

行政院環境保護署

「99 年度土壤及地下水污染研究與技術提昇計畫」

新穎釋氧物質於受油品污染之地下水整治與Microtox

生物毒性評估技術研發－批次與管柱試驗

期末報告

EPA-99-GA103-03-A236-6

主 辦 單 位：  行政院環境保護署

受 託 單 位： 國立雲林科技大學

印 製 年 月： 100/12/21

計 畫 經 費： 996 千元

計 畫 主 持 人： 林啟文

協 同 主 持 人： 陳谷汎、張時獻

計 畫 執 行 人 員： 吳志鴻、張育禎、吳承翰、王鎡嫻、湯振廷

計 畫 執 行 期 間： 99/12/29 – 100/12/28

中 華 民 國 100年12月

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：
新穎釋氧物質於受油品污染之地下水整治與 Microtox 生物毒性評估技術研發—批次與管柱試驗
- 二、 英文計畫名稱：
Development of a novel oxygen-releasing material and microtox toxicity evaluation for gasoline-contaminated groundwater—Batch and column experiments
- 三、 計畫編號：
EPA-99-GA103-03-A236-6
- 四、 執行單位：
國立雲林科技大學
- 五、 計畫主持人(包括共同主持人)：
林啟文、陳谷汎、張時獻
- 六、 執行開始時間：
99/12/29
- 七、 執行完成時間：
100/12/28
- 八、 報告完成時間：
100/12/21
- 九、 報告總頁數：
150
- 十、 使用語言：
中文、英文
- 十一、 報告電子檔名稱：
EPA-99-GA103-03-A236-6.doc
- 十二、 報告電子檔格式：
Word
- 十三、 中文摘要關鍵詞：
釋氧物質、生物毒性、固定化菌體顆粒、活化過硫酸鹽氧化
- 十四、 英文摘要關鍵詞：
Oxygen-releasing material, biotoxicity, cell-immobilized beads, activated persulfate oxidation
- 十五、 中文摘要(約三百至五百字)：
本計畫主要利用生物毒性偵測法 *Vibrio fischeri* light inhibition test 方法，檢測地下水污染物生物毒性範圍，若地下水具高毒性水質則採用化

學法方式進行整治；若具中低毒性則以生物法方式進行復育。地下水整治方法選擇係採用釋氧型生物法與活化過硫酸鹽氧化法等二種方式進行。其中，「化學法」採用不同低價吸附劑(高爐石、轉爐石)種類與劑量，以異相活化過硫酸鹽方式進行對 BTEX 降解效率評估。「生物法」則以生物可分解之固化材料(聚乙烯醇)，將可降解油品污染物之分解菌種(BTEX 分解菌)及釋氧物質(過氧化鈣)共同包埋而形成釋氧型固定化菌體顆粒。

在異相活化批次實驗結果得知，過硫酸鹽濃度越高，去除 MTBE 及 BTEX 所需時間將越短。當於適當條件下(以高爐石、轉爐石活化)，MTBE 降解副產物—TBF 與 TBA 亦可被有效去除，且無殘留問題產生。此外，二種吸附劑(高爐石、轉爐石)皆有活化過硫酸鹽效果，可促進污染物(BTEX 與 MTBE)之降解成效，未來可代替二價鐵做為活化劑之優先考量，降低整治成本及解決三價鐵沉澱問題。

研究結果顯示：以「PVA 水凝膠包埋膠囊式冷凍法」包埋 CaO_2 製成之釋氧型固定化菌體顆粒，可獲得較高釋氧量，且添加緩衝物質(檸檬酸)可穩定釋放氧氣，同時釋氧率隨固化劑體積比減少而增加。由管柱試驗結果獲知，包埋 BTEX 分解菌株(*Mycobacterium* sp. CHXY119 與 *Pseudomonas* sp. YATO411)之釋氧型固定化菌體顆粒具可釋出氧氣，可供給包埋之菌株所需溶氧，促進微生物降解 BTEX 之速率。

經由管柱實驗結果顯示，管柱內釋氧化劑物質之氧化能力約可維持 6 天，爾後隨釋氧化劑物質所釋出之過硫酸鹽濃度之衰退，氧化劑氧化降解污染物能力亦隨之下降。由 DGGE 分析菌群結構獲知，透水性釋氧反應牆長期於 BTEX 環境操作下，系統內之菌種變化趨於簡單化呈現；當有機負荷瞬間過高時，將導致菌群結構變動大，但隨系統逐漸趨於平穩時，菌群回復原有簡單化結構。由電子顯微鏡(SEM)拍攝結果獲知，利用 PVA-alginate 材料可有效包埋特定污染物之分解菌種，微生物可於顆粒內部空間中生長。

研究結果指出 *Vibrio fischeri* 對於油品污染物之生物毒性偵測具高度敏感度，污染物濃度與 *V. fischeri* 抑光率呈高度正相關；當使用 1%過硫酸鹽及在 1 及 5 g/L 轉爐石可以有效降低污染地下水生物毒性。但使用過高過硫酸鹽(5%)，則會造成生物毒性增加。使用釋氧型固定化菌體顆粒管柱及釋氧型透水性反應牆則可有效降解污染地下水，隨污染物濃度降低，生物毒性也隨之下降。

十六、英文摘要：

The objective of the project was to establish a framework for the integration remediation in a contaminated groundwater. First, the bioassay, *Vibrio fischeri* light inhibition test, was used to determine the toxicity of petroleum-contaminated groundwater. The highly toxic groundwater was

treated with chemical oxidation method. In contrast, biological method was applied for groundwater of moderate-to-low toxicity. The oxygen-releasing type for a biological method and activated persulfate oxidation were selected to remediate a BTEX-contaminated groundwater. For the biological method, novel immobilized beads for oxygen releasing were manufactured by incorporating calcium peroxide (CaO_2), with BTEX-degrading bacteria using a biodegradable material composed of polyvinyl alcohol (PVA) and alginate. For the chemical method, two types of adsorbents (blast-furnace slag (BF slag), blast oxygen furnace slag (BOF slag)) were used to activate sodium persulfate. Moreover, batch or column tests were conducted to investigate the amounts of beads and concentrations of sodium persulfate and adsorbents on BTEX decomposition for biological and chemical methods, respectively.

Both BF and BOF slags show the capability in activating sodium persulfate leading to the biodegradation of BTEX and MTBE. The activation capability was increased with the increase of the amount of slags. To reduce the remediation cost and lessen the Fe (III) precipitation commonly occurred in the groundwater remediation site, BF and BOF slag were predominantly selected as activated agents in replacing Fe (II). Moreover, the MTBE degraded by-products (TBF and TBA) were also effectively degraded under activated conditions by BF and BOF slags.

The higher oxygen released rate was observed using PVA/alginate-based hydrogel-encapsulated CaO_2 freezing method. Oxygen was also consistently released with the addition of buffering material (citric acid). The oxygen-releasing rates were increased with the decrease of the volumetric ratio of binding material, which is attributed to due to the better oxygen transfer under less amount of binding material condition.

DGGE analysis suggested that the microbial community in the PRB system acclimated by BTEX became simplified and approached to certain particular microorganisms. Microbial community structure changes were observed under transient shock organic loading conditions. However, microbial community gradually recovered to its simplified structure when system operated in normal conditions. The SEM photographs show that PVA/alginate beads were suitable for the immobilization of microbial cells. The photograph also indicated that microorganisms could be successfully entrapped inside the pores with homogenous distribution in the PVA/alginate beads.

High sensitivity of *Vibrio fischeri* light inhibition test as a biotoxicity

indicator for BTEX detection was observed. The relationship between BTEX concentrations and light inhibition rates was significantly positive. The application of 1% of persulfate with 1 and 5 g/L BOF effectively reduced the toxicity of groundwater samples. However, the application of high dose of persulfate (5%) induced the high toxicity. Both immobilized beads-BTEX degrader column and PRB system were proved to effectively degrade the groundwater pollutants, thereby decreasing their biotoxicity.

目錄

目錄	V
表目錄	IX
圖目錄	XI
報告大綱	XIII
行政院環境保護署計畫成果期末報告摘要(詳細版)	i
中文摘要	1
英文摘要	3
名辭定義與縮寫說明	5
第一章 計畫緣起與目的	7
1.1 計畫緣起	7
1.2 研究目的	8
1.3 研究內容	10
1.4 本計畫工作執行進度	12
第二章 文獻回顧	17
2.1 土壤及地下水油品污染概況	17
2.2 過氧化鈣之釋氧顆粒特性	18
2.3 過硫酸鹽化學及活化機制	19
2.3.1 過硫酸鹽在水中光分解	20
2.3.2 溫度的影響	20
2.3.3 pH 的影響	21
2.3.4 金屬活化的影響	21
2.4 生物刺激與生物強化對生物復育之影響	21
2.4.1 營養鹽添加	22
2.4.2 添加電子供給者	22
2.4.3 添加電子接受者	22
2.4.4 生物強化	22
2.5 地下水生物毒性偵測	23
2.6 固定化菌體顆粒應用	24
2.7 分子生物技術即時監測環境生物復育技術	25
2.7.1 PCR-DGGE 技術	26
第三章 研究方法與過程	29
3.1 釋氧型固定化菌體顆粒製作材料	29
3.1.1 釋氧型固定化菌體顆粒製作方法	31
3.1.2 PVA-ALGinate 混合攪拌式冷凍法	31

3.1.3	PVA 水凝膠包埋膠囊冷凍法	31
3.2	釋氧型固定化菌體顆粒釋氧性分析	33
3.2.1	半連續式釋氧顆粒之釋氧量分析	33
3.2.2	連續管柱式釋氧顆粒之釋氧長效性分析	33
3.3	釋氧型固定化顆粒之釋氧率計算	35
3.4	釋氧型固定化菌體顆粒之基本特性分析	35
3.4.1	pH 與導電度分析	35
3.4.2	顆粒比表面積與孔隙率分析	35
3.5	釋氧長效性分析	36
3.5.1	釋氧型固定化菌體顆粒重複批次操作穩定性評估	36
3.5.2	吸附劑與過硫酸鹽之批次試驗	36
3.6	設計長效性釋氧化劑物質及活化性釋氧化劑物質並研究其組成 ...	36
3.7	過硫酸根分析	39
3.8	釋氧型透水性反應牆組裝與結合固定化菌體顆粒降解 BTEX	39
3.9	新穎釋氧型固定化菌體顆粒降解 BTEX 試驗	41
3.10	固定化菌體顆粒之攝氧率試驗	41
3.11	新穎釋氧化劑整治牆管柱實驗	42
3.12	污染物與副產物分析	43
3.13	分子生物技術	44
3.13.1	總菌體 DNA 萃取方法	45
3.13.2	聚合酶鏈鎖反應	45
3.13.3	變性梯度凝膠電泳	47
3.14	釋氧型固定化菌體顆粒之電子顯微鏡分析	47
3.15	VIBRIO FISHCHERI LIGHT INHIBITION TEST	48
第四章	結果與討論	51
4.1	釋氧型固定化菌體顆粒之基本性質	51
4.1.1	混合攪拌式冷凍法	51
4.1.2	PVA 水凝膠包埋膠囊冷凍法	52
4.2	混合攪拌式冷凍法與 PVA 水凝膠包埋膠囊冷凍法之比較	53
4.3	釋氧型固定化菌體顆粒之導電度影響	54
4.4	釋氧型固定化菌體顆粒釋氧性分析	54
4.4.1	半連續式新型釋氧顆粒之 DO 與 pH 變化	54
4.4.2	連續管柱式新型釋氧顆粒之釋氧長效性分析與 pH 變化	56
4.5	釋氧能力分析	60
4.5.1	不同緩衝物質配比之釋氧與 pH 變化	60
4.5.2	不同固化劑體積比之釋氧與 pH 變化	62
4.6	低價吸附劑異相活化過硫酸鹽去除 BTEX、MTBE 批次試驗	64

4.6.1	不同過硫酸鹽濃度對 BTEX 降解之影響	64
4.6.2	轉爐石活化過硫酸鹽對 BTEX 降解之影響	66
4.6.3	高爐石活化過硫酸鹽對 BTEX 降解之影響	67
4.6.4	不同吸附劑活化過硫酸鹽實驗結果	68
4.6.5	不同過硫酸鹽濃度對 MTBE 降解之影響	69
4.6.6	轉爐石活化過硫酸鹽對 MTBE 降解之影響	70
4.6.7	高爐石活化過硫酸鹽對 MTBE 降解之影響	71
4.7	不同吸附劑活化過硫酸鹽實驗結果	73
4.7.1	MTBE 降解副產物之生成及降解	74
4.8	設計長效性釋氧化劑物質及活化性釋氧化劑物質	75
4.9	不同吸附劑之含量對合成物中氧化劑釋出及釋放速率之影響	76
4.10	管柱試驗	78
4.11	污染物降解效率評估	79
4.11.1	MTBE 降解效率評估	79
4.11.2	BTEX 降解效率評估	81
4.11.3	出流水之殘餘過硫酸鹽與其他水質參數之關係	82
4.12	吸附特性分析	85
4.12.1	爐石表面結構	85
4.12.2	表面元素分析(EDS).....	87
4.12.3	吸附劑之溶出試驗	88
4.13	固定化菌體顆粒降解 BTEX 之攝氧能力分析	89
4.14	透水性釋氧反應牆後端結合固定化菌體顆粒之 DGGE 菌群結構分析	91
4.15	釋氧型固定化菌體顆粒投入於管柱中進行不同 BTEX 濃度之生物降解	94
4.16	釋氧型固定化菌體顆粒投入於圓柱型管柱中進行對不同 BTEX 濃度降解前、後之 DGGE 菌群結構分析	99
4.17	釋氧型固定化菌體顆粒之 SEM 分析	103
4.18	地下水處理後之生物毒性評估	103
4.18.1	發光菌對 MTBE 及 BTEX 偵測敏感度	103
4.18.2	以 PERSUFLATE/觸媒處理 BTEX 之處理液生物毒性	105
4.18.3	生物處理地下水 BTEX/MTBE 污染物生物毒性降解情形	107
4.18.4	釋氧型透水性反應牆操作穩定期之地下水樣毒性變化	109
第五章	主要發現與結論	113
5.1	研究結果彙整	113
5.2	結論	117
5.3	建議事項	118

參考文獻.....	121
附錄.....	129
附錄一 計畫書審查意見回覆表.....	129
附錄二 工作報告審查意見回覆表.....	133
附錄三 期中報告審查意見回覆表.....	137
附錄四 期末報告(初稿)審查意見回覆表.....	141
附錄五 期末報告審查意見回覆表.....	147
附錄六 期末報告確認表.....	148

表目錄

表 1.4-1 計畫各工作項目執行進度甘梯圖.....	12
表 1.4-2 實際預定進度及查核點說明.....	14
表 1.4-3 本計畫各工作項目執行進度與報告章節一覽表.....	15
表 2.6-1 微生物固定化技術應用於污染物處理之案例.....	25
表 2.7.1-1 分子生物技術應用於菌群結構分析之相關研究.....	27
表 3.1-1 製作釋氧型固定化菌體顆粒相關藥品.....	30
表 3.4.1-1 水質分析方法.....	35
表 3.6-1 釋過硫酸鹽物質配方組成(W/W)	37
表 3.8-1 釋氧型透水性反應牆之規格.....	40
表 3.10-1 模擬地下水營養鹽配比.....	42
表 3.13.2-1 引子序列.....	46
表 3.13.2-2 PCR 擴增藥劑與成分	46
表 3.13.2-3 PCR 升溫程式	46
表 4.2-1 混合攪拌式冷凍法與 PVA 水凝膠包埋膠囊冷凍法之特性	53
表 4.6.1-1 不同過硫酸鹽濃度下之 BTEX 降解速率常數	66
表 4.6.2-1 轉爐石化學成份.....	67
表 4.6.2-2 不同轉爐石劑量下過硫酸鹽降解 BTEX 降解速率常數	67
表 4.6.3-1 高爐石化學成份.....	68
表 4.6.3-2 不同高爐石劑量下過硫酸鹽降解 BTEX 降解速率常數	68
表 4.6.4-1 不同吸附劑劑量下過硫酸鹽降解 BTEX 降解速率常數	69
表 4.6.5-1 不同過硫酸鹽濃度下之 MTBE 降解速率常數.....	70
表 4.6.6-1 不同轉爐石劑量下過硫酸鹽降解 MTBE 降解速率常數.....	71
表 4.6.7-1 不同高爐石劑量下過硫酸鹽降解 MTBE 降解速率常數.....	73
表 4.8-1 氧化劑物質中不同組成物比例表.....	76
表 4.9-1 不同比例釋過硫酸鹽物質之釋放速率.....	76
表 4.10-1 管柱基本操作參數.....	79
表 4.12.3-1 不同吸附劑與過硫酸鹽結合下之溶出之金屬含量.....	89
表 4.14-1 透水性釋氧反應牆後端結合固定化菌體顆粒之 DGGE 樣本敘述.....	93
表 4.16-1 釋氧型固定化菌體顆粒投入管柱試驗中之 DGGE 樣本敘述.....	101
表 4.18.1-1 <i>Vibrio fischeri</i> light inhibition test 之 phenol 控制數據.....	104
表 4.18.1-2 甲苯、乙苯、二甲苯及 MTBE 之 <i>V. fischeri</i> 抑光率.....	104
表 4.18.1-3 BTEX 混合毒性	105
表 4.18.2-1 以 persulfate/觸媒處理 BTEX 之處理液生物毒性變化	107
表 4.18.3-1 結合固定化菌體及釋氧顆粒反應牆處理 BTEX 各採樣點水樣生物	

毒性	108
表 4.18.3-2 釋氧型固定化菌體顆粒管柱處理 BTEX 污染水生物毒性	109
表 4.18.4-1 投入固定化菌體顆粒於透水性反應牆內之生物毒性分析數據.....	111

圖目錄

圖 3.1-1 本計畫研究項目間之關係示意圖.....	30
圖 3.1.2-1 PVA-alginate 混合攪拌式冷凍法製作示意圖	31
圖 3.1.3-1 釋氧型固定化菌體顆粒製作示意圖.....	32
圖 3.2.1-1 半連續容器示意圖.....	33
圖 3.2.2-1 釋氧型固定化菌體顆粒之管柱示意圖.....	34
圖 3.2.2-2 變動不同 PVA 固化劑體積與檸檬酸配比之流程圖	34
圖 3.6-1 長效釋氧化劑物質示意圖.....	37
圖 3.6-2 過硫酸鹽物質批次反應槽示意圖.....	37
圖 3.6-3 活化性釋氧化劑物質示意圖.....	38
圖 3.8-1 釋氧型透水性反應牆系統銜接一固定化菌體顆粒管柱之配置圖.....	40
圖 3.10-1 固定化菌體顆粒之攝氧率測定裝置示意圖.....	42
圖 3.11-1 連續反應裝置示意圖	43
圖 3.12-1 MTBE、TBA、TBF 及 BTEX 分析圖譜(GC/FID)	44
圖 3.13-1 分子生物技術分析流程圖.....	45
圖 3.13.3-1 硝酸銀染色流程.....	47
圖 3.14-1 釋氧型固定化菌體之 SEM 前處理流程圖.....	48
圖 4.1.1-1 混合攪拌式冷凍法之新型釋氧顆粒.....	52
圖 4.1.2-1 PVA 水凝膠包埋膠囊冷凍法之新型釋氧顆粒	52
圖 4.1.2-2 不同釋氧顆粒製作方法之釋氧分佈示意圖.....	53
圖 4.4.1-1 半連續式新型釋氧顆粒試驗之 DO 變化.....	55
圖 4.4.1-2 半連續式新型釋氧顆粒試驗之 pH 變化.....	56
圖 4.4.2-1 連續進流新型釋氧顆粒管柱試驗之 DO 與 pH 變化	57
圖 4.4.2-2 連續進流新型釋氧顆粒管柱試驗之 DO 與 pH 變化	58
圖 4.5.1-1 不同 CaO_2 與檸檬酸比例之 DO 與 pH 變化.....	61
圖 4.5.1-2 正常與變形之 ORCB 實體圖.....	62
圖 4.5.2-1 不同固化劑體積比之 DO 與 pH 變化	63
圖 4.5.2-2 不同固化劑之最薄厚度示意圖.....	64
圖 4.5.2-3 不同固化劑體積比之最大平均釋氧率.....	64
圖 4.6.1-1 不同過硫酸鹽濃度對 BTEX 降解之影響	65
圖 4.6.2-1 添加不同轉爐石劑量活化過硫酸鹽對 BTEX 降解之影響	66
圖 4.6.3-1 添加不同高爐石劑量活化過硫酸鹽對 BTEX 降解之影響	68
圖 4.6.4-1 不同吸附劑活化過硫酸鹽對 BTEX 降解結果	69
圖 4.6.5-1 不同過硫酸鹽濃度對 MTBE 降解之影響.....	70
圖 4.6.6-1 添加不同轉爐石劑量活化過硫酸鹽對 MTBE 降解之影響.....	71

圖 4.6.7-1 添加不同高爐石劑量活化過硫酸鹽對 MTBE 降解之影響.....	72
圖 4.6.7-2 加不同高爐石劑量活化過硫酸鹽對 MTBE 降解之影響.....	73
圖 4.7-1 不同吸附劑活化過硫酸鹽對 MTBE 降解結果.....	74
圖 4.7.1-1 過硫酸鹽氧化 MTBE 及其降解副產物之反應情形.....	75
圖 4.9-1 不同吸附劑含量下釋放過硫酸鹽之濃度累積變化.....	78
圖 4.10-1 連續式反應圖示.....	79
圖 4.11.1-1 MTBE 各管柱中將解濃度變化.....	80
圖 4.11.2-1 BTEX 各管柱中將解濃度變化.....	82
圖 4.11.3-1 殘留過硫酸鹽與其他水質參數比較.....	84
圖 4.12.1-1 高爐石 SEM 圖.....	85
圖 4.12.1-2 轉爐石 SEM 圖.....	86
圖 4.12.1-3 釋過硫酸鹽物質 SEM 晶相圖(添加高爐石).....	87
圖 4.12.1-4 釋過硫酸鹽物質 SEM 晶相圖(添加轉爐石).....	87
圖 4.12.2-1 高爐石 EDS 圖譜.....	88
圖 4.12.2-2 轉爐石 EDS 圖譜.....	88
圖 4.13-1 固定化菌體顆粒降解 BTEX 之攝氧能力變化(1/2).....	90
圖 4.13-2 固定化菌體顆粒降解 BTEX 之攝氧能力變化(2/2).....	91
圖 4.14-1 透水性釋氧反應牆後端結合固定化菌體顆粒之 DGGE 菌群結構變化...94	
圖 4.15-1 釋氧型固定化菌體顆粒降解 BTEX 之變化(總 BTEX 濃度為 80 mg/L，各別 B、T、E、X 單一濃度為 20 mg/L).....	95
圖 4.15-2 釋氧型固定化菌體顆粒降解 BTEX 之變化(總 BTEX 濃度為 120 mg/L，各別 B、T、E、X 單一濃度為 30 mg/L).....	96
圖 4.15-3 釋氧型固定化菌體顆粒對不同總 BTEX 濃度下之降解效率.....	96
圖 4.15-4 釋氧型固定化菌體顆粒降解不同 BTEX 濃度下之 ORP 與 DO 變化.....	98
圖 4.15-5 釋氧型固定化菌體顆粒降解不同 BTEX 濃度下之 pH 變化.....	99
圖 4.16-1 釋氧型固定化菌體顆粒投入於管柱中進行不同 BTEX 濃度之菌相結 構與親源分析.....	102
圖 4.17-1 SEM 分析無包埋菌株之釋氧型固定化菌體顆粒切面圖.....	103
圖 4.17-2 SEM 分析有包埋菌株之釋氧型固定化菌體顆粒切面圖.....	103
圖 4.18.1-1 同濃度 BTEX 混合液抑光率變化.....	105

報告大綱

土壤及地下水被汽油等石油碳氫化合物所污染是一個普遍且嚴重之問題，而造成油污染之主要來源包括地下儲油槽漏油、油管破裂及地面油品意外洩漏等。台灣地區係屬於人口稠密區域，加油站設置於人口稠密區之比例頗高，且使用的飲用水源亦有 25%至 30%用水量來自於地下水源，若此地下水源遭受污染則將會導致嚴重之用水風險。

檢測地下水是否含有揮發性有機物之檢測技術，除了一般常使用之氣相層析儀、質譜儀、或高效能液相層析儀外，若需判斷該地下水質是有潛在用水風險時，則上述儀器只能告知其物質濃度或種類，卻無法判讀此物質是否對現地生物、或人體產生毒害現象，因此後續發展則有以生物毒性檢測概念，以分析生物之致死率來判斷水中是否含有毒性物質，這類技術其中又以 *Vibrio fischeri* light inhibition test 為一可行之毒性檢測技術。

以氧化劑應用於現地地下水之整治方式，仍存著一些問題，例如過氧化氫或臭氧等氧化劑於地表下存在之時間較短而影響整治半徑，或過錳酸鹽之應用可能造成沉澱問題而降低含水層之滲透性；又如釋氧物質/氧化劑成分在消耗完畢後，所殘留的固化材料無法被分解而有殘留於現地上；針對上述之限制，因此若能開發可同時釋氧、含菌株及包埋材料可被分解之釋氧型固定化菌體顆粒，或利用過硫酸鹽氧化劑之穩定性，結合過硫酸鹽化學氧化法與現地被動式整治牆之技術，來提供地表下長期氧化劑之釋放來源，不僅可增加釋氧物質/氧化劑於地表下存在之時間外，亦可增加整治時之影響半徑，藉以提昇釋氧物質應用於地下水污染場址上之競爭力。

本計畫第一章為計畫緣起與目的介紹；第二章為文獻回顧，包含：土壤及地下水油品污染概況、釋氧物質(過氧化鈣)/氧化劑(過硫酸鹽)之簡介、生物復育法技術簡介、固定化菌體顆粒之應用介紹、以及以 *Vibrio fischeri* light inhibition test 技術進行地下水生物毒性檢測方式介紹；第三章則詳述計畫過程中之研究方法與步驟，內容包括：釋氧型固定化菌體顆粒之開發與建立、釋氧物質之釋氧能力與釋氧率計算與評估方式建立、釋氧型固定化菌體顆粒之基本特性分析、設計長效性氧化劑物質及活化性氧化劑物質之組成、不同吸附劑(轉爐石與高爐石)活化過硫酸鹽之試驗，以及分子生物技術與菌群結構分析等，進行上述之實驗方法敘述與建立；第四章為研究成果與討論，說明本計畫之執行成果；第五章則將結果彙整後，總結為結論，並提出建議事項提供後續研究之參考依據。

行政院環境保護署計畫成果期末報告摘要(詳細版)

計畫名稱：新穎釋氧物質於受油品污染之地下水整治與
Microtox 生物毒性評估技術研發—批次與管柱試驗

計畫編號：EPA-99-GA103-03-A236-6

計畫執行單位：國立雲林科技大學

計畫主持人(包含協主持人)：林啟文、張時獻、陳谷汎

計畫期程：99 年 12 月 29 日起 100 年 12 月 28 日止

計畫經費：996 千元

摘要

本計畫主要利用生物毒性偵測法 *Vibrio fischeri* light inhibition test 方法，檢測地下水污染物生物毒性範圍，若地下水具高毒性水質則採用化學法方式進行整治；若具中低毒性則以生物法方式進行復育。地下水整治方法選擇係採用釋氧型生物法與活化過硫酸鹽氧化法等二種方式進行。其中，「化學法」採用不同低價吸附劑(高爐石、轉爐石)種類與劑量，以異相活化過硫酸鹽方式進行對 BTEX 降解效率評估。「生物法」則以生物可分解之固化材料(聚乙烯醇)，將可降解油品污染物之分解菌種(BTEX 分解菌)及釋氧物質(過氧化鈣)共同包埋而形成釋氧型固定化菌體顆粒。

在異相活化批次實驗結果得知，過硫酸鹽濃度越高，去除 MTBE 及 BTEX 所需時間將越短。當於適當條件下(以高爐石、轉爐石活化)，MTBE 降解副產物—TBF 與 TBA 亦可被有效去除，且無殘留問題產生。此外，二種吸附劑(高爐石、轉爐石)皆有活化過硫酸鹽效果，可促進污染物(BTEX 與 MTBE)之降解成效，未來可代替二價鐵做為活化劑之優先考量，降低整治成本及解決三價鐵沉澱問題。

研究結果顯示：以「PVA 水凝膠包埋膠囊式冷凍法」包埋 CaO_2 製

成之釋氧型固定化菌體顆粒，可獲得較高釋氧量，且添加緩衝物質(檸檬酸)可穩定釋放氧氣，同時釋氧率隨固化劑體積比減少而增加。由管柱試驗結果獲知，包埋 BTEX 分解菌株(*Mycobacterium* sp. CHXY119 與 *Pseudomonas* sp. YATO411)之釋氧型固定化菌體顆粒具可釋出氧氣，可供給包埋之菌株所需溶氧，促進微生物降解 BTEX 之速率。

經由管柱實驗結果顯示，管柱內釋氧化劑物質之氧化能力約可維持 6 天，爾後隨釋氧化劑物質所釋出之過硫酸鹽濃度之衰退，氧化劑氧化降解污染物能力亦隨之下降。由 DGGE 分析菌群結構獲知，透水性釋氧反應牆長期於 BTEX 環境操作下，系統內之菌種變化趨於簡單化呈現；當有機負荷瞬間過高時，將導致菌群結構變動大，但隨系統逐漸趨於平穩時，菌群回復原有簡單化結構。由電子顯微鏡(SEM)拍攝結果獲知，利用 PVA-alginate 材料可有效包埋特定污染物之分解菌種，微生物可於顆粒內部空間中生長。

研究結果指出 *Vibrio fischeri* 對於油品污染物之生物毒性偵測具高度敏感度，污染物濃度與 *V. fischeri* 抑光率呈高度正相關；當使用 1% 過硫酸鹽及在 1 及 5 g/L 轉爐石可以有效降低污染地下水生物毒性。但使用過高過硫酸鹽(5%)，則會造成生物毒性增加。使用釋氧型固定化菌體顆粒管柱及釋氧型透水性反應牆則可有效降解污染地下水，隨污染物濃度降低，生物毒性也隨之下降。

The objective of the project was to establish a framework for the integration remediation in a contaminated groundwater. First, the bioassay, *Vibrio fischeri* light inhibition test, was used to determine the toxicity of petroleum-contaminated groundwater. The highly toxic groundwater was treated with chemical oxidation method. In contrast, biological method was applied for groundwater of moderate-to-low toxicity. The oxygen-releasing type for a biological method and activated persulfate oxidation were selected to remediate a BTEX-contaminated groundwater. For the

biological method, novel immobilized beads for oxygen releasing were manufactured by incorporating calcium peroxide (CaO_2), with BTEX-degrading bacteria using a biodegradable material composed of polyvinyl alcohol (PVA) and alginate. For the chemical method, two types of adsorbents (blast-furnace slag (BF slag), blast oxygen furnace slag (BOF slag)) were used to activate sodium persulfate. Moreover, batch or column tests were conducted to investigate the amounts of beads and concentrations of sodium persulfate and adsorbents on BTEX decomposition for biological and chemical methods, respectively.

Both BF and BOF slags show the capability in activating sodium persulfate leading to the biodegradation of BTEX and MTBE. The activation capability was increased with the increase of the amount of slags. To reduce the remediation cost and lessen the Fe (III) precipitation commonly occurred in the groundwater remediation site, BF and BOF slag were predominantly selected as activated agents in replacing Fe (II). Moreover, the MTBE degraded by-products (TBF and TBA) were also effectively degraded under activated conditions by BF and BOF slags.

The higher oxygen released rate was observed using PVA/alginate-based hydrogel-encapsulated CaO_2 freezing method. Oxygen was also consistently released with the addition of buffering material (citric acid). The oxygen-releasing rates were increased with the decrease of the volumetric ratio of binding material, which is attributed to due to the better oxygen transfer under less amount of binding material condition.

DGGE analysis suggested that the microbial community in the PRB system acclimated by BTEX became simplified and approached to certain particular microorganisms. Microbial community structure changes were observed under transient shock organic loading conditions. However,

microbial community gradually recovered to its simplified structure when system operated in normal conditions. The SEM photographs show that PVA/alginate beads were suitable for the immobilization of microbial cells. The photograph also indicated that microorganisms could be successfully entrapped inside the pores with homogenous distribution in the PVA/alginate beads.

High sensitivity of *Vibrio fischeri* light inhibition test as a biotoxicity indicator for BTEX detection was observed. The relationship between BTEX concentrations and light inhibition rates was significantly positive. The application of 1% of persulfate with 1 and 5 g/L BOF effectively reduced the toxicity of groundwater samples. However, the application of high dose of persulfate (5%) induced the high toxicity. Both immobilized beads-BTEX degrader column and PRB system were proved to effectively degrade the groundwater pollutants, thereby decreasing their biotoxicity.

前言

土壤及地下水被汽油等石油碳氫化合物所污染是一愈趨普遍且嚴重的問題，而造成油污染之主要來源包括地下儲油槽漏油、油管破裂及地面油品意外洩漏等。台灣地區係屬於人口稠密區域，加油站設置於人口稠密區之比例頗高，且所使用的飲用水源亦有 25%至 30%用水量來自於地下水源，若此地下水源遭受污染則將會導致嚴重之用水風險。檢測地下水是否含有揮發性有機物之檢測技術，除了一般常使用之氣相層析儀、質譜儀或高效能液相層析儀外，若需判斷該地下水質是否有潛在用水風險時，則上述儀器只能告知其物質濃度或種類，卻無法判讀此物質是否對現地生物或人體產生毒害現象，因此後續技術之發展，則有以生物毒性檢測概念，採分析生物致死率來判斷水中是否含有毒性物質，此類技術中又以 *Vibrio fischeri* light inhibition test 為一可行之生物毒性檢測技術。

目前現地整治方式採用氧化劑之應用仍存有一些問題，例如過氧化氫或臭氧使用於地表下存在時間過短而影響整治半徑，或過錳酸鹽應用會有沉澱問題而降低含水層滲透性，或釋氧物質/氧化劑成分在消耗完畢後，其殘留的固化材料無法被分解而有殘留於現地上；因此若能開發可釋氧與可分解之釋氧型固定化菌體顆粒，或利用過硫酸鹽之穩定性，結合過硫酸鹽化學氧化法與現地被動式整治牆之技術，來提供地表下長期氧化劑之釋放來源，不僅可增加釋氧物質/氧化劑於地表下存在之時間外，亦可增加整治時之影響半徑，藉以提昇釋氧物質應用於地下水污染場址上之競爭力。

執行方法

本計畫主要係利用生物毒性方法中之 *Vibrio fischeri* light inhibition test 方法，檢測現地地下水水質中之毒性範圍，若地下水質屬於高毒性水質則採用化學法方式進行整治；若屬於中低毒性範圍內，則採用生物法之方式進行。地下水整治方法選擇係採用釋氧化合物法方式進行，包括有化學法與生物法兩種方式進行，分別為：(1)化學法：採用不同低價吸附劑(包括高爐石及轉爐石)種類之方法，以異相活化過硫酸鹽方式進行對污染物去除並評估其降解能力；同時再探討不同過硫酸鹽濃度對 BTEX 降解之影響，以及添加不同低價吸附劑劑量對 BTEX 降解之影響；以及(2)生物法：係採用生物可分解之固化材料(例如：聚乙烯醇(polyvinyl alcohol, PVA))，將可降解油品污染物之分解菌種(例如：BTEX 分解菌)，以及釋氧物質(例如：過氧化鈣(calcium peroxide, CaO_2))共同包埋而形成釋氧型固定化菌體顆粒。其製作方式則採用「PVA 水凝膠包埋膠囊式冷凍法」進行釋氧顆粒之製作，之後再將製作出之釋氧顆粒進行實驗室模組之管柱試驗，以建立釋氧顆粒應用於處理受 BTEX 污染之地下水復育。

結果

本研究執行項目分為三部分執行，第一部份以固定化菌體顆粒技術結合釋氧物質之開發研究，採用可生物分解之固化材料(PVA)固化可分解甲苯之分解菌，開發出可包埋微生物與固化 ORC 之「釋氧型固定化菌體顆粒(ORCB)」，探討二種不同製作方式而成 ORCB 之釋氧能力，以及變動不同緩衝物質比例與釋氧物質比例，探討 ORCB 之釋氧狀況；第二部分則係為執行異相活化劑批次試驗及長效釋氧化劑物質試驗，所得之參數將作為進行後續管柱試驗之依據；第三部分則採用生物毒性測試方法中之 *Vibrio fischeri* 方法，進行油品污染物(BTEX、MTBE)之毒性偵測。以下為本研究所獲得之結果如下：

1. 釋氧型固定化菌體顆粒之基本性質

以「混合攪拌式冷凍法」所製作出釋氧型固定化菌體顆粒(oxygen-releasing cell-immobilized bead, ORCB)具有孔隙較大之特徵，且依照釋氧物質種類區分成：(a)添加 CaO_2 時，ORCB 外觀呈現米黃色且顆粒表面較為乾燥；(b)添加 MgO_2 時，外觀呈現米白色且表面相對較為濕潤；然而，此方法使用之釋氧物質(CaO_2 或 MgO_2)會於攪拌過程中，造成釋氧物質與緩衝鹽類迅速發生反應而於短時間內產生過多氧氣，造成氧氣大量流失之缺點。

2. PVA 水凝膠包埋膠囊冷凍法與混合攪拌式冷凍法

以「PVA 水凝膠包埋膠囊冷凍法」製作出 ORCB，具可減緩製作過程中產生酸鹼反應、溫度上升及氣泡產生等現象，且可避免氧氣散失之問題。此外，以此方法製作之 ORCB，具備孔隙小(比表面積為 $16.665 \text{ m}^2/\text{g}$)、呈現不透明乳白色、表面外觀類似塑膠型態且表面光滑、及可包埋微生物等特徵。

3. 釋氧型固定化菌體顆粒釋氧性分析

採用 PVA 水凝膠包埋膠囊式冷凍法製成之 ORCB 試驗中，當固定 CaO_2 與檸檬酸比例為 1：1.5 條件(CaO_2 ：10 g；檸檬酸：15 g)

下，則固化劑體積比為 85% 時，水中之 DO 由 0.07 mg/L 提升至 12.72 mg/L；而固化劑體積比為 90% 與 95% 時，則 DO 分別提升至 10.9 mg/L 與 8.1 mg/L，由此獲致上述三種比例(85%、90%、95%)之釋氧率依序為 1.93、1.16 及 0.41 mg-O₂/day/g-ORCB，顯示釋氧率隨固化劑體積比之減少而增加。再由 ORCB 長效性釋氧分析與 pH 變化結果獲知，以 PVA 水凝膠包埋膠囊冷凍法製作之 ORCB，其初始 DO 可快速提升至 20 mg/L，爾後隨時間增加，DO 逐漸趨於穩定釋出氧氣。於 141 小時後監測值獲知，水體中之 DO 值仍可維持在 8 mg/L 之飽和 DO (28 °C，1 atm)。

4. PVA 水凝膠包埋膠囊式冷凍法之釋氧能力分析

由不同緩衝物質配比之釋氧與 pH 變化獲知，當 CaO₂ 與檸檬酸之比值為 1:0 時，可將水體中溶氧由 0.05 mg/L 提升至 4.01 mg/L；當添加檸檬酸比例分別為 1:0.5 與 1:1.5，則水體中之 DO 分別可提升至 7.3 mg/L 與 10.9 mg/L。顯示緩衝物質除具有增加 CaO₂ 反應速率增加氧氣產生外，亦可再與弱酸反應而產生 H₂O₂ 而再次提升水中 DO。

5. 低價吸附劑異相活化過硫酸鹽去除 BTEX 與 MTBE 之批次試驗

以不同低價吸附劑(包括高爐石(blast-furance slag, BF)及轉爐石(blast oxygen furance slag, BOF)進行異相活化過硫酸鹽對污染物之降解能力。由不同過硫酸鹽濃度對 BTEX 降解之影響試驗結果顯示，過硫酸鹽對 BTEX 降解大致符合擬一階反應(pseudo first-order reaction)。當 BF 於 1 g/L、過硫酸鹽濃度為 10 g/L 及 50 g/L 條件下，其反應速率常數(k)值分別為 0.39×10^{-2} 、 $2.16 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$ 。

以 BOF 活化過硫酸鹽對 BTEX 與 MTBE 降解結果呈現，添加 BOF 有助於過硫酸鹽活化，進而促進 BTEX 與 MTBE 之降解，且 BOF 添加劑量越高，降解效率越佳，乃因 BOF 中含有金屬物質(例

如：鐵)可活化過硫酸鹽，故當 BOF 添加劑量為 1 g/L 與 5 g/L 時，其實驗監測之最終 pH 值分別為 7 與 9；然而當添加劑量越高時，越易造成水中溶液呈現鹼性，將不利鐵的溶出。

以 BF 活化過硫酸鹽對 BTEX 與 MTBE 降解結果呈現，當 BF 添加劑量為 1 g/L 與 5 g/L 時，其實驗監測之最終 pH 值分別為 5 與 7，介於微酸性～中性之間。pH 值為 5 之微酸性環境下尚未有利於鐵的溶出，因此 BF 所產生活化反應屬於異相活化反應；此外，添加 BF 亦可活化過硫酸鹽，可促進 MTBE 降解，但劑量需高於 10–20 g/L。

由不同吸附劑活化過硫酸鹽實驗結果顯示，當添加 BF、BOF 皆為 5 g/L，於 114 小時反應時間內，BTEX 降解率分別為 62%與 91%，且 BOF 比 BF 活化效果為佳，此乃因 BOF 含鐵量(37.67%)較 BF(2.49%)為高所致。由此結果顯示，當吸附劑之表面金屬含量越高，活化過硫酸鹽及降解污染物效果亦越佳。由於釋氧化劑物質釋放後，水中 pH 值呈鹼性，故污染物之氧化反應為異相催化所造成，且 pH 提升亦可避免過硫酸鹽應用時金屬溶出之問題。

6. 不同過硫酸鹽濃度對 MTBE 降解之影響

當添加過硫酸鹽濃度分別為 10 g/L 與 50 g/L 之實驗組別時，於 19 小時反應時間內，MTBE 去除率分別為 45 與 78%，其中以添加 50 g/L 過硫酸鹽之實驗組別降解最快，可於 35 小時反應時間內，將 MTBE 完全被降解完畢。過硫酸鹽對 MTBE 降解反應速率大致符合擬一階反應，其 k 值分別為 3.26×10^{-2} 與 $10.5 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$ 。此外，MTBE 被過硫酸鹽降解時，可偵測出副產物 TBF 與 TBA 生成，當反應進行 9 小時後，TBA 生成達最高濃度為 3.13 mg/L，而 TBF 則於反應 9 小時後分析得最高濃度值為 25.6 mg/L，且 TBA 與 TBF 於系統中含量會隨反應時間增長而逐漸減少，顯示生成之 TBA 與 TBF 亦會被過硫酸鹽氧化去除。

7. 設計長效性釋氧化劑物質及活化性釋氧化劑物質

經由本研究所研發之長效性釋氧化劑物質與活化性釋氧化劑物質，可長期釋放過硫酸鹽並將污染物氧化，且最佳之配比为 1：0.2：0.5(水泥/高爐石/水)與 1：0.5：0.5(水泥/高爐石/水)，均具有釋氧化劑物質累積釋放量、釋放速率快且持久之特性，同時釋放出過硫酸鹽天數可維持 15 天以上。

8. 新穎釋氧化劑整治牆管柱實驗

管柱實驗結果顯示，活化釋氧化劑物質對 MTBE 與 BTEX 之最大去除效率分別為 77%與 62%。惟當過硫酸鹽釋放濃度下降後，污染物濃度隨即開始回升。此外，管柱實驗會因水流流量較大之因素，使得過硫酸鹽與污染物在管柱內之反應時間較短，影響污染物之降解效率。惟在現地應用時，當過硫酸鹽釋放後，即會與污染物在釋放區及下游區持續反應，將污染物去除。

9. 固定化菌體顆粒降解 BTEX 之攝氧能力分析

由監測 OUR 結果得知，當固定化菌體顆粒與苯投入圓球體之三口瓶後 11–16 小時期間(即 DO 監測至第 18–23 小時期間)，瓶內固定化菌體顆粒開始逐漸有攝氧現象產生；爾後再經由 6 小時之監測結果發現，當苯開始被利用時，其 OUR 經線性回歸後求得為 0.0233 mg-O₂/L/h，待苯進入快速分解期時，攝氧速率隨時間遞增而大幅提升至最高值(0.9 mg-O₂/L/h)；當苯隨之被固定化菌體顆粒分解完畢時，瓶內之固定化菌體顆粒，因可被利用之基質僅存不多，以至於攝氧速率逐漸下降，最後待基質完全被利用完畢後，OUR 變化即恢復至初始未投入固定化菌體顆粒階段。其餘甲苯、乙苯及二甲苯，則皆有類似之趨勢，其最大 OUR 分別為 1.38 mg-O₂/L/h (甲苯)、0.62 mg-O₂/L/h (乙苯)，以及 0.96 mg-O₂/L/h (二甲苯)。

10. 釋氧型固定化菌體顆粒投入於管柱中進行不同總 BTEX 濃度之生物降解

經由 ORCB 投入於管柱中進行總 BTEX(濃度介於 20–120 mg/L) 之生物降解試驗結果得知，當總 BTEX 濃度於 80 mg/L 以下時，微生物降解 BTEX 效率介於 61–93% 間，其中以苯去除效率低於其他物質(甲苯、乙苯、二甲苯)，此乃因苯之化學結構完整，屬較難分解之化合物，故去除效率較其他三者為低。此外，總 BTEX 濃度低於 80 mg/L 時，包埋 *Mycobacterium* sp. CHXY119 與 *Pseudomonas* sp. YATO411 菌株可有效降解 BTEX(61–93%)，但當濃度提高至 120 mg/L 時，則總 BTEX 去除效率降低至 41–74% 間，顯示於較高濃度(120 mg/L)下，菌種會受到基質抑制而降低去除效率。

11. 以 PCR-DGGE 技術分析 PRB 系統內之菌群結構

經由 DGGE 分析菌群結構獲知，當透水性釋氧反應牆長期於 BTEX 環境之操作下，系統內之菌種變化趨於簡單化呈現；當有機負荷瞬間過高時，將導致菌群結構呈現變動，但當系統逐漸趨於平穩時(污染物濃度維持一定)，則菌群可回復至原有簡單化之結構。另透過 ORCB 管柱試驗結果獲知，包埋於 ORCB 內之部分菌株可經由水體流動而釋出於顆粒外部，但因水體流速屬於低流速(5 mL/min)之水流，故釋出之菌體會因為低流速水體流動而無法全部帶動所釋出之菌體往下游流動，導致部分釋出之菌株會於 ORCB 之底層生長；並經由數日生長後，與原有菌群匯集成一菌群而於底層中形成污泥層，此污泥層亦為主要去除 BTEX 之菌群。

12. 釋氧型固定化菌體顆粒之 SEM 分析

由電子顯微鏡(SEM)拍攝結果獲知，利用 PVA-alginate 材料可有效包埋特定污染物之分解菌種，同時於顆粒內形成多孔洞之結

構，有利於提供微生物生長之空間。

13. *Vibrio fischeri* 對油品污染物之毒性偵測

以 *Vibrio fischeri* 生物毒性方法對汽油污染物之毒性偵測結果獲知，採用 phenol 為正控制組。抑光率(light inhibition ratio)隨 phenol 濃度增加而增加，phenol 正控制 EC₅₀ 值為 25–29 mg/L，且濃度與抑光率具高相關性($R^2=0.9861-0.9951$)，顯示所用 *Vibrio fischeri* 菌偵測具高敏感度及穩定性。當測試樣本選用單一化合物(分別為：甲苯、乙苯、二甲苯及 MTBE)時，其 EC₅₀ 值分別為 15、12、19 及 43 mg/L， R^2 值則介於 0.9765–0.9970；當測試樣本為混合 BTEX 時，*V. fischeri* 抑光率隨 BTEX 混合濃度增加而遞增，二者間具高度相關性($R^2=0.9992$)，其 EC₅₀ 值為 33 mg/L。

當使用 1%過硫酸鹽及在 1 及 5 g/L 轉爐石可以有效降低污染地下水生物毒性。但使用過高過硫酸鹽(5%)，則會造成生物毒性增加。生物毒性可能為經化學處理後，殘餘過硫酸鹽引起。然而，處理水之生物毒性隨氧化劑消耗而減低。使用釋氧型固定化菌體顆粒管柱及釋氧型透水性反應牆則可有效降解污染地下水，隨污染物濃度降低，生物毒性也隨之下降。

結論

根據本研究所完成之成果彙整結論如下所示：

1. 以「PVA 水凝膠包埋膠囊式冷凍法」包埋 CaO₂ 製成之釋氧型固定化菌體顆粒(ORCB)，可獲得較高之釋氧量，同時固化劑體積比(PVA)減少，會導致氧氣質傳效果愈佳而提高釋氧率。
2. 可藉由添加 alginate 作為製作釋氧型固定化菌體顆粒之固化輔助材料，提高顆粒之孔隙率而提升氧氣之釋出量。
3. 於 ORCB 內添加緩衝物質除了可增加 CaO₂ 反應速率而提升氧氣產

- 率外， CaO_2 亦會與酸反應而產生 H_2O_2 溶於水中而提高水中溶氧。
4. 包埋 *Mycobacterium* sp. CHXY119 與 *Pseudomonas* sp. YATO411 菌株製成之 ORCB 具可降解 BTEX，亦可釋出氧氣供微生物使用。
 5. 由 SEM 拍攝結果獲知，利用 PVA-alginate 材料可有效包埋特定污染物之分解菌種，微生物可於顆粒內部空間中生長。
 6. 經由 DGGE 分析菌群結構獲知，透水性釋氧反應牆長期於 BTEX 環境操作下，系統內之菌種變化趨於簡單化呈現；當有機負荷瞬間過高時(總 BTEX 濃度為 120 mg/L)，將導致菌群結構變動大，但當系統逐漸下降至總 BTEX 濃度為 80 mg/L 時，菌群又回復原有簡單化結構。
 7. 釋氧化劑累積釋放量、釋放速率快且持久之比例為 1:0.2:0.5(水泥/高爐石/水)及 1:0.5:0.5 (水泥/高爐石/水)，可維持 15 天以上之過硫酸鹽釋出。
 8. 釋氧化劑物質釋放後，水中 pH 值呈鹼性，並以異相催化方式氧化污染物，且 pH 提升可避免過硫酸鹽應用時之金屬溶出問題。
 9. 轉爐石(BOF)與高爐石(BF)均具活化過硫酸鹽能力，可促進污染物之降解，建議添加劑量為 10 g/L 以上，且 BOF 與 BF 可活化過硫酸鹽系統，具可現場應用之可行性，且可取代二價鐵作為活化劑優先考量，降低地下水整治成本及解決整治時三價鐵沉澱之問題。
 10. 吸附劑之添加有助於過硫酸鹽之活化，且添加劑量越高，過硫酸鹽之活化效果越佳，過硫酸鹽之活化應是 BF 與 BOF 表面上之含鐵位置接觸所造成。
 11. 以爐石(BF)活化過硫酸鹽系統進行現地處理污染物時，若採用整治牆或整治井方式進行整治時，則需提高爐石添加劑量，幫助過硫酸

鹽異相活化，以加速污染物降解。

12. 管柱實驗結果顯示，活化性釋氧化劑物質對 MTBE 及 BTEX 最大去除效率分別為 77%及 62%。惟當過硫酸鹽釋出濃度下降後，污染物濃度隨即開始回升。
13. 管柱實驗因流量較大因素，使得過硫酸鹽與污染物在管柱內反應時間較短，影響污染物之降解效率。惟在現地應用時，過硫酸鹽釋出後，即會與污染物在釋出區及下游區持續反應而將污染物降解。
14. 本研究所合成之活化性釋氧化劑物質，可有效降解 BTEX、MTBE 及副產物(TBA、TBF)，未來可以整治牆或整治井方式，應用於受污染地下水之現地整治。
15. 由 EC_{50} 結果獲知，*V. fischeri* 對汽油污染物生物毒性偵測具有高敏感度，且污染物濃度與 *V. fischeri* 之抑光率具有高相關性。
16. 經釋氧型透水性反應牆處理 MTBE 及 BTEX，會分解具生物毒性之中間代謝產物，並隨著污染物流經反應牆內堆疊之 ORCB，分解菌可有效降解毒性中間代謝產物。
17. 釋氧型透水性反應牆為一良好處理技術，可有效降解地下水 MTBE 及 BTEX 生物毒性。
18. 地下水 MTBE 及 BTEX 降解過程中，目標污染物與生物毒性降解趨勢不同，即目標污染物去除並不代表生物毒性去除，生物毒性偵測可補足化學分析之不足。

建議事項

本研究建議以下事項：

1. 以「混合攪拌式冷凍法」製成 ORCB，雖可迅速反應而釋放氧氣，

但因製作過程中會快速釋出氧氣，故不適合後續 ORCB 應用。

2. 以「PVA 水凝膠包埋膠囊式冷凍法」包埋 CaO_2 製成之 ORCB，具有減緩於製作過程釋出氧氣之缺點，且可穩定獲得較高之釋氧量。同時該顆粒具可包埋降解特定污染物之微生物，後續可針對不同污染物來源，選擇特定之微生物進行包埋。
3. 後續可利用回應曲面法來尋找 ORCB 之最佳參數配比，例如溫度、冷凍時間、冷凍次數、釋氧物質比例以及固化劑體積比等條件，來探討 ORCB 釋氧能力或崩解程度等參數。
4. 有鑑於 ORCB 之製作可能產生顆粒不均勻性，未來可藉由改善包埋方式、提升厚度或調整固化劑體積比方式，來有效解決因釋氧物質與檸檬酸反應產生大量氧氣而造成 ORCB 變形或不均勻之缺點。
5. 高爐石、轉爐石皆屬低價之吸附劑，未來應用於現場整治上可以吸附法單獨進行，亦可以異相活化法加速污染物之移除，未來可取代二價鐵作為活化劑優先考量，降低整治成本及解決三價鐵沉澱之問題。
6. 在不同吸附劑與氧化劑之配比下，氧化劑釋放速率與釋放量似無規律性可循，後續可進行更多重覆實驗與調整配比，加大吸附劑添加比例上之差異，並加強成品之穩定性，待驗證釋氧化劑合成品之再現性後，再求得最佳配比。
7. 本實驗結果與釋氧化劑物質釋放反應天數不一樣，推測可能原因為流量過快，造成釋氧化劑物質與過多的水反應，未來可將流量調低，以確實評估釋氧化劑物質於地下水之釋放能力。
8. 未來仍應針對釋氧化劑物質進行改良，增長其釋放時間，並使釋放後之 pH 值維持在中性，降低對地下環境之影響。

9. 經生物處理法復育後之地下水樣，可透過 *Vibrio fischeri* 生物毒性分析方法來瞭解該整治後水樣是否含有毒性；但若採用化學法整治時，則需要在考量釋氧化劑對污染物之整治時間，以避免釋氧化劑之干擾而誤判整治後之水質具有毒性。
10. 本研究經由實驗室分析轉爐石、高爐石之結果獲知(全量分析法)，轉爐石部分有些許鉻成分存在，唯經由溶出液分析結果顯示，液相中並無鉻存在，故未來之應用，以「高爐石」為主，並於應用時可同步進行重金屬監測，以特別注意此部分之風險。

中文摘要

本計畫主要利用生物毒性偵測法 *Vibrio fischeri* light inhibition test 方法，檢測地下水污染物生物毒性範圍，若地下水具高毒性水質則採用化學法方式進行整治；若具中低毒性則以生物法方式進行復育。地下水整治方法選擇係採用釋氧型生物法與活化過硫酸鹽氧化法等二種方式進行。其中，「化學法」採用不同低價吸附劑(高爐石、轉爐石)種類與劑量，以異相活化過硫酸鹽方式進行對 BTEX 降解效率評估。「生物法」則以生物可分解之固化材料(聚乙烯醇)，將可降解油品污染物之分解菌種(BTEX 分解菌)及釋氧物質(過氧化鈣)共同包埋而形成釋氧型固定化菌體顆粒。

在異相活化批次實驗結果得知，過硫酸鹽濃度越高，去除 MTBE 及 BTEX 所需時間將越短。當於適當條件下(以高爐石、轉爐石活化)，MTBE 降解副產物—TBF 與 TBA 亦可被有效去除，且無殘留問題產生。此外，二種吸附劑(高爐石、轉爐石)皆有活化過硫酸鹽效果，可促進污染物(BTEX 與 MTBE)之降解成效，未來可代替二價鐵做為活化劑之優先考量，降低整治成本及解決三價鐵沉澱問題。

研究結果顯示：以「PVA 水凝膠包埋膠囊式冷凍法」包埋 CaO_2 製成之釋氧型固定化菌體顆粒，可獲得較高釋氧量，且添加緩衝物質(檸檬酸)可穩定釋放氧氣，同時釋氧率隨固化劑體積比減少而增加。由管柱試驗結果獲知，包埋 BTEX 分解菌株(*Mycobacterium* sp. CHXY119 與 *Pseudomonas* sp. YATO411)之釋氧型固定化菌體顆粒具可釋出氧氣，可供給包埋之菌株所需溶氧，促進微生物降解 BTEX 之速率。

經由管柱實驗結果顯示，管柱內釋氧化劑物質之氧化能力約可維持 6 天，爾後隨釋氧化劑物質所釋出之過硫酸鹽濃度之衰退，氧化劑氧化降解污染物能力亦隨之下降。由 DGGE 分析菌群結構獲知，透水性釋氧反應牆長期於 BTEX 環境操作下，系統內之菌種變化趨於簡單化呈現；當有機負荷瞬間過高時，將導致菌群結構變動大，但隨系統逐漸趨於平穩時，菌群回復原有簡單化結構。由電子顯微鏡(SEM)拍攝結果獲知，利用 PVA-alginate 材料可有效包埋特定污染物之分解菌種，微生物可於顆粒內部空間中生長。

研究結果指出 *Vibrio fischeri* 對於油品污染物之生物毒性偵測具高度敏感度，污染物濃度與 *V. fischeri* 抑光率呈高度正相關；當使用 1%過硫酸鹽及在 1 及 5 g/L 轉爐石可以有效降低污染地下水生物毒性。但使用過高過硫酸鹽(5%)，則會造成生物毒性增加。使用釋氧型固定化菌體顆粒管柱及釋氧型透水性反應牆則可有效降解污染地下水，隨污染物濃度降低，生物毒性也隨之下降。

英文摘要

The objective of the project was to establish a framework for the integration remediation in a contaminated groundwater. First, the bioassay, *Vibrio fischeri* light inhibition test, was used to determine the toxicity of petroleum-contaminated groundwater. The highly toxic groundwater was treated with chemical oxidation method. In contrast, biological method was applied for groundwater of moderate-to-low toxicity. The oxygen-releasing type for a biological method and activated persulfate oxidation were selected to remediate a BTEX-contaminated groundwater. For the biological method, novel immobilized beads for oxygen releasing were manufactured by incorporating calcium peroxide (CaO_2), with BTEX-degrading bacteria using a biodegradable material composed of polyvinyl alcohol (PVA) and alginate. For the chemical method, two types of adsorbents (blast-furnace slag (BF slag), blast oxygen furnace slag (BOF slag)) were used to activate sodium persulfate. Moreover, batch or column tests were conducted to investigate the amounts of beads and concentrations of sodium persulfate and adsorbents on BTEX decomposition for biological and chemical methods, respectively.

Both BF and BOF slags show the capability in activating sodium persulfate leading to the biodegradation of BTEX and MTBE. The activation capability was increased with the increase of the amount of slags. To reduce the remediation cost and lessen the Fe (III) precipitation commonly occurred in the groundwater remediation site, BF and BOF slag were predominantly selected as activated agents in replacing Fe (II). Moreover, the MTBE degraded by-products (TBF and TBA) were also effectively degraded under activated conditions by BF and BOF slags.

The higher oxygen released rate was observed using PVA/alginate-based hydrogel-encapsulated CaO_2 freezing method. Oxygen was also consistently released with the addition of buffering material (citric acid). The oxygen-releasing rates were increased with the decrease of the volumetric ratio of binding material, which is attributed to due to the better oxygen transfer under less amount of binding material condition.

DGGE analysis suggested that the microbial community in the PRB system acclimated by BTEX became simplified and approached to certain particular microorganisms. Microbial community structure changes were observed under transient shock organic loading conditions. However, microbial community gradually recovered to its simplified structure when system operated in normal conditions. The SEM photographs show that PVA/alginate beads were suitable for the immobilization of

microbial cells. The photograph also indicated that microorganisms could be successfully entrapped inside the pores with homogenous distribution in the PVA/alginate beads.

High sensitivity of *Vibrio fischeri* light inhibition test as a biotoxicity indicator for BTEX detection was observed. The relationship between BTEX concentrations and light inhibition rates was significantly positive. The application of 1% of persulfate with 1 and 5 g/L BOF effectively reduced the toxicity of groundwater samples. However, the application of high dose of persulfate (5%) induced the high toxicity. Both immobilized beads-BTEX degrader column and PRB system were proved to effectively degrade the groundwater pollutants, thereby decreasing their biotoxicity.

名辭定義與縮寫說明

B	:	Benzene，苯
BF	:	Blast-furance slag，高爐石
BOF	:	Blast oxygen furance slag，轉爐石
BTEX	:	Benzene、toluene、ethylbenzene、xylene
CaO ₂	:	Calcium peroxide，過氧化鈣
DGGE	:	Denaturing gradient gel electrophoresis，梯度凝膠電泳
DO	:	Dissolved oxygen，溶氧
E	:	Ethylbenzene，乙苯
EC ₅₀	:	Half maximal effective concentration，生長半抑制濃度
LC ₅₀	:	Half maximal lethal concentration，半數致死濃度
MgO ₂	:	Magnesium peroxide，過氧化鎂
MTBE	:	Methyl tertiary butyl ether，甲基第三丁基醚
Na ₂ S ₂ O ₈	:	Sodium persulfate，過硫酸鈉
ORC	:	Oxygen-releasing compounds，釋氧物質
ORCB	:	Oxygen- releasing cell-immobilized bead，釋氧型固定化菌體顆粒
ORP	:	Oxidation reduction potential，氧化還原電位
PCR	:	Polymerase chain reaction，聚合酵素鏈鎖反應
pH	:	Hydrogen ion concentration，氫離子濃度指數
PRB	:	Permeable reactive barrier，透水性反應牆
PVA	:	Polyvinyl alcohol，聚乙烯醇
T	:	Toluene，甲苯
TBA	:	<i>tert</i> -Butyl alcohol，第三丁醇
TBF	:	<i>tert</i> -Butyl formate，第三丁醛
TPH	:	Total petroleum hydrocarbons，總石油碳氫化合物
TU	:	Toxic unit，毒性單位
X	:	Xylene，二甲苯
XRF	:	X-ray fluorescence spectrometer，X-光螢光分析儀

第一章 計畫緣起與目的

本章節總結過去國內外研究基礎上，提出之研究方案與目的，主要內容包括：(1)計畫緣起敘述，內容包括整體計畫來龍去脈、構想；(2)研究目的，敘述本計畫主要執行內容；(3)研究內容為敘述研究目的之執行方法與項目說明，各別將每一小項進行細部說明。

1.1 計畫緣起

土壤及地下水被汽油等石油碳氫化合物所污染是一個愈趨普遍且嚴重的問題，而造成油污染之主要來源包括地下儲油槽漏油、油管破裂及地面油品意外洩漏等。根據經濟部能源局統計，截至民國 100 年 9 月止，台灣地區已開業加油站共計有 2,615 間(經濟部能源局，2011)，其中已有 44 間加油站(包含已開業與歇業中)，已被環保署列管為控制場址(環保署，2011)，其污染源包括有：總石油碳氫化合物(total petroleum hydrocarbons, TPH)、總酚(total phenols)、甲基第三丁基醚(methyl tert-butyl ether, MTBE)、苯(benzene, B)、甲苯(toluene, T)、乙苯(ethylbenzene, E)，以及二甲苯(xylenes, X)等；其中 B、T、E、X 物質又簡稱為 BTEX，與 MTBE 皆為加油站受油品污染土壤及地下水中常見之污染物(Chen et al., 2006)。由於國內多數加油站之站齡遠超過十年以上者佔絕大多數，且加油站與大型儲油槽之管線設備多設置於地表下，因設備老舊、地震、施工不良、使用非腐蝕材料構造、不當防腐蝕保護措施、保護年限過長而喪失功能，或其他人為因素等，均可能造成洩漏機會之增加，導致油品洩漏於地底中而污染地下水體。在美國大約有三十萬個以上的儲油槽，據估計有 35%儲油槽可能有漏油疑慮(Bedient et al., 1999; Brar et al., 2006)。

台灣地區係屬於人口稠密區域，加油站設置於人口稠密區之比例頗高，且使用的飲用水源亦有 25%至 30%之用水量來自於地下水源，若此地下水源遭受污染則將會導致嚴重之用水風險。目前台灣油污染案件有逐漸增加之趨勢，而土壤及地下水污染問題，已是國內外關注的重要議題。在台灣最常見之土壤及地下水污染類型，包括農地重金屬污染、加油站及大型儲槽、不明廢棄物之非法棄置場址以及工廠不法排放廢水等污染類型(陳谷汎等，2002)。檢測地下水水質中是否含有揮發性有機物之檢測技術，除了一般常使用之質譜儀、氣相層析儀或高效能液相層析儀外，若需檢測該地下水質是否含有用水風險時，則上述儀器只能告知其物質濃度或種類，卻無法判讀此物質是否對現地生物、或人體產生毒害現象，因此後續發展則有以生物毒性檢測概念，以分析生物之致死率來判斷水質中是否含有毒性物質，其中 *Vibrio fischeri* light inhibition test 為一可行之毒性檢測技術。

根據美國之整治經驗統計(USEPA, 2004b)，近數十年來處理土壤與地下水污染

之整治方法中，採用離地(*ex situ*)(含 on site 與 off site)整治技術約佔 58%，而以現地(*in situ*)處理技術則佔有 42%，現地(*in situ*)處理技術中又有 25%係以土壤氣體抽除法(soil vapor extraction, SVE)方式進行整治。傳統處理/整治受污染地下水技術，如抽出處理法(pump and treat)是最廣泛被使用於場址整治之技術；但傳統方法常耗時甚久，且長期整治所需花費亦可能增高。基於成本及相關考量，目前受污染場址之整治復育，已逐漸採取現地(*in situ*)整治之方式(USEPA, 2004a)。SVE 為一傳統之揮發性有機物污染(volatile organic compounds, VOCs)土壤整治技術，常應用於加油站污染場址、輸油管線洩漏或工廠污染場址等。然而就加油站與輸油管線漏油之場址而言，若污染物飄浮於地下水面上層或溶於地下水中而隨地下水流動並擴散，極易污染地下水，因此常見整治技術係使用空氣注入法(*air sparging*, AS)與 SVE 兩種方式所結合成 AS/SVE 方式進行土壤及地下水污染之整治。在土壤及地下水污染之整治技術中，生物復育法(*bioremediation*)由於具環境友善性及經濟可行性，已成為一極具吸引力之整治方法。然而，根據過去許多學者及工程師投入污染整治工作獲得的經驗顯示，單一的整治技術常無法應付現地複雜的狀況或滿足各個場址復育之需求。Gusmão 等人建議，含水層之整治方式需以結合性的技術進行，以達污染物完全去除之目的(Gusmão et al., 2004)。因此結合不同技術所組成之整治序列進行污染場址的復育，已成為未來土壤及地下水污染整治之考量方向。化學氧化法不但具有可處理廣泛污染物及縮短整治時程之優點，亦無須擔心毒性之生物抑制問題。現地化學氧化法利用氧化劑的注入，使氧化劑與受污染之介質接觸，將污染物完全氧化成二氧化碳或轉換成自然界常見的無害物質。

1.2 研究目的

本計畫主要係建立一套完整性之地下水整治架構，先利用生物毒性方法 Microtox 中之 *Vibrio fischeri* light inhibition test，評估受污染地下水於整治前之毒性範圍及整治後之地下水質品質；若地下水質屬於高毒性水質則採用化學法方式進行整治；若屬於中低毒性範圍內，則採用生物法之方式進行復育。

目前常用之氧化劑應用時仍有一些問題存在，如過氧化氫或臭氧於地表下存在之時間短而影響整治半徑；或過錳酸鹽之應用，會有沉澱問題而降低含水層之滲透性。因此若能利用過硫酸鹽之穩定性，結合過硫酸鹽化學氧化法與現地被動式整治牆之技術，來提供地表下長期氧化劑之釋放來源，不僅可增加氧化劑於地表下存在之時間外，亦可增加整治時之影響半徑。就化學法而言，本研究採用不同低價吸附劑(高爐石(*blast furnace slag*, BF slag)與轉爐石(*blast oxygen furnace slag*, BOF slag))結合過硫酸鹽氧化法，處理受油品污染之地下水。由於過硫酸鹽作為氧化劑進行整治，其優勢在於釋出之硫酸根自由基較氫氧根自由基及臭氧穩定，使其於地表下可傳輸更遠，並有較長之作用時間外，若地表下存在有充足之過渡金屬元素，則無需另外添加金屬即可活化過硫酸鹽，且對苯之氧化速度快，因此適

合處理汽油洩漏之場址。此外，氧化劑長期存在地表下，於整治時可降低含水層因異質性存在高濃度污染物之風險。惟過硫酸鹽若未經活化，對污染物之去除較慢，因此將催化性物質加入此長效釋氧化劑物質中，可加強污染物的去除效率。本研究使用之吸附劑為價格低廉之工業廢棄物，不僅可有效降低整治成本外，亦提供工業廢棄物另一再利用管道，提昇長效性釋氧化劑物質應用於地下水污染場址之競爭力。

就生物法而言，本研究採用釋氧型固定化菌體顆粒進行試驗，其技術特性與應用在於結合固化材質、釋氧物質及污染物降解之微生物等三方向所結合而成之釋氧型固定化菌體顆粒之技術，並將其技術應用於受 BTEX 污染之地下水整治及其評估 BTEX 污染物之去除效率，同時再藉由批次試驗獲得合適之釋氧顆粒配比與組成，以及釋氧型固定化顆粒內之菌體存活率，藉以瞭解新開發之釋氧型固定化菌體顆粒是否可應用於土壤及地下水污染整治應用。生物可分解性之綠色材料—聚乙醇(PVA)，為一種可替代傳統固化材質(水泥)，作為新型之固定化顆粒之支架使用；同時再於製作顆粒時加入釋氧物質(CaO_2 或 MgO_2)，以製作成一新穎之釋氧型固定化菌體顆粒，使其增加顆粒內之溶氧量並可與所包埋微生物之接觸機會大增，進而提高對整治之效率。釋氧型固定化菌體顆粒除了可提供氧氣作為電子接受者外(生物刺激法)，亦可作為生物強化法中添加微生物之綜合體，藉此提升對 BTEX 污染物之去除效率。然而，當釋氧型固定化菌體顆粒逐漸與地下水反應完畢後，其殘存物，如 PVA 可於厭氧或兼性厭氧環境下被兼性厭氧菌或厭氧菌 (*Pseudomonas broeoplis*、*Rhodococcus* sp. 或 *Sphingopyxis* sp. PVA3.) 予以分解 (Matsumura et al. 1993, Chiellini et al. 2003, Hrnčirik et al. 2010)，故若未來於現地應用上，含微生物之釋氧顆粒一旦氧氣消耗完畢後，於地下水環境中恢復回缺氧環境下，即可直接將 PVA 代謝完畢，進而達到代替水泥所產生之廢棄物需額外處理與抽出工程費用，且該材質亦可保留於地下水中充當菌體保護載體使用，使菌體不易流失。本計畫之主要目的如下所示：

- 一、 分析釋氧型固定化菌體顆粒之基本性質，如顆粒孔隙率、顆粒比表面積。
- 二、 評估釋氧型固定化菌體顆粒之釋氧程度、pH 及導電度影響。
- 三、 建立包埋 BTEX 分解菌於釋氧型固定化菌體顆粒內對 BTEX 之去除效率影響。
- 四、 建立 PCR-DGGE 技術，分析於釋氧型固定化菌體顆粒應用於地下水井中之微生物菌群結構分佈。
- 五、 評估低價吸附劑異相活化過硫酸鹽去除 MTBE 及 BTEX 之能力；
- 六、 設計一具活化性之長效釋氧化劑物質並評估其釋放能力；

七、評估此具催化性之長效釋氧化劑物質去除 MTBE 與 BTEX 之效率；

八、以 *Vibrio fischeri* 發光菌抑制試驗評估地下水 BTEX 生物復育前後水質生物毒性。

1.3 研究內容

(1) 分析釋氧型固定化菌體顆粒之基本性質，如顆粒孔隙率、顆粒比表面積

評估顆粒內之孔隙率係為了瞭解顆粒內部是否會因 PVA 進行磷酸酯化反應過程中，造成顆粒內部之孔隙逐漸壓密而影響其顆粒內之孔隙大小，其分析方法係藉由孔隙率測定儀方式進行，以 BET 等溫吸附模式(Brunauer-Emmett-Teller)於液態氮溫度下測其氮氣之等溫吸附特性曲線，而氮氣於固體表面之吸附量則取決於氮氣之相對壓力(P/P_0)，當 P/P_0 在 0.05–0.35 範圍內時，吸附量與(P/P_0)即可符合 BET 方程式而求出顆粒之比表面積。當 $P/P_0=0.4$ 時，由於產生毛细凝聚現象，而使氮氣開始於微孔中凝聚，經由通過實驗與理論分析後則可測定其孔隙容積與孔徑分佈，待測出每個壓力下之樣品表面吸附或脫附之氮氣量則可獲得氮氣之吸/脫附等溫曲線，最終經由數學模型而計算出孔徑分佈及總孔體積及平均孔徑。

(2) 評估釋氧型固定化菌體顆粒之釋氧程度、pH 及導電度影響

由於 CaO_2 與水接觸反應後會產生 2 mole/L 之 Ca(OH)_2 ，若經由 $\text{pH} + \text{pOH} = \text{pK}_w$ 公式換算其 pH 時，其理論之 pH 會提高至 11.3，故需要額外添酸性物質如磷酸鹽類，將其全反應控制於中性範圍，並以 pH 計監測其反應後之 pH 變化。此外，除了監測 pH 外之變化外，亦以溶氧計(DO meter)監測水中溶氧變化，乃因需瞭解所添加釋氧物質，如 CaO_2 或過硫酸鹽等，於水中之釋氧能力；藉由釋氧量之評估，瞭解需提供多少量釋氧物質才可提供生物法或化學法，將水中之污染物去除。然而系統中所添加釋氧物質與水反應後會造成 Na 與 Ca 離子釋出，進而造成水體導電度的提升，因此更需瞭解導電度於水中之變化情形。

(3) 建立包埋 BTEX 分解菌於釋氧型固定化菌體顆粒內對 BTEX 之去除效率影響

本研究係以 PVA 方式包埋 BTEX 分解菌，稱之為「釋氧型固定化菌體顆粒」進行對 BTEX 之降解試驗。試驗時係將釋氧型固定化菌體顆粒投入 2 L 之均相連續流反應器(continuous-flow stirred tank reactor, CFSTR)式反應器中，進流流速設定為 1 mL/min，以連續流方式進行對 BTEX(進流濃度為 34.91 mg/L)降解試驗，瞭解投入釋氧型固定化菌體顆粒後對 BTEX 之去除效率分析。

(4) 建立 PCR-DGGE 技術，分析於釋氧型固定化菌體顆粒應用於地下水井中之微生物菌群結構分佈

由於現地生物復育法整治成效，主要之影響因素係與環境微生物族群分佈與生

長狀況有極具密切關係，因此建立污染物與微生物菌群之關連性即明顯的重要。本計畫採用分子生物技術中之抽取菌種 16S rDNA，配合 PCR 放大與 DGGE 菌群相分離技術，分析整治區域內部之菌相變化。樣本取樣時機則依照試程規劃，分批採樣，探討污染物去除效率、濃度及溶氧等因子對菌群間之消長與分佈情形。

(5) 評估低價吸附劑異相催化過硫酸鹽去除 MTBE 及 BTEX 之能力

此步驟係以一系列之批次實驗，探討不同低價吸附劑(包括高爐石及轉爐石)異相催化過硫酸鹽之能力，以提供後續加強式釋氧化劑物質設計之參考。實驗將包含下列三個方向：第一部份為氧化實驗，探討不同過硫酸鹽濃度單獨存在時，在水相對 BTEX 之去除效率。實驗所使用之介質溶液包括去離子水及現地地下水，土壤則為採自現地之含水層土壤。第二部份為異相催化實驗，探討不同劑量轉爐石存在下，過硫酸鹽在水相對 BTEX 之去除效率。第三部份為異相催化實驗，探討不同劑量高爐石存在下，過硫酸鹽在水相對 BTEX 之去除效率。實驗進行時，於不同時間取樣分析，以瞭解污染物之降解情形。BTEX、過硫酸鹽及硫酸根，實驗期間並監測 pH、Eh 及 DO 等參數。除上述高爐石及轉爐石外，亦評估選取其他適當之低價吸附劑進行本步驟之實驗。

(6) 設計一具活性之長效釋氧化劑物質並評估其釋放能力

目前常用之氧化劑應用時仍有一些如問題存在，如過氧化氫及臭氧於地表下存在之時間短，影響期整治半徑，或過錳酸鹽之應用會有沉澱之問題，降低含水層之滲透性等。因此若能利用過硫酸鹽之穩定性，結合過硫酸鹽化學氧化法及現地被動式之整治牆技術，提供地表下長期氧化劑釋放來源，不但可增加氧化劑在地表下存在之時間，亦可增加整治時之影響半徑。此外，氧化劑長期存在地表下，在整治時亦可降低含水層因異質性存在高濃度污染物之風險。惟過硫酸鹽若未經活化，對污染物之去除較慢，因此將催化性物質加入此長效釋氧化劑物質中，可加強污染物的去除效率。

長效釋氧化劑物質之主要組成包括：(1)過硫酸鈉；(2)水泥或石膏；及(3)砂。在此組成中，水泥或石膏將被用以凝結其他組成以製做成塊狀物質，砂則用以增加滲透性，過硫酸鈉為氧化劑。長效釋氧化劑物質係藉由組成物比例之調整，製備出不同釋放濃度及釋放時間之釋氧化劑物質，並可藉由獲得最佳化配比，提供不同污染程度場址整治上之應用。催化性釋氧化劑物質之主要組成包括：(1)過硫酸鈉；(2)水泥或石膏；(3)砂；以及(4)吸附劑。在此組成中，水泥或石膏將被用以凝結其他組成以製做成塊狀物質，砂則用以增加滲透性，過硫酸鈉為氧化劑，另添加吸附劑進行異相催化及加強此物質之吸附能力。此外，顆粒狀或粉末狀之吸附劑亦可直接用以取代砂，作為增加此物質滲透性之功能。

本計畫中催化性釋氧化劑物質之設計係將過硫酸鈉、砂及吸附劑將均勻存在於

此物質中。完成之加強式釋氧化劑物質可放入整治系統中長期釋放氧化劑，並進行異相催化，且可同時吸附污染物，有效增長污染物於整治系統之停留時間。我們預期在氧化劑持續釋放且被催化下，污染物可被氧化去除，且吸附劑之存在亦可降低污染物對下游可能之危害風險。

(7) 評估此具催化性之長效釋氧化劑物質去除 MTBE 與 BTEX 之效率

本研究所使用吸附劑為價格較低之工業廢棄物，不僅可有效降低整治成本，亦提供工業廢棄物另一再利用之管道，提昇長效性釋氧化劑物質應用於地下水污染場址之競爭力。試驗時依據批次試驗之結果，選定最佳操作條件，並以連續式管柱實驗評估污染物之整治技術成效。連續式反應裝置分別為：第一支管柱為背景管柱，第二支管柱則填充長效性釋或催化性氧化劑物質做為被動式整治牆，第三支及第四支管柱則做為模擬下游受體之反應管柱。實驗時，於各管柱之採樣孔定時採樣分析，分析污染物濃度(MTBE 與 BTEX)之逐時變化。

(8) 以 *Vibrio fischeri* 發光菌抑制試驗評估地下水 BTEX 生物復育前後水質生物毒性

本研究提出以 *Vibrio fischeri* light inhibition test 檢測技術來監測其地下水質是否含有毒性物質之判定方法，提供整治前後判斷地下水質之方法。計畫所使用測定生物毒性儀器為 Microtox analyzer model 500。為了準確判定發光菌對有毒物質敏感強度，通常以 EC₅₀、EC₂₀ 或 EC₁₀ 及以 TU 在 5 分鐘與 15 分鐘情況下，表示毒性物質對海洋發光菌毒性(Doherty, 2001)，故將毒性數值化加以判定。

1.4 本計畫工作執行進度

本計畫之執行時間為自 2010 年 12 月 29 日起至 2011 年 12 月 28 日止，計畫工作經費依合約內容，共計新台幣玖拾玖萬陸仟元整，計費採總包價法方式計算。依簽約次日起至 2011 年 12 月 21 日止，總執行率已達 100%，並符合簽約內容，各工作項目執行甘梯圖(表 1.4-1)與實際預定進度及查核點說明如表 1.4-2 所示，以及各工作項目執行進度與報告章節一覽表，如表 1.4-3 所述。本計畫各項工作成果則於本報告各章節中詳述。

表 1.4-1 計畫各工作項目執行進度甘梯圖

年月	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	備註
工作項目													
釋氧型固定化菌體顆粒之基本性質，如顆粒孔隙率、顆粒比表面積													
釋氧型固定化菌體顆粒之釋氧程度、pH													

年月 工作項目	12												備註
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
及導電度影響													
包埋 BTEX 分解菌於釋氧型固定化菌體 顆粒內對 BTEX 之去除效率影響													
低價吸附劑異相催化過硫酸鹽去除污 染物實驗													
PCR-DGGE 技術，分析於釋氧型固定化 菌體顆粒應用於地下水井中之微生物 菌群結構分佈													
低價吸附劑異相催化過硫酸鹽去除污 染物實驗													
長效性釋氧化劑物質及催化性釋氧化 劑物質設計													
以批次實驗評估氧化劑釋放效率													
新穎釋氧化劑整治牆管柱實驗													
以 <i>Vibrio fischeri</i> 發光菌抑制試驗評估 地下水 BTEX 生物復育前、後水質生物 毒性													
期中報告													
期末報告													
總計畫工作進度估計百分比(累積數%)	10	20	30	40	50	60	70	80	85	90	95	100	
預定查核點與計畫預定期程	查核點：4/25, 7/15, 9/30								△：查核點 ▲：期中、期末報告				
	5/2：期中報告												
	8/1：第二次進度報告												
	11/1：計畫成果海報												
	11/15：計畫成果摘要與簡報												
	11/15：期末報告(初)												
	12/14：計畫期末發表												
	12/14：期末報告												
說明：													
工作項目請視計畫性質及需要自行訂定。預定進度以粗線表示其起迄日期；「工作進度百分比」欄係為配合管考作業所需，累積百分比請視工作性質就以下因素擇一估計訂定：(1)工作天數，(2)經費之分配，(3)工作量之比重，(4)擬達成目標之具體數字；「預定查核點」，請在條形圖上標明※符號，並在「預定查核點」欄具體註明關鍵性工作要項。													

資料統計至 2011 年 12 月 21 日止

表 1.4-2 實際預定進度及查核點說明

契約書之預定進度累積百分比(%)		100%			實際執行進度(%)		100%
工作項目內容項目	實際執行情形	差異分析(打勾✓)			落後原因 困難檢討及對策		預計改善完成日期
		符合	落後	超前			
釋氧型固定化菌體顆粒之基本性質，如顆粒孔隙率、顆粒比表面積	分析/試驗項目包括：pH、DO、BET、比面積、顆粒穩定性等	✓			-	-	-
釋氧型固定化菌體顆粒之釋氧程度、pH 及導電度影響	採 Sensor 方式監測，分析項目如 DO、pH、導電度	✓			-	-	-
包埋 BTEX 分解菌於釋氧型固定化菌體顆粒內對 BTEX 之去除效率影響	按照不同 BTEX 總濃度進行試驗(濃度包括 20, 40, 80 及 120 mg/L)	✓			-	-	-
PCR-DGGE 技術，分析於釋氧型固定化菌體顆粒應用於地下水井中之微生物菌群結構分佈	按照不同 BTEX 總濃度試驗方式執行，並採取進、出流水樣分析系統內之菌群結構	✓			-	-	-
低價吸附劑異相催化過硫酸鹽去除污染物實驗	按照不同配比之吸附劑方式進行	✓			-	-	-
長效性釋氧化劑物質及催化性釋氧化劑物質設計	按照不同配比(轉爐石/高爐石方式進行	✓			-	-	-
以批次實驗評估氧化劑釋放效率	採用批次方式監測 DO 變化與釋氧率	✓			-	-	-
新穎釋氧化劑整治牆管柱實驗	由所獲得之轉/高爐石之比例下執行試驗	✓			-	-	-
以 <i>Vibrio fischeri</i> 發光菌抑制試驗評估地下水 BTEX 生物復育前、後水質生物毒性	分期中、期末進度，已完成期中進度之水樣分析(生物復育前)，以及部分整治後水樣分析(生物復育後)	✓			-	-	-
期中報告(5/2 繳交)	-	✓			-	-	-
第二次進度報告(8/1 繳交)	-	✓			-	-	-
期末成果發表會海報(11/1)	-	✓			-	-	-
期末成果報告摘要、成果發表會簡報(11/15)	-	✓			-	-	-
期末報告初稿(11/15)	-	✓			-	-	-
總計畫進度累積百分比(%)	100%	✓			-	-	-

表 1.4-3 本計畫各工作項目執行進度與報告章節一覽表

工作項目內容說明	單項 總執行進度(%)	報告章節	備註
1. 分析釋氧型固定化菌體顆粒之基本性質(包含：顆粒孔隙率、顆粒比表面積)	100	4.1 4.2 4.12 4.17	4.17節為新增內容
2. 評估釋氧型固定化菌體顆粒之釋氧程度、pH及導電度影響	100	4.3 4.4 4.5	
3. 建立包埋BTEX分解菌於釋氧型固定化菌體顆粒內對BTEX之去除效率影響	100	4.13 4.15	
4. 建立PCR-DGGE技術，分析於釋氧型固定化菌體顆粒應用於地下水井中之微生物菌群結構分佈	100	4.14 4.16	4.14節為新增內容
5. 評估低價吸附劑異相催化過硫酸鹽去除MTBE及BTEX之能力	100	4.6 4.7	
6. 設計一具活性之長效釋氧化劑物質並評估其釋放能力	100	4.8 4.9	
7. 評估此具催化性之長效釋氧化劑物質去除MTBE與BTEX之效率	100	4.10 4.11	
8. 以 <i>Vibrio fischeri</i> 發光菌抑制試驗評估地下水BTEX生物復育前後水質生物毒性	100	4.18	
9. 期中報告製作(初稿)	—	—	已於5/2繳交
10. 第二次進度報告	—	—	已於8/1繳交
11. 計畫成果海報	—	—	11/1
12. 期末報告製作(初稿)			11/15
13. 計畫成果摘要與簡報	—	—	11/15
14. 計畫期末發表	—	—	12/14
15. 完成期末報告製作	—	—	12/14
總計	100%		

資料統計至 2011 年 12 月 21 日止；備註：「新增內容」為原合約未規範項目

第二章 文獻回顧

本章節以文獻回顧之方式介紹本計畫所進行之受油品污染之地下水整治相關文獻探討，內容包括：土壤及地下水油品污染概況、過氧化鈣之釋氧顆粒特性、過硫酸鹽化學及活化機制、生物刺激與生物強化對生物復育之影響、固定化菌體顆粒應用，以及分子生物技術應用於監測環境生物復育。

2.1 土壤及地下水油品污染概況

近年來，土壤及地下水受到各類型污染之案例層出不窮，嚴重者甚至造成受污染場址附近居民的健康危害，使得土壤及地下水之保護及其污染的整治倍受重視。土壤及地下水中之主要污染物包括油品、重金屬以及含氯有機化合物，其中，油污染之主要來源多為地下儲油槽(underground storage tanks, UST)漏油、油管破裂、及地面油品意外洩漏等。而重金屬及有機溶劑之污染，多肇因於工業廢水之排放及工業廢棄物的隨意棄置。

由於大量使用之故，土壤及地下水被石油碳氫化合物(如汽油、柴油及其他油品)所污染已是一個愈趨普遍且嚴重的問題。在美國有三十萬以上的儲油槽，據估計有 35%之儲油槽可能在漏油；在台灣，油品污染亦是主要的土壤及地下水污染來源。根據民國 100 年之統計資料顯示，國內加油站總數共 2,621 座，其中中油所屬之加油站為 2,031 座，其他民營加油站為 590 座(環保署, 2011)。為掌握加油站地下貯油槽系統運作情形及預防土壤及地下水污染，環保署於民國 91 年至 94 年間進行 10 年以上加油站污染潛勢調查，在 800 座加油站調查結果顯示，共有 32 座加油站之土壤或地下水受到污染，並進行後續公告或要求限期改善(環保署, 2006)。

在各種石油產品中，燃料的需求約佔 40%，而汽油為目前常用的燃料之一。汽油主要由 5–12 個碳數之碳氫化合物組成，其中約 40%為直鏈及支鏈烷類、20%為環烷類、25%為芳香族類，其餘則為用以增進辛烷值之汽油添加劑(EIA, 1999; 林俊雄, 2004)。汽油組成中，最為人所關注者包括芳香族類及汽油添加劑。芳香族類物質主要包括苯(benzene, B)、甲苯(toluene, T)、乙苯(ethylbenzene, E)及二甲苯(xylenes, X) (合稱 BTEX)，而甲基第三丁基醚(methyl tert-butyl ether, MTBE)則為目前最常使用之汽油添加劑。苯、甲苯、乙苯為美國環保署列管之優先污染物(priority pollutants) (Davis and Cornwell, 2008)；在台灣，亦已將 MTBE、苯及二甲苯列管為毒性化學物質，並訂定 BTEX 在土壤及地下水中之管制標準(環保署, 2009)。BTEX 之毒性會造成神經損傷，尤其苯可能會導致血癌(ATSDR, 2004)。MTBE 已證實對動物具致癌性，美國環保署亦已將其歸類為對人類可能之致癌物質(USEPA, 1997)。MTBE 及 BTEX 為地下水中常見的污染物之一，其污染通常為地面上或地下之汽油貯油槽及輸送管線的意外洩漏所造成(Day et al., 2001; Chen et al., 2005a;

Rosell et al., 2006)。

當油品污染物的洩漏發生後，污染物首先滲透到不飽和層，然後依據污染物的特性，土壤結構以及場址狀況等因素，污染物極可能滲透至含水層，而污染了地下水。尤其是當滲漏之污染量非常大時，污染物將吸附在土壤中形成非水相液體(non-aqueous phase liquids, NAPLs)，並緩慢脫附而形成一長期之污染源，對地下水之水質造成長期之危害(Borden and Kao, 1992; Kao et al., 2001; Soga et al., 2004)。隨著民眾對於生活品質要求提高及大量的人口成長，國人對於水資源的需求亦逐漸增加。對人類而言，除地表水外，地下水亦為一項重要的水資源。在美國，約有 40%的公共用水來源為地下水 (Solley et al., 1998)；在台灣，亦有約 30%之用水來源為地下水，其中農業用水約佔 45%、養殖用水約佔 32%、工業用水約佔 14%、民生用水約佔 9%(陳文福，2005)，是故對地下水資源的保護與土壤/地下水污染之整治已到了刻不容緩的地步。

2.2 過氧化鈣之釋氧顆粒特性

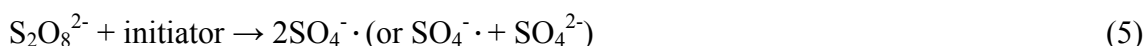
釋氧顆粒(oxygen-releasing compounds, ORC)通常係由水泥、釋氧物質(CaO_2 或 MgO_2)、濾材(砂或石英砂)以及磷酸鹽類等物質共混而成。 CaO_2 係為一種非常穩定之無機過氧化物，外觀呈現微黃色粉末狀，無臭、無味、溶於酸與微溶於水，於常溫下之乾燥品不易分解，可於濕空氣或水中長期緩慢釋出氧氣且對環境無危害性，並與水接觸後產生化學反應而釋放出氧氣。另外，添加磷酸鹽類與水泥之主要目的，為減緩 ORC 釋放氧氣之速率(陳立軒，2006)，簡稱為緩釋氧物質。釋氧原理則為釋氧物質與水反應生成氧氣與氫氧化物，藉由理論化學反應式(1)至(4)可計算出每 2 mol 之 CaO_2 或 MgO_2 可產生 1 mol 之氧氣；換言之，每克之 CaO_2 或 MgO_2 約可產生 0.22 克氧氣。



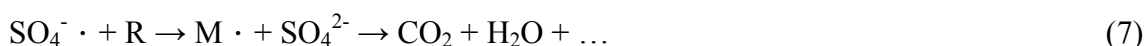
使用 ORC 進行生物復育之原理主要係於現地污染場址內設置一道釋氧反應牆(oxygen-releasing reactive barriers)，藉由放置釋氧物質與流動地下水反應後不會產生毒性物質，且產生之氧氣經由延散與擴散作用而提高溶氧之區域範圍，增強對現地微生物所需之氧氣，進而提高現地微生物分解有機污染物之能力及維持微生物生長之能量來源，藉以達到生物復育之成效。

2.3 過硫酸鹽化學及活化機制

利用過硫酸鹽當做氧化劑為目前新發展之現地化學處理程序(ITRC, 2005)。過硫酸鈉(sodium persulfate)、過硫酸銨(ammonium persulfate)及過硫酸鉀(potassium persulfate)為目前市面上可得之過硫酸鹽。由於過硫酸鉀溶解度為(6%)較過硫酸鈉低(40%)，且添加銨鹽類會導致氨於地下水中產生，因此過硫酸鈉應用於現地化學氧化最為普遍(ITRC, 2005)。過硫酸鹽雖為一強氧化劑，但其破壞有機污染物之速率較為緩慢。然而，當過硫酸鹽藉由(UV)、熱或過渡金屬離子(如二價鐵、銀、銅等)活化後，將產生氧化力更強之硫酸根自由基(Block et al., 2004):



當硫酸根自由基與有機物反應時，可將有機物轉化為二氧化碳及水，如式(7)所示：



亞鐵為一常用之活化物質，利用亞鐵離子活化過硫酸鹽之反應如式(8)與式(9)：



總反應式為式(10)：



適用於過硫酸鹽氧化法處理之污染物包括 PCE、TCE、二氯乙烯(dichloroethylene, DCE)、氯乙烯(vinyl chloride, VC)、BTEX、phenols、1,4-dioxane 及 MTBE。此外，PAHs、爆炸性物質及農藥亦可利用此法處理，但效果較不如前述污染物好(ITRC, 2005)。過硫酸鹽及硫酸根自由基具有以下之優點，使其成為極具潛力之化學整治方法(Neta et al., 1998; Brown et al., 2003; Block et al., 2004)：

1. 硫酸根自由基較氫氧根自由基及臭氧穩定，使其於地表下可傳輸更遠，並有較長之作用時間；
2. 若地表下存在有充足之過渡金屬元素，則無需另外添加金屬即可活化過硫酸鹽。
3. 相較於過錳酸鹽，過硫酸鹽較不傾向與土壤中的有機物反應，因此較適用於有機物含量高的土壤。
4. 相較於過錳酸鹽，過硫酸鹽對苯的氧化速度快，因此適合處理汽油洩漏之場址。

過硫酸鹽為一較為長效性之氧化劑，且其不傾向與土壤中的有機物反應之特性亦使得過硫酸鹽應用時所需之藥劑量較其他氧化劑為低。因此，過硫酸鹽氧化法之使用除了可有效去除污染物外，亦可降低污染場址整治之成本。然而過硫酸鹽氧化法為一新興的土壤及地下水整治技術，目前雖已有研究針對熱活化及鐵活化法處理如 TCE、BTEX 及 MTBE 等污染物(Huang et al., 2002; Anipsitakis and Dionysiou, 2004; Liang et al., 2004a; Liang et al., 2004b; 陳谷汎等, 2007)，但相關操作條件及現地應用的可行性仍需進一步的探討。尤其目前國內受污染之場址日益增加，使得整治經費之負擔亦日益沉重，若能對過硫酸鹽氧化法進行更詳細的研究，使其成為一較成熟之技術，將可做為未來場址整治技術選項之一。

而過硫酸鹽與有機污染物間共同進行化學反應過程中，同時發生三種現象，分別為過硫酸鹽的自解與有機污染物反應所耗用之過硫酸鹽量及去除有機污染物後所氧化成 CO₂，而過硫酸鹽的反應速率常數受溫度、pH 值、活化劑、水中離子以及氧化劑與有機污染物的濃度值等所影響(Goulden and Anthony, 1987; Kolthoff and Miller, 1951; House, 1962; Liang, 2003)。

2.3.1 過硫酸鹽在水中光分解

UV 光最常被用來分解過硫酸鹽產生硫酸根自由基，過硫酸鹽之光解作用中發現硫酸根自由機可穩定於酸鹼溶液中(Dogliotti and Hayon, 1967)。當 pH>8.5 時，過硫酸鹽則快速分解且於 pH10.7-10.8 時分解殆盡。隨著氧氣的存在，過硫酸鹽的降解速率是緩慢的，且硫酸根自由基會轉變為氫氧自由基(林佩雲, 2005; Salari et al., 2009)。

2.3.2 溫度的影響

過硫酸鹽在一般溫度下，未具有強氧化效果。其通常伴隨著溫度提高、UV 或活化劑等方式啟動生產自由基的機制。然而，當溫度過高時，過硫酸鹽自身分解速率可以快於有機物(Goulden and Anthony, 1978; Huang et al., 2002; Liang et al., 2003, 2004a, and 2004b)。

水中含有足量之過硫酸鹽，且環境中 pH 值控制在合適範圍及 90-100℃ 條件下，水中有機物可在幾分鐘內完全配被過硫酸鹽氧化，並且發現第一部份的氧化反應約有 70% 有機物轉化為 CO₂，反應動力學呈一階反應，第二部分氧化出現二階反應，反應動力學與過硫酸鹽濃度與有機物質濃度有關(Goulden and Anthony, 1978)。方程式如式(11)與式(12)所述：

$$d[S_2O_8^{2-}]/dt = -k_0[S_2O_8^{2-}] - k_3z[S_2O_8^{2-}][M] \quad (11)$$

$$d[M]/dt = -k_3z[S_2O_8^{2-}][M] \quad (12)$$

式中 k_3 為過硫酸鹽氧化有機質之速率； Z 為過硫酸鹽與污染物之莫耳比； M 為有機物濃度。

2.3.3 pH 的影響

過硫酸鹽與有機物進行氧化降解作用時，反應過程亦會受 pH 之影響。在鹼性條件下，過硫酸鹽氧化有機物質的速率則較慢於酸性條件下。文獻指出，增加 pH 值會降低過硫酸鹽與甲基第三丁基醚(MTBE)之反應速率，其結果可能由於硫酸根自由基($\text{SO}_4^{\cdot-}$)與氫氧自由基(OH^{\cdot})會立即和氫氧離子(OH^-)起反應而消失(Huang et al., 2002)。Golden and Anthony (1978)研究發現，在強酸($\text{pH} = 1.2$)的條件下，菸鹼酸(Nicotinic acid)的去除率會比在鹼性環境($\text{pH} = 12$)下要來的快，但卻比中性條件($\text{pH} = 5$)下來的慢，因此環境中的 pH 值範圍若極酸或極鹼狀況下，對過硫酸鹽的氧化作用皆無顯著之助益(Goulden and Anthony, 1978)。

2.3.4 金屬活化的影響

帶有二價金屬離子可做為電子提供給活化過硫酸鹽之介質，並在常溫下產生硫酸根自由基。此方程式可表為式(13)與式(14)：



其中，Me：金屬活化劑。

文獻指出曾利用銀與銅當成活化過硫酸鹽，氧化自然水體中污染物，實驗結果發現水中有機物質可被完全氧化(Goulden and Anthony, 1978)，且利用銀活化過硫酸鹽比銅與鐵活化較果佳(Xu et al., 2008；Li et al., 2009)。Liang et al. (2004a)曾利用二價鐵離子活化氧化 TCE，結果證明金屬離子可產生活化反應。而二價鐵濃度增加時，過硫酸鹽之分解速率增加，但 TCE 之分解減少。氧化 TCE 所產生之氫氧根離子及氯離子、硫酸根離子、其他中間有機產物及過量之金屬活化劑，可能抑制硫酸根自由基之反應。

2.4 生物刺激與生物強化對生物復育之影響

生物刺激為有效提供現地微生物一適宜生長環境，可藉由提供營養鹽或氧氣等方式，以刺激方法來提升現地原存於土壤與地下水之原始生物群之分解能力，加速微生物對污染物之降解。下列為常見生物刺激之方式。

2.4.1 營養鹽添加

添加地下水中微生物生長所需之營養鹽，以維持微生物之分解效率。一般受污染之場址常存於營養鹽不足之問題，因此提供適當之碳源及氮、磷則有助於微生物之生長；而營養鹽所需要之含量則可由下列公式(環保署，2006)求得：當污染量 C-source 已知後，便可以推算出營養鹽所需供給量。一般微生物生長所需之 C、N、P 比例介於 100：10：1 到 100：1：0.5 之間，其他微量元素如 K、Mg、Fe、Mn、Cu 等也是不容忽視之重要元素。如 Jeffrey et al. (2001)添加營養鹽之方式來刺激微生物於現地分解 BTEX 之油類污染物。

2.4.2 添加電子供給者

重質非水溶相液態污染物(dense non-aqueous-phase liquid, DNAPLs)整治中，電子供給者釋出的電子可經由傳遞者傳到 DNAPLs，使其接受電子而被還原出氯離子，以達到整治效果。因此，在好氧系統中添加甲苯或甲烷等有機物以進行共代謝作用，也就是說微生物在分解主要碳源的同時也可以經由共代謝作用而分解其他污染物。另外，在厭氧環境下則加入釋氫物質來進行脫氯反應以去除氯離子。

2.4.3 添加電子接受者

微生物分解污染物的過程中需要電子接受者，而在好氧環境下，氧氣為良好的最終電子接受者，因此會添加氧氣或釋氧物質(例如：過氧化氫)以供給氧氣。在無氧環境下，微生物則會利用硝酸鹽類(NO_3^-)或硫酸鹽類(SO_4^{2-})等，當作電子接受者以進行污染物分解之用。根據研究指出，微生物於好氧代謝過程中所獲得之能量為厭氧之 20–30 倍，故好氧性微生物分解污染物之速率通常較厭氧快且分解較完整(Farhadian et al., 2008)。但一般地下水屬於低溶氧之環境(Chapelle et al., 2000)，因此常需提供氧氣，以提升微生物之分解效率。提供氧氣的方式包含有：(1)以機械之方式將空氣或氧氣，以低流量注入於污染區域；(2)於受污染區添加 ORC，如過 H_2O_2 (Karpenko et al., 2009)、 CaO_2 (Lin et al., 2010)或 MgO_2 等(Simon and Meggyes, 2000)。

2.4.4 生物強化

生物強化法主要為添加微生物，在整治區域中添加對污染物具有降解能力之菌株或菌群，而這些特定菌株或菌群可經由：(1)取至於污染場址之菌株而加以馴養後增殖；(2)購自商業化生物製劑；上述兩者之優缺點在於自行馴養之菌株，對現場之適應力較佳，但所馴養之菌株不一定是會對特定污染物具有最佳分解能力，而商業化生物製劑則對特定污染物具有最佳分解能力，但因菌株並非直接由污染場址中所馴養獲得，故可能會有不適應現場環境之情況發生。無論是添加非原生菌或是馴養後之原生菌，目的皆是為了增加微生物量及其活性，以提高反應速率，

進而達到生物整治之成果。雖然此方法雖然可加速污染物之分解，但如果環境變異大，如污染物濃度過高或是 pH 過酸或過鹼，則可能導致所添加菌株之分解能力受限或流失。因此 1980 年後陸續有學者以微生物固定化(immobilization cell)技術應用於廢水與廢氣之生物處理上，藉由固定技術之優點，例如微生物經過固定化後，可受到保護之作用以強化微生物之分解能力，如此一來更是提升生物強化之功能。

2.5 地下水生物毒性偵測

由於加油站油漏事故會造成土壤與地下水質受到污染，因而危及人們使用地下水質之安全與應用，增加了人們對地下水充當飲用水或灌溉水之使用風險。然而要如何獲知地下水質是否含有有毒物質或該地下水是否已遭受污染，則常需要有一連串之檢測步驟後才可獲知，因此花費長久時間檢測外，亦無法可立即獲知該水質是否含有有毒物質，故本研究以 *Vibrio fischeri* light inhibition test 毒性檢測技術來監測其地下水質是否含有毒性物質之判定方法，提供整治前後判斷地下水質之方法。*Vibrio fischeri* light inhibition test 技術係一種生物感測技術之毒性檢測系統，可提供水污染之檢測方式；此技術原理係使用費希爾弧菌(*Vibrio fischeri*)之發光細菌，藉由該菌新陳代謝作用時產生螢光特徵，當水質中含有有毒物質時，則毒性會抑制甚至阻止正常代謝，使其菌種發光強度減弱，故毒性越強，對代謝之抑制作用越強，則發光就會被嚴重抑制。通常 *Vibrio fischeri* light inhibition test 毒性檢測係以 LC₅₀ 或 EC₅₀ 及以 TU 在 5 分鐘與 15 分鐘情況下，表示毒性物質對海洋發光菌毒性(Doherty, 2001)，其高毒性(very toxic)範圍為 LC₅₀ : <25 與 TU : >4；中毒性(moderately toxic)為 LC₅₀ : 26–50 與 TU : 2–3.9；低毒性(toxic or slightly toxic)為 LC₅₀ : 51–100 與 TU : 1–1.9；無毒性(nontoxic)則為 LC₅₀ : >100 與 TU : <1 之範圍內(邱舜稜，2002)。

Vibrio fischeri light inhibition 主要利用海洋發光菌 *Vibrio fischeri* (NRRL B-11177)，其主要發光原理與其呼吸代謝有關，許多研究指出 *Vibrio fischeri* 與其他有機活體(in vivo)毒性測試(Whole organism bioassay, rats, fish, and water fleas)相近(Buton et al., 1986; Campbell et al., 1990)，且 *Vibrio fischeri* 與較高等動物具相同之生化路徑(biochemical pathway)，故 *Vibrio fischeri* 對於毒性反應與高等動物亦相似。其亦用在人體對於化學物質生物毒性反應上，Earl et al.(1995)使用發光菌與其他 in vivo 試驗測試化學物對眼睛刺激作用，發現 *Vibrio fischeri* light inhibition 最具敏感性。

同樣 *Vibrio fischeri* light inhibition 其可用於污染物早期偵測(Isidori et al., 2003)。Lin and Chao, (2002)使用 *Vibrio fischeri* light inhibition 偵測使用不同比例之甲醇/柴油(methanol/diesel)卡車所排放廢氣之生物急毒性，發現其具良好偵測效果，Juhasz et al. (2000)以 *Vibrio fischeri* light inhibition 評估受高分子量 PAHs 之土

壤，其於生物復育前後之生物急毒性變化。

2.6 固定化菌體顆粒應用

固定化之概念始於 1916 年由 Nelson 與 Griffin 發現蔗糖酶可被吸附於骨碳微粒，並仍保持其原有活性(朱啟中，2009)，隨後引起眾多學者之興趣探討。固定化菌體技術初期主要應用於醱酵生產，於 1970 年以後，隨著生物技術之進步，應用範圍也就愈加廣泛，包括有：有機合成反應、食品製藥工業，如重金屬之吸附、揮發性有機物處理，以及廢水、廢氣生物處理等多方面運用。細胞固定化技術克服微生物菌體太小及不易與水溶液分離之缺點，可保持高效率、穩定性強、可純化及保持高效菌種之優點，故於廢水處理領域有廣闊之應用前景，其相關資料彙整於表 2.6-1 所示。

固定化菌體顆粒技術之主要特點係對具有去除污染物之活性微生物進行固定，可避免整治過程中造成微生物失去活性之一種衍生方法，具可保持菌種之生化反應之穩定性，可提高單位體積內之微生物菌體密度。固定化後之微生物菌體顆粒可長期保持活性，且顆粒亦可重複使用，節省投資；此外，固定化菌體顆粒之技術，除了可保護菌體不受外在環境衝擊、減低對菌體之傷害，亦可適合應用於複雜之環境條件。目前，利用固定化微生物顆粒技術應用於廢水處理部分已有極佳的成果(如養殖廢水、垃圾滲出液、含酚廢水、印染廢水、重金屬廢水等，均可有效去除廢水中之污染源)，且可依據不同廢水屬性、菌種特性選擇適合之固定化方法(如：以 alginate 材質包埋 *Pseudomonas* 菌株降解甲苯之污染物，或以聚亞安酯泡沫固定 *Rhodococcus* sp. F92 降解油類污染物等，均已被實際應用於實場整治)，因此解決了許多復育污染環境之共同性問題，故後續細胞固定化顆粒應用，需視現地地下水質污染物質或整治效果來決定需包埋何種固定化微生物顆粒，才可達到預設定之整治之去除效率。

此外，固定化法更適合應用於流動性之地下水，因當受污染之地下水於流經透水性反應牆時，可藉由反應牆中之微生物而降解有機污染物，相較之下若採用懸浮法進行生物強化法整治時，則易造成菌種流失。故若採用微生物固定化方式，可確保微生物能夠大量集中，減低菌體流失量，因此後續應用可將包埋微生物之固定化顆粒堆砌組成一生物透水性反應牆(或將顆粒填入於卡匣中重複使用)，以處理地下水層中之油品污染。

表 2.6-1 微生物固定化技術應用於污染物處理之案例

作者	年代	固定法	載體	微生物	污染物	結論
Ting & Sun	2000	包埋、 冷凍- 解凍	PVA, Alg	Yeast	Cu	經由反覆冷凍-解凍方式將PVA 固化成不同孔隙率之顆粒，並可藉由 Yeast 與 PVA 顆粒吸附 Cu 離子
Wang et al.	2007	包埋	PVA	PD12	Phenol	可於 9 小時內將 500 mg/L phenol 濃度之廢水降解完畢，去除率可達 99.6%；最高濃度為 1100 mg/L
Siripattanakul et al.	2008	包埋	PVA	J14a	Atrazine	以固定化顆粒包埋 J14 菌種時，基質濃度為 3.5 mg/mL 可於 120 小時內去除效率為 40~50%，較懸浮法佳
Parameswara-ppa	2008	包埋、 交聯、 共價鍵 結	PVA, agar, PAA	CS2	EB	以 PVA+PAA 共交聯下，其顆粒可將 50 mM 之 EB 降解，並可穩定操作 42 天，但以 agar 為固定化材質，則只可操作 36 天後顆粒崩解

2.7 分子生物技術即時監測環境生物復育技術

由於現地生物復育法整治成效，主要之影響因素係與環境微生物族群分佈與生長狀況有極具密切關係，因此建立污染物與微生物菌群之關連性即明顯的重要。微生物資訊收集需倚賴分子生物技術之應用，方能免受限於傳統分離與培養等技術之窘況，而建立此方面監測技術平台將有利於本研究或延伸至其他生物工程方

面之生物性監測發展。本計畫中將以 PCR-DGGE 分析技術所獲得之菌群指紋圖譜 (fingerprint)，分析整治區域內之整體菌群結構分佈，以作為評估現地微生物復育能力之依據。

微生物族群結構(microbial community structure)分析技術發展，早期係依賴傳統微生物之培養技術予以分離，並藉由微生物之形態學、培養特徵及生理生化特性等，進行分類鑑定；但此方法易受限培養分離之技術限制，無法有效地全面性探討，因此現代微生物結構分析技術，已由原先傳統培養分析方法演變成以 DNA 為基礎導向之分子生物技術，藉由 16S rDNA 基因檢測與指紋圖譜鑑定，可精確地闡釋微生物種類與遺傳多樣性間之相關資訊。分子生物技術之各類方法已被廣泛地應用於環境微生物族群結構之研究，其中 PCR-DGGE 之分子生物技術係目前探知菌群完整結構與定量之最佳方式之一。變性梯度凝膠電泳(denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE)原先係用來檢測 DNA 鹼基對之多樣性變化，早期運用於醫學上之突變檢定(mutation analysis)，直至後期發展、修正及改良後，將此原理運用於微生物族群之分析(Muyzer et al., 1999)。

2.7.1 PCR-DGGE 技術

DGGE 原理係利用尿素與甲醛(formamide)兩種變性劑，依不同比例之添加量使電泳膠片中產生變性梯度，將經由 PCR 大量複製後之 16S rDNA 進行電泳分離。擴增出之 16S rDNA 基因片段大小相同，但其序列組成與排列方式因不同微生物種類而有所相異，所以其於變性梯度電泳中會造成不同微生物之雙股 DNA 產生不同程度之鏈解，在相同的電壓下因鏈解程度不同，使其於電泳膠體中泳動速度也就不同，藉此即可將不同微生物之 16S rDNA 分離。通常雙股的 DNA 片段(未變性)移動速度較快，部分變性的 DNA 片段則移動速度較慢，依膠體上之出現位置不同，作為分辨菌種之判別依據。分子生物技術主要應用於監測透水性反應牆中之生物族群結構，藉由菌群結構分佈來探討菌群變化分佈對污染物間之去除效率關係，其相關應用彙整如表 2.7.1-1 所示。

表 2.7.1-1 分子生物技術應用於菌群結構分析之相關研究

作者	年代	污染物	分生方法	結論
Hristova et al.	2003	MTBE	PCR-DGGE, real-time PCR, ITS、cloning	<ol style="list-style-type: none"> 1. 於受 MTBE 污染之地下水添加原生性好氧 MTBE 分解菌 (PM1)，並以生物通氣法提供溶氧 2. 在未添加 PM1 且受低濃度 MTBE 污染之監測井中，以 PCR-DGGE 追蹤時亦能發現微量 PM1 存在，表示此處已有原生 PM1 菌種，而附近無 MTBE 污染處則未監測到 PM1 3. MTBE 污染濃度、溶氧及 PM1 菌種數量有明顯關係，如以 real-time PCR 監測 PM1 數量時，PM1 菌濃度從 10⁴ 提升至 10⁵ cells/mL，此時 MTBE 從 6–8 mg/L 降至約 0.1 mg/L
Zhuang	2005	MTBE	PCR-DGGE	<ol style="list-style-type: none"> 1. 經 PCR-DGGE 及 16S rRNA 分析過後得知，在 SBR 系統處理 TBA 過程中(從 22–247 天)之微生物菌群結構極為豐富，其中以 α-Proteobacteria、β-Proteobacteria、δ-Proteobacteria 與 Cytophaga-Flavobacteria -Bacteroides (CFB) group 為主。
Chun et al.	2007	BTEX	PCR-DGGE; 23S rDNA; 16S rDNA	<ol style="list-style-type: none"> 1. 以 PCR-DGGE 技術比較處理前/後受 BTEX 污染之土壤菌群結構 2. Primer 選擇為 Actinobacteria-targeting 與 Bacilli-specific 之特定基因進行放大，並可獲知 Actinobacteria 與 Bacillus 含量多寡會影響 BTEX 之去除效率

第三章 研究方法與過程

本計畫主要係利用生物毒性方法中之 *Vibrio fischeri* light inhibition test 方法，檢測現地地下水水質中之毒性範圍，若地下水質屬於高毒性水質則採用化學法方式進行整治；若屬於中低毒性範圍內，則採用生物法之方式進行。地下水整治方法選擇係採用釋氧化合物法方式進行，包括有生物毒性法、生物法及化學法三種方式進行，分別為：(1)採用生物毒性法中之 *Vibrio fischeri* light inhibition test，檢測整治前受油品污染之水質是否具有生物毒性，由中瞭解此污染物對 *Vibrio fischeri* 發光菌之抑制情形；(2)生物法：係採用釋氧物質，如過氧化鈣(CaO_2)、BTEX 分解菌種，以及可分解之固化材質(PVA)所共組而成之釋氧型固定化菌體顆粒，其製作方式則採用冷凍包埋法進行釋氧顆粒之製作，之後再將製作出之釋氧顆粒試驗於實驗室模組之管柱試驗，建立釋氧顆粒應用於處理受 BTEX 污染之地下水復育整治；以及(3)化學法：採用不同低價吸附劑(包括高爐石及轉爐石)種類之方法，以異相活化過硫酸鹽方式進行對污染物去除，並評估其降解能力；同時設計長效性釋氧化劑物質與活化性釋氧物質之組成，探討不同過硫酸鹽濃度對 BTEX 降解之影響，以及添加不同低價吸附劑劑量對 BTEX 降解之影響；此外(4)亦採取生物技術方法中之 DGGE 技術，探討釋氧型透水性反應牆系統中之菌群結構變化，其整體研究架構流程與關係圖如圖 3.1-1 所示。

3.1 釋氧型固定化菌體顆粒製作材料

本研究製成釋氧型固定化菌體顆粒之相關藥品與材料及其用途如表 3.1-1 所示，過氧化鈣/過氧化鎂為主要之釋氧材料；PVA 為主要釋氧顆粒固化劑；檸檬酸則作為酸鹼緩衝物質，由於氧化鈣/過氧化鎂皆屬於高鹼性物質，與水接觸後會立即釋放出 OH^- ，因此以檸檬酸作為緩衝過氧化鈣與水反應後形成之 $\text{Ca}(\text{OH})/\text{Mg}(\text{OH})$ ；市售溶解性膠囊則為 PVA 水凝膠包埋膠囊冷凍法所需要之材料，用來集中並固定釋氧物質與緩衝物質；由於 ORCB 需以低溫-20 °C 環境下製作顆粒，因此以甘油作為包埋分解菌之抗凍劑。

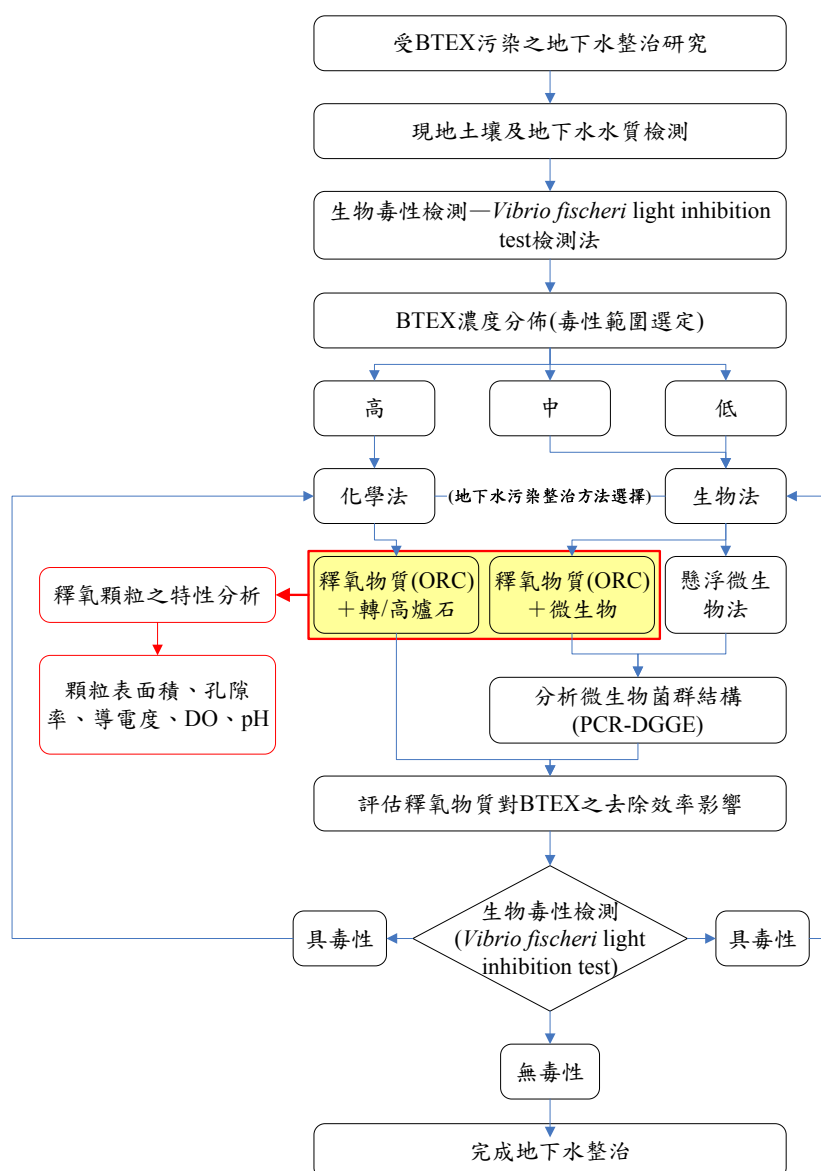


圖 3.1-1 本計畫研究項目間之關係示意圖

表 3.1-1 製作釋氧型固定化菌體顆粒相關藥品

藥品或名稱	用途/功能
過氧化鈣(calcium peroxide, CaO ₂)	與水反應可釋放氧氣，為氧氣供應材料
檸檬酸(C ₃ H ₄ (OH)(COOH) ₃ · H ₂ O)	調整釋氧物質之酸鹼值
聚乙烯醇(PVA)	固定釋氧膠囊與分解菌主要聚合材料
褐藻酸鈉(alginate)	輔助聚合材料
市售溶解性膠囊 1 號	填裝過氧化鈣與檸檬酸
甘油(glycerol)	微生物抗凍劑

3.1.1 釋氧型固定化菌體顆粒製作方法

本研究係先以「PVA-alginate 混合攪拌式冷凍法」與「PVA 水凝膠包埋膠囊冷凍法」，依兩種不同方式製作出新型之釋氧顆粒，並比較二種不同之製成方法來評估新型之釋氧顆粒之釋氧差異；最後再由兩者顆粒之特性與優缺點，擇一作為後續包埋分解菌之方法。

3.1.2 PVA-alginate 混合攪拌式冷凍法

圖 3.1.2-1 為「PVA-alginate 混合攪拌式冷凍法」製作流程示意圖，此步驟係將 PVA 與 alginate 置入於去離子水(deionized water)中，接著再將 PVA-alginate 溶液加熱至 120 °C，20 分鐘後完全溶解，並靜置於室溫下，待冷卻後再將釋氧物質 ($\text{CaO}_2/\text{MgO}_2$) 與檸檬酸共混後，加入至 PVA-alginate 溶液中以玻璃棒均勻攪拌，放入 -20 °C 環境下冷凍，爾後再取出於室溫下解凍。上述反覆冷凍-解凍過程中會因分子間熱漲冷縮而進行縮合反應，迫使 PVA 材料 間原有之氫鍵與水分子，再與被包埋之釋氧物質中釋出之 OH-相互鍵結，而形成機械強度穩固之固定化顆粒 (Hassan et al., 1999; Hatakeyema et al., 2005)；經由反覆冷凍-解凍之循環後，即可獲得「混合攪拌式冷凍法」之釋氧顆粒。

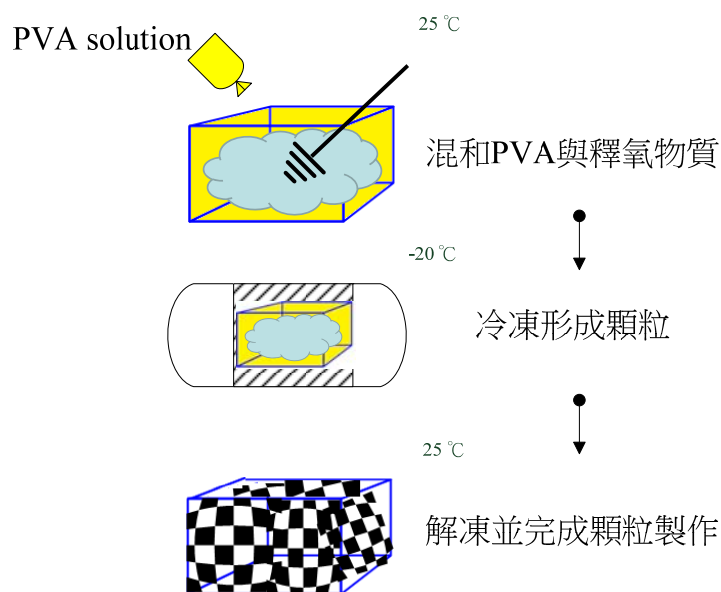


圖 3.1.2-1 PVA-alginate 混合攪拌式冷凍法製作示意圖

3.1.3 PVA 水凝膠包埋膠囊冷凍法

本研究採用冷凍固化法(Hatakeyema et al., 2005; Nugent et al., 2005)，以冷凍解凍方式可使 PVA 行縮合反應形成具機械強度之釋氧型固定化菌體顆粒，圖 3.1.3-1

為釋氧型固定化菌體顆粒製作示意圖，首先將 15 wt % PVA 置入於 100 mL 去離子水(deionized water)中，接著再將 PVA 溶液加熱至 120 °C，20 分鐘後達完全溶解，並靜置於室溫下，待冷卻後將 10 wt%菌液與 10 wt%甘油均勻混合後倒入溶解後 PVA 溶液中均勻攪拌，並將釋氧物質與檸檬酸緩衝物質依相同比例均勻混合後填充於市售 0 號膠囊中，再將含有釋氧物質與緩衝物質之膠囊放入於 PVA 水凝膠溶液內，再放入-20 °C 環境下冷凍 8 小時，爾後再取出於室溫下解凍，經由冷凍-解凍 3 次循環後，即可獲得膠囊式之釋氧顆粒。上述添加甘油之目的係由於製成釋氧型固定化菌體顆粒程序中須以低溫冷凍進行固化，因此添加甘油可提升菌體之抗凍能力；上述反覆冷凍-解凍過程中會因分子間熱漲冷縮而進行交聯反應(cross-linking)，迫使 PVA 材料間原有之氫鍵與水分子，再與被包埋之釋氧物質中釋出之 OH 相互鍵結，而形成機械強度穩固之固定化顆粒；經由反覆冷凍-解凍 3 次循環後，即可獲得混合攪拌式冷凍法之釋氧顆粒。

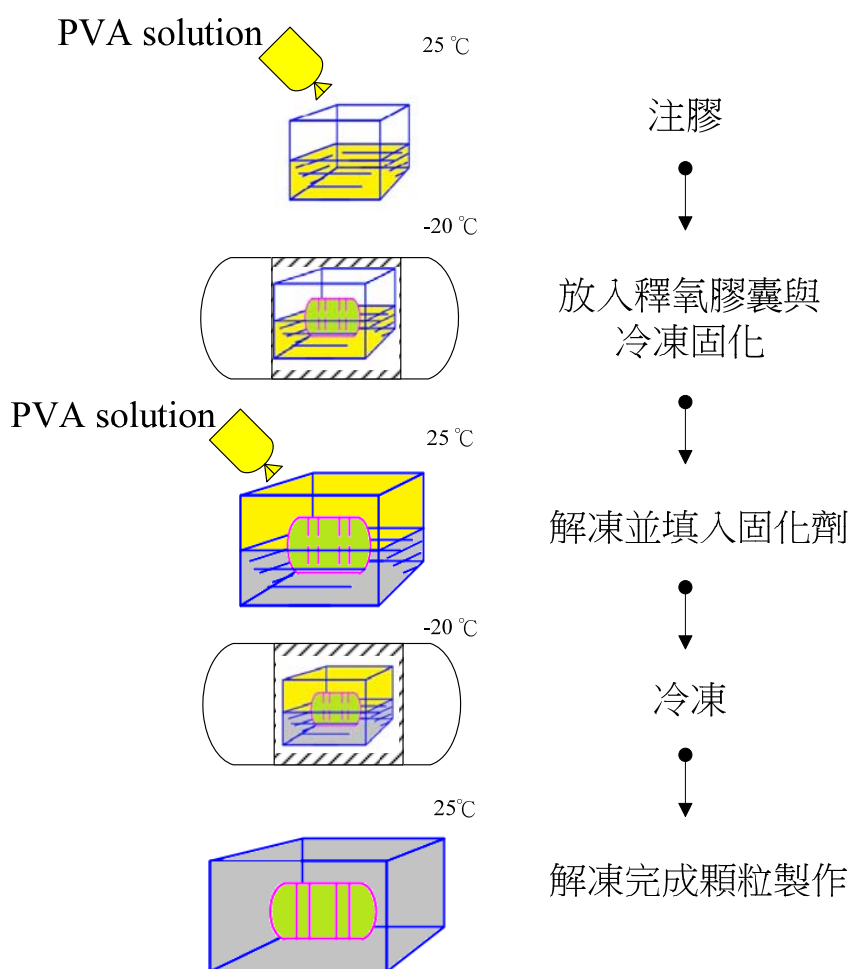


圖 3.1.3-1 釋氧型固定化菌體顆粒製作示意圖

3.2 釋氧型固定化菌體顆粒釋氧性分析

3.2.1 半連續式釋氧顆粒之釋氧量分析

本試驗主要係以半連續之方式如圖 3.2.1-1 所示，探討有無添加 alginate 條件下所造成釋氧量之差異。由於 PVA 固定化程序中添加 alginate 作為固定化輔助材料，可有效增加固化後之顆粒孔隙率(porosity)，有利於氧氣釋出至水體機會，因此，本實驗比較添加 alginate 之釋氧量，以利後續可製作一較佳之新型釋氧顆粒。分析方法係將「混合攪拌式冷凍法」所製成之新型釋氧顆粒放入於 0.2 L 密閉容器內，以模擬釋氧顆粒經一固定量水溶液體積所反應後，釋放氧氣之效率，並於每日之固定時間內更換瓶內之水溶液，更換前先以 DO meter 測量瓶內之 DO 值，以獲得當日 DO 之監測數值後，再將瓶內之水溶液完全棄置，並更換含有 0.03%之無水亞硫酸鈉(Na_2SO_3)的水溶液，藉由每日更換所測得之 DO 值對時間作圖，即可獲得每日之釋氧量差異。

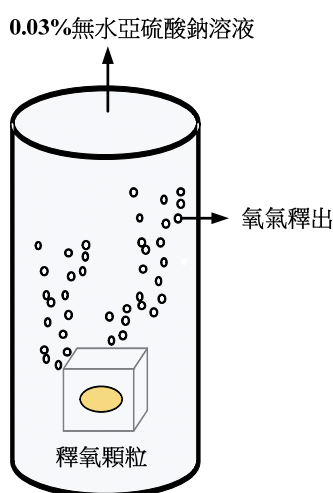


圖 3.2.1-1 半連續容器示意圖

3.2.2 連續管柱式釋氧顆粒之釋氧長效性分析

連續管柱式 ORCB 之釋氧長效性分析試驗係以一管柱連續流方式如圖 3.2.2-1 所示，模擬 ORCB 於固定水流速下與水接觸並反應後水中之 DO 變化，此步驟主要係將製成之 ORCB 投入圖 3.2.2-1 釋氧型固定化菌體顆粒之管柱示意圖內，探討投入之 ORCB 釋氧程度，反應器以長 60 cm×直徑 10cm 圓柱體為主體，將 ORCB 投入反應器 D 區中，配製之進流水僅以經 Milli-Q/Millipore 超純水製造機過濾之去離子水(deionized water)與 0.3 g/L 之 Na_2SO_3 ，將水質 DO 調整至 1 mg/L 以下，以評估 ORCB 投入後對原水(A 區進流口)提升效益。

本試驗將釋氧長效性分析分成兩部分作為探討方向，分別為：(1)以固定釋氧物質探討不同緩衝物質比例：(a)10 克過氧化鈣與 0 克檸檬酸；(b)10 克過氧化鈣與 5 克檸檬酸；(c)10 克過氧化鈣與 15 克檸檬酸，探討製成之新型釋氧顆粒於不同緩衝物質之釋氧能力分析；以及(2)固定釋氧物質與緩衝物質、不同固化劑比例(固定包埋 10 克過氧化鈣與 15 克檸檬酸；固化劑體積比分別為 95%、90%與 85%)，於相同流速下分析釋氧能力，如圖 3.2.2-2 圖所示，並再藉由長期監測 DO 變化對時間作圖，即可獲得 ORCB 之釋氧變化曲線。

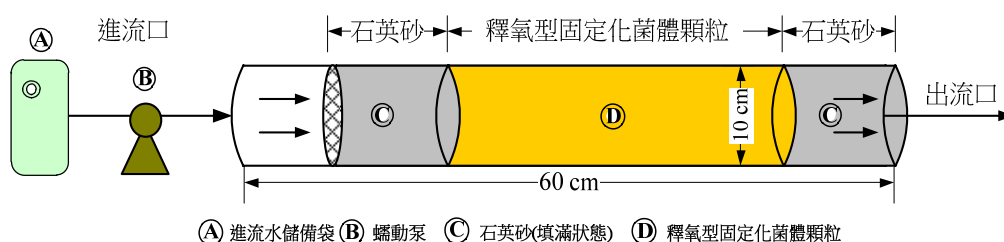
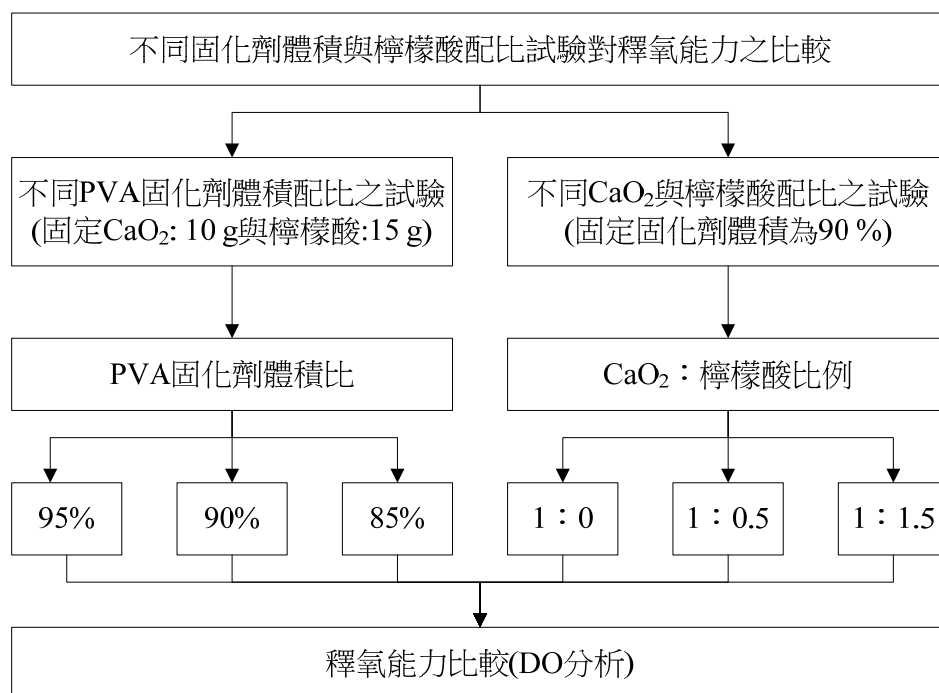


圖 3.2.2-1 釋氧型固定化菌體顆粒之管柱示意圖



註：PVA 固化劑體積比係指製作每顆固定化釋氧顆粒之體積內佔有 PVA 固化劑對 CaO_2 間之比例，即 PVA： CaO_2 為 85%時，表示每顆固定化釋氧顆粒之體積內佔有 85% PVA 與 15% CaO_2

圖 3.2.2-2 變動不同 PVA 固化劑體積與檸檬酸配比之流程圖

3.3 釋氧型固定化顆粒之釋氧率計算

將獲得之釋氧結果進一步估算釋氧型固定化菌體顆粒之釋氧率(oxygen releasing rate)，亦即每克釋氧顆粒隨時間變化所能釋放出之氧氣量可由方程式(15)計算得知：

$$\text{釋氧率 (mg-O}_2\text{/day/g-釋氧顆粒)} = \frac{\text{溶氧變化量(mg/L)} \times \text{管柱流量(mL/min)}}{\text{釋氧顆粒填充量(g)}} \quad (15)$$

3.4 釋氧型固定化菌體顆粒之基本特性分析

3.4.1 pH 與導電度分析

由化學反應式(1)與(2)可知， $\text{CaO}_2/\text{MgO}_2$ 與水接觸反應後會釋放出 2 mole/L 之 OH^- ；若經由 $\text{pH} + \text{pOH} = \text{pK}_w$ 公式換算 pH 時，理論之 pH 可提升至 11.3，且反應後釋出之 Ca(OH) 亦會造成水中導電度的提升。因此本研究加以探討釋氧型固定化菌體顆粒之 pH、ORP 及導電度影響，監測之水樣仍以 3.2.2 節之連續管柱式釋氧顆粒之釋氧長效性分析進出流水進一步分析，其水質分析方與儀器彙整如表 3.4.1-1 所示。

表 3.4.1-1 水質分析方法

項目	方法	儀器
溶氧(DO)	NIEA W455.51C	DO meter/ Pro 20
氫離子濃度指數(pH)	NIEA W424.52A	Mettler toledo/ MP-220
氧化還原電位(ORP)	-	ORP meter
導電度(conductivity)	NIEA W447.20C	Conductivity meter

3.4.2 顆粒比表面積與孔隙率分析

評估顆粒內之比表面積與孔隙率係藉由孔隙率測定儀方式進行，以 BET (Brunauer-Emmett-Teller)等溫吸附模式於液態氮溫度下測其氮氣之等溫吸附特性曲線，而氮氣於固體表面之吸附量則取決於氮氣之相對壓力(P/P_0)，當 P/P_0 在 0.05–0.35 範圍內時，吸附量與(P/P_0)即可符合 BET 方程式而求出顆粒之比表面積。當 $P/P_0=0.4$ 時，由於產生毛细凝聚現象，而使氮氣開始於微孔中凝聚，經由通過實驗與理論分析後則可測定其孔隙容積與孔徑分布，待測出每個壓力下之樣品表面吸附或脫附之氮氣量則可獲得氮氣之吸/脫附等溫曲線，最終經由數學模型而計算出孔徑分佈及總孔體積及平均孔徑。使用比表面積儀測量固定化顆粒比表面積，係利用氮氣之吸附/脫附程序使其氣體於預分析之材料中飽和，因而利用飽和量來估算出顆粒之比表面積值。

3.5 釋氧長效性分析

此分析方法係架設一連續流管柱試驗，以模擬釋氧型固定化顆粒經與水接觸後所釋放之氧氣效率，並藉由每日之監測溶氧變化對時間繪製圖譜，即可獲得釋氧型固定化顆粒之釋氧效率。

3.5.1 釋氧型固定化菌體顆粒重複批次操作穩定性評估

將最佳釋氧型固定化菌體顆粒之配比下，以 25 °C、150 rpm 進行重複進行批次分解基質試驗。當氣密瓶內基質受微生物分解完畢後，將固定化顆粒取出，並以蒸餾水清洗後再注入 BTEX 於氣密瓶中，進行重複批次試驗，並定時分析瓶內氣相之基質濃度，以觀察細胞固定化菌體顆粒是否可重複多次操作利用，以利往後進行連續反應的參考。

3.5.2 吸附劑與過硫酸鹽之批次試驗

本研究為瞭解各種吸附劑與過硫酸鹽結合對 BTEX 及 MTBE 去除能力之影響，因此本研究以批次試驗(異相活化、氧化)進行探討，提供未來應用於現地整治參考。工作細項包含下列各點：(1)氧化實驗，探討不同過硫酸鹽濃度單獨存在時，在水相對 BTEX 之去除效率；(2)異相活化實驗，探討不同劑量轉爐石存在下，過硫酸鹽在水相對 BTEX 之去除效率；(3)異相活化實驗，探討不同劑量高爐石存在下，過硫酸鹽在水相對 BTEX 之去除效率。

實驗進行時，於不同時間取樣分析，以瞭解污染物之降解情形。BTEX、過硫酸鹽及硫酸根，實驗期間並監測 pH、Eh 及 DO 等參數。除上述高爐石及轉爐石外，亦評估選取其他適當之低價吸附劑進行本步驟之實驗。本實驗探討不同吸附劑(高爐石及轉爐石等)異相活化過硫酸鹽之能力，實驗步驟如下：

- 1 配製各 50 mg/L 之 B、T、E、X 或 MTBE 至 1 L 血清瓶，並以磁石均勻攪拌。
- 2 在添加 1 g/L、5 g/L 之過硫酸鈉於 BTEX 或 MTBE 溶液中，均勻混合後；
- 3 利用分注器，將 persulfate+BTEX 或 MTBE 溶液分裝於 50 mL 之反應器中；
- 4 放至恆溫震盪培養箱(25 °C、150 rpm)實驗條件下；定時採樣分析 BTEX 或 MTBE 濃度。

3.6 設計長效性釋氧化劑物質及活化性釋氧化劑物質並研究其組成

本實驗使用市面上常見之過硫酸鹽當作氧化劑，合成釋氧化劑物質用來整治受 BTEX 及 MTBE 污染之地下水，釋氧化劑物質合成藥劑選用過硫酸鈉(sodium persulfate)。長效釋放物質主要組成為：(1)過硫酸鈉；(2)水泥；及(3)吸附劑(高爐石及轉爐石)。由於常溫下過硫酸鹽即具有氧化能力，因此可用以去除污染物。當

環境中含有 Fe^{2+} 或適當的活化物質時，則會與 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ 反應產生 $\text{SO}_4^{\cdot-}$ ，進而氧化污染物，反應式(16)如下：



本實驗將吸附劑及過硫酸鈉包覆於水泥中攪拌均勻，並進行不同釋放過硫酸鹽物質與水泥之組成及比例之設計(如圖 3.6-1)。合成後釋氧化劑物質放入實驗玻璃罐中(如圖 3.6-2)，每天測量水中過硫酸鹽離子濃度及更換實驗用水 1 L，定時檢測一般水質項目(pH、ORP)，可得知釋氧化劑物質隨著時間增加，其累積釋放濃度變化，並且比較不同組成之釋放差異。本實驗規劃長效性釋氧化劑物質設計比例如表 3.6-1 所示。

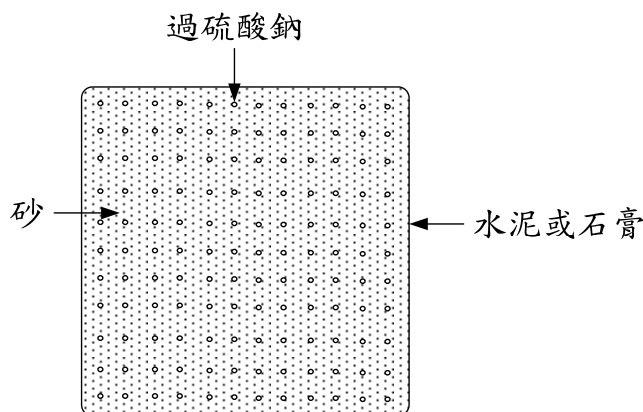


圖 3.6-1 長效釋氧化劑物質示意圖

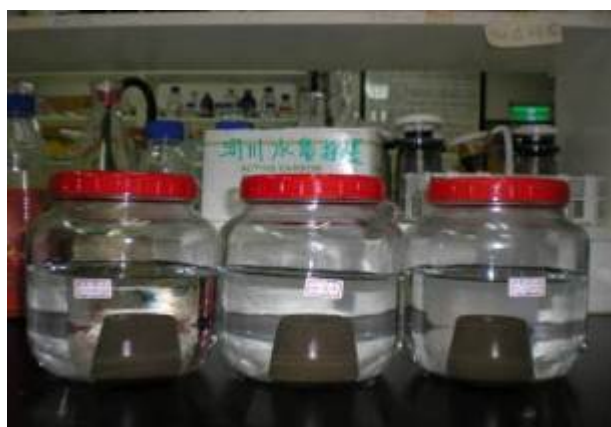


圖 3.6-2 過硫酸鹽物質批次反應槽示意圖

表 3.6-1 釋過硫酸鹽物質配方組成(W/W)

編號	水泥	吸附劑	水
P1	1.4	0.24	0.6
P2	1.4	0.25	0.6
P3	1.4	0	0.6
P4	1	0.2	0.7
P5	1	0	0.7

註：吸附劑(高爐石、轉爐石)；重量比(w/w)

活化性釋氧化劑物質之主要組成包括：(1)過硫酸鈉；(2)水泥；(3)砂；以及(4)吸附劑。在此組成中，水泥或石膏將被用以凝結其他組成以製做成塊狀物質，砂則用以增加滲透性，過硫酸鈉為氧化劑，另添加吸附劑進行異相活化及加強此物質之吸附能力。此外，顆粒狀或粉末狀之吸附劑亦可直接用以取代砂，作為增加此物質滲透性之功能。

本計畫中活化性釋氧化劑物質之設計(如圖 3.6-3)，過硫酸鈉、砂及吸附劑將均勻存在於此物質中。完成之加強式釋氧化劑物質可放入整治系統中長期釋放氧化劑，並進行異相活化，且可同時吸附污染物，有效增長污染物於整治系統之停留時間。我們預期在氧化劑持續釋放且被活化下，污染物可被氧化去除，且吸附劑之存在亦可降低污染物對下游可能之危害風險。

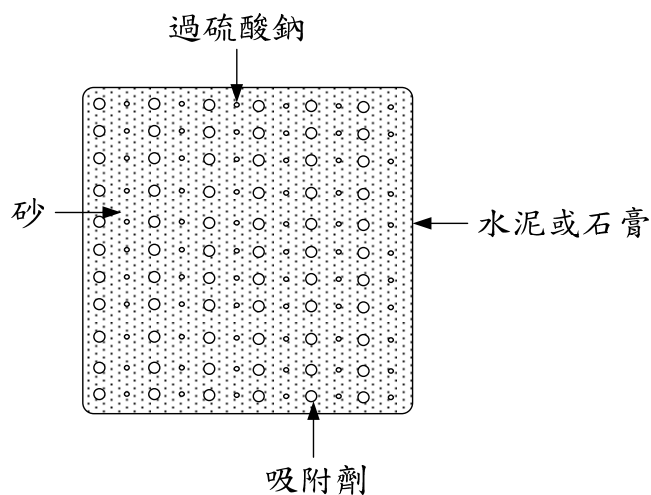


圖 3.6-3 活化性釋氧化劑物質示意圖

3.7 過硫酸根分析

過硫酸根之分析以分光光度計法進行(Huang et al., 2002)。取 10 mL 水樣或取適量水樣稀釋至 10 mL，加入 10 mL 2.5 N H_2SO_4 、0.1 mL 0.4 N 溶液與 0.2 mL 0.6 N，混合後靜置於 40 min，使溶液呈色，再以波長 450 nm 測定水樣吸光值，代入檢量線即可得知過硫酸根濃度。檢量線範圍為 0 至 180 mg/L。

3.8 釋氧型透水性反應牆組裝與結合固定化菌體顆粒降解 BTEX

整體 PRB 系統可區分為四大主體構成，分別為：(1)以 ORC 填充之釋氧行透水性反應牆主體；(2)模擬地下水之供應系統；(3)溫度控制系統；以及(4)額外銜接一 PVC 管柱將固定化菌體顆粒投入於管柱中；相關配置如圖 3.8-1，規格如表 3.8-1 所示。PRB 系統係由一透明之雙夾套 PVC 板所組成，內層為主要反應區(體積約為 15.9 L)，內部填充不與溶氧或基質反應之渥太華石英砂(E-315, GEOTEST, USA)，以及採用人工配製營養鹽方式，作為模擬地下水之飽和含水層之狀態。ORC 設置於反應區上游(井 1 區域)區域距離進流口 20 公分處，並填充約 800 克之 ORC (Lin and Chen, 2007)，提供 PRB 系統下游端(井 2、井 3 及井 4 之區域)之現地微生物分解 BTEX 所需之溶氧量。

人工模擬地下水之供水系統，係採用人工調配營養鹽方式，成分如表 3.8-1 所示，以及搭配固定比例之 BTEX (1:1:1:1, v/v)，混合於 5 公升之血清瓶(serum bottle)中，作為模擬受 BTEX 污染之進流水樣。試驗時需再加入 0.3 g/L 之 Na_2SO_3 ，控制進流水樣中之 DO，保持低於 1.0 mg/L 以下之缺氧條件，作為人工模擬地下水背景溶氧值，其目的在於評估實驗進行時 ORC 顆粒可提供多少溶氧，作為後續應用 ORC 顆粒之數量設計之參考依據。污染物之進流方式係採用蠕動幫浦，以流速為 3.45 mL/min，連續將 BTEX 目標污染物與營養鹽，共同注入於 PRB 系統內，並於反應區內設置可採水樣之監測井，以利後續採樣分析使用。

本研究係於 PRB 系統末端額外銜接一固定化菌體顆粒之 PVC 管柱系統，如圖 3.8-1 所示；試驗時，填充 150 g 之固定化菌體顆粒，並以堆疊方式填充於管柱中，評估固定化菌體顆粒結合 PRB 系統對 BTEX 之去除效率。

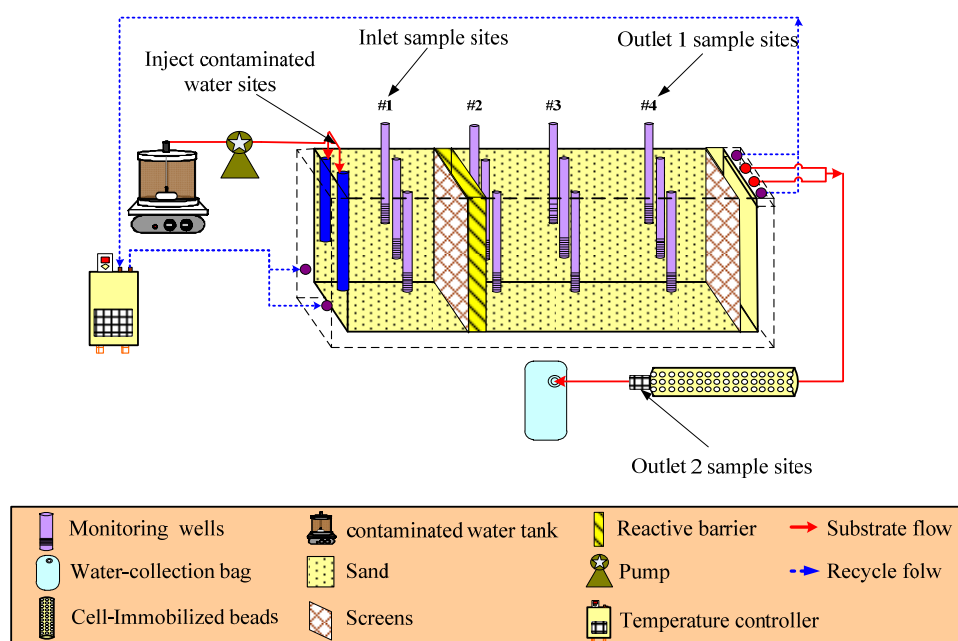


圖 3.8-1 釋氧型透水性反應牆系統銜接一固定化菌體顆粒管柱之配置圖

表 3.8-1 釋氧型透水性反應牆之規格

項目	規格
透水板	3 片(不鏽鋼網孔加細網)
總體積(cm ³)	15.6 L (52 cm×15 cm×20 cm)
ORC 牆體積(L)	1.2
ORC 填充量(g)	800
CB 比表面積(m ² /g)	21.57
CB 之 PVC 管柱體積(cm ³)	188.5 (φ 4 cm、高 15 cm)
CB 之 PVC 管柱填充量(g)	150
CB 復育井體積(cm ³)	31.42 (φ 2 cm、高 10 cm)
CB 投入量(g/#)	25
內部孔隙體積 ¹ (m ³)	7.032
孔隙率 ²	0.388
水力波降 ³ (m/m)	0.0099
傾斜角度 ⁴	2°
水力傳導係數(cm/sec)	2.9×10 ⁻²
HRT ⁵ (day)	1.627
表面流速(cm/day)	50
循環水溫度控制(外部循環水)(°C)	25

註：(1)反應器內部孔隙體積＝總空床體積－ORC 填充體積－(石英砂重量/密度)；(2)孔隙率＝反應器內部孔隙體積/反應器有效體積；(3)水力波降＝對邊斜邊(70 cm)＝69.9573/70＝0.0099 m/m；(4)傾斜角度以 2°計算：sin 2°＝0.0348＝對邊(抬高高度)/斜邊(反應器底邊全長)；(5) HRT＝V/Q＝反應器孔隙體積(mL)/進流量(ml/day)

3.9 新穎釋氧型固定化菌體顆粒降解 BTEX 試驗

本研究係將 *Mycobacterium* sp. CHXY119 與 *Pseudomonas* sp. YATO411，採共同混合方式，將兩株菌株混合後包埋於 PVA 固化劑內，作為 ORCB 提供菌株之來源；再將製成之 ORCB 投入於直徑為 10 cm、長度為 60 cm 之圓柱體之管柱(如圖 3.2.2-1)內。試驗時，ORCB 投入於反應器之 D 區中，並設定進流流速為 5 mL/min，水力停留時間(hydraulic residence time, HRT)為 0.375 天，模擬 BTEX 污染物於好氧條件下，ORCB 對 BTEX 之去除效率。

3.10 固定化菌體顆粒之攝氧率試驗

微生物分解有機污染物過程中所需攝取之氧氣量，可由攝氧率(oxygen-uptake rate, OUR)之估算求得，藉此可進一步了解固定化菌體顆粒分解 BTEX 過程中所攝取氧氣量。由於本研究係建立 PRB 系統內之 ORC 釋出溶氧方式，提供現地 BTEX 分解菌所需溶氧量復育受 BTEX 污染之地下水。然而 PRB 系統內含有現地 BTEX 分解菌，以及所投入之固定化菌體顆粒與 ORCB 均具有包埋微生物，因此更需瞭解 PRB 系統中氧氣量之變化原因，藉此瞭解微生物分解 BTEX 所需之需氧量、PRB 系統內 ORC 釋出之釋氧量，以及含有微生物之 ORCB 釋氧量、攝氧量等參數加以評估，藉此可經由 OUR 實驗結果與理論需氧量計算，獲知微生物分解有機物所需之氧氣量。經由攝氧率試驗結果可瞭解 ORCB 復育能力，及製作 ORC 程序中改變釋氧物質配比方式，來改善微生物分解與代謝時之氧氣量。

為了推估固定化菌體顆粒於好氧環境下分解 BTEX 過程中所需攝取之氧氣量，本研究採用包埋雙菌株(CHXY119+YATO411)之固定化菌體顆粒方式，將固定化菌體顆粒投入於一圓球體之三口瓶中，藉由微生物消耗氧氣量與時間之關係，建立菌株之攝氧率，其裝置如圖 3.10-1 所示。三口瓶之瓶內包含 50 g 之固定化菌體顆粒與 1 L 之無機營養鹽(成分如表 3.10-1 所示)，再分別將單一碳源(B、T、E、X)分別注入三口瓶內，以配製濃度約為 20 mg/L，溫度控制於 25 °C 之條件下。進行 OUR 實驗時，以溶氧計監測方式，採每 5 分鐘紀錄一次 DO 值，進行連續監測，同時於每小時以氣密針抽取上瓶空間氣體，監測瓶內之 BTEX 殘存量變化，直至瓶內 DO 不再減少或 BTEX 降解完畢時，即停止 OUR 實驗；試驗結束後之數據，採取實驗前、後之溶氧監測值，獲得兩者溶氧之差值，再除以攝氧時間後即得攝氧率，再將攝氧率對時間繪圖。其計算式如方程式(17)所示，並可由此方程式中獲知包埋菌株之 CB 於降解各單一基質(B、T、E 及 X)過程中，氧氣攝取之變化情形。

$$\text{Oxygen - uptake rate (OUR, mg - O}_2\text{/L/h)} = \frac{\text{DO}_1 - \text{DO}_2}{t_1 - t_2} \quad (17)$$

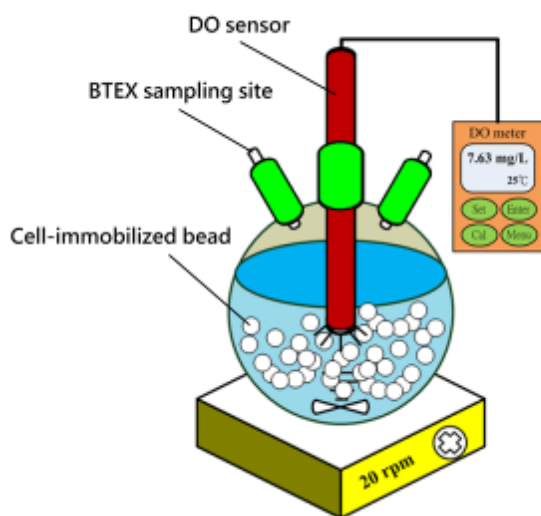


圖 3.10-1 固定化菌體顆粒之攝氧率測定裝置示意圖

表 3.10-1 模擬地下水營養鹽配比

營養鹽種類	中文名稱	濃度(mg/L)	營養鹽種類	中文名稱	濃度(mg/L)
K ₂ HPO ₄	磷酸氫二鉀	1,750	CuCl ₂ · 2H ₂ O	氯化銅	0.25
KH ₂ PO ₄	磷酸二氫鉀	2,145	CoCl ₂ · 6H ₂ O	氯化鈷	0.25
MgSO ₄ · 7H ₂ O	硫酸鎂	100	ZnSO ₄ · 7H ₂ O	硫酸鋅	1
FeSO ₄ · 7H ₂ O	硫酸亞鐵	1	MnCl ₂ · 4H ₂ O	氯化錳	1
CaCl ₂ · 2H ₂ O	氯化鈣	45	Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	鉬酸鈉	0.1
(NH ₄) ₂ SO ₄	硫酸銨	10	NiCl ₂ · 6H ₂ O	氯化鎳	0.02

3.11 新穎釋氧化劑整治牆管柱實驗

依據釋氧化劑物質批次實驗之結果(4.6 節與 4.7 節)選定最佳操作條件,以連續式管柱實驗評估整治技術之成效。連續式反應裝置如圖 3.11-1 所示,每一管柱尺寸為直徑 5 cm、長度 30 cm,體積為 590 mL。先將事先調配之 MTBE、BTEX 溶液填充於水袋內,MTBE 濃度約為 30 mg/L, B、T、E、X 單一濃度約為 30–40 mg/L,管柱 1、管柱 3 及管柱 4 內填充石英砂模擬現地情況,再將人工配製水樣經蠕動幫浦送至管柱 1–4 中。當人工配製水樣流經管柱 1 時,可模擬污染物自上游留下之情形,管柱 2 內僅放置以最佳比例配方合成之釋氧化劑物質,模擬釋氧化劑物質投入現地反應牆情況,其中投入釋氧化劑物質之數量視批次試驗之結果而定。管柱 3 及管柱 4 則模擬氧化劑及污染物混合後流經下游含水層土壤之情況,管柱之採樣孔則定時採樣分析。而分析項目包括污染物濃度(MTBE 及 BTEX)、過硫酸鹽濃度、pH、EC、ORP 及 DO。

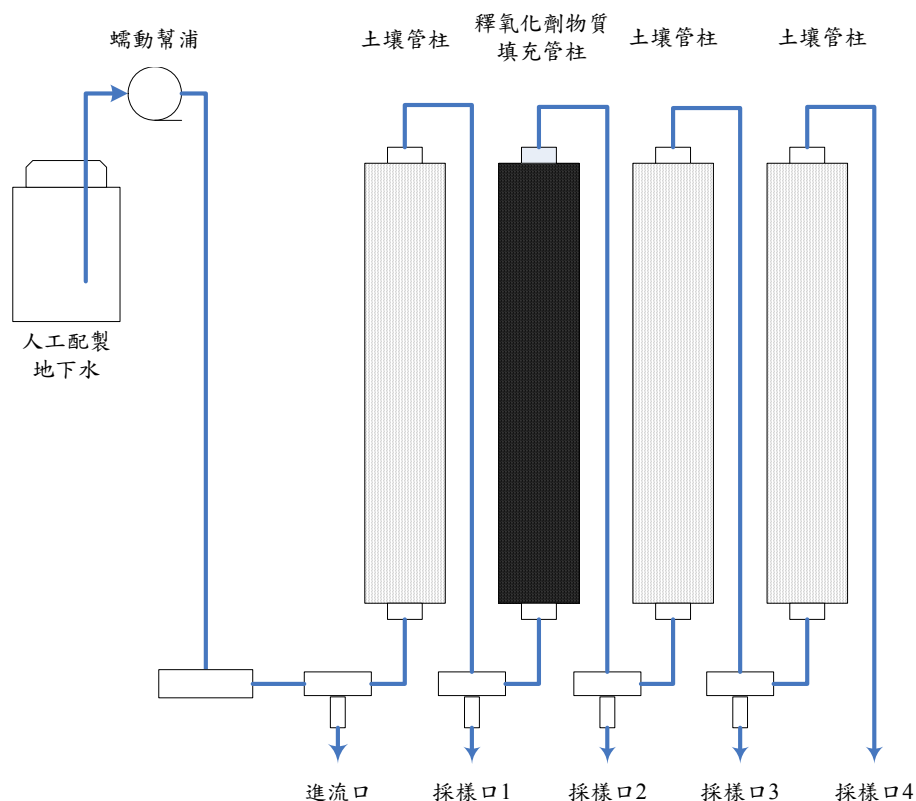


圖 3.11-1 連續反應裝置示意圖

3.12 污染物與副產物分析

本實驗之 MTBE、TBA、TBF 及 BTEX 乃以 GC-FID 進行分析，分析管柱為 HP-5，管長 30 m、內徑 0.32 mm。分析條件：注射口溫度為 180 °C，偵測器口溫度為 250 °C，烘箱溫度為 35 °C 停留停留 5 分鐘；載流氣體為氮氣(N₂，99.995%)，流速為 2.4 mL/min，分流比為 1/17。樣本注射體積為 25 mL，至吹氣捕捉裝置吹氣 14 分鐘。MTBE、TBF 及 TBA 檢量線之建立為比重法配製不同已知濃度之樣品，進樣至 GC-FID 分析而得。MTBE、TBA、TBF 及 BTEX 分析圖譜如圖 3.12-1，MTBE 之停滯時間為 2.089 分鐘，而 TBA 及 TBF 停滯時間分別為 1.795 及 2.398 分鐘、苯為 2.838 分鐘、甲苯為 4.944 分鐘、乙苯為 7.606 分鐘、對及間二甲苯為 7.809 分鐘、鄰二甲苯則為 8.355 分鐘。

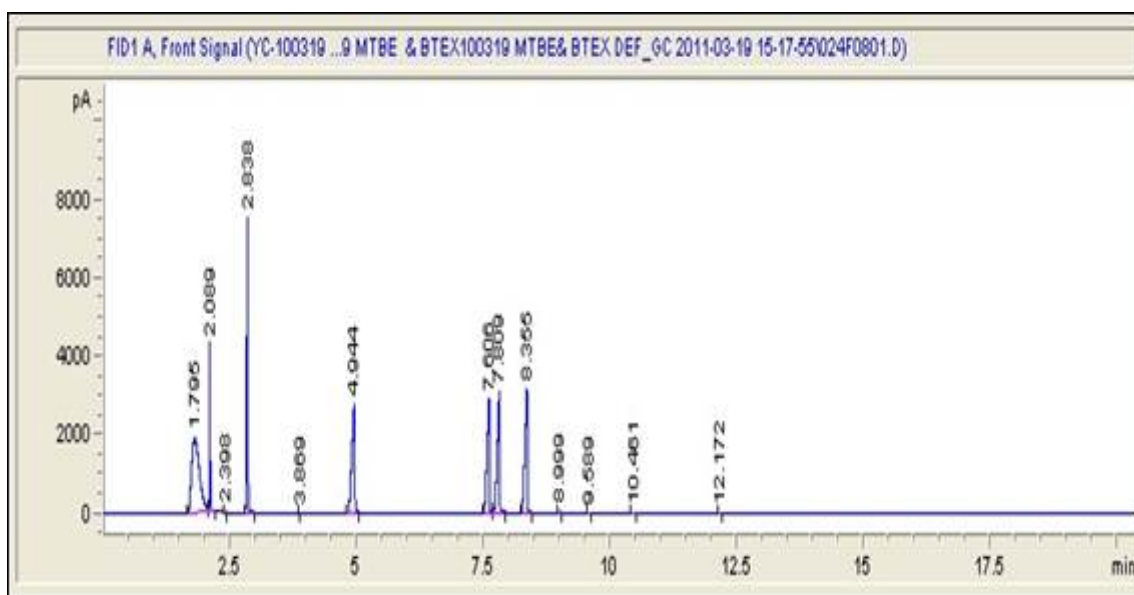


圖 3.12-1 MTBE、TBA、TBF 及 BTEX 分析圖譜(GC/FID)

3.13 分子生物技術

本研究係藉由分子生物技術中之變性梯度凝膠電泳(denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE)分析 PRB 系統中，菌群降解 BTEX 過程中之消長與菌群間變化，其分析流程如圖 3.13-1 所示。分析時，係先採集不同復育階段、位置之生物樣本，並萃取總菌體之 DNA 後，將 DNA 產物以聚合酶鏈鎖反應(polymerase chain reaction, PCR)技術，擴大總菌體之 DNA 產量；經 PCR 擴增後之 DNA 樣本，需先以瓊脂電泳分析方式，獲知樣本之 DNA 片段大小及 PCR 產物是否成功，才可供應後續 DGGE 分析使用。

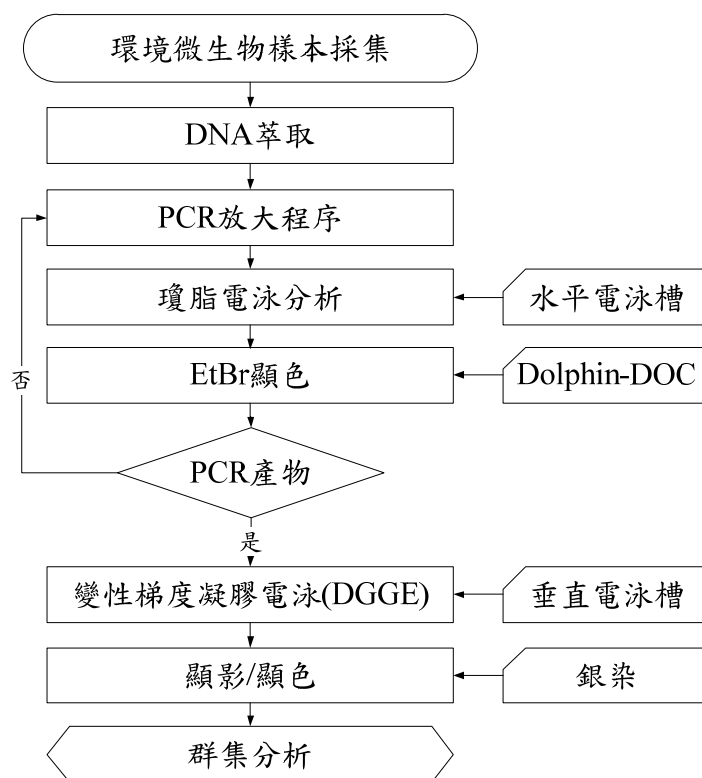


圖 3.13-1 分子生物技術分析流程圖

3.13.1 總菌體 DNA 萃取方法

將採集之生物相樣本，先以轉速為 10,000 rpm ($17,888 \times g$)，離心 5 min 方式收集菌體，之後將菌體以無菌水清洗 3 次，去除殘留於菌體上之無機鹽類或其他干擾物質；經清洗、離心後所獲得之菌體，再以商業用 DNA 萃取藥劑(AxyPrep Bacterial Genomic DNA Miniprep Kit, Axygen)進行總菌體 DNA 萃取，萃取完之 DNA 即可作為後續 PCR 擴增之模板 DNA(template DNA, tDNA)。

3.13.2 聚合酶鏈鎖反應

PCR 是一種可快速擴增特定基因之方法，原理係在於所選用寡核苷酸引子(primer)會與 DNA 相對股上之互補序列進行雜交，進而放大 DNA 序列。PCR 放大過程中係利用高溫將欲放大之雙股 DNA，以高溫方式將其變性(denature)為單股 DNA 後，再經冷卻階段與引子進行鏈合(annealing)，爾後再經由 DNA 聚合酶(*Taq* DNA polymerase)於每股互補鹼基對中，由引子端開始延伸(extension)而合成新的 DNA 序列。新合成各股 DNA 會重疊起來，再經由連續重複數次後，欲增殖之 DNA 片段將於兩引子間以指數快速遞增方式而累積增多。

本研究所使用之引子序列為採用黃(2003)所發表之廣用型引子對，如表

3.13.2-1 所示。引子之設計係選自於大腸桿菌(*E. coli*) 16S rRNA 中 V3 變異區 (variable V3 region)之上下游保守序列，可經由定序方式與比對核酸資料庫 (GenBank)確認絕大部分菌株之屬名與種名，可做為分析本研究之菌群變化。本研究使用之 PCR 相關藥品成分彙整於表 3.13.2-2 所示，將配製好之樣品放入 PCR 反應器，溫度梯度設定如表 3.13.2-3 所示，即可進行 PCR 放大而獲得擴增後之 DNA 產物。

表 3.13.2-1 引子序列

Primr	方向	Sequence (5'-3')
EUB1-GC clamp	Forward	5'-CGCCCGGGGCGCGCCCCGGGCGGGGCGGGG GCACGGGGGGAACGCGCAGACTCCTACGGGAG GCAGC-3'
UNV2	Reverse	5'-GTATTACCGCGGCTGCTGGCAC-3'

表 3.13.2-2 PCR 擴增藥劑與成分

Reagent	Volume (μL)	Final conc.
diH ₂ O	7.2	-
2 X Green Master Mix (含 Mg ²⁺ , dNTP, Taq, loading dye)	15	1X (Mg ²⁺ 1.5 mM, dNTP 0.2 mM)
Primer (forward)	2.4 (2.5 μM)	0.2 μM
Primer (reverse)	2.4 (2.5 μM)	0.2 μM
tDNA	3	-
Total	30	

表 3.13.2-3 PCR 升溫程式

Steps	Temperature	Time	CycLe number	Reaction
Step 1	94 °C	5 min	1-cycLe	Denaturation
Step 2	94 °C	30 sec	30-cycLe	Denaturation
	55 °C	30 sec		Annealing of primers
	72 °C	30 sec		Extension
Step 3	72 °C	5 min	1-cycLe	Extension
Step 4	4 °C	∞	∞	Forever

註:符號「∞」表示為長時間下進行

3.13.3 變性梯度凝膠電泳

本研究之變性梯度凝膠電泳分析係以 40%之丙烯醯胺(acrylamide)凝膠聚合物，與雙丙烯醯胺(N,N'-methylene-bis acrylamide, Bis)共聚合成之聚丙烯醯胺膠體(polyacrylamide)。製作膠體過程中需添加自由基產生劑—過硫酸銨(ammonium persulfate, APS)以產生自由基，以及催化劑—四甲基乙二胺(N, N, N, N-tetramethylethylenediamine, TEMED)催化產生之自由基電子傳遞。變性劑則分別有尿素與甲醯胺(formamide)配製成梯度介於 40–70%，溫度設定於 65 °C；進行電泳時之電壓與時間則分別設定為 200 V 與 10 小時，爾後再進一步以 0.1%之硝酸銀(AgNO₃)進行染色，其步驟如圖 3.13.3-1 所示；顯色液配比則分別由 NaOH (15 g/L)、NaBH₄ (0.1 g/L)及甲醛(0.8 mL)所配製而成。

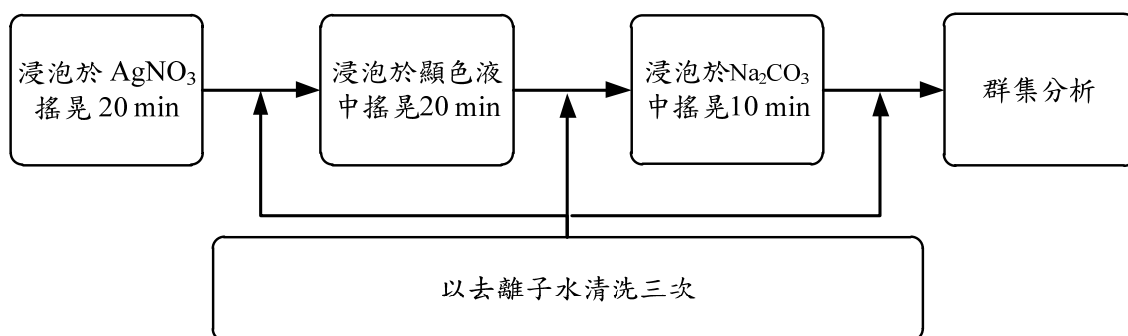


圖 3.13.3-1 硝酸銀染色流程

3.14 釋氧型固定化菌體顆粒之電子顯微鏡分析

為進一步觀察包埋純菌株(*Pseudomonas* sp. YATO411 與 *Mycobacterium* sp. CHXY119)之 ORCB，於初始顆粒製作完成與經實驗後，菌體於 ORCB 內之變化情形，本研究以掃描式電子顯微鏡(scanning electron microscope, SEM)方式，分析顆粒內外之菌相變化與生長狀況。進行 SEM 觀察 ORCB 前，需先進行前處理步驟，將顆粒與微生物細胞先行固定、乾燥後才可進行拍攝觀察，其分析方法之流程，如圖 3.14-1 所示。首先係先以無菌水清洗 ORCB 表面 3 次，之後再浸泡於 2.5%戊二醛(glutaraldehyde) 3 小時，將 ORCB 內之菌體進行固定；完成固定之程序後即進入脫水程序，即係先配製不同丙酮濃度梯度為 50%、60%、70%、80%、90%、95% 及 100%，依照濃度由低至高，依序浸泡於各梯度之丙酮溶液；各濃度之浸泡時間為 30 分鐘，最終再以 100%之丙酮溶液額外浸泡 2 次，後續再浸泡於異戊醋酸酯(isoamy lacetate)溶液中 2 小時，確保 ORCB 內之水分完全去除；最後之 ORCB 則再以冷凍乾燥方式，將 ORCB 達到臨界脫水程度；上機前再將 ORCB 鍍上一層白金層，即可進行 SEM 分析。

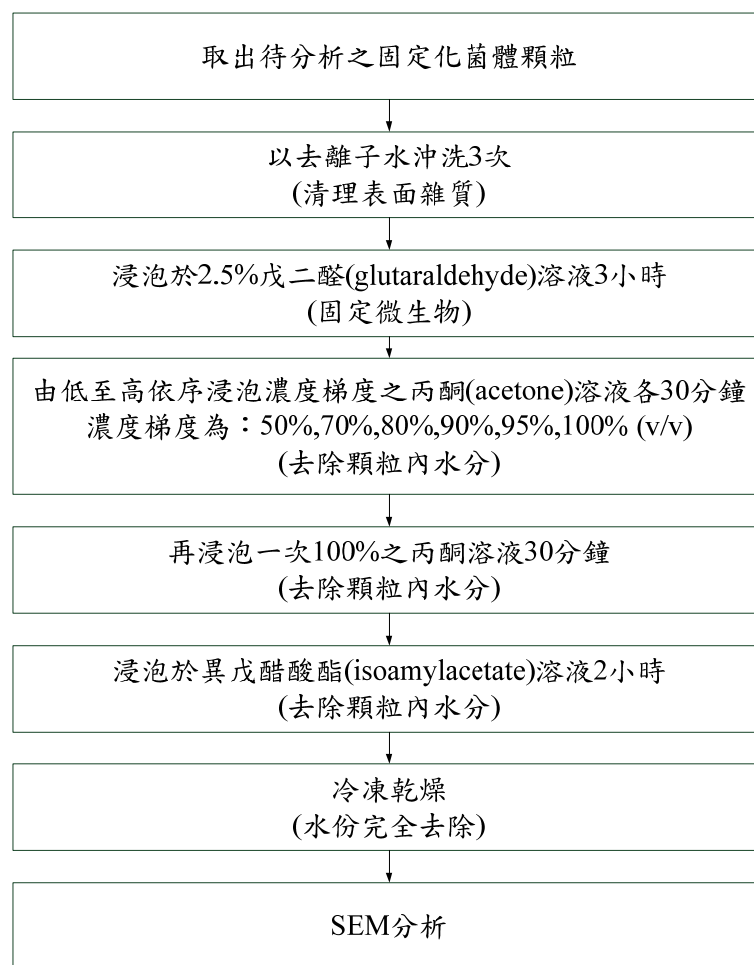


圖 3.14-1 釋氧型固定化菌體之 SEM 前處理流程圖

3.15 *Vibrio fishcheri* light inhibition test

本計畫所使用測定生物毒性儀器為 Microtox analyzer model 500。為準確判定發光菌對有毒物質敏感強度，通常以 EC_{50} 、 EC_{20} 或 EC_{10} 及以 TU 在 5 分鐘與 15 分鐘情況下，表示毒性物質對海洋發光菌之毒性(Doherty, 2001)，故將毒性數值化加以判定，計算式如下式(18) (ISO 11348-1, 1998)：

$$\text{抑光率(\%)} = \frac{I_0 \times f_{kt} - I_f}{I_0 \times f_{kt}} \times 100\% \quad (18)$$

I_0 ：sample 起始發光值， I_f ：sample 5 min、15 min 發光值， f_{kt} ： I_{cf} / I_{c0} 發光值修正因子，(I_{cf} ：control 組 5 min、15 min 發光值， I_{c0} ：control 組起始發光值)，抑光值與毒性物濃度關係以線性迴歸分析，concentration-effect value (EC value)，如式(19)

$$\Gamma_t = \frac{\overline{H}_t}{100 - \overline{H}_t} \quad (19)$$

Γ_t ：為測試樣品過去與發光菌接觸 15 或 30 分鐘的 gamma value， \overline{H}_t ：為平均抑光率 $\log c_t = b \log \Gamma_t + \log a$ ； c_t ：測試樣品在水中的濃度(%)； b ：最小平方法求得之趨勢線之斜率值； $\log a$ ：最小平方法求得之趨勢線之截距值，當 c_t 為 EC_{20} 時， $\Gamma_t = 0.25$ ； EC_{50} 時， $\Gamma_t = 1.00$ 。

第四章 結果與討論

本章節主要先以生物法，進行自製之釋氧型固定化菌體顆粒成品之基本性質描述；同時比較兩種不同製作方法所製作之釋氧型固定化菌體顆粒(ORCB)之釋氧能力，以及採用連續監測方式來獲得釋氧曲線；兩種製作方法分別為：「混合攪拌式冷凍法」與「PVA 水凝膠包埋膠囊冷凍法」。此外，亦變動緩衝物質比例與固化劑比例後，探討最佳製作方法所獲得之 ORCB 之釋氧能力。另外再以化學法，以不同吸附劑(高爐石及轉爐石)結合過硫酸鹽氧化法之方式，以不同過硫酸鹽濃度、不同吸附劑及不同吸附劑劑量等實驗因子，探討過硫酸鹽於各種條件下對 BTEX 與 MTBE 之去除率。研究過程中分為以批次實驗方式及設計釋氧化劑物質實驗兩部份進行，包括過硫酸鹽批次氧化實驗、異相活化實驗、加強式釋氧化劑物質設計，以及加強式釋氧化劑釋放效率評估；實驗進行時，則將批次反應瓶設置於 25 °C 恆溫震盪培養箱搖動，使實驗在均勻之條件下進行。此外，亦採用 DGGE 之分析方法，探討釋氧型透水性反應牆中，微生物處理受 BTEX 污染之地下水中之菌群變化，瞭解相關之菌群結構，茲將研究成果詳述於下：

4.1 釋氧型固定化菌體顆粒之基本性質

4.1.1 混合攪拌式冷凍法

「混合攪拌式冷凍法」製成之 ORCB 有以下特徵，分別為：(1)孔隙大，原因係為釋氧物質產生之氣泡，經冷凍後所造成；(2)顏色：添加 CaO_2 之顆粒，顏色呈現米黃色；添加 MgO_2 之顆粒，顏色則呈現米白色；(3)顆粒表面： CaO_2 之表面較為乾燥，而 MgO_2 之表面則較為濕潤。

此製作過程為先將 PVA 與 alginate 均勻混合於去離子水中，並以高溫滅菌方式使其成為黏稠液態狀；接著直接將釋氧物質(CaO_2 或 MgO_2)與緩衝物質(檸檬酸)加入於 PVA-alginate 液態溶液中，快速均勻混合，此時溶液中會出現許多氣泡且溫度有明顯之上升等現象。造成上述現象之原因在於鹼性釋氧物質與酸性緩衝物質混合後，即開始進行酸鹼中和反應，如方程式(18)所示。當過氧化鈣接觸水分子後，產生氧氣與氫氧化鈣(calcium hydroxide, Ca(OH)_2)，而氫氧化鈣之 OH^- 與檸檬酸之 H^+ 酸鹼反應即會產生熱能，因此 PVA-alginate 溶液之溫度會有上升之現象。另外，酸性(檸檬酸)中之 H^+ 與鹼性(CaO_2 或 MgO_2)中之 OH^- 結合產生 H_2O ，而釋氧物質與 H_2O 接觸後即會反應產生 O_2 ，因此在混合攪拌過程中會有氣泡產生，而導致部分氧氣隨之散失之不利情形。



為了避免釋氧物質於攪拌過程中產生過多氧氣，因此混合攪拌之時間不可過長，

須盡快倒入模型中並放置冷凍箱內冷凍；最後再反覆冷凍與解凍，即可切成所需要之顆粒體積大小，如圖 4.1.1-1 所示。

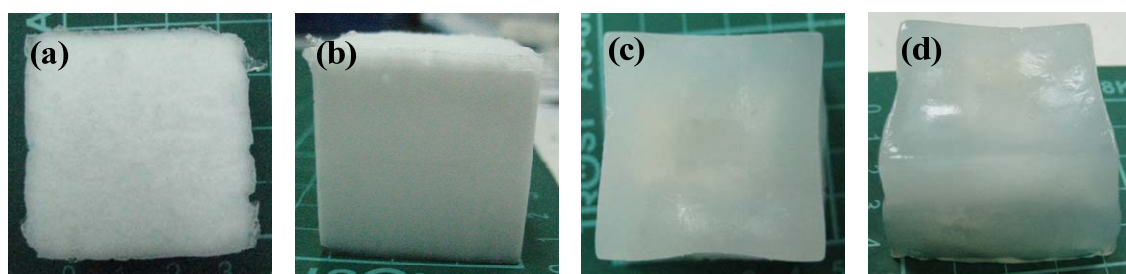


(a)、(b)：以過氧化鈣(CaO_2)製作之 ORCB；(c)、(d)：以過氧化鎂(CaO_2)製作之 ORCB

圖 4.1.1-1 混合攪拌式冷凍法之新型釋氧顆粒

4.1.2 PVA 水凝膠包埋膠囊冷凍法

此製作過程係先將釋氧物質(CaO_2)與緩衝物質(檸檬酸)均勻混合後填裝於市售溶解性膠囊內，接著再以 PVA 水凝膠溶液將膠囊固定於顆粒中央，即可完成新型釋氧顆粒，製成之成品如圖 4.1.2-1 所示。此節之製作方法與 4.1.1 節主要不同之處在於，「PVA 水凝膠包埋膠囊冷凍法」不需要將釋氧物質與緩衝物質攪拌至 PVA 水凝膠中，因此減少製作過程中產生酸鹼反應、溫度上升以及產生氣泡等現象；換言之，以「PVA 水凝膠包埋膠囊」製作釋氧顆粒過程中具有不易產生氧氣，造成部分氧氣散失之優點。



(a)解凍前正視圖；(b)解凍前側視圖；(c)解凍後之正視圖；(d)解凍後之側視圖

圖 4.1.2-1 PVA 水凝膠包埋膠囊冷凍法之新型釋氧顆粒

此外，「PVA 水凝膠包埋膠囊冷凍法」與「混合攪拌式冷凍法」不同之處，尚有釋氧物質於顆粒內之分布情形不同，前者釋氧物質屬於集中分佈於顆粒內(如圖 4.1.2-2a)，而後者之釋氧物質則屬於均勻分佈於顆粒內(如圖 4.1.2-2b)。

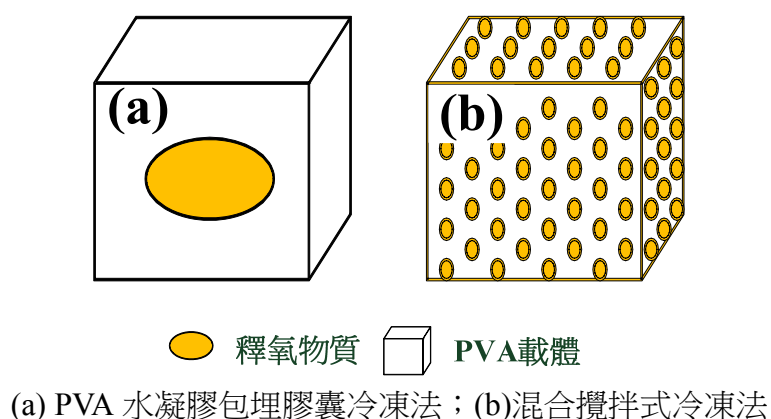


圖 4.1.2-2 不同釋氧顆粒製作方法之釋氧分佈示意圖

4.2 混合攪拌式冷凍法與 PVA 水凝膠包埋膠囊冷凍法之比較

本研究將混合攪拌式冷凍法與 PVA 水凝膠包埋膠囊冷凍法二者所製成之 ORCB 進一步比較，彙整結果如表 4.2-1。其中混合攪拌式冷凍法製成之顆粒因機械強度不佳，外表孔隙過大且釋氧率較 PVA 水凝膠包埋膠囊冷凍法為小，故不進一步分析其比表面積。

表 4.2-1 混合攪拌式冷凍法與 PVA 水凝膠包埋膠囊冷凍法之特性

項目	混合攪拌式冷凍法		PVA 水凝膠包埋膠囊 冷凍法
釋氧物質	CaO ₂	MgO ₂	CaO ₂
顏色	米黃色	米白色	不透明乳白色
形狀	立方體	立方體	立方體
孔隙	大	大	小
表面	不平整、乾燥	不平整、濕潤	表面光滑
外觀	似海綿	似海綿	似塑膠
釋氧率(mg-O ₂ /day/g)	小	小	大
比表面積(m ² /g)	—	—	16.6649
釋氧變化率(穩定性)*	小	小	大
釋氧物質分佈狀況	均勻分布	均勻分布	集中
包埋微生物可行性	不可	不可	可以

*新型釋氧顆粒初始放入至 400 小時後之溶氧變化率。

4.3 釋氧型固定化菌體顆粒之導電度影響

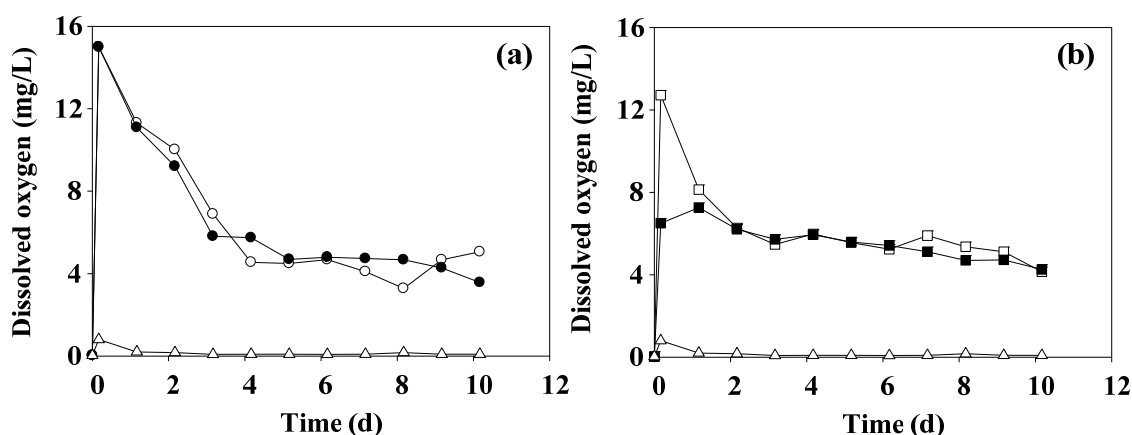
監測導電度目的主要係為了探討 ORCB 中之 CaO_2 與添加 Na_2SO_3 (除氧)再與水反應後會造成 Na 與 Ca 離子釋出，進而可能造成水體導電度上升之程度。本研究於水體中添加 ORCB 前，先以添加亞硫酸鹽(0.03%)方式將水體中溶氧控制於 DO 小於 1.0 mg/L 以下，且該水體之導電度約為 900 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ；於水體中添加 ORCB 後由分析結果得知，ORCB 與水反應後導電度並無明顯變化，平均導電度為 658 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ，最大值為 805 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ，最小值則為 530 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ，此結果已大致符合灌溉水質標準規定限值(750 $\mu\text{S}/\text{cm}$)，故後續將不進一步進行導電度降低之改善。

4.4 釋氧型固定化菌體顆粒釋氧性分析

4.4.1 半連續式新型釋氧顆粒之 DO 與 pH 變化

本研究係將 CaO_2 與 MgO_2 分別以「混合攪拌式冷凍法」製成 ORCB，探討 CaO_2 -ORCB 與 MgO_2 -ORCB 在有無添加 alginate 下，對釋氧量之產生情形。試驗時係將 120 克之新型釋氧顆粒放入於裝滿 200 mL 之密閉容器內，並加入 0.03%之 Na_2SO_3 於水溶液中，使瓶內水質之初始 DO 值控制於 1 mg/L 以下，保持於低溶氧條件下，並固定於 24 小時後更換瓶內水溶液，同時於更換時監測瓶內水質 DO 變化。由圖 4.4.1-1(a)與圖 4.4.1-1(b)半連續式溶氧變化圖可知， CaO_2 在有添加 alginate 或無添加 alginate 之條件下，皆可將水中 DO 值快速提升至 15 mg/L 以上； MgO_2 在有添加 alginate 或無添加 alginate 之條件下，則分別可將水中 DO 值快速提升至約 12 mg/L 或 6.5 mg/L 以上。此結果顯示無論有無添加 alginate 之 CaO_2 或 MgO_2 約 100 小時後，因釋氧顆粒表面可反應之釋氧物質逐漸減少，以至於釋氧量隨時間流逝而逐漸由釋氧顆粒內釋出之氧氣趨近於一穩定值(約 6 mg/L)；但經由 244 小時之試驗結果後獲知，DO 之監測值仍可維持約 4 mg/L 以上。

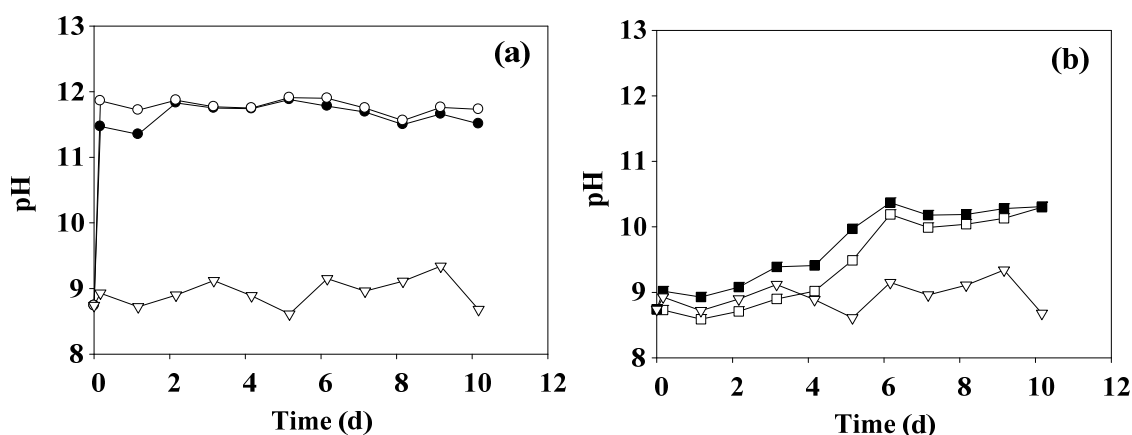
綜合 CaO_2 與 MgO_2 於有/無添加 alginate 之條件下，顯示由 CaO_2 所製備之新型釋氧顆粒之溶氧量有高於由 MgO_2 製備之新型釋氧顆粒之情形，原因乃為：(1) 依據鄭淑貞(2004)研究結果指出， CaO_2 與 MgO_2 同時放入於相同體積之水體中，由監測水中之溶氧變化得知，初期監測 CaO_2 所釋出之氧氣量會高於 MgO_2 約 2 倍以上，原因在於 CaO_2 與水反應之速率較 MgO_2 為快所致；但相較之下， MgO_2 則較可長期緩慢釋出氧氣；(2) 由於 alginate 可有效提高 PVA 固化後之孔隙率(Partap et al., 2007)，並可由圖 4.4.1-1 結果中明顯得知，在有添加 alginate 之條件下，無論 CaO_2 -新型顆粒或 MgO_2 -ORCB 皆可迅速將缺氧($\text{DO} \leq 1 \text{ mg/L}$)之水體 DO 提升至 12 mg/L 以上，顯示經添加 alginate 後，確實可將顆粒之孔隙放大以提高氧氣之質量傳輸能力，因此能夠於短期內釋放出更多氧氣。



(a) : CaO_2 試驗 ; (b) : MgO_2 試驗 (● : CaO_2 without alginate ; ○ : CaO_2 with alginate ; ■ : MgO_2 without alginate ; □ : MgO_2 with alginate ; △ : Control: none added oxygen compounds)

圖 4.4.1-1 半連續式新型釋氧顆粒試驗之 DO 變化

由圖 4.4.1-2(a)與圖 4.4.1-1(b)半連續式 ORCB 試驗之 pH 變化獲知，於 ORCB 添入初期(0 至 150 小時)，系統中之 CaO_2 -ORCB 可將原有水體之背景 pH，由 pH 9 迅速提升至 pH 11 以上；但若使用 MgO_2 -ORCB 時，則水體中之 pH 值較使用 CaO_2 -ORCB 時為小。造成此差異之原因推測，乃為本實驗所製作 ORCB 之過程中使用檸檬酸鹽作為酸鹼緩衝物質，當釋氧物質與檸檬酸配比為 1: 1.5 (wt %)時，混合後理論上則可將溶液控制於中性(pH 7)範圍。因此，依照此比例下應可發揮緩衝酸鹼之功能，而將釋氧物質(CaO_2 與 MgO_2)所釋出之 OH^- 加以酸鹼平衡。但是實際應用時，並未能維持 pH 為 7 之環境；上述原因可由前人研究加以說明，例如根據 Borden et al., (1997)、鄭淑貞(2004)及陳彥旻(2008)之研究成果指出， CaO_2 所造成水中鹼度提升能力遠大於 MgO_2 ，原因乃為 CaO_2 與水反應之速率快於 MgO_2 ，故當以 CaO_2 作為釋氧材料使用時，則 CaO_2 會瞬間釋出 OH^- 而造成水中之 pH 增加率高於使用 MgO_2 之增加率。然而，隨時間之增加，由於 MgO_2 與水反應速率較 CaO_2 慢，因此當以 MgO_2 製成之 ORCB 會以緩慢之速率來釋放氧氣與 OH^- ，而此 OH^- 同時也會與水中所提供之緩衝物質(檸檬酸)釋出之氫離子(H^+)反應，而使得緩衝物質逐漸遞減。由於 MgO_2 本身為鹼性物質，故將導致水中鹼度緩慢提升至 pH 10，因此與原始之背景水質(平均 pH 8.95 ± 0.23)會有所差異。



(a) : CaO₂ 試驗 ; (b) : MgO₂ 試驗 (● : CaO₂ without alginate ; ○ : CaO₂ with alginate ; ■ : MgO₂ with alginate ; □ : MgO₂ without alginate ; ▽ : Control: none added oxygen compounds)

圖 4.4.1-2 半連續式新型釋氧顆粒試驗之 pH 變化

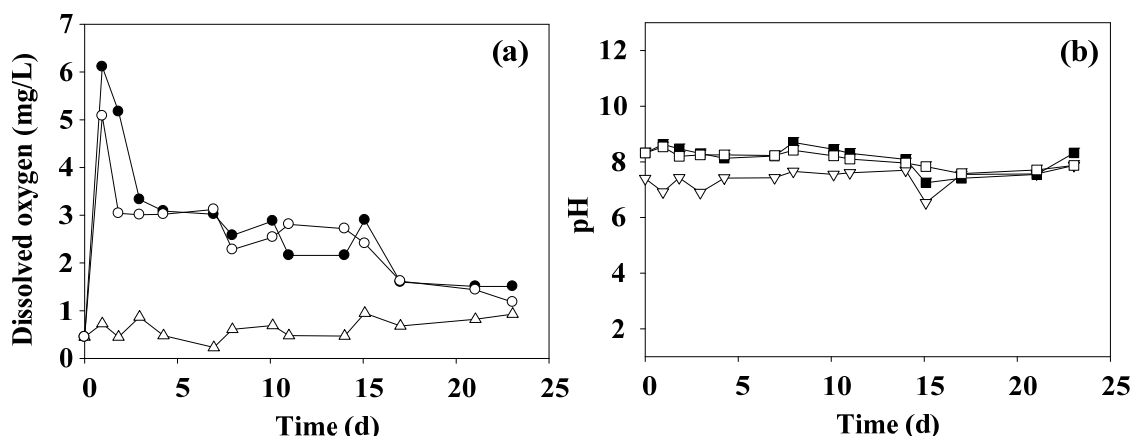
4.4.2 連續管柱式新型釋氧顆粒之釋氧長效性分析與 pH 變化

(1) 混合攪拌式冷凍法

本研究之評估方式係將 ORCB (以「混合攪拌式冷凍法」製作) 填充於圖 4.4.2-1 釋氧型固定化菌體顆粒之管柱內，設定進流流速為 5 mL/min 條件下，以連續進流方式探討「混合攪拌式冷凍法」製作之新型釋氧顆粒氧氣釋放之效能。由圖 4.4.2-1(a) 與圖 4.4.2-1(b) 得知，管柱試驗可區分為添加 CaO₂-ORCB 與 MgO₂-ORCB，二管柱之 ORCB 添加量各為 270 克，可分別於 1 天之時間(第 23 小時監測值)內，將缺氧環境(DO ≤ 1 mg/L)之水質，迅速提升至 6 mg/L (CaO₂-新型釋氧顆粒)與 5mg/L (MgO₂-新型釋氧顆粒)以上。再經由 48 小時之監測結果獲知，水體中之 DO 已下降至 3 mg/L 範圍，此範圍為 ORCB 可穩定釋出氧氣之平穩期。

就「混合攪拌式冷凍法」所製作之 ORCB 對 pH 之變化而言，在製作 ORCB 過程中，添加檸檬酸鹽作為緩衝物質時，經由連續進流之管柱式實驗之監測結果獲知(圖 4.4.2-1)，整體試程之 pH 並無明顯變化。經由 500 小時之長期監測結果可顯示，由 CaO₂ 或 MgO₂ 所製成 ORCB 之平均 pH，分別可維持在 8.12±0.45 與 8.0±0.32 範圍。理論而言，CaO₂ 或 MgO₂ 與水反應後會釋放出大量之 OH⁻而造成水中鹼度提升，但本實驗並無此現象，其原因乃為於製作 ORCB 過程中，添加可有效緩衝 OH⁻之酸性物質(檸檬酸)所致；亦即經由檸檬酸水解後釋放出 H⁺將與水溶液中之 OH⁻結合而生成 H₂O，導致水中鹼度並未明顯提升，使得 pH 能維持於弱鹼性(pH 約為 8)範圍內。若將此結果再與 4.4.1 節半連續式之 pH 結果相互比較，則兩者間

之最大差異在於此試驗為一連續流之管柱試驗，因此當 ORCB 釋放出之 OH^- 並不會像 4.4.1 節所述之半連續式反應器累積於管柱中，造成水中之鹼度提高。此外，本研究團隊(陳立軒，2007)亦曾以水泥為固化劑之方式製作 ORC，並進行連續流之 ORC 管柱試驗，結果發現初始之 pH 雖呈現明顯上升，但經數小時後，隨著 ORC 於水中時間之增加而使 pH 逐漸接近於中性範圍內。由此顯示操作條件(連續式與半連續式)，可能影響反應器內 pH 之變化。



(a) : DO 試驗(● : CaO_2 ; ○ : MgO_2 ; △ : Control: none added oxygen compounds) ;
(b) : pH 試驗(■ : CaO_2 ; □ : MgO_2 ; ▽ : Control: none added oxygen compounds)

圖 4.4.2-1 連續進流新型釋氧顆粒管柱試驗之 DO 與 pH 變化

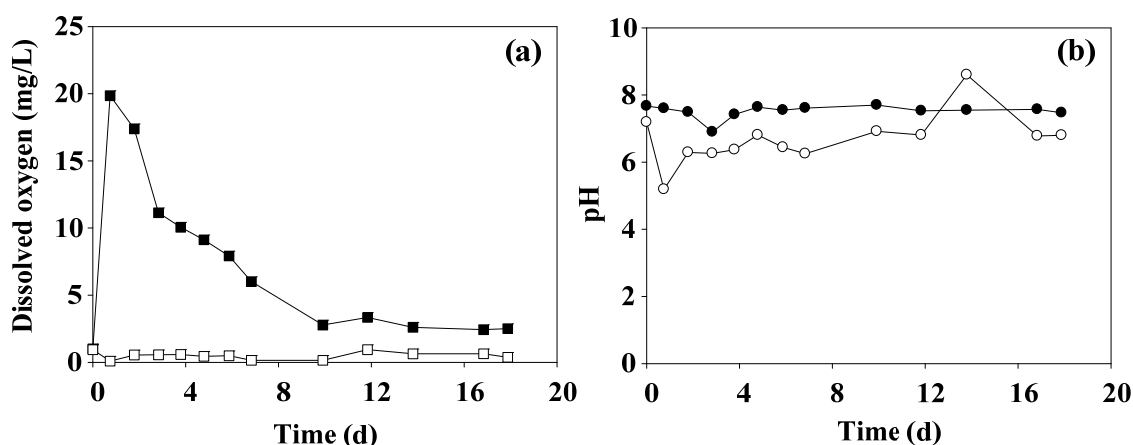
(2) PVA 水凝膠包埋膠囊冷凍法

經由 4.4.1 節與 4.4.2 節之結果可獲得以下二項訊息：(a)由 4.4.1 節之半連續式 ORCB 製作程序中，添加 alginate 雖可明顯提升初期之釋氧量；但以質量平衡角度而言，初始所釋放出之大量氧氣，雖可快速提升水中溶氧，但亦因此縮短整體釋氧之時間而不利於長效性釋氧，因此將來於實場應用上易受限制；(b)由 4.4.2 節中，以「混合攪拌式冷凍法」所製作之 ORCB 時，在製作攪拌過程中，釋氧物質會先與 PVA 溶液中之水反應生成氧氣，造成製作過程部分氧氣流失。此外，經攪拌後所產生含氧氣之氣泡，會導致後續以冷解凍法固化製成之 ORCB 機械強度下降且孔隙較大外，其顆粒之體積亦會放大約為原溶液之 3 倍，因此將造成此新型釋氧顆粒易崩解或破碎而不利於後續之應用。

反觀，以「膠囊包埋於 PVA 水凝膠之冷凍法」製作 ORCB，可減低釋氧顆粒可能造成氧氣損失之缺點，且製成後之 ORCB 較「混合攪拌式」堅固，而體積亦遠小於「混合攪拌式」之顆粒。為了更有效模擬現地地下水之低流速情形，本小

節將連續流管柱試驗之流速由原來的 5 mL/min 降低為 1.2 mL/min，探討「膠囊包埋於 PVA 水凝膠之冷凍法」所製成之 CaO_2 -新型釋氧顆粒之溶氧與 pH 對時間變化。由圖 4.4.2-2 結果顯示，DO 在監測初期(第 18 小時)，由於水流速度為 1.2 mL/min 較 4.4.1 節所使用之流速(5.0 mL/min)小，以致於 ORCB 內之釋氧物質與水反應之時間增加，導致初始 DO 值可快速提升至 20 mg/L，爾後隨時間之增加，DO 值逐漸趨近於可穩定釋出氧氣之平穩期。隨著後續時間之監測結果(141 小時以後監測值)得知，水體中之 DO 值仍可維持在 8 mg/L 之飽和 DO 中(28 °C, 1 atm)，此趨勢之結果亦與 4.4.1、4.4.2 節結果類似，均呈現氧氣會先迅速提升後，再隨著反應時間之增加而逐漸進入可穩定釋出氧氣之平穩期。

就 pH 部分而言，於初始監測時發現，pH 值會有先下降而後升高之趨勢，而造成此現象之原因乃為在製作 ORCB 時，係以混合攪拌方式將 PVA、釋氧物質及酸鹼緩衝物共混後，再放入於冷凍庫中進行固化程序。但由於在攪拌過程中，部分檸檬酸會先與釋氧物質進行酸鹼反應，導致後續再利用連續流之管柱試驗監測 pH 之結果呈現一持平或上升之趨勢，顯示當趨勢呈現持平時，則代表檸檬酸可持續釋出 H^+ 以中和釋氧物質所釋放之 OH^- ；反之，當趨勢呈現上升時，則表示檸檬酸已無能力釋出 H^+ ，故無法中和釋氧物質所釋放之 OH^- 而導致鹼度提高。然而本小節採用之「PVA 水凝膠包埋膠囊冷凍法」，可減緩於製作過程中對釋氧物質與水之接觸時間，因此當水分子擴散至新型釋氧顆粒內，將造成顆粒內之檸檬酸水解後而釋放出 H^+ ，但同時因含有釋氧物質存在則將會導致 pH 值會有些微變化，但變化不大。上述之發現，可再經由後續監測結果中之 pH 值維持於中性範圍(pH 7)而印證上述之推論。

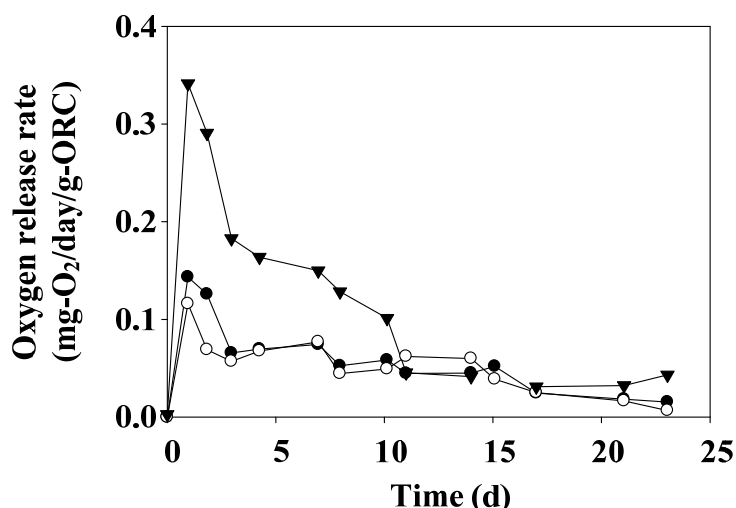


(a) : DO 試驗(■ : CaO_2 ; □ : Control: none added oxygen compounds) ; (b) : pH 試驗(● : CaO_2 ; ○ : Control: none added oxygen compounds)

圖 4.4.2-2 連續進流新型釋氧顆粒管柱試驗之 DO 與 pH 變化

(3) 釋氧率分析

由 4.4.2 節之釋氧隨時間之變化結果，可估算出「混合攪拌式冷凍法」與「PVA 水凝膠包埋膠囊之冷凍法」對 ORCB 之釋氧率(oxygen-releasing rate)，亦即每克 ORCB 隨時間變化所能釋放出之氧氣量，可由 3.6 節方程式(15)之計算求出其釋氧率。由圖 4.4.2-3 結果顯示，「混合攪拌式冷凍法」與「PVA 水凝膠包埋膠囊式冷凍法」所製成之 ORCB，於初期皆有高釋氧率，其中「混合攪拌式冷凍法」所獲得 MgO_2 -ORCB 之釋氧率為 $0.116 \text{ mg-O}_2/\text{day/g-ORCB}$ ，以及 CaO_2 -ORCB 之釋氧率為 $0.143 \text{ mg-O}_2/\text{day/g-ORCB}$ (釋氧率計算方式採取試驗總時間為 553 小時之平均溶氧值)。以「PVA 水凝膠包埋膠囊式冷凍法」所獲得 CaO_2 -ORCB 之釋氧率則為 $0.341 \text{ mg-O}_2/\text{day/g-ORCB}$ ，爾後隨時間增加釋氧率逐漸減少。整體而言，以「PVA 水凝膠包埋膠囊式冷凍法」所製作之 ORCB，於前 150 小時內，釋氧率可遠大於「混合攪拌式冷凍法」之 ORCB 造成此結果乃因「混合攪拌式冷凍法」之 ORCB 於製作過程中，可能已損失部分氧氣而導致試驗初期之釋氧率較低。由圖 4.4.2-3 亦可發現，0 至 400 小時釋氧變化率之標準差，「混合攪拌式冷凍法- MgO_2 」、「混合攪拌式冷凍法- CaO_2 」以及「PVA 水凝膠包埋膠囊式冷凍法- CaO_2 」依序為 0.0297、0.0384 以及 0.102 $\text{mg-O}_2/\text{day/g-ORCB}$ ，表示「混合攪拌式冷凍法」之 ORCB 比以「PVA 水凝膠包埋膠囊式冷凍法」所製作 ORCB 之釋氣變化率小，亦即「混合攪拌式冷凍法」之 ORCB 較能穩定釋放氧氣，原因乃為由「混合攪拌式冷凍法」所製作之 ORCB，於製作過程中釋氧物質係均勻分佈在 PVA 膠體內固化而成，但「PVA 水凝膠包埋膠囊式冷凍法」，則係將釋氧物質集中於 PVA 膠體膠囊內，而導致水傳輸到 ORCB 內能快速釋放氧氣，而造成短時間內(23 小時內) 即可獲得高釋氧率之情形。



(●：混合攪拌式— CaO_2 ；○：混合攪拌式— MgO_2 ；▼：PVA 水凝膠包埋膠囊式冷凍法— CaO_2)

圖 4.4.2-3 混合攪拌式與 PVA 水凝膠包埋膠囊式冷凍法對釋氧率之變化

4.5 釋氧能力分析

由 4.4 節結果分析得知，以「PVA 水凝膠包埋膠囊式冷凍法」所製作 ORCB 之釋氧率比「混合攪拌式冷凍法」之 ORCB 較佳；因此本研究將以「PVA 水凝膠包埋膠囊式冷凍法」之新型釋氧顆粒為基礎，分別變動不同緩衝物質比例與固化劑體積比以探討其釋氧能力。(下述試驗之總釋氧物質含量皆為 10 克)

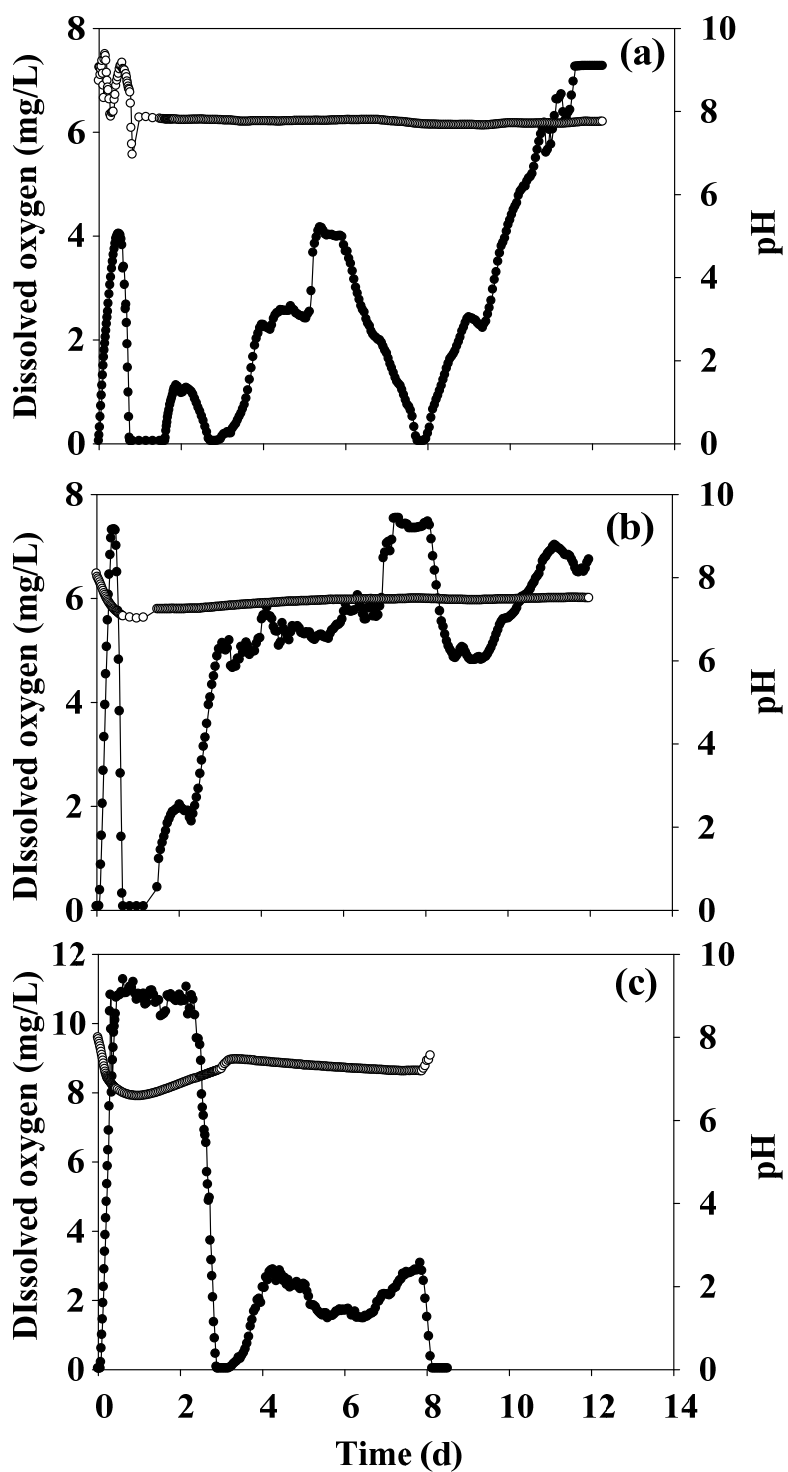
4.5.1 不同緩衝物質配比之釋氧與 pH 變化

將過氧化鈣定量為 10 克而變動緩衝物質(檸檬酸)之比例，使得各顆粒之膠囊內過氧化鈣與檸檬酸比例分別為 1:0、1:0.5、以及 1:1.5，探討其釋氧量變化。將過氧化鈣與檸檬酸比例均勻混合後填充至膠囊內，再以 4.1.2 節所述之方式(PVA 水凝膠包埋膠囊式冷凍法)製作 ORCB。接著以連續監測方式測得 DO 與 pH，由圖 4.5.1-1(a)至圖 4.5.1-1(c)結果得知：(1)在第一次溶氧高鋒時，過氧化鈣與檸檬酸之比值為 1:0 時，可將水體中之溶氧由 0.05 mg/L 提升至 4.01 mg/L，而添加檸檬酸比例分別為 1:0.5 與 1:1.5，水體中之溶氧分別可提升至 7.3 mg/L 與 10.9 mg/L。

此結果表示，緩衝物質具有增加過氧化鈣之反應速率而增加氧氣之產生。過氧化鈣與弱酸反應除了會產生過氧化氫(hydrogen peroxide, H_2O_2)外，其產物—過氧化氫溶於水中亦會產生氧氣而提升水中之溶氧，因此就整體趨勢而言，在「有添加」緩衝物質之水體溶氧值高於「未添加」緩衝物質之水體溶氧；(2)有添加緩衝物質之 ORCB 氧氣釋放較為穩定，並於連續監測第 60 小時後至 300 小時間之 DO 標準偏差約為 1.81 mg/L；相較於只有添加過氧化鈣之 ORCB 其 DO 變化幅度較大，於第 60 小時後至 300 小時間之 DO 標準偏差約為 4.07 mg/L；(3)就釋氧長效性而言，當過氧化鈣與檸檬酸比例為 1:0 與 1:0.5 時之 ORCB，其氧氣釋放可維持 10 天以上，因此具有良好的釋氧長效性。當過氧化鈣與檸檬酸比為 1:1.5 時，其釋氧長效性則相對較差，約 8 天即結束釋氧；推測原因在於添加過量之緩衝物質，易造成過氧化鈣大量反應並產生大量氧氣，而氧氣因質量傳輸受限無法從 PVA 膠體迅速擴散至水體中，進而造成顆粒較薄弱之處產生大氣泡體(如圖 4.5.1-2 所示)，導致顆粒變形而減低釋氧能力；(4)由圖 4.5.1-1(a)至圖 4.4.2-1(c)得知，以添加過氧化鈣製成 ORCB 之 pH 變化中，於初期(0 至 20 小時)時之 pH 會呈現不穩定現象，原因乃為此試驗中並未添加緩衝物質以平衡水體中之 pH，另外，過氧化鈣開始反應後會產生 OH^- 而導致鹼度提高；相較之下，於有添加緩衝物質之 ORCB，較能減緩水體中之 pH 變動，因此，若緩衝物質添加比例愈高(即檸檬酸含量愈高)將會造成水體初始之 pH 呈現酸性狀態。

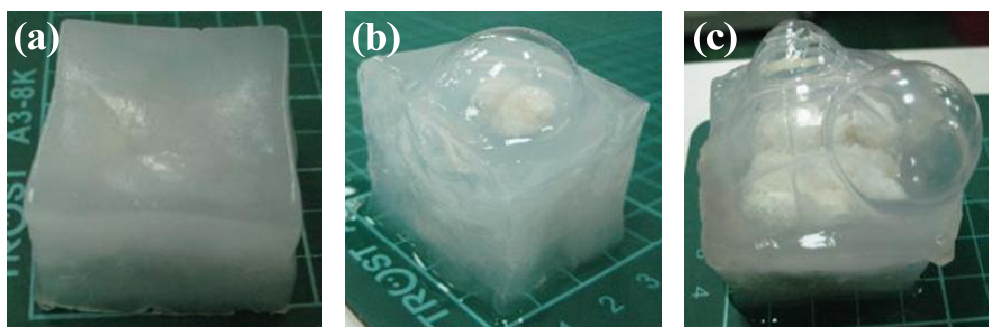
由於本研究為一連續流試驗，因此當緩衝物質與過氧化鈣反應趨於緩和後，其 pH 將回復至中性狀態。基於上述結果得知，適量之緩衝物質(檸檬酸)有助於調整水體 pH 與加速新型釋氧顆粒之氧氣釋放，因此緩衝物質將扮演著緩衝劑與提高

氧氣之助劑；但緩衝物質不可過量，否則將會破壞 ORCB 之完整性，使其變形而降低釋氧能力。



不同 CaO_2 與檸檬酸比例，(a) 1:0；(b) 1:0.5；(c) 1:1.5 (●：DO 變化；○：pH 變化)

圖 4.5.1-1 不同 CaO_2 與檸檬酸比例之 DO 與 pH 變化



(a)正常 ORCB 實體圖；(b)、(c)變形 ORCB 實體圖

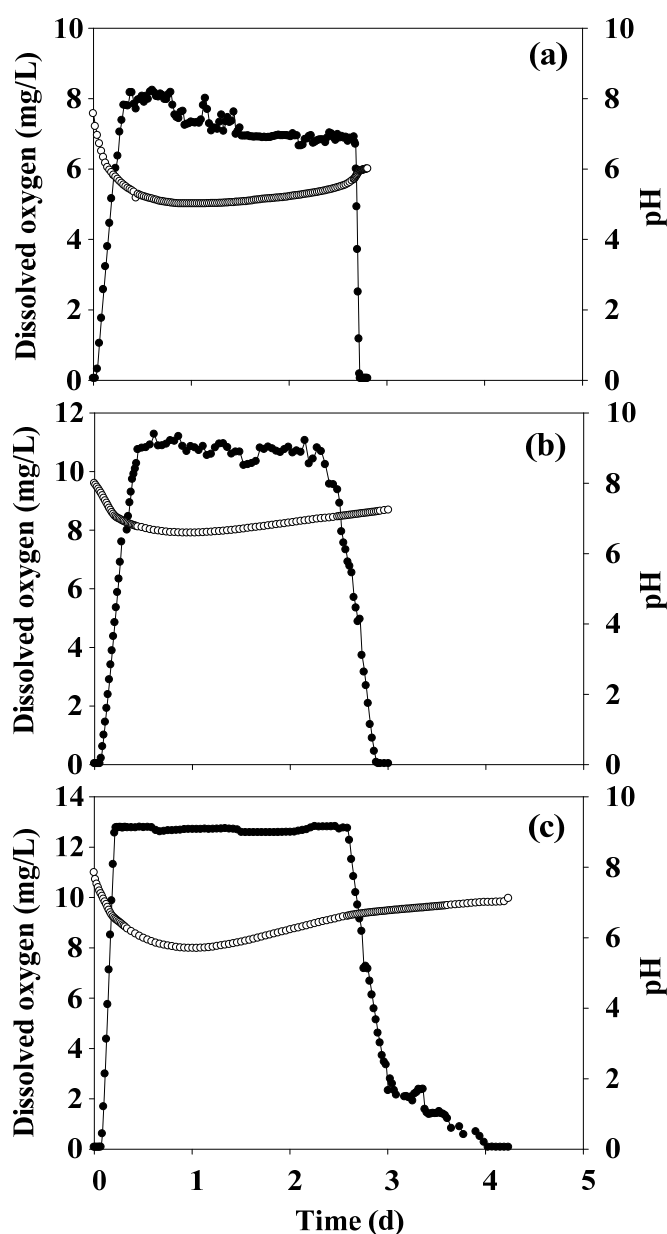
圖 4.5.1-2 正常與變形之 ORCB 實體圖

4.5.2 不同固化劑體積比之釋氧與 pH 變化

由 4.5.1 節之研究結果發現，若 ORCB 之固化劑體積比為 90%，而過氧化鈣：檸檬酸為 1：1.5 時，因緩衝物質(檸檬酸)過量而造成氧氣大量產生，再加上固化劑 PVA 含量少，進而在 PVA 較薄弱之處產生大氣泡，導致顆粒變形而降低其釋氧能力。因此本小節將固定過氧化鈣：檸檬酸為 1：1.5 比例條件下，探討不同固化劑體積比(95%、90%及 85%)與釋氧變化之關係。固定過氧化鈣 10 克與檸檬酸 15 克，均勻混合填裝於膠囊中，再以 4.1.2 節「PVA 水凝膠包埋膠囊式冷凍法」製成 ORCB。由圖 4.5.2-1(a)至圖 4.5.2-1(c)結果得知：(1)固化劑體積比為 85%之釋氧顆粒能將 DO 由 0.07 mg/L 提升至 12.72 mg/L；而固化劑體積比 90%與 95%，則分別提升至 10.9 mg/L 與 8.1 mg/L，上述三種比例(85%、90%、95%)之最大平均釋氧率依序為 1.93 mg-O₂/day/g-ORCB、1.16 mg-O₂/day/g-ORCB 以及 0.41 mg-O₂/day/g-ORCB (圖 4.5.2-3)。原因在於固化劑體積比為 85%之釋氧型固定化顆粒，其固化劑 PVA 量較少而導致顆粒厚度呈現不均勻之狀態(如圖 4.5.2-2 所示)，而不均勻處之厚度減少將會增加氧氣之質量傳輸，但該處亦為顆粒最容易變形之部位。根據圖 4.5.2-2 量測膠囊與顆粒外膜間之距離得知，固化劑體積比為 85%之顆粒外膜厚度之最薄弱處僅有 0.63 cm；相較之下，固化劑體積比為 95%之顆粒外膜厚度最薄弱處為 1.38 cm，因此造成固化劑體積比為 85%之釋氧率，高過於固化劑體積比為 95%之釋氧率；(2)經連續監測第 60 小時之後，過氧化鈣與緩衝物質也隨之反應完畢，此結果顯示固化劑體積比為 95%時，DO 約 1 小時內即急速下降至 1 mg/L 以下；而固化劑體積比減少為 90%與 85%時，DO 則分別約於 20 小時與 35 小時時，才可降至 1 mg/L 以下，上述三者之下降斜率分別為 0.85、0.69 及 0.33。原因與上述(1)類似，仍為固化劑之厚度影響氧氣之質量傳輸；就連續流反應器而言，當釋氧助劑—緩衝物質之含量與氧氣量隨著反應後而逐步減少時，則當氧氣量之質量傳輸小於水流之流速時，將會造成水體溶氧快速下降；(3)由圖 4.5.2-1(a)

至圖 4.5.2-1(c)得知 pH 變化，因有添加緩衝物質之關係，故 pH 變化量並不大而能夠維持在 6-7 間。

基於上述(1)、(2)結果得知，當固化劑體積比控制在 85%與 90%時有較佳釋氧率，但從實驗發現若固化劑體積比低於 90%時，大量產生之氧氣易從 PVA 含量較少之區域(即 PVA 厚度較薄之處)釋出，進而導致釋氧型固定化顆粒變形產生大氣泡，甚至大氣泡可能破裂(如圖 4.5.1-2 所示)而造成顆粒內之釋氧物質與緩衝物質流至顆粒外，進而造成水體混濁與二次污染水體之可能性。



不同固化劑比例，(a) 95%；(b) 90%；(c) 85% (●：DO 變化；○：pH 變化)

圖 4.5.2-1 不同固化劑體積比之 DO 與 pH 變化

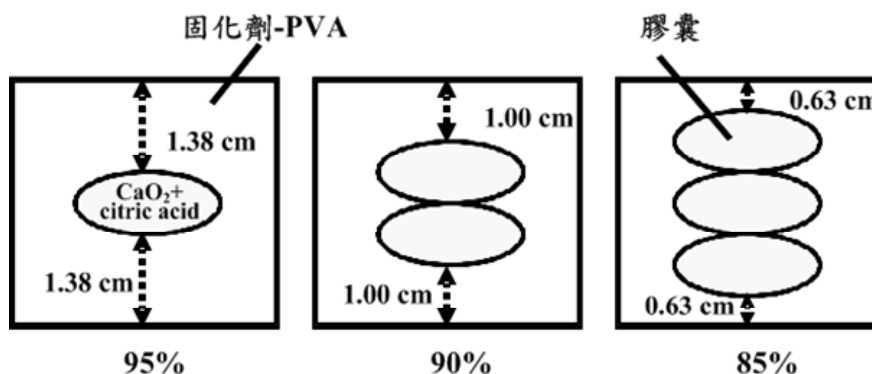


圖 4.5.2-2 不同固化劑之最薄厚度示意圖

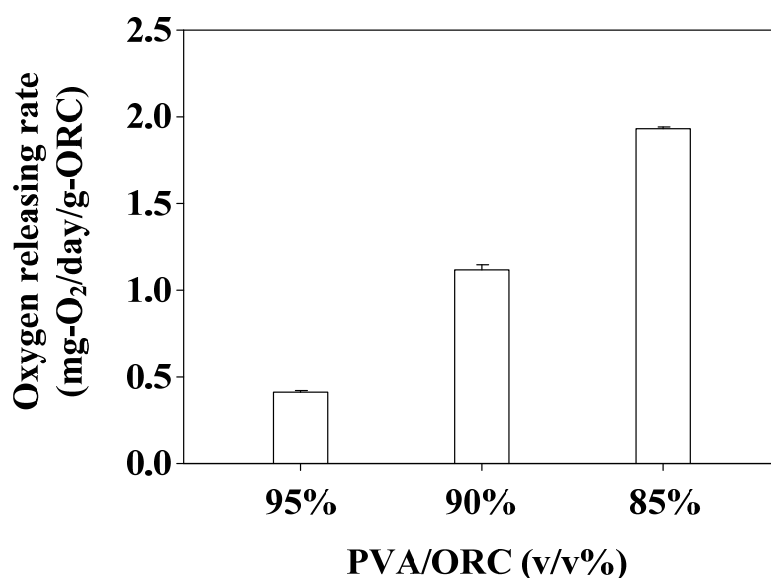


圖 4.5.2-3 不同固化劑體積比之最大平均釋氧率

4.6 低價吸附劑異相活化過硫酸鹽去除 BTEX、MTBE 批次試驗

本研究為瞭解在於不同低價吸附劑(包括高爐石(blast-furance slag, BF)及轉爐石(blast oxygen furance slag, BOF))異相活化過硫酸鹽對污染物之降解能力，分別探討不同過硫酸鹽濃度對 BTEX、MTBE 降解之影響、添加不同低價吸附劑劑量對 BTEX、MTBE 降解之影響。

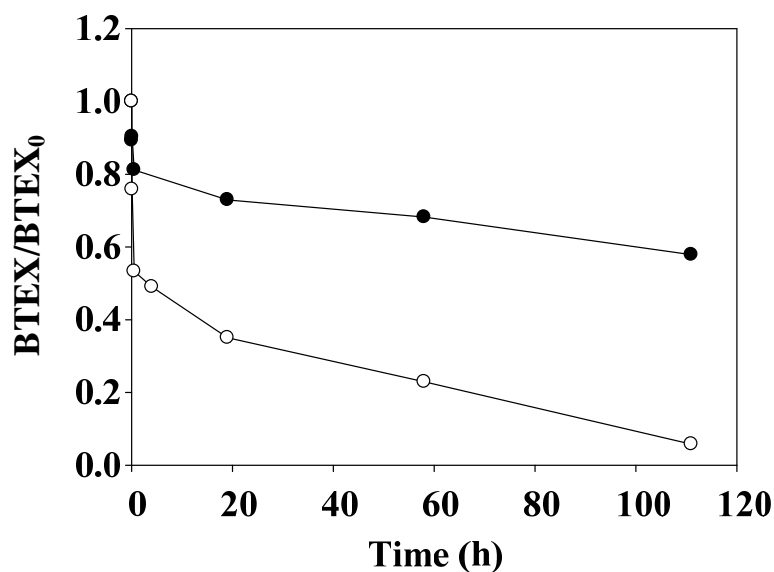
4.6.1 不同過硫酸鹽濃度對 BTEX 降解之影響

氧化劑添加之劑量會直接影響污染物去除之效果，因此本研究探討不同氧化劑劑量對於 BTEX 去除效率之影響。此研究結果，將可提供未來氧化劑劑量決定

之參考。圖 4.6.1-1 為不同過硫酸鹽濃度對 BTEX 之降解結果。本組實驗各 B、T、E、X 化合物初始濃度約為 50 mg/L，總 BTEX 濃度則約為 200 mg/L，並固定高爐石劑量為 1 g/L。由實驗結果顯示，添加不同過硫酸鹽濃度分別為 10、50 g/L 之實驗組別，在 20 小時反應時間內降解 BTEX 之去除率約各分別為 30 及 70%，添加 50 g/L 過硫酸鹽實驗組降解最快，在 111 小時之反應時間內 BTEX 之去除率可達至 94%。本實驗結果顯示，過硫酸鹽濃度越高，BTEX 去除所需時間越短。過硫酸鹽去除污染物之反應速率式以擬一階反應(pseudo-first-order reaction)進行探討(Huang et al., 2002; Huang et al., 2005; Liang et al., 2006; 高志明，2007)，以 BTEX 為例，擬一階反應動力式可表示如方程式(19)所示：

$$-d [\text{BTEX}]/dt = k [\text{BTEX}] \quad (21)$$

其中 k 為擬一階反應速率常數，代表過硫酸鹽化學系統中所有氧化物質(如 SO_4^- 、 $\text{HO}\cdot$ 、 $\text{M}\cdot$ 及 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$)降解污染物之結合速率，並為溫度、過硫酸鹽濃度、pH 及離子強度之函數(Huang et al., 2002)。表 4.6.1-1 為不同過硫酸鹽濃度對 BTEX 降解速率常數(k)。實驗結果顯示，過硫酸鹽對 BTEX 之降解大致符合擬一階反應，高爐石劑量於 1 g/L 下，過硫酸鹽濃度分別為 10 g/L 及 50 g/L 之 k 值分別為 0.39×10^{-2} 、 $2.16 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$ 。



(● : BF=1 g/L+[Na₂S₂O₈]=10 g/L ; ○ : BF=1 g/L+[Na₂S₂O₈]=50 g/L ; [BTEX]=200 mg/L)

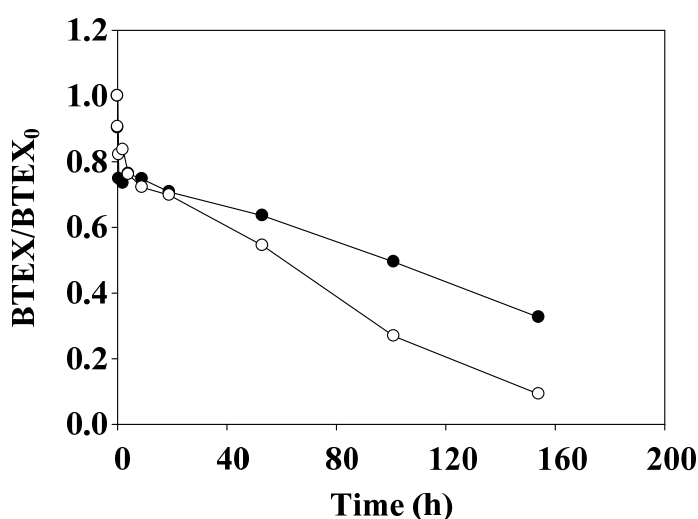
圖 4.6.1-1 不同過硫酸鹽濃度對 BTEX 降解之影響

表 4.6.1-1 不同過硫酸鹽濃度下之 BTEX 降解速率常數

總 BTEX (mg/L)	Na ₂ S ₂ O ₈ (g/L)	Activator (g/L)	k×10 ² (h ⁻¹)	R ²
200	10	1	0.39	0.781
200	50	1	2.16	0.932

4.6.2 轉爐石活化過硫酸鹽對 BTEX 降解之影響

二價鐵為過硫酸鹽氧化系統中重要之活化物質，但於實場應用時，藥劑使用費為該氧化技術門檻之一，因此對氧化技術上應需考量成本效益評估。本實驗以酸洗處理過之轉爐石添加於過硫酸鹽系統中，進行 BTEX 活化降解實驗。XRF 螢光光譜分析儀分析結果顯示，轉爐石之含鐵量約 37.67%(表 4.6.2-1)。本組實驗總 BTEX 初始濃度約 200 mg/L，固定過硫酸鹽濃度為 10 g/L，添加不同轉爐石劑量(1、5 g/L)於反應器中，評估不同轉爐石劑量添加對 BTEX 降解效果之影響。圖 4.6.2-1 為添加不同轉爐石劑量活化過硫酸鹽對 BTEX 降解之影響，在轉爐石添加劑量 1 及 5 g/L 下，154 小時反應時間內 BTEX 降解效率分別為 67 及 91%。實驗結果顯示，添加轉爐石有助於過硫酸鹽之活化，促進 BTEX 之降解，且轉爐石添加劑量越高，降解效率越佳，其原因應為轉爐石中所含之金屬物質如鐵作用所致。轉爐石添加劑量 1 g/L 及 5 g/L 之實驗監測之最終 pH 值分別為 7 及 9，當劑量提高，則呈鹼性狀況。由於轉爐石中含有 CaO (表 4.6.2-1)，因而造成水中溶液呈鹼性，不利於鐵的溶出，因此轉爐石所產生之活化反應屬於異相活化反應，未來將可代替二價鐵為活化優先考量之一，應用於現地整治牆添加劑。實驗結果顯示，過硫酸鹽對 BTEX 之氧化大致符合擬一階反應。在轉爐石劑量 1 及 5 g/L 添加下，反應速率常數(k)值分別為 0.57×10^{-2} 、 $1.36 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$ (表 4.6.2-2)。轉爐石添加劑量越高，擬一階反應速率常數越高。



(● : BOF slag=1 g/L ; ○ : BOF slag=5 g/L ; [BTEX]=200 mg/L ; [Na₂S₂O₈]=10 g/L)

圖 4.6.2-1 添加不同轉爐石劑量活化過硫酸鹽對 BTEX 降解之影響

表 4.6.2-1 轉爐石化學成份

CaO	Fe ₂ O ₃	SiO ₂	MnO	Cl	TiO ₂	Cr ₂ O ₃	V ₂ O ₅	SrO	ZrO ₂	NbO
45.02	37.67	7.98	7.98	2.54	0.64	0.25	0.09	0.08	0.02	0.02

註：單位為百分比(%)

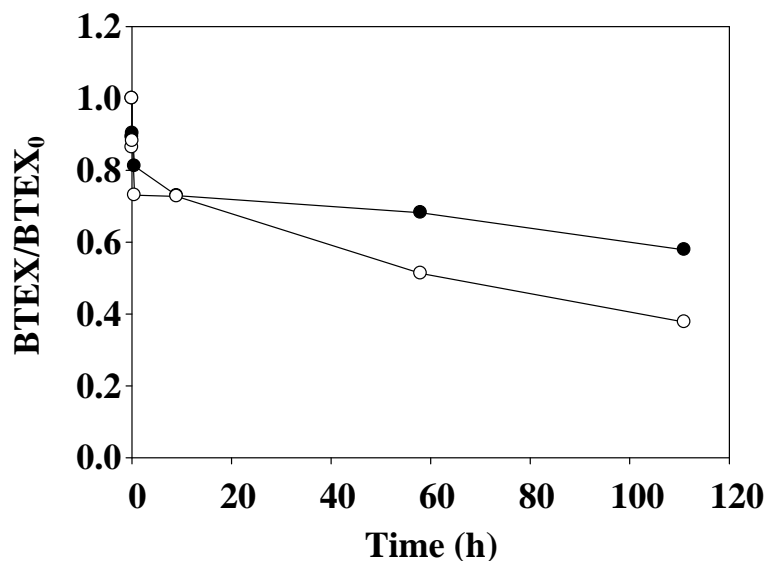
表 4.6.2-2 不同轉爐石劑量下過硫酸鹽降解 BTEX 降解速率常數

BTEX (mg/L)	Na ₂ S ₂ O ₈ (g/L)	BOF (g/L)	k×10 ² (h ⁻¹)	R ²
200	10	1	0.57	0.911
200	10	5	1.36	0.969

4.6.3 高爐石活化過硫酸鹽對 BTEX 降解之影響

本實驗以酸洗處理過之高爐石添加於過硫酸鹽系統中，進行 BTEX 活化降解實驗。本實驗利用 XRF 螢光光譜儀分析高爐石主要化學成分含有相當之金屬物質，其成份如表 4.6.3-1 所示，分析結果顯示鐵含量約為 2.49%。本組實驗總 BTEX 初始濃度約 200 mg/L，並固定過硫酸鹽濃度為 10 g/L，添加不同高爐石劑量(1、5 g/L)於反應器中，評估不同高爐石劑量添加對 BTEX 降解效果之影響。圖 4.6.3-1 為添加不同高爐石劑量活化過硫酸鹽對 BTEX 降解之影響。實驗結果顯示，在高爐石添加劑量 1 及 5 g/L 下，111 小時反應時間內 BTEX 降解效率分別為 39 及 62%。實驗結果顯示，添加高爐石有助於過硫酸鹽之活化，促進 BTEX 之降解，且添加劑量越高，降解效率越佳，其原因應為高爐石中所含之金屬物質如鐵作用所致(表 4.6.3-1)。

高爐石添加劑量 1 g/L 及 5 g/L 之實驗監測之最終 pH 值分別為 5 及 7 介於微酸性~中性之間。pH 值為 5 之微酸性環境下尚未有利於鐵的溶出，因此高爐石所產生之活化反應屬於異相活化反應。實驗結果顯示，過硫酸鹽 BTEX 大致符合擬一階反應。表 4.6.3-2 為不同高爐石劑量下過硫酸鹽降解 BTEX 降解速率常數(k)。在高爐石劑量 1 及 5 g/L 添加下，k 值分別為 0.39×10^{-2} 、 $0.79 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$ 。高爐石添加劑量越高，擬一階反應速率常數越高。未來將可代替二價鐵為活化優先考量之一，應用於現地整治牆添加劑。



(● : BF slag=1 g/L ; ○ : BF slag=5 g/L ; [BTEX]=200 mg/L ; [Na₂S₂O₈]=10 g/L)

圖 4.6.3-1 添加不同高爐石劑量活化過硫酸鹽對 BTEX 降解之影響

表 4.6.3-1 高爐石化學成份

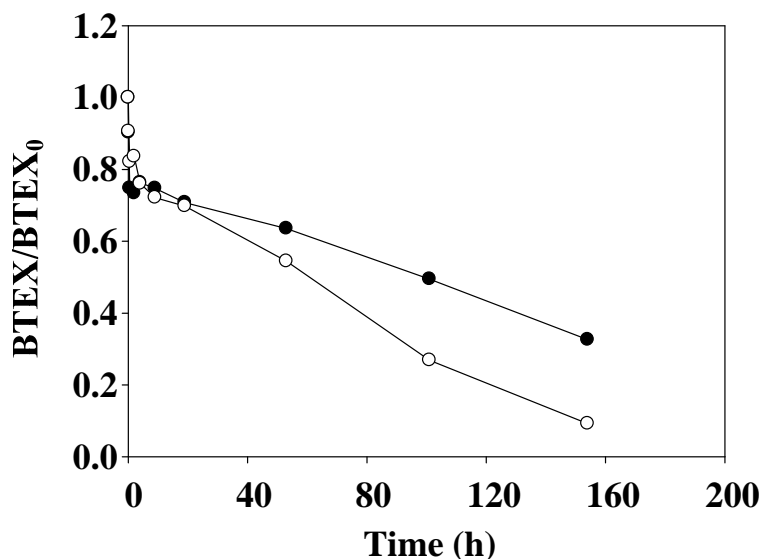
SiO ₂	SO ₃	FeO ₃	BaO	MnO	TiO ₂	K ₂ O	SrO	ZrO ₂	Y ₂ O ₃	CuO	Rb ₂ O
35.62	3.39	2.49	1.55	1.32	1.02	0.98	0.23	0.15	0.04	0.03	0.004

表 4.6.3-2 不同高爐石劑量下過硫酸鹽降解 BTEX 降解速率常數

BTEX (mg/L)	Na ₂ S ₂ O ₈ (g/L)	BF (g/L)	$k \times 10^2$ (h ⁻¹)	R ²
200	10	1	0.39	0.781
200	10	5	0.79	0.912

4.6.4 不同吸附劑活化過硫酸鹽實驗結果

為了解不同吸附劑活化過硫酸鹽對 BTEX 降解之影響，本研究選用高爐石及轉爐石做為活化過硫酸鹽氧化 BTEX 之用。圖 4.6.4-1 為不同吸附劑活化過硫酸鹽對 BTEX 降解結果。實驗結果顯示，添加高爐石、轉爐石各 5 g/L 組別於 114 小時反應時間內，BTEX 降解率分別為 62%及 91%。實驗結果顯示，轉爐石比高爐石活化效果佳，其原因可能為轉爐石含鐵量(37.67%)較高爐石(2.49%)高所致。此結果顯示，吸附劑表面金屬含量越高，活化過硫酸鹽降解污染效果越佳。研究結果顯示，高/轉爐石對過硫酸鹽皆有良好之活化效果，未來將可做為過硫酸鹽氧化法應用於現地整治上之活化劑。表 4.6.4-1 為不同過硫酸濃度下 BTEX 之降解速率常數。實驗結果顯示，過硫酸鹽對 BTEX 之降解大致符合擬一階反應，反應速率常數(k)分別為 0.51×10^{-2} 、 $0.57 \times 10^{-1} \text{ h}^{-1}$ 。



(● : BF slag=5 g/L; ○ : BOF slag=5 g/L) ; [BTEX]=200 mg/L ; [Na₂S₂O₈]=10 g/L)

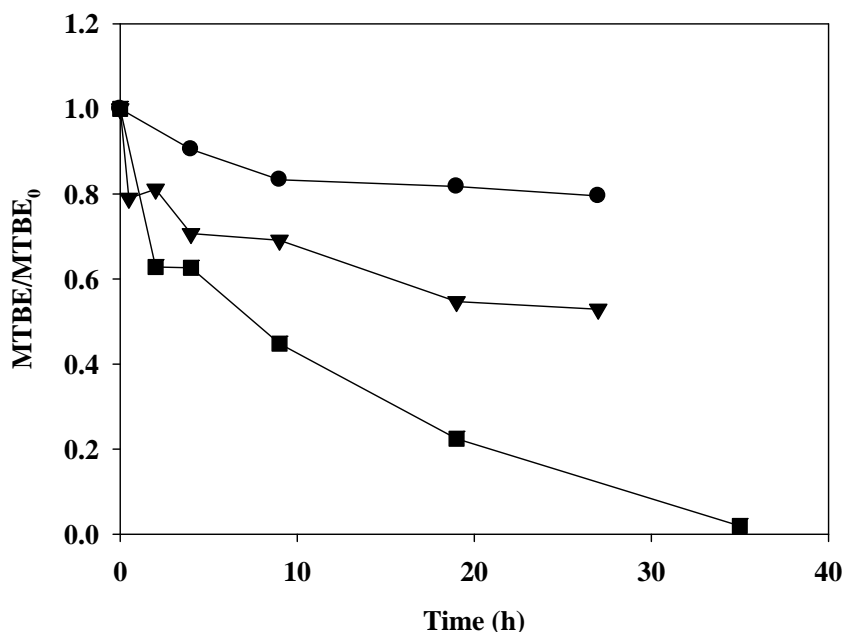
圖 4.6.4-1 不同吸附劑活化過硫酸鹽對 BTEX 降解結果

表 4.6.4-1 不同吸附劑劑量下過硫酸鹽降解 BTEX 降解速率常數

BTEX (mg/L)	Na ₂ S ₂ O ₈ (g/L)	吸附劑(g/L)	$k \times 10^{-2} (h^{-1})$	R ²
200	10	BF : 1	0.51	0.905
200	10	BOF : 5	0.57	0.911

4.6.5 不同過硫酸鹽濃度對 MTBE 降解之影響

氧化劑添加之劑量會直接影響污染物去除之效果，因此本研究探討不同氧化劑劑量對於 MTBE 去除效率之影響。此研究結果，將可提供未來氧化劑劑量決定之參考。圖 4.6.5-1 為不同過硫酸鹽濃度對 MTBE 之降解結果。本組實驗 MTBE 初始濃度約為 50 mg/L。由實驗結果顯示，添加不同過硫酸鹽濃度分別為 10 g/L 及 50 g/L 之實驗組別，在 19 小時反應時間內降解 MTBE 之去除率約各分別為 45 及 78%，其中以添加 50 g/L 過硫酸鹽實驗組降解最快，在約 35 小時之反應時間內 MTBE 已完全降解。本實驗結果顯示，過硫酸鹽濃度越高，MTBE 去除所需時間越短。表 4.6.5-1 為不同過硫酸鹽濃度對 MTBE 降解速率常數。實驗結果顯示，過硫酸鹽對 MTBE 之降解大致符合擬一階反應，過硫酸鹽濃度分別為 10 g/L 及 50 g/L 之 k 值，分別為 3.26×10^{-2} 及 $10.5 \times 10^{-2} h^{-1}$ ，如表 4.6.5-1 所示。



(● : MTBE control ; ▼ : Na₂S₂O₈=10 g/L ; ■ : Na₂S₂O₈=50 g/L ; [MTBE]=50 mg/L)

圖 4.6.5-1 不同過硫酸鹽濃度對 MTBE 降解之影響

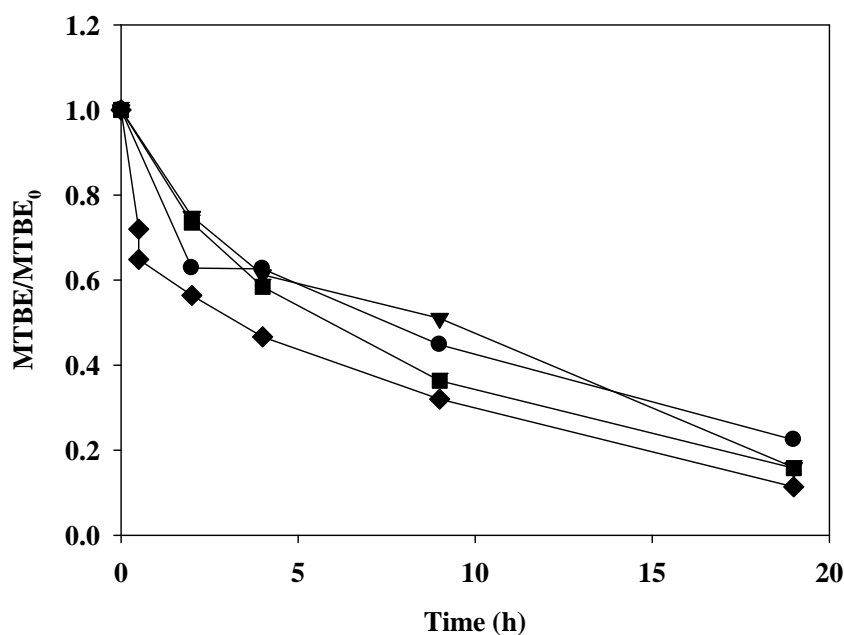
表 4.6.5-1 不同過硫酸鹽濃度下之 MTBE 降解速率常數

MTBE (mg/L)	Na ₂ S ₂ O ₈ (g/L)	$k \times 10^2$ (h ⁻¹)	R ²
50	10	3.26	0.9804
50	50	10.5	0.9604

4.6.6 轉爐石活化過硫酸鹽對 MTBE 降解之影響

本實驗以酸洗處理過之轉爐石添加於過硫酸鹽系統中，進行 MTBE 活化降解實驗。XRF 螢光光譜分析儀分析結果顯示，轉爐石之含鐵量約 37.67%。本組實驗 MTBE 初始濃度約 50 mg/L，固定過硫酸鹽濃度為 50 g/L，添加不同轉爐石劑量(0、1、5 及 20 g/L)於反應器中，評估不同轉爐石劑量添加對 MTBE 降解效果之影響。圖 4.6.6-1 為添加不同轉爐石劑量活化過硫酸鹽對 MTBE 降解之影響。實驗結果顯示，在轉爐石添加劑於 0、1、5 及 20 g/L 下，19 小時反應時間內 MTBE 降解效率分別為 78、84、84 及 83%。由圖中可知，單純只有氧化劑之實驗組與添加 1、5 g/L 之轉爐石劑量之組別降解效果相似，高爐石劑量須添加至 20 g/L 時，則能促進污染物之降解速率。

實驗結果顯示，添加高爐石有助於過硫酸鹽之活化，促進 MTBE 之降解，且添加劑量越高，降解效率越佳，其原因應為高爐石中所含之金屬物質如鐵作用所致。表 4.6.6-1 不同高爐石劑量下過硫酸鹽降解 MTBE 降解速率常數(k)。在轉爐石劑量 0 及 1 及 5 及 20 g/L 添加下，反應速率常數(k)值分別為 10.5×10^{-2} 、 9.16×10^{-2} 、 9.43×10^{-2} 及 $12.13 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$ 。



(● : BOF=0 g/L ; ▼ : BOF=1 g/L ; ■ : BOF=5 g/L ; ◆ : BOF=20 g/L ; [MTBE]=50 mg/L ; [Na₂S₂O₈]=10 g/L)

圖 4.6.6-1 添加不同轉爐石劑量活化過硫酸鹽對 MTBE 降解之影響

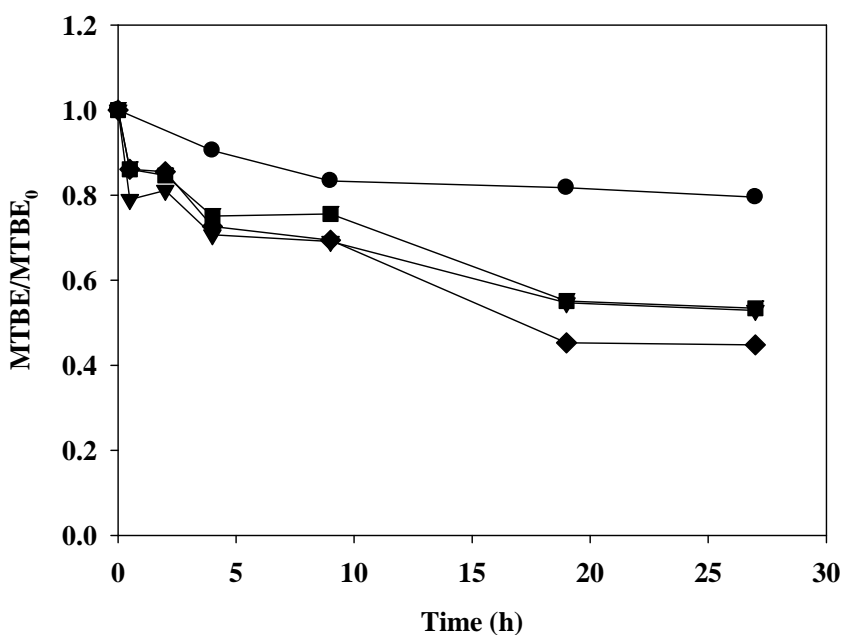
表 4.6.6-1 不同轉爐石劑量下過硫酸鹽降解 MTBE 降解速率常數

MTBE (mg/L)	Na ₂ S ₂ O ₈ (g/L)	BOF (g/L)	$k \times 10^{-2} (\text{h}^{-1})$	R ²
50	50	0	10.5	0.9604
50	50	1	9.16	0.9736
50	50	5	9.43	0.9902
50	50	20	12.13	0.8626

4.6.7 高爐石活化過硫酸鹽對 MTBE 降解之影響

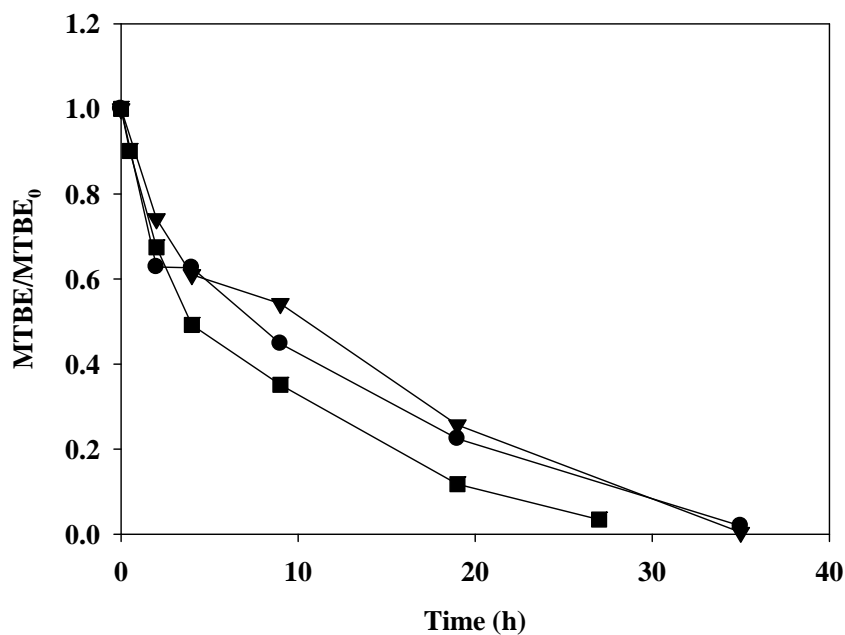
本組實驗 MTBE 初始濃度約 50 mg/L，固定過硫酸鹽濃度為 10 g/L，添加 5、10 g/L 之高爐石劑量於反應器中，評估高爐石添加劑量對 MTBE 降解效果之影響。

圖 4.6.7-1 為添加不同高爐石劑量活化過硫酸鹽對 MTBE 降解之結果。實驗結果顯示，在高爐石添加劑量 0、5 及 10 g/L 下，27 小時反應時間內 MTBE 降解效率分別為 47、47 及 55%。由圖中可知，單純只有氧化劑之實驗組與添加 5 g/L 之高爐石劑量之組別降解效果相似，高爐石劑量須添加至 10 g/L 時，則能促進污染物之降解。表 4.6.7-1 為不同高爐石劑量下過硫酸鹽降解 MTBE 降解速率常數(k)。在高爐石劑量 0、5 及 10 g/L 添加下，k 值分別為 1.97×10^{-2} 、 2.13×10^{-2} 及 $2.91 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$ 。圖 4.6.7-2 為添加不同高爐石及添加 5 g/L 過硫酸鹽對 MTBE 降解之結果。本組實驗 MTBE 初始濃度約 50 mg/L，固定過硫酸鹽濃度為 5 g/L，添加 0、1、20 g/L 之高爐石劑量於反應器中，評估不同高爐石劑量添加對 MTBE 降解效果之影響。實驗結果顯示，在高爐石添加劑量 0、1 及 20 g/L 下，19 小時反應時間內 MTBE 降解效率分別為 72、74 及 88 %。高爐石添加 20 g/L 時，MTBE 可於 27 小時反應時間完全降解完。表 4.6.7-1 不同高爐石劑量下過硫酸鹽降解 MTBE 降解速率常數。在高爐石劑量 0、1 及 20 g/L 添加下，k 值分別為 7.13×10^{-2} 、 6.55×10^{-2} 及 $10.79 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$ 。實驗結果顯示，添加高爐石可活化過硫酸鹽，促進 MTBE 之降解，其劑量需大於 10–20 g/L。



(●：MTBE control；▼：BF slag=0 g/L；■：BF slag=5 g/L；◆：BF slag=10 g/L；
[MTBE]=50 mg/L；[Na₂S₂O₈]=10 g/L)

圖 4.6.7-1 添加不同高爐石劑量活化過硫酸鹽對 MTBE 降解之影響



(● : BF slag=0 g/L ; ▼ : BF slag=1 g/L ; ■ : BF=20 g/L ; [MTBE]=50 mg/L ;
[Na₂S₂O₈]=50 g/L)

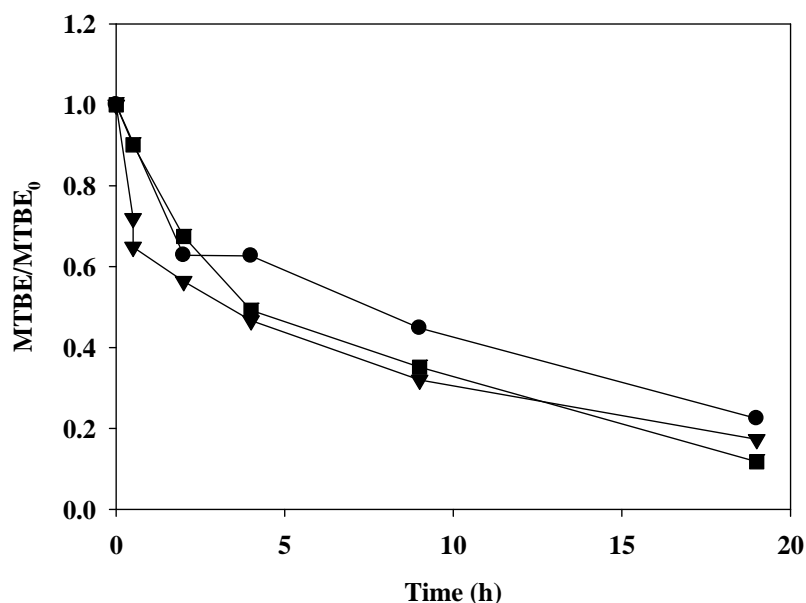
圖 4.6.7-2 加不同高爐石劑量活化過硫酸鹽對 MTBE 降解之影響

表 4.6.7-1 不同高爐石劑量下過硫酸鹽降解 MTBE 降解速率常數

MTBE (mg/L)	Na ₂ S ₂ O ₈ (g/L)	BF (g/L)	k×10 ² (h ⁻¹)	R ²
50	10	0	1.97	0.8345
50	10	5	2.13	0.9026
50	10	10	2.91	0.9216
50	50	0	7.13	0.9569
50	50	1	6.55	0.963
50	50	20	10.79	0.984

4.7 不同吸附劑活化過硫酸鹽實驗結果

為了解不同吸附劑活化過硫酸鹽對 MTBE 降解之影響，本研究選用低價吸附劑(高爐石、轉爐石)做為活化過硫酸鹽氧化 MTBE 之用。圖 4.7-1 為不同吸附劑活化過硫酸鹽對 MTBE 降解結果。實驗結果顯示，添加高爐石、轉爐石各 20 g/L 組別，在 19 小時反應時間內 MTBE 降解效率分別為 88 及 78%，降解成效相當。研究結果顯示，高/轉爐石對過硫酸鹽皆具有活化效果，未來將可做為過硫酸鹽氧化法應用於現地整治上之活化劑。



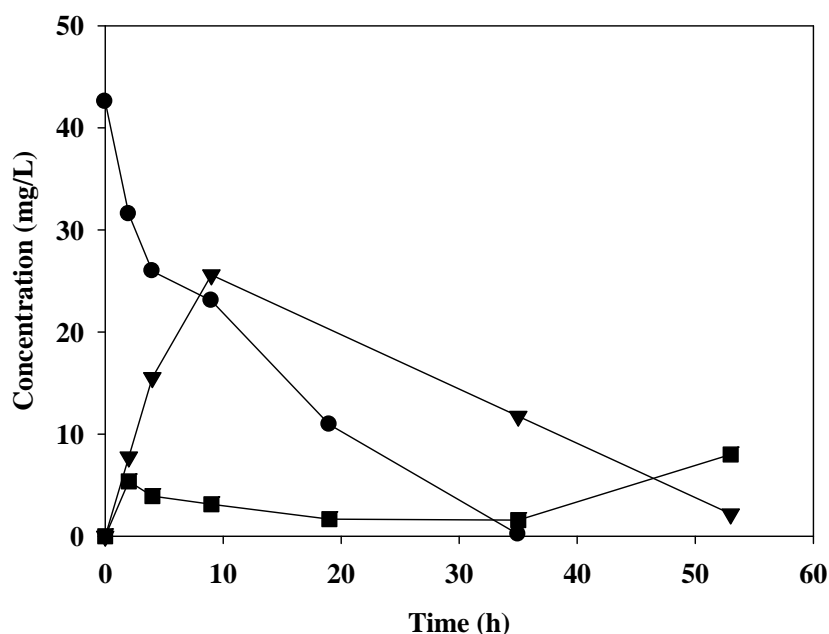
(● : Na₂S₂O₈=50 g/L ; ▼ : Na₂S₂O₈ 5%+BF slag 20 g/L ; ■ : Na₂S₂O₈ 5%+BOF slag 20 g/L ; [MTBE]=50 mg/L)

圖 4.7-1 不同吸附劑活化過硫酸鹽對 MTBE 降解結果

4.7.1 MTBE 降解副產物之生成及降解

MTBE 降解過程中會生成的主要副產物有 TBF 及 TBA 等。Huang (2002)研究結果顯示，TBA 及 TBF 是 MTBE 降解反應初期最先生成的副產物，同時隨著反應時間增長，中間產物也會受過硫酸鹽降解氧化。因此，本實驗針對 TBA 及 TBF 兩種 MTBE 的氧化副產物之生成及降解進行瞭解。

圖 4.7.1-1 為過硫酸鹽氧化 MTBE 及其降解副產物之反應情形。實驗結果顯示，當 MTBE 被過硫酸鹽降解時，可偵測 TBF 及 TBA 生成。當反應進行 9 小時後，TBA 生成達最高濃度約為 3.13 mg/L，TBF 則於反應 9 小時後分析得最高濃度值約為 25.6 mg/L。TBA 及 TBF 於系統中的含量隨反應時間增長而漸漸減少，顯示生成之 TBA 及 TBF 亦會被過硫酸鹽氧化去除。在實驗過程中發現，TBF 的濃度值大多較 TBA 高。一般而言，MTBE 被降解後，會先藉由酸催化水解反應產生 TBF，TBF 接著再水解成 TBA (Huang et al., 2002; Burbano et al., 2005)。但由於 TBF 之水解非常迅速，因此在系統中有時不易偵測到 TBF 之存在 (Church et al., 1999)。



(● : MTBE+BF slag=1 g/L ; ▼ : TBF ; ■ : TBA ; [MTBE]=50 mg/L ;
[Na₂S₂O₈]=50 g/L)

圖 4.7.1-1 過硫酸鹽氧化 MTBE 及其降解副產物之反應情形

4.8 設計長效性釋氧化劑物質及活化性釋氧化劑物質

本研究研發長效性釋氧化劑物質及活化性釋氧化劑物質可長期釋放過硫酸鹽之合成物質。由於吸附劑不但可吸附污染物且亦具有異相活化過硫酸鹽之作用，若能應用整治牆之原理，將吸附劑及過硫酸鹽混合，製成可長期緩慢釋放過硫酸鹽之合成物質，則此釋氧化劑物質所形成之整治牆，不但可延緩污染物流過之時間，亦可藉由異相活化作用有效去除污染物。本計畫將過硫酸鹽、水泥、砂、吸附劑(高爐石、轉爐石)及水以不同比例混合後，製成塊狀物，期能合成具上述功能之加強式釋氧化劑物質。在此半滲透性的合成物質中，過硫酸鹽為氧化劑；砂可增加此物質之孔隙率以利釋放過硫酸鹽；吸附劑除具有吸附及異相活化功能外，亦可取代砂增加孔隙率；水泥為凝結劑，用以凝結各種組成物。釋氧化劑物質之組成比例如表 4.8-1 所示。將合成後之塊狀物放置陰涼處 2-3 天將可完全乾燥，其合成物表面具有微孔隙，可有利於過硫酸鹽長期溶出釋放。

表 4.8-1 氧化劑物質中不同組成物比例表

組別	水泥	砂	水
A1	1	0	0.5
A2	1	0.5	0.5
A3	1	2	0.5
組別	水泥	高爐石	水
B1	1	0	0.5
B2	1	0.2	0.5
B3	1	0.5	0.5
組別	水泥	轉爐石	水
C1	1	0	0.5
C2	1	0.2	0.5
C3	1	0.5	0.5

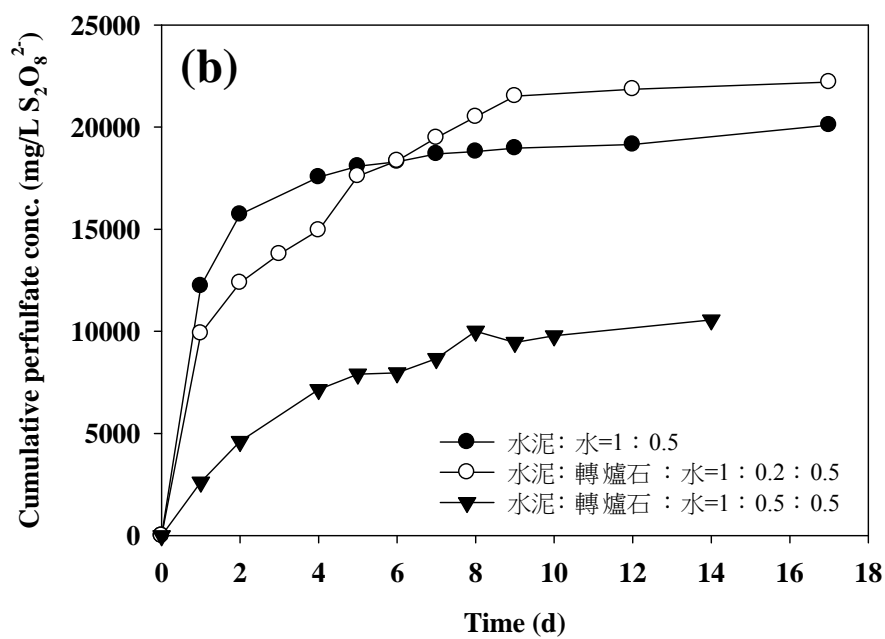
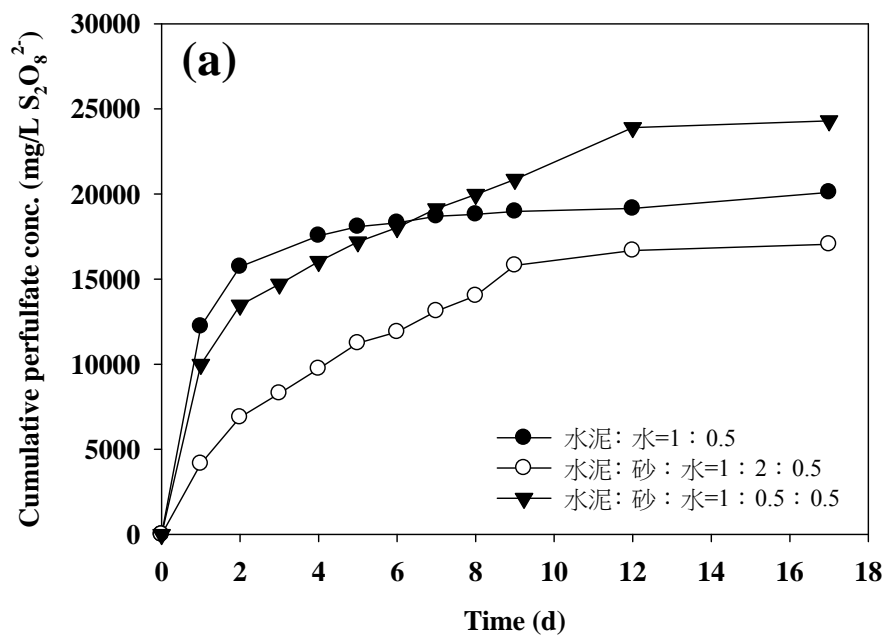
4.9 不同吸附劑之含量對合成物中氧化劑釋出及釋放速率之影響

表 4.9-1 為固定水泥及水含量之比例，調整不同吸附劑(高爐石及轉爐石)含量對過硫酸鹽釋放之影響，其累積釋放量如圖 4.9-1(a, b, c)。為瞭解釋氧化劑物質單位克合成物所釋放之過硫酸鹽濃度之變化，由圖 4.9-1(a, b, c)可得知，本實驗所有合成的氧化劑釋放物質，過硫酸鹽累積釋放時間可維持約 15 天以上，前 5 天過硫酸鹽之釋放量為最快，而後期過硫酸鹽釋放速率可達到穩定趨勢。

由表 4.9-1 不同比例釋放過硫酸鹽物質之總釋放速率結果可知，在不同吸附劑及氧化劑之配比下，以水泥/高爐石/水泥(1：0.2：0.5 及 1：0.5：0.5)之比例，釋放速率快及累積釋放大，未來可依此比例應用於現地整治。

表 4.9-1 不同比例釋過硫酸鹽物質之釋放速率

編號	水泥	砂	水	釋放速率 k (1g/day)	總釋放量(w/w)
A1	1	0	0.5	0.253	0.42
A2	1	0.5	0.5	0.180	0.48
A3	1	2	0.5	0.097	0.34
編號	水泥	高爐石	水	釋放速率 k (1g/day)	總釋放量(w/w)
B1	1	0.2	0.5	0.263	0.48
B2	1	0.5	0.5	0.264	0.48
編號	水泥	轉爐石	水	釋放速率 k (1g/day)	總釋放量(w/w)
C1	1	0.2	0.5	0.230	0.44
C2	1	0.5	0.5	0.359	0.40



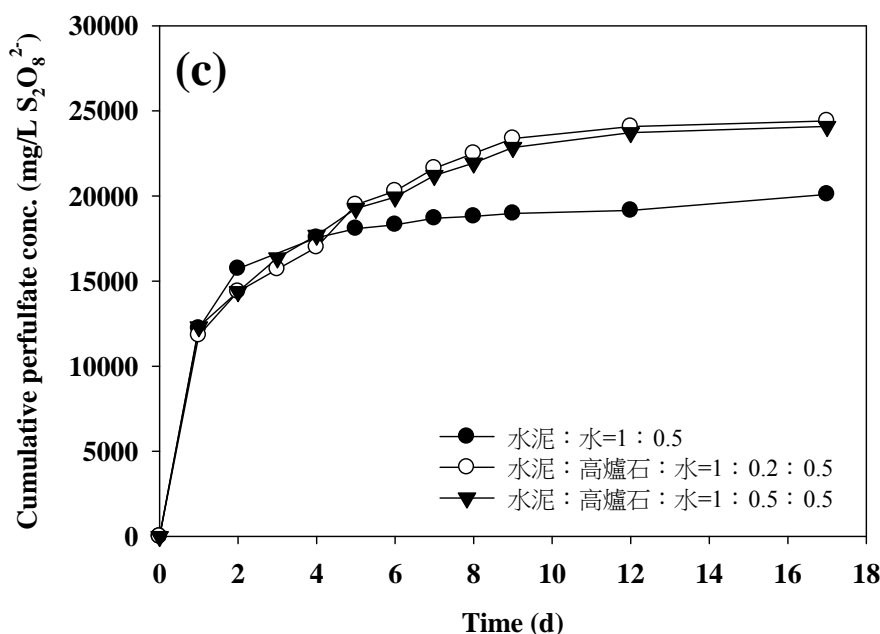


圖 4.9-1 不同吸附劑含量下釋放過硫酸鹽之濃度累積變化

4.10 管柱試驗

活化性釋氧化劑物質釋放批次試驗結果顯示，其最佳配比為 1：0.2：0.5(水泥：高爐石：水)，過硫酸鹽累積釋放量、釋放速率快且持久。而目前已有多位學者研究過硫酸鹽經由熱、金屬活化過硫酸鹽處理污染物(Navarro, et al., 2007; Mikkola, et al., 2008; Cao, et al., 2008; Salari, et al., 2008)，惟多數皆以實驗室批次試驗進行，而針對現地整治模擬評估方面較少。Liang et al. (2008)提出利用單純過硫酸鹽降解管柱中受 TCE 污染之地下水。在釋氧化劑整治牆方面，Lee and Schwartz (2007)曾利用砂粒-粉粒混合 CAIROX®-CR 合成釋高錳酸鉀物質(controlled-release KMnO_4 , CRP)進行砂箱試驗，但僅針對釋放效能評估，尚未進行實際氧化降解試驗。因此本研究以活化性釋氧化劑物質釋放批次試驗之結果，設計釋氧化劑物質整治牆管柱模擬試驗，模擬當現地地下水受 MTBE 及 BTEX 污染時之整治情形。

本研究以連續進流方式，進行管柱試驗(如圖 4.10-1 所示)。管柱 1、管柱 3 及管柱 4 中分別填充石英砂，而管柱 2 填充 200 g 釋氧化劑物質，做為氧化劑釋放區，管柱 3 及管柱 4 為反應區。研究中定義 1 PV 為供試地下水流經管柱之孔隙體積，其體積約為 202.3 mL。管柱基本操作參數(如表 4.10-1 所示)。



圖 4.10-1 連續式反應圖示

表 4.10-1 管柱基本操作參數

管柱編號	1	2	3	4
平均孔隙體積 (mL)	202.3	—	203	202
平均孔隙率	0.2	—	0.2	0.2
平均填充高度 (cm)	25	—	25	25
平均流量(mL/min)	0.8	0.8	0.8	0.8

註：符號 — 代表管柱；2 未填充石英砂，但填入釋氧化物質

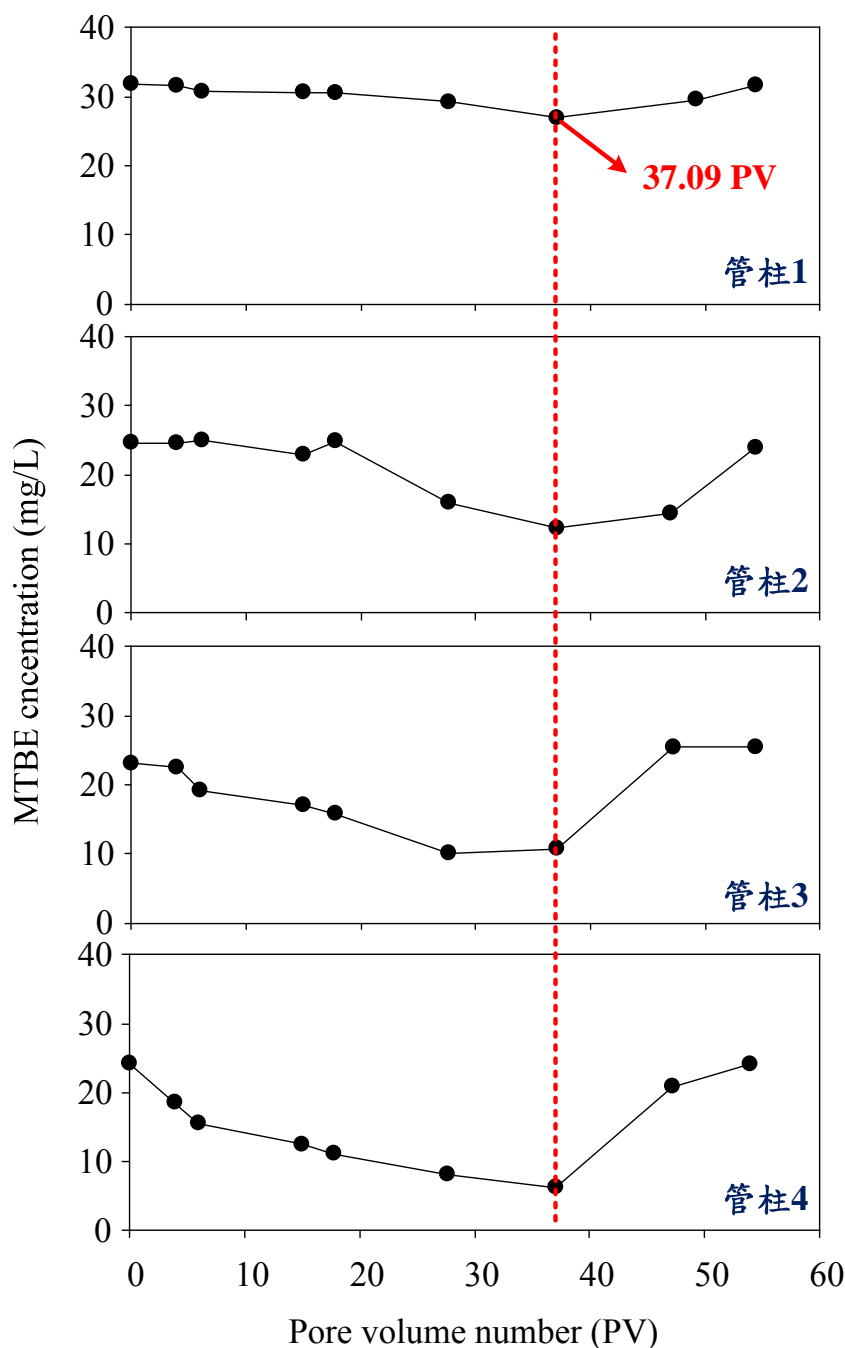
4.11 污染物降解效率評估

本研究主要為模擬釋氧化劑物質於地下含水層環境中持續釋放過硫酸鹽，處理上游受 MTBE 及 BTEX 污染之地下水，評估釋氧化劑物質於現地整治之效能。將合成之釋氧化劑物質填充於直徑為 5 cm、長度為 30 cm 之管柱中(圖 4.10-1)，進行管柱試驗。並設定管柱平均流量為 0.8 mL/min，管柱 1、3 及 4 之 HRT 各約為 4 小時，管柱 2 之 HRT 為 1.93 小時，因此通過管柱 2-4 之停留時間約為 10 小時。

4.11.1 MTBE 降解效率評估

由圖 4.11.1-1 MTBE 各管柱中降解濃度變化得知，管柱 1 為受污染背景區，其出流水濃度 MTBE 平均為 30 mg/L，MTBE 於管柱中污染物無降解趨勢。管柱 2 為釋氧化劑物質釋放區，當污染物流經此區，則立即與釋氧化劑物質釋放出之過硫酸鹽接觸而進行降解。而釋氧化劑物質釋放初期過硫酸鹽濃度較高，其反應速

率較快，當出流水於 37.09 PV 時，MTBE 於管柱 2、管柱 3 及管柱 4 去除率分別為 54%、60%及 77%，顯示氧化劑釋出足夠氧化污染物之濃度。管柱 2 至管柱 4 污染物濃度自 37.09PV 後開始回升，至 54.4 PV 後，氧化效率降低，MTBE 平均處理效率僅為 19%。



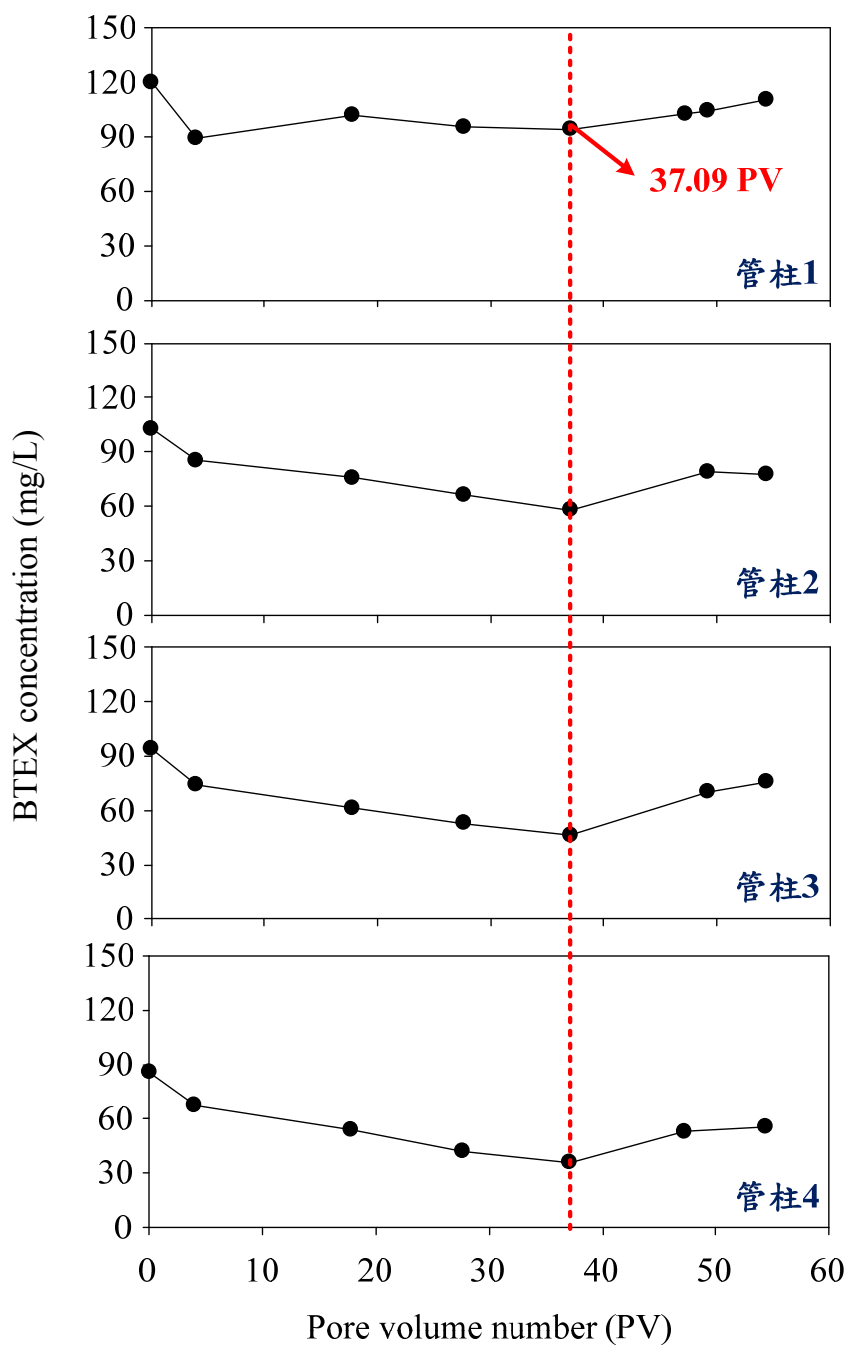
(管柱 1：受污染背景區；管柱 2：釋氧化劑物質釋放區；管柱 3-4：氧化反應區)

圖 4.11.1-1 MTBE 各管柱中將解濃度變化

4.11.2 BTEX 降解效率評估

圖 4.11.2-1 BTEX 各管柱中降解濃度變化得知，管柱 1 為受污染背景區，其出流水濃度 BTEX 總平均為 115 mg/L，圖中顯示 10 PV 內，BTEX 於管柱中吸附效果明顯，污染物有下降趨勢，但於 10 PV 後趨於平緩。管柱 2 為釋氧化劑物質釋放區，當污染物流經此區，則立即與釋氧化劑物質釋放出之過硫酸鹽接觸而進行降解。而釋氧化劑物質釋放初期過硫酸鹽濃度較高，其反應速率較快，當出流水於 37.09 PV 時，管柱 2、管柱 3 及管柱 4 去除率分別為 38%、51%及 62%，顯示氧化劑釋出足夠氧化污染物之濃度。管柱 2 至管柱 4 污染物濃度自 37.09PV 後開始回升，至 54.4 PV 後，氧化效率降低，平均處理效率僅為 21%。

綜合 MTBE 及 BTEX 降解結果得知，管柱內釋氧化劑物質之氧化能力約可維持 6 天，後續隨著釋氧化劑物質釋出過硫酸鹽濃度的衰退，伴隨著氧化劑氧化降解污染物能力隨之下降，相對污染物濃度有逐漸上升之趨勢。本實驗結果與釋氧化劑物質釋放反應天數不一樣，推測可能原因為流量過快，造成釋氧化劑物質與過多的水反應，未來可將流量調低，以確實評估釋氧化劑物質於地表下之釋放能力。此外，也因流量較大之因素，使得過硫酸鹽與污染物在管柱內之反應時間較短，影響污染物之降解。惟此現象在現地應用上應較無疑慮。因在現地應用時，當過硫酸鹽釋放後，即會與污染物在釋放區及下游持續反應，將污染物降解去除。實驗結果顯示，本研究合成之活化性釋氧化劑物質，可有效降解 MTBE 及 BTEX，未來可應用於受污染地下水之現地整治。



(管柱 1：受污染背景區；管柱 2：釋氧化劑物質釋放區；管柱 3-4：氧化反應區)

圖 4.11.2-1 BTEX 各管柱中將解濃度變化

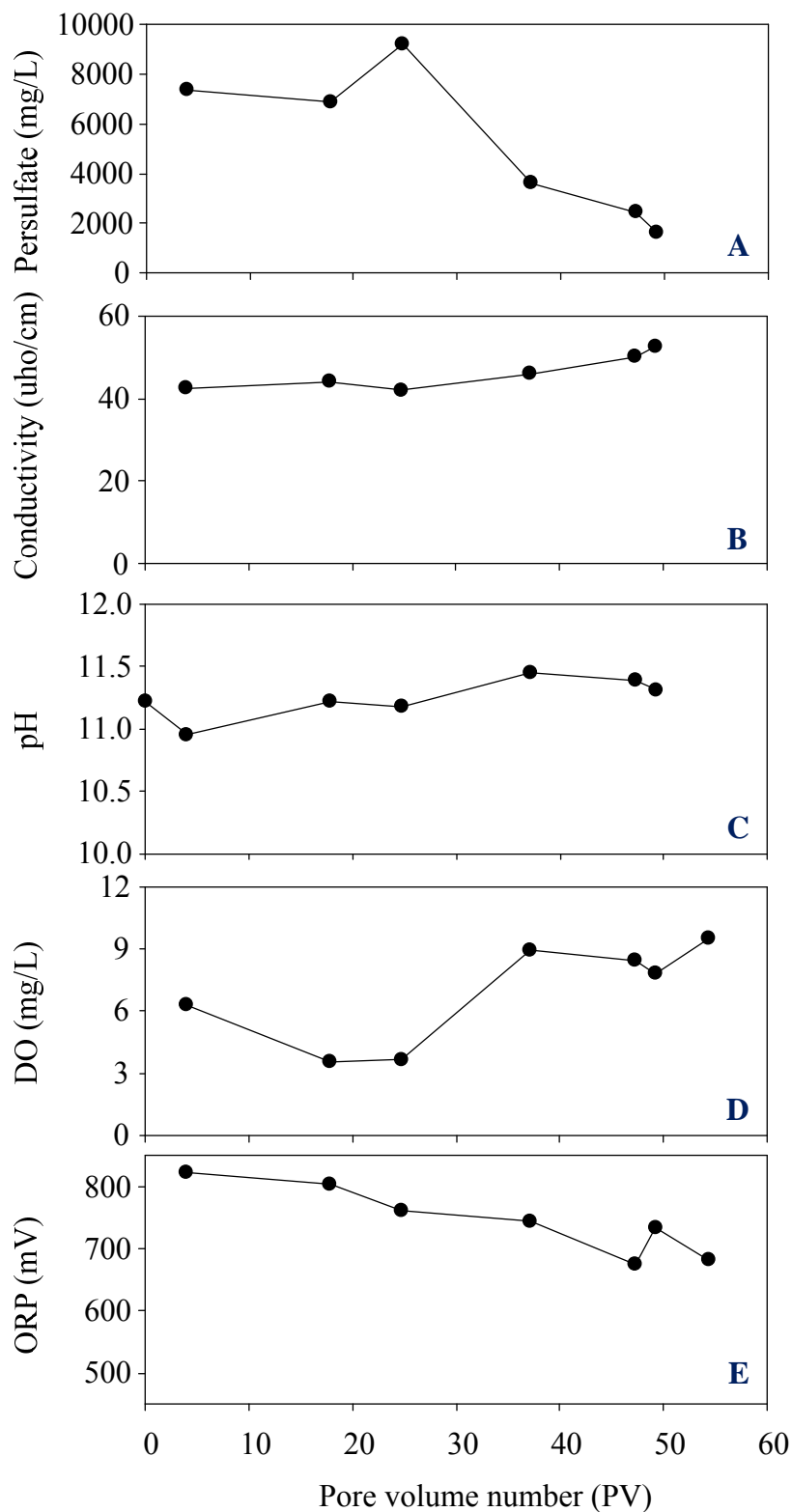
4.11.3 出流水之殘餘過硫酸鹽與其他水質參數之關係

本研究在管柱試驗中，監測不同 PV 數出流水(管柱 4)中過硫酸鹽濃度、ORP、pH 及導電度，瞭解釋氧化物化劑物質所釋出後之各種水質參數及過硫酸鹽濃度變化

情形(如圖 4.11.3-1 所示)。圖 4.11.3-1(A)為過硫酸鹽濃度變化趨勢圖，由圖得知，釋氧化劑物質初期釋量大且濃度高，3.8 PV 時過硫酸鹽濃度可達至 9,217 mg/L，有助於 MTBE 及 BTEX 之降解。而於 25 PV 後，過硫酸鹽釋放濃度即開始降低，至約 50 PV 時，濃度約為 2,000 mg/L。與 MTBE 及 BTEX 之降解圖對照可知，管柱內 MTBE 及 BTEX 在 30 PV 後，即有濃度回升之現象，此污染物濃度之回升與過硫酸鹽濃度之下降趨勢吻合。圖 4.11.3-1(B)為管柱實驗出流水之導電度變化，導電度高低與水中離子濃度有關，過硫酸鹽釋放後，導電度亦隨之升高，此原因應為過硫酸鹽分解所造成。

圖 4.11.3-1(C)為 pH 變化圖，過硫酸鹽氧化反應會造成環境迅速成為強酸狀態 ($\text{pH} < 3$)，而管柱試驗中由於釋氧化劑物質係由水泥合成，因此 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 會於水中產生使 pH 上升，因此管柱中之 pH 值約為 11(呈鹼性)狀態下。此結果與釋氧化劑物質釋放批次實驗所監測之 pH 值為鹼性符合，因此污染物之氧化應為異相催化所造成。此外，pH 之提升亦可避免過硫酸鹽應用時，金屬溶出之問題。惟未來仍應針對釋氧化劑物質進行改良，使釋放後之 pH 值維持在中性，降低對地下環境之影響。

圖 4.11.3-1(D)為溶氧變化圖，由圖中得知，溶氧於實驗期間，皆持續存在，其濃度介於 3-9 mg/L 間。圖 4.11.3-1(E)為 ORP 變化圖。由圖中得知，3.96 PV 時 ORP 值約 822 mV，之後氧化還原電位隨著管柱中釋氧化劑物質所釋出過硫酸鹽濃度降低而變低，但仍一直維持高 ORP (650 mV)以上，因此可證實本實驗處於氧化狀態，未來 ORP 測定於現場測定過硫酸鹽具有相當參考價值，可做為簡易即時監測控現地狀態。



(A)過硫酸鹽；(B)導電度；(C) pH；(D) DO；(E) ORP

圖 4.11.3-1 殘留過硫酸鹽與其他水質參數比較

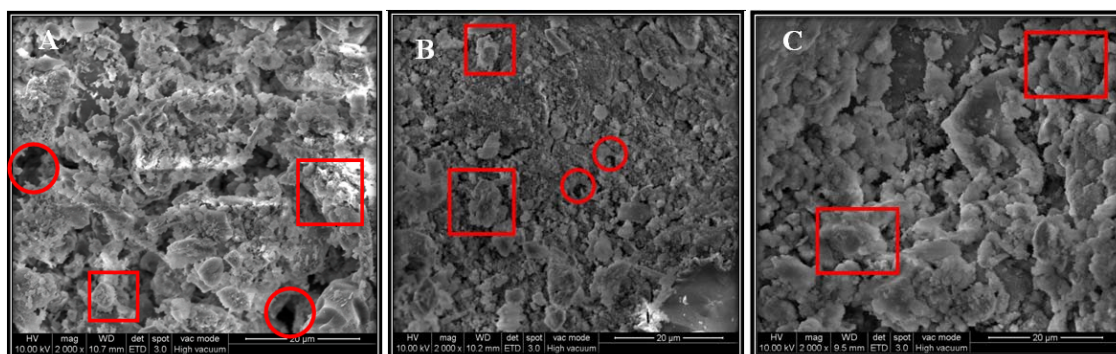
4.12 吸附特性分析

為瞭解本研究所使用之吸附劑吸附前後及及釋氧化劑物質釋放前後的特性，本研究針對以下項目進行分析：(1) SEM；(2) EDS 分析等。

4.12.1 爐石表面結構

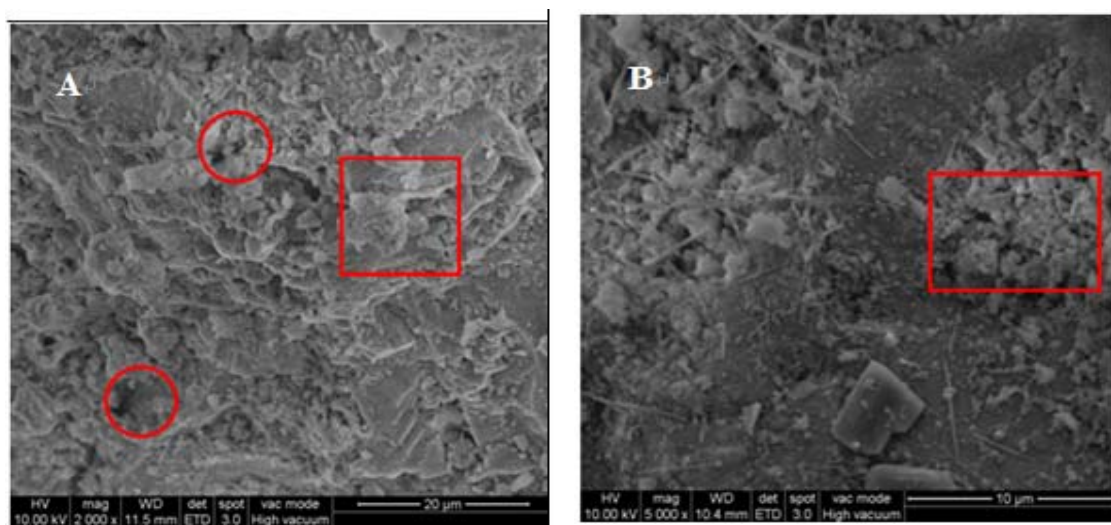
本研究利用不同吸附劑(高/轉爐石)經過酸洗程序及氧化前後表面結構、元素種類及含量之變化，由環境掃描式電子顯微鏡拍攝表面結構影像(SEM)，並以 EDS 分析吸附劑之元素定性與定量分析。

由圖 4.12.1-1(A)可發現未處理之高爐石表面粒徑大、孔隙多、透水性大，且含有金屬雜質。在 4.10.1-1(A)圖中可以明顯看出，高爐石具有許許多多的大小孔隙(橢圓標示)，也有疑似金屬氧化物的顆粒(矩形標示)存在。而經酸洗程序後之高爐石表面雜質有減少之現象如圖 4.12.1-1(B)。活化氧化後之高爐石表面有膠結現象如圖 4.12.1-1(C)，其原因可能為：(1)污染物附著在表面上；及(2)高爐石表面結構被氧化劑破壞。圖 4.10.1-2 為轉爐石 SEM 圖。轉爐石表面具有微小孔隙、透水性及抗壓力性並有團聚現象(如圖 4.12.1-2(A))，而過硫酸鹽氧化後轉爐石表面結構受到破壞(如圖 4.12.1-2 (B))。



(A)未處理；(B)經 5%HCl 酸洗；(C)過硫酸鹽氧化(放大 2000 倍)

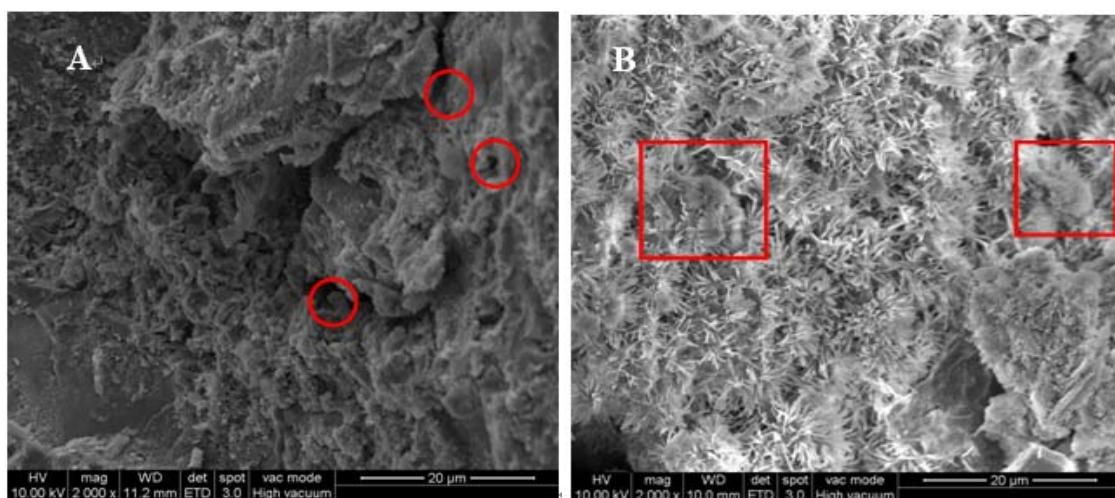
圖 4.12.1-1 高爐石 SEM 圖



(A)未處理；(B)過硫酸鹽氧化之轉爐石 SEM 影像(放大 2000 倍)

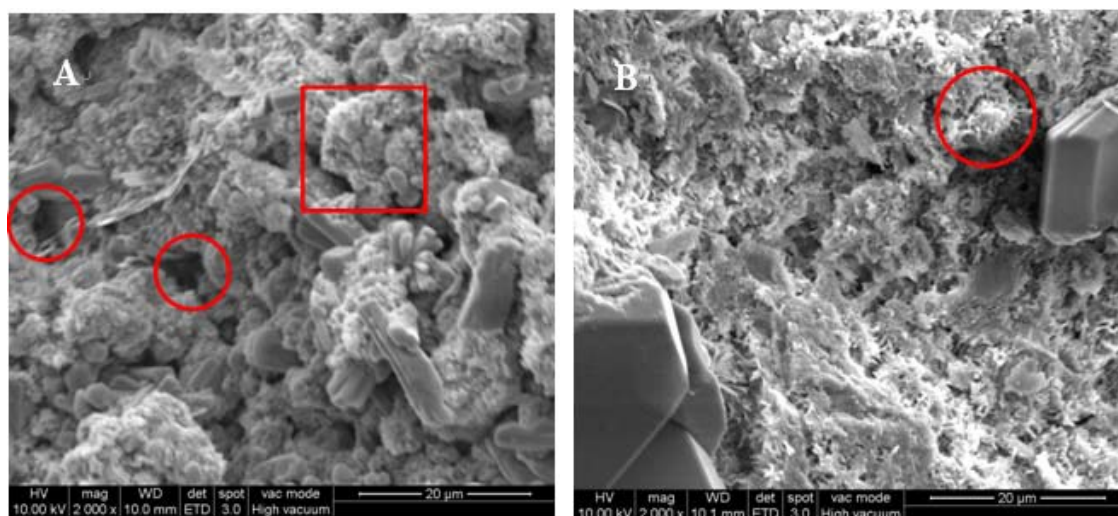
圖 4.12.1-2 轉爐石 SEM 圖

為瞭解釋氧劑物質釋放氧化劑前後表面型態，本研究利用 SEM 觀察添加高/轉爐石之釋過硫酸鹽物質之表面型態。圖 4.12.1-3(A)為釋氧化劑物質(水泥+高爐石過硫酸鹽)尚未使用前之表面型態，由圖中發現未釋放之釋氧化劑物質表面有些小孔洞，表面呈平滑。含高爐石之釋氧化劑物質與水接觸釋放過硫酸鹽後，表面結構如圖 4.12.1-3(B)所示，可觀察出表面孔洞較多，代表過硫酸鹽已完全釋放。此外，表面可能具有針刺球狀的 C-S-H 膠體。圖 4.12.1-4(A)為釋氧化劑物質(水泥+轉爐石+過硫酸鹽)尚未使用前之表面型態，由圖中發現未釋放之轉爐石表面有微小孔洞及膠結現象。而轉爐石釋放後之表面結構示(如 4.12.2-4(B))，可觀察出表面具有針刺狀(李春雄，2002)。因水泥本身含有 CaO 成份在有水的環境下，則會進行水化反應，生成許多水化產物(如 C-S-H、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 、鈣矽石或單硫鋁鈣水化物等(矩形標示)(李春雄，2002)。



(A)未釋放；(B)釋放後(放大 2000 倍)

圖 4.12.1-3 釋過硫酸鹽物質 SEM 晶相圖(添加高爐石)



(A)未釋放；(B)釋放後(放大 2000 倍)

圖 4.12.1-4 釋過硫酸鹽物質 SEM 晶相圖(添加轉爐石)

4.12.2 表面元素分析(EDS)

圖 4.12.2-1 及 4.12.2-2 為高爐石及轉爐石之表面元素分析圖譜。分析結果顯示，表面除基本元素 C、O 及 Si 外，另含有 Fe、Ni、Na、Mg、Al、Mo、Ca 等金屬。此結果與 XRF 分析之結果類似，尤其是鐵的存在亦證實爐石的異相活化潛力。

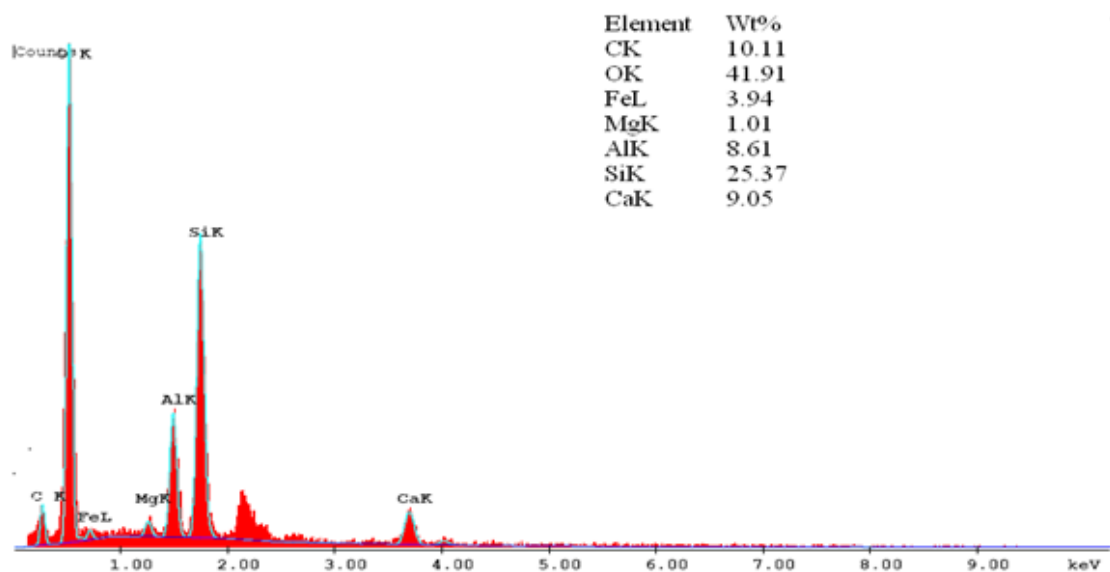


圖 4.12.2-1 高爐石 EDS 圖譜

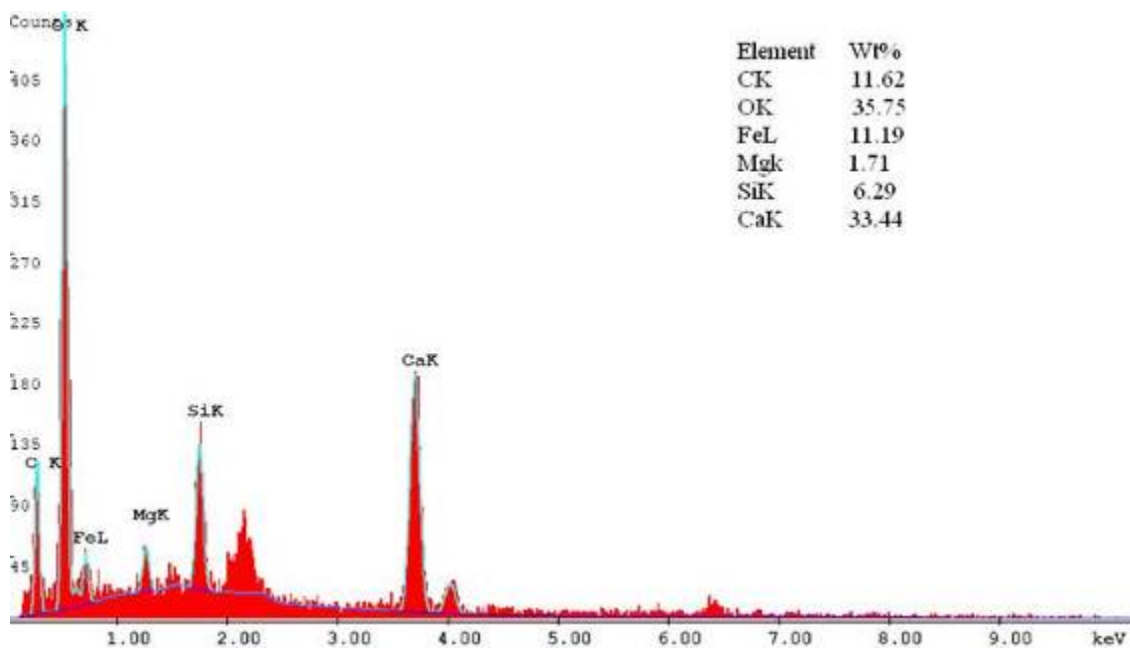


圖 4.12.2-2 轉爐石 EDS 圖譜

4.12.3 吸附劑之溶出試驗

本試驗以感應耦合電漿原子發射光譜儀(inductively coupled plasma optical emission spectrometry, ICP-OES)分析高爐石、轉爐石於過硫酸鹽結合後，處理 MTBE、BTEX 溶液中之重金屬含量。表 4.12.3-1 為高爐石、轉爐石於過硫酸鹽結

合下溶出之金屬含量。由表 4.12.3-1 中得知，本研究所使用高爐石、轉爐石與過硫酸鹽結合下之溶液中溶出之金屬中未偵測出 Cr、Zn 等金屬；而至於銅的部份，則由於銅本身亦可活化過硫酸鹽，微量溶出有助於污染物之移除。

表 4.12.3-1 不同吸附劑與過硫酸鹽結合下之溶出之金屬含量

吸附劑	Mn	Fe	Cr	Zn	Cu
高爐石(mg/L)	0.29	0.22	--	--	0.27
轉爐石 (mg/L)	0.60	0.24	--	--	--
偵測極限(μg/L)	1.5	2.5	2.5	1.5	3

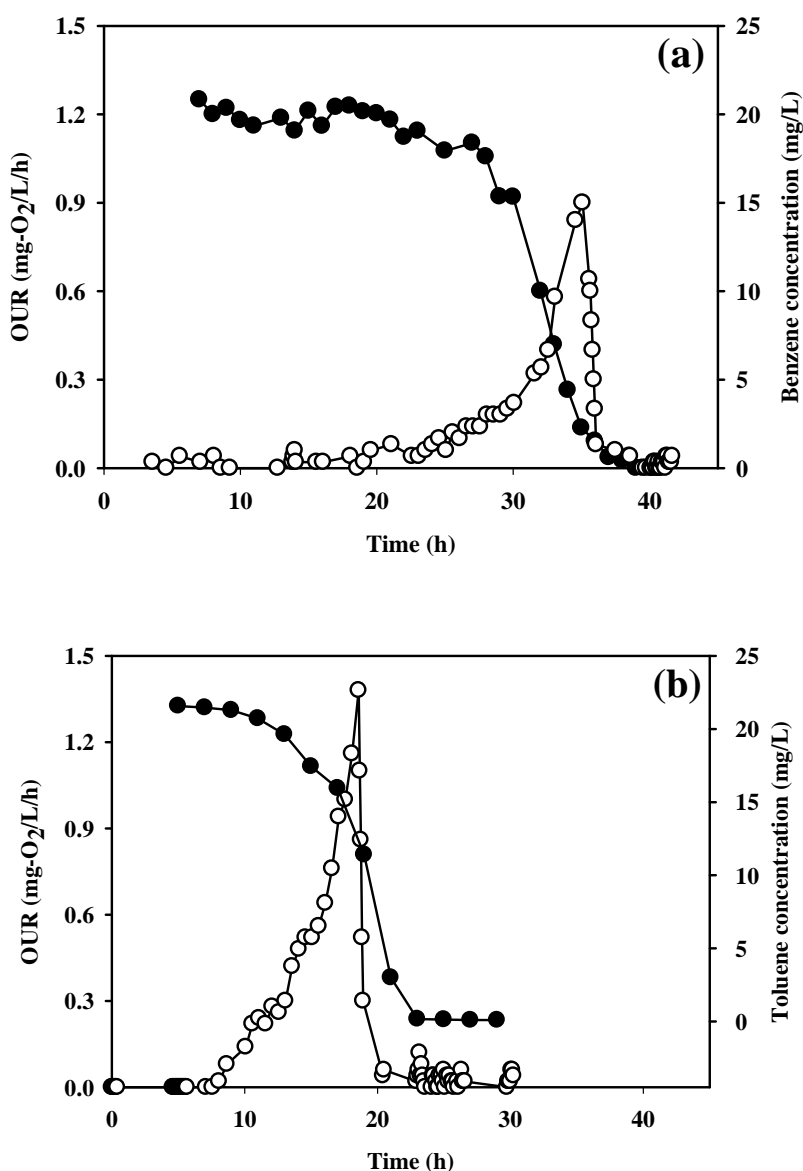
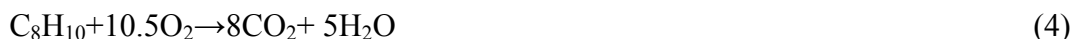
註： -- 未偵測出之重金屬成分

4.13 固定化菌體顆粒降解 BTEX 之攝氧能力分析

為了使攝氧試驗之反應槽體內 DO 形成一穩定狀態，於初始監測階段(未投入固定化菌體顆粒與添加基質)時，預先監測 0–10 小時之 DO 變化，確保放入之顆粒與基質添加後，溶氧之變化係來自於生物降解而非空氣中氧氣所造成，或者來自於水體中之 DO 未達平衡等物理因素所造成之 DO 變化。OUR 實驗結果如圖 4.13-1 所示，圖中分別為以固定化菌體顆粒分解濃度各為 20 mg/L 之苯、甲苯、乙苯、二甲苯之 OUR 結果；由圖 4.13-1 可知，就苯而言，經 7 小時瓶內之 DO 達平衡後，苯於 13 小時前會產生遲滯期現象，之後快速於 19 小時內將苯完全分解完畢。就 OUR 變化結果得知，當固定化菌體顆粒與苯投入後 11–16 小時期間(DO 監測第 18–23 小時期間)中，瓶內固定化菌體顆粒開始逐漸有攝氧現象產生，爾後再經由 6 小時之監測結果發現，當苯開始被利用時，其 OUR 經線性回歸後求得為 0.0233 mg-O₂/L/h，待苯進入快速分解期時，攝氧速率隨時間遞增而大幅提升至最高值為 0.9 mg-O₂/L/h；當苯隨之被固定化菌體顆粒分解完畢時，槽體內之固定化菌體顆粒，因可利用之基質僅存不多，以至於攝氧速率逐漸下降，最後待基質完全被利用完畢後，OUR 變化即恢復至初始未投入固定化菌體顆粒階段。其餘甲苯、乙苯及二甲苯，則皆有類似之趨勢，其最大 OUR 分別為 1.38 mg-O₂/L/h (甲苯)、0.62 mg-O₂/L/h (乙苯)，以及 0.96 mg-O₂/L/h (二甲苯)。

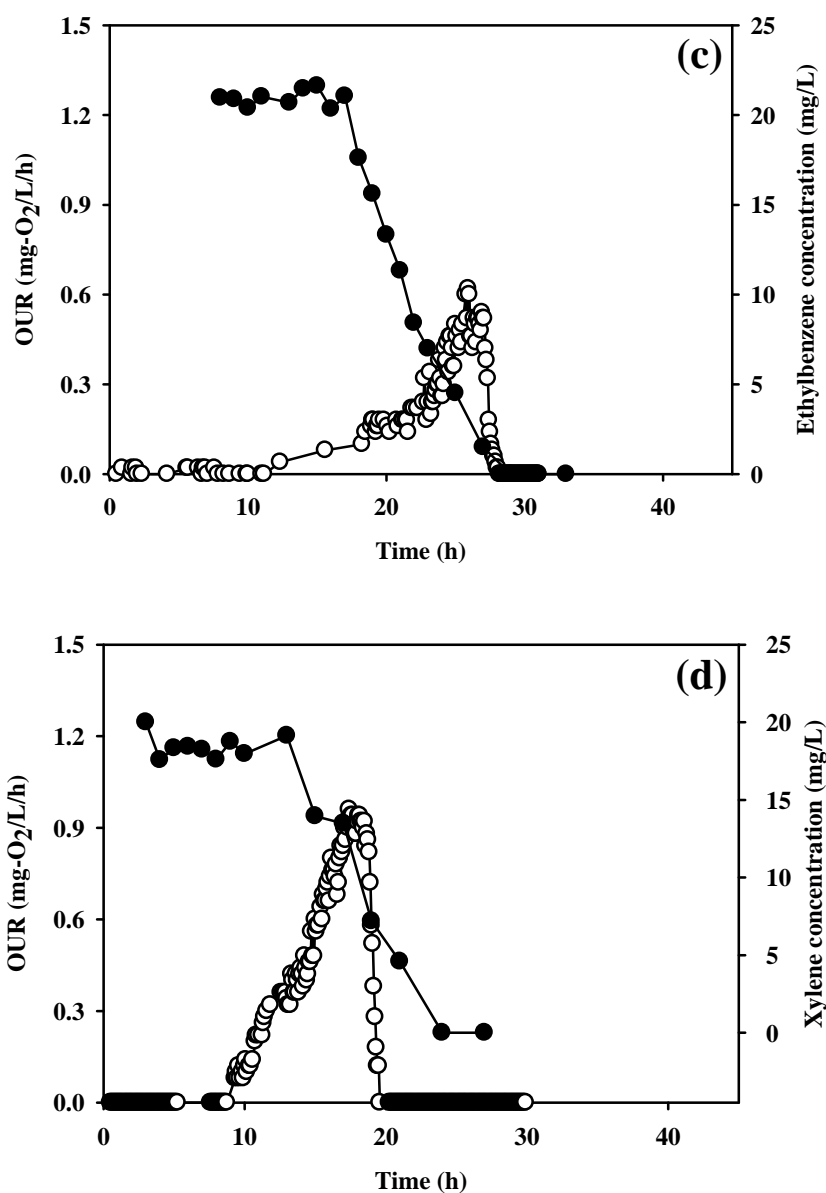
若以理論 BTEX 於好氧條件下達完全礦化成二氧化碳與水時，根據反應式(2)至(5)之計算，每分解 1 莫耳之苯、甲苯、乙苯、二甲苯，分別需要 7.5、9、10.5 及 10.5 莫耳之氧氣，即每礦化 1 mg 之 BTEX，分別需要 3.07–3.17 mg 之氧氣。然而因 OUR 實驗中之 BTEX 濃度皆為 20 mg/L，故於理論上應消耗 61.4–63.4 mg 之氧氣量，但由實驗結果得知，苯、甲苯、乙苯、二甲苯僅分別消耗了 6.65、6.58、3.66 及 7.22 mg 之氧氣，由此結果判斷，BTEX 於瓶內應未達完全礦化，可能僅以

副產物方式殘存於瓶內，但 CHXY119 菌株與 YATO411 菌株可能因無法將所產生之副產物進一步礦化，或尚在適應未知副產物之階段，以至於溶氧於 BTEX 分解後即不再下降。



Benzene (a) ; toluene (b) ; ethylbenzene (c) ; xylene (d) ; 各基質濃度變化(●) ; OUR 攝氧率變化(○)

圖 4.13-1 固定化菌體顆粒降解 BTEX 之攝氧能力變化(1/2)



Benzene (a) ; toluene (b) ; ethylbenzene (c) ; xylene (d) ; 各基質濃度變化(●) ; OUR 攝氧率變化(○)

圖 4.13-2 固定化菌體顆粒降解 BTEX 之攝氧能力變化(2/2)

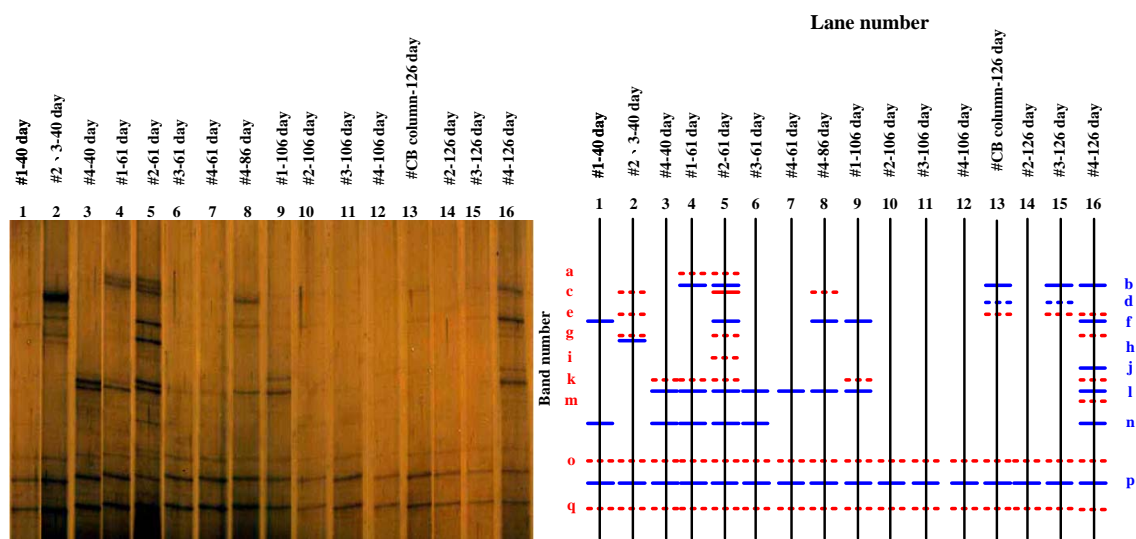
4.14 透水性釋氧反應牆後端結合固定化菌體顆粒之 DGGE 菌群結構分析

於 PRB 系統末端額外銜接一固定化菌體顆粒之 PVC 管柱系統，如圖 3.8-1 所示，係將固定化菌體顆粒管柱架設於 PRB 系統之末端，並填充 150 g 之固定化菌體顆粒，以堆疊方式填充於管柱中。本研究係採用分子生物技術方法中之 DGGE

技術，於不同污染濃度之操作條件，探討 PRB 系統中各監測井(井 1、井 2、井 3、井 4 及固定化菌體顆粒管柱)內之現地混合菌種類消長情形，各階段採樣之樣本敘述彙整如表 4.14-1。由 DGGE 分析結果得知(圖 4.14-1)，lane 1 為 PRB 系統第 40 天採集井 1 缺氧區之生物樣本，從中發現菌種種類有 band f、n、o、p 及 q 等出現。再經由後續將污染物濃度提高後，則由 lane 4 (第 61 天採集井 1 缺氧區之生物樣本)中獲知，當進流 B、T、E、X 濃度分別由 19.34、19.45、18.96、19.34 mg/L 提高至 28.89、29.05、28.33、28.89 mg/L 時，此時出現額外之菌種，如 band a、b、k 及 l。爾後再經由 45 天後之長期穩定監測結果得知，於第 106 天採集井 1 缺氧區之生物樣本(lane 9)，僅出現菌種如 band f、k、l、o、p、q，最後經由第 126 天採集井 1 缺氧區之生物樣本(lane 14)，僅剩下 band o、p、q。經由釋氧牆後端之井 2、井 3 及井 4 之菌相變化得知，lane 2(為第 40 天採集釋氧牆後端之井 2、井 3)與 lane 3(為第 40 天採集釋氧牆後端之井 4)之優勢菌種為 band c、e、g、h、k、l、o、p、q；而經由後續污染物濃度提高之初期，系統內 lane 5 (井 2)、lane 6 (井 3)及 lane 7 (井 4)之 bands 相較濃度未提高前(lane 2 與 lane 3)，其中 band e、h、k 已消失，此消失可能肇因於初始提高系統內 BTEX 濃度，導致菌群無法適應環境而造成菌種死亡所致。lane 8 為第 75 天採集釋氧牆後端井 4 處，此時可看出菌種 band g、i 逐漸消失於釋氧牆下游處，爾後再經過第 106 天採集釋氧牆後端井 2 (lane 10)、井 3 (lane 11)、井 4 (lane 12)及固定化菌體顆粒處(lane 13)，菌種 band c、f、k、l 已完全消失，但額外形成 band d 為優勢菌；最後則於第 126 天採集釋氧牆後端井 2 (lane 15)、井 4 (lane 16)處，釋氧反應牆最終優勢菌群於井 2 處為菌種 band b、d、e；井 4 處為菌種 band b、e、f、g、j、k、l、m、n、o、p、q，其中 band o、p、q 一直為釋氧牆中之優勢菌群。

表 4.14-1 透水性釋氧反應牆後端結合固定化菌體顆粒之 DGGE 樣本敘述

Lane	採樣點
1-3	本試驗之污染物 B、T、E、X 濃度分別 19.32、19.51、19.85 及 19.29 mg/L，並於 PRB 系統中，長期連續試驗與監測於至第 40 天後，採集位於缺氧區之井 1 (lane 1)生物樣本，以及位於好氧區之生物樣本，取樣點分別為井 2 與井 3 混合樣本(lane 2)，以及井 4 (lane 3)區域之樣本。
4-7	本試驗為接續上述濃度持續進行至第 61 天後，將 B、T、E、X 濃度分別提升至 28.89、29.05、28.33 及 28.89 mg/L，並採集位於缺氧區之井 1 (lane 4)生物樣本，以及位於好氧區之生物樣本，分別為井 2 (lane 5)、井 3 (lane 6)，以及井 4 (lane 7)區域之樣本。
8	本試驗為接續上述濃度持續進行至第 86 天後，B、T、E、X 濃度分別維持於 28.89、29.05、28.33 以及 28.89 mg/L，採集位於井 4 (lane 8)好氧區之生物樣本。
9-13	本試驗為接續上述濃度持續進行至第 106 天後，B、T、E、X 濃度分別維持於 28.89、29.05、28.33 以及 28.89 mg/L，採集位於缺氧區之井 1 (lane 9)生物樣本、好氧區之生物樣本，分別為井 2 (lane 10)、井 3 (lane 11)、井 4 (lane 12)區域之樣本，以及銜接固定化菌體顆粒之樣本(lane 13)。
14-16	本試驗為接續上述濃度持續進行至第 126 天後，B、T、E、X 濃度分別維持於 28.89、29.05、28.33 以及 28.89 mg/L，採集位於缺氧區之井 1 (lane 14)生物樣本、好氧區之生物樣本，分別為井 2 (lane 15)、井 4 (lane 16)區域之樣本。



註：Band 的代碼為 a, c, e, g, i, k, m, o, q 以紅色虛線(-----)表示；band 的代碼為 b, d, f, h, j, l, n, p 以藍色實線(——)表示。

圖 4.14-1 透水性釋氧反應牆後端結合固定化菌體顆粒之 DGGE 菌群結構變化

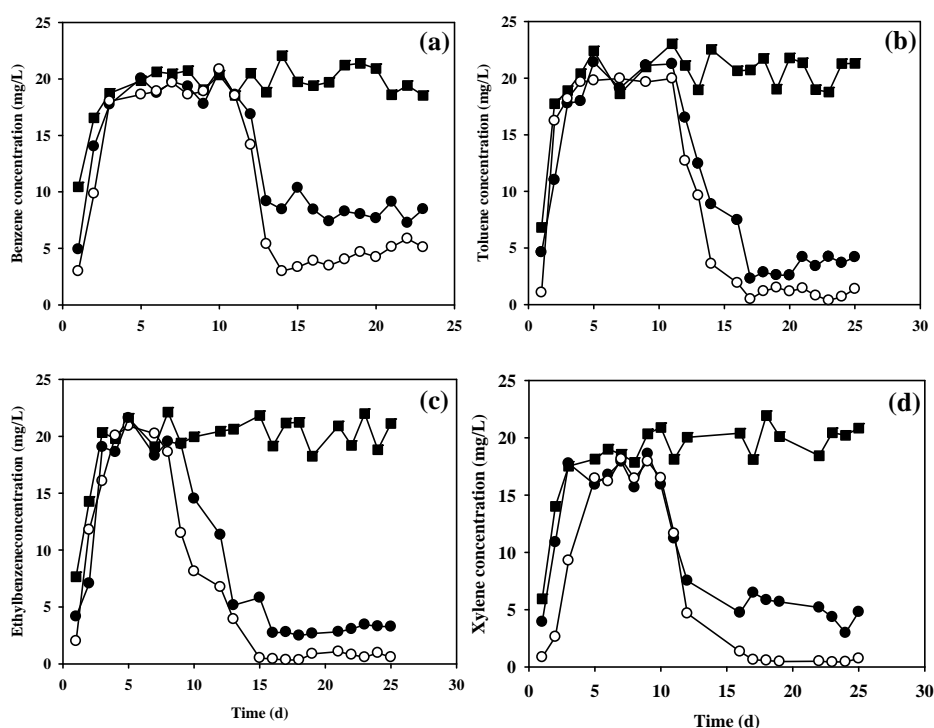
4.15 釋氧型固定化菌體顆粒投入於管柱中進行不同 BTEX 濃度之生物降解

本研究係將 *Mycobacterium* sp. CHXY119 與 *Pseudomonas* sp. YATO411 以共同混合方式，將兩菌株混合後包埋於 PVA 固化劑材料所製成釋氧型固定化菌體顆粒 (ORCB)，並將 ORCB 投入於長與直徑分別為 80 cm 與 10 cm 之圓柱型管柱，如圖 3.2.2-1 所示。試驗時，係將含有 10% CaO_2 之 ORCB 投入於圓柱型管柱中之 D 區位置，並將進流流速設定為 5 ml/min、HRT 為 0.375 day，模擬於 ORCB 投入後所形成好氧條件下，評估微生物降解不同 BTEX 濃度之去除效率。試驗進行時，BTEX 總濃度分別設定為 20 mg/L、40 mg/L、80 mg/L 以及 120 mg/L (各單一物質濃度比為 1:1:1:1 (v/v)) 條件下，將已包埋 CHXY119 與 YATO411 菌株投入於圓柱型管柱中進行降解測試，其降解變化如圖 4.15-1 (80 mg/L) 與圖 4.15-2 (120 mg/L) 所示。實驗初期，為了確保系統是處於一穩定且不會洩漏之狀態下，以及污染物 (BTEX) 可於反應器內部中能完全均勻分佈，故本實驗採取連續監測 10 天之方式，確認反應器是否已達穩定，並以該試驗所獲得之數據，作為本實驗之背景值；待穩定後，再將已製成之 ORCB 投入於反應器內，探討 ORCB 於 BTEX 總濃度分別為 80 與 120 mg/L 下對 BTEX 之去除效率。

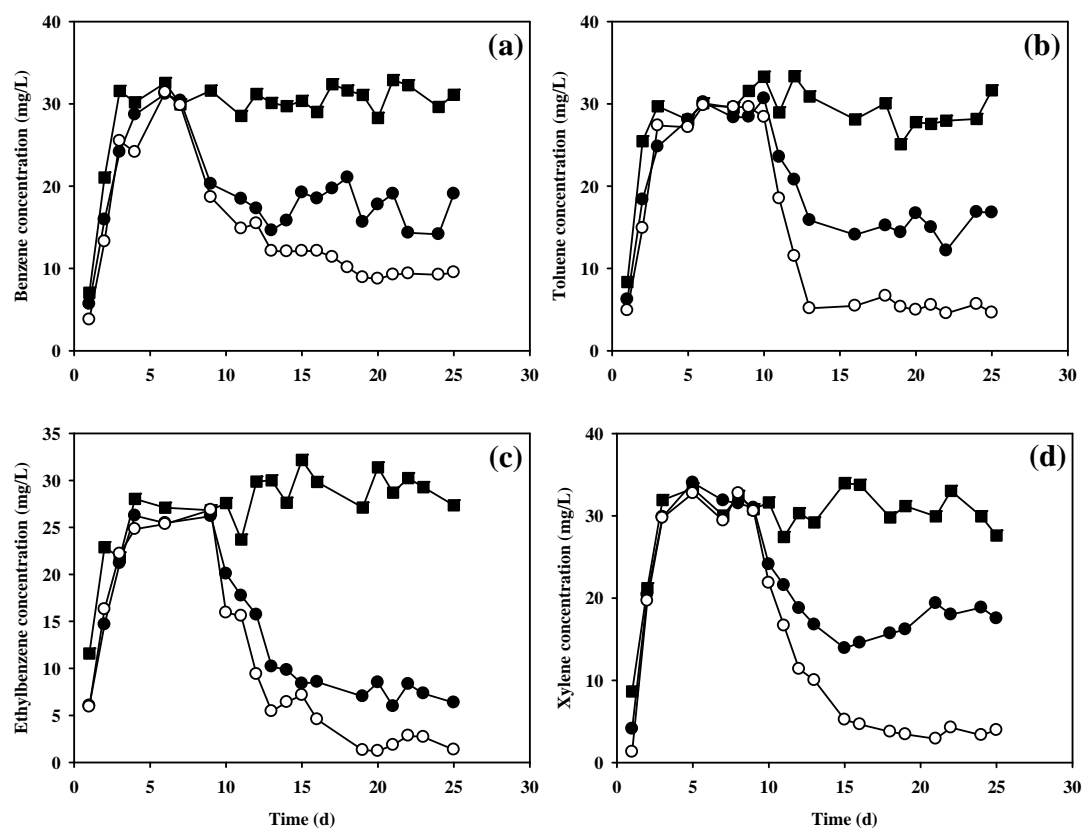
由圖 4.15-1 與圖 4.15-2 監測結果得知，當 ORCB 投入後可明顯發現總 BTEX 濃度於 80 mg/L (圖 4.15-1) 之去除效率會隨著 ORCB 釋出氧氣，由出流口監測結果獲知，B、T、E、X 各物質濃度可分別由 20 mg/L 下降至 8.0、3.5、2.9 及 5.0 mg/L，

其去除率分別為 61%、84%、85%及 75%；同理，當進流總 BTEX 濃度設定為 120 mg/L(圖 4.15-2)時，各別 B、T、E、X 濃度分別由初始 30 mg/L 下降至 17.5、15.3、8.4、16.8 mg/L，整體去除效率則分別為 42%、49%、74%、44%，其中乙苯為 BTEX 四種物質中分解效率最佳之物質，可達 74%之去除效率。相較之下，總 BTEX 濃度下降至 40 mg/L 時，則此時投入 ORCB 於 5 天後可達 B、T、E、T 最佳去除效率分別依序為 78%、88%、89%、81%，之後再將總 BTTEX 濃度下降至 20 mg/L 時，則整體 B、T、E、X 去除效率明顯提升至 86%、92%、93%、90%；相關數據彙整如圖 4.15-3 所示。

綜合總 BTEX 濃度為 20–120 mg/L 試驗結果得知(圖 4.15-3)，當 BTEX 總濃度為 80 mg/L 以下時，其微生物降解 BTEX 去除效率介於 61–93%之間，其中又以 B 去除效率低於其他 E、T、X 之去除效率，乃因苯的結構完整，為四種基質中較難分解之化合物，故去除效率較其他三者低之原因。此外，由此結果亦可顯示出於總 BTEX 濃度為 80 mg/L 以下時，其所包埋 CHXY119 與 YATO411 菌株，係可有效降解 BTEX，但當濃度再次提高至 120 mg/L 時，則可明顯看出整體 BTEX 去除效率降低至 41–74%之間，顯示於此濃度下菌種受到基質抑制而減緩去除效率。



(a) benzene ; (b) toluene ; (c) ethylbenzene ; (d) xylene ; 進流濃度(■)；出流濃度 I 為距離進流口端位置之 30 cm 處(●)；出流濃度 II 為距離進流端位置 60 cm 處(○)
圖 4.15-1 釋氧型固定化菌體顆粒降解 BTEX 之變化(總 BTEX 濃度為 80 mg/L，各別 B、T、E、X 單一濃度為 20 mg/L)



(a) benzene ; (b) toluene ; (c) ethylbenzene ; (d) xylene ; 進流濃度(■)；出流濃度 I 為距離進流口端位置之 30 cm 處(●)；出流濃度 II 為距離進流端位置 60 cm 處(○)
圖 4.15-2 釋氧型固定化菌體顆粒降解 BTEX 之變化(總 BTEX 濃度為 120 mg/L，各別 B、T、E、X 單一濃度為 30 mg/L)

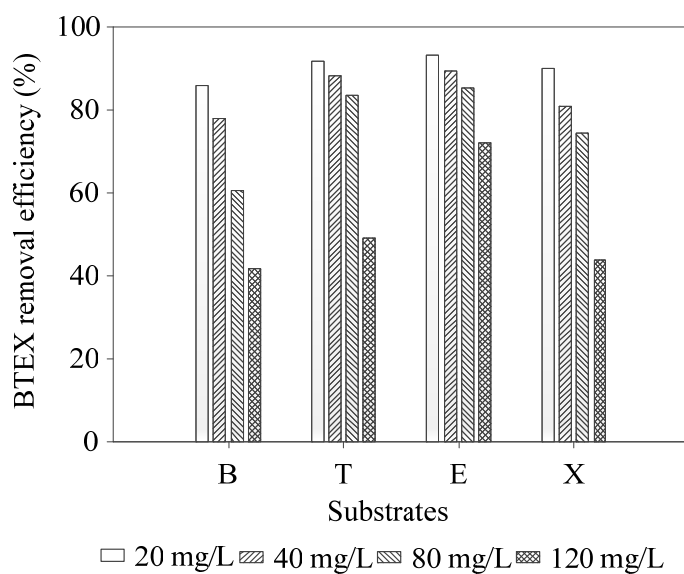


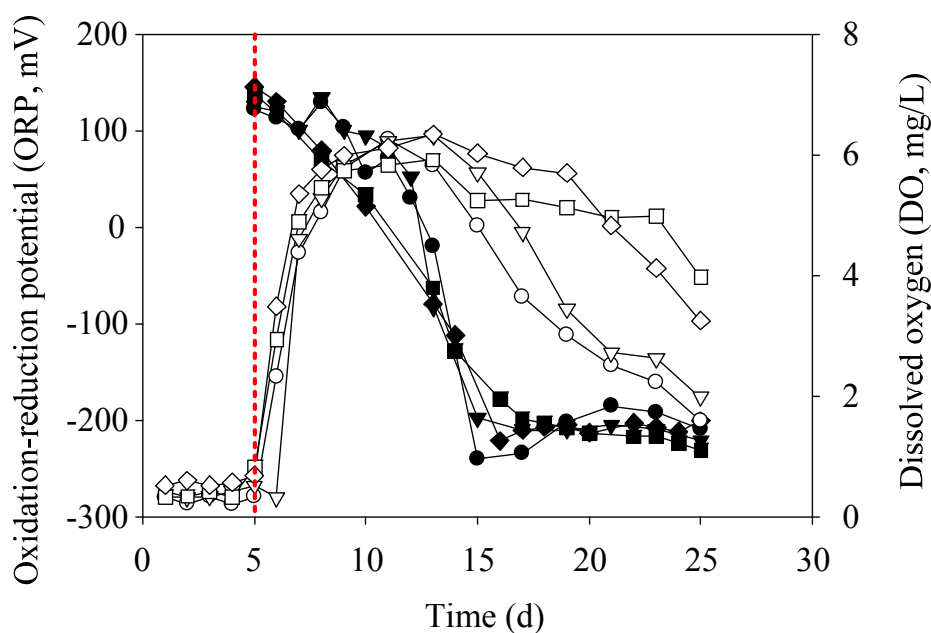
圖 4.15-3 釋氧型固定化菌體顆粒對不同總 BTEX 濃度下之降解效率

由第 4.5.1 節得知，過氧化鈣與緩衝物質比例為 1：0.5 時，可獲得最佳 ORCB 製作配比，並於此條件下所製作出之 ORCB 具有單位時間內可獲得最高釋氧量，以及釋氧速率快，同時於該配比下，pH 可控制於中性範圍，避免水體中之 pH 產生鹼性過高之現象。基於上述之優點，本研究 ORCB 之釋氧物質含量為 10%、過氧化鈣為 50 克，並加入 25 克緩衝物質條件下製作而成。此外，為了模擬地下水之缺氧狀態，於進流水中再添加 0.3 g/L 之 Na_2SO_3 ，使水體中之溶氧控制於缺氧(DO 小於 1 mg/L)狀態，以利估算後續進行 ORCB 投入後之釋氧變化。

當 ORCB 投入於人工模擬受 BTEX 污染之地下水進行管柱試驗時，由圖 4.15-4 結果顯示，於初期前 5 天內，水體中溶氧維持於低溶氧狀態(DO 小於 1.0 mg/L)，顯示該階段在未投入 ORCB 時，管柱與進流系統均呈現為穩定狀態(DO 小於 1.0 mg/L)，表示該反應系統(管柱與進流系統)為可控制外部空氣之干擾，以避免試驗過程中之空氣干擾而使得水體中溶氧升高，影響 ORCB 投入於管柱中之溶氧監測。經 5 天試驗期間溶氧維持於 DO 小於 1.0 mg/L 以下之穩定態後，再將 ORCB 投入於管柱中進行對 DO 與 ORP 之試驗變化。由圖 4.15-4 結果得知，投入 ORCB 後(第 5 天投入)，DO 明顯由 1.0 mg/L 迅速提高至 6.3 mg/L，並於第 14 天時達最高值(DO 為 6.3 mg/L)，爾後隨著 ORCB 持續釋放氧氣能力趨緩及 ORCB 顆粒內之菌群利用氧氣而使 DO 值逐漸遞減。

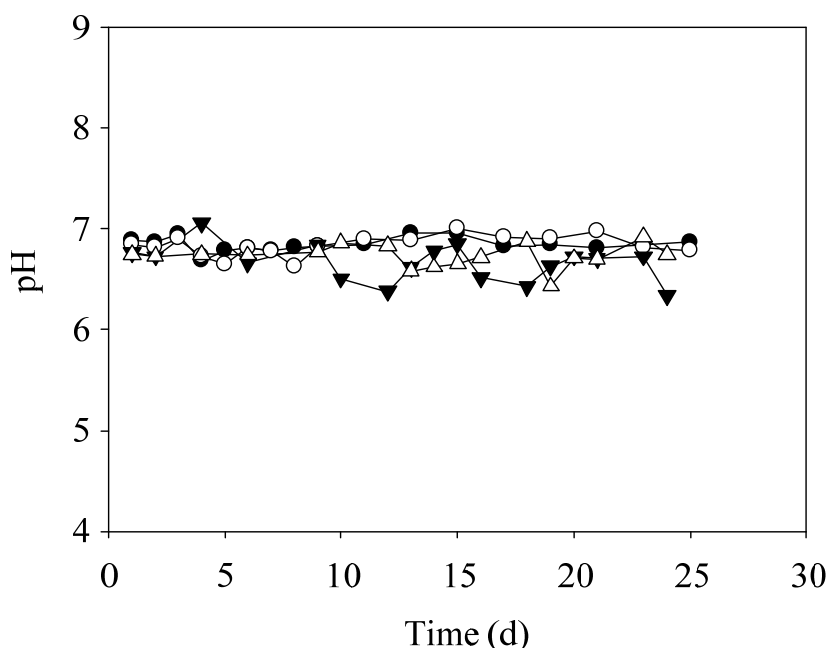
然而，當微生物在進行污染物分解時，除了可由去除效率獲知污染物降解情形外，亦可由溶氧與氧化還原電位(ORP)變化獲知，當系統屬於好氧生物處理系統時，則可由溶氧與 ORP 之遞減情形，來瞭解該系統是否可行生物處理之依據。由圖 4.15-4 ORP 結果得知，當 ORCB 投入圓柱型管柱中進行生物降解試驗時，於前 14 天內，ORP 變化會隨著時間增加而遞減，此時溶氧卻逐步累積至約最大釋氧濃度為 6.3 mg/L 內，顯示該階段 ORCB 可釋出足夠溶氧供給微生物使用。由於 ORCB 釋氧逐漸由顆粒內釋出至水體中，故於第 15 天後，水中 DO 逐漸下降，乃因所包埋 BTEX 分解菌(CHXY119 與 YATO411 菌株)於降解 BTEX 過程中需要以氧氣作為最終電子接受者，因此當水中 BTEX 濃度逐漸減少時，代表 ORCB 所釋出之氧氣亦逐漸被微生物所利用，造成 DO 隨之遞減，此結果亦證明釋氧物質所產生之氧氣，確實可被 BTEX 分解菌所利用。就 ORP 試驗結果顯示，初始未投入 ORCB 時，水體之 ORP 介於 100 至 138 mV，之後隨著時間遞增，系統內環境開始逐漸轉變成還原態環境，導致 ORP 開始呈現下降趨勢；當 ORCB 投入後(圖 4.15-4)，無論於 BTEX 濃度介於 20–120 mg/L 時，其結果皆有類似趨勢，即 ORCB 投入後，分解菌開始利用水中之 DO 進行氧化反應，因此造成水中之 ORP 急遽下降至 -200 mV，推測此結果之主要原因乃為配製人工營養鹽中含有硫酸銨($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$)成分，故此物質經由系統內微生物利用後，會產生硝酸鹽與硫酸鹽類，而導致 PRB 系統內含有還原性之硝酸鹽與硫酸鹽類存於水體中，導致 ORP 呈現下降之趨勢。

此外，對 pH 而言(圖 4.15-2)，pH 在 ORCB 投入前與投入後並無太大差異，於進出流之 pH 皆相近，介於 6.5 至 7.0 間變動，乃因 ORCB 內已添加適量緩衝物質，故可達到緩衝效果，使水體之 pH 維持於中性，因此不會因鹼性過高而影響菌株之活性，進而影響污染物之降解能力。



實心符號表示為 ORP 於總 BTEX 濃度分別為 20 mg/L (●)、40 mg/L (▼)、80 mg/L (■)及 120 mg/L (◆)試驗下分析之數據；空心符號則表示為 DO 於總 BTEX 濃度分別為 20 mg/L (○)、40 mg/L (▽)、80 mg/L (□)及 120 mg/L (◇)試驗下分析之數據；紅色虛線(---)則表示於第 5 天後將釋氧型固定化菌體顆粒投入於管柱中進行試驗

圖 4.15-4 釋氧型固定化菌體顆粒降解不同 BTEX 濃度下之 ORP 與 DO 變化



符號分別代表總 BTEX 濃度為 20 mg/L (●)、40 mg/L (○)、80 mg/L (▼)及 120 mg/L (△)之試驗下獲得之 pH 變化

圖 4.15-5 釋氧型固定化菌體顆粒降解不同 BTEX 濃度下之 pH 變化

4.16 釋氧型固定化菌體顆粒投入於圓柱型管柱中進行對不同 BTEX 濃度降解前、後之 DGGE 菌群結構分析

表 4.16-1 為釋氧型固定化菌體顆粒投入管柱試驗中之 DGGE 樣本敘述，並由 DGGE 分析結果得知(圖 4.16-1(a))，lane 1 中之 band k 與 band m 分別為萃取自 CHXY119 菌株與 YATO411 菌株作為本研究試驗之 Marker；lane 2-4 為 BTEX 總濃度於 20 mg/L 試驗下所採集樣本，其中 lane 2 為人工模擬 BTEX 廢水進入堆疊釋氧型固定化菌體顆粒後於前端進流口中採集上層清澈之水樣(input)，從中發現菌種種類包括有 band b、d、g、h、i、j、k、m、q 菌種存於試驗的管柱內；lane 3 則取自堆疊釋氧型固定化菌體顆粒管柱之中間段清澈水樣(middle)；lane 4 則為經釋氧型固定化菌體顆處理後管柱末端所流出之清澈水樣(output)。

綜合 land 2-4 之 DGGE 結果獲知，於 BTEX 總濃度為 20 mg/L 之試驗下，無論於反應器(圓柱型管柱)之前、中、後端所採集水體中樣本，其菌相均呈現相同結果，表示此濃度(20 mg/L)下菌群變化性小。當總 BTEX 濃度提高至 40 mg/L 時，則由圖 4.16-1 中之 lane 5-7 結果獲知，於此濃度下所獲得菌群種類數目量較 BTEX 濃度為 20 mg/L 時多，並於管柱中間段(lane 6)所呈現菌量明顯高於前端進流口(lane 5)與末端出流口(lane 7)，其中又以 band l 菌種最為明顯。當 BTEX 濃度再度提高

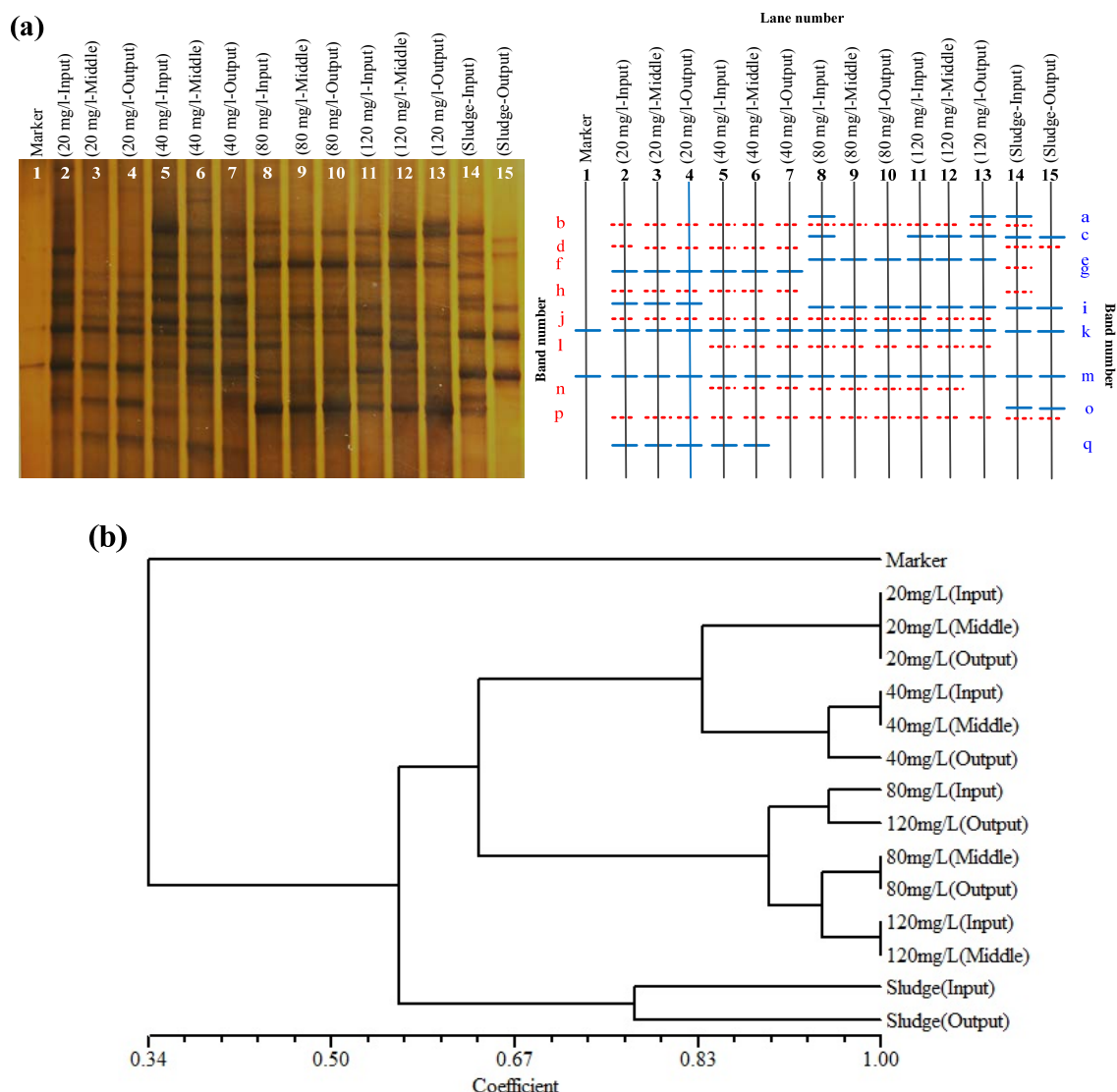
至 80 mg/L 時，則此時 band e 菌種明顯出現於系統中，並與 band p 成為主要優勢菌群；相較之下，原先就已包埋於 ORCB 內之 band k 與 band m 菌種則顯微較為弱勢，且就整體 BTEX 去除效率而言(圖 4.15-3)，其去除效率可達 60–95%之間，顯示雖有其他菌種存於系統中消滅主要菌種之生長空間，但對污染物降解而言並不影響整體去除效率，因此可以忽略。當總 BTEX 濃度再度提高至 120 mg/L 時，則此時 band l 菌種於中間段明顯大量增值，此結果與 BTEX 濃度為 40 mg/L (lane 5–7) 與 80 mg/L (lane 8–10)結果相似，均呈現 band l 菌株存於系統中；此結果再與去除效率結果相互比較獲知，雖 band l 菌種明顯出現於系統中，但整體 BTEX 去除效率並未明顯提升，相較之下，於 BTEX 總濃度為 120 mg/L 時之去除效率則呈現下降之趨勢，其去除效率僅達 40–70%之間，顯示主要降解菌種依舊是 band k 與 band m。

Land 14–15 則分別取自總 BTEX 濃度為 80 mg/L 之試驗下，採取位於堆疊釋氧型固定化菌體顆粒前端進流口中，經試驗後採集位於底層之污泥(lane 14)，以及圓柱型管柱末端流出之污泥樣品(lane 15)進行分析。由圖 4.16-1(a)結果獲知，底層污泥之 DGGE 菌群結構呈現以 band k 與 band m 菌種為主之優勢菌種存在系統中，此菌種亦為本研究所使用包埋之菌株(CHXY119 與 YATO411)，故由此結果可得知，當 ORCB 投入於圓柱型管柱內進行對 BTEX 降解試驗時，此時包埋於 ORCB 內之菌株，會經由水體流動而釋出於顆粒外部，但因為水體流速係設定為低流速(5 ml/min)之地下水流流速，因此釋出之菌體會因為低流速之水體而無法全部帶動釋出之菌體量往下游游動，故部分釋出之菌株會於底層生長，並經由數日後，釋出之菌株與系統原有之菌群匯集成一菌群而於底層中形成污泥層，因此導致系統的底層持續有污泥量產生，且該污泥群亦為系統中主要去除 BTEX 之菌群。

此外，根據圖 4.16-1(b)親源樹分析結果得知，當 BTEX 總濃度為 20 mg/L 時，所獲得菌群結構之親源分析被列為同一族群，且完全相似(相似度為 100%)，表示該濃度下菌相變異性小。然而，當 BTEX 濃度逐漸提升至 40 mg/L 時，此時進流端(input)與中間端(middle)水樣之親源關係被歸為同一群落，表示於該濃度下，進流端與中間段之菌群結構開始受到基質逐漸提高影響，而導致部分菌群受到基質之抑制而減緩生長。另可由出流端(output)之菌相獲知，當基質逐漸於中間段被反應完畢後，則於出流端所呈現之菌群結構明顯與進流端之菌群結構有所差異，乃因於末端基質已被微生物利用完畢，故無基質可供微生物利用，故造成部分菌群無法生長。當濃度逐漸再提升至 80 mg/L 與 120 mg/L 時，由 4.16-1(b)得知，高濃度條件下，菌群逐漸轉變成以適應中高濃度之菌群結構存於系統中，此結果與低濃度條件下呈現明顯差異，乃因高濃度下，部分菌種受到基質抑制而逐漸死亡，但於低濃度下，則因微生物共同競爭基質，故亦會有部分菌群無法利用基質而無法生長之情形。

表 4.16-1 釋氧型固定化菌體顆粒投入管柱試驗中之 DGGE 樣本敘述

Lane number	Description of sampling point
1	本試驗係以自行篩選之純菌株 <i>Mycobacterium</i> sp. CHXY119 與 <i>Pseudomonas</i> sp. YATO411，作為本次試驗 Marker 代表之菌株
2-4	本試驗於 BTEX 總濃度為 20 mg/L 下所採集之樣本，其中 lane 2 為人工模擬 BTEX 廢水進入堆疊釋氧型固定化菌體顆粒之前端進流口所採集之水樣(input)；lane 3 則取自堆疊釋氧型固定化菌體顆粒管柱之中間段水樣(middle)；lane 4 則為經釋氧型固定化菌體顆粒處理後管柱末端所流出之水樣(output)
5-7	本試驗於 BTEX 總濃度為 40 mg/L 下所採集之樣本，其中 lane 5 為人工模擬 BTEX 廢水進入堆疊釋氧型固定化菌體顆粒之前端進流口所採集之水樣(input)；lane 6 則取自堆疊釋氧型固定化菌體顆粒管柱之中間段水樣(middle)；lane 7 則為經釋氧型固定化菌體顆粒處理後管柱末端所流出之水樣(output)
8-10	本試驗於 BTEX 總濃度為 80 mg/L 下所採集之樣本，其中 lane 8 為人工模擬 BTEX 廢水進入堆疊釋氧型固定化菌體顆粒之前端進流口所採集之水樣(input)；lane 9 則取自堆疊釋氧型固定化菌體顆粒管柱之中間段水樣(middle)；lane 10 則為經釋氧型固定化菌體顆粒處理後管柱末端所流出之水樣(output)
11-13	本試驗於 BTEX 總濃度為 120 mg/L 下所採集之樣本，其中 lane 11 為人工模擬 BTEX 廢水進入堆疊釋氧型固定化菌體顆粒之前端進流口所採集之水樣(input)；lane 12 則取自堆疊釋氧型固定化菌體顆粒管柱之中間段水樣(middle)；lane 13 則為經釋氧型固定化菌體顆粒處理後管柱末端所流出之水樣(output)
14-15	本試驗於 BTEX 總濃度為 80 mg/L 下所採集底層污泥之樣本，採取位置係位於堆疊釋氧型固定化菌體顆粒前端進流口中，經試驗後於系統中產生之底層污泥(lane 14)，以及圓柱型管柱末端出流水中沈降之污泥(lane 15)

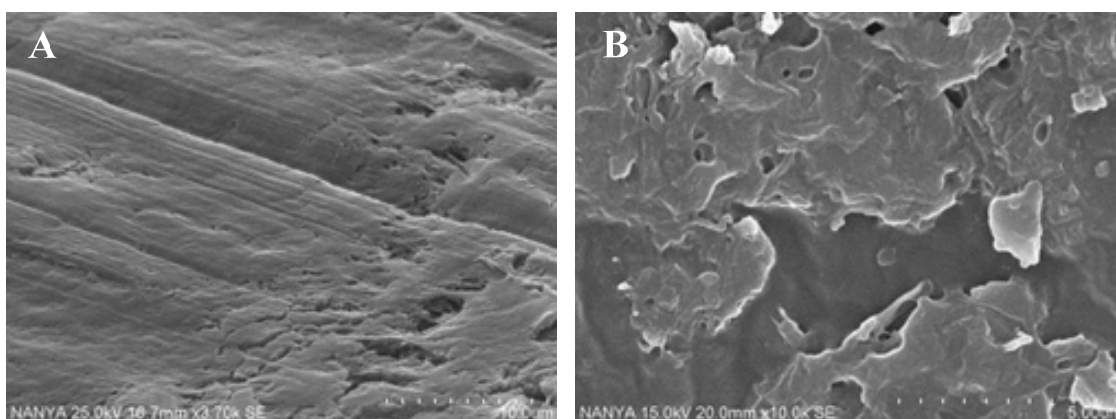


(a) DGGE 菌群結構圖；(b) 菌群親源分析圖；圖中 lane number 代表為不同 BTEX 濃度(20, 40, 80, 120 mg/L)之試驗下抽取不同管柱位置(區分為 input、middle 及 output)所獲得水樣之樣本，其中 input 為人工模擬 BTEX 廢水進入堆疊釋氧型固定化菌體顆粒之前端進流口所採集之水樣；middle 則取自堆疊釋氧型固定化菌體顆粒管柱之中間段水樣；output 則為經釋氧型固定化菌體顆粒處理後管柱末端所流出之水樣；sludge 則表示為 80 mg/L 下所採集底層污泥之樣本；band number 則代表各試驗下所獲得菌種種類代碼，其中 a, c, e, g, i, k, m, o, q 以藍色實線(—)表示；b, d, f, h, j, l, n, p 則以紅色虛線(----)表示

圖 4.16-1 釋氧型固定化菌體顆粒投入於管柱中進行不同 BTEX 濃度之菌相結構與親源分析

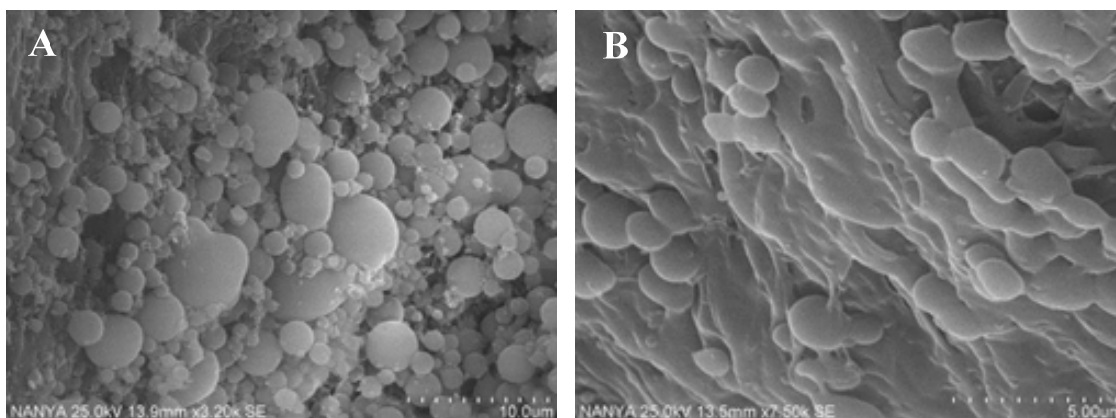
4.17 釋氧型固定化菌體顆粒之 SEM 分析

圖 4.17-1 為拍攝未包埋菌株之 ORCB 切面圖，由此圖可明顯看見，採用冷凍方法聚合而成之 ORCB 表面較為平滑且孔洞較少；若再進一步觀察含有菌株之 ORCB 內部，則可由圖 4.17-2 獲知，該顆粒內部之菌株是屬於短桿菌或球菌型態，且可看出所包埋之菌株具可有效生長於 ORCB 內。



(A)未含菌之 ORCB 切面圖($\times 3,700$)；(B)未含菌之 ORCB 切面圖($\times 10,000$)

圖 4.17-1 SEM 分析無包埋菌株之釋氧型固定化菌體顆粒切面圖



(A)含菌之 ORCB 切面圖($\times 3,200$)；(B)含菌之 ORCB 切面圖($\times 7,500$)

圖 4.17-2 SEM 分析有包埋菌株之釋氧型固定化菌體顆粒切面圖

4.18 地下水處理後之生物毒性評估

4.18.1 發光菌對 MTBE 及 BTEX 偵測敏感度

(1) *Vibrio fischeri* 對油品污染物毒性偵測

首先探討 *Vibrio fischeri* light inhibition test 對毒性物質偵測穩定性及敏感性。本研究以 phenol 做為正控制，phenol 濃度為 6.25–100 mg/L。表 4.18.1-1)可顯示其抑光率(light inhibition ratio)隨 phenol 濃度增加而增加，phenol 控制 EC₅₀ 值為 25–29 mg/L，且 phenol 濃度與抑光率相關性高 ($R^2 = 0.9861-0.9951$)，表示所用之 *Vibrio fischeri* 菌偵測敏感度高並具偵測穩定性。

本研究同時探討，*Vibrio fischeri* 對汽油污染物 toluene、ethylbenzene、xylene 及 MTBE 偵測敏感度，所用污染物濃度為 6.25–100 mg/L。表 4.18.1-2 顯示 toluene、ethylbenzene、xylene 及 MTBE 之 EC₅₀ 分別為 15、12、19 及 43 mg/L。其 R^2 值為 0.9765–0.9970，表示 *V. fischeri* 對汽油污染物生物毒性偵測具有高敏感度，且污染物濃度與 *V. fischeri* 之抑光率有高相關性。相關 *V. fischeri* 對汽油污染物偵測研究指出，其 toluene、ethylbenzene、xylene 及 MTBE 之 EC₅₀ 值分別為 23、9.7、5.7 及 54.3 mg/L (Hao et al., 1995; Gupta and Lin, 1995; Hernando et al., 2003)相近，本研究 *V. fischeri* 對汽油污染物生物毒性偵測敏感度與相關文獻相近。

表 4.18.1-1 *Vibrio fischeri* light inhibition test 之 phenol 控制數據

組數		NaCl (g/L)			Phenol (mg/L)					EC ₅₀	R ²
		20	20	20	6.25	12.5	25	50	100		
第一組	I ₀	92	93	89	99	91	93	96	94	29	0.9951
	I ₅	90	91	87	90	77	66	48	34	—	—
第二組	I ₀	94	96	93	97	94	97	96	97	25	0.9919
	I ₅	94	94	92	75	68	58	48	38	—	—
第三組	I ₀	95	99	97	96	93	95	98	95	29	0.9861
	I ₅	90	93	92	73	67	58	47	37	—	—

表 4.18.1-2 甲苯、乙苯、二甲苯及 MTBE 之 *V. fischeri* 抑光率

Compounds		NaCl (g/L)			Concentration (mg/L)					EC ₅₀	R ²
		20	20	20	6.25	12.5	25	50	100		
Toluene	I ₀	105	103	106	104	110	102	108	114	15	0.9825
	I ₅	102	100	103	76	52	37	24	13	—	—
Ethylbenzene	I ₀	96	94	95	97	93	92	94	95	12	0.9970
	I ₅	94	93	93	63	43	27	18	10	—	—
Xylene	I ₀	92	95	93	93	93	95	92	99	19	0.9905
	I ₅	91	93	90	76	57	34	19	11	—	—
MTBE	I ₀	95	97	94	100	94	92	92	94	43	0.9765
	I ₅	93	94	92	77	62	55	39	35	—	—

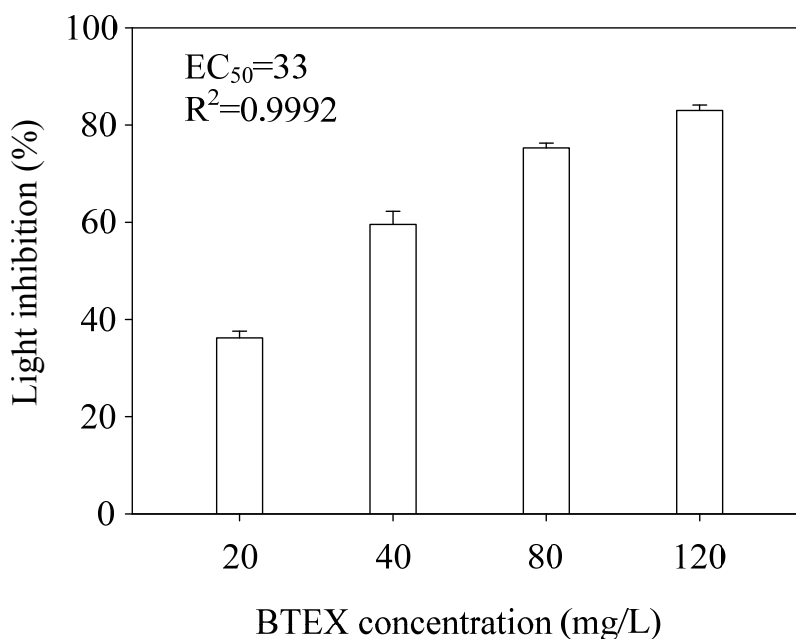
(2) *Vibrio fischeri* 對混合汽油污染物毒性偵測

V. fischeri 對混合污染物毒性偵測同時被評估，在此所用偵測混合 BTEX 濃度為 20–120 mg/L，其 benzene : toluene : ethyl benzene : xylene 濃度比為 1 : 1 : 1 : 1 (v/v)。表 4.18.1-3 及圖 4.18.1-1 顯示隨 BTEX 混合濃度增加，*V. fischeri* 抑光率隨之增加，二者之間具高相關性高($R^2=0.9992$)， EC_{50} 值為 33 mg/L，另由迴歸方程式推估 50 mg/L BTEX 原液抑光率約為 63%。本研究將以混合 BTEX 污染物進行後續生物分解及化學氧化等處理，並探討處理液目標物濃度與生物毒性關係。

表 4.18.1-3 BTEX 混合毒性

Mixed BTEX conc.	組別	20	40	80	120	EC_{50}	R^2
抑光率(%)	1	35.3	56.7	74.6	83.8	33	0.9992
	2	37.8	60.0	76.4	70.3	—	—
	3	35.5	62.0	74.9	82.2	—	—

備註：benzene : toluene : ethylbenzene : xylene = 1 : 1 : 1 : 1



(Benzene : toluene : ethylbenzene : xylene = 1 : 1 : 1 : 1)

圖 4.18.1-1 同濃度 BTEX 混合液抑光率變化

4.18.2 以 Persulfate/觸媒處理 BTEX 之處理液生物毒性

本小節探討以 Persulfate/觸媒(高爐石、轉爐石)處理降解 BTEX 之生物毒性，使用催化劑種類為高爐石及轉爐石，BTEX 混合濃度為 200 mg/L。當使用 persulfate 劑量為 1%，催化劑高爐石劑量為 1 g/L 時，處理 21 小時，對處理液抑光率下降並

不明顯，例如 0.5 小時處理液抑光率為 97.2%。反應 21 小時，生物毒性僅些微下降(94.4%)。BTEX 處理液抑光率甚至高於 BTEX 原液抑光率(63%)，推測處理液毒性主要來源應為 BTEX 及其殘存 persulfate。此外，亦探討提高高爐石劑量之影響，當高爐石劑量為 1 g/L 時，其在 0.08 及 19 小時反應時間，處理液抑光值為 95.9%–99.6%；當高爐石劑量提升至 5 g/L 時，可以發現反應時間為 0.08 h 時，處理液抑光率為 90.4%，反應時間延長至 27 小時，處理液抑光率亦僅些微下降至 93.4%。

進一步以轉爐石為催化劑時，探討 persulfate 對 BTEX 之生物毒性下降情形。當轉爐石劑量為 1 g/L 時，反應 0.5 小時處理液抑光率可明顯下降至 84%，延長反應時間至 27 小時，處理液抑光率可明顯下降至 49.2%，表示 BTEX 被破壞及 persulfate 濃度亦下降。提升轉爐石劑量為 5 g/L 時。表 4.18.2-1 指出短暫反應時間 0.08 h，處理液抑光率即降至 48.5%，其應為高劑量轉爐石可以提升 PS 之催化速率，有效破壞 BTEX，同時 PS 濃度亦快速減少，所以處理液抑光率明顯下降。然而，延長反應時間至 27 小時，處理液抑光率卻些微上升(66%)，推測為中間產物生物毒性所導致。

綜合以 PS 劑量為 1%試驗結果可以發現，轉爐石對於處理液毒性下降能力優於高爐石。提升轉爐石劑量至 5 g/L，可加速初期對處理液生物毒性。但在此高轉爐石添加劑量(5 g/L)，延長反應時間並無法明顯提升處理液毒性去除。

本研究同時探討 persulfate 劑量為 5%時，添加不同劑量催化劑(高爐石及轉爐石)對 BTEX 生物毒性去除影響。表 4.18.2-1 指出，當高爐石劑量為 1 及 5 g/L 時，處理液抑光率高(95.9%–100%)。但當轉爐石劑量為 1 g/L 時，處理 0.08 小時處理液抑光率為 100%，延長反應至 58 小時處理液抑光率下降至 74%。其可能原因為轉爐石/persulfate 除破壞 BTEX，同時 persulfate 殘餘濃度下降 persulfate 對 *V. fischeri* 生物毒性。但當添加 5 g/L 轉爐石時，其在 0.08，19，27 小時，抑光率為 97.8%–100%，具高生物毒性，推測除 BTEX 及其中間產物毒性外，高殘餘 persulfate 濃度亦造成處理液具高生物毒性。

表 4.18.2-1 以 persulfate/觸媒處理 BTEX 之處理液生物毒性變化

項次	PS (%)	高爐石(g/L)	轉爐石(g/L)	反應時間(h)	抑光率(%)	SD
1	1	1	—	0.5	97.2	0.5
				19	100	0
				21	94.4	0.7
2	1	5	—	0.08	90.4	3.2
				19	95.7	1.1
				27	93.4	0.7
3	1	—	1	0.08	84.7	0.3
				19	88.5	1.6
				27	49.2	2.2
4	1	—	5	0.08	48.5	2.8
				19	73	0.3
				27	66	3.4
5	5	1	—	0.08	95.9	1
				19	99.6	0.6
				111	67.7	1.6
6	5	5	—	0.5	99.5	0.5
				19	99.2	1.2
				21	100	0
7	5	—	1	0.08	100	0
				21	100	0
				58	74.8	1.8
8	5	—	1	0.08	100	0
				19	100	0
				27	97.8	0.03

註：BTEX 起始濃度為 200 mg/L, benzene, toluene, ethyl benzene, xylene 比=1:1:1:1

4.18.3 生物處理地下水 BTEX/MTBE 污染物生物毒性降解情形

本研究同時評估(1)結合固定化菌體顆粒於釋氧型透水性反應牆系統；(2)釋氧型固定化菌體顆粒管柱對 BTEX 污染水樣生物毒性去除能力。釋氧型透水性反應牆配置如圖 3.8.1。井 1 點為位於反應牆前 15 公分，為未經復育前水樣，井 4 點為位於釋氧牆後端 30 公分出流端採樣點。表 4.18.3-1 指出在井 1 點進流水具生物毒性(抑光率 35.6%–37.4%)。但污染地下水在流至井 4 點後，其生物毒性明顯下降(抑光率 7.6%–23.4%)。

水樣化學分析結果指出釋氧型透水性反應牆對 BTEX 去除效果良好。去除率隨流經反應牆後，流動距離增加而增加。但反應牆對 MTBE 去除效果較為不顯著。本研究生物毒性分析結果指出，井 4 點之生物毒性遠較井 1 點低，其與化學分析數據趨勢相符。井 4 採樣點之出流水尚有些微生物毒性，推測應為本系統尚在起動操作階段，所以井 4 點出流水 BTEX 與 MTBE 中間代謝產物尚未被完全降解所造成之生物毒性。

本計畫同時評估釋氧型固定化菌體顆粒管柱對 BTEX 生物毒性去除能力，表 4.18.3-1 指出當進流水 BTEX 總濃度為 80 mg/L 時 (80-in)，水樣生物毒性在 70.1%–73.2%間。但當污染地下水流經釋氧型固定化菌體顆粒層(80-中)時，發現地下水生物毒性明顯下降 (抑光率 40.8%–40.8%)。但在採樣點 80-out 時，地下水樣生物毒性卻有些微上升現象(抑光率 49.6%–52.1%)。表 4.18.3-1 同時顯示各採樣點水樣化學分析成果，釋氧型固定化菌體顆粒管柱可有效去除 BTEX，但 MTBE 去除效果不佳。雖然在出流端 BTEX 各濃度可分別降至 0.64–4.98 mg/L，但 *V. fischeri* light inhibition test 指出放流水中仍有生物毒性污染物存在，推測其為 BTEX 與 MTBE 經生物分解後，其中間產物仍具生物毒性所致。同樣的，當進流水 BTEX 總濃度為 120 mg/L 時，雖然釋氧型固定化菌體顆粒管柱可以有效降解 BTEX，但在出流端 120-out 點之地下水生物毒性(55.7%–56.7%)同樣發現高於 120-中點水樣生物毒性(45.1%–46.3%)，其在出流端出流水生物毒性高與中間端水樣生物毒性現象與前處理 80mg/L 進流水趨勢相似。表 4.18.3-1 同時指出隨 BTEX 濃度進流水增加，其出流水生物毒性相對較高。推測主要應為進流水污染濃度較高時，其出流水 BTEX 與 MTBE 及其中間代謝產物濃度亦較高所致。

表 4.18.3-1 結合固定化菌體及釋氧顆粒反應牆處理 BTEX 各採樣點水樣生物毒性

採樣位置	抑光率(%)		污染物濃度				
	mean	SD	Benzene	Toluene	E.benzene	p-Xylene	MTBE
左上(井 1)	37.4	1.4	28.89	29.05	28.33	28.89	24.33
左下(井 1)	35.6	1.9					
右上(井 4)	7.6	4.3	0.62	2.48	4.23	4.69	23.00
右下(井 4)	23.4	3.7					

表 4.18.3-2 釋氧型固定化菌體顆粒管柱處理 BTEX 污染水生物毒性

採樣位置	抑光率(%)		污染物濃度				
	mean	SD	Benzene	Toluene	E. benzene	Toluene	MTBE
進流水 BTEX 濃度 80 mg/L							
80-in 1	70.1	0.9	19.89	20.96	20	20	20.115
80-in 2	73.2	0.5					
80-中 1	42.4	1.4	8.34	5.92	3.61	7.78	19.66
80-中 2	40.8	1.2					
80-out 1	52.1	1.3	4.42	4.98	0.65	0.64	19.472
80-out 2	49.6	0.8					
進流水 BTEX 濃度 120 mg/L							
120-in 1	48.8	0.8	31.25	30.11	29.19	31.94	24
120-in 2	49.3	1.3					
120-中 1	45.1	1.0	17.48	15.28	5.74	16.77	23.64
120-中 2	46.3	1.1					
120-out 1	55.7	1.1	10.76	6.58	1.95	7.24	23.52
120-out 2	56.7	0.6					

*80 及 120 為總 BTEX 濃度為 80 mg/L 與 120mg/L 之污染水樣。

4.18.4 釋氧型透水性反應牆操作穩定期之地下水樣毒性變化

本研究之釋氧型透水性反應牆於操作一個月後，連續三天進行採樣，探討 MTBE 及 BTEX 混合污染地下水，經釋氧型透水性反應牆前後水質生物毒性變化情形。同時本研究亦將生物毒性變化與化學分析結果進行交叉比較，探討二者之相關性。圖 3.8.1 為各採樣點，井 1 表示距反應牆前 15 公分，為未經復育前水樣，井 2、3 及 4 分別為經透水性反應牆處理後不同採樣點。井 1 之進流混合地下水污染物濃度 MTBE：19.45–23.28 mg/L，benzene：23.10–27.64 mg/L，toluene：23.23–27.80 mg/L，ethylbenzene：22.65–27.11 mg/L，xylene：23.10–27.64 mg/L。

表 4.18.4-4 指出在操作一個月後，釋氧型透水性反應牆對生物毒性去除效果穩定。進流水(井 1)對發光菌抑光率在 30.2%–38.6%之間，在流經透水性反應牆後，地下水生物毒性有下降趨勢，井 2 水樣抑光值下降至 22.7%–32.6%，但地下水流至井 3 點，其水樣毒性與井 2 相近，生物毒性下降並不大，但當地下水流至井 4 點，發現地下水樣生物毒性明顯減少，井 4 地下水抑光率明顯降為 3.4%–15.7%。

本研究將地下水生物毒性與化學分析結果進行比較，表 4.18.4-4 指出當地下水由井 1 流至井 2 時，化學分析結果顯示，透水性反應牆可明顯降解 MTBE 及 BTEX。MTBE 去除率在 0%–59.9%，BTEX 去除率亦高達 42%–93%，生物毒性分析結果指出水樣抑光率僅由 30.2%–38.6% (井 1)降至 22.7%–32.6% (井 2)，生物毒性降解

情形不如目標污染物濃度下降明顯，推測應為地下水之 MTBE 及 BTEX 經分解後，會產生中間代謝產物，其仍具生物毒性，所以污染地下水流經透水性反應牆初期，地下水生物毒性下降並不顯著。

表 4.18.4-4 化學分析結果指出地下水隨流程(流動距離)之延長，污染物持續分解，井 3 顯示 MTBE 去除可達 5%–89%，BTEX 去除更高達 82%–97%。在生物毒性分析結果指出地下流在井 2 至井 3 毒性下降不明顯。推測應為 MTBE 及 BTEX 持續分解，但其所產生中間代謝產物具毒性，所以地下水毒性下降不明顯。表 4.18.4-4 顯示井 4 點化學分析結果顯示 MTBE 有高去除率在 53%–91%，BTEX 更達 79%–99%。但井 4 水樣(2.5%–15.7%)較井 3 水樣生物毒性下降明顯，推測應為地下水中所含毒性中間產物被地下水層中分解菌分解所致。

Tang et al. (2011) 使用發光菌 *Photobacterium phosphoreum* T3 偵測石化碳氫化合物污染土壤，其指出使用發光菌較蚯蚓及玉米及小麥種子發芽實驗有較高敏感度，所以發光菌可有效偵測石化碳氫化合物毒性。Rodrigues et al. (2011)指出污水處理後放流水有機物濃度與其生物毒性並無良好相關性，建議當評估廢水處理效果時，除注重放流水化學分析及 COD 外，應同時進行 *V. fischeri* acute toxicity test 生物毒性試驗評估廢水處理效果。Al-Mutairi et al. (2008) 使用生物復育 Kuwaiti oil lake 地區土壤時，發現復育初期，雖然有 85% TPH 被分解，但 Microtox test 偵測結果指出經生物復育的土壤，生物毒性有增加現象，指出應為中間代謝產物具生物毒性，但在延長生物復育時間，TPHs 及生物毒性二者皆可以明顯下降，此一現象與本研究使用釋氧型透水性反應牆去除 MTBE 與 BTEX 之現象類似。他們指出生物毒性評估為一極具價值方法，可評估生物復育土壤之有效性，並應做為環境監測系統之一部分。本研究生物毒性試驗研究成果指出：(1)釋氧型透水性反應牆為一良好處理技術，可有效降解地下水 MTBE 及 BTEX 生物毒性；(2)經釋氧型透水性反應牆處理 MTBE 及 BTEX，會分解具生物毒性之中間代謝產物。但隨流程增加，分解菌可有效降解毒性中間代謝產物；(3)地下水 MTBE 及 BTEX 降解過程中，目標污染物與生物毒性降解趨勢不同。目標污染物去除並不代表生物毒性去除，生物毒性偵測可補足化學分析之不足。

表 4.18.4-1 投入固定化菌體顆粒於透水性反應牆內之生物毒性分析數據

Items	2011.10.05			
	#1	#2	#3	#4
MTBE (mg/L)	22.27	8.93	2.35	2.07
Benzene (mg/L)	26.44	3.07	1.25	0.71
Toluene (mg/L)	26.59	3.57	1.88	1.14
Ethylbenzene (mg/L)	25.93	4.05	2.27	1.44
Xylene (mg/L)	26.44	4.12	2.69	2.07
抑光率(%)	38.6 ± 1.3	28.6 ± 3.2	25.4 ± 1.8	3.4 ± 1.5
Items	2011.10.06			
	#1	#2	#3	#4
MTBE (mg/L)	19.45	19.90	18.47	7.77
Benzene (mg/L)	23.10	4.35	1.83	0.94
Toluene (mg/L)	23.23	6.89	3.13	1.79
Ethylbenzene (mg/L)	22.65	9.76	4.05	2.11
Xylene (mg/L)	23.10	13.30	0.63	5.19
抑光率(%)	32.9 ± 0.7	32.6 ± 3.6	35 ± 1.0	2.5 ± 1.6
Items	2011.10.07			
	#1	#2	#3	#4
MTBE (mg/L)	23.28	18.17	15.89	11.03
Benzene (mg/L)	27.64	2.17	0.78	0.34
Toluene (mg/L)	27.80	2.08	0.73	0.32
Ethylbenzene (mg/L)	27.11	4.26	2.04	1.52
Xylene (mg/L)	27.64	3.95	0.04	1.21
抑光率(%)	30.2 ± 3.9	22.7 ± 0.5	22.8 ± 2.7	15.7 ± 2.7

第五章 主要發現與結論

本研究執行項目分為三部分執行，第一部份以固定化菌體顆粒技術結合釋氧物質之開發研究，採用可生物分解之固化材料(PVA)固化可分解甲苯之分解菌，開發出可包埋微生物與固化 ORC 之「釋氧型固定化菌體顆粒(ORCB)」，並探討二種不同製作方式而成 ORCB 之釋氧能力，以及變動不同緩衝物質比例與釋氧物質比例，探討 ORCB 之釋氧狀況；第二部分則係為執行異相活化劑批次試驗及長效釋氧化劑物質試驗，所得之參數將作為進行後續管柱試驗之依據；第三部分則採用生物毒性測試方法中之 *Vibrio fischeri* 方法，進行油品污染物(BTEX、MTBE)之毒性偵測。上述三部分執行研究結果彙整於 5.1 節、結論彙整於 5.2 節、建議事項則詳如 5.3 節所述。

5.1 研究結果彙整

1. 釋氧型固定化菌體顆粒之基本性質

以「混合攪拌式冷凍法」所製作出釋氧型固定化菌體顆粒(oxygen-releasing cell-immobilized bead, ORCB)具有孔隙較大之特徵，且依照釋氧物質種類區分成：(a)添加 CaO_2 時，ORCB 外觀呈現米黃色且顆粒表面較為乾燥；(b)添加 MgO_2 時，外觀呈現米白色且表面相對較為濕潤；然而，此方法使用之釋氧物質(CaO_2 或 MgO_2)會於攪拌過程中，造成釋氧物質與緩衝鹽類迅速發生反應而於短時間內產生過多氧氣，造成氧氣大量流失之缺點。

2. PVA 水凝膠包埋膠囊冷凍法與混合攪拌式冷凍法

以「PVA 水凝膠包埋膠囊冷凍法」製作出 ORCB，具可減緩製作過程中產生酸鹼反應、溫度上升及氣泡產生等現象，且可避免氧氣散失之問題。此外，以此方法製作之 ORCB，具備孔隙小(比表面積為 $16.665 \text{ m}^2/\text{g}$)、呈現不透明乳白色、表面外觀類似塑膠型態且表面光滑、及可包埋微生物等特徵。

3. 釋氧型固定化菌體顆粒釋氧性分析

採用 PVA 水凝膠包埋膠囊式冷凍法製成之 ORCB 試驗中，當固定 CaO_2 與檸檬酸比例為 1：1.5 條件(CaO_2 ：10 g；檸檬酸：15 g)下，則固化劑體積比為 85%時，水中之 DO 由 0.07 mg/L 提升至 12.72 mg/L；而固化劑體積比為 90%與 95%時，則 DO 分別提升至 10.9 mg/L 與 8.1 mg/L，由此獲致上述三種比例(85%、90%、95%)之釋氧率依序為 1.93、1.16 及 0.41 $\text{mg-O}_2/\text{day/g-ORCB}$ ，顯示釋氧率隨固化劑體積比之減少而增加。再由 ORCB 長效性釋氧分析與 pH 變化結果獲知，以 PVA 水凝膠包埋膠囊冷凍法製作之 ORCB，其初始 DO 可

快速提升至 20 mg/L，爾後隨時間增加，DO 逐漸趨於穩定釋出氧氣。於 141 小時後監測值獲知，水體中之 DO 值仍可維持在 8 mg/L 之飽和 DO (28 °C，1 atm)。

4. PVA 水凝膠包埋膠囊式冷凍法之釋氧能力分析

由不同緩衝物質配比之釋氧與 pH 變化獲知，當 CaO_2 與檸檬酸之比值為 1:0 時，可將水體中溶氧由 0.05 mg/L 提升至 4.01 mg/L；當添加檸檬酸比例分別為 1:0.5 與 1:1.5，則水體中之 DO 分別可提升至 7.3 mg/L 與 10.9 mg/L。顯示緩衝物質除具有增加 CaO_2 反應速率增加氧氣產生外，亦可再與弱酸反應而產生 H_2O_2 而再次提升水中 DO。

5. 低價吸附劑異相活化過硫酸鹽去除 BTEX 與 MTBE 之批次試驗

以不同低價吸附劑(包括高爐石(blast-furance slag, BF)及轉爐石(blast oxygen furance slag, BOF)進行異相活化過硫酸鹽對污染物之降解能力。由不同過硫酸鹽濃度對 BTEX 降解之影響試驗結果顯示，過硫酸鹽對 BTEX 降解大致符合擬一階反應(pseudo first-order reaction)。當 BF 於 1 g/L、過硫酸鹽濃度為 10 g/L 及 50 g/L 條件下，其反應速率常數(k)值分別為 0.39×10^{-2} 、 $2.16 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$ 。

以 BOF 活化過硫酸鹽對 BTEX 與 MTBE 降解結果呈現，添加 BOF 有助於過硫酸鹽活化，進而促進 BTEX 與 MTBE 之降解，且 BOF 添加劑量越高，降解效率越佳，乃因 BOF 中含有金屬物質(例如：鐵)可活化過硫酸鹽，故當 BOF 添加劑量為 1 g/L 與 5 g/L 時，其實驗監測之最終 pH 值分別為 7 與 9；然而當添加劑量越高時，越易造成水中溶液呈現鹼性，將不利鐵的溶出。

以 BF 活化過硫酸鹽對 BTEX 與 MTBE 降解結果呈現，當 BF 添加劑量為 1 g/L 與 5 g/L 時，其實驗監測之最終 pH 值分別為 5 與 7，介於微酸性～中性之間。pH 值為 5 之微酸性環境下尚未有利於鐵的溶出，因此 BF 所產生活化反應屬於異相活化反應；此外，添加 BF 亦可活化過硫酸鹽，可促進 MTBE 降解，但劑量需高於 10–20 g/L。

由不同吸附劑活化過硫酸鹽實驗結果顯示，當添加 BF、BOF 皆為 5 g/L，於 114 小時反應時間內，BTEX 降解率分別為 62%與 91%，且 BOF 比 BF 活化效果為佳，此乃因 BOF 含鐵量(37.67%)較 BF(2.49%)為高所致。由此結果顯示，當吸附劑之表面金屬含量越高，活化過硫酸鹽及降解污染物效果亦越佳。由於釋氧化劑物質釋放後，水中 pH 值呈鹼性，故污染物之氧化反應為異相催化所造成，且 pH 提升亦可避免過硫酸鹽應用時金屬溶出之問題。

6. 不同過硫酸鹽濃度對 MTBE 降解之影響

當添加過硫酸鹽濃度分別為 10 g/L 與 50 g/L 之實驗組別時，於 19 小時反應時間內，MTBE 去除率分別為 45 與 78%，其中以添加 50 g/L 過硫酸鹽之實

驗組別降解最快，可於 35 小時反應時間內，將 MTBE 完全被降解完畢。過硫酸鹽對 MTBE 降解反應速率大致符合擬一階反應，其 k 值分別為 3.26×10^{-2} 與 $10.5 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$ 。此外，MTBE 被過硫酸鹽降解時，可偵測出副產物 TBF 與 TBA 生成，當反應進行 9 小時後，TBA 生成達最高濃度為 3.13 mg/L，而 TBF 則於反應 9 小時後分析得最高濃度值為 25.6 mg/L，且 TBA 與 TBF 於系統中含量會隨反應時間增長而逐漸減少，顯示生成之 TBA 與 TBF 亦會被過硫酸鹽氧化去除。

7. 設計長效性釋氧化劑物質及活化性釋氧化劑物質

經由本研究所研發之長效性釋氧化劑物質與活化性釋氧化劑物質，可長期釋放過硫酸鹽並將污染物氧化，且最佳之配比為 1：0.2：0.5(水泥/高爐石/水) 與 1：0.5：0.5(水泥/高爐石/水)，均具有釋氧化劑物質累積釋放量、釋放速率快且持久之特性，同時釋放出過硫酸鹽天數可維持 15 天以上。

8. 新穎釋氧化劑整治牆管柱實驗

管柱實驗結果顯示，活化釋氧化劑物質對 MTBE 與 BTEX 之最大去除效率分別為 77%與 62%。惟當過硫酸鹽釋放濃度下降後，污染物濃度隨即開始回升。此外，管柱實驗會因水流流量較大之因素，使得過硫酸鹽與污染物在管柱內之反應時間較短，影響污染物之降解效率。惟在現地應用時，當過硫酸鹽釋放後，即會與污染物在釋放區及下游區持續反應，將污染物去除。

9. 固定化菌體顆粒降解 BTEX 之攝氧能力分析

由監測 OUR 結果得知，當固定化菌體顆粒與苯投入圓球體之三口瓶後 11–16 小時期間(即 DO 監測至第 18–23 小時期間)，瓶內固定化菌體顆粒開始逐漸有攝氧現象產生；爾後再經由 6 小時之監測結果發現，當苯開始被利用時，其 OUR 經線性回歸後求得為 $0.0233 \text{ mg-O}_2/\text{L/h}$ ，待苯進入快速分解期時，攝氧速率隨時間遞增而大幅提升至最高值($0.9 \text{ mg-O}_2/\text{L/h}$)；當苯隨之被固定化菌體顆粒分解完畢時，瓶內之固定化菌體顆粒，因可被利用之基質僅存不多，以至於攝氧速率逐漸下降，最後待基質完全被利用完畢後，OUR 變化即恢復至初始未投入固定化菌體顆粒階段。其餘甲苯、乙苯及二甲苯，則皆有類似之趨勢，其最大 OUR 分別為 $1.38 \text{ mg-O}_2/\text{L/h}$ (甲苯)、 $0.62 \text{ mg-O}_2/\text{L/h}$ (乙苯)，以及 $0.96 \text{ mg-O}_2/\text{L/h}$ (二甲苯)。

10. 釋氧型固定化菌體顆粒投入於管柱中進行不同總 BTEX 濃度之生物降解

經由 ORCB 投入於管柱中進行總 BTEX(濃度介於 20–120 mg/L)之生物降解試驗結果得知，當總 BTEX 濃度於 80 mg/L 以下時，微生物降解 BTEX 效率介於 61–93%間，其中以苯去除效率低於其他物質(甲苯、乙苯、二甲苯)，此乃因

苯之化學結構完整，屬較難分解之化合物，故去除效率較其他三者為低。此外，總 BTEX 濃度低於 80 mg/L 時，包埋 *Mycobacterium* sp. CHXY119 與 *Pseudomonas* sp. YATO411 菌株可有效降解 BTEX(61–93%)，但當濃度提高至 120 mg/L 時，則總 BTEX 去除效率降低至 41–74%間，顯示於較高濃度(120 mg/L)下，菌種會受到基質抑制而降低去除效率。

11. 以 PCR-DGGE 技術分析 PRB 系統內之菌群結構

經由 DGGE 分析菌群結構獲知，當透水性釋氧反應牆長期於 BTEX 環境之操作下，系統內之菌種變化趨於簡單化呈現；當有機負荷瞬間過高時，將導致菌群結構呈現變動，但當系統逐漸趨於平穩時(污染物濃度維持一定)，則菌群可回復至原有簡單化之結構。另透過 ORCB 管柱試驗結果獲知，包埋於 ORCB 內之部分菌株可經由水體流動而釋出於顆粒外部，但因水體流速屬於低流速(5 mL/min)之水流，故釋出之菌體會因為低流速水體流動而無法全部帶動所釋出之菌體往下游流動，導致部分釋出之菌株會於 ORCB 之底層生長；並經由數日生長後，與原有菌群匯集成一菌群而於底層中形成污泥層，此污泥層亦為主要去除 BTEX 之菌群。

12. 釋氧型固定化菌體顆粒之 SEM 分析

由電子顯微鏡(SEM)拍攝結果獲知，利用 PVA-alginate 材料可有效包埋特定污染物之分解菌種，同時於顆粒內形成多孔洞之結構，有利於提供微生物生長之空間。

13. *Vibrio fischeri* 對油品污染物之毒性偵測

以 *Vibrio fischeri* 生物毒性方法對汽油污染物之毒性偵測結果獲知，採用 phenol 為正控制組。抑光率(light inhibition ratio)隨 phenol 濃度增加而增加，phenol 正控制 EC₅₀ 值為 25–29 mg/L，且濃度與抑光率具高相關性($R^2=0.9861-0.9951$)，顯示所用 *Vibrio fischeri* 菌偵測具高敏感度及穩定性。當測試樣本選用單一化合物(分別為：甲苯、乙苯、二甲苯及 MTBE)時，其 EC₅₀ 值分別為 15、12、19 及 43 mg/L， R^2 值則介於 0.9765–0.9970；當測試樣本為混合 BTEX 時，*V. fischeri* 抑光率隨 BTEX 混合濃度增加而遞增，二者間具高度相關性($R^2=0.9992$)，其 EC₅₀ 值為 33 mg/L。

當使用 1%過硫酸鹽及在 1 及 5 g/L 轉爐石可以有效降低污染地下水生物毒性。但使用過高過硫酸鹽(5%)，則會造成生物毒性增加。生物毒性可能為經化學處理後，殘餘過硫酸鹽引起。然而，處理水之生物毒性隨氧化劑消耗而減低。使用釋氧型固定化菌體顆粒管柱及釋氧型透水性反應牆則可有效降解污染地下水，隨污染物濃度降低，生物毒性也隨之下降。

5.2 結論

根據本研究所完成之成果彙整結論如下所示：

1. 以「PVA 水凝膠包埋膠囊式冷凍法」包埋 CaO_2 製成之釋氧型固定化菌體顆粒 (ORCB)，可獲得較高之釋氧量，同時固化劑體積比(PVA)減少，會導致氧氣質傳效果愈佳而提高釋氧率。
2. 可藉由添加 alginate 作為製作釋氧型固定化菌體顆粒之固化輔助材料，提高顆粒之孔隙率而提升氧氣之釋出量。
3. 於 ORCB 內添加緩衝物質除了可增加 CaO_2 反應速率而提升氧氣產率外， CaO_2 亦會與酸反應而產生 H_2O_2 溶於水中而提高水中溶氧。
4. 包埋 *Mycobacterium* sp. CHXY119 與 *Pseudomonas* sp. YATO411 菌株製成之 ORCB 具可降解 BTEX，亦可釋出氧氣供微生物使用。
5. 由 SEM 拍攝結果獲知，利用 PVA-alginate 材料可有效包埋特定污染物之分解菌種，微生物可於顆粒內部空間中生長。
6. 經由 DGGE 分析菌群結構獲知，透水性釋氧反應牆長期於 BTEX 環境操作下，系統內之菌種變化趨於簡單化呈現；當有機負荷瞬間過高時(總 BTEX 濃度為 120 mg/L)，將導致菌群結構變動大，但當系統逐漸下降至總 BTEX 濃度為 80 mg/L 時，菌群又回復原有簡單化結構。
7. 釋氧化劑累積釋放量、釋放速率快且持久之比例為 1：0.2：0.5(水泥/高爐石/水)及 1：0.5：0.5 (水泥/高爐石/水)，可維持 15 天以上之過硫酸鹽釋出。
8. 釋氧化劑物質釋放後，水中 pH 值呈鹼性，並以異相催化方式氧化污染物，且 pH 提升可避免過硫酸鹽應用時之金屬溶出問題。
9. 轉爐石(BOF)與高爐石(BF)均具活化過硫酸鹽能力，可促進污染物之降解，建議添加劑量為 10 g/L 以上，且 BOF 與 BF 可活化過硫酸鹽系統，具可現場應用之可行性，且可取代二價鐵作為活化劑優先考量，降低地下水整治成本及解決整治時三價鐵沉澱之問題。
10. 吸附劑之添加有助於過硫酸鹽之活化，且添加劑量越高，過硫酸鹽之活化效果越佳，過硫酸鹽之活化應是 BF 與 BOF 表面上之含鐵位置接觸所造成。
11. 以爐石(BF)活化過硫酸鹽系統進行現地處理污染物時，若採用整治牆或整治井方式進行整治時，則需提高爐石添加劑量，幫助過硫酸鹽異相活化，以加速污染物降解。

12. 管柱實驗結果顯示，活化性釋氧化劑物質對 MTBE 及 BTEX 最大去除效率分別為 77%及 62%。惟當過硫酸鹽釋出濃度下降後，污染物濃度隨即開始回升。
13. 管柱實驗因流量較大因素，使得過硫酸鹽與污染物在管柱內反應時間較短，影響污染物之降解效率。惟在現地應用時，過硫酸鹽釋出後，即會與污染物在釋出區及下游區持續反應而將污染物降解。
14. 本研究所合成之活化性釋氧化劑物質，可有效降解 BTEX、MTBE 及副產物 (TBA、TBF)，未來可以整治牆或整治井方式，應用於受污染地下水之現地整治。
15. 由 EC₅₀ 結果獲知，*V. fischeri* 對汽油污染物生物毒性偵測具有高敏感度，且污染物濃度與 *V. fischeri* 之抑光率具有高相關性。
16. 經釋氧型透水性反應牆處理 MTBE 及 BTEX，會分解具生物毒性之中間代謝產物，並隨著污染物流經反應牆內堆疊之 ORCB，分解菌可有效降解毒性中間代謝產物。
17. 釋氧型透水性反應牆為一良好處理技術，可有效降解地下水 MTBE 及 BTEX 生物毒性。
18. 地下水 MTBE 及 BTEX 降解過程中，目標污染物與生物毒性降解趨勢不同，即目標污染物去除並不代表生物毒性去除，生物毒性偵測可補足化學分析之不足。

5.3 建議事項

本研究建議以下事項：

1. 以「混合攪拌式冷凍法」製成 ORCB，雖可迅速反應而釋放氧氣，但因製作過程中會快速釋出氧氣，故不適合後續 ORCB 應用。
2. 以「PVA 水凝膠包埋膠囊式冷凍法」包埋 CaO₂ 製成之 ORCB，具有減緩於製作過程釋出氧氣之缺點，且可穩定獲得較高之釋氧量。同時該顆粒具可包埋降解特定污染物之微生物，後續可針對不同污染物來源，選擇特定之微生物進行包埋。
3. 後續可利用回應曲面法來尋找 ORCB 之最佳參數配比，例如溫度、冷凍時間、冷凍次數、釋氧物質比例以及固化劑體積比等條件，來探討 ORCB 釋氧能力或崩解程度等參數。
4. 有鑑於 ORCB 之製作可能產生顆粒不均勻性，未來可藉由改善包埋方式、提升厚度或調整固化劑體積比方式，來有效解決因釋氧物質與檸檬酸反應產生

大量氧氣而造成 ORCB 變形或不均勻之缺點。

5. 高爐石、轉爐石皆屬低價之吸附劑，未來應用於現場整治上可以吸附法單獨進行，亦可以異相活化法加速污染物之移除，未來可取代二價鐵作為活化劑優先考量，降低整治成本及解決三價鐵沉澱之問題。
6. 在不同吸附劑與氧化劑之配比下，氧化劑釋放速率與釋放量似無規律性可循，後續可進行更多重覆實驗與調整配比，加大吸附劑添加比例上之差異，並加強成品之穩定性，待驗證釋氧化劑合成品之再現性後，再求得最佳配比。
7. 本實驗結果與釋氧化劑物質釋放反應天數不一樣，推測可能原因為流量過快，造成釋氧化劑物質與過多的水反應，未來可將流量調低，以確實評估釋氧化劑物質於地下水之釋放能力。
8. 未來仍應針對釋氧化劑物質進行改良，增長其釋放時間，並使釋放後之 pH 值維持在中性，降低對地下環境之影響。
9. 經生物處理法復育後之地下水樣，可透過 *Vibrio fischeri* 生物毒性分析方法來瞭解該整治後水樣是否含有毒性；但若採用化學法整治時，則需要在考量釋氧化劑對污染物之整治時間，以避免釋氧化劑之干擾而誤判整治後之水質具有毒性。
10. 本研究經由實驗室分析轉爐石、高爐石之結果獲知(全量分析法)，轉爐石部分有些許鉻成分存在，唯經由溶出液分析結果顯示，液相中並無鉻存在，故未來之應用，以「高爐石」為主，並於應用時可同步進行重金屬監測，以特別注意此部分之風險。

參考文獻

- Al-Mutairi, N., Bufarsan, A., Al-Rukaibi, F. (2008) “Ecorisk evaluation and treatability potential of soils contaminated with petroleum hydrocarbon-based fuels” *Chemosphere*, 74: 142–148.
- Anipsitakis, G.P., and D.D. Dionysiou, (2004) “Transition metal/UV-based advanced oxidation technologies for water decontamination” *Applied Catalysis B: Environmental*, 54: 155–163.
- ATSDR (Agency of Toxic Substances and Disease Registry), (2004) “*Interaction Profile for Benzene, Toluene, Ethylbenzene, and Xylenes (BTEX)*” US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta, GA, USA.
- Bedient, P.B., H.S. Rifai, and C.J. Newell, (1999) “*Groundwater water contamination: transport and remediation (2nd Ed)*” Prentice-Hall, Inc., NJ, USA.
- Block, P.A., P.A. Brown, and D. Robinson, (2004) “Novel activation technologies for sodium persulfate in situ chemical oxidation” *Proceedings of the 4th International Conference on the Remediation of Chlorinated and Recalcitrant Compounds*.
- Borden, R.C., and C.M. Kao, (1992) “Evaluation of groundwater extraction for remediation of petroleum contaminated aquifers” *Water Environment Research*, 64: 28–36.
- Borden, R.C., R.T. Goin, and C.M. Kao, (1997) “Control of BTEX migration using a biologically enhanced permeable barrier” *Ground Water Monitoring and Remediation*, 17: 70–80.
- Brar, S.K., M.R. Verma, Y. Surampalli, K. Misra, R.D. Tyagi, N. Meunier, and J.F. Blais, (2006) “Bioremediation of hazardous wastes - a review” *Practice Periodical of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste Management*, 10: 59–72.
- Brown, R.A., D. Robinson, G. Skladany, and J. Loeper, (2003) “Response to naturally occurring organic material: permanganate versus persulfate” *Proceedings of ConSoil, 2003-8th International FZK/TNO Conference on Contaminated Soil*, 1686–1691, May 12–16, Gent, Belgium.
- Burbano, A.A., D.D. Dionysiou, M.T. Suidan, and T.L. Richardson, (2005) “Oxidation kinetics and effect of pH on the degradation of MTBE with fenton reagent” *Water Research*, 39: 107–118.
- Burbano, A.A., D.D. Dionysiou, M.T. Suidan, and T.L. Richardson, (2005) “Oxidation

- kinetics and effect of pH on the degradation of MTBE with fenton reagent” *Water Research*, 39: 107–118.
- Cao, J., W.X. Zhang, D.G. Brown, and D. Sethi, (2008) “Oxidation of lindane with Fe(II)-activated sodium persulfate” *Environmental Engineering Science*, 25(2): 221–228.
- Chapelle, F.H., (1999) “Bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminated ground water: the perspectives of history and hydrology” *Ground Water*, 37: 122–132.
- Chen, K.F., C.M. Kao, C.Y. Hsieh, S.C. Chen, and Y.L. Chen, (2005) “Natural biodegradation of MTBE under different environmental conditions: microcosm and microbial identification studies” *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 74: 356–364.
- Chen, K.F., C.M. Kao, T.Y. Chen, C.H. Weng, and C.T. Tsai, (2006) “Intrinsic bioremediation of MTBE-contaminated groundwater at a petroleum-hydrocarbon spill site” *Environmental Geology*, 50: 439–445.
- Chiellini, E., P. Cinelli, V. I. Ilieva, A. Ceccanti, P. Alexy, and D. Bakos, (2003) “Biodegradable hybrid polymer films based on poly(vinyl alcohol) and collagen hydrolyzate” *Macromolecular Symposia*, 197(1):125–132.
- Chun, J.S., D. Kim, J.H. Yoon, and C.H. Lee, (2007) “Metagenomic analysis of BTEX-contaminated forest soil microcosm” *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17: 668–672.
- Church, C.D., J.F. Pankow, and P.G. Tratnyek, (1999) “Hydrolysis of tert-butyl formate: kinetics, products, and implications for the environmental impact of methyl tert-butyl ether” *Environmental Toxicology & Chemistry*, 18: 2789–2796.
- Church, C.D., J.F. Pankow, and P.G. Tratnyek, (1999) “Hydrolysis of tert-butyl formate: kinetics, products, and implications for the environmental impact of methyl tert-butyl ether” *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18: 2789–2796.
- Davis, M.L., and D.A. Cornwell, (2008) “*Introduction to environmental engineering (4th Ed)*” pp 21, ISBN: 9780071259224, McGraw-Hill.
- Day, M.J., R.F. Reinke, and J.A.M. Thomson, (2001) “Fate and transport of fuel components below slightly leaking underground storage tanks” *Environmental Forensics*, 2: 21–28.
- Dogliotti, L., and E. Hayon, (1967) “Flash photolysis of persulfate ions in aqueous solutions. Study of the sulfate and ozonide radical anions” *Journal of Physical Chemistry*, 71: 2511–2516.

- Doherty, F.G., (2001) “A review of the Microtox toxicity test system for assessing the toxicity of sediments and soils” *Water Quality Research Journal of Canada*, 36: 475–518.
- Earl, L.K., P.A. Jones, M.B. Dixit, K.A.F. O'Brien, (1995) “Comparison of five potential methods for assessing ocular irritation in vitro” *Toxicology in Vitro*, 9: 245–250
- Farhadian, M., C. Vachelard, D. Duchez, and C. Larroche, (2008) “In situ bioremediation of monoaromatic pollutants in groundwater: A review” *Bioresource Technology*, 99: 5296–5308.
- Goulden, P.D., and D.H.J. Anthony, (1978) “Kinetics of uncatalyzed peroxydisulfate oxidation of organic material in fresh water” *Analytical Chemistry*, 50: 953–958.
- Gupta, G., and Y.J. Lin, (1995) “Toxicity of methyl tertiary butyl ether to *Daphnia magna* and *Photobacterium phosphoreum*” *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 55: 618–620.
- Gusmão, A.D., T.M.P. Campos, E.A. Vargas Jr., and M.M.M. Nobre, (2004) “Laboratory tests for reactive barrier design” *Journal of Hazardous Materials*, 110: 105–112.
- Hao, O.J., C.F. Lin, F.T. Jeng, and C.J. Shih, (1995) “A review of Microtox test and its applications” *Toxicological and Environmental Chemistry*, 52: 57–76.
- Hassan, C.M., and N.A. Peppas, (1999) “Cellular PVA hydrogels produced by freeze/thawing” *Journal of Applied Polymer Science*, 76:2075–2079.
- Hatakeyema, T., J. Uno, C. Yamada, A. Kishi, and H. Hatakeyama, (2005) “Gel–sol transition of poly(vinyl alcohol) hydrogels formed by freezing and thawing” *Thermochimica Acta*, 431: 144–148.
- Hernando, M.D., M. Ejerhoon, A.R. Fernández-Alba, and Y. Chisti, (2003) “Combined toxicity effects of MTBE and pesticides measured with *Vibrio fischeri* and *Daphnia magna* bioassays” *Water Research*, 37: 4091–4098.
- House, D.A., (1962) “Kinetics and mechanism of oxidations by peroxydisulfate” *Chemical Reviews*, 62: 185–203.
- Hristova, K., B. Gebreyesus, D. Mackay, and K.M. Scow, (2003) “Naturally occurring bacteria similar to the methyl tert-butyl ether (MTBE)-degrading strain PM1 are present in MTBE-contaminated groundwater” *Applied and Environmental Microbiology*, 69: 2616–2623.
- Hrnčířik, J.K., J. Pseja, J. Kupec, and S. Bernkopfova, (2010) “Anaerobic biodegradation of polyvinyl alcohol modified by extracellular polysaccharides” *Journal of Polymers and the Environment*, 18(2): 98–103.
- Huang, K.C., R.A. Couttenye, and G.E. Hoag, (2002) “Kinetics of heat-assisted persulfate oxidation of methyl tert-butyl ether (MTBE)” *Chemosphere*, 49: 413–420.

- Huang, K.C., R.A. Couttenye, and G.E. Hoag, (2002) “Kinetics of heat-assisted persulfate oxidation of methyl tert-butyl ether (MTBE)” *Chemosphere*, 49: 413–420.
- Huang, K.C., R.A. Couttenye, and G.E. Hoag, (2002) “Kinetics of heat-assisted persulfate oxidation of methyl tert-butyl ether (MTBE)” *Chemosphere*, 49: 413–420.
- Huang, K.C., R.A. Couttenye, and G.E. Hoag, (2002) “Kinetics of heat-assisted persulfate oxidation of methyl tert-butyl ether (MTBE)” *Chemosphere*, 49: 413–420.
- Huang, K.C., Z. Zhao, G.E. Hoag, A. Dahmani, and P.A. Block, (2005) “Degradation of volatile organic compounds with thermally activated persulfate oxidation” *Chemosphere*, 61: 551–560.
- Huang, K.C., Z. Zhao, G.E. Hoag, A. Dahmani, and P.A., Block, (2005) “Degradation of volatile organic compounds with thermally activated persulfate oxidation. *Chemosphere*, 61: 551–560.
- Isidori, M., M. Ferrara, M. Lavorgna, A. Nardelli, and A. Parrella, (2003) “In situ monitoring of urban air in Southern Italy with the tradescantia micronucleus bioassay and semipermeable membrane devices (SPMDs)” *Chemosphere*, 52: 121–126.
- ITRC (The Interstate Technology & Regulatory Council), (2005) “*Overview of groundwater remediation technologies for MTBE and TBA*”.
- ITRC (The Interstate Technology & Regulatory Council), (2005) “*Technical and Regulatory Guidance for In Situ Chemical Oxidation 2nd Ed*”.
- Juhasz, A.L., G.A. Stanley, and M.L. Britz, (2002) “Degradation of high molecular weight pahs in contaminated soil by a bacterial consortium: effects on microtox and mutagenicity bioassays” *Bioremediation Journal*, 4: 271–283.
- Kao, C.M., S.C. Chen, J.K. Liu, and Y.S. Wang, (2001) “Application of microbial enumeration technique to evaluate the occurrence of natural bioremediation” *Water Research*, 35(8): 1951–1960.
- Karpenko, O., V. Lubenets, E. Karpenko, and V. Novikov, (2009) “Chemical oxidants for remediation of contaminated soil and water—A review” *Chemistry and Chemical Technology*, 3(1): 41–45.
- Kolthoff, I.M., and I.K. Miller, (1951) “The chemistry of persulfate. I. The kinetics and mechanism of the decomposition of the persulfate ion in aqueous medium” *Journal of the American Chemical Society*, 73: 3055–3059.
- Lee, E.S. and F.W. Schwartz, (2007) “Characteristics and applications of

- controlled-release KMnO_4 for groundwater remediation” *Chemosphere*, 66: 2058–2066.
- Lenka, V., N. Jan, S. Martina, and K. Martin, (2006) “The biofiltration permeable reactive barrier: Practical experience from Synthesia. Int Biodeter” *Biodegradation*, 58: 224–230.
- Li, S.X., D. Wei, N.K. Mak, Z.W. Cai, X.R. Xu, H.B. Li, and Y. Jiang, (2009) “Degradation of diphenylamine by persulfate: Performance optimization, kinetics and mechanism” *Journal of Hazardous Materials*, 164: 26–31.
- Liang C., I.L. Lee, I.Y. Hsu, C.P. Liang, and Y.L. Lin, (2008) “Persulfate oxidation of trichloroethylene with and without iron activation in porous media” *Chemosphere*, 70: 426–435.
- Liang, C., C.J. Bruell, M.C. Marley, and K.L. Sperry, (2004a) “Persulfate oxidation for in situ remediation of TCE I-activated by ferrous ion with and without a persulfate-thiosulfate redox couple” *Chemosphere*, 55: 213–1223.
- Liang, C., C.J. Bruell, M.C. Marley, and K.L. Sperry, (2004b) “Persulfate oxidation for in situ remediation of TCE II-activated by chelated ferrous ion” *Chemosphere*, 55: 1225–1233.
- Liang, C.J., C.J. Bruell, M.C. Marley, and K.L. Sperry, (2003) “Thermally activated persulfate oxidation of Trichloroethylene (TCE) and 1,1,1-Trichloroethane (TCA) in aqueous systems and soil slurries” *Soil and Sediment Contamination*, 12: 207–228.
- Lin, C.W., L.H. Chen, Y.P. I, and C.Y. Lai, (2010) “Microbial communities and biodegradation in lab-scale BTEX-contaminated groundwater remediation using an oxygen-releasing reactive barrier” *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 33: 383–391.
- Lin, T.-C., and M.-R. Chao, (2002) “Assessing the influence of methanol-containing additive on biological characteristics of diesel exhaust emissions using microtox and mutatox assays” *The Science of the Total Environment*, 284:61–74.
- Matsumura, S., H. Kurita., H. Shimokobe, (1993) “Anaerobic biodegradability of polyvinyl alcohol” *Biotechnology Letters*, 15(7): 749–754.
- Muyzer, G., (1999), “DGGE/TGGE a method for identifying genes from natural ecosystems” *Current Opinion in Microbiology*, 2: 317–322.
- Navarro, R. M. F., S.W. Lin-Ho, N.B. Díaz, and S.P. Sicairos, (2007) “Kinetics of the degradation of 1,4-Dioxane using persulfate” *Journal of the Mexican Chemical Society*, 51(2): 67–71.
- Neta, P., E.H. Robert, and B.R. Alberta, (1998) “Rate constants for reactions of inorganic radical in aqueous solution” *Journal of Physical and Chemical Reference*

- Data, 17: 1027–1262.
- Nugent, M.J.D., A. Hanley, P.T. Tomkins, C.L. Higginbotham, (2005) “Investigation of a novel freeze-thaw process for the production of drug delivery hydrogels” *Journal of Materials Science: Materials In Medicine*, 16:1149–1158.
- Partap, S., A. Muthutantri, I.U. Rehman, G.R. Davis, and J.A. Darr, (2007), “Preparation and characterisation of controlled porosity alginate hydrogels made via a simultaneous micelle templating and internal gelation process” *Journal of Materials Science*, 42: 3502–3507.
- Rodrigues, E.S., Umbuzeiro, G., (2011) “Integrating toxicity testing in the wastewater management of chemical storage terminals – A proposal based on a ten-year study” *Journal of Hazardous Materials*, 186: 1909–1915.
- Rosell, M., S. Lacorte, and D. Barceló, (2006) “Analysis, occurrence and fate of mtbe in the aquatic environment over the past decade” *Trends in Analytical Chemistry*, 25(10): 1016–1029.
- Salari, D., A. Niaei, S. Aber, and M.H. Rasoulifard, (2009) “The photooxidative destruction of C.I. Basic Yellow 2 using $UV/S_2O_8^{2-}$ process in a rectangular continuous photoreactor” *Journal of Hazardous Materials*, 166: 61–66.
- Salari, D., N. Daneshvar, A. Niaei, S. Aber, and M.H. Rasoulifard, (2008) “The photo-oxidative destruction of C.I. Basic Yellow 2 using $UV/S_2O_8^{2-}$ process in an annular photoreactor” *Journal of Environmental Science and Health Part A*, 43: 657–663.
- Simon, F.G., and T. Meggyes, (2000) “Removal of organic and inorganic pollutants from groundwater using permeable reactive barriers Part 1. Treatment processes for pollutants” *Land Contamination & Reclamation*, 8: 103–117.
- Soga K., J.W.E. Page, and T.H. Illangasekare, (2004) “A review of NAPL source zone remediation efficiency and the mass flux approach” *Journal of Hazardous Materials*, 110: 13–27.
- Solley, W.B., R.R. Pierce, and H.A. Perlman, (1998) “*Estimated used of water in the United States in 1995*” US Geological Survey Circular 1200.
- Tang, J., Wang, M., Wang, F., Sun, Q., Zhou, Q., (2011) “Eco-toxicity of petroleum hydrocarbon contaminated soil” *Journal of Environmental Sciences*, 23: 845–851.
- USEPA (US Environmental Protection Agency), (1997) “*Drinking water advisory: consumer acceptability advice and health effects analysis on methyl tertiary-butyl ether (MTBE)*” EPA-822-F-97-009.
- USEPA, (2004b) “*How to evaluate alternative cleanup technologies for underground*

- storage tank sites - A guide for corrective action plan reviewers*” EPA 510-R-04-002.
- USEPA. 2004a. How to evaluate alternative cleanup technologies for underground storage tank sites - A guide for corrective action plan reviewers.
- USEPA. 2004b. Treatment Technologies for Site Cleanup: Annual Status Report. 11th Edition ed.
- Xu, X., Q. Ye, T. Tang, and D. Wang, (2008) “HgO oxidative absorption by $K_2S_2O_8$ solution catalyzed by Ag^+ and Cu^{2+} ” *Journal of Hazardous Materials*, 158: 410–416.
- Zhuang, W.Q., J.H. Tay, S. Yi, S.T.L. Tay, (2005) “Microbial adaptation to biodegradation of *tert*-butyl alcohol in a sequencing batch reactor” *Journal of Biotechnology*, 118: 45–53.
- 朱啟中，「生物固定化技術及應用」，(2009)，化學工業出版社，北京。
- 林珮雲，(2005)，「水中常見之陰離子對過硫酸鹽熱催化氧化三氯乙烯的影響」，國立成功大學環境工程研究所，碩士論文。
- 邱舜稜，(2002)，「以 **Microtox** 檢測方法評估實際廢水生物毒性之研究」，國立中央大學環境工程研究所，碩士論文。
- 陳文福，(2005)，「台灣的地下水」，遠足文化。
- 陳立軒，(2006)，「透水性反應牆之生物分解能力與菌群分佈研究」，大葉大學環境工程學系，碩士論文。
- 陳谷汎、吳龍泉、李晏毅、高志明、孫元邦、梁書豪，(2007)，「鐵活化過硫酸鹽氧化法處理受MTBE污染地下水之探討」，*界面科學會誌*，第29期(2)，第85–100頁。
- 陳谷汎、高志明、蔡啟堂，「土壤及地下水生物復育技術」，*工業污染防治*，第84期，第136-157頁，2002。
- 陳彥旻，(2007)，「生物性透水性反應牆共代謝處理三氯乙烯之研究」，成功大學環境工程學系系，博士論文。
- 經濟部能源局，(2011)，「各縣市汽車加油站汽柴油銷售統計表」，100年3月，
<http://www.moeaboe.gov.tw/opengovinfo/Plan/oilgas/WorkStatisticsOG.aspx>。
- 鄭淑貞，(2004)，「鹼土過氧金屬化合物釋氧效果之評估」，國立屏東科技大學環境工程與科學系，碩士論文。
- 環保署(行政院環境保護署)，(2006)，「95年度土壤及地下水污染整治年報」。
- 環保署(行政院環境保護署)，(2006)，「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」，95年9月。
- 環保署(行政院環境保護署)，(2009)，「地下水污染管制標準」，98年1月15日公

布。

環保署(行政院環境保護署)，(2011)，「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網，<http://sgw.epa.gov.tw/public/0401.asp>。

附錄六 期末報告確認表

行政院環境保護署「新穎釋氧物質於受油品污染之地下水整治與 Microtox 生物毒性評估技術研發—批次與管柱試驗」

計畫結案報告確認表

項 目	受委託人自評(符合者打 ✓)	業務主管單位複評(符合者打✓)
一、報告格式		
1. 封面是否註明計畫名稱、計畫編號、「行政院環境保護署委託研究」或「行政院環境保護署編印」字樣(計畫執行單位、計畫執行人員、計畫執行期間及印製年月)	✓	
2. 書脊是否註明計畫名稱及「行政院環境保護署」之字樣?	✓	
3. 封底是否註明「本報告係受託單位或計畫主持人個人之意見，僅供本署施政之參考」、「本報告之著作財產權屬(委辦者)所有，非經(委辦者)同意，任何人均不得重製、仿製或其他之侵害」及圖書統一標號?	✓	
二、報告內文		
4. 是否已撰寫報告基本資料表?	✓	
5. 是否已撰寫完整摘要?	✓	
(1)中英文計畫摘要(簡要版，各約三至五百字)	✓	
(2)成果摘要(詳細版，約四千至一萬字)	✓	
6. 是否已撰寫目錄?(含章節目錄、圖表目錄及附件目錄)	✓	
7. 是否依規定撰寫前言(報告於前言或緣起內應述明計畫由來及目的、執行進度、經費及各重要工作要項負責執行之人員資歷與專長)	✓	
8. 是否依規定撰寫結論與建議?	✓	
9. 計畫內若有統計實證是否已述明其操作型定義、問卷架構、方法、回收率、有效度及可信度(無統計實證者免填)		
10. 計畫若有採樣分析，記錄是否完整?(無採樣分析者免填)		
11. 對檢測數據是否已深入探討數據對於環境或研究主題以及政策上之意義(無檢測數據者免填)		
12. 涉及對事實判斷者，是否確實掌握相關資訊(無涉事實判斷者免填)		
13. 應用模式推估之計畫，是否述明模式原理、採用參數及原始資料等(無應用模式推估者免填)		
14. 報告附錄是否依契約齊備(例如：調查問卷、本署審議意見及研究主持人之修正說明、各項座談會紀錄、出國訪問報告、相關統計資料、法規及文件等重要資料)		

15. (1)經費人力分配及工作項目章節是否對應列表 (2)是否訂定工作流程圖示，並依據所訂流程循序進行並加以說明 (3)計畫報告內文是否加註參考文獻出處或其他資訊(計畫經費 500 萬元以下得免填)		
三、本計畫應繳交文件		
16. 計畫報告紙本(15)冊及未設密碼之電子檔(word 檔或 PDF 檔)三份	✓	
17. 中英文計畫摘要紙本及 word 電子檔(簡要版，300-500 字)	✓	
18. 成果摘要紙本及 word 電子檔(詳細版，4,000-10,000 字)	✓	
19. 計畫成果效益自評表紙本及 word 電子檔(非科技計畫者免填)		
20. 重要成果效益報告(依國科會要求填報，非科技計畫者免填)		
21. 計畫執行摘要表(如附件，以 A4 一頁為原則，應經委託單位主管簽名認可，結案時影印送主秘室及科顧室)	✓	
四、其他.		
22. 期末報告審查會議紀錄影本	✓	
23. 期末報告書一本(呈核時須檢附)	✓	
24. 是否已依合約約定之工作項目完成各項工作	✓	
25. 駐署人員出勤狀況是否符合契約規範(檢附計畫執行期間之出勤紀錄表，並由業務主管單位人員核章確認。無駐署人員者請填無)		
26. 金額在一百萬元以上者，如結案併同辦理撥款時，須檢附勞務結算驗收證明書		
27. (1)計畫執行期限截止日期 (2)期末報告初稿送署日期 (3)期末報告審查會日期 (4)期末報告會議紀錄發文日期 (5)期末報告修正本送署日期 (6)期末報告本署核可日期 (7)正式報告送署日期 (8)本署認可日期	12 月 28 日 11 月 15 日 12 月 14 日 12 月 19 日 12 月 21 日 12 月 21 日 12 月 21 日 12 月 21 日	月 日 月 日 月 日 月 日 月 日 月 日 月 日 月 日

<p>28. (1)確認期末報告電子檔公開方式：</p> <p><input type="checkbox"/>全文公開：可以全部開放給民眾下載。【請上傳公開完整版】</p> <p><input type="checkbox"/>部分公開：已將不公開部分(例如：個人資料、列管場所等)刪除或以代號表示，製成公開版電子檔。【請分別上傳公開版(對民眾公開)及完整版(對署內公開)】</p> <p><input type="checkbox"/>完全不公開：屬機敏性專案資料，經__年__月__日簽奉 核准，勿需上網登錄基本資料及上傳期末報告。</p> <p>計畫單位主管已確認公開方式(請核章)：_____</p> <p>(2)確認已將期末報告書本文及附件整合成一個 pdf 或 word 檔上傳且無加密。(期末報告完全不公開者免確認)</p> <p>(3)期末報告書是否有原始資料？【原始資料分為實(檢)驗類、檢測調查類、問卷調查類及收集彙整類】</p> <p><input type="checkbox"/>無，或期末報告完全不公開。</p> <p><input type="checkbox"/>有，已上傳且電子檔(Excel 格式)內容確認無誤。</p> <p>(4)確認已於本署「環保專案登錄系統」(http://www.epa.gov.tw/epr)完成計畫成果登錄、電子檔上傳及審查。(請加會監資處核對)(專案登錄碼：____)(期末報告完全不公開者免填)</p>		
<p>29. 研究報告結案後寄送指定寄存圖書館(名單洽綜計處，共 32 處；中央圖書館二份)</p>		
<p>30. 研究報告電子檔送國科會科資中心二份(非科技計畫者免送)</p>		
<p>31. 研究報告全文電子檔(Word 或 PDF)及報告定稿紙本各一份，送科顧室制作光碟(非科技計畫者免送)</p>		

承辦人：_____ 科長：_____ 計畫單位主管：_____

本報告僅係受託單位或個人之意見，僅供環保署實施政之參考。

本報告之著作財產權屬行政院環境保護署所有，

非經行政院環境保護署同意，任何人均不得重製、仿製或為其他之侵害