

附錄一 實驗原始數據

表一 混合實驗溶解性有機碳濃度原始數據

混合實驗溶解性有機碳濃度 (mg/L)		
編號	t = 0 day	t = 14 day
1	1243.08	1138.48
2	1210.64	192.92
3	1220.88	1267.23
4	1213.36	1070.17
5	1218.75	1231.36
6	1239.65	1205.02
7	1228.04	1066.61
8	1218.75	1236.98
9	1215.49	1246.1
10	1201.05	1244.68
11	1216.5	811.83
12	1229.35	1086.8
13	1189.8	1263.8
14	1205.73	1266.88

表一 混合實驗溶解性有機碳濃度原始數據 (續)

混合實驗溶解性有機碳濃度 (mg/L)		
編號	t = 0 day	t = 14 day
15	1221.06	1252.08
16	1199.04	1238.64
17	1219.64	852.5

R-square = 0.9998



表二 混合實驗硫酸鹽濃度原始數據

混合實驗硫酸鹽濃度 (mg/L)		
編號	t = 0 day	t = 14 day
1	2768	2881
2	2768	2833
3	2768	2840
4	2768	2784
5	2768	2808
6	2768	2805
7	2768	2584
8	2768	2894
9	2768	2512
10	2768	2578
11	2768	1839
12	2768	2614
13	2768	2705
14	2768	2483
15	2768	2550
16	2768	2886

表二 混合實驗硫酸鹽濃度原始數據 (續)

混合實驗硫酸鹽濃度 (mg/L)		
編號	t = 0 day	t = 14 day
17	2768	1918
重複 11	—	1823
重複 11	—	1840
查核回收率	—	97.32 %
添加回收率	—	101.52 %
R = 0.983		



表三 混合實驗硫離子濃度原始數據

混合實驗硫離子濃度 (mg/L)		
編號	t = 0 day	t = 14 day
1	-0.463	-0.368
2	-0.448	-0.354
3	-0.444	-0.357
4	-0.459	-0.232
5	-0.357	-0.364
6	-0.341	-0.361
7	-0.462	-0.311
8	-0.277	-0.357
9	-0.072	-0.373
10	-0.092	-0.345
11	-0.441	223.6
12	-0.339	0.095
13	-0.343	-0.257
14	-0.239	-0.024

表三 混合實驗硫離子濃度原始數據 (續)

混合實驗硫離子濃度 (mg/L)		
編號	t = 0 day	t = 14 day
15	-0.031	0.188
16	-0.321	-0.232
17	56.37	346.2

R = 0.986



表四 混合實驗銅離子濃度原始數據

混合實驗銅離子濃度 (mg/L)		
編號	t = 0 day	t = 14 day
1	12	5.8
2	0.21	36.5
3	5.75	12.5
4	0.07	0.09
5	1.15	16
6	1.35	14
7	0.03	0.09
8	0.51	7.1
9	0.68	9.25
10	1.45	7.4
11	—	—
12	—	—
13	—	—
14	—	—
15	—	—
16	0.9	1.35
R-square = 0.9983		

表五 混合實驗鋅離子濃度原始數據

混合實驗鋅離子濃度 (mg/L)		
編號	t = 0 day	t = 14 day
1	—	—
2	7.35	0.64
3	—	—
4	6.4	9.75
5	5.4	1.24
6	—	—
7	4.45	7.45
8	4.7	4.25
9	3.8	0.95
10	—	—
11	-0.01	-0.02
12	0.025	0.18
13	0.23	0.1
14	0.37	0.03
15	—	—
16	4.95	0.5
R-square = 0.9996		

表六 混合實驗鎳離子濃度原始數據

混合實驗鎳離子濃度 (mg/L)		
編號	t = 0 day	t = 14 day
1	—	—
2	—	—
3	25.5	20
4	—	—
5	19.5	16
6	44.5	38.5
7	—	—
8	22.5	21.5
9	39.5	49
10	55	84
11	—	—
12	21.5	29
13	43.5	42
14	56	80
15	60	94
16	24	15.5
R-square = 0.9996		

表七 確認試驗溶解性有機碳濃度原始數據

確認試驗實驗溶解性有機碳濃度 (mg/L)		
時間 (hours)	控制組	實驗組
0	1189	1192
8	1187	1180
20	1155	1172
32	1050	1131
44	874	1129
56	824	1122
68	813	1081
92	834	1049
140	816	782
212	827	762
260	822	782
336	806	762
R-square = 0.9998		

表八 確認試驗硫酸鹽濃度原始數據

確認試驗實驗硫酸鹽濃度 (mg/L)		
時間 (hours)	控制組	實驗組
0	2605	2543
8	2815	2692
20	2508	2618
32	2282	2648
44	1669	2857
56	1540	2752
68	1524	2707
92	1621	2857
140	1573	1591
212	1556	1500
260	1573	1576
336	1615	1636
重複 260	1637	—
重複 260	1573	—

表八 確認試驗硫酸鹽濃度原始數據 (續)

確認試驗實驗硫酸鹽濃度 (mg/L)		
時間 (hours)	控制組	實驗組
查核回收率	93.15%	95.5%
添加回收率	83.15%	96.7%
R-square = 0.9973		



表九 確認試驗硫離子濃度原始數據

確認試驗實驗硫離子濃度 (mg/L)		
時間 (hours)	控制組	實驗組
0	51.17	0.34
8	91.83	0
20	175.27	0
32	263.3	0
44	485.72	0
56	509.52	0
68	400.65	0
92	324.95	0
140	201.95	252.8
212	105.52	137.04
260	77.52	61.97
336	27.38	19.41
R-square	0.9973	0.9956

表十 確認試驗鋅離子濃度原始數據

確認試驗實驗鋅離子濃度 (mg/L)		
時間 (hours)	控制組	實驗組
0	0	1.14
8	0	0.97
20	0	0.3
32	0	0.28
44	0	0.23
56	0	0.15
68	0	0.21
92	0	0.02
140	0	0.02
212	0	0.02
260	0	0.01
336	0	0.01
R-square = 0.9986		

表十一 確認試驗 EUB338 佔 DAPI 面積百分比原始數據

時間	原污泥			0 hr			20 hr			44 hr		
照片編號	DAPI	EUB338	百分比	DAPI	EUB338	百分比	DAPI	EUB338	百分比	DAPI	EUB338	百分比
1	350208	297163	85	147715	97799	66	23589	21416	91	10615	8848	83
2	479189	440939	92	127025	113654	89	68204	43634	64	26110	24277	93
3	224386	212527	95	80803	66221	82	42971	35027	82	30854	25720	83
4	79914	63301	79	39685	31187	79	222974	214148	96	56701	47531	84
5	65164	59399	91	36505	29606	81	59306	45661	77	37438	26293	70
6	118726	108159	91	18026	16634	92	37805	26731	71	41540	36689	88
7	100989	93805	93	83962	50408	60	25550	22669	89	27795	25860	93
8	27627	25762	93	171196	132168	77	20408	14875	73	55976	50608	90
9	22368	20731	93	43769	38535	88	31545	26180	83	19075	15153	79
10	48391	35478	73	72127	65928	91	36715	32474	88	116480	82922	71
平均 (%)	89			81			81			84		
標準偏差	7			11			10			8		

表十一 確認試驗 EUB338 佔 DAPI 面積百分比原始數據 (續)

時間	92 hr			140 hr			212 hr			336 hr		
照片編號	DAPI	EUB338	百分比	DAPI	EUB338	百分比	DAPI	EUB338	百分比	DAPI	EUB338	百分比
1	25418	18612	73	160250	131288	82	91751	60468	66	18291	16608	91
2	99574	81535	82	91441	67974	74	68572	43744	64	25752	18383	71
3	226088	188027	83	90546	88321	98	37043	30575	83	84973	42732	50
4	162868	106918	66	23548	21888	93	37420	35962	96	52254	40306	77
5	116219	95472	82	225726	177574	79	102660	68656	67	43146	37102	86
6	118353	93068	79	106824	104447	98	265063	236490	89	32623	28100	86
7	97889	84691	87	111259	91931	83	47540	34302	72	85847	78281	91
8	74094	51677	70	43264	36094	83	21830	18663	85	26626	22332	84
9	182533	132872	73	84180	70394	84	127794	88523	69	11601	10952	94
10	22941	19117	83	148339	107266	72	69689	45686	66	7715	5110	66
平均 (%)	78			85			76			80		
標準偏差	7			9			12			14		

表十二 確認試驗 SRB385 佔 DAPI 面積百分比原始數據

時間	原污泥			0 hr			20 hr			44 hr		
照片編號	DAPI	SRB385	百分比	DAPI	SRB385	百分比	DAPI	SRB385	百分比	DAPI	SRB385	百分比
1	59101	29136	49	35657	25309	71	25194	13799	55	45855	27136	59
2	92508	50856	55	28522	12453	44	71749	26242	37	20802	7941	38
3	24430	16971	69	25506	11407	45	83699	29670	35	61771	27567	45
4	62918	39906	63	44017	37137	84	202479	97917	48	89761	40414	45
5	36719	19703	54	37550	22190	59	136176	85142	63	23505	13592	58
6	36383	20233	56	39849	19426	49	125741	82350	65	63838	38023	60
7	45145	32974	73	70728	38391	54	125275	57631	46	82993	32109	39
8	10970	4348	40	133119	42138	32	151414	87094	58	115684	54278	47
9	17059	4495	26	44574	32142	72	67554	45269	67	63599	36731	58
10	15640	13113	84	96639	34135	35	93490	58652	63	35097	21026	60
平均 (%)	57			54			54			51		
標準偏差	17			17			12			9		

表十二 確認試驗 SRB385 佔 DAPI 面積百分比原始數據 (續)

時間	92 hr			140 hr			212 hr			336 hr		
照片編號	DAPI	SRB385	百分比	DAPI	SRB385	百分比	DAPI	SRB385	百分比	DAPI	SRB385	百分比
1	24794	9062	37	58337	24563	42	122766	79214	65	43264	37475	87
2	43176	15505	36	25901	16122	62	197824	101791	51	127189	63958	50
3	22089	12385	56	77918	43371	56	58785	31998	54	53747	37181	69
4	42986	28175	66	116132	51375	44	69930	29528	42	46676	28229	60
5	32435	25544	79	133118	62961	47	48911	20031	41	194839	70201	36
6	107852	73911	69	70574	45203	64	114618	52728	46	81229	30703	38
7	141151	75296	53	44476	22997	52	206504	147037	71	161408	107818	67
8	92751	46091	50	36373	14090	39	55380	21981	40	64121	28438	44
9	40680	23019	57	27047	21472	79	50480	24457	48	66302	33558	51
10	47756	26021	54	140066	103315	74	82151	55983	68	43434	19733	45
平均 (%)	56			56			53			55		
標準偏差	13			14			12			16		

表十三 確認試驗 SRB385Db 佔 DAPI 面積百分比原始數據

時間	原污泥			0 hr			20 hr			44 hr		
照片 編號	DAPI	SRB385 Db	百分 比	DAPI	SRB385 Db	百分 比	DAPI	SRB385 Db	百分 比	DAPI	SRB385 Db	百分 比
1	70633	46135	65	47431	32004	67	34432	19943	58	222780	155427	70
2	76449	57690	75	25131	14615	58	81272	35542	44	160889	71078	44
3	116516	83933	72	59612	46392	78	19074	10612	56	157719	72051	46
4	45293	31921	70	23800	13249	56	34407	15497	45	223875	96065	43
5	127028	74969	59	26581	23212	87	43779	31577	72	27490	16981	62
6	101579	74764	74	35959	13869	39	112745	76620	68	26362	12699	48
7	45872	26348	57	64553	54676	85	116865	60456	52	24613	14703	60
8	25447	11052	43	39939	13967	35	91710	45509	50	45965	27555	60
9	34460	31416	91	17627	11498	65	42521	20012	47	36641	15237	42
10	134816	126165	94	11213	8067	72	41611	22266	54	222958	90300	41
平均 (%)	70			64			54			51		
標準 偏差	15			18			9			10		

表十三 確認試驗 SRB385Db 佔 DAPI 面積百分比原始數據 (續)

時間	92 hr			140 hr			212 hr			336 hr		
照片 編號	DAPI	SRB385 Db	百分 比	DAPI	SRB385 Db	百分 比	DAPI	SRB385 Db	百分 比	DAPI	SRB385 Db	百分 比
1	55033	25980	47	335264	129621	39	62053	41632	67	57989	39278	68
2	97909	54010	55	217989	78107	36	121982	57560	47	31423	17210	55
3	60630	46115	76	44999	25009	56	40478	23346	58	43237	28088	65
4	51205	37881	74	59102	47994	81	70577	41970	59	18501	14871	80
5	84410	59216	70	46884	29874	64	194401	127340	66	192565	105735	55
6	70320	52596	75	36052	16385	45	248636	128091	52	80696	32173	40
7	156210	92154	59	139881	62196	44	205309	118882	58	32836	22151	67
8	66898	55744	83	133880	67171	50	48122	35469	74	28186	23419	83
9	66677	57079	86	39706	31866	80	27201	23793	87	24223	20735	86
10	56179	35105	62	82730	38792	47	91777	44192	48	75454	36931	49
平均 (%)	69			54			62			65		
標準 偏差	12			16			12			15		

附錄二 反應槽發生問題解決與改善

表十四 問題解決對策表

反應槽操作對策	發生的情況	發生情況時反應槽的情形	找出問題及解決方法 (處理及應變步驟)	恢復情形 (處理後結果)
反應槽	污泥生長不好	反應槽污泥顏色變淡	檢查培養基成分是否正確 若有誤立即更換新的培養基	處理完數小時後，反應槽污泥顏色變黑表示微生物正常生長
			檢查反應槽是否呈厭氧狀態 若有空氣進入則曝氣約三到五分鐘	處理完數小時後，反應槽污泥顏色變黑表示微生物正常生長
	溫度控制不正常	反應槽本體溫度過低	檢查反應槽溫度是否有控制在30°C，若沒有則立即檢查恆溫水循環系統是否出狀況，若是恆溫水槽出問題則立即找廠商修理並將反應槽移至恆溫培養箱培養	處理完數小時後，反應槽污泥顏色變黑表示微生物正常生長

表十四 問題解決對策表 (續)

	發生污泥沈澱現象	懸浮式生長反應槽中的污泥發生沈澱現象	檢查磁石攪拌器是否可正常運作，若儀器有問題可更換使用其他攪拌器，若儀器沒問題可更換使用其他磁石。	反應槽繼續呈懸浮式生長
環境相關	停電	溫度、攪拌受影響	關掉溫度及攪拌控制開關，短時間內停止溫度及攪拌作用對污泥生長影響不大，待恢復供電後再啟動開關	反應槽污泥繼續正常生長
	漏水	反應槽恆溫循環水流發生漏水	先關掉恆溫控制器開關，檢查送水管路是否有破裂現象產生，若有則立即更換新的送水管線	恆溫循環水流繼續正常運作
	氣體鋼瓶	氣體出流量太小或送不出氣體	檢查表壓力是否過低，若過低表示氣體鋼瓶已用完，可向廠商訂購新的氣體鋼瓶	污泥曝氣可正常運作

附錄三 螢光原位雜交法相關藥品配製

(1) 4% Paraformaldehyde/PBS Fixative (25 mL)

1. 添加 5 μ L-10 M NaOH，1 g 的 paraformaldehyde，8.25 mL 的 3x PBS，16.5 mL DEPC 處理水到無菌的 50 mL 尖底離心瓶中。
使用 50 mL 尖底離心管及 micropipette 來定量。
2. 於 hot plate 加熱到 60°C (恆溫) 直到 Paraformaldehyde 溶解。
用手適時搖勻，溶解時間大約 20 分鐘。
3. 將 Paraformaldehyde 置於 4°C 冰箱中冷卻至室溫 (約 15 分鐘)。
4. 調整 pH 到 7.2。添加約 30 μ L-6 M HCl 到冷卻的 4% paraformaldehyde 中。
5. 用 0.2 μ m 過濾頭過濾 paraformaldehyde 溶液
(paraformaldehyde 是揮發性物質，故無法使用滅菌釜滅菌，過濾是為了去除可能污染物 -microorganisms)。
6. 將過濾後的 Paraformaldehyde 移至新的 50 mL 尖底離心管。勿用手碰觸到塑膠管內部。
7. 將固定劑儲存於 4°C 冰箱中。
8. 配製 24-48 小時內使用。

注意：Paraformaldehyde 為毒性物質，請小心操作。

(2) 10% SDS (50 mL)

1. 取 5 g SDS 置於試管中。
2. 加去離子水至 50 mL，使其溶解。
3. 使用 0.2 μ m 過濾頭過濾 SDS (SDS 為 detergent，黏稠易起泡，故無法使用滅菌釜)。
4. 保存於 50 mL 尖底離心管中。

(3) 1 M Tris-HCl buffer pH 8.0 (500 mL)

1. 取 78.8 g = (1.0 M Tris-HCl/L) x (157.6 g Tris-HCl/mole) x 0.5 L 的 Tris-HCl 加去離子水溶解定量至 500 mL。
2. 用 1 M HCl 調整 pH 到 8.0。
3. 滅菌。

(4) 1 mg/mL DAPI

1. 取 5 mg DAPI 加去離子水溶解至 5 mL 的 DEPC 處理水中 (on ice)。
2. 以鋁箔紙完全密封-避光。
3. 儲存於 4°C 冰箱中。

注意：DAPI 染上身體後不易清洗，必須戴手套避免接觸皮膚。

(5) PBS (Phosphate Buffered Saline)

1. 添加 130 mM NaCl, 10 mM 磷酸鹽 (2.681 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 及 DEPC 處理水到已滅菌的三角瓶中。
2. 使用 1 M HCl 調整 pH 到 7.2 (選擇 7 mM $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 或 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 調整 pH 值)。
3. 滅菌。

(6) Hybridization buffer

1. % Formamide。
2. 0.9 M NaCl。
3. 20 mM Tris-HCl buffer (pH7.2)。
4. 0.1% SDS。
5. $T_m = 1.66 \log (\text{Na}) + 0.41 (\%GC) + 81.5^\circ\text{C} - 0.61 (\% \text{Formamide}) - (500/\text{N})$

其中：

Na = NaCl conc. In hybridization buffer (mol/L)

%GC = percent of guanine and cytosine in oligonucleotide probe

%Formamide = percent of formamide in hybridization buffer

N = number of base pairs in DNA/DNA pairs



(7) Washing buffer (1 L)

1. No formamide ◦
2. 0.17 M NaCl ◦
3. 20 mM Tris-HCl buffer ◦
4. 0.01% SDS ◦

