




行政院環境保護署

110 年度土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案

沼液再利用對土壤中非目標新興污染物分布之影響

期末報告（定 稿）

主辦單位：  行政院環境保護署
專案執行單位： 國立臺灣大學／食品安全與健康研究所
專案主持人： 陳玟伶副教授
協同執行單位： 國立臺灣大學／水工試驗所
協同主持人： 林聖淇助理研究員
專案執行期間： 110 年 03 月 19 日起至
111 年 02 月 28 日止

中 華 民 國 111 年 03 月 印製



沼液再利用對土壤中非目標新興污染物分布之影響

陳玟伶、林聖淇

期末報告



行政院環境保護署「土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案」

☒申請計畫書 ☐期中報告
☐修正計畫書 ☐期末報告 審查意見回復對照表

計畫年度	110 年度	計畫類型	<input checked="" type="checkbox"/> 研究型 <input type="checkbox"/> 模場型
計畫類別	<input type="checkbox"/> 整治 <input checked="" type="checkbox"/> 調查 <input type="checkbox"/> 其它	主持人：陳玟伶 NO：SA5	
計畫名稱	沼液再利用對土壤中非目標新興污染物分布之影響		
委員審查意見		計畫單位回覆	
委員一 沼液、沼渣肥分回收再利用為環保署大力推行之政策，也是國際上先進國家的做法。本案執行可建立本土資料做為政策評估之依據。		感謝委員肯定。	
委員二 對政策評估具參考價值。		感謝委員肯定。	
委員三 一、主持人與計畫執行團隊 1. 主持人協同主持人與執行團隊的研究及技術研究發展績效良好。 2. 主持人與執行團隊的研究能力及技術發展能力佳，足以勝任本計畫。 二、本專案對土水污染及整治的潛在價值與意義 1. 本專案計畫對國內土壤及地下水污染調查的發展具有貢獻。 2. 本計畫書撰寫具體，對研究方法的說明完整，研究方法與試驗流程具可行性。 3. 本計畫的成果潛在的實場應用性，建議能解讀所監測結果的可能機制與環境因子。 4. 建議說明本計畫成果實務應用的適用情境。例如：土壤質地與施灌特性的影響。		感謝委員肯定。 遵悉委員寶貴建議，敬復如下： 1. 本計畫成果潛在的實場應用性，將依據各組小分子整體分布分析結果以及新興污染物鑑定與半定量結果，於期末報告中說明其可能之環境因子影響機制。 2. 本計畫成果實務應用上，將適用於修正沼液再利用參數。例如建議在沼液來源選擇上，排除使用特定藥品的畜牧場；或是以污水處理流程移除沼液中的特定新興污染物。補充說明如附件 11-13。	



5. 初期計畫構想書的意見已說明。	
<p>委員四</p> <p>1. 研究團隊執行 108 年度土污基金專案研究計畫，在施灌沼液的某座農地土壤發農地土壤發現 22 種藥物，由於隨著檢測分析技術改善及大規模篩查之研究設計，有機會發現 99 年的田間試驗中所未含括的藥物其存在性得到眾人的注意。</p> <p>2. 沼液中可能含有畜牧動物因環境暴露、從飼料與飲水中吸收、或因用藥而進入體內再排出體外、未被厭氧發酵分解的各式各樣新興污染物。</p> <p>3. 本案提出之高解析質譜及多變量分析工具的非目標分析法，可以適用於釐清問題與掌握污染趨勢，值得深入評估及分析。</p>	感謝委員肯定。
<p>委員五</p> <p>無</p>	
<p>委員六</p> <p>此研究主題具獨特性，有參考價值。</p>	感謝委員肯定。
<p>委員七</p> <p>研究污染物非屬目前土水整治迫切性。</p>	感謝委員寶貴意見。
<p>委員八</p> <p>沼液對土壤中新興污染物之影響，可有助農業永續發展，值得進行相關研究。</p>	感謝委員肯定。
<p>委員九</p> <p>無</p>	

**委員九**

1. 缺績效自評表。
2. (一) 人事費用：
 - (1) 附件 11-25 以編列 11 個月為上限。
 - (2) 附件 11-26 考量補助計畫以培育人才為目的，建議將專任助理調整為 2 名兼任助理或臨時工，本年度研究案專任助理統一補助以 5 個人月為上限本專案已編列 1 位兼任助理，建議酌減專任助理酬金。
3. 附件 11-30 (五) 雜項費用：
 - (1) 報告書印刷編列上限統一為 40 本(300 元/本) 共12,000 元。
 - (2) 論文編輯費用請敘明與專案相關。

感謝委員提醒與建議，敬復如下：

1. 遵悉委員意見，補充修訂專案成果績效自評表。
2. 遵照委員建議，酌減專任助理人事費為 5 個人月，並於其餘 6 個月增列 1 名兼任助理。請詳見**附件 11-25 及 11-26**。
3. 遵照委員指示，修正編列報告書印刷為 40 本(300 元/本) 共12,000 元。另因經費有限，刪除論文編輯費用。請詳見**附件 11-30**。



行政院環境保護署「土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案」

☐申請計畫書 ☒期中報告

☐修正計畫書 ☐期末報告 審查意見回復對照表

計畫年度	110 年度	計畫類型	<input checked="" type="checkbox"/> 研究型 <input type="checkbox"/> 模場型
計畫類別	<input type="checkbox"/> 整治 <input checked="" type="checkbox"/> 調查 <input type="checkbox"/> 其它	主持人：陳玟伶 NO：A5	
計畫名稱	沼液再利用對土壤中非目標新興污染物分布之影響		
委員審查意見		計畫單位回覆	
<p>委員一</p> <ol style="list-style-type: none"> 計畫已經完成第一期田間實驗並持續進行第二期實驗實驗設計，儀器設備之準備以及初步的分析結果陸續呈現，田間與實驗室進行順利。 養豬戶的飼料配方、飼養管理方式以及污水處理操作各有不同，對於所選取之沼液成分的代表性，應該收集資料與其他文獻當中的沼液成分做一對比。 如果經費與時間許可應該找一處長期施灌沼液的農地對其採樣檢測分析，並將其結果與本計畫之結果進行對比。 		<p>感謝委員寶貴意見。敬復如下：</p> <ol style="list-style-type: none"> 本計畫所選取之沼液成分與性質，以及與過去文獻比較結果，請參見第 32-33 頁。期末報告中另補充於第 11-12 頁。此外，本研究發現即使同一養豬場的沼液仍有高異質性，但因此更能突顯在不同條件下持續存在且進入土壤的污染物之重要性，詳細說明請參見第 32-36 頁。 未來若經費與時間許可，必當尋覓長期施灌沼液的農地進行採樣分析，與本計畫結果進行對比，以深入了解長期影響趨勢。 	
<p>委員二</p> <ol style="list-style-type: none"> 計畫報告應交待沼液的來源及其是否有足夠的代表性。 目前期中已完成第一期田間試驗，已完成採集樣本執行高解析質譜儀分析，重金屬元素與微生物活度分析。受疫情實驗室實施人流管制影響，導致樣本分析延遲，但不致影響計畫結束時程及結果。 計畫書審查時表示將透過小分子分佈分析及非目標分析法，根據修正沼液再利用的實務參數，如沼液來源之選擇，沼液中特定新興污染物之前處理等等。後續報告應陸續納入該等應用之討論。 		<p>感謝委員寶貴意見。敬復如下：</p> <ol style="list-style-type: none"> 本計畫所選取之沼液來自核准肥份使用之畜牧場，詳細說明請參見第 11-12 頁。其成分與性質請詳見第 32-33 頁。此外，本研究發現即使同一養豬場的沼液仍有高異質性，但因此更能突顯在不同條件下持續存在且進入土壤的污染物之重要性，補充說明請詳見第 32-36 頁。 本計畫依據非目標分析結果，發現 11 種與施灌沼液有關的特徵新興污染物，依據其用途、特性、及在土壤中的分布（第 49-54 頁），提出來源、處理、施用、以及環境監測上之建議，詳細說明請參見第 55 頁。 	



<p>委員三</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 請定義何謂「非目標新興污染物」，並標註其英文全稱。 2. 請釐清本研究採用沼液之代表性，並補充說明其特性，以確認「沼液含有新興污染物」之假設。 3. 請補充說明何以間接分析種植青江菜且澆灌沼液之農地土壤污染物，原有土壤或沼液中是否存有本計畫擬探討之「非目標新興污染物」？實驗設計所依據之原理或邏輯宜補充說明之。 	<p>感謝委員寶貴意見。敬復如下：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 本計畫以非目標分析法篩查、鑑定、半定量新興污染物，其定義、英文、詳細說明，請參見第8-9頁。 2. 本計畫所選取之沼液來自核准肥份使用之畜牧場，詳細說明請參見第11-12頁。其成分與性質請詳見第32-33頁。新興污染物非指特定物質，過去研究指出沼液中含有多種動物用藥、環境污染物等，均屬新興污染物，詳細說明請參見第7頁。 <p>本計畫探討沼液中的新興污染物是否隨農地澆灌進入土壤，因此關注對象是土壤受體，亦直接分析實際栽種與澆灌情境下之土壤。實驗設計包括未施灌沼液的空白組、與兩組實驗組，並透過多變量與單變量之統計分析比較其差異，應足以釐清施灌沼液與土壤中新興污染物的相關性。詳細實驗設計與方法請參見第11-12頁、第22頁。</p>
<p>委員四</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 已有初步分析資料，進度合理。目前無法判定是否需要後續或長期追蹤之必要。 	<p>感謝委員寶貴意見。本計畫依據非目標分析結果，發現11種與施灌沼液有關的特徵新興污染物，依據其用途、特性、及在土壤中的分布（第49-54頁），提出來源、處理、施用、以及環境監測上之建議，詳細說明請參見第55頁。</p>
<p>委員五</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 期中報告有依委員意見參採執行。 2. 期中報告進度有符合預定進度，並已有初步結論，值得肯定，也期待期末報告時能提出沼液再利用對農業環境的潛在衝擊而提出有效的因應對策，達成雙贏之境界。 3. 期末報告時請附上申請計畫書審查意見回覆對照表。 	<p>感謝委員寶貴意見。敬復如下：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 本計畫依據非目標分析結果，發現11種與施灌沼液有關的特徵新興污染物，依據其用途、特性、及在土壤中的分布（第49-54頁），提出沼液來源、處理、施用、以及環境監測上之建議，詳細說明請參見第55頁。 <p>敬附申請計畫書審查意見回覆對照表於附件10-3。</p>



行政院環境保護署「土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案」

☐申請計畫書 ☐期中報告

☐修正計畫書 ☒期末報告

審查意見回復對照表

計畫年度	110 年度	計畫類型	<input checked="" type="checkbox"/> 研究型 <input type="checkbox"/> 模場型
計畫類別	<input type="checkbox"/> 整治 <input checked="" type="checkbox"/> 調查 <input type="checkbox"/> 其它	主持人：陳政伶 NO：A5	
計畫名稱	沼液再利用對土壤中非目標新興污染物分布之影響		
委員審查意見		計畫單位回覆	
<p>委員一</p> <p>4. 沼液沼渣再利用於農地是世界的趨勢，也是我國既定的政策，集中式規模化養殖使用許多化學藥品，勢必造成後續利用之挑戰，本計畫之調查成果對於後續制定相關政策時具有非常重要的參考價值。</p> <p>5. 本計畫之試驗設計、採樣、實驗室分析以及數據的統計方法，皆周詳完備。</p> <p>6. 計畫所調查之成果，可作為我們國家環境介質土壤中新興物質的種類與數量的基本資料。</p>		<p>感謝委員肯定與建議。</p>	
<p>委員二</p> <p>4. 定性結果顯示有 11 種非目標新興污染化合物並未出現在背景土壤，但存在沼液和澆灌土壤中。其他文獻是否指出在其他國家有相同的檢出？我國的物種或濃度與其他國家相較，是否有不正常之出現或偏高的情況，而需預作警示？</p> <p>5. 抗菌防腐劑對羥基苯甲酸甲酯被偵測到，但為何個人保健用品的化學物質卻經常存在於畜牧廢水中？其他個人保健用品常用的化學物質是否也同時出現？</p> <p>6. 本研究使用的沼液為養豬場提供，則牧牛場或其他畜牧之沼液是否將有與本研究不同之新興污染物需要注意？</p>		<p>感謝委員提問，敬復如下：</p> <p>1. 有部分污染物也曾其他地方的土壤中檢出，補充說明於第 51 頁。本研究有機物採半定量分析，因此不能與其他國家的濃度比較。未來研究可進一步定量本研究所發掘的污染物、並與其他國家的濃度比較。</p> <p>2. 對羥基苯甲酸甲酯非僅用於個人保健品，亦可做為動物用藥的抗菌防腐劑，相關討論補正請詳見第 50 頁。本研究未發現其他個人保健用品常用的化學物質隨施灌沼液增加。</p> <p>3. 本研究發現的部分新興污染物亦經常使用於其他禽畜水產（例如 lincomycin 與 oxytetracycline），因此也很可能存在其他畜牧之沼液中。同時，其他畜牧沼液也可能因使用其他藥物與化學品而含有不同新興污染物，雖非本研究所能說明，值得未來進一步研究。</p>	



<p>委員三</p> <p>4. 本計畫主題為「沼液再利用對土壤中非目標新興污染物分布之影響」，其中「非目標新興污染物」用詞可能衍生混淆，請明確區分「非目標新興污染物」及「新興污染物之非目標分析法」。</p> <p>5. 建議於結論單元整理本計畫之可能應用方向。</p>	<p>感謝委員指教，敬復如下。</p> <p>1. 未來團隊訂定計畫名稱時，必謹記委員指教，謹慎區分。</p> <p>2. 遵照委員指示補充說明本計畫在科學上之應用方向、以及依據計畫成果提出在政策推動上之建議，請詳見第 56-57 頁。</p>
<p>委員四</p> <p>2. 具獨特性，很有參考價值的分析報告。</p> <p>3. 建議可針對其它環境敏感議題也進行分析。</p>	<p>感謝委員肯定。研究團隊將持續研擬應用非目標分析法探討其它環境敏感議題之可能性。</p>
<p>委員五</p> <p>4. 專案基本資料表關鍵字請補英文關鍵字？</p> <p>5. 研究成果中、英文摘要請補關鍵字？</p> <p>6. 沼液重複施灌增加而長期累積之趨勢是否是植物吸收或是自然消化或是其他原因？</p> <p>7. 單位施肥量可否找出最佳之估計量以避免造成二次污染？</p>	<p>感謝委員提醒與指教，敬復如下。</p> <p>1. 已於專案基本資料表補正英文關鍵字。</p> <p>2. 已於中、英文摘要補正中英文關鍵字。</p> <p>3. 本研究發現重金屬及有機污染物並無隨沼液重複施灌而累積之趨勢。本團隊推論進入農地土壤的新興污染物之主要移除機制應為環境分解。補充說明於第 53 頁。</p> <p>4. 本研究結果發現合理化施肥仍會使新興污染物進入土壤，目前難以推估完全阻絕二次污染的施肥量。考量污染物尚無累積趨勢，且施灌沼液帶來水環境與農業效益，現階段仍建議持續監測、以及避免使用用藥期間的動物糞尿。詳細說明如第 56-57 頁。</p>



110年度土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗申請計畫書

一、專案基本資料表

申請編號：（由本署填寫）

專案性質		<input checked="" type="checkbox"/> 實驗性質 <input type="checkbox"/> 非實驗性質		專案技術編碼		LAB-R-I-N1-C (如非實驗性質含氣溶劑之生物整治模場為 NLAB-S-R-C1-B，填寫請參考附件1-4)	
專案類別(單選)		<input checked="" type="checkbox"/> 研究型 <input type="checkbox"/> 模場型		研究主題		<input type="checkbox"/> 整治 <input checked="" type="checkbox"/> 調查 <input type="checkbox"/> 其他	
申請機構系所		國立臺灣大學食品安全與健康研究所					
機構地址		臺北市中正區徐州路17號					
專案主持人		陳玟伶		職等／職稱		副教授	
協同主持人		林聖淇		職等／職稱		助理教授	
專案名稱	中文	沼液再利用對土壤中非目標新興污染物分布之影響					
	英文	Effects of biogas slurry reuse on the distribution of emerging contaminants in soil					
	關鍵字	沼液、土壤、新興污染物、高解析質譜、化學輪廓 Biogas slurry, soil, emerging contaminants, high-resolution mass spectrometry, chemical profile					
執行期程		自民國110年03月19日起 至民國111年02月28日止					
專案主持人		姓名：陳玟伶 E-mail：adelachen@ntu.edu.tw				專線：02 33668845 手機：0912 098856	
專/兼任人員		姓名：余思頤 E-mail：cecily861005@gmail.com				專線：02 33668845 手機：0976 180998	
經費分析總表	專案預估 總經費		第一年 申請金額		第二年 申請金額		編列說明
	1.	人事費用	360,862		(1~5項相加之50%為限)		
	2.	貴重儀器使用含維護費	136,800		(與計畫實驗相關)		
	3.	消耗性器材與主要費用	287,737		(請蓋上申請單位大印)(與計畫主體相關)		
	4.	其它研究相關費用	24,505		(含差旅與租賃費用)		
	5.	雜項費用	26,460		(1~6項相加之5%為限)		
	6.	行政管理費	83,636		(1~5項相加之10%為限)		
	7.	自籌款	0		(申請單位自行籌備款項)		
	申請補助金額(1~6項)		920,000		總金額：920,000		
計畫總金額(1~7項)		920,000		總金額：920,000			



說明：

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

專案主持人：陳玟伶

日期：110 年 04 月 28 日





土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案

110 年度專案成果績效自評表

填表日期：111 年 01 月 12 日

一、專案基本資料

專案性質	<input checked="" type="checkbox"/> 實驗性質 <input type="checkbox"/> 非實驗性質	專案類別	<input checked="" type="checkbox"/> 研究型 <input type="checkbox"/> 模場型
研究主題	<input type="checkbox"/> 整治 <input checked="" type="checkbox"/> 調查 <input type="checkbox"/> 其他		
執行機構	國立臺灣大學食品安全與健康研究所	專案主持人	陳致伶
專案名稱	沼液再利用對土壤中非目標新興污染物分布之影響		
專案執行期程	<input type="checkbox"/> 申請階段 <input type="checkbox"/> 期中 <input checked="" type="checkbox"/> 期末		

二、成果績效自評

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

(一) 學術面

目標達成程度			申請 預估數	期中 達成數	期末 達成數	結案後半年 達成率	備註 (說明未達成 原因或學術產 出發表名稱)
項目							
A 學術 產出 及 活動	1.國內投稿 (篇數)	(1)論文	0	0	0		
		(2)研討會論文	1	0	1		
	2.國外投稿 (篇數)	(1)期刊論文	1	0	0		論文撰寫中
		(2)研討會論文	0	0	0		
	3.報告 (篇數)	(1)技術報告	0	0	0		
		(2)研究報告	0	0	0		
	4.專著(本數)		0	0	0		
	5.辦理學術 會議(場數)	(1)研討/說明會	0	0	0		
		(2)成果發表會	0	0	0		
		(3)論壇	0	0	0		
B 人才 培育	6.研發改良 技術(項數)	(1)已開發技術	0	0	0		
		(2)技術平台	0	0	0		
	7.研發人員 (人數)	(1)碩士	2	1	2		
		(2)博士	0	0	0		
		(1)跨領域團隊	0	0	0		
		(2)跨機構團隊	0	0	0		
		(3)形成研究中心	0	0	0		
		(4)形成實驗室	0	0	0		
	9.其他指標 (請自行命名)		(請自填)	0	0	0	



(二) 產業面

項目 \ 目標達成程度				申請 預估數	期中 達成數	期末 達成數	結案後半年 達成率	備註 (說明未達成原因或專利、技術轉移相關詳細資料)
A 智慧財產權	1.專利 (件數)	已核准	發明	0	0	0		
			新型/設計	0	0	0		
			合計	0	0	0		
		申請中	發明	0	0	0		
			新型/設計	0	0	0		
			合計	0	0	0		
B 研發技術轉移	2.先期技術 成果移轉	件數		0	0	0		
		授權金(仟元)		0	0	0		
		衍生利益金(仟元)		0	0	0		
	3.技術移轉 (專利)	件數		0	0	0		
		授權金(仟元)		0	0	0		
		衍生利益金(仟元)		0	0	0		
	4.技術移轉 (應用技術)	件數		0	0	0		
		授權金(仟元)		0	0	0		
		衍生利益金(仟元)		0	0	0		
	5.可移轉 產業技術	(1)技術(件數)		0	0	0		
		(2)品種/系(件數)		0	0	0		
	C 產學研合作	6.促成合作研究	件數		0	0	0	
金額(仟元)			0	0	0			
7.促成投資		件數		0	0	0		
		投資金額(仟元)		0	0	0		
8.促成取得 業界科專		件數		0	0	0		
		業界投資金額(仟元)		0	0	0		
9.其他指標 (請自行命名)		(請自填)		0	0	0		



(三) 政策面

目標達成程度			申請預 估數	期中 達成數	期末 達成數	結案後半年 達成率	備註 (說明未達成原因 或其他詳細資料)
項目							
A 服務 便民	1.技術服務	次數	0	0	0		
		收入(仟元)	0	0	0		
	2.諮詢服務	次數	0	0	0		
		收入(仟元)	0	0	0		
B 政策 推動	3.協助政府推動 (件數)	(1)政策	1	0	1		
		(2)法規	0	0	0		
C 技術 效益	4.整治技術提升(%)		0	0	0		
	5.整治成本降低(%)		0	0	0		
	6.提升能源效率(%)		0	0	0		
7.其他指標 (請自行命名)		(請自填)	0	0			

三、請依前述學術面、產業面、政策面等預期量化成果，具體敘明研究成果對本署政策推動之助益。(200字為限)

學術面(如國內外研討會、期刊投稿件數、或人才培育碩博士生說明)

畜牧糞尿水再利用是全球趨勢，然而其對農地土壤環境的影響仍有所不足，尤其新興污染物不停推陳出新，傳統目標分析法無法提前發現問題。本研究以非目標分析法探討沼液再利用對土壤中新興污染物分布的影響，研究成果將能釐清有哪些新興污染物種類與相對濃度因施灌沼液而增加，有助於提前發現過去所未曾預期的潛在問題，預期投稿一篇論文。

產業面(如合作研發產業、申請專利、洽談技術移轉廠商件數說明)

無。

政策面(如整治費用降低、特定污染物整治效益提升、或提供政府作為監測/管制標準、污染址管理等政策及法規研訂之參考)

本研究具有創新性，方法學與分析流程能作為其它先端環境研究之重要參考，例如用於觀察土壤整治前後非目標新興污染物的變化全貌。本研究所發現因施灌沼液而增加的特徵新興污染物，將建議列為沼液再利用應優先監測的新興污染物名單。未來可透過持續監測、觀察此等新興污染物在沼液與土壤環境中的變化趨勢，以預防及提前因應污染惡化，確保環境品質。除此之外，本計畫比較施灌過量、正常建議量與不施灌沼液之土壤



化學輪廓，若正常建議量仍造成新興污染物增加甚至累積，則可提供此結果做為修正沼液再利用參數之參考，以使我國畜牧糞尿資源化政策之持續推動更臻完善，促進農牧產業與環境生態之永續發展。



研究成果中英文摘要

中文摘要

沼液可部分取代化學合成肥料、增加土壤肥份。然而動物用藥等新興污染物，可能隨著沼液灌溉而進入農地土壤。傳統之目標物分析法難以發現非預期的環境問題，非目標分析法不預設立場地收集化學資訊，有利於偵測未知污染物、提前發現不斷推陳出新的新興污染物。本計畫利用非目標分析法，探討利用沼液灌溉農地對土壤中新興污染物分布的影響。

本計畫進行田間試驗，分析在實際栽種作物（青江菜）之情境下的土壤。試驗田分為三組，分別是施灌正常量（每年每公頃不超過400公噸）與過量沼液（正常量的三倍）兩組實驗組、以及不施灌沼液的空白組。我們採集試驗開始前的背景土壤（500 g， $n=9$ ）及三期作物採收時的表層土壤（每期每組 $n=6$ ），分析其物理化學性質、肥力、重金屬、微生物活性。土壤樣本另經過萃取與淨化，以高解析質譜法擷取所有非目標小分子（ m/z 70–1100）的訊號，並從所有小分子中篩查與鑑定新興污染物。重金屬與新興污染物以多變量分析比較它們在實驗組與對照組中之整體分布；並以單變量分析之統計檢定結果判斷個別金屬元素與新興污染物是否隨沼液施灌量增加而在土壤中增加，藉以發掘與施灌沼液有關的特徵新興污染物。此外，我們也採集每批施灌農地的沼液，分析酸鹼度、飽和電導度、重金屬含量、並篩查新興污染物，以了解其特性。

本計畫成功完成栽種三期作物的田間試驗與土壤及沼液分析。研究結果發現試驗田之各組土壤重金屬濃度均符合農地管制標準。但是施灌過量沼液，使磷、鉀、鎂、錳、銅、鋅、鈉在土壤中濃度顯著增加（ $p < 0.05$ ），可能造成營養鹽累積；所幸並未發現鉛、鎘等有毒重金屬因施灌沼液而增加之趨勢。微生物活性分析結果顯示：施灌沼液使土壤微生物相改變，尤其好氧菌活性下降（最低活性強度為2），可能有較多厭氧菌隨沼液進入土壤，並長期存活於土壤中。非目標分析結果，在土壤和沼液共發現146種新興污染物，其中有24種化合物只出現於施灌沼液的土壤樣本。半定量結果發現，包括畜牧業常用之抗生素（lincomycin、tiamulin、tilmicosin 和 oxytetracycline）、殺真菌劑、鎮痛解熱劑、藥品保存劑在內，共有11種新興污染物在施灌沼液的土壤中濃度較高（至少1.49倍， $p < 0.05$ ），且有6種污染物隨施灌量增加而增加。所幸季節比較結果顯示這些特徵新興污染物並未隨著重複施灌沼液而增加，應無長期累積之趨勢。



依據本計畫研究結果，建議收集動物停藥時之糞尿為沼液原料、針對藥物研發處理技術、鼓勵合理化施肥、以及持續監測常用動物用藥在沼液與土壤中的分布。期望透過這些對策，使畜牧糞尿資源化政策之推動更臻完善，促進農牧產業與環境生態永續發展。

關鍵字：沼液、土壤、新興污染物、高解析質譜、化學輪廓



英文摘要

Biogas slurry can partially replace synthetic fertilizers and increase soil fertility. However, emerging contaminants such as veterinary drugs may enter the agricultural soil through irrigating biogas slurry. Conventional targeted analyses would fail to discover unexpected environmental issues. Untargeted analyses enabled the unbiased collection of chemical information, facilitating the identification of unknown contaminants and the early detection of emerging contaminants. In this project, untargeted analysis was employed to investigate the effect of biogas slurry irrigation on the distribution of emerging contaminants in the agricultural soil.

Field experiments were conducted in this project. We analyzed the soil under the actual crop planting circumstance. Three groups were included, which were two experimental groups, irrigating with a normal amount (≤ 400 mt/ha/year) and excessive (three times the normal) biogas slurry, and a blank group without biogas slurry. The background soil (500 g, $n=9$) sampled before the experiment and the topsoil at the three harvests ($n=6$ in each group) was collected and analyzed for physicochemical properties, fertility, heavy metals, and microbial activity. Further, After sample extraction and cleanup, untargeted small molecules (m/z 70–1100) in the soil were acquired using high-resolution mass spectrometry. The emerging contaminants were screened and identified from all the small molecules. The overall distribution of heavy metals and emerging contaminants among the control and experimental groups were compared using multivariate analysis. Univariate statistical tests were employed to evaluate the differences in the distribution of individual metals and emerging contaminants, uncovering emerging contaminants relevant to biogas slurry irrigation. In addition, we analyzed the pH, saturation conductivity, and heavy metal content, and screened the emerging contaminants in each batch of biogas slurry to understand its characteristics.

Three field harvests, as well as soil and biogas slurry analyses, were completed in this project. The results demonstrated that the concentrations of heavy metals in the soils were all in line with the agricultural land control standards. However, excessive application of biogas slurry significantly increased the concentrations of phosphorus, potassium, magnesium, manganese, copper, zinc, and sodium in the



soil ($p < 0.05$), which may cause nutrient accumulation. Fortunately, the increase in hazardous metals such as lead and cadmium was not found. The application of biogas slurry changed the microbiota in soil, resulting in a decrease in aerobic bacteria activity (minimum activity intensity as low as 2), indicating the existence of more anaerobic bacteria in the soil. Untargeted analysis facilitated the identification of 146 emerging contaminants in soil and biogas slurry, of which 24 only occurred in soil samples irrigated with biogas slurry. Further, the relative concentrations of 11 emerging contaminants were higher in the soil irrigated with biogas slurry (at least 1.49 times, $p < 0.05$), including antibiotics commonly used in animal husbandry (lincomycin, tiamulin, tilmicosin and oxytetracycline), fungicides, analgesics, and a pharmaceutical preservative. Six emerging contaminants increased with the amount of biogas slurry applied. Fortunately, the seasonal comparison results demonstrated that those marker emerging contaminants did not increase with repeated application of biogas slurry, and long-term accumulation was not observed.

According to the research results of this project, we suggest collecting animal urine and manure during withdrawal as the raw materials of biogas slurry, developing veterinary drug treatment techniques, encouraging rational fertilization, and regular monitoring of commonly used veterinary drugs in biogas slurry and soil. We anticipate that these countermeasures will integrate the recycling of animal manure and urine and promote the sustainable development of agriculture and livestock industry and the environment and ecology.

Keywords: Biogas slurry, soil, emerging contaminants, high-resolution mass spectrometry, chemical profile



目次

目次.....	1
圖目錄.....	3
表目錄.....	4
一、 前言	5
二、 研究目的	6
三、 文獻探討	7
四、 研究方法及步驟	10
1 化學品與設備	11
2 田間試驗	11
3 樣本採集與前處理	15
4 高解析質譜資料擷取	19
5 品質保證與品質管制	19
6 高解析質譜資料處理	22
7 土壤與沼液中金屬元素分析	24
8 工作進度甘特圖與後續工作	25
五、 結果與討論	26
1 土壤特性	26
2 土壤生物活性	28
3 沼液之酸鹼度、電導度、重金屬	32
4 高解析質譜層析圖	34
5 分析方法再現性	37
6 土壤與沼液樣本中新興污染物定性結果	38
7 土壤中新興污染物與金屬多變量分析	43



7.1 沼液施灌量分布差異	43
7.2 採收時間差異分布	46
8 土壤中新興污染物單變量分析	49
8.1 污染物相對濃度與沼液施灌量之關係	49
8.2 污染物相對濃度與季節之關係	53
9 結論	56
六、 參考文獻	58
七、 附錄	63
土壤、沼液外源性污染物	63



圖目錄

圖一、土壤樣本非目標分析物分析流程	10
圖二、田間試驗配置圖	12
圖三、青江菜栽種情形	13
圖四、於基肥時漫灌沼液	13
圖五、畜牧廢水廠址與裝載圖	14
圖六、土壤採樣示意圖	15
圖七、含水率測量	16
圖八、土壤樣本前處理流程圖	17
圖九、土壤細菌活性試驗流程圖	17
圖十、沼液樣本前處理流程圖	18
圖十一、二維極致液相層析四極桿-飛行管高解析串聯式質譜儀	20
圖十二、X-射線螢光光譜儀	24
圖十三、土壤生物活性染劑顏色變化判讀	30
圖十四、土壤樣本總離子層析圖 ((A)正離子、(B)負離子)	35
圖十五、沼液樣本總離子層析圖 ((A)正離子、(B)負離子)	36
圖十六、各組新興污染物種類數目分布	39
圖十七、不同沼液施灌量檢出化合物文氏圖	39
圖十八、Lincomycin、tamulin、tilmicosin 和 oxytetracycline 化學結構圖	41
圖十九、8-hydroxyquinoline、bolasterone、progesterone、canbidiol、 ethinamate、indole、indole-3-acetic acid 化學結構圖	42
圖二十、不同沼液施灌量之四組樣本土壤污染物 PLS-DA 分數圖	44
圖二十一、不同沼液施灌量之三組樣本金屬 PLS-DA 分數圖	45
圖二十二、不同採收期別之四組樣本土壤污染物 PLS-DA 分數圖	47
圖二十三、春季和秋季分組 PLS-DA 分數圖	48
圖二十四、施灌沼液相對於不施灌沼液之污染物相對濃度比較	52
圖二十五、三倍沼液相對於一沼液之污染物相對濃度比較	52
圖二十六、春季與秋季污染物相對濃度比較	55



表目錄

表一、圖譜設置參數.....	21
表二、化合物比對參數設定值.....	23
表三、土壤樣本含水率.....	26
表四、土壤物化特性與金屬元素（平均值±標準差）	27
表五、土壤微生物相對活性.....	31
表六、沼液重金屬濃度.....	33
表七、同日與異日重複分析標準化分子波峰面積的平均值與相對標準差	37
表八、只出現於施灌沼液的土壤中之化合物檢出率	40
表九、Wilcoxon rank-sum 檢定結果.....	54



一、前言

沼氣發電是全球推廣的再生能源。以畜牧廢棄物經過厭氧發酵生產沼氣，不僅增加電能供應，還能解決畜牧廢水排放污染自然水體問題。此外，沼渣與沼液是畜牧廢棄物厭氧發酵後的固體與液體副產物，可取代化學合成肥料，供給作物氮源、促進作物生長與產量。沼渣沼液雖有以上價值，但也有部分研究提出在施灌農地、增加肥份的同時，沼渣沼液污染土壤的疑慮。畜牧動物可能從環境、飼料、飲水中暴露甚至累積污染物，或者吸收動物用藥品，這些化學物質可能以本體或代謝物的形式隨糞尿排出、存在畜牧廢水，且不一定能透過厭氧發酵完全降解，沼液中可能含有畜牧動物因環境暴露、從飼料與飲水中吸收、或因用藥而進入體內再排出體外、未被厭氧發酵分解的各式各樣新興污染物。

過去針對沼液與土壤中污染物監測多使用目標分析法，然而，目標分析法只能分析有限已知污染物，可能忽略未知污染物而錯估危害。透過高解析質譜技術可為小分子分析提供高度選擇性並同時定性數千種新興污染物。以高解析質譜法進行非目標分析，能夠客觀揭示土壤中整體小分子化合物分布，並能發掘隨施灌沼液而增加的化合物種類，提前發現潛在土壤污染問題、預防污染情形惡化。



二、研究目的

1. 透過田間試驗，取得以慣行農法實際栽種的情境下，施灌正常量、過量、與不施灌沼液的農地土壤。
2. 利用高解析質譜技術擷取農地土壤中的非目標小分子化合物資訊。
3. 分析土壤中金屬元素與微生物活性。
4. 利用多變量分析法比較各組農地土壤之整體污染物輪廓，了解施灌不同量沼液的土壤污染物組成是否有所差異。
5. 找出與施灌沼液有關的特徵新興污染物，探討其相對量變化趨勢，以提前發現沼液再利用的潛在問題。



三、文獻探討

1. 畜牧糞尿資源化的優勢與疑慮

沼氣發電是全球推廣的再生能源。以畜牧廢棄物經過厭氧發酵生產沼氣，不僅增加電能供應，還能解決畜牧廢水排放污染自然水體問題。此外，沼渣與沼液是畜牧廢棄物厭氧發酵後的固體與液體副產物，可取代化學合成肥料，供給作物氮源、促進作物生長與產量^{1, 2}。過去研究指出灌溉沼液能提升作物營養價值，使還原糖、水溶性蛋白質、維生素 C 等等營養素增加^{3, 4}。我國從 100 年起推動畜牧糞尿水再利用，環保署更於 104 年增訂「水污染防治措施及檢測申報管理辦法」第十章之一「以畜牧廢棄物沼液沼渣農地肥分使用」，加強推動與管理。

沼渣沼液雖有以上價值，但也有部分研究提出在施灌農地、增加肥份的同時，沼渣沼液污染土壤的疑慮。畜牧動物可能從環境、飼料、飲水中暴露甚至累積污染物，或者吸收動物用藥品，這些化學物質不會完全被動物代謝或分解，因此會以本體或代謝物的形式隨糞尿排出^{5, 6}，且在畜牧廢棄物中的化學物質不一定能透過厭氧發酵完全降解，因此可能存在沼渣與沼液中⁷。施灌沼渣沼液，可能使殘留其中的化學物質進入農地環境。已有研究發現由於藥物殘留在有機肥料中，使得農地土壤中出現具有抗藥性基因的細菌⁸⁻¹⁰。

我國在推動畜牧糞尿水再利用前，曾進行一系列田間試驗，評估施灌沼渣沼液之農地污染情形。結果發現大多不會使農地周圍異味超過法規標準或污染地下水，在沼渣沼液金屬含量正常的情況下也不會造成土壤金屬元素累積¹¹。除此之外，農委會農試所曾在一項試驗中分析四種抗生素，包括氯四環素（偵測極限：土壤 0.5 ppm、植體 1.0 ppm）、林可黴素（偵測極限：土壤 1 ppb、植體 100 ppb）、青黴素（偵測極限：土壤與植體皆為 0.05 ppm）、雪華魯新（偵測極限：土壤 10 ppb、植體 100 ppb）。結果僅有微量林可黴素在部分畜牧廢水樣本中測得（16 ppb 及 6 ppb），土壤與植體中均未檢出；其餘三種抗生素則在所有樣本中均未檢出¹²。

與上述試驗結果相反的是，研究團隊執行 108 年度土壤及地下水污染整治基金補助研究與模場試驗專案研究計畫「以高解析質譜法篩檢施灌沼液之農地土壤及農作物中的動物用藥品」，在施灌沼液的某座農地土壤發現 22 種藥物，包括林可黴素、四環黴素類抗生素 oxytetracycline、氟奎諾酮類抗生素 enrofloxacin、抗寄生蟲劑 flubendazole、解熱鎮痛劑 fenoprofen、類固醇類激素 oxymesterone 等



等¹³。相較於 99 年的試驗，此研究雖屬定性分析，可能由於分析方法靈敏度優勢，因而在土壤中偵測到林可黴素；除此之外更因大規模篩查之研究設計，有機會發現 99 年的田間試驗中所未含括的藥物污染，且不能排除來自畜牧廢水殘留。

2. 傳統新興污染物的研究方法的限制

新興污染物（emerging contaminants 或 contaminants of emerging concern）指各種新發現或過去未確認，對人體健康或生態環境具有危害風險，但尚未受管制標準所規範化學品或其他物質。包含多種早已存在於環境中，隨著使用情境改變、或檢測分析技術進步，其存在和健康風險直至近期才被發現或評估的污染物¹⁴。新興污染物可以包括許多不同種類的化學品，例如藥物、個人保健品、界面活性劑、工業添加劑、消毒副產物等等^{15,16}。新興污染物經過人類使用與排放，進入自然環境，大量新興污染物不僅已在水體中衝擊魚類和其它水生生物生態，也會透過食物鏈，因生物濃縮、累積、甚至生物放大作用，對包括人類在內的陸生生物造成潛在威脅^{17,18}。如前所述，沼液中可能含有畜牧動物因環境暴露、從飼料與飲水中吸收、或因用藥而進入體內再排出體外、未被厭氧發酵分解的各式各樣新興污染物。

本計畫團隊長期研究新興污染物，包括過去在環境水體基質及魚體中的壬基酚、雙酚 A、藥物、個人保健品、異環化合物等等¹⁹⁻²²，以及食品中全氟烷基類化合物等²³。過去新興污染物分析多使用目標物分析法，例如液相層析—三段四極桿串聯質譜法。然而，目標物分析法只分析有限的新興污染物，可能會因為忽略更重要的未知污染物而導致錯誤結論。舉例來說，申請人過去在淡水河流域測得壬基酚大量累積於魚體中，且發現魚類雌性化，卻不能推斷魚類雌性化是否因為壬基酚或其它濃度更高、雌激素活性更高的物質所造成²⁰。

除此之外，目標物分析法只能在已知污染問題發生後，針對少數已知新興污染物，了解其問題嚴重程度。往往在分析這些新興污染物的當下，污染物已經廣泛流布、環境生態衝擊已經發生。舉例來說，過去申請人發現含氯與含溴的異環化合物已廣布於河川與海洋底泥¹⁹，預防污染為時已晚、也難以從存在多年的污染來源與污染傳播結構上阻止問題惡化。因此，有必要利用非目標分析法（untargeted analysis），發掘非預期之新興污染物，以提前察覺重要環境問題、尋求對策。



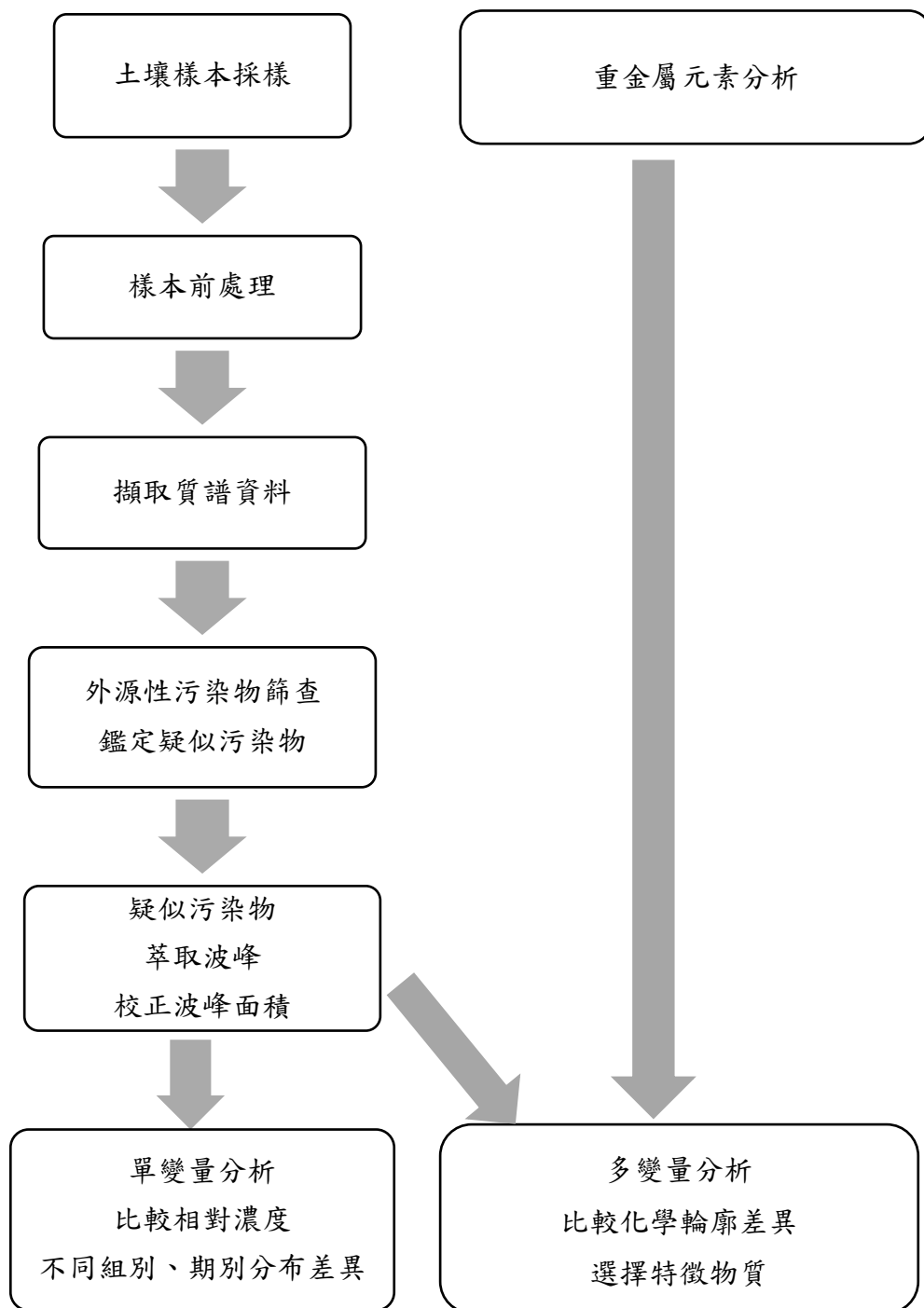
3. 非目標分析法有利提前發現問題

非目標分析法利用高解析質譜技術，快速掃描且不偏差地擷取選定質量範圍內的所有化合物訊號，並記錄準確質量。研究已證實，超高效液相層析結合四極桿－飛行式質譜系統，能為小分子化合物之分析提供高度選擇性，有利同時定性數千種新興污染物^{24,25}。在上述系統中，層析與質譜同時提供化合物分離機制，尤其高解析質譜化合物鑑定，只要未知物的一個分子離子與一個碎片離子的準確質量與已知化合物相符，即達到 4 個鑑定點的定性要求²⁶。此外，Gago-Ferrero 等更提出新的鑑定點計算方式，強調高解析質譜較低解析質譜更能正確鑑定小分子²⁴；Schymanski 等亦指出即使未經與標準品比對的情況下，高解析質譜仍能提供可靠定性²⁷。

新興污染物不斷推陳出新，若在分析前預設立場觀察特定已知污染物，將難以發現非預期的環境問題，甚至以偏概全。因此新興污染物與污染情境，尤其需要非目標分析法方能儘早認知與控制。研究團隊於 108 年已將高解析質譜技術成功應用於篩查土壤中動物用藥品¹³。且在非目標分析法的應用上，過去本計畫團隊研究曾利用高解析質譜偵測水中有機物，再透過多變量分析比較實驗組與對照組樣本中小分子化合物輪廓，進而發掘加氯處理的樣本中生成未知化合物，並成功鑑定出這些未知物為新興污染物的氯化轉換產物²⁸。過去研究成果在在證實以高解析質譜及多變量分析為主要工具的非目標分析法適用於釐清問題與掌握污染趨勢，有利於超前部屬、預防污染惡化。



四、研究方法及步驟



圖一、土壤樣本非目標分析物分析流程



1 化學品與設備

1.1 化學品

- 甲醇：Methyl Alcohol, Anhydrous chromAR for HPLC (MACRON, USA)
- 乙腈：Acetonitrile for HPLC (J T Baker, USA)
- 乙酸：Acetic acid, , Glacial baker analyzed ACS Reagent (J T Baker, USA)
- 乙二胺四乙酸：Ethylenediaminetetraacetic acid disodium magnesium salt hydrate, 99%(Sigma-Aldrich, USA)
- 丙酮：Acetone CHROMAR for HPLC (MACRON, USA)
- Trimethoprim-d₉ (Purity: 98%, Toronto, Ontario, Canada)
- Reserpine-d₉ (Purity: 97%, Toronto, Ontario, Canada)
- Atazanavir-d₆ (Purity: 98%, Toronto, Ontario, Canada)
- Butylparaben-¹³C₆ (Purity: 99%, Toronto, Ontario, Canada)

1.2 設備

- 球磨均質機：Mixer Mill MM 400 (Retsch GmbH, Haan, Germany)
- 水分天平：Moisture Analyzer MF-50 (A&D Company, Tokyo, Japan)
- 多管振盪器：Multitube Vortex Mixer MDT-2500 (Miulab, Hangzhou, China)
- 超純水 (Milli-Q water) 設備：Milli-Q Integral Water Purification System (Merck Millipore, Ontario, Canada)
- 減壓濃縮離心機：Speedvac (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)
- 極致液相層析四極桿-飛行管高解析串聯式質譜儀：Agilent 1290 Infinity II UHPLC device coupled with 6545 Q-TOF MS (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)
- X-射線螢光光譜儀：Olympus Vanta XRF

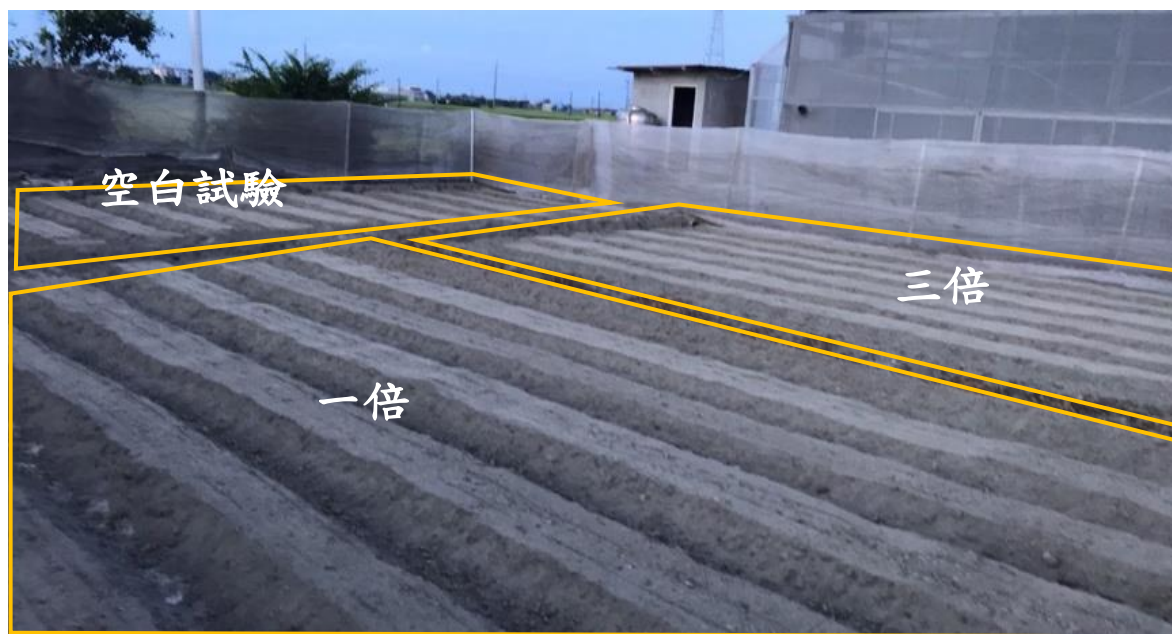
2 田間試驗

本研究選定位在雲林縣水林鄉之農地（23°36'36.3"N 120°16'07.0"E）進行田間試驗。我們將農地劃為3區，分成不施灌沼液的空白試驗組（空白組）、施灌正常量沼液（一倍組）和施灌相當於正常量3倍沼液（三倍組）等三組（圖二），灌溉水從北北東方的空白試驗組流向南南西方的一倍與三倍組。本研究沼液是由一座鄰近養豬場所提供，該養豬場為符合環保機關申請條件、且經地方農業機關審查通過、核准肥份使用之畜牧場，且距離試驗農地最近，在實際畜牧糞尿資源化政策施行上最具代表性。施灌正常量指的是依據農委會農業試驗所出版之「畜牧廢水農地施肥要領」，每年每公頃不超過400公噸²⁹。農地總面積為



沼液再利用對土壤中非目標新興污染物分布之影響

0.03 公頃，每一組面積約略相等，三組均以慣行農法種植青江菜（圖三）。一倍組與三倍組均在基肥與追肥時分別以漫灌（圖四）與溝灌方式施灌沼液；追肥時間與次數，隨農作物生長情況調整。每次施灌均記錄沼液重量。這三組除了沼液施灌量不同之外，其餘農業生產作業，包括種子來源批次、栽種方法、使用資材、農田管理等等全部相同。畜牧場沼液肥份的 $N/P_2O_5/K_2O$ 濃度為 273/31/235 mg/kg，畜牧廢水經固液分離，放流至兼氣污水塘，以槽車裝載畜牧廢水至農地施灌（圖五）。



圖二、田間試驗配置圖



四、研究方法與步驟



圖三、青江菜栽種情形



圖四、於基肥時漫灌沼液



沼液再利用對土壤中非目標新興污染物分布之影響



圖五、畜牧廢水廠址與裝載圖



3 樣本採集與前處理

本研究共採集4次土壤。第1次在灌溉沼液基肥之前（110年3月）分別在各組農地隨機選取3個採樣點，共計採集9個樣本，以此次所採集的土壤為背景。在每期青江菜採收前進行土壤採樣，每組各選定6個採樣點，每期共計採集18個樣本，第2-4次採樣時間分別為110年5月、110年9月和110年11月，共計54個樣本。選擇在採收前採集土壤樣本，目的是反映施灌沼液的長期效應，避免分析結果受到剛施灌時的短期作用影響。除此之外，採樣點與農作物採收時間相近，也能同時反映與農產品安全直接相關的土壤污染情形。依據中央氣象局氣候統計資料，雲林縣雨季在5-8月，月均溫約24°C，本研究採樣時間涵蓋一年內主要氣候變化月份，具有一定之代表性。

土壤樣本採集方式為淺層污染採樣，以不鏽鋼採樣鏟移除地上物後，於深度15公分處，以不鏽鋼鏟挖取約500 g土壤（圖六），盛裝在鋁箔盒，以低溫宅配運送至實驗室，在實驗室保存於-20°C，並於一周內完成樣本前處理。



圖六、土壤採樣示意圖

土壤樣本在剔除目視可見之礫石與樹枝等雜物後，手動充分混合均勻並通過標準篩（2 mm）。過篩後土壤，取5 g利用水分天平測量含水率（圖七）、計算總固體含量百分比。另取5 g裝入塑膠離心管，保存於-20°C。土壤萃取前，添加四種同位素標記化學品，包括trimethoprim-d₉（100 ng）、reserpine-d₉（1000



沼液再利用對土壤中非目標新興污染物分布之影響

ng)、atazanavir-d₆ (100 ng)、butylparaben-¹³C₆ (100 ng)，用於針對正負離子訊號校正批次效應。並加入400 mg 乙二胺四乙酸 (Ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA) 以防止部分化合物與二價金屬螯合。樣本依序以6 mL之丙酮與6 mL之甲醇振盪萃取30分鐘後，分別取4 mL上清液通過樣品淨化真空萃取匣 (Waters Oasis PRiME HLB, 6 cc, 200 mg) 去除蛋白質與磷脂質，合併成大約8 mL。經減壓離心濃縮至1.5 mL，以孔徑0.22 μm的PTFE濾膜過濾後，再濃縮至近乾後，以100 μL 甲醇水溶液 (甲醇：水= 1:1 (v/v)) 回溶，進行儀器分析 (圖八)。

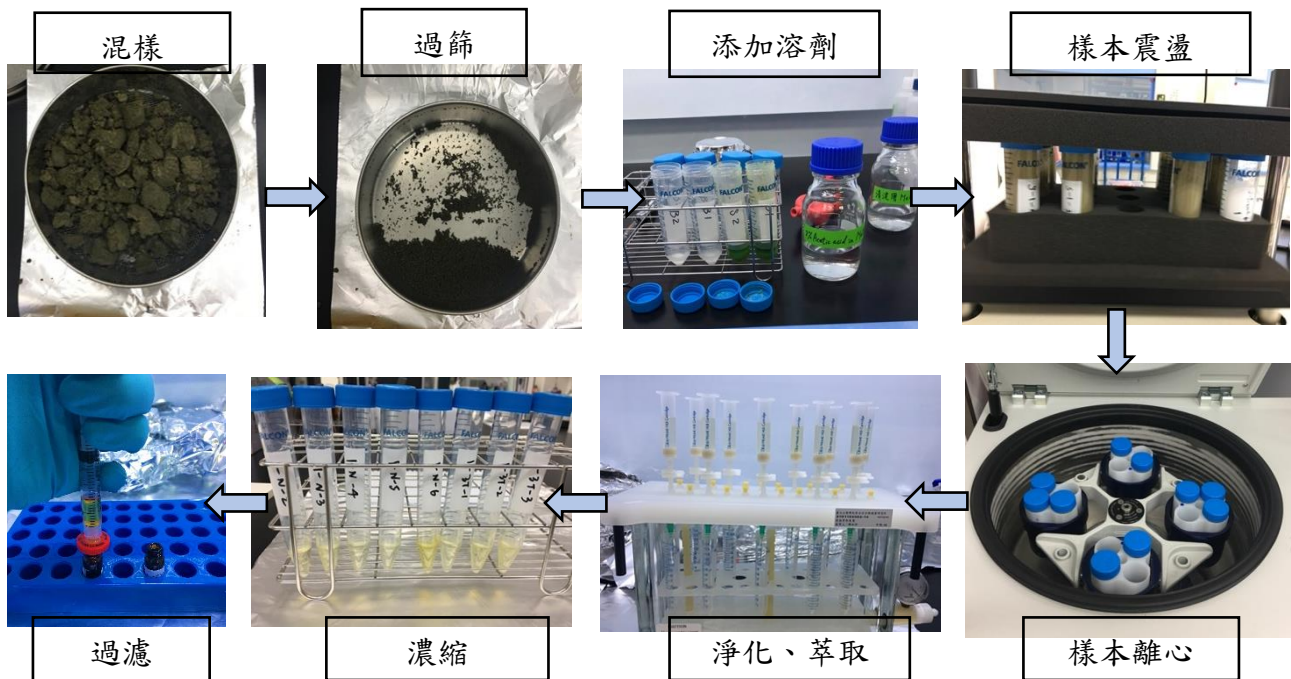
為了瞭解試驗田之土壤特性，除了分析每批樣本的水分含量之外，我們另分析其物理與化學性質，包含酸鹼度、飽和電導度、有機質，以了解基本物化性質是否在施灌沼液後有所變化。在土壤生物特性的部分，取土壤0.5 mL置於微量離心管，添加1 mL 0.01% (w/v) resazurin染劑混和均勻，以單純染劑作為滅菌控制組，將樣本在37°C連續培養48小時，分別在24小時、48小時，吸取100 μL 染劑於96孔盤觀察染劑還原狀態，以得知土壤中細菌活性 (圖九)。Resazurin是一種氧化還原指示劑，可用於細菌有氧呼吸活性試驗，根據染劑顏色變化判定陽性或陰性反應。當染劑由深藍色轉為紫色或粉紅色，視為陽性反應。我們參考文獻中的判定規則，將染劑顏色分成七個等級，以此判斷微生物相對活性強度：以陰性反應 (深藍色) 為0，陽性反應包括紫紅色、粉紅色、透明無色等，顏色由深至淺代表活性強度由低到高，依序量化為1到6³⁰。



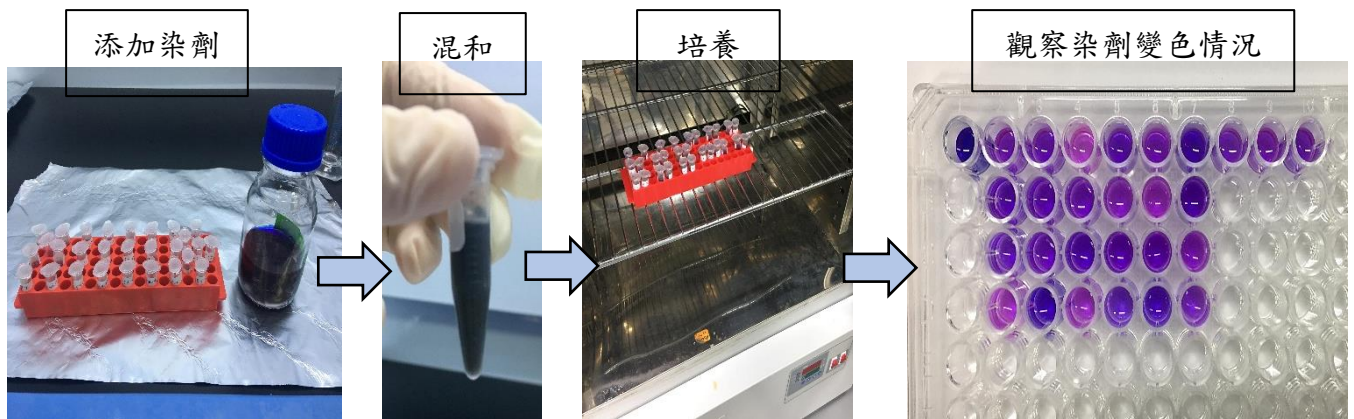
圖七、含水率測量



四、研究方法與步驟



圖八、土壤樣本前處理流程圖

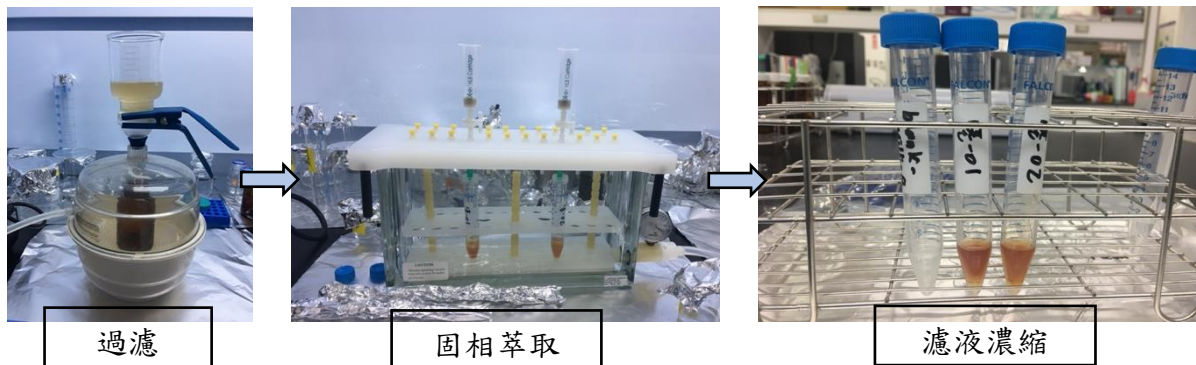


圖九、土壤細菌活性試驗流程圖



沼液再利用對土壤中非目標新興污染物分布之影響

除了土壤之外，本研究共收集 8 個沼液樣本，包含第一期基肥、第二期追肥，第三期基肥與追肥。每次澆灌沼液收集 2 個沼液樣本，分別取自同一批沼液的第一車與第二車。沼液樣本經低溫配送至實驗室後，以直讀式儀器測量酸鹼度和電導度。樣本前處理是取 100 mL 置於褐色瓶，以乙酸調整 pH 值至 3，添加 400 mg EDTA，以固相萃取匣(Waters Oasis HLB, 6 cc, 200 mg)進行萃取。樣本通過萃取匣後，萃取匣以 7 mL 甲醇沖提，萃取液經與土壤樣本相同步驟濃縮、過濾，回溶至 1 mL，進行儀器分析（圖十）。



圖十、沼液樣本前處理流程圖



4 高解析質譜資料擷取

本研究使用國立臺灣大學公共衛生學院環境暨職業衛生研究中心極致液相層析四極桿-飛行管高解析串聯式質譜儀擷取土壤樣本中所有非目標小分子訊號（圖十一）。採逆相層析方法，使用 Phenomenex Luna Omega 1.6 μm Polar C18 (100 Å, 100×2.1 mm) 液相層析管柱滯留不同極性的化合物，管柱溫度為 40°C。正離子模式的移動相使用 5-mM 醋酸銨水溶液與甲醇，負離子模式的移動相是含有 0.04% 醋酸的水與乙腈，以 0.3 mL/min 之流速進行梯度沖提。

樣本中小分子化合物以電灑游離法游離後，以上述資料擷取方式分析準確質量。分別在 0、20、40 eV 三個碰撞能量的條件下，擷取質荷比 (m/z) 範圍在 70–1100、訊號強度 >5 counts 的所有小分子訊號，包括分子離子（含同位素離子與加合離子）以及碎片離子的準確質量、滯留時間、波峰面積。使用和資料獨立擷取模式（data-independent acquisition，儀器設定為 MS mode）分析樣本，描速率在 MS 模式為每秒收集 3 張圖譜，層析時間為 30 分鐘，參數設置如表一。

5 品質保證與品質管制

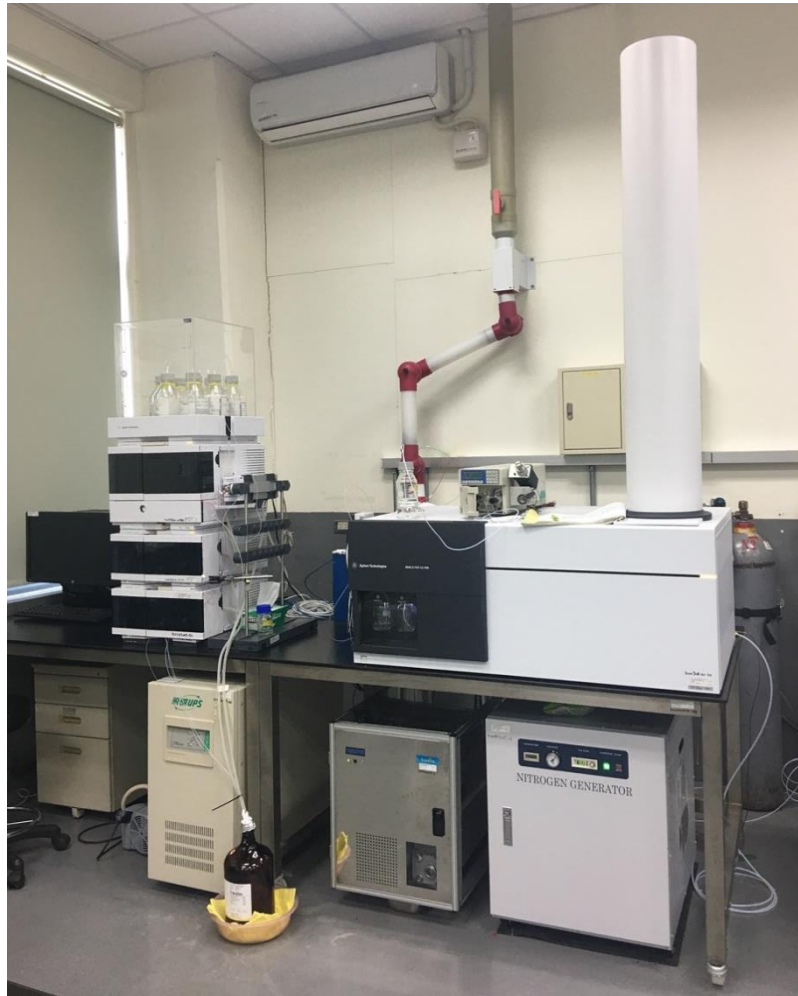
樣本採集與保存均使用金屬或玻璃器皿，接觸樣品的玻璃耗材史前已融於甲苯之 7% 二甲基二氯矽烷進行去活化處理，避免玻璃吸附鹼性藥物，再以丙酮和甲醇潤洗。使用後浸泡於自來水利用超音波震盪儀震盪 15 分鐘，依序以超純水、丙酮和甲醇潤洗，避免樣本污染。塑膠耗材包含滴管尖頭、萃取匣和濾膜，使用前皆以甲醇潤洗以去除表面未聚合之塑膠單體。

每次進樣皆包括至少 1 個空白樣本及 1 個重複樣本。為確保質量分析準確度，在分析樣本前進行小分子質量範圍 ($m/z \leq 1700$) 自動校正，且將質量分析器調整至在 6 個質量點誤差都 <3 ppm。另外，在分析樣本時同時注射質量校正標準品，其質荷比在正離子模式為 121.0509 及 922.0098、在負離子模式為 112.9856 及 1033.9881，藉由同步分析校正在分析樣本時所發生的質量誤差（表一）。

為評估分析方法再現性，隨機選取一個已均質樣本，秤取 4 份 5 g 樣本作為重複樣本，經過與真實樣本相同前處理與儀器分析方法，進行重複樣本分析；另取一個樣本進行連續三日重複儀器分析。觀察樣本中經過同位素標記化學品標準化之分子波峰面積，以相對標準差作為精密度指標。



沼液再利用對土壤中非目標新興污染物分布之影響



圖十一、二維極致液相層析四極桿-飛行管高解析串聯式質譜儀



表一、圖譜設置參數

參數	設定值
Positive and negative ionization mode	Agilent Jetstream Spray (electrospray)
Data acquisition mode	2 GHz extended dynamic range mode
Data acquisition range	m/z 70–1100
Drying gas temperature	340°C
Drying gas flow rate	9 L/min
Sheath gas temperature	360°C
Sheath gas flow	11 L/min
Nebulizer pressure	45 psig
Capillary voltage	4500 V
Skimmer	65 V
Fragmentator	125 V
Data acquisition rate	
MS	3 spectra/s
Collision energy	0, 20, 40 eV
Reference mass	
ESI+	m/z 121.0509 及 922.0098
ESI–	m/z 112.9856 及 1033.9881



6 高解析質譜資料處理

土壤和沼液樣本的高解析質譜資料，透過比對化學資料庫，以污染物篩查的方式，對沼液中的非目標小分子進行定性，藉此鑑定出土壤中的新興污染物。我們使用 Agilent Qualitative Analysis B.07.00 中 Find by formula 功能與動物用藥品資料庫 Vetdrug_AM、水體中污染物資料庫 Water 和農藥資料庫 Pesticide 中化合物進行比對。獲取的分子離子準確質量用於計算化學式，可容許質量差異小於 ± 10 ppm；同時考慮加合離子 $[M + H]^+$ 、 $[M + NH_4]^+$ 、 $[M - H]^-$ 、 $[M + CH_3OO]^-$ 。除了獲知化學式，利用碎片離子確認化合物結構，比對出正確化合物。碎片離子與前驅離子的滯留時間差異要在 ± 0.1 分鐘以內，碎片離子訊噪比需大於 5.00，且至少有一個碎片離子（表二）。符合以上要件，才視為比對成功。

根據定性結果，我們選擇在任一組別中出現至少 3 次的化合物，包含 49 個正離子化合物和 7 個負離子化合物。萃取化合物波峰面積，進行相對定量。小分子化合物波峰面積以同位素標記標準品（正離子:trimethoprim-d₉ 和負電:atazanavir-d₆）的波峰面積標準化，再除以總固體含量百分比，以換算為乾燥土壤中的訊號面積。將每一個樣本中小分子化合物面積資料彙整後，經過對數轉換與資料縮放(pareto scaling)，進行多變量與單變量分析。

多變量分析使用偏最小平方判別法(partial least squared discriminant analysis, PLS-DA)，以小分子化合物為自變項與其相應波峰面積為變項值，以栽種期別和施灌沼液與否，分別分析整體化合物隨沼液施灌量差異與栽種時間的分布差異。觀察分數圖 (scores plot)在不同期別中 0 倍、1 倍、3 倍沼液組之樣本區別，並以交叉驗證 (cross validation)所得之 R^2 與 Q^2 值判斷模式解釋變異量的能力、以及模式穩定度。以 $R^2 \geq 0.5$ 且 $Q^2/R^2 \geq 0.5$ ，表示模型具有可預測性，可以驗證樣本中小分子整體趨勢不同^{31, 32}。

單變量分析使用 Kruskal Wallis 檢定與 Dunn 事後檢定，以 p-value < 0.05 為統計顯著，觀察樣本 3 組（0 倍、1 倍、3 倍沼液組）之間小分子化合物與金屬元素相對量差異，比較施灌沼液與否土壤中化合物相對量差異。使用 Wilcoxon rank-sum 檢定，以 p-value < 0.01 為統計顯著，並經過多重檢定控制錯誤發現率(false discovery rate) (p-value < 0.05)，比較季節與土壤中化合物相對量差異。



表二、化合物比對參數設定值

參數	設定值
Formula matching	
Match tolerance	
Masses	± 10 ppm
Expansions of values for chromatogram extraction possible m/z	± 35 ppm (symmetric)
Precursor ions	
Positive ions	$[M+H]^+$, $[M+NH_4]^+$
Negative ions	$[M-H]^-$, $[M+CH_3COO]^-$
Scoring	
Contribution to overall score	
Mass score	100
Isotope abundance score	60
Isotope spacing score	50
Retention time score	100
Expected data variation	
MS mass	2 mDa + 5.6 ppm
MS isotope abundance	7.5%
MS/MS mass	5 mDa + 7.5 ppm
RT	0.115 min
Peak height	> 1000 counts
Fragment ion confirmation	
Fragment ion EIC qualification settings	
RT difference	± 0.1 minutes of expected RT
S/N	> 5
Coelution score	> 90
Minimum number of qualified fragments	1



沼液再利用對土壤中非目標新興污染物分布之影響

7 土壤與沼液中金屬元素分析

土壤中金屬使用感應耦合電漿原子放射光譜分析儀，依照農試所公告方法 TARI S301.1B「土壤肥力測定方法-孟立克 3 號萃取法」針對土壤中鉀、鈣、鎂、鐵、錳、銅、鋅、鈉的濃度。本研究完成灌溉沼液基肥之前（110 年 3 月採集）之背景土壤樣本($n=9$)、第一期土壤樣本（ $n=18$ ，110 年 5 月採集）、第三期土壤樣本（ $n=18$ ，110 年 9 月採集）和第 4 次土壤樣本（ $n=18$ ，110 年 11 月採集）分析。沼液中的重金屬，使用 X-射線螢光光譜儀（圖十二），依照環檢所公告方法 NIEA S322.60C「土壤和底泥中元素濃度快速篩選方法—攜帶式 X-射線螢光光譜儀分析法」來針對樣本中銅、鋅、鎘、鉻、鎳、鉛等六種土壤污染的重金屬指標元素進行定性篩測，並依據測得之訊號強度（脈衝振幅）進行相對定量。



圖十二、X-射線螢光光譜儀



8 工作進度甘特圖與後續工作

工作項目	年月													備 註
	110 年 03 月	110 年 04 月	110 年 05 月	110 年 06 月	110 年 07 月	110 年 08 月	110 年 09 月	110 年 10 月	110 年 11 月	110 年 12 月	111 年 01 月	111 年 02 月		
田間試驗	<div><div></div><div></div></div>													
樣本採集與前處理	<div><div></div><div></div></div>													
高解析質譜資料擷取	<div><div></div><div></div></div>													
金屬元素與微生物活性分析	<div><div></div><div></div></div>													
資料處理與分析	<div><div></div><div></div></div>													
小分子鑑定與半定量	<div><div></div><div></div></div>													
撰寫報告	<div><div></div><div></div></div>													
工作進度估計百分比 (累 積 數)	5 %	10 %	22 %	30 %	42 %	50 %	62 %	71 %	80 %	88 %	95 %	100 %		
預定查核點	期中		1. 完成第一期田間試驗及土壤樣本採集與前處理。 2. 完成第一批高解析質譜資料擷取與金屬元素及微生物活性分析。											
	期末		1. 完成所有土壤樣本實驗與資料分析。 2. 列舉因施灌沼液而增加的主要新興污染物種類及相對增加量。											
說明：(<div></div> ：預期完成進度； <div></div> ：實際完成進度)														
1、工作項目請視專案性質及需要自行訂定。預定進度以粗線表示其起迄日期。														
2、「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。														
3、「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。														



五、結果與討論

1 土壤特性

四批土壤樣本之水分含量分析結果如表三，施灌沼液前的背景土壤平均含水量為 13.2%，比較三期土壤不同組別含水量，顯示土壤的三倍組 (13.3-16.6%) 相較於空白與一倍組 (11.3-14.1%) 有較高的含水率。四批土壤的總固體含量介於 83.4-88.7% 之間。總固體含量將用於將小分子化合物波峰面積換算為乾燥土壤中的訊號面積，以避免因水分含量不同影響土壤中化合物相對定量結果。

表三、土壤樣本含水率

	含水率 (%, 平均值±標準差)	總固體含量 (%, 平均值±標準差)
背景土壤 (n=9)	13.2 ± 1.52	86.8 ± 1.52
一期土壤		
空白 (n=6)	13.9 ± 1.64	86.1 ± 1.64
一倍 (n=6)	11.3 ± 0.87	88.7 ± 0.87
三倍 (n=6)	13.3 ± 0.81	86.7 ± 0.81
二期土壤		
空白 (n=6)	11.5 ± 0.81	88.5 ± 0.81
一倍 (n=6)	11.5 ± 1.32	88.5 ± 1.32
三倍 (n=6)	16.6 ± 0.46	83.4 ± 0.46
三期土壤		
空白 (n=6)	14.1 ± 0.65	85.9 ± 0.65
一倍 (n=6)	14.1 ± 0.96	85.9 ± 0.96
三倍 (n=6)	16.6 ± 0.46	83.4 ± 0.46



五、結果與討論

四批土壤樣本肥力分析結果如表四，土壤酸鹼度呈中性，有機質含量約為1.64%，電導度介於0.32-0.59 mS/cm。一般土壤電導度若低於2 mS/cm，對大部分作物生長無不良影響。各組金屬濃度銅介於5.26-7.70 mg/kg、鋅濃度介於10.25-16.46 mg/kg，皆遠低於環保署土壤污染管制標準中食用作物農地之管制上限（銅食用作物農地之管制標準值200 mg/kg，鋅食用作物農地之管制標準值600 mg/kg）。我們觀察各組金屬含量，並使用 Kruskal-Wallis 檢定比較沼液累積與土壤金屬含量是否有顯著差異($p<0.05$)，並以 Dunn 事後檢定進行兩兩比較。比較空白組與一倍組，統計結果顯示鉀、鎂、銅、鈉具有顯著差異且一倍組含量較空白組含量低。比較一倍組與三倍組，發現除了鈣與鐵之外，所有元素皆具有顯著差異，其中7種元素：磷、鉀、鎂、錳、銅、鋅、鈉在三倍組含量較一倍組高，顯示施灌過量沼液可能造成營養鹽與金屬元素累積。

表四、土壤物化特性與金屬元素（平均值±標準差）

	背景(n=9)	空白組(n=18)	一倍組(n=18)	三倍組(n=18)
酸鹼度	7.71±0.11	7.69±0.17	7.62±0.89	7.73±0.13
有機質%	1.63±0.16	1.65±0.079	1.65±0.084	1.63±0.10
電導度 (mS/cm)	0.32±0.1	0.50±0.13	0.27±0.30	0.59±0.14
磷	104.9±6.7	103.8±7.8	103.6±8.8	109.6±8.1 ^c
鉀	93.5±16.7	93.1±15.2	81.7±7.3 ^b	114.1±13.7 ^c
鈣	3765.6±207.1	3870.8±404.4	3887.1±263.2	3527.4±200.0
鎂	305.6±39.5	321.37±54.6	271.16±31.3 ^b	302.71±42.0 ^c
鐵	189.5±18.8	185.4±24.6	211.9±30.1	180.3±18.0
錳	90.43±7.48	87.01±13.11	89.43±14.25	95.53±22.8 ^c
銅	5.26±0.40	7.70±4.58	5.62±0.57 ^b	7.22±1.62 ^c
鋅	10.25±3.88	15.06±4.82	12.79±1.37	16.46±4.57 ^c
鈉	49.35±20.6	59.41±22.80	34.16±4.96 ^b	66.45±17.50 ^c

^a 金屬濃度單位 ppm

^b 低於空白組

^c 高於一倍組



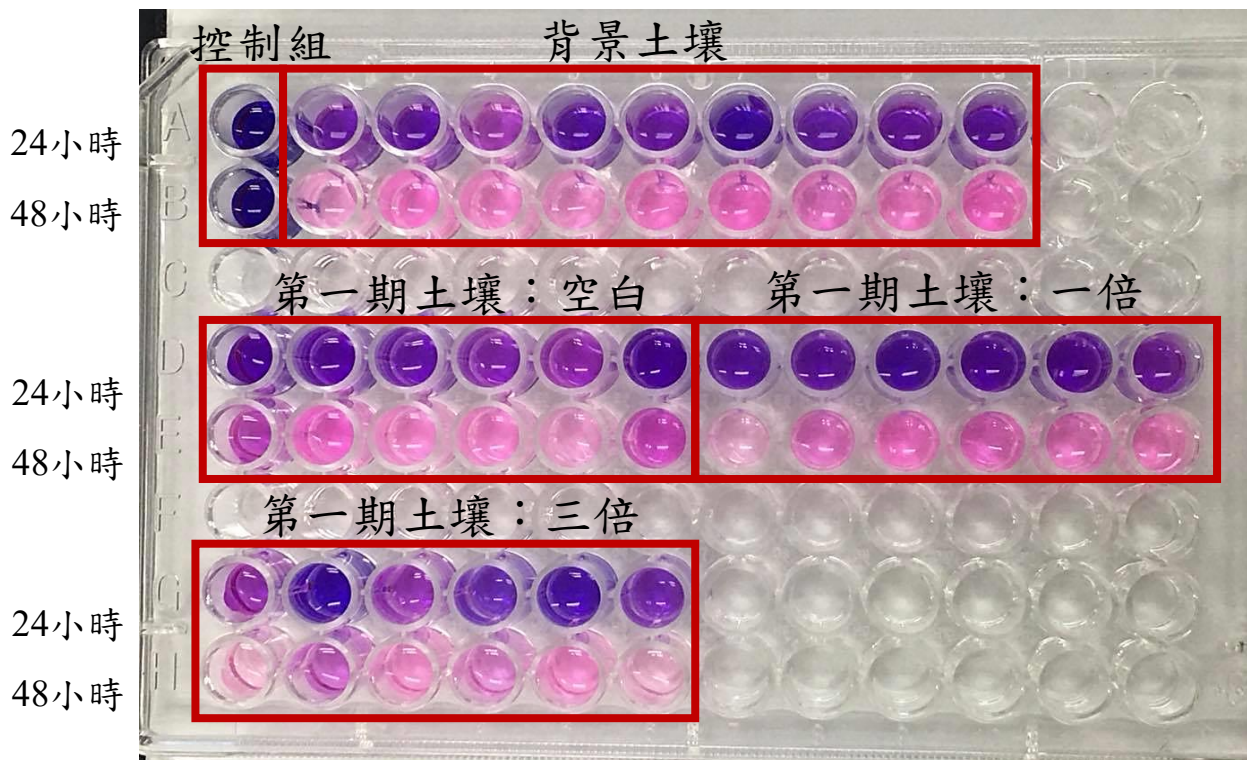
2 土壤生物活性

四次採集土壤細菌活性分析結果顯示：樣本在連續培養2天後皆有微生物陽性反應，而純染劑之控制組為陰性，證實實驗品質良好，結果具有可信度，如圖十三。我們觀察24小時培養結果發現所有樣本皆有變為紫色（強度值:1-2），雖然在同一組中各採樣點的樣本生物活性有些許差異（例如第一期空白組與三倍組、第三期三倍組），然而各組整體顏色變化趨勢相似。反之，經過48小時培養後，則發現三期各組土壤整體顏色變化趨勢明顯不同：。

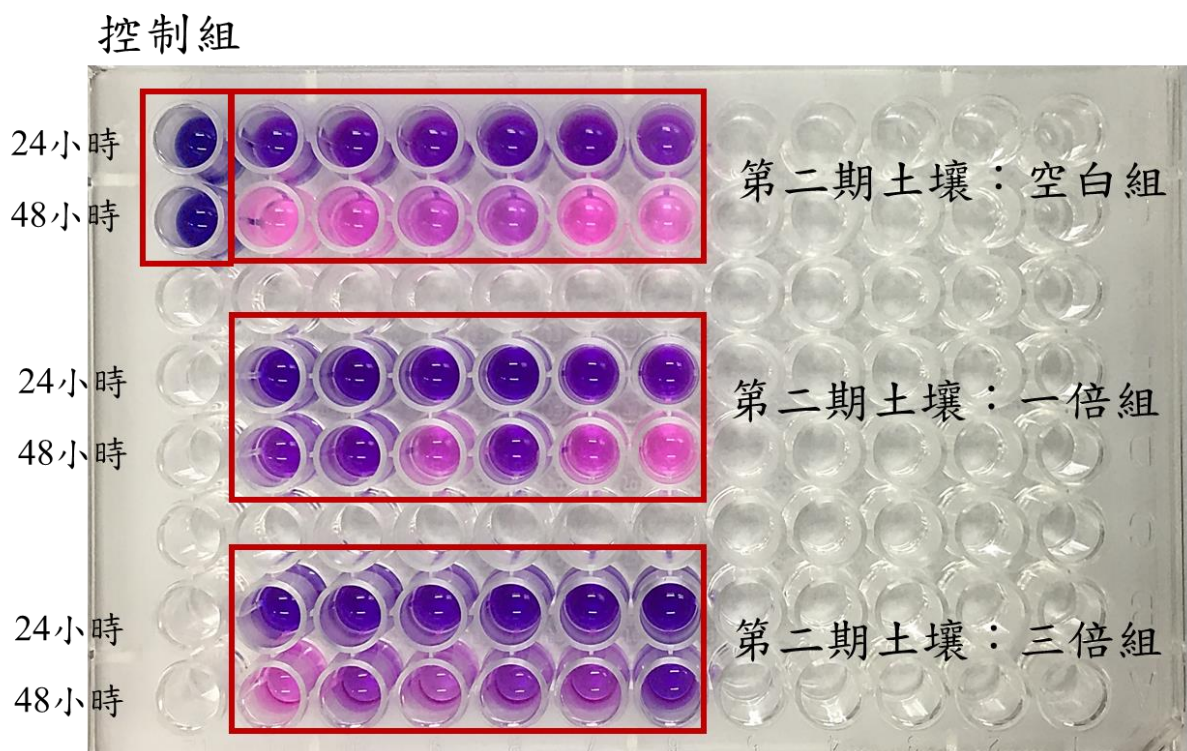
本研究根據顏色變化將微生物分析結果轉為相對活性強度，如表五。我們發現背景土壤生物活性強度值均達到5（透明粉紅色）。第一期土壤三個組別整體活性強度一致（平均強度值4.2-4.8）。在第二期土壤中，發現空白組生物活性強度平均值為4.0（粉紅色），但在一倍組和三倍組的培養結果顯示強度值低於3（紫色）。在第三期土壤中，空白組、一倍組與三倍組平均強度分別是4.5、4.2、3.7。三期土壤的空白組微生物活性強度都和背景土壤相近；然而，有施灌沼液的土壤樣本卻呈現不同的顏色變化，且微生物相對活性有隨沼液量增加而下降的趨勢，尤其以第二期最為明顯。本研究使用的染劑主要是與好氧細菌反應，研究結果顯示施灌沼液與好氧菌活性強度值降低有關，顯示沼液可能使菌相傾向好氧菌減少、或厭氧菌增加。過去研究發現厭氧細菌會隨畜牧廢水進入土壤中，並最多可能在土壤中存留一年以上³³，與本研究結果具有一致性。



(A)背景與第一期土壤生物活性



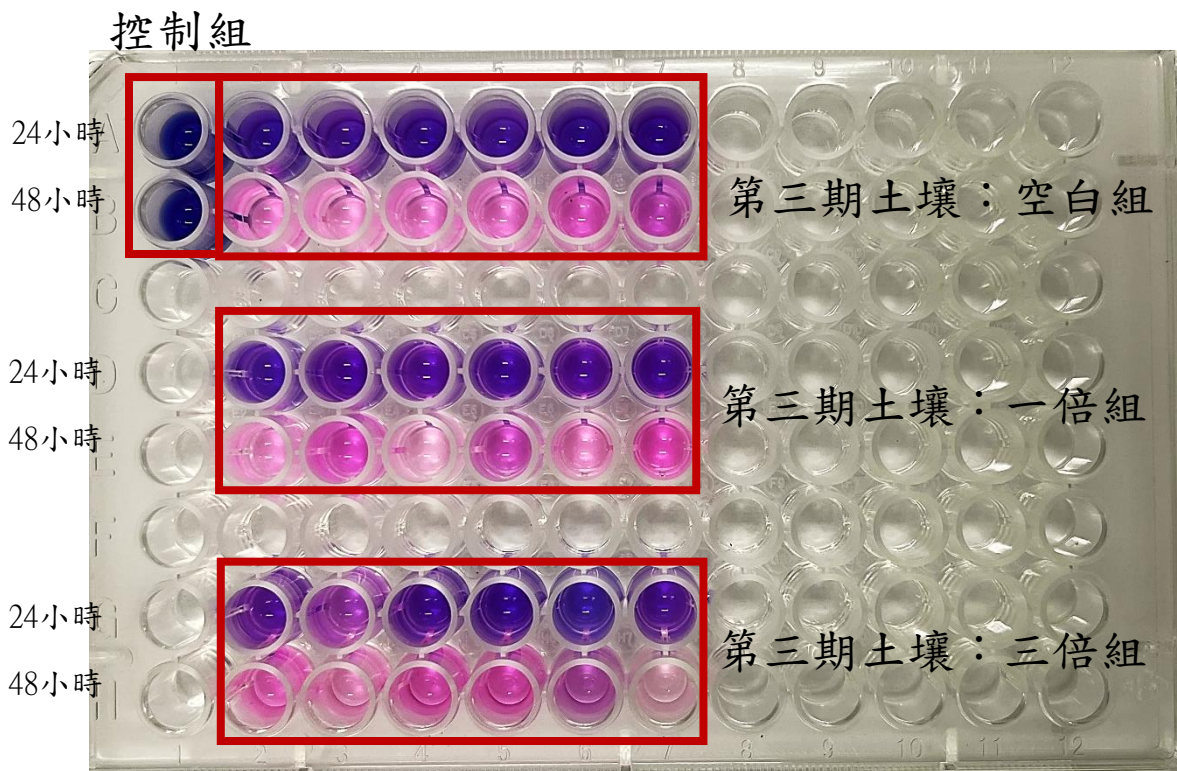
(B)第二期土壤生物活性





沼液再利用對土壤中非目標新興污染物分布之影響

(C)第三期土壤生物活性



圖十三、土壤生物活性染劑顏色變化判讀



表五、土壤微生物相對活性

反應時間	樣本相對活性強度									
背景土壤										平均值
24 小時	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1.1
48 小時	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5.0
第一期										
空白組 (n = 6)										
24 小時	1		1	1	1	1		1		1.0
48 小時	3		4	5	5	5		3		4.2
一倍組 (n = 6)										
24 小時	1		1	1	1	1		1		1.0
48 小時	5		4	5	5	5		5		4.8
三倍組 (n = 6)										
24 小時	2		1	1	1	1		1		1.2
48 小時	5		3	5	3	5		5		4.3
第二期										
空白組 (n = 6)										
24 小時	1		1	1	1	1		1		1.0
48 小時	5		4	3	3	4		5		4.0
一倍組 (n = 6)										
24 小時	1		1	1	1	1		1		1.0
48 小時	2		2	3	2	3		4		2.7
三倍組 (n = 6)										
24 小時	1		1	1	1	1		1		1.0
48 小時	3		2	2	2	2		2		2.2
第三期										
空白組 (n = 6)										
24 小時	1		1	1	1	1		1		1.0
48 小時	5		5	5	5	4		3		4.5
一倍組 (n = 6)										
24 小時	1		1	1	1	1		1		1.0
48 小時	5		3	5	3	5		4		4.2
三倍組 (n = 6)										
24 小時	1		2	1	1	1		1		1.2
48 小時	4		5	3	3	2		5		3.7



3 沼液之酸鹼度、電導度、重金屬

沼液樣本分析結果，酸鹼度皆為中性（pH 6.77-7.78）、電導度介於 1.42-4.44 mS/cm。過去國內外養豬場沼渣沼液調查結果，亦發現大多為中性（pH 6-8）、電導度高（>1 至將近 10 mS/cm）^{11, 34, 35}；然而隨著操作方式不同，沼渣沼液中重金屬含量差異極大，其中銅與鋅濃度範圍從<10 至將近 10000 mg/kg^{11, 34, 35}，難以歸納出一致的濃度範圍。本計畫的沼液沈澱物中鋅濃度最高 (2946-7159 mg/kg)，其次為銅 (424-1515 mg/kg)，其餘大多低於偵測 10 mg/kg（表六）。第二期追肥的第一車沼液中，銅、鎘、鎳、鋅濃度都高於其它各批沼液（濃度依序為 1515 mg/kg、79.0 mg/kg、90 mg/kg、7159 mg/kg），其中鎘的濃度維最低濃度的 22 倍、鎳是在所有樣本中唯一檢出且其值為偵測極限的 90 倍、鋅則較最低值高 4213 mg/kg。另外，追肥第一車雖鎘、鎳、鉛均未檢出，但銅與鋅的濃度偏高（依序為 995 mg/kg 及 5189 mg/kg）。畜牧廢水之成分可能隨動物飲水、飼料、季節等諸多因素而明顯變動，即使沼液來自同一畜牧場，性質與組成仍可能經常改變³⁶，本研究結果亦忠實反應此高度異質性。

表六、沼液重金屬濃度

樣本	第一期沼液		第二期沼液		第三期沼液				範圍
	基肥		追肥		基肥		追肥		
	第一車	第二車	第一車	第二車	第一車	第二車	第一車	第二車	
鎘(mg/kg)	<0.7	<0.7	<0.7	<0.7	<0.7	<0.7	<0.7	<0.7	<0.7
銅(mg/kg)	522	424	1515	517	728	793	995	797	424-1515
鉻(mg/kg)	9.0	3.5	79.0	7.0	13.5	14.5	13.5	12.2	3.5-79.0
鎳(mg/kg)	<1.0	<1.0	90	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0-90
鉛(mg/kg)	5.5	4.0	8.0	8.0	10.0	9.5	<1.9	<1.9	<1.9-10.0
鋅(mg/kg)	3139	2813	7159	2946	3820	3927	5189	3996	2946-7159

重金屬之分析方法偵測極限依序為：鎘：0.7 mg/kg；銅：1.6 mg/kg；鉻：1.8 mg/kg；鎳：1.0 mg/kg；鉛：1.9 mg/kg；鋅：1.0 mg/kg。



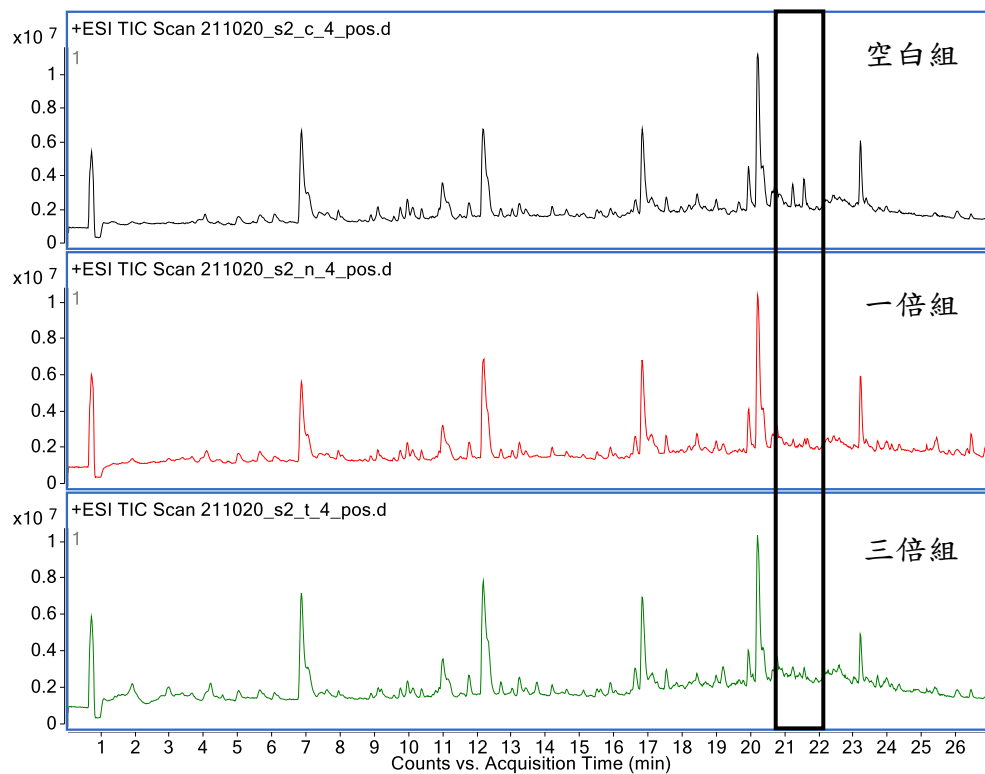
4 高解析質譜層析圖

觀察土壤與沼液樣本總離子層析圖在不同沼液施灌組別的峰形，整體而言，不同組別的土壤樣本和沼液樣本層析圖皆有所差異。土壤正離子層析圖顯示樣本具有相似的峰形，但在21-22分鐘，空白組的土壤樣本相較於1倍、3倍有兩個較明顯的波峰（圖十四、(A)）。土壤負離子層析圖亦顯示樣本整體有相似的峰形，但在12-14分鐘發現三個樣本具有差異，空白組土壤樣本有較明顯之波峰出現。（圖十四、(B)）。觀察沼液正離子與負離子層析圖，發現第一期沼液的總離子層析圖明顯與其他沼液不同。第一期沼液樣本分析前回溶至100 μL ，而第二、三期沼液樣本，因樣本濃縮後顏色較深且較為混濁，為避免損壞管柱與儀器、並確保批次分析穩定性，將樣本回溶體積調整為1 mL，可見第一期沼液組成與濃度應與後續二期有所不同（圖十五）。如前一節所述，沼液異質性高之特點再次反應在圖譜上。然而，在異質性高的沼液中，若某些污染物在不同條件下經常存在，則很可能持續進入土壤，對土壤與農作物造成累積風險。本報告在後續污染物定性與定量結果中，針對這一點進一步討論。

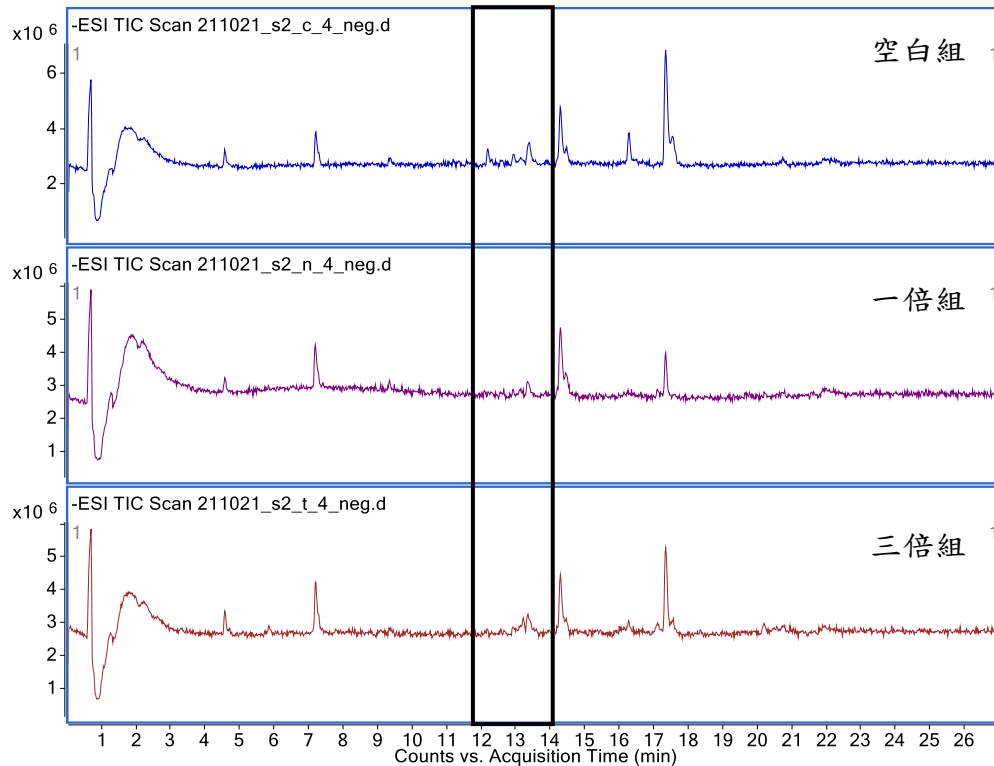


五、結果與討論

(A)土壤樣本正離子質譜層析圖



(B)土壤樣本負離子質譜層析圖

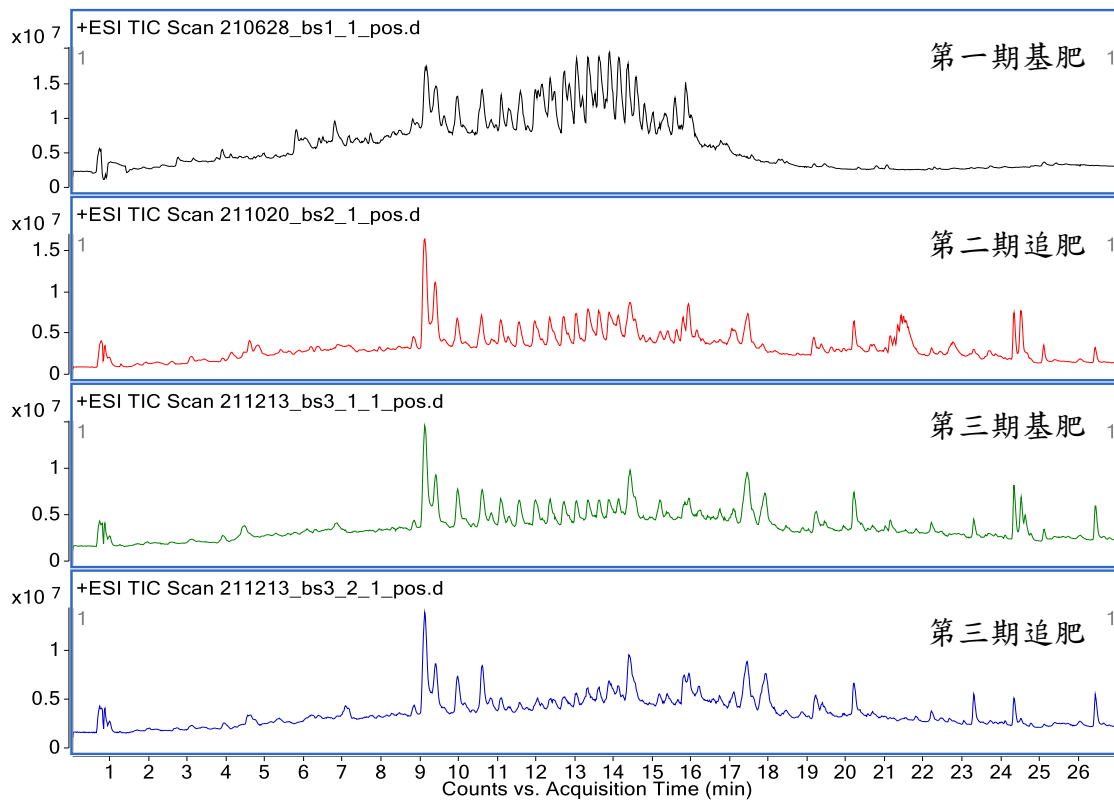


圖十四、土壤樣本總離子層析圖 ((A)正離子、(B)負離子)

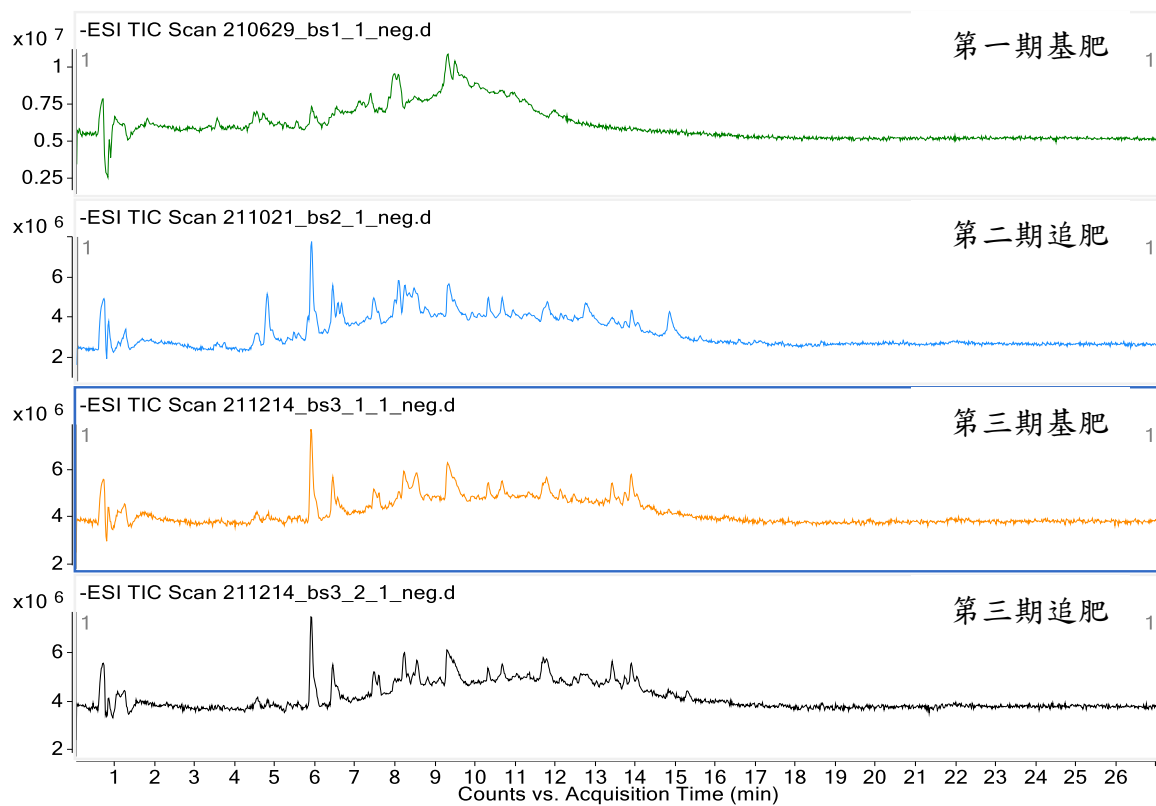


沼液再利用對土壤中非目標新興污染物分布之影響

(A) 沼液樣本正離子質譜層析圖



(B) 沼液樣本負離子質譜層析圖



圖十五、沼液樣本總離子層析圖 ((A)正離子、(B)負離子)



5 分析方法再現性

本研究同日與異日精密度評估結果顯示良好再現性。在同日分析中重複樣本 (n=4) 的標準化分子波峰面積相對標準差皆小於 20%，同一樣本的連續三日重複分析的標準化分子波峰面積相對標準差小於或接近 20%，如表七。顯示本研究方法於不同時間分析不同樣本，皆能呈現良好再現性。

表七、同日與異日重複分析標準化分子波峰面積的平均值與相對標準差

	同日標準化分子波峰面積 (n = 4)		異日標準化分子波峰面積 (n = 3)	
	平均值	相對標準差	平均值	相對標準差
正離子模式				
Trimethoprim-d ₉	0.011	9.29%	0.400	20.7%
Reserpine-d ₉	0.520	13.9%	0.013	19.2%
負離子模式				
Atazanavir-d ₆	0.025	12.4%	0.025	4.76%
Butylparaben- ¹³ C ₆	0.040	12.9%	0.039	2.92%



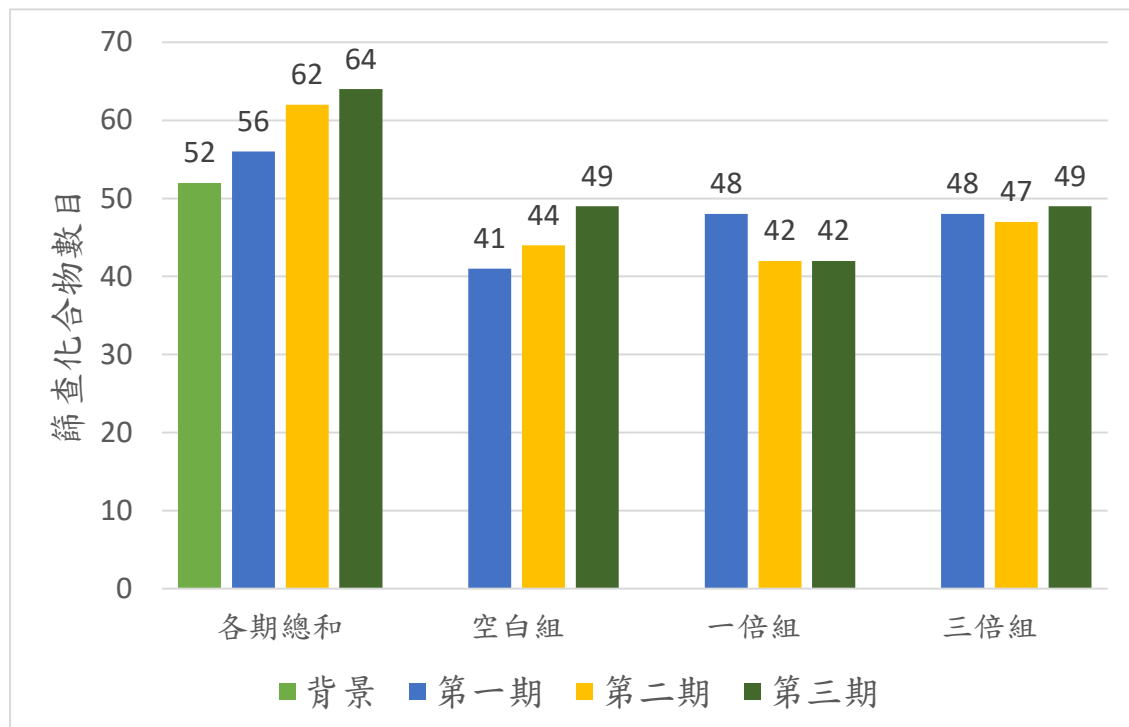
6 土壤與沼液樣本中新興污染物定性結果

在土壤與沼液樣本中共篩檢出 146 種化合物，其中土壤有 102 種，沼液有 65 種（附錄）。我們觀察施灌沼液對土壤中污染物與殘留物分布差異，發現土壤樣本篩查的化合物種類隨栽種次數增加有上升趨勢（背景：52 種、第一期：56 種、第二期：62 種、第三期：64 種）。觀察不同期別各組篩查種類數目，發現三組中以三倍組種類最多，空白組有增加趨勢，而一倍組有下降趨勢，如圖十六。在土壤樣本中有 45 種化合物同時在所有組別皆有出現，其中 23 種化合物在每組出現頻率皆 $> 50\%$ ($n \geq 9$, 18 個/組)（圖十七）24 種化合物只出現於施灌沼液的土壤樣本，其中有 4 種抗生素在 44% 以上施灌沼液的樣本中均檢出 ($n \geq 16$, 施灌沼液之總樣本數：36, 表八)，包括：lincomycin、tiamulin、tilmicosin 和 oxytetracycline（圖十八）。本研究團隊過去在其它施灌沼液的農地土壤中亦篩查到這 4 種抗生素¹³，顯示這些動物用藥品可能廣為各畜牧場所使用、持續存在沼液中，且已可在土壤中經常偵測到。

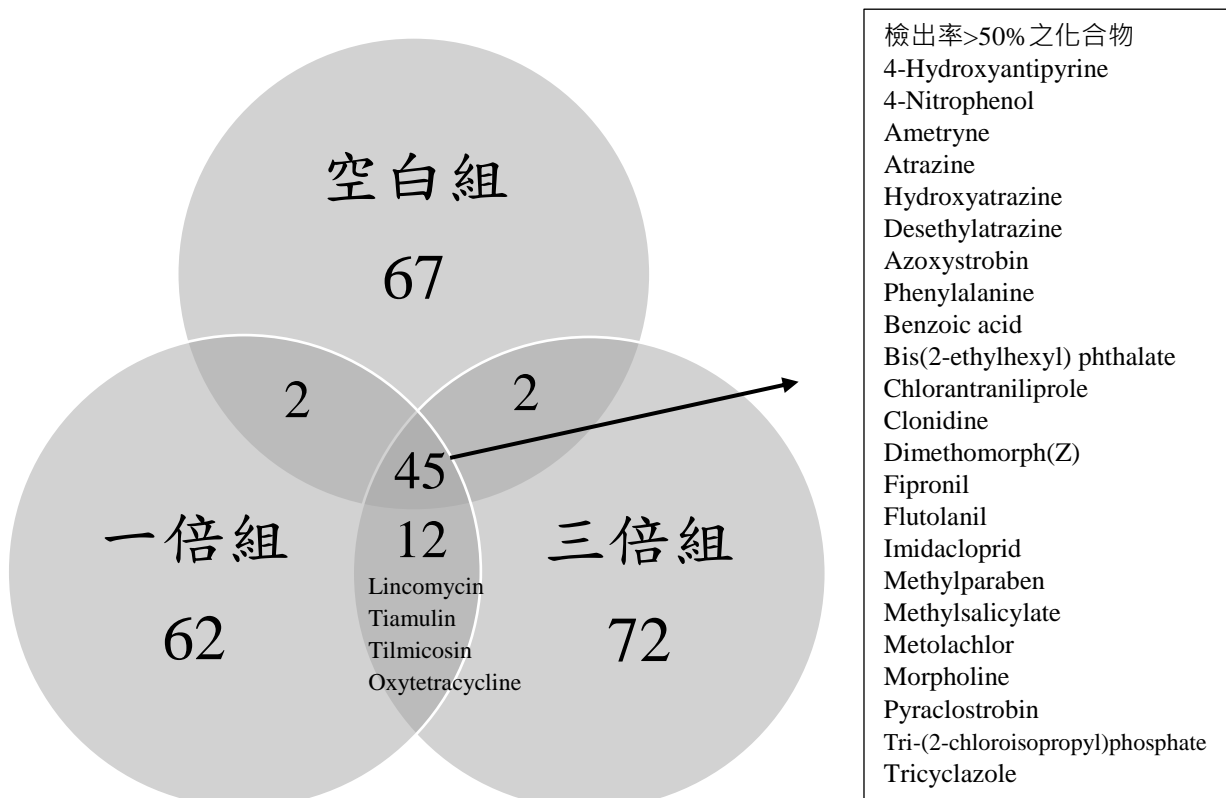
觀察三期沼液中檢出化合物分布，發現化合物數目亦有增加的趨勢（第一期基肥：29 種、第二期追肥：34 種、第三期基肥：34 種、第三期追肥：43 種）。10 種化合物在三期沼液皆有篩查到，包含農藥 8-hydroxyquinoline、雄激素 bolasterone、黃體激素 progesterone、大麻二酚 cannabidiol、鎮靜安眠藥物 ethinamate、吲哚 indole、吲哚衍生物 indole-3-acetic acid（圖十九）、以及上一段提到的 3 種抗生素：lincomycin、oxytetracycline、tiamulin。比較土壤和沼液中檢出的化合物，有 24 種化合物同時出現在土壤和沼液中，其中有 11 種化合物並未出現在背景土壤中，可見其進入土壤的途徑應為施灌沼液。這 11 種化合物以動物用藥為主，包含 chlorpheniramine、cannabidiol、indole、progesterone、2-phenyl-1,3-indandione、pholedrine、chlortetracycline、lincomycin、oxytetracycline、tiamulin、tilmicosin。



五、結果與討論



圖十六、各組新興污染物種類數目分布



圖十七、不同沼液施灌量檢出化合物文氏圖



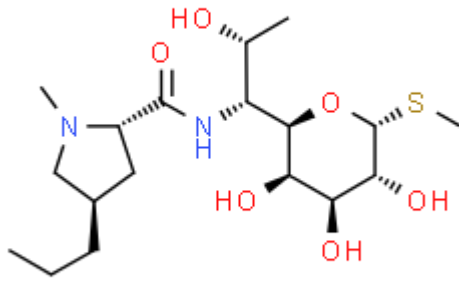
沼液再利用對土壤中非目標新興污染物分布之影響

表八、只出現於施灌沼液的土壤中之化合物檢出率

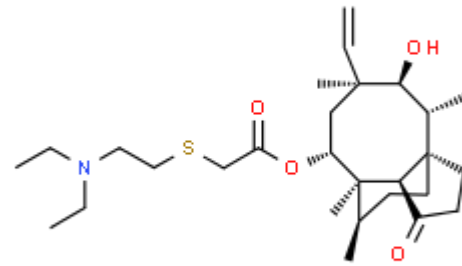
化合物	一倍組 (n = 18)	三倍組 (n = 18)	於施灌沼液的土壤中總檢出率 (n = 36)
4-tert-Octylphenol	0	1	2.78%
Caffeine	0	1	2.78%
Cannabidiol	0	1	2.8%
Chlorpheniramine	1	3	11.1%
Chlortetracycline	1	4	13.9%
Dinoterb	0	1	2.78%
Dinoprop	0	1	2.78%
Methiocarb sulfone	0	1	2.78%
Fenoprofen	3	3	16.7%
Indole	1	3	11.1%
Isoprothiolane	3	4	19.4%
JWH-201	0	1	2.78%
Lincomycin	7	9	44.4%
Metalaxyl	1	0	2.78%
Metazachlor	1	1	5.56%
Methiocarb sulfone	0	1	2.78%
Nitromide	1	3	11.1%
Oxytertracycline	6	15	58.3%
Oxymesterone	0	4	11.1%
Progesterone	0	1	2.78%
Pyroquilon	2	4	16.7%
Tiamulin	18	18	100%
Tilmicosin	10	13	63.9%
Tolfemic acid	0	1	2.78%



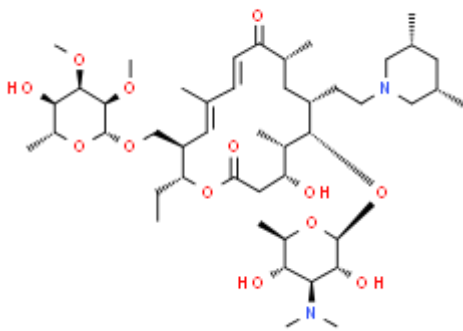
五、結果與討論



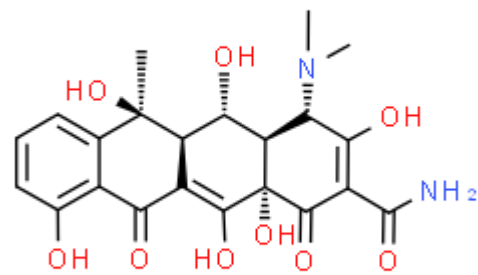
Lincomycin



Tiamulin



Tilmicosin

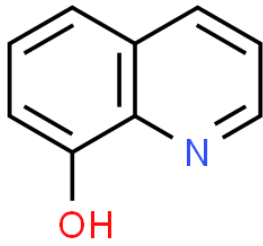


Oxytetracycline

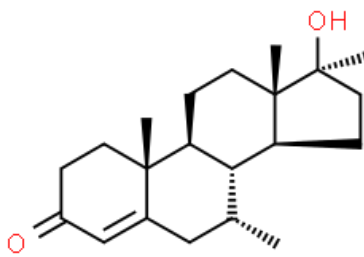
圖十八、Lincomycin、tamulin、tilmicosin 和 oxytetracycline 化學結構圖



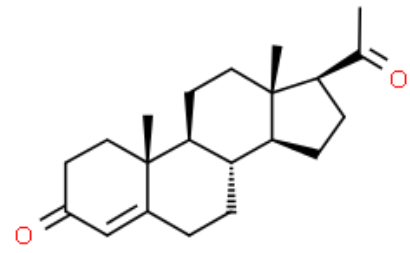
沼液再利用對土壤中非目標新興污染物分布之影響



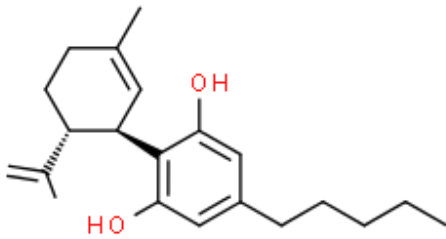
8-hydroxyquinoline



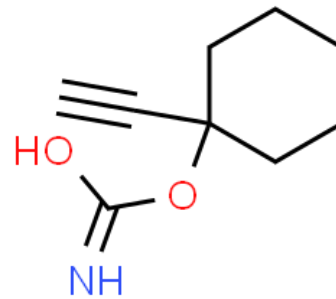
Bolasterone



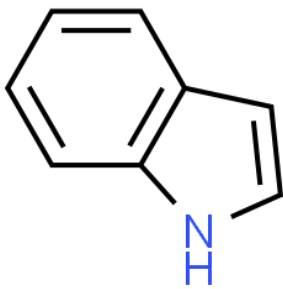
Progesterone



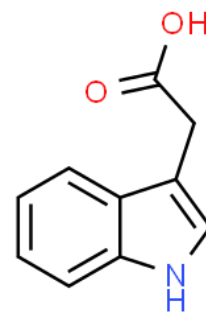
Cannabidiol



Ethinamate



Indole



Indole-3-acetic acid

圖十九、8-hydroxyquinoline、bolasterone、progesterone、cannabidiol、ethinamate、indole、indole-3-acetic acid 化學結構圖



7 土壤中新興污染物與金屬多變量分析

7.1 沼液施灌量分布差異

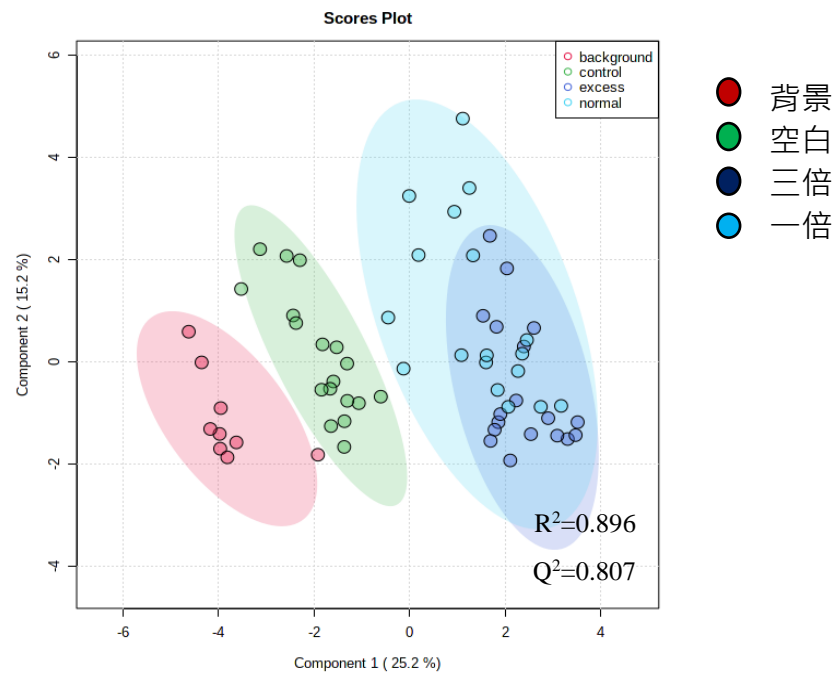
為探討施灌沼液對土壤中新興污染物的影響情形，我們將樣本依背景值、空白、一倍、三倍沼液進行分組。多變量分析結果顯示：形成正離子的 49 個污染物整體分布，隨著沼液施灌量而明顯不同。PLS-DA 模式之二維分數圖顯示第一主成分與第二主成分共解釋 40.4% 的總變異量（依序為 25.2% 和 15.2%），其中背景組、空白組與有施灌沼液的兩組 95% 信賴區間明顯區隔（圖二十、(A)），可見土壤中污染物種類與相對濃度分布與施灌沼液有關。然而，二維分數圖中一倍與三倍組土壤樣本的 95% 信賴區間重疊，可見第一與第二主成份未能區分依施灌量多寡區分土壤樣本。交叉驗證結果發現模式在包含四個主成份時具有最佳解釋力與穩定度， $R^2 = 0.896$ 、 $Q^2 = 0.807$ ，符合 $R^2 \geq 0.5$ 且 $Q^2/R^2 \geq 0.5$ 的評估標準。從三維分數圖也可以觀察到：第二與第三主成分能區隔一倍組與三倍組樣本（圖二十、(B)）。可見四組（背景、空白、一倍、三倍）土壤樣本的污染物種類與相對濃度仍有明顯差異。

與正離子模式相反，負離子模式 PLS-DA 分析結果顯示背景組與其他三組沒有顯著差異，空白組的 95% 信賴區間和其他組別樣本皆有重疊。二維分數圖交叉驗證結果 $R^2 = 0.442$ 、 $Q^2 = 0.319$ ，未符合 $R^2 \geq 0.5$ 且 $Q^2/R^2 \geq 0.5$ 之標準，顯示此模式未能區分四組土壤樣本（圖二十、(C)）。除此之外，本研究以六種指標性重金屬（銅、鋅、鎘、鉻、鎳、鉛）為變項進行 PLS-DA 模式分析，亦發現空白、一倍、三倍組 95% 信賴區間重疊，可見土壤中這些重金屬分布並未隨沼液施灌而有所不同（圖二十一），與肥力統計分析結果不一致，可見施灌過量沼液雖然使土壤中磷、鉀、鎂、錳、銅、鋅、鈉等營養鹽濃度增加，卻尚不至於造成重金屬累積。基於此結果，本研究後續僅針對有機污染物進一步進行單變量分析，並針對因施灌沼液而在土壤中含量增加的個別新興污染物，進一步討論。

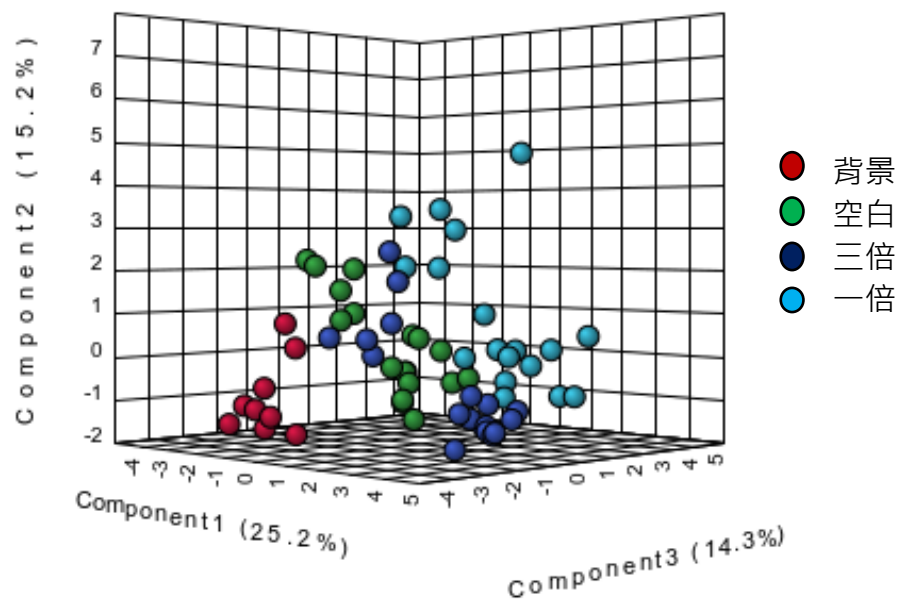


沼液再利用對土壤中非目標新興污染物分布之影響

(A)正離子模式二維分數圖



(B)正離子模式三維分數圖

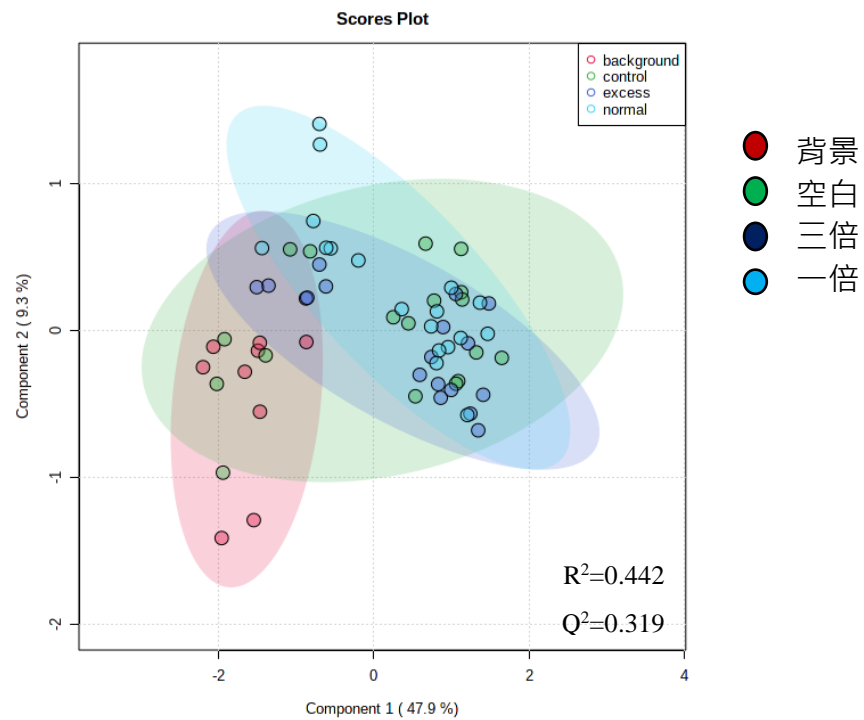


圖二十、不同沼液施灌量之四組樣本土壤污染物 PLS-DA 分數圖

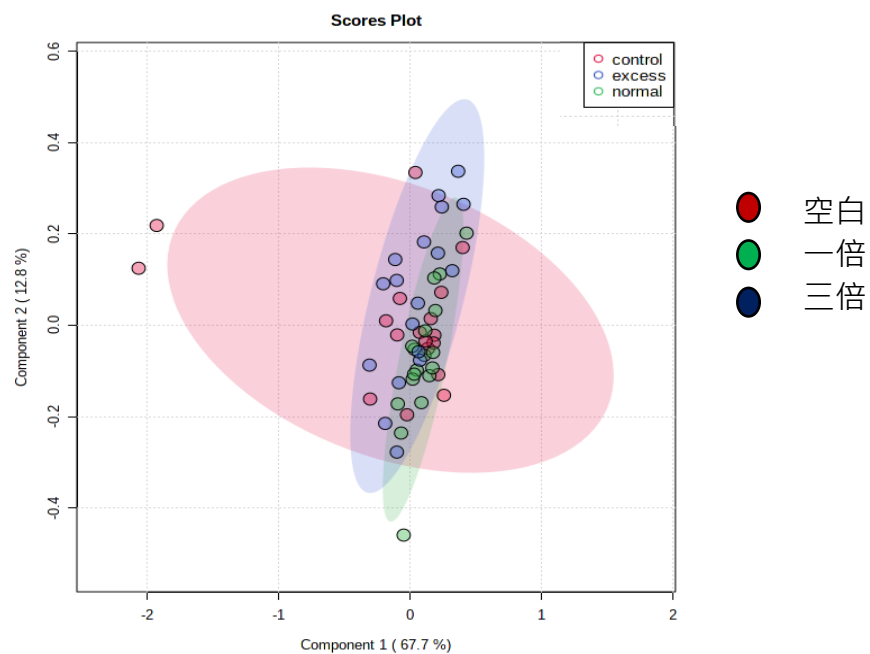


五、結果與討論

(C) 負離子模式二維分數圖



圖二十、不同沼液施灌量之四組樣本土壤污染物 PLS-DA 分數圖



圖二十一、不同沼液施灌量之三組樣本金屬 PLS-DA 分數圖



7.2 採收時間差異分布

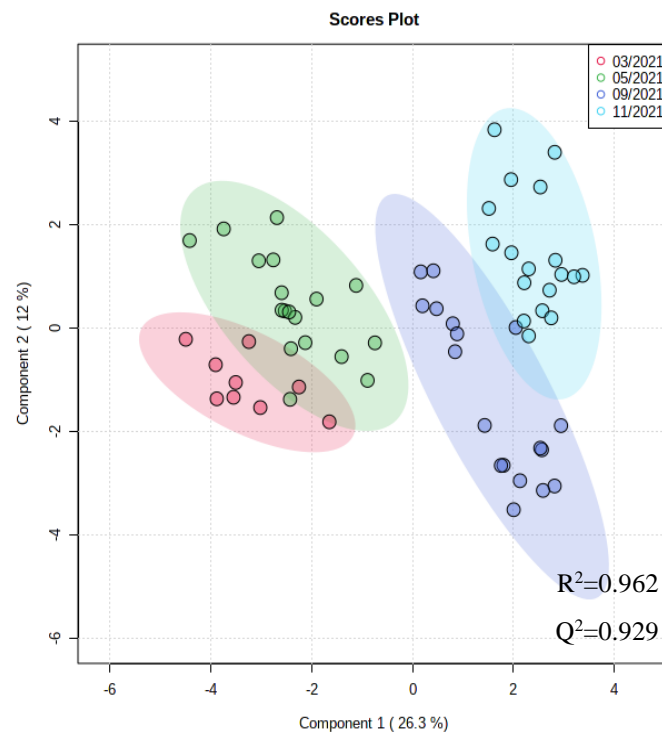
為了觀察採收時間對小分子化合物分布影響，我們先將樣本分為背景組（3月），第一期（5月）、第二期（9月）和第三期（11月），分析結果可以發現採收時間對於土壤中化合物整體分布有明顯影響。PLS-DA 分析結果顯示正離子分子整體分佈不同（圖二十二、(A)）。二維分數圖顯示第一主成份和第二主成份解釋38.7%的總變異量（依序為26.3%和12.4%），四個期別具有明顯分群。交叉驗證結果顯示四個主成份具有良好解釋力與穩定度， $R^2 = 0.962$ 、 $Q^2 = 0.969$ ，符合評估標準。負離子模式 PLS-DA 分析結果顯示，三期土壤樣本中第一期與第二、三期樣本有明顯分群，但第一期與背景組的95%信賴區間相互重疊，第二、三期95%信賴區間相互重疊。二維分數圖顯示第一主成分和第二主成分解釋67.2%總變異量（依序為48.6%和18.6%），交叉驗證結果 $R^2 = 0.802$ 、 $Q^2 = 0.731$ ，說明此模式分組可以良好解釋負離子分子分布（圖二十二、(B)）。

為探討季節是否為造成期次差異的主因，我們更進一步將第一期與其他二期區分成二組。由於第一期採收時間在春季，第二期和第三期的採收季節在秋季，且在四組樣本 PLS-DA 分析結果中，第二期與第三期的95%信賴區間不論在正離子或負離子模式皆有重疊的現象。正離子模式分析結果第一主成份和第二主成份解釋42.1%的總變異量（依序為29.1%和13%），顯示兩個季節有明顯分群，交叉驗證結果 $R^2 = 0.973$ 、 $Q^2 = 0.917$ （圖二十三、(A)）。負離子模式分析結果第一主成份和第二主成份解釋67.9%的總變異量（依序為48.2%和19.7%），顯示兩個季節有明顯分群，交叉驗證結果 $R^2 = 0.891$ 、 $Q^2 = 0.874$ （圖二十三、(A)）。兩個模式皆具有良好解釋力與穩定度。可見季節是影響土壤中污染物分布的重要因素，因此後續本報告中亦針對個別污染物，以季節分組進行單變量分析。

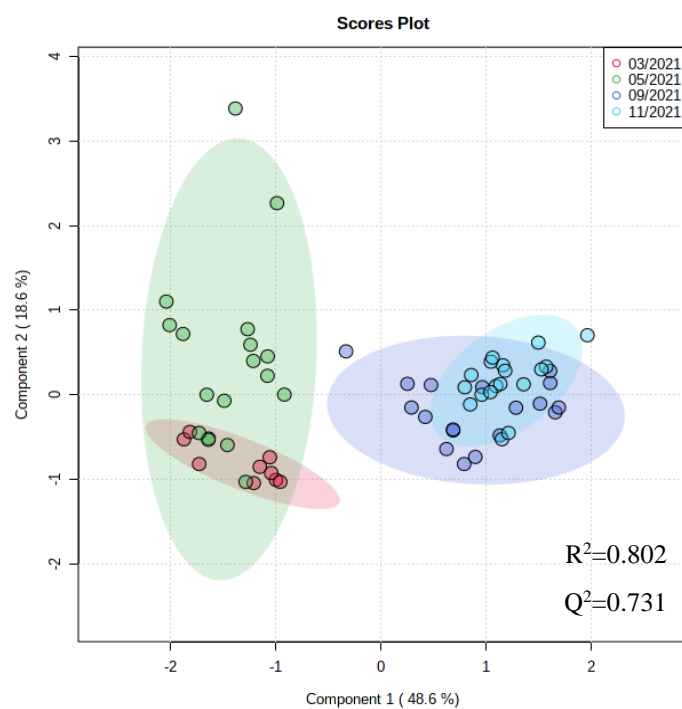


五、結果與討論

(A) 正離子模式



(B) 負離子模式

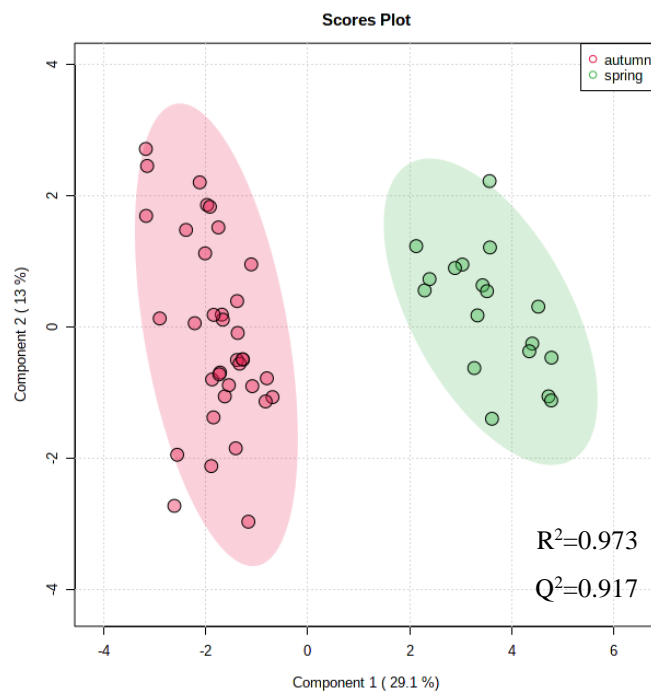


圖二十二、不同採收期別之四組樣本土壤污染物 PLS-DA 分數圖

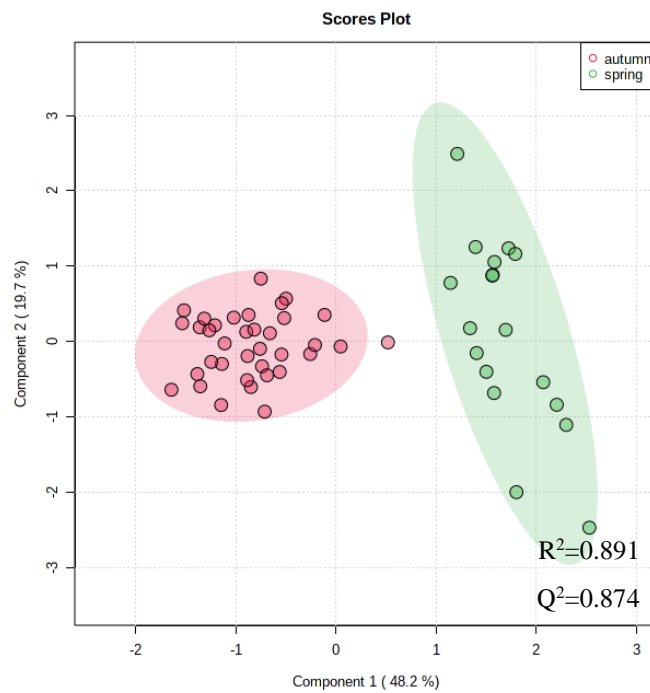


沼液再利用對土壤中非目標新興污染物分布之影響

(A) 正離子模式



(B) 負離子模式



圖二十三、春季和秋季分組 PLS-DA 分數圖



8 土壤中新興污染物單變量分析

8.1 污染物相對濃度與沼液施灌量之關係

本研究以單變量分析比較土壤中個別新興污染物之相對濃度在各組間是否有所差異。Kruskal-Wallis 檢定結果顯示有 16 個化合物之相對濃度，隨著沼液施灌量而有統計上的顯著差異 ($p < 0.05$)。透過事後檢定，我們進一步揭露各污染物在各組間的相對差異。有 11 種污染物在施灌沼液的土壤中（包括一倍與三倍組， $n = 36$ ）相對濃度高於未施灌之空白組 ($n = 18$)（圖二十四）；有 7 個污染物在三倍組 ($n = 18$) 的相對濃度顯著高於一倍組 ($n = 18$)（圖二十五）。

在施灌沼液的土壤中濃度顯著較高之化合物，亦即施灌沼液之特徵新興污染物，大多數為動物用藥。其中 lincomycin、tiamulin、tilmicosin 和 oxytetracycline 這四種抗生素在空白組中均未檢出，顯然全然來自於沼液施灌。8-Hydroxyquinoline 與 4-hydroxyantipyrine 不僅在施灌沼液的土壤中濃度較空白組高（分別為 2.12 倍與 2.70 倍），且在三倍組濃度亦高於一倍組（分別為 1.54 倍與 2.51 倍）；亦即有隨著施灌量增加而增加的趨勢。其它隨沼液量增加的污染物有 4-nitrophenol、benzoic acid、phenylalanine、cinnamic acid。

8-Hydroxyquinoline 是一種殺真菌劑，因為具有金屬螯合效果，常被作為動物抗黴菌劑，在歐盟可作為治療牲畜（豬、牛）局部皮膚感染，在台灣將其應用在飼料中抑制黴菌生長或是治療黴菌感染症。易溶於有機溶劑，有高土壤吸附係數 ($K_{oc} = 12796-111456 \text{ mL/g}$)，易累積於土壤及底泥中³⁷。4-hydroxyantipyrine 是止痛、退燒藥 antipyrine 代謝物，在中性環境下土壤吸附係數為 28.83；可在動物尿液中檢出，經由排泄物進入環境中³⁸。本研究在背景土壤中亦發現 4-hydroxyantipyrine 存在，顯示該化合物早已流布於環境中，而增加沼液施灌量可能促使土壤中相對含量增加。

4-Nitrophenol 為製造農藥的原料，也可能來自殺蟲劑甲基巴拉松的代謝產物。4-Nitrophenol 不易降解且能在環境中長時間存留，有研究指出會對動物造成內分泌干擾³⁹。研究指出甲基巴拉松經聚多麴黴生物降解會產生 4-nitrophenol，同時 4-nitrophenol 亦會進行降解。過去有研究利用已知濃度進行 4-nitrophenol 生物降解實驗，結果顯示 50 mg/L 的 4-nitrophenol 經生物轉換可在 10 天完全分解⁴⁰。Benzoic acid 是一種抗菌劑，在細胞內中性環境下，會部分解離和酸化細胞質，進而影響微生物代謝功能能抑制細菌生長。此外，benzoic acid 也可能是苯甲腈除草劑 bromoxynil 經土壤中放線菌降解後的代謝產物，比原構物 bromoxynil 水溶性高^{41, 42}。放線菌屬於微好氣性生物，在 2-10% 氧氣環境下仍能存活。此外，有文獻指出真菌能在高污染負荷、高鹽度的環境廢水下生存，並且產生有助於



厭氧消化過程中所需的酶⁴³。因此，本研究推論在增加沼液施灌量的情況下，有助於細菌和真菌的生長，可能間接促進甲基巴拉松與 bromoxynil 的生物降解，使降解產物 4-nitrophenol 與 benzoic acid 含量增加。

苯丙胺酸 phenylalanine 為一種必需胺基酸，人體需透過飲食攝入。天然存在於哺乳動物乳汁和植物當中，是神經激素（多巴安、腎上腺素、黑色素）的前驅物，亦可作為食品添加劑。苯丙胺酸經由丙胺酸羧化酶催化形成酪胺酸，進而影響許多蛋白質和酶的功能與結構。土壤中的苯丙胺酸有可能直接來自沼液。Cinnamic acid 肉桂酸屬於不飽和羧酸，自然環境中經由苯丙胺酸脫氨降解形成，具有桂皮香氣，可作為香料劑。肉桂酸可作為生長促進劑和殺菌劑，經常應用於農業。此外，苯丙胺酸和肉桂酸在植物體中可作為酚類合成次級代謝物，有研究指出當植物暴露二價重金屬（銅、鎘）時，苯丙胺酸和肉桂酸會產生調控機制，抑制植物體吸收重金屬^{44, 45}。本研究推論有可能沼液中的銅 (424-1515 mg/kg) 促使作物生成較多苯丙胺酸和肉桂酸。

對羥基苯甲酸甲酯 methylparaben 是一種廣泛應用於藥品、食品、日用品與個人清潔用品的抗菌防腐劑。對羥基苯甲酸甲酯可添加於藥品乳劑中以抑制細菌生長、使藥品通過品質試驗、延長保存期限，因此對羥基苯甲酸甲酯常見於抗生素懸浮液中⁴⁶。過去研究亦曾在臺灣南部排放至河流的畜牧廢水中，亦偵測到微量 (< 100 ng/L) 對羥基苯甲酸甲酯⁴⁷。可見對羥基苯甲酸甲酯雖非藥品的活性成分，仍可能因動物用藥使用而存在於畜牧廢水中，因此使土壤中的相對含量因沼液施灌而增加。

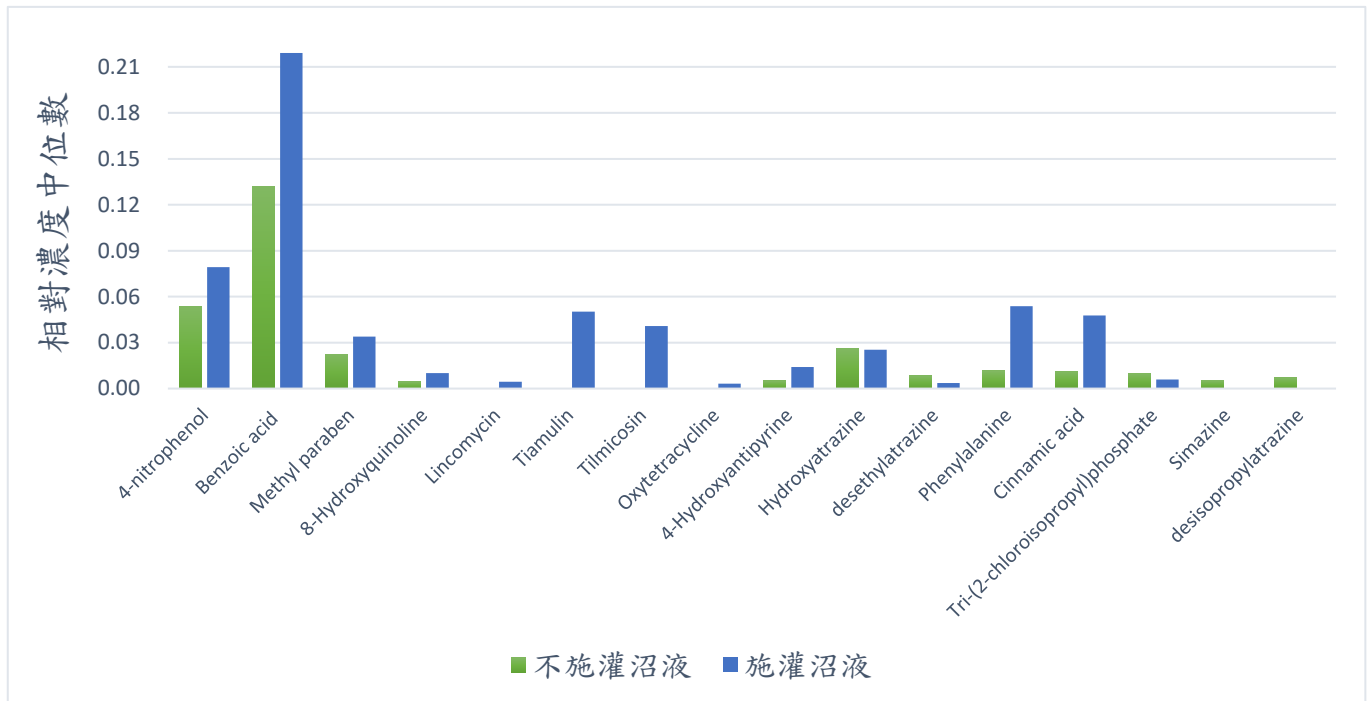
Hydroxyatrazine、desethylatrazine、desisopropylatrazine 皆是除草劑 atrazine 的降解產物，它們在施灌沼液的土壤中濃度較低或未測得。Atrazine 是一種會造成內分泌干擾的三嗪類除草劑，在中性環境下的土壤吸附係數為 670.5。由於其不易揮發和不溶於水的特性，容易留存於表層水或地下水體底泥當中，過去研究指出其代謝物或殘留可在水體中留存四個月⁴⁸，本研究中亦在篩查過程中發現 atrazine，並具有高檢出率 88%，顯示 atrazine 廣泛存在於土壤中，但施灌沼液可能加速土壤中 atrazine 降解，使降解產物增加。Simazine 也呈現與 atrazine 降解產物類似趨勢。Simazine 是三嗪類除草劑，在土壤中不易揮發、不易溶於水，可以穩定存在環境中，其半衰期約為 2 個月，過去研究在地表水體、湖泊底泥、地下水中都有檢出⁴⁹。Simazine 為一種內分泌干擾物質，可能影響土壤中的生物和有機質代謝，若長時間使用可能減損土壤肥力、並使有機質降低⁵⁰。施灌沼液是否改變土壤特性，使這些具持久性的除草劑（包含其降解產物）容易於環境中分解、或較易被淋洗出而從土壤中移除？值得未來深入研究。



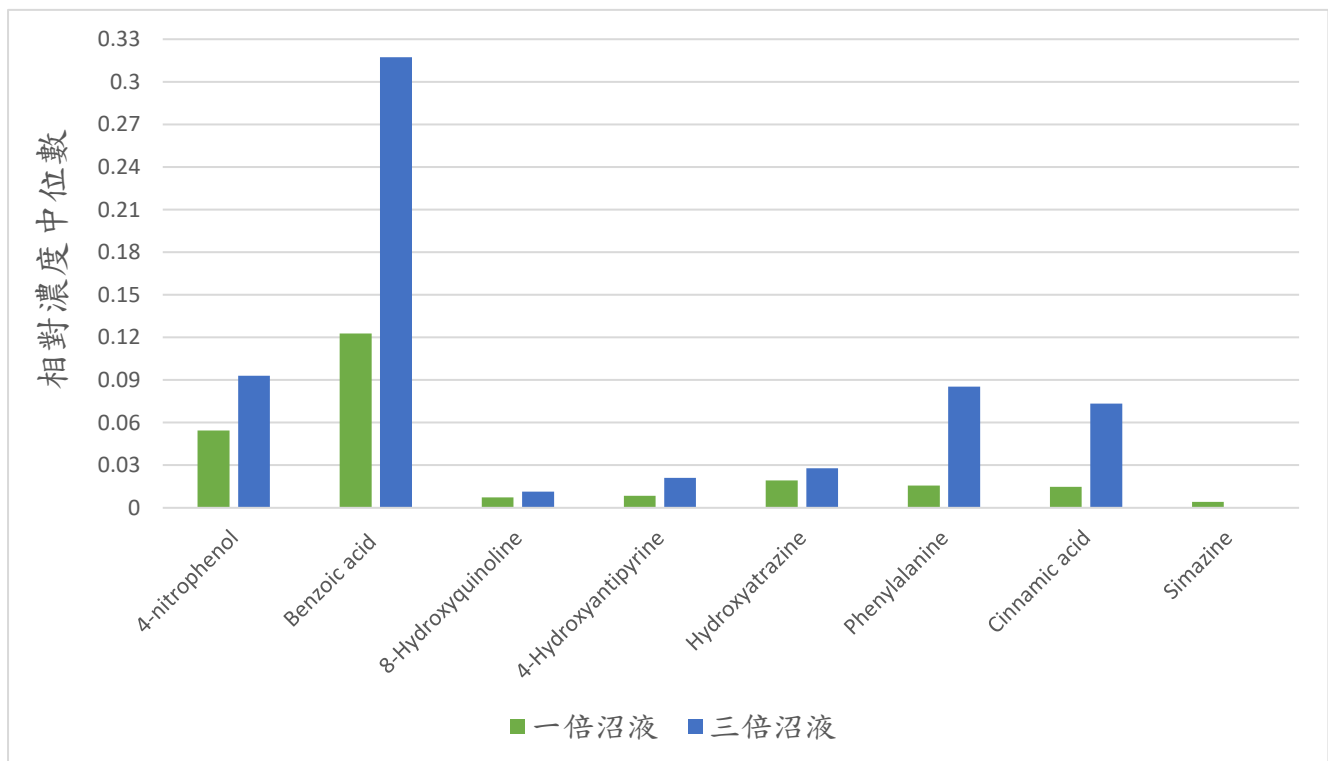
過去各國推動畜牧糞尿水再利用研究，針對土壤中微量有機物污染之探討較為缺乏，且多數資料集中在動物用藥，尤其以抗生素的文獻最多。本研究所發現的新興污染物中，所有抗生素均曾在其它地方被檢出。有多國學者曾在土壤中偵測到 oxytetracycline，其中中國曾測得高達 2.7 mg/kg，且已有研究在土壤中發現對 oxytetracycline 具有抗藥性的菌種⁵¹⁻⁵³。此外，2019 年中國學者在畜牧場附近的土壤中測得 lincomycin、tiamulin、tilmicosin⁵⁴。其它新興污染物未曾被報導，證明傳統分析方法僅能先入為主地涵蓋部分污染物，很可能遺漏其它因畜牧糞尿水再利用而衍生的土壤污染。



沼液再利用對土壤中非目標新興污染物分布之影響



圖二十四、施灌沼液相對於不施灌沼液之污染物相對濃度比較



圖二十五、三倍沼液相對於一沼液之污染物相對濃度比較



8.2 污染物相對濃度與季節之關係

本研究以單變量分析比較土壤中個別新興污染物之相對濃度在不同季節是否有所差異。使用無母數 Wilcoxon rank-sum 檢定進行統計分析，發現有 33 個化合物在春季和秋季間具有高度顯著差異 ($p < 0.01$)；整體而言，大多數污染物在春季相對濃度高於秋季，而其中有 7 個化合物只出現在春季、5 個只出現在秋季（表九）。過去研究分析水體和土壤中的農藥，也發現農藥檢出率在春季最高可達 90%、而秋季則下降為 73%；同時，在春季檢出的農藥濃度總量也比秋季的濃度總量高⁵⁵。本研究結果再次證明季節可能影響土壤中有機污染物的種類與濃度分布。另外，也可能如前所述，因動物飲食排泄隨季節變動、飼育方式亦隨之調整，沼液成分也會因而有所差異，自然可能使得受體土壤中污染物的組成也隨季節改變。

我們進一步分析在施灌沼液的土壤中相對濃度較高的 11 種特徵新興污染物（圖二十四），觀察它們在春秋兩季的分布趨勢。統計檢定結果發現：無論是在一倍組或三倍組中，大多數污染物在春季（第一期）的濃度都高於秋季（第二、三期）($p < 0.05$)，並無污染物在秋季濃度較高（圖二十六）。由此可見，雖然有部分污染物因施灌沼液而進入土壤、甚至隨施灌量愈多濃度愈高，但是連續三期栽種與多次施灌，並未使同一處農地的污染物逐漸增加。因此，目前研究結果顯示，施灌沼液並未有造成新興污染物長期累積的趨勢。雖然過去部分研究透過盆栽試驗發現葉菜會吸收抗生素^{56,57}，然而本團隊過去研究發現田間栽種的青江菜不傾向從土壤中吸收抗生素等藥物¹³。因此，本研究推論進入農地土壤的新興污染物之主要移除機制應為環境分解，除了光化學作用、氧化還原、水解反應之外，土壤硝化與微生物分解尤其有利降解藥物⁵²。



沼液再利用對土壤中非目標新興污染物分布之影響

表九、Wilcoxon rank-sum 檢定結果

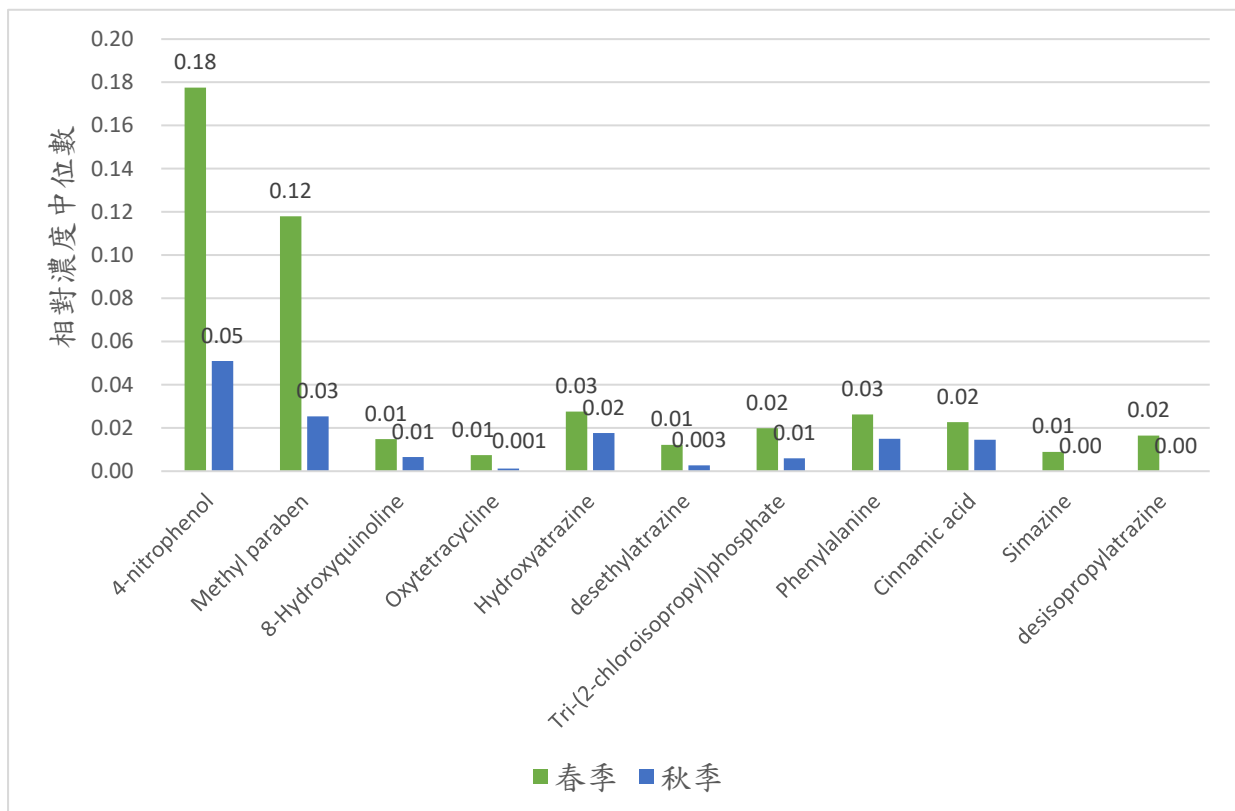
化合物相對量	統計檢定顯著之化合物(p<0.01)	
春季>秋季	4-nitrophenol	Metolachlor
	Methyl 4-hydroxybenzoate	Morpholine
	Fenoprofen*	Pyraclostrobin
	8-Hydroxyquinoline	Tri-(2-chloroisopropyl)phosphate
	Oxytetracycline	Tricyclazole
	Ametryne	Simazine
	Atrazine	Edifenphos*
	Azoxystrobin	Hexacozole(I) *
	Desethylatrazine	Hexacozole(II)*
	Hydroxyatrazine	Pyraclofos*
	Chlorantraniliprole	Deisopropylatrazine
	Difenconazole	Boscalid*
	Dimethomorph(Z)(E)	Isoprothiolane*
	Flutolanil	
秋季>春季	Fipronil*	
	Benzocaine*	
	Penoxalin *	
	Profenofos*	
	Acetamiprid*	

*只出現在單一季節之化合物

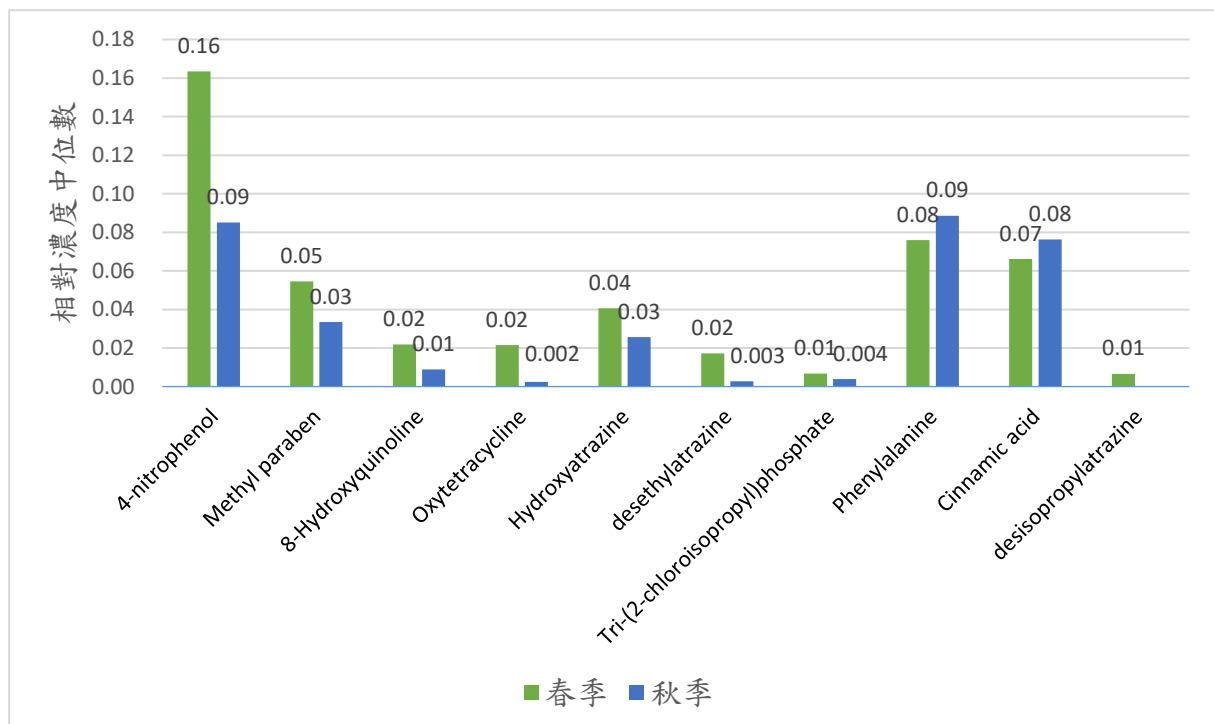


五、結果與討論

(A) 一倍組污染物



(B) 三倍組污染物



圖二十六、春季與秋季污染物相對濃度比較



9 結論

本計畫成功完成栽種三期作物的田間試驗，分析了未施灌、重複施灌正常量、重複施灌三倍量沼液的土壤。了解土壤中金屬元素與微生物活性分布，並且擷取土壤中非目標小分子、成功篩查與鑑定出其中的新興污染物，並找出因施灌沼液而增加的特徵新興污染物。本研究極具應用價值。不僅非目標分析方法與流程可應用於探討其它環境敏感議題，研究結果可為我國環境土壤提供新興污染物種類之基本資料，作為後續環境監測之依據。

研究結果發現試驗田之各組土壤重金屬濃度均符合農地管制標準；但是施灌過量沼液，使磷、鉀、鎂、錳、銅、鋅、鈉在土壤中濃度顯著增加，可能造成營養鹽累積。然而，在六種指標重金屬分析上，並未觀察到隨施灌沼液而變化的趨勢，因此目前沒有證據證明施灌沼液造成鉛、鎘等有毒重金屬累積。微生物活性分析結果顯示：施灌沼液使土壤微生物相改變，尤其好氧菌活性下降，可能證明有較多厭氧菌隨沼液進入土壤，並長期存活於土壤中。

高解析質譜分析結果，在土壤和沼液共發現146種新興污染物，其中有24種化合物只出現於施灌沼液的土壤樣本，其中有4種畜牧業常用之抗生素 (lincomycin、tiamulin、tilmicosin 和 oxytetracycline) 在施灌沼液的土壤中檢出率 $\geq 44\%$ 。我們針對在土壤中檢出率較高的56種污染物進行相對定量，並利用多變量分析觀察整體分布趨勢，結果發現形成正離子的49個化合物隨著沼液施灌量而明顯不同，而所有56種污染物都隨季節而有不同分布。進一步分析個別污染物，發現包括上述4種抗生素在內，共有11種新興污染物在施灌沼液的土壤中濃度較高，大多數為動物用藥，且有6種污染物隨施灌量增加而增加。此外，這11種特徵新興污染物中，有8種的相對濃度在春季（第一期）比秋季（第二、三期）高，除了證明沼液組成與土壤有機污染物分布隨季節改變之外，目前結果也顯示新興污染物並未隨著重複施灌沼液而增加，應無長期累積之趨勢。

本研究在以慣行農法實際栽種的情境下，發現施灌沼液改變土壤中有機新興污染物分布，並發現抗生素、殺真菌劑、鎮痛解熱劑等11種與施灌沼液有關的特徵新興污染物，且即使每批沼液異質性高，它們仍經常存在且進入土壤。綜觀特徵新興污染物的分布、用途與特性，建議畜牧業或可將動物進行藥物治療時的糞尿另行收集，避免提供為施灌農地之沼液原料。同時建議後續研究針對沼液，研發移除藥物之處理技術，以阻絕藥物進入農地。此外，雖特徵新興污染物不隨重覆施灌沼液而累積，但仍有在各期隨著施灌量而增加的趨勢，因此除了鼓勵合理化施肥，仍建議持續監測常用動物用藥在沼液



五、結果與討論

與土壤中的分布，以及早察覺變化、防患於未然，使畜牧糞尿資源化政策之推動更臻完善，促進農牧產業與環境生態永續發展。



六、參考文獻

1. Garg, R. N.; Pathak, H.; Das, D. K.; Tomar, R. K., Use of flyash and biogas slurry for improving wheat yield and physical properties of soil. *Environ. Monit. Assess.* **2005**, *107* (1-3), 1-9.
2. Juan, J. X.; Hong, Z.; Khalid, M.; Bilal, M.; Gao, Z. L.; Huang, D. F.; Tang, D. Q., Influence of application of different proportions of substrates and biogas slurry-based fertilizers on the growth and quality of purple rape - *Brassica campestris* l. ssp *chinensis* (L.) Hanelt. *Pak. J. Bot.* **2018**, *50* (3), 1061-1068.
3. Li, J. S.; Duan, N.; Guo, S.; Shao, L.; Lin, C.; Wang, J. H.; Hou, J.; Hou, Y.; Meng, J.; Han, M. Y., Renewable resource for agricultural ecosystem in China: Ecological benefit for biogas by-product for planting. *Ecol. Inform.* **2012**, *12*, 101-110.
4. Chen, G.; Zhao, G. H.; Zhang, H. M.; Shen, Y. Q.; Fei, H. B.; Cheng, W. D., Biogas slurry use as N fertilizer for two-season *Zizania aquatica* Turcz. in China. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* **2017**, *107* (3), 303-320.
5. Kemper, N., Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. *Ecol. Indic.* **2008**, *8* (1), 1-13.
6. Zhou, X.; Wang, J.; Lu, C.; Liao, Q. H.; Gudda, F. O.; Ling, W. T., Antibiotics in animal manure and manure-based fertilizers: Occurrence and ecological risk assessment. *Chemosphere* **2020**, *255*, 10.
7. Munaretto, J. S.; Yonkos, L.; Aga, D. S., Transformation of ionophore antimicrobials in poultry litter during pilot-scale composting. *Environ. Pollut.* **2016**, *212*, 392-400.
8. Christou, A.; Aguera, A.; Bayona, J. M.; Cytryn, E.; Fotopoulos, V.; Lambropoulou, D.; Manaia, C. M.; Michael, C.; Revitt, M.; Schroder, P.; Fatta-Kassinos, D., The potential implications of reclaimed wastewater reuse for irrigation on the agricultural environment: The knowns and unknowns of the fate of antibiotics and antibiotic resistant bacteria and resistance genes - A review. *Water Res.* **2017**, *123*, 448-467.
9. Gao, F.-Z.; He, L.-Y.; He, L.-X.; Zou, H.-Y.; Zhang, M.; Wu, D.-L.; Liu, Y.-S.; Shi, Y.-J.; Bai, H.; Ying, G.-G., Untreated swine wastes changed antibiotic resistance and microbial community in the soils and impacted abundances of antibiotic resistance genes in the vegetables. *Sci. Total Environ.* **2020**, *741*, 140482.
10. Zhao, F. K.; Chen, L. D.; Yen, H.; Sun, L.; Li, S. J.; Li, M.; Feng, Q. Y.; Yang, L., Multimedia mass balance approach to characterizing the transport potential of antibiotics in soil-plant systems following manure application. *J. Hazard. Mater.* **2020**, *393*, 11.
11. 陳琦玲 畜牧場沼渣再利用於農地影響評估; 行政院農業委員會農業試驗所: 2017.
12. 蔡宗烈; 陳琦玲; 郭鴻裕; 周明顯; 徐慶霖; 林楨坤; 張瓊雲; 廖崇億; 林建志; 張筱瑜; 蔡震達 平鎮養豬廢水農地再利用試驗計畫期末報告, 2000.
13. Chen, W.-L.; Lin, S.-C.; Huang, C.-H.; Peng, S.-Y.; Ling, Y. S., Wide-scope screening for



- pharmaceutically active substances in a leafy vegetable cultivated under biogas slurry irrigation. *Sci. Total Environ.* **2021**, 750, 141519.
14. 行政院環境保護署, 飲用水質之健康風險評估研究. *環保政策月刊* **2013**, 民國102年2月, 1-3.
 15. Richardson, S. D., Disinfection by-products and other emerging contaminants in drinking water. *Trac-Trends Anal. Chem.* **2003**, 22 (10), 666-684.
 16. Lapworth, D. J.; Baran, N.; Stuart, M. E.; Ward, R. S., Emerging organic contaminants in groundwater: A review of sources, fate and occurrence. *Environ. Pollut.* **2012**, 163, 287-303.
 17. Petrie, B.; Barden, R.; Kasprzyk-Hordern, B., A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: Current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring. *Water Res.* **2015**, 72, 3-27.
 18. Talib, A.; Randhir, T. O., Managing Emerging Contaminants: Status, Impacts, and Watershed-Wide Strategies. *Expo. Health* **2016**, 8 (1), 143-158.
 19. Chen, W.-L.; Xie, Z.; Wolschke, H.; Gandrass, J.; Koetke, D.; Winkelmann, M.; Ebinghaus, R., Quantitative determination of ultra-trace carbazoles in sediments in the coastal environment. *Chemosphere* **2016**, 150, 586-595.
 20. Chen, W.-L.; Gwo, J.-C.; Wang, G.-S.; Chen, C.-Y., Distribution of feminizing compounds in the aquatic environment and bioaccumulation in wild tilapia tissues. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2014**, 21 (19), 11349-11360.
 21. Chen, W.-L.; Feng, Y.-T.; Wang, I.-T.; Wang, G.-S.; Chen, C.-Y., Determination of illicit drugs and their metabolites in sewage using high-flow solid-phase extraction and ultra-high performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry and estimation of community consumption. *The Taiwan Journal of Forensic Medicine* **2014**, 6, 23-39.
 22. Chen, W.-L.; Ling, Y. S.; Lee, D. J. H.; Lin, X.-Q.; Chen, Z.-Y.; Liao, H.-T., Targeted profiling of chlorinated transformation products and the parent micropollutants in the aquatic environment: A comparison between two coastal cities. *Chemosphere* **2020**, 242.
 23. Chen, W.-L.; Bai, F.-Y.; Chang, Y.-C.; Chen, P.-C.; Chen, C.-Y., Concentrations of perfluoroalkyl substances in foods and the dietary exposure among Taiwan general population and pregnant women. *J. Food Drug Anal.* **2018**, 26, 994-1004.
 24. Gago-Ferrero, P.; Bletsou, A. A.; Damalas, D. E.; Aalizadeh, R.; Alygizakis, N. A.; Singer, H. P.; Hollender, J.; Thomaidis, N. S., Wide-scope target screening of >2000 emerging contaminants in wastewater samples with UPLC-Q-ToF-HRMS/MS and smart evaluation of its performance through the validation of 195 selected representative analytes. *J. Hazard. Mater.* **2020**, 387, 121712.
 25. Masia, A.; Suarez-Varela, M. M.; Llopis-Gonzalez, A.; Pico, Y., Determination of pesticides and veterinary drug residues in food by liquid chromatography-mass spectrometry: A review. *Anal. Chim. Acta* **2016**, 936, 40-61.
 26. European Union, Commission Decision 2002/657/EC implementing Council Directive



- 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results. Official Journal of the European Communities, 2002.
27. Schymanski, E. L.; Jeon, J.; Gulde, R.; Fenner, K.; Ruff, M.; Singer, H. P.; Hollender, J., Identifying Small Molecules via High Resolution Mass Spectrometry: Communicating Confidence. *Environ. Sci. Technol.* **2014**, 48 (4), 2097-2098.
 28. Chen, W.-L.; Cheng, J.-Y.; Lin, X.-Q., Systematic screening and identification of the chlorinated transformation products of aromatic pharmaceuticals and personal care products using high-resolution mass spectrometry. *Sci. Total Environ.* **2018**, 637-638, 253-263.
 29. 陳琦玲; 林旻韻; 廖崇億, 畜牧廢水農地施肥要領. In *農業試驗所特刊第206號*, 行政院農業委員會農業試驗所: 2018.
 30. Lee, S. K.; Lur, H. S.; Lo, K. J.; Cheng, K. C.; Chuang, C. C.; Tang, S. J.; Yang, Z. W.; Liu, C. T., Evaluation of the effects of different liquid inoculant formulations on the survival and plant-growth-promoting efficiency of *Rhodopseudomonas palustris* strain PS3. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2016**, 100 (18), 7977-7987.
 31. Moltu, S. J.; Sachse, D.; Blakstad, E. W.; Strømmen, K.; Nakstad, B.; Almaas, A. N.; Westerberg, A. C.; Rønnestad, A.; Brække, K.; Veierød, M. B.; Iversen, P. O.; Rise, F.; Berg, J. P.; Drevon, C. A., Urinary Metabolite Profiles in Premature Infants Show Early Postnatal Metabolic Adaptation and Maturation. *Nutrients* **2014**, 6 (5), 1913-1930.
 32. Triba, M. N.; Le Moyec, L.; Amathieu, R.; Goossens, C.; Bouchemal, N.; Nahon, P.; Rutledge, D. N.; Savarin, P., PLS/OPLS models in metabolomics: the impact of permutation of dataset rows on the K-fold cross-validation quality parameters. *Mol. Biosyst.* **2015**, 11 (1), 13-19.
 33. Chee-Sanford, J. C.; Mackie, R. I.; Koike, S.; Krapac, I. G.; Lin, Y.-F.; Yannarell, A. C.; Maxwell, S.; Aminov, R. I., Fate and Transport of Antibiotic Residues and Antibiotic Resistance Genes following Land Application of Manure Waste. *J. Environ. Qual.* **2009**, 38 (3), 1086-1108.
 34. Liu, Q. Y.; Zhao, Z. X.; Xue, Z. P.; Li, D.; Wen, Z. N.; Ran, Y.; Mei, Z. L.; He, L., Comprehensive Risk Assessment of Applying Biogas Slurry in Peanut Cultivation. *Front. Nutr.* **2021**, 8, 13.
 35. Duan, G. L.; Zhang, H. M.; Liu, Y. X.; Jia, Y.; Hu, Y.; Cheng, W. D., Long-term fertilization with pig-biogas residues results in heavy metal accumulation in paddy field and rice grains in Jiaxing of China. *Soil Sci. Plant Nutr.* **2012**, 58 (5), 637-646.
 36. Timsina, J., Can Organic Sources of Nutrients Increase Crop Yields to Meet Global Food Demand? *Agronomy-Basel* **2018**, 8 (10), 20.
 37. European Food Safety Authority, Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance 8-hydroxyquinoline. *EFSA Journal* **2016**, 14(6): 4493.
 38. Janus, K.; Suszycka, J., Effect of spironolactone on antipyrine metabolism in calves. *Res.*



- Vet. Sci.* **1996**, *61* (1), 87-88.
39. Ren, S.; Li, Y.; Li, C., Effects of P-nitrophenol exposure on the testicular development and semen quality of roosters. *Gen. Comp. Endocrinol.* **2021**, *301*, 113656.
 40. Soares, P. R. S.; Birololi, W. G.; Ferreira, I. M.; Porto, A. L. M., Biodegradation pathway of the organophosphate pesticides chlorpyrifos, methyl parathion and profenofos by the marine-derived fungus *Aspergillus sydowii* CBMAI 935 and its potential for methylation reactions of phenolic compounds. *Mar. Pollut. Bull.* **2021**, *166*, 112185.
 41. Graß, B.; Mayer, H.; Nolte, J.; Preuß, G.; Zullei-Seibert, N., Studies on the metabolism of hydroxybenzonitrile herbicides: I. Mass spectrometric identification. *Pest Manag. Sci.* **2000**, *56* (1), 49-59.
 42. Veselá, A. B.; Franc, M.; Pelantová, H.; Kubáč, D.; Vejvoda, V.; Šulc, M.; Bhalla, T. C.; Macková, M.; Lovecká, P.; Janů, P.; Demnerová, K.; Martínková, L., Hydrolysis of benzonitrile herbicides by soil actinobacteria and metabolite toxicity. *Biodegradation* **2010**, *21* (5), 761-770.
 43. Guo, Q.; Wang, Y. n.; Qian, J.; Zhang, B.; Hua, M.; Liu, C.; Pan, B., Enhanced production of methane in anaerobic water treatment as mediated by the immobilized fungi. *Water Res.* **2021**, *190*, 116761.
 44. Kováčik, J.; Klejdus, B.; Hedbavny, J.; Štork, F.; Bačkor, M., Comparison of cadmium and copper effect on phenolic metabolism, mineral nutrients and stress-related parameters in *Matricaria chamomilla* plants. *Plant Soil* **2009**, *320* (1), 231.
 45. Hojati, M.; Modarres-Sanavy, S. A. M.; Enferadi, S. T.; Majdi, M.; Ghanati, F.; Farzadfar, S., Differential deployment of parthenolide and phenylpropanoids in feverfew plants subjected to divalent heavy metals and trans-cinnamic acid. *Plant Soil* **2016**, *399* (1-2), 41-59.
 46. Perez-Lozano, P.; Garcia-Montoya, E.; Orriols, A.; Minarro, M.; Tico, J. R.; Sune-Negre, J. M., Application of a validated method in the stability study of colistin sulfate and methylparaben in a veterinary suspension formulation by high-performance liquid chromatography with a diode array detector. *J. AOAC Int.* **2007**, *90* (3), 706-714.
 47. Liu, Y.-Y.; Lin, Y.-S.; Yen, C.-H.; Miaw, C.-L.; Chen, T.-C.; Wu, M.-C.; Hsieh, C.-Y., Identification, contribution, and estrogenic activity of potential EDCs in a river receiving concentrated livestock effluent in Southern Taiwan. *Sci. Total Environ.* **2018**, *636*, 464-476.
 48. Derakhshan, Z.; Ehramposh, M. H.; Mahvi, A. H.; Ghaneian, M. T.; Mazloomi, S. M.; Faramarzan, M.; Dehghani, M.; Fallahzadeh, H.; Yousefinejad, S.; Berizi, E.; Bahrami, S., Biodegradation of atrazine from wastewater using moving bed biofilm reactor under nitrate-reducing conditions: A kinetic study. *J. Environ. Manage.* **2018**, *212*, 506-513.
 49. Lee, S.; Han, J.; Ro, H. M., Interpreting the pH-dependent mechanism of simazine sorption to *Miscanthus* biochar produced at different pyrolysis temperatures for its application to soil. *Korean J. Chem. Eng.* **2018**, *35* (7), 1468-1476.
 50. Zaady, E. L. I.; Levacov, R.; Shachak, M., Application of the Herbicide, Simazine, and its



- Effect on Soil Surface Parameters and Vegetation in a Patchy Desert Landscape. *Arid. Land Res. Manag.* **2004**, *18* (4), 397-410.
51. Hu, X. G.; Zhou, Q. X.; Luo, Y., Occurrence and source analysis of typical veterinary antibiotics in manure, soil, vegetables and groundwater from organic vegetable bases, northern China. *Environ. Pollut.* **2010**, *158* (9), 2992-2998.
 52. Diaz-Cruz, M. S.; de Alda, M. J. L.; Barcelo, D., Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge. *Trac-Trends Anal. Chem.* **2003**, *22* (6), 340-351.
 53. Wei, R. C.; Ge, F.; Zhang, L. L.; Hou, X.; Cao, Y. N.; Gong, L.; Chen, M.; Wang, R.; Bao, E. D., Occurrence of 13 veterinary drugs in animal manure-amended soils in Eastern China. *Chemosphere* **2016**, *144*, 2377-2383.
 54. Gu, D. M.; Feng, Q. Y.; Guo, C. S.; Hou, S.; Lv, J. P.; Zhang, Y.; Yuan, S.; Zhao, X., Occurrence and Risk Assessment of Antibiotics in Manure, Soil, Wastewater, Groundwater from Livestock and Poultry Farms in Xuzhou, China. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **2019**, *103* (4), 590-596.
 55. Manjarres-López, D. P.; Andrades, M. S.; Sánchez-González, S.; Rodríguez-Cruz, M. S.; Sánchez-Martín, M. J.; Herrero-Hernández, E., Assessment of pesticide residues in waters and soils of a vineyard region and its temporal evolution. *Environ. Pollut.* **2021**, *284*, 117463.
 56. Azanu, D.; Mortey, C.; Darko, G.; Weisser, J. J.; Styriahave, B.; Abaidoo, R. C., Uptake of antibiotics from irrigation water by plants. *Chemosphere* **2016**, *157*, 107-114.
 57. Kumar, K.; Gupta, S. C.; Baidoo, S. K.; Chander, Y.; Rosen, C. J., Antibiotic uptake by plants from soil fertilized with animal manure. *J. Environ. Qual.* **2005**, *34* (6), 2082-2085.



七、附錄

土壤、沼液外源性污染物

化合物	背景 (n=9)	空白組 (n=18)	一倍組 (n=18)	三倍組 (n=18)	第一期 沼液	第二期 沼液	第三期 沼液
17-alpha-19-Nortestosterone						v	v
17 alpha-Boldenon (Epiboldenone)					v		
2-MeO-MA (Methoxyphemine)					v		
2-Phenyl-1,3-indandione		5	5	2		v	v
2,3,5-Trimethacarb (Landrin)		1					
Methylenedioxymethamphetamine		1					
4-Androstenedione							
4-Hydroxyamphetamine	2						
4-HO-MA (Pholedrine)		2	4	1	v		
4-Hydroxyantipyrine	2	15	13	18			
4-Hydroxybenzoic acid						v	v
4-Nitrophenol	9	17	18	18			
4-tert-Octylphenol				1			
5-Aminosalicylic acid					v	v	
5-Androstenediol					v		
8-Hydroxyquinoline	3	2	11	16	v	v	v
9-Octadecemide (Oleamide)						v	v
Acetaminophen (Paracetamol)							
Acetamidiprid		6	6	6			
Acetanilide					v		v
Ametryne (Ametrex)	9	12	9	1			
Amineptine		1					
Anabasin/nicotine		2	3	4			
Androsterone							
Aniline						v	v
Aspartame		1					
Atrazine	9	18	14	16			
Hydroxyatrazine	5	18	16	18			
Desethylatrazine	9	18	14	14			
Deisopropylatrazine	8	14	8	3			
Azoxystrobin	9	18	18	18			
Butylbenzylphthalate	1	1					
Phenylalanine	8	18	16	18			



沼液再利用對土壤中非目標新興污染物分布之影響

化合物	背景 (n=9)	空白組 (n=18)	一倍組 (n=18)	三倍組 (n=18)	第一期 沼液	第二期 沼液	第三期 沼液
Benzoic acid	9	17	18	18		v	v
Benzoylecgonine						v	v
Bis(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP)	9	16	18	18		v	v
Bolasterone					v	v	v
Boscalid (Nicobifen)	8	4	5	5			
BTS 27919						v	v
Butamben (Butyl 4-aminobenzoate)		1					
Butylbenzylphthalate	1	1					
Caffeine				1			
Carbendazim (Azole)	5	7	9	11			
Cathinone	1					v	v
CBD / Cannabidiol				1	v	v	v
Cefalexin						v	
Chlorantraniliprole	6	18	18	18			
Chlorpheniramine			1	3	v		
Clonidine	9	18	17	15			
Cocaine						v	v
Coumarin					v		
CT / Chlortetracycline			1	4		v	v
D(+)-Norephedrine	2						
Diethyl phthalate							v
Simazine	7	17	8				
Dichlobutrazol		1					
Difenconazole(I)	9	17	9	7			
Difenconazole(II)	9	17	9	7			
Dimethomorph(E)		13	8	14			
Dimethomorph(Z)		17	12	15			
Dinoprop	2			1			v
Dinoterb	2			1			v
Doxycycline					v		
Edifenphos		6	6	6			
Enrofloxacin					v		
Epinephrine							v



七、附錄

化合物	背景 (n=9)	空白組 (n=18)	一倍組 (n=18)	三倍組 (n=18)	第一期 沼液	第二期 沼液	第三期 沼液
Epitestosterone					v		
Equilenin							v
Ethinamate					v	v	v
Methiocarb sulfone				1			
Femiphos		1					
Fenobucarb (Baycarb)	1						
Fenoprofen	1		3	3		v	v
Fenuron							v
Fipronil		12	12	12			
Flutolanil	5	13	13	1			
Fumonisin B1							v
Fumonisin B3							v
Grepafloxacin					v		
Hexacozole(I)	1	4	5	1			
Hexacozole(II)	1	4	4	1			
Hymecromone							v
Imazalil (Enilcozole)		1					
Imidacloprid	9	18	18	18			
Indole			1	3	v	v	v
Indole-3-acetic acid					v	v	v
Isopreline	1						
Isoprothiolane	1		3	4			
JWH-21				1			
Ketamine		1	1	2			
Lincomycin			7	9	v	v	v
Linuron		1					
Medroxyprogesterone							v
Metalaxyl	6		1				
Metazachlor			1	1			
Methiocarb sulfone				1			
Methylparaben	9	16	15	13			
Methylsalicylate	9	16	15	18	v		
Methyltestosterone						v	v
Metolachlor	9	18	14	15			
Minoxidil				1			



沼液再利用對土壤中非目標新興污染物分布之影響

化合物	背景 (n=9)	空白組 (n=18)	一倍組 (n=18)	三倍組 (n=18)	第一期 沼液	第二期 沼液	第三期 沼液
Monuron		2					
Morpholine	3	14	14	14			
bumetone				1			
Niclosamide			1				
Nitromide			1	3			
Oxytetracycline			6	15	v	v	v
Oxilofrine						v	v
Oxymesterone				4			
Paclobutrazol		1					
Pencycuron		1					
Pendimethalin (Penoxalin)		6	5	6			
Perfluorooctanesulfonic acid		1					
Cinnamic acid	4	6	9	18	v		
Benzocaine	2	12	12	6			
Phenylbutazone-d1	1						
Profenofos		5	6	6			
Progesterone				1	v	v	v
Propicozole(II)	7	5	1	2			
Pyraclfos	8	5	1				
Pyraclstrobin	7	18	16	16			
Pyrocatechol					v	v	
Pyroquilon			2	4			
Rofecoxib	4	4	4	8	v		
Saccharin						v	v
Salicylic acid					v		v
Salmeterol			1				
Skatole						v	v
Sulfadiazine (Silvadene)					v		v
Sulfamethoxazole							v
Sulfathiazole						v	
Tris(2-butoxyethyl) phosphate	2	4				v	v
Tributylphosphate	1	1	1	2			v
Tetracycline					v		
Tri-(2-chloroisopropyl)phosphate	8	18	18	18			v
Tebufenozide		1		2			



七、附錄

化合物	背景 (n=9)	空白組 (n=18)	一倍組 (n=18)	三倍組 (n=18)	第一期 沼液	第二期 沼液	第三期 沼液
1-(3-Trifluoromethylphenyl)piperazine		1		1			
11-Nor-9-Carboxy-tetrahydrocannabinol		1					
Tiamulin			18	18	v	v	v
Tilmicosin			1	13			v
Tolfemic acid				1			
Tramadol-N-oxide						v	v
Tranlycypromine	1	1					
Tricyclazole	9	18	18	18			
Tyrosine						v	
Zearalenone	1						