

生化需氧量感測系統之研發

蔣志德¹，周楚洋²

1. 國立台灣大學生物產業機電工程學系碩士
2. 國立台灣大學生物產業機電工程學系副教授，本文通訊作者

摘 要

本研究是利用三極式電化學偵測器、活性污泥菌種及流動注射分析系統建立一生化需氧量(BOD)的感測系統，以檢測廢水之生化需氧量。

感測器採用白金工作電極及 Ag/AgCl 參考電極，其中白金工作電極用 20 μ L 的 Nafion 薄膜做表面修飾，以減少雜訊。活性污泥置於以壓克力製成的反應槽中心一 18 mm (L)×2 mm (W)×2 mm (D)的凹槽，樣本利用上述電極及流動注射分析系統在此區域產生反應並進行檢測。試驗時分別建立以人工廢水 GGA (Glucose-glutamic acid)及豬糞尿廢水為樣本的標準曲線，從輸出的電流與時間的關係圖，利用終點法(End point)、固定時間法(Constant time)、斜率法 I (Quasi-kinetic I)及斜率法 II (Quasi-kinetic II)等四種方式推估 BOD 的濃度。

為驗證本系統之效能，利用現場取樣的豬糞尿廢水作測試，結果顯示採用 GGA 建立的標準曲線所測得的 BOD 濃度，以固定時間法以及斜率法 I 的結果較佳，其檢測的誤差分別為 9.0%以及 7.7%。而採用豬糞尿廢水建立的標準曲線所測得的 BOD 濃度，以終點法、固定時間法及斜率法 I 可以更準確地預估實際廢水之 BOD 值，其誤差分別為 0.8%、2.5 % 及 1.7 %。

關鍵詞：生化需氧量、生物感測器、三極式電化學偵測器、流動注射分析系統

DEVELOPMENT OF A BIOCHEMICAL OXYGEN DEMAND SENSING SYSTEM

Chih-Te Chiang¹, Chu-Yang Chou²

1. *Former Graduate Student, Department of Bio-Industrial Mechatronics Engineering, National Taiwan University.*
2. *Associate Professor, Department of Bio-Industrial Mechatronics Engineering, National Taiwan University, Corresponding Author.*

ABSTRACT

A biochemical oxygen demand (BOD) sensing system using the combination of three-electrode electrochemical detector, seed obtained from the activated sludge, and flow injection analysis system (FIA) was developed in this study to examine the BOD of wastewater.

The detector contained an Ag/AgCl electrode (Reference electrode, RE) and a Pt electrode (Working electrode, WE), which was coated with 20 μ L Nafion to reduce noises. The reactor was fabricated with acrylic plastic, and the activated sludge was placed in an 18 mm (L) $\times$ 2 mm (W) $\times$ 2 mm (D) cave, in which the tested sample was reacted and detected with the above electrodes through the flow injection analysis system. Standard curves were built from the experimental data for both GGA (Glucose-glutamic acid) synthetic wastewater and swine wastewater by different approaches: end-point, constant-time, quasi-kinetic I, and quasi-kinetic II, respectively.

To verify the efficacy of this system, wastewater collected from pig farm was tested. The results showed that, when using the standard curves generated by GGA wastewater, the constant-time and quasi-kinetic I had better performance in estimating the BOD concentration, with the deviations of 9.0% and 7.7%, respectively. In addition, when using the standard curves generated by the swine wastewater, the end-point, constant-time and quasi-kinetic I had much better estimate than the above, with the deviations of 0.8%, 2.5%, and 1.7%, respectively.

Keywords: Biochemical oxygen demand, Biosensor, Three-electrode electrochemical detector, Flow injection analysis system

一、前言

在廢水的各項指標中，生化需氧量(Biochemical oxygen demand, BOD)一直是相當重要的參數，也是環保署放流水標準的檢驗項目之一。BOD為好氧狀態下，有機物受微生物消化、分解所需氧氣量的多寡，因此 BOD 值可以用來表示水中有機物的含量。當 BOD 值越高，表示水中受污染的程度越高。

傳統測定BOD的方法為將待測廢水裝於一暗色瓶中，並在20℃下加以適當攪拌，經過五天後量取溶氧(Dissolved oxygen, DO)的變化，此為五天 BOD 值，可寫成 BOD₅，單位為 mg/L (陳，1996；APHA，1992)。

雖然以傳統方法量測 BOD 在目前已普遍被使用，但是此法所需的時間冗長，而且無法迅速獲得結果，不能做到立即檢測及即時監控之目的，因此尋求能快速且準確地量測BOD，是一項具挑戰且應用廣泛的課題。

要達到快速檢測之目的，目前討論較多的便是利用生物感測器(Biosensor)的方式，因為要能夠立即檢測，必須方便攜帶且反應要快速，因此

體積小又能多次重複測量的生物感測器相當符合實際的需求。

生物感測器的發展最早是利用含酵素的薄膜轉換葡萄糖成可以量測的產物，而達到量測葡萄糖濃度的功用。其後又藉著酵素固定化的概念，利用凝膠(Polyacrylamide)將葡萄糖氧化酵素固定在電極的表面，形成一偵測葡萄糖的生物感測器 (Clark and Lyons, 1962; Updike and Hicks, 1967; Clark and Clark, 1987；陳，2002)。

生物感測器主要包括兩部分：分子辨識單元(Molecular recognition unit)和信號轉換單元(Signal transduction unit)。分子辨識單元是用來與待測樣本做反應的生物元件，信號轉換單元則是將樣本與分子辨識單元的反應產生可資讀取的訊號。

利用生物元件當作辨識單元有很多優點，除了具有高度的選擇性外，還有專一性以及反應速率快等優點。但是利用生物元件也有其缺點，就是生物元件的穩定性較差，容易因外在環境的污染或操作環境不良便遭受影響，使其不易重複使用。分子辨識元件大致可分為下列幾種：酵素(Enzyme)、免疫物質(Immunoassay)、組織(Tissue)、化學受體(Chemo acceptor)及細菌(Bacteria)。

信號轉換單元根據所接受訊號的不同，可分為以下幾類：熱感型、光學型、壓電型及電化學型，其中電化學型在水質的檢測上已有多種應用，如 pH、溶氧(DO)、氧化還原電位(ORP)、導電度(Electrical Conductivity)等。由於在電化學量測中，往往會有待分析樣品或其他雜質吸附在電極表面，使得電極產生鈍化的現象，因而造成訊號減弱或導致再現性低等足以影響檢測結果的現象，因此電極表面如何作適當的處理相當重要。一個良好的電極修飾物質需要符合下列條件(Harwood and Pouton, 1996)：

1. 修飾物質不論在氧化狀態或是還原狀態，其化學性質必須要穩定。
2. 在不同 pH 狀態下，其氧化還原電位必須穩定不變或是變化極小。
3. 修飾物質必須很容易固定在電極表面上。
4. 必須操作在與修飾物質不會反應之氧化還原電位範圍，以免造成修飾物質本身的化學反應。
5. 修飾物質不能與待測樣品有任何反應。

而修飾電極的方法主要有：

1. 將修飾材料直接吸附在電極表面，此法較容易製作。
2. 以共價鍵讓修飾材料與電極表面作鍵結，因共價鍵結合力強，可以得到較為穩定的修飾電極。
3. 在電極表面覆蓋一層具有修飾材料的高分子薄膜，例如 Nafion 等。
4. 將修飾材料直接混合於導電性介質中。

通常修飾電極的製作方法並不只限於此四種方式，亦有混合兩種方法或多種方法製作而成。化學修飾電極的應用很廣，如滲透選擇性、生化選擇性、及電催化偵測等。

生化需氧量感測器最早係由 Karube 等人提出(Karube et al., 1977)，利用微生物 *Trichosporon cutaneum* 以及溶氧電極之系統，由生化需氧量與電流的關係，達到測定 BOD 值之目的。從活性污泥中純化出單一菌種的方式已被廣泛應用於生化需氧量感測器上，如 *Trichosporon cutaneum* (Hikuma et al., 1979; Harita et al., 1985; Riedel et al., 1988; Karube and Suzuki, 1990) 和 *Hansensula*

anamola (Kulys and Kadziauskiene, 1980)。單一菌種的好處是可以針對特定廢水作檢測，有其專一性，但也因此量測的對象範圍較窄，且還需先經過純化的步驟，保存也較為困難，因此也有研究混合菌種的生化需氧量感測器(Galindo et al., 1992; Riedel et al., 1988; Li et al., 1994; Liu et al., 2000)。因為混合菌種對於不同廢水的適應性較佳，不會因廢水性質差異過大而產生活性減弱的現象，和單一菌種比較起來穩定許多。許多感測器的菌種會利用不同的方式將其固定在轉換元件上(Galindo et al., 1992)，比如有利用半透膜包覆菌種的方式(Xu et al., 2002)，而凝膠(sol-gel)包覆菌種的方式在近年來被廣泛的利用，這種方式具有堅固、不怕外界污染的優點(Brinker and Scherer, 1990; Hench and Valentine, 1990; Walcarius, 2001; Jia et al., 2002)。另外也有採用高孔隙度的材料當作菌種附著生長的做法，例如 Polyvinylalcohol (PVA) (Riedel et al., 1988; Tan et al., 1993; Dong et al., 1997) 和 Polysulphonate (PCS) (Chan et al., 1999; Lehmann et al., 1999; Chan et al., 2000) 等。

分析系統的架構通常有兩種形式：一種是批次式(Batch)，另一種是連續式(Series)。連續式的系統有較高的效率，而且連續性的監控對於線上(On-line)的作業也比較適宜，因此便發展出連續流分析法(Continuous flow analysis, CFA)。

此後又發展出能兼顧分析快速、高精確度、設備簡單及系統多樣性等優點的流動注射分析系統(Flow injection analysis system, FIA)，其中 FIA 和 CFA 最大不同處是不需要用氣泡加以隔開，而分析速度更快、更省試劑、再現性更佳，也適合感測器形式的測量方式。

本研究之目的即是要設計一套感測器系統，利用混合菌種與已知濃度樣本反應的方式做量測，將所得訊號處理後與實際之生化需氧量做比較，期能得到一關係式，再利用此關係式檢測實際廢水樣本的生化需氧量。

二、材料與方法

(一) 材料及設備

1. 感測系統

本研究整個系統可分成四個部分：感測器、菌種反應槽與菌種、測試樣品以及流動注射分析系統。感測器之工作電極採用白金電極(Platinum electrode) (佳佑, 台灣), 參考電極為銀／氯化銀電極(Ag/AgCl electrode) (佳佑, 台灣), 感測器本體可以分為 A、B 兩部分元件：如圖 1 所示, 元件 A 為 45 mm× 25 mm×10 mm 的壓克力塊, 中間挖空並固定工

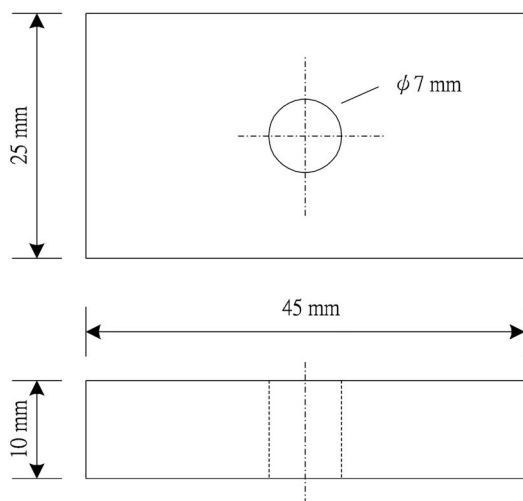
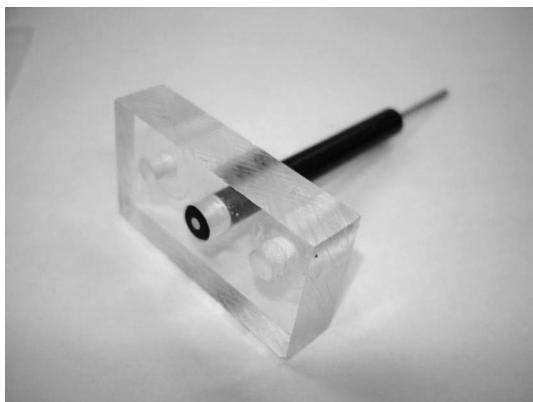


圖 1 感測器元件 A 及其結構圖

Fig.1 Sensing element A and its structure diagram

作電極。圖 2 之元件 B 為 50 mm×35 mm×30mm 的壓克力塊, 中心部分有一直徑 5 mm 的槽以放置參考電極, 且在中間另有兩個直徑為 1mm 的孔道, 作為進流以及出流的路徑用。元件 B 之進出流孔皆銜接一段不鏽鋼管, 作為輔助電極(Counter)用。A 與 B 兩壓克力塊中間利用塑膠墊片隔開, 並用螺絲固定, 同時測試其密閉程度, 以防止管路中溶液滲出

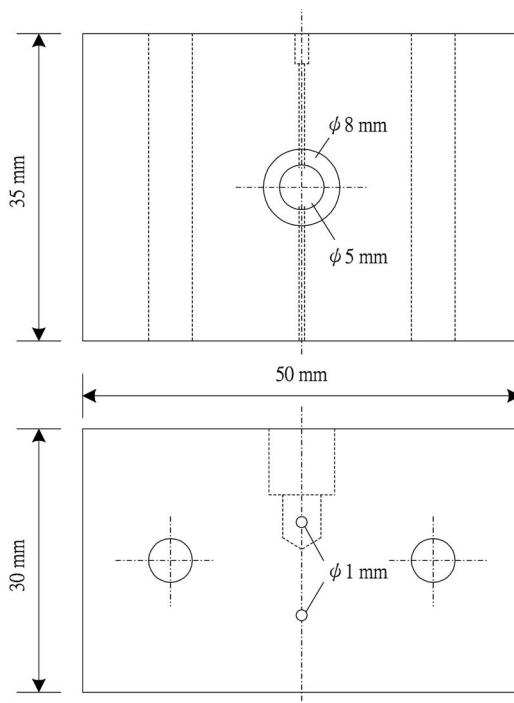
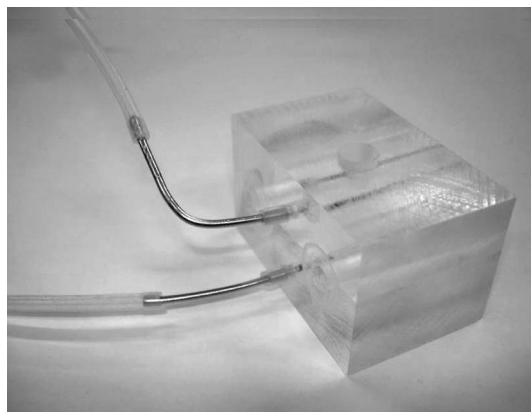


圖 2 感測器元件 B 及其結構圖

Fig.2 Sensing element B and its structure diagram

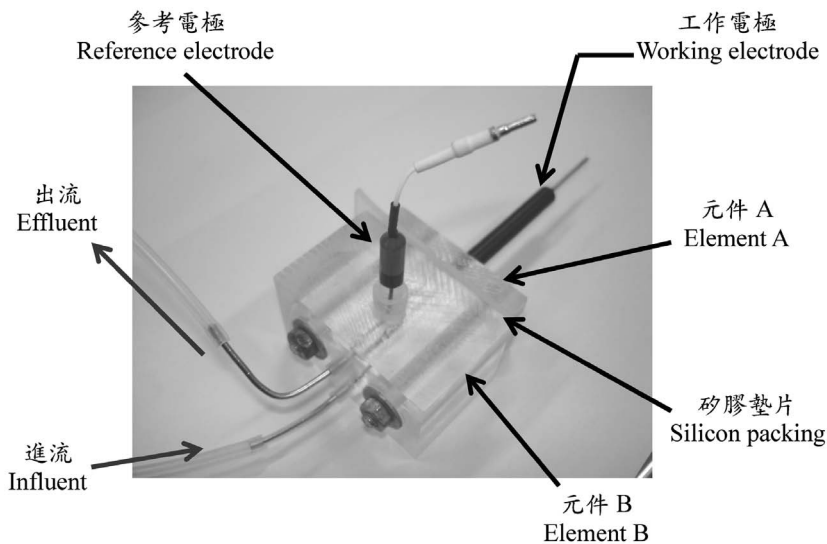


圖 3 感測器總成

Fig.3 Sensor assembly of the sensing system

(圖 3)。信號轉換部分則是利用定電壓電流儀 (Potentiostat, Model 1205, CHI, USA)，並配合 CHI 公司所提供的分析軟體做接收以及訊號轉換的處理。

反應槽係由兩塊大小為 45 mm×30 mm×10 mm 的壓克力立方體所組成，其中一塊中心部分有一長 18 mm 寬及深皆為 2 mm 的凹槽以放置菌種，容積約為 72 mm³。反應槽亦有進出流的管路，皆為直徑 1 mm 的流道 (圖 4)。

本研究採反應槽與感測器分離的架構，此法可以針對不同的廢水選用不同的反應槽，而不需替換整個感測器部分，再配合流動注射分析系統 (FIA) 的流道設計。如在系統上接上不同的反應槽，僅需要切換至不同菌種之流道，便可以針對不同的廢水作檢測，增加使用的方便性。

2. 菌種及進流基質

本研究之菌種採用苗栗縣造橋鄉平順豬場好氣池之污泥混合液，於實驗室好氣槽中培養，槽中溫度維持在 30±1℃，曝氣則採開 2 小時停止 1 小時的方式。進流基質為豬糞尿原廢水，並由預先量測的結果將 COD 濃度調至約 1,000 mg/L，當菌種馴養達到穩定狀態

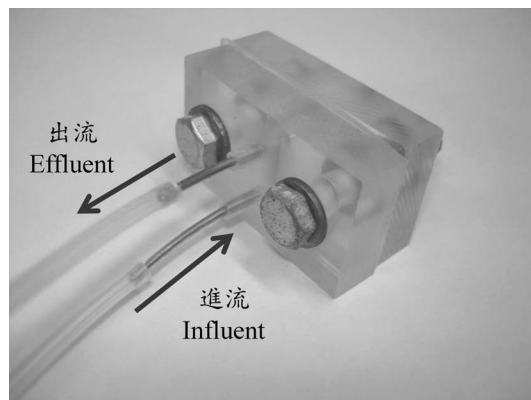


圖 4 反應槽

Fig.4 Reactor

後，取 20 mL 混合污泥，以離心機在 3,000 rpm 離心 20 分鐘，將固形物取出並與 0.1M 磷酸鹽緩衝溶液 (Phosphate buffer, PB) 混合至 20 mL，再重複一次離心步驟，除去上澄液後取出濃縮之菌種，然後將濃縮後之菌種置入前述之反應槽中 (圖 4)。

本研究使用的測試樣品有人工廢水及豬糞尿廢水。人工廢水為實驗室配置的 GGA (Glucose-glutamic acid solution)，以 150 mg 葡萄

糖(Glucose)及 150 mg 麩胺酸(Glutamic acid)混合蒸餾水至 1 L 配置而成(Liu et al., 2000), 其 BOD_5 約為 198 mg/L。實際廢水則是採用前述平順豬場的廢水, 其 BOD_5 約為 125 mg/L。GGA 及實際廢水皆作為校正感測器用的標準溶液, 利用這兩種廢水分別建立預測未知廢水的標準曲線。而另外作為樣本的廢水則是取自平順豬場好氣反應槽的放流水, 其 BOD_5 約為 200 mg/L, 在進行檢測之前皆先存放於溫度控制在 $4 \pm 1^\circ\text{C}$ 的冷藏室中保存。為避免水中懸浮物造成管路阻塞, 影響電極的響應, 備製廢水時都先以過濾前處理(濾紙型號為 Whatman W1001-110, 大小為 100 mm ϕ , 孔隙度為 11 μm), 除去水中懸浮固體, 因此本研究僅探討可溶性生化需氧量的檢測。

3. 流動注射分析系統 (FIA)

實驗系統所用的流體運送方式為流動注射分析系統(FIA), 系統包括微量幫浦(SMP-23S, Eyela, Japan)、多向閥(Model 5020 Valve, Supelco, USA)、矽膠管(OD 3 mm, ID 1 mm, Tygon, USA)。微量幫浦流速為 30 mL/h, 並利用多向閥切換樣本流道, 進行不同樣本的檢測, 多向閥構造如圖 5 所示。

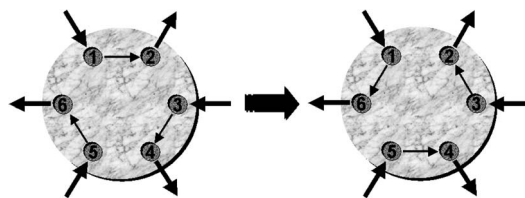


圖 5 多向閥構造

Fig.5 Structure of the multi-channel valve

(二) 實驗方法

1. 系統作用

感測器的工作電極在進行實驗前需作前處理, 除保持表面的清潔外, 並在表面塗上一層 20 μL 的 Nafion 薄膜後再安裝到感測器上, Nafion 可以防止帶負電荷的干擾、去除雜訊, 使電極的訊號更穩定, Nafion 的製備係將濃度 5% 的 Nafion 溶液以 1:10 的比例與甲醇混合。

將感測器、定電壓電流儀、反應槽與 FIA 系統連接, 整個實驗系統配置如圖 6 所示。系統在檢測前先以 Phosphate buffer (PB) 作為載流體, 微量幫浦以 30 mL/h 的流速輸送, 定電壓

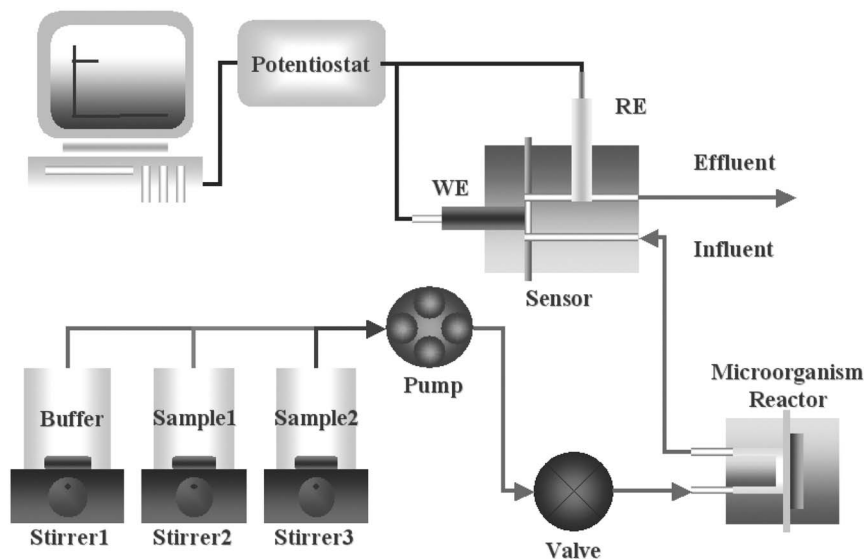


圖 6 實驗系統配置圖

Fig.6 Schematic diagram of experimental layout

電流儀施以 -0.6 V 的電壓，並讓系統之電流值維持穩定，以使電極表面達到穩定的工作狀態，接著再將多向閥切換至待測廢水之流道進行檢測。待測廢水經多向閥切換至反應槽，與微生物反應後再送至感測器，從電極所獲得的訊號變化再加以分析。定電壓電流儀除提供 -0.6 V 的電壓外，並記錄電極的訊號，利用 RS232 傳至個人電腦進行分析及處理。反應槽置於 $30\pm 1^\circ\text{C}$ 的恆溫水浴中，使微生物維持在適當的工作溫度。

2. 實驗步驟

待測廢水與 PB 以 1:1 的比例先行混合後才作檢測，開始時電流訊號會緩緩下降，等訊號到達另一穩定值時(End point)，再切回原來的 PB 流道，使整個系統恢復到初始狀態，並且清洗流道以免有雜質殘留，接著再進行下一個樣品的檢測。每一個樣品的檢測在起始點和到達穩定值的終點都可得到一電流差值即 ΔI ，實驗時須記錄每一個樣品的 ΔI 並討論分析。

待測廢水可分為人工廢水 GGA 以及實際廢水兩種，GGA 分別配製 BOD_5 為 20、40、

60、80、100 及 120 mg/L 等六種不同濃度的人工廢水。分別利用 BOD 感測器作檢測，並記錄不同濃度的 ΔI 值，利用此數據建立一關係式，作為標準曲線用。實際豬場廢水也分別配製 BOD_5 為 25、50、75、100、125 mg/L 等五種不同濃度，並以相同的方法建立另一標準曲線，同時比較以不同的標準曲線所求得數值的差異。

3. 分析方法

(1) 化學分析

本研究所量測各樣本之 BOD 係採用 WTW BOD 分析儀(BSB 1020T WTW, Germany)，及數位式 BOD 偵測頭(Closing cap)。

(2) 訊號分析

實驗中所得到的電流值與時間的相關曲線，分別以終點法(End point measurement)、固定時間法(Constant time measurement)、斜率法 I (Quasi-kinetic measurement I) 及斜率法 II (Quasi-kinetic measurement II) 等四種方法作分析，以找出較好的方法來作為預測 BOD 值的依據，圖 7 所示為四種電流變化分析方法的示意圖(陳，2002；蔣，2005)：

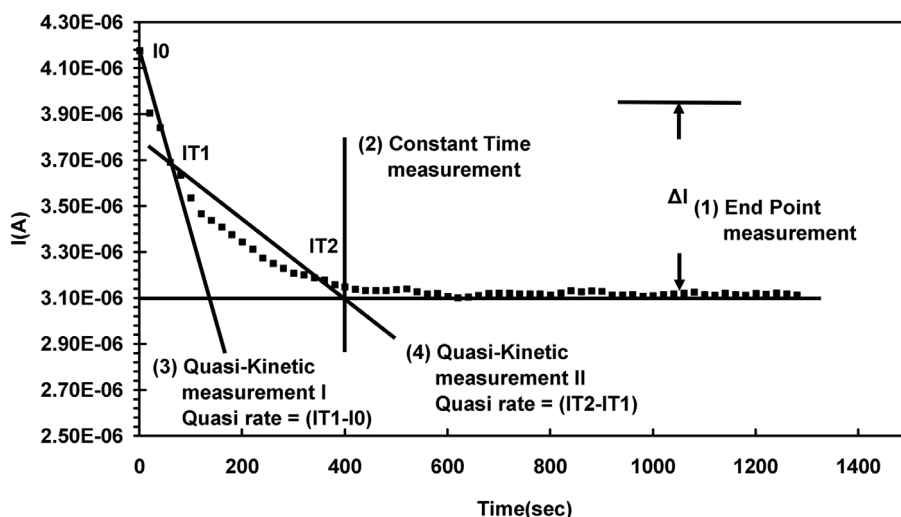


圖 7 分析方法：(1)終點法，(2)固定時間法，(3)斜率法 I，(4)斜率法 II (陳，2002；蔣，2005)

Fig.7 Analysis methods: (1) end point measurement, (2) constant time measurement, (3) quasi-kinetic measurement I, (4) quasi-kinetic measurement II (陳，2002；蔣，2005)

①終點法 (End point measurement)

感測器初始穩定狀態時的電流值與量測待測廢水最終穩定的電流值兩者之間的差即為 ΔI ，以此電流差值作為檢測依據。

②固定時間法 (Constant time measurement)

量測待測廢水時，選定一特定量測時間，測量當時的電流值與初始穩定電流之差。此法可以節省時間，因終點法須等反應完全穩定，所耗時間過長。

③斜率法 I (Quasi-kinetic measurement I)

量測反應開始時線性部分的斜率($\Delta I / \Delta t$)，由於之前的觀察在 100 秒之後，電流曲線的斜率變化漸緩，因此實際量測是以初始的電流值(I_0)和 100 秒時所測得的電流值(I_{100})的差值當做此部份的斜率。因檢測不同濃度的廢水所得到的電流變化亦不同，濃度越高的廢水反應越迅速，因此為節省時間可以採用斜率法的方式作為檢測的依據。

④斜率法 II (Quasi-kinetic measurement II)

此法為量測反應曲線斜率由初始的最大值變化至零的區間，實際量測時考量須快速獲得結果，因此是以 100 秒和 400 秒所測得電流值（分別為 I_{100} 及 I_{400} ）的差值來求得此區間的斜率。

三、結果與討論

實驗結果依使用的樣品不同可分為兩部分，第一部分是人工廢水 GGA，第二部分是實際的廢水，本研究所採用的是豬場的廢水。

(一) GGA 標準曲線

1. 標準曲線的建立— GGA

圖 8 所示為人工廢水 GGA 在 BOD_5 為 20、40、60、80、100 及 120 mg/L 六種不同濃度的檢測曲線，分別為 GGA20、GGA40、GGA60、GGA80、GGA100 及 GGA120。結果顯示濃度越大時，其電流輸出值越小，而起始點和終點的電流差則愈大。

2. 標準曲線之比較— GGA

圖 9 至圖 12 分別為以終點法、固定時間法、斜率法 I 及斜率法 II 所求得之標準曲線及迴歸方程式，其中圖 10 的固定時間法是以 200、400、600、800 及 1,000 秒所測得的結果。

上述四種方式所得到的迴歸直線皆具有相當高的判定係數(R^2)，其中又以終點法的方程式之 R^2 最高，為 0.9892，表示其最符合做為 GGA 的標準曲線，但因為終點法所需要花費的時間從 1,000~2,500 秒不等，依待測廢水不同所需的時間亦不相同，而且其他方法所

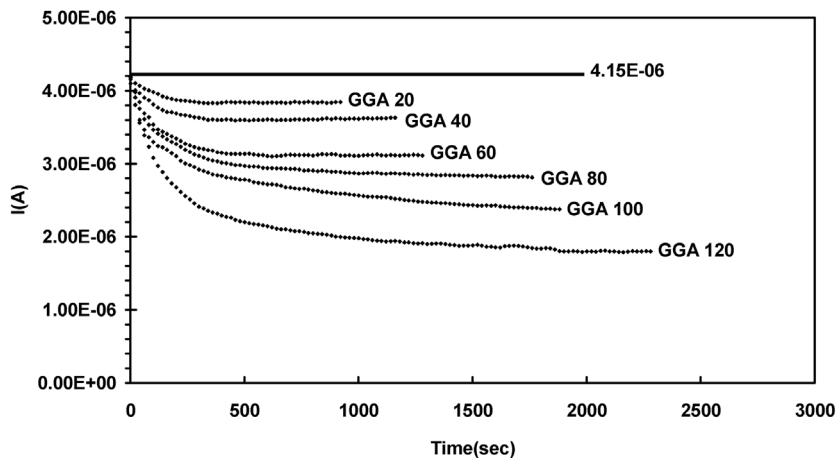


圖 8 不同濃度 GGA 電流變化曲線

Fig.8 Curves of current dynamic change at different GGA concentrations

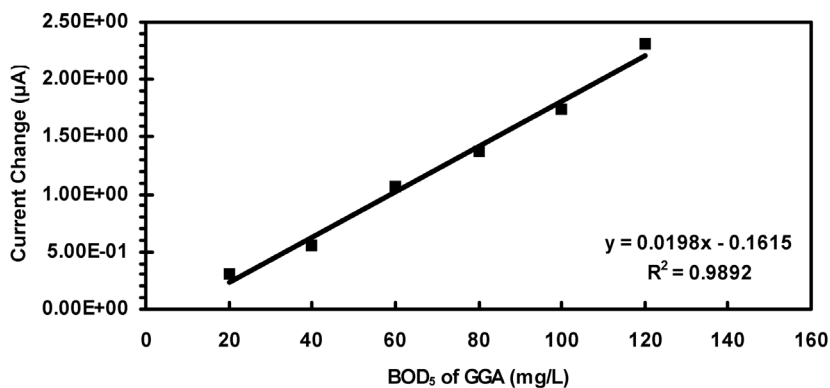


圖 9 GGA 標準曲線—終點法

Fig.9 Standard curve of GGA using end point measurement method

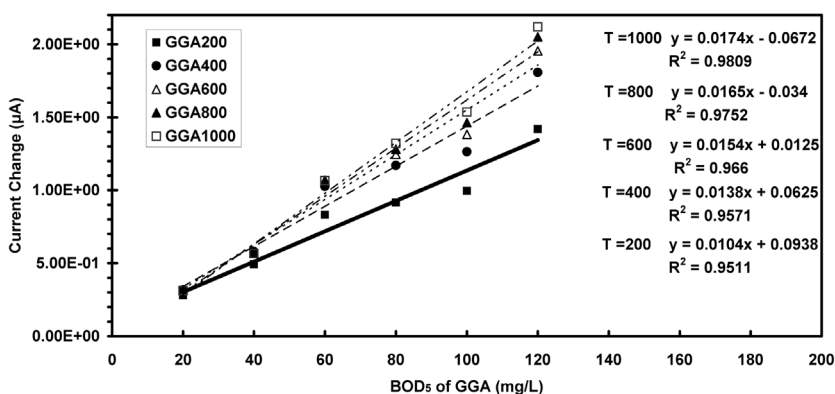


圖 10 GGA 標準曲線—固定時間法

Fig.10 Standard curve of GGA using constant time measurement method

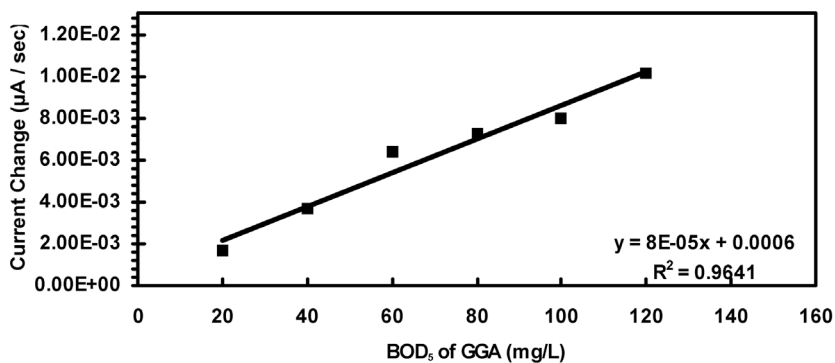


圖 11 GGA 標準曲線—斜率法 I

Fig.11 Standard curve of GGA using quasi-kinetic measurement I method

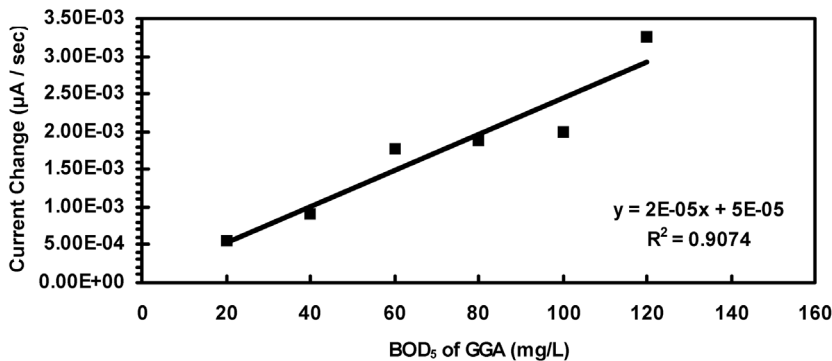


圖 12 GGA 標準曲線—斜率法 II

Fig.12 Standard curve of GGA using quasi-kinetic measurement II method

得到的 R^2 亦很高，因此也可以利用固定時間法或是斜率法來作為量測的依據。

斜率法 I 與斜率法 II 所花的時間皆相當短，斜率法 I 在 100 秒內便可以得到所要的標準曲線，但是因為其採用的方法僅擷取訊號初始的部分區段，容易因外界干擾造成訊號受影響，因此 R^2 較低，約為 0.9641，需要多次的檢測以提高可信度，並避免雜訊造成的誤差。斜率法 II 則需要約 400 秒的時間作檢測，但所得到的 R^2 卻不如斜率法 I 好，僅為 0.9074。

為考慮可信度以及節省時間的因素，固定時間法可以提供較為折衷的標準曲線，即使在最短的 200 秒， R^2 也有 0.9511，故可以利用此方程式作為標準曲線來檢測廢水。

3. GGA 標準曲線檢測養豬廢水

分別以上述的終點法、固定時間法、斜率法 I 及斜率法 II 所得到的標準曲線來檢測豬場之實際廢水，所得到的檢測結果如表 1 所示。從表 1 可發現各標準曲線的推測結果中，終點法及斜率法 II 的誤差分別為 18.7% 以及 -15.7%，固定時間法及斜率法 I 的誤差則為 -9.0% 以及 7.7%，後兩者之誤差較前者為低，因此以人工廢水 GGA 作為標準曲線時，可以採用固定時間法或斜率法 I，皆可以獲得較為準確的預測值。

而比較固定時間法與斜率法 I，固定時間法所需要的檢測時間為 200 秒，斜率法 I 則更

表 1 GGA 標準曲線檢測養豬廢水 BOD 之比較¹
Table 1 Comparison of the swine wastewater BOD measured by GGA standard curves²

方 法 Methods	BOD 預測值 Estimated BOD (mg/L)	誤 差 Error (%)
終點法 End Point	102	18.7
固定時間法 Constant Time	136	-9.0
斜率法 I Quasi-Kinetic I	135	7.7
斜率法 II Quasi-Kinetic II	145	-15.7

¹ 廢水以 WTW BOD 分析儀量測，其值為 125 mg/L

² Swine wastewater was analyzed by a WTW BOD analyzer, and had a value of 125 mg/L

短只需要 100 秒的時間，兩種方法的檢測時間皆相當短，因此都適合作為推測實際廢水 BOD 值之用。

(二) 豬糞尿廢水標準曲線

1. 標準曲線的建立—豬糞尿廢水

圖 13 為平順豬場廢水在 BOD₅ 為 25、50、75、100 及 125 mg/L 五種不同濃度的檢測曲線，分別為 BOD25、BOD50、BOD75、BOD100 及 BOD125。電流輸出的趨勢和以 GGA 為測試樣品一樣，即濃度愈大時，電流輸出值愈小，但是不同濃度間的曲線分隔不如 GGA 來的明顯。

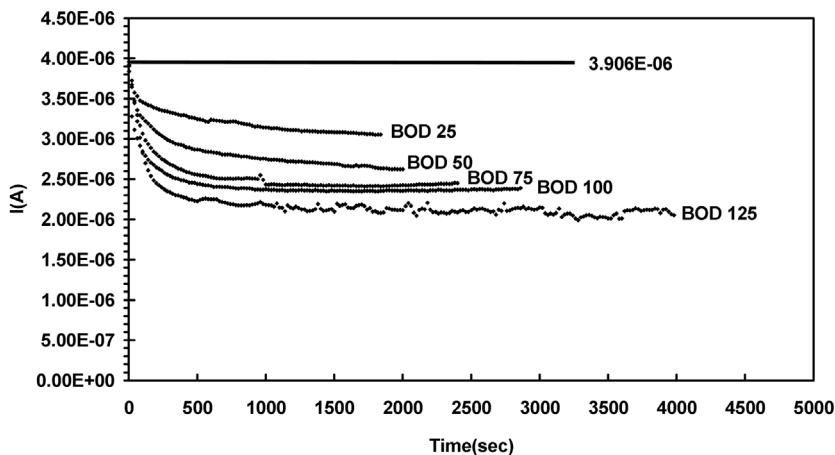


圖 13 不同濃度之養豬廢水電流變化曲線

Fig.13 Curves of current dynamic change at different concentrations of swine wastewater

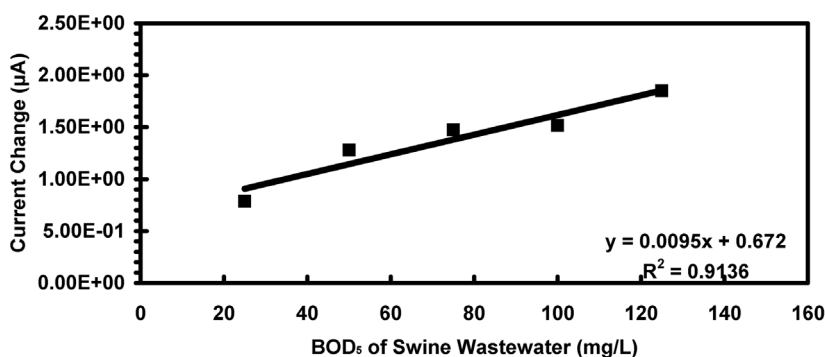


圖 14 實際廢水標準曲線—終點法

Fig.14 Standard curve of swine wastewater using end point measurement method

2. 標準曲線之比較—豬糞尿廢水

圖 14 至圖 17 分別為以終點法、固定時間法、斜率法 I 及斜率法 II 所求得之標準曲線及迴歸方程式，其中圖 15 的固定時間法是以 200、400、600、800 及 1,000 秒所測得的結果。

結果顯示在豬糞尿廢水 BOD 的預測，各方法並沒有明顯的優劣，因為在終點法中所得到的標準曲線，其判定係數 R^2 為 0.9136，而利用固定時間法卻可達 0.9793，斜率法 I 則有 0.9696，最低的則是斜率法 II 所得到的 0.779。

因此對於豬糞尿廢水，終點法、固定時間法以及斜率法 I 皆可以作為檢測之用，但因

為實際廢水中所含物質較為複雜，容易污染電極表面，而造成檢測上的誤差，故在每一次檢測之後，務必要經過 Phosphate buffer 的清洗，以避免累積的雜質干擾造成實驗之誤差。

考慮節省時間以及可信度，固定時間法及斜率法 I 所花費的檢測時間分別只需 200 秒及 100 秒，而且 R^2 達到 0.9793 及 0.9696，故可以利用這兩種方法作為建立豬糞尿廢水標準曲線之用。

3. 豬糞尿廢水標準曲線檢測養豬廢水

由上述使用豬糞尿廢水並以終點法、固定時間法、斜率法 I 及斜率法 II 所得到的標準

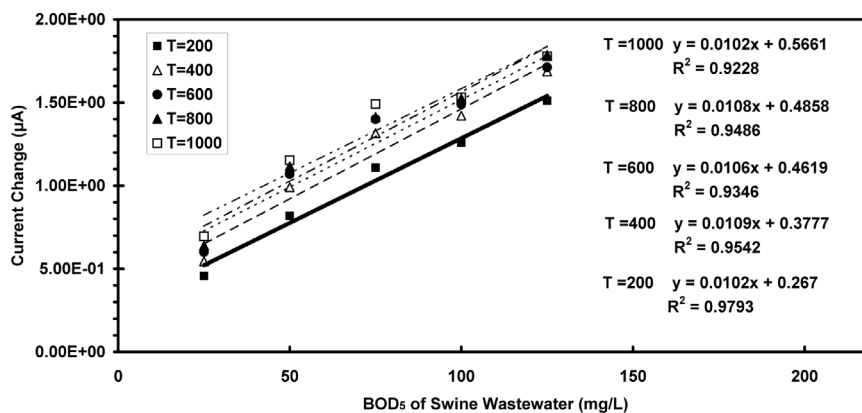


圖 15 實際廢水標準曲線—固定時間法

Fig.15 Standard curve of swine wastewater using constant time measurement method

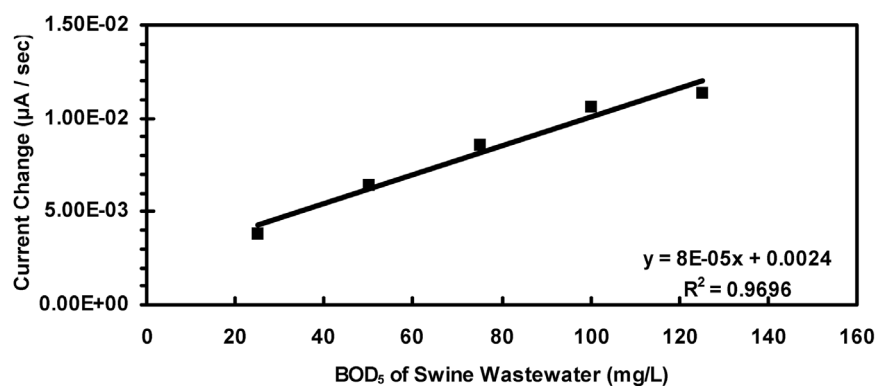


圖 16 實際廢水標準曲線—斜率法 I

Fig.16 Standard curve of swine wastewater using quasi-kinetic measurement I method

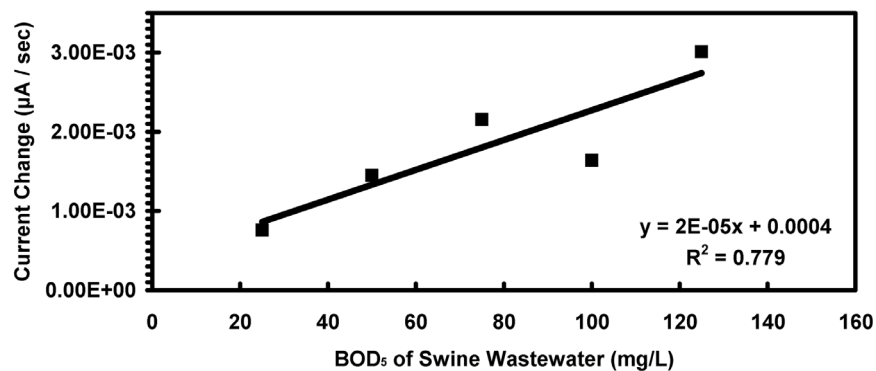


圖 17 實際廢水標準曲線—斜率法 II

Fig.17 Standard curve of swine wastewater using quasi-kinetic measurement II method

曲線來檢測豬場之實際廢水，所得到的檢測結果如表 2 所示。

由表 2 可發現各標準曲線的推測結果中，終點法、固定時間法及斜率法 II 的誤差分別為 0.8%、2.5% 及 -1.7%，斜率法 I 的誤差則為 10.4%。終點法、固定時間法以及斜率法 II 皆可以準確地推測實際廢水的 BOD 值，而斜率法 I 因為檢測時間為最短，因此有較大的誤差

表 2 豬糞尿廢水標準曲線檢測養豬廢水 BOD 之比較¹
Table 2 Comparison of the swine wastewater BOD measured by swine wastewater standard curves²

方 法 Methods	BOD 預測值 Estimated BOD (mg/L)	誤 差 Error (%)
終點法 End Point	124	0.8
固定時間法 Constant Time	122	2.5
斜率法 I Quasi-Kinetic I	112	10.4
斜率法 II Quasi-Kinetic II	127	-1.7

¹ 廢水以 WTW BOD 分析儀量測，其值為 125 mg/L

² Swine wastewater was analyzed by a WTW BOD analyzer, and had a value of 125 mg/L

產生。終點法所花費的時間最久，最能準確預估實際廢水之 BOD 值，所得到的誤差也最低。固定時間法所需要的檢測時間為 200 秒，斜率法 I 則需要 100 秒的時間，兩種方法的檢測時間皆相當短，且誤差亦不大，因此考慮時間因素以及準確性，固定時間法以及斜率法 II 都可以作為推測實際廢水 BOD 值之用。

由於此部份的標準曲線是利用豬糞尿廢水所建立得來的，水質與待測實際廢水較為相近，因此對於預測實際廢水會有較高的準確度。

(三) 豬糞尿廢水標準曲線（兩點校正）

前述係將已預先測知濃度的豬糞尿廢水稀釋成不同濃度而建立之標準曲線，但實際廢水之 BOD 值並不能作等比例的稀釋，與實際 BOD 值會有些誤差，因此另外又取平順豬場的廢水建立兩點校正的標準曲線，採用的廢水 BOD 濃度分別為 50 及 125 mg/L。

圖 18 為以 BOD 50 及 125 mg/L 所得到的檢測曲線，圖 19 至圖 22 則為將圖 18 的檢測曲線再分別以終點法、固定時間法、斜率法 I 及斜率法 II 所得的標準曲線。固定時間法的圖 20，在考慮時間因素後以檢測時間為 200 秒所得的方程式做為

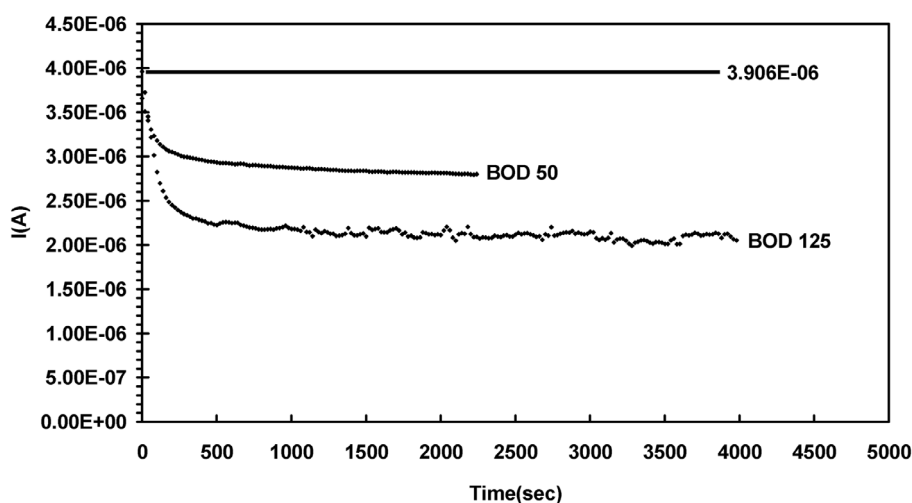


圖 18 不同濃度之養豬廢水電流變化曲線（兩點校正）

Fig.18 Curves of current dynamic change at different concentrations of swine wastewater (dual points calibration)

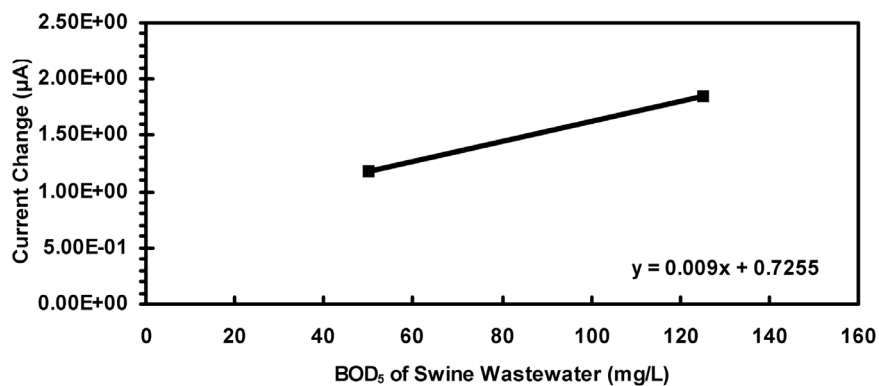


圖 19 實際廢水標準曲線（兩點校正）—終點法

Fig.19 Standard curve of swine wastewater using end point measurement method (dual points calibration)

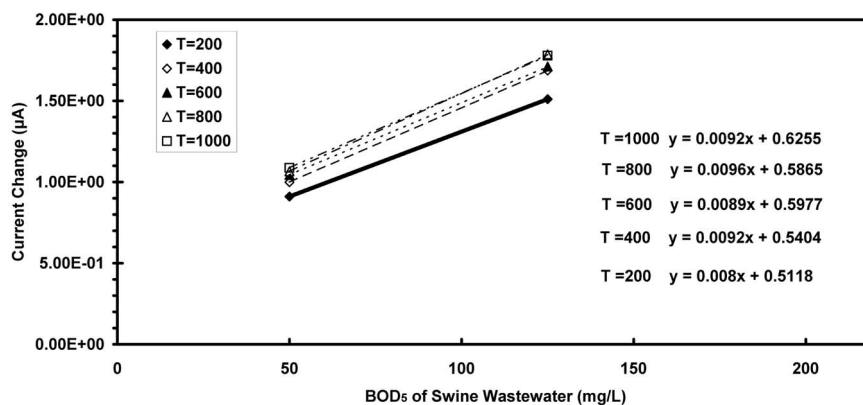


圖 20 實際廢水標準曲線（兩點校正）—固定時間法

Fig.20 Standard curve of swine wastewater using constant time measurement method (dual points calibration)

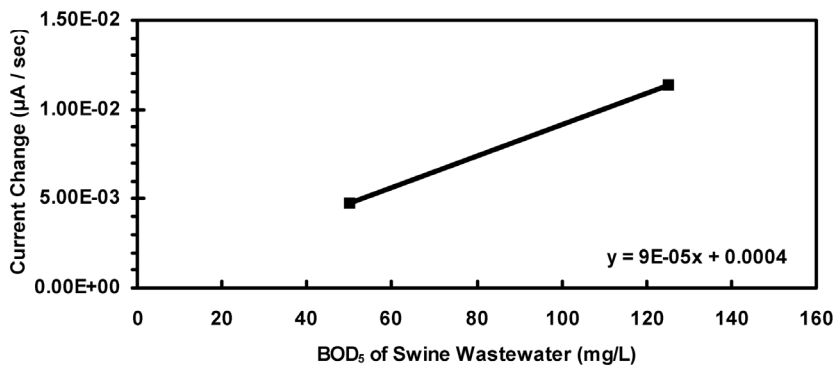


圖 21 實際廢水標準曲線（兩點校正）—斜率法 I

Fig.21 Standard curve of swine wastewater using quasi-kinetic measurement I method (dual points calibration)

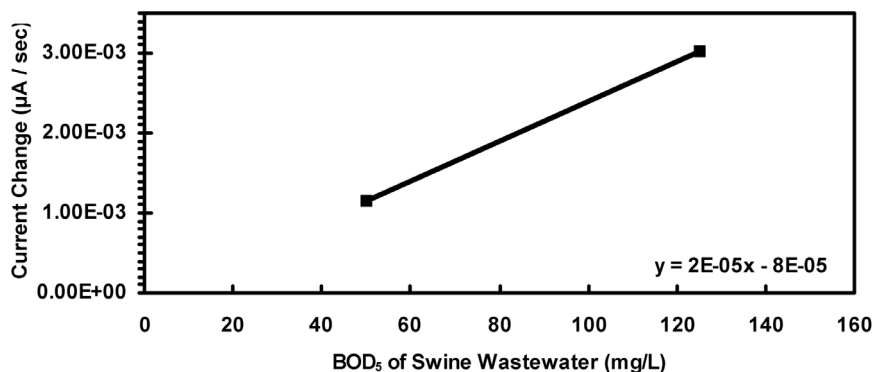


圖 22 實際廢水標準曲線（兩點校正）—斜率法 II

Fig.22 Standard curve of swine wastewater using quasi-kinetic measurement II method (dual points calibration)

檢測之用。此兩點校正試驗時所用的待測樣本係取自雲林縣元長鄉的正鋼種豬場，與建立標準曲線的豬糞尿廢水來源（平順豬場）不同。各方法所得到的檢測結果如表 3 所表示。

從表 3 中可以看出終點法、固定時間法、斜率法 I 皆有相當準確的預測值，誤差分別只有 0.1%、0.2% 及 2.5%，而斜率法 II 則有 -20.9% 的誤差。考慮時間因素及準確性，斜率法 I 因檢測時間最短且誤差亦小，故可以作為檢測實際廢水 BOD 值之用。

四 人工廢水 GGA 與豬糞尿廢水之比較

表 4 所列為利用不同進流基值所建立的標準曲線來推估實際的豬糞尿廢水其所需的檢測時間及誤差值的比較。結果顯示豬糞尿廢水所建立的標準曲線在終點法和固定時間法有較高的準確度，但是斜率法（I 及 II）則互有優劣。不過若考量準確度高且檢測時間短，則應以固定時間法最適合應用在實際的檢測。

而表 4 所列固定時間法的誤差值，GGA 為 -9.0%，豬糞尿廢水為 2.5%，兩點校正的豬糞尿廢水為 0.2%，此一結果雖然證實豬糞尿水檢測的結果較 GGA 為佳，但因人工廢水配製方便，且較容易控制其濃度，仍可以作為建立標準曲線之用。豬糞尿廢水因有微生物的作用，水中的營養物容易被分解，造成其 BOD₅ 值的不穩定，而人工廢水則較沒有此方面的困擾，可以提供穩定

表 3 豬糞尿廢水標準曲線檢測養豬廢水（兩點校正）¹Table 3 Comparison of the swine wastewater BOD measured by swine wastewater standard curves (dual points calibration)²

方 法 Methods	BOD 預測值 Estimated BOD (mg/L)	誤 差 Error (%)
終點法 End Point	124.93	0.1
固定時間法 Constant Time	124.81	0.2
斜率法 I Quasi-Kinetic I	121.83	2.5
斜率法 II Quasi-Kinetic II	151.11	-20.1

¹ 廢水以 WTW BOD 分析儀量測，其值為 125 mg/L

² Swine wastewater was analyzed by a WTW BOD analyzer, and had a value of 125 mg/L

的標準水樣，因此人工廢水標準曲線的建立仍不失為可行的檢測方法。Liu et al. (2000) 以及 Liu and Mattiasson (2002) 的研究結果也顯示特定廢水的標準曲線較人工廢水的檢測結果來得好，不過由於人工廢水配製較容易，因此多數研究仍採用人工廢水。

綜合以上所述，為求得更為準確的水質檢測，在檢測廢水之前可先以水質相近的廢水作一標準曲線，再以此標準曲線來檢測廢水，如此可以得到更為準確的結果。

表 4 不同進流基質之標準曲線推估豬糞尿廢水 BOD 所需檢測時間及誤差值之比較
Table 4 Comparison of testing time and errors to estimate BOD of swine wastewater by using standard curves derived from different substrates

方 法 Methods	GGA		豬糞尿廢水 swine wastewater		豬糞尿廢水（兩點校正） dual points calibration	
	檢測時間 Measuring time (s)	誤 差 Error (%)	檢測時間 Measuring time (s)	誤 差 Error (%)	檢測時間 Measuring time (s)	誤 差 Error (%)
終點法 End Point	900-2300	18.7	180-4000	0.8	2300-4000	0.1
固定時間法 Constant Time	200	-9.0	200	2.5	200	0.2
斜率法 I Quasi-Kinetic I	100	7.7	100	10.4	100	2.5
斜率法 II Quasi-Kinetic II	400	-15.7	400	-1.7	400	-20.9

四、結 論

本研究利用生物感測器針對實際廢水之生化需氧量作檢測，分別從不同的樣本廢水取得的標準曲線作量測及分析，所得結論如下：

對於傳統測量 BOD 方法，本研究可以提供較為迅速的檢測方式，最短僅需 100 秒，便可以得到水質檢測的結果。此外，本研究所提供便利且快速的檢測系統，可作為線上即時監測之用，且利用固定時間法以 200 秒的檢測時間所獲得的結果，在實際的應用及準確度皆可符合需求。

以豬糞尿廢水及人工廢水 GGA 所得到的標準曲線可以針對實際豬場廢水作檢測，以固定時間法相同的檢測時間（200 秒）做比較，GGA 的誤差值為 9.0%，豬糞尿廢水為 2.5%，兩點校正的豬糞尿水則為 0.15%，豬糞尿水明顯較人工廢水 GGA 為佳。因此，針對不同的廢水可以採用性質較為相近的水樣作標準曲線，可以得到較為準確的檢測結果。

由於本研究實際做為檢測的廢水為豬糞尿廢水，雖然進流水樣已先行做過濾的動作，但其水質仍帶有高度的油垢，容易造成電極表面的污染，因此在每一次的檢測動作之後，務必要經過 Phosphate buffer 的沖洗，以避免累積的雜質干擾

造成實驗之誤差。而本研究所設計之感測器僅針對可溶性的生化需氧量做檢測，水樣需進行過濾前處理。

五、致 謝

本研究承行政院農委會 92 農科-6.1.2-牧-U1 (2)計畫之經費補助、台大生機系陳力騏博士及鄭宗記博士提供寶貴意見，特此誌謝。

六、參考文獻

1. 陳冠宏。2002。可攜式微生物毒性感測器：不同好氧桿菌對廢水毒性反應與判讀方法之比較。碩士論文。中壢：私立中原大學醫學工程研究所。
2. 陳國誠。1996。廢水生物處理學。3rd ed.。台北：茂昌。
3. 蔣志德。2005。生化需氧量感測系統之研發。碩士論文。台北：國立台灣大學生物產業機械工程研究所。
4. APHA/WEF/AWWA. 1992. Standard methods for the examination of water and wastewater. 18th ed., eds. Arnold E. Greenberg, Lenore S. Clesceri

- and Andrew D. Eaton., Washington, D.C. : American Public Health Association.
5. Brinker, C. J. and G. W. Scherer. 1990. Sol-Gel processing: The physics and chemistry of sol-gel processing. San Diego, CA: Academic Press. 928 pp.
6. Chan, C. Y., M. Lehmann, K. Tag, M. Lung, G. Kunze, K. Riedel, B. Gruendig and R. Renneberg 1999. Measurement of biodegradable substances using the salt-tolerant yeast *Arxula adeninivorans* for a microbial sensor immobilized with poly (carbamoyl) sulfonate (PCS) part I: construction and characterization of the microbial sensor. *Biosens. Bioelectron.* 14(2): 131-138
7. Chan, C. Y., M. Lehmann, K. Chan, P. Chan, C.W. Chan, B. Gruendig, G. Kunze and R. Renneberg. 2000. Designing an amperometric thick-film microbial BOD sensor. *Biosensor and Bioelectronics.* 15 (7-8): 343-353.
8. Clark, L. C. Jr. and C. Lyons. 1962. Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 102: 29-45.
9. Clark, L. C. and E. W. Clark. 1987. A personalized history of the Clark oxygen electrode. *Int. Anesthesiol. Clin.* 25(3): 1-29.
10. Dong, S., B. Li and B. Wang. 1997. Fabrication of biosensors based on sol-gel organic-inorganic hybrid material. *China Pat.: CN 97117266.8.*
11. Galindo, E., J. L. Garcia, L. G. Torres and R. Quintero. 1992. Characterization of microbial membranes used for the estimation of biochemical oxygen demand with a biosensor. *Biotechnology Techniques.* 6(5): 399-404.
12. Harwood, G. W. J. and C. W. Pouton. 1996. Amperometric enzyme biosensors for the analysis of drugs and metabolites. *Advanced Drug Delivery Reviews.* 18(2): 163-191.
13. Harita, K., Y. Otani, M. Hikuma and T. Yasuda. 1985. BOD quick estimating system utilizing microbial electrode. In "Proc. of Instrumental Control, Water, Waste-Water Treatment Transport System", IAWPRC Workshop 4: 529-532.
14. Hench, L. L. and J. K. Valentine. 1990. The sol-gel process. *Chem. Rev.* 90(1): 33-72.
15. Hikuma, M., H. Suzuki, T. Yasuda, I. Karube and S. Suzuki. 1979. Amperometric estimation of BOD by using living immobilized yeast. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 8(4): 289-297.
16. Jia, J., B. Wang, G. Cheng and S. Dong. 2002. A method to construct a third generation horseradish peroxidase biosensor: self-assembling gold nanoparticles to three dimensional sol-gel network. *Anal. Chem.* 74(9): 2217-2223.
17. Karube, I., S. Matsunaga and S. Suzuki. 1977. Microbial electrode BOD sensors. *Biotechnol. Bioeng.* 19(10): 1535-1547.
18. Karube, I. and M. Suzuki. 1990. Microbial biosensors. In: "Biosensor-A Practical Approach", Cass, E.A.G. (Ed.). Oxford: IRL Press, pp. 155-169.
19. Kulys, J. J. and K. V. Kadziauskiene. 1980. Yeast BOD sensor. *Biotechnol. Bioeng.* 22(1): 221-226.
20. Lehmann, M., C. Chan, A. Lo, M. Lung, K. Tag, G. Kunze, K. Riedel, B. Gruendig and R. Renneberg. 1999. Measurement of biodegradable substances using the salt-tolerant yeast *Arxula adeninivorans* for a microbial sensor immobilized with poly (carbamoyl) sulfonate (PCS): part II: application of the novel biosensor to real samples from coastal and island regions. *Biosens. Bioelectron.* 14(3): 295-302.
21. Li, F., Tan, T. C. and Lee, Y. K. 1994. Effects of pre-conditioning and microbial composition on the sensing efficacy of a BOD biosensor. *Biosens. Bioelectron.* 9(3): 197-205.
22. Liu, J., L. Björnsson and B. Mattiasson. 2000. Immobilized activated sludge based biosensor for biochemical oxygen demand measurement. *Biosens. Bioelectron.* 14(12): 883-893.
23. Liu, J. and B. Mattiasson. 2002. Microbial BOD sensors for wastewater analysis. *Water Res.* 36 (15): 3786-3802.

24. Riedel, K., R. Renneberg, M. Kuhn and F. Scheller. 1988. A fast estimation of biochemical oxygen demand using microbial sensors. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 28(3): 316-318.
25. Tan, T. C., F. Li and K. G. Neoh. 1993. Measurement of BOD by initial rate of response of a microbial sensor. *Sensors and Actuators B: Chemical.* 10(2): 137-142.
26. Updike, S. J. and G. P. Hicks. 1967. The enzyme electrode. *Nature.* 214(92): 986-988.
27. Walcarius, A. 2001. Electroanalysis with pure, chemically modified and sol-gel derived silica-based materials. *Electroanalysis.* 13(8-9): 701-718.
28. Xu, Jing-Juan, Zhi-Hao Yu and Hong-Yuan Chen. 2002. Glucose biosensors prepared by electropolymerization of p-chlorophenylamine with and without Nafion. *Analytica Chimica Acta.* 463(2): 239-247.

收稿日期：2006 年 2 月 5 日

修改日期：2006 年 2 月22 日

接受日期：2006 年 2 月24 日