

ผลของอายุตะกอนต่อการผลิตโพลีไฮดรอกซีอัลคานอยด์ด้วยจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมโดยการให้อาหาร
แบบเกินพอสลั้กับขาดแคลน



นางสาวเศรยา กิจพ้อคำ

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

EFFECT OF SLUDGE RETENTION TIME ON POLYHYDROXYALKANOATE PRODUCTION BY
MIXED CULTURES OF MICROORGANISMS UNDER FEAST AND FAMINE FEEDING REGIME

Miss Saoraya Kitporca



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	ผลของอายุตะกอนต่อการผลิตโพลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอต ด้วยจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมโดยการให้อาหารแบบเกินพอ สลับกับขาดแคลน
โดย	นางสาวเศรยา กิจพ่อคำ
สาขาวิชา	วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เบญจพร สุวรรณศิลป์

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วน
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

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

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศรัณย์ เตชะเสน)

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

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ชวลิต รัตนธรรมสกุล)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. วิบูลย์ ศรีเจริญชัยกุล)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิลาสินี อยู่ชัชวาล)

เศารยา กิจพ้อค่า : ผลของอายุตะกอนต่อการผลิตโพลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอตด้วยจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมโดยการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน (EFFECT OF SLUDGE RETENTION TIME ON POLYHYDROXYALKANOATE PRODUCTION BY MIXED CULTURES OF MICROORGANISMS UNDER FEAST AND FAMINE FEEDING REGIME) อ.ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผศ. ดร. เบญจพร สุวรรณศิลป์, 128 หน้า.

โพลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอตหรือพีเอชเอ เป็นพลาสติกชีวภาพชนิดหนึ่งที่จุลินทรีย์สามารถสร้างและสะสมไว้ในเซลล์ในรูปของแหล่งคาร์บอนภายใน ในสภาวะแวดล้อมที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน (feast and famine condition) สามารถส่งเสริมให้จุลินทรีย์มีการปรับตัวและสนับสนุนให้จุลินทรีย์มีการสะสมพีเอชเอได้ งานวิจัยนี้เป็นศึกษาการผลิตโพลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอตของตะกอนของจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมจากโรงงานผลิตเครื่องดื่มจากผักและผลไม้แห่งหนึ่ง ที่ค่าอายุตะกอน 3 5 10 และ 20 วัน ด้วยวิธีการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน ทำการเดินระบบด้วยถังปฏิกรณ์แบบ Sequencing Batch Reactor (SBR) โดยสารอาหารที่เติมให้แก่ระบบคือน้ำเสียสังเคราะห์ที่เตรียมขึ้นจากอะซิเตท จากการศึกษาหลังจากการกระตุ้นในสภาวะมีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลนพบว่าที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้ดีที่สุดเท่ากับ 62.2 %gPHA/gMLSS (66.28 %gPHA/gMLVSS) ที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้ดีที่สุดคือ 40.87 %gPHA/gMLSS (44.22 %gPHA/gMLVSS) และ ที่ค่าอายุตะกอน 5 วัน จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้เท่ากับ 25.24 %gPHA/gMLSS (27.24 %gPHA/gMLVSS) และผลจากการศึกษากลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่เกิดจากการเดินระบบด้วยค่าอายุตะกอนต่างๆ ด้วยเทคนิค 16S Metagenomics พบว่ากลุ่มประชากรจุลินทรีย์มีการเปลี่ยนแปลงไปจากตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้น และมีความต่างในแต่ละค่าอายุตะกอนด้วย อย่างไรก็ตามความสามารถในการสะสมพีเอชเอนั้นยังคงใกล้เคียงกัน โดยกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมพีเอชเอได้ที่อายุตะกอน 5 วัน คือ *Brevundimonas spp.* และ *Agrobacterium spp.* ที่อายุตะกอน 10 วัน คือ *Oceanicaulis spp.* *Achromobacter spp.* *Devosia spp.* และ *Defluviobacter spp.* ที่อายุตะกอน 20 วัน คือ *Achromobacter spp.* และ *Brevundimonas spp.*

ภาควิชา วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม

ลายมือชื่อนิสิต

สาขาวิชา วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม

ลายมือชื่อ อ.ที่ปริกษาหลัก

ปีการศึกษา 2557

5470401221 : MAJOR ENVIRONMENTAL ENGINEERING

KEYWORDS: FEAST/FAMINE FEEDING REGIME / POLYHYDROXYALKANOATE / MIXED CULTURE

SAORAYA KITPORCA: EFFECT OF SLUDGE RETENTION TIME ON POLYHYDROXYALKANOATE PRODUCTION BY MIXED CULTURES OF MICROORGANISMS UNDER FEAST AND FAMINE FEEDING REGIME. ADVISOR: ASST. PROF. BENJAPORN SUWANNASILP, 128 pp.

Polyhydroxyalkanoate (PHA) is a type of bioplastics that microorganisms can accumulate in their cells as an internal carbon source. The enrichment of microorganisms by using feast and famine conditions can promote PHA accumulation in microorganisms. In this study, the PHA production of access sludge from fruit juice factory with 3, 5, 10 and 20 days sludge age under feast and famine feeding regime in Sequencing Batch Reactor (SBR) was investigated using synthetic wastewater containing acetate. The results show that the SBR maintained at the sludge age of 10 days can produce the highest PHA of 62.2 %gPHA/gMLSS (66.28 %gPHA/gMLVSS). For the SBR maintained at the sludge age of 10 and 5 days, the highest PHA accumulation were 40.87 %gPHA/gMLSS (44.22 %gPHA/gMLVSS) and 25.24 %gPHA/gMLSS (27.24 %gPHA/gMLVSS), respectively. For the microbial community analysis using 16S Metagenomics (MiSeq, Illumina), the results show the differences in microbial community among different sludge ages (5, 10, and 20 days) although the PHA accumulation capability were rather close. The microorganisms previously reported as PHA accumulators were observed in all of the SBRs as follows. *Brevundimonas spp.* and *Agrobacterium spp.* were observed in the SBR with sludge age of 5 days. *Oceanicaulis spp.*, *Achromobacter spp.*, *Devosia spp.*, and *Defluviobacter spp.* were observed in the SBR with sludge age of 10 days. *Achromobacter spp.* and *Brevundimonas spp.* were observed in the SBR with sludge age of 20 days.

Department: Environmental Engineering Student's Signature

Field of Study: Environmental Engineering Advisor's Signature

Academic Year: 2014

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยความกรุณาอย่างยิ่งของ ผศ. ดร. เบญจพร สุวรรณศิลป์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาสละเวลาให้คำปรึกษาแนะนำ ตลอดจนให้ความช่วยเหลือในการตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศรัณย์ เตชะเสน (ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์) รองศาสตราจารย์ ดร. ขวลิต รัตนธรรมสกุล รองศาสตราจารย์ ดร. วิบูลย์ ศรีเจริญชัยกุล และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิลาสินี อยู่ชัชวาล (กรรมการสอบวิทยานิพนธ์) ที่ได้ให้เกียรติสละเวลาเพื่อสอบวิทยานิพนธ์รวมถึงให้คำแนะนำปรึกษาตลอดจนชี้แนะถึงข้อผิดพลาดเพื่อให้งานวิจัยนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์จากภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับการประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ ตลอดระยะเวลาการศึกษาในระดับปริญญาโทมหาบัณฑิต

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ เจ้าหน้าที่ห้องธุรการภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการตึกสี่ภาควิชา คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตลอดจนเจ้าหน้าที่ประจำศูนย์ความเป็นเลิศด้านการจัดการสารและของเสียอันตราย (ศสอ.) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์และอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือวิเคราะห์ผล ห้องปฏิบัติการในการทำวิจัย รวมถึงคำแนะนำทางด้านเอกสารที่ทำให้งานวิจัยและเล่มวิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบพระคุณบริษัทผลิตเครื่องดื่มจากผักและผลไม้แห่งหนึ่ง ที่ให้ความอนุเคราะห์ตะกอนจุลินทรีย์รวมถึงให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างตะกอน

ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ และน้องๆ สำหรับมิตรภาพอันดี ให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ และให้กำลังใจเสมอมา

สุดท้ายนี้ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดามารดาและสมาชิกทุกคนในครอบครัวเป็นอย่างสูง สำหรับกำลังใจ ให้การสนับสนุน ให้ความช่วยเหลือและให้คำปรึกษาแนะนำต่างๆ จนการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญภาพ	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับพลาสติก	4
2.1.1 ความหมายของพลาสติก (Chiellini Solaro, 2003)	4
2.1.2 การสลายตัวของพลาสติก (Reddy และคณะ, 2003).....	4
2.2 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับโพลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอต.....	4
2.2.1 โครงสร้างของพีเอชเอ.....	5
2.2.2 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตพีเอชเอ	6
2.2.3 วิธีการคัดเลือกจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมเพื่อผลิตพีเอชเอ	7
2.2.4 วิธีการสังเคราะห์พีเอชเอ.....	9
2.2.5 วิธีการสังเคราะห์พีเอชบี.....	9
2.2.6 การผลิตพีเอชเอของจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมภายใต้สภาวะที่มีอาหารเกินพอสลั้กับขาดแคลน	10

2.2.7 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตพีเอชเอของจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมภายใต้สภาวะที่มีอาหารเกิน พอสลั้กับขาดแคลน.....	11
2.2.8 การพัฒนาในเชิงอุตสาหกรรม.....	13
2.2.9 การใช้ประโยชน์จากพีเอชเอ.....	13
2.3 การศึกษากลุ่มประชากรจุลินทรีย์โดยเทคนิค 16S Metagenomics.....	17
2.4 ทบทวนเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	17
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	20
3.1 แผนการวิจัย.....	20
3.2 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี.....	22
3.3 ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย.....	25
3.4 วิธีการสกัดและตรวจวัดพีเอชเอ.....	34
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....	35
4.1 การเดินระบบเพื่อคัดเลือกตะกอนจุลินทรีย์ให้มีอายุตะกอนแตกต่างกัน.....	35
4.1.1 ถังปฏิกรณ์ที่เดินระบบที่ค่าอายุตะกอน 3 วัน (Reactor-3d).....	35
4.1.2 ถังปฏิกรณ์ที่เดินระบบที่ค่าอายุตะกอน 5 วัน (Reactor-5d).....	37
4.1.3 ถังปฏิกรณ์ที่เดินระบบที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน (Reactor-10d).....	40
4.1.4 ถังปฏิกรณ์ที่เดินระบบที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน (Reactor-20d).....	42
4.2 การเดินระบบให้เกิดสภาวะมีอาหารเกินพอสลั้กับขาดแคลนตามค่าอายุตะกอนที่กำหนด .	45
4.2.1 ถังปฏิกรณ์ที่เดินระบบที่ค่าอายุตะกอน 5 วัน (Reactor-5d).....	46
4.2.2 ถังปฏิกรณ์ที่เดินระบบที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน (Reactor-10d).....	50
4.2.3 ถังปฏิกรณ์ที่เดินระบบที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน (Reactor-20d).....	54
4.3 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในช่วงการทดลองที่ 1 และ 2.....	59
4.4 การเปรียบเทียบผลการศึกษา.....	65

4.4.1 ชนิดของพีเอชเอ	65
4.4.2 การเปรียบเทียบปริมาณพีเอชเอและค่าจลนพลศาสตร์ในแต่ละค่าอายุตะกอน	66
4.4.3 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์.....	68
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	70
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	70
5.2 การประยุกต์ใช้งานทางด้านวิศวกรรมและสิ่งแวดล้อม	70
5.3 ข้อเสนอแนะ	71
รายการอ้างอิง.....	72
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	128



สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 ชนิดของพีเอชเอ	5
ตารางที่ 2.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการสะสมพีเอชเอของจุลินทรีย์จากการควบคุมค่าอายุตะกอน	14
ตารางที่ 3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง.....	24
ตารางที่ 3.2 ส่วนประกอบของน้ำเสียสังเคราะห์ที่ใช้ในการทดลอง (ปรับปรุงจาก Kumar และคณะ (2004))	26
ตารางที่ 3.3 พารามิเตอร์ที่ทำการตรวจวัดในช่วงการทดลองที่ 1	27
ตารางที่ 3.4 แสดงปริมาณตะกอนที่นำออกจากระบบใน 1 วันจักร.....	28
ตารางที่ 3.5 ตัวแปรที่ใช้ในการทดลองของช่วงการทดลองที่ 1.....	29
ตารางที่ 3.6 พารามิเตอร์ที่วิเคราะห์ในช่วงการทดลองที่ 2.....	30
ตารางที่ 3.7 สารเคมีที่ใช้ในการทำ PCR	32
ตารางที่ 3.8 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทำ PCR clean up.....	33
ตารางที่ 3.9 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้สำหรับการติด Index PCR	33
ตารางที่ 3.10 สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์พีเอชเอด้วยเครื่อง GC	34
ตารางที่ 4.1 genus แบคทีเรียที่พบในตัวอย่างตะกอนเริ่มต้น (start).....	62
ตารางที่ 4. 2 genus แบคทีเรียที่มีความเด่นชัด Reactor-5d ท้ายช่วงการทดลองที่ 1	63
ตารางที่ 4. 3 genus แบคทีเรียที่มีความเด่นชัด Reactor-5d ช่วงที่มีปริมาณพีเอชเอสูงสุด	63
ตารางที่ 4.4 genus แบคทีเรียที่มีความเด่นชัด Reactor-10d ท้ายช่วงการทดลองที่ 1	64
ตารางที่ 4. 5 genus แบคทีเรียที่มีความเด่นชัด Reactor-10d ช่วงที่มีปริมาณพีเอชเอสูงสุด	64
ตารางที่ 4. 6 genus แบคทีเรียที่มีความเด่นชัด Reactor-20d ท้ายช่วงการทดลองที่ 1.....	64
ตารางที่ 4. 7 genus แบคทีเรียที่มีความเด่นชัด Reactor-20d ช่วงที่มีปริมาณพีเอชเอสูงสุด	65
ตารางที่ 4.8 ผลพีเอชเอและค่าจลนพลศาสตร์ของ Reactor-5d Reactor-10d และ Reactor-20d.....	66

ตารางที่ 4. 9 genus ของแบคทีเรียที่มีความเด่นชัดท้ายช่วงการทดลองที่ 1 68

ตารางที่ 4. 10 genus แบคทีเรียที่มีความเด่นชัดในช่วงที่มีปริมาณฟิโอสเฟสสูงสุด 69



สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 2. 1 สสูตรโครงสร้างของโพลีไฮดรอกซีแอลคาโนเอต (พีเอชเอ).....	5
ภาพที่ 2.2 สสูตรโครงสร้างของโพลีไฮดรอกซีบิวทิเรต (พีเอชบี).....	6
ภาพที่ 2.3 วิธีการสังเคราะห์พีเอชเอภายใต้สภาวะที่ไร้อากาศสลับกับมีอากาศ.....	7
ภาพที่ 2. 4 วิธีการสังเคราะห์พีเอชเอภายใต้สภาวะที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน.....	9
ภาพที่ 2. 5 วิธีการสังเคราะห์พีเอชบี	10
ภาพที่ 2.6 กระบวนการผลิตพีเอชเอโดยการใช้ให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน	11
ภาพที่ 3.1 แผนการวิจัยทั้งหมด.....	21
ภาพที่ 3.2 ถึงปฏิกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	24
ภาพที่ 3.3 ถึงปฏิกรณ์ที่ใช้ในการเดินระบบ	24
ภาพที่ 3.4 แผนการดำเนินการทดลองช่วงที่ 1	27
ภาพที่ 3.5 วัฏจักรการคัดเลือกจุลินทรีย์ภายใต้การให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน	28
ภาพที่ 3.6 แผนการดำเนินการทดลองในช่วงที่ 2.....	30
ภาพที่ 4.1 ความเข้มข้น COD และ MLSS ของรอบวัฏจักรที่ 1 ที่ค่าอายุตะกอน 3 วัน.....	36
ภาพที่ 4.2 ความเข้มข้น COD และ MLSS ของรอบวัฏจักรที่ 8 ที่ค่าอายุตะกอน 3 วัน	36
ภาพที่ 4.3 ความเข้มข้น COD และ MLSS ต้นและท้ายรอบวัฏจักรที่ 1 – 8 ที่ค่าอายุตะกอน 3 วัน.....	37
ภาพที่ 4.4 ความเข้มข้น COD และ MLSS ในรอบวัฏจักรที่ 1 ที่ค่าอายุตะกอน 5 วัน.....	37
ภาพที่ 4.5 ความเข้มข้น COD และ MLSS ในรอบวัฏจักรที่ 8 ที่ค่าอายุตะกอน 5 วัน.....	38
ภาพที่ 4.6 ความเข้มข้น COD ต้นและท้ายรอบวัฏจักรที่ 1-58 ที่ค่าอายุตะกอน 5 วัน	39
ภาพที่ 4.7 ปริมาณพีเอชเอที่จุลินทรีย์สะสมได้ในรอบวัฏจักรที่ 1 ที่ค่าอายุตะกอน 5 วัน.....	39
ภาพที่ 4.8 ปริมาณพีเอชเอที่จุลินทรีย์สะสมได้ในรอบวัฏจักรที่ 8 ที่ค่าอายุตะกอน 5 วัน.....	40
ภาพที่ 4.9 ความเข้มข้น COD และ MLSS ของวัฏจักรที่ 1 ที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน.....	40

ภาพที่ 4.10 ความเข้มข้น COD และ MLSS ของวัฏจักรที่ 8 ที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน.....	41
ภาพที่ 4.11 ความเข้มข้น COD ต้นและท้ายรอบวัฏจักรที่ 1 – 58 ที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน.....	41
ภาพที่ 4.12 ปริมาณพีเอชเอที่จุลินทรีย์สะสมได้ในรอบวัฏจักรที่ 1 ที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน	42
ภาพที่ 4.13 ปริมาณพีเอชเอที่จุลินทรีย์สะสมได้ในรอบวัฏจักรที่ 8 ที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน	42
ภาพที่ 4.14 ความเข้มข้น COD และ MLSS ของวัฏจักรที่ 1 ที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน.....	43
ภาพที่ 4.15 ความเข้มข้น COD และ MLSS ของวัฏจักรที่ 8 ที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน.....	43
ภาพที่ 4.16 ความเข้มข้น COD ต้นและท้ายรอบวัฏจักรที่ 1 – 50 ที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน.....	44
ภาพที่ 4.17 ปริมาณพีเอชเอที่จุลินทรีย์สามารถสะสมได้ในวัฏจักรที่ 1 ที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน.....	45
ภาพที่ 4.18 ความเข้มข้น COD MLSS และปริมาณ PHA รอบวัฏจักรที่ 66 ที่ค่าอายุตะกอน 5 วัน	46
ภาพที่ 4.19 ปริมาณ PHB และ PHV รอบวัฏจักรที่ 66 ที่ค่าอายุตะกอน 5 วัน.....	47
ภาพที่ 4.20 ความเข้มข้น COD MLSS และปริมาณ PHA รอบวัฏจักรที่ 76 ที่ค่าอายุตะกอน 5 วัน	47
ภาพที่ 4.21 ปริมาณ PHB และ PHV รอบวัฏจักรที่ 76 ที่ค่าอายุตะกอน 5 วัน.....	48
ภาพที่ 4.22 ความเข้มข้น COD รอบวัฏจักรที่ 77 ถึง 86 ที่ค่าอายุตะกอน 5 วัน.....	48
ภาพที่ 4.23 ความเข้มข้น COD MLSS และปริมาณ PHA รอบวัฏจักรที่ 86 ที่ค่าอายุตะกอน 5 วัน	49
ภาพที่ 4.24 ปริมาณ PHB และ PHV รอบวัฏจักรที่ 86 ที่ค่าอายุตะกอน 5 วัน.....	49
ภาพที่ 4.25 ปริมาณ PHB และ PHV สูงสุดของแต่ละรอบวัฏจักรที่ค่าอายุตะกอน 5 วัน.....	50
ภาพที่ 4.26 ความเข้มข้น COD MLSS และปริมาณ PHA รอบวัฏจักรที่ 66 ที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน	50
ภาพที่ 4.27 ปริมาณ PHB และ PHV รอบวัฏจักรที่ 66 ที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน	51
ภาพที่ 4.28 ความเข้มข้น COD MLSS และปริมาณ PHA รอบวัฏจักรที่ 76 ที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน	51
ภาพที่ 4.29 ปริมาณ PHB และ PHV รอบวัฏจักรที่ 76 ที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน	52
ภาพที่ 4.30 ความเข้มข้น COD รอบวัฏจักรที่ 77 ถึง 86 ที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน.....	52

ภาพที่ 4.31 ความเข้มข้น COD MLSS และปริมาณ PHA รอบวัฏจักรที่ 86 ที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน	53
ภาพที่ 4.32 ปริมาณ PHB และ PHV รอบวัฏจักรที่ 86 ที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน	53
ภาพที่ 4.33 ปริมาณ PHB และ PHV สูงสุดของแต่ละรอบวัฏจักรที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน.....	54
ภาพที่ 4.34 ความเข้มข้น COD MLSS และปริมาณ PHA รอบวัฏจักรที่ 51 ที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน.....	54
ภาพที่ 4.35 ปริมาณ PHB และ PHV รอบวัฏจักรที่ 51 ที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน	55
ภาพที่ 4.36 ความเข้มข้น COD MLSS และปริมาณ PHA รอบวัฏจักรที่ 53 ที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน	55
ภาพที่ 4.37 ปริมาณ PHB และ PHV รอบวัฏจักรที่ 53 ที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน	56
ภาพที่ 4.38 ความเข้มข้น COD MLSS และปริมาณ PHA รอบวัฏจักรที่ 66 ที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน	56
ภาพที่ 4.39 ปริมาณ PHB และ PHV รอบวัฏจักรที่ 66 ที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน	57
ภาพที่ 4.40 ความเข้มข้น COD รอบวัฏจักรที่ 51 ถึง 76 ที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน.....	57
ภาพที่ 4.41 ความเข้มข้น COD MLSS และปริมาณ PHA รอบวัฏจักรที่ 76 ที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน.....	58
ภาพที่ 4.42 ปริมาณ PHB และ PHV รอบวัฏจักรที่ 76 ที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน	58
ภาพที่ 4.43 ปริมาณ PHB และ PHV สูงสุดของแต่ละรอบวัฏจักรที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน.....	59
ภาพที่ 4. 44 ผลการทำ PCR ของตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์	60
ภาพที่ 4.45 Phylum ของตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์.....	61

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันประเทศไทยกำลังประสบปัญหาปริมาณขยะที่เพิ่มมากขึ้นอย่างต่อเนื่องจากปริมาณขยะทั่วไปนั้นพบว่ามีขยะพลาสติกเป็นจำนวนมาก ซึ่งพลาสติกที่นำมาใช้กันอย่างแพร่หลายนั้น โดยส่วนมากสังเคราะห์ขึ้นจากสารผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียม ซึ่งพลาสติกเหล่านี้ไม่สามารถย่อยสลายได้ในธรรมชาติ พลาสติกชีวภาพจึงนับเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถช่วยแก้ไขปัญหามลพิษของขยะพลาสติกที่ไม่สามารถย่อยสลายได้ เนื่องจากพลาสติกชีวภาพสามารถย่อยสลายได้อย่างสมบูรณ์ด้วยจุลินทรีย์ในธรรมชาติ โดยโพลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอต (พีเอชเอ) เป็นพลาสติกชีวภาพชนิดหนึ่งที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับโพลีโพรพิลีนที่สังเคราะห์ขึ้นจากสารผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียม (Bengtsson และคณะ, 2008) จึงอาจสามารถนำมาใช้เป็นวัสดุทดแทนโพลีโพรพิลีนเพื่อช่วยลดปัญหามลพิษของขยะพลาสติกที่ไม่สามารถย่อยสลายได้

จากงานวิจัยของ Yu และคณะ (1998) มีการนำจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์มาใช้ในการผลิตพีเอชเอ ซึ่งมีข้อดีที่เด่นชัดคือสามารถให้ผลผลิตพีเอชเอในปริมาณที่สูงถึง 70% กรัมโพลิเมอร์ต่อกรัมเซลล์ แต่ทั้งนี้การใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์ยังคงมีข้อด้อยในด้านราคาต้นทุนในการผลิตที่สูง ในขณะที่การผลิตพีเอชเอโดยใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมอาจสามารถลดปัญหาด้านต้นทุนที่สูงในส่วนนี้ลงได้ เนื่องจากไม่จำเป็นต้องรักษาสภาวะปลอดเชื้อต่างๆ ในกระบวนการผลิตพีเอชเอ (Johnson และคณะ, 2009) ในปัจจุบันจึงมีกลุ่มนักวิจัยจำนวนมากเลือกใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมในการผลิตพีเอชเอ แทนจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์และนำน้ำเสียที่มีองค์ประกอบของสารอินทรีย์มาใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบในการผลิตพีเอชเอด้วยจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม ซึ่งกระบวนการดังกล่าวอาจสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการบำบัดน้ำเสียควบคู่ไปกับการผลิตพีเอชเอ

การนำจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมมาใช้ในการกระบวนการผลิตพีเอชเอ จำเป็นต้องมีการเลี้ยงเพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการสะสมพีเอชเอ ซึ่งการใช้วิธีการคัดเลือกแบบสภาวะแวดล้อมที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน (feast and famine condition) สามารถส่งเสริมให้จุลินทรีย์มีการปรับตัวด้วยการสะสมแหล่งคาร์บอนภายในเซลล์ในรูปของพีเอชเอได้ นอกจากนี้ การใช้วิธีการคัดเลือกแบบสภาวะที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน มีข้อดีที่เด่นชัด คือ มีการเกิดขึ้นของสารประกอบอื่นๆ เช่น ไกลโคเจน เจือปนในระบบน้อย และสามารถให้ปริมาณผลผลิตพีเอชเอที่สูง (Salehizadeh van Loosdrecht, 2004) ส่งผลให้วิธีการคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์ภายใต้สภาวะที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลนนับเป็นทางเลือกที่น่าสนใจในการผลิตพีเอชเอ

นอกจากนี้อัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ยังอาจส่งผลต่อปริมาณพีเอชเอที่จุลินทรีย์สามารถสะสมได้ ซึ่งการควบคุมอายุตะกอนนับเป็นปัจจัยหนึ่งที่สามารถส่งผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ โดย Johnson และคณะ (2010) ได้ทำการวิจัยพบว่า การควบคุมอายุตะกอนให้มีค่าเท่ากับ 1 วัน จะส่งผลให้มีการสะสมพีเอชเอในจุลินทรีย์มากกว่าที่อายุตะกอน 0.5 และ 4 วันในระบบการให้อาหารแบบกินพอสลับกับขาดแคลน อย่างไรก็ตามการศึกษาของ Lemos และคณะ (2008) พบว่ากลุ่มจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมที่มีการให้อาหารแบบกินพอสลับกับขาดแคลนที่อายุตะกอน 10 วันสามารถสะสมพีเอชเอได้มากกว่ากลุ่มจุลินทรีย์ที่ถูกเลี้ยงที่อายุตะกอน 1 วัน ประเด็นผลของอายุตะกอนต่อการสะสมพีเอชเอในระบบการให้อาหารแบบกินพอสลับกับขาดแคลน จึงยังไม่เป็นที่สามารถสรุปได้แน่ชัดและงานวิจัยที่ทำการศึกษาลงของอายุตะกอนต่อความสามารถในการผลิตพีเอชเอของจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมภายใต้สภาวะการให้อาหารแบบกินพอสลับกับขาดแคลน ยังมีอยู่ค่อนข้างจำกัดมากในปัจจุบัน และยังขาดการศึกษาเปรียบเทียบผลของอายุตะกอนในช่วงกว้าง การควบคุมอายุตะกอนให้เหมาะสมอาจสามารถช่วยเพิ่มผลผลิตพีเอชเอจากจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นที่อาจมีอัตราการเจริญเติบโตและการใช้สารอาหารที่ค่อนข้างต่ำ

อีกปัจจัยหนึ่งที่สำคัญซึ่งอาจส่งผลต่อกระบวนการผลิตพีเอชเอ คือ กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ภายในระบบ การศึกษากลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบสามารถช่วยเพิ่มความเข้าใจเกี่ยวกับผลของอายุตะกอนต่อการสะสมพีเอชเอในจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมได้ ทั้งนี้จนถึงปัจจุบันงานวิจัยที่ทำการศึกษากลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบการให้อาหารแบบกินพอสลับกับขาดแคลนที่อายุตะกอนแตกต่างกันยังมีอยู่ค่อนข้างจำกัด งานวิจัยนี้จึงสนใจเลือกศึกษากลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบการผลิตพีเอชเอด้วยการให้อาหารแบบกินพอสลับกับขาดแคลนโดยใช้เทคนิค 16S Metagenomics เพื่อศึกษาและสังเกตการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ภายใต้สภาวะมีอาหารกินพอสลับกับขาดแคลนที่อายุตะกอนแตกต่างกัน

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อศึกษาผลของอายุตะกอนต่อการผลิตโพลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอต (พีเอชเอ) ด้วยจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมโดยการให้อาหารแบบกินพอสลับกับขาดแคลน และศึกษากลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบที่อายุตะกอนแตกต่างกันรวมถึงศึกษาบทบาทของจุลินทรีย์หลักในระบบในการสะสมพีเอชเอ ผลที่ได้จากงานวิจัยนี้สามารถช่วยเพิ่มความเข้าใจเกี่ยวกับการผลิตพีเอชเอด้วยตะกอนจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ต่อไปในการดำเนินระบบเพื่อพัฒนาการผลิตพีเอชเอในเชิงปริมาณต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาความสามารถในการสะสมโพลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอตของจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมในระบบการให้อาหารแบบกินพอสลับกับขาดแคลนที่อายุตะกอนต่างกัน

1.2.2 เพื่อศึกษากลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบการให้อาหารแบบกินพอสลับกับขาดแคลนที่อายุตะกอนต่างกัน

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการ ดำเนินการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยมีขอบเขตของงานวิจัยดังนี้

1.3.1 ดำเนินการทดลองโดยใช้ถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท (Sequencing Batch Reactor, SBR) จำนวน 4 ถัง ภายใต้สภาวะที่มีการเติมอากาศอย่างเพียงพอตลอดเวลา โดยกำหนดค่าอายุตะกอน 4 ค่า คือ 3 5 10 และ 20 วัน

1.3.2 ใช้ตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นนำมาจากโรงงานผลิตเครื่องดื่มจากผักและผลไม้ ซึ่งนำมาจากระบบบำบัดแบบเติมอากาศ (SBR)

1.3.3 ดำเนินการทดลองโดยใช้น้ำเสียสังเคราะห์ที่มีแหล่งสารอินทรีย์เป็นอะซิเตท

1.3.4 ทำการวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่าง ๆ ตลอดการทดลอง ได้แก่ COD MLSS และพีเอชเอ

1.3.5 ทำการศึกษากลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบด้วยเทคนิค 16S Metagenomics

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 เป็นการเพิ่มองค์ความรู้เกี่ยวกับผลของอายุตะกอนต่อการผลิตโพลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอตภายใต้สภาวะที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน

1.4.2 ทำให้ทราบถึงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลนที่อายุตะกอนต่างกัน

1.4.3 เป็นแนวทางในการพัฒนาระบบการผลิตโพลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอตจากจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมในเชิงปริมาณต่อไป

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับพลาสติก

2.1.1 ความหมายของพลาสติก (Chiellini Solaro, 2003)

พลาสติกคือสารประกอบไฮโดรคาร์บอนซึ่งสังเคราะห์ได้จากกระบวนการโพลิเมอร์ไรเซชัน เป็นการสังเคราะห์สารอินทรีย์ด้วยวิธีทางเคมี ทำให้เกิดการเชื่อมต่อกันของโมเลกุลที่มีคุณสมบัติต่างๆ เช่น ความแข็งแรง ความเหนียว ฉนวนไฟฟ้า ความทนต่อการกัดกร่อน เป็นต้น

2.1.2 การสลายตัวของพลาสติก (Reddy และคณะ, 2003)

1 พลาสติกที่สลายด้วยแสง (photodegradable plastic)

คือ พลาสติกที่มีหมู่คาร์บอนิลเป็นส่วนประกอบ ซึ่งหมู่คาร์บอนิลสามารถแตกตัวได้เมื่อสัมผัสกับแสง แต่การย่อยสลายนั้นขึ้นอยู่กับ ขนาดของชิ้นส่วนพลาสติก โครงสร้างทางเคมี รวมถึงปริมาณของสารประกอบอื่น ๆ ในพลาสติก ตัวอย่างของพลาสติกชนิดนี้ ได้แก่ โพลีเอทิลีน โพลีโพรพิลีน โพลีไวนิลคลอไรด์ เป็นต้น

2 พลาสติกที่ย่อยสลายได้บางส่วน (semi-biodegradable plastic)

คือ พลาสติกที่มีส่วนประกอบของโพลิเมอร์ธรรมชาติ เช่น เซลลูโลส แลคโตส แป้งข้าวโพด เป็นต้น ซึ่งจุลินทรีย์ในธรรมชาติสามารถย่อยสลายส่วนที่เป็นโพลิเมอร์ธรรมชาติได้ ทำให้พลาสติกถูกแยกออกเป็นชิ้นส่วนขนาดเล็กลง เหลือส่วนที่ไม่ใช่สารโพลิเมอร์ธรรมชาติ

3 พลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (biodegradable plastic)

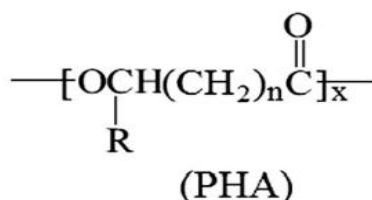
คือ พลาสติกที่สามารถถูกย่อยสลายได้ด้วยเอนไซม์จากจุลินทรีย์ในธรรมชาติ ซึ่งจะย่อยสลายหมู่เอสเทอร์ชนิดเอลาคติกของโพลิเมอร์ ทำให้ได้สารที่ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม เช่น คาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ กรดคาร์บอกซิลิก เป็นต้น พลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพ อาจถูกสร้างและสะสมภายในเซลล์ของจุลินทรีย์บางชนิด ในรูปของโพลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต (พีเอชเอ) (Shah และคณะ, 2008)

2.2 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับโพลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต

โพลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต (พีเอชเอ) เป็นโพลิเอสเทอร์ชนิดหนึ่งที่จุลินทรีย์สามารถถูกสร้างและเก็บสะสมไว้ในเซลล์ เพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานสำรอง โดยพีเอชเอจะถูกเก็บไว้ในรูปของแกรนูลที่อยู่ในไซโตพลาสซึมของเซลล์ ซึ่งจำนวนโมโนเมอร์ที่เกิดขึ้น ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น ชนิดของจุลินทรีย์ อุณหภูมิในการเพาะเลี้ยง สารอาหารที่ให้แก่จุลินทรีย์ เป็นต้น (Jiang และคณะ, 2012)

2.2.1 โครงสร้างของพีเอชเอ

พีเอชเอเป็นโพลีเอสเทอร์สายตรง ประกอบด้วยโมโนเมอร์กลุ่มกรดไฮดรอกซีคาร์บอกซิลิก ชนิดของพีเอชเอจึงขึ้นกับโมโนเมอร์ที่มาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเอสเทอร์ สูตรโครงสร้างของพีเอชเอแสดงในรูปที่ 2.1



$$x = 100 - 30000$$

ภาพที่ 2. 1 สูตรโครงสร้างของโพลีไฮดรอกซีแอลคาโนเอต (พีเอชเอ)

(Derya และคณะ, 2012)

แหล่งคาร์บอนที่จุลินทรีย์ได้รับเป็นปัจจัยสำคัญในการกำหนดชนิดของพีเอชเอที่เกิดขึ้น ซึ่งชนิดของโมโนเมอร์ในปัจจุบันนี้มีหลากหลายชนิด Derya และคณะ (2012) ยกตัวอย่างชนิดของพีเอชเอดังแสดงในตารางที่ 2.1

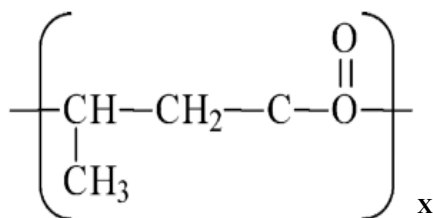
ตารางที่ 2.1 ชนิดของพีเอชเอ

n	R	ชนิดของ PHA
1	ไฮโดรเจน (H)	โพลีไฮดรอกซีโพรพิโนเอต
	เมทิล (CH ₃)	โพลี (3 - ไฮดรอกซีบิวทิเรต) (PHB)
	เอทิล (C ₂ H ₅)	โพลี (3 - ไฮดรอกซีวาลาเรต) (PHV)
	โพรพิล (C ₃ H ₇)	โพลี (3 - ไฮดรอกซีเฮกซะโนเอต) (PHH)
	เพนทิล (C ₅ H ₁₁)	โพลี (3 - ไฮดรอกซีออกทาโนเอต)
	โนนิล (C ₉ H ₁₉)	โพลี (3 - ไฮดรอกซีโดเดคาโนเอต)
2	ไฮโดรเจน (H)	โพลี (4 - ไฮดรอกซีบิวทิเรต)
3	ไฮโดรเจน (H)	โพลี (5 - ไฮดรอกซีวาลาเรต)

หมายเหตุ : n คือจำนวนคาร์บอนดังแสดงในภาพที่ 2.1

ชนิดโมโนเมอร์ของพีเอชเอขึ้นกับจำนวนคาร์บอนในโมเลกุลและหมู่ที่มาต่อบริเวณตำแหน่ง R ในภาพที่ 2.1 ซึ่งคุณสมบัติของโพลีเมอร์แตกต่างกันตามชนิดของโมโนเมอร์ โดยโพลีเมอร์ที่พบมาก

ที่สุดชนิดหนึ่งคือโพลีไฮดรอกซีบิวทิเรต (polyhydroxybutyrate) หรือพีเอชบี เป็นโฮโมโพลิเมอร์ซึ่งประกอบด้วย 3-hydroxybutyrate (3HB) มีสูตรโครงสร้าง ดังแสดงในภาพที่ 2.2 (Ratlidge Kristiansen, 2001)



ภาพที่ 2.2 สูตรโครงสร้างของโพลีไฮดรอกซีบิวทิเรต (พีเอชบี)

(Rosa และคณะ, 2004)

คุณสมบัติของพีเอชเอมีความใกล้เคียงกับโพลีโพรพิลีน (PP) ซึ่งเป็นพลาสติกสังเคราะห์ได้จากปิโตรเลียม ซึ่งคุณสมบัติจะแตกต่างกันตามของชนิดพีเอชเอ เช่น พีเอชบีค่อนข้างเปราะง่าย แตกต่างจากพีเอชวีที่มีความยืดหยุ่นมากกว่า (Villano และคณะ, 2010)

2.2.2 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตพีเอชเอ

จากงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการศึกษาการผลิตพีเอชเอจากจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์โดยใช้สารอาหารประเภทกรดไขมัน (volatile fatty acid, VFA) เช่น กรดแลคติก กรดบิวทิริก และกรดวาลาอิก เป็นต้น พบว่าจุลินทรีย์สายพันธุ์ *Alcaligenes eutrophus* สามารถสะสมพีเอชเอได้สูงถึง 0.41 กรัมต่อกรัม (Yu และคณะ, 1998) นอกจากการใช้สารอาหารประเภทกรดไขมันในการผลิตพีเอชเอแล้วยังมีการใช้ของเหลืออินทรีย์จากกระบวนการอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น กากน้ำตาล หรือน้ำเสียจากกระบวนการผลิตอาหาร เป็นสารอาหารที่ใช้เลี้ยงจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์ (Abdelhad และคณะ, 2009)

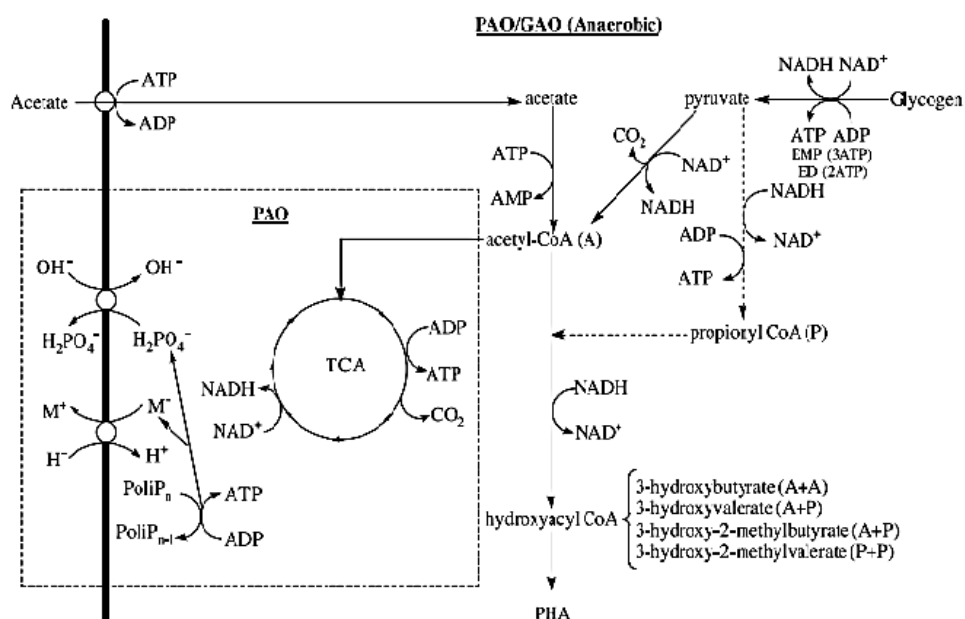
ในงานวิจัยช่วงหลัง ได้มีการนิยมเลือกใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมในการผลิตพีเอชเอเพิ่มมากขึ้นดังที่ Coats และคณะ (2007) กล่าวว่าจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมสามารถแก้ไขปัญหาระยะราคาต้นทุนของระบบผลิตพีเอชเอจากจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์ได้ อีกทั้งการใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมนั้นจะส่งผลให้ระบบมีความคงตัวค่อนข้างสูง เช่นเดียวกับ Dionisi และคณะ (2007) กล่าวถึงข้อดีจากการใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมแทนจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์ คือ ระบบสามารถดำเนินไปได้อย่างง่าย เพราะไม่จำเป็นต้องผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อ และเป็นระบบที่ดำเนินการอย่างต่อเนื่องได้เมื่อมีการปนเปื้อน นอกจากนี้การสะสมพีเอชเอของจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมสามารถเกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์และง่ายโดยการใช้อาหารที่มีปริมาณสารอาหารสูง เช่น ของเสียอินทรีย์ เป็นต้น

2.2.3 วิธีการคัดเลือกจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมเพื่อผลิตพีเอชเอ

Salehizadeh และ van Loosdrecht (2004) กล่าวถึงกระบวนการที่ใช้สำหรับคัดเลือกและเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมเพื่อสะสมพีเอชเอ 3 วิธี ดังนี้

1 สภาวะที่ไร้อากาศสลับกับมีอากาศ

สภาวะที่ไร้อากาศสลับกับมีอากาศ (anaerobic-aerobic system) เป็นวิธีที่มีจุลินทรีย์ 2 ชนิด ที่มีบทบาทที่เด่นชัด คือ polyphosphate-accumulating organisms (PAOs) และ glycogen-accumulating organisms (GAOs) โดย PAOs จะใช้สารอาหารในสภาวะไร้อากาศ และทำการสะสมพีเอชเอไว้เป็นแหล่งพลังงานสำรองภายในเซลล์ GAOs เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมไกลโคเจนได้และสามารถสะสมพีเอชเอในสภาวะที่ไร้อากาศได้เช่นกัน ดังนั้นพีเอชเอที่ได้จากระบบนี้จึงมีโอกาที่จะพบไกลโคเจนปะปนอยู่ ทั้งนี้ข้อแตกต่างของ PAOs และ GAOs คือ PAOs ในสภาวะมีอากาศจะสามารถสะสมฟอสเฟตเป็นแหล่งพลังงาน ในขณะที่ GAOs จะผลิตไกลโคเจนเก็บสะสมไว้ในเซลล์ ผลเสียของการมีไกลโคเจนในระบบคือ ทำให้พีเอชเอที่ได้มีความบริสุทธิ์น้อย เนื่องจากมีไกลโคเจนปะปนรวมอยู่กับพีเอชเอ วิธีการสังเคราะห์พีเอชเอภายใต้สภาวะไร้อากาศสลับกับมีอากาศแสดงดังภาพที่ 2.3



ภาพที่ 2.3 วิธีการสังเคราะห์พีเอชเอภายใต้สภาวะที่ไร้อากาศสลับกับมีอากาศ

(Salehizadeh van Loosdrecht, 2004)

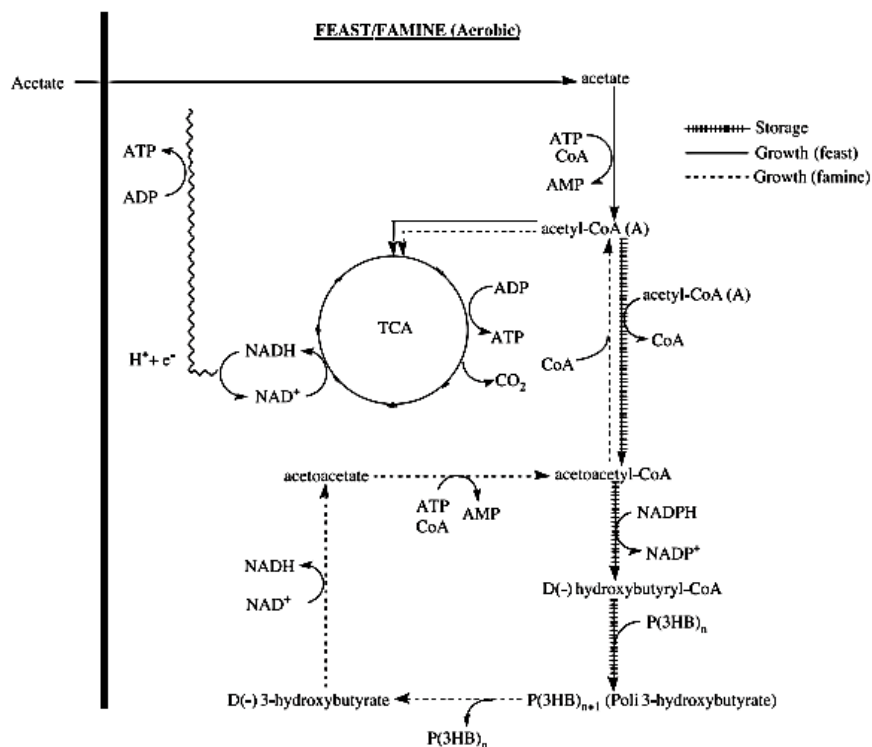
2 สภาวะที่มีอากาศเล็กน้อยสลับกับมีอากาศ

สภาวะที่มีอากาศเล็กน้อยสลับกับมีอากาศ (microaerophilic-aerobic system) เป็นการปรับปรุงระบบไร้อากาศสลับกับมีอากาศ (anaerobic-aerobic system) โดยการเติมอากาศในปริมาณที่จำกัดให้แก่ระบบในช่วงที่ระบบไร้อากาศ เพื่อให้ได้สภาวะใหม่คือ สภาวะมีอากาศอย่างจำกัดสลับกับมีอากาศ ซึ่งในสภาวะนี้จุลินทรีย์จะสามารถใช้สารอาหารด้วยพลังงานที่ได้รับผ่านวิธี oxidative degradation ของสารอินทรีย์บางส่วน ในกรณีที่มีออกซิเจน จุลินทรีย์อาจได้รับพลังงานในกระบวนการดูดซึมสารอาหารอย่างเพียงพอ เช่น การผลิตโปรตีน การผลิตไกลโคเจน และการสร้างสารประกอบอื่นๆ จากการใช้สารอินทรีย์

อย่างไรก็ตามการจำกัดปริมาณออกซิเจนจะส่งผลให้กระบวนการใช้สารอาหารถูกยับยั้ง ในขณะที่จุลินทรีย์ที่สามารถสะสมพืเอชเอไวยังคงสามารถเจริญเติบโตได้ ดังนั้นวิธีนี้จึงเป็นการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมโพลีฟอสเฟตหรือไกลโคเจน

3 สภาวะที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลนอาหาร

สภาวะที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลนอาหาร (feast-famine system) คือสภาวะที่จุลินทรีย์ได้รับอาหารจากภายนอกแบบเกินพอ (feast phase) สลับกับการไม่ได้รับอาหารจากภายนอก (famine phase) โดย Johnson และคณะ (2010) ได้ให้ความหมายของ สภาวะมีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน (feast-famine) ว่าเป็นสภาวะที่ระบบมีปริมาณอาหารเพียงพอต่อการใช้ประโยชน์ของจุลินทรีย์ เรียกว่า สภาวะที่มีอาหารเกินพอ (feast phase) และสภาวะที่จุลินทรีย์ในระบบใช้สารอาหารไปจนกระทั่งจุลินทรีย์ไม่สามารถใช้ประโยชน์จากสารอาหารที่เหลืออยู่ได้อีกต่อไป ทำให้เกิดสภาวะขาดแคลนอาหารขึ้น (famine phase) ซึ่งการเจริญเติบโตและการสะสมพืเอชเอของจุลินทรีย์จะเกิดขึ้นเมื่อจุลินทรีย์ได้รับอาหารจากภายนอก เมื่ออาหารถูกใช้จนกระทั่งหมดพืเอชเอที่ถูกสะสมไว้จะทำหน้าที่เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานให้แก่จุลินทรีย์ ดังนั้นจุลินทรีย์จะเกิดการปรับตัวโดยการเพิ่มการสะสมพืเอชเอไว้ในสภาวะที่มีอาหารจากภายนอก และเมื่อเข้าสู่สภาวะขาดแคลนอาหารจุลินทรีย์จะสามารถดำรงอยู่ได้ ข้อดีของวิธีการสะสมพืเอชเอภายใต้สภาวะที่มีอาหารและไม่มีอาหารสลับกัน คือ มีไกลโคเจนในปริมาณที่น้อยหรือแทบจะไม่มีเลย รวมถึงไม่มีสารประกอบอื่นๆนอกจากพืเอชเอเกิดขึ้นภายในระบบ แสดงดังภาพที่ 2.4



ภาพที่ 2. 4 วิธีการสังเคราะห์พีเอชเอภายใต้สภาวะที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน

(Salehizadeh van Loosdrecht, 2004)

2.2.4 วิธีการสังเคราะห์พีเอชเอ

การสะสมพีเอชเอของจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมจะมีวิธีที่แตกต่างกันไปตามแต่ละชนิดของตัวจุลินทรีย์และสารอาหารที่จุลินทรีย์ได้รับ (Anderson Dawes, 1990) ทั้งนี้สมมติฐานการสังเคราะห์พีเอชเอของจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์เองยังคงไม่ได้รับการยืนยันอย่างแน่ชัด

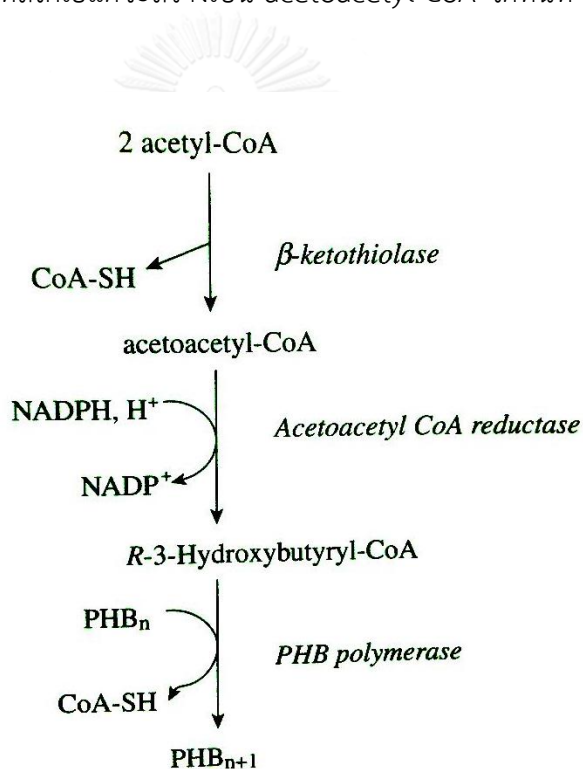
2.2.5 วิธีการสังเคราะห์พีเอชบี

การสังเคราะห์พีเอชบีจากจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมมีอะซิติลโคเอ (acetyl-CoA) เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ ซึ่งอะซิติลโคเอจะถูกเปลี่ยนเป็น 3-ไฮดรอกซีแอลคานอยล์โคเอ (3-hydroxyalkanoyl-CoA) ซึ่งจะมีความยาวที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับเอนไซม์และสารอาหารที่จุลินทรีย์ได้รับ วิธีการสังเคราะห์พีเอชเอจะแตกต่างกันออกไปตามชนิดของเอนไซม์และสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ ส่งผลให้มีจำนวนวิธีการสังเคราะห์พีเอชเอเกิดขึ้นมาก (Ojumu และคณะ, 2004) วิธีการสังเคราะห์พีเอชบีแสดงดังภาพที่ 2.5

การสังเคราะห์พีเอชบีมีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง 3 ชนิด คือ เอนไซม์ 3-ketothiolase เอนไซม์ acetoacetyl-CoA reductase และเอนไซม์ PHB synthase สารตั้งต้นที่ใช้ในการวิเคราะห์พีเอชบีคือ อะซิติลโคเอ 2 โมเลกุล ถูกเอนไซม์ทั้งสามชนิดเปลี่ยนเป็นพีเอชบี ซึ่งจากกระบวนการสังเคราะห์พีเอชบี จะเกิดโคเอขึ้น ซึ่งโคเอเป็นหัวใจสำคัญในการควบคุมการสังเคราะห์พีเอชบี ถ้า

ปริมาณของโคเอมีมากจะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 3-ketothiolase ซึ่งเป็นการยับยั้งการผลิตพีเอชบี ทั้งนี้พีเอชบีทำหน้าที่เหมือนแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานสำรอง ทั้งนี้มีปัจจัยจำนวนมากที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์จุลินทรีย์ เช่น การควบคุมปริมาณออกซิเจน การควบคุมสารอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส รวมทั้งการที่มีสารประกอบคาร์บอนจำนวนมากที่เป็นปัจจัยสำคัญที่นำไปสู่การสะสมพีเอชบีของจุลินทรีย์ (Etienne Yu, 2012)

มีสารอาหารหลากหลายชนิดที่จุลินทรีย์ใช้ในการสะสมพีเอชบีได้ แต่กรดอินทรีย์ (organic acid) และกลูโคสเป็นสารอาหารที่ทำให้ได้ง่ายจึงถูกใช้ในงานวิจัยค่อนข้างมาก สำหรับสารอาหารที่ให้แก่อินทรีย์คือกลูโคสนั้น จะเข้าสู่วิถีไกลโคไลซิส (glycolysis) เกิดอะซีทิลโคเอ เช่นเดียวกับการใช้กรดอินทรีย์เป็นสารอาหาร กรดอินทรีย์จะเข้าสู่เซลล์และเกิดปฏิกิริยาได้เป็นอะซีทิลโคเอ แต่ถ้าใช้สารอาหารชนิดอื่น เช่น กรดบิวทริก (butyric acid) หรือกรดวาเลอริก (valeric acid) จะไม่มีการเกิดอะซีทิลโคเอแต่จะสร้างเป็น acetoacetyl-CoA ได้ทันที (Anderson Dawes, 1990)



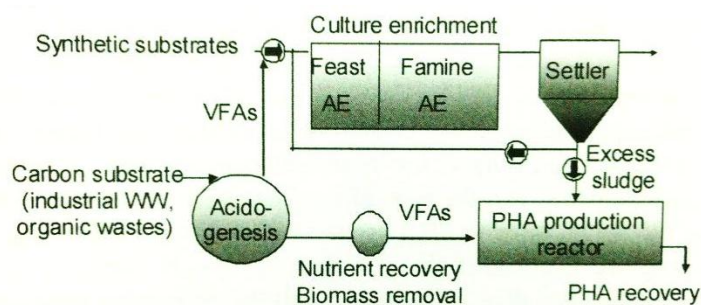
ภาพที่ 2. 5 วิธีการสังเคราะห์พีเอชบี

(Etienne Yu, 2012)

2.2.6 การผลิตพีเอชเอของจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมภายใต้สภาวะที่มีอาหารเกินพอสลักับขาดแคลน

จุลินทรีย์ที่สามารถสะสมพีเอชเอได้จะถูกคัดเลือกเมื่อผ่านช่วงขาดแคลนอาหาร เพราะจุลินทรีย์ที่คงอยู่จะเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมแหล่งคาร์บอนไว้ภายในได้ การเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยวิธีการให้อาหารเกินพอสลักับขาดแคลนเป็นวิธีที่ได้รับความนิยมในปัจจุบัน ปัจจัยต่างๆ ที่ส่งผลต่อการสะสมพีเอชเอยังคงถูกศึกษาค้นคว้าอย่างต่อเนื่อง อีกทั้งการใช้ระบบแบบ Sequencing

Batch Reactor (SBR) (ภาพที่ 2.6) เป็นแนวทางที่ดีในการพัฒนาระบบการผลิตพีเอชเอในอุตสาหกรรม เพราะปริมาณพีเอชเอที่ได้ค่อนข้างสูง (Salehizadeh van Loosdrecht, 2004) โดยระบบที่มีความเหมาะสมอาจสามารถคัดเลือกจุลินทรีย์ที่สะสมพีเอชเอได้สูงถึง 65% (Serafim และคณะ, 2004) และอาจสูงถึง 85% เมื่อมีการจำกัดไนโตรเจนหลังจากผ่านการกระตุ้นแล้ว (Johnson และคณะ, 2010)



ภาพที่ 2.6 กระบวนการผลิตพีเอชเอโดยการให้อาหารแบบกินพอสลับกับขาดแคลน

(Etienne Yu, 2012)

2.2.7 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตพีเอชเอของจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมภายใต้สภาวะที่มีอาหารกินพอสลับกับขาดแคลน

1 สารอินทรีย์ที่จุลินทรีย์ได้รับ

คาร์บอนที่จุลินทรีย์นำไปใช้มีผลต่อการผลิตพีเอชเอโดยตรง แหล่งคาร์บอนมีอยู่หลากหลายรูปแบบ เช่น กลูโคส ฟรุคโทส อะซิเตท โพรพิโอเนท รวมทั้งน้ำเสียที่เข้าสู่ระบบบำบัด เป็นต้น ความสามารถของจุลินทรีย์ในการนำแหล่งคาร์บอนไปใช้ ขึ้นอยู่กับโครงสร้างของแหล่งคาร์บอน เช่น อะซิเตทที่เป็นคาร์บอนสายสั้น จุลินทรีย์จะนำไปใช้ได้ดีกว่า โพรพิโอเนทที่มีสายคาร์บอนยาว

ชนิดของโพลิเมอร์ที่เกิดขึ้นอาจมีผลมาจากสารอินทรีย์ที่จุลินทรีย์ได้รับ จากงานวิจัยของ Dionisi และคณะ (2005a) ทดลองโดยใช้อะซิเตท แลคเตท และโพรพิโอเนท เป็นสารอาหารให้แก่จุลินทรีย์ พบว่าโพลิเมอร์ที่เกิดจากการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยอะซิเตทหรือแลคเตท คือพีเอชบีเป็นส่วนใหญ่ ในขณะที่โพลิเมอร์ที่ได้จากการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยโพรพิโอเนทคือโคโนโพลิเมอร์พีเอชวีและพีเอชบีเป็นหลัก ซึ่งเหตุผลที่เกิดโพลิเมอร์ชนิดต่างๆ นั้นเกิดจากวิธีการสังเคราะห์พีเอชเอที่แตกต่างกัน (Witholt Kessler, 1999)

2 อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio)

ไนโตรเจนจะถูกจุลินทรีย์ใช้ประโยชน์ในด้านการเจริญเติบโตเป็นส่วนใหญ่ จากงานวิจัยของ Kumar และคณะ (2004) พบว่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่เหมาะสมในการผลิตพีเอชเอคือ 144 จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้ร้อยละ 33 โดยน้ำหนัก ซึ่งปริมาณพีเอชเอมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นเมื่ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับงานวิจัยของ S.T. และ

คณะ (2009) ทำการผลิตพีเอชเอด้วยการปรับเปลี่ยนค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน พบว่าการผลิตพีเอชเอดีขึ้นเมื่อมีค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเพิ่มสูงขึ้น

3 ระยะเวลาการมีอาหารเกินพอและขาดแคลนอาหาร

Dionisi และคณะ (2007) ทำการวิจัยเรื่องผลของระยะเวลาที่มีอาหาร (feast phase length time) ในรอบวัฏจักร พบว่าเงื่อนไขที่สนับสนุนการสะสมพีเอชเอของจุลินทรีย์คือ การที่มีระยะเวลาที่น้อยกว่า 20% ของระยะเวลาในหนึ่งช่วงวัฏจักร หากมีระยะเวลาที่มีอาหารนานเกินกว่า 20% ของระยะเวลาของวัฏจักร จะมีแนวโน้มในการสนับสนุนจุลินทรีย์ในการเจริญเติบโตมากกว่าการสะสมพีเอชเอ

4 ค่า pH

ค่า pH ของระบบมีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และการผลิตพีเอชเอ จากงานวิจัยของ Liu (2011) ทำการทดลองปรับเปลี่ยนค่า pH และสังเกตปริมาณพีเอชเอที่จุลินทรีย์ผลิตได้ พบว่าที่ค่า pH เท่ากับ 7 จุลินทรีย์มีอัตราการผลิตพีเอชเอ และผลผลิตพีเอชเอได้สูงที่สุด คือ $125 \text{ mg gSS}^{-1} \text{ h}^{-1}$ และ 0.74 gCOD/gCOD ตามลำดับ นอกจากนี้ในระบบจำเป็นต้องมีการควบคุมค่า pH ตลอดเวลา เนื่องจากเมื่อจุลินทรีย์ใช้สารอาหารซึ่งเป็น VFA แล้วนั้น จะส่งผลให้ค่า pH เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งอาจส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการสะสมพีเอชเอของจุลินทรีย์

5 F/M ratio

อัตราส่วนอาหารต่อจุลินทรีย์ ถ้ามีค่าสูงจะส่งผลให้จุลินทรีย์มีแนวโน้มในการสะสมพีเอชเอได้ดีขึ้น Liu (2008) ทำการทดลองผลิตพีเอชเอโดยการคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์ด้วยวิธีการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน และทำการเปรียบเทียบผลผลิตพีเอชเอเมื่อได้รับอัตราส่วนอาหารต่อจุลินทรีย์แตกต่างกัน คือ 0.4, 0.6, 1 และ 2 พบว่าที่อัตราส่วนอาหารต่อจุลินทรีย์เท่ากับ 2 มีการสะสมพีเอชเอได้สูง เนื่องจากการที่มีสารอาหารในปริมาณที่สูงทำให้มีแนวโน้มของอัตราการใช้สารอาหารสูงขึ้น ซึ่งการใช้สารอาหารของจุลินทรีย์สูงนั้นมีแนวโน้มที่จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้สูงขึ้นด้วย

6 ความเข้มข้นสารอินทรีย์ที่จุลินทรีย์ได้รับ

เมื่อจุลินทรีย์ได้รับปริมาณสารอินทรีย์ที่มากจะส่งผลให้จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้ดีขึ้นด้วย (ทุติยาภรณ์ สุดาจิต, 2548) โดยความเข้มข้นของสารอาหารที่การส่งเสริมการสะสมพีเอชเอขึ้นอยู่กับช่วง 0.4 ถึง $15 \text{ kgCOD/m}^3 \text{ d}$ (Etienne Yu, 2012) ซึ่งจากการทดลองของ Dionisi และคณะ (2005a) ได้ทำการคัดเลือกจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมเพื่อผลิตพีเอชเอด้วยความเข้มข้นสารอินทรีย์สูงถึง 12.75 gCOD/l d พบว่าจุลินทรีย์สะสมพีเอชเอได้สูงสุดถึง $278 \text{ mgPHA/g biomass}$

7. ค่าอายุตะกอน

จากงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการศึกษาเกี่ยวกับค่าอายุตะกอนที่เหมาะสมสำหรับการคัดเลือกจุลินทรีย์เพื่อเพิ่มความสามารถในการสะสมพีเอชเอ แต่ยังคงไม่มีข้อสรุปที่แน่ชัดเรื่อง การเลือกใช้ค่าอายุตะกอน ซึ่งค่าอายุตะกอนมีความเกี่ยวข้องกับปัจจัยอื่นอีกมากมาย ดังแสดงในตารางที่ 2.2

2.2.8 การพัฒนาในเชิงอุตสาหกรรม

ในปัจจุบันนี้คงยังไม่มีการผลิตพีเอชเอในระบบบำบัดน้ำเสียด้วยจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมแบบเต็มระบบการผลิต แต่อย่างไรก็ตามงานวิจัยต่างๆ มีการศึกษาโดยการใช้ น้ำเสียจริงอย่างต่อเนื่อง เช่น ของเสียจากอาหาร (Rho และคณะ, 2003) น้ำมันมะกอกและน้ำมันปาล์ม (Dionisi และคณะ, 2005b, Din และคณะ, 2006, Beccari และคณะ, 2009) น้ำเสียจากโรงงานกระดาษ (Bengtsson และคณะ, 2008) และกากน้ำตาล (Albuquerque และคณะ, 2007) เป็นต้น นอกจากนี้การใช้กากตะกอนส่วนเกินจากระบบบำบัดน้ำเสียมาศึกษาเพื่อสะสมพีเอชเอ นั้นเป็นสิ่งที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก เพราะเป็นการนำของเสียมาใช้ให้เกิดประโยชน์

Carole และคณะ (2004) ทำการศึกษาบริษัทที่ทำการผลิตพีเอชเอ คือ I-PHA BioPolymer ซึ่งใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมในการผลิต โดยสารอาหารที่ให้แก่จุลินทรีย์คือกรดอินทรีย์ระเหยง่าย (volatile fatty acid) นอกจากนี้การใช้สารอาหารที่มีส่วนประกอบของแหล่งคาร์บอนหลากหลายชนิดเป็นวิธีหนึ่งที่มีความน่าสนใจและพัฒนาอย่างต่อเนื่อง เพราะสามารถเพิ่มช่องทางการกำจัดของเสียได้

2.2.9 การใช้ประโยชน์จากพีเอชเอ

Philip และคณะ (2007) รวบรวมคุณสมบัติของพีเอชเอที่พบว่า สามารถนำพีเอชเอ ที่ผลิตได้ไปใช้ประโยชน์ได้หลายด้าน เช่น การนำไปใช้ทางด้านอุตสาหกรรม ทางด้านการแพทย์ หรือทางด้านเกษตรกรรม เป็นต้น

ทางด้านอุตสาหกรรม พีเอชเอสามารถนำมาผลิตเป็นแผ่นฟิล์ม แผ่นพอยล์ กระจกพลาสติกห่อหุ้มอาหาร รวมถึงใช้เคลือบพื้นผิววัสดุเพื่อเพิ่มคุณสมบัติกันความชื้น แต่กระบวนการผลิตพีเอชเอเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมส่วนใหญ่จะใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์เพื่อให้สามารถผลิตพีเอชเอได้ในปริมาณมาก

ทางด้านการแพทย์ จากคุณสมบัติของพีเอชเอที่สามารถย่อยสลายได้จึงสามารถนำไปใช้ห่อหุ้มสารออกฤทธิ์ในยาหรือฮอร์โมนเพื่อนำเข้าสู่ร่างกายซึ่งทำให้สารออกฤทธิ์เหล่านั้นถูกปลดปล่อยออกมาทีละน้อย นอกจากนี้ยังสามารถนำไปใช้ในทางด้าน tissue engineering เช่น อุปกรณ์เย็บแผล หรือแผ่นเอ็นตาข่ายที่ใช้ในการผ่าตัดเชื่อมเนื้อเยื่อในร่างกาย

ทางด้านเกษตรกรรม สามารถนำพีเอชเอไปใช้ทำวัสดุคลุมหญ้าสำหรับการเกษตร ใช้ทำวัสดุห่อหุ้มสารกำจัดศัตรูพืชหรือปุ๋ยเพื่อใช้ในนาข้าว หรือใช้ในการเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของจุลินทรีย์ในบริเวณที่มีสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมให้จุลินทรีย์เติบโตโดยธรรมชาติ เช่น เพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของจุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจนในดินให้สามารถทำงานได้นานขึ้น

ตารางที่ 2.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการสะสมฟิเอชของจุลินทรีย์จากการควบคุมค่าอายุตะกอน

Cycle time / the number of cycles per SRT / F/M ratio										
Reference	SRT	Cycle time	The number of cycles per SRT	Feast phase length (min)	Famine phase length (min)	Feast phase length/cycle time ratio	F/M ratio	Specific substrate utilization rate	PHA product	suggestion
Moralejo 2013	2 d	6 h	8				0.25 Cmol/Cmol/cycle	1.59 g glycerol/g biomass h	$Y^{obs}_{PHA-glycerol} = 0.2$ g/g	การมีระยะเวลาวัฏจักรนาน ทำให้ F/M ratio มีค่ามาก ดังนั้นจำนวนรอบวัฏจักรต่อช่วง SRT ควรมีค่าน้อย เพื่อสนับสนุนการสะสมฟิเอชของจุลินทรีย์
		24 h	2				1.94 Cmol/Cmol/cycle	1.16 g glycerol/g biomass h	$Y^{obs}_{PHA-glycerol} = 0.34$ g/g	
Jiang 2011a	1 d	1h	24	3	57	5 %		2.52 Cmmol/Cmmol h	PHB content = 6.6 %wt	จำนวนรอบวัฏจักรต่อช่วง SRT มีค่าน้อย สนับสนุนการสะสมฟิเอชในช่วง feast phase ได้ดี
		18 h	1.33	137	943	12.7 %		2.40 Cmmol/Cmmol h	PHB content = 71.3 %wt	
Valentino 2014	1 d	2 h	12	22.4	97.6	19.7 %			$Y^{obs} = 0.41$ COD/COD	ระยะเวลาอาหารกินพอลิเมอร์วัฏจักรควรมีค่าไม่เกิน 20% โดยจากงานวิจัยที่ระยะเวลาวัฏจักร 2 ชั่วโมงมีการสะสมฟิเอชได้ดีที่สุด แต่การเดินระบบทำได้ยากที่ระยะเวลาวัฏจักรน้อย
		6 h	4	72	288	20%			$Y^{obs} = 0.43$ COD/COD	
		8 h	3	134	346	28 %			$Y^{obs} = 0.45$ COD/COD	

Specific substrate utilization rate										
Reference	SRT	Cycle time	The number of cycles per SRT	Feast phase length (min)	Famine phase length (min)	Feast phase length/cycle time ratio	F/M ratio	Specific substrate utilization rate	PHA product	suggestion
Moita 2012	5 d	12 h	10					0.142 gCOD/ gMLVSS Xh	PHA content = 9.2 % g/g cell dry weight	เดิมระบบด้วย SRT 10 วัน จนถึงวันที่ 61 สด SRT เป็น 5 วัน (เพื่อเพิ่มปริมาณ VSS) ซึ่งการลด SRT ลงทำให้จุลินทรีย์สามารถสะสมฟิเออเอได้ดีขึ้น
	10 d		20					<0.142 gCOD /gMLVSS Xh		
Beun 2002	4 d	4 h	24	9.5	230.5			0.85 Cmol/ Cmol/h	PHB content = 40 % of dry weight of the cell	เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่น พบว่า SRT มากกว่า 2 วัน ส่วนมากมี specific growth rate ต่ำ ดังนั้นการมี growth rate ต่ำ ทำให้มีการสะสมฟิเออเอที่ดี
Lemos 2008	1 d	12 h	2					0.27 Cmmol /Cmmol Xh	$Y_{PHA-SH0.5} = 0.33$ Cmmol3HA/CmmolS	การเลือกใช้ SRT 1 วัน สามารถคัดเลือกจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตได้เร็วกว่าที่ SRT 10 วัน แต่การสะสมฟิเออเอของ SRT 10 วัน ดีกว่าของ SRT 1 วัน
	10 d		20					0.80 Cmmol /Cmmol Xh	$Y_{PHA-SH0.5} = 0.58$ Cmmol3HA/CmmolS	

Another parameter										
Reference	SRT	Cycle time	The number of cycles per SRT	Feast phase length (min)	Famine phase length (min)	Feast phase length/cycle time ratio	F/M ratio	Specific substrate utilization rate	PHA product	suggestion
Ilke 2012	10 d						0.42 mgCOD/mgVSS		$Y_{sto} = 0.8$ gCOD/gCOD	ที่ SRT 2 วัน จุลินทรีย์เจริญเติบโตได้เร็ว แต่ไม่มีการสะสมเกิดขึ้น
	2 d						1.33 mgCOD/mgVSS		$Y_{sto} = 0$ gCOD/gCOD	
Albuquerque 2010	10 d	12 h	20	120				0.17 CmolVFA/Cmol Xh	PHA content = 25 %	อัตราส่วน feast/famine ratio ที่มีค่าน้อย ส่งผลให้จุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตอย่างจำกัด ดังนั้นจุลินทรีย์จะสามารถสะสมฟอสเฟตได้

หมายเหตุ จากการรวบรวมข้อมูลในตารางที่ 2.2 ไม่สามารถแปลงข้อมูลให้อยู่ในหน่วยเดียวกันได้ทั้งหมด เนื่องจากข้อจำกัดจากการประมาณค่าด้วยวิธีที่แตกต่างกัน

2.3 การศึกษาของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์โดยเทคนิค 16S Metagenomics

การศึกษากลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบนั้นเป็นหัวใจสำคัญอย่างหนึ่ง เนื่องจากภายใต้เงื่อนไขการเดินระบบที่ต่างกัน อาจทำให้มีกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่ต่างชนิดกัน รวมถึงการผลิตพีเอชเอที่แตกต่างกันด้วย วิธีที่นิยมใช้ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่ได้รับความนิยมในปัจจุบันวิธีหนึ่งคือการศึกษา DNA sequencing คือวิธีการหาลำดับเบสของสิ่งมีชีวิตซึ่งทำให้สามารถทราบถึงชนิดของสิ่งมีชีวิตนั้นได้ โดยเทคนิคที่เลือกใช้ในงานวิจัยนี้คือ 16S metagenomics ด้วยเครื่อง Illumina ซึ่งเป็นหนึ่งในเทคโนโลยีการหาลำดับเบสแบบ high throughput หรือ Next generation sequencing (อลิษา วิสันโท และคณะ, 2012)

การศึกษา 16S Metagenomics ด้วยเครื่อง Illumina ขั้นตอนการวิเคราะห์ เริ่มต้นด้วยการนำดีเอ็นเอที่สกัดจากจุลินทรีย์ที่ต้องการศึกษามาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ต้องการด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) หลังจากนั้นทำการเตรียมตัวอย่างให้พร้อมเพื่อเข้าสู่เครื่องดำเนินการหาลำดับเบส sequencing ซึ่งเป็นการศึกษาหาลำดับเบสจากการย้อมติดสีเรืองแสงที่เบสแต่ละชนิดด้วยสีที่แตกต่างกัน ขั้นตอนของการทำงานภายในเครื่อง Illumina มีดังนี้

1. เตรียมดีเอ็นเอต้นแบบ คือการตัดดีเอ็นเอให้เป็นชิ้นส่วนย่อยได้ความยาวน้อยกว่า 800 base pair สายดีเอ็นเอถูกเชื่อมต่อกับ adapter และ เบส T หลังจากนั้นเพิ่มจำนวนสายดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR

2. การสร้างสายดีเอ็นเอด้วยวิธี bridge amplification เป็นขั้นตอนเพิ่มจำนวนสายดีเอ็นเอบน flow cell channels ดีเอ็นเอสายเดี่ยวจับกับ primer เป็นสะพานโค้ง (double-stranded bridges) หลังจากนั้นสายดีเอ็นเอจะถูกแยกออกจากกันเป็นสายเดี่ยว

3. การหาลำดับเบส ขั้นตอนนี้ primer จะเข้าจับกับดีเอ็นเอจำเพาะ นิวคลีโอไทด์ที่ไม่เข้าคู่กับดีเอ็นเอจะถูกกำจัดออก ทำการกระตุ้นด้วยแสง เพื่อบันทึกการปล่อยสารเรืองแสงของนิวคลีโอไทด์ โดยสีที่เรืองแสงจะแตกต่างกันตามชนิดของเบส หลังจากนั้นล้างสีย้อมและตัวทำปฏิกิริยาออก และทำซ้ำในขั้นตอนนี้จนครบจำนวนรอบ cycle ที่กำหนด

หลังจากนั้นนำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์และสรุปผล

2.4 ทบทวนเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เนื่องจากพลาสติกเป็นวัสดุที่นิยมใช้ในปัจจุบันจึงส่งผลให้ขยะที่เกิดขึ้นมีองค์ประกอบจากพลาสติกเป็นจำนวนมาก และพลาสติกที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายได้จากการบวนการสังเคราะห์จากปิโตรเลียม คุณสมบัติที่เด่นชัดของพลาสติกชนิดนี้คือมีความคงทนค่อนข้างสูง หรือใช้เวลาในการย่อยสลายนาน ดังนั้นพลาสติกชีวภาพซึ่งเป็นพลาสติกที่สามารถย่อยสลายได้ง่ายในธรรมชาติจึงกลายมาเป็นวัสดุทางเลือกที่น่าสนใจ โพลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอต (พีเอชเอ) เป็นพลาสติกชีวภาพชนิดหนึ่งซึ่ง

จุลินทรีย์สามารถสะสมไว้ในเซลล์ได้ สำหรับวิธีที่ใช้กระตุ้นจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมให้มีความสามารถในการสะสมฟิเอชเอและเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์มากขึ้น คือ การเลี้ยงจุลินทรีย์ในสภาวะที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน (feast and famine) วิธีนี้จะช่วยให้จุลินทรีย์ปรับตัวในการสะสมสารอาหารที่ได้รับไว้ในรูปของฟิเอชเอเก็บไว้ในเซลล์ เพื่อเป็นแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอนสำรอง เมื่อจุลินทรีย์อยู่ในสภาวะขาดแคลนอาหาร จุลินทรีย์ที่สามารถสะสมฟิเอชเอได้ จะนำฟิเอชเอมาใช้เป็นแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอนสำรอง ดังนั้นจุลินทรีย์ที่ไม่สามารถสะสมฟิเอชเอได้จึงมีแนวโน้มค่อยๆลดจำนวนลง ซึ่งการคัดเลือกจุลินทรีย์สำหรับผลิตฟิเอชเอ นั้น นิยมเลือกถึงปฏิกรณ์แบบกึ่งเท เนื่องจากเป็นระบบที่สามารถดำเนินระบบและควบคุมได้ง่าย

มีงานวิจัยจำนวนมากที่สนใจศึกษาการเพิ่มความสามารถในการสะสมฟิเอชเอของจุลินทรีย์ โดยการปรับปรุงเงื่อนไขในการเดินระบบต่างๆ เช่น อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่เป็นสารอาหารให้แก่จุลินทรีย์ ค่า pH และอัตราส่วนระยะเวลาที่มีอาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร เป็นต้น นอกจากนี้ระบบที่ได้อธิบายไปข้างต้นแล้วนั้น ยังมีงานวิจัยจำนวนหนึ่งที่ทำการศึกษาเกี่ยวกับค่าอายุตะกอนและผลผลิตฟิเอชเอที่เกิดขึ้น โดยงานวิจัยส่วนหนึ่งมีการศึกษาการผลิตฟิเอชเอจากจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมโดยควบคุมอายุตะกอนให้มีค่าน้อยๆ Johnson และคณะ (2009) ได้ทำการผลิตฟิเอชเอที่ค่าอายุตะกอน 1 วัน โดยใช้ถึงปฏิกรณ์แบบกึ่งเท และใช้อะซิเตทเป็นสารอาหารให้แก่จุลินทรีย์จากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงาน Dokhaven ประเทศเนเธอร์แลนด์ พบว่าจุลินทรีย์มีอัตราการเจริญเติบโตและใช้สารอาหารอย่างรวดเร็ว ทำให้มีระยะเวลาที่จุลินทรีย์ขาดแคลนอาหารค่อนข้างนาน ซึ่งเงื่อนไขเหล่านี้นำไปสู่การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมฟิเอชเอได้สูง ส่งผลให้จุลินทรีย์สามารถสะสมฟิเอชเอได้สูงถึง ร้อยละ 89 โดยน้ำหนัก เช่นเดียวกับงานวิจัยจาก Jiang และคณะ (2011b) ที่สนับสนุนการใช้ค่าอายุตะกอนน้อยๆ ได้อธิบายเพิ่มเติมการใช้ค่าอายุตะกอนน้อยๆ จะทำให้จุลินทรีย์ในระบบมีความว่องไวในการใช้สารอาหารและการเจริญเติบโต นอกจากนี้หัวใจของการคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์ คือ จำนวนรอบของการเดินระบบ (number of cycles) ต่อหนึ่งช่วงอายุตะกอนควรมีค่าน้อย ซึ่งเป็นเหตุผลสนับสนุนเรื่องการเลี้ยงจุลินทรีย์ที่ค่าอายุตะกอนน้อย ซึ่งมีแนวโน้มให้จุลินทรีย์สามารถสะสมฟิเอชเอได้ในปริมาณสูง

Johnson และคณะ (2010) ทดลองผลิตฟิเอชเอจากถึงปฏิกรณ์แบบกึ่งเท โดยใช้อะซิเตทเป็นสารอาหารให้แก่จุลินทรีย์จากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงาน Dokhaven ประเทศเนเธอร์แลนด์ ทำการวิจัยโดยกำหนดค่าอายุตะกอนที่ 1 0.5 และ 4 วัน ได้สรุปแนวคิดเช่นเดียวกับงานวิจัยที่ผ่านมา ที่อายุตะกอนน้อย (1 วัน) จะได้ผลผลิตฟิเอชเอสูงกว่าที่อายุตะกอนมาก (4 วัน) แต่ไม่ควรเลือกใช้ค่าอายุตะกอนที่ต่ำเกินไป (0.5 วัน) เพราะจะทำให้การเดินระบบเป็นไปได้ยากและมีความเสี่ยงต่อการล่มของระบบสูง นอกจากนี้มีการทดลองใช้ค่าอายุตะกอนสูงๆ ก่อนแล้วจึงปรับลดค่าอายุตะกอนในตอนหลัง พบว่าการลดลงของค่าอายุตะกอนนำไปสู่เงื่อนไขการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่จะสามารถสะสมฟิเอชเอได้ดี (Moita Lemos, 2012)

ในทางกลับกันมีบางงานวิจัยที่กล่าวว่าที่อายุตะกอนมาก จุลินทรีย์จะสามารถสะสมฟิเอชเอได้ดีกว่าที่อายุตะกอนน้อย Ilke และคณะ (2012) ได้ทำการทดลองผลิตฟิเอชเอจากจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม โดยใช้สารอาหารเป็นของผสมระหว่างเปปโทนและ meat extract ที่อายุตะกอน 2 และ 10 วัน พบว่าที่อายุตะกอน 2 วัน กลุ่มประชากรจุลินทรีย์จะมีลักษณะโตเร็วแต่ไม่สามารถสะสมฟิเอชเอได้ดี

เท่ากับที่อายุตะกอน 10 วัน เช่นเดียวกับ Lemos และคณะ (2008) ทำการทดลองโดยใช้ถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเทและอะซิเตทเป็นแหล่งอาหาร เลือกค่าอายุตะกอนที่ 1 และ 10 วัน พบว่าที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้มากกว่าที่อายุตะกอน 1 วัน ถึงประมาณ 4 เท่า ซึ่งแสดงว่าการเลือกใช้ค่าอายุตะกอนน้อย จะเป็นการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตเร็ว แต่ถ้าต้องการความสามารถสะสมพีเอชเอสูงควรเลือกใช้ค่าอายุตะกอนมาก (Lemos และคณะ, 2006)

จากงานวิจัยที่ผ่านมายังคงแสดงให้เห็นถึงความขัดแย้งในเรื่องของอายุตะกอนที่เหมาะสมในการผลิตพีเอชเอว่า ช่วงอายุตะกอนเท่าใดที่จะสามารถกระตุ้นให้จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้ในปริมาณที่สูง และยังคงขาดงานวิจัยที่เปรียบเทียบผลของอายุตะกอนในช่วงกว้าง นอกจากนี้การศึกษากลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบด้วยเทคนิค 16S Metagenomics จะช่วยให้ทราบถึงแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงไปของประชากรจุลินทรีย์ที่อายุตะกอนแตกต่างกัน ด้วยเหตุนี้การศึกษาผลของอายุตะกอนในการผลิตโพลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอตจากจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมด้วยการให้อาหารแบบเกินพอ สลับกับขาดแคลนจึงเป็นประเด็นที่ควรทำการศึกษาต่อไป



บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

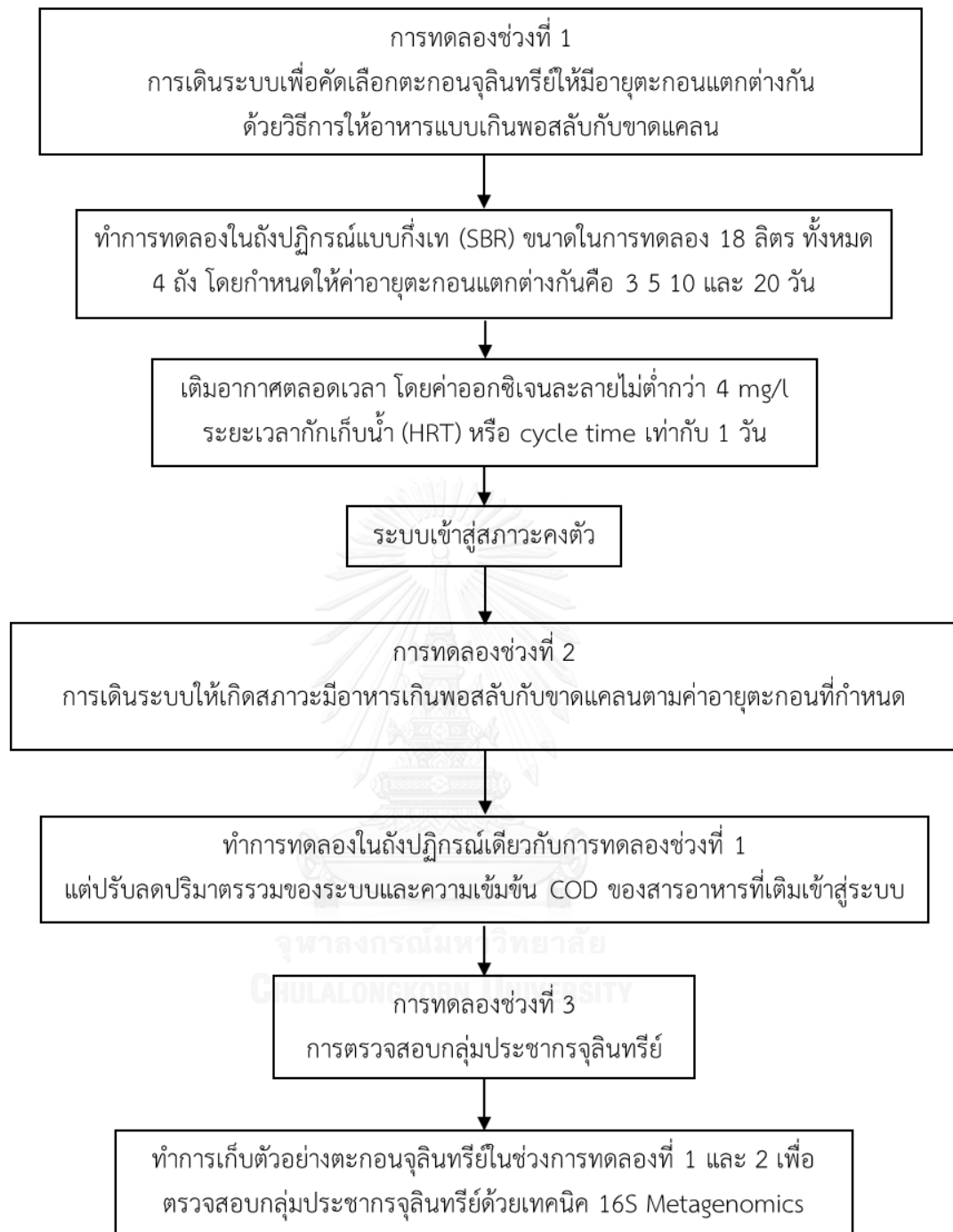
3.1 แผนการวิจัย

การศึกษาเรื่องผลของอายุตะกอนต่อการผลิตพีเอชเอของจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมภายใต้สภาวะมีอาหารเกินพอสลักับขาดแคลนนั่นแบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ การเดินระบบเพื่อคัดเลือกตะกอนจุลินทรีย์ที่มีอายุตะกอนแตกต่างกัน การเดินระบบให้เกิดสภาวะมีอาหารเกินพอสลักับขาดแคลนตามค่าอายุตะกอนที่กำหนด และการตรวจสอบกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ โดยแผนภาพขั้นตอนของแผนการวิจัยทั้งหมดแสดงดังภาพที่ 3.1

การทดลองช่วงที่ 1 การเดินระบบเพื่อคัดเลือกตะกอนจุลินทรีย์ที่มีอายุตะกอนแตกต่างกัน ด้วยวิธีการให้อาหารแบบเกินพอสลักับขาดแคลนในถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท (sequencing batch reactor, SBR) ที่อายุตะกอนแตกต่างกันทั้งหมด 4 ค่า คือ 3 5 10 และ 20 วัน ภายใต้สภาวะที่ควบคุมความเข้มข้นของน้ำเสียสังเคราะห์เดียวกัน และระยะกักเก็บน้ำเท่ากัน ทำการวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ เป็นระยะจนกระทั่งระบบเข้าสู่สภาวะคงตัว

การทดลองช่วงที่ 2 การเดินระบบให้เกิดสภาวะมีอาหารเกินพอสลักับขาดแคลนตามค่าอายุตะกอนที่กำหนด ทำการทดลองในถังปฏิกรณ์ต่อเนื่องจากการทดลองช่วงที่ 1 แต่ปรับลดปริมาตรรวมของระบบและความเข้มข้น COD ของสารอาหารที่เติมเข้าสู่ระบบ

การทดลองช่วงที่ 3 การตรวจสอบกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ของช่วงการทดลองที่ 1 และ 2 ด้วยเทคนิค 16S Metagenomics



ภาพที่ 3.1แผนการวิจัยทั้งหมด

3.2 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

3.2.1 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

3.2.1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ชุดเครื่องควบคุมค่า pH (pH controller)
2. เครื่องก๊าซโครมาโตกราฟี (Gas chromatography, GC) Agilent รุ่น 6890N
บริษัท Agilent Technologies
3. เครื่องชั่งแบบละเอียด
4. กระดาษกรอง GF/C 0.45 ไมครอน เส้นผ่านศูนย์กลาง 4.7 เซนติเมตร
5. ชุดกรองที่ใช้กรองแบบบุชเนอร์
6. บิวเรต
7. ขวดรูปกรวยขนาด 125 มิลลิลิตร
8. หลอดสำหรับวิเคราะห์ซีไอดี
9. ปีกเกอร์ขนาดต่างๆ
10. อุปกรณ์และเครื่องมือวิเคราะห์ด้วยเทคนิค 16S Metagenomics

3.2.1.2 สารเคมี

1. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมน้ำเสียสังเคราะห์
 1. โซเดียมอะซิเตท (Sodium acetate, CH_3COONa)
 2. โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Potassium dihydrogen phosphate, KH_2PO_4)
 3. แอมโมเนียมคลอไรด์ (Ammonium chloride, NH_4Cl)
 4. ไดโพแทสเซียมฟอสเฟต (Dipotassium phosphate, K_2HPO_4)
 5. แมกนีเซียมซัลเฟต (Magnesium sulfate, MgSO_4)
 6. เฟอริกคลอไรด์ (Ferric chloride, FeCl_3)
 7. กรดบอริก (Boric acid, H_3BO_3)
 8. คอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulfate, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)
 9. แมงกานีสคลอไรด์ (Magnesium chloride, $\text{MnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
 10. โซเดียมโมลิบเดต (Sodium molybdate, $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
 11. แคลเซียมคลอไรด์ (Calcium chloride, CaCl_2)
 12. ซิงค์ซัลเฟต (Zinc sulfate, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)
 13. โคบอลท์คลอไรด์ (Cobalt chloride, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)
 14. นิกเกิลคลอไรด์ (Nickel chloride, $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)
 15. ไทโอยูเรีย (Thiourea)
 16. โซเดียมไบคาร์บอเนต (NaHCO_3)
2. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ COD
 1. โพแทสเซียมไดโครเมต (Potassium dichromate, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$)
 2. กรดซัลฟูริกเข้มข้น (Concentrated sulfuric acid, conc. H_2SO_4)

3. เมอร์คิวริกซัลเฟต (Mercuric sulfate, HgSO_4)
 4. ซิลเวอร์ซัลเฟต (Silver sulfate, Ag_2SO_4)
 5. เฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต (Ferrous ammonium sulfate, $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$)
 6. เฟอรัสซัลเฟต (Ferrous sulfate, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)
 7. 1, 10 - ฟีนแอนทรอลีนโมโนไฮเดรต (1, 10 - Phenanthroline monohydrate, $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$)
3. สารเคมีที่ใช้ในการสกัดพีเอชเอออกจากเซลล์
 1. กรดเบนโซอิก (Benzoic acid)
 2. กรดซัลฟูริก (Sulfuric acid)
 3. เมทานอล (Methanol)
 4. คลอโรฟอร์ม (Chloroform)
 4. สารเคมีที่ใช้ในการวัดปริมาณพีเอชเอโดยวิธี Gas Chromatography (GC)
 1. คลอโรฟอร์ม (Chloroform)
 2. กรดเบนโซอิก (Benzoic acid)
 3. สารมาตรฐานพีเอชบี
 5. สารเคมีที่ใช้ในเทคนิค 16S Metagenomics

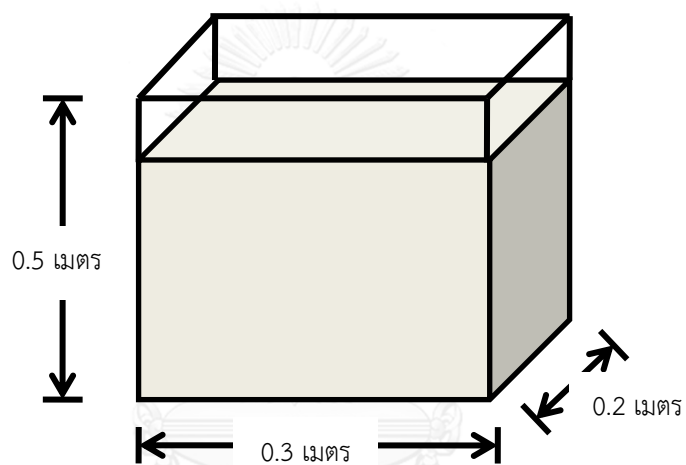
3.2.2 อุปกรณ์สำหรับเดินระบบ

อุปกรณ์ที่ใช้ในการเดินระบบประกอบด้วย ถังปฏิกรณ์ ชุดควบคุมค่า pH (pH controller) และชุดอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับเติมอากาศ รายละเอียดเครื่องมือและอุปกรณ์แสดงดังตารางที่ 3.1

ถังปฏิกรณ์ที่ใช้ในการทดลองช่วงที่ 1 เป็นแบบกึ่งเท (SBR) ทำจากถังแก้วใสรูปทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด $0.2 \times 0.3 \times 0.5$ เมตร (กว้าง \times ยาว \times สูง) ปริมาตรรวมของถังเท่ากับ 30 ลิตร ปริมาตรที่ใช้ในการทดลอง เท่ากับ 18 ลิตร ดังแสดงในภาพที่ 3.2 และ 3.3

ตารางที่ 3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

เครื่องมือและอุปกรณ์	ยี่ห้อ / รุ่น
1. Peristaltic Pump	- Watson-Marlow 505U - Watson-Marlow 505S - AMK peristaltic pump
2. ชุดควบคุมค่า pH (pH controller)	- Thermo Scientific Alpha 190 - Thermo Scientific Alpha pH-560
3. เครื่องเติมอากาศ	- HEILEA ACO-318



ภาพที่ 3.2 ถังปฏิกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง



ภาพที่ 3.3 ถังปฏิกรณ์ที่ใช้ในการเดินระบบ

ถังปฏิกรณ์ที่ใช้ในการเดินระบบ มีการเติมอากาศตลอดเวลาโดยชุดเครื่องเติมอากาศ และมีชุดควบคุมค่า pH อัตโนมัติ ให้อยู่ในช่วง 7.0 – 7.4

ตะกอนจุลินทรีย์ที่ใช้ในการเดินระบบนำมาจากโรงงานผลิตเครื่องดื่มจากผักและผลไม้แห่งหนึ่ง ซึ่งมีระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศ (UASB) ต่อกับระบบบำบัดแบบเติมอากาศแบบกึ่งเท (SBR) โดยตะกอนจุลินทรีย์ที่ใช้ในการเริ่มต้นเดินระบบนำมาจากตะกอนของระบบบำบัดแบบ SBR ที่มีความเข้มข้น COD ของน้ำเสียขาเข้าในระบบส่วนนี้เท่ากับ 500 mg/l

3.3 ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย

ขั้นตอนในการดำเนินงานวิจัยทั้งหมดแบ่งออกเป็น 3 ช่วงการทดลอง คือ การทดลองช่วงที่ 1 การเดินระบบเพื่อคัดเลือกตะกอนจุลินทรีย์ให้มีอายุตะกอนแตกต่างกัน การทดลองช่วงที่ 2 การเดินระบบให้เกิดสภาวะมีอาหารเกินพอสลักับขาดแคลนตามค่าอายุตะกอนที่กำหนด และการทดลองช่วงที่ 3 การตรวจสอบกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ ซึ่งมีรายละเอียดในแต่ละช่วงการทดลองดังนี้

การทดลองช่วงที่ 1 การเดินระบบเพื่อคัดเลือกตะกอนจุลินทรีย์ให้มีอายุตะกอนแตกต่างกัน

เป็นขั้นตอนที่มุ่งเน้นการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ที่ถูกคัดเลือกด้วยอายุตะกอนที่ต่างกัน เริ่มระบบโดยเลือกใช้ตะกอนจุลินทรีย์จากตะกอนส่วนเกินของระบบบำบัดน้ำเสียโรงงานผลิตเครื่องดื่มจากผักและผลไม้ (ซึ่งมีระบบบำบัดน้ำเสียแบบ UASB และระบบเติมอากาศแบบกึ่งเท) กำหนดให้ค่า MLSS เมื่อเริ่มต้นระบบมีค่าประมาณ 3,000 mg/l และใช้น้ำเสียสังเคราะห์เตรียมขึ้นจากอะซิเตท เพื่อให้มีค่าความเข้มข้นเท่ากับ 94 Cmmol/l (ประมาณ 3,000 mgCOD/l) โดยแผนการดำเนินงานในช่วงการทดลองที่ 1 มีดังนี้

1. เริ่มต้นใช้ถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเททั้งหมด 4 ถัง (สำหรับทดลองที่ค่าอายุตะกอน 4 ค่า)
2. เติมตะกอนจุลินทรีย์ซึ่งเป็นตะกอนส่วนเกินจากระบบบำบัดน้ำเสีย โดยความเข้มข้นของตะกอนจุลินทรีย์ที่เริ่มต้นระบบมีค่าเท่ากับ 3,000 mg/l
3. เติมน้ำเสียสังเคราะห์ที่เตรียมขึ้นจากอะซิเตท โดยกำหนดให้มีค่าความเข้มข้นเริ่มต้นระบบเท่ากับ 94 Cmmol/l โดยส่วนประกอบของน้ำเสียสังเคราะห์แสดงดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 ส่วนประกอบของน้ำเสียสังเคราะห์ที่ใช้ในการทดลอง (ปรับปรุงจาก Kumar และคณะ (2004))

สารอาหาร	หน่วย	ปริมาณ
ธาตุอาหารหลัก		
CH ₃ COONa	Cmmol/l	94
NH ₄ Cl	g/l	0.382
KH ₂ PO ₄	g/l	0.087
K ₂ HPO ₄	g/l	0.11
MgSO ₄	g/l	0.5
ธาตุอาหารรอง		
FeCl ₃	g/l	0.01
H ₃ BO ₃	g/l	0.004
CuSO ₄ .5H ₂ O	g/l	0.002
MnCl ₂ .2H ₂ O	g/l	0.0003
NaMoO ₄ .2H ₂ O	g/l	0.002
CaCl ₂	g/l	0.01
ZnSO ₄ .7H ₂ O	g/l	0.002
CoCl ₂ .6H ₂ O	g/l	0.008
NiCl ₂ .6H ₂ O	g/l	0.002
บัฟเฟอร์และสารอื่นๆ		
NaHCO ₃	g/l	0.84
Thiourea	g/l	0.02

การคำนวณหน่วย Cmmol จากความเข้มข้นอะซิเตท 3,000 mgCOD/l



ออกซิเจน 64 กรัม ทำปฏิกิริยาพอดีกับกรดอะซิติก 60 กรัม

ดังนั้น ต้องการทำปฏิกิริยาพอดีกับออกซิเจน 3 กรัม ต้องใช้อะซิติก 2.81 กรัม

60 กรัม อะซิติก มีจำนวนคาร์บอน เท่ากับ 2

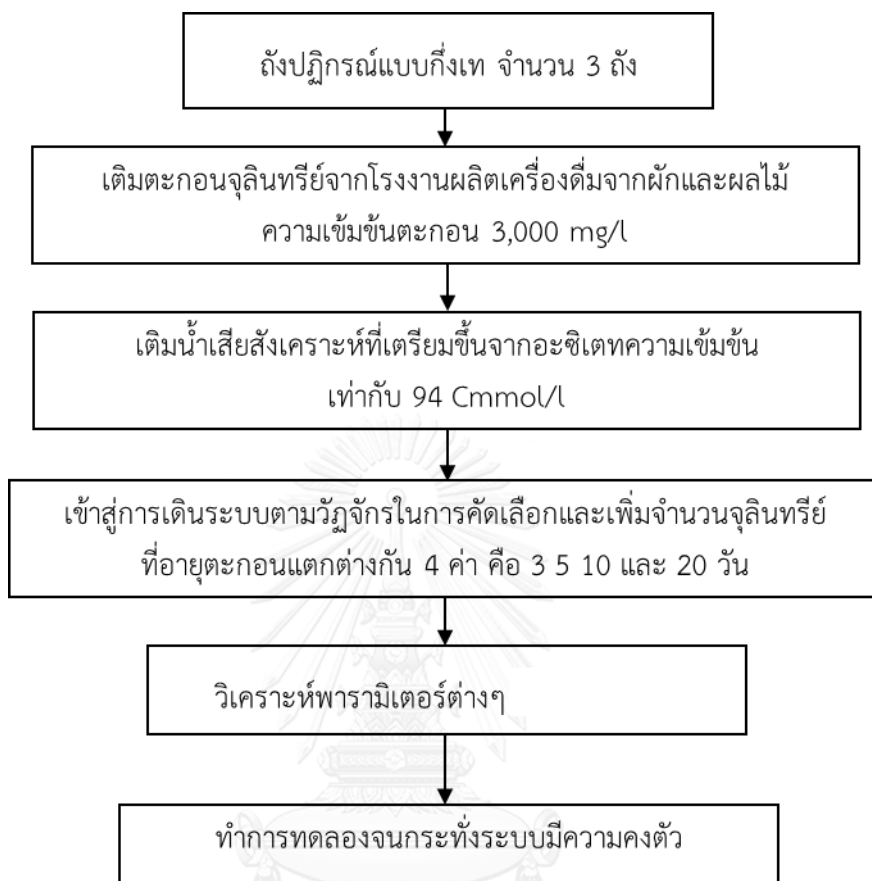
2.81 กรัม อะซิติก มีจำนวนคาร์บอนเท่ากับ 0.0936 Cmol \approx 94Cmmol

ดังนั้น ความเข้มข้นอะซิเตท 3,000 mgCOD/l เทียบเท่ากับ 94 Cmmol/l

4. เติรระบบถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเทเพื่อคัดเลือกและเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมที่อายุ ตะกอนแตกต่างกัน 4 ค่า คือ 3 5 10 และ 20 วัน

5. ทำการวิเคราะห์พารามิเตอร์ตามเวลาที่กำหนด ได้แก่ COD MLSS ปริมาณพีเอชเอ และกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ ตั้งแผนการทดลองในภาพที่ 3.4

พารามิเตอร์ที่ทำการวิเคราะห์แบ่งออกเป็น 3 ส่วน ตามความถี่ของการเก็บตัวอย่างแสดงดังตารางที่ 3.3



ภาพที่ 3.4 แผนการดำเนินการทดลองช่วงที่ 1

ตารางที่ 3.3 พารามิเตอร์ที่ทำการตรวจวัดในช่วงการทดลองที่ 1

ความถี่ในการเก็บตัวอย่าง	พารามิเตอร์	วิธีการวิเคราะห์
เริ่มต้นระบบ	MLSS	Gravimetric method
	กลุ่มประชากรจุลินทรีย์	16S Metagenomics
เริ่มต้นและท้ายรอบวัฏจักร	MLSS	Gravimetric method
ทุกๆ 3 - 6 ชั่วโมงเมื่อครบ ทุก 7 รอบวัฏจักร	COD	รีฟลักซ์แบบปิด (close reflux) Standard method 5220C
	MLSS	Gravimetric method
	พีเอชเอ	Gas Chromatography

ในขั้นตอนของวัฏจักรในการคัดเลือกจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมให้มีอายุตะกอนแตกต่างกัน จะทำการทดลองที่ค่าอายุตะกอน 4 ค่า คือ 3 5 10 และ 20 วัน และมีระยะเวลา 1 รอบวัฏจักร (cycle) เท่ากับ 1 วัน โดยแต่ละวัฏจักรประกอบด้วยกระบวนการ ดังนี้

1. การเติมอาหาร (filling phase) คือ การเติมน้ำเสียสังเคราะห์เข้าสู่ระบบ เป็นการให้สารอาหารแก่จุลินทรีย์ โดยมีการเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต (NaHCO_3) เพื่อเป็นบัฟเฟอร์ให้แก่ระบบ ซึ่งในกระบวนการนี้จะใช้เวลาประมาณ 1 นาที

2. การเกิดปฏิกิริยา (reaction phase) ใช้เวลาประมาณ 22 ชั่วโมง

3. การนำตะกอนออกจากระบบ (sludge withdrawal phase) ทำโดยกวนผสมตะกอนจุลินทรีย์ให้ทั่วถึงปฏิกิริยาแล้วจึงตักตะกอนจุลินทรีย์และน้ำที่กวนผสมกันแล้วออก ทั้งนี้ปริมาณตะกอนที่นำออกจากระบบขึ้นอยู่กับค่าอายุตะกอน (SRT) แสดงดังตารางที่ 3.4

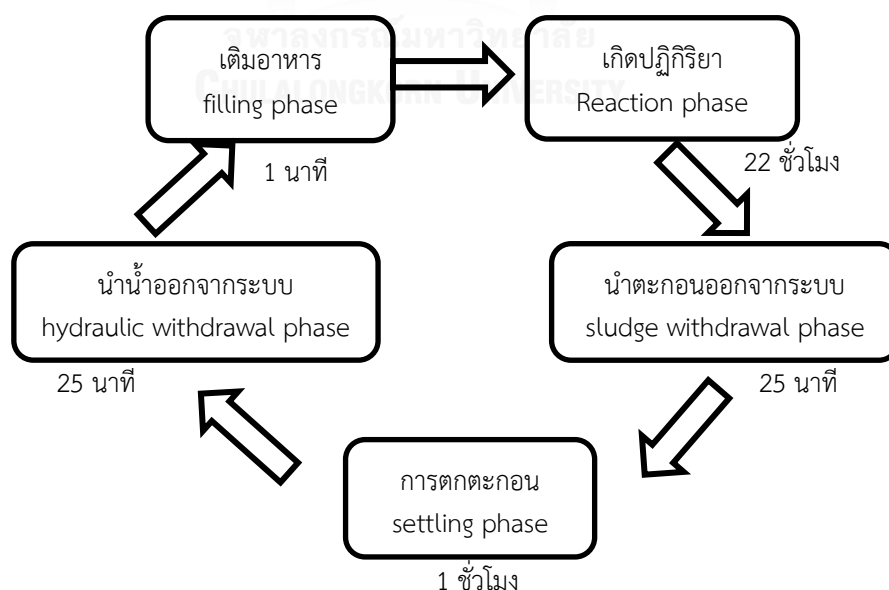
ตารางที่ 3.4 แสดงปริมาณตะกอนที่นำออกจากระบบใน 1 วัฏจักร

อายุตะกอน (วัน)	ตะกอนที่นำออกจากระบบ ต่อวัน	ปริมาณตะกอนที่นำออกจากระบบ (ลิตร/วัน)
3	1 ใน 3 ของปริมาตรถัง	6
5	1 ใน 5 ของปริมาตรถัง	3.6
10	1 ใน 10 ของปริมาตรถัง	1.8
20	1 ใน 20 ของปริมาตรถัง	0.9

4. การตกตะกอน (settling phase) เป็นการพักระบบให้เกิดการตกตะกอนของจุลินทรีย์ เพื่อเตรียมสำหรับการถ่ายน้ำใสออกในขั้นตอนต่อไป

5. การนำน้ำออกจากระบบ (hydraulic withdrawal phase)

หลังจากการนำน้ำออกจากระบบแล้ว ระบบจะเข้าสู่ขั้นตอนที่ 1. อีกครั้ง คือการเติมสารอาหารเข้าสู่ระบบ วัฏจักรในการคัดเลือกจุลินทรีย์ดังภาพที่ 3.5



ภาพที่ 3.5 วัฏจักรการคัดเลือกจุลินทรีย์ภายใต้การให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน

ตัวแปรที่ใช้ในการทดลองในช่วงการทดลองที่ 1 แสดงดังตารางที่ 3.5

ตารางที่ 3.5 ตัวแปรที่ใช้ในการทดลองของช่วงการทดลองที่ 1

ตัวแปรที่ใช้ในการทดลอง	ค่าที่ใช้ในการทดลอง
ตัวแปรอิสระ	
ค่าอายุตะกอน	3 5 10 และ 20 วัน
ตัวแปรควบคุม	
1) ความเข้มข้นน้ำเสียสังเคราะห์	94 Cmmol/l
2) เวลาหนึ่งรอบวัฏจักร (cycle time)	1 วัน
3) ค่า pH	7.0 – 7.4
4) ค่าออกซิเจนละลาย	ไม่ต่ำกว่า 4 mg/l
ตัวแปรที่ไม่ได้ควบคุม	
อุณหภูมิ	อุณหภูมิห้อง
ตัวแปรตาม	วิธีวิเคราะห์
1) COD	รีฟลักซ์แบบปิด (close reflux) Standard method 5220C
2) ปริมาณพีเอชเอ	Gas Chromatography
3) MLSS	Gravimetric method
4) กลุ่มประชากรจุลินทรีย์	16S Metagenomics

การทดลองช่วงที่ 2 การเดินระบบให้เกิดสภาวะมีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลนตามค่าอายุตะกอนที่กำหนด

การทดลองในช่วงนี้เป็นการศึกษาปริมาณพีเอชเอที่จุลินทรีย์สามารถสะสมได้เมื่อมีภาวะอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน โดยการทดลองในช่วงที่ 2 จะดำเนินการทดลองต่อเนื่องจากช่วงการทดลองที่ 1 แต่ทำการปรับลดปริมาตรรวมของระบบและลดความเข้มข้น COD ของสารอาหารที่เติมเข้าสู่ระบบลง สำหรับวิธีการดำเนินการทดลองมีขั้นตอนดังนี้

1. ใช้ตะกอนจุลินทรีย์เดิมที่ผ่านการทดลองช่วงที่ 1 แล้ว ในถังปฏิกรณ์ขนาดเดิม มีการเติมอากาศตลอดเวลา

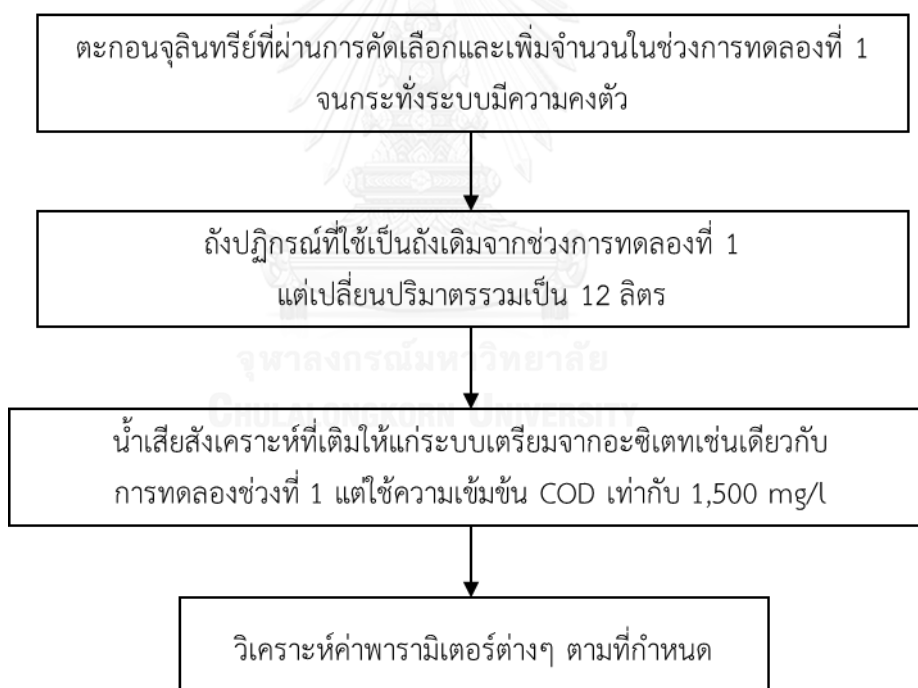
2. เติมน้ำเสียสังเคราะห์ที่เตรียมขึ้นจากอะซิเตทเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 แต่กำหนดให้ความเข้มข้น COD เริ่มต้นเท่ากับ 1,500 mg/l และปริมาตรรวมของระบบเท่ากับ 12 ลิตร

3. วิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ตามช่วงเวลาที่กำหนด ได้แก่ COD MLSS ปริมาณพีเอชเอ และ กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ โดยความถี่ในการเก็บตัวอย่างแสดงดังตารางที่ 3.6

ในช่วงการทดลองนี้มีแผนการดำเนินการทดลองแสดงดังภาพที่ 3.6

ตารางที่ 3.6 พารามิเตอร์ที่วิเคราะห์ในช่วงการทดลองที่ 2

ความถี่ในการเก็บตัวอย่าง	พารามิเตอร์	วิธีการวิเคราะห์
เริ่มต้นและท้ายรอบวัฏจักร	COD	รีฟลักซ์แบบปิด (close reflux) Standard method 5220C
	MLSS	Gravimetric method
ทุกๆ 3 - 6 ชั่วโมงเมื่อครบ ทุก 7 รอบวัฏจักร	COD	รีฟลักซ์แบบปิด (close reflux) Standard method 5220C
	MLSS	Gravimetric method
	พีเอชเอ	Gas Chromatography
ตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้น ท้ายการทดลองช่วงที่ 1 ท้ายการทดลองช่วงที่ 2	กลุ่มประชากรจุลินทรีย์	16S Metagenomics



ภาพที่ 3.6 แผนการดำเนินการทดลองในช่วงที่ 2

การทดลองช่วงที่ 3 การตรวจสอบกลุ่มประชากรจุลินทรีย์

เป็นการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในช่วงการทดลองที่ 1 และ 2 ด้วยเทคนิค 16S Metagenomics ตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ที่นำมาวิเคราะห์คือ เริ่มต้นระบบ ต้นการทดลองที่ 2 และรอบที่จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้สูงที่สุดของแต่ละถึงปฏิกรณ์ เพื่อสกัดดีเอ็นเอ และเข้าสู่กระบวนการวิเคราะห์ โดยขั้นตอนการวิเคราะห์ในช่วงการทดลองที่ 3 มีดังนี้

1. นำตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ที่ได้จากการเก็บตัวอย่างตามระยะเวลาที่กำหนดไว้มาสกัดดีเอ็นเอ
2. เพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR
3. เตรียมตัวอย่างเพื่อเข้าสู่กระบวนการ 16S Metagenomics
4. อ่านค่าและวิเคราะห์ผลการทดลอง

การสกัดดีเอ็นเอ มีหลักการดังนี้

เก็บตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ตามช่วงเวลาที่กำหนด ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่น และนำตะกอนจุลินทรีย์แยกน้ำออกจากตะกอนด้วยเครื่อง centrifuge แบ่งตะกอนที่ได้ประมาณ 0.2 มิลลิกรัม เพื่อสกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสำหรับสกัดดีเอ็นเอ (Fast[®] Fast Spin Kit For Soil) ยี่ห้อ MP Biomedicals โดยทำตามขั้นตอนที่ระบุไว้ในคู่มือ

การเพิ่มจำนวน DNA ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (PCR)

หลังจากเตรียมตัวอย่างและสารเคมีที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา PCR ดังตารางที่ 3.7 แล้วนำตัวอย่างเข้าเครื่อง PCR ซึ่งมีหลักการทำงาน ดังนี้

1) การแยกดีเอ็นเอสายคู่ออกจากกัน (denaturing) ด้วยอุณหภูมิประมาณ 90 – 95 องศาเซลเซียส เพื่อทำลายพันธะไฮโดรเจนระหว่างคู่เบสของ DNA ทำให้สาย DNA สามารถแยกออกจากกันได้

2) การจับกันของไพรเมอร์และดีเอ็นเอต้นแบบ (annealing) เป็นขั้นตอนที่ไพรเมอร์เข้าจับ DNA ต้นแบบที่บริเวณลำดับคู่เบสพอดีกัน ซึ่งขั้นตอนนี้ใช้อุณหภูมิประมาณ 50 – 55 องศาเซลเซียส

3) การสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ (extension) โดยใช้เอนไซม์ DNA polymerase เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการสังเคราะห์ DNA สายใหม่ ซึ่งมีไพรเมอร์เป็นส่วนประกอบ

ไพรเมอร์ที่เลือกใช้คือ Forward primer 5' GTGCCAGCMGCCGCGGTAA และ Reverse primer 5' GGACTACHVGGGTWTCTAAT (Caporaso และคณะ, 2011)

ตารางที่ 3.7 สารเคมีที่ใช้ในการทำ PCR

สารเคมี	ปริมาตร (ไมโครลิตร)
1. 10X Taq Buffer	4
2. Forward Primer 1 μ M	0.8
3. Reverse Primer 1 μ M	0.8
4. dNTP Mix	0.8
5. 25 mM MgCl ₂	4
6. Template DNA	1.6
7. Taq DNA Polymerase	0.2
8. Water (nuclease-free)	27.8
รวมปริมาตร	40

สภาวะที่ใช้ในการทำ PCR (ตามคู่มือของการเตรียมตัวอย่างสำหรับเครื่อง Illumina) มีดังนี้

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

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

การเตรียมตัวอย่างเพื่อเข้าสู่การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Illumina

หลังจากการเพิ่มจำนวน DNA ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (PCR) แล้วมีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างตามคู่มือของเครื่อง Illuminar ดังนี้

1) วิเคราะห์ดีเอ็นเอด้วยเครื่อง Bioanalyzer เพื่อตรวจสอบความยาวลำดับเบส (base pairs) ของตัวอย่าง

2) PCR clean up เพื่อกำจัดสารเคมีต่างๆ ที่นอกเหนือจากตัวอย่าง โดยอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในขั้นตอนนี้แสดงดังตารางที่ 3.8

ตารางที่ 3.8 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทำ PCR clean up

อุปกรณ์และสารเคมี	ปริมาตร (ไมโครลิตร)
1) 10mM Tris pH 8.5	52.5
2) AMPure XP beads	20
3) Freshly Prepared 80% Ethanol	400
4) 96-well 0.2 ml PCR plate	

3) ติด index เข้ากับตัวอย่างเพื่อแสดงความจำเพาะของแต่ละตัวอย่างโดยใช้ชุด Nextera XT Index Kit ซึ่งมีอุปกรณ์และสารเคมีแสดงดังตารางที่ 3.9

ตารางที่ 3.9 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้สำหรับการติด Index PCR

อุปกรณ์และสารเคมี	ปริมาตร (ไมโครลิตร)
1) 2x KAPA HotStart ReadyMix	25
2) Nextera XT Index 1 Primers (N7XX) from the Nextera XT Index Kit (FC-131-1001 or FC-131-1002)	5
3) Nextera XT Index 2 Primers (S5XX) from the Nextera XT Index Kit (FC-131-1001 or FC-131-1002)	5
4) PCR Grade Water	10
5) TruSeq Index Plate Fixture (FC-130-1005)	
6) 96-well 0.2 ml PCR plate	
7) Microseal 'A' film	

- 4) PCR clean up เพื่อกำจัดสารเคมีต่างๆ ที่นอกเหนือจากตัวอย่างอีกครั้ง
- 5) วิเคราะห์ดีเอ็นเอด้วยเครื่อง Bioanalyzer เพื่อตรวจสอบความยาวลำดับเบส (base pairs) ของตัวอย่างว่าการติด Index PCR ทำได้ครบทุกตัวอย่าง
- 6) เจือจางความเข้มข้นของ DNA ให้ได้ 4 ng/μl สำหรับทุกตัวอย่าง และรวมตัวอย่างเพื่อส่งวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Illumina
- 7) นำลำดับเบสที่ได้จากเครื่อง Illumina เก็บไว้ในพื้นที่รวบรวมข้อมูล BaseSpace และนำไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล Greengenes database ([greengenes.secondgenome.com / downloads/database/13_5](http://greengenes.secondgenome.com/downloads/database/13_5)) โดยใช้ Miseq Reporter Metagenomics Workflow หลังจากนั้นนำผลที่ได้ไปวิเคราะห์และสรุปผล

3.4 วิธีการสกัดและตรวจวัดพีเอชเอ

การสกัดพีเอชเอออกจากเซลล์ตะกอนจุลินทรีย์สามารถทำได้โดยวิธีการใช้คลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลาย ซึ่งมีวิธีการดังนี้

1. หมุนเหวี่ยงตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ด้วยความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที เพื่อให้เซลล์ของจุลินทรีย์แยกตัวออกจากน้ำ หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง แล้วจึงนำไปอบด้วยอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง
2. แบ่งเซลล์ที่ผ่านการอบแล้วมา 20 มิลลิกรัม ใส่ลงในหลอดแก้วแบบฝาเกลียว เติมคลอโรฟอร์ม 2 มิลลิลิตร และ Internal standard (สารละลาย 3% กรดซัลฟูริกในเมทานอล 2 มิลลิลิตร และกรดเบนโซอิก 2 กรัมต่อลิตร) 2 มิลลิลิตร ปิดฝาให้แน่นนำไปใส่ใน water bath อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 3 ชั่วโมง โดยนำออกมาเขย่าทุกๆ 30 นาที แล้วตั้งพักให้เย็น
3. เติมน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร นำไปเขย่าเป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้สารละลายคลอโรฟอร์มแยกชั้นออกจากสารละลายเมทานอลและกรด ซึ่งคลอโรฟอร์มจะอยู่ด้านล่างของหลอดทดลอง ทำการแยกคลอโรฟอร์มใส่ขวดเก็บตัวอย่างปิดฝาให้แน่น นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC
4. ดูดสารละลายคลอโรฟอร์มที่ได้ในข้อที่ 3 มา 1 ไมโครลิตร เพื่อฉีดเข้าเครื่อง GC โดยใช้ Flame Ionization Detector (FID) ที่สภาวะการวิเคราะห์ดังตารางที่ 3.10 (อัมทิกา เมืองวงษ์, 2553)

ตารางที่ 3.10 สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์พีเอชเอด้วยเครื่อง GC

ชนิดคอลัมน์	แคปพิลารีคอลัมน์ชนิด cabowax-PEG ขนาด 60 m × 0.25 mm ID × 25 μm Df
อุณหภูมิ injector	250 องศาเซลเซียส (isothermal)
อุณหภูมิ column	130 องศาเซลเซียส 6 นาที และเพิ่มอุณหภูมิเป็น 180 องศาเซลเซียส ด้วยอัตรา 5 องศาเซลเซียสต่อนาที แล้วรักษาอุณหภูมิไว้ที่ 180 องศาเซลเซียส
อุณหภูมิ detector (FID)	250 องศาเซลเซียส (isothermal)
split ratio	50 : 1
ก๊าซตัวพา (carrier gas)	ก๊าซฮีเลียม อัตราการไหล 2 มิลลิลิตรต่อนาที
ปริมาตรฉีด	1 ไมโครลิตร

5. นำผลที่ได้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

สามารถนำสารละลายคลอโรฟอร์มเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้เป็นเวลา 3 สัปดาห์ หากไม่สามารถทำการวิเคราะห์ในทันที และเมื่อต้องการนำมาวิเคราะห์ให้ตั้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของสารละลายใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้อง

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการทดลองและวิจารณ์ของงานวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 3 ช่วง ได้แก่

ช่วงที่ 1 การเดินระบบเพื่อคัดเลือกตะกอนจุลินทรีย์ให้มีอายุตะกอนแตกต่างกัน คือ 3 (Reactor-3d), 5 (Reactor-5d), 10 (Reactor-10d) และ 20 วัน (Reactor-20d) โดยในช่วงการทดลองนี้ทำการศึกษาพารามิเตอร์ต่างๆ ได้แก่ ค่าความเข้มข้น COD และ MLSS

ช่วงที่ 2 การเดินระบบให้เกิดสภาวะมีอาหารเกินพอสลั้กับขาดแคลนตามค่าอายุตะกอนที่กำหนด โดยในช่วงการทดลองนี้ทำการศึกษาพารามิเตอร์ต่างๆ ได้แก่ ความเข้มข้น COD MLSS และ ปริมาณพีเอชเอ

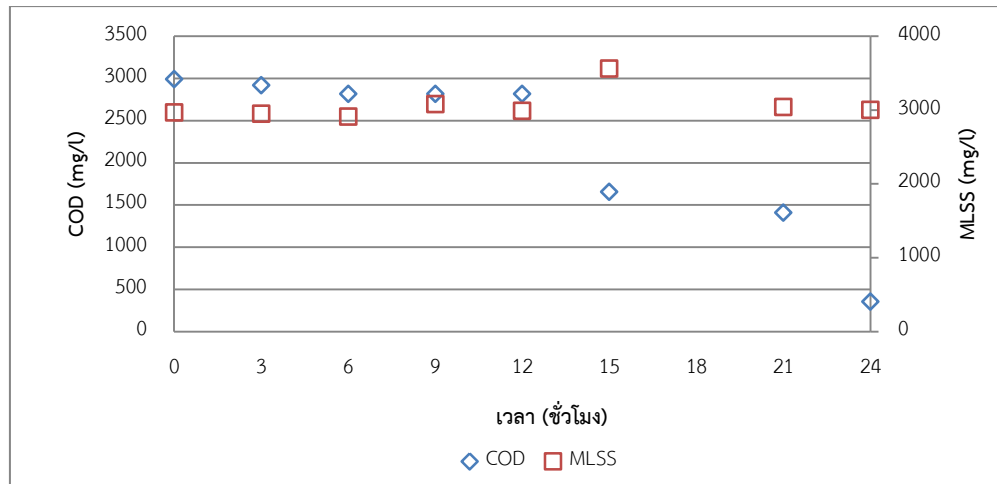
ช่วงที่ 3 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในช่วงการทดลองที่ 1 และ 2 ด้วยเทคนิค 16S Metagenomics

4.1 การเดินระบบเพื่อคัดเลือกตะกอนจุลินทรีย์ให้มีอายุตะกอนแตกต่างกัน

เริ่มต้นการทดลองในถังปฏิกรณ์ Reactor-3d, Reactor-5d, Reactor-10d และ Reactor-20d โดยมีปริมาตรรวมในการทดลองแต่ละถังเท่ากับ 18 ลิตร ความเข้มข้นตะกอน (MLSS) 3,000 mg/l ความเข้มข้น COD ของน้ำเสียสังเคราะห์ 3,000 mg/l และระยะเวลารอบการเดินระบบ (cycle time) เท่ากับ 1 วัน โดยทำการเติมอากาศอย่างเพียงพอตลอดเวลาและควบคุม pH ด้วยเครื่อง pH controller เพื่อให้มี pH อยู่ในช่วง 7.0 - 7.4

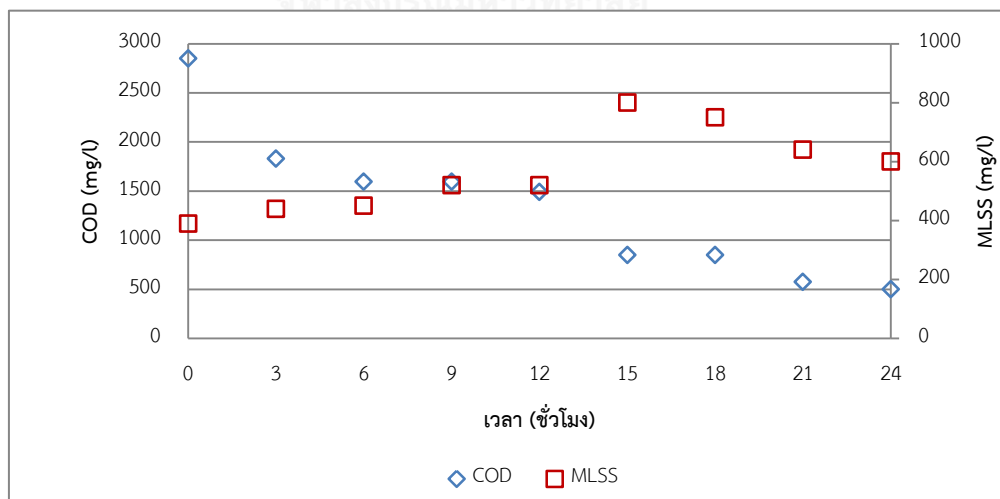
4.1.1 ถังปฏิกรณ์ที่เดินระบบที่ค่าอายุตะกอน 3 วัน (Reactor-3d)

ในวันแรกของรอบวัฏจักร (cycle) ที่ 1 จุลินทรีย์มีการใช้สารอาหารจนลดลงเหลือความเข้มข้น COD ในระบบเท่ากับ 352 mg/l ในชั่วโมงที่ 24 ของรอบวัฏจักร (ภาพที่ 4.1)

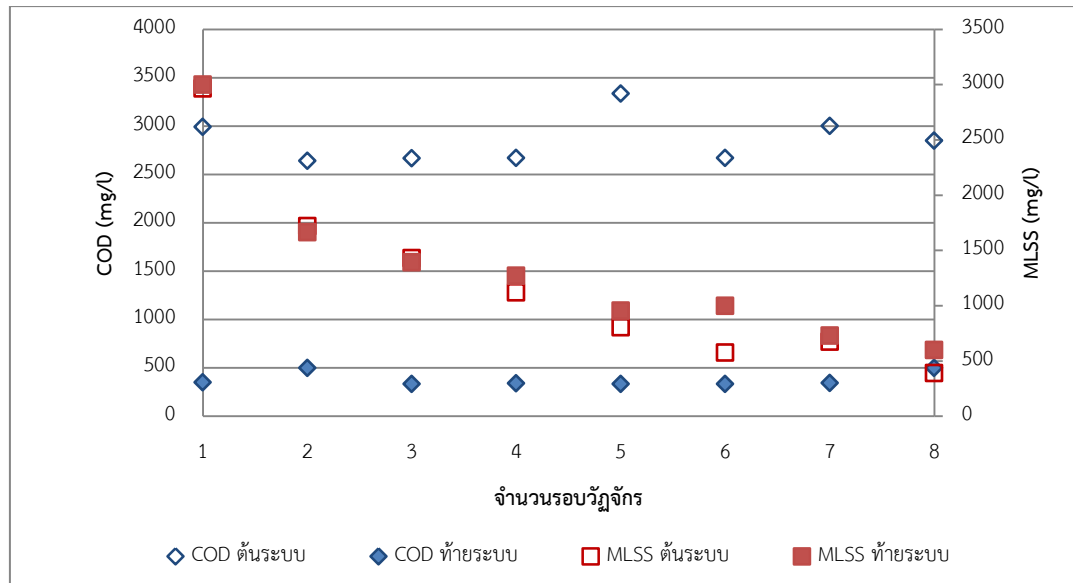


ภาพที่ 4.1 ความเข้มข้น COD และ MLSS ของรอบวัฏจักรที่ 1 ที่ค่าอายุตะกอน 3 วัน

หลังจากเดินระบบจนถึงรอบวัฏจักรที่ 8 พบว่า ปริมาณความเข้มข้นตะกอนมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง (ภาพที่ 4.2) โดยในรอบวัฏจักรที่ 8 มีความเข้มข้น MLSS เท่ากับ 600 mg/L เมื่อคำนวณเป็นสัดส่วนระหว่างปริมาณความเข้มข้น COD ที่เติมเข้าสู่ระบบและความเข้มข้น MLSS (F/M ratio) พบว่ามีค่าสูงถึง 6 ทั้งนี้ปริมาณความเข้มข้นของตะกอนจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์ถือได้ว่ามีปริมาณน้อยมาก ทำให้การเก็บตัวอย่างตะกอนเพื่อตรวจวัดปริมาณฟิโอสเป็นไปได้อย่างยาก และการที่ปริมาณจุลินทรีย์มีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง แสดงให้เห็นถึงความไม่เหมาะสมสำหรับการเดินระบบที่ค่าอายุตะกอน 3 วัน สำหรับผลิตฟิโอส (ภาพที่ 4.3) ทั้งนี้จากการคำนวณค่า MLSS สำหรับค่าอายุตะกอน 3 วัน จะมีความเข้มข้นอยู่ที่ประมาณ 1,842 mg/L จากเหตุผลดังกล่าวจึงหยุดการเดินระบบของ Reactor-3d ในวันที่ 9 ของการเดินระบบ (วัฏจักรที่ 9)



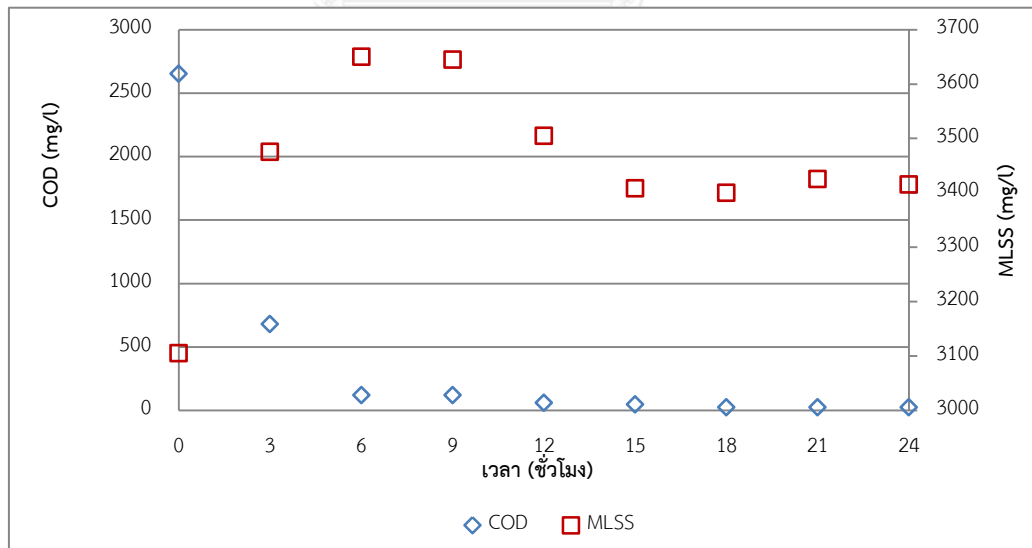
ภาพที่ 4.2 ความเข้มข้น COD และ MLSS ของรอบวัฏจักรที่ 8 ที่ค่าอายุตะกอน 3 วัน



ภาพที่ 4.3 ความเข้มข้น COD และ MLSS ต้นและท้ายรอบวัฏจักรที่ 1 – 8 ที่ค่าอายุตะกอน 3 วัน

4.1.2 ถึงปฏิกิริยาที่เดินระบบที่อายุตะกอน 5 วัน (Reactor-5d)

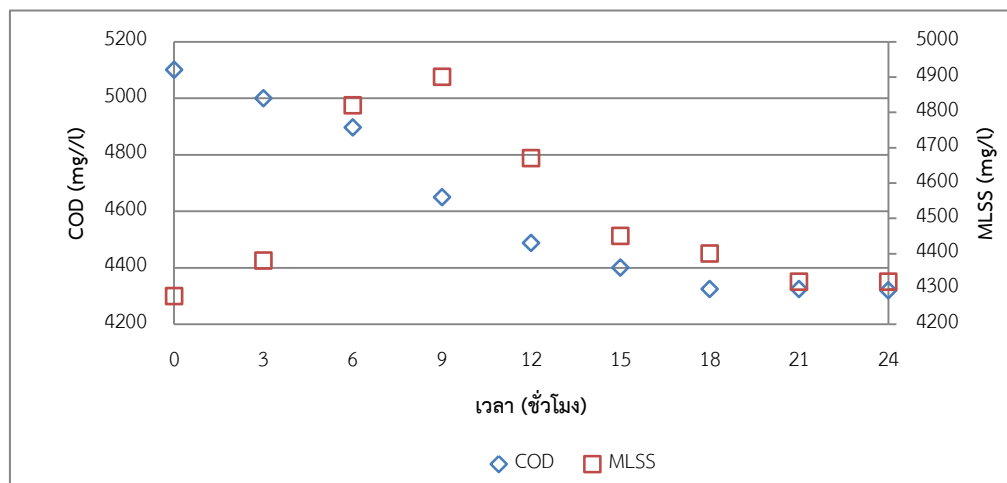
ในรอบวัฏจักรที่ 1 ค่าความเข้มข้น COD ในถังปฏิกิริยา Reactor-5d ลดลงเหลือ 24 mg/L ในช่วงเวลาที่ 18 (ภาพที่ 4.4)



ภาพที่ 4.4 ความเข้มข้น COD และ MLSS ในรอบวัฏจักรที่ 1 ที่ค่าอายุตะกอน 5 วัน

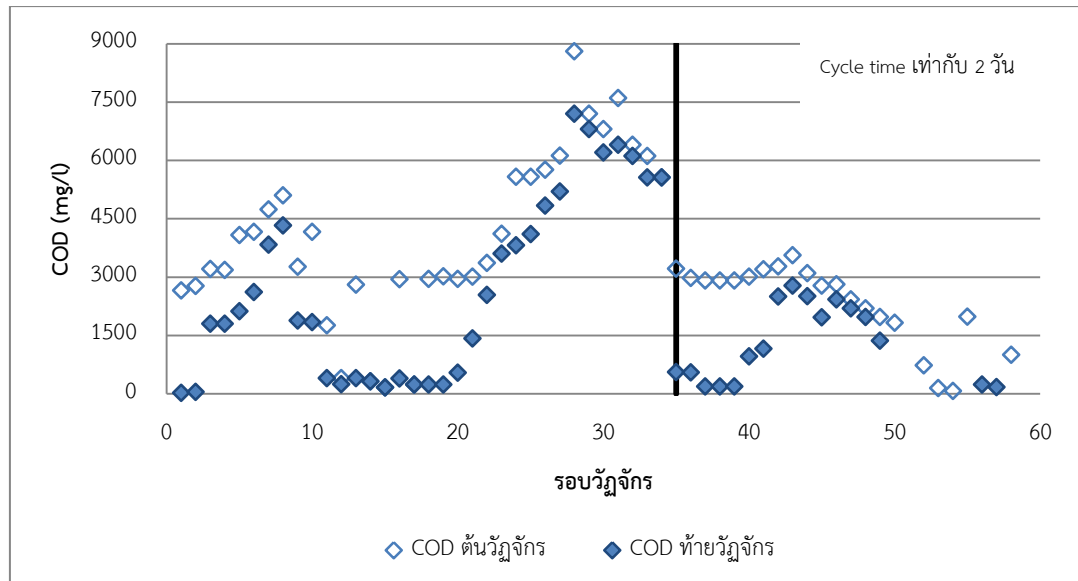
เมื่อเดินระบบถึงรอบวัฏจักรที่ 8 พบว่าตะกอนจุลินทรีย์ไม่สามารถใช้สารอาหารได้หมดภายในรอบวัฏจักรเดียว (ระยะเวลาวัฏจักร 1 วัน) และการเติมน้ำเสียสังเคราะห์ในปริมาณความเข้มข้นเท่าเดิม ทำให้ค่าซีโอดีมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นในรอบวัฏจักรที่ 3 อีกทั้งการตรวจวิเคราะห์ค่าซี

โอดีค่อนข้างเว้นระยะห่าง จึงทำให้ไม่สามารถตรวจสอบปัญหาที่เกิดขึ้นและแก้ไขได้อย่างทันท่วงที ส่งผลให้ค่าความเข้มข้นซีโอดีสูงขึ้นถึง 5,100 mg/l ในรอบวัฏจักรที่ 8 (ภาพที่ 4.5) เมื่อตรวจพบปัญหาดังกล่าวจึงทำการหยุดเติมน้ำเสียสังเคราะห์ให้แกระบบ เพื่อให้ค่าความเข้มข้น COD ลดลง ทั้งนี้ไม่สามารถแก้ไขปัญหาด้วยการถ่ายน้ำใสออกได้ เนื่องจากเกิดปัญหาการไม่จมตัวของตะกอนจุลินทรีย์ (sludge bulking) อย่างไรก็ตามยังคงมีการถ่ายตะกอนจุลินทรีย์ออกตามค่าอายุตะกอนที่กำหนดไว้



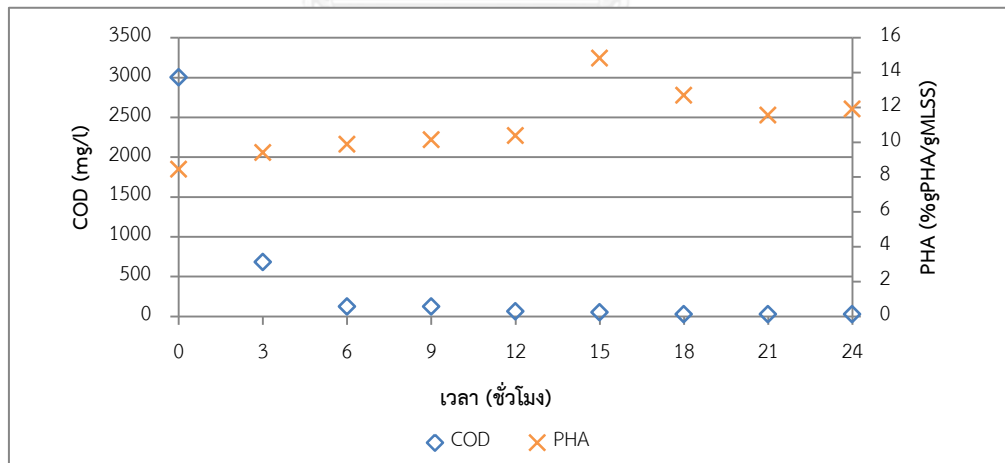
ภาพที่ 4.5 ความเข้มข้น COD และ MLSS ในรอบวัฏจักรที่ 8 ที่ค่าอายุตะกอน 5 วัน

จนกระทั่งเดินระบบถึงรอบวัฏจักรที่ 17 ตะกอนจุลินทรีย์สามารถตกตะกอนได้ จึงทำการตกตะกอนและถ่ายน้ำใสที่มีความเข้มข้น COD สูงออกจากระบบและเริ่มเติมน้ำเสียสังเคราะห์เข้าสู่ระบบเช่นเดิมในรอบวัฏจักรที่ 18 ภาพที่ 4.6 แสดงความเข้มข้นของ COD ขณะเริ่มต้นและท้ายรอบวัฏจักรใน Reactor-5d ตามลำดับ จนกระทั่งถึงรอบวัฏจักรที่ 29 - 34 ค่าความเข้มข้นซีโอดีแนวโน้มจะสะสมสูงขึ้นเรื่อย ๆ อีกครั้ง จึงทำการปรับเพิ่มระยะเวลาต่อรอบวัฏจักรจาก 1 วัน เป็น 2 วัน โดยเริ่มปรับในรอบวัฏจักรที่ 35 เพื่อให้ตะกอนจุลินทรีย์มีระยะเวลาในการใช้สารอาหารมากขึ้น หลังจากการปรับระยะเวลาต่อรอบวัฏจักรเป็น 2 วัน พบว่าตะกอนจุลินทรีย์สามารถใช้สารอาหารได้ภายในรอบวัฏจักร แต่จะสังเกตเห็นว่าที่รอบวัฏจักร 35 จนถึง 58 ที่ทำการปรับเพิ่มระยะเวลาวัฏจักรเป็น 2 วันนั้น ไม่มีช่วงของการขาดแคลนอาหารเกิดขึ้นอย่างชัดเจน เนื่องจากค่าความเข้มข้นซีโอดีท้ายรอบวัฏจักรยังคงมีแนวโน้มอยู่ที่ประมาณ 100 – 200 mg/l จึงควรที่จะมีการปรับระบบเพิ่มเติมให้มีช่วงของการขาดแคลนอาหารที่ชัดเจนยิ่งขึ้น เพื่อสนับสนุนการสะสมฟิเอชเอของจุลินทรีย์ในระยะยาว



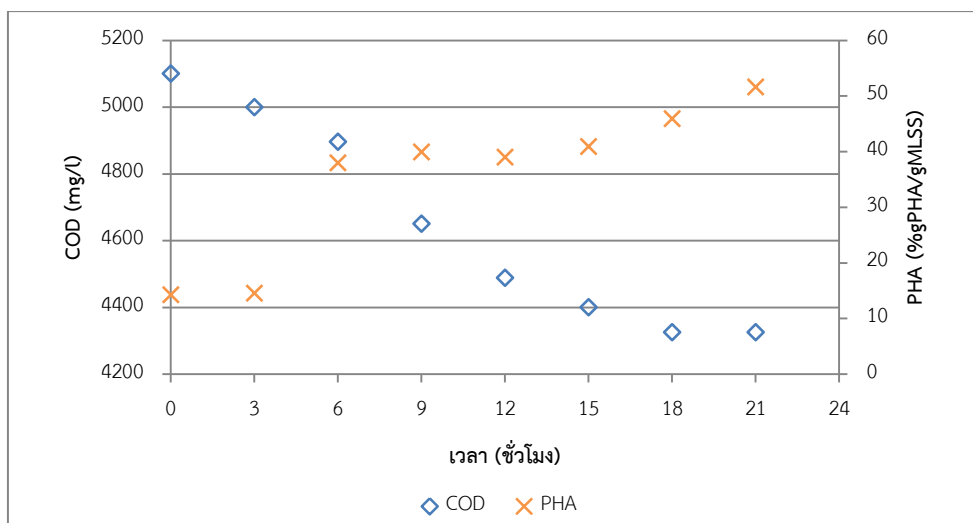
ภาพที่ 4.6 ความเข้มข้น COD ต้นและท้ายรอบวัฏจักรที่ 1-58 ที่ค่าอายุตะกอน 5 วัน

สำหรับปริมาณฟิเอชเอที่จุลินทรีย์สามารถสะสมได้ในขณะทำการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่อายุตะกอน 5 วัน พบว่าในช่วงเริ่มต้นตะกอนจุลินทรีย์จากบริษัท ทิปโก้ เอพแอนด์บี จำกัด มีความสามารถในการสะสมฟิเอชเออยู่ในระดับหนึ่ง เมื่อมีการให้สารอาหารในรอบวัฏจักรที่ 1 ตะกอนจุลินทรีย์สามารถสะสมฟิเอชเอได้เท่ากับ 10.13 %gPHA/gMLSS ในช่วงเวลาที่ 12 ของการเดินระบบ (ภาพที่ 4.7)



ภาพที่ 4.7 ปริมาณฟิเอชเอที่จุลินทรีย์สะสมได้ในรอบวัฏจักรที่ 1 ที่ค่าอายุตะกอน 5 วัน

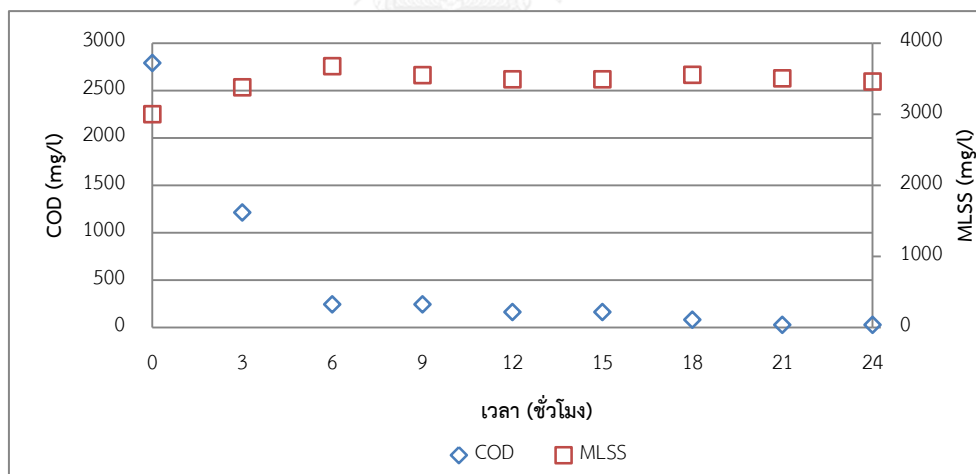
ทำการเดินระบบจนถึงรอบวัฏจักรที่ 8 พบว่าตะกอนจุลินทรีย์มีแนวโน้มในการสะสมฟิเอชเอที่มากขึ้นจากรอบวัฏจักรที่ 1 (ภาพที่ 4.8)



ภาพที่ 4.8 ปริมาณพีเอชเอที่จุลินทรีย์สะสมได้ในรอบวัฏจักรที่ 8 ที่ค่าอายุตะกอน 5 วัน

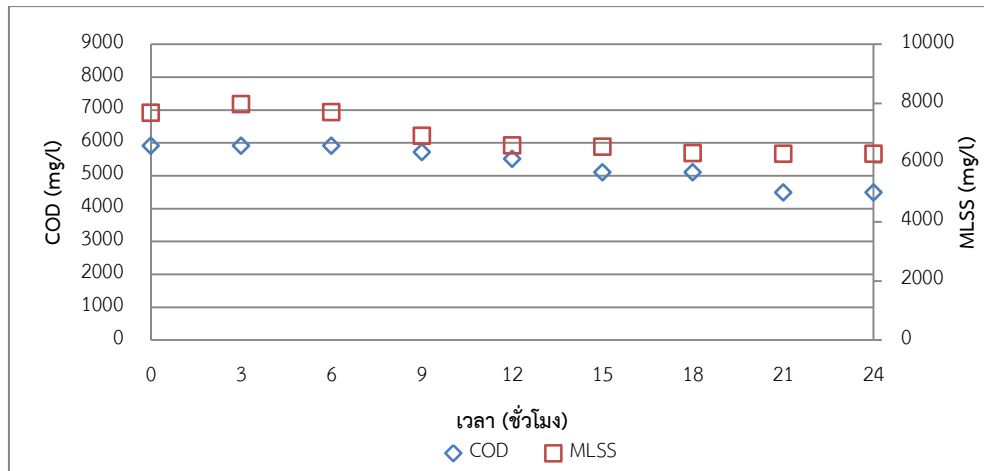
4.1.3 ถึงปฏิกรณ์ที่เดินระบบที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน (Reactor-10d)

รอบวัฏจักรที่ 1 ตะกอนจุลินทรีย์ใช้สารอาหารจนลดต่ำลงเหลือ 25 mgCOD/L ในชั่วโมงที่ 21 (ภาพที่ 4.9)



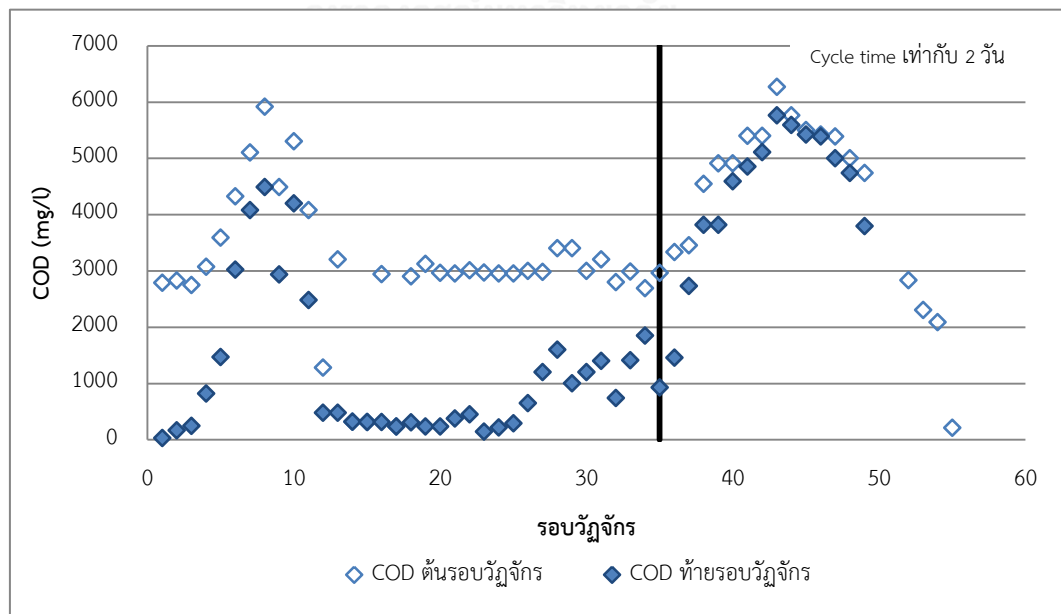
ภาพที่ 4.9 ความเข้มข้น COD และ MLSS ของวัฏจักรที่ 1 ที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน

เมื่อเดินระบบถึงรอบวัฏจักรที่ 4 พบว่ามีค่าความเข้มข้นซีโอดีทำยรอบวัฏจักรเพิ่มสูงขึ้น โดยในรอบวัฏจักรที่ 8 พบว่าค่าความเข้มข้นซีโอดีเพิ่มสูงขึ้นจนถึง 5,916 mg/L (ภาพที่ 4.10) หลังจากพบปัญหาความเข้มข้น COD มีค่าสูงจึงทำการหยุดพักการเติมสารอาหารเข้าสู่ระบบ เพื่อให้ค่าความเข้มข้น COD ลดลง ทั้งนี้ไม่สามารถทิ้งให้ระบบตกตะกอนเพื่อนำน้ำใสที่มีค่าความเข้มข้นซีโอดีสูงออกจากระบบได้ เนื่องจากตะกอนจุลินทรีย์เกิดปัญหาตะกอนไม่จมตัว (sludge bulking)



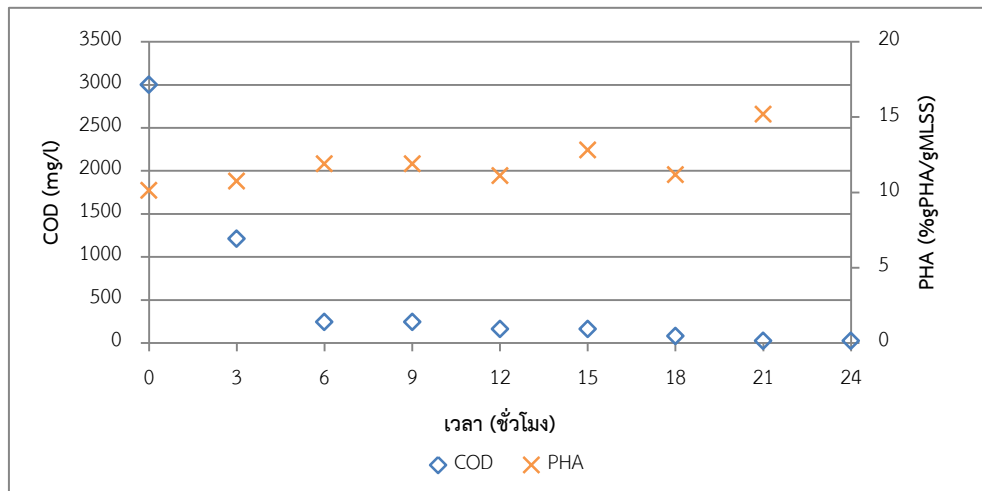
ภาพที่ 4.10 ความเข้มข้น COD และ MLSS ของวัฏจักรที่ 8 ที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน

หลังจากที่ตะกอนจุลินทรีย์สามารถตกตะกอนได้และนำน้ำใสออกจากระบบ ทำการเดินระบบเช่นเดิมต่อ โดยทำการเติมน้ำเสียสังเคราะห์เข้าสู่ระบบตามที่กำหนด ภาพที่ 4.11 แสดงความเข้มข้น COD ของแต่ละรอบวัฏจักร จะเห็นได้ว่า เมื่อเดินระบบถึงรอบวัฏจักรที่ 26 ระบบเริ่มมีแนวโน้มค่าความเข้มข้น COD ทำยรอบวัฏจักรเพิ่มสูงขึ้น แสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์ไม่สามารถใช้สารอาหารได้หมดภายในระยะเวลาวัฏจักร 1 วัน จึงทำการเพิ่มระยะเวลาวัฏจักรจาก 1 วัน เป็น 2 วัน โดยเริ่มเปลี่ยนเวลารอบวัฏจักรในรอบที่ 35 พบว่าตะกอนจุลินทรีย์สามารถใช้สารอาหารได้ภายในระยะเวลาวัฏจักร 2 วัน จนถึงรอบวัฏจักรที่ 58 สังเกตเห็นว่าไม่มีช่วงของการขาดแคลนอาหารเกิดขึ้น จึงควรที่จะทำการปรับระบบให้มีภาวะมีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน เพื่อสนับสนุนการสะสมฟิเอชเอของจุลินทรีย์ในระยะยาวต่อไป



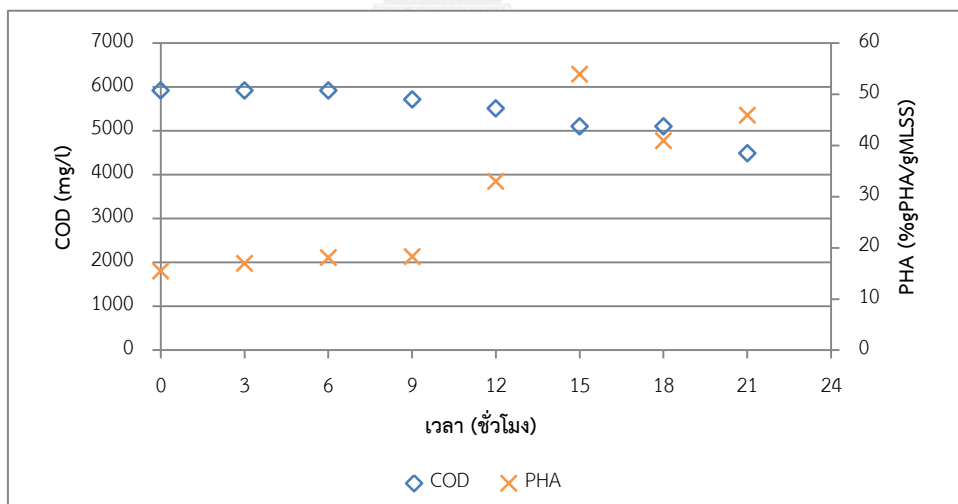
ภาพที่ 4.11 ความเข้มข้น COD ต้นและท้ายรอบวัฏจักรที่ 1 – 58 ที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน

ปริมาณพีเอชเอของจุลินทรีย์ในช่วงแรกของค่าอายุตะกอน 10 วัน พบว่าจุลินทรีย์มีการสะสมพีเอชเอสูงที่สุดถึง 15.18 %gPHA/gMLSS ในชั่วโมงที่ 21 (ภาพที่4.12) แสดงถึงความสามารถของตะกอนจุลินทรีย์ในการสะสมพีเอชเอ



ภาพที่ 4.12 ปริมาณพีเอชเอที่จุลินทรีย์สะสมได้ในรอบวัฏจักรที่ 1 ที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน

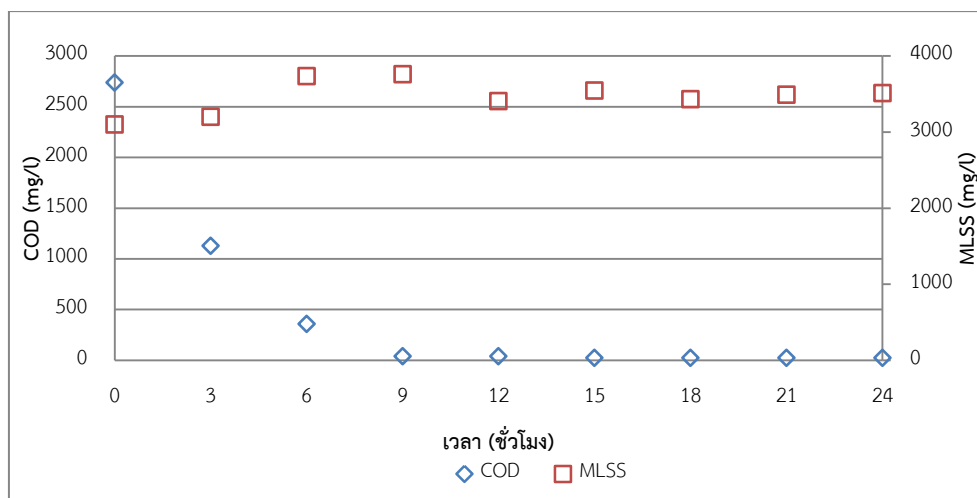
ในรอบวัฏจักรที่ 8 ที่ระบบมีค่าความเข้มข้นซีโอดีสูง ตะกอนจุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้สูงถึง 53.94 %gPHA/gMLSS (ภาพที่ 4.13)



ภาพที่ 4.13 ปริมาณพีเอชเอที่จุลินทรีย์สะสมได้ในรอบวัฏจักรที่ 8 ที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน

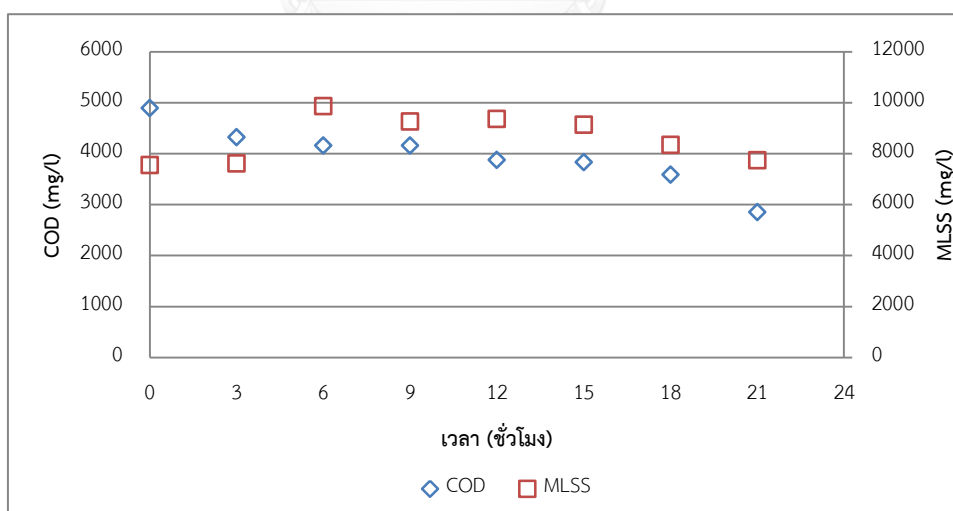
4.1.4 ถึงปฏิกรณ์ที่เดินระบบที่อายุตะกอน 20 วัน (Reactor-20d)

รอบวัฏจักรที่ 1 ตะกอนจุลินทรีย์ใช้สารอาหารจนกระทั่งความเข้มข้น COD ลดต่ำลงเท่ากับ 24 mgCOD/L ในชั่วโมงที่ 15 (ภาพที่ 4.14)



ภาพที่ 4.14 ความเข้มข้น COD และ MLSS ของวัฏจักรที่ 1 ที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน

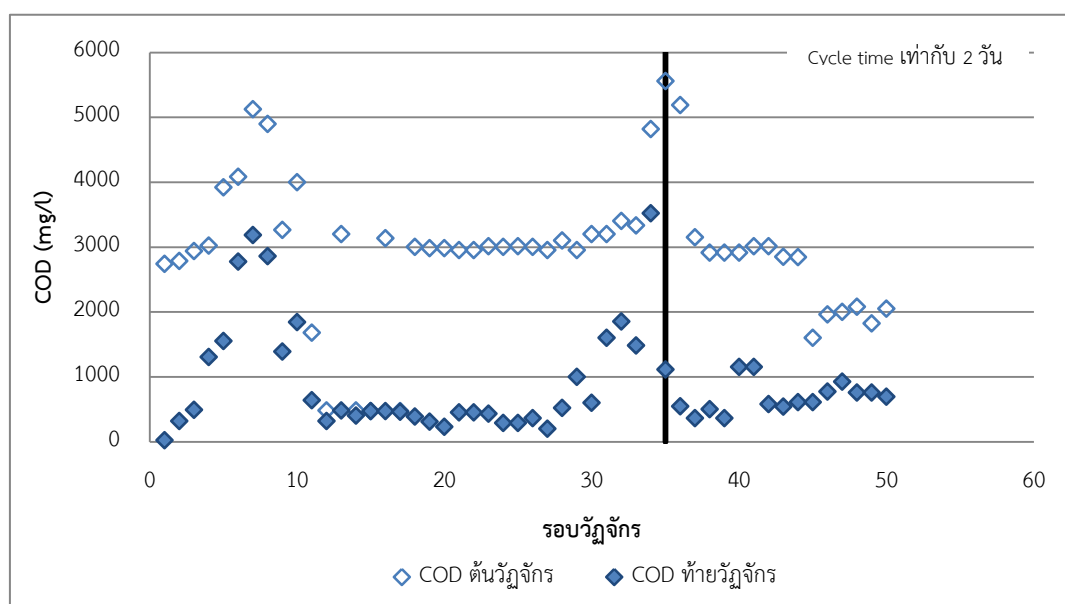
เมื่อเดินระบบถึงรอบวัฏจักรที่ 3 พบว่าค่าความเข้มข้น COD สูงขึ้น เนื่องจากตะกอนจุลินทรีย์ไม่สามารถใช้สารอาหารหมดภายในรอบวัฏจักร ส่งผลให้เมื่อเดินระบบถึงรอบวัฏจักรที่ 8 ความเข้มข้น COD มีค่าสูงเท่ากับ 4,896 mg/L (ภาพที่ 4.15) และเนื่องจากระบบมีความเข้มข้น COD สูงจึงหยุดทำการเติมสารอาหารเข้าสู่ระบบในรอบวัฏจักรถัดมา (รอบวัฏจักรที่ 9) ทำการเดินระบบจนกระทั่งค่าความเข้มข้น COD ในระบบเข้าสู่สภาวะปกติ และยังคงมีการถ่ายตะกอนออกตามอายุตะกอนที่กำหนดไว้ ทั้งนี้ไม่สามารถทิ้งให้ตะกอนจุลินทรีย์ตกตะกอนแล้วนำน้ำใสที่มีความเข้มข้น COD สูงออกได้ เนื่องจากตะกอนจุลินทรีย์เกิดปัญหาตะกอนไม่จมตัว (sludge bulking)



ภาพที่ 4.15 ความเข้มข้น COD และ MLSS ของวัฏจักรที่ 8 ที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน

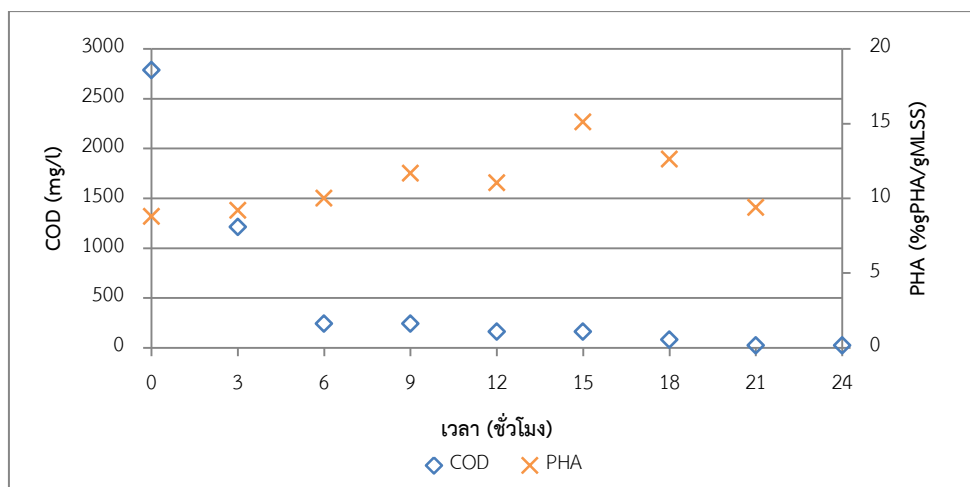
ในรอบวัฏจักรที่ 17 ตะกอนจุลินทรีย์สามารถตกตะกอนได้ จึงนำน้ำใสที่มีความเข้มข้น COD คงเหลือออกจากระบบ ส่งผลให้ค่าความเข้มข้น COD ในระบบกลับเข้าสู่สภาวะปกติ หลังจากนั้นทำการเติมอาหารเข้าสู่ระบบเช่นเดิม โดยเริ่มในรอบวัฏจักรที่ 18 ทำการเดินระบบจนกระทั่งถึง

รอบวัฏจักรที่ 29 พบค่าความเข้มข้น COD ท้ายรอบวัฏจักรเริ่มมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น แสดงถึงตะกอนจุลินทรีย์ไม่สามารถใช้สารอาหารให้หมดได้ภายในรอบวัฏจักร จึงทำการปรับเพิ่มระยะเวลาต่อรอบวัฏจักรจาก 1 วัน เป็น 2 วัน เพื่อเพิ่มระยะเวลาให้ตะกอนจุลินทรีย์สามารถใช้สารอาหารได้ดีขึ้น โดยเริ่มเดินระบบแบบวัฏจักร 2 วัน ในรอบวัฏจักร 35 ซึ่งในรอบวัฏจักรที่ 35 - 50 พบว่าตะกอนจุลินทรีย์สามารถใช้สารอาหารได้ในรอบวัฏจักร 2 วัน แต่ไม่ปรากฏระยะของการขาดแคลนอาหารในแต่ละรอบวัฏจักร (ภาพที่ 4.16) ดังนั้นจึงควรทำการปรับระบบให้มีภาวะมีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลนต่อไป เพื่อสนับสนุนการสะสมพีเอชเอของจุลินทรีย์ในระยะยาว



ภาพที่ 4.16 ความเข้มข้น COD ต้นและท้ายรอบวัฏจักรที่ 1 - 50 ที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน

ผลการสะสมพีเอชเอของตะกอนจุลินทรีย์ในรอบวัฏจักรที่ 1 ตะกอนจุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้สูงถึง 15.11 %gPHA/gMLSS ในช่วงโม่งที่ 15 (ภาพที่ 4.17) แสดงถึงตะกอนจุลินทรีย์มีความสามารถในการสะสมพีเอชเอในระดับหนึ่ง



ภาพที่ 4.17 ปริมาณพีเอชเอที่จุลินทรีย์สามารถสะสมได้ในวัฏจักรที่ 1 ที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน

จากการเดินระบบในช่วงการทดลองที่ 1 กล่าวโดยสรุปได้ว่า เป็นการเดินระบบเพื่อคัดเลือกตะกอนจุลินทรีย์ให้มีอายุตะกอนแตกต่างกัน จะเห็นได้ว่าที่อายุตะกอน 3 วัน (Reactor-3d) จุลินทรีย์ไม่สามารถอยู่รอดได้ ซึ่งสังเกตจากความเข้มข้น MLSS ที่ลดน้อยลงอย่างต่อเนื่อง ด้วยเหตุนี้ Reactor-3d จึงถูกยกเลิกไปในรอบวัฏจักรที่ 9 สำหรับ Reactor-5d, Reactor-10d และ Reactor-20d ประมาณรอบวัฏจักรที่ 8 พบปัญหาที่คล้ายกันคือระบบมีความเข้มข้น COD สูงเนื่องจากการที่จุลินทรีย์ไม่สามารถใช้สารอาหารในรอบวัฏจักรได้หมด อีกทั้งตะกอนจุลินทรีย์มีปัญหาสลัดจ์ไม่จมตัว ทำให้การนำน้ำใสที่มีความเข้มข้น COD คงเหลืออยู่อกจากระบบจึงเป็นไปได้ยาก แต่เมื่อระบบเข้าสู่ภาวะที่สามารถเติมสารอาหารได้ตามปกติแล้ว จึงเดินระบบต่อจนกระทั่งพบว่าระบบเริ่มมีความเข้มข้น COD เพิ่มสูงขึ้นอีกครั้ง จึงแก้ปัญหาคำการใช้สารอาหารไม่หมดในรอบวัฏจักรของจุลินทรีย์ด้วยการเพิ่มระยะเวลาต่อรอบวัฏจักร (cycle time) จากเดิม 1 วัน เป็น 2 วัน เดินระบบจนครบอายุตะกอนที่กำหนดไว้ แล้วเริ่มดำเนินการทดลองในช่วงที่ 2

4.2 การเดินระบบให้เกิดภาวะมีอาหารเกินพอสลัดกับขาดแคลนตามค่าอายุตะกอนที่กำหนด

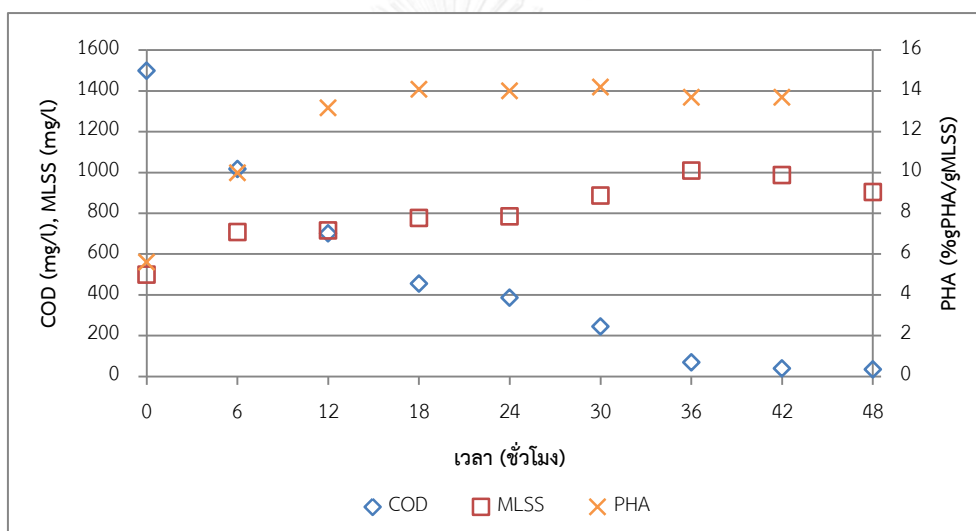
หลังจากการปรับรอบวัฏจักร ให้มีค่าเท่ากับ 2 วัน ระบบยังคงไม่แสดงถึงสภาวะขาดแคลนอาหารอย่างชัดเจน จึงปรับระบบเพิ่มเติมเพื่อสนับสนุนให้เกิดสภาวะอาหารเกินพอสลัดกับขาดแคลนที่มีสภาวะขาดแคลนอาหารที่ยาวและชัดเจน โดยการเพิ่มความเข้มข้นตะกอนให้มากขึ้นด้วยการลดปริมาตรรวมของระบบลงจากเดิม 18 ลิตร เป็น 12 ลิตร ด้วยเหตุนี้คาดว่าตะกอนจุลินทรีย์จะสามารถใช้สารอาหารได้รวดเร็วขึ้นและปรากฏช่วงเวลาขาดแคลนอาหารต่อรอบวัฏจักรที่ชัดเจน

อย่างไรก็ตามถึงแม้จะมีการเปลี่ยนแปลงปริมาตรรวมของระบบ แต่ยังคงควบคุมค่าอายุตะกอนเช่นเดิม คือ 5 10 และ 20 วัน ใน Reactor-5d Reactor-10d และ Reactor-20d ตามลำดับ นอกจากนี้เพื่อให้ตะกอนจุลินทรีย์สามารถใช้สารอาหารหมดภายในรอบวัฏจักรได้ จึงปรับลดความ

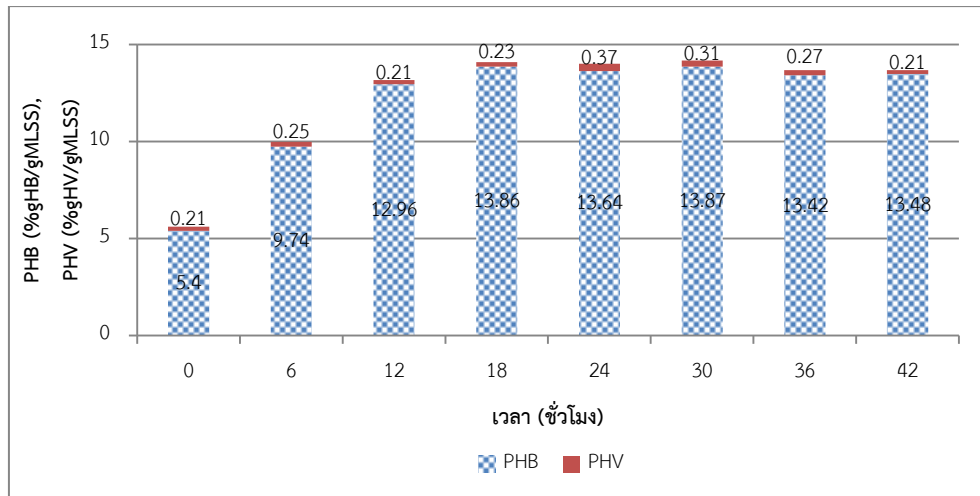
เข้มข้น COD ของสารอาหารที่เติมเข้าสู่ระบบ จากเดิมความเข้มข้น COD เท่ากับ 3,000 mg/l เป็น 1,500 mg/l

4.2.1 ถังปฏิกรณ์ที่เดินระบบที่ค่าอายุตะกอน 5 วัน (Reactor-5d)

ปรับลดปริมาตรรวมของระบบเป็น 12 ลิตร และค่าความเข้มข้น COD ของอาหารเริ่มต้น 1,500 mg/l ในรอบวัฏจักรที่ 59 เริ่มเก็บตัวอย่างตามเวลาอย่างละเอียดในรอบวัฏจักรที่ 66 ตะกอนจุลินทรีย์สามารถใช้สารอาหารจนกระทั่งมีค่าความเข้มข้น COD ต่ำสุดเท่ากับ 25 mg/l ในชั่วโมงที่ 48 สำหรับพีเอชเอในรอบวัฏจักรนี้มีปริมาณสูงสุดเท่ากับ 14.18 %gPHA/gMLSS ในชั่วโมงที่ 30 (ภาพที่ 4.18) โดยมีสัดส่วนพีเอชบีและพีเอชวีเท่ากับ 13.87 %gHB/gMLSS และ 0.31 %gHV/gMLSS (ภาพที่ 4.19) โดยมีปริมาณพีเอชเอเฉลี่ยในรอบวัฏจักรนี้เท่ากับ 12.305 ± 3.033 %gPHA/gMLSS

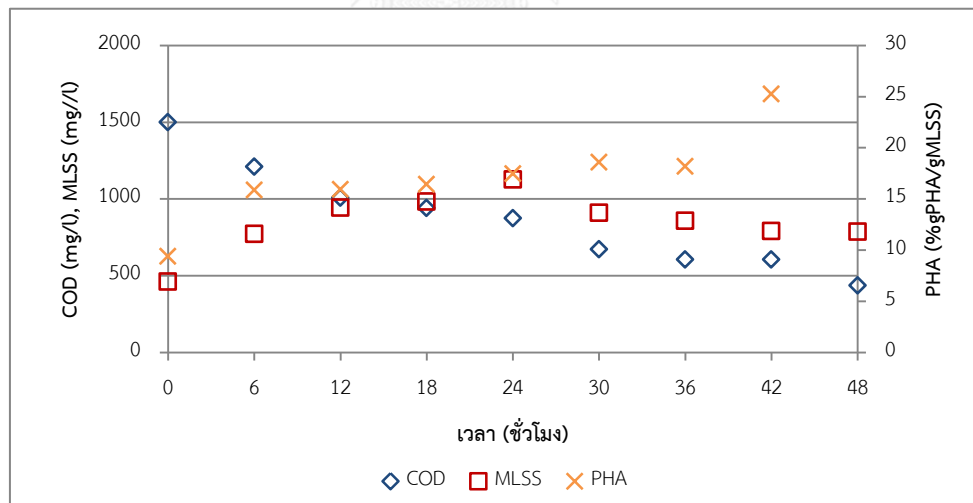


ภาพที่ 4.18 ความเข้มข้น COD MLSS และปริมาณ PHA รอบวัฏจักรที่ 66 ที่ค่าอายุตะกอน 5 วัน

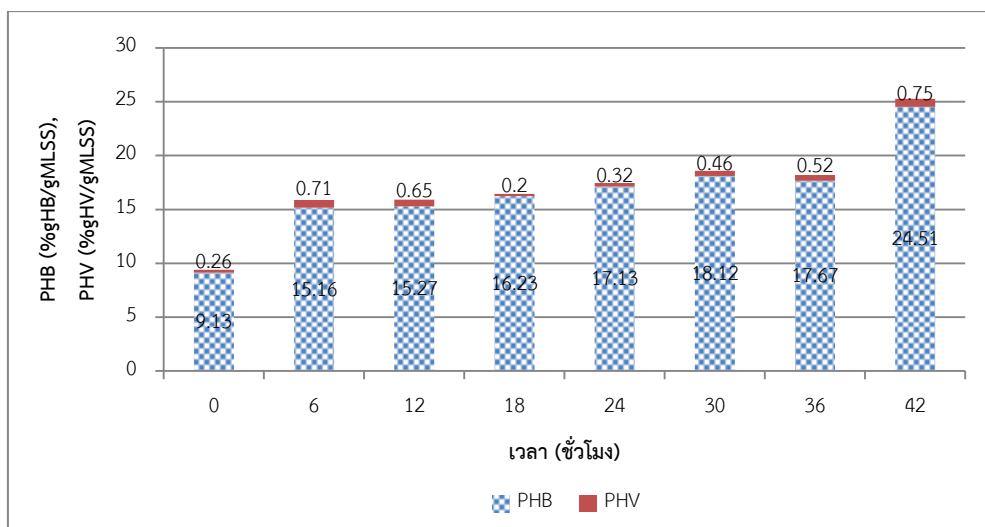


ภาพที่ 4.19 ปริมาณ PHB และ PHV รอบวัฏจักรที่ 66 ที่ค่าอายุตะกอน 5 วัน

รอบวัฏจักรที่ 76 ค่าความเข้มข้น COD ต่ำสุดมีค่าเท่ากับ 436.9 mg/l ในชั่วโมงที่ 48 และมีปริมาณฟิเอชเอที่จุลินทรีย์สามารถสะสมได้สูงที่สุดในรอบวัฏจักรนี้เท่ากับ 25.25 %gPHA/gMLSS ในชั่วโมงที่ 42 (ภาพที่ 4.20) โดยมีสัดส่วนฟิเอชบีและฟิเอชวีเท่ากับ 24.51 %gHB/gMLSS และ 0.75 %gHV/gMLSS (ภาพที่ 4.21) และปริมาณฟิเอชเอเฉลี่ยในรอบวัฏจักรนี้เท่ากับ 17.141 ± 4.355 %gPHA/gMLSS

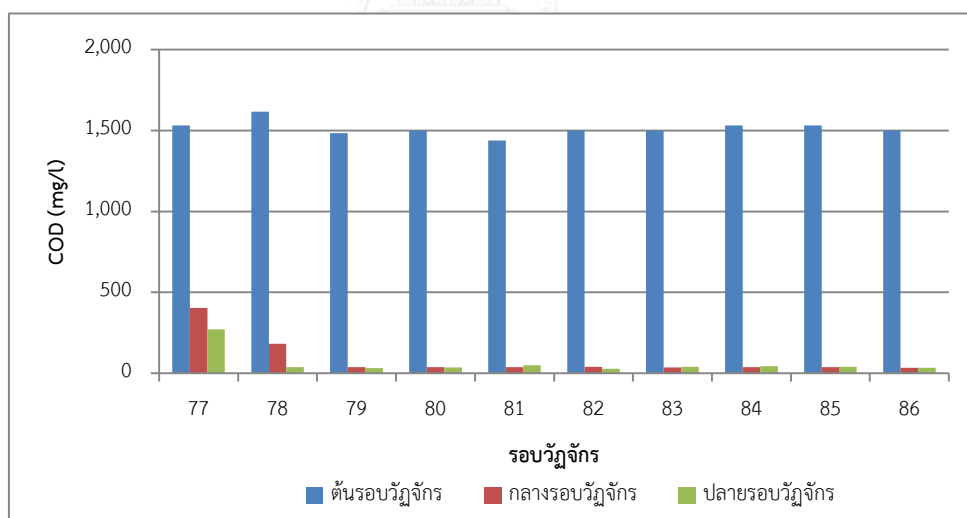


ภาพที่ 4.20 ความเข้มข้น COD MLSS และปริมาณ PHA รอบวัฏจักรที่ 76 ที่ค่าอายุตะกอน 5 วัน



ภาพที่ 4.21 ปริมาณ PHB และ PHV รอบวัฏจักรที่ 76 ที่ค่าอายุตะกอน 5 วัน

ระหว่างรอบวัฏจักรที่ 77 ถึง 85 ระบบเริ่มมีระยะเวลาขาดแคลนอาหารที่ค่อนข้างคงที่ คือมีค่าความเข้มข้น COD ของกลางและท้ายรอบวัฏจักรค่อนข้างคงที่ (ภาพที่ 4.22) แสดงให้เห็นว่าระบบมีสถานะการมีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลนอย่างชัดเจน อีกทั้งมีช่วงเวลาขาดแคลนอาหารที่ค่อนข้างคงที่ ด้วยเหตุนี้จึงทำการเก็บตัวอย่างตามเวลาในรอบวัฏจักร 86 เป็นรอบสุดท้าย

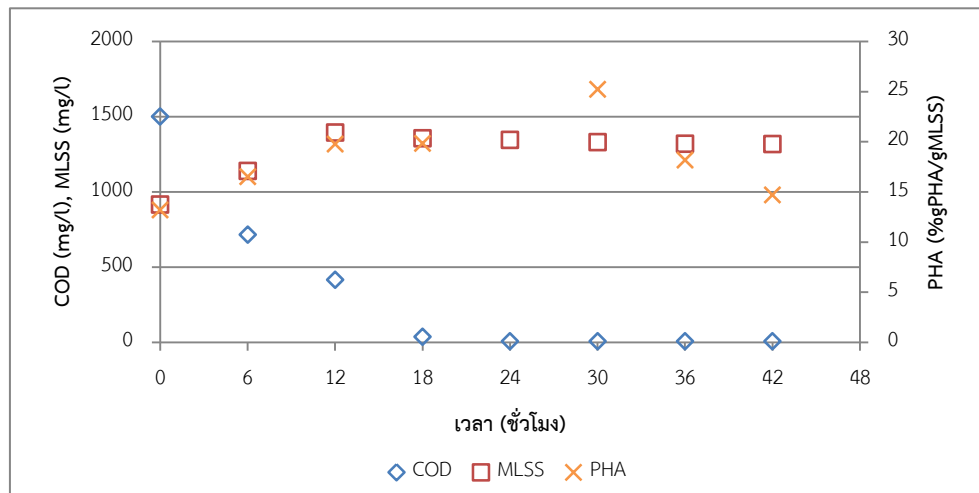


ภาพที่ 4.22 ความเข้มข้น COD รอบวัฏจักรที่ 77 ถึง 86 ที่ค่าอายุตะกอน 5 วัน

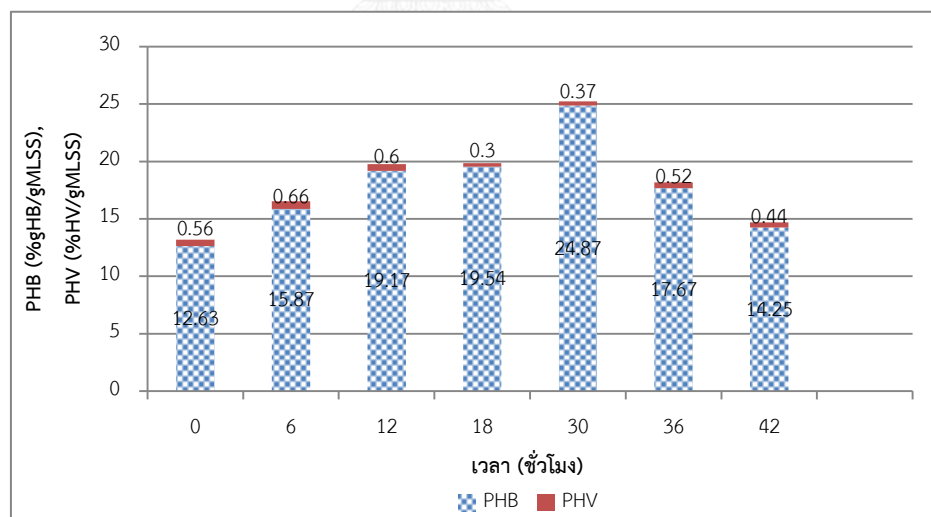
ในรอบวัฏจักรที่ 86 จุลินทรีย์มีการใช้สารอาหารอย่างรวดเร็ว โดยความเข้มข้น COD ต่ำสุดมีในชั่วโมงที่ 18 (ภาพที่ 4.23) แสดงให้เห็นช่วงระยะของการขาดอาหารเป็นเวลา 30 ชั่วโมง ซึ่งในรอบวัฏจักรนี้ปรากฏช่วงการขาดแคลนอาหารได้อย่างชัดเจน และปริมาณพีเอชเอที่จุลินทรีย์สะสมได้ในรอบวัฏจักรนี้เท่ากับ 25.24 %gPHA/gMLSS (27.24 %gPHA/gMLVSS) ในชั่วโมงที่ 30 โดยมีสัดส่วนพีเอชบีและพีเอชวีเท่ากับ 24.87 %gHB/gMLSS และ 0.37 %gHV/gMLSS (ภาพที่ 4.24) ซึ่ง

ปริมาณพีเอชเอเฉลี่ยที่จุลินทรีย์สะสมเฉลี่ยของระบบที่อายุตะกอน 5 วัน เท่ากับ 18.208 ± 3.975 %gPHA/gMLSS

ปริมาณความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรอกวนจักรสุดท้ายมีความเข้มข้นเท่ากับ 916.67 mg/L โดยจากการคำนวณค่า MLSS สำหรับค่าอายุตะกอน 5 วัน จะมีความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์คงที่สุดท้ายอยู่ที่ประมาณ 585 mg/L

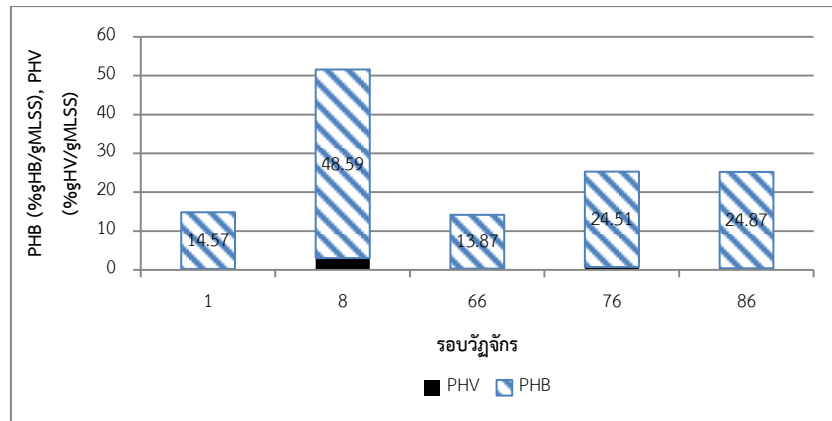


ภาพที่ 4.23 ความเข้มข้น COD MLSS และปริมาณ PHA รอกวนจักรที่ 86 ที่ค่าอายุตะกอน 5 วัน



ภาพที่ 4.24 ปริมาณ PHB และ PHV รอกวนจักรที่ 86 ที่ค่าอายุตะกอน 5 วัน

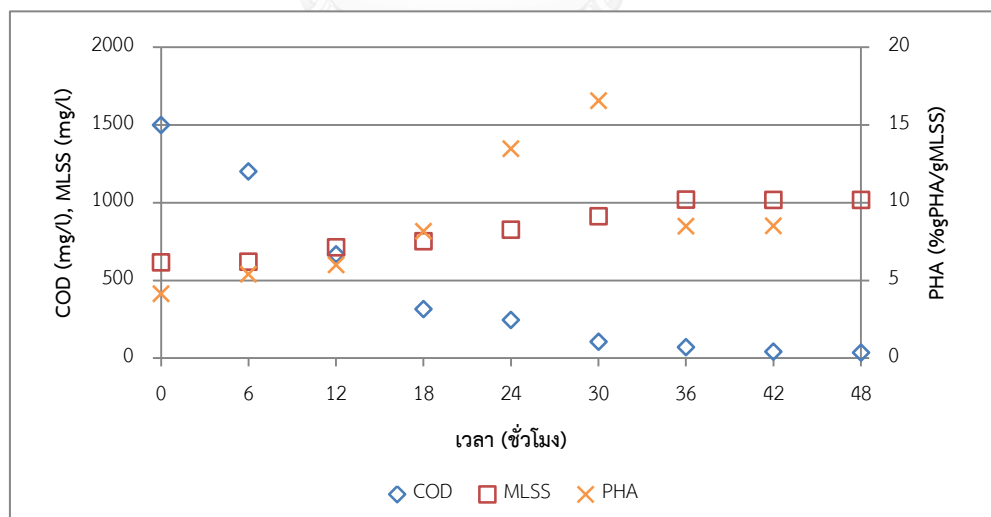
เมื่อพิจารณาความเข้มข้นพีเอชเอสูงสุดในแต่ละรอกวนจักร (ภาพที่ 4.25) แสดงถึงแนวปริมาณแนวโน้มพีเอชเอที่หลังจากผ่านการกระตุ้นด้วยภาวะที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน โดยค่าเฉลี่ยของปริมาณพีเอชเอสูงสุดในทุกรอกวนจักร เท่ากับ 26.242 ± 15.172 %gPHA/gMLSS



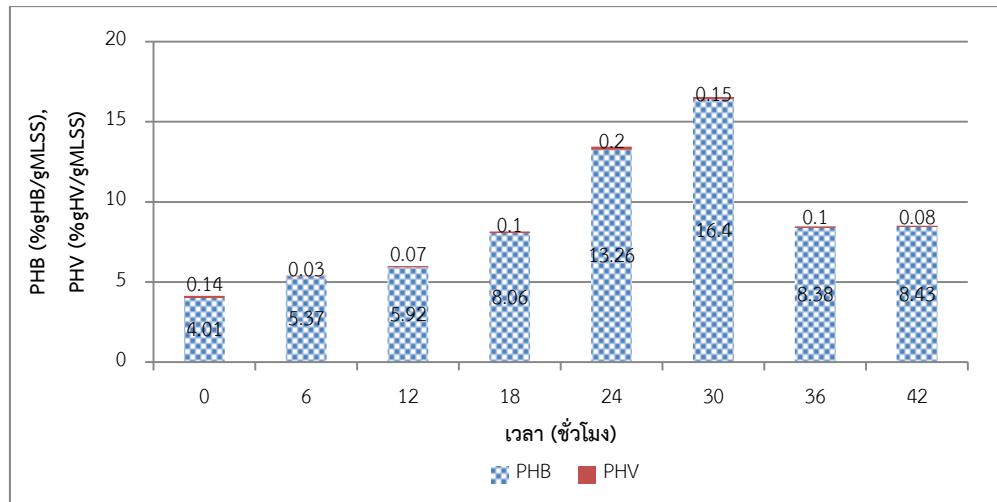
ภาพที่ 4.25 ปริมาณ PHB และ PHV สูงสุดของแต่ละรอบวัฏจักรที่ค่าอายุตะกอน 5 วัน

4.2.2 ถึงปฏิกรณ์ที่เดินระบบที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน (Reactor-10d)

ทำการปรับลดปริมาตรรวมของระบบเป็น 12 ลิตร และค่าความเข้มข้น COD ของอาหารเริ่มต้น 1,500 mg/l ในรอบวัฏจักรที่ 59 พบว่าในรอบวัฏจักรที่ 66 ตะกอนจุลินทรีย์สามารถใช้สารอาหารจนกระทั่งมีค่าความเข้มข้น COD ต่ำสุดเท่ากับ 35 mg/l ในชั่วโมงที่ 48 ในขณะที่ความสามารถในการสะสมพีเอชเอของตะกอนจุลินทรีย์ในรอบวัฏจักรนี้ ตะกอนจุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้สูงสุดเท่ากับ 16.54 %gPHA/gMLSS ในชั่วโมงที่ 30 (ภาพที่ 4.26) โดยมีสัดส่วนพีเอชบีและพีเอชวีเท่ากับ 16.40 %gHB/gMLSS และ 0.15 %gHV/gMLSS (ภาพที่ 4.27) โดยปริมาณพีเอชเอเฉลี่ยในรอบนี้เท่ากับ 8.836 ± 4.201 %gPHA/gMLSS

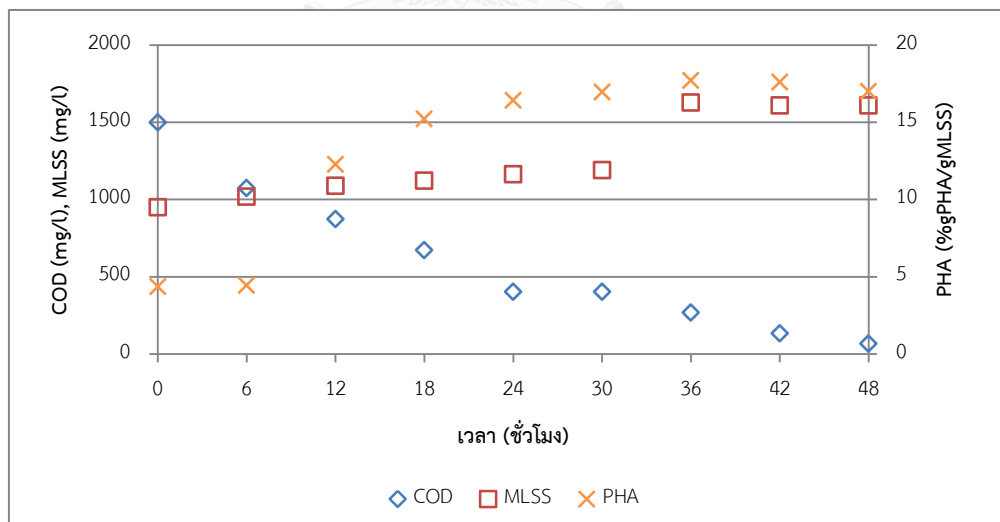


ภาพที่ 4.26 ความเข้มข้น COD MLSS และปริมาณ PHA รอบวัฏจักรที่ 66 ที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน

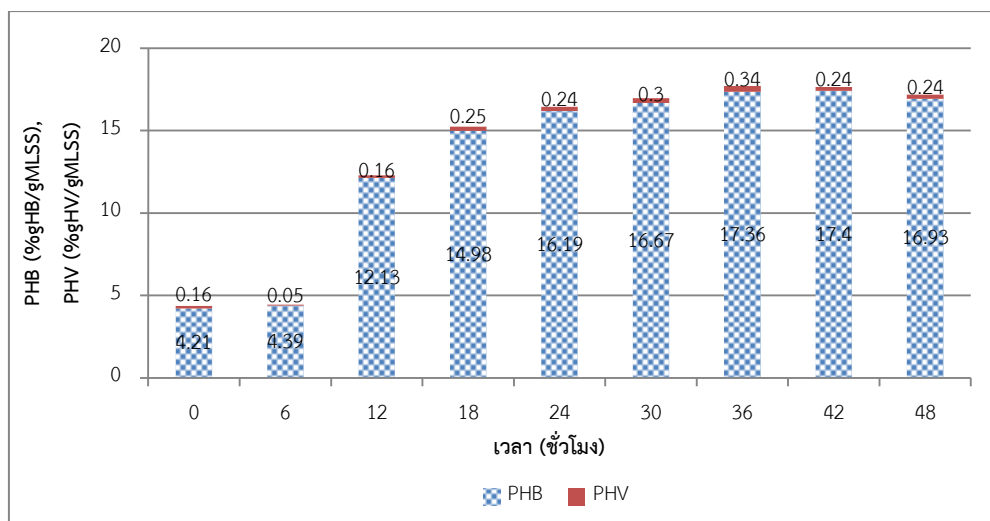


ภาพที่ 4.27 ปริมาณ PHB และ PHV รอบวัฏจักรที่ 66 ที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน

ในรอบวัฏจักรที่ 76 จากภาพที่ 4.25 ค่าความเข้มข้น COD ในรอบวัฏจักรนี้ลดลงต่ำสุดเท่ากับ 67.2 mg/L ในชั่วโมงที่ 48 ซึ่งในรอบวัฏจักรนี้ไม่ได้แสดงช่วงของการขาดแคลนอาหารอย่างชัดเจน ซึ่งปริมาณฟิเอชเอที่จุลินทรีย์สามารถสะสมได้สูงสุดในรอบวัฏจักรนี้คือ 17.7 %gPHA/gMLSS ในชั่วโมงที่ 36 (ภาพที่ 4.28) โดยมีสัดส่วนฟิเอชบีและฟิเอชวีเท่ากับ 17.36 %gHB/gMLSS และ 0.34 %gHV/gMLSS (ภาพที่ 4.29) โดยปริมาณฟิเอชเอเฉลี่ยในรอบนี้เท่ากับ 13.559 ± 5.443 %gPHA/gMLSS

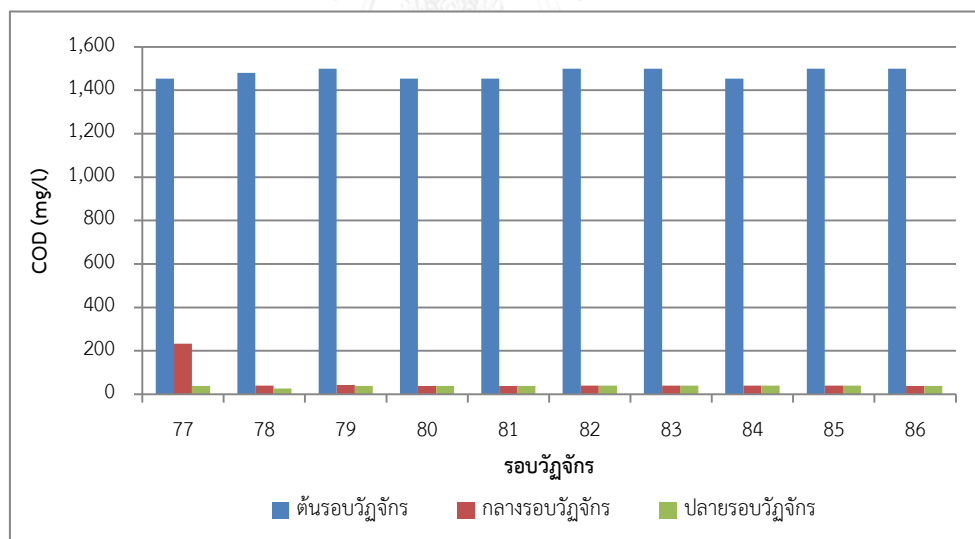


ภาพที่ 4.28 ความเข้มข้น COD MLSS และปริมาณ PHA รอบวัฏจักรที่ 76 ที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน



ภาพที่ 4.29 ปริมาณ PHB และ PHV รอบวัฏจักรที่ 76 ที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน

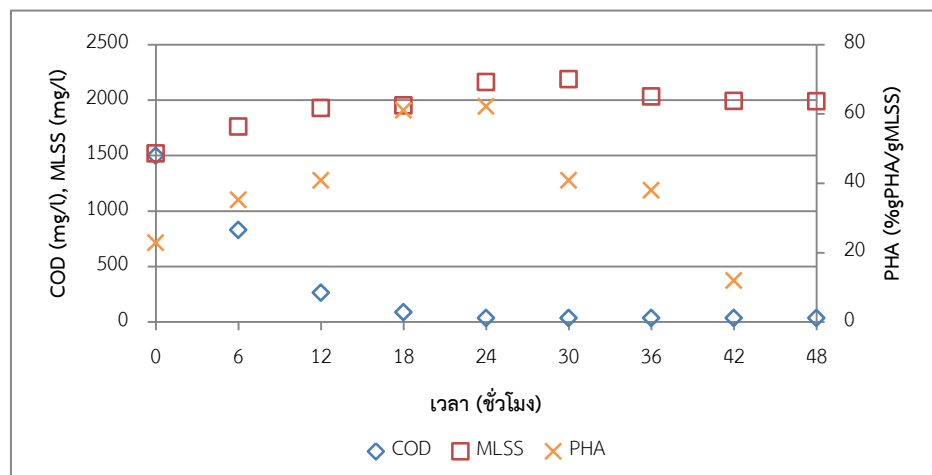
ระหว่างรอบวัฏจักรที่ 77 ถึง 85 ระบบเริ่มมีระยะเวลาขาดแคลนอาหารที่ค่อนข้างคงที่ คือมีค่าความเข้มข้น COD ของกลางและท้ายรอบวัฏจักรค่อนข้างคงที่ (ภาพที่ 4.30) แสดงให้เห็นว่าระบบมีสภาวะการมีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลนอย่างชัดเจน อีกทั้งมีช่วงเวลาขาดแคลนอาหารที่ค่อนข้างคงที่ ด้วยเหตุนี้จึงทำการเก็บตัวอย่างตามเวลาในรอบวัฏจักร 86 เป็นรอบสุดท้าย



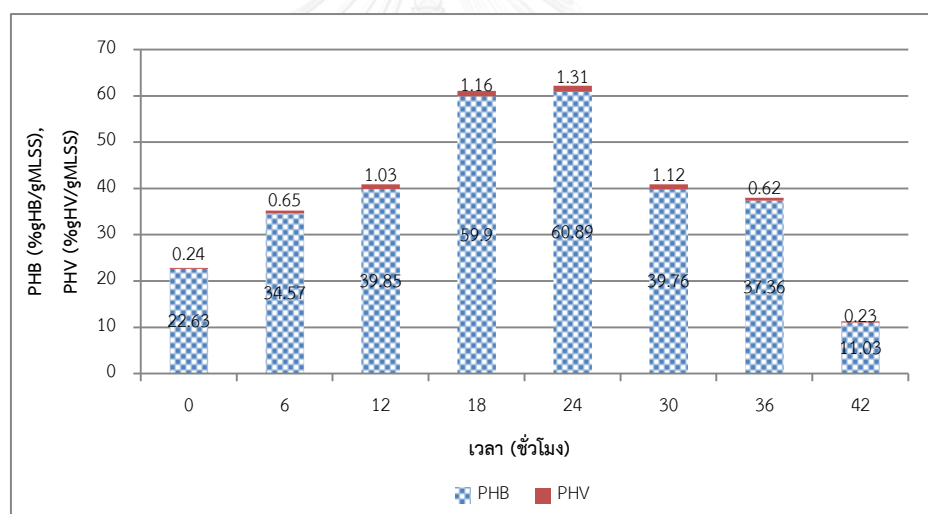
ภาพที่ 4.30 ความเข้มข้น COD รอบวัฏจักรที่ 77 ถึง 86 ที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน

สำหรับในรอบวัฏจักรที่ 86 ปรากฏช่วงของการขาดแคลนอาหารอย่างชัดเจน โดยความเข้มข้น COD ลดลงต่ำสุดเท่ากับ 37.7 mg/L ในชั่วโมงที่ 24 แสดงถึงช่วงขาดแคลนอาหารในรอบวัฏจักรเป็นเวลานานถึง 24 ชั่วโมง สำหรับในรอบวัฏจักรนี้แนวโน้มการสะสมพีเอชเอของจุลินทรีย์สูงสุดเท่ากับ 62.2 %gPHA/gMLSS (66.28 %gPHA/gMLVSS) ในชั่วโมงที่ 24 (ภาพที่ 4.31) โดยมีสัดส่วนความเข้มข้นพีเอชบีและพีเอชวีเท่ากับ 60.89 %gHB/gMLSS และ 1.31 %gHV/gMLSS (ภาพที่

4.32) ซึ่งเป็นปริมาณฟิเอชเอที่จุลินทรีย์สะสมได้มากที่สุดของอายุตะกอน 10 วัน (Reactor-10d) โดยปริมาณฟิเอชเอเฉลี่ยในรอบนี้เท่ากับ 39.136 ± 17.064 %gPHA/gMLSS



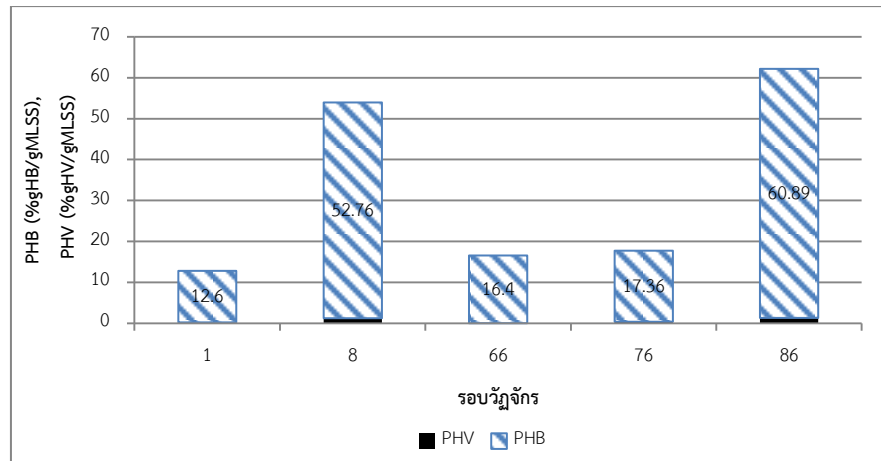
ภาพที่ 4.31 ความเข้มข้น COD MLSS และปริมาณ PHA รอบวัฏจักรที่ 86 ที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน



ภาพที่ 4.32 ปริมาณ PHB และ PHV รอบวัฏจักรที่ 86 ที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน

เมื่อพิจารณาความเข้มข้นฟิเอชเอสูงสุดในแต่ละรอบวัฏจักร (ภาพที่ 4.33) แสดงถึงแนวปริมาณแนวโน้มฟิเอชเอที่หลังจากผ่านการกระตุ้นด้วยภาวะที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน โดยค่าเฉลี่ยของปริมาณฟิเอชเอสูงสุดในทุกรอบวัฏจักร เท่ากับ 32.642 ± 23.470 %gPHA/gMLSS

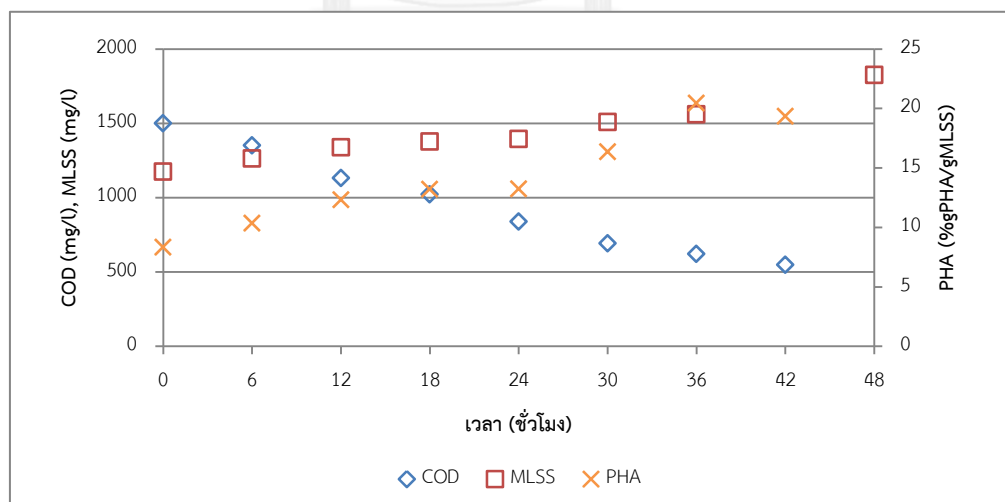
ปริมาณความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรอบวัฏจักรสุดท้ายมีความเข้มข้นเท่ากับ 1,520 mg/L โดยจากการคำนวณค่า MLSS สำหรับค่าอายุตะกอน 10 วัน จะมีความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์คงที่สุดท้ายอยู่ที่ประมาณ 1,199 mg/L



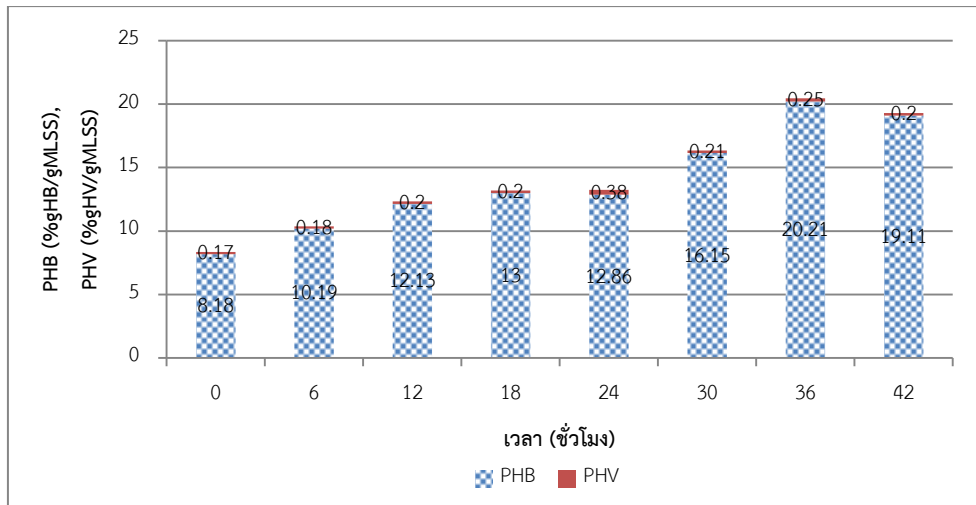
ภาพที่ 4.33 ปริมาณ PHB และ PHV สูงสุดของแต่ละรอบวัฏจักรที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน

4.2.3 ถึงปฏิกรณ์ที่เดินระบบที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน (Reactor-20d)

ที่รอบวัฏจักรที่ 51 ปรับลดปริมาตรระบบเท่ากับ 12 ลิตร และค่าความเข้มข้น COD ของอาหารเริ่มต้นเท่ากับ 1,500 mg/L จากภาพที่ 4.34 จะเห็นได้ว่าตะกอนจุลินทรีย์ยังไม่สามารถใช้สารอาหารได้จนกระทั่งปรากฏช่วงเวลาขาดแคลนอาหารอย่างชัดเจน โดยค่าความเข้มข้นซีโอดีลดต่ำลงเท่ากับ 547.9 mg/L ในชั่วโมงที่ 48 ซึ่งไม่ปรากฏช่วงของการขาดแคลนอาหาร สำหรับความสามารถในการสะสมพีเอชเอของตะกอนจุลินทรีย์ในระบบ ในรอบวัฏจักรที่ 51 จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้สูงสุดเท่ากับ 20.46 %gPHA/gMLSS ในชั่วโมงที่ 36 โดยมีสัดส่วนความเข้มข้นพีเอชบีและพีเอชวีเท่ากับ 20.21 %gHB/gMLSS และ 0.25 %gHV/gMLSS (ภาพที่ 4.35) โดยมีปริมาณพีเอชเอเฉลี่ยในรอบนี้เท่ากับ 14.209 ± 4.222 %gPHA/gMLSS

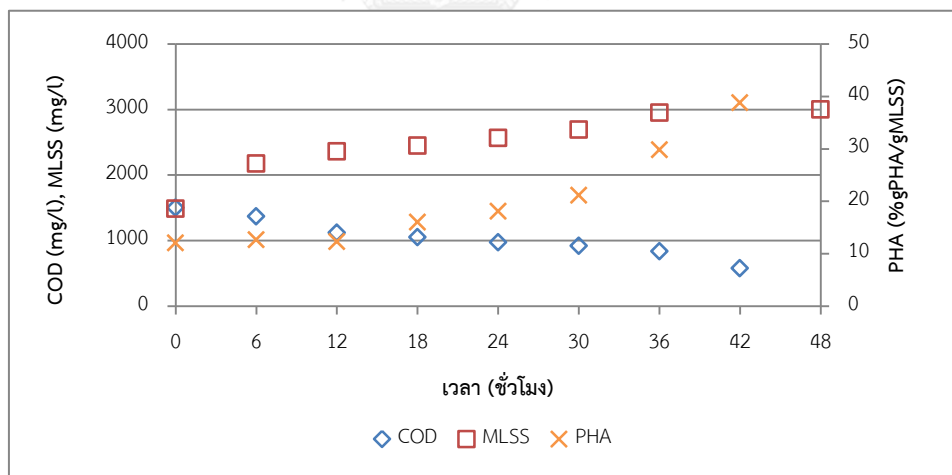


ภาพที่ 4.34 ความเข้มข้น COD MLSS และปริมาณ PHA รอบวัฏจักรที่ 51 ที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน

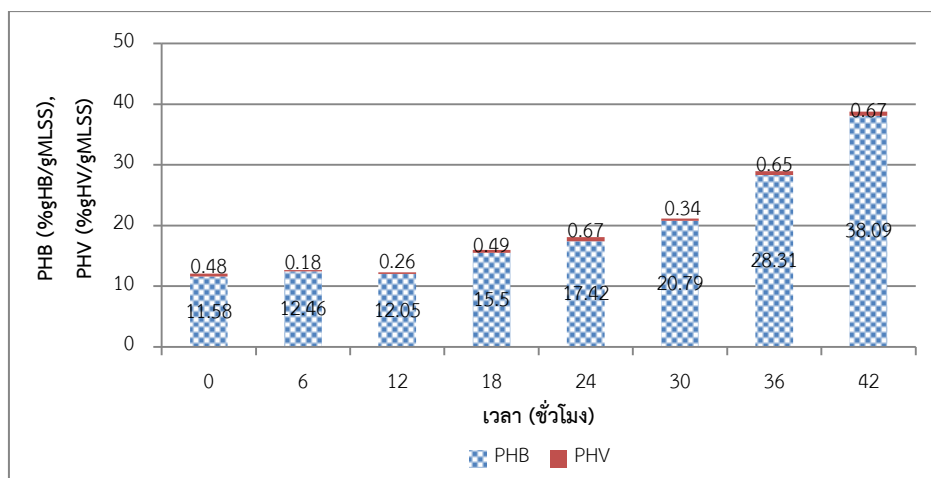


ภาพที่ 4.35 ปริมาณ PHB และ PHV รอบวัฏจักรที่ 51 ที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน

ในรอบวัฏจักรที่ 53 ตะกอนจุลินทรีย์ยังคงไม่สามารถใช้สารอาหารได้หมด โดยความเข้มข้น COD ต่ำสุดเท่ากับ 576 mg/l ในชั่วโมงที่ 48 โดยมีปริมาณฟิเอชเอสะสมสูงสุดเท่ากับ 38.76 %gPHA/gMLSS ในชั่วโมงที่ 42 (ภาพที่ 4.36) โดยมีสัดส่วนความเข้มข้นฟิเอชบีและฟิเอชวีเท่ากับ 38.09 %gHB/gMLSS และ 0.67 %gHV/gMLSS (ภาพที่ 4.37) โดยมีปริมาณฟิเอชเอเฉลี่ยในรอบนี้เท่ากับ 20.097 ± 9.605 %gPHA/gMLSS

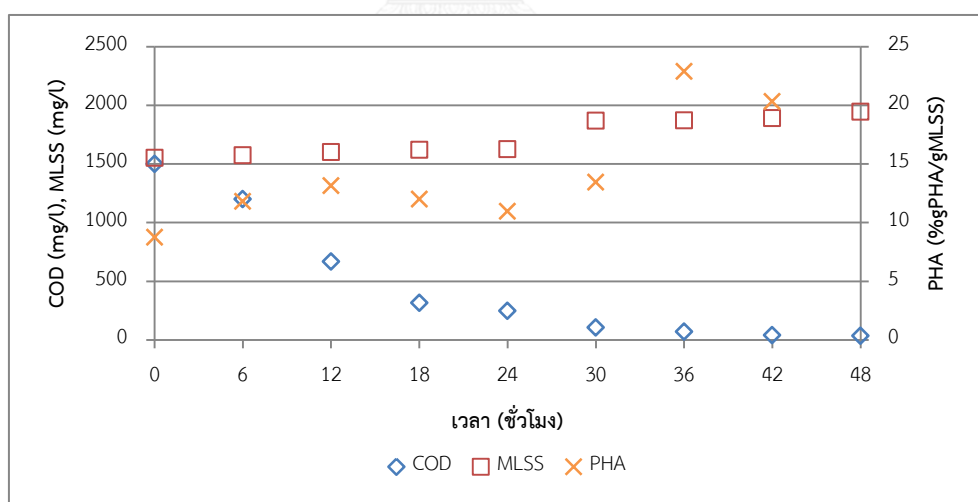


ภาพที่ 4.36 ความเข้มข้น COD MLSS และปริมาณ PHA รอบวัฏจักรที่ 53 ที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน

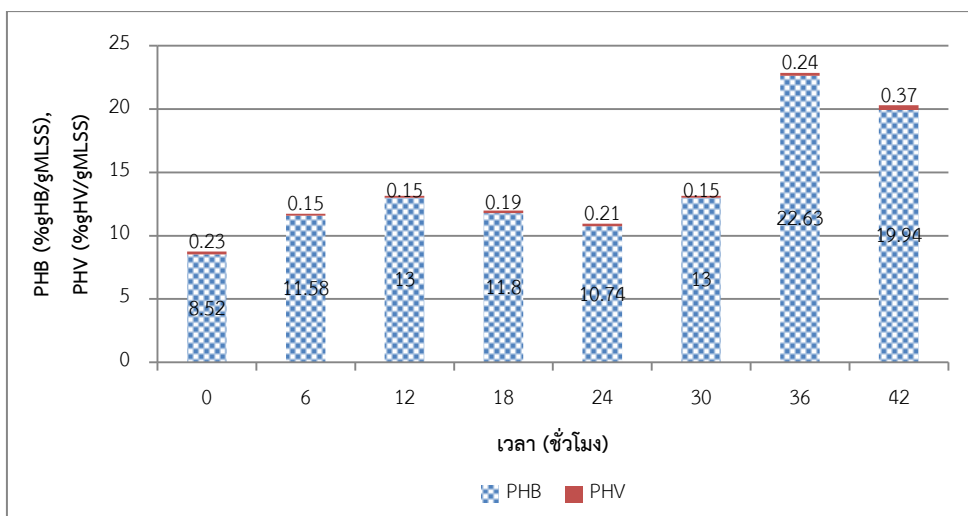


ภาพที่ 4.37 ปริมาณ PHB และ PHV รอบวัฏจักรที่ 53 ที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน

รอบวัฏจักรที่ 66 ความเข้มข้น COD ลดลงต่ำสุดเท่ากับ 35.8 mg/l ในชั่วโมงที่ 48 โดยในรอบวัฏจักรนี้เริ่มมีแนวโน้มของการขาดแคลนอาหารของระบบมากขึ้นจากรอบวัฏจักรที่ 53 และการสะสมฟิเอชเอชของจุลินทรีย์ในรอบวัฏจักร 66 พบว่าปริมาณฟิเอชเอชสูงสุดเท่ากับ 22.87 %gPHA/gMLSS ในชั่วโมงที่ 36 (ภาพที่ 4.38) โดยมีสัดส่วนความเข้มข้นฟิเอชบีและฟิเอชวีเท่ากับ 22.63 %gHB/gMLSS และ 0.24 %gHV/gMLSS (ภาพที่ 4.39) โดยมีปริมาณฟิเอชเอเฉลี่ยในรอบนี้เท่ากับ 14.157 ± 4.856 %gPHA/gMLSS

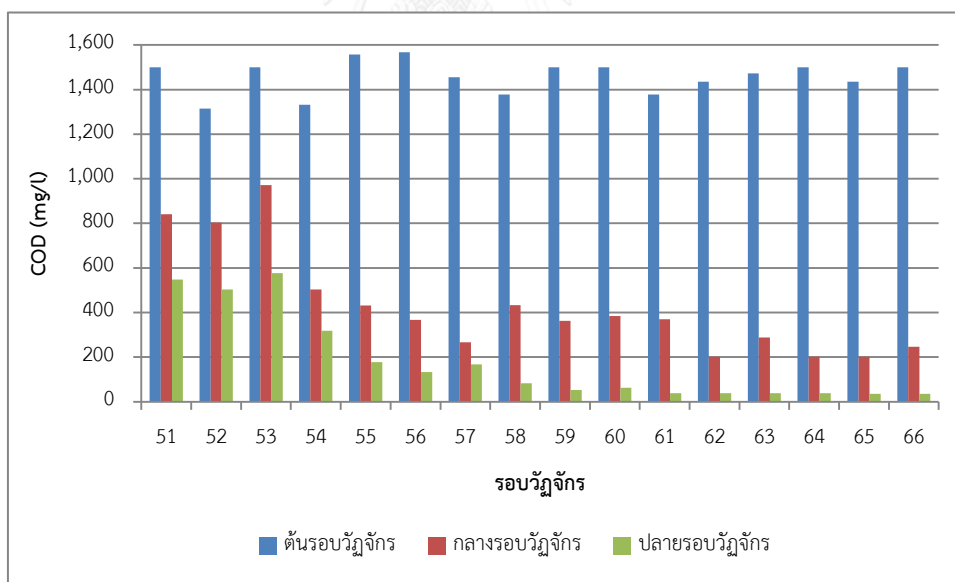


ภาพที่ 4.38 ความเข้มข้น COD MLSS และปริมาณ PHA รอบวัฏจักรที่ 66 ที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน



ภาพที่ 4.39 ปริมาณ PHB และ PHV รอบวัฏจักรที่ 66 ที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน

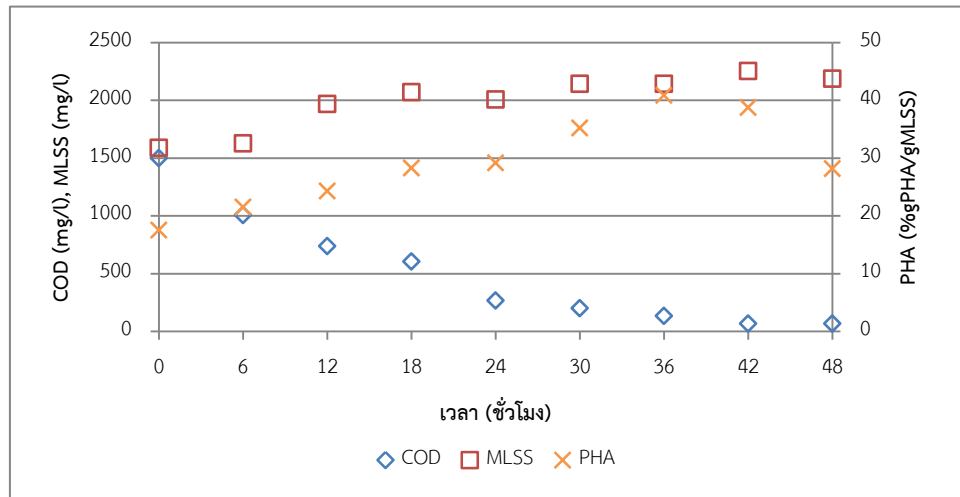
ระหว่างรอบวัฏจักรที่ 54 ถึง 66 ระบบเริ่มมีระยะเวลาขาดแคลนอาหารที่ค่อนข้างคงที่ คือมีค่าความเข้มข้น COD ของกลางและท้ายรอบวัฏจักรค่อนข้างคงที่ (ภาพที่ 4.40) แสดงให้เห็นว่าระบบมีช่วงเวลาขาดแคลนอาหารที่ค่อนข้างคงที่ ด้วยเหตุนี้จึงทำการเก็บตัวอย่างตามเวลาในรอบวัฏจักร 76 เป็นรอบสุดท้าย



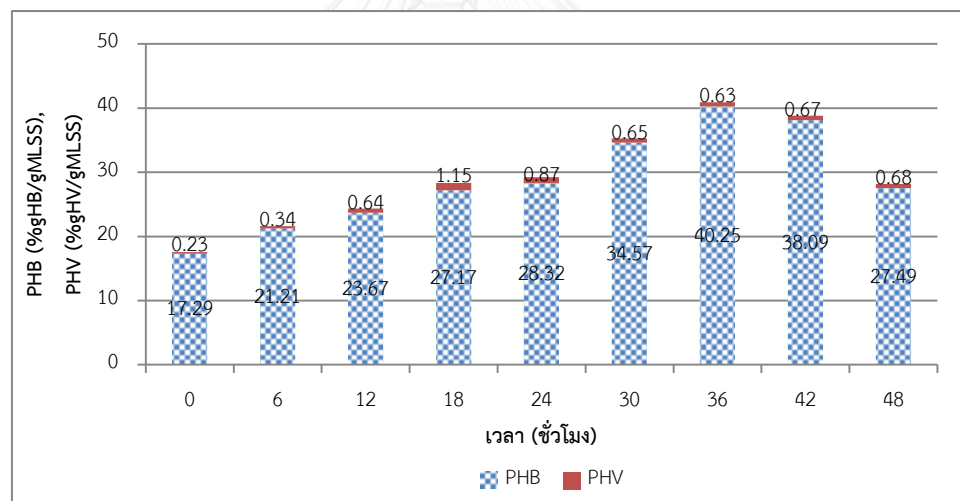
ภาพที่ 4.40 ความเข้มข้น COD รอบวัฏจักรที่ 51 ถึง 76 ที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน

สำหรับในรอบวัฏจักรที่ 76 ความเข้มข้น COD ลดลงต่ำสุดเท่ากับ 67.2 mg/l ในชั่วโมงที่ 42 สำหรับการสะสมพีเอชเอของจุลินทรีย์ในรอบวัฏจักรนี้ พบว่าปริมาณพีเอชเอสูงสุดเท่ากับ 40.87 %gPHA/gMLSS (44.22 %gPHA/gMLVSS) ในชั่วโมงที่ 36 (ภาพที่ 4.41) โดยมีสัดส่วนความเข้มข้นพีเอชบีและพีเอชวีเท่ากับ 40.25 %gHB/gMLSS และ 0.63 %gHV/gMLSS (ภาพที่ 4.42) ซึ่งเป็น

ปริมาณฟิโอสเทที่สูงที่สุดของอายุตะกอน 20 วัน (Reactor-20d) โดยมีปริมาณฟิโอสเทเฉลี่ยในรอบวัฏจักรนี้เท่ากับ 29.325 ± 7.785 %gPHA/gMLSS



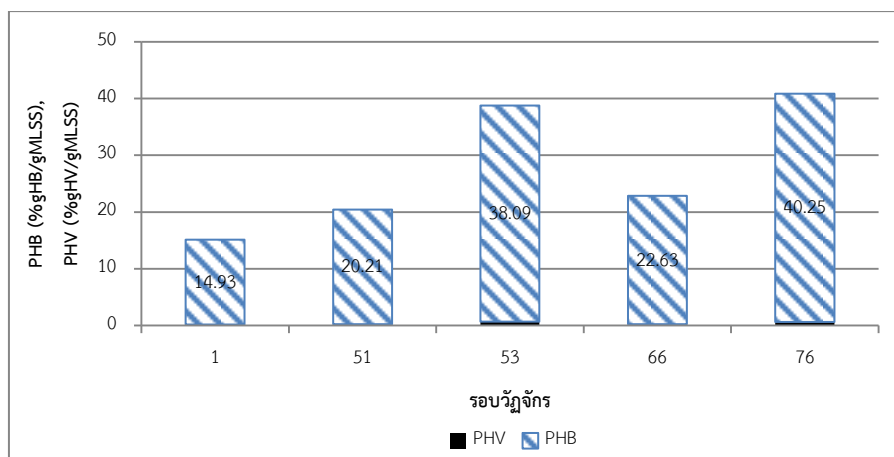
ภาพที่ 4.41 ความเข้มข้น COD MLSS และปริมาณ PHA รอบวัฏจักรที่ 76 ที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน



ภาพที่ 4.42 ปริมาณ PHB และ PHV รอบวัฏจักรที่ 76 ที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน

เมื่อพิจารณาความเข้มข้นฟิโอสเทสูงสุดในแต่ละรอบวัฏจักร (ภาพที่ 4.43) แสดงถึงแนวปริมาณแนวโน้มฟิโอสเทที่เพิ่มมากขึ้นหลังจากผ่านการกระตุ้นด้วยภาวะที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน โดยค่าเฉลี่ยของปริมาณฟิโอสเทสูงสุดในทุกรอบวัฏจักร เท่ากับ 27.618 ± 11.516 %gPHA/gMLSS

ปริมาณความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในรอบวัฏจักรสุดท้ายมีความเข้มข้นเท่ากับ 1,590 mg/l โดยจากการคำนวณค่า MLSS สำหรับค่าอายุตะกอน 5 วัน จะมีความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์คงที่สุดท้ายอยู่ที่ประมาณ 1,755 mg/l



ภาพที่ 4.43 ปริมาณ PHB และ PHV สูงสุดของแต่ละรอบวัฏจักรที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน

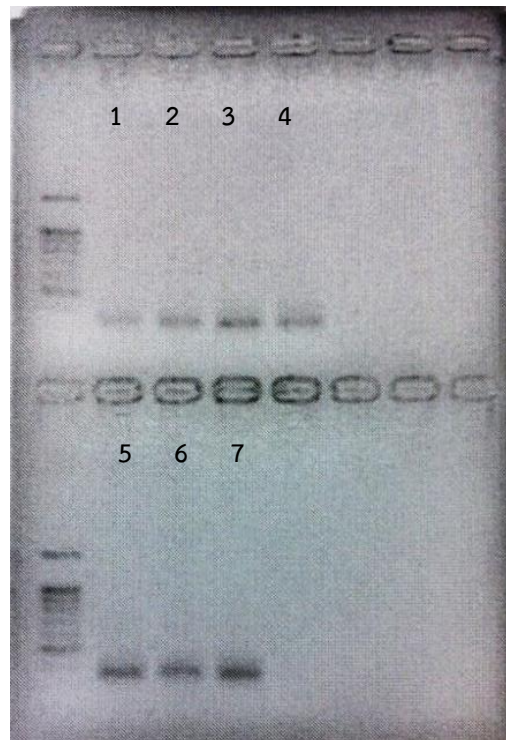
จากการเดินระบบในช่วงการทดลองที่ 2 กล่าวโดยสรุปได้ว่าเป็นการเดินระบบให้เกิดสภาพมีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลนตามค่าอายุตะกอนที่กำหนด โดยในช่วงการทดลองนี้ได้ทำการปรับลดปริมาณและความเข้มข้น COD ที่เติมเข้าสู่ระบบลง พบว่าสามารถทำให้เกิดภาวะอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลนได้ในการเดินระบบทั้ง 3 ค่าอายุตะกอน โดยความสามารถของจุลินทรีย์หลังจากผ่านการกระตุ้นให้มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลนแล้วสามารถสะสมพีเอชเอได้สูงสุดเท่ากับ 25.24, 62.2 และ 40.87 %gPHA/gMLSS ของ Reactor-5d, Reactor-10d และ Reactor-20d ตามลำดับ

4.3 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในช่วงการทดลองที่ 1 และ 2

เทคนิคที่ใช้ในการศึกษากลุ่มประชากรจุลินทรีย์คือ 16S Metagenimics โดยวิธีการวิเคราะห์ถูกแบ่งเป็นออกเป็น 2 ช่วง คือ การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR และผลการวิเคราะห์ข้อมูลลำดับเบส

การเพิ่มจำนวน DNA ด้วยเทคนิค PCR

ผลการทำ PCR จากภาพที่ 4.41 ตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ถูกเพิ่มจำนวน DNA ได้ครบทุกตัวอย่าง โดยที่ target band ขึ้นที่ตำแหน่งความยาวประมาณ 300 base pair



ภาพที่ 4. 44 ผลการทำ PCR ของตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์

หมายเหตุ : 1 คือ ตัวอย่างเริ่มต้น

2 คือ Reactor-5d ท้ายช่วงการทดลองที่ 1

3 คือ Reactor-5d ที่มีพีเอชสูงสุด

4 คือ Reactor-10d ท้ายช่วงการทดลองที่ 1

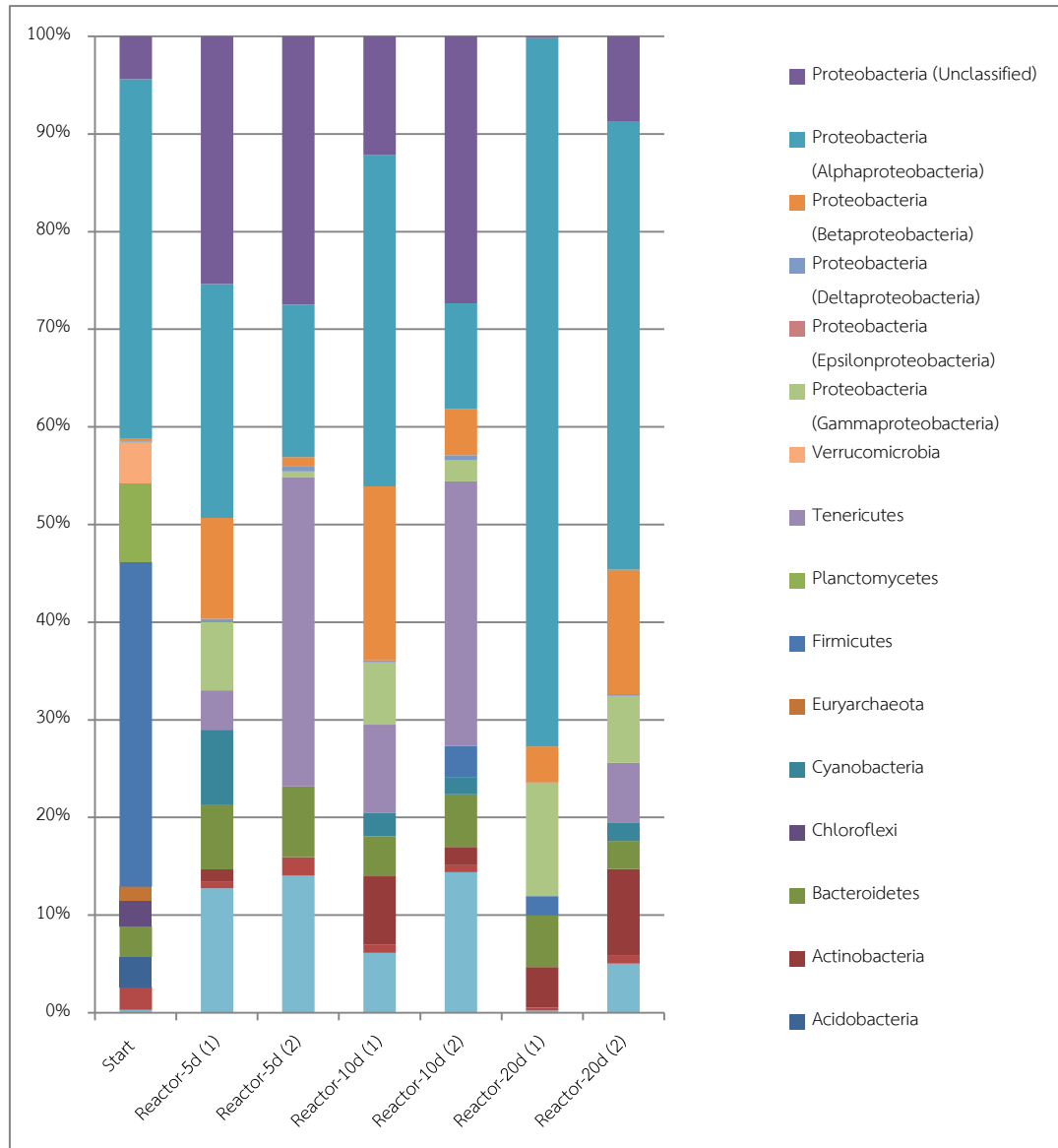
5 คือ Reactor-10d ที่มีพีเอชสูงสุด

6 คือ Reactor-20d ท้ายช่วงการทดลองที่ 1

7 คือ Reactor-20d ที่มีพีเอชสูงสุด

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลลำดับเบส

เมื่อวิเคราะห์ลำดับเบสโดยใช้ MiSeq Reporter Metagenomics Workflow ได้ข้อมูลที่สามารถ classified ได้โดยจำแนกตาม Phylum ของแต่ละตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์แสดงดังภาพที่ 4.42



ภาพที่ 4.45 Phylum ของตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์

หมายเหตุ : Start คือ ตัวอย่างเริ่มต้น

Reactor-5d (1) คือ Reactor-5d ทำช่วงการทดลองที่ 1

Reactor-5d (2) คือ Reactor-5d ที่มีพีเอชเอสูงสุด

Reactor-10d (1) คือ Reactor-10d ทำช่วงการทดลองที่ 1

Reactor-10d (2) คือ Reactor-10d ที่มีพีเอชเอสูงสุด

Reactor-20d (1) คือ Reactor-20d ทำช่วงการทดลองที่ 1

Reactor-20d (2) คือ Reactor-20d ที่มีพีเอชเอสูงสุด

จากภาพที่ 4.42 พิจารณาในระดับ Phylum จะเห็นได้ว่าในแต่ละถังปฏิกรณ์ phylum มีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นตามระยะเวลาและค่าอายุตะกอนของการเดินระบบ โดย phylum ที่มีความเด่นชัดของตะกอนตัวอย่างเริ่มต้นคือ Proteobacteria และ Firmicutes เมื่อเดินระบบถึงทำช่วงการทดลองที่ 1 พบว่า Phylum ที่มีจำนวนมากของ Reactor-5d คือ Proteobacteria และ Cyanobacteria ใน Reactor-10d คือ Proteobacteria และ Tenericutes และใน Reactor-20d คือ Proteobacteria และ Bacteroidetes สำหรับในรอบวัฏจักรที่จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้สูงสุดพบว่า Phylum ที่มีจำนวนมากใน Reactor-5d และ Reactor-10d คือ Proteobacteria และ Tenericutes ใน Reactor-20d คือ Proteobacteria และ Actinobacteria

เมื่อพิจารณาในระดับ genus ของตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นซึ่งนำมาจากโรงงานผลิตเครื่องดื่มจากผักและผลไม้แห่งหนึ่ง (แสดงดังตารางที่ 4.1) พบว่ามีบาง genus เป็นจุลินทรีย์ในระบบ anaerobic เช่น *Cohnella spp.*, *Tepidibacter spp.* และ *Clostridium spp.*

ตารางที่ 4.1 genus แยกที่พบในตัวอย่างตะกอนเริ่มต้น (start)

Phylum	genus	% ที่พบ
Firmicutes	<i>Cohnella spp.</i>	19.825
Proteobacteria	<i>Inquilinus spp.</i>	14.247
Firmicutes	<i>Tepidibacter spp.</i>	3.087
Firmicutes	<i>Clostridium spp.</i>	2.754
Verrucomicrobia	<i>Rubritalea spp.</i>	2.174

genus ที่มีความเด่นชัดของ Reactor-5d ในทำช่วงการทดลองที่ 1 และในช่วงเวลาที่จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้สูงที่สุด แสดงดังตารางที่ 4.2 และ 4.3

เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยที่ผ่านมา genus ที่มีความเด่นชัดและมีความสามารถในการสะสมพีเอชเอของ Reactor-5d ในช่วงเวลาที่จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้สูงที่สุดตามลำดับ คือ *Agrobacterium* และ *Brevundimonas* (แสดงดังตารางที่ 4.3) จากงานวิจัยของ Johanna และคณะ (2007) ได้ศึกษาความสามารถในการสะสมพีเอชเอของจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์ *Brevundimonas sp.* พบว่ามีความสามารถในการสะสมพีเอชเอได้โดยมีผลผลิตสูงสุดอยู่ในช่วงระหว่าง 64 – 72 % ของน้ำหนักแห้งเซลล์ สำหรับ *Agrobacterium* เป็น genus ที่ถูกพบในหลายงานวิจัยว่าสามารถเปลี่ยนของเสียอินทรีย์ให้อยู่ในรูปพีเอชเอได้ (Tatiana Volova, 2004)

ตารางที่ 4. 2 genus แยกที่เรียที่มีมีความเด่นชัด Reactor-5d ท้ายช่วงการทดลองที่ 1

Phylum	genus	% ที่พบ
Planctomycetes	<i>Brevundimonas spp.</i>	10.547
Cyanobacteria	<i>Leptolyngbya spp.</i>	7.204
Proteobacteria	<i>Xenophilus spp.</i>	5.617
Proteobacteria	<i>Pseudoxanthomonas spp.</i>	5.544
Tenericutes	<i>Mycoplasma spp.</i>	3.993

ตารางที่ 4. 3 genus แยกที่เรียที่มีมีความเด่นชัด Reactor-5d ช่วงที่มีปริมาณพีเอชเอสูงสุด

Phylum	genus	% ที่พบ
Tenericutes	<i>Mycoplasma spp.</i>	31.716
Proteobacteria	<i>Agrobacterium spp.</i>	5.025
Proteobacteria	<i>Brevundimonas spp.</i>	3.327
Proteobacteria	<i>Shinella spp.</i>	3.167
Proteobacteria	<i>Devosia spp.</i>	1.436

genus ที่มีความเด่นชัดและมีความสามารถในการสะสมพีเอชเอของ Reactor-10d ในท้ายช่วงการทดลองที่ 1 และในช่วงเวลาที่จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้สูงที่สุด แสดงดังตารางที่ 4.4 และ 4.5

เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยที่ผ่านมา genus ที่มีความเด่นชัดและมีความสามารถในการสะสมพีเอชเอของ Reactor-10d ในช่วงเวลาที่จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้สูงที่สุด คือ *Achromobacter* จากงานวิจัยของ ศิริวรรณ ระเด่นอาหมัด (2552) ซึ่งศึกษาความสามารถในการสะสมพีเอชเอของจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์ *Achromobacter* sp. พบว่ามีพีเอชเอสะสมสูงสุด 71.5% ของน้ำหนักแห้งเซลล์

ตารางที่ 4.4 genus แบคทีเรียที่มีความเด่นชัด Reactor-10d ท้ายช่วงการทดลองที่ 1

Phylum	Genus	% ที่พบ
Proteobacteria	<i>Shinella spp.</i>	12.969
Tenericutes	<i>Mycoplasma spp.</i>	8.982
Proteobacteria	<i>Xenophilus spp.</i>	7.111
Proteobacteria	<i>Devosia spp.</i>	6.263
Proteobacteria	<i>Hydrogenophaga spp.</i>	4.856

ตารางที่ 4. 5 genus แบคทีเรียที่มีความเด่นชัด Reactor-10d ช่วงที่มีปริมาณพีเอชเอสูงสุด

Phylum	Genus	% ที่พบ
Tenericutes	<i>Mycoplasma spp.</i>	26.889
Proteobacteria	<i>Oceanicaulis spp.</i>	2.026
Proteobacteria	<i>Achromobacter spp.</i>	2.026
Proteobacteria	<i>Devosia spp.</i>	1.712
Proteobacteria	<i>Defluviobacter spp.</i>	1.705

genus ที่มีความเด่นชัดและมีความสามารถในการสะสมพีเอชเอของ Reactor-20d ในท้ายช่วงการทดลองที่ 1 และในช่วงเวลาที่จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้สูงที่สุด แสดงดังตารางที่ 4.6 และ 4.7

เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยที่ผ่านมา genus ที่มีความเด่นชัดและมีความสามารถในการสะสมพีเอชเอของ Reactor-20d ในช่วงเวลาที่จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้สูงที่สุด คือ *Achromobacter* และ *Brevundimonas* (แสดงดังตารางที่ 4.7)

ตารางที่ 4. 6 genus แบคทีเรียที่มีความเด่นชัด Reactor-20d ท้ายช่วงการทดลองที่ 1

Phylum	Genus	% ที่พบ
Proteobacteria	<i>Defluviobacter spp.</i>	48.102
Proteobacteria	<i>Dokdonella spp.</i>	6.985
Proteobacteria	<i>Devosia spp.</i>	6.435
Proteobacteria	<i>Rhodovulum spp.</i>	3.702
Proteobacteria	<i>Agrobacterium spp.</i>	2.56

ตารางที่ 4. 7 genus แบคทีเรียที่มีความเด่นชัด Reactor-20d ช่วงที่มีปริมาณพีเอชเอสูงสุด

Phylum	genus	% ที่พบ
Proteobacteria	<i>Defluviobacter spp.</i>	14.19
Proteobacteria	<i>Devosia spp.</i>	10.765
Proteobacteria	<i>Achromobacter spp.</i>	6.863
Tenericutes	<i>Mycoplasma spp.</i>	6.119
Proteobacteria	<i>Brevundimonas spp.</i>	5.913

4.4 การเปรียบเทียบผลการศึกษา

จากผลการศึกษาข้างต้นเมื่อนำมาเปรียบเทียบเพื่อวิเคราะห์ผลการทดลองที่เกิดขึ้น โดยมีตัวแปรที่ใช้ในการวิเคราะห์ คือ ชนิดของพีเอชเอ จลนพลศาสตร์ และกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ มีผลการวิเคราะห์ดังนี้

4.4.1 ชนิดของพีเอชเอ

งานวิจัยที่ผ่านมา มีการกล่าวถึงสารอาหารที่ให้แก่อุณหภูมิที่มีผลต่อชนิดพีเอชเอที่เกิดขึ้น โดยทั่วไปชนิดของพีเอชเอที่จุลินทรีย์สามารถสะสมได้ส่วนใหญ่มี 2 ชนิด ได้แก่ พีเอชบี (โพลีไฮดรอกซีบิวทิเรท) และพีเอชวี (โพลีไฮดรอกซีวาเลอเรท) (Ratledge Kristiansen, 2001) จากงานวิจัยของ Dionisi และคณะ (2005a) ทำการทดลองโดยใช้กรดอะซิติก แลคติก และโพรไพโอนิกในการคัดเลือกจุลินทรีย์ พบว่าเมื่อใช้อะซิเตทหรือแลคเตทเป็นสารอาหาร ชนิดของพีเอชเอที่จุลินทรีย์สะสมได้คือพีเอชบี ในขณะที่ใช้โพรไพโอเนทเป็นสารอาหารชนิดของพีเอชเอที่ถูกระบุคือพีเอชบีและพีเอชวี เช่นเดียวกับ Lemos และคณะ (2006) ทดลองเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยสารอาหารที่ต่างกันคือ อะซิเตทและโพรไพโอเนท พบว่าจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตทสามารถสะสมไฮโอโพลิเมอร์พีเอชบีได้ในขณะที่จุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยโพรไพโอเนทสามารถสะสมเป็นโคโพลิเมอร์พีเอชบีและพีเอชวี

จะเห็นว่าชนิดของโพลิเมอร์ที่เกิดขึ้นมีความเกี่ยวข้องกับสารอาหารที่ใช้เลี้ยงจุลินทรีย์ โดยในงานวิจัยนี้สารอาหารที่ใช้เลี้ยงจุลินทรีย์คือ อะซิเตท จากผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าชนิดของพีเอชเอที่จุลินทรีย์สะสมได้เกือบทั้งหมดคือพีเอชบี

4.4.2 การเปรียบเทียบปริมาณฟิเอซเอและค่าจลนพลศาสตร์ในแต่ละค่าอายุตะกอน

ตารางที่ 4.8 ผลฟิเอซเอและค่าจลนพลศาสตร์ของ Reactor-5d Reactor-10d และ Reactor-20d

	Reactor		
	Reactor-5d	Reactor-10d	Reactor-20d
ระยะเวลาวัฏจักร (cycle time, h)	48	48	48
จำนวนวัฏจักรต่อค่าอายุตะกอน (n)	2.5	5	10
ระยะเวลาที่มีอาหารเกินพอ (feast phase length, h)	18	18	42
ระยะเวลาขาดแคลนอาหาร (famine phase length, h)	30	30	6
อัตราส่วนระยะเวลาที่มีอาหารเกินพอต่อระยะเวลาวัฏจักร (feast/cycle time ratio, %)	37.5	37.5	87.5
อัตราส่วนอาหารต่อตะกอนจุลินทรีย์ (F/M ratio)	1.636	1.135	0.967
Specific substrate utilization rate (gCOD/gMLSS-hr)	0.205	0.0907	0.0837
สัดส่วนฟิเอซเอ (%gPHA/gMLSS)	25.24	62.2	40.87

จากตารางที่ 4.8 ระยะเวลาที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน (feast/famine time) ในช่วงการทดลองที่ 2 ของ Reactor-5d Reactor-10d และ Reactor-20d มีความแตกต่างกัน พิจารณาหลังจากช่วงระยะเวลาขาดแคลนอาหารของระบบเริ่มมีแนวโน้มคงที่ Reactor-5d และ Reactor-10d มีระยะเวลาที่มีอาหารเกินพอและขาดแคลนอาหารเท่ากับ 18 และ 30 ชั่วโมง ในขณะที่ Reactor-20d มีระยะเวลาที่มีอาหารเกินพอและขาดแคลนอาหารเท่ากับ 42 และ 6 ชั่วโมงตามลำดับ

เมื่อพิจารณาอัตราส่วนระหว่างระยะเวลาที่มีอาหารเกินพอต่อระยะเวลาวัฏจักรของทั้ง 3 reactor พบว่า Reactor-20d มีค่าเท่ากับ 87.5 % ในขณะที่ Reactor-3d และ Reactor-5d มีค่าเท่ากับ 37.5 % (ตารางที่ 4.8) Dionisi และคณะ (2007) และ Valentino และคณะ (2014) ทำการศึกษาเกี่ยวกับอัตราส่วนระยะเวลาที่มีอาหารเกินพอ (feast phase length) ต่อระยะเวลาวัฏจักร (cycle length time) พบว่าการที่อัตราส่วนระยะเวลาที่มีอาหารเกินพอต่อรอบวัฏจักรมีค่าน้อย สามารถสนับสนุนการสะสมฟิเอซเอของจุลินทรีย์ได้ดีขึ้น โดยอัตราส่วนระยะเวลาที่มีอาหารเกินพอต่อระยะเวลาวัฏจักรที่ส่งผลให้จุลินทรีย์สามารถสะสมฟิเอซเอได้ดีที่สุดคือ ควรมีค่าไม่เกิน 20% และความสามารถในการสะสมฟิเอซเอจะลดลงตามค่าอัตราส่วนระยะเวลาที่มีอาหารเกินพอต่อระยะเวลาวัฏจักรที่เพิ่มมากขึ้น เมื่อพิจารณาจากทั้ง 3 Reactor พบว่า Reactor-10d ที่มีอัตราส่วนระยะเวลาที่มีอาหารเกินพอต่อระยะเวลาวัฏจักรเท่ากับ 37.5% ซึ่งน้อยกว่า Reactor-20d ที่มีค่า

เท่ากับ 87.5% ปัจจัยดังกล่าวอาจเป็นเหตุผลให้ Reactor-20d จึงมีการสะสมพีเอชเอที่น้อยกว่า Reactor-10d

Moralejo และคณะ (2013) และ Jiang และคณะ (2011a) กล่าวถึงการมีอัตราส่วนจำนวนรอบวัฏจักรต่อค่าอายุตะกอน (the number of cycle per SRT) ควรมีย่าน้อย กล่าวคือเป็นการเดินระบบด้วยระยะเวลาวัฏจักรที่ค่อนข้างนาน ส่งผลให้มีระยะเวลาขาดแคลนอาหารอย่างเห็นได้ชัด นอกจากนี้ระบบที่มีระยะเวลาขาดแคลนอาหารที่ยาวนานนั้น ส่งผลให้ระบบมีการเริ่มต้นรอบวัฏจักรใหม่ด้วยอัตราส่วนสารอาหารต่อจุลินทรีย์ (F/M ratio) ที่สูงขึ้น ซึ่งเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่สนับสนุนจุลินทรีย์ให้มีการสะสมพีเอชเอได้ดี เมื่อพิจารณาที่ Reactor-10d พบว่ามีค่าอัตราส่วนจำนวนรอบวัฏจักรต่อค่าอายุตะกอน คือ 5 รอบต่อค่าอายุตะกอนตามลำดับ ในขณะที่ Reactor-20d มีค่ามากที่สุด เท่ากับ 10 รอบต่อค่าอายุตะกอน ซึ่งอาจเป็นสาเหตุให้ Reactor-10d มีสถานะที่เหมาะสมแก่การกระตุ้นการสะสมพีเอชเอของจุลินทรีย์ได้เด่นชัดกว่า Reactor-20d

Moita และ Lemos (2012) ทำการเดินระบบที่ค่าอายุตะกอนสูง (10 วัน) แล้วจึงลดลงเหลือ 5 วัน เพื่อให้มีค่า specific substrate utilization rate ที่ดีขึ้น การลดค่าอายุตะกอนลงส่งผลให้ความสามารถในการใช้สารอาหารของตะกอนจุลินทรีย์รวดเร็วขึ้น การที่ค่า specific substrate utilization rate ดีขึ้นช่วยกระตุ้นให้จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้ดี ในขณะที่ Dias และคณะ (2006) และ Lemos และคณะ (2008) กล่าวว่าทางเลือกใช้ค่าอายุตะกอนต่ำทำให้จุลินทรีย์มีการใช้สารอาหารที่เร็วขึ้น แต่ความสามารถในการสะสมพีเอชเอต่ำ เนื่องจากจุลินทรีย์ใช้สารอาหารในการเจริญเติบโตมากกว่าการใช้สารอาหารเพื่อสะสมเป็นพีเอชเอ จึงสนับสนุนการใช้ค่าอายุตะกอนสูงในการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการสะสมพีเอชเอ ด้วยเหตุนี้งานวิจัยนี้ไม่สามารถกล่าวถึงข้อสรุปเกี่ยวกับค่าอายุตะกอนต่อความสามารถในการสะสมพีเอชเอของจุลินทรีย์ได้อย่างแน่ชัด แต่ด้วยค่าอายุตะกอนที่แตกต่างกัน สามารถคัดเลือกให้จุลินทรีย์มีความสามารถในการใช้สารอาหารที่แตกต่างกันไป โดย Reactor-5d จุลินทรีย์ใช้สารอาหารได้เร็วที่สุด พิจารณาจากค่า specific substrate utilization rate ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.205 gCOD/gMLSS-hr ในขณะที่จุลินทรีย์ที่สะสมพีเอชเอได้ดีที่สุดคือ Reactor-10d ที่มีค่า specific substrate utilization rate เท่ากับ 0.0907 gCOD/gMLSS-hr

จะเห็นได้ว่ายังคงไม่สามารถสรุปได้อย่างชัดเจนในเรื่องของการเลือกใช้ค่าอายุตะกอนที่เหมาะสมสำหรับการสะสมพีเอชเอของจุลินทรีย์ เนื่องจากค่าอายุตะกอน สามารถส่งผลต่อปัจจัยอื่นที่หลากหลาย ได้แก่ ระยะเวลาที่มีอาหารเกินพอ (feast phase length) ช่วงเวลาการขาดแคลนอาหาร (famine phase length) specific substrate utilization rate รวมถึงปัจจัยต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 4.8 ในงานวิจัยนี้ผลพีเอชเอมีความแตกต่างกันตามค่าอายุตะกอนที่เลือกใช้ สำหรับค่าอายุตะกอนที่จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้ดีที่สุดคือ 10 วัน (Reactor-10d) รองลงมาคือ 20 วัน (Reactor-20d) และ 5 วัน (Reactor-5d) ทั้งนี้สามารถสังเกตได้อย่างชัดเจนจากผลของระยะเวลามีอาหารเกินของ Reactor-10d น้อยกว่า Reactor-20d ค่อนข้างมากซึ่งคาดว่าน่าจะเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อปริมาณพีเอชเอที่จุลินทรีย์สามารถสะสมได้แตกต่างกันในแต่ละค่าอายุตะกอน แต่ค่าจลนพลศาสตร์ของค่าอายุตะกอน 5 วัน (Reactor-5d) และ 10 วัน (Reactor-10d) มีความใกล้เคียงกัน แต่ปริมาณพีเอชเอสูงสุดที่สะสมได้มีความแตกต่างกัน อาจเป็นผลเนื่องมาจากชนิดของกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีความแตกต่างกัน ความสามารถในการสะสมพีเอชเอจึงต่างกัน

4.4.3 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์

จากการศึกษากลุ่มประชากรจุลินทรีย์พบว่ากลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในท้ายช่วงการทดลองที่ 1 เปลี่ยนแปลงไปจากกลุ่มจุลินทรีย์เมื่อเริ่มต้นระบบ เมื่อเปรียบเทียบกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในแต่ละค่าอายุตะกอนดังตารางที่ 4.9 พบว่ามี genus สูงสุดที่แตกต่างกัน ทั้งนี้คาดว่า เป็นผลมาจากการคัดเลือกตะกอนจุลินทรีย์ด้วยค่าอายุตะกอนต่างกัน ชนิดของจุลินทรีย์ที่พบจึงแตกต่างกันในแต่ละถังปฏิกรณ์

ตารางที่ 4. 9 genus ของแบคทีเรียที่มีความเด่นชัดท้ายช่วงการทดลองที่ 1

	Reactor		
	Reactor-5d	Reactor-10d	Reactor-20d
genus (% ที่พบ)	<i>Brevundimonas spp.</i> (10.547)	<i>Shinella spp.</i> (12.969)	<i>Defluviobacter spp.</i> (48.102)
	<i>Leptolyngbya spp.</i> (7.204)	<i>Mycoplasma spp.</i> (8.982)	<i>Dokdonella spp.</i> (6.985)
	<i>Xenophilus spp.</i> (5.617)	<i>Xenophilus spp.</i> (7.111)	<i>Devosia spp.</i> (6.435)
	<i>Pseudoxanthomonas spp.</i> (5.544)	<i>Devosia spp.</i> (6.263)	<i>Rhodovulum spp.</i> (3.702)
	<i>Mycoplasma spp.</i> (3.993)	<i>Hydrogenophaga spp.</i> (4.856)	<i>Agrobacterium spp.</i> (2.56)

จากผลการศึกษากลุ่มประชากรจุลินทรีย์ของช่วงที่มีปริมาณพีเอชเอสะสมสูงสุดพบว่า genus ที่พบในแต่ละค่าอายุตะกอนมีแนวโน้มที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 4.10) โดย *Brevundimonas* *Agrobacterium* และ *Achromobacter* เป็น genus ซึ่งงานวิจัยที่ผ่านมาได้สรุปว่ามีความสามารถในการสะสมพีเอชเอได้

ตารางที่ 4. 10 genus แบคทีเรียที่มีความเด่นชัดในช่วงที่มีปริมาณพีเอชเอสูงสุด

	Reactor		
	Reactor-5d	Reactor-10d	Reactor-20d
genus (% ที่พบ)	<i>Mycoplasma spp.</i> (31.716)	<i>Mycoplasma spp.</i> (26.889)	<i>Defluviobacter spp.</i> (14.19)
	<i>Agrobacterium spp.</i> (5.025)	<i>Oceanicaulis spp.</i> (2.026)	<i>Devosia spp.</i> (10.765)
	<i>Brevundimonas spp.</i> (3.327)	<i>Achromobacter spp.</i> (2.026)	<i>Achromobacter spp.</i> (6.863)
	<i>Shinella spp.</i> (3.167)	<i>Devosia spp.</i> (1.702)	<i>Mycoplasma spp.</i> (6.119)
	<i>Devosia spp.</i> (1.436)	<i>Defluviobacter spp.</i> (1.705)	<i>Brevundimonas spp.</i> (5.913)

ทั้งนี้ จะเห็นได้ว่าการเดินระบบด้วยค่าอายุตะกอนต่างๆ ทำให้เกิดการคัดเลือกกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่มีลักษณะแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามความสามารถในการสะสมพีเอชเอยังคงใกล้เคียงกัน จึงอาจกล่าวได้ว่ากลุ่มจุลินทรีย์ไม่ใช่ปัจจัยหลักเพียงปัจจัยเดียวที่ส่งผลถึงความสามารถในการสะสมพีเอชเอ หากแต่ขึ้นอยู่กับสภาวะที่เลือกใช้ในการเดินระบบและปัจจัยต่างๆรวมกันจึงทำให้มีการสะสมพีเอชเอในปริมาณที่สูง

เนื่องจากการสะสมพีเอชเอของจุลินทรีย์เป็นความสามารถที่จุลินทรีย์ทั่วไปสามารถทำได้และปริมาณพีเอชเอที่สะสมได้จะสูงขึ้นหลังจากจุลินทรีย์ผ่านการกระตุ้นด้วยวิธีต่างๆ โดยมีจุลินทรีย์มากกว่า 300 สายพันธุ์ที่พบว่าสามารถสะสมพีเอชเอได้ (Anderson Dawes, 1990, Dias และคณะ, 2006) ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่ากลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในงานวิจัยนี้มีความสามารถในการสะสมพีเอชเอได้เนื่องจากการกระตุ้นด้วยวิธีการมีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน และกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมพีเอชเอได้สูงที่สุดประกอบด้วยแบคทีเรียกลุ่ม *Oceanicaulis spp.* *Achromobacter spp.* *Devosia spp.* และ *Defluviobacter spp.* ใน Reactor-10d

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาผลของอายุตะกอนต่อการผลิตพีเอชเอของจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมโดยการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลนที่ค่าอายุตะกอน 3 5 10 และ 20 วัน ด้วยระบบด้วยถังปฏิกรณ์แบบ Sequencing Batch Reactor (SBR) โดยสารอาหารที่เติมให้แก่ระบบคือน้ำเสียสังเคราะห์ที่เตรียมขึ้นจากอะซีเตท พบว่าที่ค่าอายุตะกอน 10 วัน จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้ดีที่สุดคือ 62.2 %gPHA/gMLSS (66.28 %gPHA/gMLVSS) ที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้ดีที่สุดคือ 40.87 %gPHA/gMLSS (44.22 %gPHA/gMLVSS) และที่ค่าอายุตะกอน 5 วัน จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้เท่ากับ 25.24 %gPHA/gMLSS (27.24 %gPHA/gMLVSS) โดยมีปริมาณพีเอชเอสูงสุดของแต่ละรอบวัฏจักรเฉลี่ยเท่ากับ 26.242 ± 15.172 32.642 ± 23.470 และ 27.618 ± 11.516 %gPHA/gMLSS สำหรับค่าอายุตะกอน 5 10 และ 20 วัน ตามลำดับ

การเดินระบบด้วยค่าอายุตะกอนต่าง ๆ ส่งผลให้เกิดการคัดเลือกกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่มีลักษณะแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามความสามารถในการสะสมพีเอชเอนั้นยังคงใกล้เคียงกัน โดยกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมพีเอชเอได้ที่อายุตะกอน 5 วัน คือ *Brevundimonas spp.* และ *Agrobacterium* ที่อายุตะกอน 10 วัน คือ *Oceanicaulis spp.* *Achromobacter spp.* *Devosia spp.* และ *Deftuvibacter spp.* ที่อายุตะกอน 20 วัน คือ *Achromobacter spp.* และ *Brevundimonas spp.* อย่างไรก็ตามยังมีปัจจัยอื่นๆ เป็นผลมาจากค่าอายุตะกอน เช่น ค่าทางจุลนศาสตร์ ซึ่งอาจส่งผลต่อปริมาณพีเอชเอที่จุลินทรีย์ผลิตได้เช่นกัน

5.2 การประยุกต์ใช้งานทางด้านวิศวกรรมและสิ่งแวดล้อม

เนื่องด้วยระบบบำบัดน้ำแบบ activated sludge มีประสิทธิภาพสูงในการบำบัดสารอินทรีย์ จึงเป็นระบบหนึ่งที่โรงงานอุตสาหกรรมหลากหลายประเภทนิยมใช้ กระบวนการทำงานของระบบคือรับน้ำเสียที่มีสารอินทรีย์เข้าสู่ถังเติมอากาศเพื่อให้จุลินทรีย์ใช้สารอินทรีย์จนค่าซีโอดีลดลง จากนั้นปล่อยให้เกิดการตกตะกอน นำน้ำใสออกและกำจัดตะกอนส่วนเกินออกจากระบบ ในงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาเพื่อเป็นส่วนเพิ่มเติมระบบจากเดิม ซึ่งสามารถประยุกต์ใช้กับระบบบำบัดแบบเดิมได้ 2 ลักษณะคือ (1) นำตะกอนส่วนเกินจากระบบบำบัดจากเดิมที่ไม่ใช้ประโยชน์มาเลี้ยงด้วยสารอินทรีย์ด้วยอายุตะกอนที่เหมาะสมและกระตุ้นให้อยู่ในสถานะที่เหมาะสมสำหรับการสะสมพีเอชเอ และ (2) การปรับให้ระบบมีค่าอายุตะกอนเท่ากับ 10 วัน ซึ่งเป็นค่าอายุตะกอนที่มีความเหมาะสมในการสะสมพีเอชเอของจุลินทรีย์ และนำตะกอนส่วนเกินจากระบบมากระตุ้นให้เกิดสภาวะมีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลนประมาณ 5 – 8 รอบการเดินระบบ ซึ่งเป็นระยะเวลาที่จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้ดี หลังจากนั้นจึงนำจุลินทรีย์ไปสกัดเพื่อใช้ประโยชน์ด้านพลาสติกชีวภาพต่อไป

ถึงแม้ว่าพีเอชเอที่จุลินทรีย์สะสมได้จากงานวิจัยนี้มีปริมาณไม่สูงมากเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่นที่ใช้เวลาในการคัดเลือกจุลินทรีย์ค่อนข้างยาวนานและค่าอายุตะกอนที่ต่ำมาก แต่ด้วยระยะเวลาที่ใช้ในการกระตุ้นไม่ยาวนานและค่าอายุตะกอนที่สามารถเดินระบบได้ค่อนข้างง่ายของงานวิจัยนี้เป็นจุดเด่นทำให้มีความเหมาะสมเป็นอย่างยิ่งสำหรับการประยุกต์ใช้ร่วมกับระบบบำบัดน้ำเสียเดิมเพื่อเพิ่มมูลค่าและประโยชน์ที่ได้จากการสะสมพลาสติกชีวภาพของจุลินทรีย์

5.3 ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของอายุตะกอนต่อการผลิตโพลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอต (พีเอชเอ) ด้วยจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมในสภาวะมีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน จากผลการวิจัยพบว่าจุลินทรีย์ที่ถูกคัดเลือกด้วยค่าอายุตะกอน 10 วัน มีผลการสะสมพีเอชเอได้ดีกว่าจุลินทรีย์ที่ถูกคัดเลือกด้วยค่าอายุตะกอน 5 และ 20 วัน ซึ่งจากการศึกษาข้างต้น พบปัญหาและมีข้อเสนอแนะเพิ่มเติมสำหรับงานวิจัยในอนาคตดังนี้

1. การเลี้ยงตะกอนจุลินทรีย์ควรเริ่มด้วยความเข้มข้นสารอินทรีย์ที่ไม่สูงมาก และในช่วงแรกของการเริ่มเดินระบบควรทำการตรวจวัดซีโอดีให้บ่อยขึ้นเพื่อป้องกันการเกิดปัญหาความเข้มข้นซีโอดีสะสมในระบบสูง

2. หลังจากช่วงที่ระบบเกิดสภาวะมีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลนแล้วควรทำการศึกษาต่อด้วยการให้อาหารแบบกึ่งเท (fed-batch) ซึ่งเป็นการศึกษาความสามารถสูงสุดในการสะสมพีเอชเอของจุลินทรีย์ที่ผ่านการกระตุ้นแล้ว ซึ่งอาจได้ปริมาณพีเอชเอที่สูงขึ้นเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในเชิงปริมาณ

รายการอ้างอิง

- Abdelhad, M. H., Hafez, A. M. A., El-sayed, A. A. and Khodair, A. T. 2009. Copolymer [P(HB-CO-HV)] production as affected by strains and fermentation techniques. Applied sciences research. 5(4):343-53.
- Albuquerque, M. G. E., Eiroa, M., Torres, C., Nunes, B. R. and Reis, M. A. M. 2007. Strategies for the development of a side stream process for polyhydroxyalkanoate (PHA) production from sugar cane molasses. Journal of biotechnology. 130:411-21.
- Anderson, A. J. and Dawes, E. A. 1990. Occurrence, metabolism, metabolic role, and industrial uses of bacterial polyhydroxyalkanoates. Microbiology Reviews. 54:450-72.
- Beccari, M., Bertin, L., Dionisi, D., Fava, F., Lampis, S., Majone, M., Valentino, F., Vallini, G. and Villano, M. 2009. Exploiting olive oil mill effluents as a renewable resource for production of biodegradable polymers through a combined anaerobic-aerobic process. Journal of chemical technology and biotechnology. 84:901-8.
- Bengtsson, S., Werker, A., Christensson, M. and Welander, T. 2008. Production of polyhydroxyalkanoates by activated sludge treating a paper mill wastewater. Bioresource technology. 99:509-16.
- Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Walters, W. A., Berg-Lyons, D., Lozupone, C. A., Turnbaugh, P. J., Fierer, N. and Knight, R. 2011. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. PNAS. 108:4516-22.
- Carole, T. M., Pellegrino, J. and Paster, M. D. 2004. Opportunities in the industrial biobased products industry. Applied biochemistry and biotechnology. 113:871-85.
- Chiellini, E. and Solaro, R. 2003 Biodegradable polymers and plastics. New York: Kluwer academic/plenum publishers.
- Coats, R. E., Loge, J. F., Smith, A. W., Thompson, N. D. and Wolcott, P. M. 2007. Functional stability of a mixed microbial consortium producing PHA from

- waste carbon sources. Applied biochemistry and biotechnology. 136-140:909-16.
- Derya, B. H., Ebru, K. and Baki, H. 2012. Poly(3-hydroxyalkanoate)s: Diversification and biomedical applications A state of the art review. Materials Science and Engineering C. 32:637-47.
- Dias, J. M. L., Lemos, P. C., Serafim, L. S., Oliveira, C., Eiroa, M., Albuquerque, M. G. E., Ramos, A. M., Oliveira, R. and Reis, M. A. M. 2006. Recent advances in polyhydroxyalkanoate production by mixed cultures: from the substrate to the final production. Macromolecular bioscience. 6:885-906.
- Din, M. F. M., Ujang, Z., van Loosdrecht, M. C. M., 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 and technology. 85:569-79.
- Dionisi, D., Majone, M., Vallini, G., Gregorio, S. D. and Beccari, M. 2007. Effect of the length of the cycle on biodegradable polymer production and microbial community selection in a sequencing batch reactor. Biotechnology. 23:1064-73.
- Dionisi, D., Beccari, M., Gregorio, D. S., Majone, M., Papini, P. M. and Vallini, G. 2005a. Storage of biodegradable polymers by an enriched microbial community in a sequencing batch reactor operated at high organic load rate. Chemical technology and biotechnology. 80:1306-18.
- Dionisi, D., Carucci, G., Papini, M. P., Riccardi, C., Majone, M. and Carrasco, F. 2005b. Olive oil mill effluents as a feedstock for production of biodegradable polymers. Water Research. 39:2076-84.
- Etienne, P. and Yu, L. 2012 Biological sludge minimization and biomaterials/bioenergy recovery technologies. NJ: Wiley.
- Ilke, P. O., Ateequr, R., Nevin, Y., Emine, U. C., Daniel, J. and Derin, O. 2012. Characteristics of mixed microbial culture at different sludge ages: effect on variable kinetics for substrate utilization. Bioresourc trchnology. 126:274-82.
- Jiang, Y., Marang, L., Kleerebezem, R., Muyzer, G. and Van Loosdrecht, M. C. M. 2011a. Effect of temperature and cycle length on microbial competition in PHB-

- producing sequencing batch reactor. International Society for Microbial Ecology. 5:896-907.
- Jiang, Y., Marang, L., Kleerebezem, R., Muyzer, G. and Van Loosdrecht, M. C. M. 2011b. Polyhydroxybutyrate production from lactate using a mixed microbial culture. Biotechnology and bioengineering. 108:2022-35.
- Jiang, Y., Marang, L., Tamis, J., van Loosdrecht, M. C. M., Dijkman, H. and Kleerebezem, R. 2012. Waste to resource: converting paper mill wastewater to bioplastic. Water research. 46:5517-30.
- Johanna, A. S., Lorena, M. T., Jose, B., Felix, G. and Miguel, A. M. 2007. Biosynthesis of poly-beta-hydroxyalkanoate by *Brevundimonas vesicularis* LMG P-23615 and *Sphingopyxis macrogoltabida* LMG 17324 using acid-hydrolyzed sawdust as carbon source. The society for biotechnology. 103:542-6.
- Johnson, K., Kleerebezem, R. and Van Loosdrecht, M. C. M. 2010. Influence of the C/N ratio on the performance of polyhydroxybutyrate (PHB) producing sequencing batch reactors at short SRTs. Water research. 44:2141-52.
- Johnson, K., Jiang, Y., Kleerebezem, R., Muyzer, G. and van Loosdrecht, M. C. M. 2009. Enrichment of a mixed bacterial culture with a high polyhydroxyalkanoate storage capacity. Biomacromolecules. 10:670-6.
- Kumar, M. S., Mudliar, S. N., Reddy, K. M. K. and Chakrabarti, T. 2004. Production of biodegradable plastics from activated sludge generated from a food processing industrial wastewater treatment plant. Bioresource technology. 95:327-30.
- Lemos, P. C., Serafim, L. S. and Reis, M. A. M. 2006. Synthesis of polyhydroxyalkanoates from different short-chain fatty acids by mixed cultures submitted aerobic dynamic feeding. Biotechnology. 122:226-38.
- Lemos, P. C., Levantesi, C., Serafim, L. S., Rossetti, S., Reis, M. A. M. and Tandoi, V. 2008. Microbial characterization of polyhydroxyalkanoates storing populations selected under different operating conditions using a cell-sorting RT-PCR approach. Environmental biotechnology. 78:351-60.
- Liu, H. Y. e. a. 2008. Production of polyhydroxyalkanoate during treatment of tomato cannery wastewater. Water environmental research. 80:367-72.

- Liu, Z. e. a. 2011. Optimization of polyhydroxybutyrate (PHB) production by excess activated sludge and microbial community analysis. Hazardous materials. 185:8-16.
- Moita, R. and Lemos, P. C. 2012. Biopolymers production from mixed cultures and pyrolysis by-products. Biotechnology. 157:578-83.
- Moralejo, G. H., Palmeiro, S. T., Kleerebezem, R., Mosquera, C. A., Luis, C. J. and van Loosdrecht, M. C. M. 2013. Influence of the cycle length on the production of PHA and polyglucose from glycerol by bacterial enrichments in sequencing batch reactors. Biotechnology and bioengineering. 9999.
- Ojumu, T. V., Yu, J. and Solomon, B. O. 2004. Production of polyhydroxyalkanoates, a bacterial biodegradable polymer. Biotechnology. 3:18-24.
- Ratledge, C. and Kristiansen, B. 2001 Basic Biotechnology. UK: Cambridge university press.
- Reddy, C. S. K., Ghai, R. and Kalia, R. V. C. 2003. Polyhydroxyalkanoate : an overview. Bioresource technology. 87:137-46.
- Rosa, D. S., Lotto, N. T., Lopes, D. R. and Guedes, C. G. F. 2004. The use of roughness for evaluating the biodegradation of poly-beta-(hydroxybutyrate) and poly-beta-(hydroxybutyrate-co-beta-valerate). Polymer testing. 23:3-8.
- S.T., W., Lin, Y. C. and Too, J. R. 2009. Continuous production of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate): effects of C/N and dilution rate on HB/HV ratio. Chemical engineering. 26:411-6.
- Salehizadeh, H. and van Loosdrecht, M. C. M. 2004. Production of polyhydroxyalkanoates by mixed culture: recent trends and biotechnological importance. Biotechnology advances. 22:261-79.
- Serafim, L. S., Lemos, P. C., Oliveira, R. and Reis, M. A. M. 2004. Optimization of polyhydroxybutyrate production by mixed cultures submitted to aerobic dynamic feeding conditions. Biotechnology and Bioengineering. 87:145-60.
- Shah, A. A., Hasan, F., Hameed, A. and Ahmed, S. 2008. Biological degradation of plastics: a comprehensive review. Biotechnology advances. 26:246-65.
- Tatiana Volova. 2004 Polyhydroxyalkanoates plastic material of the 21st century 2004. New York: Publishers, Inc.

- Valentino, F., Beccari, M., Fraraccio, S., Zanaroli, G. and Majone, M. 2014. Feed frequency in a sequencing batch reactor strongly affects the production of polyhydroxyalkanoates (PHAs) from volatile fatty acids. New biotechnology. 31:264-75.
- Villano, M., Beccari, M., Dionisi, D., Lampis, S., Micheli, 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. 45:714-23.
- Witholt, B. and Kessler, B. 1999. Perspectives of medium chain length poly (hydroxyalkanoates), a versatile set of bacterial bioplastics. Current opinion in biology. 10:279-85.
- Yu, P. H., Chua, H., Huang, L. A., Lo, W. and Chen, G. Q. 1998. Conversion of food industrial wastes into bioplastics. Applied biochemistry and biotechnology. 70-72:603-14.
- ทศุติยาภรณ์ สุดาจิต. 2548 ผลของสภาวะการเดินระบบที่มีผลต่อการผลิตสารโพลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอท ในภาคตะกอนระบบบำบัดน้ำเสียโรงงานสุราแบบที่ใช้ไมโครฟิลเตรชันเมมเบรนในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ศิริวรรณ ระเด่นอาหมัด. 2552. สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรต-โค-ไฮดรอกซีวาลेरูตจากน้ำเสียโรงงานอาหารทะเลโดยใช้แบคทีเรียที่แยกได้จากระบบเอสปีอาร์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- อัมทิกา เมืองวงษ์. 2553. การผลิตพอลิไฮดรอกซีแอลคาโนเอตโดยใช้ของเสียอินทรีย์จากกระบวนการผลิตไบโอดีเซล. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.



ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวก ก
วิธีการตรวจวัดปริมาณพีเอชเอ



วิธีการวิเคราะห์ปริมาณพีเอชเอ

หลังจากการเก็บตัวอย่างและสกัดพีเอชเอให้อยู่ในสารละลายคลอโรฟอร์มและ Internal standard ตามวิธีในบทที่ 3 แล้วนั้น นำตัวอย่างที่ได้มาตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatography ซึ่งมีสถานะในการวิเคราะห์ (ปรับปรุงจาก อัมตिका เมืองวงษ์, 2553) ดังนี้

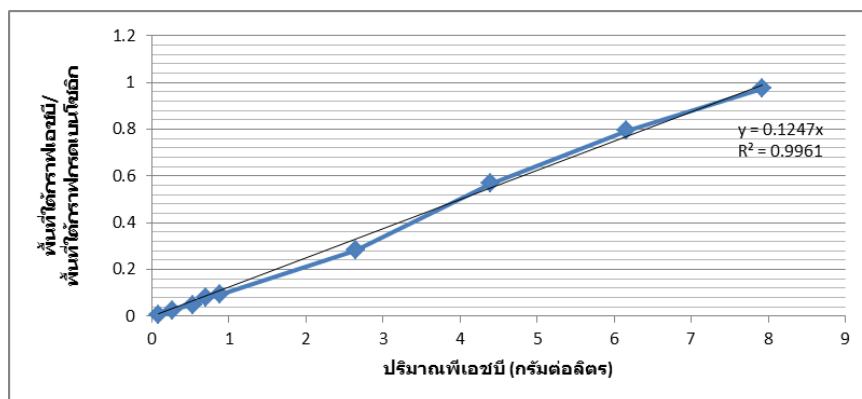
ชนิดคอลัมน์	แคปพิลลารีคอลัมน์ชนิด cabowax-PEG ขนาด 60 m × 0.25 mm ID × 25 μm Df
อุณหภูมิ injector	250 องศาเซลเซียส (isothermal)
อุณหภูมิ column	130 องศาเซลเซียส 6 นาที และเพิ่มอุณหภูมิเป็น 180 องศาเซลเซียส ด้วยอัตรา 5 องศาเซลเซียสต่อนาที แล้วรักษาอุณหภูมิไว้ที่ 180 องศาเซลเซียส
อุณหภูมิ detector (FID)	250 องศาเซลเซียส (isothermal)
split ratio	50 : 1
ก๊าซตัวพา (carrier gas)	ก๊าซฮีเลียม อัตราการไหล 2 มิลลิลิตรต่อนาที
ปริมาตรฉีด	1 ไมโครลิตร

วิธีการคำนวณปริมาณโมนอเมอร์พีเอชเอ

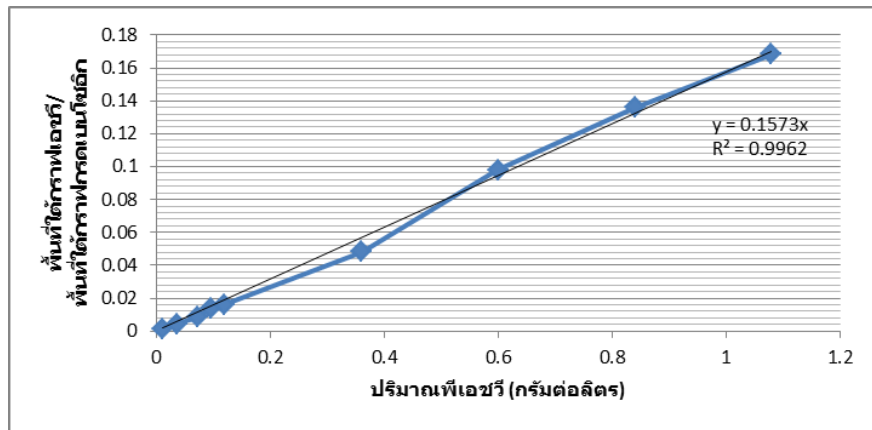
$$\text{ปริมาณโมนอเมอร์ของพีเอชเอ} = \frac{\text{พื้นที่ใต้กราฟของโมนอเมอร์}}{\text{พื้นที่ใต้กราฟของ Internal standard}}$$

$$\text{ปริมาณพีเอชเอ (กรัมต่อลิตร)} = \frac{\text{ปริมาณโมนอเมอร์} \times \text{ปริมาณคลอโรฟอร์ม} \times \text{MLSS}}{\text{ปริมาณเซลล์ที่ใช้ในการสกัด}}$$

กราฟมาตรฐานพีเอชบีและพีเอชบีแสดงดังภาพที่ ก-1 และ ก-2 ตามลำดับ



ภาพที่ ก-1 กราฟมาตรฐานพีเอชบี



ภาพที่ ก-2 กราฟมาตรฐานเฟอซวี



ภาคผนวก ข
ผลการทดลอง



ตาราง ข-1 ผล COD MLSS Reactor-3d

รอบวัฏจักร	ชั่วโมงที่ (ในรอบวัฏจักร)	COD (mg/l)	MLSS (mg/l)
1	0	2,992	2,965
	3	2,920	2,950
	6	2,816	2,910
	9	2,816	3,080
	12	2,816	2,990
	15	1,654	3,560
	18	-	-
	21	1,508	3,040
	24	352	3,000
2	0	2,640	1,720
	24	498	1,664
3	0	2,667.5	1,430
	24	333.4	-
4	0	2,670	1,120
	24	340	1,270
5	0	3,334.4	805
	24	333	955
6	0	2,670	575
	24	333.4	1,000
7	0	3,000.9	675
	24	345	730
8	0	2,849.2	390
	3	1,831.6	440
	6	1,594.24	450
	9	1,594.24	520
	12	1,492.48	520
	15	848	800
	18	848	750
	21	576	640
	24	500	600

ตารางที่ ข-2 ผล Reactor-5d

รอบวัฏจักร	ชั่วโมงที่ (ในรอบวัฏจักร)	COD (mg/l)	MLSS (mg/l)	หมายเหตุ
1	0	2,652	3,105	
	3	680	3,475	
	6	120	3,650	
	9	120	3,645	
	12	60	3,505	
	15	48	3,408	
	18	24	3,400	
	21	24	3,425	
	24	24	3,415	
2	0	2,768	3,135	
	24	48	3,450	
3	0	3,209	3,280	
	24	1,795.2	4,400	
4	0	3,182.4	3,320	
	24	1,795.2	3,800	
5	0	4,080	3,500	
	24	2,121.6	4,000	
6	0	4,161.6	3,720	
	24	2,611.2	4,580	
7	0	4,732.8	4,020	
	24	3,835.2	4,800	
8	0	5,100	4,280	
	3	5,000	4,380	
	6	4,896	4,820	
	9	4,650	4,900	
	12	4,488	4,670	
	15	4,400	4,450	
	18	4,324.8	4,400	
	21	4,324.8	4,320	
	24	-	-	
9	0	3,264	3,060	DO = 0.6
	24	1,876.8	3,160	

ตารางที่ ข-2 ผล Reactor-5d (ต่อ)

รอบวัฏจักร	ชั่วโมงที่ (ในรอบวัฏจักร)	COD (mg/l)	MLSS (mg/l)	หมายเหตุ
10	0	4161.6	2,688.5	DO = 2.62
	24	1,840	2,450	
11	0	1,760	2,115.3	
	24	400	1,615.38	
12	0	400	1,360	DO = 5.3
	24	240	1,150	
13	0	2,800	1,053.5	DO = 6.7
	24	400	2,420	
14	0	320	1,470	
	24	320	1,200	
15	0	156.8	683	DO = 5
	24	156.8	550	
16	0	2,940	500	
	24	392	1,471.4	
17	0	235.2	1,234.3	
	24	230.88	916.66	
18	0	2,950	900	
	24	230.88	1,465.9	
19	0	3,020	1,233.33	
	24	230.88	1,472.22	
20	0	2,950	1,327.58	
	24	538.72	1,375	
21	0	3,010	1,223.68	
	24	1,421	826.3	
22	0	3,366	765.3	
	24	2,543.2	700	
23	0	4,114	650	
	24	3,600	1,000	
24	0	5,580	900	
	24	3,816	1,020	
25	0	5,580	870	
	24	3,816	1,120	

ตารางที่ ข-2 ผล Reactor-5d (ต่อ)

รอบวัฏจักร	ชั่วโมงที่ (ในรอบวัฏจักร)	COD (mg/l)	MLSS (mg/l)
26	0	5,760	1,000
	24	4,835	1,030
27	0	6,120	979
	24	5,200	908.16
28	0	8,800	660
	24	7,200	760
29	0	7,200	760
	24	6,800	700
30	0	6,800	700
	24	6,200	496.55
31	0	7,600	450
	24	6,400	581.25
32	0	6,400	581.25
	24	6,111.6	586.04
33	0	6,111.6	586.04
	24	5,556	482.92
34	0	5,556	482.92
	24	5,556	448
35	0	3,218	400
	24	2,592.8	860.46
	48	555.6	1,502.22
36	0	2,975	1,058.53
	24	926	1,297.56
	48	545.56	1,482.9
37	0	2,909.12	1,251.28
	24	1,090.92	1,263.15
	48	181.82	1,419.5
38	0	2,909.12	995.12
	24	1,272.74	1,195.7
	48	181.82	1,260.4
39	0	2,909.12	891.8
	24	909.1	1,136.36
	48	181.82	1,240

ตารางที่ ข-2 ผล Reactor-5d (ต่อ)

รอบวัฏจักร	ชั่วโมงที่ (ในรอบวัฏจักร)	COD (mg/l)	MLSS (mg/l)
40	0	3,010	680
	24	1,923	780.9
	48	961.5	804.54
41	0	3,200	482.92
	24	2,884.5	652.63
	48	1,153.8	710.2
42	0	3,269.1	614.28
	24	3,076.8	745.83
	48	2,499.9	900
43	0	3,560	440.9
	24	3,184.7	548.83
	48	2,778.16	850
44	0	3,100	420
	24	2,710.4	517.07
	48	2,507.12	655.56
45	0	2,778.16	357.14
	24	2,371.6	429.41
	48	1,965.04	435
46	0	2,809.04	336.84
	24	2,539.68	395.55
	48	2,424.24	400
47	0	2,424.24	400
	24	2,385.76	415
	48	2,193.36	433.33
48	0	2,193.36	433.33
	24	2,123.52	435
	48	1,971.84	445.45
49	0	1,971.84	445.45
	24	1,592.64	450
	48	1,365.12	475
50	0	1,820	277.55
	24	-	-

ตารางที่ ข-2 ผล Reactor-5d (ต่อ)

รอบวัฏจักร	ชั่วโมงที่ (ในรอบวัฏจักร)	COD (mg/l)	MLSS (mg/l)
51	0	-	-
	24	-	-
	48	-	-
52	0	730.56	377.5
	24	-	-
	48	-	-
53	0	144	438.88
	24	-	-
	48	-	-
54	0	72	488.89
	24	-	-
	48	-	-
55	0	1,982.4	229.41
	24	-	-
	48	-	-
56	0	-	-
	24	553.76	321.5
	48	233.52	400
57	0	-	-
	24	-	-
	48	166.8	-
58	0	1000.8	464.86
	24	-	-
	48	-	-
59	0	1,502	794.44
	24	-	-
	48	67.2	1,287.5
60	0	1,500	921.43
	24	-	-
	48	369.6	1,206.45
61	0	1,500	976.9
	24	873.6	1,120
	48	504	980.6

ตารางที่ ข-2 ผล Reactor-5d (ต่อ)

รอบวัฏจักร	ชั่วโมงที่ (ในรอบวัฏจักร)	COD (mg/l)	MLSS (mg/l)
62	0	1,434.88	654.54
	24	-	-
	48	717.44	625
63	0	1,699.2	684.61
	24	-	-
	48	226.56	1,047.61
64	0	1,500	573.9
	24	-	-
	48	75.72	730.43
65	0	1,095.04	643.47
	24	-	591.3
	48	75	740
66	0	1,500	500
	6	1,017.5	707.69
	12	701.7	716.67
	18	456.14	776.9
	24	385.9	784.6
	30	245.6	888
	36	70	1,009.9
	42	40	988
76	0	1,532	460.86
	6	1,209.88	771.42
	12	1,008.24	942.85
	18	941.02	981.81
	24	873.8	1,127.27
	30	672.16	909.09
	36	604.94	857.14
	42	604.94	790.9
77	0	1,532	550
	24	403.85	1,012.5
	48	271.8	1,256.25

ตารางที่ ข-2 ผล Reactor-5d (ต่อ)

รอบวัฏจักร	ชั่วโมงที่ (ในรอบวัฏจักร)	COD (mg/l)	MLSS (mg/l)
78	0	1,617	755.56
	24	182	817.39
	48	38.8	1,080.9
79	0	1,484.9	970
	24	38.82	1,304
	48	32	1,413.79
80	0	1,500	740
	24	38.82	1,048
	48	35	928
81	0	1,438	585.7
	24	37.7	1,021
	48	50	933.3
82	0	1,500	533.33
	24	39.2	715.78
	48	27.44	650
83	0	1,500	450
	24	35	670
	48	39	844
84	0	1,532	674.07
	24	37.7	954
	48	43	790
85	0	1,532	381.81
	24	38.82	745
	48	39	969.23
86	0	1,500	916.67
	6	717	1,138.46
	12	415.36	1,394.44
	18	37.7	1,356.25
	24	33	1,345.45
	30	33	1,330
	36	33	1,321.21
	42	33	1,318
	48	33	1,316.12

ตาราง ข-3 ผล Reactor-10d

รอบวัฏจักร	ชั่วโมงที่ (ในรอบวัฏจักร)	COD (mg/l)	MLSS (mg/l)	หมายเหตุ
1	0	2,787.6	2,995	
	3	1,212	3,375	
	6	242.4	3,670	
	9	242.4	3,545	
	12	161.6	3,485	
	15	161.6	3,485	
	18	80	3,550	
	21	25	3,500	
	24	25	3,455	
2	0	2,828	3,250	
	24	161.6	4,400	
3	0	2,747.2	4,250	
	24	242.4	5,901	
4	0	3,070.4	5,780	
	24	816	7,260	
5	0	3,590.4	7,040	
	24	1,468.8	8,320	
6	0	4,324.8	8,150	
	24	3,019	9,830	
7	0	5,100	9,760	
	24	4,080	7,860	
8	0	5,916	7,680	
	3	5,916	7,980	
	6	5,916	7,700	
	9	5,712	6,900	
	12	5,508	6,580	
	15	5,100	6,540	
	18	5,100	6,320	
	21	4,488	6,300	
	24	-	-	
9	0	4,488	5,140	DO = 0.9
	24	2,937.6	7,020	

ตารางที่ ข-3 ผล Reactor-10d (ต่อ)

รอบวัฏจักร	ชั่วโมงที่ (ในรอบวัฏจักร)	COD (mg/l)	MLSS (mg/l)	หมายเหตุ
10	0	5,304	5,196.07	DO = 2.69
	24	4,200	5,711.5	
11	0	4,080	4,500	
	24	2,480	4,000	
12	0	1,280	3,860	DO = 5.6
	24	480	3,826.9	
13	0	3,200	3,760	DO = 5.14
	24	480	4,640	
14	0	320	4,148.14	
	24	320	2,900	
15	0	313.6	2,540	DO = 5.4
	24	313	2,354.83	
16	0	2,940	2,200	
	24	313.6	3,200	
17	0	235.2	2,732	
	24	235	3,000	
18	0	2,900	2,354.8	
	24	237.84	3,617.6	
19	0	3,120	2,774.2	
	24	230	4,500	
20	0	2,963	4,316.13	
	24	230.88	5,155	
21	0	2,950	3,303	
	24	374	4,269	
22	0	3,010	3,269.8	
	24	448.8	5,111	
23	0	2,968	4,500	
	24	144	6,300	
24	0	2,950	5,625	
	24	216	6,277.7	
25	0	2,950	5,800	
	24	288	6,962.6	

ตารางที่ ข-3 ผล Reactor-10d (ต่อ)

รอบวัฏจักร	ชั่วโมงที่ (ในรอบวัฏจักร)	COD (mg/l)	MLSS (mg/l)
26	0	3,000	5,940
	24	648	6,700
27	0	2,980	6,000
	24	1,200	6,200
28	0	3,400	4,711.53
	24	1,000	6,200
29	0	3,400	5,192.3
	24	1,000	5,769.23
30	0	3,000	5,750
	24	1,200	6,400
31	0	3,200	5,800
	24	1,400	6,000
32	0	2,800	4,375
	24	740.8	4,404.75
33	0	2,985	4,200
	24	1,407.6	4,500
34	0	2,692	3,625
	24	1,850	4,000
35	0	2,963.2	3,350
	24	1,852	3,400
	48	926	3,520
36	0	3,330.6	2,547.6
	24	2,407.6	2,675
	48	1,454.56	3,613.63
37	0	3,454.58	3,229.16
	24	3,090.94	3,568.18
	48	2,727.3	3,380
38	0	4,545.5	1,833
	24	4,181.86	1,921.35
	48	3,818.22	2,005
39	0	4,909.14	1,100
	24	4,181.86	1,221.74
	48	3,818.22	2,191.48

ตารางที่ ข-3 ผล Reactor-10d (ต่อ)

รอบวัฏจักร	ชั่วโมงที่ (ในรอบวัฏจักร)	COD (mg/l)	MLSS (mg/l)
40	0	4,909	1,304.34
	24	4,590	1,354.16
	48	4,590	1,400
41	0	5,400	1,100
	24	5,010	1,244.44
	48	4,850	1,312.5
42	0	5,400	1,054.54
	24	5,110	1,098.03
	48	5,110	1,285.71
43	0	6,267.8	480
	24	6,098.4	484.61
	48	5,759.6	552
44	0	5,759.6	402
	24	5,759.6	478
	48	5,590.2	516.67
45	0	5,500	380
	24	5,488.56	440
	48	5,420.8	447.05
46	0	5,420.8	447.05
	24	5,400	450
	48	5,387.2	478.94
47	0	5,387.2	478.94
	24	5,002.4	362.5
	48	5,000	370
48	0	5,000	370
	24	4,929.6	365
	48	4,740	358.14
49	0	4,740	358.14
	24	4,360.8	372.5
	48	3,792	382.5
50	0	-	-
	24	-	-
	48	-	-

ตารางที่ ข-3 ผล Reactor-10d (ต่อ)

รอบวัฏจักร	ชั่วโมงที่ (ในรอบวัฏจักร)	COD (mg/l)	MLSS (mg/l)
51	0	-	-
	24	-	-
	48	-	-
52	0	2,830.92	273.68
	24	-	-
	48	-	-
53	0	2,304	335.29
	24	-	-
	48	-	-
54	0	2,088	497.56
	24	-	-
	48	-	-
55	0	212.4	384.61
	24	-	-
	48	-	-
56	0	-	-
	24	-	-
	48	-	-
57	0	-	-
	24	-	-
	48	-	-
58	0	-	-
	24	-	-
	48	-	-
59	0	-	184.61
	24	-	-
	48	266.88	-
60	0	-	-
	24	-	-
	48	-	-
61	0	1,500	400
	24	705.6	842.85
	48	369.6	1,153.84

ตารางที่ ข-3 ผล Reactor-10d (ต่อ)

รอบวัฏจักร	ชั่วโมงที่ (ในรอบวัฏจักร)	COD (mg/l)	MLSS (mg/l)
62	0	1,170.56	828.5
	24	-	-
	48	37.76	780
63	0	1,132.8	752
	24	-	-
	48	151.04	841.67
64	0	1,500	638.09
	24	-	-
	48	151.04	783.33
65	0	1,283.84	647.16
	24	226.56	809.52
	48	75	990
66	0	1,480	615
	6	1,200	620
	12	666.67	712
	18	315.72	752.38
	24	245.61	825
	30	105.26	912
	36	70.17	1,018.18
	42	40	1,018
76	0	1,500	950
	6	1,075.45	1,018.18
	12	873.80	1,090
	18	672.16	1,121.73
	24	403.29	1,163.63
	30	403.29	1,190.9
	36	268.86	1,627.27
	42	134.43	1,610
77	0	1,454.5	1,121.21
	24	232.9	1,543
	48	38.8	1,454.54

ตารางที่ ข-3 ผล Reactor-10d (ต่อ)

รอบวัฏจักร	ชั่วโมงที่ (ในรอบวัฏจักร)	COD (mg/l)	MLSS (mg/l)
78	0	1,480	1,023.52
	24	39.2	1,441.67
	48	27	1,518.51
79	0	1,500	1,080
	24	43	1,350
	48	38.8	1,333.33
80	0	1,454.5	1,048
	24	38.8	1,296
	48	38.8	1,266.67
81	0	1,454.5	1,078.57
	24	37.7	1,218
	48	37.7	1,136.36
82	0	1,500	950
	24	39.2	1,300
	48	38.8	1,309.09
83	0	1,500	950
	24	39.2	1,300
	48	39.2	1,309.09
84	0	1,454.5	1,028
	24	39	1,250
	48	39	1,161.9
85	0	1,500	921.73
	24	39	1,658.54
	48	39	1,710
86	0	1,500	1,520
	6	830	1,761.29
	12	264	1,930.43
	18	89	1,951.21
	24	37.7	2,163.63
	30	37.7	2,189.18
	36	37.7	2,033.33
	42	37.7	1,994.11
	48	37.7	1,989

ตาราง ข-4 ผล Reactor-20d

รอบวัฏจักร	ชั่วโมงที่ (ในรอบวัฏจักร)	COD (mg/l)	MLSS (mg/l)	หมายเหตุ
1	0	2,739.2	3,100	
	3	1,126.4	3,200	
	6	358.4	3,735	
	9	38.4	3,760	
	12	38.4	3,405	
	15	24	3,545	
	18	24	3,430	
	21	24	3,490	
	24	24	3,510	
2	0	2,784	3,350	
	24	320	4,000	
3	0	2,937.6	3,620	
	24	489.6	6,200	
4	0	3,019.2	5,940	
	24	1,395.6	6,640	
5	0	3,916.8	6,500	
	24	1,550.4	8,240	
6	0	4,080	8,000	
	24	2,774.4	8,520	
7	0	5,120	8,160	
	24	3,182.4	7,820	
8	0	4,896	7,550	
	3	4,324.8	7,620	
	6	4,161.6	9,860	
	9	4,161.4	9,260	
	12	3,876	9,360	
	15	3,835.2	9,140	
	18	3,590.4	8,340	
	21	2,856	7,740	
	24	-	-	
9	0	3,264	7,500	DO = 2.83
	24	1,387.2	6,840	

ตาราง ข-4 ผล Reactor-20d

รอบวัฏจักร	ชั่วโมงที่ (ในรอบวัฏจักร)	COD (mg/l)	MLSS (mg/l)	
10	0	3,998.4	6,820	DO = 4.54
	24	1,840	7,220	
11	0	1,680	6,173.07	
	24	640	6,100	
12	0	480	5,760	DO = 6.2
	24	320	4,180	
13	0	3,200	4,134.6	DO = 5.14
	24	480	4,035.7	
14	0	480	4,000	
	24	400	3,440	
15	0	470.4	3,076.9	
	24	470.4	2,520	
16	0	3,136	2,069	
	24	470.4	2,466.67	
17	0	470.4	1,944.4	
	24	461.76	1,032	
18	0	384.4	926.4	
	24	307.84	2,337	
19	0	2,980	2,100	
	24	307.84	3,638.8	
20	0	2,980	3,540	
	24	230.84	4,757.57	
21	0	2,950	3,517.2	
	24	448.8	3,980.7	
22	0	2,950	3,931.03	
	24	448.8	4,350	
23	0	3,010	4,000	
	24	432	4,793	
24	0	3,000	4,500	
	24	288	5,320	
25	0	3,000	5,000	
	24	360	5,500	

ตาราง ข-4 ผล Reactor-20d

รอบวัฏจักร	ชั่วโมงที่ (ในรอบวัฏจักร)	COD (mg/l)	MLSS (mg/l)
26	0	3,000	5,370
	24	360	5,980
27	0	2,950	5,160.7
	24	200	5,870
28	0	3,100	4,403.84
	24	520	6,053.57
29	0	2,950	5,673.91
	24	1,000	5,877.55
30	0	3,200	5,543
	24	600	5,775
31	0	3,200	5,487.17
	24	1,600	5,624
32	0	3,400	5,073.17
	24	1,852	5,119.04
33	0	3,333.6	4,878.04
	24	1,481.6	4,910
34	0	4,815.2	4,419.01
	24	3,518.8	5,200
35	0	5,556	4,021.73
	24	4,630	4,380.95
	48	1,111.2	4,540
36	0	5,185.6	4,333.33
	24	2,592.8	5,142.85
	48	545.46	6,729.17
37	0	3,150.23	6,138.88
	24	727.28	6,906.97
	48	363.64	5,595.75
38	0	2,910.74	5,300
	24	545.76	5,304.37
	48	500	5,406.67
39	0	2,910.74	3,416.67
	24	545.76	4,260
	48	363.64	4,755.10

ตาราง ข-4 ผล Reactor-20d

รอบวัฏจักร	ชั่วโมงที่ (ในรอบวัฏจักร)	COD (mg/l)	MLSS (mg/l)
40	0	2,910.74	4,400
	24	1,346.1	4,510
	48	1,153.8	4,629
41	0	3,010	3,000
	24	1,346.1	3,210
	48	1,153.8	3,598
42	0	3,010	2,705.88
	24	1,346.1	2,729.16
	48	576.9	3,300
43	0	2,845.92	1,891.67
	24	609.84	2,028
	48	542.08	3,086.67
44	0	2,845	1,716.12
	24	880.88	2,452.94
	48	609.84	2,826.67
45	0	1,600	2,113.33
	24	880.88	2,452.94
	48	609.84	2,505.56
46	0	1,962.48	1,594.11
	24	1,385.28	1,707.69
	48	769.6	1,989.19
47	0	2,000.96	1,358.97
	24	1,462.24	1,694.11
	48	923.52	1,761.90
48	0	2,077.92	1,300
	24	1,516.8	1,488.89
	48	758.4	1,702.02
49	0	1,820.16	1,371.42
	24	1,213.44	1,390.91
	48	758.4	1,489.47
50	0	2,047.68	1,400
	24	1,424.59	1,242.1
	48	694.03	1,372.2

ตาราง ข-4 ผล Reactor-20d

รอบวัฏจักร	ชั่วโมงที่ (ในรอบวัฏจักร)	COD (mg/l)	MLSS (mg/l)
51	0	1,500	1,175
	6	1,351.53	1,262.85
	12	1,132.36	1,340
	18	1,022.78	1,377.78
	24	840.14	1,394.11
	30	694.03	1,509.52
	36	620.97	1,561.11
	42	-	-
	48	547.9	1,826.31
	52	0	1,315
24		804.14	1,328.2
48		504	1,366.67
53	0	1,500	1,487.5
	6	1,368	2,175.75
	12	1,120	2,360
	18	1,050	2,450
	24	972	2,564.10
	30	921	2,693.75
	36	835	2,950
	42	-	-
	48	576	3,000
54	0	1,332	2,562.16
	24	504	-
	48	318.6	2,316.67
55	0	1,557.6	1,908.7
	24	432	-
	48	177	1,516.29
56	0	1,567.68	1,507.69
	24	366.96	2,168.42
	48	133.44	1,513.51
57	0	1,454.8	1,296.77
	24	266.88	1,387.87
	48	166.8	1,806.06

ตาราง ข-4 ผล Reactor-20d

รอบวัฏจักร	ชั่วโมงที่ (ในรอบวัฏจักร)	COD (mg/l)	MLSS (mg/l)
58	0	1,377.68	1,670.96
	24	433.68	1,733.33
	48	82	1,940
59	0	1,500	1,428.57
	24	363.2	-
	48	52	1,985.71
60	0	1,500	1,573.33
	24	384	-
	48	62	1,748.38
61	0	1,377.6	1,731.25
	24	369.6	2,068.75
	48	37.9	1,733.33
62	0	1,434.88	1,408.69
	24	201.6	-
	48	37.9	1,526.31
63	0	1,472.64	1,700
	24	288	-
	48	37.9	1,838.09
64	0	1,500	1,771.42
	24	201.6	-
	48	37.9	1,847.61
65	0	1,434.8	1,409.09
	24	201.6	1,973.91
	48	35.08	1,950
66	0	1,500	1,550
	6	1,150	1,572.72
	12	754	1,600
	18	385.9	1,619.04
	24	245.61	1,625
	30	105.26	1,866.67
	36	70.17	1,869.56
	42	40	1,890
	48	35.8	1,945.45

ตาราง ข-4 ผล Reactor-20d

รอบวัฏจักร	ชั่วโมงที่ (ในรอบวัฏจักร)	COD (mg/l)	MLSS (mg/l)
76	0	1,500	1,590
	6	1,008.24	1,627.27
	12	739.37	1,970
	18	604.94	2,072.72
	24	268.86	2,009.09
	30	201.64	2,142.85
	36	134.43	2,142.85
	42	67.2	2,255.56
	48	67.2	2,189

หมายเหตุ : รอบวัฏจักรที่ 67 -75 ของ Reactor-5d Reactor-10d และ Reactor-20d ไม่ได้ทำการเก็บตัวอย่างวิเคราะห์

ตาราง ข-5 แสดงผลพีเอชเอของ Reactor-5d (%gPHA/gMLSS)

รอบวัฏจักร	ชั่วโมงที่	wt%HB	wt%HV	wt%PHA
1	0	8.29	0.16	8.45
	3	9.15	0.24	9.39
	6	9.71	0.17	9.88
	9	10.00	0.12	10.13
	12	10.22	0.17	10.38
	15	14.57	0.23	14.81
	18	12.48	0.21	12.69
	21	11.43	0.12	11.55
8	0	14.00	0.25	14.25
	3	13.27	1.26	14.53
	6	37.36	0.62	37.98
	9	38.38	1.56	39.93
	12	38.51	0.51	39.02
	15	37.57	0.51	40.88
	18	44.01	1.91	45.92
	21	48.59	3.01	51.60
66	0	5.40	0.21	5.61
	6	9.74	0.25	9.99
	12	12.96	0.21	13.17
	18	13.86	0.23	14.09
	24	13.64	0.37	14.01
	30	13.87	0.31	14.19
	36	13.42	0.27	13.69
	42	13.48	0.21	13.69
76	0	9.13	0.26	9.40
	6	15.16	0.71	15.87
	12	15.27	0.65	15.92
	18	16.23	0.20	16.44
	24	17.13	0.32	17.46
	30	18.12	0.46	18.59
	36	17.67	0.52	18.19
	48	-	-	-

ตาราง ข-5 แสดงผลพีเอชเอของ Reactor-5d (%gPHA/gMLSS) (ต่อ)

รอบวัฏจักร	ชั่วโมงที่	wt%HB	wt%HV	wt%PHA
76	42	24.51	0.75	25.26
	48			
86	0	12.63	0.56	13.20
	6	15.87	0.66	16.53
	12	19.17	0.60	19.77
	18	19.54	0.30	19.84
	*24	54.94	0.41	55.35
	30	24.87	0.37	25.24
	36	17.67	0.52	18.19
	42	14.25	0.44	14.69
	48	-	-	-

หมายเหตุ ในชั่วโมงที่ 24 ไม่นำผลปริมาณพีเอชเอมาวิเคราะห์รวมในเนื้อหา เนื่องจากคาดว่าเกิดมีความผิดพลาดจากการวิเคราะห์ ซึ่งทำให้ได้ผลที่เป็นไปไม่ได้เมื่อคำนวณจากสมดุลมวลสาร



ตาราง ข-6 แสดงผลพีเอชเอของ Reactor-10d (%gPHA/gMLSS)

รอบวัฏจักร	ชั่วโมงที่	wt%HB	wt%HV	wt%PHA
1	0	10.00	0.12	10.13
	3	10.56	0.19	10.75
	6	11.66	0.24	11.89
	9	11.65	0.24	11.89
	12	10.88	0.23	11.11
	15	12.6	0.21	12.81
	18	10.99	0.19	11.18
	21	14.91	0.27	15.18
	24	-	-	-
8	0	15.13	0.32	15.45
	3	15.67	1.30	16.97
	6	17.80	0.29	18.09
	9	17.94	0.34	18.27
	12	32.23	0.72	32.95
	15	52.76	1.19	53.94
	18	37.57	3.31	40.88
	21	-	-	45.92
	24	-	-	-
66	0	4.01	0.14	4.14

ตาราง ข-6 แสดงผลพีเอชเอของ Reactor-10d (%gPHA/gMLSS) (ต่อ)

รอบวัฏจักร	ชั่วโมงที่	wt%HB	wt%HV	wt%PHA
66	6	5.37	0.03	5.40
	12	5.92	0.07	5.99
	18	8.06	0.1	8.16
	24	13.26	0.2	13.46
	30	16.4	0.15	16.55
	36	8.38	0.1	8.48
	42	8.43	0.08	8.51
76	0	4.21	0.16	4.37
	6	4.39	0.05	4.45
	12	12.13	0.16	12.28
	18	14.98	0.25	15.23
	24	16.19	0.24	16.43
	30	16.67	0.30	16.97
	36	17.36	0.34	17.70
	42	17.40	0.24	17.60
86	0	22.63	0.24	22.87
	6	34.57	0.65	35.22
	12	39.85	1.03	40.88
	18	59.90	1.16	61.07
	24	60.89	1.31	62.21
	30	39.76	1.12	40.88
	36	37.36	0.62	37.98
	42	11.03	0.23	11.98

ตาราง ข-7 แสดงผลพีเอชเอของ Reactor-20d (%gPHA/gMLSS)

รอบวัฏจักร	ชั่วโมงที่	wt%HB	wt%HV	wt%PHA
1	0	8.64	0.13	8.78
	3	9.02	0.17	9.19
	6	9.89	0.13	10.02
	9	11.45	0.24	11.69
	12	10.93	0.11	11.04
	15	14.93	0.18	15.11
	18	12.46	0.18	12.63
	21	9.27	0.12	9.39
51	0	8.18	0.17	8.35
	6	10.19	0.18	10.37
	12	12.13	0.20	12.33
	18	13.00	0.20	13.20
	24	12.86	0.38	13.24
	30	16.15	0.21	16.36
	36	20.21	0.25	20.46
	42	19.11	0.20	19.36
53	0	11.58	0.48	12.06
	6	12.46	0.18	12.63
	12	12.05	0.26	12.31
	18	15.50	0.49	15.99
	24	17.42	0.67	18.09
	30	20.79	0.34	21.13
	36	28.31	0.65	29.80
	42	38.09	0.67	38.77
66	0	8.52	0.23	8.75
	6	11.58	0.15	11.80
	12	13.00	0.15	13.15
	18	11.80	0.19	12.00
	24	10.74	0.21	10.95
	30	13.00	0.15	13.43
	36	22.63	0.24	22.87

ตาราง ข-7 แสดงผลพีเอชเอของ Reactor-20d (%gPHA/gMLSS) (ต่อ)

รอบวัฏจักร	ชั่วโมงที่	wt%HB	wt%HV	wt%PHA
66	42	19.94	0.37	20.31
	48			
76	0	17.29	0.23	17.52
	6	21.21	0.34	21.55
	12	23.67	0.64	24.31
	18	27.17	1.15	28.32
	24	28.32	0.87	29.19
	30	34.57	0.65	35.22
	36	40.25	0.63	40.88
	42	38.09	0.67	38.77
	48	27.49	0.68	28.17

ตาราง ข-8 แสดงผล MLVSS ของ Reactor-5d Reactor-10d และ Reactor-20d

Reactor	รอบวัฏจักร	ชั่วโมงที่	MLVSS
Reactor-5d	86	0	850
		6	1,061.54
		12	1,355.56
		18	1,287.50
		24	1,254.55
		30	1,232.26
		36	1,265.00
		42	1,236.36
		48	1,232.26
Reactor-10d	86	0	1,436.36
		6	1,729.03
		12	1,870.00
		18	1,826.09
		24	2,030.30
		30	1,892.68
		36	1,870.59
		42	1,977.78
		48	1,954.50

ตาราง ข-8 แสดงผล MLVSS ของ Reactor-5d Reactor-10d และ Reactor-20d (ต่อ)

Reactor	รอบวัฏจักร	ชั่วโมงที่	MLVSS
Reactor-20d	76	0	1,453.33
		6	1,620.00
		12	1,870.00
		18	1,954.55
		24	1,890.91
		30	2,047.62
		36	1,980.95
		42	2,055.56
		48	1,977.77

ตาราง ข-9 แสดงผลพีเอชเอของ Reactor-5d Reactor-10d และ Reactor-20d

(%gPHA/gMLVSS)

Reactor	รอบวัฏจักร	ชั่วโมงที่	wt%HB	wt%HV	wt%PHA
Reactor-5d	86	0	13.62	0.60	14.22
		6	17.02	0.71	17.73
		12	19.72	0.62	20.34
		18	20.58	0.32	20.90
		24	58.92	0.44	59.36
		30	26.84	0.40	27.24
		36	18.46	0.54	19.00
		42	15.19	0.47	15.66
Reactor-10d	86	0	23.95	0.25	24.20
		6	35.22	0.66	35.88
		12	41.14	1.06	42.20
		18	64.00	1.24	65.24
		24	64.89	1.40	66.28
		30	45.99	1.30	47.28
		36	40.61	0.67	41.28
		42	12.12	0.23	11.35

ตาราง ข-9 แสดงผลพีเอชเอของ Reactor-5d Reactor-10d และ Reactor-20d
(%gPHA/gMLVSS) (ต่อ)

Reactor	รอบวัฏจักร	ชั่วโมงที่	wt%HB	wt%HV	wt%PHA
Reactor-20d	86	0	19.18	0.26	19.44
		6	21.31	0.34	21.65
		12	24.94	0.67	25.61
		18	28.82	1.22	30.03
		24	30.09	0.92	31.01
		30	36.18	0.68	36.86
		36	43.54	0.68	44.22
		42	41.80	0.74	42.53
		48	30.43	0.75	31.18



ตาราง ข-10 ผลการศึกษาคุณลักษณะของตัวอย่างตะกอนเริ่มต้น

Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Unclassified						495	0.288
Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	Cohnella	soli	34055	19.824
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	Inquilinus	ginsengisoli	24472	14.247
Planctomycetes						9219	5.367
Proteobacteria						7750	4.512
Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Peptostreptococcaceae	Peptidibacter		5903	3.087
Verrucomicrobia	Verrucomicrobiae	Verrucomicrobiales	Verrucomicrobiaceae	Rubritales		3735	2.174
Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Peptostreptococcaceae	Peptostreptococcus	stomatis	3694	2.15
						3659	2.13
Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Alkaliphilus	crotonatoxidans	2688	1.565
Verrucomicrobia	Spartobacteria	Chthoniobacteriales	Chthoniobacteraceae	Chthoniobacter	flavus	2618	1.524
Firmicutes						2332	1.358
Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Saprospiraceae	Lewinella	marina	2303	1.341
Proteobacteria	Alphaproteobacteria					2290	1.333
Planctomycetes	Planctomycetia	Planctomycetales	Planctomycetaceae	Planctomyces		2195	1.278
Chloroflexi	Anaerolineae	Anaerolineales	Anaerolineaceae	Longilinea		2059	1.199
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Chromatales	Chromatiaceae	Thiocapsa		1750	1.019
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Gallionellales	Gallionellaceae	Gallionella		1738	1.012
Euryarchaeota	Methanobacteria	Methanobacteriales	Methanobacteriaceae	Methanobacterium	beijingense	1589	0.925
Planctomycetes	Brocadia	Brocadiales	Brocadiaaceae	Candidatus Scalindua	broadae	1558	0.907
Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium		1370	0.798
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae			1361	0.792

Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingobium		1293	0.753
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	Roseospira		1234	0.718
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Devosia	terrae	983	0.572
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Mesorhizobium		943	0.549
Chlamydiae	Chlamydia	Chlamydiales	Parachlamydiaceae	Candidatus Protochlamydia	amosbophila	921	0.536
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Rubrivax		907	0.528
Chlorobi	Ignavibacteria	Ignavibacteriales	Ignavibacteriaceae	Ignavibacterium		881	0.513
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Hyphomicrobium		858	0.499
Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Veillonellaceae	Megasphaera	hominis	840	0.489
Proteobacteria	Gammaaproteobacteria	Legionellales	Legionellaceae	Legionella	pneumophila	831	0.484
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Rhodoplanes		759	0.442
Firmicutes	Clostridia	Clostridiales				720	0.419
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Novosphingobium		696	0.405
Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Olivibacter		693	0.403
Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	fallax	667	0.388
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Rhodoplanes	piscinae	656	0.382
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Kiloniellales	Kiloniellaceae	Thalassospira		655	0.381
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Acetobacteraceae	Roseomonas		617	0.359
Proteobacteria	Betaproteobacteria					594	0.346
Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	alkalicellulosi	553	0.322
Actinobacteria	Thermoleophilia	Solirubrobacterales	Conexibacteraceae	Conexibacter	woesei	537	0.313

Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Legionellales	Legionellaceae	Legionella		519	0.302
Chloroflexi	Dehalococcoidetes	Dehalococcoidales	Dehalococcoidaceae	Dehalogenimonas	lykanthroporepellens	514	0.299
Proteobacteria	Delta proteobacteria	Bdellovibrionales	Bdellovibrionaceae	Bdellovibrio		504	0.293
Proteobacteria	Alpha proteobacteria	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	Azospirillum		497	0.289
Chloroflexi	Anaerolineae	Caldlineales	Caldlineaceae	Caldlinea		495	0.288
Proteobacteria	Gamma proteobacteria					460	0.268
Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	saccharoperbutylacetonicum	457	0.266
Thermotogae	Thermotogae	Thermotogales	Thermotogaceae	Marinitoga		453	0.264
Proteobacteria	Alpha proteobacteria	Rhizobiales				442	0.257
Chloroflexi	Anaerolineae	Anaerolineales	Anaerolineaceae	Bellilinea	caldifistulae	438	0.255
Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Dokdonella	fugitiva	425	0.247
Euryarchaeota	Methanobacteria	Methanobacteriales	Methanobacteriaceae	Methanobacterium		423	0.246
Euryarchaeota	Methanomicrobia	Methanosarcinales	Methanosarcinaceae	Methanoseta	conclii	413	0.24
Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	butyricum	412	0.24
Firmicutes	Clostridia					395	0.23
Chlorobi	Chlorobia	Chlorobiales	Chlorobiaceae	Chlorobaculum		384	0.224
Proteobacteria	Alpha proteobacteria	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	Rhodospirillum		371	0.216
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Mycobacteriaceae	Mycobacterium		365	0.212
Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Aquimonas	voraii	356	0.207
Proteobacteria	Beta proteobacteria	Burkholderiales	Burkholderiaceae	Burkholderia	brasiliensis	343	0.2
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales				333	0.194

ตาราง ข-11 ผลการศึกษากลุ่มจุลินทรีย์ที่ย้ายการทดลองที่ 1 ของ Reactor-5d

Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
unclassified						78976	12.514
Proteobacteria						160269	25.395
Proteobacteria	Alpha proteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Brevundimonas	staleyii	63025	9.986
Cyanobacteria	Synechococophycidiales	Pseudanabaenales	Pseudanabaenaceae	Leptolyngbya	laminosa	45467	7.204
Proteobacteria	Beta proteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Xenophilus		31324	4.963
Tenericutes	Mollicutes	Mycoplasmatales	Mycoplasmataceae	Mycoplasma		25149	3.985
Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Pseudoxanthomonas	mexicana	22970	3.64
Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae			17182	2.723
Proteobacteria	Alpha proteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Defluviobacter		16557	2.623
Proteobacteria	Alpha proteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Devosia		14088	2.232
Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales	Porphyromonadaceae	Dysgonomonas		13747	2.178
Proteobacteria	Alpha proteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae			11519	1.825
Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Pseudoxanthomonas	indica	9987	1.582
Proteobacteria	Alpha proteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Arthrospira		7979	1.264
Proteobacteria	Alpha proteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Shinella	granuli	5971	0.946
Proteobacteria	Beta proteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Pigmentiphaga		4614	0.731
Proteobacteria	Alpha proteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	Ancylobacter	aquaticus	4513	0.715
Proteobacteria	Beta proteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Xenophilus	azovorans	4127	0.654
Proteobacteria	Beta proteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter		3878	0.614
Proteobacteria	Beta proteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter	insolitus	3012	0.477
Bacteroidetes	Sphingobacterii	Sphingobacteriales	Amoebophilaceae	Candidatus			
Proteobacteria	Beta proteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter	asiaticus	2815	0.446
Proteobacteria	Beta proteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter	piechaudii	2743	0.435

Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Proteobacteria	Beta proteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Tepidimonas	ignava	2583	0.409
Proteobacteria	Beta proteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae			2534	0.402
Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales	Porphyromonadaceae	Dysgonomonas	mossii	2413	0.382
Proteobacteria	Alpha proteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Agrobacterium	tumefaciens	2121	0.336
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Rathayibacter	caricis	1977	0.313
Proteobacteria	Alpha proteobacteria	Caulobacteriales	Caulobacteraceae	Brevundimonas		1963	0.311
Proteobacteria	Alpha proteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Agrobacterium		1771	0.281
Proteobacteria	Beta proteobacteria	Rhodocyclales	Rhodocyclaceae	Methyloversatilis		1708	0.271
Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Pseudoxanthomonas		1579	0.25
Proteobacteria	Delta proteobacteria	Syntrophobacteriales	Desulfobacteraceae	Desulfobacter		1513	0.24
Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Rhodanobacter		1435	0.227
Proteobacteria	Beta proteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Hydrogenophaga		1368	0.217
Proteobacteria	Alpha proteobacteria	Rhodobacteriales	Hyphomonadaceae	Hyphomonas		1364	0.216
Proteobacteria	Alpha proteobacteria	Caulobacteriales	Caulobacteraceae	Brevundimonas	olei	1321	0.209
Proteobacteria	Alpha proteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Devosia	terrae	1273	0.202
Bacteroidetes	Spingobacteria	Spingobacteriales	Spingobacteriaceae	Spingobacterium	shayense	1269	0.201
Proteobacteria	Alpha proteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	Xanthobacter		1257	0.199
Bacteroidetes						1242	0.197
Acidobacteria	Acidobacteria	Acidobacteriales	Acidobacteriaceae			1062	0.168
Proteobacteria	Alpha proteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Mesorhizobium		999	0.158
Proteobacteria	Alpha proteobacteria					962	0.152

Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Shinella		832	0.132
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Ramlibacter		771	0.122
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter	arsenitoxydans	712	0.113
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Mycobacteriaceae	Mycobacterium		709	0.112
Proteobacteria	Gammaaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Dokdonella	fugitiva	665	0.105
Cyanobacteria	Oscillatorioophycidaeae					659	0.104
Proteobacteria	Betaproteobacteria					602	0.095
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Rhodovulum		596	0.094
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	Ancylobacter		562	0.089
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Rhizobium	alamii	549	0.087
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Cellulomonadaceae	Cellulomonas		547	0.087
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Rhodocyclales	Rhodocyclaceae	Azoarcus		544	0.086
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Kiloniellales	Kiloniellaceae	Thalassospira		535	0.085
Cyanobacteria	Nostocophycidaeae	Stigonematales	Rivulariaceae	Calothrix	parietina	531	0.084
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Rathayibacter		526	0.083
Cyanobacteria	Oscillatorioophycidaeae	Oscillatoriales	Phormidiaceae			506	0.08
Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales	Porphyromonadaceae	Dysgonomonas	gadei	478	0.076
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Aminobacter	aminovorans	473	0.075
Verrucomicrobia	Opitutae	Cerasicoccales	Cerasicocaceae	Cerasicoccus	arenae	472	0.075
Proteobacteria	Gammaaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae			452	0.072
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	Xanthobacter	polyaromaticivorans	436	0.069
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Lamproedia	hyalina	431	0.068
Proteobacteria	Gammaaproteobacteria					429	0.068

ตาราง ข-12 ผลการศึกษากลุ่มจุลินทรีย์รอบตัวจักรที่สะสมที่เขของสูงสุด ของ Reactor-5d

Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	96_hits
unclassified						39456	13.867
Tenericutes	Mollicutes	Mycoplasmatales	Mycoplasmataceae	Mycoplasma		90285	31.708
Proteobacteria						78410	27.537
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Agrobacterium		9116	3.202
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacteriales	Caulobacteraceae	Brevundimonas	bullata	8690	3.052
Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae			7288	2.56
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Shinella		6250	2.195
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Agrobacterium	tumefaciens	4416	1.551
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Devosia		3505	1.231
Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Flexibacteraceae	Ermicia		2491	0.875
Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Flavobacterium	kamogawaensis	2092	0.735
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Kiloniellales	Kiloniellaceae	Thalassospira		1607	0.564
Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Pedobacter		1229	0.432
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Shinella	yambaruensis	1221	0.429
Cyanobacteria	Synechococophycidiae	Pseudanabaenales	Pseudanabaenaceae	Leptolyngbya	laminosa	1178	0.414
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Sphingomonas		1091	0.383
Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Chitinophagaceae	Niabella	aurantiaca	1057	0.371
Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Flexibacteraceae	Dyadobacter		901	0.316
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Shinella	granuli	862	0.31
Proteobacteria	Delta proteobacteria	Syntrophobacteriales	Desulfobacteraceae	Desulfobacter		753	0.264
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Shinella	fusca	663	0.233

Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Defluviobacter		619	0.217
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Xenophilus		614	0.216
Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales	Porphyromonadaceae	Dysgonomonas		609	0.214
Bacteroidetes	Spingobacteria	Spingobacteriales	Chitinophagaceae	Niabella		551	0.194
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae			544	0.191
						525	0.184
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Tepidimonas	ignava	520	0.183
Bacteroidetes	Spingobacteria	Spingobacteriales	Amcebophilaceae	Candidatus Amcebophilus	asiaticus	520	0.183
Acidobacteria	Acidobacteria	Acidobacteriales	Acidobacteriaceae			496	0.171
Bacteroidetes	Spingobacteria	Spingobacteriales	Flexibacteraceae	Dyadobacter	alkalitolerans	479	0.168
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Agrobacterium	undicola	387	0.136
Bacteroidetes	Spingobacteria	Spingobacteriales	Spingobacteriaceae	Padobacter	kwangyangensis	379	0.133
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacteriales	Caulobacteraceae	Brevundimonas	terrae	373	0.131
Bacteroidetes	Spingobacteria	Spingobacteriales	Spingobacteriaceae	Spingobacterium	shayense	365	0.128
Proteobacteria	Alphaproteobacteria					344	0.121
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Luteimonas		330	0.116
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Dokdonella	korensis	321	0.115
Bacteroidetes						320	0.112
Bacteroidetes	Spingobacteria	Spingobacteriales	Chitinophagaceae	Chitinophaga	solii	297	0.104
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Cohaesibacteraceae	Cohaesibacter		293	0.103
Bacteroidetes	Spingobacteria	Spingobacteriales	Chitinophagaceae	Niabella	solii	288	0.101
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methylobacteriaceae	Methylobacterium		287	0.101

ตาราง ข-13 ผลการศึกษาคุณลักษณะที่ 1 ของ Reactor-10d

Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
unclassified						21571	5.935
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Shinella	granuli	46431	12.776
Proteobacteria						44186	12.158
Tenericutes	Mollicutes	Mycoplasmatales	Mycoplasmataceae	Mycoplasma		32524	8.949
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Xenophilus		23133	6.365
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Devosia		20224	5.565
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Hydrogenophaga		15765	4.338
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Brevundimonas	staleyi	11793	3.245
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Rhodanobacter	thiooxydans	9969	2.743
Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae			8634	2.376
Cyanobacteria	Synechococophycidaceae	Pseudanabaenales	Pseudanabaenaceae	Leptolyngbya	laminosa	8112	2.232
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Nocardiaceae	Nocardia	puris	6063	1.668
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Defluviobacter		5923	1.63
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Rhizobium	alamii	5564	1.551
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Rhodanobacter		5077	1.397
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter		4673	1.286
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter	insolitus	4426	1.218
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Leucobacter		4028	1.108
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Gordoniaceae	Gordonia		2748	0.756
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Xenophilus	azovorans	2710	0.746
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Tepidimonas	ignava	2677	0.737
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacteriales	Hyphomonadaceae	Hyphomonas		2524	0.695
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae			2368	0.652

Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Agrobacterium		2350	0.647
Proteobacteria	Gammaaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Luteimonas		2265	0.623
Proteobacteria	Gammaaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Dokdonella	fugitiva	2205	0.607
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae			2203	0.606
Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Amoebophilaceae	Candidatus Amoebophilus	asiaticus	2177	0.599
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Nocardiaceae	Nocardia	cyriacgeorgica	2040	0.561
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacteriales	Rhodobacteraceae	Rhodovulum	imhoffii	2020	0.556
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacteriales	Caulobacteraceae	Arthrospira		2000	0.55
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Yonghaparkia		1982	0.545
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae			1687	0.464
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Rathayibacter	caricis	1475	0.406
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Mesorhizobium		1381	0.38
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Pigmentiphaga		1335	0.367
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Devosia	terrae	1332	0.367
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	Ancylobacter	aquaticus	1268	0.349
Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Flexibacteraceae	Dyadobacter	alkalitolerans	1112	0.306
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Aminobacter	aminovorans	1103	0.304
Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Streptococcaceae	Lactococcus		1085	0.299
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Ramlibacter		1051	0.289
Proteobacteria	Alphaproteobacteria					914	0.251
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Agrobacterium	tumefaciens	878	0.242
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Mycobacteriaceae	Mycobacterium		840	0.231
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacteriales	Rhodobacteraceae	Rhodovulum		826	0.227

ตาราง ข-14 ผลการศึกษาคุณลักษณะพีเอชเอได้สูงที่สุด ของ Reactor-10d

Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
unclassified						70300	14.172
Proteobacteria						135881	27.393
Tenericutes	Mollicutes	Mycoplasmatales	Mycoplasmataceae	Mycoplasma		133308	26.874
Proteobacteria	Alpha proteobacteria	Rhodobacterales	Hyphomonadaceae	Oceanicaulis		9982	2.012
Firmicutes	Erysipelotrichi	Erysipelotrichales	Erysipelotrichaceae	Holdemania		9159	1.846
Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae			8991	1.813
Proteobacteria	Alpha proteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Defluviobacter		8457	1.705
Proteobacteria	Alpha proteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Shinella	granuli	7803	1.573
Proteobacteria	Alpha proteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Devosia		7645	1.541
Cyanobacteria	Synechococophycidiales	Pseudanabaenales	Pseudanabaenaceae	Leptolyngbya	laminosa	7168	1.445
Proteobacteria	Beta proteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Hydrogenophaga		4765	0.961
Proteobacteria	Beta proteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter		4190	0.845
Proteobacteria	Beta proteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter	insolitus	4072	0.821
Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Rhodanobacter	thiooxydans	4060	0.818
Bacteroidetes						3815	0.769
Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Pedobacter		3031	0.611
Proteobacteria	Beta proteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Xenophilus		2826	0.57
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Gordoniaceae	Gordonia		2744	0.553
Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales	Porphyromonadaceae	Dyagonomonas		2564	0.517
Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Rhodanobacter		2267	0.457
Proteobacteria	Alpha proteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Rhodovulum		1504	0.303
Proteobacteria	Delta proteobacteria	Syntrophobacterales	Desulfobacteraceae	Desulfobacter		1486	0.3
Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Luteimonas		1438	0.29

Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
unclassified						70300	14.172
Proteobacteria						135881	27.393
Tenericutes	Mollicutes	Mycoplasmatales	Mycoplasmataceae	Mycoplasma		133308	26.874
Proteobacteria	Alpha proteobacteria	Rhodobacterales	Hyphomonadaceae	Oceaniculis		9982	2.012
Firmicutes	Erysipelotrichi	Erysipelotrichales	Erysipelotrichaceae	Holdemanina		9159	1.846
Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae			8991	1.813
Proteobacteria	Alpha proteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Defluviibacter		8457	1.705
Proteobacteria	Alpha proteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Shinella	granuli	7803	1.573
Proteobacteria	Alpha proteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Devosia		7645	1.541
Cyanobacteria	Synechococophycidiales	Pseudanabaenales	Pseudanabaenaceae	Leptolyngbya	laminosa	7168	1.445
Proteobacteria	Beta proteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Hydrogenophaga		4765	0.961
Proteobacteria	Beta proteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter		4190	0.845
Proteobacteria	Beta proteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter	insolitus	4072	0.821
Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Rhodanobacter	thiooxydans	4060	0.818
Bacteroidetes						3815	0.769
Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Pedobacter		3031	0.611
Proteobacteria	Beta proteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Xenophilus		2826	0.57
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Gordoniaceae	Gordonia		2744	0.553
Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales	Porphyromonadaceae	Dysgonomonas		2564	0.517
Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Rhodanobacter		2267	0.457
Proteobacteria	Alpha proteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Rhodovulum		1504	0.303
Proteobacteria	Delta proteobacteria	Syntrophobacterales	Desulfobacteraceae	Desulfobacter		1486	0.3
Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Luteimonas		1438	0.29

ตาราง ข-15 ผลการศึกษากลุ่มจุลินทรีย์ที่แยกการทดลองที่ 1 ของ Reactor-20d

Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
unclassified						338	0.14
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Defluviobacter		116535	48.102
Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Dokdonella		15190	6.27
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Devosia		13315	5.496
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Rhodovulum	iodosum	7627	3.148
Bacteroidetes						7270	3.001
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Agrobacterium		5333	2.201
Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Pseudoxanthomonas	mexicana	4866	2.009
Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Stenotrophomonas	acidaminiphila	3654	1.508
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Nitratireductor		3585	1.48
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	Xanthobacter		2346	0.968
Proteobacteria	Beta proteobacteria	Burkholderiales	Oxalobacteraceae	Oxalobacter	vibriiformis	2180	0.9
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Shinella		2083	0.86
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Leucobacter		2041	0.842
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Rathayibacter		1804	0.745
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Rhizobium	alamii	1679	0.693
Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Dokdonella	fugitiva	1583	0.653
Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae			1471	0.607
Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	butyricum	1376	0.568
Proteobacteria	Beta proteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter		1367	0.564
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Leucobacter	komagatae	1265	0.522
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Devosia	hwasunensis	1136	0.469

Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
unclassified						338	0.14
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Defluviibacter		116535	48.102
Proteobacteria	Gammaaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Dokdonella		15190	6.27
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Devosia		13315	5.496
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Rhodobulum	iodosum	7627	3.148
Bacteroidetes						7270	3.001
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Agrobacterium		5333	2.201
Proteobacteria	Gammaaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Pseudoxanthomonas	mexicana	4866	2.009
Proteobacteria	Gammaaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Stenotrophomonas	acidaminiphila	3654	1.508
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Nitratireductor		3585	1.48
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	Xanthobacter		2346	0.968
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Oxalobacteraceae	Oxalobacter	vibriiformis	2180	0.9
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Shinella		2083	0.86
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Leucobacter		2041	0.842
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Rathayibacter		1804	0.745
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Rhizobium	alamii	1679	0.693
Proteobacteria	Gammaaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Dokdonella	fugitiva	1583	0.653
Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae			1471	0.607
Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	butyricum	1376	0.568
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter		1367	0.564
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Leucobacter	komagatae	1265	0.522
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Devosia	hwasunensis	1136	0.469

ตาราง ๑-16 ผลการศึกษากลุ่มจุลินทรีย์ที่รอบวงจักรสะสมฟิเอชเอได้สูงที่สุด ของ Reactor-20d

Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
unclassified						5683	4.791
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Defluviobacter		16830	14.19
Proteobacteria						10311	8.693
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Devosia		10155	8.562
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	Brevundimonas	staleyi	6911	5.827
Tenericutes	Mollicutes	Mycoplasmatales	Mycoplasmataceae	Mycoplasma		3846	3.243
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Xenophilus		3724	3.14
Tenericutes	Mollicutes	Mycoplasmatales	Mycoplasmataceae	Mycoplasma	timone	3402	2.868
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter		3314	2.794
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter	insolitus	3306	2.787
Proteobacteria	Gammaaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Dakdonella	korensis	3002	2.531
Proteobacteria	Gammaaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Pseudoxanthomonas	mexicana	2488	2.098
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Gordoniaceae	Gordonia		2447	2.063
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Agrobacterium		2214	1.867
Cyanobacteria	Synechococophycidiae	Pseudanabaenales	Pseudanabaenaceae	Leptolyngbya	laminosa	2111	1.78
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Shinella	granuli	1959	1.652
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Mycobacteriaceae	Mycobacterium		1776	1.497
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae			1344	1.133
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Rhodovulum	imhoffii	1274	1.074
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Devosia	subaequoris	1272	1.072
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Leucobacter		1231	1.038
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	Devosia	hwaeunensis	1110	0.936
Proteobacteria	Gammaaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Pseudoxanthomonas	indica	1108	0.934

Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Shinella		1102	0.929
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Brucellaceae	Ochrobactrum	pseudogrignonense	847	0.714
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacteriales	Caulobacteraceae	Arthrospira		838	0.707
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Cryocolla		820	0.691
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter	arsenitoxidans	788	0.664
Proteobacteria	Alphaproteobacteria					742	0.626
Bacteroidetes	Spingobacteria	Spingobacteriales	Chitinophagaceae	Sediminibacterium		731	0.616
Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae			705	0.594
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Mycobacteriaceae	Mycobacterium	smegmatis	643	0.542
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	Mesorhizobium		628	0.529
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	Xanthobacter		619	0.522
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Mycobacteriaceae	Mycobacterium	neoaurum	605	0.51
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Brucellaceae	Ochrobactrum		554	0.467
Bacteroidetes	Spingobacteria	Spingobacteriales	Spingobacteriaceae	Pedobacter		549	0.463
Bacteroidetes	Spingobacteria	Spingobacteriales	Flexibacteraceae	Dyadobacter	alkalitolerans	498	0.42
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Pigmentiphaga		469	0.395
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Achromobacter	piechaudii	457	0.385
Proteobacteria	Gammaaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Stenotrophomonas	acidaminiphila	444	0.374
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Rhizobium	alamii	424	0.357
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Delftia	tsuruhatensis	389	0.328
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	Leucobacter	komagatae	358	0.302
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Variovorax	soli	325	0.274
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales				316	0.266

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวเศรยา กิจพ่อคำ สำเร็จการศึกษาในระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2553 หลังจากนั้นได้เข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาโทวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2554

ส่วนหนึ่งของงานวิจัยนี้ได้เผยแพร่ในเอกสารประกอบการประชุมวิชาการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติครั้งที่ 13 (13th National Environmental Conference) ในหัวข้อบทความเรื่อง การเดินระบบเพื่อให้เกิดภาวะมีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลนของจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมที่อายุตะกอนต่างกัน (Operation of feast and famine conditions by mixed cultures of organisms under different sludge retention times) ที่จัดขึ้นวันที่ 26 - 28 มีนาคม 2557 ณ โรงแรมเดอะ ทวิน ทาวเวอร์ รongเมือง กรุงเทพฯ