



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

以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗 (第 1 年)

期末報告定稿

主辦單位： 環境部環境管理署
專案執行單位：國立中興大學／環境教育暨永續科技研發中心
專案主持人：張書奇 副教授
專案執行期間：113 年 11 月 01 日起至
114 年 11 月 30 日止

中華民國 114 年 12 月 印製





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：張書奇 NO：S7	
計畫名稱	以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第 1 年）		
審查意見		執行單位回覆	
委員一 1. 底泥 PCBs 濃度之均一性，對去除率之影響為何？ 2. 可提出本技術適合環境條件或場址之建議。 3. 成果績效皆已達成，成效良好。		委員一 1. 感謝委員指教，底泥 PCBs 濃度之均一性，對去除率之影響為濃度定量時會因為採樣在特定位置而導致巨大差異。在現場採樣時可以有較大量樣品並採四分法減少此不均勻影響，但在實驗室進行少量樣品實驗且連續採樣時無法進行四分法，故必須在實驗前儘量將底泥均勻化，以降低數據嚴重跳動情況。 2. 感謝委員指教，此部分已增列於附件三。 3. 感謝委員肯定。	
委員二 1. 績效自評內容詳盡，有達到設定目標。 2. 降解 PCBs 其過程未完全除氯，分析定量是否恰當，選用總面積來定量與選用特定峰值的差異？ 3. 第二年進行現地試驗，如何將實驗室成果落實到現地，其諸多影響包含污染物濃度分布、環境干擾(含極端氣候影響)、設施配置等，如何克服與評估成效須審慎規劃。		委員二 1. 感謝委員肯定。 2. 感謝委員指教，其實此方法見仁見智，因為較高氯數的 PCBs 同源物可能會因波峰面積隨時間減少，但較低氯數同源物之波峰面積隨時間增加（因厭氧還原而增加），若將所有面積均列入，可能出現完全未隨時間減少，甚至一路升高之情況，並不符合實際情況。在最初選定最高的 5 個波峰面積時，因為可能多屬 5-6 個氯的較高氯數同源物（Aroclor 1254 中 5 個氯之同源物佔約 71.4%，6 個氯者佔約 22%），在降解過程中會隨時間逐漸降低，比較符合真實情況。 3. 感謝委員指教，此部分在第 2 年計畫書中已經有考慮，將採高度底泥均勻化、樣品現地錨定、上下游分開設置等方式克服。	



	詳見 114-115 年計畫之計畫申請書。
委員三 1. 建議補充 Aroclor 1254 脫氯過程之中間產物分析，以確認降解是否真正降低毒性並避免二次污染風險。 2. 請明確說明本研究所稱之「藻類助劑」的實際型態（活藻、乾藻或失活藻），並補充其處理方式與活性狀態，以利釐清其在反應系統中的作用機制。 3. 藻類助劑在實場中可能引發藻類增生或菌群改變之風險未評估，建議補充藻類助劑在實場中是否可能促進其他藻類增生或改變優勢菌群，以及是否已有任何監測與控制措施。 4. 田口實驗出現與文獻相反的低溫最佳結果，但未提出機制解釋，請補充說明為何 15°C 低溫顯示最佳降解效率，並提出可能的機制推測或後續驗證方向。 5. 建議評估藻體投加後對底泥氮、磷、臭味生成、甲烷產量及底泥物理性質的影響，並提出相應風險管理措施。 6. 在摘要中：「以藻類『危』機質之田口試驗結果顯示」，其中「危」字顯然為誤字，且報告中有幾處文字格式及段落格式存在錯誤或不一致，建議修正。	委員三 1. 感謝委員指教，由於本計畫並未提出要針對個別產物進行量化，故未進行。且因 Aroclor 1254 本身同源物種類可能達 209 種，經常檢出可達 70 種，若加上代謝產物，也同樣可能超過 100 種，全部定性且定量（需要標準品及建立檢量線），非本計畫之經費所能承擔，故未考慮進行。 2. 感謝委員指教，本計畫所使用之藻類助劑為死藻，是活藻經破碎、煮沸且過濾後之藻液，此部分在實施方法 4.2 節中補充說明。 3. 感謝委員指教，因為是使用死藻之藻液，無此問題。 4. 感謝委員指教，的確對於微生物降解反應而言，低溫通常不利於生物降解，此部分因為結果較為意外，已經通過重複實驗證實（已進行 2 次田口試驗），可能機制補充說明於 5.3.2 節。 5. 感謝委員指教，因為添加的是藻液，故對於底泥中氮磷增加有限，田口試驗期間並無臭味生成，甲烷產量經實驗證實可以有較低產量，因為是液體物質加入對底泥物理性質的影響有限，故未提出相應風險管理措施。 6. 感謝委員指教，所有文字已重新詳細校對一次。
委員四 1. 成果報告第 36 頁說明，依據本部「110 年化學物質環境流布背景調查及釋放量清冊管理研析專案工作計畫」執行結果，南崁溪全氟烷基化合物(PFAS)、嘉磷塞、短鏈氯化石蠟(SCCPs)、鄰苯二甲酸酯類、多溴二苯醚類及多環芳香烴等化學物質	委員四 1. 感謝委員指教。依據文獻，底泥中多環芳香烴(PAHs)與多氯聯苯(PCBs)之濃度，$\sum_{16} \text{PAHs}$ 與 $\sum_{123} \text{PCBs}$ 具高度相關性，$R = 0.93$ ($p = 0.01$ 水準) (Tian et al., 2013)；在加拿大海岸底泥研究顯示多溴二苯醚類(PBDEs)與 PCBs 在多數底泥場址呈現



濃度偏高,並據此推測南崁溪底泥多氯聯苯(PCBs)濃度應亦是名列前茅,建請補充說明推測依據與化學物質間之關聯性。 2. 本計畫採集南崁溪 3 組底泥樣品,檢出底泥多氯聯苯平均濃度為 0.069 mg/kg,低於底泥品質指標下限值(0.090 mg/kg);另依據歷年底泥品質檢測申報結果,南崁溪底泥多氯聯苯濃度普遍未檢出,顯見南崁溪整體底泥多氯聯苯濃度偏低,未來於下一年度執行現地底泥模場試驗時,其試驗成效可能受到現地底泥多氯聯苯濃度偏低影響,建請說明計畫團隊後續之因應作法與替代方案。 3. 本計畫採集中興大學中興湖及台中市台中公園(淡水)的藻類進行藻種分離與培養,並執行不同藻種之 PCBs 預先降解實驗,最後擇定小球藻作為本次試驗之生物整治助劑。惟考量試驗場址位於南崁溪出海口彩虹橋東南側(淡水/海水),未來執行現地模場試驗時,其藻類及菌種的生長與其 PCBs 降解效能可能受潮汐及海水鹽度影響,建請補充說明相關評估結果及因應措施。	正相關(Kim et al., 2022);在大尺度黑臭河底泥調查中顯示 SCCPs 與 PCBs 存在顯著正相關(Guan et al., 2023);鄰苯二甲酸酯(PAEs)與 PCBs 相關性「不穩定」,常被 TOC/塑膠源主導(Chen et al., 2017)。另全氟烷基化合物(PFAS)和嘉磷塞較無明顯相關性,已修正於定稿中。 2. 感謝委員指教。本計畫為因應此情況,已經於 114 年 12 月 11 日赴場址另行取樣 36 個底泥樣品,目前進行分析中,將釐清情況。如無法獲得高於底泥品質指標下限值(0.090 mg/kg)之現場風化底泥,將全部以添加低濃度底泥替代,藉以檢驗 PCBs 濃度高低對整治效果之影響。 3. 感謝委員指教。由於藻類助劑是死藻藻液,是活藻經煮沸、破碎且過濾後之藻液,並非在場址養殖藻類,故無藻類及菌種的生長與其 PCBs 降解效能可能受潮汐及海水鹽度影響之相關問題。
委員五 1. 有關實驗室最佳條件與現地底泥環境間之差異較大,後續如何有效進行模場之應用可行性,建議應有較為妥適之規劃。 2. 實驗室反應器規模對於模擬底泥質傳阻力、光照、溶氧與毒性等因素,建議應有較為完整之規劃與評估。 3. PCB 高氯化物主要仰賴厭氧脫氯途徑,本計畫研究宜強調說明反應機制或共同代謝作用之探討。	委員五 1. 感謝委員指教。最佳條件為相對低溫培養(15°C)、中性 pH 值(pH 7.0)、低有機質(0.03%)與低藻類基質濃度(50 mg/L),且依照重要性排序為 pH 值>有機質>藻類基質濃度>溫度。而依據上一年度之模場試驗現地底泥 FBK(未進行 ISPIE 操作之添加背景組)之 pH 值介於 6.95 至 7.38 之間,WBK(未進行 ISPIE 操作之風化背景組)之 pH 值介於 7.07 至 7.36,可見最佳 pH 值與現場 pH 值非常相近。且由表 5-6 可見,pH 值為最重要因子,僅需控制 pH 值中性附近即可(略為偏低



亦可）。

2. 感謝委員指教。此計畫之 PCBs 降解實驗僅限於田口試驗，並未組建 PCBs 降解反應器，目前實驗室反應器僅有藻類培養之反應器。這些反應器並未將 PCBs 結合，故並無底泥質傳阻力、光照、溶氧與毒性等因素需要考慮。
3. 感謝委員指教。本計畫的確是應用厭氧脫氯途徑進行高氯數 PCBs 之降解。本計畫並未應用共代謝作用，故未進行相關反應機制探討。



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：張書奇 NO：S7	
計畫名稱	以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第 1 年）		
審查意見		執行單位回覆	
委員一 4. 期中符合計畫書規劃進度。 5. 於期末報告補充說明 PCBs 1254 降解分析的定量方式，並檢附層析圖譜。		委員一 4. 感謝委員肯定。 5. 感謝委員指教，定量方式是以最大的 5 個峰作為定量依據，已補充說明於化學檢驗分析部分，實際圖譜檢附於附件五。	
委員二 4. 目前遭遇之困難點或瓶頸為何？ 5. 成果績效自評未說明期中達成數，其中「促成合作研究」之進度為何？ 6. p.32 進度甘特圖，請明顯標註預定與實際進度。 7. 可嘗試進行經濟效益(含減碳效益)分析。 8. 部分圖表可再放大，以利閱讀，如圖 3-2~3-4 等。另，p.11~文字提及圖 13、14....，表 4.....，與圖表編號圖 3-1、3-2，表 3-1.....不同，請修正。 9. 5.7 結論，可修改為「初步結論」。		委員二 4. 感謝委員垂詢，目前遭遇之困難點或瓶頸是可能現場風化之 PCB 濃度不高，恐無法進行有效之風化組之試驗，已有因應方案，詳見 5.1 節之說明。 5. 感謝委員指教，成果績效自評期中達成數已經補上，促成合作研究部分目前尚在洽談中，預計在計畫結束前可順利達成。 6. 感謝委員指教，進度甘特圖已明顯標註實際進度並說明預定進度。 7. 感謝委員指教，已經就生命週期進行藻類助劑與現行大豆油乳化液之碳足跡計算比較，經濟效益(含減碳效益)分析將儘量於定稿前完成。 8. 感謝委員指教，圖表已修正。內文與圖表編號已經全部修正。 9. 感謝委員指教，此部分亦依據環管署計畫徵求書中要求格式撰寫，恐無法更動。	



委員三 7. 計畫已執行完成底泥採樣及菌群馴養，並持續進行批次降解試驗、藻類批次培養及小型量產測試，整體進度達 50% 以上，符合預期。 8. 本次期中報告採集南崁溪底泥樣品分析多氯聯苯濃度平均值為 0.069 mg/kg，且三樣品均小於底泥品質指標下限值 0.09 mg/kg，與計畫研究團隊先前經赴現場多次採樣結果顯示多氯聯苯濃度可達 1.0 mg/kg 有所差距，建議於報告中補充說明，以避免造成外界誤解。 9. 後續請依預定進度規劃，持續進行並完成藻類培養小型量產測試、TGS 分析和機器學習、模場實驗設施設計及組裝等工作。	委員三 7. 感謝委員肯定。 8. 感謝委員指教，由於現場採樣變數甚多且高疏水性之持久性有機污染物在底泥中分配不均，可導致檢測結果差異甚大。以往在二仁溪進行 BDE-209 採樣時也有類似情形，第 1 次採樣獲得濃度為 21.006 mg/kg（方法偵測極限為 2 µg/kg），第 2 次與第 3 次採樣均為 1.0 mg/kg 以下。已經補充說明於 5.1 節。 9. 感謝委員指教，後須將依計畫預定進度完成計畫。
委員四 4. 第 35 頁之「圖 5-3 Aroclor 1254 預先降解實驗結果」與「圖 5-4 甲烷產生檢測結果」雖屬同一組實驗條件，惟圖表所示採樣終點時間不一致，前者約至第 43 天，後者則延長至第 50 天。文中指出「小球藻+念珠藻」組甲烷產量最高，然而若以第 50 天資料判斷，實際上應為「念珠藻」單一組別濃度較高。建議重新確認圖表所依據之數據與分析邏輯是否一致，並補充完整數據點與統計分析。 5. 參考文獻格式呈現未臻一致，例如 Deselnicu 等人所著文獻之作者排序、期刊標示與其他文獻不符，部分文獻亦缺乏卷期資訊。建議全面檢視並統一引用格式（如 APA、Harvard 或 IEEE），確保學術規範一致性與引用準確性。 6. 報告中多處結果顯示混藻處理組較單一藻種組具有更佳效能，惟在材料與方法段落中，對於混藻組成之配比（如 1:1 或	委員四 4. 感謝委員指教，已修正。「Aroclor 1254 預先降解實驗結果」與「甲烷產生檢測結果」時間點均改為第 42 天，由於每次採樣均有甲烷散失之情形，故以求三角形面積方式估算總甲烷產量，而非以單次測值做為產量高低依據。內文已經依此原則修改。 5. 感謝委員指教，參考文獻之格式全部改為 APA 第 7 版之格式。 6. 感謝委員指教，在本成果報告中，經過修正後純種藻之 CH₄ 產生量較低，混藻之配比都是以乾重等量方式進行考量，培養基為 BG-11，pH 值調為 7.5、溫度為 25°C（空調控制）、光照採用 16W LED 燈泡（6500K, 1920 lm）模擬太陽光照以利藻類行光合作用生長，並以等距照射方式進行，光照時間為 24 小時連續光照。已經補充說明於研究方法 4.3 節。



2:1)、藻體濃度、培養時間及控制變因（如 pH、溫度、光照）等關鍵參數說明不足，導致實驗可重現性與比較性受限。建議補充試驗設計細節，以增強研究方法的透明度與學術嚴謹性。

委員五

4. 本計畫以負碳技術進行底泥整治之評估，建議宜進一步針對負碳成效進行評估，以利釐清後續技術應用之可行性。
5. 根據目前南北不同河川底泥樣品之分析結果，不同底泥特性之影響因素為何？後續是否擴大應用之限制？有何建議方案？

委員五

4. 感謝委員指教。此部分已經針對本藻類助劑與傳統大豆油乳化液進行產品生命週期碳足跡計算比較，結果顯示藻類助劑碳足跡為負值，請參考 5.8 節說明。
5. 感謝委員指教。依據二仁溪與南崁溪底泥特性，可知二仁溪上游為田寮，附近有月世界，其地質以泥岩為主，因此二仁溪下游底泥仍有許多矽粒與黏粒；南崁溪則是以砂粒為主且河床上礫石滿布且厚度相當厚，矽粒與黏粒相當少。此種情況可致底泥中有機質比例不同（二仁溪較高），容易蓄積污染物，所以二仁溪中 POPs 濃度普遍偏高；南崁溪即使中上游污染嚴重且歷史悠久，卻不容易存留 POPs 污染物。二仁溪可能在應用底泥整治技術上較容易有較佳效果，南崁溪可能效果較不顯著。建議方案為針對容易蓄積 POPs 污染之河川底泥應進行整治，對於不易蓄積之河川底泥應監測河口與出海口附近海洋底泥中污染物之濃度，以免形成環境生態危害，經由食物鏈，進而導致人體健康風險升高。



(空白頁)



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：張書奇 NO：S7	
計畫名稱	以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第 1 年）		
審查意見		執行單位回覆	
委員一 1. 如何鑑定藻類有助於多氯聯苯降解的驗證方法？ 2. 所規劃模場場址合適性，場址活動變異是否會影響？		委員一 6. 感謝委員指教，此問題至少有以下 4 種方式可供探討。 a. 依目前實驗設計方法，直接有添加藻類（有藻且有降解菌）、無添加藻類之對照組（無藻且有降解菌）、無添加藻類之死菌對照組（無藻但有降解菌之 kill control）以及空白組（無藻且無降解菌），但此方法是以邏輯推論，並非直接證據。 b. 藻類培養時加入放射性同位素 ^{14}C 之 CO_2 進行培養，可追蹤 <i>Dehalococcoides</i> 、 <i>Dehalogenimonas</i> 、 <i>Dehalobacter</i> 等菌屬中是否有 ^{14}C 存在於其菌體中，但必須申請放射性同位素之實驗室且實驗同學及本人依法規並須完成相關訓練及計畫變更，目前窒礙難行，且此證據仍屬間接證據。 c. 可以同位素分餾法 (isotopic fractionation) 進行藻類之 $\delta^{13}\text{C}$ 與 <i>Dehalococcoides</i> 、 <i>Dehalogenimonas</i> 、 <i>Dehalobacter</i> 等菌屬之 $\delta^{13}\text{C}$ 之比較，但仍屬間接證據。此技術可能需要使用流式細胞儀 (flow cytometry) 分離特定細胞再進行消化與質譜儀同位素之測定，目前實驗室並無此兩種設備且本計畫非屬國科會計畫，在有限預算下難以執行。 d. 可嘗試分離可能是主要之還原酶，再以同位素分餾法中測定還原酶中之 $\delta^{13}\text{C}$ ，但此種研究牽涉到微量之蛋白質分離、鑑定與同位素測定，分離部分本實驗團隊可進行，但鑑定與測定可能要動用蛋白質體相關儀器設備（包括軟體）、Time of flight mass spectrometry 等貴重儀器設備，但本計畫不屬國科會計畫，恐難以進行。	



	綜上所言，仍以第 1 種邏輯推論之方式較適合本計畫。 7. 感謝委員指教，考慮污染歷史、水文地質及污染現況等，所規劃場址應屬合適，相關理由可參考計畫書中第 21 頁至第 23 頁。至於場址活動變異是否影響試驗結果，以所研究之目標污染物為持久性有機污染物（高吸附與高疏水性），其特性之一就是不容易受環境條件變更而有明顯差異，其他污染物則較易受到環境變動影響。
委員二 1. P.7-P.8，有關計畫中提到 CO₂ 轉換為藻類之生質有機碳與有機氮的研究，建議可增加說明藻類吸收 CO₂ 的機制與轉化效率評估方法，並針對不同藻種在 CO₂ 吸收與轉化能力上的差異進行系統性比較，以利後續篩選最適合的藻種作為生物整治助劑，對於負碳技術的開發具有重要意義。 2. P.21-P.22，有關本計畫中提及機器學習分析實驗室與現場整治之相關參數資料，但針對數據前處理與模型建置的細節說明不足，建議可補充說明數據清洗、特徵工程等前處理流程，以及模型選擇的依據與評估指標，有助於提高機器學習模型的準確度與可解釋性。 3. P.25-P.26，關於模場試驗的部分，雖已說明採樣與監測方法，但對於不同環境條件(如溫度、pH 值等)對整治效果的影響探討較為有限。建議可增加環境因子對整治效果影響的系統性研究，並建立相關參數與整治效果之間的關聯性分析，以優化現場應用條件。	委員二 1. 感謝委員指教，藻類吸收 CO₂ 為有機碳與固氮之機制已經補充說明於第 17 頁。轉化效率說明見第 18 頁。完整系統性評估方法目前相當欠缺，可能只能由部分傳輸子相關基因進行 qPCR 檢測推估，實際定量 mRNA 或是相關傳輸子蛋白之挑戰性仍高。 2. 感謝委員指教，有關本計畫中之機器學習實驗室與現場整治相關參數資料部分，已針對數據前處理與模型建置的細節加強說明於第 1 年執行方法中（執行方法 1 之 D 之(4)）。 3. 感謝委員指教，不同環境條件之影響是在第 1 年計畫已經完成並且確認，所以第 2 年現場試驗將依照第 1 年之最佳條件進行現地模場試驗，不再設定不同環境條件，而是以現地環境條件但不同助劑或是工法進行比較試驗，但是試驗期間的水質參數均會繼續進行監測。
委員三 1. 迴避	委員三 1. 因委員迴避，故未回覆審查意見。
委員四 1. 無。	委員四 1. 因委員無意見，故未回覆審查意見。
委員五 1. 實驗室試驗條及模場設計宜對應污染現場。	委員五 1. 感謝委員指教，第 1 年之實驗室試驗條件是考量所有場址之環境條件變動範圍，尋求最佳之整治條件，於獲得最重要控制因子及其最佳條件後，再於第 2 年計畫中將此條件以不同工法應用於現地模場試驗。此方式應已經對應污染現場實況。



委員六 1. 本案結合生物技術與負碳概念，對應 2050 淨零排放與污染整治需求，具前瞻性，予以肯定；惟建議加強說明更多具體應用案例獲國內外相關技術實例，以說明本案的市場潛力與效益。 2. 建議可針對本案後續可能面臨之挑戰進行說明，並提出應對措施。 3. P.20 內文中，「(4)離子分析：...底泥中 DO、ORP 與 pH 測定方法則是以採樣 6.0 ml『瑜』離心管...」應屬誤繕，請修正。	委員六 1. 感謝委員肯定與指教，有關加強說明更多具體應用案例獲國內外相關技術實例部分，已經補充說明於文獻回顧部分，目前藻類於環境工程應用大多仍局限於廢水處理相關應用。至於土壤及地下水應用，本團隊應屬目前唯一團隊。有關本案的市場潛力與效益因目前尚缺乏完整數據，將於期末報告時說明。 2. 感謝委員指教，針對本案後續可能面臨之挑戰，將嘗試於期中與期末報告中加強說明。 3. 感謝委員指教，已修正。
委員七 1. 本計畫具有實場應用價值。 2. 建議企業應該考慮投入資源，例如人力、材料等。	委員七 1. 感謝委員肯定。 2. 感謝委員指教，本計畫目前尚未邀請企業加入，考慮於第 2 年計畫邀請業界加入合作，屆時會請業界廠商投入人力、材料等。
委員八 1. 藻類助劑應用於降解 TCE 之效率?與降解 PCB 之藻種和機制是否類似?	委員八 1. 感謝委員指教，藻類助劑應用於降解 TCE 之效率已經完成試驗且已經申請專利，其效果勝過目前市面上暢銷之三種生物整治助劑。依據文獻，團隊 TCE 降解菌與 PCBs 降解菌相當類似，故預期本計畫應也會有類似之改善效果。
委員九 1. 委外定序費用 90 個*每個 5000 應為 45 萬元，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。	委員九 1. 感謝委員指教，已修正。但因經費刪減較多，可能真正送 TGS 定序之樣本數可能減少，且機器學習效果也可能因為樣本數不足而較差。 2. 感謝委員指教，已修正。



(空白頁)



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：張書奇	NO：S7
計畫名稱	以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗		
審查意見		執行單位回覆	
委員一 1. P.6 研究方法，建議針對藻類篩選標準加以敘述。 2. P.7 及 P.8 內文提及「環保署」，惟環保署已升格為「環境部」，故請修正並重新檢視。		委員一 1. 謝謝委員指教。目前就分離經驗而言，已經成功分離出 5 種純藻，初期篩選標準為生長速率，以生長速率最快之前三種進行甲烷產生量高低比較進行篩選，已經補充敘述於執行方法中。 2. 謝謝委員指教。已經遵照要求修正完成。	
委員二 1. 使用藻類有其特色，但是其優點除了負碳外，負碳材料有許多，對於整治上是否還有其他優點？		委員二 1. 感謝委員指教。使用藻類的優點除了負碳外，尚有以下優點： A. 不須外加 vitamin B ₁₂ ：脫鹵菌需要 vitamin B ₁₂ 作為共同因子，因為藻類（藍綠菌）本身就是工業上萃取 vitamin B ₁₂ 主要來源之一，故可滿足脫鹵菌 vitamin B ₁₂ 之需求。 B. 釋放有機碳之速率慢：因為不是完全水溶性，需要經過水解及發酵再釋放提供脫鹵菌群進行脫氯反應，此種釋放方式恰好為大部分脫鹵菌群所需，因脫鹵菌是屬於 oligotroph（寡營菌），此種菌在低基質濃度下成長佔優勢，藻類助劑之緩慢釋放有利於脫氯反應進行。 C. 甲烷產生量低：在三氯乙烯的生物整治助劑降解實驗中，我們將三種商用之助劑與藻類助劑進行比較，已經證實藻類助劑可以在最短時間內將三氯乙烯完全降解為乙烯且甲烷產生量是最低的。 D. 無須額外添加微量元素：藻體經分解後即可提供微量元素，無須額外添加。	
委員三 1. P.6-8，有關研究方法的可行性，本研究提出使用藻類作為 PCBs 生物整治的助劑是一個創新的想法，然考量到藻類在厭氧條件下的生長特性以及 PCBs 的高疏水性，建議進一步闡明藻類如何在厭氧環境中有效提供碳源及電子給予者。建議增加初步實驗數據來支持這一假設的可行性，以增強研究方法的說服力。 2. P.7-8，有關機器學習應用的具體性研究計劃，		委員三 1. 感謝委員指教。本團隊已經進行藻類研究 7 年以上，已經成功應用於地下水中三氯乙烯之生物降解，證實可勝過當時市面上所有生物整治助劑。有關藻類在厭氧條件下之生長問題，在本計畫書中已經提供以往嘗試將藻類進行暗發酵後物質（發酵產物已經鑑定）、進行滅菌釜處理（vitamin B ₁₂ 可耐 300°C 以上高溫）之藻體、煮沸 30 分鐘藻體以及活藻四種方式，結	



使用機器學習分析實驗室與現場整治的相關數據，於如何具體應用機器學習技術來優化整治技術缺乏詳細說明，建議明確列出將要使用的機器學習算法、輸入數據類型以及預期的輸出結果，以利評估適用性及潛在價值。 3. P.5-6，有關模場試驗的代表性，選擇南崁溪出海口作為模場試驗地點，考量到河口環境的複雜性及變動性，建議說明如何確保模場試驗結果能夠代表更廣泛的污染底泥情況，可考量增加不同環境條件下的對照組，或者討論模場試驗結果的適用範圍和局限性，以提高研究結果的推廣價值。	果顯示煮沸 30 分鐘結果較佳。本計畫擬沿用之前研究成果進行。相關敘述請參見計畫書之第 5-8 頁。 2. 感謝委員指教。已經補充說明於執行方法之第 1 年項下之 D 之(4)。 3. 感謝委員指教。目前設定之組別已經考量風化與新鮮添加之差異與工法之差異。委員之意見非常寶貴，若能增加在不同潮汐條件與周遭環境之差異（即場址位置應不限於 1 處），其研究結果將更有應用性，但囿於模場試驗之場址必須經過桃園市水務局申請、現場會勘、地籍圖申請、桃園市環保局會文及相關行政程序，通常需要約 5-6 個月前置時間進行作業。目前已經無法在提送計畫書之前完成，請委員見諒。此部分將會納入後續計畫中考量。
委員四 1. 建議應針對前期計畫技術後續推進以及與本研究計畫所提技術之相關性與差異進行說明。	委員四 1. 感謝委員指教。前期計畫技術之後續推進詳見附件九，前期計畫與目前計畫之相關性與差異性可參照本計畫書之第十項主要研究人力項下之(一)專案主持人、協同主持人學經歷與相關研究說明—基本資料之本署補助計畫部分之說明。
委員五 1. 團隊前 3 年研究績效自評達成預期目標。 2. 本案延續前期研發成果，聚焦於將可吸收大氣中 CO₂ 之藻類做為多氯聯苯生物降解所需之碳源、電子供給者與 Vitamin B12 來源，達成減碳及循環經濟目標；並且完成模場試驗，同時以人工智慧機器學習掌握關鍵因子。目前研究團隊掌握本案核心技術，且整體研究架構和方法具體明確，應可達成預期目標和成果。	委員五 1. 感謝委員肯定。 2. 感謝委員肯定。
委員六 1. 建議評估避免添加含藻類之厭氧生物整治助劑，因藻類同步被厭氧分解，產生甲烷與二氧化碳，反而增碳排之最佳適用條件。	委員六 1. 感謝委員指教。本團隊已經進行藻類作為地下水中三氯乙烯生物整治助劑相關研究 7 年，此部分已經做過添加與不添加之比較，並與三種生物整治助劑進行比較，結論為添加藻類助劑可在最短時間內將三氯乙烯轉化為乙烯，未添加任何助劑者最慢；而監測甲烷產量之結果顯示，藻類助劑之甲烷產量為最低者。目前三氯乙烯部分成果正申請專利中，屬於國科會計畫成果。
委員七 1. 符合徵求主題。	委員七 1. 感謝委員肯定。



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)		☐ 先導型 ☐ 研究型 ☒ 模場型	
研究主題		☐ 調查 ☒ 整治 ☐ 其他					
申請機構系所		國立中興大學環境教育暨永續科技研發中心					
機構地址		54045 南投縣南投市虎山路3號4樓(郵寄地址:台中市南區興大路145號)					
專案主持人		張書奇		職等/職稱		副教授	
協同主持人		吳俊霖		職等/職稱		教授	
專案名稱	中文	以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗(第1年)					
	英文	A pilot study of sediment remediation based on a carbon-negative enhancer					
	關鍵字	底泥整治、南崁溪、模場試驗、藍綠菌、多氯聯苯、機器學習					
執行期程		自民國113年11月01日起至民國114年11月30日止					
專案主持人		姓名：張書奇		E-mail：shuchichang@nchu.edu.tw		專線：04-22840441#513 手機：0963439170	
專兼任人員		姓名：許綵芬		E-mail：lina640918@gmail.com		專線：04-22840441#507 手機：0916047333	
經費分析總表 (僅模場試驗專案需填寫兩年度金額)	專案預估經費		第一年金額	第二年金額	編列說明		
	1.	人事費用	690,000	690,000	(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	856,300	2,103,600	(與計畫主體相關)		
	4.	其它研究相關費用	43,200	147,400	(含差旅與租賃費用)		
	5.	行政管理費	280,500	519,000	(1~5項相加之15%為限)。計畫徵求書規定雜項費用5%，本校行政管理費10%。		
	6.	自籌款	70,000	70,000	(自行籌備款項)		
	申請補助金額(1~5項)		1,870,000	3,460,000	總金額：5,330,000		
	計畫總金額(1~6項)		1,940,000	3,530,000	總金額：5,470,000		

專案主持人(簽名或蓋章)：_____

日期：114年10月15日



(空白頁)

113 年度專案成果績效自評表

填表日期：114 年 12 月 15 日

一、 專案基本資料

專案性質	☒ 實驗性質 ☐ 非實驗性質	專案類別	☐ 先導型 ☐ 研究型 ☒ 模場型
研究主題	☒ 整治 ☐ 調查 ☐ 其他		
執行機構	國立中興大學環境教育暨永續科技研發中心	專案主持人	張書奇
專案名稱	以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第 1 年）		
專案執行期程	☐ 申請階段 ☐ 期中 ☒ 成果		

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	1	0	1	100%	已投稿國內「土壤及地下水污染整治」期刊 1 篇。
		(2)研討會論文	2	0	2	100%	2025 環工年會蔡姿妤 1 篇、蕭有霖 1 篇，已獲口頭發表。
	2.國外投稿 (篇數)	(1)期刊論文	2	0	1	100%	已完成投稿 1 篇，第 2 篇預計於 2026/5/31 前完成。
		(2)國際研討會論文發表	0	0	0	0	
	3.報告 (篇數)	(1)技術報告	0	0	0	0	
		(2)研究報告	1	0	2	200%	蔡姿妤與蕭有霖各自完成技術報告 1 份。
	4.專著 (本數)		0	0	0	0	
	5.辦理學術會議(場數)	(1)研討/說明會	0	0	0	0	
		(2)成果發表會	0	0	0	0	
		(3)論壇	0	0	0	0	
	6.研發改良技術(項數)	(1)已開發技術	0	0	0	0	
		(2)技術平台	1	0	1	100%	已經完成以藻類為底泥中污染整治助劑之技術 1 項



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)
	7.技術獎項(項數)		0	0	0	0	
B 人 才 培 育	8.研發人員 (人數)	(1)碩士	2	3	3	150%	已 完 成 蔡 姿 妤、蕭有霖與 陳昀聲 3 位碩 士生之培育。
		(2)博士	0	0	0	0	
	9.研究團隊 (個數)	(1)跨領域團隊	1	1	1	100%	已經完成與資 工系吳俊霖教 授組成之跨領 域研究團隊。
		(2)跨機構團隊	0	0	0	0	
		(3)形成研究中心	0	0	0	0	
		(4)形成實驗室	0	0	0	0	
10.其他指標 (請自行命名)		(請自填)	0	0	0		



(二) 產業面

目標達成程度				申請 預估數	期中 達成數	成果 達成數	結案後半年 達成率	備註 (說明未達成原因或專利、技術轉移相關詳細資料)
項目								
A 智慧 財產權	1.專利 (件數)	已 核 准	發明	0	0	0	0	
			新型/設計	0	0	0	0	
			合計	0	0	0	0	
		申 請 中	發明	1	0	0	1	預計於 2026/5/31 前提出。
			新型/設計	0	0	0	0	
			合計	1	0	0	1	預計於 2026/5/31 前提出。
B 研發 技術轉移	2.先期技術 成果移轉	件數		0	0	0	0	
		授權金(仟元)		0	0	0	0	
		衍生利益金 (仟元)		0	0	0	0	
	3.技術移轉 (專利)	件數		0	0	0	0	
		授權金(仟元)		0	0	0	0	
		衍生利益金 (仟元)		0	0	0	0	
	4.技術移轉 (應用技術)	件數		0	0	0	0	
		授權金(仟元)		0	0	0	0	
		衍生利益金 (仟元)		0	0	0	0	
	5.可移轉 產業技術	(1)技術(件數)		0	0	0	0	
		(2)品種/系 (件數)		0	0	0	0	
C 產學研 合作	6.促成合作 研究	件數		1	0	1	1	與裕山公司合作 研究地下水中 TCE 之藻類助劑 實驗工作。
		金額(仟元)		150	0	300	300	預計 2025/11/30 前簽約。
	7.促成投資	件數		0	0	0	0	
		投資金額 (仟元)		0	0	0	0	
	8.促成取得 業界科專	件數		0	0	0	0	
		業界投資金額 (仟元)		0	0	0	0	



目標達成程度		申請 預估數	期中 達成數	成果 達成數	結案後半年 達成率	備註 (說明未達成原因或專利、技術轉移相關詳細資料)
項目						
9.其他指標 (請自行命名)	(請自填)	0	0	0	0	



(三) 政策面

目標達成程度			申請預 估數	期中 達成數	成果 達成數	結案後半年 達成率	備註 (說明未達成原因 或其他詳細資料)
項目							
A 服務 便民	1.技術服務	次數	4	2	4	4	此技術服務是指 接受外界委託檢 測樣品的費用。
		收入(仟元)	100	50	146	146%	
	2.諮詢服務	次數	5	2	5	100%	
		收入(仟元)	0	0	0	0	屬免費諮詢
B 政策 推動	3.協助政府推動 (件數)	(1)政策	0	1	1	1	參加土基會之專 家諮詢委員會1 次。
		(2)法規	0	0	0	0	
C 技術 效益	4.整治技術提升(%)		10	0	44.9	>100%	與原始未添加之 效率相比，提升 4.49 倍。
	5.整治成本降低(%)		10	0	10	100%	與一般商用助劑 之價格比較，此 部分絕對可以 做到，因為是將 廢棄物回收再利 用，定價有相當 大彈性。
	6.提升能源效率(%)		0	0	0	0	
7.其他指標 (請自行命名)		(請自填)	0	0	0	0	

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. 預期每年計畫可投稿國際期刊 2 篇、國內期刊 1 篇，參與國內研討會發表論文 2 篇。 2. 預期每年計畫可培育 3 名碩士生(張書奇老師 2 位、吳俊霖老師 1 位)、至少 1 名大學專題生。
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. 預期全期 2 年計畫申請發明專利 1 件。 2. 洽談產學合作計畫 1 件，開發以藻類為主之碳負型生物整治助劑並應用於地下水場址
政策面(如整治費用降低、特定污染物整治效益提升、或提供政府作為監測/管制標準、污染址管理等政策及法規研訂之參考)



1. 務實改善底泥整治程序，預計降低 10%成本（以添加商業用助劑與添加本計畫之助劑較）並提升 10%處理效率（以有添加與無添加之差異比較）。

2. 增進本土底泥整治技術提升，對政策擬定與技術創新有正面的助益。

四、主要研究人力

請依照「專案主持人」、「協同主持人」、「專任人員」、「兼任人員」及「臨時工」等類別之順序分別填寫

姓名	服務機構/系所	職稱	在本研究專案內擔任之具體工作性質、項目及範圍	執行期間
張書奇	國立中興大學/ 環境教育暨永續科技 研發中心	副教授/ 主持人	在本專案內擔任之具體工作為負責計畫綜整、研究構想、指導及監督研究人員進行模場試驗設施之設計施工監造、安裝等。並指導相關實驗、數據分析與論文寫作、工作報告、期中及期末成果報告撰寫等。	20%
吳俊霖	國立中興大學/ 資訊科學與工程學系	教授/協 同主持人	與計畫主持人張書奇共同執行南崁溪污染底泥整治模場試驗計畫，負責人工智慧之機器學習工作項目並協助研究指導及監督研究人員進行相關資料分析，協助完成數據分析、論文寫作及成果報告撰寫。	20%
蕭有霖	國立中興大學/ 環境工程學系	兼任 助理	底泥 PCBs 之生物分解菌群馴養、樣品之前處理，如快速萃取、PCBs 之 GC-ECD 分析操作學習及實際操作並協助資料分析等。	50%
許綵苓	國立中興大學/ 環境工程學系	兼任 助理	負責初期末底泥採樣與模場設施相關工作，如租車路線安排、潮汐調查、12 英吋 PVC 管與 1.5 吋鍍鋅鋼管之購買裁切、鑽孔、切縫，1.25 吋管帽加工與黏接、現場施工、鋼管錨定、鋼索繫留裝置、現場旗標設立，告示牌製作與設立。	50%
張宜盈	國立中興大學/ 資訊科學與工程學系	兼任 助理	負責人工智慧之機器學習工作項目之實際執行工作，如程式撰寫、學習案例提供、程式校正、結果分析等。	50%
	(以下空白)			



五、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)	



(空白頁)



研究成果中文摘要

工業發達國家之底泥污染情況相當普遍，河川下游之底泥與河口附近海水底泥均已遭受嚴重污染，其中尤以疏水性有機物及重金屬污染最為嚴重，而台灣之底泥污染物檢測濃度在全世界相關文獻報導中屢屢名列前茅。如二仁溪與南崁溪底泥中之多氯聯苯（polychlorinated biphenyls, PCBs）。這些污染物藉由食物鏈破壞生態系及影響人體健康，急需發展經濟有效之整治技術。近年來，國際間研究已經顯示厭氧生物整治因會產生溫室效應相當高的甲烷氣體，而被視為較不永續之整治技術，且循環經濟與 2050 淨零排放議題甚囂塵上，本年度計畫則是採用本土優養化藻類作為生物整治助劑進行底泥中 Aroclor 1254 污染整治技術研發，並結合人工智慧之機器學習技術，將整治技術研發所產生之大量數據進行機器學習，有助於現場整治技術提升，一舉達成循環經濟、永續整治、減少碳排與優養化整治的多重目標。本計畫為 2 年期計畫，第 1 年計畫為實驗室規模，第 2 年為現地模場試驗。目前執行進度均符合預定期程。以目前成果而言，以藻類為助劑之田口試驗結果顯示：以小球藻為助劑下，最佳條件為低溫培養（15°C）、中性 pH 值（pH 7.0）、低有機質（0.03%）與低藻類基質濃度（50 mg/L），且以 pH 值影響最顯著。功能性基因 *rdh12* 與 Aroclor 1254 移除率相關性最高，可做為後續模場試驗之指標。降解表現最佳的 G1 可以少數優勢菌群，在低多樣性條件下達成最佳降解效率；對菌群結構影響最大菌種為 *Citrobacter freundii* 8090，其次為 *Desulfomicrobium norvigecum*，再其次為 *Trichococcus patagoniensis*。對菌群結構影響最大之環境因子為底泥有機質，其次為 pH 值。由功能預測可知中性偏低 pH 值有利於木質素分解與芳香族化合物降解。機器學習以 LASSO 模式之表現最佳，其訓練階段與測試階段之 R^2 、均可達 1.00000，其次為 Elastic Net，重要性最高前 20 名菌種中除 *Stutzerimonas chloritidismutans*、*Stutzerimonas stutzeri* 及 *Enterobacter soli* ATCC BAA-2102 可能與 PCBs 降解直接相關，其他菌種多為發酵產氫菌與產酸菌。藻類助劑相較以往之大豆油乳化液，不僅具備較低的生命週期碳排放量，且能協助解決優養化問題並實現循環經濟，具發展潛力與實務應用價值。第 1 年計畫預期產出 2 篇 SCI 期刊論文，2 篇研討會論文，其中 2 篇研討會論文已經完成 2025 環工年會投稿並獲口頭發表，2 篇 SCI 期刊論文預計在 2026/5/15 前完成。

關鍵詞：底泥整治、南崁溪、模場試驗、藍綠菌、多氯聯苯、機器學習



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

研究成果英文摘要

Sediment pollution is widespread in industrialized regions. Sediments in the lower reaches of rivers and near estuaries are often severely contaminated, with hydrophobic organic compounds and heavy metals being the most prevalent pollutants. In Taiwan, sediment contamination levels consistently rank among the highest reported worldwide. For instance, polychlorinated biphenyls (PCBs) have been detected in the sediments of the Erren and Nankan Rivers. These pollutants pose serious threats to ecosystems and human health through bioaccumulation in the food chain, highlighting the urgent need for cost-effective remediation technologies. Recent international studies have shown that anaerobic bioremediation, although effective, is considered less sustainable due to methane emissions, a potent greenhouse gas. Meanwhile, the concepts of a circular economy and the global 2050 net-zero emissions target have gained increasing attention.

This project aims to develop a remediation technology for Aroclor 1254-contaminated sediments using native eutrophic algae as bioremediation adjuvants. By integrating artificial intelligence and machine learning, large datasets generated during the remediation process will be analyzed to optimize field-scale applications. The proposed approach simultaneously addresses multiple goals: promoting a circular economy, achieving sustainable remediation, reducing carbon emissions, and mitigating eutrophication.

This two-year project involves laboratory-scale experiments in the first year and field trials in the second year. Progress to date is on schedule. Preliminary Taguchi experiments using algal biomass identified optimal conditions for *Chlorella vulgaris* as an adjuvant: low temperature (15 °C), neutral pH (7.0), low organic matter content (0.03%), and a low algal substrate concentration (50 mg/L), with pH being the most influential factor. Functional genes *ardA* and *rdh12* correlated strongly with Aroclor 1254 removal rates and can serve as indicators for future field applications.

Among tested algal biomasses, G1 demonstrated the highest degradation efficiency under low-diversity conditions dominated by a small bacterial population. The key bacterial species influencing community structure were *Citrobacter freundii* 8090, *Desulfomicrobium norvegicum*, and *Trichococcus patagoniensis*. Environmental factors shaping biomass composition were primarily sediment organic matter, followed by pH. Functional prediction analyses suggested that neutral to slightly acidic conditions favor lignin decomposition and aromatic compound degradation.



摘要

Among the machine learning models tested, the LASSO model performed best, achieving an R^2 of 1.0000 in both training and testing phases, followed by the Elastic Net model. Of the 20 most influential bacterial species, *Stutzerimonas chloritidismutans*, *Stutzerimonas stutzeri*, and *Enterobacter soli* (ATCC BAA-2102) are potentially involved in PCB degradation, while most others are hydrogen- and acid-producing bacteria.

Compared with conventional soybean oil emulsions, algae-based additives offer lower life-cycle carbon emissions and help alleviate eutrophication, demonstrating strong potential for practical application within a circular economy framework.

In this first project year, two SCI-indexed journal articles and two conference papers are planned. Two conference papers have already been submitted and presented at the 2025 Environmental Engineering Annual Meeting, and the two SCI papers are expected to be completed by May 15, 2026.

Keywords: Sediment Remediation; Nan-Kan River; Pilot study; algae; Polychlorinated biphenyls; Machine learning.



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

（空白頁）



目 次

報告大綱 1

第 1 章. 前言	3
第 2 章. 研究目的	9
2.1...技術原創性	9
2.2...技術重要性	10
2.3...技術影響性	10
第 3 章. 文獻探討	11
3.1...優養化相關研究	11
3.2...藻類吸收 CO ₂ 與固氮機制	12
3.3... 碳濃縮機制 (CARBON CONCENTRATING MECHANISM, CCM)	13
3.4...厭氧生物整治相關研究	14
3.5...循環經濟相關研究	15
3.6...綠色永續整治相關研究	17
3.7...負碳型基質相關研究	18
3.8...模場試驗背景說明	18
第 4 章. 研究方法與過程	23
4.1...底泥採樣與菌群馴養	23
4.2...模擬底泥中 PCBs 降解之預先實驗與田口批次試驗	24
4.3...以藻類為基礎之負碳型厭氧生物整治助劑開發與應用	27
4.4...實驗室分析	28
4.5...機器學習	31
4.6...成果發表	33
4.7...工作進度與甘特圖	34
第 5 章. 結果與討論	35



5.1...底泥採樣分析與菌群馴養.....	35
5.2...PCBs 之預先降解實驗.....	37
5.3...PCBs 之田口批次降解實驗.....	38
5.3.1.PCBs 之田口批次降解實驗之水質參數變化.....	38
5.3.2.PCBs 之田口批次降解實驗之 PCB 移除率與降解速率常數...	38
5.3.3.PCBs 之田口批次降解實驗中甲烷產量變化.....	41
5.4.. 田口批次實驗的 QPCR 結果與討論.....	42
5.5.. 藻類批次培養實驗.....	45
5.5.1. 不同照度下藻類批次培養.....	46
5.5.2. 不同氮磷比下藻類批次培養.....	47
5.5.3. 不同 CO ₂ 濃度下藻類批次培養.....	47
5.6.. TGS 結果與討論.....	49
5.6.1. 菌種豐度討論.....	49
5.6.2. ALPHA 多樣性.....	51
5.6.3. BETA DIVERSITY.....	52
5.6.4. 菌種相關性討論.....	53
5.6.5. 環境因子對菌相結構影響.....	56
5.6.6. 功能預測討論.....	57
5.7.. TGS 資料之機器學習.....	58
5.7.1. 機器學習成果.....	59
5.7.2. 關鍵菌種討論.....	61
5.7.3. TGS 資料機器學習在土水整治之擴大應用.....	65
5.8.. 生命週期碳排放量比較.....	65
5.9.. 本技術與以往技術之差異說明.....	66
5.10. 本專案衍生技術專利延續辦理情形.....	70
5.11. 結論.....	71
5.12. 主要建議意見及未來或後續執行建議.....	72



圖 次

圖 1-1 ISPIE/BiRD 技術示意圖(Chang et al., 2019a).....	4
圖 1-2 中國與美國均發生嚴重藻華事件，美國學者在中國太湖採樣(a)、青島藻華事件 (b)、美國民眾因水源優養化搶購瓶裝水(c)及美國伊利湖優養化之情形(d)	5
圖 1-3 環境因子對菌相結影響之冗餘分析(Cheng et al., 2023).....	6
圖 2-1 各國氣候變遷績效指標(CCPI)	9
圖 3-1 環境中磷之養份循環(Miller & Spoolman, 2010).....	11
圖 3-2 藻類固定 CO ₂ 途徑(Madigan et al., 2019).....	12
圖 3-3 藻類固氮之途徑(Madigan et al., 2019).....	13
圖 3-4 厭氧情況下之 PCBs 可能生物分解路徑(Borja et al., 2005)	15
圖 3-5 好氧情況下之 PCBs 可能生物分解路徑(Borja et al., 2005)	15
圖 3-6 CE 之不同定義的涵義	17
圖 3-7 近五年南崁溪污染趨勢圖：大檜溪橋 (a)、南崁溪橋(b)及竹圍大橋測站(c)	19
圖 3-8 南崁溪流域與模場試驗預定場址（摘錄自Google.com 並加以標示）	19
圖 3-9 桃園台地群相關位置(a)與區域地質圖(b) (中央地調所，2000).....	20
圖 4-1 CO ₂ 吸收量之實驗設備架設	27
圖 4-2 本計畫甘特圖	34
圖 5-1 民國 112 年 10 月於南崁溪進行底泥採樣情況.....	35
圖 5-2 南崁溪底泥顆粒粒徑分析結果.....	36
圖 5-3 Aroclor 1254 之預先降解實驗結果.....	37
圖 5-4 預先降解實驗甲烷產生量檢測結果.....	37
圖 5-5 田口降解實驗 Aroclor 1254 檢測結果	40
圖 5-6 Aroclor1254 去除率的因子反應圖.....	40
圖 5-7 甲烷生成濃度變化圖	41
圖 5-8 甲烷產量的因子反應圖	41
圖 5-9 田口批次實驗的 qPCR 結果	44
圖 5-10 藻類批次培養實驗裝置	45
圖 5-11 藻類批次培養之進出口 CO ₂ 監測結果	46
圖 5-12 藻類生質量增加情形	46
圖 5-13 不同照度下藻類質量增加情形	47
圖 5-14 藻類生質量增加情形	47
圖 5-15 不同 CO ₂ 濃度下藻類生質量增加情形	48
圖 5-16 相對豐度前 10 名的菌種占比圖	49
圖 5-17 本田口批次試驗之 SI (a)、OF (b)與 PE (c).....	51
圖 5-18 本田口批次試驗值主成分分析	52
圖 5-19 批次試驗之主成分分析之因子負荷	53
圖 5-20 批次試驗之高豐度菌種相關性之群集分析圖	55
圖 5-21 環境因子影響之 CCA 圖	56



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

圖 5-22 功能預測圖	57
圖 5-23 五折交叉驗證	59
圖 5-24 LASSO 在訓練(a)與測試(b)階段、Elastic Net 在訓練(c)與測試(d)階段以及 GPR 在訓練(e)與測試(f)階段的預測值與實際值線性迴歸圖	60
圖 5-25 LASSO 之 ASVs 數目與預測之累積 R^2 圖	61
圖 5-26 LASSO (a)與 Elastic Net (b)的特徵重要性 Top 20 ASVs	63
圖 5-27 不同粒徑玻璃砂之出流質量圖	71



表 次

表 1-1 底泥中常見的鹵化有機污染物之物化特性	3
表 3-1 藍綠菌與真核藻類之 CCM 因子之比較	14
表 3-2 α -cyanobacteria 與 β -cyanobacteria 之比較	14
表 3-3 文獻中 PCBs 污染物生物整治相關之文獻(Šrédlová & Cajthaml, 2022)	16
表 4-1 預先降解實驗的實驗組別	24
表 4-2 田口方法實驗設計之 $L_9(3^4)$ 直交表	25
表 4-3 PCBs 降解實驗之 PCR 引子對	25
表 4-4 PCBs 生物分解菌群 qPCR 所使用升溫程序	25
表 5-1 本計畫進行南崁溪底泥採樣分析結果 (單位: mg/kg)	36
表 5-2 預先降解實驗結果排序	37
表 5-3 反應前後之水質參數變化	38
表 5-4 降解最佳前三組的田口實驗條件	39
表 5-5 Aroclor 1254 移除率與降解速率改善程度	40
表 5-6 田口實驗 4 個因子對去除率之影響排序	40
表 5-7 甲烷生成量排序表	42
表 5-8 甲烷生成量因子影響程度	42
表 5-9 各組在實驗前中後的 Dhc/BAC 的比例值	43
表 5-10 各組在資料處理後回歸分析 R^2 值比較	45
表 5-11 小球藻在不同二氧化碳濃度下的二氧化碳固定量及二氧化碳固定率	48
表 5-12 二氧化碳固定數據和前人之比較	49
表 5-13 豐度 Top 10 菌種之功能性描述	50
表 5-14 四種不同 ML 模式之訓練及測試結果之比較	60
表 5-15 在四種不同學習模式前 20 名中重複菌種	64
表 5-16 助劑之二氧化碳當量計算	66
表 5-17 本實驗室所發展技術成本效益說明	68
表 5-18 本研究團隊執行本專案衍生之專利辦理情形	70
表 5-19 立即可行建議意見及未來或後續執行建議	72
表 5-20 中長程建議意見及未來或後續執行建議	73



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

附件次

附件一 TGS 資料分析步驟

附件二 檢測原始資料

附件三 各項技術之適用情況及其優缺點

附件四 不同污染物之解決方案及其相關事項

附件五 Aroclor 1254 之 GC 圖譜



報告大綱

本報告為執行環境部環境管理署「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」項下「以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第 1 年）」之期末成果報告，本報告分為計畫成果摘要與計畫報告本文兩大部分。計畫報告本文下分五章說明，即前言、研究目的、文獻探討、研究方法與過程、結果與討論；於第五章之後為參考文獻與附件；專案成果績效自評表置於專案基本資料表之後。



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

（空白頁）



第1章. 前言

章節摘要：本章主要針對計畫之背景進行說明，共分為河川底泥重要性、研發技術原因、計畫主要方法與計畫經費期程進行簡要說明。

鑑於台灣土水整治市場漸趨飽和，土壤及地下水整治相關技術日趨成熟，未來國際土水市場可能以底泥整治技術為重點研發領域，且底泥污染物多屬於持久性有機污染物 (persistent organic pollutants, POPs)，POPs 之毒性高、污染持久且生物濃縮因子高，且由污染進入食物鏈之循環時間較短 (shorter cycling time)；尤其台灣近海水產養殖興盛，食物源頭可能在短時間受到暴露污染，對人體及環境風險高。基於以上因素，底泥污染整治技術研發是刻不容緩之事，且底泥整治技術具有較高之跨環境介質與跨污染物應用潛力，故本實驗室致力於底泥中持久性有機污染物之複合型整治技術研發。

本研究之主要目的在於如何一舉將優養化控制、循環經濟 (藻類生物質廢棄物轉化為生物整治助劑)、底泥 POPs 污染永續整治與 2050 淨零排放有效達成。本計畫之背景可分為目標持久性有機污染物、厭氧生物整治之溫室效應問題、2050 淨零碳排放與負碳技術需求、優養化藻類及解決方案、藻類之循環經濟、宏基因體學 (metagenomics) 應用於生物整治、機器學習應用於整治研究共七方面，以下依序說明。

本計畫之目標污染物為底泥中之鹵化持久性有機污染物 (halogenated persistent organic pollutants, HPOPs)，HPOPs 特性見表 1-1。其特色為分子量大、密度大、蒸氣壓低、Log K_{ow} 高、水中溶解度極低、 K_H 偏低。此種污染物一旦洩漏，極易吸附於底泥有機質，室溫下多為固體；且因水中溶解度低，不易被降雨

表 1-1 底泥中常見的鹵化有機污染物之物化特性

物化特性	持久性有機污染物				
	HCB	Aroclor 1254	BDE-209	DDT	Lindane
分子量	284.78	328.00	959.2	354.49	290.83
MP (°C)	231	No data	294-296	108.5	112.9
BP (°C)	325	363-390	425	185-187	323
密度(g/cm ³ , 23°C)	2.04	1.54	3.36	1.55	1.85
蒸氣壓(mmHg, 25°C)	1.09×10 ⁻⁵	7.71×10 ⁻⁵	4.63×10 ⁻⁶	2.0×10 ⁻⁷	5.2×10 ⁻⁵
Log K_{ow}	5.73	6.5	10.0	6.51	3.72
水溶解度(μg/L, 20°C)	5.0	6.6	<0.1	1.2	8,200
K_H (atm·m ³ /mol)	5.80×10 ⁻⁴	2.00×10 ⁻³	3.95×10 ⁻⁷	5.9×10 ⁻⁷	5.14×10 ⁻⁷

註：HCB = hexachlorobenzene，六氯苯；Aroclor 1254 為 PCBs 混合物之一種；BDE-209 = decabromodiphenyl ether，十溴聯苯醚；DDT = Dichloro-Diphenyl-Trichloroethane，俗稱滴滴涕；Lindane = γ -hexachlorocyclohexane。



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

冲刷下滲；因 K_H 值偏低，溶於水中的污染物與空氣接觸時也不易逸散到氣相；因蒸氣壓低而蒸發慢；不易溶於水，致生物可及性低，即使有降解微生物，也因溶入水速率成為整體速率之瓶頸步驟。本計畫將針對底泥中多氯聯苯（polychlorinated biphenyls, PCBs）進行負碳型生物整治技術研發。

厭氧生物整治之溫室效應問題說明如下，HPOPs 之整治可分為物化整治與生物整治，物化整治通常較昂貴，生物整治成本較低但耗時較長，環境中 HPOPs 之生物整治大多以厭氧生物整治方式進行。近年來有學者研究顯示：在碳排方面，厭氧生物整治可能排放 CO_2 、 CH_4 與 N_2O 而不如大部分之物化程序。於真正有效之降解菌群如 *Dehalococcoides* (*Dhc*)、*Dehalogenimonas* (*Dhg*) 與 *Dehalobacter* (*Dhb*) 多屬於寡營菌 (oligotrophs)，不適合高濃度碳源(Cheng et al., 2023; Liang et al., 2021)，過多碳源可能助長非降解菌生長，且產生大量 CO_2 與甲烷 (CH_4)；且 CH_4 之全球暖化潛力 (global warming potential, GWP) 為二氧化碳之 28 倍（以 100 年計算）與 84 倍（以 20 年計算）(Shindell et al., 2009)，其生成路徑如圖 1-1。因此，如何有效利用可形成碳匯之物質(如藻類)做為整治助劑並降低溫室氣體生成與排放，並且確保降解菌群豐度是目前永續性生物整治研發的重要課題。

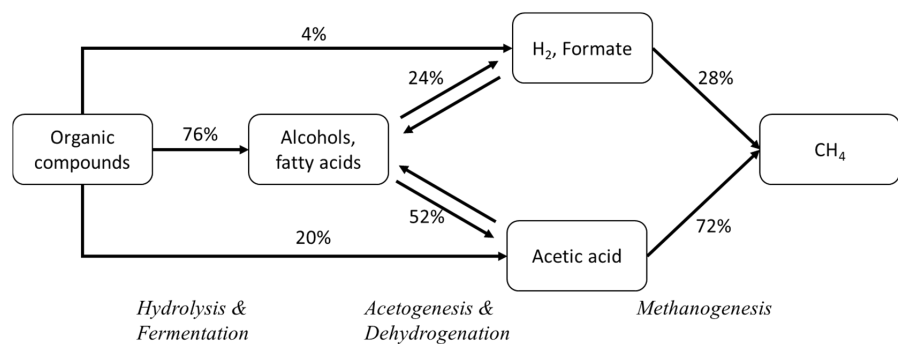


圖 1-1 ISPIE/BiRD 技術示意圖(Chang et al., 2019a)

有關 2050 淨零碳排放與負碳技術需求，目前可以做為削減溫室氣體之主要方式有三，一為負碳，一為碳中和，一為碳捕捉、利用與儲存。負碳指的是所移除之碳大於所產出之碳，碳中和是指移除碳與排放碳達到平衡，可以不同方式達成，如種樹所移除大氣中 CO_2 等於其所排放之碳，即為碳中和；移除大於其所排放之碳，即為負碳，如將生質能用於發電且將發電產生之 CO_2 加以封存，即為一例；生物質 (biomass) 吸收 CO_2 是屬於碳捕捉；將碳封存於地層中，屬於碳封存；而碳利用技術則是將 CO_2 回收做為有價資源進行利用。由於工業排碳降低實屬有限，因此發展負碳技術與碳利用技術達到碳中和成為重要之研究領域，例如利用橄欖石吸收 CO_2 (Kwon et al., 2011)、人造樹（可再生之塑膠吸附劑）淨化空氣中 CO_2 (Shi et al., 2020)、帶有碳捕獲和儲存的生物能源(Vergragt et al., 2011)；利用藍綠菌 (cyanobacteria) 吸收製造水泥、火力發電或是營建時所產出之副產物 CO_2 (Hong et al., 2015)；利用藻類吸收 CO_2 生產人類與動物所需之蛋白質(Hempel et al., 2011)、葡萄糖(Zhang et al., 2023)及燃料(Hannon et al., 2010)；將 CO_2 礦化為



CaCO_3 (Romanov et al., 2015)；將 CO_2 轉化為甲醇、尿素或 CO (Gao et al., 2022)；將 CO_2 轉為乾冰與冷媒 (Giroto et al., 2004)；將 CO_2 做為滅火用氣體等 (Ho et al., 2019)。本研究則是利用藻類吸收大氣中之 CO_2 做為厭氧生物整治助劑，為目前文獻中尚未報導之技術。

優養化可分為自然與人為優養化，自然優養化是降水侵蝕土壤岩石礦物及少量之動物活動所造成；人為優養化是因人口增加與農業工業發達後在自然體系以外所增加之營養份排放造成。其中以氮和磷為主要因子，且尤以磷最為關鍵，因大部分藻類可自行固氮。目前我國本島水庫水質約 48% 為優養化，外島 26 座水庫曾 100% 優養化，有逐年惡化之趨勢。一般優養化之後果為水體水質急遽惡化，可造成嚴重缺氧形成死區 (dead zone)。其中微囊藻更可能釋放微囊藻藻毒 (microcystins) (Visser et al., 2005)，造成魚群暴斃或家畜死亡。若發生在飲用水水源，則增加飲用水處理困難及含毒自來水疑慮。全球各地都曾發生嚴重優養化污染水源情形，例如中國及美國 (如圖 1-2)。目前解決方案中，僅水生植物法 (如人工浮島) 可將水相中之磷移除，與其等植物成熟後再進行移除，何不直接移除大幅生長之藻類？但此舉需投入大量經費，未實施主因就在於無經濟誘因；且移除後之廢棄物處理也是大問題，可能因毒性而無法做為飼料或是肥料使用，也無法做為高價商品之原料。本計畫將以移除之藻類做為底泥生物整治助劑原料，此構想已證實在地下水之三氯乙烯整治為可行方案 (專利申請中)。



圖 1-2 中國與美國均發生嚴重藻華事件，美國學者在中國太湖採樣(a)、青島藻華事件(b)、美國民眾因水源優養化搶購瓶裝水(c)及美國伊利湖優養化之情形(d)

藻類之循環經濟自優養化水體所移除的藻體在無法有效利用情況下，即成為廢棄物處理的問題。目前一般廢棄物進場費已超過 10,000 元/噸；若是有藻毒者，需以有害事業廢棄物清理，目前進場費已經飆漲到 40,000 元/噸 (或 40 元/公斤)，尚未計入運費及其他相關費用。而循環經濟便是將以往線性的從搖籃到墳墓之典範 (cradle-to-grave paradigm) 轉換為迴圈型的從搖籃到搖籃之典範 (cradle-to-cradle paradigm) (Toxopeus et al., 2015)。本計畫所追求之作法是將藻體撈出後進行簡易加工即可投入受污染之底泥中進行厭氧生物整治，維持碳負之標準 (即吸收移除的碳 > 排放的碳)，目前生物整治助劑市售價格約在 600-1,200 元/公斤之間。以本計畫之做法，可將成本約 -40 元/公斤的原料 (收取藻體廢棄物進場費用，故成本為負值) 轉化為至少 +600 元/公斤以上的生物整治助劑產品，的確符



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

合循環經濟之宗旨。此外，藻類不僅可做為還原脫氯微生物生長所需之碳源、電子供給者，且藻類可合成 Vitamin B₁₂，既可做為脫氯菌所需共同因子，也是非生物降解之化學催化劑(Woods et al., 1999)。雖然大部分藻類與藍綠菌所合成的 Vitamin B₁₂ 是 Pseudovitamin B₁₂，但 *Dehalococcoides* (*Dhc*) 具有能夠將 Pseudovitamin B₁₂ 轉化為具有輔酶活性 Vitamin B₁₂ 之生物酶(Lu et al., 2024; Yi et al., 2012)。

宏基因體學 (metagenomics) 應用於生物整治部分，宏基因體學是以直接取得環境中所有遺傳物質之研究，已廣泛應用於醫學、生化燃料、環境整治、農業、生態、腸道微生物表徵等領域(Hugenholtz & Tyson, 2008)。雖然微生物是生物整治成功關鍵，但在無快速高通量定序技術之前，對其菌相所知有限(Techtmann & Hazen, 2016)。定序方法目前分為4代，第1代為桑格法 (Sanger sequencing)，已經不符目前高通量定序之需求；第2代定序或稱次世代定序 (next-generation sequencing, NGS)，有多種技術平台，但是此技術受限於可定序之長度 (450 bp)，在鑑定分類時，往往發生無法精確歸類至科或屬以下之階層。本計畫將利用第3代定序 (third-generation sequencing, TGS) 進行定序，TGS 可對於長度約 1,500 核苷酸的 16S rRNA genes 進行全長定序；進行歸類時，往往可將 97%以上之序列成功分類至種之階層，部分可達菌株。第4代定序則是不再以光學偵測來檢測 DNA 序列擴增時之訊號(Madigan et al., 2019)，目前價格過於高昂。宏基因體學應用於環工的例子有土壤污染(Sagarkar et al., 2014)、廢水處理、油品洩漏、重金屬污染生物整治(Yadav et al., 2017)、地下水污染整治(Chan et al., 2021; Cheng et al., 2023)、底泥污染整治(Chang, Lee, et al., 2019)等。以 TGS 進行環境樣品中全群聚 (whole-community) 之 16S rRNA genes 定序之資料詳盡，可成功歸類之序列數量可達數萬種，且因定序樣品量可達數

百個樣品，此龐大之資料量，需以統計方式進行分析，才能瞭解微生物菌相結構、菌群相互作用、龐雜度、豐度、污染物降解相關性、功能預測及環境因子作用等。以本團隊之地下水 TCE 污染生物降解菌群之微生物群系再造 (MR) 研究為例，將 90 個樣品之 16S RNA 基因定序資料進行環境因子作用分析結果如圖 1-3 所示

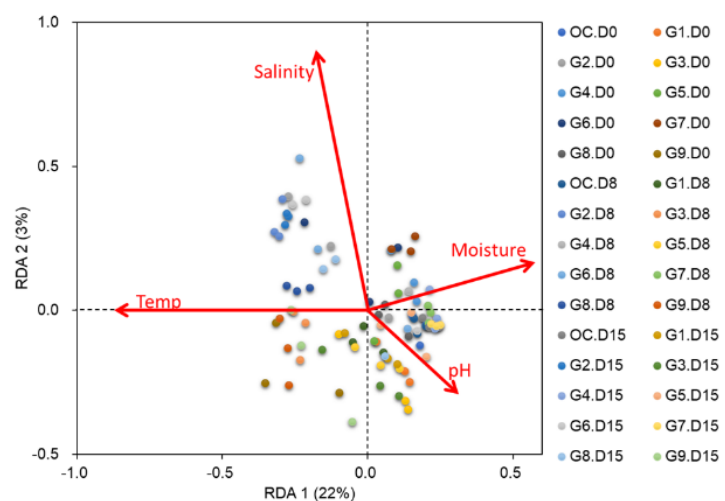


圖 1-3 環境因子對菌相結構影響之冗餘分析

(Cheng et al., 2023)，此結果可確認溫度與鹽度是影響菌相最大的兩個環境因子，



且相互關係近乎獨立。但是在探知何種之菌種組合特別有助於預測污染物降解時，會衍生出機器幾乎無法完成之統計計算量，而人工智慧之機器學習則特別適合此種數據的分析。

機器學習應用於生物整治國際間對於如何以人工智慧進行宏基因體資料進行資料前處理、機器學習、深度機器學習與預測應用約始於 2017 年 (García-Jiménez et al., 2020)，其中與環境整治較為相關者為 2020 年之研究 (García-Jiménez et al., 2020)。本研究團隊則是自 2020 年開始跨入此領域。機器學習 (ML) 是人工智慧 (AI) 的一個子集方法，利用大型資料集進行識別、分類和模式預測 (Tarca et al., 2007)，目前典型方法有線性回歸模式、隨機森林、支援向量機等；也包含降維方法，如主成分分析、主座標分析、t-分布隨機領域嵌入、均勻流形近似和投影；也包括深度機器學習，如可將微生物群系資料圖像化之卷積神經網路、可檢測及預測時序性資料之遞迴神經網路與檢知並預測潛在資訊的 DeepMicro (Oh & Zhang, 2020) 等。目前本研究團隊應用線性回歸模式與隨機森林法，已經可以有效完成 90 筆資料之機器學習，另也應用最小絕對值收斂和選擇算子與 XGB 法進行機器學習，獲得 *Dehalococcoides mccartyi*、*Clostridium cylindrosporum* 等菌種是與氯化乙烯類污染物降解最為相關之菌種。

本專案全部期程為 2 年，目前執行第 1 年計畫，執行期間自民國 113 年 11 月 1 日至 114 年 11 月 30 日止，經費來源為環境部環境管理署，核定計畫經費為新台幣 187 萬元整。



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

（空白頁）



第2章. 研究目的

章節摘要：本章主要針對計畫之研究目的進行說明。

本專案之主要目的在於如何一舉將**優養化控制**、**循環經濟**（藻類生物質廢棄物轉化為生物整治助劑）、底泥 POPs 污染**永續整治**與**2050 淨零排放**有效達成。本計畫之技術需求在於提供底泥中 PCBs 與類似之高疏水性污染物之負碳生物整治技術（carbon negative bioremediation technology），具體解決方案為利用可吸收大氣中 CO₂ 之藻類做為底泥中整治所需要之碳源、電子來源、Vitamin B₁₂ 及微量元素之來源。具體目標如下：**(1)篩選適合之低溫室效應之本土降解菌種(第 1 年)；(2)完成本土純藻與混藻批次培養至小型模廠量產規模(第 1-2 年)；(3)將此小型量產之藻體應用於 PCBs 模場試驗(第 2 年)；(4)以機器學習分析現場整治之相關水質參數與 ASVs 相關變數資料，以優化整治技術(第 2 年)。**

本計畫之技術突破在於目前國際間尚無任何團隊發表以優養化藻類做為生物整治助劑之文獻，技術突破以原創性、重要性與影響性三面進行說明。

2.1. 技術原創性

2050 淨零排放則是因工業革命以來，全球氣溫已經隨著碳排放增加導致大氣中 CO₂ 濃度升高而逐漸增溫，甚至造成氣候變遷，而**台灣在全球氣候變遷績效指標（CCPI）明顯落後各國**，屬於 **very low performance**，見圖 2-1。本計畫為目前國際間唯一使用藻類提升生物降解效率及利用環境條件篩選污染物分解菌群之

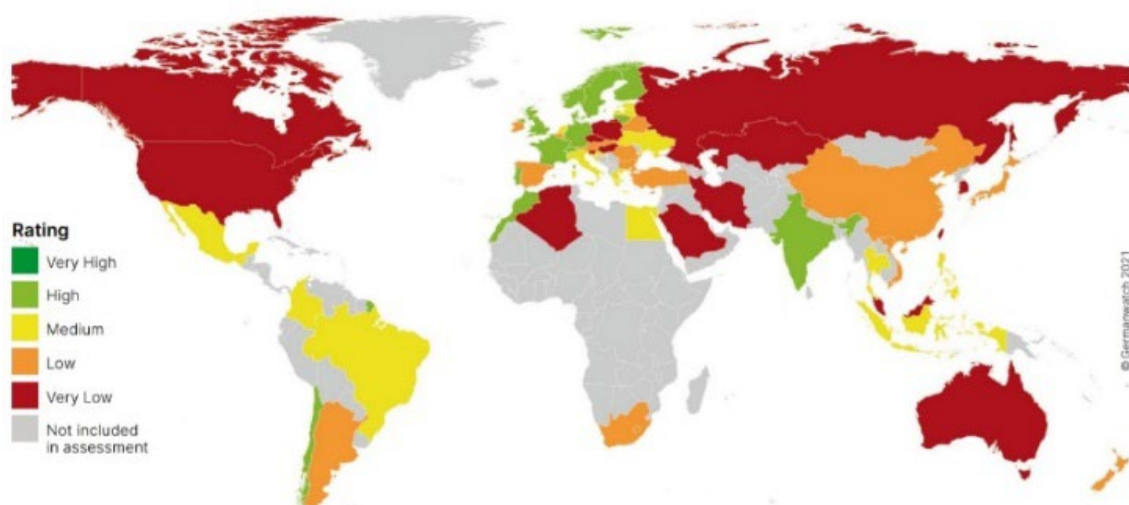


圖 2-1 各國氣候變遷績效指標(CCPI)



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

研究團隊，MR 部分已經陸續完成底泥、土壤及地下水中部分污染物之研究，均獲得相當高的改善成效，並且已經獲得 2 項中華民國發明專利(張書奇 et al., 2019; 張書奇 et al., 2020)及發表 5 篇 SCI 期刊論文(Chan et al., 2021; Chang, Lee, et al., 2019; Chang et al., 2021; Chang, Yeh, et al., 2019; Cheng et al., 2023)；以藻類做為地下水中 TCE 降解助劑已完成 3 項先期研究，預計 2025 上半年即可進行 SCI 期刊投稿。本計畫也將於 2025-2026 年進行底泥應用之專利申請。

2.2. 技術重要性

2021-2026 年美國已經編列 210 億美元預算(約新台幣 6,000 億元)(Unknown, 2021)，且投資機構預估生物整治市場 2021-2030 年之年均複合成長率為 7.72% (Unknown, 2020)。在學術卓越部分，目前國際間尚無任何本計畫主題相關報導，本團隊已進行人工智慧應用於地下水氯化乙烯之宏基因體資料集，完成機器學習。第 1 批資料之統計分析部分已發表於 Journal of Environmental Management (IF=8.400, Q1)。本計畫預計將另行產出至少 300 個宏基因體資料集(2 年計畫)，將另外進行分析及投稿。預計 2 年計畫可產出至少 4 篇 SCI 期刊論文並申請專利至少 1 項。

2.3. 技術影響性

此研究成果影響可分為三方面，一是證明 MR 技術是可以有效篩選溫室氣體減量之快速有效 HPOPs 降解菌群之技術，是以往三種主流生物技術之另一全新之藍海技術(Cheng et al., 2023)；二是本技術之菌群屬於原本底泥中菌群，其功能性基因其實無須外來微生物或外來基因介入，因此完全不會因為加入外來微生物 (microbial bioaugmentation) 或是外來基因 (genetic bioaugmentation) 造成生物安全之疑慮(Lyon & Vogel, 2013)；三是目前國際間尚無任何負碳型生物整治助劑之研究成果報導，故屬前瞻之研究，可能尚有許多具有高潛力菌群或菌株對 HPOPs 具有非常高之降解能力且可有效降低 CH₄ 產量。由此可知，此計畫成果可引起國際間重視並且影響今後技術研發方向。



第3章. 文獻探討

章節摘要：本章主要針對與本計畫相關之文獻進行回顧與探討。國內外與本計畫相關文獻回顧如下，共分為優養化相關研究、藻類吸收 CO_2 與固氮機制、碳濃縮機制 (carbon concentrating mechanism, CCM)、厭氧生物整治、循環經濟、綠色永續整治六個面向進行說明。

3.1. 優養化相關研究

優養化相關文獻分為優養化成因與優養化之解決方案，解決方案有化學加藥法、生物控制法、曝氣循環法、改質黏土添加與植物剋他物質。美國與加拿大一群學者針對小型湖泊優養化完成一項 37 年之長期生態系研究後發現，造成優養化及藻華現象之藍綠菌在極度缺乏氮之長期試驗情況下，仍然年年發生優養化及藻華現象，歷經 16 年（1990-2005 年）之無氮排入後，藻華情況變得更加嚴重。其癥結點即在於藍綠菌本身具有優異之固氮能力，在缺氮情況下，反而有利於能固氮之藍綠菌競爭優勢而大量增生。所以，要克服湖庫中優養化及藍綠菌藻華之問題，應針對磷著手 (Schindler et al., 2008)。磷循環與氮循環之最大差異處即在於磷並無大氣部份之循環，若無法降低水體中水相與底泥相中總磷及其物種型態（

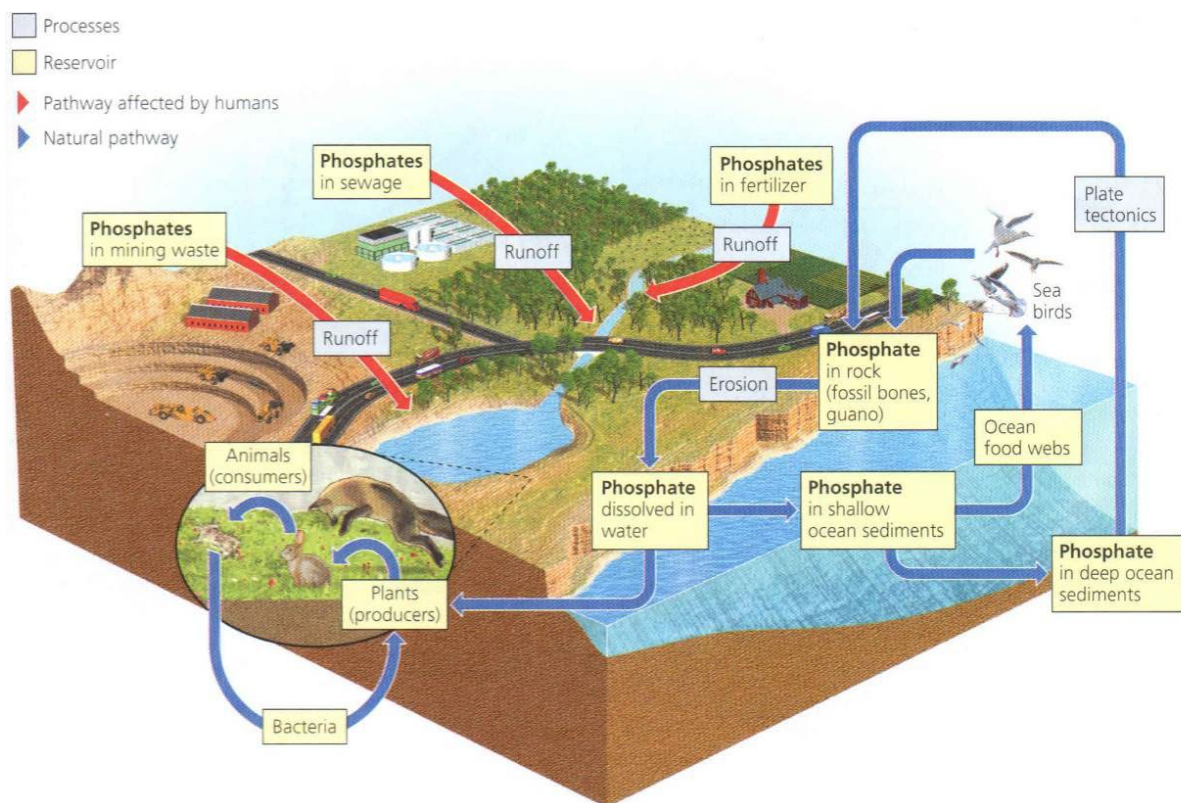


圖 3-1 環境中磷之養份循環 (Miller & Spoolman, 2010)



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

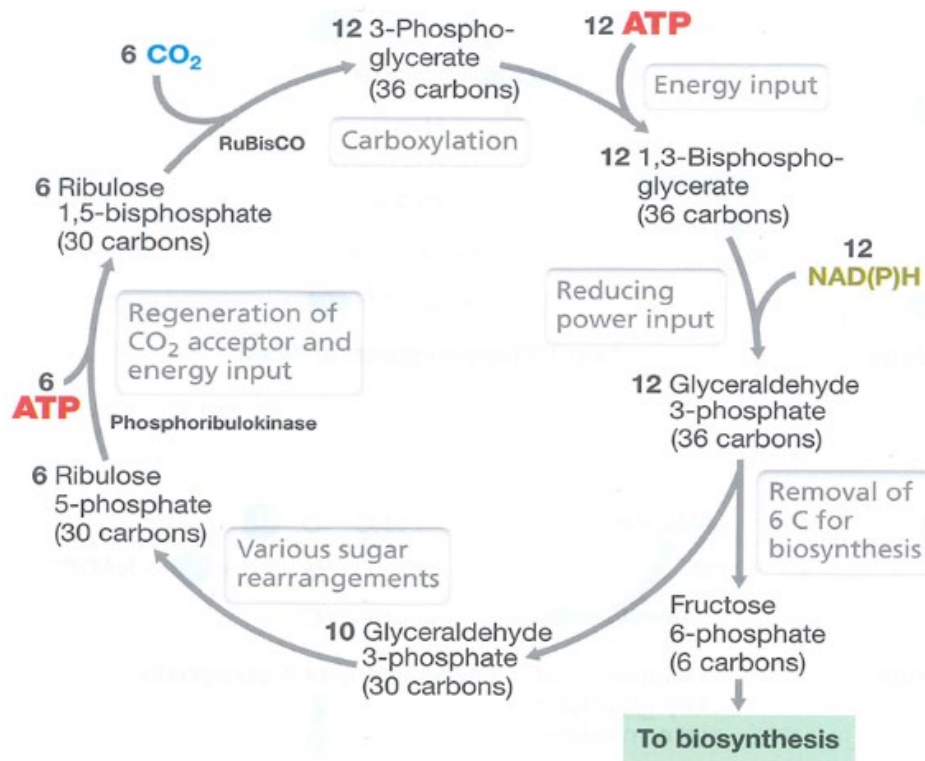


圖 3-2 藻類固定 CO₂ 途徑(Madigan et al., 2019)

speciation)，將無法控制優養化情況（如圖 3-1）。學者們以 PCLake 模式進行模擬發現三點主要結論：（1）繼續以低磷負荷水入流方式可持續降低磷之總量，（2）若不進行降低磷負荷之作為，底泥疏濬法與純粹添加鐵鹽法將造成可逆式回復；（3）純粹增加磷在底泥中之停留時間可能減緩水質改良時程。此模式並預測化學操控或純粹生物操控均可能因為湖中總磷並未降低而毫無效果(Janse et al., 1992)。控制優養化最主要之方法應由移除藻類與總磷削減同時著手。若是可將藻體做有效利用，則總磷削減則非首要，而是如何將水中溶解態之磷控制於恆定狀態，持續有效產出特定無害且可回收利用之藻類。

3.2. 藻類吸收 CO₂ 與固氮機制

多數自營性光合菌都是利用卡爾文循環（Calvin cycle）將大氣中的 CO₂ 轉化為生物質（見圖 3-2），這些自營性光合菌包括光合紫細菌、藍綠菌（cyanobacteria）、藻（algae）、綠色植物與多數之化能無機營養細菌（chemolithotrophic bacteria）及少數古細菌。此循環需要 CO₂、CO₂ 接受分子、NADPH、ATP 及兩個主要生物酶，即 ribulose biphosphate carboxylase（RuBisCO）與 phosphoribulokinase。RuBisCO 會將 1 分子的 ribulose 1,5- biphosphate（C₅ 化合物）與 1 分子的 CO₂ 催化生成 2 個 3-phosphoglycerate（3-PGA，是一 C₃ 化合物），PGA 可磷酸化形成糖解反應中重要中間產物 glyceraldehyde 3-phosphate（G3P）。由此開始，可循逆糖解反應路



徑生成葡萄糖。圖 3-3 所顯示的是一次性地將 6 個 CO_2 分子進入此迴圈（即 6 個 C），需要 6 分子的 ribulose 1,5-bisphosphate（需要 30 個 C），產生 12 分子的 PGA，最終產生 6 個分子的 ribulose-5-phosphate 以及 1 個六碳糖(Madigan et al., 2019)。

許多生物可由環境中的氮（ NH_3 ）與硝酸鹽（ NO_3^- ）攝取氮，但藻類與大部分藍綠菌可將空氣中的氮進行固氮，如圖 3-3。固氮是由 nitrogenase 催化而來，nitrogenase 有兩個蛋白質，一為 dinitrogenase，一為 dinitrogenase reductase，兩蛋白質均包含鐵，dinitrogenase 上有鉬，兩者均為生物酶之共同因子（FeMo-co）， N_2 之還原即在此位址發生，此固氮作用對能源需求高，如圖 3-3 所示，要固定 1 分子的 N_2 （形成 2 分子的 NH_3 ）需要 8 個電子，且另外消耗 16 個 ATP，所以付出能量代價高。且因 nitrogenase 會被氧氣抑制，所以必須與氧氣隔絕(Madigan et al., 2019)。

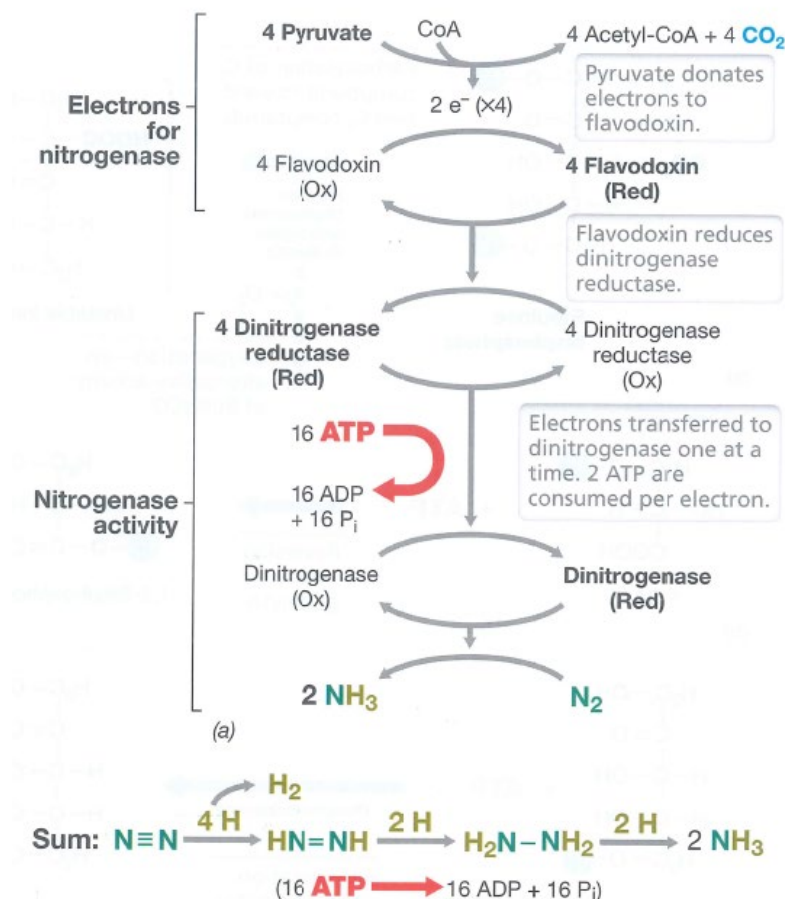


圖 3-3 藻類固氮之途徑(Madigan et al., 2019)

3.3. 碳濃縮機制 (Carbon concentrating mechanism, CCM)

藻類與藍綠菌 (cyanobacteria) 將無機碳 (inorganic carbon, C_i) 轉化為光合微生物生物質 (biomass) 有機碳之機制稱為 CCM，如表 3-1 所示。一般而言，這些細胞構件均由其基因編碼決定，誘發表現之因子包括光/暗循環和無機碳可及性



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

限制，而總無機碳程度、 $[\text{CO}_2]/[\text{O}_2]$ 濃度比例、水中 CO_2 濃度應該也是重要一環 (Bozzo et al., 2000)。在藍藻部分，可分為 α -cyanobacteria 與 β -cyanobacteria 兩大類，其差異比較如表 3-2 所示(Singh et al., 2016)。

表 3-1 藍綠菌與真核藻類之 CCM 因子之比較

CCM 因子	藍綠菌	真核藻類
Ci 傳輸子	5 個 Ci 傳輸子，3 個是 HCO_3^- 傳輸子(細胞膜上 BCT1, BicA, 與 SbtA)，2 個是 CO_2 傳輸子(類囊膜(thylakoid membrane)上的 NDH-1 ₄ 和 NDH-1 ₃)	細胞膜 Ci 傳輸子 (HLA3, LCII, RHP1 和 RHP2); 葉綠體之 Ci 傳輸子 (LCIA, LCIB, LCIC, LCID, LCIE, CCP1, CCP2 和 CemA)
Ci 傳輸模式	主動 ATP 依賴與鈉離子梯度傳輸；被動之擴散	主動與被動傳輸
同化 Ci 之位置	細胞質中碳酸氫根	葉綠體基質之碳酸氫根
碳酸酐酶	周質空間(periplasm)的 α -CA；羧酶體(carboxysome)上的 β -CA 和 γ -CA	α -CA、 β -CA 與 γ -CA 的數量與定位隨種而異
RuBisCo 隔間	兩種隔間：細胞質中之 α -羧酶體與 β -羧酶體	僅有一種隔間，即位於葉綠體之類蛋白核 (pyrenoid)

表 3-2 α -cyanobacteria 與 β -cyanobacteria 之比較

項目	α -cyanobacteria	β -cyanobacteria
棲地	大多為海洋生物	多元化棲地，如淡水、河口、溫泉等。
pH	高 pH 值 (> 8.2)	中性
Genome 尺寸	1.6-2.8 Mbp	2.2-3.6 Mbp
生長	成長慢，高豐度，高生產力	α -CA、 β -CA 與 γ -CA 的數量與定位隨種而異
生長攝取傳輸子	數個恆常表現之碳攝取傳輸子	一系列碳攝取傳輸子，包括在低 Ci 下可被誘導之傳輸子，如 BicA
羧基體蛋白質	Carboxysomes α -Carboxysomes 以 Form-IA RuBisCO Shell facets <i>csoS1A/csoS1B/scoS1C/csoS1D/csoS1B</i> Shell vertices <i>csoS4A/B; csoS2</i> Carbonic anhydrase <i>csoSCA/csoS3</i> RuBisCO <i>cbbL; cbbS</i>	β -Carboxysomes 以 Form-IB RuBisCO <i>ccmK1/K2/K3/K4; ccmO</i> <i>ccmL, ccmM, ccmN</i> <i>ccaA</i> <i>rbcL, rbcS/ ccmM</i>

3.4. 厭氧生物整治相關研究

PCBs 主要用於電力變壓器作為絕緣和冷卻劑、無碳紙張和導熱液體。在生殖、神經毒性、內分泌干擾和致癌方面具有劇毒(Wood et al., 2016)。目前已被國



研究目的

際癌症研究機構（International Agency for Research on Cancer, IARC）歸類為第 1 類化學物質，即人類致癌物(IARC, 2016)。PCBs 有數個商業品牌，Aroclor 是過去最受歡迎的產品之一，而 Aroclor 1254 是被認為是所有 Aroclor 產品中最有效之產品(Pathak & Kundu, 2013)，也是目前最普遍之 PCBs 污染物。因此，本研究以 Aroclor 1254 為土壤中目標污染物。PCBs 之生物分解可分為礦物化(Mineralization)與共代謝(Cometabolism)兩種，礦物化是指將 PCBs 完全分解為氯離子、CO₂ 與水，共代謝則是微生物在進行結構相似之其他污染物分子分解時也同時將 PCBs 分解，共代謝之結果通常只累積中間產物，而無法達到完全礦物化，但在某些情況下，曾經有不同菌種可相繼以共代謝方式，將目標污染物礦物化之情況。環境中影響 PCBs 生物分解之因子至少包括化學物結構、官能基鍵結情況、水中溶解度、底泥吸附情況、其他非水相液體（nonaqueous pahse liquids）存在與否、污染物濃度、水溫、可利用之電子供應者、競爭之電子接受者、pH 值等(Borja et al., 2005)。厭氧與好氧情況下之 PCBs 可能生物分解路徑如圖 3-4 與圖 3-5 所示。其餘詳細之可能生物分解路徑可參考相關文獻(Borja et al., 2005) (王一雄, 2000)。於厭氧情況下，微生物可有效脫除位處於對位與間位之氯（para and meta），如圖 3-5；而好氧情況下，則較容易脫除鄰位（ortho）位置上之氯，故有學者提出以厭氧—好氧序列式處理之方式降解多氯聯苯(Abramowicz, 1990)。目前有關 PCBs 生物整治工法如表 3-3 所示。

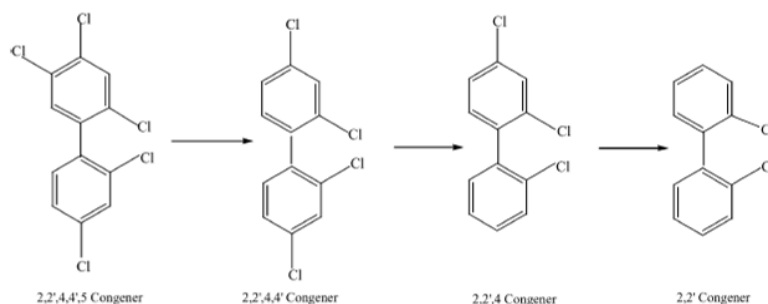


圖 3-4 厭氧情況下之 PCBs 可能生物分解路徑(Borja et al., 2005)

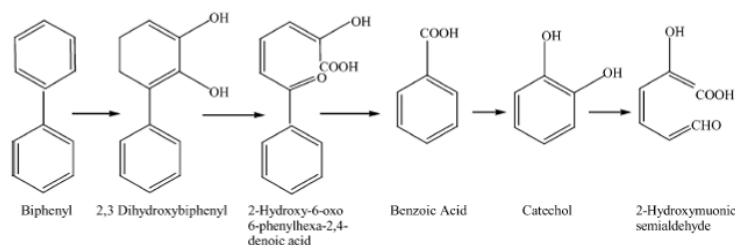


圖 3-5 好氧情況下之 PCBs 可能生物分解路徑(Borja et al., 2005)

3.5. 循環經濟相關研究

循環經濟（circular economy, CE）是由歐盟、中國、日本、英國、法國、加拿

表 3-3 文獻中 PCBs 污染物生物整治相關之文獻(Šrédlová & Cajthaml, 2022)

Method	Matrix	Contaminants	Concentration	Conditions	Main results
Biostimulation	wastewater overflow lagoon sediment	PCBs	~5–30 µg/mL in microcosms	430-day incubation of sediment microcosms under anaerobic conditions and addition of nutrients	dechlorination of tetra- and pentaCBs, changes in the PCB profile, the <i>Dehalococcoides</i> genus dominated over time
Biostimulation	marine sediment	PCBs	864.1 ng/g	previously anaerobic microcosms exposed to aerobic conditions for 300 days	32–58% degradation of tri- to tetraCBs; detected shifts in community composition (e.g. increase of Alphaproteobacteria) accompanied by an increase in <i>bph</i> genes
Biostimulation	soil	PCBs	27 µg/g	addition of N or pulverized biomass (white clover or pine needles); incubation for 2 months in microcosms under aerobic or anaerobic conditions	highest decrease in PCB concentration (38%) obtained in aerobic conditions at 10 °C and addition of pine needles
Biostimulation	freshwater sediment	PCBs	20.2 ± 4.0 mg/kg	biostimulation by electric potential (1.5–3 V) in microcosms; 88 days	maximal PCB removal (by 62%) at 1.5 V
Biostimulation	soil	PCBs, PBDEs	18.8–291 ng/g of individual congeners	addition of lactate, 90-day incubation at anaerobic conditions	dechlorination of highly chlorinated PCBs and increase in lower chlorinated ones
Bioaugmentation/ biostimulation	wastewater overflow lagoon sediment	PCBs	6346 ng/g	sediment slurry with <i>Paraburkholderia xenovorans</i> LB400 pre-cultivated on biphenyl; incubation 1 month	only mono- and diCBs decreased significantly (compared to mono- to pentaCBs in pre-tests in liquid medium)
Bioaugmentation/ biostimulation	soil	PCBs	127 and 484 µg/g	bioaugmentation by 4 previously isolated bacteria; addition of nutrients; 8-week incubation	comparable degradation (58 and 60.8%) in two contaminated soils
Bioaugmentation/ biostimulation	marine sediment	PCBs	4244.7 ng/g	anaerobic microcosms with/without bioaugmentation with <i>Dehalococcoides mccartyi</i> ; 320 days	similar results with/without bioaugmentation, evidence of dechlorination - shifts in congener composition towards lower-chlorinated congeners
Bioaugmentation/ biostimulation	freshwater sediment	PCBs	23 mg/kg	<i>Achromobacter xylosoxidans</i> , <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , <i>Ochrobactrum anthropi</i> , and <i>Rhodococcus ruber</i> added individually and as different consortia, 21-day degradation in aerobic microcosms	the most effective consortia were with <i>R. ruber</i> (85% degradation with <i>R. ruber</i> and <i>A. xylosoxidans</i> at a 1:1 ratio); degradation of even highly chlorinated PCBs; decrease in toxicity to <i>Lemna minor</i>
Bioaugmentation/ biostimulation	freshwater sediment	PCBs, HCB, metals	0.168 ± 0.042 mg/kg	phase inversion emulsification (soybean oil, surfactants) at high temperature (80 °C), 70 days	up to 98% removal of PCBs; shifts in community composition

大、荷蘭、瑞典和芬蘭等多個國家政府以及世界各地的一些企業所推動的概念。歐盟委員會最近估計，僅循環型經濟轉型就能為歐盟製造業創造每年 6,000 億歐元（約合新台幣 20.6 兆元）的經濟收益(Deselnicu et al., 2018; MacArthur, 2013)，全球經濟每年將受益 10,000 億美元（約新台幣 31.5 兆元）(Arponen et al., 2014)。到目前為止，CE 的定義與概念仍然莫衷一是，有按起源區分、原理和模型/實現區分(Ghisellini et al., 2016; Laurenti et al., 2018; Reike et al., 2018)；依 CE 商業模式分類(Lewandowski, 2016; Lüdeke-Freund et al.; Nußholz, 2017)；受驅動因素和障礙的影響區分(De Jesus & Mendonça, 2018; Ranta et al., 2018; Sousa-Zomer et al., 2018)；以及實施方法區分(Lieder & Rashid, 2016; Masi et al., 2017; Reike et al., 2018)。目前大約有 114 種不同定義，目前可將這些不同之定義歸類為 10 類（R0-R9），如圖 3-6 所示。歐盟之定義如下：「循環經濟描述了一種基於商業模式透過減少（reducing）、再利用（reusing）、回收（recycling）和回復材料（recovering materials）來取代「報廢」概念之生產、分銷和消費過程，從而運行於微觀層面（產品、公司、消費者）、中觀層面（生態工業園區）和宏觀層面（城市、地區、國家及其他），以實現永續發展，意味著創造環境品質、經濟繁榮和社會公平，造福當代人和子孫後代。」由此可知，循環經濟在比對研究與探討問題之前，應先將彼此定義一致，才能有效比對。但在本研究之範疇內，將藻類廢棄物（材料）進行回收再利用，並且製造為可利用之資源，且在低用量條件下進行應用，相當符合歐盟之定義。除了定義之外，循環經濟之商業模式與傳統經濟商業模式最大不同之處就是 cradle-to-cradle（C2C）之迴圈模式取代以往之 cradle-to-grave (C2G) 之線性模式。

3.6. 綠色永續整治相關研究

土壤地下水與底泥污染是現代社會面臨的全球性挑戰，也構成實現聯合國 SDGs 之風險。環境污染整治通常被視為一種促進環境永續之活動，但是研究人員和從業人員越來越意識到：污染整治可能會產生巨大的環境足跡和社會成本，如有害氣體釋放、溫室效應

氣體排放、廢水排放等(Reddy & Kumar, 2018)。因此，綠色永續整治開始興起，其範疇含括綠色整治、綠色材料以及一級、二級和三級影響；也涉及到三個不同面向：環境面、社會面和經濟面(Hou & O'Connor, 2020)。亦即在整體整治工作各

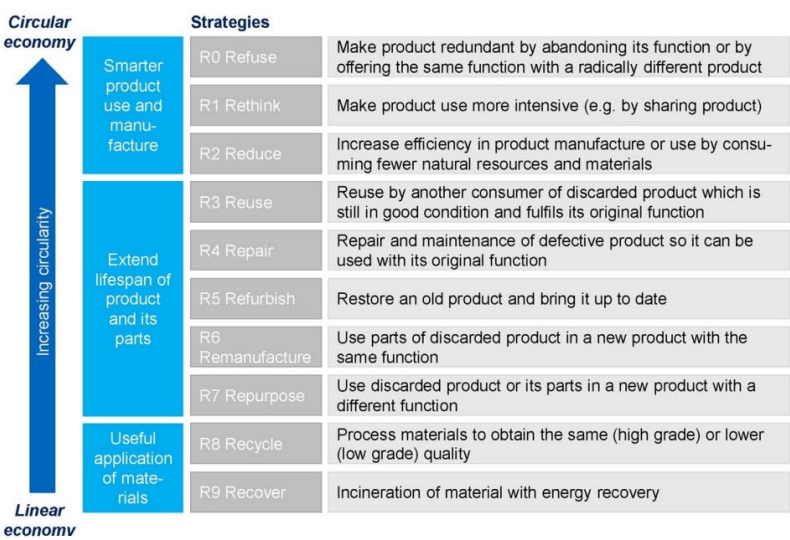


圖 3-6 CE 之不同定義的涵義



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

個階段都考慮減少整體環境衝擊與環境足跡，符合社會共同利益與降低經濟負面衝擊之目標，發展土壤與地下水資源的永續利用。施行綠色永續整治時通常會針對其核心元素進行評估：即能源、空氣、水資源、材料和廢棄物、土地和生態系統(Huang et al., 2016)。近期有研究指出：傳統的整治策略如挖掘、運輸、泵送和處理等，忽略了次級環境負擔以及社會經濟影響；就整體生命週期而言，某些整治策略可能比不採取工程干預更有害。永續復育技術，例如永續固定、低衝擊之生物復育、新型現址化學處理和創新被動式反應牆，可大幅減少整治的環境足跡並最大限度地提高整體淨環境效益。與傳統方法相比，此種永續復育技術通常可以將生命週期溫室氣體排放量減少約 50-80%(Hou et al., 2023)。

3.7. 負碳型基質相關研究

目前國際間並無以藻類為負碳型基質研究相關論文發表，但是以農業廢棄物作為基質已經自 2017-2020 年開始陸續有學者發表，如利用農業廢棄物堆肥進行石油系碳氫化合物或是原油污染土壤之整治(Adams et al., 2017; Zhang et al., 2020)，將農業廢棄物應用於 PCE 有關之整治可能是自 2019 年開始，如應用火雞廢棄物在 TCE 之好氧性生物降解(Baskaran & Rajamanickam, 2019)，而生物碳方面之應用因為不屬於微生物可利用之基質，故不列入討論。本研究團隊自 2021 開始進行相關研究，業於 2022 年 11 月於國內環工年會以及 2023 年 12 月 IWA 國際研討會發表以農業廢棄物稻稈、蔗渣、菇包及廢牡蠣殼進行發酵之揮發性有機酸與產氫提供 TCE 降解菌群進行有效之生物降解，2023 年 4 月份並以此主題參與本校工學院康寧論文競賽（由康寧公司業界委員評選），獲得首獎。

3.8. 模場試驗背景說明

以下將針對進行模場試驗之底泥場址與土壤場址進行說明。

3.8.1. 底泥場址背景說明

本計畫已經選定南崁溪出海口彩虹橋東南側為試驗場址，也已經獲得桃園市政府水務局核發之使用許可（見計畫書之附件二）。以下針對南崁溪污染底泥場址進行背景說明。

南崁溪全河段水質多為中度污染（見圖 3-7），近五年來，在中游大檜溪橋、下游南崁溪橋與出海口處竹圍大橋 SS 介於 5.3-4,160 mg/L，BOD 介於 2.8-51.9 mg/L，DO 為 2.2-8.9 mg/L，NH₃-N 為 0.9-13.0 mg/L。整體而言，河水雖混濁，但並非完全墨黑色不透光之情形；且其污染趨勢除偶有突然大量排放（應屬意外事件）外，大致恆定，無明顯惡化之情形。經踏勘南崁溪，發現自南崁溪橋以下均佈滿礫石，無底泥可採，僅在出海口彩虹橋上游兩側有底泥可採，尤其是東南



研究目的

側匯流處有完整沉積的底泥（見圖 3-8 之預定場址）。

(a)



(b)



(c)

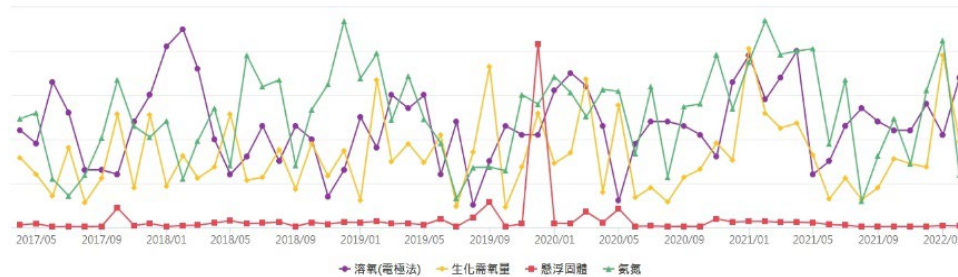


圖 3-7 近五年南崁溪污染趨勢圖：大檜溪橋 (a)、南崁溪橋(b)及竹圍大橋測站(c)

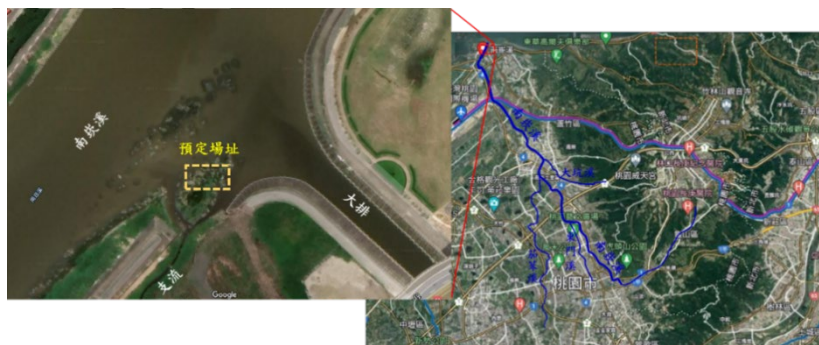


圖 3-8 南崁河流域與模場試驗預定場址（摘錄自Google.com 並加以標示）

3.8.2. 水文地質資料

南崁溪為桃園市管理河川，發源於桃園市龜山區坪頂台地牛角坡一帶，流經龜山區、桃園區、蘆竹區及大園區，於竹圍漁港附近注入臺灣海峽，主流長約 30.7 公里，總流域面積約 214.6 平方公里。主要的支流包括茄苳溪、海湖溪、坑子溪、大坑溪、東門溪、楓樹坑溪等。崁溪流域範圍內人口密集、上中下游工商業均相當發達，但是污水下水道普及率不足，因而受到沿岸注入之生活污水與工業廢水



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

常年污染，染整業、食品加工業、電子業、石化業等集中於中下游兩岸，致水質惡化。經政府加強管理及地方團體投入，南崁溪目前河水污染已逐漸改善，但是底泥污染尚未見減輕。桃園地區位於台灣本島之西北部，整體地形呈現由東南向西北傾斜，為海拔低於300公尺之台地地形，東北邊鄰接林口台地。桃園市內可區分為桃園、中壢、平鎮、伯公岡與湖口共五個台地（見圖3-9a中A、B、C、D及E）。桃園台地群的地質特徵為一連串高度不一且呈階梯狀之第四紀台地；原本為古石門沖積扇一部分，經造山運動而隆起；表層多紅土礫石層，東側以新莊斷層為本構造區與經第三紀造山運動為界之斷層（如圖3-9b）。桃園台地群之地表為厚約5公尺之紅土被覆，因透水性不佳，故可造「埤」以蓄存雨水。紅土層往下為厚約20~40公尺之礫石層，分布於全區，上部地下水層為自由含水層。再往下則皆為較細顆粒的砂岩及頁岩的交互層，大致上有三個（含）以上的含水層，為此區之受壓含水層（江崇榮，2000；簡錦樹與林道國，1990）。

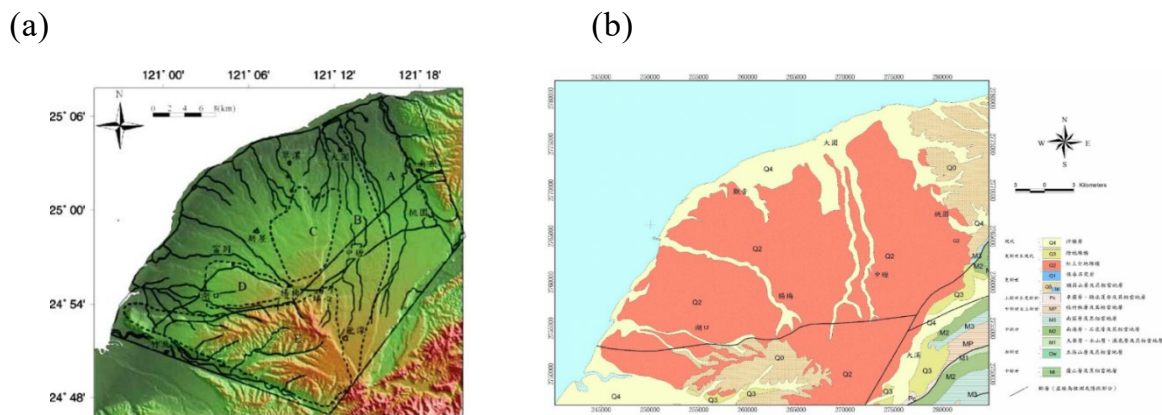


圖 3-9 桃園台地群相關位置(a)與區域地質圖(b) (中央地調所，2000)

3.8.3. 其他相關背景說明

實際選定之模場試驗位置之考量因子為：(1) 該場址為目前南崁溪下游之污染物濃度適合實施模場試驗之位置；(2) 該河段底泥以接近出海口，因河水遭遇海水鹽度影響，重金屬污染物容易沉積，對污染河段而言具有代表性；(3) 該處河水與底泥因污染程度較嚴重而較具代表性。

3.9. 目標及內容

本計畫為2年期計畫之第1年計畫，計畫目標及內容簡述如下。

- 3.8.1. 底泥採樣、分析與菌群馴養：在進行現地模場試驗前，需先採集現地樣品進行化學分析並進行菌群馴養，以了解污染現況及預備BA所需之菌群。
- 3.8.2. 完成預先降解實驗：將完成馴養之菌群與三種純藻之藻種之組合共7組三重複實驗，並進行甲烷產量之檢測，以了解產生甲烷最少之組合。



研究目的

- 3.8.3. 完成田口批次降解實驗：以溫度 ($^{\circ}\text{C}$)、pH、底泥有機質 (%)、藻類 TOC 四種控制因子的三水準形成 $L_9(3^4)$ 直交表進行批次實驗。
- 3.8.4. 完成本土藻種之批次培養實驗：完成小型批次養藻設施進行最佳化生長實驗，預計以光照強度、氮磷比、混合氣之 CO_2 濃度等控制因子，求得藻之質量最大化之培養條件。
- 3.8.5. 完成本土純藻與混藻之培養達小型量產規模：完成小型模廠生產足夠之最優選藻種產量 (biomass)。
- 3.8.6. 機器學習：以機器學習模式進行針對田口批次實驗結果探討。
- 3.8.7. 完成模場設施預先構築：將在半年內先完成設計，並在下半年完成預先構築，以利第 2 年計畫之進行。
- 3.8.8. 成果發表與報告撰寫：將完成期中報告、環工年會論文、環管署成果發表、期末成果報告與期刊論文發表。



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第 1 年）

（空白頁）



第4章. 研究方法與過程

章節摘要：本章針對本計畫相關研究方法與過程，如底泥採樣與菌群馴養、田口批次降解實驗、藻類批次培養、藻類小型模廠試量產、化學分析、生物分析、TGS 與機器學習、成果發表與報告撰寫以及工作進度與甘特圖進行介紹並分段說明。

本計畫為2年期計畫，以下敘述第1年計畫施行方法，協同計畫主持人吳俊霖老師則是負責人工智慧機器學習部分。計畫主持人則是負責整體計畫構思、實驗設計、實驗室內所有實驗測試之監督執行、資料分析及成果彙整，並且居間協調整體計畫之順利進行。除開會進行研究協調及進度查核外，也將建立專屬 Line 群組以便隨時聯繫協調。第1年部分將依序說明底泥採樣與菌群馴養、田口批次降解實驗、藻類批次培養、藻類小型模廠試量產、化學分析、生物分析、TGS 與機器學習等。

4.1.底泥採樣與菌群馴養

4.1.1. 底泥採樣：本計畫之底泥採樣方法係依據環境部國家環境研究院之底泥採樣方法（NIEA S104.32B）中的採樣鏟、抓取式採樣器（grab sampler）或岩心採樣器（core sampler）進行之。表面 0 公分至 15 公分厚之底泥稱表層底泥（Surface sediment），超過 15 公分厚之底泥稱為深層底泥（deep sediment）。本團隊所使用採樣鏟係以不鏽鋼製之湯匙代替，抓取式採樣器則是以標準 Ekman 底泥採樣器，岩心採樣器則是以美國 AMS 公司的標準滑動式手錘（regular pro series slide hammer）加上自製的轉換裝置與透明 PVC 管結合而成。

4.1.2. 菌群馴養：PCBs 降解菌馴養：PCBs 降解菌取自南崁溪模場試驗場址之底泥，採樣方法依照環境部底泥採樣方法（NIEA S104.32B）進行。厭氧菌部分加入微量 PCBs（約 1.0 mg/L）進行馴養。馴養所使用之厭氧培養基之配製係參考 Hendrickson 等人之作法（Hendrickson et al., 2002），儲備溶液成分如下：S₁：Resazurin 1.0 g/L；S₂：(NH₄)₂HPO₄ 26.7 g/L；S₃：CaCl₂·2H₂O 16.7 g/L、MgCl₂·6H₂O 120 g/L、KCl 86.7 g/L、MnCl₂·4H₂O 1.33 g/L、CoCl₂·6H₂O 2.0 g/L、H₃BO₃ 0.38 g/L、CuCl₂·2H₂O 0.18 g/L、Na₂MoO₄·2H₂O 0.17 g/L、ZnCl₂ 0.14 g/L；S₄：FeCl₂·4H₂O 370 g/L；S₅：Na₂S·7H₂O 500 g/L；S₆：Biotin 0.0020 g/L、Folic acid 0.0020 g/L、Pyridoxine HCl 0.010 g/L、Riboflavin 0.0050 g/L、Thiamin 0.0050 g/L、Pantothenic acid 0.0050 g/L、Nicotinic acid 0.0050 g/L。



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

g/L、*p*-Aminobenzoic acid 0.0050 g/L、Thioctic acid 0.0050 g/L；S₇：Vitamin B₁₂ 0.010 g/L。取 1.0 mL 之 S₁、2.7 mL 之 S₂、13.5 mL 之 S₃、酵母萃取物 0.50 g 添加至 1.0 L 之去離子水，以高溫高壓（121°C, 1.5 大氣壓力）滅菌 15 分鐘後，曝氣使其冷卻，再加入 0.10 mL 之 S₄、0.10 mL 之 S₅、10.0 mL 之 S₆ 和 6.0 mL 之 S₇，並添加 0.84 g 之 NaHCO₃、8.30 g 之 KH₂PO₄ 和 6.80 g 之 K₂HPO₄ 作為酸鹼緩衝劑。最後，利用 HCl 和 NaOH 調整 pH 至 7.0。本研究因為是針對 PCBs 降解菌馴養，故在以上培養基中加入最終濃度至少 1.0 mg/L 之 PCBs 進行馴養。通常馴養時間需要一個月以上，馴養期間應保持厭氧狀態並於馴養完成後進行總菌數檢測及 PCBs 檢測，確定菌數有增加且 PCBs 濃度有下降。目前本實驗之微生物均取自污染場址，且維持繼代培養於實驗室中，此部分時間應可有效縮短。通常馴養時間需要一個月以上，馴養期間應保持厭氧狀態並於馴養完成後進行總菌數檢測及 PCBs 檢測，菌數增加且 PCBs 濃度下降，方視為馴養完成。

4.2. 模擬底泥中 PCBs 降解之預先實驗與田口批次試驗

4.2.1. PCBs 降解之預先實驗：為確定何種藻類組合有較低的甲烷產出量，故將小球藻、念珠藻與本實驗室分離之 SBL 純藻共三種純藻進行 7 組實驗測試。實驗組合如表 4-1 所示。藻類助劑系將活藻撈取後，以超音波破碎後，再以瓦斯爐加熱煮沸 0.5 小時，並將其過濾後之藻液作為助劑使用。降解實驗開始前加入 5.0 mg/kg 之 Aroclor 1254，除 Blank 未加馴養菌，killed control 事先經過滅菌外，其餘各組均加入已經馴養完成之降解菌群。實驗開始後，預計每 7 日採樣進行 PCBs 與甲烷之化學分析，分析方法請參考化學分析部分。

表 4-1 預先降解實驗的實驗組別

組別	小球藻	念珠藻	SBL	馴養菌
G1	V			V
G2		V		V
G3			V	V
G4	V		V	V
G5		V	V	V
G6	V	V		V
G7	V	V	V	V
OC				V
Blank				
Killed Control				V (滅菌)

4.2.2. PCBs 降解之田口批次試驗：此田口試驗是為驗證環境因子對於較佳藻種進行 PCBs 生物分解實驗，預計至少有 90 組樣品同時進行實驗，將以 125 mL 血清瓶進行實驗（組合如表 4-2）開始前加入 5.0 mg/kg 之 Aroclor 1254，除 Blank 未加馴養菌，killed control 經過滅菌外，其餘各組均加入已經馴養



完成之降解菌群。實驗開始後，預計每 7 至 14 日採樣一次，進行 PCBs 與甲烷之化學分析，分析方法參考化學分析部分。

表 4-2 田口方法實驗設計之 $L_9(3^4)$ 直交表

組別	溫度(°C)	pH	腐植酸(%)	藻類 TOC(mg/L)
G1	15	5.5	1	50
G2	15	7.0	3	100
G3	15	8.5	10	150
G4	25	5.5	3	150
G5	25	7.0	10	50
G6	25	8.5	1	100
G7	30	5.5	10	100
G8	30	7.0	1	150
G9	30	8.5	3	50

4.2.3. PCBs 降解田口批次試驗之 qPCR 分析：qPCR 所使用引子如表 4-3 所示。

對於目標功能基因分析，預計在實驗之前中後，犧牲一組三重複樣品(共至少有 9 組樣品)，並使用離心機以 $4,025\times g$ 離心 10 分鐘，每組樣品約 100 mL 的總體積 (Universal 30RF, Hettich, UK)。然後收集沉澱並使用 UltraClean® Microbial DNA Isolation Kit 按照程序 (MO BIO Laboratories, Inc., Carlsbad, CA, USA) 提取 DNA。純化後，將 DNA 溶於 100 μ L 之 10 mM tris 緩衝液中，於 -20°C 避光保存，直到 qPCR 定量或是將分割樣品 (subsample) 送至外界生物科技公司進行 16S rRNA 基因之 TGS 定序。qPCR 則是使用 CFX

表 4-3 PCBs 降解實驗之 PCR 引子對

Bacteria/genes	Abbreviation	Primer sequences (5'-3')	Length (bp)
<i>ardA</i>	ArdAF	ACTGCGGTTTCMACCCAYMT	212
	ArdAR	ATACCGCAGGTCTKGCAGAAK	
<i>rdh12</i>	RDH12F	GCCCGTCATGGCGTTCCATC	187
	RDH12R	GAGCAAGTTTCATTTCMATGG	
<i>pcbA1</i>	CG1-17F	CCGTCAATGGCACTCTGTTCCCTC	183
	CG1-17R	TGCTGGCTTCATTCTCGAAGATCAG	
<i>pcbA4</i>	CG4-1F	GGCACAGATGCCTCAAGGAACATAC	187
	CG4-1R	TTGTCCGGCTGCTCCGTCAG	
<i>pcbA5</i>	CG5-1F	TGACCAAGGATCTGGTGAAGGTTG	120
	CG5-1R	AGAAGCGCAATGCCTGAGTGATC	

表 4-4 PCBs 生物分解菌群 qPCR 所使用升溫程序

Task	Cycle	Temperature (°C)	Hold time (sec)
Quantification	1	95	120.0
	40	95	15.0
		60	60.0
Melting curve analysis	1	95	15.0
		60	60.0
		95	15.0

Connect 實時 PCR 檢測系統 (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules) 進行，引



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

子對是針對 *ardA*、*rdhA*、*pcbA1*、*pcbA4* 和 *pcbA5* 設計的（見表 4-3）。qPCR 加熱程序列於表 4-4。螢光染料是 iQTM SYBR Green Supermix (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, USA)。

4.2.4. PCBs 降解之田口批次試驗之 TGS 分析：分析方法說明如下。

- (1).DNA 萃取：微生物 DNA 萃取因地下水中其菌數量較少，須先進行濃縮，再利用標準 DNA 商業套組（Ultra Clean TM Soil DNA Kit MO BIO Laboratories, Inc）萃取其中之 DNA，萃取物保存於 -20°C 下備用。
- (2).TGS 定序前處理：將純化之 DNA 片段委託外界生技公司以第三代定序技術（Third generation sequencing, TGS）進行定序，將定序分析結果與其資料庫已知序列進行比對，以了解地下水中主要菌種變化。簡要說明如下。提取的 DNA 子樣送至 Suu Flower Co., Ltd 進行第三代 16S rRNA 基因測序。全長 1500 bp 16S rRNA 基因測序由 Pacific BioSciences 平台使用循環共有序列 (CCS) 模式（Johnson 等，2019）進行。DNA 濃度由 Qubit 4.0 螢光計（Thermo Scientific）測定，並調整為 1.0 ng/ μ L，用於以下過程。
- (3).PCR 擴增和純化：每個引子都設計為包含帶有磷酸修飾 5'緩衝序列 (GCATC)、1 個 16 鹼基條形碼和簡併 16S 基因特異性正向或反向引物序列。正向引物的排列 5'Phos/GCATC-16-bp 條 - AGRGTTYGATYMTGGCTCAG-3'和反向引物 5'Phos/GCATC-16-bp 條碼-RGYTACCTTGTTAC-GACTT-3'，其中簡併鹼基為：R=A、G；Y=C 或 T；M=A 或 C。PCR 反應：95°C 3 分鐘；20~27 個循環（視樣品決定）：95°C 30 秒，57°C 30 秒，72°C 60 秒；72°C 保持 5 分鐘，然後保持在 4°C。PCR 產物在 1.0% 瓊脂糖凝膠上進行電泳。使用 AMPure PB Beads 切割和純化約 1500 bp 的明亮主條帶，用於 SMRTbell library 製備。
- (4).SMRTbell library 構建和定序：SMRTbell library 是根據 “Amplification of Full-Length 16S Gene with Barcoded Primers for Multiplexed SMRTbell Library Preparation and Sequencing Procedure”（PACBIO, 2021）製備的。簡而言之，將每個帶條形碼的 PCR 產物的等莫耳地混合在一起，並使用 500-1000 ng 的混合擴增子樣品進行 DNA 損傷修復，然後進行 end-repair/A-tailing and ligation 步驟，以將通用髮夾接頭引入雙股 DNA 片段。使用 AMPure PB Bead 純化去除接頭二聚體後，將 SMRTbell library 與 Sequencing Primer v4 和 Sequel II Binding Kit 2.1 一起溫育，以進行引子和聚合酶結合。最後，在 PacBio Sequel IIe 儀器上以循環共有序列 (CCS)



模式進行定序，生成預測準確度 (Phred Quality Score) = 30 (Q30，相當於 99.9% 的鹼基識別準確度) 的 HiFi 讀取。

(5).TGS 資料分析：由於步驟繁雜，請參見附件一。

4.3.以藻類為基礎之負碳型厭氧生物整治助劑開發與應用

4.3.1. 藻類收集與分離培養：於中興大學中興湖及台中市台中公園進行採樣培養，將先進行預先培養並量測固碳速率，選擇較佳者進行後續實驗。後續將於此兩組樣品中分離出至少 2 種純藻進行培養。後續將於此兩組樣品中分離出至少 4 種藻種 (species)，進行維持培養。分離培養將採用 BG-11 培養基進行培養，此培養基中無碳源，因此不具備固碳能力之菌種將無法生存。BG-11 培養基含 4 種 stock solutions，Stock 1 (1.0 L) 含有 $\text{Na}_2\text{Mg}\cdot\text{EDTA}$ 0.10 g， $\text{Fe}(\text{NH}_4)\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ 0.6 g， $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7\cdot\text{H}_2\text{O}$ 0.6 g， $\text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 3.6 g；Stock 2 (1.0 L) 含有 $\text{MgSO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ 7.5 g；Stock 3 (1.0 L) 含有 K_2HPO_4 3.05 g；Stock 4 (1.0 L) 為微量金屬元素含有 H_3BO_4 2.86 g， $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1.81 g， $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.222 g， $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.079 g， $\text{CoCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.050 g， $\text{Na}_2\text{MoO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.391 g 或是 MoO_4 (85%) 0.018 g。各取

10.0 mL 之 Stock 1~3 混合均勻，加入 0.020 g 之 Na_2CO_3 ，再加入 1.0 mL 之 Stock 4 混合均勻，再加入 1.50 g 之 NaNO_3 混合均勻，以 1.0 M 之 NaOH 或 HCl 調整 pH 值為 7.5。未分離純菌種所需之固態培養基，則是每 100.0

mL 之 BG-11 液態培養基中加入 1.50 g 之瓊脂 (Agar)。將配製完成之 BG-11 分裝於適當容器後，置入滅菌釜中進行滅菌作業 (15 psi, 30 min at 121°C)。分離方式將採劃碟方式進行，純菌將萃取 16S rRNA gene 進行定序並且以 NCBI 資料庫進行鑑種。純藻進行定序及鑑種，將委外進行。

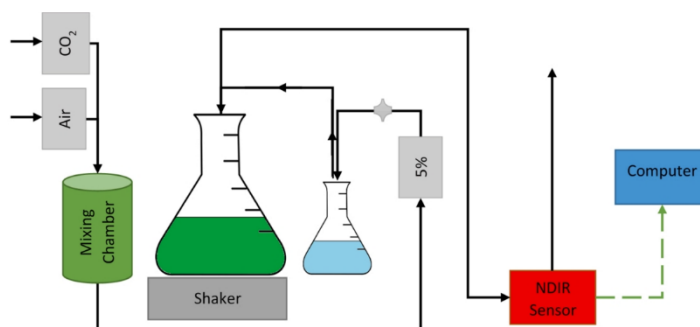


圖 4-1 CO_2 吸收量之實驗設備架設

4.3.2. 藻類培養與 CO_2 吸收檢測：將針對 3 種台灣本土之純種藻類與混藻進行 CO_2 吸收檢測，其裝備架設如圖 4-1 所示。菌種是以分光光度計在 695 nm 檢測下達到起初 OD 為 0.10 之濃度進行實驗。純 CO_2 與壓縮空氣在混合艙混合成為 5% 體積濃度之 CO_2 ，經過流量計 (FR2000 series, Key Instruments, USA) 並將流量控制於 1.0 L/min。氣流是以玻璃管線輸送且穿過以矽膠塞封住燒瓶開口方式進行曝氣，曝氣之擾動已經足以將瓶內生長之 *cyanobacteria* 攪



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

動成為為懸浮狀態（實驗後期若藻體過多，在下方加一磁石攪拌器）。培養之藻液是以 12 小時照光與 12 小時黑暗方式進行（ $200 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ），溫度為室溫，在取藻液前會以手搖動燒瓶達到均質才進行取樣，每次取樣是以無菌之針筒進行，取樣體積為 5.0 mL。除進行 3 種本土菌種之 CO_2 吸收實驗，也將針對 3 種較佳之混藻進行 CO_2 吸收實驗。其中，non-dispersive infrared (NDIR) 感應器是紅外雷射型二氧化碳感測器，能有效偵測空氣中 400-10,000 ppm 的 CO_2 ，無須校正。

4.3.3. 藻類培養之 CO_2 吸收比較試驗：此實驗是為驗證環境因子對於三種較佳之混藻進行 CO_2 吸收實驗，三種純藻各一實驗組、兩兩搭配（乾重 1:1）自成為三組、三組均勻混合（乾重 1:1:1）為一組，再加上空白組，共有 8 組進行 CO_2 吸收實驗。因圖 4-1 之架設過於佔據空間，無法同時在有限實驗室空間進行，故將以 125 mL 血清瓶進行實驗，將選取最佳培養條件且 CO_2 吸收量最高之藻種配合方式進行下一階段之實驗，此部分預計 2.0 個月可完成。光照採用 16W LED 燈泡（6500K, 1920lm）模擬太陽光照以利藻類行光合作用生長，並以等距照射方式進行，採用 BG-11 培養基進行培養，pH 為 7.5，溫度為 25°C ，採光照 12 小時與黑暗 12 小時進行。

4.3.4. 離子分析：針對相關離子，如磷酸鹽，使用離子層析儀(DX-100, Dionex, USA) 進行分析。研究分析方法係參考環檢所公告方法「水中陰離子檢測方法－離子層析法」(NIEA W415.52B)，此方法適用於飲用水及地下水體中一般陰離子之檢測。底泥中 DO、ORP 與 pH 測定方法則是以採樣 6.0 mL 於離心管後，直接以手持式檢測儀器進行，過程中應避免曝氣。

4.3.5. 總有機碳分析：為求得最終固碳生物質量之值，本研究分析方法係參考環檢所公告方法「水中總有機碳檢測方法－燃燒/紅外線測定法」(NIEA W530.51C)，本研究所使用之分析儀器為液體總有機碳分析儀(Aurora 103W Analyzer, O-I-Analytical, USA)，藉由催化加熱將樣品中之有機碳氧化產生二氧化碳及水，水分會被蒸發去除，而無機碳被轉換為二氧化碳，利用載流氣體（高純氮，99.999%）將二氧化碳送至非分散式紅外線分析儀中分析，可得總碳濃度。而本研究所使用之分析儀器為液體總有機碳分析儀(Aurora 103W Analyzer, O-I-Analytical, USA)，樣品上機前須先以 0.45 μm 孔徑濾膜過濾約 10 mL 水樣，分析時皆重新製作檢量線，並且相關係數應大於或等於 0.995。

4.4. 實驗室分析

實驗室分析分為物理性分析與化學性分析，分述如下。



4.4.1. 物理分析

主要為粒徑分析與含水率分析，簡述如下。底泥粒徑分析已經完成，前期土壤粒徑分析也已經完成。若是新土壤，本計畫將使用將為普遍之土篩法進行粒徑分析，針對粉粒與黏粒將以較容易進行之吸管法換算之(林佳燕 et al., 2009)。含水率分析將依據環境部環境管理署公告之「土壤及底泥水分含量測定方法—重量法」(NIEA S280.62C)之方法進行。

4.4.2. 化學分析：化學分析部分則針對 PCBs 之分析方法分別說明如下。

4.4.2.1. 底泥前處理：取均勻混合之濕基底泥樣品以高壓溶劑快速萃取儀 (Speed Extractor, BÜCHI E-916) 進行萃取，萃取溶劑為正己烷：丙酮混合溶劑 (50:50 v/v)，萃取溫度為 100°C，萃取前加入內標準品作為回收率測定。PBDEs 樣品萃取溶劑為正己烷：丙酮混合溶劑 (75:25, v/v)，萃取溫度為 100°C，靜態萃取 13 分鐘，動態萃取 2 分鐘，萃取循環為兩次，萃取前加入內標準品作為回收率測定。針對底泥之處理，應去除硫元素之干擾，因為上述萃取步驟會將硫元素也一同萃取出來，而硫元素會嚴重干擾氣相色層分析儀電子捕捉檢測器 (GC-ECD) 分析。硫元素之去除將以銅粉進行反應，混合 1 分鐘後分離萃取液與銅粉，並將萃取液移至乾淨的樣品瓶。完成去除元素硫之後，必須再進行清理步驟，此步驟在於去除樣品中可能存在之生物性巨分子 (biological macromolecule)、磷脂及色素等，因為這些生物性分子仍可能干擾分析結果，此步驟通常以加入高濃度之硫酸達成，但並不適用於仍具有低反應性之 PAHs，較佳之處理方法為管柱層析法 (column chromatography)，此方法使用鋁化物與矽化物之凝膠進行層析。

4.4.2.2. PCBs 分析分為萃取、淨化與上機分析。使用加壓快速萃取裝置 (Speed-Extractor E-916, BÜCHI Labortechnik AG, Switzerland)，萃取底泥中萃取步驟如下：先行組裝不銹鋼萃取槽，裝入下部濾紙及 5.0 mL 之 230 mesh 矽膠粉末，接著填入無水硫酸鈉及 5.0 g 乾燥底泥之混合物。加入擬似標準品十氯聯苯，再放入上部濾紙後萃取 PCBs。淨化步驟依據環檢所之硫酸/高錳酸鉀淨化法 (NIEA M187.00C)，以酸處理萃取液。使用減壓濃縮機濃縮萃取液至 3 mL 後緩慢加入濃硫酸 2 mL，搖晃均勻並靜置，將上層液移至另一乾淨的瓶子。為避免硫化物對電子捕捉偵測器 (ECD) 干擾，以公告之去硫淨化法 (NIEA M186.01C) 處理已酸洗之萃取液。將酸洗後的上層液加入 2.0 g 之 200 mesh 過篩活化銅粉，搖晃均勻並靜置，再取其液相至中性矽膠淨化管柱。使用矽膠淨化法 (NIEA M183.01C) 接著處理萃取液，先以 130°C 烘 16 小時活化中性矽膠，待其冷卻後取 3.0 g 矽膠填入管柱中，



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

再加入少量無水硫酸鈉。以 10.0 mL 正己烷預洗淨化管柱，再移入去硫後之萃取液。於硫酸鈉層剛好暴露在空氣前，加入 80.0 mL 正己烷沖提並收集出流液，再加入 50 mL 正己烷沖提。收集所有出流液以減壓濃縮機濃縮出流液至約 1.0 mL，移入棕色氣相層析用小管（GC vial）中並以正己烷潤洗一併移入瓶中，最後再定量至 1.0 mL。儀器分析條件如下：使用儀器為氣相層析儀（Agilent 7890 GC-ECD），管柱為 DB-5（長 15 m，口徑 0.25 mm，膜厚 0.10 μ m），流量為 4 psi。注射口溫度為 250°C，不分流；偵測器（ECD）溫度則為 300°C。烘箱初溫為 150°C 維持 1.0 min，以 2.5°C/min 升溫至 280°C，並維持 2.0 min。

4.4.3. 碳足跡估算：就環境整治而言，目前國際間較普遍的有碳足跡計算工具為 CO₂ 績效階梯（CO₂ Performance Ladder, CO₂PL），二氧化碳計算器（CO₂ Calculator）、永續整治工具（Sustainable Remediation Tool, SRT）與環境足跡分析試算表（Spreadsheets for Environmental Footprint Analysis, SEFA）（Cappuyns, 2024），而台灣則有財團法人工業技術研究院為環境部製作維護的產品碳足跡資訊網之碳足跡計算工具（財團法人工業技術研究院, 2024），為使本計畫碳足跡計算能夠較貼近台灣產業現況，將採用工業技術研究院（以下簡稱工研院）綠能與環境研究所（以下簡稱綠能所）之碳盤查方式進行，目前也已經與該所楊斐喬經理聯繫，已經針對如何建立基線與新技術之方法進行溝通。目前國內針對減碳之認證分為兩種方式，一為組織型認證（或稱機構型），一為專案型認證。本計畫之減碳認證屬於專案型，而非全組織機構之認證。但目前國內認證市場量能尚無法滿足組織型認證需求，基本上不提供小型專案認證。本計畫將參考工研院之碳足跡盤查方式進行，說明如下。碳足跡盤查是針對一項活動或產品整個生命週期過程中，所有直接與間接產生的溫室氣體排放量。步驟如下：

- (1). 目的與範疇界定：確認執行碳足跡計算目的，如尋求產品減碳機會、綠化供應鏈並與供應鏈，減碳持續改善等。就本計畫而言，是建立基線與新技術之減碳額度確認。
- (2). 製作製程流程圖：依照範疇界定建構產品生命週期製程圖，可能包含原物料至廢棄處理過程中所有原料、能源以及廢棄物等投入產出項目。就土水整治專案而言，可分為計畫開始、現地調查、模場試驗、大型整治、自我與官方驗證以及後續持續監測各個階段之投入與排放。
- (3). 數據收集：依製程流程所涉及之各項原料、能源與資源的投入，以及各種廢棄物（空、水、廢）的產出進行數據蒐集。



- (4).碳足跡計算：確定使用項目之排放係數，應用以下公式即可獲得碳排之 CO_2e ，此與產品生命週期中所有的物質、能源之排放有關，最後將其加總。環境部產品碳足跡資訊網之排放係數屬於二級數據，各項目之相對應之排放係數，仍應以實際供應商盤查所得之數據做為優先採用。

$$\text{碳排放量}(\text{CO}_2\text{e}) = \text{活動數據} \times \text{排放係數} \times \text{GWP 值} \text{-----}(4.1)$$

- (5).分析與報告：透過碳足跡計算結果，瞭解該產品碳排放熱點，藉此尋求產品減碳與製程改善的機會。

4.5.機器學習

第一年經費因為削減將近30%，TGS 之定序費用以及相應之機器學習部分也會因為資料不足而可能無法有效進行。但下面仍依理想狀況下之資料前處理、機器學習資料處理、機器學習程序三方面依序說明之。

- 4.5.1. 資料前處理：首先，說明資料前處理部分，由以下微生物動力方程式，可推得 ASVs 之 Copy 數之自然對數值與污染物降解濃度間之關係，由於是在厭氧情況下進行還原脫溴之鹵呼吸反應（dehalorespiration）且因污染物濃度很低，故可依 $S \ll K_S$ 之情況進行推導。

$$\frac{1}{x} \frac{dx}{dt} = \mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_S + S} \text{-----}(4.2)$$

若 $S \ll K_S$ ，則 $K_S + S \approx K_S$ ，故上式可改寫為

$$\frac{1}{x} \frac{dx}{dt} = \mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_S} = kS \text{-----}(4.3)$$

其中 $k = \frac{\mu_{\max}}{K_S}$ ，另 x = 微生物細胞濃度（cells/L）也可視為該 ASV 的 copy 數， μ 為比生長速率， t 為時間（day）； S 為基質濃度，在稀薄溶液中，等同於污染物之莫耳濃度（M）； $\mu_{\max}$ 是最大比生長速率（1/day）； K_S 是半飽和係數。

且因污染物降解應遵循一階降解模式，故

$$\frac{dS}{dt} = -k'S \text{-----}(4.4)$$

其中 k' 為一階降解速率常數，整理以上兩式得

$$\frac{1}{x} \frac{dx}{dt} = -\frac{k}{k'} \frac{dS}{dt} \text{-----}(4.5)$$

積分之

$$\int \frac{1}{x} dx = -\frac{k}{k'} \int dS \text{-----}(4.6)$$

$$\ln x \Big|_{x_0}^{x_t} = -\frac{k}{k'} S \Big|_{S_0}^{S_t} \text{-----}(4.7)$$



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

可得-

$$\ln \frac{x_t}{x_0} = \frac{k}{k'} (S_0 - S_t) \text{-----}(4.8)$$

所以，需將兩時間點之 ASVs 之 Copy 數之比值先取自然對數值，再配上 BDE-209 之濃度差，即可進行機器學習。如果不使用機器學習，而定序出 746 種 ASVs，直接以人力進行 746 種 ASVs 中任取 i 種進行迴歸計算，將有 3.70×10^{224} 種 ASVs 組合方式需要進行計算（如下），才能選出最佳之組合，這是人力所不能及，故需進行機器學習。

$$\sum_{i=1}^{746} C_i^{746} = 3.70 \times 10^{224}$$

4.5.2. 機器學習步驟

- (1). 機器學習資料前處理：將上述步驟所得的資料，將其作切分，分為訓練資料及和測試資料集，切分比例為 8:2 或是 7:3。考慮到有些特徵 (ASVs) 在整批實驗中出現次數過少，即大部分時間未檢測到其 copy 數，會將其排除，以免影響機器學習，接著會將每個特徵 (ASV) 進行正規化，目前是採用 Min-max scaling，其公式如下所示。

$$X_{new} = (X_{old} - X_{min}) / (X_{max} - X_{min}) \text{-----}(4.9)$$

做 Min-max scaling 能讓保持特徵範圍的一致性，避免不同特徵因為數值範圍不同而影響到機器學習。

- (2). 機器學習程序：模型選用部分是採用 Auto-sklearn 將處理好的資料讓機器自動搜尋最佳的模型（按：Auto-sklearn 採用元學習 [Meta Learning] 選擇模型和超參數優化的方法作為搜尋最佳模型的重點），自動化機器學習是目前機器較新的一個領域，此套件將主要機器學習中耗時過程自動化，譬如數據預先處理、最佳算法選擇、超參數優化調整等，在建立機器學習模型過程中，可節省大量時間。其中包括使用 15 個分類器、14 個特徵預處理方法和 4 個數據預處理方法，產生具有 110 個超參數的結構化假設空間。目前針對 TCE 降解資料所搜尋出的最佳模型是 Gaussian Process Regressor (GPR)，GPR 的優點如下：良好的預測性能：GPR 模型在處理非線性、非平穩、噪音較大的數據時表現出色；非參數性：GPR 是一種非參數模型，它不需要假設數據的具體概率分布，而是通過建立目標變量的概率分布來進行預測。次佳模型是 Random Forest Regressor (RF)，RF 的優點有易於衡量相對重要性，透過查看使用某特徵的節點來減少森林中所有樹木的雜質；可以很容易衡量出該特徵的重要性多功能，



因為隨機森林可用於分類和迴歸分析，所以用途非常廣泛；不過度擬合並具高準確度。此外，在時間許可下，將增加 LASSO、XGBoost 與 ANN 等模式之學習。

- (3). 資料清洗與特徵挑選：由於第 1 年計畫之經費削減較多，可定序之樣品數相對較少，無法再進行資料清洗。因為特徵 (ASVs) 數量過多，為了使用較少的特徵來達到較佳的結果，先計算出每個特徵 (ASVs) 和預測目標 (污染物) 的相關性並根據相關性的大小做排序，再根據其相關係數所佔的比例進行挑選。每次挑選特徵後，進行機器學習根據其結果來決定其特徵是否重要。
- (4). 可能之限制：由於以上一階動力方程式推導皆基於單一污染物且其他污染物濃度相當低之情況下才能完全成立，但是底泥中污染情況複雜，可能同時有數種或數十種疏水之鹵化污染物，微生物並非依靠單一 PCB 同源物作為電子接受者生長。但因為 PCBs 之 $\log K_{ow}$ 值相當高 (大約 5-7 之間)，故在油相中相對濃度應較高，可以相對地佔有較有利地位。
- (5). 驗證有效性：在機器學習有效性驗證部分，有兩種方式，本計畫預計使用 k 折交叉驗證 (k-fold cross validation)，k 值為 3-10 之間。此方式最適合用於資料樣本數較少，或想找到訓練效果較好之狀況。故本計畫將採用 5 折交叉驗證進驗證。
- (6). 評估模式

三步驟均會產生三個指標，即均方誤差 (mean squared error, MSE)、均方根誤差 (root mean squared error, RMSE) 與確定係數 (coefficient of determination, R^2)。MSE 與 RMSE 均以趨近於 0 最佳， R^2 則以愈趨近 1 愈佳。所有學習過程以及最後驗證步驟，均會產生這些指標值，可供作為評估模式之依據。

$$MSE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (Y_i - \hat{Y}_i)^2, \text{ 其中 } Y \text{ 為實測值, } \hat{Y} \text{ 為預測值。}$$

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (Y_i - \hat{Y}_i)^2}, \text{ 即 MSE 之平方根。}$$

4.6. 成果發表

成果發表部分含環境部環境管理署成果發表中應完成之期中與期末報告、海報、簡報與論文各 1 份，SCI 期刊論文 2 篇，國內研討會論文各 2 份。



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

4.7.工作進度與甘特圖

第1年計畫之工作進度與甘特圖如圖4-2所示，目前已經完成第1年計畫第12個月之進度，各項查核點均已經完成，進度應屬符合。

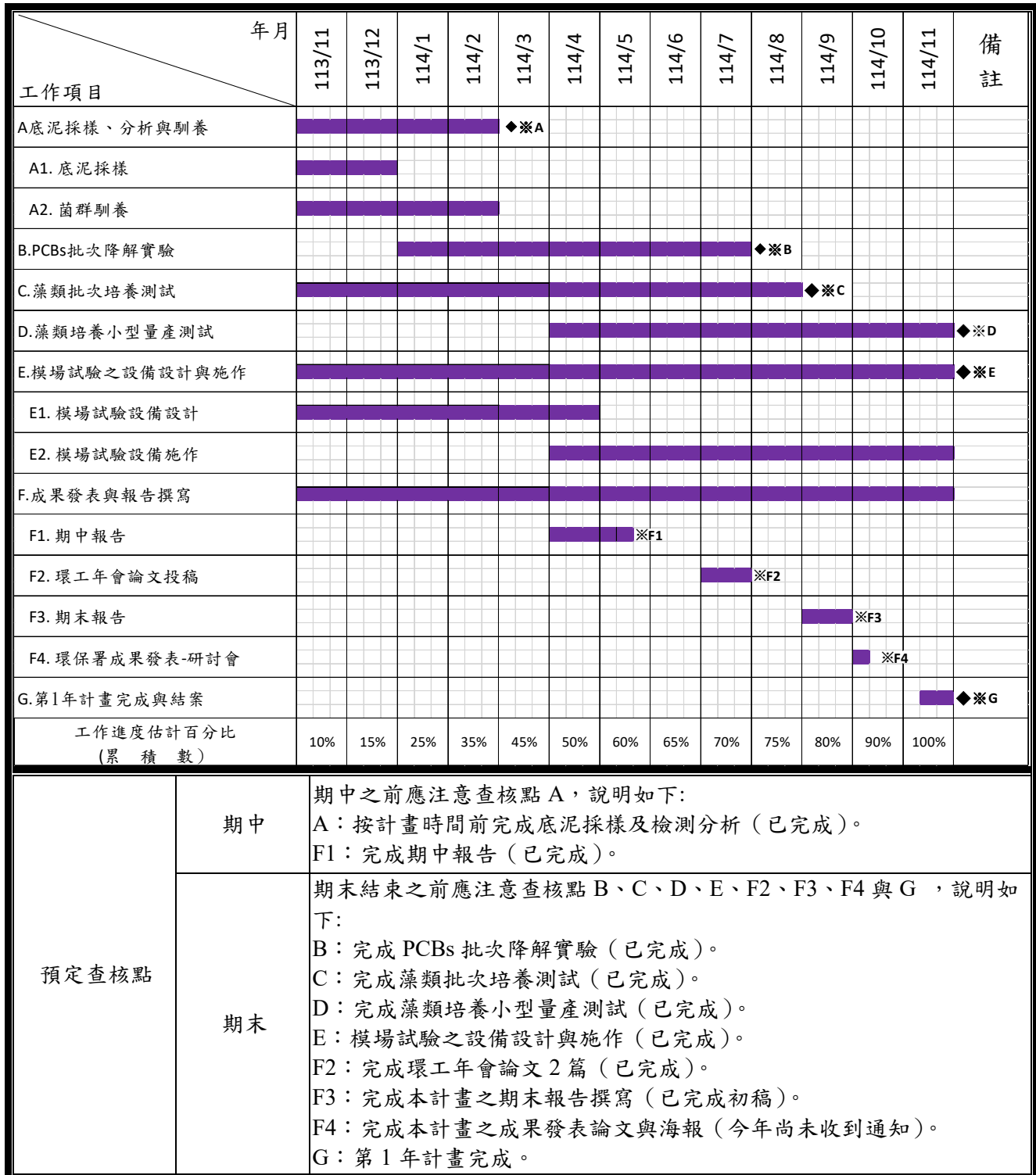


圖 4-2 本計畫甘特圖



第5章. 結果與討論

章節摘要：本計畫按預定期程第1年完成工作項目為現地採樣及分析、菌群馴養PCBs之預先降解實驗、PCBs之田口降解實驗、藻類批次培養實驗。以下就各工作項目之主要成果及發現分節敘述之，並於最後兩節敘述本計畫目前之結論與主要建議意見及未來或後續執行建議，檢測原始資料見附件二。

5.1. 底泥採樣分析與菌群馴養

為有充裕時間進行底泥採樣分析與菌群馴養，本團隊提前於113年8月即前往南崁溪之模場試驗場址進行底泥採樣(如圖5-1)，並自次日起即進行菌群馴養，但因培養菌群不理想，於114年1月再次前往採樣。菌群馴養則是依照研究方法與過程所述方式進行，馴養時所使用之Aroclor 1254為1.0 mg/kg。

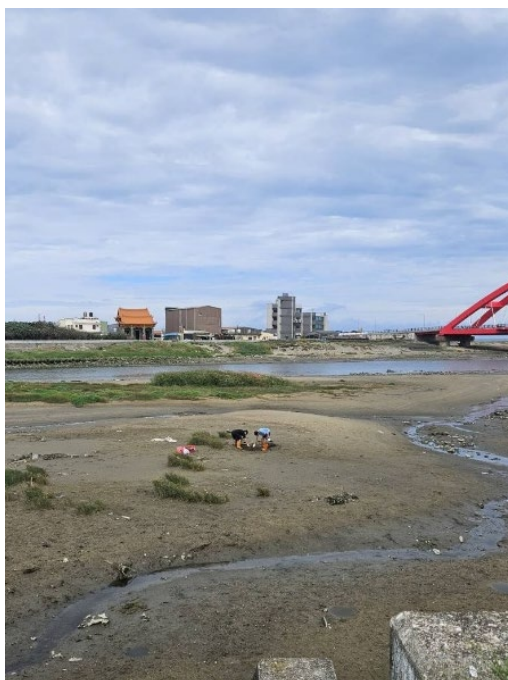


圖 5-1 民國 112 年 10 月於南崁溪進行底泥採樣情況

底泥顆粒經烘乾壓碎後進行震盪篩分所得粒徑分析之結果如圖5-2所示。由此圖可知，模場所在之處底泥顆粒大多以砂粒為主，其次為粉粒，少數為黏粒；且砂粒中是以中細砂為主。 d_{50} 為78.2 μm ， d_{60}/d_{10} 值為2.84，依據土壤三相圖，可歸屬於粒徑較為均勻之壤質砂土。

南崁溪底泥採樣分析結果Aroclor 1254濃度為 0.069 ± 0.024 mg/kg (見表5-



1)，二仁溪底泥中 Aroclor 1254 濃度為 0.168 ± 0.011 mg/kg（本實驗室 106 年採樣檢測紀錄），濃度約為二仁溪之 42.2%，南崁溪底泥中 PCBs 濃度亦相當高。由於此次南崁溪底泥中 Aroclor 1254 濃度偏低，甚至低於目前「底泥品質指標之分類管理及用途限制辦法」之下限值 0.090 mg/kg，在進行模場試驗之風化組測試時恐有困難。依據環境部 110 年化學物質環境流布背景調查及釋放量清冊管理研析專案工作計畫結果顯示：南崁溪短鏈氯化石蠟(SCCPs)僅次於二仁溪；鄰苯二甲酸酯類 (1.75 mg/kg dw) 為全國最高；多溴二苯醚類僅次於二仁溪；多環芳香烴為全國最高，其中之二苯并[a,h]蒽(Dibenzo[a,h]anthracene)濃度超過底泥品質指標上限值。由於文獻中已報導底泥中多環芳香烴(PAHs)與多氯聯苯(PCBs)之濃度， $\Sigma 16\text{PAHs}$ 與 $\Sigma 123\text{PCBs}$ 具高度相關性， $R=0.93$ ($p=0.01$ 水準)(Tian et al., 2013)；在加拿大海岸底泥研究顯示多溴二苯醚類(PBDEs)與 PCBs 在多數底泥場址呈現整正相關(Kim et al., 2022)；在大尺度黑臭河底泥調查中顯示 SCCPs 與 PCBs 存在顯著正相關(Guan et al., 2023)；鄰苯二甲酸酯 (PAEs) 與 PCBs 相關性「不穩定」，常被 TOC/塑膠源主導(Chen et al., 2017)，因此推論多氯聯苯之濃度應也是名列前茅。

本計畫預計在今年 11 月過後之枯水期將再次展開較大規模之模場試驗場址附近底泥篩測，預期應可獲得超過 0.090 mg/kg 之現地污染底泥，此可由表 5-1 點位 1-3 之濃度已達 0.090 mg/kg 可見一斑。

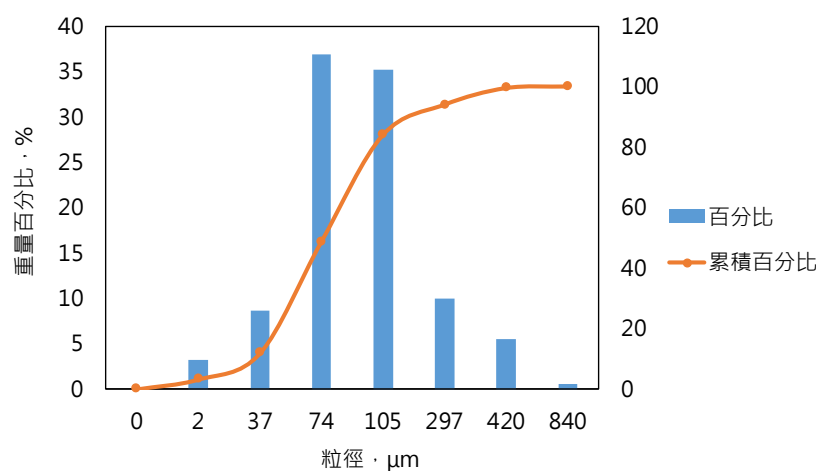


圖 5-2 南崁溪底泥顆粒粒徑分析結果

表 5-1 本計畫進行南崁溪底泥採樣分析結果（單位：mg/kg）

樣品	濃度	平均	標準差
點 1-1	0.074		
點 1-2	0.043	0.069	0.024
點 1-3	0.090		

5.2. PCBs 之預先降解實驗

本計畫自 114 年 1 月開始降解菌群馴養，於 114 年 2 月已完成馴養之菌群進行預先降解實驗，其結果如圖 5-3 所示。由此圖可見，降解最佳者為純小球藻（42 天可除 60.4%），其次為小球藻+SBL 藻（去除率 54.6%），再其次為小球藻+念珠藻（去除率 48.0%）。由此可見，只要有小球藻，結果即較佳。將小球藻之降解曲線進行一階動力學模式模擬，可得降解速率常數 k 為 0.0231 d^{-1} ，半生期 $t_{1/2}$ 為 31.6 d，如要去除 90%約需要 105 天；未加藻之 OC（original culture）組的去除率為

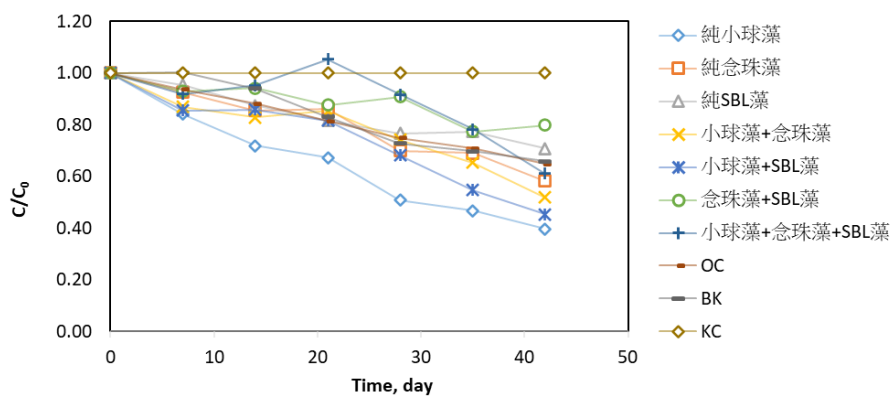


圖 5-3 Aroclor 1254 之預先降解實驗結果

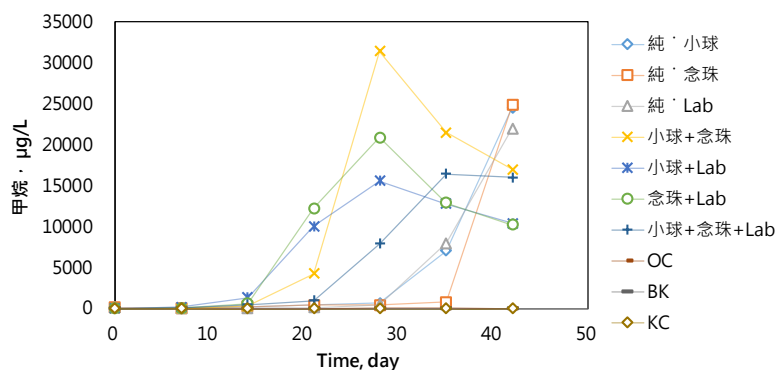


圖 5-4 預先降解實驗甲烷產生量檢測結果

表 5-2 預先降解實驗結果排序

組別	Aroclor 1254 降解排序	甲烷產生量排 序(較低者較前)	綜合排序 加總	最終排序
純小球藻	1	3	4	1
純念珠藻	4	1	5	2
純 SBL 藻	6	2	8	4
小球藻+念珠藻	3	7	10	6
小球藻+SBL 藻	2	5	7	3
念珠藻+SBL 藻	7	6	13	7
小球藻+念珠藻+SBL 藻	5	4	9	5



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

35.3%，降解速率常數 k 為 0.0103 d^{-1} ，半生期 $t_{1/2}$ 為 67.0 d ，如要去除 90% 約需要 223 天。所以，加入純小球藻可以有效提升降解速率達 **2.12 倍**。

每次採樣也同時進行甲烷之檢測，其結果如圖 5-4 所示。其中甲烷濃度最低者為念珠藻，其次為純 SBL 藻，再其次為純小球藻。綜合圖 5-3 與圖 5-4 之以純小球藻最佳，純念珠藻次之。故以總體排序第一的純小球藻繼續後續實驗（見表 5-2）。

5.3. PCBs 之田口批次降解實驗

5.3.1. PCBs 之田口批次降解實驗之水質參數變化

此部分之結果將分為 5 部分進行說明：水質檢測結果、Aroclor 1254 濃度演變、甲烷產生量變化、Aroclor 1254 降解的因子反應圖、甲烷產生量之因子反應圖。

田口批次降解實驗前後的水質參數變化如表 5-3 所示，pH 值在實驗前之數值是依照 $L_9(3^4)$ 的直交表所配製的（見表 4-2），故有明顯差距，在 35 天後，除了 G7 之外，均漸漸趨近中性。DO 部分則是在實驗前偏高，部分可能處於好氧與厭氧之間（一般以為 $\leq 0.5 \text{ mg/L}$ ，可視為厭氧）；在 35 天後的數值，則顯示所有組別均為厭氧；ORP 部分與 DO 有相當高之連動關係，若將第 0 天之 DO 與 ORP 進行線性回歸，可得 $R^2 = 0.68$ ，各組第 0 天之 ORP 正負不一，但到 35 天後，則是均為負值，表示整體環境適合厭氧脫氮。

表 5-3 反應前後之水質參數變化

水質項目	pH		DO (mg/L)		ORP (mV)	
Group / Day	0	35	0	35	0	35
G1	5.82	6.27	0.61	0.50	136.7	-129.8
G2	7.04	6.95	0.05	0.09	-59.9	-96.4
G3	8.03	7.22	0.22	0.09	16.1	-68.3
G4	5.78	6.53	0.67	0.17	106.7	-86.1
G5	7.01	6.84	0.75	0.13	116.7	-63.5
G6	8.00	6.48	0.05	0.00	-57.4	-245.7
G7	5.79	5.47	1.14	0.20	161.8	-13.1
G8	7.00	6.56	0.05	0.00	-261.1	-369.0
G9	8.01	6.43	0.02	0.01	-92.5	-338.1
OC	7.01	6.65	0.63	0.01	-14.4	-328.1

5.3.2. PCBs 之田口批次降解實驗之 PCB 移除率與降解速率常數

Aroclor 1254 濃度演變如圖 5-5 所示，目前已經完成所有採樣與檢測分析，最佳的前 3 組是 G1、G8 與 G5 三組，其條件如表 5-4 所示。G1 之走勢與所有其



他各組明顯不同，較令人意外的是 G1 之條件是 15°C、pH 值 5.5、有機質 0.03% 與藻類基質 50 mg/L。因為文獻中通常較佳之 PCBs 降解條件為溫度大多是在 20-30°C 之間，也有文獻指出間位脫氯（meta-dechlorination）之最佳溫度是 27°C 而對位脫氯（para-dechlorination）之最佳溫度為 20°C (Wu et al., 1996)，而對於高氯數的 PCBs 降解所需最佳的溫度是在 50-60°C，與 PCBs 結構頗為相似的多氯呋喃在不同溫度下脫氯，以 21°C 的效率明顯高於 15°C。因此在本實驗中，15°C 卻是明顯高於 25°C 與 30°C，此結果與文獻報導有明顯差異。為確定此結果，經過進行重複田口試驗，G1 仍是最佳組別，而且仍是明顯優於其他各組。較可能之原因是未設定 20°C 之條件，較可能原因是最佳條件仍是靠近 20°C 附近，且 15 至 20°C 仍屬較適合藻類基質之區域。

Aroclor 1254 降解的因子反應圖如圖 5-6 所示、可見針對 Aroclor 1254 移除率的望大效應（希望移除率愈高愈好）而言，相對低溫培養（15°C）、中性 pH 值（pH 7.0）、低有機質（0.03%）與低藻類基質濃度（50 mg/L）為最佳條件。其中，低溫培養較加的討論在前一節已經有所討論，pH 值在中性與偏酸性環境中有較佳移除率，與文獻報導類似。有學者報導 PCBs 在厭氧污水污泥中之 pH 值在 6.0 至 8.0 之間，降解並無明顯差別 (Chang et al., 1999)。一般而言，氯去除的最佳 pH 值為 7.0 - 7.5，間位脫氯反應發生在 pH 值 5.0 - 8.0，非對位脫氯反應發生在 pH 值 6.0 - 8.0，鄰位脫氯反應發生在 pH 值 6.0 - 6.5。在 pH 值 7.0 和 15°C 時，鄰位脫氯反應占主導地位；而在 18°C 和 25°C 時，非側鏈對位脫氯反應的速率超過其他脫鹵反應。整體氯去除的最佳 pH 值為 6.0 - 7.5 間 (Borja et al., 2005)，與本計畫成果相符。

將數據整理為移除率與降解常數列表如表 5-5 所示，由此表可見 G1 之移除率為 35.4%，OC 移除率為 7.9%，改善程度為 4.49 倍 ($35.4\%/7.9\% \cong 4.49$ 或 449%)；G1 之降解速率常數為 0.0129 d^{-1} ，OC 之降解速率常數為 0.0019 d^{-1} ，改善程度為 6.82 倍 ($0.0129/0.0019 \cong 6.82$)。較原先預期之 10% 改善程度超出甚多。

Aroclor 1254 降解的各因子對於移除率之影響程度大小如表 5-6。其中，pH 值之影響最大，其次依序為 C（有機質）>D（藻類基質）>A（溫度），而且後三者差異非常小。總體而言，只要將 pH 維持在 7 附近，其他因子影響相當有限。

表 5-4 降解最佳前三組的田口實驗條件

組別	溫度(°C)	pH	有機質(%)	藻(TOC)
G1	15	5.5	0.03	50
G8	30	7.0	0.03	150
G5	25	7.0	3.00	50

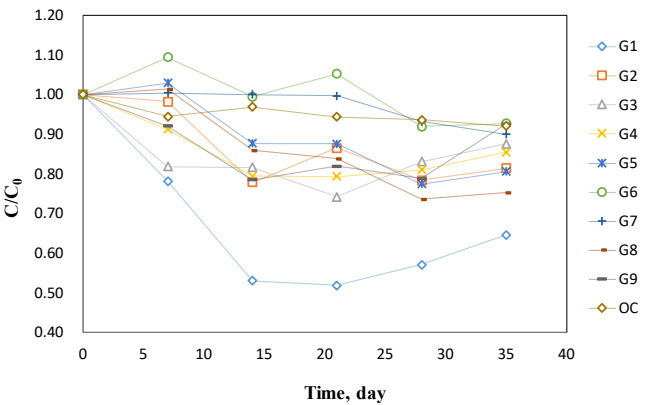


圖 5-5 田口降解實驗 Aroclor 1254 檢測結果

表 5-5 Aroclor 1254 移除率與降解速率改善程度

組別	移除率 (%)	降解速率 (d ⁻¹)
G1	35.4%	0.0129
G2	18.6%	0.0065
G3	12.4%	0.0029
G4	14.5%	0.0046
G5	19.4%	0.0079
G6	7.3%	0.0034
G7	10.0%	0.0031
G8	24.7%	0.0098
G9	7.4%	0.0033
OC	7.9%	0.0019

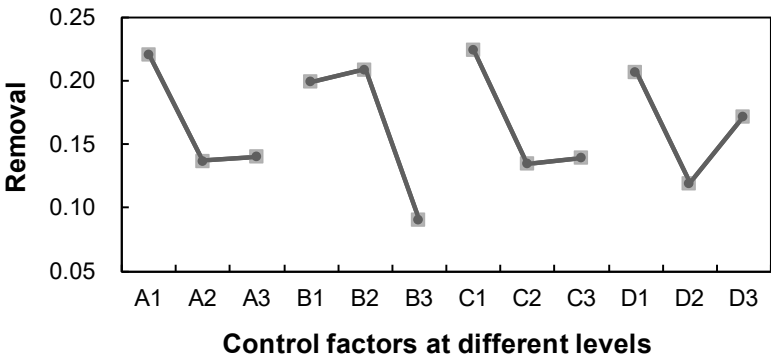


圖 5-6 Aroclor1254 去除率的因子反應圖

表 5-6 田口實驗 4 個因子對去除率之影響排序

	A	B	C	D
Level 1	0.221	0.199	0.225	0.207
Level 2	0.137	0.209	0.135	0.119
Level 3	0.140	0.090	0.139	0.172
E ¹⁻²	-0.084	0.010	-0.090	-0.088
E ²⁻³	0.0	-0.1	0.0	0.1
Range	0.084	0.119	0.090	0.088
Rank	4	1	2	3



5.3.3. PCBs 之田口批次降解實驗中甲烷產量變化

甲烷產生量變化如圖 5-7 所示，G6、G9 與 OC 甲烷產量最高，其次為 G8 與 G2，甲烷產量排序如表 5-7 所示。經過與 Aroclor 1254 移除率綜合考慮後，G1 與 G5 並列第 1，但是若以 Aroclor 1254 降解為優先考量，仍以 G1 為最佳組別。甲烷產生量之因子反應圖如圖 5-8 所示。此因子反應圖以望小特性觀察（就是以產量最低為最佳），由此圖可見，低溫培養（15°C）、低 pH 值（pH 5.8）、高有機質（3.00 %）與高藻類基質濃度（150 mg/L）為最佳條件。

甲烷產生量之因子影響程度如表 5-8 所示。其中，仍以 pH 值之影響最大，其次為 C（有機質）> A（溫度）> D（藻類基質）。同樣地，C（有機質）、A（溫度）與 D（藻類基質）差距相當有限，仍是以 pH 值影響最大。因此，只需將 pH 值維持在中性偏酸即可（因子反應圖可見 pH 5.8 與 pH 7.0 幾乎相同），此條件與 PCBs 降解最佳條件高度相似。也就是針對 PCBs 降解與最低甲烷產量同時考量的情形下，應該只要掌握 pH 值即可。

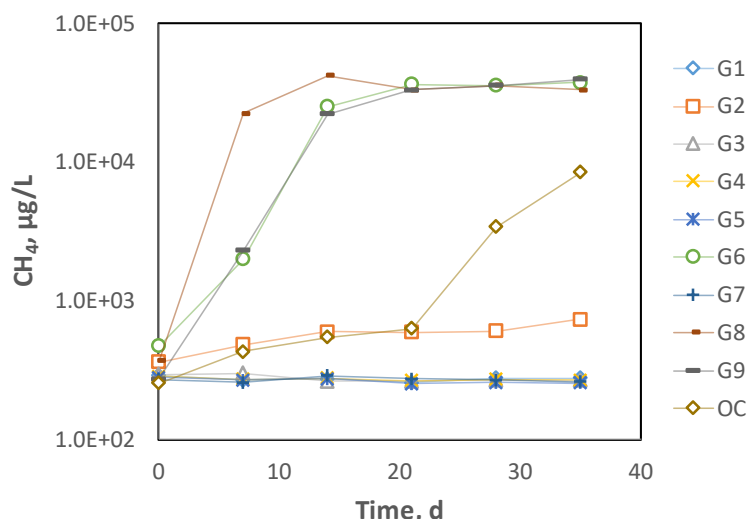


圖 5-7 甲烷生成濃度變化圖

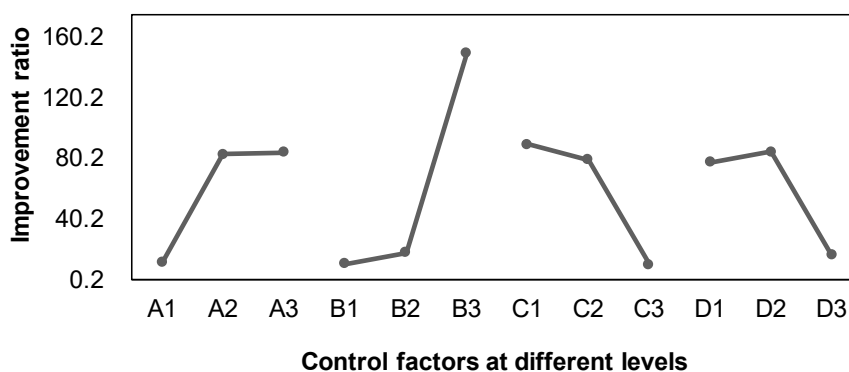


圖 5-8 甲烷產量的因子反應圖



表 5-7 甲烷生成量排序表

Group	甲烷產量	排序	PCBs 移除率排序	綜合排序
G1	10.7	4	1	1
G2	15.0	6	4	6
G3	10.0	1	6	3
G4	10.6	3	5	4
G5	10.5	2	3	1
G6	228.2	10	10	10
G7	11.2	5	7	7
G8	29.9	7	2	5
G9	212.2	9	9	9
OC	75.3	8	8	8

表 5-8 甲烷生成量因子影響程度

	A	B	C	D
Level 1	11.882	10.818	89.582	77.783
Level 2	83.101	18.448	79.295	84.809
Level 3	84.421	150.139	10.527	16.812
E ¹⁻²	71.2	7.6	-10.3	7.0
E ²⁻³	1.3	131.7	-68.8	-68.0
Range	72.54	139.32	79.06	68.00
Rank	3	1	2	4

5.4. 田口批次實驗的 qPCR 結果與討論

本次實驗之 qPCR 共採用針對 *Dehalococcoides* 菌之 *Dhc*、*tceA*、*ardA*、*rdh12*、*pcbA1*、*pcbA4*、*pcbA5* 及針對所有細菌的 *Eubacteria* 引子（BAC），測結果如圖 5-9 所示。由該圖可見，各基因在處理期間前中後（第 0、21、35 天）的變化情形。由圖 5-9a 可見 *Dhc* 在表現最佳之 G1、G8 與 G5 中似乎並無數量上之絕對優勢，所以 *Dhc* 數量與 Aroclor 1254 移除量似乎並無絕對之線性關係。為確定此推論，可將 *Dhc* 之 copy 數除以 BAC 之 copy 數，可得一比例值如表 5-9 所示。其中 G1 的 *Dhc* 的確佔有高比例，但 G8 與 G5 則無，將移除率排序與此比例排序進行回歸，其斜率為負值， R^2 為 0.1458，可謂無關連性。

圖 5-9b 中 G1、G2 與 G3 之 *tceA* 之 copy 數在 0-21 天均有下降之情況，G5 雖 G8 雖有上升，但 21 天之後，G5 再次下降，且 G8 變為 0，與 Aroclor 1254 降解無明顯相關性。同樣地，將圖 5-9b 之 *tceA* 的 copy 數除以 BAC 之 copy 數，再進行回歸分析， R^2 值為 0.0030，可見 *tceA* 的 copy 數與 Aroclor 1254 移除率也無



顯著關聯。

將圖 5-9c 至 5-9h 均做類似排序處理，均無較為顯著之 R^2 值。但是以方程式 4.8 之關係式將資料重新處理後可得最佳之結果，列表如表 5-10 所示。由該表可見，將“功能性基因 copy 數/全細菌量 copy 數”之比例對移除率進行回歸分析，所有功能性基因的回歸結果 R^2 值均相當低；將個別時間之“功能性基因自然對數值”對移除率進行回歸分析，可得 *ardA*、*pcbA1*、*pcbA4* 及 *pcbA5* 三者有較高之 R^2 值（**0.537**、0.107、0.126 及 0.142），其中 *ardA* 之 R^2 值最高；最後一向是將 $\ln(x_t/x_0)$ 對移除率進行回歸分析，可得 *Dhc*、*tceA*、*ardA* 與 *rdh12* 之 R^2 值分別為 **0.193**、**0.191**、**0.165** 與 **0.463**，其中以 *rdh12* 之關聯性最高。以上所有的數值處理方式仍以 $\ln(x_t/x_0)$ 對移除率最為可靠。

文獻指出 *ardA*（ancestral reductive dehalogenase，暫譯：祖先還原性脫鹵酶）是從 *D. mccartyi* BAV1 菌株富集培養物中定序的，在哈特韋爾湖沉積物的所有四個樣本中均被檢測到，尤其是在添加了 PCB132（234-236-CB）的樣本中(Xu et al., 2022)。*rdh12* 是 *D. mccartyi* 195 和 CBDB1 兩菌株中共有的 12 個 *RDase* 基因之一，與 PCB116（23456-五氯聯苯）脫氯相關(Xu et al., 2024)；而 *pcbA1*、*pcbA4* 及 *pcbA5* 已有文獻指出其對於 PCB 脫氯具顯著影響，其主要從間位及對位進行脫氯(Wang et al., 2014)，但在本計畫中 *pcbA1* 關聯性相對較低。

表 5-9 各組在實驗前中後的 *Dhc*/BAC 的比例值

組別	第 0 天	第 21 天	第 35 天
G1	0.112%	6.445%	12.166%
G2	0.006%	0.017%	0.006%
G3	0.003%	0.000%	0.001%
G4	0.005%	0.011%	0.012%
G5	0.004%	0.004%	0.001%
G6	0.058%	0.009%	0.016%
G7	0.010%	0.007%	0.011%
G8	0.001%	0.000%	0.001%
G9	0.002%	0.025%	0.003%
OC	0.002%	29.271%	3.533%

以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第 1 年）

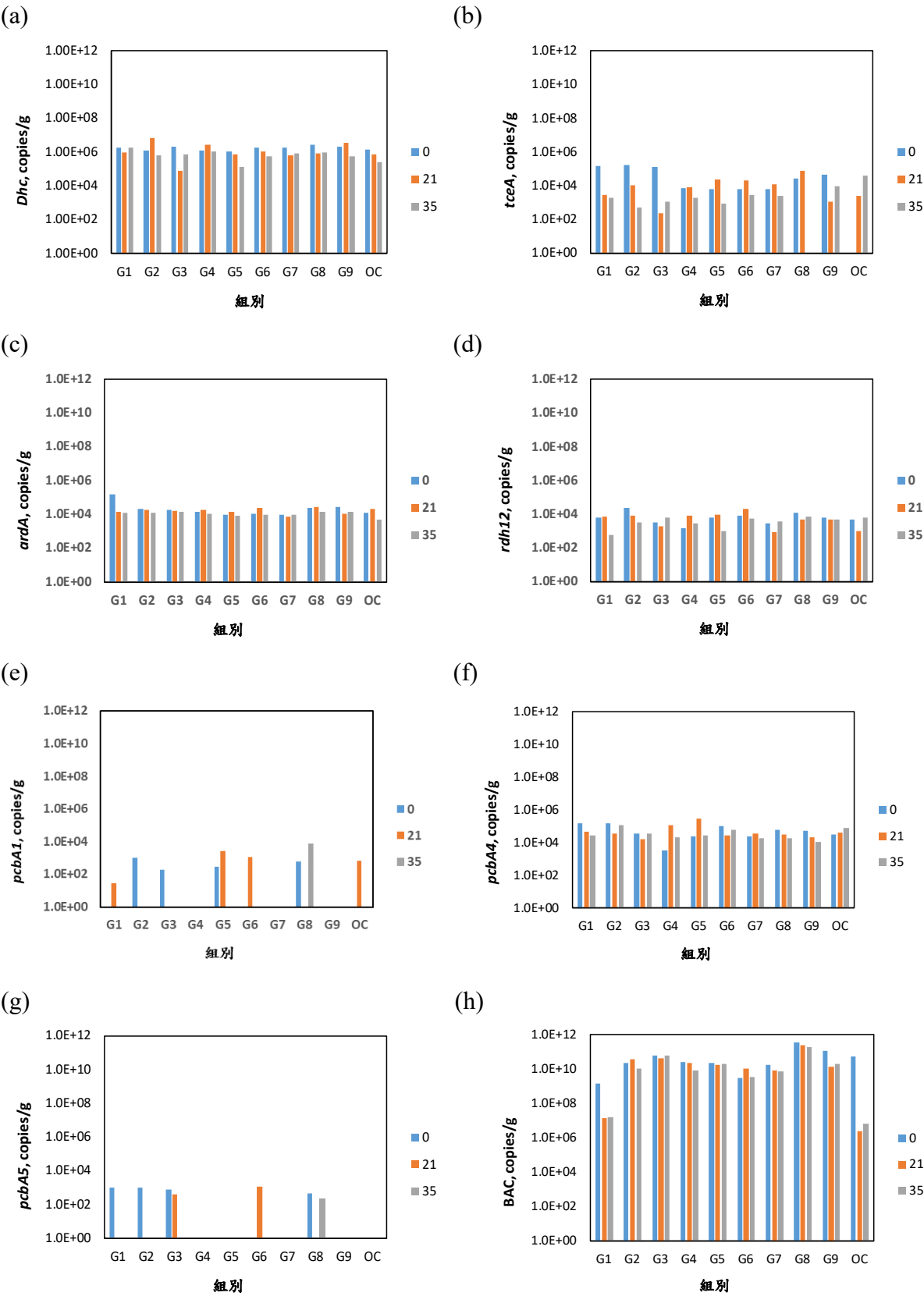


圖 5-9 田口批次實驗的 qPCR 結果

表 5-10 各組在資料處理後回歸分析 R^2 值比較

基因	基因比例 vs 移除率	$\ln(x)$ 均值 vs 移除率	$\ln(x_t/x_0)$ vs 移除率
<i>Dhc</i>	0.013766	0.066996	0.192693
<i>tceA</i>	0.009698	0.030073	0.191186
<i>ardA</i>	0.073460	0.536580	0.164926
<i>rdh12</i>	0.046375	0.000789	0.462899
<i>pcbA1</i>	0.104696	0.107224	0.025324
<i>pcbA4</i>	0.016189	0.126017	0.007209
<i>pcbA5</i>	0.087566	0.142181	0.067103
<i>BAC</i>	-	0.030807	0.024582

5.5. 藻類批次培養實驗

藻類批次培養實驗，目前已經完成純念珠藻之第 1 次藻類培養批次實驗，實驗裝置如圖 5-10 所示。由左至右之裝置簡單說明如下：CO₂ 鋼瓶提供二氧化碳來源，瓶內二氧化碳濃度為 95%。下方之無油空壓機提供乾淨壓縮空氣進行曝氣及稀釋二氧化碳濃度。Check Valve 確保二氧化碳不會因為空氣壓力之背壓過大而回流。Gas mixing chamber 將二氧化碳與空氣進行混合。二氧化碳走直線，空氣垂直接入，可降低二氧化碳管線之背壓。Sensor 為 NDIR 二氧化碳濃度感測器，型號為 MH-Z19E，偵測範圍為 400 ~ 10,000 ppm，可同時記錄溫度。進氣及出氣各一個，共三組。調節閥門：調整各線路氣體流量（搭配流量計使用）。藻液區：利用曝氣石將加壓氣體轉化成小氣泡打入藻液中。Magnetic Stirrer 為磁

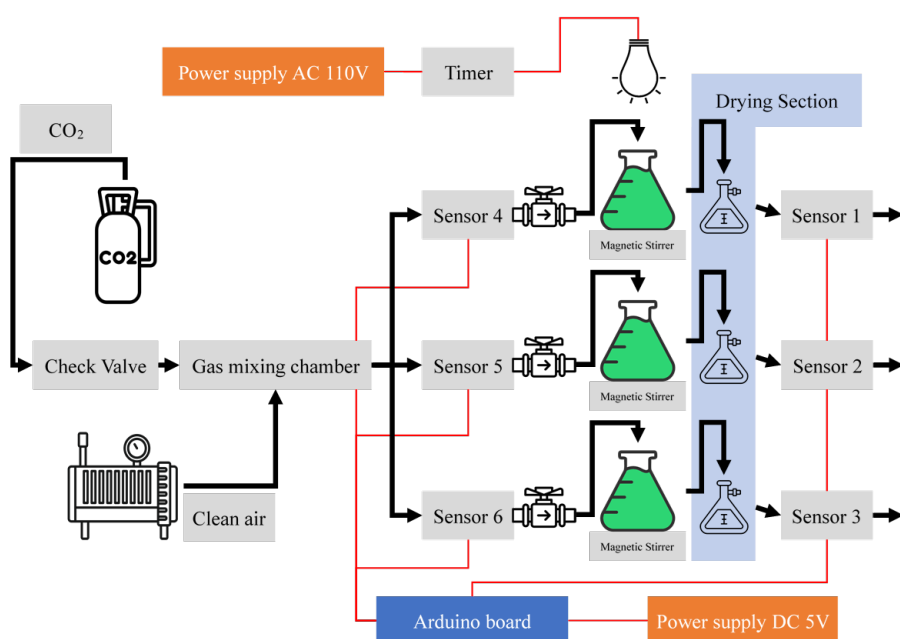


圖 5-10 藻類批次培養實驗裝置



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

石攪拌器，避免氣泡攪拌力道不足導致藻體沉澱。乾燥區利用矽膠乾燥石吸收水氣，避免 Sensor 受潮損壞。燈泡為全光譜燈泡，結合定時器可設定光照時間。Arduino 板可撰寫程式且為 Sensor 供電，並將 Sensor 記錄到的數據以純文字的方式儲存至記憶體中，方便長時間紀錄數據。

目前已經完成 1 次念珠藻之培養實驗，為時 7 天，進出口 CO_2 之監測結果如圖 5-11 所示，藍色線為進口端之 CO_2 濃度（單位為 ppm），棕色線為出口端之 CO_2 濃度（單位為 ppm）。灰色標示處表示為未照光之時間（夜間），出口端之 CO_2 可高於入口端之 CO_2 ，可見念珠藻在夜間行呼吸作用，在光照期間則是出口端明顯低於入口端，在光照期間出口端 CO_2 低於入口端 CO_2 為 56.2 ± 38.7 ppm。藻類生質量增加情形如圖 5-12 所示，藻之生質量在 7 天內約增加 1.55 倍。

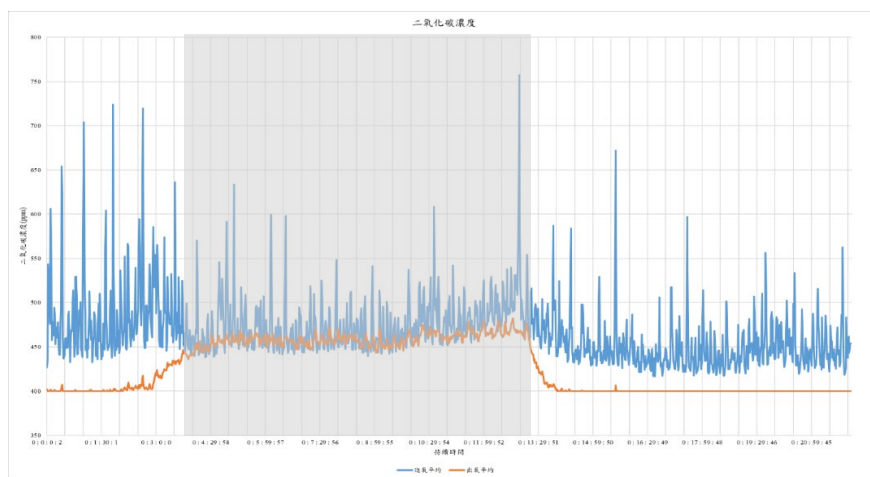


圖 5-11 藻類批次培養之進出口 CO_2 監測結果

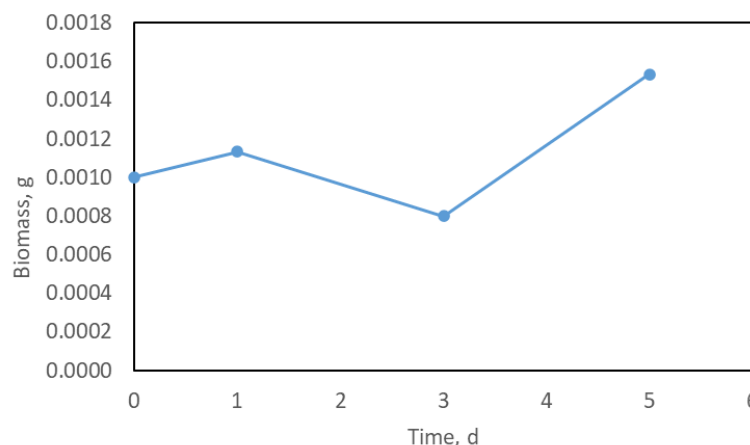


圖 5-12 藻類生質量增加情形

5.5.1. 不同照度下藻類批次培養

圖 5-13 為不同照度之組別在 5500 ppm 的二氧化碳濃度下培養 7 天之結果。可以發現照度 5600 lux 的組別生長狀況優於照度 4800 lux、2230 lux 的組別，4800



lux 的組別雖然在第 5 天前生長狀況有小幅優於 2300 lux 的組別，但可能是由於生長密度過高導致光照的遮擋，使得第 5 天後所有組別的生長速度下降，甚至死亡。綜合以上資訊，後續實驗將以 5600 lux 進行培養，並考慮到第 5 天後會達到小球藻的生長瓶頸，所有計算資訊將以第 1 至 5 天來計算。

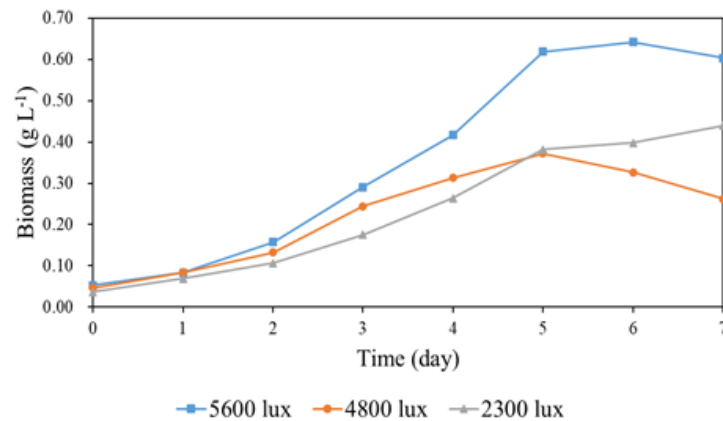


圖 5-13 不同照度下藻類質量增加情形

5.5.2. 不同氮磷比下藻類批次培養

圖 5-14 為不同氮、磷濃度之組別在 2500 ppm、5500 ppm、8500 ppm 二氧化碳濃度下培養 7 天之結果。可以發現不論二氧化碳濃度為何，氮、磷濃度的改變對於小球藻 5 天內的生長狀況沒有顯著的影響，調整後組別的生長表現僅與未調整之 BG-11 對照組相近或略高，推測過高濃度的氮、磷可能對於小球藻的生長有不良影響，導致其增長效果相較原始組別並不顯著，且過高濃度之氮磷消耗並不符合經濟效益。綜合以上資訊，後續實驗將使用未調整之 BG-11 進行。

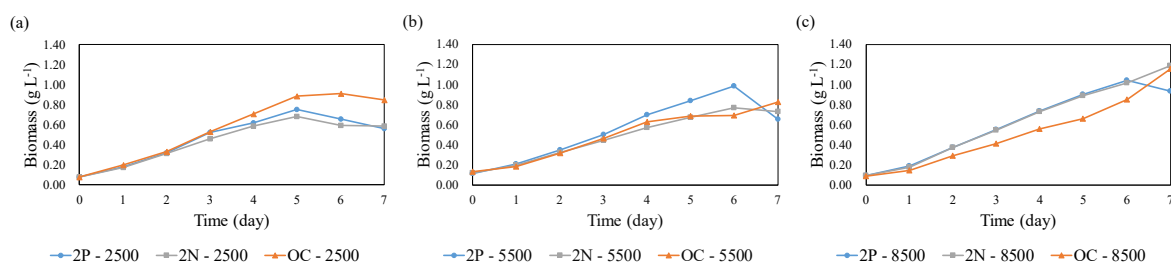


圖 5-14 藻類生質量增加情形

5.5.3. 不同 CO₂ 濃度下藻類批次培養

為小球藻於 2500 ppm、5500 ppm、8500 ppm 二氧化碳濃度下培養 7 天之結果（見圖 5-15）。發現 3 種濃度對於小球藻前 5 天的生長狀況幾乎相同，推測是因為相對於前人的實驗（高濃度差異的二氧化碳），3 組之間的二氧化碳濃度差異在過於相近，或許不足以刺激小球藻以更快的速度生長。但在第 5 天後 8500 ppm



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

的組別還在持續生長；2500 ppm 及 5500 ppm 的組別生長卻出現停滯，甚至下降。推測可能是因為較高濃度的二氧化碳供應了較多的碳源，使得小球藻可以生長至更高的密度。

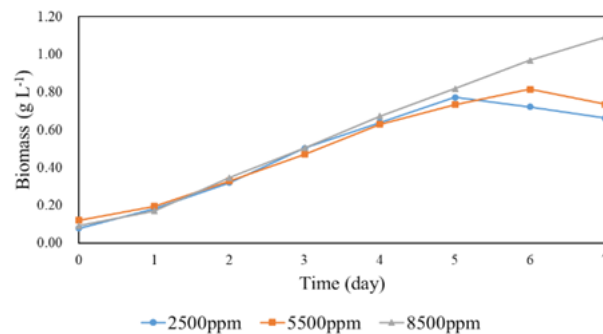


圖 5-15 不同 CO₂ 濃度下藻類生質量增加情形

表 5-11 小球藻在不同二氧化碳濃度下的二氧化碳固定量及二氧化碳固定率

CO ₂ 濃度 (ppm)	CO ₂ 固定量 (g/day)		CO ₂ 固定率 (%)	
	乾重求得	感測器求得	乾重求得	感測器求得
2500	0.65	1.66	3.84	9.80
5500	0.60	3.96	1.63	10.92
8500	0.71	3.60	1.28	6.48

根據前人的研究，測量藻類固碳效果的方式主要有 2 大類：一是利用測量藻體乾重變化及含碳比例求得，通常小球藻的含碳比例是 50%，本研究也依此進行計算；二是利用二氧化碳感測器量測進、出口二氧化碳濃度，結合流量、溫度等數據求得，但容易受到氣流波動或管線設備吸收吸附影響。本研究結合上述兩種方式進行計算並比較，節果見表 5-11。

根據表 5-11 的數據可以發現，由於三組的生長情形相似，所以利用乾重變化求得的每日二氧化碳固定量相近，但由於通入的二氧化碳濃度不同，導致二氧化碳固定率產生差異。透過二氧化碳感測器求得的固定量和固定率則是遠遠大於乾重變化求得的數據，推測可能是能夠影響數據的因素相當多，例如儀器長時間運行的精準度、無法避免的二氧化碳洩漏、微生物的生長、設備中的吸收與吸附等，都會導致偵測到的數據出現過高或過低的數值，尤其在低濃度二氧化碳的狀況下會更為明顯。

雖然兩種方式求得的固定量與固定率有分歧，但不可否認的是，在低濃度二氧化碳的條件下，小球藻仍然有非常良好的成長趨勢，且因二氧化碳濃度較低，即使每日二氧化碳固定量相較前人並不是非常出色（表 5-12），但在 2,500 ppm 條件下，小球藻可以達到 3.84% 以上的二氧化碳固定效率，這是目前少數可以達到的高水準，同時，本研究也以極低用量的二氧化碳達到了高效率的小球藻培養。



表 5-12 二氧化碳固定數據和前人之比較

藻種	CO ₂ 濃度	CO ₂ 固定量	CO ₂ 固定率	作者
<i>Chlorella</i> sp.	0.25%	0.24 g/L/d	3.84%	本研究
<i>Chlorella vulgaris</i>	10%	1.37 g/L/d	0.50%	(Hena et al., 2023)
<i>Chlorella vulgaris</i>	8%	2.75 g/L/d	0.80%	(Adamczyk et al., 2016)
<i>Chlorella vulgaris</i>	10.2%	0.52 g/L/d	0.25%	(Wei et al., 2024)

5.6. TGS 結果與討論

5.6.1. 菌種豐度討論

將 TGS 的 90 個數據集 (datasets) 中的三重複樣品加以平均之後選取每個平均數據集前 10 名的菌種換算為百分比，再進行繪圖如圖 5-16 所示。前 10 名豐度最高的菌種是 *Citrobacter freundii* ATCC 8090 = MTCC 1658 = NBRC 12681、*Desulfomicrobium norvigecum*、*Trichococcus patagoniensis*、*Citrobacter murlinae*、*Sporacetigenium mesophilum*、*Enterobacter soli* ATCC BAA-2102、*Pseudomonas aeruginosa*、*Dechloromonas agitata*、*Macellibacteriodes fermentans*、*Trichococcus ilyis*。各菌種之功能性描述如表 5-13 所示。

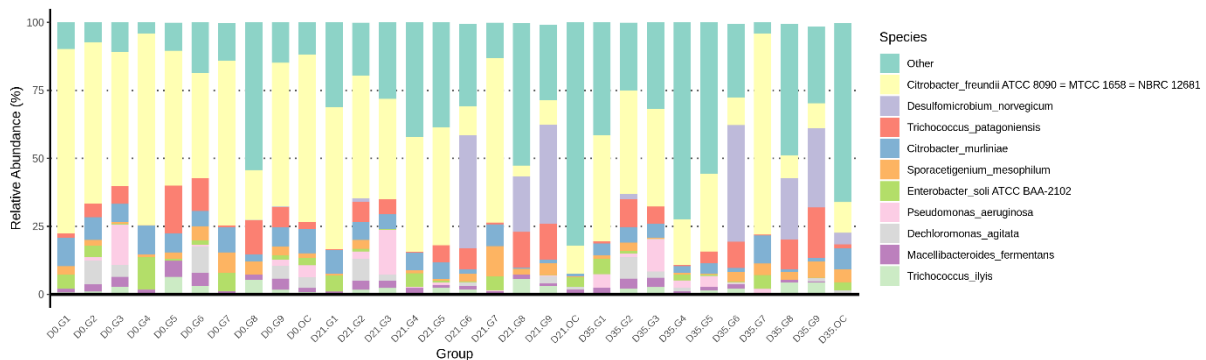


圖 5-16 相對豐度前 10 名的菌種占比圖

綜整表 5-13，這些菌種中，*Citrobacter freundii*、*Enterobacter soli*、*Pseudomonas aeruginosa* 是屬於能夠直接參與 Aroclor 1254 降解之菌種，*Desulfomicrobium norvigecum*、*Citrobacter murlinae*、*Enterobacter soli* ATCC BAA-2102、*Dechloromonas agitata* 則是屬於可能可以降解 Aroclor 1254 之菌種，其他菌種則屬於輔助角色，屬於產酸與產氫之發酵菌，或是不會利用乙酸之不會競爭資源之菌種。

表 5-13 豐度 Top 10 菌種之功能性描述

Species	功能描述	參考文獻
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090 = MTCC 1658 = NBRC 12681	<i>Citrobacter freundii</i> 可用於農作物和生態環境受擬除蟲菊酯類農藥污染的生物修復，也可分解五氯酚與聯苯。此菌種可降解氯烯、氯烷、 苯甲酸酯、氯苯及戴奧辛 。	(Grishchenkov et al., 2002; Kanehisa et al., 2022; WerheniAmmeri et al., 2016; Zhou et al., 2022)
<i>Desulfomicrobium norvigecum</i>	利用乳酸、丙酮酸、乙醇、氫氣和甲酸，但 不利用乙酸 、丙酸、丁酸、甲醇、丙醇、丁醇、異丁醇、乳糖、葡萄糖、草酸或膽鹼作為電子供體進行硫酸鹽還原。同屬菌可降解氯烯、氯烷、 苯甲酸酯 。	(Genthner et al., 1997; Kanehisa et al., 2022)
<i>Trichococcus patagoniensis</i>	兼性厭氧菌，以糖和一些有機酸為基質，其代謝終產物為乳酸、甲酸、 乙酸 、乙醇和二氧化碳。	(Pikuta et al., 2006)
<i>Citrobacter murlinae</i>	產酸能力（lag）；在 乙酸鈉 上生長（usually lag）；能利用半乳糖醇、D-來蘇糖、1-O-CH ₃ - α -半乳糖苷（lag）以及 L-酪胺酸作為唯一碳源的能力。同屬菌能可降解氯烯、氯烷、 苯甲酸酯、氯苯及戴奧辛 。	(Brenner et al., 1999)
<i>Sporacetigenium mesophilum</i>	可由少數單醣和雙醣發酵產酸，葡萄糖發酵產 乙酸 、乙醇、H ₂ 及 CO ₂ 。	(Chen et al., 2006)
<i>Enterobacter soli</i> ATCC BAA-2102	對葡萄糖、甘露醇、山梨醇、鼠李糖、蔗糖、蜜二糖、苦杏仁苷和阿拉伯糖的發酵呈陽性。同屬菌可降解 Aroclor 1242、1254 及 1260 。	(Jia et al., 2008; Manter et al., 2011)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	生物修復環境基質（如氣態、液態和土壤）中多氯聯苯污染物的首選菌種之一。它們擁有 2,3-聯苯雙加氧酶，能夠將低氯聯苯首先轉化為氯苯甲酸，隨後轉化為其代謝物，即氯化物、水和二氧化碳。	(Gyasi et al., 2024)
<i>Dechloromonas agitata</i>	最佳生長條件為 35°C、pH 7.5 和 1% NaCl，其中乙酸鹽作為電子供體，氯酸鹽作為電子受體。同屬菌可降解氯烯、氯烷、 苯甲酸酯、氯苯及戴奧辛 。	(Achenbach et al., 2001; Kanehisa et al., 2022)
<i>Macellibacteriodes fermentans</i>	葡萄糖代謝的主要發酵物是乳酸、 乙酸鹽 、丁酸和異丁酸。	(Linda Jabari et al., 2012)
<i>Trichococcus ilyis</i>	可利用纖維二糖、蔗糖、麥芽糖和葡萄糖。發酵產物為乳酸、 乙酸 、甲酸鹽和乙醇。	(Strepis et al., 2020)



5.6.2. Alpha 多樣性

Alpha 多樣性是指一個特定區域或者生態系統內的多樣性，用來描述單個樣品的物種多樣性或藉由 Alpha 多樣性指標作為判斷樣本定序量是否足夠的標準。Alpha 多樣性的指標眾多，本研究針對 Shannon index (SI)、observed features (OF，觀察到之菌種) 與 Pielou Evenness (PE，均勻度) 進行探討。Shannon index 同時考量物種數和物種均勻度，愈豐富均勻的群集，指標數值愈高，也就具有較高的多樣性。observed species 代表實際觀測到的物種量。

由圖 5-17a 可見表現最佳的 G1 (紅色虛線) 的 SI 有由低升高之趨勢，次佳的 G8 (藍色虛線) 則是始終維持在高檔，降解表現第三名的 G5 (綠色虛線) 則是呈現先降低再回升之趨勢。在圖 5-17b 物種數量部分，G1 始終維持在較低的位置，G8 則是相對較高，G5 是逐漸降低。由此兩項數據觀察，降解表現最佳的 G1 之菌群是由較少種類之菌種，較低多樣性就可達成最佳降解效率。在圖 5-17c 之

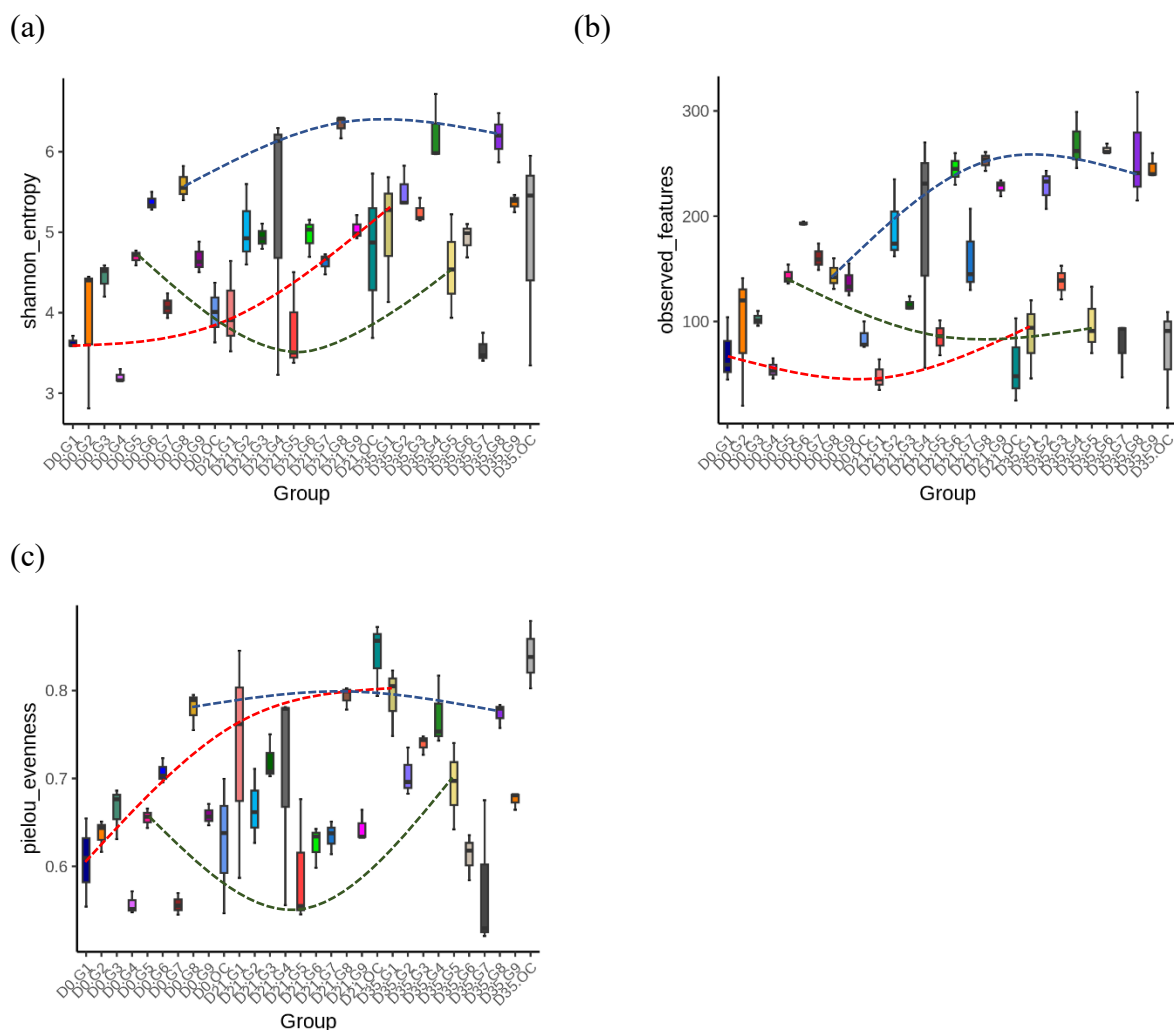


圖 5-17 本田口批次試驗之 SI (a)、OF (b)與 PE (c)



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

均勻度部分，可見 G1 之均勻度一路升高，G8 始終較高，G5 則是先降低後升高。均勻度愈低，代表極可能有優勢菌種存在，亦即少數菌種，其數量甚高。由此觀察，G1 在第 0 天時有明顯之優勢菌種存在；G5 也類似情形；但 G8 之均勻度甚高，似乎無優勢菌種存在。

5.6.3. Beta diversity

Beta 多樣性是生態學和微生物組學中的一個概念，用來衡量不同樣本或生態系統之間物種組成的差異性，它量化的是不同群落之間的差異程度。在本研究中，即表示每一樣品間物種組成之差異，若將單一樣品視為一資料點，則 2,552 的 ASVs 的 copy 數可視為單一資料點有 2,552 個維度的座標值，因為高維空間無法有效觀察，故以 PCA 之方式將資料降維到 2 維進行觀察。

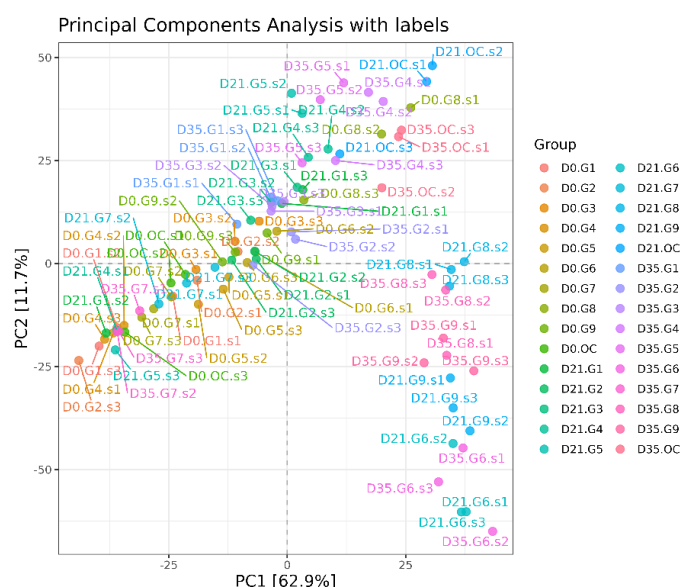


圖 5-18 本田口批次試驗值主成分分析

主成分分析結果如圖 5-18，第一主成分（Principal component 1, PC1）可解釋 62.9% 變異（variances），PC2 則是可解釋 11.7% 變異。由於各個樣品的位置是由最主要變異的菌種所左右，但未必是最優勢降解菌種。若要了解那些主要菌種左右這些資料點之分布，可繪出具有菌種負荷（loading）圖形，如圖 5-19 所示。由此圖可見，在 PC1 座標軸影響最大的菌種為 *C. freundii* 8090，其次為 *Desulfomicrobium norvigecum*，再其次為 *Trichococcus patagoniensis*，其中 *C. freundii* 8090 可能可以降解 Aroclor 1254，*Trichococcus patagoniensis* 可發酵產酸，*Desulfomicrobium norvigecum* 則是可能可以參與 Aroclor 1254 之降解（請參照表 5-13）。

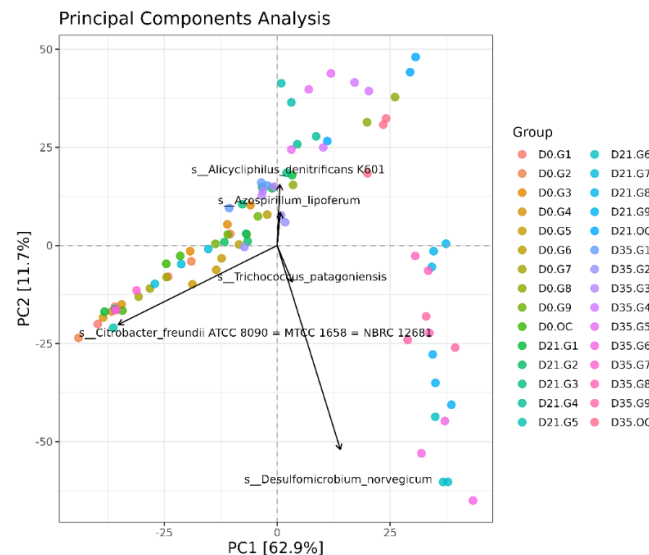


圖 5-19 批次試驗之主成分分析之因子負荷

5.6.4. 菌種相關性討論

將豐度前 30 名菌種之 copy 數進行 spearman 相關係數計算，將其所得兩兩相對的數值再利用 IBM 的 SPSS 軟體進行群集分析，如圖 5-20。兩兩相交的方塊之顏色表示相關性，紅色代表正相關，綠色代表附相關，白色代表無相關。右邊之樹狀圖為群集分析之結果，依據群集分析結果劃分出不同群集，顯示在此圖右邊藍色塊狀標示為第 1 至第 5 群集。左邊除標示各菌種名稱外，也以色塊標示該菌種所屬之門 (phylum) 分類。

會在同一群集中的菌種，如表 5-13 所列出具有降解 Aroclor 1254 之 *Citrobacter freundii*、*Enterobacter soli* 即被分在第 1 群集中，第 1 群集中尚有 *Citrobacter murlinae* 也是可能具有降解 Aroclor 1254 的能力，*Thermincola carboxydiphila* 可以用 CO 為唯一碳源，產生 H_2 與 CO_2 (Sokolova et al., 2005)，與 *Thermincola carboxydiphila* 同屬的 *Thermincola potens* 具有降解氨基苯甲酸、氯烷烴和氯烯烴、硝基甲苯、苯乙烯、萘之基因 (Kanehisa et al., 2022)；*Clostridium pascui* 發酵產物為**乙酸鹽**、丁酸、乙醇、 H_2 和 CO_2 ，應有協助 Aroclor 1254 的效果。

第 2 群集的 *Macellibacteroides fermentans* 是從突尼斯處理屠宰場廢水的上流式厭氧過濾器中分離出之厭氧且不形成芽孢之革蘭氏陽性桿狀嗜溫菌，在 20-45 °C (最佳 35-40 °C) 和 pH 5.0-8.5 (最佳 pH 6.5-7.5) 下生長。不以硫酸鹽、硫代硫酸鹽、元素硫、亞硫酸鹽、硝酸鹽和亞硝酸鹽作最終電子接受者。可使用纖維二糖、葡萄糖、乳糖、甘露糖、麥芽糖、蛋白胨、鼠李糖、棉子糖、蔗糖和木糖作為電子供給者。葡萄糖代謝的主要發酵產物是乳酸、**乙酸**、丁酸和異丁酸 (L. Jabari et al., 2012)，此菌有助於還原脫溴。*Parabacteroides chartae* 發酵可產生乳



酸、丙酸、甲酸和**乙酸**(Tan et al., 2012)，也具有降解苯甲酸酯之基因(Kanehisa et al., 2022)。

第3群集中有表5-13所列的 *Pseudomonas aeruginosa*，此菌種是一種兼性厭氧菌，意即在有氧氣的環境下能有效生長，在缺乏氧氣的環境下也能存活，但生長效率會降低，此菌種確定具有降解 **Aroclor 1254** 之能力(Gyasi et al., 2024)。*Azospirillum lipoferum* 具有降解苯甲酸酯、氨基苯甲酸酯、氟苯甲酸酯、氯化烷和氯化烯烴、氯化環己烷和氯苯、甲苯、二甲苯、硝基甲苯、乙苯、苯乙烯、己內醯胺、戴奧辛、茶、多環芳烴相關的基因 (Kanehisa et al., 2022)。*Azospirillum palustre* 相關資訊有限，但應有類似同一屬菌種的能力 (Tikhonova et al., 2019)。*Alicyclophilus denitrificans* 是可利用 cyclohexanol 為唯一碳源的硝酸鹽還原菌 (Mechichi et al., 2003)，具有降解苯甲酸酯、氨基苯甲酸酯、氟苯甲酸酯、氯烷和氯烯烴、氯環己烷和氯苯、甲苯、二甲苯、硝基甲苯、乙基苯、苯乙烯、己內醯胺、戴奧辛、茶、類固醇相關基因(Kanehisa et al., 2022)。*Neobacillus cucumis* 具有可降解苯甲酸酯、氨基苯甲酸酯、氯烷和氯烯烴、氯環己烷和氯苯、二甲苯、苯乙烯、己內醯胺、戴奧辛、茶、類固醇相關基因(Kanehisa et al., 2022)，其他資訊相當有限(Patel & Gupta, 2020)。*Mesobacillus thioparans* 之基因組尚未揭示，資料有限(Kanehisa et al., 2022; Patel & Gupta, 2020)。

第4群集 *Rectinema cohabitans* 是一種從能夠降解茶的微生物群落中分離出來的嚴格厭氧細菌 (Koelschbach et al., 2017)。這種細菌是在五氯酚廢水的微生物組中發現的 (Muhamad et al., 2021)。*Rectinema* 屬中也有多種可以降解 TCE 的菌群(Tomita et al., 2022)。*Alistipes putredinis* 發酵產酸主要是琥珀酸，少量的醋酸、異丁酸、異戊酸和丙酸；也會產生大量的 H_2 (Rautio et al., 2003)。此群集之菌種對降解 Aroclor 1254 之效果並不明確。

第5群集中有許多表5-13的菌種，除 *Desulfomicrobium norvigecum*、*Trichococcus patagoniensis*、*Sporacetigenium mesophilum*、*Dechloromonas agitata*、*Trichococcus ilyis* 外，*Clostridium quinii* 厭氧孢子生成菌，指數成長過程中葡萄糖發酵產物為 H_2 、 CO_2 、甲酸鹽、**乙酸鹽**和乙醇以及少量丁酸鹽(Svensson et al., 1992)，研究指出與奈米催化劑結合，有效修復受 TCE 污染的地下水 (Kang et al., 2011)；*Acetobacteroides hydrogenigenes* 能夠利用葡萄糖發酵，產生**乙酸**、 H_2 和二氧化碳 (Su et al., 2014)。*Sporacetigenium mesophilum* 葡萄糖發酵產**乙酸**、乙醇、 H_2 及 CO_2 。*Sedimentibacter saalensis* 為一種從河川底泥分離出來的菌種。有研究表明，*Sedimentibacter* 屬與底泥中 BDE-209 之厭氧還原脫溴化有一定關聯性(Zhu et al., 2019)，*Sedimentibacter acidaminivorans* 在先前底泥中 BDE-209 中降解研究中曾



是被列入重要菌種之一。*Pseudomonas oryzae* 具有降解苯甲酸酯、氨基苯甲酸酯、氟苯甲酸酯、氯化烷和氯化烯烴、氯化環己烷和氯苯、甲苯、二甲苯、硝基甲苯、苯乙烯、草脫淨、己內醯胺、萘、類固醇相關的基因 (Kanehisa et al., 2022)。*Desulfosporosinus auripigmenti* 是砷酸鹽與硫酸鹽還原菌，可將有機基質轉化為**乙酸鹽**(Newman et al., 1997; Stackebrandt et al., 2003)。*Meniscus glaucopsis* 相關資訊較少，是可耐受氧氣之厭氧菌，可發酵多種醣類(Irgens, 1977)。*Lentimicrobium saccharophilum* 於處理高濃度澱粉之有機廢水反應器中從產甲烷顆粒污泥中分離出的菌群，其為革蘭氏陰性嚴格厭氧菌，其能利用葡萄糖進行發酵產生**乙酸鹽**、蘋果酸鹽、甲酸鹽和 H_2 ，有文獻報導其在受重金屬污染之底泥中發現此菌株之存在(Fernández-Cadena et al., 2020)，亦曾於缺氧條件下存於脫硫生物反應器中(González-Cortés et al., 2021)，學者 Cheng 等人研究發現此菌種可協助氫的累積，進而促進還原脫氯之作用(Cheng et al., 2023)。*Millionella massiliensis* 是厭氧菌，能在 $45^\circ C$ 厭氧條件下生長，其他資訊相當有限(Mailhe et al., 2017)。*Mariniplasma anaerobium* 是厭氧菌，酵母萃取物是生長所必需的，含硫物種不作為電子受體(Watanabe et al., 2021)，具有降解苯甲酸酯、氨基苯甲酸酯、苯乙烯相關的基因(Kanehisa et al., 2022)。

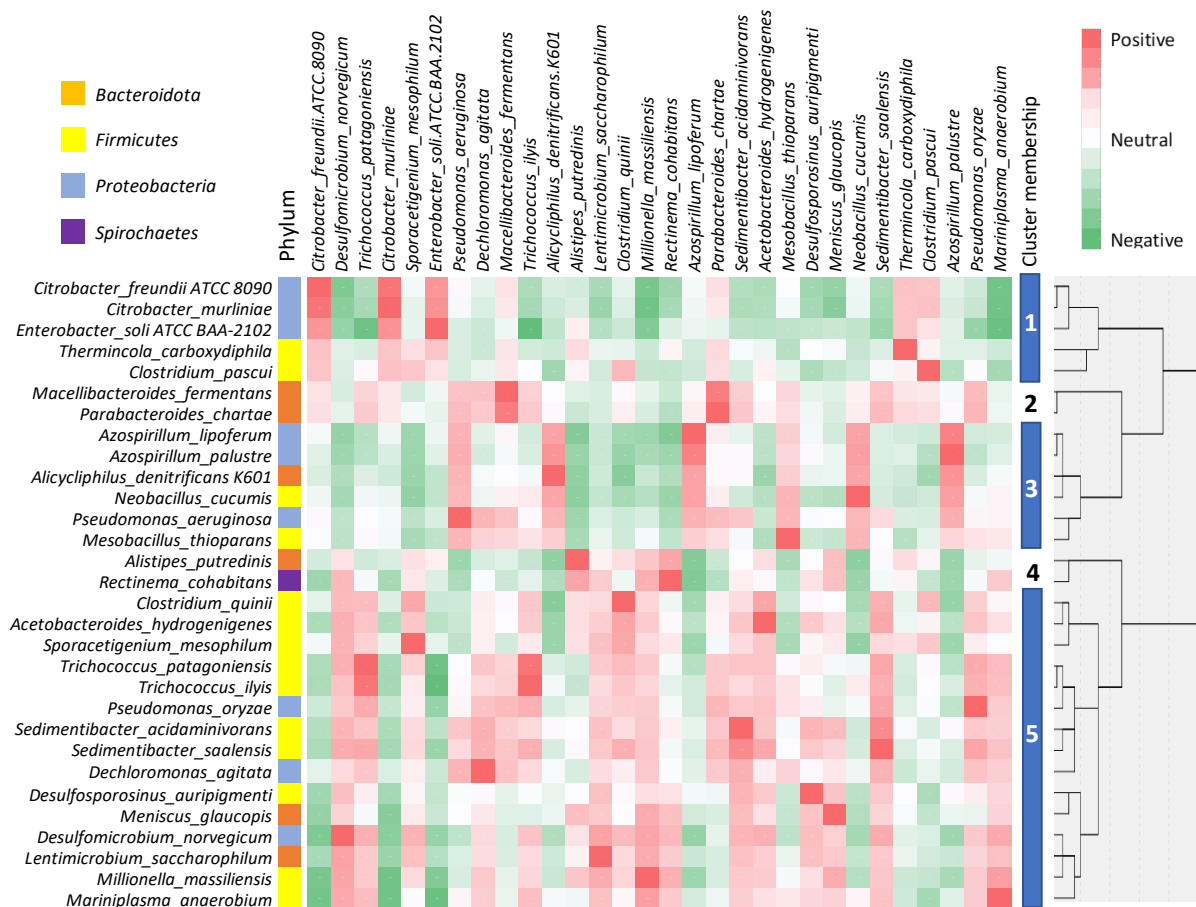


圖 5-20 批次試驗之高豐度菌種相關性之群集分析圖



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

綜上所述，此處探討之菌種以豐度且相關性較高為主，未必與 Aroclor 1254 降解之相關性高，無法由此處判斷何群集之菌種或菌群具有較佳降解能力，其他相關討論，請參考機器學習結果。

5.6.5. 環境因子對菌相結構影響

約束排序分析（Constrained ordination analysis, COA）常用於研究物種與環境因子之間的關係。冗餘分析（Redundancy analysis, RDA）和典範對應分析（CCA）是兩種主要方法，其選擇取決於「去趨勢對應分析」（DCA）。當第一個 DCA 軸的梯度長度小於 3.0 時，首選 RDA；當大於 3.0 時，CCA 較為合適。在本研究中，梯度長度為 4.22，顯示 CCA 較為合適。

CCA 將物種資料的排序軸定義為環境變數的線性組合(Borcard et al., 2018)。在二維圖中(圖 5-21)，射線長度反映了每個因素在塑造微生物分佈方面的強度，而射線之間的角度則表示它們之間的關係：銳角表示正相關，鈍角表示負相關，直角表示獨立。

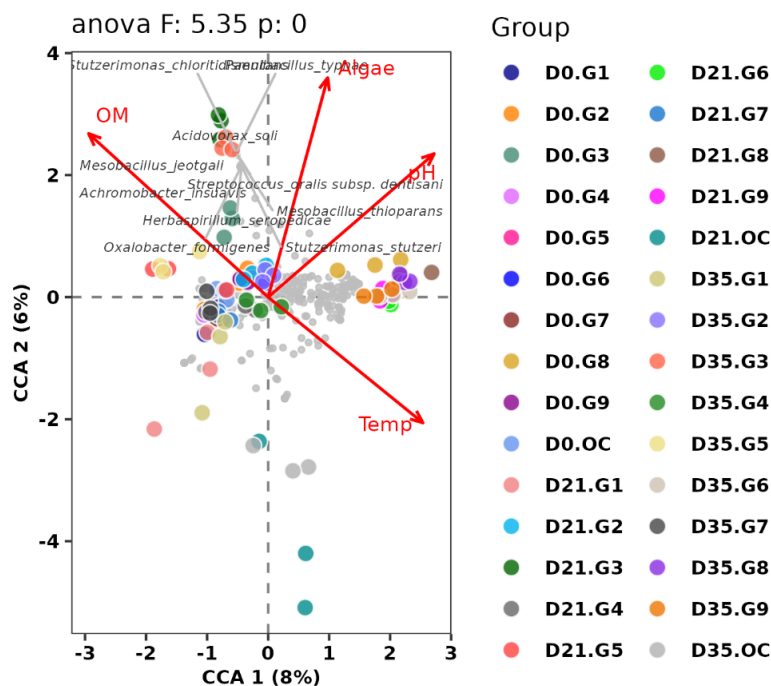


圖 5-21 環境因子影響之 CCA 圖

在我們的結果中，CCA-1 軸和 CCA-2 軸分別解釋了 8%和 6%的變異。將四項環境變因的長度轉換為在 CCA 1 與 CCA 2 投影長度，再將 CCA 1 與 CCA 2 可解釋之變異量相乘，可知影響最大的是底泥有機質，其次為 pH 值，溫度次之，藻類加量再次之。此變因影響的是菌群結構，與降解能力無關。原本對降解能力影響最大的是 pH 值，底泥有機質次之（見圖 5-6 與表 5-6）。綜合兩方面資料分



析，可知在現場控制好底泥有機質與 pH 值，應較有把握控制整治成果。

此外，可注意的是溫度與底泥有機質影響是完全相反，而 pH 值則與此二者幾乎完全獨立。

5.6.6. 功能預測討論

本計畫透過物種鑑定、基因組序列檢索和標記基因註釋進行功能預測。應用了兩種工具：透過重建未觀測狀態進行群落系統發育研究 (PICRUST2) 和原核生物類群功能註釋 (FAPROTAX)。PICRUST2 是基於標記基因定序譜預測微生物群落的功能潛力 (Douglas et al., 2020)，而 FAPROTAX 則根據 16S rRNA 擴增子定序推斷細菌和古菌類群的生態功能，並已廣泛應用於土壤微生物組研究 (Sansupa et al., 2021)。由於我們的資料集僅包含全長 16S rRNA 序列，因此 FAPROTAX 應比 PICRUST2 更合適。因此，本文僅討論 FAPROTAX 的結果。

此處僅就 FAPROTAX 預測結果進行討論，如圖 5-22 所示。此處必須強調這是根據 16S rRNA genes 的 copy 數進行之預測，並非是由 mRNA copy 數之 transcriptomics study 或是蛋白質單位的 proteomic study 或是 translaticomics study 所得來的，故僅是預測，僅可供參考用。

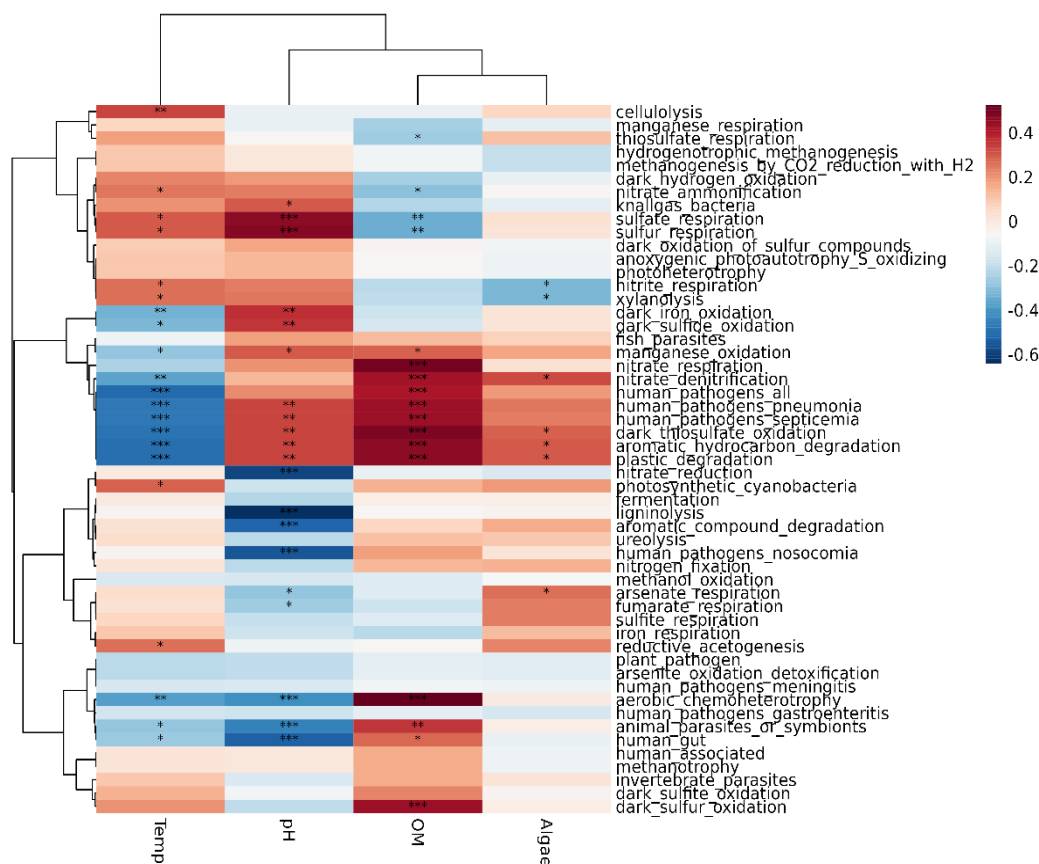


圖 5-22 功能預測圖



由圖 5-22 可知，藻類與底泥有機質在功能選擇上較為相近故分在同一群集，其次才是 pH 值與溫度，此處再一次說明，兩因子在菌群結構影響上是南轅北轍，但在功能篩選上，卻是高度一致。不過由田口試驗因子反應資料得知：低藻類與低底泥有機質有利於 Aroclor 1254 移除，所以應該觀察偏藍色之功能與 pH 值偏中間之功能，以及溫度偏藍色之功能。

由於此熱圖難以觀察此種功能，必須將原始檔案調出進行查看，經過比對後發現 methanol oxidation ($p = 0.26 - 0.66$)、arsenite oxidation detoxification ($p = 0.10 - 0.45$)、ligninolysis ($p = 2.09 \times 10^{-9} - 0.83$)、fermentation ($p = 0.09 - 0.96$)、human pathogens meningitis ($p = 0.27 - 0.58$)、human pathogens gastroenteritis ($p = 0.19 - 0.43$)、nitrate reduction ($p = 7.48 \times 10^{-8} - 0.95$) 可能是較有共識之功能，雖然 p 值較大，不屬顯著差異，但仍可供參考。其中尤以 ligninolysis、Fermentation、nitrate reduction 可能較具有共識且可能與此研究息息相關者。

此外，與 pH 負相關且顯著者也值得觀察（詳見圖 5-6），因為因子反應圖顯示 pH 為最具影響力之控制因子，且 pH 5.8 與 7.0 之移除率非常相近，這些功能包括 nitrate reduction ($p = 7.48 \times 10^{-8}$)、ligninolysis ($p = 2.09 \times 10^{-9}$)、aromatic compound degradation ($p = 7.93 \times 10^{-6}$)、human pathogens nosocomia ($p = 1.07 \times 10^{-6}$) (指院內感染之人類致病菌)、arsenate respiration ($p = 0.028$)、fumarate respiration ($p = 0.041$)、aerobic chemoheterotrophy ($p = 0.0004$)、animal parasites or symbionts ($p = 8.43 \times 10^{-5}$)、human gut ($p = 4.17 \times 10^{-6}$)。其中尤以 ligninolysis (木質素分解)、aromatic compound degradation (芳香族化合物降解) 與本研究高度相關。

5.7. TGS 資料之機器學習

本計畫總共收集 90 個樣品，將 DNA 樣本萃取完成後，進行 TGS 定序，完成定序資料集共有 90 個，針對這些資料集進行 4.6 節所述之方式產生 90 組之資料集，此次資料產生之 ASVs 總數為 2,552 個。學習之方式分為四階段，第一階段是資料前處理，先進行 $x+1$ 之動作，此舉是為避免 copy 數為 0 導致無法進行對數運算。再使用 StandardScaler 對所有 ASVs 進行標準化處理，使各數據集之平均值為 0、標準差為 1。然後，再依照 90 個資料集產出之組合方式產生相與 $\ln \frac{x_t}{x_0}$ 相對應之 ΔS ，此為資料之前處理。

完成前處理之資料以隨機 (random) 方式分割為 80% 與 20% 資料集，前者作為訓練資料集 (training datasets)，後者做為測試資料集 (testing dataset)，經過訓練之模式，再以 k-fold 方法進行交叉驗證 (k-fold cross validation, $k = 5$) 本研究使用之 k 折交叉驗證 (k-fold cross validation) 為將訓練集分為 k 個部分，每次



訓練將其中一部分作為驗證集用來評估性能與調整參數，剩餘的部分用於訓練模型，每個部分都會作為驗證集一次，會使模型訓練 k 次以及評估 k 次。本研究中，我們使用五折交叉驗證，其中訓練集分為五個部分，每次使用四個部分進行訓練，剩餘一個用於評估性能和調整參數，如圖 5-23。每個部分評估一次，使模型訓練五次、評估五次，最後將五次評估的結果平均來得到最終的評估結果。最後進行測試資料集的測試。

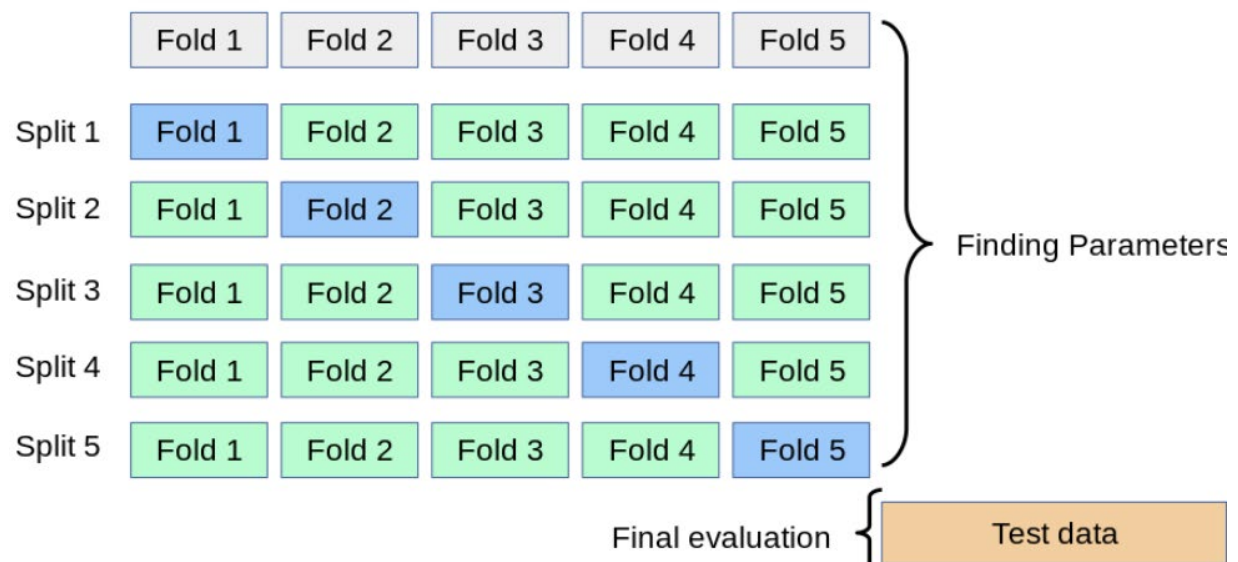


圖 5-23 五折交叉驗證

訓練、驗證與測試步驟均會產生三個指標，即均方差（mean squared error, MSE）、均方根誤差（root mean squared error, RMSE）與決定係數（coefficient of determination, R^2 ）。MSE 與 RMSE 均以趨近於 0 最佳， R^2 則以愈趨近 1 愈佳。

5.7.1. 機器學習成果

表 5-14 為 90 個樣品 TGS 資料組進行不同模型機器學習之結果。由此表可見 LASSO 模型之表現最佳，其訓練階段之 R^2 、MSE 及 RMSE 分別可達 1.00000、 $1.33\text{E}-10$ 與 $1.15\text{E}-05$ ，其測試階段之 R^2 、MSE 及 RMSE 分別可達 1.00000、 $1.06\text{E}-09$ 與 $3.26\text{E}-05$ ；其次為 Elastic Net (EN)，其訓練階段之 R^2 、MSE 及 RMSE 分別可達 0.99999、0.00001 與 0.00322，其測試階段之 R^2 、MSE 及 RMSE 分別可達 0.99999、0.00004 與 0.00649。在國際文獻所做出之機器學習文獻中，通常 R^2 幾乎未曾見過可達 1.0000 者（雖經四捨五入），此處 LASSO 之學習效果如此突出，較可能原因有二：一為定序深度所獲之 ASVs 數量充足，有足夠之特徵值，二為 copy 數比例之自然對數值（ $\ln x/x_0$ ）與 ΔS 之理論關係原本即存在。

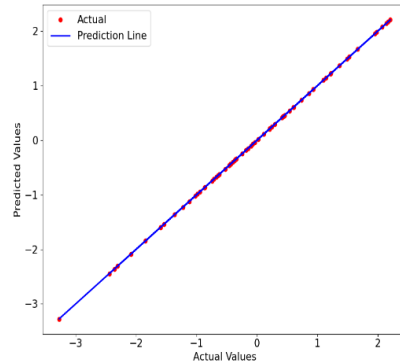


以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

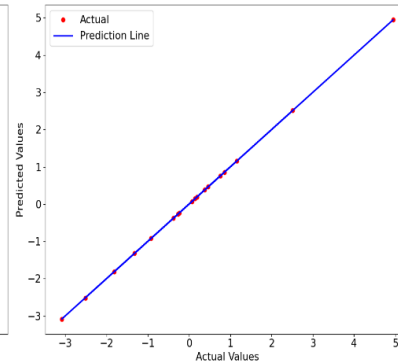
表 5-14 四種不同 ML 模式之訓練及測試結果之比較

模式	Training			Testing		
	R^2	MSE	RMSE	R^2	MSE	RMSE
XGBoost	0.99227	0.01474	0.12140	0.36653	0.72546	0.85174
RF	0.77002	0.39761	0.63056	0.34475	1.23071	1.10937
GPR	1.00000	1.65e-12	1.28e-06	0.95182	0.06305	0.25109
SVR	0.99993	0.00010	0.00992	0.99989	0.00035	0.01865
LASSO	1.00000	1.33E-10	1.15E-05	1.00000	1.06E-09	3.26E-05
EN	0.99999	0.00001	0.00322	0.99999	0.00004	0.00649
ANN	0.99827	0.00294	0.05419	0.96041	0.07848	0.28014

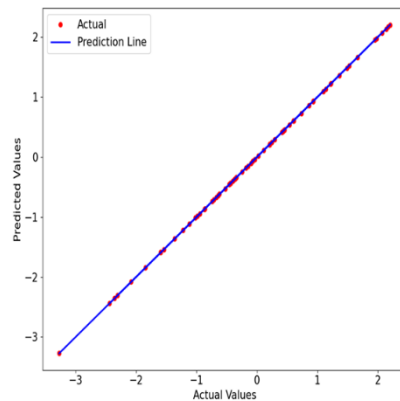
(a)



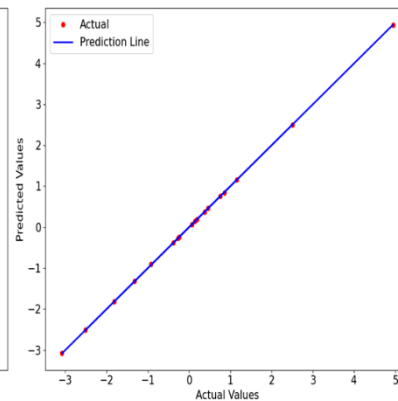
(b)



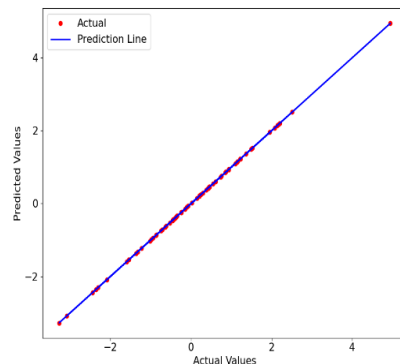
(c)



(d)



(e)



(f)

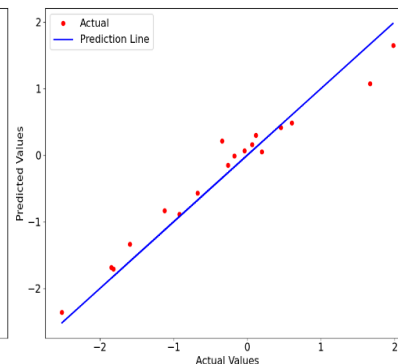


圖 5-24 LASSO 在訓練(a)與測試(b)階段、Elastic Net 在訓練(c)與測試(d)階段以及 GPR 在訓練(e)與測試(f)階段的預測值與實際值線性迴歸圖



LASSO 模式在所有資料訓練與測試階段之預測結果如圖 5-24a 與 5-24b 所示。斜對角的藍色線條為預測值，紅點為實際值。由此圖可見 LASSO 模式在訓練與測試階段資料之預測值與實際值都高度契合；同樣地，針對 Elastic Net 模式在所有資料結果繪圖如圖 5-24c 與 5-24d 所示，可見 Elastic Net 模式在訓練與測試階段所有資料之預測值與實際值非常貼近；另外，針對 GPR 訓練與測試結果如圖 5-24e 與 5-24f，可見在訓練階段仍有高度契合，但在測試階段，可明顯看出有許多紅點未落在預測線上。比較圖 5-24a、5-24b 與圖 5-24c、5-24d，很難肉眼分辨 LASSO 較 Elastic Net 更佳，但是由表 5-14 可知 LASSO 確實較佳。**本計畫原訂進行 4 種機器學習模式之學習，而實際則是完成 7 種機器學習模式之學習，但限於篇幅，不一一討論。**由表 5-14 可見 SVR、LASSO、EN 與 ANN 為前四名（以測試結果之 R^2 排序），以下討論將針對此四種模式繼續討論。

5.7.2. 關鍵菌種討論

要觀察單一 ASV 對於結果之貢獻度有種方式：一是以累積 R^2 值觀察，一是以 SHAP 進行觀察。先以累積 R^2 值方式來觀察，其次是觀察 SHAP 值之方式。

既然 LASSO 模式為最佳模式，如何定義需要多少特徵才能有效預測結果，可將所有 AVSs 依其在預測重要性進行排序，並且已累進之方式進行預測並得到其相應之 R^2 值，將此結果進行繪圖如圖 5-25 所示。由 LASSO 之 R^2 累積圖可知大約需要 **80 個 ASVs** 才能有效預測 PCBs 之降解效率（即 $R^2 > 0.90$ ），其數量約佔所有進行學習之 ASVs 數目之 3.5%。與本實驗室進行地下水中三氯乙烯生物降解定序得到 714 個 ASVs，約需要 50-52 個 ASV 才能預測總氯化乙烯類物質之降解效果（比率約為 7.1%）比較，明顯較低。。

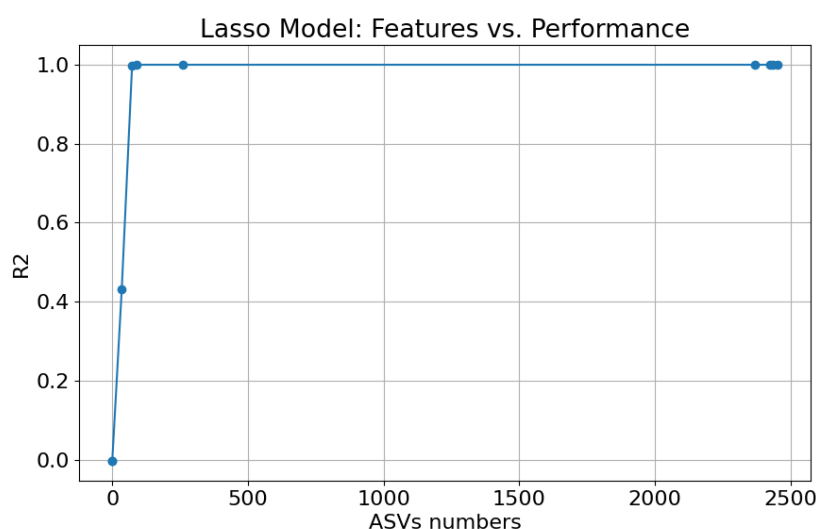


圖 5-25 LASSO 之 ASVs 數目與預測之累積 R^2 圖



另一種方法就是利用 Shap 值（Shapley values），Shap 值是由 Lloyd Stowell Shapley 基於合作賽局理論(cooperative game theory)提出。根據所有玩家在博弈中得到的所有金額，評估所有玩家的貢獻分配金額給所有玩家，計算式如式 4-10 所示(Rodríguez-Pérez & Bajorath, 2020)。

$$\phi_j(val) = \sum_{S \subseteq \{x_1, \dots, x_p\} \setminus \{x_j\}} \frac{|S|!(p - |S| - 1)!}{p!} (val(S \cup \{x_j\}) - val(S)) \quad \text{-----(4-10)}$$

其中，

$x_1, \dots, x_p$ = 建立模型所使用的所有特徵， p 為所有的特徵數量。

S = 排除 x_j 的子集合

$val_x(S)$ = S 集合的預測值減掉期望值，也就是減掉平均預測值。

$$val_x(S) = \int \hat{f}(x_1, \dots, x_p) dP_{x \notin S} - E_x(\hat{f}(X)). \quad \text{-----(4-11)}$$

上面的公式為 Shapley values 的計算方式， x 就是機器學習當中的特徵，而 $val_x(S)$ 就是輸出值，如果要計算每個特徵 x 對於輸出的貢獻，就要計算所有特徵的 shapley values，但是當特徵太多時，有 n 個特徵就等於要計算 $2^n - 1$ 種可能性，而每一種可能性都是要個別訓練才能知道輸出值，假設有 10 個特徵，就要訓練 1,023 個模型才能計算 shapley values（本計畫之 TGS 結果有 2,552 個特徵）。

由於特徵數量太多時，需要訓練大量模型，花費的時間成本是非常高的，因此透過 SHAP 方法不需要訓練大量模型就能計算特徵的重要性。SHAP 不重複訓練模型，他利用本身的結構和數學的特性來計算每個特徵的邊際貢獻，其針對不同的模型有不同的方法，如本研究使用的 LASSO 與 ElasticNet 為線性模型，適合使用 linear SHAP 來進行（圖 5-26），而 linear SHAP 計算的方式是對每個特徵計算他對預測值相比基準值的貢獻，基準值的計算通常為所有樣本輸入期望值產生的輸出，而個別特徵的 SHAP 值即是特徵的值減去期望值(即是偏離期望值的距離)再乘上模型係數，得到它對輸出值的影響。將 SVR、LASSO、EN 與 ANN 的特徵重要性之 Top 20 的 ASVs 經整理後在 4 個模式重複出現的 ASVs 如表 5-15 所示。擇要討論如下。

Stutzerimonas chloritidismutans 與 *Stutzerimonas stutzeri* 可降解苯甲酸酯、氨基苯甲酸酯、氟苯甲酸酯、氯烷與氯烯烴、氯環己烷與氯苯、甲苯、二甲苯、硝基甲苯、苯乙烯、莠去津(atrazine)、己內醯胺、萘、類固醇(Kanehisa et al., 2022)。*Clostridium sartagoforme* 是厭氧孢子生成菌，可分解纖維素及產氫；*Fonticella tunisiensis* 可將纖維二糖、果糖、半乳糖、葡萄糖、麥芽糖、甘露糖、蔗糖和澱粉



等多糖作為電子供給者，發酵產物包括甲酸鹽、**乙酸鹽**、乙醇和二氧化碳。*Lactobacillus crispatus* 可產乳酸，也能降解苯甲酸酯、氯化烯類、氯化烷類、萘；*Paenibacillus typhae* 兼性厭氧的桿狀孢子生成細菌，可降解澱粉、蛋黃和酪蛋白，可還原硝酸鹽為亞硝酸鹽，不能還原為氮；*Enterobacter soli* ATCC BAA-2102 污染物降解能力與 *Stutzerimonas chloritidis*mutans 及 *Stutzerimonas stutzeri* 類似；*Clostridium quinii* 厭氧孢子生成菌，指數成長過程中葡萄糖發酵產物為 H_2 、 CO_2 、甲酸鹽、**乙酸鹽**和乙醇以及少量丁酸鹽(Svensson et al., 1992)，研究指出與奈米催化劑結合，有效修復受 TCE 污染的地下水 (Kang et al., 2011)；*Pseudomonas reidholzensis* 為需氧菌，可將葡萄糖、癸酸、蘋果酸、葡萄糖酸鉀及檸檬酸三鈉作為唯一碳源。*Sedimentibacter saalensis* 為嚴格厭氧菌，可形成孢子。在丙酮酸培養基中生長時，主要發酵產物為**乙酸**和丁酸，而丙酸、乳酸以及微量的異丁酸和異戊酸是次要產物(在含有 0.5%酵母萃取物的培養基中)；不生成 H_2 (Breitenstein et al., 2002)；*Anaerotruncus massiliensis* 相關資訊非常有限，屬革蘭氏陽性芽孢桿菌，可產琥珀酸(Togo et al., 2019)；*Fonticella tunisiensis* 生長需要酵母萃取物。纖維二糖、果糖、半乳糖、葡萄糖、麥芽糖、甘露糖、蔗糖、澱粉和酵母萃取物可用作電子供給者，葡萄糖代謝的發酵產物為甲酸鹽、**乙酸鹽**、乙醇、 CO_2 和微量乳酸，未檢測到 H_2 (Fraj et al., 2013)。*Clostridium pascui* 為厭氧孢子生成菌，發酵產物為乙酸鹽、丁酸、乙醇、 H_2 和 CO_2 (Wilde et al., 1997)。ASV1126 經鑑定為 *Sedimentibacter saalensis* 與先前討論之 ASV277 為同一種。*Trichococcus ilyis* 是由厭氧之硫酸鹽還原反應器中分離來的，應屬厭氧發酵菌，檸檬酸的主要發酵產物

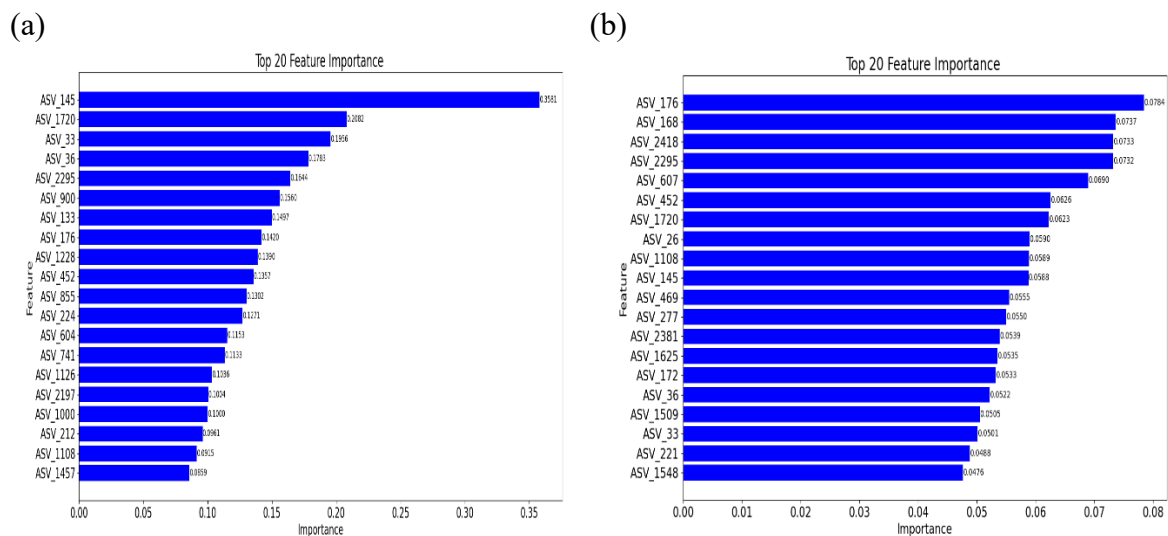


圖 5-26 LASSO (a)與 Elastic Net (b)的特徵重要性 Top 20 ASVs

表 5-15 在四種不同學習模式前 20 名中重複菌種

ASV 編號	模式學習後之排序				Species	功能描述	參考文獻
	SVR	LASSO	EN	ANN			
2295	2	5	4	14	<i>Stutzerimonas chloritidismutans</i>	降解氯酸鹽及多種有機污染物。	Wolterink et al. (2002)
176	13	8	1		<i>Clostridium sartagoforme</i>	具有分解單醣和多醣（含纖維素）及產氫的能力。	Gong et al. (2021)
1720	15	2	7		<i>Fonticella tunisiensis</i>	纖維二糖、果糖、半乳糖、葡萄糖、麥芽糖、甘露糖、蔗糖和澱粉作為電子供體，產物包括甲酸鹽、乙酸鹽、乙醇和二氧化碳。	Fraj et al. (2013)
2381	1		13	5	<i>Lactobacillus crispatus</i>	產乳酸，降解苯甲酸酯、氯化烯類、氯化烷類、茶。	Kanehisa et al. (2022)
2418	3		3	10	<i>Paenibacillus typhae</i>	可降解澱粉、蛋黃和酪蛋白，無法降解 Tween20 或 Tween80。可還原硝酸鹽為亞硝酸鹽，不能還原為氮。	Kong et al. (2013)
33		3	18		<i>Enterobacter soli</i> ATCC BAA-2102	降解木質素	Manter et al. (2011)
36		4	16		<i>Clostridium quinii</i>	葡萄糖發酵產物為 H ₂ 、CO ₂ 、甲酸鹽、乙酸鹽和乙醇以及少量丁酸鹽	Svensson et al. (1992)
145		1	10		<i>Pseudomonas reidholzensis</i>	需氧，可利用葡萄糖、癸酸、蘋果酸、葡萄糖酸鉀及檸檬酸三鈉。	Frasson et al. (2017)
190	18			8	<i>Stutzerimonas stutzeri</i>	可降解多種鹵化污染物	Kumari and Chandra (2023)
277			12	7	<i>Sedimentibacter saalensis</i>	由研究結果推論， <i>Sedimentibacter saalensis</i> 與四種有機氯化烴殺蟲劑之存在有關。	邱子權 (2004)
452		10	6		<i>Anaerotruncus massiliensis</i>	產琥珀酸	Togo et al. (2019)
607	6		5		<i>Fonticella tunisiensis</i>	中度嗜熱厭氧菌，可將葡糖糖發酵為甲酸、乙酸、乙醇與 CO ₂ 。	(Fraj et al., 2013)
1108		19	9		<i>Clostridium pascui</i>	降解麩胺酸	(Chen et al., 2020)
1126	4	15			<i>Sedimentibacter saalensis</i>	可將胺基酸分解為乙酸、丙酸及少量其他揮發酸。	(Breitenstein et al., 2002)
1228	20	9			<i>Trichococcus ilyis</i>	可利用纖維二糖、蔗糖、麥芽糖和葡萄糖	(Strepis et al., 2020)



是乙酸鹽和甲酸鹽，而葡萄糖發酵主要產物是乳酸、乙醇、乙酸鹽和甲酸鹽 (Strepis et al., 2016)。綜上所述，這些菌群中除 *Stutzerimonas chloritidismutans*、*Stutzerimonas stutzeri* 及 *Enterobacter soli* ATCC BAA-2102 可能與 PCBs 降解較為相關，其他菌種多與發酵產氫與產酸相關。

5.7.3. TGS 資料機器學習在土水整治之擴大應用

由於本研究在底泥整治樣品 TGS 資料之初步應用成功，確實可考慮將此技術繼續發展為底泥深度影響機制、優勢菌種功能分析及擴充數據集等方向研究，首先是底泥深度影響機制部分，由於淺層底泥可能受到潮差導致厭氧還原環境轉變為好氧或是兼氣狀態而有不利的厭氧還原脫氯之情況，故未來模場試驗研究應考慮如何取得有效之 ORP 測值，以嘗試測定 ORP 與潮水變化之關係。

擴充數據集與擴大應用部分則是需要繼續不斷研究且進行 TGS 定序資料分析與機器學習，才有辦法繼續累積。同時也應針對上層底泥與下層底泥進行水質參數之監測，才能夠將更多參數納入考量。本計畫目前考慮安全因素及避免樣品間交互污染而未在現場直接量測，在未來計畫中應設法克服。目前要將現場參數與 TGS 資料一同納入機器學習之技術上應該是可行的。

未來現場如何應用部分涉及到定序儀器設備之革新，此部分已經隨著定序設備之創新而逐漸可行，例如 Nanopore technology 公司所生產之 MinION，已經可以帶到現場進行立即之定序 (<https://nanoporetech.com/products/sequence/minion-mk1b>)，但是必須自行建立資料處理的所有 Pipeline 技術，雖然目前資料分析仍相當困難及耗時，但在不久的未來，應是可以克服。

5.8. 生命週期碳排放量比較

為比較藻類助劑與大豆油乳化液於生命週期中各階段所產生之溫室氣體排放量，並使用 1 公噸藻液或大豆油為基準，以二氧化碳當量 kg CO₂e 表示，本研究依據文獻數據並搭配環境部產品碳足跡資料庫中之排放係數進行估算，結果如表 5-16 所示。

由計算結果可得知，藻類助劑來源為優養化水體中過量藻類，並非額外培養所得，故可避免高能源消耗及額外碳排放，並且藻類於水體中生長期間具有良好的碳捕捉能力。雖然後續撈除、處理及運輸階段仍會產生一定程度的碳排放，但這些排放已大幅被前段之碳捕捉量所抵銷。因此，在整體生命週期評估下，藻類助劑呈現淨負碳排放，可視為一種負碳產品，對碳中和目標具有正向貢獻。

相較之下，大豆油乳化液整體碳排放量顯著高於藻類助劑。由於製作 1 公噸



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

大豆油約需 18 公噸大豆原料，而國內大豆自給率極低，幾乎完全仰賴進口，造成碳排放主要集中於大豆種植過程、運輸及原料製造階段，顯示其原料來源對整體碳足跡有極大影響。此外，乳化液製造流程簡單，僅需進行混合與快速攪拌，產生之碳排放量與藻類助劑所需之加熱、破碎及過濾程序相比，對整體碳排之貢獻極低。因此，即使製程簡單碳排放量低，但原料取得過程中累積之碳排放量遠高於藻類來源，顯示其環境負擔相對較重。

若兩者同樣作為碳源應用於污染整治中，藻類助劑不僅具備較低的生命週期碳排放量，且能協助解決優養化問題、實現資源再利用，其永續性與環境效益明顯優於大豆油乳化液，具發展潛力與實務應用價值。

表 5-16 助劑之二氧化碳當量計算

單位 kg CO ₂ e		藻類助劑	大豆油乳化液
原物料	生長	-18,300 ⁽¹⁾	7,972 ⁽²⁾
	撈除/採收	78 ⁽³⁾	24 ⁽⁴⁾
製造	運輸及原料製造	-	2,239 ⁽⁵⁾
	助劑製造	1,227 ⁽³⁾	67
	分銷	922 ⁽³⁾	412 ⁽³⁾
	使用	85 ⁽³⁾	38 ⁽³⁾
	廢棄	31 ⁽³⁾	6 ⁽³⁾
總計		-15,958	10,759

資料來源：(1)Moreira and Pires (2016)；(2)Lucić et al. (2025)；(3)環境部 (2025)；(4)Lal (2004)；(5) Patthanaissaranukool and Polprasert (2016)

5.9. 本技術與以往技術之差異說明

將過去所有技術列表說明如表 5-17 所示，本實驗室於 2009 年與瑞昶科技公司合作申請科技部（原行政院國科會）產學合作計畫進行實驗室內之奈米乳化液與奈米氧化鐵之整合式底泥整治技術研發，在實驗室內依據二仁溪之底泥條件自行製作模擬底泥並加入多氯聯苯進行試驗，發現奈米乳化液的確可以有助於 Aroclor 1242 之降解(Chang et al., 2014)，而奈米氧化鐵的確可以相當快速的去除水相中的砷與鉻，其中尤以砷之單位吸附量為文獻中氧化鐵類吸附材中最高者，可達 340 mg/g (Chang et al., 2012)；本技術於 2011 及 2012 申請土壤及地下水污染整治基金管理會之計畫獲補助後即開始進行現地之污染整治模場試驗，嘗試以奈米乳化液與奈米氧化鐵進行實場整治之模場試驗，結果顯示於試驗期間且最佳條件與開放系統下，140 天內可將重金屬鉛移除約 26%，苯降解 100%，Aroclor 1242 去除率為 91.4%。



後來針對 BDE-209 等高 $\text{Log}K_{ow}$ 物質進行高油量乳化液之直接回收技術研發，發現單次操作有效回收具有致癌性之 Benzo(a)pyrene (BaP) 達 31.4 至 73.6%，BDE-47 達 53.7 至 76.1%，BDE-99 達 47.5 至 91.4%，BDE-209 達 10.4 至 61.8%；且 BaP 降解最佳者為加入乳化液之組別，其半生期 ($t_{1/2}$) 為 68.6 天，自然回復組則大於 462 天；以微流體晶片進行 BDE-209 快速檢測以實驗室樣品進行檢測之偵測極限可達 90 ppb，線性範圍可達 4 個數量級。其後將此技術應用於塑化劑之回收與降解，第一階段模場試驗結果顯示二仁溪底泥中微生物對 DEHP 之降解能力的確比國際間之試驗結果為佳，其半生期為國際文獻數值之 1/20 至 1/30 之間；第二階段模場試驗則顯示現場風化之 PAEs 以 BBP 最容易回收，以總去除率而言，乳化液與釋氧劑添加之工程干預仍是較佳之方案。表面增強拉曼光譜用奈米金薄膜之方式進行 SERS 檢測之靈敏性與專一性經過 40 樣品測試後均可達 100%，方法偵測極限為 6.67 mg/L，若以萃取液進行檢測，應可達到 0.67 mg/kg 之方法偵測極限。

2015 年則是針對底泥中之重金屬與有機污染物進行磁性活性碳吸附與回收、針對局部高污染成分底泥進行現址玻璃化與針對容易懸浮之微小顆粒底泥則以改良式凝膠過濾法進行去除。三項技術研發均已顯現成效，磁性活性碳經證實對砷及汞重金屬具有良好吸附效果且遵循擬二階動力方程式，添加於底泥後之較佳回收時間為 1 至 4 小時之間，Aroclor 1254 之最佳去除率可達 81.9%。電磁感應加熱玻璃化之重金屬可固定 97.0-100.0% 之重金屬，1400°C 下直接玻璃化法經測試三處之底泥均能達到標準，進一步改良添加玻璃砂方法可將溫度進一步降至 1000°C，經測試三處底泥樣品，也均能達到標準。改良之凝膠已可初步分離粒徑不同之底泥顆粒，對 25 μm 以下之顆粒去除率可達 85%。

茲將各項技術之適用情況及其優缺點詳列如附件三所示。由該表可見，本計畫與之前研發技術最大之差異在於利用原理、所需要投入材料、機具與能量相對較低，所需時間較短，且利用非生物整治技術之快速降解但成本較高與生物技術之分解速率較慢但成本較低之特性，在初期以非生物處理方快速降低其較高濃度，較低濃度則交由微生物進行後續降解處理。本技術兼採兩種技術之長，試圖以其最佳之互補形式進行污染場址整治，同時節省時間及節省經費，並且達成污染整治目標（不同污染物之解決方案及其相關事項見附件四）。

5.10. 本專案衍生技術專利延續辦理情形

本專案歷年衍生之專利技術共有 10 件，已獲專利 9 件，審查中 1 件，如表 5-18 所示。底泥玻璃化方法專利之申請經過與專利事務所多次討論，確認將對 800-1600°C 之範圍進行專利權利項請求，業於 2017 年 2 月獲得發明專利；以改良式

表 5-17 本實驗室所發展技術成本效益說明

技術項次及名稱	成本效益評估說明
1. 奈米乳化液促進微生物降解泥中萘、苯(a)駢芘與PCBs(已獲專利)	1.藥劑機具成本：含奈米乳化液之大豆油與界面活性劑成本、高速攪拌機成本、升溫降溫成本，整體而言，成本低廉。 2.施作成本：於河面上現場灌注設備成本、加壓灌注機具成本，船筏租賃成本。 3.監測驗證成本：監測可由一般具檢測能力機構進行；驗證由合格代檢測機構進行。 4.總評：成本低廉，但需長期整治，總體效益中等。
2. 以奈米氧化鐵進行重金屬回收	1.藥劑機具成本：含 FeCl₂、FeCl₃ 與鹼劑成本、自動空溫攪拌機成本、清洗成本。整體而言，成本中等。 2.施作成本：於河面上現場灌注設備成本、加壓灌注機具成本，船筏租賃成本，因不適合攪拌(恐揚起而散失)，僅能灌注且灌注點細密，成本較第1項技術高，但適用污染物不同。 3.監測驗證成本：同第1項，但單項重金屬檢測價格較低。 4.總評：成本低廉，但需長期整治，總體效益中等。
3. 整合奈米氧化鐵與奈米乳化液進行萘、苯(a)駢芘與PCBs 整治與重金屬回收	1.藥劑機具成本：含奈米乳化液之大豆油與界面活性劑成本、高速攪拌機成本、升溫降溫成本；含 FeCl₂、FeCl₃ 與鹼劑成本、自動空溫攪拌機成本、清洗成本。整體而言，成本中低。 2.施作成本：於河面上現場灌注設備成本、加壓灌注機具成本，船筏租賃成本。因不適合攪拌(恐揚起而散失)，僅能灌注且灌注點細密，成本較第1項技術高，但可適用重金屬與有機污染物。 3.監測驗證成本：同第1項。 4.總評：成本低廉，但需長期整治，但可同時整治有機與重金屬污染物，總體效益中高。。
4. 以高油量乳化直接回收 PBDEs 及 phthalates，並以殘餘乳化液促進微生物降解 PBDEs(已獲專利)	1.藥劑機具成本：含奈米乳化液之大豆油（較大量）與界面活性劑成本、高速攪拌機成本（無須升溫降溫）。整體而言，成本低廉。 2.施作成本：於河面上現場灌注設備成本、加壓灌注機具成本，船筏租賃成本。 3.監測驗證成本：同第1項。 4.總評：成本低廉，但需長期整治，總體效益中等。

表 5-17 本實驗室所發展技術成本效益說明（續）

技術項次及名稱	成本效益評估說明
5. 底泥玻璃化(已獲專利)	1. 藥劑機具成本：含坭塼、添加劑、高速攪拌機成本、大型高週波加熱機具成本，顯著之電力成本，整體而言，成本偏高。 2. 施作成本：於河面上現場直接進行玻璃化之設備成本、船筏租賃成本。整體而言，成本偏高。 3. 監測驗證成本：同第 1 項。 4. 總評：成本偏高，但整治期縮短，總體效益中等。
6. 磁性活性碳去除底泥中 重金屬與 Aroclor 1254	1. 藥劑機具成本：含 FeCl_2 、 FeCl_3 與鹼劑、活性碳成本、自動空溫攪拌機成本、清洗成本。整體而言，成本中等 2. 施作成本：於河面上現場灌注設備成本、加壓灌注機具成本，強磁鐵回收機具、船筏租賃成本，成本偏高。 3. 監測驗證成本：同第 1 項。 4. 總評：成本偏高，但整治期縮短，總體效益中等。
7. 污染底泥之凝膠過濾法(已獲專利)	1. 藥劑機具成本：含凝膠原料成本，自動控溫攪拌機成本，成品檢驗成本，整體而言，成本中等。 2. 施作成本：特殊機具成本，船筏租賃成本，成本中等。 3. 監測驗證成本：同第 1 項。 4. 驗證成本：將由合格代檢測機構進行，同第 1 項。
8. 現地相反轉法與再加蓋處理(已獲專利)	1. 藥劑機具成本：含奈米乳化液之大豆油與界面活性劑成本、高速攪拌機成本、升溫降溫成本，整體而言，成本低廉。 2. 施作成本：於河面上現場加熱灌注設備成本、加壓灌注機具成本，船筏租賃成本。 3. 監測驗證成本：同第 1 項。 4. 總評：成本偏中低且整治期縮短，效果相當高，總體效益高。
9. 以廢牡蠣殼及應回收廢玻璃將重金屬污染底泥玻璃化為有價環保多孔材	1. 藥劑機具成本：含坭塼、添加劑、高速攪拌機成本、大型高週波加熱機具成本，顯著之電力成本，整體而言，成本原本偏高，但應使用應處理底泥、廢牡蠣殼及應回收廢玻璃，故成本為負值，具高經濟效益。 2. 施作成本：可於現地進行或挖起後於址外進行，因材料成本為負，施作成本。 3. 監測驗證成本：同第 1 項。 4. 總評：整體成本低且成品可販售獲利，且整治期縮短，總體效益高。



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

凝膠進行底泥顆粒分離之方法專利也在 2016 年初有突破性進展，已經可以在 24 秒內完成至少 85%以上之粒徑在 25 μm 以下之底泥之截留，小於 25 μm 、25~45 μm 與大於 45 μm 之玻璃砂，各進樣 0.5 g 經過分離後之粒徑分布與時間關係如圖

5.11.本專案衍生技術專利延續辦理情形

本專案歷年衍生之專利技術共有 10 件，已獲專利 9 件，審查中 1 件，如表 5-18 所示。底泥玻璃化方法專利之申請經過與專利事務所多次討論，確認將對 800-1600°C 之範圍進行專利權利項請求，業於 2017 年 2 月獲得發明專利；以改良式凝膠進行底泥顆粒分離之方法專利也在 2016 年初有突破性進展，已經可以在 24 秒內完成至少 85%以上之粒徑在 25 μm 以下之底泥之截留，小於 25 μm 、25~45 μm 與大於 45 μm 之玻璃砂，各進樣 0.5 g 經過分離後之粒徑分布與時間關係如圖 5-27 所示。假設在 25 μm 以下之底泥顆粒具有 90%之疏水性有機污染物質質量吸附（國內某場址之情況），此方法將可望在單次操作達到 75%以上之去除率，此專利於 2017 年 10 月 21 日獲得發明專利。105-106 年執行計畫產出之結合現地相反轉

表 5-18 本研究團隊執行本專案衍生之專利辦理情形

專利項次及名稱	辦理情形	證書字號	期限
1. 環境介質整治方法	已獲專利	發明第 I478876 號	2015/04/01-2033/01/09
2. 乳化液作為土壤、地下水、底泥及其他環境介質之整治用劑	已獲專利	發明第 I511935 號	2015/12/11-2030/04/29
3. 環境整治用乳化原液、及受污染環境之整治方法	已獲專利	發明第 I558671 號	2016/11/21-2035/1/15
4. 污染底泥玻璃化方法	已獲專利	發明第 I571444 號	2017/02/21-2036/5/11
5. 微流體通道型 SERS 檢測用基材之製備方法、探針型 SERS 檢測用基材之製備方法、平面型 SERS 檢測用基材之製備方法、及有機污染物之檢測方法	已獲專利	發明第 I579554 號	2017/04/21-2035/07/05
6. 污染底泥之凝膠分離方法	已獲專利	發明第 I602606 號	2017/10/21-2036/05/29
7. 適用於整治污染底泥之相反轉型乳化液、及污染底泥之整治方法	已獲專利	發明第 I658008 號	2019/05/01-2037/11/16
8. 現地玻璃化轉換裝置、以及玻璃瀝青組合物	已獲專利	發明第 I718759 號	2021/02/11-2039/11/13
9. 利用重金屬污染土壤再製之輕質多孔粒料、及其製作方法	已獲專利	發明第 I769019 號	2022/06/21-2041/07/20
10. 利用重金屬污染高鹽分底泥再製之輕質多孔粒料、及其製作方法材	審查中	已經於 2022 年提出	NA

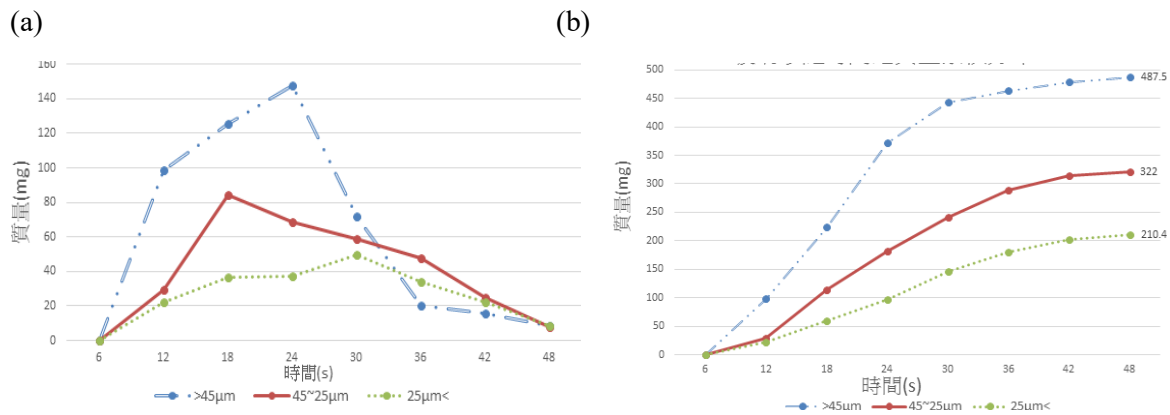


圖 5-27 不同粒徑玻璃砂之出流質量圖

5.12. 結論

本計畫執行至今，結論如下：

1. 以小球藻作為添加基質進行田口批次降解實驗，降解結果以 G1 最佳，G8 次之，G5 再次之。因子反應圖顯示 pH 值對 Aroclor 1254 降解影響最大，其次為底泥有機質。最佳條件為低溫培養（15 °C）、中性 pH 值（pH 7.0）、低有機質（0.03%）與低藻類基質濃度（50 mg/L）。
2. 田口試驗之 qPCR 結果顯示：*Dhc*、*tceA*、*ardA*、*rdh12* 與 Aroclor 1254 移除率相關性較高，其中尤以 *rdh12* 相關性最高，可做為後續模場試驗之指標。
3. 目前小球藻培養較佳條件為 5,600 lux，未調整之 BG-11 與 8,500 ppm 之 CO₂ 濃度。但不同 CO₂ 濃度下，藻體增量差異有限，可考慮以較低 CO₂ 濃度培養即可。在 CO₂ 濃度僅 2,500 ppm 條件下，小球藻可以達到 3.84% 以上的二氧化碳固定效率，這是目前少數可以達到的高水準。
4. TSG 豐度資料顯示：豐度前 10 名菌種中，*Citrobacter freundii*、*Enterobacter soli*、*Pseudomonas aeruginosa* 是能夠直接參與 Aroclor 1254 降解之菌種，*Desulfomicrobium norvigecum*、*Citrobacter murlinae*、*Enterobacter soli* ATCC BAA-2102、*Dechloromonas agitata* 則是屬於可能可以降解 Aroclor 1254 菌種，其他屬輔助角色，可產乙酸與產氫，或是不利用乙酸之不會競爭資源之菌種。
5. Alpha 多樣性資料顯示：降解表現最佳的 G1 可以少數優勢菌群，在低多樣性條件下達成最佳降解效率。在 Beta 多樣性主成份分析顯示：PC1 可解釋 62.9% 變異，負荷最大（菌群結構影響最大）的菌種為 *Citrobacter freundii* 8090，其次為 *Desulfomicrobium norvigecum*，再其次為 *Trichococcus patagoniensis*。



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

6. 環境因子影響分析顯示：影響最大的是底泥有機質，其次為 pH 值，溫度次之，藻類加量再次之。此因子影響的是菌群結構，與降解能力無關。綜合田口試驗因子反應資料分析與此環境因子影響分析，可知在現場應嚴密監控 **pH 值與底泥有機質**，以促進整治成果。功能預測中其中尤以 pH 值有利於木質素分解及芳香族化合物降解，故與本計畫高度相關
7. 機器學習部分已測試 7 種機器學習模型，以 LASSO 之表現最佳，其訓練階段與測試階段之 R^2 均可達 1.00000，其次為 Elastic Net。四種較佳的機器學習模型中特徵重要性前 20 名且重複出現之菌種中，除 *Stutzerimonas chloritidismutans*、*Stutzerimonas stutzeri* 及 *Enterobacter soli* ATCC BAA-2102 可能與 PCBs 降解直接相關，其他菌種多與發酵產氫與產乙酸相關。
8. 藻類助劑相較以往之大豆油乳化液，不僅具備較低的生命週期碳排放量，且能協助解決優養化問題並實現循環經濟，其永續性與環境效益明顯優於大豆油乳化液，具發展潛力與實務應用價值。

5.13. 主要建議意見及未來或後續執行建議

針對本計畫之執行所獲得之經驗，並斟酌國際間發展方向，整理出立即可行與中長程之主要建議意見及未來或後續執行建議，說明如表 5-19 及 5-20 所示。

表 5-19 立即可行建議意見及未來或後續執行建議

項次	建議意見
1.	建議建立我國土水環境微生物質體庫，以掌握本土菌種及菌群基因資料大型數據庫（data warehouse），建立台灣環境微生物基因體專家群。
2.	深化發展優養化藻類應用於生物整治相關之研究，有助於用綠色永續整治發展。
3.	ISPIE/BiRD 技術在不同場址之現地整治均可在 70-90 天內達到約 90% 以上總去除率，可作為疏水性污染物整治之重要平台技術。並建議後續可將優養化藻類與 ISPIE/BiRD 結合之技術研發。
4.	隨著土壤地下水與底泥研究之 metagenomic 資料持續增加，建議在來年之研究專案中增加人工智慧及機器學習之相關應用之經費，並鼓勵跨領域合作 ISPIE/BiRD 合作研究。
5.	底泥採樣檢測費用與地下水採樣檢測費用不可同日而語，計畫相關經費請多予支持，因為攸關計畫人才培育與留用於環工界。



表 5-20 中長程建議意見及未來或後續執行建議

項次	建議意見
1.	建議針對我國養殖池底泥、近海河口底泥、埤塘底泥進行長期採樣檢測、監測、風險評估、復育與整治技術研發，並建立全國資料庫。
2.	因在二仁溪及崁溪均採得 BDE-209 超過 20 mg/kg 之樣品，建議將多溴二苯醚納入目前之「底泥品質指標之分類管理及用途限制辦法」之管制項目中。
3.	ISPIE/BiRD 技術對大多數持有性有機污染物與地下水中 NAPL 污染整治均顯示效果極佳，可建立通用技術平台。



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

參考文獻

- Abramowicz, D. A. (1990). Aerobic and Anaerobic Biodegradation of PCBs: A Review. *Critical Reviews in Biotechnology*, 10(3), 241-251. <https://doi.org/10.3109/07388559009038210>
- Achenbach, L. A., Michaelidou, U., Bruce, R. A., Fryman, J., & Coates, J. D. (2001). Dechloromonas agitata gen. nov., sp. nov. and Dechlorosoma suillum gen. nov., sp. nov., two novel environmentally dominant (per)chlorate-reducing bacteria and their phylogenetic position. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51(2), 527-533. <https://doi.org/10.1099/00207713-51-2-527>
- Adamczyk, M., Lasek, J., & Skawińska, A. (2016). CO₂ Biofixation and Growth Kinetics of Chlorella vulgaris and Nannochloropsis gaditana. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 179(7), 1248-1261. <https://doi.org/10.1007/s12010-016-2062-3>
- Adams, F. V., Niyomugabo, A., & Sylvester, O. P. (2017). Bioremediation of Crude Oil Contaminated Soil Using Agricultural Wastes. *Procedia Manufacturing*, 7, 459-464. <https://doi.org/10.1016/j.promfg.2016.12.037>
- Arponen, J., Granskog, A., Pantsar-Kallio, M., Stuchtey, M., Törmänen, A., & Vanthournout, H. (2014). Kiertotalouden mahdollisuudet Suomelle. *Sitran selvityksiä*, 84.
- Baskaran, D., & Rajamanickam, R. (2019). Aerobic biodegradation of trichloroethylene by consortium microorganism from turkey litter compost. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7(4), 103260. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.103260>
- Borcard, D., Gillet, F., & Legendre, P. (2018). Canonical Ordination. In *Numerical Ecology with R* (pp. 203-297). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-71404-2_6
- Borja, J., Talleon, D. M., Auresenia, J., & Gallardo, S. (2005). Polychlorinated biphenyls and their biodegradation. *Process Biochemistry*, 40(6), 1999-2013. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.08.006>
- Bozzo, G. G., Colman, B., & Matsuda, Y. (2000). Active transport of CO₂ and bicarbonate is induced in response to external CO₂ concentration in the green alga Chlorella kessleri. *J Exp Bot*, 51(349), 1341-1348.
- Breitenstein, A., Wiegel, J., Haertig, C., Weiss, N., Andreesen, J. R., & Lechner, U. (2002). Reclassification of Clostridium hydroxybenzoicum as Sedimentibacter hydroxybenzoicus gen. nov., comb. nov., and description of Sedimentibacter saalensis sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(3), 801-807. <https://doi.org/10.1099/00207713-52-3-801>
- Brenner, D. J., O'Hara, C. M., Grimont, P. A. D., Janda, J. M., Falsen, E., Aldova, E., Ageron, E., Schindler, J., Abbott, S. L., & Steigerwalt, A. G. (1999). Biochemical Identification of *Citrobacter* Species Defined by DNA Hybridization and Description of *Citrobacter gillenii* sp. nov. (Formerly *Citrobacter* Genomospecies 10) and *Citrobacter murlinae* sp. nov. (Formerly *Citrobacter* Genomospecies 11). *Journal of Clinical Microbiology*, 37(8), 2619-2624. <https://doi.org/10.1128/jcm.37.8.2619-2624.1999>
- Cappuyns, V. (2024). Carbon footprint calculations in the soil remediation sector: A comparative analysis. *Science of The Total Environment*, 915, 170100.



- <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.170100>
- Chan, A.-L., Tseng, C.-Y., Chen, T.-W., Lo, Y.-H., & Chang, S.-C. (2021). Microbiome Reengineering by Heat Selection for Rapid Biodegradation of Trichloroethylene with Minimal Vinyl Chloride Formation. *Water, Air, & Soil Pollution*, 232(3), 121. <https://doi.org/10.1007/s11270-021-05028-z>
- Chang, B. V., Chou, S. W., & Yuan, S. Y. (1999). Microbial dechlorination of polychlorinated biphenyls in anaerobic sewage sludge. *Chemosphere*, 39(1), 45-54. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(98\)00587-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0045-6535(98)00587-6)
- Chang, S.-C., Chiang, P.-Y., Yu, Y.-H., Chen, T.-W., Luo, Y.-S., Tsai, L.-C., & Yu, K.-C. (2014). Soybean oil nanoemulsion and magnetite nanoparticle as remediation enhancers for river sediment: from lab to field. *Journal of Soil and Groundwater Remediation I*(2), 141-164.
- Chang, S.-C., Lee, S.-K., & Chen, T.-W. (2019). Effective removal of Aroclor 1254 and hexachlorobenzene in river sediments by coupling in situ phase-inversion emulsification with biological reductive dechlorination. *Journal of Contaminant Hydrology*, 221, 108-117. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jconhyd.2019.02.005>
- Chang, S.-C., Wu, M.-H., & Chen, T.-W. (2021). Emulsion-enhanced remediation of lindane and DDT in soils. *Journal of Soils and Sediments*, 21(1), 469-486. <https://doi.org/10.1007/s11368-020-02789-8>
- Chang, S.-C., Yeh, C.-W., Lee, S.-K., Chen, T.-W., & Tsai, L.-C. (2019). Efficient remediation of river sediments contaminated by polychlorinated biphenyls and hexachlorobenzene by coupling *in situ* phase-inversion emulsification and biological reductive dechlorination. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 140, 133-143. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2019.02.007>
- Chang, S.-C., Yu, Y.-H., Li, C.-H., Wu, C.-C., & Lei, H.-Y. (2012). Highly Efficient Arsenic Removal Using a Composite of Ultrafine Magnetite Nanoparticles Interlinked by Silane Coupling Agents. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 9(10), 3711-3723. <http://www.mdpi.com/1660-4601/9/10/3711>
- Chen, C.-F., Chen, C.-W., Chen, T.-M., Ju, Y.-R., Chang, Y.-K., & Dong, C.-D. (2017). Phthalate ester distributions and its potential-biodegradation microbes in the sediments of Kaohsiung Ocean Dredged Material Disposal Site, Taiwan. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 124, 233-242. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.05.002>
- Chen, H., Wei, Y., Xie, C., Wang, H., Chang, S., Xiong, Y., Du, C., Xiao, B., & Yu, G. (2020). Anaerobic treatment of glutamate-rich wastewater in a continuous UASB reactor: Effect of hydraulic retention time and methanogenic degradation pathway. *Chemosphere*, 245, 125672. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125672>
- Chen, S., Song, L., & Dong, X. (2006). *Sporacetigenium mesophilum* gen. nov., sp. nov., isolated from an anaerobic digester treating municipal solid waste and sewage. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56(4), 721-725. <https://doi.org/https://doi.org/10.1099/ijs.0.63686-0>
- Cheng, Y.-H., Chang, S.-C., Lai, Y.-L., & Hu, C.-C. (2023). Microbiome reengineering by four environmental factors for the rapid biodegradation of trichloroethylene. *Journal of Environmental Management*, 326, 116658. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.116658>
- De Jesus, A., & Mendonça, S. (2018). Lost in transition? Drivers and barriers in the eco-innovation road to the



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

- circular economy. *Ecological economics*, 145, 75-89.
- Deselnicu, D. C., Militaru, G., Deselnicu, V., Zăinescu, G., & Albu, L. (2018). Towards a circular economy—a zero waste programme for Europe. International Conference on Advanced Materials and Systems (ICAMS),
- Douglas, G. M., Maffei, V. J., Zaneveld, J. R., Yurgel, S. N., Brown, J. R., Taylor, C. M., Huttenhower, C., & Langille, M. G. I. (2020). PICRUSt2 for prediction of metagenome functions. *Nature Biotechnology*, 38(6), 685-688. <https://doi.org/10.1038/s41587-020-0548-6>
- Fernández-Cadena, J., Ruíz-Fernández, P., Fernández-Ronquillo, T., Díez, B., Trefault, N., Andrade, S., & De la Iglesia, R. (2020). Detection of sentinel bacteria in mangrove sediments contaminated with heavy metals. *Marine pollution bulletin*, 150, 110701.
- 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. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.041947-0>
- Frasson, D., Opoku, M., Picozzi, T., Torossi, T., Balada, S., Smits, T. H. M., & Hilber, U. (2017). Pseudomonas wadenswilerensis sp. nov. and Pseudomonas reidholzensis sp. nov., two novel species within the Pseudomonas putida group isolated from forest soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67(8), 2853-2861. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002035>
- Gao, D., Li, W., Wang, H., Wang, G., & Cai, R. (2022). Heterogeneous Catalysis for CO₂ Conversion into Chemicals and Fuels. *Transactions of Tianjin University*, 28(4), 245-264. <https://doi.org/10.1007/s12209-022-00326-x>
- García-Jiménez, B., Muñoz, J., Cabello, S., Medina, J., & Wilkinson, M. D. (2020). Predicting microbiomes through a deep latent space. *Bioinformatics*, 37(10), 1444-1451. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btaa971>
- Genthner, B. R. S., Friedman, S. D., & Devereux, R. (1997). Reclassification of Desulfovibrio desulfuricans Norway 4 as Desulfomicrobium norvegicum comb. nov. and Confirmation of Desulfomicrobium escambiense (corrig., Formerly “escambium”) as a New Species in the Genus Desulfomicrobium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 47(3), 889-892. <https://doi.org/10.1099/00207713-47-3-889>
- Ghisellini, P., Cialani, C., & Ulgiati, S. (2016). A review on circular economy: the expected transition to a balanced interplay of environmental and economic systems. *Journal of Cleaner Production*, 114, 11-32.
- Giroto, S., Minetto, S., & Neksa, P. (2004). Commercial refrigeration system using CO₂ as the refrigerant. *International Journal of Refrigeration*, 27(7), 717-723. <https://doi.org/10.1016/j.ijrefrig.2004.07.004>
- Gong, R., Ye, X., Wang, S., & Ren, Z. (2021). Isolation, identification, and biological characteristics of Clostridium sartagoforme from rabbit. *PLOS ONE*, 16(11), e0259715. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0259715>
- González-Cortés, J., Almenglo, F., Ramírez, M., & Cantero, D. (2021). Simultaneous removal of ammonium from landfill leachate and hydrogen sulfide from biogas using a novel two-stage oxic-anoxic system.



- Science of the total environment*, 750, 141664.
- Grishchenkov, V. G., Slepchen'kin, A. V., & Boronin, A. M. (2002). Anaerobic Degradation of Biphenyl by the Facultative Anaerobic Strain *Citrobacter freundii* BS2211. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 38(2), 125-128. <https://doi.org/10.1023/A:1014350230764>
- Guan, K.-L., Luo, X.-J., Lu, Q.-H., Huang, C.-C., Qi, X.-M., Zeng, Y.-H., Mai, B.-X., & Wang, S.-Q. (2023). Occurrence, spatial distribution, and risk assessment of short- and medium-chain chlorinated paraffins in sediment from black-odorous rivers across China. *Chemosphere*, 313, 137454. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.137454>
- Gyasi, S. F., Donkoh, E. T., Asamoah, A., Raji, A. S., Adu, R. O., Essumang, D., & Ablordey, A. (2024). Isolation and assessment of *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus cereus* as PCB-degrading bacteria in environmental bioremediation. *Scientific African*, 23, e02083. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2024.e02083>
- Hannon, M., Gimpel, J., Tran, M., Rasala, B., & Mayfield, S. (2010). Biofuels from algae: challenges and potential. *Biofuels*, 1(5), 763-784. <https://doi.org/10.4155/bfs.10.44>
- Hempel, F., Lau, J., Klingl, A., & Maier, U. G. (2011). Algae as Protein Factories: Expression of a Human Antibody and the Respective Antigen in the Diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *PLOS ONE*, 6(12), e28424. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028424>
- Hena, S., Bhatelia, T., Patel, H., Anderson, D., Bonadeo, B., & Shah, M. (2023). Biofixation of Carbon Dioxide Using *Chlorella vulgaris*. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 62(45), 19104-19115. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.3c00525>
- Hendrickson, E. R., Payne, J. A., Young, R. M., Starr, M. G., Perry, M. P., Fahnestock, S., Ellis, D. E., & Ebersole, R. C. (2002). Molecular analysis of *Dehalococcoides* 16S ribosomal DNA from chloroethene-contaminated sites throughout North America and Europe. *Applied and environmental microbiology*, 68(2), 485-495. <https://doi.org/10.1128/aem.68.2.485-495.2002>
- Ho, H.-J., Iizuka, A., & Shibata, E. (2019). Carbon Capture and Utilization Technology without Carbon Dioxide Purification and Pressurization: A Review on Its Necessity and Available Technologies. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 58(21), 8941-8954. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.9b01213>
- Hong, J., Shen, G. Q., Feng, Y., Lau, W. S.-t., & Mao, C. (2015). Greenhouse gas emissions during the construction phase of a building: a case study in China. *Journal of Cleaner Production*, 103, 249-259. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.11.023>
- Hou, D., Al-Tabbaa, A., O'Connor, D., Hu, Q., Zhu, Y.-G., Wang, L., Kirkwood, N., Ok, Y. S., Tsang, D. C. W., Bolan, N. S., & Rinklebe, J. (2023). Sustainable remediation and redevelopment of brownfield sites. *Nature Reviews Earth & Environment*, 4(4), 271-286. <https://doi.org/10.1038/s43017-023-00404-1>
- Hou, D., & O'Connor, D. (2020). Chapter 1 - Green and sustainable remediation: concepts, principles, and pertaining research. In D. Hou (Ed.), *Sustainable Remediation of Contaminated Soil and Groundwater* (pp. 1-17). Butterworth-Heinemann. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817982-6.00001-X>
- Huang, W.-Y., Hung, W., Vu, C. T., Chen, W.-T., Lai, J.-W., & Lin, C. (2016). Green and sustainable remediation (GSR) evaluation: framework, standards, and tool. A case study in Taiwan. *Environmental Science and*



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

- Pollution Research*, 23(21), 21712-21725. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7305-x>
- Hugenholtz, P., & Tyson, G. W. (2008). Metagenomics. *Nature*, 455(7212), 481-483. <https://doi.org/10.1038/455481a>
- IARC. (2016). *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*. IARC. <https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/08/mono107.pdf>
- Irgens, R. L. (1977). Meniscus, a New Genus of Aerotolerant, Gas-Vacuolated Bacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 27(1), 38-43. <https://doi.org/https://doi.org/10.1099/00207713-27-1-38>
- 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). 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. <https://doi.org/https://doi.org/10.1099/ijs.0.032508-0>
- 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). Macellibacteroides fermentans gen. nov., sp. nov., a member of the family Porphyromonadaceae isolated from an upflow anaerobic filter treating abattoir wastewaters. *Int J Syst Evol Microbiol*, 62(Pt 10), 2522-2527. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.032508-0>
- Janse, J. H., Aldenberg, T., & Kramer, P. R. G. (1992). A mathematical model of the phosphorus cycle in Lake Loosdrecht and simulation of additional measures. *Hydrobiologia*, 233(1-3), 119-136. <https://doi.org/10.1007/bf00016101>
- Jia, L. Y., Zheng, A. P., Xu, L., Huang, X. D., Zhang, Q., & Yang, F. L. (2008). Isolation and characterization of comprehensive polychlorinated biphenyl degrading bacterium, Enterobacter sp. LY402. *J Microbiol Biotechnol*, 18(5), 952-957.
- Kanehisa, M., Furumichi, M., Sato, Y., Kawashima, M., & Ishiguro-Watanabe, M. (2022). KEGG for taxonomy-based analysis of pathways and genomes. *Nucleic Acids Res*. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac963>
- Kang, S. K., Seo, H., Sun, E., Kim, I., & Roh, Y. (2011). Remediation of TCE-Contaminated Groundwater Using Nanocatalyst and Bacteria. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 11(8), 7172-7175. <https://doi.org/10.1166/jnn.2011.4872>
- Kim, J. J., Delisle, K., Brown, T. M., Bishay, F., Ross, P. S., & Noël, M. (2022). Characterization and Interpolation of Sediment Polychlorinated Biphenyls and Polybrominated Diphenyl Ethers in Resident Killer Whale Habitat along the Coast of British Columbia, Canada. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 41(9), 2139-2151. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/etc.5404>
- Koelschbach, J. S., Mouttaki, H., Pickl, C., Heipieper, H. J., Rachel, R., Lawson, P. A., & Meckenstock, R. U. (2017). Rectinema cohabitans gen. nov., sp. nov., a rod-shaped spirochaete isolated from an anaerobic naphthalene-degrading enrichment culture. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67(5), 1288-1295. <https://doi.org/https://doi.org/10.1099/ijssem.0.001799>
- Kong, B. H., Liu, Q. F., Liu, M., Liu, Y., Liu, L., Li, C. L., Yu, R., & Li, Y. H. (2013). Paenibacillus typhae sp. nov., isolated from roots of Typha angustifolia L. *International Journal of Systematic and Evolutionary*



- Microbiology*, 63(Pt_3), 1037-1044. <https://doi.org/https://doi.org/10.1099/ij.s.0.042747-0>
- Kumari, B., & Chandra, R. (2023). Benzo[a]pyrene degradation from hydrocarbon-contaminated soil and their degrading metabolites by *Stutzerimonas stutzeri* (LOBP-19A). *Waste Management Bulletin*, 1(3), 115-127. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.wmb.2023.07.006>
- Kwon, S., Fan, M., DaCosta, H. F. M., & Russell, A. G. (2011). Factors affecting the direct mineralization of CO₂ with olivine. *Journal of Environmental Sciences*, 23(8), 1233-1239. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(10\)60555-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1001-0742(10)60555-4)
- Lal, R. (2004). Carbon emission from farm operations. *Environment International*, 30(7), 981-990.
- Laurenti, R., Singh, J., Frostell, B., Sinha, R., & Binder, C. R. (2018). The socio-economic embeddedness of the circular economy: An integrative framework. *Sustainability*, 10(7), 2129.
- Lewandowski, M. (2016). Designing the business models for circular economy—Towards the conceptual framework. *Sustainability*, 8(1), 43.
- Liang, Y., Lu, Q., Liang, Z., Liu, X., Fang, W., Liang, D., Kuang, J., Qiu, R., He, Z., & Wang, S. (2021). Substrate-dependent competition and cooperation relationships between *Geobacter* and *Dehalococcoides* for their organohalide respiration. *ISME Communications*, 1(1), 23. <https://doi.org/10.1038/s43705-021-00025-z>
- Lieder, M., & Rashid, A. (2016). Towards circular economy implementation: a comprehensive review in context of manufacturing industry. *Journal of Cleaner Production*, 115, 36-51.
- Lu, Y., Lu, F., Zhang, J., Tang, Q., Yang, D., & Liu, Y. (2024). Understanding the sources, function, and irreplaceable role of cobamides in organohalide-respiring bacteria [Review]. *Frontiers in Microbiology*, Volume 15 - 2024. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1435674>
- Lucić, R., Raposo, M., Chervinska, A., Domingos, T., & Teixeira, R. F. (2025). Global Greenhouse Gas Emissions and Land Use Impacts of Soybean Production: Systematic Review and Analysis. *Sustainability*, 17(8), 3396.
- Lüdeke-Freund, F., Gold, S., & Bocken, N. A Review and Basic Typology of Circular Economy Business Model Patterns. *Journal of Industrial Ecology*.
- Lyon, D. Y., & Vogel, T. M. (2013). Bioaugmentation for groundwater remediation: an overview. In H. F. Stroo, A. Leeson, & C. H. Ward (Eds.), *Bioaugmentation for Groundwater Remediation* (pp. 1-37). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4115-1_1
- MacArthur, E. (2013). Towards the circular economy. *Journal of Industrial Ecology*, 2(1), 23-44.
- Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., W.M., S., & Stahl, D. A. (2019). *Brock biology of microorganisms* (15th ed.). Pearson Education Limited.
- Mailhe, M., Ricaboni, D., Benezech, A., Cadoret, F., Fournier, P. E., & Raoult, D. (2017). 'Millionella massiliensis' gen. nov., sp. nov., a new bacterial species isolated from human right colon. *New Microbes New Infect*, 17, 11-12. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2016.11.016>
- Manter, D. K., Hunter, W. J., & Vivanco, J. M. (2011). *Enterobacter soli* sp. nov.: A Lignin-Degrading γ -Proteobacteria Isolated from Soil. *Current Microbiology*, 62(3), 1044-1049. <https://doi.org/10.1007/s00284-010-9809-9>
- Masi, D., Day, S., & Godsell, J. (2017). Supply chain configurations in the circular economy: A systematic



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

- literature review. *Sustainability*, 9(9), 1602.
- Mechichi, T., Stackebrandt, E., & Fuchs, G. (2003). *Alicyclophilus denitrificans* gen. nov., sp. nov., a cyclohexanol-degrading, nitrate-reducing β -proteobacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53(1), 147-152. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02276-0>
- Miller, J., G. Tyler, & Spoolman, S. E. (2010). *Environmental Science* (13 ed.). Cengage Learning.
- Moreira, D., & Pires, J. C. (2016). Atmospheric CO₂ capture by algae: negative carbon dioxide emission path. *Bioresource technology*, 215, 371-379.
- Muhamad, M. H., Abdullah, S. R. S., Hasan, H. A., Bakar, S. N. H. A., & Kurniawan, S. B. (2021). A hybrid treatment system for water contaminated with pentachlorophenol: removal performance and bacterial community composition. *Journal of Water Process Engineering*, 43, 102243.
- Newman, D. K., Kennedy, E. K., Coates, J. D., Ahmann, D., Ellis, D. J., Lovley, D. R., & Morel, F. M. M. (1997). Dissimilatory arsenate and sulfate reduction in *Desulfotomaculum auripigmentum* sp. nov. *Archives of Microbiology*, 168(5), 380-388. <https://doi.org/10.1007/s002030050512>
- Nußholz, J. L. (2017). Circular business models: Defining a concept and framing an emerging research field. *Sustainability*, 9(10), 1810.
- Oh, M., & Zhang, L. (2020). DeepMicro: deep representation learning for disease prediction based on microbiome data. *Scientific Reports*, 10(1), 6026. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63159-5>
- Patel, S., & Gupta, R. S. (2020). A phylogenomic and comparative genomic framework for resolving the polyphyly of the genus *Bacillus*: Proposal for six new genera of *Bacillus* species, *Peribacillus* gen. nov., *Cytobacillus* gen. nov., *Mesobacillus* gen. nov., *Neobacillus* gen. nov., *Metabacillus* gen. nov. and *Alkalihalobacillus* gen. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*, 70(1), 406-438. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003775>
- Pathak, S., & Kundu, R. (2013). Low doses of a PCB (Aroclor 1254) affect the body weight by decreasing the activity of glucose-6-phosphatase in the liver and kidney cells of mice. *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 3(1), 16-21. <https://pdfs.semanticscholar.org/007c/0fda68b63c6cfff186535c2c55414f27981eb.pdf>
- Pathanaissaranukool, W., & Polprasert, C. (2016). Reducing carbon emissions from soybean cultivation to oil production in Thailand. *Journal of Cleaner Production*, 131, 170-178.
- Pikuta, E. V., Hoover, R. B., Bej, A. K., Marsic, D., Whitman, W. B., Krader, P. E., & Tang, J. (2006). *Trichococcus patagoniensis* sp. nov., a facultative anaerobe that grows at -5°C , isolated from penguin guano in Chilean Patagonia. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56(9), 2055-2062. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.64225-0>
- Ranta, V., Aarikka-Stenroos, L., Ritala, P., & Mäkinen, S. J. (2018). Exploring institutional drivers and barriers of the circular economy: A cross-regional comparison of China, the US, and Europe. *Resources, conservation and recycling*, 135, 70-82.
- Rautio, M., Eerola, E., Väisänen-Tunkelrott, M. L., Molitoris, D., Lawson, P., Collins, M. D., & Jousimies-Somer, H. (2003). Reclassification of *Bacteroides putredinis* (Weinberg et al., 1937) in a new genus *Alistipes* gen. nov., as *Alistipes putredinis* comb. nov., and description of *Alistipes finegoldii* sp. nov.,



- from human sources. *Syst Appl Microbiol*, 26(2), 182-188.
<https://doi.org/10.1078/072320203322346029>
- Reddy, K., & Kumar, G. (2018). Green and sustainable remediation of polluted sites: new concept, assessment tools, and challenges. *ce/papers*, 2(2-3), 83-92. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/cepa.663>
- Reike, D., Vermeulen, W. J., & Witjes, S. (2018). The circular economy: new or refurbished as CE 3.0?—exploring controversies in the conceptualization of the circular economy through a focus on history and resource value retention options. *Resources, conservation and recycling*, 135, 246-264.
- Rodríguez-Pérez, R., & Bajorath, J. (2020). Interpretation of machine learning models using shapley values: application to compound potency and multi-target activity predictions. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 34(10), 1013-1026. <https://doi.org/10.1007/s10822-020-00314-0>
- Romanov, V., Soong, Y., Carney, C., Rush, G. E., Nielsen, B., & O'Connor, W. (2015). Mineralization of Carbon Dioxide: A Literature Review. *ChemBioEng Reviews*, 2(4), 231-256.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/cben.201500002>
- Sagarkar, S., Nousiainen, A., Shaligram, S., Björklöf, K., Lindström, K., Jørgensen, K. S., & Kapley, A. (2014). Soil mesocosm studies on atrazine bioremediation. *Journal of Environmental Management*, 139, 208-216. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.02.016>
- Sansupa, C., Wahdan, S. F. M., Hossen, S., Disayathanoowat, T., Wubet, T., & Purahong, W. (2021). Can We Use Functional Annotation of Prokaryotic Taxa (FAPROTAX) to Assign the Ecological Functions of Soil Bacteria? *Applied Sciences*, 11(2), 688. <https://www.mdpi.com/2076-3417/11/2/688>
- Schindler, D. W., Hecky, R. E., Findlay, D. L., Stainton, M. P., Parker, B. R., Paterson, M. J., Beaty, K. G., Lyng, M., & Kasian, S. E. M. (2008). Eutrophication of lakes cannot be controlled by reducing nitrogen input: Results of a 37-year whole-ecosystem experiment. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(32), 11254-11258. <https://doi.org/10.1073/pnas.0805108105>
- Shi, X., Xiao, H., Azarabadi, H., Song, J., Wu, X., Chen, X., & Lackner, K. S. (2020). Sorbents for the Direct Capture of CO₂ from Ambient Air. *Angewandte Chemie International Edition*, 59(18), 6984-7006.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/anie.201906756>
- Shindell, D. T., Faluvegi, G., Koch, D. M., Schmidt, G. A., Unger, N., & Bauer, S. E. (2009). Improved Attribution of Climate Forcing to Emissions. *Science*, 326(5953), 716-718.
<https://doi.org/doi:10.1126/science.1174760>
- Singh, S. K., Sundaram, S., Sinha, S., Rahman, M. A., & Kapur, S. (2016). Recent advances in CO₂ uptake and fixation mechanism of cyanobacteria and microalgae. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 46(16), 1297-1323. <https://doi.org/10.1080/10643389.2016.1217911>
- Sokolova, T. G., Kostrikina, N. A., Chernyh, N. A., Kolganova, T. V., Tourova, T. P., & Bonch-Osmolovskaya, E. A. (2005). *Thermincola carboxydiphila* gen. nov., sp. nov., a novel anaerobic, carboxydotrophic, hydrogenogenic bacterium from a hot spring of the Lake Baikal area. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(5), 2069-2073.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1099/ijs.0.63299-0>
- Sousa-Zomer, T. T., Magalhães, L., Zancul, E., & Cauchick-Miguel, P. A. (2018). Exploring the challenges for circular business implementation in manufacturing companies: An empirical investigation of a pay-per-



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

- use service provider. *Resources, conservation and recycling*, 135, 3-13.
- Šrédlová, K., & Cajthaml, T. (2022). Recent advances in PCB removal from historically contaminated environmental matrices. *Chemosphere*, 287, 132096.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132096>
- Stackebrandt, E., Schumann, P., Schüler, E., & Hippe, H. (2003). Reclassification of *Desulfotomaculum auripigmentum* as *Desulfosporosinus auripigmenti* corrig., comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53(5), 1439-1443.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1099/ijms.0.02526-0>
- Strepis, N., Naranjo, H. D., Meier-Kolthoff, J., Göker, M., Shapiro, N., Kyrpides, N., Klenk, H.-P., Schaap, P. J., Stams, A. J. M., & Sousa, D. Z. (2020). Genome-guided analysis allows the identification of novel physiological traits in *Trichococcus* species. *BMC Genomics*, 21(1), 24. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-6410-x>
- Strepis, N., Sánchez-Andrea, I., van Gelder, A. H., van Kruistum, H., Shapiro, N., Kyrpides, N., Göker, M., Klenk, H.-P., Schaap, P., Stams, A. J. M., & Sousa, D. Z. (2016). Description of *Trichococcus ilyis* sp. nov. by combined physiological and in silico genome hybridization analyses. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(10), 3957-3963.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001294>
- 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. <https://doi.org/https://doi.org/10.1099/ijms.0.063917-0>
- Svensson, B. H., Dubourguier, H.-C., Prensier, G., & Zehnder, A. J. B. (1992). *Clostridium quinii* sp. nov., a new saccharolytic anaerobic bacterium isolated from granular sludge. *Archives of Microbiology*, 157(2), 97-103. <https://doi.org/10.1007/BF00245275>
- Tan, H.-Q., Li, T.-T., Zhu, C., Zhang, X.-Q., Wu, M., & Zhu, X.-F. (2012). *Parabacteroides chartae* sp. nov., an obligately anaerobic species from wastewater of a paper mill. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62(Pt_11), 2613-2617. <https://doi.org/https://doi.org/10.1099/ijms.0.038000-0>
- Tarca, A. L., Carey, V. J., Chen, X.-w., Romero, R., & Drăghici, S. (2007). Machine learning and its applications to biology. *PLOS Computational Biology*, 3(6), e116.
- Techtmann, S. M., & Hazen, T. C. (2016). Metagenomic applications in environmental monitoring and bioremediation. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 43(10), 1345-1354.
<https://doi.org/10.1007/s10295-016-1809-8>
- Tian, Y.-Z., Li, W.-H., Shi, G.-L., Feng, Y.-C., & Wang, Y.-Q. (2013). Relationships between PAHs and PCBs, and quantitative source apportionment of PAHs toxicity in sediments from Fenhe reservoir and watershed. *Journal of Hazardous Materials*, 248-249, 89-96.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.12.054>
- Tikhonova, E. N., Grouzdev, D. S., & Kravchenko, I. K. (2019). *Azospirillum palustre* sp. nov., a methylotrophic



- nitrogen-fixing species isolated from raised bog. *Int J Syst Evol Microbiol*, 69(9), 2787-2793.
<https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003560>
- Togo, A. H., Diop, A., Dubourg, G., Khelaifia, S., Richez, M., Armstrong, N., Maraninchi, M., Fournier, P. E., Raoult, D., & Million, M. (2019). *Anaerotruncus massiliensis* sp. nov., a succinate-producing bacterium isolated from human stool from an obese patient after bariatric surgery. *New Microbes and New Infections*, 29, 100508. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.nmni.2019.01.004>
- Tomita, R., Yoshida, N., & Meng, L. (2022). Formate: A promising electron donor to enhance trichloroethene-to-ethene dechlorination in Dehalococcoides-augmented groundwater ecosystems with minimal bacterial growth. *Chemosphere*, 307, 136080. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136080>
- Toxopeus, M. E., de Koeijer, B. L. A., & Meij, A. G. G. H. (2015). Cradle to Cradle: Effective Vision vs. Efficient Practice? *Procedia CIRP*, 29, 384-389.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.procir.2015.02.068>
- Unknown. (2020). *Global Bioremediation Market - 2019-2028* (ASDR-515382). B. Research.
- Unknown. (2021, NOVEMBER 06, 2021). *Fact Sheet: The Bipartisan Infrastructure Deal*
<https://www.whitehouse.gov/briefing-room/statements-releases/2021/11/06/fact-sheet-the-bipartisan-infrastructure-deal/>
- Vergragt, P. J., Markusson, N., & Karlsson, H. (2011). Carbon capture and storage, bio-energy with carbon capture and storage, and the escape from the fossil-fuel lock-in. *Global Environmental Change*, 21(2), 282-292. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2011.01.020>
- Visser, P. M., Ibelings, B. W., Mur, L. R., & Walsby, A. E. (2005). *The ecophysiology of the harmful cyanobacterium Microcystis*. Springer.
- Wang, S., Chng, K. R., Wilm, A., Zhao, S., Yang, K.-L., Nagarajan, N., & He, J. (2014). Genomic characterization of three unique *Dehalococcoides* that respire on persistent polychlorinated biphenyls. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(33), 12103-12108.
<https://doi.org/doi:10.1073/pnas.1404845111>
- Watanabe, M., Kojima, H., Okano, K., & Fukui, M. (2021). *Mariniplasma anaerobium* gen. nov., sp. nov., a novel anaerobic marine mollicute, and proposal of three novel genera to reclassify members of *Acholeplasma* clusters II–IV. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 71(12). <https://doi.org/https://doi.org/10.1099/ijsem.0.005138>
- Wei, X., Yu, G., Cao, W., Feng, M., Xu, Y., Jin, M., Zhang, Y., Li, T., & Guo, L. (2024). Biomass producing and CO₂ capturing simultaneously by *Chlorella vulgaris*: Effect of CO₂ concentration and aeration rate. *Energy*, 306, 132321. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.energy.2024.132321>
- WerheniAmmeri, R., MokniTlili, S., Mehri, I., Badi, S., & Hassen, A. (2016). Pentachlorophenol Biodegradation by *Citrobacter freundii* Isolated from Forest Contaminated Soil. *Water, Air, & Soil Pollution*, 227(10), 367. <https://doi.org/10.1007/s11270-016-2959-z>
- Wilde, E., Collins, M. D., & Hippe, H. (1997). *Clostridium pascui* sp. nov., a New Glutamate-Fermenting Sporeformer from a Pasture in Pakistan. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 47(1), 164-170. <https://doi.org/https://doi.org/10.1099/00207713-47-1-164>
- Wolterink, A. F. W. M., Jonker, A. B., Kengen, S. W. M., & Stams, A. J. M. (2002). *Pseudomonas*



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

- chloritidismutans sp. nov., a non-denitrifying, chlorate-reducing bacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(6), 2183-2190.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1099/00207713-52-6-2183>
- Wood, S. A., Xu, F., Armitage, J. M., & Wania, F. (2016). Unravelling the relationship between body mass index and polychlorinated biphenyl concentrations using a mechanistic model. *Environmental Science & Technology*, 50(18), 10055-10064. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b01961>
- Woods, S. L., Trobaugh, D. J., & Carter, K. J. (1999). Polychlorinated Biphenyl Reductive Dechlorination by Vitamin B12s: Thermodynamics and Regiospecificity. *Environmental Science & Technology*, 33(6), 857-863. <https://doi.org/10.1021/es9804823>
- Wu, Q., Bedard, D. L., & Wiegel, J. (1996). Influence of incubation temperature on the microbial reductive dechlorination of 2,3,4,6-tetrachlorobiphenyl in two freshwater sediments. *Applied and environmental microbiology*, 62(11), 4174-4179. <https://doi.org/10.1128/aem.62.11.4174-4179.1996>
- Xu, L., Liu, S., Tang, Y., Han, X., Wang, Y., Fu, D., Qin, Q., & Xu, Y. (2022). Long-Term Dechlorination of Polychlorinated Biphenyls (PCBs) in Taihu Lake Sediment Microcosms: Identification of New Pathways, PCB-Driven Shifts of Microbial Communities, and Insights into Dechlorination Potential. *Environmental Science & Technology*, 56(2), 938-950. <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c06057>
- Xu, Y., Wang, Y., Zheng, A., Yuan, Y., Xu, L., Tang, Y., & Qin, Q. (2024). Efficient biostimulation of microbial dechlorination of polychlorinated biphenyls by acetate and lactate under nitrate reducing conditions: Insights into dechlorination pathways and functional genes. *Journal of Hazardous Materials*, 468, 133775.
- Yadav, A., Chowdhary, P., Kaithwas, G., & Bharagava, R. N. (2017). Toxic Metals in the Environment - Threats on Ecosystem and Bioremediation Approaches. In S. Das & H. R. Singh (Eds.), *Handbook of Metal-Microbe Interactions and Bioremediation*. CRC Press.
- 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>
- Zhang, C., Wu, D., & Ren, H. (2020). Bioremediation of oil contaminated soil using agricultural wastes via microbial consortium. *Scientific Reports*, 10(1), 9188. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-66169-5>
- Zhang, S., Sun, J., Feng, D., Sun, H., Cui, J., Zeng, X., Wu, Y., Luan, G., & Lu, X. (2023). Unlocking the potentials of cyanobacterial photosynthesis for directly converting carbon dioxide into glucose. *Nature Communications*, 14(1), 3425. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-39222-w>
- Zhou, X., Lei, D., Tang, J., Wu, M., Ye, H., & Zhang, Q. (2022). Whole genome sequencing and analysis of fenvalerate degrading bacteria *Citrobacter freundii* CD-9. *AMB Express*, 12(1), 51.
<https://doi.org/10.1186/s13568-022-01392-z>
- Zhu, X., Zhong, Y., Wang, H., Li, D., & Deng, Y. (2019). New insights into the anaerobic microbial degradation of decabrominated diphenyl ether (BDE-209) in coastal marine sediments. *Environmental Pollution*, 255, 113151.

王—雄. (2000). 台灣河川底泥中多氣聯苯汙染變遷之研究 (NSC-87-2313-B-002-011 , NSC-88-2313-B-002-001 ,
NSC-89-2313-B-002-001 ,). (行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告, Issue.
林佳燕, 蔡義誌, & 林俐玲. (2009). 土壤粒徑分析實驗方法之比較. 水土保持學報, 41(2), 139-152.
邱子權. (2004). 有機氯化烴殺蟲劑厭氧微生物降解作用與其菌群結構之研究 [博士論文, 國立臺灣大學].
台灣台北市. <https://hdl.handle.net/11296/7p78xy>
財團法人工業技術研究院. (2024). 碳足跡資訊網. 環境部. Retrieved Febuary 17 from [https://cfpc-](https://cfpc-calculate.tw/cfpc/WebPage/Index.aspx)
[calculate.tw/cfpc/WebPage/Index.aspx](https://cfpc-calculate.tw/cfpc/WebPage/Index.aspx)
張書奇, 李思寬, 葉家瑋, 陳姿文, & 李承濤 (2019). 適用於整治污染底泥之相反轉型乳化液、及污染底
泥之整治方法 (中華民國 Patent No. I658008). 經濟部智慧財產局.
張書奇, 詹艾霖, 曾千芸, 蘇亭方, 羅宜萱, & 陳姿文 (2020). 污染場址現地分解菌群之篩選方法、以及
污染物之現地快速分解方法 (中華民國 Patent No. I684575). 經濟部智慧財產局. [https://twpat-](https://twpat-simple.tipo.gov.tw/tipotwoc/tipotwkm?.fa5300A602010100000200100000000000^0P43638343753359:N^R0010000000000ACF05e34)
[simple.tipo.gov.tw/tipotwoc/tipotwkm?.fa5300A602010100000200100000000000^0P4363834375335](https://twpat-simple.tipo.gov.tw/tipotwoc/tipotwkm?.fa5300A602010100000200100000000000^0P43638343753359:N^R0010000000000ACF05e34)
9:N^^R00100000000000ACF05e34
環境部. (2025). CO₂ 產品碳足跡資訊網. <https://cfpc-calculate.tw/cfpc/WebPage/WebSites/CoefficientDB.aspx>



以負碳為基礎之污染底泥整治模場試驗（第1年）

空白頁



附件

附 件



附件

(空白頁)



附件

附件一 TGS 資料分析方法



附件

(空白頁)



TGS 資料分析說明如下

1. 定序資料處理分析 (Raw data cleaning and preparation): 利用 R 整合型套件中的 trim() 等功能進行定序資料的整理，將解序時所外加的引子對與定序標籤移除，並去除低品質(可信度低)的定序資料，再轉換格式以產生便於後續分析的資料物件，所產生的檔案格式包括報告分類與功能的.csv、.txt、.xlsx、.biom 等表格型檔案格式(用於描述 OUT、ASV、taxonomy、gene、module、pathway、與功能註釋 feature annotation、樣本相關資訊 sample metadata 的表格格式)，描述樣本中微生物親緣演化關係(evolutionary/phylogenetic trees) 的 .nwk 或 .tree 格式，與描述代表性序列(representative sequences) 的.fasta、.fas 或 .fa 序列格式。這些新產生的物件將利用管線(pipeline)功能輸出或單獨載入至後續套組用於以下的分析。
2. 微生物群分析(microbial community analysis): 微生物相定序資料經初步整理後，即可使用整合性套組(如 phyloseq 等)之 mapping 功能在常用的 16S rRNA 資料庫(例如 RDP, SILVA, Greengenes, GenBank 等)進行序列比對與物種鑑定(Identification)及註釋(annotation)。之後即可將產生的物件進行下列項目的分析：
 - A. 物種多樣性分析(Diversity analysis): 所進行的分析包括 樣本內多樣項(Alpha diversity)、樣本間多樣性(Beta diversity)、物種組成(species composition)、物種間親緣演化關係(evolutionary tree)等。並以 plot_richness(), plot_ordination(), plot_bar(), subset_taxa(), plot_heatmap(), plot_tree()等功能(以 phyloseq 套件為例)將結果以圖形方式呈現。
 - B. 物種相異性分析(Difference analysis): 物種相異性分析可分為兩個層面: 社群層面(community-level)、與特性層面(feature-level)。在社群層面的相異性分析方面，本研究擬採用 vegan 套件中的 adonis(), anosim(), 與 mrpp()功能，以及 ape 套件中的 mantel.test()功能進行分析。而在特性層面相異性，則擬使用 R 基礎統計套件中的 wilcox.test() 與 t.test()功能針對不同樣本中菌群的特性(例如註釋中的趨性 tropism、特定功能等)進行差異性分析。並將使用 edgeR 套件中的 Fisher test 與 DESeq2 套件中的 Wald test 進行差異顯著性分析。
 - C. 聚類分析(clustering analysis, ordination analysis): 為了探討不同的處理條件的綜合影響是否確實能造成不同樣本群之間的顯著差異，本研究擬進行聚類分析。而由於所牽涉的處理變因眾多(土壤 pH 值、溫度、鹽類濃度、菌種組成等)，必須使用降維(dimension reduction analysis)分析方法，才能釐清各變因對於樣本分群的影響力與貢獻度。本研究擬先進行最普遍的主成分分析(Principal Component Analysis, PCA)，以 R 語言中的 FactoMineR 與 factoextra 套件進行 PCA 分析，將多變因的影響降維至二維平面，以便於了解各變因之間的綜合影響力(二維平面的 X、Y 軸分別代表各變因由不同貢獻度百分比所綜合造成的兩個主要影響力，意即主成分)。前述 vegan 套件中也提供許多類似的降維分析功能。若 PCA 分析的結果無法有效將樣本依據處理不同而分群，則改使用其他常用的降維聚類分析方法，以 FactoMineR、Vegan、或 ape 套件中所提供的功能，分別進行下列降維聚類分析：以 ape 套件中的 pcoa()功能進行 PCoA (Principal Coordinate Analysis, 主座標分析)，此法使用的分析陣列為各樣本點間的距離陣列(distance matrix)，而非 PCA 所使用的共變異陣列(covariance



matrix)，可用於嘗試解決 PCA 無法有效分群的狀況。若 PCA 與 PCoA 皆無法有效分群，則可嘗試使用 `cca()` 功能進行對應分析(correspondence analysis, CA)或典型對應分析(canonical correspondence analysis, CCA)將樣本點進行兩兩對應分析，並進一步應用 `rda()` 功能進行冗餘分析(redundancy analysis, RDA)作約束性排序(constrained ordination)，以嘗試找出各變因對於樣本分群的影響。此外，由於微生物體學分析的樣本型態大多數並不適用於線性模型(linear model)，例如細菌的生長速度，在低於或高於最適溫度時皆會降低，甚至停止生長或死亡，因此並非單純線性關係(例如溫度越高則生長速度越快)，因此為了分析微生物體學的非線性資料型態，本計畫亦將以 `metaMDS()` 功能進行 NMDS(non-metric multidimensional scaling)，期望能夠找到可將不同微生物菌相樣本有效分群的各種變因(環境因子)的組合與個別的貢獻值。

3. 生物標誌鑑定(Identification of biomarkers): 本研究擬使用線性區別分析(linear discriminant analysis effect size, LEfSe)鑑定個處理之樣本中的生物標誌與核心菌群(core microbiome)。將使用 R 語言中的 LDA 套件與 MASS 套件所提供的功能進行分析，配合上述 PCA 的分析結果，將其負載陣列(loading matrix)中的各變因貢獻值萃取出，以找到各樣本微生物相中對於差異性最具有影響力的菌種(核心菌種，core microbiome)，作為生物標誌。
4. 樣本關聯性與網路分析(Correlation and network analysis): 為了探討各樣本間的關聯性與關連網路，本研究擬利用 psych、WGCNA、Hmisc、與 SpiecEasi 等套件中所提供的功能進行分析¹⁷⁵。上述各種套件所使用的演算法不盡相同，執行效率亦不相同。例如 WGCNA 套件的執行效率最高，但需要額外的 p-value 修正分析。而 SpiecEasi 則可使用 Sparse Correlations for Compositional data (sparcc) 方法，特別適用於分析關聯式陣列資料。本研究將使用不同方法進行分析，並比較分析結果與執行效率，作為後續分析工作的參考。
5. 功能性預測(Functional prediction)與富集分析(Functional enrichment analysis): 在進行上述的基礎分析之後，預期將可獲得微生物相與環境變因之間的關鍵性指標之資訊。為了進一步了解不同菌相中的微生物群所可能具有的生物功能(特別著重於污染物分解去除的相關功能與代謝路徑)，本研究擬使用 R 語言中的 Tax4Fun2 套件所提供的功能進行分析，配合微生物相之 16S rDNA 序列資料進行功能性預測。並將同時測試 Microeco 套件所提供的 Functional Annotation of Prokaryotic Taxa (FAPROTAX)分析(trans_func.R)功能，或 clusterProfiler 套件之功能，配合功能性資料庫(如 GO、KEGG、GSEA、GSVA 等)進行微生物菌相的功能性預測與不同樣本間的功能性差異比對。此外，本研究亦將使用 dplyr 套件針對 KEGG、GO 等功能性資料庫進行文字探礦工作(text mining)。經由上述的功能性預測與分析，期望能找出關鍵的污染物代謝清除所需要的生物功能與代謝路徑。



附件

附件二 檢測原始資料



附件

(空白頁)

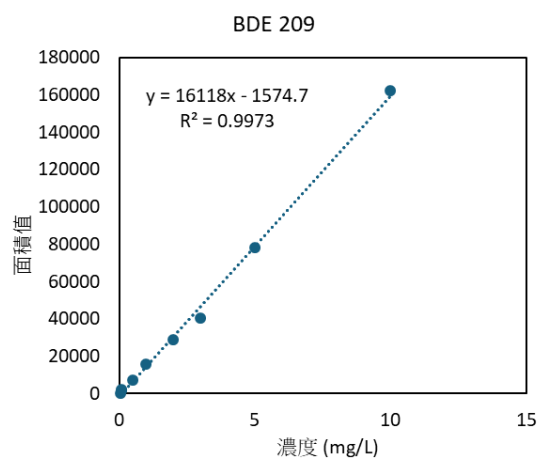


附件

附件二 檢測原始資料

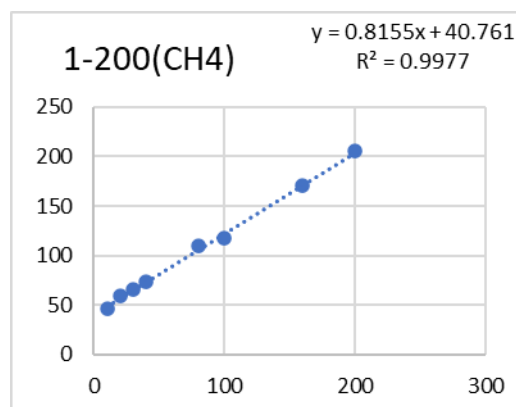
1. Aroclor 1254 檢量線

Concentration (mg/L)	面積值
0.05	259.6
0.075	1392.2
0.10	1884.8
0.5	7024.7
1.0	15823.3
2.0	28970.2
3.0	40261.8
5.0	78315.7
10.0	162053



2. 甲烷減量線

ppb	甲烷
10	46.8
20	59.9
30	65.4
40	73.0
80	109.7
100	117.6
160	170.3
200	205.4





2. 預先降解實驗 Aroclor 1254 檢測資料

	0	7	14	21	28	35
純・小球	1.000	0.785	0.640	0.599	0.446	0.388
純・念珠	1.000	0.947	0.876	0.884	0.690	0.641
純・宥瑋	1.000	0.954	0.874	0.831	0.753	0.748
球+珠	1.000	0.915	0.901	1.009	0.950	0.945
球+瑋	1.000	0.890	0.925	0.882	0.726	0.536
珠+瑋	1.000	1.014	1.115	1.085	1.087	0.979
球+珠+瑋	1.000	0.919	0.951	1.053	0.930	0.847
OC	1.000	1.110	1.103	1.024	0.969	0.964
BK	1.000	1.002	0.941	0.830	0.734	0.694
KC	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

3. 預先降解實驗甲烷檢測資料

	0	7	14	21	28	35	42	49
純小球藻	96	63	187	438	672	7043	24543	16432
純念珠藻	104	43	213	395	449	767	24853	16663
純SBL藻	91	46	49	106	489	7963	21986	14480
小球藻+念珠藻	21	12	302	4248	31424	21456	16988	12446
小球藻+SBL藻	14	178	1336	10052	15575	12761	10427	9459
念珠藻+SBL藻	11	58	594	12231	20878	12890	10233	10228
小球藻+念珠藻+SBL藻	15	43	505	980	7888	16402	15974	10692
OC	8	0	7	4	33	29	25	0
BK	7	0	0	0	0	0	3	0
KC	1	7	0	0	0	0	5	0

4. 田口批次實驗 Aroclor 1254 檢測資料

	D0	D7	D14	D21	D28	D35
G1	5.025	2.84097	3.01255	2.31741	3.36056	3.67085
G2	3.64644	1.45316	3.75668	2.5784	3.05679	2.68755
G3	1.86495	3.22913	2.27631	2.64229	3.13297	3.04052
G4	2.86677	2.26749	3.14773	2.57504	2.95001	3.12800
G5	3.40796	2.28287	4.66666	2.83019	3.10761	3.24042
G6	2.44458	1.53115	3.71142	2.50699	2.68709	2.41391
G7	2.33943	2.26021	3.56448	3.19108	3.00139	2.72933
G8	3.53104	2.37463	4.67616	2.897	2.95575	3.19489
G9	2.11958	2.6112	2.96861	1.70009	3.58388	2.47848
OC	2.84749	3.54953	4.2822	4.31263	4.24765	3.90721
BK	3.87838	3.79906	5.89449	5.35345	5.08746	5.53672
KC	4.9232	4.37932	6.25388	4.71619	5.24022	4.17575

經 Moving average 及以 BK 為基準轉換

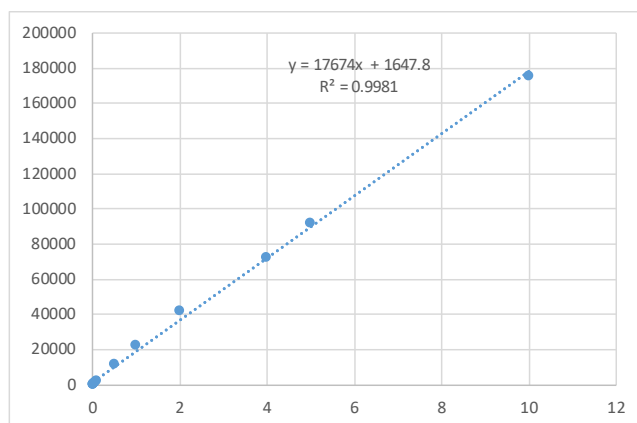


附件

組別	0	7	14	21	28	35
G1	1	0.78233	0.53001	0.51925	0.5711	0.64597
G2	1	0.9824	0.77924	0.86557	0.78421	0.814
G3	1	0.81846	0.81609	0.74285	0.83157	0.87576
G4	1	0.9125	0.79405	0.7939	0.80983	0.85547
G5	1	1.02957	0.87683	0.87579	0.77497	0.80609
G6	1	1.09376	0.99455	1.05276	0.91951	0.92717
G7	1	1.00406	1.0001	0.99696	0.93204	0.90034
G8	1	1.0136	0.85946	0.83792	0.73616	0.75261
G9	1	0.92066	0.78516	0.81987	0.78844	0.92604
OC	1	0.94436	0.96864	0.94354	0.9365	0.92121
BK	1	1	1	1	1	1
KC	1	0.94598	0.84189	0.81899	0.72998	0.73145

5. Aroclor 1254 檢量線

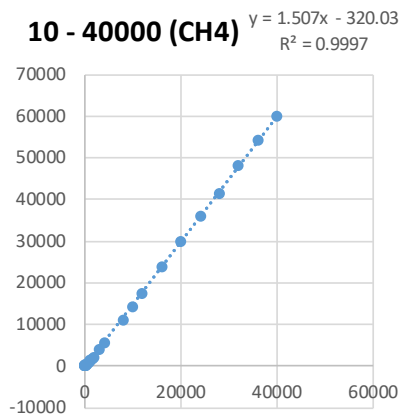
ppm	16.2	17.491	18.394	19.296	20.153	時間點	加總面積值
0.01	51.1	45.4	48.9	70	42.5		257.9
0.02	47.3	79.9	86.5	78	81.6		373.3
0.03	108	120	136.2	131.9	121.4		617.5
0.04	142.2	156.3	170.7	189	163.4		821.6
0.05	202.7	205.3	223.4	250.6	216.4		1098.4
0.08	323.3	372.9	380.9	404.8	352.3		1834.2
0.1	542.2	509.8	565.5	521.2	500.4		2639.1
0.5	2127.2	2416	2581.5	2517.2	2247.9		11889.8
1	3996.7	4605	4987.5	4871.5	4376		22836.7
2	7271.3	8613.2	9189.6	8940	7959.8		41973.9
4	12406.3	15016	15873.2	15524.3	13927.3		72747.1
5	15627.9	19051.1	20038	19610.6	17610.6		91938.2
10	29216.8	36839.1	38087.4	37584.9	34157.1		175885.3



6. 甲烷數據
以 BK 為基準

組別	0	7	14	21	28	35
G1	1	0.7867	0.5596	0.5545	0.5648	0.5802
G2	1	0.8997	0.7705	0.8113	0.8869	0.9257
G3	1	0.7589	0.5383	0.5079	0.5175	0.5221
G4	1	0.7872	0.5665	0.5567	0.5595	0.5648
G5	1	0.7899	0.5627	0.5453	0.5415	0.5474
G6	1	5.8567	9.9594	14.955	17.168	17.268
G7	1	0.8142	0.6017	0.5997	0.5896	0.5865
G8	1	1.5042	1.6695	1.8616	1.735	1.7611
G9	1	5.0642	8.6921	13.491	16.321	17.069
OC	1	0.9464	0.911	2.5488	7.0433	10.073
BK	1	1	1	1	1	1
KC	1	1.0077	1.0481	1.0328	1.0454	1.0539

7. 甲烷檢量線



8. qPCR 數據

	0	21	35
G1	1.70E+06	9.79E+05	1.89E+06
G2	1.26E+06	6.48E+06	6.47E+05
G3	2.06E+06	7.85E+04	7.39E+05
G4	1.27E+06	2.78E+06	1.01E+06
G5	1.04E+06	7.00E+05	1.38E+05
G6	1.73E+06	1.02E+06	5.77E+05
G7	1.78E+06	6.00E+05	8.49E+05
G8	2.54E+06	8.57E+05	9.56E+05
G9	2.09E+06	3.47E+06	5.37E+05
OC	1.38E+06	6.85E+05	2.46E+05



附件

tceA

	0	21	35
G1	1.41E+05	2.88E+03	1.82E+03
G2	1.72E+05	1.08E+04	4.93E+02
G3	1.32E+05	2.17E+02	1.09E+03
G4	6.65E+03	7.89E+03	1.93E+03
G5	6.16E+03	2.30E+04	8.66E+02
G6	6.34E+03	2.04E+04	3.00E+03
G7	6.53E+03	1.13E+04	2.43E+03
G8	2.82E+04	7.29E+04	0.00E+00
G9	4.60E+04	1.10E+03	9.79E+03
OC	0.00E+00	2.60E+03	4.11E+04

ardA

	0	21	35
G1	1.45E+05	1.35E+04	1.28E+04
G2	2.00E+04	1.88E+04	1.30E+04
G3	1.93E+04	1.50E+04	1.41E+04
G4	1.34E+04	1.86E+04	1.14E+04
G5	9.10E+03	1.31E+04	8.70E+03
G6	1.02E+04	2.38E+04	9.00E+03
G7	9.65E+03	7.25E+03	9.89E+03
G8	2.42E+04	2.56E+04	1.39E+04
G9	2.66E+04	1.11E+04	1.34E+04
OC	1.25E+04	2.19E+04	4.70E+03

rdh12

	0	21	35
G1	6.51E+03	6.66E+03	5.73E+02
G2	2.29E+04	8.15E+03	3.39E+03
G3	3.10E+03	1.83E+03	6.37E+03
G4	1.43E+03	8.08E+03	2.90E+03
G5	5.93E+03	8.85E+03	9.73E+02
G6	8.22E+03	2.13E+04	5.11E+03
G7	2.86E+03	8.66E+02	3.67E+03
G8	1.28E+04	5.03E+03	6.87E+03
G9	6.49E+03	4.71E+03	4.53E+03
OC	4.68E+03	9.27E+02	6.30E+03



附件

pcbA1

	0	21	35
G1	0.00E+00	2.68E+01	0.00E+00
G2	9.67E+02	0.00E+00	0.00E+00
G3	1.88E+02	0.00E+00	0.00E+00
G4	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
G5	2.71E+02	2.72E+03	0.00E+00
G6	0.00E+00	1.18E+03	0.00E+00
G7	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
G8	6.09E+02	0.00E+00	7.54E+03
G9	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
OC	0.00E+00	6.30E+02	0.00E+00

pcbA4

	0	21	35
G1	1.50E+05	4.45E+04	2.84E+04
G2	1.43E+05	3.76E+04	1.09E+05
G3	3.56E+04	1.67E+04	3.39E+04
G4	3.45E+03	1.11E+05	2.19E+04
G5	2.38E+04	3.06E+05	2.75E+04
G6	1.04E+05	2.91E+04	6.06E+04
G7	2.45E+04	3.55E+04	1.88E+04
G8	5.84E+04	3.23E+04	1.78E+04
G9	5.03E+04	2.12E+04	1.13E+04
OC	2.94E+04	4.28E+04	7.67E+04

pcbA5

	0	21	35
G1	1.05E+03	0.00E+00	0.00E+00
G2	9.50E+02	0.00E+00	0.00E+00
G3	8.16E+02	4.24E+02	0.00E+00
G4	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
G5	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
G6	0.00E+00	1.13E+03	0.00E+00
G7	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
G8	4.29E+02	0.00E+00	2.25E+02
G9	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00
OC	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00

附件

<i>BAC</i>			
	0	21	35
G1	1.53E+09	1.52E+07	1.55E+07
G2	2.26E+10	3.91E+10	1.08E+10
G3	6.68E+10	4.49E+10	6.31E+10
G4	2.62E+10	2.44E+10	8.53E+09
G5	2.32E+10	1.70E+10	2.00E+10
G6	2.97E+09	1.08E+10	3.58E+09
G7	1.83E+10	8.56E+09	7.45E+09
G8	3.63E+11	2.45E+11	1.85E+11
G9	1.12E+11	1.40E+10	2.13E+10
OC	5.81E+10	2.34E+06	6.97E+06



附件

(空白頁)



附件

附件三 各項技術之適用情況及其優缺點



附件

(空白頁)

附件三 本計畫團隊以往所研發之底泥整治技術差異分析

研發技術/描述	適用情形	優點	缺點
奈米乳化液促進微生物降解泥中萘、苯(a)駢芘與PCBs(已獲專利)	1. 適用於高度PAHs與PCBs污染之底泥 2. 底泥之通透性不可太差，黏粒為主底泥恐不適用	1. 施工容易，即使底泥中有障礙物也可進行。 2. 不僅有效加強PCBs降解，同時提高PAHs之可及性，也可提高其降解程度	1. 因在底泥中增加有機BOD負荷，可能在短時間內造成河道厭氧情況加重。 2. 污染物降解產物之水溶性提高，若未能及時完成清除，恐提高生態風險。
以奈米氧化鐵進行重金屬回收	1. 僅適用於水相中重金屬去除 2. 對砷、鉛、銅與鉻效果較佳	1. 方法簡易。 2. 器具製作簡易。	1. 僅適用於水相。 2. 重金屬去除率過低(<30%)尚未具實場應用價值
整合奈米氧化鐵與奈米乳化液進行萘、苯(a)駢芘與PCBs整治	1. 適用於有高度PAHs與PCBs污染之底泥。 2. 底泥之通透性不可太差，黏粒為主底泥恐不適用。	1. 兩種同時添加有助於PCBs降解，可能是亞鐵離子與H₂S形成FeS₂而降低硫化物對細菌之毒害 2. 施工容易，即使底泥中有障礙物也可進行。 3. 不僅有效加強PCBs降解，同時提高PAHs之可及性，也可提高其降解程度	1. 因在底泥中增加有機BOD負荷，可能在短時間內造成河道厭氧情況加重。 2. 降解物之水溶性提高，若未能及時完成清除，恐有生態風險。

附件三 本計畫團隊以往所研發之底泥整治技術差異分析 (續)

研發技術/描述	適用情形	優點	缺點
整合奈米氧化鐵與奈米 乳化液進行重金屬回收	1. 較適用於水相。 2. 適用於在酸性條件下容易解離之重金屬。 3. 乳化液分解酸化有助於重金屬之釋出，但在感潮河段受海水影響 具有高離子強度(共同離子效應) 與酸鹼中和能力，較不適用。	1. 僅添加乳化液者有助於重金離子之釋出。 2. 添加最高量乳化液與加入較高量奈米氧化鐵者為重金屬回收效率最佳者。 3. 可能因微生物分解乳化液造成微酸性環境有助於重金屬自底泥中釋出。 4. 操作應屬簡易，器具製作也簡易。	1. 僅適用於水相。 2. 重金屬去除率過低，尚未具實場應用價值。 3. 感潮河段恐較不適用。
以高油量乳化直接回收 PBDEs，並以殘餘乳化液促 進微生物降解 PBDEs(已獲專利)	1. 適用於Log K_{ow} 在3.0 以上之污染物較佳。 2. 因必須進行攪拌靜置分離等步驟，工程程序較複雜，若底泥中混有磚塊石頭、鋼筋等雜物將難以進行。 3. 黏粒為主之底泥恐不適用。 4. 50%鹽度仍可適用。 5. 中度有機質仍可適用。	1. 分離迅速，針對高Log K_{ow} 值之污染物，特別適用，且這些污染物多為持久性有機污染物。 2. 可有效提高生物分解效率。	1. 因在底泥中增加有機 BOD 負荷，可能在短時間內造成河道厭氧情況加重。 2. 污染物降解產物之水溶性提高，若未能及時完成清除，恐提高生態風險。

附件三 本計畫團隊以往所研發之底泥整治技術差異分析 (續)

研發技術/描述	適用情形	優點	缺點
以高油量乳化直接回收 phthalates，並以殘餘乳化液促進微生物降解 phthalates(已獲專利)	1. 適用於DEHP 與DBP 污染濃度高於 BBP 與 DEP 之底泥。因 Phthalates 非屬氯化有機物，乳化液僅有助於提高其生物可及性，一般而言應以好氧反應較佳，但其中 BBP 與 DEP 則以厭氧或序列式厭氧好氧較佳。因必須進行攪拌、靜置、分離等步驟，工程程序較複雜若底泥中混有磚塊、石頭、鋼筋等雜物將難以進行。 2. 50%鹽度仍可適用。 3. 中度有機質仍可適用。 4. 黏粒為主之底泥恐不適用。	1. 分離迅速，針對高 Log Kow 值之污染物，特別適用，且這些污染物多為持久性有機污染物。 2. 可有效提高生物分解效率。	1. 因在底泥中增加有機 BOD 負荷，可能在短時間內造成河道厭氧情況加重。 2. 污染物降解產物之水溶性提高，若未能及時完成清除，恐提高生態風險。
底泥玻璃化(已獲專利)	1. 一般砂質之表層底泥。 2. 50%鹽度仍可適用。 3. 底泥中應避免混有磚塊、石頭、鋼筋等雜物，否則將難以進行 4. 現址進行尚須模場試驗確認。	1. 一般表層底泥砂質顆粒較多，適用性高 2. 確認可應用於海水鹽度 50%之底泥中。	1. 矽酸鹽成分過低(非砂質)，如黏土土質之底泥恐不適合。 2. 基本設施較為複雜如必須有工業及電磁感應裝置與至少備有或是租用 50KW 之發電機。

附件三 本計畫團隊以往所研發之底泥整治技術差異分析 (續)

研發技術/描述	適用情形	優點	缺點
磁性活性碳去除底泥中重金屬與Aroclor 1254	1. 確認在 2.0 小時之單次操作可去除超過80%之PCBs。 2. 可去除部分重金屬。	1. 確認在2.0 小時之單次操作可去除超過80%之PCB。 2. 快速有效。	1. 製作磁性活性碳較費時。 2. 雖然可以再利用但成本仍可能較高。
污染底泥之凝膠過濾法 (已獲專利)	1. 已經完成疏濬法之址上底泥。 2. 絕大部分污染物為有機污染物且多吸附於細顆粒上。	1. 確認可在30 秒內完成有效分離。 2. 操作簡單且機具容易製作。	1. 尚須模場試驗進行驗證。 2. 製作凝膠費時且成本可能較高。 3. 對重金屬可能無效。
現地相反轉法與生物還原脫鹵 (ISPIE/BiRD, 已獲專利)	1. 應可適用於大部分之表層底泥，有少許障礙物仍可施作。 2. 水力傳導係數不宜太低，黏土質底泥不適用。	1. 工程手段簡易。 2. 操作簡單且機具容易製作。 3. 成本相對低廉。 4. 模場整治試驗已完成	1. 底泥中障礙物不宜過多。 2. 枯水期時間應至少 4 個月。
以負碳為基礎之污染底泥整治 (藻類助劑研發)	1. 應可適用於大部分之表層底泥，有少許障礙物仍可施作。 2. 水力傳導係數不限，絕大多數底泥適用。	1. 工程簡易，成本低廉。 2. 可去除空氣中 CO ₂ 且甲烷產量低。	1. 模場整治試驗尚未完成。 2. 整治效果可能不如 ISPIE/BiRD。

註：以表面增強拉曼散射進行PBDEs 與Phthalates 污染物快速檢測技術(已獲專利)因非屬整治技術，故未列入比較。



附件

附件四 不同污染物之解決方案及其相關事項



附件

(空白頁)

附件四 不同污染物之解決方案之工程難度、預估經費與時程

污染物類別	適用技術	預計時程	技術成熟度	經費預估
六氯苯、多氯聯苯、Lindane、DDT、多溴二苯醚、戴奧辛等鹵化有機污染物	奈米乳化液促進生物降解	1 至 5 年	TRL8	材料費用約 NT\$2,700/m ³ 機具設備費用另計，大約 NT\$8,100/m ³ 。
	高油量乳化直接回收 PBDEs 及 phthalates，並以殘餘乳化液促進微生物降解 PBDEs	1 至 2 年	TRL8	材料費用約 NT\$3,000/m ³ 機具設備費用另計，大約 NT\$9,000/m ³ 。
	污染底泥之凝膠過濾法	3 至 6 個月	TRL3	材料費用約 NT\$5,000/m ³ ，整體費用尚無法預估。
	ISPIE/BiRD	3 至 6 個月	TRL8	材料費用約 NT\$1,000/m ³ ，粗估整體費用為 NT\$7,000/m ³
Phthalates (鄰苯二甲酸酯類)、多環芳香烴類 (如萘與苯(a)駢芘)	高油量乳化直接回收 PBDEs 及 phthalates，並以殘餘乳化液促進微生物降解 PBDEs	1 至 2 年	TRL8	材料費用約 NT\$3,000/m ³ 機具設備費用另計，大約 NT\$9,000/m ³ 。
	ISPIE/BiRD	3 至 6 個月	TRL8	材料費用約 NT\$1,000/m ³ ，粗估整體費用為 NT\$7,000/m ³

附件四 不同污染物之解決方案之工程難度、預估經費與時程

污染物類別	適用技術	預計時程	技術成熟度	經費預估
重金屬鉻、銅、鎳、鉛、鋅	電磁感應加熱玻璃化 (砷、鎘、汞因沸點較低不適用)	平均 <1.0 天 (大型加熱設施下)	TRL6	粗估整體費用為 NT\$16,500/m ³
	以廢牡蠣殼及應回收廢玻璃將重金屬污染底泥玻璃化為有價環保多孔材	平均 <1.0 天	TRL6	無須花費(經費為負值)，整體應為獲利，估計每公噸之毛利 100.1-109.3%，收取原料已經賺錢，製造為成品銷售再獲利。
重金屬砷、鎘、鉻、銅、汞、鎳、鉛、鋅	現地奈米氧化鐵進行重金屬回收	預計 3-6 月	TRL3	目前無法預估。
重金屬砷、鎘、汞	磁性活性碳	預計 3-6 月	TRL3	目前無法預估。

註：經費預估均以處理量至少 1000 m³ 為基礎。



附件

附件五 Aroclor1254 之定量方法及 GC 圖譜



附件

(空白頁)



附件

Aroclor 1254 定量方法

1. 依圖譜選定 3-5 個至少是最大波峰 25% 以上高度的波峰，在本研究中選定下圖之滯留時間 (retention time) 16.184、17.449、18.353、19.244 與 20.107 分鐘。
2. 劃定 baseline，將基線以上面積進行積分，將此 5 個波峰面積加總，最為該樣品之訊號值。以標準品配置不同濃度之樣品，進行檢測並製作檢量線。
3. 所有樣品之檢測所得圖譜進行同樣方式處理，將所得數值代入檢量線，即可得到各該樣品之濃度。
4. 其餘品保/品管皆依據 NIEA 方法進行。

GC 圖譜

