微生物技術在農業廢棄物處理上之應用

陳啟祥　林畢修平
財團法人生物技術開發中心

摘要

以農業爲主的開發國家，不但在農產品的種類、產量及品質上不斷的追求改進，對於農地也極力的提昇土壤肥力。有機肥料的開發及推廣，也因爲數量龐大的農業副產物與廢棄物而受到政府及民間的重視。農業副產物與廢棄物種類繁多，諸如稻穀、米糠、玉米穗軸、蔗渣、米糠、豆粕、果皮渣及數量龐大的禽畜糞便等。若能將這些廢棄資材轉化爲有機肥料，施用於農地，能夠有效的提昇土壤地力。傳統的堆肥方式因爲資材纖維質高，有機質分解速率緩慢，轉化爲堆肥費時又費事。如果能狗利用堆肥生態系微生物，快速轉化農業副產物與廢棄物爲高品質有機質肥料及介質，提供給農民使用，適時適地的補充土壤有機質肥料，除可增加及提高農作物之產量及品質外，又可節省處理農業副產物與廢棄物的費用及空間，達到保護環境的目的。因此本研究的目的是在探討堆肥生態系微生物分佈並分離與篩選高效率堆肥用微生物，以加速堆肥化醱酵過程，縮短腐熟時間，同時開發本土性堆肥用微生物製劑。

一、前言

台灣地區農業與農產加工副產物與廢棄物種類很多，例如稻草、稻穀、玉米穗軸、蔗渣、米糠、豆粕、酒渣、果皮渣及數量龐大的禽畜糞便等。由於經營專業化、集中化的結果，使得局部地區會有大量廢棄物聚集，造成嚴重環境污染問題。 傳統上對於這類廢棄物多半用掩埋、焚化或直接使用於農地的方法來處理。但有些廢棄物如含高纖維質之木屑、稻草、稻穀、玉米穗軸和蔗渣等，掩埋後分解速度緩慢。而含高量有機氮廢棄物如禽畜糞便等若直接將這些有機廢棄物施入土壤環境中，反而有害農作物生長。主要原因是因爲台灣地處亞熱帶，氣候高溫多溼，土壤中微生物活性高，這類廢棄物有機質轉換率(turnover rate)快，微生物快速繁殖，不但因爲釋放大量氨態氮易造成農作物肥傷，而且可能進一步進行脫硝反應，消耗土壤中的氮素，引起農作物缺氮。另外有機廢棄物中也有可能含有病原菌，易造成農作物病害並污染環境。而禽畜糞便如未經適當處理而直接排放於河川中，更會造成嚴重的水域污染。因此若能有效的將有機廢棄物經過堆肥化發酵處理，利用堆肥的高溫(50-70 ℃)過程來殺死病原菌及除去剩餘水份，製造成高品質有機質肥料及介質，化腐朽爲有用之物，能大量且價廉的提供給農民使用，以改善土壤的化學性質及物理構造，

增加陽離子交換容量、提升土壤肥力、改善土壤 pH，增加保水能力、加強土壤的緩衝能力及微生物活性，增加及提高農作物之產量及品質等(王，1989；雷，1987；嚴，1989)。因此一方面可以達到保護環境目的，另外一方面也可以節省處理廢棄物的經費及空間。

製糖工業所產生之純蔗渣，由於含有大量纖維素及木質素，不易分解，按傳統的堆肥方式處理，須一年半以上方能腐熟。即使採用強制送風醱酵，仍需要8-12個月始能腐熟。若再添加豬糞、濾泥等與蔗渣混合醱酵，腐熟時間仍需要 4-5個月(黃等，1994)。若能開發微生物製劑以加速蔗渣堆肥化，將微生物添加於蔗渣，加速醱酵縮短腐熟時間，有效的轉化廢棄物爲有機堆肥及介質。 有機堆肥若能大量且價廉的提供農民使用，適時適地的補充有機堆肥於本省貧脊之耕種土壤(2/3土壤屬於酸性或強酸性，65%農地土壤之有機質含量低於2%)，可改善土壤的構造，增加其保水能力，提高空氣流通，防止營養份溶於水中流失，增加土壤的緩衝能力，改善土壤pH，加強土壤微生物活性，才能恢復地力而增加及提高農作物之產量及品質。

因此本研究是從台灣地區各地土壤與堆肥樣品中，分離與篩選出堆肥生態系微生物，並添加在有機廢棄物中，以探討對堆肥醱酵及腐熟時間影響，並進一步開發本土性堆肥用微生物製劑。

二、材料與方法

(一)材料與微生物

1.堆肥資材來源

蔗渣取自台糖公司虎尾糖廠。豬糞則分別取自台糖公司虎尾糖廠養豬場與新竹縣崎頂中興牧場。

2.微生物來源

堆肥生態系微生物菌株主要分離自台糖公司虎尾糖廠堆肥場堆肥與台灣地區各地採集之土壤樣品。

3 堆肥生態系微生物分離與篩選

堆肥生態系微生物分離與篩選所使用的培養基主要包括胰蛋白黃豆蛋白培養基(Tryptic Soy Agar, TSA)、馬鈴薯葡萄糖培養基(Potato Dextrose Agar, PDA)、 1/2 營養培養基(Nutrient agar, NA)、纖維素培養基(Cellulose agar, CEA)與幾丁質培養基(Chitin agar, CA)等。 TSA 培養基用來篩選細菌， PDA 培養基用來篩選真菌與酵母菌,至於 1/2 NA 、CEA 與 CA 等則用來篩選放線菌。

取由台灣地區各地採集得到的土壤及不同腐熟度堆肥樣品 1.0 公克，加入於 9.0 mL 的 0.01 M 磷酸緩衝液(pH 7.0)中，充分振盪 30 分鐘，經過一系列性稀釋後再直接塗抹在不同的培養基上。培養基的種類包括 TSA 、PDA 、 1/2NA 、CEA 及 CA 等，然後分別培養在 30℃及 50℃培養箱內。 同時另一組的試驗是將 1.0 克的土壤或堆肥樣品以 80℃高溫水浴處理 2 小時後，再

分別培養在 30℃及 50℃培養箱內。土壤與堆肥樣品經 80℃高溫水浴處理 2 小時後，可以提高放線菌出現機率。爲篩選放線茵，在培養基內另外添加不同種類的抗生素(Chloramphenicol、Novobiocin 及 Streptomycin 等)。分別分離及純化細菌、真菌、放線菌等，並進一步篩選出具有高活性胞外酵素的菌落，建立中溫及耐高溫性細菌、真菌、放線菌菌種庫。放線菌在 50℃的溫度條件下，培養在 TSA 培養基上。

(二)檢測分析方法

1.水份測定: 參照 CNS 肥料檢驗法，水分之測定-加熱法。

(1)坩鍋重(A)

(2)取試樣 2-4 克，連同坩鍋稱重(B) 。

(3)送入 100℃烘箱，烘乾 4-4.5 小時。

(4)將烘乾的試樣，連同坩鍋稱重(C)。

(5)含水率(%)= (B-C/B-A) x 100

2.pH 測定

(1)取試樣約 1.0 克，加入 5 倍重量比的水(5 mL)。

(2)混合均勻後，直接將 pH 計的電極接觸測定。

3. 總有機碳(Total Organic Carbon, TOC)測定：參照 Dry Combustion Technique。

(1)稱取試樣 4-6 克置入坩鍋內，送入 60℃高溫爐 4-4.5 小時，扣除坩鍋重量，剩餘即爲灰份重量。

(2)有機碳(%)=有機質(%)/2.0 =[(乾重-灰份)/乾重]/2.0X100

4.總氮(Total Nitrogen, TN)測定：參照Permanganate-Reduced Iron Modification of Kjeldahl Method

(1)取試樣乾重 0.04-0.1 克，置於凱氏管。

(2)加入 1.0 mL 高錳酸鉀($KMnO_4$)溶液，均勻混合後，靜置約 0.5 分鐘。

(3)加入 2.0 mL 稀硫酸溶液，均勻混合，靜置 5 分鐘。

(4)加入 1 滴 n-Octanol。

(5)加入 0.5 克 還原態 Fe ，靜置至無強烈泡沫產生。

(6)將凱氏管封口，於 100℃沸水中消化 45 分鐘。

(7)冷卻後，加 1 粒催化劑及 10 mL 濃硫酸至總氮分解設備中反應 2.5 小時 (溫度刻度指示在 9.2 與 10 之間)。

(8)反應冷卻後，以總氮蒸餾設備，蒸餾之。

(9)收集瓶內的液體以 0.1N 鹽酸滴定，記錄滴定量。

(10)總氮(%)=(樣品滴定量-空白滴定量)(0.1)(14.01)/樣品乾重 X10

5.碳/氮比(C/N ratio)

碳/氮比=總有機碳(%)/總氮(%)

(三)堆肥添加用微生物分離與堆肥製造過程

堆肥添加用微生物分離與堆肥製造過程，參見圖一。

三、結果與討論

(一)有機堆肥用資材化學分析

有機堆肥用資材包括蔗渣與豬糞材料之組成份經化學分析後，其結果如表一所示。 甘蔗渣之有機碳含量達46.2 %，而總氮量祇有0.33 %，因此碳氮比偏高，爲140.0 %。另外豬糞之有機碳含量爲49.0 %，總氮含量爲2.1 %，因此碳氮比爲23.3 %。

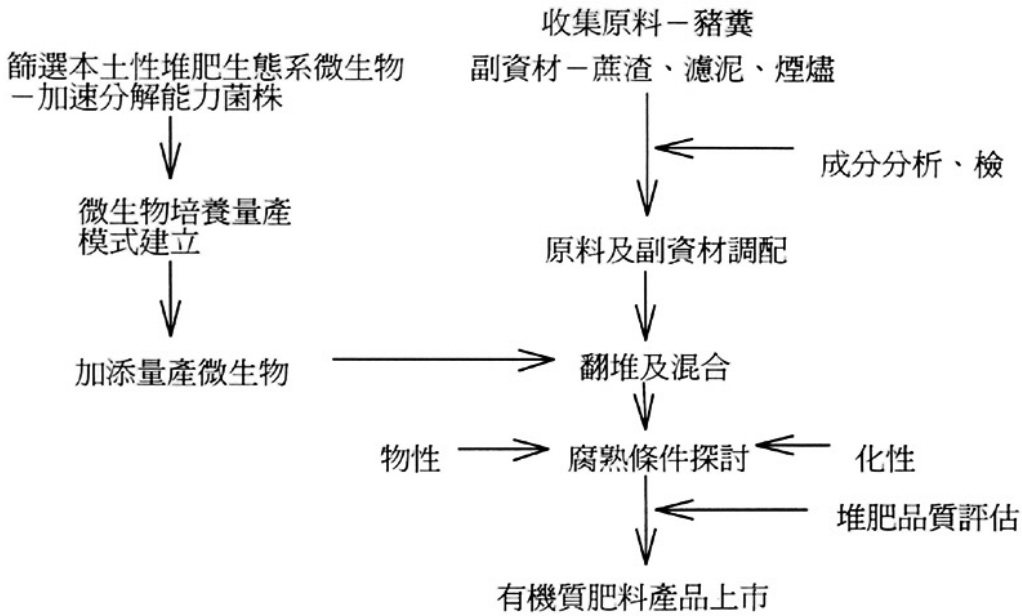
表一、有機堆肥資材組成與處理條件

試驗組	堆肥資料	滅菌	添加微生物
1	934克 (蔗渣：豬糞＝1：10)	-	0
2	360克 (蔗渣：豬糞＝1：5)	+	4克
3	923克 (蔗渣：豬糞＝1：10.1)	-	10克

(二)分離與篩選本土性堆肥生態系微生物-具加速分解能力菌株

由台糖公司虎尾糖廠有機堆肥廠採得不同腐熟度堆肥及台灣地區各地採集得到的土壤樣品(1.0 g)，經過高溫處理後，再使用系列稀釋分別塗抹在不同種類的培養基包括TSA、PDA+antibiotics、 1/2 NA +Novobiocin、Cellulose、Chitin等上，再分別培養在30℃及60℃培養箱內，進行微生物菌株分離與篩選。或是將土壤與堆肥樣品經80℃高溫水浴處理2小時後，再分別培養在30℃及60℃培養箱內，並分別分離與純化細菌、真菌、放線菌，並篩選出具有高活性胞外酵素的菌落，建立中溫及耐高溫細菌、真菌、放線茵菌種庫。

從有機堆肥及台灣地區各地採集得到的土壤樣品中，總計分離與篩選出12 株微生物菌株，以做爲堆肥用微生物製劑生產菌株，其中分別爲6株高溫菌與6株中溫菌。經探討堆肥添加用微生物製劑之量產模式後，建立本土性微生物製劑試量產製程(參見圖一)。



圖一、有機堆肥添加用微生物分離與有機堆肥製造過程

(三)小型堆肥腐熟條件探討

1.堆肥資材滅菌及堆肥添加微生物的效果

依堆肥試驗條件(參見表二)而定，將蔗渣切碎與豬糞混配並添加不同量微生物，調整碳氮比、水份含量、pH及溫度等，適時調控各試驗組堆肥資材物理與化學特性後，採樣進行化學分析及微生物菌種分離。

表二、有機堆肥用蔗渣與豬糞化學分析

	水份[a] water(%)	有機碳[b] OC(%)	總氮量[c] TN(%)	碳氮比 C/N
甘蔗渣	13	46.2	0.33	140
豬糞	51	46	2.6	17.7

2.堆肥微生物一次或分段添加的效果

有機堆肥資材分別經過滅菌及添加微生物處理，以試驗對堆肥腐熟之影響。對於添加微生物於有機堆肥過程中之添加效果試驗，係以一次或分段添加來評估其效果。 其試驗條件分別爲：試驗組1爲控制組，除原料蔗渣及豬糞外不添加任何微生物。試驗組2爲在實驗開始時(零時)，添加日本堆肥用微生物。試驗組3爲實驗開始時(零時)，添加DCB12株具有高活性胞外酵素之微生物菌株。試驗組4則是在第四天添加高溫茵，第18天再添加中溫茵(參見表三)。

表三、添加微生物與堆肥資材組成對堆肥化過程影響

試驗組	堆肥資材 (蔗渣：豬糞：水：微生物)	添加微生物種類
1	431 :867 :700 :0	—
2	431 :867 :700 :40	添加商品堆肥微生物
3	431 :867 :700 :200	DCB12 株菌同時加入
4	431 :867 :700 :200	高溫及低溫菌株分別加入

試驗結果顯示加入微生物與不添加，或是經過滅菌後的堆肥樣品腐熟度不同程度的影響。 一次加入或分段添加微生物的測試效果顯示，分段添加 DCB 微生物之效果，由中溫菌培養結果分析，並無明顯成效。 但在醱酵後期堆肥腐熟過程中，微生物菌數明顯提昇，尤其以 DCB 微生物分段添加之總生菌數最高，真菌數的增加也是最明顯。另外由高溫菌培養來看，放線菌在高溫醱酵期極端活耀，而 DCB 微生物分段加入時，在堆肥中細菌、真菌及放線菌的分佈明顯增加。

在三組堆肥試驗中，有機基質中所含的碳水化合物被微生物利用及產生二氧化碳而逸散於空氣中，造成全碳含量皆呈下降情形，同時全氮之濃度會因此濃縮效應而呈現增加趨勢。C/N比值也隨時間經過而不斷下降，堆肥的pH則下降後，維持一穩定狀態。微生物利用有機基質產生有機酸，而有機氮經分解成爲銨離子(NH_4^+)造成堆肥化後期pH維持一穩定狀態。

對於有機堆肥腐熟度之測試是使用堆肥濾液來測定對油菜子發芽率之影響。 堆肥資材在堆積23天後，三組試樣之發芽率分別爲105%、125%及118%，皆超過對照組發芽率。另外各組試樣之碳氮比(C/N ratio)皆小於20或等於20，因此可判定各組堆肥應已腐熟。

有機堆肥資材經34天醱酵後，顯示凡添加堆肥微生物者都會加速堆肥腐熟，無論是添加日本微生物資材商品或是DCB 12株具有高活性胞外酵素微生物菌株。DCB微生物在零時添加或是分段式的加入，都能影響堆肥後期腐熟度並助長優良菌株分佈。堆肥材料經過化學分析作適量調配後，在堆肥過程中將物理條件作適度控制，堆肥腐熟時間可以縮短。以蔗渣及豬糞爲堆肥資材原本需要經過數個月才能完全腐熟，目前則可以縮短在34天內達到腐熟。

(四)有機堆肥生態系微生物分析

在有機堆肥製作過程中，爲分析在堆肥中微生物的生態，將每週採的堆肥樣品分別塗抹在培養基上，培養在30℃或 50℃培養箱，連續觀察在堆肥中微生物的種類、數量、菌相變化及其分佈。分別探討堆肥資材是否需要滅菌及添加堆肥微生物的效果，微生物在實驗堆肥中的分佈、中溫菌的分佈，總生菌數的變化是否會隨著

醱酵溫度影響。 結果發現總生菌數的增加會隨著醱酵溫度逐漸上升，但也隨著醱酵溫度下降而減少，但以滅菌過之堆肥質材及試驗零時添加微生物的總生菌數最高。試驗組3(即零時開始時添加微生物)，其總菌數較控制組(未滅菌)高。真菌數則隨著堆肥醱酵過程溫度上昇，而有下降趨勢，但堆肥溫度下降時，真菌數有回昇的現象。但在滅菌過之堆肥資材，其真菌數較其他堆肥資材高。放線菌數在4種試樣中都會隨著醱酵時間逐漸增加。放線菌數受溫度影響不大，隨著醱酵時間逐漸增加，但仍以在滅菌過之堆肥質材中較其他資材高。此試驗顯示由蔗渣及豬糞組成的堆肥資材中，已有足夠促使堆肥資材醱酵的微生物菌種，滅菌過之堆肥質材會因其他菌種已被滅除，故堆肥微生物會生長得更好。至於在中溫菌試驗中，則以滅菌過之堆肥質材其生長最好。

另外高溫菌在堆肥醱酵中的分佈，添加微生物菌種會提高總菌數及放線菌數。 總菌數在高溫醱酵時菌數最多，這種現象完全符合堆肥高溫醱酵原理(微生物在有機廢棄物內繁殖時，體內的ATP氧化成ADP、Pi及能量，而供微生物進行代謝作用，但釋出能量會促使周圍環境缺氧而溫度上升，但溫度上升的另一個好處是有滅菌作用，堆肥的高溫可減少處理材料中原有病原菌)。在堆肥醱酵初期，真菌數很少幾乎看不見，但在高溫醱酵期中，總菌數、真菌及放線菌都有很明顯增加，顯然除細菌外，真菌及放線菌在高溫醱酵期中，也扮演極重要的分解角色，同時在醱酵後期堆肥腐熟過程中，無論是高溫或中溫菌包括細菌、真菌及放線菌都極端活耀。

觀察微生物在堆肥中的種類及數量，可瞭解微生物的變化及分佈，對廢棄物中有機質的分解有更好的掌控 。添加微生物製劑是否對堆肥醱酵品質及腐熟時間有影響，許多文獻報告顯示在理論上添加微生物製劑可以降低及減少堆肥醱酵期中遲滯期(lag phase)的時間(Gaur el al., 1982; Yadav et al., 1982; Matthur et al.,1986)，但是也有很多不盡相同結果的報告(Finstein and Morris, 1975; Golueke, 1977; de Bertoldi et al., 1983; Faurc and Deschamps, 1991; Solbraa, 1984)。整理歸納過去的研究結論，可以發現在堆肥化過程添加微生物製劑無明顯功效主要的原因是因爲外加的微生物分解效果並不如堆肥資材內已存有的微生物。本研究結果也非常符合前人的研究結果，添加微生物製劑是否對堆肥醱酵品質及腐熟時間有影響，完全控制在堆肥資材種類的選擇及調配，以及施用的堆肥微生物製劑中微生物的類別。觀察微生物在堆肥中種類及數量，可以瞭解微生物的變化及分佈，對未來有機廢棄物堆肥化過程能夠有更好的掌控。 因此對於本土性微生物菌種庫的建立是必需的，因爲對台灣地區數量龐大的農業有機固體廢棄物，可以針對堆肥資材從微生物菌種庫中調配適當的微生物種類及數量，來達到促進堆肥化處理之最佳效益。

四、誌謝

本研究承經濟部科技專案「環境生物技術與產品開發計畫」經費支持，特此表示由衷謝意。另外對於台糖公司虎尾糖廠能夠提供堆肥、豬糞與蔗渣等資材以方便研究之進行，亦一併表示謝意。

參考文獻

1.王西華，農業廢棄物在有機農業之利用，有機農業研討會專集，台中區農業改良場特刊 16 號 ，p217-227 (1989)。
2.黃山內，有機農業之發展及其重要性 ，有機農業研討會專集，台中區農業改良場特刊 16 號，p21-30 (1989)。
3.嚴式清，畜牧廢棄物在有機農業之利用，有機農業研討會專集，台中區農業改良場特刊 16 號，p245-249(1989)。
4.謝須景 ，世界各國之永續農業研究與堆廣，永續農業論文輯，台中區農業改良場特刊 32 號，p · 19-45(1993)。
5.雷通明 ，從土壤學觀點談農業現代化，中華水土保持學報，18(2):1-12 (1987)
6.de Bertoldi, M., Vallini,G. and Pera, A. 1983. The bilogy of composting: A review. Waste Manage. Res., 1, 157-176.
7.Faure,D. and Deschamps A.M. 1991. The effect of bacterial inoculation on the initiation of composting of papre pulps. Bioresorce Technology, 37, 235-238.
8.Finstein, M.S. and Morris, M.L. 1975. Microbiology of municipal slcomposting. Applied Microbiology, 19, 113-151.
9.Golueke, C.G. 1977. Biological reclamation of solid wastes, p.17-21. Rodale Press,Inc., Emmaus,PA
10.Gaur, A. C., Sadasivam, K.V., Mathur, R.S., and Magu, S.P. 1982. Role of mesophilic fungi in composting. Agric. Wastes, 4, 453-460.
11.Kawakami, W., S. Hashimoto, H. Watanabe, K. Nishmura, H. Watanabe, H. Itoh, and M. Takehisa. 1981. Composting of gamma-radiation disinfected sewage. Radiat. Phys. Chem. 18:771-777.
12.Mathur, R.S., Magu, S.P., Sadaasivam, K.V., and Gaur, A. C. 1986. Accelerated compost and improved yield. BioCycle, 27, 42-44.
13.Solbraa, K. 1984. An analysis of compost starters used on spruce bark. BioCycle, 25, 46-48.
14.Yadav, K.S., Mishra, M.M., and Kapoor, K.K. 1982. The effect of fungal inoculation on composting. Agric. Wastes, 4, 329-333.