doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2018.S0.056

畜禽粪便高温快速发酵装备设计与试验

袁兴茂 范国昌 陈 林 高清海 张秀平 张亚振 (河北省农林科学院农业机械化研究所,石家庄 050051)

摘要:针对传统有机肥发酵方式设施设备简陋、效率低、能耗高、发酵不彻底且容易造成固液气环境二次污染的问题,设计了一种畜禽粪便高温快速发酵装备。简述了畜禽粪便全封闭快速自动化腐熟工艺流程及工作原理,对发酵装备的整机结构、发酵罐主体结构、搅拌系统等关键部件进行了设计、计算及有限元分析。结合发酵工艺要求,以含水率为55%的牛粪为原料,对罐体内物料温度分布及均匀性进行了试验分析,并对发酵产物进行了测试。试验与测试结果表明:在设备入料后第4天,罐体内物料平均温度为64.81℃,温度均匀性变异系数为1%;经发酵装备生产出的有机肥有机质质量分数为53.5%、总养分质量分数为5.36%、蛔虫卵死亡率为100%、粪大肠菌群数在2个/g以内,均达到国家有机肥料行业标准。

关键词:畜禽粪便;有机肥;高温快速发酵;发酵罐;有限元分析

中图分类号: X713 文献标识码: A 文章编号: 1000-1298(2018) S0-0413-06

Design and Experiment of High Temperature and Rapid Fermentation Equipment for Livestock and Poultry Excrement

YUAN Xingmao FAN Guochang CHEN Lin GAO Qinghai ZHANG Xiuping ZHANG Yazhen (Institute of Agricultural Mechanization Research, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Shijiazhuang 050051, China)

Abstract: In order to overcome the shortcomings of traditional manure fermentation modes, such as equipment simple, low efficiency, high energy consumption, untotal fermentation and secondary pollution, a new kind of equipment with high temperature and rapid fermentation for livestock and poultry excrement was developed. The operational principle and process flow of the equipment were introduced. The overall unit and the key parts such as major structure and mixing system were designed, calculated and analyzed by using finite element method. According to the requirement of fermentation process, using cow dung with water content of 55% as raw material, the temperature distribution and uniformity of the material in the tank was tested and analyzed, and the fermentation product was also tested. Experiment and test results showed that the whole fermentation process from incoming to outgoing materials lasted nine days, and the equipment consumed 1 021 kW · h, in the fourth day after the cow dung was put into the tank, the average temperature of materiel in the tank was 64.81°C, and the temperature uniformity coefficient of variation was 1%; the mass fraction, nutrient content and death rate of lumbricoid egg of produced organic fertilizer was 53.5%, 5.36% and 100%, respectively; the number of fecal coliforms fecal was less than two per gram. All of those indices met the requirement of national standard of organic fertilizer industry. The research result provided reference for the research and development of high temperature and fast fermentation equipment for animal manure.

Key words: livestock and poultry excrement; organic fertilizer; high temperature rapid fermentation; fermentation tank; finite element analysis

0 引言

随着产业结构的调整和畜禽养殖业的不断发

展,规模化、集约化养殖场逐年增加,推动了我国畜 牧业现代化进程,但也导致了畜禽粪便排放密度的 增加,大量粪便等废弃物对养殖环境的空气、土壤、

收稿日期: 2018-07-10 修回日期: 2018-08-23

基金项目:河北省财政专项(494-0402-YSN-962W)

作者简介:袁兴茂(1985—),男,助理研究员,主要从事农业机械化及其自动化研究,E-mail: hsyuanxingmao@163.com

通信作者:范国昌(1963—),男,研究员,主要从事现代农业机械关键技术及装备研究,E-mail: fgch0119@ sina. com

水质等造成了严重污染^[1-3]。

第一次全国污染源普查动态更新数据显示,规 模化畜禽养殖粪便年产量 2.43 亿 t,尿液年产量 1.63 亿 t,2010 年我国畜禽养殖业主要水污染物排 放量中化学需氧量、NH₃-N 排放量分别是当年工业 源排放量的 3.23、2.3 倍,分别占全国污染物排放总 量的 45%、25%,已成为环境污染的主要来源^[4-6]。

畜禽粪便传统发酵生产有机肥技术含量低,质 量参差不齐,槽式和堆置发酵方式占地面积大,臭味 大,除臭成本高^[7]。因缺乏标准化管理,时常出现 发酵不彻底造成肥料烧苗现象。同时规模养殖场、 有机肥厂畜禽粪便处理工艺落后、设施简陋,环境污 染严重,急需工艺和设备创新。

为此,本文提出一种畜禽粪便高温快速发酵装备的设计方案,通过畜禽粪便全封闭快速自动化腐熟工艺,使废弃物中的有机质进行快速生物分解、发酵,转化成有机肥料,最终实现有机废物的资源化利用,解决畜禽养殖污染问题^[8]。

1 总体设计

1.1 畜禽粪便全封闭快速自动化腐熟工艺

将畜禽粪便等有机废弃物与生物质(含水率 55%~65%)、生物发酵菌群混合,通过对发酵环境 温度、水分、需氧量的调节,使废弃物中的有机质进 行快速生物分解、发酵,7~10d转化成有机肥料,同 时对发酵产生的废气进行收集处理,达标后排放,最 终实现资源化利用^[9]。畜禽粪便全封闭快速自动 化腐熟工艺如图1所示。





1.2 畜禽粪便高温好氧发酵罐结构设计与工作原理

畜禽粪便高温好氧发酵罐是将畜禽粪便、秸秆 等有机废物进行高温好氧发酵的一体化设备,主要 由发酵罐体系统、液压传动系统、主轴搅拌系统、上 料系统、加热系统、送氧系统、尾气处理系统及控制 系统组成。高温好氧发酵罐结构示意图如图 2 所 示。

高温好氧发酵罐工作过程分为升温、持续高温、 降温3个阶段。调配好的物料进入发酵罐内,在微



图 2 畜禽粪便高温好氧发酵罐结构示意图 Fig. 2 Structure diagram of high temperature aerobic

fermentation tank in livestock and poultry excrement 1. 控制系统 2. 尾气处理系统 3. 观察及防护装置 4. 上料系 统 5. 发酵罐系统 6. 主轴搅拌系统 7. 液压传动系统 8. 加 热系统 9. 送氧系统

生物菌剂的作用下,1~2d内快速分解,自身分解 产生的热量再加上设备辅助加热系统将电加热空气 向罐体内曝气的作用,物料温度快速升高,最高达到 80℃;在主轴搅拌系统、加热系统、送氧系统、控制系 统协同工作的作用下,发酵罐内物料处于最佳发酵 环境,温度维持在60~70℃,持续5~6d,使物料充 分发酵分解;当分解速度逐渐减慢时,温度开始下 降,经1~2d温度降至40℃左右,物料发酵完毕;整 个发酵过程持续7~10d,底层物料在搅拌轴的作用 下通过出料口进行出料,上料系统再向发酵罐内补 充原料,以此循环运行。

2 关键部件设计与分析

根据发酵工艺要求和工作条件,畜禽粪便高温 好氧发酵罐的设计要求为:发酵形式为好氧发酵;结 构形式为立式;发酵罐有效容积为 30 m³;入料含水 率在 55% ~65% 之间。

2.1 发酵罐主体外形尺寸设计

物料在发酵过程中会产生气体,因此物料不能 全部装满,罐体容积为

$$V = \frac{V_{\rm e}}{\eta} \tag{1}$$

式中 V——罐体容积,m³

η——物料填充系数,取 0.95

V.---罐体有效容积,m3

求得 V = 31.6 m³, 取罐体容积 V 为 32 m³。

发酵罐体需保温并耐腐蚀,罐体结构设计为 5 层分段式圆柱结构,其中最底层为机械室,各层之 间用螺栓连接,罐体设计为双壁结构,两壁间填充保 温材料,内壁选用 304 号不锈钢,外壁选用普通碳素 结构钢。罐体尺寸满足公式

$$V = \pi \left(\frac{D}{2}\right)^2 H \tag{2}$$

式中 D——罐体内径,m

H----罐体高度,m

发酵罐高径比为 1.7~2.5、并考虑到罐体稳定 性,选取高径比为 1.2^[10]。则 *D* 为 3.2 m,*H* 为 4 m, 机械室高度 1 m。则罐体总高为 5 m。

2.2 发酵罐罐体结构设计与分析

2.2.1 最小壁厚设计

储料顶面为平顶时的侧压力 p 为^[11]

$$p = (1 - kf) k\rho gz \tag{3}$$

$$k = \frac{1 - \sin\phi}{1 + \sin\phi} \tag{4}$$

$$f = \tan \alpha$$
 (5)

- 式中 k——侧压力系数
 - f----储料与仓壁的摩擦因数
 - ρ----储料密度,kg/m³
 - g——重力加速度, m/s^2
 - ϕ ——储料的内摩擦角,(°)
 - α——储料的外摩擦角,(°)
 - z-----距离储料顶面的深度,m

堆肥內摩擦角的正切值 tanφ 随着含水率的减 小而增大,含水率在 49.21%时,tanφ 为 0.059 1;含 水率在 51.15%时,tanφ 为 0.048 1^[12];设备要求 物料含水率为 55% ~ 65%,按含水率为 55%计, 堆肥內摩擦角的正切值 tanφ 取 0.04,可得内摩擦 角 φ 约为 2.29°。外摩擦角通常为 0~1 倍的内摩 擦角^[13],取外摩擦角 α 为 1.145°~2.29°;储料密 度 ρ 取620.82 kg/m³;g 取 9.8 m/s²;发酵罐料仓高 度为 4 m,则 k = 0.92, f = 0.02 ~ 0.04, p = 21.57 ~ 21.98 kPa。

发酵罐壁厚计算公式^[14]为

$$\delta = \frac{pD}{2\varphi[\sigma] - p} \tag{6}$$

式中 φ——焊接接头系数

- δ ——发酵罐壁厚,mm
 - $[\sigma]$ ——材料的许用应力, MPa

罐体内壁选用 304 号不锈钢,许用应力[σ] = 137 MPa^[15], ϕ 取 0.5°。将式(3)计算得到的 p 代入式(6),计算得最小壁厚 δ = 0.5 mm,考虑到不锈钢板的厚度负偏差及焊合工艺,内壁选用厚度为 1 mm 的 304 号不锈钢板。外层碳钢不承受侧压力,主要承受上层罐体的重力,选用 6 mm 普通碳素结构钢板。罐体结构如图 3 所示。



图 3 罐体结构示意图

Fig. 3 Structure diagram of tank body 1.保温材料 2.外壁支撑板 3.连接环板 4.外壁 5.内方管 6.内壁

2.2.2 罐体强度分析

罐体主要受物料侧压力外,还承受上方3层罐体的重力载荷,由式(3)可知,最底层内壁受物料侧压力最大,为21.98 kPa,上方3层罐体重力载荷为14.7 kN。将建立的三维模型进行有限元分析,对有限元模型施加约束条件和载荷,并进行求解运算,罐体有限元分析应力分布和位移云图如图4 所示。



由图 4 可知,罐体变形最大位置在内壁接口处, 为 0.14 mm,罐体所受的最大应力分布在内壁下端 与内方管焊接处,为 16.09 MPa。取安全系数为 1.5,经查,304 号不锈钢板屈服强度为 205 MPa 以 上,远大于罐体所受的最大应力,罐体强度能够满足 工作要求。

其中

2.3 搅拌系统与供氧系统设计与分析

为保证物料好氧发酵充分、均匀,罐体内需供氧 并搅拌,供氧系统与搅拌系统应一体设计。空气加 热后由鼓风机将其送入搅拌轴腔体,搅拌系统由液 压系统驱动,搅拌的同时将氧气送入罐体内。供氧 路线如图 5 所示。



2.3.1 叶片结构设计

搅拌系统与供氧系统相连通,主要作用是:搅拌 物料混合均匀并使其与氧气充分接触,使发酵更彻 底;将供氧系统提供的氧气输送到罐体内,保证粪便 发酵的需氧量;调节罐内温度、氧气浓度;出料时能 辅助设备出料。

单根搅拌轴每旋转 360°,物料沿轴向行程不小 于搅拌筒轴向空间长度。若以 n 表示单根轴上搅拌 臂数目(搅拌叶片数目), θ 表示相邻搅拌臂之间的 相位角,则 $n\theta \ge 360^\circ$,一般情况下, $360^\circ \le n\theta \le$ 720°^[16]。

搅拌叶选用推进式搅拌叶,数量5层共12个, 各层叶片数量从下往上依次为3、3、2、2、2。搅拌 叶片为45号钢板焊接后镀锌而成,每层搅拌叶片 均匀分布,进风口端与搅拌轴焊接,第2层与第1 层相邻两个叶片间的相位角为60°,第3层与第2 层相邻叶片间的相位角为30°,第3、4、5 层相邻叶 片间的相位角为60°。其中第1、第2 层后背板上 开有出气孔,为物料提供氧气。搅拌叶三维结构 如图6所示。



图 6 搅拌叶三维结构示意图 Fig. 6 3D model structure diagram of mixing blade

2.3.2 搅拌轴设计

搅拌轴主要受两个力的作用,一是搅拌时受到 阻力与摩擦力 *F*,二是物料重力载荷作用在垂直于 叶片表面的分力载荷 *G*,受力分析图如图 7 所示。

通过公式计算搅拌轴受到的力矩,再计算搅拌 轴的最小直径。搅拌轴在转动过程中需要克服由物 料对叶片产生的摩擦力矩和物料垂直于叶片表面的 重力载荷产生的力矩,每个叶片产生的力矩为



取 $\beta = 30^{\circ}, w = 0.27 \text{ m}, l = 1.6 \text{ m},$ 各层叶片与物 料上平面的距离依次为 $h_1 = 3.6 \text{ m}, h_2 = 3 \text{ m}, h_3 = 2.4 \text{ m}, h_4 = 1.751 \text{ m}, h_5 = 1.13 \text{ m}_{\circ}$ 由式(7)计算搅 拌轴所受总扭矩为 $T = 76402.36 \text{ N} \cdot \text{m}_{\circ}$

搅拌机械中实心轴受弯曲、扭转时,搅拌轴中间 部分的材料并没有得到充分利用,而且增加了设备 重量^[17-18],因此,搅拌轴设计为空心轴,采用 45 号 钢,许用扭转切应力[τ]为 30 MPa,圆轴扭转时的强 度条件为

 $W_t = \frac{\pi (D_s^4 - d^4)}{16D}$

$$\tau_{\max} = \frac{\varphi_f T}{W_t} \leq [\tau] \tag{8}$$

(9)

其中

式中 W.——抗扭截面系数

φ_f----安全系数 *D_s*----搅拌轴外径,mm *d*----搅拌轴内径,mm

 φ_f 取2,许用扭转切应力[τ]为30 MPa,取 $\frac{D_s}{d}$ 为 1.5,计算得 $d \ge 212$ mm,取 d 为 215 mm, D_s 为 325 mm。

搅拌装置主要由搅拌轴、法兰盘、搅拌叶、连接 板组成,搅拌叶片通过连接板与搅拌轴焊接在一起, 搅拌轴设计为3段组合式,每段通过法兰盘连接。 通过计算结果建立搅拌轴系统三维模型,如图8所示。

2.3.3 搅拌轴强度分析

搅拌轴在转动过程承受扭矩为 76 402.36 N·m, 同时还承受物料对每个叶片斜面产生的垂直载荷,

将建立的三维模型进行有限元分析,对有限元模型 施加约束条件和载荷,并进行求解运算,罐体有限元 分析应力分布和位移云图如图9所示。



图 8 搅拌轴三维结构示意图

Fig. 8 3D model structure diagram of mixer shaft



Fig. 9 Finite element analysis of mixer shaft

由图 9 可知,搅拌叶中部向端部逐渐增大,搅拌 轴变形最大位置在搅拌叶端部,最大变形量为 1.26 mm,搅拌轴所受的最大应力分布在扭矩施加 处,为168.23 MPa。经查,45 号钢屈服强度为 355 MPa以上,远大于搅拌轴所受的最大应力,通过 有限元软件计算得出的结果可知,搅拌轴强度能够 满足工作要求。

3 试验分析

3.1 试验条件

根据畜禽粪便全封闭快速腐熟工艺,试验于 2017 年 5 月 20 日在河北省某奶牛养殖场进行,试 验原料为牛粪,含水率为 55%,环境温度 25℃,设备 入料后第 4 天(2017 年 5 月 24 日),设备运行方式 为间歇式运动,运行 20 min,停止 60 min。

3.2 试验方法

对罐体内物料进行垂直搅拌轴方向3个深度层面、每个层面9个测试点的温度测试。垂直搅拌轴方向上,C层距离罐体底板0.5m,B层距离罐体底板1.7m,A层距离罐体底板2.9m;每个层面上9个测试点分布为:外侧5个测试点均匀分布在直径为2.65m的圆上,内侧4个测试点均匀分布在直径为1m的圆上,如图10所示。



3.3 试验结果与分析

温度测试结果如表1所示。 参考 FDA《混合均匀性取样和评价指南》研究

°C

表 1 温度测试结果 Tab.1 Test results of temperature

						•						
	层号	测试点序号										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9		
	А	64.8	63.8	64.9	64.7	64.5	65.2	65.4	65.1	65.3		
	В	65.1	64.6	64.8	64.3	64.9	65.6	65.8	65.5	65.7		
	С	64.8	63.1	63.3	64.4	64.2	64.8	65.1	64.9	65.3		

结果:混合设备可接受标准为所有结果的变异系数 在5.0%以内;每个点的值应在平均结果的±10% 范围内^[19-20]。

由测试结果可知,A 层平均温度为 64.86℃, B 层平均温度为 65.14℃,C 层平均温度为 64.43℃;测 试点平均温度为 64.81℃,A、B、C 层变异系数为 1%,均小于 5.0%;畜禽粪便高温好氧发酵罐温度、 均匀性符合设计结果。

3.4 装备能耗与发酵产物品质分析

发酵装备入料后运行9d(2017年5月20日至 28日),下层物料温度基本恒定在40℃时,物料发酵 完毕,底层物料在搅拌轴的作用下通过出料口进行 出料,设备耗电1021kW·h,对发酵产物进行取样测 试。测试结果如表2所示。

从表2可以得出,经发酵装备生产出的有机肥、 有机质、总养分含量均优于NY525-2012《有机肥

表 2 发酵产物的测试结果 Tab. 2 Test results of fermentation product

参数	标准值	测试值	
有机质质量分数(以干基计)/%	≥30	53.5	
酸碱度(pH 值)	5.5 ~ 8.0	6.9	
水分(鲜样)的质量分数/%	≤30	22.6	
总养分(N + $P_2 O_5$ + $K_2 O$)质量分数(以干基	>5.0	5 36	
计)/%	≥ 5.0	5.50	
总氮(N)质量分数(以干基计)/%		2.03	
总磷(P2O5)质量分数(以干基计)/%		1.47	
总钾(K ₂ O)质量分数(以干基计)/%		1.86	
蛔虫卵死亡率/%	≥95	100	
粪大肠菌群数/(个·g ⁻¹)	≤100	< 2	

料》标准规定,蛔虫卵死亡率及粪大肠菌群数均控制在 NY884—2012 标准允许范围内。

4 结论

(1)设计了一种畜禽粪便高温好氧发酵罐,通

过对发酵环境温度、水分、需氧量的调节,使发酵罐 内物料温度维持在 60~70℃,使废弃物中的有机质 进行快速生物分解、发酵,转化成有机肥料,最终实 现有机废物的资源化利用。

(2)结合发酵罐实际工作状况,对发酵罐关键 部件(罐体结构、搅拌轴、搅拌叶片)进行了设计计 算,确定了罐体和搅拌轴结构尺寸以及叶片布置 形式。

(3)依据畜禽粪便好氧发酵工艺,以含水率为 55%的牛粪为原料,对罐体内物料温度均匀性进行了 试验分析,并对发酵产物进行了测试,结果表明:设备 入料后第4天,罐体内物料平均温度为64.81℃,温度 均匀性变异系数为1%;经发酵装备生产出的有机肥 的有机质质量分数为53.5%、总养分质量分数为 5.36%、蛔虫卵死亡率为100%、粪大肠菌群数在 2个/g以内,均达到国家有机肥料行业标准。

🗞 考 文 献

- 1 张成虎. 畜禽生态养殖废弃物的利用及节能减排的措施[J]. 中国牧业通讯, 2011(8):59-61.
- 2 孔祥才,王桂霞.我国畜牧业污染治理政策及实施效果评价[J].西北农林科技大学学报(社会科学版),2017,17(6);75-80.
- KONG Xiangcai, WANG Guixia. Environmental management policy and effect evaluation of animal husbandry in China[J]. Journal of Northwest A&F University(Social Science Edition), 2017,17(6):75 80. (in Chinese)
- 3 RITZ C W, FAIRCHILD B D, LACY M P. Litter quality and broiler performance [R]. University of Georgia Cooperative Extension Bulletin 1267,2005.
- 4 孟祥海.中国畜牧业环境污染防治问题研究[D].武汉:华中农业大学,2014. MENG Xianghai. Study on prevention problem of China livestock environmental pollution [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University,2014. (in Chinese)
- 5 中华人民共和国环境保护部,中华人民共和国国家统计局,中华人民共和国农业部.第一次全国污染源普查公报[N].人民日报.2010-02-10(016).
- 6 宣梦,徐振成,吴根义,等.我国规模化畜禽养殖粪污资源化利用分析[J].农业资源与环境学报,2018,35(2):126-132.
- XUAN Meng, XU Zhencheng, WU Genyi, et al. Analysis of utilization of fecal resources in large-scale livestock and poultry breeding in China[J]. Journal of Agricultural Resources and Environment, 2018,35(2):126-132. (in Chinese)
- 7 张俊超. 立式好氧发酵罐在处理城市固体废弃物中的实践应用[J]. 安徽农业科学,2015,43(3):280-281. 7HANC Junches Application and development of control control former in the second development of the second dev
- ZHANG Junchao. Application and development of vertical aerobic fermentation tank in processing city solid waste [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2015, 43(3): 280 281. (in Chinese)
- 8 CUNNINGHAM D L, RITZ C W, MERKA W C. Best manage-ment practices for storing and applying poultry litter [R]. University of Georgia Cooperative Extension Bulletin 1230,2004.
- 9 全国畜牧总站,中国饲料工业协会,国家畜牧养殖废弃物资源化利用科技创新联盟.粪便好氧堆肥技术指南[M].北京:中国农业出版社,2017.
- 10 何贵生.有机废弃物好氧发酵设备开发研究[D]. 马鞍山:安徽工业大学,2016.
 HE Guisheng. The development and research on aerobic fermentation equipment for organic waste [D]. Maanshan: Anhui University of Technology,2016. (in Chinese)
- 11 梁醒培,陈长冰,原方.大直径浅圆仓侧压力计算的总体平衡法[J].特种结构,2005,22(4):55-56.
- 12 王泽民. FP2500A 型有机肥翻抛机关键部件的有限元分析与优化[D]. 南京:南京农业大学,2013. WANG Zemin. The finite element analysis and optimization of the key components of FP2500A type stack-turning machine for organic fertilizer[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2013. (in Chinese)
- 13 王立威. 库仑主动土压力系数影响因素的敏感性分析[J]. 中外公路, 2013, 33(4): 46-49.
- 14 朱有庭,曲文海,于浦义.化工设备设计手册[M].北京:化学工业出版社,2005.
- 15 成大先. 机械设计手册[M]. 4版. 北京:化学工业出版社,2002.
- 16 冯忠绪,李彰,王卫中,等. 搅拌机搅拌臂数目与叶片面积的确定方法[J]. 长安大学学报(自然科学版),2009,29(4): 106-110.

FENG Zhongxu, LI Zhang, WANG Weizhong, et al. Method for determining numbers of mixing arm and area of mixing blade in mixer[J]. Journal of Chang'an University(Natural Science Edition),2009,29(4):106-110. (in Chinese)
17 曾真,彭坤,王为国.发酵罐搅拌轴的优化设计[J].食品与机械,2010,26(6):97-100.

- ZENG Zhen, PENG Kun, WANG Weiguo. Optimum design of the agitating shaft for the fermentation tank[J]. Food & Machinery, 2010, 26(6):97 100. (in Chinese)
- 18 HG/T20569—94 机械搅拌设备[S].1994.
- 19 赵双春,赵红菊. 美国 FDA 混合均匀性取样和评价指南对我国制药混合设备及工艺验证的意义[J]. 法规验证与装备, 2015(14):1-3.
- 20 FDA. Guidance for industry powder blends and finished dosage units-stratified in-process dosage unit sampling and assessment [M]. Silver Spring, M D:FDA,2003.