.65	7.01	6.86	7.62	7.60	7.29	7.06	7.37	7.20	7.41	7.54	10.15	11.27	7.51	6.30
112.04.27	7.92	6.87	7.83	7.10	7.36	7.13	8.21	7.75	6.99	7.87	7.27	7.31	7.51	10.20	11.35	7.52	6.64
112.05.05	7.73	7.14	7.90	7.16	7.54	7.80	8.49	8.02	7.23	7.52	7.26	7.70	7.70	10.01	11.16	7.71	6.88
112.05.15	7.68	7.52	7.96	7.31	7.26	7.92	7.96	7.52	7.42	7.55	7.41	7.64	7.77	7.41	10.95	7.79	6.97
112.05.23	7.64	7.20	8.08	7.49	積水	9.99	8.46	7.70	7.24	7.60	7.39	7.61	7.88	9.21	10.67	7.91	7.08
112.05.31	7.61	6.96	7.84	7.75	7.31	9.70	8.05	7.48	7.02	7.38	7.26	7.57	8.06	9.30	10.20	7.90	7.06
112.06.08	7.76	7.98	8.02	7.58	7.64	10.01	8.46	8.03	7.30	7.58	7.52	7.27	8.07	9.21	10.20	8.06	7.30
112.06.17	7.91	7.51	8.11	7.68	7.69	9.46	8.17	7.88	7.31	7.76	7.58	7.69	7.87	9.01	10.02	7.91	7.44
112.06.27	7.30	6.77	7.39	7.20	7.05	8.05	7.56	7.34	6.77	7.08	7.03	7.14	7.31	7.61	7.56	7.21	6.96
112.07.07	7.36	7.25	7.45	7.33	7.27	8.04	7.60	7.33	6.99	7.11	7.10	7.21	7.39	7.57	7.36	7.41	6.76

項目	pH																
日期/井號	M13	M14	M20	GW03	GW04	BW08	B26	B49	B20	B48	M19	M15	M16	M25	M26	M27	M28
112.07.17	7.18	7.08	7.05	6.68	7.09	8.23	7.62	7.63	7.00	7.17	7.19	7.23	7.60	7.52	8.10	7.44	7.07
112.07.31	7.46	7.27	7.48	6.90	6.79	7.75	7.61	7.46	7.15	7.20	7.24	7.31	7.55	7.71	7.79	7.59	6.81
112.08.25	7.49	7.05	7.57	7.53	7.86	7.69	7.60	7.52	6.92	7.10	7.34	7.24	7.47	8.05	8.24	7.37	6.99
112.09.28	7.58	7.20	7.54	7.50	7.58	7.70	7.60	7.41	6.98	7.14	7.03	7.28	7.44	7.98	7.85	7.43	7.01
112.10.31	7.69	7.38	7.58	封井	7.59	7.78	7.61	7.40	7.09	封井	7.21	7.25	7.49	7.92	7.61	7.40	7.23
112.12.01	7.82	7.32	7.51	封井	7.53	8.11	8.07	7.61	7.50	封井	7.25	7.15	7.55	8.00	7.54	7.50	7.28
112.12.28	7.66	7.24	7.47	7.41	7.15	7.98	7.83	7.34	6.94	7.10	7.51	7.28	7.38	7.48	8.41	7.49	7.07
112.02.01	7.58	7.14	7.40	7.39	7.23	7.74	7.80	7.33	6.88	7.01	7.54	7.31	7.42	7.12	8.00	7.64	7.17
112.02.29	7.55	7.10	7.42	7.43	7.38	7.64	7.53	7.34	7.02	7.03	7.43	7.30	7.37	7.10	7.94	7.55	7.10
113.04.15	6.91	6.66	6.55	6.62	6.87	7.69	6.71	6.68	6.48	6.84	6.50	6.77	6.90	6.78	7.39	6.76	6.58
113.08.27	7.21	7.08	7.00	7.00	6.79	7.67	7.26	7.14	7.13	7.07	7.10	7.36	7.38	7.09	7.32	7.20	7.11

表 9. 模場試驗區一般水質參數 (2/4)

項目	EC (μS/cm)																
日期/井號	M13	M14	M20	GW03	GW04	BW08	B26	B49	B20	B48	M19	M15	M16	M25	M26	M27	M28
111.12.26	1036	912.6	1337	556.2	482.7	752.7	796.3	—	1318	1538	1499	908.2	1564	—	—	—	—
112.01.16	1376	2427	3262	764.1	504.7	618.0	609.7	—	3379	5421	3731	3589	3434	—	—	—	—
112.02.06	1584	3542	4646	817.1	438.4	749.7	568.4	508.9	3378	3692	4373	3494	4131	—	—	—	—
112.02.23	1644	1558	5054	786.2	607.6	769.8	621.2	594.9	3314	4329	4708	3697	4404	—	—	—	—
112.03.14	983.4	1100	3616	426.1	543.1	625.9	539.7	601.8	2200	1459	2850	1836	3510	831.4	962.2	984.0	1068
112.04.10	7256	3045	5871	3457	5911	1155	3616	941.1	4371	6918	4984	4725	6973	2187	3683	1129	5104
112.04.20	6148	3159	6986	3091	4844	1642	3702	1278	4629	8743	2076	6208	4971	2047	5060	1342	5014
112.04.27	6152	3195	10970	2128	5408	3818	6664	1307	4351	7063	5473	4822	5559	2984	19070	1438	4937
112.05.05	2075	2374	10120	1712	1955	3948	1893	993.4	2988	5753	4475	3869	5072	3244	15280	1329	4036
112.05.15	2839	1944	8828	1089	2520	6335	2520	1107	2455	4782	3613	3066	4327	3240	11830	1188	2835
112.05.23	2699	2066	9781	1151	積水	7106	2666	910.1	2657	4708	3501	3239	3890	2040	7610	1252	2816
112.05.31	2885	2175	11250	1372	1681	6976	2486	963.5	2504	4598	3729	3459	4580	2214	8636	1308	2753
112.06.08	2653	999.2	11190	1183	1131	6370	2652	1011	2301	4582	3633	2769	4363	2842	7299	1281	3049
112.06.17	1754	1925	8359	903.0	482.7	2042	1254	754.4	1957	3283	2488	2026	2573	2413	5427	808.1	2272
112.06.27	1839	1331	10460	1283	563.5	3054	1404	787.1	1331	3555	3002	2270	3275	1867	1404	1100	3027
112.07.07	1405	1435	8002	805.6	593.1	1735	1129	700.7	1608	3158	2298	1600	2406	1796	1504	997.6	2938

項目	EC (μS/cm)																
日期/井號	M13	M14	M20	GW03	GW04	BW08	B26	B49	B20	B48	M19	M15	M16	M25	M26	M27	M28
112.07.17	1687	1457	3349	1678	775.9	1530	1290	773.9	1702	2665	2421	1709	2783	1812	3171	1115	3774
112.07.31	1584	1119	5935	1432	608.9	1375	954.0	714.3	1253	2789	1883	1313	1935	1046	2052	940.5	5541
112.08.25	892.5	840.2	6718	1757	446.6	1401	770.5	604.5	1006	1595	1307	1150	1393	865.1	1464	1155	4590
112.09.28	1105	987.6	5482	1547	542.3	2985	2103	732.5	1101	1689	1523	1430	1128	963.7	1258	1174	3489
112.10.31	1339	1012	4981	封井	699.4	3894	2348	843.2	1228	封井	1687	1512	1349	1087	1211	1088	2984
112.12.01	1670	1212	4788	封井	933.9	5042	2121	853.2	1204	封井	1803	1480	1861	1350	1113	1079	2836
112.12.28	1114	690.3	2711	630.2	633.2	2902	701.1	522.1	674.2	962.2	933.8	615.7	1866	744.2	1961	823.7	1511
112.02.01	1021	677.8	2503	644.7	651.0	1948	725.7	588.4	633.5	951.3	918.7	625.7	1416	731.2	1148	824.6	1410
112.02.29	993.4	681.4	2102	934.5	647.9	1432	711.5	610.3	684.1	2984	902.3	664.7	1039	702.4	1008	801.9	1178
113.04.15	1031	861.9	2541	799.1	933.5	1492	764.0	735.4	1059	2505	1051	901.8	1688	1009	1543	890.9	1195
113.08.27	931.8	605.9	2317	853.7	232.6	768.4	1132	907.7	1029	1223	2690	986.4	1425	810.9	1144	811.9	1823

表 9. 模場試驗區一般水質參數 (3/4)

項目	ORP (mV)																
日期/井號	M13	M14	M20	GW03	GW04	BW08	B26	B49	B20	B48	M19	M15	M16	M25	M26	M27	M28
111.12.26	-105	-110	-145	-59	-94	-90	-143	—	-121	-129	-133	-104	-138	—	—	—	—
112.01.16	-130	-137	-140	-45	-111	-56	-135	—	-186	-168	-142	-100	-141	—	—	—	—
112.02.06	-69	-149	-118	-69	-67	-104	-79	19	-180	-164	-191	-176	-207	—	—	—	—
112.02.23	-162	-108	-166	-17	-72	-95	-92	-94	-117	-133	-148	-140	-172	—	—	—	—
112.03.14	-154	-159	-232	-101	-61	-161	-52	-68	-169	-183	-178	-173	-147	-87	-47	-66	-120
112.04.10	-203	-168	-171	-196	-228	-158	-200	-77	-170	-185	-169	-179	-176	-294	-270	-112	-80
112.04.20	-212	-164	-221	-223	-191	-206	-206	-61	-176	-177	-345	-172	-150	-345	-326	-113	-168
112.04.27	-222	-161	-114	-165	-117	-161	-237	-203	-168	-119	-116	-179	-159	-297	-435	-162	-173
112.05.05	-220	-152	-208	-197	-79	-171	-192	-173	-162	-203	-185	-169	-222	-293	-396	-207	-175
112.05.15	-170	-90	-159	-155	-164	-207	-164	-165	-138	-175	-164	-147	-174	-89	-335	-154	-147
112.05.23	-171	-110	-108	-190	積水	-264	-193	-145	-148	-157	-165	-160	-193	-58	-290	-102	-148
112.05.31	-176	-131	-182	-168	-145	-253	-149	-140	-141	-169	-167	-178	-204	-67	-289	-104	-157
112.06.08	-173	-170	-183	-168	-133	-258	-201	-174	-144	-167	-165	-151	-192	-79	-288	-187	-160
112.06.17	-143	-113	-170	-122	-117	-214	-152	-137	-114	-141	-145	-134	-144	-99	-209	-126	-147
112.06.27	-168	-135	-176	-143	-40	-209	-167	-151	-135	-138	-159	-158	-167	-186	-167	-132	-153
112.07.07	-164	-146	-163	-137	-135	-196	-172	-148	-140	-142	-151	-155	-169	-171	-169	-157	-141

項目	ORP (mV)																
日期/井號	M13	M14	M20	GW03	GW04	BW08	B26	B49	B20	B48	M19	M15	M16	M25	M26	M27	M28
112.07.17	-150	-130	-114	-135	-91	-191	-149	-152	-137	-156	-157	-153	-190	-169	-154	-158	-72
112.07.31	-129	-98	-153	-138	-115	-130	-171	-157	-136	-137	-142	-116	-161	-137	-179	-151	-49
112.08.25	-187	-164	-155	-216	-148	-120	-118	-193	-158	-170	-129	-178	-146	-153	-207	-142	-178
112.09.28	-174	-153	-154	-201	-140	-119	-120	-192	-141	-171	-123	-162	-148	-150	-211	-141	-153
112.10.31	-170	-133	-148	封井	-135	-162	-147	-158	-149	封井	-142	-150	-141	-123	-168	-133	-150
112.12.01	-167	-131	-144	封井	-133	-175	-174	-149	-148	封井	-146	-130	-154	-97	-154	-128	-141
112.12.28	-164	-51	-28	-95	-99	-176	-98	-50	-80	-118	-62	-130	-123	-93	-140	-37	-121
112.02.01	-154	-50	-31	-91	-82	-154	-94	-59	-82	-103	-67	-131	-125	-99	-130	-54	-114
112.02.29	-143	-59	-30	-126	-80	-150	-95	-78	-80	-174	-69	-130	-121	-103	-137	-35	-115
113.04.15	-120	-114	-16	-103	-109	-185	-134	-142	-118	-56	-141	-116	-159	-74	-149	-29	-161
113.08.27	-144	-136	-142	-62	-87	-184	-125	-151	-147	-89	-169	-155	-163	-127	-158	-108	-157

表 9. 模場試驗區一般水質參數 (4/4)

項目	DO (mg/L)																
日期/井號	M13	M14	M20	GW03	GW04	BW08	B26	B49	B20	B48	M19	M15	M16	M25	M26	M27	M28
111.12.26	0.96	1.00	0.50	0.97	0.93	1.00	0.74	—	0.90	0.86	0.79	0.96	0.70	—	—	—	—
112.01.16	0.30	0.62	0.67	0.90	0.63	0.61	0.47	—	0.62	0.38	0.39	0.42	0.32	—	—	—	—
112.02.06	0.26	0.48	0.39	0.67	0.83	0.91	0.79	0.70	0.12	0.35	0.27	0.34	0.18	—	—	—	—
112.02.23	0.85	0.55	0.21	0.45	0.81	0.82	0.77	0.84	0.59	0.33	0.22	0.49	0.53	—	—	—	—
112.03.14	1.06	0.71	0.28	0.87	0.93	0.71	1.03	0.91	0.43	0.31	0.38	0.58	0.42	0.74	0.89	0.82	0.92
112.04.10	0.76	0.69	0.93	0.71	0.28	0.76	0.71	0.95	0.87	0.64	0.98	0.86	0.94	0.53	1.82	2.00	0.76
112.04.20	0.77	0.26	0.85	0.43	0.47	0.81	0.55	1.11	0.42	0.69	0.20	0.70	0.84	0.20	0.13	1.63	0.90
112.04.27	0.18	0.42	0.46	0.22	0.31	0.31	0.21	0.26	0.46	0.47	0.56	0.29	0.42	0.18	0.04	0.11	0.57
112.05.05	0.08	0.48	0.53	0.14	0.47	0.53	0.40	0.42	0.41	0.15	0.24	0.35	0.31	0.03	0.03	0.05	0.51
112.05.15	0.45	0.52	1.08	1.32	0.26	0.12	0.26	0.99	0.63	0.43	0.62	0.79	1.03	1.07	0.04	1.51	0.75
112.05.23	0.65	0.45	0.65	0.98	積水	0.51	0.68	0.79	0.74	0.47	0.62	0.71	1.27	1.43	0.24	1.59	0.88
112.05.31	0.58	0.81	0.51	0.49	1.05	0.18	0.80	0.83	0.81	0.60	0.59	0.58	0.67	1.64	0.15	1.67	0.59
112.06.08	0.40	0.56	0.35	0.16	0.52	0.22	0.12	0.58	0.73	0.25	0.30	0.30	0.46	1.54	0.03	0.99	0.33
112.06.17	0.58	0.64	0.66	0.66	0.27	0.22	0.50	0.65	0.37	0.32	0.46	0.45	0.56	1.43	0.31	1.16	0.27
112.06.27	0.47	0.92	0.79	0.71	0.55	0.47	0.48	0.69	0.92	0.59	0.05	0.44	0.75	0.59	0.48	1.27	0.46
112.07.07	0.70	0.93	0.50	0.93	0.92	0.86	0.75	0.95	0.66	0.55	0.51	0.98	0.74	0.61	0.78	1.20	0.48

項目	DO (mg/L)																
日期/井號	M13	M14	M20	GW03	GW04	BW08	B26	B49	B20	B48	M19	M15	M16	M25	M26	M27	M28
112.07.17	0.50	0.87	0.20	0.84	0.78	0.72	0.40	0.53	0.23	0.29	0.36	0.29	0.26	0.57	0.57	1.04	0.43
112.07.31	0.72	1.04	0.37	0.22	0.50	0.33	0.55	0.35	0.54	0.31	0.32	0.85	0.53	1.13	0.10	1.63	0.32
112.08.25	0.52	0.99	0.55	0.37	0.16	0.38	0.31	0.24	0.48	0.49	0.48	0.48	0.60	0.67	0.03	0.97	0.09
112.09.28	0.51	0.43	0.58	0.32	0.57	0.39	0.30	0.31	0.62	0.50	0.55	0.67	0.65	0.37	0.63	0.90	0.21
112.10.31	0.48	0.30	0.50	封井	0.68	0.47	0.48	0.53	0.77	封井	0.78	0.82	0.52	0.43	0.76	0.92	0.41
112.12.01	0.43	0.11	0.53	封井	1.08	0.65	0.63	0.46	0.89	封井	0.90	0.82	0.85	0.18	0.98	1.21	0.55
112.12.28	0.54	1.05	1.40	0.37	1.01	0.62	1.52	0.47	1.03	0.86	1.32	0.70	0.47	1.15	1.06	1.20	0.73
112.02.01	0.55	1.09	1.41	0.38	1.05	0.69	1.47	0.53	1.07	0.88	4.30	0.74	0.53	1.18	1.10	1.12	0.78
112.02.29	0.87	1.11	1.39	0.21	1.15	0.87	1.52	0.74	1.02	0.41	1.24	0.84	0.98	1.23	1.51	1.02	0.77
113.04.15	0.57	0.83	1.37	0.80	0.96	0.25	0.67	0.34	1.22	0.31	1.12	0.38	0.42	1.26	1.02	1.48	0.33
113.08.27	0.12	0.31	0.10	0.61	0.10	0.05	0.03	0.06	0.62	0.42	0.07	0.38	0.10	0.46	0.11	1.20	0.34



4.3 脫氯菌劑 DPI 灌注工法之脫鹵球菌 qPCR 監測

脫氯之功能性基因 qPCR 分析如表 10 所示，總體細菌 16S 基因用於檢測場地總細菌量，可以見得場地初期地下水總細菌量維持在每公升 10^{12} ，顯示地下水菌相豐富。脫鹵球菌的基因測定脫鹵球菌菌數(DHC)、*bvcA*、*tceA* 以及 *vcrA*，可以見得在尚未添加菌劑之前，總體的脫鹵球菌菌數落在每公升 10^8 左右，加入菌劑後 3 個月(112 年 6 月 19 日)現地地下水之脫鹵球菌功能性基因 *tceA* 以及 *vcrA* 皆有所增長，落在每公升 $10^8 \sim 10^9$ 左右，與菌劑所含之功能性基因相符，顯示添加菌劑可以使得脫鹵球菌菌數在短時間內更進一步增加。

在 DPI 灌注三個月後(112 年 6 月 19 日)，仍發現於 M26 井 1,1-二氯乙烯與氯乙烯略高於監測標準，分別為 0.0482 ppm 與 0.0137 ppm，於 M27 井 1,1-二氯乙烯也略高於監測標準濃度為 0.0600 ppm，因此本團隊針對含有少許污染物以及脫鹵球菌數(DHC)、*tceA*、*vcrA* 低於 10^7 的井進行重力灌注補強(112 年 9 月 18 日)，以確保污染物能被降解，經重力灌注後三個月(112 年 12 月 28 日)監測 VOCs 污染物濃度已下降至 0.035 ppm 以下，DHC 菌數在重力灌注後增長，*tceA* 以及 *vcrA* 無顯著上升，推測因現地污染物濃度已經被降解完畢，然而，脫鹵球菌功能性基因 *tceA* 和 *vcrA* 皆維持在 10^7 copies/L 以上，顯示該地的脫鹵球菌數仍然充足(Löffler, F.E et al., 2013)，在重力灌注補強後針對 VOC 數值、各項水質參數與脫氯功能性基因進行監測，然而，BW08 與 M26 在 113 年 4 月 15 日數據中氯乙烯污染濃度有回升的情況，略高於監測標準 0.01 ppm，發現脫鹵球菌菌數高於 10^8 ，評估脫鹵球菌菌數在現場是足夠的，並於 113 年 8 月 27 日數據中氯乙烯已被脫氯低於管制標準，在 DPI 灌注一年半後(113 年 8 月 27 日)，所有含氯有機物皆低於監測標準，*tceA* 和 *vcrA* 低於 10^7 copies/L。因此，從 qPCR 結果可判斷現地地下水內含的脫鹵球菌數量，了解是否現場環境是含有足夠的脫鹵球菌，以利判斷生物加強法使用時機，透過分析脫氯功能性基因，評估菌劑還原脫氯效能，並以 qPCR 監測生物菌劑傳輸距離，彙整圖如圖 11 所示。



第四章：實驗結果

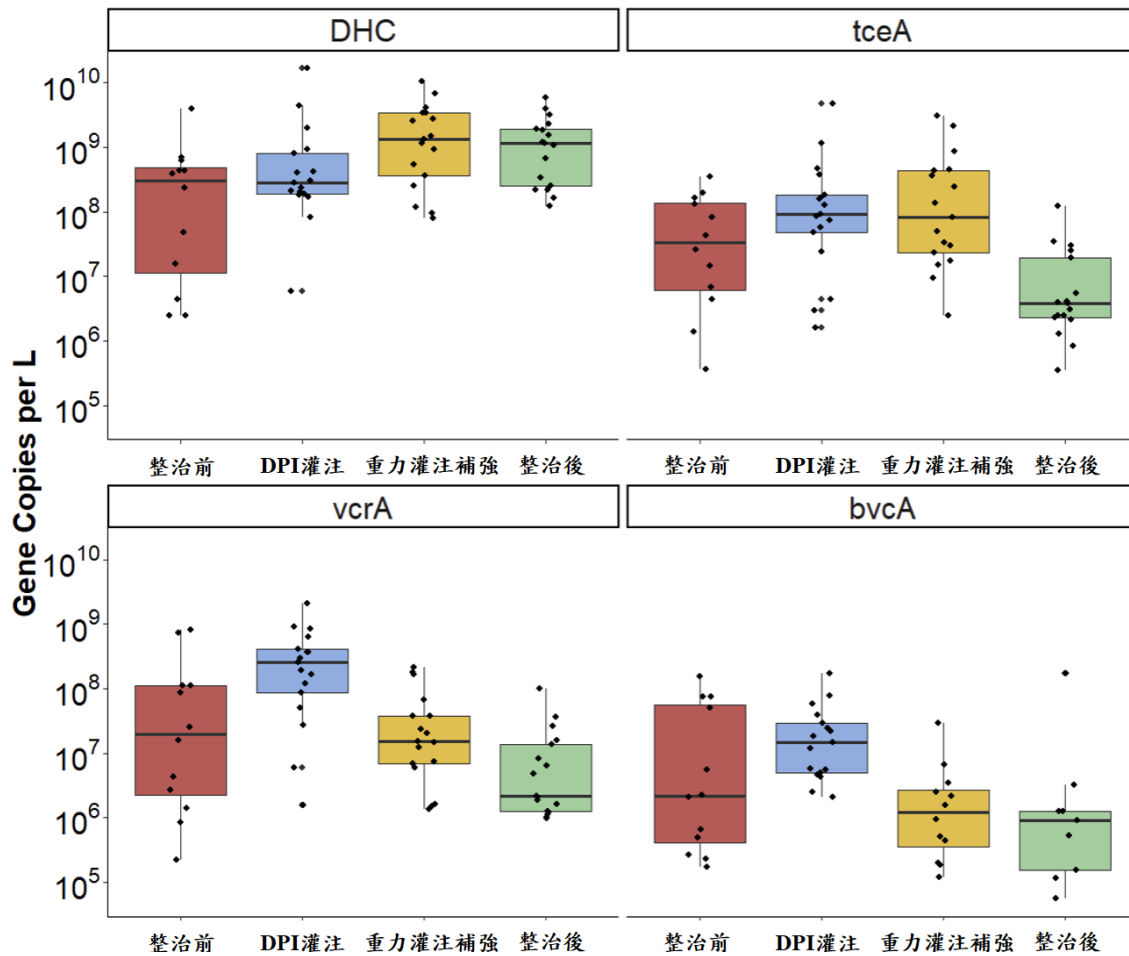


圖 11. 以 qPCR 分析脫氯菌劑 DPI 灌注前後、重力灌注與整治後其脫氯功能性基因變化

表 10. 模場試驗區 qPCR 分析

項目	qPCR (總菌數)																
日期/井號	M13	M14	M20	GW03	GW04	BW08	B26	B49	B20	B48	M19	M15	M16	M25	M26	M27	M28
112.02.27	2.75E+12	5.13E+07	2.38E+12	1.94E+12	—	7.58E+07	2.38E+13	1.18E+11	7.12E+11	4.53E+11	3.65E+12	2.58E+12	3.54E+07	—	—	—	—
112.03.23	6.49E+11	8.23E+12	2.74E+13	2.79E+12	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
112.04.26	5.98E+12	1.81E+12	6.47E+12	4.23E+12	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8.29E+12	3.29E+12	1.31E+11	—
112.05.25	1.03E+12	7.91E+12	9.83E+12	7.41E+11	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2.26E+13	2.03E+13	4.87E+07	—
112.06.30	4.80E+12	1.19E+12	9.01E+12	7.78E+11	4.93E+11	4.95E+11	3.78E+11	4.95E+11	1.28E+13	5.81E+11	4.79E+12	5.17E+12	2.29E+12	3.20E+12	7.07E+12	4.52E+11	5.93E+12
112.07.31	6.36E+12	8.72E+09	8.67E+10	1.75E+11	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1.86E+10	3.45E+10	7.82E+07	—
112.08.25	3.69E+11	5.95E+11	—	1.35E+12	3.26E+11	—	—	—	—	—	—	—	—	4.50E+10	4.08E+11	5.42E+07	—
112.09.21	1.09E+12	2.53E+11	3.45E+12	2.54E+12	3.85E+12	5.23E+10	1.83E+11	1.29E+11	4.98E+11	6.60E+11	2.01E+12	4.22E+11	9.65E+11	1.06E+11	6.86E+10	1.39E+10	8.30E+11
112.11.02	8.13E+11	4.22E+11	—	—	6.45E+11	—	—	—	—	—	—	—	—	9.64E+11	2.62E+11	8.53E+11	—
112.12.01	5.93E+11	1.65E+11	—	—	2.50E+11	—	—	—	—	—	—	—	—	3.51E+11	2.83E+11	4.53E+11	—
112.12.28	6.57E+11	1.77E+11	9.95E+11	1.01E+12	2.96E+11	1.36E+11	2.15E+10	4.24E+11	9.12E+11	9.32E+11	1.35E+11	1.34E+11	2.62E+09	3.63E+10	8.34E+09	6.20E+09	7.71E+11
113.02.01	1.91E+11	4.81E+10	—	2.40E+11	2.17E+11	—	—	—	—	3.04E+11	—	—	—	2.06E+10	5.78E+10	3.69E+10	—
113.02.29	1.55E+09	5.31E+10	—	3.80E+12	1.91E+11	—	—	—	—	—	—	—	—	1.62E+11	5.44E+08	2.38E+08	—
113.04.15	2.61E+11	1.59E+11	1.30E+12	1.96E+12	3.39E+11	4.89E+11	6.45E+11	3.23E+11	6.20E+11	3.01E+12	2.60E+11	3.56E+11	2.84E+11	1.62E+11	1.14E+10	1.44E+10	9.68E+11
113.07.17	1.33E+12	1.38E+12	5.62E+12	1.65E+12	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2.33E+11	2.90E+12	1.02E+12	3.67E+12
113.08.27	2.71E+11	3.52E+11	2.31E+12	7.78E+11	4.36E+11	3.88E+11	7.93E+11	1.00E+12	3.07E+11	3.84E+11	4.51E+11	4.60E+11	7.84E+11	2.32E+11	7.51E+11	1.50E+11	1.14E+12

第四章：實驗結果

項目	qPCR (總脫鹵球菌菌數)																
日期/井號	M13	M14	M20	GW03	GW04	BW08	B26	B49	B20	B48	M19	M15	M16	M25	M26	M27	M28
112.02.27	3.93E+09	4.78+07	3.88E+08	2.34E+08	—	4.40E+08	1.59E+07	6.88E+08	6.23E+08	4.44E+08	2.44E+06	4.35E+06	2.50+06	—	—	—	—
112.03.23	2.10E+08	2.20E+07	2.25E+09	4.98E+07	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
112.04.26	3.35E+08	1.98E+07	1.41E+08	5.71E+08	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3.20E+06	8.56E+06	2.33E+06	—
112.05.25	5.43E+09	5.83E+07	7.96E+07	1.50E+07	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5.16E+06	7.69E+07	5.85E+05	—
112.06.30	1.67E+10	1.92E+08	8.35E+07	9.22E+08	4.35E+09	3.09E+08	1.72E+08	4.17E+08	2.08E+08	2.84E+08	8.09E+08	2.33E+08	1.83E+08	2.03E+09	2.13E+08	4.04E+08	5.83E+06
112.07.31	2.69E+09	5.59E+06	6.00E+06	3.50E+08	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1.26E+07	7.50E+07	1.19E+06	—
112.08.25	5.16E+09	9.64E+07	—	2.47E+09	9.96E+09	—	—	—	—	—	—	—	—	5.98E+08	8.77E+08	2.51E+05	—
112.09.21	1.05E+10	1.19E+08	2.50E+08	1.33E+09	2.81E+09	2.56E+09	3.43E+09	1.52E+09	5.51E+08	4.17E+09	9.40E+08	9.44E+07	3.65E+08	6.75E+09	3.48E+09	1.16E+09	7.97E+07
112.11.02	8.44E+09	2.65E+08	—	—	5.70E+09	—	—	—	—	—	—	—	—	7.82E+08	3.52E+09	1.67E+09	—
112.12.01	1.38E+09	1.07E+08	—	—	8.90E+09	—	—	—	—	—	—	—	—	9.65E+08	6.32E+08	1.03E+09	—
112.12.28	4.94E+09	1.05E+08	6.39E+07	1.63E+09	6.09E+09	4.56E+09	2.26E+08	6.89E+08	5.99E+08	2.32E+09	7.30E+08	7.57E+07	1.45E+08	6.19E+08	1.07E+07	4.65E+08	3.44E+08
113.02.01	2.23E+09	2.40E+08	—	9.96E+08	7.38E+09	—	—	—	—	4.06E+09	—	—	—	5.04E+08	5.17E+08	1.74E+09	—
113.02.29	6.11E+04	1.01E+08	—	6.31E+08	2.54E+09	—	—	—	—	—	—	—	—	1.38E+09	9.81E+06	5.69E+04	—
113.04.15	1.27E+08	2.57E+08	6.66E+08	1.21E+09	3.95E+07	1.92E+09	1.75E+08	8.14E+08	1.32E+09	4.35E+09	3.01E+09	7.48E+07	3.14E+08	4.82E+09	3.14E+07	2.35E+08	4.65E+08
113.07.17	5.24E+08	1.90E+08	7.62E+08	9.06E+08	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1.80E+09	2.62E+08	1.10E+08	3.29E+08
113.08.27	1.17E+09	2.56E+08	4.04E+09	1.54E+09	1.21E+08	1.92E+09	6.70E+08	2.29E+09	1.85E+09	3.34E+08	5.83E+09	1.65E+08	2.18E+08	3.20E+09	1.22E+09	2.20E+08	1.07E+09

開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

項目	qPCR (功能性基因 <i>tceA</i>)																
日期/井號	M13	M14	M20	GW03	GW04	BW08	B26	B49	B20	B48	M19	M15	M16	M25	M26	M27	M28
112.02.27	1.32E+08	8.22E+07	1.62E+08	1.38E+06	—	2.62E+07	6.81E+06	2.00E+08	3.57E+08	4.28E+07	4.48E+06	1.43E+07	3.61E+05	—	—	—	—
112.03.23	1.12E+07	2.35E+07	7.75E+09	1.24E+07	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
112.04.26	3.60E+06	1.12E+07	4.64E+06	6.68E+06	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4.08E+05	7.84E+06	1.27E+05	—
112.05.25	1.75E+07	4.52E+07	4.73E+07	2.92E+06	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2.28E+06	1.81E+08	ND	—
112.06.30	8.49E+07	2.41E+07	4.85E+07	1.59E+06	9.24E+07	7.31E+07	1.61E+08	1.14E+09	1.62E+08	2.99E+06	3.73E+08	1.27E+08	5.67E+07	4.71E+09	4.66E+08	1.84E+08	4.33E+06
112.07.31	1.96E+07	1.91E+06	9.60E+05	1.39E+06	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3.20E+07	2.21E+08	ND	—
112.08.25	2.52E+07	7.45E+06	—	1.66E+06	4.29E+07	—	—	—	—	—	—	—	—	1.03E+09	8.29E+08	1.74E+05	—
112.09.21	3.70E+08	2.45E+06	1.37E+08	4.48E+08	4.40E+08	2.97E+07	4.98E+07	2.46E+08	2.33E+07	3.39E+07	1.75E+07	1.52E+07	8.34E+07	3.05E+09	2.13E+09	8.63E+08	9.33E+06
112.11.02	5.74E+06	1.12E+06	—	—	8.77E+06	—	—	—	—	—	—	—	—	2.49E+08	7.01E+08	3.92E+08	—
112.12.01	3.75E+06	6.72E+05	—	—	2.38E+06	—	—	—	—	—	—	—	—	2.32E+08	N.D	7.40E+07	—
112.12.28	1.19E+07	1.71E+06	1.89E+06	6.44E+07	3.70E+06	6.17E+07	2.23E+07	6.99E+07	1.03E+07	5.17E+06	1.34E+06	7.98E+06	4.53E+06	1.21E+08	2.57E+07	1.42E+08	1.68E+05
113.02.01	1.06E+07	8.20E+05	—	1.33E+07	7.12E+06	—	—	—	—	4.97E+06	—	—	—	4.78E+07	9.27E+07	7.23E+07	—
113.02.29	3.16E+04	4.15E+06	—	3.29E+08	7.03E+06	—	—	—	—	—	—	—	—	3.41E+08	2.23E+06	2.41E+04	—
113.04.15	1.70E+06	2.59E+06	9.56E+06	3.77E+08	1.36E+06	1.18E+08	3.99E+07	1.42E+08	9.66E+06	5.23E+06	1.09E+07	6.97E+06	4.06E+07	5.78E+08	4.76E+06	1.24E+07	4.81E+06
113.07.17	6.86E+05	7.02E+05	1.33E+06	2.34E+06	—	—	—	—	—	—	—	—	—	9.19E+07	4.97E+07	3.09E+07	3.67E+05
113.08.27	5.44E+06	2.14E+06	2.43E+06	2.99E+07	3.82E+06	3.48E+07	1.91E+07	2.28E+06	1.30E+06	3.44E+05	4.16E+06	3.06E+06	2.44E+06	1.21E+08	2.49E+07	4.02E+06	8.48E+05

第四章：實驗結果

項目	qPCR (功能性基因 <i>vcrA</i>)																
日期/井號	M13	M14	M20	GW03	GW04	BW08	B26	B49	B20	B48	M19	M15	M16	M25	M26	M27	M28
112.02.27	8.15E+08	8.73E+07	1.12E+08	1.59E+07	—	1.41E+06	2.66E+06	7.41E+08	1.12E+08	2.50E+07	8.49E+05	4.30E+06	2.19E+05	—	—	—	—
112.03.23	5.16E+07	2.78E+07	4.92E+08	9.75E+06	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
112.04.26	5.56E+07	1.31E+08	7.78E+06	7.52E+07	—	—	—	—	—	—	—	—	—	6.30E+05	3.19E+06	3.23E+05	—
112.05.25	2.07E+08	9.06E+07	2.32E+07	1.93E+07	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2.46E+06	8.70E+07	ND	—
112.06.30	4.10E+08	1.21E+08	5.00E+07	2.71E+07	8.64E+07	2.56E+08	1.93E+08	9.03E+08	8.62E+08	6.01E+06	6.40E+08	3.01E+08	1.67E+08	3.69E+08	3.68E+08	2.07E+09	1.54E+06
112.07.31	5.68E+07	4.84E+06	8.20E+05	6.28E+06	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2.61E+07	2.69E+07	ND	—
112.08.25	1.32E+08	4.83E+07	—	3.57E+07	9.58E+07	—	—	—	—	—	—	—	—	1.15E+09	9.15E+08	1.71E+07	—
112.09.21	3.80E+07	1.64E+06	1.23E+07	2.35E+07	3.78E+07	1.52E+06	6.82E+06	1.66E+08	1.53E+07	7.51E+06	1.50E+07	5.95E+06	2.02E+07	2.18E+08	1.80E+08	6.71E+07	1.37E+06
112.11.02	6.19E+06	7.16E+05	—	—	1.17E+08	—	—	—	—	—	—	—	—	2.19E+07	4.13E+07	6.45E+07	—
112.12.01	1.83E+06	6.40E+05	—	—	2.16E+05	—	—	—	—	—	—	—	—	4.70E+07	1.59E+07	1.40E+08	—
112.12.28	9.33E+06	9.28E+05	5.67E+05	2.56E+06	5.06E+05	4.35E+06	5.89E+06	7.33E+07	9.60E+06	2.82E+07	4.37E+05	6.05E+06	3.81E+05	3.08E+07	2.44E+05	1.28E+08	1.24E+05
113.02.01	1.03E+07	1.09E+06	—	9.03E+05	9.09E+05	—	—	—	—	4.43E+07	—	—	—	1.75E+07	1.95E+07	1.77E+08	—
113.02.29	6.32E+03	1.42E+06	—	4.71E+07	8.69E+05	—	—	—	—	—	—	—	—	8.40E+07	6.43E+05	8.77E+03	—
113.04.15	9.28E+05	2.17E+06	3.10E+06	4.25E+07	2.23E+05	1.30E+07	7.41E+06	4.20E+08	7.41E+06	2.85E+06	1.71E+06	3.53E+06	5.72E+06	2.00E+08	1.59E+06	2.79E+07	8.10E+05
113.07.17	1.32E+06	7.24E+05	9.43E+05	7.68E+05	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5.95E+07	1.03E+07	1.61E+06	1.39E+06
113.08.27	6.38E+06	1.88E+06	9.79E+05	2.60E+07	1.11E+06	1.56E+07	1.35E+07	3.66E+07	1.23E+06	1.00E+06	1.26E+06	2.09E+06	1.61E+06	9.90E+07	8.33E+06	4.85E+06	2.20E+06

開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

項目	qPCR (功能性基因 <i>bvcA</i>)																
日期/井號	M13	M14	M20	GW03	GW04	BW08	B26	B49	B20	B48	M19	M15	M16	M25	M26	M27	M28
112.02.27	1.57E+08	7.46E+07	7.44E+07	2.26E+06	—	2.06E+06	1.71E+05	2.30E+05	5.10E+07	5.48E+06	6.46E+05	4.82E+05	2.70E+05	—	—	—	—
112.03.23	1.02E+07	1.89E+07	3.49E+06	1.00E+05	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
112.04.26	1.16E+06	8.86E+07	7.25E+04	1.32E+05	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1.41E+05	3.06E+04	3.46E+05	—
112.05.25	1.91E+07	6.07E+07	1.35E+07	3.56E+06	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5.07E+07	2.56E+07	1.77E+05	—
112.06.30	2.23E+07	7.83E+07	1.45E+07	2.09E+06	5.65E+06	5.52E+06	2.49E+06	4.91E+06	1.73E+08	4.57E+06	5.77E+07	2.46E+07	1.82E+07	3.85E+07	2.91E+07	1.18E+07	4.23E+06
112.07.31	1.68E+07	8.83E+06	2.05E+06	8.77E+06	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3.19E+06	2.37E+06	2.44E+06	—
112.08.25	1.73E+06	1.19E+07	—	ND	ND	—	—	—	—	—	—	—	—	8.57E+07	5.52E+05	3.31E+05	—
112.09.21	2.17E+06	6.73E+06	4.38E+05	ND	ND	3.45E+06	ND	ND	2.90E+07	ND	1.59E+06	9.31E+05	1.87E+05	2.46E+06	1.97E+05	5.17E+05	1.19E+05
112.11.02	4.23E+05	3.60E+06	—	—	ND	—	—	—	—	—	—	—	—	1.11E+07	1.12E+05	3.95E+06	—
112.12.01	2.13E+05	2.09E+06	—	—	ND	—	—	—	—	—	—	—	—	6.01E+07	5.83E+05	1.85E+07	—
112.12.28	9.04E+05	3.26E+06	7.66E+04	5.82E+04	ND	3.71E+05	ND	8.12E+04	2.11E+07	1.74E+05	1.72E+05	5.05E+05	ND	3.13E+07	ND	9.17E+06	ND
113.02.01	9.33E+05	2.70E+06	—	2.95E+04	ND	—	—	—	—	4.16E+05	—	—	—	2.57E+07	3.04E+05	4.42E+07	—
113.02.29	3.70E+04	3.79E+06	—	3.77E+04	5.28E+04	—	—	—	—	—	—	—	—	1.40E+08	1.36E+04	ND	—
113.04.15	3.36E+04	6.80E+06	1.16E+06	ND	ND	6.86E+05	ND	1.61E+05	1.10E+07	3.55E+04	9.82E+05	3.90E+05	3.82E+04	3.71E+08	ND	8.33E+06	4.68E+04
113.07.17	ND	1.47E+06	ND	ND	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1.62E+08	1.04E+06	1.61E+06	ND
113.08.27	5.30E+05	3.21E+06	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	9.00E+05	5.53E+04	1.54E+05	1.16E+05	N.D	1.70E+08	1.24E+06	1.28E+06	N.D



4.4 脫氯菌劑 DPI 灌注前之菌相調查 (112 年 2 月)

我們將有 unclassified 以及 unculture 的 Taxonomy 剔除後，將占比低於 0.1% 之 Taxonomy 歸納至 Other，進行分類比較，各個監測井之前三菌群以及關鍵脫氯菌群分別為：

1. B20 : Oscillospiraceae (F, 8.73%), Enterobacteriaceae (F, 7.68%), Rhodobacteraceae(F, 7.34%), Sulfurospirillum
2. B48 : Clostridia_vadinBB60_oup (F, 5.69%), Oscillospiraceae (F, 3.07%), Enterobacteriaceae (F, 2.97%)
3. GW03 : Zoogloea (36.92%), Sulfuricurvum (14.31%), Rhodocyclaceae (F, 6.01%), Sulfurospirillum, Trichlorobacter
4. M13 : Comamonadaceae (F, 16.47%), Sulfuricurvum (8.10%), Ideonella (7.97%), Sulfurospirillum
5. M14 : Victivallis (10.01%), Acinetobacter (5.17%), Comamonadaceae (F, 3.34%), Sulfurospirillum
6. M20 : Zymophilus (12.22%), Victivallaceae (F, 10.00%), Oscillospiraceae (F, 8.86%)

本次次世代分析菌相分析實驗採樣時間為菌劑添加前(112 年 2 月 27 日)，用於了解現地地下水原生菌群型態，其數據整理為圖 12. 以屬為分類之菌相累積變化圖，Total 組別為 6 組樣本之菌種加總 以及表 11-12，此階段中優勢菌種可以發現多為硫酸還原菌、發酵菌株以及硝酸鹽還原菌等等，顯示該場地可能過去有受過生物刺激，地下水菌相較為豐富，然而，其中並未見到脫鹵球菌株 (*Dehalococcoides*)，顯示脫鹵球菌在本場地初期菌數較為弱勢，同時，脫氯呼吸菌株僅見得 *Sulfurospirillum* 以及 *Trichlorobacter*，這兩株菌株在過去文獻中被報導僅只能還原脫氯 PCE 及 TCE 至 *cis*-DCE(Gill et al., 2014; Nevin et al., 2007)，這與運轉前現地脫氯特性批次實驗中，M19 僅能將 TCE 脫氯至 *cis*-DCE 的結果吻合(圖 8)，顯示該場地可能並不能真正將二氯乙烯降解成無毒的乙烯，在未來整治上可能會面臨二氯乙烯及氯乙烯累積的問題，因此，透過地下水菌相分析更能凸顯添加脫氯菌劑的重要性及必需性。



圖 12. 以屬為分類之菌相累積變化圖，Total 組別為 6 組樣本之菌種加總



第四章：實驗結果

表 11.以屬為分類階層之菌相變化表

Taxonomy	Read of Sample					
	B20	B48	GW03	M13	M14	M20
Zooaea	0	0	63249	0	0	0
Burkholderiales	0	0	34842	189	0	0
Sulfuricurvum	0	0	24520	4605	0	0
Bacteria_unclassified	3850	5452	3566	3337	2869	1203
Comamonadaceae	0	3423	3902	9365	3543	0
Oscillospiraceae	7051	3796	180	161	2692	5835
Bact-08	1902	8853	0	848	6138	0
Victivallis	1143	1915	0	0	10614	3262
Clostridia_vadinBB60_oup_	3552	7039	0	0	3372	0
Cltridia_unclassified	4568	4361	204	498	3664	598
Victivallaceae_	916	2712	0	0	2144	6588
Rikenellaceae	0	1273	316	1585	665	8108
Enterobacteriaceae	6204	3671	239	0	1405	0
Rhodocyclaceae	0	0	10294	835	0	0
Clostridiaceae	3944	3168	1080	804	1364	739
SN8	615	695	0	0	9741	0
Enteracterales	4782	3272	458	0	1629	0
Oscillpirales	2952	2849	0	168	1992	1391
Rhodobacteraceae	5927	0	385	234	2328	0
Zymophilus	561	0	0	0	0	8050
Christensenellaceae_R-7_oup	2908	1591	0	449	3178	397
Acinetobacter	0	831	202	777	5479	0
Lentimicrobium	290	3343	0	1667	1474	322
M2PB4-65_termite_oup_	1006	4228	0	0	1602	0
Syntrophomonadaceae	569	1793	0	1080	2913	237
Meniscus	522	3641	0	1290	1106	0
Firmicutes_unclassified	1407	1905	254	467	1741	692
RF39_	406	3216	0	0	433	2120



開發高效本土脫氮菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

NK4A214_oup	2459	1690	0	0	496	1526
Macellibacteroides	721	1251	0	0	1645	1802
Ideonella	0	0	164	4534	0	0
Sulfurospirillum	3105	0	160	333	834	0
Christensenellaceae	2561	0	0	164	1125	415
Comamonas	0	1824	0	0	2059	0
vadinBE97_	647	1200	0	0	482	1195
Xanthomonadaceae	0	2801	0	0	621	0
Bacterdia_unclassified	206	1581	0	399	631	492
Hungateiclostridiaceae	359	1320	0	467	1095	0
Rummeliibacillus	0	3210	0	0	0	0
Syntrophomonas	328	821	0	969	745	174
Caproiciproducens	184	555	0	0	0	2225
Veillonellaceae	0	0	0	0	0	2908
Bacterdales	555	943	0	0	343	949
Prolixibacteraceae	0	2166	158	379	0	0
Stenotrophomonas	0	2325	0	0	368	0
Gastranaerophilales_	243	1408	0	204	580	0
Aquabacterium	0	0	450	1903	0	0
Sporomusaceae_	252	1333	0	0	757	0
Azospira	0	0	1344	514	421	0
Smithella	0	0	0	2247	0	0
Mesphaera	0	0	0	0	0	2240
SHA-4_	0	1090	0	0	1088	0
Pseudomonas	0	0	2171	0	0	0
Pseudomonadaceae	0	0	2082	0	0	0
Sporomusaceae	382	919	0	0	599	0
Planococcaceae	0	1763	0	0	0	0
Clostridium_sensu_stricto_1	779	817	0	0	0	156
Clostridium_sensu_stricto_3	0	684	365	375	0	191
Gammapreacteria_unclassified	0	0	1205	0	391	0
Tannerellaceae	0	0	0	0	0	1557
Z20	269	1257	0	0	0	0
Sphaerochaeta	0	994	0	0	529	0



第四章：實驗結果

Campylacterales	239	0	1000	209	0	0
Rhizobiaceae	0	561	186	0	576	0
Clostridia_UCG-014_	0	1232	0	0	0	0
Veillelles-Selenadales	173	509	0	0	0	501
unknn_unclassified	306	578	0	0	0	199
U29-B03	0	0	0	0	0	981
Paenirhodobacter	942	0	0	0	0	0
UCG-010_	0	517	0	0	0	275
Kinneretia	0	0	237	507	0	0
Clostridium_sensu_stricto_12	319	0	0	218	0	180
Selenomonadaceae	0	0	0	0	0	715
Flectobacillus	0	0	689	0	0	0
Lachnospiraceae	320	0	213	0	0	150
Moraxellaceae	0	0	0	0	655	0
Syntrhales	0	0	0	646	0	0
Anaeroobus	0	0	0	0	0	637
Bacilli_unclassified	0	0	0	280	0	357
Caloramatoraceae	0	0	0	0	463	173
Spirochaetaceae	0	0	0	582	0	0
Azonexus	0	0	0	576	0	0
Berkelbacteria_	0	539	0	0	0	0
Sphingomonadaceae	0	0	536	0	0	0
untured	166	0	0	0	365	0
Blvii28_wastewater-slud_oup	0	0	0	0	530	0
Bacteroidetes_vadinHA17_	0	0	230	293	0	0
Pseudadales	0	0	0	0	517	0
Trichlorobacter	0	0	497	0	0	0
Clostridium_sensu_stricto_8	0	0	471	0	0	0
Victivallales	253	0	0	0	0	213
Bacteroides	0	0	0	0	0	451
Solimonas	0	0	441	0	0	0
Ruminiclostridium	0	0	0	0	440	0
Preacteria_unclassified	0	0	439	0	0	0



開發高效本土脫氮菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

Lenti-02_	0	0	0	0	409	0
Dechlorobacter	0	0	0	406	0	0
Hydrogenophilaceae	0	0	393	0	0	0
Syntrophobacteraceae	0	0	221	159	0	0
Desulfovibrio	378	0	0	0	0	0
Syntrophus	0	0	0	374	0	0
Acidaminococcaceae	0	0	0	0	0	366
Hydronopha	0	0	337	0	0	0
Ruminococcaceae	0	0	0	0	0	335
Caulobacteraceae	0	0	333	0	0	0
Candidatus_Shapirobacteria_	311	0	0	0	0	0
Vosella	0	0	303	0	0	0
Syntrophorhabdus	0	0	0	289	0	0
Sphingacteriales	0	0	0	276	0	0
Desulforhabdus	0	0	270	0	0	0
Sphingomonadaceae_	0	0	265	0	0	0
Caulobacter	0	0	259	0	0	0
Tannerellaceae_	0	0	0	0	0	259
WCHB1-32	0	0	253	0	0	0
Desulfobulbus	0	0	252	0	0	0
Anaerolineaceae	0	0	0	249	0	0
Clcimadales	0	0	0	232	0	0
Rikenellaceae_RC9_t_oup	0	0	0	0	0	229
Elusimicria_unclassified	0	0	0	228	0	0
Cltridiales	227	0	0	0	0	0
Alphapreacteria_unclassified	0	0	225	0	0	0
Oxobacter	221	0	0	0	0	0
RBG-16-49-21	0	0	0	217	0	0
S50_wastewater-slud_oup	0	0	0	0	0	216
Lentisphaeria_unclassified	212	0	0	0	0	0
Methylosinus	0	0	0	209	0	0
Prevotellaceae_UCG-004	0	0	0	0	0	200
Pseudocitrobacter	195	0	0	0	0	0
Thiomonas	0	0	182	0	0	0



第四章：實驗結果

Clostridium_sensu_stricto_9	0	0	180	0	0	0
Negativicutes_unclassified	0	0	0	0	0	175
Clostridium_sensu_stricto_10	0	0	170	0	0	0
Anaerosinus	0	0	0	0	0	164
Fonticella	0	0	0	0	0	164
WCHB1-41_	0	0	0	0	0	164
BSV40_	0	0	0	161	0	0
Azotobacter	0	0	159	0	0	0
WOR-1_	0	0	0	154	0	0
Sporobacter	0	0	0	0	0	131
other(<1%)	8344	14877	10773	9762	15213	3271

表 12、現地地下水菌群之功能性菌種表

Bacteria	Functional of identified bacteria	References
<i>Sulfuricurvum</i>	Sulfur oxidation	Kodama et al., 2004
<i>Thiomonas</i>	As(III) oxidation; Sulfur oxidation	Bryan et al., 2009; Chen et al., 2004
<i>Desulforhabdus</i>	Sulfate reduction	Elferink et al., 1995
<i>Desulfobulbus</i>	Sulfate reduction; Propionate-oxidation	Houari et al., 2017
<i>Desulfovibrio</i>	Sulfate reduction	Lobo et al., 2012
<i>Sulfurospirillum</i>	Sulfate reduction; Arsenate reduction; Tetrachloroethane(PCE) degradation	Gill et al., 2014
<i>Comamonas sp</i>	Isophthalate degradation; Tetrabromobisphenol A degradation	Fukuhara et al., 2010; Peng et al., 2013
<i>Ideonella s</i>	PET (poly ethylene terephthalate) degradation	Joo et al., 2018
<i>Trichlorobacter</i>	TCA degradation, TCE/PCE degradation to cis-DCE	Nevin et al., 2007
<i>Syntrophorhabdus</i>	Phenol degradation	Qiu et al., 2008
<i>Sporobacter</i>	Aromatic compounds degradation	GRECH-MORA et al., 1996
<i>Dechlorobacter</i>	Perchlorate reduction	Thrash et al., 2010
<i>Syntrophus</i>	Fermentation/ benzoate oxidation	Mountfort et al., 1984
<i>Victivallis</i>	Sugar fermentation	Zoetendal et al., 2003
<i>Sphaerochaeta</i>	Sugar fermentation	Troshina et al., 2015
<i>Lentimicrobium</i>	Fermentation	Sun et al., 2016
<i>Macellibacteroides</i>	Fermentation	Jabari et al., 2012



開發高效本土脫氮菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

<i>Caproiciproducens</i>	Fermentation	Kim et al., 2015
<i>Ruminiclostridium</i>	Fermentation	Rettenmaier et al., 2021
<i>Fonticella</i>	Fermentation	Fraj et al., 2013
<i>Oxobacter</i>	Fermentation/ pyruvate oxidation	Collins et al., 1994
<i>Smithella</i>	Propionate-oxidation/ Fermentation	Liu et al., 1999
<i>Syntrophomonas</i>	Propionate and Butyrate oxidation	Carballa et al., 2015
<i>Acinetobacter</i>	Nitrate Reduction	Baumann et al. 1968
<i>Azospira</i>	Nitrogen fixation	Bae et al., 2007
<i>Azonexus</i>	Nitrogen fixation	Chou et al., 2008
<i>Azotobacter</i>	Nitrogen fixation	Sumbul et al., 2020
<i>Methylosinus</i>	Methane oxidation	Brenner et al., 2005



4.5 脫氯菌劑 DPI 灌注後之菌相調查 (112 年 9 月)

本次次世代分析菌相分析實驗採樣時間為菌劑添加後 6 個月(112 年 9 月 18 日)，用於了解現地地下水在脫氯菌劑添加後菌群型態，我們將有 unclassified 以及 unculture 的 Taxonomy 剔除後，將占比低於 0.1%之 Taxonomy 歸納至 Other，進行分類比較，各個監測井之前三菌群以及關鍵脫氯菌群分別為：

1. GW03：*Sulfuricurvum* (24.31%)、*Enterobacterales* (17.92%)、*Clostridiaceae* (10.55%)
2. GW04：*Clostridiaceae* (24.62%)、*Carnobacteriaceae* (18.07%)、*Trichococcus* (4.98%)
3. M19：*Paenirhodobacter* (16.10%)、*Syntrophomonadaceae* (6.78%)、*Firmicutes* (4.23%)
4. M14：*Beijerinckiaceae* (7.29%)、*Clostridiaceae* (6.79%)、*Methylococcus* (4.12%)
5. M13：*Clostridiaceae* (11.76%)、*Clostridium_sensu_stricto_3* (5.63%)、*Comamonadaceae* (5.51%)
6. M20：*Syntrophomonadaceae* (11.94%)、*Rikenellaceae* (9.45%)、*Rhodobacteraceae* (7.07%)
7. M25：*Pseudomonadaceae* (12.24%)、*Arcobacteraceae* (12.17%)、*Rhodocyclaceae* (7.49%)、*Trichlorobacter*、*Peptococcaceae*、*Geobacterales*
8. M26：*Rikenellaceae* (15.41%)、*Alphaproteobacteria* (10.34%)、*Pseudomonadaceae* (8.67%)
9. M27：*Prolixibacteraceae* (9.11%)、WCHB1-32 (7.64%)、*Rhodocyclaceae* (5.89%)、*Geobacterales*
10. B48：M2PB4-65_termite_group (11.49%)、*Syntrophomonadaceae* (4.96%)、*Smithella* (3.89%)
11. B20：*Smithella* (8.00%)、*Syntrophomonadaceae* (7.66%)、*Rhodobacteraceae* (3.70%)
12. M48：*Syntrophomonadaceae* (1.98%)、*Comamonadaceae* (6.23%)、Bact-08 (4.15%)

在定序結果中，發現在菌劑添加後在 GW03、GW04、M13、M14 中地下水井中可以看到 *Clostridium* 此類的產氫細菌，菌劑之菌群結構富含高比例的 *Clostridium*，推測菌劑添加後，因地下水厭氧環境適合產氫菌生存，使產氫菌 *Clostridium* 在地下水井比例上升，從而協助產生足夠的氫氣量，供給脫氯球菌進



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

行完全脫氯，從地下水菌相定序除了與脫鹵球菌脫氯相關的氫氣供細菌之外，我們在菌相中也發現許多與發酵相關的細菌，如 *Carnobacteriaceae* 可發酵成乳酸，*Rikenellaceae* 可將葡萄糖發酵成氫氣、二氧化碳與醋酸(Su et al., 2014)，*Victivallis* 可將葡萄糖發酵成氫氣與醋酸(Zoetendal et al., 2003)，*Lentimicrobium* 可將葡萄糖發酵成氫氣、醋酸、蘋果酸鹽、丙酸鹽與甲酸(Sun et al., 2016)，*Smithella* 可將丙酸形成醋酸、丁酸，*Peptostreptococcaceae* 可發酵糖類形成醋酸，這些發酵菌提供脫鹵球菌足夠的碳源，*Acetobacteraceae* 除了可形成醋酸外，也具有提供 vitamin B₁₂ 的能力，作為脫鹵球菌脫氯過程中的關鍵輔酶(Puentes Jácome et al., 2019)，在菌相中也發現許脫與固氮相關的細菌，如 *Azospira*、*Azonexus*、*Azotobacter*、*Rhizobiales*，提供脫鹵球菌脫氯過程中的銨鹽來源，雖在定序結果中沒有定序到脫鹵球菌，然而，在先前文獻證實脫鹵球菌含量較低在定序結果中較難被定序到(Kao et al. 2016)，在 qPCR 結果中，可以看到脫鹵球菌菌數，相關功能性基因 *tceA*、*vcrA* 明顯增長相較於菌劑添加前，並與污染物降解趨勢相同，因此，透過添加菌劑的菌相結果，發現菌劑除了可將目標脫氯菌種打至污染熱區外，還可協助改善現地污染地下水微生物菌相結構，促進脫鹵球菌生長。

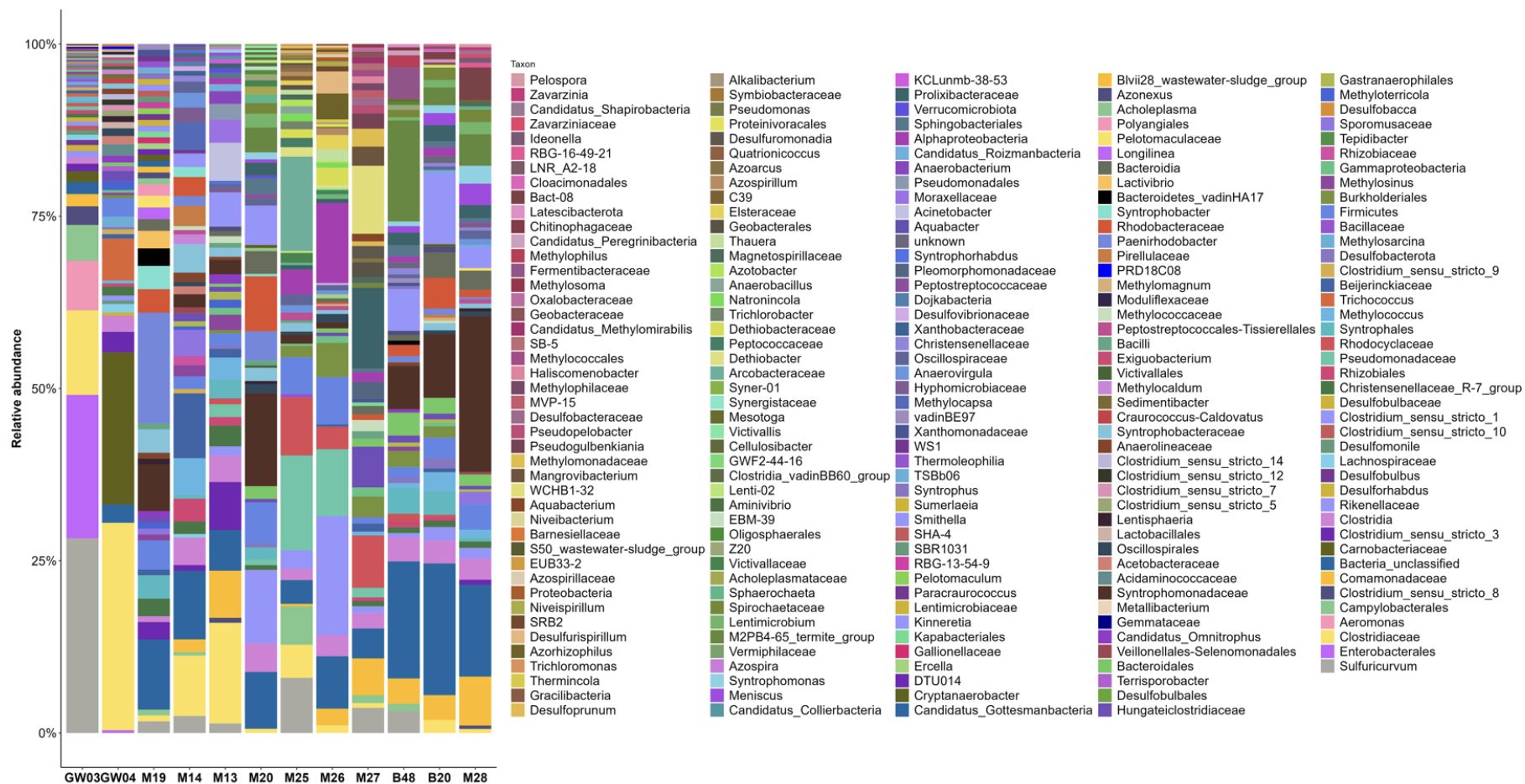


圖 13. 經脫氯菌劑 DPI 灌注後的地下水微生物菌相，以屬為分類。



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

表 13、現地地下水菌群之功能性菌種表

Bacteria	Functional of identified bacteria	References
<i>Sulfuricurvum</i>	Sulfur oxidation	Kodama et al., 2004
<i>Desulforhabdus</i>	Sulfate reduction	Elferink et al., 1995
<i>Desulfobulbus</i>	Sulfate reduction; Propionate-oxidation	Houari et al., 2017
<i>Desulfovibrio</i>	Sulfate reduction	Figueiredo et al., 2012
<i>Trichlorobacter</i>	TCA degradation, TCE/PCE degradation to cis-DCE	Nevin et al., 2007
<i>Syntrophorhabdus</i>	Phenol degradation	Qiu et al., 2008
<i>Syntrophus</i>	Fermentation/ benzoate oxidation	Mountfort et al., 1984
<i>Victivallis</i>	Sugar fermentation	Zoetendal et al., 2003
<i>Sphaerochaeta</i>	Sugar fermentation	Troshina et al., 2015
<i>Lentimicrobium</i>	Fermentation	Sun et al., 2016
<i>Smithella</i>	Propionate-oxidation/ Fermentation	Liu et al., 1999
<i>Syntrophomonas</i>	Propionate and Butyrate oxidation	Carballa et al., 2015
<i>Acinetobacter</i>	Nitrate Reduction	Baumann et al. 1968
<i>Azospira</i>	Nitrogen fixation	Bae et al., 2007
<i>Azonexus</i>	Nitrogen fixation	Chou et al., 2008
<i>Azotobacter</i>	Nitrogen fixation	Sumbul et al., 2020
<i>Methylosinus</i>	Methane oxidation	He et al., 2017
<i>Clostridiaceae</i>	Sugar fermentation	Wiegel et al., 2006
<i>Comamonadaceae</i>	PHBV-degrading denitrifiers	Khan et al., 2002
<i>Carnobacteriaceae</i>	Lactic acid bacteria	Pikuta et al., 2014
<i>Lachnospiraceae</i>	butyrate-producing	Zhang et al., 2019
<i>Desulfomonile</i>	sulfate-reducing	DeWeerd et al., 2015
<i>Desulfobulbaceae</i>	sulfate-reducing	Gittel et al., 2008
<i>Rhizobiales</i>	nitrogen fixation	Black et al., 2012
<i>Rhodocyclaceae</i>	denitrification	Yu et al., 2018
<i>Syntrophales</i>	degrade alkanes or aromatic hydrocarbons coupled with sulfate reduction	Dong et al., 2022
<i>Methylococcus</i>	methane-oxidizing	Stolyar et al., 1999
<i>Trichococcus</i>	Electron transfer	Ren et al., 2020
<i>Desulfobacterota</i>	Sulfur-Disproportionating	Ward et al., 2020
<i>Methylosarcina</i>	Methane oxidation	Wei et al., 2016



第四章：實驗結果

<i>Burkholderiales</i>	degrade aromatic compounds	Pérez-Pantoja et al., 2012
<i>Gammaproteobacteria</i>	sulfur-oxidizing	Dyksma et al., 2016
<i>Rhizobiaceae</i>	Sb(III) oxidation, N ₂ fixation, and carbon fixation,	Li et al., 2022
<i>Sporomusaceae</i>	Lactate-Fermenting	Aoyagi et al., 2019
<i>Desulfobacca</i>	sulfate-reducing	Stams et al., 2015
<i>Desulfobulbales</i>	Sulfur Metabolisms	Ward et al., 2021
<i>Veillonellales-Selenomonadales</i>	selenium-reducing	Kulasekara et al., 2023
<i>Metallibacterium</i>	sulfur-oxidizing	Jia et al., 2023
<i>Syntrophomonadaceae</i>	ferment succinate or glutarate	Munoz et al., 2014
<i>Acetobacteraceae</i>	Nitrogen-fixing	Reis et al., 2015
<i>Lactobacillales</i>	lactic acid bacterium	da Silva Sabo et al., 2014
<i>Anaerolineaceae</i>	denitrification	Petet et al., 2019
<i>Syntrophobacteraceae</i>	acetate-degrading sulfate reducing bacteria	Liu et al., 2018
<i>Sedimentibacter</i>	phenol, methylphenol, dimethylphenol and naphthol degradation	Huang et al., 2016
<i>Methylocaldum</i>	methane oxidation	Takeuchi et al., 2014
<i>Methylococcaceae</i>	methane oxidation	Taubert et al., 2019
<i>Paenirhodobacter</i>	selenite-reducing bacterium,	Wang et al., 2015
<i>Syntrophobacter</i>	propionate-degrading	Liu et al., 1999
<i>Lativibrio</i>	lactate-, alcohol-, carbohydrate- and amino-acid-degrading bacterium	Qiu et al., 2014
<i>Longilinea</i>	denitrification	Jiang et al., 2023
<i>Cryptanaerobacter</i>	phenol-degrading	He et al., 2021
<i>DTU014</i>	acetate oxidation	Dyksma et al., 2020
<i>Ercella</i>	succinate-producing	van Gelder et al., 2014
<i>Gallionellaceae</i>	Fe(II)-oxidizing	Jakus et al., 2021
<i>Xanthomonadaceae</i>	nitrification	Wang et al., 2020
<i>Methylocapsa</i>	methane-oxidizing	Dedysh et al., 2002
<i>Hyphomicrobiaceae</i>	Nitrogen fixation	Tak et al., 2019
<i>Xanthobacteraceae</i>	Nitrogen fixation	Bittleston et al., 2023



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

<i>Peptostreptococcaceae</i>	produce acetic acid from a variety of sugars and glycerol, as well as from CO ₂ and H ₂	Moestedt et al., 2019
<i>Syntrophorhabdus</i>	Degrading Phenol to Acetate	Junghare et al., 2019
<i>Anaerobacterium</i>	Production of propionate	Moreira et al., 2019
<i>Spirochaetaceae</i>	Fermented glucose to acetate, ethanol, and lactate	Dollhopf et al., 2001
<i>Aminivibrio</i>	amino-acid-degrading bacterium	Honda et al., 2013
<i>Synergistaceae</i>	production of propionate	Veeravalli et al., 2017
<i>Dethiobacter</i>	Sulfate reduction	Jin et al., 2020
<i>Peptococcaceae</i>	Dichloromethane degradation	Holland et al., 2021
<i>Dethiobacteraceae</i>	Dethiobacteraceae	Perman et al., 2022
<i>Natronincola</i>	iron-reducing bacteria	Zhilina et al., 2009
<i>Anaerobacillus</i>	arsenate-respiring bacterium	Wang et al., 2015
<i>Thauera</i>	degrading aromatic compounds	Mechichi et al., 2002
<i>Geobacterales</i>	PCE reduction; Fe (III)-reduction	Liang et al., 2021; Viulu et al., 2013
<i>Azospirillum</i>	nitrogen fixation	Fukami et al., 2018
<i>Azoarcus</i>	nitrogen fixation	Hurek et al., 2003
<i>Desulfuromonadia</i>	Fe (III) reduction	Li et al., 2021
<i>Symbiobacteraceae</i>	N ₂ O emission	Zhu et al., 2023
<i>Desulfoprimum</i>	benzoate-degrading, sulfate-reducing bacterium	Junghare et al., 2015
<i>Thermincola</i>	Fe(III) reduction	Zavarzina et al., 2007
<i>Trichloromonas</i>	Sulfate reducing bacteria	Zhang et al., 2021
<i>Desulfurispirillum</i>	sulfur- and dissimilatory nitrate-reducing bacterium	Sorokin et al., 2007
<i>Niveispirillum</i>	nitrogen-fixing bacterium	Cai et al., 2015
<i>Mangrovibacterium</i>	nitrogen fixation	Huang et al., 2014
<i>Pseudogulbenkiania</i>	nitrate-reducing Fe (II) oxidation	Chen et al., 2018
<i>Desulfobacteraceae</i>	Anaerobic naphthalene degradation	Kümmel et al., 2015
<i>Geobacteraceae</i>	Fe (III)-reducing	Holmes et al., 2007
<i>Fermentibacteraceae</i>	producing acetate and hydrogen from sugars	Owusu-Agyeman et al., 2021



第四章：實驗結果

<i>Methylophilus</i>	Methanol-Utilizing Bacteria	Jenkins et al.,1987
<i>Ideonella</i>	Plastic degradation	Gottfried et al., 2019
<i>Pelospora</i>	glutarate-fermenting Bacteria	Matthies et al., 2000



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

4.6 脫氯菌劑 DPI 灌注一年(整治後期第一階段)之菌相調查 (113 年 4 月)

本次次世代分析菌相分析實驗採樣時間為菌劑添加後 12 個月(113 年 4 月 15 日)，用於了解現地地下水在脫氯菌劑添加後菌群型態，我們將有 unclassified 以及 unculture 的 Taxonomy 剔除後，將占比低於 0.1%之 Taxonomy 歸納至 Other，進行分類比較(圖 14)，各個監測井之前三菌群以及關鍵脫氯菌群分別為：

1. GW03：*Clostridiaceae* unclassified(63.66%)、*Clostridium sensu stricto* 1(15.50%)、*Clostridiales* unclassified(4.41%)
2. GW04：*Clostridiaceae* unclassified(64.54%)、*Clostridium sensu stricto* 1(5.49%)、*Clostridium*(2.44%)
3. BW08：*Clostridiaceae* unclassified(52.16%)、*Beijerinckiaceae* unclassified(8.47%)、*Clostridium sensu stricto* 1(1.91%)
4. B20：*Clostridiaceae* unclassified(22.00%)、*Bacteria* unclassified(10.98%)、*Acinetobacter*(3.78%)
5. B26：*Clostridiaceae* unclassified(66.48%)、*Clostridium sensu stricto* 1(3.95%)、*Beijerinckiaceae* unclassified(3.44%)
6. B48：*Clostridiaceae* unclassified(49.70%)、*Clostridium sensu stricto* 1(5.21%)、*Beijerinckiaceae* unclassified(0.12%)
7. B49：*Clostridiaceae* unclassified(47.70%)、*Bacteria* unclassified(4.36%)、*Beijerinckiaceae* unclassified(4.20%)
8. M13：*Clostridiaceae* unclassified(29.92%)、*Beijerinckiaceae* unclassified(7.79%)、*Bacteria* unclassified(5.54%)
9. M14：*Clostridiaceae* unclassified(29.95%)、*Bacteria* unclassified(8.98%)、*Beijerinckiaceae* unclassified(5.14%)
10. M15：*Clostridiaceae* unclassified(24.37%)、*Bacteria* unclassified(10.95%)、*Methylococcus*(5.89%)
11. M16：*Clostridiaceae* unclassified(41.36%)、*Bacteria* unclassified(10.74%)、*Candidatus* *Omniitrophus*(2.76%)
12. M19：*Clostridiaceae* unclassified(19.90%)、*Bacteria* unclassified(13.98%)、*Clostridium sensu stricto* 5(4.55%)
13. M20：*Bacteria* unclassified(22.70%)、*Smithella*(7.80%)、*Clostridiaceae* unclassified(5.70%)
14. M25：*Clostridiaceae* unclassified(34.25%)、*Beijerinckiaceae* unclassified(10.00%)、*Bacteria* unclassified(4.04%)
15. M26：*Clostridiaceae* unclassified(29.01%)、*Beijerinckiaceae* unclassified(7.04%)、*Bacteria* unclassified(5.96%)
16. M27：*Clostridiaceae* unclassified(40.24%)、*Bacteria* unclassified(8.93%)、*Clostridium sensu stricto* 7(4.97%)



第四章：實驗結果

17. M28：*Clostridiaceae* unclassified(21.22%)、*Bacteria* unclassified(14.13%)、*Syntrophomonadaceae* unclassified(3.44%)

由定序結果可知各個監測井前三菌群多以 *Clostridium* 為主要菌，*Clostridium* 屬於產氫菌，可提供足夠的氫氣有利於脫鹵球菌進行還原脫氯，推測在脫氯菌劑灌注至地下水井後，*Clostridium* 可代謝由藥劑所提供的碳源與營養鹽，獲得能量並增加 Biomass，*Clostridium* 生長速度快，產生的氫氣與醋酸則提供其他微生物利用，因此 *Clostridium* 與其他微生物可能存在共生關係，並組成新的微生物菌群，*Clostridium* 也具有較強的適應性，因此在整治後地下水菌相含有較高的比例，推測由藥劑提供的碳源尚未代謝完，*Clostridium* 繼續利用碳源進行生長，因此。在 B20 和 M20 井中有定序到 *Dehalococcoides* 代表我們添加的生物菌劑內脫鹵球菌含量足夠定序到且在一年後仍有脫鹵球菌存在在場址中，顯示脫鹵球菌在現場的持久性，將持續追蹤環境菌相與各項水質參數，以利評估生物強化法後續對於現地環境與微生物影響。

開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

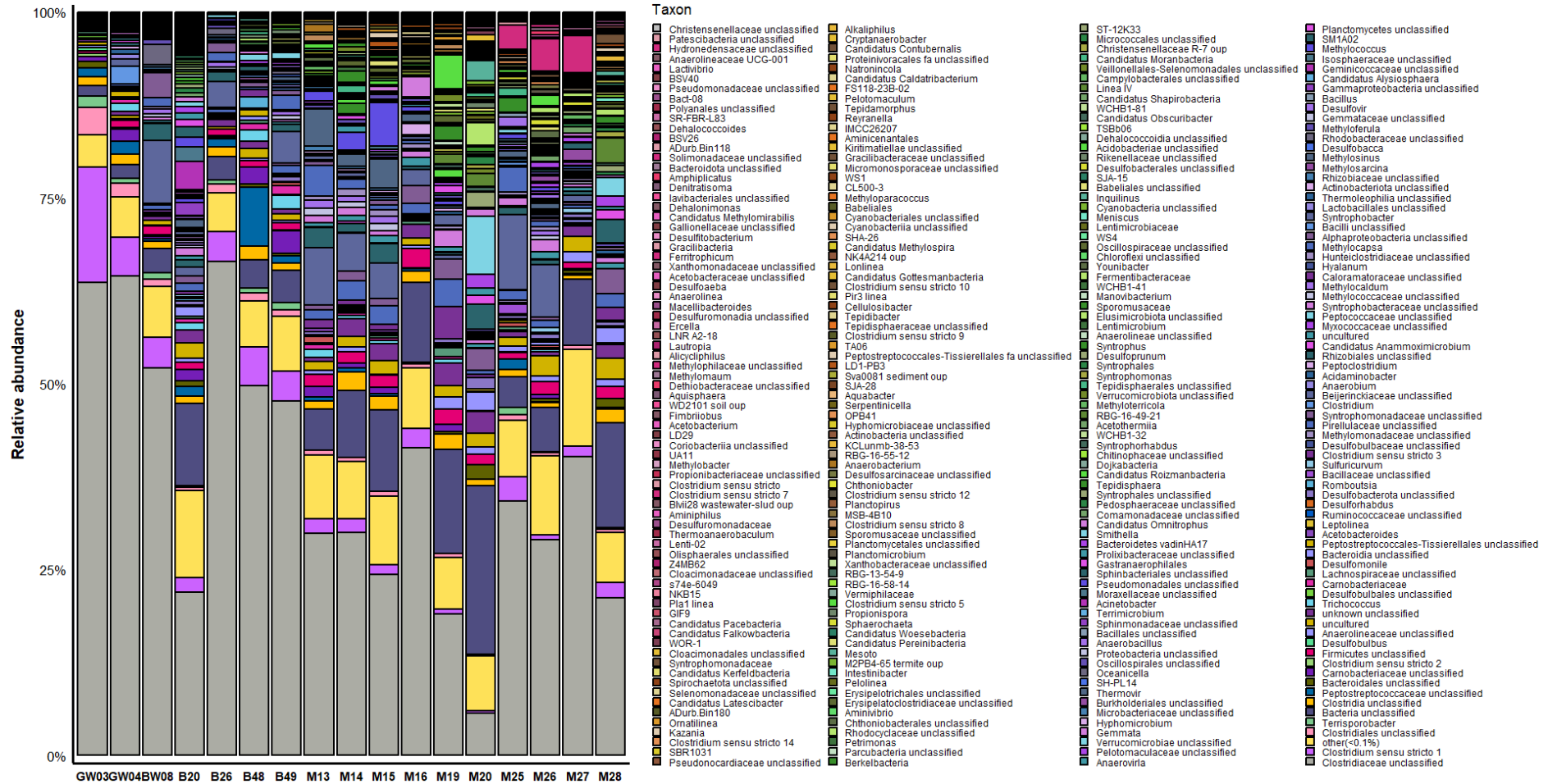


圖 14 經脫氯菌劑 DPI 灌注一年後(整治後期第一階段)的地下水微生物菌相，以屬為分類。



第四章：實驗結果

表 14、現地地下水菌群之功能性菌種表

Bacteria	Functional of identified bacteria	References
<i>Clostridium</i>	H ₂ -producing	Wang et al.,2021
<i>Dehalococcoides</i>	Organohalide-Respiring	Yang et al.,2020
<i>Carnobacteriaceae</i>	produce lactic acid	Pikuta et al.,2014
<i>Desulfobulbus</i>	sulfate reducing bacteria	Ward et al.,2021
<i>Anaerolineaceae</i>	fermentative metabolism	McIlroy et al.,2017
<i>Trichococcus</i>	degrade a wide range of carbohydrates	Strepis et al.,2020
<i>Desulfobulbales</i>	sulfate reducing bacteria	Ward et al.,2021
<i>Lachnospiraceae</i>	butyrate-producing	Zhang et al.,2019
<i>Desulfomonile</i>	Long-Chain Fatty Acids Degradation	Alves et al.,2020
<i>Acetobacteroides</i>	acetate-type fermentation bacterium	Zhang et al.,2015
<i>Desulforhabdus</i>	sulfate-reducing bacteria	Cai et al.,2021
<i>Desulfobacterota</i>	sulfate/sulfite reduction	Diao et al.,2023
<i>Sulfuricurvum</i>	Sulfur oxidation	Kodama et al., 2004
<i>Methylomonadaceae</i>	methane oxidation	Cabrol et al.,2020
<i>Syntrophomonadaceae</i>	ferment succinate or glutarate	Munoz et al., 2014
<i>Beijerinckiaceae</i>	methyloph	Tamas et al., 2014
<i>Anaerobium</i>	Fermentation of glycerol	Patil et al.,2017
<i>Acidaminobacter</i>	Amino Acid Degradars	Mei et al.,2020
<i>Peptoclostridium</i>	glucose fermentation	Chen et al.,2020
<i>Rhizobiales</i>	nitrogen fixation	Black et al., 2012
<i>Candidatus Anammoximicrobium</i>	Anaerobic ammonia-oxidizing	Lodha et al.,2021
<i>Peptococcaceae</i>	Dichloromethane degradation	Holland et al., 2021
<i>Syntrophobacteraceae</i>	acetate-degrading sulfate reducing bacteria	Liu et al., 2018
<i>Methylococcaceae</i>	methane oxidation	Takeuchi et al., 2014
<i>Methylocaldum</i>	methane oxidation	Takeuchi et al., 2014
<i>Methylocapsa</i>	Dinitrogen-Fixing Methanotroph	Belova et al., 2023
<i>Syntrophobacter</i>	propionate-degrading	Liu et al.,1999
<i>Lactobacillales</i>	lactic acid bacterium	da Silva Sabo et al., 2014



開發高效本土脫氮菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

<i>Actinobacteriota</i>	Phosphorus sorption-release	Xu et al., 2023
<i>Rhizobiaceae</i>	Sb(III) oxidation, N ₂ fixation, and carbon fixation,	Li et al., 2022
<i>Methylosarcina</i>	Methane oxidation	Wei et al., 2016
<i>Methylosinus</i>	Methane oxidation	Brenner et al., 2005
<i>Desulfobacca</i>	sulfate-reducing	Stams et al., 2015
<i>Methyloferula</i>	obligately methanotrophic bacterium	Vorobev et al., 2011
<i>Gammaproteobacteria</i>	sulfur-oxidizing	Dyksma et al., 2016
<i>Methylococcus</i>	methane-oxidizing	Stolyar et al., 1999
<i>Planctomycetes</i>	oxidize ammonia to dinitrogen	Fuerst et al., 2011
<i>Pelotomaculaceae</i>	oxidize fatty acid byproducts	Kuroda et al., 2021
<i>Hyphomicrobium</i>	Methylotrophic denitrifiers	Rissanen et al., 2017
<i>Burkholderiales</i>	aromatic compounds biodegradation	Pérez-Pantoja et al., 2012
<i>Terrimicrobium</i>	carbohydrate-fermenting bacterium	Liu et al., 2019
<i>Acinetobacter</i>	Nitrate Reduction	Baumann et al. 1968
<i>Smithella</i>	Propionate-oxidation/ Fermentation	Liu et al., 1999
<i>Comamonadaceae</i>	PHBV-degrading denitrifiers	Khan et al., 2002
<i>Syntrophales</i>	degrade alkanes or aromatic hydrocarbons coupled with sulfate reduction	Dong et al., 2022
<i>Syntrophorhabdus</i>	Degrading Phenol to Acetate	Junghare et al., 2019
<i>Verrucomicrobiota</i>	degrading various sulfated polysaccharides.	Ye et al., 2022
<i>Syntrophomonas</i>	Propionate and Butyrate oxidation	Carballa et al., 2015
<i>Desulfoprimum</i>	benzoate-degrading, sulfate-reducing bacterium	Junghare et al., 2015
<i>Syntrophus</i>	Fermentation/ benzoate oxidation	Mountfort et al., 1984
<i>Lentimicrobium</i>	Fermentation	Sun et al., 2016



第四章：實驗結果

<i>Fermentibacteraceae</i>	acidogenesis	Owusu-Agyeman et al., 2021
<i>Desulfobacterales</i>	sulfate-reducing	Zhou et al., 2023
<i>Rikenellaceae</i>	carbohydrate-fermenting, hydrogen-producing bacterium	Su et al., 2014
<i>Rhodocyclaceae</i>	denitrification	Yu et al., 2018
<i>Parcubacteria</i>	denitrification	Danczak et al., 2017
<i>Aminivibrio</i>	amino-acid-degrading bacterium	Honda et al., 2013
<i>Sphaerochaeta</i>	Sugar fermentation	Troshina et al., 2015
<i>Xanthobacteraceae</i>	Nitrogen fixation	Bittleston et al., 2023
<i>Alkaliphilus</i>	metabolizing both inorganic and organic arsenic	Fisher et al., 2008



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

4.7 脫氯菌劑 DPI 灌注一年半後(整治後期第二階段)之現地環境微生物菌相調查 (113 年 8 月)

本次次世代分析菌相分析實驗採樣時間為菌劑添加後 16 個月(113 年 8 月 27 日)，用於了解現地地下水在脫氯菌劑添加後菌群型態，我們將有 unclassified 以及 unculture 的 Taxonomy 剔除後，將占比低於 0.1%之 Taxonomy 歸納至 Other，進行分類比較(圖 15)，各個監測井之前三菌群以及關鍵脫氯菌群分別為：

1. GW03 : *Clostridiaceae* unclassified(36.25%)、*Clostridium sensu stricto* 1(29.35%)、*Desulfohalobium*(4.01%)
2. GW04 : *Clostridiaceae* unclassified(11.86%)、*Bacteria* unclassified(6.50%)、*Rhizobiales* unclassified(3.46%)
3. BW08 : *Clostridiaceae* unclassified(41.61%)、*Clostridium sensu stricto* 1(10.29%)、*Beijerinckiaceae* unclassified(6.43%)
4. B20 : *Clostridiaceae* unclassified(19.95%)、*Trichococcus*(16.00%)、*Carnobacteriaceae* unclassified(12.04%)
5. B26 : *Clostridiaceae* unclassified(35.76%)、*Clostridium sensu stricto* 1(24.41%)、*Bacteria* unclassified(2.83%)
6. B48 : *Clostridiaceae* unclassified(20.04%)、*Trichococcus*(11.40%)、*Carnobacteriaceae* unclassified(9.96%)
7. B49 : *Clostridiaceae* unclassified(34.74%)、*Terrisporobacter*(21.98%)、*Clostridium sensu stricto* 1(19.28%)
8. M13 : *Trichococcus*(13.14%)、*Clostridiaceae* unclassified(12.41%)、*Carnobacteriaceae* unclassified(9.91%)
9. M14 : *Clostridiaceae* unclassified(27.35%)、*Clostridium sensu stricto* 1(14.32%)、*Bacteria* unclassified(3.55%)
10. M15 : *Clostridiaceae* unclassified(27.02%)、*Clostridium sensu stricto* 1(10.00%)、*Trichococcus*(4.05%)
11. M16 : *Clostridiaceae* unclassified(33.86%)、*Clostridium sensu stricto* 1(16.29%)、*Clostridium sensu stricto* 5(8.45%)
12. M19 : *Clostridiaceae* unclassified(17.24%)、*Bacteria* unclassified(8.80%)、*Terrisporobacter*(5.01%)
13. M20 : *Bacteria* unclassified(20.68%)、*Clostridiaceae* unclassified(8.23%)、*Smithella*(5.32%)
14. M25 : *Clostridiaceae* unclassified(14.38%)、*Beijerinckiaceae* unclassified(10.34%)、*Bacteria* unclassified 5.31%)
15. M26 : *Clostridiaceae* unclassified(35.12%)、*Trichococcus* (7.55%)、*Clostridium sensu stricto* 1(7.49%)
16. M27 : *Clostridiaceae* unclassified(30.65%)、*Clostridium sensu stricto* 1(9.76%)、*Beijerinckiaceae* unclassified(4.27%)



第四章：實驗結果

17. M28 : *Clostridiaceae* unclassified(30.51%)、*Clostridium sensu stricto* 1(14.42%)、*Methylosinus*(7.15%)

各個監測井前三菌群多以 *Clostridium* 為主要菌種，在 113 年 8 月份 *Clostridium* 的相對豐度相較於 113 年 4 月份菌相組成占比下降，GW03 從 84.57% 下降至 68.57%，GW04 從 75.50% 下降至 17.18%，B48 從 58.89% 下降至 30.30%，M25 從 43.76% 下降至 26.00%，M13 從 36.28% 下降至 18.35%，M19 從 32.01% 下降至 24.26%，B26 從 73.23% 下降至 62.67%，BW08 從 58.44% 下降至 52.92%，這表明 *Clostridium* 在整治過程中，將碳源消耗完畢後，整體占比有下降的趨勢，也進一步顯示出 *Clostridium* 導致場地酸化的可能性較低，此外，這也說明，儘管在整治過程中使用的菌劑會對現地微生物群落造成影響，但隨著碳源和污染物逐漸被代謝與降解，菌劑中的主要菌種（如 *Clostridium*）會逐漸減少，場地的微生物群落最終將恢復至接近原始狀態。

開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

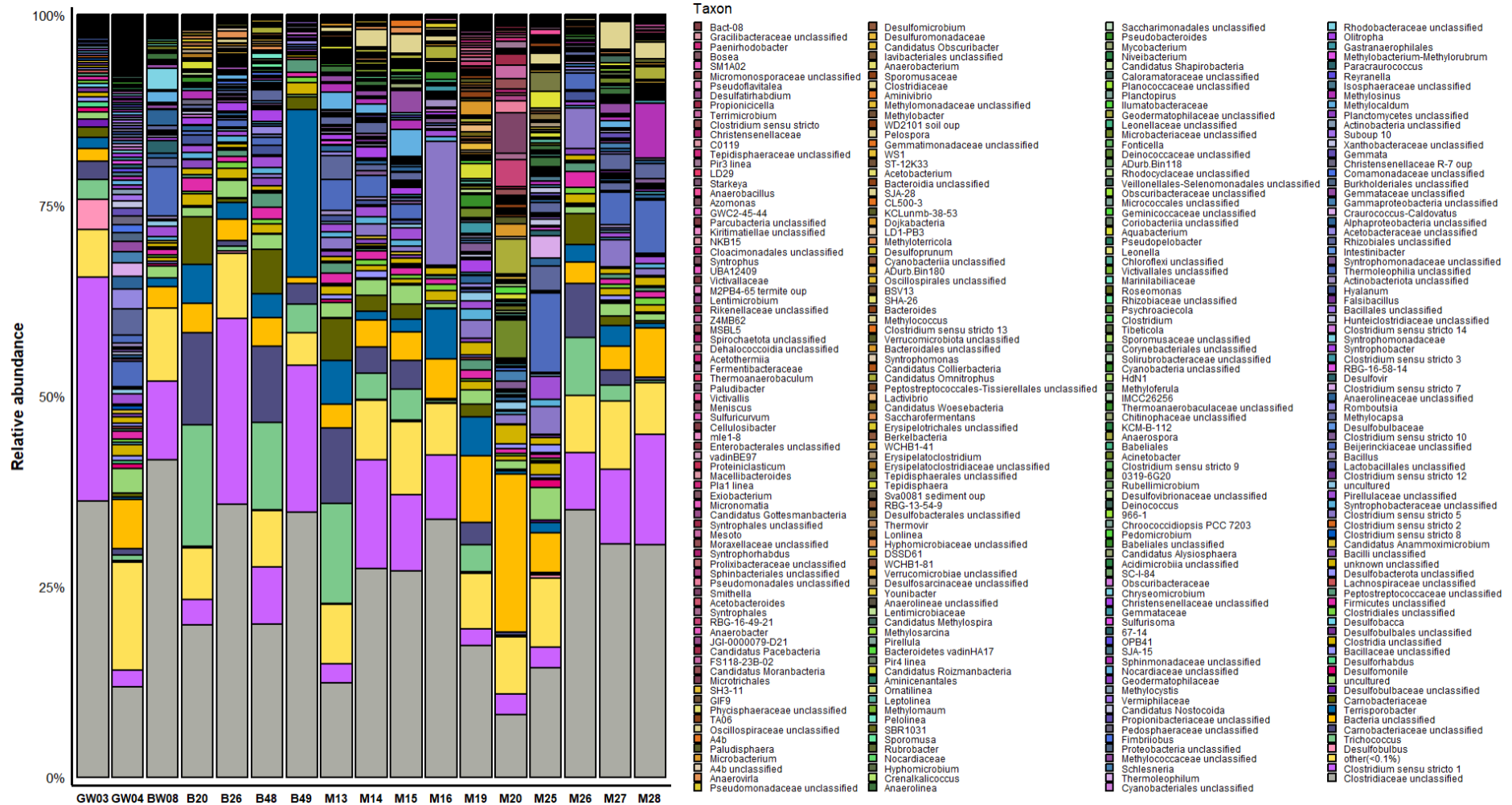


圖 15 經脫氯菌劑 DPI 灌注一年半(整治後期第二階段)後的地下水微生物菌相，以屬為分類。



4.8 脫氯菌劑 DPI 灌注工法模場整治策略評估



圖 16. (A) 脫氯菌劑 DPI 灌注工法示意圖; (B) DPI 灌注設備操作圖; (C) DPI 菌劑灌注深度調整施工照; (D) 脫氯菌劑菌劑現地施作圖; (E) 以厭氧水保護脫氯菌劑進行 DPI 灌注工法

開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗



圖 17.重力灌注工法(A) 透過氮氣曝氣將現地地下水調整為厭氧環境；(B) 現地植菌；(C) 脫氯球菌菌劑現場施作圖

表 15、脫氯球菌菌劑數量計算公式表

井深 (m)	10	H_1
水位 (m)	3	H_2
水高 (m)	7	$H=H_1-H_2$
影響半徑 (m)	10	r
土壤孔隙率	0.3	d
影響含水層體積 (m^3)	659.715	$V=\pi d H r^2$
影響地下水水體體積(L)	659715	$V_g = 1000V$
預計加菌濃度(copies/L)	1.00E+11	c
加菌體積(L)	100	v
平衡菌種濃度(copies/L)	1.52E+07	cv/V_g

本計畫成功從眾多台灣地下水菌群中，開發出本土脫氯球菌菌劑，該菌劑可以進行量產，每一批次可以生產 100 公升以上，並且脫氯球菌菌數可以達到 10^{11} copies/L，本菌劑包含關鍵脫氯酵素基因 *vcrA* 之脫氯球菌，該脫氯球菌已被分離純化並且獲得台灣專利(I789838)(第一年計畫成果)。本菌在降解多氯乙烯過程中不易累積氯乙烯，也被證實可以降解 1,1-DCE，同時，菌劑中富含多種發酵菌株如 *Acetobacterium*、*Citrobacter*、*Macellibacteriodes*、*Lentimicrobium* 等菌種，可以做為發酵者提供脫氯球菌必要的醋酸碳源，多樣的發酵者可以適應場地中多變的環境以及藥劑種類，可以直接與目前眾多市售藥劑一同使用進行現地地下水生物整治，本場地所使用之生物刺激藥劑為 Ecoclean。在現地使用時，本團隊亦



第四章：實驗結果

開發可以快速配置之厭氧水，菌劑可以搭配厭氧水配方藉以保護菌劑不受氧氣影響活性，簡化現場操作流程加速灌注流程，同時，我們也證實本菌劑可以耐受高壓灌注(5 atm)，操作施工圖如圖 16 所示，以 DPI 加壓灌注的方式更可以將菌劑分布均勻於場地中。我們將 100L 公升菌劑分散於 3 口 DPI 灌注井中進行，以半徑 10 米之影響範圍粗估灌注脫鹵球菌現地菌數最終濃度可以落在每公升 $10^6 \sim 10^7$ (表 15)，此菌數濃度為文獻中於現地下水脫氯之有效菌數(Löffler et al. 2013)，我們在初步灌注菌劑後 3 個月以 qPCR 分析觀察到現地地下水之功能性脫氯酵素基因有所上升(*tceA*、*vcrA*)，最後可以達到每公升 $10^8 \sim 10^9$ (表 10)，顯示脫鹵球菌可以順利透過 DPI 的方式進行現地生物強化工法，並保有脫氯活性及細胞生長性。同時，經過採樣檢測灌注菌劑後 3 個月之 1,1-二氯乙烯污染濃度(表 8)，M25 降解率達 80%，M26 降解率達 59%，M27 降解率達 33%，顯示菌劑已有效提升脫氯反應。

第二年本團隊針對含有少許污染物以及脫鹵球菌數(DHC)、*tceA*、*vcrA* 低於 10^7 的井進行重力灌注補強(圖 17)，經重力灌注後 1,1-二氯乙烯濃度已下降至監測標準 0.035 ppm 以下，在持續監測污染物過程中發現 BW08 與 M26 在 113 年 4 月 15 日數據中氯乙烯污染濃度有回升的情況，略高於監測標準 0.01 ppm，分析 qPCR 數據，發現脫鹵球菌菌數高於 10^8 ，評估脫鹵球菌菌數在現場是足夠的，因此持續追蹤至 113 年 8 月 27 日，在近期數據中所有含氯污染物皆低於監測標準。在 DPI 灌注的一年半後，監測井 M25、M26、M27 的 1,1-二氯乙烯污染降解率，分別 M25 降解率達 94.15%，M26 降解率達 96.85%，M27 降解率達 94.28%，已成功完全脫氯。本計劃透過分析污染物降解情形、菌劑活性持續時間、脫鹵球菌於地下水之生長流布、現地地下水菌相變化、污染物回升情形以及對照重力灌注法之功效，希冀能提供一項嶄新脫氯生物強化工法，以提升我國多氯乙烯污染整治之能力。



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

針對整治前、DPI 灌注、整治後期第一階段與整治後期第二階段的各項水質參數與菌相做冗餘分析(Redundancy Analysis,RDA)(圖 18)，在 DPI 灌注後的水質參數 ORP 成負相關，代表在 DPI 灌注後現場環境呈厭氧態，利於厭氧生物整治，在整治後期第一階段水質參數 ORP 和 DO 成正相關，說明現場環境溶氧上升，回復到原始較好氧的狀態，雖 pH 在整治後期第一階段呈負相關，但 pH 仍在 6.5 以上，不影響現地環境，在污染物消失後，整治後期第二階段菌相與各項水質參數逐漸回復至原始狀態，pH 上升至 7 呈中性，整體菌相組成將逐漸相似於原始模場地下水微生物菌相，說明生物菌劑脫氯完污染物後，將不改變地下水環境微生物菌相，達到環境友善。

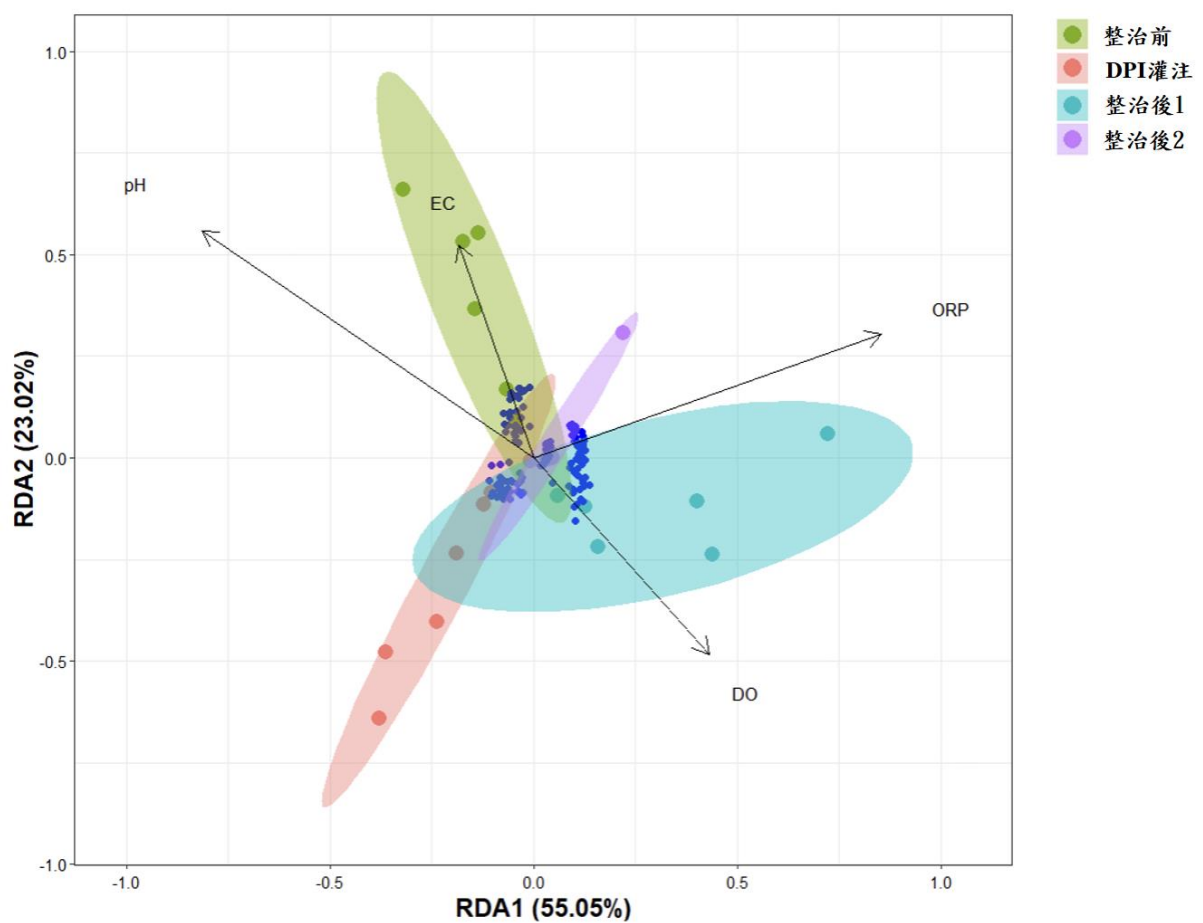


圖 18 各階段之反應井菌相及水質參數之冗餘分析(Redundancy Analysis,RDA)



第四章：實驗結果

最後，我們進行傳統生物刺激工法與生物菌劑整治工法成本效益評估(表 16)，比較法如下表所示。以生物菌劑進行整治效益預估提升 194%，整治大幅縮短至時程 8 個月且能達到完全脫氯，傳統生物刺激法預估整治時程須 30 個月，且若現地微生物沒有關鍵降解菌株則無法有效完全脫氯，甚至可能導致二次污染，後續仍需要其他工法進行整治的隱藏成本，因此以整治效率與時間成本來看，使用生物菌劑進行整治是具有經濟效益並且有效增加現地關鍵菌株脫鹵球菌量，提供台灣對於含氯有機物整治之策略。

表 16、本計畫工法成效比較表

項目	生物刺激法	生物強化法
場地脫氯功能	現地缺少脫鹵球菌，會累積在二氯乙烯	生物菌劑含有脫鹵球菌，可完全降解含氯有機物
降解效率	約 10%	約 100%
單次使用藥劑量	每口井 1000L	每口井 1000L
3 口井單次注藥藥劑成本	新台幣 300,000 元	新台幣 300,000 元
預估整治完成注藥次數	15 次	4 次
單次藥劑有效時間	2 個月	2 個月
預估整治時間	30 個月	8 個月
一桶脫氯生物菌劑成本 (18L/桶)	-	200,000 元
脫氯生物菌劑使用量	-	100L
脫氯生物菌劑使用時效	-	8 個月
整治完成之總成本	新台幣 4,500,000	新台幣 2,320,000
模場污染體積(m ³)	12,000(地下水位 10m)	12,000(地下水位 10m)
單位體積成本(m ³)	新台幣 375	新台幣 193
效益	100%	194%
風險	無法完全脫氯至無毒乙烯，因此需要其他工法處理，需花費額外費用	脫氯菌劑含有脫鹵球菌，可完全降解含氯有機物，大幅降低整治失敗之風險。

效益計算: $375/193 \times 100\%$

生物刺激法評估數據參考本團隊在 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:現地模場驗。



第五章：結論與建議

本計劃透過本實驗室從現地模場建立的厭氧脫氯菌群資料庫中，去開發應用於現地的脫氯菌劑，我們將會在這個計畫中去使用發酵槽開發量產製程，使得菌量可以達應用於現地整治之標準，同時確立脫氯菌劑的降解效能。菌劑可以有效解決氯乙烯累積問題，預期使用脫氯菌群生物加強法可以有效改善台灣含氯有機物之整治瓶頸。根據此次計畫結果，將其整理如下：

5.1 整治前地下水水質及脫氯特性解析

1. 經由現地地下水水樣分析，該地主要為 1,1-二氯乙烯污染，其濃度為 0.0888mg/L，超過管制標準，TCE 之濃度為 0.0039mg/L，低於管制標準。
2. 透過現地菌群培養批次實驗，該地細菌不具有降解三氯乙烯及二氯乙烯之能力，因此需要仰賴外部提供有活性的脫氯菌進行環原脫氯反應，使用脫氯菌劑應能將污染物降解至無毒乙烯。
3. 現地地下水具群之脫氯呼吸菌株僅見得 *Sulfurospirillum* 以及 *Trichlorobacter*，這兩株菌株僅只能還原脫氯 PCE 及 TCE 至 *cis*-DCE，因此需要仰賴外部提供脫氯菌進行還原脫氯反應。

5.2 脫氯菌劑 DPI 灌注工法模場試驗

1. 本團隊設計一地下水整治系統，透過 DPI 灌注井將脫氯菌劑以 5 atm 之壓力進行灌注，包含生物刺激用藥劑，並每隔 1 米深度分批灌注藥劑及菌劑，確保脫氯菌能夠分布均勻，位於上下游的新設 M25、M26 及 M27 監測井搭配現場既有井作為採樣觀測對象，其設計圖如圖所示，以上新設井已於 112 年 2 月進場施作，第一次菌劑灌注已於 112 年 3 月 27 日進行。
2. 加入菌劑後 3 個月現地地下水之脫氯菌菌數、*tceA* 以及 *vcrA* 皆有所增長，落在每公升 10^9 左右，與菌劑所含之功能性基因相符，顯示添加菌劑可以使得脫氯菌菌數在短時間內更進一步增加。
3. 經過採樣檢測灌注菌劑後 3 個月之 1,1-二氯乙烯污染濃度，M25 降解率達 80%，M26 降解率達 59%，M27 降解率達 33%，顯示菌劑已有效提升脫氯反應，將持續觀察污染物降解情形、菌劑活性持續時間、脫氯菌於地下水之生長流布、現地地下水菌相變化、污染物回升情形以及對照重力灌注法之功效。
4. 以 DPI 灌注菌劑後觀測污染濃度，發現 M25 含有微量的污染濃度，包含三氯



第五章：結果與建議

- 乙烯、順-1,2-二氯乙烯、1,1-二氯乙烯與氯乙烯，M26 仍有 1,1-二氯乙烯與氯乙烯存在，而 M27 1,1-二氯乙烯與氯乙烯則略高於監測標準，因此於 112 年 9 月 18 日針對此三口井進行重力灌注補強，數據結果顯示經重力灌注後三個月(112 年 12 月 28 日)M25、M26 與 M27 含氯有機物皆低於監測標準。
5. 在重力灌注後持續監測 VOC，觀測是否有 VOC 回升，M25、M26 與 M27 三口井 1,1-二氯乙烯之污染濃度皆低於監測標準 0.035 ppm，但 BW08 與 M26 在(113 年 4 月 15 日)數據中氯乙烯污染濃度略高於監測標準 0.01 ppm，在 qPCR 數據中可觀察到 BW08 與 M26 井的脫鹵球菌數皆高於 10^8 ，說明脫氯細菌是足夠的，持續觀察污染物降解情形，氯乙烯也於(113 年 8 月 27 日)數據中低於監測標準 0.01 ppm。
 6. 在 DPI 灌注一年半後的檢測數據中(113 年 8 月 27 日)，所有井的含氯有機污染物皆低於監測標準，監測井 M25、M26、M27 的 1,1-二氯乙烯污染降解率分別 M25 降解率達 94.15%，M26 降解率達 96.85%，M27 降解率達 94.28%，這也說明脫鹵球菌劑結合 DPI 灌注工法的實場可行性，在監測過程中污染濃度雖有回升情形，但在脫鹵球菌數足夠的情況下仍可被降解，證實脫鹵球菌的長效性，在每階段觀測微生物菌相及水質參數，也發現菌相與各項參數逐漸回復原始狀態，再次說明此工法的環境友善性。
 7. 與傳統生物刺激工法進行效益比較，使用生物菌劑進行整治效益將提升整體效益 194%，整治大幅縮短整治時程且能達到完全脫氯。

5.3 結論

在本研究中，我們篩選適合應用於台灣地下水之脫氯菌群並建構脫氯菌劑量產平台，將量產的生物菌劑結合雙環塞滲透灌注工法(DPI)，應用於受含氯有機物污染的場址中，我們發現脫氯菌群可承受 DPI 灌注工法於現地傳輸所需的大氣壓力，達到精準整治，並在 DPI 灌注後污染物顯著性下降，在灌注菌劑後持續監測現地微生物菌相及水質參數，發現整治後各項參數與菌相皆逐漸回復至原始環境條件，達到環境友善。

5.4 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，都需要先進行現地下水菌群培養測試以評估整治場地之脫氯能力，場地若缺少有脫氯活性之脫氯菌群的情況下，則可直接選用添加菌劑之生物強化法。



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

2. 建議在使用生物強化法後需以分子檢測技術 qPCR 持續監測脫氯球菌菌數及關鍵脫氯功能性基因，以提高生物整治成功率。
3. 生物強化法可結合台灣地下水 DPI 灌注工法，精準將生物菌劑打入污染熱區，達到精準整治，預期可大幅降低整治期程與成本，提升整治效能。
4. 本工法未來於現地改良於現地整治將針對共污染問題進行強化，大多數場址可能包含氯烯、氯烷、氯苯等共污染，以及水質參數的干擾如硫酸鹽濃度過高等問題，本團隊將會開發更多的菌種及解決方案，使得生物強化法能夠地應用範圍可以再更廣泛。



第六章：研究進度及預期完成之工作項目（甘特圖）

第一年進度 (112 年)

年月	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	備註
工作項目													
文獻蒐集													※
地下水採集與基本性質分析			※										
篩選現地地下水中脫鹵菌群				※									
厭氧富集培養-優化本土脫氯菌群						※							
本土脫氯菌群脫氯降解效率分析								※					
次世代定序分析批次實驗菌相變化										※			
脫氯菌劑發酵槽培養													※
模場整治策略與成本效益評估											※		
灌注井及監測井設置以及相關前置作業													※
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%	



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

預定查核點	期中	1. 完成場址背景調查與本土脫氯菌群篩選 (已完成) 2. 完成最佳化脫氯菌群培養條件，富集化脫氯菌群 (已完成) 3. 完成脫氯降解效率分析並開發出量產流程，繳交期中報告 (已完成)
	期末	1. 完成脫氯菌群量產發酵(>100 公升) (已完成) 2. 完成次世代定序分析脫氯菌群菌相實驗 (已完成) 3. 提出第二年模場整治策略，繳交期末報告 (已完成) 4. 完成場址灌注井與監測井設置 (已完成) 5. 場地前整治前次世代定序分析 (已完成)



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(113 年)

年月	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	備 註
工作項目													
文獻蒐集													
營養基質與脫氯菌劑 DPI 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													
生物強化技術整治 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 DPI 灌注營養基質與脫氯菌劑(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)										
	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(已完成)										



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

備註：為了確保能順利執行完畢，大部份工項皆提早完成。



第七章：參考文獻

- Abatenh, E., Gizaw, B., Tsegaye, Z., Wassie, M., 2017. The role of microorganisms in bioremediation-A review. *Open Journal of Environmental Biology* 2(1), 038-046.
- Adams, G.O., Fufeyin, P.T., Okoro, S.E., Ehinomen, I., 2015. Bioremediation, biostimulation and bioaugmentation: a review. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation* 3(1), 28-39.
- Adesodun, J., Mbagwu, J., 2008. Biodegradation of waste-lubricating petroleum oil in a tropical alfisol as mediated by animal droppings. *Bioresource technology* 99(13), 5659-5665.
- Adrian, L., Löffler, F.E., 2016. *Organohalide-respiring bacteria*. Springer.
- Al-Sulaimani, H., Joshi, S., Al-Wahaibi, Y., Al-Bahry, S., Elshafie, A., Al-Bemani, A., 2011. Microbial biotechnology for enhancing oil recovery: current developments and future prospects. *Biotechnol Bioinf Bioeng* 1(2), 147-158.
- Azubuike, C.C., Chikere, C.B., Okpokwasili, G.C., 2016. Bioremediation techniques—classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 32(11), 1-18.
- Behrens, S., Azizian, M.F., McMurdie, P.J., Sabalowsky, A., Dolan, M.E., Semprini, L., Spormann, A.M., 2008. Monitoring abundance and expression of "Dehalococcoides" species chloroethene-reductive dehalogenases in a tetrachloroethene-dechlorinating flow column. *Appl Environ Microbiol* 74(18), 5695-5703. <https://doi.org/10.1128/aem.00926-08>.
- Bradley, P.M., 2003. History and ecology of chloroethene biodegradation: a review. *Bioremediation journal* 7(2), 81-109.
- Duhamel, M., Mo, K., Edwards, E.A., 2004. Characterization of a highly enriched Dehalococcoides-containing culture that grows on vinyl chloride and trichloroethene. *Applied and Environmental Microbiology* 70(9), 5538-5545.
- Gentry, T.J., Newby, D.T., Josephson, K.L., Pepper, I.L., 2001. Soil microbial population dynamics following bioaugmentation with a 3-chlorobenzoate-degrading bacterial culture. *Biodegradation* 12(5), 349-357.
- Hatt, J.K., Löffler, F.E., 2012. Quantitative real-time PCR (qPCR) detection chemistries affect enumeration of the Dehalococcoides 16S rRNA gene in groundwater. *Journal of Microbiological Methods* 88(2), 263-270. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mimet.2011.12.005>.
- He, J., Holmes, V.F., Lee, P.K., Alvarez-Cohen, L., 2007. Influence of vitamin B12 and



- cocultures on the growth of *Dehalococcoides* isolates in defined medium. *Appl Environ Microbiol* 73(9), 2847-2853. <https://doi.org/10.1128/aem.02574-06>.
- He, J., Ritalahti, K.M., Aiello, M.R., Löffler, F.E., 2003. Complete detoxification of vinyl chloride by an anaerobic enrichment culture and identification of the reductively dechlorinating population as a *Dehalococcoides* species. *Appl Environ Microbiol* 69(2), 996-1003. <https://doi.org/10.1128/aem.69.2.996-1003.2003>.
- Heavner, G.L., Mansfeldt, C.B., Wilkins, M.J., Nicora, C.D., Debs, G.E., Edwards, E.A., Richardson, R.E., 2019. Detection of organohalide-respiring enzyme biomarkers at a bioaugmented TCE-contaminated field site. *Frontiers in microbiology* 10, 1433.
- Heavner, G.L.W., Mansfeldt, C.B., Wilkins, M.J., Nicora, C.D., Debs, G.E., Edwards, E.A., Richardson, R.E., 2019. Detection of Organohalide-Respiring Enzyme Biomarkers at a Bioaugmented TCE-Contaminated Field Site. *Frontiers in Microbiology* 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01433>.
- Hug, L.A., Maphosa, F., Leys, D., Löffler, F.E., Smidt, H., Edwards, E.A., Adrian, L., 2013. Overview of organohalide-respiring bacteria and a proposal for a classification system for reductive dehalogenases. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 368(1616), 20120322.
- Kanitkar, Y.H., Stedtfeld, R.D., Steffan, R.J., Hashsham, S.A., Cupples, A.M., 2016. Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) for Rapid Detection and Quantification of *Dehalococcoides* Biomarker Genes in Commercial Reductive Dechlorinating Cultures KB-1 and SDC-9. *Appl Environ Microbiol* 82(6), 1799-1806. <https://doi.org/10.1128/aem.03660-15>.
- Kato, S., Haruta, S., Cui, Z.J., Ishii, M., Igarashi, Y., 2008. Network relationships of bacteria in a stable mixed culture. *Microb Ecol* 56(3), 403-411. <https://doi.org/10.1007/s00248-007-9357-4>.
- Klitgord, N., Segrè, D., 2011. Ecosystems biology of microbial metabolism. *Current Opinion in Biotechnology* 22(4), 541-546. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.04.018>.
- Kranzioch, I., Ganz, S., Tiehm, A., 2015. Chloroethene degradation and expression of *Dehalococcoides* dehalogenase genes in cultures originating from Yangtze sediments. *Environ Sci Pollut Res Int* 22(4), 3138-3148. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3574-4>.
- Kruse, S., Türkowsky, D., Birkigt, J., Matturro, B., Franke, S., Jehmlich, N., von Bergen, M., Westermann, M., Rossetti, S., Nijenhuis, I., Adrian, L., Diekert, G., Goris, T., 2021. Interspecies metabolite transfer and aggregate formation in a co-culture of *Dehalococcoides* and *Sulfurospirillum* dehalogenating tetrachloroethene to



- ethene. The ISME Journal 15(6), 1794-1809. <https://doi.org/10.1038/s41396-020-00887-6>.
- Kucharzyk, K.H., Meisel, J.E., Kara-Murdoch, F., Murdoch, R.W., Higgins, S.A., Vainberg, S., Bartling, C.M., Mullins, L., Hatzinger, P.B., Löffler, F.E., 2020. Metagenome-Guided Proteomic Quantification of Reductive Dehalogenases in the *Dehalococcoides mccartyi*-Containing Consortium SDC-9. J. Proteome Res. 19(4), 1812-1823. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.0c00072>.
- Lee, P.K., Cheng, D., West, K.A., Alvarez-Cohen, L., 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. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12099>.
- Li, F., Deng, D., Zeng, L., Abrams, S., Li, M., 2021. Sequential anaerobic and aerobic bioaugmentation for commingled groundwater contamination of trichloroethene and 1,4-dioxane. Science of The Total Environment 774, 145118. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145118>.
- Löffler, F.E., Sun, Q., Li, J., Tiedje, J.M.J.A., Microbiology, E., 2000. 16S rRNA gene-based detection of tetrachloroethene-dechlorinating *Desulfuromonas* and *Dehalococcoides* species. 66(4), 1369-1374.
- Löffler, F.E., Yan, J., Ritalahti, K.M., Adrian, L., Edwards, E.A., Konstantinidis, K.T., Müller, J.A., Fullerton, H., Zinder, S.H., 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*. International journal of systematic and evolutionary microbiology 63(Pt_2), 625-635.
- Lofrano, G., Libralato, G., Minetto, D., De Gisi, S., Todaro, F., Conte, B., Calabrò, D., Quatraro, L., Notarnicola, M., 2017. In situ remediation of contaminated marinesediment: an overview. Environmental Science and Pollution Research 24(6), 5189-5206.
- Luijten, M.L., Roelofsen, W., Langenhoff, A.A., Schraa, G., Stams, A.J., 2004. Hydrogen threshold concentrations in pure cultures of halo-respiring bacteria and at a site polluted with chlorinated ethenes. Environ Microbiol 6(6), 646-650. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2004.00608.x>.
- Madhupriya, M., Gowri, R.S., Saranya, A., Rajarajeswari, P., Prabhavathi, P., Kumar, S.D., 2020. Remediation techniques for heavy metal contaminated ecosystem—a review. Journal of Advanced Scientific Research 11(02), 1-9.



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

- Maitra, S., 2018. In situ bioremediation—an overview. Responsibility of Life Science Informatics Publications.
- Maphosa, F., Lieten, S., Dinkla, I., Stams, A., Smidt, H., Fennell, D., 2012. Ecogenomics of microbial communities in bioremediation of chlorinated contaminated sites. *Frontiers in Microbiology* 3. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00351>.
- Maymó-Gatell, X., Chien, Y., Gossett, J.M., Zinder, S.H., 1997. Isolation of a bacterium that reductively dechlorinates tetrachloroethene to ethene. *Science* 276(5318), 1568-1571. <https://doi.org/10.1126/science.276.5318.1568>.
- McMurdie, P.J., Behrens, S.F., Müller, J.A., Göke, J., Ritalahti, K.M., Wagner, R., Goltsman, E., Lapidus, A., Holmes, S., Löffler, F.E., 2009. Localized plasticity in the streamlined genomes of vinyl chloride respiring *Dehalococcoides*. *PLoS Genetics* 5(11), e1000714.
- McMurdie, P.J., Hug, L.A., Edwards, E.A., Holmes, S., Spormann, A.M., 2011. Site-specific mobilization of vinyl chloride respiration islands by a mechanism common in *Dehalococcoides*. *BMC Genomics* 12(1), 1-15.
- Molenda, O., Jácome, L.A.P., Cao, X., Nesbø, C.L., Tang, S., Morson, N., Patron, J., Lomheim, L., Wishart, D.S., Edwards, E.A., 2020. Insights into origins and function of the unexplored majority of the reductive dehalogenase gene family as a result of genome assembly and ortholog group classification. *Environmental Science: Processes & Impacts* 22(3), 663-678.
- Nzila, A., Razzak, S.A., Zhu, J., 2016. Bioaugmentation: an emerging strategy of industrial wastewater treatment for reuse and discharge. *International journal of environmental research and public health* 13(9), 846.
- Pal, A.K., Singh, J., Soni, R., Tripathi, P., Kamle, M., Tripathi, V., Kumar, P., 2020. The role of microorganism in bioremediation for sustainable environment management, *Bioremediation of pollutants*. Elsevier, pp. 227-249.
- Peale, J.G.D., Mueller, J., Molin, J., 2010. Successful ISCR-enhanced bioremediation of a TCE DNAPL source utilizing EHC® and KB-1®. *Remediation Journal* 20(3), 63-81. <https://doi.org/10.1002/rem.20251>.
- Polasko, A.L., Zulli, A., Gedalanga, P.B., Pornwongthong, P., Mahendra, S., 2019. A Mixed Microbial Community for the Biodegradation of Chlorinated Ethenes and 1,4-Dioxane. *Environmental Science & Technology Letters* 6(1), 49-54. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.8b00591>.
- Puentes Jácome, L.A., Wang, P.-H., Molenda, O., Li, Y.X., Islam, M.A., 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.* 53(19), 11364-11374. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b02339>.



第七章：參考文獻

- Saiyari, D.M., Chuang, H.-P., Senoro, D.B., Lin, T.-F., Whang, L.-M., Chiu, Y.-T., Chen, Y.-H., 2018. A review in the current developments of genus *Dehalococcoides*, its consortia and kinetics for bioremediation options of contaminated groundwater. *Sustain. Environ. Res.* 28(4), 149-157. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.serj.2018.01.006>.
- Schaefer, C.E., Lippincott, D.R., Steffan, R.J., 2010. Field-Scale Evaluation of Bioaugmentation Dosage for Treating Chlorinated Ethenes. *Groundwater Monitoring & Remediation* 30(3), 113-124. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1745-6592.2010.01297.x>.
- Scheutz, C., Durant, N.D., Dennis, P., Hansen, M.H., Jørgensen, T., Jakobsen, R., Cox, E.E., Bjerg, P.L., 2008. Concurrent ethene generation and growth of *Dehalococcoides* containing vinyl chloride reductive dehalogenase genes during an enhanced reductive dechlorination field demonstration. *Environmental science & technology* 42(24), 9302-9309.
- Simon, F.-G., Meggyes, T., Tünnermeier, T., 2002. Groundwater remediation using active and passive processes, *Advanced groundwater remediation: active and passive technologies*. Thomas Telford Publishing London, pp. 3-29.
- Tang, S., Chan, W.W., Fletcher, K.E., Seifert, J., Liang, X., Löffler, F.E., Edwards, E.A., Adrian, L., 2013. Functional characterization of reductive dehalogenases by using blue native polyacrylamide gel electrophoresis. *Applied and environmental microbiology* 79(3), 974-981.
- Wu, N., Zhang, W., Wei, W., Yang, S., Wang, H., Sun, Z., Song, Y., Li, P., Yang, Y., 2020. Field study of chlorinated aliphatic hydrocarbon degradation in contaminated groundwater via micron zero-valent iron coupled with biostimulation. *Chemical Engineering Journal* 384, 123349.
- Yang, Y., Higgins, S.A., Yan, J., Şimşir, B., Chourey, K., Iyer, R., Hettich, R.L., Baldwin, B., Ogles, D.M., Löffler, F.E., 2017. Grape pomace compost harbors organohalide-respiring *Dehalogenimonas* species with novel reductive dehalogenase genes. *The ISME journal* 11(12), 2767-2780.
- Yi, S., Seth, E.C., Men, Y.-J., Stabler, S.P., Allen, R.H., Alvarez-Cohen, L., Taga, M.E., 2012. Versatility in corrinoid salvaging and remodeling pathways supports corrinoid-dependent metabolism in *Dehalococcoides mccartyi*. *Applied and environmental microbiology* 78(21), 7745-7752. <https://doi.org/10.1128/AEM.02150-12>.
- Yohda, M., Ikegami, K., Aita, Y., Kitajima, M., Takechi, A., Iwamoto, M., Fukuda, T., Tamura, N., Shibasaki, J., Koike, S., Komatsu, D., Miyagi, S., Nishimura, M., Uchino, Y., Shiroma, A., Shimoji, M., Tamotsu, H., Ashimine, N., Shinzato, M.,



- Ohki, S., Nakano, K., Teruya, K., Satou, K., Hirano, T., Yagi, O., 2017. Isolation and genomic characterization of a *Dehalococcoides* strain suggests genomic rearrangement during culture. *Sci Rep* 7(1), 2230. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02381-0>.
- Yohda, M., Yagi, O., Takechi, A., Kitajima, M., Matsuda, H., Miyamura, N., Aizawa, T., Nakajima, M., Sunairi, M., Daiba, A., Miyajima, T., Teruya, M., Teruya, K., Shiroma, A., Shimoji, M., Tamotsu, H., Juan, A., Nakano, K., Aoyama, M., Terabayashi, Y., Satou, K., Hirano, T., 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. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2014.12.001>.
- Yu, R., Andrachek, R.G., Lehmicke, L.G., Freedman, D.L., 2018. Remediation of chlorinated ethenes in fractured sandstone by natural and enhanced biotic and abiotic processes: a crushed rock microcosm study. *Sci. Total Environ.* 626, 497-506.
- Zinder, S.H., 2016. The genus *dehalococcoides*, Organohalide-respiring bacteria. Springer, pp. 107-136.



菌種參考文獻資料

- Abatenh, E., Gizaw, B., Tsegaye, Z. and Wassie, M. 2017. The role of microorganisms in bioremediation-A review. *Open Journal of Environmental Biology* 2(1), 038-046.
- Adams, G.O., Fufeyin, P.T., Okoro, S.E. and Ehinomen, I. 2015. Bioremediation, biostimulation and bioaugmentation: a review. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation* 3(1), 28-39.
- Adesodun, J. and Mbagwu, J. 2008. Biodegradation of waste-lubricating petroleum oil in a tropical alfisol as mediated by animal droppings. *Bioresource technology* 99(13), 5659-5665.
- Adrian, L. and Löffler, F.E. (2016) Organohalide-respiring bacteria, *Springer*.
- Alou, M. T., Ndongo, S., Frégère, L., Labas, N., Andrieu, C., Richez, M., Couderc, C., Baudoin, J. P., Abrahão, J., Brah, S., Diallo, A., Sokhna, C., Cassir, N., La Scola, B., Cadoret, F., & Raoult, D. (2017). Taxonogenomic description of four new *Clostridium* species isolated from human gut: '*Clostridium amazonitimonense*', '*Clostridium merdae*', '*Clostridium massilidielmoense*' and '*Clostridium nigeriense*'. *New microbes and new infections*, 21, 128–139.
- Al-Sulaimani, H., Joshi, S., Al-Wahaibi, Y., Al-Bahry, S., Elshafie, A. and Al-Bemani, A. 2011. Microbial biotechnology for enhancing oil recovery: current developments and future prospects. *Biotechnol Bioinf Bioeng* 1(2), 147-158.
- Aoyagi, T., Kashiwabara, Y., Kurasawa, H., Amachi, S., Nakajima, N., Hori, T., & Yamamura, S. (2019). Draft genome sequence of a novel lactate-fermenting bacterial strain of the family Sporomusaceae within the class Negativicutes. *Microbiology Resource Announcements*, 8(10), e01735-18.
- Azubuike, C.C., Chikere, C.B. and Okpokwasili, G.C. 2016. Bioremediation techniques—classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 32(11), 1-18.
- Bae, H. S., Rash, B. A., Rainey, F. A., Nobre, M. F., Tiago, I., da Costa, M. S., & Moe, W. M. (2007). Description of *Azospira restricta* sp. nov., a nitrogen- fixing bacterium isolated from groundwater. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 57(Pt 7), 1521–1526.
- Baumann P. (1968). Isolation of *Acinetobacter* from soil and water. *Journal of*



- bacteriology*, 96(1), 39–42.
- Baumann, P., Doudoroff, M., & Stanier, R. (1968). A study of the *Moraxella* group II. Oxidative-negative species (genus *Acinetobacter*). *Journal of bacteriology*, 95(5), 1520-1541.
- Behrens, S., Azizian, M.F., McMurdie, P.J., Sabalowsky, A., Dolan, M.E., Semprini, L. and Spormann, A.M. 2008. Monitoring abundance and expression of "*Dehalococcoides*" species chloroethene-reductive dehalogenases in a tetrachloroethene-dechlorinating flow column. *Appl Environ Microbiol* 74(18), 5695-5703.
- Bittleston, L. S., Wolock, C. J., Maeda, J., Infante, V., Ané, J. M., Pierce, N. E., & Pringle, A. (2023). Carnivorous *Nepenthes* Pitchers with Less Acidic Fluid House Nitrogen Fixing Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, e00812-23.
- Black, M., Moolhuijzen, P., Chapman, B., Barrero, R., Howieson, J., Hungria, M., & Bellgard, M. (2012). The genetics of symbiotic nitrogen fixation: comparative genomics of 14 rhizobia strains by resolution of protein clusters. *Genes*, 3(1), 138-166.
- Bradley, P.M. 2003. History and ecology of chloroethene biodegradation: a review. *Bioremediation journal* 7(2), 81-109.
- Bradley, P.M. and Chapelle, F.H. 2007. Accumulation of dechlorination daughter products: A valid metric of chloroethene biodegradation. *Remediation Journal: The Journal of Environmental Cleanup Costs, Technologies & Techniques* 17(4), 7-22.
- Bryan, C. G., Marchal, M., Battaglia-Brunet, F., Kugler, V., Lemaitre-Guillier, C., Lièvremon, D., Bertin, P. N., & Arsène-Ploetze, F. (2009). Carbon and arsenic metabolism in *Thiomonas* strains: differences revealed diverse adaptation processes. *BMC microbiology*, 9, 127.
- Cai, H., Wang, Y., Xu, H., Yan, Z., Jia, B., Majid Maszenan, A., & Jiang, H. (2015). *Niveispirillum cyanobacteriorum* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium isolated from cyanobacterial aggregates in a eutrophic lake. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 65(Pt_8), 2537-2541.
- Carballa, M., Regueiro, L., & Lema, J. M. (2015). Microbial management of anaerobic digestion: exploiting the microbiome-functionality nexus. *Current opinion in biotechnology*, 33, 103–111.
- Carballa, M., Regueiro, L., & Lema, J. M. (2015). Microbial management of anaerobic digestion: exploiting the microbiome-functionality nexus. *Current opinion in*



- biotechnology*, 33, 103-111.
- Chen, D., Liu, T., Li, X., Li, F., Luo, X., Wu, Y., & Wang, Y. (2018). Biological and chemical processes of microbially mediated nitrate-reducing Fe (II) oxidation by *Pseudogulbenkiania* sp. strain 2002. *Chemical Geology*, 476, 59-69.
- Chen, G., Fisch, A.R., Gibson, C.M., Erin Mack, E., Seger, E.S., Campagna, S.R., Löffler, F.E., 2020. Mineralization versus fermentation: evidence for two distinct anaerobic bacterial degradation pathways for dichloromethane. *The ISME journal* 14(4), 959-970.
- Chen, X. G., Geng, A. L., Yan, R., Gould, W. D., Ng, Y. L., & Liang, D. T. (2004). Isolation and characterization of sulphur-oxidizing *Thiomonas* sp. and its potential application in biological deodorization. *Letters in applied microbiology*, 39(6), 495–503.
- Chiu, W.A., Jinot, J., Scott, C.S., Makris, S.L., Cooper, G.S., Dzubow, R.C., Bale, A.S., Evans, M.V., Guyton, K.Z. and Keshava, N. 2013. Human health effects of trichloroethylene: key findings and scientific issues. *Environmental health perspectives* 121(3), 303-311.
- Chou, J. H., Jiang, S. R., Cho, J. C., Song, J., Lin, M. C., & Chen, W. M. (2008). *Azonexus hydrophilus* sp. nov., a nifH gene-harboring bacterium isolated from freshwater. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 58(4), 946-951.
- Collins, M. D., Lawson, P. A., Willems, A., Cordoba, J. J., Fernandez-Garayzabal, J., Garcia, P., Cai, J., Hippe, H., & Farrow, J. A. (1994). The phylogeny of the genus *Clostridium*: proposal of five new genera and eleven new species combinations. *International journal of systematic bacteriology*, 44(4), 812– 826.
- da Silva Sabo, S., Vitolo, M., González, J. M. D., & de Souza Oliveira, R. P. (2014). Overview of *Lactobacillus plantarum* as a promising bacteriocin producer among lactic acid bacteria. *Food Research International*, 64, 527-536.
- De Wever, H., Cole, J. R., Fetting, M. R., Hogan, D. A., & Tiedje, J. M. (2000). Reductive dehalogenation of trichloroacetic acid by *Trichlorobacter thiogenes* gen. nov., sp. nov. *Applied and environmental microbiology*, 66(6), 2297–2301.
- Dedysh, S. N., Khmelenina, V. N., Suzina, N. E., Trotsenko, Y. A., Semrau, J. D., Liesack, W., & Tiedje, J. M. (2002). *Methylocapsa acidiphila* gen. nov., sp. nov., a novel methane-oxidizing and dinitrogen-fixing acidophilic bacterium from



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

- Sphagnum bog*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(1), 251-261.
- DeWeerd, K. A., Todd Townsend, G., & Suflita, J. M. (2015). Desulfomonile. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-5.
- Dollhopf, S., Hashsham, S., Dazzo, F., Hickey, R., Criddle, C., & Tiedje, J. (2001). The impact of fermentative organisms on carbon flow in methanogenic systems under constant low-substrate conditions. *Applied microbiology and biotechnology*, 56, 531-538.
- Dong, X., Zhang, C., Peng, Y., Zhang, H. X., Shi, L. D., Wei, G., ... & Greening, C. (2022). Phylogenetically and catabolically diverse diazotrophs reside in deep-sea cold seep sediments. *Nature Communications*, 13(1), 4885.
- Duhamel, M., Mo, K. and Edwards, E.A. 2004. Characterization of a highly enriched Dehalococcoides-containing culture that grows on vinyl chloride and trichloroethene. *Applied and Environmental Microbiology* 70(9), 5538-5545.
- Dyksma, S., Bischof, K., Fuchs, B. M., Hoffmann, K., Meier, D., Meyerdierks, A., ... & Mußmann, M. (2016). Ubiquitous Gammaproteobacteria dominate dark carbon fixation in coastal sediments. *The ISME journal*, 10(8), 1939-1953.
- Dyksma, S., Jansen, L., & Gallert, C. (2020). Syntrophic acetate oxidation replaces acetoclastic methanogenesis during thermophilic digestion of biowaste. *Microbiome*, 8(1), 105.
- El Houari, A., Ranchou-Peyruse, M., Ranchou-Peyruse, A., Dakdaki, A., Guignard, M., Idouhammou, L., Bennisse, R., Bouterfass, R., Guyoneaud, R., & Qatibi, A. I. (2017). Desulfobulbus oligotrophicus sp. nov., a sulfate-reducing and propionate-oxidizing bacterium isolated from a municipal anaerobic sewage sludge digester. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 67(2), 275–281.
- Figueiredo, M. C., Lobo, S. A., Carita, J. N., Nobre, L. S., & Saraiva, L. M. (2012). Bacterioferritin protects the anaerobe Desulfovibrio vulgaris Hildenborough against oxygen. *Anaerobe*, 18(4), 454-458.
- Fraj, B., Ben Hania, W., Postec, A., Hamdi, M., Ollivier, B., & Fardeau, M. L. (2013). Fonticella tunisiensis gen. nov., sp. nov., isolated from a hot spring. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 63(Pt 6), 1947–1950.
- Fukami, J., Cerezini, P., & Hungria, M. (2018). Azospirillum: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. *Amb Express*, 8(1), 73.
- Fukuhara, Y., Inakazu, K., Kodama, N., Kamimura, N., Kasai, D., Katayama, Y., Fukuda, M., & Masai, E. (2010). Characterization of the isophthalate degradation genes



第七章：参考文献

- of *Comamonas* sp. strain E6. *Applied and environmental microbiology*, 76(2), 519–527.
- Gentry, T.J., Newby, D.T., Josephson, K.L. and Pepper, I.L. 2001. Soil microbial population dynamics following bioaugmentation with a 3-chlorobenzoate-degrading bacterial culture. *Biodegradation* 12(5), 349-357.
- Gittel, A., Mußmann, M., Sass, H., Cypionka, H., & Könneke, M. (2008). Identity and abundance of active sulfate-reducing bacteria in deep tidal flat sediments determined by directed cultivation and CARD-FISH analysis. *Environmental microbiology*, 10(10), 2645-2658.
- Gottfried, J. (2019). Palm. Structure of the plastic-degrading *Ideonella sakaiensis* MHEase bound to a substrate. *Nature*, 10, 1717.
- Hatt, J.K. and Löffler, F.E. 2012. Quantitative real-time PCR (qPCR) detection chemistries affect enumeration of the *Dehalococcoides* 16S rRNA gene in groundwater. *Journal of Microbiological Methods* 88(2), 263-270.
- Hayoun, K., Geersens, E., Laczny, C.C., Halder, R., Lázaro Sánchez, C., Manna, A., Bringel, F., Ryckelynck, M., Wilmes, P., Muller, E.E., 2020. Dichloromethane degradation pathway from unsequenced *Hyphomicrobium* sp. MC8b rapidly explored by pan-proteomics. *Microorganisms* 8(12), 1876.
- He, C., Liu, T., Ou, H., Yuan, S., Hu, Z., & Wang, W. (2021). Coupling granular activated carbon and exogenous hydrogen to enhance anaerobic digestion of phenol via predominant syntrophic acetate oxidation and hydrogenotrophic methanogenesis pathway. *Bioresource Technology*, 323, 124576.
- He, J., Holmes, V.F., Lee, P.K. and Alvarez-Cohen, L. 2007. Influence of vitamin B12 and cocultures on the growth of *Dehalococcoides* isolates in defined medium. *Appl Environ Microbiol* 73(9), 2847-2853.
- He, J., Ritalahti, K.M., Aiello, M.R. and Löffler, F.E. 2003. Complete detoxification of vinyl chloride by an anaerobic enrichment culture and identification of the reductively dechlorinating population as a *Dehalococcoides* species. *Appl Environ Microbiol* 69(2), 996-1003.
- He, R., Chen, M., Ma, R. C., Su, Y., & Zhang, X. (2017). Ammonium conversion and its feedback effect on methane oxidation of *Methylosinus sporium*. *Journal of bioscience and bioengineering*, 123(4), 466-473.
- Heavner, G.L., Mansfeldt, C.B., Wilkins, M.J., Nicora, C.D., Debs, G.E., Edwards, E.A.



- and Richardson, R.E. 2019. Detection of organohalide-respiring enzyme biomarkers at a bioaugmented TCE-contaminated field site. *Frontiers in microbiology* 10, 1433.
- Henri, C.V., Fernández-Garcia, D. and De Barros, F.P. 2016. Assessing the joint impact of DNAPL source-zone behavior and degradation products on the probabilistic characterization of human health risk. *Advances in water resources* 88, 124-138.
- Holland, S.I., Ertan, H., Montgomery, K., Manefield, M.J., Lee, M., 2021. Novel dichloromethane-fermenting bacteria in the Peptococcaceae family. *The ISME journal* 15(6), 1709-1721.
- Holmes, D. E., O'neil, R. A., Vrionis, H. A., N'guessan, L. A., Ortiz-Bernad, I., Larrahondo, M. J., ... & Lovley, D. R. (2007). Subsurface clade of Geobacteraceae that predominates in a diversity of Fe (III)-reducing subsurface environments. *The ISME journal*, 1(8), 663-677.
- Honda, T., Fujita, T., & Tonouchi, A. (2013). *Aminivibrio pyruvatiphilus* gen. nov., sp. nov., an anaerobic, amino-acid-degrading bacterium from soil of a Japanese rice field. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 63(Pt_10), 3679-3686.
- Huang, X. F., Liu, Y. J., Dong, J. D., Qu, L. Y., Zhang, Y. Y., Wang, F. Z., ... & Zhang, S. (2014). *Mangrovibacterium diazotrophicum* gen. nov., sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium isolated from a mangrove sediment, and proposal of Prolixibacteraceae fam. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 64(Pt_3), 875-881.
- Huang, Y., Hou, X., Liu, S., & Ni, J. (2016). Correspondence analysis of bio-refractory compounds degradation and microbiological community distribution in anaerobic filter for coking wastewater treatment. *Chemical Engineering Journal*, 304, 864-872.
- 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 B: Biological Sciences* 368(1616), 20120322.
- Hurek, T., & Reinhold-Hurek, B. (2003). *Azoarcus* sp. strain BH72 as a model for nitrogen-fixing grass endophytes. *Journal of Biotechnology*, 106(2-3), 169-178.
- Jabari, L., Gannoun, H., Cayol, J. L., Hedi, A., Sakamoto, M., Falsen, E., Ohkuma, M., Hamdi, M., Fauque, G., Ollivier, B., & Fardeau, M. L. (2012).



第七章：參考文獻

- 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(Pt 10), 2522–2527.
- Jakus, N., Blackwell, N., Straub, D., Kappler, A., & Kleindienst, S. (2021). Presence of Fe (II) and nitrate shapes aquifer-originating communities leading to an autotrophic enrichment dominated by an Fe (II)-oxidizing Gallionellaceae sp. *FEMS Microbiology Ecology*, 97(11), fiab145.
- Jenkins, O., Byrom, D., & Jones, D. (1987). Methylophilus: a new genus of methanol-utilizing bacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 37(4), 446-448.
- Jia, T., Zhang, L., Li, X., Zhao, Q., Peng, Y., Sui, J., & Wang, C. (2023). Characteristics of biotrickling filter system for hydrogen sulfide removal with seasonal temperature variations: A strategy for low temperature conditions. *Science of The Total Environment*, 857, 159617.
- Jiang, Z., Zheng, Z., Wu, M., Qu, Y., Zheng, C., & Shen, J. (2023). Full-scale operation of an integrated aerated biofilter–denitrification shallow biofilter system for simultaneous nitrogen and phosphorus removal from low-carbon domestic sewage: Influencing parameters, microbial community and mechanism. *Chemical Engineering Journal*, 144427.
- Jin, Z., Ci, M., Yang, W., Shen, D., Hu, L., Fang, C., & Long, Y. (2020). Sulfate reduction behavior in the leachate saturated zone of landfill sites. *Science of the Total Environment*, 730, 138946.
- Junghare, M., & Schink, B. (2015). Desulfoprimum benzoelyticum gen. nov., sp. nov., a Gram-stain-negative, benzoate-degrading, sulfate-reducing bacterium isolated from a wastewater treatment plant. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 65(Pt_1), 77-84.
- Junghare, M., Spitteller, D., & Schink, B. (2019). Anaerobic degradation of xenobiotic isophthalate by the fermenting bacterium Syntrophorhabdus aromaticivorans. *The ISME Journal*, 13(5), 1252-1268.
- Kanitkar, Y.H., Stedtfeld, R.D., Steffan, R.J., Hashsham, S.A. and Cupples, A.M. 2016. Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) for Rapid Detection and Quantification of Dehalococcoides Biomarker Genes in Commercial Reductive



- Dechlorinating Cultures KB-1 and SDC-9. *Appl Environ Microbiol* 82(6), 1799-1806.
- Karpenko, O., Lubenets, V., Karpenko, E. and Novikov, V. 2009. Chemical oxidants for remediation of contaminated soil and water. A review.
- Kato, S., Haruta, S., Cui, Z.J., Ishii, M. and Igarashi, Y. 2008. Network relationships of bacteria in a stable mixed culture. *Microb Ecol* 56(3), 403-411.
- Khan, S. T., Horiba, Y., Yamamoto, M., & Hiraishi, A. (2002). Members of the family Comamonadaceae as primary poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)-degrading denitrifiers in activated sludge as revealed by a polyphasic approach. *Applied and environmental microbiology*, 68(7), 3206-3214.
- Kao, C. M., Liao, H. Y., Chien, C. C., Tseng, Y. K., Tang, P., Lin, C. E., & Chen, S. C. (2016). The change of microbial community from chlorinated solvent-contaminated groundwater after biostimulation using the metagenome analysis. *Journal of hazardous materials*, 302, 144-150.
- Kim, B. C., Seung Jeon, B., Kim, S., Kim, H., Um, Y., & Sang, B. I. (2015). *Caproiciproducens galactitolivorans* gen. nov., sp. nov., a bacterium capable of producing caproic acid from galactitol, isolated from a wastewater treatment plant. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 65(12), 4902-4908.
- Kodama, Y., & Watanabe, K. (2004). *Sulfuricurvum kujiense* gen. nov., sp. nov., a facultatively anaerobic, chemolithoautotrophic, sulfur-oxidizing bacterium isolated from an underground crude-oil storage cavity. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 54(Pt 6), 2297-2300.
- Kranzioch, I., Ganz, S. and Tiehm, A. 2015. Chloroethene degradation and expression of *Dehalococcoides* dehalogenase genes in cultures originating from Yangtze sediments. *Environmental Science and Pollution Research* 22(4), 3138-3148.
- Kruse, S., Türkowsky, D., Birkigt, J., Matturro, B., Franke, S., Jehmlich, N., von Bergen, M., Westermann, M., Rossetti, S., Nijenhuis, I., Adrian, L., Diekert, G. and Goris, T. 2021. Interspecies metabolite transfer and aggregate formation in a co-culture of *Dehalococcoides* and *Sulfurospirillum* dehalogenating tetrachloroethene to ethene. *ISME J* 15(6), 1794-1809.
- Kucharzyk, K.H., Meisel, J.E., Kara-Murdoch, F., Murdoch, R.W., Higgins, S.A., Vainberg, S., Bartling, C.M., Mullins, L., Hatzinger, P.B. and Löffler, F.E. 2020. Metagenome-Guided Proteomic Quantification of Reductive Dehalogenases in the



第七章：參考文獻

- Dehalococcoides mccartyi-Containing Consortium SDC-9. *Journal of Proteome Research* 19(4), 1812-1823.
- Kulasekara, H. M. I. P., Zhang, Y., & Papelis, C. (2023). Effect of Nitrate Presence on Selenium Bioremediation in Chemically Modified Zeolite Columns. *Water*, 15(10), 1841.
- Kümmel, S., Herbst, F. A., Bahr, A., Duarte, M., Pieper, D. H., Jehmlich, N., ... & Vogt, C. (2015). Anaerobic naphthalene degradation by sulfate-reducing Desulfobacteraceae from various anoxic aquifers. *FEMS Microbiology Ecology*, 91(3), fiv006.
- L. Adrian and F. E. Löffler, Organohalide-Respiring Bacteria,
- 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.
- Li, D., Zhong, Y., Zhu, X., Wang, H., Yang, W., Deng, Y. and Huang, W. 2021. Reductive degradation of chlorinated organophosphate esters by nanoscale zerovalent iron/cetyltrimethylammonium bromide composites: Reactivity, mechanism and new pathways. *Water Research* 188, 116447.
- Li, F., Deng, D., Zeng, L., Abrams, S. and Li, M. 2021. Sequential anaerobic and aerobic bioaugmentation for commingled groundwater contamination of trichloroethene and 1,4-dioxane. *Science of The Total Environment* 774, 145118.
- Li, S., Lei, X., Qin, L., Sun, X., Wang, L., Zhao, S., ... & Chen, S. (2021). Fe (III) reduction due to low pe+ pH contributes to reducing Cd transfer within a soil-rice system. *Journal of Hazardous Materials*, 415, 125668.
- Li, Y., Guo, L., Kolton, M., Yang, R., Zhang, M., Qi, F., ... & Sun, W. (2022). Chemolithotrophic biological nitrogen fixation fueled by antimonite oxidation may be widespread in Sb-contaminated habitats. *Environmental Science & Technology*, 57(1), 231-243.
- Liang, Y., Lu, Q., Liang, Z., Liu, X., Fang, W., Liang, D., ... & Wang, S. (2021). Substrate-dependent competition and cooperation relationships between Geobacter and Dehalococcoides for their organohalide respiration. *ISME Communications*, 1(1), 23.
- Lin, K.-S., Mdlovu, N.V., Chen, C.-Y., Chiang, C.-L. and Dehvari, K. 2018.



- Degradation of TCE, PCE, and 1, 2-DCE DNAPLs in contaminated groundwater using polyethylenimine-modified zero-valent iron nanoparticles. *Journal of Cleaner Production* 175, 456-466.
- Liu, P., Pommerenke, B., & Conrad, R. (2018). Identification of Syntrophobacteraceae as major acetate-degrading sulfate reducing bacteria in Italian paddy soil. *Environmental microbiology*, 20(1), 337-354.
- Liu, Y., Balkwill, D. L., Aldrich, H. C., Drake, G. R., & Boone, D. R. (1999). Characterization of the anaerobic propionate-degrading syntrophs *Smithella propionica* gen. nov., sp. nov. and *Syntrophobacter wolinii*. *International journal of systematic bacteriology*, 49 Pt 2, 545-556.
- Liu, Y., Balkwill, D. L., Aldrich, H. C., Drake, G. R., & Boone, D. R. (1999). Characterization of the anaerobic propionate-degrading syntrophs *Smithella propionica* gen. nov., sp. nov. and *Syntrophobacter wolinii*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 49(2), 545-556.
- Löffler, F.E., Yan, J., Ritalahti, K.M., Adrian, L., Edwards, E.A., Konstantinidis, K.T., Müller, 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*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 63(Pt_2), 625-635.
- Lofrano, G., Libralato, G., Minetto, D., De Gisi, S., Todaro, F., Conte, B., Calabrò, D., Quatraro, L. and Notarnicola, M. 2017. In situ remediation of contaminated marinesediment: an overview. *Environmental Science and Pollution Research* 24(6), 5189-5206.
- Lovley et al., 2011, *Geobacter* sp.: The Microbe Electric's Physiology, Ecology, and Practical Applications, *Advances in Microbial Physiology*. Volume 59, p. 1-100
- Lu, C.-W., Kao, C.-M., Le, N.N., Lin, C.-C., and Chen, S.-C. (2022). Long-term dechlorination of cis-DCE to ethene with co-immobilized *Dehalococcoides mccartyi* BAV1 and *Clostridium butyricum* in silica gel system. *Journal of Hazardous Materials* 430, 128355. 10.1016/j.jhazmat.2022.128355.
- Luijten, M.L., Roelofsen, W., Langenhoff, A.A., Schraa, G. and Stams, A.J. 2004. Hydrogen threshold concentrations in pure cultures of halo-respiring bacteria and at a site polluted with chlorinated ethenes. *Environ Microbiol* 6(6), 646-650.



第七章：参考文献

- Madhupriya, M., Gowri, R.S., Saranya, A., Rajarajeswari, P., Prabhavathi, P. and Kumar, S.D. 2020. Remediation techniques for heavy metal contaminated ecosystem—a review. *Journal of Advanced Scientific Research* 11(02), 1-9.
- Mägli, A., Wendt, M., Leisinger, T., 1996. Isolation and characterization of *Dehalobacterium formicoaceticum* gen. nov. sp. nov., a strictly anaerobic bacterium utilizing dichloromethane as source of carbon and energy. *Archives of Microbiology* 166(2), 101-108.
- Maitra, S. 2018. In situ bioremediation—an overview. Responsibility of Life Science Informatics Publications.
- Maphosa, F., Lieten, S., Dinkla, I., Stams, A., Smidt, H. and Fennell, D. 2012. Ecogenomics of microbial communities in bioremediation of chlorinated contaminated sites. *Frontiers in Microbiology* 3.
- Matthies, C., Springer, N., Ludwig, W., & Schink, B. (2000). *Pelospora glutarica* gen. nov., sp. nov., a glutarate-fermenting, strictly anaerobic, spore-forming bacterium. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 50(2), 645-648.
- Maymó-Gatell, X., Chien, Y., Gossett, J.M. and Zinder, S.H. 1997. Isolation of a bacterium that reductively dechlorinates tetrachloroethene to ethene. *Science* 276(5318), 1568-1571.
- McMurdie, P.J., Behrens, S.F., Müller, J.A., Göke, J., Ritalahti, K.M., Wagner, R., Goltsman, E., Lapidus, A., Holmes, S. and Löffler, F.E. 2009. Localized plasticity in the streamlined genomes of vinyl chloride respiring *Dehalococcoides*. *PLoS Genetics* 5(11), e1000714.
- McMurdie, P.J., Hug, L.A., Edwards, E.A., Holmes, S. and Spormann, A.M. 2011. Site-specific mobilization of vinyl chloride respiration islands by a mechanism common in *Dehalococcoides*. *BMC genomics* 12(1), 1-15.
- Mechichi, T., Stackebrandt, E., Gad'on, N., & Fuchs, G. (2002). Phylogenetic and metabolic diversity of bacteria degrading aromatic compounds under denitrifying conditions, and description of *Thauera phenylacetica* sp. nov., *Thauera aminoaromatica* sp. nov., and *Azoarcus buckelii* sp. nov. *Archives of microbiology*, 178, 26-35.
- Moestedt, J., Westerholm, M., Isaksson, S., & Schnürer, A. (2019). Inoculum source determines acetate and lactate production during anaerobic digestion of sewage



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

- sludge and food waste. *Bioengineering*, 7(1), 3.
- Molenda, O., Jácome, L.A.P., Cao, X., Nesbø, C.L., Tang, S., Morson, N., Patron, J., Lomheim, L., Wishart, D.S. and Edwards, E.A. 2020. Insights into origins and function of the unexplored majority of the reductive dehalogenase gene family as a result of genome assembly and ortholog group classification. *Environmental Science: Processes & Impacts* 22(3), 663-678.
- Moreira, J. P. C., Diender, M., Arantes, A. L., Stams, A. J. M., Alves, M. M., Alves, J. I. F., & Sousa, D. Z. M. (2019). Production of propionate from carbon monoxide by a synthetic co-culture.
- Mountfort, D. O., Brulla, W. J., Krumholz, L. R., & Bryant, M. P. (1984). *Syntrophus buswellii* gen. nov., sp. nov.: a benzoate catabolizer from methanogenic ecosystems. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 34(2), 216-217.
- Muller, E.E., Bringel, F., Vuilleumier, S., 2011. Dichloromethane-degrading bacteria in the genomic age. *Research in Microbiology* 162(9), 869-876.
- Munoz, B. S. R. (2014). 29 The Family Syntrophomonadaceae.
- Nevin, K. P., Holmes, D. E., Woodard, T. L., Covalla, S. F., & Lovley, D. R. (2007). Reclassification of *Trichlorobacter thiogenes* as *Geobacter thiogenes* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(3), 463-466.
- Nzila, A., Razzak, S.A. and Zhu, J. 2016. Bioaugmentation: an emerging strategy of industrial wastewater treatment for reuse and discharge. *International journal of environmental research and public health* 13(9), 846.
- Oude Elferink, S. J., Maas, R. N., Harmsen H. J., & Stams, A. J. (1995) *Desulforhabdus amnigenus* gen. nov. sp. nov., a sulfate reducer isolated from anaerobic granular sludge. *Archives of microbiology*, 164(2), 119–124.
- Owusu-Agyeman, I., Plaza, E., & Cetecioglu, Z. (2021). A pilot-scale study of granule-based anaerobic reactors for biogas recovery from municipal wastewater under sub-mesophilic conditions. *Bioresource Technology*, 337, 125431.
- Pal, A.K., Singh, J., Soni, R., Tripathi, P., Kamle, M., Tripathi, V. and Kumar, P. (2020) Bioremediation of pollutants, pp. 227-249, *Elsevier*.
- Pan, Y., Zeng, X., Xu, H., Sun, Y., Wang, D. and Wu, J. 2020. Assessing human health risk of groundwater DNAPL contamination by quantifying the model structure uncertainty. *Journal of Hydrology* 584, 124690.
- Peale, J.G.D., Mueller, J. and Molin, J. 2010. Successful ISCR-enhanced



- bioremediation of a TCE DNAPL source utilizing EHC® and KB-1®. *Remediation Journal* 20(3), 63-81.
- Peng, X., Zhang, Z., Luo, W., & Jia, X. (2013). Biodegradation of tetrabromobisphenol A by a novel *Comamonas* sp. strain, JXS-2-02, isolated from anaerobic sludge. *Bioresource technology*, 128, 173–179.
- Pérez-Pantoja, D., Donoso, R., Agulló, L., Córdova, M., Seeger, M., Pieper, D. H., & González, B. (2012). Genomic analysis of the potential for aromatic compounds biodegradation in Burkholderiales. *Environmental Microbiology*, 14(5), 1091-1117.
- Perman, E., Schnürer, A., Björn, A., & Moestedt, J. (2022). Serial anaerobic digestion improves protein degradation and biogas production from mixed food waste. *Biomass and bioenergy*, 161, 106478.
- Petet, R. A. (2019). Impacts of Microbial Community Structure on Denitrification Rates in the Rhizosphere of *J. Roemerianus* and *S. Alterniflora* in a Gulf of Mexico Mixed Marsh.
- Pikuta, E. V. (2014). The family carnobacteriaceae. *Holzappel, WH, y Wood, BJ Lactic Acid Bacteria: Biodiversity and Taxonomy*, 107-108.
- Polasko, A.L., Zulli, A., Gedalanga, P.B., Pornwongthong, P. and Mahendra, S. 2019. A Mixed Microbial Community for the Biodegradation of Chlorinated Ethenes and 1,4-Dioxane. *Environmental Science & Technology Letters* 6(1), 49-54.
- Puentes Jácome, L.A., Wang, P.-H., Molenda, O., Li, Y.X., 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. *Environmental Science & Technology* 53(19), 11364-11374.
- Qiu, Y. L., Hanada, S., Kamagata, Y., Guo, R. B., & Sekiguchi, Y. (2014). *Lactivibrio alcoholicus* gen. nov., sp. nov., an anaerobic, mesophilic, lactate-, alcohol-, carbohydrate- and amino-acid-degrading bacterium in the phylum Synergistetes. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 64(Pt_6), 2137-2145.
- Qiu, Y. L., Hanada, S., Ohashi, A., Harada, H., Kamagata, Y., & Sekiguchi, Y. (2008). *Syntrophorhabdus aromaticivorans* gen. nov., sp. nov., the first cultured anaerobe capable of degrading phenol to acetate in obligate syntrophic associations with a hydrogenotrophic methanogen. *Applied and environmental microbiology*, 74(7),



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

2051–2058.

- Reis, V. M., & Teixeira, K. R. D. S. (2015). Nitrogen fixing bacteria in the family Acetobacteraceae and their role in agriculture. *Journal of basic microbiology*, 55(8), 931-949.
- Ren, S., Usman, M., Tsang, D. C., O-Thong, S., Angelidaki, I., Zhu, X., ... & Luo, G. (2020). Hydrochar-facilitated anaerobic digestion: evidence for direct interspecies electron transfer mediated through surface oxygen-containing functional groups. *Environmental Science & Technology*, 54(9), 5755-5766.
- Rettenmaier, R., Kowollik, M. L., Klingl, A., Liebl, W., & Zverlov, V. (2019). *Ruminiclostridium herbifermentans* sp. nov., a mesophilic and moderately thermophilic cellulolytic and xylanolytic bacterium isolated from a lab- scale biogas fermenter fed with maize silage. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 71(3), 10.1099/ijsem.0.004692.
- 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(4), 149-157.
- Schaefer, C.E., Lippincott, D.R. and Steffan, R.J. 2010. Field-Scale Evaluation of Bioaugmentation Dosage for Treating Chlorinated Ethenes. *Groundwater Monitoring & Remediation* 30(3), 113-124.
- Scheutz, C., Durant, N.D., Dennis, P., Hansen, M.H., Jørgensen, T., Jakobsen, R., Cox, E.E. and Bjerg, P.L. 2008. Concurrent ethene generation and growth of *Dehalococcoides* containing vinyl chloride reductive dehalogenase genes during an enhanced reductive dechlorination field demonstration. *Environmental science & technology* 42(24), 9302-9309.
- Scott, C.S. and Chiu, W.A. 2006. Trichloroethylene cancer epidemiology: a consideration of select issues. *Environmental health perspectives* 114(9), 1471-1478.
- Seo, H., Kim, S., Son, H. F., Sagong, H. Y., Joo, S., & Kim, K. J. (2019). Production of extracellular PETase from *Ideonella sakaiensis* using sec-dependent signal peptides in *E. coli*. *Biochemical and biophysical research communications*, 508(1), 250–255.
- Seyedabbasi, M.A., Newell, C.J., Adamson, D.T., Sale, T.C., 2012. Relative contribution of DNAPL dissolution and matrix diffusion to the long-term persistence of chlorinated solvent source zones. *Journal of contaminant hydrology* 134, 69-81.



第七章：參考文獻

- Sharma, P., Pandey, A.K., Kim, S.-H., Singh, S.P., Chaturvedi, P. and Varjani, S. 2021. Critical review on microbial community during in-situ bioremediation of heavy metals from industrial wastewater. *Environmental Technology & Innovation* 24, 101826.
- Shestakova, M., Sillanpää, M., 2013. Removal of dichloromethane from ground and wastewater: A review. *Chemosphere* 93(7), 1258-1267.
- Siegrist, R.L., Crimi, M. and Brown, R.A. (2011) In situ chemical oxidation for groundwater remediation, pp. 1-32, *Springer*.
- Simon, F.-G., Meggyes, T. and Tünnermeier, T. (2002) Advanced groundwater remediation: active and passive technologies, pp. 3-29, Thomas Telford Publishing London.
- Sorokin, D. Y., Foti, M., Tindall, B. J., & Muyzer, G. (2007). *Desulfurispirillum alkaliphilum* gen. nov. sp. nov., a novel obligately anaerobic sulfur-and dissimilatory nitrate-reducing bacterium from a full-scale sulfide-removing bioreactor. *Extremophiles*, 11, 363-370.
- Springer-Verlag, Heidelberg, Germany, 1st edition, 2016.
- Stams, A. J., & Oude Elferink, S. J. (2015). *Desulfobacca*. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-2.
- Stolyar, S., Costello, A. M., Peeples, T. L., & Lidstrom, M. E. (1999). Role of multiple gene copies in particulate methane monooxygenase activity in the methane-oxidizing bacterium *Methylococcus capsulatus* Bath. *Microbiology*, 145(5), 1235-1244.
- Su, X. L., Tian, Q., Zhang, J., Yuan, X. Z., Shi, X. S., Guo, R. B., & Qiu, Y. L. (2014). *Acetobacteroides hydrogenigenes* gen. nov., sp. nov., an anaerobic hydrogen-producing bacterium in the family Rikenellaceae isolated from a reed swamp. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 64(Pt_9), 2986-2991.
- Sumbul, A., Ansari, R. A., Rizvi, R., & Mahmood, I. (2020). Azotobacter: A potential bio-fertilizer for soil and plant health management. *Saudi journal of biological sciences*, 27(12), 3634-3640.
- Sun, L., Toyonaga, M., Ohashi, A., Tournalousse, D. M., Matsuura, N., Meng, X. Y., ... & Sekiguchi, Y. (2016). *Lentimicrobium saccharophilum* gen. nov., sp. nov., a strictly anaerobic bacterium representing a new family in the phylum Bacteroidetes, and



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

- proposal of Lentimicrobiaceae fam. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 66(7), 2635-2642.
- Sung et al., 2006, *Geobacter* sp. *lovleyi* sp. nov. Strain SZ, a Novel Metal-Reducing and Tetrachloroethene-Dechlorinating Bacterium. *Environmental Microbiology*, Apr. p. 2775–2782
- Tabrez, S. and Ahmad, M. 2009. Toxicity, biomarkers, genotoxicity, and carcinogenicity of trichloroethylene and its metabolites: a review. *Journal of Environmental Science and Health Part C* 27(3), 178-196.
- Tak, N., & Gehlot, H. S. (2019). Diversity of nitrogen-fixing symbiotic rhizobia with special reference to Indian Thar Desert. *Microbial Diversity in Ecosystem Sustainability and Biotechnological Applications: Volume 2. Soil & Agroecosystems*, 31-55.
- Takeuchi, M., Kamagata, Y., Oshima, K., Hanada, S., Tamaki, H., Marumo, K., ... & Sakata, S. (2014). *Methylocaldum marinum* sp. nov., a thermotolerant, methane-oxidizing bacterium isolated from marine sediments, and emended description of the genus *Methylocaldum*. *International Journal of systematic and evolutionary microbiology*, 64(Pt_9), 3240-3246.
- 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. *Applied and environmental microbiology* 79(3), 974-981.
- Taubert, M., Grob, C., Crombie, A., Howat, A. M., Burns, O. J., Weber, M., ... & Murrell, J. C. (2019). Communal metabolism by Methylococcaceae and Methylophilaceae is driving rapid aerobic methane oxidation in sediments of a shallow seep near Elba, Italy. *Environmental microbiology*, 21(10), 3780-3795.
- Taylor, A., Molzahn, P., Bushnell, T., Cheney, C., LaJeunesse, M., Azizian, M., & Semprini, L. (2018). Immobilization of *Methylosinus trichosporium* OB3b for methanol production. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 45(3), 201–211.
- Thrash, J. C., Pollock, J., Torok, T., & Coates, J. D. (2010). Description of the novel perchlorate-reducing bacteria *Dechlorobacter hydrogenophilus* gen. nov., sp. nov. and *Propionivibrio militaris*, sp. nov. *Applied microbiology and biotechnology*, 86(1), 335–343.
- Tripathi, S., Sharma, P., Singh, K., Purchase, D. and Chandra, R. 2021. Translocation of heavy metals in medicinally important herbal plants growing on



第七章：参考文献

- complex organometallic sludge of sugarcane molasses-based distillery waste. *Environmental Technology & Innovation* 22, 101434.
- Troshina, O., Oshurkova, V., Suzina, N., Machulin, A., Ariskina, E., Vinokurova, N., ... & Shcherbakova, V. (2015). *Sphaerochaeta associata* sp. nov., a spherical spirochaete isolated from cultures of *Methanosarcina mazei* JL01. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 65(Pt_12), 4315-4322.
- van Gelder, A. H., Sousa, D. Z., Rijpstra, W. I. C., Damste, J. S. S., Stams, A. J., & Sanchez-Andrea, I. (2014). *Ercella succinigenes* gen. nov., sp. nov., an anaerobic succinate-producing bacterium. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 64(Pt_7), 2449-2454.
- Veeravalli, S. S., Lalman, J. A., Chaganti, S. R., & Heath, D. D. (2017). Continuous hydrogen production using upflow anaerobic sludge blanket reactors: effect of organic loading rate on microbial dynamics and H₂ metabolism. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 92(3), 544-551.
- Viulu, S., Nakamura, K., Okada, Y., Saitou, S., & Takamizawa, K. (2013). *Geobacter luticola* sp. nov., an Fe (III)-reducing bacterium isolated from lotus field mud. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 63(Pt_2), 442-448.
- Wang, D., Zhu, F., Zhu, X., Zheng, S., Wang, R., & Wang, G. (2015). Draft genomic sequence of a selenite-reducing bacterium, *Paenirhodobacter enshiensis* DW2-9T. *Standards in Genomic Sciences*, 10(1), 1-8.
- Wang, F.Y.-Y. (2000) Evaluation of Enhanced Bioremediation for Reductive Dechlorination of Tetrachloroethene (PCE): Microcosm Study, *Virginia Tech*.
- Wang, J. P., Liu, B., Liu, G. H., Ge, C. B., Chen, Q. Q., Zhu, Y. J., & Chen, Z. (2015). Genome sequence of *Anaerobacillus macyae* JMM-4T (DSM 16346), the first genomic information of the newly established genus *Anaerobacillus*. *Genome Announcements*, 3(4), 10-1128.
- Wang, Z., Yao, Y., Steiner, N., Cheng, H. H., Wu, Y. J., Woo, S. G., & Criddle, C. S. (2020). Impacts of nitrogen-containing coagulants on the nitrification/denitrification of anaerobic digester centrate. *Environmental Science: Water Research & Technology*, 6(12), 3451-3459.
- Ward, L. M., Bertran, E., & Johnston, D. T. (2020). Draft genome sequence of *Desulfovibrio sulfodismutans* ThAc01, a heterotrophic sulfur-disproportionating



- member of the desulfobacterota. *Microbiology resource announcements*, 9(13), 10-1128.
- Ward, L. M., Bertran, E., & Johnston, D. T. (2021). Expanded genomic sampling refines current understanding of the distribution and evolution of sulfur metabolisms in the desulfobulbales. *Frontiers in Microbiology*, 12, 666052.
- Wei, M., Qiu, Q., Qian, Y., Cheng, L., & Guo, A. (2016). Methane oxidation and response of *Methylobacter*/*Methylosarcina* methanotrophs in flooded rice soil amended with urea. *Applied Soil Ecology*, 101, 174-184.
- Wiegel, J., Tanner, R. A. L. P. H., & Rainey, F. A. (2006). An introduction to the family Clostridiaceae. *Prokaryotes*, 4, 654-678.
- Wilson, J.D., 2000. Toxicological profile for methylene chloride.
- Wu, N., Zhang, W., Wei, W., Yang, S., Wang, H., Sun, Z., Song, Y., Li, P. and Yang, Y. 2020. Field study of chlorinated aliphatic hydrocarbon degradation in contaminated groundwater via micron zero-valent iron coupled with biostimulation. *Chemical Engineering Journal* 384, 123349.
- Yan, J., Wang, J., Villalobos Solis, M.I., Jin, H., Chourey, K., Li, X., Yang, Y., Yin, Y., Hettich, R.L. and Löffler, F.E. 2021. Respiratory vinyl chloride reductive dechlorination to ethene in TceA-expressing *Dehalococcoides mccartyi*. *Environmental Science & Technology* 55(8), 4831-4841.
- Yang, Y., Higgins, S.A., Yan, J., Şimşir, B., Chourey, K., Iyer, R., Hettich, R.L., Baldwin, B., Ogles, D.M. and Löffler, F.E. 2017. Grape pomace compost harbors organohalide-respiring *Dehalogenimonas* species with novel reductive dehalogenase genes. *The ISME journal* 11(12), 2767-2780.
- Yang, Y., Schubert, T., Lv, Y., Li, X., & Yan, J. (2022). Comparative Genomic Analysis Reveals Preserved Features in Organohalide-Respiring *Sulfurospirillum* Strains. *mSphere*, 7(1), e0093121.
- Yi, S., Seth, E.C., Men, Y.-J., Stabler, S.P., Allen, R.H., Alvarez-Cohen, L. and Taga, M.E. 2012. Versatility in corrinoid salvaging and remodeling pathways supports corrinoid-dependent metabolism in *Dehalococcoides mccartyi*. *Applied and environmental microbiology* 78(21), 7745-7752.
- Yohda, M., Ikegami, K., Aita, Y., Kitajima, M., Takechi, A., Iwamoto, M., Fukuda, T., Tamura, N., Shibasaki, J., Koike, S., Komatsu, D., Miyagi, S., Nishimura, M., Uchino, Y., Shiroma, A., Shimoji, M., Tamotsu, H., Ashimine, N., Shinzato, M., Ohki, S., Nakano, K., Teruya, K., Satou, K., Hirano, T. and Yagi, O. 2017. Isolation and genomic characterization of a *Dehalococcoides* strain suggests genomic rearrangement during culture. *Sci Rep* 7(1), 2230.



第七章：參考文獻

- Yohda, M., Yagi, O., Takechi, A., Kitajima, M., Matsuda, H., Miyamura, N., Aizawa, T., Nakajima, M., Sunairi, M., Daiba, A., Miyajima, T., Teruya, M., Teruya, K., Shiroma, A., Shimoji, M., Tamotsu, H., Juan, A., Nakano, K., Aoyama, M., Terabayashi, Y., Satou, K. and Hirano, T. 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, R., Andrachek, R.G., Lehmicke, L.G. and Freedman, D.L. 2018. Remediation of chlorinated ethenes in fractured sandstone by natural and enhanced biotic and abiotic processes: a crushed rock microcosm study. *Science of the Total Environment* 626, 497-506.
- Yu, Z., Liu, J., Li, Y., Jin, J., Liu, X., & Wang, G. (2018). Impact of land use, fertilization and seasonal variation on the abundance and diversity of nirS-type denitrifying bacterial communities in a Mollisol in Northeast China. *European Journal of Soil Biology*, 85, 4-11.
- Zavarzina, D. G., Sokolova, T. G., Tourova, T. P., Chernyh, N. A., Kostrikina, N. A., & Bonch-Osmolovskaya, E. A. (2007). *Thermincola ferriacetica* sp. nov., a new anaerobic, thermophilic, facultatively chemolithoautotrophic bacterium capable of dissimilatory Fe (III) reduction. *Extremophiles*, 11, 1-7.
- Zhang, J., Song, L., Wang, Y., Liu, C., Zhang, L., Zhu, S., ... & Duan, L. (2019). Beneficial effect of butyrate-producing *Lachnospiraceae* on stress-induced visceral hypersensitivity in rats. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 34(8), 1368-1376.
- Zhang, L., Fu, G., & Zhang, Z. Efficient Nutrient Removal in Electrotrophic Denitrification System Treating High-Salinity Mustard Tuber Wastewater. *Available at SSRN* 3935540.
- Zhilina, T. N., Zavarzina, D. G., Osipov, G. A., Kostrikina, N. A., & Tourova, T. P. (2009). *Natronincola ferrireducens* sp. nov., and *Natronincola peptidovorans* sp. nov., new anaerobic alkaliphilic peptolytic iron-reducing bacteria isolated from soda lakes. *Microbiology*, 78, 455-467.
- Zhu, L., Yao, Q., Huang, Z., Li, X., & Ma, Z. (2023). Biogenic methane generation from lignite coal at different temperatures. *Gas Science and Engineering*, 205016.
- Zinder, S.H. (2016) Organohalide-respiring bacteria, pp. 107-136, *Springer*.
- Zoetendal, E. G., Plugge, C. M., Akkermans, A. D., & de Vos, W. M. (2003). *Victivallis vadensis* gen. nov., sp. nov., a sugar-fermenting anaerobe from human



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

faeces. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53(1), 211-215.

車明道, 董天行, 王子賓, 張益源, and 羅育文%J 土壤及地下水污染整治. 2018. '含有機物場址長時間整治所遭遇傳輸困難與因應改善之案例研究', 5: 67-81.



附件一、 場試驗專案工作污染防治及場址衛生安全措施



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

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



第七章：參考文獻



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

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。
6. 自備滅火器等設備，並了解工廠內消防安全設施位置。



第七章：參考文獻

- 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。



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

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：



第七章：參考文獻

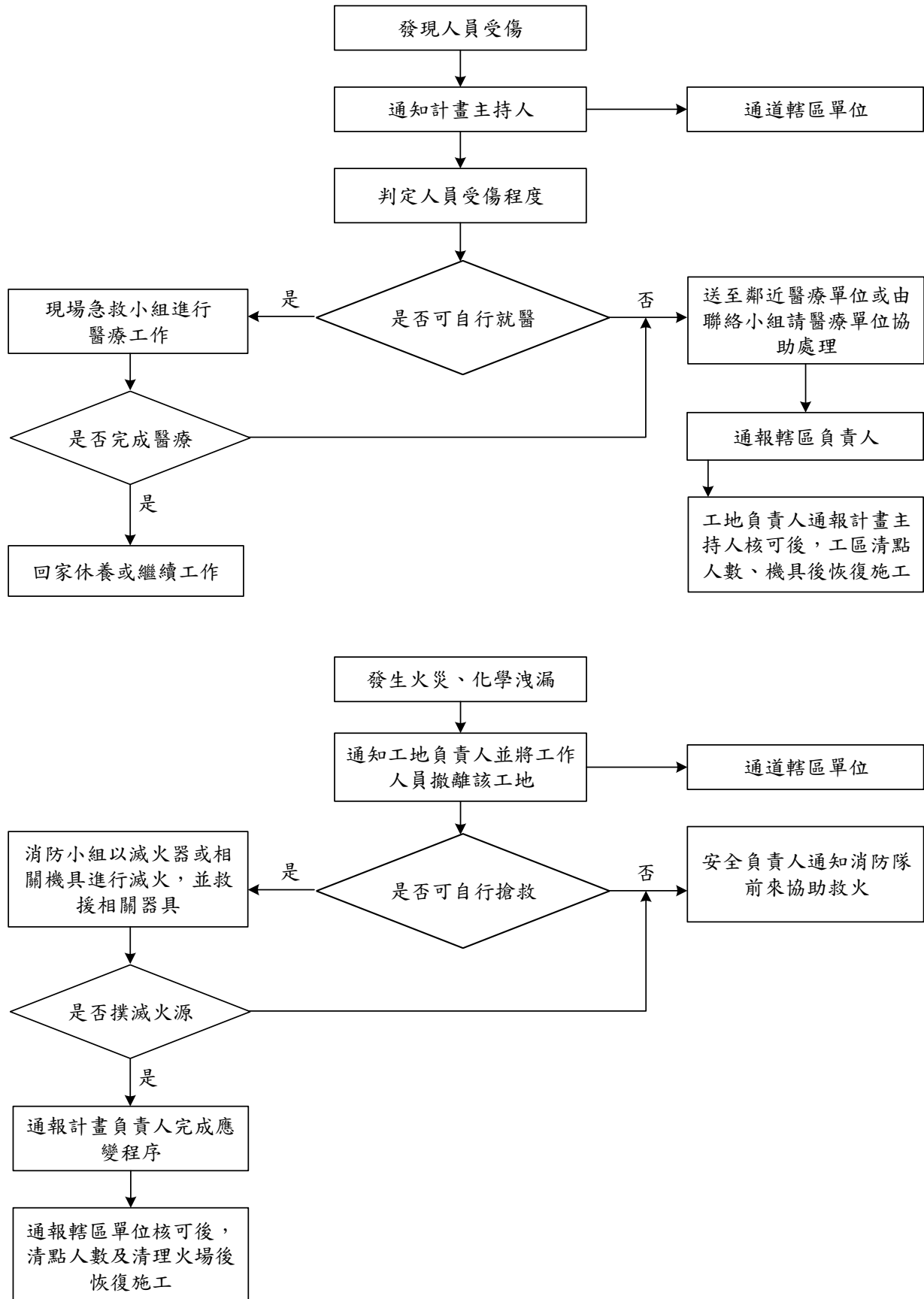


圖 1 施工人員受傷應變程序圖 2 工區發生火災、化學洩漏應變程序



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗

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、 脫氯菌劑致病菌檢驗報告



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗



睥凱國際檢驗科技股份有限公司

FSI - Asia Pacific Office

檢驗報告書

FSIB7-08-03 REV.1.0
報告編號：100622-04-043
報告頁數：1 of 4
報告日期：2022年10月27日

委託檢驗單位：國立中央大學
委託廠商地址：桃園市中壢區中大路300號科學五館511室
聯絡人：呂哲瑋 先生
聯絡電話：03-422-7151
<以下測試樣品係由委託檢驗廠商所提供>
樣品名稱：菌劑
樣品件數：1件
生產或供應廠商：歐氣科技股份有限公司
產品描述：常溫，非市售完整包裝
有效日期：-
原產國：台灣
包裝規格：800mL

收樣日期：2022年10月06日
測試日期：2022年10月07日至10月12日
製造日期：2022年09月01日
保存期限：-
貨號：-

測試項目及方法

項目	方法
大腸桿菌群	部授食字第1021950329號-食品微生物之檢驗方法—大腸桿菌群之檢驗(註：實驗室擴充原方法適用基質，非屬食藥署該項認證範圍。)
大腸桿菌	衛授食字第1101902155號-食品微生物之檢驗方法—大腸桿菌之檢驗(註：實驗室擴充原方法適用基質，非屬食藥署該項認證範圍。)
大腸桿菌 0157:H7	部授食字第1021951163號-食品微生物之檢驗方法—大腸桿菌 0157:H7之檢驗(註：實驗室擴充原方法適用基質，非屬食藥署該項認證範圍。)
沙門氏桿菌	部授食字第1021951187號-食品微生物之檢驗方法—沙門氏桿菌之檢驗(註：實驗室擴充原方法適用基質，非屬食藥署該項認證範圍。)

測試結果

項目	單位	結果
大腸桿菌群	(MPN/g)	陰性
大腸桿菌	(MPN/g)	陰性
大腸桿菌 0157:H7		陰性
沙門氏桿菌		陰性

- 注意事項：1. 本報告共4頁，分離使用無效。
2. 本檢驗報告之所有檢驗內容，均依委託事項執行檢驗，如有不實，願意承擔完全責任。
- 備註：◎ 大腸桿菌群之偵測極限為3.0(MPN/g)。
◎ 大腸桿菌之偵測極限為3.0(MPN/g)。
◎ 大腸桿菌 0157:H7之檢驗範圍：陰性/陽性。
◎ 沙門氏桿菌之檢驗範圍：陰性/陽性。

本證明書為本公司之檢驗及測試服務共同條款所製發，本證明書之製發，並不免除買賣雙方買賣合約所應行使之權利及所應履行之義務，違反本證明書之約定並不拘束本公司。本公司製發本證明書責任僅限於經證明之過失，且責任範圍僅限於收取之費用或報酬金額之兩倍，除有特別約定之外，本公司對檢驗樣品之保管，不超過7天。



報告簽署人：何中平

檢驗報告僅就委託者之委託事項提供檢驗結果，不對產品合法性做判斷。

台北市內湖區內湖路一段120巷15弄28號 No.28,Aly.15,Ln.120,Sec.1,Neihu Rd.,Neihu Dist.,Taipei City 114,Taiwan
Tel:02-8751-1232 Fax:02-8751-8685 E-mail:foodsafety@fsi.net.tw Website:www.fsi.net.tw



第八章：補充資料



暉凱國際檢驗科技股份有限公司

FSI - Asia Pacific Office

檢驗報告書

FSIB7-08-03 REV. 1.0
報告編號：100622-04-043
報告頁數：2 of 4
報告日期：2022年10月27日

委託檢驗單位：國立中央大學
委託廠商地址：桃園市中壢區中大道300號科學五館511室
聯絡人：呂哲瑋 先生
聯絡電話：03-422-7151
<以下測試樣品係由委託檢驗廠商所提供>
樣品名稱：菌劑
樣品件數：1件
生產或供應廠商：歐氣科技股份有限公司
產品描述：常溫，非市售完整包裝
有效日期：-
原產國：台灣
包裝規格：800mL

收樣日期：2022年10月06日
測試日期：2022年10月07日至10月12日
製造日期：2022年09月01日
保存期限：-
貨號：-

測試項目及方法

項目	方法
單核球增多性李斯特菌	衛授食字第1091900915號-食品微生物之檢驗方法—單核球增多性李斯特菌之檢驗(註：實驗室擴充原方法適用基質，非屬食藥署該項認證範圍。)
黴菌	部授食字第1021950329號-食品微生物之檢驗方法—黴菌及酵母菌數之檢驗(註：實驗室擴充原方法適用基質，非屬食藥署該項認證範圍。)
酵母菌	部授食字第1021950329號-食品微生物之檢驗方法—黴菌及酵母菌數之檢驗(註：實驗室擴充原方法適用基質，非屬食藥署該項認證範圍。)
曲狀桿菌	部授食字第1041901756號-食品微生物之檢驗方法—曲狀桿菌之檢驗(註：實驗室擴充原方法適用基質，非屬食藥署該項認證範圍。)

測試結果

項目	單位	結果
單核球增多性李斯特菌	(CFU/g)	未檢出
黴菌	(CFU/g)	未檢出
酵母菌	(CFU/g)	未檢出
曲狀桿菌		陰性

注意事項：1. 本報告共4頁，分離使用無效。

2. 本檢驗報告之所有檢驗內容，均依委託事項執行檢驗，如有不實，願意承擔完全責任。

備註：
◎ 單核球增多性李斯特菌之檢驗範圍：陰性/陽性；單核球增多性李斯特菌之偵測極限為3.0(MPN/g)；單核球增多性李斯特菌之定量極限為10(CFU/g)。
◎ 黴菌之定量極限為10(CFU/g)。
◎ 酵母菌之定量極限為10(CFU/g)。
◎ 曲狀桿菌之檢驗範圍：陰性/陽性。

本證明書為本公司之檢驗及測試服務共同條款所製發，本證明書之製發，並不免除買賣雙方買賣合約所得行使之權利及所應履行之義務。違反本證明書之約定並不拘束本公司，本公司製發本證明書責任僅限於證明之過失，且責任範圍僅限於收取之費用或報酬金額之兩倍，除有特別約定之外，本公司對檢驗樣品之保管，不超過7天。



報告簽署人：何中平

檢驗報告僅就委託者之委託事項提供檢驗結果，不對產品合法性做判斷。

台北市內湖區內湖路一段120巷15弄28號 No.28, Aly.15, Ln.120, Sec.1, Neihu Rd., Neihu Dist., Taipei City 114, Taiwan
Tel:02-8751-1232 Fax:02-8751-8685 E-mail:foodsafety@fsi.net.tw Website:www.fsi.net.tw



開發高效本土脫氯菌劑及優化現地生物加強傳輸工法：現地模場試驗



暉凱國際檢驗科技股份有限公司
FSI - Asia Pacific Office

檢驗報告書

FSIB7-08-03 REV.1.0
報告編號：100622-04-043
報告頁數：3 of 4
報告日期：2022年10月27日

委託檢驗單位：國立中央大學
委託廠商地址：桃園市中壢區中大路300號科學五館511室
聯絡人：呂哲瑋 先生
聯絡電話：03-422-7151
<以下測試樣品係由委託檢驗廠商所提供>
樣品名稱：菌劑
樣品件數：1件
生產或供應廠商：歐氣科技股份有限公司
產品描述：常溫，非市售完整包裝
有效日期：-
原產國：台灣
包裝規格：800mL

收樣日期：2022年10月06日
測試日期：2022年10月07日至10月12日
製造日期：2022年09月01日
保存期限：-
貨號：-

測試項目及方法

項目	方法
霍亂弧菌	部授食字第1021950329號-食品微生物之檢驗方法-霍亂弧菌之檢驗(註：實驗室擴充原方法適用基質，非屬食藥署該項認證範圍。)
綠膿桿菌	部授食字第1021951265號-食品微生物之檢驗方法-包裝飲用水及盛裝飲用水中綠膿桿菌之檢驗(註：實驗室擴充原方法適用基質，非屬食藥署該項認證範圍。)
腸球菌	ISO 7899-2-Detection and enumeration of intestinal enterococci(註：實驗室擴充原方法適用基質，非屬食藥署該項認證範圍。)

測試結果

項目	單位	結果
霍亂弧菌		陰性
綠膿桿菌	(CFU/100mL)	陰性
腸球菌	(CFU/100mL)	陰性
--以下空白--		

注意事項：1. 本報告共4頁，分離使用無效。

2. 本檢驗報告之所有檢驗內容，均依委託事項執行檢驗，如有不實，願意承擔完全責任。

備註：◎ 霍亂弧菌之檢驗範圍：陰性/陽性。
◎ 綠膿桿菌之定量極限為1(CFU/100mL)。
◎ 腸球菌之定量極限為1(CFU/100mL)。

本證明書為本公司之檢驗及測試服務共同條款所製發，本證明書之製發，並不免除買賣雙方買賣合約所得行使之權利及所應履行之義務，違反本證明書之約定並不拘束本公司，本公司製發本證明書責任僅限於證明之過失，且責任範圍僅限於收取之費用或報酬金額之兩倍，除有特別的約定之外，本公司對檢驗樣品之保管，不超過7天。



報告簽署人：何中平

檢驗報告僅就委託者之委託事項提供檢驗結果，不對產品合法性做判斷。

台北市內湖區內湖路一段120巷15弄28號 No.28,Aly.15,Ln.120,Sec.1,Neihu Rd.,Neihu Dist.,Taipei City 114,Taiwan
Tel:02-8751-1232 Fax:02-8751-8685 E-mail:foodsafety@fsi.net.tw Website:www.fsi.net.tw



暉凱國際檢驗科技股份有限公司

FSI - Asia Pacific Office

檢驗報告書

FSIB7-08-03 REV.1.0

報告編號：100622-04-043

報告頁數：4 of 4

報告日期：2022年10月27日

委託檢驗單位：國立中央大學

委託廠商地址：桃園市中壢區中大路300號科學五館511室

聯絡人：呂哲瑋 先生

聯絡電話：03-422-7151

<以下測試樣品係由委託檢驗廠商所提供>

樣品名稱：菌劑

收樣日期：2022年10月06日

樣品件數：1件

測試日期：2022年10月07日至10月12日

生產或供應廠商：歐氣科技股份有限公司

產品描述：常溫，非市售完整包裝

製造日期：2022年09月01日

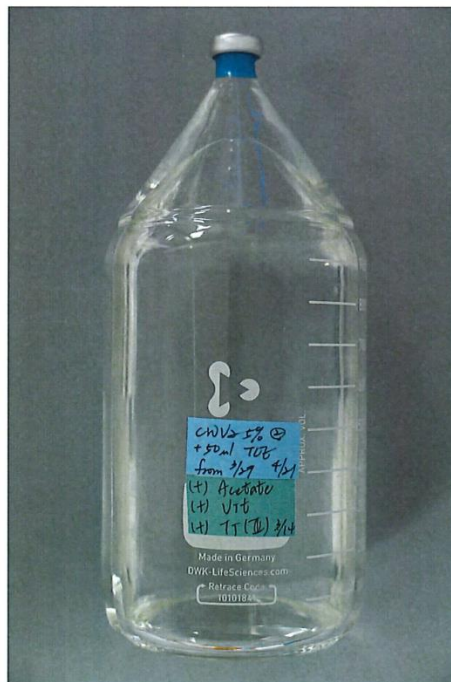
有效日期：-

保存期限：-

原產國：台灣

貨號：-

包裝規格：800mL



檢驗報告僅就委託者之委託事項提供檢驗結果，不對產品合法性做判斷。

台北市內湖區內湖路一段120巷15弄28號 No.28, Aly.15, Ln.120, Sec.1, Neihu Rd., Neihu Dist., Taipei City 114, Taiwan

Tel:02-8751-1232 Fax:02-8751-8685 E-mail:foodsafety@fsi.net.tw Website:www.fsi.net.tw