國立交通大學

環境工程研究所

碩士論文



High-rate composting of barley dregs with sewage sludge

and its application

研究生: 吕理安

指導教授: 林志高 博士

中華民國 九十四 年 八 月

麥粕與下水污泥快速堆肥及其應用

High-rate composting of barley dregs with sewage sludge

and its application

研究生:呂理安Student:Li-An Lu指導教授:林志高 博士Adviser:Dr. Jih-Gaw Lin

國立交通大學



Submitted to Institute of Environmental Engineering College of Engineering National Chiao Tung University In Partial Fulfillment of the Requirements For the Degree of Master of Science In

> Environmental Engineering August 2005 Hsinchu, Taiwan, Republic of China



麥粕與下水污泥快速堆肥及其應用

研究生: 呂理安 指導教授: 林志高 博士

國立交通大學環境工程研究所

摘要

台灣每年生產啤酒量約三十萬公噸,其中麥粕產量約六萬噸。由於麥粕 仍含有大量未糖化之有機物,包括蛋白質及碳水化合物等,其後續處理相 當不易。此外國內生活污水及工廠所排放之污水量逐年增加,污水處理後 衍生出大量污泥影響到水及土壤的品質。因此必須發展出一套預處理及回 收的方法來處理麥粕及下水污泥。好氧堆肥是一種簡單、經濟的生物處理 技術,能分解有機物質將其轉變為有經濟價值的有機肥料或是土壤調節 劑。由於污泥中所含的有機物質較少,若單一以污泥作為堆肥的材料,所 得到的堆肥成品品質較差。有鑑於此,本研究以添加麥粕的方式增加基質 中的有機物,以期能達到廢麥粘與下水污泥減量及資源化的目的。

根據實驗結果顯示,由溫度、二氧化碳產率及揮發性固體物損失率之結 果可推測麥粘與下水污泥中之有機物可在 5-7 天內完全達到分解。此外, 本研究採用中央合成設計 (CCD) 配合反應曲面法 (RSM),以改變操作條 件 (掺合比、含水率)的方式,進行多組實驗,探討不同操作條件對於堆肥 中反應變數 (碳分解率、總揮發性固體物損失率) 的影響,以評估最佳操作 條件。實驗之結果顯示麥粕與下水污泥快速堆肥最佳生物降解之掺合比約 在 35-40% 之間,而含水率在 55-60% 之間,其碳分解率及總揮發性固體 物損失率符合二階多項式模式。

在生物吸附實驗方面,以不同初始重金屬濃度之方式探討腐熟堆肥吸附 Cu()及Pb()的能力,得到對Cu()和Pb()的最大吸附能力 分別為0.58及0.10mmol/g,其吸附模式則較符合Langmuir isotherm。 關鍵字:麥粕、下水污泥、中央合成設計、最佳操作條件、生物吸附



High-rate composting of barley dregs with sewage sludge and

its application

Student : Li-An Lu Advisor :

Advisor : Dr. Jih-Gaw Lin

Institute of Environmental Engineering National Chiao Tung University

Abstract

Barley dregs wastes accounts for about 20% of the 300,000 tons of beer production per year in Taiwan. The disposal of barley dregs wastes is difficult due to the restrictive characteristics of barley dregs, such as high protein, carbohydrates and cellulose contents. The large amounts of sewage sludge are discharged by households and industry which gradually increases to affect the water and soil quality. Therefore, it is necessary to develop pretreatment and recycling methods for barley dregs wastes with sewage sludge. Consequently, the reduction and reclamation of barley dregs and sewage sludge would achieve simultaneously by using aerobic composting process.

From the results of temperature, CO_2 evolution rate and volatile solid loss rate showed that the organic matters in the barley dregs and sewage sludge could be completely biodegraded within 5 to 7 days. A central composite design (CCD) and response surface methodology (RSM) were applied to investigate the influence of operational conditions (mix ration and moisture content) on the properties of product obtained (carbon decomposition rate and TVS loss rate) in order to determine the optimaum operating conditions for the composting of barley dregs with sewage sludge. The range of the independent variable measured was 35-40% for mix ratio and 55-60% for moisture content. A second-order polynomial model consisting of two independent variables was found to accurately describe the carbon decomposition rate and TVS loss rate.

The adsorption capacity of compost product for Cu () and Pb () was studied at various initial metal ion concentrations (from 10 to 250 mg/L). The biosorption data fitted better with Langmuir adsorption isotherm model. Batch experiments showed that the maximum adsorption capacities of compost for lead and copper were 0.58 and 0.10 mmol/g, respectively.

Keywords: barley dregs, sewage sludge, central composite experimental design, optimaum operating condition, biosorption

IV

看著環工所內新血的注入,回想起過去兩年的研究所生活實在感觸良 多,由於大學時代就讀土木工程學系,從一開始對於環境工程領域的一切 是那麼的陌生,至今可以明顯的感覺到自己的成長,這中間要感謝的人實 在太多了。首先感謝我的指導教授這兩年來的細心指導,除了專業知識的 學習以外,同時也提供很多獨立思考判斷與解決問題的學習機會。還要感 謝 Dr. Pugal 在英文修改方面提供莫大的幫助,並給予我們開口說英文的 機會。另外,口試期間也承蒙宋士武老師、陳重元老師以及陳勝一學長於 百忙之中抽空閱讀論文,並提供許多寶貴的意見與指導,使得論文的整體 架構與內容更加完善,提升論文的品質。

在研究的過程中,最要感謝人傑學長的幫助,研究上大大小小的問題 都一一細心解答,使得研究得以順利完成。此外還要感謝學弟義雄於實驗 上的諸多幫忙;秀鳳學姐、榮杰學長以及小泡在分生實驗上的協助;建銘 學長和少奇在球場上的指導;至誠、憲昌學長、曉芬學姐以及學妹珮琦、 怡湘接受我冷笑話的荼毒。另外特別感謝我這一生的摯友政弘及阿幹,沒 有你們的陪伴我就無法度過這兩年的低潮時期。最後要感謝的是我的家 人,由於你們全力地支持,讓我得以全心投入研究無後顧之憂完成學業。

呂理安 謹誌於交通大學環工所

V

中文摘要
英文摘要 Ⅲ
誌謝V
目錄VI
表目錄X
圖目錄XII
第一章 前言1
1.1 研究緣起1
1.2 研究目的
第二章 文獻回顧
2.1 好氧堆肥 (Aerobic composting) 之概述
2.1.1 好氧堆肥概念與分類 4
2.1.2 好氧堆肥原理5
2.2 堆肥過程之微生物相6
2.3 堆肥過程物化變化8
2.4 堆肥之影響參數11
2.5 過去文獻堆肥比較論述14
2.5.1 下水污泥性質及特性 14

	2.5.2 不同堆肥物料及方式比較	14
	2.5.3 雨種物料以上混合堆肥其參數及評估反應優劣指標之比較	交
		16
2.6	分子生物學技術	19
	2.6.1 變性梯度凝膠電泳 (Denaturing gradient gel	
	electrophoresis)	19
2.7	利用生物吸附劑吸附重金屬	20
	2.7.1 Langmuir 等溫線吸附模式	20
	2.7.2 Freundlich 等溫線吸附模式	20
2.8	麥粘與下水污泥混合堆肥程序之實驗設計	23
	2.8.1 中央合成設計 (CCD)	23
	2.8.2 反應曲面法(Response surface methodology)	24
2.9	質量平衡	26
	2.9.1 水分質量平衡	26
	2.9.2 揮發性有機物和灰分質量平衡	28
三章	實驗方法與步驟	30
3.1	實驗材料與設備	30
	3.1.1 實驗材料	30
	3.1.2 實驗設備	31
3.2	實驗流程	38

第

3.3	實驗方法	40
3.4	分析項目及方法	41
	3.4.1 温度及二氧化碳	41
	3.4.2 pH 及電導度值	41
	3.4.3 灰份、含水率及總揮發性固體物	41
	3.4.4 堆肥萃取液	41
	3.4.5 種子發芽測試 (Seed germination test)	42
	3.4.6 分子生物學技術	43
	3.4.6.1 DNA 萃取	44
	3.4.6.2 PCR 實驗	44
	3.4.6.3 DGGE 實驗 ¹⁸⁹⁶	44
3.5	批次實驗規劃	46
3.6	利用腐熟堆肥成品吸附重金屬實驗	48
	3.6.1 pH 值實驗	48
	3.6.2 Langmuir 等溫線吸附實驗	49
	3.6.3 Freundlich 等溫線吸附實驗	49
第四章	結果與討論	50
4.1	麥粘與下水污泥混合堆肥實驗	50
	4.1.1 反應溫度變化	50

	4.1.2 pH 值變化	52
	4.1.3 含水率之變化	56
	4.1.4 電導度值之變化	57
	4.1.5 二氧化碳產率與累積二氧化碳生成量之變化	57
	4.1.6 總有機碳 (TOCw) 和凱氏氮 (TKNw) 之變化	59
	4.1.7 總揮發性固體物損失率之變化	62
	4.1.8 堆肥品質之測定	63
4.2	麥粘與下水污泥混合堆肥最佳化實驗	68
	4.2.1 中央合成設計結果	68
	4.2.2 配適二階模型之設計	73
	4.2.3 模型適當性與常態性假設檢驗	76
4.3	生物降解動力模式探討	80
4.4	麥粘與下水污泥混合堆肥質量平衡	83
	4.4.1 水分質量平衡	83
	4.4.2 揮發性有機物質量平衡	84
4.5	分子生物學實驗 (DGGE)	86
4.6	利用腐熟堆肥吸附重金屬實驗	88
	4.6.1 pH 值實驗	88
	4.6.2 Cu (Ⅱ) 及 Pb (Ⅱ) 初始濃度之影響實驗	88

第五章	結與建議
5.1	結論
5.2	建議99
第六章	參考文獻101
附錄一	分子生物實驗步驟110
	Genomic DNA 萃取步驟110
	PCR 步驟112
附錄二	反應槽操作對策表115
附錄三	實驗原始數據總灠116



表目錄

表	2-1.	污泥基本成分及性質分析	15
表	2-2.	污泥重金屬成分及性質分析	15
表	2-3.	不同基質來源及堆肥方式比較	17
表	2-4.	混合堆肥基質來源、參數及評估指標比較	18
表	2-5.	生物吸附相關文獻資料	22
表	3-1.	反應物料之基本組成	32
表	3-2.	分析項目、方法及儀器	43
表	3-3.	膠體濃度	45
表	3-4.	因子水準表	46
表	3-5.	實驗操作條件	47
表	4-1.	掺合比 50% 含水率 55% 添加量	51
表	4-2.	堆肥時程之比較	66
表	4-4.	中央合成設計因子與對應反應參數表	69
表	4-5.	中央合成設計因子與相關反應參數表	70
表	4-6.	碳分解率之變異數分析	74
表	4-7.	迥歸係數預測碳分解率之結果	74
表	4-8.	TVS 損失率之變異數分析	75
表	4-9.	廻歸係數預測 TVS 損失率之結果	75

表 4-10. 二氧化碳產率與溫度及 CTMI 模式預測	J值之相關係數81
表 4-11. 水分質量平衡表	
表 4-12. Cu(Ⅱ)初始濃度對生物吸附之影響	
表 4-13. Pb(Ⅱ) 初始濃度對生物吸附之影響	
表 4-14. 不同生物吸附劑對 Cu (Ⅱ) 及 Pb (Ⅱ)	吸附能力比較 (q _{max}) 95
表一 PCR 藥劑添加劑量表	112
表二 PCR 反應程序表	112
表三 DGGE 製膠劑量添加表	114



圖目錄

圖	2-1.	2 因子	CCD	示意圖						 24
圖	3-1.	分別以	稻殼和	木屑為	調整材	反應溫月	度圖			 31
圖	3-2.	反應槽	側邊透	明壓克	力板					 33
圖	3-3.	實驗設	備圖							 34
圖	3-4.	反應槽	設備全	·景圖						 35
圖	3-5.	攪拌機								 37
圖	3-6.	實驗流	程圖							 39
圖	3-7.	實驗分	析流程	圖						 42
圖	4-1.	堆肥化	過程中	溫度之	變化 (N	AR:50%	%, MC5	5%)		 53
圖	4-2.	堆肥化	過程中	溫度之	變化 (N	/R:71%	%, MC 4	4%)		 53
圖	4-3.	麥粕與	稻殼堆	肥化過	程中溫	度之變亻	ይ			 54
圖	4-4.	堆肥化	過程中	pH之	變化 (N	IR:50%	, MC5	5%)		 54
圖	4-5.	堆肥化	過程中	pH之	變化 (N	IR:71%	», MC4	4%)		 55
圖	4-6.	堆肥化	過程中	含水率	之變化	(MR:5	0%, M	C55%)		 55
圖	4-7.	堆肥化	過程中	電導度	值之變	化 (MR	:50%,	MC559	%)	 58
圖	4-8.	二氧化	碳產率	與累積	產量之	變化 (№	IR:50%	%, MC5	55%)	 58
圖	4-9.	二氧化	碳產率	與溫度	之關係	(MR:5	0%, M	C55%)		 60
圖	4-10	. 堆肥化	上過程約	悤有機研	炭之變化	. (MR:	50%, N	ЛС55%	b)	 60

XII

圖	4-11. 堆肥化過程凱氏氮之變化 (MR:50%, MC55%)	61
圖	4-12. 堆肥化過程總揮發性固體物損失率之變化 (MR:50%, MC55%	%)
••••		61
圖	4-13. 種子發芽實驗結果	65
圖	4-14. 堆肥成品	66
圖	4-15. 碳分解率反應曲面圖	71
圖	4-16. 碳分解率等高線圖	71
圖	4-17. TVS 損失率反應曲面圖	72
圖	4-18. TVS 損失率等高線圖	72
圖	4-19. 碳分解率之殘差對配適值圖	78
圖	4-20. 碳分解率之殘差常態機率圖	78
圖	4-21. TVS 損失率之殘差對配適值圖	79
圖	4-22. TVS 損失率之殘差常態機率圖	79
圖	4-23. CTMI 模式預測之二氧化碳產率值與實際值比較圖	82
圖	4-24. 堆肥化質量平衡圖	85
圖	4-25. 麥粕與下水污泥混合堆肥 (MR: 50%, MC: 55%) DGGE 電泳	永圖
••••		87
圖	4-26. 初始 pH 值對 Cu (Ⅱ) 吸附效率之影響	89
圖	4-27. 初始 pH 值對 Pb(Ⅱ) 吸附效率之影響	89
圖	4-28. Cu (Ⅱ) 生物吸附線性形式之 Langmuir isotherm	94



第一章 前言

1.1 研究緣起

近年來隨著經濟發展、人口膨脹與都市生活水準急速提升的情況下, 導致工業廢水與都市污水處理量大增,加上政府提倡增加下水道接管率的 政策下,下水污泥產量會不斷地增加是可預期的。以台北市為例,預計在 民國 93 年每天將產生近 500 公噸的污泥,而至民國 98 年污水下水道普 及率將達 36%,並預估污泥產量將達每日 40,000 公噸,因此下水污泥的 處理便成了一棘手的問題 (童等,2002)。下水污泥的最終處置,主要可分 為掩埋、焚化以及再利用這三種方式 (Metcalf et al., 2003)。掩埋處理是污 泥傳統的處理方法,即是將下水污泥送至衛生掩埋場直接掩埋,中間不需 經過任何處理。污泥所含有機物質掩埋後經腐化分解產生臭味或衍生有害 微生物,對掩埋場周圍環境和地下水造成二次污染。目前台灣衛生掩埋場 容量已日趨飽和,新廠址因民眾抗爭使得取得非常困難,加上各國也修法 禁止生污泥的掩埋,因此必須尋找更佳替代方案取代傳統掩埋法。

利用焚化法處理下水污泥雖然能夠達到污泥減量的目的,但焚化後產 生灰燼及衍生的空氣污染、溫室效應問題,仍須進一步處理解決,此外焚 化設備繁雜維修養護不易所需處理費用較高,故以再利用方式為較佳選 擇。堆肥法即是一種可以穩定下水污泥的「再利用」方法,下水污泥不含 有毒性物質適合以堆肥法處理,其處理成本遠較焚化法低廉,土地取得及

民眾接受度較衛生掩理容易,基於廢棄物減量及有機物再生利用之精神, 在利用微生物分解有機物之同時,並無二次公害產生,可將下水污泥回收 再利用變成有經濟價值肥料,增加土地的肥沃度,為一值得推廣之處理方 法。

以下水污泥為堆肥材料時往往會受限於其過多的水分及較少的有機碳 來達到最佳堆肥條件 (Spinosa et al., 1987),同時也很難到達致病菌控制 所需的高溫期操作溫度。此外,較高的含水率導致空氣無法均均到達反應 槽每一個部位,容易產生厭氧狀態並伴隨強烈惡臭 (Liang et al., 1997)。

台灣每年生產啤酒量約三十萬公噸,其所產生之廢棄物主要為廢矽藻 土、酵母及麥粕三種。其中廢麥粕量約六萬噸。由於麥粕仍含有大量未糖 化之有機物,包括蛋白質及碳水化合物等,其中纖維質(麥皮)的含量最 多,其後續處理相當不易,倘若未經烘乾則會產生臭味。此外,其所需貯 存空間龐大,易造成環境的污染。面對產量如此龐大之廢棄物,應尋求適 當之處理方法,故考慮以麥粕和污泥混合堆肥降低下水污泥含水率,並藉 由有機碳含量較高的麥粕提高堆肥物料的有機物的含量並且帶動堆肥反應 使其能在高溫期達到更高的溫度,增加堆肥品質。因此,麥粕與下水污泥 混合堆肥除了可進行廢棄物減量之外,並達到同時將兩種廢棄物資源化的 目的。

1.2 研究目的

台灣地狹人稠開發新堆肥場地困難,加速堆肥腐熟仍是從事堆肥研究 工作旨者的最大挑戰,相關的研究指出有機廢棄物之堆肥時程多在十天以 上,甚至長達二到三個月。由經濟學的觀點而論,反應時間愈快,則所需 堆肥場地愈少,廢棄物處理量愈大。而現今大量的麥粕與下水污泥已成為 一潛在棘手的問題,有鑑於此,本研究以提昇堆肥速率為主軸,以麥粕與 下水污泥混合堆肥達到廢棄物減量的觀點為出發點,期能有效快速處理大 量廢棄物,解決實際問題。主要目的敘述如下:

- 1. 發展可快速堆肥之生化反應槽。
- 2. 藉由改變操控因子(掺合比、含水率),搭配實驗設計的方法 (Design of experiments) 找出最佳操作條件,以提昇分解速率。
- 利用腐熟堆肥成品作為一種新的生物吸附劑用來處理重金屬 (Cu ()、
 Pb ())。

第二章 文獻回顧

2.1 好氧堆肥 (Aerobic composting) 之概述

2.1.1 好氧堆肥概念與分類

隨著不同來源固體廢棄物產量的增加,許多國家遭遇有限的掩埋空間 和對於新掩埋場較嚴格的環境法規以及焚化所增加廢棄物處置費用等問 題,特別是已開發的國家。生物處理是一種成本低廉且有效方式用來處理 都市有機廢棄物。在實際應用例子上,主要應用到固體廢棄物的生物處理 程序就是堆肥。堆肥程序在過去 10 年之所以逐漸普及增加是由於環境利 益關係 (Bari et al., 2001):

- 快速轉換有機廢棄物為生物安定最終產物。
- 將廢棄物轉為堆肥的形式利用在農業、園藝上,如土壤調節劑、有機肥
 料和景觀美化材料等。
- 有效减少廢棄物所含的致病菌。
- 在最終處置掩埋之前達到廢棄物穩定化和體積減量。
- 便宜而有效率的固體廢棄物處理方法。

好氧堆肥是一種選擇性的生物技術適合用來處理廢棄物 (如污泥),這種生物技術具有簡單經濟的特質,能分解廢棄物中所含有機物質及養分, 並將其轉化為肥料或土壤調節劑。

一般堆肥程序可分為風道式堆肥、強制通氣式堆肥和槽式堆肥,風道

式及強制通氣式內部空氣流動情況差,氧氣難以有效與基質接觸,各部份 基質醱酵時間不同,溫度與反應難以保持均勻。而槽式堆肥提供下列潛在 的優點 (Diaz et al., 2003):

- 可以快速完成堆肥程序。
- 較佳空間使用效率。
- •排除外部室溫情況,一整年皆可維持快速分解程序。
- 可精準的控制含水率、溫度和通氣量。
- 產生均質且高品質的有機肥料。

槽式堆肥法主要的缺點是成本花費高,且需要特別和技巧性的管理。

2.1.2 好氧堆肥原理

堆肥程序是生物放熱反應,藉由氧化有機物質產生熱能。有機物質透過 礦化作用及腐殖化作用轉化為最終穩定型態的腐殖堆肥,其中大約 20-30% 的揮發性固體物被轉變為 CO₂ 及 H₂O (Pena et al., 1992)。在堆 肥程序中微生物扮演非常重要的角色,微生物經由自身的生命活動, 將一部份被吸收的有機物氧化為簡單的無機物,並釋放出生物生長活動所 需的能量,而將另一部份有機物轉化合成為新的細胞物質,使微生物生長 繁殖時產生更多的生物體,可用下列反應式表示 (Garrido Hoyos et al., 2002):

 Organic
 Microorganism

 Biodegradable + O_2 Stabilized organic residuals + Microbial biomass + CO_2 + H_2O + Heat

 Residual

2.2 堆肥過程之微生物相

在生物降解時微生物相之分布與優勢菌種數量隨著反應基質種類、處 理程序及環境條件不同而有所差異。參與堆肥的微生物中包含嗜中溫及嗜 高溫之好氧性或兼氧性微生物。一般堆肥反應中主要微生物通常包含細 菌、真菌、放射菌這三大類 (Beffa *et al.*, 1996; Epstein, 1997; Fang and Wong, 2000)。

好氧堆肥降解過程可依據溫度高低分為中溫、高溫以及降溫三階段並 分述如下:

(1) 中溫階段

生物降解初期,溫度分佈介於 15-45°C。此時, 嗜溫性微生物 (Mesophiles) 分解反應物料中可溶性有機物質而產生能量 (Epstein et al., 1997),加上反應槽的保溫作用使溫度不斷上升,細菌、真菌、放線菌等微 生物迅速繁殖。堆肥初期之菌種是以嗜中溫細菌為主 (尤其以桿狀細菌為 主),並具有最大活性,能將堆肥中之醣類、蛋白質及脂肪快速分解,並產 生能量 (童等,2002)。

(2) 高溫階段

當反應溫度上升至 45°C 以上時,便進入高溫階段。堆肥程序的高溫 期溫度一般可達 55-70°C,有助於消除病原菌。在此高溫下微生物種類變 少,中溫階段的微生物生長受到抑制或死亡,而嗜高溫性微生物逐漸替代 嗜中溫性微生物的活動。不過參與堆肥初期之嗜中溫性微生物有些仍會存 在於高溫中 (Droffner et al., 1995),意指參與堆肥反應的微生物跨越了嗜 中溫性與嗜高溫性的範圍。

(3) 降溫階段

堆肥後期因有機物質被嗜高溫性微生物快速分解而逐漸減少,微生物 分解所產生的熱能低於熱能的散失,導致堆肥溫度逐漸降至室溫。原本嗜 中性微生物 (嗜中溫真菌及放線菌),再度成為優勢種,將嗜高溫性微生物 殘留下來的難分解有機物 (蛋白質、木質素及纖維素等) 進一步分解為較穩 定的腐殖質,使堆肥趨於腐熟狀態 (Epstein, 1997)。



2.3 堆肥過程物化變化

有機物料經堆肥過程,其有機成分經由微生物逐漸分解並轉變至穩定 化。一般而言,有機物中的碳、氮成分總量,因被微生物利用吸收,故在 堆肥過程會逐減少,其中碳成分損失率約 55-65%,氮成分損失率約 30-40%,而乾物重損失率則約 50% 左右。歸納生物降解過程重要物化性 質變化如下:

(1) 溫度變化

好氧堆肥處理法,微生物分解有機物質產生二氧化碳、水及熱能,故 處理約 1-2 天後溫度可達最高溫,會出現 55-70⁰C 高溫,經過數日後由 於微生物分解所產生的熱能不足以彌補透過傳導、對流和輻射作用散失的 熱能 (Hassouneh *et al.*, 1999),下降之速度可因反應物料體積大小、通風 量、室溫高低而異。當反應槽溫度逐漸下降至室溫可視為檢測腐熟度的重 要參考指標之一。

(2) 含碳有機物逐漸分解

可溶性含碳有機物如葡萄糖、糊精等易分解有機物質最先分解,次者 為澱粉、五碳醣類及一部分之纖維素及半纖維素。其間尚產生其他中間物, 如各種有機酸、醇類、醛類等,因種種條件不同而異。複雜之木質素分解 極緩,往往不分解而殘留為腐植質之主體。基於以上的原因,由不同時期 難易分解有機物質進行分解,反應溫度可能出現 1-3 個波峰。

(3) 堆肥過程氮之變化

在堆肥期間總氮濃度的變化基本上是與有機氮變化相同,這也表示有 機氮是主要含氮成分,無機氮濃度非常低可以忽略不計。當氨氮濃度劇烈 下降的同時,硝酸鹽氮與亞硝酸鹽氮濃度總和並沒有上升,一般好氧程序 中有機氮會先轉變為氨氮,再轉變為硝酸鹽氮與亞硝酸鹽氮,此結果暗示 在堆肥過程中有氮的損失產生 (Tiquia *et al.*, 2000)。

堆肥程序透過氮的礦化、氨的揮發、硝化及脫硝作用影響氮的轉變, 其中以氮的礦化作用特別重要,因為它轉換有機氮為氨氮 (Tiquia et al., 2000)。氨的揮發和脫硝作用可能導致氮的大幅損失 (Martins and Dewes, 1992; Bernal et al., 1996), 堆肥程序中氮的損失主要是經由在高溫期以及 pH 大於 7 狀態下氨的揮發,此損失將會影響到堆肥成品作為農業有機肥 料的品質。而氮的損失通常與環境因子 (通氣率、含水率、初始混合物 C/N 比和溫度等) 相關 (Bishop and Godfrey, 1983)。

(4) 碳氮比逐渐减少

在堆肥過程中,有機物所含之碳水化合物會迅速被微生物利用而分解,碳含量呈現下降情形 (Hoyos et al., 2002),氮濃度則因被微生物形成 新細胞所利用以及經由氮的揮發而減少。由於碳損失的速率大於氮損失的 速率,導致 C/N 比逐漸下降。又一般腐熟度標準雖受不同有機物材質特性 影響,但大多數仍以 C/N 比小於 20 做為重要的腐熟標準之一。

(5) pH 值變化

反應初期微生物分解有機物質產生大量有機酸,使得 pH 值逐漸下降,等到反應進入高溫階段的同時,含氮有機物經微生物氨化及礦化作用水解成氨氮 (Bishop and Godfrey, 1983),使得 pH 值逐漸昇高至 8-9。

(6) 容積逐漸減少

容積減少顯示物料腐熟之進度,其減少程度依材料種類、堆積之密度 及發熱狀況而異。一般而言,堆肥後可縮小至原來容積之 30-50%。因材 料之軟化且自身重量之壓積,其體積漸漸減少,中央部分易於陷入。容積 減小在堆積後十日至二星期間最為顯著,對較難分解的材料,容積減少需 時較久。



2.4 堆肥之影響參數

堆肥是一種可控制的生物氧化程序,包含固態由不同成分所組成的有 機基質,透過高溫相的過程產生二氧化碳、水、礦物及腐熟堆肥。主要控 制堆肥程序因子包括:1.環境變數 (溫度、含水率、 pH 和通氣量等);2. 基質自然變數 (C/N 比、粒徑大小和植種比例等)(Diaz et al., 2002)。

(1) 溫度

溫度是堆肥程序中基本變數,微小的溫度變化即會影響到堆肥微生物活性,比起含水率、pH、C/N 比等參數有較大的影響力,一般而言在高溫階段 (50-60[°]C) 微生物有最大的活性 (Kipp, 1984)。

(2) 含水率

生物反應時含水率多寡直接影響微生物之活性、基質與胞外酵素之間 運送、滲透壓之維持與通氣效率等,由此可見水對於微生物的影響是非常 重要的。Crawford (1983)指出堆肥最大的氧氣消耗率所對應最佳含水率介 於 50-70%。過高的含水率會降低反應物料的孔隙度,阻礙氧氣的傳輸容 易形成厭氧狀態降低反應速率;而過低的含水率則會降低微生物的活性, 同時減緩反應速率。

(3) C/N 比

初始混和物的 C/N 比也是堆肥程序重要參數之一,其最適值介於 25-35 之間 (Haug, 1993; Nakasaki *et al.*, 1993)。若碳氮比高於此範圍,

缺乏氮素致使微生物生長受到抑制將會減慢有機物質分解速率;若低於此範圍,意味氮素含量較多,於生物降解期間氮素會以 NH3 型式迅速逸散, 導致氮素大量損失減少腐熟堆肥中肥沃度 (蔡人傑,2003)。藉由各種材料 之特性調整適宜之 C/N 比,是生物降解之重要條件。而隨著生化分解作用 之進行,一般 C/N 比會逐漸下降。此外,經生物降解後穩定化之材料,其 C/N 比約介於 15-20 之間;然而,有時基質因含有微生物難分解之有機碳 (如木質素等),使得最終之 C/N 比仍高於 20 (官路,1990)。

(4) 通氣量

通氣量可定義為堆肥程序中最重要的因子 (Diaz et al., 2002), 主要的 關鍵在於反應槽內通氣速率,如果通氣速率太高,反應槽內能量的傳輸會 增加導致溫度下降;如果通氣量不足相對的氧氣供給率減少,堆肥過程缺 乏氧氣會形成厭氧狀態。通氣量的範圍選擇會隨著基質的不同而有所變 化,如農業廢棄物堆肥最適通氣量為 0.4 L air/kg VS-min (Kulcu and Yaldiz, 2004);蔬菜廢棄物為 1.2 L air/kg dry solid-min (張一岑, 1998); 下水污泥則為 1.25 L air/kg dry solid-min (官路, 1990)。

(5) 粒徑大小

粒徑大小也會對堆肥速率產生影響,較小的粒徑因有較大表面積給微 生物吸附而有助於快速分解,然而若粒徑太小氣體循環會受到抑制,顆粒 間容許氣體通過及氧氣擴散的孔隙減少。要在有機物質分解速率和氣體傳 輸擴散取得一個平衡點,顆粒的最佳粒徑大小應介於 1.25-5 cm 之間 (Diaz et al., 2002)。



2.5 過去文獻堆肥比較論述

2.5.1 下水污泥性質及特性

下水污泥 (Sewage sludge) 係指自然界水體之底部所沉積之物質,或 經由淨水或廢 (污) 水處理程序,如過濾、沉澱、混凝、生物處理或浮除等 各單元,收集所得之固體物質。原含水污泥經脫水後,所剩下固體部分稱 下水污泥餅。下水污泥為粒子細微且黏性極高的含水物質,內含大量的微 生物。污泥性質分析如表 2-1 及 2-2 所示,由表中可以看出污泥具有高含 水率及有機物質含量低的性質, pH 稍微偏鹼性則有助於緩衝堆肥初期微 生物降解所產生的有機酸,減緩對微生物活性的抑制。

2.5.2 不同堆肥物料及方式比較

好氧堆肥程序適於處理各種固體廢棄物,其堆肥開始至腐熟所需時間 視基質種類與堆肥方式不同而異,一般堆肥時程如表 2-3 所示介於 20-200 天之間,不難看出堆肥時程過長為堆肥程序主要的缺點,如能大幅 縮減堆肥時程,則處理量增加所需空間減少,從經濟的角度來看將有助於 投資成本的減少。加速堆肥反應速率,可由改善反應槽設計、氧氣傳輸等 方面著手。傳統實驗室堆肥反應槽概略可分為靜置式翻堆槽與旋轉式滾動 槽和槽式堆肥三種,從表 2-3 中可以歸納出槽式堆肥法反應期間比通氣堆 積法要來得短,反應最高溫度方面則是通氣堆積法比槽式堆積法高,原因 可能是通氣堆積法有較佳的蓄熱效果。

Material	N	Noisture content (%)	рН	Ε((μs/	C cm)	TVS (%)	C:N	F	Reference
Winery waste sludge	!	81.6	8.3	20	60	45.4	5.4	Bertra	n <i>et al</i> ., (2004)
Anaerobic digest sludge	tion	87.0	8.3			83.0	7.2	Liang	g <i>et al</i> ., (1997)
Oliver mill wastewater slud	ge		5.8	79	00	46.5	26.6	Parede	es <i>et al.,</i> (2002)
Min-Sheng wastewater plant sludge cake		85.1	7.7	11112	Le.,	65.5	7.4	Nuc	lear research centre
Ba-Li wastewat plant sludge cal	er ke	66.7	7.9	ES		29.7	8.1	Nuc	lear research centre
	表 2-2. 污泥重金屬成分及性質分析								
Material		Concentration of heavy metals ^a						Reference	
	Hg	Cd	Ni	As	Pb	Cu	Cr	Zn	
Winery waste sludge	0.00	<1.50	24.0		48	1,342		321	Bertran <i>et al.</i> , (2004)
Min-Sheng wastewater plant sludge cake	0.41	5.64	53.4	3.6	122	249	65.9	1,009	Nuclear research centre
Ba-Li wastewater plant sludge cake	1.13	4.57	449	5.4	144	887	370	1,352	Nuclear research centre

表 2-1. 污泥基本成分及性質分析

^a unit mg/kg dry matter basis

2.5.3 雨種物料以上混合堆肥其參數及評估反應優劣指標之比較

以下水污泥為例,其高含水率及有機物質含量低的特性並不適合直接 作為堆肥反應物料,混合低含水率及有機物質含量高材料,將含水率和 C/N 比調整至堆肥最佳反應範圍內,預期可以得到較好的堆肥成效。若能找到 兩種性質互補的反應物料,混合堆肥是一種不錯的選擇方案,除了可以提 升反應速率和成品品質,並達到同時處理兩種固體廢棄物的目的。過去混 合堆肥的相關研究如表 2-4 所示。



Reference	Composting method	Substance	Reaction temperature	Composting time
Diaz <i>et al</i> ., (2003)	In-vessel composting (21 L)	Vinasse +cotton waste	Control at 55 ⁰ C	20-35 days
Bertran <i>et al</i> ., (2004)	Aerated static pile (D: 2.5 m; H: 1.5 m)	Sludge+winery waste (grape stalks)	Maximum 65 ⁰ C	100-110 days
Liang <i>et al</i> ., (1997)	In-vessel composting (30 L)	Anaerobic digestion sludge+red mud	Control at 55 ⁰ C	50-60 days
Paredes <i>et al</i> ., (2002)	Aerated static pile (2×3 m base; H: 1.5 m)	Olive mill wastewater sludge +agricultural waste	Maximum 65 ⁰ C	180-190 days
Hassouneh <i>et al.,</i> (1999)	Aerated static pile (D: 2.0 m; H: 1.3 m)	Al-Salt wastewater sludge	Maximum 73 ⁰ C	30-45 days
Hoyos <i>et al</i> ., (2002)	Aerated static pile (D: 1.5 m; H: 0.15 m)	Gelatin-grenetine industry sludge	Maximum 69 ⁰ C	60-70 days
Diaz <i>et al</i> ., (2002)	In-vessel composting (21 L)	Vinasse+grape mac		80-90 days

Reference	Substance	Mix ratio	Optimum mix ratio	Evaluation index
Wong <i>et al</i> ., (2001)	Soybean residues +leaves	1:1		
Paredes <i>et al.,</i> (2002)	Sludge+maize straw Sludge+cotton waste	18:82 30:70	30:70	OM loss (%)
Bertran <i>et al</i> ., (2004)	Sludge + winery waste (grape stalks)	1:1 1:2	1:2	temperature (^o C)
Qiao <i>et al</i> ., (1996)	Anaerobic digestion sludge+red mud	0, 10, 20% (Red mud)	20%	TOC loss (kg)
Diaz <i>et al</i> ., (2003)	Vinasse +cotton waste	0-80% (Vinasse)	20-30%	biodegradability (%) Kjeldahl-N loss (%)
Diaz <i>et al</i> ., (2002)	Vinasse+grape marc	0-40% (Vinasse)	10-20%	biodegradability (%)
	MM	unumit.		

表 2-4. 混合堆肥基質來源、參數及評估指標比較



2.6 分子生物學技術

2.6.1 變性梯度凝膠電泳 (Denaturing gradient gel electrophoresis)

變性梯度凝膠電泳 (DGGE),是一種電泳方法應用於微生物族群分析 (Muyzer et al., 2000; Ishii et al., 2000; Pedro et al., 2001; Haruta et al., 2002)。DGGE 是由凝膠電泳 (Gel electrophoresis) 衍生而來的一種電泳 的技術。

在進行 DGGE 程序之前,需先進行 PCR 反應,放大並複製樣品中 16S rDNA 基因中具變異性的區段,同時在反應中加入一段 GC clamp (約 為 40 bp),使得進行 DGGE 時雙股 DNA (簡稱 ds DNA) 不會完全變性 (denature) 分開成兩條單股 DNA,不同 ds DNA 之序列差異,通過變性 梯度膠時便會有不同的差異性,形成不同的 band (Muyzer *et al.*, 1993)。
2.7 利用生物吸附劑吸附重金屬

吸附的平衡是評估吸附程序重要的物化觀點之一,常見的等溫線一般 分為 Langmuir 和 Freundlich 兩種,關於生物吸附的相關文獻整理如表 2-5 所示,歸納出常見用於吸附實驗的重金屬包括 Cu(Ⅱ),Pb(Ⅱ),Cd(Ⅱ) 和 Zn(Ⅱ) 居多,而一般說來各種吸附劑以配適 Langmuir 等溫吸附模式 情形較多。

2.7.1 Langmuir 等溫線吸附模式

Langmuir 等溫線吸附模式如式 2-1 所示,而式 2-1 的線性形式則如 式 2-2 所示,吸附常數 q_{max}和 b 可以從 1/(x/m) 對 (1/Ce) 作圖中的截 距以及斜率分別估計得到 (Nurgul *et al.*, 2004)。 q= x/m= (b.q_{max}.C_e) / (1 + b.C_e) (式 2-1)

$$1/(x/m) = (1/b.q_{max})(1/C_e) + (1/q_{max})$$
(式 2-2)

其中 q: 吸附能力 (mg of solute adsorbed per g of adsorbent)

Ce: 吸附後殘留的溶液濃度 (mg/L)

q_{max}: 最大的吸附能力 (mg of solute adsorbed per g of adsorbent)

b: Langmuir 常數

2.7.2 Freundlich 等溫線吸附模式

Freundlich 等溫線吸附模式的通式如式 2-3 所示,對式 2-3 取對數 之後 (式 2-4) 得到指數 n 及常數 K_F。常數 K_F和 1/n 可由最小平方法 計算得到,計算得值越高表示資料與 Freundlich 模式越相符 (Wang, 2002)。

$$q_e = K_F c_e^{1/n} \tag{(\pounds 2-3)}$$

$$\ln q_{e} = \ln K_{F} + \frac{1}{n} \ln c_{e}$$
 (式 2-4)

- 其中 q_e :每單位質量吸附劑吸附量 (mg of solute adsorbed per g of adsorbent)
 - K_F: 吸附能力及吸附密度的指標
 - c_e : 吸附平衡的濃度 (mg/L)



Literatura	Adaarbaat	Matal	Isotherm	Reaction	q _{max}
Literature	Ausorbeni	Metal	fitted	time (min)	(mmol/g)
Pagnanelli <i>et al</i> ., (2003)	Sphaerotilus Natans	Pb, Cu, Zn, Cd	Langmuir	30	Cu: 0.63 Pb: 0.65
Sag <i>et al.</i> , (2003)	Activated sludge	Cu,Pb	Freundlich	150	
Basci <i>et al.,</i> (2004)	barleyshell	Cu	Langmuir	120	0.13
Kaewsarn <i>et al</i> ., (2002)	marine algae Padina sp.	Cu	Langmuir	30	0.8
Ozdemir <i>et al</i> ., (2004)	Pantoea sp. TEM18	Cr, Cd, Cu	Langmuir	120	Cu: 0.49
lqbal <i>et al</i> ., (2004)	Phanerochaete chrysosporium	Pb, Cu, Zn	Langmuir	125	Cu: 1.56 Pb: 0.65
Say <i>et al</i> ., (2001)	Phanerochaete chrysosporium	1896 Ca, Pb,	Langmuir	360	Cu: 0.42 Pb: 0.41
Matheickal <i>et al</i> ., (1999)	marine algae	Cu, Pb	Langmuir	150	Cu: 1.3 Pb: 1.55

表 2-5. 生物吸附相關文獻資料

2.8 麥粕與下水污泥混合堆肥程序之實驗設計

2.8.1 中央合成設計 (CCD)

為了要聯繫相關和獨立變數 (Dependent and independent variables) 並使用最少實驗組數,使用二因子的中央合成設計,這種實驗設計方法可 以建構獨立變數的二階多項式並判定變數的顯著性。

CCD 包含了一個 2^{K} 因子設計 (實心圓點),2K 個軸點實驗 (星形點),和 N_C 個中心點實驗使得其可以估計出曲率。如果對於每個因子來說,中心點到各因子頂點的距離是 ±1 個單位,則中心點到星點的距離是 ± α , 在此 $|\alpha| < 1$ 。 CCD 通常含有因子數兩倍的星點,星點代表設計中每個 因子的極限值 (高和低)。為了維持旋轉性, α 值與 CCD 因子部分的實驗 組數有關,如果此因子設計是全因子則 α 值一般定義為 $\alpha = (2^{K})^{1/4}$ 。以二 因子為例 K= 2 則 $\alpha = 1.414$,二因子的中心組合設計概念如圖 2-1 所示 (Techapun *et al.*, 2002)。

實驗所需組數 N= 2^K + 2K + 1,其中 K 代表獨立因子變數個數,以兩 個獨立因子變數為例, K= 2 故所需的實驗組數為 9 組 (Diaz et al., 2003)。

為了促進比較係數和形象化 (Visualization) 獨立變數在反映變數上, 獨立因子變數的水準範圍經由式 2-5 正規化 (Normalized) 從 -1.414 到 1.414,此正規化過程能更精準估計回歸係數而且降低線性和二次項之間的



$$Xn = \frac{X - X}{(X \max - X \min)/2}$$
 (式 2-5)

X: 獨立變數的絕對值

 \overline{X} : 變數平均值

X max 和 X min: 變數最大以及最小值

2.8.2 反應曲面法(Response surface methodology)

反應曲面法 (RSM) 搭配著中央合成設計,可更有效對於我們有興趣的 反應及變數的影響達到最佳化的目標。假設堆肥化中的反應速率 (Y),操作 因子為掺合比 (X1) 及含水率 (X2),則反應速率為掺合比及含水率的函數, 如式 2-6 所示。

Y= f (X₁,X₂)+ε (式 2-6)

其中 E 代表反應速率 Y 中所觀測到的誤差。如簡化成 Y=f(X₁,X₂),則此方程式所代表的曲面就稱之為反應曲面。利用 RSM 以 及等高線圖可以決定因子最佳操作條件或範圍。



2.9 質量平衡

本節將針對堆肥質量平衡系統建立一套的模擬計算模式,整體的質量 平衡系統可細分為 (1) 水分的質量平衡;(2) 揮發性有機物的質量平衡 (李 伯亨,2003)

2.9.1 水分質量平衡

水分質量平衡式如下式:

 $(M_{T}^{f}\omega^{f} - M_{T}^{i}\omega^{i}) = W_{decomp.} - W_{evp.} - W_{aer.} - W_{turn}$ (式 2-7) M_{T}^{i} :初始時間 i 混合污泥重動重量 (g) M_{T}^{f} :堆肥反應時間 f 的混合污泥重量 (g) ω^{i} :初始時間 i 混合污泥的含水量 (%) ω^{f} :堆肥反應時間 f 的混合污泥含水量 (%) $W_{decomp.}$:微生物降解揮發性有機物產生水量 (g)

Waer::因曝氣而進入堆肥中的水量 (g)

Wevp.:水分蒸發量 (g)

W_{turn}:翻堆造成水分的散失量 (g),由於槽式堆肥為一密閉之反應槽故此部 分的水分損失忽略不計 $W_{decomp.} = fvs \times \triangle M_{vs}$

(式 2-8)

fvs:微生物降解揮發性有機物產生水之轉換率 (無單位)
內湖廠污泥被微生物降解揮發性有機物產生水之轉換率為 0.5236^a
△M_{vs}:經過堆肥反應一段時間後揮發性有機物減少量 (g)

^a內湖污水處理廠之污泥為厭氧消化經帶濾機脫水之污泥餅,將污泥、麥 約、植種及稻殼依實驗中心組的比例混合後透過元素分析,推估出混合物 之化學式為 C₃₀H₅₁NO₂₅。假設供氧充足的情況下,微生物分解堆肥混合物 的化學氧化方程式可以式表示: C₃₀H₅₁NO₂₅ + 29.5O₂ → 30CO₂ + 24H₂O + NH₃ (式 2-9) 由上式可知 1 莫耳堆肥混合物氧化後可產生 24 莫耳的水分,因此氧化單 位重的堆肥混合物可以產生 0.5236 單位重的水分 污泥堆肥水分蒸發量如下式:

 $W_{evp.} = W_{air} + W_{sur.} = M_{air} \times \omega_{out} \qquad ({\it f. 2-10})$

Wair:曝氣導致堆肥槽內一正壓而造成水分逸散量 (g)

W_{sur.}:(因屬室內堆肥,故量值含量少,忽略不計) 大氣溫度與堆肥體之溫

差所造成之水分蒸發 (g)

M_{air}:曝氣量 (g)

*W*_{out}: 出氣的水分含量 (%)

污泥堆肥曝氣而進入堆肥中的水量如下式:

$$W_{aer.} = M_{air} \times \omega_{in}$$
 (式 2-11)
 $M_{air}: 曝氣量 (g)$
 $\omega_{ln}: 曝氣的水分含量 (%)$
2.9.2 揮發性有機物和友分質量平衡
揮發性有機物質量平衡式如下式:
 $\triangle M_{vs} = M^{i}_{vs} - M^{f}_{vs}$ (式 2-12)
 $M_{vs}: 微生物降解揮發性有機物量$
 $M^{i}_{vs}: 初始時間 i 混合污泥揮發性有機物的重量 (g)$
 $M^{f}_{vs}: 堆肥反應時間 f 後揮發性有機物的重量 (g)$
 $\mu_{vs}: 堆肥反應時間 f 後揮發性有機物的重量 (g)$
 $\mu_{vs}: 堆肥反應時間 f 後揮發性有機物的重量 (g)$
 $\mu_{vs}: 堆肥反應時間 f 後揮發性有機物的重量 (g)$
 $M^{i}_{r} = M^{i}_{w} + M^{i}_{vs} + M^{i}_{ash} = \omega^{i}M^{i}_{T} + M^{i}_{vs} + M^{i}_{ash}$ (式 2-13)
 $M^{i}_{T} : 初始時間 i 混合堆肥污泥的總重量 (g)
 $M^{i}_{ash}: 初始時間 i 混合堆肥污泥中的灰份重量 (g)$
 $M^{i}_{ash}: 初始時間 i 混合堆肥污泥中的灰份重量 (g)$$

$$R^{i} = \frac{M'_{vs}}{M'_{ash} + M'_{vs}}$$
(式 2-14)

i時間堆肥混合物的灰分質量 :

$$M_{ash}^{i} = (1 - R^{i}) \left[M_{T}^{i} (1 - \omega^{i}) \right]$$
 (式 2-15)

揮發性有機物的量以乾基比例式來表示:

$$M_{vs}^{i} = M_{ash}^{i} \frac{R^{i}}{1 - R^{i}} \qquad (\pounds 2-16)$$

經過反應一段時間後的總質量如下式:

- $M_{T}^{f} = M_{w}^{f} + M_{vs}^{f} + M_{ash}^{f} = \omega^{f}M_{T}^{f} + M_{vs}^{f} + M_{ash}^{f}$ (式 2-17) M_{T}^{f} : 堆肥反應時間 f 混合堆肥污泥的總重量 (g)
- M^f_w: 堆肥反應時間 f 混合堆肥污泥中的水分重量 (g)
- M^f_{ash}: 堆肥反應時間 f 混合堆肥污泥中的灰份重量 (g)

時間 f 堆肥總反應物的乾基揮發性有機物的比例定義如下式:

$R^{f} = \frac{M^{f}_{vs}}{M^{f}_{ash} + M^{f}_{vs}}.$	(式 2-18)
f時間堆肥混合物的灰分質量:	

$$M^{f}_{ash} = (1 - R^{f}) \left[M^{f}_{T} \left(1 - \omega^{f} \right) \right]$$
 (式 2-19)

揮發性有機物的量以乾基比例式來表示:

$$M^{f}_{vs} = M^{f}_{ash} \frac{R^{f}}{1 - R^{f}}$$
 (式 2-20)

第三章 實驗方法與步驟

本研究系改變麥粘與污泥掺合比以及混合後含水率的操作條件進行批 次實驗,進一步探討麥粘與污泥混合堆肥之最佳化。實驗過程配合實驗設 計中的中央合成設計 (Central composite design, CCD) 以及反應曲面法 (Respond surface method, RSM),以期進行最少的實驗組數找出最佳的操 作條件。

3.1 實驗材料與設備

3.1.1 實驗材料

(1) 麥粕與下水污泥 本研究所用之麥粕與下水污泥分別採自竹南啤酒廠及台北內湖污水處 理廠。一次採集足夠實驗所需的量,以確保麥粕與下水污泥的性質相同穩 定。並將採集之麥粕與下水污泥運送回實驗室放置在 4^oC 冷凍櫃保存以供 後續研究使用。其基本組成性質如表 3-1 所示。

(2) 調整材 (Bulking agent)

一般常用之調整材包括稻殼、木屑、廢紙等。本研究將麥粕分別與稻 殼及木屑混合,含水率同樣控制在 60% 時,反應溫度如圖 3-1 所示,從 圖中很明顯可以看出,以稻殼作為調整材反應溫度較高且溫度維持在高溫 期的時間較長,故本實驗選擇以稻殼作為提供孔隙支撐結構、調整含水率 和 C/N 比之調整材,其基本組成性質如表 3-1 所示。



(3) 植種材料

植種目的在於縮短生物降解之遲滯期,使基質迅速被分解。一般多採 用腐熟堆肥,鮮少採用添加單一菌種方式。故本研究於實驗初期先以麥粕 及稻殼腐熟堆肥做為植種,再將堆肥化後之產品予以迴流,經由多次實驗 培養適合麥粕與污泥生物降解之優勢菌種。其迴流產品基本組成性質如表 3-1 所示。

3.1.2 實驗設備

本研究藉由改善設計的方式,發展一可快速堆肥之設備系統。採用豎

Constituents	Barley dreg	Sewage sludge	Rice husk	Recycle compost
Moisture (%)	9.5 – 10.5	75.0 – 76.0	10.0 – 11.0	12.0 – 15.0
Ash (% dry matter)	3.7 – 4.0	30.0 – 31.0	11.5 – 12.0	12.0 – 13.0
TVS (% dry matter)	96.0 – 96.3	69.0 – 70.0	89.0 – 90.0	87.0 – 88.0
рН	6.2 – 6.4	6.3 – 6.5	7.2 – 7.4	7.5 – 7.8
Elements	Barley dreg	Sewage sludge	Rice husk	Recycle compost
C (%)	47.8 – 49.1	36.3 - 36.4	41.2 – 41.4	41.0 - 42.0
H (%)	6.6 – 7.0	5.5 – 5.6	5.3 – 5.4	5.7 – 5.9
O (%)	40.5 - 42.8	52.0 – 52.3	51.8 – 52.3	49.5 – 51.0
N (%)	2.8 – 3.4 ^E	5.9 - 6.0	1.2 – 1.4	2.3 – 2.6
C/N	14.1 – 17.5	6.05 – 6.17	29.4 – 34.5	15.8 – 18.3
Chemical formula	C ₁₈ H ₃₁ O ₁₂ N	C ₇ H ₁₃ O ₈ N	$C_{38}H_{59}O_{36}N$	$C_{20}H_{33}O_{18}N$

表 3-1. 反應物料之基本組成

形內置攪拌器之反應槽,進行麥粕與污泥混合堆肥之研究。相關設備分述如下:

(1) 豎形內置攪拌器之反應槽

反應槽之主體為不銹鋼材質(直徑 50 cm、高 50 cm、厚 0.5 cm,反 應槽體積約 100 L),反應槽外部包覆一層隔熱金屬板,金屬板內層填充保 溫泡棉,以減少熱能的損失。反應槽內部中央裝置與時間控制器(Timer)連 接之螺旋攪拌器,達到定時攪拌之目的。反應槽側邊設置兩透明矩形壓克



圖 3-2. 反應槽側邊透明壓克力板

力板,以便觀察內部物料反應情形如圖 3-2 所示。反應槽的上方及側邊分 別設置開口方便執行進卸料作業,並於反應槽底部鋪設抽取式不銹鋼網, 作為反應物料之支撐底座及空氣分散盤,採用抽取式的設計為了方便卸料 及清洗。此外,在反應槽側邊中下部位配置一長度 30 cm 熱電偶 (Thermal Couple) 伸入反應槽中心處量測溫度。反應槽上方設一氣體出流孔,以持續 監測出流氣體中的二氧化碳濃度濃度。實驗設備示意圖如圖 3-3,反應槽 全景如圖 3-4 所示。



圖 3-3. 實驗設備圖

(2) 抽氣及流量校正設備

本研究以強制抽氣替代通氣,其設備包括一台空氣壓縮機 (5 HP) 與流 量控制閥,以流量控制閥將流量調整至所設定的流量,並以浮子流量計校 正其流量。





(3) 冷凝及乾燥設備

於氣體出流口後方接一螺旋管式冷凝裝置,將出流氣體中大部分水蒸 氣冷凝,並收集於下方之集水器中。冷凝裝置後方設置一乾燥裝置(內置乾 燥劑及活性碳)降低出流氣體之水份。除此之外,再設置一恆溫冷凝裝置及 微粒去除設備,將氣體維持在 5°C 進一步去除氣體中的水分及微粒,以利 後續二氧化碳的分析。

(4) 反應溫度顯示器

反應溫度是以伸入反應槽中心處之熱電偶進行量測,經由溫度顯示器

顯示即時溫度,同時溫度顯示器輸出電壓經由電腦介面卡傳送至電腦,同時並透過軟體將電壓轉換為溫度而記錄於資料儲存系統。

(5) 二氧化碳濃度分析儀

經冷凝及乾燥後之出流氣體,一部份排放而另一部份以 20-100 L/hr 之體積流率抽送至二氧化碳濃度分析儀 (ABB EL1020) 即時監測二氧化碳 之濃度,分析濃度值除了直接顯示於分析儀之顯示器外,並以電壓之形式 經由電腦介面卡傳輸至電腦,並透過軟體將電壓轉換為量測值記錄於資料 儲存系統。

(6) 資料儲存系統



(7) 電子磅秤

用於堆肥反應過程中量秤反應槽總重,以記錄反應過程物料所減少之濕重。

(8) 攪拌機

攪拌機 (圖 3-5) 之主體為不銹鋼材質 (長 60 cm、寬 46 cm、高 64 cm, 體積 180 L), 槽內配置與時間控制器連接之橫向螺旋葉片,可控制攪拌時間長短。用於充分混合進料前的反應物料, 達到均質化的目的。

36



圖 3-5. 攪拌機

3.2 實驗流程

實驗分為三個分 (圖 3-6),首先針對溫渡、含水率、二氧化碳、總揮 發性固體物、總有機碳、凱氏氮、 pH 、電導度及種子發芽實驗等分析項 目探討操作因子最佳化,實驗的第一階段搭配實驗設計之中央合成設計以 及反應曲面法進行實驗組數的安排。第二階段則是利用分子生物技術中的 DGGE,來觀察麥粘與下水污泥混合堆肥下的菌種變化。第三段取第一階 段腐熟堆肥成品作為一種新的生物吸附劑來吸附重金屬 (Cu ()、Pb ()),探討腐熟堆肥是否除了作為有機肥料或土壤調節劑之外,有利用來 處理重金屬的能力。





圖 3-6. 實驗流程圖

3.3 實驗方法

本實驗利用豎形內置攪拌器之反應槽於裝填堆肥物料後,進行批次式 實驗。操作步驟包括原料前處理、攪拌及抽氣、採樣分析等步驟,詳細內 容分述如下:

(1) 原料前處理

將麥粕、下水污泥、稻殼分別依所需之重量配比取出(麥粕加下水污泥總重固定在 10 kg),同時把先前腐熟堆肥產品經自然乾燥後回流達到植種之目的。加水調配上述之混合原料至所需含水率(添加迴流堆肥和稻殼總重分別固定為 2 kg 及 3 kg),並置入攪拌機內混合均勻後投入反應槽內進行實驗。

(2) 攪拌及抽氣



以時間控制器控制反應槽內之螺旋攪拌器 (轉速為 5 rpm),於一定時間 (每停 20 分鐘攪拌 5 分鐘) 自動啟動進行攪拌,增加基質與微生物之接觸,並以抽氣馬達依所設定之抽氣量 (15 L air/min) 進行抽氣。

(3) 採樣分析

於一定時間 (8-12 小時),自反應槽中採集樣品約 100-150 g,採樣前 以電子磅秤秤反應槽總重,紀錄反應物濕重損失量。採樣後部分樣品立即 分析 pH、電導度值,並置入烘箱和高溫爐求得含水率及灰份。另一部分樣 品置入夾鍊袋中儲存於 4^oC 凍庫,以便日後進行各種化學分析。

3.4 分析項目及方法

本研究之分析項目包含溫度、灰份、含水率、種子發芽實驗、pH、電 導度、二氧化碳濃度、總揮發性固體物、液相總有機碳、液相凱氏氮、DGGE 等。樣品分析項目、方法及分析儀器如表 3-2 所示。分析步驟如圖 3-7 所 示。

3.4.1 温度及二氧化碳

生物降解過程中之氣體成份二氧化碳濃度及反應槽溫度則分別由二氧化碳濃度分析儀及熱電偶進行連續式監測。

3.4.2 pH 及電導度值

pH 及電導度值的測定是將堆肥樣品與去離子水依 1:10 (w/v dry weight basis) 比例混和之後直接量測。

3.4.3 灰份、含水率及總揮發性固體物

含水率及總揮發性固體物分別經由 103°C 24 小時和 550°C 8 小時後的重量差值計算得來。

3.4.4 堆肥萃取液

由於堆肥所採的樣品是固體物,但許多化性的分析都是分析液相水樣,故 分析前需先將堆肥樣品經前處理得到液相的萃取液。此萃取液的取得步驟 先將堆肥樣品與去離子水依 1:10 (w/v dry weight basis) 比例混和,在機 械震盪下一小時後,以 2000 rpm 離心 10 分鐘,取上澄液經 0.45



圖 3-7. 實驗分析流程圖

μm 濾紙過濾 (Wong et al., 2001; Kwon et al., 2004),經此步驟所得之萃 取液可用於日後液相總有機碳、液相凱氏氮及種子發芽測試之分析。

3.4.5 種子發芽測試 (Seed germination test)

種子發芽實驗為堆肥品質測定之重要參考指標之一。在進行該實驗之 前,必須先取得前述之堆肥萃取液。種子發芽測試是取堆肥萃取液 10 ml 滴入內襯有 WHATMAN #1 濾紙之培養皿中,將 50 顆種子 (本實驗所採 用之種子為白蘿蔔) 平均分佈濾紙上,在 20-25⁰C 暗室下培養 48 小時,

Analysis item	Method	Instrument	Model
рН	NIEA R208.00T	pH meter	Suntex sp-2200
EC	NIEA W203.51B	Electrical conductivity meter	Suntex sc-120
TOC	NIEA W532.51C	TOC analyzer	O • I Analytical 1010
Moisture	NIEA R301, 01C	Oven (103∼105 ⁰ C)	RISEN
Ash / TVS	NIEA R301, 01C	E Oven 550 ^o C	
CO ₂ /O ₂		CO ₂ /O ₂ analyzer	ABB EL1020
TKN	mm	TKN analyzer	Gerhardt
Temperature		Thermal couple	JENCO 791
Weight		Platform scales	JADEVER JPC-150

表 3-2. 分析項目、方法及儀器

觀察發芽狀況,另取 10 ml 蒸餾水添加至上述培養皿中作為對照組進行比較 (Wong et al., 2001)。

3.4.6 分子生物學技術

本研究從堆肥樣品中, 抽取微生物的 genomic DNA, 再進行 PCR 將 其 16S rDNA fragment 放大後進行 DGGE 電泳分析,分析其電泳圖並找 出可能之優勢菌種後,經過定序後可得知該菌種名稱

3.4.6.1 DNA 萃取

使用萃取 DNA Kit 進行萃取堆肥微生物之 DNA。因為堆肥樣品會吸 取較多水分,不適合直接加入萃取液使用,故先取適當的堆肥樣品加入適 當比例去離子水 (滅菌), 震盪之後再離心取其上澄液備用。詳細的 DNA 萃取步驟參考附錄一。

3.4.6.2 PCR 實驗



將萃取出來之 DNA 當作樣版 (Template),以適當之 primer 進行 PCR 反應放大 DNA 樣品。本研究以 519fGC 與 907r 作為 primer。取 10 µl PCR master mix 試劑,加入 primer-r-GC 1.5 µl 及 primer-f 1.5 µl, 再加入 2 ul DNA template, 最後加去離子水補至 50 ul, 稍微震盪離心 10 秒再進行 PCR 程序。

3.4.6.3 DGGE 實驗

不同大小的 PCR 產物,因為具有不同的分子量而有適合的 Acrylamide 濃度,本實驗經 PCR 反應後的產物約為 200 bp,適合使用 10% acrylamide 濃度的膠 (如表 3-3 所示)。Denaturing 範圍選擇 30% 至 70%。DGGE condition 在 1 倍的 TAE Buffer 中以 56^oC、200 V 電 壓,進行 300 分鐘。之後將膠取出以 EtBr 染色後顯像。

Acrylamide	DNA base pair	
concentration		
6%	300-1000bp	
8%	200-400bp	
10%	100-300bp	

表 3-3. 膠體濃度

3.5 批次實驗規劃

目前實驗設計的規劃為二因子(掺合比、含水率)的中央合成設計,其 中掺合比為污泥佔污泥與麥粕總重之比例(總重 10 kg,掺合比 50% 即為 污泥添加量 5 kg)二個對應之反應變數分別為總揮發性固體物損失率及碳 分解率,而每個獨立因子變數分別具有 5 個水準範圍,掺合比(X₁)從 20% 至 80%;含水率(X₂)則是從 40% 至 70%。其所對應的自然變數 (Natural levels)以及編碼變數(Coded levels)如表 3-4 所示。經由統計 軟體 Minitab 的中央合成設計亂數執行出來的組數及順序,中心點取三重 覆所以一共需執行 11 組批次實驗如表 3-5 所示。



Factor	Manna		Level		
Factor	-1.414	-1	0	1	1.414
X ₁ : Mix ratio (%)	20	29	50	71	80
X ₂ : Moisture content (%)	40	44	55	66	70

	Coded value		Natural value		
StdOrder	X ₁	X ₂	Mix ratio (%)	Moisture	
				Content (%)	
7	0	-1.414	50	40	
2	1	-1	71	44	
8	0	1.414	50	70	
10	0	0	50	55	
3	-1	1	29	66	
1	-1	-1	29	44	
9	0	JULIO	50	55	
5	-1.414	OES	20	55	
4	1	18	96 71	66	
6	1.414	0	80	55	
11	0.	0	50	55	

表 3-5. 實驗操作條件

3.6 利用腐熟堆肥成品吸附重金屬實驗

本研究所選取之重金屬為 Cu()及 Pb()兩種,所選用堆肥為經實驗設計所得最佳操作條件下之腐熟堆肥,一次取足夠的量儲存於 4^oC 冷凍庫中,以確保堆肥性質穩定方便日後實驗取用。實驗中利用濕的腐熟堆肥 作為吸附銅及鉛離子的生物吸附劑,Cu()和 Pb()的儲備溶液分別由 CuSO₄·5H₂0 以及 Pb(NO₃)2 配置 1000 ppm,再由儲備溶液稀釋至所需 的濃度。所有吸附實驗 pH 都是在加入吸附劑後由 HCl 和 NaOH(0.1 N) 來調整至所需 pH 值。

吸附實驗主要可分為幾個部分,其中一部份為最佳 pH 值實驗,另外 一部分別為 Langmiur 等溫線吸附實驗及 Freundlich 等溫線吸附實驗。最 後取堆肥產品吸附前後的樣品經烘乾之後分析 Energy dispersive X-ray (EDX, Hitachi S-47001)。

3.6.1 pH 值實驗

實驗選取 Cu()和 Pb()濃度皆為 50 ppm 而 pH 值變化範圍為 2-8,首先在 7 個 250 ml 的三角錐形瓶中各加入 1 g 腐熟堆肥及 50 ppm 重金屬溶液 100 ml,之後將 pH 調整至 2-8,放置震盪器上經 250 rpm 震盪 2 小時,經 2000 rpm 離心 10 分鐘,取其上澄液過 0.45 μm 濾紙再由火焰式原子吸收光譜儀 (HITACHI model: Z-8100) 直接分析。

3.6.2 Langmuir 等溫線吸附實驗

Cu()和 Pb()濃度分佈同樣為 10, 20, 30, 40, 50, 100, 150, 200, 250 ppm 九個濃度,取九個 250 ml 的三角錐形瓶各加入 1 g 腐熟 堆肥以及不同濃度重金屬溶液 100 ml,調整 pH 至由 pH 值實驗所得到 較適之 pH 值,放置震盪器上以 250 rpm 震盪 2 小時,之後經 2000 rpm 離心 10 分鐘,取上澄液過 0.45 μm 濾紙再由火焰式原子吸收光譜儀直接 分析。

3.6.3 Freundlich 等溫線吸附實驗

Cu()和 Pb()濃度變化固定在 50,100,150,200,250 ppm,每 一組濃度內取六個 250 ml 的三角錐形瓶各加入 0.25,0.5,0.75,1,1.25,
1.5g 腐熟堆肥以及同一濃度重金屬溶液 100 ml,調整 pH 至由 pH 值實 驗所得到之較適 pH 值,放置震盪器上以 250 rpm 震盪 2 小時,之後經
2000 rpm 離心 10 分鐘,取上澄液過 0.45 μm 濾紙再由火焰式原子吸收 光譜儀直接分析。

第四章 結果與討論

4.1 麥 姆 與 下 水 污 泥 混 合 堆 肥 實 驗

 堆肥原料在堆肥化過程中會因微生物降解作用逐漸改變理化性質,這
 些參數的變化情形可用以評斷堆肥穩定度。由於有機質的組成複雜,通常 不能用單一項目的測定值來評估,必須要由數個主要參數加以判定。為瞭 解麥粘與下水污泥在堆肥化過程中理化參數之變化,乃以與中央合成設計 所得與最佳操作條件接近的中心組來做說明(摻合比: 50%, 含水率: 55%),剩餘組數分析資料詳見附錄。其中中心組麥粕、下水污泥、調整材(稻 殼) 與植種之添加量如表 4-1 所示, 麥粘與下水污泥總重控制在 10 kg, 而回流堆肥及稻殼添加量分別固定為 2 kg 和 3 kg。迴流部份腐熟堆肥目 的為做接種劑,並額外添加水分將堆肥物料之初始含水率調整至約 55%。以抽氣方式代替通氣,由過去相關研究顯示抽氣量大都介於 0.3-1.2 Lair/kg dry solid-min (Kulcu and Yaldiz, 2004) 之間,而本研究所選擇使用 之抽氣量為 1.6 L air/kg dry solid-min, 攪拌頻率為 1:2 (攪拌 5 分鐘然 後靜止 10 分鐘),室溫大約維持在 30°C。並針對反應溫度、含水率、總 揮發性固體物損失率、二氧化碳產率、電導度、總有機碳、凱氏氮、種子 發芽實驗以及 pH 值等評估指標進行探討,各指標詳細變化情形描述如下: 4.1.1 反應溫度變化

反應溫度為檢測腐熟度之參考指標之一,而且可以直接反應微生物利

Material	Weight (kg)	
Sewage sludge	5	
Barleydreg	5	
Rice husk	3	
Recycle compost	2	
Water	7.85	

表 4-1. 掺合比 50% 含水率 55% 添加量

用有機物質的程度 (Hassouneh et al., 1999)。堆肥化初期以嗜温性微生物 為主,消耗可溶性有機物質進行好氧分解,產生水、二氧化碳及熱能 (Pena et al., 1992),由於生成的熱能遠大於透過傳導、對流及輻射所損失能量, 加上反應槽的保溫效果,使反應槽內溫度不斷上昇。由圖 4-1 可得知反應 初期 18 小時內為反應遲滯期,之後溫度在第 22 個小時即可達到 47°C,亦即進入高溫相 (Thermophilic phase), 顯示此時堆肥系統中有足 夠微生物量及可供微生物分解利用的有機物質 (Wong et al., 2000)。基於 含水率的下降加上 pH 值上升, 微生物活性降低以及易分解有機物質的減 少,導致此波高溫相的持續時間很短 (Hoyos et al., 2002)。圖中主要有 5 個溫度尖峰值,因此可得知整個堆肥期間有 4-5 次較激烈之生化反應。產 生此現象原因主要是受到基質難易分解程度之影響。經過 5-7 天的反應 後,系統溫度降至接近室溫 (30 °C) 且不再升高,此時大約可判定堆肥程 序已達穩定化。比較圖 4-1, 4-2, 4-3 可歸納出當麥粘比例較高時,其溫度 圖形變化趨勢較接近以單一麥粘堆肥,同樣有 4-5 個溫度尖峰值出現,推 論是由於麥粕組成成分中含有木質素和纖維素等難分解物質,在不同階段 分解難分解物質導致反應溫度上下變動,堆肥時程也因此而拉長 (Hassouneh et al., 1999)。相較之下當下水污泥含量較高時,反應溫度的 圖形僅只有 1-2 個溫度尖峰值產生,而且溫度維持 45°C 以上的時間很 短,在 80 小時後溫度就降至接近室溫且不再上升,主要是受限於下水污 泥組成成分中可分解有機物質含量較少。值得一提的是當下水污泥含量較 高時,反應溫度在初期階段並沒有遲滯期的現象產生。

4.1.2 pH 值變化

pH 值變化可視為微生物活性之代表,pH 值過低則會影響微生物作用 之活性,一般最適宜微生物分解葡萄糖的 pH 值範圍約 7-8 之間 (Nakasaki et al., 1993)。如圖 4-4 所示初始堆肥物料的 pH 值為 6.3,由 圖中顯示在反應初期 31 小時內 pH 值會因微生物代謝分解有機物產生有 機和無機酸等中間產物而逐漸下降到 5.05 左右 (Mathur, 1991)。反應後 期當溫度開始進入高溫相,pH 逐漸開始上升至 9 左右,這種現象是因為 有機氮經微生物氨化 (Ammonification) 及礦化 (Mineralizeation) 作用,在 高溫相產生 NH4⁺ 及 NH3,而使得 pH 值逐漸升高 (Bishop and Godfrey, 1983)。比較圖 4-4 與 4-5 可以發現當下水污泥含量較高時,pH 值並沒 有明顯先下降而後上升的趨勢,其原因是因為污泥 pH 稍微偏鹼性,所以

52



圖 4-2. 堆肥化過程中溫度之變化 (MR:71%, MC44%)



圖 4-4. 堆肥化過程中 pH 之變化 (MR:50%, MC55%)



圖 4-6. 堆肥化過程中含水率之變化 (MR:50%, MC55%)
污泥含量高時導致堆肥物料初始 pH 值較高,因而稍微緩和微生物分降解 產生的有機酸,這也說明了為何下水污泥含量高時反應溫度並沒有遲滯期 的出現,因為 pH 值並未對微生物活性產生抑制。圖 4-5 中反應後期 60 小時後 pH 值些許下降,原因是由於氨的揮發以及堆肥後期硝化菌硝化過 程中產生的氫離子所導致 (Wong *et al.*, 2001)。

4.1.3 含水率之變化

堆肥過程中含水率變化是堆肥程序中很重要的參數之一,含水率會直接 影響微生物的活性,因為它提供合適的介質來傳輸微生物生長所需溶解性 營養源 (Hassouneh et al., 1999)。由圖 4-6 可發現堆肥程序進行的過程 中,整體的變化趨勢以下降為主,而系統當中之含水率隨著時間呈現上下 振動之變化趨勢。其原因有二,其一為生物代謝反應過程中,微生物分解 有機質會產生大量的水分,此點可由含水率變化圖與溫度變化圖 (圖 4-1) 比對而加以佐證。在反應過程 10-30, 30-50, 60-80, 90-110 個小時左右為 有機物快速被微生物分解之階段,這些期間含水率會有些許上升的情形, 意味著所產生之水分多於因高溫蒸散及抽氣損失的水分,其時間點剛好與 反應溫度峰值出現期間符合。反應 70 小時後含水率則大幅下降,由於後期 可分解有機物質減少,微生物降解生成水分下降,加上系統採用高攪拌頻 率以及抽氣量,水分不斷散失的結果。其二為採樣之誤差,因每次採樣僅 取 100-150 公克, 無法有效代表基質整體之含水率。此外, 基質中之水分

會因重力作用而容易沈積在反應槽底部,造成基質上下層之含水率略有差 異。雖然高攪拌頻率及向上通氣的方式可趨缓此情形,但仍無法有效防止 此情形產生。

4.1.4 電導度值之變化

電導度值 (EC) 反應了堆肥中鹽度的變化程度如圖 4-7 所示,堆肥反 應過程中 EC 值在 0.3-1.1 ms/cm 之間變動。與反應溫度比較 (圖 4-1), EC 值的變化趨勢大致與溫度變化趨勢相同,反應的 10-20, 30-40, 60-80 以及 90-100 小時階段,出現 EC 值的波峰,此增加現象是由於微生物分 解有機物質而釋放出其他礦物鹽類 (如磷酸鹽和氨離子等) (Wong et al., 2001)。隨著堆肥時間的增加在 80 小時後 EC 值些微下降,可能是因為 高溫相時氨的揮發和礦物鹽類沈積所導致的結果 (Wong et al., 1995),而 且 當 轉換 複 雜 有 機成 分 為 簡 單形式 時也 會 消耗 掉 一些 離子 分子 (Hassouneh et al., 1999)。

4.1.5 二氧化碳產率與累積二氧化碳生成量之變化

二氧化碳產率可反映有機物的分解率 (Kwon and Lee, 2004)。在堆肥 化過程中,微生物利用所供給之氧氣對基質中之碳素進行礦化作用生成二 氧化碳氧體釋放出。有機物的分解愈多則二氧化碳產率愈高,所釋放之二 氧化碳量也相對地增加,代表此時微生物的反應及活性較高。比較圖 4-8 及圖 4-1 之溫度變化圖可知,二氧化碳釋放量與溫度變化相關,二者尖峰



圖 4-8. 二氧化碳產率與累積產量之變化 (MR:50%, MC55%)

值出現之時間點約略相同,但由於溫度具有累積效果與二氧化碳釋放量相 比之下較不敏感,故二氧化碳產率的峰值出現時間點較早。所產生的5 尖 峰值對應之二氧化碳產率分別為14.4,13.2,15.8,18.8 及15.7 gCO₂/kg VS-hr,其當下之反應溫度分別為47,46,58,63 及45^oC。此外,圖4-8 中之累積二氧化碳變化曲線也約略在相同期間隨著二氧化碳產率的增加出 現5 個斜率變化較大處。由圖4-9 佐證溫度與二氧化碳產率呈現正相關 變化,溫度愈高則反映有機碳被礦化之程度愈佳,而有較高之二氧化碳產 率。Roger (1979)指出當二氧化碳產率或耗氧率降低至約為最大產率之十 分之一,即可視為堆肥過程已達穩定化。隨著反應的進行二氧化碳產率在 反應末期120 小時後下降至約3.25 gCO₂/kg VS-hr,接著在160 小時 後降至1.49 低於最大產率(18.8)之十分之一,這也表示麥粕與下水污泥 混合堆肥可以在7天內達到穩定化。

4.1.6 總有機碳 (TOCw) 和凱氏氮 (TKNw) 之變化

從總有機碳數值變化可瞭解有機物質被分解的程度,而凱氏氮的數值 變化則代表堆肥過程中氮的變化情形,由於堆肥程序中無機氮的含量很少 幾乎可以忽略,故可以凱氏氮代表總氮的變化情形。圖 4-10 顯示堆肥過 程總有機碳的變化,圖形的變化趨勢大致上與溫度 (圖 4-1) 相同,有 4 個 明顯上升的時間區段,此上升趨勢推估是由於微生物水解難分解有機物質 碳為易分解水溶性有機碳,因此在溫度較高的時間點,也就是微生物反應



圖 4-10. 堆肥化過程總有機碳之變化 (MR:50%, MC55%)



圖 4-12. 堆肥化過程總揮發性固體物損失率之變化 (MR:50%, MC55%)

劇烈的時間區段,測得的總有機碳大幅度的增加。堆肥反應後期 80 小時後,有機物質含量減少,微生物活性下降,總有機碳含量呈現遞減的趨勢。 而凱氏氮變化趨勢如圖 4-11 所示,在反應初始 60 小時內,微生物藉由 氨化以及礦化作用生成氨離子,故有 3 個明顯的波峰產生。反應 50 小時 後由於高溫相時氨大量揮發的影響而呈現劇烈下降,之後則趨於穩定的狀 態。

4.1.7 總揮發性固體物損失率之變化

總揮發性固體物 (TVS) 可指示生物可分解性有機物的分率以瞭解分 解的情形 (Kwon and Lee, 2004),因此,由其損失率即可瞭解微生物利用 基質的程度。一般而言,有機物質透過礦化及腐殖化作用被轉化成最終穩 定型態的腐殖堆肥,其中天約 20-30% 的揮發性固體物會被轉變為二氧化 碳及水 (Pena et al., 1992)。由圖 4-12 之 TVS 變化圖可知經過 5 天之 堆肥化程序後,可達到約 23% 損失率,而一般 TVS 最佳值應落在 35-40% 範圍內 (Garrido Hoyos et al., 2002),但由於麥粘中含有較多難分 解成分 (如纖維素和木質素等),導致 5 天堆肥時程內 TVS 的損失率較一 般堆肥低。然而,TVS 損失率變化曲線並非呈現線性增加趨勢,約有三段 斜率較高處分別出現於 15-22,40-60 及 70-100 小時之間,此時亦為基質 被微生物大量分解後之時段 (可由圖 4-1 及圖 4-8 加以佐證),藉由相關之 指標可清楚瞭解基質被微生物分解之情形。

4.1.8 堆肥品質之測定

一般測定堆肥品質的方法可用溫度變化、種子發芽率實驗及堆肥的外 觀(如顏色)等指標來判定。以溫度變化而言,主要是讓堆肥過程中之溫度 能達到 50°C 以消滅致病菌。目前台灣對於生機肥料施用於農地上,尚未 有明確的法規規定。然而美國於 1993 年制訂了 U.S. EPA 40 CFR 503 法 案以規範使用生機肥料 (Bio-fertilizer),法案中規定了致病菌去除的最低標 準。以堆肥法而言,若採用槽式堆肥程序 (In-vessel composting),反應溫 度達 55°C 且維持 3 天以上則為 A 級 (Class A) 之生機固體 (Biosolid),能作為一般商業性的肥料來銷售給農民或一般民眾;而 B 級生 機固體之規範為在 5 天的堆肥時程中反應溫度至少有 4 小時以上超過 55°C,此等級之生機固體可施用於農地,作為土壤調節劑(李伯亨,2003)。 因此本研究所得到之堆肥產品可達到 B 級生機固體之規範,可將其應用於 土壤復育之調節劑。

在種子發芽率實驗方面,本實驗採用反應最為敏感白蘿蔔種子直接播 種於添加堆肥萃取液之培養皿中,觀察其發芽情況,並進行添加去離子水 之對照組加以比較。經過 48 小時後之實驗結果如圖 4-13 所示,添加堆 肥萃取液之實驗組中,白蘿蔔種子之發芽率達 64%;對照組發芽率為 76%。一般建議發芽率指數 (Germination index, GI) 之值大於 60% 即可 (Diaz et al., 2003; Zocconi et al., 1985)。顯然經過堆肥程序後之產品並不

會對植物的成長造成抑制。

在堆肥產品外觀上,如圖 4-14 所示,其顏色呈深褐色表示含有大量 腐植質,與一般腐熟堆肥之顏色一致。綜合溫度、二氧化碳產率以及種子 發芽實驗等用以判定堆肥品質之指標可知本研究所產生之堆肥產品原則上 已達到穩定化並成為腐熟堆肥。此外,與過去文獻堆肥時程之比較如表 4-2 所示,可知經過改良後之高速堆肥反應槽,配合適當之物理、化學及生物 操作因子,則可提供較佳之堆肥環境,提昇堆肥速率,縮短堆肥時程。最 後,由於使用污泥作為堆肥原料,堆肥成品中的重金屬含量為評估的重點 之一。分析與實驗設計最佳化操作條件相近的中心組之重金屬含量結果如 表 4-3 所列,除了鎳與鉻稍微偏高超過我國法規標準之外,其餘皆在法規 管制標準之內,而且鎳與鉻的含量與美國或其他各國法規標準相較之下仍 然在規範以下,所以下水污泥與麥粕混合堆肥成品適合作為土壤調節劑使 用。



圖 4-13. 種子發芽實驗結果





Reference	Composting method	Substance	Temperature	Composting time
This study	High-rate composing (100 L)	Barley dreg +sewage sludge	Maximum 64 ⁰ C	5-7 days
Diaz <i>et al.</i> , (2003)	In-vessel composting (21 L)	Vinasse +cotton waste	Control at 55 ⁰ C	20-35 days
Liang <i>et al.</i> , (1997)	In-vessel composting (30 L)	Anaerobic digestion sludge +red mud	Control at 55 ⁰ C	50-60 days

Country	Metal concentration limitation ^a							
Country	Hg	Cd	Ni	As	Pb	Cu	Cr	Zn
ROC	2	5	25	50	150	150	150	500
USA	17	39	420	41	300	1,500	1,200	2,800
Japan	2	5	300	50	100	-	500	-
Austria	2	2	25	-	100	300	50	1,500
Canada	0.15	3	60	10	150	60	50	2
Germany	1		E S 50		150	100	100	400
England	2	10	100	111111	250	400	-	1,000
This study	-	ND	102	-	26	44	156	208

表 4-3. 國內外下水污泥堆肥成品重金屬含量限值表

Data resource: U.S. EPA. (1989), Barods *et al*. (1992), Briton (1992), Furhacker *et al*. (1995), Haug (1993)

^a Unit mg/kg dry matter basis

4.2 麥粘與下水污泥混合堆肥最佳化實驗

4.2.1 中央合成設計結果

在本階段的實驗中,考慮掺合比及含水率兩項操作參數,以實驗設之 的中央合成設計搭配反應曲面的方法,來評估此兩項參數對反應變數 TVS 損失率與碳的轉化率的功效。按照統計軟體 Minitab 所排列的實驗組數及 實驗結果如表 4-4、表 4-5 所列,由數據可發現含水率對整體反應有較大 的影響力,因為含水率介於適當範圍時不論搭配何種摻和比,其有較佳之 最高溫及最大二氧化碳產率。然而數據經統計軟體 Minitab 分析後,碳分 解率與 TVS 損失率之反應曲面及等高線圖分別如圖 4-15、圖 4-16、圖 4-17 和圖 4-18 所示。反應曲面圖的部分由圖形彎曲的趨勢,可以看出皆 有最大值的存在,而從彎曲的幅度歸納出掺合比對碳分解率影響較大,由 411111 於原始物料碳的含量皆不同,因此不同摻合比對碳的總量影響甚巨,所以 掺合比對碳的分解率影響較大是可想而知。隨著掺合比的增加亦即污泥含 量的增加,此時碳分解率呈現先升後降的趨勢,當摻合比大於 60% 以後碳 的分解率急遽下滑,這也暗示污泥含量越高將會對堆肥反應效率與品質越 不利; TVS 損失率方面則是含水率的影響大於摻合比,由於 TVS 損失率 的分析準確度不及碳分解率,有樣品代表性的問題存在,所以可能導致結 果顯示掺合比對 TVS 損失率沒有太大的影響。等高線圖部分值得一提的 是皆為收斂之曲線,這也意謂著由等高線圖即可找出最適之操作範圍,若

Coded value		Natural value		Dependent variables			
StdOrder	X ₁	X ₂	Mix	Moisture	Actual moisture	TVS	Carbon decomposition rate (%)
	[2	ratio (%)	content (%)	content (%)	loss (%)	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
7	0	-1.414	50	40	42	18.13	60.83
2	1	-1	71	44	46	16.71	50.63
8	0	1.414	50	70 🔬	F 5 69	17.79	69.72
10	0	0	50	55 🏹	54	22.97	76.97
3	-1	1	29	66 🗐	65	20.11	72.80
1	-1	-1	29	44 🌏	42	17.31	69.49
9	0	0	50	55	57	22.90	79.10
5	-1.414	0	20	55	53	24.02	71.78
4	1	1	71	66	67	17.16	44.65
6	1.414	0	80	55	59	22.03	76.91
11	0	0	50	55	54	23.30	77.30

表 4-4. 中央合成設計因子與對應反應參數表

	Coded value Natural value				Dependent variables			
StdOrder	V.	V.	Mix	Moisture	Maximum	Maximum CO ₂ evolution rate	Final nH	
	^ 1	^ 2	ratio (%)	content (%)	temperature (^O C)	(g CO2/Kg VS-hr)	Filial pli	
7	0	-1.414	50	40	65	20.36	8.84	
2	1	-1	71	44 🔊	60	18.63	8.60	
8	0	1.414	50	70 🏹	E 5 51	12.48	8.65	
10	0	0	50	55	63	18.81	9.32	
3	-1	1	29	66 🔧 🛔	1896 49	14.10	8.77	
1	-1	-1	29	44 🥋	58	14.87	9.02	
9	0	0	50	55	64	18.70	9.08	
5	-1.414	0	20	55	56	15.04	8.87	
4	1	1	71	66	44	8.34	8.98	
6	1.414	0	80	55	48	15.88	9.21	
11	0	0	50	55	63	17.28	9.18	

表 4-5. 中央合成設計因子與相關反應參數表





圖 4-16. 碳分解率等高線圖





圖 4-18. TVS 損失率等高線圖

以碳分解率為評估指標時,只要將掺合比控制在 35-45% 且含水率在 55-60% 之間時,碳分解率即可達到 78% 以上。若以 TVS 損失率為評估 指標時,亦得到在掺合比 30-40% 且含水率 55-60% 的操作範圍下,TVS 損失率達 22% 以上。綜合以上結果顯示,麥粘與下水污泥混合堆肥最佳 的掺合比為 35-40%,而含水率則介於 55-60% 之間。

4.2.2 配適二階模型之設計

碳分解率與 TVS 損失率之變異數分析結果如表 4-6 和表 4-8 所 示,利用 P-value (導致棄卻虛無假設的最小顯著水準) 來判斷其顯著性, 當 α 為 0.05 時定義當 P 值小於 0.05 為顯著性影響因子。因為兩者二 次項的 P 值皆很小 (<0.05), 故可預測碳分解率與 TVS 損失率實驗結果 適合配適一二階反應曲面。而從廻歸係數表 4-7 和表 4-9 中可歸納出, TVS 損失率的相關係數 R² 為 80.4% 而修正後的 R² 卻只有 60.8%,這 通常是由於其中含過多非顯著因子使得 R² 值降低,並造成 R² 值與修正過 後 R² 值差異很大。此時一般會將非顯著因子篩除後,重新得到更佳的總 變異比率,但在階層原理的限制下 (Hierarchy principle, 係指當模型中包含 一高階項時則必須保留組成高階項的所有低階項),致使無法將非顯著因子 删除,得到更佳的 R^2 值。不過碳分解率與 TVS 損失率的 R^2 值皆達到 80% 以上,這亦表示由二階反應曲面設計所得的預測值與實際實驗值很接 近。本次實驗設計結果所得之二階反應模型分別如式 4-1 及式 4-2 所示。

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	Р	
Regression	5	1193.81	1193.812	238.762	29.23	0.003	
Linear	2	499.61	400.293	200.146	24.50	0.006	
Square	2	672.63	672.628	336.314	41.17	0.002	
Interaction	1	21.58	21.576	21.576	2.64	0.179	
Residual Error	4	32.68	32.675	8.169			
Lack-of-Fit	2	30.05	30.047	15.023	11.43	0.080	
Pure Error	2	2.63	2.629	1.314			
Total	9	1226.49	E ANS				
1896							

表 4-6. 碳分解率之變異數分析

表 4-7. 迥歸係數預测碳分解率之結果

Term	Coef	SE Coef	Т	Р	
Constant	-163.118	37.9394	-4.299	0.013	
Mix ratio	2.576	0.4636	5.556	0.005	
Moisture content	6.821	1.2378	5.511	0.005	
Mix ratio*Mix ratio	-0.026	0.0033	-7.761	0.001	
Moisture content*Moisture content	-0.056	0.0109	-5.195	0.007	
Mix ratio*Moisture content	-0.010	0.0062	-1.625	0.179	
S= 2.858	R-Sq=	97.3%	R-Sq (adj)= 94.0%		

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	Р	
Regression	5	66.2277	66.2277	13.2455	4.10	0.074	
Linear	2	6.0216	6.0216	3.0108	0.93	0.453	
Square	2	58.8255	58.8255	29.4127	9.10	0.022	
Interaction	1	1.3806	1.3806	1.3806	0.43	0.542	
Residual Error	5	16.1566	16.1566	3.2313			
Lack-of-Fit	3	16.0653	16.0653	5.3551	117.35	0.008	
Pure Error	2	0.0913	0.0913	0.0456			
Total	10	82.3843	ESAP	111			
1896							

表 4-8. TVS 損失率之變異數分析

表 4-9. 廻歸係數預測 TVS 損失率之結果

Term	Coef	SE Coef	Т	Р
Constant	23.0567	1.0378	22.216	0.000
Mix ratio	-0.7955	0.6355	-1.252	0.266
Moisture content	0.3461	0.6355	0.545	0.609
Mix ratio*Mix ratio	-0.6833	0.7564	-0.903	0.408
Moisture content*Moisture content	-3.2158	0.7564	-4.251	0.008
Mix ratio*Moisture content	-0.5875	0.8988	-0.654	0.542
S= 1.798	R-Sq=	80.4%	R-Sq (adj)= 60.8%	

 $Y_1 = -163.118 + 2.576X_1 + 6.821X_2 - 0.026X_1^2 - 0.056X_2^2 - 0.01X_1X_2$

(式 4-1)

Y₂= 23.0567 - 0.7955X₁ + 0.3461X₂ - 0.6833X₁² - 3.2158X₂² - 0.5875X₁X₂ (式 4-2)

其中,Y1:碳分解率(%)

Y₂: TVS 損失率 (%)

X1: 掺合比 (%)

X2: 含水率 (%)

4.2.3 模型適當性與常態性假設檢驗

如果模型正確且如果所有的假定都滿足,則其殘差配適值應該是無結構的,特別的是它們應該與任何其他變數包括所預測的反應是無相關的。 一種簡易的檢驗就是畫出殘差對配適值的圖形如圖 4-19 及圖 4-21 所 示,碳分解率圖中並沒有不尋常的結構出現 (如像漏斗型或麥克風型),表 示模型為正確且滿足所有的假定。TVS 損失率圖中由左而右有逐漸變小的 趨勢,不過搭配殘差的常態分佈圖來看,其結果仍然是滿足所有的假定。

通常畫出殘差的直方圖可以檢驗常態假定,如果誤差項的假定被滿 足,則這個直方圖應該看起來向一組來自中心為零的常態分配樣本。不幸 的是當樣本小時經常發生相當的波動,使得溫和偏離常態的圖形並非一定 意謂著嚴重違反假定,但大幅偏離常態卻是相當嚴重的事而需要進一步分 析。建構一個殘差的常態機率圖如圖 4-20 和圖 4-22 所示,是一種非常 有用的方法,結果顯示兩圖形皆成一條線,表示誤差分配的確是常態,亦 即該實驗數據符合常態分佈性的假設。





圖 4-20. 碳分解率之殘差常態機率圖



圖 4-22. TVS 損失率之殘差常態機率圖

4.3 生物降解動力模式探討

表 4-10 顯示本研究中二氧化碳產氣速率與反應溫度成正比的關係, 而二氧化碳產率又可直接反應基質的轉化率,因此,由二氧化碳產生速率 與溫度的關係即可瞭解有機質在生化反應過程中的分解速率。本實驗將二 氧化碳代表基質變化情形,主要原因為堆肥過程中,基質所含之有機碳主 要形成二氧化碳逸散。因此,由累積二氧化碳之轉化率,即可瞭解有機碳 之變化,估算出有機物的分解量,此二者具有線性關係。除此之外,由於 TVS 損失率之測量易受採樣誤差及樣品代表性之影響,而二氧化碳之為連 續式監測,故其準確性與敏感度較高。

許多堆肥相關文獻中已經提出許多關於堆肥反應之動力學模式,但由 於基質的組成成分與性質上的不同,加上實驗用反應槽與操作條件之不 同,其所建立之模式大多為經驗式。為了探討麥粘與下水污泥混合堆肥二 氧化碳產率動力學模式,我們嘗試以 Rosso (1993) 如式 4-3 所示之模式 加以分析,發現雖然未能完全符合本研究中二氧化碳變化趨勢,但其 R² 值最少達 0.53 以上,而且最高達到 0.92 (圖 4-23),顯示有相當高的符 合度。

$$RCO_{2} = \left[\frac{R_{CO2opt}(T - T_{max})(T - T_{min})^{2}}{(T_{opt} - T_{min})(T - T_{opt}) - (T_{opt} - T_{max})(T_{opt} + T_{min} - 2T)}\right] \quad (\nexists \ 4-3)$$

其中, RCO₂= 二氧化碳產率 (g CO₂/Kg VS-day)

表 4-10. 二氧化碳產率與溫度及 CTMI 模式預測值之相關係數

Codeo	d value	Natural	value		
X ₁	x ₂	Mix ratio (%)	Moisture content (%)	Temperature V.S. CO ₂ (R ²)	CTMI model (R ²)
0	-1.414	50 🗧	40	0.8953	0.6360
1	-1	71 🏮	44	0.9291	0.9150
0	1.414	50	70	0.8116	0.6128
0	0	50	55	0.8893	0.7461
-1	1	29	66	0.9224	0.7944
-1	-1	29	44	0.8828	0.8680
0	0	50	55	0.9091	0.5276
-1.414	0	20	55	0.8677	0.6650
1	1	71	66	0.9369	0.8875
1.414	0	80	55	0.8201	0.7882
0	0	50	55	0.8394	0.7150



A LUE A

4.4 麥粘與下水污泥混合堆肥質量平衡

堆肥中混合物的質量可分為水分、揮發性有機物與灰分三部分,其中 堆肥程序反應期間只有水分與揮發性有機物會因微生物作用而蒸散和分 解,灰分在整個反應過程則是保持固定不變,故質量平衡僅需考慮估算水 分及揮發性有機物兩部分的變化。

4.4.1 水分質量平衡

 $(MfT\omega f - MiT\omega i) = Wdecomp. - Wevp. - Waer.$ (式 4-4)

堆肥系統中水分之質量平衡如式 4.4 所示,因翻堆而損失的水分忽略不 計,以實驗設計中最接近最佳操作條件的中心組為例,各項計算數值如表 4-11 所列。其中 Wdecomp. 根據實驗結果 VS 分解量 (Mvs) 為 2583 公克,而降解每單位揮發性有機物產生水的轉換率 (fvs) 為 0.5236,故由 式 2-8 得到 VS 相對應所產生的水為 1352.5 公克;Wevp. 值則分別代 入 120 小時個別反應槽溫度與當時溫度所對應之氣體水分含量於式 2-10 累加,扣除室溫下氣體水分含量累加,其結果即為 Wevp.;反應槽內抽氣 量為每分鐘 15 L,反應 120 小時後的總抽氣量為 108000 L,而 25 OC 時 每莫耳空氣體積為 24.4 L 而抽氣的水分含量 3.3%,故此時總抽氣量為 4426.2 莫耳亦即 79672.1 公克,代入式 2-11 得到 Waer. 為 2629.2 公 克。最後得到由理論值推估的水分損失量為 6373.3 公克。

Wdecomp. = fvs × $Mvs = 0.5236 \times 2583 = 1352.5$

Wevp. = Mair × ω out = 9728.8 - 2826.2 = 5096.6

Waer. = Mair × ω in = 79672.1 × 0.033 = 2629.2

表 4-11. 水分質量平衡表

反應前初始重 (M ⁱ ī,g)	初始含水率 (w ⁱ , %)	反應後最終重 (M ^f _T , g)	最終含水率 (w ^f , %)	初始 VS (Kg-dry matter)	最終 VS (Kg-dry matter)
22200	54.55	14600	49.32	8.648	6.065
項目	M ⁱ ⊤ω ⁱ (g)	W _{decomp.} (g)	W _{evp.} (g)	W _{aer.} (g)	M ^f ⊤ω ^f (g)
實驗值	12110.1	-	-	-	7200.7
理論值	12110.1	1352.5	5096.6	2629.2	5736.8
偏差值	-		- 12	-	1463.9
		E C E C	E		

4.4.2 揮發性有機物質量平衡 5 1896

堆肥反應過程中初始時間 i 及時間 f 各指標參數值如表 4-11 所列,分別代入式 2-12, 2-14, 2-15, 2-16, 2-18, 2-19 和 2-20 得到下列計算值:

$$R^{i} = \frac{M_{vs}^{i}}{M_{ash}^{i} + M_{vs}^{i}} = \frac{8648}{22200(1 - 0.5455)} = 0.857$$

$$M_{ash}^{i} = (1 - R^{i}) \left[M_{T}^{i} (1 - \omega^{i}) \right] = (1 - 0.857) [22200(1 - 0.5455)] = 1443$$

$$M_{vs}^{i} = M_{ash}^{i} \frac{R^{i}}{1 - R^{i}} = 1443 \frac{0.857}{1 - 0.857} = 8650$$

$$R^{f} = \frac{M_{vs}^{f}}{M_{ash}^{f} + M_{vs}^{f}} = \frac{6065}{14600(1 - 0.4932)} = 0.820$$

$$M_{ash}^{f} = (1 - R^{f}) \left[M_{T}^{f} (1 - \omega^{f}) \right] = (1 - 0.82) \left[14600(1 - 0.4932) \right] = 1332$$

$$M_{vs}^{f} = M_{ash}^{f} \frac{R^{f}}{1 - R^{f}} = 1332 \frac{0.82}{1 - 0.82} = 6068$$

 $\Delta M_{vs} = M_{vs}^{i} - M_{vs}^{f} = 8650 - 6068 = 2582$

經理論計算得到揮發性有機物損失為 2582 公克,將揮發性有機物的 質量平衡式 2-12 加上水分質量平衡式 2-7,即可得到此中心組批次堆肥 試驗的質量平衡模式,如同圖 4-24 所示實驗與模式的誤差約為 6.1% (<u>8.955-7.6</u>×100%),結果顯示由模式所推算的質量減少趨勢與實際的實驗值



圖 4-24. 堆肥化質量平衡圖

4.5 分子生物學實驗 (DGGE)

選取與實驗設計所得與最佳操作條件相近的中心組,並於反應第 1,2, 3,4,5 以及第 7 天採樣 (共 6 次採樣) 並萃取其 DNA,進行 DGGE 菌 相分析,採樣時所對應之反應溫度分別為 26,38,43,60,30 以及 25^oC。 圖 4-25 為 DGGE 電泳圖,而觀察第 1 至 7 天的電泳圖可發現有 2-3 條 band 是在相同位置出現,意指是相同的菌株。證明了進行堆肥反應的 微生物是跨越高溫與中溫期的物種。從第 4 天後,band 的數目變多,因 為這時間堆肥已進入熟成期,堆肥溫度一直緩慢下降,會有菌相豐富現象 產生。整個電泳圖中,大約可以分出 7 株菌。





圖 4-25. 麥粘與下水污泥混合堆肥 (MR: 50%, MC: 55%) DGGE 電泳圖



4.6 利用腐熟堆肥吸附重金屬實驗

4.6.1 pH 值實驗

溶液 pH 值可以認定為影響吸附劑吸附重金屬最重要的因子 (Pagnanelli, 2003), 不同 pH 值有可能會增加吸附重金屬的效率,因為離 子相互競爭有效位置所產生效應。有鑑於此在不同的初始 pH 值範圍 (2-8) 下進行實驗,使用相同濃度的 Cu () 及 Pb () 溶液 (50 mg/L) 100 ml,以及添加相同含量的堆肥 (m= 10 g/L), 試圖找出利用腐熟堆肥吸附 Cu()及Pb()的最適 pH 值,以便將後續的吸附實驗控制在最適 pH 值下進行。實驗結果如圖 4-26 和圖 4-27 所示,在 Cu()的部分當 pH 值小於 4 時,吸附效率明顯受到抑制, pH 值大於 4 之後吸附效率則差不 多。Basci (2004) 利用麥殼 (Wheat shell) 吸附 Cu() 所得到的最佳 pH 值範圍介於 5-6,因此選定 pH6 作為最適 pH; 而 Pb()的部分變化趨 勢大致相同,當 pH 值小於3時,吸附效率也明顯受到抑制,pH 值大於3 之後吸附效率差異不大,考量到腐熟堆肥的 pH 值偏鹼,為了方便調整 pH 故選擇 pH7 作為之後 Pb() 吸附實驗之最佳 pH 值。

4.6.2 Cu (Ⅱ) 及 Pb (Ⅱ) 初始濃度之影響實驗

利用腐熟堆肥吸附 Cu()及 Pb()之效率實驗,其初始濃度變化範 圍從 10-250 mg/L,實驗結果如表 4-12 和表 4-13 所示。 Cu()吸附 實驗結果顯示,隨著濃度的增加吸附效率先升而後降,而 x/m 的比率則是



圖 4-27. 初始 pH 值對 Pb(Ⅱ) 吸附效率之影響

不斷增加的趨勢; Pb ()的吸附效率則是隨著濃度的增加呈現不規則跳動, 不過 X/m 的比率亦是不斷增加。

為了得到腐熟堆肥對於去除 Cu()和 Pb()的吸附常數及吸附能 力, 套用 Langmuir 和 Freundlich isotherm 於不同初始濃度, 實驗結果 發現利用腐熟堆肥吸附 Cu()和 Pb()的研究中, 實驗數據較配適 Langmuir isotherm,其 Cu()及 Pb()相關係數皆達到 0.97 如圖 4-28 和圖 4-29 所示。將 1/(x/m)對 1/Ce 作圖由斜率可以得到 q_{max} 值,經計算得到 Cu()和 Pb()的 q_{max} 值分別為 0.58 及 0.10,可 明顯看出腐熟堆肥吸附 Cu()的效率比吸附 Pb()要來得好,與表 4-14 其它文獻比較,值得注意的是 Basci (2004)使用麥殼作為吸附劑吸 附 Cu()得到 q_{max} 值為 0.13,由於麥粘與麥殼為性質相似之物料,表 示與下水污泥混合經堆肥程序後,可以將其吸附能力提升大約四倍多。

透過 Energy dispersive X-ray microanalysis (EDX) 分析有助於吸附 劑的化學及元素特性之研究,經由 EDX 分析堆肥產品吸附銅前與後如圖 4-30 a, b 所示,在 3.3 KeV 以及在 0.9 和 8.0 KeV 所出現之峰值分別對 為元素 K(I)與 Cu(II),吸附前後光譜顯示只有在吸附後的光譜中觀察 到銅的出現以及鉀的消失,一般而言鉀是細胞膜與細胞壁的重要組成成 分,這也顯示銅跟鉀在細胞壁中產生交換,因此推斷離子交換是金屬吸附 中的機制之一,Cho(2003)也指出過鉛與鉀之間離子交換的機制。由 EDX 的分析結果可知, 銅藉由離子交換的機制與堆肥中所含的鉀離子互換, 而 達到吸附銅的效果。


C ₀ (mg/L)	C _e (mg/L)	Copper adsorbed (mg/L)	x/m (mg Cu ²⁺ /g compost)	Biosorption Efficiency (%)	1/Ce (L/mmol)	1/(x/m) (g compost/mmol Cu ²⁺)
10	3.15	6.85	0.685	68.50	20.16	92.70
20	4.50	15.50	1.550	77.50	14.11	40.97
30	4.90	25.10	2.510	83.67	12.96	25.30
40	5.60	34.40	3.440	86.00	11.34	18.46
50	6.00	44.00	4.400	88.00	10.58	14.43
100	8.40	91.60	9.160	91.60	7.56	6.93
150	21.20	128.80	12.880	85.87	3.00	4.93
200	51.00	149.00	14.900	74.50	1.25	4.26
250	95.00	155.00	15.500	62.00	0.67	4.10

表 4-12. Cu (Ⅱ) 初始濃度對生物吸附之影響

m=10 g/L, rpm=250, pH=6, t=2 h

C ₀ (mg/L)	C _e (mg/L)	Lead adsorbed (mg/L)	x/m (mg Pb ²⁺ /g compost)	Biosorption efficiency (%)	1/Ce (L/mmol)	1/(x/m) (g compost/mmol Pb ²⁺)
10	0.65	9.35	0.935	93.50	318.77	221.60
20	1.86	18.14	1.814	90.70	111.40	114.22
30	2.30	27.70	2.770 ESA	92.33	90.09	74.80
40	3.40	36.60	3.660	91.50	60.94	56.61
50	3.70	46.30	4.630	92.60	56.00	44.75
100	17.80	82.20	8.220	82.20	11.64	25.21
150	11.20	138.80	13.880	92.53	18.50	14.93
200	13.00	187.00	18.700	93.50	15.94	11.08
250	20.50	229.50	22.950	91.80	10.11	9.03

表 4-13. Pb(Ⅱ) 初始濃度對生物吸附之影響

m=10 g/L, rpm=250, pH=7, t=2 h



圖 4-28. Cu (Ⅱ) 生物吸附線性形式之 Langmuir isotherm



圖 4-29. Pb(Ⅱ) 生物吸附線性形式之 Langmuir isotherm

表 4-14. 不同生物吸附劑對 Cu(Ⅱ) 及 Pb(Ⅱ) 吸附能力比較 (q_{max})

Adsorbent	Pb ²⁺	Cu ²⁺	Reference
Wheat shell		0.13	Basci et al., (2004)
Phanerochaete chrysosporium	0.41	0.42	Say et al., (2001)
Pantoea sp. TEM18		0.49	Ozdemir et al., (2004)
Compost	0.10	0.58	This study
Sphaerotilus natans	0.65	0.63	Pagnanelli et al., (2003)
marine algae Padina sp.		0.80	Kaewsarn et al., (2002)
marine algae	1.55	1.30	Matheickal et al., (1999)
Phanerochaete chrysosporium	0.65	1.56	lqbal et al., (2004)





圖 4-30. a, b. 堆肥成品 EDX 光譜分析: a 吸附銅前 b 吸附銅後

第五章 結與建議

- 5.1 結論
- 由溫度、二氧化碳產率及種子發芽實驗之結果可推測麥粘與下水污泥快 速堆肥可在 5-7 天內可達到完全分解腐熟的條件,與其它堆肥相關研 究比較時間明顯縮短。證明藉由反應槽設計改善所建立之快速堆肥系統 確實有助於提升堆肥速率。
- 2. 二氧化碳產率與 TVS 損失率相較之下較能準確反映微生物活性,而且 由實驗結果發現二氧化碳產率與反應溫之間相關度很高,可以利用二氧 化碳產率直接代表反應基質的轉化率。
- 3. 由中央合成設計及反應曲面法結果顯示,麥粘與下水污泥混合堆肥最佳 生物降解之掺合比約在 35-40% 之間,而含水率在 55-60% 之間有較 佳之降解率。
- 4. 由廻歸數分析得知碳分解率與 TVS 損失率配適一二階反應模型,其 R² 值皆在 80% 上,藉由所得二階多項式,只要知道掺合比及含水率即可 預估得到其對應之碳分解率與 TVS 損失率。
- 本實驗二氧化碳產率可以利用反應溫度代入 CTMI 模式來作預測,指示 麥 粘與下水污泥混合堆肥反應中基質的變化情形,其 R² 值介於
 0.53-0.92 之間。
- 6. 分子生物實驗 DGGE 結果顯示, 堆肥反應期間優勢菌種種類確實在改

變,而且同一株菌種也同時出現在高溫期與中溫期階段,證實參與堆肥 反應的微生物是同時跨越高溫與中溫期的物種。

- 7. 過去文獻中 pH 值對生物吸附效率影響扮演重要的角色,但本實驗結果 顯示利用腐熟堆肥吸附 Cu()及 Pb()除了在 pH 小於 4 以下 有影響之外,其餘 pH 下的吸附效率則差不多,故本實驗分別選擇 pH 6 及7 用於 Cu()及 Pb()吸附實驗,方便控制調整。
- 8. 吸附效率同樣會受到初始濃度的影響,而不論 Cu()或 Pb()結果 資料皆較配適 Langmuir isotherm,最大的吸附能力 (q_{max})分別是
 0.58 及 0.10 mmol/g。



5.2 建議

- 堆肥過程中可加入鎂鹽和磷鹽,使得過程中所產生氨以形成 strvite crystals 型態沈澱下來,透過此方式氨的揮發量將大大的降低,有助於 大幅增加堆肥總氨氮含量,以乾基形式來換算將達到一般堆肥的 3-5 倍。
- 可以嘗試利用兩個反應槽連接的設計,將第一個反應槽之出流氣體導入 至第二反應槽,增加第二反應槽在高溫狀態下持續時間,以便達到 class
 A水準,提升堆肥成品的品質。
- 3. 由實驗的經驗得知 TVS 分析容易受到採樣誤差及樣品代表性之影響, 以二氧化碳產率對堆肥反應有較佳代表性,因此若以 TVS 指標判斷堆 肥成效時,最好配合二氧化碳產率及累積量加以佐證。
- 影響堆肥實驗因子眾多,隨著基質的改變而有不同的操作影響參數,在 進行因子最佳化實驗前,可以先進行因子設計法篩選出較顯著因子,再 決定利用何種實驗設計方法得到最佳化操作參數。
- DGGE 電泳圖實驗結果可進一步將不同株菌加以定序,比對出菌種名稱 以利後續的研究。
- 吸附實驗所用之腐熟堆肥為未經研磨之堆肥,如能將堆肥進一步研磨
 後,粒徑縮小表面積增加,預期可以達到更佳的吸附效率。
- 7. 將吸附重金屬後的堆肥作 XPS, SEM, XRD, FTIR 以及 EDS 等分

析,可以進一步瞭解腐熟堆肥吸附重金屬的內部反應機制。



第六章 参考文獻

- C. E. Kipp. Optimum process parameters for composting sludge. Biocycle Technology, Vol. 25, NO. 9 (1984) 39 - 40.
- Charin Techapun, Thanakorn Charoenrat, Masanori Watanabe, Ken Sasaki, Naiyatat Poosaran. Optimization of thermostable and alkaline-tolerant cellulase-free xylanase production from agricultural waste by thermotolerant *Streptomyces* sp. Ab106, using the central composite experimental design. *Biochemical Engineering Journal* 12 (2002) 99 - 105.
- C. Paredes, M.P. Bernal, J. Cegarra, A. Roig. Bio-degradation of olive mill wastewater sludge by its co-composting with agricultural wastes. *Bioresource Technology* 85 (2002) 1 - 8.
- Dae Haeng Cho, Eui Yong Kim. Characterization of Pb (II) biosorption from aqueous solution by *Rhodotorula glutinis*. *Bioprocess Biosyst Eng* 25 (2003) 271 - 277.
- E. Epstein. The science of composting. *Technomic Publishing Company*. Pennsylvania (1997).
- E. Bertran, X. Sort, M. Soliva, I. Trillas. Composting winery waste: sludges and grape stalks. *Bioresource Technology*, 95 (2004) 203 -208.
- F. Zucconi, A. Monaco and M. Forte. Phytotoxins during the stabilization of

organic matter. *Composting of Agricultural and other Wastes* (1985) 73 - 85.

- F. Pagnanelli, A. Esposito, L. Toro, F. Veglio. Metal speciation and pH effect on Pb, Cu, Zn and Cd biosorption onto *Sphaerotilus natans*: Langmuir-type empirical model. *Water Research* 37 (2003) 627 633.
- G. Muyzer, de Waal EC and A. G. Uitterlinden. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reactionamplified genes encoding for 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology* 59 (1993) 695 700.
- G. Muyzer and K. Smalla. Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology. *Antonie Van Leeuwenhoek* 73 (2000) 127 - 141.
- Guven Ozdemir, Nur Ceyhan, Tansel Ozturk, Feyza Akirmak, Tamer Cosar. Biosorption of chromium (VI), cadmium (II) and copper (II) by *Pantoea* sp. TEM18. *Chemical Engineering Journal* 102 (2004) 249 -253.
- H. Quazi Bari, A. Koening. Effect of air recirculation and reuse on composting of organic solid waste. *Resources, Conservation and Recycling* 33 (2001) 93 - 111.

- J. H. Crawford. Composting of agricultural wastes a review. *Process Biochemistry*, Vol. 16 (1983) 4 - 8.
- JC Pena, I Garcia, A. Carmona. La composta, un producto biotechnologico. In: *Productos Naturales*, vol. 1 (1992) 9 -31.
- J.W.C. Wong, S.W.Y Li, M.H. Wong. Coal fly ash as a composting material for sewage sludge: effects on microbial activities. *Environmental Technology* 16 (1995) 527 - 537.
- Jose T. Matheickal, Qiming Yu. Biosorption of lead () and copper () from aqueous solutions by pre-treated biomass of Australian marine algae. *Bioresource Technology* 69 (1999) 223 -229.
- J.W.C. Wong, K.F. Mak, N.W. Chan, A. Lam, M. Fang, L.X. Zhou, Q.T. Wu, X.D. Liao. Co-composting of soybean residues and leaves in Hong Kong. *Bioresource Technology* 76 (2001) 99 106.
- K. Nakasaki, H. Yaguchi, Y. Sasaki and H. Kubota. Effect of pH control composting of garbage. Waste Management Resources, Vol. 11, NO. 2 (1993) 17 - 25.
- K. Nakasaki, H. Yaguchi, Y. Sasaki, H. Kubota. Effects of pH control on composting garbage. Waste Management and Research 11 (1993) 117 - 125.
- K. Ishii, M. Fukui and S. Takii. Microbial succession during a composting

process as evaluated by denaturing gradient gel electrophoresis analysis. *Journal of Applied Microbiology* 89 (2000) 768 - 777.

- L. Spinosa, G. Mininni, and A. Brunetti. Biotechnology applied to sewage sludge. *In bioenvironmental Systems volume* 95 141.
- L.F. Diaz, G.M. Savage, L.L. Eggerth and C.G. Golueke. Composting and Recycling Municipal Solid Waste. *Lewis Publisher New York* (1991) 122.
- L. Rosso, J.R. Lobry, and J.P. Flandrois. An unexpected correlation between cardinal temperature of microbial growth highlighted by a new model. *J. Theor. Biol.* 162 (1993) 447 - 463.
- Liang Qiao, Goen Ho. The effect of clay amendment on composting of digested sludge. *Wat. Res.* Vol. 31. No. 5 (1997) 1056 1064.
- M. L. Droffner, F. B. J.William and E. Evans. Evidence for the prominence of well characterized mesophilic bacteria in thermophilic (50-70°C) composting environments. *Biomass Bioenerg.* 8 (1995) 191 - 195.
- M. Furhacker, R. Haberl. Composting of sewage sludge in a ratating vessel. *Wat. Sci. Tech*, Vol. 32 (1995) 121 125.
- M. Bernal, A.F. Navarro, A. Roig, J. Cegarra, D. Garcia. Carbon and nitrogen transformation during composting of sweet sorghum bagasse. *Biology and Fertility of Soils* 22 (1996) 141 - 148.
- M. Fang and J. W. C Wong. Changes in thermophilic bacteria population and diversity during composting of coal fly ash and sewage sludge.

Water, Air, and Soil Pollution 124 (2000) 333 - 343.

- M. S. Pedro, S. Haruta, M. Hazaka, R. Shimada, C. Yoshida, K. Hiura, M. Ishii and Y.Igarashi. Denaturing gradient gel electrophoresis analyses of microbial community from filed-scale composter. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 91 (2001) 159 165.
- M.J. Diaz, E. Madejon, F. Lopez, R. Lopez, F. Cabrera. Optimization of the rate vinasse/grape marc for co-composting process. *Process Biochemistry* 37 (2002) 1143 - 1150.
- M.J. Dıaz, M.E. Eugenio, L. Jimenez, E. Madejon, F. Cabrera. Modelling vinasse/cotton waste ratio incubation for optimum composting. *Chemical Engineering Journal* 93 (2003) 233 - 240.
- M. Iqbal, R.G.J. Edyvean. Biosorption of lead, copper and zinc ions on loofa sponge immobilized biomass of *Phanerochaete chrysosporium*. *Minerals Engineering* 17 (2004) 217 - 223.
- Nurgul Basci, Erdem Kocadagistan. Beyhan Kocadagistan, Biosorption of copper () from aqueous solutions by barleyshell. *Desalination* 164 (2004) 135 140.
- O. Martins, T. Dewes. Loss of nitrogenous compounds during composting of animal wastes. *Bioresource Technology* 42 (1992) 103 - 111.
- O. Hassouneh, A. Jamrah, K. Qaisi. Sludge stabilization by composting a Jordanian case study. *Bioprocess Enginering* 20 (1999) 413 421.
- P.L. Bishop, C. Godfrey. Nitrogen variations during sludge composting.

BioCycle 24 (1983) 34-39.

- Pairat Kaewsarn. Biosorption of copper () from aqueous solutions by pre-treated biomass of marine algae *Padina sp. Chemosphere* 47 (2002) 1081 1085.
- R. L. Barods, P. Hadley, A. Kendle. Composting guidance in United Kingdom. *Biocycle* (1992) 33: 6.
- R. Briton. German Composting Systems. *Biocycle* (1992) 33: 6.
- R. T. Haug. The Practical Handbook of Compost Engineering, Boca
 Raton. Boca Raton: Lewis Publishers (1993) 95 120.
- Ridvan Say, Adil Denizli, M. Yakup Arica. Biosorption of cadmium (),
 lead () and copper () with the filamentous fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Bioresource Technology* 76 (2001) 67 70.
- R. Kulcu and O. Yaldiz. Determination of aeration rate and kinetics of composting some agricultural wastes. *Bioresource Technology*, Vol. 93 (2004) 49 - 57.
- S.P. Mathur. Composting processes. In: Bioconversion of Waste Material to Industrial Products. *In: Martin, A.M. Elsevier, New York*. (1991) 147 - 186.
- S.M. Tiquia, N.F.Y Tam. Fate of nitrogen during composting of chicken litter. *Environmental Pollution* 110 (2000) 535 541.
- S.E. Garrido Hoyos, J. Vilchis Juarez, C. Andre Ramonet, J. Garcia Lopez, A. Alvarez Rios, E. Gorostieta Uribe. Aerobic thermophilic

composting of waste sludge from gelatin-grenetine industry. *Resources. Conservation and Recycling* 34 (2002) 161 - 173.

- S. Haruta, M. Kondo, K. Nakamura, H. Aiba, S. Ueno, M. Ishii, Y. Igarashi. Microbial community changes during organic solid waste treatment analyzed by double gradient-denaturing gradient gel electrophoresis and fluorescence in situ hybridization. *Appl Microbiol Biotechnol* 60 (2002) 224 - 231.
- S. H. Kwon and D. H. Lee. Evolution of Korean food waste composting with fed - batch operation I: using water extractable total organic carbon centents (TOC_w). *Process Biochemistry*, Vol. 39 (2004) 1183 - 1194.
- S. H. Kwon and D. H. Lee. "Evolution of Korean food waste composting with fed - batch operation I: using water extractable total organic carbon centents (TOC_w) ". *Process Biochemistry*, Vol. 39 (2004) 1183 - 1194.
- T. H. Roger. Engineering Principles of Sludge Composting. *J. WPCF*, Vol. 51, NO. 8 (1979).
- T. Beffa, M. Blanc and M. Aragno. Obligately and facultatively autotrophic, sulfur- and hydrogen- oxidizing thermophilic bacteria isolated from hot composts. *Arch. Microbiol.* 165 (1996) 34 - 40.
- U.S. EPA. 40CFR Parts 257 and 503. "Standards for Disposal of Sewage Sludge," Proposed Rule. *Fed Regist*. (1989) 55 -

218.

- W. C. Jonathan Wong and Min Fang. Effect of lime addition on sewage sludge composting processs. *Wat. Res.* Vol. 34, No. 15 (2000) 3691 3698.
- Wang jianlong. Biosorption of copper () by chem.ically modified biomass of Saccharomyces cerevisiae. Process Biochemistry 37 (2002) 847 - 850.
- Yeon-Koo Jeong, Jin-Soo Kim. A new method for conservation of nitrogen in aerobic composting processes. *Bioresource Technology* 79 (2001) 129 133.
- Yesim Sag, Berya Tatar, Tulin Kutsal. Biosorption of Pb (Ⅱ) and Cu (Ⅱ) by activeated sludge in batch and continuous-flow stirred reactors. *Bioresource Technology* 87 (2003) 27 - 33.
- 官路,下水污泥堆肥化操作因子之研究,國立中央大學土木工程學研究所 碩士論文 (1990)。
- 楊盛行,廢棄物堆肥化微生物菌種之開發及應用,永續農業研究及推廣研 討會專輯 (1995),頁 47 - 65。
- 鄭東益,污泥資源化固態醱酵之研究,國立雲林科技大學環境與安全工程研究所碩士論文 (1997)。
- 張一岑,果菜市場廢棄物堆肥化處理示範計畫報告,高雄縣環保局 (1998)。

童永黔、何公亮、曾仁國、劉信堂、吳江鑽、李文章 (2002) 污泥最終處置

最佳方案評估計畫-污泥堆肥化研究,台北市政府工務局衛生下水道工

程處委託研究計畫。

蔡人傑,蔬菜廢棄物好氧生物降解 (堆肥化),國立高雄第一科技大學環境

與安全衛生工程系碩士論文 (2003)。

李伯亨,下水污泥堆肥程序質能平衡之研究,國立交通大學環境工程研究 所碩士論文 (2003)。



附錄一 分子生物實驗步驟

Genomic DNA 萃取步驟

- Add 800µl of Extraction Solution into 15 ml polypropylene centrifuge tube, add < 1 g soil sample to the solution, vortex vigorously for 30s.
 - * Do not use polyethylene tube, which cannot be used in microwave oven.
- Loose the cap and stand the tube in a glass beaker and put into the microwave oven. Heat the sample for 10 s.
 - *If treat mutliple samples at a time, adjust heating time until extraction solution is foaming without popping out.
- Vortex vigorously for 30s-1min, then centrifuge at 3,500g for 5 min at RT.
- 4. Transfer the supernatant into 1.5 ml microcentrifuge tube.

Optional: If RNA-free DNA is desired, add 4 ul RNaseA solution

(100mg/ml) and incubate at RT for 5 min.

- 5. Add 1/3 volume of Precipitation Solution, mix by inverting the tube, incubate on ice for 5 min.
 - *The solution will become cloudy, becouse of precipitation of detergen and proteins.
- 6. Centrifuge at top speed (12-14,000 rpm) for 5 min at RT.
- 7. Collect the supernatant into a new microcentrifuge tube without

disturbing the pellet.

 Add 0.5 volume of Binding Solution and one volume of Ethanol, mix throughly by pippeting.

*For Example: To 400 µl lysate, add 200µl Binding Solution and 400µl Ethanol.

- Transfer 650 µl of the mixture including any precipitate into Spin Column with collection tube and spin for 1 min and discard the flow-through.
- 10. Repeat step 9 with remaining mixture.
- 11. Optional : Discard the flow-through, wash with 500 µl of Binding Buffer.

*Apply this step to remove excess fumic acid for high humic acid soil, which will make eluted DNA brownish.

- 12. Discard the flow-through, wash twice with 700 μ l of Wash Solution.
- 13. Discard the flow-through, centrifuge for 3 min at top speed to remove ethanol.
- 14. Place the column in a new microcentrifuge tube, and incubate the spin column at 50-60°C oven for 5 mins to evaporate all the ethanol before eluting the DNA.
- 15. Add preheated 60-70 $^{\circ}$ C of 100-200 ul Elution Solution or H₂O or TE (pH must between 7.0-8.5), wait for 1-2 min, to elute the DNA by

centrifugation for 1 min, and store the DNA at -20 .

PCR 步驟

- 1. 依照表一中指定的劑量分別加入 200 µl eppendrop 中
- 2. 混合均匀後離心 10 秒
- 3. 放入 PCR 機器中依表二程序進行

Item	Quantity (µl)				
DNA template	2				
Primer-f-GC	1.5				
Primer-r	1.5				
PCR master mix	10				
d ₂ H ₂ O	35				
Total	50				
a anne	<i>a</i> .				

表一 PCR 藥劑添加劑量表

表二 PCR 反應程序表

Procedure		
Cycle 1 (1x)	Step 1	94 ⁰ C for 6:00
Cycle 2 (35X)	Step 1	94 ⁰ C for 1:00
	Step 2	55 ⁰ C for 1:00
	Step 3	72 ⁰ C for 1:10
Cycle 3 (1X)	Step 1	72 ⁰ C for 6:00
Cycle 4 (1X)	Step 1	4 ⁰ C for ∞

DGGE 製膠步驟

- 1. 將大片玻璃置於下層,放上間隔板後再將小片玻璃放上,形成玻璃板組。
- 將玻璃板組用兩個鑄膠夾夾緊後至於鑄膠台。在兩片玻璃之間放入排列 卡,並旋鬆、旋緊鑄膠夾,直到玻璃片、間隔板及鑄膠夾皆在同一平面 上為止。
- 配置所需的膠體濃度(如 0% 與 100%,參照表三),將 40%
 acrylamide、TAE buffer、formamide、urea 及去離子水先混合均匀(不可用 vertex 避免產生氣泡),備用之。
- 4. 將鑄膠器上的兩個注射筒放置適當位置。將 10% APS 及 TEMED 分別加入步驟 3 配好的膠體液並混合均勻後,立刻用注射器吸取然後將注射器架設在鑄膠器上。
- 5. 以鑄膠器上之注射筒將膠體溶液注入步驟 1 中之玻璃片空隙,需緩慢旋轉以避免產生氣泡,膠體注射完成後,插入齒模,靜置膠體凝固 (約 2 小時)。

DGGE 電泳:

- 1. 先將 1X TAE buffer 預熱至約 60 。
- 取適當量之 PCR product 並加入適當量之 6X loading buffer 後離心之,備用。
- 3. 將步驟 1 中 buffer 倒入電泳槽中,並將凝固後的膠體放入。

4. 將步驟 2 的 PCR product loading 至膠體上的 well 內。調整適合的

DGGE 操作温度、電壓及時間。

-						
	80% Denaturing solution					
	10% Gel (1	00-300bp)	8% Gel (20	(200-400b)p		
	25ml	20ml	25ml	20ml		
40% Acrylamide	6.25ml	5ml	5ml	4ml		
50x TAE	0.5ml	0.4ml	0.5ml	0.4ml		
Formamide	8ml	6.4ml	8ml	6.4ml		
Urea	8.4g	6.72g	8.4g	6.72g		
d_2H_2O	To 25ml	To 20ml	To 25ml	To 20ml		
10% APS	250 μ l	200 μ Ι	250 μ Ι	200 μ Ι		
TEMED	10 μ I	8 μΙ	10 μ l	8 µ I		
		SAR				
		40% Denaturi	ing solution			
	10% Gel (1	00-300bp)	8% Gel (200-400b)p			
	25ml	20ml	25ml	20ml		
40% Acrylamide	6.25ml	5ml	5ml	4ml		
50x TAE	0.5ml	0.4ml	0.5ml	0.4ml		
Formamide	4ml	3.2ml	4ml	3.2ml		
Urea	4.24g	3.36g	4.24g	3.36g		
d_2H_2O	To 25ml	To 20ml	To 25ml	To 20ml		
10% APS	250 μ l	200 μ Ι	250 μ l	200 μ l		
TEMED	10 μ I	8 µ I	10 μ l	8 µ I		

表三 DGGE 製膠劑量添加表

附錄二 反應槽操作對策表

發生情況	解決方法 (處理及應變步驟)	改善後恢復情形
反應槽內置攪拌器停止轉動	打開電控箱檢查線路是否擠壓到	攪拌器正常運轉
反應槽高溫期冷凝管下方集水瓶水量過少	檢查管線是否漏氣或抽氣流量是否正確	收集水量恢復正常
二氧化碳加上氧氟數值不等於 20.9 左右	二氧化碳或氧氟偵測器異常請廠商檢修	二氧化碳分析儀恢復 正常
堆肥產氣含水率過高影響二氧化碳分析儀分析 結果	加裝一組 5°C 恆溫冷凝器去除水分	二氧化碳分析結果正 常
二氧化碳分析儀校正偏移值大於 20%	通知廠商校正歸零1896	二氧化碳分析儀恢復 正常
電腦介面卡訊號不穩定	Channel 上外加大電阻並將不用 channel 用電線封死避免干擾	訊號恢復穩定
電腦介面卡沒有訊號	檢查電腦內部卡片或傳輸線是否鬆脫	訊號恢復正常
Thermal couple 訊號定時發生 大幅度異常	Thermal couple 老舊更換新的 thermal couple	訊號恢復正常
電子磅秤測值明顯異常	線路接觸不良請廠商更換維修	秤值正常
電子磅秤不插電即無法使用	電池故障請廠商更換	功能恢復正常

附錄三 實驗原始數據總灠

Time (hr)	Temperature (^O C)	pН	Electrical conductivity (ms/cm)	Moisture content (%)	CO ₂ evolution rate (g CO ₂ /Kg VS-hr)	TVS loss (%)	Carbon decomposition rate (%)
0	26	6.39	0.36	42	0.00	0.00	0.00
13	34	6.32	0.51	42	2.02	-0.08	0.98
21	48	6.33	0.52	42	7.39	2.78	7.65
29	40	5.79	0.64	42	5.00	5.23	11.50
37	42	6.74	0.59	42	9.93	5.86	16.03
45	57	8.45	0.62	E 42 1896	11.56	9.06	24.89
53	52	8.67	0.82	40	12.56	8.50	32.03
61	57	9.02	0.88	39	18.00	11.76	40.84
69	45	9.05	0.73	40	1.55	15.84	46.78
77	42	8.78	0.80	43	5.61	22.69	48.57
97	38	8.94	0.55	38	3.22	19.85	56.35
107	40	8.81	0.61	35	3.03	18.06	59.26
120	30	8.84	0.70	33	0.71	18.13	60.83

中央合成設計第一組 MR: 50%, MC: 40%

Time (hr)	Temperature (^o C)	рН	Electrical conductivity (ms/cm)	Moisture content (%)	CO ₂ evolution rate (g CO ₂ /Kg VS-hr)	TVS loss (%)	Carbon decomposition rate (%)
0	20	6.88	0.46	47	0.00	0.00	0.00
8	37	6.74	0.48	46	6.23	0.99	2.33
16	54	8.09	0.60	45	18.64	3.39	12.43
24	59	8.82	0.85	42	16.43	4.71	24.09
32	44	9.13	0.67	39	5.85	8.00	32.98
40	35	9.17	0.57	38 5 5	3.24	11.01	35.17
48	39	9.07	0.53	37	4.39	12.18	38.33
56	39	9.10	0.45	36 1896	4.16	13.86	41.70
64	37	9.00	0.36	34	3.09	14.33	43.96
72	36	8.69	0.50	32	2.83	15.28	45.81
80	35	8.76	0.38	31	1.99	15.82	47.28
88	31	8.69	0.42	28	1.72	16.09	48.50
96	28	8.55	0.45	27	1.15	16.23	49.38
104	28	8.65	0.37	27	0.86	15.96	49.83
112	26	8.61	0.31	26	0.57	16.37	50.23
120	26	8.60	0.42	26	0.57	16.71	50.63

中央合成設計第二組 MR: 71%, MC: 44%

Time (hr)	Temperature (^O C)	рН	Electrical conductivity (ms/cm)	Moisture content (%)	CO ₂ evolution rate (g CO ₂ /Kg VS-hr)	TVS loss (%)	Carbon decomposition rate (%)
0	23	6.26	0.35	69	0.00	0.00	0.00
14	39	5.35	0.49	68	6.57	-0.72	4.32
23	36	5.02	0.41	67	1.51	-3.66	7.08
31	35	5.03	0.24	67	2.29	0.45	8.30
39	36	5.35	-	67 E S S	5.79	1.75	10.95
47	41	6.35	-	68	7.02	5.21	15.98
55	43	6.49	0.51	66 1896	6.71	3.46	21.05
63	42	6.77	0.50	66	7.61	5.47	26.30
71	43	7.11	0.49	66	8.53	7.80	32.57
79	44	7.20	0.56	65	7.84	8.52	37.56
87	46	7.50	0.52	65	11.75	10.74	43.83
95	45	7.69	0.55	65	10.25	12.51	51.08
103	45	8.07	0.53	65	10.01	14.85	57.85
111	38	8.32	0.51	66	9.10	18.43	63.81
120	35	8.65	0.68	65	7.95	17.79	69.72

中央合成設計第三組 MR: 50%, MC: 70%

Time (hr)	Temperature (^O C)	pН	Electrical conductivity (ms/cm)	Moisture content (%)	CO ₂ evolution rate (g CO ₂ /Kg VS-hr)	TVS loss (%)	Carbon decomposition rate (%)
0	19	6.30	0.33	55	0.00	0.00	0.00
7	23	6.06	0.45	55	0.57	1.07	0.26
15	28	5.88	0.54	55	0.97	2.36	0.69
23	46	5.76	0.47	55	2.37	3.22	5.37
31	34	5.05	0.78	54 E S N	3.01	4.08	6.92
39	42	6.12	0.56	54	6.74	6.13	13.18
47	43	6.88	0.61	54 1896	8.50	8.31	17.98
55	47	7.81	0.72	53	13.88	9.44	24.70
63	57	8.80	0.90	53	11.10	11.75	33.64
71	47	8.90	1.04	53	8.88	14.55	40.63
79	62	9.19	1.11	52	18.22	16.21	51.46
87	49	9.31	0.92	50	8.01	16.03	59.95
95	34	9.19	0.94	50	4.28	19.38	62.93
103	44	9.44	1.02	50	13.93	20.52	70.66
120	37	9.32	0.95	49	3.74	22.97	76.97

中央合成設計第四組 MR:50%, MC:55%

Time (hr)	Temperature (^O C)	pН	Electrical conductivity (ms/cm)	Moisture content (%)	CO ₂ evolution rate (g CO ₂ /Kg VS-hr)	TVS loss (%)	Carbon decomposition rate (%)
0	28	6.15	0.40	65	0.00	0.00	0.00
13	27	6.00	0.40	65	0.16	-0.96	0.19
22	38	4.93	0.50	65	7.17	1.66	3.61
36	41	5.39	0.50	E 64 ES	7.65	2.50	8.90
44	43	6.38	0.40	64	6.02	5.20	14.11
61	43	7.32	0.61	64 1896	8.83	7.58	24.91
68	48	7.34	0.69	64	11.26	9.60	30.40
85	48	7.69	0.93	64	11.23	12.50	43.45
97	47	8.30	1.33	64	8.66	14.73	52.70
109	45	8.67	1.93	64	12.92	18.06	63.59
120	43	8.77	1.91	64	10.65	20.11	72.80

中央合成設計第五組 MR:29%, MC:66%

Time (hr)	Temperature (^O C)	pН	Electrical conductivity (ms/cm)	Moisture content (%)	CO ₂ evolution rate (g CO ₂ /Kg VS-hr)	TVS loss (%)	Carbon decomposition rate (%)
0	25	6.29	0.39	42	0.00	0.00	0.00
21	38	5.36	0.43	42	4.30	3.12	4.42
29	46	6.14	0.38	41	10.11	4.91	9.83
49	47	6.96	0.41	39 55	10.79	7.03	21.77
65	50	8.60	0.63	38	10.48	10.73	36.22
73	54	8.84	0.74	36 1896	10.96	12.09	43.27
81	55	9.07	0.92	414000	13.14	22.44	51.34
89	50	9.16	0.62	33	8.91	14.79	56.63
97	49	9.14	0.74	31	8.23	14.72	61.98
105	44	9.09	0.68	31	6.76	16.34	65.57
113	38	9.17	0.70	30	3.11	16.88	68.23
120	34	9.02	0.71	29	2.16	17.31	69.49

中央合成設計第六組 MR:29%, MC:44%

Time (hr)	Temperature (^O C)	pН	Electrical conductivity (ms/cm)	Moisture content (%)	CO ₂ evolution rate (g CO ₂ /Kg VS-hr)	TVS loss (%)	Carbon decomposition rate (%)
0	19	7.01	0.40	56.90	0.00	0.00	0.00
14	29	6.44	0.47	57.10	1.90	2.09	0.64
23	46	5.48	0.61	57.37	8.81	4.41	5.48
30	47	5.83	0.75	57.51	7.17	6.43	10.64
38	46	6.67	0.56	57.01	7.93	6.96	15.19
47	43	7.56	0.70	57.70	10.30	10.02	21.74
56	53	8.23	0.68	57.20	13.86	11.04	30.74
71	47	8.82	1.29	60.03	11.43	19.80	43.76
78	59	8.88	1.13	55.77	18.18	12.94	50.94
86	53	9.23	1.23	54.47	11.97	13.83	58.26
100	43	9.20	1.01	55.55	4.66	19.52	69.41
110	39	9.16	1.36	55.96	6.49	21.98	73.33
120	42	9.08	1.05	55.72	10.67	22.90	79.10

中央合成設計第七組 MR: 50%, MC: 55%

Time (hr)	Temperature (^O C)	рΗ	Electrical conductivity (ms/cm)	Moisture content (%)	CO ₂ evolution rate (g CO ₂ /Kg VS-hr)	TVS loss (%)	Carbon decomposition rate (%)
0	27	6.29	0.37	53	0.00	0.00	0.00
23	38	5.36	0.46	54	2.07	3.99	5.54
31	36	6.14	0.45	52	4.19	-0.08	7.05
39	45	6.96	0.37	54	12.74	5.63	13.19
47	39	8.60	0.40	54	4.80	7.20	17.21
55	42	8.84	0.37	54 1896	7.72	8.63	21.20
63	48	9.07	0.50	54	12.43	10.19	26.94
71	51	9.16	0.53	53	14.52	11.51	34.23
79	53	9.14	0.80	54	13.68	14.45	42.99
87	51	9.09	-	54	10.33	18.12	49.92
95	55	9.17	1.40	54	13.03	18.47	56.73
111	52	9.02	1.53	54	8.04	20.81	67.90
120	56	8.87	1.53	54	6.85	24.02	71.78

中央合成設計第八組 MR: 20%, MC: 55%

Time (hr)	Temperature (^o C)	рН	Electrical conductivity (ms/cm)	Moisture content (%)	CO ₂ evolution rate (g CO ₂ /Kg VS-hr)	TVS loss (%)	Carbon decomposition rate (%)
0	24	6.58	0.59	67	0.00	0.00	0.00
7	31	6.20	0.64	67	1.73	0.41	0.81
15	30	5.93	0.53	67	3.48	0.37	2.88
23	26	5.66	0.47	66	0.50	2.70	4.13
31	31	5.91	0.68	67	3.56	4.84	5.44
39	39	6.00	0.54	65 E S	4.88	3.42	8.79
48	42	6.08	0.51	64	5.98	3.96	13.78
55	39	6.61	0.63	65 1896	6.04	-	17.82
63	41	6.77	0.71	64,,,,,,,,	5.84	7.28	22.29
71	42	7.44	0.63	63	8.06	9.24	27.18
79	40	8.23	0.55	64	6.53	14.37	33.10
88	37	8.72	0.80	63	4.69	13.25	37.04
96	36	8.85	0.83	63	4.19	15.24	40.18
103	31	8.93	0.91	62	2.54	16.10	41.96
113	28	8.94	1.00	62	2.01	16.42	43.70
120	29	8.98	0.96	62	1.16	17.16	44.65

中央合成設計第九組 MR: 71%, MC: 66%

Time (hr)	Temperature (^o C)	рН	Electrical conductivity (ms/cm)	Moisture content (%)	CO ₂ evolution rate (g CO ₂ /Kg VS-hr)	TVS loss (%)	Carbon decomposition rate (%)
0	22	6.89	0.36	60	0.00	0.00	0.00
11	44	6.87	0.58	60	13.89	4.93	9.08
20	45	7.34	0.45	60	11.91	8.12	19.30
28	45	7.77	0.52	60	14.08	10.51	28.89
36	45	8.60	0.90	59 ES	13.10	12.49	39.13
44	46	8.99	0.67	59	14.99	14.60	50.40
52	39	9.12	1.13	E 58 1896	6.30	15.60	57.61
60	34	9.18	1.11	58	5.39	19.69	62.04
68	31	9.24	0.94	58	4.78	21.96	65.41
76	33	9.24	0.96	57	5.18	21.65	68.48
84	34	9.23	1.08	57	3.49	23.16	71.54
92	31	9.24	0.81	57	2.46	25.24	73.76
100	24	9.25	0.69	57	1.42	25.37	74.78
109	23	9.21	0.73	57	1.07	26.26	75.63
120	23	9.21	-	57	1.07	27.07	76.91

中央合成設計第十組 MR:80%, MC:55%

Time (hr)	Temperature (^o C)	рН	Electrical conductivity (ms/cm)	Moisture content (%)	CO ₂ evolution rate (g CO ₂ /Kg VS-hr)	TVS loss (%)	Carbon decomposition rate (%)
0	19	6.91	0.38	54	0.00	0.00	0.00
14	29	6.47	0.42	55	7.37	2.03	1.29
28	47	5.32	0.79	55	5.66	4.80	7.99
46	47	7.46	0.61	55 55	9.94	7.22	21.36
54	53	7.95	0.54	54	13.80	8.73	29.67
62	54	8.48	0.86	55 1896	13.77	12.54	39.32
74	60	8.81	1.29	55	14.51	16.08	43.03
84	53	8.90	1.81	55	16.61	18.54	53.31
100	44	9.10	1.47	54	14.71	21.32	65.97
110	40	9.09	1.63	54	9.41	22.37	74.67
120	41	9.18	1.36	54	8.35	23.30	77.30

中央合成設計第十一組 MR: 50%, MC: 55%