

行政院環境保護署

104 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工作

強化被動式生物通氣系統應用於 污染場址之操作參數探討

期末報告(定稿本)

主辦單位： 行政院環境保護署

專案執行單位：朝陽科技大學／環境工程與管理系所

專案主持人：劉敏信副教授

專案執行期間：103 年 12 月 1 日起至
104 年 11 月 30 日

中華民國 104 年 11 月印製

「104 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」

☒修正計畫書 ☐期中報告

☐期末報告 審查意見回覆對照表

計畫年度	104 年度	專案類型	<input checked="" type="checkbox"/> 研究計畫 <input type="checkbox"/> 模場試驗
計畫主持人	劉敏信	研究類別	<input type="checkbox"/> 調查 <input checked="" type="checkbox"/> 整治 <input type="checkbox"/> 評估 <input type="checkbox"/> 底泥
計畫名稱	強化被動式生物通氣系統應用於污染場址之操作參數探討		
專案連絡人	劉敏信	連絡專線	0910-599767
政策性審查意見		計畫單位回覆	
1. [雜項費用] 項下項目名稱應依類別分列，文具不屬電腦費用，請拆列。 2. 電腦週邊如碳粉匣應依計畫使用需求覈實編列；系統軟體、軟硬體維護、光碟片非本署補助項目，原則不得編列。 3. 依本專案 104 年度計畫徵求書之申請經費編列基準第五項規定「參加與投稿研討會等不予以補助」。		1. 依審查意見修改，文具類將於雜項費用額外編列。 2. 遵照辦理，電腦週邊耗材將依計畫使用需求謹慎編列。 3. 依審查意見進行修改。	
技術性審查意見		計畫單位回覆	
委員一審查意見		計畫單位回覆	
1. 本計畫擬延續去年土基會補助之計畫「利用微生物呼吸試驗探討生物通氣法對柴油污染土壤復育之成效」，今年將藉由改良被動式生物通氣系統以及營養鹽調配來增進其處理效率。 2. 本計畫所使用之處理方法效果不佳，無法處理至低於土壤污染管制標準，今年應尋求突破能將土壤柴油之濃度降低至污染管制標準之下，才較有意義。		1. 103 年度研究計畫中，於高濃度 (約 20,000 mg/kg) 柴油污染土壤條件下，降解菌僅靠試驗初期添加的營養鹽，便能將柴油濃度殘餘率(C/C ₀)降至 0.30 以下，顯示微生物降解柴油成效良好。本計畫將以維持微生物活性為前提，在營養鹽方面找出最佳調配比例，並預設生物通氣系統於不同風力條件下，氧氣濃度對微生物降解反應之影響，以找出本系統在實場操作過程中應維持的基本參數條件。 2. 感謝委員建議。本計畫經 103 年研究計畫成果可得知，降解菌確實有效降低生物通氣模場內柴油污染物濃度，然而高濃度柴油對微生物仍存在抑制生長之風險，故本計畫將延續適度降低模場	

	內柴油初始濃度，在濃度 5,000 mg/kg 環境下，適當添加合適營養鹽，使研究成果能完整呈現微生物將柴油降解至污染管制標準以下之活性表現。
委員二審查意見	計畫單位回覆
<p>1. 本計畫採用被動式生物通氣系統，藉由人造風場控制進氣風量及量測土壤中氧氣濃度，可知悉未來污染場址若進行生物通氣法整治期間，自然風力對地下土層可提供的氧氣濃度與傳遞效率，同時由實驗室反應槽進行微生物降解實驗，並搭配氣泡式呼吸儀與泥漿法組成之微生物活性監測系統，能得知土壤中微生物攝氧情形，以判斷微生物活性狀況。</p> <p>2. 主持人曾參與相關之計畫，其經驗可勝任本計畫之執行。本計畫之執行將有助於提升國內通氣系統整治技術之效益。對 VOC 污染土壤及地下水污染場址之整治工作之執行應有貢獻。</p> <p>3. 未來須和實場結合並有效評估成本效益。</p>	<p>1. 感謝委員肯定。本計畫建立實驗室生物通氣模場以模擬實際污染場址地下土層中，可能的土壤通氣及微生物耗氧量情形，作為未來若進行實場生物通氣試驗時，能作為土壤層通氣成效之參考依據。另於實驗室進行氣泡式呼吸儀與生物泥漿法組成之微生物活性監測系統，預期於本計畫中找出更為穩定的操作環境，以提昇監測精準度，供操作人員能由微生物活性變化趨勢推估柴油濃度的變化及營養源需添加的時程。</p> <p>2. 感謝委員支持。本計畫希望能藉由生物通氣法中微生物降解能力，使較難揮發之柴油污染物，能有效降至污染管制標準之下。因此積極採用柴油降解菌及合適的營養鹽調配比例，並模擬實場植菌方式及營養源添加後，於土壤中擴散及耗用情況，使整治過程更加有效率。</p> <p>3. 感謝委員建議。本計畫使用之風力驅動式生物通氣設備造價便宜，各部位零件可單獨拆換且易於購買，亦無須耗費額外能源使設備運轉，因此可有效降低實場裝設通氣設備之費用，惟設備採用之材質應考量實場環境及整體重量等因素進行強化。</p>
委員三審查意見	計畫單位回覆

<p>1. 本案接續 103 年計畫擬以人造風場模擬探對被動式通氣系統對生物法降解柴油污染之操作參數，具實用性。</p> <p>2. 本年度在通氣系統之探討上，除了變頻控制人造風場之風速外，亦於模槽側面開孔透氣，建議亦應探討正壓/負壓通氣雙向流通之可行性，並考量於實場內外溫差、降雨、積水/排水之通氣效能，以貼近被動式省能之利。</p> <p>3. 因係 103 年計畫之擴充，耗材等費用應降低。</p>	<p>1. 感謝委員肯定。本研究中藉由調整人造風場，模擬實場中可能遭遇的風力情形，並使用氣體偵測器實際量測土壤中氧氣、二氧化碳濃度讀值，得知微生物耗氧速率，預期可提供以生物通氣法進行實場整治時，應具備的最低風力要求條件。</p> <p>2. 感謝委員建議。本研究將於通氣條件下將對照試驗過程中相關數據，以了解通入生物通氣模場內之含氧空氣流動情形，及微生物耗氧速率；於無通氣條件下嘗試探討未來生物通氣設備氧氣耗用，或若與 SVE 共同整治抽氣時，導致負壓狀態下，土壤層中氣體雙向流通的可行性。本計畫以生物通氣模場進行試驗過程中，將考量土壤溫差影響及表面降雨對水分、污染物、營養鹽及微生物可能的移動方式進行探討，而生物通氣模場底部應持續改良，避免水分堆積，以較符合實場狀態。</p> <p>3. 遵照委員意見辦理。</p>
委員四審查意見	計畫單位回覆
<p>1. 建議再支持一年，以測試不同污染場址之土壤特性差異及將來應用之可行性。</p> <p>2. 建議針對可能面臨的問題先行提出因應情況，以找出營養源最適當之複合比例及添加方法。</p>	<p>1. 感謝委員肯定。本計畫將嘗試取得污染場址之風化土壤進行生物通氣法相關試驗，並比較與 103 年度研究計畫中，自行配置柴油污染土壤中，柴油濃度降解趨勢與微生物活性之差異，並預期將污染土壤降解至污染管制標準之下，以達整治的目標。</p> <p>2. 感謝委員建議。本計畫將於實驗室反應槽中進行最適當之營養源複合比例試驗，並以通氣但未攪拌條件下測試營養源擴散情形，以評估模場添加營養源後，可影響微生物的程度與範圍。</p>
委員五審查意見	計畫單位回覆

<p>1. 本研究具實務應用性，建議宜先評估此議題於國內多年執行時的限制因子與可能的克服方式，以及本計畫執行後未來 SVE (BV) 工法需配合的客觀條件。試驗結果的解讀與實場應用條件宜討論。</p> <p>2. 對國內本研究領域的現況了解，但國內的實驗室經驗有採土壤攪拌進行試驗，也有未攪拌進行試驗，建議本研究宜以接近實場操作的觀點為實驗設計（微生物植種添加方式亦同），並同時檢討主持人原 103 年執行中的計畫的實驗設計與實場間的差異，據以改善本年度的實驗設計。</p>	<p>1. 感謝委員建議。國內整治油品污染時，採用 SVE 可將整治區域高揮發性污染物往抽氣井方向移動而被抽出，其污染物可進行回收或尾氣處理；BV 則可藉由供應污染區域足量營養源與氧氣，使微生物進行降解反應，達到整治目的。若 SVE 搭配 BV 進行油品污染整治時，BV 可將 SVE 無法抽除的低揮發性污染物如柴油以生物降解方式去除，且 SVE 抽氣時雖導致土壤層負壓，但周遭氧氣進行遞補時，亦能提供微生物耗氧需求，兩者工法應有搭配之可能，故本計畫可規劃以生物通氣模場正壓/負壓情形下，進行模擬與探討。</p> <p>2. 感謝委員意見。103 年研究計畫中，主要想了解柴油降解菌對目標污染物的降解成效，故以翻拌方式使微生物能均勻分佈土壤層中，而經實驗結果證實，柴油降解菌確實有助於降低污染物濃度。故 104 年計畫中，將模場環境條件及採樣、植種、營養源添加方式皆盡量比照實場操作方式，並於試驗過程中找出適合生物通氣法的操作參數，避免由實驗室模場試驗轉變為現場工法時，整治成效無法達到預期。</p>
綜合性審查意見	計畫單位回覆
<p>1. 原則同意所送計畫，請依審查意見提送修正計畫書。</p>	<p>1. 遵照環保署意見辦理。</p>

行政院環境保護署「土壤及地下水污染整治基金補助研究及模場試驗專案」

期中報告初審意見對照表

計畫年度	104 年度	計畫類型	<input checked="" type="checkbox"/> 研究計畫 <input type="checkbox"/> 現地試驗
計畫類別	<input type="checkbox"/> 調查 <input checked="" type="checkbox"/> 整治復育 <input type="checkbox"/> 評估 <input type="checkbox"/> 底泥		主持人：劉敏信 NO：15
計畫名稱	強化被動式生物通氣系統應用於污染場址之操作參數探討		
委員一審查意見		計畫單位回覆	
1. 已達預定工作進度與目標。		1. 感謝委員肯定。本研究將依照期程規劃進行相關試驗，完成進度。	
2. 柴油之降解除以降解率來表示外，降解後絕對殘餘量是否可低於土壤污染管制標準也是探討此一處理系統之效能應考慮的。		2. 感謝委員建議。本計畫針對自然風場設計並強化生物通氣系統，包含自製營養鹽、模場開設孔隙及微生物的馴化等，使其貼近實場土壤及風力狀況，目前試驗 63 天柴油濃度已降至接近法規標準值，希望能使風化土壤的柴油能有效降至污染管制標準之下。	
3. 請明確描述最佳之生物通氣系統之設計。		3. 感謝委員建議。本計畫強化被動式生物通氣系統之設計有：環境風速 0.6 m/sec、馴化柴油濃度 2,000 mg/L 之微生物、每週添加一次自製營養鹽、調整營養鹽比例 100：10：1、模場週圍開孔(孔隙率 10%)	
委員二審查意見		計畫單位回覆	
1. 本計畫將風力驅動式生物通氣設備及污染模場進行改良，使其更類似污染實場的狀態，本年度使用風化超過2年的柴油污染土壤進行試驗，可提供本計畫設備系統應用於柴油污染實場的成效驗證。		1. 感謝委員肯定。本計畫使用類似污染實場的試驗模場，進行風力驅動式生物通氣設備實驗分析，對於爾後污染場址更能預測其成效。	
2. 主要成果符合計畫書之內容，目前進度並無落後情形。		2. 感謝委員的肯定。本研究將依照期程規畫進行相關試驗，完成預期成果。	
3. 本報告文獻收集及相關資料收集完整，成果具相當實用性。		3. 感謝委員肯定。後續將持續補充相關文獻，並充實研究內容。	
4. 建議後續工作可補充如何進行實場應用。		4. 感謝委員建議。實場應用方法預計如下：	

	<p>尋求油品污染實場，以 MIP/EC 設備探討場址污染深度範圍。</p> <p>針對通氣層的不同深度污染土壤採樣分析 TPH 污染濃度。</p> <p>針對土壤進行油品降解微生物 DGGE 的生物族群分析，必要時將植入本土微生物啟動油品之降解。同時進行土壤元素分析，必要時將添加營養鹽，刺激微生物的增長，並以氣泡式生物呼吸儀探討其活性，加速油品的降解速率。</p> <p>將於污染熱區範圍與深度設置生物通氣井，並以所製作的風力驅動生物通氣設備操作。以遙控方式量測紀錄風向風速，探討通氣的影響半徑，定期採取土樣分析微生物活性、油品污染濃度、元素分析等。</p> <p>求取系統設備的最佳操作條件，並進行成本分析。</p>
5. 建議針對操作成本進行評估，並和目前常用之方法進行比較。	5. 感謝委員建議。本研究將以實場方式計算並評估本系統與其他方法之成本，目前尚在進行中，將在期末報告說明。
委員四審查意見	計畫單位回覆
1. 確實已依計畫項目執行。 2. 在連續式風力進行輔助下已確實提高好氧微生物對柴油之分解效果。 3. 後續工作已說明，應可完成。	1. 感謝委員的支持，促使本研究各項計畫順利執行。 2. 感謝委員肯定。搭配被動式通氣系統，確實有維持土壤層中之氧氣濃度在 20%，提供好氧微生物對柴油之分解效果。 3. 感謝委員對本計畫的信心。後續將持續補充相關文獻，並充實研究內容以及成本分析。
委員五審查意見	計畫單位回覆
1. 執行現況、流程及方法的說明具體詳盡。 2. 計畫後續執行工作項目及內容已於第6章簡要說明。	1. 感謝委員肯定，本研究將依照期程規劃進行相關試驗。 2. 感謝委員肯定，本研究會持續依照後續工作說明進行相關試驗。

<p>3. 計畫執行進度與預定進度相符，已有初步的成果。</p> <p>4. 本計畫部分研究項目為延續性研究，前期成果於本計畫中的應用建議說明。</p> <p>5. 未來於污染現場的設置方式與成效評估方式建議討論。</p> <p>6. 提供通風條件促進生物分解，建議評估生物分解與揮發氣提的貢獻的差異。</p> <p>7. 持續提供通風的必要性？或是間歇性通風？建議討論。</p> <p>8. 對含水分的影響建議討論（進流氣體需潤濕否？）。</p> <p>9. 成本部分建議與傳統方法量化比較。</p>	<p>3. 感謝委員的肯定。持續做相關研究，及補充相關文獻。</p> <p>4. 遵照委員意見辦理，將前期成果於本計畫說明應用。</p> <p>5. 污染現場的設置方式會先行質地分析與柴油污染情形分析，包括污染範圍與深度，依其資訊設置通氣井，並架設通氣設備進行成效評估，將在期末報告說明。</p> <p>6. 感謝委員建議。本系統中具有逆止閥之設計，使模場保持在進氣中，加上柴油本身揮發性較低，因此目前揮發氣提的貢獻程度較低。</p> <p>7. 103 年度研究中得知將模場停止通氣 2 週後土壤中氧氣濃度會從 20% 降至 14%，由於本年度急於將風化柴油降至法規標準值，故尚未評估微生物在土壤層中耗氧週期，因此本計畫在持續性風力完成後，依微生物降解速率評估間歇性風力之間歇週期。</p> <p>8. 感謝委員的意見。土壤太過乾燥或是濕潤會抑制微生物的生長甚至死亡，本計畫將延續 103 年研究計畫保持水分 10% ~ 15%，目前水分添加方式在每日監測必要時以噴灑的方式進行。</p> <p>9. 感謝委員建議。成本分析還在進行中，本計畫預計將常見的整治工法與本系統，以實場方式進行成本計算並評估。</p>
<p>環保署審查意見</p>	<p>計畫單位回覆</p>

1. 請依 104 年度專案成果績效自評表格式填寫。	1. 遵照辦理。
2. 請檢附缺失項目自評表。	2. 遵照辦理。

行政院環境保護署「土壤及地下水污染整治基金補助研究及模場試驗專案」

期末報告初審意見對照表

計畫年度	104 年度	計畫類型	■研究計畫 □現地試驗
計畫類別	□調查■整治復育□評估□底泥		主持人：劉敏信 NO：15
計畫名稱	強化被動式生物通氣系統應用於污染場址之操作參數探討		
委員一審查意見		計畫單位回覆	
1. 已完成預定工作項目。 2. 期末報告撰寫完整。		1. 感謝委員支持，促使本研究達成各項計畫目標。 2. 感謝委員肯定。	
委員二審查意見		計畫單位回覆	
1. 本計畫將風力驅動式生物通氣設備及污染模場進行改良，使其更類似污染實場的狀態，且本年度使用風化超過 2 年的柴油污染土壤進行試驗，可提供本計畫設備系統應用於柴油污染實場的成效驗證，確實可以利用本風力驅動生物通氣系統將土壤中柴油濃度降至法規管制標準值 1,000 mg/kg 以下。同時經由微生物降解柴油濃度的趨勢研析，可分別探討三種微生物降解柴油的動力學速率參數，提供實場應用生物通氣法的操作設定條件及預期成效。 2. 本報告文獻收集及相關資料收集完整，成果具實場之應用價值。 3. 計畫執行良好，文獻及方法說明具體詳盡，整體研究成果符合預期。		1. 感謝委員對本計畫支持。本研究計畫使用風化兩年後之柴油污染土壤進行試驗，風力驅動式生物通氣設備確實有效輔助微生物降解土壤中的柴油濃度至污染管制標準值 1,000 mg/kg 以下，並使用生物呼吸儀判斷微生物活性及搭配微生物降解柴油動力學速率參數，提供未來實際污染場址整治重要的判斷指標。 2. 感謝委員肯定，的確研究成果參數可以作為實場柴油污染整治的應用參考。 3. 感謝委員肯定，本研究對於加油站實場污染整治於土壤中柴油經由模場試驗，能從初始值約 5,000 mg/kg 可以降解至 1,000 mg/kg 法規標準以下。	
委員三審查意見		計畫單位回覆	
1. 未參與審查作業。		1. 同樣感謝委員支持。	

委員四審查意見	計畫單位回覆
<ol style="list-style-type: none"> 1. 期末報告格式均依規定撰寫，符合規定。 2. 研究項目及進度符合計畫內容，已達到計畫目標。 3. 初步成果已達預期。繼 103 年計畫成果，強化被動式生物通氣系統應用於污染場址之操作參數，可將 3 株菌種添加氧氣與營養鹽下，馴化成降解柴油較快速率之效果。 4. 未來可依初步成果應用於污染實場之操作試驗之可行性。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 感謝委員明察。 2. 感謝委員審查，本研究風力驅動式生物通氣設備結合模場操作狀況改良方向與最佳化調整，並柴油污染初始值約 5,000 mg/kg 降解至 1,000 mg/kg 法規標準以下。 3. 感謝委員肯定，本研究延續 103 年度計畫利用微生物搭配風力驅動式生物通氣設備，並先將微生物以少量柴油馴化，本研究結果可以得知，馴化後之微生物有效率降解土壤中的柴油污染物，能在更短時間內降解柴油污染物。 4. 感謝委員建議，105 年度本擬應用於實場，然而媒合場址尚未尋獲適當場址。
委員五審查意見	計畫單位回覆
<ol style="list-style-type: none"> 1. 本研究屬於實驗室初期研究階段，研究內容&討論與建議仍屬初期的討論，就研究成果的實務應用性而言，仍有待提出具實務可行的建議。 2. 所篩選的特定菌株的生理與降解能力特性建議彙整。 3. 添加量(菌)建議量化。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 感謝委員的提醒，在 103 年度研究成果確實能應用於高濃度柴油污染 25,000 mg/kg 以上之土壤中，本年度研究計畫強化風力驅動式生物通氣設備結合模場操作狀況改良方向與最佳化調整，能將已風化兩年之柴油污染土壤初始值約 5,000 mg/kg 降解至 1,000 mg/kg 污染管制標準以下，且特定菌組可有效降解難生物分解的 Pristane 與 Phytane。本研究間歇式通氣參數可提供實場後續操作執行參考。 2. 感謝委員建議，本研究強化風力驅動式生物通氣系統參數之一為馴化三種特定菌株，在批次翻拌反應槽試驗結果發現馴化濃度為 4,000 μL/L 各菌組均有良好的生長及降解成效，本計畫期末報告已將柴油降解速率計算並納入。 3. 感謝委員建議，本研究投入菌量皆為 10%(v/v)，但各菌株在培養過程中皆有量

<p>4. 添加量與提升反應速率間的關係建議彙整。</p> <p>5. 表 5.6 & 5.7 的動力參數的意義建議進一步討論。</p>	<p>測 OD 值觀察微生物的生長情形，本研究以波長 600 nm 量測微生物 OD 值，培養至各菌均屬生長穩定期時再進行馴化及投入，<i>Bacillus cereus</i> 穩定期 OD₆₀₀ 約為 1.3，<i>Achromobacter xylosoxidans</i> 約為 1.59，<i>Pseudomonas putida</i> 約為 1.47。</p> <p>4. 感謝委員建議，本研究菌株添加量皆為 10%(v/v)，然後以不同柴油濃度馴化微生物，降解柴油速率以動力學公式探討反應速率的變化，並求取柴油降解參數。</p> <p>5. 感謝委員建議，比生長速率之意義，表示單位時間單位生物量所產生的生物量；半飽和常數是表示在最大比生長速率一半時基質的濃度，半飽和常數越大，即表示達到最大比生長速率所需要的基質濃度要越大，即此菌種對此基質的親和力偏低；反之，若半飽和常數越小，則此菌種對此基質的親和力較高，也就表示此菌種適合用來處理此特定基質(柴油)。其中 K_i 為微生物分解時的抑制係數，若實驗所求得之 K_i 值越大，表示抑制濃度越大，即基質的抑制作用較小。在微生物未事先以柴油馴化的降解柴油實驗中，動力學數據參數顯示，BC 菌組在第一階段 μ_m、K_s 與 K_i 值分別較佳，表示各菌組中 BC 菌組在高濃度柴油約 26,000 mg/kg 環境下相較於 F3B 及 PS 菌組有更佳的降解能力與適應能力。微生物先以 2,000 $\mu\text{L/L}$ 柴油馴化試驗之動力學參數中，BC 菌組 K_s 值 15,200 mg/kg 為最佳，而 PS 菌組 K_i 值 3,500 mg/kg 則為最佳，表示在高濃度柴油 20,000 mg/kg 環境下 BC 菌組的降解能力最佳，而 PS 菌組適應力最佳。微生物先以 4,000 $\mu\text{L/L}$ 柴油馴化試驗之動力學參數中，在第一階段動力學參數中表示 PS 菌組 K_s 值為最佳，而 F3B 菌組 K_i 值為最佳，BC 菌組 μ_m 值為最佳，表示經馴化 4,000 $\mu\text{L/L}$ 後在高濃度柴油 20,000 mg/kg 環境下 PS 菌組的降解能力</p>
--	--

最佳，而 F3B 菌組適應力最佳，BC 菌組生長情況較良好。微生物先以 8,000 $\mu\text{L/L}$ 柴油馴化試驗之動力學參數中，在第一階段動力學參數中顯示 BC 菌組 K_s 值為最佳，PS 菌組 μ_m 、 K_i 值為最佳，表示經馴化 8,000 $\mu\text{L/L}$ 後在高濃度柴油 20,000 mg/kg 環境下 BC 菌組的降解能力最佳，而 PS 菌組生長情況與適應力則最佳。

6. 本計畫中所探討的現象之一是營養鹽，建議由營養鹽理論需求量與實際土壤中的存在量之間的關係加以評估，以了解是否確是營養鹽限制了生物降解。

7. 計畫執行進度與預定進度相符。

8. 進度並無落後。

9. 執行現況、研究流程及方法說明具體。

6. 感謝委員建議，本研究於生物通氣試驗 7 週後，在微生物呼吸試驗結果中發現，微生物累積攝氧量逐日漸少（約 80 mg- O_2 ），但在添加 200 mg 的營養鹽後累積攝氧量大幅提高（約 160 mg- O_2 ），表示營養鹽提昇微生物降解柴油的能力，並不會限制微生物降解柴油。

7. 感謝委員支持與肯定。

8. 本研究團隊秉持敬業的精神，感謝委員的指導。

9. 感謝委員對本計畫的支持。

環保署意見審查

計畫單位回覆

無意見

感謝貴署給予本計畫支持與肯定。

專案基本資料表

專案性質		<input checked="" type="checkbox"/> 實驗性質 <input type="checkbox"/> 非實驗性質		專案類別(單選)		<input checked="" type="checkbox"/> 研究專案 <input type="checkbox"/> 模場試驗	
研究主題		<input type="checkbox"/> 調查 <input checked="" type="checkbox"/> 整治 <input type="checkbox"/> 評估 <input type="checkbox"/> 底泥					
申請機構系所		朝陽科技大學環境工程與管理系所					
機構地址		台中市霧峰區吉峰東路 168 號					
計畫主持人		劉敏信		職等／職稱		副教授	
協同主持人				職等／職稱			
專案 名稱	中文	強化被動式生物通氣系統應用於污染場址之操作參數探討					
	英文	A Study on Operation Parameters of Enhanced Passive Bioventing System at Contaminated Sites					
	關鍵字	被動式生物通氣系統、柴油類石油碳氫化合物、風力驅動，氣泡式呼吸儀					
執行期程		自 民 國 1 0 3 年 1 2 月 1 日 起 至 民 國 1 0 4 年 1 1 月 3 0 日 止					
計畫主持人		姓名：劉敏信		Email：jliu@cyut.edu.tw		專線：04-23323000#4529 手機：0910-599767	
專任助理		姓名：		Email：		專線： 手機：	
計 畫 經 費 概 算	專 案 預 估 經 費		金 額		編列說明		
	1.	人事費用	282,000		(1~5 項相加之 50%為限)		
	2.	貴重儀器使用含維護費	15,000		(與計畫實驗相關)		
	3.	消耗性器材與主要費用	683,000		(與計畫主體相關)		
	4.	其它研究相關費用	0		(差旅與租賃費用)		
	5.	雜支費用	20,000		(1~6 項相加之 5%為限)		
	6.	行政管理費	100,000		(1~5 項相加之 10%為限)		
	專案計畫申請總金額		1,100,000				

說明：

1. 本署以部份補助為原則，得指定不補助項目，不補助項目應為自籌款項，應自行核銷不得申請。
2. 非實驗性質之專案，若第一項費用編列金額超出比率，須於申請時向本署專簽說明，俾利審查。
3. 補助專案經費編列自申請起經專案核准後，經費編列中各項費用單價與需求只可減少與下修。

專案主持人(簽名及蓋章)：日期：104 年 11 月 24 日

行政院環境保護署土壤及地下水污染整治基金管理會

土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案

104 年度專案成果績效自評表

一、專案基本資料

填表日期：104 年 11 月 24 日

專案性質	<input checked="" type="checkbox"/> 實驗性質 <input type="checkbox"/> 非實驗性質		專案類別	<input checked="" type="checkbox"/> 研究專案 <input type="checkbox"/> 模場試驗
研究主題	<input type="checkbox"/> 調查 <input checked="" type="checkbox"/> 整治 <input type="checkbox"/> 評估 <input type="checkbox"/> 底泥			
申請機構系所	朝陽科技大學環境工程與管理系	計畫主持人	劉敏信	
專案名稱	強化被動式生物通氣系統應用於污染場址之操作參數探討			
專案執行期程	<input type="checkbox"/> 申請階段 <input type="checkbox"/> 期中 <input checked="" type="checkbox"/> 期末			

二、成果績效自評

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

(一) 學術面

項目 \ 目標達成程度			申請 預估數	期中 達成數	期末 達成數	結案 達成率	備註 (說明未達成原因或學術產 出發表日期、發表處、發表名 稱、影響指數等)
A 學術產出及活動	1.國內投稿 (篇數)	(1)論文	0	0	0		
		(2)研討會論文	3	0	2	67%	預計參與的國內研討會因為訓練研究生，改為參加國外研討會。
	2.國外投稿 (篇數)	(1)期刊論文	2	0	1	50%	近期已參與三場國外研討會，預計研討會完成後投稿。
		(2)研討會論文	1	3	3	100%	
	3.報告 (篇數)	(1)技術報告	0	0	0		
		(2)研究報告	1	1	1	100%	
	4.專著 (本數)		0	0	0		
	5.辦理學術 會議(場數)	(1)研討/說明會	0	0	0		
		(2)成果發表會	0	0	0		
		(3)論壇	0	0	0		
	6.研發改良 技術(項數)	(1)已開發技術	0	0	0		
		(2)技術平台	0	0	0		
B	7.研發人員	(1)碩士	3	3	3	100%	

項目 \ 目標達成程度			申請 預估數	期中 達成數	期末 達成數	結案 達成率	備註 (說明未達成原因或學術產 出發表日期、發表處、發表名 稱、影響指數等)
人才 培育	(人數)	(2)博士	0	0	0		
	8.研究團隊 (個數)	(1)跨領域團隊	0	0	0		
		(2)跨國團隊	0	0	0		
		(3)跨機構團隊	0	0	0		
		(4)形成研究中心	0	0	0		
		(5)形成實驗室	0	0	0		
9.其他指標 (請自行命名)		(請自填)					

(二) 產業面

項目				目標達成程度	申請 預估數	期中 達成數	期末 達成數	結案 達成率	備註 (說明未達成原因或專利、技 術轉移相關詳細資料)
A 智慧 財產 權	1.專利 (件數)	已 核 准	發明	0	0	0			
			新型/設計	0	0	0			
			合計	0	0	0			
		申 請 中	發明	0	0	0			
			新型/設計	1	1	1	100%		
			合計	1	1	1	100%		
B 研 發 技 術 轉 移	2.先期技術 成果移轉	件數		0	0	0			
		授權金(仟元)		0	0	0			
		衍生利益金(仟元)		0	0	0			
	3.技術移轉 (專利)	件數		0	0	0			
		授權金(仟元)		0	0	0			
		衍生利益金 (仟元)		0	0	0			
	4.技術移轉 (應用技術)	件數		0	0	0			
		授權金(仟元)		0	0	0			
		衍生利益金(仟元)		0	0	0			
	5.可移轉 產業技術	(1)技術(件數)		1	1	1	100%		
		(2)品種/系(件數)		0	0	0			
6.其他指標 (請自行命名)		(請自填)							

(三) 政策面

項目 \ 目標達成程度			申請預 估數	期中 達成數	期末 達成數	結案 達成率	備註 (說明未達成原因或 其他詳細資料)
A 服 務 便 民	1.技術服務	次數	0	0	0		
		收入(仟元)	0	0	0		
	2.諮詢服務	次數	0	0	0		
		收入(仟元)	0	0	0		
B 支 援 合 作	3.協助政府制 定 (件數)	(1)政策	0	0	0		
		(2)法規	0	0	0		
		(3)規範	0	0	0		
		(4)標準	0	0	0		
4.其他指標 (請自行命名)		(請自填)					

三、請依學術成就、技術創新、經濟效益、社會影響等方面，評估研究成果對現況或本署之學術或應用價值。（簡述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性，500 字為限）

去年度(103 年度)計畫利用風力驅動式生物通氣設備應用於柴油污染場址之改善整治，已經針對配置的污染土壤中柴油以三種本土微生物 *Bacillus cereus*、*Achromobacter xylosoxidans* 及 *Pseudomonas putida* 在1個月左右，由高濃度 25,000 mg/kg 降解至約 5,000 mg/kg 濃度值，證實被動式生物通氣法應用於柴油污染場址的技術可行性，將大幅減少整治場址中所需能源的耗損。試驗過程中並以氣泡式生物呼吸儀探討微生物在污染物降解過程中攝氧活性的狀況，提供污染物降解過程中對微生物生長狀況評估的重要參考指標，在學術成就上，此方法證實比微生物菌落數量分析更能瞭解微生物降解污染物的效率。

本年度(104 年度)計畫將風力驅動式生物通氣設備及污染模場進行改良，使其更類似污染實場的狀態，而且本年度使用某場址風化超過 2 年的柴油污染土壤進行試驗，可提供本計畫設備系統應用於柴油污染實場的成效驗證，確實可以利用本風力驅動生物通氣系統將土壤中柴油濃度降至法規管制標準值 1,000 mg/kg 以下。並且對於柴油中不同生物分解難易度的成份分別探討，可確認柴油污染物藉由生物降解的極限程度。並且本計畫對於微生物遇到高濃度污染物的抑制可能性，經由微生物的不同馴化方式，可以強化生物通氣法的可靠性。同時經由微生物降解柴油濃度的趨勢分析，可分別探討三種微生物降解柴油的動力學速率參數，提供實場應用生物通氣法的操作設定條件及預期成效。

研究成果中文摘要

本年度計畫於實驗室建立風力驅動式生物通氣(Wind-driven Bioventing)模場應用於風化超過 2 年的柴油污染土壤，使用之土壤經質地分析認定為壤質砂土，適合以生物通氣設備進行污染整治；試驗中同時使用氣泡式呼吸儀(Bubble Respirometer)搭配生物泥漿法進行土壤中微生物活性監測，探討生物通氣法整治柴油污染土壤的成效與微生物活性之關係。經 103 年度成果報告可得知，*Bacillus cereus* 菌(代號 BC)、*Achromobacter xylosoxidans* 菌(代號 F3B)、*Pseudomonas putida* 菌(代號 PS)等 3 株菌具有柴油降解能力，因此本計畫持續 103 年度計畫，模場實驗組別為五組，分別為三組添單一菌種組、一組添加混菌組(Mixture 組)及空白(Blank)組，Blank 組為未植菌且未通氣空白試驗組，土壤中營養源比例為碳、氮、磷比 100：10：1，採樣點固定為距中央通氣管 15 cm 處，同時本實驗事先以少量柴油馴化此三種植菌，再搭配強化被動式生物通氣系統，探討降解風化柴油污染土壤之成效。以氣泡式呼吸儀於降解期間對各組別進行呼吸試驗及監測，將每批次試驗開始 24 小時間攝氧率統計作圖可得一活性曲線，藉由曲線變化能協助操作人員評估微生物活性趨勢。呼吸試驗結果顯示，在七週的柴油降解試驗中，5 日的總累積攝氧量以 BC 組與 PS 組微生物具有良好的攝氧條件，相較於其他 3 個組別，有較平穩的狀態下呈現攝氧情形，結果亦發現添加營養鹽確實有效增加微生物的活性。由批次翻拌好氧反應槽試驗結果顯示，BC 菌組較適合生存於高濃度柴油污染土壤中，提高其事先馴化柴油濃度有助於降解之成效，F3B 和 PS 菌組在試驗 14 天後，馴化組及未馴化組會出現明顯的降解效果差異。PS 菌組在試驗 21 天時皆出現 2 週的降解平緩現象，在試驗 49 天後馴化 8,000 $\mu\text{L/L}$ 組降解率達 79.5% 為最佳。馴化 8,000 $\mu\text{L/L}$ 組中，三種菌組皆有較好的降解成效。提高 F3B 菌組之馴化濃度有助於降解成效，但過高的馴化濃度無法提供更好的效果。經強化被動式生物通氣系統試驗結果顯示，各組對風化柴油皆有相當穩定的降解趨勢，添加菌種 *Achromobacter xylosoxidans* 的 F3B 組柴油殘餘率(C/C_0)0.25 為最低，尤其 F3B 組於添加營養鹽後可出現明顯降解之成效。

研究成果英文摘要

Major effort of this year's research is devoted to pilot study on measuring the effectiveness of wind-driven bioventing in remediating the diesel fuel contaminated soil. Tested soil was identified as loamy sand, conducive to bioremediation with wind-driven bioventing. Soil was seeded with each of 3 microorganism species, *Bacillus cereus* (BC), *Achromobacter xylosoxidans* (F3B) and *Pseudomonas putida* (PS); these microorganisms are capable to biodegrade diesel fuel as identified in previous yearly report. One soil was seeded with all three microorganisms' Mixture and another soil was functioning a blank without seeding and ventilation. The soils were nutrient balanced with 100:10:1 CNP ratio. All testing samples were taken from locations 15cm away from the central venting casing. Concomitantly, 24-hr oxygen uptakes were measured with a bubble respirometer collocated with bioslurry method and analyzed graphically to estimate the viability of microorganisms employed. These viability data were then compared with the effectiveness of remediation data with a purpose to uncover the possible relation between the two sets of data. During 7-week bioventing pilot study, BC and PS groups showed better 5-day cumulative oxygen uptake than the rest, both in terms of the amount of accumulation and steadiness. In the study of batch aeration and mixing test, the results showed that the BC group is more active than the rest in high diesel environmental condition. The microorganisms were acclimated with diesel prior to applying to high diesel contaminated soil, the degradation efficiency of F3B and PS groups also showed the difference between with and without acclimation of microorganisms. The degradation curve revealed that PS group became gentle in two weeks, the optimal condition was to use 8,000 $\mu\text{L/L}$ diesel acclimation concentration in 49-day experiment, and the diesel degradation efficiency could approach to 79.5%. However, the higher acclimation concentration was not suitable for any microorganism. The results also appear to show the biological viability is enhanced by the supplement of nutrients. This yearly study clearly demonstrates that the concentrations of diesel fuel contaminants were trending down steadily, with relative diesel concentrations (C/C_0) of 0.25 by F3B seeding and possible lower with nutrient addition.

目錄

一、前言	1
二、研究目的	1
三、文獻探討	2
3.1 總石油碳氫化合物	2
3.2 油品污染對環境之影響	3
3.3 柴油特徵化合物 Pristane 與 Phytane 之分析	4
3.4 生物通氣法 (Bioventing)	7
3.5 土壤微生物呼吸作用	8
3.6 具柴油降解能力之本土菌種	9
3.7 生物泥漿法	10
3.8 Mann Kendall Test 趨勢判斷	11
3.9 氣泡式呼吸儀	11
3.10 微生物動力學模式	14
3.11 國內外相關執行情形	15
四、研究方法與步驟	20
4.1 研究架構	20
4.2 氣泡式呼吸儀系統建立	20
4.3 土壤生物通氣模場建立	21
4.4 研究步驟說明	25
4.5 GC/FID 分析方法	26
4.6 呼吸儀校正方法	28
4.7 微生物培養與馴化實驗方法與步驟	30

4.8 批次式翻拌曝氣反應槽試驗方法與步驟.....	30
4.9 微生物族群研究.....	31
4.11 營養源添加對微生物生長狀況分析.....	32
五、結果與討論	34
5.1 土壤模場背景調查.....	34
5.2 改良污染土壤試驗模場.....	36
5.3 生物通氣模場風力調整參數.....	36
5.4 批次翻拌曝氣反應槽試驗.....	37
5.5 生物通氣系統植菌微生物試驗.....	39
5.6 模場土壤微生物降解柴油試驗.....	46
5.7 間歇性風力驅動試驗.....	52
5.8 降解動力學參數推估.....	54
5.9 結論.....	59
5.10 建議.....	60
參考文獻	61

圖目錄

圖 3-1 新鮮柴油與柴油污染樣品指紋圖譜對比.....	4
圖 3-2 C ₁₇ 、Pristane、C ₁₈ 及 Phytane 之化學結構圖.....	6
圖 3-3 Pristane 及 Phytane 之形成過程示意圖.....	6
圖 3-4 生物通氣系統示意圖.....	7
圖 3-5 現地呼吸測試氣體濃度變化圖.....	9
圖 3-6 氣泡式呼吸儀設備.....	12
圖 3-7 氣泡式呼吸儀實景照.....	12
圖 3-8 往復式震盪恆溫水域.....	13
圖 3-9 生物分解瓶.....	15
圖 3-10 生物分解瓶呼吸試驗累積攝氧圖.....	16
圖 3-11 不同濃度受機油污染土壤之生物呼吸試驗.....	16
圖 3-12 活性污泥中經馴化的微生物累積攝氧圖.....	17
圖 3-14 非生物性攝氧測試之累積攝氧曲線圖.....	19
圖 3-15 非生物性攝氧試驗之攝氧率圖.....	19
圖 4-1 本年度計畫研究架構圖.....	21
圖 4-2 土壤質地分析圖.....	22
圖 4-3 土壤生物通氣模場設計.....	23
圖 4-5 土壤生物通氣模場實景圖.....	24
圖 4-6 生物通氣系統示意圖.....	25
圖 4-8 氣泡式呼吸儀校正法示意圖.....	29
圖 4-9 各微生物不同時間 OD 值生長曲線.....	30
圖 5-1 不同柴油品種之組成成份百分比.....	35

圖 5-2 土壤遭受污染後風化前後柴油之組成成份百分比.....	35
圖 5-3 模場試驗桶增設通氣孔與無通氣孔之氧氣濃度比較.....	36
圖 5-4 各種馴化柴油濃度狀況下 <i>Achromobacter xylosoxidans</i> 降解柴油濃度之時間變化	38
圖 5-5 各種馴化柴油濃度狀況下 <i>Bacillus cereus</i> 降解柴油濃度之時間變化	38
圖 5-6 各種馴化柴油濃度狀況下 <i>Pseudomonas putida</i> 降解柴油濃度之時間變化	39
圖 5-7 生物通氣模場不同植菌後之 30 週累積攝氧量變化趨勢.....	40
圖 5-8 植菌種前(第 0 周)微生物累積攝氧量曲線	41
圖 5-9 植菌種後第 1 週微生物累積攝氧量曲線.....	41
圖 5-10 植菌種後第 2 週微生物累積攝氧量曲線.....	42
圖 5-11 植菌種後第 3 週微生物累積攝氧量曲線.....	42
圖 5-12 植菌種後第 4 週微生物累積攝氧量曲線.....	43
圖 5-13 植菌種後第 5 週微生物累積攝氧量曲線.....	44
圖 5-14 植菌種後第 6 週生物累積攝氧量曲線.....	44
圖 5-15 植菌種後第 7 週微生物累積攝氧量曲線.....	45
圖 5-16 植菌種後第 18 週微生物累積攝氧量曲線.....	45
圖 5-17 植菌種後第 23 週微生物累積攝氧量曲線.....	46
圖 5-18 生物通氣法不同植菌土壤模場之柴油濃度殘餘率圖	47
圖 5-19 各微生物試驗組對 C17、C18、Pr、Ph 降解分析圖	49
圖 5-20 各微生物試驗組柴油降解 126 日前後圖譜比較圖	50
圖 5-21 各微生物試驗組柴油不同碳數成分之降解率.....	51
圖 5-22 間歇性風力驅動式生物通氣模場啟動前微生物累積攝氧量曲線.....	53
圖 5-23 間歇性風力驅動式生物通氣模場啟動後微生物累積攝氧量曲線.....	53

圖 5-24 未柴油馴化組降解柴油之實驗值與模式預估比較圖	54
圖 5-25 以 2,000 $\mu\text{L/L}$ 柴油馴化組降解柴油之實驗值與模式預估比較圖	56
圖 5-26 以 4,000 $\mu\text{L/L}$ 柴油馴化組降解柴油之實驗值與模式預估比較圖	57
圖 5-27 以 8,000 $\mu\text{L/L}$ 柴油馴化組降解柴油之實驗值與模式預估比較圖	58

表目錄

表 3-1 石油 API 值與油品分類之關係	2
表 3-2 生物通氣法優缺點比較表	7
表 3-3 氣泡式呼吸儀 (Bubble Respirometer) 資料	12
表 3-4 往復式震盪恆溫水域槽 WBS-L 資料	13
表 5-1 土壤模場背景資料	34
表 5-2 生物通氣模場植種微生物降解柴油濃度趨勢統計分析	48
表 5-3 間歇性風力驅動式生物通氣模場啟動後土壤中氧氣濃度	52
表 5-4 未柴油馴化組降解柴油之動力學參數	55
表 5-5 以 2,000 $\mu\text{L/L}$ 柴油馴化組降解柴油之動力學參數	56
表 5-6 以 4,000 $\mu\text{L/L}$ 柴油馴化組降解柴油之動力學參數	57
表 5-7 以 8,000 $\mu\text{L/L}$ 柴油馴化組降解柴油之動力學參數	59

一、前言

在受到油品污染的場址中，多是因為地下儲油槽或埋設的油管線因老舊、破損等原因導致洩油發生。因此藉由生物通氣法（bioventing）供給氧氣及添加營養鹽，將原本處於厭氧狀態的污染土層，轉變為通氣環境，刺激以分解油品污染物為主的好氧微生物生長。生物通氣法被廣泛運用在油品污染的場址整治，雖然整治期通常需要 6 個月至 2 年，且易受土壤性質影響整治成效，無法立即有明顯成效，因此可藉由生物添加及生物強化的方式來輔助並優化生物通氣法。而在一般整治過程中，通常每隔一段時間會使用氣相層析儀/火焰離子化偵測器（GC/FID）分析土壤中油品污染的殘留濃度，從污染物濃度的降解變化評估生物通氣法的整治成效，並量測微生物進行呼吸反應時會消耗氧氣並產生二氧化碳的現象，來評估微生物生長活性情形。

二、研究目的

由於生物通氣法是藉由額外提供氧氣及營養源，讓原本處於厭氧環境下的油品污染土壤轉變為通氣好氧環境，促進具有降解油品能力的好氧微生物能大量的增殖，使污染濃度降低，整治期通常需要 6 個月至 2 年，且易受土壤性質影響整治成效，由 103 年度計畫成果報告可得知，由原生微生物篩分的 *Bacillus cereus* 菌(代號 BC)、*Achromobacter xylosoxidans* 菌(代號 F3B)、*Pseudomonas putida* 菌(代號 PS)等 3 株菌具有柴油降解能力，因此本計畫於實驗室設置厭氧環境的土壤生物通氣模場，模擬柴油類儲油槽洩漏，導致周圍土壤受柴油污染之情形，並馴化三種菌株添加進模場中，強化生物通氣法降解成效。整治過程中分別監測土壤中微生物的攝氧狀況，作為活性之指標，亦嘗試說明以 GC/FID 分析整治初期污染物濃度曲線呈現不穩定下降之原因，作為以微生物為主的污染物降解參考之依據，試驗中同時利用氣泡式呼吸儀搭配泥漿法進行批次式的土壤呼吸試驗，連結柴油污染物降解與微生物活性之關係。在屏除污染物自然揮發的可能之下，獨立以批次生物反應槽試驗推估對柴油污染物的生物降解動力學，探討生物通氣法中微生物面臨柴油污染時，對污染物降解所提供之速率與貢獻，達到善用資源的整治目的。

三、文獻探討

3.1 總石油碳氫化合物

總石油碳氫化合物 (Total Petroleum Hydrocarbons, TPHs)，碳數分布由 C6 到 C40 等之石油碳氫化合物，日常生活中有許多原料汽油、煤油、柴油、燃料油等皆是屬於總石油碳氫化合物 (環保署，2003)。土壤及地下水受到油品污染，其主要原因來源包括地下儲油槽、油管破裂、及地面油品意外洩漏等 (Brassington *et al.*, 2007)

總石油碳氫化合物由多種碳氫化合物所組成之混合物，成分相當多樣且複雜，有其碳氫化合物依化學結構分為兩大類，分別為脂肪族 (Aliphatics) 與芳香族 (Aromatics)。脂肪族化合物中以碳原子、直鏈、環狀排列，有烷烴類、烯烴類或炔烴類與氧、氮、硫、氯等物質，甲烷 (CH₄) 為最簡單常見的脂肪族化合物。芳香族則以苯 (Benzene)、甲苯 (Toluene)、乙苯 (Ethylbenzene)、二甲苯 (Xylene)，簡稱為 BTEX 最受矚目。日常生活用品中苯乙烯、苯酚、尼龍都是以苯及甲苯所製成。

造成環境中油品污染主要有以下兩種，可由石油比重而分類為輕質油品、中級油品、重質油品。比重單位為 API (American Petroleum Institute)，其定義是 $API = (141.5 / \text{比重}) - 131.5$ 。當比重為 1 時，API 相當於 10；比重大於 1 時，API 則小於 10；比重小於 1 時，API 則大於 10。而 API 值與油品分類之關係如表 3-1 所示。

表3-1石油API 值與油品分類之關係

API	比重值	油品分類
≥ 40	0.825	輕質油品
35	0.850	中級油品
≥ 30	0.876	重質油品

汽油為比重輕的原油，含硫量少，且黏度低，易於流動，也代表商業價值高、品質佳等特性。【徐等人，1998；李，2013】

(一) 重質油品－柴油

柴油(Diesel fuel)為石油中的分餾物，依主要用途為陸上用及海上用兩大類，陸上用部分，日常生活中柴油常被使用在引擎燃料油、工業及發電燃料等用途上，環保署規定限用含硫量 10ppm 以下之柴油。海上用區分為漁船使用的甲種漁船油，及一般船舶及國際船舶所使用的海運柴油，主要差別為含硫量，超級柴油硫含量 10 ppm 以下，甲種漁船油 1.0% 以下，海運柴油 1.5% 以下【中國石油，2015】。

(二) 輕質油品－汽油

汽油(Gasoline)為一種無色，淺棕色，或粉紅色的液體，易燃性。汽油含有 150 種以上的化學物質，包括少量的苯、甲苯、二甲苯，有時會含鉛等物質。市售上的汽油種類有九八、九五及九二無鉛汽油等。吸入高濃度的汽油會導致吸入時刺激肺部，吞嚥時刺激胃壁。汽油也會對皮膚產生刺激。短時間內吸入高濃度的汽油或吞入大量汽油會對神經系統造成嚴重的影響。嚴重的神經系統影響包括昏迷與呼吸困難，輕微的影響則是暈眩與頭痛。

3.2 油品污染對環境之影響

油品污染對於自然界中的土壤帶來相當大的危害。油品污染土壤在加油站面積最為常見的受污染區域為儲油槽，以 BTEX 及總碳氫化合物(TPHs)為要污染源。當發生污染時不易察覺，且土壤被燃料油、汽油、柴油污染最為常見嚴重之污染問題。

加油站的油品洩漏主要污染來源可能包括：(一)煉油廠油槽、輸送管線外洩或排放含油廢水與廢油；(二)加油站油槽槽齡過久，因腐蝕等現象而產生洩油現象；(三)油輪排出壓艙水或清洗船艙。這些油品造成之污染，頻受各界重視及舉發。油品污染物在環境中之宿命主要有光分解、揮發、擴散、土壤吸附、淋洗、生物降解及化學分解等現象【史，2001；車，1993；林，1999】。

在地表水方面，當油品洩漏進入地表水後，會產生擴散、蒸發、溶

解、解化、乳化及降解等過程【史，2001；King,1978】加上油的密度比水小，會在水體表面形成一層浮油，降低水體中氧氣的傳輸及光線的穿透能力，阻礙藻類及水生植物之光合作用與魚貝類等水中生物生長。而地下水影響方面，地下飽和含水層中油品的主要來源為存在土壤孔隙中之油品，經由重力及毛細管作用，沿地下水流向經由垂直或水平傳輸到達至地下水面。

3.3 柴油特徵化合物 Pristane 與 Phytane 之分析

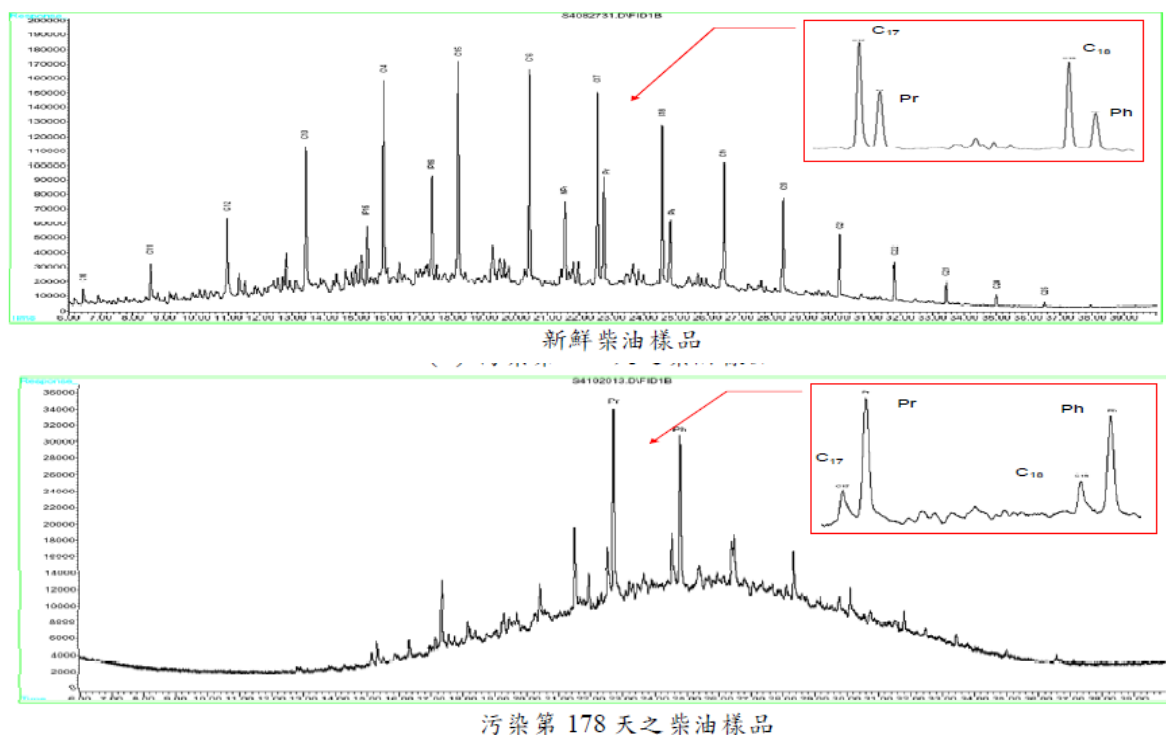


圖3-1 新鮮柴油與柴油污染樣品指紋圖譜對比【黃，2005】

由文獻中柴油指紋圖譜於風化作用過程所產生的變化，可以獲得另一項有用資訊，即柴油中的直鏈碳氫化合物部份（即正烷烴類C₉至C₂₅）極容易在土壤微生物的作用下被降解，使整體污染物濃度持續降低；而支鏈碳氫化合物部份如Pristane及Phytane，相對於直鏈碳氫化合物而言是較不易被微生物作用所降解的，因此其變化極微。至洩漏污染的第178天時，指紋圖譜上幾乎已經看不到C₁₇至C₁₈的特徵譜峰，而Pristane及Phytane則成為指紋圖譜上最為明顯之特徵化合物。以圖3-1可以清楚觀察C₁₇與C₁₈的含量相對於Pristane及Phytane而言明顯的減少，但Pristane及Phytane間的相對含量則幾乎維持一

定之比例，因此可進一步作為柴油污染源鑑定之重要參考。Pristane（異十八烷，Pr）及Phytane（植烷，Ph）主要來自於葉綠素之植醇（Phytol），在原油、中級凝結油及潤滑油的化學指紋圖譜中是位於 C_{17} 與 C_{18} 的右邊，其個別之化學結構如圖3-2。Pristane及Phytane在石油探勘上之應用係作為沉積環境鑑定及油源比對的指標，因為Pristane及Phytane在有機物於地層中沉積穩定後就幾乎不會改變【黃，2005】，因此不同的油品來源，其Pristane及Phytane的相對比值就不同。Pristane與Phytane是由含20個碳（ C_{20} ）的植醇在不同氧化還原環境條件下所衍生而來，通常在陸相的沈積環境中，因為氧氣較多，屬於氧化環境，因此植醇中的C-OH較易氧化成 CO_2 而斷掉一個C-C鍵，最後形成19個碳的Pristane，但若是在海相或是湖相中，則因為氧氣較少，屬於還原環境，因此植醇有較多的機會直接進行氫化反應而形成含20個碳的Phytane（如圖3-3）。故一般陸相沈積環境所形成的油，其Pristane的量大於Phytane，但在海相或湖相（尤其是深湖相）所形成的油則可能Phytane的量大於Pristane（視還原環境之程度而定）【林，2003】。台灣的沈積環境是屬於陸相沈積的高氧化環境，所以發現之凝結油Pristane/Phytane的比值通常在3以上；中東地區大部分是屬於海相沈積環境，Pristane/Phytane的比值通常在1~1.5附近；而若是屬於深湖相之沉積環境，Pristane/Phytane的比值甚至低於1以下。

而在本計畫研究所使用的“新鮮”柴油油品中， C_{17} 及 C_{18} 比Pristane及Phytane較為明顯，相對含量較高，但當石油碳氫化合物經生物降解後，微生物優先降解 C_{17} 及 C_{18} ，於是在化學指紋圖譜反倒呈現出Pristane和Phytane較 C_{17} 與 C_{18} 明顯之現象【吳，2003】。因此利用 C_{17} /Pristane、 C_{18} /Phytane及Pristane/Phytane的比值關係，不僅可以用來判定石油碳氫化合物受微生物降解的情形，更可作為污染來源鑑定之重要參考。

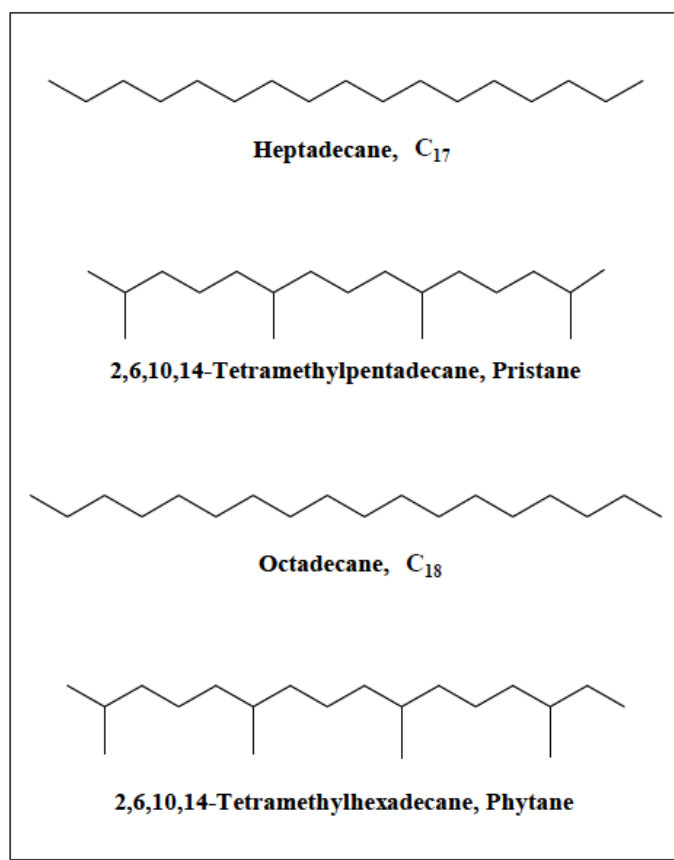


圖3-2 C_{17} 、Pristane、 C_{18} 及Phytane之化學結構圖

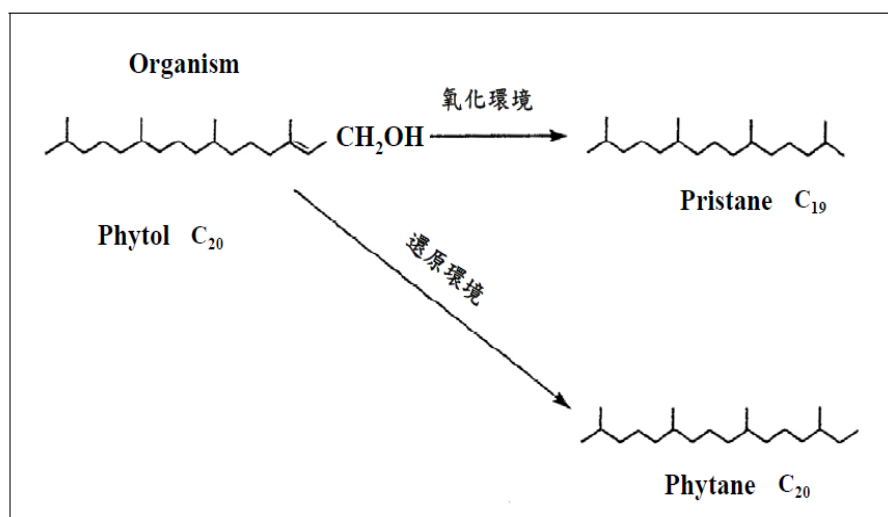


圖3-3 Pristane及Phytane之形成過程示意圖

3.4 生物通氣法 (Bioventing)

生物通氣法利用環境中原有微生物，對吸附於土壤中之有機污染物進行生物降解的一種現地土壤污染整治技術。此技術在不飽和層中，利用注氣井或抽氣井產生空氣(或氧氣)的流動現象，或添加營養鹽的方式，促進原土壤微生物之代謝作用，具設備取得、容易安裝，整治期程一般六個月至二年。

生物通氣法已成功運用在處理石油碳氫化合物、非含氯溶劑、農藥及其他有機化合物的整治工作上，亦經常使用於分子量大的石油碳氫化合物，如柴油或飛機燃料油的處理上，且大部分應用於表土距地下水位超過 3 公尺深的場址中【陳，2002 年】。

表 3-2 生物通氣法優缺點比較表

優點	缺點
<ol style="list-style-type: none"> 1. 設備取得容易，易於安裝。 2. 處理時間較短，在最適條件下，平均約6個月至2年間可完成整治工作。 3. 每噸土壤處理費約45~140美元，耗費成本較低。 4. 容易與其他技術結合運用。(空氣注入法、抽出處理法等) 5. 可能不需要昂貴的尾氣處理費用。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 初始污染物濃度太高，可能對微生物造成毒性。 2. 低透水性、黏土質高的土壤層、地質條件不明確的情況下較不適用。 3. 無法達到太低的污染物濃度處理目標。 4. 需注入營養鹽，通常需要取得許可。

資料來源：USEPA, 2004

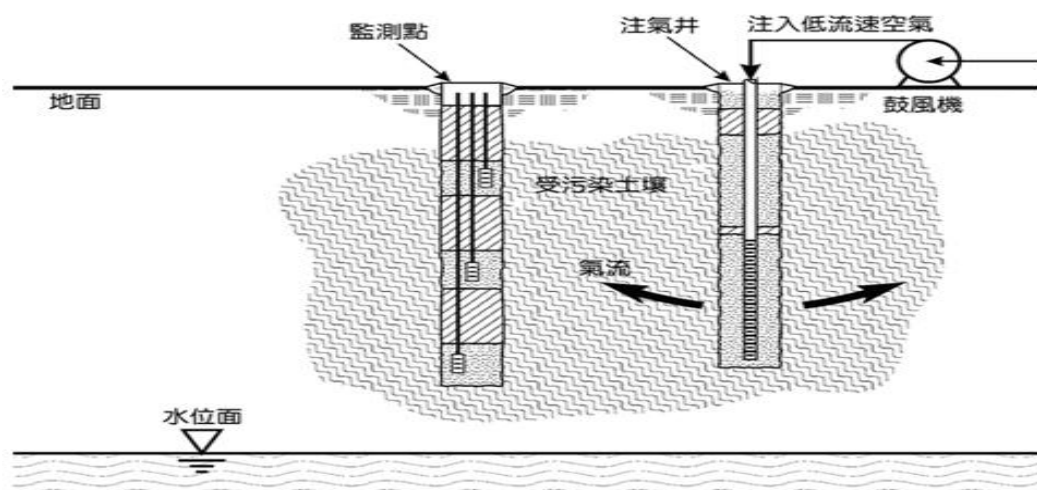


圖 3-4 生物通氣系統示意圖【USEPA,1994】

3.5 土壤微生物呼吸作用

土壤微生物呼吸是土壤產生二氧化碳的過程，牽涉到土壤中動物呼吸、植物根呼吸、土壤微生物呼吸與有機質的化學氧化作用等【Rastogi *et al.*, 2002】。然而污染場址中植物及動物不易存活，土壤微生物為了降解有機污染物而產生的呼吸作用，也就佔了土壤呼吸總量的大部分，因此也可將其視為微生物活性的一種測試方法。而測定土壤微生物活性的一項指標為呼吸速率，此一指標會受到微生物所處環境而有變化，包含土壤溫度、土壤 pH 值、含水率、污染濃度及土壤養分含量等因素的影響。Bossert (1984) 發現碳氫化合物的代謝速率會隨溫度增加而增加，最適溫度為 30~40°C，超過此溫度則其毒性將會傷害細胞膜。因此建立一個穩定的操作環境，可有效觀察到微生物在固定時程下呼吸速率的變化。

呼吸測試的目的在確定目標區域是否能提供空氣刺激好氧微生物降解，及好氧微生物降解氧氣的消耗速度【Dominguez *et al.*, 2012】。若假設以污染物為唯一碳源時，在相同的微生物生長條件下，累積攝氧量與污染物的降解將有成正比的關係。1 克碳氫化合物轉換變成 1 生物質量需要 150 mg 的氮和 30 mg 的磷，但若降解速率較快時，則所需碳的比例將增加【Rosenberg and Ron, 1996; Liebeg and Cutright, 1999】微生物在有氧碳氫化合物的降解過程中，不斷消耗氧氣，產生二氧化碳。因此，可透過土壤氣體中氧氣濃度和二氧化碳含量的變化來了解土壤中微生物的活性。因此以受總石油碳氫化合物污染的土壤進行定量呼吸測量測定，先將土壤充分曝氣使氧氣濃度提升，再將該曝氣區域密封並觀察其氧氣濃度與二氧化碳濃度變化，以濃度變化推估微生物活性。在進行生物通氣法時也可藉由二氧化碳濃度變化了解微生物降解情況【Hinchee and Ong, 1992】。

。

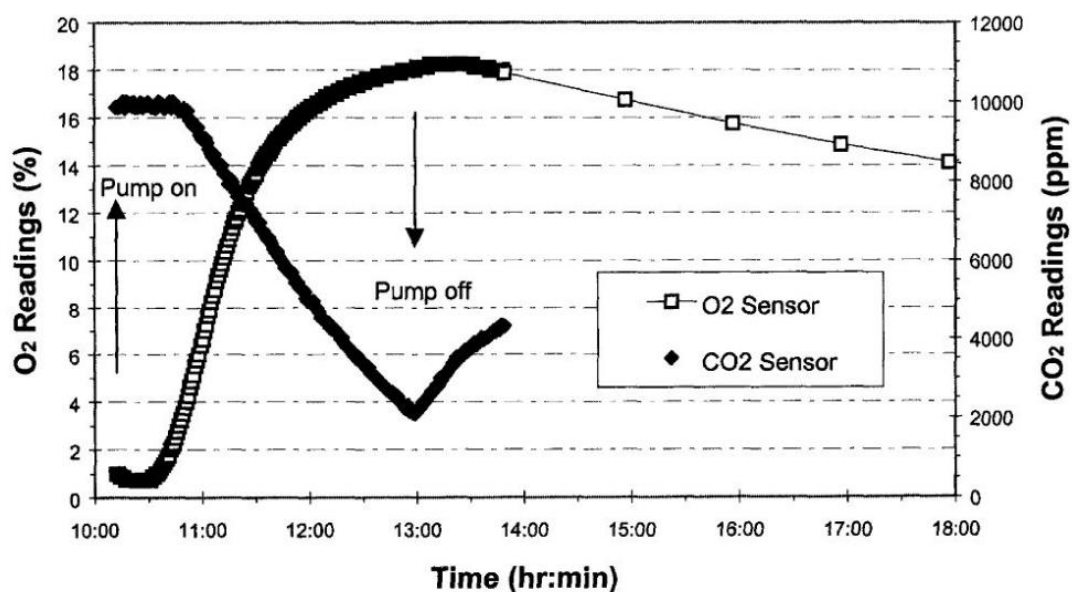


圖 3-5 現地呼吸測試氣體濃度變化圖【Hinchee and Ong, 1992】

3.6 具柴油降解能力之本土菌種

在土壤受到污染，尤其是有機化合物之污染時，有機污染物在土壤環境中的行為，受到土壤微生物所影響。尤其是當土壤微生物族群構成一個生化上的複雜系統，而有能力製造獨特的酵素，能分解大多數之有機污染物。目前各項研究中有許多可以降解碳氫化合物的菌種已被分離出來。這些被分離出的微生物中，較常見的菌屬有 *Achromobacter*、*Acinetobacter*、*Alcaligenes*、*Arthrobacter*、*Bacillus*、*Baeneckea*、*Corynebacterium*、*Flavobacterium*、*Nocardia*、*Pseudomonas*、*Vibrio*、*Xanthomonas* 等，並可看到有許多種菌屬在受油品污染的水體中與土中都出現，如 *Achromobacter*、*Acinetobacter*、*Bacillus*、*Nocardia*、*Pseudomonas* 等【曾，2005】。

可降解直鏈烷類的菌屬好氧類的有 *Acinetobacter*、*Pseudomonas*；厭氧類的有 *Pseudomonas*；支鏈烷類有 *Corynebacterium*、*Brevibacterium*、*Rhodococcus*、*Mycobacterium* 等；環烷類有 *Arthrobacter*、*Flavobacterium*、*Mycobacterium*、*Nocardia*、*Pseudomonas*、*Rhodococcus*、*Xanthomonas*；降解芳香烴族碳氫化合物的菌屬有 *Acinetobacter*、*Bacillus*、*Corynebacterium*、*Desulfovibrio*、*Pseudomonas*、*Xanthomonas*。學者 Gibson 也提到在大部分研究中，作為降解芳香碳氫化合物的菌種有，*Pseudomonas putida* 及一些 *Beijerinckia*、*Nocardia* 等菌屬。降解 PAHs 的菌屬有 *Alcaligenes*、*Beijerinckia*、*Pseudomonas*、*Rhodococcus*；

可降解含氮硫氧樹酯類的菌屬有 *Brevibacterium*、*Pseudomonas*、*Vibrio*、*Rhodococcus* 等。在這些石油化合物中皆有 *Pseudomonas*、*Rhodococcus* 等菌屬出現，所以在整體降解上這些菌屬所佔的比例常出現較多的情形【Gibson, 1971】。

在受污染場址進行生物通氣法整治時，土壤中微生物有時仍無法藉由充足的通氣及適量營養源環境下大量降解污染物，故可透過植入具有降解能力之菌種來輔助污染場址中的原生菌【Mariano *et al.*, 2008; Collaet *al.*, 2013; Szulcet *al.*, 2014; Cypliket *al.*, 2011】，以下污染場址中常見之菌種：

Pseudomonas putida 為一種熒光假單胞菌，具有惡臭，研究指出在現場進行 365 天研究測試，以 4 種(自然衰減法、添加鼠李醣脂、*Pseudomonas putida*、*Pseudomonas putida* 和添加鼠李醣脂)方式進行整治，結果顯示此菌種有助於提昇柴油生物降解的效率，而僅添加鼠李醣脂沒有顯著影響降解效果。

Achromobacter xylosoxidans 為一種木糖氧化無色桿菌，可藉由適當營養鹽添加來對微生物種群促進活性的作用。以生物刺激和生物強化的連續處理對 TPHs 降解有良好成效。

Bacillus cereus 為一種蠟樣芽胞桿菌，可從市面上購買、未受污染土壤中獲得、受 TPH 污染之地下水中以及污染整治場址中篩分菌種。以土壤中之原生菌的降解加油站柴油污染實驗中顯示，*Bacillus cereus* 能夠在 48 天降解已風化柴油，即使是從一個未受污染的土壤中接種的 *Bacillus cereus* 菌。

3.7 生物泥漿法

生物泥漿法可用於處理高濃度溶解性之有機污染物，是一種固液混合系統。主要是以添加大量水分使欲處理之污泥或土壤呈泥漿狀態，並利用混合攪拌幫助原生微生物 (Resident microorganisms) 與污染物在反應槽中接觸，並以曝氣、添加無機營養鹽、界面活性劑、控制 pH 及溫度等方式進一步促進微生物對有機污染物的分解效果【環保署，2009】。生物泥漿的原理為有機污染物從固相傳輸到液相中，並於液相中被微生物所分解利用後，固液相中有機物的分配重新達到平衡，此反應會不斷進行。然而，泥漿法的限制因子之一是有機物在固液相間的質傳速率，可藉由攪拌方式改善，另一個限制因子則為液相中有機物之生物降解，操作上會以曝氣、營養源添加及 pH 的調整

來增加微生物的活性，通常泥漿法中土壤之重量百分比約 10~30%【車，1999】。

3.8 Mann Kendall Test 趨勢判斷

由於實驗數據眾多需藉由統計分析輔助判斷降解趨勢，Mann-Kendall Test 能夠針對時間序列數據資料做趨勢檢定，並且可以改善資料缺值和低於偵測值的問題，是目前最常被使用的趨勢判斷統計方式。當 $\alpha = 5\%$ 、 $Z_{\alpha/2} = 1.96$ 時，若 Z_{well} 小於 -1.96 將判斷為有降解趨勢， Z_{well} 大於 1.96 則判斷為趨勢成長， Z_{well} 未超出 ± 1.96 範圍則判斷無明顯趨勢【許，2009】。

3.9 氣泡式呼吸儀

氣泡式呼吸儀是一微量氣體偵測設備，可根據使用需求進行好氧及厭氧之氣量監測，其好氧模式下最小氣泡偵測量為 0.08 mg/bubble，最大偵測速率為 600 mg/hr，基本資料如表 3-4 所示，流程設備及照片如圖 3-3 與圖 3-4。本研究相關組件分為氣泡計數元件、呼吸儀介面組、數據接受處理機、恆溫水域震盪器及反應瓶組，往復式震盪恆溫水域槽基本資料及照片如表 3-5 及圖 3-5 所示。氣泡式呼吸儀原理是利用一機制將氣體轉換為相同體積大小的氣泡，並以一控制電路計數紀錄，藉由固定時間內通過氣泡偵測器之氣泡，可換算成氣體之流量或體積。上述的機制是指，在一裝有某液體之管件中，利用該液體某定量水頭壓力來控制氣體，使氣體產生相同體積大小的單一氣泡，而通過管件之某處【江，2001】。

呼吸儀在進行好氧試驗時，反應瓶內因為生物分解有機物時產生的二氧化碳被 KOH 所吸收，瓶內即產生負壓，壓差累積至一個氣泡時，氣體會通過呼吸儀的氣泡產生器，形成體積相同的氣泡，經由通過紅外線氣泡計數器後，再由呼吸儀介面組及電腦進行數據接收與處理，並繪製出攝氧圖【陳，2003】。在某種情況下，特別是測試污泥之好氧消化時，應特別避免反應受限於供氧之質傳限制（Mass transfer），例如可藉由加強攪拌或避免使用太濃之污泥。由於氣泡式呼吸儀藉由氣泡偵測器，測定微生物之產氣量，但反應瓶攪拌的氧傳限制與壓力及溫度的變化則會導致誤差，這些缺失必須倚靠高靈敏度的逆止閥或控制組來避免【江，2001】。

表 3-3 氣泡式呼吸儀 (Bubble Respirometer) 資料

儀器名稱	氣泡式呼吸儀 (Bubble Respirometer)	
廠商資料	Challenge Environmental System, Inc. (CES)	
操作效能	AER-200 (好氧)	ANR-100 (厭氧)
最小偵測氣泡量 (IDL)	<0.08 mg/bubble	<0.10 mL/bubble
最大偵測速率	600 mg/hr	1500 mL/hr
校正精度	<1% Cv	<2% Cv
測量精度	<3% Cv	<3% Cv

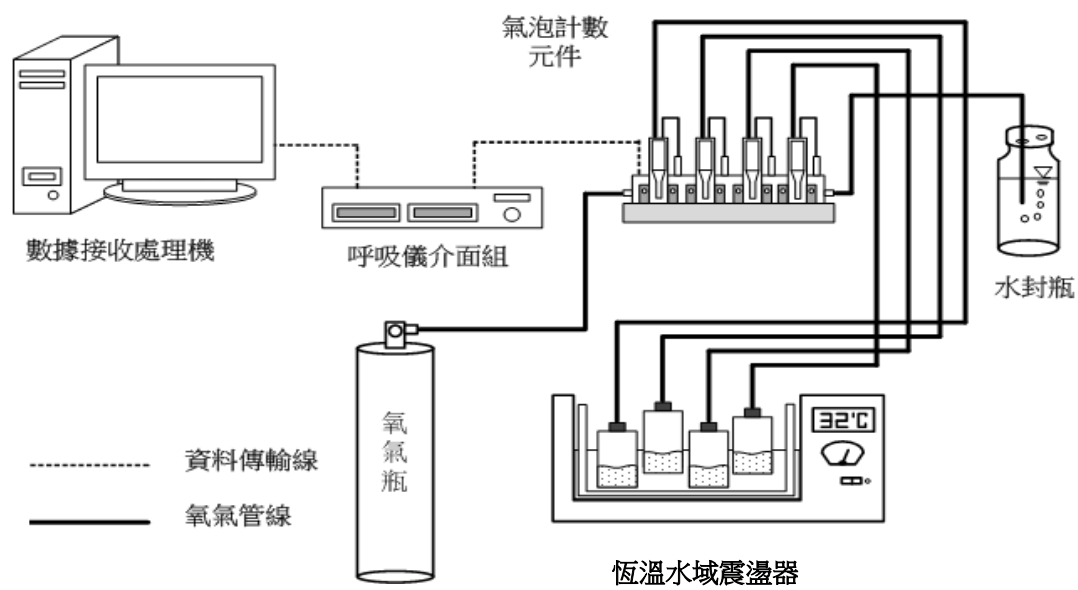


圖 3-6 氣泡式呼吸儀設備



圖 3-7 氣泡式呼吸儀實景照

表 3-4 往復式震盪恆溫水域槽 WBS-L 資料

儀器名稱	往復式震盪恆溫水域槽WBS-L
轉速	0～400 (rpm)
溫度控制	0 °C～60 °C
電壓電流	220 V/10 A



圖 3-8 往復式震盪恆溫水域

3.10 微生物動力學模式

環境中的微生物的系統相當複雜，動力學模型的是根據欲研究之微生物，在滿足物理學、化學及生理學規律的前提下，將此微生物的特性簡化，來描述研究對象的特性。本研究所使用的Monod 模式，是最常被用來描述微生物生長動力學的模式，此模式是由著名的法國生物學家Monod 於1940s 所發展出來的【Rittmann and McCarty, 2001】。

依生物處理之觀點而言，一般可將污染物分為四大類：生物可分解且不具抑制性、生物可分解且具抑制性、生物不可分解且不具抑制性、生物不可分解且具抑制性，建立微生物反應動力學模式時，可依單一基質分成二類加以深入探討。以下將之分為單一基質限制生長及單一基質抑制生長依序說明。

單一基質限制生長：

單一基質限制生長與單一基質抑制生長之差異，在於單一基質所討論的是沒有受到濃度或是其他因素影響其生物降解的過程，而抑制生長則在討論單一基質會受到濃度的影響，濃度過高會產生抑制的現象。Monod 模式被廣泛應用於描述為生物降解基質之速率，及基質去除率可以Monod(1949)方程式表示，如下式所示：

$$\mu = \mu_m \frac{S}{K_s + S}$$

其中 μ 為比生長速率($\text{mg biomass mg biomass}^{-1} \text{ h}^{-1}$)

μ_m 為最大比生長速率($\text{mg biomass mg biomass}^{-1} \text{ h}^{-1}$)

S 為基質濃度(mg/L)

K_s 為半飽和常數(在最大比生長速率一半時的基質濃度)(mg/L)

比生長速率之意義，表示單位時間單位生物量所產生的生物量；半飽和常數是表示在最大比生長速率一半時基質的濃度，半飽和常數越大，即表示達到最大比生長速率所需要的基質濃度要越大，即此菌種對此基質的親和力偏低；反之，若半飽和常數越小，則此菌種對此基質的親和力較高，也就表示此菌種適合用來處理此特定基質。

單一基質抑制生長：

當微生物生長過程中，若基質濃度太高，會使得微生物生長受到基質濃度的抑制，此時Monod 方程式不再適用，需使用修正後的Monod方程式，即一般常用的Haldane 方程式，來描述分解菌之生長動力模式(Yang and

Humphrey, 1975)，而Haldane 方程式一般又可稱為非競爭抑制方程式，如下式所示：

$$\mu = \frac{\mu_m \cdot S}{\left(K_s + S + \frac{S^2}{K_i}\right)}$$

其中 K_i 為微生物分解時的抑制係數(mg/L)

微生物之動力學參數值依不同菌種與培養環境，其半飽和常數(K_s)與抑制常數(K_i)值可能會有所不同；除了可由動力學模式來得知基質抑制效應外，當基質抑制微生物生長時，亦可由微生物生質量之變動來表示(Wang and Loh, 1999)。Haldane 方程式中，若實驗所求得之 K_i 值越大，表示抑制濃度越大，即基質的抑制作用較小，則越接近所述的單一基質限制生長的模式(Monod 模式)【沈，2010】。

3.11 國內外相關執行情形

文獻研究指出利用 250 mL 生物分解瓶 (Biometer flask) 進行呼吸試驗，如圖 3-9 所示。以柴油配置 0%、1%、5%、10%、20%、50% (w/w) 污染土壤在 pH 7.5、含水率 60%、已添加營養源條件下，定期取出 KOH 溶液作酸鹼滴定，以檢測 CO_2 產生量。結果顯示，5%、10% 於 15 天至 50 天後 CO_2 累積釋出量趨勢漸緩，20% 之 CO_2 量則穩定累加，顯示活性較好，而 50% 則因毒性抑制， CO_2 釋出量皆低於 20%，結果如圖 3-10 所示【倪，2011】。

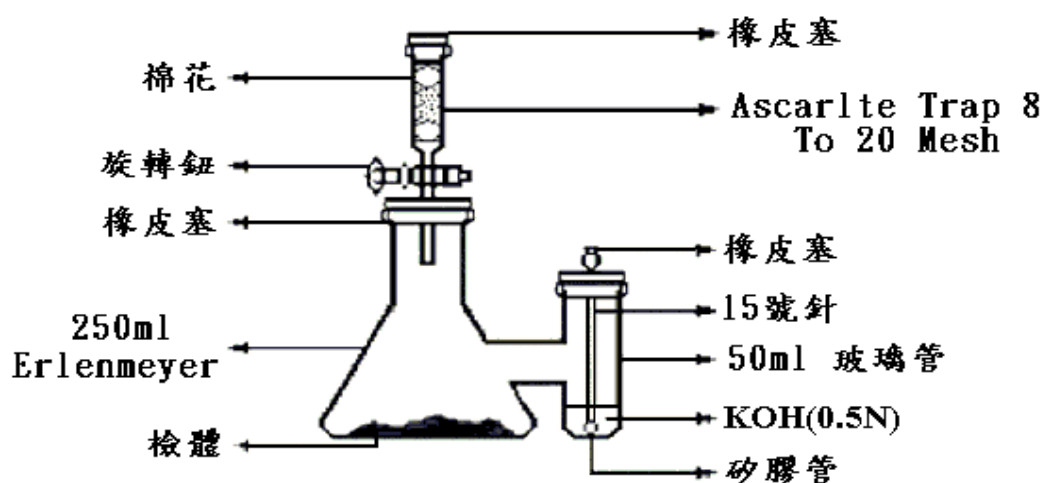


圖 3-9 生物分解瓶【Bartha and Pramer, 1965】

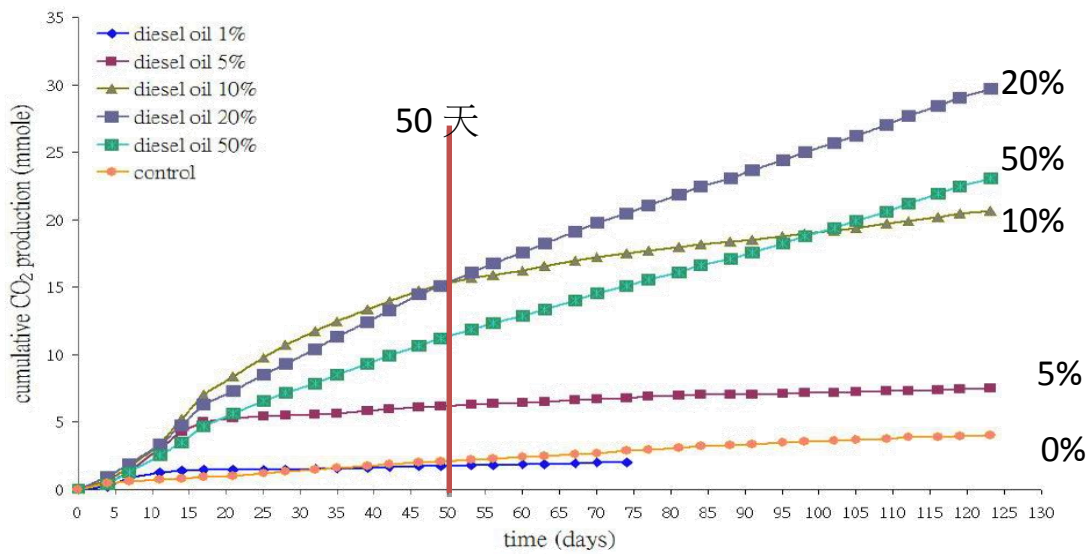


圖 3-10 生物分解瓶呼吸試驗累積攝氧圖【倪，2011】

文獻研究以廢機車機油為微生物生長之主要碳源，來模擬受機油污染土壤之微生物分解狀況。在將土壤調整為中性後，取土壤乾重 20 g，配置 1%、5%、10%、20%、50% (w/w) 濃度污染土壤，並調整含水率為 60%，以生物分解瓶進行 120 天土壤呼吸試驗。結果顯示，在 20% 的濃度下，其二氧化碳產生量呈現較高值，50% 濃度則因初始濃度較高使微生物先受到抑制，待適應期過後才有第二次較為明顯之二氧化碳產生，結果如圖 3-11 所示【劉，2006】。

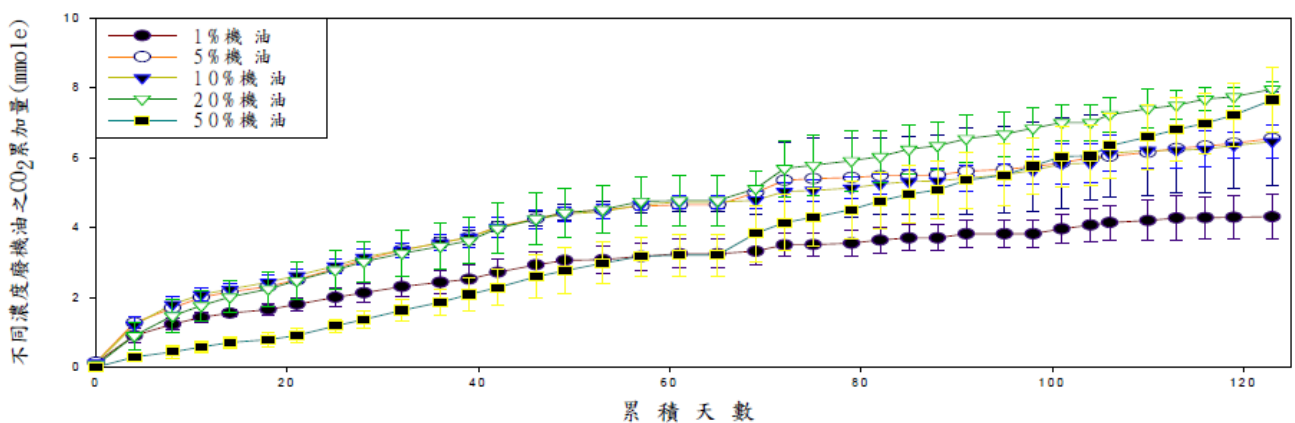


圖 3-11 不同濃度受機油污染土壤之生物呼吸試驗【劉，2006】

文獻研究利用氣泡式呼吸儀監測活性污泥中經馴化的微生物，在進行煉焦廢水硫氰化物毒性試驗時，其活性是否受到抑制。從累積攝氧圖（圖 3-12）中可知，微生物初期並沒有明顯受到毒性的抑制作用，顯示工業廢水中特定的毒性物質，對馴化後的微生物有可能是其基質能量來源，且有較高的毒性忍受度，或不具有毒性效應，因此在初始暴露毒性劑量雖高，但累積攝氧量亦越大【洪，2003】。

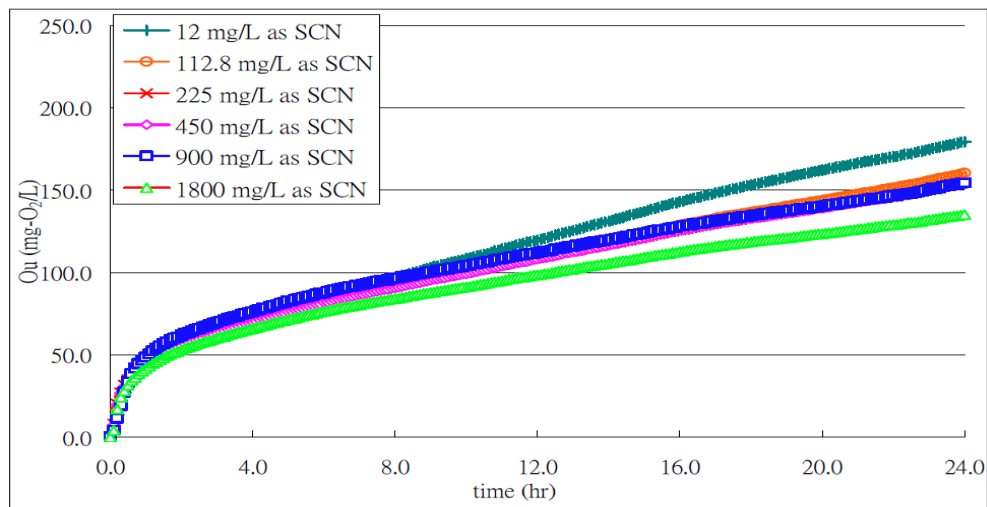
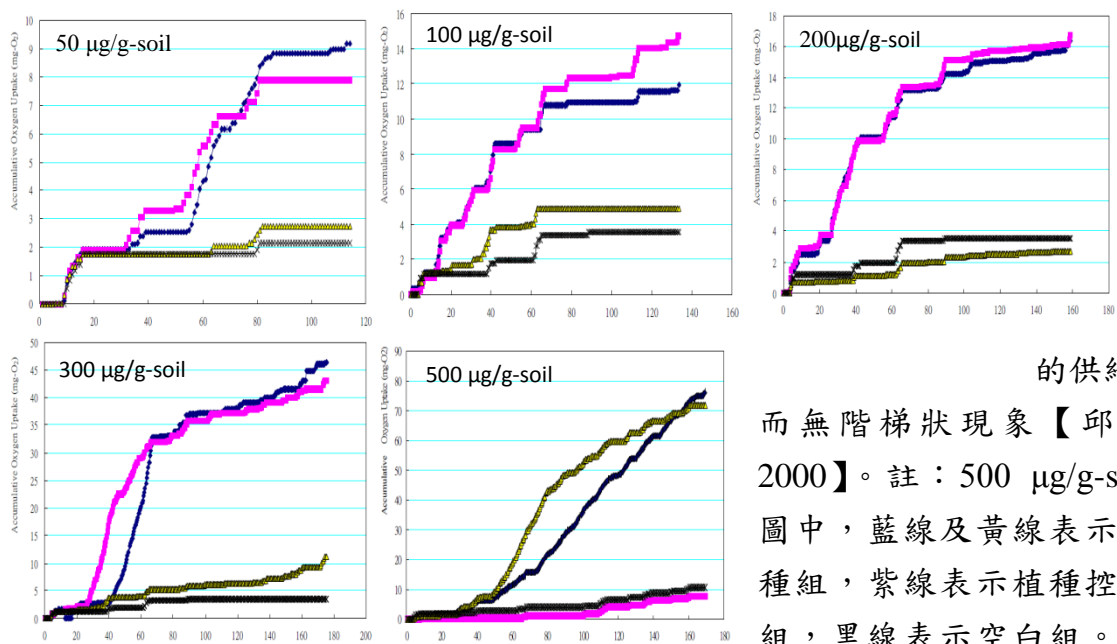


圖 3-12 活性污泥中經馴化的微生物累積攝氧圖【洪，2003】

文獻研究以不同茶濃度（50、100、200、300、500 $\mu\text{g/g-soil}$ ）的污染土，在相同操作環境（土壤 50 g、含水率 60%、兩倍營養源、已植種、無攪拌）下，使用氣泡式呼吸儀進行生物分解攝氧批次試驗。結果如圖 3-13 所示，經過 135 hr 後茶濃度 50、100、200 $\mu\text{g/g-soil}$ ，攝氧最高僅達到 16.5 mg-O_2 。由於未對土壤進行攪拌且二氧化碳量產生較少，氣體需在土壤中累積至一定量後，才足以通過土壤表層，於氣相中被 KOH 所吸收，因此攝氧累積圖呈階梯狀上升；300、500 $\mu\text{g/g-soil}$ 則因攝氧量約有 45-73 mg-O_2 ，微生物分解作用較為旺盛，持續有二氧化碳被 KOH 溶液所吸收，因此氣泡偵測器易測量到氧氣



餘濃度圖中藍、紫線皆為植種組，黃線植種控制組，黑線為空白組。

圖 3-13 不同茶濃度之呼吸試驗累積攝氧圖【邱，2000】

文獻研究中指出，以呼吸儀進行呼吸試驗時，於正常操作程序下觀察到系統啟動初期，反應瓶內有異常攝氧狀況產生。故以反應瓶內添加蒸餾水，在無基質、營養源、二氧化碳吸收管條件下，進行非生物性攝氧測試。結果顯示，40 分鐘後累積攝氧介於 7.1~8.3 mg/L ，平均為 7.8 mg/L （如圖 3-14）。

起始攝氧率介於 24.1~29.7 mg/L-hr，平均為 27.4 mg/L-hr，經 40 分鐘後降為 0 mg/L-hr (如圖 3-15)。因此為了避免反應瓶內測試溶液初期溶氧尚未達飽和，導致試驗開始後造成生物性攝氧之誤判，應先將測試溶液經充分供氧及強力攪拌後使溶氧達到飽和，排除非生物攝氧情形【陳，2003】。

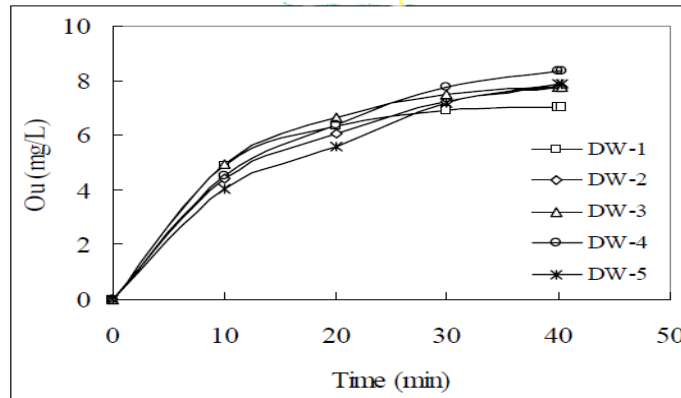


圖 3-14 非生物性攝氧測試之累積攝氧曲線圖【陳，2003】

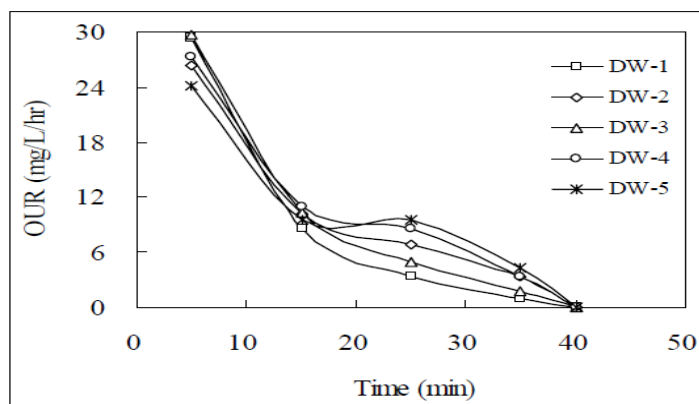


圖 3-15 非生物性攝氧試驗之攝氧率圖【陳，2003】

四、研究方法與步驟

4.1 研究架構

研究架構分為兩部份：氣泡式呼吸儀環境建立與實驗室規模土壤生物通氣模場建立，架構圖如圖 4-1 所示。由於 103 年度研究計畫「利用微生物呼吸試驗探討生物通氣法對柴油污染土壤復育之成效」氣泡式呼吸儀，其 5 日攝氧率可觀察微生物當週活性趨勢，亦可從累積攝氧量曲線評估土壤中微生物族群的生存情形，使操作人員能以較精準且有科學根據的方式，判斷微生物降解污染物的活性。

第二部份為土壤生物通氣模場環境的建立，104 年度計畫自台中某場址採集污染風化 2 年以上的土壤進行試驗，首先土壤進行質地分析、土壤元素分析、與柴油污染物濃度分析。完成模場土壤基本背景調查後，首先生物通氣設備進行密封，待氧氣濃度降低後始能進行通氣強度試驗、營養源添加試驗，並同時以氣泡式呼吸儀進行微生物 5 日呼吸試驗，其數據可作為探討生物通氣法整治後，微生物活性對柴油濃度降解之貢獻，評估被動式生物通氣法之成效。

4.2 氣泡式呼吸儀系統建立

氣泡式呼吸儀系統的重點皆圍繞在呼吸儀本身對氣體偵測的敏感程度，因此在進行試驗前需對儀器進行校正。一般會使用電解瓶校正法或氣體置換校正法，其原理為藉由給予定量氣體或液體，使等量體積的氣體通過氣泡產生器與紅外線偵測器，可檢測所通過之氣體總量是否正確、偵測器有無發揮計數紀錄作用並將數據傳送至系統軟體中，若各項功能皆正常即完成校正。

第二步需建立系統的操作環境，由於使用泥漿法進行土壤呼吸批次試驗，因此在試驗中以往復式震盪水域槽作為攪拌基座，250 mL 反應瓶為土壤樣品盛裝容器，進行泥漿法之土水比例參配及攪拌強度測試，並將水溫設置在 32℃ 恆溫，提供足量營養源的添加，而 pH 調為 6.5~7.5 間，營造適合微生物生長之環境，藉以統計每批次間微生物攝氧之數據變化。

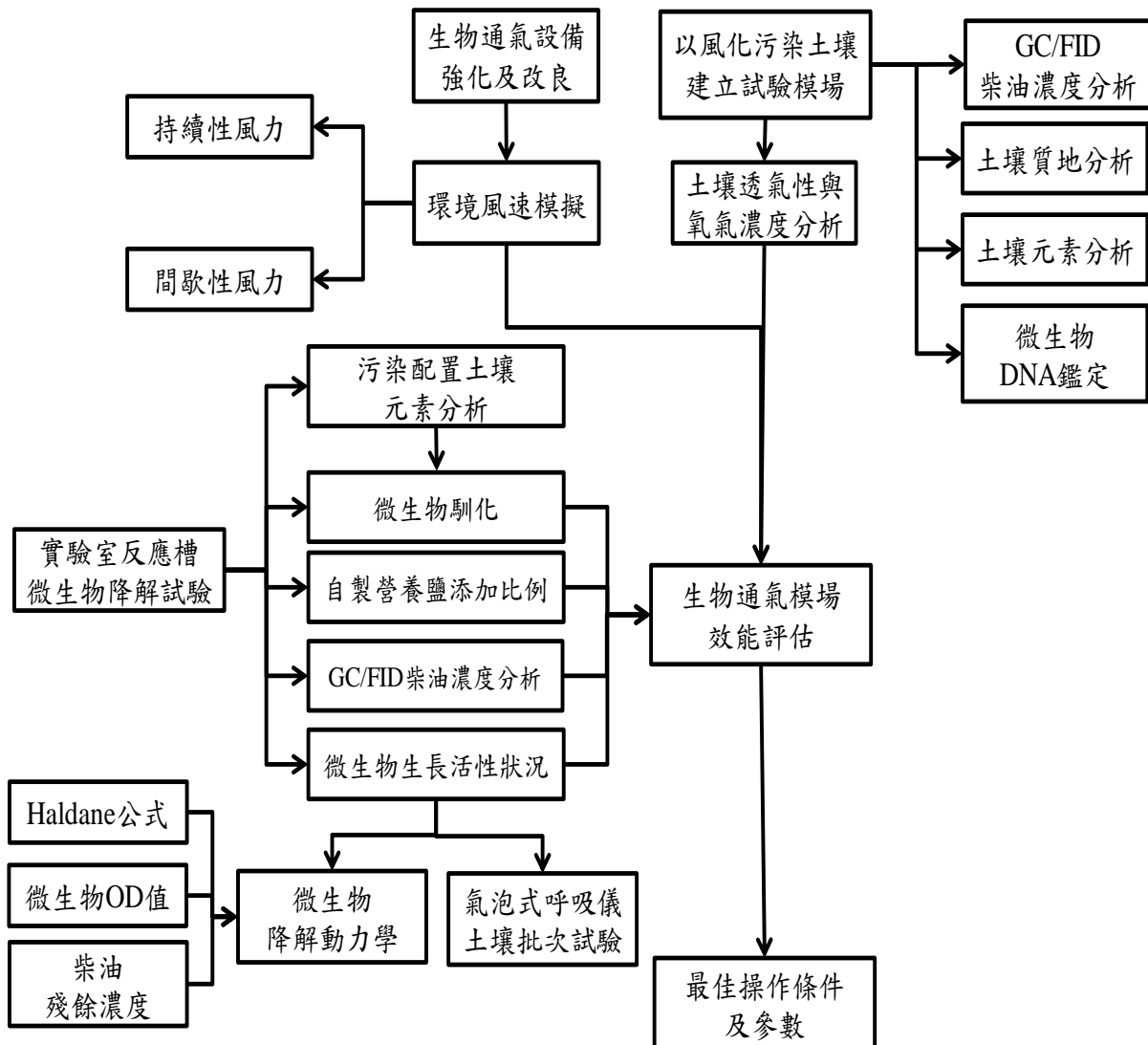


圖 4-1 本年度計畫研究架構圖

4.3 土壤生物通氣模場建立

本計畫之土壤生物通氣模場是為了模擬加油站柴油類儲油槽因長年埋設於地底中，管線或其本身受到腐蝕與破損等原因造成柴油洩漏，導致周圍土壤受到污染之情形。為此因而設置實驗室規模厭氧環境的土壤模場，進行以生物通氣法灌注氧氣後，其土壤中污染濃度之變化與微生物活性探討。本年度計畫的土壤來源取自台中某場址已經遭受污染並風化 2 年，採集的土壤質地分析結果可知，砂粒 75%、粉粒 15%、黏粒 10%（標誌於圖 4-2 中），屬於

壤質砂土，通氣度較佳。本年度進行模場的修正符合實場土壤具孔隙率狀態，孔隙率設至 30%，首先在桶子外圍及底部，每間隔寬 3cm 高 8cm 的距離，鑽 1cm 通氣孔洞（如圖 4-3），除了提高模場的透氣性外，也能藉由擴散半徑的試驗中，確保含氧氣體在抵達離管篩較遠處土壤時，不會受到桶型外壁的阻擋而造成擾流。在桶中心置入管篩，免去未來需重新開挖土壤才能置入通氣管件時，有破壞厭氧環境之疑慮。土壤管篩周圍鋪設 1-2 mm 石英砂，避免土壤阻塞篩縫且仍能保有良好通氣性，最後以無污染土壤覆蓋污染土層並加蓋密封，即完成模場之製作。模場地點設置於朝陽科技大學校區內，模場設計如圖 4-4，完成圖如 4-5 所示。

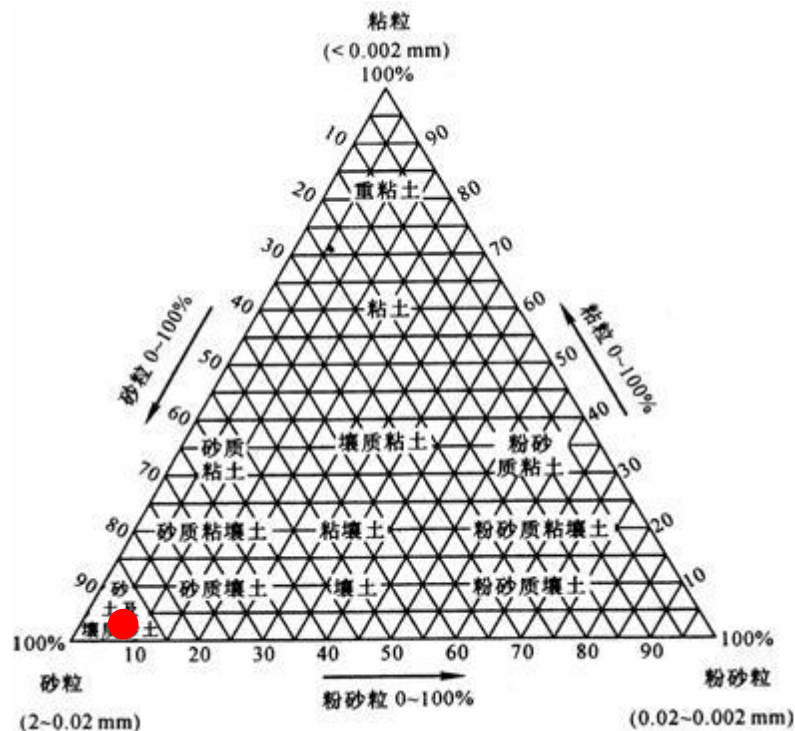


圖 4-2 土壤質地分析圖

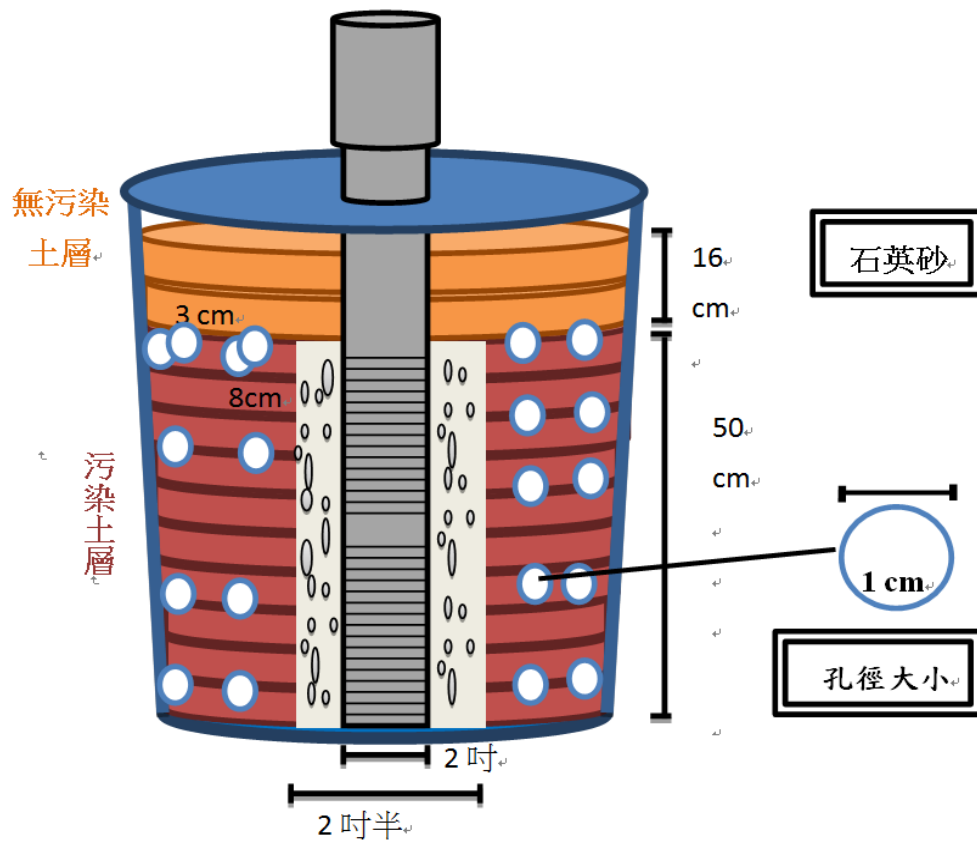


圖 4-3 土壤生物通氣模場設計



圖 4-4 土壤生物通氣模場通氣孔洞



圖 4-5 土壤生物通氣模場實景圖

在本年度計畫期程中，以監測土壤微生物呼吸作用為目的，探討柴油濃度、通氣強度與營養源添加等條件之改變對微生物活性的影響，其生物通氣系統如圖 4-6 所示。通氣強度試驗將以可調式電風扇設置人造風場，讓生物通氣設備由喇叭狀進風口收集空氣，當氣體進入三通接頭後，會碰觸到管徑較小的尾管，因此氣體大多轉向朝中心通氣管下方沈降，少部份則通過尾管排出，使氣體流動保持順暢。進入通氣管後即有一逆止閥設計，為軟性塑膠薄片，可於氣體通過時如簾幕般微微吹起，形成氣流通路，無氣體流過時自然垂下密閉，防止土壤模場內柴油類揮發性氣體溢散。風速風量採樣口則為方便測量通過之氣體流量、流速而設置，平時以管蓋封閉。土壤模場採樣則無需將通氣設備卸下，可開啟模場封蓋後以採樣器取出定量特定深度之污染土壤，再於實驗室中進行 GC/FID 柴油濃度分析與土壤微生物呼吸試驗。

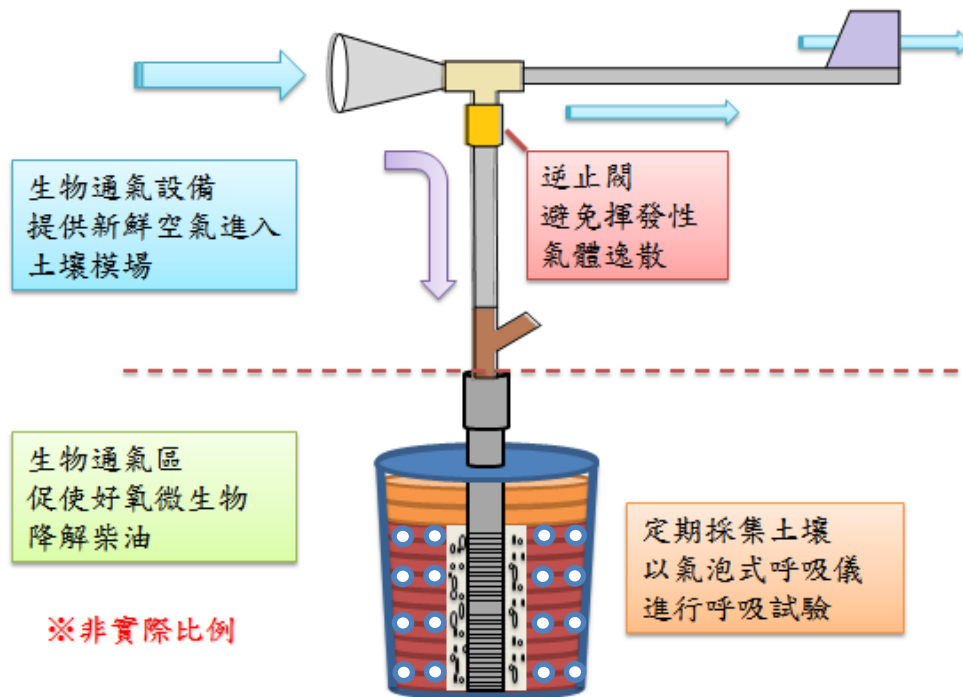


圖 4-6 生物通氣系統示意圖

4.4 研究步驟說明

以下就生物呼吸儀實際操作方式，說明各步驟之功能性及目的：

1. 啟動呼吸儀介面軟體，利用一塑膠針筒對氣泡產生器注入定量空氣使氣泡產生，並檢查紅外線偵測器能確實計數氣泡。開啟氧氣鋼瓶並設定壓力為 2.2-2.5 psi，確認呼吸儀各管線皆有氣體通過後，於軟體中進行反應瓶命名、運行時間及攝氧上限設定、資料紀錄間隔長度、畫面顯示模式等參數設定，完成呼吸儀軟體事前準備。而在適當的操作壓力下，可使以壓差產生氣泡之機制的呼吸儀更易於監測微生物呼吸作用。一般呼吸儀校正為一年一次，於第一次使用前進行校正即可，後續可於每批次土壤模場試驗或每季進行手動校正。

2. 此步驟將分析土壤各階段污染濃度並立即進行土壤呼吸測試，進行數據收集。故每週於各模場中取出適量土樣，一部份進行微生物呼吸試驗，另一部份則以 GC/FID 分析污染濃度，作為土壤污染之背景對照。在呼吸試驗前先去土中小石塊、植物根及雜物後，依序取出 15 g 柴油污染土壤置入 250 mL

反應瓶內，共計 5 支，第 6 支僅添加去離子水，作為背景耗氧測試。依文獻中泥漿法建議之重量百分比配置以土水比例為 1:3 之用量（添加去離子水 45 mL），以手搖方式使瓶內泥漿混合均勻後，依照土壤中元素分析碳、氮、磷的比例，添加由小善存及尿素等配製之適量營養源，並將泥漿 pH 值調整為 6.5-7.5 之間。最後將已添加 3 mL 濃度為 6N 之 KOH 溶液的吸接管置入瓶中，並旋緊含有墊片之瓶蓋後，即完成土壤樣品批次試驗之準備。

3. 攪拌基座將影響泥漿中微生物呼吸作用在兩相間移動的氧傳限制，故需有適當的攪拌強度。將上一步驟完成的六支反應瓶固定於往復式震盪水槽中，恆溫控制為 32℃，依序將針頭以斜針方式插入瓶蓋墊片，使針頭周圍有較大的阻隔面積且不會因為搖晃導致針頭擴大周圍孔隙而漏氣。確認針頭無阻塞情形即可以轉速 100 rpm 進行漏氣測試及各管線的固定，確保各環節無漏氣產生後，將轉速提高為 130~140 rpm，並隨時注意泥漿有無濺入吸接管內，即可開始 5 天的土壤微生物呼吸試驗。

4. 當 5 天試驗結束後，再次紀錄泥漿 pH 值，並從攝氧曲線中觀察是否有固液相間氧傳限制，導致階梯狀攝氧情形產生。若發生階梯攝氧情形，則需嘗試增加泥漿攪拌之強度或改變管線間壓力，並紀錄發生時間與柴油背景濃度。持續收集每次試驗之攝氧數據，用以了解並探討微生物生長過程中是否有受到限制，評估生物通氣法在柴油污染土壤整治之成效。

4.5 GC/FID 分析方法

柴油濃度測試將使用環檢所公告的土壤中總石油碳氫化合物檢測方法（NIEA S706.61B）與超音波萃取法（NIEA 167.00C）進行檢測。超音波萃取將使用丙酮/正己烷（1:1，v/v）進行萃取並利用 GC/FID 進行濃度分析，觀察柴油污染物各成分之降解情形。

土壤中柴油萃取方法如下：

1. 取 5 g 土壤，置入棕色瓶中。
2. 加入約 5 g 無水硫酸鈉去除水份。
3. 加入 25 mL 正己烷與丙酮 1:1（v:v）混和配置萃取液。
4. 使用探針式超音波萃取儀以 75% 功率萃取 6 分鐘。

5. 利用低速離心機將萃取液固液分離。
6. 視樣品濃度進行稀釋。
7. 取萃取液上澄液置入樣品瓶中。
8. 上機，使用 GC/FID 進行分析。

GC/FID 分析操作條件：

層析管柱：VELOCITY130 m x0.32 mm IDx1.0 μ m

載流氣體（N₂）流速：30 mL/min

注射埠溫度：330℃

偵測器溫度：330℃

起始溫度：50℃，持續 5 分鐘

升溫速度：50℃ 以每分鐘 8 ℃ 升溫至 300℃

最終溫度：330℃，持續 3 分鐘

氫氣流速：30 mL/min

空氣流速：300 mL/min

注射方式：split (2:1)



圖 4-7 實驗室 GC/FID 實景圖

4.6 呼吸儀校正方法

呼吸儀系統中的氣泡產生器是利用一穩定性質的礦物油，在連通管中藉由注入氣體使雙邊液面產生壓差，當壓差累積至一個氣泡體積則會產生氣泡，由紅外線計數器偵測有氣泡通過並紀錄。由於每個氣泡產生器之孔徑規格與礦物油注入量不完全相同，故可使用美國 CES 公司所提供之電解瓶校正法（Electrolysis method）或實驗室可自行設計液體置換法（Liquid displacement method），進行元件校正【陳，2003】，校正頻率約一年 1 次，氣泡式呼吸儀校正法示意圖如圖 4-8。

電解瓶校正法

電解瓶首先置入 100 mL 濃度為 1N 的 H_2SO_4 溶液，再將電解速率設在低率狀態，供氧速率為 $0.5 \text{ mg-O}_2/\text{min}$ 。此校正法是利用穩定電壓，將水電解成氧氣與氫氣，將氧氣通入氣泡產生器，並於設定時間內紀錄氣泡數，即可進行校正。電解產生之氫氣則由電解瓶溢散口自然排出。

1. 液體置換法

其概念為在等速的流速下，固定時間內注入液體於水封瓶內，即可將等量空氣排出。水封瓶排氣口則接管於氣泡產生器，紀錄產生之氣泡數來進行校正。

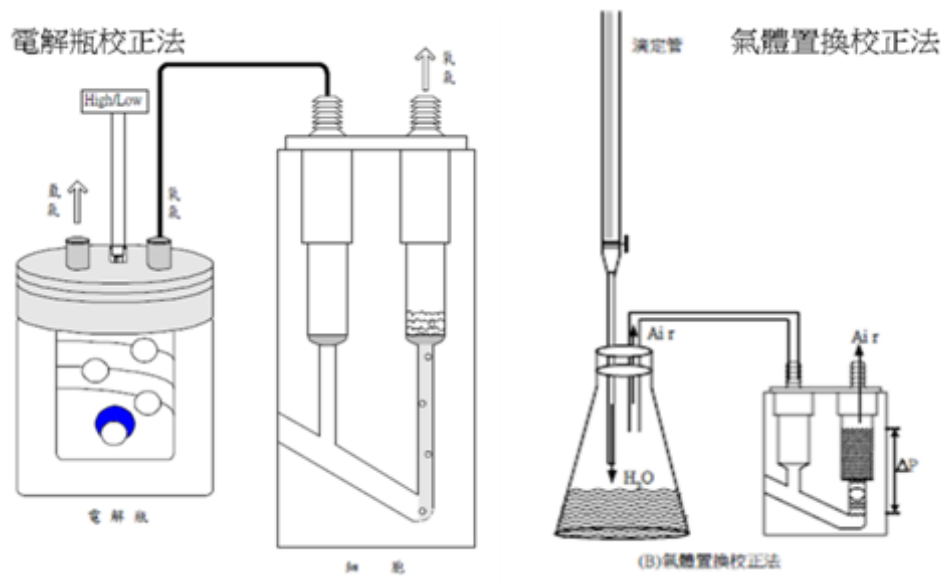


圖 4-8 氣泡式呼吸儀校正法示意圖【陳，2003】

4.7 微生物培養與馴化實驗方法與步驟

微生物培養是將菌液加入培養基並曝氣使微生物生長，微生物數目多寡與菌液濁度成正比，故可藉由細菌菌數測定光學密度(Optical density, OD)。本研究以 M9 培養基進行微生物初步的馴化，而且微生物馴化的移植過程中添加少量柴油，為了讓微生物適應高柴油濃度，需於每批次培養時逐步提高柴油添加濃度。微生物的馴化目標柴油濃度分別為 2,000、4,000、8,000 $\mu\text{L/L}$ ，當馴化濃度達到預期馴化目標且微生物均處於生長穩定期時即投入以 2 L (直徑 15 cm、高度 15 cm) 塑膠桶製作的翻拌曝氣反應槽中，進行批次翻拌反應試驗。

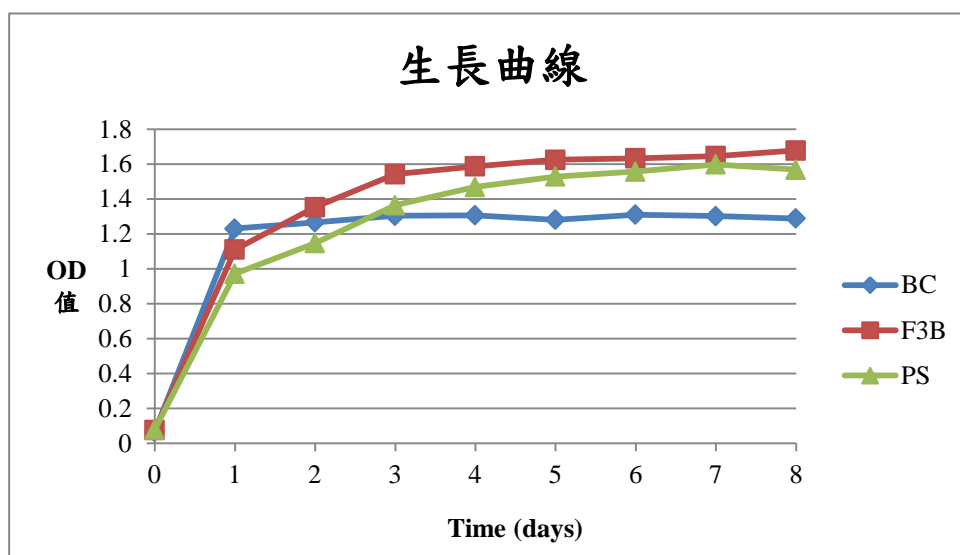


圖 4-9 各微生物不同時間生長 OD 值曲線

4.8 批次式翻拌曝氣反應槽試驗方法與步驟

將馴化後的微生物添加至配製完成之高濃度柴油污染土壤，進行翻拌曝氣試驗。為提供微生物充足的氧氣，每日進行翻拌使土壤中氧氣保持 20%，並於翻拌過程中噴灑適當水分使含水率控制在 8~10%，防止土壤過於乾燥導致微生物死亡。試驗初期每三日進行土壤採樣，當降解趨勢逐漸平緩時則改為每週採樣一次。土壤柴油濃度將以超音波萃取法(NIEA M167.01C)進行萃取，並以土壤中總石油碳氫化合物檢測方法—氣相層析儀/火焰離子化偵測器法(GC/FID)進行分析(NIEA S703.62B)，並探討柴油降解率與微生物不同柴油濃度馴化之相關性。

4.9 微生物族群研究

為瞭解污染土壤中微生物生長情況，本計畫對污染土壤進行先期微生物的族群分析、菌種分析並進行 DNA 鑑定了解污染土中是否有能夠分解柴油污染的微生物存在，微生物鑑定部分則與中興大學合作分析。目前已有文獻指出 *Acinetobacter*、*Pseudomonas* 等微生物能夠在好氧環境下分解直鏈烷類，因此本研究計畫在污染整治前先進行微生物鑑定，觀察結果是否有這類微生物的存在，在生物通氣法整治過程中也進行微生物試驗，包括總菌數計數、大腸桿菌數計數、微生物多樣性分析及微生物 DNA 定序及菌種鑑定。總菌落數分析方式經由前處理後再利用環檢所公告水中總菌落數檢測方法－塗抹法（NIEA E203.55B）進行分析。大腸桿菌群落菌數計數將經由前處理後再利用環檢所公告水中大腸桿菌群及大腸桿菌檢測方法－酵素呈色濾膜法（NIEA E237.52B）進行分析。微生物多樣性分析包括 PCR-DGGE 分析，將利用商業套組試劑 UltraClean Soil DNA Isolation Kit（Mo BioLaboratories Inc., USA）萃取得環境樣本之核酸，再以 PCR-DGGE 分析樣本微生物族群。而微生物 DNA 定序及菌種鑑定乃將 PCR-DGGE 分析之樣本，進行 DNA 回收及純化，待確認 DNA 成功回收並純化後，將樣本送請生物科技公司進行 DNA 定序分析，當成功獲得 DNA 定序分析後，再以 NCBI 資料庫進行微生物菌種比對。

4.10 微生物降解柴油動力學探討

在一定濃度範圍內，不受其他因素影響，大部分的微生物生長動力行為可用 Monod 方程式來表示，但若系統中基質濃度過高或是有其他多重基質存在時，微生物容易受到抑制，使目標處理的污染物之去除效率降低。本研究即利用 Monod 及 Haldane 兩動力學模式為基礎，將此二模式進一步積分，獲得一基質濃度隨時間變化之方程式，藉由非線性迴歸分析擬合該方程式與實驗數據，以求得相關的動力學參數值【沈，2010】。

單一基質微生物降解之動力學積分式在適當的濃度範圍內，微生物生長的動力行為可用 Monod 方程式來表示，如下式所示：

$$\mu = \mu_m \frac{S}{K_s + S} \quad (1)$$

上式中 μ = 比生長速率 (d^{-1})； μ_m = 最大比生長速率 (d^{-1})； S = 逐時基質濃度 (mg/L)； K_s = 飽和常數 (mg/kg)。比生長速率 (μ) 與比基質利用率 (q) 之基本定義如式 (2) 所示，若將式 (2) 代入上式 (1) 即可獲得一 Monod 的微分方程式，如式 (3) 所示，

進一步將式(3)以分離變數法進行積分即可得到式(4)。

$$\mu = Y \cdot q = Y \cdot \frac{-dS}{X \cdot dt} \quad (2)$$

$$\frac{dS}{dt} = \frac{-\mu_m \cdot S \cdot X}{(K_s + S) \cdot Y} \quad (3)$$

$$K_s \cdot \ln \frac{S}{S_0} = \left(S_0 + \frac{X_0}{Y} + K_s \right) \cdot \ln \left(\frac{\frac{X_0}{Y} + S_0 - S}{\frac{X_0}{Y}} \right) - \left(S_0 + \frac{X_0}{Y} \right) \cdot \mu_m \cdot t \quad (4)$$

其中， S_0 =基質初始濃度(mg/kg)； X_0 =初始菌量(mg/kg)； Y =產值係數； t =實驗時間值(d^{-1})。若系統中基質濃度過高或是有其他多重基質存在時，微生物容易受到抑制，此時微生物生長的動力學就需用修正過的Monod方程式來表示，此即Haldance方程式，如下式(5)所示，若將式(5)仿照上述Monod方程式進行積分，最後可得一積分式如式(6)所示。

$$\mu = \frac{\mu_m \cdot S}{\left(K_s + S + \frac{S^2}{K_i} \right)} \quad (5)$$

上述式(5)中的 K_i 為抑制係數，其餘參數定義同前述Monod 方程式之參數定義。

$$\left(-\frac{K_s}{Y \cdot S_0 + X_0} - \frac{1}{Y} - \frac{Y \cdot S_0 + X_0}{K_i \cdot Y^2} \right) \cdot \ln \frac{Y \cdot S_0 + X_0 - Y \cdot S}{X_0} + \frac{K_s}{Y \cdot S + X_0} \cdot \ln \frac{S}{S_0} + \frac{S_0 - S}{K_i \cdot Y} = -\frac{\mu_m}{Y} \cdot t \quad (6)$$

而以上兩種模式中的參數值，須由經由批次實驗求得，由批次實驗中求得模式所需的參數 S_0 、 S_i 、 X_0 、 X 、 t ，而利用批次實驗獲得各參數後，再以非線性迴歸分析及試誤法求得微生物參數 μ_m 、 K_s 、 K_i ，再將其代入所推導之預估方程式中，以預估基質濃度隨時間變化之情形。

4.11 營養源添加對微生物生長狀況分析

微生物生存所需的營養源，氮與磷的比例則需保持在生物量：氮：磷為100：10：1的比例，除氮磷外，微量元素如K、Ca、Mg、Fe、Na、CO、Zn、Mo、Cu、Mn等皆是微生物生長必需之微量元素。而此實驗將依微生物分析結果調整氮磷比例，並以柴油為碳源、尿素提供氮源、小善存溶液供給微量元素，觀察污染土壤中微生物生長情形與降解污染物狀況，嘗試最佳添加比例。文獻指出土壤pH值維持在7至8之間最適合微生物生存，因此需調查土壤鹼度成份與瞭解氧氣攝取量對微生物的生長影響【Dominguez *et al.*, 2012】。藉著實驗也將瞭解經TPHs污染的土壤pH變化，以及調整pH值對微生物降解影響，模擬整治場址受其他污染源導致pH改變，使微生物降解能力改變之差異。

4.12 工作進度甘特圖

年月	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	備註
工作項目													
生物通氣設備及模場設置與維護	■	※			■				■				
生物通氣模場效能評估		■	■	■	■	※							
反應槽微生物培養與柴油降解試驗		■	■	■	■	※							
土壤微生物批次呼吸試驗		■	■	■	■	※							
營養源添加對微生物活性及濃度降解探討					■	※	■	■	■	■	※		
生物通氣系統改良及操作最佳化探討							■	■	■	■	※		
成果報告撰寫											■	※	
工作進度估計百分比 (累積數)	5%	10%	15%	20%	25%	30%	50%	60%	70%	80%	90%	100%	
預定查核點	期中	完成呼吸儀操作環境修正並進行土壤微生物呼吸試驗 進行柴油濃度與通氣強度對微生物活性之初步探討											
	期末	進行柴油濃度、通氣強度及營養源添加對微生物活性之影響探討 撰寫成果報告書											

五、結果與討論

5.1 土壤模場背景調查

計畫試驗土壤取自台中某場址，其基本特性資料如表 5-1 所示。土壤質地分析結果，砂粒 75%、粉粒 15%、黏粒 10%，屬於壤質砂土，相較於粉質及黏質土壤，砂質土有較好的通氣狀況，適合本計畫進行生物通氣法之研究。在模場完成建置後採集土壤樣品進行元素分析及柴油濃度分析，從結果得知，土壤中柴油濃度約 5,000 mg/kg，碳含量佔 1.11%，氮含量為 0.11%及磷含量為 0.011%，在後續進行營養源添加試驗前，模場土壤層將維持目前的 C:N:P，約為 100:10:1。

表 5-1 土壤模場背景資料

土壤來源	台中港某場址		
質地分析	砂粒 (%)	粉粒 (%)	黏粒 (%)
(壤質砂土)	75	15	10
土壤元素分析	C	N	P
	1.11%	0.11%	0.011
土壤密度	1.4~1.5 g/cm ³		
油品	柴油		
污染濃度	約 5,000 mg/kg		
實驗組別	未通氣對照組× 1 組 生物添加組× 4 組		

圖 5-1 中為 103 年度計畫所使用的中油柴油與 104 年度計畫污染場址所使用的柴油之組成成份百分比。103 年度的中油柴油油品各碳數比例以 C13~C17 為大多數比例較高，而 104 年度的柴油在 C10~C12 及 C23~C25 比例較 103 年度中油柴油

高，其他均較低，顯示兩種油品的不同。

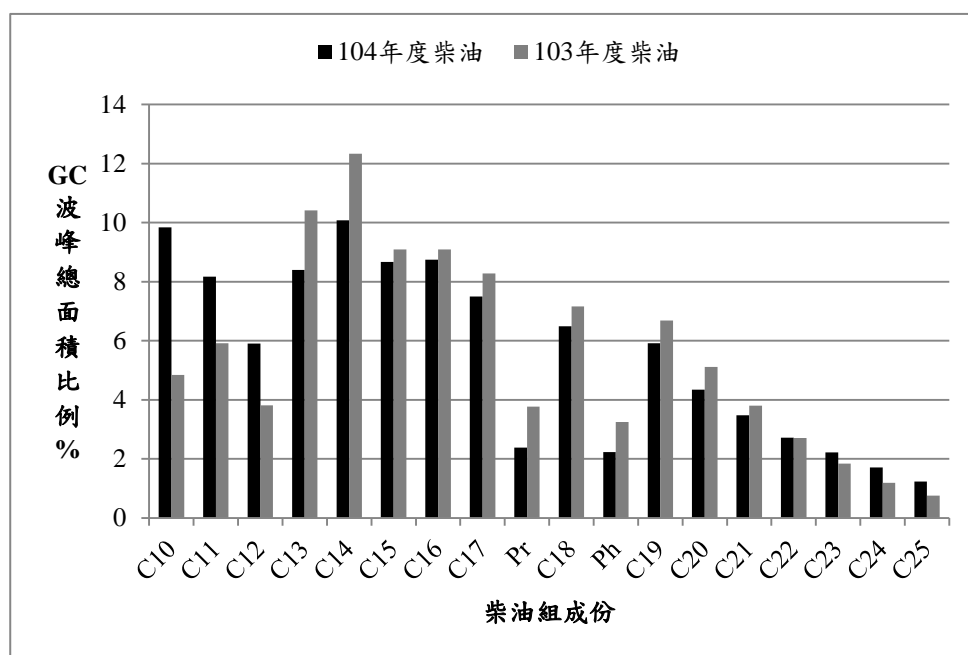


圖 5-1 不同柴油品種之組成成份百分比

圖 5-2 中為 104 年度計畫污染場址所使用的柴油原料與場址土壤遭受污染風化 2 年後柴油之碳數百分比。風化後的土壤柴油中 C10~C13 因低碳數的揮發性因此濃度降低，使得 C14 之後之高碳數成份百分比皆比風化前來得高。

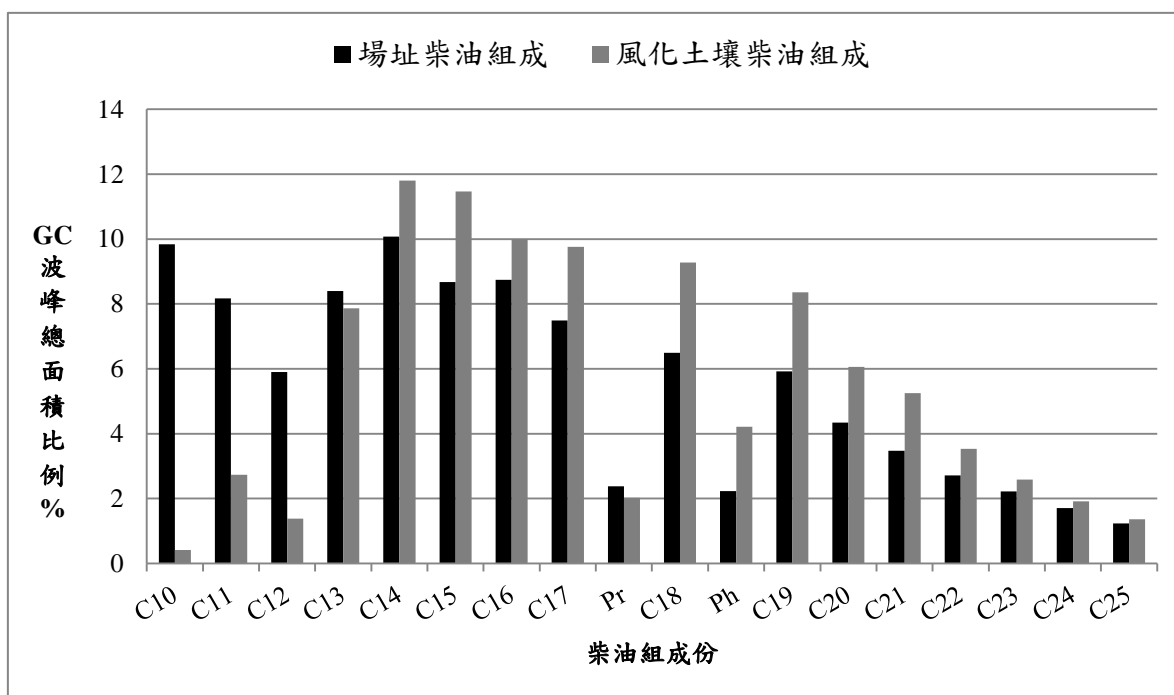


圖 5-2 土壤遭受污染後風化前後柴油之組成成份百分比

5.2 改良污染土壤試驗模場

由 103 年度計畫中結果得知，在模場試驗桶土壤採樣距離中心分別為 5cm、15cm、25cm，由結果得知在高管內風速 3.0 m/s 狀況下，在 5cm 至 15cm 間距離越大氧氣濃度越小，但在距離中央通氣管 25cm 處之量測點反而較 15cm 處氧氣濃度高，其原因為模場為一密閉桶槽容器，當氣體擴散至模場邊界時，氣體流動受到阻擋導致氣體改變流向而造成高氧氣濃度。因此本年度計畫為改善模場密閉桶槽容器問題，在塑膠桶的外壁進行開孔，模擬土壤土層中之孔隙率，在距量測氧氣濃度，發現 14 日有無開孔量測結果之差異改善此問題(如圖 5-3)，除了證實是否能提高模場的透氣性外，並且確保了含氧氣體在抵達離管篩較遠處土壤時，不會受到桶型外壁的阻擋而造成擾流。

由量測結果可知，塑膠桶未增設通氣孔時期氧氣濃度最低為 13.5%，隨著時間氧氣濃度逐漸提高至 19.8%。而量測增設通氣孔 14 日之氧氣濃度平均皆為 20.8%，大致與環境中氧氣濃度相同。

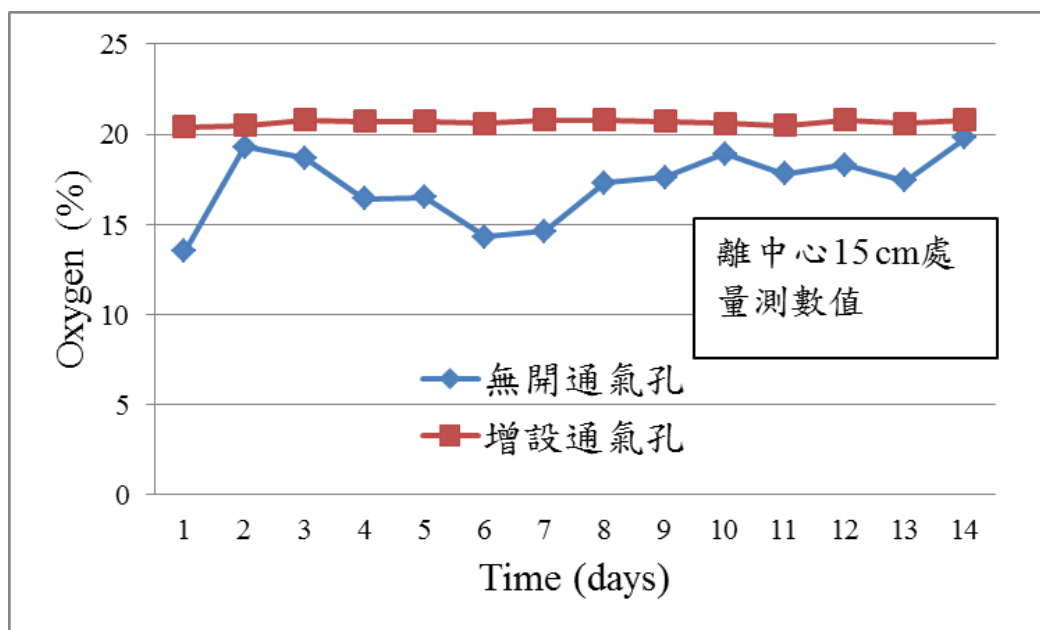


圖 5-3 模場試驗桶增設通氣孔與無通氣孔之氧氣濃度比較

5.3 生物通氣模場風力調整參數

由 103 年度計畫中得知，提高管內風速對試驗結果並無太大的差異性。然而風速對土壤模場內的氧氣的濃度傳遞仍有一定程度的幫助，因此環境風速 3.2 m/s 設定為最佳風速條件。試驗持續對生物通氣模場進行連續式風力，使得微生物在供給

充足氧氣下增加其活性。

5.4 批次翻拌曝氣反應槽試驗

本試驗首先利用實驗室規模密閉反應槽探討三種微生物 *Achromobacter xylosoxidans*、*Bacillus cereus*、*Pseudomonas putida* 對柴油濃度降解效率，本試驗以三種不同柴油濃度馴化微生物後，分別加入柴油污染濃度約 20,000 mg/kg 的污染土壤反應槽中，反應槽中未提供營養鹽但以翻拌方式提供氧氣，試驗期程中每日進行含水率控制與密閉反應槽內氧氣濃度偵測，並定期採取土壤樣品進行柴油殘餘濃度分析，觀察各個微生物的柴油降解能力。

本試驗共有 5 組，分別為 3 組不同柴油濃度馴化微生物組、1 組未馴化微生物組與 1 組空白對照組，五組試驗組每日進行翻拌提供氧氣，本次試驗共進行 49 日。Blank 組為未植菌翻拌空白對照組，植菌組反應槽分別加入 10% (w/w) 的 *Achromobacter xylosoxidans*、*Bacillus cereus*、*Pseudomonas putidas* 微生物菌液。

Achromobacter xylosoxidans 試驗中各不同柴油濃度馴化組別，除 Blank 組以外皆出現兩階段不同速率降解，第一階段降解為微生物將容易生物分解的成份降解，而第二階段降解則開始分解其餘較高分子量及含支鏈的有機物成份，由於 Blank 組未進行植菌，藉由翻拌過程中因柴油揮發衍生出一段較明顯降解趨勢。在試驗 49 日後以馴化 4,000 μ L/L 組柴油降解率 80.12% 為最佳，降解持續效果也最明顯，*Achromobacter xylosoxidans* 經柴油馴化後可提昇 11-22% 降解成效，試驗結果如圖 5-4 所示。

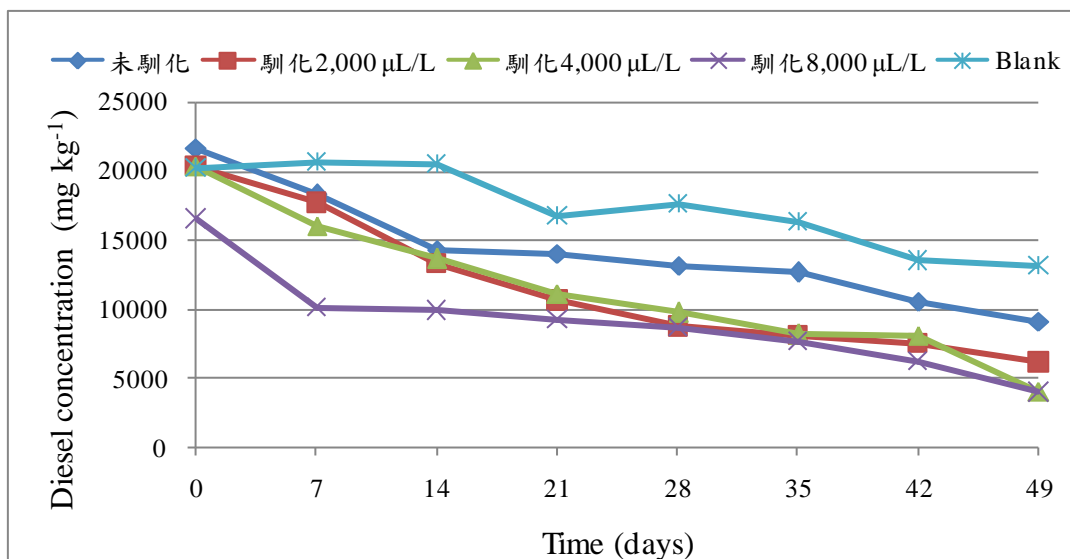


圖 5-4 各種馴化柴油濃度狀況下 *Achromobacter xylosoxidans* 降解柴油濃度之時間變化

Bacillus cereus 試驗中各組別除馴化 8,000μL/L 組以外，皆無明顯出現兩階段不同速率降解，而馴化 8,000μL/L 組第一階段降解在試驗第 28 日結束，降解率達 64.75% 為最佳，相較之下 *Bacillus cereus* 在馴化濃度 8,000μL/L 下，營養鹽利用活性較佳。在試驗 49 日後以馴化 4,000μL/L 組柴油降解率 78.8% 為最佳，降解持續效果也最明顯，*Bacillus cereus* 經柴油馴化後可提昇 8-17% 降解成效，試驗結果如圖 5-5 所示。

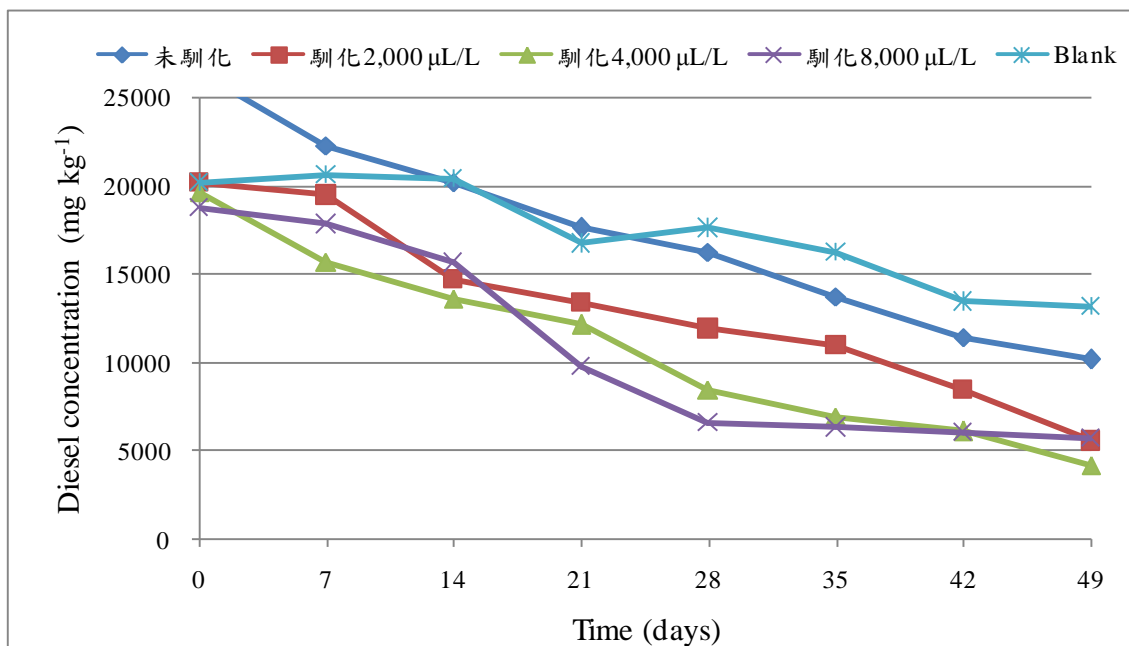


圖 5-5 各種馴化柴油濃度狀況下 *Bacillus cereus* 降解柴油濃度之時間變化

Pseudomonas putidas 試驗中各組別除 Blank 組及馴化 8,000 μ L/L 組以外皆出現兩階段不同速率降解，第一階段降解為微生物將容易分解成份降解，而第二階段降解則開始分解其餘較高分子量及含支鏈的有機物成份，而未馴化、馴化 2,000 μ L/L 組、馴化 4,000 μ L/L 組第一階段降解皆在試驗第 21 日結束，但 *Pseudomonas putidas* 經馴化後第一段降解成效提昇 10-20%。在試驗 49 日後以馴化 8,000 μ L/L 組柴油降解率 79.51% 為最佳，降解持續效果也最明顯，*Pseudomonas putidas* 經柴油馴化後可提昇 8-32% 降解成效，試驗結果如圖 5-6 所示。

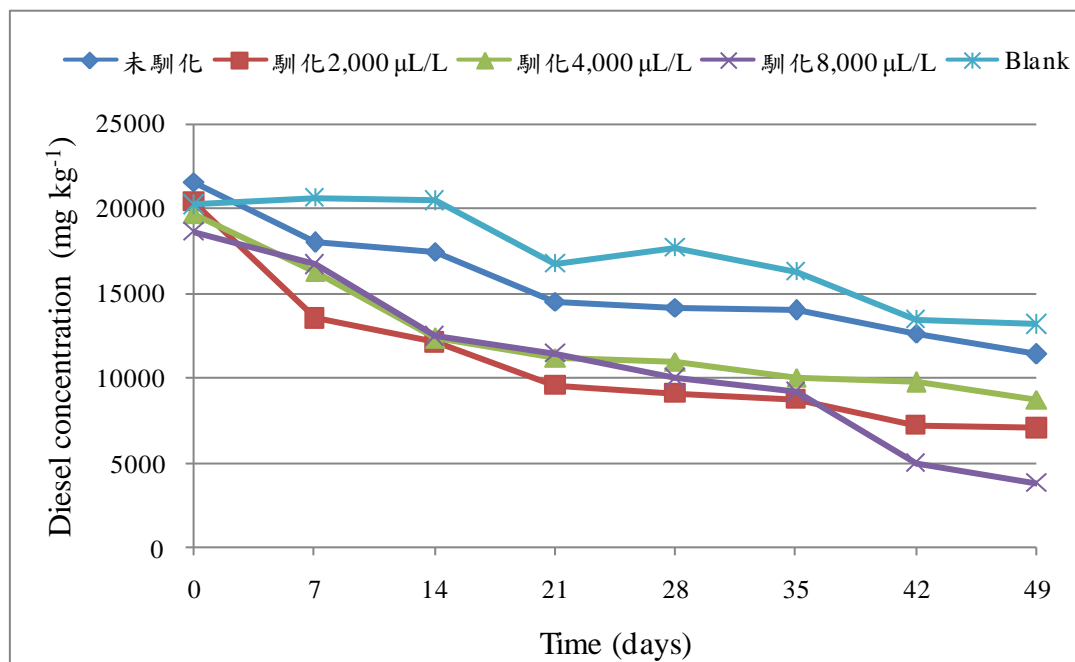


圖 5-6 各種馴化柴油濃度狀況下 *Pseudomonas putida* 降解柴油濃度之時間變化

5.5 生物通氣系統植菌微生物試驗

依據 103 年度計畫報告指出，*Bacillus cereus* 菌(代號 BC)、*Achromobacter xylosoxidans* 菌(代號 F3B)、*Pseudomonas putida* 菌(代號 PS)等 3 株菌皆對柴油具有降解能力。本年度研究計畫在生物通氣模場各組別的土壤柴油濃度均約 5,000 mg/kg，在植菌投入前(第 0 週)採集土樣，以生物呼吸儀進行五日攝氧量測試，作為生物通氣模場微生物累積攝氧量的背景初始值。並依序進行 30 週次採樣。植菌之土壤模場以菌株名代稱分為 BC 菌組、F3B 菌組、PS 菌組及三菌混合的 Mixture 組，以及空白 Blank 組未植菌且未通氣。由於試驗土壤已經遭受柴油洩漏污染，而且於場址中已經風化至少 2 年，柴油污染濃度約為 5,000mg/kg，生物呼吸儀實驗結果顯示，其 5 日累積攝氧量皆介於

120mg-O₂ 至 180 mg-O₂ 之間。

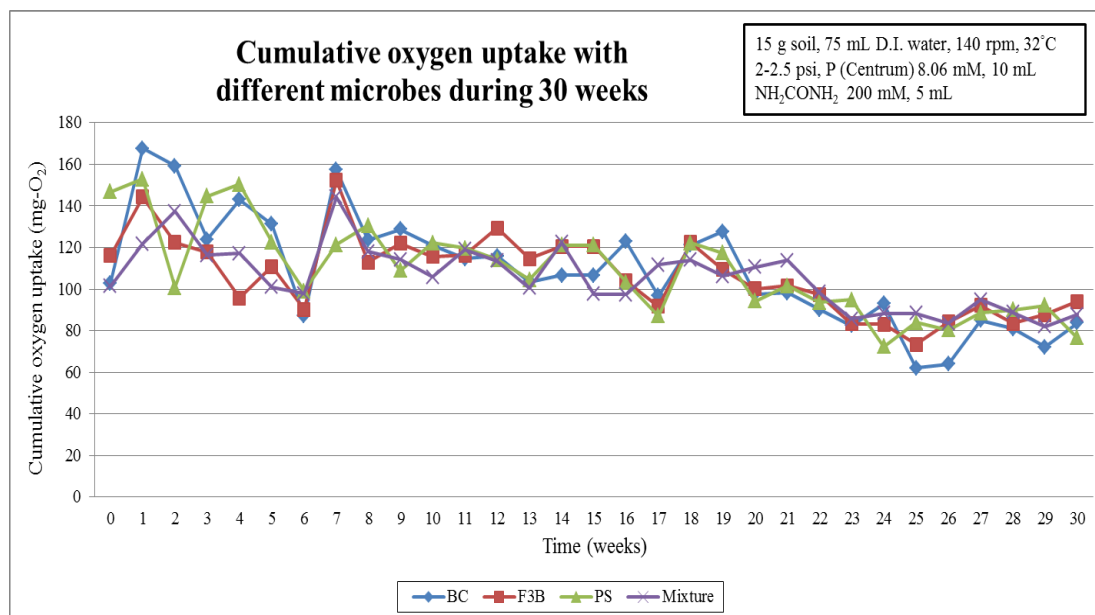


圖 5-7 生物通氣模場不同植菌後之 30 週累積攝氧量變化趨勢

於圖 5-7 中第 0 週為未植菌種的五日累積攝氧量背景值，由此可發現植菌後第 1 週累積攝氧量些微升高；第 2 週反而發現微生物累積攝氧量有下降趨勢；第 3 週 PS 組有累積攝氧量有持續上升趨勢，其餘組別有持平或下降情形；第 4 週各組累積攝氧量逐漸平穩；第 5 週各組累積攝氧率些微提升；第 6 週各組累積攝氧量逐漸遞減；第 7 週在土壤模場土壤加入自製營養鹽後各組累積攝氧量有提升的情形且開始逐漸平穩，第 18 週各組累積攝氧量開始下降至 23 週逐漸平穩，為了瞭解各組別各週次累積攝氧量曲線進行檢視，概估分析微生物活性情形，其結果顯示於圖 5-8 至圖 5-17。

上圖能看得各組微生物在 30 週的生物通氣模場中，土壤微生物各週呼吸試驗中的總攝氧量，PS 組在各組總攝氧量子測結果中似乎效果較佳，雖在第 2 週時有稍微趨緩的情形發生，但在第 3 週時累積攝氧量再度提升，反觀其餘植菌組第 2 週後累積攝氧量逐漸趨緩。為了瞭解各組別各週次累積攝氧量曲線進行檢視，概估分析微生物活性情形，

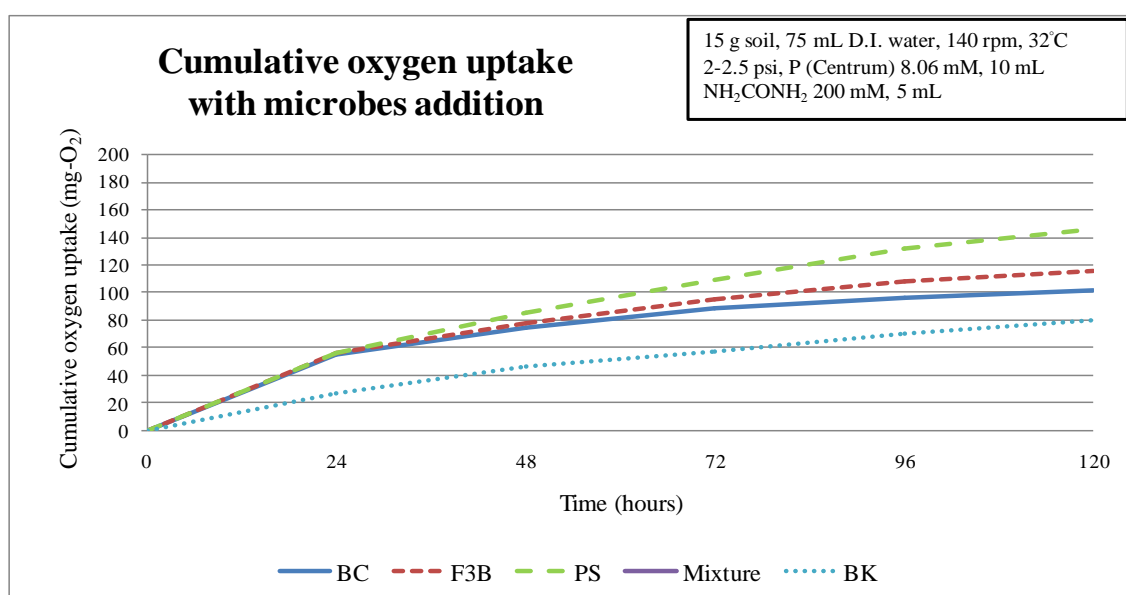


圖 5-8 植菌種前(第 0 周)微生物累積攝氧量曲線

植菌種前未通氣組 BK 組累積攝氧曲線上升較緩慢，而在通氣組 BC 組、F3B 組、PS 組的 24 小時累積攝氧量均為 55.93mg-O₂ 至 57mg-O₂，顯示在未添加菌株前期攝氧量條件幾乎一樣。

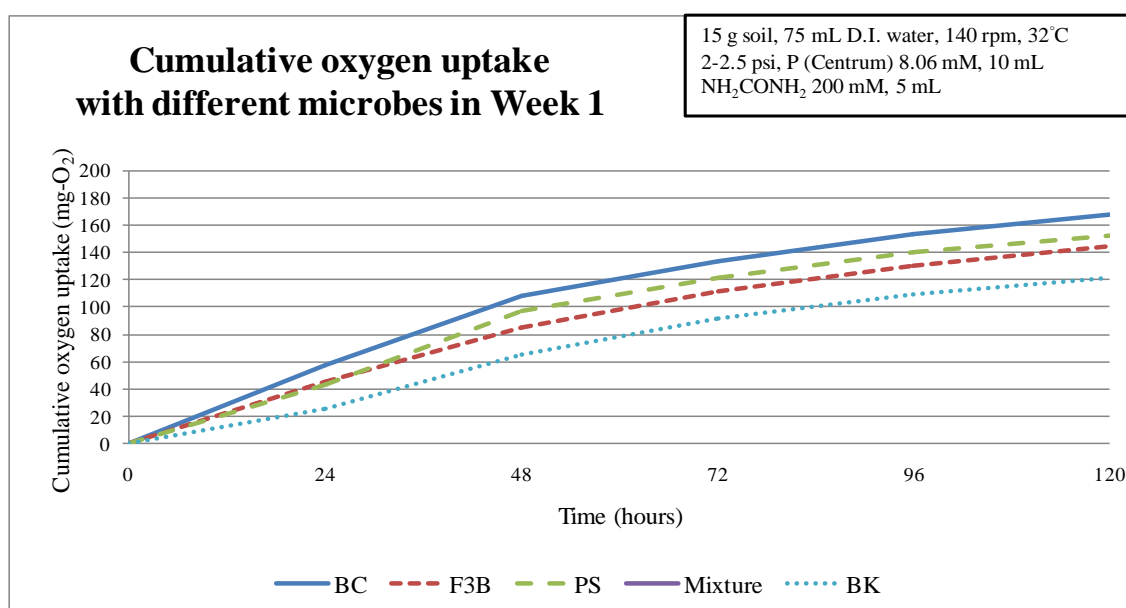


圖 5-9 植菌種後第 1 週微生物累積攝氧量曲線

微生物植菌第一週後結果可發現，由植菌土壤累積攝氧量差異並不大，加入植菌組總攝氧量逐漸上升，顯示當土壤額外加入菌種後微生物活性在第

一週會逐漸增加，而 Blank 組未通氣且未植菌組則累積攝氧量並沒有像其他植菌組高。

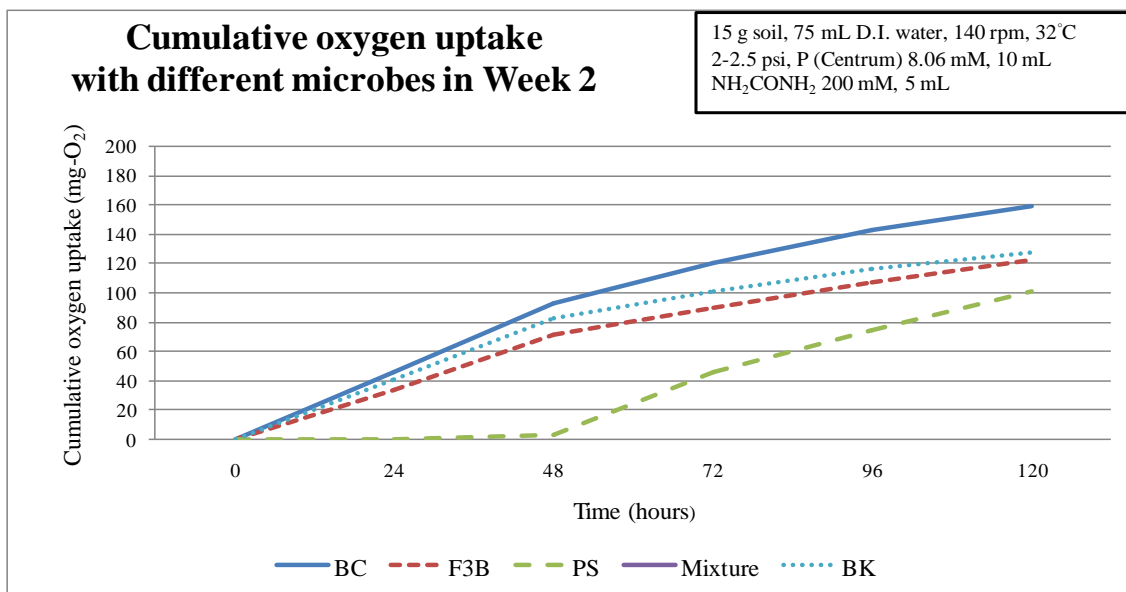


圖 5-10 植菌種後第 2 週微生物累積攝氧量曲線

植菌後第 2 週結果可發現，PS 組在 48 小時才開始量測到攝氧量，且最終攝氧量為最低組別，可能與呼吸儀操作不順暢狀況有關。BC 組維持良好的攝氧量，其餘組別有逐漸趨緩現象，但累積攝氧量皆介於 122mg-O₂ 至 127mg-O₂，顯示其他組別還是有相當穩定的累積攝氧量。

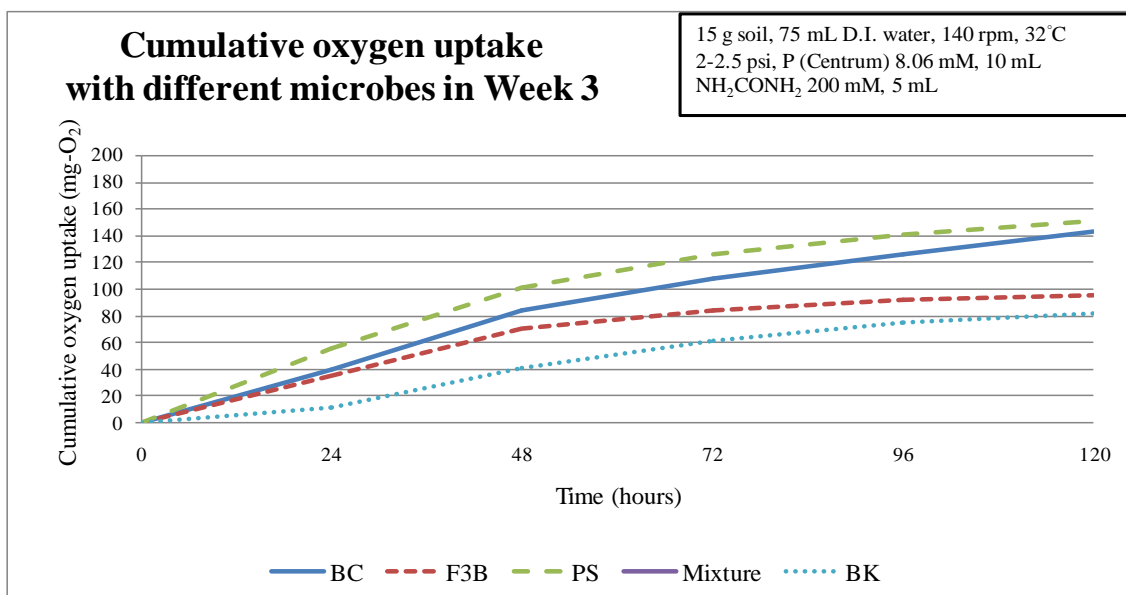


圖 5-11 植菌種後第 3 週微生物累積攝氧量曲線

植菌種後第 3 週結果可發現，PS 組在第 2 週時累積攝氧量為 100.07 mg-O₂，而在第 3 週回復至 144.78 mg-O₂，與第二週累積攝氧量良好的 BC 組相當，BK 組則因無添加菌株，所以其累積攝氧量仍維持較其他組別低。

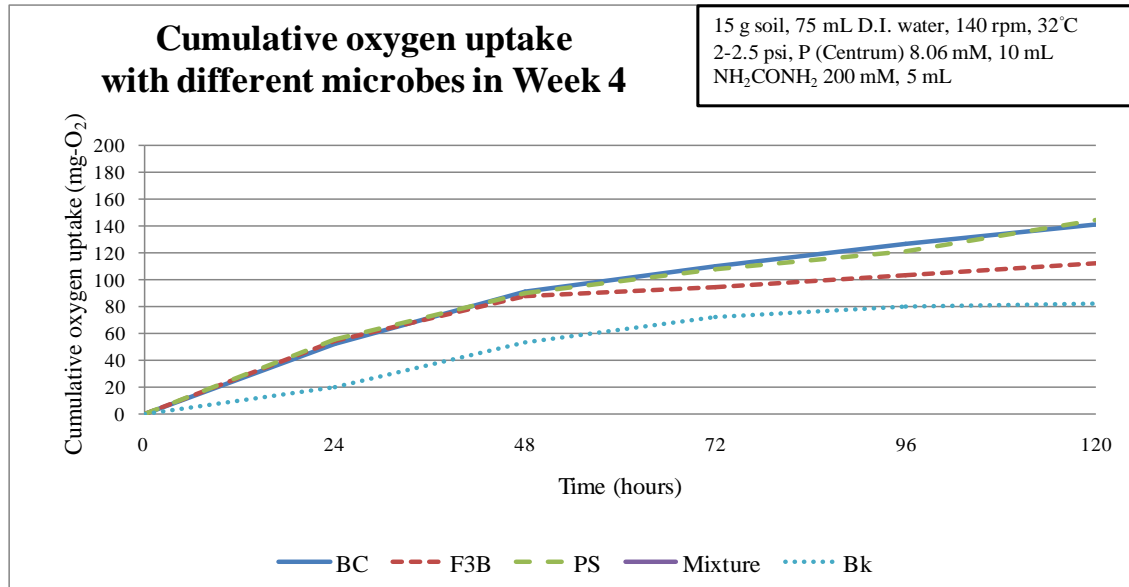


圖 5-12 植菌種後第 4 週微生物累積攝氧量曲線

植菌種後第 4 週 BK 組在第 24 小時後持續平穩的狀態維持 82.28 mg-O₂，表示 BK 組在第四週時攝氧量已達至飽和點，可能有機質逐漸減少，導致原生微生物數量恐有下降或活動力降低之情形。BC 組及 PS 組不減反增，推估可能兩支菌種在缺乏營養鹽的環境下，能選擇其餘有機物作為活動力的基質，反觀其他菌株組較沒有太大的改變。

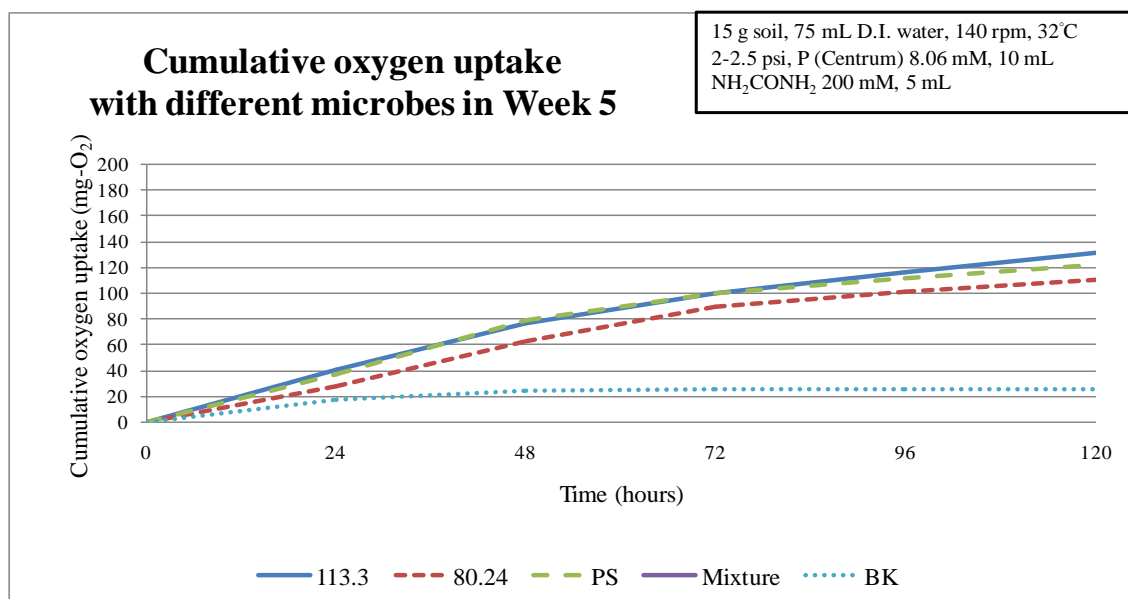


圖 5-13 植菌種後第 5 週微生物累積攝氧量曲線

植菌種後第 5 週後可發現各組別累積攝氧量皆有遲緩的情形，且攝氧量趨緩，推測各組菌種對於土壤中容易生物分解的有機質已經消耗得差不多，使得菌種在土壤中發生活性下降情形。

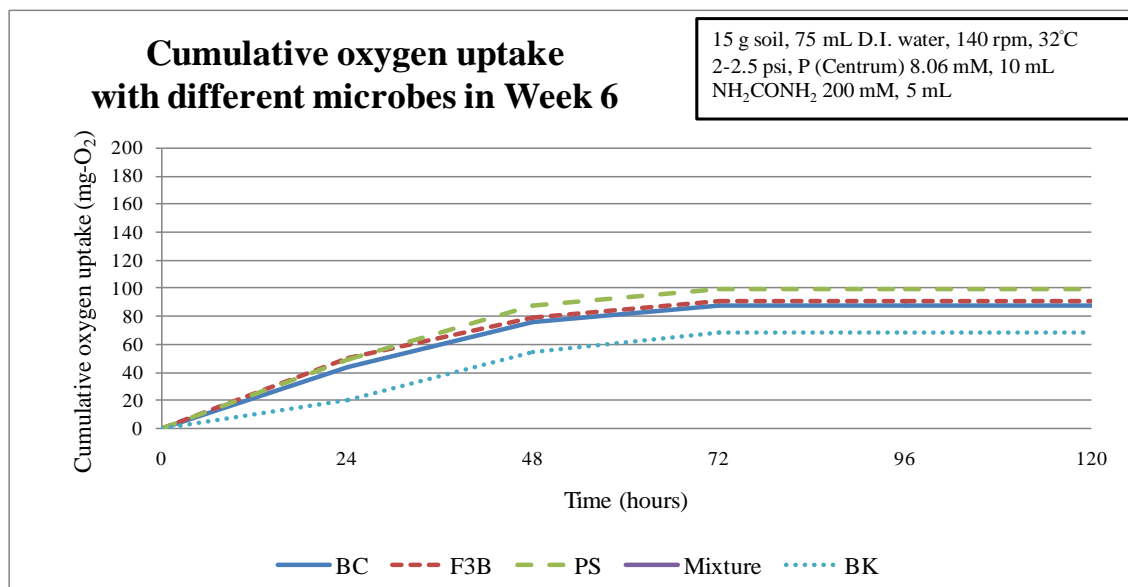


圖 5-14 植菌種後第 6 週生物累積攝氧量曲線

植菌後第六週可發現各組別累積攝氧量皆仍有遲緩的情形，且在第 72 小時後持平穩定的狀態，推測各組菌種對於土壤中的有機質已消耗得差不多，使得菌種在土壤中活動力下降之情形。在第六週後各組累積攝氧量皆低於

100mg-O₂，因此決定在第七週添加自製的營養鹽，觀察是否添加後微生物活性能夠提升。

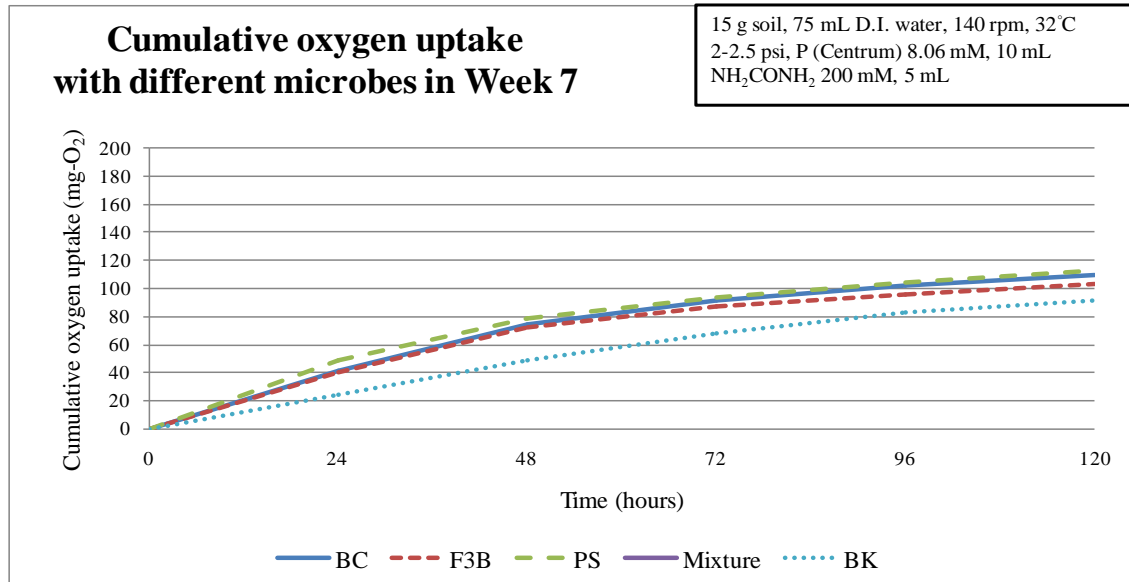


圖 5-15 植菌種後第 7 週微生物累積攝氧量曲線

在植菌種後生物通氣模場第七週添加營養鹽於污染土壤中，可發現各組攝氧趨勢皆有提升情形，表示微生物缺乏有機物作為基質，降低了累積攝氧量，雖各組別提升的累積攝氧量不多，但確實提供微生物更為適當的環境。第七週 PS 組累積攝氧量較其他組別多。

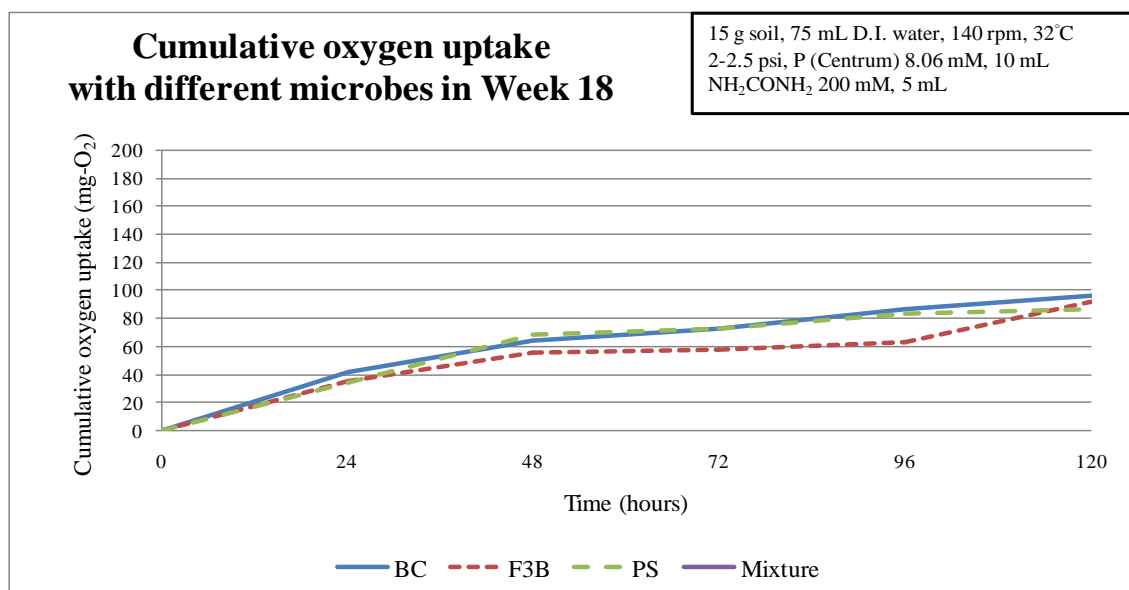


圖 5-16 植菌種後第 18 週微生物累積攝氧量曲線

植菌種後第 18 週各組累積攝氧量開始逐漸減少，將其結果(圖 5-15)與柴油濃度殘餘率圖(圖 5-17) 做分析，發現在試驗 126 天即 18 週後土壤中柴油濃度明顯減少，導致微生物活性下降。

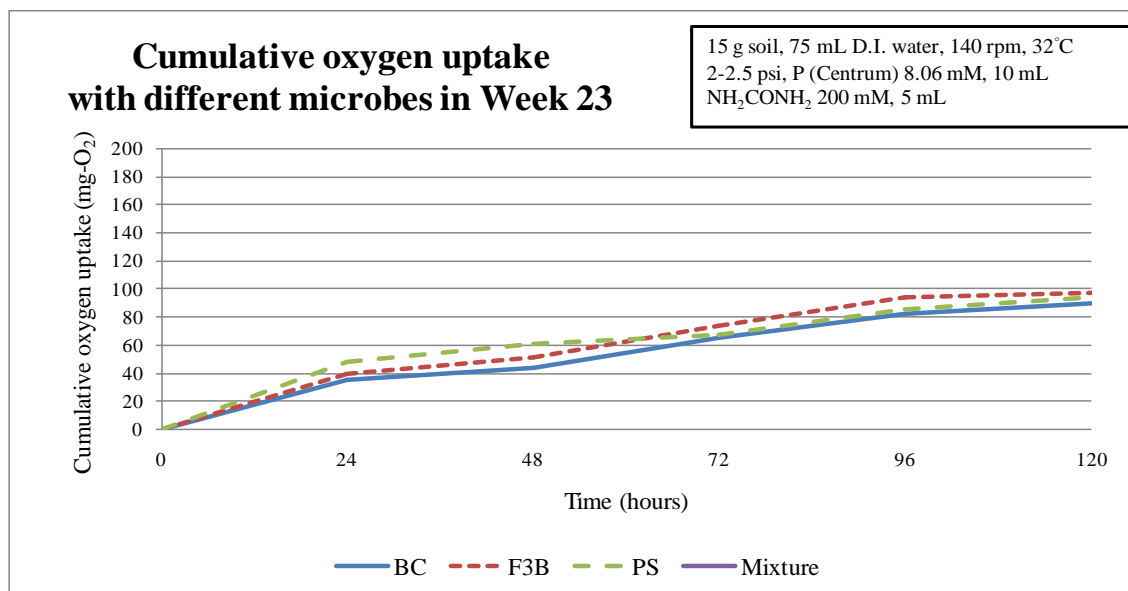


圖 5-17 植菌種後第 23 週微生物累積攝氧量曲線

以上各組在 30 週內累積攝氧量可以發現，各個組其累積攝氧量不同，第一週各組添加菌種皆有明顯提升情形，到了第 2 週皆無沒有太的變化，第 3 週微生物累積攝氧量趨勢有明顯減緩的情形，觀察至第 6 週時，因各組微生物累積攝氧量皆無法維持，因此第 6 週後添加營養鹽，第 7 週在土壤模場土壤加入自製營養鹽後各組累積攝氧量有提升的情形且開始逐漸平穩，第 18 週各組累積攝氧量開始下降至 23 週逐漸平穩，結果顯示當微生物在缺乏有機質當作消耗能量時，促使微生物活動力降低，導致攝氧量測值有下降的趨勢。

5.6 模場土壤微生物降解柴油試驗

依據 103 年度計畫報告指出，*Bacillus cereus* 菌(代號 BC)、*Achromobacter xylosoxidans* 菌(代號 F3B)、*Pseudomonas putida* 菌(代號 PS)等 3 株菌皆對高濃度(約 25,000 mg/kg)柴油具有降解能力，所以本試驗持續 103 年度計畫，模場實驗組別分為 BC 組、F3B 組、PS 組與三種微生物混合菌 (Mixture 組)，Blank

組為未植菌且未通氣空白試驗組，經各組土壤樣分析結果，各組初始柴油污染濃度分別為 3,436mg/kg、4,173mg/kg、2,706mg/kg、3,315mg/kg，土壤中營養元素比例分析為碳、氮、磷比 100：10：1，採樣點固定為距中央通氣管 15 cm 處，因本實驗以此三種植菌搭配生物通氣設備，對於實場已經風化 2 年以上的污染土壤降解柴油污染物，試驗期程共 217 日。使用生物通氣設備以管內風速 3.2 m/s 通氣，分別將 3 種個別微生物 (BC 菌、F3B 菌與 PS 菌) 與三種微生物混合菌液 (Mixture) 加入生物通氣模場中，觀察 4 組試驗組柴油濃度殘餘率結果，如圖 5-18 所示。

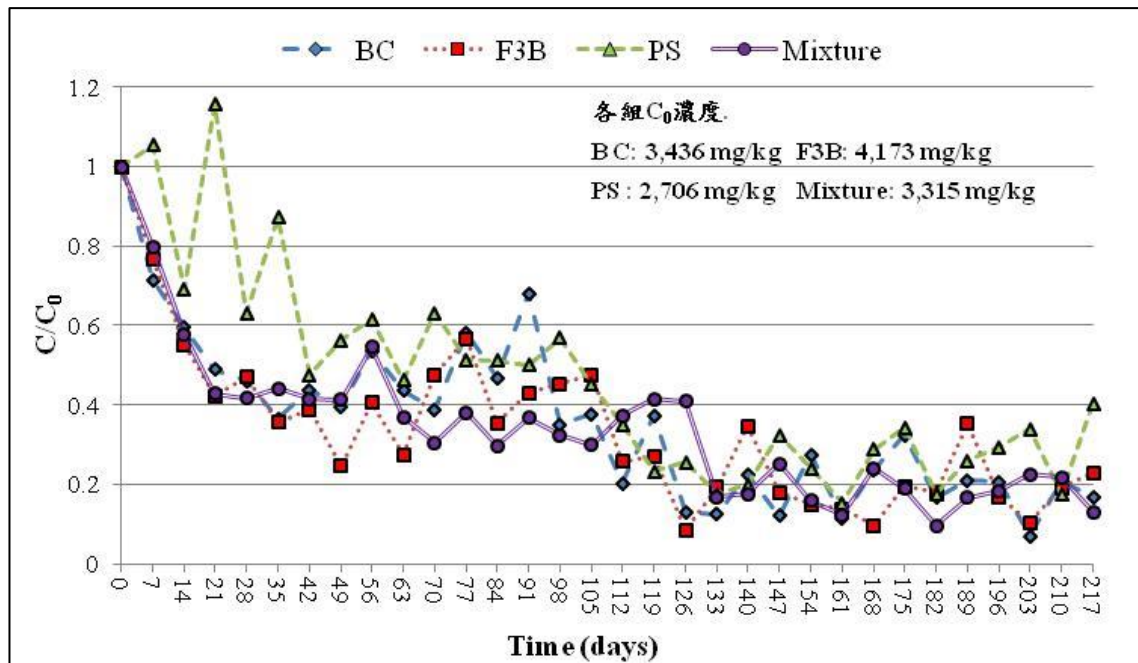


圖 5-18 生物通氣法不同植菌土壤模場之柴油濃度殘餘率圖

柴油降解趨勢採用 Mann Kendall Test 判斷統計，可以快速呈現本階段試驗的降解趨勢，統計結果如表 5-2 所示，BK 組、BC 組、F3B 組、Mixture 組，其 Z well 均為 -2.70 至 -3.00，判斷為有效明顯降解趨勢，而反觀 PS 組判斷則為無明顯趨勢，可能與 PS 的柴油濃度殘餘率不穩定有關。

表 5-2 生物通氣模場植種微生物降解柴油濃度趨勢統計分析

組別	趨勢判斷	Z Well
BK	Decreasing	-2.70
BC	Decreasing	-3.00
F3B	Decreasing	-2.70
PS	Stable/No Trend	-1.50
Mixture	Decreasing	-2.70

在 217 日降解試驗中除 PS 組外在試驗第 21 日時污染濃度殘餘率降解至 0.4，試驗 21 日後並未出現明顯降解趨勢。BC 組在試驗初期就有明顯污染物降解反應，污染降解活動持續 21 日後逐漸平緩，本次降解活動中最低污染濃度殘餘率達 0.07，21 日後 C/C_0 則維持在 0.4-0.6 之間一直到試驗 126 日出現第二段降解後持續平緩。F3B 組在試驗初期就有明顯污染物降解反應，明顯的污染降解出現在試驗期程的前 21 日，在 21 日的降解活動中 C/C_0 由原本 1.00 降解至 0.42，21 日後則無明顯降解趨勢 C/C_0 介於 0.3-0.5 之間。PS 組的降解活動較緩慢，明顯的污染降解出現在試驗期程的前 42 日，在 42 日的降解活動中 C/C_0 由原本 1.0 降解至 0.48，42 日後則無明顯降解趨勢 C/C_0 介於 0.4-0.6 之間一直到試驗 126 日出現第二段降解後持續平緩。Mixture 菌組的降解活動較穩定，在試驗中出現 2 段污染物降解趨勢，試驗第 21 日 C/C_0 降至 0.43，第一段污染物降解在 21 日後逐漸平緩，此時 C/C_0 已達 0.54，試驗第 28 日時出現第二波明顯降解趨勢， C/C_0 由原本 0.43 (21 日) 降至 0.17，隨後 C/C_0 維持在 0.15-0.2 之間。在降解試驗最終時各組柴油濃度殘餘率皆在 0.4 以下，Mixture 菌組污染濃度殘餘率最低， C/C_0 可達 0.13。因本試驗使用風化後的土壤，因此針對生物較難分解的 Pristane(Pr)與 Phytane(Ph)、C17 及 C18 進行分析，在圖 5-19 顯示各組在對於較難分解的 C17 及 C18 在試驗 126-133 天後都有良好的降解趨勢。

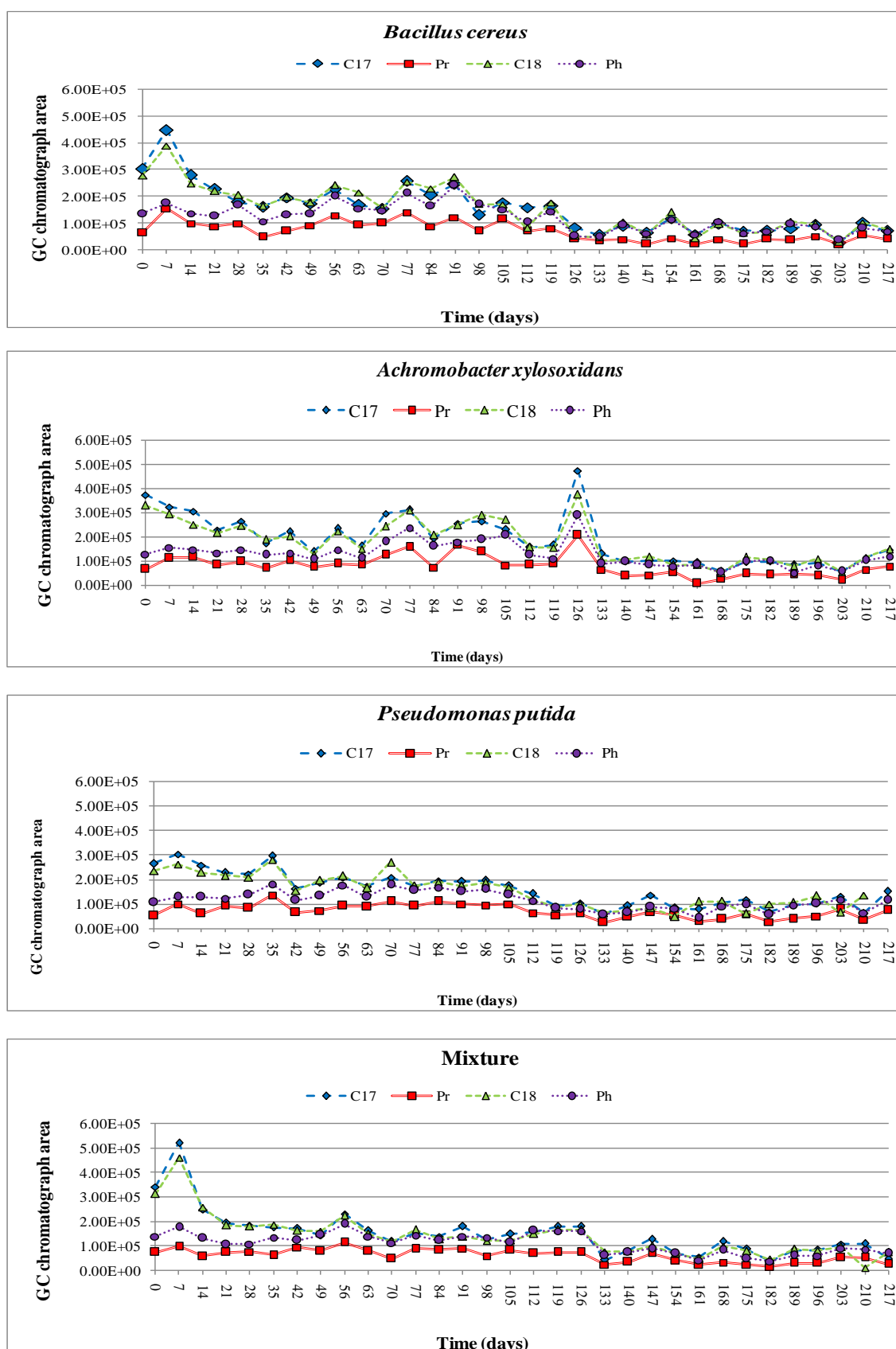


圖 5-19 各微生物試驗組對 C17、C18、Pr、Ph 降解分析圖

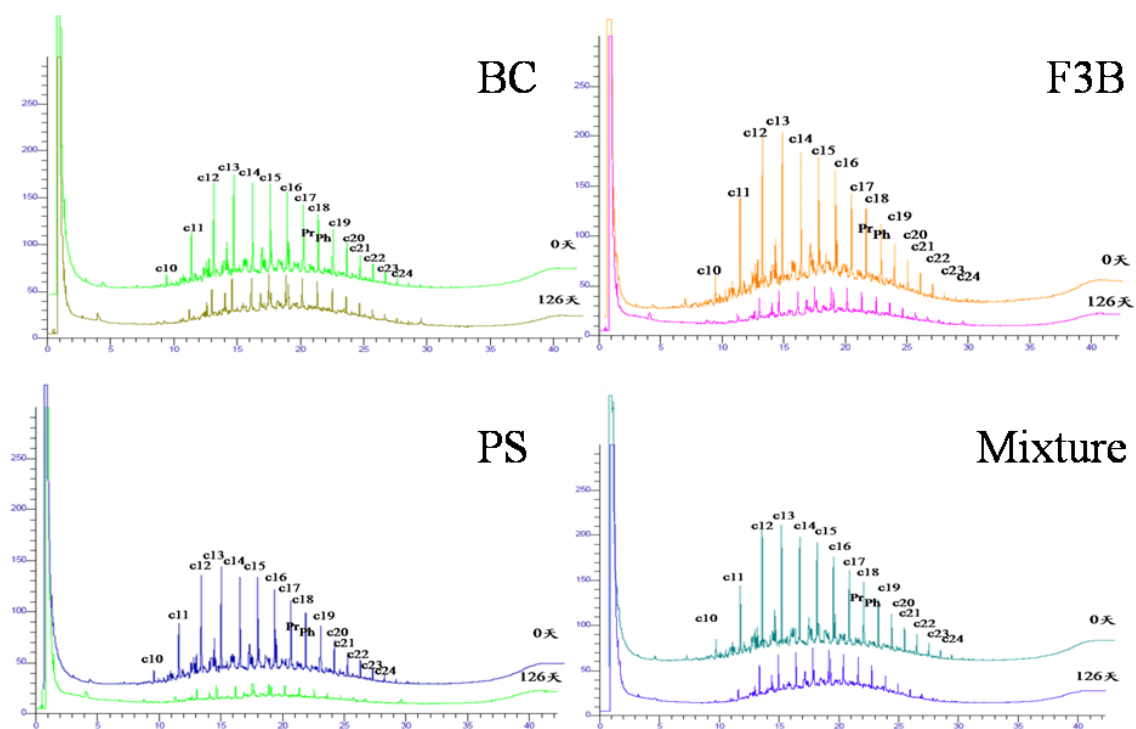


圖 5-20 各微生物試驗組柴油降解 126 日前後圖譜比較圖

在生物降解柴油過程中，Pristane 與 Phytane 屬較難降解之物質，圖 5-20 為各試驗組經第一段降解 126 日後之圖譜比較圖，低碳數及直鏈碳氫化合物皆明顯降低。而由圖 5-21 中顯示試驗 126-133 天後結果，各碳數皆有良好的降解成效，以難分解的 Pristane 與 Phytane 的降解來看，PS 及 Mixture 組對於 Pristane 與 Phytane 降解率皆達 54% 以上。

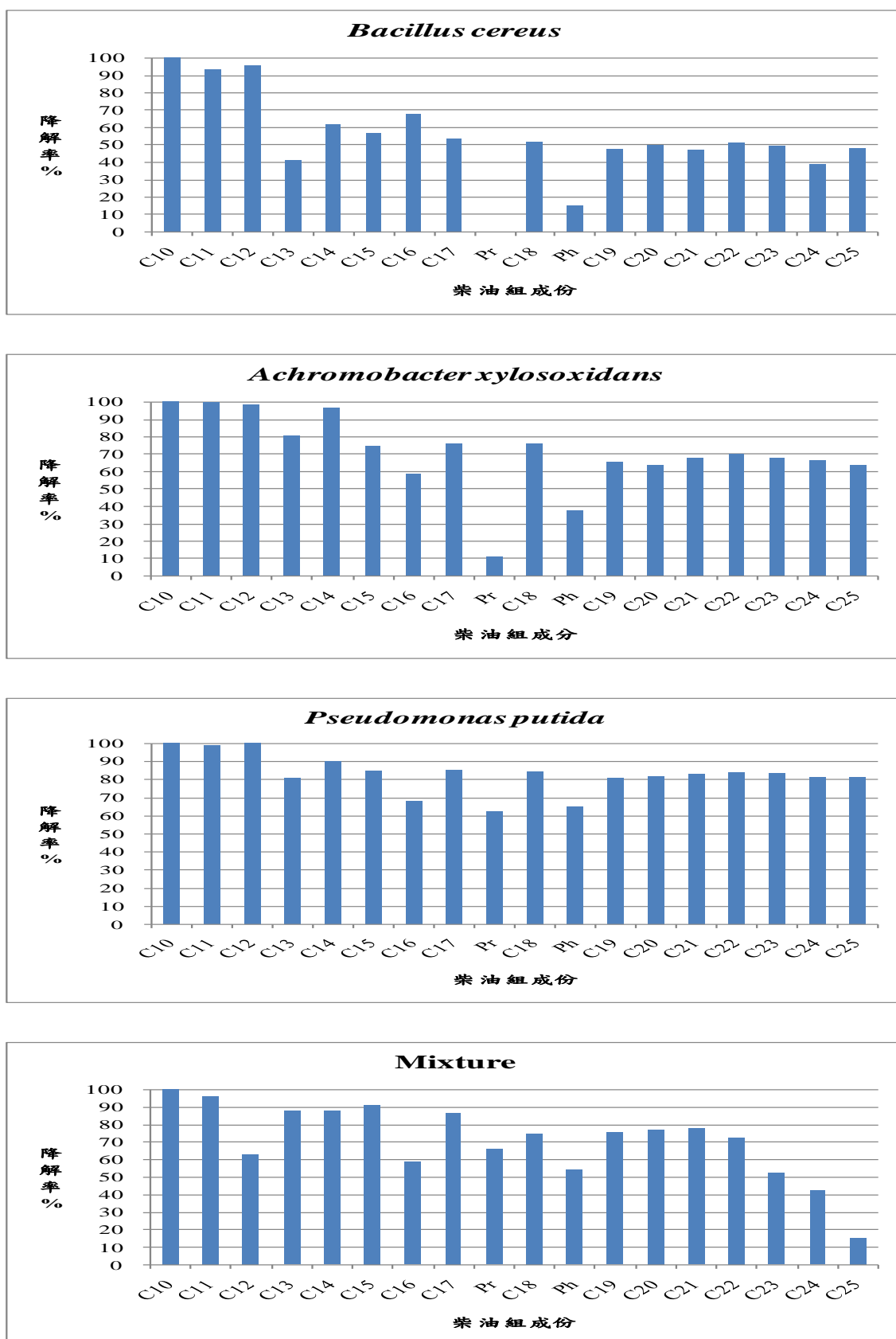


圖 5-21 各微生物試驗組柴油不同碳數成分之降解率

5.7 間歇性風力驅動試驗

本試驗欲先模擬地下土壤層缺氧環境，因此待污染土壤填通完畢後，於表層覆蓋未污染土壤，示意地下土層遭受油品污染。完成模場配置後以保鮮膜纏繞阻絕空氣進入，使其密閉待氧氣濃度降低，試驗氧氣濃度量測結果如表 5-3 所示，在完成模場並密封後四天，地下土壤層均呈現缺氧的情形，隨後啟動生物通氣系統，在 45 分鐘後地下土壤層皆恢復到氧氣濃度在 19% 以上呈現好氧環境，在執行間歇性風力試驗中微生物活性中，在未通氣情況下，各組累積攝氣量於 48 小時內較通氣中來得少，但在 120 小時後與持續性風力試驗無明顯差異，顯示缺氧環境的微生物在呼吸試驗中由低活性轉成較高的活性。

表 5-3 間歇性風力驅動式生物通氣模場啟動後土壤中氧氣濃度

試驗組別	啟動前氧氣濃度	啟動後氧氣濃度
BC	11.10%	19.40%
F3B	5.20%	18.90%
PS	7.90%	19.90%
Mixture	7.20%	19.00%
Blank	10.90%	19.60%

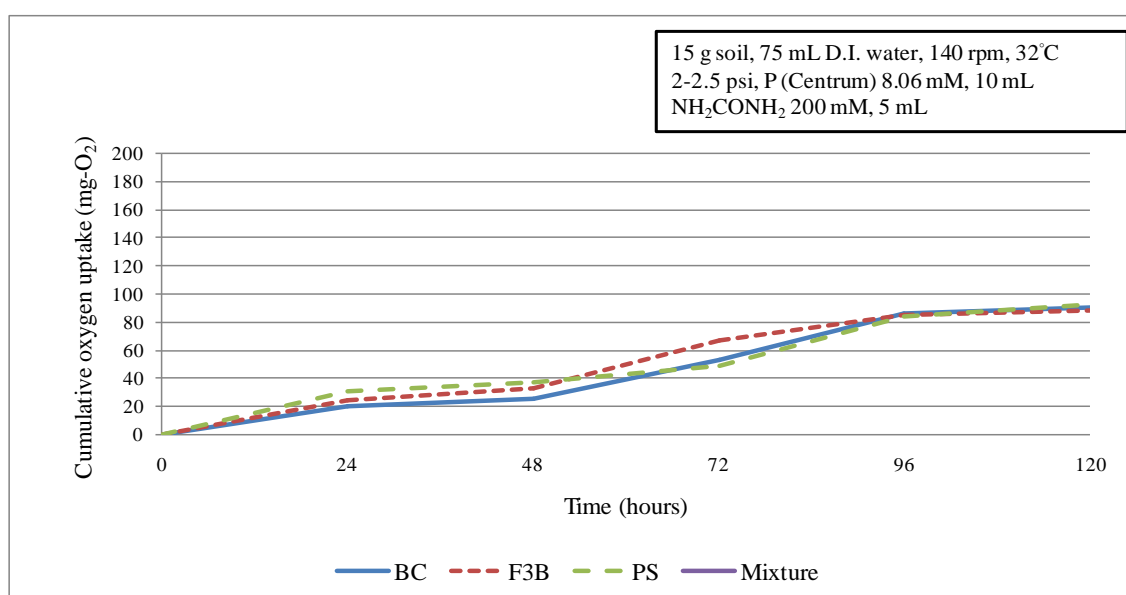


圖 5-22 間歇性風力驅動式生物通氣模場啟動前微生物累積攝氧量曲線

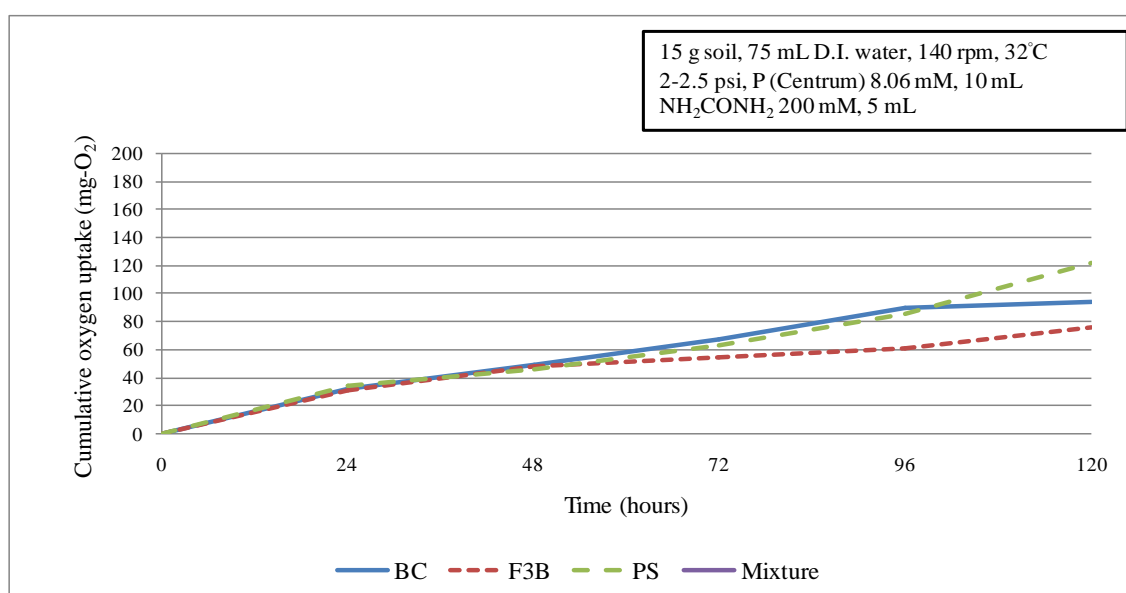


圖 5-23 間歇性風力驅動式生物通氣模場啟動後微生物累積攝氧量曲線

5.8 降解動力學參數推估

未柴油馴化組降解柴油之實驗

反應槽試驗中未馴化菌組的柴油降解動力學試驗結果，圖 5-24 為以兩段降解趨勢分別求取未馴化菌組降解動力學參數，數據如表 5-4 所示。在試驗 14 日 F3B 菌組先出現第二段降解，該時的柴油殘餘濃度約為 15,000 mg/kg，BC 菌組及 F3B 菌組則在 28 日出現第二段降解，該時的柴油殘餘濃度分別約為 16,000 及 14,000 mg/kg，在各菌組之動力學參數中，BC 菌組在第一階段 μ_m 、 K_s 與 K_i 值分別為 0.14 d^{-1} 、15,000mg/kg 與 2,750mg/kg 為較低，表示各菌組中 BC 菌組在高濃度柴油約 26,000 mg/kg 環境下相較於 F3B 及 PS 菌組有更佳的降解能力與適應能力。在第二段降解的動力學結果顯示，各菌組隨著柴油殘餘濃度減少而 K_s 與 K_i 值皆下降，表示各菌組在試驗過程中皆有良好的柴油基質利用，但 K_i 值下降而 μ_m 值卻有增長，代表了各菌組生長緩慢甚至穩定，在第二階段降解參數中發現 F3B 菌組 μ_m 值從 0.09 d^{-1} 提高至 0.29 d^{-1} ，表示 F3B 菌組較適合生長於柴油較低濃度 15,000 mg/kg 狀況下。PS 菌組在第一階段及第二階段降解中 K_i 值表現皆為最佳，上述提到各菌組隨著柴油殘餘濃度減少而 K_s 值下降，但 PS 菌組隨著柴油殘餘濃度減少而 K_s 值減少，因此推斷 PS 菌組在降解能力在三組菌組中雖不是最佳，但在第一階段亦或是第二階段降解中適應力相較 BC 與 F3B 來得良好。各菌組在試驗 49 日之降解速率中 BC 為 332.3 mg/kg/day、F3B 為 257 mg/kg/day、PS 為 208.6、Blank 組為 144 mg/kg/day，結果顯示添加降解菌種對於降解柴油是有所助益。

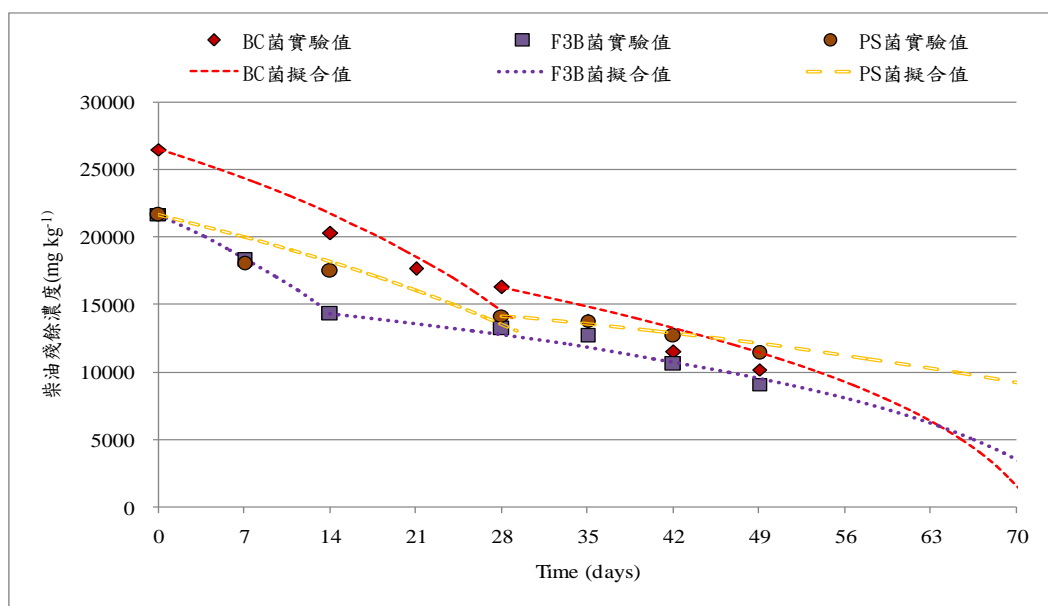


圖 5-24 未柴油馴化組降解柴油之實驗值與模式預估比較圖

表 5-4 未柴油馴化組降解柴油之動力學參數

菌種	馴化 濃度	降解階段 (day)	μ_m (d ⁻¹)	K_s (mg/kg)	K_i (mg/kg)	R^2 (解釋能力)
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	0	0-14	0.09	22,000	500	0.9995
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	0	14-49	0.29	11,000	310	0.9898
<i>Bacillus cereus</i>	0	0-28	0.14	15,000	2,750	0.9896
<i>Bacillus cereus</i>	0	28-49	0.105	11,000	300	0.9915
<i>Pseudomonas putida</i>	0	0-28	0.08	15,000	3,300	0.9509
<i>Pseudomonas putida</i>	0	28-49	0.12	14,000	700	0.9904

微生物先以 2,000 $\mu\text{L/L}$ 柴油馴化

反應槽試驗中 2,000 $\mu\text{L/L}$ 柴油馴化菌組的柴油降解動力學試驗結果，圖 5-25 為以兩段降解趨勢分別求取 2,000 $\mu\text{L/L}$ 柴油馴化菌組降解動力學參數，數據如表 5-5 所示。在試驗中 BC 菌組未出現明顯二段降解，PS 菌組及 F3B 菌組則在 21 日出現第二段降解，該時的柴油殘餘濃度分別約為 9,000 mg/kg 及 11,000 mg/kg。在第一階段降解動力學參數中顯示，BC 菌組 K_s 值 15,200 mg/kg 為最佳，而 PS 菌組 K_i 值 3,500 mg/kg 則為最佳，表示在高濃度柴油 20,000 mg/kg 環境下 BC 菌組的降解能力最佳，而 PS 菌組適應力最佳。各菌組經馴化後在第二段降解時柴油殘餘濃度約為 10,000 mg/kg，表示馴化後各菌組確實可縮短降解時間，在動力學表現中，各菌組隨著柴油殘餘濃度減少而 μ_m 、 K_s 與 K_i 值下降，表示各菌組在試驗過程中皆有良好的柴油基質利用，但 μ_m 、 K_i 值下降卻代表了各菌組生長穩定，可能是因馴化導致提前刺激微生物的降解機制。在參數表現中 PS 組在 μ_m 、 K_s 與 K_i 值的表現在各菌組中為最佳，表示 PS 菌相較其他菌組更適用於柴油濃度 10,000 mg/kg 狀況下。各菌組在試驗 49 日之降解速率中 BC 為 298 mg/kg/day、F3B 為 289.4 mg/kg/day、PS 為 272.3 mg/kg/day、Blank 為 144 mg/kg/day，結果顯示各馴化菌組相較於未馴化菌組除 BC 菌組外皆可提昇柴油降解速率及成效。

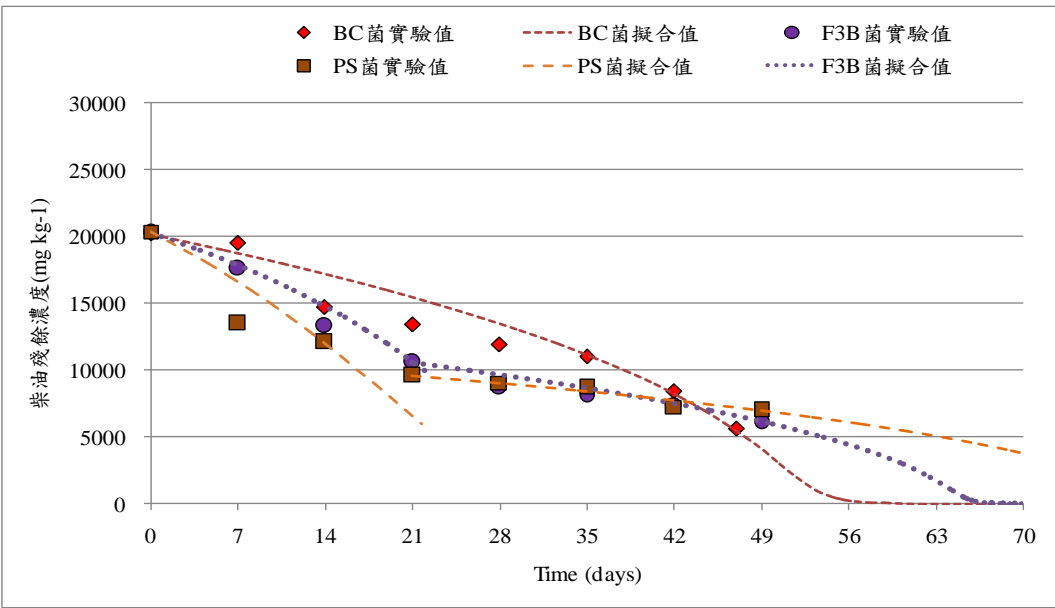


圖 5-25 以 2,000 $\mu\text{L/L}$ 柴油馴化組降解柴油之實驗值與模式預估比較圖

表 5-5 以 2,000 $\mu\text{L/L}$ 柴油馴化組降解柴油之動力學參數

菌種	馴化 濃度	降解階段 (day)	$\mu_m(\text{d}^{-1})$	K_s (mg/kg)	K_i (mg/kg)	R^2 (解釋能力)
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	2,000	0-21	0.25	28,000	1,600	0.9917
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	2,000	21-49	0.07	7,700	170	0.9811
<i>Bacillus cereus</i>	2,000	0-49	0.092	15,200	600	0.9935
<i>Pseudomonas putida</i>	2,000	0-21	0.135	31,500	3500	0.9611
<i>Pseudomonas putida</i>	2,000	21-49	0.12	7,200	300	0.9891

微生物先以 4,000 $\mu\text{L/L}$ 柴油馴化

反應槽試驗中以 4,000 $\mu\text{L/L}$ 柴油濃度馴化的柴油降解試驗結果，圖 5-26 為以兩階段降解趨勢分別求取三種菌馴化 4,000 $\mu\text{L/L}$ 後之降解動力學參數，數據如表 5-6 所示。試驗中 BC 及 F3B 菌組未出現明顯二階段降解，PS 菌組則在 14 日出現第二階段降解，該時的柴油殘餘濃度分別約為 12,000 mg/kg，在第一階段動力學參數中表示 PS 菌組 K_s 值為 15,800 mg/kg 為最佳，而 F3B 菌組 K_i 值 7,500mg/kg 則為最佳，BC 菌組 μ_m 值 0.185 d^{-1} 為最佳，表示經馴

化 4,000 $\mu\text{L/L}$ 後在高濃度柴油 20,000 mg/kg 環境下 PS 菌組的降解能力最佳，而 F3B 菌組適應力最佳，BC 菌組生長情況較良好。BC 菌組及 F3B 菌組經馴化後未出現明顯的降解停滯，表示馴化 BC 菌組及 F3B 菌組確實可縮短其降解時間，而 PS 菌組經馴化後不論在第一階段與第二階段皆出現較佳的降解能力(K_s 值)。各菌組在試驗 49 日之降解速率中 BC 為 317 mg/kg/day、F3B 為 333 mg/kg/day、PS 為 223.4 mg/kg/day、Blank 為 144 mg/kg/day，結果顯示提高柴油馴化濃度除 PS 菌組外，皆有明顯提昇柴油降解速率及成效，且柴油馴化濃度為 4,000 $\mu\text{L/L}$ 時各菌組均有較佳之表現。

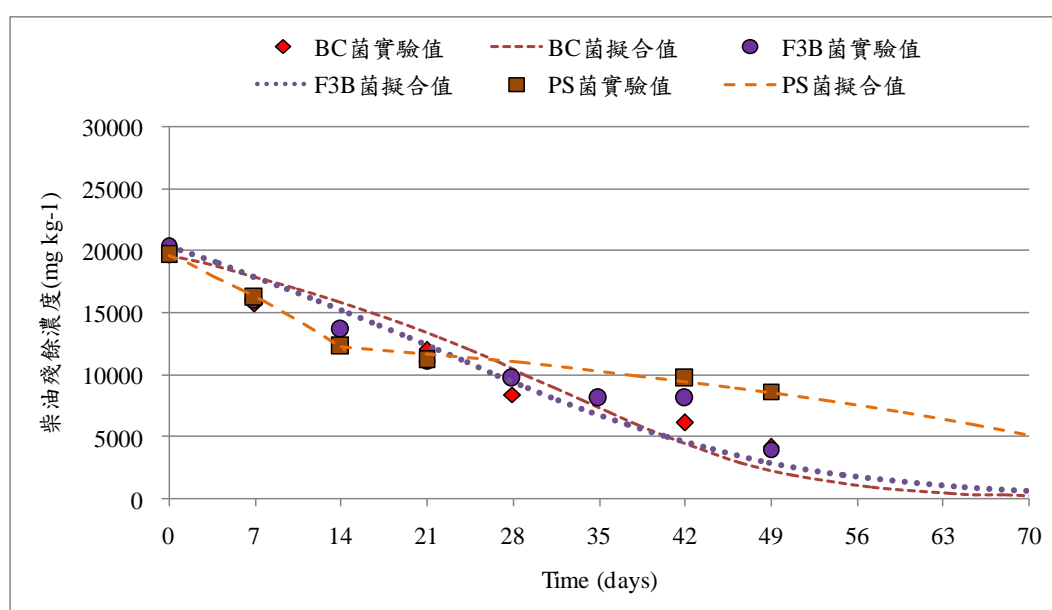


圖 5-26 以 4,000 $\mu\text{L/L}$ 柴油馴化組降解柴油之實驗值與模式預估比較圖

表 5-6 以 4,000 $\mu\text{L/L}$ 柴油馴化組降解柴油之動力學參數

菌種	馴化 濃度	降解階段 (day)	$\mu_m(\text{d}^{-1})$	K_s (mg/kg)	K_i (mg/kg)	R^2 (解釋能力)
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	4,000	0-49	0.17	78,000	7,500	0.9915
<i>Bacillus cereus</i>	4,000	0-49	0.185	48,000	4,000	0.9906
<i>Pseudomonas putida</i>	4,000	0-14	0.15	15,800	880	0.9995
<i>Pseudomonas putida</i>	4,000	14-49	0.09	17,000	1,200	0.9873

微生物先以 8,000 $\mu\text{L/L}$ 柴油馴化

反應槽試驗中以 8,000 $\mu\text{L/L}$ 柴油濃度馴化的柴油降解試驗結果，圖 5-27 為以兩階段降解趨勢分別求取三種菌馴化 8,000 $\mu\text{L/L}$ 後之降解動力學參數，數據如表 5-7 所示。試驗中 PS 菌組未出現明顯二段降解，且經 8,000 $\mu\text{L/L}$ 柴油濃度馴化後大幅提升了降解成效，BC 菌組及 F3B 菌組則分別在 28 日、7 日出現第二段降解，該時的柴油殘餘濃度分別約為 6,000 mg/kg 及 10,000 mg/kg ，在初始濃度階段動力學參數中顯示 BC 菌組 K_s 值為 18,000 mg/kg 為最佳，PS 菌組 μ_m 、 K_i 值為 0.18 d^{-1} 及 8,000 mg/kg 為最佳，表示經馴化 8,000 $\mu\text{L/L}$ 後在高濃度柴油 20,000 mg/kg 環境下 BC 菌組的降解能力最佳，而 PS 菌組生長情況與適應力最佳。各菌組經馴化後在第二階段降解時柴油殘餘濃度約為 10,000 mg/kg ，表示馴化後各菌組確實可縮短降解時間。在動力學數據顯示，各菌組隨著柴油殘餘濃度減少而 μ_m 、 K_s 與 K_i 值下降，表示各菌組在試驗過程中皆有良好的柴油基質利用，但 μ_m 與 K_i 值下降卻代表了各菌組生長緩慢甚至穩定，在第二階段降解參數表現中 F3B 菌組不論在 K_s 值或 K_i 值的表現均最佳，且 μ_m 有增長的趨勢，表示馴化 8,000 $\mu\text{L/L}$ 後之 F3B 菌組經第一階段降解後在生長情況與降解能力以及適應力皆優於其他菌組。各菌組在試驗 49 日之降解速率中 BC 為 267.6 mg/kg/day 、F3B 為 256.2 mg/kg/day 、PS 為 302.6 mg/kg/day 、Blank 為 144 mg/kg/day ，結果顯示提高柴油馴化濃度雖然對降解率有幫助但各馴化 8,000 $\mu\text{L/L}$ 菌組相較於馴化 4,000 $\mu\text{L/L}$ 菌組除 PS 菌組外較無明顯提昇降解速率。

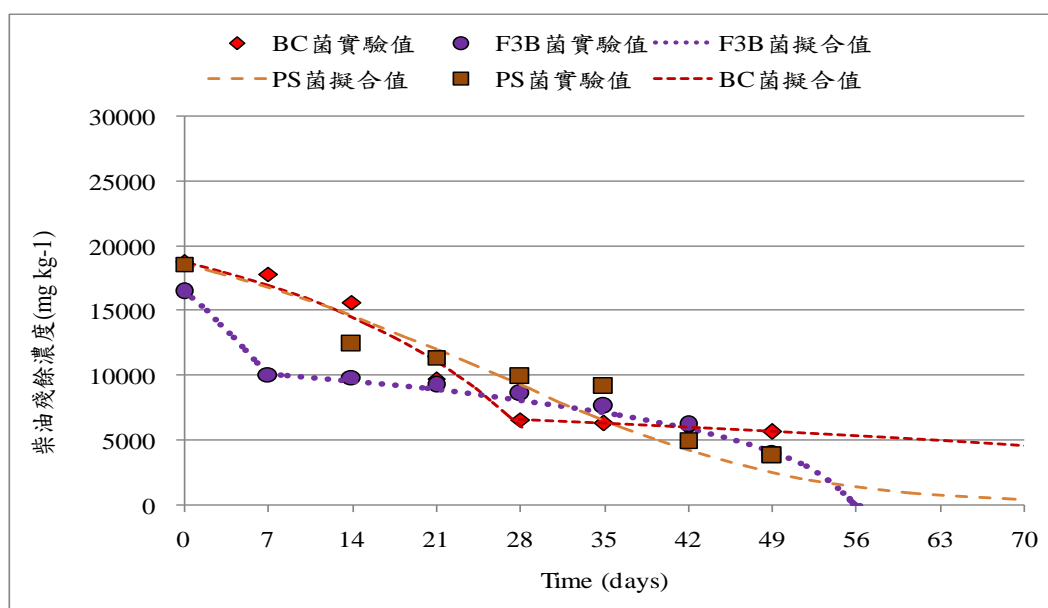


圖 5-27 以 8,000 $\mu\text{L/L}$ 柴油馴化組降解柴油之實驗值與模式預估比較圖

表 5-7 以 8,000 $\mu\text{L/L}$ 柴油馴化組降解柴油之動力學參數

菌種	馴化 濃度	降解階段 (day)	$\mu_m(\text{d}^{-1})$	K_s (mg/kg)	K_i (mg/kg)	R^2 (解釋能力)
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	8,000	0-7	0.085	18,500	2,500	0.9999
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	8,000	7-49	0.137	180	1,200	0.9961
<i>Bacillus cereus</i>	8,000	0-28	0.25	18,000	2,500	0.9925
<i>Bacillus cereus</i>	8,000	28-49	0.09	6,000	240	0.9997
<i>Pseudomonas putida</i>	8,000	0-49	0.18	53,100	8,000	0.9961

5.9 結論

改良後之通氣設備系統，確實有效輔助好氧微生物，在氧氣缺乏的形況之下，啟動風力驅動生物通氣系統 45 分鐘後即可提高土壤中氧氣濃度至 19% 以上，使好氧微生物能有效的降解土壤中的柴油，促進微生物的活性動力。於氣泡式呼吸試驗，不論是持續性風力還是間歇性風力驅動似乎不影響微生物活性，從累積攝氧量曲線評估土壤中微生物族群活躍狀況，加以判斷微生物活性，且在攝氧量平穩時，適時加入營養鹽是有效促使微生物對柴油降解趨勢重要因素之一。

在 217 日降解試驗中各組最低柴油殘餘率在試驗 126-133 日時即會出現，之後降解趨勢逐漸平緩，BC 菌組最低柴油殘餘率為 0.13，柴油殘餘濃度為 430 mg/kg、F3B 菌組最低柴油殘餘率為 0.08，柴油殘餘濃度為 351 mg/kg、PS 菌組最低柴油殘餘率為 0.18，柴油殘餘濃度為 474 mg/kg、Mixture 菌組最低柴油殘餘率為 0.10，柴油殘餘濃度為 321 mg/kg。因採樣不均質狀況下，在最終柴油殘餘濃度中 BC 菌組柴油殘餘濃度為 578 mg/kg、F3B 菌組柴油殘餘濃度為 960mg/kg、PS 菌組柴油殘餘濃度為 990 mg/kg、Mixture 菌組柴油殘餘濃度為 431 mg/kg，仍皆達法規標準值 1,000 mg/kg 以下，主要殘餘物皆為高碳數及具支鏈的碳氫化合物如 Pristane 與 Phytane 等。

在反應槽試驗中，事先馴化柴油濃度為 4,000 $\mu\text{L/L}$ 狀況下 *Achromobacter xylosoxidans* 與 *Bacillus cereus* 的柴油分解能力較佳，柴油降解效率可達

80.12%與 78.8%，同時柴油降解趨勢最為明顯且穩定，而 *Pseudomonas putida* 經 8,000 $\mu\text{L/L}$ 柴油馴化後明顯提高其降解能力。在動力學參數推估方面，三種菌經馴化後對柴油的親和力及對柴油的耐受力有明顯受影響，在馴化 4,000 $\mu\text{L/L}$ 後 *Achromobacter xylosoxidans* 與 *Bacillus cereus* 雖然基質親和力降低，但耐受力有明顯提高，表示 *Achromobacter xylosoxidans* 與 *Bacillus cereus* 經馴化 4,000 $\mu\text{L/L}$ 後對於柴油污染適應力有變強，而馴化 8,000 $\mu\text{L/L}$ 試驗中 *Pseudomonas putida* 雖基質親和力降低，但耐受力有明顯提高，且柴油親和力及柴油耐受力皆明顯優於馴化柴油濃度為 4,000 $\mu\text{L/L}$ 狀況下 *Achromobacter xylosoxidans* 與 *Bacillus cereus*，因此馴化此三種菌皆有助於適應柴油環境並提高降解成效。

5.10 建議

本研究在連續式風力與間歇性風力進行輔助提高好氧微生物有最佳的環境條件，確實有提高微生物好氧分解成效，微生物活性不受間歇性風力所影響。然而實場整治時未必常有連續通風狀況進入土壤層中，因此建議後續研究可以改間歇性風力，更符合實場整治風力條件。由試驗可觀察當各菌種組累積攝氧率平穩時，適時添加營養鹽可發現各組降解效率提升程度不同，表示其所需的營養鹽也不同，因此建議依照不同菌種逐量添加營養鹽，促使菌種搭配生物通氣系統達到更有效的柴油降解效果。

本研究為場址土壤，試驗中常因為柴油濃度高低，導致實驗分析數據結果起伏不定，所以採樣點建議為十字採混樣方式，才能具模場土壤的代表性，更精確判斷柴油濃度殘餘率。

使用生物通氣設備輔助微生物降解柴油時，事先將微生物以柴油濃度 4,000 $\mu\text{L/L}$ 馴化可有效幫助後續實場整治成效。

參考文獻

- Brown, R. A., R.E. Hinchee, R.D. Norris and J.T. Wilson, "Bioremediation of petroleum hydrocarbons: A flexible, variable speed technology," *Remediation*, 6 (3), 95-109, 1996.
- Colla, T.S., R.Andreazza, F.Bücker, M.M.de Souza, L.Tramontini, G.R.Prado, A.P.G.Frazzon, F.A.de Oliveira Camargo, F.M. Bento, "Bioremediation assessment of diesel–biodiesel-contaminated soil using an alternative bioaugmentation strategy," *Environmental Science and Pollution Research*, Vol. 21,No.4, pp.2592-2602, 2014.
- Dominguez, R. C., J. Leu and M. Bettahar, "Sustainable Wind-Driven Bioventing at a Petroleum Hydrocarbon–Impacted Site," *Wiley Periodicals*, 65-78, 2012.
- Gibson, D. T., Microbial degradation of hydrocarbons, pp. 667-696. In: Goldberg, E. D. (ed.), *Physical and chemical sciences research report I. Dahlem Workshop Report on the Nature of Sea Water*, 1971.
- Hinchee, R.E. and S.K. Ong, "A Rapid In Situ Respiration Test for Measuring Aerobic Biodegradation Rates of Hydrocarbons in Soil," *Journal of the Air & Waste Management Association*, 42:1305-1312, 1992.
- King, N.J., *The Oil Industry and Microbial Ecosystem*, Heyden and Sons, 1978.
- Leeson, A., and R.E. Hinchee, *Soil Bioventing Principles and Practice*. Lewis Publishers, CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, 1997.
- Marecik, L. Chrzanowski, "The influence of bioaugmentation and surfactant addition on bioremediation efficiency of diesel-oil contaminated soil: Feasibility during field studies," *Journal of Environmental Management*, Vol. 132, pp. 121-128, 2014.
- Mariano, A.P., D.M. Bonotto, D. de Franceschi de Angelis; M.P. Santos Pirollo; J. Contiero, "Biodegradability of commercial and weathered diesel oils," *Brazilian Journal of Microbiology*, Vol .39, No. 1, pp. 133-142, 2008.
- Pamukcu, S., "Electro-Chemical Technologies for In-Situ Restoration of Contaminated Subsurface Soils," *Electronic J. Geotechnical Engineering*, 1997.
- Peter, K. E. and J. M. Moldowan, *The Biomarker Guide – Interpreting Molecular Fossils in Petroleum and Ancient Sediments*, Prentice Hall, Englewood Cliffs, 1993.
- Rastogi, M., S. Singh and H. Pathak, "002ogi, M., S. Singh and H. Pathak *SiCurrent Science*, 82 (5): 510-517, 2002.
- Rittmann, B. E. and P. L. McCarty, *Environmental Biotechnology: Principles and*

Applications. McGraw-Hill, New York, 2001. Szulc, A., D. Ambrożewicz, M. Sydow, L. Lawniczak, A. Piotrowska-Cyplik, R. Marecik and L. Chrzanowski: The influence of bioaugmentation and biosurfactant addition on bioremediation efficiency of diesel-oil contaminated soil Feasibility during field studies, J. Environ. Manage. 132, 121-128, 2014.

史盟秀，「BTEX 在幾種台灣主要土壤中之吸附與降解」，碩士論文，國立屏東科技大學環境工程與科學系，2001。

行政院環境保護署，「98 年度土壤及地下水污染整治年報」，第 50-51 頁，2009。

行政院環境保護署，「土壤中總石油碳氫化合物(TPHs)檢測之研究」，中華民國行政院環境保護署環境檢驗所研究報告，2003。

行政院環境保護署，「土壤中總石油碳氫化合物檢測方法」，氣相層析儀／火焰離子化偵測器法，2007。

行政院環境保護署，「油品類儲槽系統土壤及地下水污染整治技術選取、系統設計要點與注意事項參考手冊印製」，1996。

沈之敏，「BTEX 分解菌之固定化顆粒生物降解動力學研究」，碩士論文，國立雲林科技大學環境與安全衛生工程系，2010。

邱明良，「受多環芳香族碳氫化合物—萘、菲污染土壤之生物復育研究」，中興大學，第 160-170 頁，2000。

車明道，「土壤受氯化碳氫化合物污染整治技術與問題評析」，第六屆土壤污染防治研討會—受有機污染物污染之整治復育技術論文集，第 61-95 頁，1999。

江舟峰，「氣泡式呼吸儀的測定原理與操作技巧技術研究報告」，朝陽科技大學，2001。

林國安、紀文榮、胡錦城、郭政隆、吳素慧、林麗華、沈俊卿，石油探採（第一冊）—生油岩之油氣岩對比，中國石油股份有限公司訓練教材叢書，212~240，2003。

黃德坤、羅文杰、林舜隆、陳大麟，油污染源鑑定實例研討，第三屆土壤與地下水研討會，2005。

吳素慧，生物記號與同位素分析在環境法醫學之研究，環保署九十一年度環境法醫相關技術及其應用成果發表會，2003。

洪瑞敏，「活性污泥之呼吸儀毒性試驗研究」，朝陽科技大學，第 63-66 頁，2003。

倪佩君，「柴油污染土壤之代謝研究」，崑山科技大學，第 30-31 頁，2011。

陳俊宏，「生化需氧量呼吸儀測定法之研究」。朝陽科技大學，第 12-13 頁，2003。

陳谷汎，高志明，蔡啟堂，“土壤地下水生物復育技術”，工業污染防治季刊，第 84 期，第二十一卷，第四期，第 136-157 頁，2002。

黃德坤、陳大麟、林舜龍等，「環境法醫技術應用在油污染源之鑑定」。《工業污染防治》，期 91，23-41。台北市，經濟部工業局，2008。

曾依雷，「柴油降解菌組合的最佳化」。碩士論文，國立成功大學環境工程系研究所，台南，2005。

劉高登，「受到機油污染土壤之代謝及復育之研究」，崑山科技大學，2006。