

行政院環境保護署

「100 年度土壤及地下水污染研究與技術提昇計畫」

添加複合性副資材促進總石油碳氫化合物污染土之生 物降解技術 期末報告

主 辦 單 位：  行政院環境保護署

計 畫 執 行 單 位： 成功大學／環境工程學系

計 畫 主 持 人： 鄭幸雄教授

計 畫 執 行 期 間： 100 年11 月26 日起至

101 年11 月25 日

中 華 民 國 101年10 月 印製

行政院環境保護署計畫成果中英文摘要(簡要版)

- 一、中文計畫名稱：添加複合性副資材促進總石油碳氫化合物污染土之生物降解技術
- 二、英文計畫名稱：Systematic Bioremediation Strategy in organic amending accretions to improve biostimulation within Total Petroleum Hydrocarbon Contaminated Soil
- 三、計畫編號：
- 四、執行單位：國立成功大學環境工程學系
- 五、計畫主持人(包括共同主持人)：鄭幸雄、張長泉
- 六、執行開始時間：民國 100 年 11 月 26 日
- 七、執行結束時間：民國 101 年 11 月 25 日
- 八、報告完成時間：民國 101 年 10 月 24 日
- 九、報告總頁數：56 頁
- 十、使用語文：中文
- 十一、報告電子檔名稱：添加複合性副資材促進總石油碳氫化合物污染土之生物降解技術
- 十二、報告電子檔格式：WORD
- 十三、中文摘要關鍵詞：系統化環境分子生物技術、複合性副資材、總石油碳氫化合物
- 十四、英文摘要關鍵詞：Systematic Environmental Molecular Bioremediation Technology, Organic Amending Accretions, Total Petroleum Hydrocarbon
- 十五、中文摘要(簡易版)：

台灣土壤及地下水受油品污染日益嚴重，污染案例不勝枚舉，油品污染一般污染途徑以地下儲油槽(Underground Storage Tanks, USTs)受腐蝕而破裂產生漏油、油管破裂、地面油品意外洩漏、及廢油品任意傾倒或掩埋等。本計畫團隊研發出的系統化環境分子生物復育技術(Systematic Environmental Molecular Bioremediation Technology, SEMBT)，對於土壤污染檢測甚至土壤及地下水復育，將配合環保產業的需要，降低監測、整治的成本，縮短離址油污土壤復育時程，提供本土化的生物技術服務。本計畫延續前所開發出之分子生物技術，利用已建立之 SEMBT 為技術平台，進行離址整治模型場規模現地驗證及示範之污土生物復育。

由於過去整治常以砂質土(Sand)為研究方向，對於較為黏質(Clay)的土壤，較少做為探討整治的目標；因此本研究將針對黏土質之污染土壤進行深入研究與探討。複合性副資材之特性具有：(1)物理性-微小顆粒之廚餘堆肥具有能夠改變黏土質土壤之結構，減弱鍵與鍵之間的強度，以提升污染物之溶出；(2)化學性-廚餘堆

肥中具有足夠的氮、磷等營養源以提供微生物之生長，即所謂的生物刺激法；(3) 生物性-廚餘堆肥中具有豐富的微生物，即為生物優植法。

本研究期以三階段模式進行土壤之生物復育程序，第一階段利用固定土壤翻堆與灑水，配合本研究團隊之 SEMBT 進行監測式自然衰減復育，目標土方為污染場址中不同來源的柴重油污染風化土壤，進行土樣污染物濃度、微生物多樣以及分子生物檢測；此階段同步進行複合性副資材之實驗規模批次試驗，找出最佳複合性副資材之配比與微生物多樣性。待土壤分佈達到穩定，即進行第二階段之複合性副資材添加，並模擬現場生物復育工法之推進(BAS0→BAS6)。

本研究預期土壤污染濃度將會遭遇生物降解之高原期(plateau)，此時將定義為第三階段施工啟動，將篩選較為優勢之降解石油碳氫化合物外來菌，包含多種油分解真菌(**Yeast:** *Candida guilliermondii*、*Candida parapsilosis*；**Mold:** *Aspergillus fumigatus*、*Aspergillus versicolor*、*Fusarium oxysporum*)，以促進生物降解效果。

十六、英文摘要：

Most of petrochemical oil pollutants contain aliphatic lipid and aromatic hydrocarbon compounds that are hydrophobic to water but sticky to surface of certain materials. These widespread fuel oil pollutants (total petroleum hydrocarbon,TPH) are difficult to be removed and need to be degraded with specific microorganisms associated with abundant quantity of extracellular polymer and secreted biosurfactant. Biosurfactant with the extracellular polysaccharide and the polypeptide promoted biofilm can be developed from diverse microbial consortia that are most found in hydrocarbon contaminated soil. With the secreted biosurfactants dissolving and penetrating into the oil layer, a biodegradation process can be enhanced with the enriched microorganisms which can drill channels for mass transport of nutrients and bioproducts. In order to carry out a systematic environmental molecular biotechnological (SEMBT) remediation, three research groups are established: (1) bioagent development with molecular biotechnology, (2) molecular biomonitoring technology, and (3) biotechnology integration for environmental engineering. This research group will work out the systematic technologies of the bioagent augmentation, the biomonitoring, and the biofilm stimulation to perform an useful bioremediation process (SEMBT) in a petroleum contaminated site. Within one year, a set of ex-situ bioremediation demonstration will be established with a pilot scale plant of 2.4kg bipiles for treating the total petroleum hydrocarbon(TPH). The project goal is to demonstrate a systematic environmental molecular biotechnology (SEMBT) for biodegradation technology that is feasible for remediating a large area of hydrocarbon contaminated site.

中文摘要

台灣土壤及地下水受油品污染日益嚴重，污染案例不勝枚舉，油品污染一般污染途徑以地下儲油槽(Underground Storage Tanks, USTs)受腐蝕而破裂產生漏油、油管破裂、地面油品意外洩漏、及廢油品任意傾倒或掩埋等。本計畫團隊研發出的系統化環境分子生物復育技術(Systematic Environmental Molecular Bioremediation Technology, SEMBT)，對於土壤污染檢測甚至土壤及地下水復育，將配合環保產業的需要，降低監測、整治的成本，縮短離址油污土壤復育時程，提供本土化的生物技術服務。本計畫延續前所開發出之分子生物技術，利用已建立之 SEMBT 為技術平台，進行離址整治模型場規模現地驗證及示範之污土生物復育。

由於過去整治常以砂質土(Sand)為研究方向，對於較為黏質(Clay)的土壤，較少做為探討整治的目標；因此本研究將針對黏土質之污染土壤進行深入研究與探討。複合性副資材之特性具有：(1)物理性-微小顆粒之廚餘堆肥具有能夠改變黏土質土壤之結構，減弱鍵與鍵之間的強度，以提升污染物之溶出；(2)化學性-廚餘堆肥中具有足夠的氮、磷等營養源以提供微生物之生長，即所謂的生物刺激法；(3)生物性-廚餘堆肥中具有豐富的微生物，即為生物優植法。

本研究期以三階段模式進行土壤之生物復育程序，第一階段利用固定土壤翻堆與灑水，配合本研究團隊之 SEMBT 進行監測式自然衰減復育，目標土方為污染場址中不同來源的柴重油污染風化土壤，進行土樣污染物濃度、微生物多樣以及分子生物檢測；此階段同步進行複合性副資材之實驗規模批次試驗，找出最佳複合性副資材之配比與微生物多樣性。待土壤分佈達到穩定，即進行第二階段之複合性副資材添加，並模擬現場生物復育工法之推進(BAS0→BAS6)。

本研究預期土壤污染濃度將會遭遇生物降解之高原期(plateau)，此時將定義為第三階段施工啟動，將篩選較為優勢之降解石油碳氫化合物外來菌，包含多種油分解真菌(**Yeast:** *Candida guilliermondii*、*Candida parapsilosis*；**Mold:** *Aspergillus fumigatus*、*Aspergillus versicolor*、*Fusarium oxysporum*)，以促進生物降解效果。

Abstract

Most of petrochemical oil pollutants contain aliphatic lipid and aromatic hydrocarbon compounds that are hydrophobic to water but sticky to surface of certain materials. These widespread fuel oil pollutants (total petroleum hydrocarbon, TPH) are difficult to be removed and need to be degraded with specific microorganisms associated with abundant quantity of extracellular polymer and secreted biosurfactant. Biosurfactant with the extracellular polysaccharide and the polypeptide promoted biofilm can be developed from diverse microbial consortia that are most found in hydrocarbon contaminated soil. With the secreted biosurfactants dissolving and penetrating into the oil layer, a biodegradation process can be enhanced with the enriched microorganisms which can drill channels for mass transport of nutrients and bioproducts. In order to carry out a systematic environmental molecular biotechnological (SEMBT) remediation, three research groups are established: (1) bioagent development with molecular biotechnology, (2) molecular biomonitoring technology, and (3) biotechnology integration for environmental engineering. This research group will work out the systematic technologies of the bioagent augmentation, the biomonitoring, and the biofilm stimulation to perform an useful bioremediation process (SEMBT) in a petroleum contaminated site. Within one year, a set of ex-situ bioremediation demonstration will be established with a pilot scale plant of 2.4kg bipiles for treating the total petroleum hydrocarbon (TPH). The project goal is to demonstrate a systematic environmental molecular biotechnology (SEMBT) for biodegradation technology that is feasible for remediating a large area of hydrocarbon contaminated site.

第一章、計畫緣起與目的

生物復育處理油污土壤，由於整治費用便宜，廣為國外所用；但由於台灣寸土寸金，往往因生物復育所需工程時間過長，且占地面積過大而不被青睞。分析生物復育所需工程時間較長的原因，為降解過程中有遲滯的現象產生，造成此現象的原因包括(1)易分解化合物已先被原生微生物分解(2)缺少可共代謝基質(3)微生物接觸化合物機率減低(4)缺少具有分解此類化合物之微生物存在(5)土壤中營養鹽限制(6)中間有毒物質累積。若其中無一個工程上或自然演化過程的改變，則汙染物遲滯的現象時間就會拉長。若克服此問題可以縮短整治的時間，提高生物復育法的優勢，為本計畫目的之一。

過去六年本團隊以所研發出的系統化環境分子生物復育技術(Systematic Environmental Molecular Bioremediation Technology, SEMBT)來進行土壤污染之整治，成功的整治了多處的污染場址之土壤；由於過去整治常以偏砂質土為研究方向，對於較為黏質(Clay)的土壤，較少做為探討整治的目標；因此本研究將針對黏土質之污染土壤進行深入研究與探討。黏土質之土壤特性具有：(1)含水率高的特性將不利於熱脫附的處理方式；(2)黏土質之污染土壤若有較高濃度的 TPH，這表示土壤中存在著較難氧化的惰性污染，而此特性也將不利於化學氧化法；因此本研究將以開發複合性副資材(廚餘堆肥)來進行受污染土壤(黏土質)之生物復育。複合性副資材之特性具有：(1)物理性-微小顆粒之廚餘堆肥具有能夠改變黏土質土壤之結構，減弱鍵與鍵之間的強度，以提升污染物之溶出；(2)化學性-廚餘堆肥中具有足夠的氮、磷等營養源以提供微生物之生長，即所謂的生物刺激法；(3)生物性-廚餘堆肥中具有豐富的微生物，即所謂的生物優植法。

本計畫目的為延續系統化環境分子生物技術至實場運用規模，結合生物優植法(bioaugmentation)與生物促進法(biostimulation)之生物優植促進法(BAS)策略，進行生物土堆翻耕法(Biopile Landfarming)處理柴重油污染土壤之生物復育。根據過去本團隊六年的研究成果，可應用在實際工程上，整治規模為每年 10,000 m³之污染土方(約為 20,000 公噸土)，參照美國環保署(USEPA)所提供的生物復育手冊計算，至少需要 5%以上的有機質與菌種添加，本研究所能提供的規模約為 10%以內的體積添加，約為 1,000 公噸(2000 m³)，根據未來一年內約 10 個月的持續性植種，即生物刺激與生物優植，每個月至少有 100 公噸的量化植種，換算為每個禮拜約需提供 25 公噸的植種，同步培養 1%比例的菌液(實驗室規模提供 100~250 L/week)。最終生物復育目標，其污染物為柴油(TPHC10~C40)降至法規 1,000 mg/kg dry soil 以下，符合土壤管制標準。

本模場計畫將延續過去一年與台灣中油公司高雄煉油廠(簡稱高廠)內合作進行一工程化離場生物復育的實證示範計畫，在第二年將土壤復育程序改良其生物刺激與生物優植，期以複合性副資材作為後續推進之植種源，並提高生物復育過程中微生物多樣性的種類以及微生物本身之調控。

隨著離場整治的工程作業經驗、分析技術的推進、實驗室技術開發團隊現場作業策略的操作，將系統化環境分子生物復育技術持續的強化，同時應用實驗室規模之土壤反應瓶批次試程，藉由污染物各時期的三成分組成及微生物細菌類菌相的差異演進，包括真菌類的蹤跡對殘餘的污染物降解有很大的關聯，因此建立兩階段生物整治的最佳化策略，縮短整治的時間。為本計畫重要性關鍵技術之驗證。並希望藉此結果能進一步重整碳氫化合物污染土壤之生物整治的工程概念，並推廣工程化施用於未來汙染的場址，藉由最適化的條件，縮短整治的工期，並強化污染土壤的自然衰減，以達到恢復土壤生機(biorestore)的目標。

第二章、研究方法與過程

一、計畫架構與流程

本研究乃創新開發土壤生物復育技術—系統化環境分子生物復育技術 (SEMBT)，已經由經濟部學界科專兩期六年計畫完成研發技術平台(2002-2009)，包含四項關鍵性技術如 Fig.1 所示：(1)分子生物技術微矩陣生物晶片 (Microarray biochip)：首先利用分子生物技術 Microarray biochip 與 DGGE 調查污染場址原生油分解菌之種類與族群社會。(2)生物界面活性助劑優化量產技術：利用本團隊開發之生物助劑溶解土壤孔隙之油污，以增加油解菌與油污接觸機會，促進油污降解效率。(3)生物菌劑優化量產技術：增加污染場址油解菌數量與濃度，提高油污降解效率。(4)系統化環境分子生物復育技術：乃利用分子生物技術 Microarray biochip 與 DGGE 監控生物復育期間油分解原生菌與優植菌之族群消長，並配合生物促進法與生物優植法整合為系統化環境分子生物復育技術之整治程序。故本系統化技術之主軸特色乃藉由分生技術的監控應用(Molecular Biomonitoring)，發展出一套有效且快速的整治策略，並配合生物土堆翻耕方法進行離場整治(Ex-situ bioremediation)，將可促進生物降解效率，而大幅減少整治經費與時間(Marin et al., 2005)。本計畫之目的乃在驗證本團隊所開發之系統化環境分子生物復育技術應用於土壤污染之離場整治，自豐德、高廠及苓站等場址，以生物土堆翻耕方式由小逐漸放大規模(scale up: 0.5m³, 10m³, 100m³, 200m³)，以評估系統化環境分子生物復育技術應用生物土堆翻耕法對油污染土壤生物復育之整治效果。

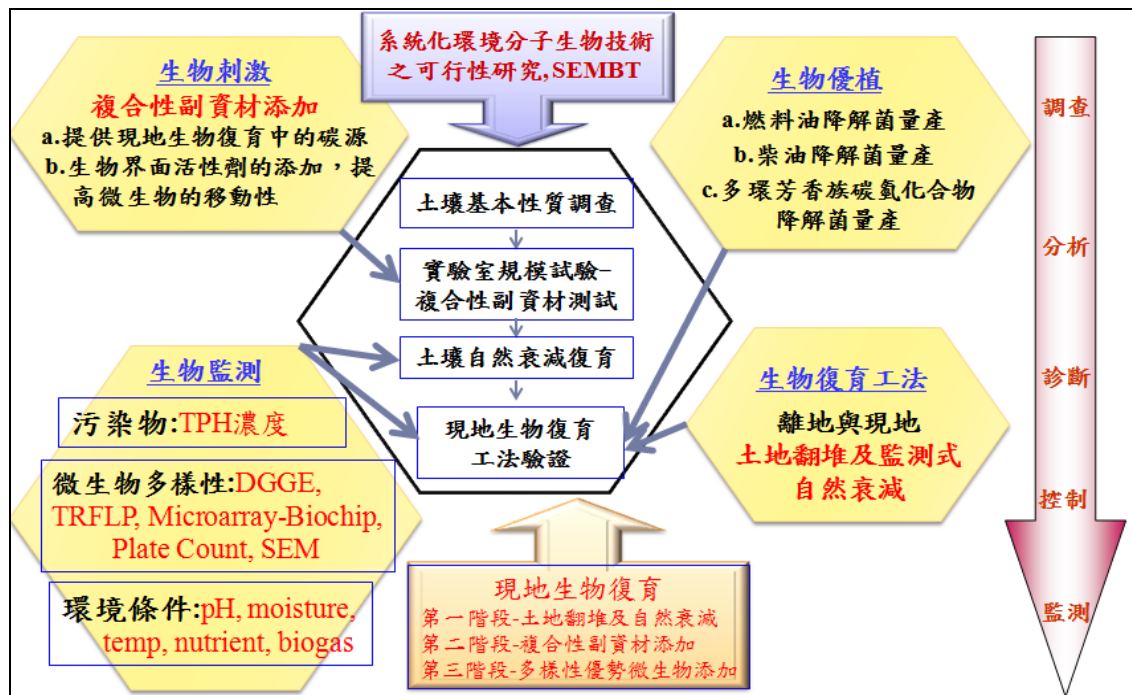


Fig.1 Research framework and flowchart of this project

二、模擬現場整治土堆設計

場區規劃為求節省離場土地使用面積，本計畫改良土堆工法將利用柱栓流反應(Plug flow reaction, PFR)理論方法與迴流污泥(recirculated seeding)，延續過去一年經驗，將其土堆工法再改良成反推柱栓流動式 (Counter current plug flow)生物反應堆概念如 Fig. 2，本計畫因土方較為精緻，故將污染土壤分為 6 土堆延續推進工法，每堆皆進行串連植種(seeding)，每完成植種後再進行土堆推進(BAS0、BAS1、BAS2、BAS3、BAS4、BAS5、BAS6)，每堆設計尺寸為 1m*1m*1m(LxWxH)，總重約為 2.4kg。為將來擴大整治面積與土方考量，以及工程規範之建立，做為離場生物復育之整治基準與技術平台。

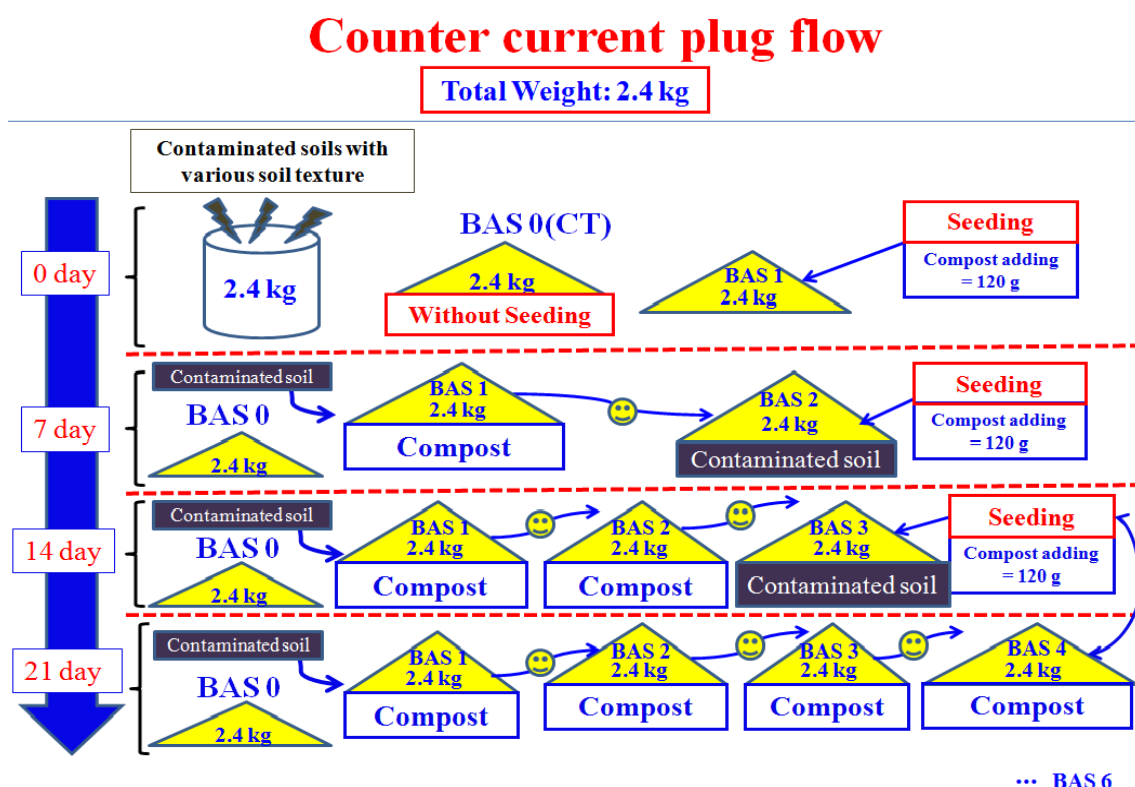


Fig.2 Counter current plug flow reactor of Lab-Scale study

本研究期以三階段模式(如 Fig.1 所示)進行土壤之生物復育程序，第一階段利用固定土壤翻堆與灑水，配合本研究團隊之 SEMBT 進行監測式自然衰減復育，目標整治土堆約為 2.4kg，每次採集不同部位土樣與位置(至少 5 點)，進行土樣污染物濃度、微生物多樣以及分子生物檢測；此階段同步進行複合性副資材之實驗規模批次試驗，找出最佳複合性副資材之配比與微生物多樣性。待土壤分佈達到穩定，即進行第二階段之複合性副資材添加，並配合現場生物復育工法之推進。即每星期啟動一土堆，每次都是首先加複合性副資材稀釋為 120g，並每週早晚添加含水於土堆中，以保持土壤含水率為 15~20%。採樣時機為每次土

堆添加複合性副資材之前，依土堆編號每次先由植種組(BAS1→BAS2…以此類推)開始，以避免有限植種量分散菌種濃度。再依序串連進行土堆 BAS1、BAS2、BAS3、BAS4、BAS5 與 BAS6 各堆之採樣，採樣後再進行含水添加與翻堆動作，以維持氧氣濃度在 10~18%，使適合於好氧微生物生長之環境因子。驗證規模中控制組(BAS0)不添加菌種或複合性副資材於土堆，僅以每週定期翻堆與灑水方式進行自然衰減監測對照，而串連推進組(BAS1、BAS2、BAS3、BAS4、BAS5 與 BAS6)各土堆則添加複合性副資材作為生物界面活性劑與生物菌劑之植種。本研究預期土壤污染濃度將會遭遇生物降解之高原期(plateau)，此時將定義為第三階段施工啟動，將篩選較為優勢之降解石油碳氫化合物外來菌，包含多種油分解真菌(Yeast: *Candida guilliermondii*、*Candida parapsilosis*；Mold: *Aspergillus fumigatus*、*Aspergillus versicolor*、*Fusarium oxysporum*)，以促進生物降解效果。

整治期間定期監測之項目，包括土壤中目標污染物重油TPHC_{10~C₄₀}與柴油TPHC_{10~C₂₈}之濃度，油分解菌微生物總菌落數，以及土壤環境因子如土壤中溫度、水份(%)及pH等。同時利用分子生物技術微矩陣生物晶片(Microarray biochip)方法監測微生物在整治期間之族群變化，以了解微生物族群之消長。

三、複合性副資材來源

本研究中所使用的複合性副資材(Organic agents)來自廚餘堆肥場，堆肥場 6 個槽體皆各取 1/6 (Fig. 3)，並各槽取樣分析其微生物菌落數(Table 1)。此外，生物性複合副資材添加於土壤之含量控制在 5%(w/w, dry mass)。



Fig.3 Counter current plug flow reactor of field study

根據所採集之複合性副資材，進行微生物多樣性與菌落數分析，得知該廚餘堆肥場六個不同生物反應槽，皆存在高量之總異營細菌、總異營真菌與柴油降解菌(10^{4-8})，並隨著溫度其菌落數有相當明顯增加趨勢，在KW5 與KW6 槽達到最佳之菌量，溫度高達 50°C ，預期在此溫度下能有效將雜菌抑制，並使環境中存在較具耐熱性之微生物優勢化。

Table 1 複合性副資材之基本特性

2011.8 月採集	KW1	KW2	KW3	KW4	KW5	KW6
HAB (Log_{10})	7.74	7.32	7.44	7.96	7.80	7.94
THF (Log_{10})	7.44	6.76	6.88	6.74	6.72	6.66
DAB (Log_{10})	6.96	6.82	7.24	7.32	7.62	7.38
溫度 ($^{\circ}\text{C}$)	42	50	57	61	59	50

四、氣相層析-火焰離子偵測器分析總石油碳氫化合物方法

採用環保署公告之檢測方法NIEA W802.50B，以二氯甲烷為萃取溶劑、 Na_2SO_4 配合超音波萃取機(VCX-750)之超音波萃取法(NIEA M167.00C)萃取總石油碳氫化合物(Total Petroleum Hydrocarbon, TPH)。以氣相層析儀進行分析，並以火焰離子偵測器來偵測解析結果(GC-FID)(NIEA S703.60B)，分析儀器的型號：Varian CP-3800 GC-FID。使用之毛細管為：DB-1(HT) (型號No.123-1131, Agilent, USA)，規格：30 m, ID: 0.32 mm, film: 0.1 μm 。

本研究之TPH檢測項目分為 $\text{TPH}_{\text{C}_{10}\text{-C}_{28}}$ 與 $\text{TPH}_{\text{C}_{28}\text{-C}_{40}}$ ，分別為柴油(Diesel)與燃料油(Fuel oil)常見之碳氫化合物之碳數片段。因此如Table 2 所示，使用兩種已設計之升溫程式，來進行不同碳數片段之TPH檢測，能夠得知不同整治時期間，污染濃度之變化與消長。

Table 2 $\text{TPH}_{\text{C}_{10}\text{-C}_{28}}$ & $\text{TPH}_{\text{C}_{10}\text{-C}_{40}}$ analysis condition of GC-FID

	Temperature program	$\text{TPH}_{\text{C}_{10}\text{-C}_{40}}$ (H)	$\text{TPH}_{\text{C}_{10}\text{-C}_{28}}$ (D)
Injector	Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	350	280
Oven	Initial temp. ($^{\circ}\text{C}$)	50 (hold 5 min)	40 (hold 1 min)
	Temperature rate($^{\circ}\text{C}/\text{min}$)	10	10
	Final temp. ($^{\circ}\text{C}$)	350 (hold 10 min)	280 (hold 10 min)
Detector	Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	350	280
	Total analysis time (min)	50	35

* 註：分別以 D=Diesel 條件及 H=Heavy oil 條件製作不同濃度超級柴油及低硫燃料油減量線。

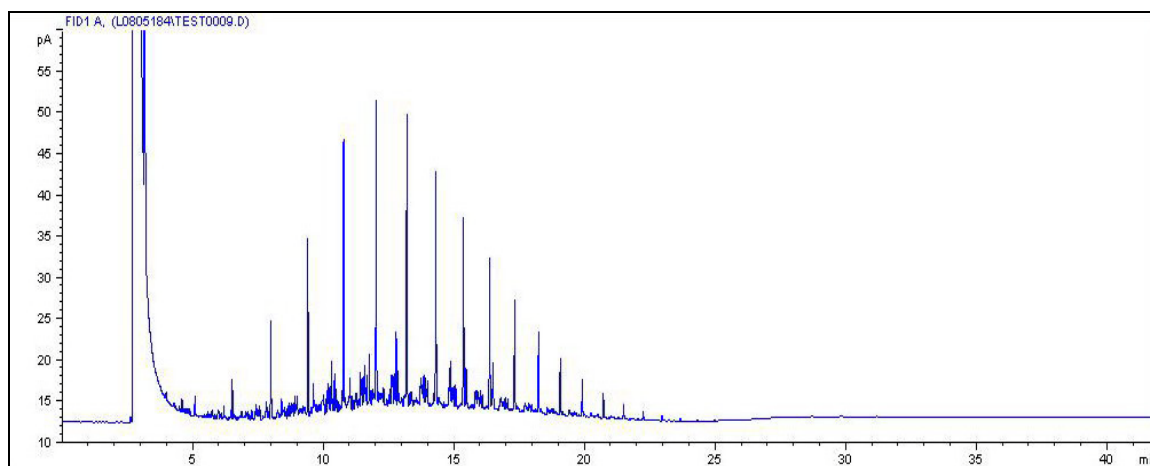


Fig.4 Illustration of 1000 ppm Diesel for D program analysis by GC-FID

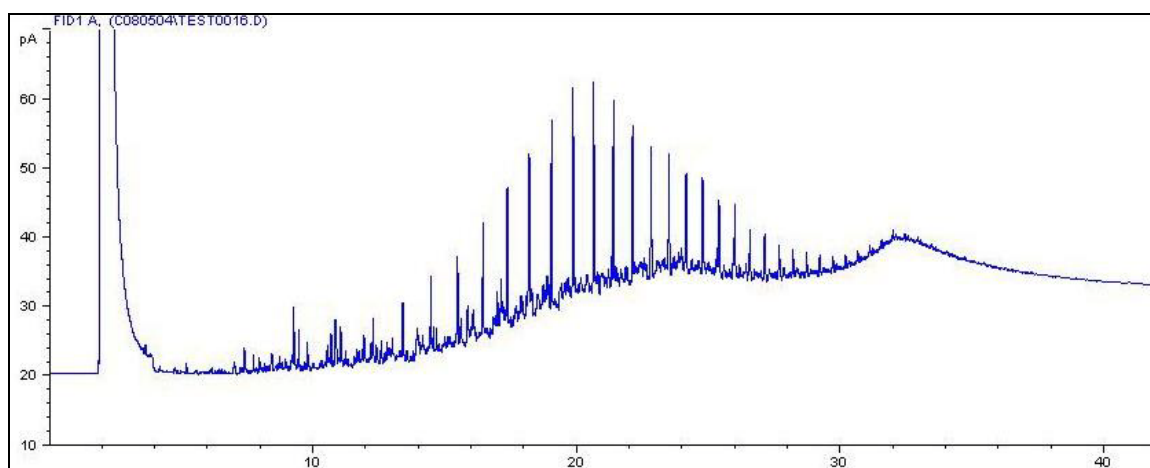


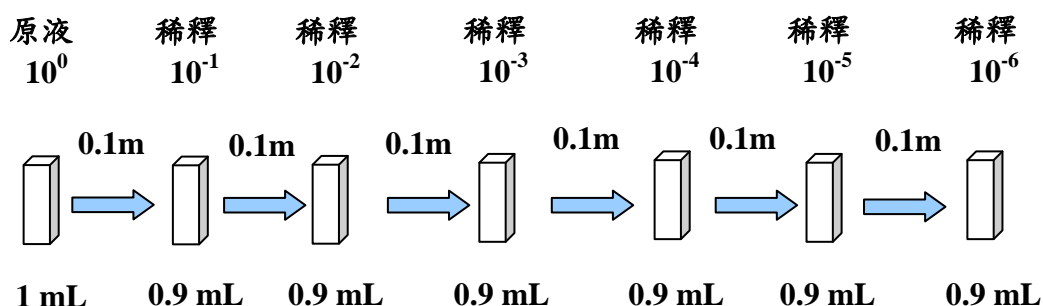
Fig.5 Illustration of 2000 ppm fuel oil for H program analysis by GC-FID

五、平皿培養定量法測定微生物菌落數

本研究以平皿培養定量法(Plate count)來測定土壤或複合性副資材中微生物菌落數(Colony Forming Unit, CFU)。實驗步驟為修訂 NIEA E203.54B 之方法，培養基需先行配製，經過滅菌之後以倒碟法製作培養基，並放置 48 hours 確定配製過程中未遭污染方可使用，塗碟過程如下所示：

1. 秤取 10 g 土壤 (濕重)。另取土壤測量含水率，可換算得土壤乾重。
2. 將上述土壤置入已滅菌之 40ml 褐色瓶。
3. 在瓶中加入三滴Tween 80 及 20 mL之已滅菌磷酸緩衝溶液(KH_2PO_4 及 K_2HPO_4 各 1 g溶於 1 L二段水)。

4. 以 vortex 強力震盪 3 min，需觀察是否有泡沫產生。
5. 取震盪後液體 1 mL 至 1.5 mL tube 進行序列稀釋。



6. 塗碟
 - a. 以滅過菌 pipette 吸取 0.1 mL 上澄液滴於培養皿上
 - b. 以滅菌之三角玻璃棒塗抹，將 plate 塗抹至乾為止
 - c. 密封倒置培養皿並置於 30°C 培養 72 小時 (HAB 需 120 小時)。
7. 培養後取出計數，計算菌落數(30~300)，經過換算後可得土壤中菌落數(CFU/g dry soil)。

Table 3 與 Table 4 為本研究中所使用之相關培養基，藉以選擇性培養能夠分解柴油之微生物菌落數(Diesel aerobic bacteria)，其培養基組成為：MgSO₄·7H₂O (0.5 g/L)·K₂HPO₄ (5 g/L)·KH₂PO₄ (5 g/L)·NH₄NO₃ (1.3 g/L)·CaCl₂ (0.2 g/L)·Agar powder(13 g/L)及 Diesel oil (2% v/v)，用以計數碳氫化合物利用菌之菌量；培養總異營菌菌落數(total heterotrophic bacteria)之培養基組成：Nutrient Broth(NB)(8 g/L)及 Agar powder(13 g/L)，則代表總異營菌量。

Table 3 Diesel aerobic bacteria counting by BH (Bushnell Hass) medium

Components	Concentration (g/L)
MgSO ₄ • 7H ₂ O	0.2
K ₂ HPO ₄	1.0
KH ₂ PO ₄	1.0
FeCl ₃	0.05
NH ₄ NO ₃	1.0
CaCl ₂	0.005

註：Adjust pH to 7.0~7.2 with HCl

Table 4 The composition of BH medium for microbial count.

Difco™ NB(Nutrient Broth) Medium		The composition of Synthetic medium (Marshall et al., 1993)	
Component	Concentration (g/L)	Component	Concentration (g/L)
Beff Extract	3	(NH ₄) ₂ NO ₃	1.3
		KH ₂ PO ₄	5
		K ₂ HPO ₄	5
Peptone	5	MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.5
		CaCl ₂	0.2
		Diesel	2
THB (Total hetertrophic bacterium) counts		HDB (Hydrocarbon adapted bacterium) counts	

六、高溫爐測定土壤/複合性副資材中總有機碳含量

本研究以高溫灰化爐(furnance)燃燒經 105°C 烘乾的土壤樣本，藉由高溫的方式測訂出土壤/複合性副資材中的有機碳含量。通常若欲測定土壤中之總有機質含量，必須選用燃燒法。此法雖為直接與簡便之測定法，然而土壤在高溫下所釋出之碳，除了有機質中有機碳之外，尚包括無機礦物中之無機碳。若將土壤置於高溫灰化爐中，將溫度調至 900°C 以上，則所損失之重量主要包括有機碳(325°C)、碳酸鹽類(770°C)、烘乾土中之含水量及黏土礦物構造中所含水份(105~500°C，約為黏土礦物重量之 4.6%~13%，視黏土礦物之種類而定)，亦即：

高溫損失重量=總有機碳+(總碳酸鹽含量 x 0.44)+風乾水分含量+黏土礦物組成分中含水量

監測儀器: O-I Analytical Solid 1020 A

爐溫:250~900

攜帶氣體:高純氧

第三章、主要發現與結論

一、複合性副資材特性分析(批次檢測)

本批次試驗為探討水份添加與不同混合比例狀態(Table 5)，複合性副資材對於 TPH 檢測影響之濃度，藉以瞭解副資材是否對於添加入土壤後，產生濃度貢獻之干擾。

Table 5 The sources of organic agents with various water content and mixture ratio

副資材來源	水份添加	混合比例	取樣方式
KW1~6	無添加,原始存在 64~72%含水率	---	直接秤取 2.5g
KW1~6+Supernatant	取 50g KW 混合物定量至 250ml，再以果汁機破碎混合	w/v=1:5	混合後秤取上清液 2.5g
KW1~6+Deposit			混合後秤取沉澱物 2.5g

*KW1~6:混合自六槽不同腐熟階段(溫度)之複合性副資材

Tank	KW1	KW2	KW3	KW4	KW5	KW6
實際溫度	42 °C	44 °C	53 °C	54 °C	65 °C	46 °C
每一槽經發酵 7 天後，移至下一槽。每小時定時送風一次，排放廢水一次，以利發酵腐熟						
預期溫度	30~35	35~40	40~45	50~60	60~70	75→50

根據 Fig.6 能夠得知，複合性副資材來源之碳氫化合物(Hydrocarbon,HC)濃度以 KW1 含有最高含量 $4,231 \pm 1,015$ mg/kg Kitchen Waste compost，推測由於 KW1 為堆肥法(composting)腐熟過程中，溫度較低時期(如上)，加上廚餘堆肥本身之 pH 值較低約 4~5 左右(酸性)，在層析圖譜中多為碳數 16 至 28 左右之碳氫化合物。在 KW2~6 的副資材中，濃度皆低於 2,400 mg/kg 以下，碳數則以 36 至 40 為主，研判經過不同溫度與腐熟程序，副資材中較易被分解之碳氫化合物，受到多樣性的微生物進行降解，使得後期僅存在較難分解之碳氫化合物。

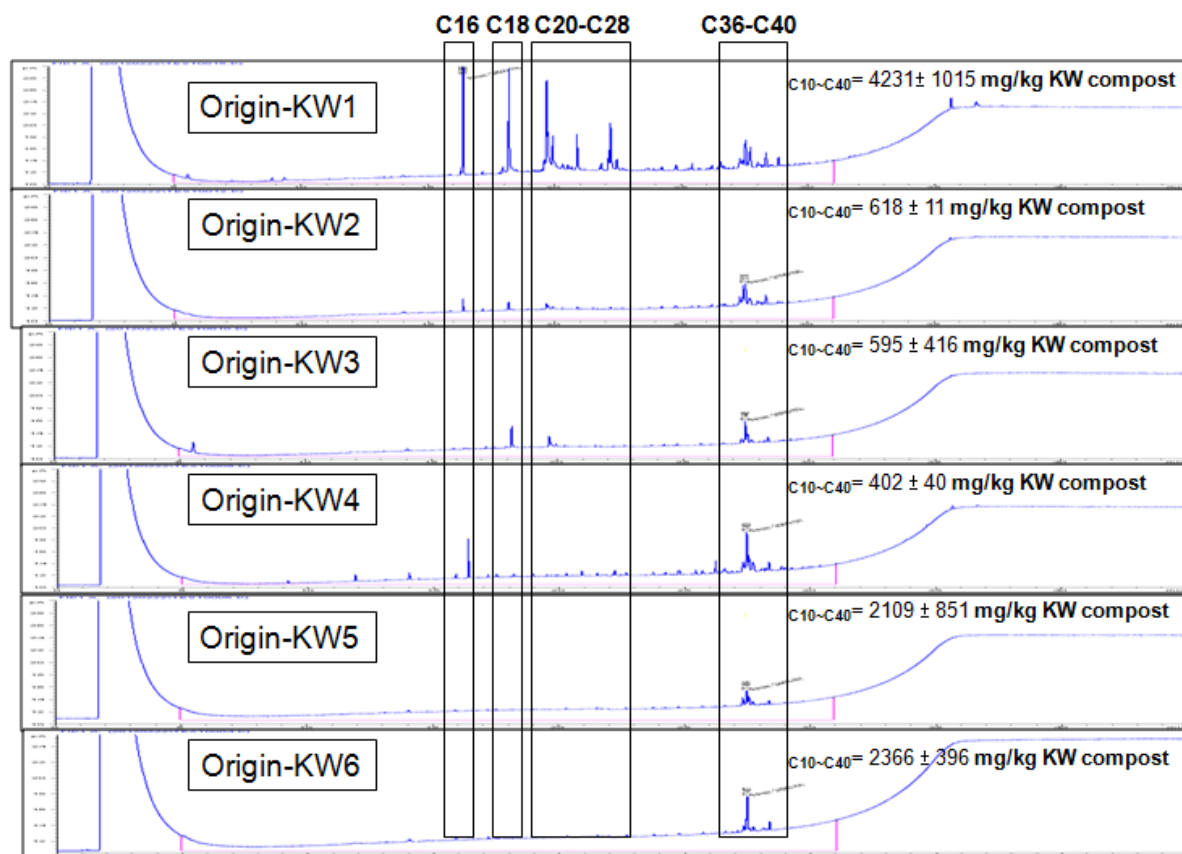


Fig.6 The GC-FID profiles from original KW1~6 tanks with various HC concentration

根據 Fig.7 能夠得知，複合性副資材經過含水添加混合後，其上清液(supernatant)所含的 TPH 濃度則有下降的趨勢(皆低於 2000 mg/kg 以下)，並且在碳數的分佈也呈現較低的情況(C8~C16)。推測副資材中的油脂經過水份添加的傳輸，使其分佈於不同區域，由於分佈屬於不均質的情況(油水不互溶)，造成上清液當中含 HC 無法如原始副資材(Origin KW)所呈現的濃度。

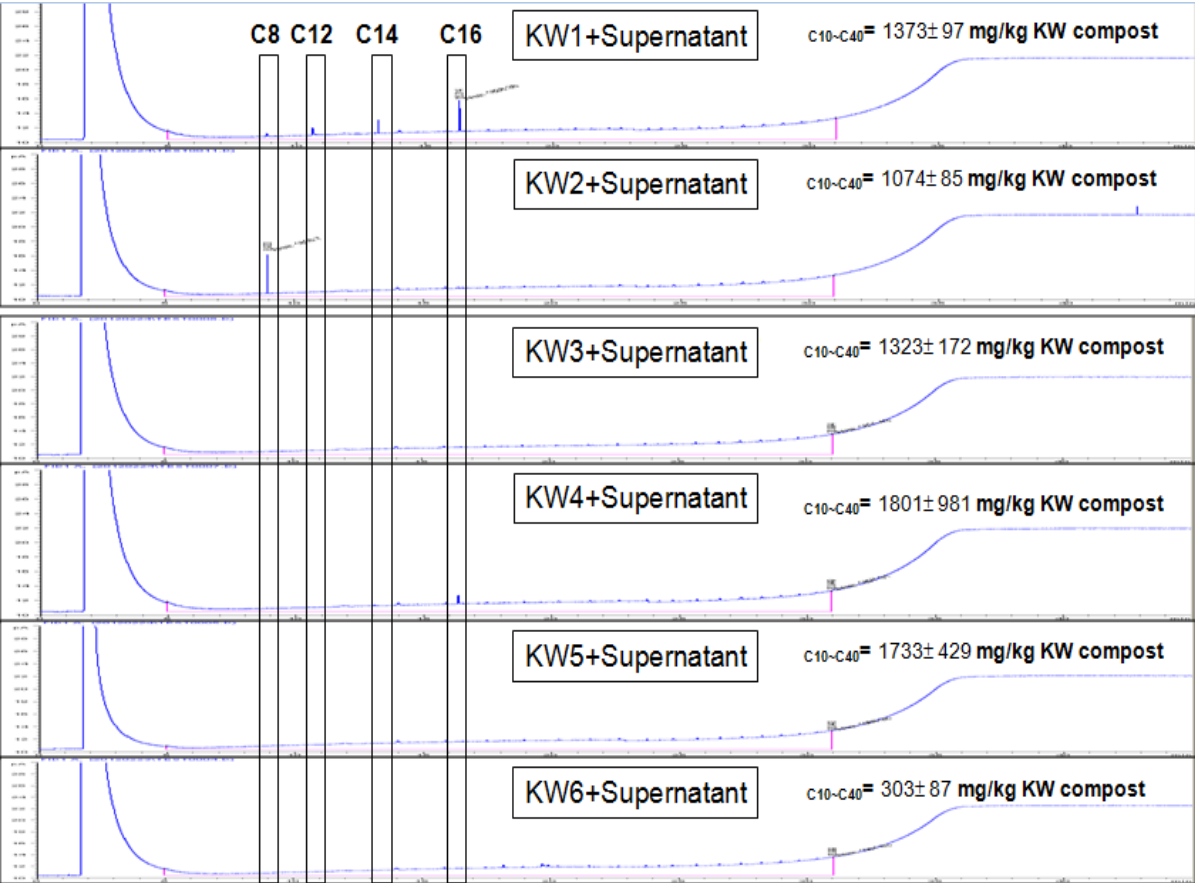


Fig.7 GC-FID profiles from KW1~6(Supernatant) tanks with various HC concentration

根據 Fig.8 能夠得知，複合性副資材經過含水添加混合後，其沉澱物(deposit)所含的 HC 濃度頗低(皆低於 1000 mg/kg KW compost 以下)，並且在碳數的分佈也僅測得 C8 與 C16。經過含水的添加後，沉澱物所含的 HC 殘存濃度可知水分間接造成稀釋的情況發生，亦能理解油與水無法互溶的情況下，水分難將油脂帶動出副資材中。

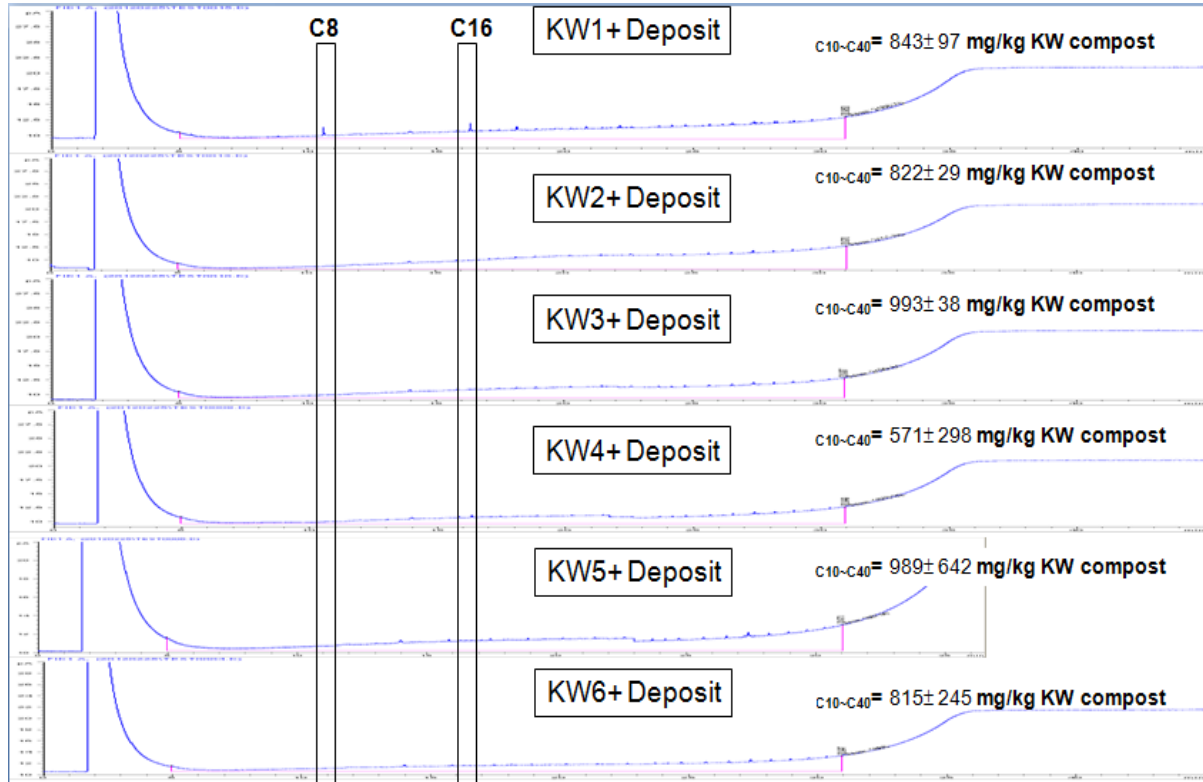


Fig.8 GC-FID profiles from KW1~6(Deposit) tanks with various HC concentration

根據Fig.9 與Fig.10 得知，複合性副資材KW1 在原始來源的HC濃度為最高，對應於CFU菌落的形成也能夠發現總異營菌(HAB)接近 10^8 菌落數，隨著後期的腐熟程度逐漸減少；柴油降解菌也出現相同的趨勢，真菌(Fungi)則是隨著腐熟程度趨向減少。微生物在各腐熟階段，皆能夠維持 10^5 以上菌落數，可知複合性副資材將能夠提供相當豐富的微生物多樣性與營養源。HC殘留濃度在後期KW4~6 則有在上升的趨勢，上清液的HC濃度則有明顯多於沉澱物累積的情況發生。

不論如何，藉此瞭解在進行土方復育的複合性副資材添加，仍可能由於混合過程的不均質，因而造成 TPH 濃度上的誤判。藉由此試驗，能夠確認的是複合性副資材的添加，本身將會貢獻部分的 TPH 濃度干擾，因此在副資材腐熟程度(KW1~6)的選用，將是後續進行生物添加的一重要指標。

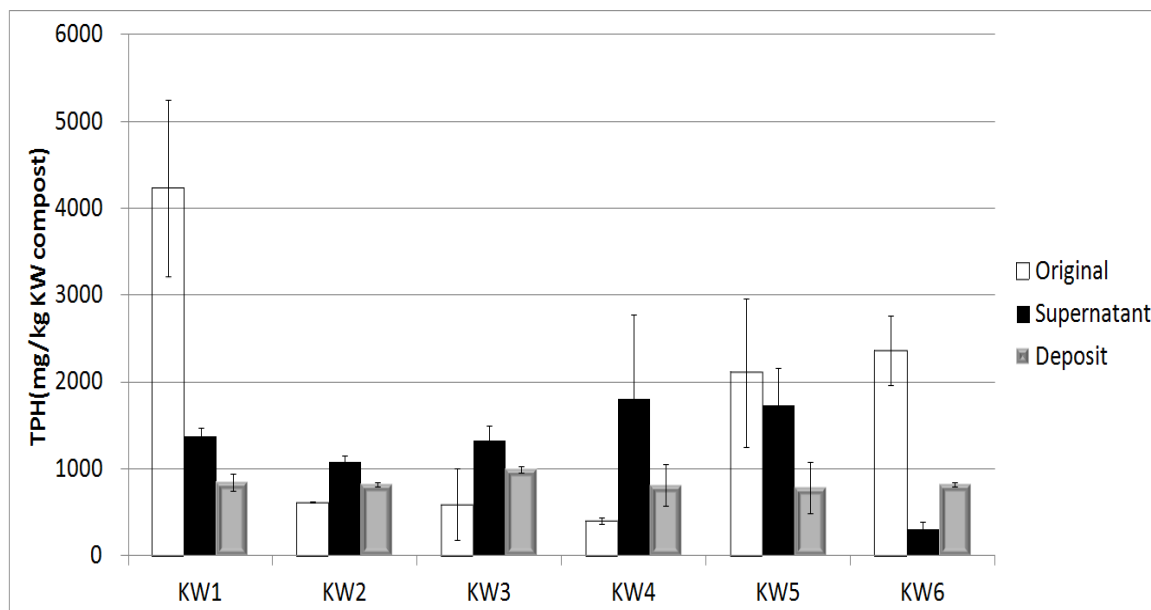


Fig.9 The comparison of KW1~6 tanks with various HC concentration

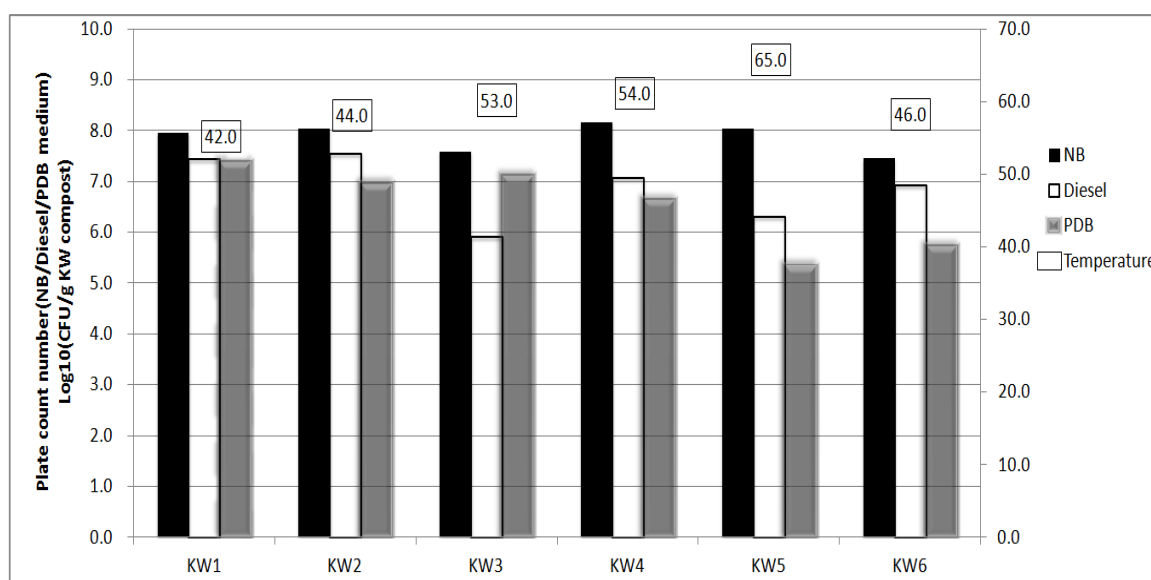


Fig.10 The comparison of KW1~6 tanks with various CFU

根據 Fig.11 得知，複合性副資材隨著不同的腐熟程度，其含水率皆約為 60~70% 左右，TVS/TS 則隨著不同槽反應階段逐漸上升，後期則維持約 0.9 左右。本研究將 KW1 至 KW6 混合後，發現其 TVS/TS 與含水率皆能維持在適合微生物生長的條件下。

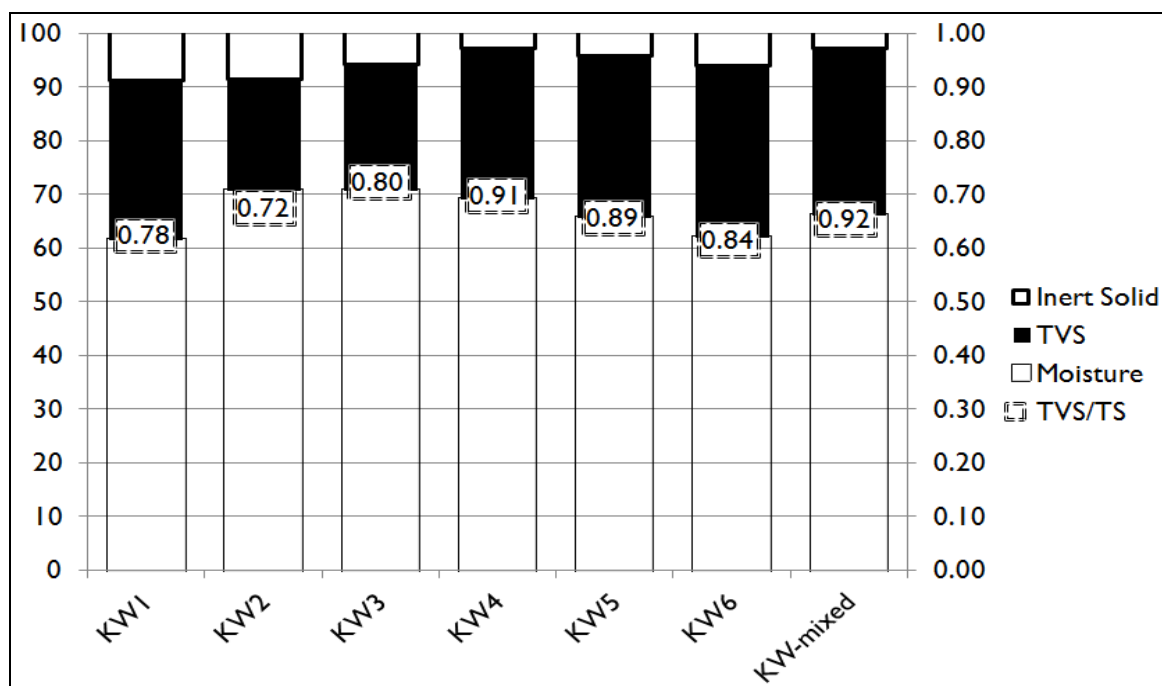


Fig.11 The characteristic of compost from KW1~6 & KW-mixed tanks

根據 Fig.12 得知，複合性副資材隨著不同的腐熟程度，其所含總有機碳(total organic carbon, TOC)能夠維持在 0.5~0.6 之間，即使經過 KW-mixed 混合 KW1~6 槽的副資材後，仍然維持高比例的 TOC。本研究預期在植種(seeding)的過程中，將能夠提供大量的有機營養源來幫助微生物的生長。

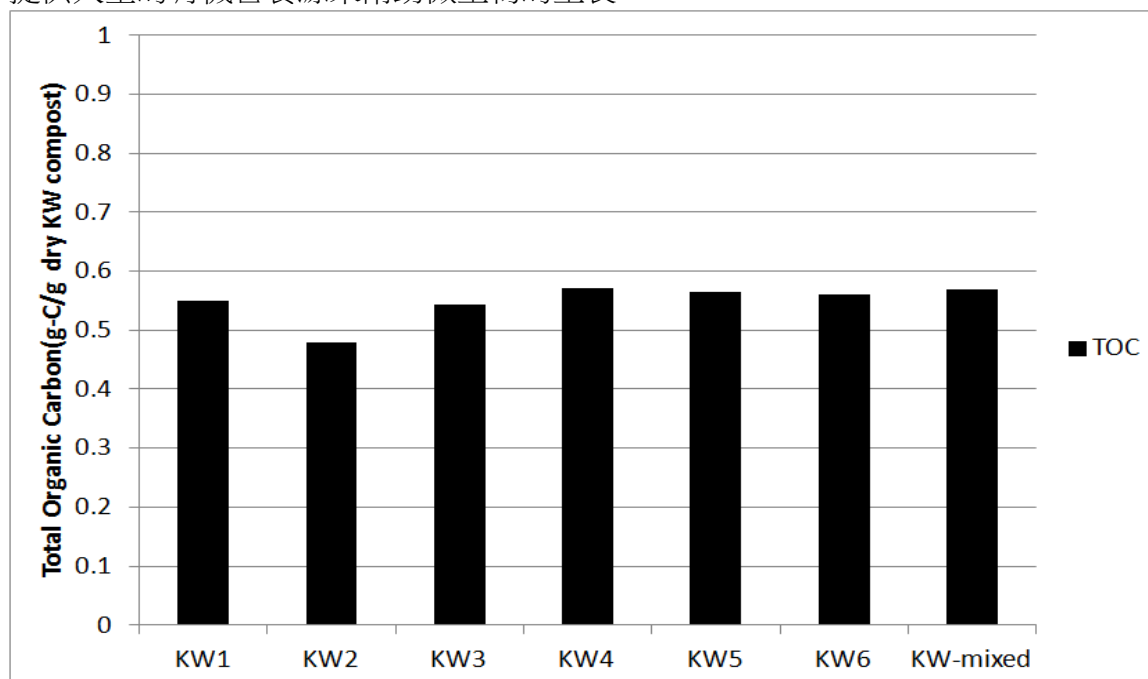


Fig.12 The total organic carbon from KW1~6 & KW-mixed tanks

二、複合性副資材添加比例與燃料油含量影響試驗(Jar test)

本研究藉由添加不同比例的複合性副資材與燃料油(fuel oil)含量添加，欲瞭解含燃料油污染土壤受到複合性副資材添加比例的影響。(Table 6)

Table 6 Experimental design for the organic agents

Fuel oil conc. (ppm ↓)	A	B	C	D
Actual	無添加	添加 5% 複合性副資材 實際為 4.7%	添加 15% 複合性副資材 實際為 17%	添加 45% 複合性副資材 實際為 44%
Organic agents	---	25g	100g	400g
Soil	500 g	500g	500g	500g
Ratio	---	25/525=0.048	100/600=0.166	400/900=0.444
(1)21,580	A1	B1	C1	D1
(2)11,969	A2	B2	C2	D2
(3)6,256	A3	B3	C3	D3
(4)5,283	A4	B4	C4	D4
(5)3,827	A5	B5	C5	D5

Day0 結果討論 (2012.3.9)

根據 Fig.13 得知，隨著不同複合性副資材添加比例，分別為 0、5、15 與 45%，其四個不同批次的瓶杯試驗，得到 TOC 含量隨著比例的提高而有逐漸上升的趨勢。TOC 含量最高為 D 序列的瓶杯，落在 0.08~0.1 的 TOC 含量，D1 至 D5 瓶杯隨著不同階層有往下減少的趨勢，符合 TOC 添加比例；其次為 C 序列，TOC 含量為 0.035~0.08 之間；接下來為 B 序列，TOC 含量為 0.018~0.04 之間；最後為 A 序列，TOC 含量為 0.015~0.035 之間。

在此 TOC 含量分析過程，四組序列中(D、C、B、A)皆有部分瓶杯中含量不一的情況發生，例如:D3 呈現的 TOC 略低於 D4 與 D5 含量。以上情況推測可能由於土壤與副資材混合過程，尚未達到完全均勻的狀態，加上兩者固體物粒徑大小不一，因此即可能造成 TOC 測定上的誤差。後續將會使用前處理(破碎)方式增加土壤與副資材混合過程的均質化，以準確區別不同 TOC 含量上的階層變化。另一方面，TOC 測定上也加入去除干擾的概念，即以酸(5% H_2SO_4)進行前處理，使土中碳酸鹽全部轉換為 CO_2 釋出。

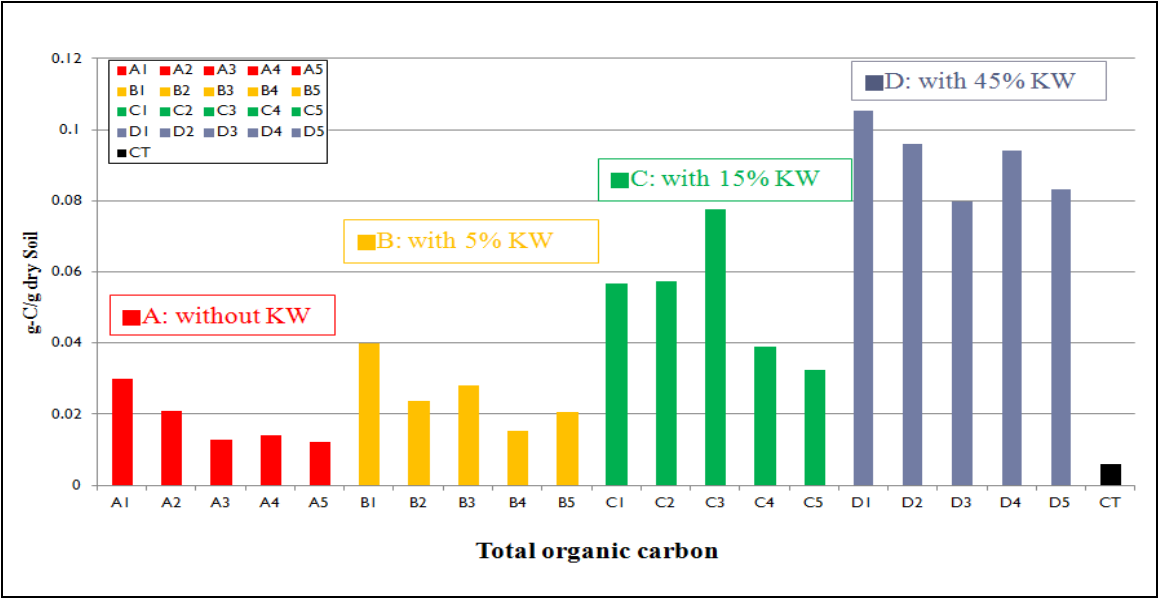


Fig. 13 The total organic carbon within various jar

根據 Fig.14 得知，在第 0 天的批次試驗中，土壤中的 TPH 濃度會隨著添加複合性副資材的比例而有逐漸減少的趨勢。在此時期中，並未發現添加複合性副資材會影響 TPH 的濃度。相反地，此結果顯示，在初始濃度 TPH 會受到複合性副資材的添加，而有下降的情況發生。推測在此時期，由於大量的複合性副資材添加，造成土壤中的 TPH 濃度受到稀釋的效應影響。

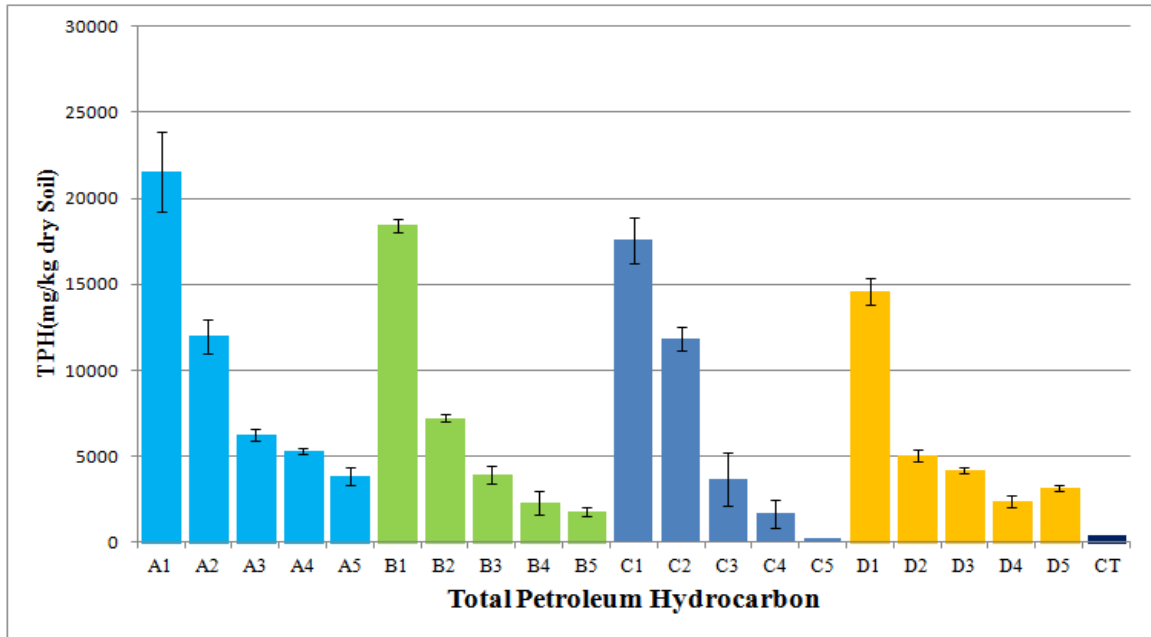


Fig.14 The total petroleum hydrocarbon within various jars

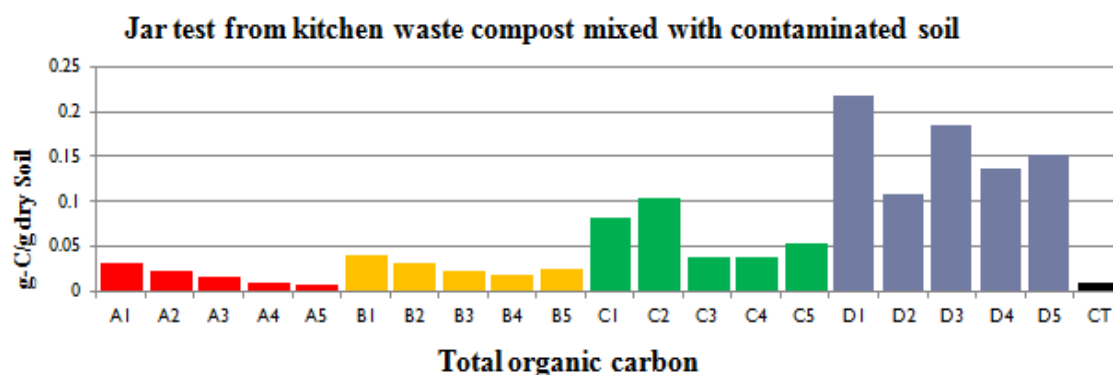
小結

1. 複合性副資材特性分析中發現，第一周末熟成副資材中含大量 TPH 約為 4,000mg/kg KW compost，第六周熟成的副資材約為 2,000 mg/kg KW compost，顯示在副資材熟成過程中會微生物會分解 compost 的有機物，主要降解為 C16-C28 的 TPH，殘留 C36-C40 的高碳鏈 TPH。
2. 加水處理的副資材中，溶解在水相中以低碳鏈 C8-C16 的 TPH 為主，比重較重的底層沉澱物夾帶的 TPH 有限，第一周到第六周的底層物 TPH 皆小於 1,000 mg/kg KW compost，主要為低碳鏈為主，顯示副資材中的長鏈 TPH 不易從固相態轉移至液相態水中，未來在應用程序中副資材的添加以及水分的添加，都會影響到提供副資材碳源傳輸的影響。
3. 批次試驗的設定，不同量副資材的添加對於受燃料油污染的土壤影響，待後續分析結果呈現。

Day11 結果討論 (2012.3.20)

經過 11 天的混合降解程序後，A 序列的 TOC 含量則皆低於 0.03 以下；B 序列則因含有 5% 的 KW 添加，因此略高於 0.04 左右；C 序列為 15% 的 KW 添加，則 TOC 含量達到 0.1 左右；D 序列添加 45% 的 KW，TOC 含量能夠達到 0.2 以上。

相較於第 0 天的 TOC 含量而言，第 11 天的各序列 TOC 含量皆呈現高於先前的比例，推測應為 TPH 污染土與 KW 添加副資材的混合已達到均勻的結合，因此在 TOC 表現量則有提升的情況發生。



根據 Fig. 得知，在第 11 天的 TPH 濃度有明顯的降解情況發生，A 序列的 TPH 濃度降至 1,000 mg/kg dry soil 以下；B 序列則降至 2,500 mg/kg dry soil 以下；C 序列則有 3,500 mg/kg dry soil 濃度；D 序列則高於 3,500 mg/kg dry soil。藉此研判隨著混合的降解程序，添加 KW 副資材的比例，隨著添加越多則有越明顯的 TPH 濃度影響。

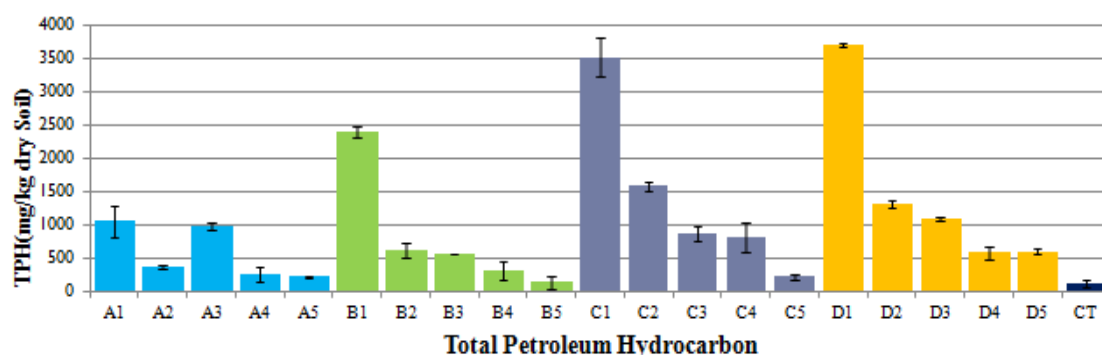


Fig. The comparison from four various jars of compost accrescence (2012.3.20)

綜合比較

根據 Fig. 得知，A 序列經過 11 天的降解程序，TPH 的去除率(C/C0)約能達到 95%；B 序列的去除率則約為 87%；C 序列的去除率為 79%；D 序列則有 75% 左右的去除率。綜合以上成果，隨著 KW 副資材的添加比例提高，TPH 的降解率也跟著降低，推測可能源於 KW 副資材所含 HC 的濃度在復育過程中，油脂的比例混合入土壤中的 TPH 殘存，因此造成 TPH 分析的濃度上升。KW 副資材中所含大量的動植物油脂，皆來自於大宗的廚餘食用油經過烹煮後所殘存。再經過高溫烹煮後的動植物油脂亦能生成大量的多環芳香族碳氫化合物(PAH)。

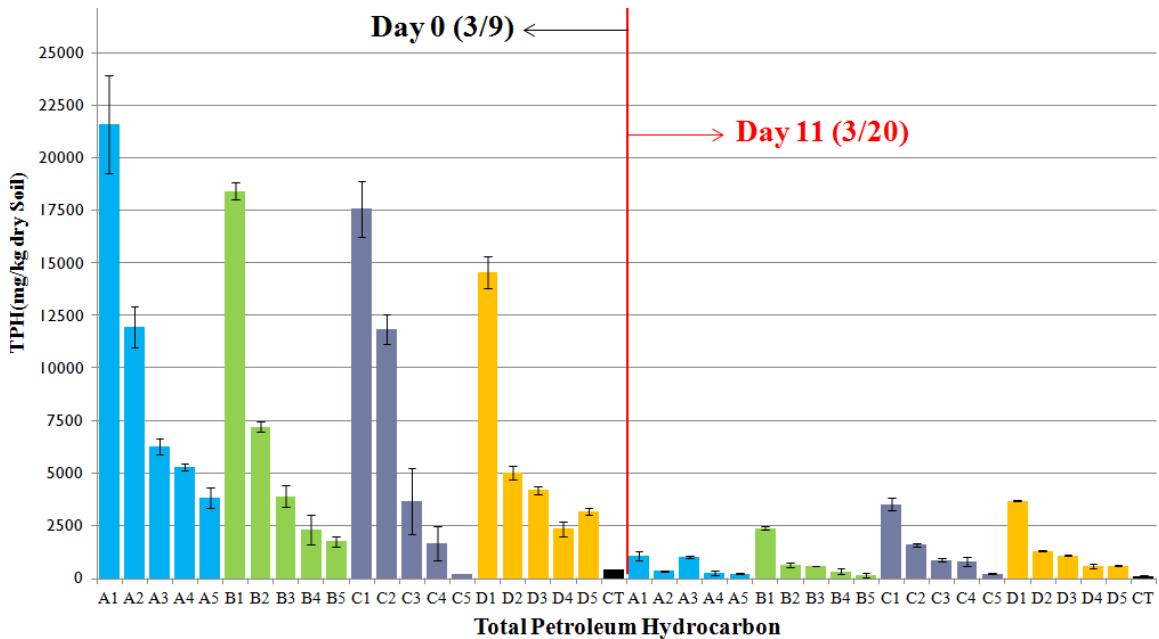


Fig. The comparison between day0 & day11 of Jar test from kitchen waste compost mixed with contaminated soil
根據Fig.所示，經過不同TPH濃度與KW副資材添加比例的過程中，可以發現D序列中(D1~D5)的 45% 副資材添加對於TPH_{C10-C40}所殘存的貢獻值最高，研判KW副資材中佔有高濃度比例的多環芳香族碳氫化合物。在添加 5%的KW副資材量為本研究依據美國環保署生物復育手冊中所提到進行工程化的程序，據Fig.可知 5%的添加量對於TPH濃度的貢獻值為僅次於控制組(CT)最低的影響。

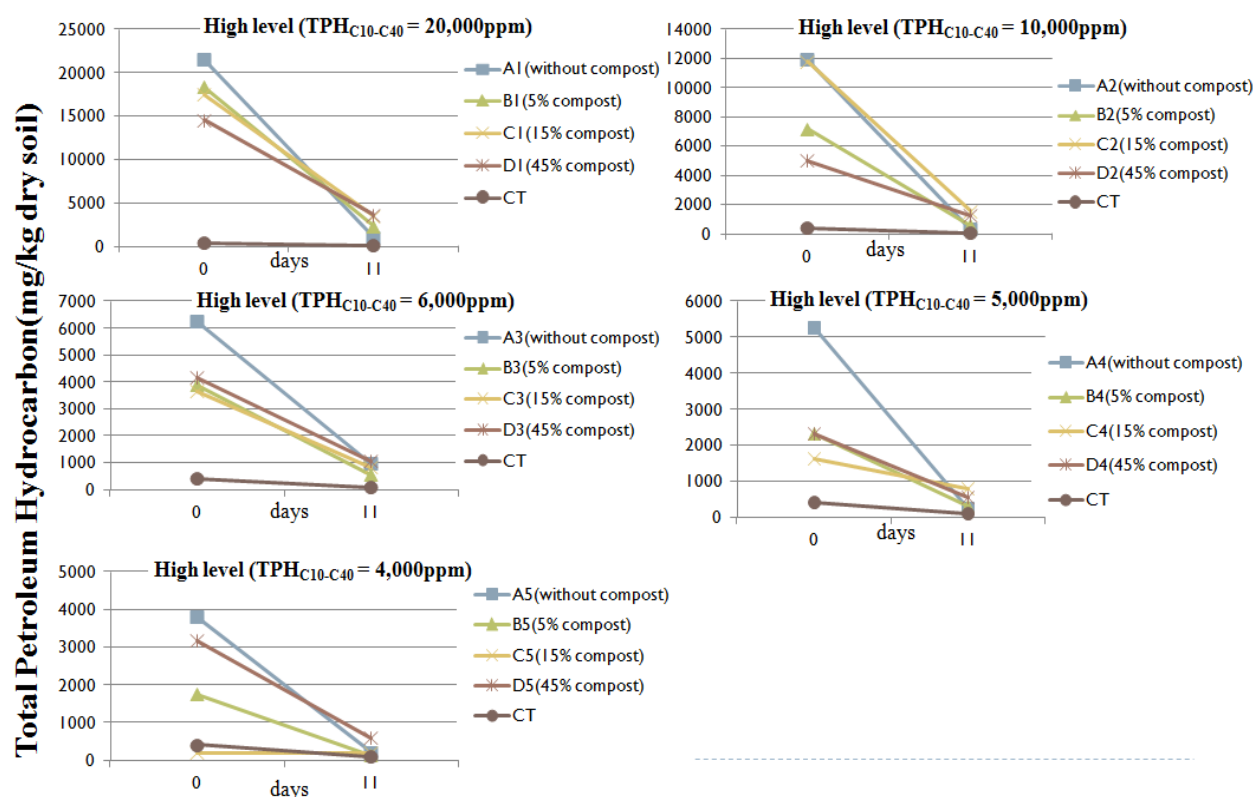


Fig.模擬受燃料油污染土壤混合入 KW 副資材添加比例對於 TPH 濃度之影響圖示

高負荷 TPH 濃度下，KW 副資材添加比例影響

根據 Fig. 所示，在 High level 的 TPH 濃度 20,000ppm 污染土方中，添加不同比例的 KW 副資材，經過 19 天的復育程序，D1(45%)的 TPH 濃度殘存為最高，其次則為 C1(15%)；B1(5%)與 A1(without compost)兩者的 TPH 濃度殘存則為相似，亦能證明 5% 的 KW 副資材添加對於高負荷的 TPH 濃度污染土的降解程序影響不大。

D1 在經過 11 天的復育過程後，TPH 殘留濃度由 15,000ppm 左右降至 5,000ppm 以下；之後再經過 19 天後，TPH 殘留濃度則有開始上升的趨勢，並且在所有 KW 副資材添加比例中，有著最為明顯的濃度殘留。

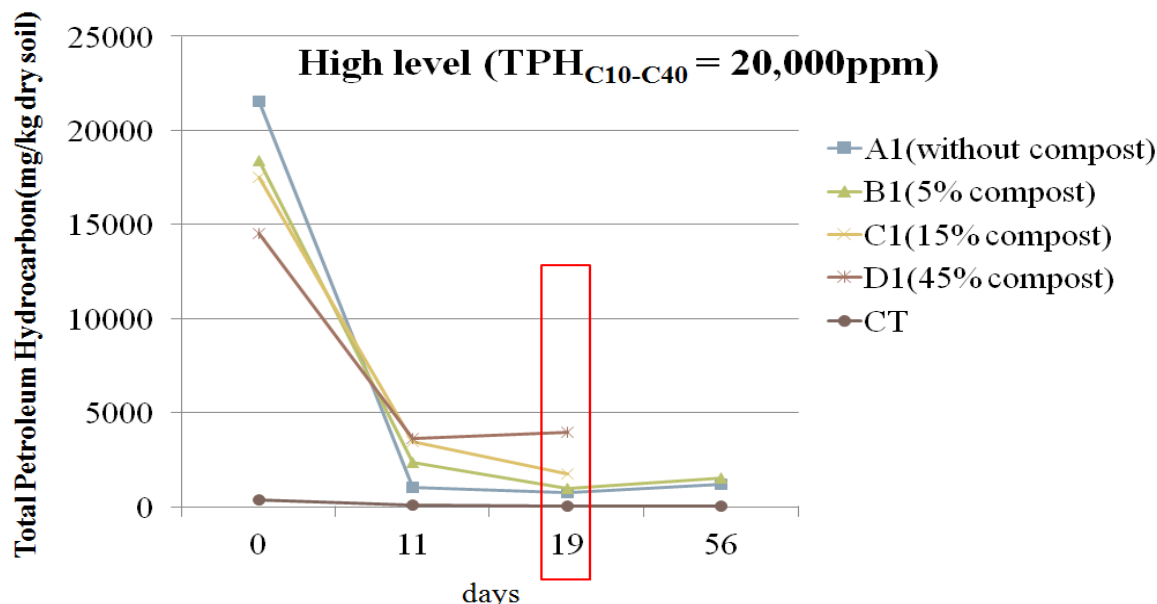


Fig. 20,000ppm 燃料油模擬污染土方添加 KW 副資材之 TPH 殘存濃度圖示

根據 120 天的生物復育程序，在低分子量碳氫化合物的部分，A 序列的 TPH 濃度部分(A1 與 A3)仍有 2,500mg/kg dry soil 殘留；B 序列部分則低於 1,000mg/kg dry soil 或呈現 N.D. 的情況；C 序列中(C1 與 C2)仍有 4,000~6,000 mg/kg dry soil 的殘留；D 序列最高(D1)則有接近 8,000mg/kg dry soil 的 TPH 濃度，D4 與 D5 則為 N.D.。對於低分子量碳氫化合物濃度殘留的趨勢而言，D 序列仍為 TPH 殘存濃度最高的情況，A 序列則為最低。

在分子量碳氫化合物的部分，其 TPH 濃度殘留的趨勢與低分子量碳氫化合物的趨勢相似。再經過 120 天的復育程序後，D 序列仍有 13,000 mg/kg dry soil 左右的 TPH 濃度殘留，其次為 C 序列的 12,000 mg/kg dry soil；A 與 B 序列的 TPH 殘留濃度則皆低於 5,000 mg/kg dry soil。

在此研究成果中，能夠得知高分子量的碳氫化合物殘存於土壤中，雖然在生物復育的過程中，部分比例的碳氫化合物已經微生物降解，但由於土壤組成的比例並非完全均質，因此在 TPH 濃度分佈上，仍然會出現回升的現象。在燃料油的組成比例中，高分子量的碳氫化合物仍為主要的來源，故在 TPH 濃度殘留的表現較為明顯。

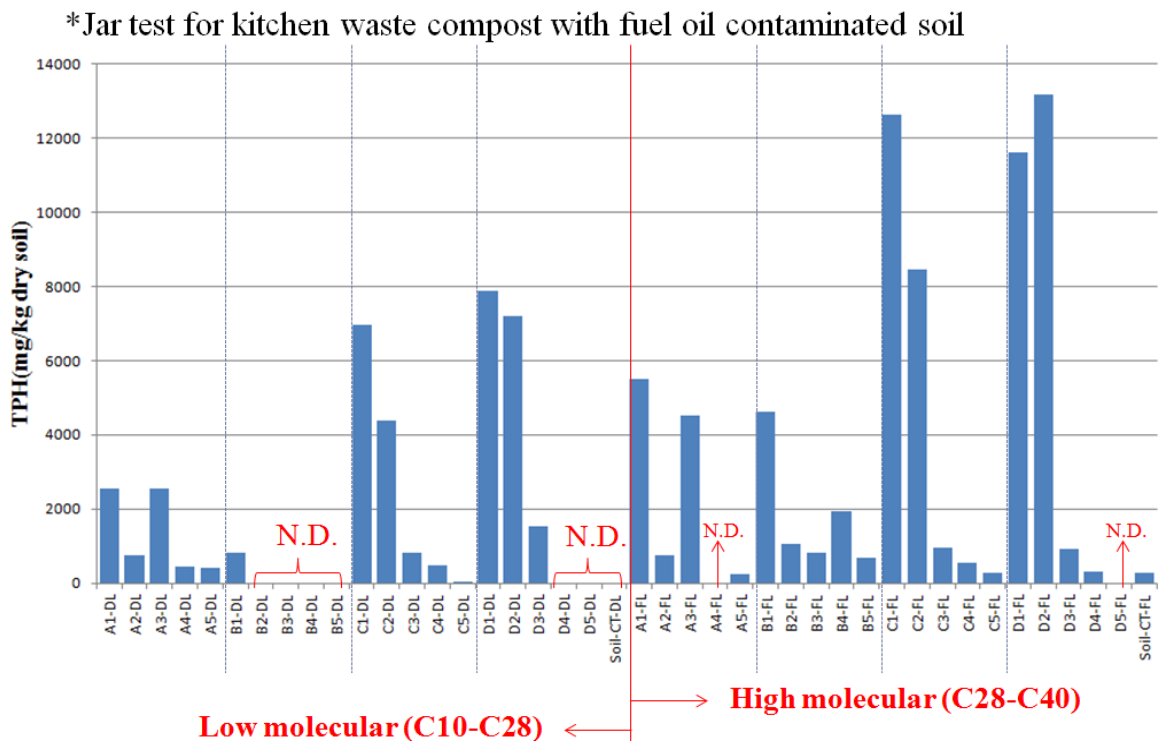


Fig.經過 120 天的生物復育程序，Jar test 批次中 TPH 殘存濃度變化圖示

根據 Fig.所示，首先就含水率而言，D 序列所佔比例為接近 50%左右的最高；A 序列至 C 序列的含水率則為 10~25%左右。推測此結果為因 D 序列中所含 45% 的 KW 副資材本身夾帶有大量的含水，因此在與污染土混合後所貢獻的含水率仍為最高。

在 TVS 而言，D 序列所含比例仍為最高 20%(D1)，其次則為 C 序列的 10%；B 與 A 序列則為 5%以下。在 TVS/TS 的比值，D 序列亦為最高 0.28(D5)，其他序列的趨勢則與前者相同。能夠推測 D 序列批次中有機物的高含量，提供了微生物存活所需的基質與碳源。

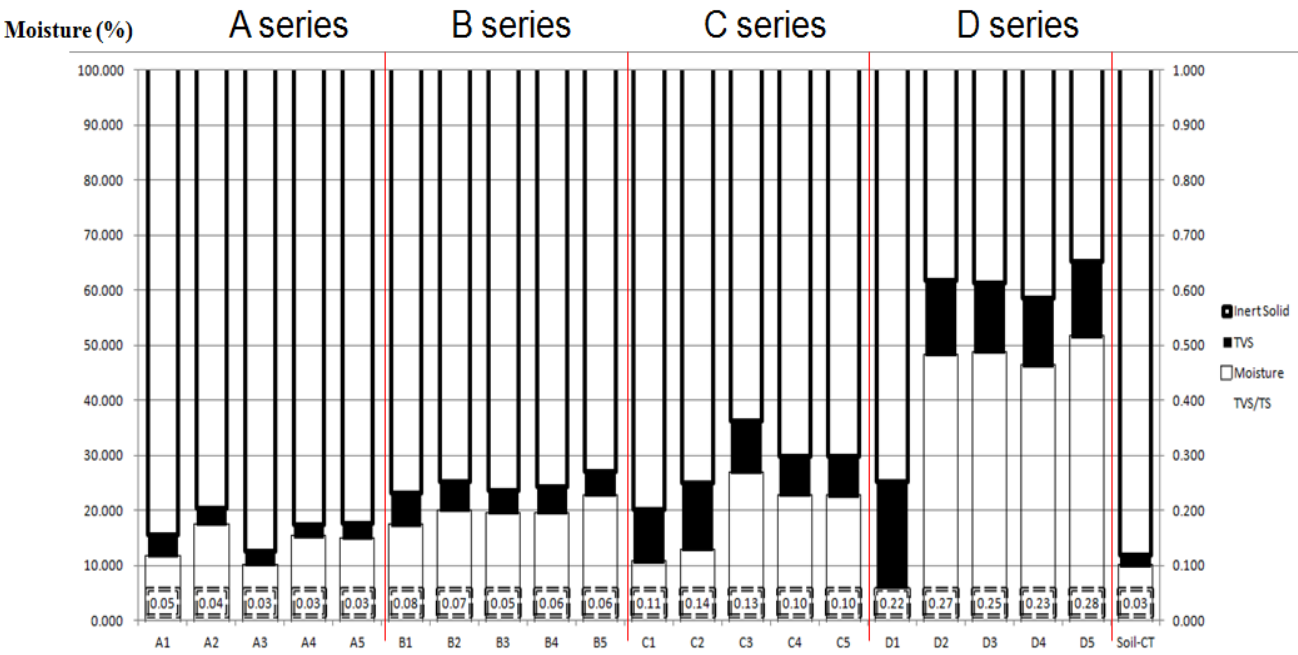


Fig.經過 120 天的生物復育程序，Jar test 批次中 TVS/TS/Inert Solid 圖示

三、第一階段-現地自然衰減與土方調查探討

本研究整合討論不同期間，所進行的現地土方採樣與土壤特性分析調查工作。

Table.不同來源現地污染土方之土壤質地調查

The Sources of Contaminated Sites	Description	Soil Texture
1.環己烷煉製槽區污染場址(2012.6) 	位於中油高場之真空控制室 西側土方 	黏壤土 (Clay loam)
2.成大生物復育土方(2012.6) 	混合 N&T 序列(<1000 ppm TPH contaminated)及未處置 KH92(>2000 ppm)污染土方 	黏壤土 (Clay loam)
3.KH92 m ³ -CT (2011.11)	2011 年整治過程中對照組，目前已經過半年之自然衰減過程。	黏壤土 (Clay loam)
4.KH92 m ³ (2011.11)	2011 年目標整治土方，目前已混有 bulking material(雜草作為膨鬆物質)，經自然衰減過程。	黏壤土 (Clay loam)
5.N-series (2011.11)	2011 年整治土方，混合有 KH92 & KH20 污染土 (未耕耘翻堆)	砂質黏壤土 (Sandy Clay loam)
6.T-series (2011.11)	2011 年整治土方，混合有 KH92 & KH20 污染土 (進行耕耘翻堆)	砂質黏壤土 (Sandy Clay loam)

根據Table所示，所選擇六個不同來源的污染土方其主要的土壤質地皆偏向黏質性。環己烷煉製槽區附近的柴重油污染土、成大生物復育土、KH92m³-CT與KH92m³等四個來源土方，根據土壤質地調查皆屬於黏壤土(Clay loam)，預期能夠作為本研究第二階段生物復育整治的土方來源。然而，本研究在生物復育的進行過程，期望以共拌的方式進行土堆混合，故在N-series與T-series土方將能夠作為本研究輔以部分砂質壤土的提供，藉以幫助土壤翻堆時，土壤孔隙的增加。

Table.不同來源現地污染土方之土壤特性(中興土壤調查中心) (2012.6)

Items of soil analysis	環己烷煉製槽區污染土	成大生物復育土
Sand(%)	31.0%	44.8%
Silt(%)	41.0%	27.2%
Clay(%)	28.0%	28.0%
Soil texture(比重計法)	Clay loam	Clay loam
Organic Carbon (%) (重鉻酸鉀氧化法)	0.925%	1.97%
Total Nitrogen (N , %) (凱氏氮)	0.685%	0.131%
Total P (王水消化)	434 mg/kg(0.0434%)	1,116 mg/kg(0.1116%)
C:N:P	93:69:4	200:13:11
Total Potassium (K , mg/kg) (王水消化)	2,533 mg/kg(0.2533%)	2,227 mg/kg(0.2227%)
Cation Exchange Capacity (CEC, cmol/kg)	8.36 cmol/kg	9.88 cmol/kg

根據 Table 所示，環己烷煉製槽區污染土與成大生物復育土，兩者的 Clay 含量皆為 28.0%，研判能夠吸附較難分解的重油碳氫化合物，本研究將於後續的 TPH 分析詳細探討之；Silt 含量則以環己烷槽區污染土的 41.0%，高於成大生物復育土的 27.2%；Sand 含量為成大生物復育土 44.8%高於環己烷槽區污染土的 31.0%。根據以上土壤質地各含量得知，環己烷槽區污染土所含黏質性將高於成大生物復育土，對於本研究進行生物復育的過程，將可能為整治上的困難點，因此第二階段將會提高砂質的添加量，以進行均質化的混合程序。

在 C:N:P 比例而言，成大生物復育土有著頗高的有機碳含量(1.97%)，約高於環己烷槽區污染土(已風化)的有機碳含量(0.925%)一倍。主要由於成大生物復育土，來自去年的生物添加程序殘留，因此富含高濃度的有機物質。總氮的含量則是以環己烷槽區污染土為高(0.685%)，推測其中所含高比例的有機氮，仍未受到微生物(原生菌)的利用，因而殘存於土壤中；相對而言，成大生物復育土中所含的總氮，則受到大量的微生物利用而降低至 0.131%。

土壤中鉀的來源，主要為礦物風化而來，因此根據 Table 可知，環己烷槽區污染土的礦化情形略微高於成大生物復育土。對此本研究應能合理的考慮使用外來的生物添加(Bioaugmentation)對於微生物較不具毒性的礦化土壤，有助於提高微生物在土壤中的存活。

比較兩者土方來源的土壤中陽離子交換樹脂(CEC)濃度可知，成大生物復育土的含量(9.88 cmol/kg)高於環己烷槽區污染土的含量(8.36 cmol/kg)。推測成大復育土本身能夠涵容較高的養分，相較於環己烷槽區土則略低，可能原因為環己烷槽區土的黏質性(Clay&Silt)比例高於成大土，因此影響了 CEC 的含量。

Table.不同來源現地污染土方之土壤固體物含量 (N=3) (2012.6)

	Moisture	TVS	Inert Solid	TVS/TS
環己烷	12.55	2.03	97.66	0.02
成大土	7.92	2.89	96.86	0.03
KH92CT	14.59	2.93	96.58	0.03
KH92	13.48	3.05	96.48	0.04
N series	16.23	2.66	96.82	0.03
T series	15.86	3.01	96.43	0.04

根據 Table 得知，環己烷土所含水率(12.55%)明顯高於成大土(7.92%)，推測與環己烷土的質地組成偏向黏質性有關，可能黏質土中所能含容更高比例的水份。相較於 KH92-CT、KH92、N-series 與 T-series 等而言，前兩者皆含較低的含水率，研判應為此四土堆皆為 2011 年後期經過生物復育程序(即定時定量控制 15% 左右含水率)，因此所測得含水率皆呈現偏高的情況。

在 TVS 比例可見，成大土、KH92-CT、KH92、N-series 與 T-series 等皆為 2.66~3.01 較高的有機固體物含量；相較於環己烷土(2.03)則屬風化程度較高，有機固體物存在比例偏低的情況。此結果相似於 TVS/TS 比值，環己烷仍為最低，其他則在 0.03~0.04 之間。Inert solid 則在所有來源的污染土方中，皆為 97% 左右的含量。

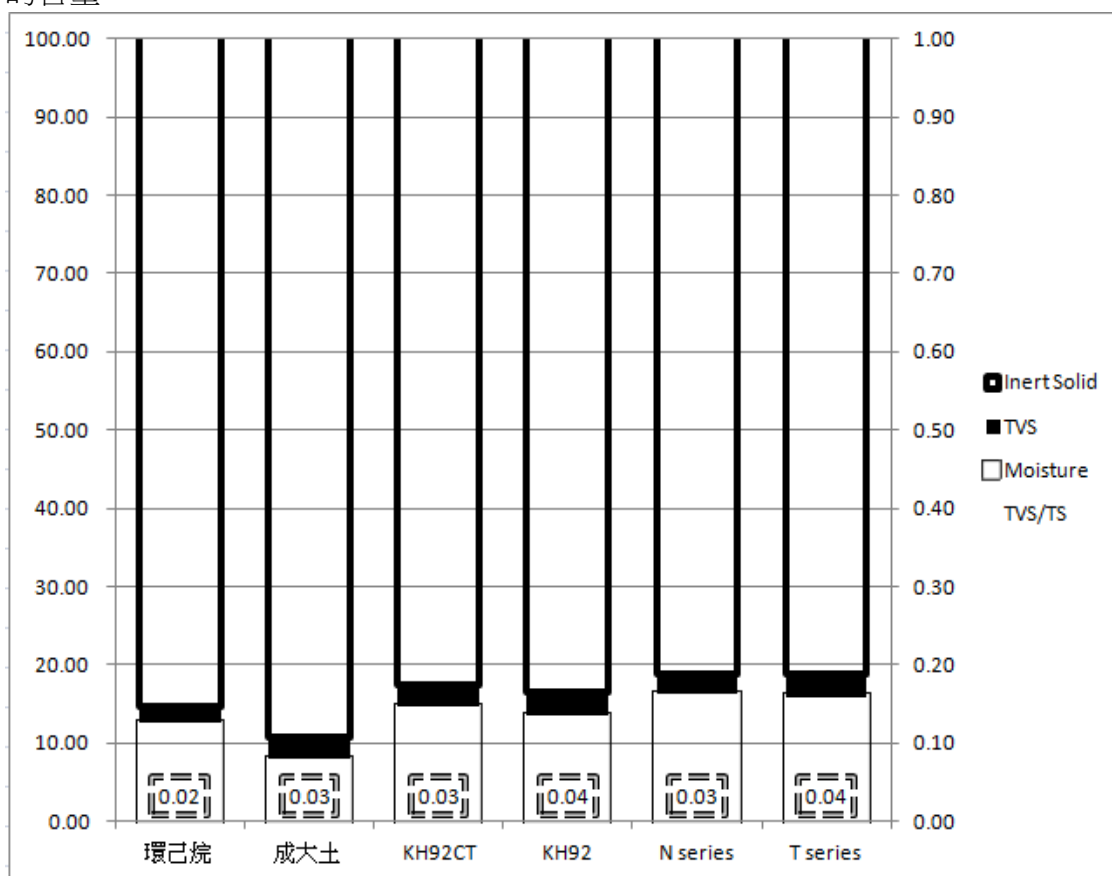


Fig.不同來源現地污染土方之土壤固體物含量圖示

TPH 濃度變化

Table.不同來源現地污染土方之 TPH 殘存濃度 (N=3) (2012.6)

The Sources of Contaminated Site		TPH residuals (mg/kg dry soil)			
		C10-C28(Diesel)		C28-C40(Fuel oil)	
1.環己烷場址污染土方	In front (前)	2617 ± 269	2421	1574 ± 359	1752
	Middle (中)	2206 ± 133		1996 ± 54	
	Latter (後)	2440 ± 136		1687 ± 418	
2.成大生物復育土方	Right (右)	783 ± 211	1625	2116 ± 276	2143
	Middle (中)	1681 ± 797		2251 ± 421	
	Left (左)	2409 ± 1217		2061 ± 307	
3.KH92-CT	Right (右)	2154 ± 130	1621	1067 ± 228	1251
	Middle (中)	1459 ± 450		1492 ± 147	
	Left (左)	1249 ± 530		1195 ± 404	
4.KH92-RAW	Right (右)	628 ± 161	856	1549 ± 238	1302
	Middle (中)	761 ± 229		1199 ± 96	
	Left (左)	1180 ± 13		1159 ± 232	
5.N-series	Right (右)	1211 ± 199	1568	1073 ± 256	954
	Middle (中)	2018 ± 196		838 ± 892	
	Left (左)	1474 ± 350		950 ± 554	
6.T-series	Right (右)	1366 ± 832	2167	1246 ± 169	605
	Middle (中)	2590 ± 788		396 ± 443	
	Left (左)	2544 ± 437		172 ± 336	

根據Table可知，環己烷污染土的TPH₁₀₋₂₈濃度明顯高於TPH₂₈₋₄₀，推測此場址土方偏向較低分子量的碳氫化合物，可能為該場址中的原生菌尚未能夠有效利用TPH₁₀₋₂₈作為主要碳源；而TPH₂₈₋₄₀則屬於較高分子量的碳氫化合物，原生菌亦未穿透黏質土壤的內部結構，降解其碳氫化合物。但是，TPH₂₈₋₄₀的殘存濃度低於TPH₁₀₋₂₈或許能夠瞭解，該土方中的低分子量碳氫化合物仍未受到足夠量的柴油降解菌的分解，誘使轉化成中間產物，過程中將可能間接造成高分子量的碳氫化合物累積現象。

相對而言，成大土方在TPH₁₀₋₂₈濃度則低於TPH₂₈₋₄₀，研判經過一年的生物復

育降解程序，低分子量的碳氫化合物能夠被細菌有效的利用，過程中經降解後的中間產物(intermediates)或極性物質(polar compounds)，能夠累積於生物降解過程後期的高分子量碳氫化合物。另外，由於成大土方原本為低於法規標準 1,000mg/kg dry soil的TPH₁₀₋₄₀，但因現場操作人員誤將高濃度TPH₂₈₋₄₀混入整治完成的土方之中，因此使得高分子量的碳氫化合物污染上升。

在 2011 年 11 月底所取得的KH92-CT、KH92-RAW、N-series與T-series等四個來源土方，由於N-series與T-series兩者皆為整治完成土方(即低於法規標準)，在TPH₂₈₋₄₀濃度皆為低於 1,000mg/kg dry soil，但此次額外分析TPH₁₀₋₂₈濃度部分，發現仍有高於 2,000 mg/kg dry soil，研判過去一年生物復育過程中添加廚餘堆肥主要細菌類的微生物降解程序已轉換至真菌類微生物的降解，因此TPH₂₈₋₄₀濃度有較為顯著的降解，TPH₁₀₋₂₈濃度的殘留亦有廚餘堆肥中油脂的貢獻造成。

KH92-CT與KH92-RAW的土方，TPH₂₈₋₄₀濃度約為 1,300 mg/kg dry soil左右，能夠預期微生物充分利用降至法規標準。然而，KH92-RAW的TPH₁₀₋₂₈濃度明顯低於KH92-CT亦低於法規標準，由於RAW的土方中後期生物復育的過程添加膨鬆物質幫助土壤中的孔隙增加，使得TPH₁₀₋₂₈濃度較易受到微生物所利用而降低。KH92-CT的TPH₁₀₋₂₈濃度則有殘存較高的情況發生，惟控制組的土方未曾經過任何額外生物優植與生物添加，因此原生菌的降解能力有限。

綜合以上結果，根據 Fig.所示，不同來源現地污染土方中，主要以成大土方與 KH-92 土方佔有較高比例的高分子量碳氫化合物；環己烷土方、KH-92 土方、N-series 與 T-series 則皆屬於高比例的低分子量碳氫化合物。

總而言之，環己烷土方與成大土方在TPH₁₀₋₄₀的總量上仍然屬於較高含量，以環己烷土方為最高，因此本研究將著重於此土方作為整治目標(即將 3,000 mg/kg dry soil濃度整治降至 1,000 mg/kg dry soil的TPH₁₀₋₄₀)，並混合其他土質的污染土方作為輔助的資材。

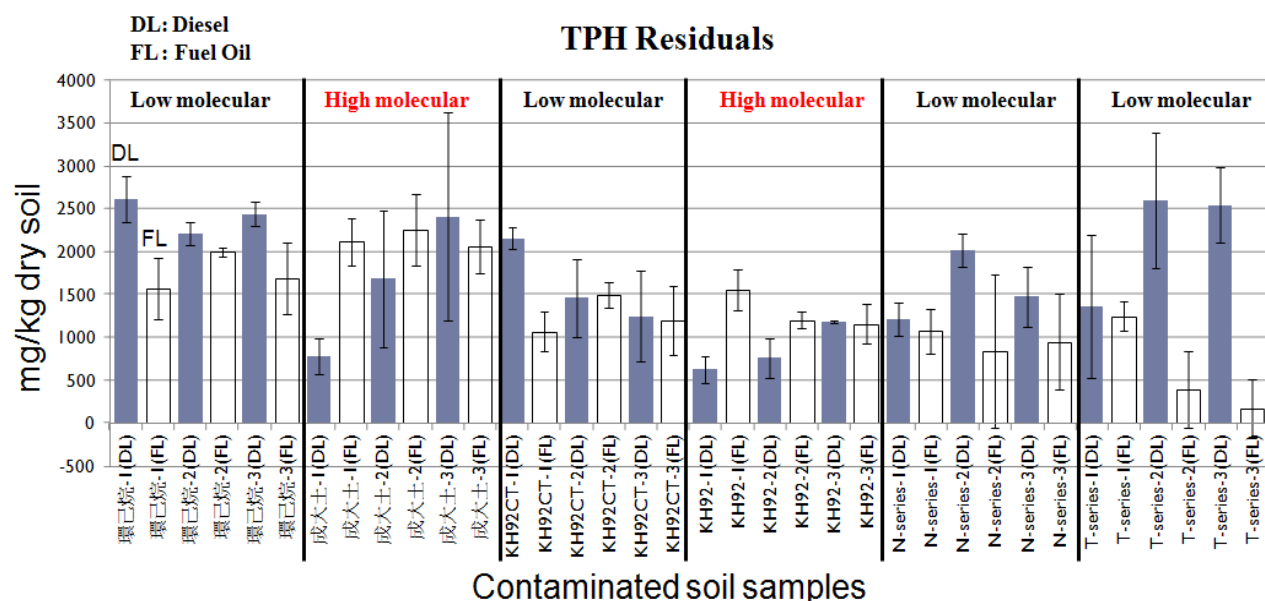


Fig.不同來源現地污染土方之 TPH 殘存濃度圖示

四、第二階段-不同腐熟階段(溫度)複合性副資材添加對於黏質重油(Clay, TPH_{C10-C40})污染土方之整治成效初探

此階段為利用實驗室規模(Lab Scale Study)，將現地污染的土方(偏向黏質土壤)進行混合後，添加Fuel oil/twin20(界面活性劑)/水，以 1:1:1(w/w/w)混合經乳化作用後加入污土中，混合Fuel oil污染土與副資材前，須先保存原污染土(未加副資材)進行TPH_{C10-C40}測定。第二階段啟動後，每月進行TPH-f、Bio-chips、moisture、pH、CFU、TS/TVS等測定。

Table.第二階段-複合性副資材添加黏質重油土方之生物復育試驗基本性質

Batch sample		BAS 0 (CT)	BAS 1	BAS 2	BAS 3	BAS 4	BAS 5	BAS 6
Control factors								
Initial temp. of BAS		---	42	49	72	65	52	40
Initial pH of BAS		---	4.5	6.7	7.6	8.2	7.7	7.5
Moisture(%)		12.4	14.4	14.6	13.7	14.1	12.9	15.1
BAS(%,v/v)		5	5	5	5	5	5	5
Land-farming rate(per week)		1	1	1	1	1	1	1
Biochips	Bacteria	---	<i>Gordonia alkanivorans</i>	<i>Galkanivo- rans</i>	<i>Galkanivo- rans</i>	<i>G.alkanivo- rans</i>	<i>G.alkanivo- rans</i>	<i>G.alkanivo- rans</i>
				<i>G.desulfuri- cans</i>	<i>G.desulfuri- cans</i>		<i>G.desulfuri- cans</i>	<i>G.desulfuri- cans</i>
				<i>Pseudomo- nas sp.</i>	<i>Pseudomo- nas sp.</i>	<i>G.alkanivo- rans</i>	<i>Pseudomo- nas sp.</i>	<i>Pseudomo- nas sp.</i>
					<i>Acinetobac- ter sp.</i>		<i>Acinetobac- ter sp.</i>	<i>Acinetobac- ter sp.</i>
	Fungi	---	N.D.	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>A.fumigatus</i>	<i>A.fumigatus</i>	<i>A.fumigatus</i>	<i>A.fumigatus</i>
Operating factors								
Inert Solid		96.9	95.4	95.8	94.5	95.6	95.3	94.4
TS		88.1	84.5	86.1	84.6	86.9	87.5	84.7
TVS		2.7	3.9	3.6	4.6	3.8	4.0	4.7
TVS/TS		0.03	0.05	0.04	0.05	0.04	0.05	0.06
TPH (_{C10-C40})	High- Fuel oil	98±2	223±22	510±101	508±204	423±86	799±9	1924±2566
	Low- Diesel	N.D.	627±51	1360±168	1115±6	1388±379	888±12	1621±460
pH		6.9	6.8	6.9	6.9	6.9	6.5	7.3

第四章、參考文獻

鄭幸雄、潘柏岑、廖翊廷、高俊璿、黃良銘、林大成，生物促進受燃料油已風化)污染土壤生物復育之成效，第五屆土壤及地下水污染整治研討會，九十六年十一月，高雄。

鄭幸雄、廖翊廷、高俊璿、潘柏岑、黃良銘，受不同比例之柴油與燃料油污染土壤之生物降解探討，第五屆土壤及地下水污染整治研討會，九十六年十一月，高雄。

鄭幸雄、林大成、張長泉、黃良銘、廖翊廷、潘柏岑，分生監控式油污染土壤生物復育之實場研究，第五屆土壤及地下水污染整治研討會，九十六年十一月，高雄。

鄭幸雄、潘柏岑、廖翊廷、劉保文、黃良銘，應用生物界面活性劑促進柴油污染土壤生物復育之可行性評估及現場驗證，第四屆土壤與地下水研討會論文集，九十五年十一月，台中。

林大成、鄭幸雄、黃良銘、潘柏岑、廖翊廷、方彥程，柴油污染土壤離場生物復育技術之實場驗證案例研究，第四屆海峽兩岸土壤及地下水污染整治研討會，九十五年十一月，台中。

鄭幸雄、林大成、廖翊廷、潘柏岑、方彥程、黃良銘，生物土堆翻耕法應用於油污染土壤整治之案例研究，第四屆土壤與地下水研討會論文集(論文發表獎)，九十五年十一月，台中。

鄭幸雄、黃良銘、曾怡禎、林大成、潘柏岑、廖翊廷，柴油污染土壤之離場土堆生物復育實驗研究，第四屆土壤與地下水研討會論文集，九十五年十一月，台中。

鄭幸雄、馬志強、劉保文、潘柏岑、黃良銘，以生物界面活性劑促進柴油污染土壤中原生菌生物降解效率，第三屆土壤地下水研討會論文集，九十四年十一月，中壢。

鄭幸雄、潘柏岑、吳龍泉、劉保文、黃良銘、馬志強，評估受柴油污染土壤離場生物復育之成效，第三屆土壤地下水研討會論文集，九十四年十一月，中壢。

Ang, C. C. and Abdul, A. S., Aqueous Surfactant Washing of Residual Oil Contamination from Sandy Soil. Ground Water Monitoring and Remediation 11(2): 121-127(1991).

April, T. M., Abbott, S. P., Foght, J. M. and Currah, R. S., Degradation of hydrocarbons in crude oil by the ascomycete Pseudallescheria boydii (Microascaceae). Canadian Journal of Microbiology 44(3): 270-278(1998).

Atlas, R. M., Microbial-Degradation of Petroleum-Hydrocarbons - an Environmental Perspective. Microbiological Reviews 45(1): 180-209(1981).

Atlas, R. M., Petroleum Microbiology. Macmillan Publishing Company New York(1984).

Atlas, R. M., Assessment of the biodegradation of petroleum in the Arctic. Microbial Ecology, Springer-Verlag, Berlin, : 86-90(1987).

Atlas, R. M., Petroleum biodegradation and oil spill bioremediation. Marine Pollution Bulletin 31(4-12): 178-182(1995).

Banat, I. M., Makkar, R. S. and Cameotra, S. S., Potential commercial applications of microbial surfactants. Applied Microbiology and Biotechnology 53(5): 495-508(2000).

Bento, F. M. and Gaylarde, C. C., Biodeterioration of stored diesel oil: studies in Brazil. International Biodeterioration & Biodegradation 47(2): 107-112(2001).

*Bidlan, R. and Manonmani, H. K., Aerobic degradation of dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) by *Serratia marcescens* DT-1P. Process Biochemistry 38(1): 49-56(2002).*

Bossert, I and Bartha, R, The fate of petroleum in soil ecosystems. In: Atlas RM (Ed.). Petroleum Microbiology Macmillan Publishing Company, New York: 435-476(1984).

Chaîneau, C.H., Morel, J. , Dupont, J., Bury, E. and Oudot, J., Comparison of the fuel oil biodegradation potential of hydrocarbon-assimilating microorganisms isolated from a temperate agricultural soil. The Science of the Total Environment 227(2-3): 237-247(1999).

Chaîneau, C.H., Rougeux, G., Yéprémian, C. and Oudot, J., Effects of nutrient concentration on the biodegradation of crude oil and associated microbial populations in the soil. Soil Biology and Biochemistry 37(8): 1490-1497(2005).

Chaillan, F., Chaîneau, C.H., Point, V., Saliot, A. and Oudot, J., Factors inhibiting bioremediation of soil contaminated with weathered oils and drill cuttings. Environmental Pollution 144(1): 255-265(2006).

Chaillan, F., Gugger, M., Saliot, A., CoutÃÃ, A. and Oudot, J., Role of cyanobacteria in the biodegradation of crude oil by a tropical cyanobacterial mat. Chemosphere 62(10): 1574-1582(2006).

Chaillan, Frédéric, Le Flèche, Anne, Bury, Edith, Phantavong, Y-hui, Grimont, Patrick, Saliot, Alain and Oudot, Jean, Identification and biodegradation potential of tropical aerobic hydrocarbon-degrading microorganisms. Research in Microbiology 155(7): 587-595(2004).

Chaineau, C. H., Morel, J.-L. and Oudot, J., *Microbial degradation in soil microcosms of fuel oil hydrocarbons from drilling cuttings. International Journal of Rock Mechanics and Mining Sciences & Geomechanics Abstracts* 33(3): 145A(1996).

Chaineau, C. H., Morel, J. L. and Oudot, J., *Microbial-Degradation in Soil Microcosms of Fuel-Oil Hydrocarbons from Drilling Cuttings. Environmental Science & Technology* 29(6): 1615-1621(1995).

Colwell, RR and Walker, JD, *Ecological aspects of microbial degradation of petroleum in the marine environment. CRC critical reviews in microbiology* 15: 423-445(1977).

Cooper, DG and Zajic, JE, *Surface-active compounds from microorganisms. Advances in applied microbiology* 26: 229-253(1980).

EPA, US, *Aerobic Biodegradation of Oily Wastes A Field Guidance Book For Federal On-scene Coordinators.* (2003).

Gilgado, F., Cano, J., Gene, J. and Guarro, J., *Molecular phylogeny of the Pseudallescheria boydii species complex: Proposal of two new species. Journal of Clinical Microbiology* 43(10): 4930-4942(2005).

Herman, D. C., Artiola, J. F. and Miller, R. M., *Removal of Cadmium, Lead, and Zinc From Soil by a Rhamnolipid Biosurfactant. Environmental Science & Technology* 29(9): 2280-2285(1995).

Kanga, S. A., Bonner, J. S., Page, C. A., Mills, M. A. and Autenrieth, R. L., *Solubilization of naphthalene and methyl-substituted naphthalenes from crude oil using biosurfactants. Environmental Science & Technology* 31(2): 556-561(1997).

Leahy, J. G. and Colwell, R. R., *Microbial-Degradation of Hydrocarbons in the Environment. Microbiological Reviews* 54(3): 305-315(1990).

Lee, Sang-Hwan, Lee, Seokho, Kim, Dae-Yeon and Kim, Jeong-gyu, *Degradation characteristics of waste lubricants under different nutrient conditions. Journal of Hazardous Materials* 143(1-2): 65-72(2007).

Lee, Sunggyu and Cutright, Teresa, *Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated soil. Journal of Cleaner Production* 3(4): 255(1995).

Mancera-Lopez M.E., Esparza-Garcia F., Chavez-Gomez B., Rodriguez-Vazquez R. , Saucedo-Castaneda G. and Barrera-Cortes J. , *Bioremediation of an aged hydrocarbon-contaminated soil by a combined system of biostimulation-bioaugmentation with filamentous fungi. Biodeterioration & Biodegradation* 61: 151-160(2008).

Marin, J. A., Hernandez, T. and Garcia, C., *Bioremediation of oil refinery sludge by landfarming in semiarid conditions: Influence on soil microbial activity. Environmental Research* 98(2): 185-195(2005).

Menzie, C. A., Potocki, B. B. and Santodonato, J., *Exposure to Carcinogenic Paks in the Environment. Environmental Science & Technology* 26(7): 1278-1284(1992).

Namkoong, W., Hwang, E. Y., Park, J. S. and Choi, J. Y., *Bioremediation of diesel-contaminated soil with composting. Environmental Pollution* 119(1): 23-31(2002).

Ortega-Calvo, J. J., Lahlou, M. and Saiz-Jimenez, C., *Effect of organic matter and clays on the biodegradation of phenanthrene in soils. International Biodeterioration & Biodegradation* 40(2-4): 101-106(1997).

Oudot J, *Rates of microbial degradation of petroleum components as determined by computerized capillary gas chromatography and computerized mass spectrometry. Mar Environ Res* 13: 277-302(1984).

Pacheco, Adriana de O., Kagohara, Edna, Andrade, Leandro H., Comasseto, João V., Crusius, Iracema H.-S., Paula, Claudete R. and Porto, André L.M., *Biotransformations of nitro-aromatic compounds to amines and acetamides by tuberous roots of Arracacia xanthorrhiza and Beta vulgaris and associated microorganism (Candida guilliermondii). Enzyme and Microbial Technology* 42(1): 65-69(2007).

Perfumo, A., Banat, I. M., Marchant, R. and Vezzulli, L., *Thermally enhanced approaches for bioremediation of hydrocarbon-contaminated soils. Chemosphere* 66(1): 179-184(2007).

Providenti, M. A., Lee, H. and Trevors, J. T., *Selected Factors Limiting the Microbial-Degradation of Recalcitrant Compounds. Journal of Industrial Microbiology* 12(6): 379-395(1993).

Rahman, K. S. M., Rahman, T. J., Kourkoutas, Y., Petsas, I., Marchant, R. and Banat, I. M., *Enhanced bioremediation of n-alkane in petroleum sludge using bacterial consortium amended with rhamnolipid and micronutrients. Bioresource Technology* 90(2): 159-168(2003).

Reid, B. J., Jones, K. C. and Semple, K. T., *Bioavailability of persistent organic pollutants in soils and sediments - a perspective on mechanisms, consequences and assessment. Environmental Pollution* 108(1): 103-112(2000).

Roling, W. F. M., Milner, M. G., Jones, D. M., Fratepietro, F., Swannell, R. P. J., Daniel, F. and Head, I. M., *Bacterial community dynamics and hydrocarbon degradation during a field-scale evaluation of bioremediation on a mudflat beach contaminated with buried oil.*

100 年度土壤及地下水污染研究與技術提昇計畫

Applied and Environmental Microbiology 70(5): 2603-2613(2004).

Semple, K. T., Cain, R. B. and Schmidt, S., Biodegradation of aromatic compounds by microalgae. Fems Microbiology Letters 170(2): 291-300(1999).

Taylor, L.T. and Jones, D.M., Bioremediation of coal tar PAH in soils using biodiesel. Chemosphere 44(5): 1131-1136(2001).

Van Beilen, J. B., Li, Z., Duetz, W. A., Smits, T. H. M. and Witholt, B., Diversity of alkane hydroxylase systems in the environment. Oil & Gas Science and Technology-Revue De L Institut Francais Du Petrole 58(4): 427-440(2003).

Vandyke, M. I., Couture, P., Brauer, M., Lee, H. and Trevors, J. T., Pseudomonas-Aeruginosa Ug2 Rhamnolipid Biosurfactants - Structural Characterization and Their Use in Removing Hydrophobic Compounds from Soil. Canadian Journal of Microbiology 39(11): 1071-1078(1993).

Venosa, Albert D. and Zhu, Xueqing, Biodegradation of Crude Oil Contaminating Marine Shorelines and Freshwater Wetlands. Spill Science and Technology Bulletin 8(2): 163-178(2003).

Zhang, Y. M. and Miller, R. M., Enhanced Octadecane Dispersion and Biodegradation by a Pseudomonas Rhamnolipid Surfactant (Biosurfactant). Applied and Environmental Microbiology 58(10): 3276-3282(1992).

Zinjarde, S. S. and Pant, A. A., Hydrocarbon degraders from tropical marine environments. Marine Pollution Bulletin 44(2): 118-121(2002).

附錄 2. 研究進度及預期完成之工作項目(甘特圖)

年 月	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	備註
工作項目													
土壤初篩、混合、性質背景分析			A										A.一批土壤特性分析
土方選定與監測式自然衰減復育(第一階段)			B										B.土方選定
生物複合性副資材之批次試驗與生物菌液製備(Lab scale)			C										C.批次試驗
採樣、灑水及翻堆、監測氣體(CO ₂ 、O ₂)						D			G		I		前六個月土方監測式自然衰減均質化驗證；後期為複合性副資材之實場驗證
樣品 TPH 分析、分生技術檢測分析						E			H		J		
添加生物複合性副資材於現地驗證試驗(第二階段)									F				
添加實驗室規模優勢培養菌劑(第三階段)											K		
期中報告撰寫													
期末報告撰寫													
工作進度估計百分比(累積數)	10%	15%	20%	25%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%	100%	
預定查核點	第 1 季：(12~4 月)			A.一批土壤特性分析 B.土方選定與監測式自然復育啟動 C.複合性副資材之批次試驗									
	期中：(5~7 月)			D&E.前期六個月土方監測自然衰減結果與複合性副資材批次試驗									
	第 3 季：(8~9 月)			G&H&F.第二階段添加生物複合性副資材驗證成果									
	期末：(10~11 月)			I&J&K.第三階段添加實驗室規模優勢培養菌劑驗證成果									

