

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

總計畫及子計畫三：提昇下水污泥堆肥品質可行性研究-質 能平衡及危害有機物之評估(II)

計畫類別：整合型計畫

計畫編號：NSC92-2211-E-009-025-

執行期間：92年08月01日至93年07月31日

執行單位：國立交通大學環境工程研究所

計畫主持人：林志高

計畫參與人員：張仕音

報告類型：精簡報告

報告附件：出席國際會議研究心得報告及發表論文
國際合作計畫研究心得報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 93 年 11 月 1 日

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫

成果報告 期中進度報告

有機廢棄物再利用之研究-生機肥料資源化-總計畫及子計畫三:提昇下水
污泥堆肥品質可行性研究-質能平衡及危害有機物之評估 (II)

計畫類別： 個別型計畫 整合型計畫
計畫編號：NSC 92 - 2211 - E - 009 - 025
執行期間： 92 年 8 月 1 日至 93 年 7 月 31 日

計畫主持人：林志高
共同主持人：
計畫參與人員：張仕音

成果報告類型(依經費核定清單規定繳交)： 精簡報告 完整報告

本成果報告包括以下應繳交之附件：
赴國外出差或研習心得報告一份
赴大陸地區出差或研習心得報告一份
出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份
國際合作研究計畫國外研究報告書一份

處理方式：除產學合作研究計畫、提升產業技術及人才培育研究計畫、列
管計畫及下列情形者外，得立即公開查詢
 涉及專利或其他智慧財產權， 一年 二年後可公開查詢

執行單位：國立交通大學環境工程研究所

中 華 民 國 93 年 10 月 31 日

有機廢棄物再利用之研究-生機肥料資源化-總計畫及子計畫三:提昇地下水 污泥堆肥品質可行性研究-質能平衡及危害有機物之評估(II)

計畫編號：NSC 92-2211-E-009-025

執行期間：92 年 8 月 1 日至 93 年 7 月 31 日

計畫主持人：林志高博士 國立交通大學 環境工程研究所

一、中文摘要

近幾年，石化產品之汽油、柴油及其他化學成品等高污染性的有機化合物在儲存和運輸方面十分頻繁而造成環境污染之事件層出不窮，對於生態環境所造成的影響甚鉅。本研究係添加柴油來模擬受柴油污染土壤，採用下水污泥之堆肥產品做為營養鹽和改良劑，以現地復育之方式配合中央合成設計 (Central Composite Design, CCD) 與反應曲面法 (Response Surface Methodology, RSM) 來進行土壤復育試驗。同時以摻合比 (濕重) 與水分含量作為實驗因子，溫度為正交區集設計，經由 MINITAB 統計軟體產生一反應曲面，用以探討獨立變數與反應變數之間的數學模式關係。由反應曲面結果可以瞭解生物降解最佳含水率範圍約在最大含水量之 20%-65% 間；摻合比分別在最高 (土壤和堆肥在濕基下, 1:1 之重量摻合比例) 和最低 (土壤和堆肥在濕基下, 1:0.1 之重量摻合比例) 摻合比中有最顯著之效果。由上述摻合比中可發現，在降解初期約 10 至 15 天中，產生較快的降解，降解率約 50 至 55%；在最後 20 至 30 天，則有較緩慢之降解，降解率約 10 至 13%。從滅菌組實驗尚可發現只有 11% 之降解效果，故可知本研究之降解程序，主要由微生物主導，屬於生物降解程序。由配適一階反應模式之相關係數可推論柴油降解過程為一階反應模式，最適當之摻合比係為 1 : 0.1 (濕重)，且其動力常數 K 值大於未添加堆肥於土壤中之兩倍。

關鍵詞：柴油、中央合成設計法、一階動力模式。

Abstract

In recent years, leakage of various petroleum hydrocarbons from underground storage tanks primarily at automobile service stations and from pipelines has been experienced at an alarming rate. It would become an environmental pollution accident. Bioremediation with compost is the most cost-effective clean-up technology for the treatment of diesel-contaminated soil. Central composite design (CCD) and response surface method (RSM) of bioremediation experiments were used to construct second order response surfaces for the total petroleum hydrocarbons (TPH) degradation rate to investigate the effects of compost amendment. Fourteen fixed volume batch reactors were designed by central composite design (CCD). The CCD was applied with two design factors (mix ratio and water content) and a block orthogonally (temperature). The experiment data for the central composite design (CCD) was generated by MINITAB. Total cell counts in soil samples were stained by the dye, 4', 6-diamidino-2-phenylindole (DAPI).

The results showed that TPH of contaminated soil decreased in all treatments during bioremediation process. Addition of compost to contaminated soil showed a more rapid TPH reduction that occurred in the early stage (within about 10-15 days), i.e. 50-55% of TPH can be degraded. The 10-13% TPH reduction was obtained in the final stage (within about 20-30 days) with a slower degradation rate. By Estimated Regression Coefficients for TPH, the interaction of mix ratio and water content was insignificant

($P=0.868$). The biological reaction in bioremediation process of the diesel contaminated soil was the major reaction, since the biocide (control experiment) was only 11% TPH reduction. The data of the bioremediation process were well described by a first order model. The degradation rate constant of TPH in the appropriate mix ratio was two times greater than that of contaminated soil only. The appropriate mix ratio (wet weight basis) of contaminated soil and compost was 1 to 0.1.

Keywords: Diesel, central composite design, first order reaction.

二、前言

石化燃料已成為當今各國之必需能源，而且其需求量也逐年提高，也使得石化產品之汽油、柴油及其他化學成品等高污染性的有機化合物在儲存和運輸方面變得十分頻繁，近來國內因地下儲油槽漏油、油管破裂、及地面油品意外洩漏而造成污染事件層出不窮。當油洩漏進入土壤時，會先吸附於土壤孔隙和有機質中造成土壤污染；在含水層物質吸附飽和時，則會於地層質地之顆粒間形成 NAPL (Non-aqueous phase liquid)，對於生態環境將造成難以預料的傷害。

中國石油股份有限公司 (以下簡稱中油公司) 之新中管線於民國八十四年十月間測試通油時，在台一號省道之後龍溪橋路段發生管線油品漏油事件，該漏油事件中洩漏高級柴油約 220 公秉。

然而，洩漏之高級柴油流入後龍溪水後流達至出海口處。由於氣候及潮汐作用之影響，使部份柴油回流至後龍溪與西湖溪之感潮河段中，對於生態環境所造成的影響甚鉅。要改善受到油品污染的土壤，通常需依賴微生物的分解作用來去除其中的油污染物質。例如利用大量施予有機物刺激生物生長、控制較佳的含水率來提供微生物適合生長的條件，並以物理方式鬆土以增加空氣的供給量，或者是利用氮、磷等營養素加速微生物之生長同時提高污染物分解之速率 (Alexander, 1994)。

柴油為由原油中蒸餾出來的重質碳氫化合物，其組成大約含 30% 的直鏈烷類 (N-alkanes)、

45 % 的烷類異構物和環烷類 (Isoand Cycloalkanes)，以及 24 % 芳香族碳氫化合物 (Aromatic)，另外還有極少量的異戊二化合物 (Isoprenoids)、硫化物、氮化物及氧化物等 (Zytner *et al.*, 2001; Lee, *et al.*, 1992)。

本研究係添加柴油來模擬受柴油污染土壤，採用下水污泥之堆肥產品做為營養鹽和改良劑，進行復育試驗，評估其可行性，並期望能找出最適合之摻合比例。使用污泥堆肥產品之原因是因為利用下水污泥堆肥會產生穩定化，類似腐植土之產品，可以用來改良土壤，增加土壤的保水能力，且能維持土壤的良好結構、增加陽離子交換能力並降低微量元素的流失。近年來許多研究針對特定的有機污染物，利用堆肥化過程加以降解，而達到了相當好的復育效果，例如可將污染的土壤與堆肥混合進行生物復育。Namkoong *et al.*, (2002) 利用堆肥程序所產之堆肥摻合受柴油污染的土壤，結果發現於 30 天後，其污染物降解率可達 98.4%，主要是因為堆肥富含多樣化之微生物相，配合良好環境條件之控制而達到較佳之降解效果。

為了要進行模擬受柴油土壤污染之復育研究，首先進行相關文獻蒐集，以決定計有哪些因子會影響生物降解。此外，為了瞭解因子間之相互關係，乃利用中央合成實驗設計法進行實驗設計，並配合反應曲面法來判斷各因子與污染物去除率間之關係及因子間之相互關係。同時以 F 檢定方式判斷影響反應變數之因子效果是否顯著，以做為降解結果之依據。

對於多變數因子實驗常常會有不同因子與因子間交互影響效應存在；如果使用傳統的「一組實驗探討一個因子」之實驗設計方法，在固定其他因子，只改變一個因子水準下來進行探討，常會因各變數間所存在的交互影響效應，而無法得到真正的最佳條件組合。中央合成設計與反應曲面法為一結合數學應用、統計分析與實驗設計之技術，主要是探討獨立變數與反應變數之間的數學模式關係，經由所關心的實驗區域內以有系統的方式進行實驗，進而求得所需要的反應值及變數值 (Montgomery, 1998)。

三、研究材料與方法

1. 土壤和堆肥材料

本研究所模擬受柴油污染土壤，乃採自後龍溪之未受污染土壤，而堆肥來源為台北市民生污水處理廠尚未關廠前所採集之污泥餅（現已關廠），其在污泥廠內已經過好氧消化之處理步驟，將污泥餅加入木屑做為膨鬆劑（Bulking agent），再加上經馴養之成熟堆肥以達成植種之目的，以便能加速好氧之醱酵反應，在實驗前以均勻混合後，再置入反應槽中，經過堆肥程序後所產生之腐熟堆肥即為本研究之營養鹽及土壤改良劑。將採集回來之土壤和堆肥，分別去除石礫、雜草和其它雜質後，再過篩（2mm）風乾後於保存箱中室溫保存，並將上述之土壤和堆肥進行基本性質分析。

2. 儀器設備及分析方法

本研究所使用之氣相層析儀器乃為 HP 5890，DB-5 管柱（30-m length × 0.53-mm internal diameter × 1.5- μ m film），升溫條件為載流氣體（He）流速為 5 至 7 mL/min，補充氣體（He）流速為 30 mL/min，注射埠溫度為 200，偵測器溫度為 340，升溫設定之起始溫度為 45，維持 3 分鐘，升溫速度為以每分鐘 12 升溫至 275，最終溫度為 275，維持 12 分鐘。而分析柴油類有機物（DRO）時，係將 C₁₀ 到 C₂₃ 範圍內析出所有的波峰面積加總，亦即在 C₁₀ 到 C₂₃ 的滯留時間之間畫一水平的基線積分而得。由於柴油類有機物（DRO）的層析條件會使管柱中物質有相當程度的滲出，造成層析圖中的基線上升，故在分析 DRO 時，將執行此一圖譜面積扣除，將樣品面積扣除此一空白面積後所得的面積差即為 DRO 的濃度。而進行氣相層析儀或氣相層析質譜儀之分析時，必須執行品管（QC）查核樣品分析來確認分析系統的功能。

3 實驗方法

將採集回來的土樣先除去石礫、樹根、雜草及其它外來大型物等物質，經風乾後，磨碎使其

通過 2mm 篩網，將風乾過篩後之土壤取 4 kg 於反應槽中，然後將柴油（2500 mg/kg）均勻噴灑在土壤上，並仔細地攪拌使柴油能在土壤中分佈均勻使柴油能在土壤中分佈均勻。由於柴油乃半揮發性有機物，為了避免揮發部分的柴油影響了最終降解效果之誤判，先做了一個月的揮發實驗，結果發現柴油揮發部分在第一周的揮發量約佔總揮發量的 80%，故將攪拌均勻之土壤靜置一周後，再依不同摻合比加入堆肥，予以攪拌均勻後，採樣分析以作為評估柴油污染之初始污染濃度。

除了每日必需進行翻堆以保持土壤良好的通氣狀態外（Rhykerd et al., 1999），在水分控制方面，利用秤重方式以補充因揮發而損失之水分（在此乃將柴油之揮發、降解、氧化等作用忽略不計，土壤減少之重量主要乃為水分蒸發所導致），並定期採樣。採樣時利用系統採樣（Systematic grid sampling）之方式，並以氣相層析儀分析 TPH_D 濃度。

在控制組方面，為了確定柴油降解反應是否主要由生物降解所主導及瞭解未添加堆肥之降解效果，乃進行測定單獨土壤（Soil only）實驗組、單獨堆肥（Compost only）實驗組和滅菌（Biocide）組之實驗。在滅菌組方面，乃針對降解率較高的實驗組之摻合比，再利用疊氮化鈉（NaN₃）做為生物的抑制劑。

在生物菌數方面，本研究乃採 4',6-diamidino-2-phenylindole（DAPI）染色法配合螢光顯微鏡以進行生物菌數計數（彭，2002），其原理係將 DAPI 螢光染料，藉由染料吸收較短波長，而放出長波長之光時，而鑑別出菌種或其生理特性（Wei, 1995）。

4. 中央合成設計

一般而言，在實驗過程中，以因子設計（Factorial design）是最具效率的實驗，也就是除了可以瞭解因子之主效應關係外，還可以減少實驗之組數。從實驗過程中可發現當實驗區域逼近最佳反應值附近時，系統中的曲率會增加。故一般反應曲面數學模式會考慮用二階曲率模式（Second-order model）來近似反應曲面，以求能適切地描述反應函數裡的曲率。

反應曲面乃是由中央合成設計之統計數據分析所產生，利用因子設計、中央合成設計等技巧

之組合來進行實驗設計，並配合統計迴歸方式求得反應曲面數學模式來輔助分析因子影響效應及尋找最適因子水準組合。

本研究即利用中央合成設計法進行實驗設計，以含水率、土壤與堆肥之摻合比和溫度三個參數作為實驗設計之因子，期望能瞭解各因子對污染物去除率之關係及因子間之相互關係。

實驗之操作條件如表 1 所示，在配合反應曲面，將實驗後之結果，對於因子之相互影響關係，以 F 檢定方式判斷影響因子是否具有顯著效果，做為復育結果之依據。

依中央合成設計所設定的組數及水準，針對不同實驗組採用不同控制條件，以添加水之方式將含水率調整至設定值，再放至恆溫箱中，並將溫度設定至欲監測之溫度，以完成實驗條件之控制。

表 1、因子設計之條件

因子設計		$-\alpha^a$	-1	0	1	α
土壤：堆肥 (濕基)		1:0.1	1:0.23	1:0.55	1:0.87	1:1
系統 之水分 含量	土壤	0.4 %	4 %	13 %	22 %	26 %
	堆肥	10 %	56 %	166 %	276 %	322 %

^a $\alpha=1.414$ 可以產生可旋轉的中央合成設計

^b 系統之水分含量係指將土壤含水量 (0.4-26%) 和堆肥含水量 (10-322%) 分別依實驗設計而控制在不同比例

由於溫度因素為自然環境下無法人為控制之因子，故將溫度以區集劃分來避免影響結果，根據中華民國統計月報之資料調查近二年之平均最高溫和最低溫，再利用實驗室之恆溫箱控制在上述溫度以模擬在最高溫和最低溫時降解過程，最後在實驗結果探討其差異。

實驗設計之分析項目乃以測定 TPH_D 為主，而在最後之確定實驗再測量 TPH_D 、總菌數、EC 值、pH 值等參數，以充分瞭解生物復育之效果。

將實驗結果以污染物降解率作為之反應參數，其編碼變數、自然變數、反應參數等所配適的模型表，如表 2 所示，再由 Minitab 統計軟體進行分析，並繪出反應曲面圖及等高線圖。

在迴歸係數檢定部分，係經由 F 檢定之後利

用 P-value 來判斷其顯著性。P-value 係指會導致拒絕虛無假設的最小顯著水準，一般以 0.05 以下判斷為具有顯著性效應，亦即定義高於 95% 以上之信心水準為顯著。Prochazka 等 (2003) 提到當 P-value 小於 0.05 稱為顯著，當 P-value 相當或小於 0.25 時，但大於 0.05 時稱為非不顯著，當 P-value 相當或大於 0.25 時，稱為不顯著。

最後依據實驗結果判斷影響因子之相互作用是否顯著，並且檢定其模型的適當性，以利進行最後再確認之實驗。

表 2、可旋轉之正交區集中央合成設計

實驗 區集 ()	摻合比 (土壤：堆肥)	含水率 (%)	TPH_D 降解率 (%)
31	1 (1:0.87)	-1 (28)	64
31	-1 (1:0.23)	1 (69)	63
31	1 (1:0.87)	1 (140)	67
31	0 (1:0.55)	0 (67)	59
31	0 (1:0.55)	0 (67)	59
31	-1 (1:0.23)	-1 (14)	57
31	0 (1:0.55)	0 (67)	56
15	0 (1:0.55)	0 (67)	54
15	α (1:1)	0 (90)	54
15	0 (1:0.55)	$-\alpha$ (4)	41
15	0 (1:0.55)	0 (67)	50
15	0 (1:0.55)	0 (67)	50
15	0 (1:0.55)	α (131)	13
15	$-\alpha$ (1:0.1)	0 (27)	62

5. 單一因子之實驗規劃

本研究係根據實驗設計結果再進行更進一步之確定實驗，實驗方式如表 3 所示。

將土壤和堆肥之摻合比採最低摻合比 (1:0.1) 和最高摻合比 (1:1)，其間以等比例分成四組之方式做為本實驗摻合比所配置之水準。在含水率選擇上則根據實驗設計之反應曲面結果，將以其最佳之含水率範圍作為本實驗之含水率設定值。在溫度方面，依據中華民國統計月報之台灣近一、兩年來平均氣溫在 24 左右，相當接近一般實驗分析時常用的標準溫度 25，故該實驗乃將溫度控制在 25。為了要證明本實驗之降解程序是否由微生物所主導，乃於實驗過程中，進行控制

組實驗，即單獨土壤組、單獨堆肥組、滅菌組三組。綜合上述之實驗，在實驗過程中將分析 TPH_D、總菌數和監測 pH 值、EC 值等項目，最後再對整個實驗所做的結果探討，以瞭解下水污泥堆肥對受柴油污染土壤的生物降解能力。

為了描述生物降解能力，利用化學反應動力模式來模擬 TPH_D 之消耗過程。一般而言，受油污染土壤之動力模式大多係以一階反應動力模式來探討柴油濃度降解之反應速率、反應步驟及機制的資訊，並求得速率常數，以瞭解反應速率 (Namkoong *et al.*, 2002 ; Taylor, 1999 ; Gestel *et al.*, 2003)。

表 3、單一因子之實驗規劃

改良劑	摻合比 ^a
受污染土壤：堆肥	1:0.1
	1:0.4
	1:0.7
	1:1
	滅菌組 (1:0.1) ^b
控制組	單獨土壤組
	單獨堆肥組

^a 受污染土壤和堆肥之摻合比

^b 係指添加 0.5% NaN₃ 於該實驗中

四、結果與討論

1. 土壤與堆肥之基本性質

土壤及堆肥之基本性質分析結果如表 4 所示。由表中可知，採自西湖溪之土壤較缺乏有機碳，而下水污泥堆肥則含有豐富之有機碳。在 pH 值方面，可知土壤乃屬中性之土壤，而堆肥在風乾一個月後，呈偏酸性，推測可能是由於堆肥材料使用木屑做為膨鬆劑加上尚未完全穩定所造成。在陽離子交換能力上，發現堆肥具有相當高之吸附污染物能力，且能力約為土壤之 20 倍，由此可知，土壤之吸附污染物能力較差強人意。在重金屬分析方面，西湖溪所採之土壤符合土壤污染管制標準。此外，根據國內有機質肥料規格 (89.8.31 農糧字第 890020813 號公告) 所規定之重金屬有害成分標準可知本研究所使用之堆肥其

重金屬均符合有機肥料規格，為可適用於現址復育之材料。

2. 實驗設計結果

從實驗結果中可以發現利用堆肥當營養鹽予以摻合，可以確實有效地反應出降解效果。

如表 2 所示，降解率最高者為在 31 因子區集之 1:1 實驗 (即摻合比和含水率分別為 1:0.87、140%)，有 67% 之降解率，可知該組實驗因子之控制具有顯著之降解效果。而降解率較低者為在 15 軸區集之 0:α 實驗 (摻合比和含水率分別為 1:0.55、131%)，只有 13% 之降解率，降解率較低之原因推測可能在飽和含水率之情形下，微生物之活性受到抑制，而導致較低之結果。

表 4、土壤與堆肥基本性質分析

	soil	compost	
water content (%)	0.4	10	
Field capacity (%)	26	322	
Organic C (%)	0.2	30.1	
pH	7.6	4.8	
Cation exchange capacity (meq/100g dry matter)	3.3	63.5	
Heavy metals (mg/kg)	Cr	6.4	14.6
	Cu	9.2	189
	Ni	15.2	23.9
	Pb	4.8	28
	Zn	23.7	297.4
Cd	ND ^a	ND ^a	

^aND, not detected.

在溫度影響方面，如表 5 所示。由迴歸係數可以得知該效應 (P-value 為 0.023) 相當顯著，若以降解率來看的話，高溫和低溫相差約 9%，且都有顯著的降解效果，這說明了台灣因地處亞熱帶，溫度差異雖然顯著但對微生物影響並不大，因此可推測在台灣之土壤環境中，很適合微生物生長，故有機污染物均容易受到微生物之分解。另外，還得知摻合比和含水率之主效應其 P-value

分別為 0.990 和 0.255，相互效應 P-value 為 0.868，由 P-value 可以判斷出主效應和相互效應兩者均相當地高，故表示該兩者效應不顯著。通常愈多不顯著的迴歸係數會使衡量模型解釋總變異的比率 R^2 愈低，也會造成 R^2 和修正過後的 R^2 (R_{adj}^2) 值相差非常多。

在常態性檢定方面，由殘差和常態分佈 (如圖 1) 可得知殘差值皆平均分佈於線性，可以判斷該實驗數據符合常態性分佈的假設。另外，模式的適當性，可以由殘差與配適值來檢查判斷，如圖 2 所示。若模型是恰當的，則表示殘差應該是無結構的 (Structureless)，也就是說，由圖可以看出沒有任何明顯的形狀。有時候，觀測值的變異數會隨觀測值的增加而變大，亦即當殘差變大時，會使殘差對配適值的圖看起來像是開口向外的漏斗或麥克風，該項誤差容易在測定儀器時而發生。

觀察最後分析得到的反應曲面，如圖 3 (A) 及 3(B) 所示。為一鞍點之圖形，代表本實驗結果無法求得最佳範圍，亦即有兩個局部較佳之範圍。由圖形中可以發現本研究最適合之條件分別為低摻合比和高摻合比以及最大含水量介於 20%-65% 之間，而更詳細之降解反應過程將由單一因子實驗分析結果中得到結論。

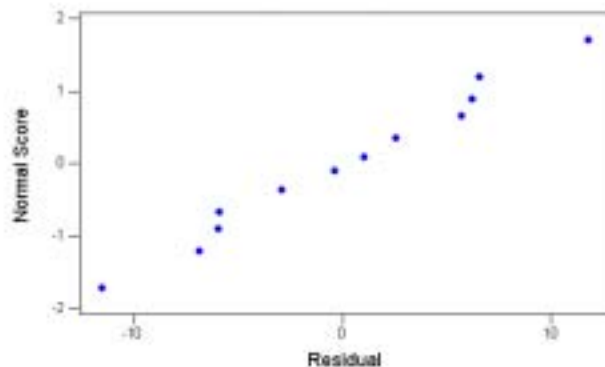


圖 1、TPH_D 之殘差與常態分佈

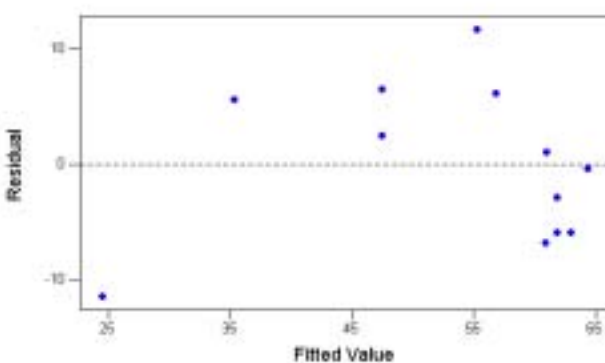


圖 2、殘差與配適值的圖

表 5、迴歸係數預測 TPH_D 降解率之結果

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	54.667	3.560	15.356	0
Block	7.214	2.331	3.096	0.017
mix ratio	-0.039	3.083	-0.013	0.990
water content	-3.825	3.083	-1.241	0.255
mix ratio*mix ratio	6.729	3.209	2.097	0.074
water content*water content	-8.771	3.209	-2.733	0.029
mix ratio*water content	-0.750	4.360	-0.172	0.868
<hr/>				
S = 8.720	R-Sq = 77.4%	R-Sq(adj) = 58.0%		

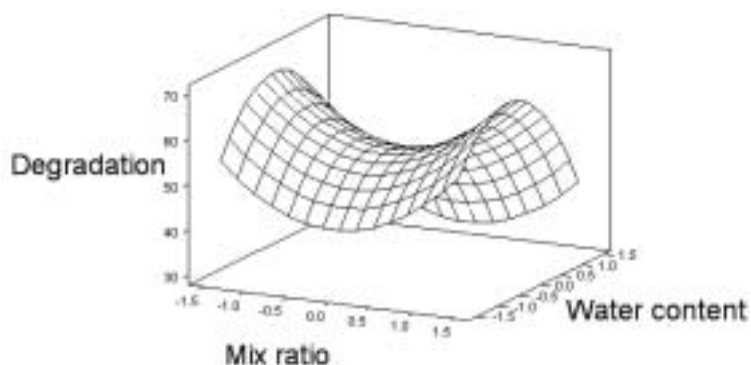


圖 3(A)、TPH_D 之反應曲面圖

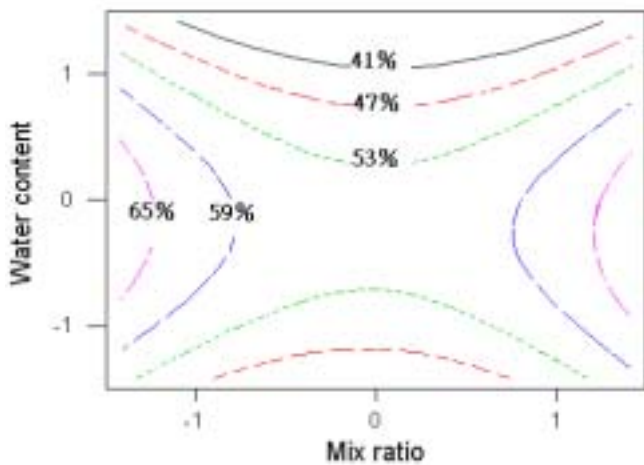


圖 3(B)、TPH_D 之等高線圖

2. 單一因子實驗規劃結果

由該實驗結果得知在加入堆肥的情形下均可得到相當顯著之降解率。而在摻合比方面，在低摻合比 (1:0.1) 和高摻合比 (1:1) 之情形下，如表 6 所示，可以得到最顯著之降解效果。此外，Puskas 等 (1995) 曾提出油污染土壤以泥漿反應槽之方法，其降解結果在前 10~15 天內約有 60~70% 之降解率，而在往後之 20~30 天內之降解呈緩慢狀態，約額外產生約 5~7% 之降解效果。而本研究以較顯著降解的低摻合比而言，在前 10~15 天內約有 45~55% 之降解，而往後之 20~30 天內之降解則額外產生有 9~13% 之降解，故可知與本研究比較，雖然方法不同，但結果亦有類似情形。

在降解 TPH_D 之控制條件中，過高之摻合比雖然有明顯之降解，但是受限於環境狀況不佳，故未能達到最佳效果，且容易在環境方面造成過重之負荷導致環境有二次污染之虞。而由單獨堆肥之控制組可以發現其降解率和單獨土壤之控制組一樣明顯地較差 (Namkoong *et al.*, 2002)。

在滅菌組方面，可發現滅菌組之降解率只有 11%，如表 6 所示，即可證實本研究之柴油降解，主要係以生物降解為主，其它物化反應等對本研究之影響甚小。

柴油污染事件，往往影響面積過大，故在實施現地復育時，堆肥之需用量亦愈大，因此容易造成二次污染，但若採用連續施用堆肥方法，將有更佳之降解效果，而可避免導致環境過度負荷，且可維持植物正常生長 (Ronald, 1995)。綜合

表 6、單一因子實驗規劃結果

Mix ratio ^a (water content)	Degradation rate (%)	k	r	half life (day)
1:0.1 (31 %)	68.1	0.041	0.94	17.11
1:0.4 (65 %)	64.5	0.037	0.96	18.57
1:0.7 (86 %)	64.4	0.037	0.94	18.88
1:1 (101 %)	69.4	0.038	0.92	18.05
soil only (15%)	33.8	0.018	0.81	37.9
compost only (187%)	35.8	0.017	0.9	41.3
sterilization (31 %)	10.7	-	-	-

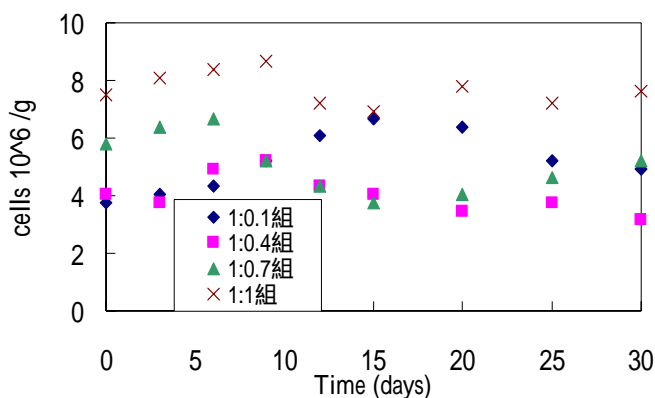
^a 分別表示土壤與堆肥之摻合比，括號內為該摻合比之總含水量

上述，可知添加堆肥做為土壤改良劑雖然可以增加 TPH_D 降解率之提高，但是若添加過多之堆肥，將會對降解率造成抑制，甚至有造成環境負荷之虞。而在上述比較之下可發現低摻合比之添加劑量即可得到相當顯著之降解效果 (68%)，以一階動力常數來看，發現低摻合比 (1:0.1) 其動力常數約大於單獨土壤組 (soil only) 之兩倍多。故可發現本研究利用低摻合比之堆肥進行受柴油污染土壤之生物降解，確實可以得到相當顯著且較無二次污染之虞。

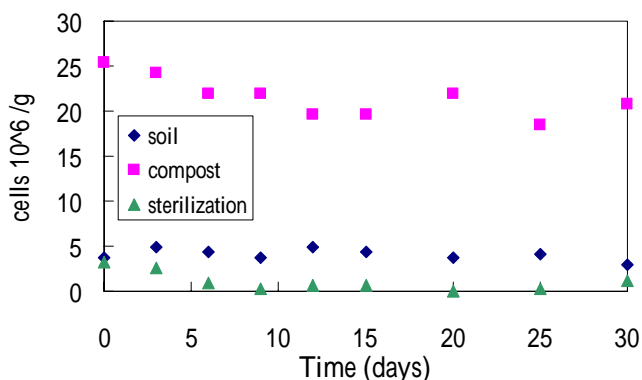
低摻合比下之微生物菌數在 30 天之降解期間中，有相當明顯地增減趨勢，如圖 4 (A) 所示，可推測在低摻合比下，具有較適當的環境 (pH 約為 6.5) 可以提供微生物適當的生存環境，使得降解率較高；但隨著摻合比之提高，所觀察到的微生物菌數則無較明顯地增長趨勢，推斷乃因為受限於不適生存的環境 (pH 值約為 5.4) 所造成，使得微生物生長環境受到抑制，導致降解效果不如低摻合比。高摻合比最後也有和低摻合比相同之降解效果，推測此一現象乃因為微生物雖然受限於不適生存的環境，但此時微生物菌數比中間摻合比來的多，故環境雖然在受到抑制情形下，仍產生了較中間摻合比高之效果，且和低摻合比呈相似降解效果，由此亦可推測微生物所受到的環境抑制其效果仍相當地有限。

控制組之微生物總菌數無明顯增長之現象，由圖 4 (B) 可知其為控制組降解率偏低之原因。就堆肥組方面而言，雖然總菌數高，但是除了環

境受到抑制外，加上營養鹽亦過多的情形下，導致堆肥組降解率較差。土壤組則因為本身在缺乏營養鹽情形下加上其本身含有之微生物數目較少，故降解率亦較差。在滅菌組方面，由於 DAPI 染色法無法識別活菌與死菌之計數，故在初期部分仍可觀察到部分微生物菌，推測應為死菌造成的誤判。而在後期尚發現漸漸有微生物出現之情形，推測應為抑菌劑在經過一陣子之滅菌後效力減弱導致微生物開始生長之現象。



(A)



(B)

圖 4、TPH_D 降解過程之總菌數分佈圖 (A)不同摻合比下之實驗 (B)單獨土壤、單獨堆肥和滅菌實驗

五、結論與建議

由本研究之結果可以發現添加堆肥於受柴油污染之土壤確實有不錯的降解效果，故在本研究所得之結論如下：

1. 在 1:0.1 濕重土壤與堆肥之摻合比下，即可達

到相當顯著的降解 (68%)，且在 pH、EC、重金屬等方面對於復育後之場址亦較無二次污染之虞。雖然 1:1 亦有同樣之效果，但容易因施用過多之堆肥而有導致突增場址負荷或二次污染 (Secondary pollution) 之虞。

- 從實驗設計之反應曲面結果可以知道生物降解最佳含水率範圍約在最大含水量之 20% -65% 間。此外，摻合比分別在最高 (1:1 濕重) 和最低 (1:0.1 濕重) 摻合比中有較佳之降解率。
- 在總菌數實驗中，由低摻合比之控制條件可發現因為生長條件較佳 (pH 偏中性)，故微生物菌數有相當明顯地增長趨勢，使得降解率較高。而其他摻合比則可能受限於環境特性 (pH 偏酸性)，故所觀察到的微生物菌數則無較明顯地增長趨勢。但是由於高摻合比 (1:1 濕重) 也有和低摻合比之相同降解效果，由觀察微生物菌數推測此一現象可以發現雖然微生物菌數沒有相當程度地增長，但是在微生物菌數較高的情形下，而產生了相似效果。
- 由本研所得之最佳低摻合比 (1:0.1) 其動力常數約大於單獨土壤組之兩倍多，故可見本研究利用堆肥進行受柴油污染土壤之生物降解，確實可以得到相當顯著之效果。
- 滅菌組之降解率只有 11%，故由此可知本研究之柴油降解方式，除了其他物化反應降解之外，主要係以生物降解方式為主。
- 在能有效降解受柴油污染之土壤及避免使環境突增負荷，且能有效改良土壤，其最適當之摻合比為 1:0.1，即土壤和堆肥 (濕重) 之摻合比例。
- 影響生物復育之因子除了微生物之外，尚有營養鹽、污染物濃度及毒性、電子接受者、溫度、pH、氧化還原電位等。若針對上述影響因子均以實驗因子統計方式進行研究，做為現地復育時之參考時，將更能得到更客觀之結果。
- 由於本研究之總菌數係以 DAPI 染色法進行固定後，利用螢光顯微鏡照相計數之方法，但是無法判別活菌與死菌之差別，容易因此在計數上發生人為誤差，故若能配合測定脫氫醇素活性 (Dehydrogenase activity) 以決定微生物活性或是測定土壤呼吸測定 (Soil respirometric tests) 以提供生物降解之潛能，將更能完整地瞭解微生物之增長變化

(Namkoong, 2002 ; Balba, 1998)。

六、參考文獻

- Alexander, M. (1994) Biodegradation and bioremediation. *Academic Press*, New York
- Balba, M. T., Awadhi, N. A. and Daher, R. A. (1998) Bioremediation of oil-contaminated soil: microbiological methods for feasibility assessment and field evaluation, *Journal of Microbiological Methods*, Vol. 32, pp. 155-164
- Gestel, K. V., Mergaert, J., Swings, J., Coosemans, J. and Ryckeboer, J. (2003) Bioremediation of diesel oil-contaminated soil by composting with biowaste. *Environmental Pollution*, Vol.125, pp.361-368
- Lee Linda S., Mats Hagwall, Joseph J., (1992) Partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons from diesel fuel into water, *Environmental Science Technology*, Vol. 26, No.11
- Montgomery (1998) Design and analysis of experiments, *John Wiley & sons*
- Namkoong W., Hwang E. Y., Park J. Y. and Choi J.Y. (2002) Bioremediation of diesel-contaminated soil with composting. *Environmental Pollution*, Vol. 119, pp.23-31
- Prochazka, S., Mulholland, M. and Lloyd, J. A. (2003) Optimisation for the separation of the oligosaccharide, sodium Pentosan Polysulfate by reverse polarity capillary zone electrophoresis using a central composite design, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol. 31, pp.133-141
- Puskas, K., Awadhi, A. N. and Abdullah, F. (1995) Remediation of oil contaminated sandy soil in a slurry reactor, *Environment International*, Vol. 21, No. 4, pp.413-421
- Rhykerd, R. L., Crews B., McInnes, K.J., Weaver, R.W. (1999) Impact of bulking agents, forced aeration, and tillage on remediation of oil-contaminated soil. *Bioresource Technology*, Vol. 67, pp. 279-285
- Ronald, M. A. (1995) Bioremediation of petroleum pollutants. *International Biodeterioration and Biodegradation*, pp.317-327
- Taylor, C. and Viraraghavan T. (1999) A bench-scale investigation of land treatment of soil contaminated with diesel fuel. *Chemosphere*, Vol. 39, No. 10, pp.1583-1593
- Wei, Y., Walter K. D., Katherine banks, M., Skalsky, J. and Strauss, E. A. (1995) Optimal staining and sample storage time for direct microscopic enumeration of total and active bacteria in soil with two fluorescent dyes. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 61, No. 9, pp.3367-3372
- Zytner, R.G., Salb, A., Brook, T.R., Leunissen, M. and Stiver, W. H. (2001) Bioremediation of diesel fuel-contaminated soil. *Can. J. Civ. Eng.* 28, pp.131-141
- 彭誌強，2002 年，以 FISH (Fluorescence *in situ* Hybridization) 研究污泥同時好氧消化及金屬溶出程序之菌相變化，國立中興大學環境工程研究所碩士論文，pp.58-63
- 行政院主計處，2003 年。中華民國統計月報 (Monthly statistics of the republic of china)，453 期

七、發表之論文

- 林志高、張仕音，2004 年，下水污泥堆肥應用於受柴油污染土壤現地處理之研究，第二十九屆廢水處理技術研討會，中華民國 93 年 11 月 26-27 日。
- Lin J.-G. and Chang S.-I. (2004) Optimization for stimulating bioremediation of diesel contaminated soil with sewage sludge compost, *Environmental Pollution* (Manuscript in preparation and submission to *Environmental Pollution Journal*).