上傳時間：2025年12月16日下午 01:58

環境部環境管理署

113 年度土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案

以嗜甲烷菌和硫酸鹽還原菌群微生物燃料電池系統強化三氯乙烯污染地下水生物復育技術之研發

期末報告(定稿)

主　辦　單　位　：　環境部環境管理署

專 案 執 行 單 位　：　國立中正大學 地球與環境科學系

專　案　主　持　人　：　許昺慕 教授

專 案 執 行 期 間　：　113 年 11 月 1 日起至 114 年 11 月 30 日止

中　華　民　國 114 年 12 月 印製

專案基本資料表

專案性質	☑實驗性質 □非實驗性質		**專案類別(單選)**	☑研究型 □模場型
研究主題	□調查 ☑整治 □其他			
申請機構系所	國立中正大學 地球與環境科學系			
機構地址	621 嘉義縣民雄鄉大學路一段 168 號			
專案主持人	許昺慕		**職等／職稱**	特聘教授
協同主持人	陳榮盛		**職等／職稱**	副研究員(博士級)
協同主持人	黃士偉		**職等／職稱**	教授
協同主持人	簡華逸		**職等／職稱**	協理
專案名稱	**中文**	以嗜甲烷菌和硫酸鹽還原菌群微生物燃料電池系統強化三氯乙烯污染地下水生物復育技術之研發		
	英文	Leveraging Methane Oxidation Through Interactions Between Methanotrophs and Sulfate-Reducing Bacteria in MFC Systems for Enhanced Bioremediation of TCE-Contaminated Groundwater		
	關鍵字	Microbial Fuel Cell (MFC), Biostimulation, Mud Volcanoes, Microbiota, Trichloroethylene (TCE)		
執行期程	自民國 113 年 11 月 1 日起至民國 114 年 11 月 30 日止			
專案主持人	姓名：許昺慕	Email：bmhsu@eq.ccu.edu.tw		專線：052720411#66218 手機：0952840868
專任助理	姓名：林重延	E-mail：nmsaulin@gmail.com		專線：05-2720411#61233 手機：0929402267

經費分析總表

	專案預估經費	**第一年金額**	**第二年金額**	**編列說明**
1.	**人事費用**	**408,805**		(1~5 項相加之 50%為限)
2.	**貴重儀器使用含維護費**	**0**		(與計畫實驗相關)
3.	**消耗性器材與主要費用**	**352,625**		(與計畫主體相關)
4.	**其它研究相關費用**	**0**		(含差旅與租賃費用)
5.	**行政管理費**	**67,375**		(1~5 項相加之 15%為限)
6.	**自籌款**	**0**		(自行籌備款項)
申請補助金額(1~5 項)		**828,805**		**總金額：828,805**
計畫總金額(1~6 項)		**828,805**		**總金額：828,805**

專案主持人(簽名或蓋章)：_____ **日期：114/12/15**

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

113 年度專案成果績效自評表

一、 專案基本資料

填表日期：114 年 12 月 15 日

專案性質	☑實驗性質 □非實驗性質	專案類別	☑研究型 □模場型
研究主題	☑整治 □調查 □其他		
申請機構系所	國立中正大學地球與環境科學系	專案主持人	許罡慕
專案名稱	以嗜甲烷菌和硫酸鹽還原菌群微生物燃料電池系統強化三氯乙烯污染地下水生物復育技術之研發		
專案執行期程	□申請階段 □期中 ☑期末		

二、成果績效自評

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

(一)學術面

項目 \ 目標達成程度			申請預估數	期中達成數	成果達成數	結案後半年達成率	備註 (說明未達成原因或學術產出發表名稱)
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	1	1		發表於2024地質年會
	2.國外投稿(篇數)	(1)期刊論文	1	0	1		論文已發表於 Journal of Environmental Chemical Engineering
		(2)國際研討會論文發表	0	0	0		
	3.報告(篇數)	(1)技術報告	0	0	0		
		(2)研究報告	1	0	1		
	4.專著 (本數)		0	0	0		
	5.辦理學術會議(場數)	(1)研討/說明會	0	0	0		
		(2)成果發表會	0	0	0		
		(3)論壇	0	0	0		
	6.研發改良技術(項數)	(1)已開發技術	1	0	0		
		(2)技術平台	0	0	0		
	7.技術獎項(項數)		0	0	0		
B	8.研發人員	(1)碩士	2	2	2		

項目 \ 目標達成程度			申請預估數	期中達成數	成果達成數	結案後半年達成率	備註 (說明未達成原因或學術產出發表名稱)
人才培育	(人數)	(2)博士	1	1	1		
	9.研究團隊(個數)	(1)跨領域團隊	0	0	0		
		(2)跨機構團隊	1	0	1		
		(3)形成研究中心	0	0	0		
		(4)形成實驗室	0	0	0		
10.其他指標(請自行命名)		(請自填)					

(二)產業面

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

(三)政策面

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

三、請依前述學術面、產業面、政策面等預期量化成果，具體敘明研究成果對本署政策推動之助益。(200 字為限)

學術面(如國內外研討會、期刊投稿件數、或人才培育碩博士生說明)

1.投稿國際期刊 1 篇、參與研討會發表論文 1 篇。
2.培育 2 名碩士生、1 名博士生。
3.形成一個跨機構研究團隊。

產業面(如合作研發產業、申請專利、洽談技術移轉廠商件數說明)

1.協助產業加速整治與整治方法開發。
2.洽談產業合作開發複合式電動力生物整治技術。

政策面(如整治費用降低、特定污染物整治效益提升、或提供政府作為監測/管制標準、污場址管理等政策及法規研訂之參考)

1.務實改善含氯汙染物降解速率，降低長期營運成本並有效提升處理率。
2.增進混合式整治方法開發，對汙染物降解及現地整治有正面的助益。

二、計畫摘要

(一) 中文部分：

三氯乙烯（Trichloroethylene, TCE）為一種源自工業及商業活動的持久性地下水污染物，對環境與人類健康皆構成嚴重威脅。利用厭氧環境下的微生物群集進行生物修復，能透過還原脫氯作用有效降解 TCE，具有成本低廉且環境友善的優勢。然而，甲烷生成作用（methanogenesis）常與脫氯菌競爭氫氣這一關鍵電子供體，進而限制脫氯過程之效率。本研究構建了管狀微生物燃料電池（Tubular Microbial Fuel Cells, TMFCs），藉由評估結合泥火山微生物群集、生物炭（biochar）、以及硫化修飾奈米零價鐵（sulfide-modified nano–zero-valent iron, S-nZVI）等不同組合之抑制電子競爭途徑、強化氫循環、並加速 TCE 之脫氯反應。在實驗室規模試驗中，MB 組(火山泥+生物炭)展現最高且穩定的電壓輸出（0.30–0.45 V），同時達到最快速的 TCE 去除效果，僅產生短暫且低濃度的 cis-DCE 與 VC 中間產物。MBZ 組(火山泥+生物炭+零價鐵)維持次高電壓（0.25–0.35 V），並於第 45 天時幾乎完全去除 TCE，其中間產物雖出現延遲，但隨後明顯下降。微生物群落與功能基因分析顯示，MB 系統中富集了平衡的 I 型與 II 型甲烷氧化菌群，以 *Methylomonas methanica* 與 *Methylocystis parvus* 為主，同時伴隨具導電活性的 *Geobacter psychrophilus* 與硫呼吸菌 *Desulfuromonas acetexigens*。在功能基因層面，MB 系統於陽極區域顯示出 mmoX、hydA 與 dsrA 基因拷貝數較高，且於第 15 日至第 45 日期間在陰極富集大量還原脫鹵酶相關基因 vcrA、bvcA 與 rdhA。相對地，甲烷生成指標基因 mcrA 在 MB 與 MBZ 中均顯著抑制，與其脫氯效能之提升趨勢相符。於現地規模階段，MBZI 系統(火山泥+生物炭+零價鐵)較 MBI 系統(火山泥+生物炭)展現更持久之還原環境，其陰極氧化還原電位（ORP）可維持於−254 mV，電壓穩定於 0.30–0.40 V 之間。TCE 與 cis-DCE 於第 3 至第 4 月（M3–M4）即降至接近或低於檢出極限，而 VC 則於第 5 月（M5）完全消失。MBZI 系統之陽極 hydA 基因濃度可達 10^6 copies mL^{-1} 等級，陰極 vcrA 與 bvcA 則分別富集至 1.34×10^9 與 2.52×10^8 copies mL^{-1}，同時 mcrA 基因呈下降趨勢。綜合實驗室與現地規模之結果可知，藉由導入泥火山來源之微生物群集並結合協同修飾物的 TMFC 系統，能有效抑制電子競爭微生物、強化氫相關代謝途徑，並達成完整且具現場應用潛力之 TCE 還原脫氯。

關鍵字：微生物燃料電池(MFC)、生物刺激、泥火山、微生物群、三氯乙烯(TCE)

(二)英文部分：

Trichloroethylene (TCE) is a persistent groundwater contaminant resulting from industrial and commercial activities, posing significant environmental and health hazards. Anaerobic bioremediation using microbial consortia offers a cost-effective and eco-friendly approach to degrade TCE through reductive dechlorination. However, methanogenesis often competes for hydrogen, a key electron donor for dechlorinating bacteria, limiting the effectiveness of this process. We configured tubular microbial fuel cells (TMFCs) with mud-volcano consortia, biochar, and sulfide-modified nano–zero-valent iron in different combinations to suppress electron-competing pathways, enhance hydrogen cycling, and accelerate dechlorination. At the lab scale, MB sustained the highest voltage production (0.30–0.45 V) and achieved the fastest TCE removal with only transient and low cis-DCE and VC. MBZ sustained the second highest voltage (0.25–0.35 V) and reached near-complete TCE removal by Day 45 with a delayed but declining pool of intermediates. Microbial and functional profiling revealed that MB enriched a balanced Type I/II methanotrophic guild dominated by Methylomonas methanica and Methylocystis parvus, together with electroactive Geobacter psychrophilus and the sulfur-respiring Desulfuromonas acetexigens. MB also showed higher copy numbers of mmoX, hydA, and dsrA, at anode and strong enrichment of reductive dehalogenase genes vcrA, bvcA, and rdhA at cathode from Day 15 to Day 45. The methanogenesis marker mcrA was suppressed in MB and MBZ consistent with inferior dechlorination under these amendments. At the pilot scale, MBZI established more persistent reducing conditions than MBI, sustaining cathode ORP to −254 mV and a stable voltage near 0.30–0.40 V. TCE and cis-DCE declined to near or below detection by M3–M4, and VC reached non-detect by M5. MBZI maintained higher anode hydA on the order of 10^6 copies mL^{-1} and showed strong cathode enrichment of vcrA up to 1.34 × 10^9 copies mL^{-1} and bvcA up to 2.52 × 10^8 copies mL^{-1}, while mcrA decreased. Together, the lab- and field-scale results show that TMFCs leveraging mud-volcano microbiota and complementary amendments suppress electron competitors, reinforce hydrogen-linked metabolisms, and achieve complete and field-relevant TCE dechlorination.

Keyword：Microbial Fuel Cell (MFC), Biostimulation, Mud Volcanoes, Microbiota, Trichloroethylene (TCE)

三、計畫目的

氯乙烯類化合物（chlorinated ethenes）造成的地下水污染，持續為全球重要的環境議題。其中，三氯乙烯（Trichloroethylene, TCE）因其高穩定性與廣泛使用，被視為工業與有害廢棄物場址中最常見且最持久的污染物之一。根據國際癌症研究機構（IARC, 2014）的分類，TCE 被歸為第一類人類致癌物，與神經毒性、肝毒性及發育毒性等健康風險密切相關（Rusyn et al., 2014）。在美國，環境保護署（USEPA, 2023）指出超過六成的「超級基金（Superfund）」場址存在 TCE 污染，長期整治所需經費每年高達數十億美元。類似的問題亦在東亞與東南亞地區逐漸浮現。快速的工業化進程與氯原子取代溶劑管理不當，使地下環境廣泛受到污染。在臺灣，TCE 及相關氯乙烯類污染物常被偵測於電子產業聚集區、石化工業區及金屬清洗廠周邊之地下水與土壤中，特別集中於桃園、臺南及高雄地區，反映出長期以來工業溶劑使用與處理不當的歷史遺留問題（EPA Taiwan, 2021）。根據長期監測資料顯示，氯原子取代溶劑已成為臺灣地下水中最普遍的污染物之一，其濃度時常超過國家標準（0.05 mg/L），對飲用水安全及含水層完整性構成重大威脅。TCE 之持久污染特性主要源於其物理化學性質，包括高密度、低黏度與低水溶性，這些特徵使其能穿透 vadose zone 並在地下形成高密度非水相液體（DNAPLs）之聚積層。這些聚積層長期作為污染源，持續釋放溶解態 TCE 至地下水中，導致整治作業困難，顯示亟需發展永續且以生物為導向的修復策略（Pankow & Cherry, 2023）。

傳統上，各種化學與物理技術被用於修復此類污染場址，但多數方法能耗高、成本昂貴、耗時且缺乏全面性，限制了其實際應用（Kumar et al., 2018）。此外，部分物理化學技術甚至對當地生態系與環境造成二次衝擊（Pant & Pant, 2010）。因此，生物修復技術逐漸受到關注，其具備成本效益高、環境友善及對揮發性有機污染物具高降解效率等優勢，相較於傳統物理化學方法更具應用潛力（Dolinová et al., 2017; Hermon et al., 2019; Kaown et al., 2021; Kumar et al., 2020; Kurisu & Yagi, 2010; Lhotský et al., 2017; Patil et al., 2014）。在眾多生物修復技術中，生物還原脫氯（biological reductive dechlorination）是目前少數能夠將 TCE 完全去毒化（detoxify）的有效途徑之一。此過程主要由 Dehalococcoides mccartyi 主導，該菌為目前唯一已知能將 TCE 逐步還原至乙烯（ethene）的微生物。其反應經由 tceA、vcrA 與 bvcA 基因編碼之還原脫鹵酶（reductive dehalogenases）催化完成，每一步脫氯反應均以氫取代一個氯原子，並消耗兩個還原當量。整體而言，一莫耳 TCE 完全轉化為乙烯需消耗六個電子，等同於三個氫氣分子（Löffler et al., 2013; He et al., 2020）。因此，高效脫氯依賴穩定的氫氣供應及精確的電子傳遞機制，以供有機鹵呼吸菌（organohalide-respiring bacteria, OHRB）進行還原反應（Hussain et al., 2025）。然而，在自然或工程系統中，電子流動往往不易維持，因為氫氣同時被其他微生物群利用，如氫營養型產甲烷菌（hydrogenotrophic methanogens）與硫酸鹽還原菌（sulfate-reducing bacteria, SRB）。這些競爭者在極低的氫濃度下即可生長（約 1–2 nM），而 Dehalococcoides 所需氫濃度則約為 0.2–0.5 μM，顯示產甲烷菌與 SRB 在熱力學上具明顯優勢（Yang & McCarty, 1998; Amos et al., 2008）。

後續的實驗與現地研究證實，在受污染含水層中，產甲烷菌可消耗高達 70–80%的可利用氫（Amos et al., 2008），且其相對豐度與脫氯效率呈負相關（Lee et al., 2018）。此

現象導致大量還原能力轉向甲烷生成與硫酸鹽還原途徑，造成脫氯不完全，並生成毒性與遷移性更高的中間產物，如順式二氯乙烯（cis-DCE）與氯乙烯（VC）（Adamson et al., 2015; Sleep et al., 2020; ATSDR, 2023）。因此，地下原位生物修復的成效不僅取決於脫氯菌的存在，也受微生物競爭、氫分佈及氧化還原條件之平衡所支配。

現行減緩微生物競爭之策略僅取得有限成功，主要因厭氧菌群的生態複雜性與適應性強。以 2-溴乙烷磺酸（2-bromoethanesulfonate, BES）作為化學抑制劑以抑制產甲烷作用，最初被視為可行手段，可將氫氣流導向脫氯反應。然而，多項長期培養與田野研究指出，BES 的抑制效應僅為暫時性，因微生物適應與合成代謝補償作用會使產甲烷活性於數週內恢復（Aulenta et al., 2008; Lu et al., 2015）。此外，BES 缺乏選擇性，可能破壞有利於 OHRB 與 SRB 之氫傳遞交互作用，導致群落穩定性下降。另一類策略為選擇性供給電子供體以促進 OHRB 活性，例如使用緩釋型碳源（如乳化植物油、多乳酸或釋氫化合物），可調控電子供體釋放速率。然而，這些方法仍難以克服產甲烷菌在低氫濃度下的熱力學優勢（約 1–2 nM），使其在電子受限條件下仍佔主導地位（Yang & McCarty, 1998; Amos et al., 2008; He et al., 2019）。綜合而言，現有化學干預措施缺乏精確性，無法在不破壞共生代謝過程的前提下有效調節微生物競爭，顯示亟需發展具生物選擇性的策略，以在群落層級重塑競爭關係，同時維持有利於持續完全脫氯的代謝平衡。

為克服此限制，促進氫氣產生並抑制產甲烷菌消耗氫氣的條件至關重要。近年，一項具潛力的策略是利用厭氧甲烷氧化古菌（Anaerobic Methane-Oxidizing Archaea, ANME）與硫酸鹽還原菌（SRB）之交互作用。厭氧甲烷氧化（Anaerobic Oxidation of Methane, AOM）為一種藉由 ANME 與 SRB 共同作用而將甲烷氧化與硫酸鹽還原偶聯的代謝過程，此類微生物聯合體能在無氧環境下進行甲烷氧化（Bhattarai et al., 2019），並增加供應於脫氯反應的氫氣量。目前已知三大類 ANME 分支（ANME-1、ANME-2 與 ANME-3）可在不同環境中執行 AOM。ANME-1 多存在於沉積物中，可單獨或與 SRB 聚集；ANME-2 屬於 Methanosarcinales 目，常與 Desulfosarcina-Desulfococcus 支系（DSS）的 SRB 形成穩定聯合體；而 ANME-3 則與 Methanococcoides 及 Methanolobus 相關，並與 Desulfobulbus 支系（DBB）的 SRB 共存（Lösekann et al., 2007; Stokke et al., 2012）。近年的研究指出，ANME-2d 屬下的 Methanoperedens 在富有機碳、低硫酸鹽的地下水環境中特別豐富，能以鐵與錳作為替代電子受體進行甲烷氧化（Ruff et al., 2023）。

除 ANME 外，部分需氧甲烷氧化菌（aerobic methanotrophs）如 Methylobacter 與 Methylotenera 亦在富氧或微缺氧地下水區中大量存在。值得注意的是，部分地下水微生物可藉由硝酸鹽或一氧化氮歧化反應在缺氧環境中產生所謂「暗氧」（dark oxygen），進而支持需氧代謝途徑（Ruff et al., 2023）。例如，Pseudomonas 與 Nitrosopumilus 能於胞內產生氧氣，可能促進其他需氧微生物之生長，形塑地下水系統中兼具需氧與厭氧代謝的微生態結構。這些現象揭示了 ANME–SRB 與需氧甲烷氧化菌–SRB 聯合體於地下水生態系中的關鍵角色，不僅參與甲烷氧化，也主導多重生地化循環。先前研究亦證實，於處理中添加火山泥時，TCE 脫氯速率顯著高於對照組，伴隨硫酸鹽還原菌與甲烷氧化菌豐度增加，並觀察到與氫氣產生相關基因濃度上升（Hussain et al., 2025）。此結果顯示，甲烷氧化菌與 SRB 之合營關係（syntrophic association）對氫氣生成與 TCE 脫氯均

具有關鍵性貢獻。然而，迄今尚無 ANME 或其硫酸鹽還原共生菌能以純培養方式成功分離，因此其在有機污染物脫氯過程中的代謝功能仍未明確。本研究旨在探討一項創新生物增強策略（bioaugmentation strategy），藉由富集火山泥形成微生物聯合體，以抑制產甲烷作用並提升供應於還原脫氯的氫氣可用性。研究同時評估不同修飾添加物—火山泥、生物炭與奈米零價鐵（nZVI）—在實驗室與現地規模之管狀微生物燃料電池（Tubular Microbial Fuel Cell, TMFC）系統中的應用效能。

四、研究方法及步驟

4.1 微生物燃料電池（MFC）反應器設計、接種與操作

本研究之管狀微生物燃料電池（Tubular Microbial Fuel Cell, TMFC）反應器設計，係依據現地地下水井安裝概念建構而成（如圖 1 與圖 2 所示）。該 TMFC 系統採雙室結構設計，包含一個 500 mL 聚氯乙烯（PVC）製陽極室，以及一個 1000 mL 塑膠–玻璃複合陰極室，兩室之間以 Nafion 離子交換膜（型號 CMI-7000）隔離。

陽極電極採用鈦芯碳纖維刷（titanium-core carbon fiber brush），而陰極則以碳布包覆陽極並直接浸入含有地下水的陰極室中。陽極與陰極以銅線連接，並使用數位萬用電表（UNI-T UT33A，中國）進行電壓監測。在系統運轉前，電極表面依不同修飾材料進行處理：

- 竹炭生物炭（bamboo biochar）以 10%聚偏二氟乙烯（PVDF）溶液依表面改質程序（Wang et al., 2018）均勻塗覆於電極表面；
- 生物炭–硫化奈米零價鐵（S-nZVI）複合電極則以 80:20 之生物炭與 PVDF 混漿塗布，隨後以蒸餾水浸泡、於 80°C 烘乾，再依序以 1%鹽酸與 1%氫氧化鈉溶液處理以去除雜質。

此反應器的核心設計理念為：陽極室被特別設計為甲烷氧化菌活性區域，利用火山泥（Mud Volcano Sludge, MVS）作為接種源，促進甲烷氧化過程並持續釋放氫氣與電子。上述氫氣與電子隨後被導向陰極室，於陰極中推動三氯乙烯（TCE）之水文地球化學還原脫氯作用（Hydrogeochemical Reductive Dechlorination, HRD）。此設計有效建立了陽極甲烷氧化與陰極脫氯反應之間的直接耦合關係，形成協同驅動之微生物電化學修復系統。

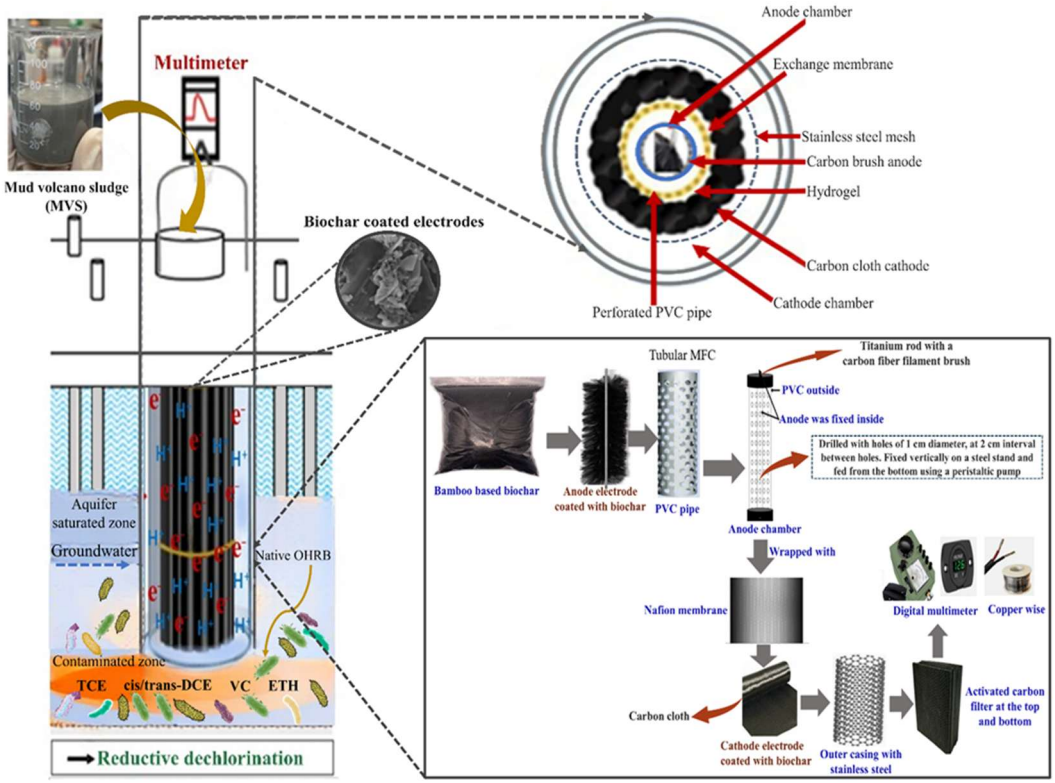


圖 1.　本研究所使用之管狀微生物燃料電池（Tubular Microbial Fuel Cell, TMFC）反應器示意圖(此模型應用於實驗室規模之研究，同時依相同設計安裝於現地地下水井中，以進行針對三氯乙烯（TCE）降解之實驗。其構造與建置步驟詳述於說明中。)

本研究之實驗設置包含四組實驗室規模（lab-scale）修飾組別與兩組現地規模（field-scale）組別，各組配置皆具特定研究目的（如表 1 所示）。MB 組結合火山泥（Mud Volcano Sludge, MVS）與生物炭（biochar），以提供甲烷氧化菌形成生物膜之棲地，藉此增強甲烷氧化作用，並促進隨後的氫氣（H_2）釋放以支持微生物還原脫氯作用。MBZ 組在 MB 組成基礎上添加奈米零價鐵（nZVI），以結合甲烷氧化產生的生物性氫氣與 nZVI 釋放的化學性氫氣，形成協同效應，從而加速 TCE 脫氯反應。MZ 組則結合 MVS 與 nZVI，用以評估在缺乏生物炭生物膜棲地條件下，甲烷氧化與 nZVI 作用對脫氯效率之影響。BZ 組僅含生物炭與 nZVI，作為非生物對照組（abiotic control），以釐清非生物性氫氣來源及生物炭效應，與甲烷氧化所驅動的生物性氫氣產生進行區隔比較。最後，MBI 現地組採用 MVS 與生物炭，以驗證甲烷氧化途徑於長期現地操作中，能否維持穩定且具永續性的氫氣產生與脫氯效能。

表 1.　以不同修飾組合設計之實驗室與現地規模生物修復試驗

系統規模	添加組成	操作期間與採樣頻率	主要研究目的
實驗室規模 (Ex-situ)	火山泥 + 生物炭（MB）	45 天操作期間（每 15 天採樣一次）	目的在提供甲烷氧化菌形成生物膜的棲地，以促進甲烷氧化過程及其後續的氫氣釋放，進而支持微生物介導的還原脫氯反應。
	火山泥 + 生物炭 + 零價鐵（MBZ）		目的在於整合由生物炭促進之甲烷氧化產氫與零價鐵（nZVI）化學產氫的雙重機制，以達到加速脫氯反應的協同效果。
	火山泥 + 零價鐵（MZ）		用以評估在缺乏生物炭之生物棲地的條件下，甲烷氧化與零價鐵產氫對脫氯效率的貢獻與影響。
	生物炭 + 零價鐵（BZ）		作為對照組，以區辨零價鐵（nZVI）提供之非生物性氫氣來源與生物炭效應，並排除甲烷氧化過程中生物產氫的影響。
現地規模 (In-situ)	火山泥 + 生物炭（MBI）	6 個月監測期（每月採樣一次）	驗證甲烷氧化途徑在長期原位操作條件下的穩定性與效能，以評估其於現地永續氫氣生成與脫氯之可行性。
	火山泥 + 生物炭 + 零價鐵（MBZI）		目的在於現地條件下驗證零價鐵快速化學脫氯與甲烷氧化生物產氫之聯合增效作用，以評估其整合應用的實際可行性與效率。

在實驗室規模操作中，TMFC 系統之陰極室接種 1,000 mL 受 TCE 污染之地下水與 20 mL 取自景大場址的污泥；陽極室則加入 500 mL 混合液（包含 80 公克火山泥〔Mud Volcano Sludge, MVS〕與 20 mL 地下水，比例為 8:2），並添加乙酸鹽（acetate）作為電

子供體，其濃度分別為 50 g/L 與 1 g/L 兩種條件。在現地規模應用中，陽極室以 800 mL 火山泥與 200 mL 受 TCE 污染地下水之 8:2 比例進行接種；陰極電極則直接設置於地下水界面，使兩口監測井實際作為陰極反應室使用。在此現地陽極中，MVS 作為主要微生物富集培養基，並同樣補充乙酸鹽濃度 1 g/L 以促進代謝活性。所有反應室（無論實驗室或現地系統）均添加 50 mmol/L 磷酸緩衝鹽溶液（PBS），同時補充 Wolfe 維生素溶液與 Wolfe 微量元素溶液，添加比例各為 12.5 mL/L，以促進生物膜（biofilm）之形成與穩定性。由於原始地下水中 TCE 濃度偏低，實驗室陰極室額外補加 TCE 至 5 mg/L 以模擬污染環境。陽極電極置於 PVC 管中央，確保其完全浸入含 MVS 的培養基質中。所有反應器啟動前均以 99%純氮氣（N_2）連續通氣 30 分鐘以建立厭氧環境，並以 1 mol/L HCl 或 1 mol/L NaOH 調整 pH 值至 7.2 ± 0.2。所有組別皆先經 24 小時馴化期（acclimatization phase），在無 TCE 條件下進行微生物群落適應。馴化後，現地規模 TMFC 反應器即插入地下水井中運行。實驗室規模系統則於室溫條件下連續運轉 45 天，外接電阻為 1,000 Ω，每 15 天採樣一次以監測 TCE 降解進程與微生物群落變化。現地系統則監測期為 6 個月，每月採樣一次，以評估長期穩定性與修復效能。



圖 2.　本研究之及現地規模設置與部署方式

4.2　TMFC 系統之理化特性與脫氯動態

每次採樣時，測定各 TMFC 組別之水質參數，包括 pH 值、氧化還原電位（ORP）、電導度（EC）、總溶解固體量（TDS）及溫度，使用多功能水質分析儀（NOYAFA HK

Technology Co., Limited）進行量測。電極間之電位差（V）以數位萬用電表（UNI-T UT33A，中國）每日監測。為分析 TCE 及其脫氯產物，於每次採樣時自陰極室以注射器取樣 40 mL 水樣，置入 40 mL 棕色頂空瓶（headspace vial）並密封保存。樣品中之 TCE、cis-DCE、trans-DCE、1,1-DCE、氯乙烯（VC）及乙烯（ETH）濃度，依據標準方法 NIEA W785.57B 以氣相層析質譜儀（Gas Chromatography–Mass Spectrometry, GC-MS）進行分析。所有組別之測定皆以三重平行樣（triplicate）進行，以確保數據再現性。

4.3 利用 PacBio 全長 16S rRNA 定序解析細菌群落動態

實驗室與現地各組之陽極樣品，均進行 16S rRNA 高通量定序分析，以探討 TMFC 系統中細菌群落結構與演替。各組陽極樣品之 DNA 以 NucleoSpin® Soil DNA Extraction Kit（Macherey-Nagel GmbH & Co., Düren, Germany）依製造商操作手冊提取。提取後之基因體 DNA（gDNA）品質與濃度以 NanoDrop® 分光光度計（Thermo Fisher Scientific）評估。細菌群落組成分析採用 PacBio 平台進行全長 16S rRNA 基因定序。目標基因區域經 PCR 擴增後進行定序，其中超可變區域 V1–V9 以引子組 27F（5′-AGRGTTYGATYMTGGCTCAG-3′）與 1492R（5′-RGYTACCTTGTTACGACTT-3′）進行擴增（Asif et al., 2025）。PCR 反應使用 GeneAmp 9700（ABI, USA）熱循環儀進行，條件如下：初始變性 95°C 3 分鐘；隨後進行 27 循環，包括變性 95°C 30 秒、退火 55°C 30 秒、延伸 72°C 45 秒；最終延伸於 72°C 進行 10 分鐘。每樣品取 20 µL 擴增產物，以 PacBio 平台（Genomics BioSci & Tech Co., 新北市）進行單端定序。定序後生成之環形共識序列（Circular Consensus Sequences, CCS）經 QIIME2 軟體套件中 DADA2 插件處理進行剪修，去除嵌合序列並合併高品質讀序，以獲得有效序列。所得高品質序列依 99% 相似度閾值聚類為擴增子序列變異體（Amplicon Sequence Variants, ASVs），並以 NCBI 參考資料庫進行分類鑑定。後續以 QIIME2（https://view.qiime2.org/）分析陽極與陰極之微生物多樣性與群落結構（Huang et al., 2024）。細菌分類結果進一步以“qiime taxa collapse”指令降維至物種層級（Level 1–7），以鑑定各組中主要功能菌群，如甲烷氧化菌（methanotrophs）、硫酸鹽還原菌（SRB）、導電菌（electrophiles）等關鍵功能群落。

4.4 以定量 PCR（qPCR）分析關鍵功能基因

為解析驅動 TMFC 系統效能之主要代謝途徑，本研究採用定量聚合酶鏈鎖反應（Quantitative PCR, qPCR）進行功能基因定量。所有 qPCR 反應於 AB Applied Biosystems StepOne Real-Time PCR System 中進行，最終反應體積為 20 µL。每組反應混合液包含：10 µL SYBR® Green Master Mix（Life Technologies）、各 1 µL 正反向引子、6 µL 無核酸酶水、及 2 µL DNA 模板。各目標基因所使用之特異性引子組詳列於表 2。在陽極區中，定量分析涉及電子供體代謝與競爭性微生物代謝相關基因，包括：

- 甲烷生成作用基因（*mcrA*）、
- 甲烷氧化作用基因（*pmoA*, *mmoX*）、
- 硫酸鹽還原基因（*dsrA*）、
- 氫代謝基因（*hydA*）、

- 以及直接電子傳遞相關基因（*omcX*）。

同時，陰極區則針對與 TCE 還原脫氯反應相關之還原脫鹵酶基因進行定量，包括 *tceA*, *vcrA*, *bvcA* 與 *rdhA*，其代謝活動仰賴陽極釋放之氫氣與電子透過可滲透膜向陰極擴散而得。此整合性基因定量分析，旨在直接連結陽極代謝過程與陰極污染物降解效率之間的功能關聯，藉此揭示不同修飾組別中關鍵微生物群落對整體 TCE 還原脫氯效能的驅動角色。

表 2. 用於功能基因分析之定量 PCR (qPCR) 引子資訊與操作參數

Target gene	Primer names	Amplicon size (bp)	Primer sequences (5′→3′)	Reaction mix (final 25 µL)	Cycling conditions	Reference
tceA	tceA-F / tceA-R	123	F: ATTAGGGCATCTTCCTTCCAG R: TACCGTTACCCTGCTGGATG	DNA template 100–300 ng Primer 400 nM each Master mix 5 µL	Initial 95 °C, 3 min; 40 cycles: 95 °C, 15 s; 57 °C, 20 s; 72 °C, 30 s.	Chen et al., 2019
rdhA	rdhA-F / rdhA-R	207	F: AATGACTGACGGTGAGGTGC R: CTAAAACCTTGGAAAATGCCC	DNA template 100–300 ng Primer 400 nM each Master mix 5 µL	Initial 95 °C, 3 min; 40 cycles: 95 °C, 15 s; 57 °C, 20 s; 72 °C, 30 s.	This study
OmcX	OmcX-F / OmcX-R	NA	F: NA R: GTCGCATAGTCTTGGGTAACG	DNA template 100–300 ng Primer 400 nM each Master mix 5 µL	Initial 95 °C, 3 min; 40 cycles: 95 °C, 15 s; 57 °C, 20 s; 72 °C, 30 s.	This study
vcrA	vcrA-F / vcrA-R	139	F: CCCTCCAGATGCTCCCTTTA R: ATCCCCTCTCCCGTGTAACC	DNA template 100–300 ng Primer 400 nM each Master mix 5 µL	Initial 95 °C, 3 min; 40 cycles: 95 °C, 10 s; 61 °C, 45 s; 80 °C, 30 s.	Hermon et al., 2019
bvcA	bvcA-F / bvcA-R	247	F: TGGGGACCTGTACCTGAAAA R: CAAGACGCATTGTGGACATC	DNA template 100–300 ng Primer 400 nM each Master mix 5 µL	Initial 95 °C, 3 min; 40 cycles: 95 °C, 10 s; 61 °C, 45 s; 80 °C, 30 s.	This study
hydA	hydA-F / hydA-R	174	F: GCTGATATGACAATTATGGAAGAAG R: TCCAAATATTTGTTGTGGTGATTT	DNA template 100–300 ng Primer 400 nM each Master mix 5 µL	Initial 95 °C, 7 min; 40 cycles: 95 °C, 15 s; 52 °C, 10 s; 72 °C, 15 s.	Tolvanen et al., 2010

上傳時間：2025年12月16日下午 01:58

mmoX	mmoX-F / mmoX-R	363	F: CGCTGTGGAAGGGCATGAAG CG R: GCTCGACCTTGAACTTGGAG CC	DNA template 100–300 ng Primer 400 nM each Master mix 5 µL	Initial 95 °C, 10 min; 40 cycles: 95 °C, 1 min; 55–60 °C, 1 min; 72 °C, 1 min.	Lyew & Guiot, 2003; Paszczynski et al., 2011
pmoA	pmoA-F / pmoA-R	472	F: GGNGACTGGGACTTCTGG R: CCGGMGCAACGTCYTTACC	DNA template 100–300 ng Primer 400 nM each Master mix 5 µL	Initial 95 °C, 10 min; 40 cycles: 95 °C, 1 min; 55–60 °C, 1 min; 72 °C, 1 min.	Lyew & Guiot, 2003; Paszczynski et al., 2011
mcrA	mcrA-F / mcrA-R	470	F: GGTGGTGTAGGATTCACACA GTATGCTACAGC R: TTCATTGCGTAGTTAGGGTAG TT	DNA template 100–300 ng Primer 400 nM each Master mix 5 µL	Initial 94 °C, 3 min; 36 cycles: 94 °C, 40 s; 55 °C, 1 min; 72 °C, 2 min; final 72 °C, 10 min.	This study
dsrA	dsrA-F / dsrA-R	222	F: ACCACTGGAAGCACG R: GTGGAGCCGTGCATGTT	DNA template 100–300 ng Primer 400 nM each Master mix 5 µL	Initial 50 °C, 2 min; 40 cycles with denaturation 95 °C, 15 min; annealing 95 °C, 15 s; extension 60 °C, 1 min; final 72 °C, 10 min.	Ben-Dov et al., 2007

五、結果與討論

5.1. 添加物組合對實驗室規模(Ex-situ) TMFC 系統特定適應性氧化還原模式的影響

Ex-situ TMFC 系統在整個反應期間的電化學表現隨不同添加物組合呈現明顯差異（圖 3）。其中，添加 MB 的 TMFC 維持了最高且穩定的電壓輸出，通常介於 0.30 至 0.45 V 之間，日間波動小，且在第 14–15 天及第 31 天的暫時下降後能迅速恢復。添加 MBZ 的 TMFC 能維持次高的穩定電壓輸出，一般介於 0.25 至 0.35 V，且在第 16 天的短暫波動後能快速回到穩定運行。相對而言，添加 MZ 的 TMFC 在整個期間的電壓低且不穩定，通常介於接近 0 至 0.20 V，而添加 BZ 的 TMFC 則在整個反應期間表現出最弱的電壓輸出。整體而言，這些結果顯示 MB 和 MBZ 能提供最穩定且強健的電化學條件，以支持 Ex-situ TCE 脫氯反應。

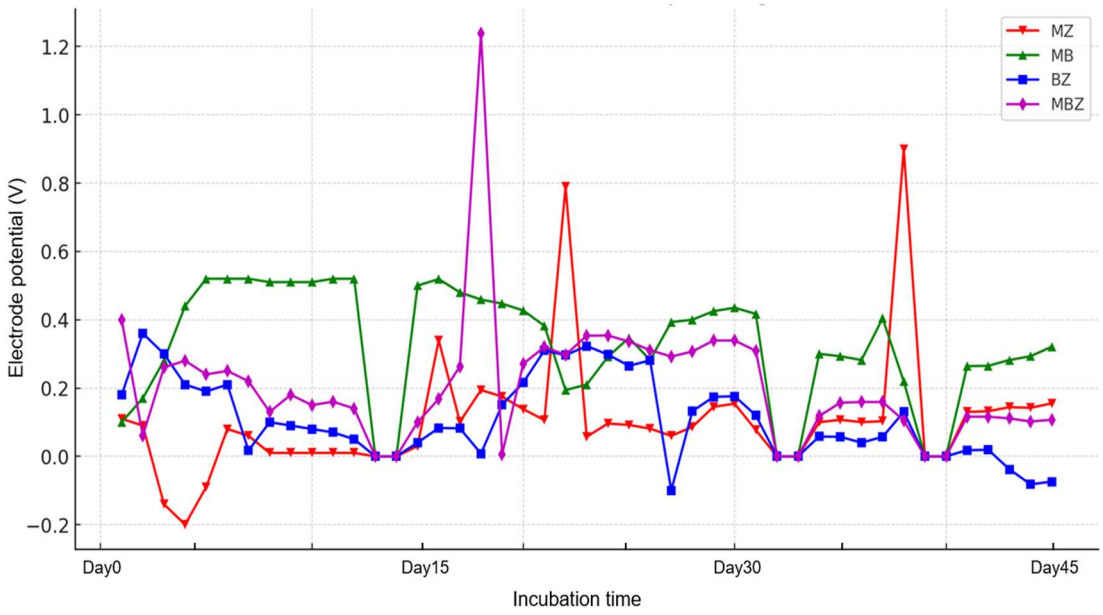


圖 3. 四種 Ex-situ 管狀微生物燃料電池(TMFCs)系統於 45 天反應期間的電壓時間動態

5.2. 添加物組合特異性對 Ex-situ TMFC 系統中 TCE 及其中間產物脫氯動態的影響

Ex-situ TMFC 系統中 TCE 及其中間產物的脫氯動態受到特定添加物組合的顯著影響，呈現出 45 天反應期間不同的降解途徑（圖 4）。MB 系統展現最有效的化學轉化，特徵為 TCE 去除速度最快且最完整。在整個反應期間，cis-DCE 和 VC 的濃度保持在低水平，顯示其迅速轉化，形成高效率的連續降解過程。MBZ 系統也呈現類似 MB 系統的脫氯動態，在 45 天內幾乎完全去除 TCE，但隨著反應時間增加，cis-DCE 和 VC 的累積量較高，並於第 45 天顯著下降。這表明其脫氯反應速率較 MB 系統慢，但最終仍能完全脫氯，中間產物的轉化在時間上略有延遲。相比之下，MZ 系統顯示出中度抑制的反應途徑，僅能部分去除 TCE，且在反應期間伴隨 cis-DCE 和 VC 的持續累積。進一步地，BZ 系統表現最差，特徵為 TCE 降解速率最慢，cis-DCE 和 VC 的累積最

為顯著且持續存在，顯示脫氯過程嚴重停滯。

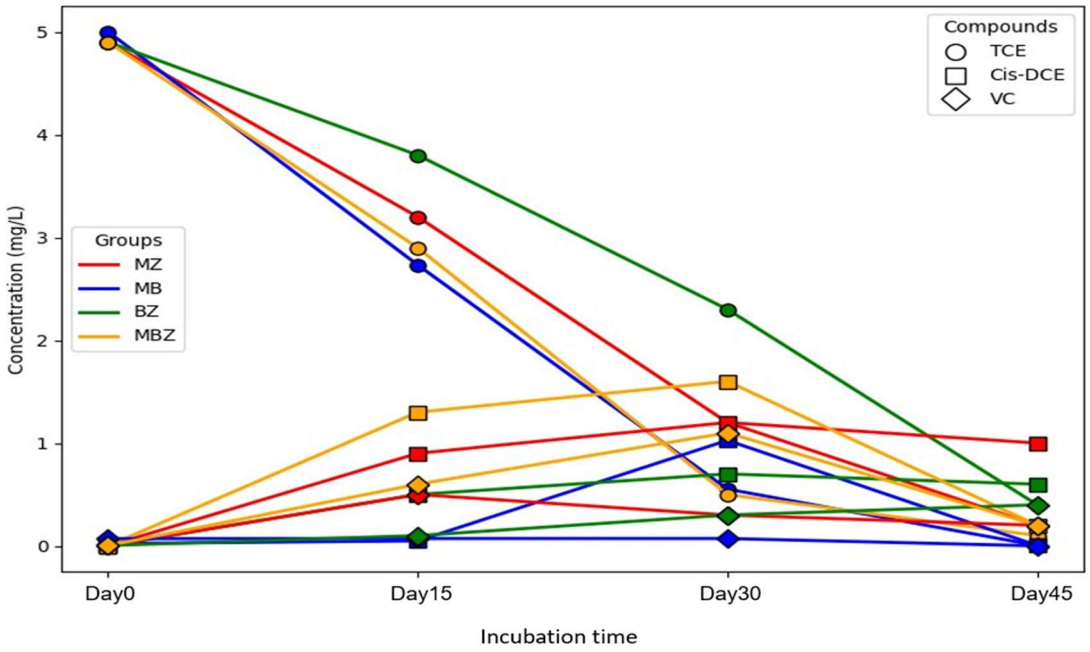


圖 4. 四種 Ex-situ TMFC 系統中 TCE 及其中間產物(cis-DCE 與 VC)於 45 天反應期間的脫氯時間動態

5.3. 添加物組合特異性對 Ex-situ TMFC 系統微生物群落結構變化的影響

Ex-situ TMFC 系統在 45 天反應期間呈現出明顯的添加物組合驅動微生物群落結構與穩定性變化（圖 5）。MB 系統展現最穩定且高度專化的微生物群落，其在第 0 天至第 45 天各時間點沿第一軸 (34.04%) 與第二軸 (19.91%) 的緊密聚類證明了具有彈性且功能上適應的微生物族群被成功選擇。MBZ 系統也類似 MB 系統，形成促進了穩定的群落結構，但其聚類緊密度略低於 MB，這也顯示其族群穩健但變化略微活躍。相比之下，MZ 系統呈現中度群落動態，隨時間呈現較分散的分布模式，表明群落持續演替且組成多樣化。BZ 系統則表現出最明顯的時間性變化，其在時序空間中呈現最高程度的群落分散，反映出微生物群落不穩定且適應性差，未能趨向穩定狀態。

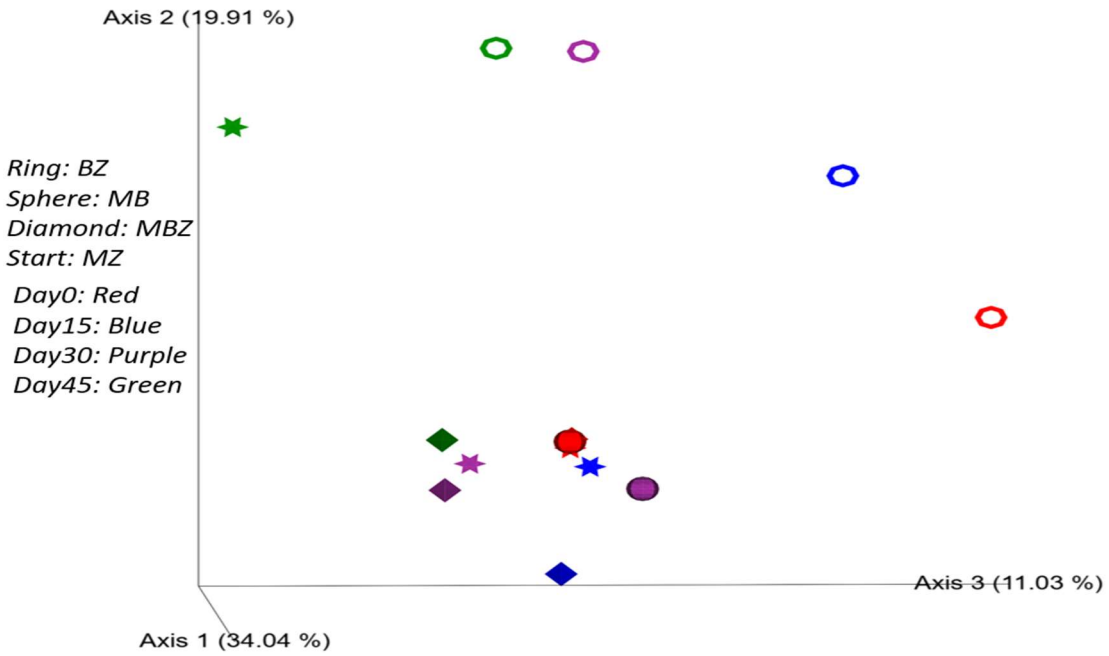


圖 5. 四種 Ex-situ TMFC 系統其微生物群落結構於 45 天反應期間之動態變化

5.4. 添加物組合特異性對 Ex-situ TMFC 系統關鍵功能微生物的富集影響

高通量定序之結果顯示在 45 天反應期間，不同添加物組合下關鍵功能微生物群落的時間動態與富集特性存在明顯差異（圖 6）。其中，嗜甲烷微生物群在 MB 系統中呈現出多樣且較高的豐度，其次為 MBZ 系統，而在 MZ 與 BZ 系統中僅少量存在。在 MB 系統中，嗜甲烷微生物豐度自第 15 天起穩定上升，在第 30 天達到高峰，並持續至第 45 天。此穩健的時間模式表明其具有持續且高效的甲烷氧化能力，主要特徵為 *Methylomonas methanica* 由 2.1% 增至 12.4%、*Methylosarcina lacus* 1.5% 增至 5.1%、*Methylobacter luteus* 0.8% 增至 3.2%、*Methylocystis parvus* 0.5% 增至 2.5%以及 *Methylococcus capsulatus* 0.3% 增至 1.8%的隨時序性富集。在 MBZ 系統中，群落自第 15 天起富集速度較慢，於第 30 天達中等高峰，顯示富集效率較低。該群落以 *Methylocystis parvus* (1.2% 增至 9.3%) 為主，其他物種的貢獻較少，顯示其功能能力範圍相較 MB 系統窄。

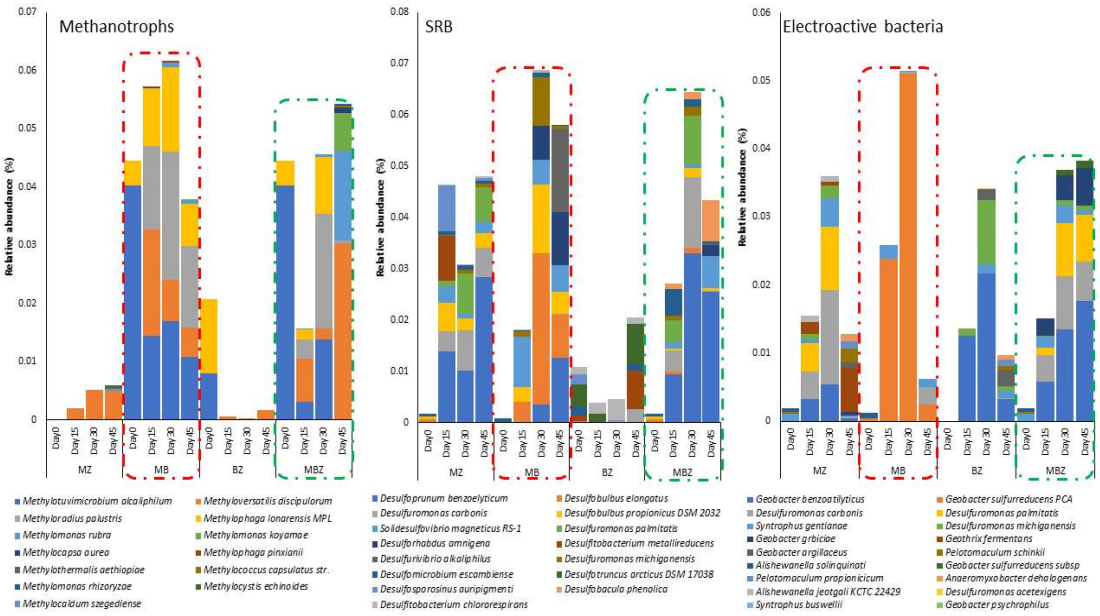


圖 6. 四種 Ex-situ TMFC 系統其關鍵功能微生物群落於 45 天反應期間的時序動態及相對豐度

硫酸鹽還原菌(SRB)在 MBZ 系統中最為豐富，其次為 MB 系統。在 MBZ 系統中，SRB 水平在前 15 天迅速上升並保持高位。該群落以 *Desulfovibrio vulgaris* (10.5%) 為主，其次為 *Desulfomicrobium norvegicum* (4.7%)、*Desulfobulbus propionicus* (3.8%)、*Desulfotomaculum ruminis* (2.1%) 和 *Desulfuromonas acetoxidans* (1.5%)。在 MB 系統中，SRB 的富集較為緩慢，以 *Desulfobulbus propionicus* (6.2%) 為主，其他依次為 *Desulfuromonas acetoxidans* (2.1%)、*Desulfovibrio vulgaris* (1.9%)、*Desulfotomaculum ruminis* (1.2%) 及 *Desulfomicrobium norvegicum* (0.9%)，顯示出不同的生態位。MZ 系統維持低水平 SRB (<2.5%)，主要為 *Desulfotomaculum ruminis* (1.1%)，而 BZ 系統僅出現微量 *Desulfovibrio vulgaris* (<0.5%)，顯示硫化作用過程嚴重受限。

電活性細菌在 MB 系統中達到最高且最穩定的豐度，MBZ 系統次之，顯示直接電子傳遞能力存在梯度。在 MB 系統中，該群落於第 15 天快速上升，以 *Geobacter sulfurreducens* (8.9%)、*Geobacter metallireducens* (3.5%)、*Shewanella oneidensis* (3.1%)、*Rhodoferax ferrireducens* (1.8%) 和 *Aeromonas hydrophila* (1.2%) 為主要組成。MBZ 系統初期增長類似，但群落波動較大，特徵物種為 *Geobacter metallireducens* (5.2%)、*Shewanella oneidensis* (2.1%)、*Geobacter sulfurreducens* (1.9%)、*Aeromonas hydrophila* (1.1%) 和 *Rhodoferax ferrireducens* (0.8%)。相比之下，MZ 和 BZ 系統中電活性細菌代表性低，MZ 系統僅有微量 *Aeromonas hydrophila* (<0.8%)，而 BZ 系統則呈現不穩定且低量的 *Shewanella oneidensis* (<0.4%)，顯示穩定且豐富的電活性群落建立是 TMFC 性能的關鍵決定因素。

5.5. 添加物組合特異性對 Ex-situ TMFC 系統核心代謝功能的動態影響

從基因組數據推測的微生物群落功能潛力顯示，在 45 天反應期間，不同添加物組合下核心代謝途徑呈現明顯的特異性動態（圖 7）。具體而言，MB 系統中甲烷氧化及甲基營養代謝途徑的總體豐度最高，從第 0 天至第 15 天顯著增加，並於第 45 天前保持高位，顯示甲烷代謝快速且穩定建立。同樣，呼吸代謝途徑如硫呼吸及硫化合物暗氧化在 MB 系統中亦最為豐富，自第 0 天起穩步上升，於第 30–45 天達高峰。相對而言，BZ 系統的甲烷生成及發酵途徑總體豐度最高，其中 CO2＋H2 的甲烷生成從第 0 天至第 45 天明顯增加，顯示系統趨向終端甲烷生成。MZ 系統呈現中等功能特徵，但發酵途徑穩定上升，表明依賴底物層次磷酸化。MBZ 系統的功能特徵對大多數途徑呈中等模式，反映其性能層級的次級位置，其中關鍵功能如硫氧化相比 MB 系統增長較為緩慢。

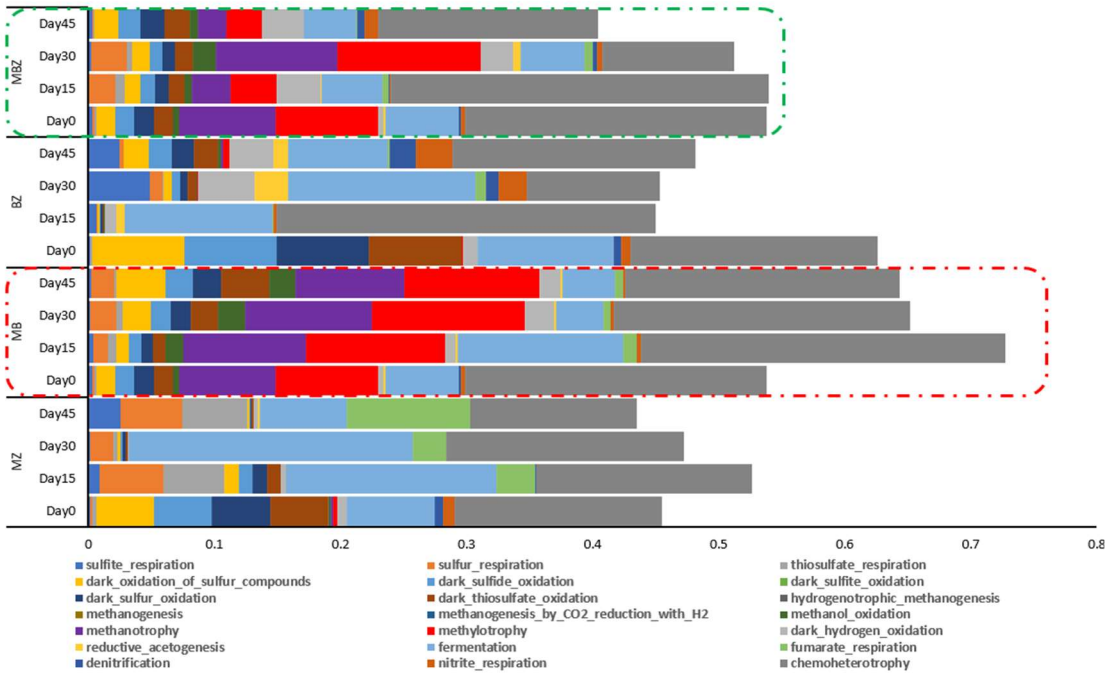


圖 7. 四種 Ex-situ TMFC 系統核心代謝功能相對豐度於 90 天反應期間的時間動態

5.6. 添加物組合特異性對 Ex-situ TMFC 系統關鍵菌群與代謝功能耦合的影響

相關分析揭示了關鍵微生物類群與核心代謝功能之間的添加物組合驅動特異性關聯，闡明了群落內的功能角色（圖 8）。核心電活性及硫循環屬，包括 *Geobacter benzoatidylicus*、*Geobacter argillaceus*、*Geobacter psychrophilus*、*Desulfuromonas carbonis* 及 *Desulfuromonas acetexigens*，與呼吸代謝途徑（如硫呼吸）呈顯著正相關，表明這些特定物種在終端電子受體過程中具有關鍵作用。相對地，合成營養菌如 *Pelotomaculum schinkii*、*Pelotomaculum propionicicum* 和 *Syntrophus buswellii* 與還原性乙酸生成及發酵途徑密切相關，顯示其主要代謝角色在於產生發酵中間產物。此外，專性甲基營養菌，包括 *Methylotuvimicrobium alcaliphilum*、*Methyloradius palustris*、*Methylophaga lonanensis* 及 *Methylophaga pinxianji*，僅與甲基營養代謝呈正相關。這些甲基營養菌與硫呼吸模組

之間顯著的負相關，表明明確的功能生態位分隔，其中 C1 化合物氧化與硫還原代表了系統中兩種不同且可能競爭的代謝策略。

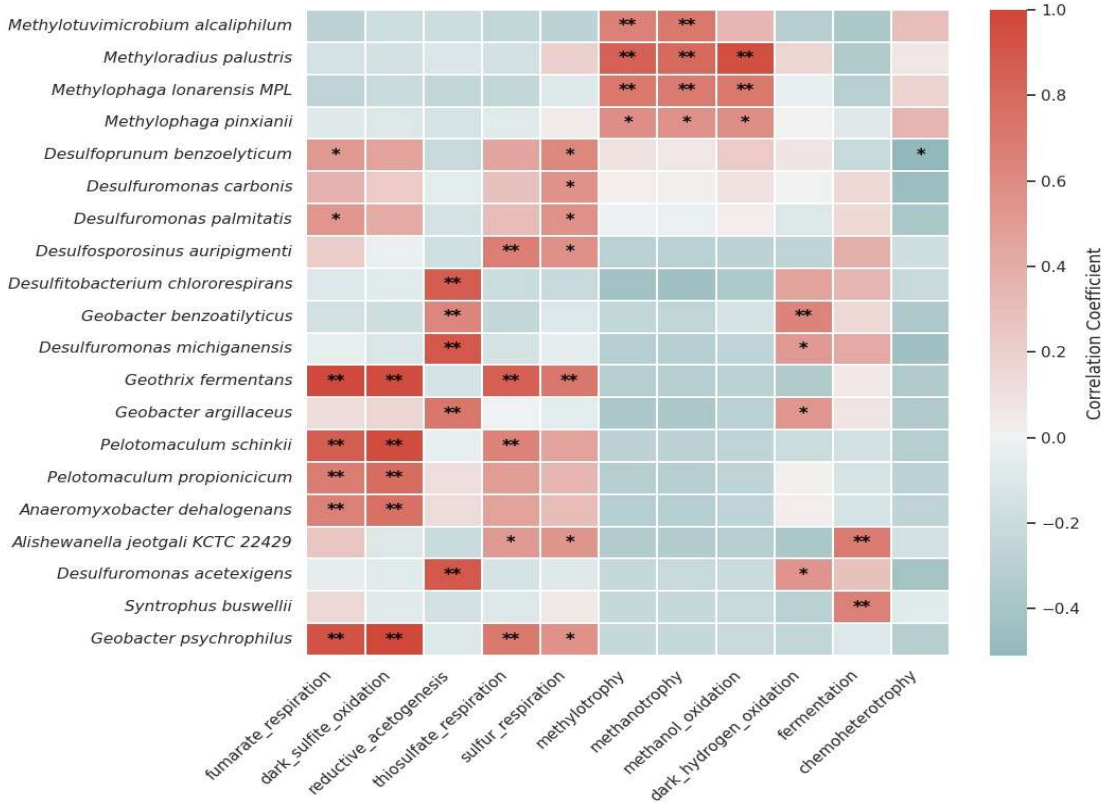


圖 8. TMFC 系統中關鍵功能細菌與其相應代謝功能的關聯

5.7. 添加物組合特異性對 Ex-situ TMFC 系統關鍵功能基因動態的影響

透過 qPCR 對關鍵功能基因的定量分析揭示了不同添加物組合下基因的時序動態及層級豐度(圖 9)。其中，與甲烷循環相關的基因表現出明顯分化。甲烷生成基因 *mcrA* 在 BZ 系統中始終具有最高豐度，顯示甲烷生成途徑的主導地位。相比之下，甲烷單加氧酶基因 *mmoX*(在有氧甲烷氧化中核心)在MB添加物組合中顯著富集，其次為 MBZ，表明強大的嗜甲烷能力，與高通量定序所得之菌種分類數據一致。對於硫循環，解偶聯亞硫酸還原酶基因 *dsrA* 在 MB 與 MBZ 系統中呈現最高拷貝數，確認活躍的硫酸鹽還原菌群落存在。氫化酶基因 *hydA* 也在 MB 系統中最豐富，顯示高度的氫循環潛力，對合成營養互作及還原性脫氯過程至關重要。此外，另一個與脫氯相關的基因 *omoX* 自第 15 天起在 MB 系統中顯著增加，提供直接的基因證據，支持有機鹵化物呼吸菌群的富集，並與該系統中優異的 TCE 去除效率相關。

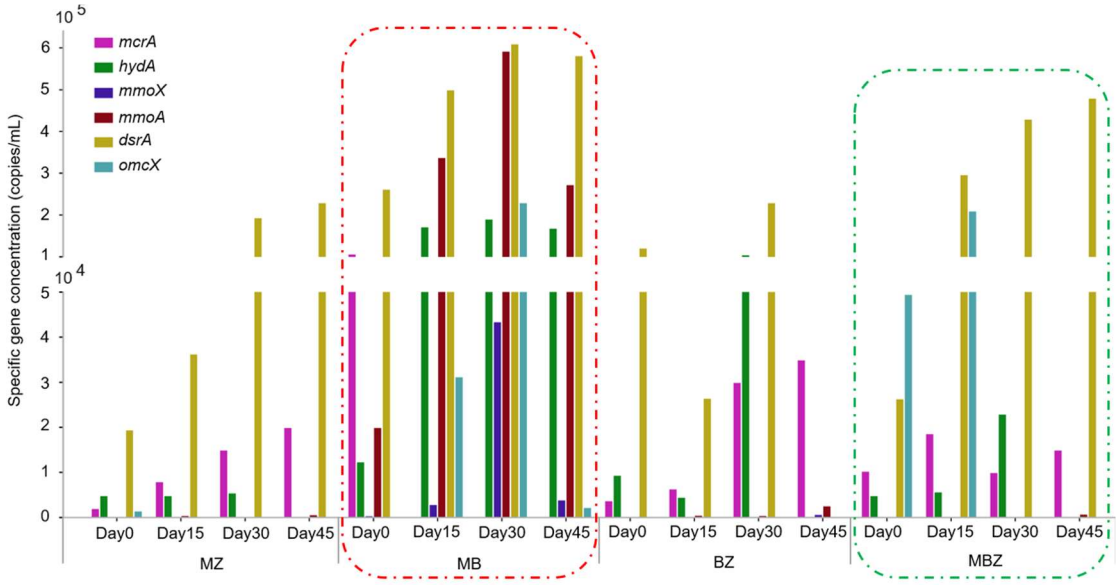


圖 9. 四種 Ex-situ TMFC 系統關鍵代謝過程基因豐度（拷貝數/mL）於 45 天反應期間的時間動態。

透過 qPCR 對關鍵還原性脫鹵酶基因（RDases）的定量分析顯示（圖 10），這些基因具有明顯的添加物組合特異性動態，支持觀察到的 TCE 降解模式。MB 添加物組合顯示出最顯著且持續的關鍵脫氯基因富集，包括 *bvcA*、*vcrA* 及 *rdhA*。這些基因的拷貝數，特別是 *vcrA*，自第 15 天至第 45 天顯著增加，提供直接的基因證據，證明穩健的有機鹵化物呼吸菌群被選擇並活化，能完全脫氯生成乙烯。MBZ 添加物組合亦呈現這些基因的富集，尤以 *bvcA* 為主，但拷貝數始終顯著低於 MB，且增加速度較緩慢，顯示功能性脫氯菌群存在，但效率較低，與其顯出較慢的 TCE 去除能力及中間產物累積相呼應。相比之下，MZ 與 BZ 添加物組合在整個反應期間所有目標 RDase 基因的拷貝數均維持低水平。這些系統中 *bvcA*、*vcrA* 與 *tceA* 幾乎不存在，確認了生物脫氯的基因基礎不足，解釋了其降解效能低下及氯化中間產物累積的現象。

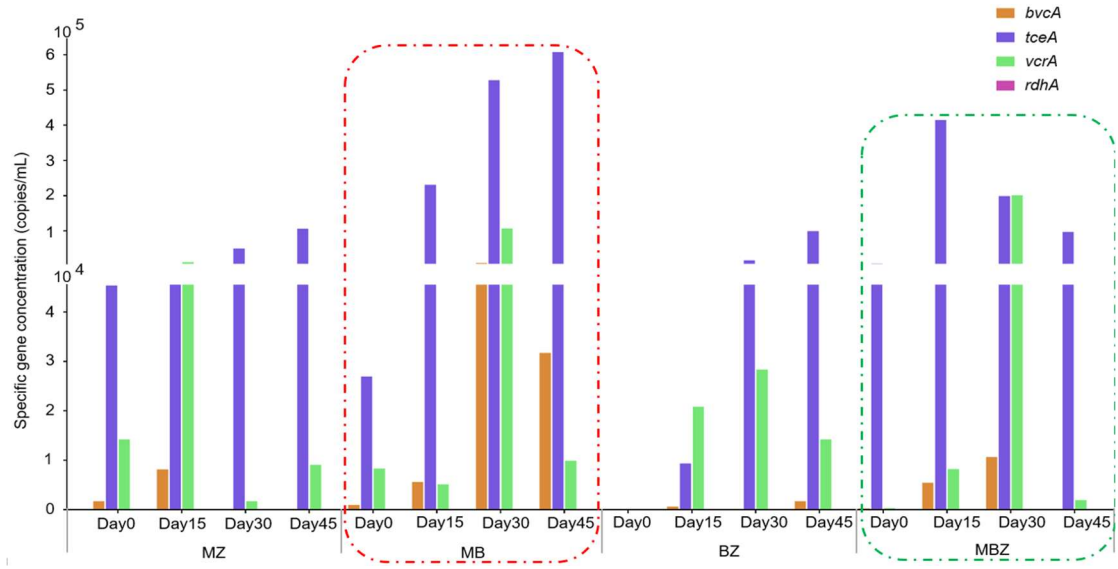


圖 10. 四種 Ex-situ TMFC 系統關鍵還原性脫鹵酶基因（RDase）豐度（拷貝數/mL）於 45 天反應期間的時間動態

5.8. 兩種 In-situ TMFC 系統物理化學條件的時序變化

對 In-situ TMFC 系統的物理化學監測確認了目標環境的成功建立，其中 MBZI 系統在關鍵指標上表現優越。兩個系統均成功創建並維持了必要的還原條件，所有隔室的 ORP 值持續為負值即為證明。MBZI 系統的陰極尤其保持更強且穩定的負 ORP，最低可達 -254 mV，相較於 MBI 系統，其顯示出更強大且穩定的還原環境，非常適合脫氯反應。此外，MBZI 添加物組合在陰極的電導率與總溶解固體顯著高於 MBI，與預期的納米零價鐵（nZVI）腐蝕動力學一致，並表明離子與電子的通量增加，可與嗜甲烷陽極產生的生物氫協同作用。綜合而言，這些結果顯示 MBZI 添加物組合更有效地創建了預期的協同環境，透過強化化學還原作用結合火山泥的持續生物活性，改善水文地球化學脫氯反應的條件。

表 3. 不同添加物組合下，In-situ TMFC 各隔室物理化學參數的時間變化。

Amendment	Compartment	parameter	Day-0	M-1	M-2	M-3	M-4	M-5	M-6
MBI	Anode	pH	7.9	8.4	8.21	8.66	8.07	7.64	7.8
		ORP (mV)	21	-151	12	-23	-81	-46	-43
		EC (µS/cm)	10.33	910	440	409	567	616	734
		TDS (ppm)	5160	456	221	203	284	295	356
		Temp (°C)	25.7	25.5	22.4	21.83	22.43	23.5	22.6
	Cathode	pH	7.76	7.78	7.02	7.60	8.03	8.29	7.9
		ORP (mV)	-3	-228	-30	15	-140	-121	-48
		EC (µS/cm)	928	864	380	148	667	657	657
		TDS (ppm)	468	434	190	74	339	343	330
		Temp (°C)							
MBZI	Anode	pH	8.5	8.4	8.04	7.63	8.31	7.7	8.3
		ORP (mV)	-30	-192	16	-43	-44	-106	-76
		EC (µS/cm)	10.22	2790	700	841	502	1176	553
		TDS (ppm)	4970	1390	365	421	259	338	375
		Temp (°C)	26.3	26	23.3	21.53	22.03	24	23
	Cathode	pH	7.24	7.9	7.2	7.63	8.02	7.3	7.9
		ORP (mV)	-123	-254	14	-77	-35	-91	-73
		EC (µS/cm)	1815	2880	2865	650	1691	1436	1722
		TDS (ppm)	913	1450	1359	326	842	736	869
		Temp (°C)	22.2	24.9	26	23.27	24.07	25	22.5

5.9. 兩種 In-situ TMFC 系統脫氯動態與適應性氧化還原模式分析

In-situ TMFC 系統的現場性能顯示，在脫氯途徑與相關氧化還原條件上兩種 In-situ TMFC 系統存在顯著差異（圖 11）。MBZI 系統展現出優越的功能特性，表現為快速且完全的污染物去除，同時維持穩定的電化學活性。TCE 與 cis-DCE 濃度自第 0 天起迅速下降，在 M3 與 M4 時幾乎檢測不到，而最初佔優勢的 VC 亦持續下降，至 M5 時降至不可檢測水平。此完整降解序列由 M1 至 M6 間電壓穩定在 0.30–0.40 V 支撐，表明維持了有利於外電子產生與完全還原性脫氯的氧化還原條件。相比之下，MBI 系統在化學與電化學性能上皆表現不佳。其降解途徑較慢且部分停滯，TCE 在 M3 附近出現短暫回升，而 VC 在 M5 前仍為主要污染物。這種不完全脫氯與電壓輸出彈性不足相對應，其在初始高峰後顯著下降。MBZI 系統在污染物去除與電能產生方面的雙重優異表現，凸顯其在現場條件下建立並維持合成營養微生物網絡與氧化還原梯度的獨特能力，對有效耦合生物修復與生物能回收至關重要。

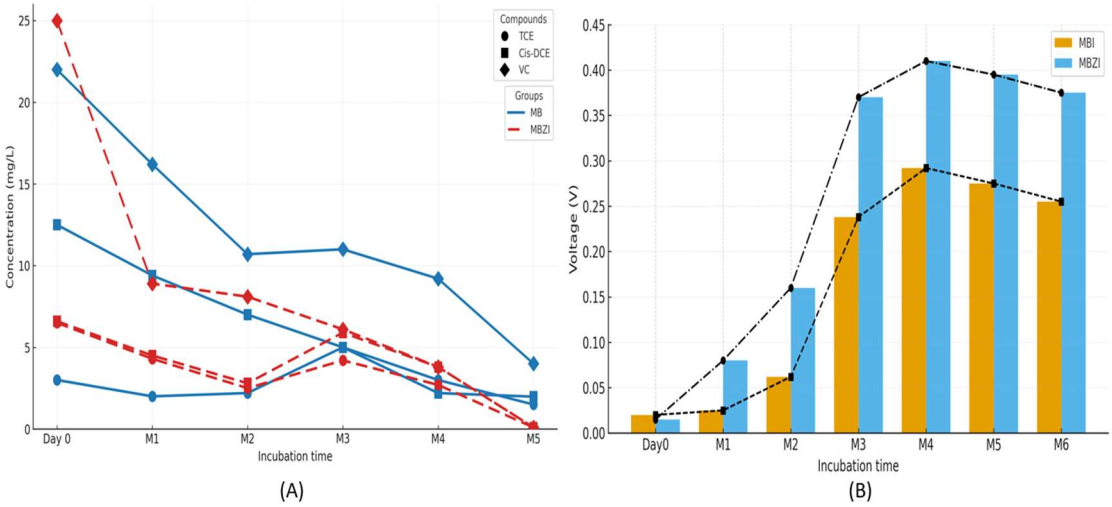


圖 11. 兩種 In-situ TMFC 系統其 TCE 與其中間產物脫氯動態(A)以及操作期間對應電壓(B)

5.10. 兩種 In-situ TMFC 系統關鍵功能基因動態分析

對 In-situ TMFC 系統陽極與陰極隔室關鍵功能基因的分析顯示，不同添加物組合間存在明顯的空間及時間動態差異（圖 12）。在陽極隔室中，甲烷氧化潛力基因 (pMMOA) 在兩個系統中於 M2 附近達高峰（約 10^8 拷貝/mL），隨後下降。氫代謝基因 (hydA) 呈現明顯差異，MBZI 系統自 M1 至 M6 維持較高豐度（約 10^6 拷貝/mL），而 MBI 僅為約 10^4–10^5 拷貝/mL，顯示 MBZI 系統具持續的氫循環能力。可溶性甲烷單加氧酶 (*sMMOX*) 表現差異明顯，MBZI 在 M1 早期達峰值（約 10^5 拷貝/mL）後迅速下降，而 MBI 始終維持相對穩定但較低水平（約 10^4 拷貝/mL）。電子競爭性過程呈顯著分化，解偶聯亞硫酸還原酶基因 (*dsrA*) 在 MBZI 系統於 M2 後速降至約 10^2 拷貝/mL，而在 MBI 系統仍保持較高水平（約 10^5–10^6 拷貝/mL）。甲烷生成基因 (*mcrA*) 在 MBZI 系統下降更為顯著，而細胞外細胞色素基因 (*omcX*) 在兩個系統中均保持低豐度 (<10^2 拷貝/mL)。在陰極隔室中，MBZI 系統的還原性脫鹵酶基因富集效果更佳，

其中 *vcrA* 在 M1 達 1.34×10⁹ 拷貝/mL，並在 M6 前保持 >10⁷ 拷貝/mL；*bvcA* 於 M2 達峰值 2.52×10⁸ 拷貝/mL。*tceA* 基因豐度較低（10²–10⁵ 拷貝/mL），在 M2 後下降，而 *rdhA* 基因至 M6 增至 1.62×10³ 拷貝/mL。MBZI 系統中陽極競爭性代謝的抑制，結合氫循環能力增強及陰極脫氯能力提升，為其在現場表現出優越的脫氯性能提供了基因上的證據。

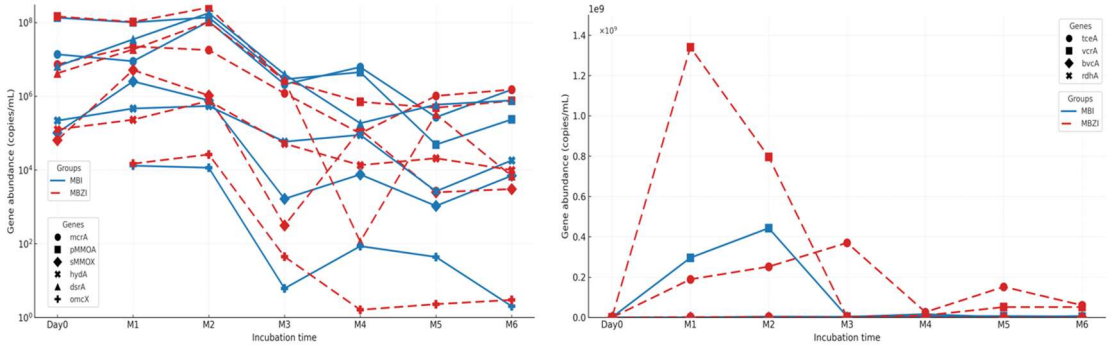


圖 12. 兩種 In-situ TMFC 系統其陽極 (A) 與陰極 (B) 關鍵功能基因豐度於操作期間的時間動態

六、結論

本期研究證實，在管狀微生物燃料電池（Tubular Microbial Fuel Cells, TMFCs）系統中，以特定微生物群集的協同交互作用結合目標性修飾物，可建立一套高效率的三氯乙烯（TCE）完全生物修復機制。此機制透過將甲烷氧化與氫氣生成反應耦合，確保還原脫氯過程中穩定的電子供體來源。

在實驗室規模試驗中，MB 組（火山泥 + 生物炭）展現最佳效能，達到最高且最穩定的電壓輸出（0.30 – 0.45 V），並能迅速且完整地脫氯 TCE，僅產生短暫的 cis-DCE 與 VC 中間產物。微生物群落分析顯示，這一表現歸因於成功富集出一個平衡且共生的微生物群落，包含主要甲烷氧化菌（*Methylomonas methanica*、*Methylocystis parvus*）、具導電活性的 *Geobacter* 屬，以及硫酸鹽還原菌（sulfate-reducing bacteria）。

功能基因定量結果顯示，甲烷生成相關基因 mcrA 受到明顯抑制，而甲烷氧化（mmoX）、氫代謝（hydA）及還原脫氯（tceA、vcrA、bvcA）等功能基因則顯著富集，顯示該代謝途徑已從甲烷生成轉向高效率脫氯。

於現地規模驗證中，加入奈米零價鐵（nZVI）的 MBZI 組展現更強且持久的還原環境（陰極氧化還原電位 ORP 為−254 mV），電壓穩定維持於 0.30–0.40 V 之間，並與 TCE 及其中間產物濃度迅速下降至未檢出水準相符。此結果亦在基因層面獲得支持：陽極 hydA 基因持續高表達，陰極脫氯基因 vcrA 可達 1.34×10^9 copies mL^{-1}之高濃度。

綜上所述，TMFC 系統（特別是 MBZI 組）能有效導引電子流，避免被甲烷生成菌等競爭微生物攫取，並促進有機鹵化物呼吸菌的活化，使 TCE 得以達成完整且可持續的去毒化目標。

七、建議

根據本期計畫的實驗結果，強烈建議以 MBZI 配方（火山泥 + 生物炭 + 奈米零價鐵）作為 TCE 污染含水層之現地修復主要策略，尤其適用於甲烷生成與脫氯作用存在電子競爭的環境中。此建議的依據在於現地試驗結果：MBZI 不僅能將 TCE 完全脫氯至未檢出濃度，同時成功抑制甲烷生成。此雙重效果可由 mcrA 基因拷貝數明顯下降及 vcrA 與 bvcA 基因於陰極大量富集所印證。

為確保實際應用之成功，建議先進行場址特定的微宇宙（microcosm）試驗，以釐定最適當之生物炭與奈米零價鐵（nZVI）比例，以符合當地水文地質條件。實驗室結果已顯示，生物炭在維持穩定的導電及甲烷氧化共生微生物群中扮演關鍵角色，以確保持續的氫氣生成；而 nZVI 則提供初期快速的還原驅動力，與生物過程形成協同效應。

未來研究方向可聚焦於：

1. 長期穩定性:評估共生微生物群及 nZVI 反應性的長期穩定表現。雖然六個月的現地數據顯示出色的修復成效，但仍需更長期的驗證。
2. 代謝機制解析:在學術議題上，可考慮進一步以轉錄體學（metatranscriptomics）分析核心共生群之代謝互作，特別是 *Methylomonas methanica* 與 *Desulfuromonas acetexigens* 之間的合成營養關係，以揭示其活化的代謝途徑。

3. 穩定同位素探針（SIP）追蹤:以同位素標記方式追蹤甲烷在整個降解路徑中的碳與電子流向。
4. 技術延伸應用:將此技術擴展至多氯化污染物的混合污染場域，以評估其在實際工業複合污染情境中的適用性與穩健性。

八、參考文獻

Asif, A., Koner, S., Hsu, P.-C., He, B.-J., Paul, S., Hussain, B., Hsu, B.-M., 2025. Synergistic interactions between AMF and MHB communities in the rhizospheric microenvironment facilitated endemic hyperaccumulator plants growth thrive under heavy metal stress in ultramafic soil. Journal of Hazardous Materials, 138233.

Bhattarai, S., Cassarini, C., Lens, P.N.L., 2019. Physiology and Distribution of Archaeal Methanotrophs That Couple Anaerobic Oxidation of Methane with Sulfate Reduction. Microbiology and Molecular Biology Reviews 83(3), 10.1128/mmbr.00074-00018. https://doi.org/doi:10.1128/mmbr.00074-18.

Dolinová, I., Štrojsová, M., Černík, M., Němeček, J., Macháčková, J., Ševců, A., 2017. Microbial degradation of chloroethenes: a review. Environmental Science and Pollution Research 24(15), 13262-13283. https://doi.org/10.1007/s11356-017-8867-y.

Hermon, L., Hellal, J., Denonfoux, J., Vuilleumier, S., Imfeld, G., Urien, C., Ferreira, S., Joulian, C., 2019. Functional genes and bacterial communities during organohalide respiration of chloroethenes in microcosms of multi-contaminated groundwater. Frontiers in Microbiology 10, 89.

Huang, S.-W., Hussain, B., Chen, J.-S., Asif, A., Hsu, B.-M., 2024. Evaluating groundwater ecosystem dynamics in response to post in-situ remediation of mixed chlorinated volatile organic compounds (CVOCs): An insight into microbial community resilience, adaptability, and metabolic functionality for sustainable remediation and ecosystem restoration. Science of The Total Environment 920, 170874. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.170874.

Hussain, B., Hsu, B.-M., Asif, A., Ali, D., Hussain, A., Huang, S.-W., 2025. Unlocking the enhanced trichloroethylene bioremediation potential of mud volcano by targeting synergistic microbial stimulation and electron transfer using microbial fuel cells (MFCs). Chemical Engineering Journal 519, 164919. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cej.2025.164919.

Kaown, D., Koh, E.-H., Mayer, B., Ju, Y., Kim, J., Lee, H.-L., Lee, S.-S., Park, D.K., Lee, K.-K., 2021. Differentiation of natural and anthropogenic contaminant sources using isotopic and microbial signatures in a heavily cultivated coastal area. Environmental Pollution 273, 116493. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116493.

Kumar, V., Shahi, S.K., Singh, S., 2018. Bioremediation: An Eco-sustainable Approach for Restoration of Contaminated Sites, in: Singh, J., Sharma, D., Kumar, G., Sharma, N.R.

(Eds.), Microbial Bioprospecting for Sustainable Development. Springer Singapore, Singapore, pp. 115-136. https://doi.org/10.1007/978-981-13-0053-0_6.

Kumar, V., Thakur, I.S., Singh, A.K., Shah, M.P., 2020. Chapter 8 - Application of metagenomics in remediation of contaminated sites and environmental restoration, in: Shah, M.P., Rodriguez-Couto, S., Şengör, S.S. (Eds.), Emerging Technologies in Environmental Bioremediation. Elsevier, pp. 197-232. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819860-5.00008-0.

Kurisu, F., Yagi, O., 2010. Bioremediation of Soil and Groundwater Contaminated by Volatile Organic Compounds. Sustainability in Food and Water: An Asian Perspective, 411-416.

Lhotský, O., Krákorová, E., Linhartová, L., Křesinová, Z., Steinová, J., Dvořák, L., Rodsand, T., Filipová, A., Kroupová, K., Wimmerová, L., Kukačka, J., Cajthaml, T., 2017. Assessment of biodegradation potential at a site contaminated by a mixture of BTEX, chlorinated pollutants and pharmaceuticals using passive sampling methods – Case study. Science of The Total Environment 607-608, 1451-1465. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.193.

Lösekann, T., Knittel, K., Nadalig, T., Fuchs, B., Niemann, H., Boetius, A., Amann, R., 2007. Diversity and Abundance of Aerobic and Anaerobic Methane Oxidizers at the Haakon Mosby Mud Volcano, Barents Sea. Appl Environ Microbiol 73(10), 3348-3362. https://doi.org/doi:10.1128/AEM.00016-07.

Pant, P., Pant, S., 2010. A review: Advances in microbial remediation of trichloroethylene (TCE). Journal of Environmental Sciences 22(1), 116-126.

Patil, S.S., Adetutu, E.M., Sheppard, P.J., Morrison, P., Menz, I.R., Ball, A.S., 2014. Site-specific pre-evaluation of bioremediation technologies for chloroethene degradation. International Journal of Environmental Science and Technology 11(7), 1869-1880. https://doi.org/10.1007/s13762-013-0383-0.

Ruff, S.E., Humez, P., de Angelis, I.H., Diao, M., Nightingale, M., Cho, S., Connors, L., Kuloyo, O.O., Seltzer, A., Bowman, S., Wankel, S.D., McClain, C.N., Mayer, B., Strous, M., 2023. Hydrogen and dark oxygen drive microbial productivity in diverse groundwater ecosystems. Nature Communications 14(1), 3194. https://doi.org/10.1038/s41467-023-38523-4.

Stokke, R., Roalkvam, I., Lanzen, A., Haflidason, H., Steen, I.H., 2012. Integrated metagenomic and metaproteomic analyses of an ANME-1-dominated community in marine cold seep sediments. Environmental Microbiology 14(5), 1333-1346. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2012.02716.x.

九、研究進度及預期完成之工作項目(甘特圖)

年月 / 工作項目	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	備註
實驗室及現地微生物燃料電池系統開發與建置	■	■	■	■	■	■	■	■	■				
使用 PacBio 測序技術鑑定 ANME、甲烷菌及 SRB 在內的微生物群落	■	■	■	■	■								
微生物燃料電池整治方法之整合評估			■	■	■	■	■	■	■				
TCE 降解關聯之微生物基因定量分析			■	■	■	■	■	■	■				
實驗室 MFC 模組操作參數之分析與評估		■	■	■	■	■							
現地 MFC 模組利用 ANME、甲烷菌與 SRB 之間協同作用的生物整治策略評估				■	■	■	■	■					
以 FISH 技術研究 ANME、甲烷菌與 SRB 之間的相互作用					■	■	■	■	■	■			
期中報告撰寫				■	■								※報告交件
結案報告撰寫										■	■		※報告交件
工作進度估計百分比（累積數）	5%	15%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%	100%	100%	
預定查核點	期中	利用地下水樣本和泥火山沉積物構建實驗室規模的微生物燃料電池(MFCs)。使用 PacBio 測序分析 MFCs 中的微生物群落，包括 ANME、需氧甲烷氧化菌和 SRB。											
	期末	利用 FISH 和 FACS 技術評估微生物群落在 MFC 中的分布。 使用 GC-MS 和 HPLC 分析微生物的甲烷氧化能力及其對 TCE 降解的影響。評估環境參數對微生物相互作用及 TCE 降解的影響，並在污染場地驗證 MFC 系統的有效性。											

註：表格不敷使用時，請自行增列。

環境部環境管理署「土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案」

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

計畫年度	**113 年度**	計畫類型	□先導型 ■研究型 □模場型
計畫類別	□調查 ■整治 □其他	主持人：許晁慕	NO：R11
計畫名稱	以嗜甲烷菌和硫酸鹽還原菌群微生物燃料電池系統強化三氯乙烯污染地下水生物復育技術之研發		

審查意見	執行單位回覆
委員一 **1.** 研究團隊具充足之專業背景與經驗且研究構想規劃完整，結合固有成熟度高之技術，發展新穎之細胞分選技術以達成微生物空間分布分析及可視化技術之發展，對於該領域之貢獻給予肯定。 **2.** 可補充說明分析微生物空間分布與達成可視化對研究之重要性。	1.感謝審查委員對於本研究團隊專業背景和研究計畫構想的肯定。我們將藉由發展創新細胞分選技術，並結合先前成熟的技術，進一步分析與可視化微生物的空間分布，期望此技術能為微生物研究領域帶來新的突破，並推動環境生態及生物修復相關技術的進步。 2.關於分析微生物空間分布及可視化對研究重要性的如下補充說明，已呈現於計畫書之修正版本。 “微生物在環境中的空間分布與其生態功能密切相關，特別是在三氯乙烯(TCE)生物整治過程中，不同微生物族群的互動對於甲烷氧化和 TCE 的降解效率有重要影響。藉由本研究的可視化技術，我們得以觀察並量化特定微生物族群的空間分布及其代謝活動，進而深入理解微生物群落在不同環境參數下的動態變化及其交互作用，這將有助於優化 TCE 污染場址的生物整治策略。”
委員二 **1.** 本計畫比較像是國科會計畫。	感謝審查委員提醒與指正。本計畫的研究重點是開發透過微生物燃料電池進行三氯乙烯污染水ru體降解的”現地”生物整治法。今年的進度為以現地模廠設施來釐清實驗室規模與未來在現地進行實際整治計畫所遇到之困難或局限進行釐清。本計畫將以核心技術之技術成熟度（TRL）評估往「模場試驗專案」及「技術商業化」進行導引。

委員三 **1.** P1-4，有關二、本期申請補助經費，建議宜補充相關經費細項，以利瞭解經費運用情形。 **2.** 菌株之間是否相互影響，建議宜釐清。	感謝審查委員建議。經費細項已編列於計畫書中。另，本計畫針對甲烷氧化菌（Methanotrophs）與硫酸鹽還原菌（Sulfate-Reducing Bacteria, SRB）在微生物燃料電池（MFC）系統中進行互動的作用機制進行研究，旨在加強對 TCE 降解效果的理解。我們將採用 FISH 和 FACS 等技術，分析甲烷氧化菌和硫酸鹽還原菌之間的協同作用及其對降解效率的影響。此外，也會評估不同環境條件對微生物群落結構與交互作用的影響，進一步釐清各菌株間的影響及其在 MFC 系統中的角色，以確保降解效果最優化。
委員四 **1.** 建議應針對本研究所提技術與目前技術之差異以及未來實場應用實所面臨問題之解決方案進行說明。	感謝審查委員建議。在本研究中，我們主要探索甲烷氧化微生物（包括甲烷氧化古菌和需氧甲烷氧化菌）與硫酸還原菌（SRB）之間的相互作用，並將其應用於微生物燃料電池（MFC）系統中以增強對受三氯乙烯（TCE）污染的地下水進行生物修復的效果。本研究技術與現有技術的主要差異在於，傳統的 TCE 生物修復方法通常受到甲烷產生菌的競爭作用限制，影響氫氣的可用性，從而減少去氯化效率。我們提出的方法引入了 ANME-SRB 和需氧甲烷氧化菌-SRB 的微生物聯合體，通過甲烷氧化作用來提供穩定的氫氣來源，從而支持有機鹵素呼吸細菌的去氯化作用。這不僅改善了氫氣的可用性，同時減少甲烷產生菌的競爭壓力。此外，我們的 MFC 設計利用了微生物產生的“暗氧”現象，為需氧甲烷氧化菌創造了微量氧氣環境，增強了 TCE 的降解效果。為了推進未來的實際應用，我們計劃在 MFC 系統內加入如竹炭電極等增強降解效果的設計，並根據不同的環境條件（例如電子供體和受體的可用性）來調整微生物群落結構和交互作用。這樣的實驗結果將有助於在現場部署具備長期穩定性的生物整治系統，以應對 TCE 污染場域的多變環境。
委員五 **1.** 本案雖說明與前三年計畫成果之相關性和延續研究之必要性，惟前三年研究績效較	感謝審查委員建議與指正。過去三年的研究主要探索了三氯乙烯（TCE）去氯化的微生物機制，並於微生物燃料電池（MFC）系統中進行

不具體且量化。 **2.** 團隊掌握核心技術，可提升其 TRL 值。	了基礎實驗，證明了硫酸鹽還原菌（SRB）與甲烷氧化菌之共生關係對 TCE 去氯化速率的增強作用。我們的研究成果顯示，實驗處理組的 TCE 去氯化速率顯著高於對照組，並伴隨有氫氣產量的顯著增加，這些成果將伴隨期刊論文之發表讓數據系統化呈現。本期計畫將延續上述研究成果，著重於擴大微生物組合的範疇及最佳化條件，提升其去除污染物的效率，並將其應用於更廣泛的現場生物修復策略。在提升技術成熟度（TRL）部分，本團隊於本期計畫中將整合了分子技術（如 PacBio 定序、螢光原位雜交及細胞分選等）來精準定位和定量特定微生物群體。透過優化甲烷氧化與硫酸鹽還原菌的共生關係，能對推升 TCE 的去除效率及系統穩定度有所助益，並達到技術成熟度（TRL）提升之目標—開發具體方案應用於污染場域的生物整治技術。
委員六 **1.** 延續上一年度之研究基礎，建議增加實驗項目與參數對應應用端(圖 2 In-situ Ex-situ)之說明。	感謝審查委員建議。本年度研究計畫將在原有的 In-situ 和 Ex-situ 設置基礎上，增加以下實驗項目和參數設定，以驗證不同環境條件對微生物群落結構及降解效率的影響：1. 增設環境變異參數：針對電子受體、供體的可用性，調控氧化還原電位 (ORP) 等條件，以模擬實際地下水環境中不同情境。2. 擴展實驗監測項目：透過螢光原位雜交 (FISH) 與螢光活性細胞分選 (FACS)，深入分析 ANME、好氧甲烷氧化菌及 SRB 微生物群落的空間分布，並透過定量 PCR (qPCR) 檢測關鍵功能基因 (如 mcrA、pmoA、dsrA)，以量化各群落在不同條件下的相對豐度和活性。
委員七 **1.** 符合徵求主題，延續性計畫。	感謝審查委員鼓勵與肯定。本團隊本年度計畫將應用先進分子技術如 PacBio 測序、螢光原位雜交（FISH）及螢光活化細胞分選（FACS），深入解析特定微生物群落在 MFC 中的分布和功能，並評估其在不同環境條件下對 TCE 降解效率的影響。我們希望透過這些技術的整合，提供更具實務應用性的生物整治方案。
委員八 **1.** 本計畫擬探索厭氧甲烷氧化古細菌、好氧甲烷	感謝審查委員建議。此研究計畫目的在探討厭氧甲烷氧化古細菌、甲烷代謝菌及硫酸鹽還原

營養菌和硫酸鹽還原菌菌群在優化三氯乙烯降解過程中的作用。 **2.** 建議說明瞭解上述菌群間的相互關係後，對改善氯化有機污染場址整治的功效與實務上上如何運作。	菌在三氯乙烯（TCE）降解中的交互作用。本計畫將採用 PacBio 基因定序、螢光原位雜交（FISH）、螢光活化細胞分選（FACS）等技術，深入分析上述菌群的代謝功能與相互作用。這些技術將協助揭示 ANME 與 SRB 在厭氧環境下的甲烷氧化過程如何產生氫氣，進而增強 TCE 的還原脫氯效果。透過這些理解，我們預計可提升在氯化有機污染場址的生物整治效率，並將此技術應用於實際現場中。研究結果將提供實地應用的具體框架。針對現地污染的地下水，我們將設置並調整適當的 MFC 系統，以促進菌群之間的協同作用，從而增進 TCE 的降解效率。我們也將藉由技術成熟度（TRL）的管控與提升，期望在實務中達到成本效益與環境友善的效果。

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	**113 年度**	計畫類型	□先導型 □研究型 □模場型
計畫類別	□調查 ■整治 □其他	主持人：許晁慕	NO：R11
計畫名稱	以嗜甲烷菌和硫酸鹽還原菌群微生物燃料電池系統強化三氯乙烯污染地下水生物復育技術之研發		

審查意見	執行單位回覆
委員一 **1.** 場址地下水中存在之微生物對 MFC 成效的影響? 2. 擬選試驗場址地下水整治使用的方法歷程，宜先了解。	感謝審查委員建議。針對意見回覆如下: 1.本研究將針對受污染場址的微生物群落進行深入分析，尤其是與三氯乙烯（TCE）降解相關的甲烷氧化菌和硫酸鹽還原菌（SRB）。通過採用先進的分子技術，如 PacBio 測序、螢光原位雜交（FISH）、螢光活化細胞分選（FACS）等，研究這些微生物群落的組成、交互作用及代謝功能。本計畫亦將檢測不同環境參數（例如地下水氧化還原電位和電子供體的可用性）對微生物群落動態及其在微生物燃料電池（MFC）系統中 TCE 降解效率的影響。這將有助於瞭解當地微生物對整治成效的影響，並制定針對性解決方案以優化 MFC 性能。 2.本研究選定場址為彰化地區具代表性的 TCE 污染地下水場地，並已確認污染濃度超過管制標準（如三氯乙烯濃度為 20.4 mg/L，遠高於 0.05 mg/L 的管制標準）。場址地下水整治的相關水質和水文地化資料，包括氧化還原電位（ORP）及其他污染物濃度（如順-1,2 二氯乙烯、氯乙烯等），將透過與顧問公司合作進行分析和評估。本計畫亦將依據場址特性模擬地下水環境，設計適合的 MFC 系統進行現地測試，確保整治技術符合場址特性與需求。
委員二 **1.** 本計畫擬:"...設置並調整適當的 MFC 系統，以促進菌群之間的協同作用，從而增進 TCE 的降解效率..."	感謝審查委員建議。針對意見回覆如下: 1.本計畫將設置與調整微生物燃料電池（MFC）系統以促進菌群的協同作用，特別是厭氧甲烷氧化古菌（ANME）、硫酸鹽還原菌（SRB）和甲烷氧化菌之間的交互作用，增強三氯乙烯（TCE）

2. 建議說明是擬重新建構污染場址的菌群結構? (若是重建，如何重建? 重建後的有效延時? (有效期限))。若是解讀既有污染場址的菌群結構，對污染場址改善的應用性為何? 3. 本計畫屬於延續性研究，建議以實務應用為主(土污基金會的經費)，並檢討國內氯化有機物污染場址整治的困境(很少碰到菌群結構是整治成效的限制因子)	降解效率。本計畫特別強調系統參數的優化，如電子供體供應與環境氧化還原條件的調控，以確保 TCE 的脫氯過程。 2.本計畫的目標是解讀現有污染場址的菌群結構，並透過 MFC 技術增強既有菌群的脫氯功能，而非完全重新建構菌群結構。在解讀菌群的基礎上，我們將透過原位與異位 MFC 系統增強目標菌群的活性與協同作用，以克服菌群效率不足的問題。效能的延續性依賴於場址條件與微生物群體的穩定性，初步估計有效期為 180 天，但需視現場條件進一步優化後確認。 3. 本計畫雖仍極具有研究特性，但已以實務應用為主要目標，特別是在如何利用 MFC 技術處理 TCE 污染場址方面進行深入探索。針對審查意見中提及的整治困境，我們同意菌群結構並非整治的唯一限制因子。因此，本研究將結合生物與非生物策略，針對現地條件優化整治方法，並評估 MFC 技術在降低整治成本與提升效率方面的潛力，以提供更具實用性的解決方案。
委員三 無	感謝審查委員並請繼續指導建議。
委員四 建議提供測試場址汙染現況，和目前該場址整治工法及需求之對應。	感謝審查委員建議。我們針對委員建議於計畫書中加入場址汙染現況，和目前該場址整治工法及需求之對應如下: 目前測試場址位於彰化市，該地點已確認受到三氯乙烯（TCE）污染。根據水質分析數據，場址地下水中三氯乙烯濃度為 20.4 mg/L，超出管制標準（0.05 mg/L）；此外，還檢測到其他相關污染物，如順 1,2-二氯乙烯（7.68 mg/L）及氯乙烯（0.092 mg/L），顯示場址污染程度較嚴重。在整治工法與需求對應方面，本計畫提出使用微生物燃料電池（MFC）系統，結合厭氧甲烷氧化古菌（ANME）及硫酸鹽還原菌（SRB），以優化三氯乙烯的生物降解效率。此技術已在前期實驗中證

	明具高效降解能力，並將進一步於現場模場進行優化與驗證。整治需求包括提升 TCE 降解效率、降低副產物（如氯乙烯）的生成，並實現成本效益高且具環境永續性的整治目標。目前，整治方法的執行包含實驗室規模模擬與現地模場實驗兩部分，並與現場整治顧問公司合作，確保場址背景數據（如氧化還原電位、污染物濃度）的全面分析與整治措施的監控。此技術的開發與應用將為整治需求提供直接對應的解決方案。
委員五 **1.** 因本計畫性質屬研究型整治計畫，故建議於 113 年度專案成果績效自評表填列技術效益，並於下方量化說明。 **2.** 建議宜說明如何製備及馴養微生物，並說明樣品微生物將如何取得。 **3.** 有關九、研究進度及預期完成之工作項目(甘特圖)，建議宜列點說明各項查核點，以利瞭解本計畫 KPI 之執行情形。 4. 研究過程中，微生物受環境條件（如 ORP,pH 及鹼度）、有機和無機物之影響直加注意。	感謝審查委員建議。針對委員意見回覆如下: 1.我們已於 113 年度專案成果績效自評表中填入申請預估數，並將於後續依研究進度填寫期中達成數、成果達成數、結案後半年達成率。量化技術效益指標，我們後續將依照實驗成果提出整治技術提升（%）、整治成本降低（%）、以及提升能源效率（%）並依研究進展進行動態修正，以反映實際研究成果。 2.本計畫的微生物來源與馴養方式已明確規劃如下。微生物取得：微生物樣本將自高雄燕巢泥火山及彰化市 TCE 污染地下水採集，並經過 qPCR 確認目標微生物（ANME、硫酸鹽還原菌及需氧甲烷氧化菌）群落的存在。製備及馴養：使用實驗室內建之微生物燃料電池（MFC）系統進行微生物群落增殖與馴養，並在適當的環境條件（如 ORP、pH 及電子供體/受體濃度）下進行優化培養。 3.本計畫書甘特圖中列出之期中查核點包括：(1)建置實驗室規模 MFC 系統。(2)使用 PacBio 測序技術分析微生物群落。(3)評估甲烷氧化能力及其對 TCE 降解的影響。期末查核點則包括：(1)使用 FISH 及 FACS 技術評估微生物群落空間分布。(2)現地 MFC 模組效能驗證。(2)環境條件及有機/無機物影響考量。 4.感謝委員建議，本計畫書之研究方法中明確指出：研究將針對 ORP、pH 值、鹼度以及電子供體/受體（如硫酸鹽和甲烷）進行調控，並使用多功能儀表監測環境參數。此外，採樣和培養過程會定期分析 TCE 降解產物的濃度、有

	機物濃度及微生物群落動態，確保系統穩定運作及技術應用的有效性。
委員六 **1.** 本計畫利用實驗室和現地相結合的研究方法，增強了技術測試和應用的全面性，惟該技術針對各種土層狀況、地質水文條件是否有使用限制或相關建議。 2. 本案已延續第四年計畫，針對實場應用能否預估相關技術成本。	感謝審查委員建議。針對委員意見回覆如下: 1.本計畫的技術開發以嗜甲烷菌和硫酸鹽還原菌為核心，通過微生物燃料電池（MFC）系統強化三氯乙烯（TCE）污染地下水的生物整治。技術適用性分析如下。(1)土層與地質條件：技術主要依賴地下水的氧化還原條件和電子供體的可用性。在極端貧氧環境或高滲透性土壤中，技術性能表現更為穩定。然而，在極高含氧量或鹽度的土層中，可能需要調整操作參數（如電子供體的補充量或膜結構）。(2)水文條件：研究已考量現地地下水流速、TCE 濃度等影響因素，並設計實驗室及現場測試，確保技術的廣泛適用性。同時，優化的 MFC 結構已針對泥火山及污染地下水等高變動環境進行測試，以減少限制。 2.設備成本：以竹炭塗層電極和 PVC 結構為基礎，成本控制在合理範圍內，並展現材料易得性。運行成本：由於 MFC 可自產能量，運行成本顯著降低，且微生物群落的穩定性可減少後續維護需求。效益評估：根據現場試驗，TCE 降解速率的提升將顯著降低長期整治成本（例如化學修復的試劑購置費用）。預計整治成本可下降 20%-30%。持續性建議：鼓勵與業界合作，進一步降低設備投入成本，並探索更高性價比的材料替代方案。
委員七 建議可以探討本計畫時場應用上之優勢及可行性，以及可能應用規劃方向。	感謝審查委員建議。針對委員意見回覆如下: 1.本研究以微生物燃料電池（MFC）技術結合嗜甲烷菌和硫酸鹽還原菌群（ANME-SRB）來強化三氯乙烯（TCE）污染地下水的生物復育技術，具有以下實場應用優勢：(1)高效性與可持續性： MFC 系統能促進微生物的代謝活動，同時產生電流，為污染整治提供能量支持，降低外部能源需求。(2)成本效益： 比起傳統物理或化學整治技術，此方法可顯著降低整治成本，並利用自然微生物群落進行無害化處理。(3)多功能性： 系統可同時去除多種污染物，如三氯乙烯及其降解副產物，提升整治效率。(4)環境友善：

	無需使用額外化學藥劑，符合環境永續發展需求。 2.實驗室測試已證實，加入泥火山材料的 MFC 系統能顯著提高 TCE 脫氯效率。此技術在地下水污染整治上的成功應用具高度可行性。研究中的分子技術（如 FISH 和 FACS）能有效分析微生物群落結構與功能，為 MFC 設計與操作參數提供科學依據。現場試驗方案已包括與污染場址相關的詳細水文地質資料收集與模擬測試，能確保技術移轉至現場應用的穩定性。應用規劃方向。(1)短期： 開發一套針對 TCE 污染場址的現場 MFC 整治系統，並進行技術驗證與性能優化。(2)中期： 擴展技術至其他有機污染物（如 PAFs、二氧化碳轉化）整治，提升系統的普適性。(3)長期： 建立整治平台，與政府及業界合作，推動污染場址綜合整治計畫，並探索相關技術專利與商業化可能性。
委員八 1. 研發技術預期將 TCE 礦化或可能的降解產物為何?	感謝審查委員詢問。本研究預期運用的微生物燃料電池(MFC)系統，結合厭氧甲烷氧化古菌(ANME)、好氧甲烷營養菌與硫酸鹽還原菌(SRB)的協同作用來降解三氯乙烯(TCE)。降解過程中，TCE 將透過厭氧脫氯反應，依序生成順式二氯乙烯(cis-DCE)、氯乙烯(VC)，最終產物預期為無毒的乙烯(ethylene)或二氧化碳及水。此外，添加泥火山土壤中的甲烷氧化菌和硫酸鹽還原菌有助於提升降解效率，同時抑制甲烷生成菌對電子供體(如氫氣)的競爭，以促進 TCE 的有效降解與最終完全礦化。研究過程中亦將針對降解中間產物如 DCE 與 VC 進行監測，確保系統在長期操作中具備高效降解能力，最終使 TCE 降解至環境友好的終產物。
委員九 **1.** 人事費:兼任人員費用 12 人月*每月 10,000 元，小計金額有誤，請修正。 2. 請依補助上限調整各項經費，並修正於申請計畫書修正稿。	感謝審查委員建議。修正版之計畫書已針對人事費及預算編列進行修正。

環境部環境管理署「土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案」

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

計畫年度	**113 年度**	計畫類型	□先導型 □研究型 □模場型
計畫類別	□調查 ■整治 □其他	主持人：許晁慕	NO：R11
計畫名稱	以嗜甲烷菌和硫酸鹽還原菌群微生物燃料電池系統強化三氯乙烯污染地下水生物復育技術之研發		

審查意見	執行單位回覆
委員一 表 5 以後的實驗數據建議有效數字可加以統一。目前進行符合規畫並能持續前期專案成果，值得肯定並有創新想法，即利用泥火山噴出物為 microbial pile。	感謝委員建議與指正，本團隊將針對表 5 以後之實驗數據在有效數字之呈現進行檢視與修正，確保數據呈現之嚴謹性與一致性。本計畫目前進度符合原規劃，並已持續延伸前期專案成果，特別在結合泥火山噴出物作為「microbial pile」的創新概念上，展現了環境原生微生物資源於污染地下水整治之潛力。預期目標包括： 1.提供具原位特性的微生物來源，降低接種菌群適應成本。 2.強化甲烷氧化菌及硫酸鹽還原菌群落的穩定性與多樣性。
委員二 **1.** 本計畫有關採樣地點描述與樣本收集，建議將文字依地點與樣本類型做清楚分段與條列整理，或依表格方式呈現，以利檢視。 **2.** 本計畫期中已達預定進度，惟建議補充經費使用狀況說明及確認專案基本資料表中經費分析總表的自籌款費用。 **3.** 本計畫規劃於污染井中實際安裝 TMFC 反應器，惟對於 TCE 濃度波動、水力條件與電極維護的影響未見詳述。建議補充現地模組穩定運作機制與潛在挑戰因應對策，以提升實務運作。 **4.** 有關泥火山場址(NADL-2、NADL-3、SBW)	感謝審查委員建議與指正，回覆內容依提問順序條列如下: **1. 採樣地點與樣本收集呈現方式** 本計畫已於期中報告第 5.1 節詳述，後續將補充以表格方式呈現各場址(泥火山、污染地下水井)之座標、樣本深度、理化參數與功能基因檢測結果，以利檢視與比較。

與 TCE 污染地下水場址(ISC1、ISP1)選擇，可反映具環境挑戰性的真實情境，有助於驗證 TMFC 應用的可行性與效果。

5. 本計畫申請預估成果國內研討會論文、國外期刊論文及研究報告發表各為 1 篇，開發技術 1 項，跨機構團隊 1 個，期中成果已達成數國內研討會論文發表 1 篇，建議後續仍應加速成果績效展現。

6. 建議補充計畫後續工作重點及結論與建議，以利委員檢視。

採樣場址	樣本類型	採樣深度/條件	主要理化參數	功能性基因檢測	備註
泥火山 NADL-2	泥漿樣本	10–20 cm、40–80 cm	pH、溫度、EC、TDS、ORP	mcrA、omcX、mmoX、pmoA、dsrA	功能基因豐度高，選定用於TMFC接種
泥火山 NADL-3	泥漿樣本	10–20 cm、40–80 cm	同上	mcrA、omcX、mmoX、pmoA、dsrA	功能基因豐度高，選定用於TMFC接種
泥火山 SBW	泥漿樣本	10–20 cm、40–80 cm	pH 7.87、TDS 2740 ppm、ORP 52 mV	mcrA、pmoA、dsrA	功能基因濃度較低，作為比較樣本
污染井 ISC1	地下水樣本	深度約 9 m	TDS 7950 ppm、ORP −328 mV、pH 7.5	tceA、rdhA、bvcA、vcrA	已安裝TMFC進行現地測試
污染井 ISP1	地下水樣本	深度約 8 m	TDS 469 ppm、ORP −11 mV、pH 7.7	tceA、rdhA、bvcA、vcrA	已安裝TMFC進行現地測試
污染井 NW1 (對照井)	地下水樣本	深度約 8–9 m	TDS 912 ppm、ORP −127 mV、pH 7.08	tceA、rdhA、bvcA、vcrA	無污染，作為對照組

2. 經費使用狀況與自籌款確認

經費執行符合計畫編列，將於期末報告補充經費使用明細。另外，本計畫無自籌款，因此將於專案基本資料表再次確認自籌款金額與來源之描述是否一致，以確保資訊正確性。

3. 現地 TMFC 反應器運作穩定性

目前已完成 TMFC 設計與安裝，後續將補充因應機制：

(1)定期監測 TCE 濃度與降解趨勢。

(2)評估不同水力及 ORP 條件下之效能。

4. 場址選擇之合理性

泥火山(NADL-2、NADL-3、SBW)與 TCE 污染場址(ISC1、ISP1)均具挑戰性與代表性，有助於驗證 TMFC 應用之可行性與效果。感謝審查委員鼓勵與建議。

5. 成果績效展現

期中已完成國內研討會論文發表 1 篇，國際期刊論文 1 篇進入修訂。後續將加速：國際期刊發表、 技術平台與應用技術開發以及跨機構合作研究推動。

	6. 後續工作重點包括: (1)現地 TMFC 運作驗證：持續追蹤效能與微生物群落動態。 (2)微生物群落與功能基因分析：完成 qPCR、PacBio 等檢測，建立降解效率模型。 (3)成果產出與推廣：加速國際論文及跨機構合作。 (4)整治策略建議：提出可應用於台灣 TCE 污染場址的復育技術模式，提供政策與產業應用參考。
委員三 **1.** 現地模場的管狀微生物燃料電池(TMFC)實驗，報告提到了 D0 和 M1 的初步理化數據，數據中亦提及 M6，請問本計畫現地預計執行期間為 6 個月嗎？除了已完成的初步分析，關於微生物群落和三氯乙烯降解性能的關鍵分析工作，還有哪些是尚待完成且將於期末報告中呈現的？ **2.** 針對現地模場試驗含氯地下水污染場址的環境條件（像是三氯乙烯濃度、其他污染物、氧化還原電位等），請問是否有調整或優化管狀微生物燃料電池(TMFC)系統和微生物策略，以克服實際場地的挑戰？ **3.** 甲烷氧化菌群落及其硫酸鹽還原伴隨群落目前尚未成功以純培養形式增殖，請問如何應對這些難以純培養的微生物所帶來的研究挑戰？分析技術（像是螢光原位雜交(FISH)及螢光活化細胞分選(FACS)）在這方面扮演了什麼重要的角色？ **4.** 報告中的 qPCR 結果顯示，實驗室規模不同處理組(T1 ,T2 ,T3 ,C)的陽極和陰極樣本中，與甲烷代謝、硫酸鹽還原、氫氣產生和三氯乙烯降解相關的功能基因豐度有所差異，也反映了不同處理組微生物活性和潛在的降解機制，但為何 T2 組顯示的活性最	感謝審查委員建議與指正，回覆內容依提問順序條列如下: **1.關於現地模場 TMFC 執行期間與後續分析工作** 本計畫現地模場 TMFC 運行規劃為約 6 個月，以觀察長期穩定性與降解趨勢。期中報告中已呈現 D0、M1 及 M2 的初步理化數據，顯示 TMFC 於初期階段的場地條件。後續仍將完成： (1)微生物群落結構分析(包括 16S rRNA 定序與功能性基因動態監測)。 (2)三氯乙烯(TCE)降解速率與降解產物檢測。 (3)電壓輸出與功能基因豐度變化的長期關聯性分析。 上述結果將於期末報告中詳述，以呈現完整的 TMFC 生物復育效能。 **2.關於 TMFC 系統與微生物策略的調整與優化** 針對現地含氯污染地下水的複雜條件(TCE 濃度波動、共存污染物、ORP 變化)，本計畫已採取以下措施： (1)優化電極材質與配置，以提升導電性與生物膜附著穩定性。 (2)引入富集型接種源(甲烷氧化菌與硫酸鹽還原菌混合群落)，增強降解潛力。 (3)建立監測機制，隨時依現場條件調整操作模式。 上述策略可克服實地環境挑戰，提升 TMFC 系統適應性。

強？	**3.關於難以純培養微生物的研究挑戰** 甲烷氧化菌及其伴隨硫酸鹽還原菌群難以單一培養，確實是研究挑戰。本計畫採用以下因應方式： (1)以 MFC 共培養或富集培養方式維持其代謝互作。 (2)使用分子生物學技術(qPCR、宏基因組分析)追蹤其群落動態。 (3)應用 FISH 進行空間定位，確定群落分布與互作模式。 這些分析技術能夠在不需純培養的情況下，揭示微生物群落功能與交互作用。 **4.關於 T2 組顯示活性最強之原因** qPCR 結果顯示，T2 組在甲烷代謝、硫酸鹽還原、氫氣產生與 TCE 降解相關功能基因均有較高豐度。其原因可能包括： (1)操作條件最適化：T2 組的營養與電子受體供應比例較佳，利於甲烷氧化菌與硫酸鹽還原菌協同作用。 (2)微生物群落穩定性高：T2 組中形成較完整的生物膜結構，促進電子傳遞效率。 (3)降解機制協同效應：甲烷氧化提供中間代謝物，促進脫氯菌與 SRB 利用，形成多層次的代謝網絡。 本團隊除依審查委員所提建議進行說明，後續將於期末報告中補充完整數據，以利全面檢視本計畫成效。
委員四 採集自泥火山土壤之菌種接種至 MFC 後能長期存活及維持活性是現場運用之關鍵	感謝審查委員提醒與建議。本計畫團隊確實認知到，將採集自泥火山土壤之菌種接種至 MFC 後，能否長期存活並維持降解活性，是未來現場應用的關鍵挑戰。針對此問題，本團隊提出以下因應策略如下： 1.菌種選擇與富集：已針對泥火山樣本中具甲烷氧化與硫酸鹽還原潛力的群落(如 ANME、甲烷氧化菌及 SRB)，進行功能基因檢測，優先篩選出具穩定代謝活性的群落進行接種。 2.操作條件優化：在 MFC 系統中維持與泥火山環境相近的 pH、ORP 及電子受體供應條件，藉

	以降低菌群適應成本，延長其在人工系統中的穩定性。 3.生物膜形成機制：鼓勵接種菌群於電極表面形成生物膜，藉此提升抗逆性與長期附著能力，同時穩定電子傳遞效率。 4.監測與調控：透過 qPCR、FISH 等技術，定期追蹤菌群結構與功能基因表現，若偵測到群落活性下降，將透過補充富集源或調整操作條件進行調控。
委員五 **1.** 請確認自籌款數字是否正確 **2.** 建議應多考量未來實際應用時現場環境與水質參數對本計畫開發技術的影響應提供計劃書審查意見作為對照	感謝審查委員指正，本報告自籌款數字為誤植，應為 0，已修正。另外，關於審查委員對於現場環境與水質參數對技術影響之考量建議，本計畫在設計與執行過程中，已注意到未來實際應用時，場址環境與地下水水質參數對 TMFC 技術表現的影響。除期中報告已呈現初步理化數據外，後續將加強以下面向之分析與驗證： 1.氧化還原電位(ORP)之 6 個月監測記錄並評估其對甲烷氧化菌與脫氯菌群落活性的影響。 2.探討總溶解固體(TDS)與導電度對電極電導率及微生物電子傳遞效率的影響。 3.共存化合物與競爭性電子受體：例如硝酸鹽、硫酸鹽對 TCE 降解途徑的影響。 希望藉由以上監測與比對，本計畫可提出具實地適用性的技術調整方案，以提升後續推廣應用的可行性。

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	**113 年度**	計畫類型	□先導型 ■研究型 □模場型
計畫類別	□調查 ■整治 □其他	主持人：許晁慕	NO：R11
計畫名稱	以嗜甲烷菌和硫酸鹽還原菌群微生物燃料電池系統強化三氯乙烯污染地下水生物復育技術之研發		

審查意見	執行單位回覆
委員一 由導入泥火山來源之微生物群集並結合協同修飾物的微生物燃料電池系統，抑制電子競爭微生物、強化氫相關代謝途徑，並達成 TCE 的還原脫氯，所使用的材料包括泥火山噴出泥與生物碳，未來在應用時，變異性較大，因此後續應關注於噴出泥的品質採集問題與品質管控；生物碳來源、特性差異大，亦有類似問題。	感謝審查委員建議。經本團隊的研究成果顯示，泥火山微生物群集與生物炭是驅動 TMFC 系統效能的核心要素，在未來推動技術應用與擴散時，建立明確的材料品質標準、採集流程及穩定性評估，是必要且可行的方向。 針對兩項材料特性，本研究後續將著重： **1. 泥火山噴出泥之品質採集與控管** 本研究證實火山泥具專屬微生物組成與功能，目前正在準備期刊論文發表”Depth Stratification of a Terrestrial Mud Volcano Reveals Specific Microbial Consortia Driving the Methane Sink across SMT Horizons”以提供採樣邏輯的學理依據，以對後續標準化採樣策略，包括採樣地點、深度，並以微生物指標(如：*mmoX*、*dsrA*、*hydA*…等)作為品質穩定度判定標準，確保每批次來源具一致性與脫氯促進效能。 **2. 生物炭來源一致性與特性管理** 生物炭在研究中扮演生物膜棲地與電化學增強的角色，未來將透過了解原料的比表面積、導電性、孔隙度、表面官能基組成等物化指標並限定來源種類(如：竹炭最佳化)以降低材料變異性及不同批次的生物炭對 TMFC 效能具有可預期性。

委員二 建議應針對應用實場環境設計實驗	感謝審查委員建議。本研究展示 TMFC 系統在實驗室與現地初步測試中的良好潛力，針對不同類型受污染場址進行「場址特性導向」的實驗設計，將是下一階段必須強化的方向。本團隊明年度之研究計畫業已通過審核，在該計畫中以選定具代表性的 TCE 污染場址(位於彰化縣為環境部公告的TCE污染場址)進行長期原位測試，以確保系統在真實場址條件下的穩定性、耐受性與操作可行性。後續本團隊將把「實場導向之實驗設計」列為核心發展項目，確保 TMFC 生物強化脫氯技術具有高度應用性與工程價值。
委員三 1. 本計畫研究進度符合預期完成進度,且成果報告內容撰寫完整,具豐富階段性成果,對未來投入模場型計畫亦有助益。 **2.** 為了將 MBZI 技術推向更廣泛的實務應用,建議團隊未來可著重於如何具體地提升此整治技術的技術成熟度,擴展至多氯化污染物的混合污染場域。	感謝審查委員的鼓勵與建議。本團隊於明年度已通過審核的實場計畫中，持續維持目前的研究深化與完整度，延續本期成果中在電化學強化、微生物群集穩定化與 TCE 完全脫氯方面的核心優勢，並將階段性成果整合為可直接支援模場型計畫的操作模式、工程化配置與場址需求評估流程。本研究目標將是 MBZI 系統能提供：(1)**穩定高還原性環境(ORP < −250 mV)。(2)充足電子與氫供應。(3)穩健的還原脫氯菌群與功能基因富集(*vcrA*、*bvcA*、*rdhA*)。**另外，則是建立 TRL 提升路徑，由目前之原位試驗規模，逐步移轉至大型模場與場址整治級操作。委員另外建議未來擴展至多氯化污染物（例如 PCE、1,2-DCA、CT）的混合污染場域，本團隊以此條件作為未來選擇整治場址的依據。未來研究策略將進行下列項目評估：**(1)針對 PCE → TCE → DCE → VC → ETH 的完整鏈反應測試。(2)多污染物競爭脫氯路徑分析。(3)混合污染物脫氯速率提升策略(陽極氫循環增強)。**期待使 MBZI 技術從單一污染物處理，擴展到更具工程價值的多污染物整治應用。
委員四 **1.** 本計畫結合 MFC 與甲烷氧化菌、硫酸鹽還原菌之技術具高度創新性，並具跨領域整治潛力，值得肯定。 **2.** 地下水環境中電子流動與電化學參數不易控	感謝審查委員的鼓勵與建議。1. 本團隊依現地與實驗室資料整合，初步顯示脫氯效率在 0.28–0.45 V 區間最具優勢；未來將進一步建立 V–k 之定量曲線。至於內阻(R_internal)與電子有效利用率之關係：未來將希望透過電化學阻抗分析(EIS，Electrochemical Impedance Spectroscopy)

制，建議宜說明不同電壓、內阻與電流強度對 TCE 脫氯效率之量化關係。 **3.** 有關泥火山菌源具有特殊性，建議宜說明菌相變化與功能性資料庫，以利推廣與異地應用。	量測，使系統被優化至低內阻、高電子利用效率的狀態。藉由電流密度(j)與氫可用性(H_2 availability)關聯式應可預測還原脫氯反應速率，將使未來 MFC 操作可依場址需求精準調控。 至於泥火山微生物菌相特性與功能性資料庫之建置，目前團隊已證實火山泥具專屬微生物組成與功能，目前正在準備期刊論文發表” Depth Stratification of a Terrestrial Mud Volcano Reveals Specific Microbial Consortia Driving the Methane Sink across SMT Horizons”以提供採樣邏輯的學理依據，本計畫團隊所掌握泥火山菌相的特殊性(甲烷氧化菌、SRB、ANME 類群等)，將進完成基因序列資料於美國國家生物技術資訊中心(NCBI)之 GenBank 登錄。本團隊亦建議整合整合 *mmoX*、*pmoA*、*dsrA*、*hydA*、*vcrA* 等功能性基因數據，作為菌源品質與效能指標。
委員五 VC 是 TCE 分解中間產物，圖 11(A)符號是否有誤?	感謝審查委員的提醒。經確認後證實數據無誤，但亦發現本次污染場址調查樣本中，氯乙烯(vinyl chloride, VC)之起始濃度偏高，且其毒性高於 TCE。而在本系統完成設置並開始運作後，現地監測結果顯示 VC 濃度已出現明顯下降趨勢，顯示本系統對於污染物控制具有正向成效。