## 2017年7月國際間土壤及地下水污染調查與整治技術最新發展趨勢

成功大學永續環境實驗所、業與環境科技股份有限公司、行政院環境保護署

主題:油品污染土壤植生復育技術

摘要:本文共收錄8篇2017年與油品污染土壤植生復育技術相關之國際期刊內 容。首先是探討水丁香和其根際細菌降解有機污染物的潛力,經72天培 養試驗證實水丁香有能力在總石油碳氫化合物(total petroleum hydrocarbon, TPH)污染土壤中生存並展現降解能力,其最高降解率為 79.8%。第二篇文章是探討 TPH 分別於水、底泥及植物三種介質中,在不 同季節及植物種類中之分布狀況,研究結果顯示TPH的含量在不同季節、 不同介質和植物物種中有顯著的差異。第三篇文章是探討熱帶淹水環境中 李氏禾草(為多年生濕生性草本植物)降解 TPH 的可行性,李氏禾草在六 個月觀測期間因根際受刺激而產生高密度總自由存活固氮菌(total free-living nitrogen-fixing bacteria, NFB)、植物生物量,污染土壤(無論新鮮 和風化的石油)的整治能力可達 80%以上的 TPH 轉化率。第四篇文章係比 較環境自然衰減、應用生物強化技術或耕犁工法等三種方法,以及結合植 物與生物/微生物組合對 TPH 降解能力的差異性研究,結果顯示三種形式 的生物組合是處理石油碳氫化合物污染土壤的最佳選擇。第五篇文章係探 討不同植物/微生物社群組對 TPH 降解能力的重要性,研究指出植物與微 生物在適當的厭氧環境中,其復育成果是最有效的。第六篇文章係探討菌 株-黑麥草的活性對 TPH 降解能力的持續性,研究以接種 Rhodococcus erythropolis CD106 菌株來加強石油污染土壤之植生復育的效能。菌株與 黑麥草的組合被認為是微生物輔助植生復育受石油污染土壤的有效方法。 第七篇文章係探討如何強化熱帶樹種對 TPH 的降解能力,由於植物本身 並沒有促進 TPH 的降解能力,因此建議由接種細菌和真菌來提高 TPH 的 降解效能。第八篇文章係探討在粘土和高鹽度的環境下,禾本科植物對 TPH 降解能力,研究結果顯示土壤的粘性和高鹽度對植物整治效率有負 面影響。因此,藉由改善土壤的物理化學性質,進而形成植物和微生物良 好的生存條件,來提高植物對受污染環境的整治效率。

# 一、主題架構:

- 1. 水丁香對 TPH 的降解能力;
- 2. 不同季節下 TPH 含量在水、底泥及植物三種介質中的分布;
- 3. 熱帶淹水環境中李氏禾草對 TPH 的降解能力;
- 4. 植物與生物/微生物組合策略對 TPH 的降解能力;
- 5. 不同操作條件下植物/微生物對 TPH 的降解能力;
- 6. 菌株與黑麥草的組合對 TPH 的降解能力;
- 7. 四種熱帶樹種對 TPH 的降解能力;
- 8. 二種禾本科植物在土壤的粘性和高鹽度下對 TPH 降解能力

#### 二、探討問題重點:

- 1. 探討水丁香和其根際細菌對有機污染物的降解潛力;
- 2. 探討在不同季節下, TPH 含量在水、底泥及植物三種介質中的分布狀況;
- 3. 探討熱帶淹水環境中李氏禾草降解 TPH 的可行性;
- 4. 探討植物與生物/微生物組合對 TPH 降解能力的差異性;
- 5. 探討不同植物/微生物社群對 TPH 降解能力的重要性;
- 6. 探討菌株-黑麥草的活性對 TPH 降解能力的持續性;
- 7. 探討如何強化熱帶樹種對 TPH 的降解能力;
- 8. 探討如何強化禾本科植物在土壤的粘性和高鹽度下對 TPH 降解能力

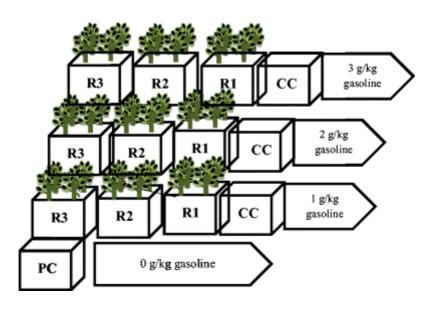
### 三、重點整理:

# 3.1 水丁香對 TPH 的降解能力[1]

Al-Mansoory 等人(2017)進行溫室實驗來確定汽油對水丁香 Ludwigia (octovalvis)植物之毒性(例如臺灣特有種照片如圖一所示),以評估該植物對整治汽油污染土壤的可行性。此項研究測試土壤中不同濃度的碳氫化合物(分別為 1、2和3 g/kg),實驗規劃如圖二所示。結果顯示,在72天培養期間,總石油碳氫化合物(TPH)的平均去除效率相當高,其最大去除率(79.8%)在復育每公斤土壤中含有2g的汽油時被觀察到,而其在自然復育的對照組中其去除率僅為(48.6%)。汽油對植物的影響包括覆蓋性的壓力、黃化、減緩生長及發育參數的干擾。暴露於汽油直到第42天,植物的乾重和濕重略有增加。掃描式電子顯微鏡(SEM)顯示,與對照樣品相比,污染的汽油直接附著於植物組織中的根和莖,使其結構發生變化。研究結果也發現,受污染土壤中的微生物群體能夠適應不同的汽油濃度。因此,汽油污染土壤中的水丁香及依附的根際細菌具有降解有機污染物的潛力。



圖一 水丁香臺灣物種名錄編號: 203790 (台灣生物多樣性資訊入口網)

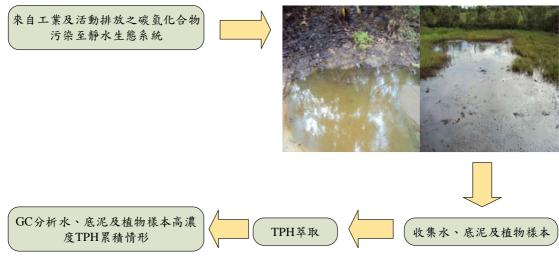


圖二 汽油植物毒性試驗(R1、R2、R3 為三重覆; CC 為未植生之污染土壤控制組; PC 為未施加汽油之植生控制組)(Al-Mansoory 等人(2017))

小結:水丁香和其根際細菌經72天培養試驗,證實水丁香有能力在總石油碳氫化合物(TPH)污染土壤中生存並展現降解能力,其最高降解率為79.8%,而未種植的對照組則只有48.63%的自身分解能力。電子顯微鏡也可觀察到石油污染物吸附在植物上的周邊。

## 3.2 TPH 在水、土壤及植物中不同季節及物種之分佈[2]

原油在勘探、生產、維護、運輸、儲存等操作程序,因洩漏造成原油污染水和土壤、累積於生物體內,進而增加生態系曝露於有害化學品的風險。Basumatary等人(2017)為了解水、土壤和植物樣品中總石油碳氫化合物(TPH)濃度在空間分佈和時間序列的變化,在印度阿薩姆邦選定了 10 個水體進行研究,包括在油田及其周邊、集體採集站和集油站。時間自 2013 年 6 月至 2014 年 5 月期間,進行季節性收集樣品(水、土壤和植物)。水樣從表面採集至琥珀色玻璃瓶,而土壤樣品則是利用土壤取樣器採集水體中 15-30 cm 三個布點深度的土壤至無菌的聚乙烯袋中。水生植物樣品則是連根拔起後,小心地與土壤分離並清洗。所有樣品在低溫條件下運送至實驗室,並以標準方法進行 TPH 萃取。以氣相層析儀分析從水、土壤和植物萃取後樣品之 TPH,研究架構如圖三所示。結果顯示 TPH 在水和土壤中的含量較顯著(p<0.05),其濃度分別在 89 - 843 mg/l 和 9,843 - 59,194 mg/kg 之間。植物樣本則顯示枝條部位(295 - 872 mg/kg)和根部(178 - 617mg/kg)中存在高含量的 TPH。另外,水、土壤和植物中的 TPH 濃度在季風季節後期,相較於冬季和季風季節期間來得高。且植物中的 TPH 含量因其物種的不同有很大的差異。



圖三 研究架構圖(Ref: Basumatary 等人(2017))

小結:水、土壤和植物樣品中 TPH 濃度在空間分布和時間序列的變化顯示, TPH 含量在水、土壤及植物樣本中,依據不同季節及不同植物物種, TPH 含量具有顯著的差異。

### 3.3 熱帶淹水環境中李氏禾草對 TPH 的降解能力[3]

在墨西哥東南部塔巴斯科州的濕地,因臨近的石油工業造成長期的石油洩漏及累積。澇災所引起的高整治成本和低降解效率,使得整治技術的應用受到限制。由於李氏禾草 Leersia hexandra (L. hexandra)生長於受風化的油污染區域中(例如臺灣特有種照片如圖四所示),用於評估在淹水條件下,以新鮮(E1)和風化石油(E2)在不同石油碳氫化合物濃度進行降解實驗,並在3個月和6個月後進行評估。這些結果顯示,在熱帶淹水環境中,L. hexandra 根際因受刺激而產生高密度 NFB、植物生物量,以及高度污染土壤(無論新鮮和風化的石油)的植物整治能力。



圖四 李氏禾臺灣物種名錄編號: 201569(台灣生物多樣性資訊入口網)

小結:多年生濕生性草本植物李氏禾草在熱帶淹水環境中,6個月觀測期間因根際受刺激而產生高密度總自由存活固氮菌(NFB)、高植物生物量以及高度污染土壤(無論新鮮和風化的石油)的植物整治能力,足以顯示李氏禾草對新鮮或風化的石油污染土壤具有復育的潛力。

#### 3.4 植物與生物/微生物組合策略對 TPH 的降解能力[4]

於煉油廠區域及其周邊的總石油碳氫化合物(TPH)污染土壤,已成為目前重要的環境問題之一。在生物整治方法中,耕犁工法和現址生物整治技術目前受到關注。Guarino等人(2017)針對已退役的煉油廠污染土壤,進行生物降解的可行性驗證。該研究透過盆栽實驗來評估三種生物整治策略,包括自然衰減、耕犁工法和生物強化輔助耕犁工法。經過90天的試驗,生物強化輔助耕犁工法產生最好的效果,達到86%TPH的降解效率,其次為耕犁工法的70%去除率和自然衰減的57%降解效率。研究結果顯示,與自然衰減法、生物強化技術與耕犁工法相比,植生組合的應用是處理TPH污染土壤的最佳選擇。此外,研究結果也顯示,

與原生細菌共存的復育技術是 TPH 污染土壤生物整治中最具潛力的方法之一。 表一為 TPH 污染場址分離之細菌。

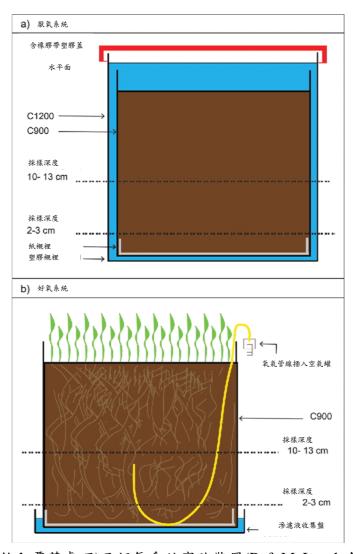
表一 TPH 污染場址分離之細菌(Ref: Guarino 等人(2017))

細菌株	最接近的物種			
RSGC11	Acetobacter pasterianus			
RSGC12	Achromobacter marplatensis			
RSGC13	Achromobacter spanius			
RSGC15	Comamonas koreensis			
RSGC16	Comamonas testosteroni			
RSGC18	Comamonas aquatica			
RSGC19	Delftia acidovorans			
RSGC21	Ochrobactrum anthropi			
RSGC22	Pseudomonas stuzeri			
RSGC23	Pseudomonas brassicacearum			
RSGC25	Pseudomonas migulae			
RSGC26	Pseudomonas mandelii			
RSGC27	Pseudomonas frederiksbergensis			
RSGC29	Pseudomonas chloraphis			
RSGC30	Pseudomonas chloritidismutans			
RSGC31	Pseudomonas putida			
RSGC33	Pseudomonas resinovorans			
RSGC35	Pseudomonas alcaliphila			
RSGC36	Pseudomonas corrugata			
RSGC37	Pseudoxanthomonas mexicana			
RSGC38	Sphingobium abikonense			
RSGC39	Stenotrophomonas rhizophila			

小結:比較環境自然衰減、應用生物強化技術或耕犁工法等三種方法,以及結合植物與生物/微生物組合對 TPH 降解能力的差異性,結果與自然衰減法、生物強化技術或耕犁工法相比,植生組合的應用組合是處理 TPH 污染土壤的最佳選擇。另,與原生細菌共存的方法是整治 TPH 污染土壤生物整治中最具潛力的方法之一。

### 3.5 不同操作條件下植物/微生物對 TPH 的降解能力[5]

污染土壤的整治通常針對細緻土壤,而非低產率的沙質土壤進行研究。也很少有研究針對再污染事件。McIntosh等人(2017)比較好氧和厭氧技術(實驗裝置如圖五所示),用於整治已進行植生復育和生物馴化(已經在土壤環境中適應的微生物)並殘留少量 TPH 以及再次受到油污染的沙土。在 90 天的溫室盆栽研究中,評估植生和未植生的條件來整治含 NAPLs 的殘留 TPH。與未植生相比,植生處理技術中除柳枝稷(Panicum virgatum)外,好氧菌的濃度呈現數量級的增加。然而,在所有飽和覆蓋土壤處理中(如圖五(a)),最終 TPH 濃度低,而在柳枝稷存在時高(圖五(b))。已適應的土壤微生物群落較沙土中加植生處理引入微生物更能有效地分解碳氫化合物。在適當的厭氧環境下,植物與微生物共存的生物結構,除了



圖五厭氧(飽和覆蓋處理)及好氧系統實驗裝置(Ref: McIntosh 等人(2017))

小結:不同植物/微生物社群組對 TPH 降解能力的研究指出,植物與微生物在適當的厭氧環境中,其復育成果是最有效的。

# 3.6 菌株與黑麥草的組合對 TPH 的降解能力[6]

Plociniczak 等人(2017)針對碳氫化合物污染已久的土壤(1%總石油碳氫化合物(TPH)),探討利用接種 Rhodococcus erythropolis CD106 菌株於黑麥草 ryegrass (Lolium perenne)(範例如圖六所示)上,以研究其對植生復育有效性的影響。研究結果顯示,CD106的引入明顯增加黑麥草的生物量和土壤中碳氫化合物的去除。且接種 CD106 的植物枝條與根的濕重分別增加了 49%和 30%。實驗 210 天後,

TPH 濃度降低 31.2%,高於未接種 CD106 的土壤系統中(16.8%)。相較之下,用 CD106 菌株生物生長的非種植土壤中,石油烴的濃度下降了 18.7%。且立汎黴素 (rifampicin)抗性的 CD106 菌株接種土壤後存活,在土壤中整個實驗期間皆檢測得到,但在強化的植生復育和生物強化的實驗中,CD106 細胞的數量不斷下降。由於 CD106 的接種促進植物的生長和 TPH 的降解,因此如何延長 CD106 的共存與降低對本土微生物群落的影響,將是該菌株可否做為植生復育良好助力的重點。



圖六 多年生黑麥草(維基百科)

小結:黑麥草的活性對 TPH 降解能力的持續性研究結果顯示,接種 Rhodococcus erythropolis CD106 菌株有利於增加石油污染土壤植生復育的效能。在 106 天的實驗期間發現 CD 106 具有在受污染環境中生存的能力。因此,CD106 菌株與黑麥草的組合被認為是微生物輔助植生復育受石油污染的土壤的有效方式,而如何延長 CD106 的共存與降低對本土微生物群落的影響,將是該菌株可否作為植生復育良好助力的重點。

## 3.7 四種熱帶樹種對 TPH 的降解能力[7]

在溫室條件下, Perez-Hernandez 等人(2017)評估四種樹種及其對滲入土壤的原油的降解能力。土壤及原油特性如表二所示。樹種包括: Cedrela odorata (熱帶雪松 tropical cedar)、禾本科植物 Haematoxylum campechianum (tinto bush)、大

花蕙蘭 Swietenia macrophylla (紅木 mahogany)及薔薇 Tabebuia rosea (macuilis)。 三個月大的植物種植在含有三種不同重油濃度(18,000 mg/kg for C1、31,700 mg/kg for C2 和 47,100 mg/kg for C3)的土壤中進行 245 天的觀察試驗,且每個條 件進行四重複實驗。儘管植物生存不受影響,但隨著石油濃度的增加,所有物種 的高度和生物量顯著減少。根際細菌的菌落形成單位(CFU)數量在樹種和處理條 件方面而有所不同,而石油刺激的細菌菌落被鑑定為 S. macrophylla。控制組 (未 增加重油)中真菌數量明顯高於含有石油濃度之土壤,但在不同植物物種間和不 同施用濃度下,沒有顯著差異。在沒有植物的土壤中,C1 測試組被觀察到最大 的總石油碳氫化合物(TPH)降解率(45%)。但與其餘條件(土壤和植物物種中的石 油濃度)的差異並不顯著(P<0.05)。在所有樹種中,葫蘆科植物 H. campechianum 具有最高的 TPH 降解率(C2 為 32.5%)。 薔薇 T. rosea (C1)和 H. campechianum (C2) 的測試組中石油降解率在 20.5% - 32.5%之間。根據此實驗的結果顯示,雖然所 使用的樹種沒有提高TPH的降解率,但它們均能表現出高的存活率和健康狀態。 因此,不同樹種本身雖然沒有促進 TPH 的降解能力,但可透過接種細菌和真菌 的方式來提高熱帶樹種對 TPH 的降解能力。

表二 土壤及原油特性(Ref: Perez-Hernandez 等人(2017))

土壤特性								
質地	砂	淤泥	粘土	酸鹼值	有機質	總氮	總磷	碳氫化合物 生物來源
粘土壤 土	9 %	41 %	50 %	7.2	10.4 %	0.52 %	2.35 mg/kg	240 mg/kg
油特性								
API 比	比重		餾分					
重			脂肪族		芳香族	具極性	+樹脂	瀝青質
12.9°	0.98 g/cm3		37.9 %		22.0 %	20.3 %		19.8

小結: 所評估植物種類的相對生長速率以及根和生物量均受到土壤中石油存在的 影響,並隨著石油濃度的增加而影響漸大。這些物種需8個月的遲滯期才能耐受 高濃度的石油。不同樹種本身雖然沒有促進 TPH 的降解能力,但可透過接種細 菌和真菌的方式來提高熱帶樹種對 TPH 的降解能力。

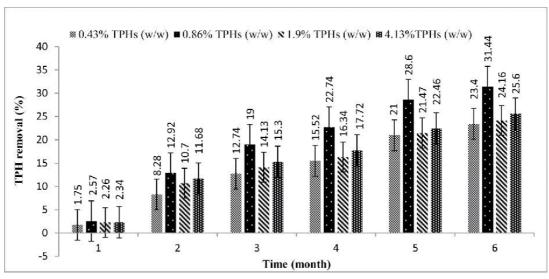
## 3.8 二種禾本科植物在土壤的粘性和高鹽度下對 TPH 降解能力的影響[8]

Alavi 等人(2017)評估當地植物(石茅 Sorghum halepense 和獐毛 Aeluropus littoralis) (範例如圖七所示),針對高鹽度粘土土壤中總石油碳氫化合物(TPH)濃 度和營養物質的條件下探討 TPH 去除之研究。在 180 天期間,每月確認根際微 生物數量、植物生物量和殘餘 TPH 濃度。結果顯示,根際微生物對土壤中 TPH 的去除率高於對照(未植生土壤)的 13%。另外,生長於根際和非根際土壤中異營 細菌的數量分別為 7.407 和 6.629 log(10) CFU(菌落形成單位)/g。在經處理的土壤 中,最大 TPH 去除量、微生物數量和植物生物量發生在 0.86%(w/w)TPH 的污染 濃度(如圖八所示)。實驗土壤的粘性和高鹽度對植物整治效率有負面影響。因此,改善土壤的物理化學性質,有助於提供植物和微生物良好的生存條件,進而提高植物對污染土壤的整治效率。





圖七 植物照片(a)石茅 Sorghum halepense; (b)獐毛 Aeluropus littoralis (維基百科)



圖八 不同 TPH 濃度下之去除率(Ref: Alavi 等人(2017))

小結: 禾本科植物對 TPH 降解能力研究結果顯示,土壤的粘性和高鹽度對植物整治效率有負面影響。因此,藉由改善土壤的物理化學性質,進而形成植物和微生物良好的生存條件,可提高植物對受污染環境的整治效率。

#### 四、結論

植生復育用於土壤中 TPH 污染的降解著重於幾個面向,包括不同植物種類或與原生細菌共存的關係對 TPH 降解能力之研究、植物與微生物共生的結構有利於提升 TPH 的降解效率、不同環境下的植生復育能力之驗證與開發,如熱帶淹水、土壤粘性、高鹽度、土壤微生物的原生結構等。亦或進一步了解 TPH 在周遭環境、或植物體內不同部位的分佈關係。而綜觀來看,在植物與微生物的共生結構,及延長不同環境中的降解效率,將是植生復育有效地應用於土壤中 TPH 降解的一大重點。

# 五、參考文獻

- Al-Mansoory et al. 2017. Phytoremediation of contaminated soils containing gasoline using *Ludwigia octovalvis* (Jacq.) in greenhouse pots., Environ. Sci. Pollut. Res. Vol., 24, 11998-12008
- 2. Basumatary et al. 2017. A study on concentration of total petroleum hydrocarbons in lentic water bodies near oil field areas of upper Assam, India., J.Environ.Biol.Vol.,38, 375-381
- 3. Arias-Trinidad et al. 2017. Use of *Leersia hexandra* (Poaceae) for soil phytoremediation in soils contaminated with fresh and weathered oil.., Rev. Biol. Trop.Vol.,65, 21-30
- 4. Guarino et al. 2017. Assessment of three approaches of bioremediation (Natural Attenuation, Landfarming and Bioagumentation Assistited Landfarming) for a petroleum hydrocarbons contaminated soil., ChemosphereVol.,170, 10-16
- 5. McIntosh et al. 2017. Bioremediation and phytoremediation of total petroleum hydrocarbons (TPH) under various conditions., Int. J. Phytoremediat.Vol.,19, 755-764
- 6. Plociniczak et al. 2017. Improvement of phytoremediation of an aged petroleum hydrocarbon-contaminated soil by *Rhodococcus erythropolis* CD 106 strain., Int. J. Phytoremediat.Vol.,19, 614-620
- 7. Perez-Hernandez et al. 2017. Growth of four tropical tree species in petroleum-contaminated soil and effects of crude oil contamination., Environ. Sci. Pollut. Res. Vol., 24, 1769-1783

8. Alavi et al. 2017. Phytoremediation of Total Petroleum Hydrocarbons from Highly Saline and Clay Soil Using *Sorghum halepense* (L.) Pers. and *Aeluropus littoralis* (Guna) Parl., Soil. Sediment. Contam.Vol.,26, 127-140