

中華民國第 63 屆中小學科學展覽會
作品說明書

高中組 環境學科

第二名

052611

廢棄柿皮與汙泥發酵產氫之研究

學校名稱：國立新竹科學園區實驗高級中等學校

作者： 高二 詹易夫 高二 陳楷沅 高二 黃志昕	指導老師： 周鈺禎
---	------------------

關鍵詞：柿皮、厭氧發酵、氫氣

摘要

本研究旨在探討廢棄柿皮與汙泥發酵產氫之可行性及最佳發酵條件。結果指出石柿 (*Diospyros kaki* cv. Stone) 與汙泥分別預加熱後依 1:2 比例混合，加入改良培養基，調整 pH 值為 8 並於環境溫度 35°C 下發酵為最佳條件。修正岡珀茲方程式擬合結果指出每公克柿皮可產生 24.32 毫升氫氣 ($R^2 = 0.9990$)。此外，等比例放大之發酵規模倍率與產氫能力呈正相關，若以足量柿皮發酵量產氫氣，可以相近效率大規模產生氫氣。本研究亦根據全臺每年廢棄柿皮量推估氫氣產量，並探討計算成本的方法，結果皆顯示廢棄柿皮發酵產氫具一定可行性。此方法可有效轉換大量廢棄柿皮為再生能源，具高度發展潛力。

壹、前言

一、研究動機

高一基礎化學課本的第四章「生活中的化學」提及，現今社會的環保意識抬頭，如何降低對環境的衝擊成了一大課題。為達成永續環境的目標，廢棄資源的再生與再利用受到學界高度的重視。我們的家鄉——新竹，得益於強勁而乾燥的「九降風」而盛產柿餅。柿餅的加工過程中需去除、丟棄大量的柿皮，從而造成許多資源的浪費。因此，我們試圖尋找適當的方法處理這些被丟棄、浪費的柿皮，以落實廢棄資源的再生。查詢相關資料後，我們在一則文獻 (Das *et al.*, 2001) 中發現蔗糖可以作為受質，加入產氫微生物後，透過一系列的發酵反應產出氫氣，這使我們興起一個念頭：將含有大量蔗糖與其他醣類的柿皮與富含產氫微生物的池水汙泥進行混合以生產氫氣。據此，我們通過一系列的實驗，深入探討各類影響產氫效果的因素，找出最佳的反應條件，以最高效率的方法達到廢棄資源再生的目標。

二、研究目的

- (一) 柿子皮、汙泥與培養基存否對產氫效果的影響。
- (二) 柿子皮品種與柿子皮/汙泥比例對產氫效果的影響。
- (三) 預加熱柿子皮及汙泥對產氫效果的影響。
- (四) 預加熱溫度對產氫效果的影響。
- (五) 預加熱時間對產氫效果的影響。
- (六) 培養基成分對產氫效果的影響。
- (七) 反應環境酸鹼性對產氫效果的影響。
- (八) 發酵反應溫度對產氫效果的影響。

(九) 累積產氫量對發酵時間曲線。

(十) 探討本發酵產氫法大規模應用可能性與效益。

三、文獻回顧

(一) 柿餅生產流程

據柿餅農場說明，柿餅的製作流程包含採收（挑選 7~8 分熟的柿子）、削皮、低溫烘烤（以 45 度低溫烘烤約 2 小時）、日曬風乾（將以削皮的柿子放在篩子上日曬風乾，待其生成再生皮）、壓捏（壓成扁圓形）、硫燻（防止氧化酵素作用、殺菌）等步驟。削皮的步驟目前多已由自動削皮機取代人工，且會產生大量的廢棄柿皮。

(二) 蔗糖發酵產氫

根據文獻記載（Das *et al.*, 2001），以蔗糖作為基質，並加入特定種類的厭氧細菌或厭氧微生物，即可進行一系列的厭氧發酵反應，進而生成氫氣，且此法已經被證實約有 28% 的能量能以氫氣的形式回收，是高效率的產氫方法。

本文將其概念應用於處理在地的廢棄物——柿子皮。柿子皮亦含有大量的醣類，因此可將其替代蔗糖作為基質，並加入含有大量厭氧細菌的池底汙泥進行發酵反應。旨在處理廢棄物的同時，也生成珍貴的氫能源，達到綠色能源的目標。

(三) 柿子品種

柿子的品種可依「是否需要脫澀」分為甜柿與澀柿兩大項。甜柿毋須脫澀即可直接採摘食用；而澀柿則因為含有較多單寧物質，需要脫澀才可食用（Novillo *et al.*, 2015）。其中，部分的澀柿會在柿餅工廠去皮加工後，做成柿餅食用。因此，本研究使用之柿子皮皆是柿餅工廠所去除的澀柿柿子皮。

不同品種的柿子之含醣量不盡相同。據此，本文探討了三種新竹地區的柿餅工廠經常使用的澀柿——四周柿（*Diospyros kaki* cv. Syh jou）、牛心柿（*Diospyros kaki* cv. Bull Heart）、石柿（*Diospyros kaki* cv. Stone）——的產氫效果，找出具最佳產氫效果的澀柿品種，並使用此品種之柿子皮進行後續實驗。

(四) 柿子皮與汙泥的比例

據文獻所載（Kim *et al.*, 2009），不同廚餘與汙泥之比例會有截然不同的產氫效果，須在特定比例下才能有好的發酵產氫能力；同時，由於不同種類的廚餘含醣量多寡不定，各種廚餘也會有自己特定的最佳產氫比例，而比例須透過批量測試得知。

因此，本研究設計了 7 組不同比例，分別對不同品種的柿子皮進行測試，以找出柿

子皮與汙泥之最佳產氫比例，落實資源的效用最大化。

(五) 預加熱處理

文獻指出 (Kim *et al.*, 2009)，以廚餘 (food waste) 為基質發酵產氫時，若預先加熱廚餘後再進行發酵，可抑制乳酸發酵反應，防止醱類損失，進而有效提升氫氣產量，並會在特定的加熱溫度與加熱時間達到最大氫氣產量，而此數值與廚餘之種類相關。

其他相關文獻 (Baghchehsaraee *et al.*, 2010) 亦指出將含有厭氧菌類之汙泥預先加熱可抑制非產氫菌的活性，防止廚餘中醱類進行其他發酵反應而產生不必要之氣體，有效提升氫氣濃度與產量，而提升效果亦會受不同的汙泥來源、加熱溫度與時間影響。

本研究使用之基質為柿子皮與池底汙泥，對兩者進行預加熱處理測試，觀察氫氣產量的增加。再以一系列加熱溫度與加熱時間的實驗，對柿子皮與汙泥進行批量測試，以找出最佳的預加熱處理方法，進行後續的實驗研究。

(六) 細菌培養基

細菌培養基有許多種類，本文參考過去文獻中用於醱類之缺氧發酵的細菌培養基配方 (Endo *et al.*, 1982)，其成分如表 1-1：

表 1-1 培養基成分表

成分	濃度 (公克/公升)
NH ₄ HCO ₃	7.86
NaHCO ₃	6.0
K ₂ HPO ₄	0.125
CaCl ₂ · 2H ₂ O	0.1
MgCl ₂	0.047
MnSO ₄ · H ₂ O	0.01
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.025
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.005
CoCl ₂ · 6H ₂ O	0.000125

過去的文獻中並未針對所有成分的功能、濃度有完備的理論及實驗說明，本文的柿子皮、池底汙泥混和發酵也與過去文獻不相同。因此成分中除 NH₄HCO₃、NaHCO₃ 為緩衝用途，含量不應任意調整，以及 CoCl₂ · 6H₂O 的量過少學校器材無法精準測量外，本文將針對其餘的成分含量進行探討，製作改良的細菌培養基溶液配方。培養基中各成分需求濃度不同 (Hendriks *et al.*, 2017)，部分為需要相對大量的營養素，如：碳、氮；部分微量金屬如：鐵、鈷、鎳則攸關酶和其他輔助因子的產生和運作，同時有助於穩定發酵產氣 (Fermoso *et al.*, 2017; Pobeheim *et al.*, 2010)。然濃度過高仍可能成為抑制發酵作用、甚至是有毒的物質 (Nandan *et al.*, 1990)。

（七）反應環境的酸鹼度

反應環境的酸鹼度會對細菌的活性有顯著影響，而各種類的細菌適合的酸鹼度範圍都不相同，因此有必要控制初始的反應環境酸鹼度 (Jarunglumlert *et al.*, 2018)。綜整文獻，實驗過程中的環境 pH 值約控制在 5.0~6.0 之間。經過去文獻紀錄與自行實驗驗證，產氫發酵的過程中 pH 值會降低，因此理想初始 pH 值的設定應略高於 5.0~6.0。然而，過去文獻資料中關於理想初始 pH 值的結果差異甚大，如：初始 pH 值為 6.0 時產氣效率佳 (Sunyoto *et al.*, 2016)；混合廚餘和汙泥，初始 pH 值為 7.0 時產氣效率佳 (Nazlina *et al.*, 2009)；另一研究中，廚餘的發酵在初始 pH 值為 6.0~9.0 時有較多的氫氣產生，其中又以 8.0 最佳 (Kim *et al.*, 2011a)；亦有研究比較廚餘進行厭氧發酵時分別維持初始 pH 值在 5.0、5.5、6.0 時的產氣情況，得到維持在 5.5 時，產氫量略優於維持在 6.0 時，並顯著優於維持在 5.0 時 (Yasin *et al.*, 2011)。這些研究中，所使用的發酵基質、細菌來源等有不可避免的差異，再加上處理方式與研究主題也不盡相同，導致同領域實驗結論有所差異。

（八）反應環境的溫度

統整過去文獻，發酵產氫的理想反應溫度落在 30°C 至 55°C 間，差異在於有些細菌屬於中溫生物（在 30°C 至 38°C 活性最大，適合 20°C 至 45°C 等中等之溫度），有些細菌則為嗜熱生物（在 45°C 以上活性較大）。每一種細菌也有各自最適合的溫度範圍，因此調整反應溫度將影響主要生長與反應的細菌類型。在有關環境溫度對廚餘發酵產氫之效率的文獻中，結果顯示控制在 50°C 時產氫量、產氫速率較好，產氫量依序優於 55°C、60°C、45°C、40°C、35°C 時，且具有滯後期短的優勢 (Kim *et al.*, 2011b)。

從其他研究中可以發現，發酵基質等原料的差異也可能造成結果顯著不同。例如將溫度從中溫（37°C）提升至高溫（55°C）時，不同廚餘所得結果有所不同，且提升溫度的效果與混合溶液中的總溶解固體濃度有關 (Arslan *et al.*, 2016)。每篇文獻中對於發酵原料的來源與處理方式都不盡相同，多數也並未詳細說明，這些差異都可能是造成結果不同的關鍵。本文將針對過去從未使用的廢棄柿子皮、池塘底部汙泥的混合與較簡單的前置處理方式，搭配所得出的最佳預處理條件，探討此具體情況下的最佳反應溫度。

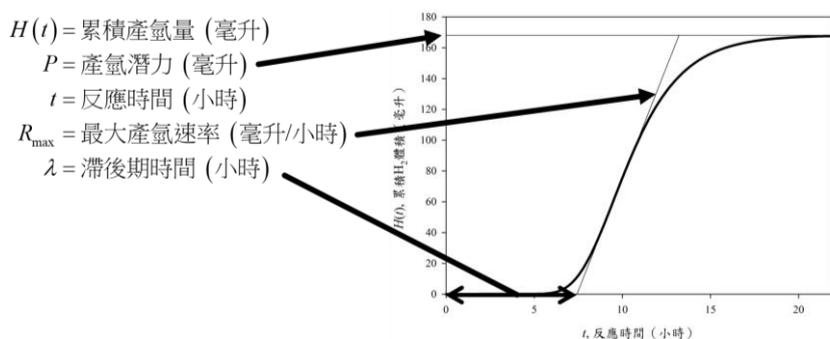
（九）反應動力學

修正岡珀茨方程式 (modified Gompertz equation) 可用於描述實驗中氫氣的累積生產，擬合累積產氫量以獲得參數 (Lay *et al.*, 1999)。此方程式最初用以描述生物的

死亡，經數學修正並實驗後發現修正岡珀茨方程式在統計學上具描述細菌生長的能力，並且易於統計學上使用（Zwietering *et al.*, 1990）。因發酵氣體累積產量與細菌的生長相關，且實驗亦證明甲烷與氫氣皆可以修正岡珀茨方程式擬合其產量（Lay *et al.*, 1996, 1999; Liu *et al.*, 2004），本研究將以下列修正岡珀茨方程式來描述氣體之累積生產：

$$H(t) = Pe^{-\exp\left(\frac{R_{\max}}{P}(\lambda-t)+1\right)}$$

其中 H 代表累計產氫量（毫升）； P 為產氫能力，或稱產氫潛力（毫升），表示反應時間趨於無限時的最終累計產氫量； R_{\max} 為最大產氫速率（毫升／小時），即累計產氫量對時間的一次導數最大值； λ 為滯後期時間（小時），為細菌生長四階段中表示細菌



接觸到新環境道開始進行大量繁殖前的環境適應期； t 為反應時間（小時），其關連如圖 1-1 所示。 P 、 R_{\max} 和 λ 的值乃通過最佳擬合方程式找出。

圖 1-1 修正岡珀茨方程式之關係圖

貳、研究設備及器材

一、排水集氣裝置

本實驗以排水集氣法收集發酵產生的氣體，故須製作排水集氣裝置以進行實驗。利用容易取得的小塑膠瓶作為發酵反應槽，於塑膠瓶蓋上用鑽孔機鑿出恰可讓橡膠管通過的洞口，剪下足夠長的橡膠管，插入瓶蓋上的洞口作為發酵產生氣體的導管，以熱熔膠封住洞口以避免氣體漏出，再將廣口瓶裝滿水作為集氣瓶，倒置於含有足夠水量的透明塑膠桶，最後將橡膠管導入廣口瓶內，使氣體得以順利流入廣口瓶。詳細裝置如次頁。

二、氣相層析法（Gas Chromatography）

為確認各樣品氫氣產生量，須使用氣相層析儀（Gas Chromatograph，GC，Shimadzu Nexis GC-2030）定量分析。氣相層析儀可檢測氫氣濃度。將產氣體積乘以氫氣濃度可得氫氣產量。當氣體樣品通過 GC 偵測器時，會產生對應信號，並繪製為信號峰，從中可通過計算信號峰積分面積，並對比檢量線，確定樣品中的氫氣濃度。

將樣品進行氣相層析分析後，偵測器將依序檢測到氫氣、氧氣、氮氣。透過辨別各分離樣品之滯留時間，即可確定形成該峰之氣體種類。

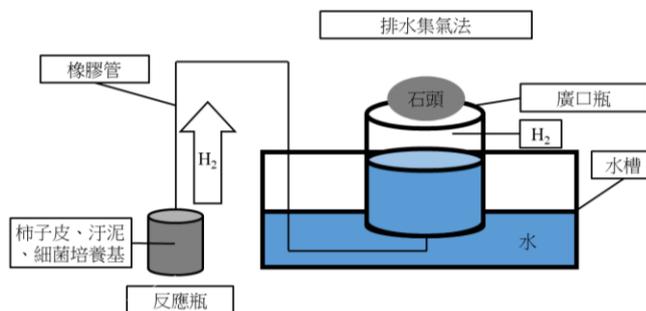


圖 2-1 實驗裝置示意圖



a. 側視圖 b. 俯視圖

圖 2-2 實驗裝置實際圖

三、實驗藥品與器材

表 2-1 實驗藥品與器材

實驗與器材類別	項目		
發酵材料	四周柿	牛心柿	石柿
	汙泥		
配製培養基藥品	碳酸氫銨 (NH_4HCO_3)	碳酸氫鈉 (NaHCO_3)	磷酸氫二鉀 (K_2HPO_4)
	二水合氯化鈣 ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	氯化鎂 (MgCl_2)	一水合硫酸錳 ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)
	七水合硫酸亞鐵 ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	五水合硫酸銅 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	六水合氯化亞鈷 ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)
實驗操作器材	加熱板	溫度計、感溫棒	電表 (Master Solider)
	恆溫水槽	HCl 水溶液	NaOH 水溶液
集氣裝置器材	150 毫升小塑膠瓶	橡膠管	水槽
	1.5 公升大廣口瓶		
氫氣檢測器材	氣相層析儀	塑膠離心管	血清塞

參、研究過程或方法

一、研究架構與流程

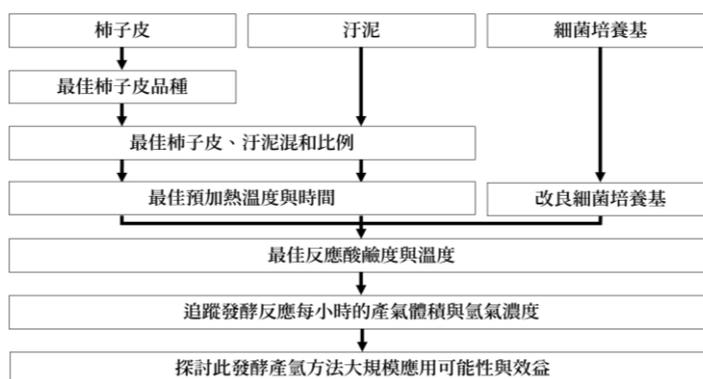


圖 3-1 研究架構與流程圖

二、實驗設計與步驟

(一) 氫氣含量檢量線

1. 配製氫氣濃度皆為 50% 之標準樣品，樣品內僅含氫氣與空氣。
2. 分別自標準樣品抽取 32、48、64、80、96 微升，進行氣相層析，得積分面積。

3. 將氫氣積分面積對氫氣總量（抽取樣品量×樣品氫氣濃度）作圖，並進行線性迴歸分析，得到迴歸直線方程式，該迴歸直線即為本實驗之氫氣含量檢量線。

（二）柿子皮、汙泥與培養基存否對產氫效果的影響

1. 準備足量的柿皮，任一澀柿品種皆可（本實驗中使用石柿）。
2. 挖出池塘底部汙泥。分別以是否含柿皮、汙泥及細菌培養基相互排列組合混合。不添加培養基者，改以添加水。
3. 配製細菌培養基並設定恆溫水槽（Deng Yng G-20）水溫為 25°C。
4. 加入細菌培養基，拌勻後蓋上已鑽洞並通有一橡膠管的瓶蓋。
5. 架設排水集氣裝置，將橡膠管通入大廣口瓶中。將反應瓶靜置於恆溫水槽中。



圖 3-2 柿皮、汙泥與培養基混合反應瓶



圖 3-3 恆溫水槽裡發酵中反應瓶

6. 於集氣進行完畢後，用針筒抽出瓶內氣體以記錄產氣總體積（抽氣前「抽」「放」數十次以促進氣體均勻混合）。
7. 取步驟 6 中一管氣體作為樣品，進行氣相層析分析，對照 GC 檢量線，測出每一樣品中的氫氣濃度。
8. 將各組之總產氣體積和氫氣濃度相乘，即可得知總氫氣產量。

（三）柿子皮品種與柿子皮／汙泥比例對產氫效果的影響

1. 準備四周柿、石柿、牛心柿三種品種的柿子皮。
2. 挖出池塘底部汙泥。將每一種柿子皮都分別與汙泥以 1 : 2.5、1 : 2、1 : 1.5、1 : 1、1.5 : 1、2 : 1、2.5 : 1 比例混合。
3. 配製細菌培養基並設定恆溫水槽水溫為 25°C。
4. 加入細菌培養基，拌勻後蓋上已鑽洞並通有一橡膠管的瓶蓋。
5. 重複實驗（二）的步驟 5~8。

（四）預加熱柿子皮及汙泥對產氫效果的影響

1. 準備產氫效果最佳的品種的柿子皮。
2. 挖出池塘底部汙泥。以最佳比例混合柿子皮、汙泥。
3. 以加熱板（Corning PC-420D）分別對柿皮、汙泥進行預加熱處理，分為皆不加熱、僅加熱柿子皮、僅加熱汙泥、皆加熱四組實驗（加熱 20 分鐘），配製細菌

培養基並設定恆溫水槽水溫為 25°C。

4. 加入細菌培養基，拌勻後蓋上已鑽洞並通有一橡膠管的瓶蓋。
5. 重複實驗（二）的步驟 5~8。

（五）預加熱溫度對產氫效果的影響

1. 準備產氫效果最佳的品種的柿子皮。
2. 挖出池塘底部汙泥。以最佳比例混合柿子皮、汙泥。
3. 根據前實驗之最佳條件進行 20 分鐘的預加熱處理，並進行不同加熱溫度（60°C、80°C、100°C、120°C）之比較（若柿皮與汙泥兩者皆須加熱，則需排列組合柿皮與汙泥的加熱溫度），配製細菌培養基並設定恆溫水槽水溫為 25°C。
4. 加入細菌培養基，拌勻後蓋上已鑽洞並通有一橡膠管的瓶蓋。
5. 重複實驗（二）的步驟 5~8。

（六）預加熱時間對產氫效果的影響

1. 準備產氫效果最佳的品種的柿子皮。
2. 挖出池塘底部汙泥。以最佳比例混合柿子皮、汙泥。
3. 根據前實驗之最佳條件進行預加熱處理，並進行不同加熱時間（10、20、30、40、50、60 分鐘）之比較（若柿子皮與汙泥兩者皆須加熱，則依序探討柿子皮與汙泥的加熱時間），配製細菌培養基並設定恆溫水槽水溫為 25°C。
4. 加入細菌培養基，拌勻後蓋上已鑽洞並通有一橡膠管的瓶蓋。
5. 重複實驗（二）的步驟 5~8。

（七）培養基成分對產氫效果的影響（第一階段測試）

1. 準備產氫效果最佳的品種的柿子皮。
2. 挖出池塘底部汙泥。以最佳比例混合柿子皮、汙泥。
3. 根據前實驗之最佳條件進行預加熱處理。
4. 配製細菌培養基，以 2^n （ $-3 \leq n \leq 3$ ， $n \in \mathbb{Z}$ ，共 7 組）之倍數調整各成分之數量，並設定恆溫水槽為 25°C。
5. 加入細菌培養基，拌勻後蓋上已鑽洞並通有一橡膠管的瓶蓋。
6. 重複實驗（二）的步驟 5~8。
7. 綜合各成分調整倍率後產氫效果最佳者之比例，再進行一次發酵實驗。

（八）培養基成分對產氫效果的影響（第二階段測試）

1. 準備產氫效果最佳的品種的柿子皮。
2. 挖出池塘底部汙泥。以最佳比例混合柿子皮、汙泥。
3. 根據前實驗之最佳條件進行預加熱處理。

4. 配製細菌培養基，各成分依其第一階段測試之最佳產氫量為倍數在 1 或 2 時達到最大產氫量，分別將物量調整為 0.5、0.75、1、1.25、1.5、1.75 和 2 倍或 1、1.25、1.5、1.75、2、2.25、2.5、2.75、3、3.25、3.5、3.75 和 4 倍的量進行測試，並設定恆溫水槽為 25°C。
5. 加入細菌培養基，拌勻後蓋上已鑽洞並通有一橡膠管的瓶蓋。
6. 重複實驗（二）的步驟 5~8。
7. 綜合各成分調整倍率後產氫效果最佳者之比例，再進行一次發酵實驗。

（九）反應環境酸鹼性對產氫效果的影響

1. 準備產氫效率最佳的品種的柿子皮。
2. 挖出池塘底部汙泥。以最佳比例混合柿子皮、汙泥。
3. 根據實驗得出之最佳條件進行預加熱處理、根據實驗得出之最佳條件配置細菌培養基，並設定恆溫水槽水溫為 25°C。
4. 加入細菌培養基，以 HCl 和 NaOH 水溶液將 15 組實驗的反應瓶中的 pH 值分別調整為 0、1、2、3、……、14 後，蓋上已鑽洞並通有一橡膠管的瓶蓋。
5. 重複實驗（二）的步驟 5~8。

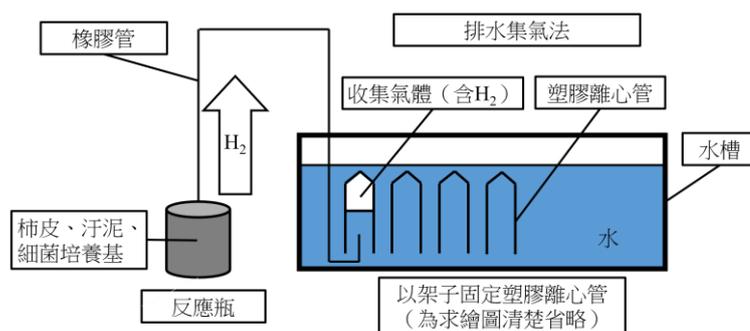
（十）發酵反應溫度對產氫效果的影響

1. 準備產氫效率最佳的品種的柿子皮。
2. 挖出池塘底部汙泥。以最佳比例混合柿子皮、汙泥。
3. 根據實驗得出之最佳條件進行預加熱處理、根據實驗得出之最佳條件配置細菌培養基，並設定 11 個恆溫水槽水溫分別為 15°C、20°C、25°C、30°C、35°C、40°C、45°C、50°C、55°C、60°C、65°C。屆時再將各反應瓶放入此 11 水槽中。
4. 加入細菌培養基，調整為理想酸鹼度後，蓋上已鑽洞並通有一橡膠管的瓶蓋。
5. 重複實驗（二）的步驟 5~8。

（十一）累積產氫量對發酵時間曲線

1. 準備產氫效率最佳的品種的柿子皮。
2. 挖出池塘底部汙泥。以最佳比例混合柿子皮、汙泥。由於需連續觀察與操作實驗，受限於場地、設備與時間因素，等比例縮小原料重量。
3. 根據實驗得出之最佳條件進行加熱預處理、根據實驗得出之最佳條件配置細菌培養基，並根據最佳反應環境溫度設定恆溫水槽。

4. 加入細菌培養基，調整為理想酸鹼度後，蓋上已鑽洞並通有一橡膠管的瓶蓋。架設特殊裝置，如圖 3-4。



5. 每小時，將橡膠管從一離心管中抽出，以血清塞將該離心管密封，再將橡膠管插入另一離心管中。

6. 重複步驟 5 至連續數小時無產生任何氣體為止。量測並記錄每個離心管中的氣體總體積，再對每個樣品進行氣相層析分析。

7. 將各組總產氣體積和氫氣濃度相乘，即得總氫氣產量。以上步驟已 3 重複。

(十二) 探討本發酵產氫法大規模應用可能性與效益

1. 準備產氫效率最佳的品種的柿子皮。
2. 挖出池塘底部污泥。以最佳比例混合柿子皮、污泥。並且以 1.5^n ($0 \leq n \leq 7$, $n \in \mathbb{Z}$, 共 8 組) 之倍數等比例放大原料重量。其中，放大規模倍率為 1 之原料組成 7 公克柿子皮混合 14 公克污泥。
3. 根據實驗得出之最佳條件進行加熱預處理、根據實驗得出之最佳條件配置細菌培養基，並根據最佳反應環境溫度設定恆溫水槽。
4. 加入細菌培養基，調整為理想酸鹼度後，蓋上已鑽洞並通有一橡膠管的瓶蓋。
5. 重複實驗 (二) 的步驟 5~8。
6. 以上步驟已 3 重複。分析數據點，探討本發酵產氫法大規模應用之可能性。

肆、研究結果

一、氫氣含量檢量線

表 4-1 標準樣品氣相層析分析數據表

總體積 (微升)	氫氣體積 (微升)	積分面積 (微伏特·分)
32.00	16.00	9136355
48.00	24.00	13988679
64.00	32.00	17980964
80.00	40.00	22193249
96.00	48.00	27865513

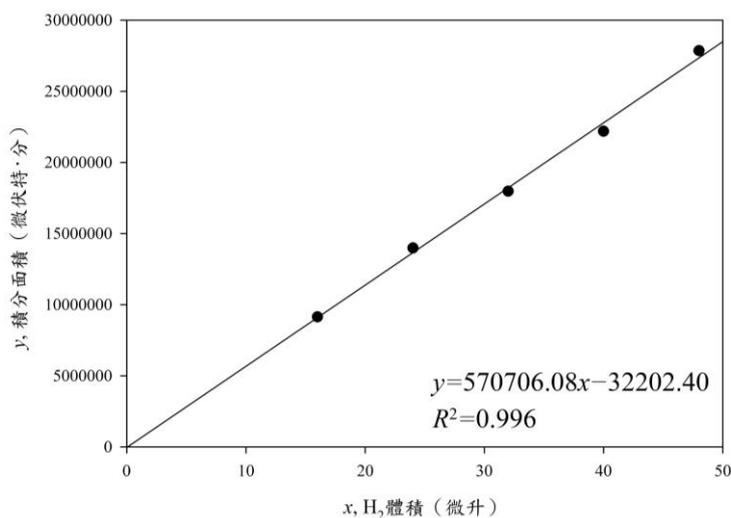


圖 4-1 標準樣品氣相層析數據迴歸直線圖

由圖 4-1， x 軸代表氫氣體積（單位：微升）， y 軸則代表信號峰值積分面積（單位：微伏特·分），且相關係數達 0.996，故此迴歸直線關係可信，可作本實驗檢量線。由於後續進行樣品氣相層析分析時，皆是以 100 微升為單次測量體積。因此每次實驗樣品進行氣相層析分析後，將氫氣積分面積代入檢量線，得到的氫氣體積只需除以 100 倍即為該樣品之氫氣濃度；若換算成百分比（%），則氫氣濃度數值與所得氫氣體積相等。

二、柿子皮、汙泥與培養基存否對產氫效果的影響

表 4-2 柿子皮、汙泥與培養基存否對產氫效果數據表

原料			總產氣體積 (毫升)	積分面積 (微伏特·分)	氫氣濃度 (%)	氫氣體積 (毫升)
柿子皮	汙泥	培養基				
含有			0.00	-	-	0.00
含有		含有	0.00	-	-	0.00
	含有		0.00	-	-	0.00
	含有	含有	0.00	-	-	0.00
含有	含有		138.70	8995048	15.82	21.94
含有	含有	含有	188.30	18569188	32.59	61.37

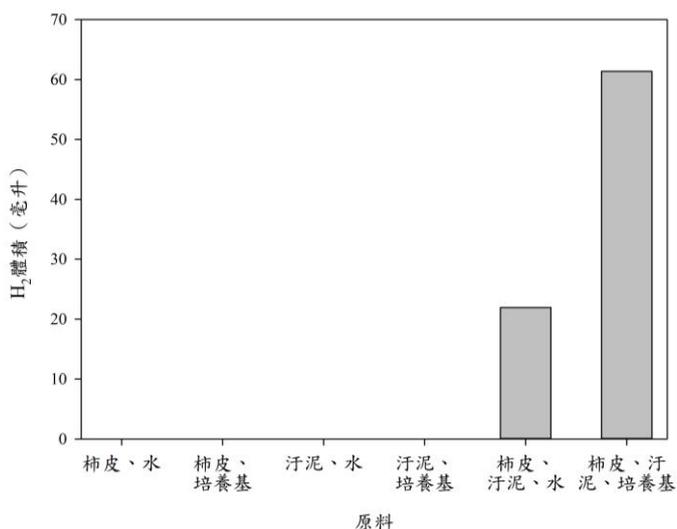


圖 4-2 柿子皮、汙泥與培養基存否對產氫效果關係圖

本實驗中，柿皮及汙泥成分分別皆為 24 公克，若為柿皮及汙泥混合則各 24 公克。由圖 4-2 可知，當僅使用柿皮或汙泥其中一種原料時，無論是否添加細菌培養基，皆未產生氫氣。混合柿皮與汙泥時，若添加水則氫氣濃度較低（約 16%），也僅產生近 22 毫升的氫氣。若添加細菌培養基，則可產生更多氣體，氫氣濃度也較高（約 33%），共約 60 毫升氫氣。

三、柿子皮品種與柿子皮／汙泥比例對產氫效果的影響

表 4-3 柿子皮品種與柿子皮／汙泥比例之產氫效果數據表

品種	柿子皮／汙泥比例	總產氣體積 (微升)	積分面積 (微伏特·分)	氫氣濃度 (%)	氫氣體積 (毫升)
四周柿	1 : 2.5	104.85	17878472	31.38	32.90
	1 : 2	233.65	17823096	31.28	73.09
	1 : 1.5	182.00	18384459	32.27	58.72
	1 : 1	176.90	18180832	31.91	56.45
	1.5 : 1	169.10	16810959	29.51	49.90
	2 : 1	159.70	15925375	27.96	44.65
	2.5 : 1	126.75	18254458	32.04	40.61
石柿	1 : 2.5	106.05	18102347	31.77	33.69
	1 : 2	341.85	20255055	35.54	121.50
	1 : 1.5	332.85	18048198	31.68	105.43
	1 : 1	287.35	18319411	32.15	92.39
	1.5 : 1	283.15	17737052	31.13	88.15
	2 : 1	195.20	17275804	30.32	59.19
	2.5 : 1	124.15	14968480	26.28	32.63
牛心柿	1 : 2.5	69.40	21233116	37.26	25.86
	1 : 2	163.30	21763714	38.19	62.36
	1 : 1.5	166.45	18281215	32.08	53.40
	1 : 1	168.30	19431786	34.10	57.39
	1.5 : 1	152.65	17917440	31.45	48.00
	2 : 1	141.50	18908003	33.18	46.95
	2.5 : 1	118.05	18947322	33.25	39.25

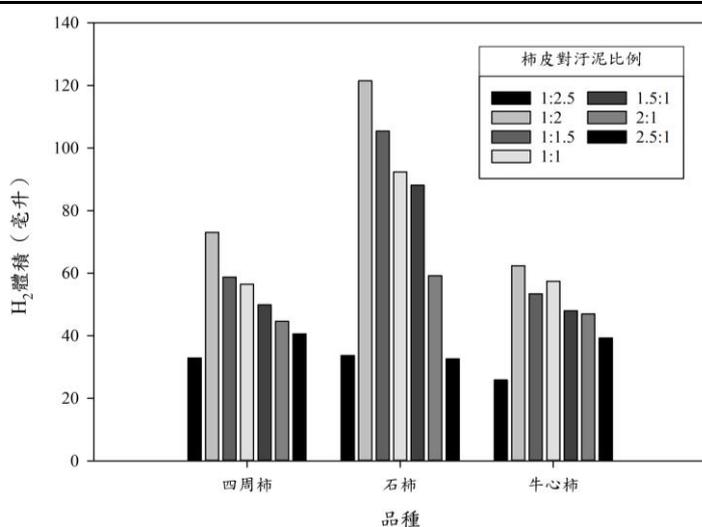


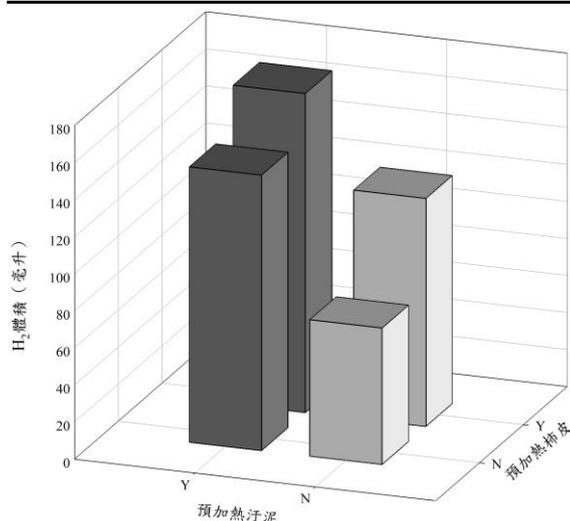
圖 4-3 柿子皮品種與柿子皮／汙泥比例對產氫效果關係圖

比較三個品種的柿子皮的發酵產氫效果，產氫量由大到小依序為石柿、四周柿、牛心柿。柿子皮與汙泥比例方面，三種柿子皮得到幾乎相同的結果，以 1 : 2 為最佳比例，趨勢如左圖 4-3 所示，圖中由左而右三組分別為四周柿、石柿、牛心柿在不同混和比例時的產氫量。氣相層析分析結果中，產氫濃度皆約在 30%，無顯著差距。其中，最大產氫量為石柿與汙泥以 1 : 2 比例混合時，產生約 122 毫升氫氣。

四、預加熱柿子皮及汙泥對產氫效果的影響

表 4-4 預加熱柿子皮及汙泥之產氫效果數據表

預加熱物	總產氣體積 (毫升)	積分面積 (微伏特·分)	氫氣濃度 (%)	氫氣體積 (毫升)
皆無	300.10	13960545	24.51	73.57
柿子皮	486.30	14416629	25.31	123.10
汙泥	526.60	16085649	28.24	148.70
皆有	598.50	16390835	28.77	172.20



此實驗對照組為石柿、汙泥以 1：2 混和且未做任何預處理。加熱柿皮時，總氣量由約 300 毫升增為約 486 毫升。加熱汙泥時，總氣量由約 300 毫升增為約 527 毫升。若同時加熱柿皮、汙泥，總產氣量接近 600 毫升。此外，若汙泥有加熱，GC 分析結果顯示氫氣濃度較未加熱汙泥的組別略高 3~4%。最大產氫量為同時預加熱柿子皮、汙泥時，產氫量可達約 170 毫升。

圖 4-4 預加熱柿子皮及汙泥對產氫效果關係圖/Y 表示有加熱，N 表示未加熱。

五、預加熱溫度對產氫效果的影響

表 4-5 預加熱溫度之產氫效果數據表

預加熱溫度 (°C)		總產氣體積 (微升)	積分面積 (微伏特·分)	氫氣濃度 (%)	氫氣體積 (毫升)
柿子皮	汙泥				
60	60	305.60	15925375	27.96	85.44
80	60	354.25	16372565	28.74	101.81
100	60	323.35	16083862	28.23	91.30
120	60	261.30	14879295	26.12	68.26
60	80	401.10	16077812	28.22	113.21
80	80	449.00	16717910	29.35	131.76
100	80	420.00	16102040	28.27	118.72
120	80	401.80	16901798	29.67	119.21
60	100	357.30	16254415	28.53	101.95
80	100	502.90	16630979	29.19	146.81
100	100	460.85	16482671	28.93	133.34
120	100	360.55	17356367	30.46	109.84
60	120	491.55	16832363	29.55	145.23
80	120	597.75	17008245	29.85	178.45
100	120	395.20	17490017	30.70	121.32
120	120	341.55	17237148	30.26	103.34

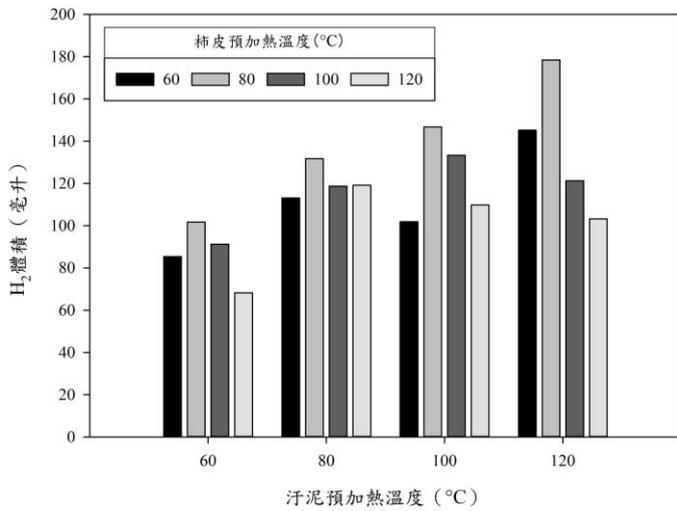


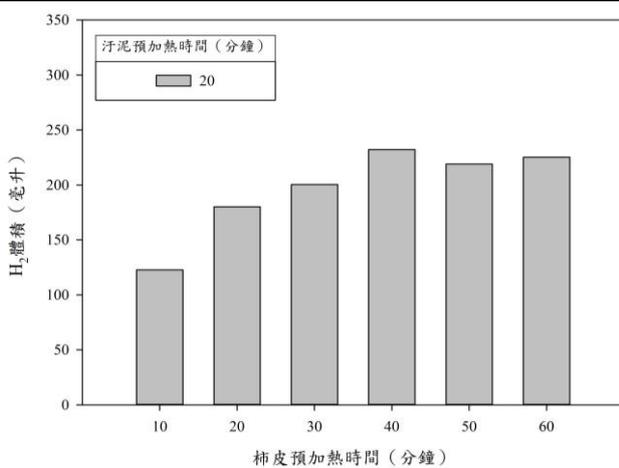
圖 4-5 預加熱溫度對產氫效果關係圖

柿子皮、汙泥加熱預處理的加熱溫度 60°C、80°C、100°C、120°C 進行排列組合，柿子皮加熱溫度為 80°C 時產氫效能最佳，為 120°C 時產氫效能最差，不同汙泥加熱溫度下皆呈現類似的變化趨勢。加熱汙泥溫度 120°C 時產氫效果最佳，其次依序為 100°C、80°C、60°C 時，溫度高時測得的氫氣濃度也有微幅上升的趨勢但變化幅度不明顯。雖然本次實驗中整體產氫結果較不理想，柿皮 80°C、汙泥 120°C 的組合仍為最佳，產生近 180 毫升的氫氣。

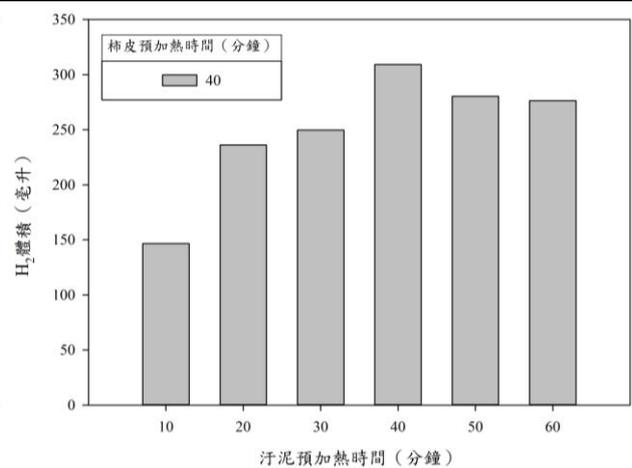
六、預加熱時間對產氫效果的影響

表 4-6 預加熱時間之產氫效果數據表

預加熱時間 (分)		總產氣體積 (毫升)	積分面積 (微伏特·分)	氫氣濃度 (%)	氫氣體積 (毫升)
柿子皮	汙泥				
10	20	401.25	17425067	30.58	122.72
20	20	590.60	17389575	30.52	180.27
30	20	673.30	16952840	29.76	200.36
40	20	760.45	17406986	30.55	232.34
50	20	775.90	16083862	28.23	219.07
60	20	782.65	16396226	28.78	225.26
40	10	503.75	16578585	29.10	146.60
40	20	785.10	17139233	30.08	236.19
40	30	884.80	16073095	28.22	249.66
40	40	984.60	17890451	31.40	309.16
40	50	1035.45	15420103	27.07	280.32
40	60	1053.25	14945129	26.24	276.37



a. 柿子皮預加熱時間



b. 汙泥預加熱時間

圖 4-6 預加熱時間對產氫效果關係圖

柿皮的加熱預處理加熱時間實驗中，加熱 10、20、30 分鐘時氫氣產量陸續增加，增加至 40 分鐘時達到最大值，50、60 分鐘的產氫量未超過 40 分鐘。在柿皮加熱 40 分鐘的情況

下，改變汙泥的加熱時間也呈現類似的趨勢，且加熱 40 分鐘時有最大產氫量，超過 300 毫升。因此，加熱預處理實驗的結論是柿皮加熱 80°C、40 分鐘，汙泥加熱 120°C、40 分鐘。

七、培養基成分對產氫效果的影響（第一階段）

表 4-7 培養基成分之產氫效果數據表（第一階段）

化合物	放大倍率	總產氣體積 (微升)	積分面積 (微伏特·分)	氫氣濃度 (%)	氫氣體積 (毫升)
K ₂ HPO ₄	0.125	974.50	5569280	9.81	95.63
	0.25	1146.30	8512279	14.97	171.60
	0.5	1008.20	9259496	16.28	164.12
	1	1214.10	11322376	19.89	241.52
	2	1052.90	11557832	20.31	213.80
	4	902.80	11210809	19.70	177.83
	8	637.20	13386974	23.51	149.81
	CaCl ₂	0.125	793.60	8562463	15.06
0.25		949.30	9346308	16.43	155.98
0.5		932.10	10922096	19.19	178.88
1		1173.10	12380625	21.75	255.11
2		1289.30	11448907	20.11	259.34
4		993.20	13699362	24.06	238.94
8		898.40	9067558	15.94	143.23
MgCl ₂		0.125	576.10	13069460	22.95
	0.25	943.70	11420429	20.06	189.35
	0.5	1036.40	11281339	19.82	205.42
	1	1331.50	11768759	20.67	275.29
	2	1208.50	12643209	22.21	268.37
	4	1101.40	10328075	18.15	199.91
	8	909.30	8655410	15.22	138.40
	CuSO ₄	0.125	1023.30	6697096	11.79
0.25		807.70	13814325	24.26	195.94
0.5		1099.00	11598441	20.38	223.94
1		1101.70	11975743	21.04	231.77
2		1151.40	13711499	24.08	277.24
4		1122.50	11462517	20.14	226.05
8		569.20	13716853	24.09	137.11
MnSO ₄		0.125	426.90	12604478	22.14
	0.25	818.20	12550052	22.04	180.36
	0.5	1042.65	12487965	21.93	228.70
	1	1336.60	11268751	19.80	264.63
	2	1051.50	13068303	22.95	241.34
	4	527.80	13038960	22.90	120.87
	8	781.40	9772181	17.18	134.22
	FeSO ₄	0.125	539.50	13935922	24.47
0.25		827.10	12896088	22.65	187.34
0.5		1182.70	12462451	21.89	237.01
1		1374.60	10741481	18.88	259.46
2		1511.90	10640764	18.70	282.70
4		1411.40	6840307	12.04	169.94
8		1206.50	5511265	9.71	117.18
綜合條件			986.50	17847277	31.32

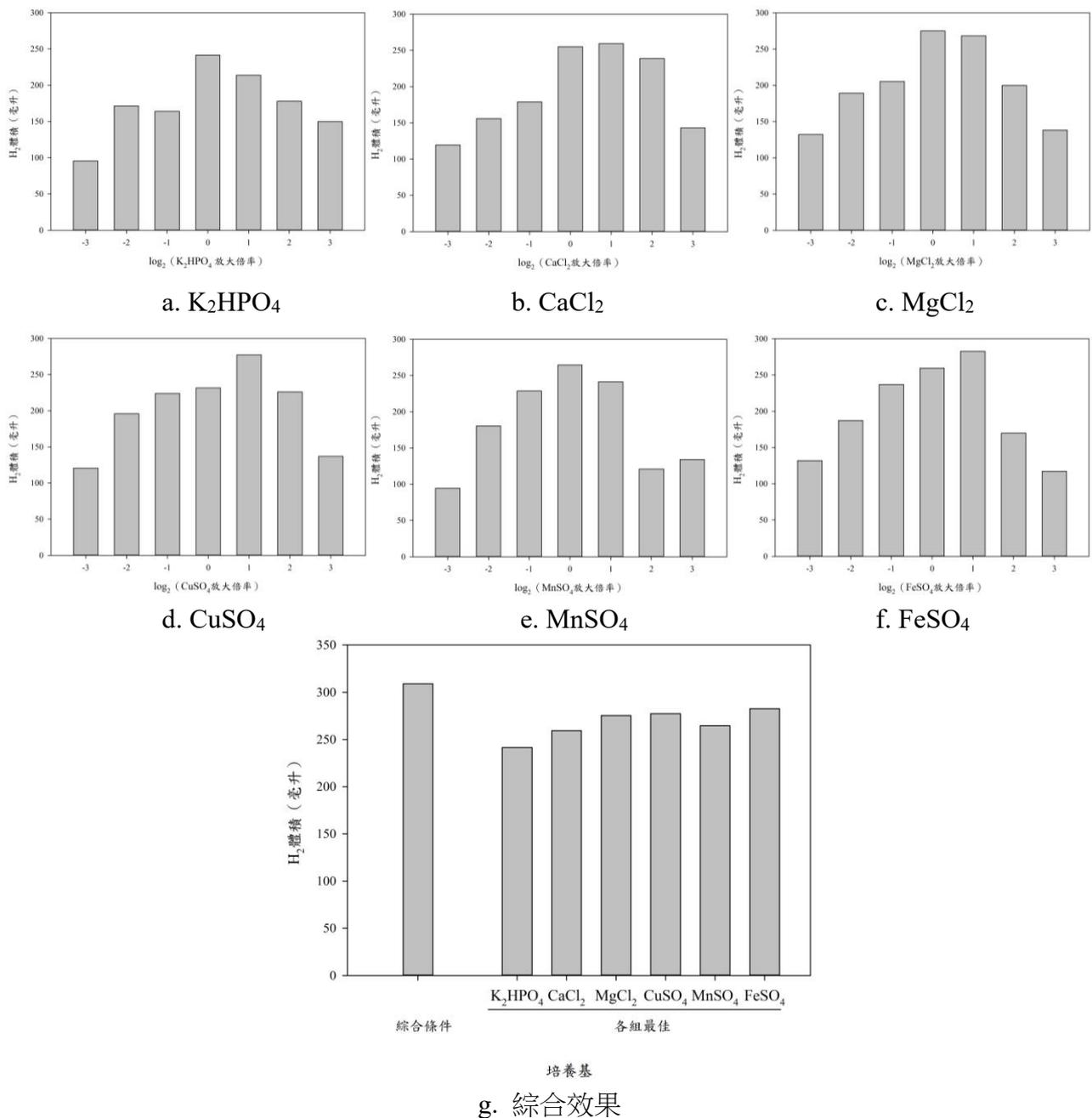


圖 4-7 培養基成分對產氫效果關係圖（第一階段）／圖 g 列出圖 a~f 各組中發生最佳產氫效果時之體積，並綜合其最佳條件再改變培養基配方。

測試中可發現所有成分皆在放大倍率 1 或 2 倍時達最佳產氫效果，且數據呈山峰狀，但此範圍過於粗略，誤判可能性高，峰值可能位在該最高點之左側或右側。因此，若一成分在放大倍率為 1 時有最佳產氫量，第二階段調整為 0.5、0.75、1、1.25、1.5、1.75 和 2 倍進行測試；若在放大倍率為 2 時達到最大產氫量，則調整為 1、1.25、1.5、1.75、2、2.25、2.5、2.75、3、3.25、3.5、3.75 和 4 倍的量進行測試。

八、培養基成分對產氫效果的影響（第二階段）

表 4-8 培養基成分之產氫效果數據表（第二階段）

化合物	放大倍率	氫氣體積 (毫升)	化合物	放大倍率	氫氣體積 (毫升)
K ₂ HPO ₄	0.5	190.97	CuSO ₄	2	269.31
	0.75	220.55		2.25	243.19
	1	276.04		2.5	236.48
	1.25	263.34		2.75	210.33
	1.5	245.18		3	226.99
	1.75	239.13		3.25	184.61
	2	224.89		3.5	212.26
	2.25	224.89		3.75	209.20
CaCl ₂	1	263.70	MnSO ₄	4	219.25
	1.25	277.40		0.5	219.99
	1.5	292.05		0.75	227.41
	1.75	231.43		1	265.88
	2	254.17		1.25	307.47
	2.25	244.90		1.5	273.36
	2.5	258.45		1.75	266.32
	2.75	235.75		2	240.84
MgCl ₂	3	238.50	FeSO ₄	1	263.74
	3.25	222.34		1.25	274.51
	3.5	227.58		1.5	285.61
	3.75	240.61		1.75	296.79
	4	232.17		2	283.74
	0.5	205.44		2.25	244.89
	0.75	220.91		2.5	268.70
	1	254.34		2.75	244.89
CuSO ₄	1.25	260.13	3	206.90	
	1.5	305.86	3.25	219.82	
	1.75	285.81	3.5	198.12	
	2	244.77	3.75	172.39	
	2.25	244.89	4	161.95	
	2.5	305.86	綜合條件	338.65	
	2.75	285.81			
	3	206.90			

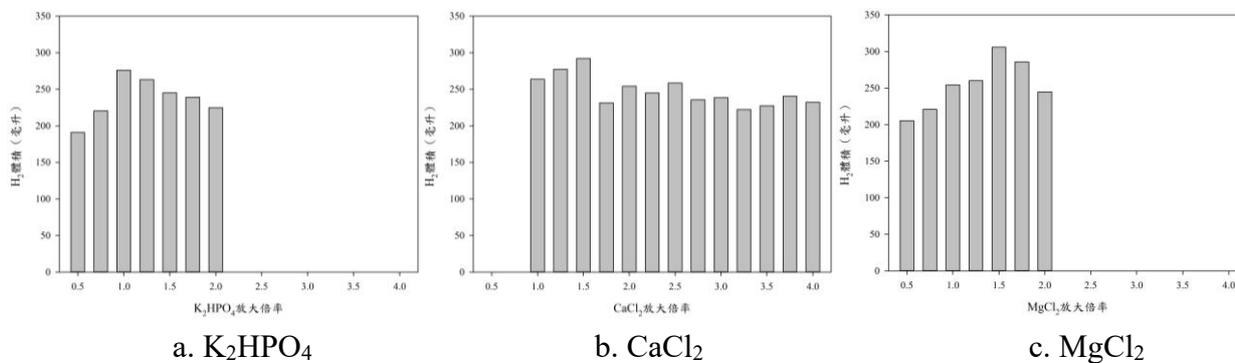


圖 4-8 培養基成分對產氫效果關係圖（第二階段）（接下頁）

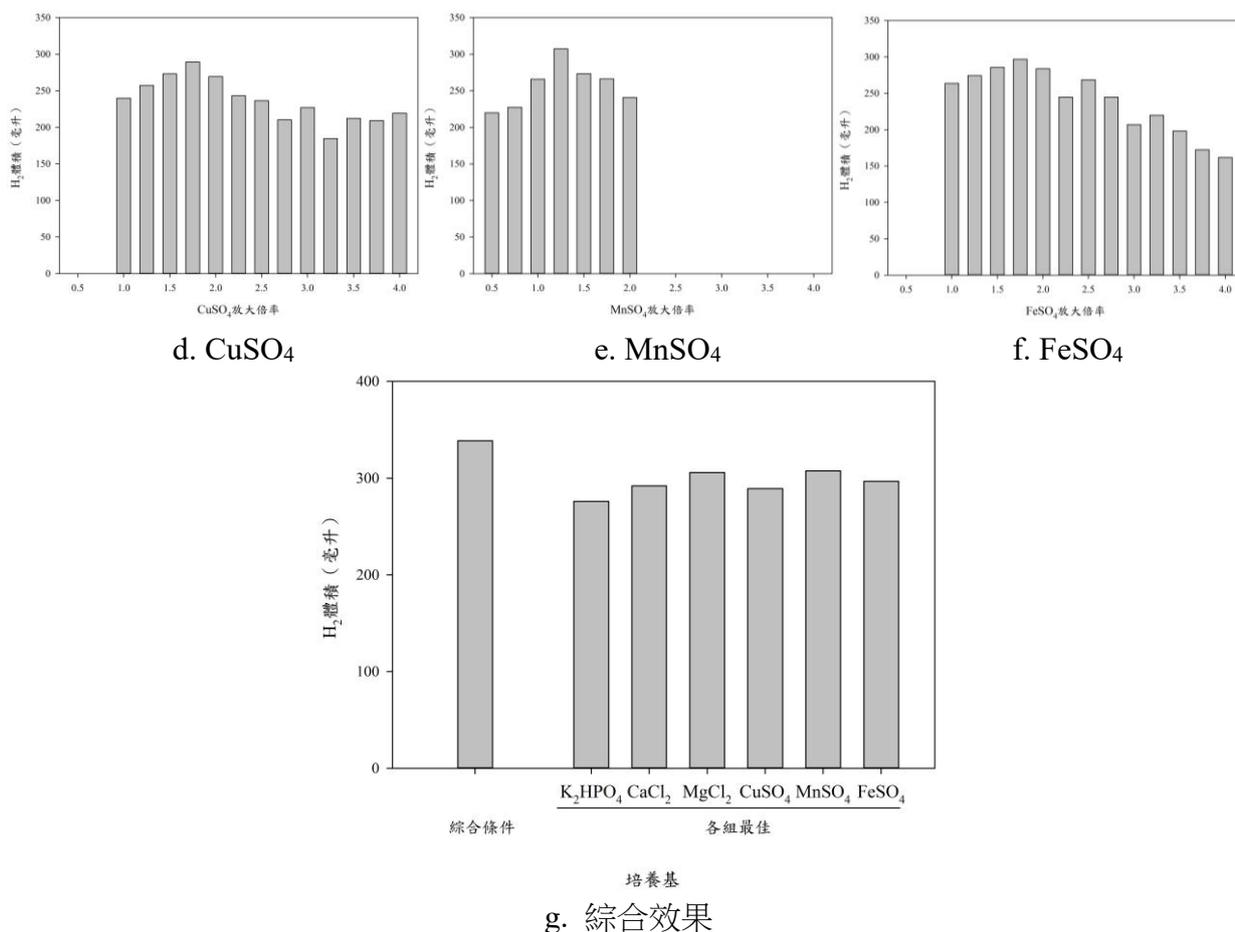


圖 4-8 (續) 培養基成分對產氫效果關係圖 (第二階段) / 圖 g 列出圖 a~f 各組中發生最佳產氫效果時之體積，並綜合其最佳條件再改變培養基配方。

測試中 6 個成分最佳產氫效果倍率各異，分別為：1 倍的 K₂HPO₄、1.5 倍的 CaCl₂ · 2H₂O、1.5 倍的 MgCl₂、1.75 倍的 CuSO₄ · 5H₂O、1.25 倍的 MnSO₄ · H₂O 和 1.75 倍的 FeSO₄ · 7H₂O。至此，已得出最佳的培養基成分配方，往後之實驗將以此配方進行實驗。

九、反應環境酸鹼性對產氫效果的影響

表 4-9 反應環境酸鹼性之產氫效果數據表

pH	總產氣體積 (毫升)	積分面積 (微伏特·分)	氫氣濃度 (%)	氫氣體積 (毫升)	最終 pH
0.00	0.00	-	-	0.00	<0.00
1.00	0.00	-	-	0.00	0.12
2.00	0.00	-	-	0.00	0.65
3.00	0.00	-	-	0.00	1.91
4.00	0.00	-	-	0.00	3.10
5.00	0.00	-	-	0.00	3.34
6.00	0.00	-	-	0.00	3.80
7.00	910.80	14247930	25.02	227.87	4.83
8.00	1331.50	15072801	26.46	352.36	5.87
9.00	1154.00	9917176	17.43	201.15	6.32
10.00	790.50	9755961	17.15	135.56	6.53
11.00	0.00	-	-	0.00	9.30
12.00	0.00	-	-	0.00	11.19
13.00	0.00	-	-	0.00	12.16
14.00	0.00	-	-	0.00	13.35

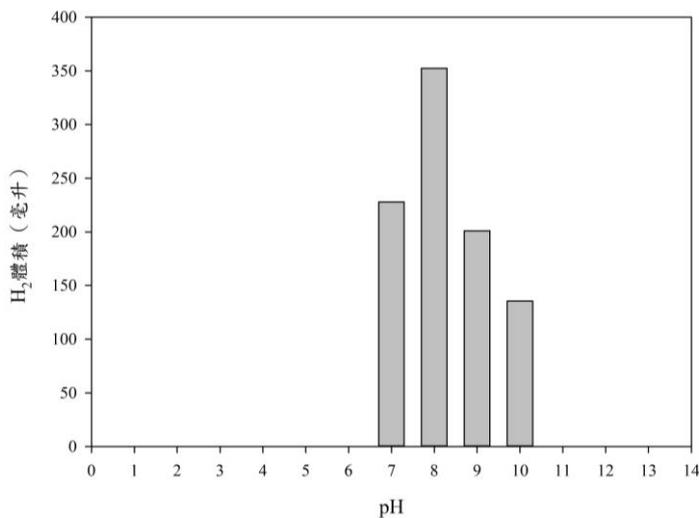


圖 4-9 反應環境酸鹼性對產氫效果關係圖

產氫僅發生在 pH 值 7.0 至 10.0 時，強酸或強鹼環境中無法產生任何氫氣。環境原始 pH 值為 8.0 時氫氣產量達到最大值，其次依序為 7.0、9.0、10.0。此外，在較鹼性的環境中 (pH=9.0、pH=10.0)，氫氣濃度明顯較低，下降約 10%。

十、發酵反應溫度對產氫效果的影響

表 4-10 發酵反應溫度之產氫效果數據表

發酵反應溫度 (°C)	總產氣體積 (毫升)	積分面積 (微伏特·分)	氫氣濃度 (%)	氫氣體積 (毫升)
15	0.00	-	-	0.00
20	815.30	16341928	28.69	233.88
25	1285.20	14256681	25.03	321.73
30	1611.70	13005036	22.84	368.13
35	1740.00	13835546	24.30	422.75
40	1340.90	12897828	22.65	303.75
45	1138.30	14175367	24.89	283.34
50	1030.80	15338318	26.93	277.58
55	990.00	13875169	24.37	241.22
60	370.40	16554079	29.06	107.63
65	0.00	-	-	0.00

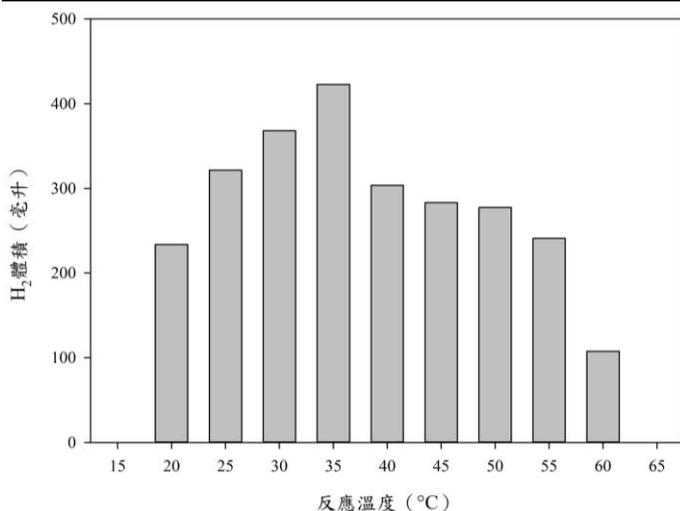


圖 4-10 發酵反應溫度對產氫效果關係圖

反應環境溫度對產氫體積有非常顯著的影響：溫度 15°C (與 1 月均溫相近) 時沒有任何氫氣產生；環境溫度為 25°C (與 7 月室內均溫相近) 時，產氫量約為 320 毫升；加熱溫度為 35°C 時，產氫量高達近 423 毫升；溫度持續上升時產氫量逐漸遞減，加熱溫度 55°C 時，則只有約 240 毫升，及 65°C 時則沒有任何氫氣產生。由氣相層析分析結果，各組間氫氣濃度並無顯著差異，主要差異是總產氣量。

十一、累積產氫量對發酵時間曲線

表 4-11 累積產氫量對發酵時間曲線數據表

發酵時間 (小時)	平均累積氫氣體積 (毫升)	標準差 (毫升)
1	0.00	0.00
2	0.00	0.00
3	0.00	0.00
4	0.00	0.00
5	0.00	0.00
6	0.00	0.00
7	0.44	0.09
8	18.87	3.00
9	45.28	3.24
10	70.90	4.08
11	93.81	4.50
12	113.61	5.59
13	129.66	6.26
14	147.85	4.32
15	155.98	5.72
16	161.98	6.36
17	165.55	6.68
18	166.64	5.29
19	166.64	5.29
20	166.64	5.29
21	166.64	5.29

* N = 3

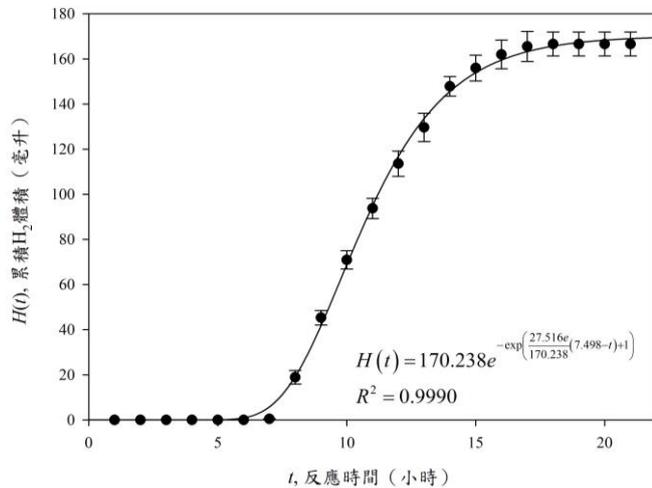


圖 4-11 累積產氫量對發酵時間曲線關係圖

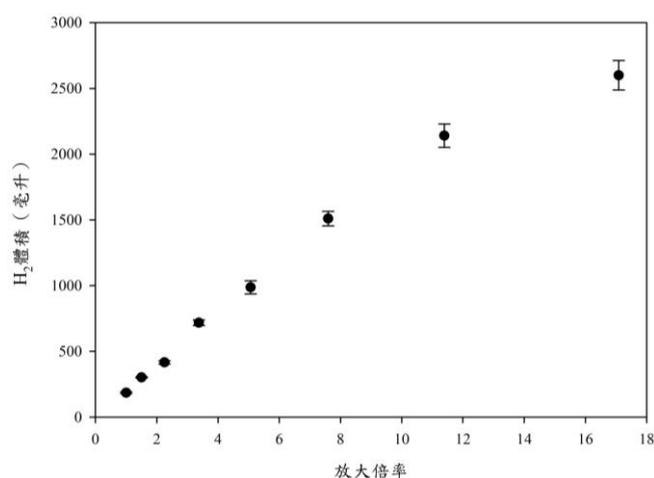
將各小時平均累積氫氣體積對時間作圖可得到一 S 型函數 (sigmoid function)，再以修正岡珀茨方程式擬合各係數可得圖 4-11 中方程式，且 R^2 達 0.9990，呈高度相關，與文獻探討中所選用氣體產生的模型相符合。由方程式可得 7 公克柿皮之產氫能力約為 170 毫升，滯後期約為 7 小時 30 分鐘，最大產氫速率約為 27.5 毫升/小時，發生在發酵進行的第 8 到 10 小時。實驗在 17、18 小時後已逐漸收集不到氣體，觀察此情形持續數小時後便停止實驗。

十二、探討本發酵產氫法大規模應用可能性與效益

表 4-12 等比例放大原料之產氫效果數據表

原料放大倍數	平均累積氫氣體積 (毫升)	標準差 (毫升)
1	185.34	7.02
1.5	302.23	5.67
1.5 ²	415.95	12.28
1.5 ³	717.79	20.96
1.5 ⁴	986.53	50.58
1.5 ⁵	1510.00	55.19
1.5 ⁶	2141.18	88.91
1.5 ⁷	2600.21	112.29

* $N = 3$



使用 7 公克柿皮、14 公克汙泥，即放大倍率為 1 時，平均約產生 185.34 毫升的氫氣；而當原料等比例放大 1.5 倍時，則平均約產生 302.23 毫升氫氣（約為 1 倍原料時可生成氫氣的 1.63 倍）。從上圖可知等比例放大之發酵規模倍率與產氫能力成正相關，關於此實驗的規模及數據與無法準確迴歸分析的原因將在討論中有詳盡的說明。

圖 4-12 等比例放大原料對產氫效果關係圖／為加強顯示此二連續量之相對關係，本圖以散佈圖呈現。

伍、討論

一、柿子皮、汙泥與培養基存否對產氫效果的影響

在使用柿子皮、汙泥與培養基進行氫氣發酵前，必須先確定三者皆有添加之必要。由圖 4-2 可知，當只有單獨加入柿子皮或汙泥時，皆沒有氫氣產生；而將柿子皮與汙泥同時混合時則會產生氫氣，顯示柿子皮和汙泥須同時存在，方可發酵產氫。同時，加入培養基相對於加入水的實驗組，氫氣產量及濃度皆顯著提升。此實驗證明柿子皮與汙泥對於發酵產氫缺一不可，且培養基的存在有助於產氫反應。據此，往後進行發酵產氫實驗時，都將同時加入上述三個原料進行反應。關於汙泥中細菌的簡單觀察，詳見附錄一。

二、柿子皮品種與柿子皮／汙泥比例對產氫效果的影響

根據表 4-3 中的結果，石柿產生的氫氣最多，四周柿次之，而牛心柿則最少，這與不同柿子皮的含糖量多寡有關，詳見附錄二。表中亦呈現氣相層析分析結果，由於發酵狀態相當類似，各組之間的氫氣濃度並無顯著的差異。此外，3 個品種的柿子皮在與汙泥以不同比例

混合時，呈現幾乎相同的趨勢。根據圖 4-3，柿子皮與汙泥的比例為 1：2 時產氫體積皆最高，並以 1：2 為中心向兩側遞減。在產氫結束後檢查所有反應瓶，發現當比例為 1：2 和 1：2.5 時，反應瓶中成分反應完全，沒有完整的柿子皮殘留，僅存小顆粒或懸浮物；其他比例的反应瓶則仍明顯有柿子皮未完全被分解或反應，推測是在總反應物皆等重下，添加的柿子皮相對於汙泥太多，無法完全反應導致產氣效果不佳。比例為 1：2.5 時，則因汙泥相對於柿子皮過多，雖然得以完全反應，但在總重相同下提供的醱類發酵原料不足，因此產氫體積也不如比例為 1：2 時。綜上所述，石柿的果皮、1：2 的比例為最佳。

三、預加熱柿子皮及汙泥對產氫效果的影響

在第四個實驗中，研究了預加熱柿子皮和汙泥對發酵的影響。如文獻回顧所述，已有研究證明預加熱廚餘和汙泥可有效提高氫氣產量。為了解同樣的預處理對柿皮發酵產氫過程是否有效，本文分析了加熱柿子皮、加熱汙泥及同時加熱柿子皮與汙泥對產氫量的影響。根據表 4-4，預加熱柿子皮和汙泥皆能提升氫氣產量，且可以發現當對柿子皮和汙泥都進行預加熱處理時，氫氣產量會達到最大值、產氫效果最佳。

其中，預加熱柿子皮可提升氣體產量；而預加熱汙泥不但可提升總產氣量，還能提升氫氣濃度。參閱相關文獻與實驗結果對照，預加熱柿子皮可減少果皮的水分含量，從而提升醱類濃度；此外，還能抑制乳酸發酵反應，使更多的醱類參與氫氣發酵、提高氫氣產量。預加熱汙泥則可抑制非產氫細菌的活性，避免產氫過程受到阻礙以提升產生氣體中的氫氣濃度。總而言之，同時預加熱柿子皮和汙泥時，可顯著提升氫氣的產量與濃度。

四、預加熱溫度對產氫效果的影響

文獻提及實驗前的預加熱對產氫量有正面效果 (Jarunglumert *et al.*, 2018)，因此探討預加熱溫度及時間的影響。從圖 4-5 可發現在相同汙泥預加熱溫度下，柿子皮預加熱溫度皆在 80°C 時有最大產氫量；並且在固定柿子皮預加熱溫度下，汙泥預加熱溫度與產氫量呈正相關。汙泥加熱 140°C 無文獻佐證，且嘗試過程中發現高度噴濺危險性，因此未納入實驗。是故，以 80°C 預加熱柿子皮並且以 120°C 預加熱汙泥是為最佳之預處理條件。

五、預加熱時間對產氫效果的影響

影響待加熱物所獲得能量因素除了加熱溫度尚有加熱時間。過去文獻 (Kim *et al.*, 2009; Elbeshbis *et al.*, 2011; Cheng *et al.*, 2015; Ding *et al.*, 2017) 多將預加熱時間訂為 20 分鐘，故本實驗以先固定汙泥預加熱時間為 20 分鐘，調整柿子皮預加熱時間，再固定最佳的柿子皮預加熱時間，調整汙泥預加熱時間。實驗發現，無論柿子皮或汙泥，產氫量皆在預加熱時間

為 40 分鐘時達到最高；超過 40 分鐘後產氫量便會略微下降。考慮到加熱目的僅為去除較不耐熱的耗氫菌 (Kim *et al.*, 2009)，而加熱過久會使得產氫菌活性亦遭受影響，使產氫量略微下降，且浪費能源。因此日後將固定預加熱柿子皮及汙泥時間為 40 分鐘。

由於本實驗分為 2 個階段進行 (固定柿皮預加熱時間、固定汙泥預加熱時間)，使用了不同批的汙泥，因而產生兩組預加熱柿子皮 40 分鐘且預加熱汙泥 20 分鐘之實驗。經過測量最終產氫量卻幾乎相同。因此可以推論本實驗中，雖使用不同批次汙泥，但其實驗數據仍具有一定的穩定性，其影響不至於使不同批次實驗間缺乏對照可信度。

六、培養基成分對產氫效果的影響

培養基的成分濃度須十分講究，太高會使細菌脫水死亡並抑制發酵 (見文獻回顧)，而太低則無法提供細菌足夠養分生長，兩者都將導致細菌的生長過程受阻。是故，將進行兩階段測試，先以 2^n ($-3 \leq n \leq 3$, $n \in \mathbb{Z}$) 為倍數放大濃度測試，找出大範圍的最佳產氫濃度區間後，再將濃度區間分出更細的濃度範圍，精準找出最佳產氫濃度。各階段實驗結束後，分別進行實驗比較新培養基配方是否較各藥品之原配方有更佳效果，如圖 4-7-g 及圖 4-8-g。

觀察表 4-7 的數據，可以發現 6 種培養基成分皆在濃度倍數為 1 或 2 時達到最佳產氫量，因此在第二階段的實驗中，便將倍數根據第一階段的結果進行更詳細的測試。值得注意的是，當成分濃度愈高或愈低時，由於細菌的生長受阻，因此產氫量皆降低。

第二階段的實驗中，各培養基成分的最佳產氫濃度倍數便不盡相同。 K_2HPO_4 在 1 倍量時達最佳產氫量，而 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 和 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 則是在 1.75 倍量時才達最佳產氫量。推測乃細菌對於各種成分的含量要求不一所致。透過兩階段的試驗，得出最佳產氫配方如下：

表 5-1 改良之培養基成分表

成分	濃度 (公克/公升)
NH_4HCO_3	7.86
$NaHCO_3$	6.0
K_2HPO_4	0.125
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0.15
$MgCl_2$	0.0705
$MnSO_4 \cdot H_2O$	0.0125
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0.04375
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.00875
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0.000125

七、反應環境酸鹼性對產氫效果的影響

在進行實驗前，細菌培養基本身的酸鹼度已使用 pH 計進行量測，約為 8.34。將細菌培

養基倒入已有柿子皮及汙泥的反應瓶並攪拌均勻後，量測得 pH 值約 7.56。由此可知細菌培養基在倒入反應瓶後，pH 值將降低。根據表 4-9，在強酸或強鹼環境中，除無產氫外，反應瓶內之柿皮仍非常完整，無發生反應；原始 pH 值在 7.0~10.0 時，即可產生氫氣。反應結束後測量反應瓶內之 pH 值，皆明顯降低，且產氣較多的組別之最終 pH 值皆在 5.0、6.0 左右，與文獻回顧內容可相呼應。其中，產氫效能最佳的是原始 pH 值為 8.0 的組別，產生約 350 毫升的氫氣，其 pH 值變化後為 5.87，落在 5.0 至 6.0 間，且若將原始 pH 值調整為 7.0 以下或 9.0 以上，變化後 pH 值便不在 5.0~6.0 的範圍，將無法提供本研究中產氫細菌理想環境。此外，原先細菌培養基的設計，應已將提供較佳酸鹼度的環境納入考量，卻因加入反應瓶與原料混合而有無法避免的變化，調整 pH 值為 8.0 會使得反應環境較接近原先預期之酸鹼度。過去許多研究的發酵原料、處理方式不同，因此結果具有差異，透過此實驗得知柿子皮與汙泥發酵產氫時，將原始 pH 值調整至 8.0 最佳。

八、發酵反應溫度對產氫效果的影響

在正式實驗開始前的測試中，當環境溫度有較大起伏時，產氣結果受明顯影響，故決定以恆溫水槽控溫，以研究環境溫度的影響。根據中央氣象局氣候統計資料，臺灣北部地區冬季平均溫度約為 15°C~18°C，夏季平均溫度則在 25°C~29°C，故環境溫度 15°C、25°C 將納入實驗中作為參考。表 4-11 顯示 15°C 時無氣體產生；35°C 時氫氣產量顯著增加，達到約 400 毫升的最大值；當溫度上升到 65°C 時，亦無氣體產生。不同發酵基質之最佳產氣環境溫度不同。當發酵原料為醴分較高的物質，適合產氫的溫度便屬中溫而非高溫 (Fang *et al.*, 2006)。由實驗結果發現柿皮發酵產氫時，環境溫度 35°C 產氫效果明顯優於偏向高溫的 45°C 以上之溫度。綜上所述，反應溫度對產氫量影響甚大，若此產氫概念能被大規模運用，如何以最經濟、環保的方式維持反應溫度是十分重要的課題。

九、累積產氫量對發酵時間曲線

由表 4-11 可知，發酵進行的第 8 到第 10 個小時時產氫速率達到最大，產氣則在 17、18 小時後結束。氫氣濃度在產氣時段中最早和最晚幾小時內較低。前者是因為氫氣產生時，須先將導管及反應瓶內少量的空氣推入集氣瓶，才能將氫氣送入集氣瓶，使氫氣濃度相對下降；後者則因發酵生成之二氧化碳等氣體擴散速率較慢，發酵末端才逐漸轉移至集氣瓶內，隨著氫氣排出，發酵末端之氫氣濃度便隨之降低。根據圖 4-11，7 公克柿子皮之產氫能力約為 170 毫升，然實際實驗平均僅產出 166 到 167 毫升氫氣，此微小差距源於發酵末端時，產氣速度逐漸變緩，反應瓶內蓄壓逐漸變小，使氫氣無法送入集氣瓶中。實驗滯後期約為 7.50

小時，與文獻記錄的滯後期相近甚至更短。可較快速地產生氫氣，應用於大規模發酵可能將是一大優勢。每公克柿子皮可產生 24.32 毫升氫氣，考慮到柿子皮產季中的大量待丟棄的柿子皮，經簡易估算後，推測每年約有 1000 公噸柿子皮，因此只要將發酵規模略為提升，此發酵方法即為量產氫氣的好方法。

十、探討本發酵產氫法大規模應用可能性與效益

由圖 4-12，放大倍率與產氫量呈正相關。當原料總重量和放大至約 300 公克時，產氫效果仍維持在相近水平，說明在一定規模下利用廢棄柿子皮發酵量產氫氣的方法可行。然而實驗室中不可能達到先導性規模 (pilot scale) 或實際大規模量產，因此無法僅透過實驗確認更大量發酵時之效率以及放大倍率與產氫量是否可能變化為指數或對數關係，造成無法透過線性迴歸準確預測。未來若能將發酵規模提升，應用此法於工業製氫流程中，不但成本較低，更能將廢棄資源轉成乾淨且高密度的氫能源，達到綠色環保同時，亦提供可觀的能源資源。

若要評估此產氫方法的可行性，成本效益也是必須要考量的。預加熱、維持環境溫度都需要能源，原料取得成本、人力成本、運輸成本很難有客觀的估計，因此先暫不計入，以用電成本為主要估計對象。針對在學校實驗室中進行的實驗進行計算，過程如下（工業化產氫裝置將會不同，因此數據不適用下方之計算，將於下段文字額外說明）：

- (一) 測量恆溫水槽維持 35 度、恆溫水槽維持 80 度、加熱板進行加熱的平均功率（單位：瓦特），並根據本研究中理想的柿皮和汙泥預加熱時間（ $\frac{2}{3}$ 小時）及發酵反應完畢所需時間（17 小時），計算過程中每個環節進行一次需要的能源多寡。

$$63 \times \left(\frac{2}{3} \times 3600\right) \div 3600000 = 0.042 \text{ (預加熱柿子皮耗損能量, 單位: 度)}$$

$$251 \times \left(\frac{2}{3} \times 3600\right) \div 3600000 = 0.167 \text{ (預加熱汙泥耗損能量, 單位: 度)}$$

$$42 \times (18 \times 3600) \div 3600000 = 0.756 \text{ (恆溫水槽耗損能量, 單位: 度)}$$

- (二) 本研究受限於排水集氣的空間有限，無法進行大量發酵，因此預加熱與控制發酵環境時只取適當的量。但為了最大化效益，故在此估算可處理的最大量能。為了方面後續計算，取最大量能的最小公倍數，代表總共進行發酵的原料量。

3000 公克柿子皮（預加熱柿子皮最大處理量）

1600 公克汙泥（預加熱汙泥最大處理量）

1700 公克柿子皮+ 3400 公克汙泥（恆溫水槽最大處理量）

$\text{lcm}(3000, 1600, 1700) = 408000$ 公克（柿子皮總處理量）

$408000 \times 2 = 816000$ 公克（汙泥總處理量）

(三) 總原料量除以各環節的最大處理量能，可得知各環節需要操作多少輪，即可算出總投入電量。每公克柿皮可產生約 24.32 毫升之氫氣，故可估算產生總氫氣量。

$$408000 \div 3000 = 136 \text{ (柿子皮預加熱輪數)}$$

$$816000 \div 1600 = 510 \text{ (汙泥預加熱輪數)}$$

$$(408000 + 816000) \div (1700 + 3400) = 240 \text{ (恆溫水槽處理輪數)}$$

$$0.042 \times 136 + 0.167 \times 510 + 0.756 \times 240 = 272.492 \text{ (總投入電量, 單位: 度)}$$

$$\frac{1700 \times 24.32}{1000} \times 240 = 9922.56 \text{ (總氫氣產量, 單位: 公升)}$$

(四) 本文以臺灣平均電價估計能源成本 (Taipower, 2023)。根據一篇以臺灣為背景的論文研究，生產每立方公尺氫氣的營業額為 2.7 美元 (Li *et al.*, 2012)，經匯率換算後 (Central Bank of the Republic of China, 2023)，以此作為比較的參考。

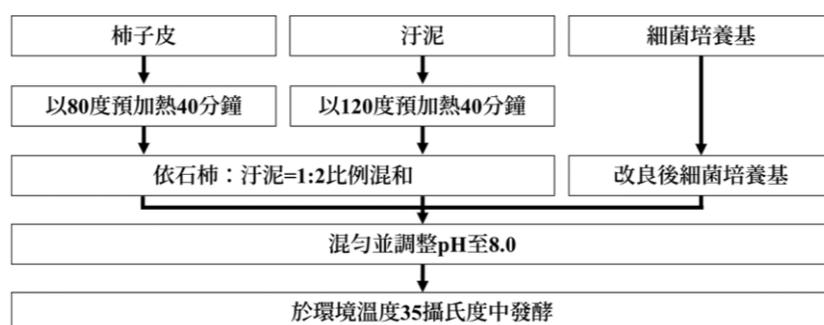
$$272.492 \div 9922.56 \times 2.8064 = 0.0770 \text{ (每公升的電力成本, 單位: 新臺幣/公升)}$$

$$2.7 \times 29.777 \div 1000 = 0.0804 \text{ (每公升的營業額, 單位: 新臺幣/公升)}$$

以上計算過程只適用在學校實驗室中進行，以實驗室小規模裝置發酵，產氫成本略低於論文中提及之綠氫售價，已具一定價值，問題在於仍高於綠氫平均製造成本，而工業化大規模發酵成本上一定更有效率，此問題很可能因此解決。但無論裝置條件為何計算流程完全相同，為擴大應用範圍已將過程寫成程式，讓使用者根據引導自訂各個變數的數值，可初步計算生產每公升氫氣的能源電費成本及其他相關結果 (程式碼請見附錄三)，快速模擬改變裝置後的情況。

陸、結論

一、本研究發現廢棄柿皮及汙泥混合可有效產生氫氣，並對此流程進行優化，得出最佳產氫條件：



(一) 石柿柿子皮發酵產氫效果最佳。 圖 6-1 最佳發酵產氫流程圖

(二) 石柿柿子皮、汙泥應以 1 : 2 比例混合。

(三) 同時對柿皮、汙泥行加熱預處理可提升產氣量、氫氣濃度。

(四) 加熱預處理：柿皮 80°C、40 分鐘，汙泥 120°C、40 分鐘。

(五) 使用改良版本的細菌培養基，內容物見表 5-1。

(六) 將反應環境酸鹼度調整為 pH=8.0，反應溫度控制在攝氏 35°C。

二、另外，根據修正岡珀茲方程式，本研究中發酵數據如下 ($R^2 = 0.9990$)：

(一) 每公克柿皮產氫能力為 24.32 毫升。

(二) 產氣滯後期為 7.50 小時。

三、若放大發酵規模，產氫量亦可等比例放大。本研究成功利用廢棄柿皮中醣類發酵產氫，大量發酵全臺可製造超過 2000 萬公升之氫氣，且根據本篇成本的探討推估應具有相當可行性。此概念亦可應用於其他數目可觀的廢棄果皮或廢棄物上，利用發酵法，有效量產氫氣。

柒、參考文獻資料

- 一、Arslan, C., Sattar, A., Changying, J., Nasir, A., Mari, I. A., Huimin, F., & Ping, H. Y. (2016). Comparing the Effect of Total Solids Concentration on Biohydrogen Production Potential of Food Waste and Its Derivatives Under Mesophilic Thermophilic Conditions. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 53(3), 687-694.
- 二、Baghchehsaraee, B., Nakhla, G., Karamanev, D., & Margaritis, A. (2010). Fermentative Hydrogen Production by Diverse Microflora. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35(10), 5021-5027.
- 三、Central Bank of the Republic of China (2023). *The Closing Exchange Rate of NTD to USD in Interbank Transactions*.
- 四、Cheng, J., Ding, L., Xia, A., Lin, R., Li, Y., Zhou, J., & Cen, K. (2015). Hydrogen Production Using Amino Acids Obtained by Protein Degradation in Waste Biomass by Combined Dark-And Photo-Fermentation. *Bioresource Technology*, 179, 13-19.
- 五、Das, D., & Veziroglu, T. N. (2001). Hydrogen Production by Biological Processes: A Survey of Literature. *International Journal of Hydrogen Energy*, 26(1), 13-28.
- 六、Ding, L., Cheng, J., Qiao, D., Yue, L., Li, Y. Y., Zhou, J., & Cen, K. (2017). Investigating Hydrothermal Pretreatment of Food Waste for Two-Stage Fermentative Hydrogen and Methane Co-Production. *Bioresource Technology*, 241, 491-499.
- 七、Elbeshbishy, E., Hafez, H., Dhar, B. R., & Nakhla, G. (2011). Single and Combined Effect of Various Pretreatment Methods for Biohydrogen Production From Food Waste. *International Journal of Hydrogen Energy*, 36(17), 11379-11387.
- 八、Endo, G., Noike, T., & Matsumoto, J. (1982). Characteristics of Cellulose and Glucose Decomposition in Acidogenic Phase of Anaerobic Digestion. *Proceedings of the Japan Society of Civil Engineers*, 1986(325), 61-68.
- 九、Fang, H. H., Li, C., & Zhang, T. (2006). Acidophilic Biohydrogen Production From Rice Slurry. *International Journal of Hydrogen Energy*, 31(6), 683-692.
- 十、Fermoso, F. G., Collins, G., Bartacek, J., O'Flaherty, V., & Lens, P. (2008). Acidification of Methanol-Fed Anaerobic Granular Sludge Bioreactors by Cobalt Deprivation: Induction and Microbial Community Dynamics. *Biotechnology and Bioengineering*, 99(1), 49-58.
- 十一、Hendriks, A. T. W. M., Van Lier, J. B., & De Kreuk, M. K. (2018). Growth Media in Anaerobic Fermentative Processes: The Underestimated Potential of Thermophilic Fermentation and Anaerobic Digestion. *Biotechnology Advances*, 36(1), 1-13.
- 十二、Jarunglumlert, T., Prommuak, C., Putmai, N., & Pavasant, P. (2018). Scaling-Up Bio-Hydrogen Production From Food Waste: Feasibilities and Challenges. *International Journal of Hydrogen Energy*, 43(2), 634-648.
- 十三、Kim, D. H., Kim, S. H., Jung, K. W., Kim, M. S., & Shin, H. S. (2011a). Effect of Initial pH Independent of Operational pH on Hydrogen Fermentation of Food Waste. *Bioresource Technology*, 102(18), 8646-8652.
- 十四、Kim, D. H., Kim, S. H., & Shin, H. S. (2009). Hydrogen Fermentation of Food Waste Without Inoculum Addition. *Enzyme and Microbial Technology*, 45(3), 181-187.
- 十五、Kim, D. H., Wu, J., Jeong, K. W., Kim, M. S., & Shin, H. S. (2011b). Natural Inducement of Hydrogen From Food Waste by Temperature Control. *International Journal of Hydrogen Energy*, 36(17), 10666-10673.
- 十六、Lay, J. J., Lee, Y. J., & Noike, T. (1999). Feasibility of Biological Hydrogen Production From Organic Fraction of Municipal Solid Waste. *Water Research*, 33(11), 2579-2586.
- 十七、Lay, J. J., Li, Y. Y., & Noike, T. (1996). Effect of Moisture Content and Chemical Nature on Methane Fermentation Characteristics of Municipal Solid Wastes. *Journal of Environmental System and Engineering*, 1996(552), 101-108.
- 十八、Li, Y. C., Liu, Y. F., Chu, C. Y., Chang, P. L., Hsu, C. W., Lin, P. J., & Wu, S. Y. (2012). Techno-Economic Evaluation of Biohydrogen Production From Wastewater and Agricultural Waste. *International Journal of Hydrogen Energy*, 37(20), 15704-15710.

- 十九、Liu, G., & Shen, J. (2004). Effects of Culture and Medium Conditions on Hydrogen Production From Starch Using Anaerobic Bacteria. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 98(4), 251-256.
- 二十、Nandan, R., Tondwalkar, V., & Ray, P. K. (1990). Biomethanation of Spent Wash: Heavy Metal Inhibition of Methanogenesis in Synthetic Medium. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 69(5), 276-281.
- 二十一、Nazlina, H. M. Y., Aini, A. N., Ismail, F., Yusof, M. Z. M., & Hassan, M. A. (2009). Biohydrogen Production From Food Waste in Batch Fermentation. *Asian Journal of Biotechnology*, 1(2), 42-50.
- 二十二、Novillo, P., Besada, C., Tian, L., Bermejo, A., & Salvador, A. (2015). Nutritional Composition of Ten Persimmon Cultivars in the “Ready-To-Eat Crisp” Stage. Effect of Destringency Treatment. *Food and Nutrition Sciences*, 6(14), 1296-1306.
- 二十三、Pobeheim, H., Munk, B., Johansson, J., & Guebitz, G. M. (2010). Influence of Trace Elements on Methane Formation From a Synthetic Model Substrate for Maize Silage. *Bioresource Technology*, 101(2), 836-839.
- 二十四、Sunyoto, N. M., Zhu, M., Zhang, Z., & Zhang, D. (2016). Effect of Biochar Addition on Hydrogen and Methane Production in Two-Phase Anaerobic Digestion of Aqueous Carbohydrates Food Waste. *Bioresource Technology*, 219, 29-36.
- 二十五、Taipower (2023). *Recent Rate Schedules Adjustments*.
- 二十六、Viel, M., Collet, F., & Lanos, C. (2018). Chemical and Multi-Physical Characterization of Agro-Resources' By-Product as A Possible Raw Building Material. *Industrial Crops and Products*, 120, 214-237.
- 二十七、Wang, X., Hoefel, D., Saint, C. P., Monis, P. T., & Jin, B. (2007). The Isolation and Microbial Community Analysis of Hydrogen Producing Bacteria From Activated Sludge. *Journal of Applied Microbiology*, 103(5), 1415-1423.
- 二十八、Yasin, N. H. M., Man, H. C., Yusoff, M. Z. M., & Hassan, M. A. (2011). Microbial Characterization of Hydrogen-Producing Bacteria in Fermented Food Waste at Different pH Values. *International Journal of Hydrogen Energy*, 36(16), 9571-9580.
- 二十九、Zwietering, M. H., Jongenburger, I., Rombouts, F. M., & Van't Riet, K. J. A. E. M. (1990). Modeling of the Bacterial Growth Curve. *Applied and Environmental Microbiology*, 56(6), 1875-1881.

捌、附錄

一、汙泥懸浮液鏡檢

為確定汙泥中是否確實含有細菌，在預實驗中取發酵後汙泥懸浮液，以革蘭氏染色法染色，以顯微鏡觀察後如圖 8-2，發現極大量具桿菌外觀，與產氫發酵常見的梭菌屬 (*Clostridium sp.*) 長度及外觀特徵相符之細菌。(Wang *et al.*, 2007) 至於是否為梭菌，需進行進一步檢驗方可得知。此結果係提供進一步線索，確認此發酵產氫原理合理性及可行性。

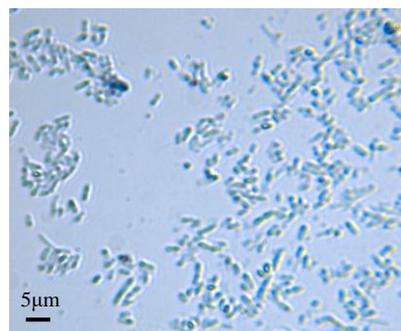


圖 8-1 汙泥懸浮液中細菌

二、酚—硫酸法

酚—硫酸法是一種食品科學上常用於檢測樣品總醣量的定量分析法。此法係利用硫酸將多醣水解為單醣，並形成 5-甲基糠醛，再與苯酚反應形成於波長為 490 奈米時有最大吸收波長的橘黃色物質 2-呋喃基(4-羥基苯基)酮。(Viel *et al.*, 2018) 本實驗藉測量溶液吸光度，並利用比爾—朗伯定律，實現柿皮總醣量之測量。

(一) 繪製檢量線

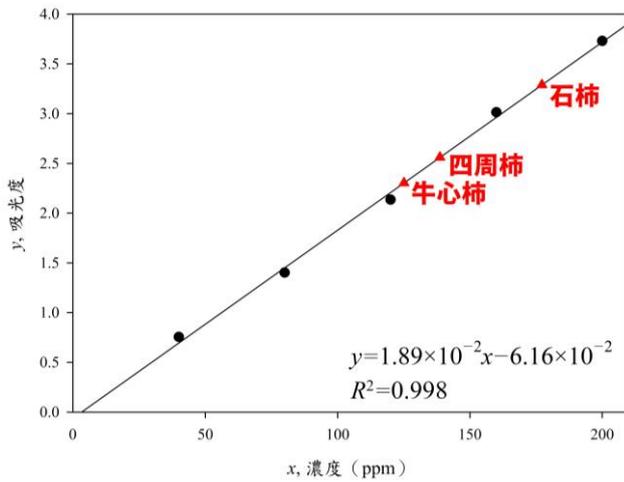
表 8-1 吸光度與醣類濃度數據表

醣類濃度 (ppm)	吸光度
40.00	0.755
80.00	1.402
120.00	2.136
160.00	3.014
200.00	3.731

(二) 測量柿皮含醣量

表 8-2 各品種柿子皮於酚—硫酸法吸光度數據表

品種	吸光度	醣類濃度 (ppm)
四周柿	2.561	138.69
石柿	3.289	177.19
牛心柿	2.304	125.10



酚硫酸法檢測有其限制，因此本實驗所得各品種柿皮濃度為加水（降低醣類濃度，否則將有立刻碳化之情形）後的結果，並非正確絕對數值，圖中僅呈現相對關係。

圖 8-2 吸光度與醣類濃度迴歸直線及各品種柿子皮含糖量關係圖

三、氫氣能源成本評估程式原始碼

```

1  #include <bits/stdc++.h>
2  using namespace std;
3
4  int gcd(int a, int b){
5      if (b==0)
6          return a;
7      return gcd(b, a%b);}
8
9  long long findlcm(int arr[], int n){
10     long long ans=arr[0];
11     for (int i=1; i<n; i++)
12         ans=((arr[i] * ans) /gcd(arr[i], ans));
13     return ans;}
14
15 int main() {
16     cout<<"若要計算柿皮發酵產氫(使用固定參數)請按 1 · 若要額外指定最佳預加熱時間請按 2 : ";
17     int mode;
18     cin>>mode;
19     if((mode!=1) && (mode!=2)){
20         cout<<"錯誤!請重新輸入";}
21     else{
22         float thertank80_power, heatplate_power, thertank35_power;
23         cout<<"輸入預加熱柿皮裝置之平均電功率(單位: 瓦特): ";
24         cin>>thertank80_power;
25         cout<<"\n"<<"輸入預加熱汙泥裝置之平均電功率(單位: 瓦特): ";
26         cin>>heatplate_power;
27         cout<<"\n"<<"輸入控制環境溫度裝置之平均電功率(單位: 瓦特): ";
28         cin>>thertank35_power;
29
30         float peel_preheat, sludge_preheat, thertank_fermentation;
31         if(mode==1){
32             peel_preheat=0.6666667;
33             sludge_preheat=0.6666667;
34             thertank_fermentation=18;}
35
36         if(mode==2){
37             cout<<"\n"<<"輸入預加熱柿皮時間長(單位: 小時): ";
38             cin>>peel_preheat;
39             cout<<"\n"<<"輸入預加熱汙泥時間長(單位: 小時): ";
40             cin>>sludge_preheat;

```

```

41     cout<<"\n"<<"輸入每次發酵時間長(單位：小時)： ";
42     cin>>thertank_fermentation;
43
44     float thertank80_kWh=thertank80_power*peel_preheat/1000;
45     float heatplate_kWh=heatplate_power*sludge_preheat/1000;
46     float thertank35_kWh=thertank35_power*thertank_fermentation/1000;
47
48     int peel_weight, sludge_weight, peel_tank;
49     cout<<"\n"<<"輸入每次預加熱柿皮的最大量(單位：公克)： ";
50     cin>>peel_weight;
51     cout<<"\n"<<"輸入每次預加熱汙泥的最大量(單位：公克)： ";
52     cin>>sludge_weight;
53     cout<<"\n"<<"輸入每次發酵柿皮的最大量(每次發酵汙泥的最大量即為此數 2 倍)(單位：公克)： ";
54     cin>>peel_tank;
55
56     int sludge_tank=peel_tank*2;
57     int arr[] = {peel_weight, sludge_weight, peel_tank};
58     int n=sizeof(arr)/sizeof(arr[0]);
59     int total=findlcm(arr, n);
60     float peel_round=total/peel_weight;
61     float sludge_round=total*2/sludge_weight;
62     float tank_round=total/peel_tank;
63
64     float input_energy=thertank80_kWh*peel_round+heatplate_kWh*sludge_round+thertank35_kWh*t
ank_round;
65     float hydrogen_liter=peel_tank*24.32/1000*tank_round;
66
67     cout<<"\n"<<"計算上以能不浪費為原則，意即預加熱的原料量等於可用於發酵的原料量。以下為最佳化後相關數
據： "<<"\n";
68     cout<<"總發酵柿皮： "<<total<<"克"<<"\n";
69     cout<<"總發酵汙泥： "<<total*2<<"克"<<"\n";
70     cout<<"柿皮預加熱次數： "<<peel_round<<"輪"<<"\n";
71     cout<<"汙泥預加熱次數： "<<sludge_round<<"輪"<<"\n";
72     cout<<"發酵次數： "<<tank_round<<"輪"<<"\n";
73
74     cout<<"\n"<<"以下為價格計算： "<<"\n";
75     float energybillperliter=(input_energy/hydrogen_liter)*2.8064;
76     cout<<"最有效率的情況下，產生一公升氫氣需要多少元： "<<fixed<<setprecision(7)<<energybillperli
ter<<"元"<<"\n";
77     cout<<"作為參考，平均一公升綠氫的售價約 0.9067401 元";
78     return 0;

```

本程式以 C++ 撰寫，目的為進行發酵相關計算。其概念相當簡單，分項說明如下：

1. 使用者輸入模式（第 16~20 行）並據模式預設參數（第 30~42 行）：提示使用者選擇計算模式，並讀取使用者輸入。模式分為 1、2 兩種。由使用者所選模式，設定預設參數值。模式 1 根據本篇研究結果設定，模式 2 為自訂（用於其他發酵情形）。
2. 輸入預加熱和發酵相關參數（第 48~54 行），由此計算預加熱和發酵的週期（第 56~62 行）：使用者輸入預加熱和發酵相關的參數值，即每次進行該步驟時可處理的最大量原料，並將這些值存儲在相應的變數中。接著可計算預加熱和發酵進行幾輪，才使得預加熱之柿皮與汙泥量分別等同於其發酵量（即發揮最佳效率）。
3. 計算能量消耗和產氫量（第 44~46、64~66 行）：計算能量用量和產氫量。
4. 輸出計算結果（第 68~80 行）：計算結果輸出給使用者，包括最佳化後的相關數據和價格計算結果。

【評語】 052611

本作品探討廢棄柿皮與汙泥發酵產氫之可行性及最佳發酵條件。結果指出石柿(*Diospyros kaki* cv. Stone)與汙泥分別預加熱後依 1：2 比例混合，加入改良培養基，調整 pH 值為 8 並於環境溫度 35°C 下發酵為最佳條件。研究之實驗設計完整，並對大規模應用之可能性與效益進行分析，獲致經濟、技術均有可能性。建議未來實際應用應考慮適合溫度，pH 影響，抑制甲烷化方案，與經濟效益層面。

作品海報

廢棄柿皮與汙泥
發酵產氫之研究

摘要

本研究旨在探討廢棄柿皮與汙泥發酵產氫之可行性及最佳發酵條件。結果指出石柿 (*Diospyros kaki* 'Stone') 與汙泥分別預加熱後依1:2比例混合，加入改良培養基，調整pH值為8並於環境溫度35°C下發酵為最佳條件。修正岡珀茲方程式擬合結果指出每公克柿皮可產生24.32毫升氫氣 ($R^2 = 0.9990$)。此外，等比例放大之發酵規模倍率與產氫能力呈正相關，若以足量柿皮發酵量產氫氣，可以相近效率大規模產生氫氣。本研究亦根據全臺每年廢棄柿皮量推估氫氣產量，並探討計算成本的方法，結果皆顯示廢棄柿皮發酵產氫具一定可行性。此方法可有效轉換大量廢棄柿皮為再生能源，具高度發展潛力。

研究動機

現今社會環保意識抬頭，為了實現永續環境的目標，再生和再利用廢棄資源逐漸成為焦點。在新竹，柿餅生產過程需要丟棄大量柿子皮，造成果皮資源的浪費。透過研究相關文獻，我們發現可以使用蔗糖作為受質，加入產氫微生物進行發酵反應產生氫氣。因此，我們將此概念加以應用，將柿子皮與汙泥混合以產生氫氣，並找出最佳的反應條件，以最高效率達到再生廢棄資源目的。

研究目的

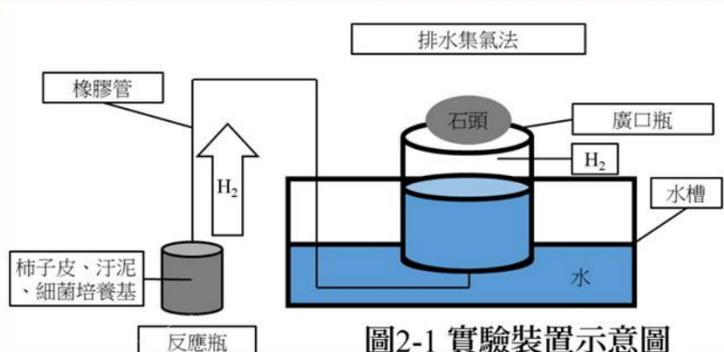
第I部分

- (一) 柿子皮、汙泥與培養基存否對產氫效果的影響。
- (二) 柿子皮品種與柿子皮/汙泥比例對產氫效果的影響。
- (三) 預加熱柿子皮及汙泥對產氫效果的影響。
- (四) 預加熱溫度對產氫效果的影響。
- (五) 預加熱時間對產氫效果的影響。
- (六) 培養基成分對產氫效果的影響。
- (七) 反應環境酸鹼性對產氫效果的影響。
- (八) 發酵反應溫度對產氫效果的影響。

第II部分

- (九) 累積產氫量對發酵時間曲線。
- (十) 探討本發酵產氫法大規模應用可能性與效益。

實驗裝置



產氫發酵反應步驟

1. 準備足量柿子皮與汙泥並進行預處理。
2. 將柿子皮、汙泥與細菌培養基混合並調整環境pH值。
3. 利用恆溫水槽控制反應溫度，以排水集氣法收集氣體。
4. 進行氣相層析，透過檢量線得到氫氣總產量。

結果及討論

實驗一 氫氣含量檢量線

如圖4-1， $R^2 = 0.996$ ，迴歸直線關係可信，可作本實驗檢量線。

實驗二 柿子皮、汙泥與培養基存否對產氫效果的影響

如圖4-2，單獨加入柿子皮或汙泥皆無氫氣產生；混合加入則會產生氫氣，證明發酵反應兩者缺一不可。此外，加入培養基相較加入水，氫氣產量提升至約60毫升，且氫氣濃度顯著提升（16%→33%），可見培養基的存在有助於產氫發酵反應。

實驗三 柿子皮品種與柿子皮/汙泥比例對產氫效果的影響

如圖4-3，產氫量以石柿最多，四周柿次之，牛心柿最少。但無論是何種柿子皮，都呈現1:2為最佳的柿子皮/汙泥比例，並大致向兩側遞減。推測等重下，當比例為1:2和1:2.5（柿子皮相對較少）時，反應瓶中成分反應完全，沒有完整的柿子皮殘留，僅存小顆粒或懸浮物；其他比例的反应瓶（柿子皮相對較多）則仍明顯有柿子皮未完全被分解或反應，無法完全反應導致產氣效果不佳。

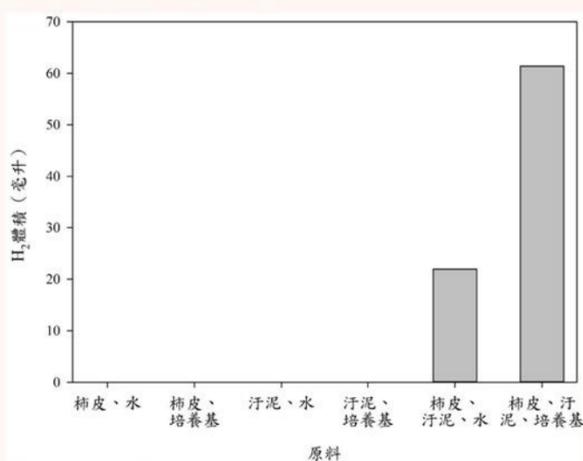


圖4-2 柿子皮、汙泥與培養基存否對產氫效果關係圖

重要文獻回顧

生物法產氫 (Das et al., 2001)

以蔗糖作為基質，加入特定種類的厭氧細菌或厭氧微生物，即可進行厭氧發酵生成氫氣。此法已被證實約有28%的能量能以氫氣的形式回收，為高效率產氫方法。

反應動力學 (Lay et al., 1999)

修正岡珀茲方程式可用於描述實驗中氫氣的累積生產，擬合累積產氫量以獲得產氫反應的相關參數。其方程式與關係圖如圖1-1。

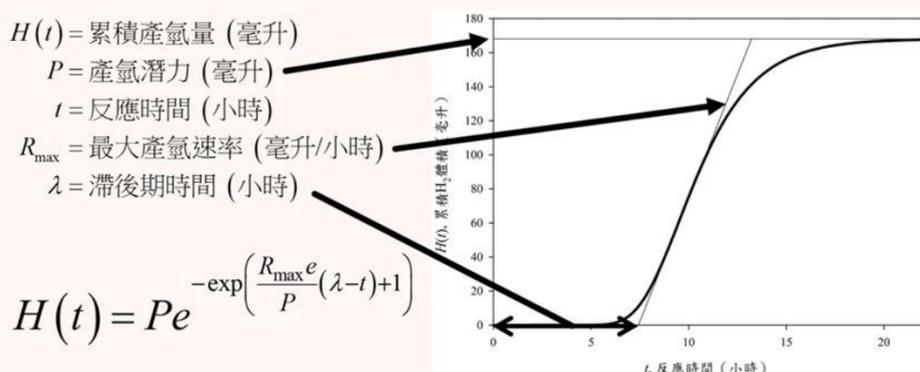


圖1-1 修正岡珀茲方程式之關係圖

研究架構與流程

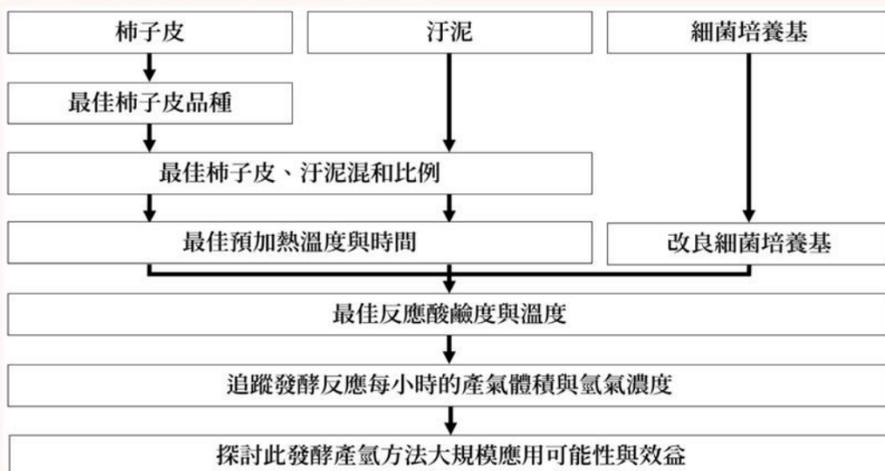


圖3-1 研究架構與流程圖

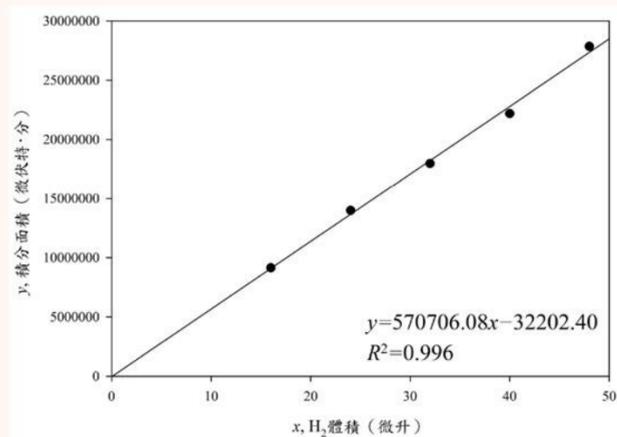


圖4-1 標準樣品氣相層析數據迴歸直線圖

如圖4-2，單獨加入柿子皮或汙泥皆無氫氣產生；混合加入則會產生氫氣，證明發酵反應兩者缺一不可。此外，加入培養基相較加入水，氫氣產量提升至約60毫升，且氫氣濃度顯著提升（16%→33%），可見培養基的存在有助於產氫發酵反應。

如圖4-3，產氫量以石柿最多，四周柿次之，牛心柿最少。但無論是何種柿子皮，都呈現1:2為最佳的柿子皮/汙泥比例，並大致向兩側遞減。推測等重下，當比例為1:2和1:2.5（柿子皮相對較少）時，反應瓶中成分反應完全，沒有完整的柿子皮殘留，僅存小顆粒或懸浮物；其他比例的反应瓶（柿子皮相對較多）則仍明顯有柿子皮未完全被分解或反應，無法完全反應導致產氣效果不佳。

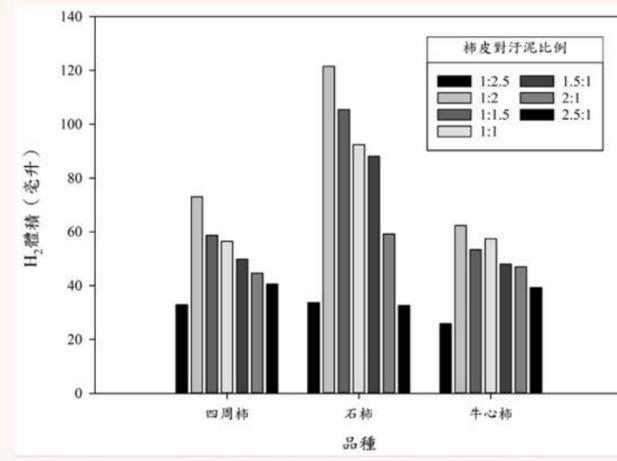


圖4-3 柿子皮品種與柿子皮/汙泥比例對產氫效果關係圖

實驗四 預加熱柿子皮及汙泥之對產氫效果的影響

如圖4-4，預加熱柿子皮可提升氫氣產量（73.57毫升→123.10毫升），預加熱汙泥亦可提升氫氣產量（73.57毫升→148.70毫升），更提升了氫氣濃度約3~4%。而同時對柿子皮和汙泥都預加熱時，產氫量會達到最高、產氫效果最佳，與文獻所述相符，可產生約170毫升氫氣。預加熱柿子皮可減少水分含量、抑制乳酸發酵，預加熱汙泥則可抑制非產氫細菌的活性，避免產氫過程受到阻礙以提升產生氣體中的氫氣產量及濃度。

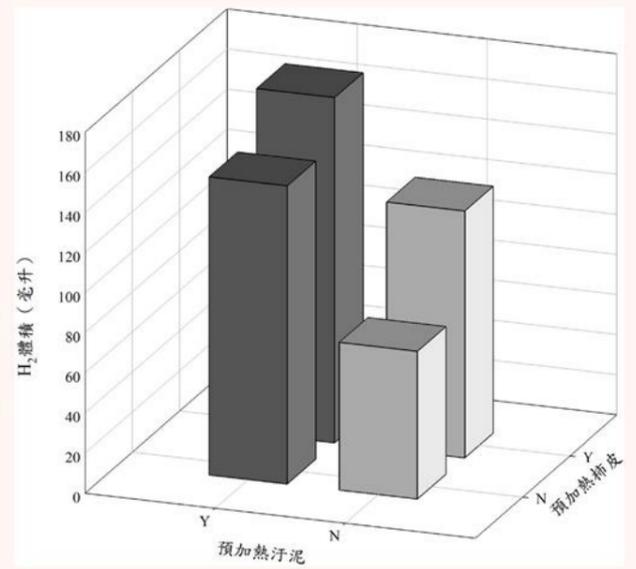


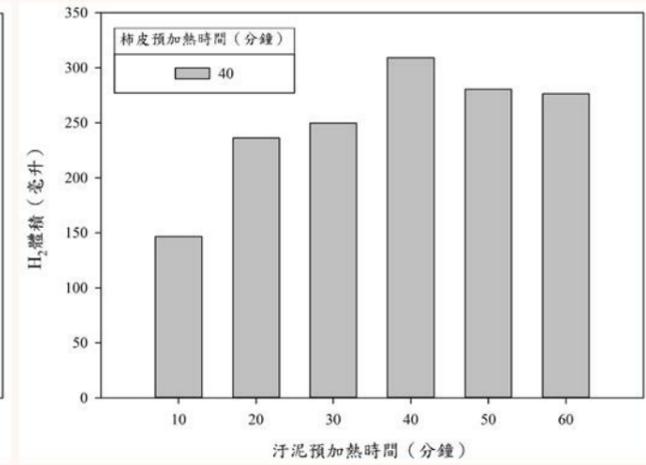
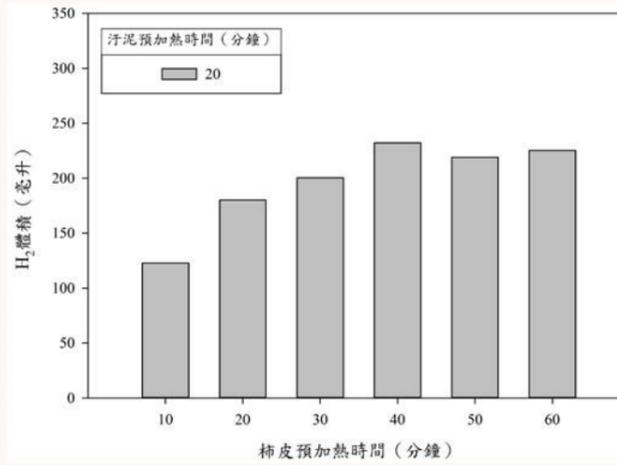
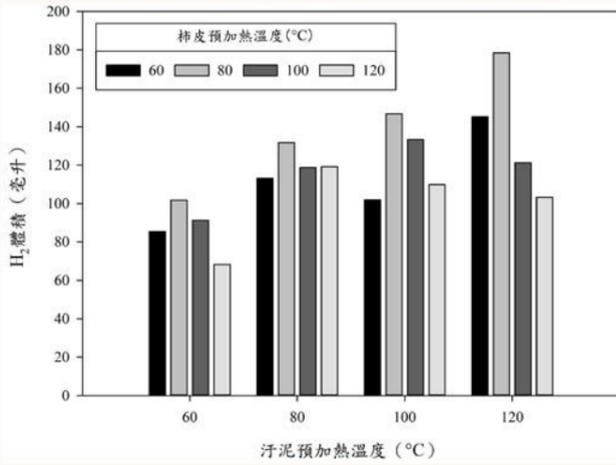
圖4-4 預加熱柿子皮及汙泥對產氫效果關係圖

實驗五 預加熱溫度對產氫效果的影響

如圖4-5，根據文獻所載，實驗前的預加熱對產氫量有正面效果。由圖4-4可知，在相同汙泥預加熱溫度下，柿子皮預加熱溫度皆在80°C時產氫量最高；而在固定柿皮預加熱溫度下，汙泥預加熱溫度與產氫量呈正相關，且產氫量在120°C時達最高。汙泥預加熱140°C無文獻佐證，且經嘗試後危險性過高。因此，以80°C預加熱柿子皮且以120°C預加熱汙泥為最佳之預處理條件。

實驗六 預加熱時間對產氫效果的影響

如圖4-6，無論是柿子皮或汙泥，產氫量皆在預加熱時間為40分鐘時達到最高，超過或低於40分鐘的預加熱時間產氫量皆較低。推測加熱時間若不夠久，則無法有效抑制非產氫菌活性；而加熱過久會使產氫菌活性亦遭受影響，使產氫量略為下降，且浪費能源。是故，預加熱柿子皮與汙泥之時間皆在40分鐘為最佳前處理條件。



a. 柿子皮預加熱時間

b. 汙泥預加熱時間

圖4-5 預加熱溫度對產氫效果關係圖

圖4-6 預加熱時間對產氫效果關係圖

實驗七 培養基成分對產氫效果的影響

培養基的成分濃度十分重要，若太高會使細菌脫水死亡並抑制發酵，而太低則無法提供細菌足夠養分生長，兩者都將導致細菌的生長過程受阻。本實驗進行兩階段測試，先以 2^n ($-3 \leq n \leq 3, n \in \mathbb{Z}$) 為倍數放大濃度測試，發現6種培養基成分皆在濃度倍數為1或2達到最佳產氫量，如圖4-7；因此在第二階段實驗中，倍數依第一階段結果進行設計並測試，此時各培養基成分最佳產氫濃度倍數便不盡相同，如圖4-8， K_2HPO_4 在1倍量時達最佳產氫量，而 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 和 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 則是在1.75倍量時才達最佳產氫量。推測乃細菌對於各種成分的含量要求不一所致。透過兩階段的試驗，得出最佳產氫配方。

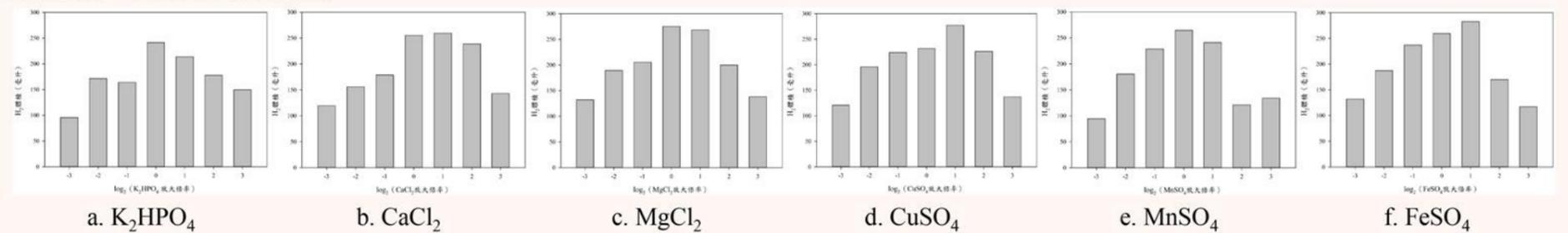


圖4-7 培養基成分對產氫效果關係圖 (第一階段) /g. 請見左下方。

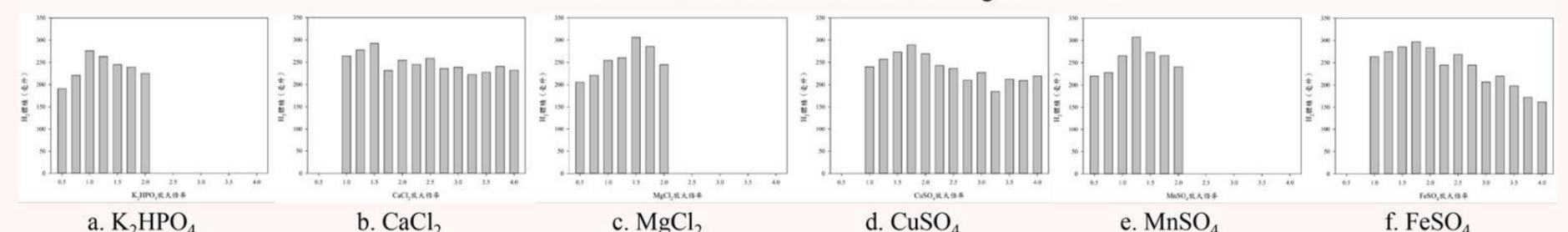


圖4-8 培養基成分對產氫效果關係圖 (第二階段) /g. 請見左下方。

實驗八 反應環境酸鹼性對產氫效果的影響

如圖4-9，反應只在pH值7.0至10.0間發生，且於pH為8.0時氫氣產量達到最大值；強酸或強鹼環境中無法產生氫氣，反應瓶內之柿皮仍非常完整。此外，在較鹼性的環境中 (pH=9.0、pH=10.0)，氫氣濃度明顯較低，下降約10%。反應結束後測量反應瓶內之pH值，皆明顯降低，其中產氫量最多的組別為起始pH值為8.0的組別，共可產生約350毫升之氫氣，並測得最終反應瓶內pH值為5.87。過去許多研究的發酵原料、處理方式不同，因此最佳起始pH值之數據具有差異。透過此實驗得知柿子皮與汙泥發酵產氫時，將原始pH值調整至8.0最佳。

實驗九 發酵反應溫度對產氫效果的影響

如圖4-10，反應期間，當環境溫度有較大起伏時，產氫結果將受明顯影響，故使用恆溫水槽進行控溫，研究環境溫度的影響。根據數據顯示，15°C時無任何氫氣產生；產氫量隨溫度升高逐漸增加，35°C時氫氣產量達到約400毫升的最大值；當溫度上升到65°C時，再次沒有任何氫氣產生。不同發酵原料之理想產氫溫度不同，據文獻所載，當發酵原料為醣分較高的物質，適合產氫的溫度便屬中溫而非高溫，實驗結果則呈現35°C時之產氫效果優於偏向高溫的45°C、55°C以上。綜上所述，反應溫度對產氫量影響甚大，且於35°C時達最佳產氫量，若此產氫概念能被大規模運用，如何以最經濟、環保的方式維持反應溫度將是十分重要的課題。

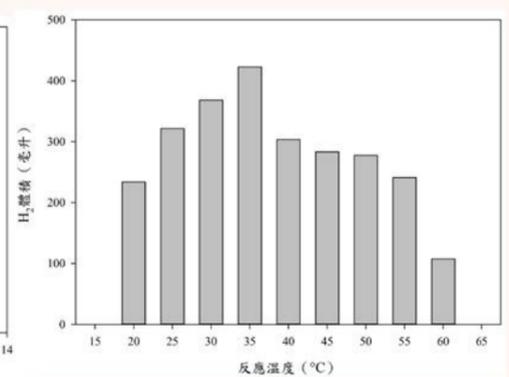
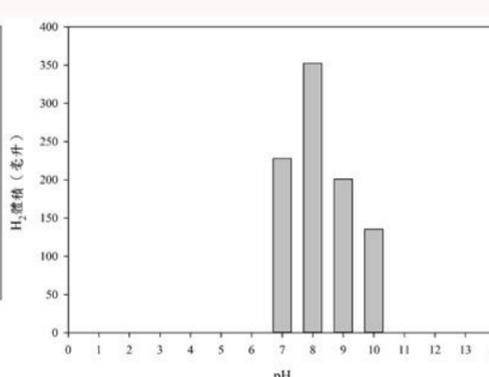
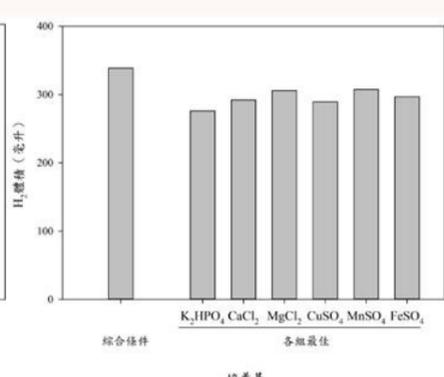
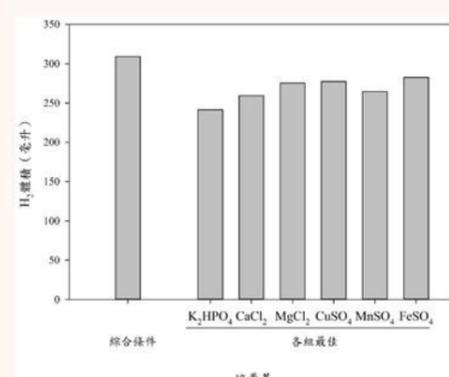


圖4-7 g. 請見上方說明。

圖4-8 g. 請見上方說明。

圖4-9 反應環境酸鹼性對產氫效果關係圖

圖4-10 發酵反應溫度對產氫效果關係圖

實驗十 累積產氫量對發酵時間曲線

將各小時累積氫氣體積對時間作圖可得到一S型函數，再以修正岡珀茨方程式擬和各係數可得圖4-11中方程式，並且 R^2 達 0.9990，與文獻探討中所選用氣體產生的模型相符合。由方程式可得7公克柿皮之產氫能力約為170毫升，代表每公克柿皮約可產24.32毫升氫氣，考慮到柿子皮產季中的大量待丟棄的柿子皮，經簡易估算後，推測每年約有1000公噸柿子皮，因此只要將發酵規模略為提升，此發酵方法即為量產氫氣的好方法。滯後期約為7小時30分鐘，最大產氫速率約為27.5毫升/小時，發酵進行的第8到第10個小時產氫速率達到最大，產氣則在第17或18小時後結束，且氫氣濃度在產氣時段中最早和最晚幾小時內較低。前者是因為氫氣產生時，須先將導管及反應瓶內少量的空氣推入集氣瓶，才能將氫氣送入集氣瓶，使氫氣濃度相對下降；後者則因發酵生成之二氧化碳等氣體擴散速率較慢，發酵末端才逐漸轉移至集氣瓶內，隨著氫氣排出，發酵末端之氫氣濃度便隨之降低。

實驗十一 探討本發酵產氫法大規模應用可能性與效益

由圖4-12可知，使用7公克柿皮、14公克汙泥，即放大倍率為1時，約產生185.34毫升的氫氣；而當原料等比例放大1.5倍時，則約產生302.23毫升氫氣（約為1倍原料時可生成氫氣的1.63倍），其餘依此類推，放大倍率與產氫量呈正相關，且數據說明產氫效果仍可維持在相近水平，說明在一定規模下利用廢棄柿子皮發酵量產氫氣的方法可行。然而，實驗室中不可能達到先導性規模或實際大規模量產，因此無法僅透過實驗確認更大量發酵時之效率以及放大倍率與產氫量是否可能變化為指數或對數關係，造成無法透過線性迴歸準確預測。未來若能將發酵規模提升，應用此法於工業製氫流程中，不但成本極低，更能將廢棄資源轉成乾淨且高密度的氫能源，達到綠色環保的同時，亦提供可觀的能源資源。

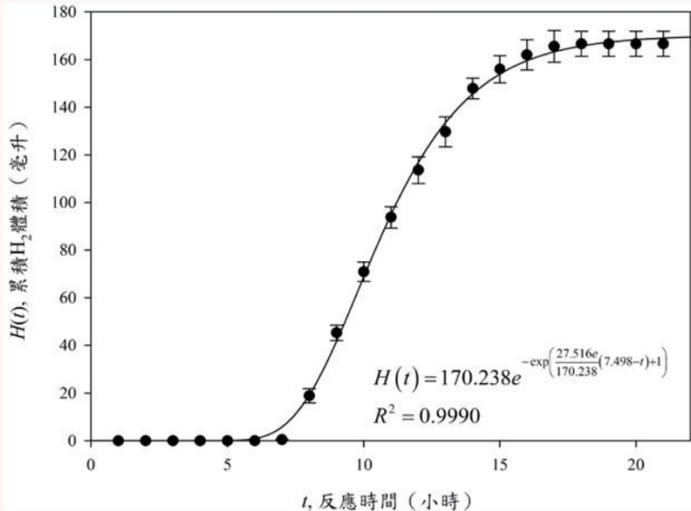


圖4-11 累積產氫量對發酵時間曲線關係圖 / $N = 3$ 。

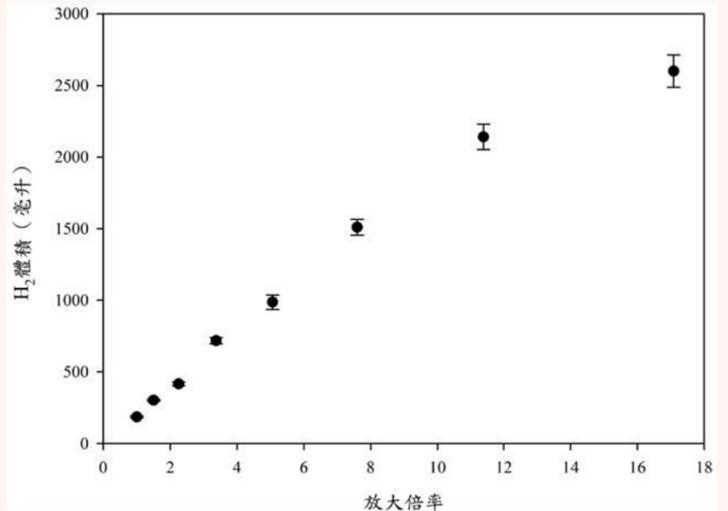


圖4-12 等比例放大原料對產氫效果關係圖 / $N = 3$ 。

附錄一 汙泥懸浮液鏡檢

如圖8-1，經革蘭氏染色法確認發酵後汙泥懸浮液有極大與產氫發酵常見的梭菌屬 (*Clostridium* sp.) 長度及外觀特徵相符之細菌。此結果係提供進一步線索，確認此發酵產氫原理合理性及可行性。

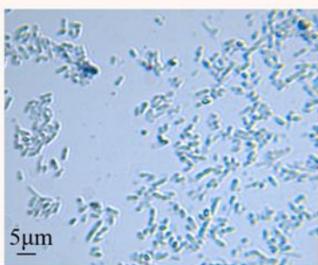


圖8-1 汙泥懸浮液中細菌

附錄二 酚—硫酸法

如圖8-2，以酚—硫酸法定量分析各品種柿子皮總糖量後證實實驗三之推論，含糖量越高，產氫效果越佳。

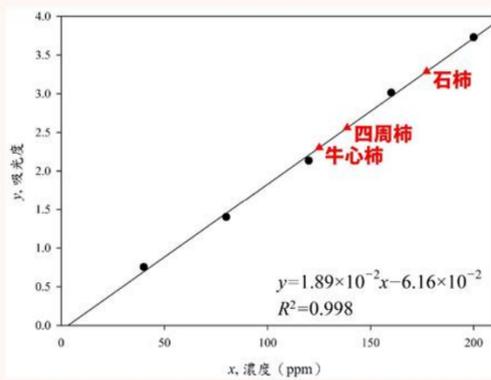


圖8-2 吸光度與糖類濃度迴歸直線及各品種柿子皮含糖量關係圖

成分	濃度 (公克/公升)	
	改良前 (表 1-1)	改良後 (表 5-1)
NH_4HCO_3	7.86	7.86
NaHCO_3	6.0	6.0
K_2HPO_4	0.125	0.125
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.1	0.15
MgCl_2	0.047	0.0705
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.01	0.0125
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.025	0.04375
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.005	0.00875
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.000125	0.000125

表1-1及5-1 改良前後培養基成分對照表

結論

- 一、本研究發現廢棄柿皮及汙泥混合可有效產生氫氣，並對此流程進行優化，得出最佳產氫條件：
 - (一) 石柿柿子皮發酵產氫效果最佳。
 - (二) 石柿柿子皮、汙泥應以1:2比例混合。
 - (三) 同時對柿皮、汙泥行加熱預處理可提升產氣量、氫氣濃度。
 - (四) 加熱預處理：柿皮80°C、40分鐘，汙泥120°C、40分鐘。
 - (五) 使用改良版本的細菌培養基，如上方表1-1及5-1併表。
 - (六) 將反應環境酸鹼度調整為pH=8.0，反應溫度控制在攝氏35°C。

二、由修正岡珀茲方程式，本研究中發酵數據如下 ($R^2 = 0.9990$)：

- (一) 每公克柿皮產氫能力為24.32毫升。
- (二) 產氣滯後期為7.50小時。

三、若放大發酵規模，產氫量亦可等比例放大。本研究成功利用廢棄柿皮中糖類發酵產氫，大量發酵全臺可製造超過2000萬公升之氫氣，且根據本篇成本的探討推估應具有相當可行性。此概念亦可應用於其他數目可觀的廢棄果皮或廢棄物上，利用發酵法，有效量產氫氣。

重要參考文獻

- 一、Arslan, C., Sattar, A., Changying, J., Nasir, A., Mari, I. A., Huimin, F., & Ping, H. Y. (2016). Comparing the Effect of Total Solids Concentration on Biohydrogen Production Potential of Food Waste and Its Derivatives Under Mesophilic Thermophilic Conditions. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 53(3), 687-694.
- 二、Baghchehsaraee, B., Nakhla, G., Karamanev, D., & Margaritis, A. (2010). Fermentative Hydrogen Production by Diverse Microflora. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35(10), 5021-5027.
- 三、Cheng, J., Ding, L., Xia, A., Lin, R., Li, Y., Zhou, J., & Cen, K. (2015). Hydrogen Production Using Amino Acids Obtained by Protein Degradation in Waste Biomass by Combined Dark-And Photo-Fermentation. *Bioresour. Technol.*, 179, 13-19.
- 四、Das, D., & Veziroglu, T. N. (2001). Hydrogen Production by Biological Processes: A Survey of Literature. *International Journal of Hydrogen Energy*, 26(1), 13-28.
- 五、Ding, L., Cheng, J., Qiao, D., Yue, L., Li, Y., Zhou, J., & Cen, K. (2017). Investigating Hydrothermal Pretreatment of Food Waste for Two-Stage Fermentative Hydrogen and Methane Co-Production. *Bioresour. Technol.*, 241, 491-499.
- 六、Elbesbshy, E., Hafez, H., Dhar, B. R., & Nakhla, G. (2011). Single and Combined Effect of Various Pretreatment Methods for Biohydrogen Production From Food Waste. *International Journal of Hydrogen Energy*, 36(17), 11379-11387.
- 七、Endo, G., Noike, T., & Matsumoto, J. (1982). Characteristics of Cellulose and Glucose Decomposition in Acidogenic Phase of Anaerobic Digestion. *Proceedings of the Japan Society of Civil Engineers*, 1986(325), 61-68.
- 八、Fang, H. H., Li, C., & Zhang, T. (2006). Acidophilic Biohydrogen Production From Rice Slurry. *International Journal of Hydrogen Energy*, 31(6), 683-692.
- 九、Fermoso, F. G., Collins, G., Bartacek, J., O'Flaherty, V., & Lens, P. (2008). Acidification of Methanol-Fed Anaerobic Granular Sludge Bioreactors by Cobalt Deprivation: Induction and Microbial Community Dynamics. *Biotechnology and Bioengineering*, 99(1), 49-58.
- 十、Hendriks, A. T. W. M., Van Lier, J. B., & De Kreuk, M. K. (2018). Growth Media in Anaerobic Fermentative Processes: The Underestimated Potential of Thermophilic Fermentation and Anaerobic Digestion. *Biotechnology Advances*, 36(1), 1-13.
- 十一、Jarunglumert, T., Prommuak, C., Putmai, N., & Pavasant, P. (2018). Scaling-Up Bio-Hydrogen Production From Food Waste: Feasibilities and Challenges. *International Journal of Hydrogen Energy*, 43(2), 634-648.
- 十二、Kim, D. H., Kim, S. H., Jung, K. W., Kim, M. S., & Shin, H. S. (2011a). Effect of Initial pH Independent of Operational pH on Hydrogen Fermentation of Food Waste. *Bioresour. Technol.*, 102(18), 8646-8652.
- 十三、Kim, D. H., Kim, S. H., & Shin, H. S. (2009). Hydrogen Fermentation of Food Waste Without Inoculum Addition. *Enzyme and Microbial Technology*, 45(3), 181-187.
- 十四、Kim, D. H., Wu, J., Jeong, K. W., Kim, M. S., & Shin, H. S. (2011b). Natural Inducement of Hydrogen From Food Waste by Temperature Control. *International Journal of Hydrogen Energy*, 36(17), 10666-10673.
- 十五、Lay, J. J., Lee, Y. J., & Noike, T. (1999). Feasibility of Biological Hydrogen Production From Organic Fraction of Municipal Solid Waste. *Water Research*, 33(11), 2579-2586.
- 十六、Lay, J. J., Li, Y. Y., & Noike, T. (1996). Effect of Moisture Content and Chemical Nature on Methane Fermentation Characteristics of Municipal Solid Wastes. *Journal of Environmental System and Engineering*, 1996(552), 101-108.
- 十七、Liu, G., & Shen, J. (2004). Effects of Culture and Medium Conditions on Hydrogen Production From Starch Using Anaerobic Bacteria. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 98(4), 251-256.
- 十八、Nandan, R., Thondwalkar, V., & Ray, P. K. (1990). Biomethanation of Spent Wash: Heavy Metal Inhibition of Methanogenesis in Synthetic Medium. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 69(5), 276-281.
- 十九、Nazlina, H. M. Y., Aini, A. N., Ismail, F., Yusoff, M. Z. M., & Hassan, M. A. (2009). Biohydrogen Production From Food Waste in Batch Fermentation. *Asian Journal of Biotechnology*, 1(2), 42-50.
- 二十、Novillo, P., Besada, C., Tian, L., Bermejo, A., & Salvador, A. (2015). Nutritional Composition of Ten Persimmon Cultivars in the "Ready-To-Eat Crisp" Stage. Effect of Deastringency Treatment. *Food and Nutrition Sciences*, 6(14), 1296-1306.
- 二十一、Pobeheim, H., Munk, B., Johansson, J., & Guebitz, G. M. (2010). Influence of Trace Elements on Methane Formation From a Synthetic Model Substrate for Maize Silage. *Bioresour. Technol.*, 101(2), 836-839.
- 二十二、Sunyoto, N. M., Zhu, M., Zhang, Z., & Zhang, D. (2016). Effect of Biochar Addition on Hydrogen and Methane Production in Two-Phase Anaerobic Digestion of Aqueous Carbohydrates Food Waste. *Bioresour. Technol.*, 219, 29-36.
- 二十三、Yasin, N. H. M., Man, H. C., Yusoff, M. Z. M., & Hassan, M. A. (2011). Microbial Characterization of Hydrogen-Producing Bacteria in Fermented Food Waste at Different pH Values. *International Journal of Hydrogen Energy*, 36(16), 9571-9580.
- 二十四、Zwietering, M. H., Jongenburger, I., Rombouts, F. M., & Van't Riet, K. J. A. E. M. (1990). Modeling of the Bacterial Growth Curve. *Applied and Environmental Microbiology*, 56(6), 1875-1881.