

國立臺灣大學工學院環境工程學研究所

碩士論文

Graduate Institute of Environmental Engineering

College of Engineering

National Taiwan University

Master's Thesis

光照與運作模式對藻菌顆粒污泥系統污染物去除效能
之影響

Effects of Illumination and Operational Modes on the
Performance of Algal-Bacterial Granular Sludge Systems

吳昆泰

Kun-Tai Wu

指導教授：于昌平 教授

Advisor: Professor Chang-Ping Yu

中華民國 114 年 7 月

July, 2025



國立臺灣大學碩士學位論文
口試委員會審定書
MASTER'S THESIS ACCEPTANCE CERTIFICATE
NATIONAL TAIWAN UNIVERSITY

光照與運作模式對藻菌顆粒污泥系統污染物去除效能之影響

Effects of Illumination and Operational Strategies on the Performance of
Algal-Bacterial Granular Sludge Systems

本論文係 吳昆泰(R11541114) 在國立臺灣大學環境工程學研究所完成之碩士學位論文，於民國 114 年 6 月 27 日承下列考試委員審查通過及口試及格，特此證明。

The undersigned, appointed by the Graduate Institute of Environmental Engineering on 27th June 2025 have examined a Master's Thesis entitled above presented by Kun-Tai Wu (R11541114) candidate and hereby certify that it is worthy of acceptance.

口試委員 Oral examination committee:

丁昌平

(指導教授 Advisor)

蔡子雲

蕭友吉

系（所、學位學程）主管 Director:

郭衍正

致謝

本篇碩士論文的完成，為碩士班這段旅程畫下句點，也象徵我學生生涯的終點。回首在台大環工所的時光，這段充實且寶貴的日子，有賴許多人的幫助與陪伴，我才能夠一步步走到今天。

首先，由衷感謝我的指導教授于昌平老師。在我大四決定休學服役時，老師給予我全力的支持與理解；在研究方面，老師更提供我充分的發揮空間，讓我能勇於探索，並在過程中盡情發揮。

另外，非常感謝在碩班期間陪我吃飯、聊天、玩樂的朋友們，讓我在研究與練球之餘可以放鬆身心。也感謝你們聽我分享許多鬼故事與笑話，並在我需要的時候給予實用的建議。特別感謝我的兄弟吳昇翰，他不僅是我在球場上的練球夥伴，幫助我調整球技，也是生活中的玩樂夥伴，在研究上，更提供我許多統計學方面的建議。他為我的碩班生活增添了許多色彩，我也在他的知識薰陶下持續學習與成長。

衷心感謝實驗室的夥伴們，謝謝你們的陪伴與鼓勵，讓我在研究的過程中不孤單。能夠與你們一同歡笑、共度挑戰，是我持續向前的最大動力。

感謝我的家人對我的支持。雖然我忙於練球與研究，很少回家，但他們從不吝於給予關心與鼓勵，在經濟上也給予穩定的支持，讓我能夠專注完成學業。

最後，感謝我的女友易臻，在這段求學生涯中，她的溫柔體貼是最強大的後盾，陪伴我克服各種挑戰，支持我持續向前。

這兩年來，雖然不乏挫折與困境，感謝每一位在這段旅途中相伴的你們，是你們的支持與鼓勵，讓我走過一段充實、有趣且珍貴的旅程。

中文摘要

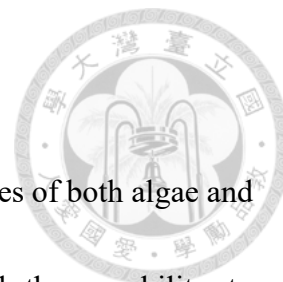
藻菌顆粒污泥結合藻類與好氧顆粒污泥的優勢，不僅具備顆粒污泥的快速沉降特性，亦能有效的同步去除有機物、氮與磷。然而，該系統仰賴適當的光照以維持藻類活性及藻菌共生關係。若以自然光為光源，夜間缺乏光照可能抑制藻類對氮磷的去除功能；反之，若採用人工光源進行 24 小時連續照明，雖可持續提供光照，卻可能促使絲狀藻類過度生長，導致污泥沉降性劣化，並影響出流水水質。為探討光照條件與運作模式對系統處理效能與微生物組成之影響，本研究設置三組序批次反應槽：(1) A 槽：24 小時連續光照並持續運作；(2) B 槽：12 小時光照且日夜皆持續運作；(3) C 槽：12 小時光照，夜間則進入閒置。

研究結果顯示，長光照有助於顆粒粒徑增大並提升總氮去除效率，然而絲狀藻類過度生長導致沉降性惡化；相對的，短光照條件則有助於維持良好的沉降性能。在光暗週期的比較中，光照期的總氮去除率優於黑暗期，顯示光合作用對系統具顯著正面效益。微生物群落分析亦顯示，不同運作模式產生菌群與微藻的組成差異，進而影響系統整體表現。綜合各項指標，採用 12 小時光照並於夜間閒置之 C 槽在有機物與營養鹽去除效率及污泥沉降性方面表現最佳，SCOD 去除率達 97.4%、總氮去除率為 84.5%、總磷去除率為 71.4%、SVI₃₀ 為 56.5 mL/g，為效能最佳之運作模式。

關鍵字：

藻菌顆粒污泥、光照條件、運作模式、微生物組成、營養鹽去除、污泥沉降性

ABSTRACT



Algal-bacterial granular sludge (ABGS) integrates the advantages of both algae and aerobic granular sludge, exhibiting rapid settling properties and the capability to simultaneously remove organic matter, nitrogen, and phosphorus. However, this system relies on appropriate illumination to maintain algal activity and the symbiotic relationship between algae and bacteria. Natural light sources may inhibit algal nitrogen and phosphorus removal functions during nighttime, while continuous artificial illumination can promote excessive filamentous algae growth, deteriorating sludge settling properties and affecting effluent quality. To investigate the effects of illumination conditions and operational modes on system performance and microbial composition, this study established three sequencing batch reactors (SBR): (1) Reactor A: continuous 24-hour illumination with continuous operation; (2) Reactor B: 12-hour illumination with continuous operation; (3) Reactor C: 12-hour illumination with nighttime idle periods.

Results demonstrated that extended illumination facilitated granule enlargement and enhanced total nitrogen removal efficiency; however, excessive filamentous algae growth deteriorated settling properties. Shorter illumination conditions maintained good settling performance. Total nitrogen removal during illumination periods was superior to dark periods, indicating photosynthesis benefits. Microbial community analysis revealed that



different operational modes resulted in variations in bacterial and microalgal compositions, affecting overall system performance. Reactor C demonstrated optimal performance in organic matter and nutrient removal efficiency as well as settling properties, achieving SCOD removal of 97.4%, total nitrogen removal of 84.5%, total phosphorus removal of 71.4%, and SVI_{30} of 56.5 mL/g, representing the most effective operational mode.

Keywords:

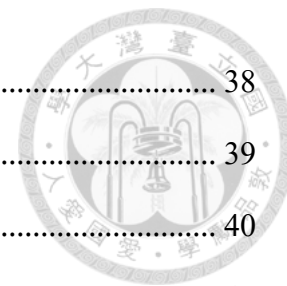
Algal-bacterial granular sludge, illumination conditions, operational modes, microbial composition, nutrient removal, sludge settling properties

目次



口試委員審定書	i
致謝	ii
中文摘要	iii
ABSTRACT	iv
目次	vi
圖次	xi
表次	xiii
第一章 緒論	1
1.1 研究背景	1
1.2 研究動機	2
1.3 研究目的	2
第二章 文獻回顧	5
2.1 傳統活性污泥法缺陷	5
2.1.1 高能源消耗	5
2.1.2 溫室氣體排放	6
2.1.3 營養鹽去除效率的限制	7
2.1.4 占地需求	8
2.2 SBR 運作限制	9
2.3 顆粒污泥技術	10
2.3.1 厭氧顆粒污泥	10
2.3.2 好氧顆粒污泥	12
2.3.3 藻菌顆粒污泥	13
2.3.3.1 微藻對顆粒污泥的影響	14

2.3.3.2 藻菌共生	16
2.4 藻菌顆粒污泥污染物去除機制	17
2.4.1 有機物去除	17
2.4.1.1 好氧細菌異營代謝	17
2.4.1.2 微藻之有機碳代謝機制	20
2.4.2 氮去除	21
2.4.2.1 硝化作用(Nitrification).....	21
2.4.2.2 脫硝作用(Denitrification).....	22
2.4.2.3 厭氧氨氧化(Anaerobic ammonium oxidation, ANAMMOX)	23
2.4.2.4 微藻同化吸收氮	24
2.4.3 磷去除	26
2.4.3.1 聚磷菌去磷機制	26
2.4.3.2 微藻除磷機制	27
第三章 材料與方法	29
3.1 實驗藥品與設備	29
3.1.1 實驗藥品	29
3.1.2 實驗儀器與設備	30
3.2 實驗設計	32
3.3 反應槽配置與運作	32
3.4 人工廢水組成	34
3.5 植種污泥	36
3.6 污泥停留時間(Sludge Retention Time, SRT)控制	37
3.7 水溫控制設備	37
3.8 分析項目	38
3.8.1 平均粒徑測量	38



3.8.2 MLSS 與 MLVSS 分析	38
3.8.3 SVI 分析	39
3.8.4 葉綠素 a 萃取與分析	40
3.8.5 COD 分析	41
3.8.6 總氮分析	41
3.8.6.1 氨氮分析	41
3.8.6.2 硝酸鹽氮與亞硝酸鹽氮分析	42
3.8.7 總磷分析	43
3.8.8 EPS 分析	43
3.8.8.1 EPS 萃取	44
3.8.8.2 醣類定量分析	45
3.8.8.3 蛋白質定量分析	45
3.8.9 微生物組成分析	46
3.8.9.1 DNA 萃取	47
3.8.9.2 菌群組成分析	48
3.8.9.3 微藻組成分析	49
3.9 統計分析	49
3.9.1 皮爾森相關性分析	50
3.9.2 Shapiro-Wilk 常態性檢定	51
3.9.3 Levene's Test	51
3.9.4 變異數分析(Analysis of Variance, ANOVA)	52
3.9.5 Kruskal-Wallis 檢定	52
3.9.6 最小顯著差異檢定(Least Significant Difference, LSD)	53
3.9.7 Dunn's Test	53
3.9.8 Mann-Whitney U 檢定	54

第四章 結果與討論	55
4.1 污泥狀態	55
4.1.1 藻菌顆粒污泥生長狀態	55
4.1.1.1 A 槽顆粒污泥生長狀態	55
4.1.1.2 B、C 槽污泥生長狀態	61
4.1.2 平均粒徑	70
4.1.3 污泥容積指標(SVI)	72
4.1.4 MLVSS 濃度變化	75
4.1.5 葉綠素 a 含量	78
4.2 水質分析	80
4.2.1 pH	80
4.2.2 溫度、溶氧	81
4.3 污染物去除率	83
4.3.1 COD 去除率分析	84
4.3.1.1 TCOD 去除率分析	84
4.3.1.2 SCOD 去除率分析	87
4.3.2 總氮去除率分析	89
4.3.3 總磷去除率分析	94
4.4 EPS 分析	97
4.5 微生物組成分析	99
4.5.1 菌群分析	99
4.5.2 微藻物種分析	108
第五章 結論與建議	113
5.1 結論	113
5.2 建議	116

參考文獻	117
------------	-----

附錄	135
----------	-----

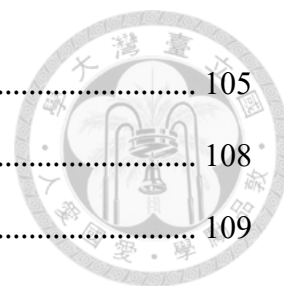


圖次



圖 3-1 反應槽配置圖	34
圖 3-2 柱狀 SBR	34
圖 3-3 溫度控制裝置	38
圖 3-4 統計分析流程圖	50
圖 4-1 A 槽內生長之絲狀藻類	61
圖 4-2 平均粒徑隨時間變化趨勢	71
圖 4-3 SVI 與 SVI_{30}/SVI_5 變化	73
圖 4-4 W14-B(左)、W16-C(右)	75
圖 4-5 W21-B(左)、W21-C(右)	75
圖 4-6 MLVSS 變化圖	76
圖 4-7 MLVSS 與 SVI_5 變化關係	78
圖 4-8 葉綠素 a 濃度變化	79
圖 4-9 TCOD 去除率變化	85
圖 4-10 SCOD 去除率變化	88
圖 4-11 出流水氮組成變化	91
圖 4-12 TN 去除率變化	92
圖 4-13 TP 去除率變化	95
圖 4-14 EPS 組成(LB/TB)	98
圖 4-15 EPS 組成(PN/PS)	99
圖 4-16 門層級菌群組成	100
圖 4-17 科層級菌群組成	101
圖 4-18 C 槽 Rhodocyclaceae 科組成	102
圖 4-19 植種污泥中 Moraxellaceae 科組成	104

圖 4-20 屬層級菌群組成.....	105
圖 4-21 功能性分類之菌相組成變化(屬階層).....	108
圖 4-22 門階層微藻組成.....	109
圖 4-23 綱階層微藻組成.....	109
圖 4-24 植種污泥中 Chrysophyceae 綱下之屬層級組成	110



表次



表 2-1 脫硝作用各階段還原反應與對應酵素	22
表 3-1 實驗用藥品清單	29
表 3-2 實驗儀器與設備	30
表 3-3 人工廢水組成	34
表 3-4 人工廢水水質	36
表 3-5 植種污泥數據	36
表 4-1 A 槽污泥生長狀況	55
表 4-2 B、C 槽污泥生長狀況	61
表 4-3 各反應槽 pH 值	80
表 4-4 溫度與溶氧	81
表 4-5 BN 控溫前後之平均溫度與溶氧	81
表 4-6 水溫控制成效分析	82
表 4-7 水溫對污染物去除效率影響顯著性分析	83
表 4-8 W9-W21 平均 TCOD 去除率	85
表 4-9 W9-W21 平均 SCOD 去除率	88
表 4-10 W9-W21 平均 TN 去除率	92
表 4-11 W9-W21 平均 TP 去除率	95
表 4-12 EPS 分析結果	97
表 4-13 各樣品前十大屬組成中之藍綠菌	105
表 4-14 氮磷去除功能性菌屬分類	106

第一章 緒論



1.1 研究背景

目前都市廢水處理以活性污泥法為主流，因其技術成熟、操作簡便，廣泛應用於全球各地之污水處理廠。然而，傳統活性污泥法亦存在諸多限制，例如高能耗、高碳排放與佔地面積大等問題(Tchobanoglous et al., 2014)。此外，其對氮、磷等營養鹽的去除效率有限，常需額外增設缺氧或厭氧單元以提升處理效能(Tchobanoglous et al., 2014)，此舉不僅增加系統複雜度與土地需求，也提高建設與營運成本。隨著全球對永續發展與淨零碳排目標的重視，傳統處理技術已難以滿足未來資源循環與環境管理的需求，亟需引入創新處理系統。

好氧顆粒污泥(Aerobic Granular Sludge, AGS)為一種新興之污水處理技術，其透過柱狀反應器自底部曝氣產生之剪切力，使懸浮活性污泥聚集形成具多層次結構之顆粒狀污泥。顆粒污泥具備快速沉降、抗負荷衝擊能力強等優勢，且其內部因氧氣質傳受阻，形成缺氧與厭氧微環境，有助於不同菌群共存，使顆粒污泥能夠有效的同步去除有機物、氮與磷(de Kreuk & van Loosdrecht, 2006)。

進一步結合光照條件，可促進藻類與細菌共生，形成藻菌顆粒污泥(Algal-Bacterial Granular Sludge, ABGS)。在藻菌共生系統中，藻類透過光合作用產生氧氣，供好氧菌使用，加速有機物降解；而細菌代謝產生的二氧化碳則成為藻類光合作用所需的碳源，兩者間形成互利共生關係，不僅強化養分循環，亦提升污染物去除效率。此外，藻類具備優秀的氮磷同化能力，有助於提高總氮與總磷去除率(Meng et al., 2019; Zhang et al., 2018)，並具備碳排減量潛力與生質能源開發的應用前景(Mata et al., 2010; Purba et al., 2023)。隨著政府積極推動 2050 年淨零碳排政策，藻菌顆粒污泥技術在節能減碳、資源回收與系統簡化方面展現高度潛力，已逐漸成為永續污水處理技術的重要發展方向(Ji, 2022; Mata et al., 2010; Purba et al., 2023)。



1.2 研究動機

ABGS 系統仰賴光照以維持藻類活性及藻菌間的共生關係，因此在以自然光為光源的運作條件下，系統會受到晝夜變化的影響。白天光照充足，有助於藻類進行光合作用，夜間則進入黑暗期，藻類代謝功能受限。若欲使反應槽達成 24 小時連續穩定運作，則必須確保其在日夜皆具有良好的污染物去除效能。然而，根據 Ji et al. (2021) 的研究指出，ABGS 系統於黑暗期的氮與磷去除效率顯著低於光照期，主因在於藻類於吸收並同化氮磷時，需仰賴光合作用所產生之 ATP (Adenosine Triphosphate) 作為能量來源。黑暗期間光合作用停止，導致藻類營養鹽去除效率降低，進而影響整體處理效能。因此，在採用自然光源的運作模式下，夜間處理效能不足的問題亟需解決。

為改善此問題，引入人工光源以提供 24 小時持續光照為一種常見策略，藉此消除晝夜變化對藻類活性的限制。然而，Xi et al. (2022) 的研究顯示，長時間光照可能使絲狀藻類過度生長，進一步導致顆粒表面結構蓬鬆，影響其沉降性。污泥沉降性不佳會導致出流水中含有大量懸浮固體，不僅降低處理水質，亦需更長時間進行固液分離，進而影響整體系統效能。

綜上所述，長光照雖能提升藻類活性，卻可能導致污泥沉降性不佳；而縮短光照時間雖有助於維持污泥沉降性，卻可能因黑暗期間藻類代謝受限而降低污染物去除效果。因此，本研究提出一種折衷的操作策略：採用 12 小時光照，使反應槽僅於光照期間運作，於黑暗期則進入閒置狀態，以避免黑暗期不佳的出流產生，並同時降低絲狀藻類過度生長之風險。依此情境，本研究設計三種運作模式進行探討：(1) 24 小時長光照模式、(2) 12 小時光照且全日運作模式、(3) 12 小時光照且於夜間閒置模式。

1.3 研究目的

本研究旨在探討不同光照與運作模式對藻菌顆粒污泥系統污染物去除效率與微生物群落結構之影響，期望建立一套 24 小時穩定運作之最佳運作策略。實驗設計採用三種不同光照及運作模式之序批次反應槽(Sequencing Batch Reactor, SBR)進行比較，分別為：

- A 槽：採用 24 小時連續光照且 24 小時連續運作模式，作為長光照系統之組別。
- B 槽：採 12 小時光照，且於光照期與黑暗期皆持續運作，具完整日夜光暗週期。為探討光照影響，於光照期與黑暗期的出流水分別取樣，標記為 BD (day)與 BN (night)。
- C 槽：同樣採用 12 小時光照，但於光照期結束後即停止進流與曝氣，於黑暗期間置。此運作模式若於未來實場應用將採多反應槽輪替式運作策略，亦即於 24 小時內，部分反應槽處於光照期運作，同時另一部分則處於黑暗期間置，兩者交替運作，以實現全日連續處理的目的。

本研究主要探討重點包括：

1. 比較不同光照時長對藻菌顆粒污泥系統處理效能之影響(A 槽 vs. B 槽)。
2. 探討具光暗週期之連續操作系統於日夜間運作之穩定性與處理效率差異(BD vs. BN)。
3. 分析不同運作模式下微生物群落結構之變化，並比較三組運作模式之綜合表現(A 槽 vs. B 槽 vs. C 槽)。

透過本研究，期望發展具實務應用潛力之藻菌顆粒污泥系統操作策略，並為未來永續污水處理系統之設計提供技術依據與參考。



第二章 文獻回顧



2.1 傳統活性污泥法缺陷

傳統活性污泥法(Activated Sludge Process, ASP)因具備穩定且優異的有機污染物去除效率，長期以來被廣泛應用於都市污水處理系統，並已成為主流處理技術之一。然而，隨著永續發展與能源效率日益受到重視，此技術亦暴露出多項限制，包括高能源消耗、大量溫室氣體排放、營養鹽去除效能不足，以及龐大占地空間等，均對其永續性表現構成挑戰。

2.1.1 高能源消耗

ASP 運行過程中對能源的高度依賴為其在永續性評估上最受關注的挑戰之一。污水處理過程中最主要的能耗來自好氧生物處理階段，需大量曝氣以維持微生物代謝所需之溶氧條件(Tchobanoglous et al., 2014)。Drewnowski et al. (2019)指出，曝氣操作在污水處理設施的總用電量中占比可高達 50-90%，顯示其對能源負荷的貢獻極為顯著。Muloiwa et al. (2023)則進一步指出，在實際運行中，曝氣單元於生物反應槽所消耗的能量約占整體處理能耗的 67.3%。

相關研究亦支持此一趨勢。Gu et al. (2017)研究顯示，中大型市政污水處理廠中，曝氣系統約占總用電量的 50-60%，其次為污泥處理(15-25%)與二次沉澱池及回流泵系統(約 15%)。Sun et al. (2016)亦指出，在都市污水處理廠中，生物反應槽之曝氣就消耗了約 40-60%的電力。

為因應高能耗問題，近年來興起之顆粒污泥技術，如好氧顆粒污泥與藻菌顆粒污泥，被視為具潛力的節能替代方案。該技術透過培養具高度密實性與良好沉降性能之污泥顆粒，可於相同反應體積下維持更高的污泥濃度與有機負荷處理率。Liu (2024)指出，於全規模應用下，AGS 系統相較於傳統 ASP 可節省約 30-60%的能源消耗。此外，由於顆粒污泥具快速沉降特性，可有效縮短沉澱時間，進一步減少整

體能耗支出。Pronk et al. (2015)研究亦顯示，導入 AGS 技術後，每人每日污水處理所需能耗較傳統 ASP 降低達 58-63%，顯示該技術在提升能源效率方面具高度應用潛力。



2.1.2 溫室氣體排放

除了高能源消耗外，ASP 亦產生大量溫室氣體(Greenhouse Gases, GHGs)排放。其碳足跡分為「直接排放」與「間接排放」兩類。直接排放主要來自生物處理過程中微生物代謝所產生的二氧化碳(CO_2)、甲烷(CH_4)及氧化亞氮(N_2O)；間接排放則與系統運作所需之能源消耗與化學藥劑的生產與運輸有關(Lake & Vellacott, 2024)。

ASP 系統需長時間曝氣以維持好氧條件，不僅消耗大量能源，好氧微生物分解有機物時也造成更多的 CO_2 排放。此外，在氮轉化過程中，常伴隨 N_2O 逸散，使其碳足跡表現不佳。Bruins et al. (1995)在荷蘭進行的研究指出，處理每公斤化學需氧量(Chemical Oxygen Demand, COD)將產生約 1.2 kg CO_2 當量($\text{CO}_2\text{-eq}$)的 GHG，其中 48%來自生化降解反應。研究亦指出，污水處理過程中直接產生的 CO_2 約為 0.016-0.059 kg $\text{CO}_2\text{-eq}/\text{m}^3$ ，而電力消耗所致的間接 CO_2 排放約為 0.025-0.027 kg $\text{CO}_2\text{-eq}/\text{m}^3$ (Sun et al., 2024)。

在 GHG 中， N_2O 因其極高的全球暖化潛勢(Global Warming Potential, GWP)，為污水處理領域最受關注的氣體之一，其 GWP 約為 CO_2 的 265-273 倍(Kemmou & Amanatidou, 2023; Massara et al., 2017)。 N_2O 的生成路徑主要包括：(1)好氧硝化過程中，氨氧化菌(Ammonia-oxidizing bacteria, AOB)將 NH_4^+ 轉化為 NO_2^- 的中間反應；(2)脫硝過程中， NO_3^- 還原為 N_2 時亞硝酸(NO_2^-)或 N_2O 還原不完全(Lake & Vellacott, 2024)。在碳足跡計算中， N_2O 雖產生量佔比低，卻可能貢獻高達 60-75%的總 GHG 排放(Duan et al., 2021; Lake & Vellacott, 2024)。

CH_4 的 GWP 約為 CO_2 的 28 倍。雖然 ASP 主體為好氧系統，不易在曝氣池中產生甲烷，但沉澱池底泥、污泥濃縮池或厭氧消化槽中仍可能生成 CH_4 。研究指出，

廢水處理相關的 CH₄ 排放約佔全球人為甲烷排放的 7-12% (Lake & Vellacott, 2024)。然而，現代污水廠中，經由厭氧消化產生的沼氣多被回收利用或燃燒，因此實際未控制的排放相對較低。

綜上所述，在缺乏整合性減排設計的情況下，傳統活性污泥系統普遍被視為碳排放強度較高的污水處理技術。其溫室氣體排放問題，特別是 N₂O 與 CO₂ 排放，已成為驅動新興低碳處理技術發展的核心之一。在此背景下，藻菌顆粒污泥技術因其共生生長之藻類具備光合作用能力，可吸收好氧微生物降解有機物所產生之 CO₂，有助於降低處理過程中的碳足跡。此種藻菌共生系統在提供氧氣、固碳及提升污泥沉降效率等方面展現多重效益，有助於提升污水處理的永續性。

2.1.3 營養鹽去除效率的限制

ASP 雖在去除有機污染物方面表現優異，但在處理營養鹽，如總氮(Total Nitrogen, TN)、總磷(Total Phosphorous, TP)方面仍存在較大的限制。該處理方法最初設計重點為去除有機污染物，並未針對脫氮或除磷進行專門優化。

在傳統 ASP 系統中，氮與磷的去除主要仰賴微生物同化作用，即微生物在細胞合成過程中攝取營養鹽。然此作用所能移除的比例有限，TN 去除率約為 10-30%，TP 則通常不超過 20% (Graziani & McLean, 2006; Jimenez et al., 2010)。根據 Minnesota 污染控制局對 59 座污水廠的調查，磷的平均去除率約為 47%，其中部分成果來自化學投藥或過量污泥排放(Graziani & McLean, 2006)

為提升營養鹽去除效率，需引入缺氧與厭氧單元以啟動脫氮與除磷相關微生物之作用機制。Zhang et al. (2017)指出，增設缺氧與厭氧槽可顯著改善 TN 與 TP 的去除率，但也將伴隨處理流程複雜化、佔地增加及能源與建設成本的上升。

氮的有效去除需經硝化-脫硝兩階段：在好氧條件下，AOB 將氨氮(NH₄⁺)氧化為硝酸鹽(NO₃⁻)；在缺氧環境中，脫硝菌將 NO₃⁻還原為氣態氮(N₂)排出。若傳統 ASP 缺乏缺氧段，即使完成硝化，仍無法實現有效脫氮，導致 TN 去除率較低。相關研

究指出，當系統具備適當缺氧環境及充足碳源時，TN 去除效率可達 80-90% (Jimenez et al., 2010)

磷的生物去除需仰賴聚磷菌(Polyphosphate-Accumulating Organisms, PAOs)於厭氧-好氧條件下交替作用。在厭氧環境中，PAOs 水解細胞內聚磷酸鹽，釋放磷到環境中，並攝取易降解有機物(如揮發性脂肪酸)，於後續好氧階段再將環境中的磷吸收並儲存為聚磷酸鹽形式。系統定期排除富含磷的剩餘污泥，即可達到除磷之目的(Al-Ani et al., 2019)。傳統 ASP 因缺乏厭氧階段，PAOs 難以存活並競爭碳源，使得磷去除效率大幅受限。相較之下，具備厭氧/好氧交替之設計(如 A2O 系統)可將 TP 去除率提升至 80-90%，出水磷濃度降低至 1 mg/L 以下(Al-Ani et al., 2019)。

總體而言，傳統 ASP 對營養鹽的去除能力有限，僅依賴微生物同化作用難以達成穩定脫氮與除磷效果。若系統中未增設缺氧與厭氧反應單元，將無法達成穩定而有效的脫氮除磷效果。在現行放流水質標準日益嚴格、且永續發展需求漸增的背景下，傳統 ASP 處理技術在功能與效益上已逐漸產生侷限，亟需透過流程優化或導入新興技術加以補強。在此脈絡下，藻菌顆粒污泥系統展現優異的營養鹽去除潛力。該系統中所形成的緻密顆粒結構，氧氣難以進入顆粒核心，因而形成缺氧與厭氧微環境，使得硝化、脫硝與聚磷菌可於同一顆粒中協同進行。此外，系統中共生的藻類亦具備優秀的氮、磷吸收能力，進一步提升整體營養鹽去除效果。

2.1.4 占地需求

ASP 仰賴大型沉澱池進行固液分離，對場地面積的需求大。由於活性污泥以膠羽狀絮體懸浮於反應槽中，沉降速率相對緩慢，需經長時間靜置以達到有效的固液分離。根據《台灣下水道工程設施標準》(內政部國土管理署, 2009)，高負荷型 ASP 的沉澱時間通常為 3-5 小時，低負荷型則可長達 6-12 小時，顯示其對沉澱時間與沉澱池容積的需求極大。

如此長時間的沉澱設計，大幅提高整體設施的占地需求。在都市地價高昂且土地取得不易的區域，建設具規模的 ASP 系統將面臨空間與成本壓力。且為滿足處理量與水質目標，常需興建多座沉澱池或擴增池體尺寸，進一步增加建設與維護成本。

若能縮短沉澱時間或提升污泥沉降性能，將有助於降低沉澱池體積與土地使用面積，進而節省土地開發與建設成本。在此背景下，顆粒污泥處理系統(例如好氧顆粒污泥或藻菌顆粒污泥)因其具備緊密結構與快速沉降特性，顯著優於傳統膠羽狀污泥，能將沉澱時間從數小時縮短至數分鐘，甚至在某些配置下可實現無需沉澱池的處理流程。因此，占地面積過大不僅是傳統 ASP 在工程設計上的限制，更驅動了新興廢水處理技術的發展。

2.2 SBR 運作限制

本研究之藻菌顆粒污泥系統採用柱狀 SBR 進行操作。SBR 為一種間歇式操作之生物處理系統，將曝氣、沉澱及排放程序整合於同一單元中，不同程序依序運作，因此具有構造簡單、佔地面積小與操作彈性等優勢(Irvine et al., 1989; Wang & Li, 2009)。藻菌顆粒污泥系統普遍採用 SBR 進行操作，主因在於 SBR 具備高度操作彈性，可透過調整沉降時間以施加選擇壓力，進而促進顆粒之形成與穩定。

然而，SBR 於實際運作中亦存在多項限制。首先，SBR 批次操作的模式相較於連續流反應槽，對操作自動化與程序控制要求較高，尤其是需精確控制各運轉階段之時間與順序。如未妥善設定曝氣及沉澱時間，可能導致處理效能下降(Irvine et al., 1989; Wang & Li, 2009)。

此外，SBR 間歇排放的特性，可能對下游單元或水體造成瞬間水力衝擊，上游亦可能因進流水無法即時處理而出現累積的情形。在大規模廢水處理場域，若未妥善設計調節池或分段排放機制，可能引發水質及水量之波動(Irvine et al., 1989)。

整體而言，SBR 因其構造簡單與操作彈性，為中小型污水處理廠及需因應水質變動之工業廢水場域的可行選項，惟其批次操作特性所帶來的流程控制與排放穩定性挑戰，須藉由精確之自動化控制與程序設計克服，以確保系統長期運作的穩定性。

2.3 顆粒污泥技術

2.3.1 厭氧顆粒污泥

厭氧顆粒污泥技術是一種高效厭氧廢水處理技術，代表了微生物聚集、固定化的工程化應用。其關鍵技術來自上流式厭氧污泥床反應器(Upflow Anaerobic Sludge Blanket, UASB)的發展(Lettinga et al., 1980)。在 UASB 被提出之前，厭氧消化多以完全混合式消化槽為主，活性污泥易隨出水流失，難以在低水力停留時間(Hydraulic Retention Time, HRT)下承受高有機負荷，導致系統效能受限(Lettinga et al., 1980)。

UASB 系統透過上流式水力設計與氣固液三相分離結構，促進活性污泥在反應器內自發形成穩定的顆粒，並有效貯留於系統中，使厭氧微生物群能以高濃度、高活性狀態持續運作，實現短 HRT 且維持高有機負荷去除(Lim & Kim, 2014)。因此，UASB 是厭氧顆粒污泥技術可工業化應用的重要技術，其衍生的擴張顆粒污泥床(Expanded Granular Sludge Bed reactor, EGSB)及靜態顆粒污泥床(Static Granular Bed Reactor, SGBR)等系統，均基於相同的顆粒化特性所發展而來(Lim & Kim, 2014)。

在形態上，厭氧顆粒污泥通常呈球狀或卵圓形，粒徑多介於 1-3 mm，密度高於一般懸浮污泥，且具有良好的沉降性(Lettinga et al., 1980)。顆粒內部展現出明顯的微生物分層結構：外層主要為水解與酸化菌群，能將複雜有機物(如碳水化合物、蛋白質、脂質)分解為短鏈揮發性脂肪酸；中間層則聚集產氫菌及產乙酸菌，將 VFA 轉化為氫氣與乙酸；最內層則以甲烷菌為主，負責將氫氣及乙酸進一步轉化為甲烷

(Lim & Kim, 2014)。這種分層結構使物質由外向內依序傳遞，形成有機物降解與氣體產生的代謝鏈。此外，顆粒內常見的孔洞與微通道則進一步提供基質(如 VFA)、氣體(如 CO_2 、 CH_4)及代謝中間物的擴散路徑，有效降低傳輸阻力，維持各層微生物間的協同作用，使整體厭氧反應鏈穩定進行(Lim & Kim, 2014)。

目前學界普遍認為，厭氧顆粒污泥的形成機制可分為數個階段(Lim & Kim, 2014)：

1. 初始接觸與可逆吸附：懸浮微生物接近其他顆粒或載體表面，先以凡得瓦力等物理作用形成可逆附著。
2. 不可逆黏著：當微生物透過纖毛等表面附著結構，並開始分泌胞外聚合物 (Extracellular Polymeric Substances, EPS)後，即轉為不可逆黏著，促進細胞聚集並穩定附著於載體表面。
3. EPS 促進聚集：EPS (由多醣、蛋白質、核酸及脂質等物質組成)是維持顆粒結構的黏著劑，能調節細胞表面電荷、降低靜電排斥、增強細胞間結合能力，並提供多孔性基質，利於代謝物質傳輸。
4. 多價陽離子輔助膠結：多價離子如 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ 對顆粒生成有顯著促進作用。陽離子可中和細胞表面負電荷，進一步減少靜電排斥力，並能夠與 EPS 中的羧基、磷酸基等負電官能基產生配位或離子橋接，做為 EPS 間的「扣環」，強化 EPS 交聯，進一步強化顆粒結構(Lim & Kim, 2014)。鐵離子除作為微生物必需元素外，還能與硫化物反應生成 FeS 沉澱物，於顆粒內部形成無機核心或骨架，進一步提高顆粒的密度與穩定性，並促進微生物附著。若進水中缺乏足量的鈣或鐵，易導致顆粒結構鬆散，影響整體系統效能(Lettinga et al., 1980)。

厭氧顆粒污泥內部具有多層代謝分區與多孔結構，因此有效的物質傳輸是系統維持高效能的關鍵(Lim & Kim, 2014)。外層菌群將複雜有機物水解後所生成的 VFA 必須迅速擴散至內層的產甲烷區域，才能及時被轉化為甲烷與二氧化碳，避



免 VFA 在累積引發酸化，抑制對 pH 變化極敏感的產甲烷菌活性。顆粒內部的孔隙及微通道相當於提供了基質與氣體的傳輸路徑，縮短了擴散距離。同時，顆粒內持續生成的甲烷氣泡沿著孔道逸出時，會在顆粒內部產生局部液體混合作用，有助於促進代謝物質交換，防止因流體停滯而產生死區。這種孔隙-氣泡相輔的微觀結構，確保厭氧顆粒污泥能在高有機負荷下穩定發揮高效的物質轉化能力(Lim & Kim, 2014)。

總體而言，UASB 與其衍生之 EGSB、SGBR 等系統，是厭氧顆粒污泥技術成功工業化的基礎。其優勢在於促進顆粒污泥穩定聚集、固定化及高密度滯留，使厭氧微生物能在大規模系統中有效去除有機污染物並實現能源回收，是未來因應淨零碳排目標下極具潛力的永續廢水處理技術。

2.3.2 好氧顆粒污泥

好氧顆粒污泥是一種新興且極具潛力的廢水處理技術，該技術透過柱狀反應槽，藉由自底部曝氣產生的氣泡上升帶動水流，進而對污泥施加剪切力，促使微生物聚集碰撞、黏附。在此過程中，細菌為了自我保護會分泌大量 EPS，而 EPS 就像膠水，使微生物緊密結合形成緻密的顆粒結構。

相較於傳統活性污泥，AGS 具備卓越的沉降特性，可顯著縮短沉降時間，進而降低沉澱池的設計面積需求(de Kreuk et al., 2007)。在顆粒培養上，會透過設定較短的沉降時間以施加選擇壓力，篩選出沉降性佳、結構緊密且體積較大的污泥，這些高沉降性聚集體通常作為後續顆粒成長的核心，且因沉降速度快，較不易隨出流水流失(de Kreuk et al., 2007)。

AGS 在型態上為近球形且結構緻密，直徑通常落於 0.3-5 mm 的之間(Toh et al., 2003)。Pronk et al. (2023)指出，直徑超過 200 μm 且結構緊密、邊界清晰的污泥聚集體即可定義為顆粒。

在微觀尺度下，AGS 內部呈現分層的結構。外層為好氧層，內部則因氧氣質

傳受阻而形成缺氧與厭氧微環境，促進脫硝菌及聚磷菌的生長(Chiu et al., 2007a; Dawen & Nabi, 2024)。此分層特性使 AGS 具備同時去除有機物、氮及磷的潛力：外層好氧區進行有機物分解，內層缺氧區進行脫硝作用，深層厭氧區則有利於磷去除。

Toh et al. (2003) 透過共軛焦雷射掃描顯微鏡 (Confocal Laser Scanning Microscopy, CLSM) 與細胞染色觀察，無論顆粒大小，顆粒外層約 $600 \pm 50 \mu\text{m}$ 幾乎完全由活細胞構成。隨著深度增加，因氧氣及基質質傳受限，活細胞比例急速下降，內核主要由死亡或休眠細胞及大量孔隙組成。此外，該研究指出，當顆粒直徑增至 4 mm 以上時，大型顆粒內部因質傳受阻，營養供應不足，使內部微生物死亡並逐步降解內部 EPS，導致結構鬆散與孔隙產生。此現象不僅造成顆粒密度與活性生物下降，也造成顆粒結構強度降低(Toh et al., 2003)。Chiu et al. (2007b) 進一步以溶氧微電極與 CLSM 觀測不同碳源顆粒的氧氣質傳界線，發現以酚為碳源培養之顆粒，氧氣質傳深度約為 $200 \mu\text{m}$ ，而以醋酸為碳源者則約為 $375 \mu\text{m}$ ，並於更深層形成缺氧與厭氧微環境。

總體而言，AGS 是一種透過微生物自發聚集形成具高結構完整性與沉降性能之顆粒污泥，能在單一反應槽內同步完成有機物、氮及磷之去除，進而有效減少廢水處理所需空間，並整合傳統之好氧、缺氧與厭氧處理功能於同一單元，展現高度空間利用效率及系統簡化之潛力。

2.3.3 藻菌顆粒污泥

藻菌顆粒污泥是一種結合好氧顆粒污泥與微藻的創新廢水處理方法，藉由藻類與細菌的共生機制，在提升污染物去除效率的同時，促進系統的永續性(Oruganti et al., 2022)。與傳統 AGS 相同，採用柱狀反應器(通常為 SBR)，藉由自底部向上的曝氣產生剪切力，並透過短沉降時間增加選擇壓力，促使污泥聚集並形成緻密的顆粒，大幅縮短沉降所需時間，從而減少對沉澱池面積的需求(de Kreuk et al.,

2007)。

此外，顆粒內部因氧氣質傳受阻而形成缺氧與厭氧微環境，使得同一顆粒中可同時發生硝化、脫硝與聚磷等生化反應，有效提升整體氮磷去除效率(Chiu et al., 2007a; Dawen & Nabi, 2024)。這種空間分化機制，使顆粒污泥不僅能有效去除有機物，亦具備優異的營養鹽去除功能。

當系統中提供適當的光照條件時，微藻能夠與好氧顆粒污泥共同生長，形成藻菌顆粒污泥。微藻透過光合作用固定二氧化碳並產生氧氣，為顆粒中的異營細菌提供氧源，同時透過同化作用吸收氮、磷等營養鹽(Meng et al., 2019; Zhang et al., 2018)。此外，藻類分泌的 EPS 可強化顆粒結構的穩定性，進一步提升系統的沉降性與抗負荷衝擊能力(Oruganti et al., 2022)。研究亦指出，藻菌間的代謝物交換與營養互補可促進有機物的分解過程，增進整體處理效率(Liu et al., 2018; Oruganti et al., 2022)。

除污染物去除外，藻菌顆粒污泥亦展現潛在的能源回收價值。部分微藻品種具有高油脂累積特性，可進一步應用於生質柴油等再生能源生產(Mata et al., 2010; Purba et al., 2023)，使該系統兼具廢水處理與能源回收雙重效益，符合循環經濟與資源永續發展的核心目標。

此外，傳統廢水處理廠為高碳排放產業，其碳足跡主要來自曝氣過程的高能耗與有機物分解所釋放的溫室氣體(Drewnowski et al., 2019)。藻菌顆粒系統中，微藻可透過光合作用吸收二氧化碳並釋放氧氣，部分取代曝氣功能，進一步降低能耗並減少碳排放(Ji, 2022)，使其在減碳效益上展現明顯優勢。

綜上所述，藻菌顆粒污泥系統整合了好氧顆粒污泥的高效沉降性與微藻的營養鹽去除與減碳能力，已成為當前永續廢水處理領域中極具發展潛力的重要方向，未來應用前景廣泛。

2.3.3.1 微藻對顆粒污泥的影響

藻菌顆粒污泥因藻類的引入，對顆粒形成機制、結構及系統處理效能等多方面



皆展現出顯著差異。以下依四大面向進行比較說明：

1. EPS 含量與組成

EPS 對顆粒污泥的結構具有重要影響。AGS 中細菌分泌 EPS(如蛋白質與多醣)，形成緻密的顆粒結構；而在 ABGS 中，除細菌來源外，藻類亦可分泌多醣及其他高分子物質，進一步增加 EPS 總量與組成多樣性(Jin et al., 2023)。研究指出，微藻刺激 EPS 分泌，使顆粒總 EPS 含量提升，並增強其結構穩定能力(Jin et al., 2023)。

2. 顆粒穩定性

顆粒穩定性與 EPS 結構密切相關。AGS 於穩定操作條件下通常可維持良好穩定性，惟當負荷變動或剪切力變化過大時仍可能出現解體現象(Ahmad et al., 2017)。ABGS 中藻類除可刺激 EPS 產生外，絲狀藻亦可如「生物鋼筋」般交織於顆粒內部，形成機械性支撐網絡，提升顆粒強度與穩定性(Ahmad et al., 2017)。在連續流運作中，藻菌顆粒能於高負荷變動下維持穩定(Ahmad et al., 2017)；然而，若藻類死亡，可能使 EPS 結構不穩定並導致顆粒崩解，而氧氣氣泡滯留亦可能造成污泥上浮現象(Jiang et al., 2022)。整體而言，藻類生長可能對 ABGS 的顆粒穩定性產生正面或是負面的影響，因此需要適當控制藻類的生長，以維持良好的系統運作。

3. 能耗與曝氣需求

曝氣為 AGS 系統的主要能耗來源(Strubbe et al., 2024)。ABGS 可透過藻類光合作用產生氧氣供好氧細菌代謝，進而減少外源曝氣的需求(Jiang et al., 2022)。研究顯示，ABGS 系統的曝氣能耗可較傳統活性污泥系統減少約 30-50% (Chen et al., 2025)。部分研究更成功發展出無曝氣運作模式，藉藻類光合作用實現低耗能的處理方法(Jiang et al., 2022)。

4. 微生物代謝與營養鹽去除機制

藻類的共生使 ABGS 系統的代謝途徑較 AGS 更加多樣且複雜。除細菌異營代謝外，ABGS 系統同時具備藻類之光合作用產氧、二氧化碳固定及營養鹽同化等多重代謝機制(Chen et al., 2025)。藻類與細菌間形成 CO_2/O_2 互相供應的循環，可有效



提升碳利用效率並降低溫室氣體排放(Chen et al., 2025)。在氮去除效能方面，ABGS 系統總氮去除率可達 80%以上，主要歸因於顆粒內部多層次微環境結構及藻菌共生機制：顆粒內部自然形成之好氧、缺氧及厭氧區域，有利於硝化與脫硝反應之同步進行；藻類透過光合作用提供氧氣，進一步促進硝化菌之硝化作用。此外，藻類亦具備優異之氮同化能力，與細菌作用相輔相成，共同提升廢水中總氮之去除效率(Chen et al., 2025)。在磷去除方面，ABGS 去除率可達 70-95%，其機制包含顆粒內部天然形成的厭氧微環境，有利於聚磷菌在厭氧階段釋放磷並攝取有機碳源，隨後於好氧或光合作用供氧條件下重新大量吸收磷，達成生物除磷的效果(Chen et al., 2025)。此外，藻類光合作用提升水體 pH，有助於促進磷與鈣、鎂等金屬形成沉澱物，增加無機沉澱除磷效率。藻類亦可直接吸收溶解性磷作為生長所需，三種機制共同作用，使藻菌顆粒系統兼具生物及化學磷去除的雙重路徑(Chen et al., 2025)。綜上所述，ABGS 系統憑藉其多樣且複雜的代謝途徑，在有機物、氮及磷的去除均能展示出優秀的表現。

2.3.3.2 藻菌共生

微藻與細菌會形成合作與競爭的交互作用，其機制主要透過能量與營養物質的交換來實現(Chen et al., 2025)。在藻菌共生系統中，微藻藉由光合作用產生氧氣，提供好氧細菌代謝所需的電子接受者；而細菌則透過呼吸釋放 CO₂，成為微藻光合作用所需的碳源，進而形成 O₂/CO₂循環(Chen et al., 2025)。此外，部分細菌能夠合成微藻無法自我合成的維生素(如維生素 B₁、B₇、B₁₂)，有助於促進微藻的生長與代謝(Croft et al., 2005; Gonçalves et al., 2017)。相對的，微藻亦會分泌有助於細菌生長的胞外有機物(Gonçalves et al., 2017)。同時，微藻細胞間之 EPS 可以作為細菌的棲息地，有助於細菌抵禦不利之外在環境條件(Gonçalves et al., 2017)。

然而，藻菌交互亦可能出現競爭或抑制作用。例如，部分微藻會分泌具抗菌性的次級代謝物，抑制細菌的生長。Kokou et al. (2012)針對五種微藻(*Chlorella*

minutissima、*Tetraselmis chui*、*Nannochloropsis* sp.、*Arthrospira platensis* 及 *Isochrysis* sp.) 進行測試，發現其對 *Vibrio* 屬細菌均具有抗菌活性，且無論是否光照皆能產生抑菌物質。相對的，部分細菌亦可能釋放有害物質(如纖維素酶)，破壞微藻細胞壁，導致藻細胞死亡(Jia et al., 2014; Meyer et al., 2017)。

整體而言，藻菌共生能夠同時促進兩者的生長，然而微藻與細菌間亦可能產生抑制作用，因此需透過適當的操作條件控制，方能在共生與拮抗之間取得最佳平衡，建立穩定的藻菌顆粒污泥系統。

2.4 藻菌顆粒污泥污染物去除機制

2.4.1 有機物去除

2.4.1.1 好氧細菌異營代謝

好氧異營細菌為生物處理系統中去除有機污染物的主要功能微生物(Tran et al., 2013)。其透過降解污水中的有機物，將有機碳轉化為 CO_2 、 H_2O 與生物質，並釋放能量以供微生物生長與維持系統穩定運作(Zhang et al., 2022)。由於污水中有機物種類繁多，涵蓋醣類、蛋白質、脂質、有機酸及芳香族化合物等，好氧異營細菌發展出一系列適應性強且高效的代謝路徑，能夠廣泛利用各類有機物產生能量(Zhang et al., 2024)。

(1)好氧異營代謝總體架構

好氧異營代謝可分為三個主要階段：胞外水解、胞內基質代謝，以及能量轉換與氧化磷酸化。不同種類的有機污染物雖結構不同，但最終皆會被轉化為少數幾個核心中間代謝物，進入細胞能量代謝路徑(Yang et al., 2019)。

首先，於胞外水解階段，好氧異營細菌分泌多種胞外水解酶(如蛋白酶、脂肪酶、澱粉酶與纖維素酶)，將大分子有機物降解為小分子單體，包括葡萄糖、胺基酸、脂肪酸等，便於後續攝取利用(Wang et al., 2022)。

隨後，進入胞內基質代謝階段，不同小分子基質透過專一代謝路徑轉化為共同中間產物進入三羧酸循環(tricarboxylic acid cycle, TCA cycle)。於 TCA cycle 中，乙醯輔酶 A 被完全氧化為二氧化碳，並伴隨生成高能電子載體 NADH (reduced nicotinamide adenine dinucleotide)與 FADH₂ (reduced flavin adenine dinucleotide) (Tran et al., 2013)。

最後，在能量轉換階段，NADH 與 FADH₂進入電子傳遞鏈，電子經過一系列電子載體傳遞最終還原氧氣為水。電子傳遞過程中形成的質子梯度驅動氧化磷酸化(oxidative phosphorylation)，合成大量 ATP，為細胞提供代謝與生長所需之能量 (Zhang et al., 2024)。

整體代謝路徑如下：

胞外水解 → 胞內基質代謝 → 丙酮酸/乙醯輔酶 A → TCA 循環 → 電子傳遞鏈
與氧化磷酸化 → ATP 生成

(2)各類有機物的代謝轉換途徑

污水中的有機污染物成分複雜，不同基質需經特定路徑轉化為不同中間代謝物以進入能量代謝路徑(Yang et al., 2019)。

● 碳水化合物：

污水中碳水化合物包括葡萄糖、蔗糖、澱粉與纖維素等多醣及單醣。高分子醣類經胞外水解酶如澱粉酶、纖維素酶降解為單醣後，由細胞攝取。葡萄糖進入糖解途徑，分解為丙酮酸並生成少量 ATP 及 NADH。丙酮酸隨後經丙酮酸去氫酶複合體轉化為乙醯輔酶 A，進入 TCA 循環進行完全氧化(Dashty, 2013)。

反應途徑：Glucose → Pyruvate → Acetyl-CoA → TCA

● 蛋白質與胺基酸：

蛋白質經胞外蛋白酶降解為胺基酸後進入胞內代謝。胺基酸經脫胺作用去除氨基，轉化為對應之 α -酮酸(α -Keto Acid)後進入 TCA 循環(Yang et al., 2019)。常見轉化反應包括：



- 丙胺酸(alanine) → 丙酮酸
- 天門冬胺酸(aspartate) → 草醯乙酸(oxaloacetate)
- 麩胺酸(glutamate) → α -酮戊二酸(α -ketoglutarate)

反應途徑：Amino Acid → α -Keto Acid → TCA

此外，脫胺產生之氨氮(NH_4^+)為後續硝化與脫氮過程提供氮源(Ladd & Jackson, 1982)。

- **脂質與脂肪酸：**

三酸甘油酯經脂肪酶水解為甘油與長鏈脂肪酸(long-chain fatty acids, LCFA)。甘油進入糖解途徑，而長鏈脂肪酸則透過 β -氧化分解，逐步生成乙醯輔酶 A (Acetyl-CoA)、NADH 與 FADH_2 (Tran et al., 2013)。由於脂肪酸碳數較高，其氧化可產生大量能量，有助於污水系統快速處理高濃度有機負荷(Qiao et al., 2020)。

反應途徑：LCFA → β -oxidation → Acetyl-CoA → TCA

- **揮發性脂肪酸(volatile fatty acid, VFA)：**

VFA 如乙酸、丙酸、丁酸等，常見於厭氧預處理單元出水。乙酸經乙酸激酶或乙酸激酶-磷酸乙醯轉移酶活化為乙醯輔酶 A 進入 TCA 循環。丙酸則經轉化形成丙醯輔酶 A 及琥珀醯輔酶 A，進一步進入 TCA 循環釋放能量(Tan et al., 2021)。

- **醇類：**

乙醇經乙醇去氫酶氧化為乙醛，再由乙醛去氫酶作用轉化為乙酸，經活化為乙醯輔酶 A 後進入 TCA 循環(Kennes-Veiga et al., 2021)。

- **芳香族化合物：**

芳香族有機物需經加氧酶催化開環形成中間體如 catechol，隨後經 β -酮酸途徑降解為乙醯輔酶 A 與琥珀酸，最終進入 TCA 循環(Berry et al., 1987)。

在生物污水處理系統中，好氧異營細菌透過高度整合的代謝路徑，將各類有機污染物有效轉化為穩定最終產物及能量。無論有機基質為醣類、蛋白質、脂質、有機酸或芳香族化合物，最終均能經由代謝節點(丙酮酸與乙醯輔酶 A)進入 TCA 循

環，配合電子傳遞鏈產生能量，並完成有機碳礦化。



2.4.1.2 微藻之有機碳代謝機制

微藻代謝模式具有高度彈性，依據碳源類型及光照條件，可區分為光自營(photoautotrophy)、異營(heterotrophy)及混營(mixotrophy)三類(Abreu et al., 2022; Nirmalakhandan et al., 2019; Shan et al., 2023)。因此，微藻在廢水處理中亦可透過不同代謝途徑參與有機物的去除，提升污染物去除效率。

(1)光自營代謝(Photoautotrophy)

在光自營代謝下，微藻以 CO_2 為碳源，經由光合作用之光反應階段合成 ATP 與 NADPH (Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate)，進一步驅動暗反應合成醣類、脂質與蛋白質等細胞組成物質，提供細胞生長與生物質累積(Abreu et al., 2022)。

(2)異營代謝(Heterotrophy)

於光照不足或黑暗條件下，部分微藻具備異營代謝能力，能利用廢水中之外源有機碳(如葡萄糖、乙酸、甘油等)作為碳源與能量來源(Chojnacka & Marquez-Rocha, 2004)。其代謝路徑與好氧異營細菌相似：外源有機碳進入細胞後，首先經糖解作用(glycolysis)轉化為丙酮酸，進一步經由丙酮酸去氫酶複合體(pyruvate dehydrogenase complex)形成乙醯輔酶 A，隨後進入三羧酸循環(TCA cycle)及電子傳遞鏈進行氧化磷酸化，釋放能量以供細胞生長與代謝活動(Cao et al., 2023)。

(3)混營代謝(Mixotrophy)

部分微藻可同時進行光自營與異營代謝，形成混營代謝模式(Cao et al., 2023)。此模式允許微藻在有光條件下同時利用 CO_2 與外源有機碳作為碳源，並透過光合作用與有機碳分解協同提供能量與碳骨架，進一步提升生物質累積與污染物去除效率(Cao et al., 2023)。

在光照期間，微藻主要透過光合作用獲取能量，而部分具混營能力之微藻可同步利用外源有機碳以額外產生能量，進一步提升有機污染物去除表現(Zhang et al.,

2021)。進入黑暗期後，多數微藻仰賴自體儲存之內源性碳源(如澱粉與脂質)進行呼吸作用以維持基本代謝，部分具異營能力之微藻能夠於黑暗期間持續利用外源有機碳作為碳源與能量來源(Park et al., 2021)。微藻之異營與混營能力使其在廢水中有機物去除過程中扮演重要角色，增強整體污染物去除潛力。

2.4.2 氮去除

2.4.2.1 硝化作用(Nitrification)

硝化作用(Nitrification)主要負責將廢水中的氨氮氧化為硝酸鹽，並為後續之脫硝作用提供電子接受者。此過程由好氧自營微生物所執行，整體可區分為兩個階段：氨氧化與亞硝酸氧化(Madigan, 2018)。

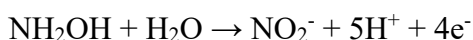
(1) 氨氧化(Ammonia Oxidation)

氨氧化為硝化作用的第一階段，將 NH_4^+ 轉換為 NO_2^- 。此步驟主要由氨氧化細菌(AOB)與氨氧化古菌(ammonia-oxidizing archaea, AOA)執行，其中以 AOB(如 *Nitrosomonas* 與 *Nitrospira* 屬)最為常見(Madigan, 2018; Wendeborn, 2020)。其反應歷程可細分為以下步驟：

首先， NH_4^+ 進入細胞後，經質子平衡轉換為 NH_3 ，並進入酵素催化反應。氨單加氧酶(ammonia monooxygenase)負責將 NH_3 氧化為 NH_2OH (Madigan, 2018; Ren et al., 2020)，反應如下：



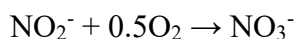
隨後， NH_2OH 在羥胺氧化還原酶(hydroxylamine oxidoreductase)催化下進一步氧化為 NO_2^- (Madigan, 2018)：



此過程所釋放之電子經由電子傳遞鏈傳遞，驅動質子幫浦形成質子動力勢，進而合成 ATP，以供應細胞生長與代謝所需能量(Madigan, 2018; Ren et al., 2020)。

(2) 亞硝酸氧化(Nitrite Oxidation)

亞硝酸氧化為硝化作用的第二階段，將 NO_2^- 進一步氧化為 NO_3^- 。該過程主要由亞硝酸氧化細菌(nitrite-oxidizing bacteria, NOB)所催化，常見菌屬包含 *Nitrobacter*, *Nitrospira*, *Nitrococcus* (Madigan, 2018; Ren et al., 2020)。反應過程如下：



其中，亞硝酸氧化酶(nitrite oxidoreductase)為主要催化酵素。與氨氧化類似，NOB 亦透過電子傳遞鏈獲取能量並合成 ATP。然而，相較於 AOB，NOB 之生長速率與能量獲取效率較低，且對環境條件變動(如溶氧濃度、溫度及 pH 值等)具有更高敏感性(Ding et al., 2021)。

綜合上述兩階段，完整硝化反應總式可表達為：



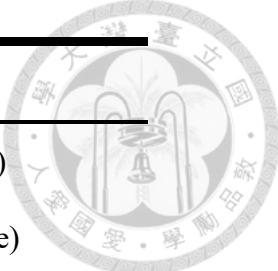
硝化作用為一高度依賴溶氧的強氧化過程，需維持適當之溶氧濃度以確保酵素活性及電子傳遞系統之正常運作(Madigan, 2018; Ren et al., 2020)。

2.4.2.2 脫硝作用(Denitrification)

脫硝作用為生物脫氮程序中的核心步驟，主要由異營脫硝細菌執行，能利用有機碳源進行無氧呼吸，將硝酸鹽還原為氮氣(Madigan, 2018; Zumft, 1997)。在缺氧環境下，微生物以硝酸鹽及其還原產物作為終端電子接受者，將氮素轉化為氣態氮(N_2)釋放至大氣中，達成氮污染物的去除，並廣泛應用於各類生物污水處理系統中(Madigan, 2018; Zumft, 1997)。反應所需之電子提供者通常為有機碳源，如乙酸、葡萄糖等，藉由有機碳的氧化提供還原當量以驅動還原反應進行(Madigan, 2018)。常見參與菌屬包含 *Paracoccus*、*Pseudomonas*、*Thauera*、*Achromobacter* 及 *Alcaligenes* 等(Di Capua et al., 2019)。

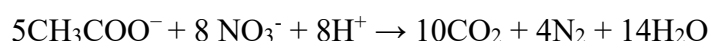
脫硝為階段性還原過程，包含四個主要還原步驟，每一階段分別由專一酵素催化(Madigan, 2018; Zumft, 1997)，詳列如表 2-1。

表 2-1 脫硝作用各階段還原反應與對應酵素



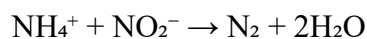
還原反應	對應酵素
$\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$	硝酸還原酶(Nitrate reductase)
$\text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}$	亞硝酸還原酶(Nitrite reductase)
$\text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O}$	一氧化氮還原酶(Nitric oxide reductase)
$\text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$	一氧化二氮還原酶(Nitrous oxide reductase)

在脫硝過程中，微生物首先將有機碳源導入胞內代謝路徑，經由糖解作用、丙酮酸氧化及 TCA cycle 進行分解代謝，產生 NADH 及 FADH₂ 等還原當量。這些還原當量作為電子來源，進一步進入細胞膜上的電子傳遞鏈，並透過一系列反應產生 ATP (Yang et al., 2020)。以乙酸作碳源為例，整體反應可簡化表示如下：

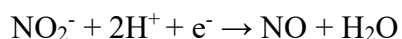


2.4.2.3 厭氧氮氧化(Anaerobic ammonium oxidation, ANAMMOX)

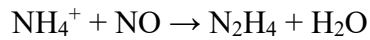
ANAMMOX 是一種由浮霉菌門(Planctomycetes)細菌執行的自營厭氧代謝途徑，其利用銨離子(NH_4^+)作為電子提供者，並以亞硝酸鹽(NO_2^-)作為終端電子接受者，在無氧條件下直接將氮素轉化為氣態氮(N_2)釋放至大氣中(Strous et al., 1999)。其總體反應近似可表達為：



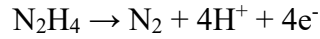
惟實際反應中部分亞硝酸鹽將進一步被氧化，產生少量硝酸鹽作為副產物(Kartal et al., 2013)。在生化機制上，ANAMMOX 反應透過一連串氧化還原反應實現氮轉化，首先，亞硝酸鹽在硝酸還原酶的催化下接受電子生成一氧化氮(NO)：



隨後，NO 與 NH_4^+ 在聯氨合成酶(hydrazine synthase)催化下結合，形成中間產物聯氨(N_2H_4)：



最終，聯氨在聯氨脫氫酶(hydrazine dehydrogenase)作用下被氧化為氮氣(N_2)，並釋放出四個電子：



其中一個電子參與前述亞硝酸鹽還原步驟，其餘三個電子則供應於聯氨合成反應，完成整體電子轉移路徑(Kartal et al., 2013; Kartal et al., 2011)。由於聯氨具高毒性，厭氧氨氧化菌在細胞內形成一種特殊的膜區室——厭氧氨氧化體(Anammoxosome)，以有效隔離反應空間，其中富含特殊梯形脂質以防止有毒中間產物洩漏(Kartal et al., 2013)。厭氧氨氧化菌生長速率緩慢，且為專性厭氧性浮霉菌門微生物，目前已確認的候選屬包含 *Candidatus Brocadia*、*Candidatus Kuenenia*、*Candidatus Scalindua*、*Candidatus Anammoxoglobus* 以及 *Candidatus Jettenia* 等，這些菌群已廣泛發現於污水處理系統及各類天然環境中，並共同參與氮的厭氧轉化(Kartal et al., 2013)。

2.4.2.4 微藻同化吸收氮

氮為微藻生長與細胞組成物質合成所不可或缺之基本營養元素，廣泛參與氨基酸、核酸、蛋白質及色素等生物分子的合成(Hellebust & Ahmad, 1989; Sanz-Luque et al., 2015)。在廢水處理應用中，微藻可透過直接同化吸收水體中之無機氮，達到去除水體中氮營養鹽、抑制優養化現象之目的。微藻吸收氮素之主要型態包含銨離子(NH_4^+)、硝酸鹽(NO_3^-)與亞硝酸鹽(NO_2^-)，並依據不同氮源型態，啟動相應之酶促還原與固定途徑進行代謝(Hellebust & Ahmad, 1989; Sanz-Luque et al., 2015)。

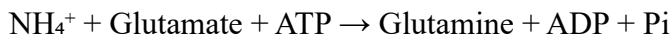
1. 銨離子(NH_4^+)同化

銨離子為微藻最偏好且最易利用之氮源型態。 NH_4^+ 可經由細胞膜上之銨轉運蛋白(ammonium transporters)主動運輸進入細胞質內。進入細胞後， NH_4^+ 直接進入氮代謝核心路徑，主要透過麩醯胺酸合成酶-麩胺酸合成酶循環(glutamine



synthetase–glutamate synthase cycle, GS-GOGAT cycle)完成固定與轉化(Hellebust & Ahmad, 1989; Qin et al., 2022)。

首先，在麩醯胺酸合成酶(glutamine synthetase, GS)催化下， NH_4^+ 與麩胺酸(glutamate)結合生成麩醯胺酸(glutamine)：



隨後在麩胺酸合成酶(glutamate synthase, GOGAT)催化下，麩醯胺酸與 α -酮戊二酸(α -ketoglutarate)反應生成兩分子的麩胺酸：



最終產生之麩胺酸進一步作為氨基供體，參與各類氨基酸及蛋白質之生合成，提供細胞生長。由於 NH_4^+ 可直接同化利用，無需額外還原步驟，故其能量消耗最小，轉化效率亦最高(Fernández et al., 2009; Hellebust & Ahmad, 1989)。此步驟需消耗ATP與NADPH，這些能量與還原力來源由光合作用產生，故微藻氮同化效率高度受光照條件所調控。

2. 硝酸鹽(NO_3^-)同化

當銨離子濃度不足或不存在時，微藻可利用硝酸鹽作為替代氮源。硝酸鹽首先經由硝酸鹽轉運蛋白(nitrate transporters, NRTs)運輸進入細胞。進入細胞後，硝酸鹽需經歷兩步酶促還原反應方能轉化為可同化之 NH_4^+ (Sanz-Luque et al., 2015)。

首先在硝酸還原酶(nitrate reductase, NR)催化下， NO_3^- 還原為 NO_2^- ：



隨後在亞硝酸還原酶(nitrite reductase, NiR)催化下， NO_2^- 被還原為 NH_4^+ ：



產生之 NH_4^+ 再進入GS-GOGAT路徑進一步同化為麩胺酸。由於硝酸鹽同化涉及兩段還原反應，需額外消耗電子與能量，故通常僅在銨離子匱乏時啟動硝酸鹽利用途徑(Sanz-Luque et al., 2015)。



3. 亞硝酸鹽(NO_2^-)同化

亞硝酸鹽亦可作為部分微藻之氮源(Pozzobon et al., 2021)， NO_2^- 進入細胞後，直接經亞硝酸還原酶催化轉化為 NH_4^+ ：



所得 NH_4^+ 隨即進入GS-GOGAT循環完成固定。惟亞硝酸鹽具有潛在毒性，若在細胞內累積將對代謝系統造成氧化壓力與酶活性抑制，故微藻對 NO_2^- 之利用通常採快速吸收、快速還原之動態調控機制，以避免毒性累積(Pozzobon et al., 2021)。

微藻對不同氮源具明顯偏好性，依序為 $\text{NH}_4^+ > \text{NO}_3^- > \text{NO}_2^-$ ，當多種氮源並存時，細胞會優先利用銨離子，並透過下調硝酸還原酶表現，抑制非必要之能量消耗(Perez-Garcia et al., 2011)。當 NH_4^+ 耗竭後，硝酸還原酶活性則迅速提升以轉而利用 NO_3^- (Weidner & Kiefer, 1981)。此適應性代謝調控有助於微藻在變動環境中維持高效率之氮吸收與利用能力。

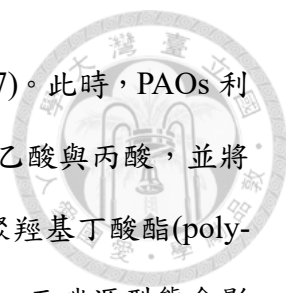
為避免環境中氮供應不足，部分微藻具備氮素儲存機制，將多餘氮素轉化為游離氨基酸、儲備性蛋白質或其他含氮代謝物，於氮源缺乏時再利用。此儲存策略有助於穩定細胞內氮平衡，維持長期生長與代謝穩定性(Liang et al., 2023)。

2.4.3 磷去除

2.4.3.1 聚磷菌去磷機制

在生物除磷系統中，聚磷菌(PAOs)透過交替的厭氧與好氧條件實現高效磷去除，其核心代謝機制主要包括能量轉換、碳源利用及聚磷酸鹽儲存(Rittmann, 2001)。

於厭氧階段，外部缺乏電子接受者(如 O_2 、 NO_2^- 、 NO_3^-)，PAOs為了獲取代謝所需能量，會水解細胞內的聚磷酸鹽(poly-P)，釋放無機磷(PO_4^{3-})至水體中，同時經由聚磷酸激酶(polyphosphate kinase, PPK)催化，將磷酸基轉移以產生ATP(He & McMahon, 2011; Rittmann, 2001; Welles et al., 2017)。同時，胞內糖原(glycogen)亦開始分解，透過糖解途徑產生NADH，為後續聚羥基脂肪酸鹽(polyhydroxyalkanoates,



PHAs)的合成反應提供電子來源(Rittmann, 2001; Welles et al., 2017)。此時，PAOs 利用聚磷酸鹽水解產生之 ATP 主動吸收廢水中揮發性脂肪酸，如乙酸與丙酸，並將其轉化為 PHAs 以作為碳與能量儲存，其中 PHA 的主要形式為聚羥基丁酸酯(poly- β -hydroxybutyrate, PHB) (He & McMahon, 2011; Rittmann, 2001)。而碳源型態會影響 PHA 組成，例如乙酸有利於 PHB 累積，丙酸則促進聚羥基戊酸(poly- β -hydroxyvalerate, PHV)的生成(Acevedo et al., 2012)。完成厭氧階段後，PAOs 便儲備了充足的碳源與能量，為好氧階段的磷去除做足準備。

進入好氧階段，PAOs 藉由氧化先前累積的 PHA，產生 ATP 及 NADH，提供細胞生長、磷酸鹽再攝取以及糖原再生所需的能量(He & McMahon, 2011; Rittmann, 2001; Welles et al., 2017)。其中，攝取自水體中的磷酸鹽在聚磷酸激酶(PPK)作用下轉化為聚磷酸鹽，重新儲存在細胞內，而聚磷酸酶(exopolyphosphatase)則參與聚磷酸鹽的動態平衡調節(He & McMahon, 2011; Rittmann, 2001; Welles et al., 2017)。同時，糖原在好氧條件下亦重新合成，以恢復細胞內糖原庫存，確保下一個厭氧階段所需的 NADH 來源(Rittmann, 2001; Welles et al., 2017)。

透過此厭氧釋磷/好氧攝磷的循環代謝，PAOs 能在好氧階段大量累積聚磷酸鹽，並經由排放污泥將水中的磷移除，達成污水中磷去除的目的(He & McMahon, 2011; Welles et al., 2017)。

2.4.3.2 微藻除磷機制

微藻去除污水中磷的機制可概分為物理吸附、主動轉運、胞內儲存與生物誘導沉澱等多重路徑，各機制間彼此交互作用，形成複雜而高效的磷去除。當污水中含有高濃度正磷酸鹽(PO_4^{3-})時，磷離子首先透過靜電作用與微藻細胞表面帶正電的胺基、羧基或羥基等官能基結合，形成暫時性的離子鍵結，作為後續胞內轉運的前驅步驟(Yu et al., 2024)。然而，表面吸附的磷容量有限，實際大量移除水中磷主要仰賴細胞膜上專一性運輸蛋白所驅動之主動運輸機制。微藻透過高親和性的磷酸根

轉運蛋白(如 PHT1 家族)主動將外源性磷酸鹽輸送入胞內,此過程需消耗細胞能量,且受細胞內磷濃度之負回饋機制調控:當細胞內已累積太多磷時,轉運蛋白活性會下降,避免過量攝取造成毒害(Mao et al., 2021)。此外,部分微藻亦可藉由質子協同轉運系統或鈉離子驅動之次級轉運系統進一步提升磷吸收效率(Lin et al., 2024)。

進入胞內後,無機磷酸鹽(Pi)主要經由兩條代謝路徑進行利用。其一,直接用於合成細胞基本生理功能所需之核酸、ATP、磷脂質及各類酶輔因子;其二,轉化為聚磷酸鹽(polyphosphate, Poly-P)儲存於胞內,以備日後所需。綠藻如 *Chlamydomonas reinhardtii* 透過 VTC 複合體(vacuolar transporter chaperone)催化聚磷酸合成(Bossa et al., 2024);而藍綠菌則主要利用聚磷酸激酶(PPK)進行合成(Sanz-Luque et al., 2020)。聚磷酸鹽廣泛儲存於液泡、細胞質甚至線粒體中,並可在細胞遭遇缺磷時,透過聚磷酸酶或其他水解酶分解釋放,作為磷供應來源(Solovchenko et al., 2024)。此液泡緩衝池系統有助於穩定細胞內磷平衡與維持代謝穩定性(Yu et al., 2024)。此外,微藻具有超量攝取(luxury uptake)的能力,能在短時間內大量吸收並儲存磷為聚磷酸鹽,當環境磷濃度下降時,再逐步釋放以支應代謝需求(Mao et al., 2021)。

除胞內同化機制外,微藻尚可促進磷沉澱作用協助磷去除。當光合作用活性強盛時,微藻吸收 CO_2 並釋放 OH^- , 使環境 pH 上升,進而促使鈣、鎂與磷酸根形成沉澱物(如羥磷灰石與碳酸磷酸鹽),有效移除水體中溶解性磷(Larsdotter et al., 2007)。適用於高磷負荷的環境。

微藻之磷同化路徑受多重分子機制調控。當外界磷源匱乏時,細胞內部會誘發磷飢餓反應(phosphate starvation response, PSR),其中轉錄因子 PSR1 及其協同感測系統 SPX 蛋白活化,進而促進高親和力磷轉運蛋白、磷酸酶與聚磷酸代謝酶之基因表達,增強細胞磷回收與再利用能力(Slocombe et al., 2023)。此外,光照促進光合作用產生 ATP 和 NADPH,為磷的主動運輸與轉化提供能量,在光照下磷的吸收效率更高(Wu et al., 2021)。

第三章 材料與方法



3.1 實驗藥品與設備

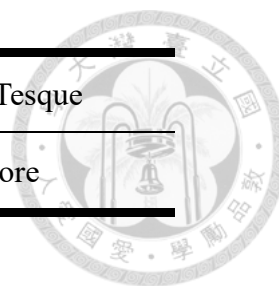
3.1.1 實驗藥品

本研究過程中使用之藥品如表 3-1 所列。

表 3-1 實驗用藥品清單

藥品名稱	化學式	廠牌
無水醋酸鈉	CH_3COONa	SHOWA
葡萄糖	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	SIGMA
氯化銨	NH_4Cl	Honeywell Fluka
磷酸二氫鉀	KH_2PO_4	Honeywell Fluka
氯化鈣二水合物	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Thermo Scientific
硫酸鎂七水合物	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	和光純藥工業株式會社
硫酸鐵七水合物	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	林純藥工業株式會社
硼酸	H_3BO_3	藥理化學工業株式會社
氯化鋅	ZnCl_2	Panreac Química
氯化銅二水合物	$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	林純藥工業株式會社
硫酸錳一水合物	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Acros Organics
鉬酸銨四水合物	$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Thermo Scientific
氯化鋁六水合物	$\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Alfa Aesar
氯化鈷六水合物	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	石津製藥株式會社
氯化鎳六水合物	$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Thermo Scientific
丙酮	CH_3COCH_3	Macron Fine Chemicals

苯酚	C ₆ H ₅ OH	Nacalai Tesque
硫酸	H ₂ SO ₄	Aencore

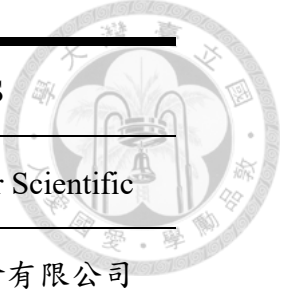


3.1.2 實驗儀器與設備

本研究使用之儀器與設備如下表所列：

表 3-2 實驗儀器與設備

實驗設備	型號	廠牌
純水製造裝置	Synergy UV	Merck Millipore
試管振盪器	G-560	Scientific Industries
微量離心機	D1008	DLAB
微量離心機	1236V	Centronix
離心機	Universal320	Hettich
離心機	Megafuge 8R	Thermo Fisher Scientific
超音波洗淨器	CPX5800H	Branson
COD 反應槽	CR25	Rocker
水浴槽	B-461	Buchi
分光光度計	DR3900	Hach
離子層析儀	Eco IC	Metrohm
烘箱	DO45	DENG YNG
高溫爐	JH-6	章嘉



迴轉式振盪培養箱	OSI-500R	TKS
Nanodrop	ND-1000	Thermo Fisher Scientific
電子式定時器	TN-38KD	台芝電氣股份有限公司
電子式定時器	TU-A72	華志企業有限公司
真空幫浦	300	Rocker
分析天平	ATX224	Shimadzu
玻璃纖維濾紙	934-AH	Whatman
pH/溶氧計	HQ2200	Hach
顯微鏡	LX130	Microtech
顯微鏡攝錄機	iCam Plus	Microtech
顯微鏡量測軟體	MicroCam V5	Microtech
解剖顯微鏡	SZX16	Olympus
LED 燈條	無	無
照度計	1339P	泰仕
曝氣機	AL100	Alita
曝氣機	AL200	Alita
蠕動幫浦	ST 600S	Gamma
蠕動幫浦	7553-71	Masterflex



3.2 實驗設計

為探討光照週期與運作模式對藻菌顆粒污泥系統之影響，本研究設計三組不同運作模式之 SBR，分別如下：

- A 槽：採用 24 小時連續光照且 24 小時連續運作模式，作為長時間光照系統之組別。
- B 槽：採 12 小時光照，且於光照期與黑暗期皆持續運作，具完整日夜光暗週期。為探討光照影響，於光照期與黑暗期的出流水分別取樣，標記為 BD (day)與 BN (night)。
- C 槽：同樣採用 12 小時光照，但於光照期結束後即停止進流與曝氣，於黑暗期間置。此運作模式若未來實場應用中將採輪替式運作策略，亦即於 24 小時內，部分反應槽處於光照期運作，另一部分則處於黑暗期間置，兩者交替運作，以實現全日連續處理的目的。

本研究透過 A、B、C 三組運作模式進行以下比較與分析：

1. 比較不同光暗週期條件對藻菌顆粒污泥系統處理效能之影響(A 槽 vs. B 槽)
2. 探討具光暗週期之連續操作系統在日夜間運作之穩定性與處理效率差異(BD vs. BN)
3. 分析不同運作模式下之菌群結構與分布變化，並探討其與系統整體處理表現之關聯性(A 槽 vs. B 槽 vs. C 槽)。

3.3 反應槽配置與運作

本研究採用柱狀 SBR 作為操作系統，如圖 3-1、圖 3-2 所示。反應槽高度為 120 cm，內徑 5 cm，出流口設置於距槽底 50 cm 處，進流口設於距槽底 10 cm 處。操作體積為 1.8 L，每運作週期出流量 0.8 L，對應體積交換率為 44%。為提供穩定

且均勻的光照，反應槽外壁纏繞色溫 6000 K 白光 LED 燈條，光強度(光量子通量密度)為 $120 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

SBR 操作採 6 小時為一完整運作週期，分為以下階段：進流 5 分鐘、無曝氣階段 55 分鐘、曝氣階段 285-292 分鐘、沉降階段 3-10 分鐘，以及出流階段 5 分鐘。

沉降速度較快的污泥通常具有更緊密的結構與較大的體積，這類聚集體更適合作為顆粒成型的核心，且因沉降速度快較不容易隨出流水流失。因此本研究透過逐步縮短沉降時間施加選擇壓力，以篩選沉降性優良之污泥，可有效促進顆粒化之進行(de Kreuk et al., 2007)。本研究依顆粒形成與成熟狀況分階段調整沉降時間以逐步提升選擇壓力，淘汰沉降性較差之污泥，促進顆粒生長：初期採 10 分鐘沉降，自 W5 起縮短為 5 分鐘，自 W20 起進一步縮短為 3 分鐘。整體運作由電子式定時器控制蠕動幫浦與曝氣裝置，確保 SBR 周期準確運作。根據循環時間與體積交換率計算，系統之 HRT 為 13.5 小時。

自柱狀反應槽底部曝氣產生的剪切力為顆粒生成之關鍵。本研究使用直徑 5 cm 之陶瓷散氣盤自底部曝氣，流量 3 L min^{-1} ，對應上升流速 2.54 cm s^{-1} ，屬於顆粒形成適宜的範圍(Tay et al., 2001)。

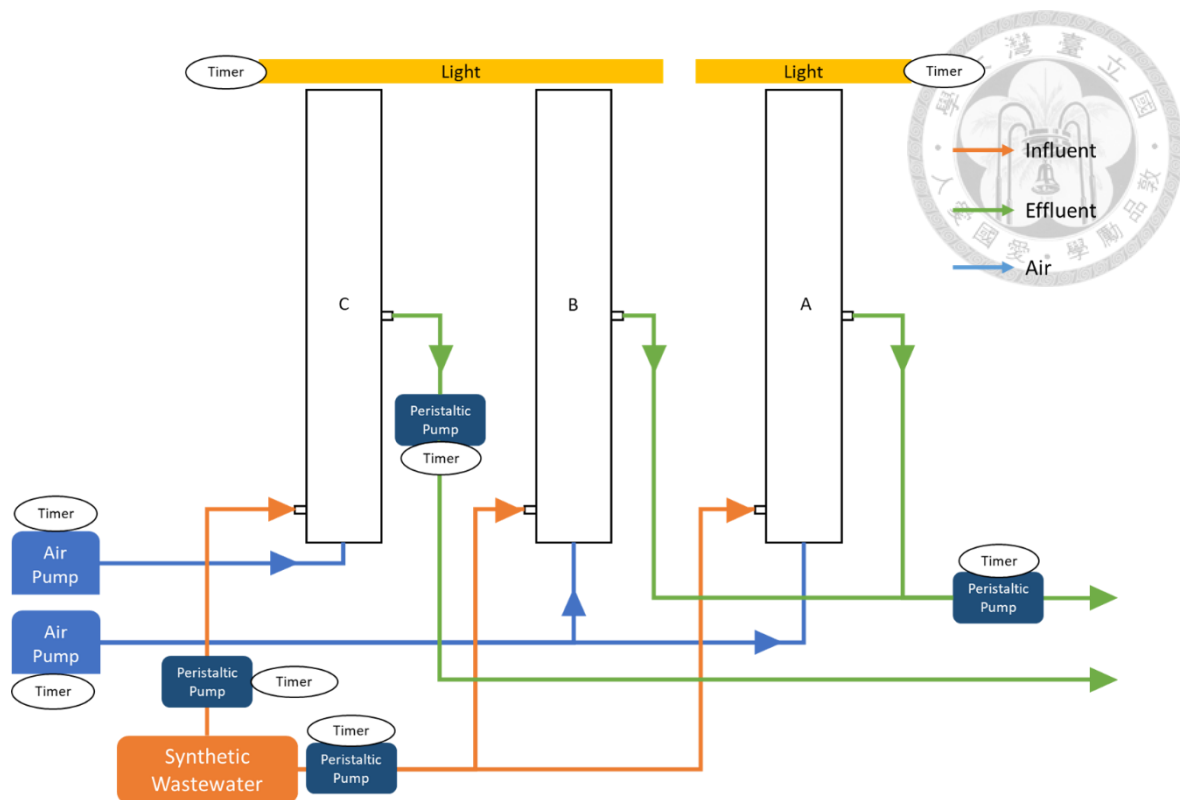


圖 3-1 反應槽配置圖

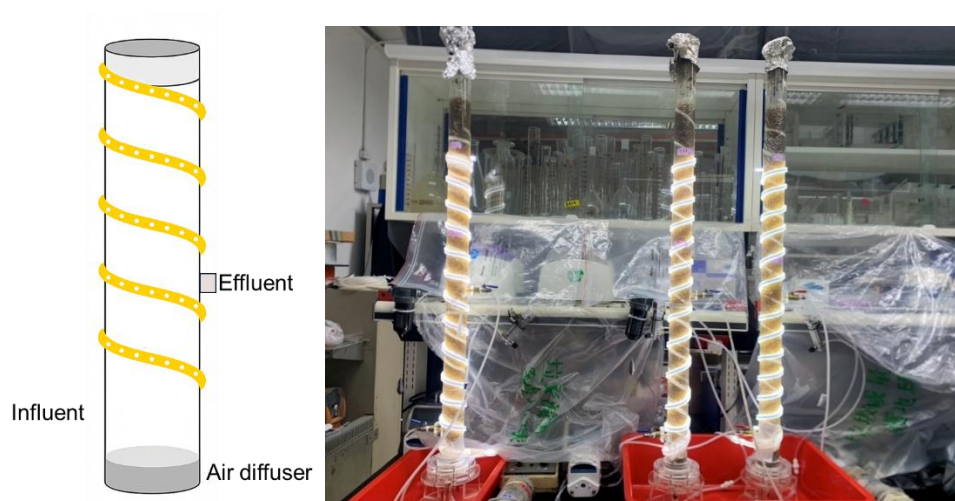


圖 3-2 柱狀 SBR

3.4 人工廢水組成

本研究參考 Meng et al. (2019) 研究使用之人工廢水組成，如表 3-3 所示。

表 3-3 人工廢水組成



Component	Concentration
CH_3COONa	385 mg/L
Glucose	280 mg/L
NH_4Cl	50 mg NH_4^+ -N/L
KH_2PO_4	10 mg PO_4^{3-} -P/L
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	10 mg Ca^{2+} /L
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	5 mg Mg^{2+} /L
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	5 mg Fe^{2+} /L

Trace Element Solution (添加量 1 mL/ 10 L)

Component	Concentration (mg/L)
H_3BO_3	500
ZnCl_2	500
$\text{CuCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	300
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	500
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	500
$\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	500
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	500
$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	500



本研究共進行 12 組人工廢水樣品之取樣與水質分析，其主要水質參數之平均
 均值列示於表 3-4 中。

表 3-4 人工廢水水質

人工廢水水質					
COD	NH ₄ ⁺ -N	NO ₂ ⁻ -N	NO ₃ ⁻ -N	TN	TP
(mg/L)	(mg-N/L)	(mg-N/L)	(mg-N/L)	(mg-N/L)	(mg-PO ₄ ³⁻ /L)
573	45.2	0.04	0.57	45.81	25.3
± 14	± 4.4	± 0.10	± 0.23	± 4.50	± 0.4

3.5 植種污泥

本研究使用之植種污泥取自台灣台北市迪化污水處理廠曝氣池，分析其污泥特性，包括混合液懸浮固體(Mixed Liquor Suspended Solids, MLSS)、混合液揮發性懸浮固體(Mixed Liquor Volatile Suspended Solids, MLVSS)、污泥容積指標(Sludge Volume Index, SVI)、以及 SVI₃₀/SVI₅，如表 3-5 所示。植種污泥經均勻混合後，分別接種 1.8 L 至各反應槽中，隨即啟動 SBR 系統進行後續操作與培養。反應槽植種過程未額外接種微藻，系統中微藻由植種污泥中自然存在之藻類經光照逐漸富集而來。

表 3-5 植種污泥數據

	MLSS	MLVSS	SVI ₅	SVI ₃₀	SVI ₃₀ /SVI ₅
	(g/L)	(g/L)	(mL/g)	(mL/g)	
Seed	3.45	2.70	237.7	130.4	0.55
Sludge					



3.6 污泥停留時間(Sludge Retention Time, SRT)控制

本研究於系統成功轉化為藻菌顆粒污泥，且顆粒型態趨於穩定後，自第 14 週起進行 SRT 控制。此時三座反應槽之顆粒型態已趨穩定，粒徑增長趨勢放緩，顯示系統已達初步穩定狀態。SRT 控制設定為 21 天，操作方式為每週手動排放兩次污泥並予以廢棄，每次排放混合液總體積的六分之一，藉以探討 SRT 控制對系統穩定性與處理效能之影響。

3.7 水溫控制設備

由於 B 槽採用 12 小時光照，且於日夜間皆持續運作，具備光暗週期操作條件。光光照期間 LED 照明設備所產生之熱能會使反應槽水溫上升，進而造成日夜間水溫差異。為避免水溫變化成為污染物去除效率探討之干擾因子，自第 20 週起，本研究於 B 槽夜間操作期間啟用水溫控制裝置(如圖)，以降低光暗週期間之水溫差異影響。具體操作方式如下：設置恆溫水浴槽(設定溫度 55°C)，並以矽膠管纏繞於 B 槽外壁作為熱交換導管，透過蠕動幫浦連接水浴槽與矽膠管形成循環，使加熱後水體持續於矽膠管中流動，經由熱傳導提升反應槽水溫。藉由此間接加熱方式，得以使夜間 B 槽維持接近光照期之操作溫度。同時，配合統計分析(Mann-Whitney U 檢定)驗證升溫裝置之控制效果，確保夜間水溫與白天光照期之水溫無顯著差異，進而排除水溫成為影響因子，使後續分析可專注於光照條件對系統效能之影響。

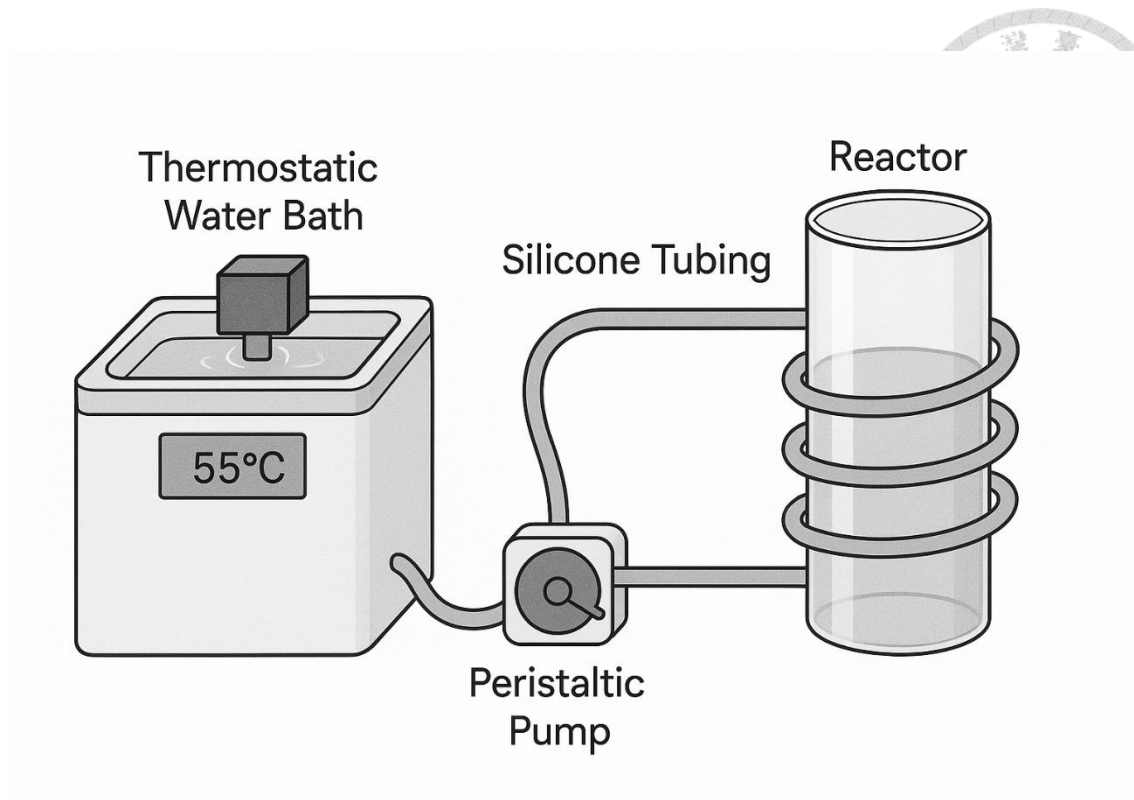


圖 3-3 溫度控制裝置

3.8 分析項目

3.8.1 平均粒徑測量

為評估不同運作模式下藻菌顆粒之生長潛力與成熟程度，本研究每週進行污泥取樣，並自樣品中選取 5-7 顆粒徑適中、外觀型態正常之藻菌顆粒進行粒徑測量。使用 Microtech iCam Plus 攝錄機搭配顯微鏡量測軟體 MicroCam V5 進行粒徑測量，作為系統中相對成熟顆粒之代表，據以作為顆粒化進程之參考指標。

3.8.2 MLSS 與 MLVSS 分析

為探討各反應槽之生物質累積量，本研究每週分析反應槽內 MLSS 與 MLVSS，分析方法參考環檢所標準方法(NIEA W210.58A)，操作步驟如下：

1. 將玻璃纖維濾片置於過濾裝置上，打開抽氣裝置，以約 20 mL 去離子水沖洗 3 次。



2. 取下濾片置於鋁盤中，於 105°C 烘箱中烘乾至恆重後冷卻並秤重，記錄為空白重量 W0。
3. 將已秤重之濾片置於過濾裝置上，過濾預定體積之攪拌均勻的污泥樣品。
4. 將濾片取下置於原鋁盤中。
5. 樣品於 105°C 烘箱中烘乾至少 1 小時，冷卻後秤重。重複烘乾與秤重，直至前後兩次重量差異小於 0.5 mg，記錄最終平均重量為 W1。
6. 計算 MLSS。計算方式如下：

$$MLSS = \frac{W1 - W0}{\text{過濾體積}}$$

7. 樣品置入 550°C 高溫爐中灼燒至少 1 小時，冷卻至室溫後秤重。重複加熱與秤重，直至前後兩次重量差異小於 0.5 mg，記錄最終平均重量為 W2。
8. 計算 MLVSS。計算方式如下：

$$MLVSS = \frac{W1 - W2}{\text{過濾體積}}$$

3.8.3 SVI 分析

為評估藻菌顆粒污泥之沉降性能，本研究測定 5 分鐘與 30 分鐘沉降後之 SVI，分別以 SVI₅ 與 SVI₃₀ 表示。SVI₅ 反映污泥於短時間尺度下的沉降特性，適用於評估顆粒污泥的快速沉降能力；而 SVI₃₀ 則為普遍使用於評估污泥沉降性之指標。此外，SVI₃₀/SVI₅ 比值可作為污泥達到沉降穩定狀態之速度指標，其值越接近 1，代表污泥能越迅速達到沉降穩定。測定步驟如下：

1. 取 1 L 混和均勻之樣品，倒入量筒中靜置沉降。
2. 於靜置 5 分鐘後記錄上層澄清液下方之污泥體積，記為 SV₅ (mL/L)。
3. 於靜置 30 分鐘後再次記錄污泥體積，記為 SV₃₀ (mL/L)。
4. 由 MLSS (g/L) 計算 SVI (mL/g)，計算方式如下：

$$SVI_5 = SV_5 / MLSS$$

$$SVI_{30} = SV_{30}/MLSS$$



3.8.4 葉綠素 a 萃取與分析

為評估反應槽內微藻累積與生長狀況，本研究每週分析污泥樣品之葉綠素 a 含量。分析方法參考環境檢驗所標準方法(NIEA E509.00C)，操作流程如下：

一、萃取步驟

1. 使用玻璃纖維濾紙過濾混合液樣品以分離懸浮固體。
2. 將濾紙置於容器中，加入 5 mL 90%丙酮，以玻璃棒充分研磨。
3. 研磨完畢後再加入 5 mL 90%丙酮，將玻璃棒上殘留的葉綠素 a 沖洗進入容器。並混合均勻。
4. 將混合液於 $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 暗處靜置至少 2 小時(不得超過 24 小時)，期間至少再次震盪一次，以確保萃取充分。
5. 萃取完成後再次震盪，並以 6000 rpm 離心 10 分鐘。
6. 取上澄液至比色皿中，於暗處進行分光光度計分析。

二、分光光度計測定

使用 90%丙酮作為空白校正，以波長 750 nm、664 nm、647 nm、630 nm 進行測定，並記錄吸光值(OD)。其中 664 nm 之吸光值(OD_{664})應介於 0.1-1.0 之間，若不符合則應調整過濾體積。

萃取液中葉綠素 a 濃度計算：

$$X = OD_{664} - OD_{750} ; Y = OD_{647} - OD_{750} ; Z = OD_{630} - OD_{750}$$

$$\text{萃取液中葉綠素 a 之濃度(mg/L)} = 11.85 X - 1.54 Y - 0.08 Z$$

$$\text{樣品中葉綠素 a 之濃度}(\mu\text{g/L}) = \frac{\text{萃取液濃度(mg/L)} \times \text{萃取液體積(mL)}}{\text{樣品過濾體積(L)} \times \text{樣品槽光徑(cm)}/1(\text{cm})}$$

最終將樣品葉綠素 a 濃度($\mu\text{g/L}$)除以對應樣品之 MLVSS (mg/L)，並進行單位換算，得出污泥中葉綠素 a 含量(mg/g-vss)，以評估系統中藻類累積與生長狀況。



3.8.5 COD 分析

為評估藻菌顆粒污泥系統對有機污染物之去除效能，本研究針對各反應槽出流水進行總化學需氧量(Total Chemical Oxygen Demand, TCOD)與溶解性化學需氧(Soluble Chemical Oxygen Demand, SCOD)進行分析。TCOD 以未過濾之出流水進行測定，包含出流水中的懸浮固體；SCOD 則是以 0.45 μ m 濾膜過濾後之出流水進行分析。

COD 測定採用 Lovibond COD Vario Tube Test 0-150 mg/L 試劑組進行 COD 測定，並以 HACH DR3900 分光光度計搭配程式進行分析。操作步驟如下：

1. 將待測樣品稀釋至試劑測量範圍(0-150 mg/L)內，並以去離子水(DI water)作為空白。
2. 分別將 2 mL DI 水(空白)與稀釋後樣品加入預裝有試劑之反應試管中，蓋緊管蓋後用力搖晃，以確保試劑與樣品充分混合。
3. 放入 COD 加熱爐中，以 150 $^{\circ}$ C 加熱 2 小時。
4. 加熱完畢後等待冷卻至室溫
5. 取出試管冷卻至室溫後，使用 HACH DR3900 分光光度計，啟動 COD LR 程式。首先以空白樣品進行歸零校正，再逐一測定各樣品之吸光值，由程式自動換算並顯示 COD 濃度結果(mg/L)。

3.8.6 總氮分析

本研究探討藻菌顆粒污泥系統對氮污染物之處理效能，將分析各反應槽出流水中的總氮濃度以及其組成成分，包括氨氮、硝酸鹽氮與亞硝酸鹽氮。各項分析採用對應之方法進行測定。

3.8.6.1 氨氮分析

為了解出流水中的氮組成，本研究採用 HACH 水中氨氮分析試劑組(納氏比色法，Nessler Method)進行氨氮濃度測定，搭配 HACH DR3900 分光光度計與預設程式進行分析。其操作步驟如下：

1. 將待測水樣稀釋至方法量測範圍 0.02-2.50 mg-NH₃-N / L 內，並以 DI 水作為空白。
2. 分別取 25 mL DI 水與稀釋後樣品置於 25 mL 容器中，先滴加 3 滴 Mineral Stabilizer 並混合均勻，再滴加 3 滴 Polyvinyl Alcohol Dispersing Agent 並再次混合均勻。
3. 空白與待測樣品各加入 1 mL Nessler Reagent，混合均勻後置於暗處反應 1 分鐘完成顯色。
4. 啟動 HACH DR3900 分光光度計之 380 N Ammonia Ness.程式(波長 425 nm)。
5. 以空白樣品進行歸零，並依序分析待測樣品。儀器讀取吸光值，程式自動換算並顯示氨氮濃度(mg-NH₃-N / L)

3.8.6.2 硝酸鹽氮與亞硝酸鹽氮分析

為了解出流水中的氮組成，本研究使用 Metrohm Eco IC 離子層析儀搭配 Metrosep A Supp 17 - 150/4.0 陰離子管柱進行硝酸鹽氮與亞硝酸鹽氮分析。

分析原理為：固定相為管柱中的陰離子交換樹脂，其表面帶有正電荷官能基；移動相為碳酸氫鈉/碳酸鈉流洗液。分析前先以流洗液進行平衡。樣品注入後，樣品中之陰離子如 NO₂⁻、NO₃⁻與移動相中之基礎陰離子(HCO₃⁻/CO₃²⁻)競爭管柱中的結合位點，電荷低且水合能高的陰離子(F⁻、Cl⁻)較易被流動相置換，先行洗脫；多價或水合能低、極性高的陰離子(SO₄²⁻、NO₃⁻)保留較久。流出物通過抑制器後，將高導電性移動相轉化為低導電度鹽類，降低背景訊號，接續以電導度檢測器進行檢測。各陰離子根據保留時間形成波峰，藉由與標準品比對波峰面積，即可進行定性與定量分析(Cummins et al., 2017)。



3.8.7 總磷分析

為評估藻菌顆粒污泥系統對磷污染物的去除效能，本研究採用 HACH Total Phosphorus Test 'N Tube™ 0.06-3.50 mg L⁻¹ PO₄³⁻試劑組(酸性過硫酸消化法)進行總磷測定，並以 HACH DR3900 分光光度計搭配程式進行分析。操作步驟如下：

1. 將待測樣品稀釋至 0.06-3.50 mg L⁻¹ PO₄³⁻之量測範圍內。
2. 預熱消化爐至 150°C
3. 於每支預裝試劑之反應管中加入 5 mL 樣品。
4. 於每支試管中加入 1 包 Potassium Persulfate Powder Pillow，蓋緊後充分搖晃使其完全溶解。
5. 將試管置入已預熱完成之消化爐，以 150°C 消化 30 min。
6. 消化完成後取出試管，靜置冷卻至室溫。接著加入 2 mL 1.54 N NaOH 溶液中和酸性，並混合均勻。
7. 啟動 DR390 之 536 P Total/AH PV TNT 程式。
8. 取一個已中和之試管外壁拭淨，置入比色槽，按 ZERO 歸零。
9. 於已進行吸光值歸零的樣品試管加入 1 包 PhosVer 3 Powder Pillow，蓋緊搖晃 20-30 秒，置入比色槽中。
10. 等待 2 min 顯色反應，於反應完成後測量吸光值，儀器將自動換算並顯示總磷濃度(mg L⁻¹ PO₄³⁻)，此步驟須於 8 min 內完成。
11. 後續樣品重複步驟 8-10。

3.8.8 EPS 分析

EPS 影響顆粒污泥之形成與結構穩定性，其主要可區分為緊密結合型 EPS (Tightly Bound EPS, TB-EPS)與鬆散型 EPS (Loosely Bound EPS, LB-EPS)。其中，TB-EPS 位於細胞表面並與細胞壁結合緊密，而 LB-EPS 則分佈於外層，結構相對

鬆散、密度亦較低(Yan et al., 2019; Zhang et al., 2019)。為探討活性污泥在光照與剪切力等條件下轉變為藻菌顆粒污泥後，其 EPS 組成之變化，本研究分別選取植種污泥與第 19 週已完全顆粒化之成熟藻菌顆粒污泥樣本萃取 EPS，並分析醣類(polysaccharide, PS)與蛋白質(protein, PN)組成。

3.8.8.1 EPS 萃取

本研究採用加熱法(Heat Method)萃取污泥中的 EPS，並以 Wang et al. (2021)之萃取方法為基礎進行調整。操作步驟如下：

1. 污泥樣本清洗

- i. 收集 50 mL 污泥樣本。
- ii. 以 4000*g、4°C 離心 10 分鐘，分離固體。
- iii. 加入 DI 水至原始體積，以 4000*g、4°C 離心 10 分鐘。
- iv. 去除上澄液。

2. LB-EPS 萃取

- i. 將沉渣以 0.05% NaCl 溶液懸浮並定容至 30 mL (濃縮比例為 5/3 倍)。
- ii. 以 vortex 全速震盪 3 分鐘。
- iii. 以 40 kHz 超聲波震盪 20 分鐘(中間搖晃混合 1 次)。
- iv. 以 5000*g、4°C 離心 20 分鐘。
- v. 收集上澄液，即為 LB-EPS。

3. TB-EPS 萃取

- i. 將剩餘沉渣再次以 0.05% NaCl 溶液懸浮至原體積 50 mL。
- ii. 以 40 kHz 超聲波震盪 10 分鐘(中途搖晃混合 1 次)。
- iii. 將懸浮液置於 80°C 水浴中加熱 30 分鐘。
- iv. 加熱後以 8000*g、4°C 離心 20 分鐘。
- v. 收集上澄液，即為 TB-EPS。



4. 後續處理與保存

- i. 所有萃取所得之 LB-EPS 與 TB-EPS 溶液，皆需以 0.45 μm 濾膜過濾以去除殘留懸浮固體。
- ii. 濾液分裝後於 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冷凍保存，備後續蛋白質與醣類含量分析使用。

3.8.8.2 醣類定量分析

為定量 EPS 中的醣類含量，本研究使用苯酚-硫酸法(Phenol-Sulfuric Acid Method) (DuBois et al., 1956)進行醣類定量分析。該方法為一種經典且廣泛應用之比色分析技術。其原理為利用濃硫酸將樣品中的多醣水解為單醣，並使單醣脫水生成糠醛類化合物，如五碳醣產生糠醛(furfural)，六碳醣則產生 5-羥甲基糠醛(5-HMF)。這些脫水產物可與苯酚發生縮合反應，生成穩定的橘黃色發色團，於波長 490 nm 處具有最大吸收峰。樣品在此波長下的吸光值(OD_{490})與其總醣濃度呈線性關係，故可透過分光光度計進行定量。操作步驟如下：

1. 以 D-葡萄糖作為標準品，配製 0、10、30、50、70、100 mg/L 製作檢量線，用以建立吸光值與濃度間的對應關係。
2. 配製 5% (w/v) 苯酚溶液，並避光保存。
3. 取 1 mL 水樣於玻璃試管中。
4. 加入 1 mL 5% 苯酚溶液。
5. 緩慢加入 5 mL 濃硫酸，避免溶液濺出。
6. 將混合液靜置約 10 分鐘，使其冷卻至室溫，形成穩定的橘黃色顯色產物。
7. 使用分光光度計測量 490 nm 吸光度(OD_{490})，並利用 OD_{490} 與標準品濃度之檢量線換算樣品中的總醣濃度。

3.8.8.3 蛋白質定量分析

為定 EPS 中之蛋白質含量，本研究使用市售之 SMART BCA Protein Assay Kit

進行定量分析。其原理基於雙價銅離子(Cu^{2+})在鹼性環境中被還原為一價銅離子(Cu^+)，進而與 Bicinchoninic Acid (BCA)形成紫色螯合物。此顯色反應產生之水溶性配位化合物在 562 nm 處具有最大吸收峰，其吸光值(OD_{562})與蛋白質濃度呈良好線性關係，適用濃度範圍為 20-2000 $\mu\text{g/mL}$ 。蛋白質中的胾肽鍵與特定胺基酸殘基(如 cysteine、cystine、tryptophan、tyrosine)具有還原能力，能促進銅離子還原並強化顯色效果。本研究以牛血清白蛋白(Bovine Serum Albumin, BSA)作為標準品製備標準曲線，用以推算樣品中蛋白質含量。操作步驟如下：

1. 以 BSA 為標準品，配製濃度為 0、25、50、75、100、200、300、400、500 mg/L 共 9 組濃度作為檢量線。
2. 將套組內的 Solution A 與 Solution B 依 50 : 1 之比例混合，即為顯色反應用之 Working Solution (WS)。WS 的用量取決於標準品與待測樣品數量。
3. 於每支試管中加入 0.1 mL 標準品或待測樣品後，再加入 2 mL WS，充分混合均勻。
4. 將試管置於 37 °C 恆溫箱中反應 30 分鐘。反應結束後，取出靜置冷卻至室溫。
5. 使用分光光度計於 562 nm 測量吸光值(OD_{562})，並以 DI 水歸零。由於冷卻至室溫後反應仍持續進行，只是在室溫下反應趨緩，10 分鐘的區間內分析完畢，其產生的誤差不顯著。因此，冷卻至室溫後須在 10 分鐘區間內分析完畢。
6. 所有樣品之 OD_{562} 需扣除 0 mg/L 標準品之 OD_{562} 進行校正。
7. 利用標準品的濃度與校正後之 OD_{562} 製作檢量線，並根據檢量線換算得出樣品之蛋白質濃度。

3.8.9 微生物組成分析

為探討初始植種膠羽狀污泥轉變為藻菌顆粒污泥後微生物組成的變化，以比

較各反應槽的差異，並與反應槽運作模式及污染物去除效率進行關聯性分析。本研究取植種污泥與第 21 週已成熟之藻菌顆粒污泥樣本進行分析。



3.8.9.1 DNA 萃取

為進行後續微生物物種分析，本研究於取樣後，將所採集之反應槽污泥樣本以 6000 rpm 離心 10 分鐘，去除上澄液後，立即以 -20°C 冷凍保存。DNA 萃取採用 DNeasy PowerSoil Pro Kit (QIAGEN, Germany)，依照廠商操作手冊進行，具體步驟如下：

1. 污泥樣本以玻璃棒手動搗碎，以破壞緻密的顆粒結構，確保內部微生物可有效釋出並進行後續萃取。
2. 將 PowerBead Pro Tube 短暫離心，使玻璃珠集中於管底。加入最多 250 mg 污泥樣品與 800 μ L Solution CD1，並混合均勻。
3. 將 PowerBead Pro Tube 水平固定在 Vortex Adapter 上，以最高速震盪 10 分鐘。
4. 以 15000 $\times$ g 離心 1 分鐘。
5. 取約上澄液至新的 2 mL 離心管。
6. 加入 200 μ L Solution CD2，震盪 5 秒鐘混勻。
7. 以 15000 $\times$ g 離心 1 分鐘。避免吸取到沉澱物，將最多 700 μ L 上澄液移至新的 2 mL 管。
8. 加入 600 μ L Solution CD3，震盪 5 秒鐘混勻。
9. 將 650 μ L 溶液加入 MB Spin Column 中，以 15000 $\times$ g 離心 1 分鐘。
10. 丟棄濾出液，重複步驟 8，確保所有溶液都通過 MB Spin Column。
11. 小心將 MB Spin Column 放入乾淨的 2 ml 收集管中。避免濾出液濺到 MB Spin Column 上。
12. 加入 500 μ L 的 EA 溶液至 MB Spin Column 中，以 15000 $\times$ g 離心 1 分鐘。

- 
13. 丟棄濾出液，將 MB Spin Column 放回同一支 2 ml 收集管中。
 14. 加入 500 μ L 的 C5 溶液至 MB Spin Column 中，以 15000 $\times$ g 離心 1 分鐘。
 15. 丟棄濾出液，將 MB Spin Column 放入新的 2 ml 收集管中。
 16. 以最高 16000 $\times$ g 離心 2 分鐘。小心將 MB Spin Column 移至新的 1.5 ml 洗脫管中。
 17. 加入 50-100 μ L 的 C6 溶液至白色濾膜的中心。
 18. 以 15000 $\times$ g 離心 1 分鐘，然後丟棄 MB Spin Column。
 19. 將 DNA 樣品冷凍保存於-20 $^{\circ}$ C。

3.8.9.2 菌群組成分析

為比較初始植種污泥與三座藻菌顆粒污泥反應槽間之菌群組成差異，以及連結菌群與各槽污染物去除效率之關聯性，本研究委託基龍米克斯生技股份有限公司進行 16S rDNA 全長定序與後續菌種分析。

16S rDNA 為原核生物核糖體小亞基中高度保守之基因，長度約 1500 bp，包含 9 個具高度變異性之區域(V1-V9)，即使近緣物種間仍具有可辨識之差異。由於兼具保守與變異特性，16S rDNA 已廣泛應用於細菌之分類與鑑定。

定序過程採用 PacBio Sequel IIe 定序儀執行 HiFi 定序(High-Fidelity Circular Consensus Sequencing)，以獲取高精度長讀長(HiFi Reads)。擴增所使用之引子對為：

27F: 5'-AGRGTTYGATYMTGGCTCAG-3'

1492R: 5'-RGYTACCTTGTTACGACTT-3'

其擴增範圍涵蓋 V1 至 V9 全區域，得以解析至物種(Species)層級，提升分類精度與分析深度。

定序所得之 HiFi reads 後續以 QIIME 2 微生物定序分析平台進行物種分析，分析流程中結合 DADA2 模組進行品質控制與序列處理，包括：去除雜訊序列、校正邊緣區域之定序錯誤、去除 PCR 錯配所產生之嵌合體序列、剔除樣本中僅出現一

次之序列，以產出高品質之擴增子序列變異(Amplicon Sequence Variant, ASV)。QIIME 2 軟體先以 SILVA ribosomal RNA gene database, release 138 作為參考資料庫，並配合本研究所用之引子對擷取對應區段，以建立 Naive Bayes 分類器作為物種指派之依據。最終，比對所得之物種分類結果計算出各物種於樣本中之相對豐度，作為後續微生物群落組成及污染物去除效能關聯性分析之依據。

3.8.9.3 微藻組成分析

為探討初始植種污泥與三座藻菌顆粒污泥反應槽中微藻組成之差異，本研究委託源資國際生物科技股份有限公司進行 18S rDNA 定序及後續物種鑑定與分析。

18S rDNA 為真核生物核糖體小亞基中高度保守之結構基因，長度約為 1800 bp，內含 9 個變異區域(V1-V9)。此基因同時具備高度保守與高變異性之特性，已廣泛應用於真核生物之分類鑑定與群落多樣性分析。本研究針對 18S rDNA 的 V4 可變區進行擴增，擴增所使用之引子為：

528F：5'-GCGGTAATTCCAGCTCCAA-3'

706R：5'-AATCCRAGAATTTACCTCT-3'

增幅出的片段隨後以 Illumina MiSeq 平台進行雙端定序(paired-end sequencing, 2 × 301 bp)，自 DNA 片段兩端分別讀取序列。定序所獲得的原始資料透過 QIIME 2 中的 DADA2 模組濾除品質差的序列，後將雙端序列合併為單一條較長的序列，並去除因 PCR 錯配產生之嵌合體序列(chimeric sequences)，以產出高品質之有效序列。有效序列進一步整理為 ASV，並以 SILVA 18S rRNA gene database (release 138)作為參考資料庫進行物種指派。最終統計各樣本中不同 ASV 之相對豐度，以建立各反應槽之微藻群落組成，作為後續群落結構比較之依據。

3.9 統計分析

為評估本研究中各項實驗數據之變異性，並比較不同反應槽在污染物去除效率上的差異，本研究採用多項統計分析方法，以定量方式判斷各數據間是否具有顯著差異，進而支持研究結果的解釋與推論。透過常態性檢定、變異數分析、非參數檢定及相關性分析等方法，從統計觀點探討不同操作條件對系統性能之影響，提升分析結果的科學性與可信度。

本研究之統計分析流程共分為四個主要步驟，包含：1.基本假設檢定、2.群組差異檢定、3.事後多重比較、4.統計結果分析。詳細流程如圖 3-4 所示。所有統計分析皆以 Excel Real Statistics 套件執行，雙尾檢定之顯著水準設定為 $\alpha = 0.05$ 。

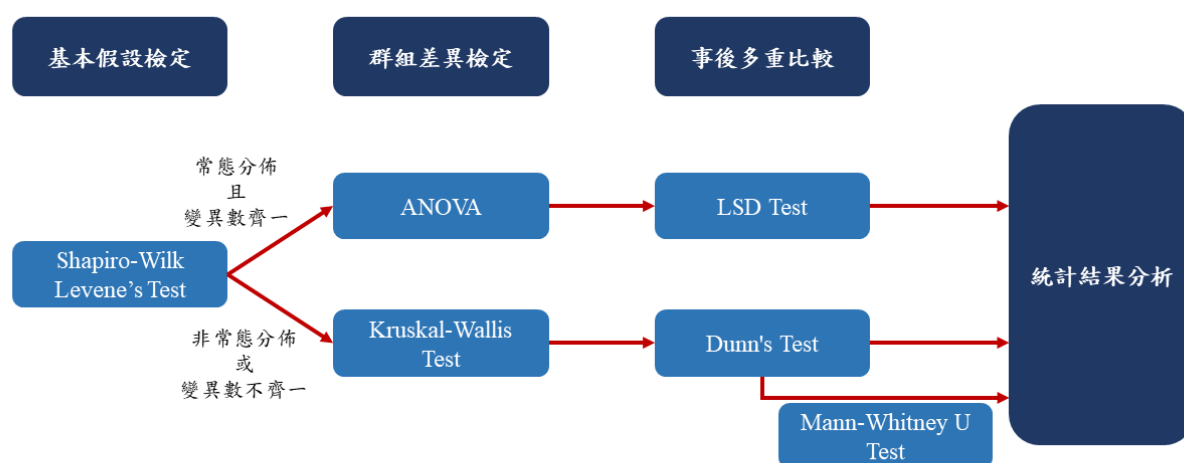


圖 3-4 統計分析流程圖

3.9.1 皮爾森相關性分析

皮爾森相關性分析用以評估兩變數之間的線性關聯程度，並以相關係數 r 表示，範圍介於-1 至+1。 $r > 0$ 表示正相關，當 $r > 0$ 時，表示變數之間存在正相關；當 $r < 0$ 時，則為負相關； $r = 0$ 則代表無線性關係。本研究採用此方法評估污泥沉



降性(SVI₅)與反應槽內 MLVSS 之間的關聯性，並依據 Schober et al. (2018)進行解釋， r 的絕對值解釋如下：

- $r < 0.10$ ：無相關
- $0.10 \leq r < 0.40$ ：低度相關
- $0.40 \leq r < 0.70$ ：中度相關
- $0.70 \leq r < 0.90$ ：高度相關
- $r \geq 0.90$ ：完全相關

透過此分析可進一步釐清系統中沉降性與污泥濃度之間的動態關係，作為探討污泥濃度變化的重要依據。

3.9.2 Shapiro-Wilk 常態性檢定

Shapiro-Wilk 檢定為評估樣本資料是否符合常態分布的常用統計方法。該檢定之虛無假設為「樣本來自常態分布母群」，若檢定結果之 p 值大於顯著水準($p > 0.05$)，則可視為樣本符合常態分布。

本檢定結果作為後續選擇適當統計方法之依據：若資料符合常態分布，則採用參數檢定方法，如單因子變異數分析(ANOVA)；若不符合，則改採非參數檢定方法(如 Kruskal-Wallis 檢定)。本研究於比較各組污染物去除效率前，皆先進行 Shapiro-Wilk 常態性檢定，以確保後續統計方法之適切性與分析結果之可信度。

3.9.3 Levene's Test

Levene's Test 為檢定多組樣本是否具有相同變異數(即變異數齊一性)之常用方法。該檢定之虛無假設為「各組樣本具有相同變異數」，若檢定結果 p 值大於顯著水準($p > 0.05$)，則可視為變異數齊一，滿足進行 ANOVA 之前提條件。本研究於進行 ANOVA 檢定前，皆先以 Levene's Test 驗證各組數據之變異數是否相等，藉以確認是否適合採用參數統計方法進行分析。



3.9.4 變異數分析(Analysis of Variance, ANOVA)

變異數分析(Analysis of Variance, ANOVA)為一種被廣泛使用的參數統計方法，本研究採用單因子變異數分析，用於檢定三組以上獨立樣本之平均值是否具有顯著差異。其假設前提包括：

1. 各組資料須來自常態分布母群(可透過 Shapiro-Wilk 檢定)；
2. 各組資料具有變異數齊一性(可透過 Levene's Test 檢定)；
3. 各樣本間彼此獨立。

本研究針對不同運作模式所產生的污染物去除效率進行比較，若滿足上述前提條件，則採用單因子變異數分析進行整體差異性檢定。單因子變異數分析的虛無假設為「各組平均值無顯著差異」。當檢定結果的 p 值小於顯著水準($\alpha=0.05$)時，則拒絕虛無假設，表示至少有一組的平均值與其他組存在顯著差異。

本研究使用 ANOVA 比較 A、B、C 三槽之總磷去除效率是否具有顯著差異。當分析結果達顯著水準($p < 0.05$)時，將進一步採用 LSD (Least Significant Difference) 檢定，針對各組間進行成對檢定，以釐清顯著差異之來源。

3.9.5 Kruskal-Wallis 檢定

Kruskal-Wallis 檢定為一種非參數統計方法，主要用於檢定三組或以上獨立樣本之中位數是否存在顯著差異，適用於資料不符合常態分布或變異數齊一性假設時的情境。本檢定為 ANOVA 之非參數替代方法，其虛無假設為「各組樣本來自同一分布(中位數無顯著差異)」。若檢定結果 p 值小於顯著水準($p < 0.05$)，則可拒絕虛無假設，表示至少有一組樣本與其他組間存在顯著差異。

本研究於資料不符合常態分布(透過 Shapiro-Wilk 檢定)或變異數齊一性時(透過 Levene's Test 檢定)，採用 Kruskal-Wallis 檢定以比較 A、BD、BN、C 各組污染物去除效率之差異性。若檢定結果顯著，將進一步使用 Dunn's Test 進行組間之

差異分析。



3.9.6 最小顯著差異檢定(Least Significant Difference, LSD)

在 ANOVA 結果顯示各組間存在顯著差異時，為進一步釐清各組間之差異來源。LSD 檢定為 ANOVA 後常用之事後多重比較方法之一，適用於進行各組間平均數之成對比較，以判定任兩組間之差異是否具有統計顯著性。

LSD 檢定的前提假設為：各組樣本皆須符合常態分布，且具變異數齊一性。此外，每一組成對比較皆對應一組虛無假設，假設該兩組母群之平均數無顯著差異。當整體 ANOVA 達顯著水準後，LSD 檢定將以均方誤差(Mean Square Error, MSE)作為組內變異之估計量，並依此計算最小顯著差異值，作為判定任兩組平均數差異是否顯著之依據。當兩組平均數之差值大於 LSD 臨界值，且檢定結果之 p 值小於預設顯著水準時，則可拒絕虛無假設，認定該兩組母群平均數間存在顯著差異。

本研究於 ANOVA 檢定結果達顯著水準後，進一步採用 LSD 檢定進行各處理組間之成對比較，藉以明確確認不同處理條件下組間差異是否達統計顯著性，並為後續結果討論提供可靠之統計依據。

3.9.7 Dunn's Test

Dunn's Test 為 Kruskal-Wallis 檢定後常用之非參數事後比較方法，適用於在三組以上樣本之間，進行兩兩中位數的成對差異分析。此方法無需資料符合常態分布與變異數齊一性假設。

Dunn's Test 的虛無假設為「任兩組樣本之中位數無顯著差異」。若檢定結果之 p 值小於顯著水準($p < 0.05$)，則可拒絕虛無假設，表示該兩組樣本之中位數存在統計上顯著差異。

由於進行多組成對比較時會提高第一型錯誤(Type I Error)之累積風險，意即將不顯著之實際狀況在統計上判定為顯著之偽陽性結果，本研究執行 Dunn's Test 時

採用 Bonferroni 校正法以調降顯著水準，使顯著水準變的更嚴格，降低 Type I Error 發生機率。於本研究之比較情境中，共需進行 A、BD、BN、C 四組間的兩兩組合共 6 組比較，因此校正後顯著水準設定為 $\alpha_a = 0.05 \div 6 = 0.00833$ 。

當 Kruskal-Wallis 檢定顯示整體組間存在顯著差異時，本研究即進一步套用 Dunn's Test 進行成對比較，以釐清顯著差異來源，並作為分析不同運作模式對系統處理效能影響之統計依據。

3.9.8 Mann-Whitney U 檢定

Mann-Whitney U 檢定為常用之非參數統計方法，適用於比較兩組獨立樣本之間的中位數是否存在顯著差異，為不符合常態分布資料進行成對比較時之有效替代方案。該方法無需資料具常態分布或變異數齊一性，對於樣本數較小、變異性不一致或資料具偏態分布的情況具有高度穩健性。其虛無假設為「兩組樣本來自相同分布(即中位數無顯著差異)」，若檢定結果之 p 值小於顯著水準($p < 0.05$)，則可拒絕虛無假設，表示兩組樣本之間存在統計上顯著差異。

本研究中雖主要使用 Dunn's Test 執行多組間成對比較，惟該方法採用 Bonferroni 校正時可能過於保守，增加第二型錯誤(Type II Error)之風險，意即將實際存在顯著的情況在統計上判斷為不顯著的偽陰性結果，導致部分實際存在的差異未被檢出。為提升分析的敏感度與準確性，針對本研究中特別關注之光照期(BD)與黑暗期(BN)出水樣本，在 Dunn's Test 檢定結果不具顯著性但接近臨界值時，將進一步使用 Mann-Whitney U 檢定進行補充比較，以更精確判斷光暗週期對藻菌顆粒系統處理效能是否具有統計顯著性影響。

第四章 結果與討論



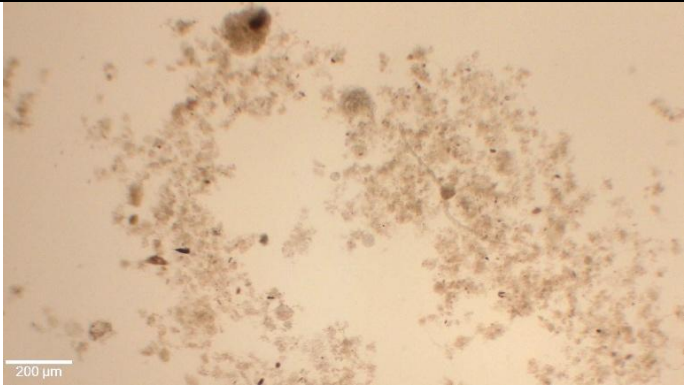
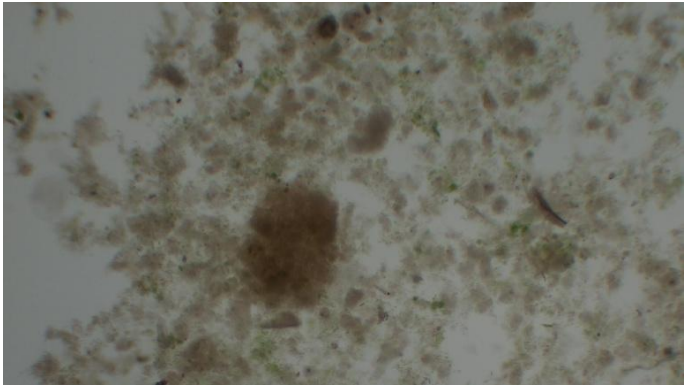
4.1 污泥狀態

4.1.1 藻菌顆粒污泥生長狀態

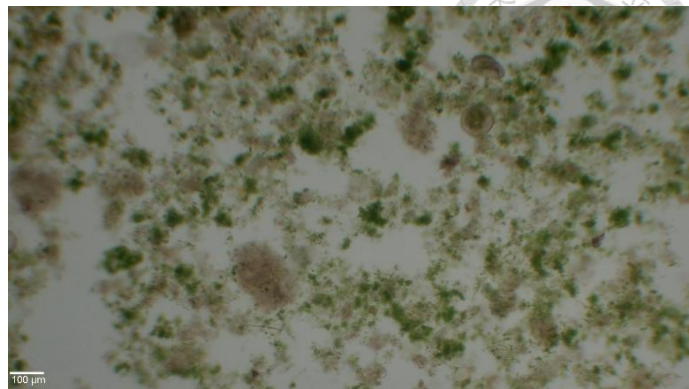
4.1.1.1 A 槽顆粒污泥生長狀態

A 槽採用 24 小時持續運作且持續光照的運作模式，具高光照時長的特性，以下為其 A 槽藻菌顆粒污泥生長狀況之觀察紀錄：

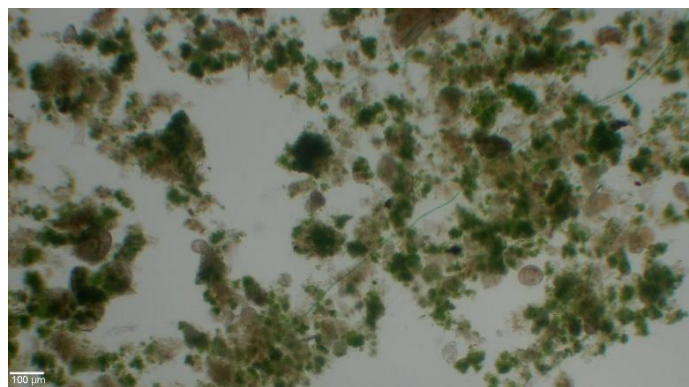
表 4-1 A 槽污泥生長狀況

	培養盤照	顯微鏡照
W0 Seed		
W1		

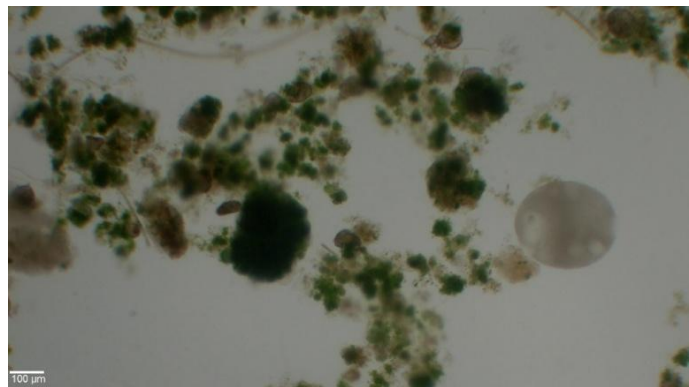
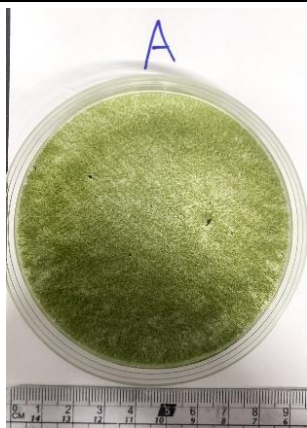
W2



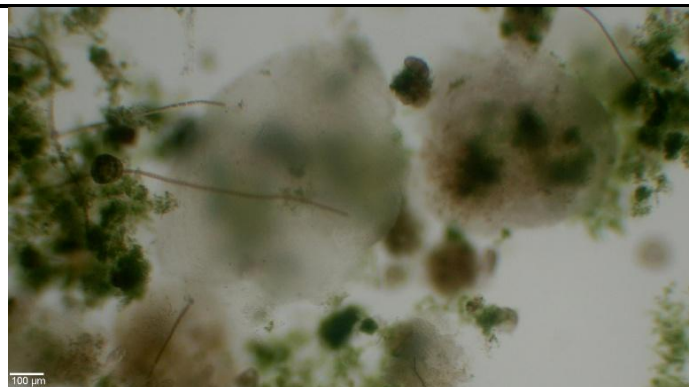
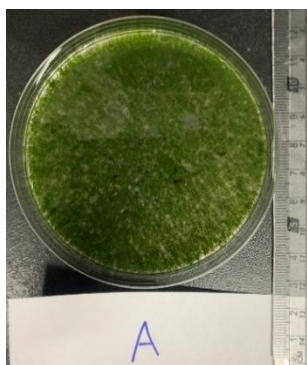
W3



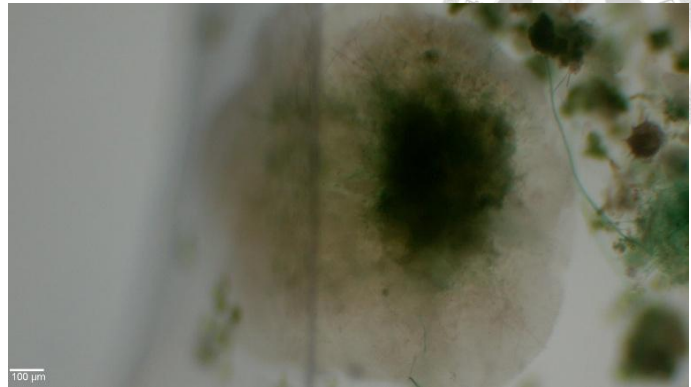
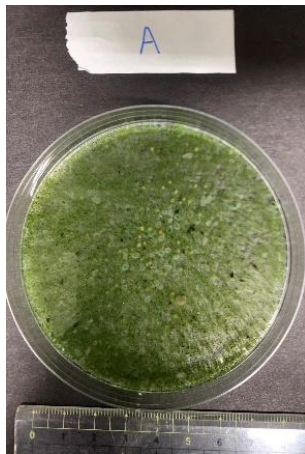
W4



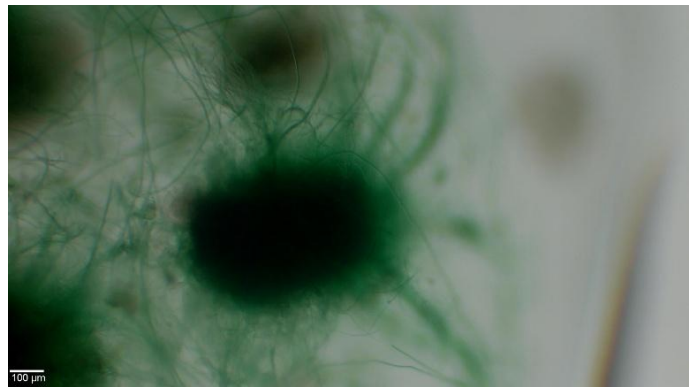
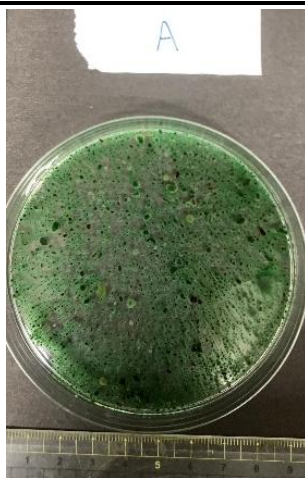
W5



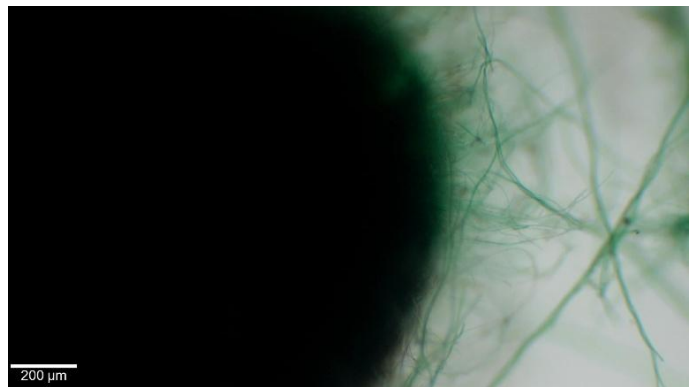
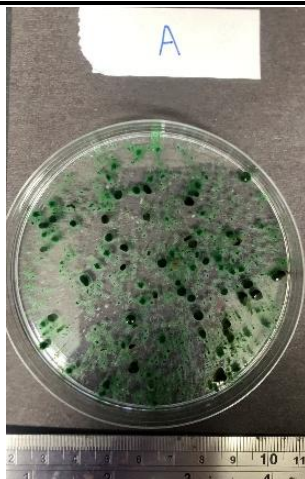
W8



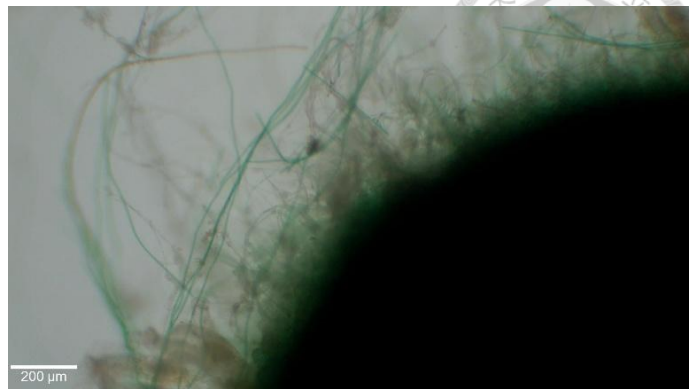
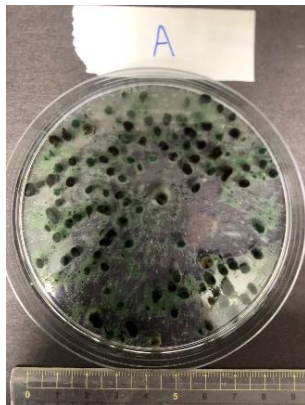
W9



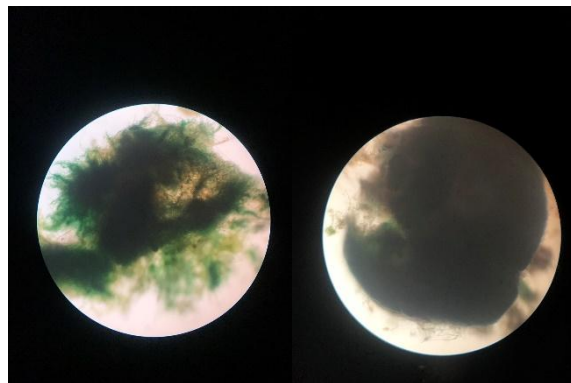
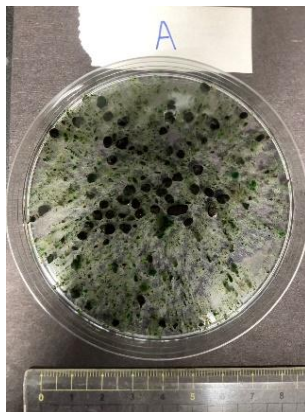
W11



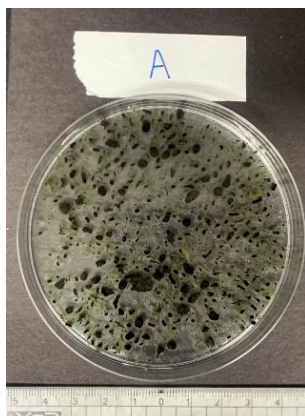
W13



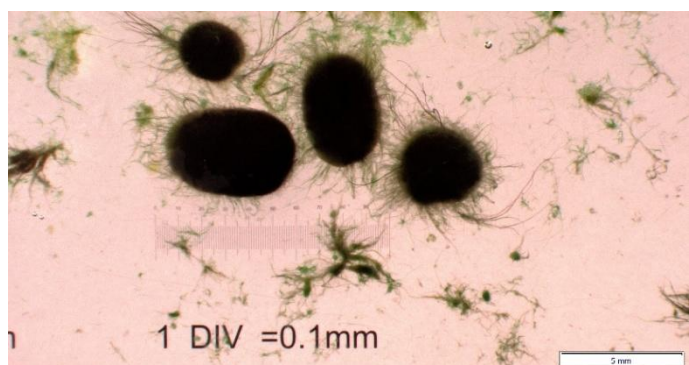
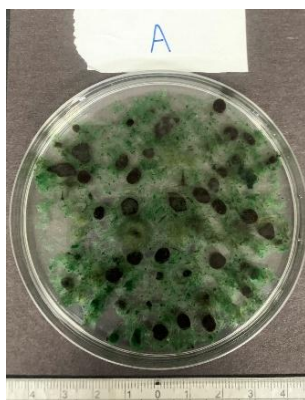
W14



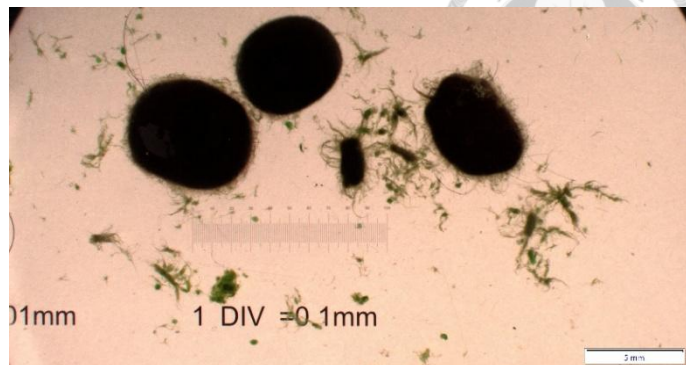
W16



W19



W21



W0-W8：藻菌顆粒逐漸形成階段

在培養初期(W1-W3)，藻類逐步開始生長，污泥亦出現初步聚集現象。W1 顯微鏡觀察已可見少量藻類生長，且有少量污泥聚集成鬆散團塊；至 W2，藻類明顯增多，惟污泥仍以膠羽狀形式分布。W3 時，藻類與污泥結合，形成粒徑普遍小於 0.15 mm 的藻菌聚集體，仍未達藻菌顆粒定義。

至 W4，部分藻菌聚集體粒徑增大至 0.30 mm，開始具備顆粒特徵。依據 Pronk et al. (2023)，直徑超過 200 μm 且結構緊密、邊界清晰的污泥聚集體可定義為顆粒，顯示本週首次出現藻菌顆粒形成。

W5 起，沉降時間由 10 分鐘縮短為 5 分鐘，以提升選擇壓力。此操作策略依據 Liu and Tay (2015)所述，能有效淘汰沉降性差的污泥，進一步促進顆粒化。結果顯示顯微鏡下觀察到大量白色顆粒，粒徑大於 1 mm，且內部包覆藻菌聚集體，顯示沉降策略對顆粒成形具顯著促進效果。

至 W8，顆粒持續生長，平均大顆粒粒徑已達 1.69 mm (詳見 4.1.2 平均粒徑)，顯示藻菌顆粒逐漸建立穩定結構。

W9：反應槽清洗後之變化

W8 至 W9 間進行反應槽內部清洗，清除槽壁附著藻類後，觀察到大量絲狀藻類附著於顆粒表面，造成顆粒外觀呈現毛絨狀結構，導致沉降性明顯下降。然而，

平均粒徑顯著提升，大顆粒粒徑達 3.20 mm。Xi et al. (2022) 指出，長時間光照易促進絲狀藻類生長，進而影響沉降性。另一方面，Cao et al. (2022) 認為絲狀藻類可作為微生物聚集骨架，提升附著性與 EPS 保留，有助顆粒體積擴張。

自 W9 起，A 槽顆粒污泥特徵更加明顯，系統中大多數污泥已轉化為藻菌顆粒型態，顯示系統已完全轉變為藻菌顆粒污泥系統。

W10-W13：顆粒逐漸增長階段

此階段顆粒表面由先前之毛絨狀逐漸轉變為平滑、緊實結構，有助於提升壓密沉降效果，污泥沉降性提升。平均大顆粒粒徑持續增長，至 W13 達 4.60 mm。

W14-W21：SRT 控制下之顆粒動態變化

自 W14 起系統進入固定 SRT (21 天) 操作。W14 當週顯現顆粒破碎現象，平均粒徑降至 3.70 mm，並出現大量未附著於顆粒之絲狀藻類增生，造成沉降性下降。Yang et al. (2018) 指出低 SRT 操作容易促使絲狀藻類(如 *Oscillatoria* sp.) 大量生長。推測從無 SRT 控制轉為固定 SRT 的操作條件變化，造成絲狀藻類生長加劇，進而破壞原有顆粒穩定結構。

儘管如此，自 W16 起顆粒粒徑再次穩定成長，至 W21 平均粒徑達 6.10 mm，顯示系統具有一定自我修復與動態調整能力。然而，W14-W21 期間仍可觀察到大量游離絲狀藻類(如圖 4-1)，造成污泥沉降性表現不穩定。

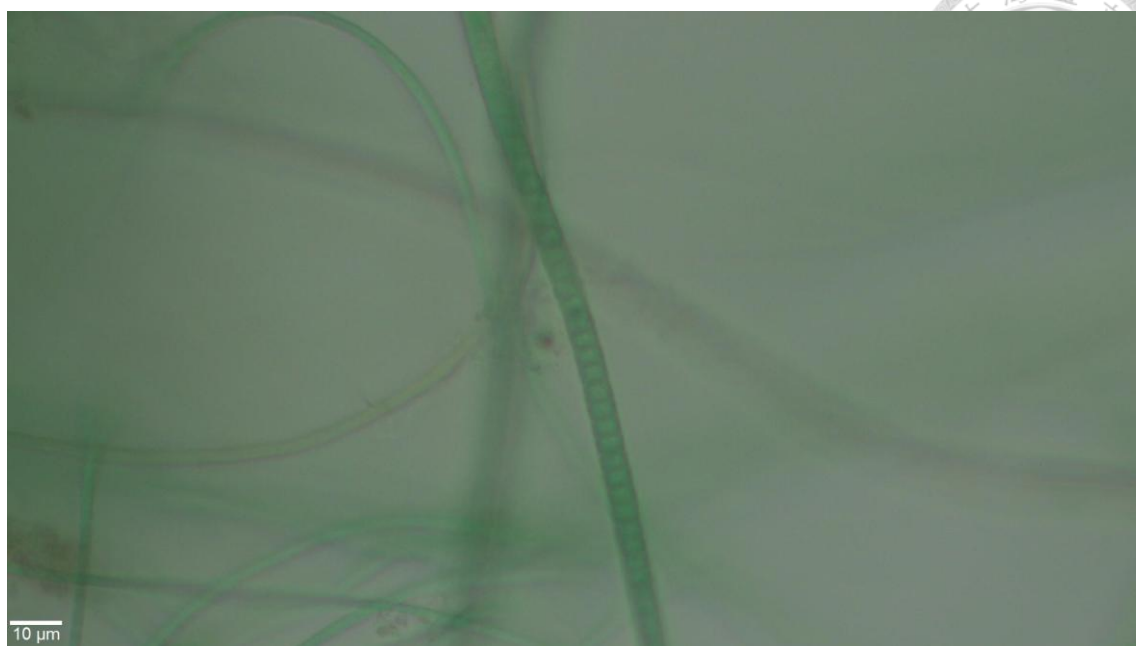
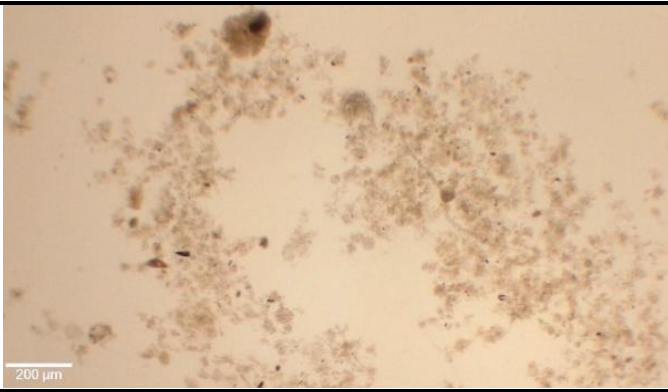


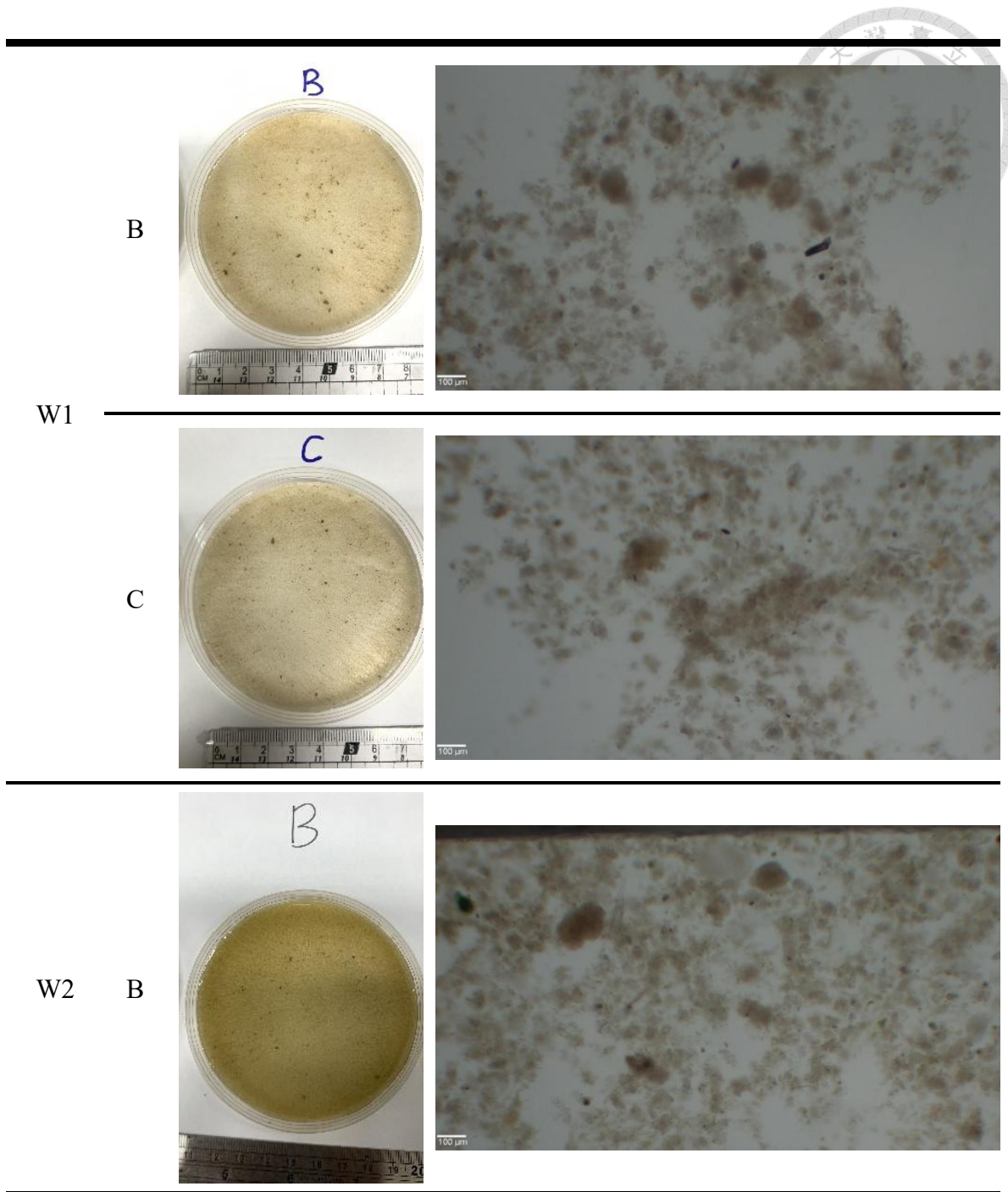
圖 4-1 A 槽內生長之絲狀藻類

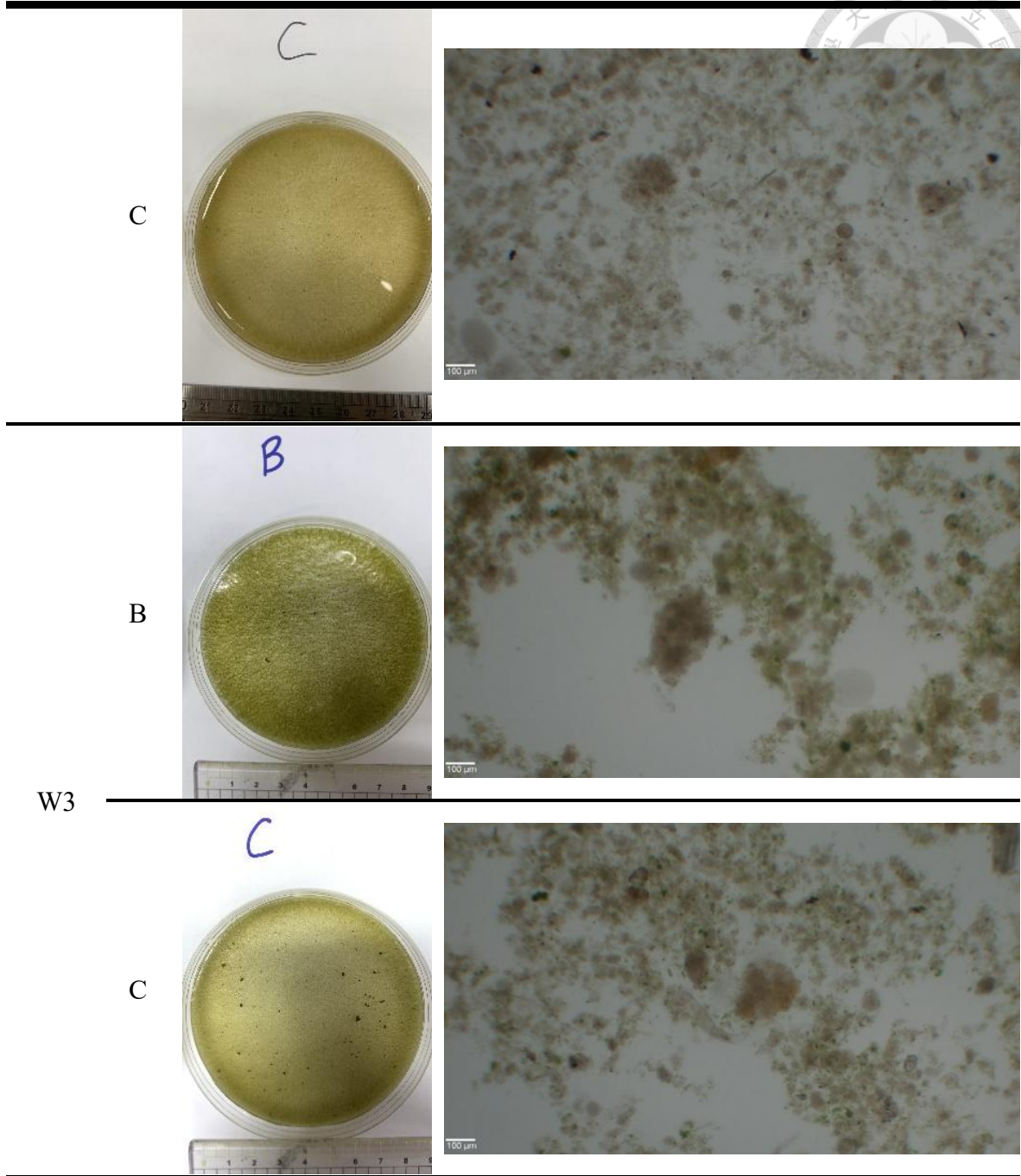
4.1.1.2 B、C 槽污泥生長狀態

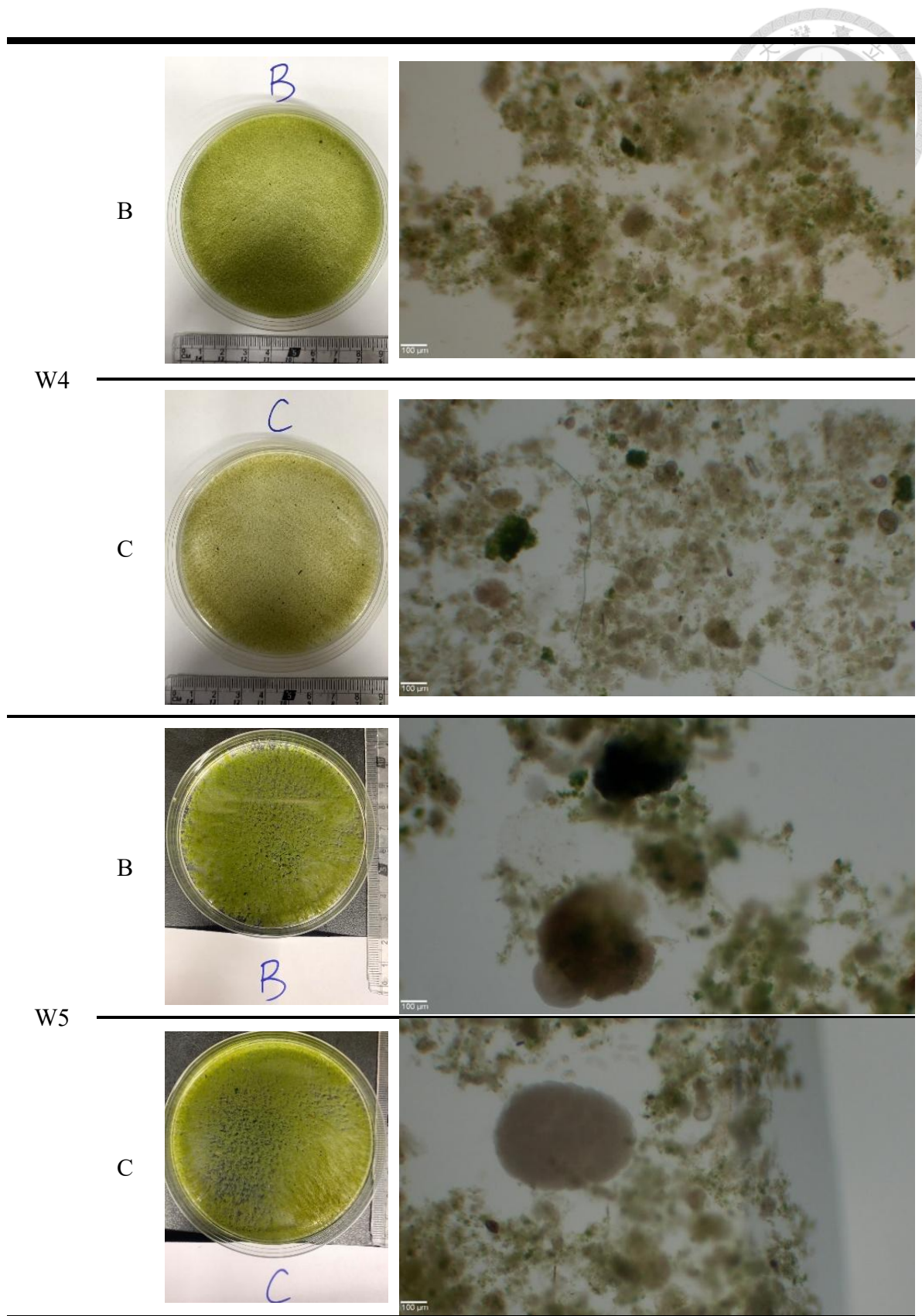
B 槽與 C 槽採用每日 12 小時光照，其中 B 槽於夜間持續運作，C 槽則於夜間出流之後閒置。兩者之污泥生長狀態相近，與 A 槽在 24 小時持續光照條件下所形成之污泥特性明顯不同。由此可見，光照時間為影響藻菌顆粒生成與結構的關鍵操作參數。以下為 B、C 槽污泥生長狀況之觀察紀錄：

表 4-2 B、C 槽污泥生長狀況

	培養盤照	顯微鏡照
W0 Seed		

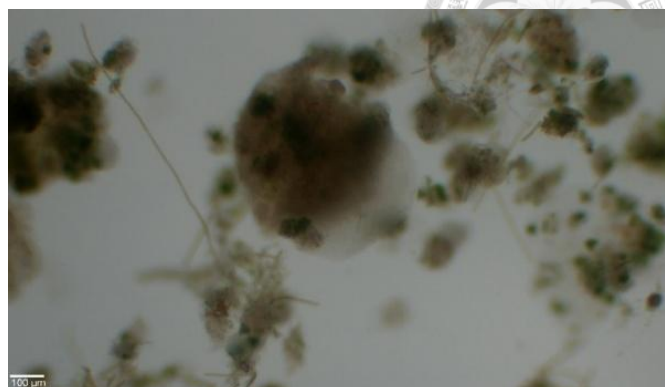
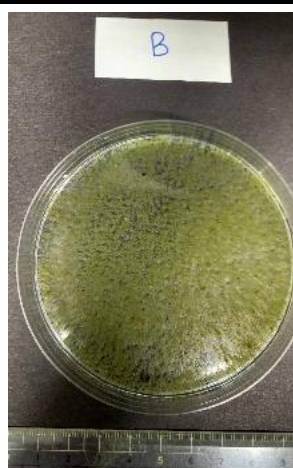






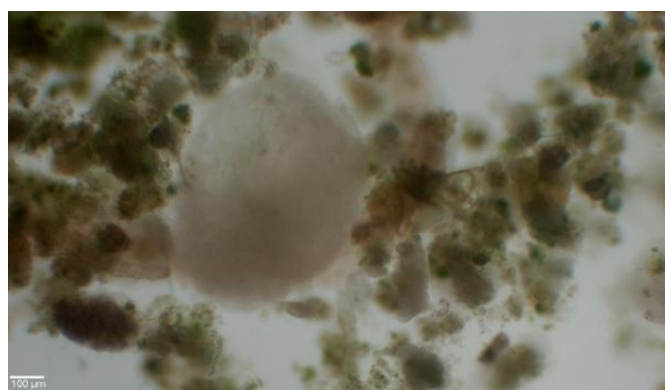
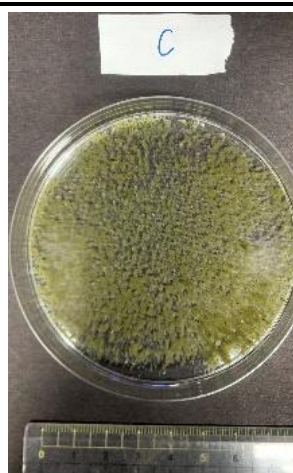


B



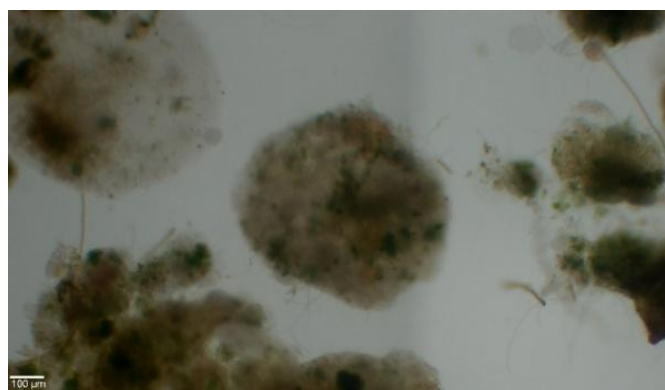
W8

C



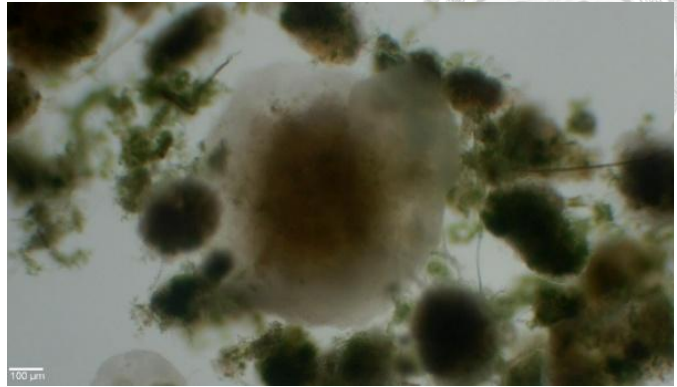
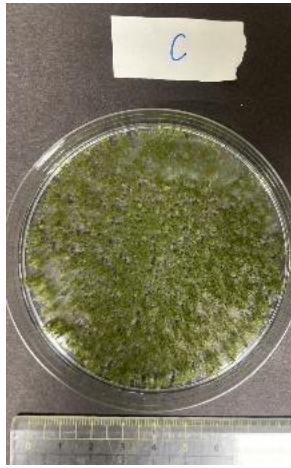
W9

B

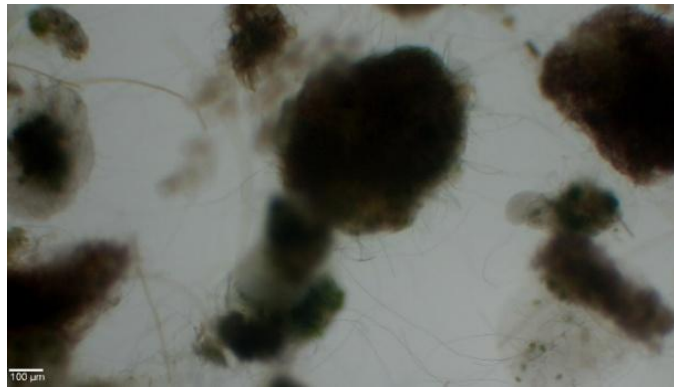
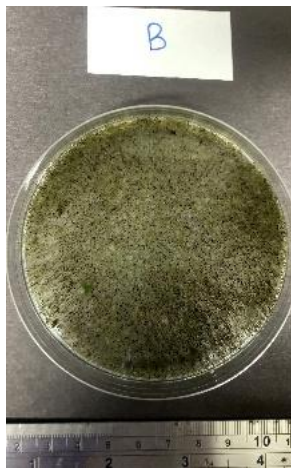




C

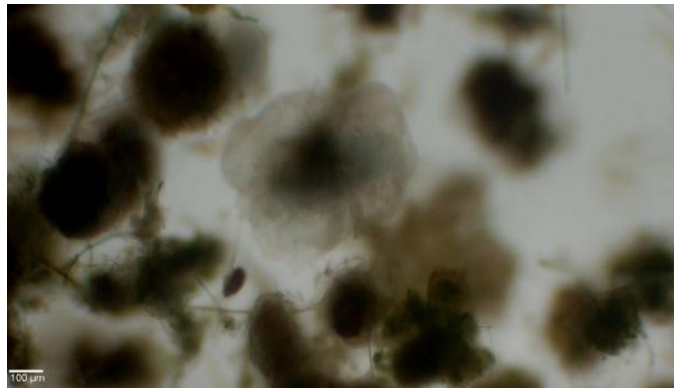
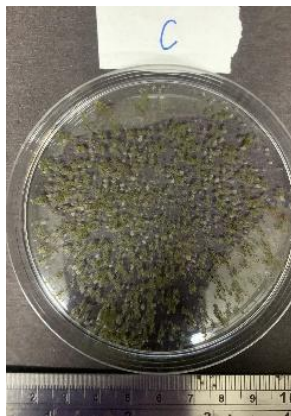


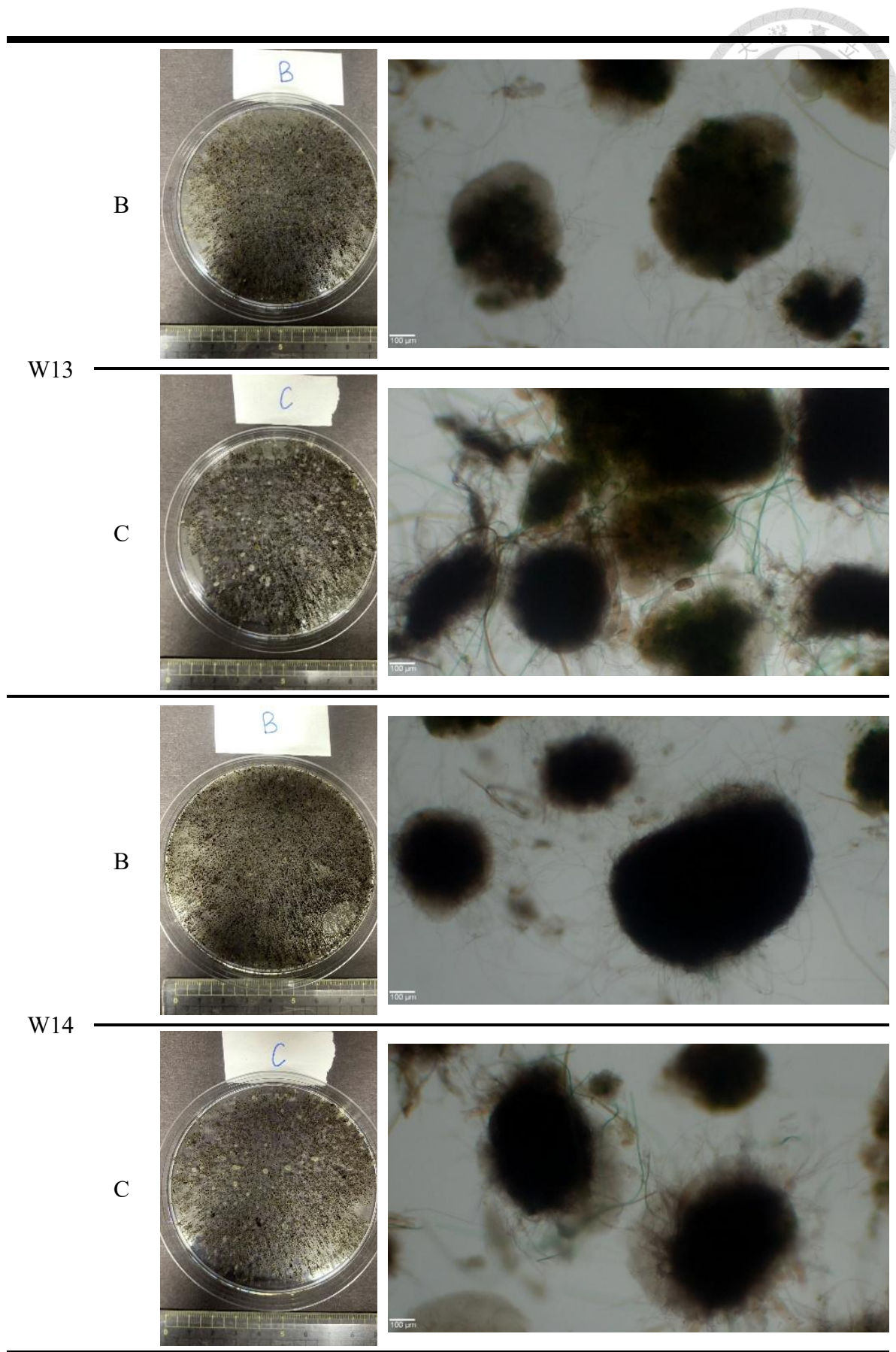
B



W11

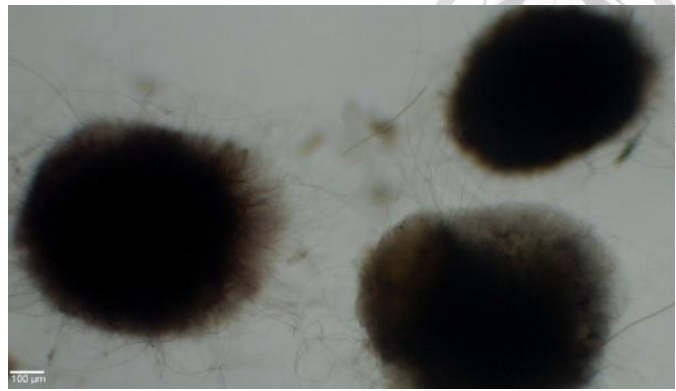
C



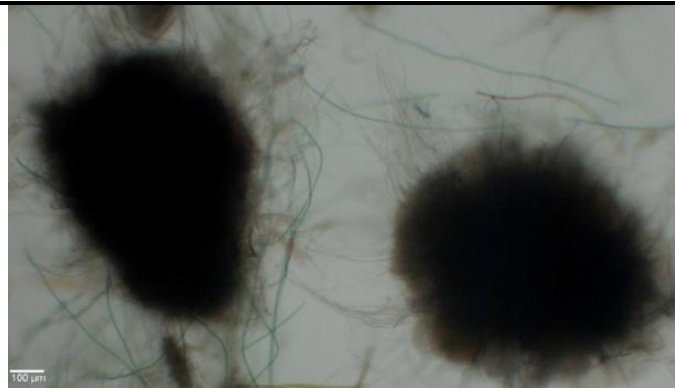
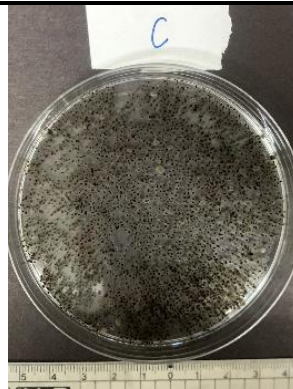


W16

B



C

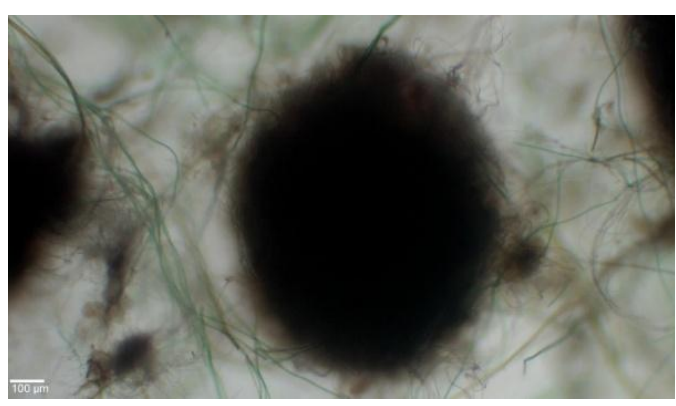
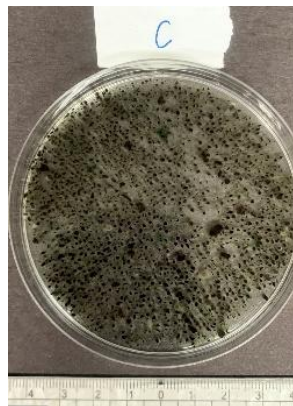


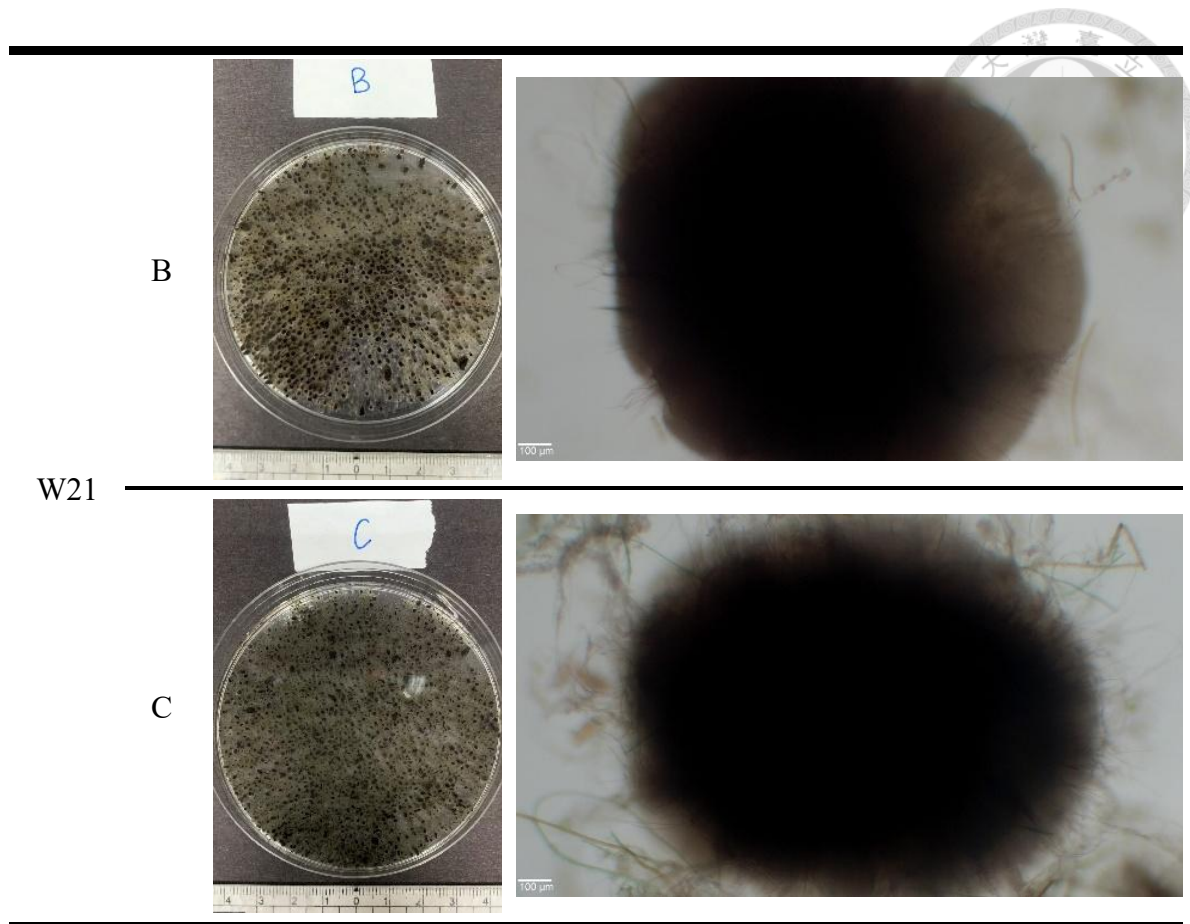
W19

B



C





W0-W8：藻菌顆粒逐漸形成階段

在反應槽初期，B 與 C 槽皆採每日 12 小時光照，W1 即觀察到少量污泥聚集，形成鬆散團塊。W2 時出現初步藻類生長，污泥開始出現團聚現象，但整體仍以膠羽狀分布為主。至 W3，藻類與污泥團塊數量持續增加，顯示顆粒化進程正在進行中。W4 時，藻菌聚集體粒徑明顯增加，部分已超過 0.2 mm，達到 Pronk et al. (2023) 所述之顆粒污泥標準。W5 起可見大量邊界清晰的顆粒形成，顆粒粒徑穩定上升，展現出良好的顆粒化趨勢。然而，至 W8 雖平均粒徑持續增加，仍有部分污泥粒徑未完全達到顆粒標準。

W9：反應槽清洗後之變化

W8-W9 間對 B、C 槽進行槽壁清洗，以去除附著藻類並提升光照穿透度。清洗後觀察到藻類濃度顯著上升，且顆粒粒徑大幅增加。B 槽與 C 槽之大顆粒平均

粒徑分別達 1.10 mm 與 1.02 mm，顆粒邊界清晰，系統中大多數污泥已可歸類為藻菌顆粒，反應槽也自 W9 起完全轉變為藻菌顆粒污泥系統。



W10-W13：顆粒逐漸增長階段

於此階段，B 與 C 槽中大部分污泥已轉化為藻菌顆粒。顯微鏡觀察發現兩類顆粒形態：一類為粒徑介於 0.3-0.7 mm 間的黑色小顆粒，數量較多；另一類為粒徑大於 1 mm、外部包覆白色半透明物質的大型顆粒。此時顆粒粒徑分布廣，儘管出現許多 >1 mm 之大顆粒，但仍以黑色小顆粒為主。

W14-W21：SRT 控制下之顆粒動態變化

自 W14 起，B、C 槽進行 SRT 控制(控制 SRT 為 21 天)。在此操作條件下，黑色小顆粒的平均粒徑逐漸提升，整體粒徑分布趨於集中。C 槽中觀察到絲狀藻類生長量明顯高於 B 槽，其顆粒沉降效果也因此略遜於 B 槽。

4.1.2 平均粒徑

為評估不同運作模式下藻菌顆粒之生長潛力與成熟程度，本研究每週進行污泥取樣，並自樣品中選取 5-7 顆粒徑適中、外觀型態正常之藻菌顆粒進行粒徑測量，作為系統中相對成熟顆粒之代表，據以作為顆粒化進程之參考指標。圖 4-2 呈現三座反應槽中大顆粒粒徑隨時間變化的趨勢。

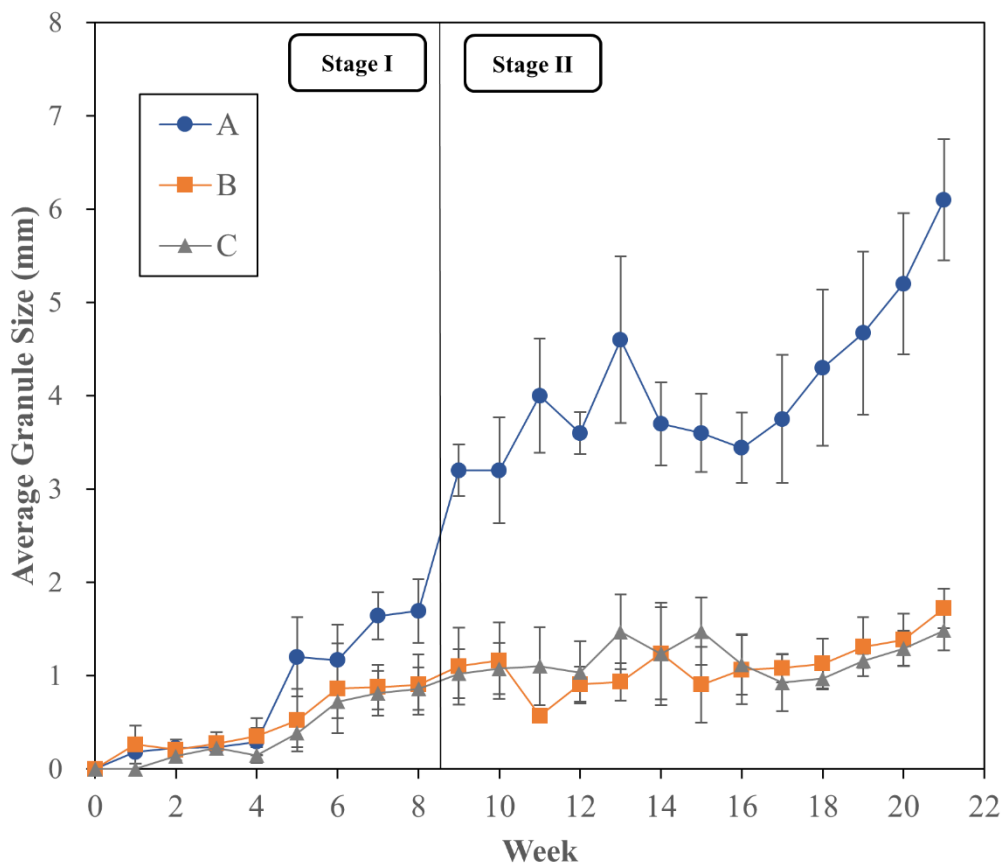


圖 4-2 平均粒徑隨時間變化趨勢

三座反應槽之顆粒粒徑皆呈逐漸上升趨勢，根據 4.1.1 藻菌顆粒污泥生長狀態可將整體過程劃分為兩個階段。第一階段(W0-W8)為顆粒形成期，污泥由膠羽狀逐漸聚集，粒徑穩定增加；第二階段(W9-W21)為顆粒增長期，大部分污泥已轉化為藻菌顆粒，進入穩定成長的過程。

其中，A 槽因高光照條件促進絲狀藻類大量生長，藉由提供 EPS 附著點並於氣泡剪切力下纏繞於顆粒表面，促進顆粒體積快速擴大，最終 W21 大顆粒平均粒徑達 6.10 ± 0.65 mm。相較之下，B 與 C 槽自 W9 之後粒徑成長趨緩，最終 W21 的大顆粒平均粒徑分別為 1.72 ± 0.21 mm 及 1.48 ± 0.21 mm。

操作期間於 W5、W9、W12、W15、W18 及 W21 進行反應槽清洗，以去除槽壁附著藻類、避免遮蔽光源，促進藻類在顆粒表面持續生長。藻類可促進 EPS 生成，尤其是緊密結合型(TB-EPS)，有助於形成微生物附著的骨架結構，進而增強顆



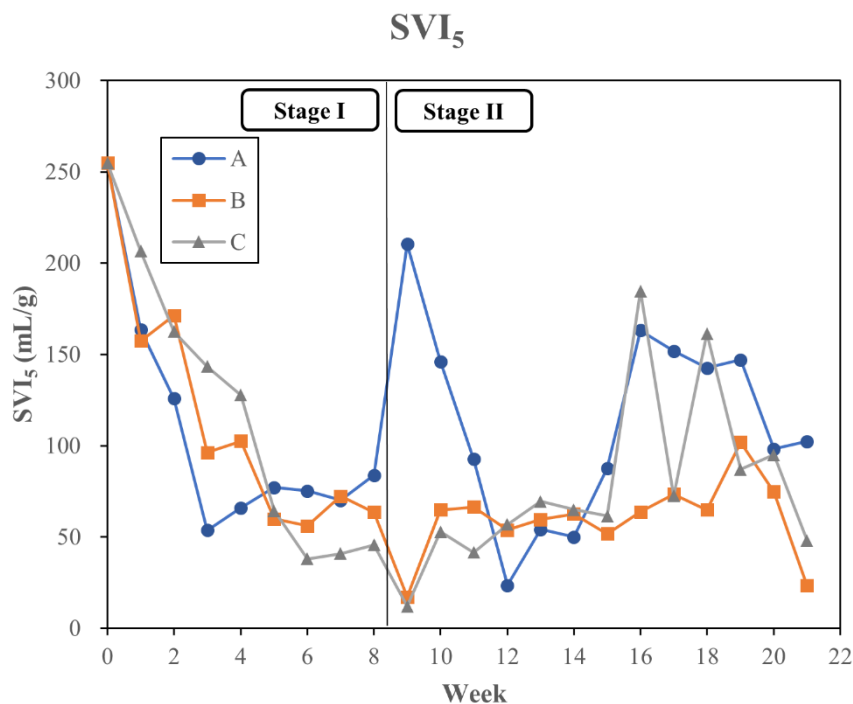
粒緊密度(Liu et al., 2022; Zhou et al., 2022)。由圖可見，在 W5 與 W9 進行反應槽清洗後，三槽粒徑均顯著提升，顯示清洗反應槽提升透光強度，促進藻類增殖，加速顆粒化進程。

此外，沉降時間亦為影響因素之一：系統初期沉降時間為 10 分鐘，於 W5 縮短為 5 分鐘，W20 進一步縮短為 3 分鐘。根據 Liu and Tay (2015)，縮短沉降時間可提升選擇壓力，排除沉降性差的污泥，進一步促進顆粒形成，亦可解釋 W5 粒徑顯著增加的現象。

整體而言，A 槽在長時間光照與連續操作下，顆粒增長速度明顯優於 B 與 C 槽。雖 B、C 槽運作模式略有差異(B 槽夜間持續運作，C 槽夜間閒置)，但其顆粒型態與粒徑表現相近，突顯光照時間為影響藻菌顆粒生長與結構的重要參數。

4.1.3 污泥容積指標(SVI)

為評估藻菌顆粒系統之沉降性，本研究監測三槽 SVI 及 SVI_{30}/SVI_5 隨時間之變化，如圖 4-3 所示。



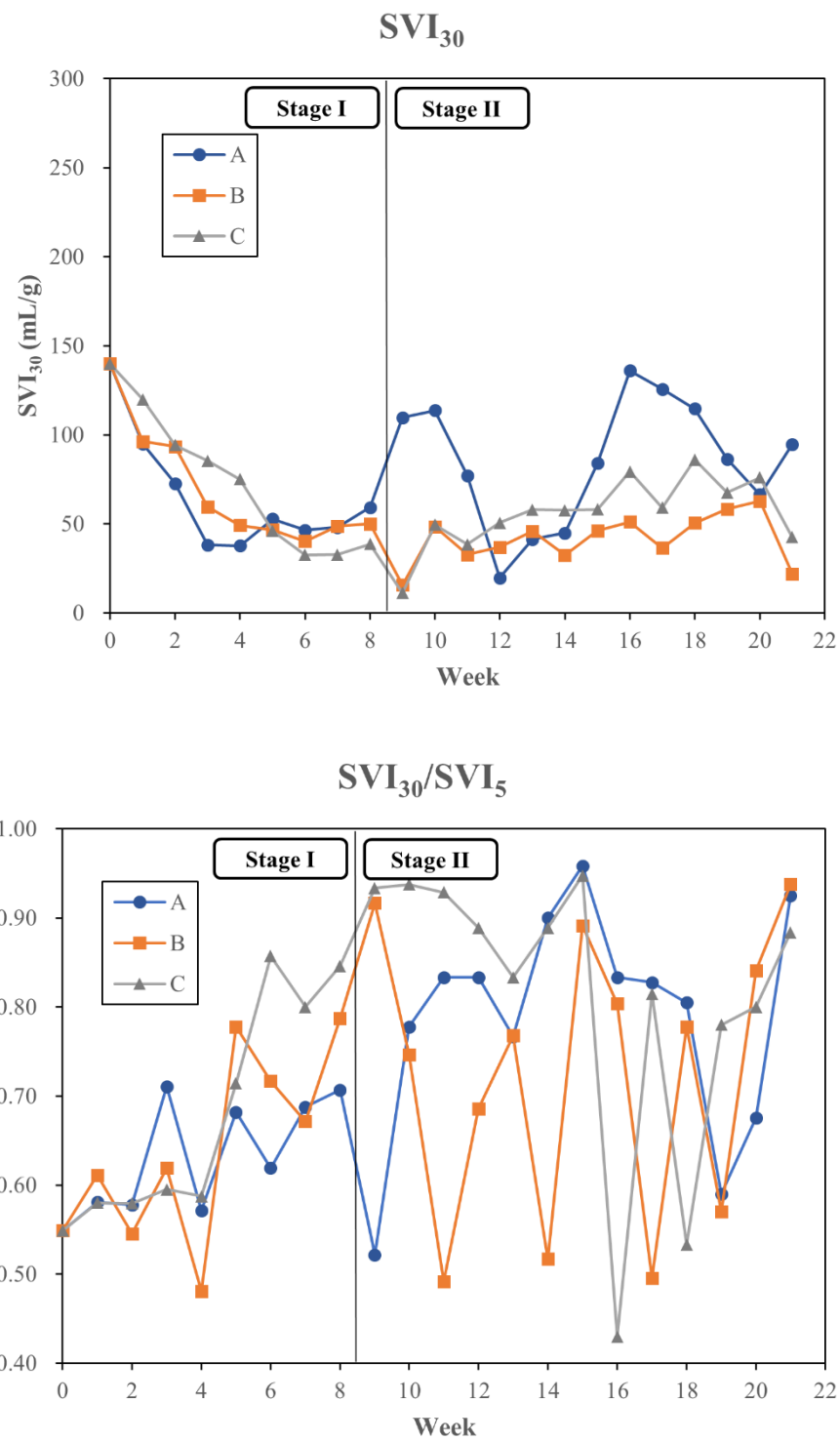


圖 4-3 SVI 與 SVI₃₀/SVI₅ 變化

圖 4-3 呈現 SVI 與 SVI₃₀/SVI₅ 隨時間之變化的趨勢。結合 4.1.1 藻菌顆粒污泥生長狀態及 4.1.2 平均粒徑章節所述之生長狀態及粒徑變化趨勢，可將污泥發展劃



分為兩個階段。

第一階段 顆粒形成期(W0-W8)：

此階段為顆粒初期形成階段，污泥由膠羽狀逐漸聚集為顆粒。此期間三槽 SVI 值皆持續下降，顯示沉降性逐步提升； SVI_{30}/SVI_5 比值則逐漸升高，代表污泥更快速達到穩定沉降狀態。此趨勢與粒徑增大、結構逐漸緊密有關。

第二階段 顆粒增長期(W9-W21)：

此階段為顆粒逐漸增長階段。三座反應槽雖已轉變為藻菌顆粒污泥系統，然而 A 槽因絲藻大量增生，導致其 SVI 值波動較大，污泥沉降表現不如 B 槽與 C 槽。此現象與 Xi et al. (2022) 研究結果相符，該研究指出較長的光照週期易促進絲狀藻類過度生長，進而對沉降性造成不利影響。

W14 以後開始控制 SRT，A 槽污泥沉降性較差，SVI 值較高，然而亦發現 SVI_{30}/SVI_5 比值偏高，推測此現象與後期沉降時間縮短至 3-5 分鐘有關。在高選擇壓力下促使顆粒快速完成沉降，但 A 槽大量生長的絲藻造成的蓬鬆結構使其難以進一步壓密，因此出現高 SVI 的同時 SVI_{30}/SVI_5 比值亦高的結果。

相較之下，B 與 C 槽之 SVI_{30} 數值相對較低，顯示其整體沉降性能較佳。然而，兩組系統在 SVI_{30}/SVI_5 比值上則呈現顯著波動，推測此現象可能與顆粒表面絲狀藻類的分布狀況有關，具體可以分成兩種表面結構類型：

- **絲藻交纏型結構：**部分顆粒表面可觀察到絲狀藻類交纏形成鬆散結構(如圖 4-4)。儘管表層蓬鬆，B 與 C 槽中顆粒污泥整體密度較高，沉降過程中能有效將此類鬆散結構進一步壓密，導致 30 分鐘後的沉降體積(SV_{30})相對低於沉降 5 分鐘時的沉降體積(SV_5)，因而呈現較低之 SVI_{30}/SVI_5 比值。
- **表面平整型結構：**另有部分顆粒表面絲藻被深色、具透光性的物質所包覆(如圖 4-5)，使顆粒表面結構更為平整且緻密，並有助於在短時間內即達成沉降平衡，進而反映出較高的 SVI_{30}/SVI_5 比值。

需特別說明的是，這兩類表面結構並非隨時間演替而出現的前後關係，而是可能同

時存在於反應槽中。當系統內表面結構呈現絲藻交纏的顆粒佔比增加時，因其表面結構較蓬鬆，可能導致整體 SVI_{30}/SVI_5 比值下降。因此，系統內不同表面結構的顆粒的組成比例變化，可能為造成 SVI_{30}/SVI_5 比值波動的主因。

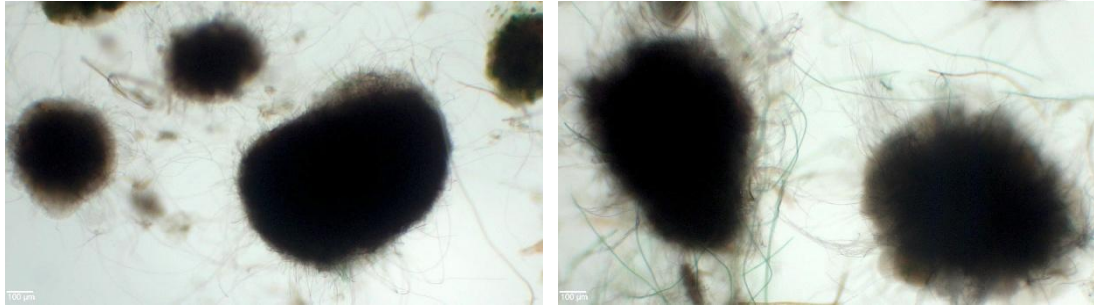


圖 4-4 W14-B(左)、W16-C(右)

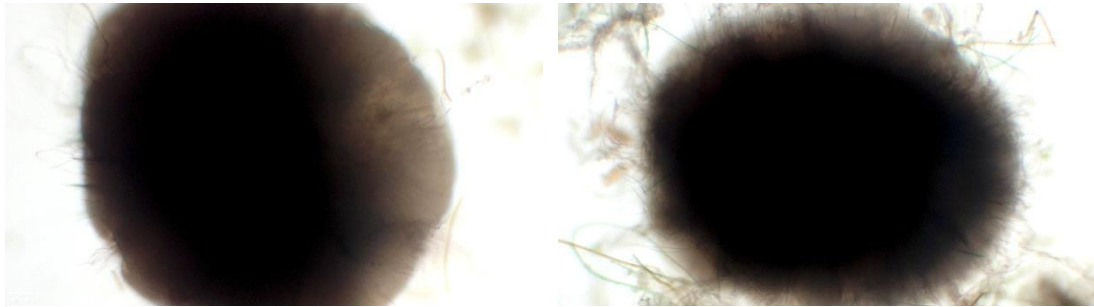


圖 4-5 W21-B(左)、W21-C(右)

整體而言，W9 以後之 SVI_{30} A、B、C 分別為 85.7 ± 35.2 、 41.4 ± 13.7 、 56.5 ± 19.5 mL/g。B、C 槽在完全轉變為顆粒污泥系統後，污泥沉降性顯著優於 A 槽。A 槽採 24 小時光照，B、C 槽採 12 小時光照，顯示光照時長對污泥沉降性有關鍵影響。

4.1.4 MLVSS 濃度變化

本研究於 21 週操作期間內，每周分析三座反應槽之 MLVSS 濃度變化。結果顯示各槽皆呈現波動，平均值分別為：A 槽 3.45 ± 2.11 g/L、B 槽 4.68 ± 2.16 g/L、C 槽 2.61 ± 1.05 g/L。MLVSS 變化如圖 4-6 所示。

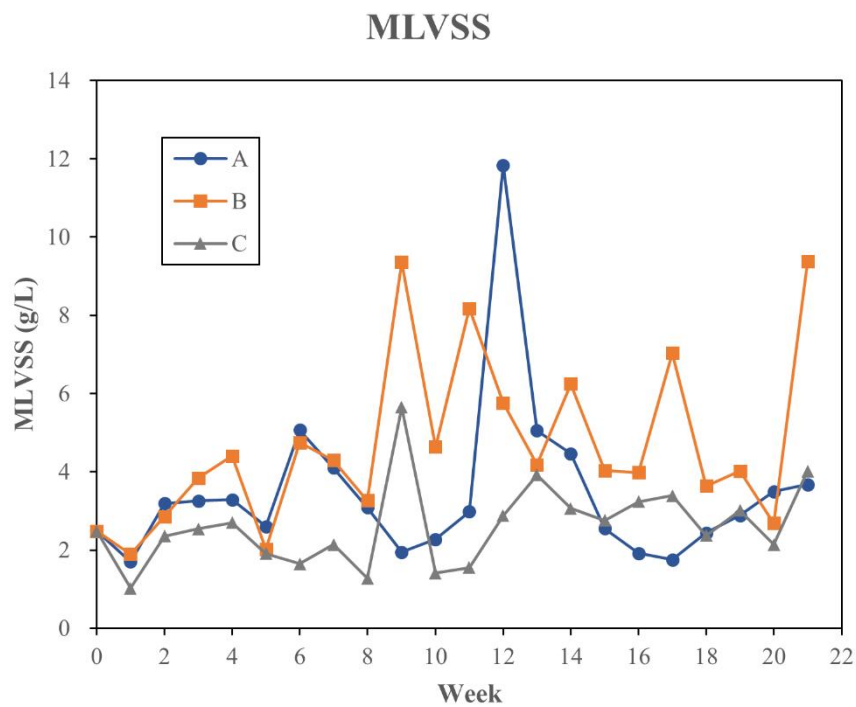
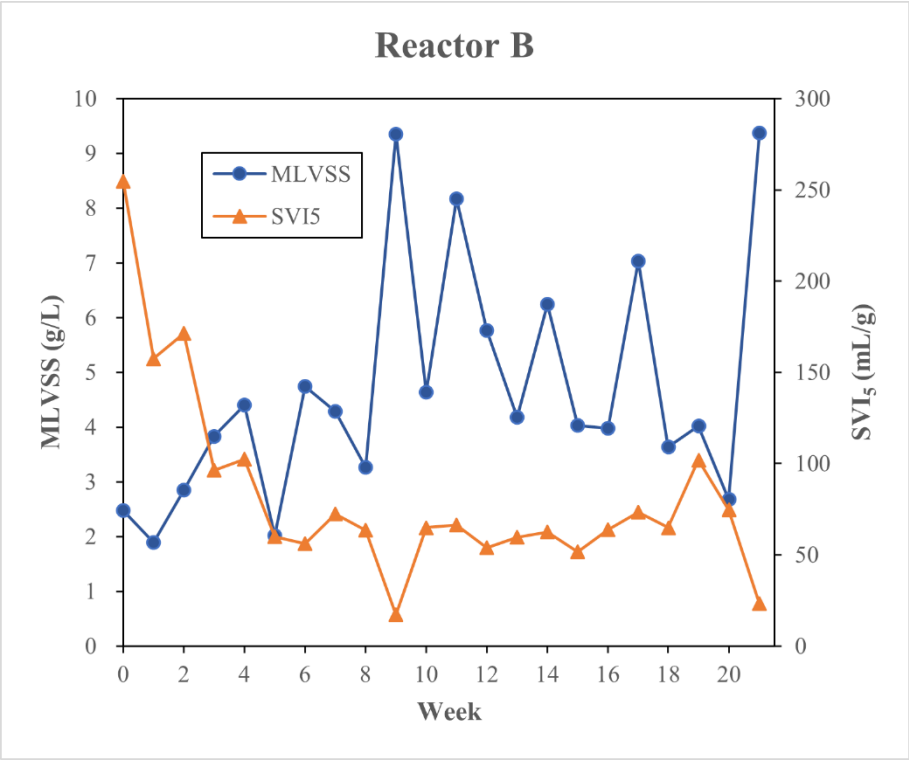
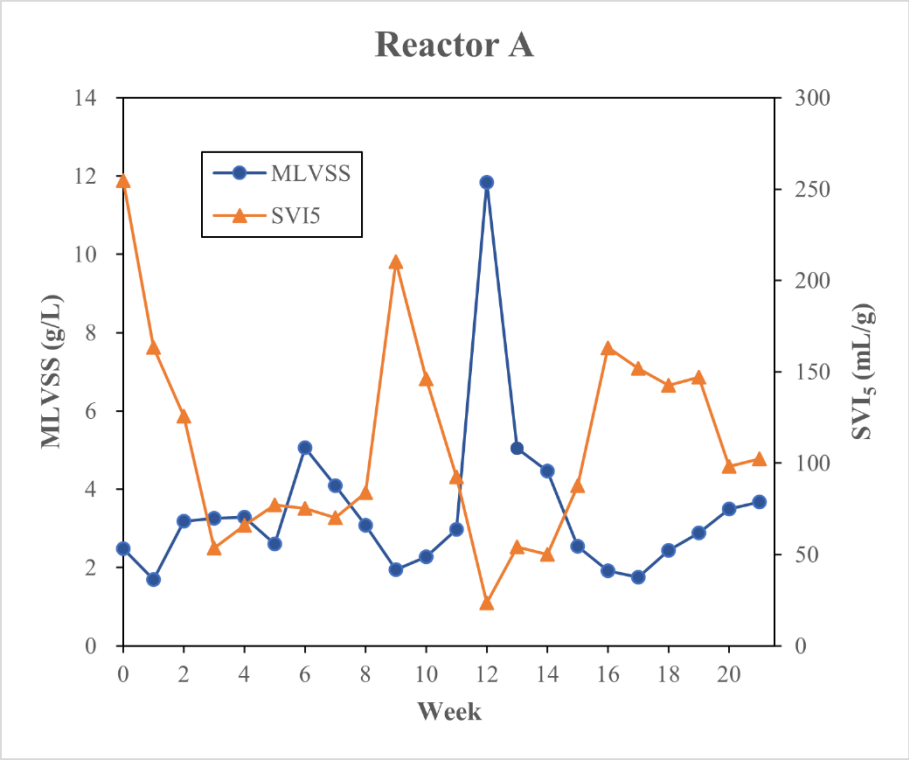


圖 4-6 MLVSS 變化圖

由於 MLVSS 濃度可能受出流階段流失之污泥量影響，而污泥流失程度與其沉降性有關，為進一步探討兩者之間的關聯性，本研究以 MLVSS 與 SVI_5 進行皮爾森相關性分析。分析結果(詳如附表 1)顯示，A 槽與 B 槽之 MLVSS 與 SVI_5 相關係數分別為-0.60 及-0.56，呈現中度負相關(Schober et al., 2018)。此結果顯示，當污泥沉降性惡化(SVI_5 上升)時，部分污泥易隨出流水流失，導致 MLVSS 濃度下降。相較之下，C 槽之相關係數僅為-0.21，屬於低度相關，顯示其 MLVSS 濃度變化與沉降性之間的關聯性不明顯。圖 4-7 呈現三座反應槽 MLVSS 與 SVI_5 的時間變化趨勢，可進一步比較其變動幅度與趨勢一致性。



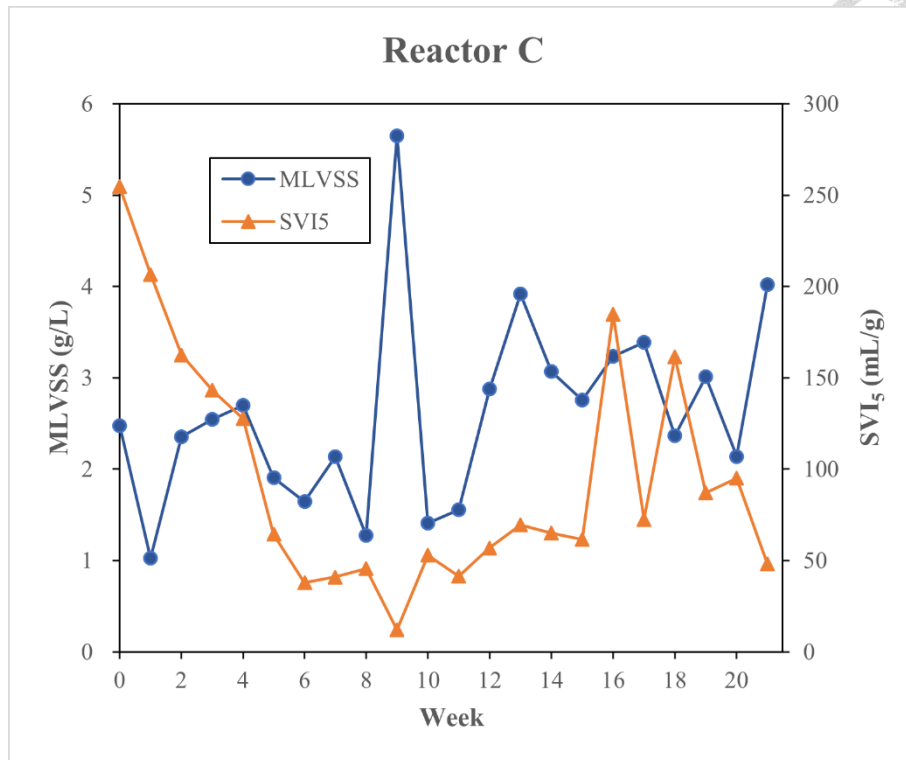


圖 4-7 MLVSS 與 SVI₅ 變化關係

4.1.5 葉綠素 a 含量

葉綠素 a 含量可作為系統中藻類生物量的重要指標，用以反映藻類群落之建立與穩定程度。圖 4-8 呈現各槽之葉綠素 a 濃度隨時間之變化趨勢：

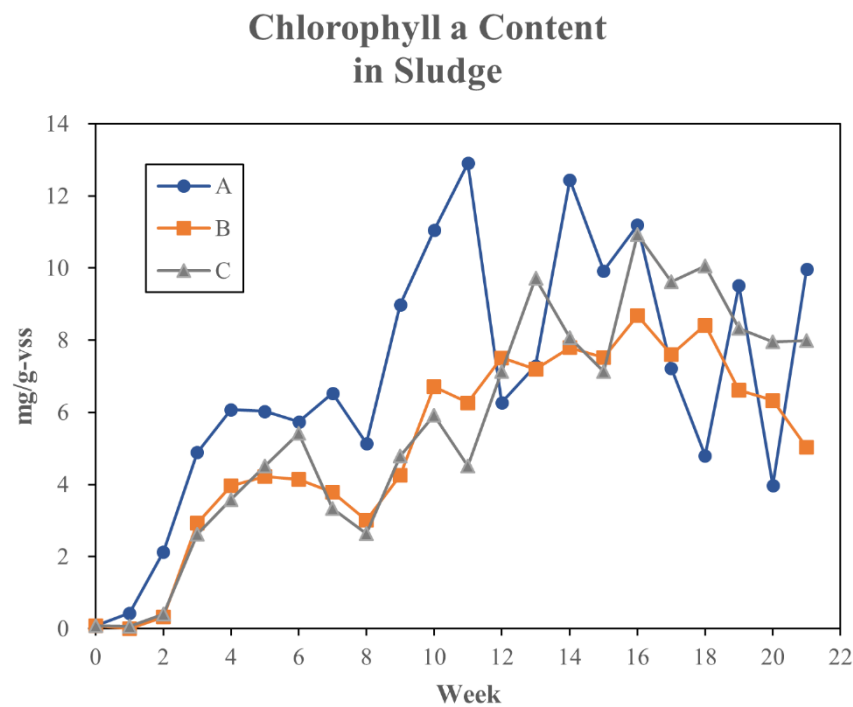


圖 4-8 葉綠素 a 濃度變化

在 A 槽中，葉綠素 a 含量自 W0 至 W11 呈持續上升趨勢，顯示藻菌顆粒污泥系統中的藻類逐漸建立。然而，W12 時系統中 MLVSS 突然大幅上升，推測為污泥快速生長所致，而藻類生長速率相對緩慢，導致該週單位污泥中葉綠素 a 含量短暫下降。隨後，隨著污泥濃度回復穩定，葉綠素 a 含量亦隨之回升。

自 W14 起，系統開始固定 SRT 為 21 天，A 槽亦觀察到大量絲狀藻類生長，並對沉降性產生不利影響。此類沉降性差、難以保留於系統的絲狀藻類，容易於出流階段逸出，同時與附著於顆粒表面的藻類競爭光照與營養資源，進一步抑制藻菌顆粒中藻類的穩定增長。因此，自 W14 起 A 槽葉綠素 a 含量呈現波動，並有逐漸下降之趨勢，顯示絲狀藻類過度生長對附著於顆粒上的藻類產生負面影響。

相較之下，B 與 C 槽自 W0 至 W16 間葉綠素 a 含量持續上升，並於 W16 達到高峰，顯示兩槽中藻類族群逐步穩定建立。W17 以後葉綠素 a 含量略有下降，推測此時藻類生長進入平衡期。

根據 4.1.1 藻菌顆粒污泥生長狀態章節，W9 起三槽大部分污泥已形成藻菌顆

粒，因此本研究以 W9 作為藻菌顆粒系統建立的分界點。統計 W9 之後各槽葉綠素 a 含量，結果顯示 A 槽平均為 $8.89 \pm 2.81 \text{ mg/g-vss}$ ，顯著高於 B 槽($6.92 \pm 1.26 \text{ mg/g-vss}$)與 C 槽($7.86 \pm 1.97 \text{ mg/g-vss}$)。A 槽較高的藻類含量推測與其 24 小時全光照條件有關，有助於促進藻類光合作用與生長，惟後期絲藻過度增長所帶來的競爭與流失風險，亦可能成為影響藻類穩定性的主因。

4.2 水質分析

本研究設置三座反應槽(A、B、C)，分別採用不同之光照與運作模式：A 槽為 24 小時光照並連續運作；B 與 C 槽皆採 12 小時光照，其中 B 槽於夜間持續運作，C 槽則於夜間閒置。為探討光暗週期對污染物去除效率之影響，特別針對 B 槽於日間(光照期)與夜間(黑暗期)分別進行出流水採樣，分別標記為 BD (day)與 BN (night)。

4.2.1 pH

各組反應槽的 pH 值如表 4-3 所示：

表 4-3 各反應槽 pH 值

Group	Max.	Min.	AVG
A	8.39	6.01	7.61 ± 0.68
BD	8.20	6.01	7.34 ± 0.51
BN	7.70	6.23	7.13 ± 0.44
C	8.66	6.01	7.76 ± 0.61

各組 pH 變化範圍介於 6.01-8.66。A、BD 與 C 組的測量時間均落於日間光照

期，光合作用活躍，導致系統內 CO_2 被消耗，pH 因此上升(Zerveas et al., 2021)。相較之下，BN 組於夜間無光環境下測量，因缺乏光合作用，其平均 pH 明顯低於其他組別。



4.2.2 溫度、溶氧

表 4-4 為 W0-W21 各組之平均溫度與溶氧數據：

表 4-4 溫度與溶氧

Group	Temperature (°C)	DO (ppm)
A	28.8 ± 1.9	6.08 ± 0.44
BD	27.7 ± 2.8	6.14 ± 0.41
BN	21.8 ± 1.8	6.94 ± 0.51
C	28.3 ± 2.5	6.16 ± 0.45

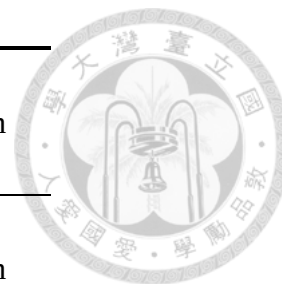
整體 DO 濃度約介於 5-8ppm，屬於好氧微生物代謝所需之適當濃度。A、BD、C 組因於光照期測量，LED 照明產生的熱能使水溫上升，同時溶氧降低；BN 組則因夜間無光照，顯示出較低的水溫與較高的溶氧。

B 槽欲探討光照期及黑暗期的污染物去除效能差異，為避免 B 槽的水溫差異成為影響污染物去除效率的變因，自第 20 週起於 BN 組夜間操作時啟用升溫裝置進行水溫控制。BN 組於控溫前後的平均水溫與溶氧數據如下：

表 4-5 BN 控溫前後之平均溫度與溶氧

Temperature	DO
-------------	----

BN-無控溫 (W9-W19)	20.3°C	7.25ppm
BN-控溫 (W20-W21)	23.4°C	6.73ppm
BD (W9-W21)	26.0°C	6.39ppm



為評估 BN 溫度控制的成效，考量樣本數不均、控溫組資料樣本數較少，以及資料分布未符合常態，本研究採用 Mann-Whitney U 檢定($\alpha = 0.05$)進行統計分析，詳如附表 2 及附表 3。

首先，針對 BN 組控溫前後的水溫與溶氧進行比較，結果顯示水溫差異達統計顯著($p = 0.026$)，而溶氧濃度差異接近顯著($p = 0.051$)，顯示溫度控制具實質影響，可將 BN 控溫前、後分開比較。控制後平均水溫上升約 15.3%，而溶氧濃度下降約 7.2%。

其次，比較控溫後之 BN 組與日間 BD 組在水溫與溶氧上的差異，以評估控溫是否有效消除日夜間差異。結果顯示溫度與溶氧差異皆不具顯著性($p = 0.076$ 、 $p = 0.171$)，顯示控溫裝置可有效消除光照產生的日夜溫差。

表 4-6 水溫控制成效分析

	水溫差異	溶氧差異	分析意義
BN 控溫前 vs.. BN 控溫後	顯著 $p = 0.026$	接近顯著 $p = 0.051$	升溫效果顯著
BN 控溫後 vs.. BD	不顯著 $p = 0.076$	不顯著 $p = 0.171$	統計上顯示控溫後已消除日夜水

為確認水溫變化是否影響污染物去除效率，進一步分析 BN 組在無控溫條件 (W9-19) 與控溫條件 (W20-21) 下的污染物去除效率，亦採用 Mann-Whitney U 檢定。結果如表 4-7 所示。

表 4-7 水溫對污染物去除效率影響顯著性分析

	p-value	Significant Effect ($\alpha = 0.05$)
SCOD	0.513	No
TN	0.923	No
TP	0.923	No

結果顯示 BN 組水溫控制對污染物去除效率無顯著影響，故可排除溫度為影響 BN 污染物去除效能的因子。

綜上所述，BD 與控溫後之 BN 在溫度與溶氧無顯著差異，溫控裝置可消除日夜溫差，達到相同的溫度與溶氧；另外，控溫前、後之 BN 污染物去除效能無顯著差異。由以上兩點可知，溫度並非影響污染物去除效能的變因，在後續分析 BD 與 BN 組去除效率差異時，可將焦點集中於光照條件所導致之系統效能差異。

4.3 污染物去除率

本研究旨在比較三組反應槽於穩定運行階段的水質處理效能。研究初期，A、B、C 三組反應槽之污泥性質相近。然而，自 W9 起，系統出現顯著變化，藻類含量明顯上升，且污泥普遍轉變為藻菌顆粒型態。故本研究將 W9 作為反應槽由運行

初期進入穩定階段的分界點，後續水質分析亦以 W9 之後的數據進行比較分析。

為評估三組反應槽於穩定運行階段之污染物去除效率，本研究採用統計方法進行差異性分析。首先，以 Shapiro-Wilk 檢定確認各組數據是否符合常態分布，並以 Levene's Test 檢查是否符合變異數齊一性。若資料符合常態分布且符合變異數齊一性，則採用 ANOVA 進行整體差異檢定，並以 LSD 檢定進行成對比較；若資料不符合常態分布及變異數齊一性的基本假設，則改採 Kruskal-Wallis 檢定進行整體分析，並搭配 Dunn's Test 進行多重比較。

此外，Dunn's Test 執行多組間成對比較時會採用 Bonferroni 校正，此過程雖可以有效降低 Type I Error(將未顯著判定為顯著)的機率，但也因此可能過於保守，反而增加 Type II Error(將顯著判定為不顯著)之風險，導致部分實際存在的差異未被檢出。為提升分析的敏感度與準確性，針對本研究中特別關注之光照期(BD)與黑暗期(BN)出水樣本，在 Dunn's Test 檢定結果不具顯著性但接近臨界值時，將進一步使用 Mann-Whitney U 檢定進行補充比較，以更精確判斷光暗週期對藻菌顆粒系統處理效能是否具有統計顯著性影響。上述統計流程有助於確保檢定方法的適切性，並提升分析結果之準確性與可信度。

4.3.1 COD 去除率分析

4.3.1.1 TCOD 去除率分析

圖 4-9 顯示各組反應槽出流水中 TCOD 去除率隨時間之變化趨勢，W9 以後之去除率平均值彙整如表 4-8 所示。整體而言，BD 組表現最佳，平均去除率達 $90.4 \pm 7.8\%$ ；C 組次之($84.7 \pm 12.9\%$)，BN 組為 $74.0 \pm 19.0\%$ ；A 組表現最差且不穩定，僅 $43.6 \pm 33.8\%$ 。

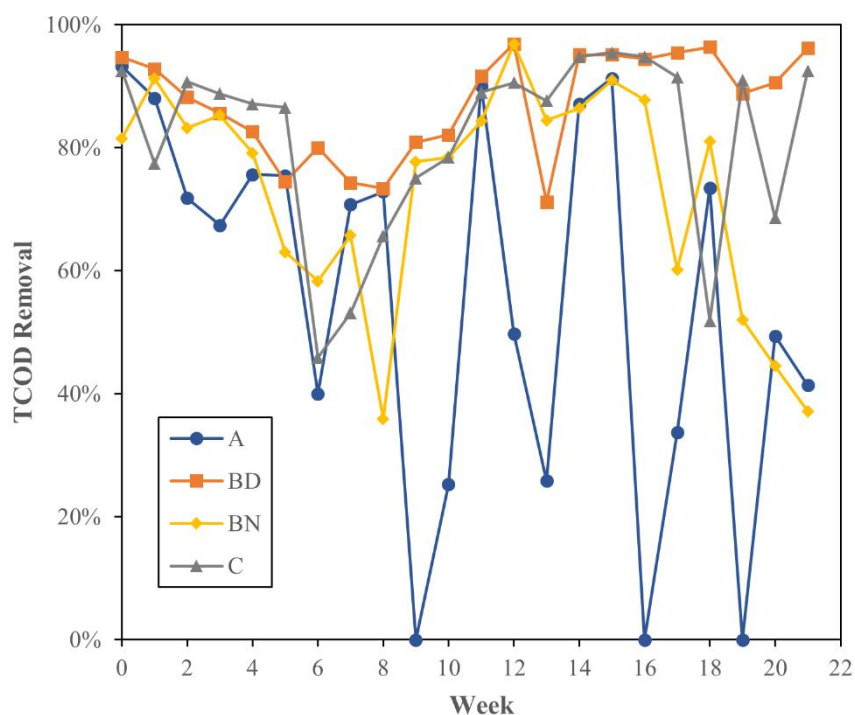


圖 4-9 TCOD 去除率變化

表 4-8 W9-W21 平均 TCOD 去除率

Group	TCOD Removal	Effluent TCOD
	(%)	(mg/L)
A	43.6 ± 33.8	394 ± 325
BD	90.4 ± 7.8	55 ± 44
BN	74.0 ± 19.0	149 ± 109
C	84.7 ± 12.9	88 ± 74
Influent COD: 573 ± 14 mg/L		

本研究之 TCOD 樣品未經過濾，故其中可能包含於出流階段一併排出的污泥。由於懸浮固體(Suspended Solids, SS)對 TCOD 濃度具有直接貢獻，而出流水中 SS 濃度又受污泥沉降性所影響。本研究採用特短沉降時間(3-10 分鐘)作為操作策略，藉以強化對顆粒污泥之篩選效果，並淘汰沉降性不佳之懸浮污泥。此策略雖有助於

促進藻菌顆粒的形成，但亦可能導致部分尚未完全沉降之懸浮固體隨出流逸出，進而影響 TCOD 去除率表現，導致其波動幅度較大。

A 組自 W9 起觀察到絲狀藻類大量增生，導致污泥沉降性明顯下降，進而隨出流水流失，造成出流水中 TCOD 濃度升高，降低整體有機物處理效能。部分時段 TCOD 去除率甚至降至 0%，顯示出流水中 SS 含量過高，導致出流 TCOD 濃度高於進流人工廢水。此現象反映出 24 小時長光照條件促使絲藻增生，對沉降性與 TCOD 去除產生不利影響，與 Xi et al. (2022)所提出的結果一致，顯示光照條件與生物組成為影響 TCOD 去除效率之關鍵因子。

相較之下，BD、BN 與 C 組之 TCOD 去除率表現較穩定，因其絲狀藻類比例相對較低，沉降性較穩定。BN 組雖維持一定的處理效能，但表現略遜於 BD 與 C 組，顯示缺乏光照條件下，可能使出流水含有較多懸浮固體。

統計分析方面(詳如附表 5、附表 6、附表 7、附表 8)，Shapiro-Wilk 常態性檢定結果顯示，A 與 BN 數據符合常態分佈，p 值分別為 0.159 與 0.055，大於 0.05。其餘組別則不符合常態分佈，故採用非參數 Kruskal-Wallis Test 進行整體比較。結果顯示，各組間 TCOD 去除率存在顯著差異($p < 0.001$)。進一步以 Dunn's 多重比較檢定進行組間分析，並採用 Bonferroni 修正(調整後顯著水準 $\alpha_a = 0.00833$)後結果如下：

- A 組與 BD、C 組之間存在顯著差異($p < 0.00833$)，其中 A 組 TCOD 去除率最低，顯示 A 組的 TCOD 去除效率較 BD、C 組差。此結果可歸因於 A 槽絲狀藻大量生長，導致藻體逸出並增加出流水懸浮固體濃度，進而降低 TCOD 去除效率。
- BD 與 BN 組之間在 Dunn's 檢定下未達顯著差異，但考量 Bonferroni 修正可能導致 Type II error (偽陰性)，進一步以 Mann-Whitney U 檢定分析，結果顯示 BD 與 BN 之 TCOD 去除率存在顯著差異($p = 0.007 < 0.05$)。此結果突顯光照條件對 TCOD 去除具顯著影響，光照期間(BD)之去除效率顯著優於黑暗期

間(BN)。

- C 組與 BD、BN 組間則未呈現顯著差異($p = 0.263$ / $p = 0.153$)，顯示 C 組 TCOD 去除效能與這兩組相近。此外，BD、BN 與 C 組之 TCOD 去除率波動程度相對較小，顯示其系統運作較為穩定。

綜合上述結果可知，A 槽因污泥沉降性差導致 TCOD 去除率不佳，而 B 與 C 槽的 TCOD 去除效能相近。進一步比較 BD 與 BN 兩者可發現，光照期之 TCOD 去除表現優於黑暗期。在反應槽操作上，短沉降時間策略雖有助於維持藻菌顆粒比例與穩定性，但須考量懸浮固體流出對 TCOD 去除穩定性的潛在影響，尤其是在系統中絲狀藻類大量生長的情況下。此外，光照條件對污泥沉降性與 TCOD 去除亦具重要影響，應納入後續系統優化之考量。

4.3.1.2 SCOD 去除率分析

圖 4-10 顯示各組反應槽於不同週期之 SCOD 去除率變化趨勢，W9-W21 的平均去除率與出流水中 SCOD 濃度彙整如表 4-9 所示。

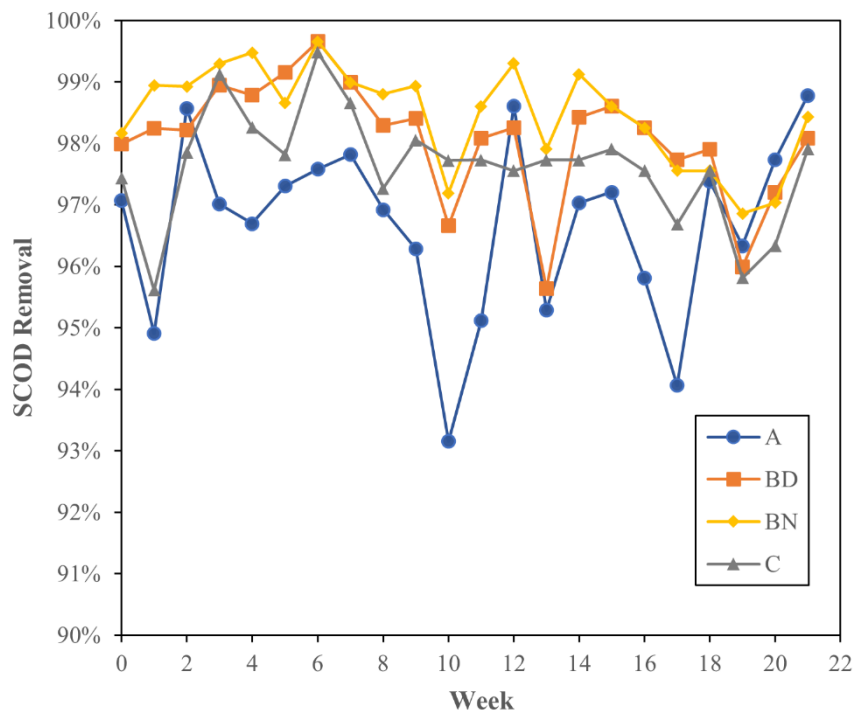


圖 4-10 SCOD 去除率變化

表 4-9 W9-W21 平均 SCOD 去除率

Group	SCOD Removal	Effluent SCOD
	(%)	(mg/L)
A	96.4 ± 1.7	20.8 ± 9.5
BD	97.6 ± 1.0	13.5 ± 5.5
BN	98.1 ± 0.8	10.8 ± 4.7
C	97.4 ± 0.7	14.8 ± 3.9
Influent COD: 573 ± 14 mg/L		

由於分析 SCOD 之樣品經 $0.45\mu\text{m}$ 濾膜過濾，故 SCOD 去除率可直接反應系統對於有機物之去除效能，且不受 SS 影響。整體而言，各組系統皆維持穩定且優異的有機物去除表現，顯示藻菌顆粒污泥系統對溶解性有機物具良好處理能力。

儘管 A 組的 SCOD 去除率相對略低，其平均去除率仍高達 96.4%。此一現象

可能與 A 組採 24 小時全光照條件有關，在持續光照下，藻類光合作用活性提升，促進胞外有機物產生，導致出流水中溶解性有機物含量上升，進而影響 SCOD 去除效率。儘管如此，A 組仍展現出高度穩定與優異之處理表現。

為檢驗各組間 SCOD 去除率是否存在統計差異，首先進行 Shapiro-Wilk 常態性檢定。結果顯示僅 A 組與 BN 組符合常態分佈，p 值分別為 0.905 與 0.563，均大於顯著水準 $\alpha=0.05$ 。鑑於並非所有組別皆符合常態分佈，後續分析採用 Kruskal-Wallis 非參數檢定進行整體比較，結果顯示四組間 SCOD 去除率具有顯著差異($p=0.01228 < 0.05$)。

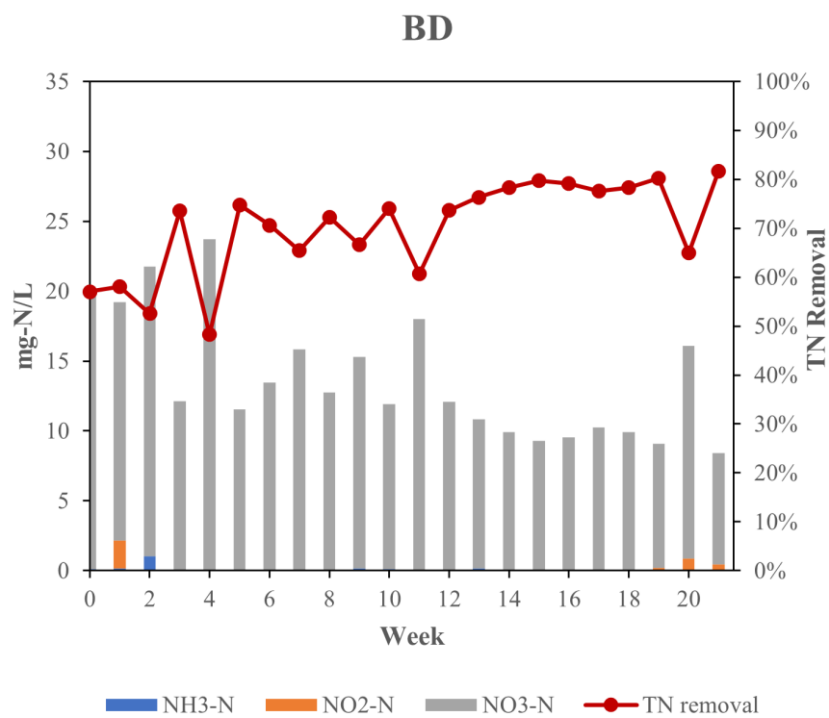
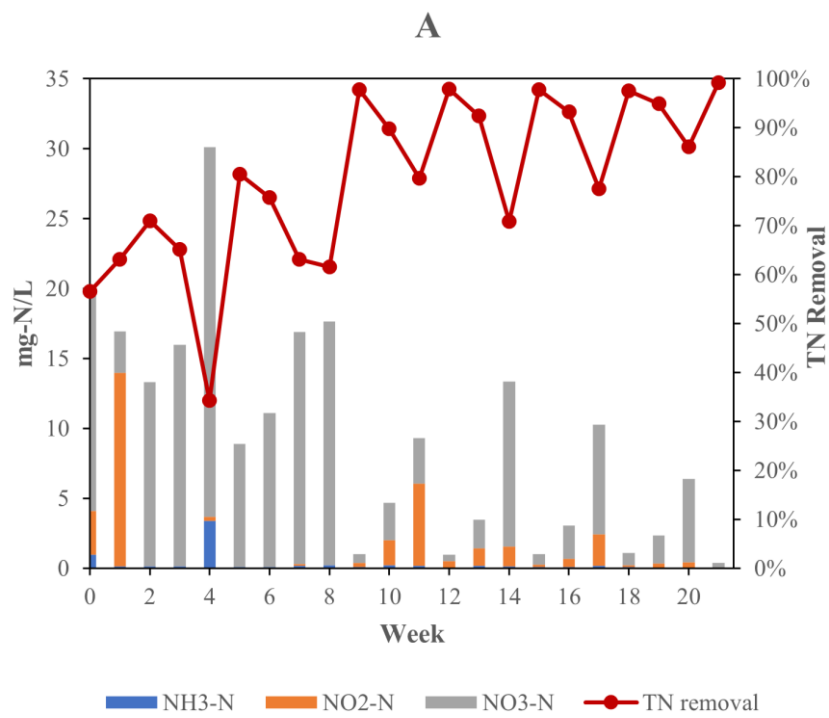
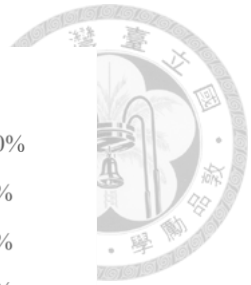
進一步以 Dunn's 多重比較檢定進行兩兩組別比較，並進行 Bonferroni 校正(校正後顯著水準 $\alpha_a = 0.00833$)。比較結果顯示，僅 A 組與 BN 組之間的 SCOD 去除率差異達統計上顯著水準($p=0.002 < 0.00833$)，其餘組合間皆未觀察到顯著差異(p 值皆大於校正後之 α_a)，顯示整體系統間雖存在微幅差異，但多數組別表現相當接近。

此外，為進一步探討光照是否影響藻菌顆粒系統之有機物去除，針對 BD(光照期)與 BN(黑暗期)兩組進行 Mann-Whitney U 檢定。結果顯示兩者間無顯著差異($p=0.26421 > 0.05$)，顯示光照與否對 SCOD 去除率無明顯影響，藻菌顆粒污泥系統在白天與夜晚皆能維持穩定且優異的有機物去除能力。詳細統計分析結果如附表 9、附表 10、附表 11、附表 12 所示。

綜上所述，雖統計分析指出 A 組與 BN 組之間存在顯著差異，但整體而言，所有反應槽 SCOD 去除率皆非常優秀，且波動幅度小，系統穩定性佳，顯示藻菌顆粒污泥對有機物具備極佳的處理效能。

4.3.2 總氮去除率分析

圖 4-11 顯示各組出流水中氮的組成變化，其中以硝酸鹽氮(NO_3^- -N)為主要殘留形態，顯示其為影響總氮去除率的關鍵因素。



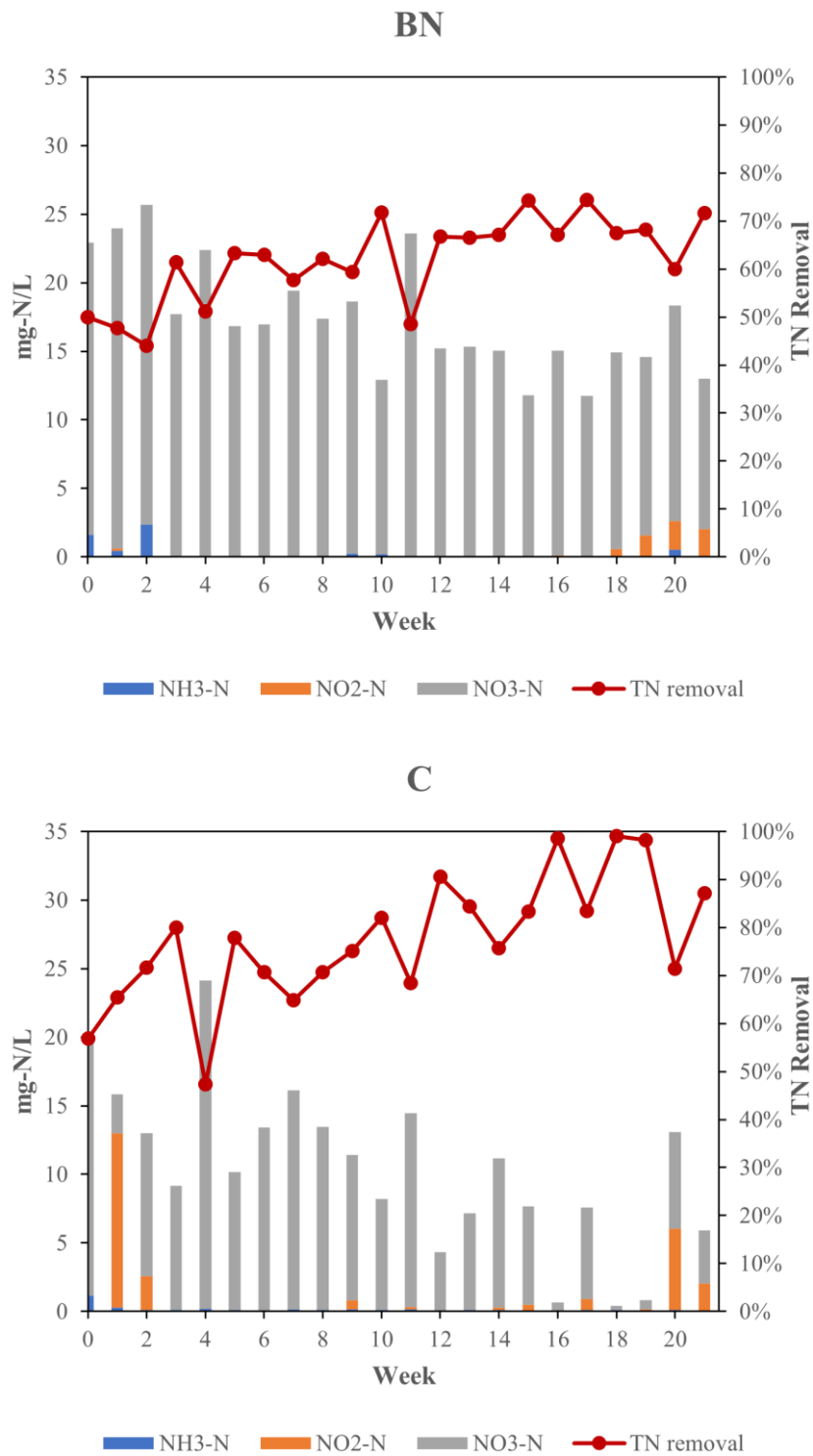
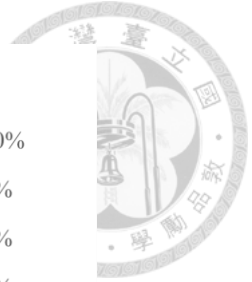


圖 4-11 出流水氮組成變化

此外，從圖 4-12 可觀察到，各組出流水的總氮去除率隨時間呈現穩定提升趨勢，顯示系統隨操作週期逐漸優化，詳細數據彙整如表 4-10 所示。

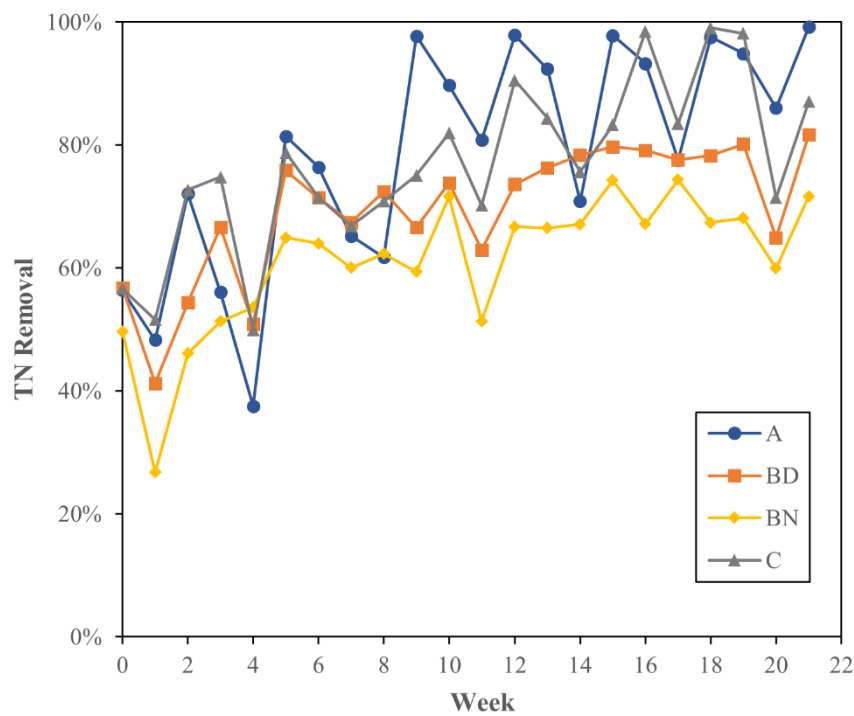


圖 4-12 TN 去除率變化

表 4-10 W9-W21 平均 TN 去除率

Group	TN Removal	Effluent TN
	(%)	(mg-N/L)
A	90.5 ± 9.1	4.4 ± 4.2
BD	74.9 ± 6.2	11.6 ± 3.0
BN	66.6 ± 6.5	15.4 ± 3.2
C	84.5 ± 10.0	7.1 ± 4.7
Influent TN: 45.8 ± 4.5 mg-N/L		

Shapiro-Wilk 常態性檢定(見附表 13)顯示，僅 BN 與 C 組資料符合常態分佈(p 值分別為 0.101 與 0.308)，其餘組別不符合常態分佈假設。因此，後續採用非參數 Kruskal-Wallis 檢定進行各組間總氮去除率的整體差異性分析。檢定結果(見附表 14)顯示，各組間存在顯著差異($p = 2.09 \times 10^{-6} < 0.05$)，進一步以 Dunn's Test 進行成



對比較(見附表 15)，以探討組別間的具體差異，結果如下：

1. A 組與 B 組之比較(A vs.. BD / A vs.. BN)：

A 組總氮自 W9 以後之平均去除率為 $90.5 \pm 9.1\%$ ，顯著優於 BD ($74.9 \pm 6.2\%$) 與 BN ($66.6 \pm 6.5\%$)，p 值分別為 0.002 與 <0.001 。雖 A 與 B 兩槽皆為 24 小時連續運作，但 A 槽採 24 小時光照，B 槽僅 12 小時光照，顯示長時間光照的運作模式有助於提升總氮去除效率。

進一步比較 A 與 BD (B 組光照期間)。A 組總氮去除率顯著較高，推測與 A 組藻類濃度較高有關。根據葉綠素 a 濃度分析(詳見 4.1.5 葉綠素 a 含量)，A 組具有較高藻類生物量，藻類可在光照條件下經由同化作用吸收無機氮鹽，進而降低總氮濃度 (Thomas et al., 1976; Wang et al., 2023)。此外，推測 A 槽中含量豐富之絲狀藻類因沉降性差，易於在出流階段排出系統，將吸收之氮連同藻體自系統中移除，進一步提升總氮去除效率。BN 組在黑暗環境中則缺乏光合作用，藻類同化無機氮的效率下降，導致其 TN 去除率顯著低於 A 組，再次證實光照對藻類參與總氮去除過程的關鍵角色。

2. C 組與 B 組之比較(C vs.. BD / C vs.. BN)：

C 組自 W9 以後總氮平均去除率為 $84.5 \pm 10.0\%$ ，整體優於 BD ($74.9 \pm 6.2\%$) 與 BN ($66.6 \pm 6.5\%$)。根據 Dunn's Test 檢定結果，C 與 BN 間差異達顯著水準($p < 0.001$)；而 C 與 BD 間雖未通過多重比較校正後之 $p < 0.0083$ 門檻，但 p 值仍小於 0.05，顯示仍具有一定程度之差異性。

B 槽與 C 槽皆採 12 小時光照條件，然其運作模式不同：B 槽為 24 小時連續運作，而 C 槽則於夜間暫停運行。實驗結果顯示，C 組總氮去除率相對較高，顯示夜間間置之操作策略有助於提升白天運作期間的總氮去除效能。此外，從菌群分析章節所呈現之各反應槽功能性菌屬相對豐度結果(如圖 4-21)可知，C 槽污泥中脫硝菌之相對豐度明顯較高，進一步支持其在總氮去除上所展現之優異表現。



3. BD 與 BN 之比較：

Dunn's Test 結果接近顯著邊界($p = 0.06$)，為更明確檢視白天與夜間處理差異，進一步採用 Mann-Whitney U 檢定進行 BD 與 BN 之比較(見附表 16)。結果顯示 BD 顯著優於 BN ($p = 0.007 < 0.05$)，說明藻菌顆粒污泥系統在含日夜交替的 24 小時連續運作的模式中，光照期的總氮去除效果優於黑暗期。此差異主要歸因於藻類同化作用仰賴光合作用所產生之能量與電子(Thomas et al., 1976)，在光照下藻類可更有效的吸收無機氮，促進氮去除。

4. A 組與 C 組之比較

A 與 C 兩組在總氮去除率上無顯著差異($p = 0.358 > 0.0083$)，顯示在本研究條件下，長時間光照(A 組)與夜間閒置(C 組)兩種不同策略，均能有效提升總氮去除效率。

綜合分析結果顯示，操作條件對藻菌顆粒污泥系統中總氮去除效率具有顯著影響，具體結論如下：

- 長時間光照(如 A 組)能顯著提升總氮去除效率；
- 夜間閒置策略的脫硝菌群相對豐度較高，有助於總氮去除效率提升；
- 在連續運作系統中，光照期的總氮去除效率顯著優於黑暗期。

本研究結果說明光照條件與運作模式設計對於提升藻菌顆粒污泥系統的總氮去除性能具正面影響。

4.3.3 總磷去除率分析

圖 4-13 呈現各組出流水總磷去除率隨時間變化之趨勢，整體而言，各組皆呈現逐漸上升的走勢，顯示系統運作隨時間逐步穩定並達到優化效果，詳細數據如表 4-11 所示。

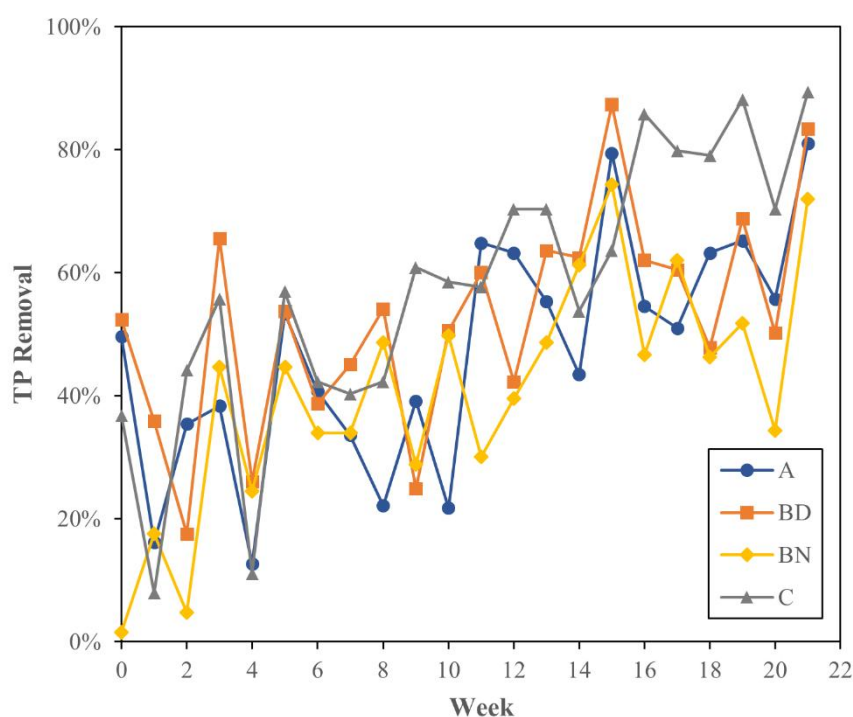


圖 4-13 TP 去除率變化

表 4-11 W9-W21 平均 TP 去除率

Group	TP Removal	Effluent TP
	(%)	(mg-PO ₄ ³⁻ /L)
A	56.8 ± 16.0	10.9 ± 4.1
BD	58.8 ± 16.5	10.4 ± 4.2
BN	49.7 ± 14.6	12.7 ± 3.7
C	71.4 ± 12.2	7.2 ± 3.1
Influent TP: 25.3 ± 0.4 mg-PO ₄ ³⁻ /L		

從總磷去除率的整體表現觀察，C 組自 W9 後的總磷去除率最穩定且優異，達 $71.4 \pm 12.2\%$ ，明顯高於其他組別。相較之下，A、BD 與 BN 的平均總磷去除率分別為 $56.8 \pm 16.0\%$ 、 $58.8 \pm 16.5\%$ 、 $49.7 \pm 14.6\%$ ，與 C 組之間存在一定程度的落差。此結果顯示，採用 12 小時運作並於夜間閒置的 C 反應槽在白天運作時具有較佳的



總磷去除潛力。

為檢視數據是否符合變異數分析的基本假設，首先進行 Shapiro-Wilk 常態性檢定(見附表 17)，結果顯示各組資料之 p 值皆大於 0.05，符合常態分佈假設。其次採用 Levene's Test 確認數據是否符合變數齊一性(見附表 18)，結果顯示 p 值大於 0.05，符合變異數齊一性。綜合以上兩點統計分析，總磷資料符合常態分佈且具備變異數齊一性，因此可使用 ANOVA 進行數據比較。

ANOVA 結果(見附表 19)顯示，不同反應槽間之總磷去除率存在顯著差異($p = 0.005 < 0.05$)，表示至少有一組間的差異具統計意義。為進一步釐清差異來源，本研究採用 LSD 檢定進行事後比較分析(見附表 20)。結果顯示，C 組與 A 組($p = 0.016$)、BD 組($p = 0.037$)及 BN 組($p < 0.001$)之間均達顯著差異($p < 0.05$)，顯示 C 組的總磷去除效率顯著優於其他三組，而 A、BD 與 BN 組彼此間則未達顯著差異。A 與 B 兩槽皆為 24 小時連續運作，僅光照長度不同，但其總磷去除率未顯著不同，顯示光照長度對總磷去除無明顯影響。另外，BD 與 BN 分別代表光照期與黑暗期之出水，兩者間同樣無顯著差異，顯示光暗週期亦不影響總磷去除。因此，可推論在本研究條件下，光照對總磷去除效能無顯著影響。

總體而言，C 槽展現最佳的總磷去除效率，推測可能與其夜間閒置所創造的長時間厭氧環境有關。在厭氧條件下，聚磷菌會分解儲存之聚磷酸鹽以釋放能量，進而吸收有機碳源；當系統進入好氧階段時，聚磷菌則利用前期累積的能量大量合成聚磷酸鹽並儲存於細胞中，從而提高總磷去除效率(Welles et al., 2017)。此推論亦可由菌相分析結果加以支持(詳見 4.5.1 菌群分析)，C 槽中可觀察到具有較高的聚磷菌相對豐度，如 Rhodocyclaceae 科，該科內包含多種已知參與磷聚集之功能性菌屬(Carvalho et al., 2024; Petriglieri et al., 2021; Ren et al., 2021)。因此，本研究結果指出，在藻菌顆粒污泥系統中，採用適當的運行策略可影響反應槽內微生物群落組成，進一步提升總磷去除的效果。



4.4 EPS 分析

EPS 在顆粒污泥的形成與穩定性中扮演關鍵角色，主要由緊密結合型 EPS (tightly bound EPS, TB-EPS)與鬆散型 EPS (loosely bound EPS, LB-EPS)構成(Zhang et al., 2019)。TB-EPS 位於細胞體表面，與細胞壁緊密結合，而 LB-EPS 分佈於 TB-EPS 外部，結構較為鬆散、密度亦較低(Yan et al., 2019)。其中，TB-EPS 增加污泥細胞的表面電位和疏水性，在促進細胞間黏附與聚集方面具有較大貢獻(Cao et al., 2022; Wang et al., 2021)。

EPS 的主要成分為蛋白質(PN)與多醣(PS)，其中 PN 提供 EPS 的疏水性，是促進微生物黏附與形成生物膜的關鍵因素(Iorhemen et al., 2020)；PS 則有助於形成顆粒的結構骨架(Adav et al., 2008)。文獻指出，PN 在顆粒化過程中含量及疏水性皆會顯著增加，其對絮凝與顆粒穩定性的貢獻高於 PS (Peng et al., 2022; Yan et al., 2019)。此外，PN/PS 比值被視為顆粒結構穩定性的指標，因 PS 更容易受微生物分解，較高的 PN/PS 比可提升顆粒抗降解能力，展現較佳的結構穩定性(Iorhemen et al., 2020; Na et al., 2019)。

為探討藻菌顆粒污泥顆粒化過程中 EPS 的變化，本研究自好氧活性污泥植種(Seed)及第 19 週 A、B、C 三槽中取樣，分別萃取 LB-EPS 與 TB-EPS 並分析其 PN 與 PS 含量。結果如表 4-12 所示。

表 4-12 EPS 分析結果

	LB-PN	LB-PS	TB-PN	TB-PS	Total EPS
	(mg/g-vss)	(mg/g-vss)	(mg/g-vss)	(mg/g-vss)	(mg/g-vss)
Seed	7.0	1.4	40.4	11.7	60.5
W19_A	36.7	7.1	66.7	16.7	127.3
W19_B	45.0	7.5	78.1	21.9	152.4
W19_C	76.2	12.9	70.9	16.0	176.0



由 LB-EPS 與 TB-EPS 的 PN 與 PS 總和可得總 EPS 量(mg/g-vss)，其組成如圖 4-14 所示。與初始植種(60.5 mg/g-vss)相比，第 19 週 A、B、C 槽之總 EPS 分別增加至 127.3、152.4 與 176.0 mg/g-vss，顯示藻菌顆粒污泥在顆粒化過程中總 EPS 顯著提升。此一現象與顆粒污泥發展過程中，為強化顆粒結構與穩定性，EPS 分泌量增加的趨勢相符(Adav et al., 2008)。

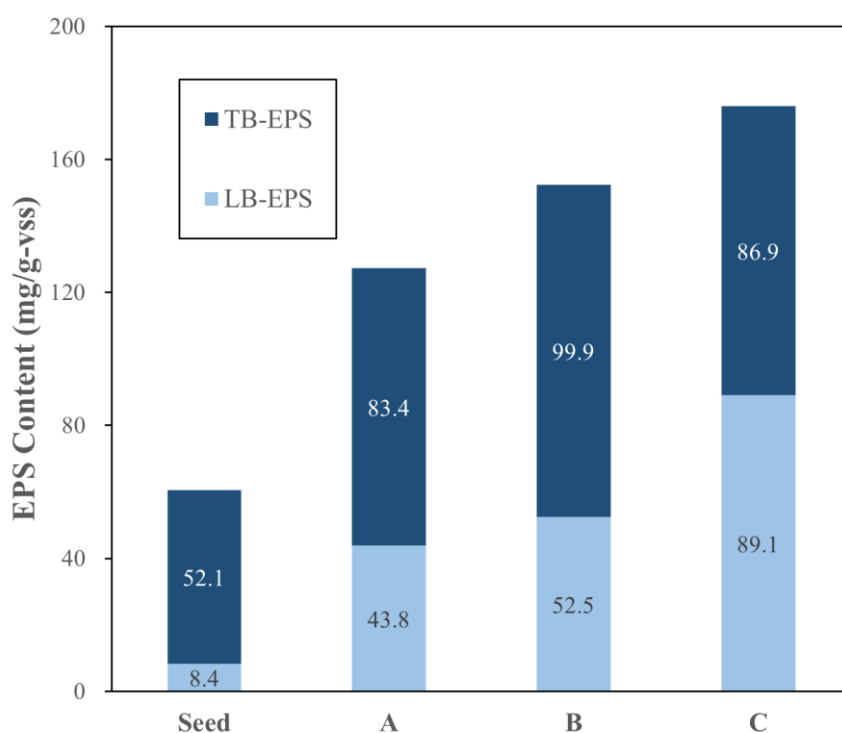


圖 4-14 EPS 組成(LB/TB)

進一步分析 EPS 組成，如圖 4-15，可發現 A、B、C 槽樣本之 PN 與 PS 含量皆高於植種污泥，尤以 PN 含量提升最為明顯。顆粒化過程中 PN/PS 比值由植種的 3.6 提升至 A 槽 4.3、B 槽 4.2 及 C 槽 5.1。其中 C 槽 PN/PS 比值最高，可能與其運作模式有關。C 槽採用夜間閒置操作，而夜間營養物質缺乏，微生物優先分解 PS 作為碳源，進而提升 PN/PS 比，這亦可能使 C 槽發展出結構較穩定的顆粒(Iorhemen et al., 2020; Na et al., 2019)。

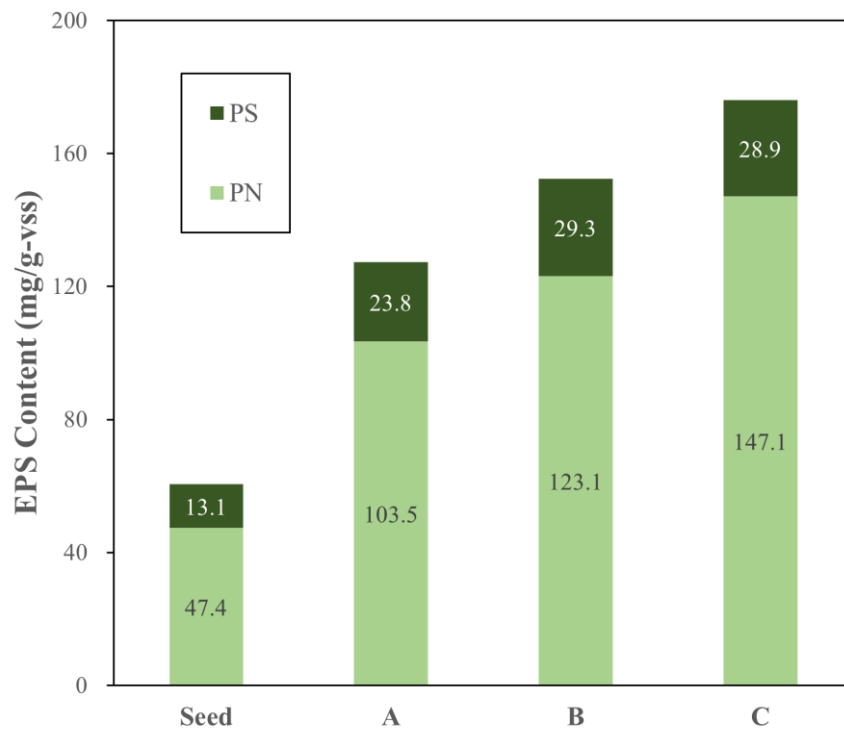


圖 4-15 EPS 組成(PN/PS)

綜合以上結果可知，藻菌顆粒污泥在顆粒化過程中，EPS 總量顯著提升，且 PN/PS 比值上升。而 C 槽因其夜間閒置的操作條件，進一步提高 PN 佔比，有助於形成更穩定的顆粒結構。

4.5 微生物組成分析

4.5.1 菌群分析

為探討藻菌顆粒污泥形成過程中微生物群落的演替情形及差異，利用 16S rDNA 全長定序技術，分別以門層級(圖 4-16)與科層級(圖 4-17)進行微生物分類與比較。門層級分析選取相對豐度高於 1%的分類單元，科層級則聚焦於各反應槽中相對豐度前十大科別，其餘低豐度分類皆歸為 Others。

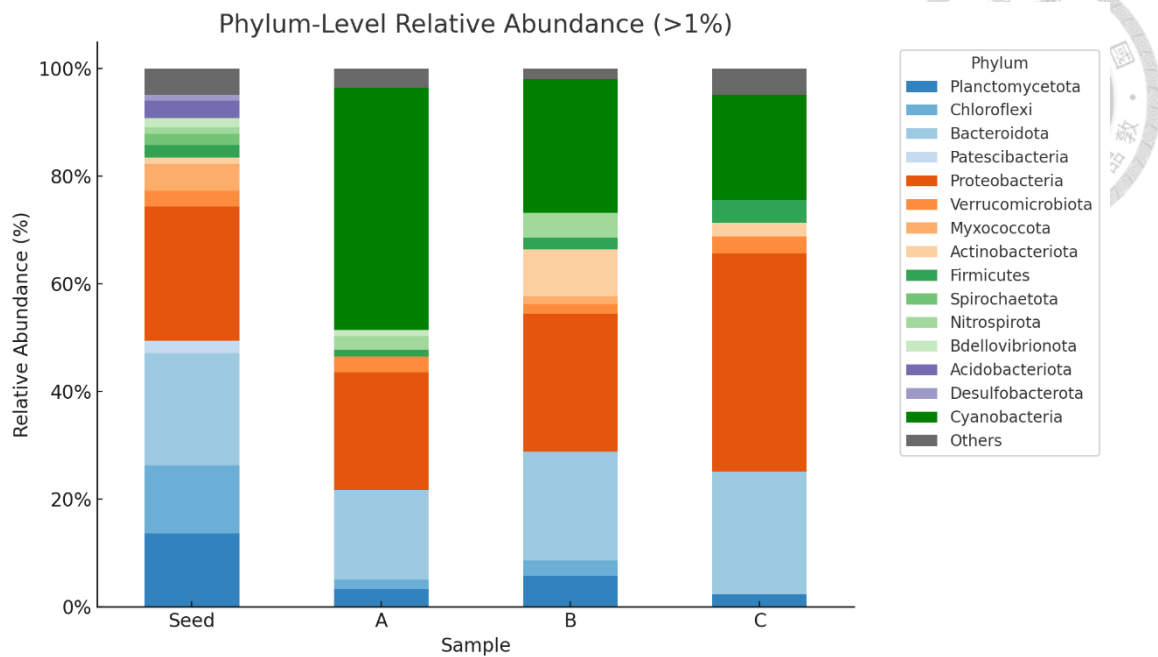


圖 4-16 門層級菌群組成

由門層級結果可見，從植種好氧活性污泥轉變為藻菌顆粒污泥的過程中，Planctomycetota、Chloroflexi、Patescibacteria、Myxococcota、Spirochaetota、Bdellovibrionota 及 Acidobacteriota 的相對豐度顯著下降(以超過平均值一個標準差為評斷依據)，顯示這些菌門在本研究中高選擇壓力或其他操作條件下被逐漸淘汰。相對的，Cyanobacteria(藍菌門)受光照影響，在 A、B、C 三槽中均大量增生。藍綠菌透過光合作用產生氧氣，供應好氧菌分解有機物所需，而好氧菌代謝產生的二氧化碳則可供給藍綠菌行光合作用(Subashchandrabose et al., 2011)，形成穩定的共生循環。此外，藍綠菌具備優異的氮磷同化能力，能直接吸收無機鹽類(Caille et al., 2024; Wang et al., 2023)，有助於污染物去除。值得注意的是，A 槽中藍綠菌相對豐度最高，這可能反映出本研究觀察到的 A 槽大量絲狀藻類生長的狀況。

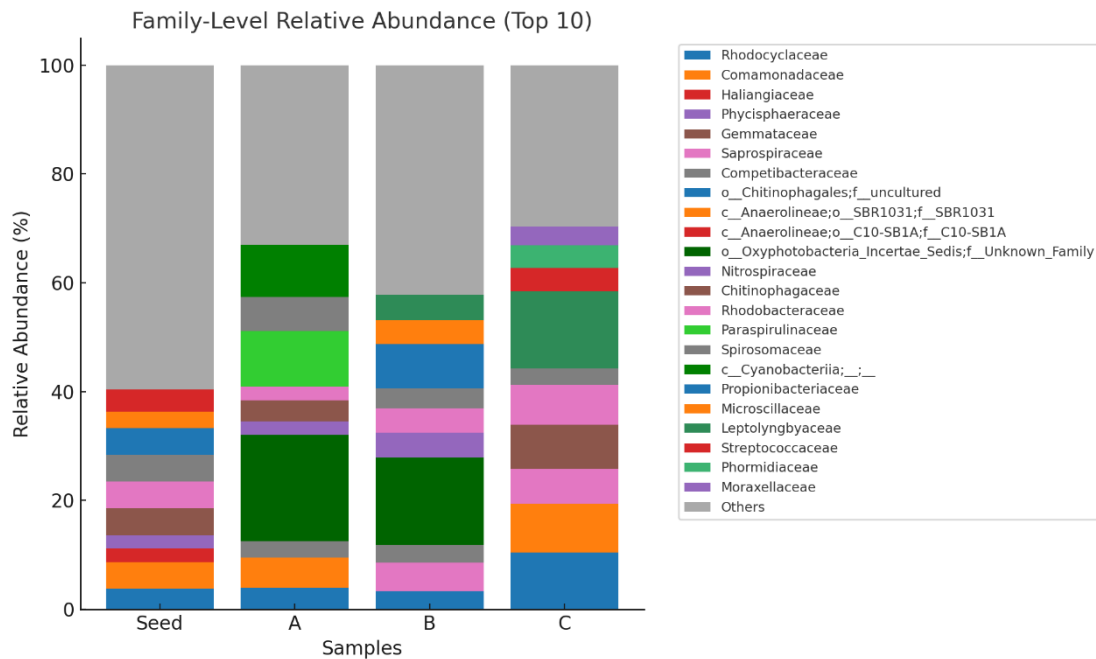


圖 4-17 科層級菌群組成

在科層級觀察中，植種污泥的 Others 占比達 60%，顯示其菌相組成較為多樣；而 A、B、C 槽中則呈現較高的菌種集中度，顯示在藻菌顆粒化的過程中，微生物群落受到顯著的篩選。

在 C 槽中，Rhodocyclaceae 科的相對豐度明顯高於其他樣本，其成員涵蓋多種具磷累積與脫硝功能的細菌，與 C 槽觀察到的較高總磷與總氮去除率具有良好對應關係。圖 4-18 顯示 C 槽中 Rhodocyclaceae 科的物種組成，其中 *Zoogloea* 屬具有脫硝功能(Huang et al., 2015)，而 *Dechloromonas* 屬與 *Thauera* 屬更具備兼具脫硝與聚磷的潛能 (Petriglieri et al., 2021; Ren et al., 2021)。此外，*Candidatus Accumulibacter* 屬不僅為典型 PAOs，亦具備利用光照產生之 ATP 進行聚磷反應的能力(Carvalho et al., 2024)，在本研究的光照環境中，可能進一步促進磷的去除效果。

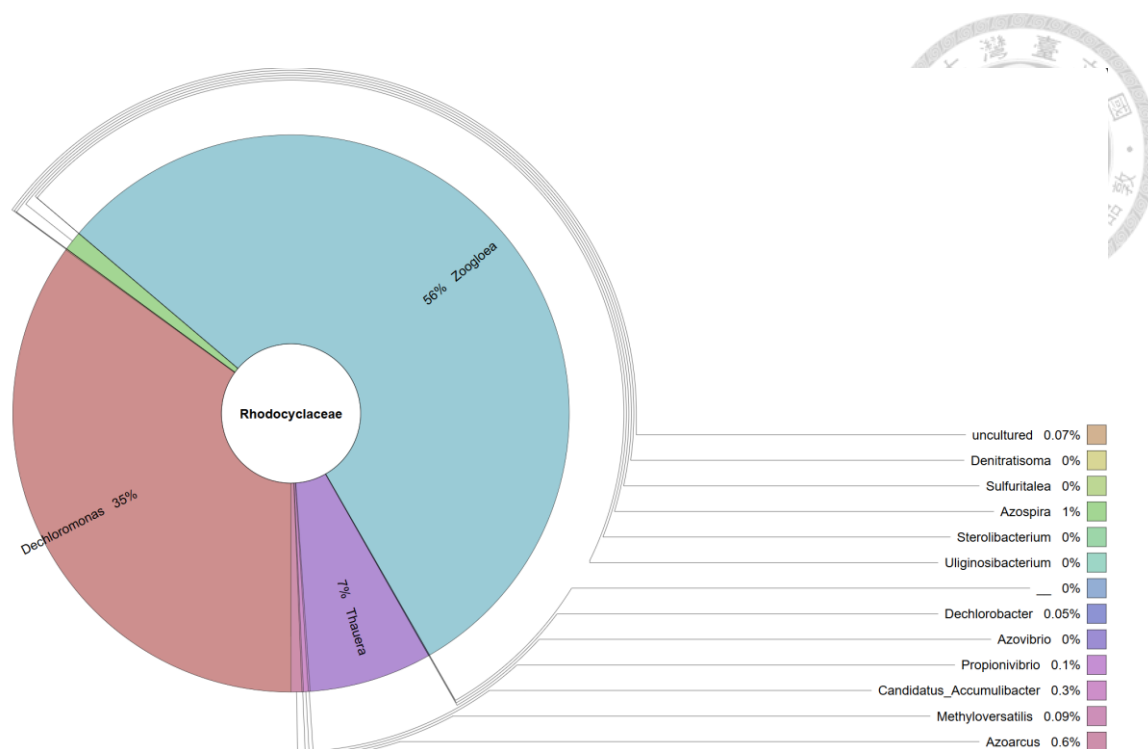


圖 4-18 C 槽 Rhodocyclaceae 科組成

Comamonadaceae 科中包含多種具脫硝潛能的菌屬，如 *Comamonas* (Gumaelius et al., 2001) 與 *Pelomonas* (Wu et al., 2024) 具脫硝能力。在本研究中，Comamonadaceae 科在 A、B、C 槽的相對豐度分別為 5.6%、2.9% 與 9.0%，其中 B 槽的豐度顯著較低，與其總氮去除效率偏低的結果相符。

Competibacteraceae 科為典型 GAO (glycogen-accumulating organisms) 族群，與 PAOs 競爭碳源，可能對磷的去除造成抑制 (McIlroy et al., 2014)。在本研究中，C 槽中該族群的相對豐度較低，較不影響 PAOs 的生長與功能表現，進而促進磷的去除。部分研究指出某些 Competibacteraceae 科的成員能在缺氧/好氧交替條件下以硝酸鹽(NO_3^-)或亞硝酸鹽(NO_2^-)為電子接受者進行還原，對提升氮去除性能具有潛在價值 (McIlroy et al., 2014)。

Nitrospiraceae 科中最具代表性的屬為 *Nitrospira*，不僅為分布最廣的成員，也是在生物硝化系統中核心的 NOB，能夠將 NO_2^- 氧化為 NO_3^- 。此外，研究發現，部分 *Nitrospira* 屬具備完全硝化 (comammox) 能力，能直接將 NH_4^+ 轉化為 NO_3^- ，顯示其在氮循環中具有更全面的代謝潛力 (Daims, 2014)。在本研究中，A 與 B 槽中

Nitrospiraceae 科的相對豐度分別為 2.5%與 4.6%；而在 C 槽與植種污泥中，Nitrospiraceae 科的相對豐度則分別為 0.8%與 1.2%，未列入前十大科別分類，故於分析中歸入 Others。

Rhodobacteraceae 科中許多成員具有硝化與脫硝能力(Gui et al., 2024; Pujalte et al., 2014)，在反應槽中的氮去除上扮演重要角色。此外，該科細菌亦可與藻類或藍綠菌建立互利共生關係，透過分解藻類分泌的有機碳源(如低聚糖、有機酸等)提供能量，同時釋放維生素與無機營養鹽，促進藻類或藍綠菌的生長(Pujalte et al., 2014)。在本研究中，四個樣本皆檢測出 Rhodobacteraceae 科之菌種存在，其相對豐度分別為：植種 0.6%、A 槽 2.5%、B 槽 4.5%、C 槽 7.3%。在植種污泥中，該科菌相對豐度較低，未列入前十大科別，顯示其在藻菌顆粒污泥形成與光照操作條件下逐漸富集。

Moraxellaceae 科在植種與 C 槽中，相對豐度分別為 0.9%與 3.5%，均列入前十大優勢菌科；而在 A 與 B 槽中雖未列入前十大優勢菌科，仍可觀察到相對豐度分別為 0.5%與 1.0%。在藻菌顆粒污泥(A、B、C 槽)中，Moraxellaceae 科的物種 100%由 *Acinetobacter* 屬組成，該菌屬為已知具備硝化、脫硝與聚磷能力的功能性菌種，對提升反應系統的氮磷去除效能有貢獻(Chen et al., 2021; Xia et al., 2020)。然而，植種污泥中 Moraxellaceae 科的組成則顯著不同於 A、B、C 槽，如圖 4-19，其中 *Acinetobacter* 屬僅占 7%，其餘定序出的屬別目前尚無明確研究顯示具氮或磷去除能力。

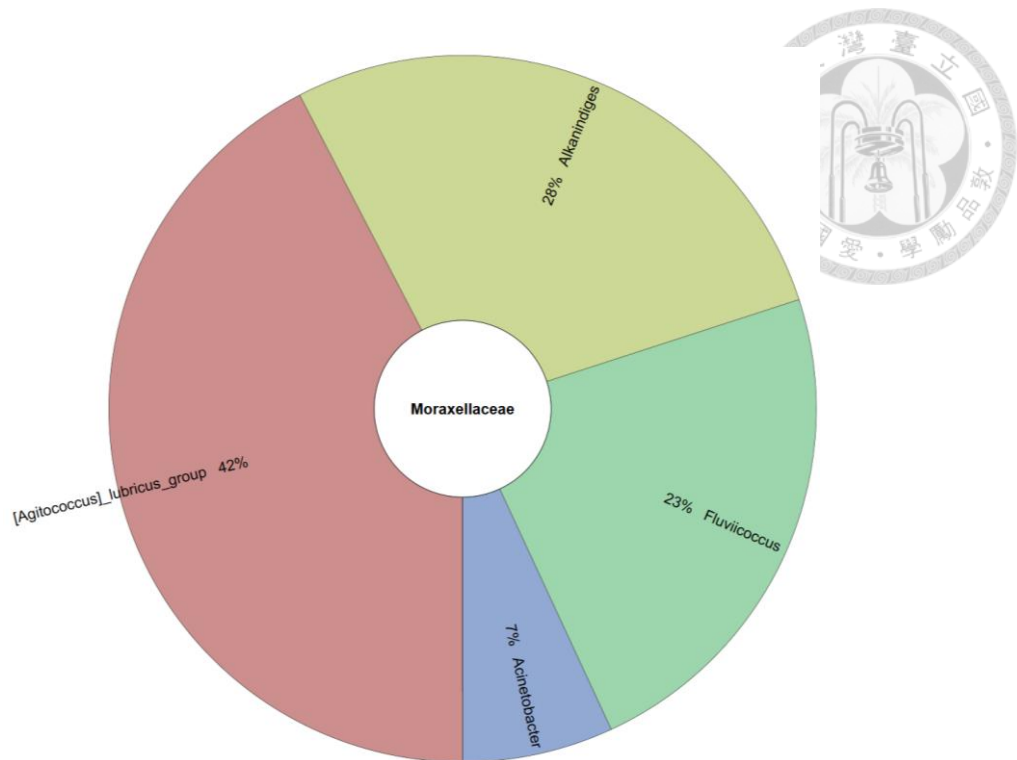


圖 4-19 植種污泥中 Moraxellaceae 科組成

Oxyphotobacteria 目、Paraspirulinaceae 科、Cyanobacteriia 科、Leptolyngbyaceae 科、Phormidiaceae 科均屬於 Cyanobacteria(藍綠菌)門，可透過光合作用將光能轉換為化學能生產有機物，並釋放氧氣。該菌門在 A、B、C 三槽的門層級有較高的相對豐度，分別為 45.0%、24.8%、19.5%，而植種污泥中僅 0.48%，顯示光照使藍綠菌在藻菌顆粒污泥中大量生長。

藍綠菌在顆粒污泥反應槽中扮演多重關鍵角色。首先，藍綠菌可經由光合作用產生氧氣，為反應槽增加溶氧；其次，部分藍綠菌可分泌 EPS，協助顆粒結構的穩定與形成；絲狀形態的藍綠菌亦可作為顆粒結構的骨架；此外，藍綠菌亦具備優異的營養鹽吸收能力，能直接同化無機態氮與磷酸鹽，有助於水體營養鹽的去除 (Zhang et al., 2023)。這些代謝特性使藍綠菌得以與反應槽內的其他細菌形成緊密的共生與物質循環關係，成為維持藻菌顆粒穩定運作之核心微生物群。

進一步由屬階層觀察微生物組成之變化，本研究篩選各樣品中相對豐度排名前十大之屬別，並排除無法辨識之物種後，繪製屬層級菌群組成圖(圖 4-20)，其餘未被篩選出之菌屬則歸類於 Others。

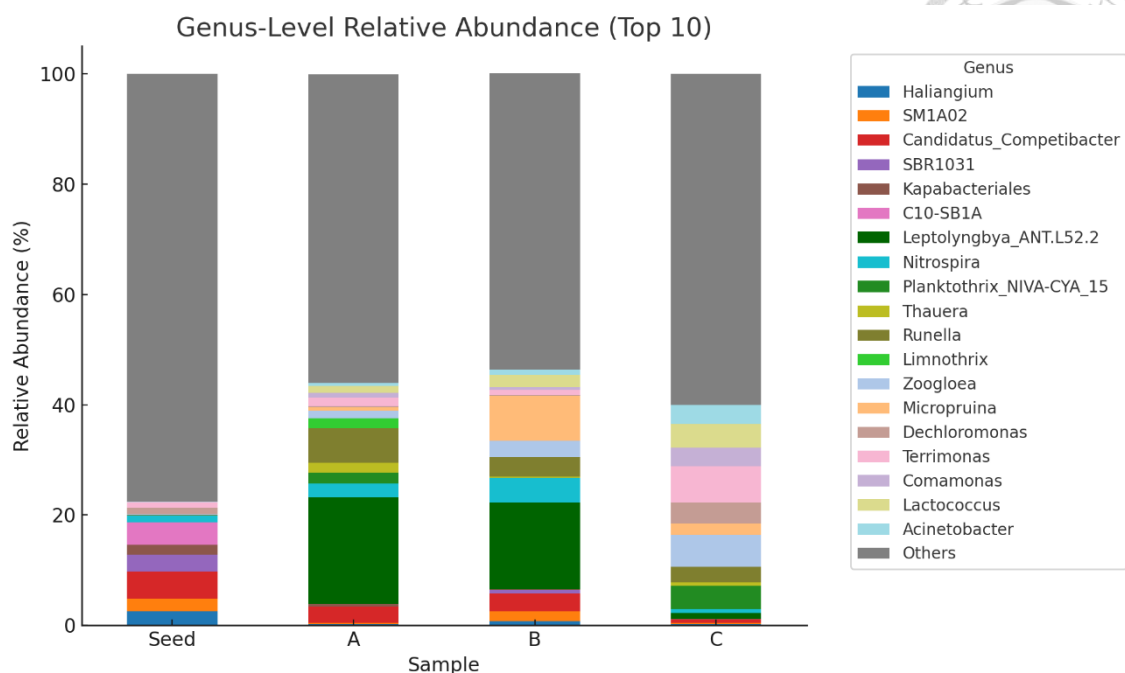


圖 4-20 屬層級菌群組成

從各樣品篩選出的前十大菌屬中，屬於藍綠菌的屬包括 *Leptolyngbya* ANT.L52.2(細鞘絲藻屬)、*Planktothrix* NIVA-CYA 15(浮絲藻屬)、*Limnothrix*(湖生藍絲藻屬)，皆屬於絲狀藍綠菌。這些藍綠菌在各樣品中的相對豐度整理如表 4-13 所示。其中，A 槽的絲狀藍綠菌相對豐度最高，顯示長時間光照促進絲狀藻類增生的現象，與 Xi et al. (2022)的研究結論一致。

表 4-13 各樣品前十大屬組成中之藍綠菌

	Seed	A	B	C
<i>Leptolyngbya</i> ANT.L52.2	0.0%	19.3%	15.7%	1.0%
<i>Planktothrix</i> NIVA-CYA 15	0.0%	2.0%	0.0%	4.1%
<i>Limnothrix</i>	0.0%	1.7%	0.0%	0.0%
total	0.0%	23.0%	15.7%	5.2%

為進一步探討各反應槽中與氮、磷去除相關之功能性菌群組成，本研究根據 KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) 資料庫與既有文獻，對已鑑定之



菌屬進行功能性分類，依其已知參與之氮磷轉化機制進行歸類，結果彙整如表 4-14。
各菌屬之相對豐度列於附表 21，並依據分類結果繪製功能性菌屬在各樣品中之組成圖，詳見圖 4-21。

表 4-14 氮磷去除功能性菌屬分類

具備潛在硝化能力 之菌屬	<i>Nitrospira</i> (Daims, 2014)
	<i>Nitrosomonas</i> (Wendeborn, 2020)
	<i>Acinetobacter</i> (Chen et al., 2021; Xia et al., 2020)
	C10-SB1A (Fu et al., 2025)
	<i>Diaphorobacter</i> (Khardenavis et al., 2007)
具備潛在脫硝能力 之菌屬	<i>Dechloromonas</i> (Petriglieri et al., 2021)
	<i>Haliangium</i> (Huang et al., 2022)
	<i>Candidatus Competibacter</i> (McIlroy et al., 2014)
	SBR1031 (Wan et al., 2022)
	<i>Paracoccus</i> (Di Capua et al., 2019)
	<i>Denitratisoma</i> (Ahmad et al., 2021)
	<i>Hyphomicrobium</i> (Martineau et al., 2015)
	<i>Zoogloea</i> (Huang et al., 2015)
	<i>Comamonas</i> (Gumaelius et al., 2001)
	<i>Diaphorobacter</i> (Khardenavis et al., 2007)
	<i>Thauera</i> (Di Capua et al., 2019; Ren et al., 2021)
	<i>Bradyrhizobium</i> (Wasai-Hara et al., 2023)
	<i>Shinella</i> (Tan et al., 2020)
	<i>Acinetobacter</i> (Chen et al., 2021; Xia et al., 2020)
	<i>Aquabacterium</i> (Kalmbach et al., 1999)



Pseudomonas (Di Capua et al., 2019)

Azospira (Park et al., 2020)

C10-SB1A (Fu et al., 2025)

Halomonas (Boltyanskaya et al., 2007)

Azoarcus (Nishizawa et al., 2012)

Dechloromonas (Petriglieri et al., 2021)

Haliangium (Zhou et al., 2023)

Tetrasphaera (Günther et al., 2009)

具備潛在聚磷能力

Thauera (Ren et al., 2021)

之菌屬

Acinetobacter (Chen et al., 2021; Xia et al., 2020)

Candidatus Accumulibacter (Günther et al., 2009)

Gemmatimonas (Zhang et al., 2003)

Pseudomonas (Günther et al., 2009)

Leptolyngbya ANT.L52.2

Microseira Carmichael-Alabama

Planktothrix NIVA-CYA 15

藍綠菌

Leptolyngbya PCC-6306

(具備潛在同化氮

Sericytochromatia

磷能力)

JSC-12

Vampirovibrionales

Candidatus Obscuribacter

Pantalinema

Limnothrix

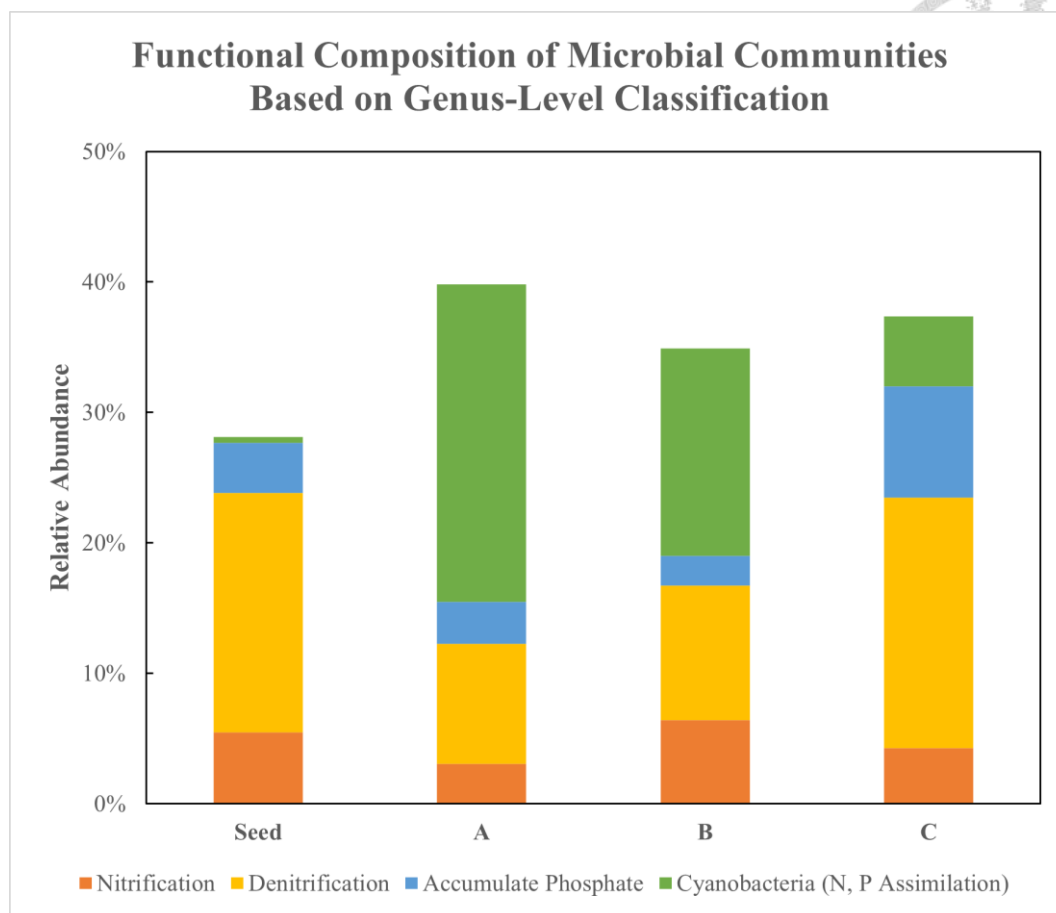


圖 4-21 功能性分類之菌相組成變化(屬階層)

由圖 4-21 可觀察到，各反應槽中功能性菌屬的分布表現出明顯差異，尤以 C 槽中具脫硝與聚磷功能之菌群相對豐度最高。此結果顯示，夜間閒置操作策略有助於脫硝及聚磷功能性菌群的富集與穩定生長，亦反映出 C 槽於氮、磷去除效率表現優異之結果。整體而言，不同運作模式對氮磷去除功能性菌屬的組成具有顯著影響，進而影響系統之污染物去除效能。

4.5.2 微藻物種分析

本研究採用 18S rDNA V4 區域進行高通量定序；由於此標靶序列同時偵測微藻、真菌與原生動物等真核生物，故所有非藻類序列皆歸為 Others。微藻之門階層與綱階層之微藻組成見圖 4-22 與圖 4-23。

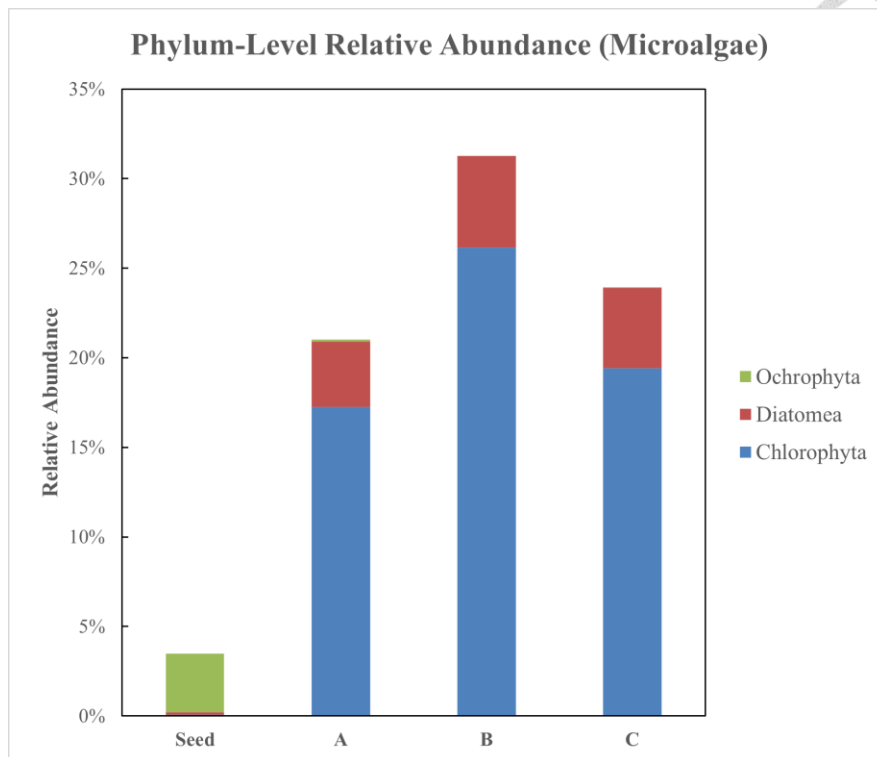


圖 4-22 門階層微藻組成

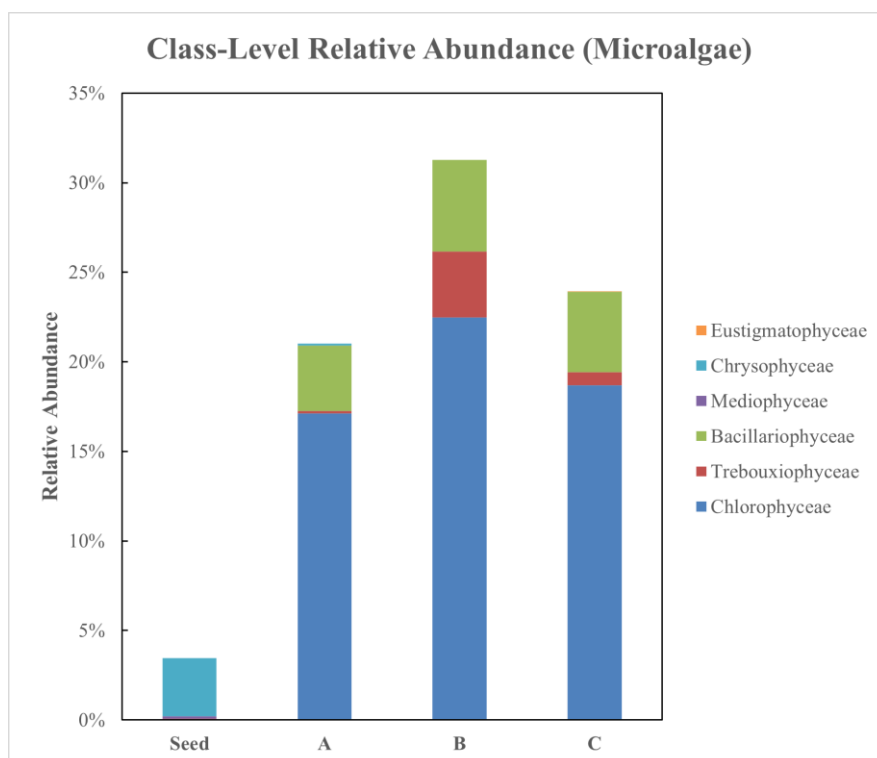


圖 4-23 綱階層微藻組成

在高選擇壓力之柱狀 SBR 中，由植種污泥演替至藻菌顆粒污泥期間，光照驅動了微藻的大量增殖並明顯改變藻種組成。門階層(圖 4-22)顯示，植種污泥以淡色藻門(Ochrophyta)為優勢(3.3%)；然而在完成顆粒化之後，Ochrophyta 門在三座反應槽(A、B、C)中幾乎消失，顯示光照與選擇壓力對該族群具有明顯的篩選效果。

綱階層分析顯示，植種污泥中以 Chrysophyceae (金藻綱)之相對豐度最高。進一步觀察屬階層組成，(如圖 4-24)，主要為 *Paraphysomonas* 屬及 *Poteriospumella* 屬，兩者皆為微型鞭毛原生生物(Holen & Boraas, 1995; Pietsch et al., 2022)。雖然 Chrysophyceae 綱普遍被歸類為藻類，然其底下之 *Paraphysomonas* 屬與 *Poteriospumella* 屬大多不具光合作用能力，主要透過異營攝食方式獲取營養(Choi & Peters, 1992; Pietsch et al., 2022)，因此在曝氣槽的低光源條件下易維持較高佔比。隨著強光照培養與顆粒化進行，該物種的相對豐度下降，反映該族群受到其他物種競爭而減少。



圖 4-24 植種污泥中 Chrysophyceae 綱下之屬層級組成



完成顆粒化後，A、B、C 三座反應槽的藻種組成呈現差異。門階層(圖 4-22)中，B 與 C 槽之矽藻門(Diatomea)相對豐度(5.2%與 4.4%)高於 A 槽(3.6%)，推測可能與系統是否存在黑暗期及無曝氣期設定的交集有關。Kamp et al. (2011)的研究顯示，部分矽藻能在缺乏光照與氧氣的環境中，能啟動異化性硝酸鹽還原為銨(dissimilatory nitrate reduction to ammonium, DNRA)之代謝途徑，利用細胞內儲存之硝酸鹽作為最終電子受體以產生能量。該研究亦指出，細胞內硝酸鹽濃度越高，矽藻在黑暗無氧環境中的存活時間越長，顯示此代謝路徑在生態適應上具重要意義。本研究中，SBR 每循環皆包含 53 min 之厭氧階段，B 槽採 12 hr 光照/12 hr 黑暗運作，C 槽更於夜間停止曝氣，故這兩個運作模式之黑暗期與缺氧期會同時發生，有利於矽藻啟動 DNRA 機制，以適應外界環境，進而在微藻群中取得優勢。

另外，在綱階層(圖 4-23)方面可觀察到 A、B、C 三反應槽的藻菌顆粒污泥中佔比最高的微藻組成皆為 Chlorophyceae 綱，相對豐度分別為 17.1%、22.5%與 18.7%。Chlorophyceae 能大量吸收氮磷營養鹽，已廣泛應用於廢水去氮除磷(Mohsenpour et al., 2021)。該物種在藻菌顆粒污泥中的優勢地位，顯示該物種在污染物去除上具有關鍵作用。

整體而言，由微藻物種分析可見，使用不同的光照與運作模式對藻種組成產生顯著的影響，而此差異可能進一步影響系統內微生物整體的交互作用，如藻菌共生關係，進而影響藻菌顆粒污泥系統的污染物去除效率及顆粒結構穩定性。



第五章 結論與建議



5.1 結論

本研究旨在探討不同光暗週期與運作模式對藻菌顆粒污泥系統污染物去除效率與微生物群落結構之影響，期望建立一套適用於 24 小時穩定運作之最佳操作策略。主要研究重點包括：

- (1) 比較不同光照時長對藻菌顆粒污泥系統處理效能之影響(A 槽 vs. B 槽)。
- (2) 探討具光暗週期之連續操作系統於日夜間運作之穩定性與處理效率差異(BD vs. BN)。
- (3) 分析不同運作模式下微生物群落結構之變化，並比較三組運作模式之綜合表現(A 槽 vs. B 槽 vs. C 槽)。

相關研究結果整理如下：

(1) 顆粒粒徑與生長狀態

第 21 週時，A、B、C 三槽之大顆粒平均粒徑分別為 6.10 ± 0.65 mm、 1.72 ± 0.21 mm 與 1.48 ± 0.21 mm。A 槽因長時間光照促進絲狀藻類大量生長，使顆粒顯著增大；B、C 槽運作模式雖有差異(B 槽夜間持續運作，C 槽夜間閒置)，但兩者顆粒型態與粒徑表現相近，顯示光照時長為影響藻菌顆粒生長的主要因子。

(2) 污泥沉降性

第 9 週後 SVI_{30} 分別為 A 槽 85.7 ± 35.2 mL/g，B 槽 41.4 ± 13.7 mL/g，C 槽 56.5 ± 19.5 mL/g。A 槽因絲狀藻類過度生長，沉降性表現不穩定且顯著劣於 B、C 槽，顯示光照時間對沉降性具有關鍵影響。

(3) TCOD 去除

A 組 TCOD 去除率為 $43.6 \pm 33.8\%$ ，BD 組 $90.4 \pm 7.8\%$ ，BN 組 $74.0 \pm 19.0\%$ ，C 組 $84.7 \pm 12.9\%$ 。TCOD 去除效率主要受污泥沉降性影響所致。

- 光照長度影響(A vs. BD)：長光照使絲狀藻類過度生長，使污泥沉降性劣化，



進而降低 TCOD 去除效率。

- 光暗週期影響(BD vs. BN)：光照期(BD)之去除效率顯著優於黑暗期(BN)。
- 運作模式影響(A、B、C)：A 槽表現較差，B、C 槽無顯著差異。

(4) SCOD 去除

四組 SCOD 去除率皆優異且穩定：A 組 $96.4 \pm 1.7\%$ 、BD 組 $97.6 \pm 1.0\%$ 、BN 組 $98.1 \pm 0.8\%$ 、C 組 $97.4 \pm 0.7\%$ 。整體顯示藻菌顆粒污泥系統對溶解性有機物去除效果良好，且光照條件及運作模式對 SCOD 影響不顯著。

(5) TN 去除

總氮去除率以 A 槽最佳($90.5 \pm 9.1\%$)，其次為 C 槽($84.5 \pm 10.0\%$)、BD($74.9 \pm 6.2\%$)及 BN($66.6 \pm 6.5\%$)。

- 光照長度影響(A vs. BD)：長光照有助於提升總氮去除率。
- 光暗週期影響(BD vs. BN)：在光照期(BD)藻類可更有效的吸收無機氮，去除效率高於黑暗期(BN)。
- 運作模式影響(A、B、C)：A 與 C 槽優於 B 槽。

(6) TP 去除

總磷去除率以 C 槽最佳($71.4 \pm 12.2\%$)，其他組別(A、BD、BN)平均去除率介於 49.7-58.8%之間。光照長度及光暗週期對 TP 去除無顯著影響。而夜間閒置操作有助於聚磷菌代謝，提升 C 槽磷去除潛力。

(7) EPS 分析

藻菌顆粒化過程中 EPS 總量明顯增加，且 PN/PS 比值由植種的 3.6 提升至 A 槽 4.3、B 槽 4.2、C 槽 5.1。EPS 中 PN 含量增加對顆粒穩定性貢獻顯著。C 槽之夜間閒置操作可能促進 PN/PS 比提升，所形成之顆粒結構可能更穩定。

(8) 菌群組成

- 顆粒化過程中菌種集中度提升，顯示菌群受到光照及選擇壓力篩選效果顯著。

- Cyanobacteria 門為藻菌顆粒污泥中的優勢菌種，A、B、C 三槽相對豐度分別為 45.0%、24.8%與 19.5%。

- C 槽具豐富之聚磷與脫氮潛力菌種，合理解釋其較佳之氮磷去除效率。

(9) 微藻組成

- 淡色藻門(Ochromyces) 於顆粒化過程中幾近消失，顯示光照與顆粒化操作條件具強烈篩選效果。
- 三槽皆以 Chlorophyceae 綱為優勢物種，分別為 A 槽 17.2%、B 槽 22.5%、C 槽 18.7%，有助氮磷營養鹽去除。
- B、C 因具備黑暗期中之無曝氣階段，提供矽藻(Diatomea)以硝酸鹽作為電子接受者進行無氧呼吸的生態位，使其在 B、C 有較高相對豐度。

綜合結論：

1. 光照長度比較

長光照有助於顆粒粒徑增大，惟易誘發絲狀藻類增生，導致沉降性下降。短光照有利於 TCOD 去除，而長光照有利於 TN 去除；SCOD 與 TP 受光照時長影響不顯著，顯示光照長度主要影響沉降性與氮去除表現。

2. 光暗週期比較

在 TCOD 與 TN 去除方面，光照期顯著優於黑暗期，而 SCOD 與 TP 去除則不受影響。顯示光暗週期對於氮去除及污泥沉降性具有顯著影響。

3. 運作模式比較

綜合考量污泥沉降性與出流水質表現，採用每日 12 小時光照並於夜間出流後閒置之 C 槽為最適操作條件，其優勢如下：

- 優秀的污泥沉降性(平均 SVI_{30} 56.5 ± 19.5 mL/g)。
- 最佳的 TN 去除率 ($84.5 \pm 10.0\%$)，且統計顯示與最佳的 A 組無顯著差異。
- 最佳的 TP 去除率($71.4 \pm 12.2\%$)。

- 穩定且優異之 SCOD 去除率($97.4 \pm 0.7\%$)。
- 次佳的 TCOD 去除率($84.7 \pm 12.9\%$)，且統計顯示與最佳的 BD 組無顯著差異。

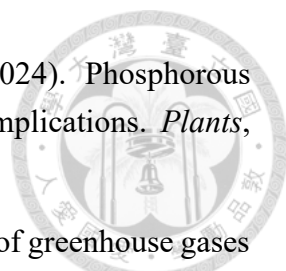


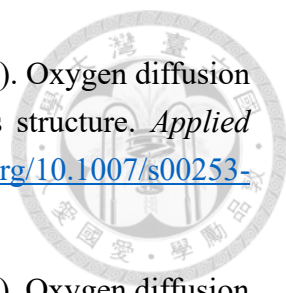
5.2 建議

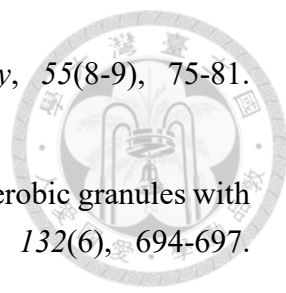
1. 目前反應槽為壓克力材質，長時間照光後可能會導致變質，影響光強度。建議未來研究使用更適合長時間照光的材質。
2. 因反應槽表面藻類附著會造成光遮蔽，若要避免光照受影響，建議頻繁清洗反應槽。
3. 為了提高選擇壓力，實驗室操作使用極短的沉降時間，使沉降性差之污泥流出，同時也造成出流 TCOD 上升。未來實廠可考慮採取雙階段沉降或分開培養槽與處理槽設計，以兼顧出流水質與選擇壓力。
4. EPS 分析建議增加分析次數，動態觀察 EPS 隨顆粒化進程的變化趨勢。
5. 目前學界對於 PN、PS 及 TB-EPS、LB-EPS 在顆粒結構的貢獻仍有許多爭議，未來研究可以針對這部分做更詳細的探討。
6. 雖藻菌顆粒污泥理論上能降低曝氣量以減少能耗，惟現行多數研究仍仰賴強曝氣提供剪切力，未能充分展現節能潛力。
7. 真菌及光合菌在藻菌顆粒污泥中的貢獻值得更深入的探討。

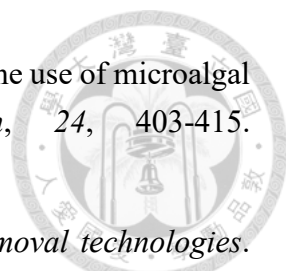
參考文獻

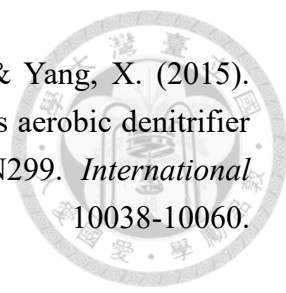
- Abreu, A. P., Morais, R. C., Teixeira, J. A., & Nunes, J. (2022). A comparison between microalgal autotrophic growth and metabolite accumulation with heterotrophic, mixotrophic and photoheterotrophic cultivation modes. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 159, 112247. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2022.112247>
- Acevedo, B., Oehmen, A., Carvalho, G., Seco, A., Borrás, L., & Barat, R. (2012). Metabolic shift of polyphosphate-accumulating organisms with different levels of polyphosphate storage. *Water Research*, 46(6), 1889-1900. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.01.003>
- Adav, S. S., Lee, D.-J., & Tay, J.-H. (2008). Extracellular polymeric substances and structural stability of aerobic granule. *Water Research*, 42(6), 1644-1650. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.10.013>
- Ahmad, H. A., Guo, B., Zhuang, X., Zhao, Y., Ahmad, S., Lee, T., Zhu, J., Dong, Y., & Ni, S.-Q. (2021). A twilight for the complete nitrogen removal via synergistic partial-denitrification, Anammox, and DNRA process. *npj Clean Water*, 4(1), 31. <https://doi.org/10.1038/s41545-021-00122-5>
- Ahmad, J., Cai, W., Zhao, Z., Zhang, Z., Shimizu, K., Lei, Z., & Lee, D.-J. (2017). Stability of algal-bacterial granules in continuous-flow reactors to treat varying strength domestic wastewater. *Bioresource Technology*, 244. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.134>
- Al-Ani, F. H., Majidi, H. S., Ali, J. M., Al Rahawi, A. M., & Alsahy, Q. F. (2019). Comparative study on CAS, UCT, and MBR configurations for nutrient removal from hospital wastewater. *Desalination and Water Treatment*, 164, 39-47. <https://doi.org/10.5004/dwt.2019.24454>
- Berry, D. F., Francis, A. J., & Bollag, J.-M. (1987). Microbial metabolism of homocyclic and heterocyclic aromatic compounds under anaerobic conditions. *Microbiological reviews*, 51(1), 43-59. <https://doi.org/10.1128/mr.51.1.43-59.1987>
- Boltyanskaya, Y. V., Kevbrin, V. V., Lysenko, A. M., Kolganova, T. V., Tourova, T. P., Osipov, G. A., & Zhilina, T. N. (2007). *Halomonas mongoliensis* sp. nov. and *Halomonas kenyensis* sp. nov., new haloalkaliphilic denitrifiers capable of N₂O reduction, isolated from soda lakes. *Microbiology*, 76(6), 739-747. <https://doi.org/10.1134/S0026261707060148>

- 
- Bossa, R., Di Colandrea, M., Salbitani, G., & Carfagna, S. (2024). Phosphorous utilization in microalgae: physiological aspects and applied implications. *Plants*, 13(15), 2127. <https://doi.org/10.3390/plants13152127>
- Bruins, J. G., Oostergo, H. D., & Brinkhorst, M. A. (1995). Emission of greenhouse gases from wastewater treatment processes. In S. Zwerver, R. S. A. R. van Rompaey, M. T. J. Kok, & M. M. Berk (Eds.), *Studies in Environmental Science* (Vol. 65, pp. 635-638). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0166-1116\(06\)80259-1](https://doi.org/10.1016/S0166-1116(06)80259-1)
- Caille, C., Duhamel, S., Latifi, A., & Rabouille, S. (2024). Adaptive responses of cyanobacteria to phosphate limitation: a focus on marine diazotrophs. *Environmental Microbiology*, 26(12), e70023. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.70023>
- Cao, J., Chen, F., Fang, Z., Gu, Y., Wang, H., Lu, J., Bi, Y., Wang, S., Huang, W., & Meng, F. (2022). Effect of filamentous algae in a microalgal-bacterial granular sludge system treating saline wastewater: Assessing stability, lipid production and nutrients removal. *Bioresource Technology*, 354, 127182. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127182>
- Cao, Y., Yang, S., Wang, J., Kong, W., Guo, B., Xi, Y., Zhang, A., & Yue, B. (2023). Metabolomic exploration of the physiological regulatory mechanism of the growth and metabolism characteristics of *Chlorella vulgaris* under photoautotrophic, mixotrophic, and heterotrophic cultivation conditions. *Biomass and Bioenergy*, 173, 106775. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2023.106775>
- Carvalho, V. C. F., Gan, A. Z. M., Shon, A., Kolakovic, S., Freitas, E. B., Reis, M. A. M., Fradinho, J. C., & Oehmen, A. (2024). The phototrophic metabolic behaviour of *Candidatus Accumulibacter*. *Water Research*, 259, 121865. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2024.121865>
- Chen, H., Zhou, W., Zhu, S., Liu, F., Qin, L., Xu, C., & Wang, Z. (2021). Biological nitrogen and phosphorus removal by a phosphorus-accumulating bacteria *Acinetobacter* sp. strain C-13 with the ability of heterotrophic nitrification–aerobic denitrification. *Bioresource Technology*, 322, 124507. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124507>
- Chen, S., Wang, J., Feng, X., & Zhao, F. (2025). Algal–bacterial symbiotic granular sludge technology in wastewater treatment: A Review on advances and future prospects. *Water*, 17(11), 1647. <https://doi.org/10.3390/w17111647>

- 
- Chiu, Z. C., Chen, M. Y., Lee, D. J., Wang, C. H., & Lai, J. Y. (2007a). Oxygen diffusion and consumption in active aerobic granules of heterogeneous structure. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 75(3), 685-691. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-0847-6>
- Chiu, Z. C., Chen, M. Y., Lee, D. J., Wang, C. H., & Lai, J. Y. (2007b). Oxygen diffusion in active layer of aerobic granule with step change in surrounding oxygen levels. *Water Res*, 41(4), 884-892. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.11.035>
- Choi, J. W., & Peters, F. (1992). Effects of temperature on two psychrophilic ecotypes of a heterotrophic nanoflagellate, *Paraphysomonas imperforata*. *Applied and environmental microbiology*, 58(2), 593-599. <https://doi.org/10.1128/aem.58.2.593-599.1992>
- Chojnacka, K., & Marquez-Rocha, F. (2004). Kinetic and stoichiometric relationships of the energy and carbon metabolism in the culture of microalgae. *Biotechnology(Faisalabad)*, 3, 21-34. <https://doi.org/10.3923/biotech.2004.21.34>
- Croft, M. T., Lawrence, A. D., Raux-Deery, E., Warren, M. J., & Smith, A. G. (2005). Algae acquire vitamin B₁₂ through a symbiotic relationship with bacteria. *Nature*, 438(7064), 90-93. <https://doi.org/10.1038/nature04056>
- Cummins, P. M., Rochfort, K. D., & O'Connor, B. F. (2017). Ion-Exchange Chromatography: Basic Principles and Application. *Methods Mol Biol*, 1485, 209-223. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6412-3_11
- Daims, H. (2014). The Family Nitrospiraceae. In E. Rosenberg, E. F. DeLong, S. Lory, E. Stackebrandt, & F. Thompson (Eds.), *The Prokaryotes: Other Major Lineages of Bacteria and The Archaea* (pp. 733-749). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-38954-2_126
- Dashty, M. (2013). A quick look at biochemistry: Carbohydrate metabolism. *Clinical Biochemistry*, 46(15), 1339-1352. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2013.04.027>
- Dawen, G., & Nabi, M. (2024). Aerobic Granular Sludge. In G. Dawen & M. Nabi (Eds.), *Novel Approaches Towards Wastewater Treatment: Effective Strategies and Techniques* (pp. 91-165). Springer Nature Switzerland. https://doi.org/10.1007/978-3-031-55189-5_2
- de Kreuk, M. K., Kishida, N., & van Loosdrecht, M. C. M. (2007). Aerobic granular

- 
- sludge – state of the art. *Water Science and Technology*, 55(8-9), 75-81.
<https://doi.org/10.2166/wst.2007.244>
- de Kreuk, M. K., & van Loosdrecht, M. C. M. (2006). Formation of aerobic granules with domestic sewage. *Journal of Environmental Engineering*, 132(6), 694-697.
[https://doi.org/10.1061/\(asce\)0733-9372\(2006\)132:6\(694\)](https://doi.org/10.1061/(asce)0733-9372(2006)132:6(694))
- Di Capua, F., Pirozzi, F., Lens, P. N. L., & Esposito, G. (2019). Electron donors for autotrophic denitrification. *Chemical Engineering Journal*, 362, 922-937.
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.01.069>
- Ding, X., Lan, W., Li, Y., Yan, A., Katayama, Y., Koba, K., Makabe, A., Fukushima, K., Yano, M., Onishi, Y., Ge, Q., & Gu, J.-D. (2021). An internal recycling mechanism between ammonia/ammonium and nitrate driven by ammonia-oxidizing archaea and bacteria (AOA, AOB, and Comammox) and DNRA on Angkor sandstone monuments. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 165, 105328.
<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2021.105328>
- Drewnowski, J., Remiszewska-Skwarek, A., Duda, S., & Łagód, G. (2019). Aeration process in bioreactors as the main energy consumer in a wastewater treatment plant. Review of solutions and methods of process optimization. *Processes*, 7(5), 311.
<https://doi.org/10.3390/pr7050311>
- Duan, H., Zhao, Y., Koch, K., Wells, G. F., Zheng, M., Yuan, Z., & Ye, L. (2021). Insights into nitrous oxide mitigation strategies in wastewater treatment and challenges for wider implementation. *Environmental Science & Technology*, 55(11), 7208-7224.
<https://doi.org/10.1021/acs.est.1c00840>
- DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, 28(3), 350-356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Fernández, E., Llamas, Á., & Galván, A. (2009). Nitrogen assimilation and its regulation. In *The chlamydomonas sourcebook* (pp. 69-113). Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-370873-1.00011-3>
- Fu, X., Li, Y., Huang, W., Wang, D., Yang, C., & Han, H. (2025). Unveiling environmental adaptability of magnetite-mediated Feammox system: Multiple pathways identification, metabolic responses and engineering potential analysis. *Chemical Engineering Journal*, 511, 161921. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2025.161921>

- 
- Gonçalves, A. L., Pires, J. C. M., & Simões, M. (2017). A review on the use of microalgal consortia for wastewater treatment. *Algal Research*, 24, 403-415. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.11.008>
- Graziani, M., & McLean, D. (2006). *Phosphorus treatment and removal technologies*. (wq-wwtp9-02). St. Paul, MN: Minnesota Pollution Control Agency Retrieved from <https://www.pca.state.mn.us/sites/default/files/wq-wwtp9-02.pdf>
- Gu, Y., Li, Y., Li, X., Luo, P., Wang, H., Robinson, Z. P., Wang, X., Wu, J., & Li, F. (2017). The feasibility and challenges of energy self-sufficient wastewater treatment plants. *Applied Energy*, 204, 1463-1475. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2017.02.069>
- Gui, X., Wang, Z., Li, K., Li, Z., Mao, X., Geng, J., & Pan, Y. (2024). Enhanced nitrogen removal in sewage treatment is achieved by using kitchen waste hydrolysate without a significant increase in nitrous oxide emissions. *Science of The Total Environment*, 906, 167108. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.167108>
- Gumaelius, L., Magnusson, G., Pettersson, B., & Dalhammar, G. (2001). *Comamonas denitrificans* sp. nov., an efficient denitrifying bacterium isolated from activated sludge. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 51(3), 999-1006. <https://doi.org/10.1099/00207713-51-3-999>
- Günther, S., Trutnau, M., Kleinstaub, S., Hause, G., Bley, T., Röske, I., Harms, H., & Müller, S. (2009). Dynamics of Polyphosphate-Accumulating Bacteria in Wastewater Treatment Plant Microbial Communities Detected via DAPI (4',6'-Diamidino-2-Phenylindole) and Tetracycline Labeling. *Applied and environmental microbiology*, 75(7), 2111-2121. <https://doi.org/10.1128/AEM.01540-08>
- He, S., & McMahon, K. D. (2011). Microbiology of 'Candidatus Accumulibacter' in activated sludge. *Microbial biotechnology*, 4(5), 603-619. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2011.00248.x>
- Hellebust, J. A., & Ahmad, I. (1989). Regulation of nitrogen assimilation in green microalgae. *Biological oceanography*, 6(3-4), 241-255. <https://doi.org/10.1080/01965581.1988.10749529>
- Holen, D. A., & Boraas, M. E. (1995). Mixotrophy in chrysophytes. In C. D. Sandgren, J. P. Smol, & J. Kristiansen (Eds.), *Chrysophyte Algae: Ecology, Phylogeny and Development* (pp. 119-140). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511752292.007>

- 
- Huang, T.-L., Zhou, S.-L., Zhang, H.-H., Bai, S.-Y., He, X.-X., & Yang, X. (2015). Nitrogen removal characteristics of a newly isolated indigenous aerobic denitrifier from oligotrophic drinking water reservoir, *Zoogloea* sp. N299. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(5), 10038-10060. <https://doi.org/10.3390/ijms160510038>
- Huang, X., Yao, K., Yu, J., Dong, W., & Zhao, Z. (2022). Nitrogen removal performance and microbial characteristics during simultaneous chemical phosphorus removal process using Fe^{3+} . *Bioresource Technology*, 363, 127972. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127972>
- Iorhemen, O. T., Zaghloul, M. S., Hamza, R. A., & Tay, J. H. (2020). Long-term aerobic granular sludge stability through anaerobic slow feeding, fixed feast-famine period ratio, and fixed SRT. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(2), 103681. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.103681>
- Irvine, R. L., Ketchum Jr, L. H., & Asano, T. (1989). Sequencing batch reactors for biological wastewater treatment. *Critical Reviews in Environmental Control*, 18(4), 255-294. <https://doi.org/10.1080/10643388909388350>
- Ji, B. (2022). Towards environment-sustainable wastewater treatment and reclamation by the non-aerated microalgal-bacterial granular sludge process: Recent advances and future directions. *Science of The Total Environment*, 806, 150707. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150707>
- Ji, B., Wang, S., Silva, M. R. U., Zhang, M., & Liu, Y. (2021). Microalgal-bacterial granular sludge for municipal wastewater treatment under simulated natural diel cycles: Performances-metabolic pathways-microbial community nexus. *Algal Research*, 54, 102198. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102198>
- Jia, W., Huang, X., & Li, C. (2014). A preliminary study of the algicidal mechanism of bioactive metabolites of *Brevibacillus laterosporus* on *Oscillatoria* in prawn ponds. *The Scientific World Journal*, 2014(1), 869149. <https://doi.org/10.1155/2014/869149>
- Jiang, Q., Chen, H., Fu, Z., Fu, X., Wang, J., Liang, Y., Yin, H., Yang, J., Jiang, J., Yang, X., Wang, H., Liu, Z., & Su, R. (2022). Current progress, challenges and perspectives in the microalgal-bacterial aerobic granular sludge process: a review. *Int J Environ Res Public Health*, 19(21). <https://doi.org/10.3390/ijerph192113950>
- Jimenez, J., Dursun, D., Dold, P., Bratby, J., Keller, J., & Parker, D. (2010). Simultaneous

nitrification-denitrification to meet low effluent nitrogen limits: Modeling, performance and reliability. *Proceedings of the Water Environment Federation (WEFTEC 2010)*, 2404-2421. <https://doi.org/10.2175/193864710798158968>

Jin, Y., Zhan, W., Wu, R., Han, Y., Yang, S., Ding, J., & Ren, N. (2023). Insight into the roles of microalgae on simultaneous nitrification and denitrification in microalgal-bacterial sequencing batch reactors: Nitrogen removal, extracellular polymeric substances, and microbial communities. *Bioresour Technol*, 379, 129038. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.129038>

Kalmbach, S., Manz, W., Wecke, J., & Szewzyk, U. (1999). *Aquabacterium* gen. nov., with description of *Aquabacterium citratiphilum* sp. nov., *Aquabacterium parvum* sp. nov. and *Aquabacterium commune* sp. nov., three in situ dominant bacterial species from the Berlin drinking water system. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 49(2), 769-777. <https://doi.org/10.1099/00207713-49-2-769>

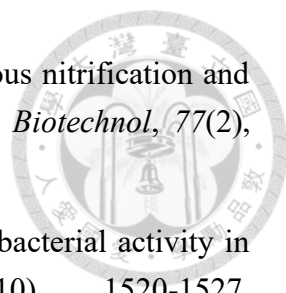
Kamp, A., de Beer, D., Nitsch, J. L., Lavik, G., & Stief, P. (2011). Diatoms respire nitrate to survive dark and anoxic conditions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(14), 5649-5654. <https://doi.org/10.1073/pnas.1015744108>

Kartal, B., de Almeida, N. M., Maalcke, W. J., Op den Camp, H. J. M., Jetten, M. S. M., & Keltjens, J. T. (2013). How to make a living from anaerobic ammonium oxidation. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(3), 428-461. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12014>

Kartal, B., Maalcke, W. J., de Almeida, N. M., Cirpus, I., Gloerich, J., Geerts, W., Op den Camp, H. J. M., Harhangi, H. R., Janssen-Megens, E. M., Francoijs, K.-J., Stunnenberg, H. G., Keltjens, J. T., Jetten, M. S. M., & Strous, M. (2011). Molecular mechanism of anaerobic ammonium oxidation. *Nature*, 479(7371), 127-130. <https://doi.org/10.1038/nature10453>

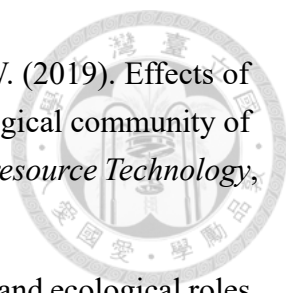
Kemmou, L., & Amanatidou, E. (2023). Factors affecting nitrous oxide emissions from activated sludge wastewater treatment plants—A review. *Resources*, 12(10), 114. <https://doi.org/10.3390/resources12100114>

Kennes-Veiga, D. M., Gonzalez-Gil, L., Carballa, M., & Lema, J. M. (2021). The organic loading rate affects organic micropollutants' cometabolic biotransformation kinetics under heterotrophic conditions in activated sludge. *Water Research*, 189, 116587. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116587>

- 
- Khardenavis, A. A., Kapley, A., & Purohit, H. J. (2007). Simultaneous nitrification and denitrification by diverse *Diaphorobacter* sp. *Appl Microbiol Biotechnol*, 77(2), 403-409. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-1176-5>
- Kokou, F., Makridis, P., Kentouri, M., & Divanach, P. (2012). Antibacterial activity in microalgae cultures. *Aquaculture Research*, 43(10), 1520-1527. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.02955.x>
- Ladd, J., & Jackson, R. (1982). *Biochemistry of ammonification* (F. J. Stevenson, Ed. Vol. 22). <https://doi.org/10.2134/agronmonogr22.c5>
- Lake, A., & Vellacott, A. (2024). The challenges of eliminating nitrous oxide from the water sector. *TCE: The Chemical Engineer*, (1000), 22–29. <https://www.thechemicalengineer.com/features/the-challenges-of-eliminating-nitrous-oxide-from-the-water-sector/>
- Larsdotter, K., Cour, J. J. I., & Dalhammar, G. (2007). Biologically mediated phosphorus precipitation in wastewater treatment with microalgae. *Environmental Technology*, 28(9), 953-960. <https://doi.org/10.1080/09593332808618855>
- Lettinga, G., Van Velsen, A., Hobma, S. d., De Zeeuw, W., & Klapwijk, A. (1980). Use of the upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological wastewater treatment, especially for anaerobic treatment. *Biotechnology and bioengineering*, 22(4), 699-734. <https://doi.org/10.1002/bit.260220402>
- Liang, L., Wang, Z., Ding, Y., Li, Y., & Wen, X. (2023). Protein reserves elucidate the growth of microalgae under nitrogen deficiency. *Algal Research*, 75, 103269. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2023.103269>
- Lim, S. J., & Kim, T.-H. (2014). Applicability and trends of anaerobic granular sludge treatment processes. *Biomass and Bioenergy*, 60, 189-202. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2013.11.011>
- Lin, H., Wang, Y., & Dong, Y. (2024). A review of methods, influencing factors and mechanisms for phosphorus recovery from sewage and sludge from municipal wastewater treatment plants. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 12(1), 111657. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.111657>
- Liu, L., Zeng, Z., Bee, M., Gibson, V., Wei, L., Huang, X., & Liu, C. (2018). Characteristics and performance of aerobic algae-bacteria granular consortia in a photo-sequencing batch reactor. *Journal of Hazardous Materials*, 349, 135-142.

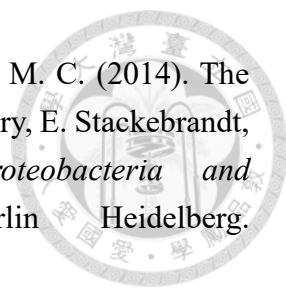


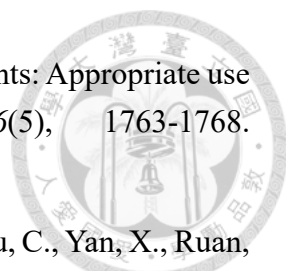
- <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.01.059>
- Liu, Y.-Q. (2024). Environmental protection through aerobic granular sludge process. *Processes*, 12(2), 243. <https://doi.org/10.3390/pr12020243>
- Liu, Y.-Q., & Tay, J.-H. (2015). Fast formation of aerobic granules by combining strong hydraulic selection pressure with overstressed organic loading rate. *Water Research*, 80, 256-266. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.05.015>
- Liu, Z., Liu, J., Zhao, Y., Zhang, S., Gao, M., Wang, J., Zhang, A., & Liu, Y. (2022). Understanding the effects of algae growth on algal-bacterial granular sludge formation: From sludge characteristics, extracellular polymeric substances, and microbial community. *SSRN Electronic Journal*. <https://doi.org/10.2139/ssrn.4244547>
- Madigan, M. T. B., Kelly S.; Buckley, Daniel H.; Sattley, W. Matthew; Stahl, David A.; Brock, Thomas D. (2018). *Brock Biology of Microorganisms* (15 ed.). Pearson.
- Mao, Y., Xiong, R., Gao, X., Jiang, L., Peng, Y., & Xue, Y. (2021). Analysis of the status and improvement of microalgal phosphorus removal from municipal wastewater. *Processes*, 9(9), 1486. <https://doi.org/10.3390/pr9091486>
- Martineau, C., Mauffrey, F., & Villemur, R. (2015). Comparative Analysis of Denitrifying Activities of *Hyphomicrobium nitrativorans*, *Hyphomicrobium denitrificans*, and *Hyphomicrobium zavarzinii*. *Appl Environ Microbiol*, 81(15), 5003-5014. <https://doi.org/10.1128/aem.00848-15>
- Massara, T. M., Malamis, S., Guisasola, A., Baeza, J. A., Noutsopoulos, C., & Katsou, E. (2017). A review on nitrous oxide (N₂O) emissions during biological nutrient removal from municipal wastewater and sludge reject water. *Science of The Total Environment*, 596, 106-123. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.191>
- Mata, T. M., Martins, A. A., & Caetano, N. S. (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(1), 217-232. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.07.020>
- McIlroy, S. J., Albertsen, M., Andresen, E. K., Saunders, A. M., Kristiansen, R., Stokholm-Bjerregaard, M., Nielsen, K. L., & Nielsen, P. H. (2014). 'Candidatus Competibacter'-lineage genomes retrieved from metagenomes reveal functional metabolic diversity. *The ISME Journal*, 8(3), 613-624. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.162>

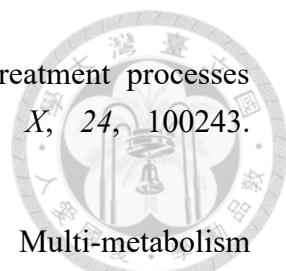
- 
- Meng, F., Xi, L., Liu, D., Huang, W., Lei, Z., Zhang, Z., & Huang, W. (2019). Effects of light intensity on oxygen distribution, lipid production and biological community of algal-bacterial granules in photo-sequencing batch reactors. *Bioresource Technology*, 272, 473-481. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.10.059>
- Meyer, N., Bigalke, A., Kaulfuß, A., & Pohnert, G. (2017). Strategies and ecological roles of algicidal bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 41(6), 880-899. <https://doi.org/10.1093/femsre/fux029>
- Mohsenpour, S. F., Hennige, S., Willoughby, N., Adeloye, A., & Gutierrez, T. (2021). Integrating micro-algae into wastewater treatment: A review. *Science of The Total Environment*, 752, 142168. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142168>
- Muloiwa, M., Dinka, M., & Nyende-Byakika, S. (2023). Modelling and optimization of energy consumption in the activated sludge biological aeration unit. *Water Practice & Technology*, 18(1), 140-158. <https://doi.org/10.2166/wpt.2022.154>
- Na, H., Na, A., & Mg, S. (2019). The performance of extracellular polymeric substance (EPS) on stability of aerobic granular sludge (AGS). *Civil and Environmental Engineering Reports*, 29(3), 60-69. <https://doi.org/10.2478/ceer-2019-0024>
- Nirmalakhandan, N., Selvaratnam, T., Henkanatte-Gedera, S. M., Tchinda, D., Abeysiriwardana-Arachchige, I. S. A., Delanka-Pedige, H. M. K., Munasinghe-Arachchige, S. P., Zhang, Y., Holguin, F. O., & Lammers, P. J. (2019). Algal wastewater treatment: Photoautotrophic vs. mixotrophic processes. *Algal Research*, 41, 101569. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101569>
- Nishizawa, T., Tago, K., Oshima, K., Hattori, M., Ishii, S., Otsuka, S., & Senoo, K. (2012). Complete genome sequence of the denitrifying and N₂O-reducing bacterium *Azoarcus* sp. strain KH32C. *J Bacteriol*, 194(5), 1255. <https://doi.org/10.1128/jb.06618-11>
- Oruganti, R. K., Keerthi, K., Loke, S. P., Venkataramana, G., Kumar, U. V. K., & and Bhattacharyya, D. (2022). A comprehensive review on the use of algal-bacterial systems for wastewater treatment with emphasis on nutrient and micropollutant removal. *Bioengineered*, 13(4), 10412-10453. <https://doi.org/10.1080/21655979.2022.2056823>
- Park, H.-J., Kwon, J., Yun, J., & Cho, K.-S. (2020). Characterization of nitrous oxide reduction by *Azospira* sp. HJ23 isolated from advanced wastewater treatment sludge. *Journal of environmental science and health. Part A, Toxic/hazardous substances &*

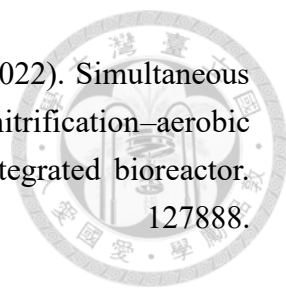
<https://doi.org/10.1080/10934529.2020.1812321>

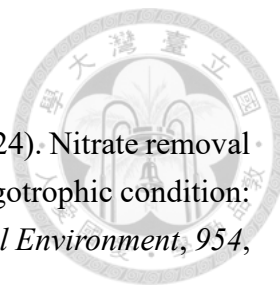
- Park, J.-E., Zhang, S., Han, T. H., & Hwang, S.-J. (2021). The contribution ratio of autotrophic and heterotrophic metabolism during a mixotrophic culture of *Chlorella sorokiniana*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(3), 1353. <https://doi.org/10.3390/ijerph18031353>
- Peng, T., Wang, Y., Wang, J., Fang, F., Yan, P., & Liu, Z. (2022). Effect of different forms and components of EPS on sludge aggregation during granulation process of aerobic granular sludge. *Chemosphere*, 303, 135116. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135116>
- Perez-Garcia, O., Escalante, F. M., De-Bashan, L. E., & Bashan, Y. (2011). Heterotrophic cultures of microalgae: metabolism and potential products. *Water Research*, 45(1), 11-36. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.08.037>
- Petriglieri, F., Singleton, C., Peces, M., Petersen, J. F., Nierychlo, M., & Nielsen, P. H. (2021). “*Candidatus* Dechloromonas phosphoritropha” and “*Ca.* D. phosphorivorans”, novel polyphosphate accumulating organisms abundant in wastewater treatment systems. *The ISME Journal*, 15(12), 3605-3614. <https://doi.org/10.1038/s41396-021-01029-2>
- Pietsch, T., Nitsche, F., & Arndt, H. (2022). High molecular diversity in the functional group of small bacterivorous non-scaled chrysomonad flagellates. *European Journal of Protistology*, 86, 125915. <https://doi.org/10.1016/j.ejop.2022.125915>
- Pozzobon, V., Cui, N., Moreaud, A., Michiels, E., & Levasseur, W. (2021). Nitrate and nitrite as mixed source of nitrogen for *Chlorella vulgaris*: Growth, nitrogen uptake and pigment contents. *Bioresource Technology*, 330, 124995. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124995>
- Pronk, M., De Kreuk, M., De Bruin, B., Kamminga, P., Kleerebezem, R. v., & Van Loosdrecht, M. (2015). Full scale performance of the aerobic granular sludge process for sewage treatment. *Water Research*, 84, 207-217. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.07.011>
- Pronk, M., van Dijk, E. J. H., & van Loosdrecht, M. C. M. (2023). Aerobic granular sludge. In G. Chen, M. C. M. van Loosdrecht, G. A. Ekama, & D. Brdjanovic (Eds.), *Biological Wastewater Treatment: Principles, Modelling and Design* (pp. 0). IWA Publishing. https://doi.org/10.2166/9781789060362_0497

- 
- Pujalte, M. J., Lucena, T., Ruvira, M. A., Arahal, D. R., & Macián, M. C. (2014). The Family Rhodobacteraceae. In E. Rosenberg, E. F. DeLong, S. Lory, E. Stackebrandt, & F. Thompson (Eds.), *The Prokaryotes: Alphaproteobacteria and Betaproteobacteria* (pp. 439-512). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-30197-1_377
- Purba, L. D. A., Zahra, S. A., Yuzir, A., Iwamoto, K., Abdullah, N., Shimizu, K., Lei, Z., & Hermana, J. (2023). Algal-bacterial aerobic granular sludge for real municipal wastewater treatment: performance, microbial community change and feasibility of lipid recovery. *Journal of Environmental Management*, 333, 117374. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.117374>
- Qiao, Z., Sun, R., Wu, Y., Hu, S., Liu, X., Chan, J., & Mi, X. (2020). Characteristics and metabolic pathway of the bacteria for heterotrophic nitrification and aerobic denitrification in aquatic ecosystems. *Environmental Research*, 191, 110069. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110069>
- Qin, L., Feng, P., Zhu, S., Xu, Z., & Wang, Z. (2022). A novel partial complete nitrification coupled microalgae assimilation system for resource utilization of high ammonia nitrogen wastewater. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 10(6), 108584. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.108584>
- Ren, T., Chi, Y., Wang, Y., Shi, X., Jin, X., & Jin, P. (2021). Diversified metabolism makes novel *Thauera* strain highly competitive in low carbon wastewater treatment. *Water Research*, 206, 117742. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117742>
- Ren, Y., Hao Ngo, H., Guo, W., Wang, D., Peng, L., Ni, B.-J., Wei, W., & Liu, Y. (2020). New perspectives on microbial communities and biological nitrogen removal processes in wastewater treatment systems. *Bioresource Technology*, 297, 122491. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122491>
- Rittmann, B. E. M., Perry L. (2001). *Environmental Biotechnology: Principles and Applications* (1 ed.). McGraw-Hill Education.
- Sanz-Luque, E., Bhaya, D., & Grossman, A. R. (2020). Polyphosphate: a multifunctional metabolite in cyanobacteria and algae. *Frontiers in plant science*, 11, 938. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00938>
- Sanz-Luque, E., Chamizo-Ampudia, A., Llamas, A., Galvan, A., & Fernandez, E. (2015). Understanding nitrate assimilation and its regulation in microalgae. *Frontiers in plant science*, Volume 6 - 2015. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00899>

- 
- Schober, P., Boer, C., & Schwarte, L. A. (2018). Correlation coefficients: Appropriate use and interpretation. *Anesthesia & Analgesia*, 126(5), 1763-1768. <https://doi.org/10.1213/ane.0000000000002864>
- Shan, S., Manyakhin, A. Y., Wang, C., Ge, B., Han, J., Zhang, X., Zhou, C., Yan, X., Ruan, R., & Cheng, P. (2023). Mixotrophy, a more promising culture mode: Multi-faceted elaboration of carbon and energy metabolism mechanisms to optimize microalgae culture. *Bioresource Technology*, 386, 129512. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.129512>
- Slocombe, S. P., Zúñiga-Burgos, T., Chu, L., Mehrshahi, P., Davey, M. P., Smith, A. G., Camargo-Valero, M. A., & Baker, A. (2023). Overexpression of PSR1 in *Chlamydomonas reinhardtii* induces luxury phosphorus uptake. *Frontiers in plant science*, 14, 1208168. <https://doi.org/10.1101/2022.11.18.517064>
- Solovchenko, A., Plouviez, M., & Khozin-Goldberg, I. (2024). Getting grip on phosphorus: Potential of microalgae as a vehicle for sustainable usage of this macronutrient. *Plants*, 13(13), 1834. <https://doi.org/10.20944/preprints202405.1379.v1>
- Strous, M., Fuerst, J. A., Kramer, E. H. M., Logemann, S., Muyzer, G., van de Pas-Schoonen, K. T., Webb, R., Kuenen, J. G., & Jetten, M. S. M. (1999). Missing lithotroph identified as new planctomycete. *Nature*, 400(6743), 446-449. <https://doi.org/10.1038/22749>
- Strubbe, L., van Dijk, E. J. H., Carrera, P., van Loosdrecht, M. C. M., & Volcke, E. I. P. (2024). Impact of oxygen transfer dynamics on the performance of an aerobic granular sludge reactor. *Chemical Engineering Journal*, 482, 148843. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2024.148843>
- Subashchandrabose, S. R., Ramakrishnan, B., Megharaj, M., Venkateswarlu, K., & Naidu, R. (2011). Consortia of cyanobacteria/microalgae and bacteria: Biotechnological potential. *Biotechnology Advances*, 29(6), 896-907. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.07.009>
- Sun, J., Liang, P., Yan, X., Zuo, K., Xiao, K., Xia, J., Qiu, Y., Wu, Q., Wu, S., Huang, X., Qi, M., & Wen, X. (2016). Reducing aeration energy consumption in a large-scale membrane bioreactor: Process simulation and engineering application. *Water Research*, 93, 205-213. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.02.026>
- Sun, Y., Zuo, Y., Shao, Y., Wang, L., Jiang, L.-M., Hu, J., Zhou, C., Lu, X., Huang, S., &

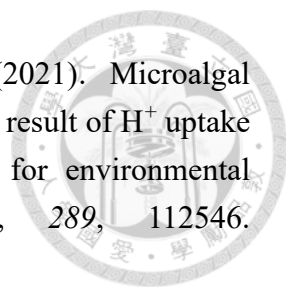
- 
- Zhou, Z. (2024). Carbon footprint analysis of wastewater treatment processes coupled with sludge in situ reduction. *Water Research X*, 24, 100243. <https://doi.org/10.2139/ssrn.4644500>
- Tan, X., Yang, Y.-L., Li, X., Gao, Y.-X., & Fan, X.-Y. (2021). Multi-metabolism regulation insights into nutrients removal performance with adding heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacteria in tidal flow constructed wetlands. *Science of The Total Environment*, 796, 149023. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149023>
- Tan, Y., Park, J., Ikuma, K., Evans, E. A., Flammig, J. J., & Ellis, T. G. (2020). Feasibility test of autotrophic denitrification of industrial wastewater in sequencing batch and static granular bed reactors. *Water Environment Research*, 92(5), 749-758. <https://doi.org/10.1002/wer.1271>
- Tay, J. H., Liu, Q. S., & Liu, Y. (2001). The effects of shear force on the formation, structure and metabolism of aerobic granules. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 57(1), 227-233. <https://doi.org/10.1007/s002530100766>
- Tchobanoglous, G., Stensel, H. D., Burton, F. L., & Eddy, M. (2014). *Wastewater Engineering: Treatment and Resource Recovery* (5th ed. ed.). McGraw-Hill Education.
- Thomas, R. J., Hipkin, C. R., & Syrett, P. J. (1976). The interaction of nitrogen assimilation with photosynthesis in nitrogen deficient cells of *Chlorella*. *Planta*, 133(1), 9-13. <https://doi.org/10.1007/BF00385999>
- Toh, S., Tay, J., Moy, B., Ivanov, V., & Tay, S. (2003). Size-effect on the physical characteristics of the aerobic granule in a SBR. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 60(6), 687-695. <https://doi.org/10.1007/s00253-002-1145-y>
- Tran, N. H., Urase, T., Ngo, H. H., Hu, J., & Ong, S. L. (2013). Insight into metabolic and cometabolic activities of autotrophic and heterotrophic microorganisms in the biodegradation of emerging trace organic contaminants. *Bioresource Technology*, 146, 721-731. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.07.083>
- Wan, K., Yu, Y., Hu, J., Liu, X., Deng, X., Yu, J., Chi, R., & Xiao, C. (2022). Recovery of Anammox process performance after substrate inhibition: Reactor performance, sludge morphology, and microbial community. *Bioresource Technology*, 357, 127351. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127351>

- 
- Wang, F., Liu, W., Liu, W., Xiao, L., Ai, S., Sun, X., & Bian, D. (2022). Simultaneous removal of organic matter and nitrogen by heterotrophic nitrification–aerobic denitrification bacteria in an air-lift multi-stage circulating integrated bioreactor. *Bioresource Technology*, 363, 127888. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127888>
- Wang, L. K., & Li, Y. (2009). Sequencing Batch Reactors. In L. K. Wang, N. C. Pereira, & Y.-T. Hung (Eds.), *Biological Treatment Processes* (pp. 459-511). Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-156-1_11
- Wang, S., Guo, Z., Ding, X., Li, L., Jin, Z., Zhang, C., Liu, S., Zhou, Y., & Fan, G. (2023). The effect of light on nitrogen removal by microalgae-bacteria symbiosis system (MBS). *Water*, 15(11), 1991. <https://doi.org/10.3390/w15111991>
- Wang, Y., Wang, J., Liu, Z., Huang, X., Fang, F., Guo, J., & Yan, P. (2021). Effect of EPS and its forms of aerobic granular sludge on sludge aggregation performance during granulation process based on XDLVO theory. *Science of The Total Environment*, 795, 148682. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148682>
- Wasai-Hara, S., Itakura, M., Fernandes Siqueira, A., Takemoto, D., Sugawara, M., Mitsui, H., Sato, S., Inagaki, N., Yamazaki, T., Imaizumi-Anraku, H., Shimoda, Y., & Minamisawa, K. (2023). *Bradyrhizobium ottawaense* efficiently reduces nitrous oxide through high nosZ gene expression. *Scientific Reports*, 13(1), 18862. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-46019-w>
- Weidner, M., & Kiefer, H. (1981). Nitrate reduction in the marine brown alga *Giffordia mitchellae* (Harv.) Ham. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 104(4), 341-351. [https://doi.org/10.1016/s0044-328x\(81\)80073-6](https://doi.org/10.1016/s0044-328x(81)80073-6)
- Welles, L., Abbas, B., Sorokin, D. Y., Lopez-Vazquez, C. M., Hooijmans, C. M., van Loosdrecht, M. C., & Brdjanovic, D. (2017). Metabolic response of “*Candidatus Accumulibacter Phosphatis*” clade II C to changes in influent P/C ratio. *Frontiers in Microbiology*, 7, 2121. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02121>
- Wendeborn, S. (2020). The chemistry, biology, and modulation of ammonium nitrification in soil. *Angewandte Chemie International Edition*, 59(6), 2182-2202. <https://doi.org/10.1002/anie.201903014>
- Wu, Q., Guo, L., Li, X., & Wang, Y. (2021). Effect of phosphorus concentration and light/dark condition on phosphorus uptake and distribution with microalgae. *Bioresource Technology*, 340, 125745.



<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125745>

- Wu, T., Li, J., Cao, R., Chen, X., Wang, B., Huang, T., & Wen, G. (2024). Nitrate removal by a novel aerobic denitrifying *Pelomonas puraquae* WJ1 in oligotrophic condition: Performance and carbon source metabolism. *Science of The Total Environment*, 954, 176614. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.176614>
- Xi, L., Huang, W., Sun, B., Meng, F., & Gu, S. (2022). Effects of illumination time on biological community of algal-bacterial granules and lipid content. *Environmental Engineering Research*, 27(6), 210334-210330. <https://doi.org/10.4491/eer.2021.334>
- Xia, L., Li, X., Fan, W., & Wang, J. (2020). Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by a novel *Acinetobacter* sp. ND7 isolated from municipal activated sludge. *Bioresource Technology*, 301, 122749. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122749>
- Yan, L., Yu, L., Liu, Q., Zhang, X., Liu, Y., Zhang, M., Liu, S., Ren, Y., & Chen, Z. (2019). Effects of phosphorus on loosely bound and tightly bound extracellular polymer substances in aerobic granular sludge. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 33(1), 59-68. <https://doi.org/10.15255/cabeq.2018.1445>
- Yang, J., Feng, L., Pi, S., Cui, D., Ma, F., Zhao, H.-p., & Li, A. (2020). A critical review of aerobic denitrification: Insights into the intracellular electron transfer. *Science of The Total Environment*, 731, 139080. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139080>
- Yang, J., Gou, Y., Fang, F., Guo, J., Ma, H., Wei, X., & Shahmoradi, B. (2018). Impacts of sludge retention time on the performance of an algal-bacterial bioreactor. *Chemical Engineering Journal*, 343, 37-43. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.02.118>
- Yang, M., Lu, D., Yang, J., Zhao, Y., Zhao, Q., Sun, Y., Liu, H., & Ma, J. (2019). Carbon and nitrogen metabolic pathways and interaction of cold-resistant heterotrophic nitrifying bacteria under aerobic and anaerobic conditions. *Chemosphere*, 234, 162-170. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.06.052>
- Yu, D., Yan, L., Shi, J., Liu, Y., Zhang, A., Wang, Y., Zhang, Y., & Xie, T. (2024). Phosphorus removal and recovery during microalgae-based wastewater treatment: A mini-review. *International Journal of Environmental Research*, 18(3), 34. <https://doi.org/10.1007/s41742-024-00590-w>

- 
- Zerveas, S., Mente, M. S., Tsakiri, D., & Kotzabasis, K. (2021). Microalgal photosynthesis induces alkalization of aquatic environment as a result of H⁺ uptake independently from CO₂ concentration – New perspectives for environmental applications. *Journal of Environmental Management*, 289, 112546. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112546>
- Zhang, B., Guo, Y., Lens, P. N. L., Zhang, Z., Shi, W., Cui, F., & Tay, J. H. (2019). Effect of light intensity on the characteristics of algal-bacterial granular sludge and the role of N-acyl-homoserine lactone in the granulation. *Science of The Total Environment*, 659, 372-383. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.250>
- Zhang, B., Lens, P. N. L., Shi, W., Zhang, R., Zhang, Z., Guo, Y., Bao, X., & Cui, F. (2018). Enhancement of aerobic granulation and nutrient removal by an algal–bacterial consortium in a lab-scale photobioreactor. *Chemical Engineering Journal*, 334, 2373-2382. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.11.151>
- Zhang, B., Wu, L., Guo, Y., Lens, P. N. L., & Shi, W. (2023). Rapid establishment of algal-bacterial granular sludge system by applying mycelial pellets in a lab-scale photo-reactor under low aeration conditions: Performance and mechanism analysis. *Environmental Pollution*, 322, 121183. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121183>
- Zhang, H., Sekiguchi, Y., Hanada, S., Hugenholtz, P., Kim, H., Kamagata, Y., & Nakamura, K. (2003). *Gemmatimonas aurantiaca* gen. nov., sp. nov., a gram-negative, aerobic, polyphosphate-accumulating micro-organism, the first cultured representative of the new bacterial phylum Gemmatimonadetes phyl. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 53(4), 1155-1163. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02520-0>
- Zhang, W., Wu, Y., Wu, J., Zheng, X., & Chen, Y. (2022). Enhanced removal of sulfur-containing organic pollutants from actual wastewater by biofilm reactor: Insights of sulfur transformation and bacterial metabolic traits. *Environmental Pollution*, 313, 120187. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120187>
- Zhang, Z., Pan, S., Huang, F., Li, X., Shang, J., Lai, J., & Liao, Y. (2017). Nitrogen and phosphorus removal by activated sludge process: a review. *Mini-Reviews in Organic Chemistry*, 14(2), 99-106. <https://doi.org/10.2174/1570193x14666161130151411>
- Zhang, Z., Sun, D., Cheng, K.-W., & Chen, F. (2021). Investigation of carbon and energy metabolic mechanism of mixotrophy in *Chromochloris zoofingensis*. *Biotechnology*

for *Biofuels*, 14(1), 36. <https://doi.org/10.1186/s13068-021-01890-5>

Zhang, Z., Wan, J., Ye, G., Zhu, B., Wu, C., Wang, Y., & Ji, S. (2024). Microbial succession and pollutant removal metabolic pathways in anaerobic treatment of saline organic wastewater based on metagenomic technology. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 12(3), 112734. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2024.112734>

Zhou, T., Xiang, Y., Liu, S., Ma, H., Shao, Z., He, Q., & Chai, H. (2023). Microbial community dynamics and metagenomics reveal the potential role of unconventional functional microorganisms in nitrogen and phosphorus removal biofilm system. *Science of The Total Environment*, 905, 167194. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.167194>

Zhou, Y., Zhou, Y., Chen, S., Guo, N., Xiang, P., Lin, S., Bai, Y., Hu, X., & Zhang, Z. (2022). Evaluating the role of algae in algal-bacterial granular sludge: Nutrient removal, microbial community and granular characteristics. *Bioresource Technology*, 365, 128165. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128165>

Zumft, W. G. (1997). Cell biology and molecular basis of denitrification. *Microbiology and molecular biology reviews*, 61(4), 533-616. <https://doi.org/10.1128/.61.4.533-616.1997>

內政部國土管理署. (2009). 下水道工程設施標準. 臺北市: 內政部國土管理署
Retrieved from <https://law.moj.gov.tw/LawClass/LawAll.aspx?pcode=D0070071>

附錄



MLVSS vs. SVI₅ 皮爾森相關性分析

附表 1 MLVSS vs. SVI₅ 皮爾森相關性分析結果

皮爾森相關性分析	
MLVSS vs. SVI ₅	相關係數
A 槽	-0.604
B 槽	-0.562
C 槽	-0.213

溫控裝置對 B 槽的影響

附表 2 BN 控溫前 vs. 控溫後之 Mann-Whitney U Test 分析結果

Mann-Whitney U Test	U-statistic	p-value	是否存在顯著差異 (p < 0.05)
BN 控溫前 vs. 控溫後			
溫度	0	0.026	Yes
溶氧	1	0.051	No (Nearly Significant)

附表 3 BN 控溫後 vs. BD 之 Mann-Whitney U Test 分析結果

Mann-Whitney U Test	U-statistic	p-value	是否存在顯著差異 (p < 0.05)
BN 控溫後 vs. BD			
溫度	2	0.076	No
溶氧	4	0.171	No

附表 4 BN 控溫前後污染物去除率數據之 Mann-Whitney U Test 分析結果

Mann-Whitney U Test	U-	p-value	是否存在顯著差異
BN 控溫前 vs.控溫後	statistic		($p < 0.05$)
SCOD	7	0.513	No
TN	11	0.923	No
TP	10	0.923	No

TCOD

附表 5 TCOD 各組數據之 Shapiro-Wilk Test 分析結果

Shapiro-Wilk Test	W-statistic	p-value	是否符合常態分布
			($p > 0.05$)
A	0.905	0.159	Yes
BD	0.797	0.006	No
BN	0.872	0.055	Yes
C	0.792	0.005	No

附表 6 TCOD 各組數據之 Kruskal-Wallis Test 分析結果

Kruskal-Wallis	median	H-statistic	p-value	是否存在顯著差異
Test				($p < 0.05$)
A	41.4%			
BD	94.4%			
BN	81.0%	20.770	< 0.001	Yes
C	90.6%			

附表 7 TCOD 各組數據之 Dunn's Test 分析結果

Dunn's Test		z-score	p-value	是否存在顯著差異 ($p < 0.00833$)
A	BD	4.304	< 0.001	Yes
A	BN	1.754	0.079	No
A	C	3.184	0.001	Yes
BD	BN	2.550	0.011	No
BD	C	1.120	0.263	No
BN	C	1.430	0.153	No
Bonferroni 校正				
$\alpha_a = 0.00833$				

附表 8 TCOD BD、BN 數據之 Mann-Whitney U Test 分析結果

Mann-Whitney U Test	median	U-statistic	p-value	是否存在顯著差異 ($p < 0.05$)
BD	94.4%	33.5	0.007	Yes
BN	81.0%			

SCOD

附表 9 SCOD 各組數據之 Shapiro-Wilk Test 分析結果

Shapiro-Wilk Test	W-statistic	p-value	是否符合常態分布 ($p > 0.05$)
A	0.971	0.905	Yes
BD	0.837	0.019	No



BN	0.948	0.563	Yes
C	0.768	0.003	No

附表 10 SCOD 各組數據之 Kruskal-Wallis Test 分析結果

Kruskal-Wallis Test	median	H-statistic	p-value	是否存在顯著差異 (p < 0.05)
A	96.3%			
BD	98.1%	10.866	0.012	Yes
BN	98.3%			
C	97.7%			

附表 11 SCOD 各組數據之 Dunn's Test 分析結果

Dunn's Test		z-score	p-value	是否存在顯著差異 (p < 0.00833)
A	BD	2.313	0.021	No
A	BN	3.123	0.002	Yes
A	C	1.303	0.193	No
BD	BN	0.810	0.418	No
BD	C	1.011	0.312	No
BN	C	1.821	0.069	No

Bonferroni 校正

$$\alpha_a = 0.00833$$

附表 12 SCOD BD、BN 之 Mann-Whitney U Test 分析結果

Mann-Whitney U Test	median	U-statistic	p-value	是否存在顯著差異 ($p < 0.05$)
BD	98.1%	62	0.2642	No
BN	98.3%			

TN

附表 13 TN 各組數據之 Shapiro-Wilk Test 分析結果

Shapiro-Wilk Test	W-statistic	p-value	是否符合常態分布 ($p > 0.05$)
A	0.857	0.035	No
BD	0.849	0.028	No
BN	0.891	0.101	Yes
C	0.927	0.308	Yes

附表 14 TN 各組數據之 Kruskal-Wallis Test 分析結果

Kruskal-Wallis Test	median	H-statistic	p-value	是否存在顯著差異 ($p < 0.05$)
A	93.3%	29.145	< 0.001	Yes
BD	77.6%			
BN	67.2%			
C	83.5%			

附表 15 TN 各組數據之 Dunn's Test 分析結果

Dunn's Test		z-score	p-value	是否存在顯著差異 ($p < 0.00833$)
A	BD	3.041	0.002	Yes
A	BN	4.918	< 0.001	Yes
A	C	0.919	0.358	No
BD	BN	1.876	0.061	No
BD	C	2.122	0.034	No
BN	C	3.999	< 0.001	Yes
Bonferroni 校正				
$\alpha_a = 0.00833$				

附表 16 TN BD、BN 之 Mann-Whitney U Test 分析結果

Mann-Whitney U Test	median	U-statistic	p-value	是否存在顯著差異 ($p < 0.05$)
BD	77.6%	33	0.007	Yes
BN	67.2%			

TP

附表 17 TP 各組數據之 Shapiro-Wilk Test 分析結果

Shapiro-Wilk Test	W-statistic	p-value	是否符合常態分布 ($p > 0.05$)
A	0.953	0.640	Yes
BD	0.960	0.749	Yes

BN	0.951	0.608	Yes
C	0.931	0.356	Yes



附表 18 TP 各組數據之 Levene's Test 分析結果

Levene's Test	p-value	是否符合變異數齊一性 ($p > 0.05$)
means	0.950	
medians	0.954	Yes
trimmed	0.950	

附表 19 TP 各組數據之 ANOVA 分析結果

ANOVA	Mean	F-statistic	p-value	是否存在顯著差異 ($p < 0.05$)
A	56.8%			
BD	58.8%	4.772	0.005	Yes
BN	49.7%			
C	71.4%			

附表 20 TP 各組數據之 LSD Test 分析結果

LSD Test		p-value	是否存在顯著差異 ($p < 0.05$)
A	BD	0.756	No
A	BN	0.249	No

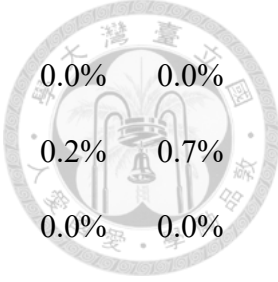
A	C	0.016	Yes
BD	BN	0.149	No
BD	C	0.037	Yes
BN	C	< 0.001	Yes



菌群分析

附表 21 具備潛在氮磷去除能力之菌屬相對豐度

	屬名	Seed	A	B	C
具備潛在硝化 能力之菌屬	<i>Nitrospira</i>	1.2%	2.5%	4.6%	0.8%
	<i>Nitrosomonas</i>	0.0%	0.0%	0.8%	0.0%
	<i>Acinetobacter</i>	0.1%	0.5%	1.0%	3.5%
	C10-SB1A	4.1%	0.0%	0.0%	0.0%
	<i>Diaphorobacter</i>	0.1%	0.0%	0.0%	0.0%
	total	5.5%	3.0%	6.4%	4.3%
具備潛在脫硝 能力之菌屬	<i>Dechloromonas</i>	1.2%	0.3%	0.1%	3.7%
	<i>Haliangium</i>	2.5%	0.2%	0.8%	0.2%
	<i>Candidatus Competibacter</i>	5.0%	3.0%	3.3%	0.7%
	SBR1031	3.0%	0.0%	0.6%	0.0%
	<i>Paracoccus</i>	0.1%	0.0%	0.0%	0.0%
	<i>Denitratisoma</i>	0.7%	0.2%	0.0%	0.0%
	<i>Hyphomicrobium</i>	0.1%	0.3%	0.7%	0.6%
	<i>Zoogloea</i>	0.1%	1.4%	3.0%	5.8%
	<i>Comamonas</i>	0.0%	0.9%	0.5%	3.3%



	<i>Diaphorobacter</i>	0.1%	0.0%	0.0%	0.0%
	<i>Thauera</i>	0.0%	1.8%	0.2%	0.7%
	<i>Bradyrhizobium</i>	0.0%	0.1%	0.0%	0.0%
	<i>Shinella</i>	0.0%	0.0%	0.2%	0.1%
	<i>Acinetobacter</i>	0.1%	0.5%	1.0%	3.5%
	<i>Aquabacterium</i>	0.6%	0.0%	0.0%	0.0%
	<i>Pseudomonas</i>	0.0%	0.1%	0.1%	0.4%
	<i>Azospira</i>	0.2%	0.2%	0.0%	0.1%
	C10-SB1A	4.1%	0.0%	0.0%	0.0%
	<i>Halomonas</i>	0.7%	0.0%	0.0%	0.0%
	<i>Azoarcus</i>	0.0%	0.0%	0.0%	0.1%
	total	18.4%	9.2%	10.3%	19.2%
具備潛在聚磷 能力之菌屬	<i>Dechloromonas</i>	1.2%	0.3%	0.1%	3.7%
	<i>Haliangium</i>	2.5%	0.2%	0.8%	0.2%
	<i>Tetrasphaera</i>	0.1%	0.0%	0.0%	0.0%
	<i>Thauera</i>	0.0%	1.8%	0.2%	0.7%
	<i>Acinetobacter</i>	0.1%	0.5%	1.0%	3.5%
	<i>Candidatus Accumulibacter</i>	0.0%	0.0%	0.1%	0.0%
	<i>Gemmatimonas</i>	0.1%	0.2%	0.1%	0.0%
	<i>Pseudomonas</i>	0.0%	0.1%	0.1%	0.4%
	total	3.8%	3.2%	2.3%	8.5%
藍綠菌	<i>Leptolyngbya</i> ANT.L52.2	0.0%	19.3%	15.7%	1.0%
(具備潛在同	<i>Microseira</i> Carmichael-Alabama	0.0%	1.0%	0.0%	0.0%

化氮磷能力)	<i>Planktothrix</i> NIVA-CYA 15	0.0%	2.0%	0.0%	4.1%
	<i>Leptolyngbya</i> PCC-6306	0.0%	0.3%	0.0%	0.0%
	<i>Sericytochromatia</i>	0.3%	0.0%	0.0%	0.0%
	JSC-12	0.0%	0.0%	0.2%	0.0%
	<i>Vampiromicrobium</i>	0.1%	0.0%	0.0%	0.0%
	<i>Candidatus</i> Obscuribacter	0.1%	0.0%	0.0%	0.0%
	<i>Pantelinema</i>	0.0%	0.0%	0.0%	0.1%
	<i>Limnothrix</i>	0.0%	1.7%	0.0%	0.0%
	total	0.5%	24.3%	15.9%	5.3%