

# 生物整治對南部某氯烯類污染地下水中 關鍵微生物與污染物之影響

## Bioremediation Effect on Key Microorganisms and Targeted Pollutants in the Chlorinated Ethenes Contaminated Groundwater in South Taiwan

國立成功大學  
環境工程學系  
碩士生

鄭嘉俊

Jia-Jun Tee

國立成功大學  
環境工程學系&  
永續環境實驗所  
助理研究員

莊蕙萍

Hui-Ping Chuang

國立成功大學  
環境工程學系&  
永續環境實驗所  
特聘教授

黃良銘

Liang-Ming Whang

國立成功大學  
環境工程學系&  
永續環境實驗所  
特聘教授

林財富\*

Tsair-Fuh Lin

### 摘要

氯烯類化合物為土壤地下水中常見污染物之一，以厭氧脫鹵機制為主的生物復育工法，為目前污染場址重要整治技術。為了解該類型污染場址之生物處理的可行性與有效性，本研究利用 SybrGreen-qPCR 法來評估台灣南部某污染場址於兩年觀察期間，兩個關鍵菌群之數量及其與氯烯類濃度分佈之相關性。研究場址中高濃度氯乙烯類的區域濃度降低達 90% 以上，且同時觀察到污染物隨著地下水流向重新分佈。微生物分析結果顯示，*Desulfitobacterium* 屬自整治前七個月的  $10^2 \sim 10^4$  Copies/L groundwater 增加至整治後的  $10^4 \sim 10^7$  Copies/L groundwater；而 *Dehalococcoides* 屬於整治前後也觀察到  $10^3$  倍的增加，達到  $10^7$  Copies/L groundwater。初步結論顯示，生物整治工法能優勢培養現地兩大脫氯菌群，有效地降解高污染區的氯烯類化合物，但同時亦須注意污染物隨地下水流動而轉移。

**關鍵詞：**生物整治工法，*Dehalococcoides* 屬，*Desulfitobacterium* 屬，SybrGreen-qPCR 定量。

### ABSTRACT

Chlorinated ethenes are one group of pollutants commonly found in the soil and groundwater contaminated sites. *In-situ* bioremediation using anaerobic dehalogenation

\*通訊作者，國立成功大學環境工程學系特聘教授，70101 台南市東區大學路 1 號，tflin@mail.ncku.edu.tw

is a promising method for the treatment of chlorinated ethenes. To understand the feasibility and efficiency of *in-situ* anaerobic bioremediation, a SybrGreen-qPCR method was employed to quantify the abundances of two key microorganisms in the samples collected in a chloroethenes contaminated site in south Taiwan in 2013 and 2015. The results showed that in the hotspots of the site, chlorinated ethenes were reduced by 90% within 2 years. In addition, chloroethenes were found to re-distribute caused by the combined effect of groundwater flow and degradation of the chemicals. The results of microbial analysis showed that genus *Desulfitobacterium* increased from  $10^2 \sim 10^4$  Copies/L groundwater detected in the first seven months after bioremediation to  $10^4 \sim 10^7$  Copies/L groundwater after 26 months of the treatment. Moreover, genus *Dehalococcoides* abundance was observed to increase by 3 times after the treatment, with  $\sim 10^7$  Copies/L groundwater. The observation indicates that bioremediation could effectively enrich the two functional microbes, and may cause the reduction of chloroethenes in the hot spot of the contaminated site. However, when bioremediation is applied for groundwater remediation, attention should be paid to the transformation of chloroethenes and transport of the contaminants with groundwater flow in the site.

**Keywords:** Bioremediation, genus *Dehalococcoides*, genus *Desulfitobacterium*, SybrGreen-qPCR quantification.

## 一、緒 論

### 1.1 前言

隨著工商業迅速發展，具有高揮發性、低可燃性，及對有機物質具有高溶解性的含氯脂肪族溶劑，廣泛地應用於脫脂程序、電子零件清洗和乾洗等製程(Doherty, 2000)。由於此類化合物屬重質非水相溶液(Dense Nonaqueous-Phase Liquids, DNAPLs)，當洩漏至地底下時，易往下移動至不透水層上，形成嚴重的土壤及地下水污染問題(Oolman *et al.*, 1995)。根據台灣全國工業區土壤及地下水質污染調查結果顯示，三氯乙烯為常見地下水有機污染物(Kuo *et al.*, 2000)，其同質污染物均具有毒性、難分解性與生物累積等特性，易引起社會大眾對於健康風險的擔憂(Futagami *et al.*, 2008)。

由於四氯乙烯和三氯乙烯不易以好生物氧整治技術進行分解(Ensley, 1991)，因此現地厭氧還原脫氯(Anaerobic Reductive Dechlorination)技

術為重要的整治手段。厭氧脫氯機制是藉由前端微生物降解有機物的過程中釋放氫氣做為電子提供者，再由脫氯菌群來降解各種氯乙炔化合物，並產生微生物生長所需的能量(Vogel *et al.*, 1987)。此技術具有低成本和環境友善等優勢，近年來廣泛地應用於現地污染場址。

厭氧還原脫氯過程中，通常需要多種微生物的參與，除了前端降解微生物和共存合作或競爭的微生物之外，關鍵微生物主要分為兩大族群：一為降解高氯數的 *Desulfitobacterium* 屬、*Dehalobacter* 屬、*Desulfuromonas* 屬和 *Geobacter* 屬(Gerritse *et al.*, 1996; Sung *et al.*, 2003)；另一則以能藉由不同株或種分階段地將四氯乙烯完整地還原至乙烯的 *Dehalococcoides* 屬(Löffler *et al.*, 2013)。

分子生物技術的發展與應用提供了環境系統中目標微生物的定量和定性分析基礎，近年來廣泛用於監測現地污染場址中的微生物型態與數量，可做為現地生物復工法可行性與有效

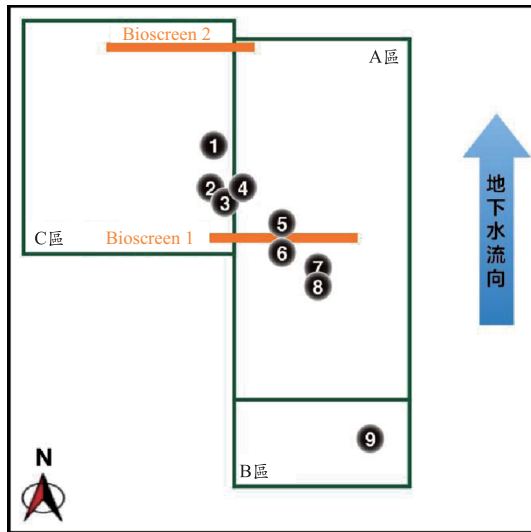


圖 1 台灣南部某污染場址中的採樣點位置圖。

性評估的依據。即時定量聚合酶鏈鎖反應 (Quantitative PCR, qPCR) 為一結合傳統 PCR 法，且於熱循環反應中即時偵測螢光累積量之技術，並利用本研究針對目標基因所建立的檢量線來定量總細菌群、*Dehalococcoides* 屬及 *Desulfitobacterium* 屬的 16S rRNA。

## 1.2 研究目的

本研究利用 SybrGreen-qPCR 法來評估台灣南部某氯烯類污染場址，兩個關鍵菌群 *Dehalococcoides* 屬和 *Desulfitobacterium* 屬於生物復育兩年期間之數量變化，及其與氯烯類濃度分佈之相關性，以進一步了解該類型污染場址之生物處理的可行性與有效性。

## 二、研究方法

### 2.1 樣本來源

本研究的分析樣本採自 2013 年 8 月及 2015 年 12 月於台灣南部某受氯烯類污染場址，其採樣點位置分佈圖如圖 1 所示。生物工法整治區域共分為 A (二氯乙烯和氯乙烯為主)、B (氯烯類為主) 和 C (氯烯類及氯烷類為主) 三區。為防止污染物擴散，分別於兩高濃度污染區設置 100 和 140

公尺之生物透水性反應牆(Bioscreen)。自 2013 年 1 月 ~ 9 月進行加藥灌注來降解場址中的氯烯類化合物，採樣點 3 之區域曾於 2014 年 2 月 ~ 11 月進行現地生物復育模場試驗，採樣點 1 及採樣點 9 之區域則於 2015 年 7 月 ~ 11 月進行現地生物復育整治模場試驗。本研究沿著地下水水流方向分別共採集 3 × 18 瓶 80 毫升水樣以保存揮發性有機物的專用棕色血清瓶，和 18 桶 5 公升的地下水水樣(2013 年與 2015 年各九桶)分別進行氯乙炔類物種濃度與目標微生物定量之分析。

### 2.2 氯乙炔類化合物分析

本研究現地採集地下水樣本中的氯乙炔類化合物(含四氯乙烯、三氯乙烯、1,2-二氯乙烯和氯乙烯等)，委託具有認證的檢驗公司，以環檢所公告之水中揮發性有機化合物檢測方法—吹氣捕捉／氣相層析質譜儀法(NIEA W785.55B)進行分析。

### 2.3 DNA 萃取

本研究首先將所採集之地下水水樣以 0.3 μm 的玻璃纖維濾紙(Advantec Grade GF75, 47 mm, Japan)分別以 50 ~ 1000 ml 的體積進行濃縮過濾。DNA 則是以 PowerLyzer® PowerSoil® DNA Isolation Kit (MOBIO, CA)商用套件為基礎的改良法進行萃取(游漢威等, 2015)，回溶並定量至 50 μl，再以 Nanodrop 2000 (Thermo Scientific, USA)分析其濃度和純度。

### 2.4 分子選殖(PCR-Cloning)

本研究首先針對三種目標菌群(總細菌群、*Dehalococcoides* 屬、*Desulfitobacterium* 屬)之 16S rRNA 基因進行標準 DNA 模板的篩選，其專一性引子資訊和 PCR 分析條件請參閱游漢威等 (2015)。將三組專一性引子所放大後的正確片段，分別與 pGEM®-T Easy Vektor 套組(Promega, USA)進行反應後，置入勝任細胞培養，再以洋菜培養進行藍白篩選培養後，隨機挑選數十個 clony 確認為具有正確目標片段的樣本再次進行培養後，委託成大基因體醫學中心進行核酸自動定序

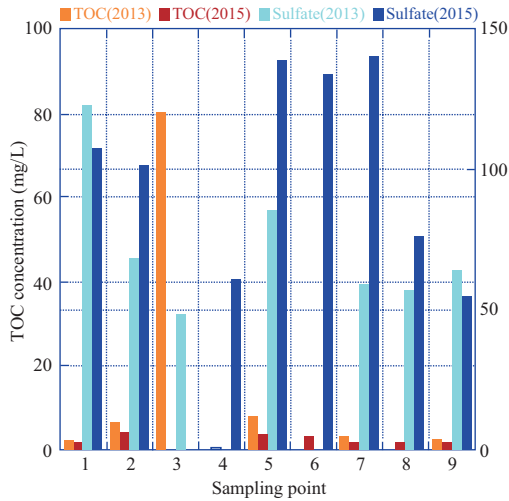


圖 2 整治前後現地場址中總有機碳(TOC)和硫酸鹽濃度變化。

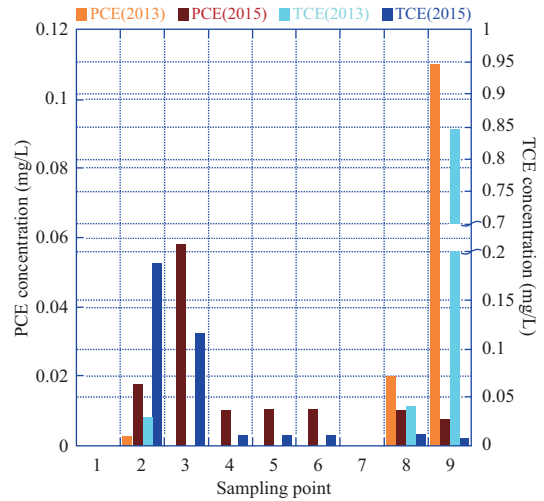


圖 3 整治前後現地場址中 PCE 和 TCE 濃度變化。

儀定序。於序列分析後，挑選數量最多、且與目標菌群相似度最高的 clony 做為後續 qPCR 分析實驗的標準 DNA 模板。

## 2.5 即時定量聚合酶鏈鎖反應(Quantitative PCR, qPCR)

本研究是以 2x qPCR SYBr Mix Lo-ROX 實驗套組進行 qPCR 反應液配製，總反應體積為 20  $\mu$ l，並於均勻混合後搭配 LightCycler® 480 Instrument II (Roche, USA) 進行 qPCR 反應，其反應條件請參閱游漢威等(2015)。三組引子組的檢量線的偵測極限可達到  $2.32 \times 10^1 \sim 2.32 \times 10^2$  Copies/L groundwater ( $R^2 = 0.9965 \sim 0.9990$ )，而待測的樣品則以雙重複試驗搭配控制組進行分析。

## 三、結果與討論

### 3.1 現地污染場址地質化學特性分析結果

本研究首先針對目標污染場址中，生物整治區域內的 9 個採樣點進行基本現地地質化學參數的探討。分析結果顯示，生物整治前後期的溶氧範圍均落在 0 ~ 2.1 mg/L，而氧化還原電位則為 -170 ~ 91 mV，表示現地整治區域偏向無氧和厭氧環境，適合以厭氧還原脫鹵法進行現地復育 (Bradley, 2003)。

圖 2 為現地場址中整治前後的總有機碳和硫酸鹽濃度變化趨勢。在總有機碳方面，2013 年的水質結果顯示，九個採樣點中只有採樣點 3 的總有機碳濃度高達 80 mg/L，其餘 8 點的濃度均低於 10 mg/L；而在 2015 年時，所有採樣點的濃度均降至 5 mg/L。在硫酸鹽方面，整治前後的濃度範圍為 54.2 ~ 140 mg/L，且於 2015 年觀察到其累積於生物牆(Bioscreen 1)周圍的觀測井 5、6 和 7。上述兩項水質指標將影響脫氯反應的代謝速率與微生物種類的優勢培養。

圖 3 為生物整治前後期現地場址中四氯乙烯(PCE)和三氯乙烯(TCE)的濃度變化。2013 年的分析結果顯示，採樣點 3、4、5 和 6 均無檢測到四氯乙烯和三氯乙烯，然而於 2015 年均檢測到兩種化合物濃度為 0.01 ~ 0.12 mg/L (PCE 和 TCE 的法規標準均為 0.05 mg/L)。此外，採樣點 2 也觀察到相同的濃度增加趨勢(PCE 和 TCE 分別自 0.002 mg/L 和 0.029 mg/L 增加至 0.017 mg/L 和 0.19 mg/L)。此現象推測為污染物在降解或轉化過程中隨地下水流向重新分佈，而滯留或累積於先前未檢測到污染物濃度的觀測井，導致採樣點 3、4、5 和 6 於整治後期分析到高濃度的 PCE 和 TCE。兩年期的整治結果顯示，位於高濃度污染源採樣點 8 和 9，其 PCE 和 TCE 的去除率可

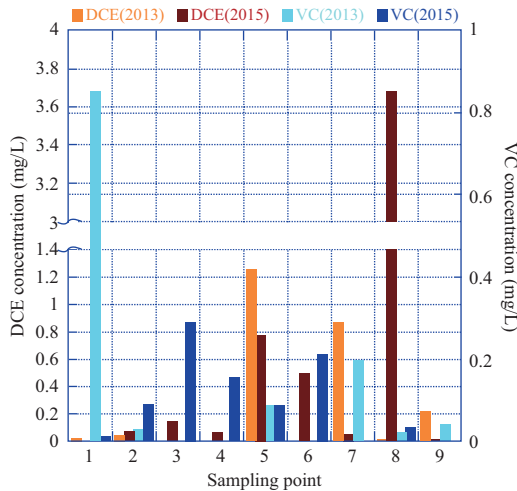


圖 4 整治前後現地場址中 DCE 和 VC 濃度變化。

高達九成以上。

圖 4 為生物整治前後現地場址中順-1,2-二氯乙烯(cis-1,2-DCE)和氯乙烯(VC)的濃度變化。2013 年的分析結果顯示，採樣點 5 和 7 的順-1,2-二氯乙烯與氯乙烯均超過法規標準的 0.70 mg/L 和 0.02 mg/L，此外採樣點 1 的氯乙烯高達 0.85 mg/L。2015 年的結果則發現，原本具有高濃度的採樣點 1、5 和 7，經過兩年的生物復育能被有效地被降低。然而採樣點 2、3、4、6 和 8 則於 2015 年檢測到高濃度的順-1,2-二氯乙烯與氯乙烯，其中又以採樣點 8 的順-1,2-二氯乙烯高達 3.68 mg/L。上述結果顯示，原出現高濃度污染物的觀測井於整治後期發現其濃度大幅減少，然而卻於原本未檢測出的觀測井量測到高濃度的污染物，推測位於場址南端的採樣點 8 和 9 中的 PCE 及 TCE 濃度在降解或轉化過程中，可能會伴隨地下水流向的移動，而滯留或累積於採樣點 2、3、4、6 及 8，再加上中間產物 DCE 和 VC 具有生物毒性，降低現地微生物的分解能力，以致於整治後期觀察到 DCE 及 VC 平均分佈於所有採樣點。

上述結果顯示，本研究所觀測的污染場址中總氯乙烯類濃度範圍為 0.01 ~ 3.73 mg/L，經過 28 個月的生物整治後，以位於中高污染區(約佔總監測井數的 44%)的場址來估算總氯乙烯類的去除效率，獲得每年每公升地下水可去除 1.48 mg

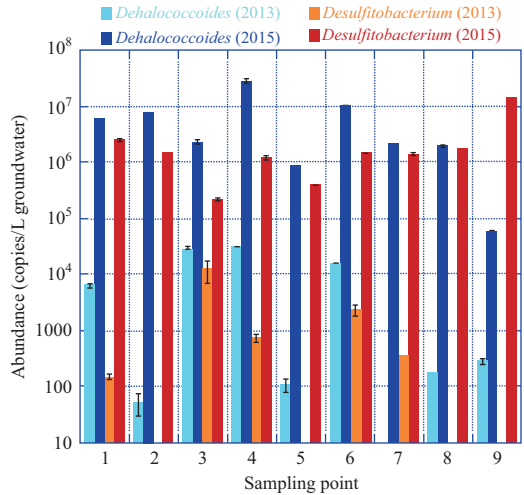


圖 5 整治前後現地場址中兩種脫氯菌群豐富度。

的總氯乙烯類污染物。

### 3.2 污染場址中 *Dehalococcoides* 屬與 *Desulfitobacterium* 屬的豐富度

本研究以 SybrGreen-qPCR 法定量目標場址於整治前後期 9 個觀測井中兩脫氯菌群 (*Dehalococcoides* 屬和 *Desulfitobacterium* 屬) 的數量變化，其結果彙整於圖 5。分析結果顯示，負責高氯數乙烯化合物降解的 *Desulfitobacterium* 屬由整治前七個月的  $<2.32 \times 10^1 \sim 1.27 \times 10^4$  Copies/L groundwater 增加至整治後期的  $2.24 \times 10^5 \sim 1.40 \times 10^7$  Copies/L groundwater，其生長速率約為每年每公升地下水可增加  $2 \times 10^5$  cells (根據每年每公升地下水可增加  $1.17 \times 10^6$  Copies 的生長速率，與 1 個 cell 約具有 6 copies 來計算)。而具有完整脫氯功能的 *Dehalococcoides* 屬的數量於整治前後亦增加  $10^3$  倍以上，且最高可達  $2.80 \times 10^7$  Copies/L groundwater，其生長率約為每年每公升地下水可增加  $2.8 \times 10^6$  cells (根據每年每公升地下水  $2.8 \times 10^6$  Copies 的生長速率，與 1 個 cell 約具有 1 copy 來計算)。

上述結果顯示，目標場址經近兩年的生物整治，兩脫氯菌群(*Dehalococcoides* 屬和 *Desulfitobacterium* 屬) 的數量均增加  $10^3$  倍以上，顯示現地場址能有效地優勢培養目標菌群，以利

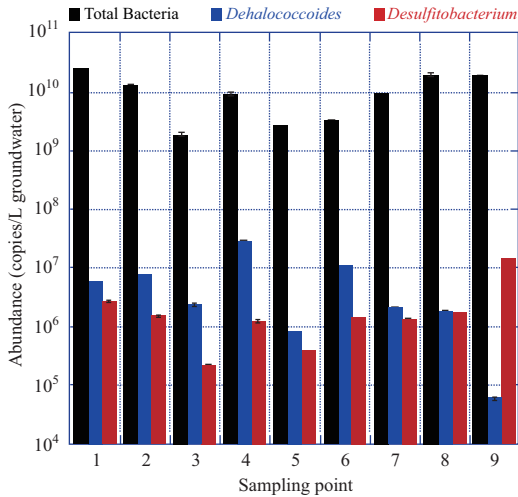


圖 6 2015 年現地場址中總細菌群與兩種脫氯菌群之數量。

污染物的降解。對照現地氯烯類化合物的分析結果，含高氯原子鍵結的四氯乙烯和三氯乙烯於整治前後的去除率高達九成，而低氯原子數的順-1,2-二氯乙烯和氯乙烯也達七成，顯示優勢培養脫氯菌群有助於降低現地場址中的污染物濃度。

現地生物工法的適用性，除了考量整治前後菌數的增長幅度之外，目標菌群相對於總細菌群的比例也是一項重要的指標。圖 6 為 2015 年現地污染場址地下水中總細菌群與兩脫氯菌群之豐富度，結果顯示總細菌群約為兩脫氯菌群之  $10^3 \sim 10^4$  倍，其中 *Dehalococcoides* 屬約佔總細菌群的 0.01 ~ 0.32%，此結果與 Ritalahti *et al.* (2006) 所觀察到數量相近，指出一般受氯烯類污染的非整治場址，其地下水中 *Dehalococcoides* 屬約佔總細菌群的 0.03% (Ritalahti *et al.*, 2006)。

此外，本研究亦發現污染場址中 9 個觀測井的地下水樣本中，除了觀測井 9 之外，其餘 8 個觀測井均以 *Dehalococcoides* 屬為兩脫氯菌群中的相對優勢菌群，約為 *Desulfitobacterium* 屬的 1.1 ~ 23.0 倍，推測可能是因 *Dehalococcoides* 屬包含負責階段性降解不同含氯數的乙烯類化合物之不同種或株，相對降解單一污染物(四氯乙烯)的 *Desulfitobacterium* 屬更有利生長於存在多元化合物的現地場址中。然而觀測井 9 則是

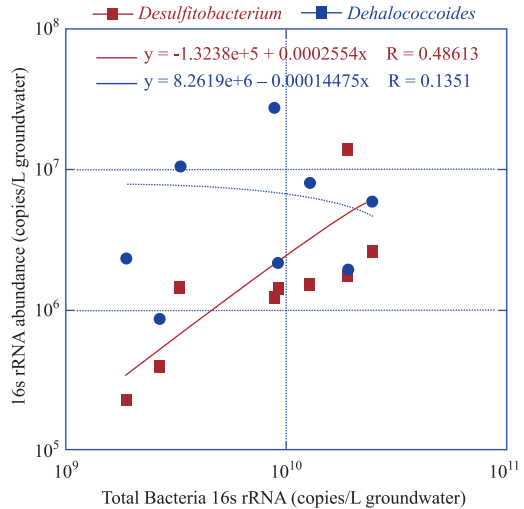


圖 7 2015 年現地場址中兩種脫氯菌群與總細菌群之相關性。

以 *Desulfitobacterium* 屬為較優勢菌群 (為 *Dehalococcoides* 屬的 232 倍)，可能是因高濃度的四氯乙烯(0.11 mg/L)、三氯乙烯(0.85 mg/L)和硫酸鹽(63.5 mg/L)有利於 *Desulfitobacterium* 屬的生長。

### 3.3 兩脫氯菌群與總細菌群間的相關性

本研究為進一步了解現地污染場址監測區域內地下水井中兩脫氯菌群是否為可優勢培養的菌群，整合上述實驗結果於繪製於圖 7。結果顯示 *Desulfitobacterium* 屬數量與總細菌群豐富度呈正相關( $R^2 = 0.486$ )，而 *Dehalococcoides* 屬與總細菌群數間的增加趨勢則較不明顯，推測可能是因本研究選定的污染場址中硫酸鹽偏高，有利於 *Desulfitobacterium* 屬的生長。*Desulfitobacterium* 屬為著名的硫酸還原菌，其中 strain PCE1 可在厭氧環境下以有機物為電子提供者，同時還原四氯乙烯和亞硫酸鹽 (Gerritse *et al.*, 1996)。

上述結果顯示，以目前所使用的生物工法進行現地污染場址整治，兩脫氯菌群可被有效地優勢培養，且菌量可高達  $10^7$  Copies/L groundwater 以上，高於其他污染場址地下水樣本中脫氯菌群菌數的  $10^4 \sim 10^5$  Copies/L groundwater (Lee *et al.*, 2008)。

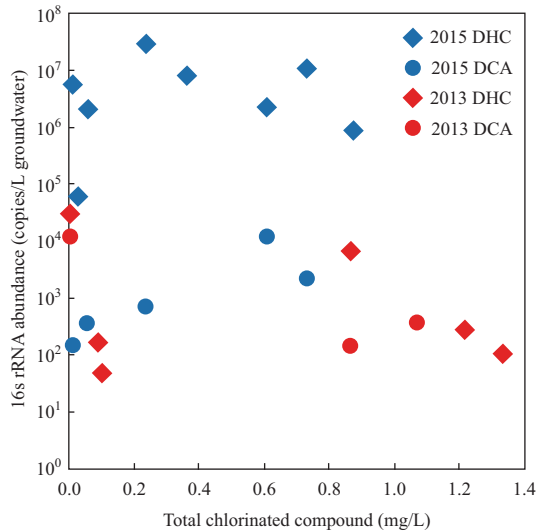


圖 8 整治前後現地場址中兩脫氯菌群與總氯烯類濃度之相關性。

### 3.4 污染場址中脫氯菌群數量與總氯烯類濃度間的相關性

目標污染場址中氯乙烯類化合物的背景濃度、種類、與污染歷史將造成脫氯菌群的存在與否和生長速率之差異。本研究所探討的場址為過去遭受氯烯類化學品的污染，近兩三年來開始進行生物整治。

圖 8 為現地污染場址中 *Dehalococcoides* 屬和 *Desulfitobacterium* 屬與總氯烯類(即四氯乙烯、三氯乙烯、順-1,2-二氯乙烯和氯乙烯之總和)間的相關性。結果顯示，在 2013 年場址整治初期，*Dehalococcoides* 屬和 *Desulfitobacterium* 屬的數量均為  $10^2 \sim 10^5$  Copies/L groundwater，相近於長期遭受氯烯類污染的地下水中的兩菌群濃度 (Lee *et al.*, 2008)。於 2015 年，*Dehalococcoides* 屬明顯地增加至  $10^4 \sim 10^7$  Copies/L groundwater；然而 *Desulfitobacterium* 屬的數量則維持在  $10^2 \sim 10^4$  Copies/L groundwater，顯示兩年期間的生物整治能有效地優勢培養 *Dehalococcoides* 屬。

在兩菌屬數量與總氯烯類的相關性方面，根據 2015 年的數據，發現 *Desulfitobacterium* 屬的豐富度隨著總氯烯類濃度的增加而增加；而

*Dehalococcoides* 屬於兩個採樣年度均無明顯的相關性。van der Zaan *et al.* (2009) 的研究結果發現，*Dehalococcoides* 屬的數量與總溶解有機碳具有較高的相關性，而非只針對總氯烯類。推測可能是因 *Dehalococcoides* 屬具有降解多種有機碳化合物的能力，而非只限於氯烯類化合物。

## 四、結論

本研究應用即時定量 PCR (qPCR) 技術來評估台灣南部某污染場址整治前後地下水中兩脫氯菌群的豐富度，及與現地背景水質數據進行相關性分析，以進一步了解其生物整治的有效性。研究結果顯示，應用於現地場址的生物工法能有效地優勢培養兩脫氯菌群，且於整治前後的數量均增加  $10^3$  倍以上，高達  $10^7$  Copies/L groundwater。

在氯烯類濃度方面，近兩年的整治時期能有效地將高濃度區域中的四氯乙烯、三氯乙烯、順-1,2-二氯乙烯和氯乙烯減少七成以上。然而，本研究卻同時觀察到原本未檢測到氯烯類污染物，或原存在低濃度污染物的區域中檢測到高濃度的氯烯類，推測污染物隨著地下水流出現移動現象。因此，在整治污染場址的規劃區域時，也需同時留意污染物的轉移。

## 五、誌謝

本研究感謝科技部計畫(MOST 105-2622-E-006-020-CC2)及中環科技事業股份有限公司提供研究經費，並感謝捷博科技股份有限公司與瑞昶科技股份有限公司協助提供化學分析結果。

## 六、參考文獻

- Bradley, P. M., "History and Ecology of Chloroethene Biodegradation: A Review," *Bioremediation Journal*, 7, pp. 81-109, 2003.
- Doherty, R. E., "A History of the Production and Use of Carbon Tetrachloride, Tetrachloroethylene, Trichloroethylene and 1, 1, 1-Trichloroethane in the United States: Part 1--Historical Background;

- Carbon Tetrachloride and Tetrachloroethylene,” *Environmental forensics*, 1(2), pp. 69-81, 2000.
3. Ensley, B. D., “Biochemical Diversity of Trichloroethylene Metabolism,” *Annual Review of Microbiology*, 45(1), pp. 283-299, 1991.
  4. Futagami, T., Goto, M. and Furukawa, K., “Biochemical and Genetic Bases of Dehalorespiration,” *Chem Rec*, 8(1), pp. 1-12, 2008.
  5. Gerritse, J., Renard, V., Gomes, T. M. P. *et al.*, “Desulfitobacterium sp. strain PCE1, An Anaerobic Bacterium That Can Grow by Reductive Dechlorination of Tetrachloroethene or Ortho-chlorinated Phenols,” *Archives of Microbiology*, 165(2), pp. 132-140, 1996.
  6. Kuo, M.-C., Chen, C.-M., Lin, C., Fang, H. *et al.*, “Surveys of Volatile Organic Compounds in Soil and Groundwater at Industrial Sites in Taiwan,” *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 65(5), pp. 654-659, 2000.
  7. Lee, P. K. H., Macbeth, T. W., Sorenson, K. S. *et al.*, “Quantifying Genes and Transcripts To Assess the In Situ Physiology of “Dehalococcoides” spp., in A Trichloroethene-Contaminated Groundwater Site.” *Appl. Environ. Microbiol.*, 74(9), pp. 2728-2739, 2008.
  8. Löffler, F. E., Yan, J., Ritalahti, K. M. *et al.*, “Dehalococcoides mccartyi gen. nov., sp. nov., Obligately Organohalide-Respiring Anaerobic Bacteria Relevant to Halogen Cycling and Bioremediation, belong to A Novel Bacterial Class, Dehalococcoidia classis nov., Order Dehalococcoidales ord. nov. and Family Dehalococcoidaceae fam. nov., within the Phylum Chloroflexi,” *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 63 (Pt 2), 2013.
  9. Oolman, T., Godard, S., Pope, G., Jin, M. *et al.*, “DNAPL Flow Behavior in A Contaminated Aquifer: Evaluation of Field Data,” *Groundwater Monitoring & Remediation*, 15(4), pp. 125-137, 1995.
  10. Ritalahti, K. M., Amos, B. K., Sung, Y. *et al.*, “Quantitative PCE Targeting 16S rRNA and Reductive Dehalogenase Genes Simultaneously Monitoring Multiple Dehalococcoides Strain,” *Appl. Environ., Microbiol.*, 72(4), pp. 2765-2774, 2006.
  11. Sung, Y., Ritalahti, K. M., Sanford, R. A. *et al.*, “Characterization of Two Tetrachloroethene-Reducing, Acetate-Oxidizing Anaerobic Bacteria and Their Description as *Desulfuromonas michiganensis* sp. nov.,” *Applied and Environmental Microbiology*, 69(5), pp. 2964-2974, 2003.
  12. van der Zaan. B., Hannes, F., Hoekstra, N., Rijinaarts, H., Vos, W. M., Smidt, H. and Gerritse, J., “Correlation of Dehalococcoides 16S rRNA and Chloroethene-Reductive Dehalogenase Ganes with Geochemical Conditions in Chloroethene-Contaminated Groundwater,” *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 76, No. 3, pp. 843-850, 2009.
  13. Vogel, T. M., Criddle, C. S. and McCarty, P. L. “ES&T Critical Reviews: Transformations of Halogenated Aliphatic Compounds,” *Environmental Science & Technology*, 21(8), pp. 722-736, 1987.
  14. 游漢威、莊蕙萍、簡義杰、董珮伶、黃良銘、林財富，「SybrGreen-qPCR 法定量氯烯類污染區域中關鍵微生物菌群與其功能性基因」，中華民國環境工程學會 2015 土壤與地下水研討會，桃園中原大學，11 月 14-15 日，2015。
- 收稿日期：民國 105 年 4 月 26 日  
 修正日期：民國 105 年 7 月 25 日  
 接受日期：民國 105 年 8 月 25 日