

ผลของแหล่งคาร์บอนต่อการผลิตโพลีไฮดรอกซีแอลคาโนเอตของจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมโดยการให้
อาหารแบบเกินพอสลั้กับขาดแคลน



นางสาวนฤมล วรอิทธินันท์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2557

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECTS OF CARBON SOURCES ON POLYHYDROXYALKANOATE PRODUCTION IN MIXED
CULTURE BY FEAST/FAMINE FEEDING REGIME

Miss Naleumon Woraittinun



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Engineering Program in Environmental Engineering
Department of Environmental Engineering
Faculty of Engineering
Chulalongkorn University
Academic Year 2014
Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของแหล่งคาร์บอนต่อการผลิตโพลีไฮดรอกซีแอลคาโนเอตของจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมโดยการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน
โดย	นางสาวนฤมล วรอิทธินันท์
สาขาวิชา	วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เบญจพร สุวรรณศิลป์

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร.บัณฑิต เอื้ออาภรณ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.พีเชษฐพร เขาวงกตเจริญ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เบญจพร สุวรรณศิลป์)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.อรทัย ขวาลภาฤทธิ์)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชนาธิป ผาริโน)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ดร.ขวัญรวี สิริกาญจน)

นฤมล วรวิฑิตินันท์ : ผลของแหล่งคาร์บอนต่อการผลิตโพลีไฮดรอกซีแอลคาโนเอตของจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมโดยการให้อาหารแบบกินพอสลักับขาดแคลน (EFFECTS OF CARBON SOURCES ON POLYHYDROXYALKANOATE PRODUCTION IN MIXED CULTURE BY FEAST/FAMINE FEEDING REGIME) อ.ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผศ. ดร.เบญจพร สุวรรณศิลป์, 234 หน้า.

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนต่อการผลิตพีเอชเอ โดยใช้ถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเทเลียงจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมที่ได้มาจากตะกอนจุลินทรีย์ส่วนเกินจากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานผลิตน้ำผลไม้ (บริษัทบีบีโก้ เอฟแอนด์บี จำกัด) โดยใช้ น้ำเสียสังเคราะห์ที่เตรียมจากแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันสองชนิดคือ อะซิเตทและโพรพิโอเนต ซึ่งมีการให้อาหารแบบกินพอสลักับขาดแคลน ผลการทดลองพบว่า จุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตท สามารถผลิตพีเอชเอชนิดพีเอชบีได้สูงสุดในรอบการเดินระบบที่ 34 โดยได้ปริมาณพีเอชบีร้อยละ 44.78 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง สำหรับจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยโพรพิโอเนต สามารถผลิตพีเอชเอชนิดโคโพลีเมอร์ของเอชบีและเอชวีได้สูงสุดในรอบการเดินระบบที่ 27 โดยได้ปริมาณโคโพลีเมอร์ของเอชบีและเอชวีร้อยละ 12.65 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง ซึ่งคิดเป็นสัดส่วนของเอชวีโมโนเมอร์ร้อยละ 42.38 เมื่อนำพีเอชเอที่ผลิตได้จากการใช้อะซิเตทและโพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน คือ พีเอชบีและโคโพลีเมอร์ของเอชบีและเอชวีไปพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิคโปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรสโกปี พบว่ามีความแตกต่างกันทางโครงสร้างอย่างชัดเจน และพีเอชบีที่ผลิตได้จากการเลี้ยงจุลินทรีย์โดยใช้อะซิเตทมีค่าอุณหภูมิการหลอมตัวของผลึก ค่าอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว และ ค่าระดับความเป็นผลึกของโพลีเมอร์สูงกว่าโคโพลีเมอร์ของเอชบีและเอชวีที่ผลิตได้จากการเลี้ยงจุลินทรีย์โดยใช้โพรพิโอเนต จากผลการวิเคราะห์กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบโดยใช้เทคนิค 16s metagenomics (MiSeq, Illumina) พบว่าในระบบที่เลี้ยงด้วยอะซิเตท รอบการเดินระบบที่ผลิตพีเอชเอได้สูงสุดพบ *Lewinella spp.*, *Leucobacter spp.*, *Hyphomonas spp.*, *Deffluvibacter spp.* และ *Pseudomonas spp.* ส่วนในระบบที่เลี้ยงด้วยโพรพิโอเนต รอบการเดินระบบที่ผลิตพีเอชเอได้สูงสุดพบ *Pseudoxanthomonas spp.*, *Brevundimonas spp.*, *Rhodobaca spp.*, *Sphingopyxis spp.* และ *Paracoccus spp.* กล่าวโดยสรุปคือ การใช้แหล่งคาร์บอนที่ต่างกันคืออะซิเตทและโพรพิโอเนตในการเลี้ยงตะกอนจุลินทรีย์ส่งผลโดยตรงต่อปริมาณ ส่วนประกอบ โครงสร้างและคุณสมบัติทางความร้อนของพีเอชเอที่ผลิตได้ รวมถึงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบ

ภาควิชา วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม

ลายมือชื่อนิสิต

สาขาวิชา วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

ปีการศึกษา 2557

5470241121 : MAJOR ENVIRONMENTAL ENGINEERING

KEYWORDS: POLYHYDROXYALKANOATE / FEAST/FAMINE FEEDING REGIME / MICROBIAL COMMUNITIES / MIXED CULTURE / CARBON SOURCES

NALEUMON WORAITTINUN: EFFECTS OF CARBON SOURCES ON POLYHYDROXYALKANOATE PRODUCTION IN MIXED CULTURE BY FEAST/FAMINE FEEDING REGIME. ADVISOR: ASST. PROF. BENJAPORN SUWANNASILP, Ph.D., 234 pp.

This study investigated the effects of carbon sources on polyhydroxyalkanoate (PHA) production in microbial mixed culture using sludge from fruit juice manufacturing factory (Tipco F&B Co.,Ltd.) with synthetic wastewater containing acetate or propionate as the carbon substrate. The mixed cultures were enriched in sequencing batch reactors (SBRs) that operated under feast and famine feeding regime. The results show that the mixed culture enriched with acetate as a carbon source produced homopolymer of hydroxybutyrate (HB) and accumulated maximum PHA up to 44.78 %gPHA/gMLSS in the 34th cycle. On the other hand, the mixed culture enriched with propionate produced a copolymer of HB and hydroxyvalerate (HV) and accumulated maximum PHA up to 12.65 %gPHA/gMLSS in the 27th cycle with HV monomer fraction of 42.38 mol%. The results of ¹H NMR spectrum demonstrated that the PHA produced from different carbon substrates had distinct polymer structures. The PHB produced from mixed culture enriched with acetate have higher values of melting temperature, glass transition temperature, and crystallinity than the PHB-co-PHV produced from mixed culture enriched with propionate. From the microbial community analysis using 16s metagenomics (MiSeq, Illumina), *Lewinella spp.*, *Leucobacter spp.*, *Hyphomonas spp.*, *Defluviobacter spp.* and *Pseudomonas spp.* were present in the system enriched with acetate when the PHA accumulation was at its maximum. On the other hand, *Pseudoxanthomonas spp.*, *Brevundimonas spp.*, *Rhodobaca spp.*, *Sphingopyxis spp.* and *Paracoccus spp.* were observed in the system enriched with propionate when the PHA accumulation was at its maximum. In conclusion, this study suggests that different carbon sources can result in different microbial communities and different PHA contents, compositions, structures, and thermal characteristics.

Department: Environmental Engineering Student's Signature

Field of Study: Environmental Engineering Advisor's Signature

Academic Year: 2014

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เบญจพร สุวรรณศิลป์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ให้คำปรึกษาในการทำวิทยานิพนธ์ทุกขั้นตอน ให้การอบรมสั่งสอน ความรู้ และคำแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่อการวิจัย ตลอดจนให้กำลังใจและทุนทรัพย์ในการทำวิทยานิพนธ์เล่มนี้ตลอดมา

ขอกราบขอบพระคุณประธานการสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร. เพ็ชรพร เขาวงกัจเจริญ คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร. อรทัย ชวาลภาฤทธิ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชนาธิป ผาริโน และกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายนอกมหาวิทยาลัย ดร. ขวัญวิสิริกาญจน ที่ได้ให้เกียรติและสละเวลาในการสอบวิทยานิพนธ์ ให้คำแนะนำอันเป็นประโยชน์ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ บุคลากรภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม และครูผู้ดูแลห้องปฏิบัติการของภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมทุก ๆ ท่าน ที่ให้ความรู้ คำแนะนำ ให้ใช้สถานที่ และใช้เครื่องมือของห้องปฏิบัติการ และให้คำปรึกษาในการใช้เครื่องมือ อุปกรณ์ต่าง ๆ ไม่ว่าจะ เป็นห้องปฏิบัติการเคมี ห้องปฏิบัติการชีววิทยา และห้องปฏิบัติการวิจัยและบัณฑิต

ขอขอบคุณคุณรามนรี เนตรวิเชียร (พี่แหม่ม) เจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการอาคารสี ภาควิชา คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่คอยให้ความช่วยเหลือ ให้คำปรึกษา ช่วยแก้ปัญหา และให้ใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ต่าง ๆ ภายในห้องปฏิบัติการ รวมถึงความรู้ทางด้านเคมีอินทรีย์และเคมีวิเคราะห์ที่เป็นประโยชน์แก่งานวิจัย

ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการชีววิทยา ศูนย์ความเป็นเลิศด้านการจัดการสารและของเสียอันตราย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่และเครื่องมือในการทำวิจัย

ขอขอบคุณบริษัททีปโก้เอฟแอนด์บี จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ตะกอนจุลินทรีย์ ช่วยอำนวยความสะดวกในการเก็บตะกอนจุลินทรีย์ รวมถึงให้ข้อมูลเกี่ยวกับระบบบำบัดเสียของโรงงาน

ขอขอบคุณเพื่อน ๆ พี่ ๆ น้อง ๆ ที่คอยช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ ช่วยแก้ปัญหา และให้กำลังใจ ตลอดระยะเวลาที่ทำวิทยานิพนธ์

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่คอยช่วยเหลือ สนับสนุนในทุก ๆ เรื่อง และให้กำลังใจมาโดยตลอด ทำให้วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	3
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 ข้อมูลทั่วไปของโพลีไฮดรอกซีแอลคาโนเอต (PHAs).....	5
2.1.1 โพลีไฮดรอกซีแอลคาโนเอต (PHAs)	5
2.1.2 โครงสร้างทางเคมีของพีเอชเอ	6
2.1.3 ชนิดของพีเอชเอ	7
2.1.4 การใช้งาน.....	8
2.1.5 การย่อยสลาย.....	8
2.2 การผลิตพีเอชเอในภาคอุตสาหกรรม.....	8
2.3 การผลิตพีเอชเอโดยใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม	13
2.3.1 ระบบแบบไร้อากาศสลับกับมีอากาศ (Anaerobic-aerobic system).....	13
2.3.2 ระบบแบบมีอากาศเล็กน้อยสลับกับมีอากาศ (Microaerophilic-aerobic system)	14

2.3.3 ระบบที่มีการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน (Aerobic dynamic feeding (ADF) หรือ Feast and famine feeding)	15
2.3.3.1 ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับระบบการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน	16
2.3.3.2 กระบวนการสร้างและสังเคราะห์พีเอชเอโดยจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม	16
2.4 ปัจจัยในการเดินระบบ	20
2.4.1 สารอาหาร.....	20
2.4.1.1 น้ำเสียสังเคราะห์.....	21
2.4.1.2 น้ำเสียจริงและสารอาหารชนิดอื่น ๆ.....	23
2.4.2 รูปแบบของกระบวนการสำหรับผลิตพีเอชเอจากจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมโดยการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน.....	24
2.4.3 รูปแบบของถังปฏิกรณ์สำหรับผลิตพีเอชเอจากจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมโดยการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน.....	25
2.4.4 สภาพที่ใช้ในการเดินระบบ.....	28
2.4.4.1 อัตรารับภาระสารอินทรีย์ (Organic loading rate; OLR).....	28
2.4.4.2 ไนโตรเจน (Nitrogen).....	28
2.4.4.3 ฟอสฟอรัส (Phosphorus).....	30
2.4.4.4 อุณหภูมิ (Temperature).....	31
2.4.4.5 พีเอช (pH).....	31
2.4.4.6 ออกซิเจนละลาย (Dissolved oxygen; DO).....	32
2.4.4.7 ระยะเวลาเก็บกักตะกอน (Solids retention time; SRT).....	33
2.4.4.8 อัตราส่วนของสารอาหารต่อจุลินทรีย์ (F/M ratio).....	33
2.4.4.9 ช่วงระยะเวลาที่จุลินทรีย์มีอาหารเกินพอต่อช่วงระยะเวลาที่จุลินทรีย์ขาดอาหาร (Feast/famine ratio).....	34
2.5 ลักษณะของโพลีเมอร์.....	34

2.5.1 โพลีไฮดรอกซีบิวทิเรต (PHB).....	34
2.5.2 โพลีไฮดรอกซีบิวทิเรต-โค-โพลีไฮดรอกซีวาเลอเรท (PHB-co-PHV).....	35
2.6 การศึกษาคุณสมบัติทางความร้อนของโพลีเมอร์	36
2.6.1 สมบัติความเป็นผลึกและอสัณฐานของโพลีเมอร์	36
2.6.2 การเปลี่ยนสถานะของโพลีเมอร์.....	37
2.6.2.1 อุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (Glass transition temperature, Tg).....	37
2.6.2.2 อุณหภูมิการหลอมตัวของผลึก (Melting temperature, Tm).....	37
2.6.3 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางความร้อนของโพลีเมอร์	38
2.7 เทคนิคทางชีวโมเลกุล	41
2.7.1 หลักการของ Metagenomics	41
2.7.2 วิธี Illumina sequencing.....	41
2.7.3 หลักการของ Polymerase chain reaction (PCR).....	43
2.8 ทบทวนเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	44
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	49
3.1 แผนการวิจัย	49
3.1.1 แผนภาพการทดลอง.....	50
3.2 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย	51
3.3 วิธีดำเนินการทดลอง.....	57
3.3.1 การทดลองช่วงที่ 1	57
3.3.2 การทดลองช่วงที่ 2.....	66
3.3.3 การทดลองช่วงที่ 3.....	68
บทที่ 4 ผลการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูล	79

4.1 ผลการศึกษาการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมฟิเอชเอด้วยการใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน	79
4.1.1 ปริมาณออกซิเจนละลาย ฟิเอช และ อุณหภูมิในการเดินระบบ	80
4.1.2 ซีโอดี ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณฟิเอชเอในแต่ละรอบการเดินระบบ	82
4.1.3 ภาพรวมของซีโอดีและความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ตลอดการเดินระบบ....	87
4.1.4 สภาวะการตกตะกอนของจุลินทรีย์ในระบบ	88
4.1.5 การเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบ	89
4.2 ผลการศึกษาการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมฟิเอชเอด้วยการใช้โพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน	95
4.2.1 ปริมาณออกซิเจนละลาย ฟิเอช และ อุณหภูมิในการเดินระบบ	96
4.2.2 ซีโอดี ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณฟิเอชเอในแต่ละรอบการเดินระบบ	98
4.2.3 ภาพรวมของซีโอดี และ ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ตลอดการเดินระบบ	102
4.2.4 สภาวะการตกตะกอนของจุลินทรีย์ในระบบ	103
4.2.5 การเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบ	105
4.3 ผลของแหล่งคาร์บอนต่อปริมาณและส่วนประกอบของฟิเอชเอ	111
4.4 ผลการศึกษาโครงสร้างและคุณสมบัติทางความร้อนของฟิเอชเอที่ผลิตได้จากการใช้แหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน.....	119
4.4.1 โครงสร้างของฟิเอชเอ.....	119
4.4.2 คุณสมบัติทางความร้อนของฟิเอชเอ.....	122
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	127
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	127

5.2 ข้อเสนอแนะ	129
รายการอ้างอิง	130
ภาคผนวก ก	140
ภาคผนวก ข	143
ภาคผนวก ค	151
ภาคผนวก ง.....	154
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	234



สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ชื่อเรียกพีเอชเอตามหมู่คาร์บอกซิลิกที่มาเกาะตรงตำแหน่งบิต้าคาร์บอน.....	6
ตารางที่ 2 บริษัทผู้ผลิต สายพันธุ์จุลินทรีย์ และวัตถุดิบ ที่ใช้สำหรับการผลิตพลาสติกที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ	10
ตารางที่ 3 บริษัทที่ทำการผลิตพีเอชเอในเชิงอุตสาหกรรม	11
ตารางที่ 4 การผลิตพีเอชเอจากจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมโดยใช้น้ำเสียจริงและสารอาหารชนิดอื่น ๆ เป็นแหล่งคาร์บอน.....	23
ตารางที่ 5 คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของโพลีโพรพิลีน และ โพลีไฮดรอกซีบิวทิเรต	36
ตารางที่ 6 องค์ประกอบของน้ำเสียสังเคราะห์.....	61
ตารางที่ 7 พารามิเตอร์ที่ทำการวิเคราะห์อย่างสม่ำเสมอตลอดการทดลอง.....	62
ตารางที่ 8 พารามิเตอร์ที่ทำการวิเคราะห์โดยละเอียดตลอดรอบการเดินระบบ ทุก 7 รอบของการเดินระบบ	63
ตารางที่ 9 สภาวะเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี	65
ตารางที่ 10 พารามิเตอร์และตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์ในการทดลองช่วงที่ 2	66
ตารางที่ 11 ตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ที่นำมาศึกษาในการทดลองช่วงที่ 3	70
ตารางที่ 12 องค์ประกอบของสารเคมีที่ใช้ในการทำ PCR	72
ตารางที่ 13 ไพร์เมอร์ที่ใช้ในการทดลอง	73
ตารางที่ 14 สารเคมีที่ใช้ในการล้างผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอที่ได้จากขั้นตอน PCR	74
ตารางที่ 15 รหัส Index ที่ใช้ในการติดกับตัวอย่างดีเอ็นเอ.....	76
ตารางที่ 16 องค์ประกอบของสารเคมีที่ใช้สำหรับการติด Index PCR.....	76
ตารางที่ 17 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ (จีแนส) ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นจากโรงงานผลิตน้ำผลไม้.....	91

ตารางที่ 18 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ (จีโนม) ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 14 ในระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน	91
ตารางที่ 19 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ (จีโนม) ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 34 ในระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน	92
ตารางที่ 20 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ (จีโนม) ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 81 ในระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน	93
ตารางที่ 21 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ (จีโนม) ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นจากโรงงานผลิตน้ำผลไม้.....	107
ตารางที่ 22 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ (จีโนม) ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 14 ในระบบซึ่งใช้โพธิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน.....	107
ตารางที่ 23 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ (จีโนม) ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 27 ในระบบซึ่งใช้โพธิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน.....	108
ตารางที่ 24 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ (จีโนม) ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 81 ในระบบซึ่งใช้โพธิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน.....	109
ตารางที่ 25 เปรียบเทียบปริมาณพีเอชเอและส่วนประกอบของพีเอชเอกับงานวิจัยที่ผ่านมา.....	115
ตารางที่ 26 ค่าคุณสมบัติทางความร้อนของพีเอชเอที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์และจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมจากงานวิจัยที่ผ่านมา.....	125
ตารางที่ 27 การเปรียบเทียบคุณสมบัติทางความร้อนของเทอร์โมพลาสติกและพีเอชเอที่ผลิตได้จากงานวิจัยนี้.....	126

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 การสะสมพีเอชเอในรูปของแกรนูลภายในเซลล์ของ <i>Rhodobacter shaeroides</i>	5
ภาพที่ 2 โครงสร้างโดยทั่วไปของพีเอชเอ	6
ภาพที่ 3 กระบวนการผลิตและสกัดพีเอชเอโดยทั่วไปในภาคอุตสาหกรรม	9
ภาพที่ 4 การผลิตพีเอชเอจากแบคทีเรีย	12
ภาพที่ 5 ผลิตภัณฑ์บรรจุภัณฑ์ที่ผลิตมาจาก Poly [(R)-3-hydroxybutyrate-co-(R)-3-hydroxyhexanoate] ภายใต้แบรนด์ Nodax TM ผลิตโดยบริษัท P&G ประเทศสหรัฐอเมริกา	12
ภาพที่ 6 ระบบบำบัดน้ำเสียสำหรับกำจัดฟอสฟอรัส	14
ภาพที่ 7 วิธีการผลิตพีเอชเอโดยจุลินทรีย์กลุ่ม PAO/GAO	14
ภาพที่ 8 ระบบบำบัดน้ำเสียแบบมีอากาศเล็กน้อยสลับกับมีอากาศ (Microaerophilic-aerobic system).....	15
ภาพที่ 9 ขั้นตอนการผลิตพีเอชปี.....	18
ภาพที่ 10 กระบวนการเมตาบอลิซึมของการผลิตพีเอชเอ	18
ภาพที่ 11 การผลิตพีเอชเอจากกรดไขมันต่างชนิดกัน	20
ภาพที่ 12 กระบวนการ 3 ขั้นตอนสำหรับผลิตพีเอชเอโดยใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม	25
ภาพที่ 13 กระบวนการผลิตพีเอชเอจากน้ำเสียของโรงงานมะเขือเทศกระป๋อง	26
ภาพที่ 14 ถังปฏิกรณ์ที่เดินระบบแบบต่อเนื่อง เพื่อผลิตพีเอชเอโดยใช้น้ำเสียของโรงงานกระดาษ..	27
ภาพที่ 15 กระบวนการ 3 ขั้นตอนในการผลิตพีเอชเอจากกากน้ำตาล.....	27
ภาพที่ 16 เครื่อง Differential scanning calorimeter.....	40
ภาพที่ 17 เทอร์โมแกรม (Thermogram) ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค DSC.....	40
ภาพที่ 18 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างเพื่อนำไปเข้าเครื่อง Illumina.....	42
ภาพที่ 19 ปฏิกริยาลูกโซ่พอร์เมอเรส 3 ขั้นตอน	43
ภาพที่ 20 แผนผังสรุปการดำเนินการทดลองทั้งหมด	50

ภาพที่ 21 ระบบบำบัดน้ำเสียแบบเอสปีอาร์ ของบริษัททีปโก้ เอฟ แอนด์ บี.....	57
ภาพที่ 22 ถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเทที่ใช้ในการทดลอง.....	58
ภาพที่ 23 องค์ประกอบของระบบการเลี้ยงจุลินทรีย์แบบให้อาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน	59
ภาพที่ 24 รอบการเดินระบบ 1 รอบของถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท.....	60
ภาพที่ 25 แผนผังสรุปการดำเนินการทดลองช่วงที่ 3.....	69
ภาพที่ 26 ความเข้มข้นซีโอดี ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณพีเอชเอ ในรอบแรกของการเดินระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน	80
ภาพที่ 27 ปริมาณออกซิเจนละลาย ค่าพีเอช และอุณหภูมิ ในรอบแรกของการเดินระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน.....	81
ภาพที่ 28 ความเข้มข้นซีโอดี ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณพีเอชเอ รอบการเดินระบบที่ 7 14 20 27 และ 34 ในระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน	83
ภาพที่ 29 ซีโอดีในระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน รอบการเดินระบบที่ 1 – 100 ต้นรอบการเดินระบบ ระหว่างรอบการเดินระบบ และ ท้ายรอบการเดินระบบ	85
ภาพที่ 30 ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ในระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน รอบการเดินระบบที่ 1 - 100	85
ภาพที่ 31 ความเข้มข้นซีโอดี ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณพีเอชเอ รอบการเดินระบบที่ 40 61 67 74 และ 81 ในระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน	86
ภาพที่ 32 สัดส่วนค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ต่อค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLVSS/MLSS) ตลอดการทดลองในระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน.....	88
ภาพที่ 33 ค่าปริมาตรตะกอนที่ 30 นาที (SV30) ตลอดการทดลอง ในระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน.....	89
ภาพที่ 34 ค่าดัชนีปริมาตรตะกอน (SVI) ตลอดการทดลอง ในระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน.....	89
ภาพที่ 35 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์แยกตามไฟลัมที่พบในตะกอนจุลินทรีย์ ในแต่ละช่วงการเดินระบบที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน	90

ภาพที่ 36 ความเข้มข้นซีไอดี ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณพีเอชเอ ในรอบแรกของการเดินระบบซึ่งใช้พร็อพไอออนต์เป็นแหล่งคาร์บอน	95
ภาพที่ 37 ปริมาณออกซิเจนละลาย ค่าพีเอช และอุณหภูมิ ในรอบแรกของการเดินระบบซึ่งใช้พร็อพไอออนต์เป็นแหล่งคาร์บอน	97
ภาพที่ 38 ความเข้มข้นซีไอดี ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณพีเอชเอ รอบการเดินระบบที่ 7 14 20 27 และ 34 ในระบบซึ่งใช้พร็อพไอออนต์เป็นแหล่งคาร์บอน.....	99
ภาพที่ 39 ความเข้มข้นซีไอดีในระบบที่ใช้พร็อพไอออนต์เป็นแหล่งคาร์บอน รอบการเดินระบบที่ 1 – 100.....	100
ภาพที่ 40 ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ในระบบซึ่งใช้พร็อพไอออนต์เป็นแหล่งคาร์บอน รอบการเดินระบบที่ 1 - 100	100
ภาพที่ 41 ความเข้มข้นซีไอดี ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณพีเอชเอ รอบการเดินระบบที่ 40 61 67 74 และ 81 ในระบบซึ่งใช้พร็อพไอออนต์เป็นแหล่งคาร์บอน	101
ภาพที่ 42 สัดส่วนค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ ต่อค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLVSS/MLSS) ตลอดการทดลอง ในระบบซึ่งใช้พร็อพไอออนต์เป็นแหล่งคาร์บอน.....	103
ภาพที่ 43 ค่าปริมาตรตะกอนที่ 30 นาที (SV30) ตลอดการทดลอง ในระบบซึ่งใช้พร็อพไอออนต์เป็นแหล่งคาร์บอน.....	104
ภาพที่ 44 ค่าดัชนีปริมาตรตะกอน (SVI) ตลอดการทดลอง ในระบบซึ่งใช้พร็อพไอออนต์เป็นแหล่งคาร์บอน.....	105
ภาพที่ 45 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์แยกตามฟิล์มที่พบในตะกอนจุลินทรีย์ ในแต่ละช่วงการเดินระบบที่เลี้ยงด้วยพร็อพไอออนต์เป็นแหล่งคาร์บอน.....	106
ภาพที่ 46 ปริมาณพีเอชเอสูงสุดในแต่ละรอบการเดินระบบโดยใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน	112
ภาพที่ 47 ปริมาณพีเอชเอสูงสุดในแต่ละรอบการเดินระบบโดยใช้พร็อพไอออนต์เป็นแหล่งคาร์บอน	113
ภาพที่ 48 ¹ H NMR สเปกตรัมของพีเอชเอที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม	121
ภาพที่ 49 เทอร์โมแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์คุณสมบัติทางความร้อนของพีเอชเอที่ผลิตได้จากระบบที่ใช้อะซิเตท.....	122

ภาพที่ 50 เทอร์โมแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์คุณสมบัติทางความร้อนของโคโพลีเมอร์ของเอชบี และเอชวีที่ผลิตได้จากระบบที่ใช้โพรพิโอเนต.....	123
--	-----



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

พลาสติกเป็นวัสดุที่มีการนำมาใช้งานอย่างกว้างขวางทั้งในรูปของผลิตภัณฑ์ของใช้และบรรจุภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ รวมถึงอุปกรณ์สำหรับทางการแพทย์และการเกษตร ปัจจุบันพลาสติกถูกผลิตขึ้นมาใช้งานทั่วโลกมากกว่า 200 ล้านตันต่อปี เนื่องจากมีราคาถูก น้ำหนักเบา ทนความชื้น ไม่เป็นสนิม ขึ้นรูปเป็นผลิตภัณฑ์รูปร่างต่าง ๆ ได้ง่ายกว่าวัสดุอื่น ๆ (ธนาวดี ลี้จากภัย, 2549) พลาสติกที่ใช้กันอยู่ทุกวันนี้ส่วนใหญ่ผลิตจากโพลีเมอร์สังเคราะห์ ซึ่งมีสารพวงปิโตรเคมีเป็นส่วนผสมหลัก ซึ่งย่อยสลายได้ยากหรือไม่สามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ การจัดการกับขยะพลาสติกเหล่านี้จึงเป็นไปได้ยาก เพราะไม่ว่าจะเป็นการฝังกลบ หรือการเผาทำลาย ล้วนแล้วแต่ทำให้เกิดการสะสมของมลพิษในสิ่งแวดล้อมมากขึ้น ดังนั้นเพื่อที่จะตอบสนองต่อปัญหาและผลกระทบที่เป็นอันตรายของขยะพลาสติกต่อสิ่งแวดล้อม จึงมีความสนใจอย่างมากในการพัฒนาพลาสติกที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ในบรรดาโพลีเมอร์ที่สามารถย่อยสลายได้หลายชนิด โพลีไฮดรอกซีแอลคาโนเอต (Polyhydroxyalkanoate; PHAs) สามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้อย่างสมบูรณ์และมีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับโพลีเอทิลีน (Polyethylene; PE) และโพลีโพรพิลีน (Polypropylene; PP) (Salehizadeh และ Van Loosdrecht, 2004) จึงสามารถที่จะเป็นทางเลือกในการทดแทนพลาสติกจากปิโตรเคมีได้เป็นอย่างดี

โพลีไฮดรอกซีแอลคาโนเอต คือ โพลีเอสเทอร์ที่ถูกสังเคราะห์ทางชีวภาพ สามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้อย่างสมบูรณ์ และสามารถผลิตได้จากแหล่งทรัพยากรธรรมชาติที่สามารถนำกลับมาใช้ได้อีก ดังนั้นจึงส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมต่ำกว่าโพลีเมอร์ที่ถูกสังเคราะห์ทางเคมีทั่วไป (Albuquerqueและคณะ, 2011) แม้ว่าจะมีการผลิตแล้วในภาคอุตสาหกรรม แต่ยังคงถูกจำกัดในเชิงพาณิชย์ เนื่องจากต้นทุนการผลิตที่สูง โดยการผลิตพีเอชเอในภาคอุตสาหกรรมที่ใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์ (Pure culture) มีค่าใช้จ่ายในการรักษาสายพันธุ์ให้บริสุทธิ์และต้องการกระบวนการที่ปราศจากเชื้อ (Bengtssonและคณะ, 2008) ในปัจจุบันมีการใช้ผลผลิตทางการเกษตร เช่น อ้อย ข้าวเจ้า ข้าวสาลี ข้าวโพด มันสำปะหลัง เป็นต้น มาเป็นวัตถุดิบในการผลิตพีเอชเอ ซึ่งอาจจะมีข้อดีในด้านช่วยเหลือเกษตรกร ทำให้วัตถุดิบทางการเกษตรมีมูลค่าสูงขึ้น แต่ในระยะยาวการนำผลผลิตทางการเกษตรมาใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อผลิตพลาสติกย่อยสลายได้ อาจส่งผลกระทบต่อแหล่งอาหารของโลกได้ เนื่องจากในอนาคตประชากรมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเรื่อย ๆ และอาจต้องการแหล่งอาหารที่มากกว่านี้ จากเหตุผลดังกล่าวนี้จึงมีความสนใจที่จะใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม (Mixed culture) ที่

ได้มาจากตะกอนจุลินทรีย์ส่วนเกินจากระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพมาใช้ในการผลิตพีเอชเอแทน การใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์และผลผลิตทางการเกษตร โดยพบว่าจุลินทรีย์บางชนิดในตะกอนจุลินทรีย์ส่วนเกินมีความสามารถในการสะสมพีเอชเอ (Bengtssonและคณะ, 2008) การใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมในการผลิตพีเอชเอแทนจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์ มีข้อดีคือ สามารถดำเนินการได้ง่าย โดยไม่ต้องการสภาวะที่ปลอดเชื้อ และยังเป็น การนำตะกอนจุลินทรีย์ส่วนเกินจากระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพมาใช้ให้เกิดประโยชน์มากขึ้น การเลี้ยงตะกอนจุลินทรีย์ส่วนเกินด้วยสภาวะที่มีการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน (Feast/famine feeding regime) จะทำให้จุลินทรีย์มีความสามารถในการเก็บสะสมพีเอชเอได้มากขึ้น โดยในสภาวะที่มีอาหารเกินพอ จุลินทรีย์จะกินอาหารและสะสมไว้ในรูปพีเอชเอ พอในสภาวะที่ขาดแคลนอาหาร จุลินทรีย์จะใช้พีเอชเอที่เก็บสะสมไว้เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานภายในสำหรับการเจริญเติบโตของเซลล์ สภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงนี้ จะเป็นการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมพีเอชเอได้ และเพิ่มความสามารถของจุลินทรีย์ในการสร้างแหล่งคาร์บอนสะสมไว้ภายใน (Bengtssonและคณะ, 2008)

โพลีไฮดรอกซีบิวทิเรตหรือพีเอชบีเป็นพีเอชเอชนิดแรกที่ถูกค้นพบ (Johnsonและคณะ, 2009) เป็นโพลิเมอร์ที่ถูกผลิตจากการเลี้ยงตะกอนจุลินทรีย์ด้วยอะซิเตทและบิวทิเรตเป็นแหล่งคาร์บอน มีคุณสมบัติทางเชิงกลที่แข็ง เปราะ แตกง่าย เนื่องจากคุณสมบัติทางความร้อน (Changและคณะ, 2012) โคลิโพลิเมอร์ของเอชบีและไฮดรอกซีวาลูเอเรทหรือเอชวี เป็นโคลิโพลิเมอร์ที่ถูกผลิตจากการเลี้ยงตะกอนจุลินทรีย์ด้วยโพรพิโอเนตและวาลูเอเรทเป็นแหล่งคาร์บอน มีคุณสมบัติทางเชิงกลที่ดี เช่น ความแข็งแรงต่อการกระแทก ความเหนียว ความยืดหยุ่น และ คุณสมบัติอื่น ๆ ที่มีความเหมาะสมต่อการนำไปใช้งานกระบวนการอุตสาหกรรม (Wangและคณะ, 2013) ดังนั้น โคลิโพลิเมอร์ของเอชบีและเอชวีจึงมีความน่าสนใจ เพราะมีคุณสมบัติทางเชิงกลที่ดีเหมาะสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ในภาคอุตสาหกรรม

งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนต่อการผลิตพีเอชเอ ทั้งในแง่ของชนิดและปริมาณ เพื่อศึกษาศักยภาพในการผลิตพีเอชเอทั้งชนิดโพลิโพลิเมอร์และโคลิโพลิเมอร์จากตะกอนจุลินทรีย์ของโรงงานผลิตน้ำผลไม้ของประเทศไทย รวมถึงโครงสร้างและคุณสมบัติทางความร้อนของโพลิเมอร์ที่ผลิตได้ โดยใช้ถึงปฏิกรณ์แบบกึ่งเทเลี้ยงจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมที่ได้มาจากตะกอนจุลินทรีย์ส่วนเกินจากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานผลิตน้ำผลไม้ ร่วมกับน้ำเสียสังเคราะห์ที่เตรียมจากอะซิเตทและโพรพิโอเนต โดยใช้วิธีการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน อีกทั้งงานวิจัยนี้ได้ให้ความสำคัญกับการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบแบบกึ่งเท เพื่อศึกษากลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญต่อการผลิตพีเอชเอ ซึ่งการศึกษานี้จะเป็นประโยชน์ต่อไปในการนำไปใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตพีเอชเอให้ดียิ่งขึ้นต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 ศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนคืออะซิเตทและโพรพิโอเนตต่อพีเอชเอที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมในระบบแบบกึ่งเทที่มีการให้อาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน

1.2.2 ศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนคืออะซิเตทและโพรพิโอเนตต่อกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบแบบกึ่งเทที่มีการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน

1.2.3 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบแบบกึ่งเทที่มีการให้อาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการดำเนินการระดับห้องปฏิบัติการ ณ ห้องปฏิบัติการภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ห้องปฏิบัติการอาคารสี่ภาควิชา คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และห้องปฏิบัติการชีววิทยา ศูนย์ความเป็นเลิศด้านการจัดการสารและของเสียอันตราย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนต่อการผลิตพีเอชเอของจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมโดยการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน โดยมีขอบเขตดังนี้

1.3.1 ใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมซึ่งนำมาจากตะกอนจุลินทรีย์จากระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพของโรงงานผลิตน้ำผลไม้ (บริษัท ทิปโก้ เอฟแอนด์บี จำกัด) (ปานชมพู คุ่มวณิชย์, 2555)

1.3.2 ดำเนินการทดลองโดยใช้ถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท (Sequencing batch reactor; SBR) ในการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมพีเอชเอได้ ภายใต้สภาวะที่มีการเติมอากาศตลอดเวลาโดยการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน (Feast/famine feeding)

1.3.3 ดำเนินการทดลองโดยใช้น้ำเสียสังเคราะห์ที่เตรียมจากอะซิเตทหรือโพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน และธาตุอาหารรอง เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของเซลล์จุลินทรีย์

1.3.4 ศึกษาโครงสร้างและคุณสมบัติทางความร้อนของพีเอชเอ

1.3.5 พารามิเตอร์ที่ทำการวิเคราะห์ได้แก่ ซีไอที ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ (MLVSS) ค่าปริมาตรตะกอนที่ 30 นาที (SV30) ค่าดัชนีปริมาตรตะกอน (SVI) ปริมาณพีเอชเอ โพรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรสโกปี (^1H NMR) อุณหภูมิการหลอมตัวของผลึก (Tm) อุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (Tg) อุณหภูมิการเกิดผลึก (Tc) และ กลุ่มประชากรจุลินทรีย์

1.3.6 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์โดยใช้เทคนิค 16s metagenomic sequencing library

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทำให้ทราบถึงผลของแหล่งคาร์บอนต่อพีเอชเอที่ผลิตได้จากตะกอนจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมซึ่งสามารถใช้ในการประเมินแนวทางในการผลิตพีเอชเอชนิดโคโพลีเมอร์ที่มีคุณสมบัติเหมาะสมต่อการนำไปใช้งานต่อไป

1.4.2 ทำให้ทราบถึงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญต่อการผลิตพีเอชเอชนิดต่าง ๆ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตพีเอชเอ

1.4.3 ช่วยเพิ่มความเข้าใจเกี่ยวกับการผลิตพีเอชเอโดยใช้ตะกอนจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมที่มีการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน ซึ่งอาจสามารถใช้เป็นแนวทางในการออกแบบระบบเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตพีเอชเอให้ดียิ่งขึ้น



บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้อมูลทั่วไปของโพลีไฮดรอกซีแอลคาโนเอต (PHAs)

2.1.1 โพลีไฮดรอกซีแอลคาโนเอต (PHAs)

โพลีไฮดรอกซีแอลคาโนเอต หรือ พีเอชเอ (Polyhydroxyalkanoates; PHAs) คือพลาสติกที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ซึ่งถูกสะสมไว้ภายในเซลล์จุลินทรีย์ เพื่อเป็นแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอนเก็บสะสมไว้ภายในเซลล์ โดยพีเอชเอถูกสังเคราะห์และถูกเก็บสะสมอยู่ในรูปของแกรนูลภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์จุลินทรีย์ เมื่อสารประกอบที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต เช่น ไนโตรเจน ฟอสเฟต ซัลเฟอร์ ออกซิเจน หรือ แมกนีเซียม ถูกจำกัด และมีแหล่งคาร์บอนมากเกินไปโดยชนิดของพีเอชเอที่ผลิตได้ ขึ้นอยู่กับสารอาหารที่ใช้ ซึ่งพบว่าจุลินทรีย์หลากหลายสายพันธุ์ที่สามารถผลิตและสะสมพีเอชเอได้ (Salehizadeh และ Van Loosdrecht, 2004)



ภาพที่ 1 การสะสมพีเอชเอในรูปของแกรนูลภายในเซลล์ของ *Rhodospirillum rubrum*

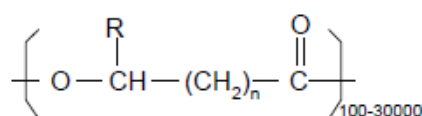
ที่มา : http://www.unil.ch/dbmv/page12541_en.html

พีเอชเอที่ถูกสะสมโดยจุลินทรีย์ในตะกอนส่วนเกินจากระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพส่วนมากจะพบในรูปของโพลีไฮดรอกซีบิวทิเรต หรือ พีเอชบี (Polyhydroxybutyrate; PHB) และโพลีไฮดรอกซีวาเลอเรต (Polyhydroxyvalerate; PHV) (Wenและคณะ, 2010b) พีเอชเอมีคุณสมบัติที่ใกล้เคียงกับโพลีเอทิลีน (Polyethylene; PE) และ โพลีโพรพิลีน (Polypropylene; PP) โดยโคโพลิเมอร์ของพีเอชบีและพีเอชวี มีคุณสมบัติยอมให้ออกซิเจนซึมผ่านน้อยกว่าโพลีเอทิลีน และโพลีโพรพิลีน จึงทำให้โคโพลิเมอร์ของพีเอชเอ เป็นวัสดุที่ดีที่สุดสำหรับการผลิตบรรจุภัณฑ์อาหาร เพราะ ช่วยลดความต้องการการเติมสารออกซิแดนซ์เข้าไปในตัวพลาสติก (Salehizadeh และ Van Loosdrecht, 2004)

2.1.2 โครงสร้างทางเคมีของพีเอชเอ

พีเอชเอ มีลักษณะโครงสร้างเป็นโพลีเอสเทอร์สายตรง ประกอบด้วยคาร์บอน ออกซิเจน และไฮโดรเจน โดยโมโนเมอร์ในกลุ่มไฮดรอกซีเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเอสเทอร์ระหว่างหมู่คาร์บอกซิลิกของโมโนเมอร์ตัวถัดไปตรงตำแหน่งปีต้าคาร์บอน และยังสามารถต่อกันได้มากกว่า 1 โมโนเมอร์ (สิริลักษณ์ บัวทอง, 2551)

สูตรโครงสร้างโดยทั่วไปของพีเอชเอ สามารถแสดงได้ดังนี้



ภาพที่ 2 โครงสร้างโดยทั่วไปของพีเอชเอ

ที่มา : Castilhoและคณะ (2009)

ตารางที่ 1 ชื่อเรียกพีเอชเอตามหมู่คาร์บอกซิลิกที่มาเกาะตรงตำแหน่งปีต้าคาร์บอน

N	R	PHAs
1	ไฮโดรเจน (H)	โพลี(3-ไฮดรอกซีโพรพิโอเนต) poly(3-hydroxypropionate)
	เมทิล (CH ₃)	โพลี(3-ไฮดรอกซีบิวทิเรต) poly(3-hydroxybutyrate) (PHB)
	เอทิล (C ₂ H ₅)	โพลี(3-ไฮดรอกซีวาเลอเรต) poly(3-hydroxyvalerate) (PHV)
	โพรพิล (C ₃ H ₇)	poly(3-hydroxyhexanoate)
	เพนทิล (C ₅ H ₁₁)	poly(3-hydroxyoctanoate)
	โนนิล (C ₉ H ₁₉)	poly(3-hydroxydodecanoate)
2	ไฮโดรเจน (H)	poly(4-hydroxybutyrate)
	เมทิล (CH ₃)	poly(4-hydroxyvalerate)
3	ไฮโดรเจน (H)	poly(5-hydroxyvalerate)
	เมทิล (CH ₃)	poly(5-hydroxyhexanoate)
4	เฮกซิล (C ₆ H ₁₃)	poly(6-hydroxydodecanoate)

ที่มา : Castilhoและคณะ (2009)

2.1.3 ชนิดของพีเอชเอ

ถ้าพิจารณาจากชนิดของหน่วยที่ซ้ำ ๆ กันในโซ่โพลีเมอร์ จะจำแนกโพลีเมอร์ออกเป็น 2 ประเภท คือ

(1) โฮโมโพลีเมอร์ (Homopolymer) คือ โพลีเมอร์ที่สังเคราะห์จากโมโนเมอร์เพียงชนิดเดียว ได้แก่ โพลีเมอร์ที่มีหน่วยซ้ำ ๆ กัน (Monomer) เพียงชนิดเดียวเท่านั้น เช่น poly(3-hydroxybutyrate) และ poly(3-hydroxyvalerate)

(2) เฮเทอโรโพลีเมอร์ (Heteropolymer) คือ โพลีเมอร์ที่ประกอบด้วยโมโนเมอร์มากกว่า 2 ชนิดมาต่อกัน โดยเรียกชื่อตามจำนวนของโมโนเมอร์ที่เป็นองค์ประกอบดังนี้ (สิริลักษณ์ บัวทอง, 2551)

(2.1) โคโพลีเมอร์ (Copolymer) ประกอบด้วยโมโนเมอร์ 2 ชนิด มาต่อกันเป็นสายโพลีเมอร์ เช่น poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) poly(hydroxyheptanoate-co-hydroxyvalerate) และ poly(hydroxynonanoate-co-hydroxyheptanoate) เป็นต้น

(2.2) เทอร์โพลีเมอร์ (Terpolymer) ประกอบด้วยโมโนเมอร์ 3 ชนิดต่อกันเป็นสายโพลีเมอร์ เช่น poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate-co-hydroxymethylvalerate) เป็นต้น

ถ้าแบ่งตามจำนวนคาร์บอนในหน่วยโมโนเมอร์ จะจำแนกโพลีเมอร์ออกเป็น 2 ประเภท คือ (Cheeและคณะ, 2010)

(1) พีเอชเอสายสั้น (Short chain length-PHA; SCL-PHA) คือ พีเอชเอที่มาจากโมโนเมอร์สายสั้น (Short chain length monomers) มีจำนวนคาร์บอนในหน่วยโมโนเมอร์ 3 – 5 อะตอม เช่น 3-hydroxybutyrate (4C) และ 3-hydroxyvalerate (5C) เป็นต้น

(2) พีเอชเอสายกลาง (Medium chain length-PHA; MCL-PHA) คือ พีเอชเอที่มาจากโมโนเมอร์สายกลาง (medium chain length monomers) มีจำนวนคาร์บอนในหน่วยโมโนเมอร์ 6 – 14 อะตอม เช่น 3-hydroxyhexanoate (6C) 3-hydroxyoctanoate (8C) 3-hydroxydecanoate (10C) 3-hydroxydodecanoate (12C) และ 3-hydroxytetradecanoate (14C) เป็นต้น

พีเอชเอสายสั้นและสายกลาง มักจะถูกสังเคราะห์โดยแบคทีเรียหลายชนิด และแบคทีเรียบางชนิด สามารถสังเคราะห์พีเอชเอได้ทั้งพีเอชเอสายสั้นและพีเอชเอสายกลาง พีเอชเอถูกเก็บสะสมอยู่ในรูปแกรนูลที่ไม่ละลายน้ำภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์ โดยความหนาแน่นของ SCL-PHA granule สูงกว่า MCL-PHA granule เนื่องจาก MCL-PHA มีโครงสร้างสายอะตอมที่ยาว ทำให้เกิดช่องว่างของโพลีเมอร์ในแกรนูล (Cheeและคณะ, 2010)

2.1.4 การใช้งาน

การใช้งาน เนื่องจากพีเอชเอยังมีราคาค่อนข้างสูง เกรดที่มีความบริสุทธิ์สูงนิยมนำมาใช้งานทางการแพทย์ เช่น ทำแคปซูลควบคุมการปลดปล่อยตัวยา ไหมละลาย แผ่นปิดแผล ผงหล่อขึ้นสำหรับถักมือผ่าตัด และงานด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ นอกจากนี้พีเอชเอยังถูกนำมาทดลองใช้ในงานด้านบรรจุภัณฑ์ เช่น ขวดแชมพูสระผมของบริษัท Wella AG ในประเทศเยอรมนี บรรจุภัณฑ์สำหรับน้ำมันเครื่อง ด้ามมีดโกนแบบใช้แล้วทิ้ง สารเคลือบกระดาษ และฟิล์มพลาสติก โดยกระบวนการอัดรีดเป็นแผ่นหรือการเป่าฟิล์ม ในรูปของฟิล์มชั้นเดียวหรือหลายชั้น ซึ่งมีราคาใกล้เคียงกับพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (Polyvinyl alcohol, PVOH) (ธนาวดี ลี้จากภัย, 2549)

2.1.5 การย่อยสลาย

พีเอชเอ ย่อยสลายทางชีวภาพได้ดีในสภาพแวดล้อมธรรมชาติ ทั้งในแหล่งน้ำจืด น้ำทะเล และดิน นอกจากนี้ยังย่อยสลายได้ดีในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน เช่น ในบ่อฝังกลบขยะ ในบ่อบำบัดน้ำเสีย รวมถึงในสภาวะที่มีออกซิเจนในระบบคอมโพสท์ ตัวอย่างเช่น ผลิตภัณฑ์ BiopolTM ของบริษัท Monsanto ย่อยสลายได้ทางชีวภาพได้เกือบ 100 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 10 สัปดาห์ ในระบบคอมโพสท์ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ความชื้น 55 เปอร์เซ็นต์ และอัตราส่วน C : N เท่ากับ 18 : 1 และโคโพลีเมอร์ของ P(HB-co-HV) สามารถย่อยสลายได้เกือบสมบูรณ์ ภายในเวลา 20 วัน ภายใต้สภาวะการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนในบ่อบำบัดน้ำเสีย ในขณะที่โพลีเอสเตอร์สังเคราะห์ที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพชนิดอื่น ๆ เช่น PLA PBS และ PBSA ไม่เกิดการย่อยสลายภายในเวลา 100 วัน ภายใต้สภาวะเดียวกัน ในสภาวะของบ่อฝังกลบขยะ โคโพลีเมอร์ของ P(HB-co-HV) ย่อยสลายได้ภายใน 6 เดือน ซึ่งมีอัตราการย่อยสลายที่ใกล้เคียงกับการย่อยสลายของเซลโลเฟน ซึ่งถูกใช้เป็นวัสดุมาตรฐานในการทดสอบ (ธนาวดี ลี้จากภัย, 2549)

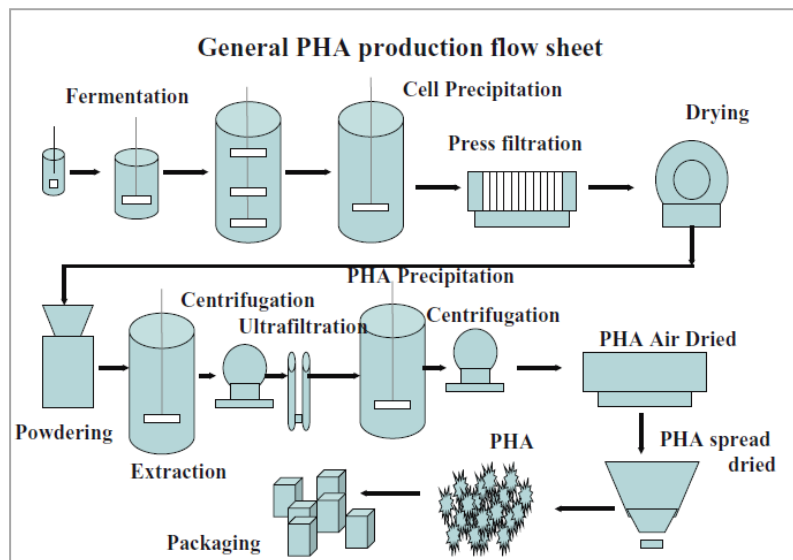
2.2 การผลิตพีเอชเอในภาคอุตสาหกรรม

แม้ว่าจะค้นพบพีเอชเอชนิดต่างๆแล้ว แต่มีเพียงพีเอชเอ 4 ชนิดนี้เท่านั้นที่ถูกผลิตแล้วในระดับอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ ซึ่งก็คือ

1. Poly [(R)-3-hydroxybutyrate] (PHB)
2. Poly [(R)-3-hydroxybutyrate-co-(R)-3-hydroxyvalerate](PHBV)
3. Poly [(R)-3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate] (P3HB4HB)
4. Poly [(R)-3-hydroxybutyrate-co-(R)-3-hydroxyhexanoate] (PHBHHX)

โดยทั่วไปกระบวนการผลิตพีเอชเอในภาคอุตสาหกรรมในภาคอุตสาหกรรมประกอบด้วยขั้นตอนหลายขั้นตอน เช่น ขั้นตอนการหมัก ขั้นตอนการแยกจุลินทรีย์ออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อ ขั้นตอน

การทำให้เซลล์แห้ง ขั้นตอนการสกัดพีเอชเอ ขั้นตอนการทำให้พีเอชเอแห้ง และ การผลิตเป็นบรรจุภัณฑ์ ดังแสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 3 กระบวนการผลิตและสกัดพีเอชเอโดยทั่วไปในภาคอุตสาหกรรม

ที่มา : Chen (2010)

2.2.1 การผลิตพีเอชบีโดยบริษัท Chemie Linz ประเทศออสเตรีย โดยใช้ *Alcaligenes latus*

A. latus คือ หนึ่งในสายพันธุ์แบคทีเรียที่ใช้ในการผลิตพีเอชบีในภาคอุตสาหกรรม สายพันธุ์นี้เจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในสารอาหารที่เป็นซูโครส กลูโคส และโมลาส สามารถสะสมพีเอชบีได้สูงกว่า 90 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง โดยบริษัท Chemie Linz สามารถผลิตพีเอชบีในปริมาณ 1,000 กิโลกรัมต่อสัปดาห์ โดยใช้ถังหมักที่มีขนาด 15 ลูกบาศก์เมตร สายพันธุ์แบคทีเรียที่ใช้คือ *A. latus* DSM 1124 เซลล์แบคทีเรียเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งพีเอชบีที่ถูกผลิตโดยใช้ *A. latus* ถูกนำมาใช้ผลิตเป็นถ้วย ขวด เข็มฉีดยา ทวี ปากกา และ ลูกกระสุน

2.2.2 การผลิตพีเอชบีโดยบริษัท Tianjin Northern Food และ Lantian Group ประเทศจีน โดยใช้ *Ralstonia eutropha* และ Recombinant *Escherichia coli*

R. eutropha ถูกใช้ดำเนินการผลิตพีเอชบี โดยบริษัท Tianjin Northern Food ในถังหมักขนาด 1 ลูกบาศก์เมตร โดยใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยสามารถผลิตพีเอชบีได้ 80 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง ส่วนบริษัท Lantian Group ใช้ Recombinant *E. coli* ในการผลิตพีเอชบี ในถังหมักขนาด 10 ลูกบาศก์เมตร

2.2.3 การผลิตโคโพลีเมอร์ของพีเอชบีและพีเอชวี โดยบริษัท NingBo TianAn ประเทศจีน

บริษัท NingBo TianAn ร่วมมือกับสถาบันจุลชีววิทยาและวิทยาลัยวิทยาศาสตร์ของประเทศจีน พัฒนาระบบการที่สามารถผลิตโคโพลีเมอร์ของพีเอชบีและพีเอชวีได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยในสภาวะที่ไม่มีการเติมออกซิเจน *R. eutropha* เจริญเติบโตได้ในถังหมักที่มีขนาด 1 ลูกบาศก์เมตร และเซลล์สามารถสะสมโคโพลีเมอร์ของพีเอชบีและพีเอชวีได้ 80 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง โดยปริมาณของพีเอชวีในโคโพลีเมอร์อยู่ในช่วง 8 - 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งกระบวนการนี้สามารถลดต้นทุนในการผลิตโคโพลีเมอร์ของพีเอชบีและพีเอชวีได้

2.2.4 การผลิตพีเอชเอโดยใช้พืชหรือผลผลิตทางการเกษตร

ผลผลิตทางการเกษตรสามารถนำมาสังเคราะห์พลาสติกที่สามารถย่อยสลายได้ โดยบริษัท Metabolix ประเทศสหรัฐอเมริกา ได้ทำการพัฒนาการผลิตพีเอชเอจากหญ้า Switchgrass และอ้อยแดง โดยหญ้า Switchgrass เป็นพืชที่เจริญเติบโตได้ดีในฤดูร้อน เป็นหญ้ายืนต้น เป็นพืชพื้นเมืองทางแถบอเมริกาเหนือ โดยหญ้า Switchgrass เป็นพืชเป้าหมายหลักของบริษัทในการผลิตพีเอชบีในเชิงพาณิชย์

ตารางที่ 2 บริษัทผู้ผลิต สายพันธุ์จุลินทรีย์ และวัตถุดิบ ที่ใช้สำหรับการผลิตพลาสติกที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ

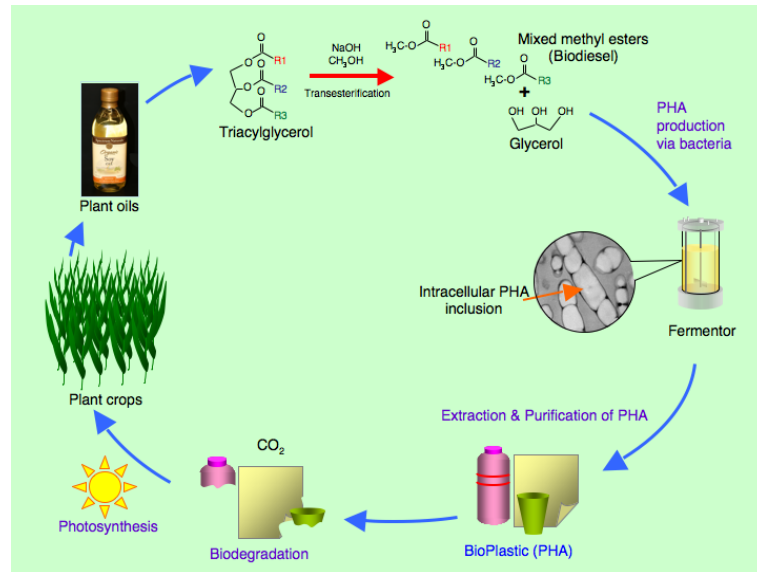
สายพันธุ์จุลินทรีย์และวัตถุดิบ	บริษัทผู้ผลิต
<i>Alcaligenes eutrophus</i> (HI6)	- ZENECA Bio-products, UK (ชื่อเดิม ICI Ltd.)
<i>Alcaligenes latus</i>	- Biotechnologische Forschungs gesellschaft mbH (Austria) - Petrochemia Danubia
Transgenic plants	- Metabolix Inc. (USA) - Monsanto (USA) - ZENECA Seeds (UK)
Recombinant <i>Escherichia coli</i>	- Bio Ventures Alberta Inc. (Canada)
Starch	- Warner_s Lambert (USA) - Fertec, Italy (Ferruzi e Tecnologia) - Biotec (Melitta) Emmerich (Germany) - BASF Ludwigshafen (Germany) - Bayer/Wolf Walsrode Leverkusen (Germany) - Novamont Novara (Italy)

ที่มา : Reddyและคณะ (2003)

ตารางที่ 3 บริษัทที่ทำการผลิตพีเอชเอในเชิงอุตสาหกรรม

บริษัทผู้ผลิต	ชนิดของพีเอชเอ	ขนาดการผลิต (ตัน/ปี)	ระยะเวลา	การนำไปใช้งาน
ICI	PHBV	300	1980 – 1990	บรรจุภัณฑ์
Chemie Linz, Austria	PHB	20–100	1980	บรรจุภัณฑ์ และระบบนำส่งยา
BTF, Austria	PHB	20–100	1990	บรรจุภัณฑ์ และระบบนำส่งยา
Biomers, Germany	PHB	ไม่ระบุ	1990 ถึงปัจจุบัน	บรรจุภัณฑ์ และระบบนำส่งยา
BASF, Germany	PHB, PHBV	การผลิตระดับ Pilot scale	1980 – 2005	ส่วนผสมในผลิตภัณฑ์
Metabolix, USA	PHA	ไม่ระบุ	1980 ถึงปัจจุบัน	บรรจุภัณฑ์
ADM, USA (with Metabolix)	PHA	50,000	2005 ถึงปัจจุบัน	วัตถุดิบ
P&G, USA	PHA	การผลิตตามสัญญา (Contract Manufacturing)	1980 – 2005	บรรจุภัณฑ์
Monsanto, USA	PHB, PHBV	การผลิตระดับโรงงาน	1990s	วัตถุดิบ
Meredian, USA	PHA	10,000	2007 ถึงปัจจุบัน	วัตถุดิบ
Kaneka, Japan (with P&G)	PHA	ไม่ระบุ	1990 ถึงปัจจุบัน	บรรจุภัณฑ์
Mitsubishi, Japan	PHB	10	1990s	บรรจุภัณฑ์
Biocycles, Brazil	PHB	100	1990 ถึงปัจจุบัน	วัตถุดิบ
Bio-On, Italy	PHA	10,000	2008 ถึงปัจจุบัน	วัตถุดิบ
Zhejiang Tian An, China	PHBV	2,000	1990 ถึงปัจจุบัน	วัตถุดิบ
Jiangmen Biotech Center, China	PHBHHx	ไม่ระบุ	1990s	วัตถุดิบ
Tianjin Northern Food, China	PHB	การผลิตระดับ Pilot scale	1990s	วัตถุดิบ
Shantou Lianyi Biotech, China	PHA	การผลิตระดับ Pilot scale	1990 – 2005	บรรจุภัณฑ์ และทางการแพทย์

ที่มา : Chen (2010)



ภาพที่ 4 การผลิตพีเอชเอจากแบคทีเรีย
ที่มา : Chen (2010)



ภาพที่ 5 ผลิตภัณฑ์บรรจุภัณฑ์ที่ผลิตมาจาก Poly [(R)-3-hydroxybutyrate-co-(R)-3-hydroxyhexanoate] ภายใต้แบรนด์ NodaxTM ผลิตโดยบริษัท P&G ประเทศสหรัฐอเมริกา
ที่มา : Chen (2010)

2.3 การผลิตฟิเอชเอโดยใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม

เมื่อไม่นานนี้ได้มีความสนใจในการใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมสำหรับผลิตฟิเอชเอเพิ่มมากขึ้น โดยทั่วไปจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม สามารถถูกกระตุ้นให้เกิดการสะสมฟิเอชเอไว้ในเซลล์และถูกคัดเลือกโดยสภาวะที่ใช้ในการเดินระบบ (Diasและคณะ, 2006)

โดยวิธีการผลิตฟิเอชเอโดยใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมในปัจจุบัน มี 3 วิธีหลัก ๆ ดังนี้ (Salehizadeh และ Van Loosdrecht, 2004)

2.3.1 ระบบแบบไร้อากาศสลับกับมีอากาศ (Anaerobic-aerobic system)

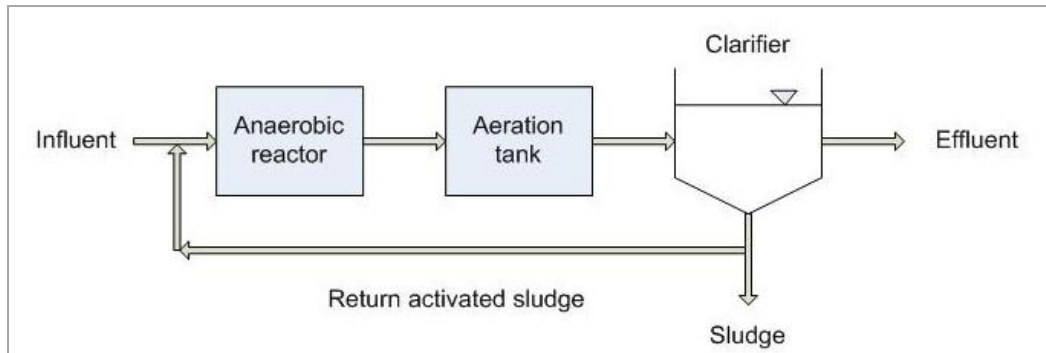
การเก็บสะสมโพลีเมอร์ไว้ในเซลล์จุลินทรีย์ โดยจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมถูกพบในระบบบำบัดน้ำเสียสำหรับกำจัดฟอสฟอรัส (Enhanced biological phosphorus removal; EBPR) ซึ่งใช้การสลับกันระหว่างสภาวะไร้อากาศกับสภาวะมีอากาศ (Anaerobic-aerobic)

โดย Polyphosphate-accumulating organisms (PAO) สังเคราะห์ฟิเอชเอภายใต้สภาวะไร้อากาศโดยใช้แหล่งคาร์บอนภายนอกและไกลโคเจนภายในเซลล์ และใช้ฟิเอชเอควบคู่กับการใช้ออกซิเจนหรือไนเตรท สำหรับดำรงรักษาเซลล์ เจริญเติบโต และ สะสมไกลโคเจน โดยฟอสฟอรัสจะถูกปล่อยออกมาในสภาวะไร้อากาศและนำไปสะสมในเซลล์จุลินทรีย์อีกครั้งในสภาวะมีอากาศ

Glycogen-accumulating organisms (GAO) มักจะพบในระบบ EBPR และแข่งขันใช้สารอาหารกับกลุ่ม PAO จุลินทรีย์ทั้ง 2 กลุ่ม คือ PAO และ GAO สามารถผลิตฟิเอชเอได้ปริมาณสูงสุด 20 เปอร์เซ็นต์กรัมฟิเอชเอต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (Satohและคณะ, 1996)

การเลี้ยงจุลินทรีย์ในสภาวะไร้อากาศสลับกับมีอากาศ ได้ปริมาณฟิเอชเอระหว่าง 30 - 57 เปอร์เซ็นต์จากกระบวนการที่มีชื่อว่า Polyhydroxyalkanoates accumulating bacteria enhanced reactor (PABER) (Takabatakeและคณะ, 2000) แต่อย่างไรก็ตามปริมาณฟิเอชเอในกระบวนการนี้มักจะไม่มีคงที่

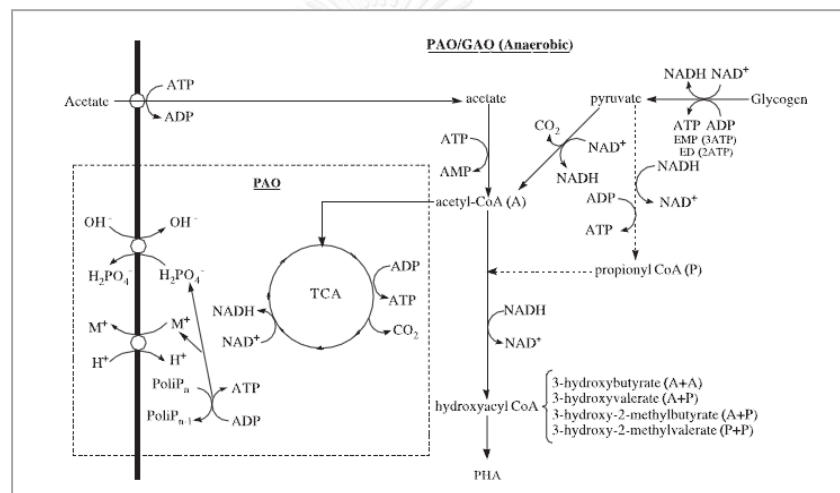
แบคทีเรียที่สะสมฟิเอชเอสามารถถูกเพิ่มจำนวนในกระบวนการบำบัดน้ำเสียได้ด้วยถังคัดเลือก (Selector) สำหรับควบคุมปัญหาตะกอนไม่จมตัวในระบบ (Sludge bulking) หรือในกระบวนการกำจัดไนโตรเจนทางชีวภาพ (Biological nitrogen removal processes) แต่อย่างไรก็ตาม ความสามารถในการสะสมฟิเอชเอค่อนข้างต่ำ (20 - 30 เปอร์เซ็นต์กรัมฟิเอชเอต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) (Takabatakeและคณะ, 2000)



ภาพที่ 6 ระบบบำบัดน้ำเสียสำหรับกำจัดฟอสฟอรัส

(Enhanced biological phosphorus removal; EBPR)

ที่มา : <http://www.oilgae.com/algae/cult/sew/new/pho/pho.html>

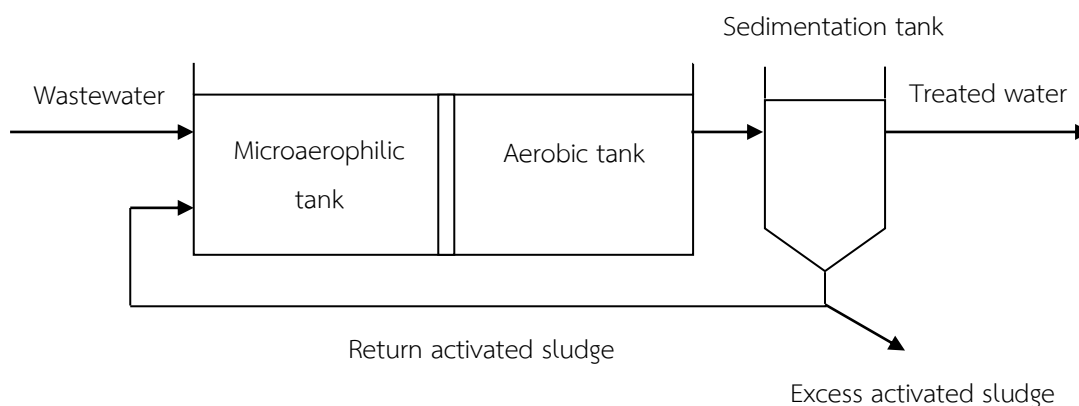


ภาพที่ 7 วิธีการผลิตพืเอชเอโดยจุลินทรีย์กลุ่ม PAO/GAO

ที่มา : Salehizadeh H. และ Van Loosdrecht. (2004)

2.3.2 ระบบแบบมีอากาศเล็กน้อยสลับกับมีอากาศ (Microaerophilic-aerobic system)

ระบบแบบมีอากาศเล็กน้อยสลับกับมีอากาศ (Microaerophilic-aerobic system) เป็นวิธีการเลี้ยงจุลินทรีย์ในสภาวะที่มีอากาศเพียงเล็กน้อยสลับกับมีอากาศเต็มที่ การจำกัดออกซิเจนในระยะแรกเพื่อป้องกันการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ในขณะที่คาร์บอนถูกใช้สำหรับผลิตพืเอชเอ ในระยะที่มีอากาศเต็มที่ พืเอชเอจะถูกใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานสำหรับการเจริญเติบโตและดำรงรักษาเซลล์ โดยพบว่าปริมาณพืเอชเอที่ได้สูงสุดคือ 62 เปอร์เซ็นต์กรัมพืเอชเอต่อกรัมน้ำหนักแห้ง แต่การผลิตพืเอชเอด้วยกระบวนการนี้มักจะไม่เสถียร อีกทั้งยังผลิตไกลโคเจนออกมาด้วยแต่น้อยกว่าระบบแบบไร้อากาศสลับกับมีอากาศ (Anaerobic-aerobic system)



ภาพที่ 8 ระบบบำบัดน้ำเสียแบบมีอากาศเล็กน้อยสลับกับมีอากาศ

(Microaerophilic-aerobic system)

ที่มา : สิริลักษณ์ บัวทอง (2551)

2.3.3 ระบบที่มีการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน (Aerobic dynamic feeding (ADF) หรือ Feast and famine feeding)

Aerobic dynamic feeding (ADF) หรือ Feast and famine feeding คือ กระบวนการที่มีการเติมอากาศตลอดเวลา โดยสลับจ้อยู่ภายใต้สภาวะที่มีสารอาหารภายนอกเกินพอ (Feast) และขาดแคลน (Famine) เป็นระยะเวลาต่อเนื่องกัน ผลของการให้อาหารแบบไม่สมดุลกันได้ถูกค้นพบโดย Majone และคณะ (1996) ซึ่งได้ทำการเดินระบบในระบบที่มีการเติมอากาศอย่างเต็มที่ พร้อมกับการติดตั้งถังคัดพันธุ์ หรือ Selector อยู่ข้างหน้าถังเติมอากาศ เพื่อควบคุมไม่ให้เกิดตะกอนไม่จมตัวในระบบ (Sludge bulking) โดยในสภาวะที่มีอาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลนนี้ จะส่งเสริมการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีความสามารถสูงในการผลิตฟิเอชเอ (Paul และ Liu, 2012)

การเลี้ยงตะกอนจุลินทรีย์ส่วนเกินด้วยสภาวะที่มีการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน จะทำให้จุลินทรีย์มีความสามารถสูงในการเก็บสะสมฟิเอชเอได้มากขึ้น โดยในสภาวะที่มีอาหารเกินพอ จุลินทรีย์จะกินอาหารและสะสมไว้ในรูปฟิเอชเอ พอในสภาวะที่ขาดแคลนอาหาร จุลินทรีย์จะใช้ฟิเอชเอที่เก็บสะสมไว้เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานภายในสำหรับการเจริญเติบโตของเซลล์ สภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงนี้ จะเป็นการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมฟิเอชเอได้ และเพิ่มความสามารถของจุลินทรีย์ในการสร้างแหล่งคาร์บอนสะสมไว้ภายใน (Bengtssonและคณะ, 2008)

โดยพบว่าในปัจจุบันนี้ตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงในสภาวะที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลนสามารถสะสมฟิเอชเอได้ปริมาณสูงถึง 89 เปอร์เซ็นต์กรัมฟิเอชเอต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (Johnsonและ

คณะ, 2009) และกระบวนการนี้สามารถประหยัดค่าใช้จ่ายในการรักษาสายพันธุ์เมื่อเทียบกับการผลิตพีเอชเอจากจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์ (Diasและคณะ, 2006)

2.3.3.1 ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับระบบการให้อาหารแบบกินพอสลับกับขาดแคลน

สภาวะที่มีการให้อาหารแบบกินพอสลับกับขาดแคลน เมื่อมีสารอาหารภายนอก จุลินทรีย์จะใช้สารอาหารสำหรับการเจริญเติบโต หรือใช้สำหรับสะสมเป็นแหล่งอาหารแหล่งพลังงานสำรองไว้ในเซลล์ การสังเคราะห์พีเอชเอจะเกิดขึ้นเมื่อการเจริญเติบโตของเซลล์ถูกจำกัดโดยปัจจัยภายนอก เช่น การขาดธาตุอาหาร ยกตัวอย่างเช่น ไนโตรเจน หรือ ฟอสฟอรัส ปัจจัยภายใน เช่น ขาดแคลนปริมาณ RNA หรือ เอนไซม์ที่ต้องการสำหรับการเจริญเติบโต โดยสารอาหารที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ได้มีสลับกันเป็นช่วง ๆ ซึ่งระยะเวลาที่จุลินทรีย์ขาดอาหาร เป็นสาเหตุทำให้ปริมาณของส่วนประกอบภายในเซลล์ คือ RNA และ เอนไซม์ที่ต้องการสำหรับการเจริญเติบโตลดลง หลังจากที่ให้จุลินทรีย์ขาดอาหารแล้ว จะเกิดการเก็บสะสมพีเอชเอขึ้นแทนที่จะเจริญเติบโต ระหว่างที่จุลินทรีย์อยู่ในช่วงอดอาหาร สารอาหารที่ถูกเก็บสะสม จะถูกนำมาใช้สำหรับการเจริญเติบโตของเซลล์ และดำรงรักษาเซลล์ (Diasและคณะ, 2006)

การเดินระบบภายใต้สภาวะที่มีอาหารกินพอสลับกับขาดแคลน สามารถคัดเลือกและเพิ่มจำนวนกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสะสมพีเอชเอได้สูง โดยความสามารถในการเก็บสะสมพีเอชเอที่สูงของแบคทีเรียที่ถูกคัดเลือกภายใต้สภาวะที่มีอาหารกินพอสลับกับขาดแคลน ได้ปรากฏในงานวิจัยเป็นจำนวนมากในระยะเวลา 10 ปีที่ผ่านมา

2.3.3.2 กระบวนการสร้างและสังเคราะห์พีเอชเอโดยจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม

(1) กระบวนการสังเคราะห์โพลีไฮดรอกซีบิวทิเรต (พีเอชบี; PHB) (Paul และ Liu, 2012)

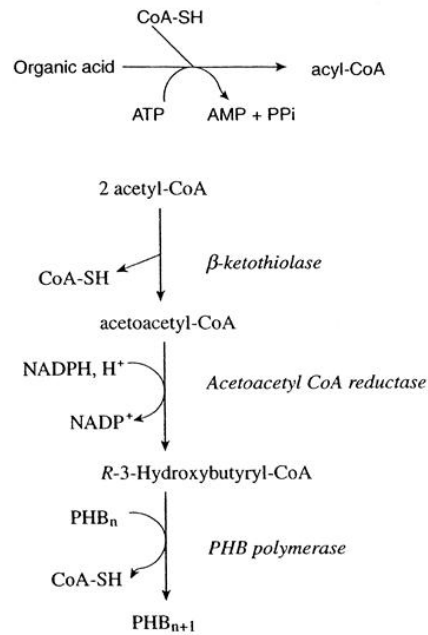
จุลินทรีย์ส่วนมากที่สะสมพีเอชบี สามารถสังเคราะห์โพลีเมอร์จากอะซิติลโคเอนไซม์เอ (Acetyl-CoA) โดยอาศัย 3 ปฏิกริยาตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 9 ซึ่งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง คือ

- 1). β - ketothiolase ซึ่งกระตุ้นการรวมตัวของ Acetyl-CoA 2 โมเลกุล
- 2). Acetoacetyl-CoA reductase ซึ่งกระตุ้นการรีดักชันของ Acetoacetyl-CoA ไปเป็น 3-hydroxybutyryl-CoA
- 3). Poly(3-hydroxybutyrate) synthase ซึ่งรวมโมโนเมอร์ให้กลายเป็นพีเอชบี

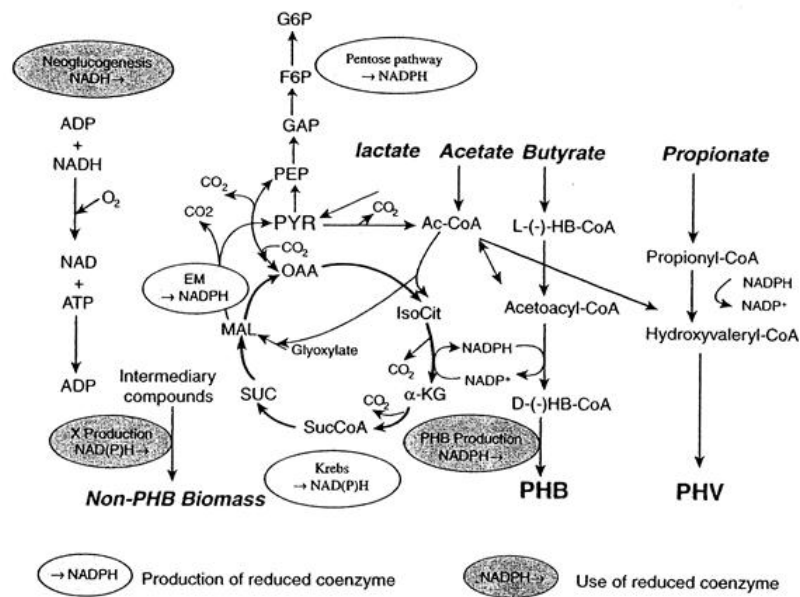
โคเอ (CoA) คือ สารที่เป็นหัวใจสำคัญในการควบคุมการสังเคราะห์พีเอชบี โดย Acetyl-CoA สามารถถูกออกซิไดซ์ผ่านทาง Tricarboxylic acid (TCA) cycle หรือสามารถทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นสำหรับสังเคราะห์พีเอชบี ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาวะทางสิ่งแวดล้อมของเซลล์ ถ้าสัดส่วนของ NAD(P)H/NAD(P) เพิ่มขึ้น บางเอนไซม์ของ TCA cycle จะถูกยับยั้ง และ Acetyl-CoA ส่วนหนึ่งจะ

ถูกเปลี่ยนไปสังเคราะห์พีเอชบี อีกทั้ง CoASH ที่ความเข้มข้นสูง ๆ ทำให้เกิดการแข่งกันยับยั้งเอนไซม์ β - ketothiolase ดังนั้นจึงขัดขวางการสังเคราะห์พีเอชบี ซึ่งพีเอชบีอาจจะมองเป็นแหล่งคาร์บอนสำรอง แต่ก็ยังเป็นแหล่งรีดิวซ์ซึ่งพาวเวอร์อีกด้วย ดังนั้นจึงสามารถพิจารณาว่าเป็นตัวควบคุมการเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์สำหรับเซลล์ ปัจจัยต่าง ๆ อาจจะนำมาอธิบายการเพิ่มขึ้นของสัดส่วน NAD(P)H/NAD(P) หรือการลดลงของสัดส่วน CoA/Acetyl-CoA ภายในเซลล์ การจำกัดการเจริญเติบโตโดยการจำกัดออกซิเจน หรือ สารอาหารอื่น ๆ เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ซัลเฟอร์ หรือ แมกนีเซียม และ ยังรวมถึงสารประกอบคาร์บอนที่เกินพอสำหรับการเจริญเติบโต เป็นปัจจัยทั่วไปที่สำคัญในการทำให้เกิดการสะสมพีเอชบี สภาวะที่ใช้ในการเดินระบบด้วยการให้อาหารแบบเกินพอ สลับกับขาดแคลน ยังสามารถนำไปสู่การสะสมพีเอชบีได้ด้วย โดยมักจะถูกเรียกว่า การเจริญเติบโตในสภาวะที่ไม่สมดุล (Unbalanced growth)

ตะกอนจุลินทรีย์ส่วนเกินที่ถูกเลี้ยงภายใต้สภาวะที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน ถ้าพิจารณาถึงอะซีเตทเป็นแหล่งคาร์บอน Acetyl-CoA ที่ถูกผลิตออกมาจะมีเพียงบางส่วนเข้าไปยัง TCA cycle สำหรับการเจริญเติบโต และ ผลิต NAD(P)H และบางส่วนถูกใช้สำหรับผลิตพีเอชเอ สำหรับการสังเคราะห์พีเอชบี โพลีเมอร์ที่ถูกสร้างจากอะซีเตท จะถูกสังเคราะห์โดย Acetyl-CoA 2 โมเลกุลรวมกัน เพื่อที่จะผลิต Acetoacetyl-CoA และสุดท้ายให้ไฮดรอกซีบิวเทรตโมโนเมอร์ (HB monomer) ที่มีคาร์บอนอะตอม 4 ตัวออกมา ซึ่งสารอาหารชนิดอื่น ๆ สามารถใช้ผลิตพีเอชบีได้ โดยเมื่อกรดไขมันระเหยง่ายได้ถูกใช้เพื่อนำมาผลิตโพลีเมอร์ กรดอินทรีย์ต้องผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ เพื่อที่จะถูกกระตุ้นให้อยู่ในรูปของ Acyl-CoA การสังเคราะห์พีเอชบีจากกรดบิวทริก หรือ วาเลอริก ไม่ได้เกี่ยวข้องกับ Acetyl-CoA และสามารถกระทำผ่าน Acetoacetyl-CoA ที่เกี่ยวข้องกับ Nondegradative pathway ซึ่ง Nondegradative pathway นี้ สามารถแสดงดังในภาพที่ 10

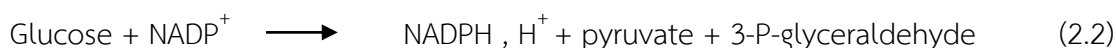
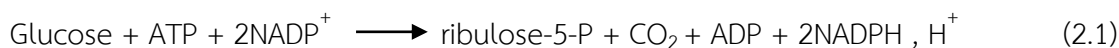


ภาพที่ 9 ขั้นตอนการผลิตพีเอชบี
ที่มา : Paul และ Liu (2012)



ภาพที่ 10 กระบวนการเมตาบอลิซึมของการผลิตพีเอชเอ
ภาพวงกลมสีขาว หมายถึง การผลิตรีดิวซ์ซิงพาวเวอร์
ภาพวงกลมสีดำ หมายถึง การใช้รีดิวซ์ซิงพาวเวอร์
ที่มา : Paul และ Liu (2012)

รีดิวซ์ซึ่งพาวเวอร์ (NADPH , H⁺) เป็นที่ต้องการสำหรับการสังเคราะห์พีเอชบี โดยให้ผ่านทาง Entner-Doudoroff pathway (มักถูกเรียกว่า Pentose phosphate pathway) ดังแสดงในสมการที่ 2.1 และผ่านทางกิจกรรมของ NADP ที่ขึ้นอยู่กับเอนไซม์ คือ Isocitrate dehydrogenase activity ดังแสดงในสมการที่ 2.2 หรือ Malic enzyme activity



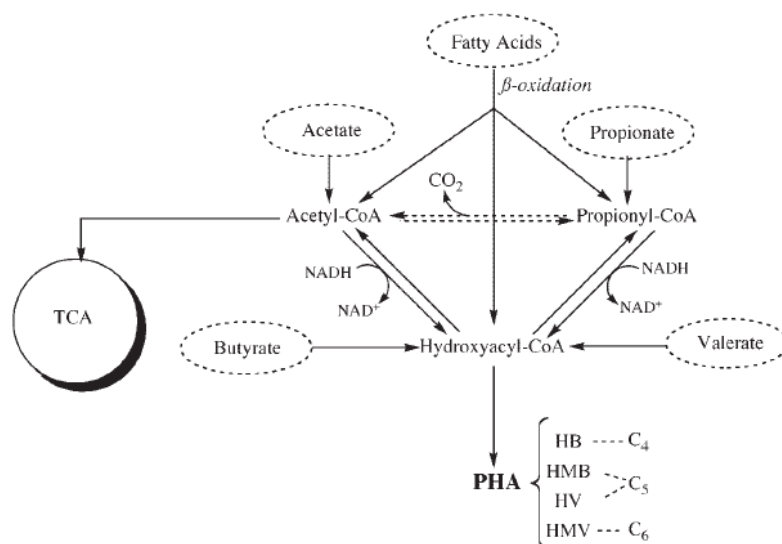
(2) กระบวนการสังเคราะห์โพลีไฮดรอกซีแอลคาโนเอตชนิดอื่น ๆ

โพลีเมอร์หลายชนิดสามารถถูกสังเคราะห์โดยจุลินทรีย์ ขึ้นอยู่กับสภาวะที่ใช้ในการเลี้ยง จุลินทรีย์ และ ชนิดของสารอาหาร โดยทั่วไปจะยอมรับกันว่าโพลีเมอร์หลาย ๆ ชนิดถูกสร้างขึ้นมา เพื่อให้เซลล์สมดุลกับ Redox equivalents ที่ถูกผลิตออกมา และ ต้องการเพื่อเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นพีเอชเอ (Paul และ Liu, 2012)

เมื่อใช้กรดไพรูฟิโอนิกเป็นแหล่งคาร์บอน โมเลกุลของ Propionyl-CoA 1 โมเลกุล จะรวมตัวกับ 1 โมเลกุลของ Acetyl-CoA เกิดเป็น 3-ketovaleryl-CoA โมเลกุลนี้จะถูกรีดิวซ์ไปเป็น 3-hydroxyvalerate ซึ่งสามารถรวมอยู่ในโพลีเมอร์โดย PHA syntase ถ้ามี Acetyl-CoA หรือ สร้างมาจาก Propionyl-CoA ที่ถูกย่อยสลาย เอชบี มักจะถูกสร้างขึ้นมา เพราะเหตุนี้ ทั้งเอชบีและเอชวี มักจะถูกผลิตออกมาจากกรดไพรูฟิโอนิกแต่สัดส่วนของเอชวี/เอชบีจะเพิ่มขึ้นเมื่อระดับของกรดไพรูฟิโอนิกที่สูงขึ้นเมื่อเทียบกับ Acetyl-CoA โคโพลีเมอร์ของ P(3HB:3HV) (60:40) ได้มาจากการใช้กรดไพรูฟิโอนิกเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียว เมื่อ Propionyl-CoA 2 โมเลกุลรวมตัวกัน จะผลิต 3-hydroxy-2-methylvaleryl-CoA ออกมา ทำให้เกิด Poly(3-hydroxy-2-methylvalerate) (Paul และ Liu, 2012)

เมื่อใช้กรดบิวทิริก และ กรดวาเลอริกเป็นแหล่งคาร์บอน โดยบิวทิเรตจะทำให้เกิดการผลิตพีเอชบี ในขณะที่วาเลอเรตถูกเปลี่ยนไปเป็นทั้งพีเอชบีและพีเอชวี เมื่อใช้วาเลอเรตเป็นสารตั้งต้นแทนกรดไพรูฟิโอนิก เปอร์เซ็นต์ของเอชวีในโพลีเมอร์จะเพิ่มขึ้น ยกตัวอย่างเช่นเมื่อใช้กรดวาเลอริกเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียว *Ralstonia eutropha* สามารถสังเคราะห์โคโพลีเมอร์ที่มีเอชวีโมโนเมอร์มากถึง 90 เปอร์เซ็นต์โดยโมล (Paul และ Liu, 2012) โดย Metabolic pathway ที่เป็นไปได้สำหรับการสังเคราะห์โพลีเมอร์จากบิวทิเรตและวาเลอเรต คือ กรดบิวทิริกจะถูกเปลี่ยนไปเป็น Butyryl-CoA หลังจากนั้น Butyryl-CoA จะเปลี่ยนไปเป็น Hydroxybutyryl-CoA ให้ Acetyl-CoA ออกมา 2 หน่วยที่อาจถูกนำมาใช้ใน TCA cycle โดยส่วนของ Hydroxybutyryl-CoA จะถูกนำไปผลิตเอชบี วาเลอเรตจะถูกเปลี่ยนไปเป็น Valeryl-CoA ต่อจากนั้นจะถูกเปลี่ยนไปเป็น Hydroxyvaleryl-CoA สำหรับผลิตเอชวี (Lemosและคณะ, 2006)

การผลิตพีเอชเอสายกลาง (Medium chain length-hydroxyalkanoate) อาศัย 3 กระบวนการ คือ (1) วิธีการสังเคราะห์กรดไขมันที่เริ่มจากสารตั้งต้นขนาดเล็ก (The de novo fatty acid biosynthesis) (2) การย่อยสลายกรดไขมันโดย β -oxidation และ (3) การขยายสายโซ่โพลีเมอร์โดย Acyl-CoA ถูกขยายออกโดยการรวมตัวของ Acetyl-CoA



ภาพที่ 11 การผลิตพีเอชเอจากกรดไขมันต่างชนิดกัน

ที่มา : Diasและคณะ (2006)

2.4 ปัจจัยในการเดินระบบ

2.4.1 สารอาหาร

ต้นทุนค่าสารอาหาร คือ ต้นทุนหลักในการผลิตพีเอชเอในระบบการผลิตขนาดใหญ่ โดยคิดเป็นประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ของต้นทุนการผลิตพีเอชเอทั้งหมด ด้วยเหตุนี้กระบวนการที่ต้องการลดค่าใช้จ่าย จึงควรเลือกสารอาหารที่มีราคาถูก และสามารถมีประสิทธิภาพในการที่จุลินทรีย์จะนำมาใช้ในการสังเคราะห์พีเอชเอได้ในปริมาณที่สูง และคุณสมบัติของโพลีเมอร์ที่ได้ออกมามีความเหมาะสมสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมได้อย่างหลากหลาย ในระยะเวลา 10 ปีที่ผ่านมา ได้มีการทำการทดลองผลิตพีเอชเอโดยใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์ ซึ่งใช้แหล่งคาร์บอนที่มีราคาถูกหลากหลายประเภท เช่น แหล่งคาร์บอนที่สามารถนำกลับมาใช้ได้อีก ยกตัวอย่างเช่น กากของเสียจากการเกษตรกรรมและอุตสาหกรรม หรือผลพลอยได้จากอุตสาหกรรม เช่น แป้ง มันสำปะหลัง หางนม ไซโลส กากน้ำตาล มอลต์ และ ถั่วเหลือง เป็นต้น แต่ในปัจจุบันมีเฉพาะแค่กากน้ำตาลเท่านั้น ที่ถูกใช้ในภาคอุตสาหกรรมเพื่อการผลิตพีเอชบี (Diasและคณะ, 2006)

ของเสีย หรือ ผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมสามารถนำมาใช้กับกระบวนการเพาะเลี้ยง จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมสำหรับผลิตพีเอชเอ การผลิตพีเอชเอโดยใช้กากน้ำตาลมาเป็นวัตถุดิบ ต้องการ ขั้นตอนการหมักแบบไร้อากาศก่อนหน้านั้น เพื่อที่จะเปลี่ยนรูปจากน้ำตาลให้กลายเป็นกรดไขมัน ระเหยง่าย (Volatile fatty acid) (Diasและคณะ, 2006)

2.4.1.1 น้ำเสียสังเคราะห์

(1) อะซิเตท

อะซิเตท คือ หนึ่งในสารอาหารที่นิยมใช้กันมากสำหรับการศึกษาการผลิตพีเอชเอ โดยใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมภายใต้สภาวะที่มีอาหารเกินพอสลักับขาดแคลน โดยอะซิเตทจะถูก เปลี่ยนไปเป็นโฮโมโพลีเมอร์ของพีเอชบี อัตราการผลิตโพลีเมอร์และผลผลิตโพลีเมอร์ขึ้นอยู่กับสภาวะ ในการเดินระบบ อะซิเตทหมักจะเปลี่ยนรูปไปเป็นพีเอชบี ซึ่งพีเอชบีมีคุณสมบัติ มีความเป็นผลึกสูง แข็ง ทำให้เปราะแตกหักได้ง่าย การที่โพลีเมอร์ขาดความยืดหยุ่นนี้ทำให้จำกัดการนำไปประยุกต์ใช้ใน อุตสาหกรรม โดยโพลีเมอร์ที่มีคุณสมบัติสามารถหลอมเป็นรูปร่างต่าง ๆ ได้ มีความอ่อนตัว ง่ายต่อ การนำไปขึ้นรูป และ แข็งแรง สามารถทำได้โดยการรวมหน่วยเอชวีเข้าไปในสายโพลีเมอร์ โดย โคลิโพลีเมอร์ของเอชบีและเอชวี สามารถสังเคราะห์โดยแบคทีเรียโดยใช้กรดไขมันระเหยง่ายตัวอื่น ๆ เช่น โพรพิโอเนต บิวทิเรต และ วาเลอเรท (Diasและคณะ, 2006)

จากการศึกษาของ Dionisiและคณะ (2004) ได้ทำการศึกษาการผลิตพีเอชเอจาก กรดอินทรีย์ โดยใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมในตะกอนจุลินทรีย์ส่วนเกินจากระบบบำบัดน้ำเสียทาง ชีวภาพ ภายใต้สภาวะที่มีอาหารเกินพอสลักับขาดแคลน พบว่าเมื่อใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน อย่างเดียว จุลินทรีย์จะผลิตโฮโมโพลีเมอร์ของพีเอชบีจากกรดอะซิติกออกมาโดยมี Acetyl-CoA ที่ จำเป็นสำหรับการสร้าง 3-hydroxybutyryl-CoA ถูกสร้างโดยตรงจากอะซิเตท

(2) โพรพิโอเนต

โพรพิโอเนตจะผลิตโฮโมโพลีเมอร์ของพีเอชวี โคลิโพลีเมอร์ของ P(HB/HV) หรือ เทอร์โพลีเมอร์ของ P(HB/HV/HMV) อย่างไรก็ตามจะได้เอชวีเป็นส่วนประกอบหลักของโพลีเมอร์ที่ ผลิตได้จากโพรพิโอเนต โดยการสร้าง Hydroxybutyryl-CoA ที่เป็นสารตั้งต้นของหน่วยเอชบี จาก การรวมตัวกันของ Acetyl-CoA 2 โมเลกุล โดยส่วนประกอบของโพลีเมอร์ที่แตกต่างกันที่พบได้ใน งานวิจัยหลาย ๆ งาน อาจจะเนื่องมาจากโครงสร้างกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่แตกต่างกัน

จากการศึกษาของ Dionisiและคณะ (2004) ได้ทำการศึกษาการผลิตพีเอชเอจาก กรดอินทรีย์ โดยใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมในตะกอนจุลินทรีย์ส่วนเกินจากระบบบำบัดน้ำเสียทาง

ชีวภาพภายใต้สภาวะที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน พบว่าเมื่อใช้โพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียว จุลินทรีย์จะผลิตโฮโมโพลีเมอร์ของพีเอชวีจากกรดโพรพิโอนิกออกมา

(3) บิวทิเรต และ วาเลอเรท

นอกจากอะซิเตท และ โพรพิโอเนตแล้ว กรดไขมันระเหยง่ายชนิดอื่นๆ เช่น บิวทิเรต และ วาเลอเรท ก็เป็นผลิตภัณฑ์ที่สำคัญจากการหมักแบบไร้อากาศของคาร์โบไฮเดรตอีกด้วย (Lemosและคณะ, 2006)

บิวทิเรต จะถูกเปลี่ยนไปเป็นโฮโมโพลีเมอร์ของพีเอชบี โดยผลผลิตโพลีเมอร์ที่ได้จากการใช้บิวทิเรตเป็นแหล่งคาร์บอนมีค่าน้อยกว่าตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตท แต่มีค่าสูงกว่าตะกอนจุลินทรีย์ที่ถูกเลี้ยงด้วยโพรพิโอเนต วาเลอเรท จะสามารถผลิตเทอร์โพลีเมอร์ของ P(HB/HV/HMV) โดยกระบวนการสังเคราะห์พีเอชเอของวาเลอเรทต้องผ่านกระบวนการ Decarboxylation เช่นเดียวกับโพรพิโอเนต ดังนั้นจึงอาจอธิบายได้ว่าทำไมผลผลิตโพลีเมอร์ที่ได้จากทั้งโพรพิโอเนตและวาเลอเรทจึงมีค่าต่ำเช่นเดียวกัน (Diasและคณะ, 2006)

ซึ่งกรดไขมันระเหยง่ายที่ประกอบด้วยจำนวนคาร์บอนอะตอมเลขคู่ (Even number carbon source) ส่วนมากจะสร้างเอชบีโมโนเมอร์ออกมา ในขณะที่กรดไขมันระเหยง่ายที่ประกอบด้วยจำนวนคาร์บอนอะตอมเลขคี่ (Odd number carbon source) จะสร้างโคโพลีเมอร์ที่ประกอบด้วยเอชวีโมโนเมอร์ออกมา (Changและคณะ, 2012)

การใช้สารอาหารหลายชนิดผสมกันโดยทั่วไปจะใช้เพื่อที่จะผลิตโคโพลีเมอร์ที่มีส่วนประกอบของโมโนเมอร์แตกต่างกัน โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อการปรับปรุงคุณสมบัติทางเชิงกลของพีเอชเอที่สังเคราะห์ขึ้นมาได้ ในกระบวนการที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน อะซิเตทและโพรพิโอเนตผสมกันในอัตราส่วน 50:50 โดยโมลได้ถูกเปลี่ยนไปเป็นโคโพลีเมอร์ของ P(HB/HV) ในสัดส่วนเอชวีต่อเอชบี 51:49 โดยโมล (Lemosและคณะ, 2006) โดยปริมาณของเอชวีต่อโมลของคาร์บอนที่ถูกใช้ไปสูงขึ้นเมื่อใช้อะซิเตทและโพรพิโอเนตควบคู่กันไปมากกว่าที่จะใช้โพรพิโอเนตอย่างเดียว เพราะว่าเมื่อมีทั้งสองสารอาหาร Acetyl-CoA จะเป็นที่ต้องการสำหรับสังเคราะห์เอชวี ซึ่งสามารถผลิตได้โดยตรงจากอะซิเตท และปล่อย Propionyl-CoA จำนวนมากที่ใช้สำหรับสังเคราะห์ Hydroxyvaleryl-CoA ดังแสดงในภาพที่ 11

นอกจากกรดไขมันระเหยง่ายแล้ว แหล่งคาร์บอนชนิดอื่น เช่น แล็กแทท เอทานอล และ กลูตาเมท ก็สามารถถูกเปลี่ยนไปเป็นพีเอชบีในกระบวนการที่มีการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลนได้ (Dionisiและคณะ, 2004)

ตารางที่ 4 การผลิตพีเอชเอจากจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมโดยใช้น้ำเสียจริงและสารอาหารชนิดอื่น ๆ เป็นแหล่งคาร์บอน

สารอาหาร	ส่วนประกอบของพีเอชเอ (HB : HV) (%mol)	ปริมาณพีเอชเอ (%)	อ้างอิง
Fermented olive mill effluent	96 : 4	54	Dionisiและคณะ (2005)
Fermented palm oil mill effluent	N/A	44.54	Dinและคณะ (2006)
Fermented paper mill wastewater	39 : 61	48	Bengtssonและคณะ (2008)
Tomato cannery wastewater	N/A	20	Liuและคณะ (2008)
Fermented sugar molasses	83 : 17	74.6	Albuquerque, Torres, และคณะ (2010)
Glycerol	100 : 0	67	Moralejo-Garateและคณะ (2011)
Fermented paper mill wastewater	N/A	77	Jiangและคณะ (2012)
Nonanoic acid	N/A	48.6	Leeและคณะ (2011)
Fermented Olive oil mill pomace	N/A	39	Wallerและคณะ (2012)
Pyrolysis by-products (Bio-oil resulting from the fast-pyrolysis of chicken beds)	70 : 30	9.2	Moita และ Lemos (2012)

N/A = ไม่มีข้อมูล

2.4.1.2 น้ำเสียจริงและสารอาหารชนิดอื่น ๆ

การผลิตพีเอชเอโดยจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม สามารถที่จะผลิตโดยใช้สารอาหารจากสารอินทรีย์ที่สามารถนำกลับมาใช้ได้ใหม่ได้ ได้แก่ น้ำเสียจากอุตสาหกรรมต่าง ๆ โดยจากงานวิจัยที่ผ่านมาได้แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ของการผลิตพีเอชเอจากจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมโดยใช้กรดไขมันระเหยง่ายและสารอาหารที่มีความซับซ้อนมากขึ้น ซึ่งรวมถึงน้ำเสียจากอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น น้ำเสียจากโรงงานอาหาร น้ำมันมะกอก น้ำมันปาล์ม กากน้ำตาล โรงงานกระดาษ โรงงานผลไม้

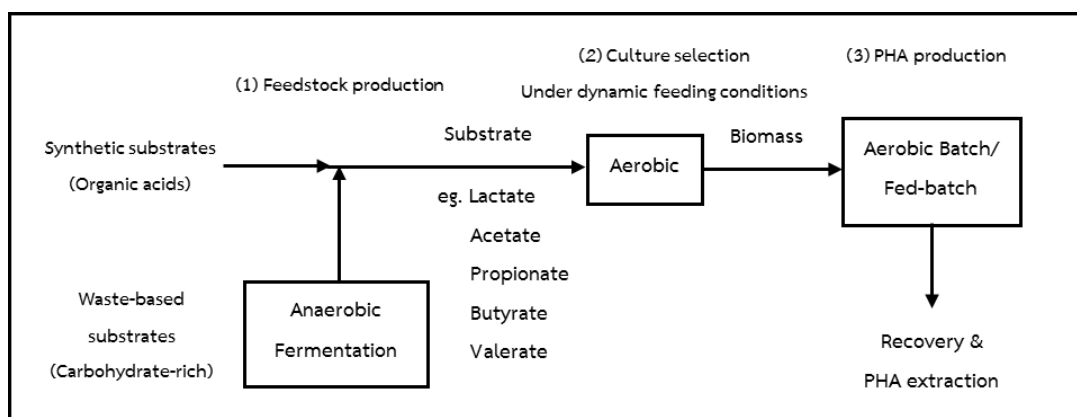
โรงงานมะเขือเทศกระป๋อง และน้ำเสียชุมชน โดยน้ำเสียจากอุตสาหกรรมต่าง ๆ เหล่านี้ สามารถที่จะนำไปใช้ในการผลิตพีเอชเอโดยจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม แต่ก่อนหน้านั้นจะต้องมีกระบวนการหมักแบบไร้อากาศก่อนเพื่อเปลี่ยนสารอินทรีย์ในน้ำเสียให้เป็นกรดไขมันระเหยง่ายที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ ซึ่งส่วนประกอบของกรดไขมันระเหยง่ายที่ได้จะขึ้นอยู่กับประเภทของน้ำเสีย การใช้น้ำเสียจากอุตสาหกรรมต่าง ๆ เป็นวัตถุดิบในการผลิตพีเอชเอ เป็นแหล่งคาร์บอนที่มีต้นทุนถูกกว่ากลูโคสและโพर्फิโธเนตที่ใช้ในกระบวนการผลิตโพลีเมอร์ชีวภาพแบบเดิม (Dionisi และคณะ, 2004) ซึ่งการใช้น้ำเสียจริงจากอุตสาหกรรมมาใช้เพื่อผลิตพีเอชเอยังอยู่ในขั้นตอนการศึกษาความเป็นไปได้และพัฒนาต่อไป

2.4.2 รูปแบบของกระบวนการสำหรับผลิตพีเอชเอจากจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมโดยการให้อาหารแบบเกินพอสลักับขาดแคลน

กระบวนการสำหรับผลิตพีเอชเอจากจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมโดยการให้อาหารแบบเกินพอสลักับขาดแคลน มักจะเดินระบบโดยต้องการขั้นตอน 2 - 3 ขั้นตอน ขึ้นอยู่กับประเภทของสารอาหารที่ใช้เป็นวัตถุดิบ

กระบวนการ 2 ขั้นตอน (Two-stage PHA production process) ประกอบด้วย ขั้นตอนการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีความสามารถสูงในการสะสมพีเอชเอภายใต้สภาวะที่มีการให้อาหารแบบเกินพอสลักับขาดแคลน แล้วตามด้วยขั้นตอนการผลิตและสะสมพีเอชเอในถังปฏิกรณ์แบบแบทช์ ซึ่งจุลินทรีย์ที่ถูกคัดเลือกในขั้นตอนการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีความสามารถสูงในการสะสมพีเอชเอแล้วนำมาทำการสะสมพีเอชเอต่อในขั้นตอนการผลิตและสะสมพีเอชเอ จุลินทรีย์จะสามารถสะสมพีเอชเอได้มากขึ้น หลังจากนั้นพีเอชเอที่ผลิตได้ในขั้นตอนการสะสมพีเอชเอจะถูกนำไปสกัดและทำให้บริสุทธิ์ต่อไป

กระบวนการ 2 ขั้นตอนนี้ จะนำไปประยุกต์ใช้เมื่อกรดอินทรีย์ เช่น อะซิเตท โพर्फิโธเนต บิวทิเรต วาเลอเรท หรือ แลกเตท เป็นวัตถุดิบในการผลิตพีเอชเอ แต่ถ้าใช้น้ำเสียจริงเป็นวัตถุดิบในการผลิตพีเอชเอ เช่น น้ำเสียจากโรงงานกระดาษ น้ำเสียจากโรงงานมะเขือเทศกระป๋อง เป็นต้น จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมภายใต้สภาวะที่มีอาหารเกินพอสลักับขาดแคลนมักจะเก็บสะสมพีเอชเอได้ไม่คงที่เมื่อใช้สารอาหารที่เป็นสารประกอบน้ำตาล ดังนั้นจึงต้องมีขั้นตอนการหมักแบบไร้อากาศ (Acidogenic fermentation) ก่อน เพื่อที่จะเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตไปเป็นกรดไขมันระเหยง่ายและกรดคาร์บอกซิลิกอื่น ๆ ที่มีความเหมาะสมสำหรับใช้ในการสะสมพีเอชเอต่อไป ซึ่งถึงหมักแบบไร้อากาศนี้สามารถที่จะนำมาไว้ก่อนขั้นตอนการคัดเลือกและขั้นตอนการสะสม โดยรวมแล้วเรียกกระบวนการนี้ว่ากระบวนการ 3 ขั้นตอน (Three-stage PHA production process) (Serafim, Lemos, Albuquerque, และคณะ, 2008)



ภาพที่ 12 กระบวนการ 3 ขั้นตอนสำหรับผลิตพีเอชเอโดยใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม
ภายใต้สภาวะที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน

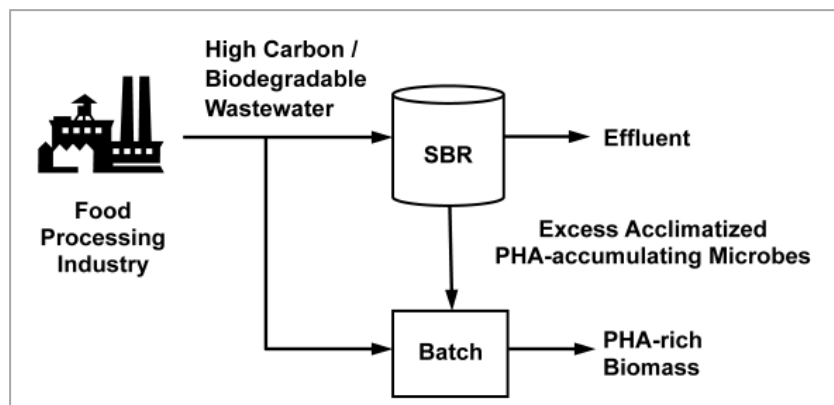
ที่มา : ดัดแปลงจาก Serafim, Lemos, Albuquerque, และคณะ (2008)

2.4.3 รูปแบบของถังปฏิกรณ์สำหรับผลิตพีเอชเอจากจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมโดยการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน

รูปแบบของถังปฏิกรณ์ที่นิยมใช้ในการผลิตพีเอชเอจากจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมภายใต้สภาวะที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน มี 2 รูปแบบ คือ (Serafim, Lemos, Albuquerque, และคณะ, 2008)

1. ถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท (Sequencing batch reactors; SBR)

ถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท (Sequencing batch reactors; SBR) เป็นถังปฏิกรณ์ที่นิยมใช้โดยทั่วไปในการผลิตพีเอชเอจากจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม เป็นระบบที่มีขนาดเล็ก โดย 1 รอบของการเดินระบบภายใต้สภาวะที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลนสามารถจะดำเนินการได้ในถังเดียว ถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเทคือถังปฏิกรณ์ในอุดมคติสำหรับใช้คัดเลือกกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสะสมพีเอชเอได้สูง นอกจากนี้ถังปฏิกรณ์ประเภทนี้ยังง่ายต่อการควบคุมและสามารถดัดแปลงได้ง่าย สามารถที่จะเปลี่ยนแปลงสภาวะที่ใช้ในการเดินระบบ เช่น รอบของการเติมอาหาร หรือ รอบของการเดินระบบได้อย่างสะดวกและรวดเร็ว (Reisและคณะ, 2003)

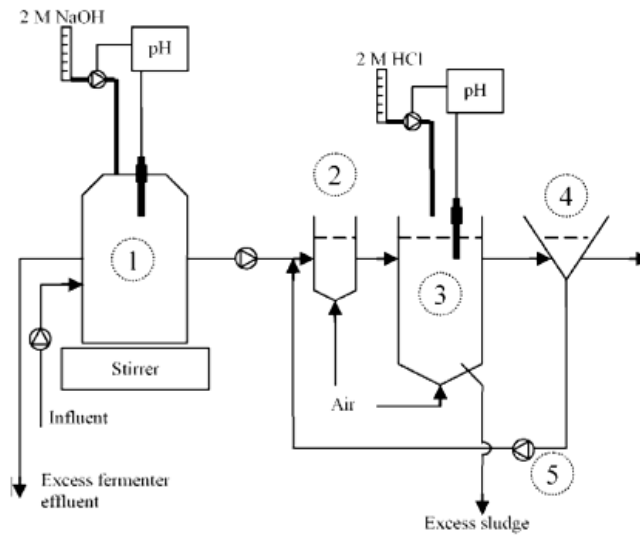


ภาพที่ 13 กระบวนการผลิตพีเอชเอจากน้ำเสียของโรงงานมะเขือเทศกระป๋อง
โดยใช้ถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท
ที่มา : Liu และคณะ (2008)

2. ถังปฏิกรณ์ที่เดินระบบแบบต่อเนื่อง (Continuous reactors)

ถังปฏิกรณ์ที่เดินระบบแบบต่อเนื่อง (Continuous reactors) มีการนำมาใช้เพื่อผลิตพีเอชเอจากจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมภายใต้สภาวะที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน ยกตัวอย่างกระบวนการที่ใช้ในการศึกษาของ Bengtsson และคณะ (2008) เพื่อผลิตพีเอชเอโดยใช้น้ำเสียของโรงงานกระดาษ โดยระบบนี้ประกอบด้วย 2 ถังปฏิกรณ์วางต่อเนื่องกันเป็นลำดับแล้วตามด้วยถังตกตะกอนเลียนแบบองค์ประกอบของระบบบำบัดน้ำเสียแบบแอกติเวเต้ดสลัดจ์ ในถังแรกจะจำลองให้เป็นช่วงที่มีอาหารเกินพอ (Feast phase) โดยระยะเวลาที่เก็บน้ำ (Hydraulic retention time; HRT) ถูกกำหนดขึ้นมาเพื่อที่จะทำให้มั่นใจว่าไม่มีแหล่งคาร์บอนออกไปยังถังที่ 2 โดยในถังที่ 2 นี้ จะจำลองให้เป็นช่วงที่มีอาหารขาดแคลน (Famine phase)

Albuquerque, Concas, และคณะ (2010) ได้ทำการผลิตพีเอชเอจากตะกอนจุลินทรีย์ส่วนเกินโดยใช้กากน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอน และใช้ระบบแบบถังกวนต่อเนื่อง 2 ขั้นตอน (2-stage CSTR system) ในการคัดเลือกจุลินทรีย์กลุ่มที่สะสมพีเอชเอ พบว่าระบบนี้สามารถสะสมพีเอชเอได้สูงถึง 61 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักเซลล์แห้ง



ภาพที่ 14 ถึงปฏิกรณ์ที่เดินระบบแบบต่อเนื่อง เพื่อผลิตพีเอชเอโดยใช้น้ำเสียของโรงงานกระดาษ ประกอบด้วย (1) ถังหมักแบบไร้อากาศ (Acidogenic fermenter) (2) ถังคัดเลือกพันธุ์ (Selector)

(3) ถังปฏิกรณ์หลัก (Main reactor) (4) ถังตกตะกอน (Clarifier)

และ (5) ปั๊มสูบตะกอน (Sludge return pump)

ที่มา : Bengtsson และคณะ (2008)



ภาพที่ 15 กระบวนการ 3 ขั้นตอนในการผลิตพีเอชเอจากกากน้ำตาล

ที่มา : Albuquerque, Concas, และคณะ (2010)

2.4.4 สถานะที่ใช้ในการเดินระบบ

นอกจากนี้ปริมาณพีเอชเอยังขึ้นอยู่กับสถานะที่ใช้ในการเดินระบบถึงปฏิกรณ์ เช่น อัตราการรับภาระสารอินทรีย์ อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน เวลาเก็บกักตะกอน พีเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย และ อุณหภูมิ เป็นต้น

2.4.4.1 อัตราการรับภาระสารอินทรีย์ (Organic loading rate; OLR)

จากการศึกษาของ Dionisi และคณะ (2005) ได้ทำการศึกษากการผลิตพีเอชเอจากจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมในสถานะที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน โดยศึกษาผลของอัตราการรับภาระสารอินทรีย์ที่มีต่อพีเอชเอที่ผลิตได้ โดยทำการทดลองใช้สารอินทรีย์ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันอยู่ในช่วงระหว่าง 8.5 - 31.25 กรัมซีโอดีต่อลิตรต่อวัน พบว่าเมื่ออัตราการรับภาระสารอินทรีย์เพิ่มขึ้น จะทำให้จุลินทรีย์ในระบบเพิ่มขึ้นด้วย และยังทำให้อัตราการผลิตโพลีเมอร์ลดลง การที่อัตราการผลิตโพลีเมอร์ลดลงมีความสัมพันธ์กับช่วงที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลนที่ต่างกัน โดยผลการทดลองพบว่าที่อัตราการรับภาระสารอินทรีย์ 20 กรัมซีโอดีต่อลิตรต่อวัน ทั้งปริมาณจุลินทรีย์และปริมาณพีเอชเอที่เก็บสะสมมีค่าสูง แต่ที่อัตราการรับภาระสารอินทรีย์สูง ๆ ทำให้กระบวนการไม่เสถียรและการทำงานของระบบลดลงอย่างรวดเร็ว

จากการศึกษาของ Villano และคณะ (2010) ได้ทำการศึกษาผลของอัตราการรับภาระสารอินทรีย์ต่อการผลิตพีเอชเอโดยจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม โดยทำการทดลองใช้อัตราการรับภาระสารอินทรีย์ในช่วงระหว่าง 8.5 - 40.8 กรัมซีโอดีต่อลิตรต่อวัน พบว่าอัตราการผลิตโพลีเมอร์และผลผลิตโพลีเมอร์ที่สูงได้มาจากค่าอัตราการรับภาระสารอินทรีย์ต่ำที่สุดคือ 8.5 กรัมซีโอดีต่อลิตรต่อวัน ในทางตรงกันข้ามที่ค่าอัตราการรับภาระสารอินทรีย์สูง อัตราการผลิตโพลีเมอร์ และผลผลิตโพลีเมอร์จะต่ำ ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าความสามารถในการเก็บสะสมโพลีเมอร์ของจุลินทรีย์จะลดลงเมื่ออัตราการรับภาระสารอินทรีย์เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Lemos และคณะ (2008) ที่ได้ทำการศึกษาผลของอัตราการรับภาระสารอินทรีย์ต่อการผลิตพีเอชเอโดยใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าถึงปฏิกรณ์ที่ใช้อัตราการรับภาระสารอินทรีย์เป็น 2 เท่าของอีกถึงปฏิกรณ์ ไม่ได้ทำให้ความสามารถในการสะสมพีเอชเอดีขึ้น

2.4.4.2 ไนโตรเจน (Nitrogen)

ไนโตรเจน คือ ธาตุอาหารหลัก แบคทีเรียจะนำธาตุไนโตรเจนไปใช้เป็นวัตถุดิบในการสังเคราะห์โปรตีน และส่วนประกอบต่าง ๆ ของเซลล์ เช่น เอนไซม์ DNA RNA เป็นต้น

จุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตในสถานะที่มีไนโตรเจนจำกัดหรือขาดแคลน มีแนวโน้มที่จะผลิตแหล่งไขมันหรือคาร์โบไฮเดรตไว้ภายในเซลล์มากขึ้น (Liu และคณะ, 2008) โดยผลของความเข้มข้นของ

ไนโตรเจนที่มีต่อการสะสมพีเอชเอ พบว่าความเข้มข้นของไนโตรเจนต่ำ ๆ จะสามารถสะสมพีเอชเอได้สูงขึ้น และถ้าความเข้มข้นของไนโตรเจนสูงขึ้น จุลินทรีย์จะเจริญเติบโตได้มากขึ้น แต่จะไม่สะสมพีเอชเอ (Venkateswar Reddy และ Venkata Mohan, 2012) โดย Du และคณะ (2001) ได้อธิบายไว้ว่าภายใต้สภาวะที่มีไนโตรเจนเกินพอ ความเข้มข้นของ Acetyl-CoA (สารตั้งต้นสำหรับการสังเคราะห์พีเอชเอ) ภายในเซลล์จะต่ำและเมื่อเข้าสู่ TCA cycle ปฏิกิริยา Citrate synthase จะปล่อย CoASH เป็นจำนวนมากซึ่งจะไปยับยั้งปฏิกิริยา 3-ketothiolase condensation ที่ทำให้ Acetyl-CoA เปลี่ยนไปเป็น Acetoacetyl-CoA ดังนั้นจึงทำให้ไปยับยั้งการสังเคราะห์พีเอชเอด้วย

จากการศึกษาของ Wen และคณะ (2010a) ได้ทำการศึกษาผลของการจำกัดไนโตรเจนต่อการผลิตพีเอชเอ ในขั้นตอนการทดลองแบบแบทช์ (Batch experiment) เพื่อศึกษาความสามารถในการสะสมพีเอชเอ โดยทำการทดลองที่ค่า C/N ratio 20 60 100 125 และ 180 โดยน้ำหนัก พบว่าเมื่อค่า C/N ratio เพิ่มขึ้น พีเอชเอที่สะสมก็มากขึ้นตามไปด้วย โดยปริมาณของพีเอชเอสูงสุดได้มาจากสภาวะที่มีค่า C/N ratio 125 ซึ่งสามารถสะสมพีเอชเอได้สูงสุด 59 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง และพบว่าสัดส่วนของพีเอชเอต่อพีเอชเอ (PHB/PHA ratio) มีค่าเพิ่มขึ้นจาก 0.64 ถึง 0.94 เมื่อ C/N ratio เพิ่มขึ้นจาก 20 ถึง 180 หมายความว่าจุลินทรีย์มีแนวโน้มที่จะผลิตพีเอชเอมากกว่าพีเอชวี ภายใต้สภาวะที่มีการจำกัดสารอาหาร แม้ว่าเปอร์เซ็นต์การสะสมพีเอชเอในจุลินทรีย์จะสูงภายใต้สภาวะที่จำกัดไนโตรเจน แต่ความเข้มข้นของเซลล์จุลินทรีย์ในระบบจะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงท้ายของการทดลอง และมีจุลินทรีย์กลุ่มเส้นใย (Filamentous microorganisms) เกิดขึ้นเป็นจำนวนมากในระบบ ซึ่งเป็นผลมาจากค่า C/N ratio ที่สูงในระบบซึ่งไม่เหมาะสมสำหรับจุลินทรีย์ในการเจริญเติบโตของเซลล์และกระบวนการเมตาบอลิซึม

จากการศึกษาของ Ince และคณะ (2012) ได้ทำการศึกษาผลของการขาดแคลนไนโตรเจนระหว่างการเดินระบบต่อการสะสมพีเอชเอ ในขั้นตอนการทดลองแบบแบทช์ (Batch experiment) เพื่อศึกษาความสามารถในการสะสมพีเอชเอ ทำการทดลองโดยใช้ความเข้มข้นของไนโตรเจน 36 และ 6 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าภายใต้สภาวะที่มีไนโตรเจนเกินพอ ผลผลิตของโพลีเมอร์ที่เก็บสะสมมีค่า 0.43 Cmmol PHA/Cmmol substrate ในขณะที่ภายใต้สภาวะที่มีไนโตรเจนต่ำ ๆ ได้ค่าผลผลิตของโพลีเมอร์ที่เก็บสะสม 0.61 Cmmol PHA/Cmmol substrate แสดงให้เห็นว่าการจำกัดไนโตรเจนทำให้ความสามารถในการสะสมพีเอชเอของจุลินทรีย์สูงขึ้น

จากการศึกษาของ Venkateswar Reddy และ Venkata Mohan (2012) ได้ทำการศึกษาผลของความเข้มข้นของสารอาหารที่มีต่อการผลิตพีเอชเอ ในขั้นตอนการทดลองแบบแบทช์ (Batch experiment) เพื่อศึกษาความสามารถในการสะสมพีเอชเอ โดยทำการทดลองที่ความเข้มข้นของไนโตรเจน 100 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าจุลินทรีย์ที่ถูกเลี้ยงด้วยความเข้มข้นของ

ไนโตรเจนที่ต่ำที่สุดคือ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถสะสมพีเอชเอได้สูงสุด คือ 45.1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักเซลล์แห้ง

2.4.4.3 ฟอสฟอรัส (Phosphorus)

ฟอสฟอรัสมีความสำคัญในการใช้คาร์โบไฮเดรตและไขมันสำหรับผลิตพลังงานและสังเคราะห์โปรตีนสำหรับการเจริญเติบโต ซ่อมแซม และดำรงรักษาเซลล์ เป็นสารอนินทรีย์ฟอสเฟตใน ATP ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์โปรตีน ตลอดจนในการผลิตกรดนิวคลีอิก (DNA และ RNA) ซึ่งทำหน้าที่ถ่ายทอดรหัสพันธุกรรมให้ทุกเซลล์ ฟอสฟอรัสเป็นสารที่จำเป็นสำหรับการรักษาความสามารถในการต้านทานการเปลี่ยนแปลงพีเอชของเซลล์ และควบคุมการเปลี่ยนแปลงคาร์ดิออกซ์ (Venkateswar Reddy และ Venkata Mohan, 2012)

ฟอสฟอรัสมีแนวโน้มเช่นเดียวกับไนโตรเจนคือเมื่อความเข้มข้นของฟอสฟอรัสลดลง พบว่า จะสามารถสะสมพีเอชเอได้มากขึ้น และเมื่อความเข้มข้นของฟอสฟอรัสสูงขึ้นจะสามารถสะสมพีเอชเอได้น้อยลง ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสและไนโตรเจนที่ต่ำ ๆ มีความเหมาะสมสำหรับการเพิ่มความสามารถในการผลิตพีเอชเอ โดยเมื่อความเข้มข้นของฟอสฟอรัสและไนโตรเจนสูง ๆ ทำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีน แต่เมื่อฟอสฟอรัสขาดแคลน อัตราการสังเคราะห์โปรตีนจะลดลง และเปลี่ยนไปสะสมพีเอชเอแทน (Venkateswar Reddy และ Venkata Mohan, 2012)

จากการศึกษาของ Bengtsson และคณะ (2008) พบว่าเมื่อจำกัดฟอสฟอรัสในขั้นตอนการสะสมพีเอชเอ ทำให้สามารถสะสมพีเอชเอได้สูงถึง 48.2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง ส่วนที่มีฟอสฟอรัสเกินพอสามารถสะสมพีเอชเอได้เพียง 31.9 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง

จากการศึกษาของ Venkateswar Reddy และ Venkata Mohan (2012) ได้ทำการศึกษาผลของความเข้มข้นของสารอาหารที่มีต่อการผลิตพีเอชเอ ในขั้นตอนการทดลองแบบแบทช์ เพื่อศึกษาความสามารถในการสะสมพีเอชเอ โดยทำการทดลองที่ความเข้มข้นของฟอสฟอรัส 50 100 และ 150 มิลลิกรัมต่อลิตร จากผลการทดลองพบว่า จุลินทรีย์ที่ถูกเลี้ยงด้วยความเข้มข้นของฟอสฟอรัสที่ต่ำที่สุดคือ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถสะสมพีเอชเอได้สูงสุดคือ 54.2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง

แม้ว่าในการศึกษาที่มีการจำกัดฟอสฟอรัสจะทำให้การสะสมพีเอชเอของจุลินทรีย์สูงขึ้น แต่ยังคงต่ำกว่าการสะสมพีเอชเอของจุลินทรีย์ที่มีการจำกัดไนโตรเจน การที่จำกัดไนโตรเจนแล้วทำให้จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้มากกว่ากรณีที่จำกัดฟอสฟอรัส เนื่องมาจากเมื่อระบบอยู่ในสภาวะที่ขาดแคลนไนโตรเจน จะทำให้เกิดการยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนของจุลินทรีย์และผลิตพีเอชเอออกมาเป็นผลิตภัณฑ์หลักเพราะขาดแคลนไนโตรเจน (Wen และคณะ, 2010a) แต่ฟอสฟอรัสไม่ได้เป็นส่วนประกอบของโปรตีน ดังนั้นจึงไม่มีความสำคัญต่อกระบวนการ Anabolism ของเซลล์ โดย

พอสฟอรัสเป็นส่วนหนึ่งของเยื่อหุ้มเซลล์ RNA และส่วนประกอบของนิวคลีโอไทด์ (Paul และ Liu, 2012)

2.4.4.4 อุณหภูมิ (Temperature)

อุณหภูมิเป็นพารามิเตอร์หนึ่งที่มีผลต่อการผลิตพีเอชเอจากจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม โดยอุณหภูมิที่สูงขึ้นเล็กน้อยก็สามารถที่จะเพิ่มอัตราเร็วของทุก ๆ ปฏิกิริยาได้ และพบว่า การเดินระบบถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท (SBR) ในขั้นตอนการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมพีเอชเอที่อุณหภูมิสูง เป็นวิธีที่สามารถเพิ่มความสามารถของจุลินทรีย์ในการสะสมพีเอชเอ (Johnson และคณะ, 2010)

จากการศึกษา Johnson และคณะ (2010) ได้ทำการศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อการผลิตพีเอชเอ โดยใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท (SBR) ช่วงระยะเวลาที่จุลินทรีย์มีอาหารเกินพอ (Feast phase) จะสั้น อัตราการใช้อะซิเตทและอัตราการสะสมพีเอชปีจะสูงมาก โดยสามารถสะสมพีเอชปีได้สูงถึง 84 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง ในการทดลองแบบแบทช์ซึ่งมีการเติมอาหารอย่างต่อเนื่อง ที่อุณหภูมิต่ำ 15 องศาเซลเซียส ช่วงระยะเวลาที่จุลินทรีย์มีอาหารเกินพอ (Feast phase) จะยาวขึ้น เพราะอัตราการใช้อะซิเตทต่ำและจุลินทรีย์จะใช้สารอาหารเพื่อนำไปเจริญเติบโตโดยตรงมากกว่าที่จะสะสมเป็นพีเอชปี ที่อุณหภูมิต่ำนี้ จุลินทรีย์จะมีความสามารถในการสะสมพีเอชปีต่ำ โดยสามารถสะสมพีเอชปีได้ 35 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง ส่วนที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชปีได้ 70 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง

2.4.4.5 พีเอช (pH)

พีเอชเป็นพารามิเตอร์ที่สำคัญสำหรับการผลิตพีเอชเอ ซึ่งสามารถที่จะเพิ่มการผลิตพีเอชเอได้ โดยการควบคุมค่าพีเอชในระบบ การปรับเปลี่ยนค่าพีเอชเริ่มต้นให้มีความเหมาะสมจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาวะในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และทำให้ผลผลิตการสะสมโพลีเมอร์เพิ่มขึ้น (Liu และคณะ, 2011)

จากการศึกษาของ Chua และคณะ (2003) ได้ทำการศึกษาผลของพีเอชต่อการผลิตพีเอชเอ จากตะกอนจุลินทรีย์ของระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน พบว่าที่ค่าพีเอช 6 ปริมาณพีเอชปีที่ได้มีค่าต่ำ และปริมาณพีเอชปีที่พีเอช 8 จะมากกว่าปริมาณพีเอชปีที่พีเอช 7

จากการศึกษาของ Dionisi และคณะ (2005) ได้ทำการศึกษาผลของพีเอชที่มีต่อการผลิตพีเอชเอโดยทำการทดลองในระบบแบบแบทช์ ทดลองที่ค่าพีเอชแตกต่างกันคือ 4.5 - 10.5 พบว่า อัตราการใช้สารอาหาร (Substrate removal rate) มีค่าสูงสุดที่พีเอช 7.5 และการทำงานของจุลินทรีย์ต่ำลงที่พีเอช 5.5 และจะทำงานได้เล็กน้อยที่พีเอช 4.5 และ 10.5 อัตราการสะสมพีเอชเอจะ

สูงสุดที่ค่าพีเอชปานกลางคือ 7.5 - 8.5 แต่อย่างไรก็ตามอัตราการผลิตพีเอชเอก็ยังคงสูงอยู่ที่พีเอชระหว่าง 6.5 - 9.5 และที่สำคัญพบว่าพีเอชมีผลโดยตรงต่อส่วนประกอบของโพลีเมอร์ที่ถูกเก็บสะสมโดยสัดส่วนของเอชวีโมโนเมอร์ในโพลีเมอร์ที่ถูกเก็บสะสมจะเพิ่มขึ้นเมื่อพีเอชเพิ่มขึ้นจากประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์โดยโมลที่พีเอช 5.5 ขึ้นไปจนถึง 30 เปอร์เซ็นต์โดยโมลที่พีเอช 9.5

จากการศึกษาของ Villano และคณะ (2010) ได้ทำการศึกษาผลของพีเอชที่มีต่อการผลิตพีเอชเอทั้งในส่วนของการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตพีเอชเอในถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท (SBR) และส่วนของการสะสมพีเอชเอในการทดลองแบบแบทช์ พบว่าในถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท อัตราการสะสมโคโพลีเมอร์ P(HB/HV) ลดลงจาก 389 mgPHA (as COD)/g non-polymer biomass (as COD)/h เหลือ 209 mgPHA (as COD)/g non-polymer biomass (as COD)/h และผลผลิตโคโพลีเมอร์ลดลงจาก 0.53 เหลือ 0.34 เมื่อพีเอชเพิ่มขึ้นจาก 7.5 - 9.5 ซึ่งอัตราการผลิตโพลีเมอร์และผลผลิตโพลีเมอร์สูงสุดได้มาจากค่าพีเอช 7.5 ส่วนในการทดลองแบบแบทช์ สัดส่วนของเอชวีในโพลีเมอร์จะสูงขึ้นเมื่อพีเอชเพิ่มขึ้น โดยสัดส่วนของเอชวีเพิ่มขึ้นถึง 48 เปอร์เซ็นต์โดยโมลที่พีเอช 9.5 สามารถอธิบายได้โดยที่พีเอชเพิ่มขึ้นจุลินทรีย์จะมีการปรับตัวต่อสิ่งแวดล้อมภายนอกโดยการรักษาพีเอชในไซโตพลาสซึมที่เหมาะสมกับการทำงานของเซลล์ ซึ่งทำให้เกิดกระบวนการปรับตัว รวมถึงการเพิ่มขึ้นของ ATP synthase ที่มี Acetyl-CoA สูง ซึ่งจะถูกนำไปใช้สำหรับสร้างพลังงานและสร้างจุลินทรีย์มากกว่าที่จะสังเคราะห์พีเอชปี ในขณะที่การสังเคราะห์พีเอชวีผ่านการรวมตัวกันของ Acetyl-CoA และ Propionyl-CoA จะเกิดขึ้นได้ดีกว่า โดยสัดส่วนของเอชวีสูงสุดในโคโพลีเมอร์ได้มาจากการเลี้ยงตะกอนจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเทที่พีเอช 8.5 และเปลี่ยนพีเอชไปเป็น 9.5 ในถังปฏิกรณ์แบบแบทช์

จากการศึกษาของ Liu และคณะ (2011) ได้ทำการศึกษาผลของพีเอชต่อการผลิตพีเอชปี โดยทำการทดลองในขั้นตอนการสะสมพีเอชเอ (Batch experiment) ทำการทดลองที่ค่าพีเอช 5.0 5.5 6.0 7.0 และ 8.0 พบว่าค่าความเข้มข้นของพีเอชปีสูงสุดและปริมาณพีเอชปีสูงสุดเพิ่มขึ้นเมื่อค่าพีเอชเพิ่มขึ้นจาก 5.0 ถึง 7.0 แต่จะลดลงเมื่อค่าพีเอชเพิ่มขึ้นจาก 7.0 ถึง 8.0 โดยที่ค่าพีเอชเท่ากับ 7.0 สามารถได้ปริมาณพีเอชปีสูงสุดคือ 67 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง

2.4.4.6 ออกซิเจนละลาย (Dissolved oxygen; DO)

จากการศึกษาของ Qu และ Liu (2009) ได้ทำการศึกษาผลของออกซิเจนละลายต่อการผลิตพีเอชปีจากตะกอนจุลินทรีย์ส่วนเกินภายใต้สภาวะที่มีอาหารเกินพอสลักับขาดแคลน โดยทำการทดลองที่ค่าออกซิเจนละลาย 10 20 40 และ 70 เปอร์เซ็นต์ออกซิเจนอิ่มตัว (% of air saturate) พบว่าอัตราการใช้ออกซิเจนและอัตราการสะสมพีเอชปีมีค่าสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของออกซิเจนละลายเพิ่มสูงขึ้นและจะสามารถผลิตพีเอชปีได้สูงสุด เมื่อความเข้มข้นของออกซิเจนละลายเพิ่มสูงขึ้น โดย

สามารถผลิตพีเอชบีได้ 25 Cmmol/L ภายใต้ออกซิเจนอิ่มตัว 70 เปอร์เซ็นต์ และ 17 Cmmol/L ภายใต้ออกซิเจนอิ่มตัว 10 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าที่ความเข้มข้นของออกซิเจนละลายสูง ๆ ทำให้ปริมาณของพีเอชบีเพิ่มสูงขึ้นได้ เนื่องมาจากการเพิ่มความเข้มข้นของออกซิเจนละลาย จะช่วยเพิ่มอัตราการใช้ออกซิเจนมากกว่าที่จะเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์จุลินทรีย์ ดังนั้นออกซิเจนจึงถูกใช้ไปเพื่อเปลี่ยนเป็นพีเอชบี เพื่อที่จะรักษาสมดุลของกระบวนการเมตาบอลิซึมในเซลล์ ซึ่งเป็นผลทำให้ปริมาณพีเอชบีเพิ่มสูงขึ้น โดยการที่มีความเข้มข้นของออกซิเจนละลายสูงหมายความว่ามีความถี่ได้รับอิเล็กตรอนเพียงพอที่สามารถนำไปใช้สำหรับผลิตพลังงานโดยจุลินทรีย์ในตะกอนส่วนเกิน เนื่องมาจากการนำออกซิเจนผ่านเข้าไปยังเยื่อหุ้มเซลล์ เป็นกระบวนการที่ต้องการพลังงาน

2.4.4.7 ระยะเวลาเก็บกักตะกอน (Solids retention time; SRT)

ในการศึกษาส่วนมากมักจะทำการทดลองที่เวลาเก็บกักตะกอน 10 วันในการผลิตพีเอชเอ จากจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม ซึ่งพัฒนามาจากกระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบแอกติเวเต็ดสลัดจ์ โดยจะใช้เวลาเก็บกักตะกอนนาน ๆ เพื่อลดปริมาณตะกอนในระบบ การยืดระยะเวลาเก็บกักตะกอนส่งผลให้ลดผลผลิตจุลชีพ (Biomass yield) ทั้งหมด ซึ่งมีข้อดีสำหรับระบบบำบัดน้ำเสีย แต่มีข้อเสียสำหรับระบบการผลิตพีเอชเอ โดยทำให้อัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ลดลงในช่วงระยะเวลาที่จุลินทรีย์มีอาหารเกินพอ ทำให้ลดอัตราการผลิตจุลชีพที่มีความสามารถสูงในการผลิตพีเอชบี ส่วนเวลาเก็บกักตะกอนสั้น ๆ ทำให้อัตราการผลิตจุลชีพสูงขึ้นและแทบจะไม่มี Inert biomass ในระบบ (Jiang, Hebly, และคณะ, 2011)

จากการศึกษาของ Lemos และคณะ (2008) พบว่าการเดินระบบที่เวลาเก็บกักตะกอน 1 วัน สามารถที่จะคัดเลือกจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญเติบโตได้รวดเร็วมากกว่าที่เวลาเก็บกักตะกอน 10 วัน แต่อัตราการใช้ออกซิเจนจำเพาะและอัตราการสะสมพีเอชเอจำเพาะที่เวลาเก็บกักตะกอน 1 วันจะต่ำกว่าที่เวลาเก็บกักตะกอน 10 วัน แสดงให้เห็นว่าที่เวลาเก็บกักตะกอนสั้น ๆ จะสามารถคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูง แต่อัตราการสะสมพีเอชเอต่ำ สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Beun และคณะ (2002) ที่พบว่าผลผลิตการสะสมพีเอชเอจะลดลงเมื่อเวลาเก็บกักตะกอนต่ำกว่า 2 วัน

2.4.4.8 อัตราส่วนของสารอาหารต่อจุลินทรีย์ (F/M ratio)

อัตราส่วนของสารอาหารต่อจุลินทรีย์ หรือ F/M ratio เป็นพารามิเตอร์ที่สำคัญที่มีผลต่อกระบวนการทางชีวภาพ โดยที่ F/M ratio สูง ๆ ปริมาณสารอาหารจะสูง ทำให้อัตราการใช้ออกซิเจนสูงขึ้น ช่วงที่จุลินทรีย์มีอาหารเกินพอ (Feast phase) สั้นขึ้น ในระหว่างนี้พีเอชเอจะถูกผลิตขึ้นมาอย่างต่อเนื่อง ภายใต้อาหารที่เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งก็คือ F/M ratio สูงขึ้น จุลินทรีย์จะนำอาหารมา

เก็บสะสมเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานภายในสำหรับเซลล์แทนที่จะเจริญเติบโต โดยเฉพาะถ้าอาหารสามารถเคลื่อนที่ผ่านเข้าไปยังเซลล์จุลินทรีย์และถูกย่อยสลายไปเป็นสารตั้งต้นในการผลิตโพลีเมอร์ได้ง่าย (Liu และคณะ, 2008)

2.4.4.9 ช่วงระยะเวลาที่จุลินทรีย์มีอาหารเกินพอต่อช่วงระยะเวลาที่จุลินทรีย์ขาดอาหาร (Feast/famine ratio)

การที่ช่วงของระยะเวลาที่จุลินทรีย์มีอาหารเกินพอ (Feast phase) สั้นลงและช่วงของระยะเวลาที่จุลินทรีย์ขาดอาหาร (Famine phase) ยาวขึ้น ทำให้เป็นการเพิ่มการคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีความสามารถสูงในการสะสมพืเอชเอ โดยสัดส่วนของช่วงระยะเวลาที่จุลินทรีย์มีอาหารเกินพอต่อช่วงระยะเวลาที่จุลินทรีย์ขาดอาหาร (Feast-to-famine ratio; F/F ratio) น้อย ๆ ทำให้ความสามารถในการผลิตพืเอชปีสูงขึ้น

จากการศึกษาของ Jiang, Heby, และคณะ (2011) ได้ทำการทดลองที่ค่า F/F ratio ต่ำกว่า 0.13 ซึ่งพบว่าความสามารถในการผลิตพืเอชปีของจุลินทรีย์สูงมาก โดยผลิตพืเอชปีได้สูงถึง 84 และ 90 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง

2.5 ลักษณะของโพลีเมอร์

ส่วนประกอบของพืเอชเอและความยาวของสายโพลีเมอร์ ขึ้นอยู่กับกรดไขมันระเหยที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอน โดยจุลินทรีย์ที่ถูกเลี้ยงด้วยกรดไขมันระเหยง่ายสายสั้น (Short chain fatty acids) มีแนวโน้มที่จะผลิตพืเอชเอสายสั้น (SCL-PHA) เช่น โอลิโพลีเมอร์ของพืเอชบีหรือพืเอชวี โคลโพลีเมอร์ของพืเอชบีและพืเอชวี หรือ เทอร์โพลีเมอร์ และเมื่อใช้กรดไขมันระเหยง่ายสายยาว (Longer chain fatty acids) เป็นแหล่งคาร์บอน จุลินทรีย์มีแนวโน้มที่จะผลิตพืเอชเอสายกลาง (MCL-PHA) (Dias และคณะ, 2006) พืเอชเอสายกลางมีระดับความเป็นผลึก (Degree of crystallinity) จุดหลอมเหลว (Melting point) และ อุณหภูมิเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (Glass transition temperature; Tg) ต่ำกว่าพืเอชเอสายสั้น ดังนั้นพืเอชเอสายกลางจึงเป็นโพลีเมอร์ที่มีคุณสมบัติเป็นอีลาสโตเมอร์ ส่วนพืเอชเอสายสั้นจะเป็นโพลีเมอร์ที่มีคุณสมบัติเป็นเทอร์โมพลาสติก (Lee และคณะ, 2011)

2.5.1 โพลีไฮดรอกซีบิวทิเรต (PHB)

โพลีไฮดรอกซีบิวทิเรต (PHB) เป็นพืเอชเอชนิดแรกที่ถูกค้นพบ และมีคุณสมบัติเป็นเทอร์โมพลาสติก สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ มีลักษณะที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobicity) และมีการซึมผ่านของออกซิเจนต่ำ (Chang และคณะ, 2012) และมีคุณสมบัติทางเชิงกลคล้ายคลึงกับโพลีโพรพิลีน โอลิโพลีเมอร์ของพืเอชบีมีคุณสมบัติที่มีความเป็นผลึกสูง โดยมีความเป็นผลึกอยู่ในช่วง 55 - 88

เปอร์เซ็นต์ มีความแข็งแรง เปราะแตกง่าย มีอุณหภูมิเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้วอยู่ในช่วง -5 - 5 องศาเซลเซียส มีจุดหลอมเหลวประมาณ 175 องศาเซลเซียส (Reisและคณะ, 2003) ซึ่งเข้าใกล้กับอุณหภูมิการสลายตัว ดังนั้นคุณสมบัติทางความร้อนของพีเอชบีอาจจะทำให้ไปเพิ่มความเปราะ ความแตกง่ายของโพลีเมอร์ได้ ทำให้เกิดการจำกัดการนำไปใช้ประโยชน์ทางอุตสาหกรรม (Changและคณะ, 2012) ยกตัวอย่างเช่น ค่าเปอร์เซ็นต์การยืดตัวก่อนขาด (Elongation at break) ของพีเอชบีจะอยู่ที่ประมาณ 2 - 10 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับค่าของโพลีโอเลฟินส์ที่สูงถึง 400 เปอร์เซ็นต์ (Albuquerqueและคณะ, 2011) ซึ่งการที่ค่าเปอร์เซ็นต์การยืดตัวก่อนขาดต่ำ หมายความว่าโพลีเมอร์นั้นจะมีคุณสมบัติการยืดหยุ่นที่ต่ำ แข็ง และ เปราะแตกง่าย

2.5.2 โพลีไฮดรอกซีบิวทิเรต-โค-โพลีไฮดรอกซีวาเลอเรท (PHB-co-PHV)

คุณสมบัติทางความร้อนของพีเอชบีสามารถที่จะถูกปรับปรุงได้โดยการรวมไฮดรอกซีวาเลอเรทหรือเอชวีโมโนเมอร์เข้าไปยังเอชบีโมโนเมอร์ ซึ่งการรวมตัวกันนี้ทำให้เกิดโคโพลีเมอร์ของโพลีไฮดรอกซีบิวทิเรต-โค-โพลีไฮดรอกซีวาเลอเรท ซึ่งการเพิ่มสัดส่วนของเอชวีจาก 0 ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ สามารถที่จะลดจุดหลอมเหลวของโคโพลีเมอร์ได้ แต่ถ้าสัดส่วนของเอชวีเพิ่มขึ้นจาก 50 ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ จุดหลอมเหลวจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้น โดยจุดหลอมเหลวที่น้อยที่สุดของโคโพลีเมอร์ได้มาจากสัดส่วนของเอชวี 40 - 50 เปอร์เซ็นต์โดยโมล ซึ่งจุดหลอมเหลวที่ต่ำนี้เหมาะกับการนำไปใช้ประโยชน์ในกระบวนการอุตสาหกรรมสำหรับการผลิตโพลีเมอร์ (Changและคณะ, 2012)

โคโพลีเมอร์ของเอชบีและเอชวี สามารถที่จะปรับปรุงคุณสมบัติทางเชิงกลของโพลีเมอร์ เพราะสามารถเพิ่มความแข็งแรง ความเหนียว และความยืดหยุ่น ที่มาจากการรวมตัวกันของหน่วยเอชวีในสายโพลีเมอร์ ซึ่งคุณสมบัติทางกายภาพและคุณสมบัติทางความร้อนของโคโพลีเมอร์ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของเอชวี โดยเมื่อสัดส่วนของเอชวีในโคโพลีเมอร์เพิ่มขึ้น จุดหลอมเหลว อุณหภูมิเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว น้ำหนักโมเลกุลโดยเฉลี่ยก็จะลดลง และลดระดับความเป็นผลึกของโพลีเมอร์ลงด้วย (Reisและคณะ, 2003) การรวมตัวกันของหน่วยโมโนเมอร์ชนิดอื่น ๆ นอกเหนือจากเอชวีในโคโพลีเมอร์ก็สามารถจะช่วยเพิ่มความยืดหยุ่นและทำให้สามารถนำไปขึ้นรูปได้ง่าย เนื่องจากความเป็นผลึกที่ลดลงและอุณหภูมิเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้วกับจุดหลอมเหลวต่ำลงด้วย (Diasและคณะ, 2006)

ตารางที่ 5 คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของโพลีโพรพิลีน และ โพลีไฮดรอกซีบิวทิเรต

พารามิเตอร์	โพลีโพรพิลีน (PP)	โพลีไฮดรอกซีบิวทิเรต (PHB)
อุณหภูมิการหลอมตัวของผลึก ($^{\circ}\text{C}$)	171 - 186	171 - 182
อุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว ($^{\circ}\text{C}$)	-15	5 - 10
ระดับความเป็นผลึก (%)	65 - 70	65 - 80
ความหนาแน่น (g/cm^3)	0.905 - 0.94	1.23 - 1.25
น้ำหนักโมเลกุล ($\times 10^{-5}$)	2.2 - 7	1 - 8
การกระจายตัวของขนาดโมเลกุล	5 - 12	2.2 - 3
ค่าการทนต่อแรงดัดโค้ง (GPa)	1.7	3.5 - 4
ค่าต้านทานแรงดึง (MPa)	39	40
ค่าเปอร์เซ็นต์การยืดตัวก่อนขาด (%)	400	6 - 8
การทนต่อแสงยูวี	แย	ดี
การทนต่อตัวทำละลาย	ดี	แย
การซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน ($\text{cm}^3/\text{m}^2 \cdot \text{atm} \cdot \text{d}$)	1700	45

ที่มา : Brandlและคณะ (1990)

2.6 การศึกษาคุณสมบัติทางความร้อนของโพลีเมอร์

2.6.1 สมบัติความเป็นผลึกและอสัณฐานของโพลีเมอร์

โพลีเมอร์ที่เป็นของแข็งจะมีสมบัติทางกายภาพหรือสัณฐานวิทยาแตกต่างจากสารประกอบของแข็งอื่น ๆ ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เนื่องจากโพลีเมอร์เป็นสารที่มีโมเลกุลใหญ่ มีสายโซ่และมวลโมเลกุลสูงมาก ดังนั้นโอกาสที่จะเกิดเป็นผลึกมีน้อย โพลีเมอร์ที่ไม่มีความเป็นผลึกเลยหรือไม่มีความเป็นระเบียบในผลึกเรียกว่า โพลีเมอร์อสัณฐาน (Amorphous polymers) โพลีเมอร์ส่วนใหญ่จะมีสมบัติร่วมกันทั้งของแข็งแบบผลึกและของแข็งอสัณฐาน ความเป็นผลึก (Crystallinity) ของโพลีเมอร์เกิดจากความมีระเบียบและการเรียงตัวอย่างสม่ำเสมอของสายโซ่ในโครงร่างผลึก โพลีเมอร์ต่างชนิดกันมีความเป็นผลึกแตกต่างกัน (อโนดาซ์ รัชเวทย์, 2550)

Semicrystalline polymers หมายถึงโพลีเมอร์ที่มีความเป็นผลึกบางส่วน โดยใช้ค่าดีกรีความเป็นผลึก (Degree of crystallinity) ของโพลีเมอร์ในการบอกค่าเปอร์เซ็นต์ค่าความสามารถในการเป็นผลึกสูงสุดของโพลีเมอร์ชนิดนั้น ๆ โพลีเมอร์ที่มีความเป็นผลึกอย่างสมบูรณ์ 100 เปอร์เซ็นต์

จะได้พบได้ยาก ทั้งนี้ค่าดีกรีความเป็นผลึกของโพลีเมอร์แต่ละชนิดขึ้นกับโครงสร้าง หมู่แทนที่ และแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุลของโพลีเมอร์

2.6.2 การเปลี่ยนสถานะของโพลีเมอร์

โพลีเมอร์สามารถเปลี่ยนสถานะได้เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิหรือความดัน โดยจะมีอุณหภูมิหลักที่สำคัญที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนสถานะอยู่ 2 อุณหภูมิ คือ อุณหภูมิการหลอมตัวของผลึก (Melting temperature, T_m) อุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (Glass transition temperature, T_g) (อโนดาร์ช รัชเวทย์, 2550)

2.6.2.1 อุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (Glass transition temperature, T_g)

อุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (Glass transition temperature, T_g) คือ อุณหภูมิที่โพลีเมอร์เปลี่ยนสถานะจากสถานะคล้ายแก้วเป็นสถานะคล้ายยางเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น หรือเปลี่ยนสถานะจากสถานะคล้ายยางเป็นสถานะคล้ายแก้วเมื่ออุณหภูมิลดลง การเปลี่ยนสถานะแบบนี้จะเกิดขึ้นกับบริเวณที่โมเลกุลมีการเรียงตัวกันไม่เป็นระเบียบคือบริเวณอสัณฐานของโพลีเมอร์ โมเลกุลของโพลีเมอร์ในสถานะคล้ายแก้วจะไม่มี การเคลื่อนไหว เนื่องจากมีพลังงานความร้อนที่ได้รับไม่เพียงพอเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นทำให้โมเลกุลมีพลังงานมากขึ้นจนถึงอุณหภูมิที่โมเลกุลของโพลีเมอร์มีพลังงานเพียงพอในการขยับโมเลกุลโดยการหมุนของแกนหลัก โดยโมเลกุลจะยังไม่สามารถเคลื่อนที่ผ่านซึ่งกันและกันได้ อุณหภูมินี้คืออุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (อโนดาร์ช รัชเวทย์, 2550)

การศึกษาอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้วของโพลีเมอร์ มีประโยชน์ในการเลือกโพลีเมอร์แต่ละชนิดไปประยุกต์ใช้งาน คือ งานที่ต้องการวัสดุที่มีความยืดหยุ่นหรือความเป็นอีลาสติกสูง ควรเลือกโพลีเมอร์ที่มีอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้วต่ำ ๆ ส่วนงานที่ต้องการวัสดุที่มีความแข็งสูง ควรเลือกใช้โพลีเมอร์ที่มีอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้วที่สูงขึ้น

2.6.2.2 อุณหภูมิการหลอมตัวของผลึก (Melting temperature, T_m)

อุณหภูมิการหลอมตัวของผลึก (Melting temperature, T_m) คือ อุณหภูมิที่โพลีเมอร์มีการเปลี่ยนสถานะจากของแข็งเป็นของเหลวหนืดเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น เนื่องจากผลึกถูกหลอมหรือเปลี่ยนสถานะจากของเหลวหนืดเป็นของแข็งเมื่ออุณหภูมิลดลง การเปลี่ยนสถานะแบบนี้จะเกิดขึ้นกับบริเวณที่โมเลกุลมีการเรียงตัวกันอย่างเป็นระเบียบ คือบริเวณผลึกของโพลีเมอร์ โดยที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิการหลอมตัวของผลึกของโพลีเมอร์ โพลีเมอร์จะมีลักษณะแข็งแต่ไม่เปราะ เนื่องจากมีผลึกอยู่ เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นโมเลกุลของโพลีเมอร์ได้รับพลังงานมากขึ้น จนแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลและ

ความเป็นผลึกถูกทำลายลง อุณหภูมินี้คืออุณหภูมิการหลอมเหลวของโพลีเมอร์ (อินดาซ์ รัชเวทย์, 2550)

การศึกษาอุณหภูมิการหลอมตัวของผลึกของโพลีเมอร์ มีประโยชน์คือ สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับขั้นตอนการขึ้นรูปพลาสติก และนำไปใช้เป็นข้อมูลอุณหภูมิการหลอมตัวเบื้องต้นของพลาสติกที่ใช้สำหรับการตั้งอุณหภูมิโซนต่าง ๆ ของเครื่องมือการขึ้นรูปพลาสติกได้

โพลีเมอร์ที่เป็นโพลีเมอร์อสัณฐานจะมีการเปลี่ยนสถานะจากสถานะคล้ายแก้วเป็นสถานะคล้ายยางเท่านั้น เมื่อมีการเพิ่มอุณหภูมิ จะไม่มีการหลอมตัวของผลึก เพราะโพลีเมอร์ชนิดนี้ไม่มีความเป็นผลึกอยู่เลย ทำให้มีเฉพาะค่าอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้วเท่านั้น แต่ถ้าเป็นโพลีเมอร์ผลึกอย่างสมบูรณ์ คือมีระดับความเป็นผลึก 100 เปอร์เซ็นต์ ก็จะมีการเปลี่ยนสถานะจากสถานะของแข็งเป็นสถานะหลอมเท่านั้นเมื่อมีการเพิ่มอุณหภูมิทำให้มีเฉพาะค่าอุณหภูมิการหลอมตัวของผลึก สำหรับโพลีเมอร์กึ่งผลึก ซึ่งเป็นโพลีเมอร์ที่พบโดยทั่ว ๆ ไป ที่มีทั้งบริเวณที่เป็นอสัณฐานและผลึก จึงสามารถมีทั้ง 3 สถานะ คือสถานะคล้ายแก้ว สถานะคล้ายยาง และสถานะหลอมเหลว (อินดาซ์ รัชเวทย์, 2550)

2.6.3 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางความร้อนของโพลีเมอร์

เทคนิคที่ใช้ในการหาค่าอุณหภูมิการหลอมตัวของผลึก และ อุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว ที่ใช้ในการทดลองนี้คือ เทคนิคการวิเคราะห์ปริมาณความร้อนเชิงผลต่าง (Differential scanning calorimetry)

Differential scanning calorimetry (DSC) เป็นเทคนิคการวัดพลังงานที่แตกต่างกัน จากการใส่พลังงานเข้าไปในสารตัวอย่างกับสารอ้างอิง เป็นฟังก์ชันกับอุณหภูมิโดยที่พลังงานที่ใส่เข้าไปจะต้องควบคุมด้วย Temperature program DSC curve เมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีหรือทางกายภาพจะมีผลทำให้เกิดความร้อนขึ้น (Emission of heat หรือ exothermic) หรือดูดกลืนความร้อน (Absorption of heat หรือ endothermic) กับสารตัวอย่าง พลังงานความร้อนที่ต้องใส่เข้าไปกับสารตัวอย่างหรือกับสารอ้างอิงเพื่อทำให้อุณหภูมิของสารตัวอย่างและสารอ้างอิงเท่ากัน DSC จะวัดได้โดยตรงทั้งอุณหภูมิและ enthalpy ของการเปลี่ยนแปลง (แมน อมรสิทธิ์และคณะ, 2553)

(1) องค์ประกอบของเครื่อง DSC

องค์ประกอบของเครื่อง DSC มีดังนี้

1. DSC sensor กับ amplifier

DSC sensor กับ amplifier เป็นอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับวัดอุณหภูมิทั้งของตัวอย่างและสารอ้างอิง ซึ่งเป็น thermocouples ถ้าใช้อุณหภูมิต่ำจะใช้ thermocouple เป็น copper-constantan หรือ chromelalumel ถ้าอุณหภูมิสูงจะใช้ Pt-Pt/13% Rh สารตัวอย่างและสาร

อ้างอิงจะอยู่ในถ้วย (Pan) แยกจากกัน แต่จะต้องรักษาให้อุณหภูมิทั้งสองเท่ากัน พลังงานจะถูกถ่ายเทมีปริมาณเท่ากับพลังงานที่ถูกดูดกลืนหรือพลังงานที่ให้ออกมาเนื่องจากเกิด transition ซึ่งเป็น การวัด calorimetry โดยตรง

2. Furnace และ Controller

Furnace และ Controller จะมีลักษณะคล้ายกับของ Thermogravimetry แต่ถ้า เป็น high temperature จะใช้ ceramic line และ furnace ใช้ electrically heater โดยควบคุม ด้วย electronic control heating rate จะอยู่ระหว่าง 0 และ 100 K/min แต่ตามปกติจะใช้ ประมาณ 10 K/min ในกรณีที่ใช้ DSC ต่ำกว่าอุณหภูมิห้องจะต้องมีส่วนเครื่องทำความเย็นเสริม ขึ้นมาให้เหมาะสมอาจใช้ไนโตรเจนเหลวหรือสารทำความเย็นอื่น ๆ

3. Computer และ Display

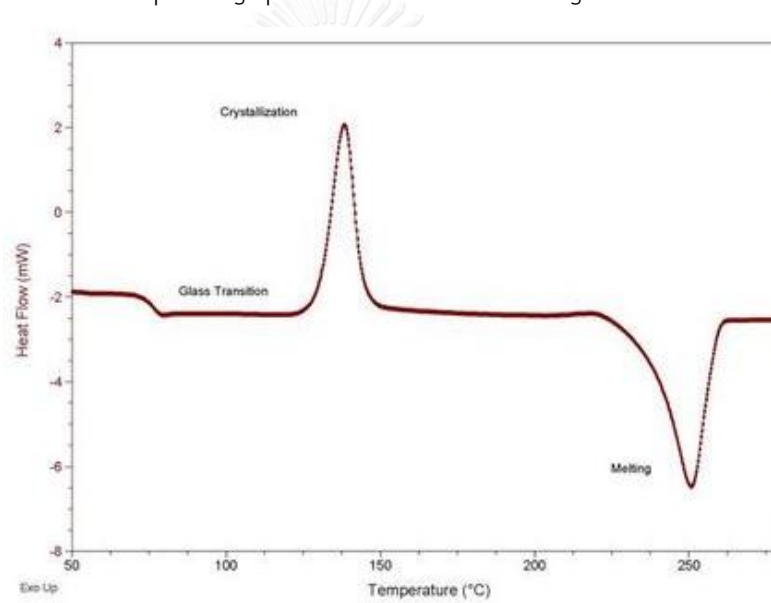
Computer และ Display ใช้เพื่อการควบคุมกระบวนการและข้อมูลซึ่งจะต้องเร็ว สัญญาณที่วัดได้จะถูกเปลี่ยนเป็นสัญญาณ ΔP (differential electrical power) โดยใช้ calorimetric sensitivity เก็บใน software และ integrate ออกมาเป็น peak area

(2) สารอ้างอิง (Reference Materials)

DSC จัดว่าเป็น differential methods ซึ่งสารอ้างอิงจะถูกเปรียบเทียบกับสารตัวอย่าง ตลอดจนสมบัติทางความร้อนที่เข้ามาเกี่ยวข้องทั้งหมด เช่น ความร้อนที่ให้ออกมาอาจทำให้เฟส เปลี่ยนหรือเกิดปฏิกิริยาหรือสีเปลี่ยน เป็นต้น แต่ถ้าสารตัวอย่างและสารอ้างอิงที่อยู่ pan มีฝาปิดที่ พอดีหรือปิดแน่น เหตุการณ์เหล่านี้จะไม่เกิดขึ้น สารที่ใช้เป็นวัสดุอ้างอิงต้องมีสมบัติเฉื่อยและสมบัติ ทางความร้อนคล้ายกันกับสารตัวอย่าง สารที่ใช้เป็นสารอ้างอิงได้แก่ อะลูมินาบริสุทธิ์ หรือ คาร์บอนดำ เป็นต้น ในบางกรณีถ้าต้องการทำให้สารตัวอย่างและสารอ้างอิงมีสมบัติทางความร้อน ใกล้เคียงกันมาก ๆ ให้ใช้สารอ้างอิงเป็นตัวทำให้สารตัวอย่างเจือจางลง ที่สำคัญคือ ต้องไม่ทำปฏิกิริยา วิธีการนี้จะช่วยทำให้ baseline และ peak shape ดีขึ้น



ภาพที่ 16 เครื่อง Differential scanning calorimeter
ที่มา : <http://eng.spbu.ru/tandr/rc/thermogravimetric/>



ภาพที่ 17 เทอร์โมแกรม (Thermogram) ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค DSC
ที่มา : <http://www.npl.co.uk/science-technology/thermal-performance/areas/thermal-analysis/differential-scanning-calorimetry>

2.7 เทคนิคทางชีวโมเลกุล

เทคนิคทางชีวโมเลกุลที่จะนำมาศึกษาการเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบ ในงานวิจัยครั้งนี้คือเทคนิค 16s metagenomic sequencing library (MiSeq, Illumina)

2.7.1 หลักการของ Metagenomics

Handelsman (2004) ที่ถูกอ้างถึงใน Srivastavaและคณะ (2013) ได้ให้คำจำกัดความของ Metagenomics ไว้ว่า Metagenomics คือการทำงานและการวิเคราะห์ลำดับพันธุกรรมของจีโนมของจุลินทรีย์ในตัวอย่างที่มีอยู่ในสิ่งแวดล้อม Metagenomics ถูกใช้เป็นเครื่องมือในการวิเคราะห์การจัดหมวดหมู่สารพันธุกรรมที่คัดแยกมาจากตัวอย่างที่มีอยู่ในสิ่งแวดล้อม โดยกระบวนการมีอยู่หลายขั้นตอน ประกอบด้วย (1) การเลือกตัวอย่างที่สนใจ (2) การคัดแยกสารพันธุกรรมโดยตรงจากตัวอย่างในสิ่งแวดล้อม (3) การจัดการสารพันธุกรรม (4) การสร้าง Metagenomic library และ (5) การวิเคราะห์สารพันธุกรรมใน Metagenomic library

ในระยะเวลา 5 ปีที่ผ่านมา ได้มีบริษัทและหน่วยงานที่ให้บริการทางด้านการศึกษาลำดับจีโนมด้วยเทคนิคขั้นสูง เช่น 454 life Sciences, Roche Applied Science, Microchip Biotechnologies และ Agencourt Bioscience เป็นต้น

วิธีการที่ได้รับความนิยมจากนักวิจัยและนักวิทยาศาสตร์ที่ทำงานด้านการหาลำดับจีโนมหรืองานด้านชีวการแพทย์ คือ

- (1) Illumina sequencing
- (2) Roche 454 Genome Sequencing
- (3) Pyro sequencing
- (4) Solid sequencing

โดยในงานวิจัยนี้เลือกใช้วิธี Illumina sequencing (Miseq Illumina) ในการวิเคราะห์ความหลากหลายของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบ

2.7.2 วิธี Illumina sequencing

Illumina genome analyzer การเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนดีเอ็นเอสายเดี่ยว (Single-stranded DNA fragments) ดำเนินการภายใต้กระบวนการที่เรียกว่า bridge amplification หรือ การเพิ่มปริมาณแบบสะพาน หลังจากการเพิ่มปริมาณ จะได้กลุ่มของสายดีเอ็นเอมากกว่า 50 ล้านกลุ่มต่อโฟวเซลล์ โดยแต่ละชุดประกอบด้วยจำนวนดีเอ็นเอประมาณ 1,000 ชุดในแต่ละช่อง โดยเครื่อง Mi-seq Illumina สามารถผลิตชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่มีขนาด 2 x 250 basepair (Srivastavaและคณะ, 2013)

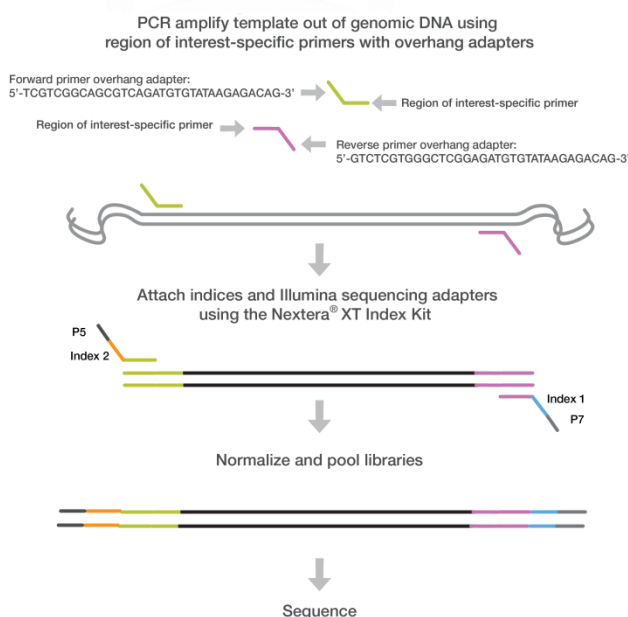
ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างเพื่อนำไปเข้าเครื่อง Illumina มีดังนี้ (ภาพที่ 18)

- (1) การสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่าง
- (2) การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอบริเวณ 16S rDNA ด้วยปฏิกิริยาลูโกโซพอริเมอเรส หรือ PCR
- (3) การล้างผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอที่ได้จากขั้นตอน PCR (PCR Clean up) เพื่อชะล้างบัฟเฟอร์ไพรเมอร์ และ ไพรเมอร์ไคเมอร์ที่อาจมีปะปนอยู่ระหว่างขั้นตอนการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยการทำ PCR
- (4) การติด Index เป็นการติด Index ที่ปลาย sequencing primer ทั้ง 2 ด้าน และติด Illumina sequencing adapters
- (5) การล้างผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอที่ได้จากขั้นตอน PCR ครั้งที่ 2 เพื่อชะล้างสารละลายไพรเมอร์ไคเมอร์ที่อาจมีหลงเหลืออยู่ระหว่างขั้นตอนการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยการทำ PCR ก่อนหน้านี้
- (6) การวัดและคำนวณความเข้มข้นของดีเอ็นเอ การเจือจางตัวอย่าง และการรวมตัวอย่าง (Pooling)

ขั้นตอนคร่าว ๆ ของเครื่อง Illumina มีดังนี้

- (1) การเตรียมดีเอ็นเอต้นแบบ และทำการติด Adapters ลงบนปลายทั้งสองด้านของชิ้นส่วนดีเอ็นเอ
- (2) การสร้างกลุ่มของสายดีเอ็นเอโดยกระบวนการ bridge amplification
- (3) การหาลำดับเบส

หลังจากนั้นจะนำข้อมูลดิบที่ได้เครื่อง Illumina มาแปลผลด้วย Software สำเร็จรูป



ภาพที่ 18 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างเพื่อนำไปเข้าเครื่อง Illumina

ที่มา : <http://www.illumina.com/>

2.7.3 หลักการของ Polymerase chain reaction (PCR)

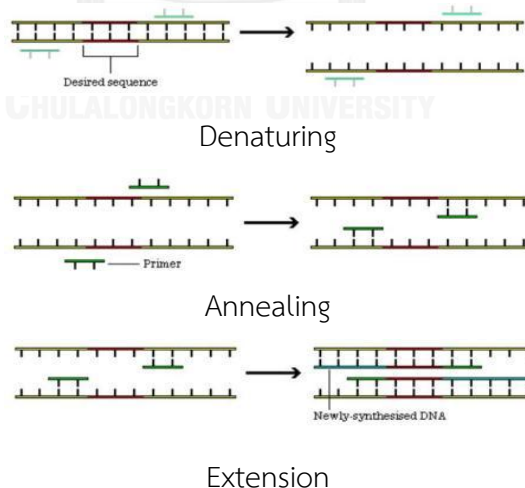
Polymerase chain reaction (PCR) ใช้หลักการพื้นฐานในการสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่จากสายดีเอ็นเอที่เป็นต้นแบบหนึ่งสายด้วยเอนไซม์ DNA polymerase โดย PCR สามารถสังเคราะห์ดีเอ็นเอได้คราวละ 2 สายพร้อมกัน โดยใช้ไพรเมอร์ (Primer) 1 คู่ ปฏิกิริยา PCR มี 3 ขั้นตอน และหมุนเวียนต่อเนื่องกันไป ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของแต่ละขั้นตอน (ศิริวรรณ นาคสาร และ ศิริพร วงศ์ดินดำ, 2549)

การเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์ส แบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอนหลัก ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 การแยกดีเอ็นเอสายคู่ออกจากกัน (Denaturing) เป็นการแยกสายดีเอ็นเอที่เป็นต้นแบบจากสภาพที่เป็นเส้นคู่ให้เป็นเส้นเดี่ยวโดยใช้อุณหภูมิสูง 92 - 95 องศาเซลเซียส

ขั้นตอนที่ 2 การจับของไพรเมอร์กับดีเอ็นเอแม่แบบ (Annealing) เป็นขั้นตอนที่ลดอุณหภูมิลงและจัดให้ไพรเมอร์ ซึ่งเป็นดีเอ็นเอสายสั้น ๆ (ประกอบด้วยนิวคลีโอไทด์จำนวน 14 - 23 เบส) ที่มีลำดับเบสเป็นคู่สมกับดีเอ็นเอที่เป็นต้นแบบจับคู่กัน ซึ่งนิยมใช้อุณหภูมิในช่วง 37 - 60 องศาเซลเซียส

ขั้นตอนที่ 3 การสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ (Extension) เป็นขั้นตอนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่โดยสังเคราะห์ต่อจากส่วนปลาย 5' ของไพรเมอร์ตามข้อมูลบนดีเอ็นเอที่เป็นต้นแบบแต่ละสายโดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ดีเอ็นเอโพลีเมอเรส (DNA polymerase) ซึ่งเอนไซม์นี้สามารถทำงานได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เอนไซม์ดีเอ็นเอโพลีเมอเรสที่ใช้ ควรจะคงคุณสมบัติอยู่ได้ภายใต้สภาวะของปฏิกิริยาตลอดทั้งสามขั้นตอน



ภาพที่ 19 ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์ส 3 ขั้นตอน

Denaturing Annealing และ Extension

ที่มา : ศิริวรรณ นาคสาร และ ศิริพร วงศ์ดินดำ (2549)

2.8 ทบทวนเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การผลิตพีเอชเอในปัจจุบันมักจะมุ่งเน้นไปที่การเดินระบบเพื่อที่จะส่งเสริมให้จุลินทรีย์มีความสามารถในการผลิตพีเอชเอได้สูงและการผลิตโพลีเมอร์ที่มีคุณสมบัติเหมาะสมกับการนำไปใช้งานในภาคอุตสาหกรรมต่าง ๆ ซึ่งดังที่ได้กล่าวไว้ข้างต้นแล้วว่าโคโพลีเมอร์ของเอชบีและเอชวี มีคุณสมบัติทางความร้อนและทางเชิงกลเหมาะสมที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในงานต่าง ๆ ได้อย่างกว้างขวาง เพราะมีความแข็งแรง ความเหนียว และความยืดหยุ่น ที่มาจากการรวมตัวกันของหน่วยเอชวีในสายโพลีเมอร์ งานวิจัยในระยะหลังนอกจากจะเน้นการผลิตพีเอชเอให้ได้ปริมาณมาก ๆ แล้ว การผลิตโคโพลีเมอร์ที่สัดส่วนของเอชวีที่เหมาะสมก็เป็นที่น่าสนใจเช่นกัน ทั้งนี้แหล่งคาร์บอนและสภาวะในการเดินระบบ เช่น พีเอช ก็ล้วนมีผลต่อส่วนประกอบของพีเอชเอที่ผลิตได้ ความเข้าใจถึงผลของชนิดของแหล่งคาร์บอนและกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ต่อการผลิตพีเอชเอจะสามารถช่วยในการควบคุมระบบให้สามารถผลิตพีเอชเอที่ต้องการได้ดียิ่งขึ้น

Lemosและคณะ (2006) ได้ทำการศึกษาการผลิตพีเอชเอจากกรดไขมันระเหยง่ายชนิดสายสั้นต่างชนิดกันจากตะกอนจุลินทรีย์ส่วนเกินของระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ ภายใต้สภาวะที่มีอาหารเกินพอสลักับขาดแคลน โดยใช้อะซิเตท โพรพิโอเนต บิวทิเรต และ วาเลอเรทเป็นแหล่งคาร์บอน ทำการทดลองภายในถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท (SBR) เพื่อคัดเลือกและเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมพีเอชเอได้ กำหนดให้ 1 รอบของของกรเดินระบบเท่ากับ 12 ชั่วโมง ระยะเวลาเก็บกักน้ำ (HRT) เท่ากับ 1 วัน ระยะเวลาเก็บกักตะกอน (SRT) เท่ากับ 10 วัน หลังจากนั้นนำตะกอนจุลินทรีย์มาทำการทดลองต่อในถังปฏิกรณ์แบบแบทช์ เพื่อศึกษาความสามารถในการสะสมพีเอชเอสูงสุด ผลการทดลองพบว่า ตะกอนจุลินทรีย์ที่ถูกเลี้ยงด้วยอะซิเตทจะผลิตโฮโมโพลีเมอร์ของเอชบี ตะกอนจุลินทรีย์ที่ถูกเลี้ยงด้วยโพรพิโอเนตจะผลิตโคโพลีเมอร์ของเอชบีและเอชวี ตะกอนจุลินทรีย์ที่ถูกเลี้ยงด้วยบิวทิเรตจะผลิตโฮโมโพลีเมอร์ของเอชบี ในขณะที่วาเลอเรทจะผลิตเทอร์โพลีเมอร์ของเอชบี เอชวี และเอชเอ็มวี (ไฮดรอกซีเมทิลวาเลอเรท) เมื่อได้ทำการสลัแหล่งคาร์บอนที่เติมลงไป โดยเติมโพรพิโอเนตไปยังตะกอนจุลินทรีย์ที่ถูกเลี้ยงมาด้วยอะซิเตทพบว่าได้เทอร์โพลีเมอร์ของเอชบี เอชวี และ เอชเอ็มวี และเติมอะซิเตทไปยังตะกอนจุลินทรีย์ที่ถูกเลี้ยงมาด้วยโพรพิโอเนตจะได้โคโพลีเมอร์ของเอชบีและเอชวี ผลผลิตโพลีเมอร์สูงสุดจะได้มาจากอะซิเตท รองลงมาคือ บิวทิเรต โพรพิโอเนต และวาเลอเรท อัตราการสะสมโพลีเมอร์จำเพาะสูงสุดจะได้มาจากอะซิเตท รองลงมาคือ โพรพิโอเนต ส่วนบิวทิเรตและวาเลอเรทจะมีอัตราการสะสมโพลีเมอร์ต่ำกว่าอะซิเตทและโพรพิโอเนต ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าส่วนประกอบของโพลีเมอร์ มีผลโดยตรงกับคุณสมบัติของโพลีเมอร์ ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของกรดไขมันระเหยง่ายที่เติมลงไปในระบบ

Lemosและคณะ (2008) ได้ทำการศึกษาลักษณะของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่สะสมฟิเอชเอ โดยทำการเลี้ยงจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมจากตะกอนจุลินทรีย์ส่วนเกินของระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ ที่มีการใช้อะซิเตทและโพर्फิโออนต์เป็นแหล่งคาร์บอน ทำการทดลองภายในถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท (SBR) ที่มีการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน โดยการทดลองแบ่งออกเป็น 3 ถังปฏิกรณ์ คือ ถังแรกเป็นถังปฏิกรณ์ที่เลี้ยงตะกอนจุลินทรีย์โดยใช้น้ำเสียสังเคราะห์ที่เตรียมจากโพर्फิโออนต์ กำหนดให้ 1 รอบของการเดินระบบเท่ากับ 12 ชั่วโมง ระยะเวลาเก็บกักน้ำ (HRT) เท่ากับ 1 วัน ระยะเวลาเก็บกักตะกอน (SRT) เท่ากับ 10 วัน อัตรารับภาระสารอินทรีย์ 60 Cmmol/L/d ถังต่อมาเป็นถังปฏิกรณ์ที่เลี้ยงตะกอนจุลินทรีย์โดยใช้น้ำเสียสังเคราะห์ที่เตรียมจากอะซิเตท กำหนดให้ 1 รอบของการเดินระบบเท่ากับ 12 ชั่วโมง ระยะเวลาเก็บกักน้ำ (HRT) เท่ากับ 1 วัน ระยะเวลาเก็บกักตะกอน (SRT) เท่ากับ 10 วัน อัตรารับภาระสารอินทรีย์ 60 Cmmol/L/d และถังสุดท้ายเป็นถังปฏิกรณ์ที่เลี้ยงตะกอนจุลินทรีย์โดยใช้น้ำเสียสังเคราะห์ที่เตรียมจากอะซิเตท แต่ใช้สถานะในการเดินระบบที่แตกต่างคือ ใช้ระยะเวลาเก็บกักตะกอน (SRT) เท่ากับ 1 วัน อัตรารับภาระสารอินทรีย์ 120 Cmmol/L/d เมื่อทำการวิเคราะห์กลุ่มประชากรจุลินทรีย์โดยใช้เทคนิค Sorting/reverse transcriptase-PCR (RT-PCR) และ FISH ผลการทดลองพบว่า *Thauera spp.* เป็นจุลินทรีย์กลุ่มหลักเมื่อใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน และจะไม่ค่อยพบเมื่อใช้โพर्फิโออนต์เป็นแหล่งคาร์บอน และพบ *Amaricoccus spp.* เป็นจุลินทรีย์กลุ่มหลักเมื่อใช้โพर्फิโออนต์เป็นแหล่งคาร์บอน ส่วน *Amaricoccus kaplicensis* และ *A. macauensis* สามารถใช้ทั้ง 2 แหล่งคาร์บอน จุลินทรีย์ที่ถูกเลี้ยงด้วยอะซิเตทผลิตฟิเอชเอออกมา 65.4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง จุลินทรีย์ที่ถูกเลี้ยงด้วยโพर्फิโออนต์ผลิตโคโพลีเมอร์ของเอชบีและเอชวีออกมา 41.2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง โดยมีสัดส่วนของเอชบี : เอชวี คือ 28 : 72 จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าแหล่งคาร์บอนที่ใช้มีผลโดยตรงต่อกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ โดยการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยแหล่งคาร์บอนที่ต่างกัน กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ก็แตกต่างกันด้วย

Johnsonและคณะ (2009) ได้ทำการศึกษาการผลิตฟิเอชเอสูงสุดจากจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมทำการทดลองโดยเลี้ยงตะกอนจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท (SBR) ภายใต้สภาวะที่มีอาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน กำหนดให้สถานะในการเดินระบบ คือ ระยะเวลาเก็บกักตะกอน (SRT) เท่ากับ 1 วัน 1 รอบการเดินระบบเท่ากับ 12 ชั่วโมง ระยะเวลาเก็บกักน้ำ (HRT) เท่ากับ 1 วัน เลี้ยงตะกอนจุลินทรีย์โดยใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน หลังจากนั้นนำตะกอนจุลินทรีย์ที่ได้จากขั้นตอนการเพาะเลี้ยงมาทำการหาความสามารถในการสะสมฟิเอชเอสูงสุด โดยใช้ถังปฏิกรณ์แบบแบทช์ซึ่งเติมอาหารแบบกึ่งต่อเนื่อง (Fed-batch reactor) โดยใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน และทำการวิเคราะห์กลุ่มประชากรจุลินทรีย์โดยใช้เทคนิค PCR-DGGE และ FISH ผลการทดลองพบว่า จุลินทรีย์

สามารถผลิตและสะสมพีเอชเอได้สูงสุด 89 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง โดยผลิตเป็นโฮโมโพลีเมอร์ชนิดพีเอชบี และพบ *Gammaproteobacterium* เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเด่นในระบบ

Jiang, Marang, และคณะ (2011) ได้ทำการศึกษาการผลิตโพลีไฮดรอกซีบิวทิเรต (พีเอชบี) จากจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมในตะกอนจุลินทรีย์ส่วนเกินจากระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ โดยใช้น้ำเสียสังเคราะห์ที่เตรียมจากแลกเตทและแลกเตทกับอะซิเตทผสมกันในอัตราส่วน 1 : 1 โดยโมลเป็นแหล่งคาร์บอน โดยทำการเลี้ยงจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมในถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท (SBR) ที่มีการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน กำหนดให้ระยะเวลาเก็บกักตะกอน (SRT) เท่ากับระยะเวลาเก็บกักน้ำ (HRT) เท่ากับ 1 วัน 1 รอบของการเดินระบบเท่ากับ 12 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำตะกอนจุลินทรีย์ที่ได้จากขั้นตอนการเพาะเลี้ยงมาทำการหาความสามารถในการสะสมพีเอชเอสูงสุด โดยใช้ถังปฏิกรณ์แบบแบทช์ ซึ่งเติมอาหารแบบกึ่งต่อเนื่อง (Fed-batch reactor) ทำการเติมแหล่งคาร์บอนและสารอาหารที่ไม่เติมไนโตรเจนลงไป เริ่มต้นระบบโดยการเติมอาหารครั้งแรก 60 มิลลิโมล การเติมอาหารครั้งต่อไปจะเติมผ่านทางเครื่องควบคุมพีเอชอัตโนมัติ (pH controller) ใช้เวลาเดินระบบ 10 ชั่วโมง และทำการวิเคราะห์กลุ่มประชากรจุลินทรีย์โดยใช้เทคนิค 16S rDNA PCR-DGGE และ FISH ผลการทดลองพบว่า จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมที่ถูกเลี้ยงโดยใช้แลกเตทเป็นแหล่งคาร์บอนจะพบ *Gammaproteobacterium* เป็นจุลินทรีย์กลุ่มหลัก และสามารถสะสมพีเอชบีได้มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง ส่วนจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมที่ถูกเลี้ยงโดยใช้แลกเตทและอะซิเตทผสมกันเป็นแหล่งคาร์บอนจะพบ *Plasticumulans acidivorans* และ *Thauera selenatis* เป็นจุลินทรีย์กลุ่มหลัก ซึ่งสามารถสะสมพีเอชบีได้ 84 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าโครงสร้างกลุ่มประชากรจุลินทรีย์มีความสัมพันธ์โดยตรงต่อชนิดของแหล่งคาร์บอนที่ใช้ เฉพาะหนึ่งสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่เด่นเท่านั้นที่จะถูกเพิ่มจำนวนขึ้นมาเมื่อใช้แหล่งคาร์บอนชนิดเดียว จุลินทรีย์ต่างถังปฏิกรณ์จะมีความเฉพาะเจาะจงกับแหล่งคาร์บอนนั้น ๆ โดยจุลินทรีย์กลุ่มเด่นที่พบในถังปฏิกรณ์ที่ใช้อะซิเตทคือ *P. acidivorans* พบว่ามีอัตราการใช้อะซิเตทสูงมาก แต่มีอัตราการใช้แลกเตทต่ำ ส่วนจุลินทรีย์กลุ่มหลักที่พบในถังปฏิกรณ์ที่ใช้แลกเตท คือ *Gammaproteobacterium* และ *Thauera selenatis* จะมีอัตราการใช้แลกเตทสูงแต่จะมีอัตราการใช้อะซิเตทต่ำ ส่วนจุลินทรีย์กลุ่มหลักที่พบในถังปฏิกรณ์ที่ใช้อะซิเตทกับแลกเตทผสมกันจะพบจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้อะซิเตทและแลกเตทอยู่ร่วมกัน โดยข้อสรุปหลักของงานวิจัยนี้คือ การใช้สารอาหารต่างกันมีผลโดยตรงต่อส่วนประกอบของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์แต่ไม่มีผลต่อการผลิตพีเอชบี

Changและคณะ (2012) ได้ทำการศึกษาการผลิตโคโพลีเมอร์ของเอชบีและเอชวี จากจุลินทรีย์ในตะกอนจุลินทรีย์ส่วนเกินจากระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพที่ถูกเลี้ยงมาด้วยพร็อโอบีโอเนต

ภายใต้แหล่งคาร์บอนแตกต่างกัน ทำการทดลองโดยเลี้ยงจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมในถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท (SBR) ที่มีการให้อาหารแบบเกินพอสลักกับขาดแคลน โดยใช้โพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน และอีกชุดหนึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อเปรียบเทียบส่วนประกอบและศักยภาพในการสังเคราะห์โคโพลีเมอร์ กำหนดให้สภาวะในการเดินระบบ คือ ระยะเวลาเก็บกักตะกอน (SRT) เท่ากับ 15 วัน และ 1 รอบการเดินระบบเท่ากับ 12 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำตะกอนจุลินทรีย์ที่ถูกเลี้ยงด้วยโพรพิโอเนต หรือ อะซิเตทมาทำการทดลองแบบเทเพื่อศึกษาศักยภาพในการผลิตโคโพลีเมอร์ โดยนำมาเลี้ยงด้วยแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน ได้แก่ แหล่งคาร์บอนชนิดเดียว คือ อะซิเตท โพรพิโอเนต วาเลอเรท แหล่งคาร์บอนสองชนิดมาผสมกัน คือ อะซิเตทกับวาเลอเรทผสมกันในอัตราส่วน 75 : 25 และ อะซิเตทกับวาเลอเรทผสมกันในอัตราส่วน 50 : 50 ส่วนตะกอนจุลินทรีย์ที่ถูกเลี้ยงด้วยอะซิเตท จะนำมาเลี้ยงต่อโดยใช้อะซิเตท หรือ โพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน ระยะเวลาในการทำการทดลอง 9 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่า ตะกอนจุลินทรีย์ที่ถูกเลี้ยงด้วยโพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอนจะให้สัดส่วนของเอชวีในโคโพลีเมอร์สูงกว่าตะกอนจุลินทรีย์ที่ถูกเลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน โดยได้สัดส่วนของเอชวีสูงถึง 95.8 เปอร์เซ็นต์โดยโมล ตะกอนจุลินทรีย์ที่ถูกเลี้ยงด้วยโพรพิโอเนต เมื่อนำมาทำการทดลองแบบเท ด้วยแหล่งคาร์บอนแตกต่างกันพบว่า วาเลอเรทจะสามารถผลิตโคโพลีเมอร์ได้ดีกว่าโพรพิโอเนตและอะซิเตท และอะซิเตทกับวาเลอเรทที่ผสมกันในอัตราส่วน 50 : 50 โดยโมล ได้โคโพลีเมอร์สูงกว่าที่อัตราส่วน 75 : 25 โดยโมล โดยได้โคโพลีเมอร์ที่มีสัดส่วนของเอชวี 45 เปอร์เซ็นต์โดยโมล

ปานชมพู่ คุ่มวณิชย์ (2555) ได้ทำการศึกษากการผลิตโพลีไฮดรอกซีแอลคาโนเอตโดยใช้ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบบำบัดน้ำเสียโรงงานผลิตอาหารและเครื่องดื่มโดยการให้อาหารแบบเกินพอสลักกับขาดแคลน โดยใช้ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ 3 แห่ง คือ โรงงานผลิตเครื่องดื่ม (บริษัท ปทุมธานี บริวเวอรี่ จำกัด) โรงงานผลิตสับปะรดกระป๋อง (บริษัทอาหารสยาม จำกัด (มหาชน)) และ โรงงานผลิตน้ำผลไม้ (บริษัท ทิปโก้ เอฟแอนด์ บี จำกัด) เลี้ยงในน้ำเสียสังเคราะห์ที่เตรียมจากอะซิเตท ผลการทดลองพบว่า ตะกอนจุลินทรีย์จากโรงงานผลิตเครื่องดื่มสามารถสะสมพีเอชเอได้ร้อยละ 7.57 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (% gPHA/gMLSS) ตะกอนจุลินทรีย์จากโรงงานผลิตสับปะรดกระป๋อง สามารถสะสมพีเอชเอได้ร้อยละ 15.10 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (% gPHA/gMLSS) และตะกอนจุลินทรีย์จากโรงงานผลิตน้ำผลไม้ สามารถสะสมพีเอชเอได้ร้อยละ 51.82 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (% gPHA/gMLSS) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกตะกอนจุลินทรีย์จากโรงงานผลิตน้ำผลไม้ (บริษัท ทิปโก้ เอฟแอนด์ บี จำกัด) มาใช้ในการทดลอง เนื่องจากตะกอนจุลินทรีย์ของโรงงานนี้สามารถสะสมพีเอชเอได้สูงสุดจากทั้งหมด 3 โรงงาน

Wang และคณะ (2013) ได้ทำการศึกษาผลของส่วนประกอบของแหล่งคาร์บอนคืออะซิเตท และโพรพิโอเนตต่อการผลิตโคโพลีเมอร์ของเอซิปีและเอซวี จากตะกอนจุลินทรีย์ของระบบบำบัดแบบ แอกรีเวเตดสลัดจ์ ทำการทดลองโดยเลี้ยงตะกอนจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท (SBR) ภายใต้ สภาวะที่มีอาหารแบบเกินพอสลัดกับขาดแคลน กำหนดให้สภาวะในการเดินระบบ คือ ระยะเวลาเก็บ กักตะกอน (SRT) เท่ากับ 5 วัน 1 รอบการเดินระบบเท่ากับ 24 ชั่วโมง ระยะเวลาเก็บกักน้ำ (HRT) เท่ากับ 40 ชั่วโมง ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้น (MLSS) เท่ากับ 2,000 มิลลิกรัม/ลิตร เลี้ยง ตะกอนจุลินทรีย์โดยใช้อะซิเตทเพียงอย่างเดียว และอะซิเตทผสมกับโพรพิโอเนตในอัตราส่วน 3 : 1 โดยโมล หลังจากนั้นนำตะกอนจุลินทรีย์ที่ถูกเลี้ยงจากถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท มาทำการทดลองแบบเท เพื่อศึกษาศักยภาพในการผลิตโคโพลีเมอร์สูงสุด โดยนำมาเลี้ยงด้วยแหล่งคาร์บอนที่มีอัตราส่วน ของอะซิเตทต่อโพรพิโอเนตแตกต่างกัน ได้แก่ อัตราส่วนของอะซิเตทต่อโพรพิโอเนต 1 : 0, 4 : 1, 2 : 1, 1 : 1, 1 : 2, 1 : 4 และ 0 : 1 โดยมีความเข้มข้นของซีโอดีเริ่มต้น 4,684 มิลลิกรัม/ลิตร และทำ การวิเคราะห์กลุ่มประชากรจุลินทรีย์โดยใช้เทคนิค PCR-DGGE ผลการทดลองพบว่า ตะกอนจุลินทรีย์ ที่สามารถสะสมโคโพลีเมอร์ของเอซิปีและเอซวีได้สูงสุด มาจากการเลี้ยงตะกอนจุลินทรีย์โดยใช้ อะซิเตทผสมกับโพรพิโอเนตในอัตราส่วน 3 : 1 ในถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท แล้วตามด้วย อะซิเตทต่อ โพรพิโอเนตในอัตราส่วน 1 : 1 โดยได้พีเอชเอสูงสุด 47.7 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง คิดเป็นสัดส่วน ของเอซวีโมโนเมอร์ 48 เปอร์เซ็นต์โดยโมล และพบ *Acidobacteria* และ *Burkholderiales* เป็น จุลินทรีย์กลุ่มเด่น

Ozdemir และคณะ (2014) ได้ทำการศึกษาระยะเวลาต่อรอบการทดลอง (Cycle time) ต่อ การผลิตพีเอซิปีจากตะกอนจุลินทรีย์ ทำการทดลองโดยเลี้ยงตะกอนจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท (SBR) ภายใต้สภาวะที่มีอาหารแบบเกินพอสลัดกับขาดแคลน กำหนดให้สภาวะในการเดินระบบ คือ ระยะเวลาเก็บกักตะกอน (SRT) เท่ากับ 8 วัน 1 รอบการเดินระบบเท่ากับ 2 4 8 และ 12 ชั่วโมง ทำ การทดลองโดยใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน ผลการทดลองพบว่า การลดระยะเวลาต่อรอบการ ทดลอง ส่งผลให้ปริมาณพีเอซิปีเพิ่มขึ้น โดยได้ปริมาณพีเอซิปีสูงสุด 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ได้มา จากการใช้ระยะเวลาต่อรอบการทดลอง (Cycle time) 2 ชั่วโมง

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 แผนการวิจัย

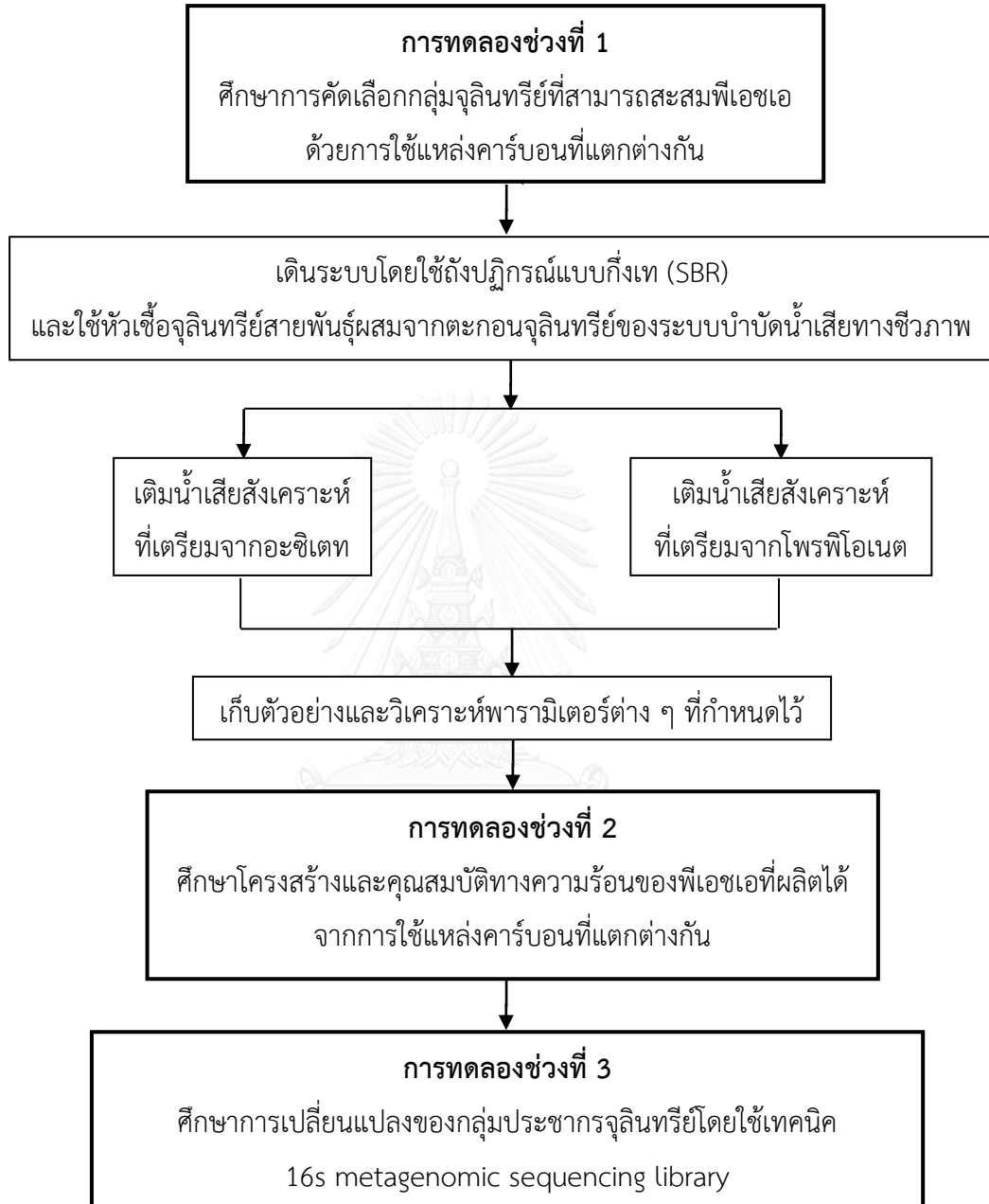
งานวิจัยทั้งหมดนี้เป็นการดำเนินการระดับห้องปฏิบัติการ ณ ห้องปฏิบัติการภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ห้องปฏิบัติการอาคารสีเขียว คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และห้องปฏิบัติการชีววิทยา ศูนย์ความเป็นเลิศด้านการจัดการสารและของเสียอันตราย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนต่อการผลิตพีเอชเอของจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม โดยการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน โดยแบ่งการศึกษาออกเป็น 3 ช่วง ดังนี้

การทดลองช่วงที่ 1 ศึกษาการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมพีเอชเอด้วยการใช้แหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน คือ อะซิเตท และ โพรพิโอเนตในระบบที่มีการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน โดยใช้ถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท (Sequencing batch reactor)

การทดลองช่วงที่ 2 ศึกษาโครงสร้างและคุณสมบัติทางความร้อนของพีเอชเอที่ผลิตได้จากการใช้แหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน

การทดลองช่วงที่ 3 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล คือ เทคนิค 16s metagenomic sequencing library

3.1.1 แผนภาพการทดลอง



ภาพที่ 20 แผนผังสรุปการดำเนินการทดลองทั้งหมด

3.2 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

3.2.1. เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี สำหรับการเดินระบบ

1. ถังแก้วใสรูปทรงสี่เหลี่ยม ขนาด 0.3 x 0.35 x 0.3 เมตร (กว้างxยาวxสูง)
2. ป้มน้เติมอากาศ ยี่ห้อ HAILEA รุ่น ACO-318 และ ยี่ห้อ YAMANO รุ่น AP-40
3. หัวฟุ้งกระจายอากาศแบบหัวทรายและแบบพลาสติก
4. เครื่องควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างแบบอัตโนมัติ (pH controller) ยี่ห้อ EUTECH รุ่น Alpha pH190 controller ร่วมกับ Probe ยี่ห้อ Cole-Parmer® และ ยี่ห้อ Thermo รุ่น Alpha pH560 ร่วมกับ Probe ยี่ห้อ EUTECH
5. ป้มน้สูบลำลายสารละลายแบบรีดท่อหรือสายยาง (Peristaltic pump) ยี่ห้อ Watson marlow รุ่น 505U
6. สายยางซิลิโคนทนกรด ยี่ห้อ TYGON®
7. สายยางซิลิโคน
8. ขวดสีชาขนาด 2.5 ลิตร
9. กรดไฮโดรคลอริก 37% AR grade (บริษัท QReC, New Zealand)

3.2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่าง ๆ

1. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส ยี่ห้อ Heraeus
2. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส ยี่ห้อ Memmert
3. เตาเผา 550 องศาเซลเซียส ยี่ห้อ Carbolite รุ่น ESF12/23
4. ตู้ดูดควัน ยี่ห้อ Flexlab
5. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BSA2245-CW
6. เครื่องวัดปริมาณออกซิเจนละลาย ยี่ห้อ Thermo รุ่น Orionmeter และ Orion 083010MD DO Probe
7. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ยี่ห้อ Heraeus รุ่น Biofuge^{stratos}
8. กระดาษกรองGF/C เส้นผ่านศูนย์กลาง 4.7 เซนติเมตรยี่ห้อ Whatman
9. ไมโครปิเปต (Micropipette) ของบริษัท Biohit และ Thermo
10. ตู้เย็น อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
11. ตู้เย็น อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส
12. เครื่องแก้วทางวิทยาศาสตร์ต่าง ๆ เช่น ปีกเกอร์ หลอดทดลอง บิวเรต เป็นต้น

3.2.3 เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับการสกัดพีเอชเอเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณพีเอชเอโดย Gas Chromatography

1. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิยี่ห้อ Heto รุ่น SBD50
2. เทอร์โมมิเตอร์
3. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 103 - 105 องศาเซลเซียส ยี่ห้อ Heraeus
4. ตู้ดูดควัน ยี่ห้อ Flexlab
5. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BSA2245-CW
6. เครื่องกวนสารละลายแบบให้ความร้อนยี่ห้อ MTOPS รุ่น MS300
7. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ยี่ห้อ Heraeus รุ่น Biofugestratos
8. เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อโรค (Autoclave) ยี่ห้อ HIRAYAMA รุ่น HA-300 MII
9. เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer) ยี่ห้อ Scientific รุ่น Vortex genie2
10. Pasteur pipettes (Short Form) ความยาว 150 มิลลิเมตร ของบริษัท FAVORIT
11. จุกยางดูดสารละลายขนาดเล็ก
12. หลอดทดลองฝาเกลียวขนาดความยาวไม่ต่ำกว่า 150 มิลลิเมตร ฝาเกลียวมีแผ่นยางกันสารระเหยติดที่ตัวฝาหลอด
13. แผ่นพาราฟิล์ม

3.2.4 เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณพีเอชเอโดย Gas Chromatography

1. เครื่องก๊าซโครมาโตกราฟีชนิดหัวตรวจวัดเฟรมไอออนเซชัน (Gas chromatography - flame ionization detector; GC-FID) บริษัท Agilent Technologies รุ่น 6890N
2. แคปพิลารีคอลัมน์ (Capillary column) ชนิด INNOWAX ขนาด 30 เมตร x 0.32 มิลลิเมตร x 0.25 ไมโครเมตร
3. หลอด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร ของบริษัท National Scientific
4. ฝาเกลียวสีน้ำเงิน ข้างในบุด้วย PTFE พร้อม Rubber septa ของบริษัท National Scientific

3.2.5 เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับการสกัดพีเอชเอและทำให้บริสุทธิ์ เพื่อศึกษาโครงสร้างของพีเอชเอ โดย ^1H NMR

1. ชุดสกัดซอกท์เลต (Soxhlet Extractor)
2. อุปกรณ์ควบแน่น (Condensor)

3. ขวดก้นกลม (Round Bottom Flask)
4. สายยางซิลิโคน
5. ปืนน้ำ ยี่ห้อ SOBO รุ่น WP2550
6. เครื่องกวนสารละลายแบบให้ความร้อนยี่ห้อ MTOPS รุ่น MS 300
7. กระดาษกรอง Cellulose extraction thimble ขนาด 30 มิลลิเมตร x 100 มิลลิเมตร ยี่ห้อ Whatman
8. เม็ดลูกแก้ว (Glass Beads) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร

3.2.6 เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับการสกัดดีเอ็นเอ

1. เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer) ยี่ห้อ Scientific รุ่น Vortex genie2
2. เครื่อง FastPrep[®] บริษัท Thermo Electron Corporation รุ่น FastPrepTM FP 120
3. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ยี่ห้อ Eppendorf รุ่น 5804R

3.2.7 เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอบริเวณ 16S rDNA ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส หรือ PCR

1. เครื่องควบคุมอุณหภูมิสำหรับทำ PCR บริษัท Thermo Electron Corporation รุ่น HB-PX-2220
2. เครื่องแยกดีเอ็นเอด้วยไฟฟ้า (Horizontal DNA Electrophoresis gel Box) บริษัท Bioactive
3. เครื่อง UV Transilluminator บริษัท Wealtec รุ่น Gel Dolphin-DOC

3.2.8 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมน้ำเสียสังเคราะห์

1. โซเดียมอะซิเตท (Sodium acetate; CH_3COONa) (บริษัท Ajax Finechem, Australia)
2. โซเดียมโพรพิโอเนต (Sodium propionate; $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COONa}$) (บริษัท Sigma-Aldrich, USA)
3. โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Potassiumdihydrogenphosphate; KH_2PO_4) (บริษัท Ajax Finechem, Australia)
4. ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Dipotassiumhydrogenphosphate; K_2HPO_4) (บริษัท Ajax Finechem, Australia)
5. แมกนีเซียมคลอไรด์ (Magnesium chloride; $\text{MgCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) (บริษัท Ajax Finechem, Australia)

6. แคลเซียมคลอไรด์ (Calcium chloride; CaCl_2) (บริษัท Ajax Finechem, Australia)
7. เฟอริกคลอไรด์ (Ferric chloride; FeCl_3) (บริษัท Ajax Finechem, Australia)
8. กรดบอริก (Boric acid; HBO_3) (บริษัท Ajax Finechem, Australia)
9. คอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulfate; CuSO_4) (บริษัท Ajax Finechem, Australia)
10. โพแทสเซียมไอโอไดด์ (Potassium iodide; KI) (บริษัท Ajax Finechem, Australia)
11. แมงกานีสซัลเฟต (Manganese sulfate; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) (บริษัท Ajax Finechem, Australia)
12. โซเดียมโมลิบเดต (Sodium molybdate; $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (บริษัท Ajax Finechem, Australia)
13. ซิงค์ซัลเฟต (Zinc sulfate; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) (บริษัท Ajax Finechem, Australia)
14. โคบอลท์คลอไรด์ (Cobalt chloride; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) (บริษัท Ajax Finechem, Australia)
15. แอมโมเนียมคลอไรด์ (Ammonium chloride; NH_4Cl) (บริษัท Ajax Finechem, Australia)
16. โซเดียมไบคาร์บอเนต (Sodium bicarbonate; NaHCO_3) (บริษัท Ajax Finechem, Australia)
17. ไทโอยูเรีย (Thiourea; H_2NCSNH_2) (บริษัท Ajax Finechem, Australia)

3.2.9 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ซีโอดี

1. โพแทสเซียมไดโครเมต (Potassium Dichromate; $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) (บริษัท Ajax Finechem, Australia)
2. กรดซัลฟิวริก 98% AR grade (บริษัท QReC, New Zealand)
3. เมอร์คิวริกซัลเฟต (Mercuric sulfate; HgSO_4) (บริษัท QReC, New Zealand)
4. ซิลเวอร์ซัลเฟต (Silver sulfate; Ag_2SO_4) (บริษัท QReC, New Zealand)
5. เฟอรัสซัลเฟต (Ferrous sulfate; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) (บริษัท Ajax Finechem, Australia)
6. 1, 10-ฟีแนนโทรลีนโมโนไฮเดรต (1,10-phenanthroline monohydrate; $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) (บริษัท Ajax Finechem, Australia)

3.2.10 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดพีเอชเอ

1. กรดเบนโซอิก (Benzoic acid) (บริษัท Ajax Finechem, Australia)
2. กรดซัลฟิวริก 98% AR grade (บริษัท QReC, New Zealand)

3. เมทานอล (Methanol) AR grade (บริษัท Ajax Finechem, Australia)
4. คลอโรฟอร์ม (Chloroform) AR grade (บริษัท Labscan, Thailand)

3.2.11 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณพีเอชเอโดย Gas Chromatography

1. คลอโรฟอร์ม (Chloroform) AR grade (บริษัท Labscan, Thailand)
2. สารมาตรฐาน Poly (3-hydroxybutyric acid-co-3-hydroxyvaleric acid) ที่มีเอชวีร้อยละ 12 โดยน้ำหนัก (บริษัท Sigma-Aldrich, USA)

3.2.12 สารเคมีสำหรับการสกัดพีเอชเอและทำให้บริสุทธิ์ เพื่อศึกษาโครงสร้างของพีเอชเอ โดย ^1H NMR

1. คลอโรฟอร์ม (Chloroform) AR grade (บริษัท Labscan, Thailand)
2. เฮกเซน 98.5% AR grade (บริษัท Macron Fine Chemicals)

3.2.13 สารเคมีสำหรับการสกัดดีเอ็นเอ

1. โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Sodium Phosphate Buffer)
2. เอ็มทีบัฟเฟอร์ (MT Buffer)
3. พีพีเอส (Protein Precipitation Solution)
4. Binding Matrix
5. Concentrated SEWS-M
6. DES

3.2.14 สารเคมีสำหรับการทำ PCR

1. น้ำปราศจากดีเอ็นเอสำหรับทำ PCR
2. 10X Taq Buffer
3. Forward primer F515
4. Reverse primer R806
5. dNTP
6. MgCl_2
7. Taq DNA Polymerase
8. อะกาโรส เจล (Agarose gel)
9. ทีเออี บัฟเฟอร์ (TAE Buffer)

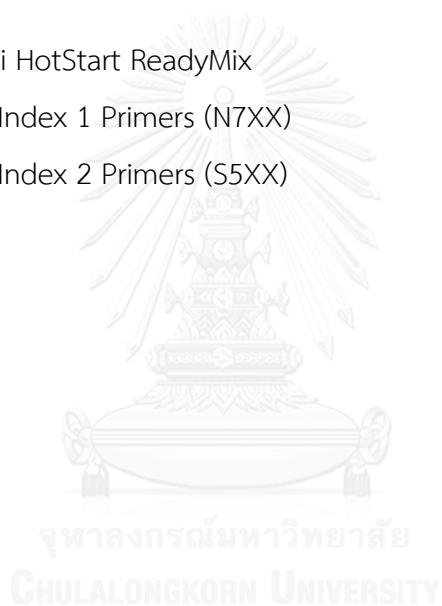
10. สีย้อม 6x loading dye
11. 100 bp+1.5 kb DNA Ladder
12. เอธิเดียมโบรไมด์ (Ethidiumbromide)

3.2.15 สารเคมีสำหรับการล้างผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอที่ได้จากขั้นตอน PCR

1. 10mM Tris pH 8.5
2. AMPure XP beads
3. 80% Ethanol (EtOH)

3.2.16 สารเคมีสำหรับใช้ในการติด Index PCR

1. 2x KAPA HiFi HotStart ReadyMix
2. Nextera XT Index 1 Primers (N7XX)
3. Nextera XT Index 2 Primers (S5XX)



3.3 วิธีดำเนินการทดลอง

3.3.1 การทดลองช่วงที่ 1

การทดลองช่วงที่ 1 ศึกษาการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมฟิเอชเอด้วยการใช้แหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันคืออะซิเตทและโพรพิโอเนต เพื่อศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนต่อชนิดและปริมาณของฟิเอชเอที่ผลิตได้ ในระบบแบบกึ่งเทที่มีการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน

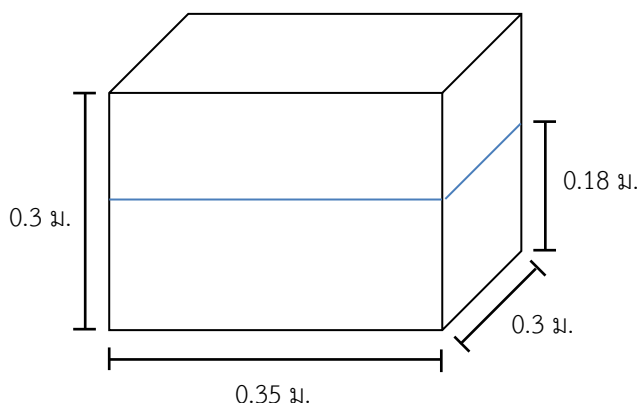
3.3.1.1 ตะกอนจุลินทรีย์

ตะกอนจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการทดลอง นำมาจากตะกอนจุลินทรีย์ของระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพของโรงงานผลิตน้ำผลไม้ (บริษัท ทิปโก้ เอฟ แอนด์ บี จำกัด) ซึ่งรูปแบบระบบบำบัดเป็นระบบบำบัดน้ำเสียแบบยูเอเอสบีแล้วตามด้วยระบบแบบเอสบีอาร์ โดยตะกอนที่ใช้ในการทดลอง นำมาจากส่วนของระบบเอสบีอาร์ ซึ่งเป็นระบบแบบใช้อากาศ



ภาพที่ 21 ระบบบำบัดน้ำเสียแบบเอสบีอาร์ ของบริษัททิปโก้ เอฟ แอนด์ บี

3.2.1.2 ถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเทที่ใช้ในการทดลอง



ภาพที่ 22 ถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเทที่ใช้ในการทดลอง

ถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเทที่ใช้เป็นถังแก้วใสที่มีขนาด $0.3 \times 0.35 \times 0.3$ เมตร (กว้าง \times ยาว \times สูง) ปริมาตรรวม 31.5 ลิตร ความสูงน้ำ 0.18 เมตร ปริมาตรใช้งาน 18 ลิตร ดังแสดงในภาพที่ 22

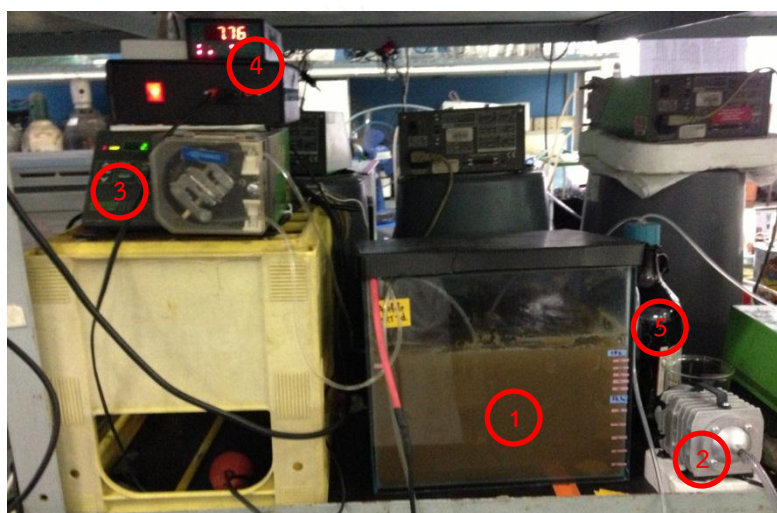
3.2.1.3 การเตรียมตะกอนจุลินทรีย์

หลังจากที่ทำการเก็บตะกอนจุลินทรีย์จากระบบบำบัดน้ำเสียแบบเอสปีอาร์ ของบริษัททิปโก้ เอฟแอนด์บี แล้ว หลังจากนั้นนำตะกอนจุลินทรีย์มาเทใส่ถังน้ำที่เตรียมไว้แล้วทำการเติมอากาศอย่างเต็มที่ทันทีและทำการเก็บตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์สำหรับวิเคราะห์กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ ก่อนที่จะนำตะกอนจุลินทรีย์มาใช้ในการทดลอง ทำการล้างตะกอนโดยน้ำกลั่นก่อน 2 ครั้ง โดยทำการตกตะกอนจุลินทรีย์ หลังจากนั้นดูดน้ำใส่ทิ้ง นำน้ำกลั่นเติมลงไป คนให้เข้ากัน แล้วตกตะกอน ดูดน้ำใส่ทิ้ง ทำการล้างตะกอนสองครั้งเพื่อให้แน่ใจว่าไม่มีสารอินทรีย์เติมตกค้างอยู่

3.2.1.4 การเดินระบบการทดลอง

ในการเดินระบบการทดลองเพื่อศึกษาการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมฟิเอชเอ ดำเนินการทดลองโดยนำตะกอนจุลินทรีย์ที่เก็บมาจากระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ ของบริษัททิปโก้ เอฟแอนด์บี จำกัด มาเลี้ยงด้วยน้ำเสียสังเคราะห์ที่เตรียมจากแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันสองชนิดคืออะซิเตทและโพธิโอเนต องค์ประกอบของระบบการเลี้ยงจุลินทรีย์แบบให้อาหารเกินพอสลับกับขาดแคลนสำหรับการทดลองนี้ แสดงในภาพที่ 23 เริ่มต้นระบบโดยการใช้อถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท ปริมาตร 31.5 ลิตร ใช้เครื่องควบคุมพีเอชอัตโนมัติร่วมกับสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ในการควบคุมค่าพีเอชในระบบให้อยู่ในช่วง 7.0 – 7.4 และ ใช้ชุดอุปกรณ์เติมอากาศ ที่ประกอบไปด้วยเครื่องเติมอากาศและหัวฟู่กระจายอากาศ ในการเติมอากาศอย่างเพียงพอตลอดเวลา

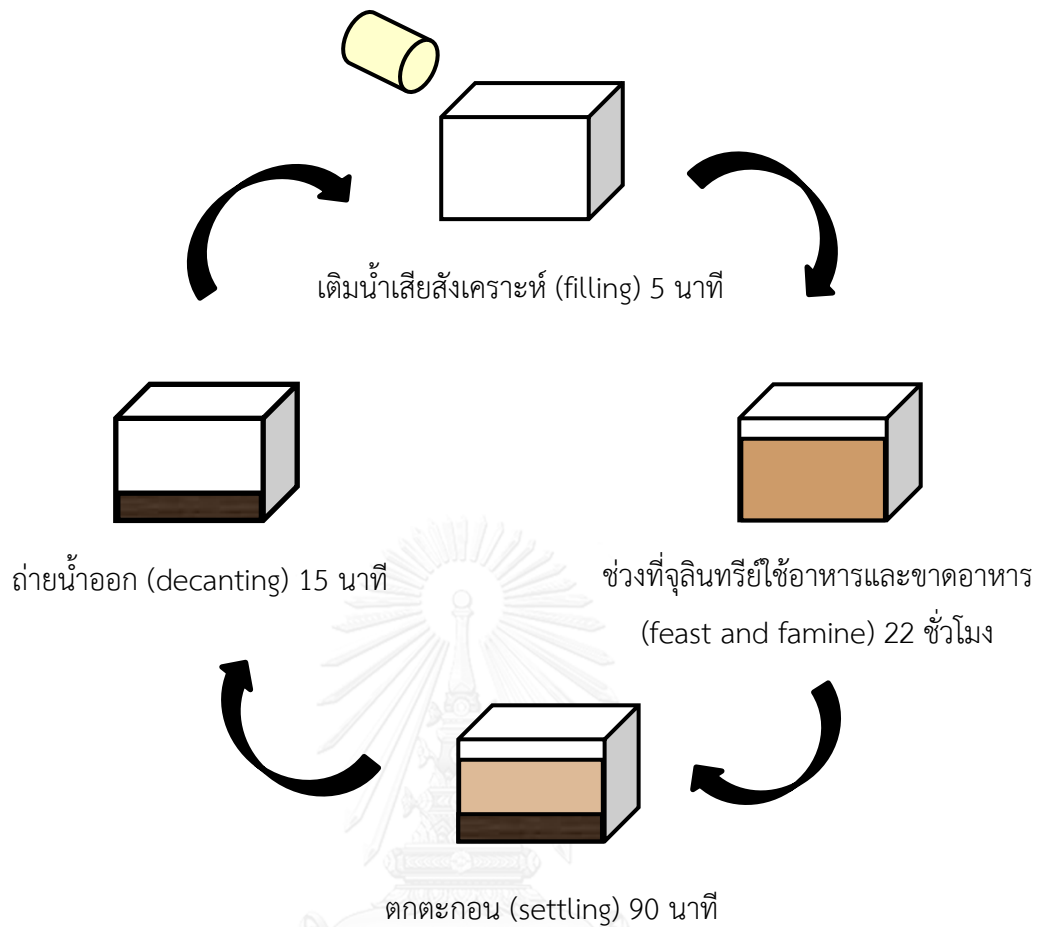
การเดินระบบ กำหนดให้เวลาเก็บกักตะกอนเริ่มต้น (SRT) เท่ากับ 7 วัน เวลาเก็บกักน้ำ (HRT) เท่ากับ 1 วัน ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้น หรือ MLSS ประมาณ 3,000 มิลลิกรัม/ลิตร เท่ากันทั้งสองถังปฏิกรณ์ โดยจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมจะถูกเลี้ยงด้วยน้ำเสียสังเคราะห์ที่เตรียมจากอะซิเตทหรือโพर्फิโอะเนต ที่มีค่าซีโอดีเริ่มต้นประมาณ 3,000 มิลลิกรัม/ลิตร เพื่อให้มีอัตราส่วนอาหารต่อจุลินทรีย์ (F/M ratio) เริ่มต้นในรอบแรกของการเดินระบบเท่ากับ 1 โดยองค์ประกอบของน้ำเสียสังเคราะห์ประกอบด้วยแหล่งคาร์บอน ธาตุอาหารหลัก คือ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม และธาตุอาหารรองที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ พร้อมทั้ง โซเดียมไบคาร์บอเนต (NaHCO_3) ที่ช่วยเป็นบัฟเฟอร์ให้กับระบบและ ไทโอยูเรีย (Thiourea) เพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยาไนตริฟิเคชัน แสดงดังตารางที่ 6



ภาพที่ 23 องค์ประกอบของระบบการเลี้ยงจุลินทรีย์แบบให้อาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน ประกอบด้วย (1) ถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท (2) อุปกรณ์ที่ใช้ในการเติมอากาศ (3) ปุ่มสูบลำลายสารละลายแบบบริดสายยาง (4) ชุดเครื่องควบคุมพีเอชอัตโนมัติ และ (5) สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 1 โมลาร์

การเดินระบบของถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท กำหนดให้ 1 รอบของการเดินระบบเท่ากับ 1 วัน ซึ่งประกอบด้วย 4 ขั้นตอน ดังแสดงในภาพที่ 24 ได้แก่

- 1) เติมน้ำเสียสังเคราะห์ (Filling) 5 นาที
- 2) ช่วงที่จุลินทรีย์ใช้อาหารและขาดอาหาร (Feast and famine) 22 ชั่วโมง
- 3) ตกตะกอน (Settling) 90 นาที
- 4) ถ่ายน้ำออก (Decanting) 15 นาที



ภาพที่ 24 รอบการเดินระบบ 1 รอบของถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท

เริ่มทำการเติมน้ำเสียสังเคราะห์ลงไปในถังปฏิกรณ์ที่มีตะกอนจุลินทรีย์ จากนั้นปล่อยให้จุลินทรีย์ใช้สารอาหาร เมื่อครบรอบการเดินระบบ ทำการตกตะกอนเพื่อถ่ายน้ำเสียเก่าออกและเติมน้ำเสียสังเคราะห์ที่เตรียมขึ้นมาใหม่ลงไปเพื่อให้จุลินทรีย์ใช้อาหารและเกิดสภาวะที่จุลินทรีย์ขาดอาหารขึ้น จากนั้นทำการเดินระบบตามรอบการเดินระบบ ทำการเก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ตลอดการทดลอง โดยสามารถแบ่งพารามิเตอร์ที่ทำการวิเคราะห์ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ พารามิเตอร์ที่ทำการวิเคราะห์อย่างสม่ำเสมอ และ พารามิเตอร์ที่ทำการวิเคราะห์โดยละเอียดทุก ๆ 7 รอบของการเดินระบบ ดังตารางที่ 7 และ 8 ตามลำดับ

หลังจากนั้นนำผลปริมาณพีเอชเอที่จุลินทรีย์สามารถผลิตได้จากแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันมาวิเคราะห์ผลการทดลองเพื่อศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนต่อชนิดและปริมาณของพีเอชเอที่ผลิตได้ จากนั้นนำตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์จากถังปฏิกรณ์ทั้งสองถังไปศึกษาความหลากหลายของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ต่อไป

ตารางที่ 6 องค์ประกอบของน้ำเสียสังเคราะห์

แหล่งคาร์บอน	ความเข้มข้น	หน่วย
CH ₃ COONa	94 ⁽¹⁾	Cmmol/L
CH ₃ CH ₂ COONa	81 ⁽²⁾	Cmmol/L
ธาตุอาหารหลัก	ความเข้มข้น	หน่วย
NH ₄ Cl	100 ⁽³⁾	mg/L as N
KH ₂ PO ₄	11.76	mg/L as P
K ₂ HPO ₄	11.80	mg/L as P
MgSO ₄	500	mg/L
ธาตุอาหารรอง	ความเข้มข้น	หน่วย
FeCl ₃	10	mg/L
CaCl ₂	10	mg/L
H ₃ BO ₃	4	mg/L
CuSO ₄ .5H ₂ O	2	mg/L
MnCl ₂ .2H ₂ O	0.3	mg/L
NaMoO ₄ .2H ₂ O	2	mg/L
ZnSO ₄ .7H ₂ O	2	mg/L
CoCl ₂ .6H ₂ O	8	mg/L
NiCl ₂ .6H ₂ O	2	mg/L
อื่น ๆ	ความเข้มข้น	หน่วย
NaHCO ₃	50	mg/L
Thiourea	20	mg/L

ที่มา : ปรับปรุงจาก Kumar (2004)

(1) ความเข้มข้นของอะซิเตทที่เติมลงไปหน่วย Cmmol/L เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของซีโอดี 3,000 มิลลิกรัม/ลิตร

(2) ความเข้มข้นของโพรฟิไอเนตที่เติมลงไปหน่วย Cmmol/L เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของซีโอดี 3,000 มิลลิกรัม/ลิตร

(3) มาจากอัตราส่วน COD : N : P = 150 : 5 : 1

ตารางที่ 7 พารามิเตอร์ที่ทำการวิเคราะห์อย่างสม่ำเสมอตลอดการทดลอง

พารามิเตอร์	วิธีการวิเคราะห์ และเครื่องมือวิเคราะห์	ความถี่ในการวิเคราะห์
ค่าออกซิเจนละลาย (DO)	เครื่องวัดออกซิเจน (DO meter)	ทุกวัน
พีเอช	เครื่องควบคุมพีเอชอัตโนมัติ (pH controller)	ทุกวัน
อุณหภูมิ	เครื่องวัดออกซิเจน (DO meter)	ทุกวัน
ปริมาตรตะกอนที่ 30 นาที (SV30)	Standard Method 2540F.	ทำรอบการเดินระบบ
ดัชนีปริมาตรตะกอน (SVI)	Standard Method 2710D	ทำรอบการเดินระบบ
ซีโอดี	วิธีรีฟลักซ์แบบปิด (Standard Method 5220C)	ต้นและทำรอบการเดินระบบ
ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS)	Gravimetric method	ต้นและทำรอบการเดินระบบ
ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ใน รูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ (MLVSS)	Gravimetric method	1 ครั้ง ต่อ 5 รอบการเดินระบบ (ต้นและทำรอบการเดินระบบ)

ตารางที่ 8 พารามิเตอร์ที่ทำการวิเคราะห์โดยละเอียดตลอดรอบการเดินระบบ ทุก 7 รอบของการเดินระบบ

พารามิเตอร์	วิธีการวิเคราะห์และเครื่องมือวิเคราะห์	ความถี่ในการวิเคราะห์
ซีไอดี	วิธีรีฟลักซ์แบบปิด (Standard Method 5220C)	ทุก 3 - 5 ชม. ตลอดรอบการเดินระบบ (ทุก 7 รอบของการเดินระบบ)
ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS)	Gravimetric method	ทุก 3 - 5 ชม. ตลอดรอบการเดินระบบ (ทุก 7 รอบของการเดินระบบ)
ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ (MLVSS)	Gravimetric method	ต้น กลาง และท้ายรอบการเดินระบบ
ปริมาณพีเอชเอ	Gas chromatography	ทุก 3 - 5 ชม. ตลอดรอบการเดินระบบ (ทุก 7 รอบของการเดินระบบ)

3.2.1.5 การสกัดและการตรวจวัดปริมาณพีเอชเอ

การสกัดและตรวจวัดปริมาณพีเอชเอ โดยทำการเก็บตัวอย่างและสกัดพีเอชเอจากตะกอนจุลินทรีย์โดยใช้คลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลาย อ้างอิงตามวิธีการของ Chanprateep และคณะ (2008) จากนั้นนำตัวอย่างมาทำการตรวจวัดไฮดรอกซีบิวทิเรตโมโนเมอร์ (พีเอชบี; PHB) และไฮดรอกซีวาเลอเรตโมโนเมอร์ (พีเอชวี; PHV) โดยใช้เครื่องก๊าซโครมาโตกราฟีชนิดหัวตรวจวัดเฟรมไอออนเซชัน (Gas chromatography - flame ionization detector; GC-FID) โดยมีขั้นตอนดังนี้

(1) การเก็บตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์และการล้างตะกอน

ทำการเก็บตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์จากถังปฏิกรณ์ จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เซลล์จุลินทรีย์จะแยกตัวออกจากน้ำ เหน้ใสทิ้ง แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบและเวลาเท่าเดิม ทำซ้ำ 2 ครั้ง หลังจากนั้นเหน้ใสทิ้ง เก็บเซลล์จุลินทรีย์ก้นหลอด นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงครบตามกำหนดเวลา นำเซลล์จุลินทรีย์ที่อบแห้งแล้ว มาเก็บไว้ในเดซิเคเตอร์

(2) การเตรียมสารละลาย 3% กรดซัลฟิวริกในเมทานอลที่มีกรดเบนโซอิก 2 กรัม/ลิตร

การเตรียมสารละลาย 3% กรดซัลฟิวริกในเมทานอลที่มีกรดเบนโซอิก 2 กรัม/ลิตรเพื่อใช้เป็นสารมาตรฐานภายใน (Internal standard) เตรียมได้โดย เติมเมทานอลเกรด AR ปริมาตร 485 มิลลิลิตร หลังจากนั้นค่อย ๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ปริมาตร 15 มิลลิลิตร ลงไปช้า ๆ จะเกิดความร้อนและเกิดควัน ปิดฝา เขย่าให้เข้ากัน ชั่งกรดเบนโซอิก 1 กรัม ละลายในสารละลายดังกล่าว เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

(3) การสกัดพีเอชเอ

1. นำเซลล์จุลินทรีย์ที่อบแห้งแล้วมาบดให้ละเอียด ชั่งในหลอดทดลองให้ได้น้ำหนักประมาณ 20 มิลลิกรัม จดบันทึกน้ำหนักที่ชั่งได้จริงทุกจุดทดสอบ

2. เติมคลอโรฟอร์มปริมาตร 2 มิลลิลิตร และเติมสารละลาย 3% กรดซัลฟิวริกในเมทานอลที่มีกรดเบนโซอิก 2 กรัม/ลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ปิดฝาเกลียวให้แน่น

3. นำไปทำปฏิกิริยาในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 80 องศาเซลเซียส โดยปิดฝาครอบลงมาเพื่อป้องกันน้ำระเหย ทำปฏิกิริยานาน 3 ชั่วโมง นำหลอดทดลองมา vortex หลอดละ 3 นาที ทุก 30 นาที เพื่อให้เซลล์เปื่อยละลายผสมกับสารละลาย เมื่อครบตามเวลาที่กำหนด นำหลอดทดลองขึ้นมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

4. จนอุณหภูมิเย็นลง เติมน้ำกลั่นปริมาตร 1 มิลลิลิตร ปิดฝาให้แน่น แล้วนำหลอดทดลองมา vortex หลอดละ 5 นาที จนครบทุกหลอด ทิ้งไว้สักครู่ ให้สารละลายคลอโรฟอร์มแยกชั้นออกจากสารละลายของเมทานอลและกรด โดยที่คลอโรฟอร์มจะอยู่ชั้นล่างของหลอดทดลอง ส่วนเซลล์จุลินทรีย์จะอยู่ระหว่างชั้นสารละลาย 2 เฟส ทำการเก็บตัวอย่างซึ่งเป็นชั้นของคลอโรฟอร์มออกมาโดยใช้ปิเปตแก้วปลายแหลมดูดเฉพาะสารละลายส่วนล่างซึ่งเป็นชั้นของคลอโรฟอร์มออกมาใส่หลอดฝาเกลียวขนาดเล็ก ห้ามดูดชั้นน้ำและเศษเซลล์ติดออกมา ปิดฝาขวดให้แน่น แล้วพันฝาขวดด้วยแผ่นพาราฟิล์ม นำไปเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

(4) การเตรียมสารมาตรฐาน Poly (3-hydroxybutyric acid-co-12%-3-hydroxyvaleric acid)

1. เตรียมสารมาตรฐานความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

2. สกัดสารมาตรฐานเหมือนกับการสกัดตัวอย่างทุกขั้นตอน

3. ฉีดสารมาตรฐาน 1 ไมโครลิตรเข้าเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟฟี ภายใต้สภาวะเครื่องเดียวกันกับตัวอย่าง ทำกราฟมาตรฐานจนกว่าจะได้เส้นตรงที่มีค่า $R^2 = 0.995$ หรือมากกว่านั้น

(5) การตรวจวัดปริมาณพีเอชเอ

หลังจากสกัดตัวอย่างเรียบร้อยแล้ว นำตัวอย่างไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟฟี ชนิดหัวตรวจวัดเฟรมไอออนไนเซชัน โดยใช้สภาวะการวิเคราะห์และการคำนวณตามวิธีของ อัมทิกา เมืองวงษ์ (2553) ดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 สภาวะเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟฟี

ชนิดของคอลัมน์	แคปพิลลารีคอลัมน์ (Capillary column) ชนิด INNOWAX ขนาด 30 เมตร x 0.32 มิลลิเมตร x 0.25 ไมโครเมตร
อุณหภูมิของ injector	250 องศาเซลเซียส
อุณหภูมิของ column	130 องศาเซลเซียส นาน 6 นาที เพิ่มอุณหภูมิเป็น 180 องศาเซลเซียส ด้วยอัตรา 5 องศาเซลเซียสต่อนาที รักษาอุณหภูมิไว้ที่ 180 องศาเซลเซียส
อุณหภูมิของ detector (FID)	250 องศาเซลเซียส
Split ratio	50 ต่อ 1
ก๊าซตัวพา (carrier gas)	ก๊าซฮีเลียม (He) อัตราการไหล 2 มิลลิตรต่อนาที
ปริมาตรการฉีด	1 ไมโครลิตร

(6) การคำนวณปริมาณพีเอชเอ

- นำผลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐาน Poly (3-hydroxybutyric acid-co-12%-3-hydroxyvaleric acid)
- การวิเคราะห์ชนิดของโมโนเมอร์ ทำได้โดยการเปรียบเทียบเวลาที่อยู่คอลัมน์ (Retention time) ของสารตัวอย่างกับเวลาที่อยู่ในคอลัมน์ของสารมาตรฐาน
- วิธีการคำนวณปริมาณโมโนเมอร์ของพีเอชเอ

$$\text{ปริมาณโมโนเมอร์} = \frac{\text{พื้นที่ใต้กราฟของโมโนเมอร์}}{\text{พื้นที่ใต้กราฟของสารมาตรฐานภายใน}}$$

$$\text{ปริมาณพีเอชเอ} = \left[\frac{\text{ปริมาณโมโนเมอร์ (กรัมต่อลิตร)} \times \text{ปริมาณคลอโรฟอร์ม}}{\text{ปริมาณเซลล์ที่ใช้ในการสกัด}} \right] \times 100$$

(ร้อยละโดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง)

3.2.2 การทดลองช่วงที่ 2

การทดลองช่วงที่ 2 ศึกษาโครงสร้างและคุณสมบัติทางความร้อนของพีเอชเอทีผลิตได้จากการใช้แหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน โดยเมื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณพีเอชเอทีในแต่ละตัวอย่างแล้วจึงนำผลการวิเคราะห์มาทำการเลือกตัวอย่างเพื่อนำไปศึกษาโครงสร้างและคุณสมบัติทางความร้อนของพีเอชเอทีผลิตได้ และเปรียบเทียบคุณสมบัติของพีเอชเอทีผลิตได้จากการใช้แหล่งคาร์บอนที่ต่างกัน คืออะซิเตทและโพรพิโอเนต ตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์จะเลือกตัวอย่างจากรอบการเดินระบบที่มีพีเอชเอทีสูงสุดของแต่ละถังจากการทดลองช่วงที่ 1 โดยพารามิเตอร์และตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 พารามิเตอร์และตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์ในการทดลองช่วงที่ 2

พารามิเตอร์ที่ทำการวิเคราะห์	ถังปฏิกรณ์	ตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์	วันที่เก็บตัวอย่าง
1. โพรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรสโกปี ($^1\text{H NMR}$)	อะซิเตท	ตะกอนจุลินทรีย์จากรอบการเดินระบบที่ 34 (รอบการเดินระบบที่มีพีเอชเอทีสูงสุด) ชั่วโมงที่ 12 15 18 และ 21	12 ต.ค. 56
2. อุณหภูมิการหลอมตัวของผลึก (Melting temperature, T_m)			
3. อุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (Glass transition temperature, T_g)			
4. อุณหภูมิการเกิดผลึก (Crystallization temperature, T_c)	โพรพิโอเนต	ตะกอนจุลินทรีย์จากรอบการเดินระบบที่ 27 (รอบการเดินระบบที่มีพีเอชเอทีสูงสุด) ชั่วโมงที่ 15 18 21 และ 24	28 ก.ย. 56

3.2.2.1 การสกัดพีเอชเอจากเซลล์แห้งโดยใช้คลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลายและการทำให้บริสุทธิ์

สกัดพีเอชเอจากเซลล์แห้งโดยใช้คลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลาย ใช้วิธีการสกัดสารโดยใช้เครื่องซอกซ์เลต (Soxhlet extraction apparatus) มีขั้นตอนดังนี้

1. นำเซลล์จุลินทรีย์ที่อบแห้งแล้ว มาบดให้ละเอียดเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัส
2. ชั่งเซลล์แห้งใส่ลงใน Cellulose extraction thimble หลังจากนั้นต่อชุดสกัดซอกซ์เลต โดยใส่ Cellulose extraction thimble ลงในส่วนของ Soxhlet Extractor ตวงคลอโรฟอร์มปริมาตร 350 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดก้นกลม

3. ทำการสกัดโพลีเมอร์ด้วยคลอโรฟอร์มร้อนโดยใช้อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

4. เมื่อครบตามกำหนดเวลา เทสารละลายคลอโรฟอร์มที่อยู่ในขวดก้นกลมใส่ลงในปีกเกอร์ ตั้งทิ้งไว้ในตู้ดูดควันที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง เพื่อระเหยคลอโรฟอร์มออกจนหมด

5. เมื่อระเหยคลอโรฟอร์มออกจนหมด จะได้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะคล้ายแผ่นฟิล์ม นำมาทำให้บริสุทธิ์ โดยการนำมาตกตะกอนด้วยเฮกเซน ทำโดยนำแผ่นฟิล์มที่ทำการระเหยคลอโรฟอร์มออกเรียบร้อยแล้ว นำมาละลายในคลอโรฟอร์มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จนเป็นเนื้อเดียวกัน หลังจากนั้นนำมาตกตะกอนในเฮกเซน ด้วยปริมาตร 4 เท่า (v/v) ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งให้ระเหยในตู้ดูดควันเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

6. ครบตามกำหนดเวลา จะได้ผลิตภัณฑ์โพลีเมอร์ที่ทำให้บริสุทธิ์แล้วโดยการตกตะกอนด้วยเฮกเซน เก็บโพลีเมอร์ไว้ในเดซิเคเตอร์

การสกัดพีเอชเอจากเซลล์แห้งในการทดลองช่วงที่ 2 นั้นแตกต่างจากการสกัดพีเอชเอในการทดลองช่วงที่ 1 ตรงที่การทดลองช่วงที่ 1 ต้องการหาปริมาณเอชบีและเอชวีโมโนเมอร์จึงจำเป็นต้องมีขั้นตอนการสลายสายโซ่โพลีเมอร์ให้อยู่ในรูปของโมโนเมอร์ก่อน โดยสารละลายกรดซัลฟิวริก จากนั้นจึงทำการวิเคราะห์หาปริมาณโมโนเมอร์ของเอชบีและเอชวีด้วยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟี สำหรับการทดลองช่วงที่ 2 ต้องการวิเคราะห์ $^1\text{H NMR}$ และคุณสมบัติทางความร้อน ซึ่งตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์จะยังคงอยู่ในรูปของโพลีเมอร์ จึงไม่มีขั้นตอนการสลายสายโซ่โพลีเมอร์ให้เป็นโมโนเมอร์ จึงทำการสกัดโดยใช้ซอกซ์เลตและคลอโรฟอร์มโดยตรง

3.2.2.2 การศึกษาโครงสร้างของพีเอชเอโดยวิเคราะห์โปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรสโกปี ($^1\text{H NMR}$)

นำผลิตภัณฑ์โพลีเมอร์ที่ทำให้บริสุทธิ์แล้ว มาทำการวิเคราะห์โครงสร้างของโพลีเมอร์ โดยวิเคราะห์โปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรสโกปี ($^1\text{H NMR}$) ด้วยเครื่องเอ็นเอ็มอาร์สเปกโตรมิเตอร์ (NMR spectrometer) ใช้ตัวอย่างปริมาณ 1 - 5 มิลลิกรัม ละลายในตัวทำละลาย CDCl_3 (deuterated chloroform) ทำการวิเคราะห์ด้วยความถี่ 400 เมกะเฮิร์ตซ์ อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ที่ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

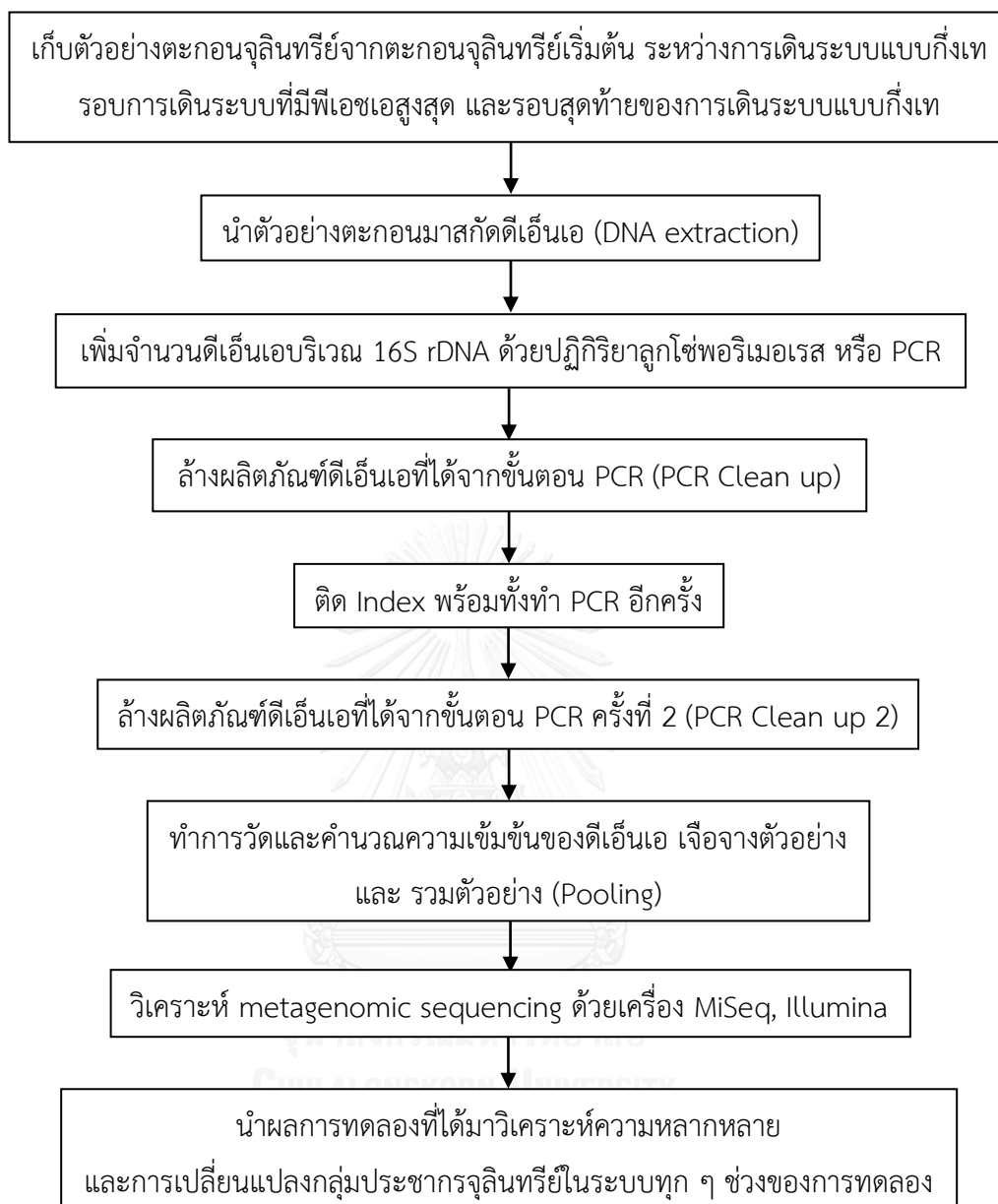
3.2.2.3 การศึกษาคุณสมบัติทางความร้อนของพีเอชเอ

วิเคราะห์อุณหภูมิหลอมตัวของผลึก (Melting temperature, T_m) อุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (Glass transition temperature, T_g) และ อุณหภูมิการเกิดผลึก

(Crystallization temperature, T_c) ด้วยเครื่อง Differential Scanning Calorimeters (DSC) ใช้ตัวอย่างประมาณ 10 มิลลิกรัม ใส่ลงในถ้วยอะลูมิเนียม ทำการวิเคราะห์โดยการเพิ่มอุณหภูมิจากอุณหภูมิห้องไปถึง 200 องศาเซลเซียส ด้วยอัตรา 20 องศาเซลเซียสต่อนาที แล้วตามด้วยการลดอุณหภูมิลงอย่างรวดเร็วไปจนถึง -100 องศาเซลเซียส ทำการวิเคราะห์ภายใต้สภาวะไนโตรเจน ที่ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2.3 การทดลองช่วงที่ 3

การทดลองช่วงที่ 3 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์โดยใช้เทคนิค 16s metagenomic sequencing library (MiSeq, Illumina) โดยทำการศึกษาความหลากหลายและการเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้น ตะกอนจุลินทรีย์ระหว่างการเดินระบบแบบกึ่งเท ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่มีพีเอชเอสูงสุด และตะกอนจุลินทรีย์จากรอบสุดท้ายของการเดินระบบแบบกึ่งเท เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบแบบกึ่งเทที่มีการเลี้ยงด้วยแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันว่าตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นเมื่อถูกเลี้ยงด้วยแหล่งคาร์บอนต่างชนิดกัน กลุ่มประชากรจุลินทรีย์เปลี่ยนแปลงไปอย่างไร ซึ่งมีขั้นตอนการดำเนินการทดลองดังภาพที่ 25



ภาพที่ 25 แผนผังสรุปการดำเนินการทดลองช่วงที่ 3

ตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ ที่นำมาศึกษาการเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบ มีทั้งหมด 7 ตัวอย่าง แสดงในตารางที่ 11

ตารางที่ 11 ตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ที่นำมาศึกษาในการทดลองช่วงที่ 3

ถังปฏิกรณ์	ตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์	วันที่เก็บตัวอย่าง
ตะกอนเริ่มต้นจากโรงงาน	ตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นจากระบบบำบัดน้ำเสียของบริษัทปิโก้ เอฟ แอนด์ บี	30 ส.ค. 56
อะซิเตท	ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 14 (ระหว่างการเดินระบบแบบกึ่งเท)	15 ก.ย. 56
	ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 34 (รอบการเดินระบบที่มีพีเอชเอสูงสุด)	5 ต.ค. 56
	ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 81 (รอบการเดินระบบรอบสุดท้ายก่อนปีตรระบบ)	3 ม.ค. 57
โพรพีโอเนต	ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 14 (ระหว่างการเดินระบบแบบกึ่งเท)	15 ก.ย. 56
	ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 27 (รอบการเดินระบบที่มีพีเอชเอสูงสุด)	28 ก.ย. 56
	ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 81 (รอบการเดินระบบรอบสุดท้ายก่อนปีตรระบบ)	3 ม.ค. 57

ขั้นตอนการวิเคราะห์ความหลากหลายและการเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์โดยใช้เทคนิค 16s metagenomic sequencing library มีขั้นตอนต่าง ๆ ดังนี้

3.2.3.1 การเก็บตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์

ทำการเก็บตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์จากถังปฏิกรณ์ จากนั้นนำไปหมუნเหียงที่ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เซลล์จุลินทรีย์จะแยกตัวออกจากน้ำ เหน้ใสทิ้ง แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น จากนั้นนำไปหมუნเหียงที่ความเร็วรอบและเวลาเท่าเดิม ทำซ้ำ 2 ครั้ง หลังจากนั้นเหน้ใสทิ้ง เก็บเฉพาะเซลล์จุลินทรีย์กันหลอดไว้ในหลอดพลาสติก (Eppendorf) ขนาด 1.7 มิลลิลิตร ทำการเก็บตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

3.2.3.2 การสกัดดีเอ็นเอ

ทำการสกัดดีเอ็นเอโดยใช้ชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป (FastDNA[®] SPIN Kit for Soil) และขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอ ทำตามขั้นตอนที่ระบุโดยผู้ผลิต (MP Biomedicals, USA.) โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. นำตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ที่เก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส มาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนน้ำแข็งละลาย หลังจากนั้นตัดตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ให้ได้ประมาณ 2 มิลลิกรัมเอ็มแอลเอส ใส่ลงในหลอดพลาสติกขนาด 1.7 มิลลิลิตร

2. เติมโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Sodium Phosphate Buffer) 978 ไมโครลิตร ใช้ไมโครปิเปตทวนผสมตะกอนจุลินทรีย์กับโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ให้เข้ากัน ดูดสารละลายทั้งหมดใส่ลงใน Lysing Matrix E tube หลังจากนั้นเติมเอ็มทีบัฟเฟอร์ (MT Buffer) 122 ไมโครลิตร นำไปผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง FastPrep[®] ระดับความเร็ว 6.0 เป็นเวลา 40 วินาที ครอบคลุมตามกำหนดเวลา นำมาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000xg เป็นเวลา 5 - 10 นาทีครอบคลุมตามกำหนดเวลาจะได้ดีเอ็นเอที่ถูกสกัดออกมาอยู่ในชั้นน้ำใส

3. ถ่ายสารละลายใส่ทั้งหมดใส่ลงในหลอดพลาสติกขนาด 1.7 มิลลิลิตร เติมพีพีเอส (Protein Precipitation Solution) 250 ไมโครลิตร พลิกหลอดด้วยมือไปมา 10 ครั้ง หลังจากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000xg เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นถ่ายสารละลายใส่ในหลอดทดลองขนาด 2 มิลลิลิตร ถ่ายแค่สารละลายใส ห้ามดูดเอาตะกอนกันหลุด เติม Binding Matrix Suspension 1 มิลลิลิตร พลิกไปมาด้วยมือเป็นเวลา 2 นาที ตั้งทิ้งไว้อีก 3 นาที เพื่อตกตะกอน

4. ครอบ 3 นาที ดูดสารละลายใสส่วนบนทิ้ง 500 ไมโครลิตรแล้วผสมสารละลายใสกับตะกอนสีขาวที่เหลือในหลอดให้เข้ากัน แล้วถ่ายลงใน SPIN[™] filter ประมาณ 600 ไมโครลิตร จากนั้นนำมาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000xg เป็นเวลา 1 นาที สารละลายใสจะผ่านกระดาษกรองไปที่บริเวณกันหลุด ดีเอ็นเอที่ต้องการจะติดอยู่บนกระดาษกรอง มีลักษณะเป็นสีขาวขุ่น

5. นำกระดาษกรองขึ้นมา และนำหลอดที่มีสารละลายใส เทสารละลายใสทิ้ง เอาหลอดที่เติม Binding Matrix Suspension แล้วยังคงเหลือสารละลาย นำสารละลายที่เหลือมาเติมใส่ใน SPIN[™] filter ให้หมดแล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000xg เป็นเวลา 1 นาที ครอบคลุมตามกำหนดเวลา เอาส่วนที่เป็นกระดาษกรองขึ้นมา แล้วเอาหลอดที่มีสารละลายใส เทสารละลายใสทิ้ง หลังจากนั้นเติม SEWS-M 500 ไมโครลิตร เพื่อล้างสิ่งปนเปื้อนที่ติดอยู่กับดีเอ็นเอออก แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000xg เป็นเวลา 1 นาที ครอบคลุมตามกำหนดเวลา เทสารละลายใสส่วนล่างทิ้ง หมุนเหวี่ยงต่อที่ความเร็ว 14,000xg เป็นเวลา 2 นาที เพื่อให้แน่ใจว่าไม่มีสารละลายอะไรหลงเหลืออยู่ในดีเอ็นเอ

6. ต่อมาย้ายส่วนที่เป็นตัวกรองที่มีดีเอ็นเอ ใส่ลงใน Catch tube ตั้งเปิดฝาทิ้งไว้ 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ครอบตามกำหนดเวลา เติม DES 50 ไมโครลิตรโดยใช้ไมโครปิเปตค่อย ๆ หยดสารละลาย พยายามหยดให้โดนทุกส่วน เพื่อชะให้ดีเอ็นเอที่ติดอยู่บนกระดาษกรองละลายออกมา นำหลอดมา Vortex เพื่อให้ DES สัมผัสกับดีเอ็นเอให้มากที่สุด หลังจากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 14,000xg เป็นเวลา 1 นาที ครอบตามกำหนดเวลา ทั้งส่วนของกระดาษกรองทั้ง จะได้สารละลายดีเอ็นเอปริมาตร 50 ไมโครลิตร นำไปเก็บรักษาในตู้เย็นอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

3.2.3.3 การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของตัวอย่างดีเอ็นเอด้วยเครื่องแยกกระแสไฟฟ้า

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้มาตรวจสอบด้วยเครื่อง Horizontal DNA Electrophoresis Gel Box โดยใช้อะกาโรสเจลความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ในทีเออีบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 1 เท่า และใช้ 1Kb DNA Ladder เป็นดีเอ็นเอมาตรฐาน นำดีเอ็นเอปริมาณ 2 ไมโครลิตร ผสมกับ 6x loading dye ปริมาณ 1.2 ไมโครลิตร หยดลงในร่องแผ่นเจล รวมถึงดีเอ็นเอมาตรฐานด้วย ทำการแยกผ่านด้วยกระแสไฟฟ้า (Electrophoresis) โดยใช้แรงดันไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำแผ่นเจลไปแช่ในเอทีเดียมโบรไมด์ (Ethidiumbromide) ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร นาน 20 นาที ครอบตามกำหนดเวลา นำแผ่นเจลไปแช่ในทีเออีบัฟเฟอร์นาน 5 นาที เมื่อครบตามกำหนดเวลา นำแผ่นเจลไปตรวจสอบด้วยเครื่อง UV Transilluminator

3.2.3.4 การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอบริเวณ 16S rDNA ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส หรือ PCR (Polymerase Chain Reaction)

ตารางที่ 12 องค์ประกอบของสารเคมีที่ใช้ในการทำ PCR

สารเคมี	ปริมาตร (ไมโครลิตร)
น้ำปราศจากดีเอ็นเอสำหรับทำPCR	27.8
10X Taq Buffer	4
dNTP	0.8
MgCl ₂	4
Taq DNA Polymerase	0.2
Forward primer 515F	0.8
Reverse primer 806R	0.8
DNA Template	1.6
Total	40

ตารางที่ 13 ไพรเมอร์ที่ใช้ในการทดลอง

ไพรเมอร์	ลำดับเบส (5'-3')	อ้างอิง
515F	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGGTGCCAG CMGCCGCGGTAA	Caporasoและ คณะ (2011)
806R	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGGACTA CHVGGGTWTCTAAT	

ไพรเมอร์ที่ใช้ในการทดลองสามารถเพิ่มจำนวน 16S rDNA ได้ทั้งกลุ่มแบคทีเรียและอาร์เคีย (Caporasoและคณะ, 2011) โดยมีจำนวนคู่เบส (basepair) เท่ากับ 291 basepair

สภาวะที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณ 16S rDNA ด้วยเครื่องทำปฏิกิริยาลูกโซ่พหุริเมอเรส โดยใช้โปรแกรมอุณหภูมิ ดังนี้

Initial denaturing	95 องศาเซลเซียส 3 นาที	} 27รอบ
Denaturing	95 องศาเซลเซียส 30 วินาที	
Annealing	55 องศาเซลเซียส 30 วินาที	
Extension	72 องศาเซลเซียส 30 วินาที	
Final extension	72 องศาเซลเซียส 5 นาที	
End	4 องศาเซลเซียส	

3.2.3.5 ทำการตรวจสอบผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอที่ได้จากขั้นตอน PCR ด้วยวิธีการแยกด้วยกระแสไฟฟ้า

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้มาตรวจสอบด้วยเครื่อง Horizontal DNA Electrophoresis Gel Box โดยใช้อะกาโรสเจลความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ในทีเออีบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 1 เท่า และใช้ 100bp+1.5kb DNA Ladder เป็นดีเอ็นเอมาตรฐาน นำดีเอ็นเอปริมาณ 2 ไมโครลิตร ผสมกับ 6x loading dye ปริมาณ 1.2 ไมโครลิตร หยอดลงในร่องแผ่นเจล รวมถึงดีเอ็นเอมาตรฐานด้วย ทำการแยกผ่านด้วยกระแสไฟฟ้า (Electrophoresis) โดยใช้แรงดันไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำแผ่นเจลไปแช่ในเอทีเดียมโบรไมด์ (Ethidiumbromide) ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร นานประมาณ 20 นาที ครบตามกำหนดเวลา นำแผ่นเจลไปแช่ในทีเออีบัฟเฟอร์นาน 5 นาที เมื่อครบตามกำหนดเวลา นำแผ่นเจลไปตรวจสอบด้วยเครื่อง UV Transilluminator

3.2.3.6 การล้างผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอที่ได้จากขั้นตอน PCR

ขั้นตอนนี้จะเป็นการใช้ AMPure XP beads ขะล้างบัฟเฟอร์ ไพร์เมอร์ไคเมอร์ และ ไพร์เมอร์ ที่อาจมีปะปนอยู่ระหว่างขั้นตอนการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยการทำ PCR โดยมีวิธีการดังนี้

ตารางที่ 14 สารเคมีที่ใช้ในการล้างผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอที่ได้จากขั้นตอน PCR

สารเคมี	ปริมาณ (ต่อตัวอย่าง)	การเก็บรักษา
10mM Tris pH 8.5	52.5 ไมโครลิตร	-20 องศาเซลเซียส
AMPure XP beads	20 ไมโครลิตร	4 องศาเซลเซียส
80% Ethanol (EtOH)	400 ไมโครลิตร	-

- นำ AMPure XP beads มาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง
- ถ่ายตัวอย่างปริมาณ 25 ไมโครลิตรใส่ลงในแต่ละหลุมของ 96-well MIDI plate
- นำ AMPure XP beads มา Vortex 30 วินาที เพื่อให้เป็นเนื้อเดียวกัน
- เติม AMPure XP beads 20 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมของ MIDI plate ทำการเปลี่ยน tip ทุกครั้ง
- นำแผ่นฟิล์มพลาสติกมาปิด MIDI plate แล้วนำไปเขย่าอย่างรุนแรงด้วยความเร็วรอบ 1800 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาทีเพื่อให้ดีเอ็นเอ ผสมเข้ากันกับ AMPure XP beads
- วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที
- เมื่อครบตามกำหนดเวลา นำ MIDI plate วางบน magnetic stand นาน 2 นาที โดย beads จะมีคุณสมบัติเป็นแม่เหล็ก ซึ่ง beads จะเคลือบด้วย oligonucleotide สำหรับจับดีเอ็นเอ เมื่อนำ MIDI plate วางบน magnetic stand ส่วนที่เป็นดีเอ็นเอและ beads จะตกลงมาข้างล่าง เนื่องจากคุณสมบัติที่เป็นแม่เหล็ก สำหรับส่วนที่เหลือจะคงอยู่ในสารละลายใสด้านบน
- ดูดสารละลายใสทิ้ง โดยพยายามอย่าให้โดนตัวตะกอน
- ทำการล้างสารละลายและ beads โดยใช้ 80% ethanol ด้วยการเติม 80% ethanol ปริมาณ 200 ไมโครลิตรลงในแต่ละหลุมตัวอย่าง หลังจากนั้นดูดสารละลายใสทิ้ง
- ทำการล้างสารละลายและ beads โดยใช้ 80% ethanol อีกรอบ เพื่อให้แน่ใจว่าสามารถล้างสารละลายและ beads ได้หมด
- เมื่อผ่านขั้นตอนการล้างด้วย 80% ethanol ก็เหลือเฉพาะดีเอ็นเอที่ต้องการ เนื่องจากสารละลายและ beads ได้ถูกล้างออกไปจนหมด จากนั้นให้วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที

12. นำ MIDI plate ออกจาก magnetic stand ทำการเติม Tris pH 8.5 ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาณ 52.5 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมตัวอย่าง

13. นำแผ่นฟิล์มพลาสติกมาปิด MIDI plate แล้วนำไปเขย่าอย่างรุนแรงด้วยความเร็วรอบ 1800 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที

14. วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 นาที

15. เมื่อครบตามกำหนดเวลา นำ MIDI plate วางบน magnetic stand นาน 2 นาที

16. ดูดสารละลายใส่ 50 ไมโครลิตร เก็บไว้ในหลอด PCR tube

17. ทำการแบ่งตัวอย่างมาตัวอย่างละ 2 ไมโครลิตร นำไปเข้าเครื่อง Bioanalyzer เพื่อตรวจสอบจำนวนคู่เบส (basepair) ของตัวอย่างดีเอ็นเอที่ได้ว่าตรงตามที่ต้องการหรือไม่ ซึ่งในที่นี่จำนวนคู่เบสของดีเอ็นเอที่ต้องการคือประมาณ 300 basepair

3.2.3.7 การติด Index

ขั้นตอนนี้เป็นการติด Index ที่ปลาย sequencing primer ทั้ง 2 ด้าน เพื่อใช้ในการจำแนกตัวอย่างตาม sequence ของ Index และติด Illumina sequencing adapters โดยใช้ Nextera XT Index Kit โดย Index ที่ติดสำหรับแต่ละตัวอย่างแสดงดังตารางที่ 15 ซึ่งขั้นตอนการติด Index มีดังนี้

1. ถ่ายตัวอย่างดีเอ็นเอที่ผ่านขั้นตอนการล้าง ปริมาณ 5 ไมโครลิตรใส่ลงในหลอด PCR tube
2. เติมสารเคมีโดยมีองค์ประกอบของสารเคมี ดังแสดงในตารางที่ 16
3. ทำ PCR ด้วยเครื่องทำปฏิกิริยาอุณหภูมิไซโคลเซอร์ เพื่อให้ Index ติดกับ ปลาย sequencing primer ทั้ง 2 ด้าน โดยใช้โปรแกรมอุณหภูมิ ดังนี้

Initial denaturing	95 องศาเซลเซียส 3 นาที	} 8รอบ
Denaturing	95 องศาเซลเซียส 30 วินาที	
Annealing	55 องศาเซลเซียส 30 วินาที	
Extension	72 องศาเซลเซียส 30 วินาที	
Final extension	72 องศาเซลเซียส 5 นาที	
End	4 องศาเซลเซียส	

ตารางที่ 15 รหัส Index ที่ใช้ในการติดกับตัวอย่างดีเอ็นเอ

ตัวอย่างตะกอน จุลินทรีย์	รหัส ตัวอย่าง	I7 Index ID	Index	I5 Index ID	Index 2
รอบการเดินระบบที่ 14 (อะซิเตท)	1	N703	AGGCAGAA	S504	AGAGTAGA
รอบการเดินระบบที่ 34 (อะซิเตท)	2	N704	TCCTGAGC	S504	AGAGTAGA
รอบการเดินระบบที่ 81 (อะซิเตท)	3	N705	GGACTCCT	S504	AGAGTAGA
รอบการเดินระบบที่ 14 (โพรพิโอเนต)	4	N706	TAGGCATG	S504	AGAGTAGA
รอบการเดินระบบที่ 27 (โพรพิโอเนต)	5	N701	TAAGGCGA	S517	GCGTAAGA
รอบการเดินระบบที่ 81 (โพรพิโอเนต)	6	N702	CGTACTAG	S517	GCGTAAGA

ตารางที่ 16 องค์ประกอบของสารเคมีที่ใช้สำหรับการติด Index PCR

สารเคมี	ปริมาณ (ไมโครลิตร)
DNA	5
Nextera XT Index 1 Primers (N7XX)	5
Nextera XT Index 2 Primers (S5XX)	5
2x KAPA HiFi HotStart ReadyMix	25
PCR Grade water	10
Total	50

3.2.3.8 การล้างผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอที่ได้จากขั้นตอน PCR ครั้งที่ 2

ขั้นตอนนี้จะเป็นการใช้ AMPure XP beads ชะล้างสารละลายไพร์เมอร์ไคเมอร์ที่อาจมีหลงเหลืออยู่ระหว่างขั้นตอนการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยการทำ PCR ก่อนหน้านี้ ก่อนที่จะนำไปวัดความเข้มข้นของดีเอ็นเอ โดยมีวิธีการดังนี้

1. นำ AMPure XP beads มาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง
2. ถ่ายตัวอย่างผลิตภัณฑ์ PCR ที่ผ่านการติด Index แล้ว ปริมาณ 50 ไมโครลิตรใส่ลงในแต่ละหลุมของ 96-well MIDI plate
3. นำ AMPure XP beads มา Vortex 30 วินาที เพื่อให้เป็นเนื้อเดียวกัน
4. เติม AMPure XP beads 56 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมของ MIDI plate ทำการเปลี่ยน tip ทุกครั้ง
5. นำแผ่นฟิล์มพลาสติกมาปิด MIDI plate แล้วนำไปเขย่าอย่างรุนแรงด้วยความเร็วรอบ 1800 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที เพื่อให้ดีเอ็นเอผสมเข้ากับ AMPure XP beads
6. วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที
7. เมื่อครบตามกำหนดเวลา นำ MIDI plate วางบน magnetic stand นาน 2 นาที
8. ดูดสารละลายใส่ทิ้ง พยายามอย่าให้โดนตัวตะกอน
9. ทำการล้างสารละลายและ beads โดยใช้ 80% ethanol ด้วยการเติม 80% ethanol ปริมาณ 200 ไมโครลิตรลงในแต่ละหลุมตัวอย่าง หลังจากนั้นดูดสารละลายใส่ทิ้งทำการล้างสองรอบ เพื่อให้แน่ใจว่าสามารถล้างสารละลายและ beads ได้หมด
10. เมื่อผ่านขั้นตอนการล้างด้วย 80% ethanol จากนั้นให้วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที
11. นำ MIDI plate ออกจาก magnetic stand ทำการเติม Tris pH 8.5 ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาณ 27.5 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมตัวอย่าง
12. นำแผ่นฟิล์มพลาสติกมาปิด MIDI plate แล้วนำไปเขย่าอย่างรุนแรงด้วยความเร็วรอบ 1800 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที
13. วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 นาที
14. เมื่อครบตามกำหนดเวลา นำ MIDI plate วางบน magnetic stand นาน 2 นาที
15. ดูดสารละลายใส่ 25 ไมโครลิตร เก็บไว้ในหลอด PCR tube

3.2.3.9 การวัดและคำนวณความเข้มข้นของดีเอ็นเอ การเจือจางตัวอย่าง และการรวมตัวอย่าง (Pooling)

หลังจากที่ทำการล้างผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอที่ได้จากขั้นตอน PCR ครั้งที่ 2 จากนั้นจะแบ่งตัวอย่างมาทำการวัดความเข้มข้นของดีเอ็นเอโดยใช้วิธี fluorometric quantification โดยใช้เครื่อง Qubit fluorometer จากนั้นทำการคำนวณความเข้มข้นของดีเอ็นเอในหน่วยนาโนโมลาร์ (nM) โดยมีสูตรการคำนวณ ดังนี้

$$\text{DNA concentration (nM)} = \left[\frac{\text{concentration} \left(\frac{\text{ng}}{\mu\text{l}} \right)}{660 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \times \text{average library size}} \right] \times 10^6$$

หลังจากทำการคำนวณความเข้มข้นของดีเอ็นเอเรียบร้อยแล้ว จึงทำการเจือจางตัวอย่างโดยใช้ 10 mM Tris pH 8.5 เพื่อเจือจางตัวอย่างให้เหลือความเข้มข้น 4 นาโนโมลาร์ ปริมาตรรวม 50 ไมโครลิตร จากนั้นจึงนำตัวอย่างมาตัวอย่างละ 5 ไมโครลิตร มาผสมรวมกันในหลอดเดียว เพื่อนำไปเข้าเครื่อง MiSeq เมื่อเสร็จสิ้นขั้นตอนนี้จึงส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ metagenomic sequencing ด้วยเครื่อง MiSeq, Illumina ที่คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย หลังจากนั้นนำข้อมูลดิบมาแปลผลด้วยโปรแกรม Base space

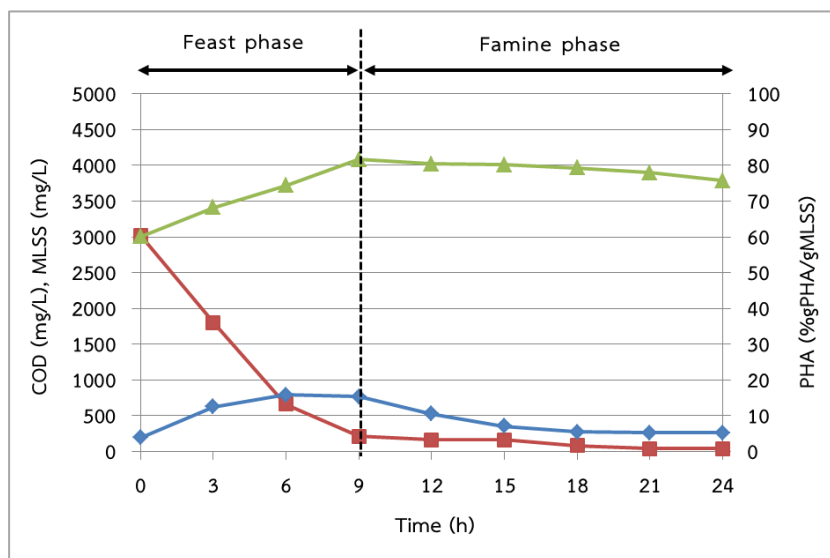
บทที่ 4

ผลการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูล

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนต่อการผลิตพีเอชเอ โดยใช้ถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเทสำหรับเลี้ยงจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมที่ได้มาจากตะกอนจุลินทรีย์ส่วนเกินจากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานผลิตน้ำผลไม้ โดยใช้น้ำเสียสังเคราะห์ที่เตรียมจากแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันสองชนิดคือ อะซิเตทและโพรพิโอเนต โดยมีการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน ศึกษาโครงสร้างและคุณสมบัติทางกายภาพของพีเอชเอที่ผลิตได้จากแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน รวมถึงการใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบ

4.1 ผลการศึกษาการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมพีเอชเอด้วยการใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน

จากการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมพีเอชเอด้วยการใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเริ่มต้นเดินระบบที่อัตราส่วนอาหารต่อจุลินทรีย์ (F/M ratio) เท่ากับ 1 ในรอบแรกของการเดินระบบจุลินทรีย์สามารถใช้สารอาหารได้เกือบหมดและไม่สามารถย่อยสลายสารอาหารได้ต่อภายในระยะเวลา 9 ชั่วโมง โดยช่วงระยะเวลาที่เหลือ 15 ชั่วโมงเป็นช่วงที่เกิดสภาวะอาหารขาดแคลน ทั้งนี้ค่าอัตราการใช้สารอาหารจำเพาะ (specific rate of substrate utilization) เท่ากับ 0.104 กรัมซีโอดีต่อกรัมเอ็มแอลเอสต่อชั่วโมง โดยจุลินทรีย์สามารถกำจัดซีโอดีได้ลดลงต่ำสุดเหลือ 41 มิลลิกรัม/ลิตร และจุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตโดยมีค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) สูงสุดถึง 4,082 มิลลิกรัม/ลิตรในชั่วโมงที่ 9 ซึ่งเป็นช่วงท้ายของช่วงที่มีอาหารเกินพอ แต่ภายหลังจากที่จุลินทรีย์อยู่ในสภาวะอาหารขาดแคลน ปริมาณจุลินทรีย์ได้ค่อย ๆ ลดจำนวนลง คาดว่าเนื่องจากจุลินทรีย์เกิดการย่อยสลายตัวเองในช่วงที่ขาดแคลนสารอาหาร จากผลการทดลองพบว่าในรอบแรกของการเดินระบบจุลินทรีย์สามารถใช้สารอาหารภายนอกและผลิตพีเอชเอสะสมไว้ภายในเซลล์ควบคู่ไปกับการเจริญเติบโตของเซลล์ในช่วงที่อาหารเกินพอ (feast phase) จากนั้นในช่วงขาดแคลนอาหาร (famine phase) จุลินทรีย์จึงนำพีเอชเอที่สะสมไว้ภายในเซลล์มาใช้เป็นสารอาหารต่อไป ซึ่งจะเห็นได้จากกรณีที่ช่วงท้ายของรอบการเดินระบบพีเอชเอมีปริมาณลดลงจนเกือบเท่ากับปริมาณพีเอชเอตอนเริ่มต้น ทั้งนี้ในรอบแรกของการเดินระบบจุลินทรีย์สามารถผลิตพีเอชเอได้สูงสุดร้อยละ 15.78 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (% gPHA/gMLSS) ในชั่วโมงที่ 6 ดังแสดงในภาพที่ 26



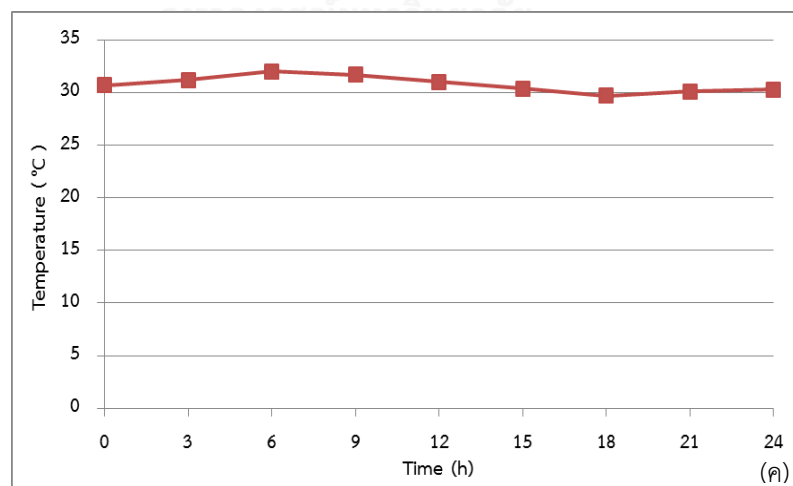
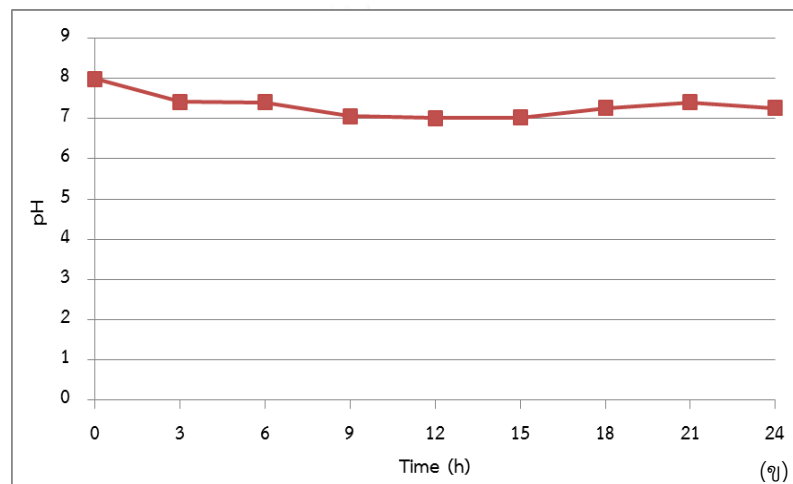
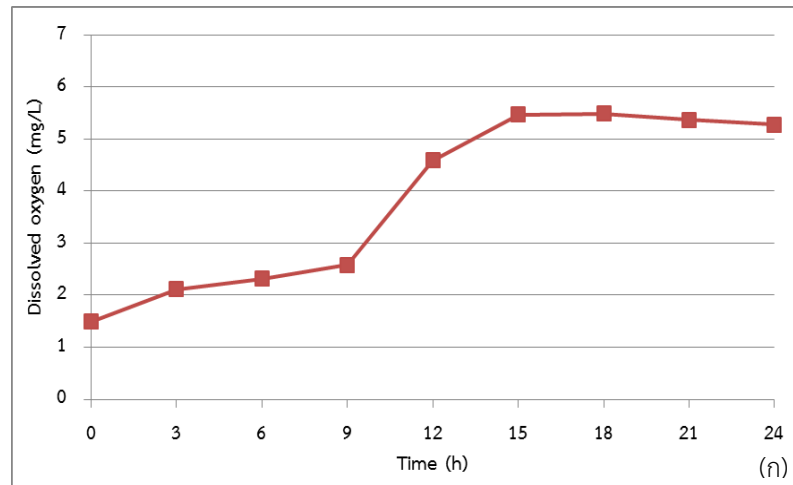
ภาพที่ 26 ความเข้มข้นซีไออดี ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณพีเอชเอ ในรอบแรกของการเดินระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน

■ ซีไออดี ▲ ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ◆ ปริมาณพีเอชเอ

4.1.1 ปริมาณออกซิเจนละลาย พีเอช และ อุณหภูมิในการเดินระบบ

จากการวัดปริมาณออกซิเจนละลาย ค่าพีเอช และอุณหภูมิในรอบแรกของการเดินระบบโดยละเอียดทุก 3 ชั่วโมง เพื่อตรวจสอบสภาวะการเดินระบบ พบว่า เมื่อเริ่มต้นระบบออกซิเจนละลายมีค่า 1.49 มิลลิกรัม/ลิตร แต่เมื่อทำการเดินระบบผ่านไปทุก ๆ 3 ชั่วโมง พบว่าค่าออกซิเจนละลายในระบบมีค่าเพิ่มสูงขึ้น คาดว่าเนื่องจากในช่วงเริ่มต้นระบบจุลินทรีย์มีการใช้ออกซิเจนอย่างรวดเร็วเพื่อย่อยสลายสารอินทรีย์ความเข้มข้นสูงในระบบ (ช่วงที่มีอาหารเกินพอ) แต่ภายหลังจากที่จุลินทรีย์ใช้สารอินทรีย์ในระบบเพื่อผลิตพีเอชเอและเจริญเติบโต จุลินทรีย์ในระบบเหลือน้อย (ช่วงที่อาหารขาดแคลน) ค่าออกซิเจนละลายในระบบจึงเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งในการทดลองนี้โดยภาพรวมของค่าออกซิเจนละลายในระบบ สามารถควบคุมให้ค่าออกซิเจนละลายมากกว่า 1 มิลลิกรัม/ลิตร ตลอดการทดลอง สำหรับค่าพีเอชนั้น เมื่อเริ่มต้นระบบมีค่าพีเอชเท่ากับ 7.98 แต่ภายหลังจากการเดินระบบผ่านไปประมาณ 1 ชั่วโมง ก็สามารถควบคุมพีเอชในระบบให้อยู่ในช่วงระหว่าง 7.0 - 7.4 ได้โดยใช้เครื่องควบคุมพีเอชอัตโนมัติ โดยในการทดลองนี้สามารถควบคุมค่าพีเอชในระบบให้อยู่ในช่วง 7.0 - 7.4 ได้ตลอดการทดลอง สำหรับค่าอุณหภูมิในระบบสามารถวัดค่าได้อยู่ในช่วงระหว่าง 29 - 32 องศาเซลเซียส ในรอบแรกของการเดินระบบ

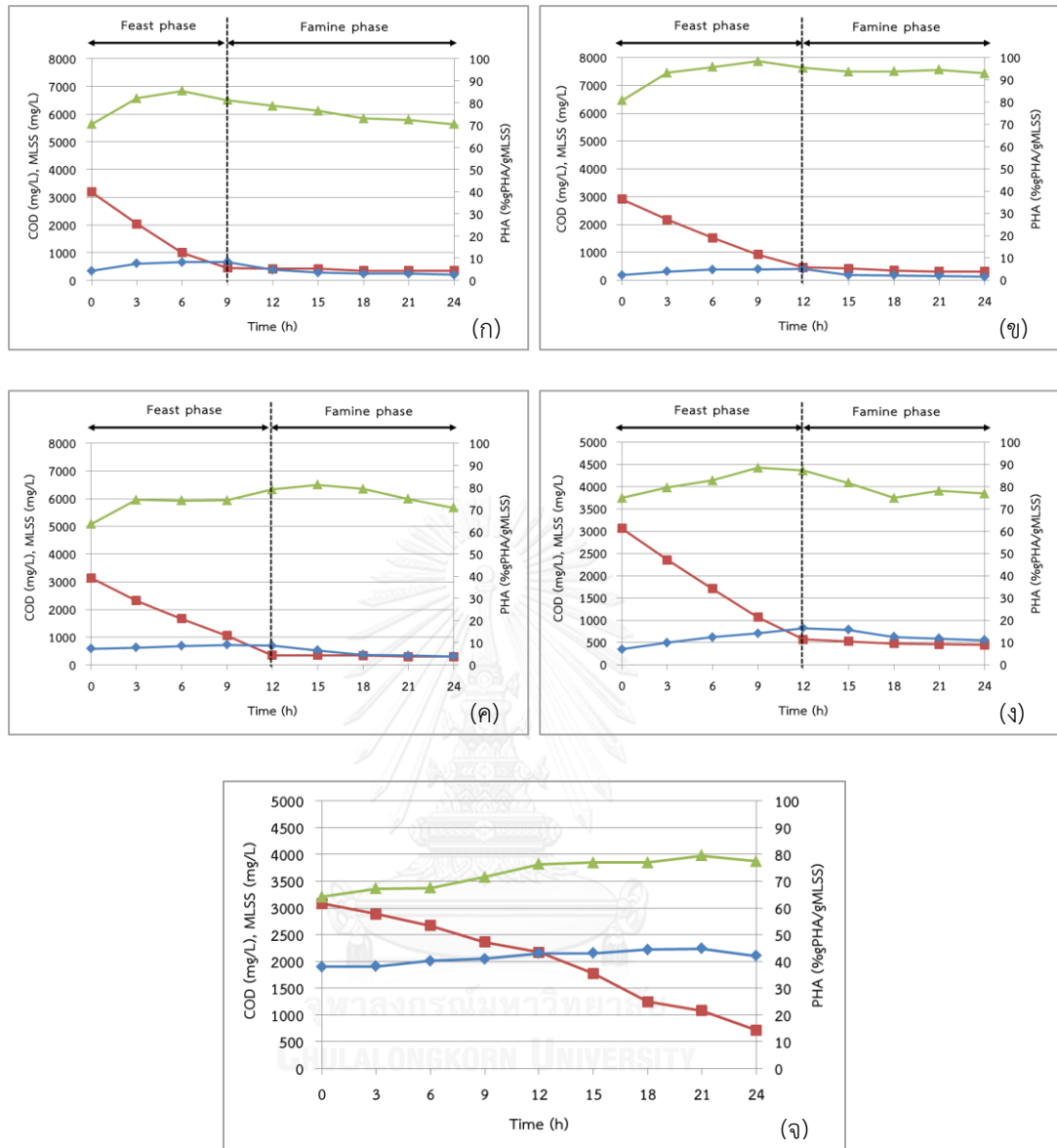
ปริมาณออกซิเจนละลาย ค่าพีเอช และอุณหภูมิในรอบแรกของการเดินระบบที่ใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน แสดงในภาพที่ 27



ภาพที่ 27 ปริมาณออกซิเจนละลาย ค่าพีเอช และอุณหภูมิ
 ในรอบแรกของการเดินระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน
 (ก) ปริมาณออกซิเจนละลาย (ข) ค่าพีเอช (ค) อุณหภูมิ

4.1.2 ซีไอที ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณพีเอชเอในแต่ละรอบการเดินระบบ

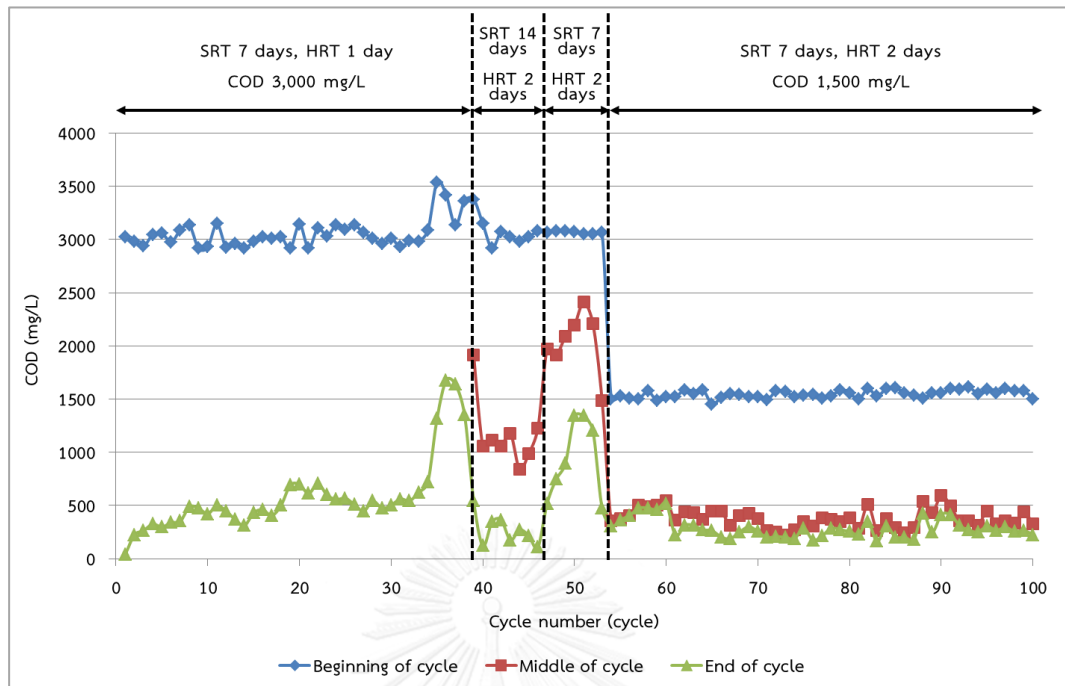
หลังจากที่ได้ดำเนินการทดลองครบ 1 รอบการเดินระบบ จึงทำการถ่ายตะกอนออกจากถังปฏิกรณ์ออกประมาณ 2.6 ลิตร เพื่อรักษาอายุตะกอนให้เท่ากับ 7 วัน หลังจากนั้นจึงทำการตกตะกอนเพื่อถ่ายน้ำเสียเก่าออกจากระบบ อย่างไรก็ตามจากการสังเกตในรอบแรกของการเดินระบบพบว่าเกิดปัญหาสลัดจ์ไม่จมตัว (bulking sludge) โดยมีค่าปริมาตรตะกอนที่ 30 นาที (SV30) เท่ากับ 990 มิลลิลิตร/ลิตร ซึ่งคิดเป็นค่าดัชนีปริมาตรตะกอน (SVI) เท่ากับ 254 มิลลิลิตร/กรัม ซึ่งเมื่อการตกตะกอนไม่สามารถทำได้ จึงแก้ปัญหาโดยการเติมน้ำเสียสังเคราะห์ใหม่ลงไปโดยที่ไม่ได้ทำการดูดน้ำใสเดิมออกจากระบบ หลังจากนั้นได้ทำการเดินระบบต่อไป โดยในรอบการเดินระบบที่ 7 14 20 27 และ 34 ได้ทำการเก็บตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์โดยละเอียดทุก 3 ชั่วโมง โดยพารามิเตอร์ที่ทำการเก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ ได้แก่ ค่าซีไอที ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ปริมาณพีเอชเอ และ กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าระบบสามารถรักษาสถานะที่มีอาหารเกินพอสลัดจ์กับขาดแคลนโดยมีช่วงที่จุลินทรีย์ขาดอาหารได้ต่อจนถึงรอบการเดินระบบที่ 27 แต่เมื่อทำการเดินระบบต่อไปจนถึงรอบการเดินระบบที่ 34 กลับพบว่าค่าซีไอทีทำระบบเหลือเพิ่มสูงขึ้นเรื่อย ๆ จนกระทั่งไม่เกิดสถานะที่อาหารขาดแคลน และค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในระบบมีปริมาณลดลงจากรอบก่อนหน้า ดังแสดงในภาพที่ 28 ซึ่งเกรงว่าหากเป็นเช่นนี้ต่อไป อาจส่งผลให้สถานะที่มีอาหารเกินพอสลัดจ์กับขาดแคลนไม่เกิดขึ้น ทำให้ไม่เกิดการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมพีเอชเอ ดังนั้นจึงได้ทำการปรับระบบโดยยืดระยะเวลาเก็บกักตะกอนเป็น 14 วันพร้อมทั้งยืดระยะเวลาเก็บกักน้ำเป็น 2 วันในรอบการเดินระบบที่ 39



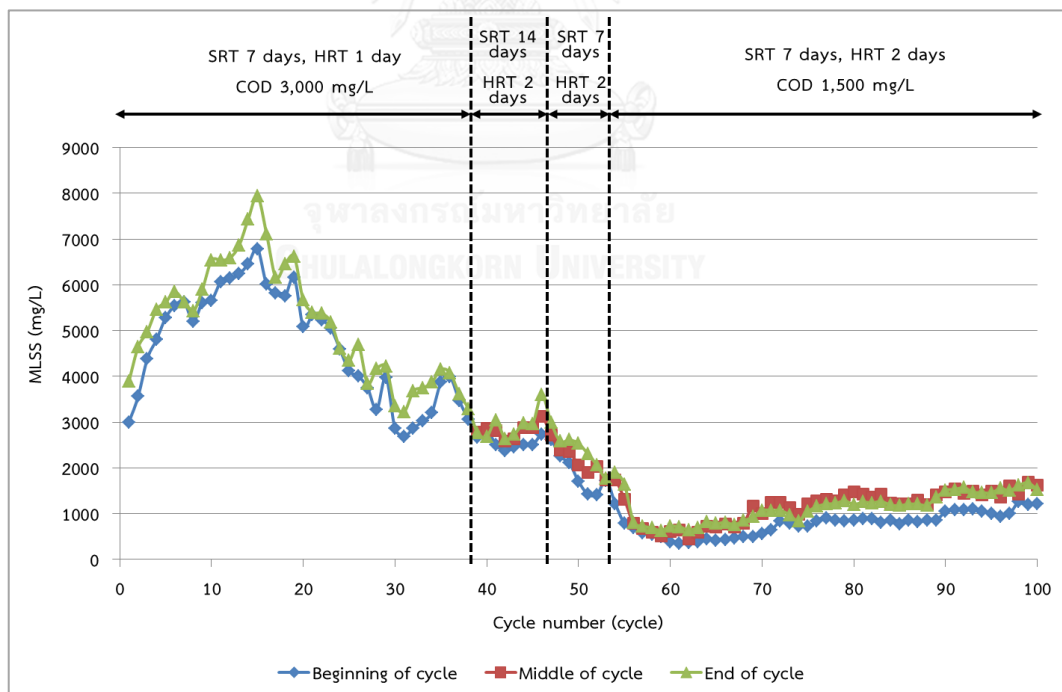
ภาพที่ 28 ความเข้มข้นซีโอดี ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณพืเอชเอ
 รอบการเดินระบบที่ 7 14 20 27 และ 34 ในระบบซึ่งใช้อะซิเตตเป็นแหล่งคาร์บอน
 (ก) รอบการเดินระบบที่ 7 (ข) รอบการเดินระบบที่ 14 (ค) รอบการเดินระบบที่ 20
 (ง) รอบการเดินระบบที่ 27 (จ) รอบการเดินระบบที่ 34

■ ซีโอดี ▲ ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ◆ ปริมาณพืเอชเอ

หลังจากการยืดระยะเวลาเก็บกักตะกอนเป็น 14 วัน และยืดระยะเวลาเก็บกักน้ำเป็น 2 วัน พบว่าค่าซีไอดีช่วงกลางและท้ายรอบการเดินระบบมีแนวโน้มลดลง จึงได้ทำการวิเคราะห์ค่าซีไอดี ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ และ ปริมาณพีเอชเอ ในรอบการเดินระบบที่ 40 กลับพบว่าระบบยังไม่เกิดสภาวะที่อาหารขาดแคลน ทั้งนี้จากผลการศึกษาของ Jiang และคณะ (2011) พบว่าหากระยะเวลาเก็บกักตะกอนต่อระยะเวลาของแต่ละรอบการเดินระบบมีค่าน้อยจะทำให้ระยะเวลาขาดอาหารยาวนานขึ้นจุลินทรีย์จะมีความสามารถในการผลิตพีเอชเอได้สูงขึ้น ดังนั้นเพื่อให้ระยะเวลาเก็บกักตะกอนต่อระยะเวลาของรอบการเดินระบบมีค่าน้อยลง ผู้วิจัยจึงได้ทำการปรับระยะเวลาเก็บกักตะกอนกลับเป็น 7 วันดังเดิม โดยยังคงระยะเวลากักเก็บน้ำเป็น 2 วัน ในรอบการเดินระบบที่ 47 การที่ลดระยะเวลากักเก็บตะกอนลงเป็น 7 วันดังเดิม อย่างไรก็ตามผลที่ได้กลับพบว่าค่าซีไอดีช่วงกลางและท้ายรอบการเดินระบบมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น และค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์กลับมีแนวโน้มลดลง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าระบบอาจไม่สามารถรับภาระสารอินทรีย์ที่ความเข้มข้นนี้ได้ จึงได้ทำการลดความเข้มข้นของซีไอดีเริ่มต้นลงเหลือ 1,500 มิลลิกรัม/ลิตร ในรอบการเดินระบบที่ 54 พบว่าระบบสามารถกำจัดซีไอดีได้ดีขึ้นตั้งแต่ช่วงกลางรอบของการเดินระบบและค่าซีไอดีช่วงกลางและท้ายรอบมีแนวโน้มใกล้เคียงกันชี้ให้เห็นถึงสภาวะขาดแคลนอาหาร ซึ่งมีการใช้อาหารในช่วงครึ่งท้ายของการเดินระบบน้อยมาก นอกจากนี้ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นของแต่ละรอบการเดินระบบยังมีแนวโน้มคงที่แสดงให้เห็นว่าการควบคุมระบบดังกล่าวสามารถสร้างสภาวะอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลนได้ค่อนข้างคงที่



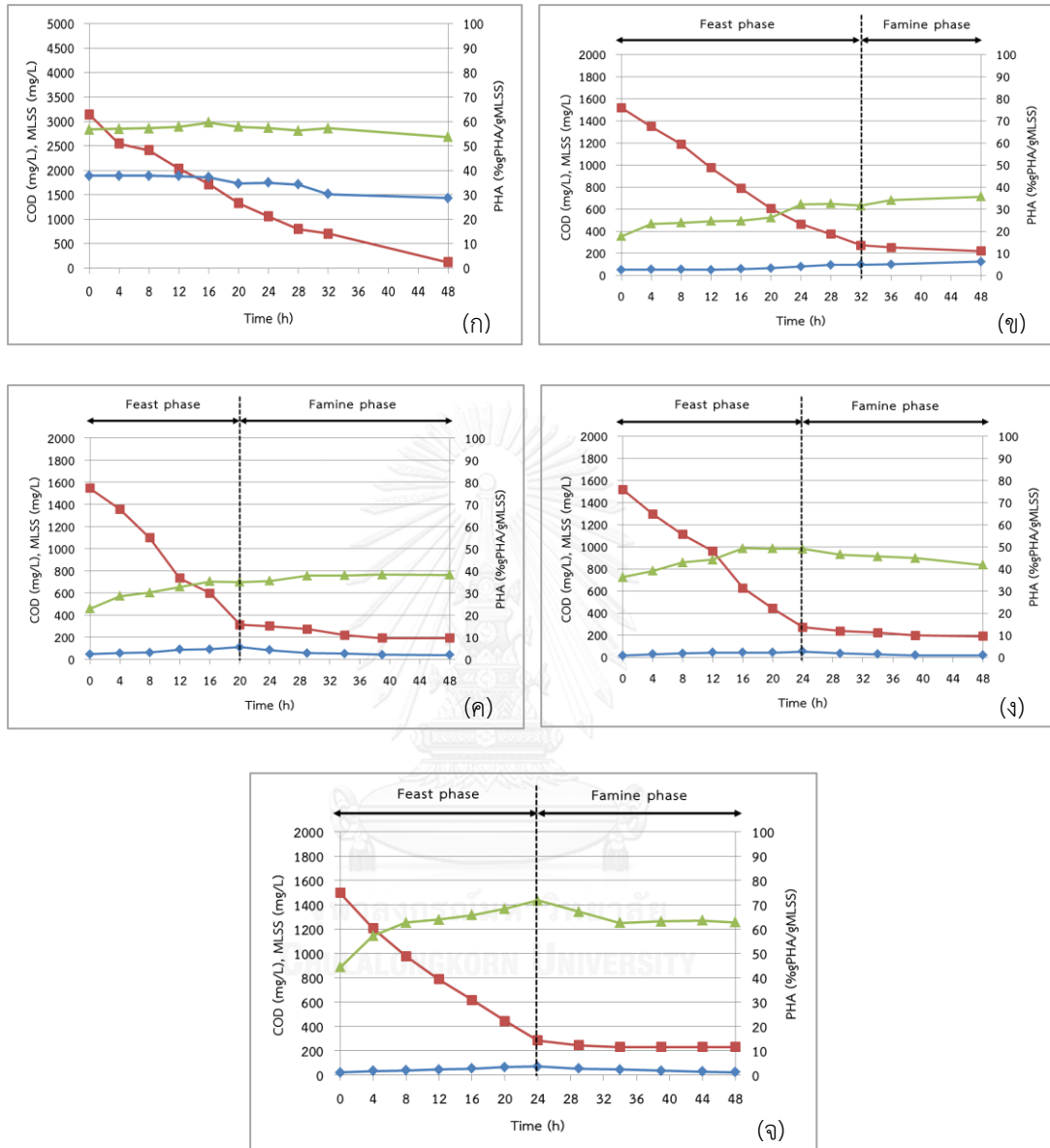
ภาพที่ 29 ซีโอดีในระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน รอบการเดินระบบที่ 1 – 100
ต้นรอบการเดินระบบ ระหว่างรอบการเดินระบบ และ ท้ายรอบการเดินระบบ



ภาพที่ 30 ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ในระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน
รอบการเดินระบบที่ 1 - 100

ต้นรอบการเดินระบบ ระหว่างรอบการเดินระบบ และ ท้ายรอบการเดินระบบ

โดยหลังจากที่ปรับระบบจนมีสภาวะคงที่เป็นระยะเวลาหนึ่ง จึงได้เริ่มทำการเก็บตัวอย่าง และวัดปริมาณฟิเอซเออีกครั้งในรอบการเดินระบบที่ 61 67 74 และ 81 ดังแสดงในภาพที่ 31



ภาพที่ 31 ความเข้มข้นซีโอดี ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณฟิเอซเอ รอบการเดินระบบที่ 40 61 67 74 และ 81 ในระบบซึ่งใช้ชีเตทเป็นแหล่งคาร์บอน
(ก) รอบการเดินระบบที่ 40 (ข) รอบการเดินระบบที่ 61 (ค) รอบการเดินระบบที่ 67
(ง) รอบการเดินระบบที่ 74 (จ) รอบการเดินระบบที่ 81

■ ซีโอดี ▲ ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ◆ ปริมาณฟิเอซเอ

เมื่อทำการวัดค่าซีโอดีโดยละเอียดในรอบการเดินระบบที่ 61 67 74 และ 81 พบว่าระบบเกิดสภาวะที่อาหารขาดแคลน แต่จากการวัดปริมาณพีเอชเอกลับพบว่าพีเอชเอที่ผลิตได้มีปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับก่อนที่จะทำการปรับระบบ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสภาวะในระบบที่ไม่คงที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบส่งผลต่อความสามารถในการสะสมพีเอชเอ นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงสภาวะการเดินระบบยังส่งผลต่อลักษณะทางจุลนาศาสตร์ของจุลินทรีย์ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อการผลิตพีเอชเอได้เช่นกัน

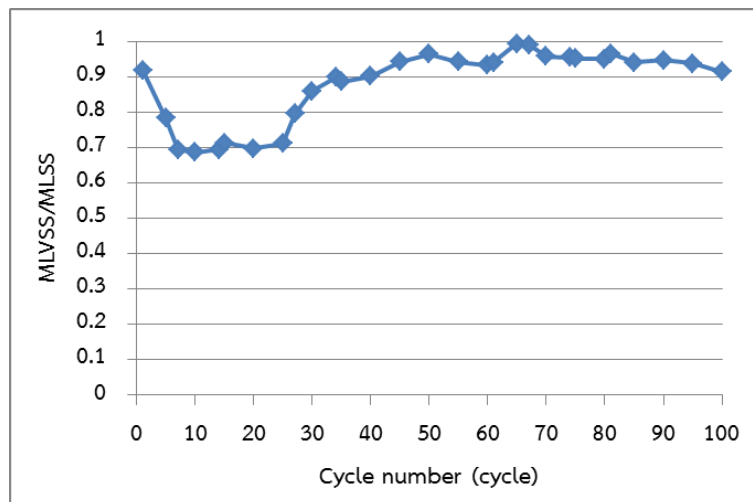
4.1.3 ภาพรวมของซีโอดีและความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ตลอดการเดินระบบ

การกำจัดซีโอดีในภาพรวมของระบบ (ภาพที่ 29) พบว่าในรอบแรกของการเดินระบบจุลินทรีย์สามารถกำจัดซีโอดีได้ลดลงต่ำสุดเหลือ 41 มิลลิกรัม/ลิตร แต่ภายหลังจากผ่านจำนวนรอบการเดินระบบที่มากขึ้น พบว่าค่าซีโอดีท้ายระบบมีค่าเพิ่มสูงขึ้น โดยค่าซีโอดีท้ายรอบการเดินระบบที่ 2 และ 3 มีค่าประมาณ 220 และ 260 มิลลิกรัม/ลิตร และยังสังเกตเห็นว่าจุลินทรีย์ใช้เวลาในการย่อยสลายสารอินทรีย์นานขึ้น โดยรอบแรกของการเดินระบบจุลินทรีย์ใช้เวลาในการย่อยสลายสารอินทรีย์ 9 ชั่วโมง ส่วนรอบการเดินระบบที่ 14 จุลินทรีย์ใช้เวลาในการย่อยสลายสารอินทรีย์ 12 ชั่วโมง จนถึงรอบการเดินระบบที่ 34 จึงพบว่าระบบไม่เกิดสภาวะที่อาหารขาดแคลน อีกทั้งท้ายรอบการเดินระบบที่ 35 - 38 ยังมีค่าซีโอดีสูงถึง 1,300 - 1,600 มิลลิกรัม/ลิตร สาเหตุที่เกิดเหตุการณ์นี้อาจเนื่องมาจากการที่จุลินทรีย์ได้ใช้สารอินทรีย์และสะสมพีเอชเอควบคู่ไปด้วย ทำให้ใช้สารอาหารภายนอกได้น้อยลง ภายหลังจากที่ทำการปรับระบบค่าซีโอดีท้ายระบบตั้งแต่รอบการเดินระบบที่ 54 เป็นต้นไป มีค่าอยู่ในช่วงประมาณ 200 - 500 มิลลิกรัม/ลิตร

ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ในภาพรวมของระบบ (ภาพที่ 30) พบว่าในช่วงต้นของการเดินระบบจุลินทรีย์ได้เจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว โดยค่าความเข้มข้นของตะกอนจุลินทรีย์ในระบบได้เพิ่มขึ้นสูงสุดถึง 7,940 มิลลิกรัม/ลิตร ในท้ายรอบการเดินระบบที่ 15 แต่หลังจากที่ทำการเดินระบบผ่านไปประมาณ 20 รอบ ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ท้ายระบบมีแนวโน้มค่อย ๆ ลดลง และตั้งแต่รอบการเดินระบบที่ 47 ซึ่งมีการปรับสภาวะในการเดินระบบ ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ได้ลดลงอย่างต่อเนื่องโดยในท้ายรอบการเดินระบบที่ 56 - 74 ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์เหลือประมาณ 600 - 900 มิลลิกรัม/ลิตร แต่หลังจากนั้นจุลินทรีย์ในระบบได้ค่อย ๆ เพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการปรับลดปริมาณสารอินทรีย์เริ่มต้นในระบบให้เหมาะสมมากขึ้นจาก 3,000 มิลลิกรัม/ลิตร เป็น 1,500 มิลลิกรัม/ลิตร

จากผลการวัดค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ (MLVSS) ทุก ๆ 5 รอบการเดินระบบพบว่าสัดส่วนค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ต่อค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLVSS/MLSS) ตลอดการทดลองมีค่าอยู่ในช่วง

ระหว่าง 0.7 - 1 ดังแสดงในภาพที่ 32 แสดงให้เห็นว่าตะกอนในระบบมีแนวโน้มเป็นเซลล์จุลินทรีย์ที่แท้จริง โดยมีส่วนที่เป็นสารอนินทรีย์ในระบบอยู่น้อย

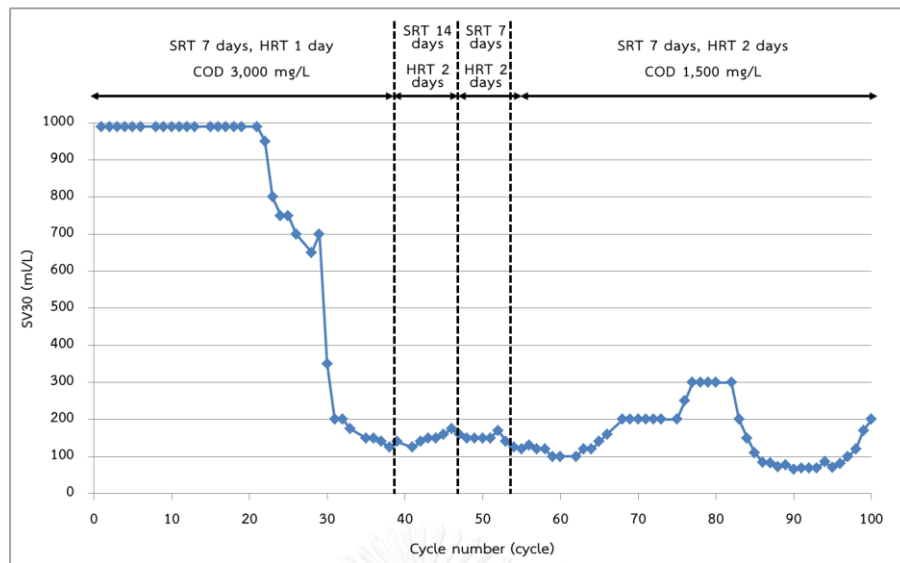


ภาพที่ 32 สัดส่วนค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ต่อค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLVSS/MLSS) ตลอดการทดลองในระบบซึ่งใช้เอซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน

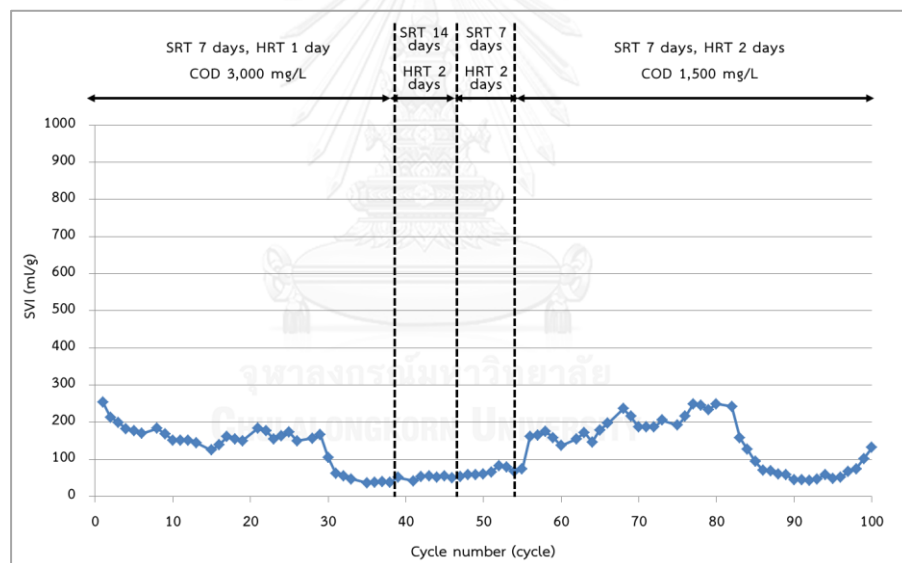
4.1.4 สถานะการตกตะกอนของจุลินทรีย์ในระบบ

จากผลการวัดค่าปริมาตรตะกอนที่ 30 นาที (SV30) ตลอดการทดลอง พบว่ารอบการเดินระบบที่ 1 - 22 ตะกอนจุลินทรีย์ในระบบไม่สามารถตกตะกอนได้ โดยวัดค่าปริมาตรตะกอนที่ 30 นาที (SV30) ได้ค่าประมาณ 990 มิลลิลิตร/ลิตร คิดเป็นค่าดัชนีปริมาตรตะกอน (SVI) ได้มากกว่า 120 มิลลิลิตร/กรัม แต่หลังจากการรอบการเดินระบบที่ 23 ตะกอนจุลินทรีย์สามารถตกตะกอนได้มากขึ้น โดยในรอบการเดินระบบที่ 31 - 55 ตะกอนจุลินทรีย์สามารถตกตะกอนได้ดี คิดเป็นค่าดัชนีปริมาตรตะกอน (SVI) ได้ต่ำกว่า 100 มิลลิลิตร/กรัม แต่ภายหลังจากการรอบการเดินระบบที่ 56 เป็นต้นไป ค่าดัชนีตะกอนก็กลับสูงขึ้นอีกครั้ง และมีค่าลดลงในช่วงท้ายก่อนการปิดระบบ หากพิจารณาการเดินระบบก่อนและหลังที่มีพีเอชสูงสุดคือรอบการเดินระบบที่ 33 และ 35 พบว่าค่าดัชนีปริมาตรตะกอน (SVI) มีค่าประมาณ 50 มิลลิลิตร/กรัมแสดงให้เห็นว่ากลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในช่วงที่มีพีเอชสูงสุดในระบบนี้เป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่สามารถสร้างฟล็อกและตกตะกอนได้ดี

โดยสาเหตุที่คาดว่าน่าจะทำให้เกิดปัญหาสลัดจ์ไม่จมตัวในช่วงต้นของการเดินระบบ คือระบบอยู่ในสถานะที่มีประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีสูง (ความเข้มข้นของซีโอดีทำระบบเหลือ 41 มิลลิกรัม/ลิตร จากความเข้มข้นตอนเริ่มต้นระบบประมาณ 3,000 มิลลิกรัม/ลิตร) ทำให้เกิดสถานะที่ตะกอนไม่จมตัวเกิดขึ้น อาจเนื่องมาจากจุลินทรีย์กลุ่มเส้นใยสามารถเจริญเติบโตได้เร็วกว่าจุลินทรีย์กลุ่มสร้างฟล็อก ในช่วงเวลาที่ระบบสามารถกำจัดซีโอดีได้ดี (คณาจารย์ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม, 2538)



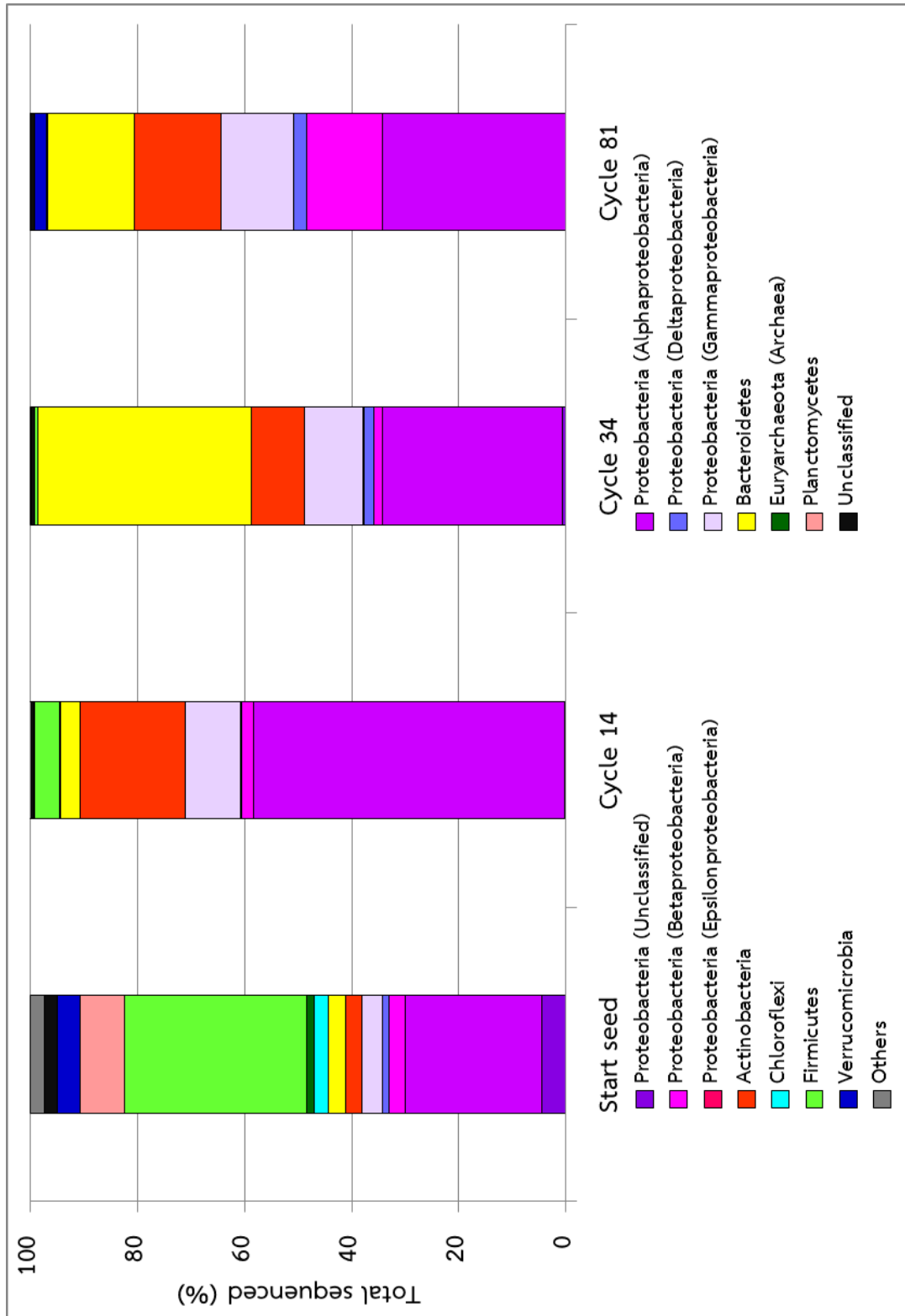
ภาพที่ 33 ค่าปริมาตรตะกอนที่ 30 นาที (SV30) ตลอดการทดลอง
ในระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน



ภาพที่ 34 ค่าดัชนีปริมาตรตะกอน (SVI) ตลอดการทดลอง
ในระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน

4.1.5 การเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบ

ผลการศึกษาความหลากหลายและการเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้น ตะกอนจุลินทรีย์ระหว่างการเดินระบบแบบกึ่งเท ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่มีพีเอชเอสูงสุด และตะกอนจุลินทรีย์จากระบบสุดท้ายของการเดินระบบแบบกึ่งเทในระบบที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน โดยใช้เทคนิค 16s metagenomic sequencing library แสดงในภาพที่ 35



ภาพที่ 35 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์แยกตามฟิล์มที่พบในตะกอนจุลินทรีย์
ในแต่ละช่วงการเดินระบบที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน

ตารางที่ 17 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ (จีโนม) ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นจากโรงงานผลิตน้ำผลไม้

ตะกอนจุลินทรีย์	จีโนม	Sequenced (%)
ตะกอนเริ่มต้นจากโรงงาน	<i>Cohnella</i>	19.83
	<i>Inquilingus</i>	14.25
	<i>Tepidibacter</i>	3.087
	<i>Clostridium</i>	2.75
	<i>Rubritalea</i>	2.17
	Others	57.91

กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นจากโรงงานผลิตน้ำผลไม้ (บริษัททิปโก้ เอฟ แอนด์บี จำกัด) ประกอบด้วยไฟลัม *Firmicutes* คิดเป็นร้อยละ 34.077 โดยมี *Cohnella spp.* เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเด่น รองลงมาคือไฟลัม *Alphaproteobacteria* คิดเป็นร้อยละ 25.53 โดยมี *Inquilingus spp.* เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเด่น ตามด้วยไฟลัม *Planctomycetes* คิดเป็นร้อยละ 8.25

ตารางที่ 18 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ (จีโนม) ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 14 ในระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน

ตะกอนจุลินทรีย์	จีโนม	Sequenced (%)
ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 14 (ระหว่างการเดินระบบแบบกึ่งเท)	<i>Paracoccus</i>	28.19
	<i>Rhodobacter</i>	18.26
	<i>Corynebacterium</i>	12.82
	<i>Pseudoxanthomonas</i>	6.48
	<i>Leucobacter</i>	5.43
	Others	28.83

ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 14 ในระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอนพบว่า กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ประกอบด้วยไฟลัม *Alphaproteobacteria* คิดเป็นร้อยละ 58.16 ประกอบไปด้วย *Paracoccus spp.* เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเด่น และ *Rhodobacter spp.* รองลงมาคือไฟลัม *Actinobacteria* คิดเป็นร้อยละ 19.66 ประกอบไปด้วย *Corynebacterium spp.* เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเด่น และ *Leucobacter spp.* ตามด้วยไฟลัม *Gammaproteobacteria* คิดเป็นร้อยละ 10.41 โดยมี *Pseudoxanthomonas spp.* เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเด่น

Paracoccus spp. เช่น *P. marinus*, *P. homiensis*, *P. aestuarii*, *P. marcusii* เป็นแบคทีเรียย้อมติดสีแกรมลบ และเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ออกซิเจน (Khanและคณะ, 2008) ซึ่งมีรายงานพบว่าจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถสะสมฟิเอชเอได้

Rhodobacter spp. เช่น *R. ovatus* และ *R. gluconicum* เป็นแบคทีเรียย้อมติดสีแกรมลบ และเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ออกซิเจน (Srinivasและคณะ, 2008) ซึ่งมีรายงานพบว่าจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถสะสมฟิเอชเอได้

Corynebacterium spp. เช่น *C. efficiens*, *C. xerosis* และ *C. diphtheriae* เป็นแบคทีเรียย้อมติดสีแกรมบวก รูปร่างเป็นท่อน (Fudou, 2002) มีรายงานพบว่าจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถสะสมฟิเอชเอได้ ยกตัวอย่างเช่น *C. glutamicum* สามารถผลิตฟิเอชเอปีได้ปริมาณร้อยละ 22.5 (Joและคณะ, 2006)

ส่วน *Pseudoxanthomonas* spp. และ *Leucobacter* spp. ไม่พบรายงานว่าจุลินทรีย์ทั้ง 2 กลุ่มนี้สามารถสะสมฟิเอชเอได้

ตารางที่ 19 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ (จีโนส) ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบบำบัดน้ำเสียที่ 34 ในระบบซึ่งใช้ออกซิเจนเป็นแหล่งคาร์บอน

ตะกอนจุลินทรีย์	จีโนส	Sequenced (%)
ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบบำบัดน้ำเสียที่ 34 (ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบบำบัดน้ำเสียที่มีฟิเอชเอสูงสุด)	<i>Lewinella</i>	37.418
	<i>Leucobacter</i>	7.692
	<i>Hyphomonas</i>	6.195
	<i>Defluviobacter</i>	5.693
	<i>Pseudomonas</i>	4.348
	Others	38.654

สำหรับตะกอนจุลินทรีย์จากระบบบำบัดน้ำเสียที่ 34 (ระบบบำบัดน้ำเสียที่มีฟิเอชเอสูงสุด) ในระบบซึ่งใช้ออกซิเจนเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่ากลุ่มประชากรจุลินทรีย์ประกอบด้วยไฟลัม *Bacteroidetes* คิดเป็นร้อยละ 39.96 ประกอบไปด้วย *Lewinella* spp. เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเด่น รองลงมาคือไฟลัม *Alphaproteobacteria* คิดเป็นร้อยละ 33.71 ประกอบไปด้วย *Hyphomonas* spp. และ *Defluviobacter* spp. เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเด่น ตามด้วยไฟลัม *Gammaproteobacteria* คิดเป็นร้อยละ 10.88 โดยมี *Pseudomonas* spp. เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเด่น

Lewinella spp. เป็นแบคทีเรียย้อมติดสีแกรมลบ และเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ออกซิเจน (Ohและคณะ, 2009) โดยไม่พบรายงานว่าสามารถสะสมฟิเอชเอได้

Leucobacter spp. เช่น *L. komagatae* เป็นแบคทีเรียย้อมติดสีแกรมลบ และเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ออกซิเจน (Takeuchiและคณะ, 1996) โดยไม่พบรายงานว่าจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถสะสมพีเอชเอได้

Hyphomonas spp. เป็นแบคทีเรียย้อมติดสีแกรมลบ และเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ออกซิเจน (Liและคณะ, 2014) โดยไม่พบรายงานว่าจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถสะสมพีเอชเอได้

Defluviobacter spp. เป็นแบคทีเรียย้อมติดสีแกรมลบ และเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ออกซิเจน (Fritscheและคณะ, 1999) โดยไม่พบรายงานว่าจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถสะสมพีเอชเอได้

Pseudomonas spp. เช่น *P. alcaligenes* เป็นแบคทีเรียย้อมติดสีแกรมลบ และเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ออกซิเจน มีรายงานพบว่าสามารถสะสมพีเอชเอได้ โดยสามารถผลิตได้ทั้งพีเอชเอสายสั้น (Short-chain-length PHA) และ พีเอชเอสายกลาง (Medium-chain-length PHA) (Kimและคณะ, 2005)

ตารางที่ 20 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ (จีโนส) ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบบำบัดน้ำเสียระบบที่ใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน

ตะกอนจุลินทรีย์	จีโนส	Sequenced (%)
ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบบำบัดน้ำเสียระบบที่ใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน (รอบการเดินระบบรอบสุดท้ายก่อนปิดระบบ)	<i>Devosia</i>	21.17
	<i>Xylella</i>	8.19
	<i>Leucobacter</i>	7.13
	<i>Gordonia</i>	6.27
	<i>Xenophilus</i>	5.20
	Others	48.76

ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบบำบัดน้ำเสียระบบที่ใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ประกอบด้วยไฟลัม *Alphaproteobacteria* คิดเป็นร้อยละ 34.029 ประกอบไปด้วย *Devosia spp.* เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเด่น รองลงมาคือไฟลัม *Actinobacteria* คิดเป็นร้อยละ 16.26 ประกอบไปด้วย *Leucobacter spp.* และ *Gordonia spp.* เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเด่น ตามด้วยไฟลัม *Bacteroidetes* คิดเป็นร้อยละ 16.051

Devosia spp. เช่น *D. subaequoris*, *D. hwasunensis* และ *D. chinhatensis* เป็นแบคทีเรียย้อมติดสีแกรมลบ รูปท่อน และเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ออกซิเจน (Lee, 2007) โดยไม่พบรายงานว่าจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถสะสมพีเอชเอได้

Xylella spp. เป็นแบคทีเรียย้อมติดสีแกรมลบ รูปท่อน และเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ออกซิเจน (Wellsและคณะ, 1987) โดยไม่พบรายงานว่าจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถสะสมพีเอชเอได้

Leucobacter spp. เช่น *L. komagatae* เป็นแบคทีเรียย้อมติดสีแกรมลบ และเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ออกซิเจน โดยไม่พบรายงานว่าจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถสะสมพีเอชเอได้

Gordonia spp. เช่น *G. terrae* และ *G. australis* เป็นแบคทีเรียย้อมติดสีแกรมบวก พบในระบบบำบัดน้ำเสียแบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์ที่มีการเกิดโฟม เป็นกลุ่มแบคทีเรียเส้นใย (Marrenganeและคณะ, 2011) โดยไม่พบรายงานว่าจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถสะสมพีเอชเอได้

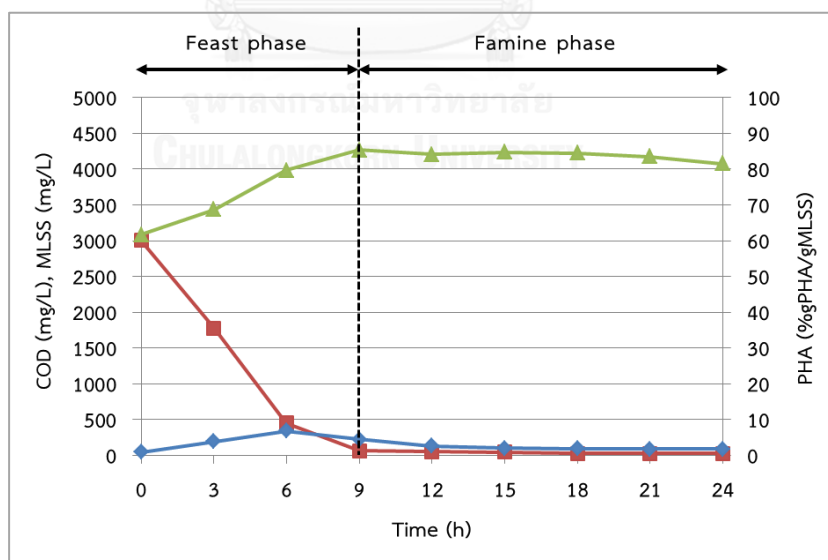
Xenophilus spp. เช่น *X. azovorans* เป็นแบคทีเรียย้อมติดสีแกรมลบ และเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ออกซิเจน (Blumelและคณะ, 2001) โดยไม่พบรายงานว่าจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถสะสมพีเอชเอได้

จากผลการทดลองพบว่ากลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในแต่ละช่วงของการเดินระบบคือ ระหว่างการเดินระบบแบบกึ่งเท รอบการเดินระบบที่มีพีเอชเอสูงสุด และ รอบการเดินระบบรอบสุดท้ายก่อนปิดระบบ กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบได้เปลี่ยนแปลงไป อาจเนื่องมาจากเกิดการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ในระบบและการปรับเปลี่ยนสภาวะในการเดินระบบ โดยกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมพีเอชเอในรอบการเดินระบบที่มีพีเอชเอสูงสุด (รอบการเดินระบบที่ 34) ที่เคยมีรายงานมาก่อนหน้านี้คือ *Pseudomonas alcaligenes*

จากผลการทดลองการสะสมพีเอชเอของจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอนสามารถสรุปได้ว่าเมื่อเดินระบบภายใต้สภาวะที่มีอาหารเกินพอสลักกับขาดแคลน จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้สูงขึ้นในรอบการเดินระบบที่ 34 โดยได้ปริมาณพีเอชเอสูงสุดร้อยละ 44.78 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (% gPHA/gMLSS) ซึ่งมีสัดส่วนของเอชพีและเอชวีโมโนเมอร์ร้อยละ 44.52 และ 0.26 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (% gPHA/gMLSS) ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาค่าซีไอทีในรอบการเดินระบบที่ 34 ดังแสดงในภาพที่ 28 พบว่าค่าซีไอทีมีแนวโน้มลดลงแต่ไม่เกิดสภาวะขาดอาหาร แต่กลับเป็นรอบที่สามารถสะสมพีเอชเอได้สูงสุด อาจเนื่องมาจากการที่จุลินทรีย์ได้มีสภาวะอาหารเกินพอสลักกับขาดแคลนมาช่วงระยะเวลาหนึ่ง ทำให้เกิดการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสะสมพีเอชเอได้และการที่จุลินทรีย์สะสมพีเอชเอไว้เป็นแหล่งคาร์บอนภายในเซลล์ในปริมาณที่สูงอาจเป็นเหตุผลหนึ่งที่ทำให้จุลินทรีย์ใช้สารอาหารภายนอกน้อยลงในรอบการเดินระบบที่ 34

4.2 ผลการศึกษาการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมพืเอชเอด้วยการใช้โพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน

เริ่มต้นระบบถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเทเพื่อคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมพืเอชเอด้วยการใช้โพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอนโดยการเดินระบบที่ค่าอัตราส่วนอาหารต่อจุลินทรีย์ (F/M ratio) เริ่มต้นประมาณ 1 ในรอบแรกของการเดินระบบ ผลการทดลองพบว่าจุลินทรีย์สามารถใช้สารอินทรีย์ได้เกือบหมดภายในระยะเวลา 9 ชั่วโมง (ช่วงที่มีอาหารเกินพอ) และมีช่วงที่อาหารขาดแคลน 15 ชั่วโมง สามารถกำจัดซีไอดีได้ลดลงต่ำสุดเหลือประมาณ 27 มิลลิกรัม/ลิตร และค่าความเข้มข้นของตะกอนจุลินทรีย์ในระบบเพิ่มขึ้นสูงสุดถึง 4,269 มิลลิกรัม/ลิตร ในชั่วโมงที่ 9 โดยมีค่าอัตราการใช้สารอาหารจำเพาะ (specific rate of substrate utilization) เท่ากับ 0.106 กรัมซีไอดีต่อกรัมเอ็มแอลเอสต่อชั่วโมง จุลินทรีย์สามารถผลิตพืเอชเอได้สูงสุดร้อยละ 6.81 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (% gPHA/gMLSS) ในชั่วโมงที่ 6 ซึ่งเป็นช่วงท้ายของช่วงที่มีอาหารเกินพอ จากภาพที่ 36 แสดงให้เห็นว่าโพรพิโอเนตถูกใช้โดยจุลินทรีย์ในระบบสำหรับการเจริญเติบโต ดังจะเห็นได้จากค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นจากตอนเริ่มต้นระบบ และในขณะเดียวกันจุลินทรีย์ได้ใช้แหล่งคาร์บอนนั้นเพื่อเก็บสะสมไว้ในรูปของพืเอชเอ เมื่อแหล่งคาร์บอนหมดลงเข้าสู่ช่วงอาหารขาดแคลนตั้งแต่ชั่วโมงที่ 9 เป็นต้นไป พืเอชเอจึงถูกนำมาใช้เพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานสำหรับจุลินทรีย์ต่อไป



ภาพที่ 36 ความเข้มข้นซีไอดี ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณพืเอชเอ

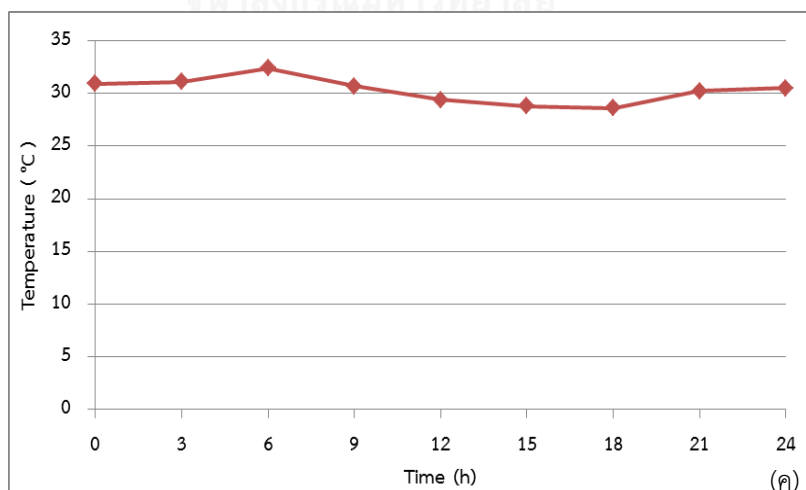
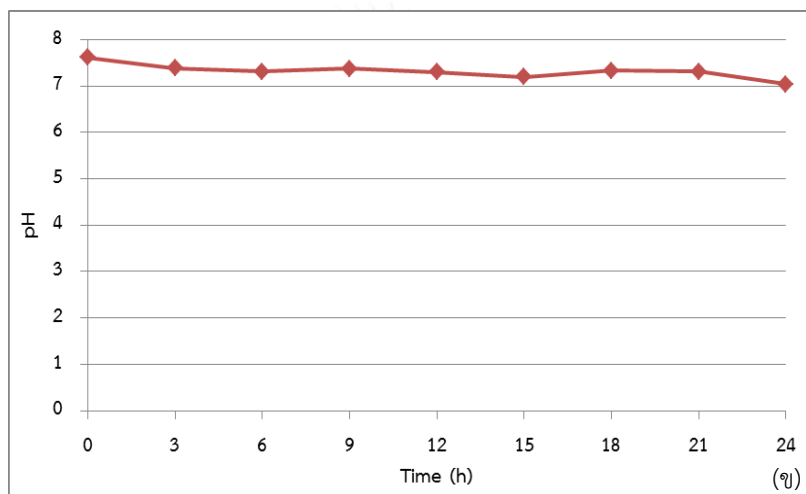
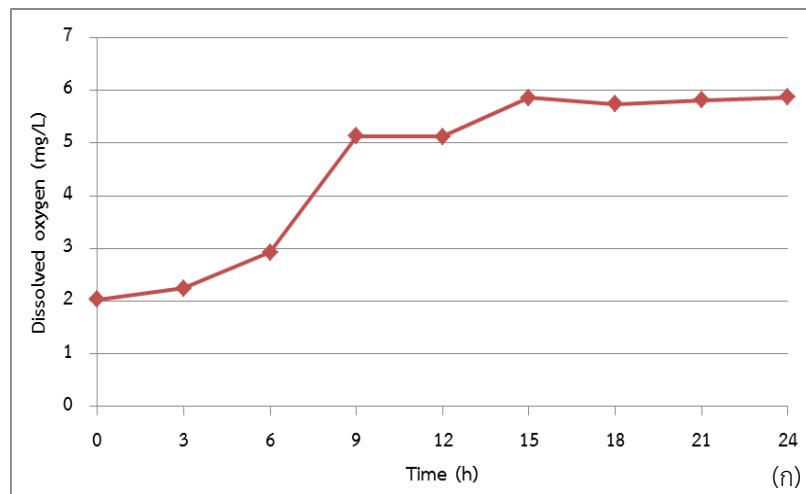
ในรอบแรกของการเดินระบบซึ่งใช้โพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน

■ ซีไอดี ▲ ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ◆ ปริมาณพืเอชเอ

4.2.1 ปริมาณออกซิเจนละลาย พีเอช และ อุณหภูมิในการเดินระบบ

จากการวัดปริมาณออกซิเจนละลาย ค่าพีเอช และอุณหภูมิโดยละเอียดในรอบแรกของการเดินระบบ พบว่าค่าออกซิเจนละลายในช่วงเริ่มต้นระบบมีค่าเท่ากับ 2.03 มิลลิกรัม/ลิตร เมื่อทำการเดินระบบผ่านไปค่าออกซิเจนละลายในระบบได้เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งมีแนวโน้มเช่นเดียวกันกับถึงปฏิกรณ์ซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน ทั้งนี้ออกซิเจนละลายในระบบสามารถใช้บ่งบอกถึงสถานะที่มีอาหารเกินพอหรือสถานะที่มีอาหารขาดแคลนได้ โดยมีงานวิจัยหลายงานซึ่งใช้ค่าออกซิเจนละลายในการระบุสถานะที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลนของระบบ เช่นงานของ Villanoและคณะ (2014) และ Ozdemirและคณะ (2014) เป็นต้น โดยใช้ DO probe ในการวัดค่าออกซิเจนละลาย และทำ DO profiles เพื่อศึกษาค่าออกซิเจนละลายในระบบ โดยเมื่อเติมอะซิเตทลงไปในระบบ พบว่าค่าออกซิเจนละลายในช่วงเริ่มต้นรอบการเดินระบบลดลงอย่างรวดเร็ว เนื่องจากจุลินทรีย์ใช้ออกซิเจนอย่างรวดเร็วเพื่อย่อยสลายสารอินทรีย์ความเข้มข้นสูงในระบบ แต่เมื่อเวลาผ่านไปเมื่อจุลินทรีย์ใช้สารอาหารในระบบจนเริ่มหมดลง ค่าออกซิเจนละลายจะเพิ่มสูงขึ้นเรื่อย ๆ จนเกือบเท่ากับตอนเริ่มต้นระบบ ดังนั้นจึงสามารถใช้ค่าออกซิเจนละลายในการแบ่งช่วงที่มีอาหารเกินพอกับขาดอาหารได้ โดยค่าออกซิเจนละลายมักจะมีค่าต่ำภายใต้สถานะที่มีอาหารเกินพอและมีค่าสูงขึ้นภายใต้สถานะที่ไม่มีอาหาร ทั้งนี้ค่าออกซิเจนละลายมีความสำคัญในการควบคุมระบบเพื่อผลิตพีเอชเอ โดยหากค่าออกซิเจนละลายในระบบมีไม่เพียงพออาจส่งผลให้ระบบเปลี่ยนสถานะจากแอโรบิก (aerobic) เป็นแอนแอโรบิก (anaerobic) หรือไมโครแอโรฟิลิก (microaerophilic) ได้ ซึ่งจะส่งผลให้กลไกการสะสมพีเอชเอในระบบเปลี่ยนแปลงไปได้ อย่างไรก็ตามในงานวิจัยนี้สามารถควบคุมค่าออกซิเจนละลายให้มากกว่า 1 มิลลิกรัม/ลิตร ตลอดการทดลอง จึงสามารถมั่นใจได้ว่ากลไกการสะสมพีเอชเอในระบบเป็นแบบที่มีสถานะการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน

สำหรับค่าพีเอชในระบบ สามารถควบคุมค่าพีเอชในระบบให้อยู่ในช่วงระหว่าง 7.0 - 7.4 ตลอดการทดลองได้โดยใช้เครื่องควบคุมพีเอชอัตโนมัติ ส่วนค่าอุณหภูมิในระบบสามารถวัดค่าได้อยู่ในช่วงระหว่าง 29 - 32 องศาเซลเซียส ในรอบแรกของการเดินระบบ ภาพที่ 37 แสดงปริมาณออกซิเจนละลาย ค่าพีเอช และอุณหภูมิในรอบแรกของการเดินระบบที่ใช้โพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน

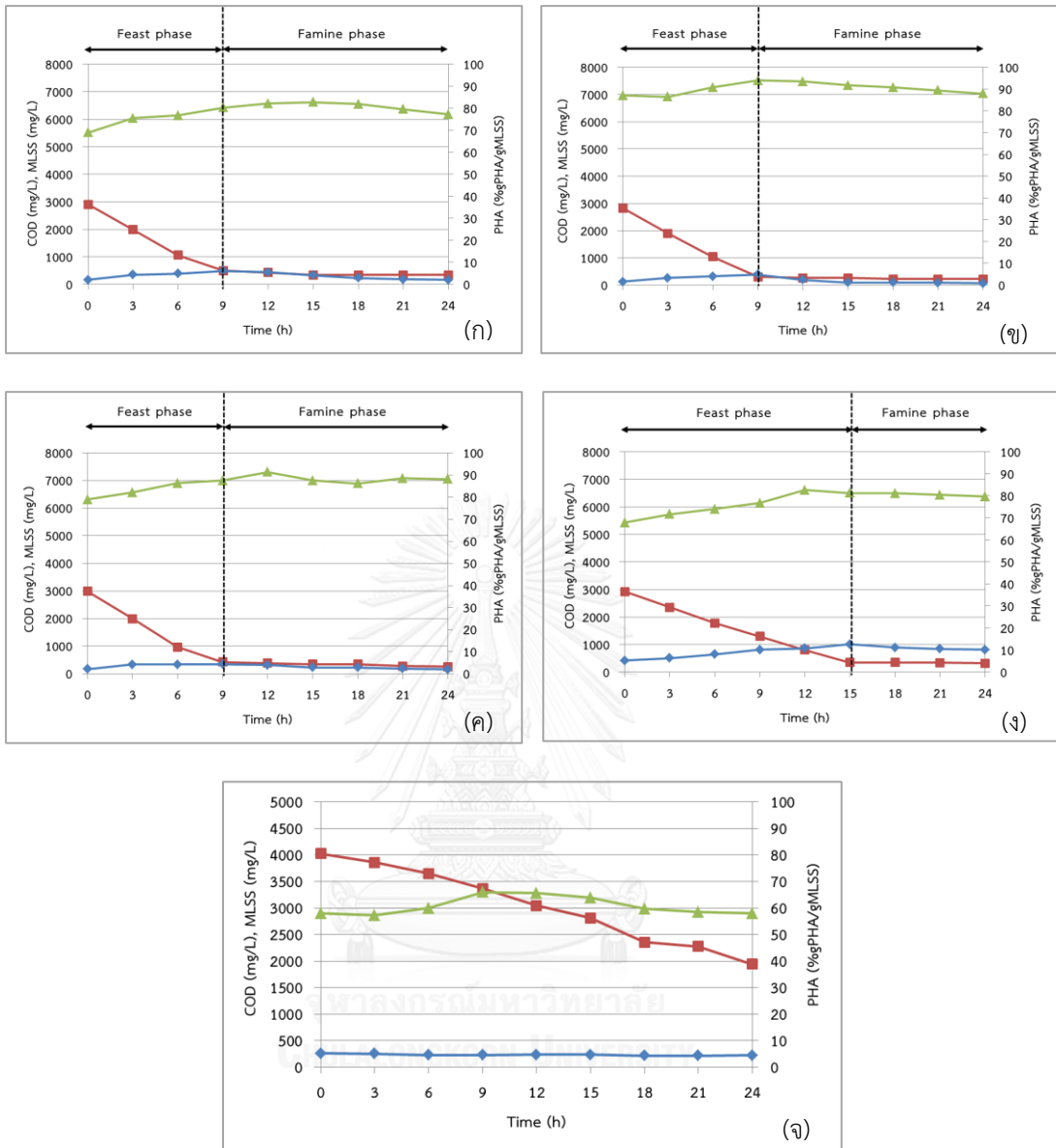


ภาพที่ 37 ปริมาณออกซิเจนละลาย ค่าพีเอช และอุณหภูมิ
 ในรอบแรกของการเดินระบบซึ่งใช้โพรฟิไอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน
 (ก) ปริมาณออกซิเจนละลาย (ข) ค่าพีเอช (ค) อุณหภูมิ

4.2.2 ซีไอที ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณพีเอชเอในแต่ละรอบการเดินระบบ

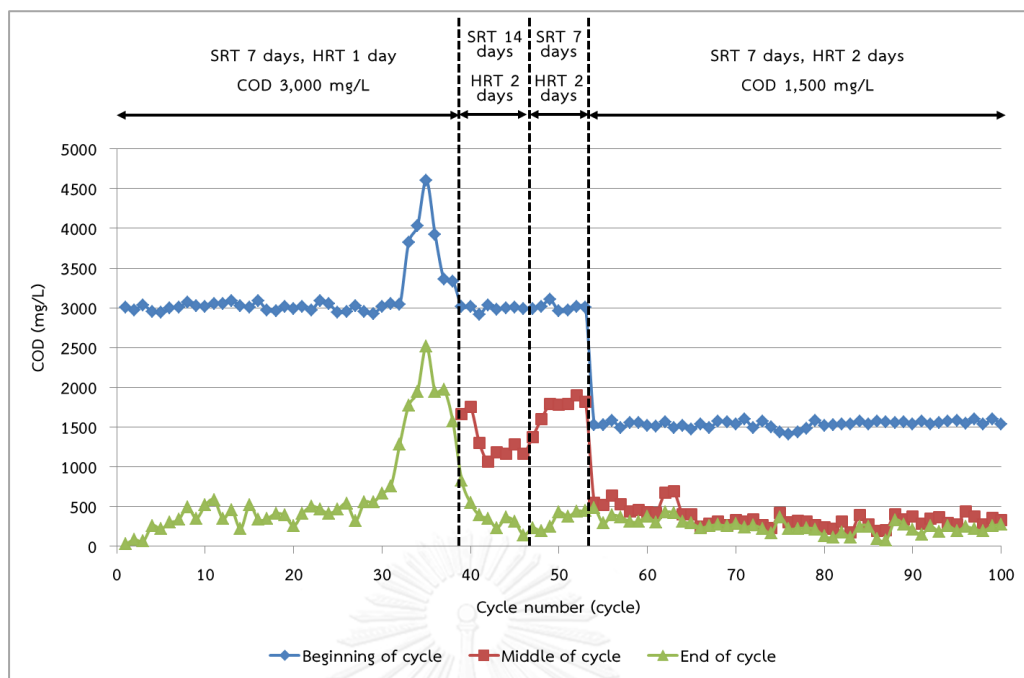
เมื่อทำการเดินระบบต่อไปจนถึงรอบการเดินระบบที่ 7 14 20 27 และ 34 จึงทำการเก็บตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์โดยละเอียดทุก 3 ชั่วโมง ผลการกำจัดซีไอที ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณพีเอชเอของรอบการเดินระบบที่ 7 14 20 27 และ 34 แสดงในภาพที่ 38 ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าระบบสามารถรักษาสถานะที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลนโดยมีช่วงที่จุลินทรีย์ขาดอาหารได้จนถึงรอบการเดินระบบที่ 27 แต่เมื่อทำการเดินระบบต่อไปจนถึงรอบการเดินระบบที่ 34 กลับพบว่าค่าซีไอทีท้ายระบบเหลือเพิ่มสูงขึ้นทำให้ไม่เกิดสถานะที่อาหารขาดแคลน เช่นเดียวกับที่พบในระบบที่ใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน จึงทำการปรับระบบโดยยืดระยะเวลาเก็บกักตะกอนเป็น 14 วันพร้อมทั้งยืดระยะเวลาเก็บกักน้ำเป็น 2 วันในรอบการเดินระบบที่ 39

หลังจากการยืดระยะเวลาเก็บกักตะกอนเป็น 14 วัน และยืดระยะเวลาเก็บกักน้ำเป็น 2 วัน พบว่าค่าซีไอทีช่วงกลางและท้ายรอบการเดินระบบมีแนวโน้มลดลง แต่จากการทำการวิเคราะห์ซีไอทีและความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรอบการเดินระบบที่ 40 กลับพบว่าระบบยังไม่เกิดสถานะที่อาหารขาดแคลน จึงทำการปรับระยะเวลาเก็บกักตะกอนกลับเป็น 7 วัน และคงระยะเวลากักเก็บน้ำเป็น 2 วัน ในรอบการเดินระบบที่ 47 ผลการทดลองพบว่าค่าซีไอทีกลางระบบมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นและยังไม่เกิดสถานะที่อาหารขาดแคลน จึงทำการลดความเข้มข้นของซีไอทีที่เข้าระบบลงเหลือ 1,500 มิลลิกรัม/ลิตร เช่นเดียวกับที่ปรับเปลี่ยนในถังปฏิกรณ์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตท ผลการทดลองพบว่าค่าซีไอทีกลางและท้ายระบบมีแนวโน้มใกล้เคียงกัน จึงคาดว่าระบบสามารถเกิดสถานะที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลนได้ ส่วนค่าความเข้มข้นของตะกอนจุลินทรีย์ในระบบมีแนวโน้มลดลงในช่วงต้นที่ทำการลดความเข้มข้นของซีไอทีที่เข้าระบบ แต่ภายหลังจากที่เลี้ยงตะกอนจุลินทรีย์ด้วยความเข้มข้นนี้ผ่านไประยะเวลาหนึ่ง ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในระบบก็มีแนวโน้มคงที่ โดยภาพที่ 39 และ 40 แสดงการเปลี่ยนแปลงค่าซีไอทีและค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในระบบของรอบการเดินระบบที่ 1 - 100



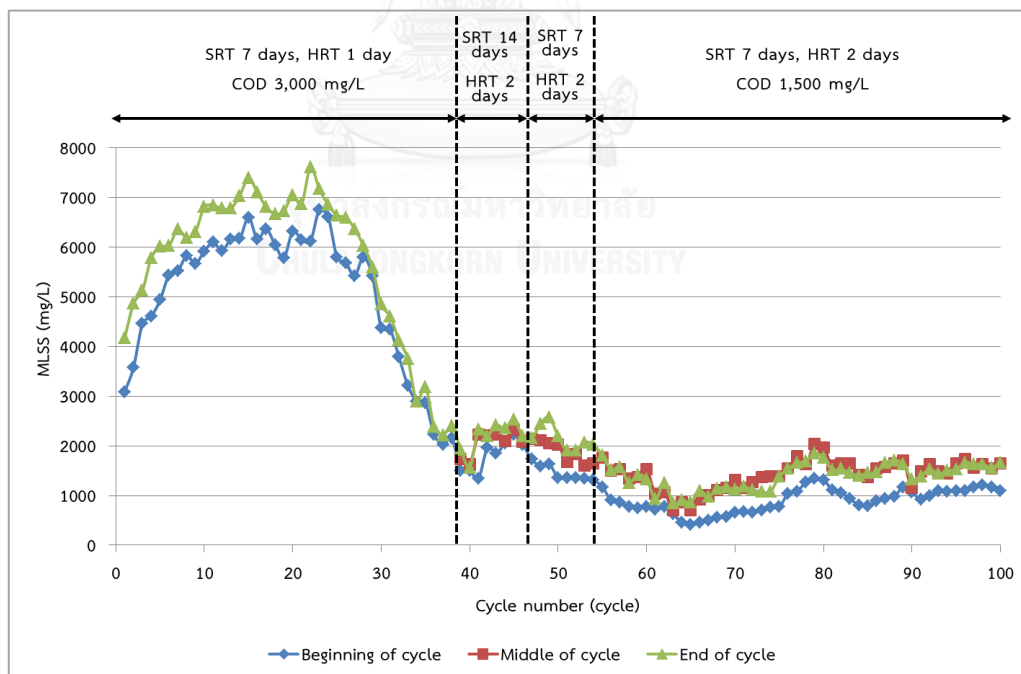
ภาพที่ 38 ความเข้มข้นซีโอดี ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณฟิเอซเอ
 รอบการเดินระบบที่ 7 14 20 27 และ 34 ในระบบซึ่งใช้โพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน
 (ก) รอบการเดินระบบที่ 7 (ข) รอบการเดินระบบที่ 14 (ค) รอบการเดินระบบที่ 20
 (ง) รอบการเดินระบบที่ 27 (จ) รอบการเดินระบบที่ 34

■ ซีโอดี ▲ ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ◆ ปริมาณฟิเอซเอ



ภาพที่ 39 ความเข้มข้นซีโอดีในระบบที่ใช้ไพโรฟิโอนต์เป็นแหล่งคาร์บอน
รอบการเดินระบบที่ 1 - 100

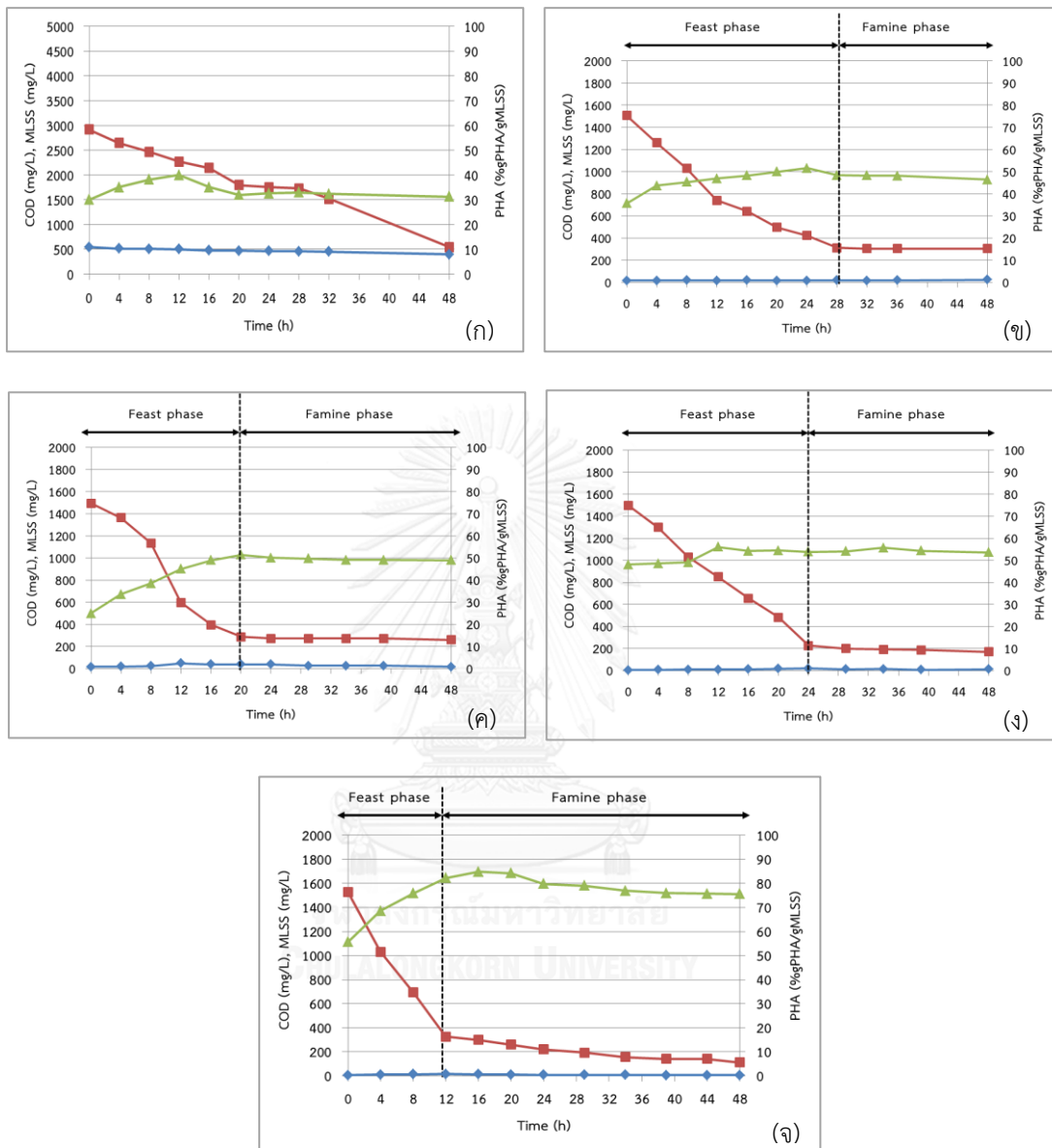
ต้นรอบการเดินระบบ ระหว่างรอบการเดินระบบและ ท้ายรอบการเดินระบบ



ภาพที่ 40 ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ในระบบซึ่งใช้ไพโรฟิโอนต์เป็นแหล่งคาร์บอน
รอบการเดินระบบที่ 1 - 100

ต้นรอบการเดินระบบ ระหว่างรอบการเดินระบบ และ ท้ายรอบการเดินระบบ

หลังจากที่ได้ทำการปรับระบบเป็นระยะเวลาหนึ่ง จึงได้เริ่มทำการเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์โดยละเอียดอีกครั้งในรอบการเดินระบบที่ 61 67 74 และ 81 ดังแสดงในภาพที่ 41



ภาพที่ 41 ความเข้มข้นซีโอดี ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณฟิเอซเอ
รอบการเดินระบบที่ 40 61 67 74 และ 81 ในระบบซึ่งใช้โพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน

(ก) รอบการเดินระบบที่ 40 (ข) รอบการเดินระบบที่ 61 (ค) รอบการเดินระบบที่ 67

(ง) รอบการเดินระบบที่ 74 (จ) รอบการเดินระบบที่ 81

■ ซีโอดี ▲ ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ◆ ปริมาณฟิเอซเอ

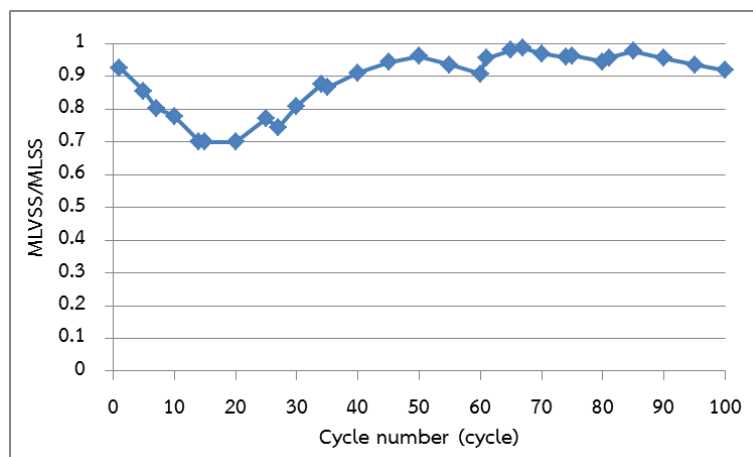
เมื่อทำการวัดค่าซีไอดีโดยละเอียดในรอบการเดินระบบที่ 61 67 74 และ 81 พบว่าระบบเกิดสภาวะที่อาหารขาดแคลน แต่ผลการวัดปริมาณพีเอชเอกลับพบว่าพีเอชเอที่ผลิตได้มีปริมาณน้อยลงเมื่อเทียบกับก่อนที่จะทำการปรับระบบ คาดว่าอาจเนื่องมาจากสภาวะในระบบที่ไม่คงที่ ซึ่งส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบและการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางจุลศาสตร์ ส่งผลให้ความสามารถในการสะสมพีเอชเอเปลี่ยนแปลงไป เช่นเดียวกับที่พบในระบบที่ใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน

4.2.3 ภาพรวมของซีไอดี และ ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ตลอดการเดินระบบ

การกำจัดซีไอดีในภาพรวมของระบบ (ภาพที่ 39) พบว่าในรอบแรกของการเดินระบบจุลินทรีย์สามารถกำจัดซีไอดีได้ลดลงต่ำสุดเหลือ 27 มิลลิกรัม/ลิตร เมื่อทำการเดินระบบผ่านไปพบว่าค่าซีไอดีทำระบบได้เพิ่มสูงขึ้นเช่นเดียวกับที่เกิดในระบบที่ใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน โดยค่าซีไอดีทำรอบการเดินระบบมีค่าอยู่ที่ประมาณ 220 - 800 มิลลิกรัม/ลิตร จนถึงรอบการเดินระบบที่ 32 - 38 พบว่าค่าซีไอดีทำระบบมีค่าสูงถึงประมาณ 1,200 - 2,500 มิลลิกรัม/ลิตร และจากการวัดค่าซีไอดีโดยละเอียดในรอบการเดินระบบที่ 34 พบว่าระบบไม่เกิดสภาวะที่อาหารขาดแคลน ทั้งนี้ระยะเวลาในการย่อยสลายสารอินทรีย์ของจุลินทรีย์นั้นนานขึ้นในรอบการเดินระบบที่ 27 (15 ชั่วโมง) เมื่อเทียบกับรอบการเดินระบบที่ 1 - 20 (9 ชั่วโมง) แต่ถึงอย่างไรก็ตามรอบการเดินระบบที่ 27 นั้นเป็นรอบการเดินระบบที่จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้สูงสุด อาจเนื่องมาจากการที่จุลินทรีย์ได้ผ่านสภาวะที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลนมาช่วงระยะเวลาหนึ่ง ตั้งแต่รอบการเดินระบบที่ 1 - 20 ทำให้จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้มากขึ้นในรอบการเดินระบบที่ 27 ภายหลังจากที่ทำการปรับระบบพบว่าค่าซีไอดีทำระบบตั้งแต่รอบการเดินระบบที่ 54 เป็นต้นไป มีค่าอยู่ในช่วงประมาณ 100 - 500 มิลลิกรัม/ลิตร

สำหรับค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ในภาพรวมของระบบ (ภาพที่ 40) พบว่าในช่วงต้นของการเดินระบบจุลินทรีย์ได้เจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว โดยค่าความเข้มข้นของตะกอนจุลินทรีย์ในระบบได้เพิ่มขึ้นสูงสุดถึง 7,610 มิลลิกรัม/ลิตร ในทำรอบการเดินระบบที่ 22 แต่หลังจากนั้นค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ทำระบบได้ค่อย ๆ ลดลง โดยภายหลังจากรอบการเดินระบบที่ 47 ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ทำระบบมีแนวโน้มลดลงแต่เมื่อทำการเดินระบบต่อไปพบว่าจุลินทรีย์ในระบบสามารถเจริญเติบโตและค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในระบบมีแนวโน้มคงที่ อย่างไรก็ตามค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในช่วงท้ายของการเดินระบบนั้นมีค่าต่ำกว่าในช่วงแรกอย่างมาก

จากผลการวัดค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ (MLVSS) ทุก ๆ 5 รอบการเดินระบบพบว่าสัดส่วนค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ต่อค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLVSS/MLSS) ตลอดการทดลองมีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 0.7 - 1 ดังแสดงในภาพที่ 42 แสดงให้เห็นว่าตะกอนของแข็งแขวนลอยในระบบมีแนวโน้มเป็นเซลล์จุลินทรีย์ที่แท้จริงค่อนข้างสูง

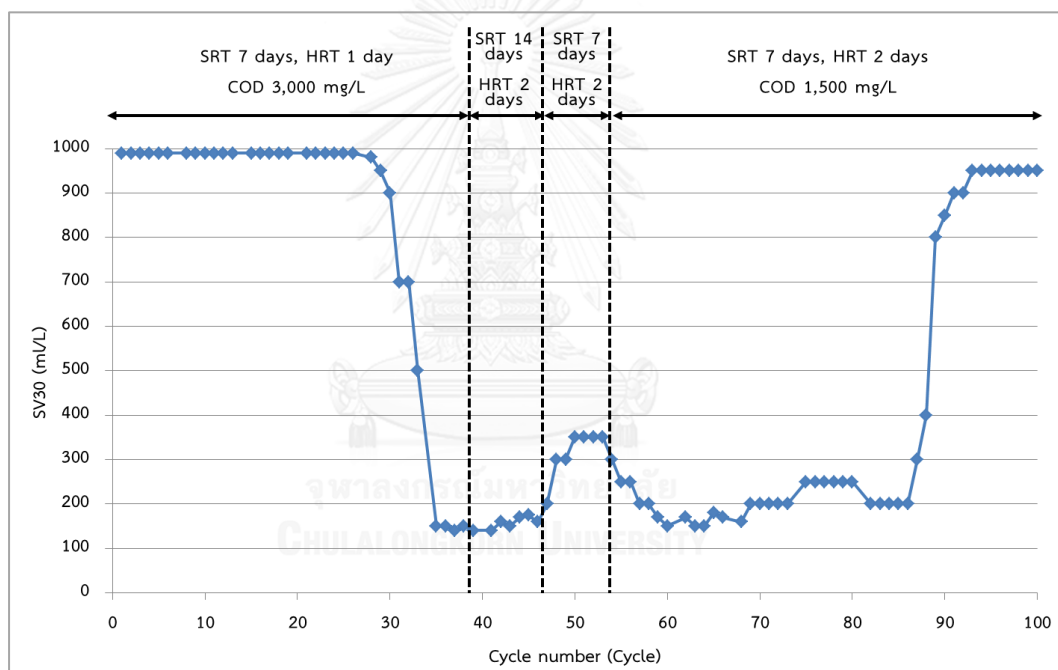


ภาพที่ 42 สัดส่วนค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ ต่อค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLVSS/MLSS) ตลอดการทดลอง ในระบบซึ่งใช้โพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน

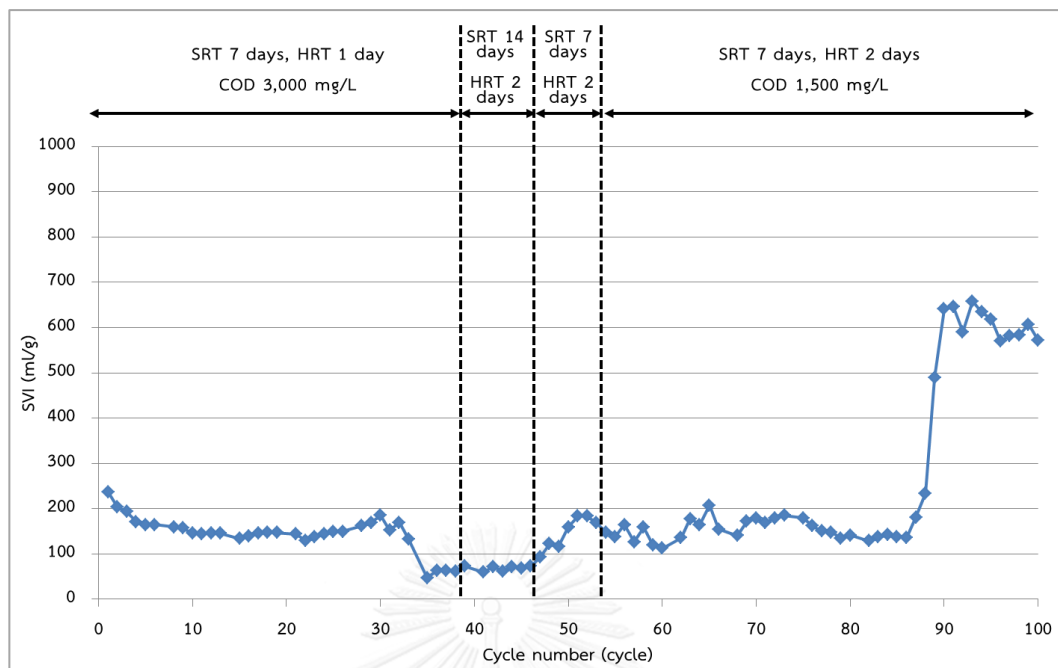
4.2.4 สถานะการตกตะกอนของจุลินทรีย์ในระบบ

จากผลการวัดค่าปริมาตรตะกอนที่ 30 นาที (SV30) ตลอดการทดลอง ผลการทดลองพบว่ารอบการเดินระบบที่ 1 - 30 ตะกอนจุลินทรีย์ในระบบไม่สามารถตกตะกอนได้ วัดค่าปริมาตรตะกอนที่ 30 นาที (SV30) ได้ประมาณ 990 มิลลิลิตร/ลิตร คิดค่าดัชนีปริมาตรตะกอน (SVI) ได้มากกว่า 130 มิลลิลิตร/กรัม แต่หลังจากรอบการเดินระบบที่ 31 ตะกอนจุลินทรีย์สามารถตกตะกอนได้มากขึ้น โดยรอบการเดินระบบที่ 35 - 47 ตะกอนจุลินทรีย์สามารถตกตะกอนได้ดี คิดเป็นค่าดัชนีปริมาตรตะกอน (SVI) ได้ต่ำกว่า 100 มิลลิลิตร/กรัม แต่ภายหลังจากรอบการเดินระบบที่ 48 เป็นต้นไปค่าดัชนีตะกอนกลับขึ้นมาสูงอีกครั้ง และเพิ่มสูงขึ้นในช่วงท้ายก่อนที่จะทำการปิดระบบ การที่ในช่วงต้นของการเดินระบบเกิดปัญหาสลัดจ์ไม่จมตัว (bulking sludge) ซึ่งเป็นปัญหาที่พบในระบบที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเช่นเดียวกัน ได้ทำการแก้ปัญหาโดยการเติมน้ำเสียสังเคราะห์เข้าไปใหม่โดยไม่ทำการดูดน้ำเสียเดิมทิ้ง แต่เนื่องมาจากจุลินทรีย์สามารถกำจัดซีโอดีทำยระบบได้ดี การเติมน้ำเสียสังเคราะห์ใหม่ลงไปจึงไม่ได้กระทบกับความเข้มข้นของซีโอดีที่เข้าระบบ

การที่ค่าปริมาตรตะกอนที่ 30 นาที (SV30) และ ค่าดัชนีปริมาตรตะกอน (SVI) มีการเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง อาจเนื่องมาจากความเข้มข้นของซีโอติที่เข้าระบบและ ทำยระบบมากหรือน้อยเกินไป โดยช่วงที่ตะกอนจุลินทรีย์ในระบบไม่สามารถตกตะกอนได้ กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบอาจจะเป็นจุลินทรีย์กลุ่มเส้นใย ซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มเส้นใยนี้มีรายงานว่าสามารถสะสมฟิเอชเอได้เช่นเดียวกัน ยกตัวอย่างงานวิจัยของ Bengtsson และคณะ (2008) ได้ทำการผลิตฟิเอชเอโดยการใช้น้ำเสียจากโรงงานกระดาษ ผลการทดลองพบว่าประชากรจุลินทรีย์กลุ่มเด่นในถังคั้ตพันธุ์เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเส้นใยที่สามารถสะสมฟิเอชเอได้ โดยมีค่าดัชนีปริมาตรตะกอน (SVI) ประมาณ 200 มิลลิลิตร/กรัม ถ้าพิจารณาการเดินระบบก่อนและหลังที่มีฟิเอชเอสูงสุดคือรอบการเดินระบบที่ 26 และ 28 พบว่าค่าปริมาตรตะกอนที่ 30 นาที (SV30) มีค่าประมาณ 990 มิลลิลิตร/ลิตร และค่าดัชนีปริมาตรตะกอน (SVI) มีค่าประมาณ 150 มิลลิลิตร/กรัม



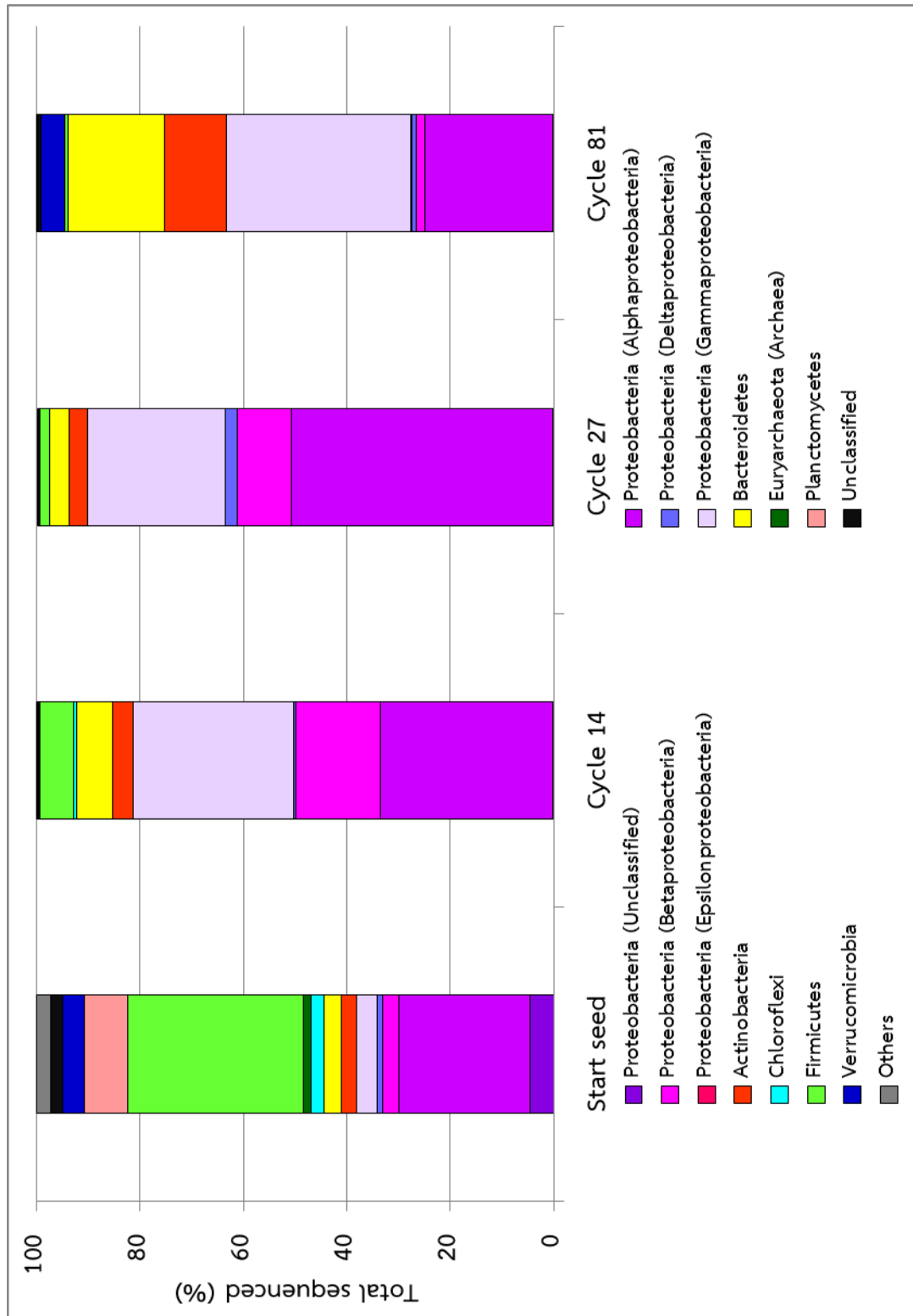
ภาพที่ 43 ค่าปริมาตรตะกอนที่ 30 นาที (SV30) ตลอดการทดลอง
ในระบบซึ่งใช้ไพโรฟิไอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน



ภาพที่ 44 ค่าดัชนีปริมาตรตะกอน (SVI) ตลอดการทดลอง
ในระบบซึ่งใช้โพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน

4.2.5 การเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบ

ผลการศึกษาความหลากหลายและการเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้น ตะกอนจุลินทรีย์ระหว่างการเดินระบบแบบกึ่งเท ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบเดินระบบที่มีพีเอชสูงสุด และตะกอนจุลินทรีย์จากระบบสุดท้ายของการเดินระบบแบบกึ่งเทในระบบที่เลี้ยงด้วยโพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน โดยใช้เทคนิค 16s metagenomic sequencing library แสดงในภาพที่ 45



ภาพที่ 45 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์แยกตามฟิล์มที่พบในตะกอนจุลินทรีย์
ในแต่ละช่วงการเดินระบบที่เลี้ยงด้วยโพธิ์ไอเน็ตเป็นแหล่งคาร์บอน

ตารางที่ 21 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ (จีโนม) ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นจากโรงงานผลิตน้ำผลไม้

ตะกอนจุลินทรีย์	จีโนม	Sequenced (%)
ตะกอนเริ่มต้นจากโรงงาน	<i>Cohnella</i>	19.83
	<i>Inquilinus</i>	14.25
	<i>Tepidibacter</i>	3.087
	<i>Clostridium</i>	2.75
	<i>Rubritalea</i>	2.17
	Others	57.91

ตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นสำหรับถังปฏิกรณ์ที่ใช้โพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอนนั้นเป็นส่วนเดียวกับที่ใช้เริ่มต้นในถังปฏิกรณ์ที่ใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งได้กล่าวถึงกลุ่มจุลินทรีย์ดังกล่าวแล้วในหัวข้อ 4.1.5

ตารางที่ 22 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ (จีโนม) ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 14 ในระบบซึ่งใช้โพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน

ตะกอนจุลินทรีย์	จีโนม	Sequenced (%)
ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 14 (ระหว่างการเดินทางแบบกึ่งเท)	<i>Acinetobacter</i>	14.49
	<i>Pseudoxanthomonas</i>	11.19
	<i>Achromobacter</i>	11.038
	<i>Paracoccus</i>	10.54
	<i>Rhodobacter</i>	9.026
	Others	43.72

ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 14 ในระบบซึ่งใช้โพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอนพบว่า กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ประกอบด้วยไฟลัม *Alphaproteobacteria* คิดเป็นร้อยละ 33.41 ประกอบไปด้วย *Paracoccus spp.* เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเด่น และ *Rhodobacter spp.* รองลงมาคือไฟลัม *Gammaproteobacteria* คิดเป็นร้อยละ 31.051 ประกอบไปด้วย *Acinetobacter spp.* เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเด่น และ *Pseudoxanthomonas spp.* ตามด้วยไฟลัม *Betaproteobacteria* คิดเป็นร้อยละ 16.41 โดยมี *Achromobacter spp.* เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเด่น

Acinetobacter spp. เช่น *A. parvus*, *A. tjernbergiae* และ *A. indicus* เป็นแบคทีเรียที่ย้อมติดสีแกรมลบ และเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ออกซิเจน (Nemec, 2003) มีรายงานพบว่าจุลินทรีย์

กลุ่มนี้มีความสามารถในการสะสมฟิเอชบีได้ โดยการคัดแยกเชื้อจากตะกอนจุลินทรีย์จากระบบบำบัดน้ำเสียแบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์

Pseudoxanthomonas spp. เช่น *P. mexicana* และ *P. japonensis* เป็นแบคทีเรียย้อมติดสีแกรมลบ และเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ออกซิเจน (Thierryและคณะ, 2004) โดยยังไม่พบรายงานว่าจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถสะสมฟิเอชเอได้

Achromobacter spp. เช่น *A. insolitus*, *A. piechaudii* และ *A. arsenitoxydans* เป็นแบคทีเรียย้อมติดสีแกรมลบ และเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ออกซิเจน (Coenye, 2003) ซึ่งมีรายงานพบว่าจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถสะสมฟิเอชเอได้

Paracoccus spp. เช่น *P. denitrificans*, *P. homiensis* และ *P. marinus* เป็นแบคทีเรียย้อมติดสีแกรมลบ และเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ออกซิเจน (Kimและคณะ, 2006) ซึ่งมีรายงานพบว่าจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถสะสมฟิเอชเอได้

Rhodobacter spp. เช่น *R. ovatus* เป็นแบคทีเรียย้อมติดสีแกรมลบ และเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ออกซิเจน (Srinivasและคณะ, 2008) ซึ่งมีรายงานพบว่าจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถสะสมฟิเอชเอได้

ตารางที่ 23 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ (จีโนส) ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบบำบัดน้ำเสียแบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์

ตะกอนจุลินทรีย์	จีโนส	Sequenced (%)
ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบบำบัดน้ำเสียแบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์ (ระบบบำบัดน้ำเสียที่มีฟิเอชเอสูงสุด)	<i>Pseudoxanthomonas</i>	19.021
	<i>Brevundimonas</i>	10.40
	<i>Rhodobaca</i>	9.46
	<i>Sphingopyxis</i>	8.65
	<i>Paracoccus</i>	5.77
	Others	46.70

ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบบำบัดน้ำเสียแบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์ ในระบบบำบัดน้ำเสียแบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์ พบว่า กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ประกอบด้วยไฟลัม *Alphaproteobacteria* คิดเป็นร้อยละ 50.65 ประกอบไปด้วย *Brevundimonas* spp. เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเด่น รองลงมาคือไฟลัม *Gammaaproteobacteria* คิดเป็นร้อยละ 26.76 ประกอบไปด้วย *Pseudoxanthomonas* spp. เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเด่น ตามด้วยไฟลัม *Betaproteobacteria* คิดเป็นร้อยละ 10.51

Pseudoxanthomonas spp. เช่น *P. Mexicana* และ *P. japonensis* เช่นเดียวกับที่พบในรอบการเดินระบบที่ 14 ซึ่งยังไม่พบรายงานว่าจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถสะสมฟิเอชเอได้

Brevundimonas spp. เช่น *B. staleyii*, *B. olei* และ *B. terrae* เป็นแบคทีเรียที่ย้อมติดสีแกรมลบ และเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ออกซิเจน (Abrahamและคณะ, 2010) โดยมีรายงานพบว่าจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถสะสมฟิเอชเอได้

Rhodobaca spp. เป็นแบคทีเรียที่ย้อมติดสีแกรมลบ (Milfordและคณะ, 2000) ยังไม่พบรายงานว่าจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถสะสมฟิเอชเอได้

Sphingopyxis spp. เช่น *S. terrae* เป็นแบคทีเรียที่ย้อมติดสีแกรมลบ และเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ออกซิเจน (Godoy, 2003) โดยมีรายงานพบว่าจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถสะสมฟิเอชเอได้

Paracoccus spp. เช่น *P. alcaliphilus* และ *P. homiensis* เป็นแบคทีเรียที่ย้อมติดสีแกรมลบ และเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ออกซิเจน (Khanและคณะ, 2008) ซึ่งมีรายงานพบว่าจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถสะสมฟิเอชเอได้

ตารางที่ 24 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ (จีโนส) ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากรอบการเดินระบบที่ 81 ในระบบซึ่งใช้โพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน

ตะกอนจุลินทรีย์	จีโนส	Sequenced (%)
ตะกอนจุลินทรีย์จากรอบการเดินระบบที่ 81 (รอบการเดินระบบรอบสุดท้ายก่อนปีตรระบบ)	<i>Dokdonella</i>	29.42
	<i>Devosia</i>	7.98
	<i>Leucobacter</i>	7.81
	<i>Xanthobacter</i>	6.55
	<i>Luteolibacter</i>	3.38
	Others	44.87

ตะกอนจุลินทรีย์จากรอบการเดินระบบที่ 81 ในระบบซึ่งใช้โพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอนพบว่า กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ประกอบด้วยไฟลัม *Gammaproteobacteria* คิดเป็นร้อยละ 35.75 ประกอบไปด้วย *Dokdonella spp.* เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเด่น รองลงมาคือไฟลัม *Alphaproteobacteria* คิดเป็นร้อยละ 24.76 ประกอบไปด้วย *Devosia spp.* เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเด่น และ *Xanthobacter spp.* ตามด้วยไฟลัม *Bacteroidetes* คิดเป็นร้อยละ 18.58

Dokdonella ssp. เช่น *D. koreensis* เป็นแบคทีเรียที่ย้อมติดสีแกรมลบ รูปท่อน และเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ออกซิเจน (Yoonและคณะ, 2006) ซึ่งยังไม่พบรายงานว่าจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถสะสมฟิเอชเอได้

Devosia spp. เช่น *D. subaequoris* และ *D. hwasunensis* เป็นแบคทีเรียย้อมติดสีแกรมลบ (Lee, 2007) และเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ออกซิเจน ซึ่งยังไม่พบรายงานว่าจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถสะสมพีเอชเอได้

Leucobacter spp. เช่น *L. komagatae* เป็นแบคทีเรียย้อมติดสีแกรมลบ และเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ออกซิเจน โดยไม่พบรายงานว่าจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถสะสมพีเอชเอได้

Xanthobacter spp. เช่น *X. Polyaromaticivorans* และ *X. autotrophicus* เป็นแบคทีเรียย้อมติดสีแกรมลบ โดยมีรายงานพบว่าจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถสะสมพีเอชเอได้

Luteolibacter spp. เป็นแบคทีเรียย้อมติดสีแกรมบวก รูปท่อน และเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ ออกซิเจน (Halpern และคณะ, 2009) โดยไม่พบรายงานว่าจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถสะสมพีเอชเอได้

จากผลการทดลองพบว่าในแต่ละช่วงของการเดินระบบคือ ระหว่างการเดินระบบแบบกึ่งเท และ รอบการเดินระบบที่มีพีเอชเอสูงสุด กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบมีความคล้ายคลึงกัน อาจเนื่องมาจากสภาวะในการเดินระบบที่ไม่ต่างกันมาก โดยกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมพีเอชเอในรอบ การเดินระบบที่มีพีเอชเอสูงสุด (รอบการเดินระบบที่ 27) ที่เคยมีรายงานมาก่อนหน้านี้ คือ *Brevundimonas* spp., *Sphingopyxis* spp. และ *Paracoccus* spp. แต่รอบการเดินระบบรอบ สุดท้ายก่อนปิดระบบ กลุ่มจุลินทรีย์ในระบบได้เปลี่ยนแปลงไป อาจเนื่องมาจากการปรับเปลี่ยน สภาวะในการเดินระบบ

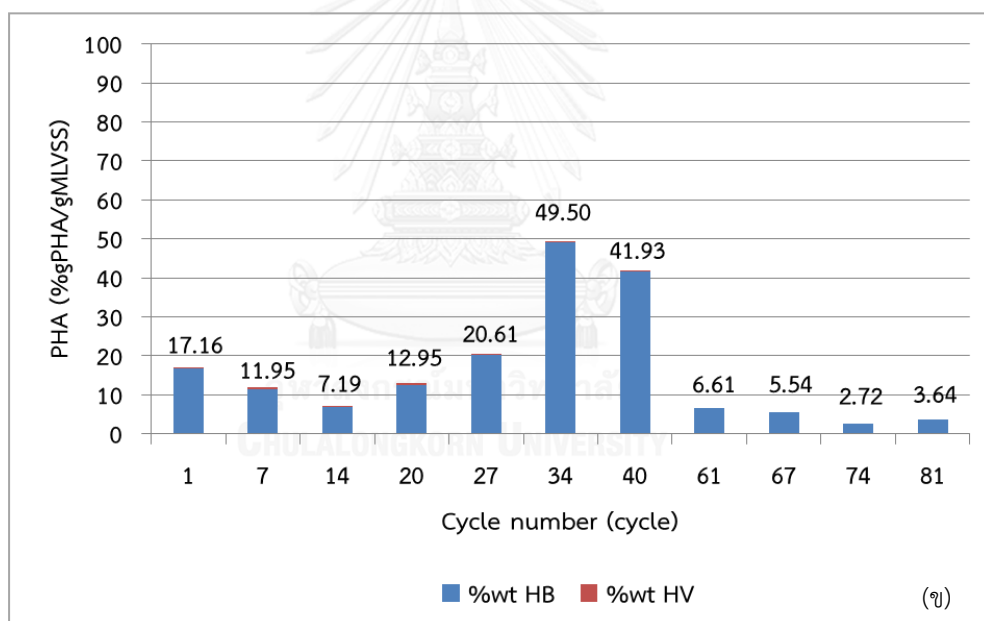
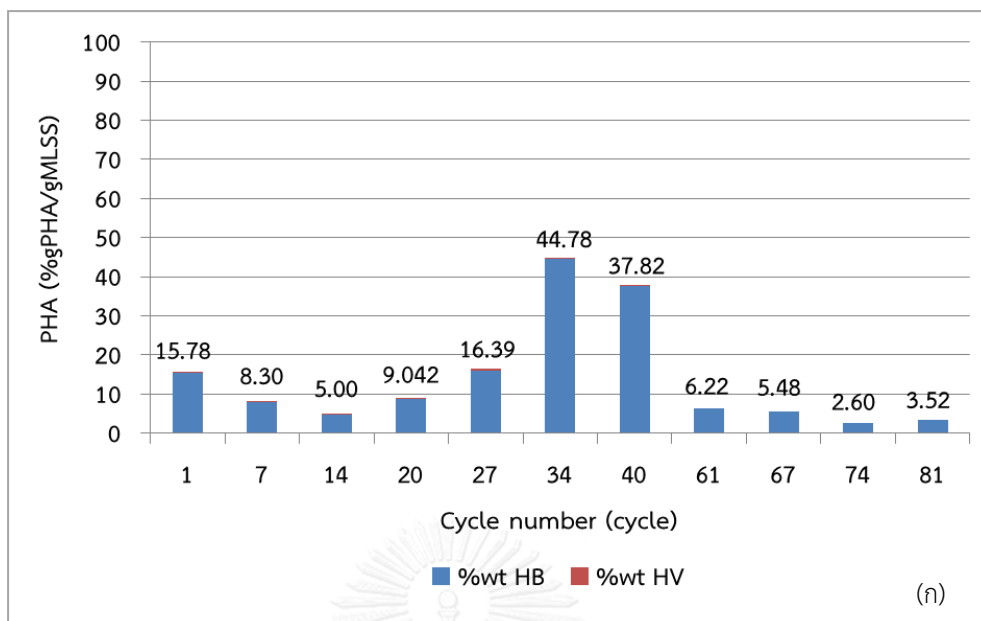
เมื่อเปรียบเทียบกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทกับ โพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน ในรอบการเดินระบบที่มีพีเอชเอสูงสุด พบว่ากลุ่มประชากรจุลินทรีย์ จากสองแหล่งคาร์บอนมีความแตกต่างกัน สามารถสรุปได้ว่าแหล่งคาร์บอนมีผลต่อกลุ่มประชากร จุลินทรีย์ในระบบ ซึ่งอาจส่งผลต่อชนิดและปริมาณของพีเอชเอที่ผลิตออกมาได้

ความสามารถในการสะสมพีเอชเอของจุลินทรีย์นั้นเป็นความสามารถทั่ว ๆ ไปของจุลินทรีย์ โดยขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยที่จะส่งเสริมให้จุลินทรีย์กลุ่มนั้นสะสมพีเอชเอ เช่น สภาวะที่มีแหล่งคาร์บอน มากเกินพอหรือขาดแคลน จำกัดธาตุอาหารบางชนิด หรือระยะเวลาเก็บกักตะกอนในระบบ เป็นต้น

โดยสรุป จากผลการทดลองการสะสมพีเอชเอของจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยโพรพิโอเนตเป็นแหล่ง คาร์บอน พบว่าเมื่อทำการเดินระบบภายใต้สภาวะที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน จุลินทรีย์ สามารถสะสมพีเอชเอได้สูงสุดในรอบการเดินระบบที่ 27 โดยได้ปริมาณพีเอชเอสูงสุดร้อยละ 12.65 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (% gPHA/gMLSS) ซึ่งมีสัดส่วนของเอชพีและเอชวีโมโนเมอร์ร้อยละ 7.29 และ 5.36 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (% gPHA/gMLSS) ตามลำดับ

4.3 ผลของแหล่งคาร์บอนต่อปริมาณและส่วนประกอบของพีเอชเอ

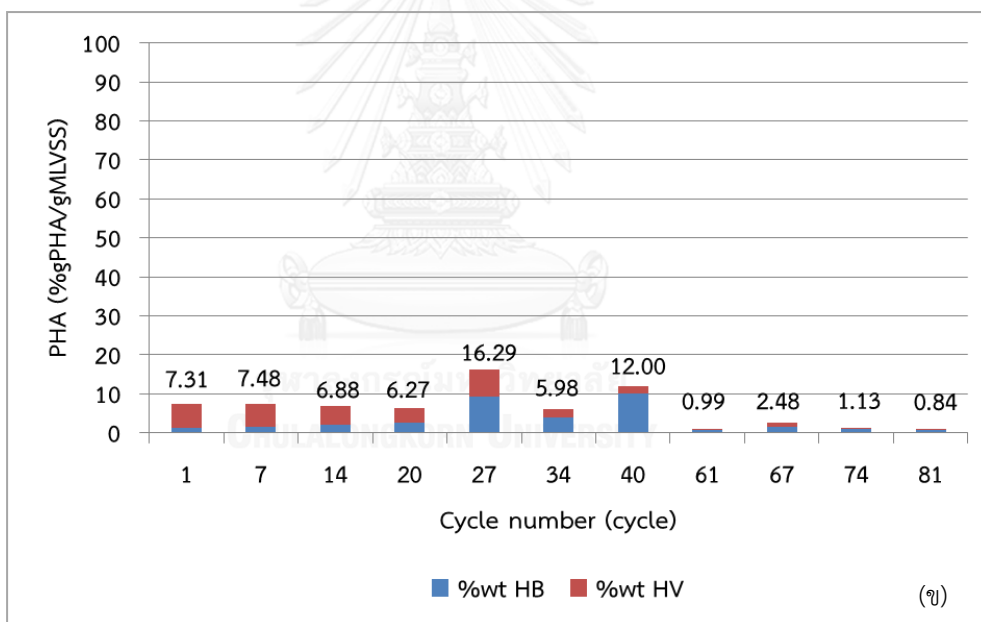
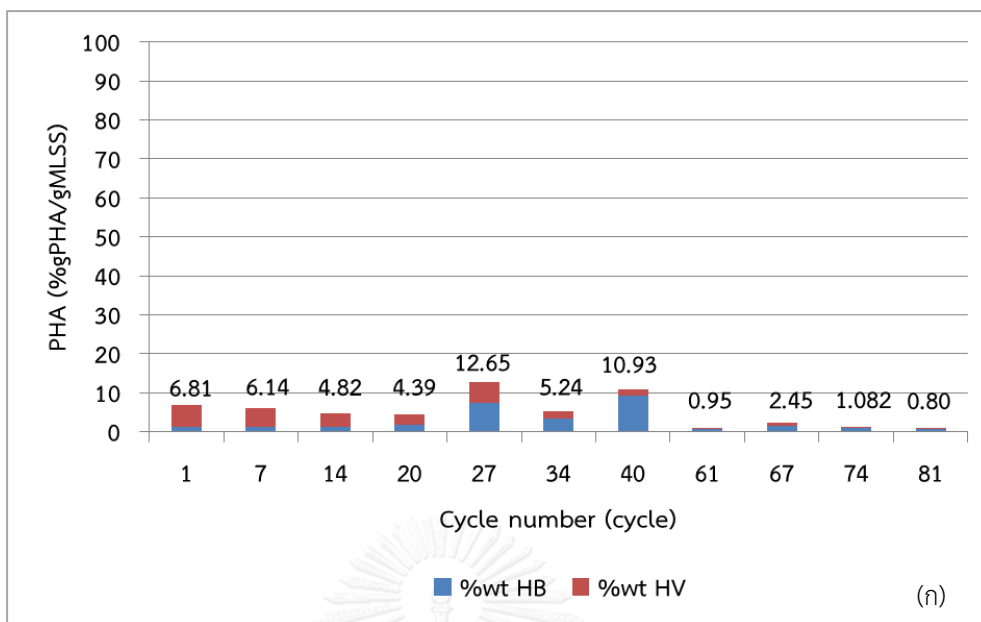
ผลการศึกษาปริมาณและส่วนประกอบของพีเอชเอที่ผลิตได้จากแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันพบว่า ตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอนจะผลิตโพลีไฮดรอกซีบิวทิเรทโมโนเมอร์หรือเอชบีโมโนเมอร์เป็นหลัก โดยจุลินทรีย์สามารถผลิตพีเอชเอได้สูงสุดในรอบการเดินระบบที่ 34 โดยได้ปริมาณพีเอชเอร้อยละ 44.78 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (% gPHA/gMLSS) คิดเป็นสัดส่วนของเอชบีโมโนเมอร์และเอชวีโมโนเมอร์ร้อยละ 99.42 และ 0.58 โดยโมล ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 46 สำหรับตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยโพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอนจะผลิตโคโพลีเมอร์ของเอชบีและเอชวี โดยจุลินทรีย์สามารถผลิตพีเอชเอได้สูงสุดในรอบการเดินระบบที่ 27 โดยได้ปริมาณพีเอชเอร้อยละ 12.65 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (% gPHA/gMLSS) คิดเป็นสัดส่วนของเอชบีโมโนเมอร์และเอชวีโมโนเมอร์ร้อยละ 57.62 และ 42.38 โดยโมล ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 47 โดยสัดส่วนของเอชวีโมโนเมอร์ในโคโพลีเมอร์ของเอชบีและเอชวีที่เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้ในกระบวนการอุตสาหกรรมโพลีเมอร์อยู่ในช่วงระหว่างร้อยละ 40 - 50 โดยโมล (Changและคณะ, 2012) สำหรับงานวิจัยนี้ในรอบการเดินระบบที่ 27 ของระบบที่เลี้ยงด้วยโพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งเป็นรอบที่พีเอชเอมีปริมาณสูงสุด จุลินทรีย์สามารถผลิตโคโพลีเมอร์ที่มีสัดส่วนของเอชวีโมโนเมอร์อยู่ในช่วงร้อยละ 42 - 49 โดยโมล ซึ่งเป็นสัดส่วนที่ดีสามารถนำไปประยุกต์ใช้งานในภาคอุตสาหกรรมได้



ภาพที่ 46 ปริมาณพืเอชเอสูงสุดในแต่ละรอบการเดินระบบโดยใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน

(ก) ปริมาณพืเอชเอ รายงานในหน่วย % gPHA/gMLSS

(ข) ปริมาณพืเอชเอ รายงานในหน่วย % gPHA/gMLVSS



ภาพที่ 47 ปริมาณพีเอชเอสูงสุดในแต่ละรอบการเดินระบบโดยใช้โพรฟิโอมेटเป็นแหล่งคาร์บอน

(ก) ปริมาณพีเอชเอ รายงานในหน่วย % gPHA/gMLSS

(ข) ปริมาณพีเอชเอ รายงานในหน่วย % gPHA/gMLVSS

จากผลการทดลองดังแสดงในภาพที่ 46 และภาพที่ 47 พบว่าตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วย โพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอนได้ปริมาณพีเอชเอน้อยกว่าระบบที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่ง คาร์บอน อาจเนื่องมาจากการที่ยิวส์ของการสะสมพีเอชเอของอะซิเตทสูงกว่าโพรพิโอเนต โดยการ สังเคราะห์พีเอชบีและพีเอชวีจากโพรพิโอเนตต้องการกระบวนการดีคาร์บอกซิเลชัน (Decarboxylation) เพื่อปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ และสร้างเป็น Acetyl-CoA ในขณะที่เมื่อใช้ อะซิเตทเป็นสารตั้งต้นไม่ต้องการกระบวนการดีคาร์บอกซิเลชัน อะซิเตทสามารถเปลี่ยนเป็น Acetyl-CoA ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์พีเอชบีได้โดยตรง จึงส่งผลให้ยิวส์ของการสะสมพีเอชเอของ โพรพิโอเนตมีค่าน้อยกว่ายิวส์ของการสะสมพีเอชเอของอะซิเตท (Lemosและคณะ, 2008) ซึ่ง Acetyl-CoA มีความเป็นจำเป็นสำหรับการสังเคราะห์พีเอชเอ เนื่องจาก Acetyl-CoA จะเข้าสู่ Tricarboxylic acid cycle (TCA cycle) เพื่อผลิตพลังงานและรีดิวซ์ฟิวเวอรที่จำเป็นสำหรับการ สร้างเซลล์และผลิตพีเอชเอ (Changและคณะ, 2012)

จากผลการทดลอง เมื่อพิจารณาผลของแหล่งคาร์บอนต่อส่วนประกอบของพีเอชเอ พบว่า ตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทผลิตพีเอชเอชนิดพีเอชบีโมโนเมอร์ออกมาเป็นหลัก การที่ตะกอน จุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทผลิตพีเอชบีโมโนเมอร์ออกมาเป็นหลัก เนื่องจากอะซิเตทเป็นสารตั้ง ต้นหลักในการสังเคราะห์เอชบีโมโนเมอร์ โดยสร้าง Acetyl-CoA ขึ้นมาที่จำเป็นสำหรับการสร้าง 3-hydroxybutyryl-CoA เพื่อผลิตเป็นเอชบีโมโนเมอร์ต่อไป (Dionisiและคณะ, 2004)

สำหรับตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยโพรพิโอเนตสามารถผลิตพีเอชเอซึ่งประกอบไปด้วยเอชบี โมโนเมอร์และเอชวีโมโนเมอร์ โดยในการผลิตเอชวีโมโนเมอร์ โพรพิโอเนตเป็นสารตั้งต้นหลักในการ สร้าง Propionyl-CoA ซึ่งเมื่อถูกรวมเข้ากับ Acetyl-CoA จะผลิตเป็น hydroxyvaleryl-CoA ออกมา การผลิต Acetyl-CoA จากโพรพิโอเนตสามารถผลิตได้ผ่านทาง 5 เส้นทางดังนี้ คือ (1) The methylmalonyl-CoA pathway (2) The hydroxyglutarate pathway (3) The citramalate pathway (4) The acryloyl-CoA pathway และ (5) The 2-methylcitric acid pathway ถึงแม้ว่าโพรพิโอเนตจะสร้างเอชวีโมโนเมอร์ออกมาเป็นหลัก แต่ก็มีโอกาสที่จะสร้าง hydroxybutyryl-CoA ที่เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์เอชบีโมโนเมอร์ได้เช่นกันจากการรวมตัวกัน ของ Acetyl-CoA 2 หน่วย (Lemosและคณะ, 2006)

ตารางที่ 25 เปรียบเทียบปริมาณฟิโอสและส่วนประกอบของฟิโอสเอกับงานวิจัยที่ผ่านมา

แหล่งตะกอนจุลินทรีย์ เริ่มต้น	แหล่งคาร์บอน	ปริมาณ ฟิโอสเอ (ร้อยละโดย น้ำหนัก)	ส่วนประกอบ ของฟิโอสเอ (ร้อยละโดยโมล)		อ้างอิง
			ฟิโอสบี	ฟิโอสซี	
จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม	อะซิเตท (SBR)	65.4	100	0	Lemosและ คณะ (2008)
	โพรพิโอเนต (SBR)	41.2	28	72	
ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบ แบบแอกทิเวเตดสลัดจ์	อะซิเตท (SBR)	53	100	0	Johnsonและ คณะ (2009)
	อะซิเตท (Batch)	89	100	0	
ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบ แบบเอสปีอาร์ บำบัดน้ำ เสียจากโรงงานกระดาษ	อะซิเตท (Batch)	43.3	100	0	Basakและ คณะ (2011)
จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม	อะซิเตท (SBR)	53.0	100	0	Jiang, Hebly, และคณะ (2011)
	โพรพิโอเนต (SBR)	33.1	ไม่ระบุ	ไม่ระบุ	
	อะซิเตท (Batch)	87.7	100	0	
	โพรพิโอเนต (Batch)	60.0	ไม่ระบุ	ไม่ระบุ	
ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบ แบบแอกทิเวเตดสลัดจ์ ของโรงบำบัดน้ำเสียชุมชน	อะซิเตท (Batch)	67	100	0	Liuและคณะ (2011)
ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบ แบบเอสปีอาร์	โพรพิโอเนต (SBR) อะซิเตท : วาเลอเรท, 50:50 (Batch)	57.3	55	45	Changและ คณะ (2012)
ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบ แบบแอกทิเวเตดสลัดจ์ ของโรงบำบัดน้ำเสียชุมชน	อะซิเตท : โพรพิโอเนต 3:1 โดยโมล; (SBR) อะซิเตท : โพรพิโอเนต 1:1 โดยโมล; (Batch)	47.7	42	48	Wangและ คณะ (2013)
ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบ แบบแอกทิเวเตดสลัดจ์ ของโรงบำบัดน้ำเสียชุมชน	อะซิเตท (SBR)	55	100	0	Ozdemirและ คณะ (2014)
ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบ แบบเอสปีอาร์ ของบริษัท ทีปโก้เอฟแอนด์บี	อะซิเตท (SBR)	51.82	86.86	13.32	ปานชมพู คุ่ม วณิชย์ (2555)
ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบ แบบเอสปีอาร์ ของบริษัท ทีปโก้เอฟแอนด์บี	อะซิเตท (SBR)	44.78	99.42	0.58	งานวิจัยนี้
	โพรพิโอเนต (SBR)	12.65	57.62	42.38	

จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าการใช้แหล่งคาร์บอนที่ต่างกันคืออะซิเตทหรือโพรพิโอเนตในการเลี้ยงตะกอนจุลินทรีย์ส่งผลโดยตรงต่อปริมาณและส่วนประกอบของพีเอชเอ การใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอนสามารถผลิตพีเอชเอได้ปริมาณสูงกว่าเมื่อเทียบกับโพรพิโอเนตแต่พีเอชเอที่ผลิตได้ออกมานั้นเป็นโฮโมโพลีเมอร์ของพีเอชบีเพียงอย่างเดียว ซึ่งจำกัดการนำไปใช้ประโยชน์ทางภาคอุตสาหกรรมเนื่องจากคุณสมบัติทางกายภาพและเชิงกลของโพลีเมอร์ โคโพลีเมอร์ของเอชบีและเอชวีจึงมีความน่าสนใจกว่า จึงมีงานวิจัยที่นำทั้งอะซิเตทและโพรพิโอเนตมาผสมรวมกันเพื่อผลิตโคโพลีเมอร์ จะเห็นได้จากงานวิจัยในช่วงหลังได้มีความพยายามที่จะควบคุมสัดส่วนของเอชวีโมโนเมอร์ในโคโพลีเมอร์ของเอชบีและเอชวี โดยการปรับสัดส่วนของโพรพิโอเนต ในสารอาหารที่มีการผสมกันระหว่างอะซิเตทและโพรพิโอเนต ยกตัวอย่างเช่นงานของ Dionisi และคณะ (2004) ได้ใช้สารอาหารที่มีการผสมกันระหว่างอะซิเตท โพรพิโอเนต และแลกแทท ในอัตราส่วน 40 : 40 : 20 ในถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท ได้โคโพลีเมอร์ของเอชบีและเอชวีที่มีสัดส่วนของเอชวีโมโนเมอร์ร้อยละ 31 Chang และคณะ (2012) ได้พบว่าการใช้โพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอนในถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเทสามารถผลิตโคโพลีเมอร์ได้ดีกว่าการใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน และเมื่อนำตะกอนที่ถูกเลี้ยงด้วยโพรพิโอเนตมาทำการทดลองแบบแบทช์ โดยใช้สารอาหารที่มีการผสมกันระหว่างอะซิเตทและวาเลอเรทในอัตราส่วน 50 : 50 สามารถผลิตโคโพลีเมอร์ได้ร้อยละ 57.3 โดยน้ำหนักแห้ง ที่มีสัดส่วนของเอชวีร้อยละ 45 และ Wang และคณะ (2013) ใช้สารอาหารที่มีการผสมกันระหว่างอะซิเตทและโพรพิโอเนตในอัตราส่วน 3 : 1 โดยโมล ในถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท และใช้สารอาหารที่มีการผสมกันระหว่างอะซิเตทและโพรพิโอเนตในอัตราส่วน 1 : 1 โดยโมล ในถังปฏิกรณ์แบบแบทช์ ได้โคโพลีเมอร์ของเอชบีและเอชวีร้อยละ 44.39 โดยน้ำหนักแห้ง และมีสัดส่วนของเอชวีที่เหมาะสม (ร้อยละ 40 - 50 โดยโมล)

สำหรับงานวิจัยนี้ ปริมาณพีเอชเอที่ผลิตได้เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยที่ผ่านมายังถือว่าได้ปริมาณพีเอชเอค่อนข้างน้อย ถึงแม้ว่าโคโพลีเมอร์ของเอชบีและเอชวีที่ได้จะมีสัดส่วนของเอชวีโมโนเมอร์ที่ดี แต่เห็นได้ว่าตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นที่นำมาจากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานผลิตน้ำผลไม้ของประเทศไทย (บริษัททีปโก้ เอฟ แอนด์ บี จำกัด) มีศักยภาพในการผลิตพีเอชเอทั้งชนิดโฮโมโพลีเมอร์และโคโพลีเมอร์ เนื่องมาจากน้ำเสียของโรงงานประกอบไปด้วยน้ำผลไม้ประมาณร้อยละ 70 เมื่อน้ำเสียเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสียแบบยูเอเอสบี ซึ่งเป็นระบบแบบไร้อากาศ ทำให้สารอินทรีย์ในน้ำเสียถูกเปลี่ยนไปเป็นกรดไขมันระเหยง่าย เช่น กรดอะซิติก และ กรดโพรพิโอนิก เป็นต้น หลังจากนั้นน้ำเสียจะเข้าสู่ระบบแบบเอสบีอาร์เพื่อกำจัดสารอินทรีย์ต่อ ซึ่งระบบแบบเอสบีอาร์เป็นระบบที่สามารถเกิดสภาวะที่มีอาหารเกินพอสลักับขาดแคลนในตัวอยู่แล้ว ตะกอนจุลินทรีย์ที่นำมาจากบริษัททีปโก้ เอฟ แอนด์ บี จึงเอื้อต่อการนำมากระตุ้นด้วยวิธีการให้อาหารแบบเกินพอสลักับ

ขาดแคลนเพื่อให้จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอ โดยตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นจากโรงงานสามารถผลิตพีเอชเอได้ปริมาณร้อยละ 0.46 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (% gPHA/gMLSS) เมื่อนำมาทำการเลี้ยงตะกอนจุลินทรีย์ด้วยอะซิเตทและโพर्फิโออนด์เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าจุลินทรีย์สามารถใช้อาหารได้อย่างรวดเร็วและผลิตพีเอชเอได้ตั้งแต่รอบแรกของการเดินระบบ และเมื่อทำการเดินระบบอย่างต่อเนื่องจุลินทรีย์ก็สามารถผลิตพีเอชเอได้ปริมาณที่สูงขึ้น

งานวิจัยในปัจจุบันที่ทำการผลิตพีเอชเอโดยใช้อะซิเตทและโพर्फิโออนด์เป็นแหล่งคาร์บอน ภายใต้สภาวะที่มีอาหารเกินพอสลบกับขาดแคลน สามารถผลิตพีเอชเอได้ปริมาณอยู่ในช่วงร้อยละ 40 - 89 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง ดังแสดงในตารางที่ 25 ซึ่งมีปัจจัยหลายอย่างส่งผลต่อปริมาณพีเอชเอที่ผลิตออกมา เช่น ตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้น สภาวะการเดินระบบ ไม่ว่าจะเป็น ค่าความเข้มข้นของสารอินทรีย์ที่เข้าระบบ ค่าระยะเวลากักเก็บตะกอน ระยะเวลาของแต่ละรอบการเดินระบบ ค่าอัตราส่วนสารอาหารต่อจุลินทรีย์ หรือ อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน เป็นต้น ทั้งนี้การนำตะกอนจุลินทรีย์ที่ได้จากขั้นตอนการคัดเลือกไปทำการทดลองต่อถึงปฏิกรณ์แบบแบทช์ก็ทำให้จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้มากขึ้นด้วย

ปัจจัยที่น่าจะมีผลกระทบในการเพิ่มการผลิตพีเอชเอต่อไปในการดำเนินงานในอนาคต นอกจากเรื่องของประเภทของแหล่งคาร์บอนแล้ว ยังได้แก่ แหล่งของตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้น ความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน หรือระยะเวลาเก็บกักตะกอน เป็นต้น จากการศึกษาวิจัยที่ผ่านมาจะพบว่าตะกอนจุลินทรีย์จากแหล่งที่มาต่างกัน ความสามารถในการผลิตพีเอชเอได้มีความแตกต่างกัน คาดว่าน่าจะมาจากการที่ตะกอนจุลินทรีย์มีความคุ้นเคยกับน้ำเสียที่มีองค์ประกอบแตกต่างกัน เมื่อนำมาเลี้ยงด้วยแหล่งคาร์บอนหรือน้ำเสียสังเคราะห์ที่เตรียมไว้ จึงทำให้จุลินทรีย์มีความสามารถในการผลิตพีเอชเอได้มากน้อยต่างกันไป โดยแหล่งของตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นที่คาดว่าน่าจะมีประสิทธิภาพที่ดี เอื้อต่อการนำมาใช้ในการผลิตพีเอชเอ คือตะกอนจุลินทรีย์จากระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพของโรงงานผลิตอาหารและเครื่องดื่ม เช่น ผลไม้กระป๋อง น้ำผักและผลไม้ หรือระบบบำบัดน้ำเสียที่มีลักษณะของน้ำเสียประกอบไปด้วยกรดไขมันระเหยง่าย (กรดอะซิติก โพर्फิโอนิก หรือ บิวทิริก เป็นต้น) ในปริมาณที่สูง เช่น น้ำเสียที่ออกมาจากระบบบำบัดแบบไร้อากาศ หรือจากโรงงานน้ำผักและผลไม้ เป็นต้น หรือรูปแบบของระบบบำบัดน้ำเสียที่เป็นลักษณะแบบเอสปีอาร์ เพราะระบบบำบัดแบบเอสปีอาร์สามารถที่จะสนับสนุนการเกิดสภาวะที่มีอาหารเกินพอสลบกับขาดแคลนอยู่ในตัวเองอยู่แล้ว ดังนั้นการนำตะกอนจุลินทรีย์จากแหล่งดังกล่าวนี้มาทำการเดินระบบ เพื่อให้ผลิตและสะสมพีเอชเอน่าจะให้ผลผลิตโพลีเมอร์ที่มากยิ่งขึ้น สำหรับความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่เติมเข้าไปในระบบการผลิตพีเอชเอ มีผลในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพีเอชเอด้วย

เช่นกัน โดยอาจจะต้องทำการศึกษาหาความเข้มข้นของสารอาหารที่เหมาะสมที่จะให้จุลินทรีย์เกิดสภาวะที่มีอาหารและขาดอาหารได้

ความเป็นไปได้ในการพัฒนาผลการทดลองไปสู่การสร้าง Pilot scale คือ การนำน้ำเสียจริงจากโรงงานผลิตน้ำตาลมาใช้เพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนในการเลี้ยงตะกอนจุลินทรีย์แทนการใช้น้ำเสียสังเคราะห์ โดยการนำน้ำเสียจากโรงงานผ่านระบบบำบัดแบบไร้อากาศก่อน (Anaerobic treatment system) ซึ่งน้ำเสียที่ผ่านระบบบำบัดแบบไร้อากาศจะประกอบไปด้วยกรดไขมันระเหยง่ายที่เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับจุลินทรีย์ในการผลิตพีเอชเอ หลังจากนั้นนำน้ำเสียที่ประกอบไปด้วยกรดไขมันระเหยง่ายมาเติมลงในถังเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ (Enrichment reactor) ซึ่งเป็นระบบแบบแอโรบิกที่มีการเติมอากาศตลอดเวลา ตะกอนจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงคือตะกอนจุลินทรีย์จากระบบแบบแอโรบิกของโรงงาน ลักษณะของถังปฏิกรณ์เป็นแบบกึ่งเท ทำการเลี้ยงตะกอนจุลินทรีย์ให้เกิดสภาวะที่มีอาหารเกินพอสลักับขาดแคลน เพื่อให้เกิดการคัดเลือกกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมพีเอชเอได้ โดยก่อนที่จะนำน้ำเสียเติมลงในถังเพาะเลี้ยง ต้องมีการวัดความเข้มข้นและส่วนประกอบของกรดไขมันระเหยง่ายก่อน โดยถ้าต้องการพีเอชเอชนิดไหนเป็นพิเศษก็อาจเติมแหล่งคาร์บอนเสริมเข้าไปเพิ่ม ให้ได้ความเข้มข้นตามที่กำหนดไว้ หลังจากนั้นนำตะกอนจุลินทรีย์ที่ผ่านการเลี้ยงและคัดเลือกกลุ่มประชากรจุลินทรีย์แล้ว มาเข้าถังสะสมและผลิตพีเอชเอ (Accumulation reactor) เพื่อทำการผลิตพีเอชเอสูงสุด ลักษณะของถังปฏิกรณ์เป็นแบบแบทช์ซึ่งเติมอาหารแบบกึ่งต่อเนื่อง (Fed-batch reactor) โดยน้ำเสียหรือแหล่งคาร์บอนที่เติมเข้าไปในระบบนำมาจากถังหมักเช่นเดียวกับที่เติมลงไปถังเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ โดยกระบวนการนี้จะสามารถบำบัดน้ำเสียและผลิตพีเอชเอได้ในคราวเดียวกัน รวมถึงยังเป็นการนำตะกอนจุลินทรีย์มาใช้ให้เกิดประโยชน์แทนที่จะนำไปกำจัดโดยวิธีการอื่น

ความเป็นไปได้ในการลงทุนในอนาคต อาจจะมีต้นทุนการสร้างถังเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ ถังผลิตและสะสมพีเอชเอ และค่าไฟฟ้าที่เกิดขึ้นจากการเติมอากาศ แต่ถ้าเมื่อเทียบกับค่าเครื่องมือที่ต้องปลดเชื้อสำหรับการผลิตพีเอชเอจากจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์อาจจะมีต้นทุนการผลิตที่ถูกกว่า โดยข้อดีของการใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมที่ได้มาจากตะกอนจุลินทรีย์ของระบบบำบัดน้ำเสียเมื่อเทียบกับจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์สำหรับการผลิตพีเอชเอต่อไปในอนาคตคือ เรื่องของต้นทุนค่าสารอาหารที่ต่ำกว่าโดยการใช้ น้ำเสียจริงที่ผ่านขั้นตอนการบำบัดแบบไร้อากาศ ต้นทุนค่าพลังงานต่ำกว่าเพราะไม่ต้องมีขั้นตอนการฆ่าเชื้อ ต้นทุนค่าเครื่องมือต่ำกว่า กระบวนการไม่ซับซ้อน และยังเป็นที่ยอมรับในวงกว้างอีกด้วย

4.4 ผลการศึกษาโครงสร้างและคุณสมบัติทางความร้อนของพีเอชเอที่ผลิตได้จากการใช้แหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน

4.4.1 โครงสร้างของพีเอชเอ

จากผลการศึกษาปริมาณและส่วนประกอบของพีเอชเอที่ผลิตได้จากแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน พบว่าระบบที่ใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอนสามารถผลิตพีเอชเอชนิดเอชบีโมโนเมอร์ ส่วนระบบที่ใช้โพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอนสามารถผลิตพีเอชเอชนิดเอชบีโมโนเมอร์และเอชวีโมโนเมอร์ เมื่อนำโพลีเมอร์ที่ได้จากการสกัดโดยใช้คลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลายมาทำการวิเคราะห์ด้วยโปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรสโกปี (^1H NMR) ผลสเปกตรัมของพีเอชเอดังแสดงในภาพที่ 48

จาก ^1H NMR สเปกตรัมของพีเอชเอที่ผลิตได้จากระบบที่ใช้อะซิเตท พบสัญญาณซึ่งระบุถึงหมู่ต่าง ๆ ดังนี้

- หมายเลข 1 พบสัญญาณโปรตอนของหมู่ CH_3 ซึ่งมีลักษณะของยอดกราฟ (peak) เป็นแบบ doublet ที่ตำแหน่ง δ (chemical shift) เท่ากับ 1.3 ppm
- หมายเลข 2 พบสัญญาณโปรตอนของหมู่ CH ลักษณะยอดกราฟ (peak) เป็นแบบ quartet ที่ตำแหน่ง δ เท่ากับ 5.2 ppm
- หมายเลข 3 พบสัญญาณโปรตอนของหมู่ CH_2 ลักษณะยอดกราฟ (peak) เป็นแบบ multiplet ที่ตำแหน่ง δ เท่ากับ 2.5 ppm และที่ตำแหน่ง δ เท่ากับ 7.24 ppm ซึ่งเป็นสัญญาณโปรตอนของ CDCl_3 ที่ใช้เป็นตัวทำละลาย

จากผลการวิเคราะห์ ^1H NMR สเปกตรัมของพีเอชเอที่ผลิตได้จากระบบที่ใช้อะซิเตทสามารถยืนยันยืนยันความเป็นโฮโมโพลีเมอร์ซึ่งประกอบด้วยโมโนเมอร์ของเอชบีของตัวอย่างดังกล่าว จึงสามารถสรุปได้ว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากระบบที่ใช้อะซิเตทคือโพลีไฮดรอกซีบิวทีเรต (Polyhydroxybutyrate) หรือ พีเอชบี (PHB)

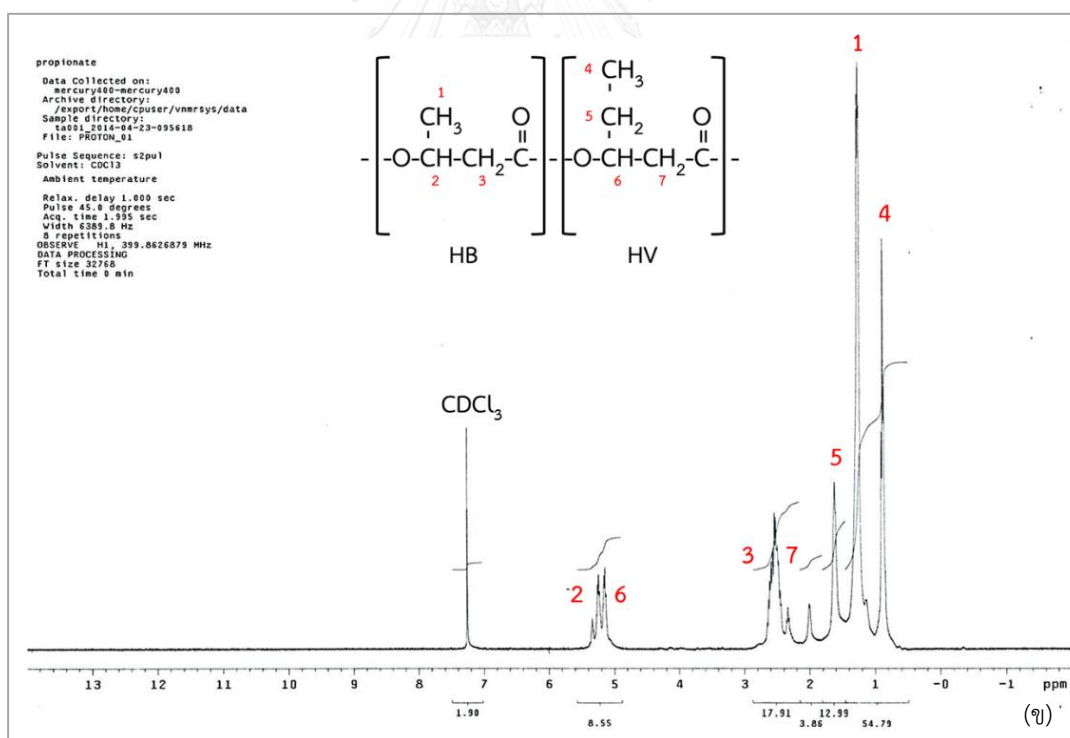
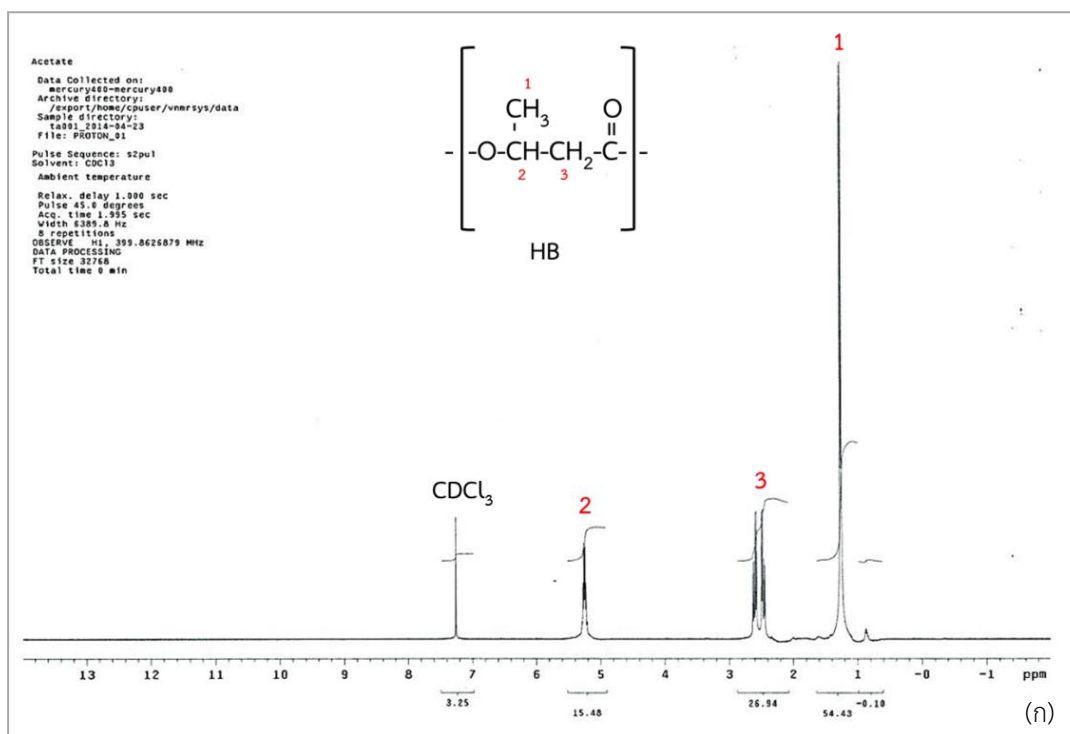
สำหรับ ^1H NMR สเปกตรัมของพีเอชเอที่ผลิตได้จากระบบที่ใช้โพรพิโอเนต พบสัญญาณซึ่งระบุถึงหมู่ต่าง ๆ ดังนี้

- หมายเลข 1 พบสัญญาณโปรตอนของหมู่ CH_3 ลักษณะยอดกราฟ (peak) เป็นแบบ doublet ที่ตำแหน่ง δ (chemical shift) เท่ากับ 1.3 ppm
- หมายเลข 2 และ 6 พบสัญญาณโปรตอนของหมู่ CH ที่ตำแหน่ง δ เท่ากับ 5.2 ppm
- หมายเลข 3 และ 7 พบสัญญาณโปรตอนของหมู่ CH_2 ที่ตำแหน่ง δ เท่ากับ 2.5 ppm
- หมายเลข 4 พบสัญญาณโปรตอนของหมู่ CH_3 ที่ตำแหน่ง δ เท่ากับ 0.9 ppm

- หมายเลข 5 พบสัญญาณโปรตอนของหมู่ CH_2 ที่ตำแหน่ง δ เท่ากับ 1.6 ppm และที่ตำแหน่ง δ เท่ากับ 7.24 ppm ซึ่งเป็นสัญญาณโปรตอนของ CDCl_3 ที่ใช้เป็นตัวทำละลาย

จากผลการวิเคราะห์ชี้ให้เห็นว่าพีเอชเอที่ผลิตได้จากระบบที่ใช้โพรพิโอเนตมีลักษณะเป็นโคโพลีเมอร์ของพีเอชบีและพีเอชวี ทั้งนี้จะเห็นได้อย่างชัดเจนว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากระบบที่ใช้อะซิเตทและโพรพิโอเนตนั้นมีความแตกต่างกันในทางโครงสร้างอย่างชัดเจน





ภาพที่ 48 ¹H NMR สเปกตรัมของพีเอชเอทีผลิตได้จากจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม

ในระบบที่ใช้ซอร์บิเตทและโพर्फิโธเนตเป็นแหล่งคาร์บอน

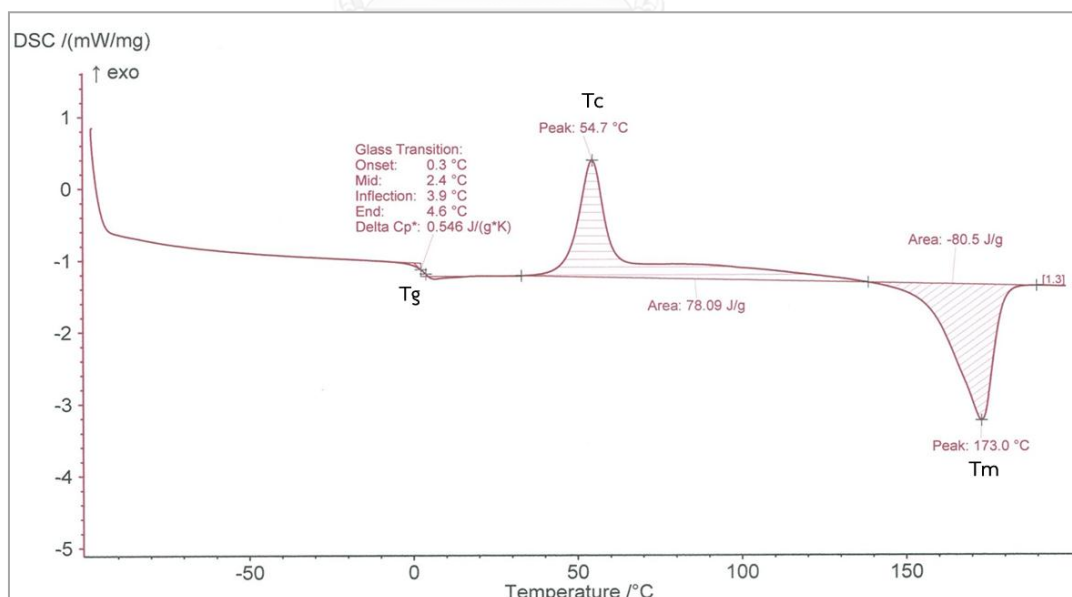
(ก) พีเอชบี (ข) โคโพลิเมอร์ของพีเอชบีและพีเอชวี

4.4.2 คุณสมบัติทางความร้อนของพีเอชเอ

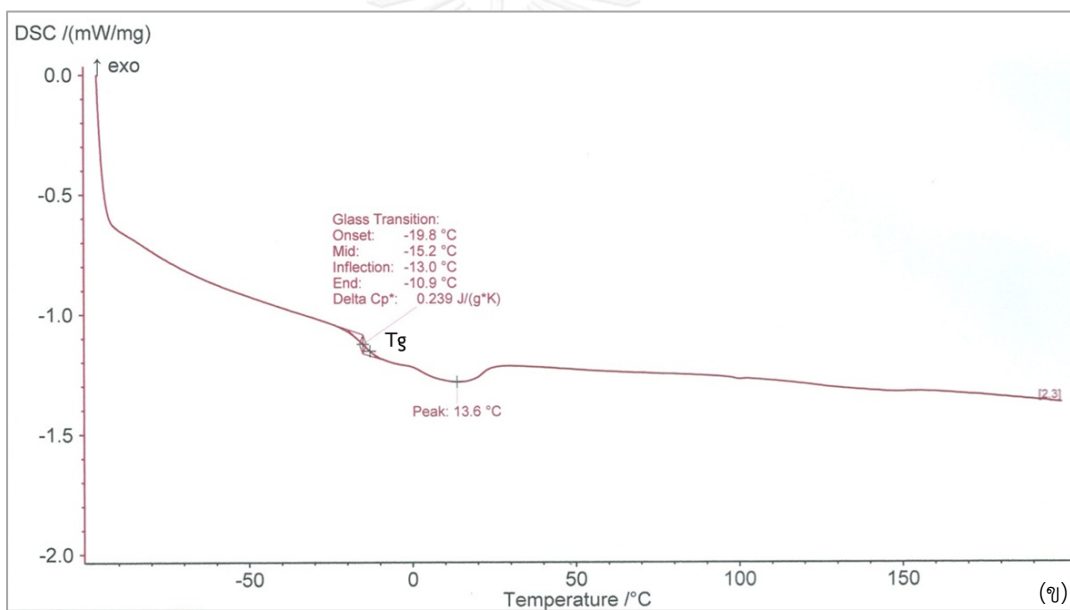
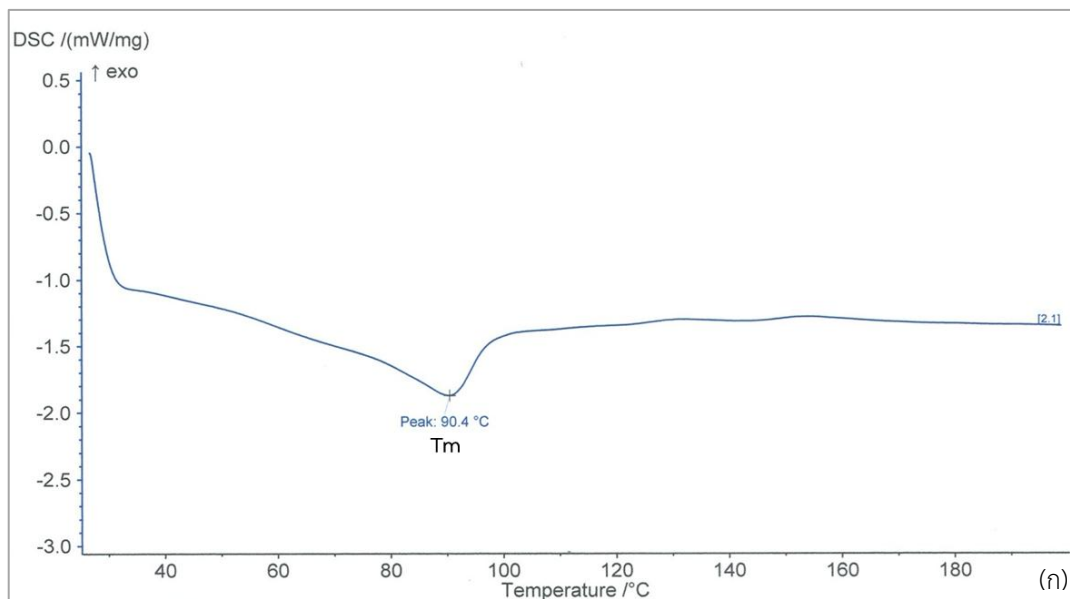
จากผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางความร้อนของพีเอชเอ ได้แก่ อุณหภูมิการหลอมตัวของผลึก (Melting temperature, T_m) อุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (Glass transition temperature, T_g) และ อุณหภูมิการเกิดผลึก (Crystallization temperature, T_c) โดยใช้เทคนิค Differential scanning calorimetry (DSC) สามารถแสดงในรูปของเทอร์โมแกรมดังภาพที่ 49 และ 50

จากผลการวิเคราะห์พบว่าพีเอชพีที่ผลิตได้จากตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอนจากระบบการเดินระบบที่ 34 มีค่าอุณหภูมิการหลอมตัวของผลึก (T_m) เท่ากับ 173.0 องศาเซลเซียส ค่าอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (T_g) เท่ากับ 2.4 องศาเซลเซียสและค่าอุณหภูมิการเกิดผลึก (T_c) เท่ากับ 54.7 องศาเซลเซียส คิดเป็นค่าดัชนีความเป็นผลึกของโพลีเมอร์ได้เท่ากับ 60.98 เปอร์เซ็นต์

สำหรับโคโพลีเมอร์ของเอชพีและเอชวีที่มีสัดส่วนของเอชวีโมโนเมอร์ประมาณร้อยละ 43 ที่ผลิตได้จากตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยโพรีฟิโอบีโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน จากระบบการเดินระบบที่ 27 มีค่าอุณหภูมิการหลอมตัวของผลึก (T_m) เท่ากับ 90.4 องศาเซลเซียส ค่าอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (T_g) เท่ากับ -15.2 องศาเซลเซียส ส่วนค่าอุณหภูมิการเกิดผลึก (T_c) ไม่สามารถระบุค่าได้ เนื่องจากไม่พบ Crystallization peak ทั้งจากการทำ first heat และ second heat



ภาพที่ 49 เทอร์โมแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์คุณสมบัติทางความร้อนของพีเอชพีที่ผลิตได้จากระบบที่ใช้อะซิเตท



ภาพที่ 50 เทอร์โมแกรมที่ได้จากการวิเคราะห์คุณสมบัติทางความร้อนของโคโพลีเมอร์ของเอชบีและเอชวีที่ผลิตได้จากระบบที่ใช้โพรพิโอเนต
(ก) first heating (ข) second heating

จากผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางความร้อนแสดงให้เห็นว่าพีเอชบีที่ได้จากระบบที่ใช้ อะซิเตทมีค่าอุณหภูมิการหลอมตัวของผลึก (T_m) และอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (T_g) สูง อีกทั้งยังมีความเป็นผลึกสูงกว่าโคโพลีเมอร์ของเอชบีและเอชวีที่ได้จากระบบที่ใช้พร็อพอิเอนต์ ซึ่งส่งผล ต่อคุณสมบัติทางเชิงกลของโพลีเมอร์ โดยการที่พีเอชบีมีความเป็นผลึกสูง (55 - 80 เปอร์เซ็นต์) ส่งผลให้โพลีเมอร์มีคุณสมบัติที่แข็งและเปราะ จึงจำกัดการนำไปประยุกต์ใช้ในกระบวนการผลิต ต่าง ๆ (Albuquerqueและคณะ, 2011)

สำหรับโคโพลีเมอร์ของเอชบีและเอชวีที่ผลิตได้จากระบบที่ใช้พร็อพอิเอนต์นั้นมีค่าอุณหภูมิ การหลอมตัวของผลึก (T_m) ค่าอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (T_g) และความเป็นผลึกต่ำกว่า พีเอชบีที่ผลิตได้จากระบบที่ใช้อะซิเตท ทั้งนี้จากผลการทดลอง ไม่พบ Crystallization peak ใน เทอร์โมแกรมซึ่งชี้ให้เห็นว่าโพลีเมอร์มีลักษณะเป็น amorphous matrix ที่ไม่มีความเป็นผลึก อย่างไรก็ตามโพลีเมอร์ที่ไม่มีความเป็นผลึกเลยหรือไม่มีความเป็นระเบียบในผลึกทำให้ช่วยลดความ แข็ง เปราะ และเพิ่มความยืดหยุ่นให้โพลีเมอร์ส่งผลให้คุณสมบัติทางเชิงกลของโพลีเมอร์ เช่น ค่า ต้านทานแรงดึง (tensile strength) ค่าเปอร์เซ็นต์การยืดตัวก่อนขาด (elongation to break) และ ค่าความเหนียว (toughness) เพิ่มสูงขึ้น (Albuquerqueและคณะ, 2011) ทำให้เพิ่มความสามารถ ในการขึ้นรูปเป็นผลิตภัณฑ์ได้ดียิ่งขึ้น

เมื่อเปรียบเทียบค่าการวิเคราะห์คุณสมบัติทางความร้อนของพีเอชเอที่ผลิตได้ในงานวิจัยนี้กับ พีเอชเอที่ผลิตจากงานวิจัยที่ผ่านมาและที่ขายในเชิงพาณิชย์ ดังแสดงในตารางที่ 26 พบว่ามีความ ไกล่เคียงกันทั้งจากพีเอชเอที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์และจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมจาก ตะกอนจุลินทรีย์ของระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ โดยพีเอชบีมีค่าอุณหภูมิการหลอมตัวของผลึก (T_m) อยู่ในช่วง 173 - 180 องศาเซลเซียส อุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (T_g) อยู่ในช่วง 2 - 4 องศาเซลเซียส และค่าตึงริความเป็นผลึกอยู่ในช่วง 55 - 67 เปอร์เซ็นต์ ส่วนโคโพลีเมอร์ของ เอชบีและเอชวี ค่าอุณหภูมิการหลอมตัวของผลึก (T_m) และ อุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (T_g) นั้นขึ้นอยู่กับสัดส่วนของเอชวีโมโนเมอร์ในสายโซ่โมเลกุล โดยเมื่อสัดส่วนของเอชวีโมโนเมอร์เพิ่ม สูงขึ้นในช่วง 0 - 50 เปอร์เซ็นต์ ค่าอุณหภูมิการหลอมตัวของผลึก (T_m) อุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะ คล้ายแก้ว (T_g) และความเป็นผลึกของโพลีเมอร์จะมีแนวโน้มลดลง (Savenkovaและคณะ, 2000) แต่เมื่อสัดส่วนของเอชวีเพิ่มขึ้นในช่วง 50 - 100 เปอร์เซ็นต์ ค่าอุณหภูมิการหลอมตัวของผลึก (T_m) และความเป็นผลึกของโพลีเมอร์จะมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น (Mitomoและคณะ, 1999) ทั้งนี้สัดส่วนของ เอชวีโมโนเมอร์ในโคโพลีเมอร์ประมาณ 40 - 50 เปอร์เซ็นต์โดยโมลนั้นมีความเหมาะสมกับการนำไปใช้ ประโยชน์ในเชิงอุตสาหกรรม (Changและคณะ, 2012)

ตารางที่ 26 ค่าคุณสมบัติทางความร้อนของพีเอชเอที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์และ
จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมจากงานวิจัยที่ผ่านมา

จุลินทรีย์	สัดส่วนพีเอชเอ (ร้อยละโดยโมล)		Tm (°C)	Tg (°C)	Crystallinity (%)	อ้างอิง
	พีเอชบี	พีเอชวี				
<i>Alcaligenes eutrophus</i> (<i>Ralstonia eutropha</i>)	100	0	177.0	N/A	63.7	Kunioka และ Doi (1990)
	76	24	138.0	N/A	27.9	
	55	45	75.0	N/A	27.3	
	29	71	87.0	N/A	41.2	
<i>Burkholderia cepacia</i>	100	0	177	4	66.7	Mitomoและ คณะ (1999)
	57	43	73	-8	21.1	
	33	67	81	-11	33.2	
	14	86	100	-15	54.5	
	10	90	103	-16	55.8	
<i>Azotobacter chroococcum</i>	100	0	179.1	3.5	62.8	Savenkovaและ คณะ (2000)
	92	8	164.3	-0.6	57.3	
	90	10	163.2	-1.7	58.8	
	87	13	161.0	-0.9	45.9	
	83	17	124.4	-4.4	38.8	
	82	18	123.0	-1.9	44.0	
	80	20	116.4	-6.3	30.9	
จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม จากระบบ บำบัดแบบแอกทิเวเตดสลัดจ์	100	0	175.3	3.6	55.9	Serafim, Lemos, Torres, และคณะ (2008)
	95.4	4.6	145	-19.0	17.8	
	28	72	99.2	-29.6	6.7	
จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม จากระบบ บำบัดแบบแอกทิเวเตดสลัดจ์	85	15	147	-1	N/A	Albuquerque และคณะ (2011)
	79	21	137	-10	N/A	
	61	39	138	-16	N/A	
<i>Alcaligene sp.</i> (บริษัท Biocycle ประเทศบราซิล)	100	0	170	N/A	N/A	http://www.biocycle.com.br/
จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม	100	0	173	2.4	60.98	งานวิจัยนี้
	57.62	42.38	90.4	-15.2	-	

N/A = ไม่มีข้อมูล

ตารางที่ 27 การเปรียบเทียบคุณสมบัติทางความร้อนของเทอร์โมพลาสติกและพีเอชเอที่ผลิตได้จากงานวิจัยนี้

ชนิดของพลาสติก	อุณหภูมิการหลอม ตัวของผลึก (T _m)	อุณหภูมิการเปลี่ยน สถานะคล้ายแก้ว (T _g)	อ้างอิง
โพลีโพรพิลีน (Polypropylene)	176	-10	Sudesh และ คณะ (2000)
โพลีเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ (Low-density polyethylene, LDPE)	130	-30	
PHB	173	2.4	งานวิจัยนี้
PHB-co-42mol%PHV	90.4	-15.2	

เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์พีเอชเอที่ผลิตได้จากงานวิจัยนี้กับคุณสมบัติทางความร้อนของเทอร์โมพลาสติกที่มีการใช้งานมากในปัจจุบัน เช่น โพลีโพรพิลีน ดังแสดงในตารางที่ 27 พบว่าคุณสมบัติทางความร้อนของโคโพลีเมอร์ของเอชบีและเอชวีที่ผลิตได้จากงานวิจัยนี้มีค่าอุณหภูมิการหลอมตัวของผลึก (T_m) ต่ำกว่าโพลีโพรพิลีน แต่อุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (T_g) นั้นมีค่าใกล้เคียงกับโพลีโพรพิลีน แสดงให้เห็นว่าโพลีเมอร์ที่ผลิตได้จากงานวิจัยนี้มีแนวโน้มที่จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในภาคอุตสาหกรรมต่อไปได้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนต่อการผลิตพีเอชเอ โดยใช้ถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเทสำหรับเลี้ยงจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมที่ได้มาจากตะกอนจุลินทรีย์ส่วนเกินจากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานผลิตน้ำตาลไม้ (บริษัททิปโก้ เอฟแอนด์บี จำกัด) โดยใช้น้ำเสียสังเคราะห์ที่เตรียมจากแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันสองชนิดคือ อะซิเตทและโพรพิโอเนต โดยมีการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลอง ได้แก่ การศึกษาการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมพีเอชเอด้วยการใช้แหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน เพื่อศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนต่อชนิดและปริมาณของพีเอชเอที่ผลิตได้ การศึกษาโครงสร้างและคุณสมบัติทางความร้อนของพีเอชเอที่ผลิตได้จากแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน และการศึกษาการเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล คือ เทคนิค 16s metagenomic sequencing library โดยจากการทดลองสามารถสรุปผลได้ดังนี้

1. ตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงโดยใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอนสามารถสะสมพีเอชเอได้สูงสุดในรอบการเดินระบบที่ 34 (ระยะเวลาในการเดินระบบ 34 วัน) โดยได้ปริมาณพีเอชเอสูงสุดร้อยละ 44.78 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (% gPHA/gMLSS) ซึ่งมีสัดส่วนของเอชพีและเอชวีโมโนเมอร์ร้อยละ 44.52 และ 0.26 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (% gPHA/gMLSS) ตามลำดับ คิดเป็นสัดส่วนของเอชพีโมโนเมอร์และเอชวีโมโนเมอร์ร้อยละ 99.42 และ 0.58 โดยโมล ตามลำดับ

2. ตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงโดยใช้โพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอนสามารถสะสมพีเอชเอได้สูงสุดในรอบการเดินระบบที่ 27 (ระยะเวลาในการเดินระบบ 27 วัน) โดยได้ปริมาณพีเอชเอสูงสุดร้อยละ 12.65 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (% gPHA/gMLSS) ซึ่งมีสัดส่วนของเอชพีและเอชวีโมโนเมอร์ร้อยละ 7.29 และ 5.36 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (% gPHA/gMLSS) ตามลำดับ คิดเป็นสัดส่วนของเอชพีโมโนเมอร์และเอชวีโมโนเมอร์ร้อยละ 57.62 และ 42.38 โดยโมล ตามลำดับ

3. การใช้แหล่งคาร์บอนที่ต่างกันคืออะซิเตทและโพรพิโอเนตในการเลี้ยงตะกอนจุลินทรีย์ส่งผลโดยตรงต่อปริมาณและส่วนประกอบของพีเอชเอ โดยการใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอนสามารถผลิตพีเอชเอได้ปริมาณสูงกว่าเมื่อเทียบกับโพรพิโอเนต และผลิตโฮโมโพลีเมอร์ของพีเอชพีเป็นหลัก ส่วนการใช้โพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอนสามารถผลิตพีเอชเอได้ปริมาณน้อยกว่าการใช้อะซิเตท และชนิดของพีเอชเอที่ผลิตได้คือโคโพลีเมอร์ของเอชพีและเอชวี

4. โครงสร้างของพีเอชเอที่ผลิตได้จากการใช้อะซิเตทและโพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน คือ พีเอชบีและโคโพลีเมอร์ของเอชบีและเอชวี เมื่อนำไปพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิคโปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรสโกปี ($^1\text{H NMR}$) พบว่ามีความแตกต่างกันทางโครงสร้างอย่างชัดเจน

5. พีเอชบีที่ผลิตได้จากการเลี้ยงจุลินทรีย์โดยใช้อะซิเตท มีค่าอุณหภูมิการหลอมตัวของผลึก (T_m) ค่าอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (T_g) และ ค่าระดับความเป็นผลึกของโพลีเมอร์ (Degree of crystallization) สูงกว่าโคโพลีเมอร์ของเอชบีและเอชวีที่ผลิตได้จากการเลี้ยงจุลินทรีย์โดยใช้โพรพิโอเนต โดยในการทดลองนี้พีเอชบีที่ผลิตได้จากการเลี้ยงจุลินทรีย์โดยใช้อะซิเตทมีค่าอุณหภูมิการหลอมตัวของผลึก (T_m) เท่ากับ 173.0 องศาเซลเซียส ค่าอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (T_g) เท่ากับ 2.4 องศาเซลเซียส และค่าอุณหภูมิการเกิดผลึก (T_c) เท่ากับ 54.7 องศาเซลเซียส คิดเป็นค่าระดับความเป็นผลึกของโพลีเมอร์ได้เท่ากับ 60.98 เปอร์เซ็นต์ สำหรับโคโพลีเมอร์ของเอชบีและเอชวีที่ผลิตได้จากการเลี้ยงจุลินทรีย์โดยใช้โพรพิโอเนต มีค่าอุณหภูมิการหลอมตัวของผลึก (T_m) เท่ากับ 90.4 องศาเซลเซียส ค่าอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (T_g) เท่ากับ -15.2 องศาเซลเซียส และไม่พบ Crystallization peak

6. การวิเคราะห์กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบโดยใช้เทคนิค 16s metagenomics (MiSeq, Illumina) พบว่าในระบบที่เลี้ยงด้วยอะซิเตท รอบการเดินระบบที่ผลิตพีเอชเอได้สูงสุด (รอบการเดินระบบที่ 34) พบ *Lewinella spp.*, *Leucobacter spp.*, *Hyphomonas spp.*, *Defluviobacter spp.* และ *Pseudomonas spp.* ส่วนในระบบที่เลี้ยงด้วยโพรพิโอเนต รอบการเดินระบบที่ผลิตพีเอชเอได้สูงสุด (รอบการเดินระบบที่ 27) พบ *Pseudoxanthomonas spp.*, *Brevundimonas spp.*, *Rhodobaca spp.*, *Sphingopyxis spp.* และ *Paracoccus spp.*

7. การใช้แหล่งคาร์บอนที่ต่างกันคืออะซิเตทหรือโพรพิโอเนตในการเลี้ยงตะกอนจุลินทรีย์ส่งผลโดยตรงต่อปริมาณ ส่วนประกอบ โครงสร้างและคุณสมบัติทางความร้อนของพีเอชเอที่ผลิตได้ รวมถึงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบ

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาหาสภาวะในการเดินระบบที่เหมาะสม เพื่อให้จุลินทรีย์มีความสามารถในการผลิตพีเอชเอได้มากขึ้น เช่น ความเข้มข้นของซีโอดีเริ่มต้นที่เข้าระบบ ระยะเวลาของแต่ละรอบการเดินระบบ (Cycle length) ระยะเวลาเก็บตะกอน (SRT) ค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในระบบ (C/N ratio) และค่าอัตราส่วนอาหารต่อจุลินทรีย์ (F/M ratio) เป็นต้น

2. หลังจากที่มีการเดินระบบจนจุลินทรีย์สามารถผลิตพีเอชเอได้ในปริมาณมากแล้ว ควรทำการทดลองแบบแบทช์ซึ่งเติมอาหารแบบกึ่งต่อเนื่อง (Fed-batch) ต่อเพื่อศึกษาความสามารถในการผลิตพีเอชเอสูงสุดของจุลินทรีย์

3. ควรเน้นการศึกษาการผลิตพีเอชเอชนิดโคโพลีเมอร์ของเอชบีและเอชวีให้ได้ปริมาณมาก เนื่องจากมีคุณสมบัติทางเชิงกลที่ดี สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้ ในอุตสาหกรรมการผลิตโพลีเมอร์ โดยการควบคุมชนิดของแหล่งคาร์บอนที่เติมลงไป เพื่อให้ได้โคโพลีเมอร์ในปริมาณมากและมีสัดส่วนของเอชวีโมโนเมอร์ที่เหมาะสม

4. ควรมีการสกัดโพลีเมอร์ที่ผลิตได้จากตะกอนจุลินทรีย์ นำมาทำการขึ้นรูปและวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและทางเชิงกลต่าง ๆ เช่น ค่าต้านทานแรงดึง (tensile strength) ค่าเปอร์เซ็นต์การยืดตัวก่อนขาด (elongation to break) ค่าความเหนียว (toughness) และ ค่าการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน (oxygen permeability) เป็นต้น เพื่อศึกษาคุณสมบัติของพีเอชเอที่ผลิตได้ และนำไปเปรียบเทียบกับเทอร์โมพลาสติกจากปิโตรเคมี เพื่อดูแนวโน้มการนำไปใช้ประโยชน์ในอนาคตของพีเอชเอที่ผลิตได้จากตะกอนจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม

รายการอ้างอิง

รายการอ้างอิงภาษาไทย

- คณาจารย์ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม. (2538). การควบคุมดูแลระบบบำบัดน้ำเสีย. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ธนาวดี ลีจากภัย. (2549). พลาสติกย่อยสลายได้เพื่อสิ่งแวดล้อม. ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ (เอ็มเทค) สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ: กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.
- ปานชมพู คุ่มวนิชย์. (2555). การผลิตโพลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอตโดยใช้ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบบำบัดน้ำเสียโรงงานผลิตอาหารและเครื่องดื่มโดยการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน. วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโทมหาบัณฑิต, ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- แมน อมรสิทธิ์และคณะ. (2553). หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: ชวนพิมพ์.
- ศิริวรรณ นาคสาร และ ศิริพร วงศ์ดินดำ. (2549). การเปรียบเทียบวิธีการตรวจหา ESBLs และ AmpC และอุบัติการณ์ของ CTX-M gene ในเชื้อ Enterobacteriaceae ที่แยกได้จากโรงพยาบาลรามารับดี. ภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย มหาวิทยาลัยมหิดล.
- สิริลักษณ์ บัวทอง. (2551). การศึกษาศักยภาพในการผลิตสารโพลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอตจากตะกอนของระบบบำบัดน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรม. วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโทมหาบัณฑิต, ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อินดาร์ รัชเวทย์. (2550). พอลิเมอร์. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: ดวงกลม.
- อัมทิกา เมืองวงษ์. (2553). การผลิตพอลิไฮดรอกซีแอลคาโนเอตโดยใช้ของเสียอินทรีย์จากกระบวนการผลิตไบโอดีเซล. วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโทมหาบัณฑิต, ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

รายการอ้างอิงภาษาอังกฤษ

- Abraham, W. R., Estrela, A. B., Nikitin, D. I., Smit, J., and Vancanneyt, M. (2010). *Brevundimonas halotolerans* sp. nov., *Brevundimonas poindexterae* sp. nov.

- and *Brevundimonas staleyi* sp. nov., prosthecate bacteria from aquatic habitats. *Int J Syst Evol Microbiol*, 60(Pt 8), 1837-1843.
- Albuquerque, M. G., Concas, S., Bengtsson, S., and Reis, M. A. (2010). Mixed culture polyhydroxyalkanoates production from sugar molasses: the use of a 2-stage CSTR system for culture selection. *Bioresour Technol*, 101(18), 7123-7133.
- Albuquerque, M. G., Martino, V., Pollet, E., Averous, L., and Reis, M. A. (2011). Mixed culture polyhydroxyalkanoate (PHA) production from volatile fatty acid (VFA)-rich streams: effect of substrate composition and feeding regime on PHA productivity, composition and properties. *J Biotechnol*, 151(1), 66-76.
- Albuquerque, M. G., Torres, C. A., and Reis, M. A. (2010). Polyhydroxyalkanoate (PHA) production by a mixed microbial culture using sugar molasses: effect of the influent substrate concentration on culture selection. *Water Res*, 44(11), 3419-3433.
- Basak, B., Ince, O., Artan, N., Yagci, N., and Ince, B. K. (2011). Effect of nitrogen limitation on enrichment of activated sludge for PHA production. *Bioprocess Biosyst Eng*, 34(8), 1007-1016.
- Bengtsson, S., Werker, A., Christensson, M., and Welander, T. (2008). Production of polyhydroxyalkanoates by activated sludge treating a paper mill wastewater. *Bioresour Technol*, 99(3), 509-516.
- Beun, J., Dircks, K., MCM, v. L., and Heijnen, J. (2002). Poly- β -hydroxybutyrate metabolism in dynamically fed mixed cultures. *Water Res*, 36, 1167-1180.
- Blumel, S., Busse, H.-J., Stolz, A., and Kampfer, P. (2001). *Xenophilus azovorans* gen. nov., sp. nov., a soil bacterium that is able to degrade azo dyes of the Orange II type. *Int J Syst Evol Microbiol*, 51, 1831-1837.
- Brandl, H., Gross, R. A., Lenz, R. W., and Fuller, a. R. C. (1990). Plastics from Bacteria and for Bacteria: Poly(β -Hydroxyalkanoates) as Natural, Biocompatible, and Biodegradable Polyesters. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 41, 78-93.

- Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Walters, W. A., Berg-Lyons, D., Lozupone, C. A., Turnbaugh, P. J., . . . Knight, R. (2011). Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *PNAS*, 108, 4516–4522.
- Castilho, L. R., Mitchell, D. A., and Freire, D. M. (2009). Production of polyhydroxyalkanoates (PHAs) from waste materials and by-products by submerged and solid-state fermentation. *Bioresour Technol*, 100(23), 5996-6009.
- Chang, H. F., Chang, W. C., and Tsai, C. Y. (2012). Synthesis of poly(3-hydroxybutyrate/3-hydroxyvalerate) from propionate-fed activated sludge under various carbon sources. *Bioresour Technol*, 113, 51-57.
- Chanprateep, S., Katakura, Y., Visetkoop, S., Shimizu, H., Kulpreecha, S., and Shioya, S. (2008). Characterization of new isolated *Ralstonia eutropha* strain A-04 and kinetic study of biodegradable copolyester poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate) production. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 35(11), 1205-1215.
- Chee, J.-Y., Tan, Y., Samian, M.-R., and Sudesh, K. (2010). Isolation and Characterization of a *Burkholderia* sp. USM (JCM15050) Capable of Producing Polyhydroxyalkanoate (PHA) from Triglycerides, Fatty Acids and Glycerols. *Journal of Polymers and the Environment*, 18, 584–592.
- Chen, G.-Q. (2010). Industrial Production of PHA. *Microbiology Monographs*, 14, 121-132.
- Chua, A. S. M., Takabatake, H., Satoh, H., and Mino, T. (2003). Production of polyhydroxyalkanoates (PHA) by activated sludge treating municipal wastewater: effect of pH, sludge retention time (SRT), and acetate concentration in influent. *Water Res*, 37(15), 3602-3611.
- Coenye, T. (2003). *Achromobacter insolitus* sp. nov. and *Achromobacter spanius* sp. nov., from human clinical samples. *Int J Syst Evol Microbiol*, 53(6), 1819-1824.
- Dias, J. M., Lemos, P. C., Serafim, L. S., Oliveira, C., Eiroa, M., Albuquerque, M. G., . . . Reis, M. A. (2006). Recent advances in polyhydroxyalkanoate production by mixed aerobic cultures: from the substrate to the final product. *Macromol Biosci*, 6(11), 885-906.

- Din, M. F. M., Ujang, Z., Loosdrecht, M. C. M. v., Ahmad, A., and Sairan, M. F. (2006). Optimization of nitrogen and phosphorus limitation for better biodegradable plastic production and organic removal using single fed-batch mixed cultures and renewable resources. *Water Science & Technology*, 53(6), 15.
- Dionisi, D., Carucci, G., Papini, M. P., Riccardi, C., Majone, M., and Carrasco, F. (2005). Olive oil mill effluents as a feedstock for production of biodegradable polymers. *Water Res*, 39(10), 2076-2084.
- Dionisi, D., Majone, M., Papa, V., and Beccari, M. (2004). Biodegradable polymers from organic acids by using activated sludge enriched by aerobic periodic feeding. *Biotechnol Bioeng*, 85(6), 569-579.
- Du, G., Chen, J., Yu, J., and Lun, S. (2001). Continuous production of poly-3-hydroxybutyrate by *Ralstonia eutropha* in a two-stage culture system. *J Biotechnol*, 88, 59-65.
- Fritsche, K., Auling, G., Andreesen, J. R., and Lechner, U. (1999). *Defluviobacter lusatiae* gen. nov., sp. nov., a New Chlorophenol-degrading Member of the α -2 Subgroup of Proteobacteria. *Syst Appl Microbiol*, 22(2), 197-204.
- Fudou, R. (2002). *Corynebacterium efficiens* sp. nov., a glutamic-acid-producing species from soil and vegetables. *Int J Syst Evol Microbiol*, 52(4), 1127-1131.
- Godoy, F. (2003). *Sphingopyxis chilensis* sp. nov., a chlorophenol-degrading bacterium that accumulates polyhydroxyalkanoate, and transfer of *Sphingomonas alaskensis* to *Sphingopyxis alaskensis* comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*, 53(2), 473-477.
- Halpern, M., Shaked, T., Pukall, R., and Schumann, P. (2009). *Leucobacter chironomi* sp. nov., a chromate-resistant bacterium isolated from a chironomid egg mass. *Int J Syst Evol Microbiol*, 59(Pt 4), 665-670.
- Ince, O., Basak, B., Ince, B. K., Cetecioglu, Z., Celikkol, S., and Kolukirik, M. (2012). Effect of nitrogen deficiency during SBR operation on PHA storage and microbial diversity. *Environmental Technology*, 33(6), 1827-1837.
- Jiang, Y., Hebly, M., Kleerebezem, R., Muyzer, G., and van Loosdrecht, M. C. (2011). Metabolic modeling of mixed substrate uptake for polyhydroxyalkanoate (PHA) production. *Water Res*, 45(3), 1309-1321.

- Jiang, Y., Marang, L., Kleerebezem, R., Muyzer, G., and van Loosdrecht, M. C. M. (2011). Polyhydroxybutyrate production from lactate using a mixed microbial culture. *Biotechnol Bioeng*, 108(9), 2022-2035.
- Jiang, Y., Marang, L., Tamis, J., van Loosdrecht, M. C., Dijkman, H., and Kleerebezem, R. (2012). Waste to resource: Converting paper mill wastewater to bioplastic. *Water Res*, 46(17), 5517-5530.
- Jo, S. J., Maeda, M., Ooi, T., and Taguchi, S. (2006). Production system for biodegradable polyester polyhydroxybutyrate by *Corynebacterium glutamicum*. *J Biosci Bioeng*, 102(3), 233-236.
- Johnson, K., Jiang, Y., Kleerebezem, R., Muyzer, G., and Loosdrecht, M. C. M. v. (2009). Enrichment of a Mixed Bacterial Culture with a High Polyhydroxyalkanoate Storage Capacity. *Biomacromolecules*, 10, 670-676.
- Johnson, K., van Geest, J., Kleerebezem, R., and van Loosdrecht, M. C. (2010). Short- and long-term temperature effects on aerobic polyhydroxybutyrate producing mixed cultures. *Water Res*, 44(6), 1689-1700.
- Khan, S. T., Takaichi, S., and Harayama, S. (2008). *Paracoccus marinus* sp. nov., an adonixanthin diglucoside-producing bacterium isolated from coastal seawater in Tokyo Bay. *Int J Syst Evol Microbiol*, 58(Pt 2), 383-386.
- Kim, B. Y., Weon, H. Y., Yoo, S. H., Kwon, S. W., Cho, Y. H., Stackebrandt, E., and Go, S. J. (2006). *Paracoccus homiensis* sp. nov., isolated from a sea-sand sample. *Int J Syst Evol Microbiol*, 56(Pt 10), 2387-2390.
- Kim, D. Y., Kim, H. C., Kim, S. Y., and Rhee, Y. H. (2005). Molecular Characterization of Extracellular Medium-chain-length Poly(3-hydroxyalkanoate) Depolymerase Genes from *Pseudomonas alcaligenes* Strains. *The Journal of Microbiology*, 43(3), 285-294.
- Kumar, M. (2004). Production of biodegradable plastics from activated sludge generated from a food processing industrial wastewater treatment plant. *Bioresour Technol*, 95(3), 327-330.
- Kunioka, M., and Doi, Y. (1990). Thermal Degradation of Microbial Copolyesters: Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) and Poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate). *Macromolecules*, 23(7), 1933-1936.

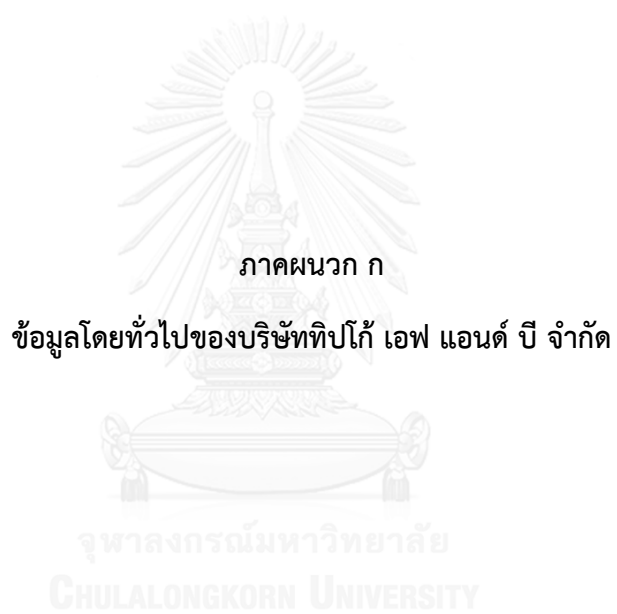
- Lee, S. D. (2007). *Devosia subaequoris* sp. nov., isolated from beach sediment. *Int J Syst Evol Microbiol*, 57(Pt 10), 2212-2215.
- Lee, S. H., Kim, J. H., Mishra, D., Ni, Y. Y., and Rhee, Y. H. (2011). Production of medium-chain-length polyhydroxyalkanoates by activated sludge enriched under periodic feeding with nonanoic acid. *Bioresour Technol*, 102(10), 6159-6166.
- Lemos, P. C., Levantesi, C., Serafim, L. S., Rossetti, S., Reis, M. A., and Tandoi, V. (2008). Microbial characterisation of polyhydroxyalkanoates storing populations selected under different operating conditions using a cell-sorting RT-PCR approach. *Appl Microbiol Biotechnol Bioeng*, 78, 351-360.
- Lemos, P. C., Serafim, L. S., and Reis, M. A. (2006). Synthesis of polyhydroxyalkanoates from different short-chain fatty acids by mixed cultures submitted to aerobic dynamic feeding. *J Biotechnol*, 122(2), 226-238.
- Li, C., Lai, Q., Li, G., Sun, F., and Shao, Z. (2014). *Hyphomonas atlanticus* sp. nov., isolated from the Atlantic Ocean and emended description of the genus *Hyphomonas*. *Syst Appl Microbiol*, 37(6), 423-428.
- Liu, H.-Y., Hall, P. V., Darby, J. L., Coats, E. R., Green, P. G., Thompson, D. E., and Loge, F. J. (2008). Production of Polyhydroxyalkanoate During Treatment of Tomato Cannery Wastewater. *Water Environment Research*, 80(4), 367-372.
- Liu, Z., Wang, Y., He, N., Huang, J., Zhu, K., Shao, W., . . . Li, Q. (2011). Optimization of polyhydroxybutyrate (PHB) production by excess activated sludge and microbial community analysis. *J Hazard Mater*, 185(1), 8-16.
- Marrengane, Z., Kumar, S. K., Pillay, L., and Bux, F. (2011). Rapid quantification and analysis of genetic diversity among *Gordonia* populations in foaming activated sludge plants. *J Basic Microbiol*, 51(4), 415-423.
- Milford, A. D., Achenbach, L. A., Jung, D. O., and Madigan, M. T. (2000). *Rhodobaca bogoriensis* gen. nov. and sp. nov., an alkaliphilic purple nonsulfur bacterium from African Rift Valley soda lakes. *Archives of Microbiology*, 174(1-2), 18-27.
- Mitomo, H., Takahashi, T., Ito, H., and Saito, T. (1999). Biosynthesis and characterization of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) produced by *Burkholderia cepacia* D1. *Int J Biol Macromol*, 24, 311-318.

- Moita, R., and Lemos, P. C. (2012). Biopolymers production from mixed cultures and pyrolysis by-products. *J Biotechnol*, 157(4), 578-583.
- Moralejo-Garate, H., Mar'atusalihat, E., Kleerebezem, R., and van Loosdrecht, M. C. (2011). Microbial community engineering for biopolymer production from glycerol. *Appl Microbiol Biotechnol*, 92(3), 631-639.
- Nemec, A. (2003). *Acinetobacter parvus* sp. nov., a small-colony-forming species isolated from human clinical specimens. *Int J Syst Evol Microbiol*, 53(5), 1563-1567.
- Oh, H. M., Lee, K., and Cho, J. C. (2009). *Lewinella antarctica* sp. nov., a marine bacterium isolated from Antarctic seawater. *Int J Syst Evol Microbiol*, 59(Pt 1), 65-68.
- Ozdemir, S., Akman, D., Cirik, K., and Cinar, O. (2014). Effect of cycle time on polyhydroxybutyrate (PHB) production in aerobic mixed cultures. *Appl Biochem Biotechnol*, 172(5), 2390-2399.
- Paul, E., and Liu, Y. (2012). *Biological sludge minimization and biomaterial/bioenergy recovery technologies*: John Wiley & Sons.
- Qu, B., and Liu, J. (2009). Determination of optimum operating conditions for production of polyhydroxybutyrate by activated sludge submitted to dynamic feeding regime. *Chinese Science Bulletin*, 54(1), 142-149.
- Reddy, C. S. K., Ghai, R., Rashmi, and Kalia, V. C. (2003). Polyhydroxyalkanoates: an overview. *Bioresour Technol*, 87, 137-146.
- Reis, M. A., Serafim, L. S., Lemos, P. C., Ramos, A. M., Aguiar, F. R., and Van Loosdrecht, M. C. (2003). Production of polyhydroxyalkanoates by mixed microbial cultures. *Bioprocess Biosyst Eng*, 25(6), 377-385.
- Salehizadeh, H., and Van Loosdrecht, M. C. M. (2004). Production of polyhydroxyalkanoates by mixed culture: recent trends and biotechnological importance. *Biotechnology Advances*, 22(3), 261-279.
- Satoh, H., Ramey, W. D., Koch, F. A., Oldham, W. K., Mino, T., and Matsuo, T. (1996). Anaerobic substrate uptake by the enhanced biological phosphorus removal activated sludge treating real sewage. *Water Science and Technology*, 34(1-2), 9-16.

- Savenkova, L., Gercberga, Z., Bibers, I., and Kalnin, M. (2000). Effect of 3-hydroxy valerate content on some physical and mechanical properties of polyhydroxyalkanoates produced by *Azotobacter chroococcum*. *Process Biochemistry*, 36, 445–450.
- Serafim, L. S., Lemos, P. C., Albuquerque, M. G., and Reis, M. A. (2008). Strategies for PHA production by mixed cultures and renewable waste materials. *Appl Microbiol Biotechnol*, 81(4), 615-628.
- Serafim, L. S., Lemos, P. C., Torres, C., Reis, M. A., and Ramos, A. M. (2008). The influence of process parameters on the characteristics of polyhydroxyalkanoates produced by mixed cultures. *Macromol Biosci*, 8(4), 355-366.
- Srinivas, T. N., Anil Kumar, P., Sasikala, C., Sproer, C., and Ramana Ch, V. (2008). *Rhodobacter ovatus* sp. nov., a phototrophic alphaproteobacterium isolated from a polluted pond. *Int J Syst Evol Microbiol*, 58(Pt 6), 1379-1383.
- Srivastava, S., Ghosh, N., and Pal, G. (2013). Metagenomics: Mining Environmental Genomes. *Biotechnology for Environmental Management and Resource Recovery*, 161-189.
- Takabatake, H., Satoh, H., Mino, T., and Matsuo, T. (2000). Recovery of biodegradable plastics from activated sludge process. *Water Science & Technology*, 42(3-4), 351–356.
- Takeuchi, M., Weiss, N., Schuma, P., and Yokota, A. (1996). *Leucobacter komagatae* gen. nov., sp. nov., a New Aerobic Gram-Positive Nonsporulating Rod with 2,4-Diaminobutyric Acid in the Cell Wall. *International journal of systematic bacteriology*, 46(4), 967-971.
- Thierry, S., Macarie, H., Iizuka, T., Geissdorfer, W., Assih, E. A., Spanevello, M., . . . Ouattara, A. S. (2004). *Pseudoxanthomonas mexicana* sp. nov. and *Pseudoxanthomonas japonensis* sp. nov., isolated from diverse environments, and emended descriptions of the genus *Pseudoxanthomonas* Finkmann et al. 2000 and of its type species. *Int J Syst Evol Microbiol*, 54(Pt 6), 2245-2255.
- Venkateswar Reddy, M., and Venkata Mohan, S. (2012). Effect of substrate load and nutrients concentration on the polyhydroxyalkanoates (PHA) production using

- mixed consortia through wastewater treatment. *Bioresour Technol*, 114, 573-582.
- Villano, M., Beccari, M., Dionisi, D., Lampis, S., Miccheli, A., Vallini, G., and Majone, M. (2010). Effect of pH on the production of bacterial polyhydroxyalkanoates by mixed cultures enriched under periodic feeding. *Process Biochemistry*, 45(5), 714-723.
- Villano, M., Valentino, F., Barbetta, A., Martino, L., Scandola, M., and Majone, M. (2014). Polyhydroxyalkanoates production with mixed microbial cultures: from culture selection to polymer recovery in a high-rate continuous process. *N Biotechnol*, 31(4), 289-296.
- Waller, J. L., Green, P. G., and Loge, F. J. (2012). Mixed-culture polyhydroxyalkanoate production from olive oil mill pomace. *Bioresour Technol*, 120, 285-289.
- Wang, Y., Cai, J., Lan, J., Liu, Z., He, N., Shen, L., and Li, Q. (2013). Biosynthesis of poly(hydroxybutyrate-hydroxyvalerate) from the acclimated activated sludge and microbial characterization in this process. *Bioresour Technol*, 148, 61-69.
- Wells, J. M., Raju, B. C., Hung, H.-Y., Weisburg, W. G., Mandelco-Paul, L., and Brenner, D. J. (1987). *Xylella fastidiosa* gen. nov. , sp. nov: Gram-Negative, Xylem-Limited, Fastidious Plant Bacteria Related to *Xanthomonas* spp. *International journal of systematic bacteriology*, 37(2), 136-143.
- Wen, Q., Chen, Z., Tian, T., and Chen, W. (2010a). Effects of phosphorus and nitrogen limitation on PHA production in activated sludge. *Journal of Environmental Sciences*, 22(10), 1602-1607.
- Wen, Q., Chen, Z., Tian, T., and Chen, W. (2010b). Effects of phosphorus and nitrogen limitation on PHA production in activated sludge. *Journal of Environmental Sciences*, 22(10), 1602-1607.
- Yoon, J. H., Kang, S. J., and Oh, T. K. (2006). *Dokdonella koreensis* gen. nov., sp. nov., isolated from soil. *Int J Syst Evol Microbiol*, 56(Pt 1), 145-150.





บริษัททิปโก้ เอฟ แอนด์ บี จำกัด

1. ข้อมูลโดยทั่วไปของโรงงาน

เป็นผู้ผลิตและจำหน่ายน้ำผักผลไม้พร้อมดื่ม 100% และ 40% เครื่องดื่มธัญญาหาร และ น้ำแร่ธรรมชาติ น้ำผักผลไม้พร้อมดื่ม 100% ได้แก่ น้ำส้มเขียวหวาน น้ำสั้มวาเลนเซีย น้ำสั้มสีทอง น้ำสั้ม 4 สายพันธุ์ น้ำสั้มสีทับทิม น้ำสั้มโซกุน น้ำสั้มสายน้ำผึ้ง น้ำองุ่นแดง น้ำแอปเปิ้ล น้ำสั้บประรด น้ำฝรั่ง น้ำมะเขือเทศ น้ำบรีคโคลี่ผสมน้ำผลไม้รวม น้ำปีทрутผสมน้ำผลไม้รวม น้ำแครอทผสมน้ำผลไม้รวม น้ำแครอทม่วงผสมน้ำผลไม้รวม น้ำกีวีผสมน้ำองุ่น น้ำพรุณผสมน้ำองุ่น น้ำทับทิมผสมน้ำผลไม้รวม น้ำแครนเบอร์รี่ผสมน้ำผลไม้รวม น้ำว่านหางจระเข้ผสมน้ำองุ่นขาว น้ำผักโขมผสมวิทกราส น้ำเชอริเบอร์รี่ น้ำมังคุดผสมน้ำผลไม้รวม น้ำทับทิมผสมน้ำแอปเปิ้ลไซเดอร์ น้ำโกจิเบอร์รี่ ทิปโก้ จูชลาเต้ (น้ำผลไม้ 98% ผสมนมถั่วเหลือง 2%) สูตรปอมมี ลาเต้ และสูตรออเรนจ์ ลาเต้ น้ำผักผสมน้ำผลไม้รวม 32 ชนิด และน้ำทับทิมสกัดเข้มข้น Super Fruit Essence

2. ที่ตั้ง

โรงงานผลิตตั้งอยู่ที่ 90/1 ม.7 ตำบลสนับทึบ อำเภอวังน้อย จังหวัดพระนครศรีอยุธยา

3. ข้อมูลระบบบำบัดน้ำเสีย

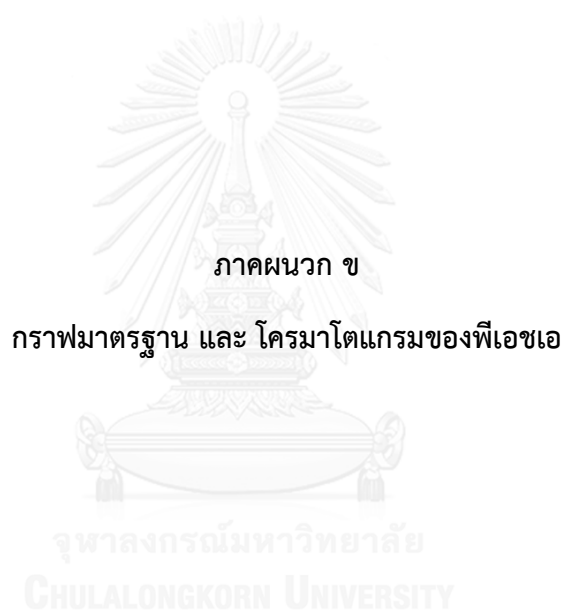
รูปแบบระบบบำบัด	ใช้ระบบบำบัดแบบยูเอเอสบี (Upflow Anaerobic Sludge Blanket; UASB) แล้วตามด้วยระบบบำบัดแบบเอสบีอาร์ (Sequencing Batch Reactor; SBR)
อายุตะกอน (SRT)	ไม่ได้มีการกำหนดค่า SRT ที่ชัดเจน
ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS)	1,500 มก./ล.
ค่าซีโอดี (COD)	ซีโอดีที่เข้าระบบเอสบีอาร์มีค่าประมาณ 500 มก./ล.
ค่าออกซิเจนละลาย (DO)	ประมาณ 1.5 มก./ล.
ลักษณะน้ำเสีย	- น้ำผลไม้ ประมาณ 70 % - น้ำจากการล้างกรด-ด่าง - น้ำเสียอื่น ๆ



ภาพที่ ก1 ระบบบำบัดแบบยูเอเอสบี ของบริษัททีปโก้ เอฟ แอนด์ บี จำกัด

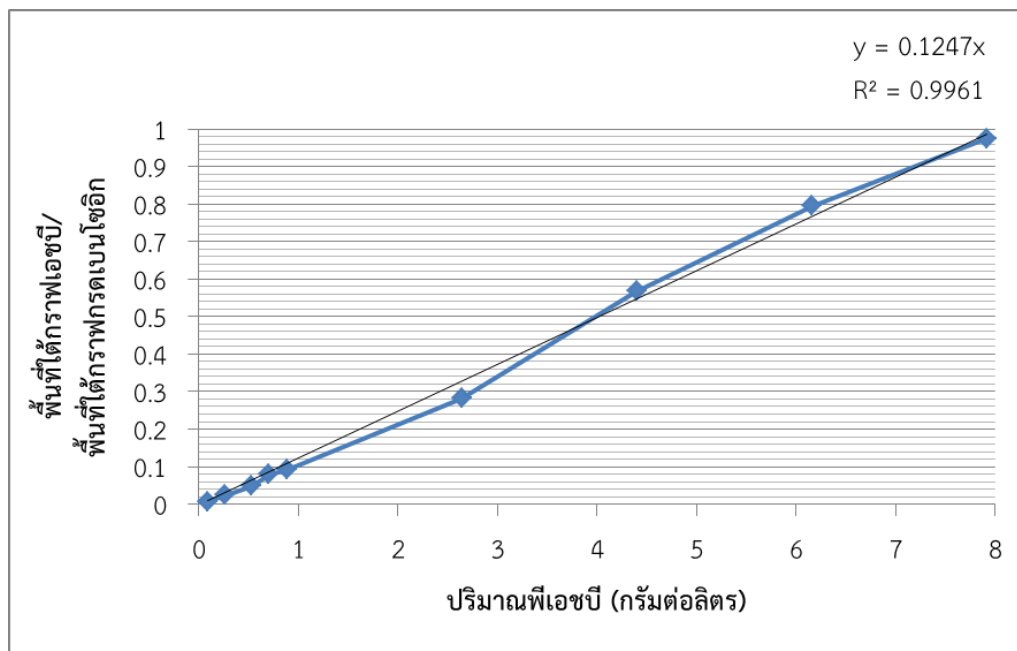


ภาพที่ ก2 ระบบบำบัดน้ำเสียแบบเอสปีอาร์ ของบริษัททีปโก้ เอฟ แอนด์ บี จำกัด



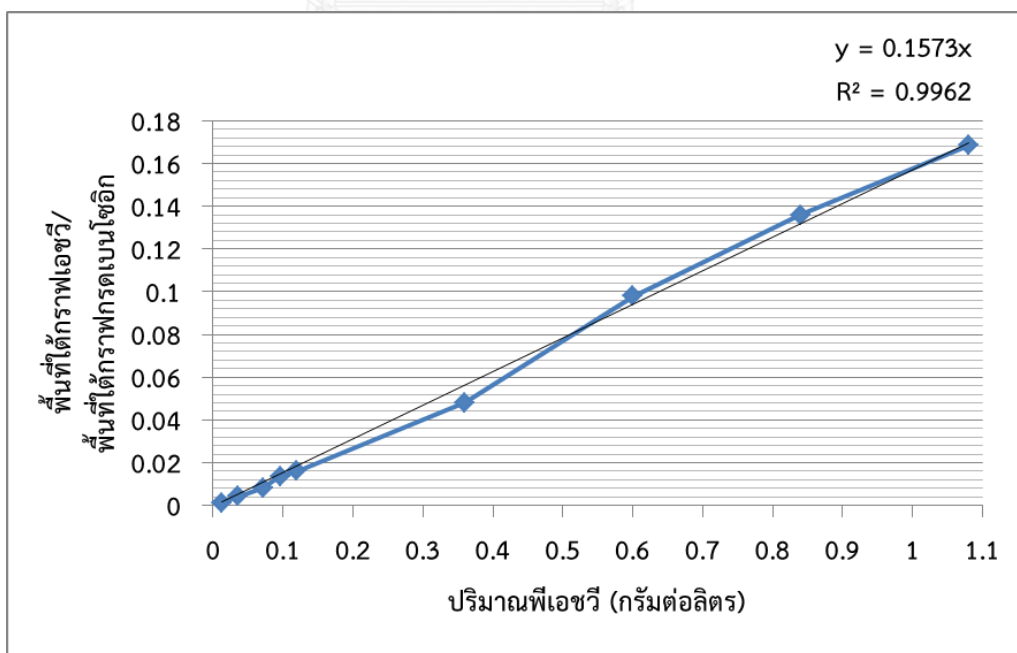
กราฟมาตรฐาน

1. กราฟมาตรฐานของเอชบีโมโนเมอร์



ภาพที่ ข1 กราฟมาตรฐานของเอชบีโมโนเมอร์

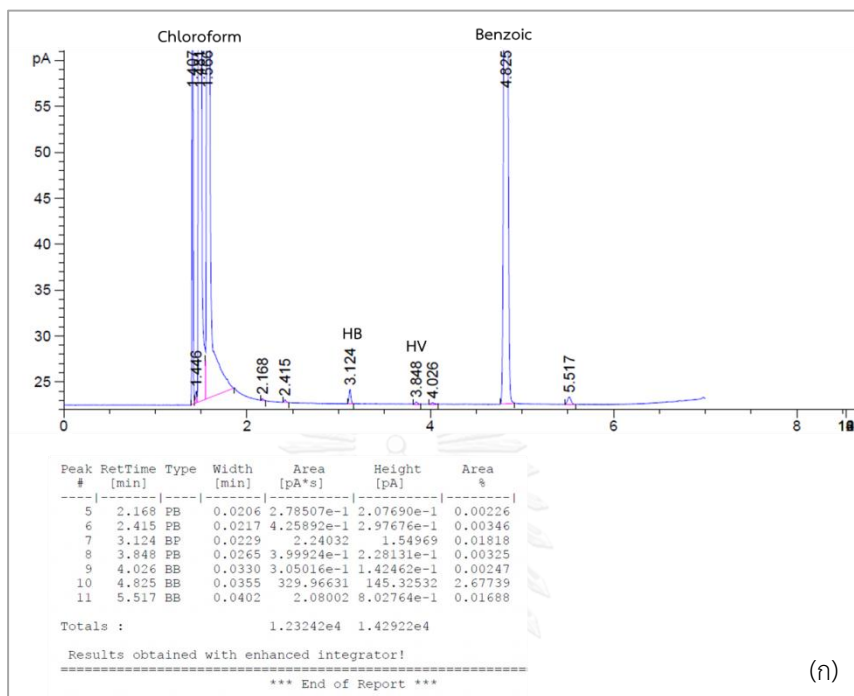
2. กราฟมาตรฐานของเอชวีโมโนเมอร์



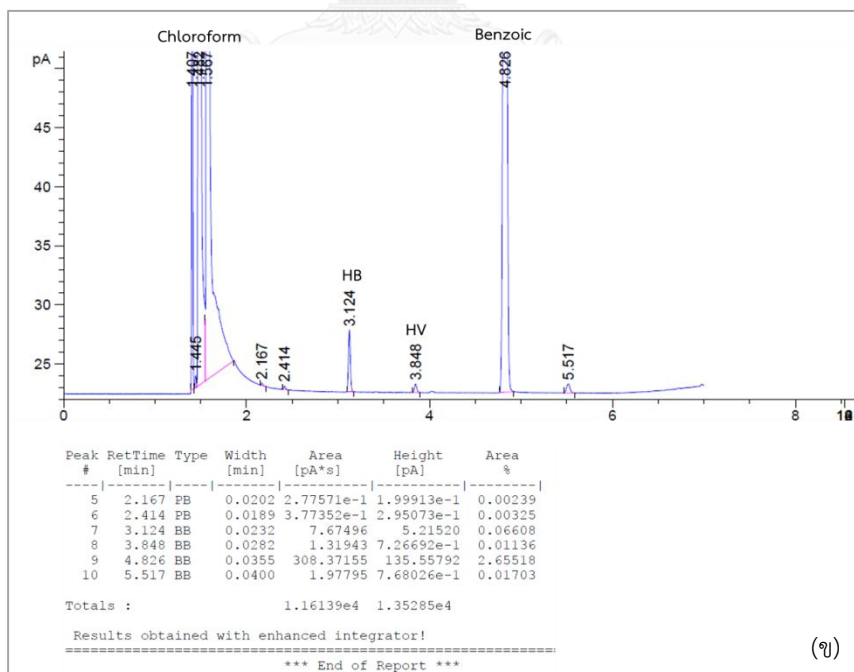
ภาพที่ ข2 กราฟมาตรฐานของเอชวีโมโนเมอร์

โครมาโตแกรมของพีเอชเอ

1. โครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน Poly(3-hydroxybutyric acid-co-12%-3-hydroxyvaleric acid)

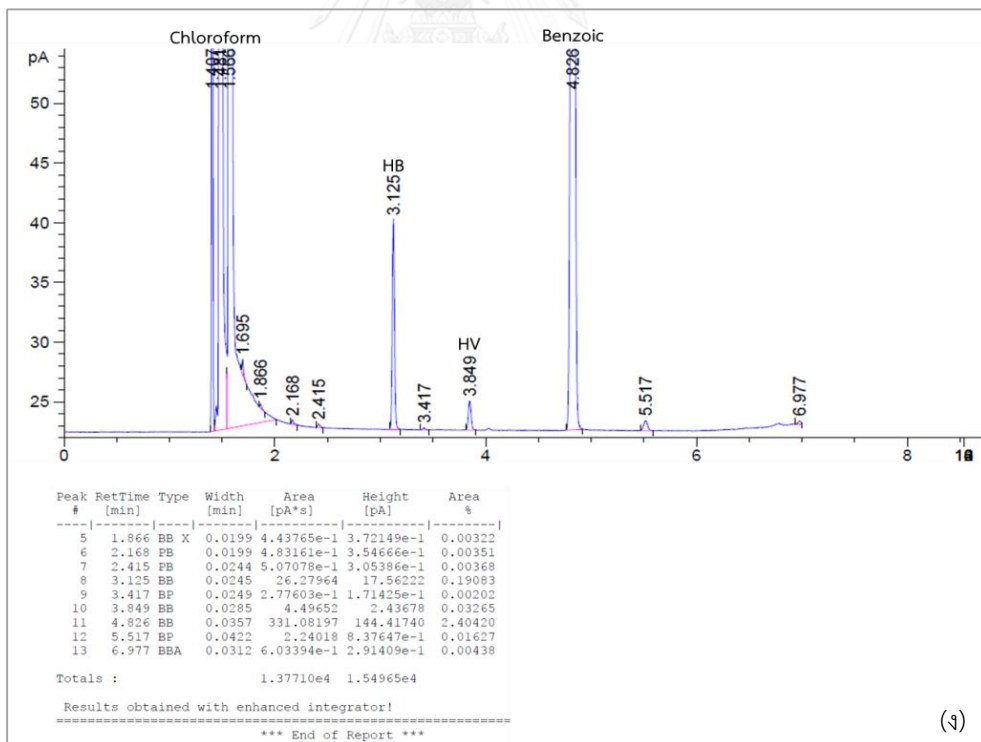
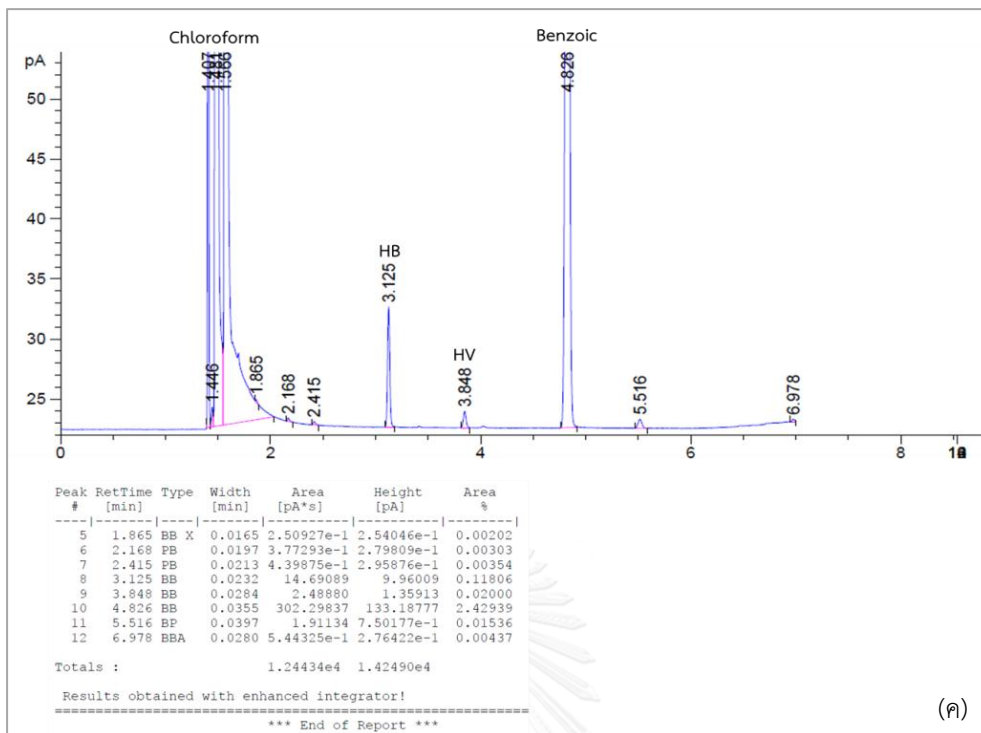


(ก)

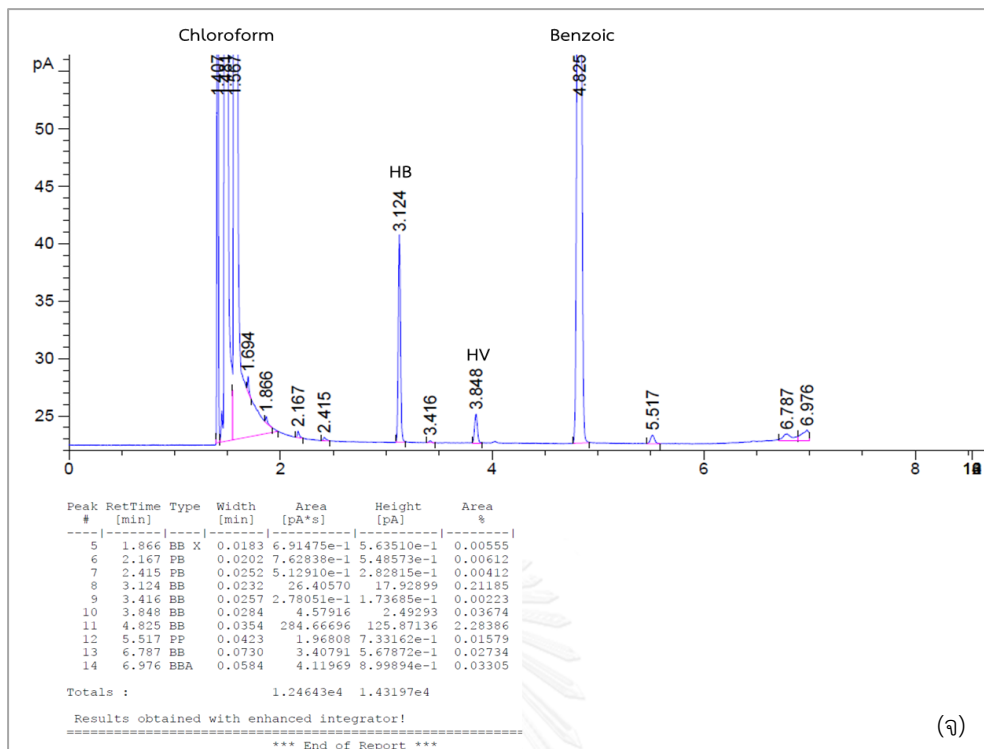


(ข)

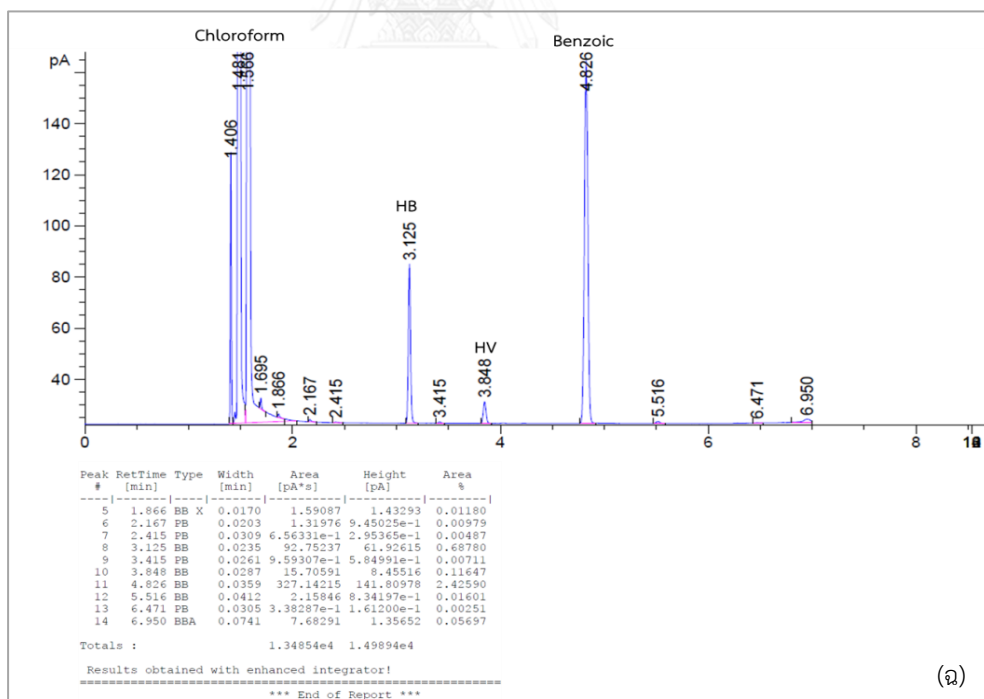
ภาพที่ ข3 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน Poly(3-hydroxybutyric acid-co-12%-3-hydroxyvaleric acid) (ก) ปริมาณ 0.1 กรัมต่อลิตร (ข) ปริมาณ 0.3 กรัมต่อลิตร



ภาพที่ ข3 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน Poly(3-hydroxybutyric acid-co-12%-3-hydroxyvaleric acid) (ค) ปริมาณ 0.6 กรัมต่อลิตร (ง) ปริมาณ 0.8 กรัมต่อลิตร

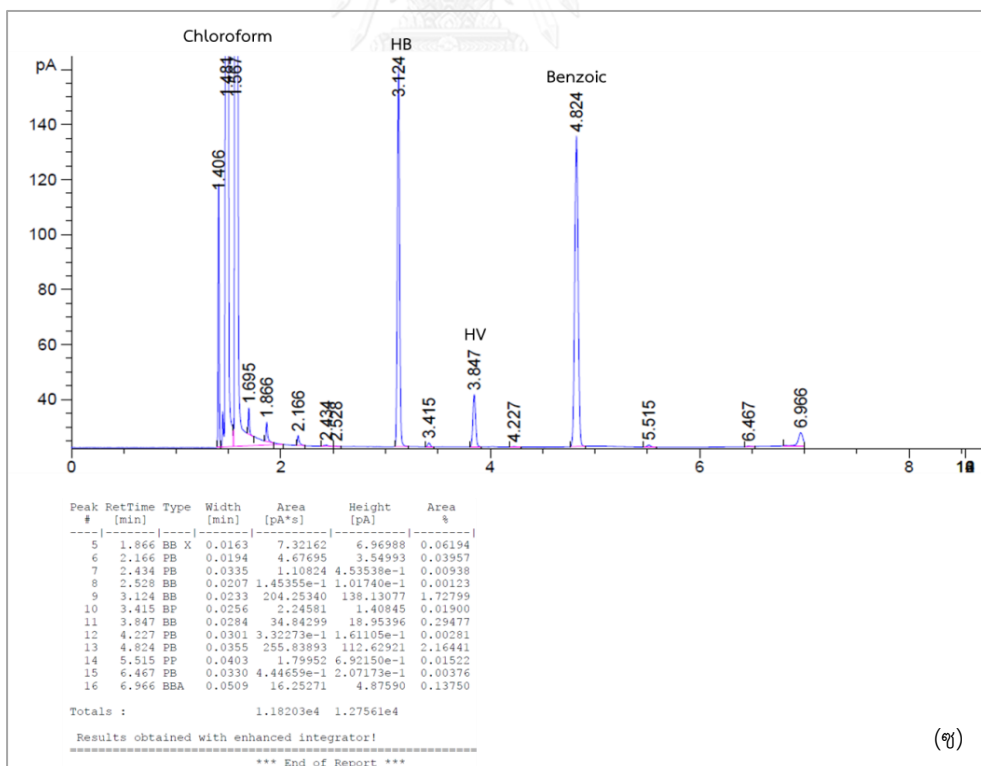
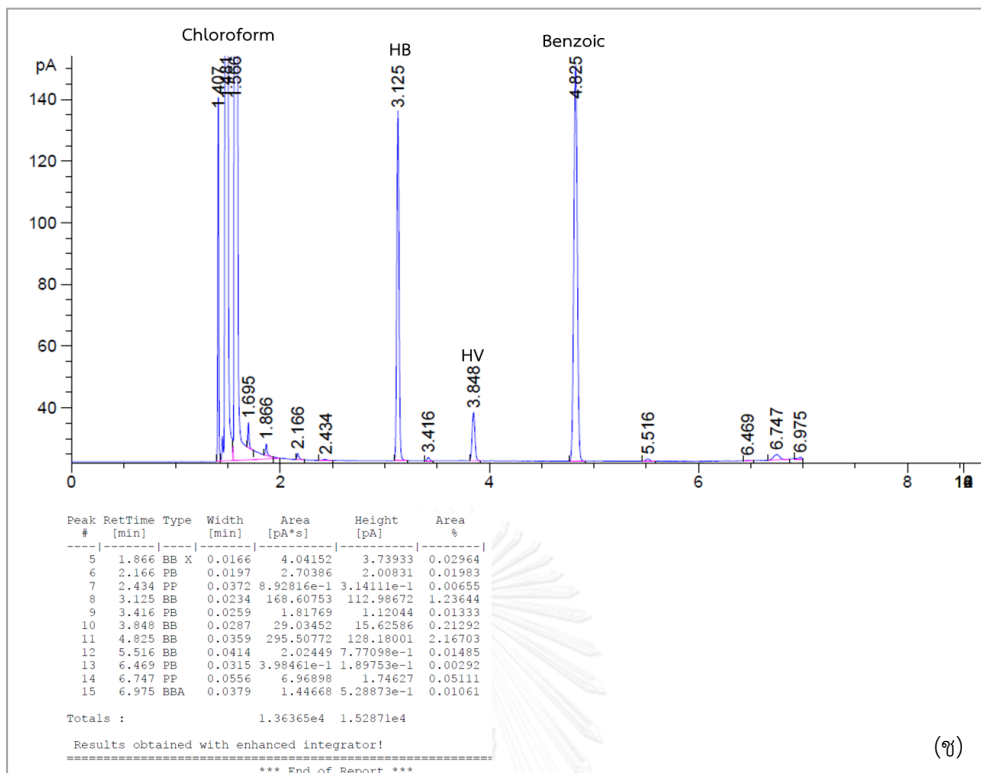


(จ)

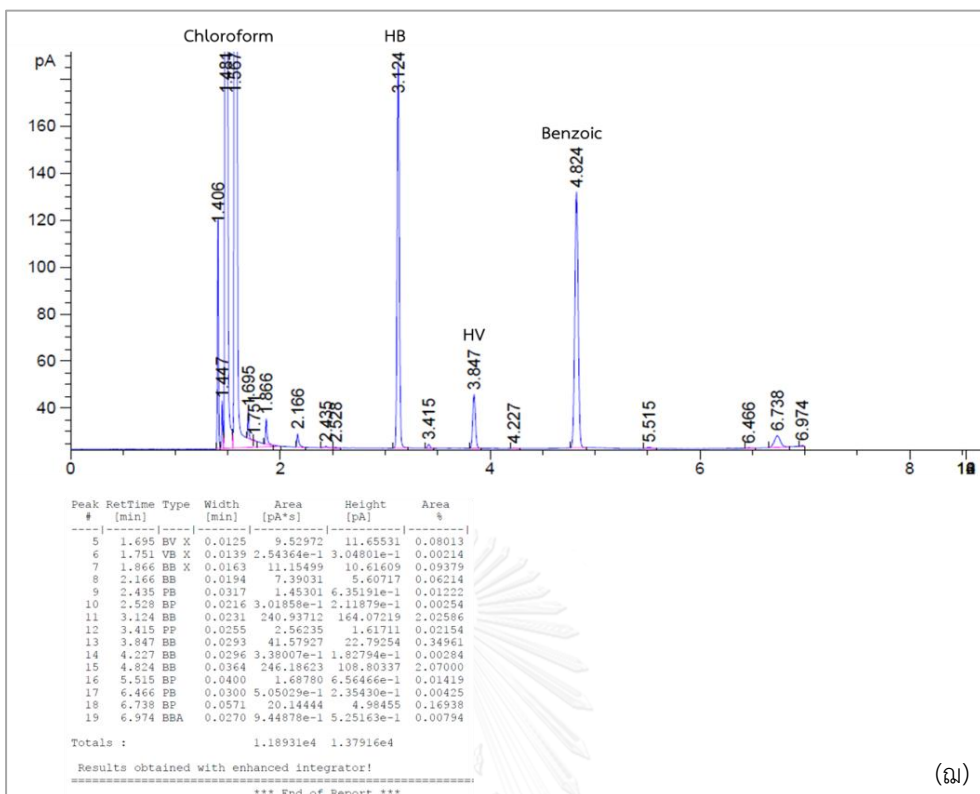


(ข)

ภาพที่ ข3 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน Poly(3-hydroxybutyric acid-co-12%-3-hydroxyvaleric acid) (จ) ปริมาณ 1 กรัมต่อลิตร (ข) ปริมาณ 3 กรัมต่อลิตร



ภาพที่ ข3 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน Poly(3-hydroxybutyric acid-co-12%-3-hydroxyvaleric acid) (ก) ปริมาณ 5 กรัมต่อลิตร (ข) ปริมาณ 7 กรัมต่อลิตร

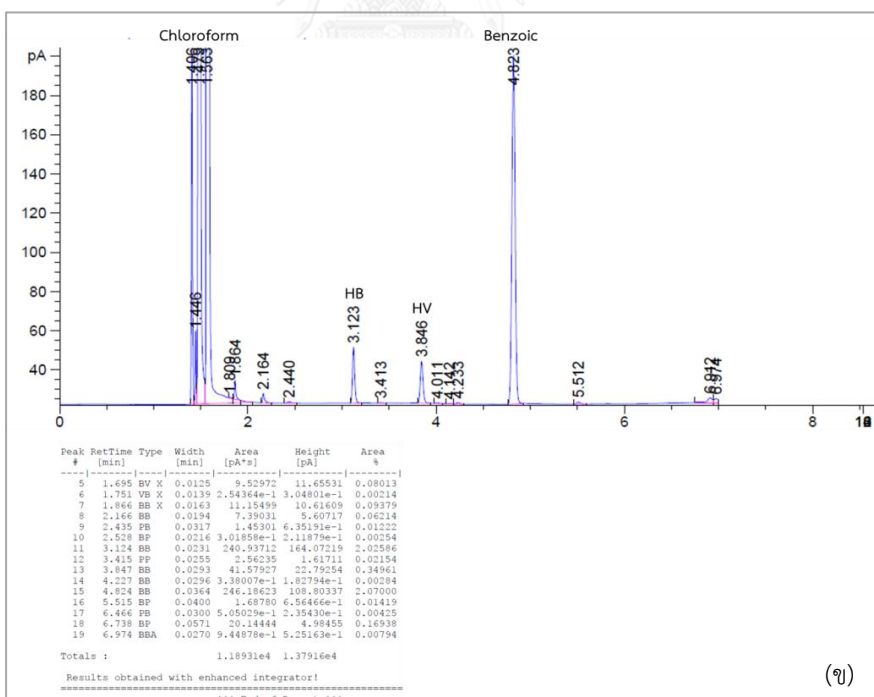
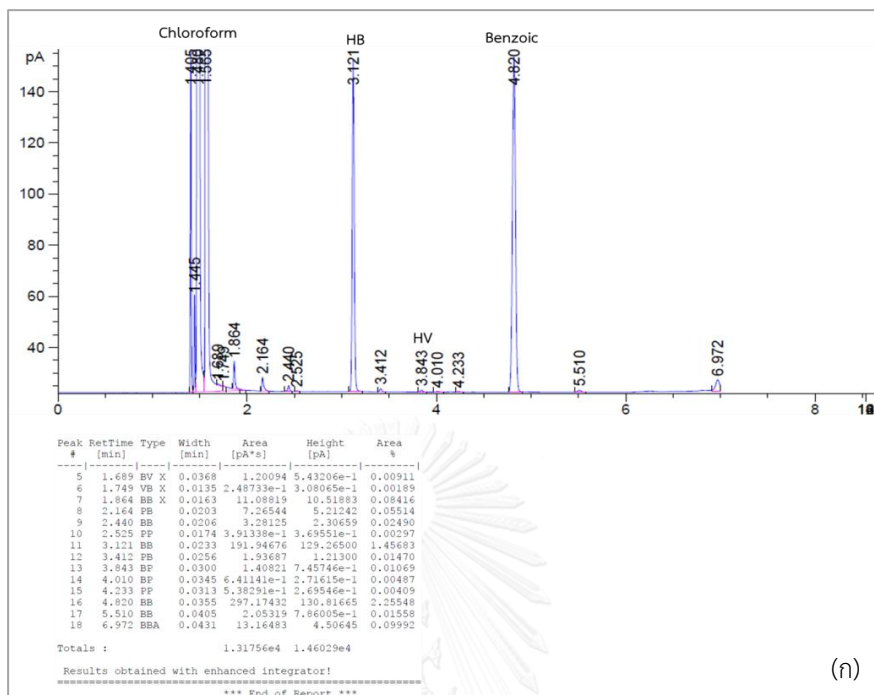


ภาพที่ ข3 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน Poly(3-hydroxybutyric acid-co-12%-3-hydroxyvaleric acid) (ฉ) ปริมาณ 9 กรัมต่อลิตร

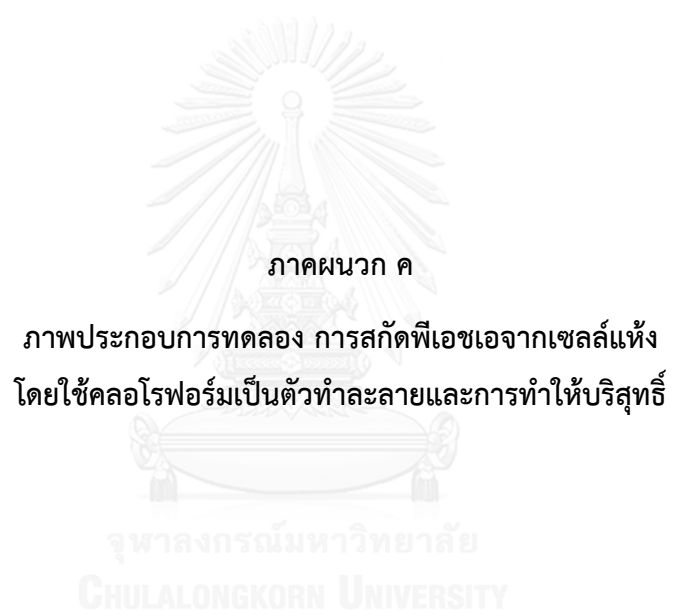


จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

2. โครมาโตแกรมของเอซิปและเอชวีที่สกัดได้จากตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตท และโพรพิโอเนตจากระบบการเดินระบบที่มีพีเอชเอสูงสุด



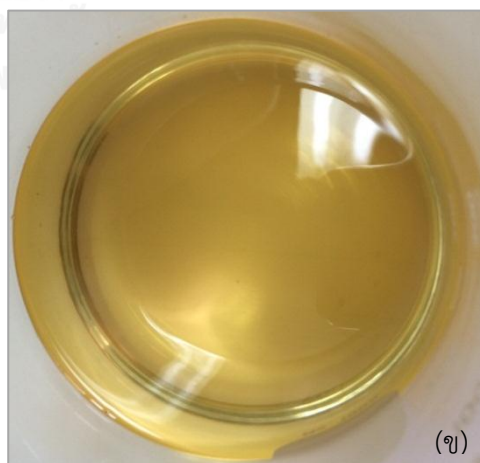
- ภาพที่ ข4 โครมาโตแกรมของเอซิปและเอชวีที่สกัดได้จากตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์
(ก) ตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตท รอบการเดินระบบที่ 34 ชั่วโมงที่ 21
(ข) ตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยโพรพิโอเนต รอบการเดินระบบที่ 27 ชั่วโมงที่ 15



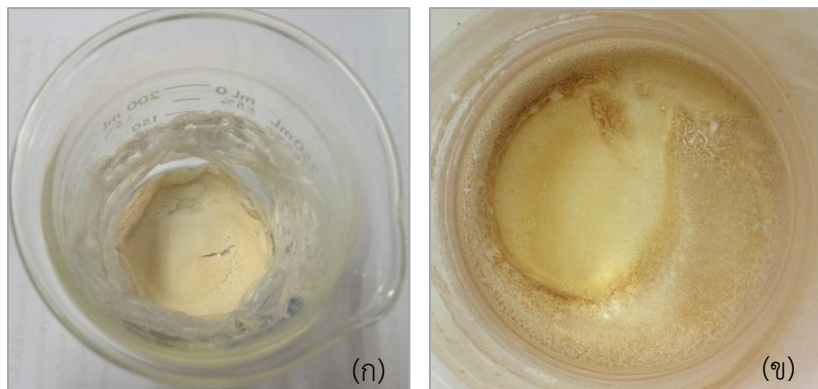
ภาพประกอบการทดลอง การสกัดพีเอชเอจากเซลล์แห้งโดยใช้คลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลายและการทำให้บริสุทธิ์



ภาพที่ ค1 สกัดโพลีเมอร์โดยใช้คลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลาย
ใช้วิธีการสกัดสารโดยใช้ชุดสกัดซอกท์เลต



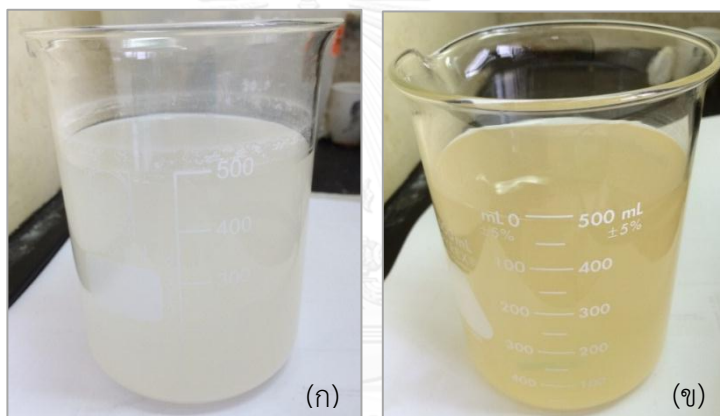
ภาพที่ ค2 สารละลายคลอโรฟอร์มที่ผ่านการสกัดตัวอย่างด้วยชุดสกัดซอกท์เลต
(ก) จากตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ในระบบที่เลี้ยงด้วยอะซิเตท
(ข) จากตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ในระบบที่เลี้ยงด้วยโพรพิโอเนต



ภาพที่ ค3 ลักษณะของโพลีเมอร์เมื่อระเหยคลอโรฟอร์มออกจนหมด

(ก) จากตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ในระบบที่เลี้ยงด้วยอะซิเตท

(ข) จากตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ในระบบที่เลี้ยงด้วยโพρφิไอเนต



ภาพที่ ค4 สารละลายโพลีเมอร์ที่นำมาตกตะกอนด้วยเฮกเซนปริมาตร 4 เท่า

(ก) จากตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์จากระบบที่เลี้ยงด้วยอะซิเตท

(ข) จากตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์จากระบบที่เลี้ยงด้วยโพρφิไอเนต



ภาพที่ ค5 ผลผลิตโพลีเมอร์ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้วโดยการตกตะกอนด้วยเฮกเซน

(ก) จากตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์จากระบบที่เลี้ยงด้วยอะซิเตท

(ข) จากตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์จากระบบที่เลี้ยงด้วยโพρφิไอเนต



ผลการทดลอง

1. ผลการศึกษาการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมฟิเอชเอด้วยการใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน

ตารางที่ ง1 ค่าฟิเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย อุณหภูมิ ความเข้มข้นซีโอดี และ ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	ฟิเอช	ออกซิเจนละลาย (มก./ล.)	อุณหภูมิ (°ซ)	ซีโอดี (มก./ล.)	ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.)
2 ก.ย. 56	1	0	10.00	7.98	1.49	30.7	3022.37	3001.11
2 ก.ย. 56		3	13.00	7.41	2.11	31.2	1802.03	3410
2 ก.ย. 56		6	16.00	7.4	2.32	32	663.051	3715.56
2 ก.ย. 56		9	19.00	7.06	2.58	31.7	215.59	4082.22
2 ก.ย. 56		12	22.00	7.01	4.59	31	162.71	4022.22
3 ก.ย. 56		15	01.00	7.02	5.47	30.4	162.71	4011.11
3 ก.ย. 56		18	04.00	7.26	5.49	29.7	81.36	3966.67
3 ก.ย. 56		21	07.00	7.4	5.37	30.1	40.68	3897.78
3 ก.ย. 56		24	10.00	7.26	5.28	30.3	40.19	3784.84
3 ก.ย. 56		2	0	10.00	7.4	3.44	30.5	2981.69
4 ก.ย. 56	24		10.00	7.35	3.99	30.2	223.73	4645
4 ก.ย. 56	3	0	10.00	7.39	2.01	31.6	2937.63	4390
5 ก.ย. 56		24	10.00	7.32	5.12	30.3	264.41	4975
5 ก.ย. 56	4	0	10.00	7.13	1.54	29.9	3045.63	4802.5
6 ก.ย. 56		24	10.00	7.21	4.69	30.2	326.64	5460
6 ก.ย. 56	5	0	10.00	7.12	1.62	31.7	3059.05	5285
7 ก.ย. 56		24	10.00	7.31	4.87	31.3	298.17	5620
7 ก.ย. 56	6	0	10.00	7.04	2.17	30.6	2976.41	5546.67
8 ก.ย. 56		24	10.00	7.13	5.23	31.2	340.47	5850
8 ก.ย. 56	7	0	10.00	7.33	2.07	31.4	3186.31	5631.67
8 ก.ย. 56		3	13.00	7.39	2.55	30.8	2033.9	6566.67
8 ก.ย. 56		6	16.00	7.16	2.85	30.7	1003.12	6835.3
8 ก.ย. 56		9	19.00	7.02	3.15	31.1	447.46	6505
8 ก.ย. 56		12	22.00	7.25	3.37	30.9	420.2	6291.67
9 ก.ย. 56		15	01.00	7.38	3.82	30.2	420.2	6112.5
9 ก.ย. 56		18	04.00	7.3	4.28	30.3	352.27	5845.83
9 ก.ย. 56		21	07.00	7.03	4.14	29.8	352.27	5787.5
9 ก.ย. 56		24	10.00	7.21	4.27	30.9	352.27	5630

ตารางที่ ๑1 ค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย อุณหภูมิ ความเข้มข้นซีโอดี และ ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	พีเอช	ออกซิเจนละลาย (มก./ล.)	อุณหภูมิ (°ซ)	ซีโอดี (มก./ล.)	ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.)
9 ก.ย. 56	8	0	10.00	7.08	1.89	32	3132.2	5200
10 ก.ย. 56		24	10.00	7.37	3.73	30.4	488.14	5420
10 ก.ย. 56	9	0	10.00	7.26	1.77	31.7	2915.39	5610
11 ก.ย. 56		24	10.00	7.04	4.63	31.4	474.71	5900
11 ก.ย. 56	10	0	10.00	7.4	2.06	30.6	2928.81	5660
12 ก.ย. 56		24	10.00	7.38	4.73	30.7	421.83	6540
12 ก.ย. 56	11	0	10.00	7.38	1.26	30.5	3147.25	6070
13 ก.ย. 56		24	10.00	7.13	4.95	31.5	501.56	6540
13 ก.ย. 56	12	0	10.00	7.03	2.52	31.2	2925.42	6150
14 ก.ย. 56		24	10.00	7.41	4.28	31.5	448.68	6590
14 ก.ย. 56	13	0	10.00	7.12	1.63	30.6	2960.88	6240
15 ก.ย. 56		24	10.00	7.16	3.26	31.6	367.32	6860
15 ก.ย. 56	14	0	10.00	7.07	1.37	30.2	2915.39	6462.5
15 ก.ย. 56		3	13.00	7.03	2.03	30.3	2169.76	7456.25
15 ก.ย. 56		6	16.00	7.29	2.48	30.7	1520.14	7662.5
15 ก.ย. 56		9	19.00	7.2	2.96	31.3	922.17	7868.75
15 ก.ย. 56		12	22.00	7.38	3.62	30.8	462.51	7637.5
16 ก.ย. 56		15	01.00	7.25	3.84	30.9	421.83	7500
16 ก.ย. 56		18	04.00	7.18	3.96	30.8	352.68	7510
16 ก.ย. 56		21	07.00	7.39	4.57	30.5	312	7562.5
16 ก.ย. 56		24	10.00	7.2	4.84	31.9	312	7439
16 ก.ย. 56	15	0	10.00	7.31	2.11	31.7	2981.69	6790
17 ก.ย. 56		24	10.30	6.14	4.29	32.2	432.41	7940
17 ก.ย. 56	16	0	10.30	7.13	1.63	31.7	3022.37	6010
18 ก.ย. 56		24	10.30	7.16	3.73	30.5	459.66	7110
18 ก.ย. 56	17	0	10.30	7.11	2.75	32.1	3007.12	5820
19 ก.ย. 56		24	10.30	7.21	4.39	31.2	406.78	6160
19 ก.ย. 56	18	0	10.30	7.21	1.84	30.6	3025.22	5750
20 ก.ย. 56		24	10.30	7.3	5.12	30.6	503.19	6450
20 ก.ย. 56	19	0	10.30	7.35	2.37	30.1	2915.39	6160
21 ก.ย. 56		24	10.30	7.27	4.81	30.7	691.53	6620

ตารางที่ ๑1 ค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย อุณหภูมิ ความเข้มข้นซีโอดี และ ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	พีเอช	ออกซิเจนละลาย (มก./ล.)	อุณหภูมิ (°ซ)	ซีโอดี (มก./ล.)	ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.)
21 ก.ย. 56	20	0	10.30	7.24	1.28	29.9	3144.41	5081.25
21 ก.ย. 56		3	13.30	7.37	1.69	30.6	2318.64	5962.5
21 ก.ย. 56		6	16.30	7.38	2.49	30.2	1667.80	5925
21 ก.ย. 56		9	19.30	7.04	2.53	30.8	1057.63	5937.5
21 ก.ย. 56		12	22.30	7.18	2.74	30.7	354.44	6331.25
22 ก.ย. 56		15	01.30	7.35	2.58	30.7	351.051	6500
22 ก.ย. 56		18	04.30	7.2	3.4	29.6	337.63	6350
22 ก.ย. 56		21	07.30	7.07	3.59	30.2	296.95	5987.5
22 ก.ย. 56		24	10.30	7.36	3.88	30.8	296.95	5668.75
22 ก.ย. 56	21	0	10.30	7.12	2.48	30.8	2915.39	5340
23 ก.ย. 56		24	10.30	7.39	4.76	31.5	613.02	5400
23 ก.ย. 56	22	0	10.30	7.27	2.51	31.6	3106.58	5240
24 ก.ย. 56		24	10.30	7.29	4.39	31.5	705.36	5380
24 ก.ย. 56	23	0	10.30	7.2	2.11	30.7	3032	5050
25 ก.ย. 56		24	10.30	7.17	4.73	30.6	600.14	5190
25 ก.ย. 56	24	0	10.30	7.34	1.83	31.6	3132.20	4590
26 ก.ย. 56		24	10.30	7.13	3.27	30.4	557.29	4610
26 ก.ย. 56	25	0	10.30	7.11	1.96	30.2	3091.53	4120
27 ก.ย. 56		24	10.30	7.07	4.26	32	569.49	4350
27 ก.ย. 56	26	0	10.30	7.36	2.29	31.1	3132.20	4010
28 ก.ย. 56		24	10.30	7.38	3.37	31.4	508.47	4700
28 ก.ย. 56	27	0	10.30	7.3	2.43	30.8	3063.051	3750
28 ก.ย. 56		3	13.30	7.3	2.48	30.6	2359.32	3981.25
28 ก.ย. 56		6	16.30	7.38	2.79	30.9	1708.47	4143.75
28 ก.ย. 56		9	19.30	7.02	3.34	31.3	1069.83	4425
28 ก.ย. 56		12	22.30	7.3	3.58	30.6	569.49	4362.5
29 ก.ย. 56		15	01.30	7.25	3.69	30.6	528.81	4087.5
29 ก.ย. 56		18	04.30	7.04	3.74	30.2	475.93	3750
29 ก.ย. 56		21	07.30	7.28	3.64	30.5	459.66	3912
29 ก.ย. 56		24	10.30	7.23	3.89	30.6	447.46	3850
29 ก.ย. 56	28	0	10.30	7.22	1.93	30.5	3010.17	3280
30 ก.ย. 56		24	11.00	7.28	4.72	30.8	542.24	4170

ตารางที่ ง1 ค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย อุณหภูมิ ความเข้มข้นซีโอดี และ ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	พีเอช	ออกซิเจนละลาย (มก./ล.)	อุณหภูมิ (°ซ)	ซีโอดี (มก./ล.)	ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.)
30 ก.ย. 56	29	0	11.00	7.02	2.76	31.3	2957.29	3980
1 ต.ค. 56		24	11.00	7.18	4.44	31.6	475.93	4220
1 ต.ค. 56	30	0	11.00	7.44	1.34	31.4	3010.17	2860
2 ต.ค. 56		24	11.00	7.39	3.99	31.8	503.39	3355
2 ต.ค. 56	31	0	11.00	7.11	2.06	31.1	2928.81	2690
3 ต.ค. 56		24	11.00	7.36	4.24	30.3	562.71	3225
3 ต.ค. 56	32	0	11.00	7.21	2.16	30.6	2984.75	2870
4 ต.ค. 56		24	11.00	7.28	4.67	31.5	544.068	3680
4 ต.ค. 56	33	0	11.00	7.33	1.75	31.2	2982.92	3020
5 ต.ค. 56		24	11.00	6.19	4.21	30.2	623.59	3750
5 ต.ค. 56	34	0	11.00	7.02	2.36	30.7	3086.31	3206.67
5 ต.ค. 56		3	14.00	7.38	2.57	30.5	2889.36	3360
5 ต.ค. 56		6	17.00	7.36	2.61	30.4	2670.92	3375
5 ต.ค. 56		9	20.00	7.29	2.84	30.6	2360.54	3575
5 ต.ค. 56		12	23.00	7.2	3.69	30.4	2169.36	3820
6 ต.ค. 56		15	02.00	7.1	3.54	30.4	1776	3850
6 ต.ค. 56		18	05.00	7.19	3.92	29.8	1247.19	3850
6 ต.ค. 56		21	08.00	7.09	4.27	29.8	1084.47	3980
6 ต.ค. 56		24	11.00	7.27	4.38	31.4	718.37	3870
6 ต.ค. 56		35	0	11.00	7.09	2.18	31.3	3538.98
7 ต.ค. 56	24		11.00	7.32	3.1	30.2	1315.12	4155
7 ต.ค. 56	36	0	11.00	7.14	2.64	30.5	3416.95	3985
8 ต.ค. 56		24	11.00	7.38	3.38	30.7	1678.10	4075
8 ต.ค. 56	37	0	11.00	7.11	2.5	31.8	3132.20	3470
9 ต.ค. 56		24	11.00	7.1	2.85	30.8	1640.54	3615
9 ต.ค. 56	38	0	11.00	7.38	2.26	30.7	3362.85	3055
10 ต.ค. 56		24	11.00	7.04	3.65	30.8	1355.80	3295
10 ต.ค. 56	39	0	11.00	7.32	2.61	30.2	3376.27	2670
11 ต.ค. 56		24	11.00	7.32	-	-	1911.86	2783.33
12 ต.ค. 56		48	11.00	6.88	4.22	30.6	542.24	2763.33

ตารางที่ ๑1 ค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย อุณหภูมิ ความเข้มข้นซีโอดี และ ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	พีเอช	ออกซิเจนละลาย (มก./ล.)	อุณหภูมิ (°ซ)	ซีโอดี (มก./ล.)	ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.)
12 ต.ค. 56	40	0	11.00	7.11	2.72	30.2	3146.034	2840
12 ต.ค. 56		4	15.00	7.27	2.95	30.8	2549.29	2850
12 ต.ค. 56		8	19.00	7.43	3.25	31.4	2415.051	2860
12 ต.ค. 56		12	23.00	7.02	3.43	30.7	2036.75	2890
13 ต.ค. 56		16	03.00	7.28	3.73	31.3	1715.39	2980
13 ต.ค. 56		20	07.00	7.36	3.96	30.6	1328.95	2890
13 ต.ค. 56		24	11.00	7.21	4.27	30.8	1057.63	2870
13 ต.ค. 56		28	15.00	7.06	4.31	30.5	800.14	2815
13 ต.ค. 56		32	19.00	7.13	4.42	30.5	706.58	2865
14 ต.ค. 56		48	11.00	7.38	4.26	29.2	122.034	2685
14 ต.ค. 56	41	0	11.00	7.09	3.17	29.5	2916.61	2503.75
15 ต.ค. 56		24	11.00	-	-	-	1111.73	2822.5
16 ต.ค. 56		48	11.30	7.03	4.27	30.5	345.76	3040
16 ต.ค. 56	42	0	11.30	7.39	2.37	30.7	3072.88	2382.5
17 ต.ค. 56		24	11.30	-	-	-	1057.63	2586.19
18 ต.ค. 56		48	11.30	7.17	4.28	30.8	366.10	2637.5
18 ต.ค. 56	43	0	11.30	7.11	3.32	30.2	3023.59	2460
19 ต.ค. 56		24	11.30	-	-	-	1179.66	2631.43
20 ต.ค. 56		48	11.30	7.19	4.27	30.4	176.14	2732.86
20 ต.ค. 56	44	0	11.30	7.24	2.47	30.7	2982.92	2499.64
21 ต.ค. 56		24	11.30	-	-	-	842.034	2880.48
22 ต.ค. 56		48	11.30	7.32	3.73	29.9	272.54	2980
22 ต.ค. 56	45	0	11.30	7.00	2.78	29.7	3022.37	2504.4
23 ต.ค. 56		24	11.30	-	-	-	988.47	2878.81
24 ต.ค. 56		48	11.30	7.03	4.63	29.7	216.81	2970
24 ต.ค. 56	46	0	11.30	7.31	2.96	29.3	3078.10	2737.5
25 ต.ค. 56		24	11.30	-	-	-	1227.25	3125.71
26 ต.ค. 56		48	11.30	7.29	4.29	29.9	108.61	3592.5
26 ต.ค. 56	47	0	11.30	7.13	3.11	29.6	3065.9	2620
27 ต.ค. 56		24	11.30	-	-	-	1967.59	2717.02
28 ต.ค. 56		48	11.30	7.2	3.27	28.6	515.39	2995

ตารางที่ ๑1 ค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย อุณหภูมิ ความเข้มข้นซีโอดี และ ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	พีเอช	ออกซิเจนละลาย (มก./ล.)	อุณหภูมิ (°ซ)	ซีโอดี (มก./ล.)	ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.)
28 ต.ค. 56	48	0	11.30	7.38	2.65	28.5	3081.49	2257.5
29 ต.ค. 56		24	11.30	-	-	-	1911.86	2397.5
30 ต.ค. 56		48	11.30	7.52	4.83	29.3	747.25	2582.5
30 ต.ค. 56	49	0	11.30	7.04	1.89	29.6	3082.71	2105.91
31 ต.ค. 56		24	11.30	-	-	-	2088	2352.5
1 พ.ย. 56		48	11.30	7.28	4.02	30.3	894.92	2615
1 พ.ย. 56	50	0	11.30	7.13	3.47	30.2	3072.88	1702.98
2 พ.ย. 56		24	11.30	-	-	-	2196.61	2062.5
3 พ.ย. 56		48	11.30	7.25	4.74	29.2	1342.37	2534.091
3 พ.ย. 56	51	0	11.30	7.34	2.55	28.6	3054.24	1432.5
4 พ.ย. 56		24	11.30	-	-	-	2413.42	1895
5 พ.ย. 56		48	11.30	7.29	4.19	28	1342.37	2312.38
5 พ.ย. 56	52	0	11.30	7.25	2.96	28.3	3049.017	1416.67
6 พ.ย. 56		24	11.30	-	-	-	2210.034	2025.36
7 พ.ย. 56		48	11.30	7.16	3.28	29.3	1203.39	2065
7 พ.ย. 56	53	0	11.30	7.12	2.88	29.6	3064.27	1728.57
8 พ.ย. 56		24	11.30	-	-	-	1488.14	1737.5
9 พ.ย. 56		48	11.30	6.95	4.47	28.6	475.93	1767.5
9 พ.ย. 56	54	0	11.30	7.26	3.49	28.4	1503.25	1220.95
10 พ.ย. 56		24	11.30	-	-	-	353.90	1732.5
11 พ.ย. 56		48	12.00	7.1	4.39	28.4	305.085	1897.98
11 พ.ย. 56	55	0	12.00	7.32	3.12	28.5	1527.12	787.5
12 พ.ย. 56		24	12.00	-	-	-	379.53	1315
13 พ.ย. 56		48	12.00	7.27	3.72	28.5	366.10	1643.48
13 พ.ย. 56	56	0	12.00	7.04	2.44	28.6	1505.085	685
14 พ.ย. 56		24	12.00	-	-	-	406.78	784.76
15 พ.ย. 56		48	12.00	7.17	3.38	28.6	406.78	811.79
15 พ.ย. 56	57	0	12.00	7.29	2.46	28.2	1499.86	578.57
16 พ.ย. 56		24	12.00	-	-	-	501.56	675.12
17 พ.ย. 56		48	12.00	7.31	3.62	28.2	475.93	731.90
17 พ.ย. 56	58	0	12.00	7.17	3.14	28.3	1574.24	539.17
18 พ.ย. 56		24	12.00	-	-	-	488.14	593.69
19 พ.ย. 56		48	12.00	7.28	3.39	27.8	475.93	690

ตารางที่ ง1 ค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย อุณหภูมิ ความเข้มข้นซีโอดี และ ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	พีเอช	ออกซิเจนละลาย (มก./ล.)	อุณหภูมิ (°ซ)	ซีโอดี (มก./ล.)	ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.)
19 พ.ย. 56	59	0	12.00	7.23	3.57	28.2	1484.75	497.5
20 พ.ย. 56		24	12.00	-	-	-	504.75	514.32
21 พ.ย. 56		48	12.00	7.15	4.83	28.2	460.88	633.33
21 พ.ย. 56	60	0	12.00	7.13	2.85	28.3	1518.51	380.95
22 พ.ย. 56		24	12.00	-	-	-	542.24	615
23 พ.ย. 56		48	12.00	7.41	3.93	28.3	515.39	730.95
23 พ.ย. 56	61	0	12.00	7.26	3.26	28.2	1518.51	354.76
23 พ.ย. 56		4	16.00	-	-	-	1348.81	466.67
23 พ.ย. 56		8	20.00	-	-	-	1189.69	476.19
24 พ.ย. 56		12	00.00	-	-	-	974.95	492.86
24 พ.ย. 56		16	04.00	-	-	-	788.14	495.24
24 พ.ย. 56		20	08.00	-	-	-	605.085	523.81
24 พ.ย. 56		24	12.00	-	-	-	463.84	644.35
24 พ.ย. 56		28	16.00	-	-	-	372.54	650
24 พ.ย. 56		32	20.00	-	-	-	272.54	632.61
25 พ.ย. 56		36	0.00	-	-	-	252.20	680.90
25 พ.ย. 56		48	12.00	7.07	3.57	28.1	219.66	714.29
25 พ.ย. 56		62	0	12.00	7.24	3.2	27.5	1586.44
26 พ.ย. 56	24		12.00	-	-	-	438.64	448.91
27 พ.ย. 56	48		12.00	7.36	4.02	28	313.22	648.67
27 พ.ย. 56	63	0	12.00	7.07	3.19	27.4	1545.76	381.28
28 พ.ย. 56		24	12.00	-	-	-	435.25	589.13
29 พ.ย. 56		48	12.00	7.14	3.93	27.4	313.22	697.73
29 พ.ย. 56	64	0	12.00	7.1	2.82	28.2	1586.44	443.56
30 พ.ย. 56		24	12.00	-	-	-	372.54	719.91
1 ธ.ค. 56		48	12.00	7.26	4.29	28.2	272.54	822
1 ธ.ค. 56	65	0	12.00	7.31	3.61	27.5	1454.24	418.75
2 ธ.ค. 56		24	12.00	-	-	-	447.46	701.27
3 ธ.ค. 56		48	12.00	7.23	4.22	26.5	264.41	782.61
3 ธ.ค. 56	66	0	12.00	7.15	2.53	25.7	1515.25	439.18
4 ธ.ค. 56		24	12.00	-	-	-	447.46	777
5 ธ.ค. 56		48	12.00	7.11	4.38	25.7	203.39	814.86

ตารางที่ ๑1 ค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย อุณหภูมิ ความเข้มข้นซีโอดี และ ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	พีเอช	ออกซิเจนละลาย (มก./ล.)	อุณหภูมิ (°ซ)	ซีโอดี (มก./ล.)	ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.)
5 ธ.ค. 56	67	0	12.00	7.24	3.06	25.8	1545.76	456.64
5 ธ.ค. 56		4	16.00	-	-	-	1357.42	570
5 ธ.ค. 56		8	20.00	-	-	-	1098.31	602.38
6 ธ.ค. 56		12	00.00	-	-	-	732.20	654.94
6 ธ.ค. 56		16	04.00	-	-	-	596.75	704.58
6 ธ.ค. 56		20	08.00	-	-	-	312	698.75
6 ธ.ค. 56		24	12.00	-	-	-	299.80	709.18
6 ธ.ค. 56		29	17.00	-	-	-	271.32	756.52
6 ธ.ค. 56		34	22.00	-	-	-	218.44	757.5
7 ธ.ค. 56		39	03.00	-	-	-	189.97	765
7 ธ.ค. 56		48	12.00	7.03	3.43	24.8	189.97	763.64
7 ธ.ค. 56	68	0	12.00	7.1	3.63	24.8	1543.39	495.16
8 ธ.ค. 56		24	12.00	-	-	-	404.41	787.68
9 ธ.ค. 56		48	12.00	7.29	4.1	23.8	250.17	847.92
9 ธ.ค. 56	69	0	12.00	7.31	2.82	23.2	1523.051	499.64
10 ธ.ค. 56		24	12.00	-	-	-	423.051	1159.33
11 ธ.ค. 56		48	12.00	7.16	4.93	23.1	301.017	929.67
11 ธ.ค. 56	70	0	12.00	7.38	2.39	23.7	1523.051	556.25
12 ธ.ค. 56		24	12.00	-	-	-	375.59	997.73
13 ธ.ค. 56		48	12.00	7.32	4.83	23.8	255.25	1076
13 ธ.ค. 56	71	0	12.00	7.32	4.83	23.8	1494.24	641.48
14 ธ.ค. 56		24	12.00	-	-	-	265.42	1247.39
15 ธ.ค. 56		48	12.00	7.07	3.59	23.7	199.32	1071.39
15 ธ.ค. 56	72	0	12.00	7.31	2.76	23.7	1574.71	831.79
16 ธ.ค. 56		24	12.00	-	-	-	250.98	1243.75
17 ธ.ค. 56		48	12.00	7.28	3.46	23.4	210.31	1074.73
17 ธ.ค. 56	73	0	12.00	7.18	2.82	23.9	1573.017	788.17
18 ธ.ค. 56		24	12.00	-	-	-	220.47	1128.26
19 ธ.ค. 56		48	12.00	7.47	4.29	23.9	200.14	974

ตารางที่ ๑1 ค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย อุณหภูมิ ความเข้มข้นซีโอดี และ ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	พีเอช	ออกซิเจนละลาย (มก./ล.)	อุณหภูมิ (°ซ)	ซีโอดี (มก./ล.)	ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.)
19 ธ.ค. 56	74	0	12.00	7.17	3.3	23.6	1520.14	726.18
19 ธ.ค. 56		4	16.00	-	-	-	1296.41	783.33
19 ธ.ค. 56		8	20.00	-	-	-	1113.36	860
20 ธ.ค. 56		12	00.00	-	-	-	962.85	884.51
20 ธ.ค. 56		16	04.00	-	-	-	627.25	986
20 ธ.ค. 56		20	08.00	-	-	-	442.17	985.71
20 ธ.ค. 56		24	12.00	-	-	-	271.32	980.95
20 ธ.ค. 56		29	17.00	-	-	-	238.78	930.95
20 ธ.ค. 56		34	22.00	-	-	-	223.73	912.5
21 ธ.ค. 56		39	03.00	-	-	-	198.10	897.62
21 ธ.ค. 56		48	12.00	7.25	4.21	23.7	189.97	837.92
21 ธ.ค. 56	75	0	12.00	7.21	3.93	23.2	1537.63	726.19
22 ธ.ค. 56		24	12.00	-	-	-	347.80	1212.14
23 ธ.ค. 56		48	12.00	7.52	4.27	23.4	286.78	1043.75
23 ธ.ค. 56	76	0	12.00	7.34	2.79	23.7	1539.32	832.96
24 ธ.ค. 56		24	12.00	-	-	-	308.81	1280.072
25 ธ.ค. 56		48	12.00	4.28	4.76	23.3	174.92	1160.87
25 ธ.ค. 56	77	0	12.00	7.32	3.25	23.1	1507.12	912.26
26 ธ.ค. 56		24	12.00	-	-	-	381.69	1309.82
27 ธ.ค. 56		48	12.00	7.3	4.92	23.2	215.59	1211.43
27 ธ.ค. 56	78	0	12.00	7.31	3.39	23.7	1527.12	859.65
28 ธ.ค. 56		24	12.00	-	-	-	367.80	1279.35
29 ธ.ค. 56		48	12.00	6.92	3.82	23.3	286.44	1225.91
29 ธ.ค. 56	79	0	12.00	7.11	3.03	23.8	1586.44	840.52
30 ธ.ค. 56		24	12.00	-	-	-	347.46	1404.17
31 ธ.ค. 56		48	12.00	7.28	3.87	23.1	274.58	1285.13
31 ธ.ค. 56	80	0	12.00	7.23	3.78	23.3	1555.93	863.043
1 ม.ค. 57		24	12.00	-	-	-	386.44	1471.74
2 ม.ค. 57		48	12.00	7.41	4.32	23.5	254.24	1203.92

ตารางที่ ง1 ค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย อุณหภูมิ ความเข้มข้นซีโอดี และ ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	พีเอช	ออกซิเจนละลาย (มก./ล.)	อุณหภูมิ (°ซ)	ซีโอดี (มก./ล.)	ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.)
2 ม.ค. 57	81	0	12.00	7.32	3.2	23.3	1498.10	885.42
2 ม.ค. 57		4	16.00	-	-	-	1206.92	1145.83
2 ม.ค. 57		8	20.00	-	-	-	976.27	1254.29
3 ม.ค. 57		12	00.00	-	-	-	787.93	1277.45
3 ม.ค. 57		16	04.00	-	-	-	617.085	1314.76
3 ม.ค. 57		20	08.00	-	-	-	444.20	1366.67
3 ม.ค. 57		24	12.00	-	-	-	284.75	1434.78
3 ม.ค. 57		29	17.00	-	-	-	244.068	1341.67
3 ม.ค. 57		34	22.00	-	-	-	230.64	1249.82
4 ม.ค. 57		39	03.00	-	-	-	230.64	1264.17
4 ม.ค. 57		44	08.00	-	-	-	230.64	1270.83
4 ม.ค. 57		48	12.00	7.31	5.12	23.8	230.64	1255.80
4 ม.ค. 57		82	0	12.00	7.34	3.36	23.7	1598.31
5 ม.ค. 57	24		12.00	-	-	-	508.47	1355.43
6 ม.ค. 57	48		12.00	7.38	4.18	23.4	345.76	1239.13
6 ม.ค. 57	83	0	12.00	7.01	3.28	23.3	1527.12	800
7 ม.ค. 57		24	12.00	-	-	-	264.41	1423.74
8 ม.ค. 57		48	12.00	7.26	4.98	23	162.71	1270.20
8 ม.ค. 57	84	0	12.00	7.36	3.02	23.5	1598.31	856.25
9 ม.ค. 57		24	12.00	-	-	-	376.27	1224
10 ม.ค. 57		48	12.00	7.63	4.27	23.5	305.085	1192.30
10 ม.ค. 57	85	0	12.00	7.03	3.82	23.4	1606.78	772.92
11 ม.ค. 57		24	12.00	-	-	-	294.92	1216.67
12 ม.ค. 57		48	12.00	7.2	5.28	23.9	203.39	1177.083
12 ม.ค. 57	86	0	12.00	7.1	2.92	23.9	1559.32	854.17
13 ม.ค. 57		24	12.00	-	-	-	244.068	1216.67
14 ม.ค. 57		48	12.00	7.34	4.73	23.4	203.39	1212.5
14 ม.ค. 57	87	0	12.00	7.27	3.74	23.6	1535.59	822.083
15 ม.ค. 57		24	12.00	-	-	-	294.92	1302.083
16 ม.ค. 57		48	12.00	7.13	5.21	23.4	183.051	1211.25

ตารางที่ ๑1 ค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย อุณหภูมิ ความเข้มข้นซีโอดี และ ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	พีเอช	ออกซิเจนละลาย (มก./ล.)	อุณหภูมิ (°ซ)	ซีโอดี (มก./ล.)	ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.)
16 ม.ค. 57	88	0	12.00	6.83	3.31	23.2	1504.81	862.5
17 ม.ค. 57		24	12.00	-	-	-	540.75	1201.86
18 ม.ค. 57		48	12.00	7.38	4.62	23.4	423.46	1188.67
18 ม.ค. 57	89	0	12.00	7.01	3.63	23.3	1555.66	858.25
19 ม.ค. 57		24	12.00	-	-	-	433.63	1408.33
20 ม.ค. 57		48	12.00	7.32	4.14	23.2	250.58	1356.25
20 ม.ค. 57	90	0	12.00	7.17	3.28	23.9	1557.36	1050
21 ม.ค. 57		24	12.00	-	-	-	596.34	1476.33
22 ม.ค. 57		48	12.00	7.2	3.91	23.2	413.29	1513.75
22 ม.ค. 57	91	0	12.00	7.17	3.38	23.3	1596.34	1082.42
23 ม.ค. 57		24	12.00	-	-	-	496.35	1537.96
24 ม.ค. 57		48	12.00	7.28	4.93	23.3	413.29	1529.17
24 ม.ค. 57	92	0	12.00	7.26	3.72	23.7	1594.64	1087.42
25 ม.ค. 57		24	12.00	-	-	-	352.27	1445.58
26 ม.ค. 57		48	12.00	7.19	4.96	23.8	311.59	1572.92
26 ม.ค. 57	93	0	12.00	7.21	3.04	23.8	1613.29	1106.5
27 ม.ค. 57		24	12.00	-	-	-	358.20	1484.74
28 ม.ค. 57		48	12.00	7.38	4.18	23.2	270.92	1470.83
28 ม.ค. 57	94	0	12.00	7.16	2.29	23.6	1552.27	1050
29 ม.ค. 57		24	12.00	-	-	-	311.59	1416
30 ม.ค. 57		48	12.00	7.37	4.17	24.3	250.58	1463.58
30 ม.ค. 57	95	0	12.00	7.1	3.27	25.3	1590.17	1000
31 ม.ค. 57		24	12.00	-	-	-	448.57	1484.79
1 ก.พ. 57		48	12.00	7.29	5.02	25.3	307.12	1456.25
1 ก.พ. 57	96	0	12.00	7.15	3.59	25.9	1558.49	943.57
2 ก.พ. 57		24	12.00	-	-	-	330.76	1357.24
3 ก.พ. 57		48	12.00	7.14	4.39	25.7	265.74	1554.34
3 ก.พ. 57	97	0	12.00	7.26	3.84	26.3	1600.34	1004.44
4 ก.พ. 57		24	12.00	-	-	-	357.97	1613
5 ก.พ. 57		48	12.00	7.06	5.62	26.9	296.95	1504.17
5 ก.พ. 57	98	0	12.00	7.3	2.83	27.2	1580	1264.58
6 ก.พ. 57		24	12.00	-	-	-	337.63	1424.25
7 ก.พ. 57		48	12.00	7.25	4.71	27.2	256.27	1620.83

ตารางที่ ง1 ค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย อุณหภูมิ ความเข้มข้นซีโอดี และ ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	พีเอช	ออกซิเจนละลาย (มก./ล.)	อุณหภูมิ (°ซ)	ซีโอดี (มก./ล.)	ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.)
7 ก.พ. 57	99	0	12.00	7.23	3.47	27.3	1580	1195.83
8 ก.พ. 57		24	12.00	-	-	-	439.32	1683.33
9 ก.พ. 57		48	12.00	7.19	4.84	27.8	266.44	1679.17
9 ก.พ. 57	100	0	12.00	7.2	3.54	28.3	1502.034	1212.83
10 ก.พ. 57		24	12.00	-	-	-	327.46	1620.83
11 ก.พ. 57		48	12.00	7.39	4.92	28.4	225.76	1522

ตารางที่ ง2 ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ (MLVSS) และ ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ต่อค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLVSS/MLSS) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ (มก./ล.)	ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ต่อค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLVSS/MLSS)
2 ก.ย. 56	1	0	2791.97	0.930
2 ก.ย. 56		12	3653.45	0.908
3 ก.ย. 56		24	3584.45	0.920
6 ก.ย. 56	5	0	4119.39	0.779
7 ก.ย. 56		24	4424.21	0.787
8 ก.ย. 56	7	0	3842.18	0.682
8 ก.ย. 56		12	4384.31	0.697
9 ก.ย. 56		24	3963.37	0.704
11 ก.ย. 56	10	0	4082.86	0.721
12 ก.ย. 56		24	4261.026	0.652
15 ก.ย. 56	14	0	4541.57	0.703
15 ก.ย. 56		12	5211.24	0.682
16 ก.ย. 56		24	5199.37	0.699
16 ก.ย. 56	15	0	4797.49	0.707
17 ก.ย. 56		24	5714.57	0.720

ตารางที่ ๖2 ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ (MLVSS) และ ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ต่อค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLVSS/MLSS) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ (มก./ล.)	ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ต่อค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLVSS/MLSS)
21 ก.ย. 56	20	0	3527.83	0.694
21 ก.ย. 56		12	4384.97	0.693
22 ก.ย. 56		24	4011.43	0.708
26 ก.ย. 56	25	0	2957.36	0.718
27 ก.ย. 56		24	3074.42	0.707
28 ก.ย. 56	27	0	3026.22	0.807
28 ก.ย. 56		12	3530.57	0.809
29 ก.ย. 56		24	2965.76	0.770
1 ต.ค. 56	30	0	2445.73	0.855
2 ต.ค. 56		24	2906.21	0.866
5 ต.ค. 56	34	0	2898.44	0.904
5 ต.ค. 56		3	3023.18	0.900
5 ต.ค. 56		6	3041.27	0.901
5 ต.ค. 56		9	3231.99	0.904
5 ต.ค. 56		12	3387.2	0.887
6 ต.ค. 56		15	3432.52	0.892
6 ต.ค. 56		18	3454.5	0.897
6 ต.ค. 56		21	3601	0.905
6 ต.ค. 56	35	24	3516.17	0.909
6 ต.ค. 56		0	3379.57	0.873
7 ต.ค. 56		24	3735.18	0.899
12 ต.ค. 56	40	0	2520.18	0.887
13 ต.ค. 56		24	2643.64	0.921
14 ต.ค. 56		48	2410.46	0.898
22 ต.ค. 56	45	0	2348.019	0.938
23 ต.ค. 56		24	2705.93	0.940
24 ต.ค. 56		48	2825.69	0.951
1 พ.ย. 56	50	0	1669.16	0.980
2 พ.ย. 56		24	1972.60	0.956
3 พ.ย. 56		48	2420.91	0.955

ตารางที่ 2 ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ (MLVSS) และ ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ต่อค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLVSS/MLSS) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ (มก./ล.)	ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ต่อค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLVSS/MLSS)
11 พ.ย. 56	55	0	755.048	0.959
12 พ.ย. 56		24	1229.69	0.935
13 พ.ย. 56		48	1536.86	0.935
21 พ.ย. 56	60	0	351.42	0.922
22 พ.ย. 56		24	576.34	0.937
23 พ.ย. 56		48	686.86	0.940
23 พ.ย. 56	61	0	317.60	0.895
24 พ.ย. 56		24	608.71	0.945
25 พ.ย. 56		48	702.20	0.983
1 ธ.ค. 56	65	0	412.10	0.984
2 ธ.ค. 56		24	699.30	0.997
3 ธ.ค. 56		48	782.61	1
5 ธ.ค. 56	67	0	453.23	0.993
6 ธ.ค. 56		24	709.18	1
7 ธ.ค. 56		48	747.44	0.979
11 ธ.ค. 56	70	0	540.48	0.972
12 ธ.ค. 56		24	977.52	0.980
13 ธ.ค. 56		48	996	0.926
19 ธ.ค. 56	74	0	700.34	0.964
20 ธ.ค. 56		24	967.92	0.987
21 ธ.ค. 56		48	766.44	0.915
21 ธ.ค. 56	75	0	710.60	0.979
22 ธ.ค. 56		24	1151.019	0.950
23 ธ.ค. 56		48	967.40	0.927
31 ธ.ค. 56	80	0	820.078	0.950
1 ม.ค. 57		24	1392.98	0.946
2 ม.ค. 57		48	1147.70	0.953
2 ม.ค. 57	81	0	843.75	0.953
3 ม.ค. 57		24	1399.68	0.976
4 ม.ค. 57		48	1217.19	0.969

ตารางที่ ง2 ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ (MLVSS) และ ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ต่อค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLVSS/MLSS) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ (มก./ล.)	ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ต่อค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLVSS/MLSS)
10 ม.ค. 57	85	0	744.50	0.963
11 ม.ค. 57		24	1177.38	0.968
12 ม.ค. 57		48	1050.35	0.892
20 ม.ค. 57	90	0	996.62	0.949
21 ม.ค. 57		24	1402.42	0.950
22 ม.ค. 57		48	1426.30	0.942
30 ม.ค. 57	95	0	948.96	0.949
31 ม.ค. 57		24	1389.34	0.936
1 ก.พ. 57		48	1355.14	0.931
9 ก.พ. 57	100	0	1104.24	0.910
10 ก.พ. 57		24	1469.54	0.907
11 ก.พ. 57		48	1410.73	0.927

ตารางที่ ง3 ค่าปริมาตรตะกอนที่ 30 นาที (SV30) และค่าดัชนีปริมาตรตะกอน (SVI) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	ปริมาตรตะกอนที่ 30 นาที (มล./ล.)	ดัชนีปริมาตรตะกอน (มล./ก.)
3 ก.ย. 56	1	24	990	253.99
4 ก.ย. 56	2	24	990	213.13
5 ก.ย. 56	3	24	990	199
6 ก.ย. 56	4	24	990	181.32
7 ก.ย. 56	5	24	990	176.16
8 ก.ย. 56	6	24	990	169.23
10 ก.ย. 56	8	24	990	182.66
11 ก.ย. 56	9	24	990	167.80
12 ก.ย. 56	10	24	990	151.38
13 ก.ย. 56	11	24	990	151.38
14 ก.ย. 56	12	24	990	150.23
15 ก.ย. 56	13	24	990	144.31
17 ก.ย. 56	15	24	990	124.69

ตารางที่ 3 ค่าปริมาตรตะกอนที่ 30 นาที (SV30) และค่าดัชนีปริมาตรตะกอน (SVI) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	ปริมาตรตะกอนที่ 30 นาที (มล./ล.)	ดัชนีปริมาตรตะกอน (มล./ก.)
18 ก.ย. 56	16	24	990	139.24
19 ก.ย. 56	17	24	990	160.71
20 ก.ย. 56	18	24	990	153.49
21 ก.ย. 56	19	24	990	149.55
23 ก.ย. 56	21	24	990	183.33
24 ก.ย. 56	22	24	950	176.58
25 ก.ย. 56	23	24	800	154.14
26 ก.ย. 56	24	24	750	162.69
27 ก.ย. 56	25	24	750	172.41
28 ก.ย. 56	26	24	700	148.94
30 ก.ย. 56	28	24	650	155.88
1 ต.ค. 56	29	24	700	165.88
2 ต.ค. 56	30	24	350	104.32
3 ต.ค. 56	31	24	200	62.016
4 ต.ค. 56	32	24	200	54.35
5 ต.ค. 56	33	24	175	46.67
7 ต.ค. 56	35	24	150	36.10
8 ต.ค. 56	36	24	150	36.81
9 ต.ค. 56	37	24	140	38.73
10 ต.ค. 56	38	24	125	37.94
12 ต.ค. 56	39	48	140	50.66
16 ต.ค. 56	41	48	125	41.12
18 ต.ค. 56	42	48	140	53.081
20 ต.ค. 56	43	48	150	54.89
22 ต.ค. 56	44	48	150	50.34
24 ต.ค. 56	45	48	160	53.87
26 ต.ค. 56	46	48	175	48.71
28 ต.ค. 56	47	48	160	53.42
30 ต.ค. 56	48	48	150	58.083
1 พ.ย. 56	49	48	150	57.36
3 พ.ย. 56	50	48	150	59.19
5 พ.ย. 56	51	48	150	64.87
7 พ.ย. 56	52	48	170	82.32
9 พ.ย. 56	53	48	140	79.21
11 พ.ย. 56	54	48	125	65.86

ตารางที่ 3 ค่าปริมาตรตะกอนที่ 30 นาที (SV30) และค่าดัชนีปริมาตรตะกอน (SVI) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	ปริมาตรตะกอนที่ 30 นาที (มล./ล.)	ดัชนีปริมาตรตะกอน (มล./ก.)
13 พ.ย. 56	55	48	120	73.016
15 พ.ย. 56	56	48	130	160.14
17 พ.ย. 56	57	48	120	163.96
19 พ.ย. 56	58	48	120	173.91
21 พ.ย. 56	59	48	100	157.89
23 พ.ย. 56	60	48	80	109.45
27 พ.ย. 56	62	48	100	154.16
29 พ.ย. 56	63	48	120	171.99
1 ธ.ค. 56	64	48	120	145.99
3 ธ.ค. 56	65	48	140	178.89
5 ธ.ค. 56	66	48	160	196.35
9 ธ.ค. 56	68	48	200	235.87
11 ธ.ค. 56	69	48	200	215.13
13 ธ.ค. 56	70	48	200	185.87
15 ธ.ค. 56	71	48	200	186.67
17 ธ.ค. 56	72	48	200	186.094
19 ธ.ค. 56	73	48	200	205.34
23 ธ.ค. 56	75	48	200	191.62
25 ธ.ค. 56	76	48	250	215.36
27 ธ.ค. 56	77	48	300	247.64
29 ธ.ค. 56	78	48	300	244.72
31 ธ.ค. 56	79	48	300	233.44
2 ม.ค. 57	80	48	300	249.19
6 ม.ค. 57	82	48	300	242.11
8 ม.ค. 57	83	48	200	157.46
10 ม.ค. 57	84	48	150	125.81
12 ม.ค. 57	85	48	110	93.45
14 ม.ค. 57	86	48	85	70.10
16 ม.ค. 57	87	48	83	68.52
18 ม.ค. 57	88	48	72	60.57
20 ม.ค. 57	89	48	78	57.51
22 ม.ค. 57	90	48	66	43.60
24 ม.ค. 57	91	48	68	44.47
26 ม.ค. 57	92	48	68	43.23
28 ม.ค. 57	93	48	68	46.23

ตารางที่ 3 ค่าปริมาตรตะกอนที่ 30 นาที (SV30) และค่าดัชนีปริมาตรตะกอน (SVI) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	ปริมาตรตะกอนที่ 30 นาที (มล./ล.)	ดัชนีปริมาตรตะกอน (มล./ก.)
30 ม.ค. 57	94	48	86	58.76
1 ก.พ. 57	95	48	70	48.069
3 ก.พ. 57	96	48	80	51.47
5 ก.พ. 57	97	48	100	66.48
7 ก.พ. 57	98	48	120	74.036
9 ก.พ. 57	99	48	170	101.24
11 ก.พ. 57	100	48	200	131.41

ตารางที่ 4 ปริมาณพีเอชเอ (%gPHA/gMLSS) และสัดส่วนของพีเอชเอที่ผลิตได้จากตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	ปริมาณพีเอชเอ (%gPHA/gMLSS)	ปริมาณพีเอชบี (%gPHA/gMLSS)	ปริมาณพีเอชวี (%gPHA/gMLSS)	สัดส่วนพีเอชบี (%mol)	สัดส่วนพีเอชวี (%mol)
2 ก.ย. 56	1	0	10.00	3.94	3.50	0.45	88.69	11.31
2 ก.ย. 56		3	13.00	12.49	12.11	0.38	96.95	3.055
2 ก.ย. 56		6	16.00	15.78	15.36	0.42	97.37	2.63
2 ก.ย. 56		9	19.00	15.34	14.91	0.43	97.22	2.78
2 ก.ย. 56		12	22.00	10.56	9.76	0.81	92.36	7.64
3 ก.ย. 56		15	01.00	7.029	6.79	0.24	96.57	3.43
3 ก.ย. 56		18	04.00	5.52	5.35	0.17	96.95	3.051
3 ก.ย. 56		21	07.00	5.28	5.08	0.20	96.19	3.81
3 ก.ย. 56		24	10.00	5.21	5.01	0.21	95.99	4.01
8 ก.ย. 56		7	0	10.00	4.31	3.50	0.82	81.06
8 ก.ย. 56	3		13.00	7.54	7.26	0.28	96.31	3.69
8 ก.ย. 56	6		16.00	8.24	7.85	0.39	95.24	4.76
8 ก.ย. 56	9		19.00	8.30	7.97	0.33	96.03	3.97
8 ก.ย. 56	12		22.00	4.75	4.46	0.29	93.92	6.08
9 ก.ย. 56	15		01.00	3.48	3.23	0.25	92.76	7.24
9 ก.ย. 56	18		04.00	3.076	2.88	0.19	93.74	6.26
9 ก.ย. 56	21		07.00	3.00	2.78	0.22	92.68	7.32
9 ก.ย. 56	24		10.00	2.51	2.33	0.18	92.85	7.15

ตารางที่ 4 ปริมาณพีเอชเอ (%gPHA/gMLSS) และสัดส่วนของพีเอชเอที่ผลิตได้จากตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	ปริมาณพีเอชเอ (%gPHA/gMLSS)	ปริมาณพีเอชบี (%gPHA/gMLSS)	ปริมาณพีเอชวี (%gPHA/gMLSS)	สัดส่วนพีเอชบี (%mol)	สัดส่วนพีเอชวี (%mol)
15 ก.ย. 56	14	0	10.00	2.26	2.17	0.093	95.90	4.10
15 ก.ย. 56		3	13.00	3.87	3.75	0.12	96.81	3.19
15 ก.ย. 56		6	16.00	4.79	4.61	0.17	96.39	3.61
15 ก.ย. 56		9	19.00	4.88	4.68	0.20	95.95	4.05
15 ก.ย. 56		12	22.00	5.00	4.82	0.18	96.43	3.57
16 ก.ย. 56		15	01.00	2.32	2.22	0.10	95.54	4.46
16 ก.ย. 56		18	04.00	2.12	2.018	0.098	95.35	4.65
16 ก.ย. 56		21	07.00	1.97	1.84	0.13	93.36	6.64
16 ก.ย. 56		24	10.00	1.60	1.51	0.085	94.68	5.32
21 ก.ย. 56		20	0	10.30	7.33	6.97	0.36	95.07
21 ก.ย. 56	3		13.30	7.80	7.44	0.36	95.39	4.61
21 ก.ย. 56	6		16.30	8.60	8.25	0.35	95.95	4.05
21 ก.ย. 56	9		19.30	9.042	8.69	0.35	96.13	3.87
21 ก.ย. 56	12		22.30	8.67	8.30	0.37	95.70	4.30
22 ก.ย. 56	15		01.30	6.58	6.37	0.21	96.80	3.20
22 ก.ย. 56	18		04.30	4.66	4.46	0.20	95.73	4.27
22 ก.ย. 56	21		07.30	4.24	4.11	0.13	96.91	3.09
22 ก.ย. 56	24		10.30	3.94	3.82	0.12	97.03	2.97
28 ก.ย. 56	27		0	10.30	6.94	6.73	0.21	96.97
28 ก.ย. 56		3	13.30	9.94	9.66	0.28	97.22	2.78
28 ก.ย. 56		6	16.30	12.34	12.016	0.33	97.36	2.64
28 ก.ย. 56		9	19.30	14.15	13.87	0.29	97.98	2.02
28 ก.ย. 56		12	22.30	16.39	16.10	0.29	98.21	1.79
29 ก.ย. 56		15	01.30	15.77	15.50	0.27	98.28	1.72
29 ก.ย. 56		18	04.30	12.49	12.27	0.22	98.25	1.75
29 ก.ย. 56		21	07.30	11.76	11.54	0.21	98.20	1.80
29 ก.ย. 56		24	10.30	11.00	10.81	0.19	98.30	1.70

ตารางที่ 4 ปริมาณพีเอชเอ (%gPHA/gMLSS) และสัดส่วนของพีเอชเอที่ผลิตได้จากตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	ปริมาณพีเอชเอ (%gPHA/gMLSS)	ปริมาณพีเอชบี (%gPHA/gMLSS)	ปริมาณพีเอชวี (%gPHA/gMLSS)	สัดส่วนพีเอชบี (%mol)	สัดส่วนพีเอชวี (%mol)
5 ต.ค. 56	34	0	11.00	37.98	37.63	0.35	99.08	0.92
5 ต.ค. 56		3	14.00	38.092	37.84	0.25	99.34	0.66
5 ต.ค. 56		6	17.00	40.28	40.029	0.25	99.37	0.63
5 ต.ค. 56		9	20.00	40.95	40.70	0.25	99.38	0.62
5 ต.ค. 56		12	23.00	43.053	42.77	0.29	99.33	0.67
6 ต.ค. 56		15	02.00	43.086	42.80	0.29	99.34	0.66
6 ต.ค. 56		18	05.00	44.39	44.11	0.28	99.37	0.63
6 ต.ค. 56		21	08.00	44.78	44.52	0.26	99.42	0.58
6 ต.ค. 56		24	11.00	42.050	41.81	0.24	99.43	0.57
12 ต.ค. 56		40	0	11.00	37.82	37.67	0.15	99.60
12 ต.ค. 56	4		15.00	37.73	37.58	0.15	99.60	0.40
12 ต.ค. 56	8		19.00	37.72	37.60	0.12	99.68	0.32
12 ต.ค. 56	12		23.00	37.61	37.46	0.15	99.60	0.40
13 ต.ค. 56	16		03.00	37.10	36.98	0.12	99.67	0.33
13 ต.ค. 56	20		07.00	34.57	34.45	0.12	99.64	0.36
13 ต.ค. 56	24		11.00	34.93	34.82	0.11	99.70	0.30
13 ต.ค. 56	28		15.00	34.15	34.026	0.12	99.63	0.37
13 ต.ค. 56	32		19.00	30.23	30.12	0.11	99.65	0.35
14 ต.ค. 56	48		11.00	28.67	28.59	0.083	99.71	0.29
23 พ.ย. 56	61	0	12.00	2.57	2.57	0	100	0
23 พ.ย. 56		4	16.00	2.64	2.64	0	100	0
23 พ.ย. 56		8	20.00	2.69	2.69	0	100	0
24 พ.ย. 56		12	00.00	2.55	2.55	0	100	0
24 พ.ย. 56		16	04.00	2.85	2.85	0	100	0
24 พ.ย. 56		20	08.00	3.31	3.31	0	100	0
24 พ.ย. 56		24	12.00	3.96	3.96	0	100	0
24 พ.ย. 56		28	16.00	4.78	4.78	0	100	0
24 พ.ย. 56		32	20.00	4.83	4.83	0	100	0
25 พ.ย. 56		36	0.00	5.036	5.036	0	100	0
25 พ.ย. 56		48	12.00	6.22	6.22	0	100	0

ตารางที่ 4 ปริมาณพีเอชเอ (%gPHA/gMLSS) และสัดส่วนของพีเอชเอที่ผลิตได้จากตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	ปริมาณพีเอชเอ (%gPHA/gMLSS)	ปริมาณพีเอชบี (%gPHA/gMLSS)	ปริมาณพีเอชวี (%gPHA/gMLSS)	สัดส่วนพีเอชบี (%mol)	สัดส่วนพีเอชวี (%mol)
5 ธ.ค. 56	67	0	12.00	2.31	2.31	0	100	0
5 ธ.ค. 56		4	16.00	2.82	2.82	0	100	0
5 ธ.ค. 56		8	20.00	3.076	3.076	0	100	0
6 ธ.ค. 56		12	00.00	4.33	4.33	0	100	0
6 ธ.ค. 56		16	04.00	4.51	4.51	0	100	0
6 ธ.ค. 56		20	08.00	5.48	5.48	0	100	0
6 ธ.ค. 56		24	12.00	4.079	4.079	0	100	0
6 ธ.ค. 56		29	17.00	2.83	2.83	0	100	0
6 ธ.ค. 56		34	22.00	2.52	2.52	0	100	0
7 ธ.ค. 56		39	03.00	1.98	1.98	0	100	0
7 ธ.ค. 56		48	12.00	1.97	1.97	0	100	0
19 ธ.ค. 56		74	0	12.00	0.80	0.80	0	100
19 ธ.ค. 56	4		16.00	1.41	1.41	0	100	0
19 ธ.ค. 56	8		20.00	1.81	1.81	0	100	0
20 ธ.ค. 56	12		00.00	2.11	2.11	0	100	0
20 ธ.ค. 56	16		04.00	2.14	2.14	0	100	0
20 ธ.ค. 56	20		08.00	2.13	2.13	0	100	0
20 ธ.ค. 56	24		12.00	2.60	2.60	0	100	0
20 ธ.ค. 56	29		17.00	1.83	1.83	0	100	0
20 ธ.ค. 56	34		22.00	1.45	1.45	0	100	0
21 ธ.ค. 56	39		03.00	0.92	0.92	0	100	0
21 ธ.ค. 56	48		12.00	0.94	0.94	0	100	0
2 ม.ค. 57	81		0	12.00	1.071	1.071	0	100
2 ม.ค. 57		4	16.00	1.69	1.69	0	100	0
2 ม.ค. 57		8	20.00	1.86	1.86	0	100	0
3 ม.ค. 57		12	00.00	2.34	2.34	0	100	0
3 ม.ค. 57		16	04.00	2.65	2.65	0	100	0
3 ม.ค. 57		20	08.00	3.29	3.29	0	100	0
3 ม.ค. 57		24	12.00	3.52	3.52	0	100	0
3 ม.ค. 57		29	17.00	2.67	2.67	0	100	0
3 ม.ค. 57		34	22.00	2.26	2.26	0	100	0
4 ม.ค. 57		39	03.00	1.73	1.73	0	100	0

ตารางที่ 4 ปริมาณพืเอชเอ (%gPHA/gMLSS) และสัดส่วนของพืเอชเอที่ผลิตได้จากตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	ปริมาณพืเอชเอ (%gPHA/gMLSS)	ปริมาณพืเอชบี (%gPHA/gMLSS)	ปริมาณพืเอชวี (%gPHA/gMLSS)	สัดส่วนพืเอชบี (%mol)	สัดส่วนพืเอชวี (%mol)
4 ม.ค. 57	81	44	08.00	1.37	1.37	0	100	0
4 ม.ค. 57		48	12.00	1.16	1.16	0	100	0

ตารางที่ 5 ปริมาณพืเอชเอ (%gPHA/gMLVSS) สูงสุดในแต่ละรอบของการเดินระบบที่ผลิตได้จากตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	ปริมาณพืเอชเอ (%gPHA/gMLVSS)	ปริมาณพืเอชบี (%gPHB/gMLVSS)	ปริมาณพืเอชวี (%gPHV/gMLVSS)
2 ก.ย. 56	1	6	16.00	17.16	16.71	0.45
8 ก.ย. 56	7	9	19.00	11.95	11.48	0.47
15 ก.ย. 56	14	12	22.00	7.19	6.94	0.26
21 ก.ย. 56	20	9	19.30	12.95	12.45	0.50
28 ก.ย. 56	27	12	22.30	20.61	20.24	0.37
6 ต.ค. 56	34	21	08.00	49.50	49.21	0.29
12 ต.ค. 56	40	0	11.00	41.93	41.76	0.17
25 พ.ย. 56	61	48	12.00	6.61	6.61	0
6 ธ.ค. 56	67	20	08.00	5.54	5.54	0
20 ธ.ค. 56	74	24	12.00	2.72	2.72	0
3 ม.ค. 57	81	24	12.00	3.64	3.64	0

2. ผลการศึกษาการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมฟิเอชเอด้วยการใช้โพรฟิไอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน

ตารางที่ 6 ค่าฟิเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย อุณหภูมิ ความเข้มข้นซีโอติ และ ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยโพรฟิไอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	ฟิเอช	ออกซิเจนละลาย (มก./ล.)	อุณหภูมิ (°ซ)	ซีโอติ (มก./ล.)	ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.)
2 ก.ย. 56	1	0	10.00	7.62	2.03	30.9	3001.95	3084.44
2 ก.ย. 56		3	13.00	7.38	2.24	31.1	1779.075	3436.67
2 ก.ย. 56		6	16.00	7.31	2.93	32.4	455.47	3982.22
2 ก.ย. 56		9	19.00	7.37	5.13	30.7	66.18	4268.89
2 ก.ย. 56		12	22.00	7.3	5.12	29.4	54.50	4206.67
3 ก.ย. 56		15	01.00	7.2	5.86	28.8	46.72	4233.33
3 ก.ย. 56		18	04.00	7.33	5.74	28.6	27.25	4224.44
3 ก.ย. 56		21	07.00	7.31	5.81	30.2	27.25	4175.56
3 ก.ย. 56		24	10.00	7.04	5.87	30.5	27.25	4075.56
3 ก.ย. 56		2	0	10.00	7.35	1.99	30.2	2974.45
4 ก.ย. 56	24		10.00	7.06	4.83	31.8	85.64	4862.5
4 ก.ย. 56	3	0	10.00	7.2	1.32	31.7	3035.52	4455
5 ก.ย. 56		24	10.00	7.37	4.28	30.6	66.18	5125
5 ก.ย. 56	4	0	10.00	7.26	2.69	30.2	2951.14	4610
6 ก.ย. 56		24	10.00	7.26	3.98	30.1	259.66	5780
6 ก.ย. 56	5	0	10.00	7.36	2.47	30.2	2941.85	4935
7 ก.ย. 56		24	10.00	7.19	4.27	31.2	220.73	6013.33
7 ก.ย. 56	6	0	10.00	7.31	1.61	31.2	2995.18	5440
8 ก.ย. 56		24	10.00	7.71	3.17	30.3	298.59	6028.33
8 ก.ย. 56	7	0	10.00	7.06	2.26	30.7	2906.86	5517.5
8 ก.ย. 56		3	13.00	7.2	2.49	30.8	1985.40	6033.33
8 ก.ย. 56		6	16.00	7.25	2.63	30.8	1057.71	6136.67
8 ก.ย. 56		9	19.00	7.1	3.29	31.3	493.24	6420
8 ก.ย. 56		12	22.00	7.39	3.42	30.1	428.22	6570
9 ก.ย. 56		15	01.00	7.14	3.81	29.7	337.52	6620
9 ก.ย. 56		18	04.00	7.28	3.6	28.5	337.52	6550
9 ก.ย. 56		21	07.00	7.23	4.28	30.1	337.52	6360
9 ก.ย. 56		24	10.00	7.26	4.02	31.7	337.52	6175
9 ก.ย. 56		8	0	10.00	7.38	1.38	31.2	3066.52
10 ก.ย. 56	24		10.00	7.23	3.72	31.6	493.24	6188.75

ตารางที่ ๖ ค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย อุณหภูมิ ความเข้มข้นซีโอดี และ ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยโพรฟิโอบีโตนเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	พีเอช	ออกซิเจนละลาย (มก./ล.)	อุณหภูมิ (°ซ)	ซีโอดี (มก./ล.)	ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.)
10 ก.ย. 56	9	0	10.00	7.09	2.48	30.2	3020.97	5670
11 ก.ย. 56		24	10.00	7.41	4.2	30.9	351.53	6310
11 ก.ย. 56	10	0	10.00	7.27	2.88	30.1	3011.82	5920
12 ก.ย. 56		24	10.00	7.18	3.36	32.1	518.93	6810
12 ก.ย. 56	11	0	10.00	7.12	1.94	31.5	3049.34	6100
13 ก.ย. 56		24	10.00	7.25	4.8	30.7	585.11	6840
13 ก.ย. 56	12	0	10.00	7.35	2.29	30.4	3048.18	5930
14 ก.ย. 56		24	10.00	7.27	3.28	30.8	350.36	6780
14 ก.ย. 56	13	0	10.00	7.21	1.83	30.7	3087.10	6160
15 ก.ย. 56		24	10.00	7.38	4.59	30.2	452.75	6780
15 ก.ย. 56	14	0	10.00	7.04	2.08	31.8	2829.002	6168.75
15 ก.ย. 56		3	13.00	7.3	2.35	31.4	1894.7	6918.75
15 ก.ย. 56		6	16.00	7.28	2.49	30.8	1038.25	7256.25
15 ก.ย. 56		9	19.00	7.19	2.62	31.2	298.59	7518.75
15 ก.ย. 56		12	22.00	7.14	2.86	30.8	259.66	7481.25
16 ก.ย. 56		15	01.00	7.35	2.84	30.2	259.66	7343.75
16 ก.ย. 56		18	04.00	7.2	3.05	30.4	220.73	7257.5
16 ก.ย. 56		21	07.00	7.29	3.29	29.4	220.93	7150
16 ก.ย. 56		24	10.00	7.2	3.42	31.5	220.93	7038
16 ก.ย. 56	15	0	10.00	7.36	2.09	30.8	3009.25	6600
17 ก.ย. 56		24	10.30	7.37	3.82	30.7	517.76	7390
17 ก.ย. 56	16	0	10.30	7.29	1.58	31.3	3087.10	6160
18 ก.ย. 56		24	10.30	7.31	4.28	31.8	335.96	7100
18 ก.ย. 56	17	0	10.30	7.11	1.21	32.6	2970.32	6370
19 ก.ย. 56		24	10.30	7.29	4.27	30.4	350.36	6810
19 ก.ย. 56	18	0	10.30	7.32	2.93	30.3	2963.99	6050
20 ก.ย. 56		24	10.30	7.15	3.4	30.1	413.82	6670
20 ก.ย. 56	19	0	10.30	7.19	2.5	30.6	3019.71	5790
21 ก.ย. 56		24	10.30	7.36	4.02	32.5	389.29	6730

ตารางที่ ๖ ค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย อุณหภูมิ ความเข้มข้นซีโอดี และ ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยโพรฟิโอบีโอบีโอเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	พีเอช	ออกซิเจนละลาย (มก./ล.)	อุณหภูมิ (°ซ)	ซีโอดี (มก./ล.)	ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.)
21 ก.ย. 56	20	0	10.30	7.11	1.5	31.3	2989.78	6318.75
21 ก.ย. 56		3	13.30	7.29	1.96	30.8	1997.08	6568.75
21 ก.ย. 56		6	16.30	7.3	2.24	31.3	973.24	6906.25
21 ก.ย. 56		9	19.30	7.15	2.49	31.6	428.22	7000
21 ก.ย. 56		12	22.30	7.01	2.9	30.7	389.29	7306.25
22 ก.ย. 56		15	01.30	7.32	3.28	30.5	350.36	7006.25
22 ก.ย. 56		18	04.30	7.25	3.74	29.5	350.36	6900
22 ก.ย. 56		21	07.30	7.26	3.83	29.6	284.18	7081.25
22 ก.ย. 56		24	10.30	7.25	4.17	31.5	258.10	7050
22 ก.ย. 56	21	0	10.30	7.28	1.36	30.7	3014.6	6150
23 ก.ย. 56		24	10.30	3.23	4.63	31.6	413.82	6870
23 ก.ย. 56	22	0	10.30	7.3	2.01	32.1	2973.041	6120
24 ก.ย. 56		24	10.30	8.85	3.57	30.8	506.083	7610
24 ก.ย. 56	23	0	10.30	7.23	2.94	31.8	3092.21	6750
25 ก.ย. 56		24	10.30	8.41	3.28	30.6	467.15	7170
25 ก.ย. 56	24	0	10.30	7.15	1.74	30.4	3050.90	6610
26 ก.ย. 56		24	10.30	7.41	2.84	31.7	415.38	6860
26 ก.ย. 56	25	0	10.30	7.32	2.59	30.6	2946.96	5800
27 ก.ย. 56		24	10.30	7.37	3.62	30.2	467.15	6640
27 ก.ย. 56	26	0	10.30	7.35	2.24	31.5	2952.019	5680
28 ก.ย. 56		24	10.30	7.32	3.12	30.8	538.39	6600
28 ก.ย. 56	27	0	10.30	7.28	2.08	30.9	2927.45	5425
28 ก.ย. 56		3	13.30	7.29	2.37	30.7	2347.45	5737.5
28 ก.ย. 56		6	16.30	7.06	2.54	31.4	1776.35	5918.75
28 ก.ย. 56		9	19.30	7.3	2.84	30.7	1296.35	6137.5
28 ก.ย. 56		12	22.30	7.41	3.26	31.4	801.95	6612.5
29 ก.ย. 56		15	01.30	7.24	3.36	31.5	350.36	6500
29 ก.ย. 56		18	04.30	7.04	3.7	30.5	350.36	6487.5
29 ก.ย. 56		21	07.30	7.27	3.86	30.3	338.69	6437.5
29 ก.ย. 56		24	10.30	7.19	3.93	31.4	323.11	6368.75
29 ก.ย. 56	28	0	10.30	7.29	1.33	31.5	2952.019	5800
30 ก.ย. 56		24	11.00	7.04	4.2	32.3	552.8	6030

ตารางที่ ๖ ค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย อุณหภูมิ ความเข้มข้นซีโอดี และ ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยโพรฟิไอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	พีเอช	ออกซิเจนละลาย (มก./ล.)	อุณหภูมิ (°ซ)	ซีโอดี (มก./ล.)	ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.)
30 ก.ย. 56	29	0	11.00	7.1	2.48	32.4	2927.49	5420
1 ต.ค. 56		24	11.00	7.16	3.57	30.7	552.8	5590
1 ต.ค. 56	30	0	11.00	7.37	2.82	31.3	3017.032	4370
2 ต.ค. 56		24	11.00	7.13	3.1	30.3	669.59	4850
2 ต.ค. 56	31	0	11.00	7.13	3.12	30.8	3055.96	4340
3 ต.ค. 56		24	11.00	6.29	3.04	30.7	759.12	4610
3 ต.ค. 56	32	0	11.00	7.27	2.07	30.2	3038.93	3790
4 ต.ค. 56		24	11.00	7.46	3.16	30.1	1284.67	4130
4 ต.ค. 56	33	0	11.00	7.36	2.62	30.5	3822.87	3220
5 ต.ค. 56		24	11.00	7.24	4.6	31.4	1771.29	3755
5 ต.ค. 56	34	0	11.00	7.22	2.26	31.8	4029.2	2900
5 ต.ค. 56		3	14.00	7.3	2.59	31.5	3861.80	2860
5 ต.ค. 56		6	17.00	7.17	2.48	30.8	3652.75	2995
5 ต.ค. 56		9	20.00	7.05	2.7	30.6	3367.4	3300
5 ต.ค. 56		12	23.00	7.06	2.96	29.6	3044.28	3280
6 ต.ค. 56		15	02.00	7.24	3.14	30.3	2810.71	3195
6 ต.ค. 56		18	05.00	7.37	3.38	29.9	2355.23	2985
6 ต.ค. 56		21	08.00	7.41	3.67	29.7	2277.37	2925
6 ต.ค. 56		24	11.00	7.28	3.72	30.6	1946.47	2900
6 ต.ค. 56		35	0	11.00	7.07	3.5	30.4	4606.52
7 ต.ค. 56	24		11.00	7.06	2.49	30.3	2518.73	3185
7 ต.ค. 56	36	0	11.00	7.24	2.26	30.7	3920.19	2220
8 ต.ค. 56		24	11.00	7.13	3.57	31.8	1946.47	2380
8 ต.ค. 56	37	0	11.00	7.18	3.02	30.1	3360.78	2020
9 ต.ค. 56		24	11.00	7.12	3.07	30.2	1973.72	2215
9 ต.ค. 56	38	0	11.00	7.12	2.47	31.7	3336.25	2150
10 ต.ค. 56		24	11.00	7.08	3.96	31.5	1570.024	2395
10 ต.ค. 56	39	0	11.00	7.32	3.72	30.5	3019.46	1500
11 ต.ค. 56		24	11.00	-	-	-	1662.29	1735
12 ต.ค. 56		48	11.00	7.34	4.89	31.4	830.36	1923.33

ตารางที่ ๖ ค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย อุณหภูมิ ความเข้มข้นซีโอดี และ ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยโพรฟิไอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	พีเอช	ออกซิเจนละลาย (มก./ล.)	อุณหภูมิ (°ซ)	ซีโอดี (มก./ล.)	ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.)
12 ต.ค. 56	40	0	11.00	7.26	2.73	31.3	2917.32	1500
12 ต.ค. 56		4	15.00	7.44	2.94	32.1	2647.20	1755
12 ต.ค. 56		8	19.00	7.39	3.18	31.8	2465.79	1905
12 ต.ค. 56		12	23.00	7.25	3.4	31.4	2271.14	2000
13 ต.ค. 56		16	03.00	7.31	3.59	30.7	2141.12	1750
13 ต.ค. 56		20	07.00	7.04	3.72	31.5	1797.37	1600
13 ต.ค. 56		24	11.00	7.37	3.62	30.6	1751.82	1630
13 ต.ค. 56		28	15.00	7.32	3.86	30.7	1727.3	1650
13 ต.ค. 56		32	19.00	7.27	3.83	30.6	1518.25	1620
14 ต.ค. 56		48	11.00	7.38	3.93	30.6	545.012	1565
14 ต.ค. 56	41	0	11.00	7.15	2.04	30.7	2919.71	1345
15 ต.ค. 56		24	11.00	-	-	-	1300.73	2220
16 ต.ค. 56		48	11.30	7.28	3.52	30.7	389.29	2330
16 ต.ค. 56	42	0	11.30	7.39	2.95	30.8	3036.74	1961.55
17 ต.ค. 56		24	11.30	-	-	-	1063.94	2205
18 ต.ค. 56		48	11.30	7.27	4.27	30.5	350.36	2203.93
18 ต.ค. 56	43	0	11.30	7.26	3.48	30.5	2980.78	1847.5
19 ต.ค. 56		24	11.30	-	-	-	1179.56	2233.33
20 ต.ค. 56		48	11.30	7.14	5.1	31.2	233.58	2415
20 ต.ค. 56	44	0	11.30	7.29	2.62	30.2	2997.57	2058.095
21 ต.ค. 56		24	11.30	-	-	-	1167.88	2095
22 ต.ค. 56		48	11.30	7.39	4.29	30.5	363.21	2352.5
22 ต.ค. 56	45	0	11.30	7.17	2.98	31.6	3008.029	2225
23 ต.ค. 56		24	11.30	-	-	-	1284.67	2325
24 ต.ค. 56		48	11.30	7.16	4.73	30.6	311.44	2532.5
24 ต.ค. 56	46	0	11.30	7.35	3.59	30.3	2984.72	2020
25 ต.ค. 56		24	11.30	-	-	-	1167.88	2080.95
26 ต.ค. 56		48	11.30	6.92	4.28	31.7	142.87	2197.14
26 ต.ค. 56	47	0	11.30	7.06	2.59	30.8	2990.073	1738.095
27 ต.ค. 56		24	11.30	-	-	-	1376.93	2135
28 ต.ค. 56		48	11.30	7.23	3.83	31.5	233.58	2153.21

ตารางที่ ๖ ค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย อุณหภูมิ ความเข้มข้นซีโอดี และ ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยโพรฟิโอบีโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	พีเอช	ออกซิเจนละลาย (มก./ล.)	อุณหภูมิ (°ซ)	ซีโอดี (มก./ล.)	ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.)
28 ต.ค. 56	48	0	11.30	7.28	2.78	30.2	3019.71	1585.68
29 ต.ค. 56		24	11.30	-	-	-	1598.83	2104.64
30 ต.ค. 56		48	11.30	7.39	4.27	30.3	194.65	2440.48
30 ต.ค. 56	49	0	11.30	7.15	3.73	31.1	3102.68	1631.36
31 ต.ค. 56		24	11.30	-	-	-	1790.75	2052.5
1 พ.ย. 56		48	11.30	7.17	3.03	31.8	253.041	2577.5
1 พ.ย. 56	50	0	11.30	7.21	2.57	32.5	2958.64	1359.17
2 พ.ย. 56		24	11.30	-	-	-	1779.075	2028.93
3 พ.ย. 56		48	11.30	7.24	4.85	30.3	428.22	2192.26
3 พ.ย. 56	51	0	11.30	7.32	3.06	30.9	2971.48	1360
4 พ.ย. 56		24	11.30	-	-	-	1790.75	1676.19
5 พ.ย. 56		48	11.30	7.38	4.27	31.7	377.62	1902.5
5 พ.ย. 56	52	0	11.30	7.35	2.62	30.2	3019.71	1360
6 พ.ย. 56		24	11.30	-	-	-	1895.86	1832.5
7 พ.ย. 56		48	11.30	7.34	4.2	31.3	441.071	1902.6
7 พ.ย. 56	53	0	11.30	7.27	2.1	30.8	3005.64	1347.63
8 พ.ย. 56		24	11.30	-	-	-	1818.005	1600
9 พ.ย. 56		48	11.30	7.14	5.63	31.2	447.69	2074.048
9 พ.ย. 56	54	0	11.30	7.16	2.42	31.8	1523.36	1310
10 พ.ย. 56		24	11.30	-	-	-	545.012	1650
11 พ.ย. 56		48	12.00	7.15	4.98	30.1	480	2021.43
11 พ.ย. 56	55	0	12.00	7.04	2.04	29.3	1523.36	1172.98
12 พ.ย. 56		24	12.00	-	-	-	518.93	1761.55
13 พ.ย. 56		48	12.00	7.27	4.29	29	291.97	1804.47
13 พ.ย. 56	56	0	12.00	7.28	3.26	28.9	1584.43	899.52
14 พ.ย. 56		24	12.00	-	-	-	635.72	1502.38
15 พ.ย. 56		48	12.00	7.12	4.22	28.7	389.29	1520.23
15 พ.ย. 56	57	0	12.00	7.3	2.92	28	1494.89	866.79
16 พ.ย. 56		24	12.00	-	-	-	533.33	1523.81
17 พ.ย. 56		48	12.00	7.37	4.39	28.2	369.83	1575.78
17 พ.ย. 56	58	0	12.00	7.19	2.73	28.8	1553.24	777.86
18 พ.ย. 56		24	12.00	-	-	-	441.071	1346.19
19 พ.ย. 56		48	12.00	7.29	4.2	28.3	311.44	1260.67

ตารางที่ ๖ ค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย อุณหภูมิ ความเข้มข้นซีโอดี และ ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยโพรฟิไอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	พีเอช	ออกซิเจนละลาย (มก./ล.)	อุณหภูมิ (°ซ)	ซีโอดี (มก./ล.)	ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.)
21 พ.ย. 56	60	0	12.00	7.38	3.92	28.2	1517.032	774.57
22 พ.ย. 56		24	12.00	-	-	-	428.22	1525
23 พ.ย. 56		48	12.00	7.38	4.19	28.9	377.62	1633.33
23 พ.ย. 56	61	0	12.00	7.21	2.01	28.2	1506.57	713.64
23 พ.ย. 56		4	16.00	-	-	-	1261.31	873.81
23 พ.ย. 56		8	20.00	-	-	-	1028.95	905
24 พ.ย. 56		12	00.00	-	-	-	739.66	937.5
24 พ.ย. 56		16	04.00	-	-	-	642.34	964.55
24 พ.ย. 56		20	08.00	-	-	-	495.47	1000
24 พ.ย. 56		24	12.00	-	-	-	422.044	1030.43
24 พ.ย. 56		28	16.00	-	-	-	311.44	968.18
24 พ.ย. 56		32	20.00	-	-	-	305.35	965
25 พ.ย. 56		36	0.00	-	-	-	305.35	962.5
25 พ.ย. 56		48	12.00	7.07	3.83	27.4	304.18	928.57
25 พ.ย. 56		62	0	12.00	7.28	3.9	27.7	1562.29
26 พ.ย. 56	24		12.00	-	-	-	674.65	1065.91
27 พ.ย. 56	48		12.00	6.81	4.3	28	428.22	1252.90
27 พ.ย. 56	63	0	12.00	7.2	2.74	28.8	1489.78	626.48
28 พ.ย. 56		24	12.00	-	-	-	689.051	704.087
29 พ.ย. 56		48	12.00	7.27	3.69	27.8	416.55	843.48
29 พ.ย. 56	64	0	12.00	7.16	3.92	27.4	1514.31	458.60
30 พ.ย. 56		24	12.00	-	-	-	400.97	865.48
1 ธ.ค. 56		48	12.00	7.15	4.87	27.3	311.44	910.42
1 ธ.ค. 56	65	0	12.00	7.37	2.05	27.2	1469.59	414.5
2 ธ.ค. 56		24	12.00	-	-	-	399.027	708.33
3 ธ.ค. 56		48	12.00	7.13	3.29	26.2	291.97	868
3 ธ.ค. 56	66	0	12.00	7.25	3.72	25.4	1537.71	451.58
4 ธ.ค. 56		24	12.00	-	-	-	253.041	1124.82
5 ธ.ค. 56		48	12.00	7.29	4.25	25.4	233.58	1097.22

ตารางที่ ๖ ค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย อุณหภูมิ ความเข้มข้นซีโอดี และ ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยโพรฟิโอบีโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	พีเอช	ออกซิเจนละลาย (มก./ล.)	อุณหภูมิ (°ซ)	ซีโอดี (มก./ล.)	ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.)
5 ธ.ค. 56	67	0	12.00	7.31	2.64	25.9	1493.72	500
5 ธ.ค. 56		4	16.00	-	-	-	1365.26	672.73
5 ธ.ค. 56		8	20.00	-	-	-	1135.57	769.20
6 ธ.ค. 56		12	00.00	-	-	-	598.35	899.82
6 ธ.ค. 56		16	04.00	-	-	-	395.91	978.83
6 ธ.ค. 56		20	08.00	-	-	-	286.91	1028.33
6 ธ.ค. 56		24	12.00	-	-	-	272.51	1001.14
6 ธ.ค. 56		29	17.00	-	-	-	272.51	995.17
6 ธ.ค. 56		34	22.00	-	-	-	272.51	982.32
7 ธ.ค. 56		39	03.00	-	-	-	272.51	982.29
7 ธ.ค. 56		48	12.00	7.12	3.69	25.9	259.66	980.76
7 ธ.ค. 56	68	0	12.00	7.19	3.01	25.4	1572.75	560.87
8 ธ.ค. 56		24	12.00	-	-	-	314.6	1104.17
9 ธ.ค. 56		48	12.00	7.34	4.84	25.5	273.48	1139.58
9 ธ.ค. 56	69	0	12.00	7.25	3.03	24.3	1567.88	570.83
10 ธ.ค. 56		24	12.00	-	-	-	268.61	1152
11 ธ.ค. 56		48	12.00	7.2	4.27	24.3	258.88	1160.42
11 ธ.ค. 56	70	0	12.00	7.09	3.95	24.7	1533.82	658.7
12 ธ.ค. 56		24	12.00	-	-	-	329.2	1307.92
13 ธ.ค. 56		48	12.00	7.19	4.96	24.8	283.21	1121.083
13 ธ.ค. 56	71	0	12.00	7.28	2.63	24.1	1597.08	672.92
14 ธ.ค. 56		24	12.00	-	-	-	316.30	1156.92
15 ธ.ค. 56		48	12.00	7.28	4.29	23.5	239.42	1177.083
15 ธ.ค. 56	72	0	12.00	7.13	3.87	23.6	1493.67	663.77
16 ธ.ค. 56		24	12.00	-	-	-	342.58	1269.022
17 ธ.ค. 56		48	12.00	7.13	4.6	24.2	264.72	1112
17 ธ.ค. 56	73	0	12.00	7.37	2.28	24.2	1568.86	702
18 ธ.ค. 56		24	12.00	-	-	-	264.72	1365
19 ธ.ค. 56		48	12.00	7.24	3.97	23.7	225.79	1080.98

ตารางที่ ๖ ค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย อุณหภูมิ ความเข้มข้นซีโอดี และ ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยโพรฟิไอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	พีเอช	ออกซิเจนละลาย (มก./ล.)	อุณหภูมิ (°ซ)	ซีโอดี (มก./ล.)	ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.)
19 ธ.ค. 56	74	0	12.00	7.35	2.93	23.3	1499.98	761.25
19 ธ.ค. 56		4	16.00	-	-	-	1299.075	972.17
19 ธ.ค. 56		8	20.00	-	-	-	1031.63	1083.33
20 ธ.ค. 56		12	00.00	-	-	-	851.39	1121.41
20 ธ.ค. 56		16	04.00	-	-	-	656.74	1185.58
20 ธ.ค. 56		20	08.00	-	-	-	483.5	1291.30
20 ธ.ค. 56		24	12.00	-	-	-	228.52	1378.26
20 ธ.ค. 56		29	17.00	-	-	-	201.27	1284.29
20 ธ.ค. 56		34	22.00	-	-	-	194.65	1116.30
21 ธ.ค. 56		39	03.00	-	-	-	189.59	1087.5
21 ธ.ค. 56		48	12.00	7.38	4.27	23.2	170.12	1072.73
21 ธ.ค. 56	75	0	12.00	7.16	2.47	23.8	1432.60	770.083
22 ธ.ค. 56		24	12.00	-	-	-	420.44	1388.043
23 ธ.ค. 56		48	12.00	7.14	3.59	23.8	362.044	1390.49
23 ธ.ค. 56	76	0	12.00	7.3	3.26	23.4	1413.14	1043.3
24 ธ.ค. 56		24	12.00	-	-	-	303.65	1547.92
25 ธ.ค. 56		48	12.00	7.18	4.62	23.5	225.79	1540.96
25 ธ.ค. 56	77	0	12.00	7.34	2.62	23	1432.60	1079.091
26 ธ.ค. 56		24	12.00	-	-	-	323.11	1790.76
27 ธ.ค. 56		48	12.00	7.29	3.7	23.4	225.79	1656.97
27 ธ.ค. 56	78	0	12.00	7.23	3.96	23.7	1479.32	1262.59
28 ธ.ค. 56		24	12.00	-	-	-	311.44	1626.35
29 ธ.ค. 56		48	12.00	7.38	4.37	23	233.58	1689.58
29 ธ.ค. 56	79	0	12.00	7.05	2.07	23.4	1586.37	1347
30 ธ.ค. 56		24	12.00	-	-	-	269.83	2039.58
31 ธ.ค. 56		48	12.00	7.1	3.24	23.2	214.11	1854.83
31 ธ.ค. 56	80	0	12.00	7.19	3.17	22.9	1515.57	1316.21
1 ม.ค. 57		24	12.00	-	-	-	243.31	1961.41
2 ม.ค. 57		48	12.00	7.31	4.42	23.4	126.52	1763.043

ตารางที่ ๖ ค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย อุณหภูมิ ความเข้มข้นซีโอดี และ ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยโพรฟิไอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	พีเอช	ออกซิเจนละลาย (มก./ล.)	อุณหภูมิ (°ซ)	ซีโอดี (มก./ล.)	ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.)	
2 ม.ค. 57	81	0	12.00	7.25	2.73	23.2	1530.22	1111.59	
2 ม.ค. 57		4	16.00	-	-	-	1031.63	1372.083	
2 ม.ค. 57		8	20.00	-	-	-	695.67	1516.67	
3 ม.ค. 57		12	00.00	-	-	-	325.84	1645.83	
3 ม.ค. 57		16	04.00	-	-	-	298.59	1697.92	
3 ม.ค. 57		20	08.00	-	-	-	259.66	1683.33	
3 ม.ค. 57		24	12.00	-	-	-	220.73	1596.21	
3 ม.ค. 57		29	17.00	-	-	-	194.65	1580.43	
3 ม.ค. 57		34	22.00	-	-	-	155.72	1540	
4 ม.ค. 57		39	03.00	-	-	-	142.87	1518.26	
4 ม.ค. 57		44	08.00	-	-	-	142.87	1515	
4 ม.ค. 57		48	12.00	7.16	3.92	23.7	111.73	1512	
4 ม.ค. 57		82	0	12.00	7.04	3.16	23.4	1537.71	1050
5 ม.ค. 57			24	12.00	-	-	-	311.44	1640.42
6 ม.ค. 57	48		12.00	7.27	4.63	23.5	175.18	1546.61	
6 ม.ค. 57	83	0	12.00	7.39	2.85	23.9	1537.71	937.5	
7 ม.ค. 57		24	12.00	-	-	-	175.18	1650	
8 ม.ค. 57		48	12.00	7.22	3.75	23.3	116.79	1454.71	
8 ม.ค. 57	84	0	12.00	7.38	3.67	23.2	1573.97	806.83	
9 ม.ค. 57		24	12.00	-	-	-	389.29	1414.49	
10 ม.ค. 57		48	12.00	7.21	4.83	23	253.041	1402.083	
10 ม.ค. 57	85	0	12.00	7.26	3.86	23.6	1535.036	794	
11 ม.ค. 57		24	12.00	-	-	-	272.51	1368.75	
12 ม.ค. 57		48	12.00	7.38	4.88	23.4	253.041	1456.83	
12 ม.ค. 57	86	0	12.00	7.31	2.96	23.3	1573.97	886.083	
13 ม.ค. 57		24	12.00	-	-	-	194.65	1541.67	
14 ม.ค. 57		48	12.00	7.17	3.7	23.9	97.32	1467.67	
14 ม.ค. 57	87	0	12.00	7.15	3.18	23.4	1566.91	941.67	
15 ม.ค. 57		24	12.00	-	-	-	204.38	1571.30	
16 ม.ค. 57		48	12.00	7.19	4.73	23.5	77.86	1656.25	
16 ม.ค. 57	88	0	12.00	7.29	2.47	23.7	1558.054	983.33	
17 ม.ค. 57		24	12.00	-	-	-	402.66	1647.89	
18 ม.ค. 57		48	12.00	7.32	3.85	24.7	326.42	1711.14	

ตารางที่ ๖ ค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย อุณหภูมิ ความเข้มข้นซีโอติ และ ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยโพรฟิไอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	พีเอช	ออกซิเจนละลาย (มก./ล.)	อุณหภูมิ (°ซ)	ซีโอติ (มก./ล.)	ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.)
18 ม.ค. 57	89	0	12.00	7.13	3.07	24.4	1564.14	1161.5
19 ม.ค. 57		24	12.00	-	-	-	340.54	1709.58
20 ม.ค. 57		48	12.00	7.28	4.62	24.1	279.46	1637.5
20 ม.ค. 57	90	0	12.00	7.32	3.16	24.8	1538.59	1064.58
21 ม.ค. 57		24	12.00	-	-	-	374.11	1150.75
22 ม.ค. 57		48	12.00	7.17	4.51	24.2	209.64	1327.083
22 ม.ค. 57	91	0	12.00	7.28	2.46	24.3	1574.84	925.17
23 ม.ค. 57		24	12.00	-	-	-	285.63	1487.89
24 ม.ค. 57		48	12.00	7.04	3.86	24.5	151.24	1391.67
24 ม.ค. 57	92	0	12.00	7.32	3.69	24.8	1533.24	991.67
25 ม.ค. 57		24	12.00	-	-	-	345.89	1633
26 ม.ค. 57		48	12.00	7.35	4.85	24.7	253.92	1525
26 ม.ค. 57	93	0	12.00	7.25	2.16	24.3	1558.15	1095.83
27 ม.ค. 57		24	12.00	-	-	-	362.68	1490.38
28 ม.ค. 57		48	12.00	7.13	3.69	25.1	185.89	1443.75
28 ม.ค. 57	94	0	12.00	7.34	3.17	25.2	1570.56	1080.5
29 ม.ค. 57		24	12.00	-	-	-	290.27	1447.92
30 ม.ค. 57		48	12.00	7.36	4.73	25	256.69	1497.92
30 ม.ค. 57	95	0	12.00	7.13	3.01	25.4	1580.29	1097.92
31 ม.ค. 57		24	12.00	-	-	-	275.54	1639.87
1 ก.พ. 57		48	12.00	7.02	4.82	25.8	198.3	1535.67
1 ก.พ. 57	96	0	12.00	7.2	2.59	25.9	1548.4	1091.67
2 ก.พ. 57		24	12.00	-	-	-	436.87	1739.85
3 ก.พ. 57		48	12.00	7.65	4.51	25.9	247.074	1664.89
3 ก.พ. 57	97	0	12.00	7.36	3.4	26	1602.43	1160.83
4 ก.พ. 57		24	12.00	-	-	-	376.16	1562.5
5 ก.พ. 57		48	12.00	7.15	3.92	26	217.76	1633.33
5 ก.พ. 57	98	0	12.00	7.37	2.47	27.2	1534.95	1214.58
6 ก.พ. 57		24	12.00	-	-	-	276.37	1632.17
7 ก.พ. 57		48	12.00	7.52	3.82	28.2	195.53	1629.17
7 ก.พ. 57	99	0	12.00	7.26	3.68	27.7	1602.43	1172.92
8 ก.พ. 57		24	12.00	-	-	-	354.015	1539.58
9 ก.พ. 57		48	12.00	7.29	4.67	27.4	256.69	1564.58

ตารางที่ ๖ ค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย อุณหภูมิ ความเข้มข้นซีโอดี และ ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยโพรฟิไอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	พีเอช	ออกซิเจนละลาย (มก./ล.)	อุณหภูมิ (°ซ)	ซีโอดี (มก./ล.)	ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.)
9 ก.พ. 57	100	0	12.00	7.22	2.4	28.1	1538.69	1096
10 ก.พ. 57		24	12.00	-	-	-	334.55	1647.92
11 ก.พ. 57		48	12.00	7.11	3.75	27.3	278.83	1662.5

ตารางที่ ๗ ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ (MLVSS) และ ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ต่อค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLVSS/MLSS) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยโพรฟิไอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ (มก./ล.)	ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ต่อค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLVSS/MLSS)
2 ก.ย. 56	1	0	2865.29	0.929
2 ก.ย. 56		12	3844.72	0.914
3 ก.ย. 56		24	3900.00	0.934
6 ก.ย. 56	5	0	4254.078	0.862
7 ก.ย. 56		24	5109.88	0.85
8 ก.ย. 56	7	0	4187.8	0.759
8 ก.ย. 56		12	5030.91	0.766
9 ก.ย. 56		24	5446.73	0.882
11 ก.ย. 56	10	0	4564.74	0.771
12 ก.ย. 56		24	5349.086	0.785
15 ก.ย. 56	14	0	4156.061	0.674
15 ก.ย. 56		12	5303.44	0.709
16 ก.ย. 56		24	5065.54	0.72
16 ก.ย. 56	15	0	4629.48	0.701
17 ก.ย. 56		24	5151.72	0.697
21 ก.ย. 56	20	0	4416.45	0.699
21 ก.ย. 56		12	5133.89	0.703
22 ก.ย. 56		24	4929.41	0.699

ตารางที่ 7 ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ (MLVSS) และ ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ต่อค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLVSS/MLSS) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยโพรฟิไอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ (มก./ล.)	ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ต่อค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLVSS/MLSS)
26 ก.ย. 56	25	0	4503.17	0.776
27 ก.ย. 56		24	5078.46	0.765
28 ก.ย. 56	27	0	3879.16	0.715
28 ก.ย. 56		3	4403.94	0.768
28 ก.ย. 56		6	4191.74	0.708
28 ก.ย. 56		9	4570.036	0.745
28 ก.ย. 56		12	5116.62	0.774
29 ก.ย. 56		15	5049.99	0.777
29 ก.ย. 56		18	4729.18	0.729
29 ก.ย. 56		21	4854.78	0.754
29 ก.ย. 56		24	4685.71	0.736
1 ต.ค. 56		30	0	3527.27
2 ต.ค. 56	24		3928.38	0.81
5 ต.ค. 56	34	0	2703.38	0.932
5 ต.ค. 56		12	2646.49	0.807
6 ต.ค. 56		24	2572.67	0.887
6 ต.ค. 56	35	0	2489.11	0.869
7 ต.ค. 56		24	2747.69	0.863
12 ต.ค. 56	40	0	1365.57	0.910
13 ต.ค. 56		24	1485.88	0.912
14 ต.ค. 56		48	1425.68	0.911
22 ต.ค. 56	45	0	2115.38	0.951
23 ต.ค. 56		24	2205.11	0.948
24 ต.ค. 56		48	2357.79	0.931
1 พ.ย. 56	50	0	1314.72	0.967
2 พ.ย. 56		24	1936.48	0.954
3 พ.ย. 56		48	2109.048	0.962
11 พ.ย. 56	55	0	1121.37	0.956
12 พ.ย. 56		24	1631.36	0.926
13 พ.ย. 56		48	1670.48	0.926

ตารางที่ 7 ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ (MLVSS) และ ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ต่อค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLVSS/MLSS) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยโพรฟิไอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ (มก./ล.)	ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ต่อค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLVSS/MLSS)
21 พ.ย. 56	60	0	693.33	0.895
22 พ.ย. 56		24	1359.78	0.892
23 พ.ย. 56		48	1245.73	0.934
23 พ.ย. 56	61	0	672.92	0.943
24 พ.ย. 56		24	1037.004	1.00
25 พ.ย. 56		48	853.17	0.919
1 ธ.ค. 56	65	0	407.28	0.983
2 ธ.ค. 56		24	693.95	0.980
3 ธ.ค. 56		48	850.009	0.980
5 ธ.ค. 56	67	0	493.056	0.986
6 ธ.ค. 56		24	1002.86	1.000
7 ธ.ค. 56		48	951.25	0.970
11 ธ.ค. 56	70	0	633.084	0.961
12 ธ.ค. 56		24	1277.48	0.977
13 ธ.ค. 56		48	1087.93	0.970
19 ธ.ค. 56	74	0	727.96	0.956
20 ธ.ค. 56		24	1324.80	0.961
21 ธ.ค. 56		48	1027.36	0.958
21 ธ.ค. 56	75	0	737.35	0.957
22 ธ.ค. 56		24	1351.047	0.973
23 ธ.ค. 56		48	1332.32	0.958
31 ธ.ค. 56	80	0	1242.73	0.944
1 ม.ค. 57		24	1845.84	0.941
2 ม.ค. 57		48	1670.92	0.948
2 ม.ค. 57	81	0	1062.84	0.956
3 ม.ค. 57		24	1529.65	0.958
4 ม.ค. 57		48	1443.96	0.955
10 ม.ค. 57	85	0	770.11	0.97
11 ม.ค. 57		24	1343.70	0.982
12 ม.ค. 57		48	1426.89	0.979

ตารางที่ 7 ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ (MLVSS) และ ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ต่อค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLVSS/MLSS) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยโพรฟิไอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ (มก./ล.)	ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรูปของแข็งแขวนลอยระเหยได้ต่อค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLVSS/MLSS)
20 ม.ค. 57	90	0	1033.13	0.970
21 ม.ค. 57		24	1093.82	0.951
22 ม.ค. 57		48	1256.25	0.947
30 ม.ค. 57	95	0	1010.023	0.920
31 ม.ค. 57		24	1521.55	0.928
1 ก.พ. 57		48	1468.20	0.956
9 ก.พ. 57	100	0	1016.70	0.928
10 ก.พ. 57		24	1514.93	0.919
11 ก.พ. 57		48	1510.46	0.909

ตารางที่ 8 ค่าปริมาตรตะกอนที่ 30 นาที (SV30) และค่าดัชนีปริมาตรตะกอน (SVI) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยโพรฟิไอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	ค่าปริมาตรตะกอนที่ 30 นาที (มล./ล.)	ค่าดัชนีปริมาตรตะกอน (มล./ก.)
3 ก.ย. 56	1	24	990	237.094
4 ก.ย. 56	2	24	990	203.60
5 ก.ย. 56	3	24	990	193.17
6 ก.ย. 56	4	24	990	171.28
7 ก.ย. 56	5	24	990	164.63
8 ก.ย. 56	6	24	990	164.22
10 ก.ย. 56	8	24	990	159.97
11 ก.ย. 56	9	24	990	156.89
12 ก.ย. 56	10	24	990	145.37
13 ก.ย. 56	11	24	990	144.74
14 ก.ย. 56	12	24	990	146.018
15 ก.ย. 56	13	24	990	146.018
17 ก.ย. 56	15	24	990	133.96
18 ก.ย. 56	16	24	990	139.44
19 ก.ย. 56	17	24	990	145.37
20 ก.ย. 56	18	24	990	148.43

ตารางที่ 8 ค่าปริมาตรตะกอนที่ 30 นาที (SV30) และค่าดัชนีปริมาตรตะกอน (SVI) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยโพรฟิไอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	ค่าปริมาตรตะกอนที่ 30 นาที (มล./ล.)	ค่าดัชนีปริมาตรตะกอน (มล./ก.)
21 ก.ย. 56	19	24	990	147.10
23 ก.ย. 56	21	24	990	144.10
24 ก.ย. 56	22	24	990	130.092
25 ก.ย. 56	23	24	990	138.075
26 ก.ย. 56	24	24	990	144.31
27 ก.ย. 56	25	24	990	149.096
28 ก.ย. 56	26	24	990	150
30 ก.ย. 56	28	24	980	162.52
1 ต.ค. 56	29	24	950	169.95
2 ต.ค. 56	30	24	900	185.57
3 ต.ค. 56	31	24	700	151.84
4 ต.ค. 56	32	24	700	169.49
5 ต.ค. 56	33	24	500	133.16
7 ต.ค. 56	35	24	150	47.096
8 ต.ค. 56	36	24	150	63.025
9 ต.ค. 56	37	24	140	63.21
10 ต.ค. 56	38	24	150	62.63
12 ต.ค. 56	39	48	140	72.79
16 ต.ค. 56	41	48	140	60.086
18 ต.ค. 56	42	48	160	72.60
20 ต.ค. 56	43	48	150	62.11
22 ต.ค. 56	44	48	170	72.26
24 ต.ค. 56	45	48	175	69.10
26 ต.ค. 56	46	48	160	72.82
28 ต.ค. 56	47	48	200	92.88
30 ต.ค. 56	48	48	300	122.93
1 พ.ย. 56	49	48	300	116.39
3 พ.ย. 56	50	48	350	159.65
5 พ.ย. 56	51	48	350	183.97
7 พ.ย. 56	52	48	350	183.96
9 พ.ย. 56	53	48	350	168.75
11 พ.ย. 56	54	48	300	148.41
13 พ.ย. 56	55	48	250	138.55
15 พ.ย. 56	56	48	250	164.45
17 พ.ย. 56	57	48	200	126.92

ตารางที่ 8 ค่าปริมาตรตะกอนที่ 30 นาที (SV30) และค่าดัชนีปริมาตรตะกอน (SVI) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยโพรฟิไอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	ค่าปริมาตรตะกอนที่ 30 นาที (มล./ล.)	ค่าดัชนีปริมาตรตะกอน (มล./ก.)
19 พ.ย. 56	58	48	200	158.65
21 พ.ย. 56	59	48	170	120.40
23 พ.ย. 56	60	48	150	112.5
27 พ.ย. 56	62	48	170	135.69
29 พ.ย. 56	63	48	150	177.84
1 ธ.ค. 56	64	48	150	164.76
3 ธ.ค. 56	65	48	180	207.37
5 ธ.ค. 56	66	48	170	154.94
9 ธ.ค. 56	68	48	160	140.40
11 ธ.ค. 56	69	48	200	172.35
13 ธ.ค. 56	70	48	200	178.40
15 ธ.ค. 56	71	48	200	169.91
17 ธ.ค. 56	72	48	200	179.86
19 ธ.ค. 56	73	48	200	185.018
23 ธ.ค. 56	75	48	250	179.79
25 ธ.ค. 56	76	48	250	162.24
27 ธ.ค. 56	77	48	250	150.88
29 ธ.ค. 56	78	48	250	147.97
31 ธ.ค. 56	79	48	250	134.78
2 ม.ค. 57	80	48	250	141.80
6 ม.ค. 57	82	48	200	129.32
8 ม.ค. 57	83	48	200	137.48
10 ม.ค. 57	84	48	200	142.64
12 ม.ค. 57	85	48	200	137.28
14 ม.ค. 57	86	48	200	136.27
16 ม.ค. 57	87	48	300	181.13
18 ม.ค. 57	88	48	400	233.76
20 ม.ค. 57	89	48	800	488.55
22 ม.ค. 57	90	48	850	640.50
24 ม.ค. 57	91	48	900	646.71
26 ม.ค. 57	92	48	900	590.16
28 ม.ค. 57	93	48	950	658.009
30 ม.ค. 57	94	48	950	634.21
1 ก.พ. 57	95	48	950	618.62
3 ก.พ. 57	96	48	950	570.61

ตารางที่ 8 ค่าปริมาตรตะกอนที่ 30 นาที (SV30) และค่าดัชนีปริมาตรตะกอน (SVI) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบของตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยพร็อพพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	ค่าปริมาตรตะกอนที่ 30 นาที (มล./ล.)	ค่าดัชนีปริมาตรตะกอน (มล./ก.)
5 ก.พ. 57	97	48	950	581.63
7 ก.พ. 57	98	48	950	583.12
9 ก.พ. 57	99	48	950	607.19
11 ก.พ. 57	100	48	950	571.43

ตารางที่ 9 ปริมาณพีเอชเอ (%gPHA/gMLSS) และสัดส่วนของพีเอชเอที่ผลิตได้จากตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยพร็อพพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	ปริมาณพีเอชเอ (%gPHA/gMLSS)	ปริมาณพีเอชบี (%gPHA/gMLSS)	ปริมาณพีเอชวี (%gPHA/gMLSS)	สัดส่วนพีเอชบี (%mol)	สัดส่วนพีเอชวี (%mol)
2 ก.ย. 56	1	0	10.00	0.95	0.16	0.79	16.93	83.066
2 ก.ย. 56		3	13.00	3.87	0.65	3.22	16.88	83.12
2 ก.ย. 56		6	16.00	6.81	1.23	5.58	18.064	81.94
2 ก.ย. 56		9	19.00	4.49	0.91	3.58	20.21	79.79
2 ก.ย. 56		12	22.00	2.63	0.50	2.13	19.11	80.89
3 ก.ย. 56		15	01.00	2.08	0.43	1.65	20.85	79.15
3 ก.ย. 56		18	04.00	1.96	0.84	1.12	42.98	57.024
3 ก.ย. 56		21	07.00	1.82	0.72	1.11	39.34	60.66
3 ก.ย. 56		24	10.00	1.81	0.66	1.15	36.47	63.53
8 ก.ย. 56		7	0	10.00	2.004	0.44	1.57	21.87
8 ก.ย. 56	3		13.00	4.40	0.84	3.56	19.19	80.81
8 ก.ย. 56	6		16.00	4.87	1.006	3.87	20.65	79.35
8 ก.ย. 56	9		19.00	6.14	1.36	4.78	22.12	77.88
8 ก.ย. 56	12		22.00	5.5	1.28	4.22	23.25	76.75
9 ก.ย. 56	15		01.00	4.12	0.95	3.17	23.026	76.97
9 ก.ย. 56	18		04.00	2.85	0.62	2.23	21.63	78.37
9 ก.ย. 56	21		07.00	2.33	0.51	1.83	21.65	78.35
9 ก.ย. 56	24		10.00	2.004	0.45	1.56	22.23	77.77

ตารางที่ 9 ปริมาณพีเอชเอ (%gPHA/gMLSS) และสัดส่วนของพีเอชเอที่ผลิตได้จากตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยโพพรฟิโอนตเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	ปริมาณพีเอชเอ (%gPHA/gMLSS)	ปริมาณพีเอชบี (%gPHA/gMLSS)	ปริมาณพีเอชวี (%gPHA/gMLSS)	สัดส่วนพีเอชบี (%mol)	สัดส่วนพีเอชวี (%mol)
15 ก.ย. 56	14	0	10.00	1.51	0.35	1.16	23.16	76.84
15 ก.ย. 56		3	13.00	3.25	0.86	2.39	26.49	73.51
15 ก.ย. 56		6	16.00	3.99	1.16	2.82	29.20	70.80
15 ก.ย. 56		9	19.00	4.82	1.39	3.44	28.74	71.26
15 ก.ย. 56		12	22.00	2.38	0.65	1.73	27.43	72.57
16 ก.ย. 56		15	01.00	1.19	0.31	0.88	26.35	73.65
16 ก.ย. 56		18	04.00	1.12	0.28	0.84	24.90	75.10
16 ก.ย. 56		21	07.00	1.039	0.29	0.75	27.93	72.067
16 ก.ย. 56		24	10.00	0.85	0.22	0.63	25.36	74.64
21 ก.ย. 56		20	0	10.30	2.19	0.70	1.49	31.90
21 ก.ย. 56	3		13.30	4.28	1.90	2.37	44.56	55.44
21 ก.ย. 56	6		16.30	4.28	1.86	2.42	43.40	56.60
21 ก.ย. 56	9		19.30	4.39	1.84	2.55	41.88	58.12
21 ก.ย. 56	12		22.30	3.98	1.53	2.45	38.48	61.52
22 ก.ย. 56	15		01.30	2.95	1.35	1.61	45.58	54.42
22 ก.ย. 56	18		04.30	2.89	1.43	1.46	49.58	50.42
22 ก.ย. 56	21		07.30	2.35	0.85	1.49	36.35	63.65
22 ก.ย. 56	24		10.30	1.98	0.75	1.23	37.74	62.26
28 ก.ย. 56	27		0	10.30	5.26	2.68	2.58	50.99
28 ก.ย. 56		3	13.30	6.39	3.21	3.18	50.29	49.71
28 ก.ย. 56		6	16.30	8.075	4.32	3.76	53.48	46.52
28 ก.ย. 56		9	19.30	10.17	5.55	4.61	54.64	45.36
28 ก.ย. 56		12	22.30	10.79	6.02	4.77	55.81	44.19
29 ก.ย. 56		15	01.30	12.65	7.29	5.36	57.62	42.38
29 ก.ย. 56		18	04.30	11.11	6.32	4.79	56.89	43.11
29 ก.ย. 56		21	07.30	10.59	6.048	4.54	57.10	42.90
29 ก.ย. 56		24	10.30	10.21	5.81	4.40	56.92	43.084

ตารางที่ 9 ปริมาณพีเอชเอ (%gPHA/gMLSS) และสัดส่วนของพีเอชเอที่ผลิตได้จากตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยพร็อพรีโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	ปริมาณพีเอชเอ (%gPHA/gMLSS)	ปริมาณพีเอชบี (%gPHA/gMLSS)	ปริมาณพีเอชวี (%gPHA/gMLSS)	สัดส่วนพีเอชบี (%mol)	สัดส่วนพีเอชวี (%mol)
5 ต.ค. 56	34	0	11.00	5.24	3.35	1.88	64.038	35.96
5 ต.ค. 56		3	14.00	5.11	3.24	1.87	63.48	36.52
5 ต.ค. 56		6	17.00	4.63	2.99	1.64	64.54	35.46
5 ต.ค. 56		9	20.00	4.58	2.96	1.62	64.64	35.36
5 ต.ค. 56		12	23.00	4.71	3.034	1.67	64.46	35.54
6 ต.ค. 56		15	02.00	4.70	2.98	1.72	63.32	36.68
6 ต.ค. 56		18	05.00	4.32	2.86	1.46	66.22	33.78
6 ต.ค. 56		21	08.00	4.42	2.99	1.43	67.72	32.28
6 ต.ค. 56		24	11.00	4.52	3.037	1.48	67.24	32.76
12 ต.ค. 56		40	0	11.00	10.93	9.17	1.76	83.92
12 ต.ค. 56	4		15.00	10.35	8.74	1.61	84.46	15.54
12 ต.ค. 56	8		19.00	10.22	8.74	1.48	85.54	14.46
12 ต.ค. 56	12		23.00	10.093	8.38	1.71	83.05	16.95
13 ต.ค. 56	16		03.00	9.50	7.97	1.53	83.86	16.14
13 ต.ค. 56	20		07.00	9.41	7.91	1.50	84.04	15.96
13 ต.ค. 56	24		11.00	9.35	7.85	1.50	83.94	16.06
13 ต.ค. 56	28		15.00	9.24	7.71	1.52	83.51	16.49
13 ต.ค. 56	32		19.00	9.091	7.61	1.48	83.67	16.33
14 ต.ค. 56	48		11.00	7.90	6.86	1.046	86.76	13.24
23 พ.ย. 56	61	0	12.00	0.80	0.69	0.11	86.60	13.40
23 พ.ย. 56		4	16.00	0.80	0.69	0.11	86.36	13.64
23 พ.ย. 56		8	20.00	0.94	0.73	0.21	77.91	22.09
24 พ.ย. 56		12	00.00	0.86	0.66	0.20	76.59	23.41
24 พ.ย. 56		16	04.00	0.92	0.72	0.20	78.73	21.27
24 พ.ย. 56		20	08.00	0.82	0.72	0.096	88.25	11.75
24 พ.ย. 56		24	12.00	0.86	0.75	0.11	87.76	12.24
24 พ.ย. 56		28	16.00	0.95	0.80	0.15	84.67	15.33
24 พ.ย. 56		32	20.00	0.84	0.72	0.11	86.36	13.64
25 พ.ย. 56		36	0.00	0.90	0.79	0.12	87.07	12.93
25 พ.ย. 56		48	12.00	0.89	0.75	0.14	84.48	15.52

ตารางที่ 9 ปริมาณพีเอชเอ (%gPHA/gMLSS) และสัดส่วนของพีเอชเอที่ผลิตได้จากตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยพร็อพรีโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	ปริมาณพีเอชเอ (%gPHA/gMLSS)	ปริมาณพีเอชบี (%gPHA/gMLSS)	ปริมาณพีเอชวี (%gPHA/gMLSS)	สัดส่วนพีเอชบี (%mol)	สัดส่วนพีเอชวี (%mol)
5 ธ.ค. 56	67	0	12.00	0.75	0.67	0.074	90.04	9.96
5 ธ.ค. 56		4	16.00	0.98	0.84	0.14	85.53	14.47
5 ธ.ค. 56		8	20.00	1.19	1.045	0.15	87.51	12.49
6 ธ.ค. 56		12	00.00	2.45	1.61	0.84	65.65	34.35
6 ธ.ค. 56		16	04.00	1.86	1.70	0.16	91.41	8.59
6 ธ.ค. 56		20	08.00	1.90	1.65	0.25	86.795	13.21
6 ธ.ค. 56		24	12.00	1.86	1.63	0.23	87.86	12.14
6 ธ.ค. 56		29	17.00	1.27	1.12	0.14	88.70	11.3
6 ธ.ค. 56		34	22.00	1.29	0.99	0.30	76.62	23.38
7 ธ.ค. 56		39	03.00	1.24	0.85	0.39	68.79	31.21
7 ธ.ค. 56		48	12.00	0.85	0.77	0.075	91.15	8.85
19 ธ.ค. 56		74	0	12.00	0.34	0.27	0.068	79.67
19 ธ.ค. 56	4		16.00	0.45	0.34	0.11	74.92	25.08
19 ธ.ค. 56	8		20.00	0.53	0.40	0.13	75.24	24.76
20 ธ.ค. 56	12		00.00	0.57	0.44	0.13	77.54	22.46
20 ธ.ค. 56	16		04.00	0.69	0.54	0.15	78.73	21.27
20 ธ.ค. 56	20		08.00	0.93	0.73	0.19	79.16	20.84
20 ธ.ค. 56	24		12.00	1.082	0.88	0.20	81.59	18.41
20 ธ.ค. 56	29		17.00	0.71	0.59	0.13	81.97	18.03
20 ธ.ค. 56	34		22.00	0.79	0.46	0.33	58.10	41.90
21 ธ.ค. 56	39		03.00	0.74	0.43	0.31	58.00	42.00
21 ธ.ค. 56	48		12.00	0.72	0.32	0.40	44.76	55.24
2 ม.ค. 57	81		0	12.00	0.30	0.25	0.047	84.07
2 ม.ค. 57		4	16.00	0.52	0.42	0.097	81.42	18.58
2 ม.ค. 57		8	20.00	0.71	0.58	0.13	82.07	17.93
3 ม.ค. 57		12	00.00	0.80	0.66	0.14	82.07	17.93
3 ม.ค. 57		16	04.00	0.74	0.62	0.12	84.17	15.83
3 ม.ค. 57		20	08.00	0.59	0.49	0.11	82.16	17.84
3 ม.ค. 57		24	12.00	0.48	0.40	0.079	83.52	16.48
3 ม.ค. 57		29	17.00	0.42	0.34	0.081	81.03	18.97
3 ม.ค. 57		34	22.00	0.39	0.33	0.06	84.59	15.41
4 ม.ค. 57		39	03.00	0.34	0.28	0.061	81.93	18.07

ตารางที่ 9 ปริมาณพีเอชเอ (%gPHA/gMLSS) และสัดส่วนของพีเอชเอที่ผลิตได้จากตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยโพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	ปริมาณพีเอชเอ (%gPHA/gMLSS)	ปริมาณพีเอชบี (%gPHA/gMLSS)	ปริมาณพีเอชวี (%gPHA/gMLSS)	สัดส่วนพีเอชบี (%mol)	สัดส่วนพีเอชวี (%mol)
4 ม.ค. 57	81	44	08.00	0.3	0.24	0.054	81.80	18.20
4 ม.ค. 57		48	12.00	0.33	0.28	0.055	83.50	16.50

ตารางที่ 10 ปริมาณพีเอชเอ (%gPHA/gMLVSS) สูงสุดในแต่ละรอบของการเดินระบบที่ผลิตได้จากตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยโพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน

วันเดือนปี	รอบการเดินระบบ	ระยะเวลา (ชม.)	เวลา	ปริมาณพีเอชเอ (%gPHA/gMLVSS)	ปริมาณพีเอชบี (%gPHB/gMLVSS)	ปริมาณพีเอชวี (%gPHV/gMLVSS)
2 ก.ย. 56	1	6	16.00	7.31	1.32	5.99
8 ก.ย. 56	7	9	19.00	7.48	1.65	5.82
15 ก.ย. 56	14	9	19.00	6.88	1.98	4.90
21 ก.ย. 56	20	9	19.30	6.27	2.63	3.64
28 ก.ย. 56	27	15	01.30	16.29	9.39	6.90
6 ต.ค. 56	34	0	11.00	5.98	3.83	2.15
12 ต.ค. 56	40	0	11.00	12.00	10.068	1.93
25 พ.ย. 56	61	28	16.00	0.99	0.84	0.15
6 ธ.ค. 56	67	12	00.00	2.48	1.63	0.85
20 ธ.ค. 56	74	24	12.00	1.13	0.92	0.21
3 ม.ค. 57	81	12	00.00	0.84	0.63	0.21

3. ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์โดยใช้เทคนิค 16s metagenomic sequencing library (MiSeq, Illumina)

ตารางที่ 11 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นจากบริษัททีปโก้ เอพแอนด์บี

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Unclassified							495	0.288
Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	Cohnella	soli	34053	19.824
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	Inquilinus	ginsengisoli	24472	14.247
Bacteria	Planctomycetes						9219	5.367
Bacteria	Proteobacteria						7750	4.512
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Peptostreptococcaceae	Tepidibacter		5303	3.087
Bacteria	Verrucomicrobia	Verrucomicrobiae	Verrucomicrobiales	Verrucomicrobiaceae	Rubritalea		3735	2.174
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Peptostreptococcaceae	Peptostreptococcus	stomatis	3694	2.15
Bacteria							3659	2.13
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Alkaliphilus	crotonatoxidans	2688	1.565
Bacteria	Verrucomicrobia	Spartobacteria	Chthoniobacteriales	Chthoniobacteraceae	Chthoniobacter	flavus	2618	1.524
Bacteria	Firmicutes						2332	1.358
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Saprospiraceae	Lewinella	marina	2303	1.341
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria					2290	1.333
Bacteria	Planctomycetes	Planctomycetia	Planctomycetales	Planctomycetaceae	Planctomyces		2195	1.278
Bacteria	Chloroflexi	Anaerolineae	Anaerolineales	Anaerolineaceae	Longinea		2059	1.199
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Chromatiales	Chromatiaceae	Thiocapsa		1750	1.019
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Gallionellales	Gallionellaceae	Gallionella		1738	1.012
Archaea	Euryarchaeota	Methanobacteria	Methanobacteriales	Methanobacteriaceae	Methanobacterium	beijingense	1589	0.925
Bacteria	Planctomycetes	Brocadiae	Brocadiales	Brocadaceae	Candidatus Scalindua	broadae	1558	0.907
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium		1370	0.798
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae			1361	0.792
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingobium		1293	0.753
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	Roseospira		1234	0.718

ตารางที่ ง11 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นจากบริษัททีปโก้ เอฟแอนด์บี (ต่อ)

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Devosia	terrae	983	0.572
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Mesorhizobium		943	0.549
Bacteria	Chlamydiae	Chlamydia	Chlamydiales	Parachlamydiaceae	Candidatus Protochlamydia	amoebophila	921	0.536
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Rubrivax		907	0.528
Bacteria	Chlorobi	Ignavibacteria	Ignavibacteriales	Ignavibacteriaceae	Ignavibacterium		881	0.513
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Hyphomicrobium		858	0.499
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Veillonellaceae	Megasphaera	hominis	840	0.489
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Legionellales	Legionellaceae	Legionella	pneumophila	831	0.484
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Rhodoplanes		759	0.442
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales				720	0.419
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Novosphingobium		696	0.405
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Olivibacter		693	0.403
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	fallax	667	0.388
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Rhodoplanes	piscinae	656	0.382
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Kiloniellales	Kiloniellaceae	Thalassospira		655	0.381
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Acetobacteraceae	Roseomonas		617	0.359
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria					594	0.346
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	alkalicellulosi	553	0.322
Bacteria	Actinobacteria	Thermoleophilia	Solirubrobacterales	Conexibacteraceae	Conexibacter	woesei	537	0.313
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Pedobacter		525	0.306
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae			523	0.304
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Legionellales	Legionellaceae	Legionella		519	0.302
Bacteria	Chloroflexi	Dehalococcoidetes	Dehalococcoidales	Dehalococcoidaceae	Dehalogenimonas	lykanthroporepellens	514	0.299
Bacteria	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Bdellovibrionales	Bdellovibrionaceae	Bdellovibrio		504	0.293

ตารางที่ ง11 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นจากบริษัทปิโก้ เอฟแอนด์บี (ต่อ)

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	Azospirillum		497	0.289
Bacteria	Chloroflexi	Anaerolineae	Caldilineales	Caldilineaceae	Caldilinea		495	0.288
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria					460	0.268
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	saccharoperbutylacetonicum	457	0.266
Bacteria	Thermotogae	Thermotogae	Thermotogales	Thermotogaceae	Marinitoga		453	0.264
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales				442	0.257
Bacteria	Chloroflexi	Anaerolineae	Anaerolineales	Anaerolineaceae	Bellilinea	caldifistulae	438	0.255
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Dodonella	fugitiva	425	0.247
Archaea	Euryarchaeota	Methanobacteria	Methanobacteriales	Methanobacteriaceae	Methanobacterium		423	0.246
Archaea	Euryarchaeota	Methanomicrobia	Methanosarcinales	Methanosarcinaceae	Methanosaeta	concilii	413	0.24
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	butyricum	412	0.24
Bacteria	Firmicutes	Clostridia					395	0.23
Bacteria	Chlorobi	Chlorobia	Chlorobiales	Chlorobiaceae	Chlorobaculum		384	0.224
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	Rhodospirillum		371	0.216
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Mycobacteriaceae	Mycobacterium		365	0.212
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Aquimonas	voraii	356	0.207
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Burkholderiaceae	Burkholderia	brasiliensis	343	0.2
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales				333	0.194
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Novosphingobium	acidiphilum	332	0.193
Bacteria	Verrucomicrobia	Verrucomicrobiae	Verrucomicrobiales	Verrucomicrobiaceae	Prosthecoacter		323	0.188
Bacteria	Planctomycetes	Planctomycetia	Pirellulales	Pirellulaceae	Pirellula	staleyii	318	0.185
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Peptococcaceae	Desulfotobacterium		316	0.184
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Chitinophagaceae	Chitinophaga		297	0.173
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Bifidobacteriales	Bifidobacteriaceae	Bifidobacterium		293	0.171
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methylocystaceae	Methylosinus	puצלana	276	0.161

ตารางที่ ง11 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นจากบริษัทปิโก เอพแอนด์บี (ต่อ)

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Bacteria	Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales	Porphyromonadaceae	Dysgonomonas	wimpennyi	273	0.159
Bacteria	Tenericutes	Mollicutes	Mycoplasmatales	Mycoplasmataceae	Mycoplasma		271	0.158
Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Planococcaceae	Rummeliibacillus		252	0.147
Bacteria	Chloroflexi	Anaerolineae	Caldilineales	Caldilineaceae	Caldilinea	tarbellica	250	0.146
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	malenominatum	236	0.137
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Micromonosporaceae	Actinocatenispora	silicis	235	0.137
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Oceanospirillales	Halomonadaceae	Halomonas	sinaiensis	231	0.134
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Aurantimonadaceae	Marteiella		225	0.131
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Nocardiaceae	Rhodococcus	percolatus	225	0.131
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Bogoriellaceae	Georgenia		217	0.126
Bacteria	Chloroflexi	Anaerolineae	Anaerolineales	Anaerolineaceae	Anaerolinea		216	0.126
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Chromatales	Chromatiaceae			214	0.125
Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Streptococcaceae	Streptococcus	infantarius	211	0.123
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Halanaerobiales	Halobacteroidaceae	Acetohalobium		204	0.119
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Devosia		202	0.118
Bacteria	Actinobacteria	Acidimicrobia	Acidimicrobiales	lamiaceae	lamia		201	0.117
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Pseudonocardiaceae	Saccharopolyspora	shandongensis	200	0.116
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Novosphingobium	capsulatum	198	0.115
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Veillonellaceae	Pectinatus	cerevisiiphilus	193	0.112
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Rhodocyclales	Rhodocyclaceae			192	0.112
Bacteria	Planctomycetes	Planctomycetia	Planctomycetales	Planctomycetaceae	Planctomyces	limnophilus	189	0.11
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	Blastochloris	gulmargensis	181	0.105
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Micromonosporaceae	Actinocatenispora		179	0.104
Bacteria	Planctomycetes	Planctomycetia	Gemmatales	Isosphaeraceae	Singulisphaera		179	0.104
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Streptosporangiaceae			178	0.104

ตารางที่ ง11 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นจากบริษัทปิโก้ เอฟแอนด์บี (ต่อ)

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methylocystaceae	Methyloplia		173	0.101
Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Thermoactinomycetaceae	Planifilum	fimeticola	170	0.099
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	Rhodothalassium		170	0.099
Bacteria	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Syntrophobacteriales	Syntrophaceae	Desulfomonile	tiedjei	167	0.097
Bacteria	Verrucomicrobia	Opitutae	Opitiales	Opitutaceae	Opitutus		164	0.095
Bacteria	Armatimonadetes	Fimbrimonadetes	Fimbrimonadales	Fimbrimonadaceae	Fimbrimonas		163	0.095
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Rhodocyclales	Rhodocyclaceae	Uliginosibacterium	gangwonense	161	0.094
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Hyphomicrobium	vulgare	159	0.093
Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Streptococcaceae	Streptococcus		156	0.091
Bacteria	Proteobacteria	Gammaaproteobacteria	Alteromonadales				155	0.09
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	frigidicarnis	153	0.089
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	botulinum	152	0.088
Bacteria	Proteobacteria	Gammaaproteobacteria	Chromatiales	Chromatiaceae	Nitrosococcus	watsoni	150	0.087
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Hydrogenophilales	Hydrogenophilaceae	Thiobacillus		150	0.087
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Peptococcaceae	Desulfurispora	thermophila	150	0.087
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Pedomicrobium	manganicum	148	0.086
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	homopropionicum	148	0.086
Bacteria	Proteobacteria	Gammaaproteobacteria	Chromatiales				146	0.085
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Cryptosporangiaceae	Cryptosporangium		146	0.085
Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Thermicanales	Thermicanaceae	Thermicanus		145	0.084
Bacteria	Proteobacteria	Gammaaproteobacteria	Xanthomonadales	Sinobacteraceae	Steroidobacter	denitrificans	144	0.084
Bacteria	Proteobacteria	Gammaaproteobacteria	Methylcoccales	Methyllococcaceae	Methylocaldium		143	0.083
Bacteria	Chloroflexi	Anaerolineae	Anaerolineales	Anaerolinaceae	Longinea	arvoryzae	137	0.08
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Bifidobacteriales	Bifidobacteriaceae	Bifidobacterium	thermacidophilum	137	0.08
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Peptococcaceae	Desulfotomaculum	indicum	133	0.077

ตารางที่ 12 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 14 ในระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Unclassified							306	0.159
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Rhodobacter		34714	18.074
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus		32455	16.897
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Leucobacter		10301	5.363
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Pseudoxanthomonas	mexicana	10025	5.219
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Corynebacteriaceae	Corynebacterium	efficiens	9366	4.876
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus	marinus	8735	4.548
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus	homiensis	6096	3.174
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Corynebacteriaceae	Corynebacterium	xerosis	5671	2.953
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae			4209	2.191
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Roseivivax		3738	1.946
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus	aestuarii	3684	1.918
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Corynebacteriaceae	Corynebacterium	diphtheriae	3366	1.752
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Alteromonadales	Chromatiaceae	Rheinheimera	solii	3328	1.733
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Corynebacteriaceae	Corynebacterium		2954	1.538
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacterii	Sphingobacterales	Flexibacteraceae	Dyadobacter	alkalitolerans	2125	1.106
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Pseudoxanthomonas	japonensis	1924	1.002
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Rhodovulum	iodosum	1727	0.899
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Devosia		1723	0.897
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus	marcusii	1683	0.876
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium		1573	0.819
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Rhodocyclales	Rhodocyclaceae	Thauera		1543	0.803
Bacteria	Bacteroidetes	Flavobacterii	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae			1443	0.751
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Alteromonadales	Chromatiaceae	Alishewanella		1186	0.617
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Nitratireductor		1160	0.604

ตารางที่ 12 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 14 ในระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	botulinum	1104	0.575
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Arenimonas		982	0.511
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Phyllobacterium	catacumbae	889	0.463
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Corynebacteriaceae	Corynebacterium	canis	882	0.459
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	baratii	849	0.442
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Rhodovulum		839	0.437
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Peptostreptococcaceae	Tepidibacter		815	0.424
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Corynebacteriaceae	Corynebacterium	acetosidophilum	757	0.394
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Peptostreptococcaceae	Peptostreptococcus	stomatis	680	0.354
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Corynebacteriaceae	Corynebacterium	kutscheri	648	0.337
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus	denitrificans	549	0.286
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingopyxis	terrae	525	0.273
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Novosphingobium		508	0.264
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae			493	0.257
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Agrococcus	terreus	475	0.247
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	homopropionicum	460	0.239
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Ramlibacter	tataouinensis	452	0.235
Bacteria							425	0.221
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Flexibacteraceae	Pontibacter	niistensis	412	0.215
Bacteria	Elusimicrobia	Elusimicrobia	Elusimicrobiales	Elusimicrobiaceae	Elusimicrobium		398	0.207
Bacteria	Proteobacteria						387	0.201
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus	carotinifaciens	364	0.19
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales				358	0.186
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Corynebacteriaceae	Corynebacterium	genitulum	342	0.178
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales				332	0.173

ตารางที่ 12 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จาการอบการเดินระบบที่ 14 ในระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Halanaerobiales	Halobacteroidaceae	Acetohalobium		325	0.169
Bacteria	Bacteroidetes	Flavobacterii	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Tenacibaculum		315	0.164
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Flexibacteraceae			312	0.162
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	butyricum	292	0.152
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Rhodobacter	ovatus	291	0.152
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Arthrospira		288	0.15
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria					286	0.149
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Hylemonella		282	0.147
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Arenimonas	malthae	280	0.146
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Defluviobacter		272	0.142
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	perfringens	271	0.141
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Pseudoxanthomonas	indica	270	0.141
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Olivibacter		269	0.14
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Mesorhizobium		268	0.14
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Hyphomonadaceae	Hyphomonas		248	0.129
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Alkaliphilus	crotonatoxidans	236	0.123
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Rhodoplanes		235	0.122
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Parapedobacter	korensis	230	0.12
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Ruegeria	lacuscaerulensis	228	0.119
Bacteria	Planctomycetes	Planctomycetia	Planctomycetales	Planctomycetaceae	Planctomyces		228	0.119
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Rhodobaca		223	0.116
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Anaerospira	hongkongensis	221	0.115
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Phaeobacter	gallaeciensis	216	0.112
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Rhodocyclales	Rhodocyclaceae	Thauera	mechernichensis	212	0.11
Bacteria	Chloroflexi	Anaerolineae	Caldilineales	Caldilineaceae	Caldilinea		198	0.103

ตารางที่ 12 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 14 ในระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus	aminovorans	185	0.096
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Bartonellaceae	Bartonella	rochalimae	183	0.095
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Dokdonella	fugitiva	183	0.095
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Rhodocyclales	Rhodocyclaceae	Thauera	selenatis	181	0.094
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Amaricoccus		179	0.093
Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	Cohnella	solii	168	0.087
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Flexibacteraceae	Dyadobacter		163	0.085
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Devosia	hwasunensis	161	0.084
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Actinomycetaceae	Actinomyces	naturae	157	0.082
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Corynebacteriaceae	Corynebacterium	variabile	156	0.081
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Nitratireductor	kimyeongensis	153	0.08
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Saprospiraceae	Lewinella		149	0.078
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter		147	0.077
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Novosphingobium	mathurense	145	0.075
Bacteria	Planctomycetes	Planctomycetia	Planctomycetales	Planctomycetaceae	Planctomyces	brasiliensis	144	0.075
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Pseudoxanthomonas		144	0.075
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Pseudonocardiaceae	Amycolatopsis		144	0.075
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	carboxidivorans	140	0.073
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Octadecabacter	arcticus	138	0.072
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	chromoreductans	138	0.072
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Veillonellaceae	Megasphaera	hominis	135	0.07
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methylocystaceae	Methyloplia		133	0.069
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Shinella	fusca	132	0.069
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	aestuarii	130	0.068
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Sphingobacterium	thalpophilum	127	0.066

ตารางที่ 12 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 14 ในระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacteriales	Caulobacteraceae	Brevundimonas	diminuta	126	0.066
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Amaricoccus	kaplicensis	123	0.064
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae			120	0.062
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Nocardiaceae	Rhodococcus	percolatus	116	0.06
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Rubrivivax		113	0.059
Bacteria	Chloroflexi	Dehalococcoidetes	Dehalococcoidales	Dehalococcoidaceae	Dehalogenimonas	lykanthroporepellens	107	0.056
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae			102	0.053
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria					101	0.053
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Salinibacterium		100	0.052
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Sagittula	stellata	98	0.051
Bacteria	Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Flavobacterium		98	0.051
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria					95	0.049
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus	sulfuroxidans	94	0.049
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Pedobacter	panaciterra	93	0.048
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Flexibacteraceae	Hymenobacter		92	0.048
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Sinobacteraceae	Hydrocarboniphaga		89	0.046
Bacteria	Verrucomicrobia	Verrucomicrobiae	Verrucomicrobiales	Verrucomicrobiaceae	Verrucomicrobium		86	0.045
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter	arsenitoxydans	85	0.044
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Corynebacteriaceae	Corynebacterium	ammoniagenes	84	0.044
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacteriales	Caulobacteraceae	Brevundimonas	staleyi	83	0.043
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	Novispirillum		80	0.042
Bacteria	Proteobacteria	Epsilonproteobacteria	Campylobacteriales	Campylobacteraceae	Arcobacter	cryaerophilus	80	0.042
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales				80	0.042
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Leucobacter	komagatae	79	0.041
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacteriales	Rhodobacteraceae	Paracoccus	niistensis	78	0.041

ตารางที่ ง13 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 34 ในระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Unclassified							348	0.226
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Saprospiraceae	Lewinella		57587	37.324
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Leucobacter		9248	5.994
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Defluviibacter		8784	5.693
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Hyphomonadaceae	Hyphomonas		7757	5.028
Bacteria	Proteobacteria	Gammaaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	alcaligenes	5606	3.633
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Rhodovulum	iodosum	5072	3.287
Bacteria	Proteobacteria	Gammaaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Pseudoxanthomonas	mexicana	4411	2.859
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Hyphomicrobium	vulgare	3152	2.043
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Nitritreductor		2473	1.603
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Leucobacter	komagatae	2434	1.578
Bacteria	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Syntrophobacteriales	Syntrophobacteraceae			2360	1.53
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus		2283	1.48
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Rhodobaca		2067	1.34
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Agrobacterium		1536	0.996
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Corynebacteriaceae	Corynebacterium		1431	0.927
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae			1393	0.903
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Hyphomonadaceae	Oceanicaultis		1269	0.822
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Devosia		1107	0.717
Bacteria	Proteobacteria	Gammaaproteobacteria	Alteromonadales	Chromatiaceae	Alishewanella		1026	0.665
Bacteria	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae			987	0.64
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Candidatus Liberibacter	solanacearum	969	0.628
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Hyphomonadaceae	Hyphomonas	polymorpha	947	0.614
Bacteria	Proteobacteria	Proteobacteria					868	0.563

ตารางที่ 13 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 34 ในระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Hyphomonadaceae	Hyphomonas	hirschiana	844	0.547
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Rhodocyclales	Rhodocyclaceae	Thaueria		821	0.532
Bacteria							793	0.514
Bacteria	Proteobacteria	Gammaaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	resinovorans	759	0.492
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Rhodovulum		747	0.484
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales				726	0.471
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Roseivivax		620	0.402
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae			598	0.388
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Neisseriales	Neisseriaceae	Chromobacterium	piscinae	559	0.362
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Rhizobium	alamii	553	0.358
Bacteria	Proteobacteria	Gammaaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Pseudoxanthomonas	japonensis	549	0.356
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Rhodobacter		523	0.339
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria					521	0.338
Bacteria	Proteobacteria	Gammaaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Arenimonas		516	0.334
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Brevundimonas	bullata	495	0.321
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales				493	0.32
Bacteria	Proteobacteria	Gammaaproteobacteria	Alteromonadales	Chromatiaceae	Rheinheimera	soli	485	0.314
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus	marinus	449	0.291
Bacteria	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Bdellovibrionales	Bdellovibrionaceae	Bdellovibrio	bacteriovorus	427	0.277
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae			395	0.256
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Aminobacter	aminovorans	391	0.253
Bacteria	Proteobacteria	Gammaaproteobacteria	Alteromonadales	Alteromonadaceae	Glaciecola		388	0.251
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Shinella	fusca	352	0.228
Bacteria	Proteobacteria	Gammaaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Pseudoxanthomonas	indica	346	0.224
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Hyphomicrobium	aestuarii	333	0.216

ตารางที่ 13 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 34 ในระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Streptomycetaceae	Streptomyces	lazareus	315	0.204
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Pseudaminobacter	defluvii	313	0.203
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus	homiensis	308	0.2
Bacteria	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Flavobacterium		293	0.19
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Flexibacteraceae	Pontibacter	niensis	293	0.19
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	Blastochloris	gulmargensis	289	0.187
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Nitratireductor	kimyeongensis	281	0.182
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus	alcaliphilus	278	0.18
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Mesorhizobium	opportunistum	267	0.173
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Agrobacterium	undicola	254	0.165
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Microbacterium	pumilum	222	0.144
Bacteria	Proteobacteria	Gammaaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter	rhizosphaerae	210	0.136
Bacteria	Proteobacteria	Epsilonaproteobacteria	Campylobacterales	Campylobacteraceae	Arcobacter	defluvii	197	0.128
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria					197	0.128
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae			192	0.124
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	Roseospira	visakhapatnamensis	184	0.119
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Flexibacteraceae	Dyadobacter	alkalitolerans	176	0.114
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Corynebacteriaceae	Corynebacterium	efficiens	174	0.113
Bacteria	Proteobacteria	Gammaaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas		168	0.109
Bacteria	Proteobacteria	Gammaaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Xanthomonas	oryzae	167	0.108
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Octadecabacter	arcticus	167	0.108
Bacteria	Proteobacteria	Gammaaproteobacteria	Alteromonadales				164	0.106
Bacteria	Proteobacteria	Gammaaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae			161	0.104
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales				151	0.098
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Microbacterium		147	0.095

ตารางที่ 13 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 34 ในระบบซึ่งใช้ชีวมวลเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Azomonas	insignis	145	0.094
Bacteria	Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Tenacibaculum		141	0.091
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Brevundimonas	terrae	141	0.091
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingopyxis	terrae	138	0.089
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Corynebacteriaceae	Corynebacterium	xerosis	137	0.089
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Shinella		132	0.086
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria					131	0.085
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Devosia	hwasunensis	129	0.084
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Sphingobacterium	shayense	127	0.082
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Brevundimonas		126	0.082
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Rhizobium		125	0.081
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	Azospirillum		122	0.079
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Parapedobacter	koreensis	119	0.077
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Olivibacter		112	0.073
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Hydrogenophaga		111	0.072
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingomonas		108	0.07
Bacteria	Deferribacteres	Deferribacteres	Deferribacterales	Deferribacteraceae	Deferribacter	autotrophicus	107	0.069
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Acetobacteraceae	Gluconobacter		105	0.068
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Arenimonas	malthae	103	0.067
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Rhodocyclales	Rhodocyclaceae	Thauera	linaloolentis	99	0.064
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Pseudoxanthomonas		97	0.063
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Phyllobacterium		95	0.062
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Phyllobacterium	catacumbae	94	0.061
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Dokdonella		89	0.058
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	lundensis	86	0.056

ตารางที่ 13 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 34 ในระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Bacteria	Firmicutes						86	0.056
Bacteria	Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter		84	0.054
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Leucobacter	albus	84	0.054
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Pedobacter	panaciterrae	84	0.054
Bacteria	Bacteroidetes						84	0.054
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Saprospiraceae	Levinella	lutea	83	0.054
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Leucobacter	chironomi	81	0.052
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Aminobacter		78	0.051
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Pseudonocardiaceae	Amycolatopsis		77	0.05
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Ruegeria	lacuscaerulensis	77	0.05
Bacteria	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Desulfobirionales	Desulfobirionaceae	Desulfobirio	brasilensis	77	0.05
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Denitrobacter	permanens	72	0.047
Bacteria	Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Alteromonadales	Idiomarinaceae	Pseudidiomarina	donghaiensis	72	0.047
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Anaerospira	hongkongensis	70	0.045
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Rhizobium	pisi	70	0.045
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter		70	0.045
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Salinibacterium		69	0.045
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus	aestuani	67	0.043
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Mesorhizobium		66	0.043
Bacteria	Firmicutes	Clostridia					62	0.04
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Saprospiraceae	Levinella	marina	62	0.04
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Amoebophilaceae	Candidatus Amoebophilus	asiaticus	62	0.04
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Rhodobacter	ovatus	60	0.039
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Hyphomicrobium		58	0.038

ตารางที่ ง14 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จาการอบการเดินระบบที่ 81 ในระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
	Unclassified						760	0.502
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Devosia		25641	16.941
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Xylella		12390	8.186
Bacteria	Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae			9050	5.979
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Xenophilus		7414	4.898
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Leucobacter	komagatae	6896	4.556
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Gordoniaceae	Gordonia		6223	4.111
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Defluviobacter		5880	3.885
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter		5322	3.516
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	Xanthobacter		3839	2.536
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Leucobacter		3688	2.437
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Devosia	subaequoris	3669	2.424
Bacteria	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Myxococcales	Polyangiaceae	Chondromyces	pediculatus	2750	1.817
Bacteria	Verrucomicrobia	Verrucomicrobiae	Verrucomicrobiales	Verrucomicrobiaceae	Luteolibacter		2630	1.738
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Gordoniaceae	Gordonia	terrae	2244	1.483
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Saprospiraceae	Lewinella		1910	1.262
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Devosia	hwasunensis	1869	1.235
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Pseudoxanthomonas		1598	1.056
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae			1512	0.999
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae			1462	0.966
Bacteria	Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Wautersiella		1444	0.954
Bacteria	Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Flavobacterium		1440	0.951
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Parapedobacter	korensis	1383	0.914
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae			1271	0.84
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	Ancylobacter	aquaticus	1249	0.825

ตารางที่ 14 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 81 ในระบบซึ่งใช้ชีวมวลเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Bacteria	Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Xanthomonas	sacchari	1237	0.817
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Chitinophagaceae			1233	0.815
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Chitinophagaceae	Chitinophaga	soli	1214	0.802
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	Xanthobacter	polyaromaticivorans	1063	0.702
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Shinella	granuli	964	0.637
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Bogoriellaceae	Georgenia		807	0.533
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Tepidimonas	ignava	775	0.512
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Chitinophagaceae	Segetibacter	korensis	769	0.508
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus	solventivorans	755	0.499
Bacteria	Verrucomicrobia	Verrucomicrobiae	Verrucomicrobiales	Verrucomicrobiaceae	Rubritalea		713	0.471
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Neisseriales	Neisseriaceae	Chromobacterium	piscinae	712	0.47
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria					686	0.453
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methylbacteriaceae	Methylbacterium		684	0.452
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Chitinophagaceae	Flavisolibacter	ginsengisoli	636	0.42
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Amoebophilaceae	Candidatus Amoebophilus	asiaticus	635	0.42
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Devosia	chinhatensis	633	0.418
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	Xanthobacter	autotrophicus	618	0.408
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Sphingobacterium	shayense	611	0.404
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Corynebacteriaceae	Corynebacterium	variable	596	0.394
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Acidovorax	facilis	594	0.392
Bacteria	Bacteroidetes						561	0.371
Bacteria	Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	mendocina	491	0.324
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Xenophilus	azovorans	463	0.306
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Oxalobacteraceae	Oxalobacter	vibriiformis	457	0.302

ตารางที่ 14 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 81 ในระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Flexibacteraceae	Dyadobacter	alkalitolerans	445	0.294
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Gordoniaceae	Gordonia	australis	428	0.283
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter	arsenitoxidans	408	0.27
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Variovorax	soli	405	0.268
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales				397	0.262
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Neisseriales	Neisseriaceae	Vogesella	indigofera	391	0.258
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Agrobacterium		354	0.234
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Xanthomonas	oryzae	352	0.233
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Verminephrobacter		346	0.229
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Chitinophagaceae	Sediminibacterium		308	0.203
Bacteria							302	0.2
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Corynebacteriaceae	Corynebacterium		301	0.199
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingopyxis		286	0.189
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Nocardioidaceae	Aeromicrobium		282	0.186
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Gordoniaceae	Gordonia	lacunae	277	0.183
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Luteimonas		269	0.178
Bacteria	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Syntrophobacteriales	Syntrophaceae	Desulfomonile	tiedjei	267	0.176
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas		264	0.174
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Cryocola		259	0.171
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacteriales	Rhodobacteriaceae	Paracoccus	denitrificans	243	0.161
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Pigmentiphaga		242	0.16
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	panipatensis	236	0.156
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Pedobacter		215	0.142
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae			212	0.14
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Dokdonella	korensis	206	0.136

ตารางที่ ง14 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 81 ในระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Pseudoxanthomonas	indica	206	0.136
Bacteria	Proteobacteria						196	0.129
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Xanthomonas		194	0.128
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Actinomycetaceae	Actinomyces	naturae	187	0.124
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Devosia	geojensis	186	0.123
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Stenotrophomonas	geniculata	177	0.117
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus		176	0.116
Bacteria	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Bdellovibrionales	Bdellovibrionaceae	Bdellovibrio	bacteriovorus	173	0.114
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Gordoniaceae	Gordonia	hirsuta	167	0.111
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	Azorhizobium		163	0.108
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Chitinophagaceae	Segetibacter	aerophilus	163	0.108
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Diaphorobacter		162	0.107
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Hyphomicrobium	vulgare	162	0.107
Bacteria	Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Chryseobacterium	taichungense	147	0.097
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Salinibacterium		139	0.092
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	Ancylobacter		134	0.089
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Flexibacteraceae			129	0.085
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales				127	0.084
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Rhodovulum	imhoffii	124	0.082
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Mesorhizobium		123	0.081
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Rhizobium	alamii	120	0.079
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria					116	0.077
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Cellulomonadaceae	Pseudoclavibacter		113	0.075
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales				113	0.075
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Shinella		109	0.072

ตารางที่ 14 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 81 ในระบบซึ่งใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Gordoniaceae	Gordonia	amarae	109	0.072
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	alcaligenes	106	0.07
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Leucobacter	albus	105	0.069
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae			104	0.069
Bacteria	Proteobacteria	Delta proteobacteria	Syntrophobacterales	Syntrophobacteraceae			101	0.067
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingopyxis	granuli	97	0.064
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	guineae	87	0.057
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Rhodocyclales	Rhodocyclaceae	Denitrisoma	oestradiolicum	84	0.055
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Cellulomonadaceae	Cellulomonas	oligotrophica	83	0.055
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Alicyclophilus		82	0.054
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria					81	0.054
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Acidovorax		79	0.052
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Agrobacterium	undicola	76	0.05
Bacteria	Actinobacteria	Thermoleophilia	Solirubrobacterales	Conexibacteraceae	Conexibacter	woesei	76	0.05
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Chitinophagaceae	Niabella	solii	71	0.047
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales				70	0.046
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Dokdonella	fugitiva	69	0.046
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae			67	0.044
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Chromatiales	Chromatiaceae	Marichromatium	gracile	66	0.044
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Hylemonella		66	0.044
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Chitinophagaceae	Niastella	koreensis	65	0.043
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae			65	0.043
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae			65	0.043
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Aquimonas	voraii	65	0.043
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Leucobacter	chironomi	64	0.042

ตารางที่ 15 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 14 ในระบบซึ่งใช้ไฟฟฟิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Unclassified							133	0.084
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Pseudoxanthomonas	mexicana	14476	9.121
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Rhodobacter		13153	8.288
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter	parvus	10641	6.705
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingopyxis	terrae	8672	5.464
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter		8240	5.192
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter		6609	4.164
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus		6219	3.919
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter	insolitus	6103	3.845
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Rhodobaca		6079	3.83
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus	denitrificans	5044	3.178
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Leucobacter		4685	2.952
Bacteria	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Flavobacterium		3095	1.95
Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Planococcaceae	Lysinibacillus	xylanilyticus	2993	1.886
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter	tjernbergiae	2656	1.674
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Neisseriales	Neisseriaceae	Chromobacterium		2556	1.611
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter	piechaudii	2465	1.553
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Pseudoxanthomonas	japonensis	2344	1.477
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	stutzeri	1997	1.258
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus	homiensis	1803	1.136
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter	arsenitoxydans	1794	1.13
Bacteria	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Flavobacterium	kamogawaensis	1589	1.001
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium		1399	0.881
Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	litoralis	1268	0.799
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Rhodobacter	ovatus	1155	0.728

ตารางที่ 15 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 14 ในระบบซึ่งใช้ไฟรฟิโคโนเนตเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus	marinus	1133	0.714
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter	indicus	1121	0.706
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae			1063	0.67
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae			1063	0.67
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus	aestuarii	955	0.602
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Parapedobacter	koreensis	947	0.597
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas		915	0.577
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	mendocina	806	0.508
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Aquimonas	voraii	781	0.492
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Roseivivax		766	0.483
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Pedobacter	panaciterrae	676	0.426
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Chitinophagaceae	Chitinophaga	soli	659	0.415
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus	alcaliphilus	653	0.411
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Peptostreptococcaceae	Tepidibacter		623	0.393
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Alicyclophilus		597	0.376
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Rhodocyclales	Rhodocyclaceae	Thauera		587	0.37
Bacteria	Chloroflexi	Anaerolineae	Caldilineales	Caldilineaceae	Caldilinea		547	0.345
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingopyxis		539	0.34
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Pedobacter		515	0.324
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Alicyclophilus	denitrificans	482	0.304
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Phyllobacterium	catacumbae	471	0.297
Bacteria	Proteobacteria	Deitaproteobacteria	Bdellovibrionales	Bdellovibrionaceae	Bdellovibrio	bacteriovorus	464	0.292
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Flexibacteraceae	Dyadobacter	alkalitolerans	448	0.282
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Pseudoxanthomonas	indica	445	0.28
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Arenimonas		423	0.267

ตารางที่ 15 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 14 ในระบบซึ่งใช้ไฟรฟิโคโนเนตเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter	xylooxidans	412	0.26
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Hylemonella		396	0.25
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Stenotrophomonas	acidaminiphila	393	0.248
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae			392	0.247
Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Bacillales				391	0.246
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Diaphorobacter		373	0.235
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Peptostreptococcaceae	Peptostreptococcus	stomatis	372	0.234
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacteriales	Caulobacteraceae	Brevundimonas	diminuta	367	0.231
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Arenimonas	malthae	357	0.225
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Spingomonadales	Spingomonadaceae	Novosphingobium		328	0.207
Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus		320	0.202
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Leucobacter	komagatae	304	0.192
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae			290	0.183
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Rhodocyclales	Rhodocyclaceae	Azoarcus		289	0.182
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacteriales	Rhodobacteraceae	Rhodovulum	iodosum	257	0.162
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacteriales	Hyphomonadaceae	Hyphomonas		247	0.156
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Trabulsiella	farmeri	245	0.154
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacteriales	Rhodobacteraceae	Paracoccus	niistensis	232	0.146
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Pseudoxanthomonas		230	0.145
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Defluviobacter		230	0.145
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Sphingobacterium	shayense	230	0.145
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	alcaliphila	226	0.142
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Mesorhizobium		218	0.137
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Lachnospiraceae	Blautia		217	0.137
Bacteria	Chloroflexi	Dehalococcoidetes	Dehalococcoidales	Dehalococcoidaceae	Dehalogenimonas	lykanthroprepellens	210	0.132

ตารางที่ 15 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 14 ในระบบซึ่งใช้ไฟรฟิโหนดเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Bacteria	Proteobacteria						210	0.132
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Delftia	tsuruhatensis	209	0.132
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Pseudoxanthomonas	yeongjuensis	208	0.131
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	balearica	207	0.13
Bacteria	Bacteroidetes						202	0.127
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus	carotinifaciens	191	0.12
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Burkholderiaceae	Pandoraea		188	0.118
Bacteria	Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Chryseobacterium		188	0.118
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Leucobacter	chironomi	184	0.116
Bacteria							181	0.114
Bacteria	Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae			179	0.113
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	mesophilum	173	0.109
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Delftia	lacustris	172	0.108
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria					170	0.107
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Thermomonas	haemolytica	168	0.106
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae			159	0.1
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus	marcusii	158	0.1
Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	Paenibacillus		150	0.095
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus	aminovorans	148	0.093
Bacteria	Planctomycetes	Planctomycetia	Planctomycetales	Planctomycetaceae	Planctomyces		148	0.093
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	subterminale	145	0.091
Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae			140	0.088
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter	denitrificans	131	0.083
Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	Cohnella	solii	130	0.082
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Ruminococcaceae	Anaerotruncus	collihominis	126	0.079

ตารางที่ 16 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จาการอบการเดินระบบที่ 27 ในระบบซึ่งใช้ไฟฟฟไอเอนตเป็นแหล่งคาร์บอน

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Unclassified							356	0.086
Bacteria	Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Pseudoxanthomonas	mexicana	61424	14.802
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Rhodobaca		39124	9.428
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingopyxis	terrae	32456	7.821
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Brevundimonas	staleyi	16908	4.075
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Brevundimonas		14662	3.533
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus		13010	3.135
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Hyphomicrobium	vulgare	11515	2.775
Bacteria	Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Pseudoxanthomonas	japonensis	10231	2.466
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Delftia	tsuruhatensis	9096	2.192
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Rhodovulum	iodosum	8949	2.157
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Delftia	lacustris	8940	2.154
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Leucobacter		8758	2.111
Bacteria	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Bdellovibrionales	Bdellovibrionaceae	Bdellovibrio	bacteriovorus	8379	2.019
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Delftia		5520	1.33
Bacteria	Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Dokdonella		5263	1.268
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Brevundimonas	olei	5228	1.26
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Roseivivax		4969	1.197
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus	alcaliphilus	4917	1.185
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Brevundimonas	terrae	4830	1.164
Bacteria	Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter	parvus	4483	1.08
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Oxalobacteraceae	Oxalobacter	vibriiformis	3907	0.942
Bacteria	Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae			3689	0.889
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae			3570	0.86
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae			3416	0.823

ตารางที่ 16 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 27 ในระบบซึ่งใช้ไฟรฟิโคโนตเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Pseudoxanthomonas	yeongiensis	3398	0.819
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Leucobacter	komagatae	3162	0.762
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria					3026	0.729
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Arthrospira		2796	0.674
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Parapedobacter	korensis	2736	0.659
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter		2681	0.646
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Hyphomonadaceae	Hyphomonas		2618	0.631
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Rhodobacter		2556	0.616
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter	arsenitoxydans	2535	0.611
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingopyxis		2473	0.596
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus	homiensis	2359	0.568
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Pseudoxanthomonas		2183	0.526
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Luteimonas	marina	2085	0.502
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter		2062	0.497
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Neisseriales	Neisseriaceae	Chromobacterium		1993	0.48
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter	insolitus	1924	0.464
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae			1796	0.433
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus	marinus	1726	0.416
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales				1666	0.401
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Pedobacter	kwangyangensis	1646	0.397
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Pedobacter		1538	0.371
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Aminobacter	aminovorans	1477	0.356
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	Blastochloris	gulmargensis	1302	0.314
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Pseudoxanthomonas	indica	1294	0.312
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium		1286	0.31

ตารางที่ 16 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 27 ในระบบซึ่งใช้ไฟฟฟิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Hyphomicrobium	aestuarii	1281	0.309
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Cohaesibacteraceae	Cohaesibacter		1276	0.307
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingomonas		1270	0.306
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Nitratireductor		1255	0.302
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter	tjernbergiae	1248	0.301
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Dokdonella	korensis	1242	0.299
Bacteria	Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae			1192	0.287
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Defluviobacter		1151	0.277
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Peptostreptococcaceae	Tepidibacter		1137	0.274
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Pedobacter	panaciterrae	1077	0.26
Bacteria	Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Flavobacterium		1055	0.254
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Brevundimonas	diminuta	1042	0.251
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Stenotrophomonas	acidaminiphila	1034	0.249
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacteriales	Rhodobacteraceae	Paracoccus	denitrificans	995	0.24
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Pigmentiphaga		985	0.237
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Fusibacter		973	0.234
Bacteria							971	0.234
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Olivibacter		952	0.229
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Luteimonas		926	0.223
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae			850	0.205
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Thermomonas	brevis	837	0.202
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Phyllobacterium	catacumbae	798	0.192
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Aquimonas	voraii	793	0.191
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacteriales	Rhodobacteriaceae	Rhodovulum		780	0.188
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Agrobacterium		755	0.182

ตารางที่ 16 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 27 ในระบบซึ่งใช้ไฟฟฟิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Dokdonella	fugitiva	751	0.181
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Shinella	fusca	705	0.17
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Devosia		687	0.166
Bacteria	Bacteroidetes						644	0.155
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Thermomonas		627	0.151
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Alteromonadales	Chromatiaceae	Alishewanella		585	0.141
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Amaricoccus	kaplicensis	565	0.136
Bacteria	Proteobacteria						517	0.125
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacterii	Sphingobacteriales	Flexibacteraceae	Dyadobacter	alkalitolerans	507	0.122
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Veillonellaceae	Propionispora	hippel	500	0.12
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Brevundimonas	bullata	496	0.12
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Salinibacterium		489	0.118
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Mesorhizobium	opportunatum	489	0.118
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingopyxis	chilensis	453	0.109
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	Xanthobacter		446	0.107
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus	aestuarii	436	0.105
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Paucibacter		411	0.099
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Mesorhizobium		409	0.099
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacterii	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Sphingobacterium	thalpophilum	407	0.098
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingopyxis	taejonensis	406	0.098
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Pseudoxanthomonas	sacheonensis	399	0.096
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Hydrogenophaga		390	0.094
Bacteria	Chlamydiae	Chlamydia	Chlamydiales	Waddliaceae	Waddlia		380	0.092
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Curvibacter	gracilis	379	0.091
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter	rhizosphaerae	374	0.09

ตารางที่ 16 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 27 ในระบบซึ่งใช้ไฟรฟิโคโนเนตเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Rhodocyclales	Rhodocyclaceae	Thaueria		342	0.082
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Mycoplana		340	0.082
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Peptostreptococcaceae	Peptostreptococcus	stomatis	338	0.081
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae			337	0.081
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacterii	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Sphingobacterium	shayense	334	0.08
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter	plechaudii	332	0.08
Bacteria	Chloroflexi	Anaerolineae	Caldilineales	Caldilineaceae	Caldilinea		319	0.077
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Klebsiella	oxytoca	297	0.072
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae			286	0.069
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria					280	0.067
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Xanthomonas	oryzae	280	0.067
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Octadecabacter	arcticus	274	0.066
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Erythrobacteriaceae	Erythrobacter		270	0.065
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Hyphomonadaceae	Hyphomonas	polymorpha	268	0.065
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingomonas	wittichii	267	0.064
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Hyphomonadaceae	Hyphomonas	hirschiana	261	0.063
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Hyphomicrobium		259	0.062
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Trabulsiella	farmeri	258	0.062
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methylocystaceae	Methylosinus		254	0.061
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Candidatus Liberibacter	africanus	248	0.06
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Chromatiales	Chromatiaceae	Nitrosococcus	watsoni	246	0.059
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Diaphorobacter		245	0.059
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Mycobacteriaceae	Mycobacterium	rutilum	230	0.055
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus	sulfuroxidans	219	0.053

ตารางที่ 16 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จาการอบการเดินระบบที่ 81 ในระบบซึ่งใช้ไฟรฟิโเอนตเป็นแหล่งคาร์บอน

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Unclassified							828	0.532
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Dokdonella	koreensis	45035	28.926
Bacteria	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae			10276	6.6
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Devosia		9762	6.27
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	Xanthobacter		6552	4.208
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Leucobacter	komagatae	6405	4.114
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Leucobacter		5726	3.678
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae			5435	3.491
Bacteria	Verrucomicrobia	Verrucomicrobiae	Verrucomicrobiales	Verrucomicrobiaceae	Luteolibacter		5150	3.308
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Chitinophagaceae			4121	2.647
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methyllobacteriaceae	Methyllobacterium	goesingense	3398	2.183
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Chitinophagaceae	Segetibacter	koreensis	3121	2.005
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Chitinophagaceae	Flavisolibacter	ginsengisoli	2705	1.737
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	Xanthobacter	polyaromaticivorans	2428	1.56
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Defluviibacter		2384	1.531
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Sphingobacterium	shayense	2130	1.368
Bacteria	Verrucomicrobia	Verrucomicrobiae	Verrucomicrobiales	Verrucomicrobiaceae	Rubritalea		1525	0.98
Bacteria	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Wautersiella		1482	0.952
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methyllobacteriaceae	Methyllobacterium		1393	0.895
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Devosia	subaequoris	1252	0.804
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Xylella		1235	0.793
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	Xanthobacter	autotrophicus	1209	0.777
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Nocardioidaceae	Aeromicrobium		1181	0.759
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Pedobacter		1115	0.716
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Brevundimonas	bullata	1013	0.651

ตารางที่ 16 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จาการอบการเดินระบบที่ 81 ในระบบซึ่งใช้ไฟรฟิโเอนตเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingopyxis	taejonensis	1010	0.649
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Actinomycetaceae	Actinomycetes	naturae	956	0.614
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Mesorhizobium		914	0.587
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Gordoniaceae	Gordonia		885	0.568
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Devosia	hwasunensis	818	0.525
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Pseudoxanthomonas		789	0.507
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	Azorhizobium		772	0.496
Bacteria	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Mycococcales	Polyangiaceae	Chondromyces	pediculatus	757	0.486
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Shinella		687	0.441
Bacteria	Bacteroidetes						681	0.437
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Chitinophagaceae	Sediminibacterium		672	0.432
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Agrobacterium		618	0.397
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Cryocola		616	0.396
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Dokdonella		606	0.389
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Xanthomonas		527	0.338
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Pigmentiphaga		499	0.321
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Flexibacteraceae	Dyadobacter	alkaliferans	445	0.286
Bacteria							397	0.255
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Devosia	chinhatensis	344	0.221
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Neisseriales	Neisseriaceae	Chromobacterium	piscinae	317	0.204
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria					301	0.193
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales				297	0.191
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Thermoanaerobacteriales	Thermoanaerobacteraceae	Moorella		290	0.186
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Chitinophagaceae	Niabella	soli	286	0.184
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Gordoniaceae	Gordonia	terrae	280	0.18

ตารางที่ 16 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 81 ในระบบซึ่งใช้ไฟรฟิโคโนตเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Xenophilus		264	0.17
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Chitinophagaceae	Segetibacter	aerophilus	261	0.168
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Xanthomonadales	Aquimonas	voraii	259	0.166
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae			249	0.16
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Pseudonocardaceae	Amycolatopsis		244	0.157
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Oxalobacteraceae	Oxalobacter	vibriiformis	238	0.153
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae			230	0.148
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Rhizobium	alamii	230	0.148
Bacteria	Proteobacteria						213	0.137
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae			209	0.134
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hypomicrobiaceae	Devosia	geojensis	193	0.124
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Salinibacterium		192	0.123
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae			187	0.12
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Flexibacteraceae			174	0.112
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Diaphorobacter		171	0.11
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Rathayibacter		169	0.109
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Paracoccus	denitrificans	162	0.104
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae			160	0.103
Bacteria	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Bdellovibrionales	Bdellovibrionaceae	Bdellovibrio	bacteriovorus	156	0.1
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter		152	0.098
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Dokdonella	fugitiva	151	0.097
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Xanthomonas	sacchari	149	0.096
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Cellulomonadaceae	Pseudoclavibacter		145	0.093
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium		143	0.092
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Shinella	yambaruensis	129	0.083

ตารางที่ 16 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 81 ในระบบซึ่งใช้ไฟรฟิโคโนตเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria					126	0.081
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Agrobacterium	undicola	125	0.08
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Saprosiraceae	Lewinella		120	0.077
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Pseudoxanthomonas	indica	120	0.077
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Rhodovulum		120	0.077
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Microbacterium		119	0.076
Bacteria	Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Polaribacter	butkevichii	118	0.076
Bacteria	Verrucomicrobia	Verrucomicrobiae	Verrucomicrobiales	Verrucomicrobiaceae	Luteolibacter	algae	116	0.075
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Luteimonas		113	0.073
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Chitinophagaceae	Chitinophaga	solii	113	0.073
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Chitinophagaceae	Chitinophaga		107	0.069
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Curtobacterium	flaccumfaciens	107	0.069
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria					103	0.066
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Stenotrophomonas	terrae	103	0.066
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingomonas		101	0.065
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Sinorhizobium		99	0.064
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Alicyclophilus	denitrificans	96	0.062
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales				90	0.058
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae			88	0.057
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Bejerinckiaceae	Chelatococcus	daeguensis	85	0.055
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Amoebophilaceae	Candidatus Amoebophilus	asiaticus	84	0.054
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Nocardioidaceae	Aeromicrobium	marinum	83	0.053
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rickettsiales	Rickettsiaceae	Rickettsia		80	0.051
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Gordoniaceae	Gordonia	australis	76	0.049

ตารางที่ 16 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากระบบการเดินระบบที่ 81 ในระบบซึ่งใช้ไฟรฟิโคโนตเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Mesorhizobium	septentrionale	76	0.049
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas		75	0.048
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Nocardiodaceae	Aeromicrobium	erythreum	75	0.048
Bacteria	Verrucomicrobia	Verrucomicrobiae	Verrucomicrobiales	Verrucomicrobiaceae			73	0.047
Bacteria	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Syntrophobacteriales	Syntrophaceae	Desulfomonile	tiedjei	72	0.046
Bacteria	Cyanobacteria						70	0.045
Bacteria	Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Flavobacterium		67	0.043
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Acidovorax	facilis	65	0.042
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacteriales	Caulobacteraceae	Brevundimonas		65	0.042
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Shinella	fusca	62	0.04
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Acetobacteraceae	Roseomonas		62	0.04
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacteriales	Caulobacteraceae	Brevundimonas	terrae	61	0.039
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacteriales	Rhodobacteraceae			61	0.039
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacteriales	Rhodobacteraceae	Paracoccus		61	0.039
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	Rhodospirillum		60	0.039
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Salinibacterium	xinjiangense	58	0.037
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Luteimonas	aquatica	58	0.037
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Flexibacteraceae	Dyadobacter		58	0.037
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Alicyclophilus		57	0.037
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Legionellales	Legionellaceae	Legionella		55	0.035
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria					55	0.035
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Pseudoxanthomonas	japonensis	55	0.035
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales				51	0.033
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Rhizobium		50	0.032
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacteriales	Rhodobacteraceae	Rhodovulum	iodosum	50	0.032

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวนฤมล วรอิทธินันท์ เกิดเมื่อวันที่ 24 เมษายน 2532 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล เมื่อปีการศึกษา 2554 เข้าศึกษาต่อใน หลักสูตรวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2554

การเผยแพร่ผลงานวิจัย

นฤมล วรอิทธินันท์ และ เบญจพร สุวรรณศิลป์. (2557). การควบคุมระบบแบบกึ่งเท เพื่อสร้างสภาวะอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลนสำหรับผลิตพีเอชเอโดยจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม (Operation of sequencing batch reactors to create alternate feast/famine conditions for PHA production using microbial mixed culture). เอกสารประกอบการประชุมวิชาการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติครั้งที่ 13 ณ โรงแรมเดอะทวินทาวเวอร์ กรุงเทพมหานคร. 26-28 มีนาคม 2557. หน้า 197-198.