

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」

應用透水式電化學生物反應牆於受BTEX污染地下水 之現地整治研究

期末報告

EPA-99-GA103-03-A236-19

主 辦 單 位： 行政院環境保護署

受 託 單 位：國立成功大學水質研究中心

印 製 年 月：100/12/21

計 畫 執 行 人 員：王永福

計 畫 執 行 期 間：99/12/31 – 100/12/30

中 華 民 國 100 年 12 月

計畫成果報告摘要

計畫名稱：應用透水式電化學生物反應牆於受 BTEX 污染地下水之現地整治研究

計畫編號：EPA-99-GA103-03-A236-19

計畫執行單位：國立成功大學 水質研究中心

計畫主持人(包括協同主持人)：王永福

計畫期程：99 年 12 月 31 日起 100 年 12 月 30 日止

計畫經費：990 千元整

摘要 (Abstract)

苯(benzene)、甲苯(toluene)、乙苯(ethylbenzene)與對二甲苯(xylene) (簡稱 BTEX) 普遍存在汽油污染的地下水中，且隨著地下水的流動，污染的範圍也隨之擴大。傳統處理方式需耗費大量動力自地下抽出污染物質或注入過氧化劑以利污染物質之氧化，各種方法中生物處理方法被認為最符合經濟效應，其中生物反應牆常被用來防止汙染物質的擴散，但氧化物質(最終電子接受者)的順利提供，依然是生物反應牆在實際整治過程中最大的瓶頸。根據先期研究發現，以電極為電子接受者，在無氧的環境下，微生物可以持續進行苯的氧化反應。後續進一步在模擬土壤管柱中(反應層約 15 cm)，利用實際土壤微生物作為植種菌源，在特定電壓的施加下，以電極為最終單一電子接受者，進行 BTEX 生物降解研究，初步發現微生物對 BTEX 有極佳的降解率(95%以上)，此重要結果有利於開發一微生物電化學反應牆。為使此反應牆更趨實用，本計劃將進行實際現地模廠規模(Pilot study)驗證，探討在不同停留時間、不同施加電壓與不同反應層深度下之各物質降解、中間產物累積與相關微生物分布情形。

Benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes isomers (BTEX) exist widely in the groundwater contaminated by gasoline and are spread by the groundwater flow. Traditional remediation methods of physical (Pump and treat) or chemical (chemical oxidation) techniques are generally costly. Biological approaches for treating BTEX in the contaminated groundwater appear to be economical and environmental friendly processes, but supply of final electron acceptors for the microbe efficiently is still a strict problem.

In our previous study, it was revealed that an electrode at a given potential could be the final electron acceptor for benzene biodegradation under anaerobic conditions. Further, the soil columns (reaction zone were 15 cm) were constructed to study the biodegradations of BTEX with carbon fiber electrode as the sole electron acceptor. The degradations of BTEX were more than 95%. This result is useful for the development of bioelectrochemical permeable reactive barrier. In order to promote this useful barrier to the on-site application in the near future, some useful parameters, such as the suitable value of applied potential for the electrode, hydraulic retention time, the efficiencies of BTEX biodegradation, and the microbial communities within the carbon fiber electrode will be organized in this pilot scale study on bioelectrochemical permeable reactive barrier.

前 言

苯(benzene)、甲苯(toluene)、乙苯(ethylbenzene)與對二甲苯(xylene) (簡稱 BTEX) 普遍存在汽油污染的地下水中，且隨著地下水的流動，污染的範圍也隨之擴大。傳統處理方式需耗費大量動力自地下抽出污染物質或注入過氧化劑以利污染物質之氧化，各種方法中生物處理方法被認為最符合經濟效應，其中生物反應牆常被用來防止汙染物質的擴散，但氧化物質(最終電子接受者，一般為氧氣)的順利提供，依然是生物反應牆在實際整治過程中最大的瓶頸。根據先期研究發現，以電極為電子接受者，在無氧的環境下，微生物可以持續進行苯的氧化反應，此重要結果有利於開發一微生物電化學反應牆。為使此反應牆更趨實用，本計劃將進行實驗室土壤管柱實驗與實際現地模廠規模(Pilot study)驗證，探討在不同停留時間、不同施加電壓與不同反應層深度下之各物質降解、中間產物累積與相關微生物分布情形。

研究方法

除進行實驗室土壤管柱實驗外，承蒙台灣中油公司之同意，高雄煉油廠配合提供相關施工機具與模場場地，設置一反應牆做為 Pilot study 使用，此透水式電化學微生物反應牆初步規劃長 4 公尺、高 1 公尺、厚度為 15 公分左右，整體反應牆必須設置在飽和水層，反應牆前後 5 公分處設置採水管，方便採集水樣量測水中 BTEX 殘留情形，評估去除效果。反應牆材質為導電型石墨碳纖維，地面上方將設

置控制箱，內部安裝定電位控制儀，利用導電性碳纖維為導線，使定電位儀與生物反應牆連結，負責提供一定電壓予生物反應牆(Bio-anode)，從反應牆所得之電子再回饋到陰極(Cathode)(材質為鈦金屬)，生物反應牆與陰極不可接觸，以免造成短路現象。所得電流信號以信號擷取器記錄，後續結合水質資料，可探討處理效果之合理性。

結 果

微生物電化學反應牆模組一旦埋入地下後，後續相關表現僅能從電流量(代表微生物反應傳電狀況)、進出流水質狀況等，得知其污染物降解粗略狀況，由於無法重新開挖，對於細部反應機制便無法得知。為了彌補上述缺點，我們同時進行實驗室相關研究，希望藉由實驗室的學理推論與現地模場的測試，將此微生物電化學反應牆在現地可能遇到的可能狀況加以分析與解決，使此反應牆早日應用於實際污染場址，解決 BTEX 污染物擴散的問題。計畫研究成果如下：

[降解特性與電子傳遞現象]

以電極為最終電子接受者，設計出電化學微生物反應牆，並實際應用在污染場址，是本研究的最終目的。要證實電化學微生物反應牆的可行性，就必須先證實土壤中的確存在有微生物能分解有機污染物，並以電極為最終電子接受者。依據微生物電化學原理，在施加有效定電壓的情況下，當陽極有電流產生時，意味著電極得到來自微生物之電子。初步先以電化學反應瓶並加入油品污染土壤為植種源進行測試，當 35 mg 的苯加入批次反應瓶中時，初期並無明顯電流發生，顯示在此低電壓情況下，苯無法直接被電極氧化，且初期能以電極為電子接受者之微生物可能並非優勢，因此會有較長之遲滯期(約 5 天)，然而經過大約兩週的持續馴養後，當苯再一次加入反應瓶中的時候，可以看到反應電流立刻上升，顯示該類微生物已被大量培養，換算當時瓶內之苯濃度(約為 500 ppm)，意味著相關微生物在高濃度苯的情況下，活性並未被抑制。

為了進一步釐清生物電流的產生是來自於微生物分解苯所產生，並且測試最佳操作電壓，作為未來實際使用之參考，在苯存在與否的情況下，進行不同電壓條件下之電流反應實驗。相對於控制組，當苯存在時才能產生明顯電流，顯示生物電流的產生的確是來自於微生物分解苯所產生。而且當施加電壓高於-0.4 V 以上

時即有電流產生，並且隨著電壓的提昇，反應電流亦逐步上升，當電壓高於-0.1 V 以上時，電流信號即達平衡。這個結果具有相當重要的意義，意味著未來當此微生物電化學反應牆實際應用時，施加的電壓只要高於-0.1 V 以上即可，不需再過分耗費多餘的能源，就能達到苯的有效分解。

從上述結果可以得知，苯可以被微生物分解產生電流，接下來必須進一步了解的是苯被分解的程度。根據推論，當一個苯分子完全氧化到 CO_2 後，理論上可以得到 30 個電子。從加入苯為基質後之電流與時間的關係圖，因此只要計算其面積就能直接得到反應完成後所得到的總電量($Q=I \times T$, Q 、 I 和 T 分別表示電量、電流與時間)，另外實驗完成後也對溶液中的無機碳增加量進行分析，對照所增加碳酸鹽的量與總電量，結果顯示電子回收率為 78% - 135% 之間($n=4$)，雖然後續詳盡驗證規劃仍須進行，但初步判斷此微生物電化學反應裝置有潛力將污染物質(苯)完全氧化至無害的 CO_2 。

[土壤管柱測試試驗]

根據上述實驗結果，顯示土壤中的確存在若干微生物，可以將固態電極作為電子接受者進行苯的分解作用，因此下一步將組裝土壤管柱進行模擬實驗，分別以 BTEX 及 MTBE 為進流基質，採連續進流方式模擬地下水水流狀況，流速設定為 10 cm/day。在經過兩個禮拜的監測後，電化學反應管柱的 BTEX 均達到 99% 以上的去除率。A、B 管柱皆有降解的成果，其中 A 管柱出流水 BTEX 濃度在 100 ppb 以下，而 B 管柱出流水 BTEX 濃度大概在數百到數千 ppb。由於實驗過程中，氧氣的滲入不易控制，根據以上數據推測，在 B 管柱中微生物應該是進行好氧降解，但由於系統中的溶氧有限，所以降解效果受到限制。而 A 管柱除了好氧降解外，微生物還利用了電極作為電子接受者進行厭氧降解，所以降解效果比 B 管柱明顯。實驗結果也發現到 A 管柱中的 TIC (total inorganic carbon) 含量比 B 管柱多 2.4 ppm，印證了 A 管柱對於 BTEX 的高降解性，同時初步判定 BTEX 經電化學生物反應牆降解後的最終產物為 CO_2 。

[先期模場試驗]

本實驗已於台灣中油公司煉製事業部高雄煉油廠廠區內，進行一先期測試。由於這是跨出實驗室規模重要的一步，相關經驗與參數皆已完整保留，做為本計

劃測試成功的依據。如圖六所示，反應牆模場先以怪手挖開，由於正值豐水期，地下水位高，由於錯估開挖規模，本次施工並未使用鋼板樁，先行固定土壤，導致地下水回升時，土方坍落，為使不致功虧一簣，整個工程在 30 分鐘內結束。碳纖維反應牆在規模放大時，硬度變低，柔軟性增加，固定不易；為使反應牆順利埋入，先以人工方式抬起，再將反應牆迅速放下。在此感謝台灣中油公司相關工作人員的協助。

為使地下水流方向流暢，同時增加反應牆固定強度與透水性，在回填的時候選用級配砂石，待左右以級配砂石填滿後，再將原地砂石回填。為評估反應牆之成效，此次亦在反應牆內適當位置埋設採樣水管，方便以後進行 **BTEX** 相關物質之降解狀況。目前該模場正進行枯水期與豐水期之各項降解測試。

計畫緣起與目的

1. 研究背景

由於工商業發達，人們生活水準提高，使得汽、機車的使用越來越頻繁。根據資料顯示，台灣地區到民國九十八年六月為止，已開業的加油站已經有 2608 間(經濟部能源局)，若以每座加油站平均有 4 座地下儲油槽估算，目前全台地下儲油槽總數已有一萬多座(行政院環保署)，可說是相當可觀。而燃油地下儲油槽及管線等設施，會因使用年久而腐蝕或應力撕裂而造成燃油洩漏，使得地下水受到水溶性毒性物質的污染，讓水資源的安全利用受到威脅，目前在全球這是相當普遍的環境問題。地下水中的污染物質種類繁多，主要可以區分為有機污染物與無機污染物。其中有機污染物主要可以區分為水相(Aqueous Phase)與非水相(Non-Aqueous Phase)。水相的污染物係指與水可以互溶者，包括有機酸和醇類等，通常此類污染物較容易被微生物分解，危害度較低。非水相液體(Non-Aqueous Phase Liquid, NAPL)為與水不相混溶的有機液體，大都為石化產品。NAPL 依照和水的密度關係可分兩種，較水輕者稱為 LNAPL (Light Non-Aqueous Phase Liquid)，較水重者稱為 DNAPL (Dense Non-Aqueous Phase Liquid)。

1.1 BTEX 角色與特性

苯(benzene)、甲苯(toluene)、乙苯(ethylbenzene)、二甲苯(xylene)(四者合稱 BTEX)是汽油中最主要的芳香族化合物，同時也是工業上普遍使用的溶劑與化工原料，其來源大都直接從石油提煉或將苯進一步烷基化而成。BTEX 為透明、高揮發性無色液體，BTEX 約在 100 g/mole 左右，揮發後氣體具刺激味及可燃性，BTEX 之基本特性如表一所示。BTEX 在汽油中所佔的體積百分比從 1%(苯)到 10%(二甲苯)[1]，因此當汽油洩漏造成污染時，這些物質就相當容易出現在污染場址，相對於汽油中的其他成分，BTEX 極容易溶於水，其溶解度都在 150 mg/L 以上，所以當污染滲入地下水層後，BTEX 就會隨著地下水流的流動而散佈，擴大其污染面積。

表一 BTEX 之基本特性[1,2]

	苯	甲苯	乙苯	二甲苯
--	---	----	----	-----

分子量	78.1	92.1	106.2	106.2
溶點 (°C)	5.5	-94.9	-94.9	-47.8-13.2
沸點 (°C)	80.0	110.6	136.1	138.3-144.5
密度 (g/cm ³)	0.88	0.87	0.87	0.86
蒸氣壓(mmHg) (20°C)	95.2	28.4	4.5	3.2-8.3
溶解度(mg/L) (25°C)	1791	535	161	146-175

1.2 BTEX 在台灣的污染情形及對人體健康危害

根據能源局的統計(2009.4.02)，目前全國有 2,605 座加油站，每座加油站依大小而有 4 到 6 個地下儲槽，所以至少有一萬座的地下儲槽；根據美國資源部研究，埋設於 10 年以上之儲油槽有 46% 會發生洩漏，15 年以上者，發生洩漏機率高達 71%，所以不得不重視加油站、大型儲槽的污染調查。為掌握全國站齡達十年以上加油站及大型儲槽可能具有污染潛勢之場址概況資料，環保署遂分別於九十一年度及九十二年度進行土壤及地下水污染潛勢調查計畫，並彙集相關調查資料建立資料庫，除加油站及大型石化儲槽污染潛勢調查計畫外，環保機關亦針對民眾陳情及檢舉個案加油站及大型儲槽污染陳情案件依整治法第十一條第一項進行污染查證，確認是否超過土壤及地下水污染管制標準，以供後續追蹤管制之依據，採取必要之應變處理措施，以避免或減輕污染擴大。部份調查調查結果如表二所示，當中可以發現在油品污染的場址中 BTEX 的存在相當普遍。BTEX 對人體皆有毒性或致癌性[3,4]；苯為人體潛在致癌物，而 BTEX 長期接觸會造成人類血液或內臟方面相關疾病，短時間接觸亦對呼吸系統與皮膚造成刺激[5]。台灣地區還有相當多的民眾使用地下水為民生用水，而地下水在乾旱時期更是重要，尤其近幾年台灣地區受到全球氣候變遷影響，連續多月乾旱不下雨的情況經常發生，地下水往往在地面水使用不足時，緊急抽用以彌補地面水量。因此，整治受 BTEX 污染的地下水，確保用水安全，實在有其迫切性與重要性。

表二 列管整治場址與案例 (環保署土壤及地下水污染整治網 2008/4/10)

場址名稱	場址面積 m ²	場址分類	公告日期	土壤/地下水污染物
------	---------------------	------	------	-----------

1	中國石油股份有限公司 煉製事業部高雄煉油廠 P-37 油槽區	16,000	儲槽	93/3/19	總石油碳氫化合物、 苯
2	台南縣嘉南加油站	1,239	加油站	93/10/19	苯、甲苯
3	台灣氯乙烯工業股份有 限公司頭份廠	50,000	工廠	95/3/27	1,2-二氯乙烷、三氯 乙烯、氯乙烯、苯
4	台南市一心加油站	3,525	加油站	95/10/18	總石油碳氫化合物、 苯、甲苯、乙基苯、 二甲苯、1,2-二氯乙 烷、萘、總酚
5	統一精工左營加油站	1,949	加油站	95/11/28	總石油碳氫化合物、 苯
6	統一精工虎尾加油站	894	加油站	96/3/13	苯
7	台南市統一精工 小北加油站	546	加油站	96/11/19	苯、甲苯、三氯乙烯
8	台南縣嘉仁加油站	1,515	加油站	97/2/14	總石油碳氫化合物、 苯、乙苯、甲苯、二 甲苯、萘、總酚
9	全國加油站股份有限公 司 仁武加油站	3,171	加油站	97/3/6	總石油碳氫化合物、 苯、甲苯、乙苯、二 甲苯
10	高雄市大順加油站	1,420	加油站	97/3/19	總石油碳氫化合物、 苯、甲苯、總酚
11	台亞石油股份有限公司 新莊加油站	1,311	加油站	97/05/13	苯、甲苯、奈
12	東林加油站	925	加油站	97/10/16	苯、甲苯、總酚

13	南昇加油站	1,632	加油站	97/05/26	苯、二甲苯、總石油 碳氫化合物、總酚
14	台灣中油股份有限公司 所有新營長榮路加油站	2,257	加油站	97/10/28	苯
15	川流有限公司川流加油 站	720	加油站	98/2/27	總石油碳氫化合物、 苯、甲苯、奈

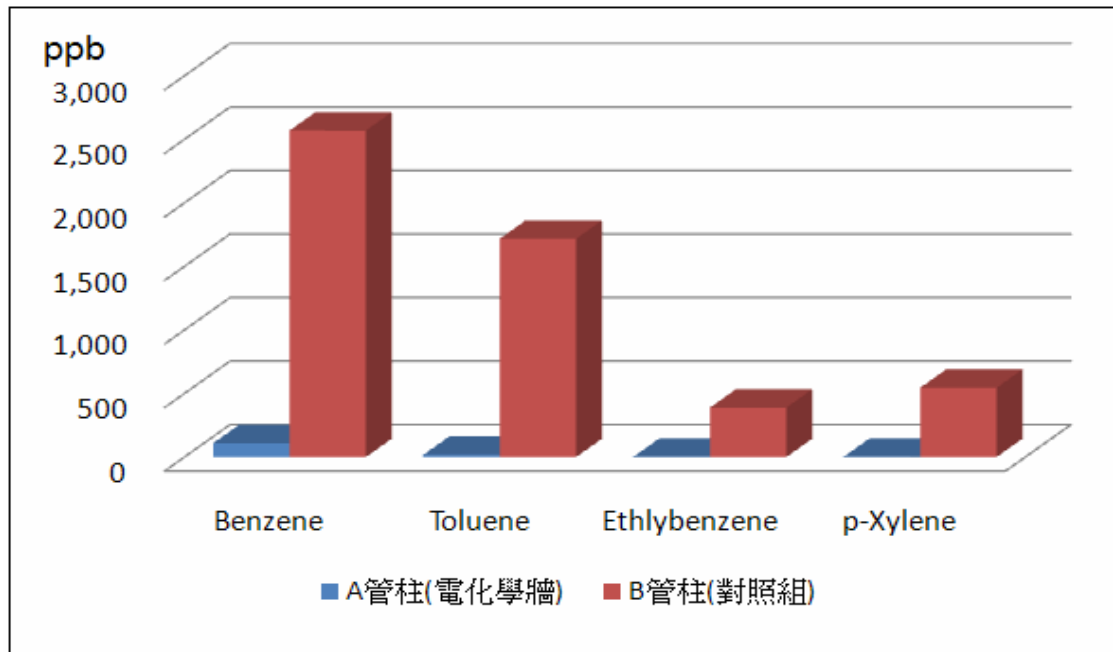
1.3 BTEX 的污染整治與控制技術

污染場址的整治方法依其使用原理一般分為物理方法、化學方法與生物方法，物理方法有：電化學法(electro remediation)、空氣擠注法(air sparging) [5]、活性碳吸附法(carbon adsorption) [6]等。化學方法有：化學氧化法(chemical oxidation) [7]、光催化法(photo catalysis)等[8]。生物方法有：生物降解(biodegradation)、植生復育(phyto-remediation)、濕地(wetland)等[1,2,9]。以上技術可以視整治場址狀況單獨實施或是互相組合應用。依實施的地點與手法，這些方法可再進一步區分為現場(in-situ)或離場(ex-situ)整治技術。現場(in-situ)整治係指整治工法實施在污染物所在地，不需將汙染物移出現址整治；相反地，若污染物先行移出再進行整治，則稱之為離場(ex-situ)整治。一般來說，生物方法用來整治 BTEX 所造成的地下水的汙染，最具經濟性與環境友善性[9,10]，若能搭配現地整治手法，將會更進一步降低整治費用，因此，應用現地生物整治法在整治受油品污染的地下水案例上，近年有逐漸增加的趨勢[11]。根據目前實驗結果，利用生物降解是去除 BTEX&MTBE 可行的方法之一。而生物降解的過程可分為好氧及厭氧兩種，一般生物降解以好氧較為普遍。雖然好氧降解速率較快，但是容易產生大量的微生物量(biomass)造成現場整治系統的阻塞，此外其降解機制會受到氧氣含量的控制，當氧氣的供應有困難的時候，厭氧降解便成為唯一可行的方法。因此，利用厭氧處理程序將是未來考慮可發展方向，它具有低微生物量及好的電子接受者的可利用性，目前已有針對硝酸鹽、Fe(III)、硫酸鹽和二氧化碳等作為電子接受者進行厭氧降解的研究，未來將可望代替好氧處理程序在現場的生物整治上扮演著較重要的角色。

在現場的地下水整治中，透水性反應牆是常被使用的技術，透水性生物牆(Biological permeable reactive barrier, BPRB)是現地生物整治法的一種，現地透水性

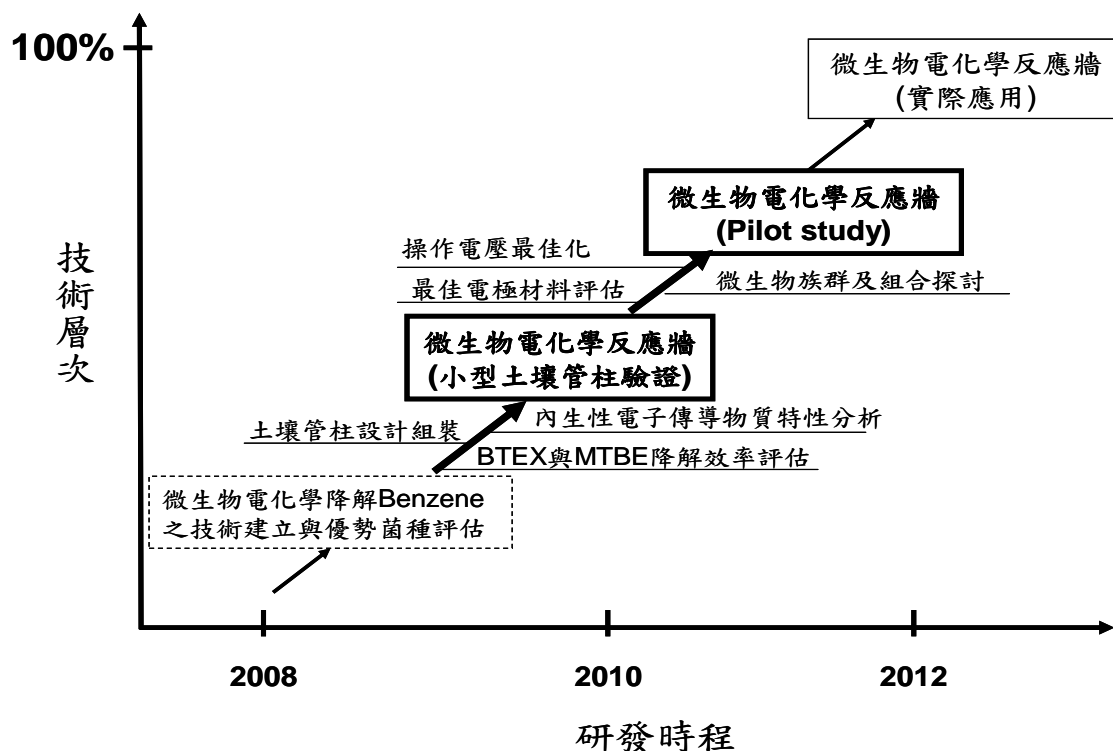
生物反應牆是近幾年來所發展的新技術，一般是設置在污染團邊緣的下游，當做一阻絕系統，防止污染團的過度擴散，由於免去抽離程序且反應牆主體隱藏在地下水現址中，幾乎不需要太多機械系統，可減少長時間操作及維修之花費，降低許多整治費用，因此近年來此技術廣受矚目[12,13]。當受污染的地下水流過這系統，牆內有反應性的處理介質將污染物從地下水中消除或固化，因其處理效率高及其設計、裝置及修復等的成本支出較其他傳統處理方法低，因此被視為具有發展潛力之新興技術。然而，透水性生物反應牆技術，仍有許多因素會影響其長期操作效能，電子接受者的足量提供就是重要的影響因素之一。目前有許多方法用來解決電子接受者不足的問題，像是在生物反應牆前再建造一透水性牆以提供電子接受者和加入釋氧物質等方法，但這些方法除了必須考慮到釋氧物質的釋氧率、釋氧時間之外，必須再額外建造一透水性牆，使成本和施工難度增加。因此，若是能在一座反應牆中提供穩定的電子接受者，便可使透水性生物反應牆的整治技術更加經濟。

利用生物方法整治受 **BTEX** 污染的地下水之案例中， O_2 、 SO_4^{2-} 、 Fe^{3+} 、 H_2O_2 、 NO^3 都可以成為電子接受者[1]，而這些電子接受者的足量供應，亦是生物整治方法的成敗；現地透水性生物反應牆亦是生物方法的一種，自然也會遇到同樣的瓶頸[14]。除了上述水溶性電子接受者外，最近研究發現，微生物亦可利用固態電極作為最終電子接受者[15]。本人也以大腸桿菌 (*E. coli* K-12) 為實驗對象，證實了諸如大腸桿菌般普通的微生物，亦具有利用固態電極作為最終電子接受者之能力，顯示此特殊電子傳遞現象在大自然相當普遍[16]。本人更進一步利用丙酸菌 (*Propionibacterium freudenreichii* ET-3)，證實了此菌在無氧狀況下，可以電極為電子接受者，進行在有氧條件下才會進行的基質降解反應[17]。上述兩個研究成果顯示，倘若土壤地下水中存在部分微生物，可以電極為電子接受者進行 **BTEX** 無氧生物降解，如此只要持續透過電極將微生物生化反應過程中產生的電子不斷接受導出，就能在沒有上述水溶性電子接受者存在下繼續分解 **BTEX**，倘若此項推論正確，並將此構想設計成透水式電化學微生物反應牆，從此將擺脫傳統透水性生物反應牆電子接受者無法足量供應的問題。2008 年本人的先期研究中，證實土壤中的確存在微生物可以降解 **Benzene**。2009 年本人承蒙國科會補助，利用土壤管柱實驗進一步進行 **BTEX** 降解測試，初步結果如圖一所示，結果證實土壤中的微生物相當豐富，在水力停留時間 2 天的情形下，**BTEX** 可達到將近 100% 的去除率。



圖一 電化學土壤管柱(A 管柱)與對照組(B 管柱)之出流水中 BTEX 濃度

微生物電化學反應牆的成功開發，在地下水受 BTEX 污染的整治上，將有助於減少污染物質隨著地下水流進一步的擴散，增加污染地下水生物處理方法之廣度。不需額外注入氧化劑，僅在現地使用此反應牆，透過施加低電壓就可持續降解地下水流之 BTEX，將是此技術最大的優點。本研究已完成先期研究，證實此構想的可行，然而一項技術的實際應用，必須經過不同規模的測試，本人已研擬時程(如圖二所示)，期望透過循序漸進的驗證，早日促成此技術的實際應用；從 2009/8 開始已從國科會爭取到兩年計畫，利用實驗室規模之土壤管柱，進行各項降解效率分析與微生物族群等相關基礎研究，因此期望透過此研究計畫的經費補助，配合台灣中油公司現地場址的提供與協助，進行模場規模之模擬實驗，求取各種現地參數與資訊，便於後續透水式電化學微生物反應牆的實際應用。



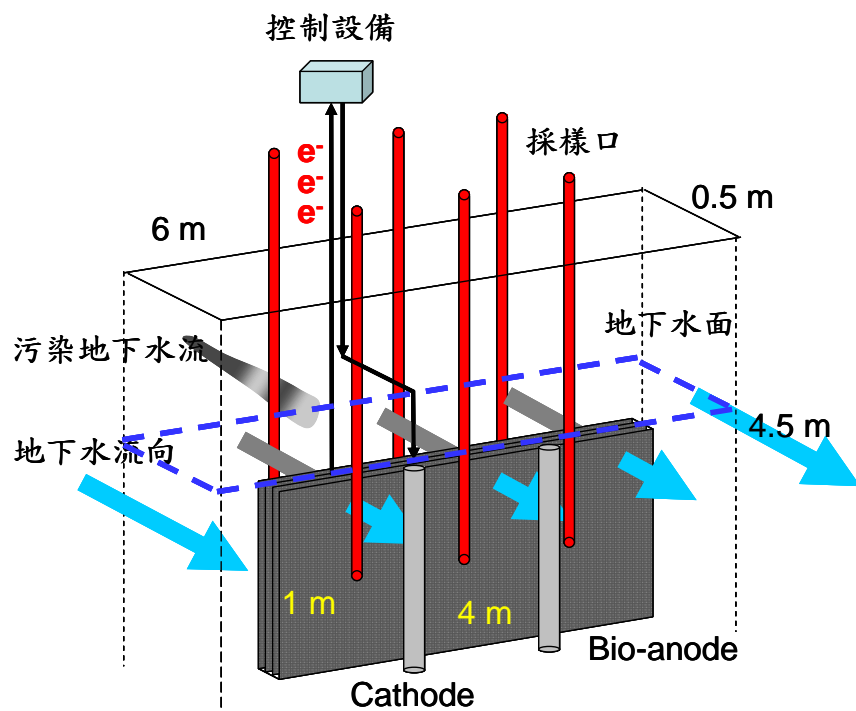
圖二 透水式電化學微生物反應牆之研發路程圖

2. 模場場址背景資料分析

本計畫所規劃之模場場地位於台灣中油公司煉製事業部高雄煉油廠廠內，從日據時代開始，本區域即從事各種油品提煉與加工，因此這個區域長期存在地下水被 BTEX 污染之疑慮。近年來廠內若干地段已被列為整治場址，BTEX 可能隨著地下水的流動而散佈開來，增加未來整治的困難度與費用。為防止廠內污染物質擴散至廠外，廠方目前在廠區地下水下游，利用抽水設備進行地下水抽出工程，然而此種物理移除方式，每年所耗費之電力與設備費用相當龐大，而廠內目前雖然亦利用注氣等方法進行整治，但由於土壤結構的變異性，注入的空氣往往循土壤空隙造成短流現象，無法使氣體均勻供給，造成生物分解成效不彰，若為增加供氣效果提高注氣量，又容易造成 BTEX 溢散至大氣之疑慮。由於本研究“透水式電化學微生物反應牆”不需抽水與注氣，僅提供數伏特之電壓即可發揮阻絕受 BTEX 污染地下水擴散之功效，因此台灣中油公司亦積極提供場地與機具等各樣協助，期待此技術及早進入實場應用階段。

研究方法與過程

透過先前的研究，在實驗室規模的驗證實驗中，已經證實透水式電化學微生物反應牆之可行性，目前正利用國科會計畫經費之補助，進行各項學理與細部機制之探討，研究重點著重在微生物與電極間之交互作用與生化代謝途徑方面的解析(NSC 99-2221-E-006 -072)；為了解現地實用上的困難點，本計畫將著重在模場規模操作下各種參數的取得與狀況排除，長時間穩定操作是本計畫的目標。承蒙台灣中油公司之同意，未來高廠將配合提供相關施工機具與模場場地，設置一反應牆做為 Pilot study 使用，反應牆規模如圖三所示，此透水式電化學微生物反應牆初步規劃長 4 公尺、高 1 公尺、厚度為 15 公分左右，整體反應牆必須設置在飽和水層，反應牆前後 5 公分處設置採水管，方便採集水樣量測水中 BTEX 殘留情形，評估去除效果。地面上方將設置控制箱，內部安裝定電位控制儀，利用導電性碳纖維為導線，使定電位儀與生物反應牆連結，負責提供一定電壓予生物反應牆(Bio-anode)，從反應牆所得之電子再回饋到陰極(Cathode)(材質為鈦金屬)，生物反應牆與陰極不可接觸，以免造成短路現象。所得電流信號以信號擷取器記錄，後續結合水質資料，可探討處理效果之合理性。



圖三 微生物電化學反應牆示意圖

研究項目將著重在：

1. 操作電壓之最佳化
2. BTEX 降解梯度與中間產物分析
3. 長時間(八個月-經歷現地枯豐水期)之穩定操作評估
4. 生物性、化學性與物理性阻塞評估與排除
5. 最佳現地反應牆設計

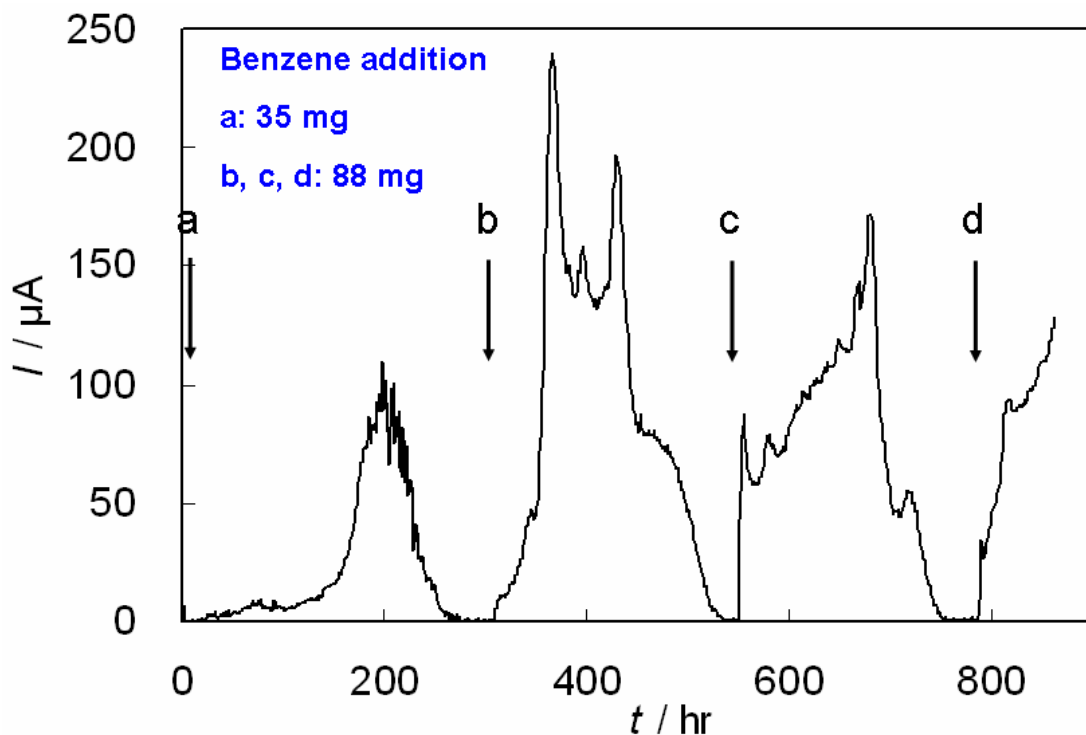
重要儀器之配合：

高功率定電位控制儀、電流信號擷取器。上述儀器將由實驗室自有儀器支援。

主要發現與結論

1. 降解特性與電子傳遞現象

以電極為最終電子接受者，設計出電化學微生物反應牆，並實際應用在污染場址，是本研究的最終目的。要證實電化學微生物反應牆的可行性，就必須先證實土壤中的確存在有微生物能分解有機污染物，並以電極為最終電子接受者。依據微生物電化學原理，在施加有效定電壓的情況下，當陽極有電流產生時，意味著電極得到來自微生物之電子。初步先以電化學反應瓶並加入油品污染土壤為植種源進行測試，結果如圖四所示，當 35 mg 的苯加入批次反應瓶中時，初期並無明顯電流發生，顯示在此低電壓情況下，苯無法直接被電極氧化，且初期能以電極為電子接受者之微生物可能並非優勢，因此會有較長之遲滯期(約 5 天)，然而經過大約兩週的持續馴養後，當苯再一次加入反應瓶中的時候(圖四 c 與 d 點)，可以看到反應電流立刻上升，顯示該類微生物已被大量培養，換算當時瓶內之苯濃度(約為 500 ppm)，意味著相關微生物在高濃度苯的情況下，活性並未被抑制。

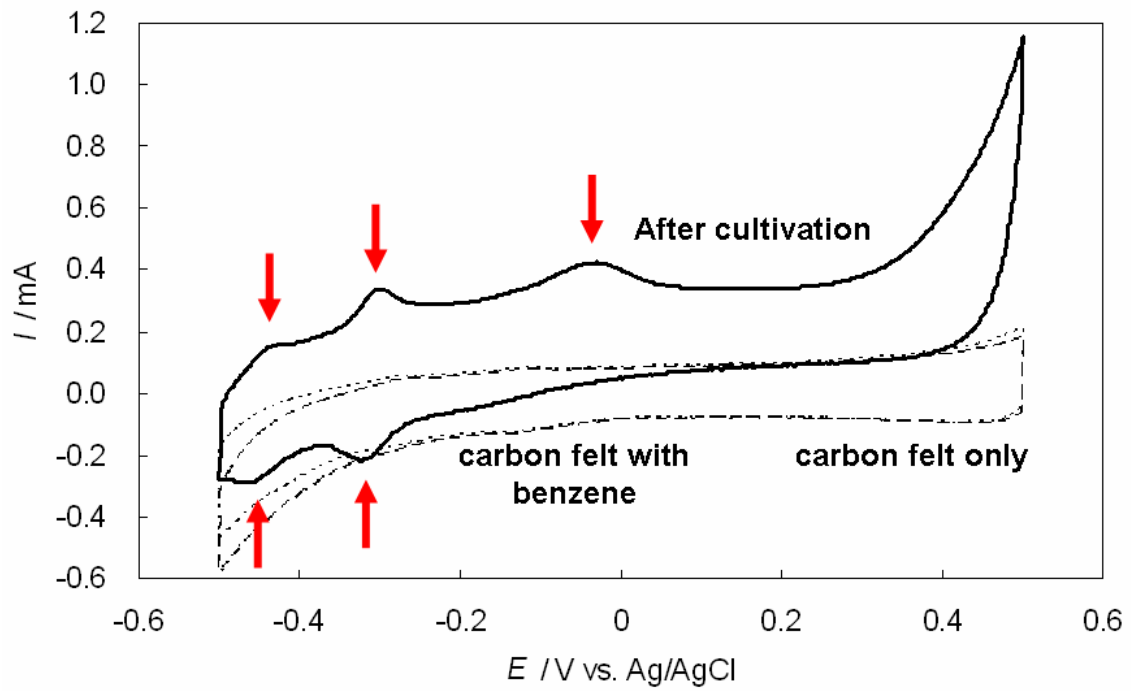


圖四 土壤微生物以苯為基質之電流反應圖。反應槽體積為 150 mL、無氧狀態下、

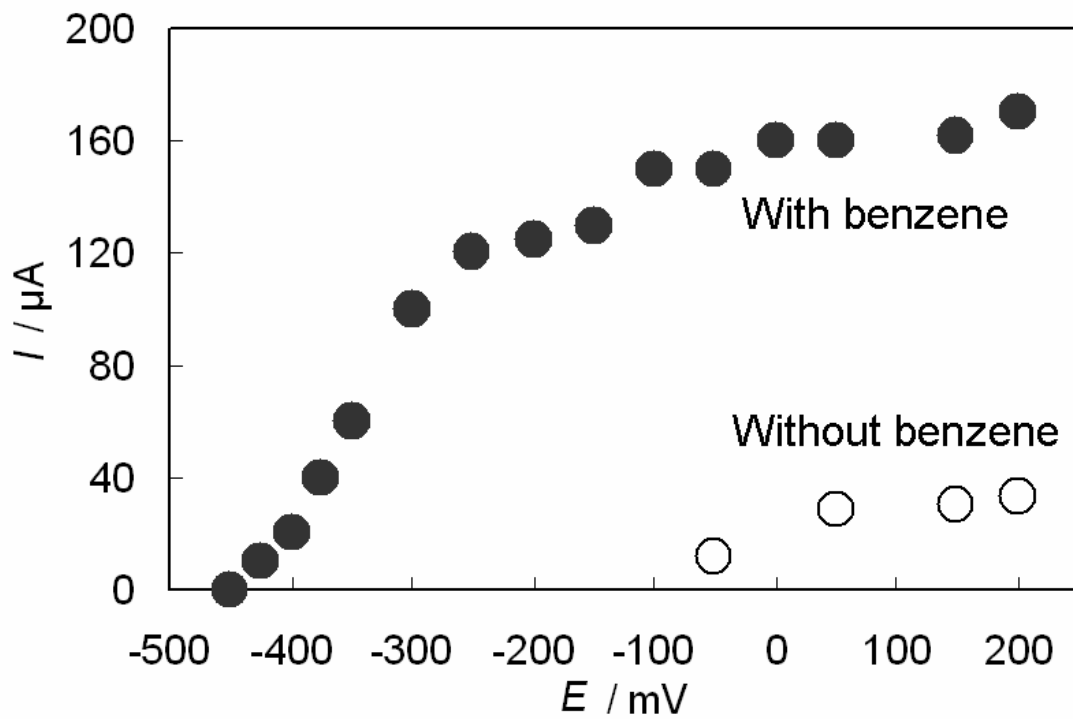
30 °C。馴養前期添加苯量為 35 mg (a)，爾後添加量皆為 88 mg (b, c 與 d)。

微生物擁有細胞壁與外界區隔，在一般生化反應情況下，微生物分解有機物所得之能源僅作為微生物進行自身相關生理反應使用，然而圖四的結果顯示相當顯著的電子傳輸經由微生物傳向電極，產生明顯電流。為進一步釐清微生物與電極間之電子傳輸機制，將批次實驗前後之反應電極，利用電化學分析儀，進行相關電化學實驗。結果如圖五虛線所示，當反應槽中僅存在電極時，並無明顯信號產生，顯示在此電壓範圍內(-0.5 V 至 0.5 V)電極在 buffer 中相當穩定，並無明顯氧化還原反應發生。加入適量苯後，再一次進行電化學分析，結果亦無明顯氧化還原電流信號產生，此結果與圖四結果吻合，顯示苯無法直接被電極氧化。但當電化學反應瓶加入微生物培養 30 天後，再次以電化學分析儀加以分析，結果如圖五實線所示，已經有相當明顯之氧化還原信號產生(圖五之箭頭標示處)，顯示在微生物馴養階段，微生物產生某種氧化還原物質，作為電極與微生物間之電子傳輸工具；當苯加入反應槽中被微生物分解後，所產生之電子透過此電子傳輸工具，從微生物傳遞至電極產生如圖四之結果。

為了進一步釐清生物電流的產生是來自於微生物分解苯所產生，並且測試最佳操作電壓，作為未來實際使用之參考，在苯存在與否的情況下，進行不同電壓條件下之電流反應實驗。結果如圖六所示，相對於控制組，當苯存在時才能產生明顯電流，顯示生物電流的產生的確是來自於微生物分解苯所產生。而且當施加電壓高於-0.4 V 以上時即有電流產生，並且隨著電壓的提昇，反應電流亦逐步上升，當電壓高於-0.1 V 以上時，電流信號即達平衡。這個結果具有相當重要的意義，意味著未來當此微生物電化學反應實際應用時，施加的電壓只要高於-0.1 V 以上即可，不需再過分耗費多餘的能源，就能達到苯的有效分解。



圖五 批次實驗各種條件下之循環伏安圖



圖六 不同電壓下之觸媒電流信號。●加入苯為基質；○為控制組。



從圖四及圖六的結果可以得知，苯可以被微生物分解產生電流，接下來必須進一步了解的是苯被分解的程度。如式(1)所示，當一個苯分子完全氧化到 CO_2 後，理論上可以得到 30 個電子。圖四顯示加入苯為基質後電流與時間的關係圖，因此只要計算其面積就能直接得到反應完成後所得到的總電量($Q=I \times T$, Q 、 I 和 T 分別表示電量、電流與時間)，另外實驗完成後也對溶液中的無機碳增加量進行分析，對照所增加碳酸鹽的量與總電量，結果顯示電子回收率為 78% - 135% 之間($n=4$)，雖然後續詳盡驗證規劃仍須進行，但初步判斷此微生物電化學反應裝置有潛力將污染物質(苯)完全氧化至無害的 CO_2 。

2. 土壤管柱測試試驗

根據上述實驗結果，顯示土壤中的確存在若干微生物，可以將固態電極作為電子接受者進行苯的分解作用，因此下一步將組裝土壤管柱進行模擬實驗，分別以 BTEX 及 MTBE 為進流基質，採連續進流方式模擬地下水水流狀況，流速設定為 10 cm/day。在經過兩個禮拜的監測後，電化學反應管柱的 BTEX 均達到 99% 以上的去除率(表三)；MTBE 殘餘濃度則為 17 ppm。顯示出微生物降解 MTBE 較不容易，而在 BTEX 方面有明顯的降解現象。雖然目前相關驗證實驗正在進行中，然而初步的實驗結果顯示微生物電化學反應牆應用在現場整治有其可行性。如圖一所示，A、B 管柱皆有降解的成果，其中 A 管柱出流水 BTEX 濃度在 100 ppb 以下，而 B 管柱出流水 BTEX 濃度大概在數百到數千 ppb。由於實驗過程中，氧氣的滲入不易控制，根據以上數據推測，在 B 管柱中微生物應該是進行好氧降解，但由於系統中的溶氧有限，所以降解效果受到限制。而 A 管柱除了好氧降解外，微生物還利用了電極作為電子接受者進行厭氧降解，所以降解效果比 B 管柱明顯。根據表三發現，MTBE 不管是在 A 或 B 管柱中的去除率只有 10% 左右，所以推測微生物對於 MTBE 在短時間內的降解並不明顯。實驗結果也發現到 A 管柱中的 TIC (total inorganic carbon) 含量比 B 管柱多 2.4 ppm，印證了 A 管柱對於 BTEX 的高降解性，同時初步判定 BTEX 經電化學生物反應牆降解後的最終產物為 CO_2 。

表三. 管柱 A 與管柱 B 之 BTEX & MTBE 去除率

	MTBE	Benzene	Toluene	Ethlybenzene	p-Xylene
原始進流 (ppb)	20,000	19,524	15,383	14,981	7,257
A 管(電化學牆)去除率 %	14	99	100	100	100
B 管(對照組)去除率 %	6	87	89	97	92

3. 先期模場試驗

在執行本計畫以前，本實驗已於台灣中油公司煉製事業部高雄煉油廠廠區內，進行一先期測試。由於這是跨出實驗室規模重要的一步，相關經驗與參數皆已完整保留，做為本計劃測試成功的依據。

如圖七與圖八所示，反應牆模場先以怪手挖開，由於正值豐水期，地下水位高，由於錯估開挖規模，本次施工並未使用鋼板樁，先行固定土壤，導致地下水回升時，土方坍落，為使不致功虧一簣，整個工程在 30 分鐘內結束，有點倉促。反應牆在規模放大時，硬度變低，柔軟性增加，固定不易；為使反應牆順利埋入，先以人工方式抬起，再將反應牆迅速放下。在此感謝台灣中油公司相關工作人員的協助。



圖七 現場施工圖(一) 機械開挖與反應牆固定

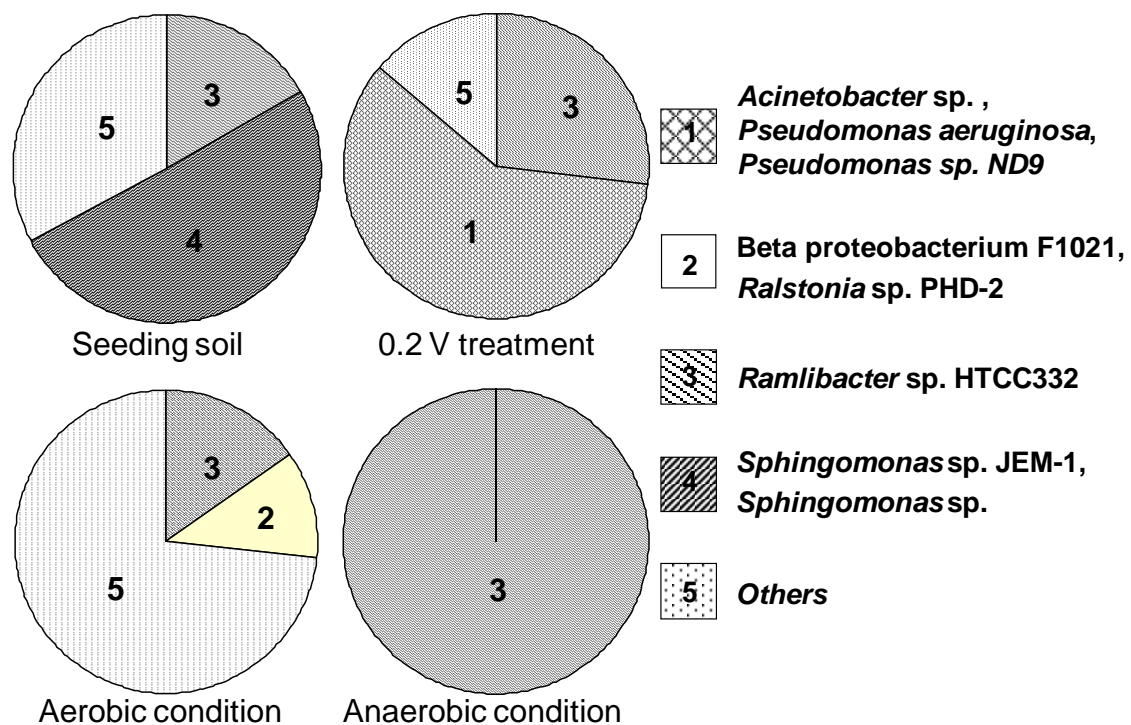
為使地下水流方向流暢，同時增加反應牆固定強度與透水度，在回填的時候選用級配砂石，待左右以級配砂石填滿後，再將原地砂石回填。為評估反應牆之成效，此次亦在反應牆內適當位置埋設採樣水管，方便以後進行 BTEX 相關物質之降解狀況。目前該模場正進行枯水期與豐水期之各項降解測試。



圖八 現場施工圖(一) 反應牆固定與地基回填

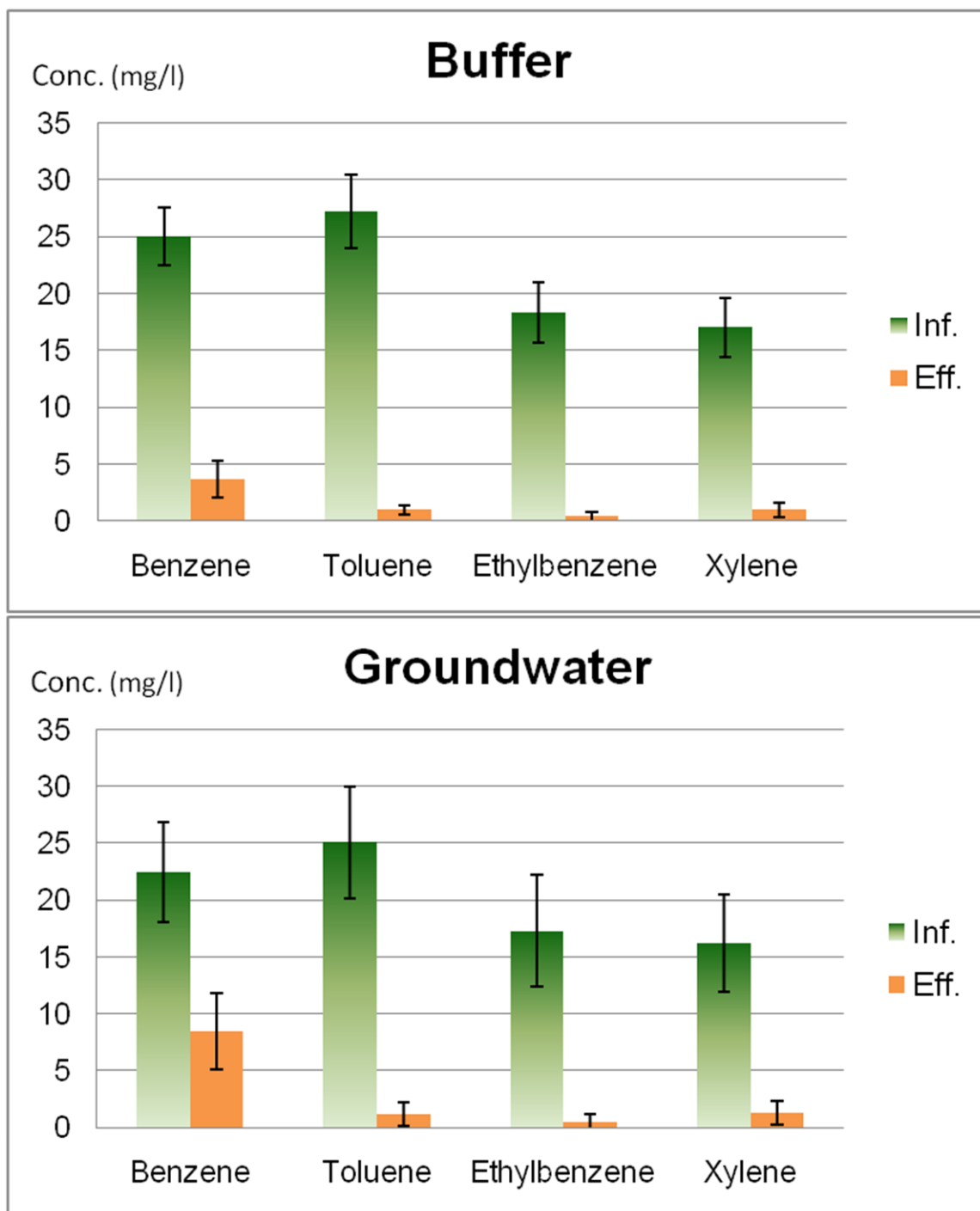
本研究另一項重點在於研究土壤中是否存在以電極為電子接受者之微生物，我們利用分子生物方法，在不同操作條件下(原始土壤、厭氧狀態、好氧狀態與施加電壓之狀態)，分別採集電極上之生物膜，進行 DNA 萃取後，利用 T-RFLP 進行微生物族群分析。結果如圖九所示，原始土壤中所含微生物已 *Sphingomonas sp.* 居多，約占 50% 以上，而後是 *Ramlibacter sp.* HTCC332，約占 15% 左右，而後為其他菌種，總數約占 35% 左右，其微生物族群分布與他種土壤無異，然而將 BTEX 注入，以好氧環境培養的環境下，原本土壤優勢菌 *Sphingomonas sp.* 幾乎全部消失，*Ramlibacter sp.* HTCC332 依舊約占 15% 左右，而其他菌種總數已從約原本約占 35% 左右，上升至約 75%，顯示培養狀態的不同的確會改變微生物分部狀態。同樣的實驗在驗氧狀態下進行，微生物更全數便為 *Ramlibacter sp.* HTCC332。當以電化學方式培養時，*Ramlibacter sp.* HTCC332 依舊存在，但所占百分比為約 15%，而整體微生物族群已經轉變成以 *Acinetobacter sp.* , *Pseudomonas sp.* ND9 為優勢之

菌群，*Pseudomonas sp.* 根據文獻所述，具有以電極為電子接受者之能力，因此從水質分析、電流量、降解狀況與微生物族群之分析結果，證實此反應牆的確可在無氧氣的環境下，以電極為最終電子接受者，進行水中 BTEX 之分解。



圖九 現場土壤微生物與各種條件下培養後之微生物族群分析

本研究先前於實驗室規模實驗時為保持微生物活性，進流液以磷酸緩衝液 (pH=7) 為主，添加不同濃度之 BTEX 進行實驗，降解結果結果如上所述，去除率可達 99% 以上，然而在真實環境中，為降低整治成本，希望在不要添加任何化學藥劑的情況下，對污染地下水進行整治，因此我們特地在實驗室比較直接以地下水為進流液之 BTEX 分解狀況，結果如圖十所示，Toluene、Ethylbenzene 與 Xylenes 之分解效率在磷酸緩衝液與地下水中，幾乎沒有太大之差異；而 Benzene 在地下水中分解效率僅達約 60%，此狀況目前原因未明，將在實驗室管柱驗證實驗中，以增加停留時間再加以測試，但無論結果如何，在現地整治時，需注意 Benzene 降解效率問題。



圖十 在不同進流液下之 BETX 降解情形

參考文獻

1. M. Farhadian, C. Vachelard, D. Duchez, C. Larroche. 2008. *In situ* bioremediation of monoaromatic pollutants in groundwater: a review. *Bioresour. Technol.* 99:5296-5308.
2. M. Farhadian, D. Duchez, C. Vachelard, C. Larroche. 2008. Monoaromatics removal from polluted water through bioreactors-a review. *Water Res.* 42:1325-1341.
3. J. F. Paixão, I. A. Nascimento, S. A. Pereira, M. B. L. Leite, G. C. Carvalho, J. S. C. Silveira Jr., M. Rebouças, G. R. A. Matias, I. L. P. Rodrigues. 2007. Estimating the gasoline components and formulation toxicity to microalgae (*Tetraselmis chuii*) and oyster (*Crassostrea rhizophorae*) embryos: an approach to minimize environmental pollution risk. *Environ. Res.* 103:365-374.
4. 行政院環境保護署毒災應變諮詢中心
http://www.eric.org.tw/Chm /Chm_index.aspx?vp=MSDS
5. X. Yang, D. Beckmann, S. Fiorenza, C. Niedermeier. 2005. Field study of pulsed air sparging for remediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil and groundwater. *Environ. Sci. Technol.* 39:7279-7286.
6. A. A. M. Daifullah, B. S. Girgis. 2003. Impact of surface characteristics of activated carbon on adsorption of BTEX. *Colloids Surf. A:Phys. Eng. Aspects* 214:181-193.
7. E. R. Tiburtius, P. Peralta-Zamora, A. Emmel. 2005. Treatment of gasoline-contaminated waters by advanced oxidation processes. *J. Hazardous Mater.* 126:86-90.
8. G. Mascolo, R. Ciannarella, L. Balest, A. Lopez. 2007. Effectiveness of UV-based advanced oxidation processes for the remediation of hydrocarbon pollution in the groundwater: A laboratory investigation. *J. Hazardous Mater.* 152:1138-1145.
9. J. M. Lynch, A. J. Moffat. 2005. Bioremediation-prospects for the future application of innovative applied biological research. *Ann. Appl. Biol.* 146:217-221.
10. M. Vidali. 2001. Bioremediation. An overview. *Pure Appl. Chem.* 73:1163-1172.
11. 林財富, 許益源, 洪旭文, 除國錦, 吳先琪, 高志明. 2008. 土壤與地下水污染整治-原理與應用. 中華民國環境工程學會出版.
12. F. I. Khan, T. Husain, R. Hejazi. 2004. An overview and analysis of site remediation technologies. *J. Environ. Manage.* 71:95-122.
13. E. Arvin, P. Engelsens, U. Sebber. 2005. Biodegradation of gasoline compounds (BTEX) in water works sand filter. *Water Supply* 4:29-33.
14. L. Yerushalmi, M. F. Manuel, S. R. Guiot. 1999. Biodegradation of gasoline and BTEX in a microaerophilic biobarrier. *Biodegradation* 10:341-352.
15. D. R. Lovley. 2006. Bug juice: harvesting electricity with microorganisms. *Nature*

4:497-508.

16. Y. F. Wang, S. Tsujimura, S. S. Cheng, K. Kano. 2007. *Self-excreted mediators from Escherichia coli K-12 for electron transfer to carbon electrodes. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 76:1439-1446.
17. Y. F. Wang, M. Masuda, S. Tsujimura, K. Kano. 2008. *Electrochemical regulation of the end-product profile in Propionibacterium freudenreichii ET-3 with an endogenous mediator. Biotechnol. Bioeng.* 101:579-586.

中文摘要

苯(benzene)、甲苯(toluene)、乙苯(ethylbenzene)與對二甲苯(xylene) (簡稱 BTEX) 普遍存在汽油污染的地下水中，且隨著地下水的流動，污染的範圍也隨之擴大。傳統處理方式需耗費大量動力自地下抽出污染物質或注入過氧化劑以利污染物質之氧化，各種方法中生物處理方法被認為最符合經濟效應，其中生物反應牆常被用來防止污染物質的擴散，但氧化物質(最終電子接受者)的順利提供，依然是生物反應牆在實際整治過程中最大的瓶頸。

根據先期研究發現，以電極為電子接受者，在無氧的環境下，微生物可以持續進行苯的氧化反應。後續進一步在模擬土壤管柱中(反應層約 15 cm)，利用實際土壤微生物作為植種菌源，在特定電壓的施加下，以電極為最終單一電子接受者，進行 BTEX 生物降解研究，初步發現微生物對 BTEX 有極佳的降解率(95%以上)，此重要結果有利於開發一微生物電化學反應牆。為使此反應牆更趨實用，本計劃將進行實際現地模廠規模(Pilot study)驗證，探討在不同停留時間、不同施加電壓與不同反應層深度下之各物質降解、中間產物累積與相關微生物分布情形。

英文摘要

Benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes isomers (BTEX) exist widely in the groundwater contaminated by gasoline and are spread by the groundwater flow. Traditional remediation methods of physical (Pump and treat) or chemical (chemical oxidation) techniques are generally costly. Biological approaches for treating BTEX in the contaminated groundwater appear to be economical and environmental friendly processes, but supply of final electron acceptors for the microbe efficiently is still a strict problem.

In our previous study, it was revealed that an electrode at a given potential could be the final electron acceptor for benzene biodegradation under anaerobic conditions. Further, the soil columns (reaction zone were 15 cm) were constructed to study the biodegradations of BTEX with carbon fiber electrode as the sole electron acceptor. The degradations of BTEX were more than 95%. This result is useful for the development of bioelectrochemical permeable reactive barrier. In order to promote this useful barrier to the on-site application in the near future, some useful parameters, such as the suitable value of applied potential for the electrode, hydraulic retention time, the efficiencies of BTEX biodegradation, and the microbial communities within the carbon fiber electrode will be organized in this pilot scale study on bioelectrochemical permeable reactive barrier.