

以呼吸儀評估水體中溶解性有機物之 生物動力參數研究

李宜珮* 陳昌佑** 吳勇興* 盧至人*

摘要

本研究中利用呼吸儀來監測微生物經臭氧處理後有機物之情形，在好氧的條件下微生物利用處理所需的耗氧量，可用來推估其親疏水性有機物中生物的分解率，及微生物利用預臭氧處理之有機物的動力參數值。依循 Wu et al.[1] 所開發的攝氧率(OUR)對攝氧量(Ou)呼吸儀圖譜的定性分析中了解到經不同的臭氧劑量處理之天然有機物對微生物系統之影響。實驗結果顯示天然有機物經臭氧處理後會改變有機物的特性，當臭氧劑量越高時，微生物的 Y 值(生長係數)也相對提高，可知微生物經馴養後較易利用經預臭氧處理過的有機物，如此可提高有機物的總去除率。經預臭氧化處理隻有機物對微生物的 K_s 值(半飽和常數)與臭氧劑量的多寡較無關係，但會影響微生物對臭氧化有機物之親和力。

關鍵字：臭氧，生物分解，天然有機物，呼吸儀

一、前言

近年來社會大眾對飲用水的水質要求越來越高，因而淨水場常會採用加氯法來避免水媒疾病的產生，但氯與原水中所含的天然有機物質會反應產生消毒副產物(Disinfection by Products, DBPs)，而 DBPs 已被證實對人類有致癌性，因此臭氧消毒就應運而產生。由於一般傳統的淨水處理程序對水中的天然有機物(Natural Organic Matter, NOMs)、農藥及殺蟲劑等有機污染物質之去除相當的有限，因此高級水處理之裝置設備有其增設的必要性。

* 國立中興大學環境工程研究所

** 私立弘光科技大學環境工程系

一般而言，水體污染物質中以有機污染物其組成及性質是最複雜，其依來源可分三種：1.自然環境中微生物腐植化作用(humification)之天然有機物，2.人為造成的人工合成的有機物污水，3.淨水程序中所產生之消毒副產物：如三鹵甲烷(Trihalomethane, THMs)、鹵化乙酸(Haloacetic acid, HAAs)[2]。傳統的自來水處理方法包括混凝/膠凝、沉澱、過濾及加氯消毒氧化/消毒等。在典型的高級淨水程序中，目前最常見的是以前臭氧來加強水處理程序的效率。臭氧是一強氧化劑，奇氧化電位為 2.07 伏特僅次於氯(2.87 伏特)因此對於水中的有機物及無機物皆有很強的氧化分解能力。臭氧化(Ozonation)會造成腐植物質本身的結構改變，包括色度、UV-254 吸光度(紫外光 254nm 之吸光度)值快速的降低，其主要原因是因為苯環的損耗及去聚合作[3]。

由於有機物的結構複雜，因此目前並沒有任何一種直接的定量分析方法可用來定量天然有機物，一般較常使用的有機替代參數為 DOC、UV-254[4]。目前應用於偵測水中生物可分解有機物質的方法，可分為兩大類：一為是 Vander Kooil 所發展的生物可利用之有機物 (Assimilated Organic Carbon, AOC) 分析方法，二為利用生物可分解之有機碳(Biological Dissolved Organic Carbon, BDOC)[5]。而以上兩種方法較為耗費時間和人力，且實驗結果再現性及穩定性較不穩定。因此，本研究乃利用氣泡式呼吸儀來探討有機物經臭氧處理後其生物可分解性的變化，該系統的供氧裝置能在測試過程中連續供氧，且其準確性及再現性較高。

最早的呼吸儀試驗約在 1960 年間，是利用 Warburg 呼吸儀的壓力式測定法。其原理為將反應瓶接於壓力計上並進行生化氧化作用，微生物分解有機物之礦化及呼吸作用所釋放出之二氧化碳則以氫氧化鉀吸收。因微生物的耗氧使瓶內氧氣逐漸降低而致壓力下降，此時對應的壓力差被紀錄下來，可換算成氧氣的消耗量[6]。在本研究中所採用的呼吸儀為氣泡式呼吸儀，是由 James C.Young 教授在 1980 年間於 University of Arkansas 研發出來的第三代呼吸儀機型。此型呼吸儀是利用一種稱為細胞元件(Cell)的設備，將從純氧鋼瓶輸入反應之氧氣參生一穩定的氣泡，以計數方式來正確量測供氧量[7]。

使用氣泡式呼吸儀監測時有下列優點:(1)為一密閉系統，可免除開放式曝氣系統之揮發性有機物揮發造成干擾，(2)可進行好氧及厭氧分解可行性研究，(3)準確性及再現性高，(4)機型簡單易用，不易故障，(5)價格較電解式呼吸儀便宜[8]。

因此本研究利用呼吸儀監測微生物利用臭氧化有機物的狀況，在好氧降解下微生

物利用有機物時所需的耗氧量，可用來推估生物可分解比例以及微生物利用有機物的相關動力參數。

二、實驗設備與方法

本研究的主要目的為利用呼吸儀偵測微生物利用水中天然有機物之情形，比較馴養的微生物在不同的臭氧劑量下分解利用有機物的動力參數，以及比較未經馴化的微生物利用經不同臭氧劑量處理後有機物的分解利用狀況。圖 2-1 為呼吸儀設備圖。

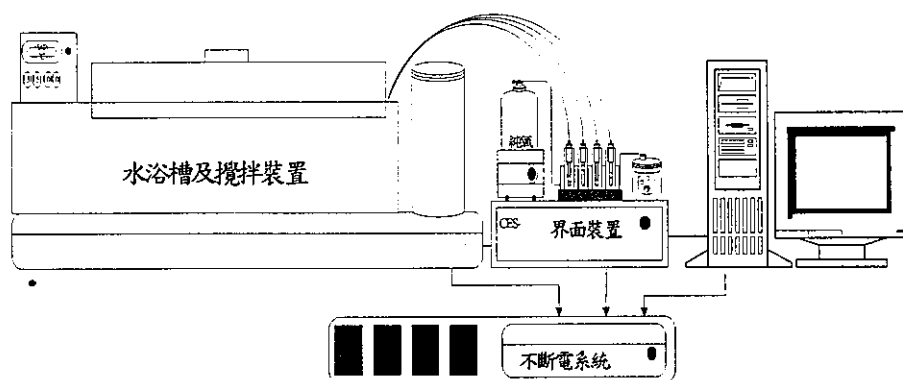


圖 2-1 CES-200 型氣泡式呼吸儀設備圖

(1) 實驗用水

本研究中所使用的水，皆經逆滲透、活性炭吸附及離子交換處理過的超純水，其電阻值皆在 18.2 MΩ 以上 (Milli-Q Plus, Ultra-pure water system)。若是使用於呼吸儀的實驗中，超純水須先以滅菌釜濕熱滅菌 20 分鐘以防止干擾。

(2) 增殖培養

以淨水場天然原水，先以玻璃纖維濾紙(Whatman GF/C)去除顆粒雜質，利用過濾完之原水添加葡萄糖為基質及無機營養鹽，使微生物先經增值培養以取得大量菌體。經玻璃纖維濾紙過濾完的原水加入呼吸儀系統測試試劑，並置於暗處室溫下以 500 rpm 轉速攪拌培養 5-7 天並以 PHBA 作為碳源馴養，微生物經大量增值後使菌液靜置，利用重力離心使菌體沉降以達到菌體濃縮。

(3) 臭氧產生機

臭氧之生成是使用德國 Anserors 公司製造的臭氧產生機 (COM-CD-HF1)，利

用無油式空氣壓縮機(Jun-Air, Model 400) 供應空氣進入臭氧產生機內，所產生臭氧之最大生成量為 2.5 g/ hr。實驗利用一個體積三公升的玻璃容器做為臭氧反應槽，其連接之管線皆為鐵氟龍材質，其內接一個不鏽鋼曝氣頭，控制固定流量為 30 NL/h、分別於功率為 20、30、50、70 及 90 % 與接觸時間分別為 2 和 5 分鐘的條件下，利用碘定量法量(Iodo-metric)量測實際產生的臭氧量。

三、結果與討論

3-1 微生物生長係數

一般傳統方式得到微生物生長係數(Y 值)(mg MLVSS/ mg COD)的方法，通常是利用單位時間內，偵測微生物隨時間的 Biomass 生長變化與基質 COD 濃度去除之關係，微生物的 Biomass 與基質 COD 的偵測方法較耗費時間及人力，且容易產生實驗誤差。

根據學者利用攝氧量的公式獲得微生物之生長係數，首先為 Čech *et al.*(1984)[9] 的方法測量 Y 值，此方法利用呼吸儀測量微生物的攝氧量，方程式如下：

$$1-Y = OC/S \quad (3-1)$$

$$Y = 1 - OC/S \quad (3-2)$$

OC(淨攝氧量)=總攝氧量-內呼吸攝氧量(mg O₂/ L)

S = 初始基質 COD 濃度(mg/L)

微生物生長、基質去除及微生物呼吸作用之間的相關性如下表示：

1. 利用基質的需氧量以 OC 表示(OC (mg O₂/L)=ΔCOD (mg O₂/L))
2. S 表示初始基質濃度(單位以 mg-COD/L 表示)
3. ΔX 為微生物內生呼吸之耗氧量(單位以 mg-COD/L 表示)，表示公式如下：

$$OC = S + \Delta X$$

$$OC = S * (1 + \Delta X/S)$$

又 Y=-ΔX/S 帶入公式中，可得：

$$OC = S \cdot (1 - Y)$$

$$1 - Y = OC / S$$

所以，可得到

$$Y = 1 - OC / S$$

以呼吸儀偵測微生物之 Y 值，淨攝氧量代表著微生物利用有機物的耗氧量，淨攝氧量可直接由呼吸儀圖譜曲線讀取得到。利用上述方法求出微生物之 Y 值，只能於單一基質濃度下得到單一 Y 值，就統計方面而言，並無法代表此微生物族群於不同濃度下與 Y 的相關性。因此，根據吳氏(2003)[1]認為可於實驗設計濃度範圍中照原演算法求出 Y ，並視其為一迴歸值。將原公式(3-1)轉變成如下所示，數值迴歸所得之斜率即為 $(1 - Y)$ 值，即是：

$$OC = (1 - Y) \cdot S \quad (3-3)$$

3-2 微生物之動力參數

藉由微生物的生長動力參數可了解微生物分解利用有機物之情形。若有機物對微生物為非抑制或非毒性，通常以 Monod 方程式描述微生物生長曲線， μ_{max} 及 K_s 可反應出微生物的生理特性， μ_{max} 代表微生物的最大比生長率，即單位 Biomass 數量及單位時間下 Biomass 的淨生長數量， K_s 代表微生物的半飽和常數，即當 $\mu = \mu_{max} / 2$ 時所對應基質的濃度， K_s 值代表微生物與有機物之間的親和力；Monod 方程式如下：

$$\mu = \mu_{max} \cdot S / (K_s + S) \quad (3-4)$$

其中，

μ_{max} = 最大比生長率 (maximum specific growth rate, mg-MLVSS formed / mg-MLVSS-hr)；

μ = 比生長率 (specific growth rate, mg-MLVSS formed / mg-MLVSS-hr = $(\Delta X / \Delta t) / X$)；

K_s = 半飽和常數 (half-saturation constant or substrate concentration, 當 $\mu = \mu_{max} / 2$, mg-COD/L)。

微生物利用非抑制性有機物，可透過圖表或是統計的方法得到 Monod 方程式中的 μ_{max} 和 K_s 值。當微生物於好氧密閉環境下降解某一基質，則總耗氧量 (O_{ult} , mg/L) 為：

$$O_{ult} = S_0 - S_t + X_0 - X_t + P_0 - P_t$$

$$\Rightarrow (dO_2/dt)_t = - (dS/dt)_t - (dX/dt)_t - (dP/dt)_t$$

反應前後微生物量之 COD 值， P_0 及 P_t 分別為反應前後中間產物之 COD 值。氧氣的攝取量資料可以轉變為 Biomass 的成長曲線，其表現方程式如下(Rozich and Gaudy 1992)[10]：

$$X_t = X_0 + O_2 \text{ Uptake} / (1/Y - O_x) \quad (3-5)$$

X_t = 於 t 時間時混合液揮發性懸浮固體(MLVSS)濃度(mg/L)；

X_0 = 初始時混合液揮發性懸浮固體(MLVSS)濃度(mg/L)；

O_2 uptake = 微生物耗氧量(mg/L)；

Y = 生長係數(mg MLVSS wasted/mg influent COD)；和

O_x = 微生物進行內呼吸作用的耗氧(1.42 至 1.48 mg COD/mg X)

研究中利用微生物(經馴化後)分解利用未經臭氧處理及經不同臭氧劑量前處理的 PHBA，探討 PHBA 經不同臭氧劑量處理後對微生物的生長動力參數之影響。實驗條件為 X_0 (固定值, MLVSS 濃度為 6 mg/L)、 Y 值及 O_x (採用經驗值 1.42 mg COD/mg MLVSS) 的值代入方程式(3-5)，即可得到 X_t 值(於不同時間之 X 值)，氧氣的攝取量資料可以轉變為 Biomass 的成長曲線，如此可得到不同時間下的比生長率(μ)：

$$\begin{aligned} \mu &= (\Delta X / \Delta t) / X, \text{ 積分後可得到} \\ \mu &= \text{Ln} (X_2 - X_1) / (t_2 - t_1) \end{aligned} \quad (3-6)$$

X_1 及 X_2 分別代表於 t_1 及 t_2 時 MLVSS 的濃度，可得到 $\text{Ln}X$ 與時間的關係圖。

實驗設計將微生物降解經預臭氧處理後的 PHBA，在不同的 S_0/X_0 (mg-COD/mg-MLVSS) 下統計可得 Y 值。臭氧劑量分別為 0、0.4、0.8、1.7、2.5 及 3.3 mg O_3 /mg DOC，於一臭氧劑量下其 S_0/X_0 比值分別為 0.53、0.8、1.7、2.5 及 3.3 mg-COD/mg-MLVSS，而不同 S_0/X_0 之比值實驗條件的設定為將 X_0 濃度固定(MLVSS= 6 mg/L)，改變 S_0 (mg-COD/L) 的濃度所致，分別將不同的 OC 對 S_0 做圖將數值迴歸所得斜率即為(1- Y) 值，如此即可得到 Y 值(如圖 3-1 所示)，結果整理如表 3-1，當臭氧劑量分別在 0、0.4、0.8、1.5、2.7 及 3.3 mg O_3 / mg DOC 時，微生物利用有機物之生長係數(Y)值分別為 0.12、0.21、0.15、0.23、0.30 及 0.40 mg MLVSS/ mg COD。由實驗結果可得知，當臭氧劑量越高時，微生物的 Y 值也相對提高(除了臭氧劑量為 0.8 mg O_3 / mg DOC 的實驗

組)，可得知微生物經馴養後較易利用經預臭氧處理過的有機物，而且因為 Y 值的提高表示可增加生物質量(Biomass)的生成，可能是因為微生物利用有機物所產生的能量較少耗費在破壞的能量傳遞上，而有較多的能量提供在微生物的合成上，產生較多的 Biomass，如此可提高有機物的總去除率。

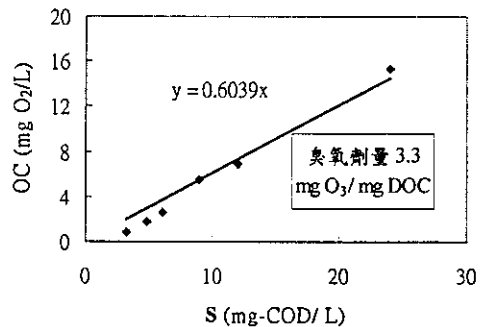
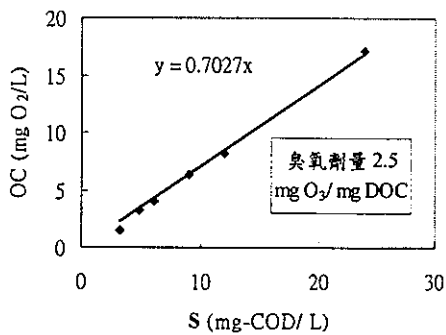
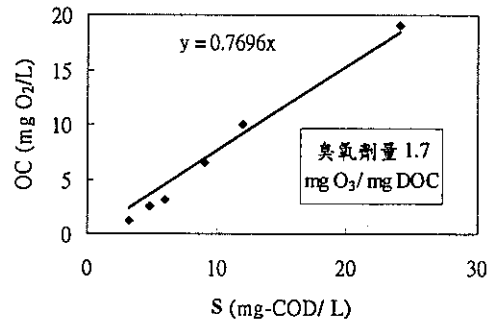
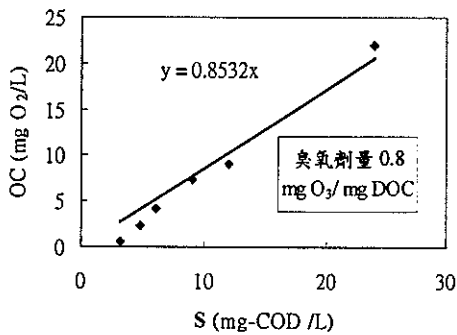
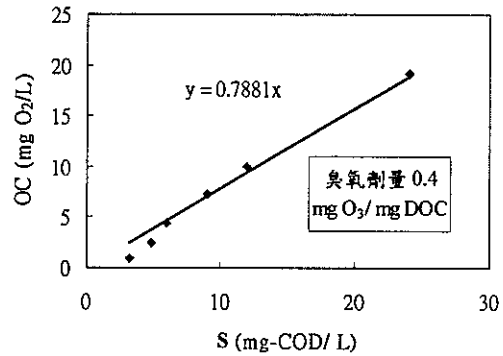
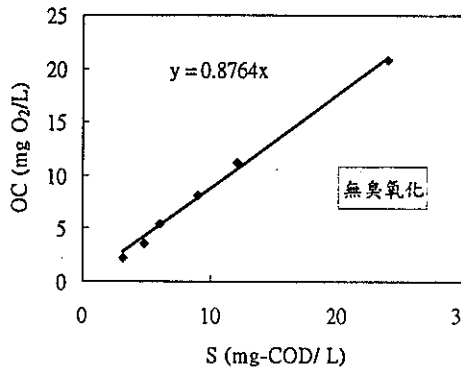


表 3-1 微生物利用不同臭氧劑量處理後 PHBA 之生長係數(Y 值)

臭氧 劑量 OC S	0	0.4	0.8	1.7	2.5	3.3
3.2	2.2	0.9	0.6	1.2	1.5	0.8
4.8	3.6	2.5	2.3	2.5	3.2	1.8
6	5.4	4.5	4.2	3.2	4.0	2.6
9	8.1	7.3	7.4	6.5	6.3	5.5
12	11.3	10.0	9.1	10.1	8.2	6.9
24	20.8	19.1	22.1	19.0	17.2	15.3
Y 值	0.12	0.21	0.15	0.23	0.30	0.40

註:

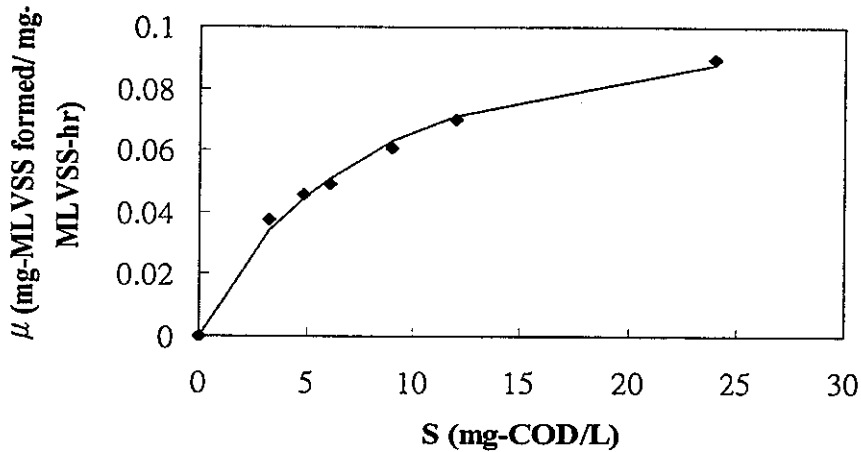
臭氧劑量單位為 mg O₃/mg DOC ;

OC(淨攝氧量)單位為 mg O₂/L ;

S 單位為 mg-COD/L ;

Y 單位為 mg-MLVSS/mg-COD

微生物利用未經臭氧處理 PHBA 的不同 S_0/X_0 (mg-COD/mg-MLVSS) 之比值, 可得到 Biomass 的對數值($\ln X_t$)與時間之關係圖, 採用 $\ln X_t$ 之間的生長有呈現線性關係的階段, 微生物於此段時間正處於對數生長期階段, 將 $\ln X_t$ 對時間做圖的數值於線性範圍內的斜率即為比生長率(μ)值。微生物利用未經臭氧處理之 PHBA, 分別於 S_0/X_0 之比值為 0.53、0.8、1、1.5、2 及 4 (mg-COD/mg-MLVSS) 時, 在基質濃度分別為 3.2、4.8、6、9、12 及 24 mg-COD/L 下所對應的 μ 值, 利用 Microsoft Excel 之規劃求解功能(請參考附錄二), 可得到如圖 3-2 所示之方程式(3-4)的 Monod 曲線之趨勢圖, 如此便可依趨勢曲線得知 μ_{max} 和 K_s 的值。



分別重複上述之步驟，探討經不同臭氧劑量(0.4、1.5、2.7及3.3 mg O₃/mg DOC)處理之微生物動力參數的實驗，分別求得微生物降解經不同臭氧劑量處理有機物之動力參數 μ_{max} 和 K_s 的值，如圖3-3所示。將微生物利用經不同臭氧劑量之PHBA的動力參數 μ_{max} 和 K_s 值整理如表3-2所示，當臭氧劑量分別在0、0.4、1.5、2.7及3.3 mg O₃/mg DOC時，其微生物利用臭氧化有機物之動力參數之 μ_{max} 值分別為0.116、0.258、0.255、0.395及0.435 (mg-MLVSS-formed/ mg-MLVSS-day)，隨著臭氧劑量增加， μ_{max} 有明顯增加的趨勢，由方程式(3-4)可得知：

$$\text{當 } S \ll K_s \text{ 時， } \mu = \mu_{max} * S / K_s \quad (3-7)$$

$$\text{當 } S \gg K_s \text{ 時， } \mu = \mu_{max} \quad (3-8)$$

由方程式(3-7)及(3-8)所示，Monod方程式中不論基質濃度的大小，當 μ_{max} 有較大值時， μ 值亦會提高，如此代表著於相同時段間Biomass的淨生長量提高，於是在 μ_{max} 有較大值時更可提高有機物的總去除率。由此可得知，微生物經馴化後利用經較高臭氧劑量處理的PHBA比起未經臭氧處理或較低臭氧劑量處理的PHBA，前者於相同時段間有較多的Biomass生成(μ_{max} 值較高)及利用相同的基質濃度亦生成較多Biomass(Y值較高)，如此則能去除更多的PHBA，提高有機物的去除效率與速率。

比較 K_s 值(表3-2)可發現微生物利用臭氧劑量分別在0、0.4、1.5、2.7及3.3 mg O₃/mg DOC時，其微生物利用臭氧化有機物之動力參數 K_s 值分別為7.64、10.55、3.98、

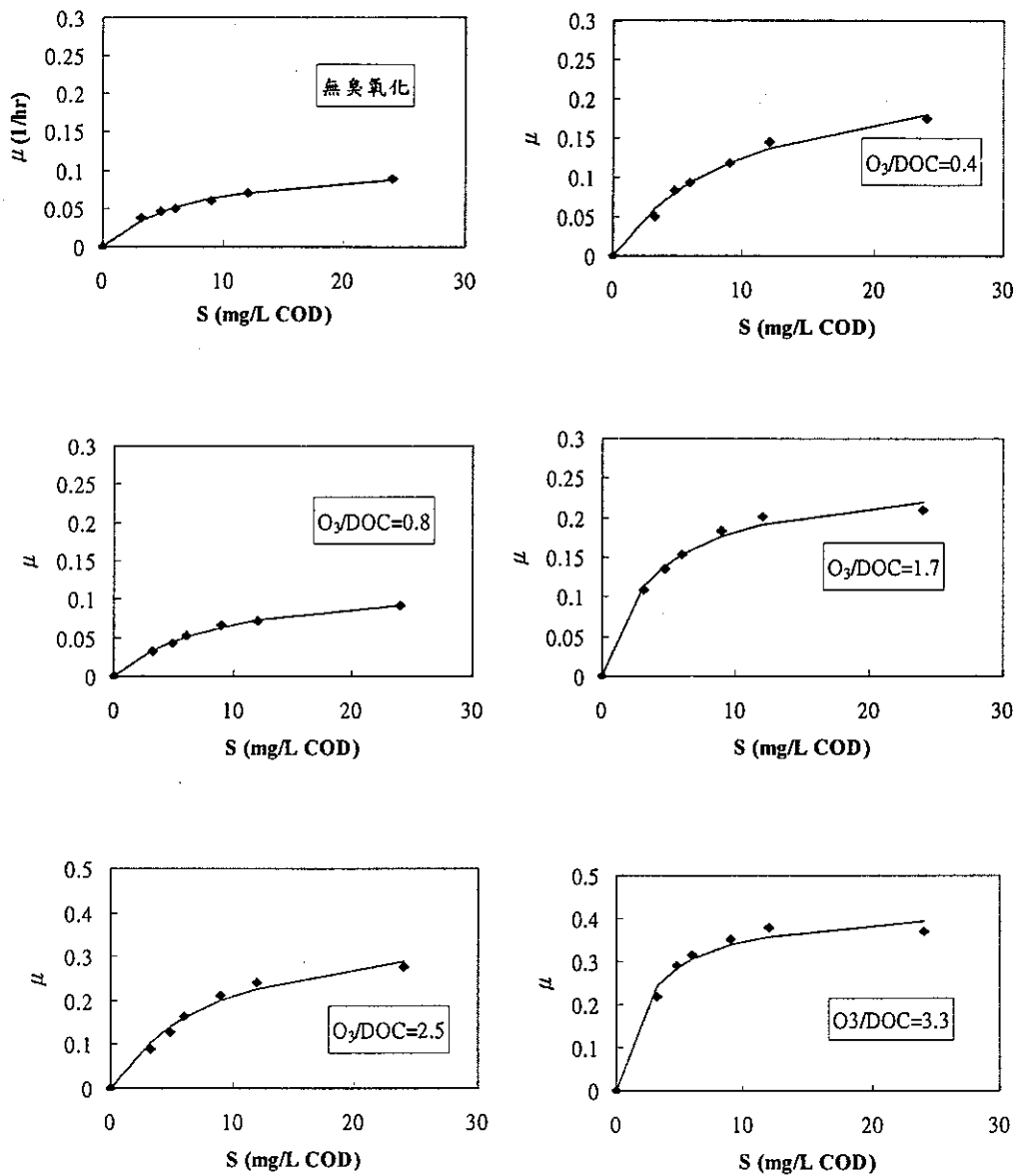


圖 3-3 微生物利用經不同臭劑劑量處理後 PHBA 之 μ 與基質之關係

8.86 及 2.57 mg-COD/L，隨著 PHBA 之臭氧劑量增加，與微生物的 K_s 值改變並無相關性， K_s 值代表著微生物與有機物間的親和力， K_s 值越小則代表微生物與基質間的親和力則越大。由此得知，PHBA 經臭氧化對微生物的 K_s 值有所影響， K_s 改變趨勢雖與臭氧劑量的大小較無關係，但可知有機物經臭氧化後，仍會影響微生物對臭氧化有機物之親和力。因臭氧改變了有機物的分子結構，也因而改變了 K_s ，但分子結構的改變並無一致性，故 K_s 的變化亦無一致性。

表 3-2 微生物利用不同臭氧劑量之有機物 PHBA 的動力參數 μ_{max} 和 K_s 的值

臭氧劑量 (mg O ₃ /DOC)	μ_{max} (mg-MLVSS formed/ mg-MLVSS-hr)	K_s (mg-COD/L)
0	0.116	7.64
0.4	0.258	10.55
0.8	0.127	8.94
1.7	0.255	3.98
2.5	0.395	8.86
3.3	0.435	2.57

四、結論與建議

1. PHBA 經 0、0.4、1.5、2.7 及 3.3 mg O₃/mg DOC 的臭氧劑量處理後，接著分別以經不同臭氧劑量處理過後的 PHBA 馴化微生物系統，可分別得到馴化後的微生物系統的生長係數(Y)值分別為 0.12、0.21、0.23、0.30 及 0.40 (mg-MLVSS/mg-COD)，由此實驗結果得知，隨著臭氧劑量的提高(經不同臭氧劑量處理後的 PHBA 為單一

有機物)，馴化後的微生物系統的 Y 值亦相對提高。

2. 微生物經馴化後利用經較高臭氧劑量(3.3 mg O₃/ mg DOC)處理過的 PHBA 比起未經臭氧或較低臭氧劑量處理的 PHBA，於相同時段內，前者有較多的 Biomass 生成(μ_{\max} 值較高)，且在利用相同的基質濃度的條件下亦生成較多的 Biomass (Y 值較高)，如此則能去除更多的 PHBA，提高有機物的去除率。PHBA 經臭氧化處理後對微生物的 K_s 值改變趨勢雖與臭氧劑量的大小較無關係，但可知有機物經臭氧化處理後，仍會影響微生物對臭氧化有機物之親和力 (K_s 值的大小亦會改變，但無明顯的規則性)。
3. 利用呼吸儀來測定淨水處理中生物可分解性的變化，可較傳統方法 AOC (生物可利用之有機物，Assimilated Organic Carbon) 及 BDOC(生物可分解之有機碳，Biological Dissolved Organic Carbon)可節省時間和人力，雖然因呼吸儀對於低濃度有機物的敏感度有時仍會出現不穩定性，但對於生物現象的探討已較傳統方法方便及快速。

五、參考文獻

1. Wu, Y.S., C.F. Chiang and C.J. Lu (2003). Respirometric Evaluation by Graphical Analysis for Microbial Systems. J. Environ. Monitoring and Assessment. (Accepted).
2. Goel, S., R. M. Hozalski, and E. J. Bouwer (1995). Biodegradation of NOM: Effect of NOM Source and Oxone Dose, J. AWWA., Vol. 85, No. 1, pp.96-103.
3. Camel, V. and A. Bermond (1998). The Use of Ozon and Associated Oxidation Processes in Drinking Water Treatment. Water Res., Vol. 32, pp.3208-3222.
4. Edzwald, J.K., W.C. Beker, and L. Wattier (1985). Surrogate Parameters for Monitoring Organic Matter and THM precursor. J. Am. Water Works Assoc., Vol. 77, No. 44, pp.122-131.
5. Sevaus, P., A. Anzilang, and C. Ventersque (1989). Simple Method for Determination of Biodegradable Dissolved Organic Carbonic Carbon in Water. Appl. Environ. Microbiology., Vol. 55, No. 10, pp.2732-2743.
6. Umler, W.W., R.H. Burris, and J.F. Stauffer (1964). Manometric and Biochemical Techniques. 4th ED., Burgess, Philadelphia.
7. 江舟峰, (1998), 氣泡式呼吸儀之測定原理與操作技巧, 技術研究報告, 朝陽科技

大學環境工程與管理系，台中。

8. 蘇世昌，(1999)，受多環芳香族碳氫化合物-奈污染之生物復育可行性研究，碩士論文，中興大學環境工程研究所，台中。
9. Čech, J. S., J. Chudoba, and P. Grau (1984). Determination of Kinetic Constants of Activated Sludge Microorganisms, *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 17, pp.259-272.
10. Rozich, A. F. and A. F. Gaudy, Jr. (1992). Design and Operation of Activated Sludge Processes Using Respirometry. Lewis Publishers., pp.77-96.