

ผลกระทบของสัดส่วนของระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร  
ต่อการผลิตพีเอชเอในระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองชั้นตอน  
โดยใช้กลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอน

นางสาวพิมพ์ศิริ หีบแก้ว

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 2559

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Effect of feast and famine feeding ratio on PHA production in 2-  
stage continuous stirred tank reactor activated sludge systems  
using glycerol as a carbon source

Miss Pimsiri Heebkaew



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 2016

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ผลกระทบของสัดส่วนของระยะเวลาที่อาหารเกินพอดต่อ  
ระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหารต่อการผลิตพีเอชเอในระบบ  
ตะกอนเร่งชนิดถึงกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนโดย  
ใช้กลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอน

โดย

นางสาวพิมพ์ศิริ หีบแก้ว

สาขาวิชา

วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เบญจพร สุวรรณศิลป์

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัย  
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์  
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ เตชวรสินสกุล)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ศรัณย์ เตชะเสน)

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

..... กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ อรทัย ขวาลภาฤทธิ์)

..... กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร.ปฎิภาณ ปัญญาพลกุล)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย  
(ดร.ภริณดา ทยานุกุล)

พิมพ์ศิริ หีบแก้ว : ผลกระทบของสัดส่วนของระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหารต่อการผลิตพีเอชเอในระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนโดยใช้กลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอน (Effect of feast and famine feeding ratio on PHA production in 2-stage continuous stirred tank reactor activated sludge systems using glycerol as a carbon source) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผศ. ดร. เบญจพร สุวรรณศิลป์, 227 หน้า.

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาสัดส่วนของระยะเวลาที่มีอาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) ต่อการผลิตพีเอชเอในระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนโดยใช้น้ำเสียสังเคราะห์ที่ซึ่งมีกลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอน โดยที่ความเข้มข้นของกลีเซอรอล 3,000 มิลลิกรัมซีไอดี/ลิตร ตะกอนจุลินทรีย์สามารถสะสมปริมาณพีเอชเอได้สูงสุดร้อยละ 20.06 13.67 และ 8.95 % gPHA/gMLSS ในชุดการทดลองที่ 1 2 และ 3 ซึ่งมีค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหารเป็น 0.04 0.15 และ 0.33 ตามลำดับ เมื่อนำตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนมาทำการทดลองการสะสมพีเอชเอในระบบแบบแบทช์ พบว่าได้ปริมาณพีเอชเอสูงสุดเป็น 7.61 7.51 และ 3.92 %gPHA/gMLSS ในชุดการทดลองที่ 1 2 และ 3 ตามลำดับ และเมื่อนำตะกอนจุลินทรีย์มาทดสอบการสะสมพีเอชเอในระบบแบบ fed-batch ซึ่งมีการเติมกลีเซอรอลเข้าสู่ระบบอย่างต่อเนื่อง พบว่าได้ปริมาณพีเอชเอสูงสุดร้อยละ 21.35 12.58 และ 8.01 %gPHA/gMLSS ในชุดการทดลองที่ 1 2 และ 3 ตามลำดับ จากผลการทดลองทั้งหมดพบว่าที่สัดส่วนของระยะเวลาที่มีอาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหารน้อยที่สุดคือ 0.04 ระบบสามารถผลิตพีเอชเอได้สูงสุด และจากผลการวิเคราะห์กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบโดยใช้เทคนิค 16S rRNA gene amplicon sequencing ด้วย Miseq System (Illumina) พบกลุ่มจุลินทรีย์ที่เคยมีรายงานถึงความสามารถในการสะสมพีเอชเอ ได้แก่ 1) *Rhodobacter* spp. 2) แบคทีเรียในแฟมิลี *Comamonadaceae* 3) แบคทีเรียในออเดอร์ *Rhizobiales* และ 4) แบคทีเรียในแฟมิลี *Xanthobacteraceae* ซึ่งกลุ่มจุลินทรีย์ดังกล่าวล้วนแล้วแต่อยู่ในคลาส *Alphaproteobacteria* และ *Betaproteobacteria*

ภาควิชา	วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม	ลายมือชื่อนิสิต.....
สาขาวิชา	วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษา.....
ปีการศึกษา	2559	



# # 5770445121 : MAJOR ENVIRONMENTAL ENGINEERING

KEYWORDS: POLYHYDROXYALKANOATE (PHA)/ FEAST/FAMINE FEEDING REGIME/ 2-STAGE CONTINUOUS STIRRED TANK REACTOR ACTIVATED SLUDGE SYSTEMS/ MIXED CULTURE/ CARBON SOURCE

PIMSIRI HEEBKAEW: Effect of feast and famine feeding ratio on PHA production in 2-stage continuous stirred tank reactor activated sludge systems using glycerol as a carbon source. ADVISOR: ASST. PROF. BENJAPORN SUWANNASILP, Ph.D., 227 pp.

This study investigated the effects of feast and famine feeding ratio on polyhydroxyalkanoate (PHA) production in 2-stage continuous stirred tank reactor activated sludge systems. Synthetic wastewater containing glycerol as a carbon substrate was used in this study. The results show that at the glycerol concentration of 3,000 mgCOD/L, maximum PHA of 20.06 13.67 and 8.95 %gPHA/gMLSS were obtained in AS1, AS2, and AS3 operated at the feast/famine feeding ratio of 0.04, 0.15, and 0.33, respectively. Then, the sludge from the 2-stage continuous stirred tank reactor activated sludge systems was tested for PHA accumulation in batch systems. The results show that maximum PHA of 7.61 7.51 and 3.92 %gPHA/gMLSS were achieved for the sludge from AS1, AS2, and AS3, respectively. For fed-batch systems, in which glycerol was continuously added, maximum PHA of 21.35, 12.58 and 8.01 %gPHA/gMLSS were obtained for the sludge from AS1, AS2, and AS3, respectively. For all sets of experiments, the highest PHA accumulation was achieved at the lowest feast/famine ratio, which was at 0.04. From the microbial community analysis using 16S rRNA gene amplicon sequencing (Miseq, Illumina), microorganisms known for PHA accumulating ability including 1) *Rhodobacter* spp., 2) bacteria in family *Comamonadaceae*, 3) bacteria in order *Rhizobiales*, and 4) bacteria in family *Xanthobacteraceae* were found in the systems. All of these microbial groups belong to the class of *Alphaproteobacteria* and *Betaproteobacteria*.

Department: Environmental Engineering      Student's Signature.....

Field of Study: Environmental Engineering      Advisor's Signature.....

Academic Year: 2016

## กิตติกรรมประกาศ

การทำวิจัยและวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วง ผู้วิจัยได้รับความอนุเคราะห์จากหน่วยงานหลายหน่วยงานและบุคคลหลายท่าน ทั้งนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณต่อผู้ที่ให้ความอนุเคราะห์ดังต่อไปนี้

ทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์จากภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ทุนสนับสนุนจากกองทุนรัชดาภิเษกสมโภช จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (รหัสโครงการ CU-58-042-AM)

บริษัททิปโก้ เอฟ แอนด์ บี จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบบำบัดน้ำเสียเอสปีอาร์ เพื่อใช้ในการเริ่มต้นเดินระบบ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เบญจพร สุวรรณศิลป์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่คอยให้คำปรึกษาและชี้แนะในการทำวิจัยทุกขั้นตอน รวมถึงช่วยแก้ไขสิ่งที่บกพร่องตลอดระยะเวลาในการทำวิจัยและเล่มวิทยานิพนธ์ ซึ่งเป็นส่วนสำคัญที่ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จด้วยดี

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศรัณย์ เตชะเสน ประธานในการสอบวิทยานิพนธ์ ตลอดจนรองศาสตราจารย์ ดร.อรทัย ขวาลภาฤทธิ์ รองศาสตราจารย์ ดร.ปฎิภาณ ปัญญาพลกุล และกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายนอกมหาวิทยาลัย ดร.ภริณดา ทยานุกูล ที่ให้เกียรติและสละเวลาในการสอบวิทยานิพนธ์ ให้คำแนะนำอันเป็นประโยชน์ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการอาคารสีภาคและเจ้าหน้าที่ห้องธุรการ ภาควิวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตลอดจนเจ้าหน้าที่ศูนย์ความเป็นเลิศด้านการจัดการสารและของเสียอันตราย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์และอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือวิเคราะห์ผล ห้องปฏิบัติการวิจัย รวมถึงคำแนะนำด้านเอกสาร

ขอขอบคุณ นายเดชาธร โกมลโยธิน นายกฤตยพงษ์ จันทระเดช และนางสาวดลหทัย สรวรมศิริ ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัย ตลอดจนเพื่อนๆ พี่ๆ ห้องปฏิบัติการวิจัย

สุดท้ายขอขอบคุณบิดา มารดา ที่คอยช่วยเหลือ สนับสนุนในทุกๆ เรื่อง และให้กำลังใจมาโดยตลอด ทำให้วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญรูปภาพ.....	ฉ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	3
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.1 ข้อมูลทั่วไปของโพลีไฮดรอกซีแอลคาโนเอต (PHAs).....	5
2.1.1 โพลีไฮดรอกซีแอลคาโนเอต (PHAs).....	5
2.1.2 โครงสร้างทางเคมีของพีเอชเอ.....	6
2.1.3 การจำแนกประเภทของพีเอชเอ.....	8
2.1.4 โพลีไฮดรอกซีบิวทิเรต (PHB).....	9
2.1.5 คุณสมบัติของพีเอชบี.....	10
2.2 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตพีเอชเอ.....	11
2.3 การผลิตพีเอชเอในภาคอุตสาหกรรมโดยใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์.....	11
2.4 การผลิตพีเอชเอโดยใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม.....	14
2.4.1 ระบบแบบไร้อากาศสลับกับมีอากาศ (Anaerobic-aerobic system).....	14

2.4.2 ระบบแบบมีอากาศเล็กน้อยสลับกับมีอากาศ (Microaerophilic-aerobic system) .....	16
2.4.3 ระบบที่มีการให้อาหารแบบกินพอสลับกับขาดแคลน (Aerobic dynamic feeding หรือFamine and famine feeding).....	17
2.5 การผลิตพีเอชเอโดยใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมร่วมกับการให้อาหารแบบกินพอสลับกับขาดแคลน.....	19
2.5.1 ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับการให้อาหารแบบกินพอสลับกับขาดแคลน.....	19
2.5.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตพีเอชเอของจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมร่วมกับการให้อาหารแบบกินพอสลับกับขาดแคลน.....	19
2.5.3 รูปแบบของกระบวนการผลิตพีเอชเอจากจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมด้วยการให้อาหารแบบกินพอสลับกับขาดแคลน.....	22
2.6 ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับกลีเซอรอล (glycerol) .....	25
2.6.1 กลีเซอรอล (glycerol).....	25
2.6.2 โครงสร้างของกลีเซอรอล (glycerol).....	25
2.6.3 คุณสมบัติของกลีเซอรอล.....	26
2.6.4 การจำแนกประเภทของกลีเซอรอล.....	27
2.6.5 แหล่งที่มาของกลีเซอรอล .....	27
2.6.6 การใช้ประโยชน์ของกลีเซอรอลดิบจากไบโอดีเซล .....	28
2.6.7 การย่อยสลายของกลีเซอรอลโดยจุลินทรีย์ .....	28
2.7 เทคนิคทางชีวโมเลกุลสำหรับวิเคราะห์กลุ่มประชากรจุลินทรีย์.....	30
2.7.1 หลักการของ polymerase chain reaction (PCR).....	31
2.7.2 หลักการวิเคราะห์หาลำดับเบสด้วย miseq system .....	33
2.8 ทบทวนงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....	36
บทที่ 3 แผนการทดลองและการดำเนินงานวิจัย.....	39

3.1 แผนการทดลอง .....	39
3.2 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง.....	41
3.3.1 การทดลองช่วงที่ 1 ศึกษาการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมพืเอชเอใน ระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน.....	46
3.3.1.1 ตะกอนจุลินทรีย์.....	46
3.3.1.2 ระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน.....	47
<u>Feast/Famine = 0.04</u> .....	48
<u>Feast/Famine ratio = 0.15</u> .....	49
<u>Feast/Famine ratio = 0.23</u> .....	50
<u>Feast/Famine ratio = 0.33</u> .....	51
3.3.1.3 การเดินระบบการทดลอง .....	53
3.3.2 การทดลองช่วงที่ 2 ศึกษาปริมาณพืเอชเอที่ผลิตได้จากตะกอนจุลินทรีย์ในระบบ แบบแบทช์และระบบแบบ fed-batch.....	60
3.3.2.1 การศึกษาอัตราการใช้น้ำเสียสังเคราะห์.....	60
3.3.2.2 การศึกษาปริมาณพืเอชเอที่เกิดขึ้นและถูกใช้ไปของตะกอนจุลินทรีย์ใน ระบบแบบแบทช์.....	61
3.3.2.3 การศึกษาความสามารถในการสะสมพืเอชเอสูงสุดของตะกอนจุลินทรีย์ใน ระบบแบบ fed-batch .....	65
3.3.3 การสกัดและตรวจวัดปริมาณพืเอชเอ.....	70
3.3.4 การทดลองช่วงที่ 3 ศึกษาความหลากหลายของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์.....	73
บทที่ 4 ผลการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูล.....	81
4.1 ผลการศึกษาการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมพืเอชเอในระบบตะกอนเร่งชนิดถัง กวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน .....	81

4.1.1 ความเข้มข้นซีโอดี ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณพีเอชเอ (PHA) ในแต่ละชุดการทดลองตลอดการเดินระบบ .....	81
4.1.2 ค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย อุณหภูมิ และแอมโมเนียในการเดินระบบ .....	88
4.1.3 สภาพการตกตะกอนของจุลินทรีย์ในระบบ .....	95
4.2 ผลการศึกษาปริมาณพีเอชเอที่ผลิตได้จากตะกอนจุลินทรีย์ในระบบแบบแบทช์และระบบแบบ fed-batch .....	100
4.2.1 อัตราการใช้น้ำเสียสังเคราะห์สารอินทรีย์ (COD) .....	101
4.2.2 ปริมาณพีเอชเอของตะกอนจุลินทรีย์ในระบบแบบแบทช์ .....	103
4.2.2.1 ความเข้มข้นซีโอดี ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณพีเอชเอ (PHA) ในระบบแบบแบทช์ .....	103
4.2.2.2 ค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย อุณหภูมิ และแอมโมเนียในการเดินระบบแบบแบทช์ .....	107
4.2.3 ความสามารถในการสะสมพีเอชเอสูงสุดของตะกอนจุลินทรีย์ในระบบแบบ fed-batch .....	112
4.2.3.1 ความเข้มข้นซีโอดี ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณพีเอชเอ (PHA) ในระบบแบบ fed-batch .....	112
4.2.3.2 ค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย และอุณหภูมิในระบบแบบ fed-batch .....	117
4.3 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบ .....	122
บทที่ 5 สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ .....	135
5.1 สรุปผลงานวิจัย .....	135
5.2 ข้อเสนอแนะ .....	138
รายการอ้างอิง .....	139
ภาคผนวก ก .....	146
ภาคผนวก ข .....	149

ภาคผนวก ค.....	151
ภาคผนวก ง.....	157
ภาคผนวก จ.....	223
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	227



## สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 ชื่อเรียกพีเอชเอตามหมู่คาร์บอกซิลิกที่มาเกาะตรงตำแหน่งบีต้า ( $\beta$ -position).....	6
ตารางที่ 2 ลักษณะทางกายภาพของพีเอชบีเปรียบเทียบกับโพลีพรพิลีน .....	10
ตารางที่ 3 ผลกระทบของค่าใช้จ่ายสารตั้งต้นและผลผลิตพีเอชบี .....	12
ตารางที่ 4 รายชื่อบริษัทที่เกี่ยวข้องกับการผลิตพีเอชเอและชื่อของผลิตภัณฑ์ .....	13
ตารางที่ 5 คุณสมบัติทางกายภาพของกลีเซอรอล .....	26
ตารางที่ 6 ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร ระยะเวลาที่กักเก็บน้ำในแต่ละถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ และ ปริมาณน้ำในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ที่ใช้ในการทดลองช่วงที่ 1 ในช่วงวันที่ 1 ถึงวันที่ 33.....	56
ตารางที่ 7 ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร ระยะเวลาที่กักเก็บน้ำในแต่ละถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ และ ปริมาณน้ำในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ที่ใช้ในการทดลองช่วงที่ 1 ในช่วงวันที่ 34 ถึงวันที่ 192 .....	56
ตารางที่ 8 องค์ประกอบของน้ำเสียสังเคราะห์ที่ใช้ในการทดลองที่ 1.....	57
ตารางที่ 9 พารามิเตอร์ที่ทำการวิเคราะห์ในช่วงการทดลองที่ 1 .....	59
ตารางที่ 10 องค์ประกอบของน้ำเสียสังเคราะห์ที่ใช้ในการทดลองระบบแบบแบทช์.....	63
ตารางที่ 11 พารามิเตอร์ที่ทำการวิเคราะห์ในช่วงการทดลองระบบแบบแบทช์ .....	64
ตารางที่ 12 องค์ประกอบของน้ำเสียสังเคราะห์ที่ใช้ในการทดลองระบบแบบ fed-batch.....	68
ตารางที่ 13 พารามิเตอร์ที่ทำการวิเคราะห์ในช่วงการทดลองระบบแบบ fed-batch .....	69
ตารางที่ 14 สภาวะเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี.....	72
ตารางที่ 15 ไพร์เมอร์ที่ใช้ในการทดลอง.....	77
ตารางที่ 16 องค์ประกอบของสารเคมีที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาลูโกโซพริเมอเรส หรือ PCR.....	77
ตารางที่ 17 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นจากโรงงานผลิตเครื่องดื่มผักและผลไม้.....	125
ตารางที่ 18 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่จำนวนลำดับเบสสูงสุด 5 อันดับแรกที่พบในตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นจากโรงงานผลิตเครื่องดื่มผักและผลไม้ .....	126



- ตารางที่ 19 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากชุดการทดลองที่ 1 ที่ค่าสัดส่วน  
ระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio)  
เป็น 0.04..... 128
- ตารางที่ 20 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่จำนวนลำดับเบสสูงสุด 5 อันดับแรกที่พบในตะกอน  
จุลินทรีย์จากชุดการทดลองที่ 1 ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลา  
ที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 ..... 128
- ตารางที่ 21 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากชุดการทดลองที่ 2 ที่ค่าสัดส่วน  
ระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio)  
เป็น 0.15..... 130
- ตารางที่ 22 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่จำนวนลำดับเบสสูงสุด 5 อันดับแรกที่พบในตะกอน  
จุลินทรีย์จากชุดการทดลองที่ 2 ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลา  
ที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.15 ..... 130
- ตารางที่ 23 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากชุดการทดลองที่ 3 ที่ค่าสัดส่วน  
ระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio)  
เป็น 0.33..... 132
- ตารางที่ 24 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่จำนวนลำดับเบสสูงสุด 5 อันดับแรกที่พบในตะกอน  
จุลินทรีย์จากชุดการทดลองที่ 3 ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลา  
ที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.33 ..... 132

## สารบัญรูปภาพ

ภาพที่ 1 ภาพตัดขวางของเซลล์ <i>Ralstonia eutropha</i> แสดง PHB ภายในแกรนูลของเซลล์.....	5
ภาพที่ 2 โครงสร้างโดยทั่วไปของพีเอชเอ .....	6
ภาพที่ 3 โครงสร้างโดยทั่วไปของพีเอชบี .....	7
ภาพที่ 4 โครงสร้างโดยทั่วไปของพีเอชวี.....	7
ภาพที่ 5 ลักษณะของพีเอชบีที่สะสมอยู่ในแกรนูลของเซลล์ <i>Pseudomonas putida</i> .....	9
ภาพที่ 6 ลักษณะของเซลล์ที่มีรูปร่างเปลี่ยนไปเมื่อมีการสะสมพีเอชบีในปริมาณมาก .....	9
ภาพที่ 7 ระบบบำบัดน้ำเสียสำหรับการกำจัดฟอสฟอรัส.....	15
ภาพที่ 8 วิธีการผลิตพีเอชโดยจุลินทรีย์กลุ่ม PAO/GAO.....	15
ภาพที่ 9 ระบบบำบัดน้ำเสียแบบมีอากาศเล็กน้อยสลับกับมีอากาศ.....	16
ภาพที่ 10 วิธีการผลิตพีเอชเอภายใต้สภาวะที่มีการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน.....	18
ภาพที่ 11 การออกแบบกระบวนการผลิตพีเอชเอในระดับต้นแบบ.....	24
ภาพที่ 12 สูตรโครงสร้างของกลีเซอรอล.....	25
ภาพที่ 13 วิธีการย่อยสลายของกลีเซอรอล (Fakas, Makri และ Aggelis, 2009).....	29
ภาพที่ 14 แสดงขั้นตอนการเกิด Polymerase Chain Reaction 3 ขั้นตอน.....	32
ภาพที่ 15 การสร้างดีเอ็นเอด้วยวิธี bridge amplification .....	34
ภาพที่ 16 การหาลำดับเบสของสายดีเอ็นเอโดยวิธี miseq system .....	35
ภาพที่ 17 แผนการทดลอง .....	40
ภาพที่ 18 ระบบบำบัดน้ำเสียแบบเอสปีอาร์ ของ บริษัททีปโก้ เอฟ แอนด์ บี .....	46
ภาพที่ 19 ระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน .....	47
ภาพที่ 20 ขนาดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 1 ที่ค่า Feast/Famine = 0.04.....	48
ภาพที่ 21 ขนาดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 2 ที่ค่า Feast/Famine 0.04 .....	48
ภาพที่ 22 ขนาดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 1 ที่ค่า Feast/Famine = 0.15.....	49
ภาพที่ 23 ขนาดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 2 ที่ค่า Feast/Famine = 0.15.....	49

ภาพที่ 24 ขนาดถังกวนผสมแบบสมบูร์ณ์ถังที่ 1 ที่ค่า Feast/Famine = 0.23.....	50
ภาพที่ 25 ขนาดถังกวนผสมแบบสมบูร์ณ์ถังที่ 2 ที่ค่า Feast/Famine = 0.23.....	50
ภาพที่ 26 ขนาดถังกวนผสมแบบสมบูร์ณ์ถังที่ 1 ที่ค่า Feast/Famine = 0.33.....	51
ภาพที่ 27 ขนาดถังกวนผสมแบบสมบูร์ณ์ถังที่ 2 ที่ค่า Feast/Famine = 0.33.....	51
ภาพที่ 28 ขนาดถังตกตะกอน .....	52
ภาพที่ 29 ระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูร์ณ์สองชั้นตอน .....	53
ภาพที่ 30 ระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูร์ณ์สองชั้นตอน .....	54
ภาพที่ 31 แผนดำเนินการทดลองช่วงที่ 1 .....	55
ภาพที่ 32 การเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์หาอัตราการใช้น้ำเสียสังเคราะห์ของจุลินทรีย์ .....	61
ภาพที่ 33 ระบบแบบแบทช์ .....	61
ภาพที่ 34 ขนาดของระบบแบบแบทช์.....	61
ภาพที่ 35 แผนการดำเนินการทดลองช่วง 2 ในระบบแบบแบทช์.....	62
ภาพที่ 36 ระบบแบบ fed-batch.....	65
ภาพที่ 37 ขนาดของระบบแบบ fed-batch.....	65
ภาพที่ 38 แผนการดำเนินการทดลองช่วง 2 ในระบบแบบ fed-batch.....	67
ภาพที่ 39 แผนการดำเนินการทดลองช่วง 3.....	74
ภาพที่ 40 ความเข้มข้นซีโอดีในถังกวนผสมแบบสมบูร์ณ์ถังที่ 1 และถังกวนผสมแบบสมบูร์ณ์ถังที่ 2 .....	85
ภาพที่ 41 ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ในถังกวนผสมแบบสมบูร์ณ์ถังที่ 1 และถังกวนผสมแบบสมบูร์ณ์ถังที่ 2 (ก) ชุดการทดลองที่ 1 (ข) ชุดการทดลองที่ 2 (ค) ชุดการทดลองที่ 3.....	86
ภาพที่ 42 ปริมาณพีเอชเอ (PHA) ในระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูร์ณ์สองชั้นตอน .....	87
ภาพที่ 43 ค่าพีเอชในถังกวนผสมแบบสมบูร์ณ์ถังที่ 1 และถังกวนผสมแบบสมบูร์ณ์ถังที่ 2 .....	89
ภาพที่ 44 ค่าปริมาณออกซิเจนละลายในถังกวนผสมแบบสมบูร์ณ์ถังที่ 1 และถังกวนผสมแบบสมบูร์ณ์ถังที่ 2 (ก) ชุดการทดลองที่ 1 (ข) ชุดการทดลองที่ 2 (ค) ชุดการทดลองที่ 3 .....	92

ภาพที่ 45 ค่าอุณหภูมิในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังที่ 1 และถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังที่ 2.....	93
ภาพที่ 46 ค่าแอมโมเนียในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังที่ 1 และถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังที่ 2.....	95
ภาพที่ 47 ค่าปริมาณตะกอนที่ 30 นาที (SV30) .....	97
ภาพที่ 48 ค่าดัชนีปริมาณตะกอน (SVI) .....	98
ภาพที่ 49 ความเข้มข้นซีไอดีเพื่อวิเคราะห์หาอัตราการใช้สารอินทรีย์ในระบบแบบแบทช์ของ ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองชั้นตอนที่ค่า สัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 0.15 และ 0.33.....	102
ภาพที่ 50 ความเข้มข้นซีไอดี ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณพีเอชเอ.....	104
ภาพที่ 51 ความเข้มข้นซีไอดี ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณพีเอชเอ.....	105
ภาพที่ 52 ความเข้มข้นซีไอดี ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณพีเอชเอ.....	106
ภาพที่ 53 ค่าพีเอชในระบบแบบแบทช์ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสม แบบสมบูรณ์สองชั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาด แคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 0.15 และ 0.33 .....	108
ภาพที่ 54 ค่าปริมาณออกซิเจนในระบบแบบแบทช์ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่ง ชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองชั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อ ระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 0.15 และ 0.33.....	109
ภาพที่ 55 ค่าอุณหภูมิในระบบแบบแบทช์ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวน ผสมแบบสมบูรณ์สองชั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 0.15 และ 0.33 .....	110
ภาพที่ 56 ค่าแอมโมเนียในระบบแบบแบทช์ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถัง กวนผสมแบบสมบูรณ์สองชั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลา ที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 0.15 และ 0.33.....	111
ภาพที่ 57 ความเข้มข้นซีไอดี ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณพีเอชเอในระบบ แบบ fed-batch ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบ สมบูรณ์สองชั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลน (feast/famine ratio) เป็น 0.04 .....	113

- ภาพที่ 58 ปริมาณการใช้สารอินทรีย์สะสมและปริมาณพีเอชเอในระบบแบบ fed-batch ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองชั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินต่อระยะเวลาที่ขาดแคลน (feast/famine ratio) เป็น 0.04 ..... 113
- ภาพที่ 59 ความเข้มข้นซีไอดี ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณพีเอชเอในระบบแบบ fed-batch ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองชั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินต่อระยะเวลาที่ขาดแคลน (feast/famine ratio) เป็น 0.15 ..... 114
- ภาพที่ 60 ปริมาณการใช้สารอินทรีย์สะสมและปริมาณพีเอชเอในระบบแบบ fed-batch ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองชั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินต่อระยะเวลาที่ขาดแคลน (feast/famine ratio) เป็น 0.15 ..... 115
- ภาพที่ 61 ความเข้มข้นซีไอดี ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณพีเอชเอในระบบแบบ fed-batch ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองชั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินต่อระยะเวลาที่ขาดแคลน (feast/famine ratio) เป็น 0.33 ..... 116
- ภาพที่ 62 ปริมาณการใช้สารอินทรีย์สะสมและปริมาณพีเอชเอในระบบแบบ fed-batch ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองชั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินต่อระยะเวลาที่ขาดแคลน (feast/famine ratio) เป็น 0.33 ..... 116
- ภาพที่ 63 ค่าพีเอชเอในระบบแบบ fed-batch ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองชั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 0.15 และ 0.33 ..... 118
- ภาพที่ 64 ค่าปริมาณออกซิเจนในระบบแบบ fed-batch ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองชั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 0.15 และ 0.33 ..... 120
- ภาพที่ 65 ค่าอุณหภูมิในระบบแบบ fed-batch ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองชั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 0.15 และ 0.33 ..... 121

ภาพที่ 66 ผลการทำ PCR ของตะกอนจุลินทรีย์ตัวอย่าง.....	122
ภาพที่ 67 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์แยกตามฟิล์มที่พบในตะกอนจุลินทรีย์ในระบบตะกอนเร่งชนิด ถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองชั้นตอนในแต่ละชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยกลีเซอรอลเป็น แหล่งคาร์บอน.....	124



## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันประเทศไทยมีการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลทดแทนการใช้ น้ำมันดีเซลมากขึ้นทำให้การผลิตไบโอดีเซลมีการเจริญเติบโตอย่างต่อเนื่อง โดยอัตราการผลิตไบโอดีเซลที่เพิ่มสูงขึ้นส่งผลให้อุตสาหกรรมไบโอดีเซลกำลังเผชิญหน้ากับผลพลอยได้หลักคือ กลิเซอรอล จากการคาดการณ์อุตสาหกรรมไบโอดีเซลจะเพิ่มสูงถึง 37 พันล้านแกลลอนในปี 2016 คิดเป็น 42 เปอร์เซ็นต์ต่อปี ส่งผลต่อการผลิตกลีเซอรอลดิบถึง 4 พันล้านแกลลอน (Moita, Freches และ Lemos, 2014) โดยกลีเซอรอลที่ได้จากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลถูกนำมาใช้ประโยชน์ในด้านอุตสาหกรรมอาหาร ยา และอุตสาหกรรมเครื่องสำอางค์เป็นส่วนใหญ่ ส่งผลให้มีค่าใช้จ่ายที่สูงสำหรับกระบวนการผลิตเพื่อความบริสุทธิ์ ในช่วงที่ผ่านมาจึงได้มีการพยายามนำกลีเซอรอลดิบกลับมาใช้ประโยชน์ ซึ่งถือว่าเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในปัจจุบันเพราะคือการนำของเสียกลับมาใช้ประโยชน์ หรือเรียกได้ว่าเป็นการดึงกลับทรัพยากร (resource recovery) จากของเสีย โดยกลีเซอรอลดิบได้รับการพิจารณาเป็นวัตถุดิบสำหรับการหมักอุตสาหกรรมใหม่ (new industrial fermentation) และอีกประเด็นที่น่าสนใจ คือการผลิตโพลีไฮดรอกซีแอลคาโนเอต หรือพีเอชเอ (Polyhydroxyalkanoates; PHAs) จากกลีเซอรอลดิบหรือจากน้ำเสียที่ปนเปื้อนกลีเซอรอล (Yang, Hanna และ Sun, 2012)

โพลีไฮดรอกซีแอลคาโนเอต หรือพีเอชเอ คือโพลีเอสเทอร์ที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพอย่างสมบูรณ์ มีคุณสมบัติเป็นเทอร์โมพลาสติกทำให้พีเอชเอมีลักษณะคล้ายกับพลาสติกที่สังเคราะห์จากกระบวนการทางปิโตรเคมี โดยพีเอชเอจะถูกสะสมไว้ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ (Chanprateep, 2010) อย่างไรก็ตามการผลิตพีเอชเอในภาคอุตสาหกรรมยังคงถูกจำกัดในเชิงพาณิชย์เนื่องจากต้นทุนการผลิตที่สูงขึ้น โดยการผลิตพีเอชเอด้วยจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์ (pure culture) มีค่าใช้จ่ายในการรักษาความบริสุทธิ์และต้องการกระบวนการที่ปราศจากเชื้อ ด้วยเหตุผลนี้จึงมีความสนใจที่จะใช้เชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม (mixed microbial cultures) ที่ได้จากตะกอนจุลินทรีย์ส่วนเกินจากระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพมาใช้ให้จุลินทรีย์สะสมพีเอชเอ โดยพบว่าจุลินทรีย์บางชนิดในตะกอนจุลินทรีย์ส่วนเกินมีความสามารถในการสะสมพีเอชเอ (Bengtsson และคณะ, 2008) และการกระตุ้น

ให้จุลินทรีย์สะสมพีเอชเอนั้นสามารถทำได้โดยการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน (feast/famine feeding regime) เนื่องจากในสภาวะที่ขาดแคลนอาหารจุลินทรีย์กลุ่มที่สามารถสะสมพีเอชเอจะเจริญเติบโตได้ดีกว่ากลุ่มที่ไม่สะสมพีเอชเอ และเมื่อเวลาผ่านไปจุลินทรีย์กลุ่มที่ไม่สามารถผลิตพีเอชเอได้จะมีปริมาณลดลง (Salehizadeh และ Van Loosdrecht, 2004)

ขั้นตอนการคัดเลือกกลุ่มประชากรจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมสำหรับผลิตพีเอชเอโดยทั่วไปมักดำเนินการในระบบถังปฏิกรณ์กึ่งเท (Sequencing batch reactors; SBR) อย่างไรก็ตามในงานวิจัยของ Bengtsson และคณะ (2008) และ Albuquerque และคณะ (2010) ได้พัฒนาการใช้ถังปฏิกรณ์แบบไหลต่อเนื่องโดยใช้กระบวนการหมักกรดร่วมกับระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ 2 ขั้นตอน (2-stage continuous stirred tank reactor activated sludge systems) เพื่อคัดเลือกกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมพีเอชเอ ภายใต้สภาวะที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน ซึ่งถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังแรกทำหน้าที่ให้เกิดสภาวะที่มีอาหารเกินพอ (feast phase) และถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังที่ 2 ทำหน้าที่ให้เกิดสภาวะขาดแคลนอาหาร (famine phase) โดยพบว่าระบบสามารถผลิตพีเอชเอได้สูงถึง 48 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักจากงานวิจัยซึ่งใช้น้ำเสียจากโรงงานกระดาษ (Bengtsson และคณะ, 2008) และ 61 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักจากงานวิจัยซึ่งใช้น้ำเสียจากน้ำตาล (Albuquerque และคณะ, 2010) อย่างไรก็ตามงานวิจัยทางด้านการผลิตพีเอชเอโดยใช้ระบบถังปฏิกรณ์แบบไหลต่อเนื่องยังคงมีอยู่อย่างจำกัด นอกจากนี้การผลิตพีเอชเอโดยใช้ระบบถังปฏิกรณ์แบบไหลต่อเนื่องยังมีข้อดีคือ สามารถรองรับน้ำเสียที่ปนเปื้อนสารอินทรีย์ได้อย่างต่อเนื่อง ซึ่งสอดคล้องกับน้ำเสียจริงในปัจจุบันที่เกิดขึ้นในโรงงานอุตสาหกรรม

งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาหาค่าสภาวะที่เหมาะสมในการให้อาหารเกินพอสลับกับขาดแคลนต่อการผลิตพีเอชเอในตะกอนจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม ร่วมกับการใช้น้ำเสียสังเคราะห์ซึ่งประกอบด้วยกลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเลือกใช้ระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน (2-stage continuous stirred tank reactor activated sludge systems) ในการคัดเลือกกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมพีเอชเอ นอกจากนี้งานวิจัยนี้ยังให้ความสำคัญถึงการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน จึงทำการศึกษากลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบดังกล่าวโดยใช้เทคนิค 16S rRNA gene amplicon sequencing ด้วย Miseq System (Illumina) ซึ่งการศึกษาครั้งนี้จะเป็นแนวทางในการพัฒนาระบบการผลิตพีเอชเอของจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมโดยใช้น้ำเสียปนเปื้อนกลีเซอรอลเป็นสารตั้งต้นต่อไป



## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาความสามารถในการผลิตฟิเอชเอของจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม โดยใช้น้ำเสียสังเคราะห์ซึ่งประกอบด้วยกลีเซอรอลเป็นสารตั้งต้นในระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบรูณ์สองขั้นตอน (2-stage continuous stirred tank reactor activated sludge systems) ภายใต้สภาวะสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาขาดแคลนอาหารที่แตกต่างกัน

1.2.2 เพื่อศึกษากลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่ผ่านการคัดเลือกจากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบรูณ์สองขั้นตอน (2-stage continuous stirred tank reactor activated sludge systems) ภายใต้สภาวะสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาขาดแคลนอาหารที่แตกต่างกัน

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการดำเนินการระดับห้องปฏิบัติการ ณ ห้องปฏิบัติการภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยและห้องปฏิบัติการอาคารสีภาควิชา คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อศึกษาผลกระทบของสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหารต่อการผลิตฟิเอชเอในระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบรูณ์สองขั้นตอนโดยใช้กลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอน โดยมีขอบเขตดังต่อไปนี้

1.3.1 ดำเนินการทดลองโดยใช้ระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบรูณ์สองขั้นตอน (2-stage continuous stirred tank reactor activated sludge systems) จำนวน 3 ระบบ ภายใต้สภาวะที่มีการเติมอากาศตลอดเวลา กำหนดค่าอายุตะกอน 10 วัน ระยะเวลาในการกักเก็บน้ำ 2 วัน

1.3.2 ดำเนินการทดลองโดยใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมที่นำมาจากโรงงานผลิตเครื่องดื่มจากผักและผลไม้ (บริษัท ทีบีโก้ เอฟแอนด์บี จำกัด)

1.3.3 ดำเนินการทดลองโดยใช้น้ำเสียสังเคราะห์ที่มีแหล่งสารอินทรีย์เป็นกลีเซอรอล

1.3.4 ทำการวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ ตลอดการทดลอง ได้แก่ pH DO COD MLSS SV30 SVI ปริมาณฟิเอชเอ แอมโมเนีย และ อุณหภูมิ

1.3.5 ศึกษาากลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่ผ่านการคัดเลือกจากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบรูณ์สองขั้นตอน (2-stage continuous stirred tank reactor activated sludge systems) ด้วยเทคนิค 16S rRNA gene amplicon sequencing ด้วย Miseq System (Illumina)

#### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 เพิ่มองค์ความรู้เกี่ยวกับการผลิตฟิเอชเอด้วยการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน โดยใช้กลีเซอรอลเป็นสารตั้งต้น

1.4.2 ทราบถึงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่ผ่านการคัดเลือกจากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน (2-stage continuous stirred tank reactor activated sludge systems) โดยมีสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาขาดแคลนอาหารที่แตกต่างกัน

1.4.3 เป็นแนวทางในการพัฒนาระบบการผลิตฟิเอชเอของจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม โดยใช้กลีเซอรอลเป็นสารตั้งต้นภายใต้ระบบถังปฏิกรณ์แบบไหลต่อเนื่องต่อไป



## บทที่ 2

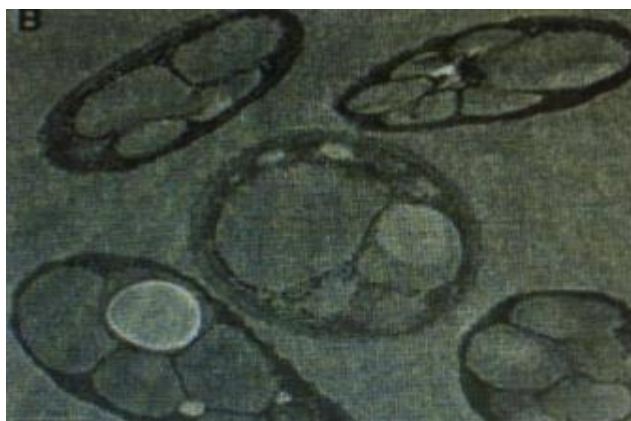
### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 ข้อมูลทั่วไปของโพลีไฮดรอกซีแอลคาโนเอต (PHAs)

##### 2.1.1 โพลีไฮดรอกซีแอลคาโนเอต (PHAs)

โพลีไฮดรอกซีแอลคาโนเอต หรือพีเอชเอ (Polyhydroxyalkanoates; PHAs) จัดเป็นพลาสติกชีวภาพ (bioplastics) ชนิดหนึ่งซึ่งสามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพอย่างสมบูรณ์ พีเอชเอมีคุณสมบัติเป็นเทอร์โมพลาสติก (thermoplastic) คุณสมบัติดังกล่าวทำให้พีเอชเอมีลักษณะคล้ายกับโพลีโพรพิลีน (polypropylene) ซึ่งเป็นพลาสติกที่สังเคราะห์ขึ้นจากกระบวนการทางปิโตรเคมี โดยพีเอชเอจะถูกสะสมไว้ในเซลล์ของจุลินทรีย์เช่น แบคทีเรีย เพื่อเป็นแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอน ซึ่งถูกเก็บสะสมอยู่ในรูปของแกรนูลภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์ ชนิดพีเอชเอที่ผลิตได้โดยทั่วไปจะขึ้นอยู่กับแหล่งคาร์บอนที่ใช้

ปัจจุบันมีการค้นพบสารกลุ่มพีเอชเอที่มีความแตกต่างกันมากถึง 150 แบบ และชนิดของพีเอชเอที่พบมากที่สุดคือ โพลีไฮดรอกซีบิวทิเรต หรือพีเอชบี โดยจุลินทรีย์ในตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ มีจุลินทรีย์หลายสายพันธุ์ที่สามารถผลิตและสะสมพีเอชเอได้ ซึ่งพบอยู่ในรูปของโพลีไฮดรอกซีบิวทิเรต หรือพีเอชบี (Polyhydroxybutyrate; PHB) และโพลีไฮดรอกซีวาเลอเรท หรือพีเอชวี (Polyhydroxyvalerate; PHV) KORN UNIVERSITY

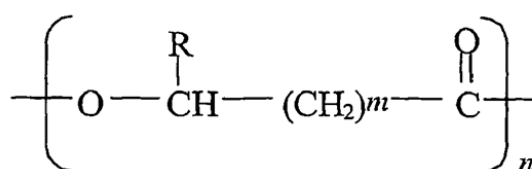


ภาพที่ 1 ภาพตัดของเซลล์ *Ralstonia eutropha* แสดง PHB ภายในแกรนูลของเซลล์

(Chanprateep และคณะ, 2008)

### 2.1.2 โครงสร้างทางเคมีของพีเอชเอ

พีเอชเอจัดเป็นโพลีเอสเตอร์ชนิดหนึ่ง ซึ่งมีสูตรโครงสร้างแสดงดังภาพที่ 2 มีลักษณะโครงสร้างเป็น โพลีเอสเตอร์สายตรง โดยโครงสร้างสายหลักประกอบด้วย คาร์บอน ออกซิเจน และ ไฮโดรเจน เป็น 3-ไฮดรอกซีอัลคานอยด์ แต่จะมีความแตกต่างกันของหมู่ฟังก์ชันที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 (C-3) และยังสามารถต่อกันได้มากกว่า 1 โมโนเมอร์ ทำให้เกิดเป็นพีเอชเอแต่ละชนิด แสดงดังตารางที่ 1 (S. Y. Lee และ Chang, 1995)



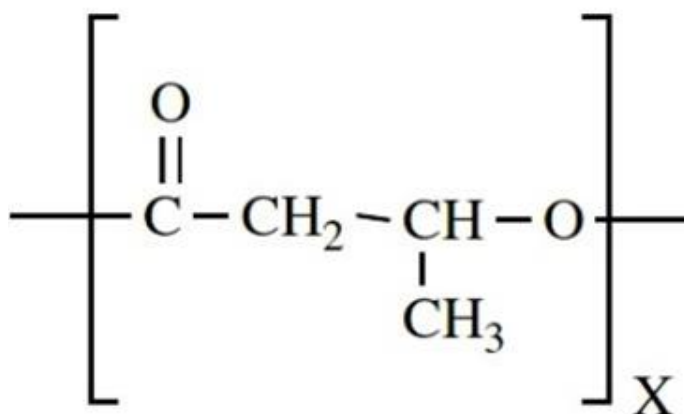
ภาพที่ 2 โครงสร้างโดยทั่วไปของพีเอชเอ

ที่มา: <http://patentimages.storage.googleapis.com/EP1687436B1/imgb0005.png>

ตารางที่ 1 ชื่อเรียกพีเอชเอตามหมู่คาร์บอกซิลิกที่มาเกาะตรงตำแหน่งบีต้า ( $\beta$ -position)

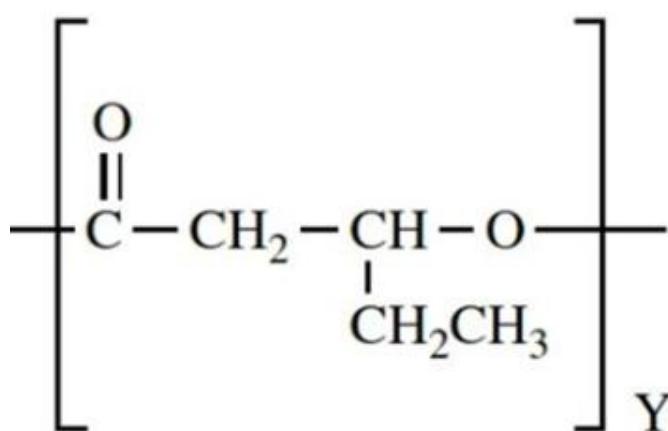
Functional Group	PHAs
Hydrogen	Poly(3-hydroxypropinoate)
Methyl	Poly(3-hydroxybutyrate)
Ethyl	Poly(3-hydroxyvalerate)
Propyl	Poly(3-hydroxyhexanoate)
Pentyl	Poly(3-hydroxyoctanoate)
Nonyl	Poly(3-hydroxydodecanoate)

ที่มา: Lee และ Chang (1995)



ภาพที่ 3 โครงสร้างโดยทั่วไปของพีเอสบี

ที่มา: <http://www.intechopen.com/source/html/45095/media/image9.jpeg>



ภาพที่ 4 โครงสร้างโดยทั่วไปของพีเอชวี

ที่มา: <http://www.intechopen.com/source/html/45095/media/image9.jpeg>

### 2.1.3 การจำแนกประเภทของพีเอชเอ

การจำแนกพีเอชเอเมื่อเทียบกับขนาดความยาวของโมโนเมอร์กรดไฮดรอกซีแอลคาโนอิก (Steinbüchel และ Pieper, 1992) สามารถจำแนกพีเอชเอออกเป็น 3 ประเภท คือ

(1) พีเอชเอสายสั้น Short-chain-length PHAs (scl-PHAs) ประกอบด้วยจำนวนคาร์บอนตั้งแต่ C3 ถึง C5 ซึ่ง PHB และ PHV เป็นสารที่จัดอยู่ใน PHAs กลุ่มนี้

(2) พีเอชเอสายกลาง Medium length-PHAs (mcl-PHAs) ประกอบด้วยคาร์บอนตั้งแต่ C6 ถึง C16 โพลีเมอร์กลุ่มนี้ได้แก่ โพลี(3-ไฮดรอกซีเฮกซาโนเอต) (3-ไฮดรอกซีเฮปทาโนเอต) โพลี(3-ไฮดรอกซีออกทาโนเอต) และโพลี(3-ไฮดรอกซีโดเดคาโนเอต) เป็นต้น

(3) พีเอชเอสายยาว Long-chain-length PHAs (lcl-PHAs) ได้แก่พีเอชเอที่ประกอบด้วยคาร์บอนมากกว่า C16

การจำแนกเมื่อพิจารณาจากชนิดของหน่วยซ้ำกันในโซ่โพลีเมอร์ จะสามารถจำแนกโพลีเมอร์ออกเป็น 2 ประเภท คือ (Woraittinun และ Suwannasilp, 2017)

(1) โฮโมโพลีเมอร์ (Homopolymer) คือโพลีเมอร์ที่สังเคราะห์ขึ้นมาจากโมโนเมอร์เพียงชนิดเดียวเท่านั้น เช่น โพลี (3-ไฮดรอกซีบิวทีเรต) และโพลี (3-ไฮดรอกซีวาลาเรต)

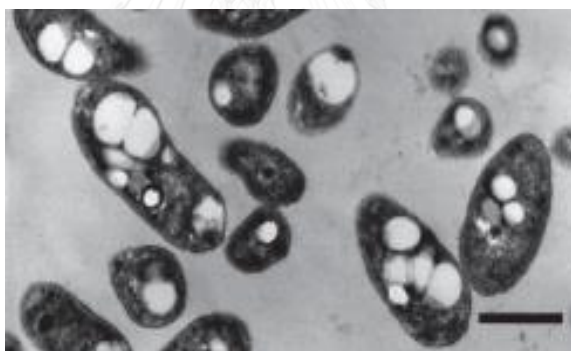
(2) เฮเทอโรโพลีเมอร์ (Heteropolymer) คือ โพลีเมอร์ที่ประกอบด้วยโมโนเมอร์ตั้งแต่สองชนิดขึ้นไปมาต่อเข้าด้วยกัน โดยสามารถแบ่งออกตามจำนวนของโมโนเมอร์ที่เป็นองค์ประกอบดังนี้

(2.1) โคโพลีเมอร์ (Copolymer) คือโมโนเมอร์ 2 ชนิด มาต่อเข้าด้วยกันเป็นสายโพลีเมอร์

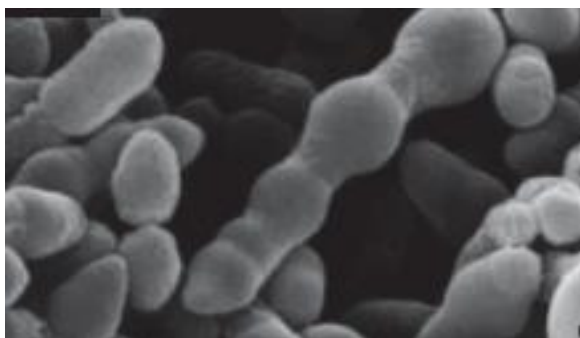
(2.2) เทอริโพลีเมอร์ (Terpolymer) คือโมโนเมอร์ 3 ชนิดต่อกันเป็นสายโพลีเมอร์

#### 2.1.4 โพลีไฮดรอกซีบิวทิเรต (PHB)

โพลีไฮดรอกซีบิวทิเรต หรือพีเอชบี (Polyhydroxybutyrate; PHB) ถูกพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1926 ณ สถาบันปาสเตอร์ กรุงปารีส ประเทศฝรั่งเศส โดย Maurice Lemoigne ซึ่งการสะสมโพลีเมอร์ชนิดนี้สามารถเกิดได้ในแบคทีเรียหลายชนิด ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ แบคทีเรียที่เจริญเติบโตโดยใช้อากาศ หรือ ไม่ใช้อากาศ แบคทีเรียที่สามารถสังเคราะห์แสงได้ รวมถึงอาร์เคีย เป็นต้น โดยพีเอชบีที่เกิดขึ้นจะมีลักษณะเป็นก้อนกลมๆ ลอยอยู่ในไซโตพลาสซึมภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ แสดงดังภาพที่ 5 ซึ่งพีเอชบีทำหน้าที่เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานให้กับเซลล์ จำนวนพีเอชบีจะอยู่ในช่วง 8-12 แกรนูลต่อเซลล์ เมื่อเพาะเลี้ยงเซลล์ในสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตพีเอชบี ทำให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเซลล์เพิ่มขึ้นจาก 0.24 เป็น 0.50 ไมโครเมตร ส่งผลให้รูปร่างของเซลล์เปลี่ยนไปจากเดิม แสดงดังภาพที่ 6 อย่างไรก็ตามการสะสมพีเอชบีจะหยุดที่ปริมาณหนึ่งแม้ว่าสารตั้งต้นหรือเอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์พีเอชบียังคงมีอยู่ก็ตาม เนื่องจากเนื้อที่ภายในเซลล์ที่มีอยู่อย่างจำกัด (Luengo และคณะ, 2003)



ภาพที่ 5 ลักษณะของพีเอชบีที่สะสมอยู่ภายในแกรนูลของเซลล์ *Pseudomonas putida*  
ที่มา: Luengo และคณะ (2003)



ภาพที่ 6 ลักษณะของเซลล์ที่มีรูปร่างเปลี่ยนไปเมื่อมีการสะสมพีเอชบีในปริมาณมาก  
ที่มา: Luengo และคณะ (2003)

### 2.1.5 คุณสมบัติของพีเอชบี

ลักษณะโดยทั่วไปของพีเอชบี คือเป็นไฮโมโพลีเมอร์ที่ประกอบด้วย กรดไฮดรอกซีบิวทริก (3-hydroxybutyric acid) จัดเป็นเทอร์โมพลาสติกที่มีความเหนียวสูงและสามารถหล่อให้เป็นรูปร่างต่างๆ ได้ มีเปอร์เซ็นต์การตกผลึกสูงถึง 80 เปอร์เซ็นต์ โดยคุณสมบัติที่สำคัญต่อสภาวะแวดล้อม คือเป็นโพลีเมอร์ที่สามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้อย่างสมบูรณ์ นอกจากนี้ยังสามารถนำมาผลิตเป็นพลาสติกและนำมาประยุกต์ใช้งานในด้านต่างๆ ได้ เนื่องจากพีเอชบีมีคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีใกล้เคียงกับพลาสติกที่สังเคราะห์จากอุตสาหกรรมปิโตรเคมี เช่น โพลีโพรพิลีน (Ojumu, Yu และ Solomon, 2004)

ตารางที่ 2 ลักษณะทางกายภาพของพีเอชบีเปรียบเทียบกับโพลีโพรพิลีน

Property	PHB	Polypropylene
Melting point (°C)	175	176
Glass-transition temp (°C)	15	-10
Crystalline (%)	80	70
Young's modulus	3.5	1.7
Tensile strength (MPa)	40	34.5
Elongation to break (%)	6	400
Impact strength (v/m)	50	45

ที่มา: Ojumu และคณะ, (2004)

จากตารางที่ 2 จะพบว่าพีเอชบีมีความเสถียรของการหลอมเหลวต่ำ เนื่องจากเกิดการสลายตัวที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส ซึ่งใกล้เคียงกับจุดหลอมเหลว โดยพีเอชบีมีความสามารถในการต้านทานตัวทำละลายต่ำกว่าโพลีโพรพิลีน หรือ พีเอชวี แต่สามารถทนต่อรังสีอัลตราไวโอเล็ตได้ดีกว่า ส่งผลให้พีเอชบีเปราะเมื่อเวลาผ่านไป แต่อย่างไรก็ตามสามารถลดความเปราะของพีเอชบีได้ โดยการทำเป็นโคโพลีเมอร์กับโมโนเมอร์ตัวอื่น



## 2.2 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตพีเอชเอ

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตพีเอชเอ แบ่งออกเป็น 2 ชนิดคือ จุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์ และ จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม โดยจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์จะใช้สารอาหารประเภทกรดไขมัน กากน้ำตาล และน้ำเสียจากอุตสาหกรรมหรือกระบวนการผลิต ต่อมาในช่วงหลังเริ่มหันมาใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมในการผลิตพีเอชเอมากขึ้น เพื่อแก้ปัญหาเรื่องราคาต้นทุนของกระบวนการผลิตพีเอชเอ เนื่องจากไม่จำเป็นต้องผ่านการฆ่าเชื้อและใช้ร่วมกับระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพได้

## 2.3 การผลิตพีเอชเอในภาคอุตสาหกรรมโดยใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์

ในการผลิตพีเอชเอในภาคอุตสาหกรรมจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์ที่นิยมใช้ได้แก่ *Alcaligenes latus*, *Azotobacter vinelandii*, *Pseudomonas oleovorans* และ *Alcaligenes eutrophus* ซึ่งการผลิตพีเอชเอโดยจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์จะเกิดขึ้นเมื่อเซลล์อยู่ภายใต้สภาวะที่ขาดสมดุลทางสารอาหารหรือพลังงาน เช่น มีการจำกัดสารอาหารจำพวกไนโตรเจน หรือฟอสฟอรัส ขณะที่ยังคงมีปริมาณแหล่งคาร์บอนอยู่ ในสภาวะนี้เซลล์จะเกิดการสะสมพีเอชเอ (PHA accumulation phase) คือเซลล์จะไม่มีการเจริญเติบโตหรือเกิดการแบ่งตัว แต่กระบวนการเมตาบอลิซึมภายในเซลล์ยังคงมีต่อไปเพื่อสร้างไฮดรอกซีอัลคิลโคเอ (Hydroxyalkyl-CoA, HA-CoA) ซึ่ง HA-CoA เปรียบเสมือนสารตั้งต้นในการสร้างโมโนเมอร์และสร้างพีเอชเอด้วยเอนไซม์ (PHA synthesis) ต่อไป ทั้งนี้ปัญหาสำคัญของการผลิตพีเอชเอโดยใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์คือ ต้นทุนการผลิตที่สูงเมื่อเทียบกับพลาสติกที่ผลิตจากปิโตรเคมี โดยวัตถุประสงค์ของการผลิตพีเอชเอเชิงพาณิชย์พยายามอย่างมากเพื่อลดต้นทุนในการผลิตผ่านการพัฒนาสายพันธุ์ของแบคทีเรีย และเพิ่มประสิทธิภาพการหมักหรือกระบวนการสกัด จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าค่าใช้จ่ายที่สำคัญในการผลิตพีเอชเอเป็นค่าใช้จ่ายของสารตั้งต้น ซึ่งผลกระทบของค่าใช้จ่ายสารตั้งต้นและผลผลิตพีเอชเอปีแสดงดังตารางที่ 3 โดยผลผลิตของพีเอชเอจากสารตั้งต้นต่างๆ จะมีลักษณะคล้ายกัน ดังนั้นราคาของสารตั้งต้นจึงมีผลกระทบมากที่สุดต่อต้นทุนในการผลิตพีเอชเอ จากตารางที่ 3 ราคาของสารตั้งต้นที่ถูกที่สุดเท่ากับ  $\$0.22 \text{ kg}^{-1}$  ซึ่งเมื่อเทียบกับค่าใช้จ่ายของโพลีโพรพิลีน (PP) ที่เท่ากับ  $\$0.185 \text{ kg}^{-1}$  นั้นถือว่ามีความสูงกว่า (Salehizadeh และ Van Loosdrecht, 2004) ในปัจจุบันการผลิตพีเอชเอในภาคอุตสาหกรรมโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์และผลิตภัณฑ์ที่ได้สามารถสรุปได้ดังตารางที่ 4 (Paul, Neuhauser และ Liu, 2012)

ตารางที่ 3 ผลกระทบของค่าใช้จ่ายสารตั้งต้นและผลผลิตพีเอชบี

Substrate	Price (US \$ kg <sup>-1</sup> )	Yield (g PHB/g substrate)	Substrate cost (US \$ kg <sup>-1</sup> PHB)
Glucose	0.493	0.38	1.35
Sucrose	0.295	0.40	0.72
Methanol	0.180	0.43	0.42
Acetic acid	0.595	0.38	1.56
Ethanol	0.502	0.50	1.00
Cane molasses	0.220	0.42	0.52
Cheese whey	0.071	0.33	0.22
Hydrolyzed corn starch	0.220	0.185	0.58
Hemicellulose hydrolyzate	0.069	0.20	0.34

ที่มา: Salehizadeh และ Van Loosdrecht (2004)

แหล่งคาร์บอนที่นิยมใช้ในการผลิตพีเอชบีส่วนใหญ่ ได้แก่ กลูโคสและซูโครส ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนที่มีต้นทุนการผลิตที่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับการผลิตพลาสติกสังเคราะห์จากปิโตรเคมี ทำให้ปัจจุบันยังไม่มีหรือนำพลาสติกชนิดนี้มาใช้กันอย่างแพร่หลาย ซึ่งแนวทางในการแก้ปัญหาดังกล่าวคือการใช้สารตั้งต้นใหม่ที่มีราคาถูกลง เช่น by-product ต่างๆ ได้แก่ กากน้ำตาล แป้ง กลิเซอรอล เป็นต้น

ตารางที่ 4 รายชื่อบริษัทที่เกี่ยวข้องกับการผลิตพีเอชเอและชื่อของผลิตภัณฑ์

Company	Products
Berlin Packaging Corp. (U.S)	Zeneca/ICI Biopol
Bioscience Ltd. (Finland)	Medical applications of PHAs
Bioventures Alberta, Inc.(Canada)	PHA produced by recombinant <i>E.coli</i>
Metabolix, Inc. (U.S)	PHB, P(HB : HV) (Mirel)
Metabolix/ ADM	Transgenic plant PHAs
Monsanto (U.S.)	Transgenic plant PHAs
Polyferm, Inc. (Canada)	PHAs from hemicellulose; use of <i>Burkholderia cepacia</i> on xylose
Monsanto-Metabolix (U.S.)	Biopol from <i>Cupriavidus necator</i>
Nodax Procter and Gamble (U.S.)	PHBHx, PHBO, PHBOd (Nodax)
Tianan Biologic Material Co ( China)	PHB and P(HB : HV) (Enmat)
Tianjin GreenBio Materials Co., Ltd. (GreenBio) (China)	Sogreen
Biocycle Copersucar (Brasil)	PHB and P(HB : HV) (Biocycle)
Biomer (Germany)	PHB and P(HB : HV) (Biomer L)
BIO-ON (Italy)	Minerv-PHA (from sugar beets)
Nature Works LLC (U.S.)	Ingeo biopolymer
Micromidas	Constructed microbial population able to adapt to a variety of materials, including waste

ที่มา: Paul, Neuhauser และ Liu (2012)

สำหรับประเทศไทยในปัจจุบัน การลงทุนในอุตสาหกรรมพลาสติกชีวภาพ จำเป็นต้องใช้เงินลงทุนเป็นจำนวนมากและใช้เทคโนโลยีขั้นสูง จึงกลายเป็นข้อจำกัดด้านการลงทุน มีเพียงผู้ประกอบการรายใหญ่ คือ บริษัท ปตท. จำกัด (มหาชน) ที่เป็นผู้ผลิตเม็ดพลาสติกชีวภาพรายใหญ่และรายเดียวในประเทศไทย นอกเหนือจากนั้นผู้ประกอบการด้านผลิตภัณฑ์พลาสติกชีวภาพต้องนำเข้าเม็ดพลาสติกชีวภาพจากต่างประเทศเท่านั้น โดยฝ่ายวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีกระบวนการปิโตรเลียมและปิโตรเคมีของบริษัท ปตท. จำกัด (มหาชน) ที่จังหวัดระยอง มีการผลิตเม็ดพลาสติกชีวภาพเกรดทั่วไป ซึ่งมีกำลังผลิตเม็ดพลาสติกชีวภาพชนิด PBS ปริมาณ 20,000 ตันต่อปีและเป็นเม็ดพลาสติกชีวภาพชนิด PLA ปริมาณ 140,000 ตันต่อปี อย่างไรก็ตามก็ตีกระบวนการผลิตเม็ดพลาสติกชีวภาพของบริษัท ปตท. จำกัด (มหาชน) ยังใช้เทคโนโลยีของต่างประเทศ (ธนาวดี ลี้จากภัย, 2549)

## 2.4 การผลิตพีเอชเอโดยใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม

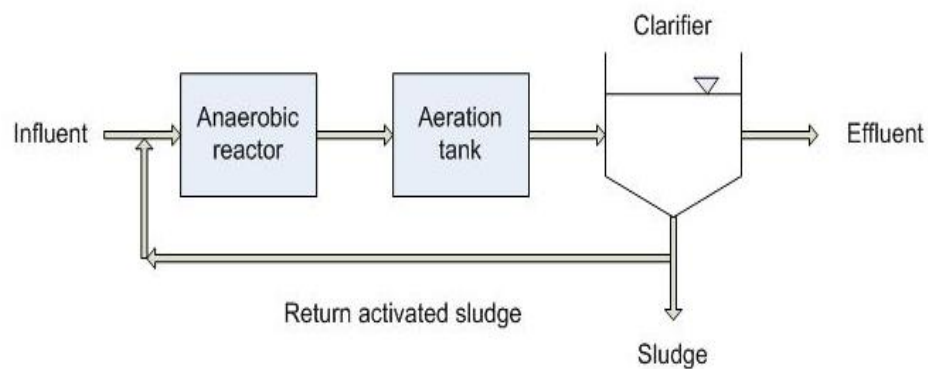
วิธีการผลิตพีเอชเอที่ใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมในปัจจุบันมี 3 วิธีดังนี้ (Salehizadeh และ Van Loosdrecht, 2004)

### 2.4.1 ระบบแบบไร้อากาศสลับกับมีอากาศ (Anaerobic-aerobic system)

พีเอชเอมีบทบาทสำคัญกับจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมโดยเฉพาะอย่างยิ่งในกระบวนการไร้อากาศสลับกับมีอากาศ (Satoh, Mino และ Matsuo, 1998) โดยมีจุลินทรีย์สองกลุ่มที่สามารถสะสมพีเอชเอโดยไม่ใช้ออกซิเจนเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอน (Cech และ Hartman, 1990) คือ polyphosphate accumulating organisms (PAO) และ glycogen accumulating organism (GAO) ซึ่งจุลินทรีย์ทั้งสองกลุ่มมักถูกพบในระบบบำบัดน้ำเสียสำหรับกำจัดฟอสฟอรัส

PAO ได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวางสำหรับการผลิตโพลีเมอร์สะสม (พีเอชเอ ไกลโคเจน และฟอสเฟต) ซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มนี้มีความได้เปรียบในการแข่งขันกับจุลินทรีย์กลุ่มอื่นๆ ในแง่ที่สามารถสะสมแหล่งพลังงานในรูปของโพลีฟอสเฟตภายใต้สภาวะมีอากาศ และสามารถสะสมพีเอชเอเป็นแหล่งคาร์บอนภายใต้สภาวะไร้อากาศ นอกจากนี้ GAO เป็นอีกกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีการแข่งขันการใช้อาหารกับ PAOs จุลินทรีย์เหล่านี้จะพึ่งพาสารตั้งต้นที่สามารถนำมาหมักได้ เช่น กลูโคส และจะเก็บสะสมผลิตภัณฑ์ที่ได้ไว้ในเซลล์มากกว่าการที่ปลดปล่อยออกมา โดยจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถสะสมไกลโคเจนและพีเอชเอไว้ในเซลล์ได้ ทั้งนี้จุลินทรีย์ทั้งสองกลุ่มนี้สามารถใช้อะซิเตทเป็นสารตั้งต้นเพื่อเปลี่ยนเป็น acetyl-CoA หลังจากนั้น acetyl-CoA จะถูกสังเคราะห์เป็นพีเอชเอ โดยการรวมตัว

กับ acetoacetyl-CoA เกิดการลดลงของ hydroxybutyl-CoA และสุดท้ายจะเป็นโพลีเมอร์พีเอชเอ แสดงดังภาพที่ 8 อย่างไรก็ตามปริมาณพีเอชเอที่จากกระบวนการนี้มักจะไมคงที่และมีปริมาณสูงสุดเพียง 20 เปอร์เซ็นต์กรัมพีเอชเอต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (Van Loosdrecht, Pot และ Heijnen, 1997) ทำให้ความสามารถในการสะสมพีเอชเอค่อนข้างต่ำ และนอกจากนี้ยังพบการเกิดไกลโคเจนในระบบ



ภาพที่ 7 ระบบบำบัดน้ำเสียสำหรับการกำจัดฟอสฟอรัส

ที่มา: <http://www.lenntech.com/images/processes2.jpg>

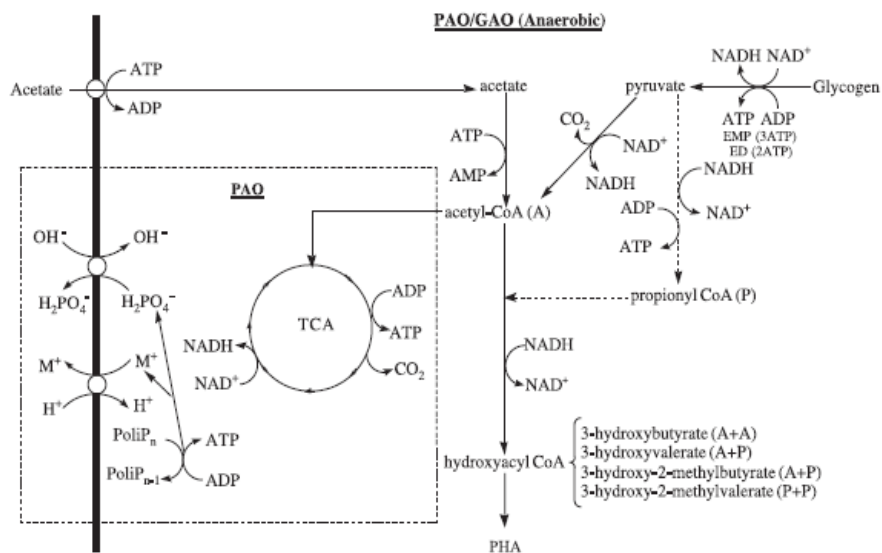


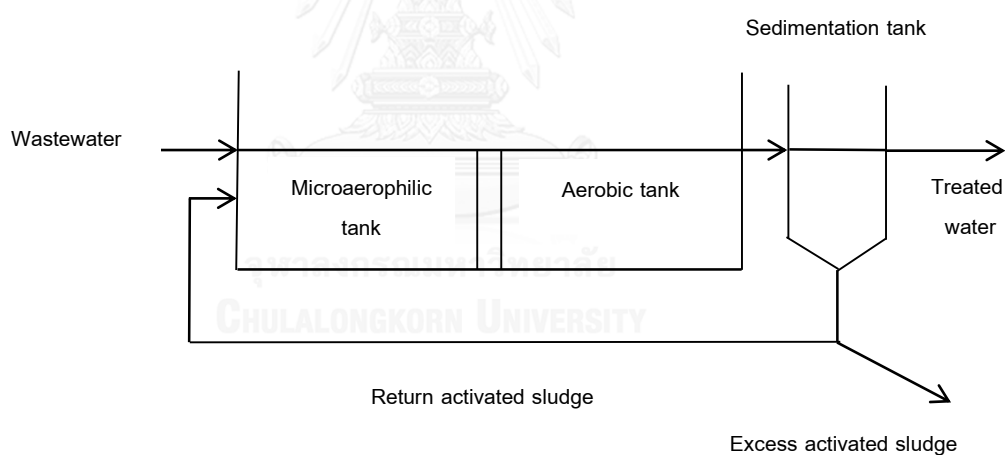
Fig. 1. PHA production metabolism in PAO/GAO system.

ภาพที่ 8 วิธีการผลิตพีเอชเอโดยจุลินทรีย์กลุ่ม PAO/GAO

ที่มา: Salehizadeh H. และ Van Loosdrecht (2004)

## 2.4.2 ระบบแบบมีอากาศเล็กน้อยสลับกับมีอากาศ (Microaerophilic-aerobic system)

ถึงแม้ว่าตะกอนสลัดจ์จะสามารถสะสมฟิเอชเอได้ในสภาวะที่ไร้อากาศสลับกับมีอากาศ อย่างไรก็ตามวิธีการดังกล่าวไม่ใช่วิธีที่ดีที่สุดในการสร้างและสะสมฟิเอชเอ Ueno และคณะ (1993) และ Saito และคณะ (1995) พบว่าตะกอนจุลินทรีย์สามารถสะสมฟิเอชเอมากขึ้นภายใต้สภาวะที่มีอากาศเล็กน้อยมากกว่าภายใต้สภาวะที่ไร้อากาศ Saito และคณะ (1995) เสนอระบบแบบมีอากาศเล็กน้อยสลับกับมีอากาศ โดยมีการจำกัดออกซิเจนในช่วงแรกเพื่อป้องกันการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และผลิตฟิเอชเอโดยใช้คาร์บอน ต่อมาในสภาวะที่มีอากาศ ฟิเอชเอจะถูกใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานสำหรับการเจริญเติบโต ซึ่งระบบนี้ปริมาณฟิเอชเอสามารถเพิ่มขึ้นเป็น 62 เปอร์เซ็นต์กรัมฟิเอชเอต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (Van Loosdrecht, Pot และ Heijnen, 1997) แต่การผลิตฟิเอชเอด้วยกระบวนการนี้ยังไม่เสถียรและเกิดไกลโคเจนในระบบ แต่น้อยกว่าระบบแบบไร้อากาศสลับกับมีอากาศ



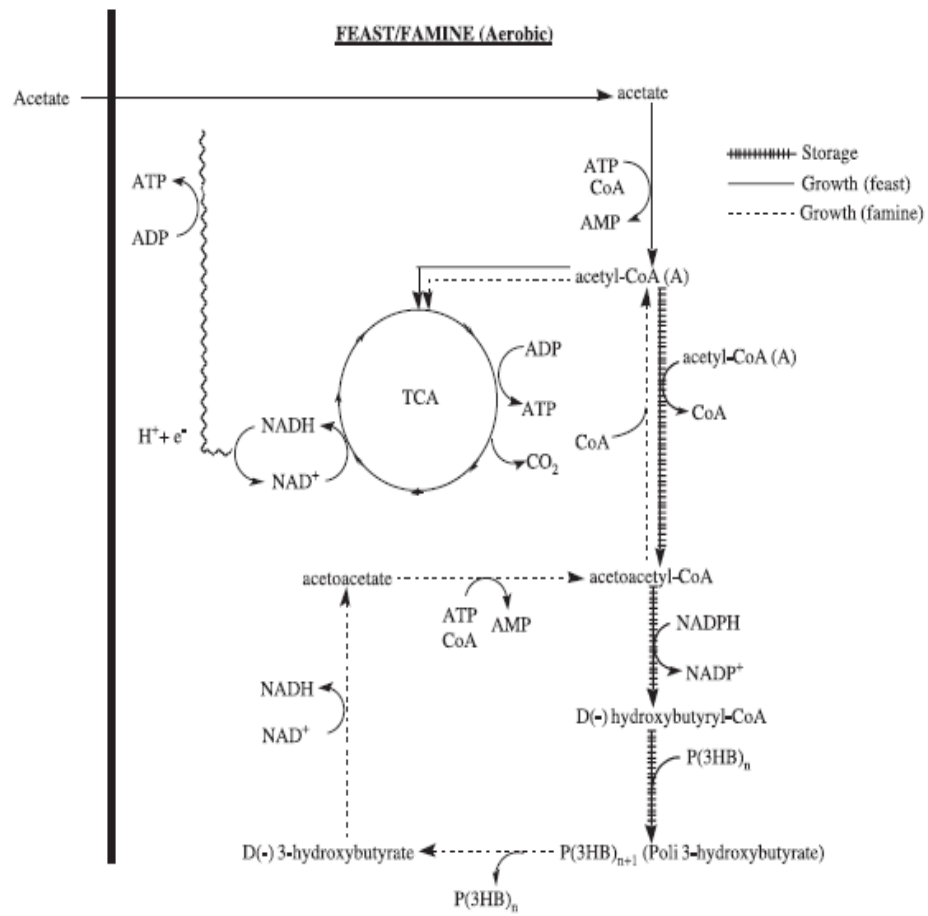
ภาพที่ 9 ระบบบำบัดน้ำเสียแบบมีอากาศเล็กน้อยสลับกับมีอากาศ

ที่มา Woraittinun และ Suwannasilp, (2017)

### 2.4.3 ระบบที่มีการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน (Aerobic dynamic feeding หรือFamine and famine feeding)

ระบบนี้จะมีการให้อาหารตลอดเวลา เมื่อสสลดจ้อยู่ภายใต้สภาวะที่มีสารอาหารจากภายนอกเป็นเวลาต่อเนื่อง หรือสารอินทรีย์คงเหลือในระบบมีค่าสูง เรียกสภาวะนี้ว่า สภาวะที่มีสารอาหารเกินพอ หรือ feast phase และเมื่อไม่มีสารอาหารจากภายนอก หรือสารอินทรีย์คงเหลือในระบบมีค่าต่ำหรือหมดลง เรียกสภาวะนี้ว่า สภาวะที่ขาดแคลนสารอาหาร หรือ famine phase ซึ่งงานวิจัยที่ผ่านมาเรียกว่าการเจริญเติบโตที่ไม่สมดุล (Unbalanced growth) โดยสสลดจะอยู่ในสภาวะที่มีสารอาหารเกินพอ (Feast) สลับกับสภาวะขาดแคลนอาหาร (Famine) เป็นระยะเวลาต่อเนื่องกันภายใต้สภาวะที่มีการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลนนี้จะทำให้จุลินทรีย์ที่เลี้ยงมีความสามารถในการสะสมพืเอชเอได้มากขึ้น ในสภาวะที่มีอาหารเกินพอจุลินทรีย์จะใช้สารอาหารและเก็บสะสมไว้ในรูปของพืเอชเอ และเมื่อเข้าสู่สภาวะขาดแคลนอาหารจุลินทรีย์จะใช้พืเอชเอที่เก็บสะสมไว้เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานสำหรับการเจริญเติบโต โดยสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงนี้จะเป็นการคัดเลือกกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่มีความสามารถสะสมพืเอชเอได้ (Salehizadeh และ Van Loosdrecht, 2004)

วิธีการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลนส่วนใหญ่ได้รับการยอมรับ เพราะสามารถสะสมพืเอชเอได้ในปริมาณสูง นอกจากนี้วิธีการนี้ยังช่วยส่งเสริมการเปลี่ยนสารตั้งต้นของแหล่งคาร์บอนไปเป็นพืเอชเอ โดยไม่เกิดไกลโคเจนหรือสารอื่นๆ ภายในเซลล์ ในปัจจุบันพบว่า การเลี้ยงจุลินทรีย์ในสภาวะที่มีการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลนสามารถสะสมพืเอชเอได้ถึง 89 %gPHA/gVSS (Johnson และคณะ, 2009)



ภาพที่ 10 วิธีการผลิตพีเอชเอภายใต้สภาวะที่มีการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน  
ที่มา: Salehizadeh H. และ Van Loosdrecht (2004)



## 2.5 การผลิตพีเอชเอโดยใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมร่วมกับการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน

### 2.5.1 ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน

เมื่อเข้าสู่สภาวะที่มีอาหารเกินพอ (feast phase) จุลินทรีย์จะใช้สารอาหารเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน ซึ่งในสภาวะนี้จุลินทรีย์จะเกิดการสะสมพีเอชเอขึ้นในระบบแทนการเจริญเติบโต และเมื่อเข้าสู่สภาวะที่ขาดแคลนอาหาร (famine phase) จุลินทรีย์ที่สะสมพีเอชเอจะนำพีเอชเอที่สะสมไว้มาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน ส่วนจุลินทรีย์ที่ไม่มีการสะสมพีเอชเอจะไม่สามารถแข่งขันอยู่ในระบบได้ ดังนั้นการเดินระบบภายใต้สภาวะที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลนจึงสามารถคัดเลือกและเพิ่มกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสะสมพีเอชเอได้

### 2.5.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตพีเอชเอของจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมร่วมกับการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน

#### 2.5.2.1 สารอินทรีย์ที่จุลินทรีย์ได้รับ

แหล่งคาร์บอนที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ผลิตพีเอชเอมีหลายรูปแบบ เช่น อะซิเตท โพรพิโอเนต บิวทิเรต วาเลอเรท และกลีเซอรอล รวมทั้งน้ำเสียจริงจากกระบวนการผลิตและน้ำเสียสังเคราะห์ ซึ่งความสามารถของจุลินทรีย์ในการใช้แหล่งคาร์บอนจะแตกต่างกัน เช่น จุลินทรีย์จะสามารถนำอะซิเตทไปใช้ผลิตพีเอชเอได้ดีกว่าโพรพิโอเนต ปริมาณการสะสมพีเอชเอที่ต่างกันอาจมีผลมาจากการเลือกใช้แหล่งคาร์บอน จากงานวิจัยของ Woraittinun และ Suwannasilp, (2017) ทดลองใช้อะซิเตทและโพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอนให้แก่จุลินทรีย์พบว่าระบบสามารถผลิตพีเอชเอได้สูงสุดร้อยละ 44.78 และ 12.65 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้งตามลำดับ และศึกษาถึงชนิดของโมโนเมอร์ที่เกิดจากการใช้แหล่งคาร์บอนที่ต่างกัน พบว่าโมโนเมอร์ที่เกิดการเลี้ยงตะกอนจุลินทรีย์ด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอนจะผลิตเอซิปิโมนีเมอร์เป็นส่วนใหญ่ โดยได้ปริมาณพีเอชเอร้อยละ 44.78 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง ในขณะที่โพลีเมอร์ที่ได้จากการเลี้ยงตะกอนจุลินทรีย์ด้วยโพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอนจะผลิตโคโพลีเมอร์ของเอซิปิและเอซิวี โดยได้ปริมาณพีเอชเอร้อยละ 12.65 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักแห้ง ซึ่งเหตุผลที่เกิดโพลีเมอร์ชนิดต่างๆกันนั้น อาจเกิดจากวิธีการสังเคราะห์พีเอชเอที่ต่างกัน นอกจากนี้ การศึกษาของ Moralejo-Gárate และคณะ (2011) ได้

ทำการศึกษาศักยภาพของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์สำหรับการผลิตพีเอชเอจากกลีเซอรอล โดยกลุ่มประชากรจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมที่ผลิตพีเอชเอจะถูกคัดเลือกและเพิ่มจำนวนภายใต้สภาวะที่มีอาหารเกินพอสลั้กับขาดแคลนจากการใช้กลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนในถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท (sequencing batch reactor) ซึ่งมีค่าระยะเวลาที่เก็บน้ำและระยะเวลาที่เก็บตะกอนเท่ากับ 2 วัน และรอบการเดินระบบเท่ากับ 1 วัน พบว่าพีเอชบีและโพลีกลูโคส (polyglucose; PG) จะถูกผลิตขึ้น โดยสามารถผลิตโพลีไฮดรอกซีบิวทิเรต (polyhydroxybutyrate; PHB) ได้ 0.47 gPHB/g glycerol และโพลีกลูโคสจะถูกผลิตในปริมาณประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และเมื่อทำการวิเคราะห์ กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ ผลการทดลองพบว่าจุลินทรีย์ที่โดดเด่นมีลักษณะคล้ายกับกลุ่ม G-bacteria ซึ่งมีลักษณะเป็น cocci มีขนาดประมาณ 2-4 ไมโครเมตร

#### 2.5.2.2 พีเอช (pH)

ค่า pH มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในระบบ การปรับเปลี่ยนค่า pH ให้เหมาะสมจึงมีผลทำให้ผลผลิตการสะสมโพลีเมอร์เพิ่มขึ้น จากการศึกษาของ Dionisi และคณะ (2005) ทำการทดลองที่ค่า pH ที่แตกต่างกันระหว่าง pH 4.5-10.5 ในระบบแบบแบทช์ พบว่าอัตราการใช้สารอาหาร มีค่าสูงสุดที่ค่า pH เท่ากับ 7.5 และการทำงานของจุลินทรีย์เริ่มมีประสิทธิภาพต่ำลงที่ pH เท่ากับ 5.5 และทำงานได้น้อยลงที่ pH เท่ากับ 4.5 และ 10.5

#### 2.5.2.3 ออกซิเจนละลาย (Dissolved oxygen: DO)

จากการศึกษาของ Qu และคณะ (2009) ศึกษาถึงผลของออกซิเจนละลายน้ำต่อการผลิตพีเอชเอ โดยทำการทดลองที่ค่า DO ต่างๆ ตั้งแต่ 10 20 40 และ 70 เปอร์เซ็นต์ออกซิเจนละลาย อิมิตัวพบว่า สามารถผลิตพีเอชบีได้ 25 Cmmo/L ภายใต้สภาวะออกซิเจนอิมิตัว 70 เปอร์เซ็นต์ และ 17 Cmmo/L ภายใต้สภาวะออกซิเจนอิมิตัว 10 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าปริมาณของพีเอชเอจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของออกซิเจนละลายมีค่าสูง

#### 2.5.2.4 อุณหภูมิ (Temperature)

จากการศึกษาของ Krishna และคณะ (1999) ได้ศึกษาถึงอิทธิพลของอุณหภูมิในการสะสมพีเอชเอในถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท (SBR) โดยใช้อะซิเตตเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าอัตราการผลิตพีเอชเอจะลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของอัตราการสร้างเซลล์จะสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น นอกจากนี้งานวิจัยของ Johnson และคณะ (2010) ได้ศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิที่มีผลต่อการผลิตพีเอชเอโดยใช้อะซิเตตเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสในถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท (SBR) สภาวะที่มีอาหารเกินพอจะสั้นเพราะอัตราการใช้อะซิเตตและอัตราการสะสมพีเอชเอจะสูง โดยสามารถสะสมพีเอชเอได้สูงถึง 84 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง ในขณะที่การทดลองแบบแบทช์ที่อุณหภูมิ 15 เซลเซียสสภาวะที่มีอาหารเกินพอจะยาวกว่าเพราะอัตราการใช้อะซิเตตต่ำ โดยสามารถสะสมพีเอชเอได้ต่ำเพียง 35 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง เนื่องจากจุลินทรีย์ใช้อาหารเพื่อการเจริญเติบโตมากกว่าการสะสมพีเอชเอ และที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสสามารถสะสมพีเอชเอได้ 70 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง

#### 2.5.2.5 ระยะเวลาเก็บกักตะกอน (Solids retention times: SRT)

จากการศึกษาของ เศรษฐา กิจพ้อคำ (2557) ได้ศึกษาการผลิตพีเอชเอของตะกอนจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมจากโรงงานผลิตเครื่องดื่มจากน้ำผักและผลไม้ ที่ค่าอายุตะกอน 5 10 และ 20 วัน ภายใต้สภาวะที่มีการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน และเดินระบบด้วยถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท (SBR) โดยใช้อะซิเตตเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าค่าอายุตะกอน 5 วัน จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้เท่ากับ 25.24 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง ที่ค่าอายุตะกอน 20 วัน จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้ 40.87 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง และค่าอายุตะกอนที่ 10 วัน จุลินทรีย์สามารถสะสมพีเอชเอได้มากที่สุดถึง 62.2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง

#### 2.5.2.6 อัตราส่วนของสารอาหารต่อจุลินทรีย์ (F/M ratio)

เมื่อ F/M มีค่าสูง ปริมาณสารอาหารจะสูงขึ้น ส่งผลให้อัตราการใช้อาหารสูงขึ้น ช่วงที่จุลินทรีย์มีอาหารเกินพอจึงสั้นลงในระหว่างนั้นพีเอชเอจะถูกผลิตขึ้น จากการทดลองของ Liu และคณะ (2008) ได้ทำการทดลองโดยเปรียบเทียบผลผลิตพีเอชเอเมื่อได้รับอัตราส่วนอาหารต่อจุลินทรีย์แตกต่างกัน คือ 0.4 0.6 1 และ 2 พบว่าที่อัตราส่วนของสารอาหารต่อจุลินทรีย์เท่ากับ 2 สามารถสะสมพีเอชเอได้สูงที่สุด

### 2.5.2.7 อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio)

จากการศึกษาของ Kumar และคณะ (2004) พบว่าปริมาณผลผลิตของพีเอชเอ็มมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นถึงร้อยละ 33 โดยน้ำหนัก เมื่ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเพิ่มมากขึ้นจาก 24 ถึง 144 ในขณะที่ผลผลิตการเจริญเติบโตจำเพาะมีแนวโน้มลดลงเมื่ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเพิ่มมากขึ้น

### 2.5.2.8 ช่วงระยะที่อาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน

จากการศึกษาของ Dionisi และคณะ (2006); Johnson และคณะ (2009); Albuquerque และคณะ (2010) มีรายงานว่าอัตราส่วน feast/famine ช่วงที่มีค่าต่ำ (<0.28) สามารถเกิดการสะสมพีเอชเอ็มและไม่เกิดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ขึ้นในระบบ ในขณะที่อัตราส่วน feast/famine ช่วงที่มีค่าสูงกว่า 0.55 จะเพิ่มการตอบสนองต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในระบบ ส่งผลให้กลไกในการสะสมพีเอชเอ็มน้อยลง และจากการศึกษาของ Jiang และคณะ (2011) ได้ทำการทดลองศึกษาช่วงระยะที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน พบว่าที่ค่าอัตราส่วน feast/famine ที่มีค่าต่ำกว่า 0.13 สามารถผลิตพีเอชเอ็มได้สูงสุดถึง 90 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้งานวิจัยของ Moita และคณะ (2014) พบว่าหลังจากที่จุลินทรีย์ได้ปรับสภาพให้เข้ากับกลีเซอรอลดิบแล้ว ที่ค่าอัตราส่วน feast/famine ระหว่าง 0.04-0.12 สามารถผลิตพีเอชเอ็มได้สูงสุดถึง 47 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งในระบบแบบกึ่งเท

### 2.5.3 รูปแบบของกระบวนการผลิตพีเอชเอ็มจากจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมด้วยการให้อาหาร

#### แบบเกินพอสลับกับขาดแคลน

การเดินระบบในกระบวนการผลิตพีเอชเอ็มจากจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมภายใต้สภาวะการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน ส่วนใหญ่ประกอบด้วย 2-3 ขั้นตอน ขึ้นอยู่กับประเภทของสารอาหารที่ใช้เป็นสารตั้งต้น

กระบวนการสองขั้นตอน หรือ Two-stage PHA production process ประกอบด้วย

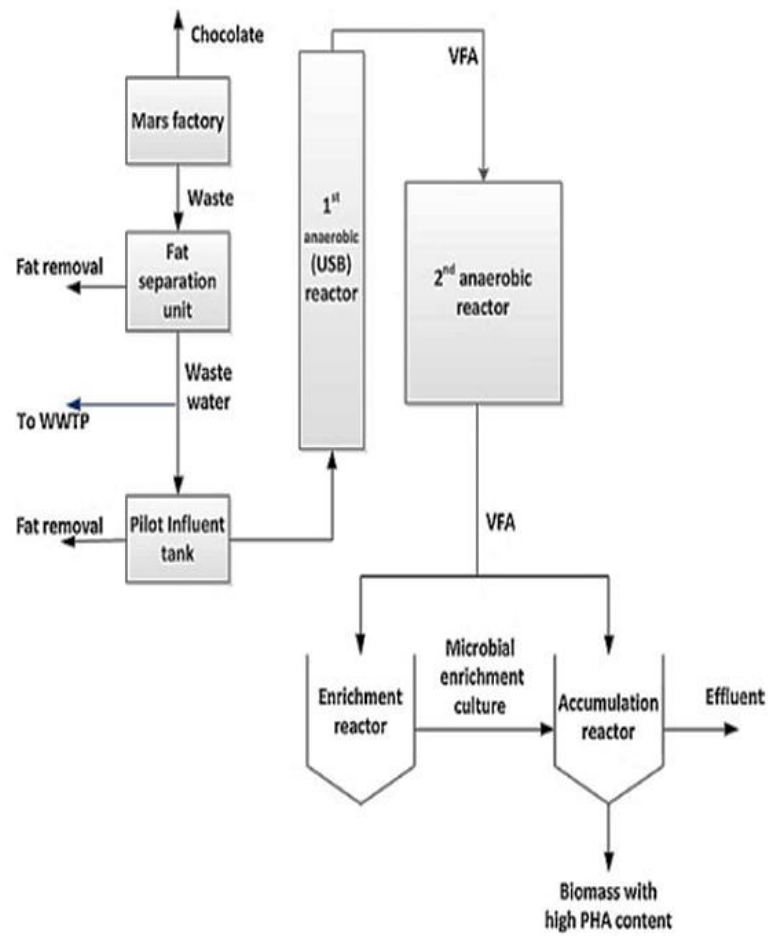
- 1.) การคัดเลือกตะกอนจุลินทรีย์ที่เหมาะสมกับการผลิตพีเอชเอ็ม
- 2.) การกระตุ้นให้ตะกอนจุลินทรีย์สะสมปริมาณพีเอชเอ็มสูงสุด

โดยกระบวนการสองขั้นตอนจะนำไปประยุกต์ใช้กับสารตั้งต้นประเภทกรดอินทรีย์ เช่น อะซิเตท โพรพิโอเนต บิวทิเรต วาเลอเรท และ แลกเตท รวมไปถึง กลีเซอรอล ซึ่งจากงานวิจัยของ Moralejo-Garate และคณะ (2011) พบว่ากลีเซอรอลเป็นสารตั้งต้นที่ดีสำหรับการผลิตพีเอชบี โดยใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมภายใต้สภาวะที่มีการให้อาหารแบบเกินพอสลับกับขาดแคลน นอกจากนี้ Dobroth และคณะ (2011) ได้ทดลองใช้กลีเซอรอลดิบเป็นสารตั้งต้น พบว่าสามารถสะสมพีเอชเอได้สูงถึง 67 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อย่างไรก็ตามน้ำเสียจากอุตสาหกรรมบางประเภทไม่สามารถนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตพีเอชเอโดยตรงได้ เช่น น้ำเสียจากโรงงานกระดาษ และน้ำเสียจากโรงงานอาหาร ดังนั้นจึงต้องมีขั้นตอนการหมักแบบไร้อากาศ (Acidogenic fermentation) ก่อนขั้นตอนการคัดเลือกตะกอนจุลินทรีย์และการกระตุ้นให้ตะกอนจุลินทรีย์สะสมพีเอชเอ เพื่อเปลี่ยนสารประกอบอินทรีย์ในน้ำเสียเป็นกรดไขมันระเหย ทำให้เกิดกระบวนการ 3 ขั้นตอน (Serafim และคณะ, 2008)

กระบวนการสามขั้นตอนหรือ Three-stage PHA production process ประกอบด้วย

- 1.) การหมักแบบไร้อากาศ
- 2.) การคัดเลือกตะกอนจุลินทรีย์ให้เหมาะสมกับการผลิตพีเอชเอ
- 3.) การกระตุ้นให้ตะกอนจุลินทรีย์สะสมปริมาณพีเอชเอสูงสุด

จากงานวิจัยที่ทำการศึกษถึงการผลิตพีเอชเอโดยใช้น้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมและโรงงานอาหารเป็นสารตั้งต้นในระดับต้นแบบ (pilot-scale) โดย Chakravarty, Mhaisalkar และ Chakrabarti (2010) ทดลองใช้น้ำเสียจากอุตสาหกรรมวันละ 60-65 ลิตรเป็นสารตั้งต้น พบว่าได้ผลผลิตพีเอชเอ 0.4-0.5 gPHA/gVSS Moralejo-Garate และคณะ (2014) ทดลองใช้น้ำเสียชุมชนเป็นสารตั้งต้น พบว่าได้ผลผลิตพีเอชเอ 0.34 gPHA/gVSS Anterrieu และคณะ (2014) ใช้น้ำเสียจากโรงงานผลิตอาหารและมีการเติมน้ำเสียจากโรงงานน้ำตาล พบว่าได้ผลผลิตพีเอชเอ 0.60 gPHA/gVSS และจากงานวิจัยของ Tamis และคณะ (2014) ได้ทดลองใช้น้ำเสียจากโรงงานผลิตลูกอมเป็นสารตั้งต้น พบว่าได้ผลผลิตพีเอชเอ 0.75 gPHA/gVSS และเมื่อใช้อะซิเตทหรือแลกเตทเป็นสารตั้งต้นได้ผลผลิตพีเอชเอสูงสุดถึง 0.90 gPHA/gVSS



ภาพที่ 11 การออกแบบกระบวนการผลิตพีเอชเอในระดับต้นแบบ

ที่มา: Tamis และคณะ (2014)

## 2.6 ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับกลีเซอรอล (glycerol)

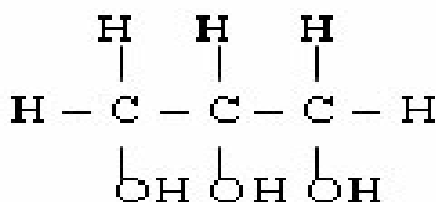
### 2.6.1 กลีเซอรอล (glycerol)

กลีเซอรอลหรือกลีเซอริน ถูกค้นพบครั้งแรก เมื่อปี ค.ศ. 1779 โดยนักเคมีชาวสวีเดน ชื่อ Carl W. Scheele จากการทดลองปฏิกิริยาสะปอนนิฟิเคชัน (saponification) ในการสกัดน้ำมันมะกอกกับออกไซด์ของตะกั่ว กลีเซอรอล มาจากคำว่า glykys แปลว่า “หวาน” ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมครั้งแรกเมื่อปี ค.ศ. 1866 โดย อัลเฟรด โนเบล ได้นำกลีเซอรอลมาใช้ในการผลิตระเบิดไดนาไมต์ หรือ ไนโตรกลีเซอริน ต่อมา ค.ศ. 1930 ฟาร์เบนได้พัฒนาและสังเคราะห์กลีเซอรอลขึ้นโดยใช้สารตั้งต้น คือ โพรเพน และตั้งแต่ปี ค.ศ.1980 เป็นต้นมาจนถึงปัจจุบันการผลิตกลีเซอรอลส่วนใหญ่ได้มาจากการแตกตัวของน้ำมันจากธรรมชาติมากถึง 75% และมาจากการสังเคราะห์โพรเพน 25% (ณัฐมน ดีปะติ, 2551)

กลีเซอรอลถูกนำไปใช้อย่างกว้างขวาง เนื่องจากเป็นสารที่ไม่มีสีและไม่มีกลิ่น กลีเซอรอลจึงถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น ใช้เป็นสารรักษาความชื้น เป็นตัวเพิ่มสถานะของพลาสติกชนิดที่ช่วยเก็บรักษาความอ่อนนุ่มและความเหนียว รวมทั้งเป็นสารอิมัลชันและสารเพิ่มความคงตัวในผลิตภัณฑ์ประเภทต่างๆ

### 2.6.2 โครงสร้างของกลีเซอรอล (glycerol)

กลีเซอรอลหรือกลีเซอริน เป็นสารประกอบประเภทแอลกอฮอล์ที่มีคาร์บอน ( C ) 3 อะตอมต่อกัน และมีหมู่ไฮดรอกซิล ( -OH group ) ทั้ง 3 หมู่ ต่อกับคาร์บอนทั้ง 3 อะตอม มีสูตรเคมีคือ  $C_3H_8O_3$  มีชื่อทางเคมีว่า 1,2,3- โพรเพนไตรออล (1,2,3 – propantriol) และมีสูตรโครงสร้าง แสดงดังภาพที่ (ศิริพร จงผาดิวฒิ, 2551)



ภาพที่ 12 สูตรโครงสร้างของกลีเซอรอล

ที่มา: <http://image.free.in.th/z/if/282untitled.png>

### 2.6.3 คุณสมบัติของกลีเซอรอล

กลีเซอรอลมีลักษณะเป็นของเหลว หนืดใส ไม่มีกลิ่น ไม่มีพิษ มีรสหวาน ละลายได้ดีในน้ำ เมทานอล เอทานอล ไอโซเมอร์ของโพรพานอล บิวทานอล เพนทานอล รวมทั้งฟีนอลไกลคอล โพรเพนไดออล เอมีน สารประกอบที่เป็นเฮกเทอโรไซคลิก ไดเอทิลอีเทอร์ และเอทิลเอสเทอร์ ไม่ละลายในไฮโดรคาร์บอน แอลกอฮอล์ที่มีโซ่ยาว และตัวทำละลายจำพวกเฮโลเจน สมบัติทางกายภาพของกลีเซอรอลแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 คุณสมบัติทางกายภาพของกลีเซอรอล

คุณสมบัติ	ค่า
น้ำหนักโมเลกุล	92.06
จุดหลอมเหลว	18.17°C
จุดเดือด	
ที่ 13.33 kPa	222.4°C
ที่ 101.3 kPa	290°C
การระเหย	
ที่ 100°C	26 Pa
ที่ 200°C	6100 Pa
แรงตึงผิว ที่ 20°C	63.4 mN/m
ความหนืด ที่ 20°C	1499 mPa.s
อุณหภูมิกลายเป็นไอ	
ที่ 55°C	88.12 kJ/mol
ที่ 195°C	76.02 kJ/mol
การนำความร้อน	0.28 W/(m.K)
จุดติดไฟ	204°

ที่มา: ปิยนานู อินทนกุล (2547)



กลีเซอรอลสามารถเกิดปฏิกิริยาได้เหมือนกับแอลกอฮอล์ทั่วไป โดยหมู่ไฮดรอกซิลบริเวณด้านนอกจะมีความไวในการเกิดปฏิกิริยามากกว่าหมู่ไฮดรอกซิลที่อยู่บริเวณตรงกลาง ซึ่งปฏิกิริยาของกลีเซอรอลควรทำในสถานะที่เป็นกลางหรือเบสและที่อุณหภูมิห้อง นอกจากนี้กลีเซอรอลยังถูกออกซิไดซ์ได้ง่าย โดยที่อะตอมของคาร์บอนด้านนอกจะถูกออกซิไดซ์เป็นหมู่คาร์บอกซิลและอะตอมคาร์บอนบริเวณตรงกลางจะเกิดเป็นหมู่คาร์บอนิล

จากการสำรวจของยูเรศและพิเชษฐ์ (2555) พบว่า กลีเซอรอลบริสุทธิ์ที่ผลิตในประเทศไทย มีปริมาณกลีเซอรอล (glycerol content) มากกว่า 99% ปริมาณเมทานอลน้อยกว่า 0.01% ปริมาณน้ำ 0.1-0.5% ความชื้น 5-6% สารอินทรีย์ที่ไม่ใช่กลีเซอรอล (MONG : matter organic non glycerol) 0.1-0.3% และความหนืด 800-850 centipoises

#### 2.6.4 การจำแนกประเภทของกลีเซอรอล

กลีเซอรอล สามารถแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ กลีเซอรอลธรรมชาติ และกลีเซอรอลบริสุทธิ์ โดยกลีเซอรอลธรรมชาติจะอยู่ในรูปของเอสเทอร์ของกรดไขมัน ซึ่งหมู่ไฮดรอกซิลทั้ง 3 หมู่ จะเกิดปฏิกิริยาเอสเทอร์ การที่จะได้กลีเซอรอลนั้นต้องทำให้ไขมันและน้ำมันแตกตัวก่อนการทำปฏิกิริยาสะปอนนิฟิเคชัน และการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชัน ในขณะที่กลีเซอรอลสังเคราะห์ จะได้จากการสังเคราะห์โพพีน นอกจากนี้ยังมีกระบวนการผลิตกลีเซอรอลด้วยวิธีอื่น เช่น การผลิตอัลคิลเอสเทอร์หรือไบโอดีเซล และการหมักน้ำตาล ซึ่งเป็นกระบวนการที่ไม่นิยมในทางอุตสาหกรรม

#### 2.6.5 แหล่งที่มาของกลีเซอรอล

ในทางอุตสาหกรรม กลีเซอรอลดิบเป็นผลผลิตพลอยได้จาก 3 กระบวนการหลัก คือ การผลิตสบู่ การผลิตกรดไขมัน และการผลิตอัลคิลเอสเทอร์หรือไบโอดีเซล ซึ่งในการผลิตไบโอดีเซลจะมีกลีเซอรอลเป็นผลผลิตพลอยได้ประมาณ 10% และเมื่อนำกลีเซอรอลมากลั่นแยกเมทานอลออกไปจะได้กลีเซอรอลที่มีระดับความบริสุทธิ์ที่แตกต่างกันออกไป เช่น กลีเซอรอลที่มีความบริสุทธิ์ 82-85% จะเป็นเกรดที่นำไปใช้ในห้องปฏิบัติการ ขณะที่กลีเซอรอลที่มีความบริสุทธิ์สูงถึง 99.7% จะนำมาใช้ผลิตเครื่องสำอางค์ รวมทั้งผลิตภัณฑ์อื่นๆที่ใช้ในชีวิตประจำวัน (ยูเรศ และ พิเชษฐ์, 2555)

### 2.6.6 การใช้ประโยชน์ของกลีเซอรอลดิบจากไบโอดีเซล

การแปรรูปเพื่อเพิ่มมูลค่าของกลีเซอรอลดิบเพื่อการนำไปใช้ประโยชน์ สามารถอาศัยกระบวนการหลักๆ ได้แก่

#### 1.) กระบวนการทางกายภาพและเคมี

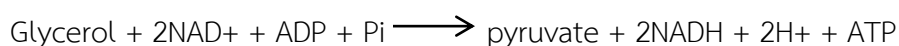
กระบวนการนี้อาศัยการแยกกลีเซอรอลดิบให้บริสุทธิ์เพื่อเพิ่มมูลค่าเป็นผลพลอยได้วิธีหนึ่งซึ่งมีต้นทุนในการผลิตสูงมาก โดยใช้ความดันและอุณหภูมิสูง เกิดปฏิกิริยาคอนข้างต่ำ และหากกลีเซอรอลมีสิ่งปนเปื้อน ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีคุณภาพต่ำ

#### 2.) กระบวนการทางชีวภาพ

กระบวนการนี้อาศัยกิจกรรมของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์เพื่อเพิ่มมูลค่าของผลพลอยได้โดยการแปรรูปกลีเซอรอลดิบให้เป็นผลิตภัณฑ์มูลค่าเพิ่ม เช่น สาร 1,3-โพรเพนไดออล (1,3-propanediol) biobutanol, bioethanol, hydrogen, propionic acid, succinic acid, citric acid, น้ำมันเซลล์เดี่ยวจากจุลินทรีย์ (single cell oil) รวมทั้งพลาสติกชีวภาพ หรือพีเอชเอ (ยูเรส และ พิเชษฐ์, 2555)

### 2.6.7 การย่อยสลายของกลีเซอรอลโดยจุลินทรีย์

Glycerol สามารถถูกย่อยโดยจุลินทรีย์กลุ่มใช้อากาศได้ 2 กระบวนการหลักคือ กระบวนการฟอสโฟริเลชัน (Phosphorylation) และกระบวนการออกซิเดชัน (Oxidation) แสดงดังภาพที่ 13 สำหรับกระบวนการแรกนั้น อาศัยเอนไซม์ Glycerol kinase และ NAD-linked dehydrogenase ผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่เกิดขึ้นของทั้ง 2 กระบวนการคือ 3-P-dihydroxyacetone ตัวอย่างของจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายกลีเซอรอลได้ เช่น *Aspergillus*, *Neurospora* และ *Penicillium* อย่างไรก็ตาม ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลาย กลีเซอรอลจะเป็นสารตั้งต้นสำหรับกระบวนการไกลโคไลติก (glycolytic pathway) ซึ่งจะถูกละลายเป็นกรดไพรูวิกและอะซิติลโคเอนไซม์เอ (acetyl-CoA) สมการโดยรวมของการย่อยสลายกลีเซอรอลแสดงดังสมการ (Fakas, Makri และ Aggelis, 2009)



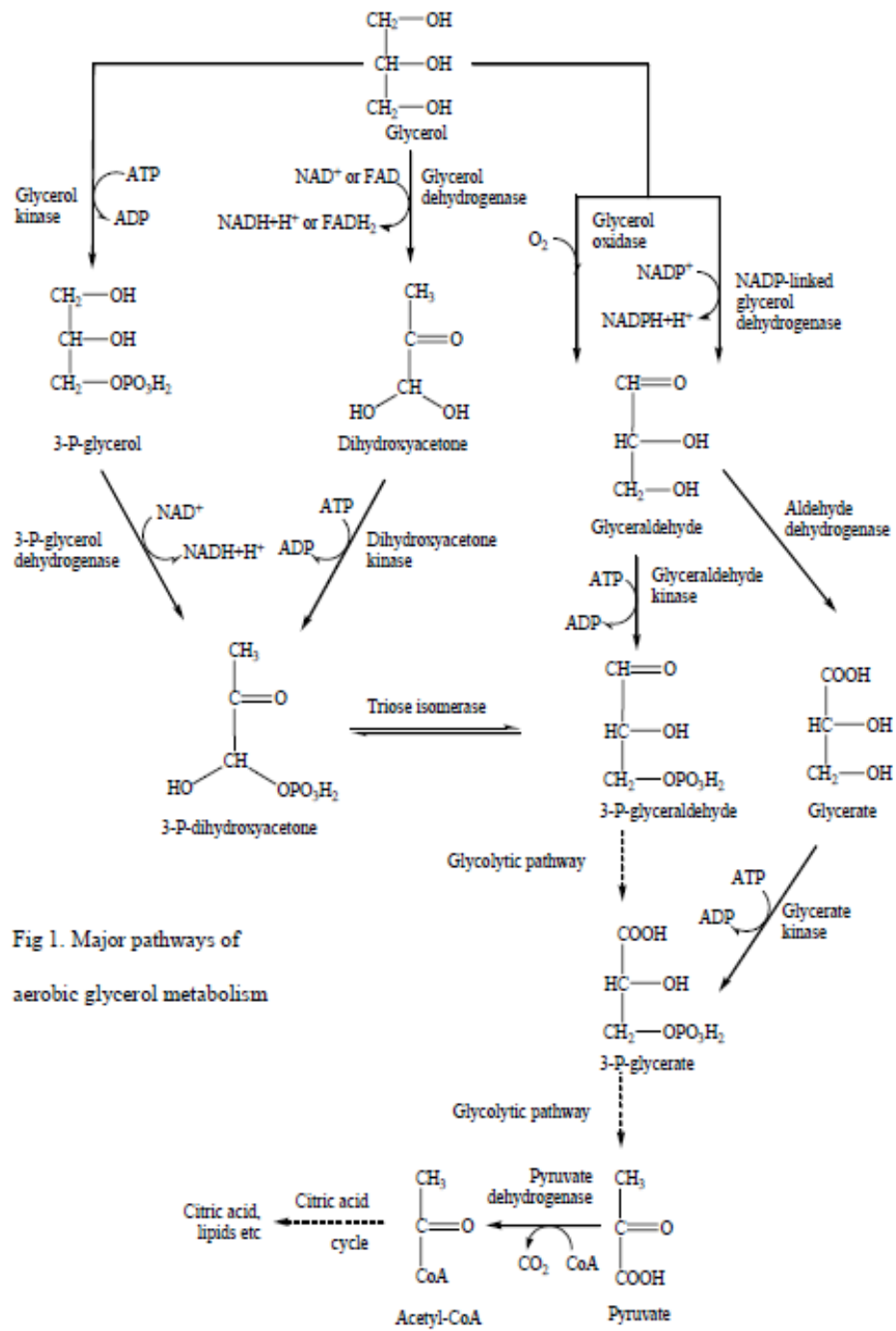


Fig 1. Major pathways of aerobic glycerol metabolism

ภาพที่ 13 วิธีการย่อยสลายของกลีเซอรอล (Fakas, Makri และ Aggelis, 2009)

## 2.7 เทคนิคทางชีวโมเลกุลสำหรับวิเคราะห์กลุ่มประชากรจุลินทรีย์

การวิเคราะห์ลำดับเบสในปัจจุบันสามารถใช้ได้หลายเทคนิคด้วยเทคโนโลยีเอ็นจีเอส หรือ Next generation sequencing technology ที่สามารถทำการวิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพ ทำให้ได้ข้อมูลลำดับเบสจำนวนมากโดยที่มีต้นทุนค่าใช้จ่ายที่ถูกลง ซึ่งการศึกษากลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบนั้นมีความสำคัญมาก เนื่องจากการเดินระบบที่แตกต่างกันอาจทำให้มีกลุ่มประชากรที่ต่างชนิดกัน รวมไปถึงการผลิตฟิเอชเอทีที่แตกต่างกันด้วย เทคโนโลยีเอ็นจีเอสที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางได้แก่ 454/Roche, Miseq system (Illumina) และ SOLiD/Life Technology (ABI) โดยงานวิจัยในครั้งนี้เลือกใช้เทคนิค 16S rRNA gene amplicon sequencing ด้วย Miseq System (Illumina) ซึ่งขั้นตอนการเตรียมดีเอ็นเอต้นแบบเพื่อวิเคราะห์กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ด้วย Miseq system มีดังนี้

- (1) สกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่าง
- (2) เพิ่มจำนวนดีเอ็นเอบริเวณ 16S rRNA gene ด้วยเทคนิค polymerase chain reaction ซึ่งไพรเมอร์ที่เลือกใช้คือ Forward primer 515 (5'-GTGYCAGCMGCCGCGGT AA-3') และ Reverse primer 806 (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') (Ding และคณะ, 2014)
- (3) ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอที่ได้จากขั้นตอน PCR ด้วยวิธีการแยกด้วยกระแสไฟฟ้า
- (4) ล้างผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอที่ได้จากขั้นตอน PCR (PCR Clean up) เพื่อชะล้างบัฟเฟอร์และสารละลายไพรเมอร์ที่อาจตกค้างจากการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยการทำ PCR ก่อนหน้านี้
- (5) ติด Index ที่ปลาย sequencing primer ทั้งสองด้าน และติด Illumina sequencing adapters ด้วยการทำ PCR จำนวนรอบต่ำ
- (6) ล้างผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอที่ได้จากขั้นตอน PCR ครั้งที่ 2
- (7) ทำการวัดขนาดและคำนวณความเข้มข้นของดีเอ็นเอ การเจือจางตัวอย่าง และรวมตัวอย่าง
- (8) ทำการส่งตัวอย่าง Sequence ด้วย Miseq system (Illumina)
- (9) การตรวจสอบคุณภาพของข้อมูล วิเคราะห์ข้อมูล และสรุปผล

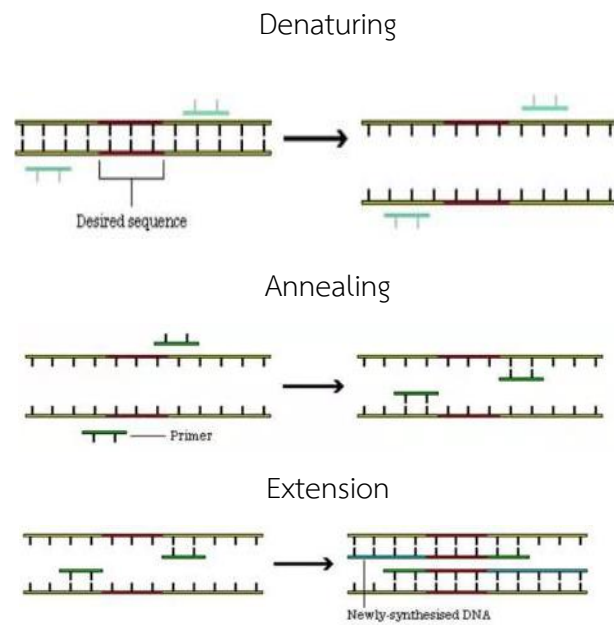
### 2.7.1 หลักการของ polymerase chain reaction (PCR)

Polymerase Chain Reaction (PCR) เป็นเทคนิคสำหรับเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยอาศัยหลักการ DNA Replication ซึ่งเป็นการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอสายใหม่จากดีเอ็นเอต้นแบบภายในระยะเวลาอันสั้น และได้ดีเอ็นเอสายใหม่เกิดขึ้นเป็นล้านเท่า โดย PCR สามารถสังเคราะห์ดีเอ็นเอได้ครั้งละ 2 สายพร้อมกัน จากการใช้ไพรเมอร์ (primer) 1 คู่ โดยการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสประกอบด้วย 3 ขั้นตอน และหมุนเวียนต่อเนื่องกันไป ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของแต่ละขั้นตอน ดังนี้ (ศิริวรรณ และ ศิริพร, 2549)

(1) Denaturing เป็นขั้นตอนการแยกดีเอ็นเอ (DNA) สายคู่ หรือ Double Strand DNA ด้วยการเพิ่มอุณหภูมิอย่างช้าๆ เพื่อทำลายพันธะไฮโดรเจนระหว่างคู่เบสของดีเอ็นเอ จนกลายเป็นดีเอ็นเอสายเดี่ยว หรือ Single Strand DNA อุณหภูมิที่ใช้อยู่ในช่วง 90-95 องศาเซลเซียส

(2) Annealing เป็นขั้นตอนการจับของไพรเมอร์กับดีเอ็นเอต้นแบบ โดยการลดอุณหภูมิลงอย่างช้าๆ และใส่ไพรเมอร์ลงไปในระบบ เพื่อให้เกิดการเกาะแบบเข้าคู่กันของเบส (Complementary base pair) ระหว่างไพรเมอร์ (Primer) กับ Template DNA โดยอุณหภูมิที่ใช้ในช่วง 37-60 องศาเซลเซียส

(3) Extension เป็นขั้นตอนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่โดยสังเคราะห์ต่อจากส่วนปลาย 5' ของไพรเมอร์ โดยอาศัยการทำงานของ DNA polymerase ลงไปในระบบ เพื่อให้เกิดการสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ หรือ เพิ่มปริมาณของดีเอ็นเอให้มากขึ้น โดยอุณหภูมิที่ใช้ในช่วง 72-75 องศาเซลเซียส ซึ่งขั้นตอนการเกิด Polymerase Chain Reaction 3 ขั้นตอน แสดงดังภาพที่ 14



ภาพที่ 14 แสดงขั้นตอนการเกิด Polymerase Chain Reaction 3 ขั้นตอน

Denaturing Annealing และ Extension

ที่มา: ศิริวรรณ และศิริพร (2549)

## 2.7.2 หลักการวิเคราะห์หาลำดับเบสด้วย miseq system

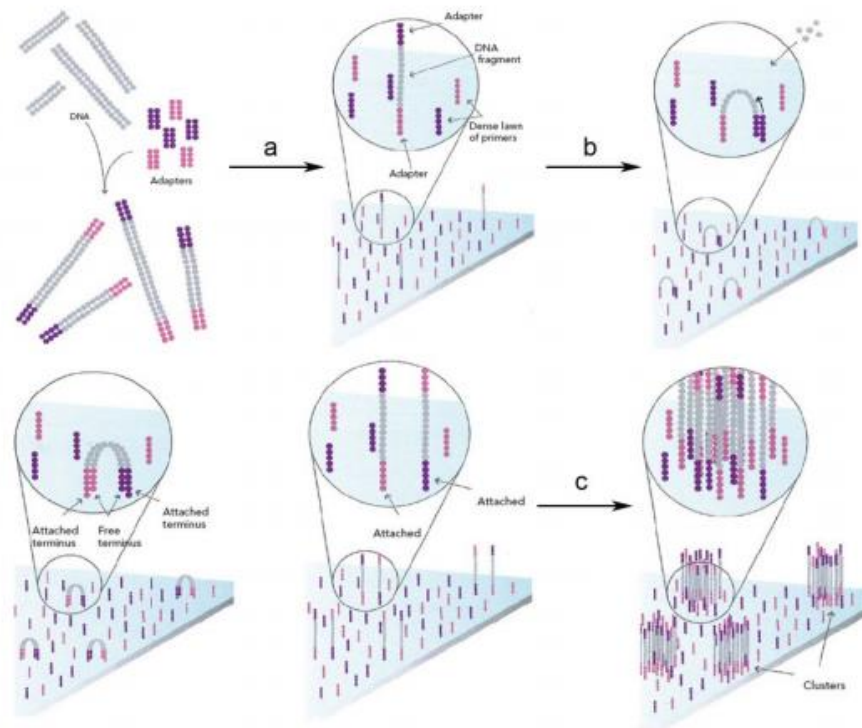
การวิเคราะห์ลำดับเบสด้วย Miseq system ใช้หลักการหาลำดับเบสโดยการติดฉลากเบสด้วยสารเรืองแสง (Fluorescent reversible terminators) จากนั้นเพิ่มปริมาณของสายดีเอ็นเอเชื่อมต่อเป็นสะพานบนสถานะของแข็ง (solid-phase bridge amplification) ทำให้ได้กลุ่มของสายดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน และเมื่อถูกกระตุ้นด้วยแสงเลเซอร์จะเกิดการปลดปล่อยพลังงานแสงของนิวคลีโอไทด์ สามารถนำภาพที่ได้ไปวิเคราะห์หาลำดับเบสต่อไป ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้ (อลิษา และคณะ, 2555)

### 1. การเตรียมดีเอ็นเอต้นแบบ

ดังกล่าวในหัวข้อที่ 2.7.1 ดีเอ็นเอจะถูกตรวจสอบทั้งขนาดและปริมาณความเข้มข้นให้มีค่าที่เหมาะสมก่อนนำเข้าเครื่อง MiSeq system (Illumina)

### 2. การสร้างกลุ่มของสายดีเอ็นเอด้วยวิธี bridge amplification

ดีเอ็นเอสายเดี่ยวจะถูกนำมาวางลงบนแผ่นกระจกสไลด์ โดยที่ผิวของกระจกสไลด์จะถูกฉาบด้วย Adapter ซึ่งเป็นคู่สมกัน (complementary adapters) ทำหน้าที่คล้ายกับไพรเมอร์ในช่วงของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในขั้นตอนการทำ PCR จากนั้นเติมนิวคลีโอไทด์และเอนไซม์เพื่อเพิ่มปริมาณแบบสะพาน (bridge amplification) โดยดีเอ็นเอสายเดี่ยวจะจับกับไพรเมอร์เป็นสะพานโค้ง (double-stranded bridges) ในช่วงขั้นตอนการแยกจะได้ดีเอ็นเอสายเดี่ยวกลับมาอีกครั้งเพื่อใช้เป็นดีเอ็นเอต้นแบบ ซึ่งเมื่อผ่านขั้นตอนการเพิ่มจำนวนแล้ว ในแต่ละกลุ่มจะประกอบด้วยดีเอ็นเอประมาณ 1,000 ชุด การสร้างกลุ่มของสายดีเอ็นเอด้วยวิธี bridge amplification แสดงดังภาพที่ 15



ภาพที่ 15 การสร้างดีเอ็นเอด้วยวิธี bridge amplification

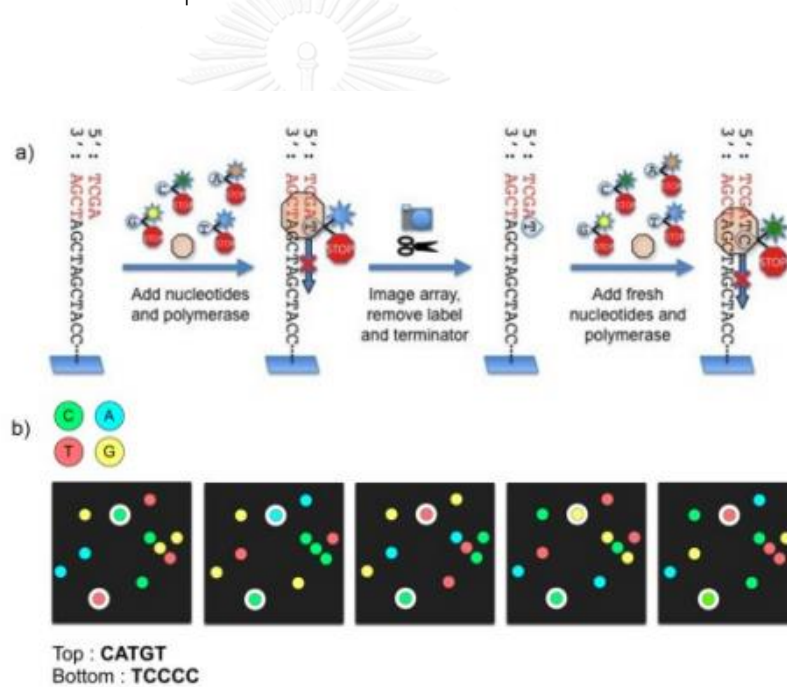
- สายดีเอ็นเอจับกับ Adapter ที่เคลือบบนกระจกสไลด์
- การสังเคราะห์ดีเอ็นเอแบบ bridge amplification
- ขั้นตอนการแยกทำให้ได้ดีเอ็นเอสายเดี่ยว

ที่มา: อลิษา และคณะ (2555)  
 CHULALONGKORN UNIVERSITY



### 3. การหาลำดับเบส (sequencing)

ในช่วงเริ่มต้นของการหาลำดับเบส มีการเติมเอ็นไซม์ DNA polymerase และนิวคลีโอไทด์ ทั้งสี่เบสที่ติดด้วยสารเรืองแสงที่มีสีต่างกัน และใช้ reversible terminator เพื่อหยุดการสังเคราะห์ สายดีเอ็นเอของเอ็นไซม์ DNA polymerase ในขณะที่มีการหยุดการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอ นิวคลีโอไทด์ที่ไม่ได้เข้าคู่กับสายดีเอ็นเอตั้งต้นที่เหลือในปฏิกิริยาจะถูกล้างออกแล้วกระตุ้นด้วยแสง เลเซอร์ ทำการบันทึกภาพการปลดปล่อยสารเรืองแสงของนิวคลีโอไทด์จากแต่ละกลุ่มบนแผ่น กระดาษสไลด์ จากนั้นทำการตัด (cleavage) เพื่อกำจัด terminator และ fluorescent dye ออกไป ทำการล้างอีกครั้งแล้วจึงเติมนิวคลีโอไทด์ชุดใหม่ และเอ็นไซม์ DNA polymerase เพื่อสังเคราะห์สาย ดีเอ็นเอต่อไป ทำซ้ำแบบนี้ไปเรื่อยๆ จนครบลำดับเบสของสายดีเอ็นเอ แสดงดังภาพที่ 16



ภาพที่ 16 การหาลำดับเบสของสายดีเอ็นเอโดยวิธี miseq system

a.) การเชื่อมต่อสายดีเอ็นเอด้วยเทคนิคนิวคลีโอไทด์ที่ติดสลากรเรืองแสง

b.) การอ่านลำดับเบสจากการเรืองแสงของนิวคลีโอไทด์

ที่มา: อลิษา และคณะ (2555)

## 2.8 ทบทวนงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ปัจจุบันการผลิตไบโอดีเซลมีการเจริญเติบโตอย่างต่อเนื่องในช่วงทศวรรษที่ผ่านมา ส่งผลให้อุตสาหกรรมไบโอดีเซลกำลังเผชิญหน้ากับปัญหาส่วนเกินจากผลพลอยได้หลัก ได้แก่ กลีเซอรอลดิบ และน้ำเสียที่ปนเปื้อนกลีเซอรอล และการนำกลีเซอรอลที่เกิดขึ้นไปใช้ประโยชน์ยังมีไม่มากนัก นอกจากนำไปกลั่นเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในรูปของกลีเซอรอลบริสุทธิ์ ทั้งนี้เพื่อลดต้นทุนในการจัดการกลีเซอรอลตลอดจนเพื่อการใช้ทรัพยากรอย่างคุ้มค่า การนำกลีเซอรอลดิบหรือน้ำเสียที่ปนเปื้อนกลีเซอรอลมาใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตพลาสติกชีวภาพ จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่มีความสนใจอย่างมากเพราะเป็นการนำของเสียกลับมาใช้ประโยชน์

โพลีไฮดรอกซีแอลคาโนเอต หรือพีเอชเอ (Polyhydroxyalkanoates; PHAs) จัดเป็นพลาสติกชีวภาพ (bioplastics) ชนิดหนึ่งซึ่งสามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพอย่างสมบูรณ์ ซึ่งการผลิตพีเอชเอในปัจจุบันมักมุ่งเน้นไปที่การเดินระบบที่เหมาะสมเพื่อส่งเสริมให้จุลินทรีย์มีความสามารถในการผลิตพีเอชเอและสะสมพีเอชเอได้ในปริมาณที่สูง จากงานวิจัยที่ผ่านมาของ Moralejo-Gárate และคณะ (2011) ได้ทำการศึกษาศักยภาพของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์สำหรับการผลิตพีเอชเอจากกลีเซอรอล โดยกลุ่มประชากรจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมที่ผลิตพีเอชเอจะถูกคัดเลือกและเพิ่มจำนวนภายใต้สภาวะที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลนจากการใช้กลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนในถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท (sequencing batch reactor) ซึ่งมีค่าระยะเวลาพักเก็บน้ำและระยะเวลาพักเก็บตะกอนเท่ากับ 2 วันและรอบการเดินระบบเท่ากับ 1 วัน พบว่าพีเอชบีและโพลีกลูโคส (polyglucose; PG) จะถูกผลิตขึ้นโดยสามารถผลิตโพลีไฮดรอกซีบิวทิวเรต (polyhydroxybutyrate; PHB) ได้ 0.47 gPHB/g glycerol และโพลีกลูโคสจะถูกผลิตในปริมาณประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และเมื่อทำการวิเคราะห์กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ ผลการทดลองพบว่าจุลินทรีย์ที่โดดเด่นมีลักษณะคล้ายกับกลุ่ม G-bacteria ซึ่งมีลักษณะเป็น cocci มีขนาดประมาณ 2-4 ไมโครเมตร นอกจากนี้ Dobroth และคณะ (2011) ได้ทำการศึกษาการผลิตพีเอชเอโดยใช้กลีเซอรอลดิบด้วยจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมในถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท โดยกำหนดให้ระยะเวลาการพักเก็บตะกอนที่ค่า 10, 20 และ 30 วัน ระยะเวลาในการพักเก็บน้ำที่ค่า 6 8 20 และ 30 วัน รอบการเดินระบบเท่ากับ 4 5 และ 10 วัน โดยดำเนินการภายใต้สภาวะที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน ภายใต้สภาวะที่มีการเติมอากาศอย่างเพียงพอตลอดเวลา ผลการทดลองพบว่าตะกอนจุลินทรีย์สามารถผลิตพีเอชบีได้สูงสุดถึง 62 เปอร์เซ็นต์โดย

น้ำหนัก โดยส่วนของเมทานอลที่ปะปนในกลีเซอรอลดิบสามารถช่วยในการผลิตพีเอชบีได้ประมาณ 0.10 gPHB/g methanol ต่อมางานวิจัยของ Moita และคณะ (2014) ได้ศึกษาความเป็นไปได้ของการผลิตพีเอชเอด้วยตะกอนจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมโดยใช้กลีเซอรอลดิบเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งกลีเซอรอลดิบประกอบด้วยกลีเซอรอล 71.66% gC/gTOC และเมทานอล 25.69% gC/gTOC โดยทำการทดลองในถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเทเพื่อคัดเลือกและเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมพีเอชเอด้วยกระบวนการสองขั้นตอน ประกอบด้วย 1.) การคัดเลือกและเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ที่สะสมพีเอชเอภายใต้สภาวะที่มีการให้อาหารแบบกินพอสลับกับขาดแคลน โดยกำหนดให้หนึ่งรอบของการเดินระบบเท่ากับ 24 ชั่วโมง ระยะเวลาเก็บกักน้ำเท่ากับ 2 วัน ระยะเวลาการกักเก็บตะกอนเท่ากับ 5 วัน และ 2.) การสะสมพีเอชเอสูงสุดในระบบแบบ fed-batch ซึ่งมีการเติมกลีเซอรอลทีละน้อยอย่างต่อเนื่อง ผลการทดลองพบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิตและสะสมพีเอชบีได้สูงสุด 47 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก โดยเป็นโฮโมโพลีเมอร์ชนิดพีเอชบี

จากทั้ง 3 งานวิจัยที่ผ่านมาจะเห็นได้ว่ากลีเซอรอลดิบไม่จำเป็นต้องมีขั้นตอนการหมักแบบไร้อากาศก่อนที่จะนำมาผลิตเป็นพีเอชเอ ทำให้สามารถลดขั้นตอนกระบวนการผลิตโดยรวมได้ เมื่อเทียบกับสารอินทรีย์ชนิดอื่นๆ ที่จำเป็นต้องมีกระบวนการหมักแบบไร้อากาศก่อนนำมาผลิตพีเอชเอ ซึ่งในปัจจุบันนี้มีงานวิจัยจำนวนมากที่ศึกษาถึงการให้ระบบบำบัดแบบต่อเนื่อง เช่น ระบบบำบัดแบบตะกอนเร่งเพื่อคัดเลือกจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมพีเอชเอในระบบภายใต้สภาวะที่มีอาหารกินพอสลับกับขาดแคลน จากงานวิจัยที่ผ่านมาของ Bengtsson และคณะ (2008) ได้ทำการศึกษาการผลิตพีเอชเอโดยใช้น้ำเสียของโรงงานกระดาษ จึงจำเป็นต้องใช้ถังหมักกรดเพื่อเปลี่ยนสารอินทรีย์ให้อยู่ในรูปของกรดไขมันระเหยก่อน จากนั้นจึงต่อดัวยระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน (2-stage continuous stirred tank reactor activated sludge systems) โดยในถังปฏิกรณ์แรกจำลองเป็นช่วงที่มีอาหารกินพอ (feast phase) ถึงปฏิกรณ์ที่ 2 จำลองให้เป็นช่วงที่ขาดแคลนอาหาร (famine phase) ซึ่งในถังนี้จะไม่เกิดการสะสมพีเอชเอ ทำให้จุลินทรีย์ที่สะสมพีเอชเอสามารถดึงพีเอชเอมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน โดยระบบนี้สามารถสะสมพีเอชเอได้สูงสุดถึง 48 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ต่อมา Albuquerque และคณะ (2010) ได้ทำการศึกษาเช่นเดียวกัน โดยใช้กากน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอน และกระบวนการหมักแบบไร้อากาศร่วมกับระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน ในการคัดเลือกและสะสมพีเอชเอภายใต้สภาวะที่มีการให้อาหารกินพอสลับกับขาดแคลน พบว่าระบบนี้สามารถสะสมพีเอชเอได้สูงสุดถึง 61 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

นอกจากนี้งานวิจัยที่ผ่านมาของ Dionisi และคณะ (2006); Johnson และคณะ (2009); Albuquerque และคณะ (2010); Jiang และคณะ (2011) ยังได้รายงานถึงการศึกษาอัตราส่วนระยะที่มีอาหารเกินพอต่อระยะขาดแคลนอาหาร (feast and famine feeding ratio; F/F ratio) ว่าช่วงของระยะเวลาที่จุลินทรีย์มีอาหารเกินพอ (feast phase) สั้นต่อช่วงของระยะที่จุลินทรีย์ขาดแคลนอาหาร (famine phase) ยาวเป็นการคัดเลือกและเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสะสมฟิเอชเอได้มากขึ้น ดังนั้นสัดส่วนของช่วงระยะที่มีอาหารเกินพอต่อช่วงที่ขาดแคลนอาหารน้อยๆ จะทำให้ความสามารถในการสะสมฟิเอชเอสูงขึ้น จากการศึกษาพบว่าที่ค่า Feast/Famine ratio น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.28 มีการสะสมฟิเอชเอแทนการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ แสดงให้เห็นถึงการตอบสนองต่อการจัดเก็บโพลีเมอร์ของฟิเอชเอที่ดี และอัตราส่วนระยะที่มีอาหารเกินพอต่อระยะขาดแคลน มากกว่า 0.55 พบว่าเพิ่มการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์มากกว่าการสะสมฟิเอชเอ ซึ่งจากงานวิจัยของ Moita และคณะ (2014) พบว่าหลังจากที่จุลินทรีย์ปรับตัวเข้ากับกลีเซอรอลแล้ว อัตราส่วนระยะที่มีอาหารเกินพอต่อระยะขาดแคลนอาหารจะอยู่ในช่วง 0.04 – 0.12 อย่างไรก็ตามในปัจจุบันนี้ยังขาดการศึกษาเกี่ยวกับอัตราส่วนของช่วงระยะที่มีอาหารเกินพอต่อช่วงที่ขาดแคลนอาหารในระบบถังปฏิกรณ์แบบต่อเนื่องซึ่งใช้กลีเซอรอลเป็นสารตั้งต้น

จากงานวิจัยที่ผ่านมาแสดงให้เห็นถึงการใช้กลีเซอรอลเป็นสารตั้งต้น ซึ่งในปัจจุบันยังขาดงานวิจัยที่ศึกษาถึงการใช้ระบบบำบัดแบบต่อเนื่อง เช่น ระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการผลิตฟิเอชเอจากกลีเซอรอล โดยระบบนี้นับว่ามีประโยชน์มากในหลายด้าน เนื่องจากเป็นระบบที่มีการใช้จริงในการบำบัดน้ำเสียอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาสภาวะอัตราส่วนที่เหมาะสมในการมีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน (F/F ratio) ต่อการผลิตฟิเอชเอด้วยตะกอนจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมโดยใช้กลีเซอรอลเป็นสารตั้งต้น และเลือกใช้ระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน (2-stage continuous stirred tank reactor activated sludge systems) โดยน้ำเสียจะมีการไหลเข้าและออกอย่างต่อเนื่องซึ่งสอดคล้องกับน้ำเสียจริงที่เกิดขึ้นจากอุตสาหกรรมไบโอดีเซล

## บทที่ 3

### แผนการทดลองและการดำเนินงานวิจัย

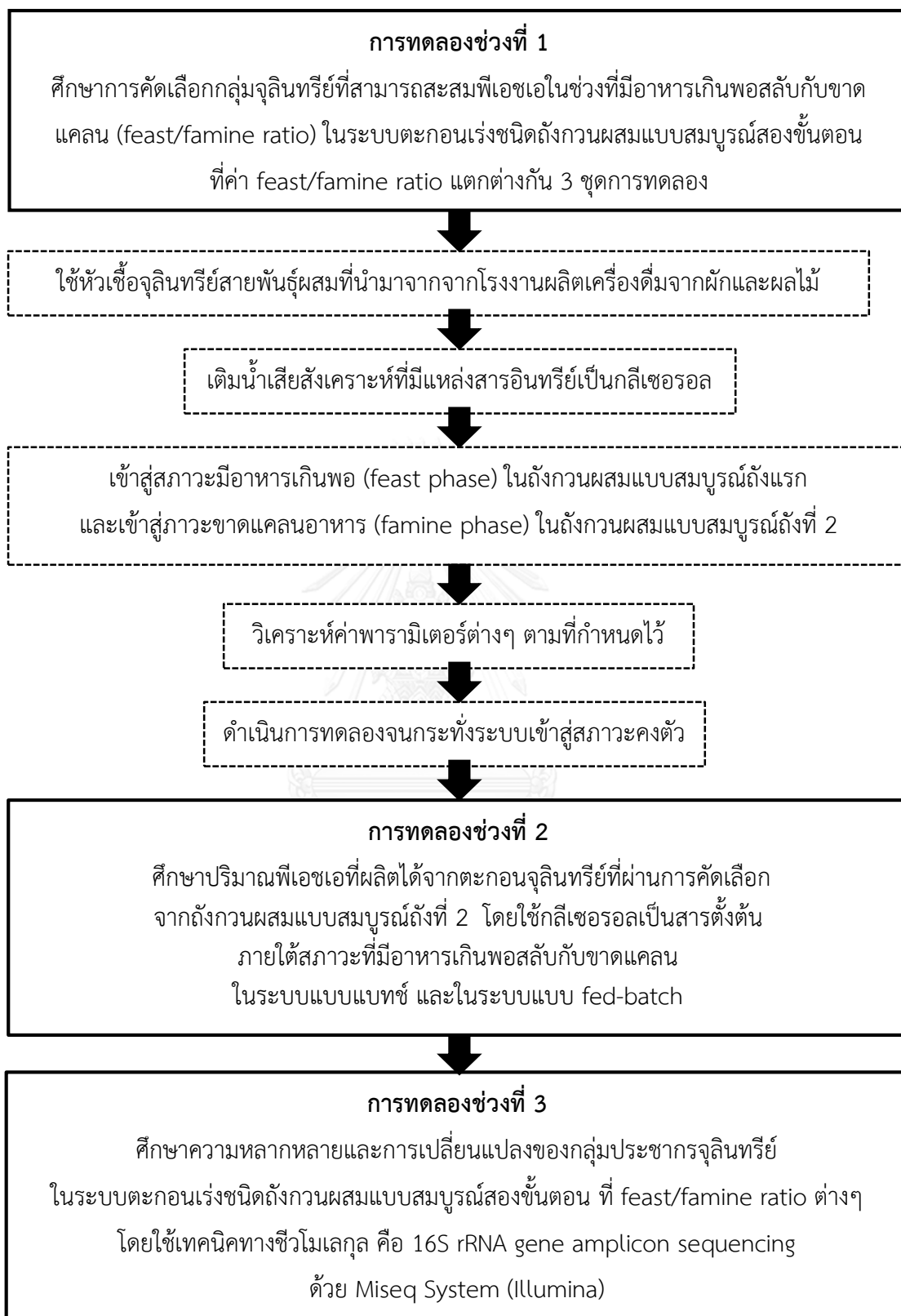
#### 3.1 แผนการทดลอง

งานวิจัยนี้เป็นการดำเนินการระดับห้องปฏิบัติการ ณ ห้องปฏิบัติการภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยและห้องปฏิบัติการอาคารสีเขียว คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อศึกษาผลกระทบของสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหารต่อการผลิตพีเอชเอในระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนโดยใช้กลีเซอรอลเป็นสารตั้งต้น ซึ่งแบ่งการศึกษาออกเป็น 3 ช่วงการทดลอง แสดงดังภาพที่ 17 ดังนี้

**การทดลองช่วงที่ 1** ศึกษาการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมพีเอชเอด้วยการใช้กลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอน ในช่วงที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน (feast/famine ratio) ในระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน ที่ค่า feast/famine ratio แตกต่างกัน 3 ชุดการทดลอง โดยถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 1 ทำหน้าที่ให้เกิดสภาวะอาหารเกินพอ (feast phase) ในขณะที่ถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 2 ทำหน้าที่ให้เกิดสภาวะขาดแคลนอาหาร (famine phase)

**การทดลองช่วงที่ 2** ศึกษาปริมาณพีเอชเอที่ผลิตได้จากตะกอนจุลินทรีย์ที่ผ่านการคัดเลือกจากถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 2 โดยใช้กลีเซอรอลเป็นสารตั้งต้นในการทดลองในระบบแบบแบทช์เพื่อศึกษาปริมาณพีเอชพีที่เกิดขึ้นและถูกใช้ไป และในการทดลองระบบแบบ fed-batch ซึ่งมีการเติมกลีเซอรอลทีละน้อยอย่างต่อเนื่องเพื่อศึกษาความสามารถในการสะสมพีเอชเอสูงสุดของตะกอนจุลินทรีย์

**การทดลองช่วงที่ 3** ศึกษาความหลากหลายและการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ feast/famine ratio ต่างๆ โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล คือ 16 rRNA gene amplicon sequencing ด้วย Miseq System (Illumina) โดยเจาะจงบริเวณ v4 region โดยใช้ Forward primer 515 (5'-GTGYCAGCMGCCGCGGT AA-3') และ Reverse primer 806 (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') (Ding และคณะ, 2014) ซึ่งครอบคลุมทั้งกลุ่มแบคทีเรียและอาร์เคีย



ภาพที่ 17 แผนการทดลอง

### 3.2 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

#### 3.2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเดินระบบ

1. ถังแก้วใสรูปทรงสี่เหลี่ยมจำนวน 6 ถัง
2. หัวฟูกระจายอากาศแบบหัวทราย
3. ปัมเติมอากาศ
4. ปัมสูบล้างสารละลายแบบท่อรีดหรือสายยาง (Peristaltic pump)
5. เครื่องควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างแบบอัตโนมัติ (pH controller) ร่วมกับ Probe
6. สายยางซิลิโคนทนกรด
7. กรวยอิมฮอฟฟ์ ขนาด 1000 ml
8. ถังน้ำสำหรับใส่น้ำเสียสังเคราะห์ขนาด 60 ml 3 ถัง
9. สายยางซิลิโคนทนกรด
10. กรดไฮโดรคลอริก 37% AR grade (บริษัท QReC, New Zealand)
11. ท่อพีวีซี
12. ข้อต่อ
13. ข้อง้อ

#### 3.2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ

1. เครื่องวัดปริมาณออกซิเจนละลาย
2. กระดาษกรอง GF/C เส้นผ่านศูนย์กลาง 4.7 เซนติเมตร
3. กรวยบุคเนอร์ (buchner funnel)
4. ขวดสุญญากาศ (buchner flask) ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร
5. ปัมสุญญากาศ (vacuum pump)
6. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
7. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส ยี่ห้อ Heraeus
8. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส ยี่ห้อ Memmert
9. เตาเผา 550 องศาเซลเซียส ยี่ห้อ Carbolite รุ่น ESF12/23
10. ตู้ดูดควัน ยี่ห้อ Flexlab

11. ตู้เย็น อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส
12. ตู้เย็น อุณหภูมิ 4 องศา
13. ดิสเพนเซอร์ (Dispenser)
14. ไมโครปิเปต (Micropipette)
15. ออโต้ปิเปต (Auto pipette) ของบริษัท Thermo
16. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ยี่ห้อ Heraeus รุ่น Biofuge<sup>stratos</sup>
17. เครื่องแก้วทางวิทยาศาสตร์ต่างๆ เช่น หลอดทดลอง กระจกตวง บิวเรต และบีกเกอร์ เป็นต้น

### 3.2.3 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดพีเอชเอเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณพีเอชเอโดย Gas Chromatography

1. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เครื่องกวนสารละลายแบบให้ความร้อน
3. เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer)
4. ตู้ดูดควัน ยี่ห้อ Flexlab
5. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
6. หลอดทดลอง
7. เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixing) ยี่ห้อ Scientific รุ่น Vortex genie 2
8. พาสเจอร์ปิเปต (Pasteur Pipette) ความยาว 150 มิลลิเมตร ของบริษัท FAVORIT
9. จุกยางดูดสารละลายขนาดเล็ก
10. หลอดทดลองฝาเกลียว ความยาวไม่ต่ำกว่า 150 มิลลิเมตร และฝาเกลียวมีแผ่นยางกันสารระเหยติดที่ตัวฝาหลอด
11. แผ่นพาราฟิล์ม

### 3.2.4 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณพีเอชเอโดย Gas Chromatography

1. เครื่องก๊าซโครมาโตกราฟีชนิดหัวตรวจวัดเฟรมไอออไนเซชัน (Gas chromatography flame ionization detector; GC-FID)



2. แคปพิลลารีคอลัมน์ (Capillary column) ชนิด INNOWAX ขนาด 30 เมตร x 0.32 มิลลิเมตร x 0.25 ไมโครเมตร

3. หลอด vial ขนาด 2 มิลลิลิตร ของบริษัท National Scientific

4. ฝาเกลียวสีน้ำเงิน บุด้วย PTFE ร่วมกับ Rubber septa ของบริษัท National Scientific

### 3.2.5 เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับการสกัดดีเอ็นเอ

1. ชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป (FastDNA<sup>TH</sup> SPIN Kit for Soil)

2. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)

3. เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer)

4. เครื่อง Fastprep<sup>®</sup> บริษัท Thermo Electron corporation รุ่น FastPrep<sup>TM</sup> FP120

**3.2.6 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอบริเวณ 16S rRNA ด้วย ปฏิกิริยา ลูกโซ่พอลิเมอเรส (PCR)**

1. เครื่องยูวีทรานซิลลูมิเนเตอร์ (UV Transilluminator) บริษัท Wealtec รุ่น Gel Dolphin-DOC

2. เครื่องแยกดีเอ็นเอด้วยไฟฟ้า (Horizontal DNA Electrophoresis gel Box)

3. เครื่องควบคุมอุณหภูมิสำหรับทำ PCR บริษัท Thermo Electron Corporation รุ่น HB-PX-2220

### 3.2.7 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมน้ำเลี้ยงสังเคราะห์

1. กลีเซอรอล (Glycerol; C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>)

2. แอมโมเนียมคลอไรด์ (Ammonium chloride; NH<sub>4</sub>Cl)

3. โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Potassium di hydrogen phosphate; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)

4. แมกนีเซียมซัลเฟต (Magnesium Sulfate; MgSO<sub>4</sub>)

5. เฟอริกคลอไรด์ (Ferric chloride; FeCl<sub>3</sub>)

6. แคลเซียมคลอไรด์ (Calcium chloride; CaCl<sub>2</sub>)

7. กรดบอริก (Boric acid; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>)

8. คอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulphate; CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O)

9. แมงกานีสคลอไรด์ (Manganese Chloride; MnCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O)

10. โซเดียมโมลิบเดต (Sodium molybdate; NaMoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O)

11. ซิงค์ซัลเฟต (Zinc sulfate;  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ )
12. โคบอลท์คลอไรด์ (Cobalt Chloride;  $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ )
13. คลอไรด์นิกเกิล (Nickel chloride;  $NiCl_2 \cdot 6H_2O$ )
14. โซเดียมไบคาร์บอเนต (Sodium bicarbonate;  $NaHCO_3$ )
15. ไทโอยูเรีย (Thiourea;  $H_2NCSNH_2$ )

### 3.2.8 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ซีโอดี

1. โพแทสเซียมไดโครเมต (Potassium Dichromate;  $K_2Cr_2O_7$ )
2. กรดซัลฟิวริก (Conc. Sulfuric Acid) 98%
3. เมอร์คิวริกซัลเฟต (Mercuric Sulfate;  $HgSO_4$ )
4. ซิลเวอร์ซัลเฟต (Silver sulfate;  $Ag_2SO_4$ )
5. เฟอร์รัสซัลเฟต (Ferrous Sulfate;  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ )
6. 1, 10-ฟีแนนโทรลีนโมโนไฮเดรต (1, 10-phenanthroline monohydrate;  $C_{12}H_8N_2 \cdot H_2O$ )

### 3.2.9 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดพีเอชเอ

1. คลอโรฟอร์ม (Chloroform) AR grade
2. กรดซัลฟิวริก (Conc. Sulfuric Acid;  $H_2SO_4$ ) 98%
3. เมทานอล (Methanol) AR grade
4. กรดเบนโซอิก (Benzoic acid)

### 3.2.10 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณพีเอชเอโดย Gas Chromatography

1. สารละลายมาตรฐาน Poly (3-hydroxybutyric acid-co-12%-3-hydroxyvaleric acid)
2. คลอโรฟอร์ม (Chloroform) AR grade

### 3.2.11 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนีย

1. โซเดียมซาลิไซเลต (Sodium salicylate;  $C_7H_5NaO_3$ )
2. โซเดียมไนโตรพรัสไซด์ (Sodium Nitroprusside;  $Na_2[Fe(CN)_5NO] \cdot 2H_2O$ )
3. ไตรโซเดียมซิเตรต (Trisodium citrate;  $Na_3C_6H_5O_7$ )
4. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide;  $NaOH$ )
5. โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Sodium hypochlorite;  $NaOCl$ ) 5.25%

### 3.2.12 สารเคมีสำหรับการสกัดดีเอ็นเอ

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

### 3.2.13 สารเคมีสำหรับการทำ PCR

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

### 3.2.14 สารเคมีที่ใช้ในการล้างผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอที่ได้จากขั้นตอน PCR

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

### 3.2.15 สารเคมีที่ใช้ในการติด Index PCR

1. 2x KAPA HiFi HotStart ReadyMix
2. Nextera XT Index 1 Primers (N7XX)
3. Nextera XT Index 2 Primers (55XX)

### 3.3 วิธีดำเนินการทดลอง

#### 3.3.1 การทดลองช่วงที่ 1 ศึกษาการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมฟิเอซเอในระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน

การทดลองช่วงที่ 1 ศึกษาการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมฟิเอซเอด้วยการใช้กลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอน ในช่วงที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน (feast/famine ratio) ในระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน ที่ค่า feast/famine ratio แตกต่างกัน 3 ชุดการทดลอง

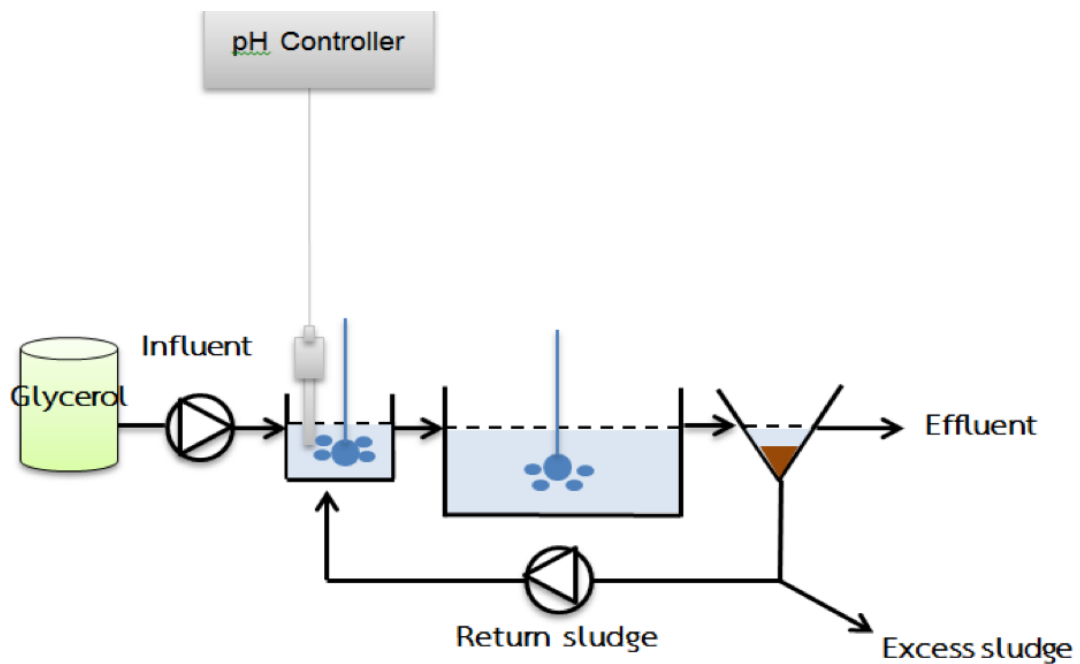
##### 3.3.1.1 ตะกอนจุลินทรีย์

ตะกอนจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองนำมาจากระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ จากโรงงานผลิตเครื่องดื่มจากผักและผลไม้ (บริษัท ทิปโก้ เอฟ แอนด์ บี จำกัด) ซึ่งเป็นระบบบำบัดน้ำเสียแบบยูเอเอสบีแล้วตามด้วยระบบเอสปีอาร์ แสดงดังภาพที่ 18 โดยตะกอนที่ใช้ในในการทดลองนำมาจากส่วนของระบบเอสปีอาร์ ซึ่งเป็นระบบแบบใช้อากาศ หลังจากนั้นทำการเก็บตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์เพื่อวิเคราะห์ปริมาณฟิเอซเอ และก่อนที่จะนำจุลินทรีย์มาใช้ในการทดลองจะทำการล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง เพื่อให้แน่ใจว่าไม่มีสารอินทรีย์เดิมตกค้าง ก่อนเติมน้ำเสียสังเคราะห์ลงไป



ภาพที่ 18 ระบบบำบัดน้ำเสียแบบเอสปีอาร์ ของ บริษัททิปโก้ เอฟ แอนด์ บี

### 3.3.1.2 ระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน

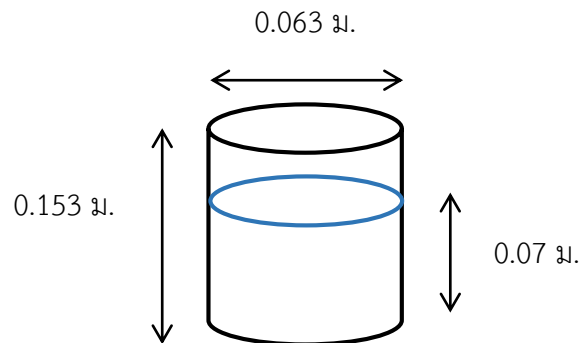


ภาพที่ 19 ระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน

ในแต่ละชุดการทดลองของระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน (2-stage continuous stirred tank reactor activated sludge systems) ประกอบด้วยถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังที่ 1 (feast phase) และถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังที่ 2 (famine phase) รวมปริมาตรทั้งสองถังเท่ากับ 20 ลิตร จากนั้นตามด้วยถังตกตะกอน (Sedimentation tank )

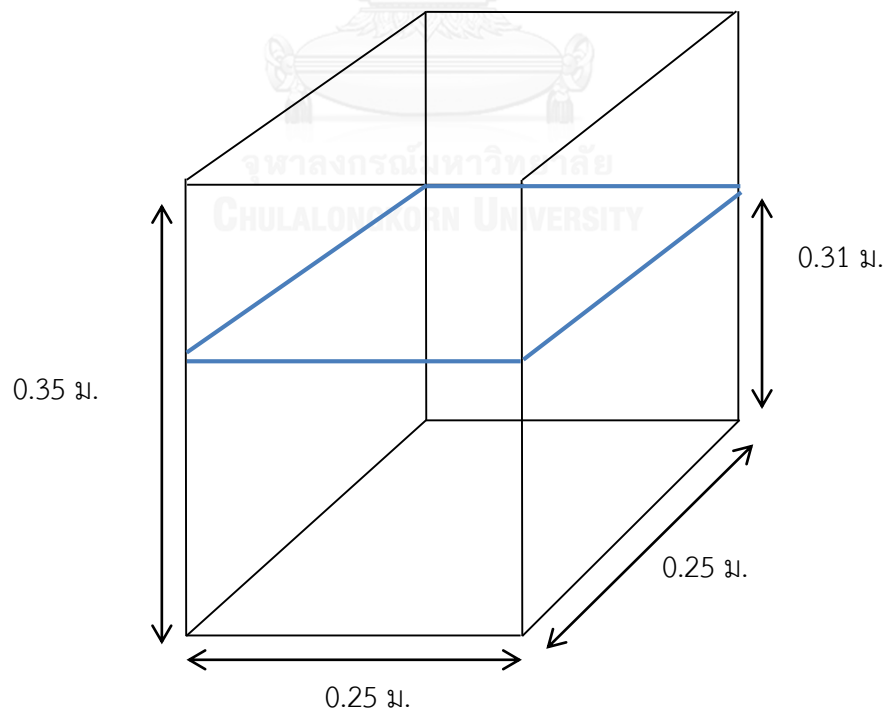
$$\text{Feast/Famine} = 0.04$$

ถังกวนผสมแบบสมบรูณ์ถังที่ 1 มีปริมาตรรวม 1 ลิตร ปริมาตรใช้งาน 0.77 ลิตร แสดงดัง  
ภาพที่ 20



ภาพที่ 20 ขนาดถังกวนผสมแบบสมบรูณ์ถังที่ 1 ที่ค่า Feast/Famine = 0.04

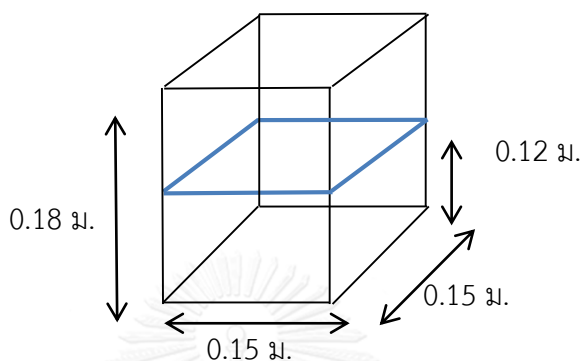
ถังกวนผสมแบบสมบรูณ์ถังที่ 2 มีขนาด 0.25 x 0.25 x 0.35 เมตร (กว้าง x ยาว x สูง)  
ปริมาตรรวม 21 ลิตร ปริมาตรใช้งาน เท่ากับ 19.38 ลิตร ความสูงน้ำประมาณ 0.31 เมตร ซึ่งถังกวน  
ผสมแบบสมบรูณ์ถังที่ 2 แสดงดังภาพที่ 21



ภาพที่ 21 ขนาดถังกวนผสมแบบสมบรูณ์ถังที่ 2 ที่ค่า Feast/Famine 0.04

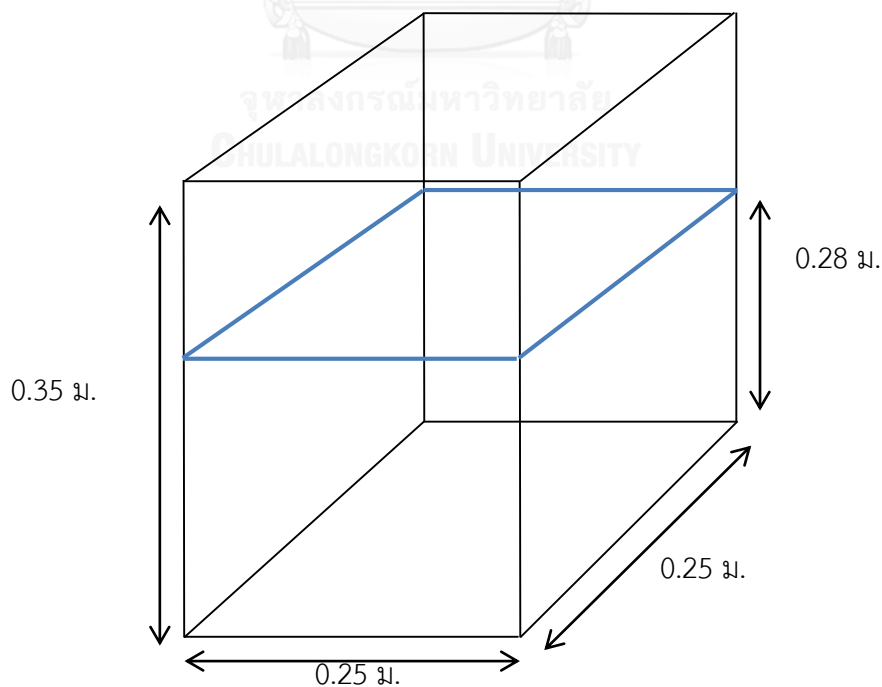
Feast/Famine ratio = 0.15

ถังกวนผสมแบบสมบรูณ์ถังที่ 1 มีขนาด 0.15 x 0.15 x 0.18 เมตร (กว้าง x ยาว x สูง) ปริมาตรรวม 4.05 ลิตร ปริมาตรใช้งาน 2.70 ลิตร ความสูงน้ำประมาณ 0.12 เมตร ซึ่งถังกวนผสมแบบสมบรูณ์ถังที่ 1 แสดงดังภาพที่ 22



ภาพที่ 22 ขนาดถังกวนผสมแบบสมบรูณ์ถังที่ 1 ที่ค่า Feast/Famine = 0.15

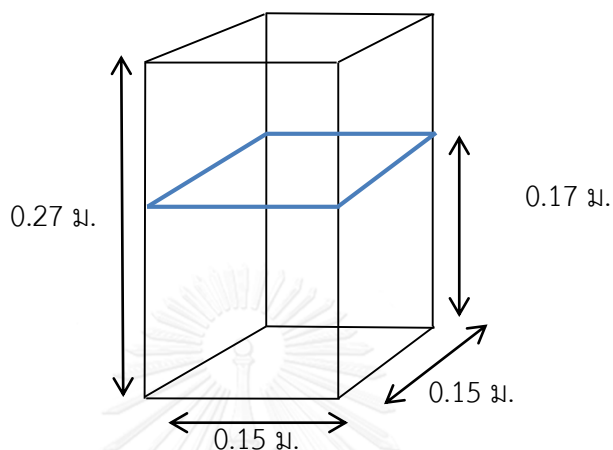
ถังกวนผสมแบบสมบรูณ์ถังที่ 2 มีขนาด 0.25 x 0.25 x 0.35 เมตร (กว้าง x ยาว x สูง) ปริมาตรรวม 21 ลิตร ปริมาตรใช้งาน เท่ากับ 17.50 ลิตร ความสูงน้ำประมาณ 0.28 เมตร ซึ่งถังกวนผสมแบบสมบรูณ์ถังที่ 2 แสดงดังภาพที่ 23



ภาพที่ 23 ขนาดถังกวนผสมแบบสมบรูณ์ถังที่ 2 ที่ค่า Feast/Famine = 0.15

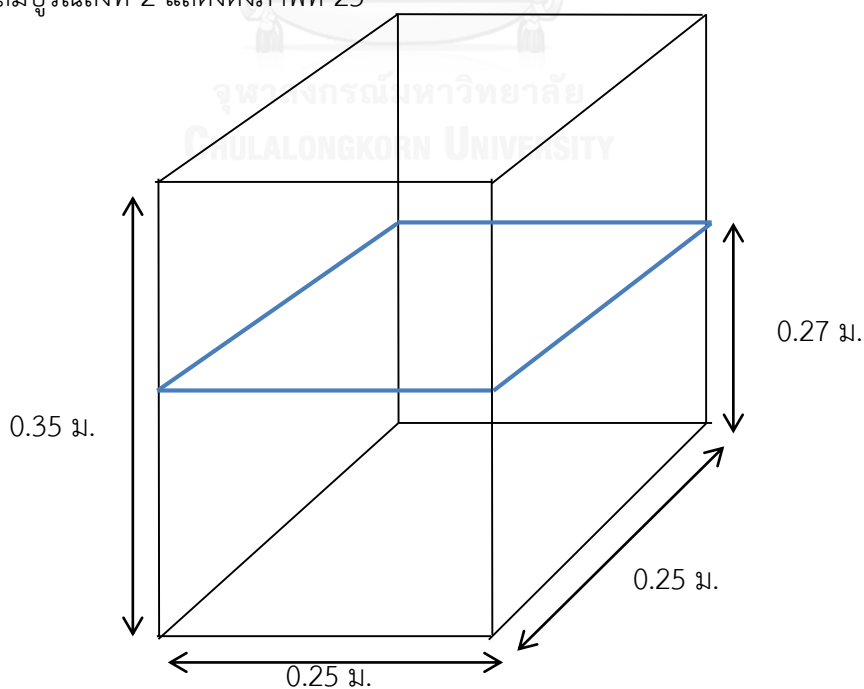
Feast/Famine ratio = 0.23

ถังกวนผสมแบบสมบรูณ์ถังที่ 1 มีขนาด 0.15 x 0.15 x 0.27 เมตร (กว้าง x ยาว x สูง) ปริมาตรรวม 6.08 ลิตร ปริมาตรใช้งาน 3.83 ลิตร ความสูงน้ำประมาณ 0.17 เมตร ซึ่งถังกวนผสมแบบสมบรูณ์ถังที่ แสดงดังภาพที่ 24



ภาพที่ 24 ขนาดถังกวนผสมแบบสมบรูณ์ถังที่ 1 ที่ค่า Feast/Famine = 0.23

ถังกวนผสมแบบสมบรูณ์ถังที่ 2 มีขนาด 0.25 x 0.25 x 0.35 เมตร (กว้าง x ยาว x สูง) ปริมาตรรวม 21 ลิตร ปริมาตรใช้งานเท่ากับ 16.88 ลิตร ความสูงน้ำประมาณ 0.27 เมตร ซึ่งถังกวนผสมแบบสมบรูณ์ถังที่ 2 แสดงดังภาพที่ 25

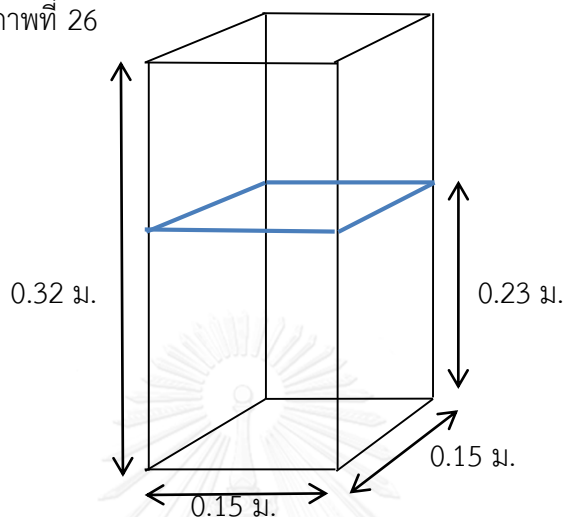


ภาพที่ 25 ขนาดถังกวนผสมแบบสมบรูณ์ถังที่ 2 ที่ค่า Feast/Famine = 0.23



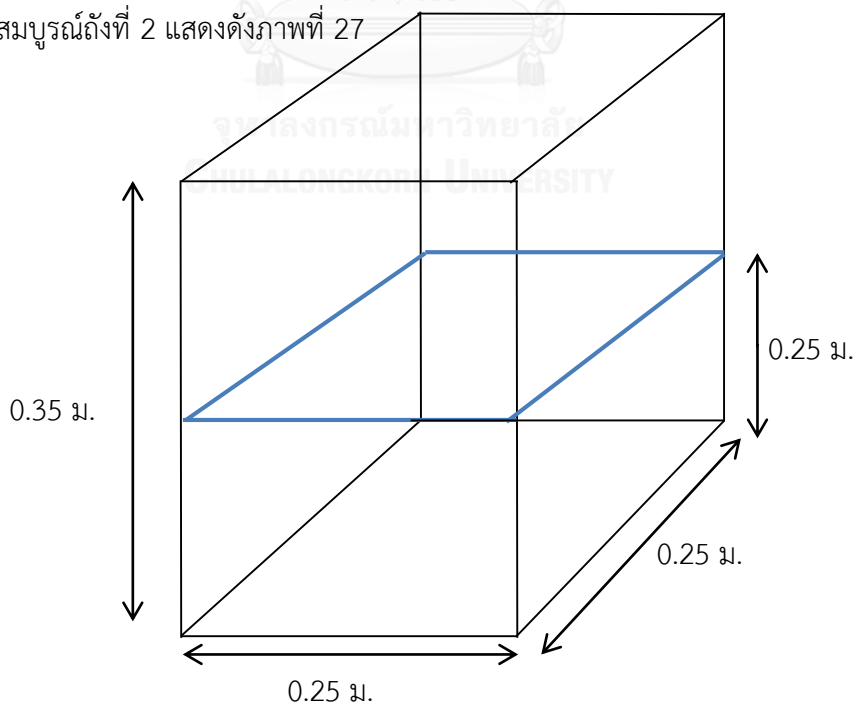
Feast/Famine ratio = 0.33

ถังกวนผสมแบบสมบรูณ์ถังที่ 1 มีขนาด 0.15 x 0.15 x 0.32 เมตร (กว้าง x ยาว x สูง) ปริมาตรรวม 7.2 ลิตร ปริมาตรใช้งาน 5.18 ลิตร ความสูงน้ำประมาณ 0.23 เมตร ซึ่งถังกวนผสมแบบสมบรูณ์ถังที่ 1 แสดงดังภาพที่ 26



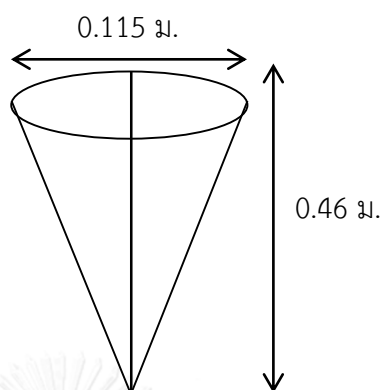
ภาพที่ 26 ขนาดถังกวนผสมแบบสมบรูณ์ถังที่ 1 ที่ค่า Feast/Famine = 0.33

ถังกวนผสมแบบสมบรูณ์ถังที่ 2 มีขนาด 0.25 x 0.25 x 0.35 เมตร (กว้าง x ยาว x สูง) ปริมาตรรวม 21 ลิตร ปริมาตรใช้งานเท่ากับ 15.63 ลิตร ความสูงน้ำประมาณ 0.25 เมตร ซึ่งถังกวนผสมแบบสมบรูณ์ถังที่ 2 แสดงดังภาพที่ 27



ภาพที่ 27 ขนาดถังกวนผสมแบบสมบรูณ์ถังที่ 2 ที่ค่า Feast/Famine = 0.33

ถังตกตะกอนมีขนาด เส้นผ่านศูนย์กลาง ( $d$ ) เท่ากับ 0.115 เมตร สูง ( $h$ ) เท่ากับ 0.46 เมตร ปริมาตรรวม 1.59 ลิตร ปริมาตรใช้งาน เท่ากับ 0.83 ลิตร ซึ่งถังตกตะกอน แสดงดังภาพที่ 28



ภาพที่ 28 ขนาดถังตกตะกอน



### 3.3.1.3 การเดินระบบการทดลอง

ทำการเดินระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน (2-stage continuous stirred tank reactor activated sludge systems) เพื่อคัดเลือกจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมฟิเอโซเอ ในช่วงที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน โดยการเดินระบบในช่วงวันที่ 1 ถึงวันที่ 33 ระบบจะ กำหนดค่า feast/famine ratio ที่แตกต่างกัน 3 ชุดการทดลอง คือ 0.15 0.23 และ 0.33 แสดงดัง ภาพที่ 29 โดยถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังที่ 1 ทำหน้าที่ให้เกิดสภาวะอาหารเกินพอ (feast phase) ปริมาณน้ำในถังเท่ากับ 2.70 3.83 และ 5.17 ลิตร กำหนดระยะเวลาในการกักเก็บน้ำ (HRT) เท่ากับ 6 9 และ 12 ชั่วโมงตามลำดับ และถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังที่ 2 ทำหน้าที่ให้เกิดสภาวะขาดแคลน อาหาร (famine phase) ปริมาณน้ำในถังเท่ากับ 17.50 16.83 และ 15.63 ลิตร กำหนดระยะเวลา ในการกักเก็บน้ำ (HRT) เท่ากับ 42 39 และ 36 ชั่วโมงตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 6 โดยปริมาณน้ำ รวมในแต่ละชุดการทดลองเท่ากับ 20 ลิตร

หลังจากนั้นในวันที่ 34 ถึงวันที่ 192 ของการเดินระบบได้ทำการเปลี่ยนค่า feast/famine ratio ที่แตกต่างกันจำนวน 3 ชุดการทดลองเป็น 0.04 0.15 และ 0.33 แสดงดังภาพที่ 30 โดยถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังที่ 1 ปริมาตรถังเท่ากับ 0.77 2.70 และ 5.17 ลิตร กำหนดระยะเวลาในการกัก เก็บน้ำ (HRT) เท่ากับ 2 6 และ 12 ชั่วโมงตามลำดับ และถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังที่ 2 ปริมาตรน้ำ ในถังเท่ากับ 19.38 17.50 และ 15.63 ลิตร กำหนดระยะเวลาในการกักเก็บน้ำ (HRT) เท่ากับ 46 42 และ 36 ชั่วโมงตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 7



ภาพที่ 29 ระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน

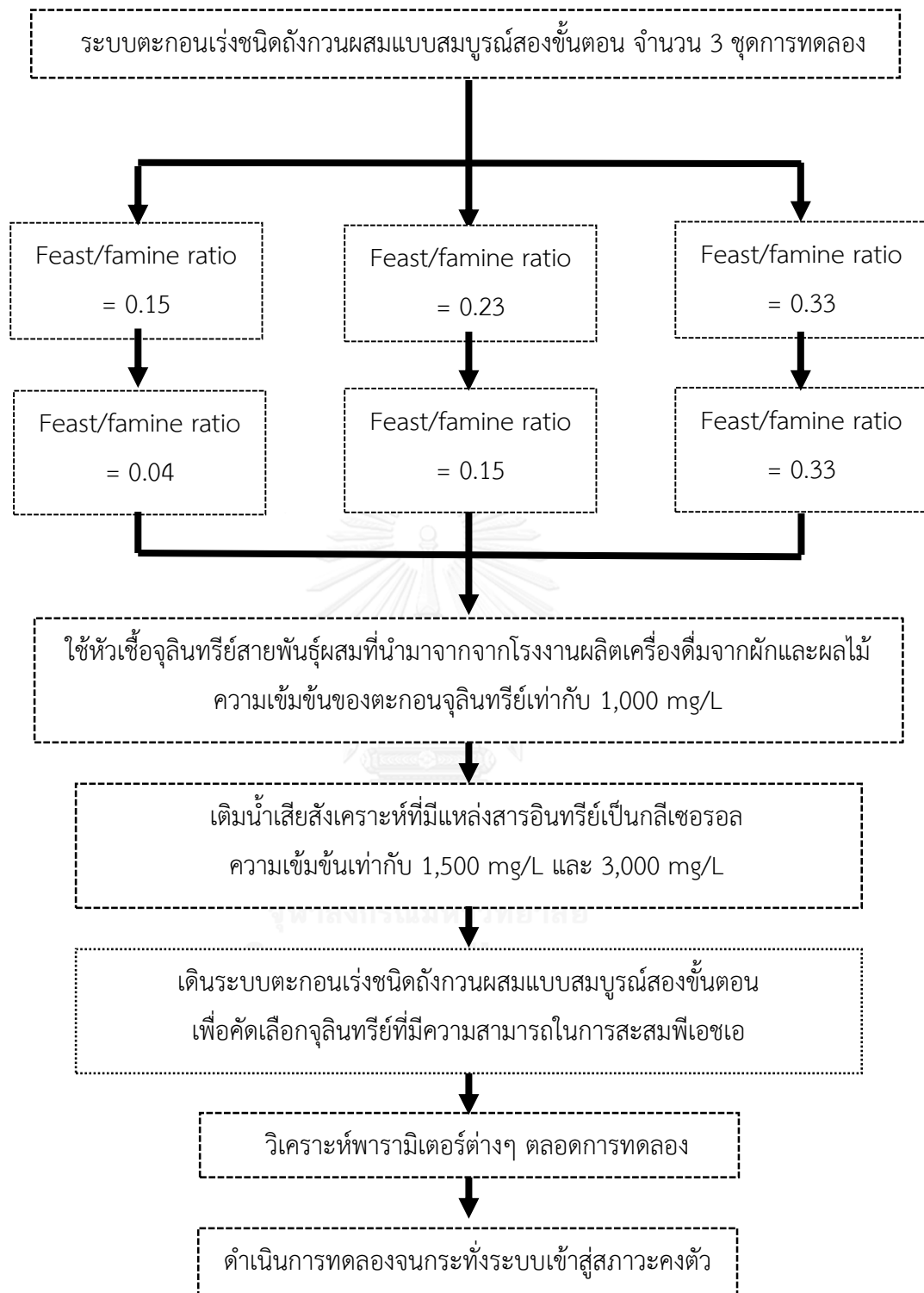
ที่ค่า Feast/Famine = 0.15 0.23 และ 0.33



ภาพที่ 30 ระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน

ที่ค่า Feast/Famine = 0.04 0.15 และ 0.33

เมื่อเริ่มการเดินระบบใช้ตะกอนจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมจากระบบบำบัดน้ำเสียโรงงานผลิตเครื่องดื่มจากผักและผลไม้ โดยกำหนดค่าความเข้มข้นของจุลินทรีย์เริ่มต้น หรือ MLSS ประมาณ 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร เท่ากันในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ทั้งสองขั้นตอน จากนั้นป้อนน้ำเสียสังเคราะห์ ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นกลีเซอรอลเข้าสู่ระบบอย่างต่อเนื่อง โดยองค์ประกอบของน้ำเสียสังเคราะห์ที่ใช้ในการทดลองที่ 1 แสดงดังตารางที่ 8 ในช่วงวันที่ 1 ถึงวันที่ 33 กำหนดให้ค่าความเข้มข้นเท่ากับ 40.2 Cmmol/L (ประมาณ 1500 mgCOD/L) หลังจากนั้นในวันที่ 73 ถึงวันที่ 192 ของการเดินระบบได้ทำการเพิ่มค่าความเข้มข้นเป็น 80.3 Cmmol/L (ประมาณ 3,000 mgCOD/L) เริ่มต้นระบบโดยการเติมน้ำเสียสังเคราะห์ลงไปจนถึงกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 1 ที่มีตะกอนจุลินทรีย์ จากนั้นปล่อยให้จุลินทรีย์ใช้สารอาหาร เมื่อครบรอบระยะเวลาพักเก็บน้ำในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังแรก น้ำเสียสังเคราะห์จากถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 1 จะไหลเข้าสู่ถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 2 ภายในระบบจะมีการควบคุมค่าพีเอชอยู่ในช่วง 7.0-7.5 โดยใช้เครื่องควบคุมพีเอชอัตโนมัติร่วมกับสารละลายไฮโดรคลอริกที่ความเข้มข้น 1 โมลาร์ และใช้เครื่องเติมอากาศร่วมกับหัวฟุ้งกระจายอากาศเพื่อเติมอากาศภายในระบบอย่างเพียงพอตลอดเวลา กำหนดระยะเวลาพักเก็บตะกอน (SRT) เท่ากับ 10 วัน ดำเนินการทดลองจนกระทั่งระบบเข้าสู่สภาวะคงตัวและทำการเก็บตัวอย่างในระบบมาวิเคราะห์ตามค่าพารามิเตอร์ต่างๆ เช่น pH DO Temperature COD MLSS SV30 SVI ปริมาณพีเอชเอ และแอมโมเนีย โดยวิธีการดำเนินการทดลองในช่วงการทดลองที่ 1 แสดงดังภาพที่ 31



ภาพที่ 31 แผนดำเนินการทดลองช่วงที่ 1

ตารางที่ 6 ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร ระยะเวลาที่เก็บน้ำในแต่ละถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ และ ปริมาณน้ำในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ที่ใช้ในการทดลอง ช่วงที่ 1 ในช่วงวันที่ 1 ถึงวันที่ 33

ชุดการทดลอง	F/F ratio	HRT (hr)		Volume (L)	
		CSTR1	CSTR2	CSTR1	CSTR2
1	0.15	6 ชั่วโมง	42 ชั่วโมง	2.70 ลิตร	17.50 ลิตร
2	0.23	9 ชั่วโมง	39 ชั่วโมง	3.83 ลิตร	16.88 ลิตร
3	0.33	12 ชั่วโมง	36 ชั่วโมง	5.17 ลิตร	15.63 ลิตร

ตารางที่ 7 ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร ระยะเวลาที่เก็บน้ำในแต่ละถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ และ ปริมาณน้ำในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ที่ใช้ในการทดลอง ช่วงที่ 2 ในช่วงวันที่ 34 ถึงวันที่ 192

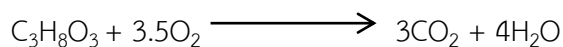
ชุดการทดลอง	F/F ratio	HRT (hr)		Volume (L)	
		CSTR1	CSTR2	CSTR1	CSTR2
1	0.04	2 ชั่วโมง	46 ชั่วโมง	0.77 ลิตร	17.38 ลิตร
2	0.15	6 ชั่วโมง	42 ชั่วโมง	2.70 ลิตร	17.50 ลิตร
3	0.33	12 ชั่วโมง	36 ชั่วโมง	5.17 ลิตร	15.63 ลิตร

ตารางที่ 8 องค์ประกอบของน้ำเสียสังเคราะห์ที่ใช้ในการทดลองที่ 1

แหล่งคาร์บอน	ความเข้มข้น	หน่วย
$C_3H_8O_3$	1,232	mg $C_3H_5(OH)_3/L$
ธาตุอาหารหลัก	ความเข้มข้น	หน่วย
$NH_4Cl$	191.07	mg/L
$KH_2PO_4$	43.87	mg/L
$MgSO_4$	500	mg/L
ธาตุอาหารรอง	ความเข้มข้น	หน่วย
$FeCl_3$	10	mg/L
$CaCl_2$	10	mg/L
$H_3BO_3$	4	mg/L
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	2	mg/L
$MnCl_2 \cdot 2H_2O$	0.3	mg/L
$NaMoO_4 \cdot 2H_2O$	2	mg/L
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	2	mg/L
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	8	mg/L
$NiCl_2 \cdot 6H_2O$	2	mg/L
อื่นๆ	ความเข้มข้น	หน่วย
$NaHCO_3$	50	mg/L
Thiourea	20	mg/L

ที่มา: ดัดแปลงจาก (Woraittinun และ Suwannasilp, 2017) และ (Kumar และคณะ, 2004)

- การคำนวณหน่วย Cmmol/L จากความเข้มข้นกลีเซอรอล 1,500 mgCOD/L



ออกซิเจน 112 กรัม ทำปฏิกิริยาพอดีกับกลีเซอรอล 92 กรัม

ดังนั้น ต้องการทำปฏิกิริยาพอดีกับออกซิเจน 1.5 กรัม ต้องใช้กลีเซอรอล 1.232 กรัมกลีเซอรอล

92 กรัมกลีเซอรอล มีจำนวนคาร์บอน เท่ากับ 3

1.232 กรัมกลีเซอรอล มีจำนวนคาร์บอนเท่ากับ 0.0402 Cmol  $\approx$  40.2 Cmmol

ดังนั้น ความเข้มข้นกลีเซอรอล 1,500 mgCOD/L เท่ากับ 40.2 Cmmol/L

- การคำนวณธาตุอาหารหลักที่ใช้ในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในระบบ คือ ไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ซึ่งสามารถคำนวณได้จากอัตราส่วน COD:N:P เท่ากับ 150:5:1 โดยงานวิจัยนี้ใช้ค่า COD 1,500 mg/L จะได้ COD:N:P เท่ากับ 1500:50:10

- จำนวน N ที่ใช้เป็นธาตุอาหารหลักในระบบ

จาก N 14 g/mol สาร  $\text{NH}_4\text{Cl}$  มีมวลโมเลกุล 53.5 g/mol

ต้องการ N 50 mg/L ต้องเติม X mg/L

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น} \quad X &= \frac{50 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 53.5 \frac{\text{g}}{\text{mol}}}{14 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} \\ &= 191.07 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

- จำนวน P ที่ใช้เป็นธาตุอาหารหลักในระบบ

จาก P 31 g/mol สาร  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  มีมวลโมเลกุล 136 g/mol

ต้องการ P 10 mg/L ต้องเติม X mg/L

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น} \quad X &= \frac{10 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 136 \frac{\text{g}}{\text{mol}}}{31 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} \\ &= 43.87 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำเสียสังเคราะห์เป็น 3,000 มิลลิกรัมซีโอดี/ลิตร จึงทำการเพิ่มไนโตรเจนและฟอสฟอรัสให้ได้อัตราส่วนดั้งเดิม คือ COD:N:P เท่ากับ 150:5:1



ตารางที่ 9 พารามิเตอร์ที่ทำการวิเคราะห์ในช่วงการทดลองที่ 1

พารามิเตอร์	ความถี่ในการวิเคราะห์ (ครั้งต่อสัปดาห์)	วิธีการวิเคราะห์และ เครื่องมือวิเคราะห์	วิธีมาตรฐาน
ซีโอดี (COD)	3 ครั้งต่อสัปดาห์	Close reflux method	5220C
ค่าความเข้มข้น ตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS)	3 ครั้งต่อสัปดาห์	Gravimetric method	2540D
ออกซิเจนละลาย (DO)	ทุกวัน	DO meter	1010A
พีเอช (pH)	ทุกวัน	pH controller	4500B
ปริมาณตะกอน ที่ 30 นาที (SV30)	1 ครั้งต่อสัปดาห์	Imhoff cone	2540F
ดัชนีปริมาณตะกอน (SVI)	1 ครั้งต่อสัปดาห์	(SV30, มล./ลิตร)(1000 มก./กรัม) / (MLSS, มก./ลิตร)	2710D
ปริมาณพีเอชเอ	1 ครั้งต่อสัปดาห์	Gas chromatography	-
แอมโมเนีย	1 ครั้งต่อสัปดาห์	Colorimetric method	4500D
อุณหภูมิ (C°)	ทุกวัน	Thermometer	2550B

### 3.3.2 การทดลองช่วงที่ 2 ศึกษาปริมาณพีเอชเอที่ผลิตได้จากตะกอนจุลินทรีย์ในระบบแบบแบทช์และระบบแบบ fed-batch

การทดลองช่วงที่ 2 เป็นการศึกษาปริมาณพีเอชเอที่ผลิตได้จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน ด้วยตะกอนจุลินทรีย์ที่ผ่านการคัดเลือกจากถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 2 โดยใช้กลีเซอรอลเป็นสารตั้งต้นในการทดลองในระบบแบบแบทช์เพื่อศึกษาปริมาณพีเอชเอที่เกิดขึ้นและถูกใช้ไป และในการทดลองระบบแบบ fed-batch ซึ่งมีการเติมกลีเซอรอลทีละน้อยอย่างต่อเนื่องเพื่อศึกษาความสามารถในการสะสมพีเอชเอสูงสุดของตะกอนจุลินทรีย์ เริ่มต้นการทดลองโดยการหาอัตราการใช้น้ำเสียสังเคราะห์ (COD) ของชุดการทดลองที่ 0.04 0.15 และ 0.33 เพื่อหาคำนวนหาปริมาณกลีเซอรอลที่ใช้ในการเตรียมน้ำเสียสังเคราะห์ โดยวิธีการทดลองมีดังนี้

การศึกษาอัตราการใช้น้ำเสียสังเคราะห์

#### 3.3.2.1 การศึกษาอัตราการใช้น้ำเสียสังเคราะห์

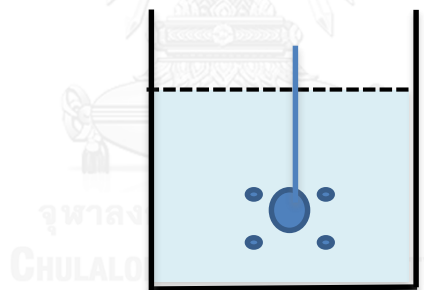
- นำตะกอนจุลินทรีย์ที่ผ่านการคัดเลือกจากถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 2 จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน เติมน้ำลงในระบบแบบแบทช์ ปริมาตรเท่ากับ 9 ลิตร แสดงดังภาพที่ 32
- เก็บตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ในระบบแบบแบทช์เพื่อวิเคราะห์หาความเข้มข้นของตะกอนจุลินทรีย์ก่อนเริ่มต้นเดินระบบ
- ทำการตกตะกอนเพื่อถ่ายน้ำเสียเก่าออกและเติมน้ำเสียสังเคราะห์ใหม่ลงไป
- เติมน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีแหล่งสารอินทรีย์เป็นกลีเซอรอลเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 กำหนดให้มีค่าความเข้มข้นกลีเซอรอล 3,000 mgCOD/L เท่ากับ 80.3 Cmmol/L
- ปล่อยให้จุลินทรีย์ใช้สารอาหารและเกิดสภาวะขาดอาหารขึ้น (feast and famine) รวมระยะเวลา 48 ชั่วโมง
- เก็บตัวอย่างน้ำเสียสังเคราะห์ทุกๆ 30 นาทีในช่วง 12 ชั่วโมงแรก และหลังจากนั้นเก็บทุกๆ 4 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์หาอัตราการใช้น้ำเสียสังเคราะห์ของจุลินทรีย์ (COD) ในแต่ละชุดการทดลอง
- นำอัตราการใช้น้ำเสียสังเคราะห์ของแต่ละชุดการทดลองมาคำนวณหาปริมาณกลีเซอรอลที่ต้องใช้ในการเตรียมน้ำเสียสังเคราะห์เพื่อใช้ในระบบแบบ fed-batch



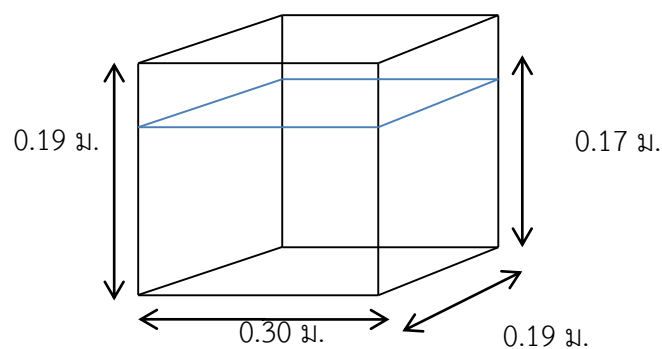
ภาพที่ 32 การเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์หาอัตราการใช้น้ำเสียสังเคราะห์ของจุลินทรีย์

### 3.3.2.2 การศึกษาปริมาณพีเอชเอทีที่เกิดขึ้นและถูกใช้ไปของตะกอนจุลินทรีย์ในระบบแบบแบทช์

ระบบแบบแบทช์ แสดงดังภาพที่ 33 มีขนาด  $0.18 \times 0.30 \times 0.19$  เมตร (กว้าง  $\times$  ยาว  $\times$  สูง) ปริมาตรรวม 10 ลิตร ปริมาตรใช้งาน 9 ลิตร ความสูงน้ำ 0.17 เมตร ซึ่งขนาดของระบบแบบแบทช์ แสดงดังภาพที่ 3

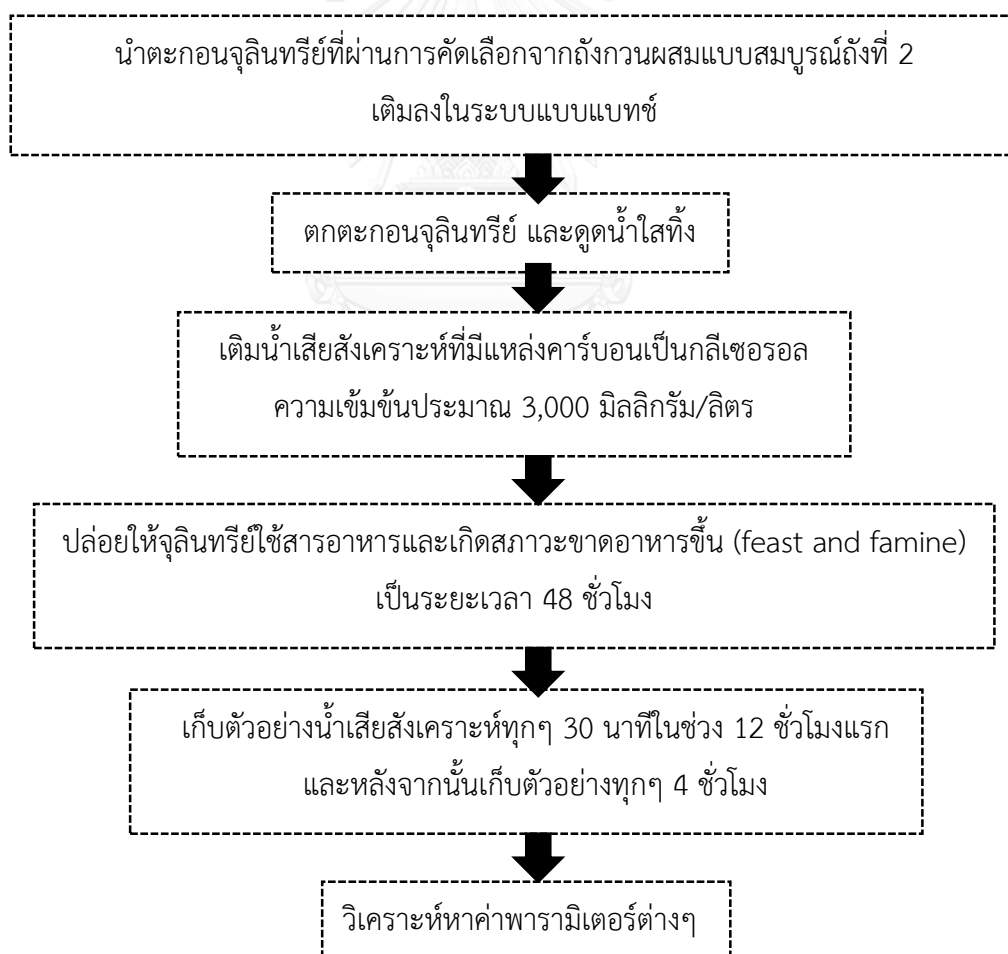


ภาพที่ 33 ระบบแบบแบทช์



ภาพที่ 34 ขนาดของระบบแบบแบทช์

ในการทดลองเพื่อศึกษาปริมาณพีเอชเอที่เกิดขึ้นและถูกใช้ไป ดำเนินการทดลองโดยนำตะกอนจุลินทรีย์มาจากถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังที่ 2 จากนั้นทำการตกตะกอนจุลินทรีย์และดูน้ำใสทิ้ง เติมน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นกลีเซอรอลความเข้มข้นประมาณ 3,000 มิลลิกรัม/ลิตร โดยองค์ประกอบของน้ำเสียสังเคราะห์ที่ใช้ในการทดลองแบบแบทช์ แสดงดังตารางที่ 10 จากนั้นปล่อยให้จุลินทรีย์ใช้สารอาหารและเกิดสภาวะขาดอาหารขึ้น ระหว่างการทดลองไม่ได้ทำการควบคุมพีเอช และใช้เครื่องเติมอากาศร่วมกับหัวฟู่กระจายอากาศเพื่อให้อากาศภายในระบบอย่างเพียงพอตลอดเวลา กำหนดเวลากักเก็บน้ำ (HRT) เท่ากับ 48 ชั่วโมง ทำการ เก็บตัวอย่างน้ำเสียสังเคราะห์ทุกๆ 30 นาทีในช่วง 12 ชั่วโมงแรก หลังจากนั้นเก็บตัวอย่างทุกๆ 4 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์หา DO Temperature COD MLSS ปริมาณพีเอชเอ และแอมโมเนีย โดยวิธีการดำเนินการทดลองในช่วงการทดลองระบบแบบแบทช์ แสดงดังภาพที่ 35



ภาพที่ 35 แผนการดำเนินการทดลองช่วง 2 ในระบบแบบแบทช์

ตารางที่ 10 องค์ประกอบของน้ำเสียสังเคราะห์ที่ใช้ในการทดลองระบบแบบแบทช์

แหล่งคาร์บอน	ความเข้มข้น	หน่วย
$C_3H_5(OH)_3$	1,232	mg $C_3H_5(OH)_3/L$
ธาตุอาหารหลัก	ความเข้มข้น	หน่วย
$MgSO_4$	500	mg/L
ธาตุอาหารรอง	ความเข้มข้น	หน่วย
$FeCl_3$	10	mg/L
$CaCl_2$	10	mg/L
$H_3BO_3$	4	mg/L
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	2	mg/L
$MnCl_2 \cdot 2H_2O$	0.3	mg/L
$NaMoO_4 \cdot 2H_2O$	2	mg/L
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	2	mg/L
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	8	mg/L
$NiCl_2 \cdot 6H_2O$	2	mg/L
อื่นๆ	ความเข้มข้น	หน่วย
$NaHCO_3$	50	mg/L
Thiourea	20	mg/L

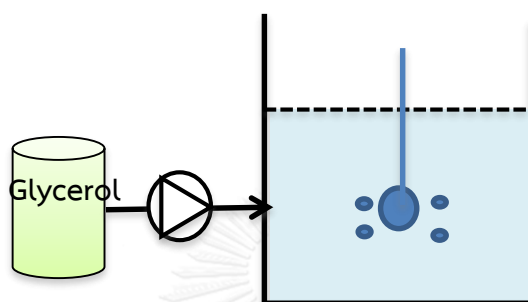
ที่มา: ดัดแปลงจาก (Woraittinun และ Suwannasilp, 2017) และ (Kumar และคณะ, 2004)

ตารางที่ 11 พารามิเตอร์ที่ทำการวิเคราะห์ในช่วงการทดลองระบบแบบแบทช์

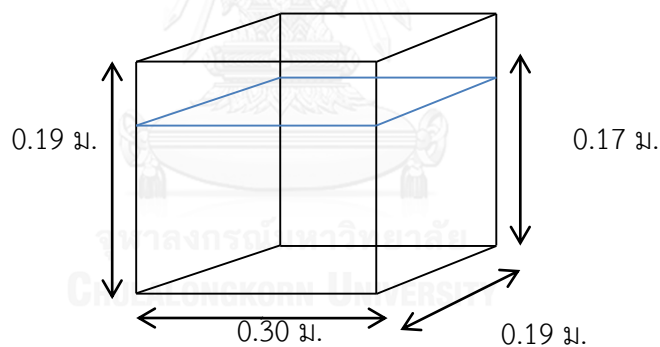
พารามิเตอร์	ความถี่ในการวิเคราะห์	วิธีการวิเคราะห์และ เครื่องมือวิเคราะห์	วิธี มาตรฐาน
ออกซิเจนละลาย (DO)	ทุกๆ 30 นาทีในช่วง 12 ชั่วโมงแรก และหลังจากนั้น เก็บตัวอย่างทุกๆ 4 ชั่วโมง	DO meter	1010A
ซีโอดี (COD)	ทุกๆ 30 นาทีในช่วง 12 ชั่วโมงแรก และหลังจากนั้น เก็บตัวอย่างทุกๆ 4 ชั่วโมง	Close reflux method	5220C
ค่าความเข้มข้น ตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS)	ทุกๆ 30 นาทีในช่วง 12 ชั่วโมงแรก และหลังจากนั้น เก็บตัวอย่างทุกๆ 4 ชั่วโมง	Gravimetric method	2540D
ปริมาณพีเอชเอ	ทุกๆ 30 นาทีในช่วง 12 ชั่วโมงแรก และหลังจากนั้น เก็บตัวอย่างทุกๆ 4 ชั่วโมง	Gas chromatography	-
แอมโมเนีย	ทุกๆ 30 นาทีในช่วง 12 ชั่วโมงแรก และหลังจากนั้น เก็บตัวอย่างทุกๆ 4 ชั่วโมง	Colorimetric method	4500D
อุณหภูมิ (C°)	ทุกๆ 30 นาทีในช่วง 12 ชั่วโมงแรก และหลังจากนั้น เก็บตัวอย่างทุกๆ 4 ชั่วโมง	Thermometer	2550B

### 3.3.2.3 การศึกษาความสามารถในการสะสมพีเอชเอสูงสุดของตะกอนจุลินทรีย์ในระบบแบบ fed-batch

ระบบแบบ fed-batch แสดงดังภาพที่ 36 มีขนาด 0.18 x 0.30 x 0.10 เมตร (กว้าง x ยาว x สูง) ปริมาตรรวม 10 ลิตร ปริมาตรใช้งาน 9 ลิตร ความสูงน้ำ 0.17 เมตร ซึ่งขนาดของระบบแบบ fed-batch แสดงดังภาพที่ 37



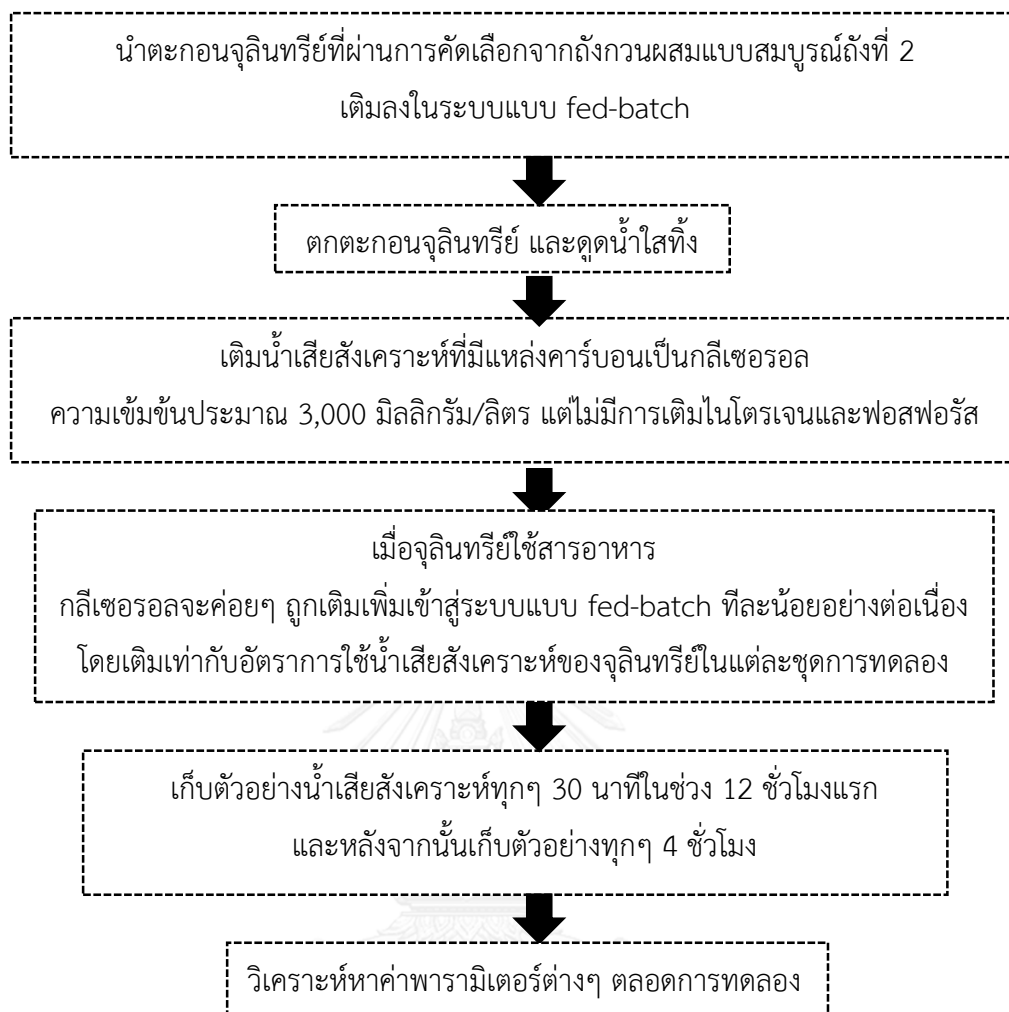
ภาพที่ 36 ระบบแบบ fed-batch



ภาพที่ 37 ขนาดของระบบแบบ fed-batch

ในการทดลองเพื่อศึกษาความสามารถในการสะสมฟิเอชเอสูงสุด ดำเนินการทดลองโดยนำตะกอนจุลินทรีย์มาจากถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังที่ 2 จากนั้นทำการตกตะกอนจุลินทรีย์และดูน้ำใสทิ้ง เติมน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นกลีเซอรอลความเข้มข้นประมาณ 3,000 มิลลิกรัม/ลิตร โดยองค์ประกอบของน้ำเสียสังเคราะห์ที่ใช้ในการทดลองระบบ fed-batch แสดงดังตารางที่ 12 ซึ่งในการทดลองนี้จะไม่มีการเติมไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในระบบเพื่อป้องกันการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และส่งเสริมให้จุลินทรีย์นำแหล่งคาร์บอนไปใช้ในการผลิตฟิเอชเอ เมื่อจุลินทรีย์ใช้สารอาหารน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นกลีเซอรอลจะค่อยๆ ถูกเติมเพิ่มเข้าสู่ระบบแบบ fed-batch อย่างต่อเนื่อง โดยเติมเท่ากับอัตราการใช้น้ำเสียสังเคราะห์ของจุลินทรีย์ในแต่ละชุดการทดลอง ซึ่งระหว่างการทดลองไม่ได้ทำการควบคุมฟิเอช และใช้เครื่องเติมอากาศร่วมกับหัวฟุ้งกระจายอากาศเพื่อให้อากาศภายในระบบอย่างเพียงพอตลอดเวลา กำหนดเวลากักเก็บน้ำ (HRT) เท่ากับ 48 ชั่วโมง ทำการเก็บตัวอย่างน้ำเสียสังเคราะห์ทุกๆ 30 นาทีในช่วง 12 ชั่วโมงแรก หลังจากนั้นเก็บตัวอย่างทุกๆ 4 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์หา DO Temperature COD MLSS และปริมาณฟิเอชเอ โดยวิธีการดำเนินการทดลองในช่วงการทดลองระบบแบบ fed- batch แสดงดังภาพที่ 38





ภาพที่ 38 แผนการดำเนินการทดลองช่วง 2 ในระบบแบบ fed-batch

ตารางที่ 12 องค์ประกอบของน้ำเสียสังเคราะห์ที่ใช้ในการทดลองระบบแบบ fed-batch

แหล่งคาร์บอน	ความเข้มข้น	หน่วย
$C_3H_5(OH)_3$	1,232	mg $C_3H_5(OH)_3/L$
ธาตุอาหารหลัก	ความเข้มข้น	หน่วย
$MgSO_4$	500	mg/L
ธาตุอาหารรอง	ความเข้มข้น	หน่วย
$FeCl_3$	10	mg/L
$CaCl_2$	10	mg/L
$H_3BO_3$	4	mg/L
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	2	mg/L
$MnCl_2 \cdot 2H_2O$	0.3	mg/L
$NaMoO_4 \cdot 2H_2O$	2	mg/L
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	2	mg/L
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	8	mg/L
$NiCl_2 \cdot 6H_2O$	2	mg/L
อื่นๆ	ความเข้มข้น	หน่วย
$NaHCO_3$	50	mg/L
Thiourea	20	mg/L

ที่มา: ดัดแปลงจาก (Woraittinun และ Suwannasilp, 2017) และ (Kumar และคณะ, 2004)

ตารางที่ 13 พารามิเตอร์ที่ทำการวิเคราะห์ในช่วงการทดลองระบบแบบ fed-batch

พารามิเตอร์	ความถี่ในการวิเคราะห์	วิธีการวิเคราะห์และ เครื่องมือวิเคราะห์	วิธี มาตรฐาน
ออกซิเจนละลาย (DO)	ทุกๆ 30 นาทีในช่วง 12 ชั่วโมงแรก และหลังจากนั้น เก็บตัวอย่างทุกๆ 4 ชั่วโมง	DO meter	1010A
ซีโอดี (COD)	ทุกๆ 30 นาทีในช่วง 12 ชั่วโมงแรก และหลังจากนั้น เก็บตัวอย่างทุกๆ 4 ชั่วโมง	Close reflux method	5220C
ค่าความเข้มข้น ตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS)	ทุกๆ 30 นาทีในช่วง 12 ชั่วโมงแรก และหลังจากนั้น เก็บตัวอย่างทุกๆ 4 ชั่วโมง	Gravimetric method	2540D
ปริมาณพีเอชเอ	ทุกๆ 30 นาทีในช่วง 12 ชั่วโมงแรก และหลังจากนั้น เก็บตัวอย่างทุกๆ 4 ชั่วโมง	Gas chromatography	-
อุณหภูมิ (C°)	ทุกๆ 30 นาทีในช่วง 12 ชั่วโมงแรก และหลังจากนั้น เก็บตัวอย่างทุกๆ 4 ชั่วโมง	Thermometer	2550B

### 3.3.3 การสกัดและตรวจวัดปริมาณพีเอชเอ

การสกัดและตรวจวัดปริมาณพีเอชเอในเซลล์ทำได้โดยใช้คลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลาย จากนั้นนำตัวอย่างที่ผ่านการสกัดไปหาปริมาณพีเอชเอ โดยใช้เครื่องก๊าซโครมาโตกราฟฟีชนิด หัวตรวจวัดเฟรมไอออไนเซชัน (Gas chromatography – flame ionization detector; GC-FID) โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้ อ้างอิงตามวิธีการของ (Chanprateep และคณะ, 2008)

#### 1.) การเตรียมตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์

ทำการเก็บตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สอง ขั้นตอน ระบบแบบแบทช์ และระบบแบบ fed-batch จากนั้นนำไปหมนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาทีเพื่อให้เซลล์ของจุลินทรีย์แยกตัวออกจากน้ำ หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง แล้วนำเซลล์จุลินทรีย์ที่กั้นหลอดไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบตาม กำหนดเวลานำตะกอนจุลินทรีย์ที่ผ่านการอบแห้งมาบดให้ละเอียด เก็บใส่ถุงซิปล็อค และเก็บใส่กล่องเก็บ ความชื้น

#### 2.) การเตรียมสารละลาย 3% กรดซัลฟิวริกในเมทานอลที่มีกรดเบนโซอิก 2 กรัม/ลิตร

เตรียมสารละลาย 3% กรดซัลฟิวริกในเมทานอลที่มีกรดเบนโซอิก 2 กรัม/ลิตร หรือสาร มาตรฐานภายใน (Internal standard) เพื่อนำมาใช้ในการสกัดพีเอชเอ เตรียมได้โดยเติมเมทานอล เกรด AR ปริมาตร 485 มิลลิลิตร แล้วค่อยๆเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาตร 15 มิลลิลิตร ลงไปอย่าง ช้าๆ เนื่องจากจะทำให้เกิดความร้อนและควัน ปิดฝาและเขย่า จากนั้นชั่งกรดเบนโซอิก 1 กรัม ละลาย ลงไปในสารละลาย เก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

#### 3.) การสกัดพีเอชเอ

3.1 นำเซลล์จุลินทรีย์ที่ผ่านการบดแล้วมาชั่งในหลอดทดลองให้ได้น้ำหนักประมาณ 20 มิลลิกรัม

3.2 เติมสารละลายมาตรฐาน (สารละลาย 3% กรดซัลฟิวริกในเมทานอลที่มีกรดเบนโซอิก 2 กรัม/ลิตร) 2 มิลลิลิตร และคลอโรฟอร์ม 2 มิลลิลิตร ปิดฝาให้แน่น ระวังอย่าให้คลอโรฟอร์มระเหย ออกมา

3.3 นำไปทำปฏิกิริยาใน water bath ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 80 องศาเซลเซียส 3 ชั่วโมง โดยนำหลอดทดลองออกมา vortex ทุกๆ 30 นาที เมื่อครบตามเวลาที่กำหนดตั้งพักที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้อุณหภูมิลดลง

3.4 เติมน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร แล้วนำหลอดทดลองไป vortex เป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้สารละลายคลอโรฟอร์มแยกชั้นออกจากสารละลายของเมทานอลและกรด โดยที่คลอโรฟอร์มจะอยู่ชั้นล่างของหลอดทดลอง ทำการเก็บตัวอย่างชั้นของคลอโรฟอร์มโดยใช้ปิเปตแก้วปลายแหลม ซึ่งตัวอย่างชั้นของคลอโรฟอร์มจะถูกเก็บใส่หลอดฝาเกลียวขนาดเล็ก ปิดฝาให้แน่น และนำไปเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

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

4.1 ชั่ง standard PHA copolymer 5 กรัม

4.2 เติมคลอโรฟอร์ม 2 ใน 3 ของ flask ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

4.3 ต้มในปีกเกอร์ขนาด 1000 มิลลิลิตร ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมงโดยระหว่างต้มระวังไม่ให้ระดับคลอโรฟอร์มต่ำกว่าระดับน้ำ

4.4 เมื่อครบตามเวลาที่กำหนดตั้งพักที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้อุณหภูมิลดลง

4.5 ปิดฝาแล้วพ่นด้วยพาราฟิล์ม และนำไปเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

4.6 เตรียมมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ

4.7 ฉีดสารมาตรฐาน 1 ไมโครลิตรเข้าเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี ภายใต้สภาวะเช่นเดียวกันกับตัวอย่าง และทำกราฟมาตรฐานให้ได้เส้นตรงที่มีค่า  $r^2 = 0.995$  หรือมากกว่า

5.) การตรวจวัดปริมาณพีเอชเอ

หลังจากการสกัดตัวอย่าง และเตรียมสารละลายมาตรฐาน Poly (3-hydroxybutyric acid-co-12%-3-hydroxyvaleric acid) ที่ความเข้มข้นต่างๆ เรียบร้อยแล้ว นำตัวอย่างไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีชนิดหัวตรวจวัดเฟรมไอออไนเซชัน ที่สภาวะการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 14

ตารางที่ 14 สภาวะเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

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

ที่มา: (Woraittinun และ Suwannasilp, 2017)

#### 6.) การคำนวณปริมาณพีเอชเอ

6.1 นำผลที่ได้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน Poly (3-hydroxybutyric acid-co-12%-3-hydroxyvaleric acid)

6.2 วิเคราะห์ชนิดของโมโนเมอร์ จากการเปรียบเทียบเวลาที่อยู่ในคอลัมน์ของสารตัวอย่างกับเวลาที่อยู่ในคอลัมน์ของสารมาตรฐาน

#### 6.3 สูตรการคำนวณปริมาณโมโนเมอร์ของพีเอชเอ

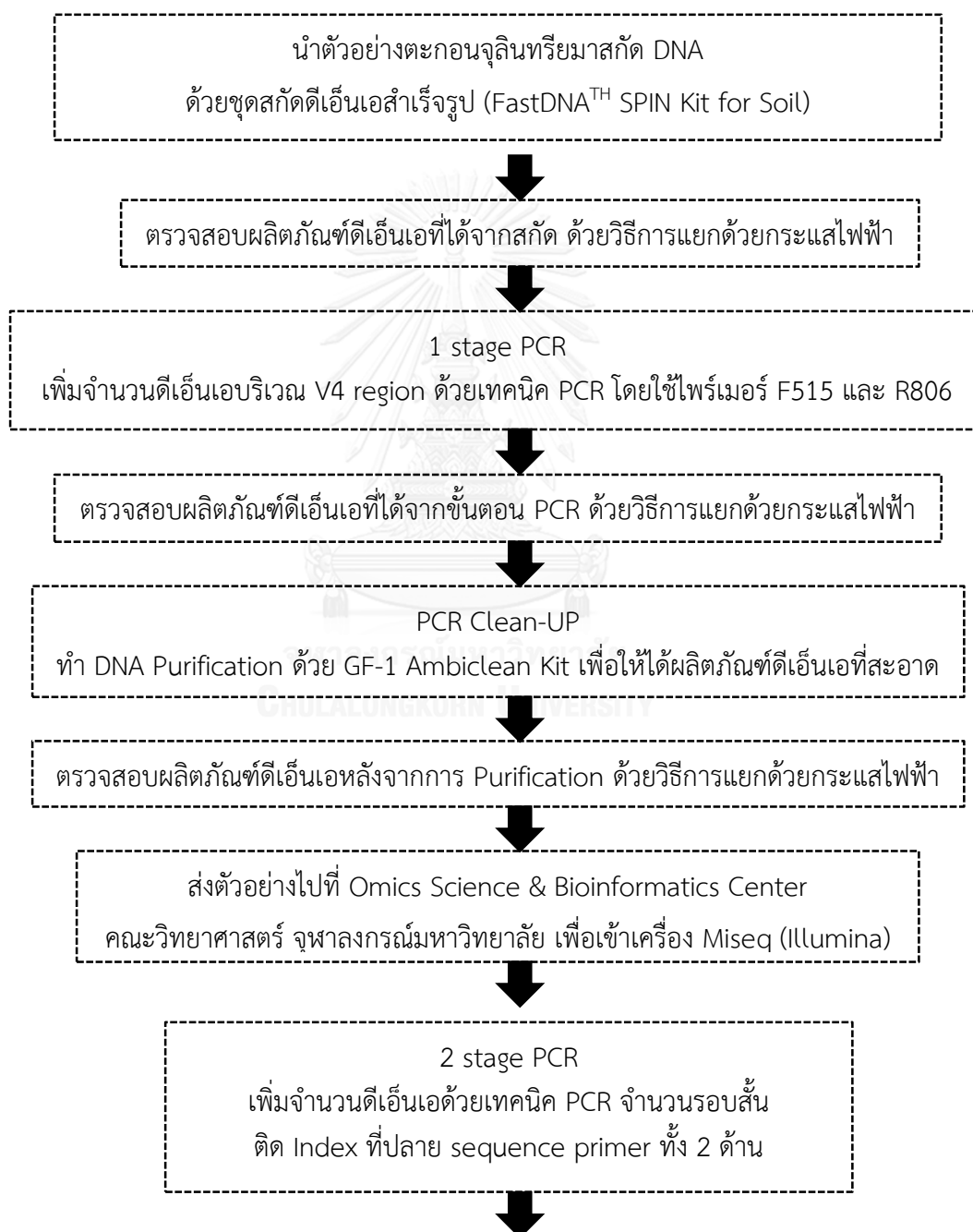
$$\text{ปริมาณโมโนเมอร์} = \frac{\text{พื้นที่ใต้กราฟของโมโนเมอร์}}{\text{พื้นที่ใต้กราฟของสารละลายมาตรฐานภายใน}}$$

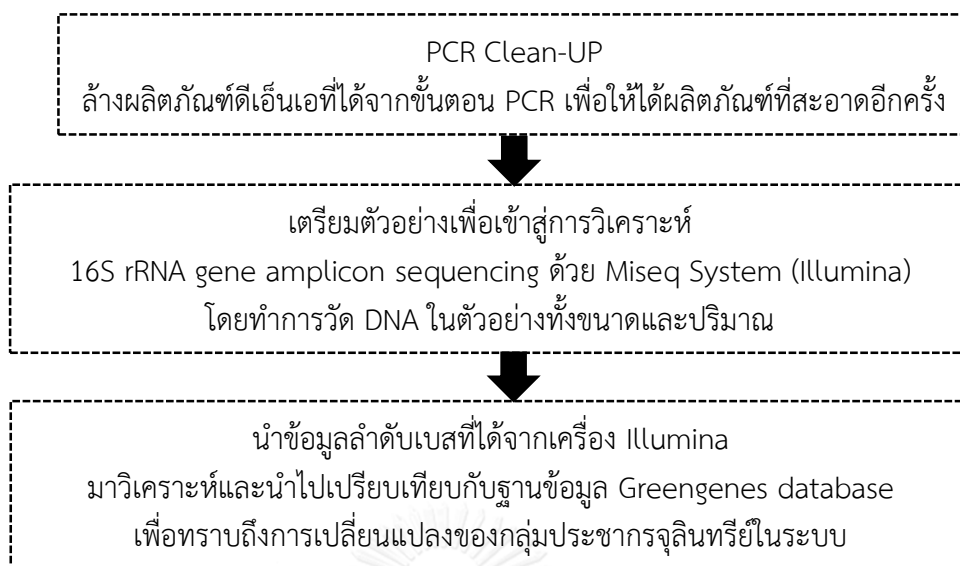
$$\text{ปริมาณพีเอชเอ} = \left[ \frac{\text{ปริมาณโมโนเมอร์ (กรัมต่อลิตร)} \times \text{ปริมาณคลอโรฟอร์ม}}{\text{ปริมาณเซลล์ที่ใช้ในการสกัด}} \right] \times 100$$

(ร้อยละโดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง)

### 3.3.4 การทดลองช่วงที่ 3 ศึกษาความหลากหลายของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์

ศึกษาความหลากหลายและการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในตะกอนเร่งชนิดถึงกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ ค่า feast/famine ratio แตกต่างกัน คือ 0.04 0.15 และ 0.33 ด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล คือ 16S rRNA gene amplicon sequencing โดยขั้นตอนการวิเคราะห์ในช่วงการทดลองที่ 3 สรุปได้ดังภาพที่ 39





ภาพที่ 39 แผนการดำเนินการทดลองช่วง 3

#### 3.3.4.1 การเก็บตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์

ทำการเก็บตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ในระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนจากถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 1 และถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 2 มาผสมรวมกันโดยคาดว่าจะจะเป็นจุลินทรีย์กลุ่มเดียวกัน ทำการเก็บเฉพาะส่วนของตะกอนจุลินทรีย์ที่ 4 องศาเซลเซียสไว้เป็นเวลาหนึ่งเดือน จากนั้นนำตะกอนจุลินทรีย์ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 2 นาที เมื่อเซลล์จุลินทรีย์แยกตัวออกจากน้ำ เหน้ใสทิ้ง ทำซ้ำ 2 รอบ โดยเซลล์จุลินทรีย์จะถูกเก็บอยู่ในหลอด Eppendorf ขนาด 2 มิลลิลิตร และนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

#### 3.3.4.2 การสกัดดีเอ็นเอ

ชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป (FastDNA<sup>TM</sup> SPIN Kit for Soil) ถูกใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ โดยขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอมีดังนี้

1. นำตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส มาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้น้ำแข็งละลาย จากนั้นนำตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ประมาณ 2 มิลลิกรัมเอ็มแอล เอสเอส ใส่ในหลอด Eppendorf ขนาด 2 มิลลิลิตร



2. เติมโซเดียมฟอสเฟสบัฟเฟอร์ (Sodium Phosphate Buffer) 978 ไมโครลิตร ใช้ไมโครปิเปตทวนตะกอนจุลินทรีย์และโซเดียมฟอสเฟสบัฟเฟอร์ให้เข้ากัน จากนั้นดูดสารละลายทั้งหมดใส่ใน Lysing Matrix E tube และ vortex 10-15 วินาที
3. เติมเอ็มทีบัฟเฟอร์ (MT Buffer) 122 ไมโครลิตร เพื่อทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ และ vortex 10-15 วินาที
4. ตีเซลล์ให้แตกด้วยเครื่อง FastPrep<sup>®</sup> ระดับความเร็ว 6.0 เป็นเวลา 40 วินาที
5. นำมาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000xg เป็นเวลา 5-10 นาที เมื่อครบตามกำหนดเวลาที่เอ็นเอที่ถูกสกัดจะออกมาอยู่ในชั้นน้ำใส
6. ย้ายสารละลายส่วนใสใส่ลงในหลอดพลาสติกขนาด 2 มิลลิลิตร เติมพีพีเอส (Protein Precipitation Solution) 250 ไมโครลิตร เพื่อให้เกิดการตกตะกอนของโปรตีน พลิกหลอดไปมาด้วยมือ 10 ครั้ง หลังจากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที
7. นำมาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000xg เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นย้ายสารละลายใส (600-800 ไมโครลิตร) ใส่ในหลอดทดลองขนาด 2 มิลลิลิตร เติม Binding Matrix Suspension 600-800 ไมโครลิตรเพื่อทำการจับดีเอ็นเอ และพลิกหลอดไปมาด้วยมือเป็นเวลา 3-5 นาที
8. ผสมสารละลายให้เข้ากันโดยใช้ไมโครปิเปตดูดขึ้นและดูดลงหลายครั้ง จากนั้นย้ายสารละลายส่วนใสลงใน SPIN<sup>™</sup> Filter ประมาณ 750 ไมโครลิตร นำมาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000xg เป็นเวลา 5 นาที สารละลายใสจะผ่านกระดาษกรองไปที่บริเวณก้นหลอด โดยดีเอ็นเอที่ต้องการจะติดอยู่บนกระดาษกรอง ลักษณะเป็นสีขาวขุ่น
9. นำส่วนที่เป็นกระดาษกรองขึ้นมา เทสารละลายใสทิ้ง หลังจากนั้นเติม SEWS-M ลงใน SPIN<sup>™</sup> Filter 500 ไมโครลิตร เพื่อล้างสิ่งปนเปื้อนที่ติดอยู่กับดีเอ็นเอออก และเขย่าให้เข้ากันด้วยมือ
10. นำมาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000xg เป็นเวลา 5 นาที ทำซ้ำ 2 รอบ เพื่อกำจัดแอลกอฮอล์ที่ตกค้าง
11. ย้ายส่วนที่เป็นตัวกรองใสใน Catch tube ขนาด 2 มิลลิลิตร ตั้งเปิดฝาและทิ้งให้แห้งเป็นเวลา 5 นาทีที่อุณหภูมิห้อง
12. เติม DES 20 ไมโครลิตรโดยใช้ปิเปตค่อยๆ หยดสารละลายให้ทั่วทุกส่วนของกระดาษกรอง เพื่อชะดีเอ็นเอออกมา นำหลอดมา vortex เพื่อให้ DES สัมผัสกับดีเอ็นเอมากที่สุด

13. นำมาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000xg เป็นเวลา 2 นาที เมื่อครบตามกำหนดเวลาที่ ส่วนของกระดาศกรองทิ้ง จะได้สารละลายดีเอ็นเอปริมาณ 20 ไมโครลิตร และนำไปเก็บในตู้เย็นที่ อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

#### 3.3.4.3 การสอบผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอวิธีการแยกด้วยกระแสไฟฟ้า

ดีเอ็นเอที่สกัดได้จะถูกนำมาตรวจสอบด้วยเครื่อง Horizontal DNA Electrophoresis Gel Box โดยเตรียมแผ่นเจลจากอะกาโรสความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ละลายในทีเอทีบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 1 เท่า นำ 1Kb DNA Ladder ที่ใช้เป็นดีเอ็นเอมาตรฐาน และตัวอย่างดีเอ็นเอปริมาณ 2 ไมโครลิตรที่ ผสมกับ 6x loading dye ปริมาณ 1.5 ไมโครลิตร หยอดลงในร่องแผ่นเจล ทำการแยกด้วย กระแสไฟฟ้าโดยใช้แรงดันไฟฟ้าที่ 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำแผ่นเจลไปแช่ใน เอทีเดียมโบรไมด์ (Ethidiumbromide) ความเข้มข้น ไมโครกรัม/มิลลิลิตร 0.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลานำแผ่นเจลไปตรวจสอบด้วยเครื่อง UV Transilluminator

3.3.4.4 การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอบริเวณ 16S rRNA gene amplicon ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เลส หรือ PCR (First Stage PCR)

ไพรเมอร์ที่เลือกใช้คือ Forward primer 515 (5'-GTGYCAGCMGCCGCGGT AA-3') และ Reverse primer 806 (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') (Ding และคณะ 2015) โดยไพรเมอร์ ที่ใช้ในการทดลองเพิ่มจำนวน 16S rRNA gene ครอบคลุมทั้งกลุ่มแบคทีเรียและอาร์เคีย โดยมี จำนวนคู่เบส (base pair) ประมาณ 300 base pair ซึ่งทำการเลือกตรง hypervariable region คือ ช่วงที่มีความแตกต่างกันมากที่สุด ตรงบริเวณ V4 region

ตารางที่ 15 ไพรเมอร์ที่ใช้ในการทดลอง

ไพรเมอร์	ลำดับเบส (5'-3')	อ้างอิง
515F	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGGTGYCAGCMGCCG CGGTAA	Ding และ คณะ (2015)
806R	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGGACTACHVGGG TWTCTAAT	

ตารางที่ 16 องค์ประกอบของสารเคมีที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พหุริเมอร์ หรือ PCR

สารเคมี	ปริมาณ (ไมโครลิตร)
น้ำปราศจากดีเอ็นเอ	24.5
10x Buffer	5
MgCl <sub>2</sub>	5
Forward primer 515F	5
Reverse primer 806R	5
10 mM dNTP	1
Tag fermentus	0.5
total	50

สภาวะที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณ 16S rRNA gene amplicon ด้วยเครื่องทำปฏิกิริยาลูกโซ่พหุริเมอร์ หรือ PCR โดยใช้โปรแกรมอุณหภูมิดังนี้

Initial Denaturation	ที่	95 องศาเซลเซียส	4 นาที	} 20 รอบ
Denaturation	ที่	95 องศาเซลเซียส	1 นาที	
Annealing	ที่	55 องศาเซลเซียส	1 นาที	
Extension	ที่	72 องศาเซลเซียส	1 นาที	
Final extension	ที่	72 องศาเซลเซียส	10 นาที	
End	ที่	4 องศาเซลเซียส		

3.3.4.5 การตรวจสอบผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอที่ได้จากการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พหุเมอเรส หรือ PCR ด้วยวิธีการแยกด้วยกระแสไฟฟ้า

ดีเอ็นเอที่ผ่านการเพิ่มปริมาณจากปฏิกิริยาลูกโซ่พหุเมอเรส หรือ PCR (Polymerase Chain Reaction) จะถูกนำมาตรวจสอบด้วยเครื่อง Horizontal DNA Electrophoresis Gel Box โดยเตรียมแผ่นเจลจากอะกาโรสความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ละลายในทีเอทีบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 1 เท่า นำ 1Kb DNA Ladder ที่ใช้เป็นดีเอ็นเอมาตรฐาน และตัวอย่างดีเอ็นเอปริมาณ 2 ไมโครลิตรที่ผสมกับ 6x loading dye ปริมาณ 1.5 ไมโครลิตร หยอดลงในร่องแผ่นเจล ทำการแยกด้วยกระแสไฟฟ้าโดยใช้แรงดันไฟฟ้าที่ 100 โวลต์ เป็นเวลา 45 นาที จากนั้นนำแผ่นเจลไปแช่ในเอทีเดียมโบรไมด์ (Ethidiumbromide) ความเข้มข้น ไมโครกรัม/มิลลิลิตร 0.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เป็นเวลา 45 นาที เมื่อครบเวลานำแผ่นเจลไปตรวจสอบด้วยเครื่อง UV Transilluminator

3.3.4.6 การล้างผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอที่ได้จากขั้นตอนปฏิกิริยาลูกโซ่พหุเมอเรส หรือ PCR โดยการทำให้ DNA Purification ด้วย GF-1 Ambiclean Kit

1. นำตัวอย่างที่ผ่านการ Up-scale จากขั้นตอน PCR ปริมาตรหลอดละ 50 ไมโครลิตรมารวมเข้าด้วยกัน
2. เติม Buffer DB ในปริมาตรที่เท่ากับตัวอย่าง ผสมสารละลายให้เข้ากันโดยใช้ไมโครปิเปตดูดขึ้นและดูดลงหลายครั้ง จากนั้นย้ายสารละลายใส่ใน column
3. นำมาหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000xg เป็นเวลา 1 นาที ที่น้ำที่อยู่บริเวณด้านล่างของ column
4. เติม Wash Buffer 650 ไมโครลิตร
5. นำมาหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000xg เป็นเวลา 1 นาที ที่น้ำที่อยู่บริเวณด้านล่างของ column และทำซ้ำอีก 1 รอบ จากนั้นเปิดฝา column ทิ้งไว้ให้แห้ง
6. ย้าย column ใส่ใน microcentrifuge tube และเติม Elution Buffer 20 ไมโครลิตรโดยใช้ปิเปตค่อยๆ หยดสารละลายให้ทั่วทุกส่วน จากนั้นทิ้งไว้ 2 นาที
7. นำมาหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000xg เป็นเวลา 1 นาที เก็บส่วนใส (DNA) ที่อยู่ด้านล่างที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

3.3.4.7 การสอบผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอวิธีการแยกด้วยกระแสไฟฟ้าหลังจากการ Purification

ดีเอ็นเอที่ผ่านการ Purification จะถูกนำมาตรวจสอบด้วยเครื่อง Horizontal DNA Electrophoresis Gel Box โดยเตรียมแผ่นเจลจากอะกาโรสความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ละลายในทีเอทีบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 1 เท่า นำ 1Kb DNA Ladder ที่ใช้เป็นดีเอ็นเอมาตรฐาน และตัวอย่าง

ดีเอ็นเอปริมาณ 2 ไมโครลิตรที่ผสมกับ 6x loading dye ปริมาณ 1.5 ไมโครลิตร หยอดลงในร่องแผ่นเจล ทำการแยกด้วยกระแสไฟฟ้าโดยใช้แรงดันไฟฟ้าที่ 100 โวลต์ เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำแผ่นเจลไปแช่ในเอทิดียมโบรไมด์ (Ethidiumbromide) ความเข้มข้น ไมโครกรัม/มิลลิลิตร 0.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เป็นเวลา 45 นาที เมื่อครบเวลานำแผ่นเจลไปตรวจสอบด้วยเครื่อง UV Transilluminator

3.3.4.8 ส่งตัวอย่างไปที่ศูนย์ Omics Science & Bioinformatics center คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อเตรียมตัวอย่างและวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Miseq (Illumina) ดั้งชั้นตอนที่ 3.3.4.9

3.3.4.9 การติด Index ด้วยการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอบริเวณ 16S rRNA gene amplicon จำนวนรอบสั้น ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พหุริเมอร์ครั้งที่ 2 (Second stage PCR)

ขั้นตอนนี้เป็นการติด Index และ Illumina sequencing adapter ที่ปลาย sequence primer ทั้ง 2 ด้าน โดยใช้ Nextera XT Index Kit หลังจากนั้นทำปฏิกิริยาลูกโซ่พหุริเมอร์ หรือ PCR จำนวนรอบสั้น ด้วยเครื่อง Thermocycler (BIO-RAD, USA) โดยใช้โปรแกรมอุณหภูมิดังนี้

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

3.3.4.10 การล้างผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอที่ได้จากขั้นตอนปฏิกิริยาลูกโซ่พหุริเมอร์ หรือ PCR ครั้งที่ 2

ขั้นตอนนี้ดีเอ็นเอจะถูกทำความสะอาด โดยใช้ AMPure XP beads ซะล้างสารละลายไพร์เมอร์ไคเมอร์ที่อาจตกค้างอยู่จากขั้นตอนการทำ PCR ครั้งที่ 2 ก่อนที่จะนำดีเอ็นเอไปตรวจวัดขนาดและคำนวณความเข้มข้น

3.3.4.11 การวัดขนาดและคำนวณความเข้มข้นของดีเอ็นเอ การเจือจางตัวอย่าง และการรวมตัวอย่าง

วัดความเข้มข้นดีเอ็นเอโดยใช้วิธี Fluorometric quantification โดยใช้เครื่อง Qubit fluorometer และทำการคำนวณความเข้มข้นของดีเอ็นเอในหน่วยนาโนโมลาร์ (nM) โดยใช้สูตรคำนวณดังนี้

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

จากนั้นใช้ 10 mM Tris PH 8.5 เพื่อเจือจางตัวอย่างให้เหลือความเข้มข้น 4 นาโนโมลาร์ ปริมาตรรวม 50 ไมโครลิตร และนำตัวอย่างมาตัวอย่างละ 5 ไมโครลิตรผสมรวมกัน เพื่อนำเข้าเครื่อง Miseq (Illumina)

#### 3.3.4.12 การตรวจสอบข้อมูล วิเคราะห์ข้อมูล และสรุปผล

หลังจากการส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ Metagenomic sequencing คุณภาพของข้อมูลจะถูกตรวจสอบโดยใช้โปรแกรม FastQC แบบออนไลน์ด้วย BaseSpace (<http://basespace.illumina.com>)

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูล

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมฟิเอชเอ ที่สัดส่วนของระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) ที่ค่าแตกต่างกัน 3 ชุดการทดลอง โดยใช้ระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน สำหรับคัดเลือกจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมที่ได้มาจากตะกอนจุลินทรีย์ส่วนเกินจากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานฝักและผลไม้ ร่วมกับการใช้น้ำเสียสังเคราะห์ที่เตรียมจากกลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอน ศึกษาปริมาณฟิเอชเอที่ผลิตได้จากตะกอนจุลินทรีย์ที่ผ่านการคัดเลือกจากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน เพื่อศึกษาปริมาณฟิเอชเอที่เกิดขึ้นและถูกใช้ไปในระบบแบบแบทช์ และศึกษาความสามารถในการสะสมฟิเอชเอสูงสุดของตะกอนจุลินทรีย์ในระบบแบบ fed-batch ซึ่งมีการเติมกลีเซอรอลอย่างต่อเนื่อง รวมถึงการใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบ

#### 4.1 ผลการศึกษาการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมฟิเอชเอในระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน

##### 4.1.1 ความเข้มข้นซีไอที ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณฟิเอชเอ (PHA) ในแต่ละชุดการทดลองตลอดการเดินระบบ

จากผลการศึกษาการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมฟิเอชเอในระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนของทั้ง 3 ชุดการทดลอง ในช่วงแรก (วันที่ 1 ถึงวันที่ 33) ได้ทำการป้อนน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีกลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนที่ความเข้มข้น 1,500 มิลลิกรัมซีไอที/ลิตร เข้าสู่ระบบที่มีค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.15 (ชุดการทดลองที่ 1) 0.23 (ชุดการทดลองที่ 2) และ 0.33 (ชุดการทดลองที่ 3) ตามลำดับ โดยจุลินทรีย์สามารถกำจัดซีไอทีลดลงเหลือ  $316.36 \pm 283$   $373 \pm 457$  และ  $319 \pm 350$  มิลลิกรัมซีไอที/ลิตร หรือคิดเป็น 8.47 9.99 และ 8.54 Cmmol/L ในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 1 และกำจัดซีไอทีเหลือ  $81 \pm 50$   $79 \pm 40$  และ  $86 \pm 34$  มิลลิกรัมซีไอที/ลิตร หรือคิดเป็น 2.17 2.12 และ 2.30 Cmmol/L ในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 2 ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าประสิทธิภาพในการ

บَابัตสารอินทรีย์ยังไม่คงที่ในช่วงระยะนี้ ทั้งนี้ปริมาณตะกอนจุลินทรีย์มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นโดยมีค่าความเข้มข้นของตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) เฉลี่ยเป็น  $2,098 \pm 787$   $1,752 \pm 599$  และ  $1,331 \pm 350$  มิลลิกรัม MLSS/ลิตรในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 1 และมีค่าลดลงในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 2 คาดว่าเนื่องจากจุลินทรีย์เกิดการย่อยสลายตัวเองในช่วงที่ขาดแคลนอาหาร โดยค่าความเข้มข้นของตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ลดลงเหลือ  $1,525 \pm 292$   $1,462 \pm 305$  และ  $1,047 \pm 376$  มิลลิกรัม MLSS/ลิตรในชุดการทดลองที่ 1 2 และ 3 ตามลำดับ ทั้งนี้การเดินระบบตะร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน ถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 1 สามารถผลิตพีเอชเอได้สูงสุด 2.33 1.73 และ 1.54 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (%gPHA/gMLSS) ในชุดการทดลองที่ 1 2 และ 3 ตามลำดับ และในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 2 สามารถผลิตพีเอชเอได้สูงสุด 1.23 1.26 และ 0.64 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (%gPHA/gMLSS) ในชุดการทดลองที่ 1 2 และ 3 ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าปริมาณพีเอชเอในแต่ละชุดการทดลองยังคงน้อยมากและไม่แตกต่างกันอย่างชัดเจน

อย่างไรก็ตามหากสังเกตค่าซีไอโอดีในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 1 นั้นยังมีความแตกต่างกันค่อนข้างน้อยมาก ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าค่าสัดส่วนระยะเวลาที่เก็บน้ำในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ในถึงที่ 1 และถึงที่ 2 ในทั้ง 3 ชุดการทดลองนั้นมีค่าแตกต่างกันน้อยเกินไป ซึ่งเกรงว่าหากเป็นเช่นนี้ต่อไปอาจส่งผลให้ไม่เห็นความแตกต่างของค่าสัดส่วนดังกล่าวต่อการผลิตพีเอชเอ ในวันที่ 34 จึงทำการปรับเปลี่ยนระบบด้วยการเปลี่ยนค่าสัดส่วนของระยะเวลาที่เก็บน้ำในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ในถึงที่ 1 และถึงที่ 2 ซึ่งส่งผลให้สัดส่วนของระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) ในชุดการทดลองที่ 1 2 และ 3 เปลี่ยนแปลงเป็น 0.04 0.15 และ 0.33 ตามลำดับ โดยยังคงเดินระบบด้วยการใช้กลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนที่ความเข้มข้น 1,500 มิลลิกรัมซีไอโอดี/ลิตร จากการศึกษาพบว่าจุลินทรีย์สามารถกำจัดซีไอโอดีลดลงเหลือ  $287 \pm 121$   $143 \pm 72$  และ  $121 \pm 82$  มิลลิกรัมซีไอโอดี/ลิตร หรือคิดเป็น 7.69 3.83 และ 3.24 Cmmol/L ในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 1 และสามารถกำจัดซีไอโอดีเหลือ  $68 \pm 34$   $53 \pm 19$  และ  $50 \pm 23$  มิลลิกรัมซีไอโอดี/ลิตร หรือคิดเป็น 1.82 1.42 และ 1.34 Cmmol/L ในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 2 ในระบบที่ค่าสัดส่วนของระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหารเป็น 0.04 (ชุดการทดลองที่ 1) 0.15 (ชุดการทดลองที่ 2) และ 0.33 (ชุดการทดลองที่ 3) ตามลำดับ และมีค่าความเข้มข้นของตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) เป็น  $2,106 \pm 138$   $2,143 \pm 714$  และ  $1,335 \pm 580$  มิลลิกรัม MLSS/ลิตรในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 1 และค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) จะ

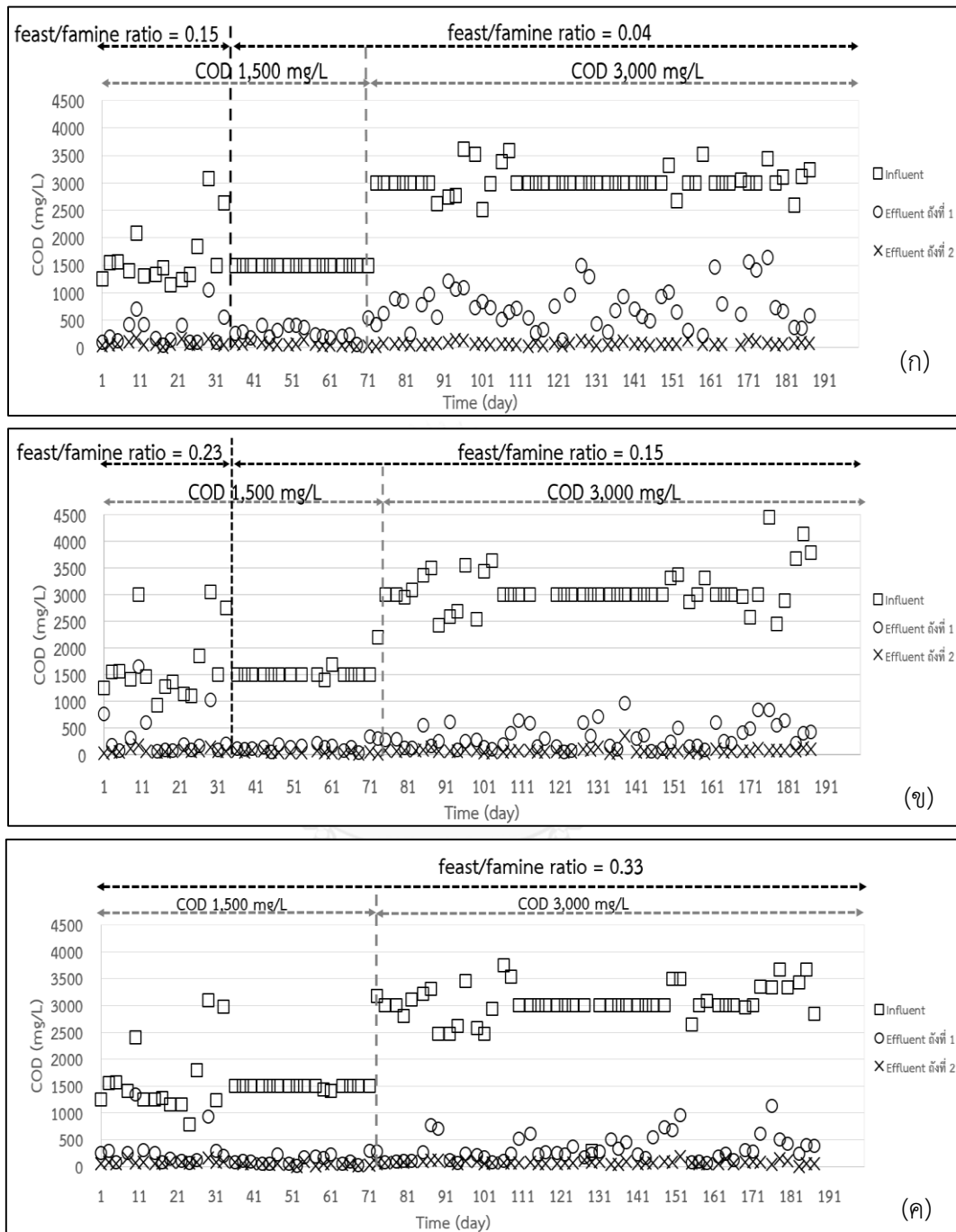


ลดลงเหลือ  $869 \pm 259$ ,  $1,556 \pm 270$  และ  $1,310 \pm 410$  มิลลิกรัม MLSS/ลิตร ในถังกวนผสมแบบสมบรูณ์ถึงที่ 2 ในชุดการทดลองที่ 1 2 และ 3 ตามลำดับ ทั้งนี้ถังกวนผสมแบบสมบรูณ์ถึงที่ 1 สามารถผลิตพีเอชเอได้สูงสุด 16.71 2.6 และ 1.68 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (%gPHA/gMLSS) ในชุดการทดลองที่ 1 2 และ 3 ตามลำดับ และในถังกวนผสมแบบสมบรูณ์ถึงที่ 2 สามารถผลิตพีเอชเอได้สูงสุด 2.46 1.98 และ 1.19 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (%gPHA/gMLSS) ในชุดการทดลองที่ 1 2 และ 3 ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหารต่ำจะส่งผลให้ปริมาณพีเอชเอที่สะสมในตะกอนจุลินทรีย์มีค่าสูงกว่าที่ค่าสัดส่วนสูง

หลังจากนั้นในวันที่ 73 ของการเดินระบบได้ทำการปรับเปลี่ยนค่าความเข้มข้นของน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีกลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนเป็น 3,000 มิลลิกรัมซีโอดี/ลิตร เพื่อให้ถังกวนผสมแบบสมบรูณ์ถึงที่ 1 มีความเข้มข้นของสารอินทรีย์ที่หลงเหลืออยู่สูงขึ้น เพื่อให้เกิดสภาวะอาหารเกินพอ (feast phase) ที่ชัดเจนยิ่งขึ้น ซึ่งคาดว่าจะส่งผลต่อการสะสมพีเอชเอที่สูงขึ้น โดยจุลินทรีย์สามารถกำจัดซีโอดีเหลือ  $759 \pm 373$ ,  $337 \pm 230$  และ  $301 \pm 242$  มิลลิกรัมซีโอดี/ลิตร หรือคิดเป็น 20.3 9.99 และ 8.06 Cmmol/L ในถังกวนผสมแบบสมบรูณ์ถึงที่ 1 และกำจัดซีโอดีได้ลดลงต่ำเหลือ  $76 \pm 29$ ,  $77 \pm 49$  และ  $80 \pm 32$  มิลลิกรัมซีโอดี/ลิตร หรือคิดเป็น 2.03 2.06 และ 2.14 Cmmol/L ในถังกวนผสมแบบสมบรูณ์ถึงที่ 2 ในชุดการทดลองที่ 1 2 และ 3 ตามลำดับ ทั้งนี้จะสังเกตเห็นได้ว่าเมื่อเพิ่มค่าความเข้มข้นของกลีเซอรอลที่เข้าสู่ระบบ ค่าความเข้มข้นของสารอินทรีย์ในถังกวนผสมแบบสมบรูณ์ถึงที่ 1 มีแนวโน้มสูงขึ้นกว่าในช่วงก่อนเพิ่มความเข้มข้นของกลีเซอรอล ซึ่งส่งผลต่อสภาวะที่อาหารเกินพอ (feast phase) ซึ่งความเข้มข้นของสารอินทรีย์ในถังควรมีค่าสูง แต่อาจส่งผลเสียต่อสภาวะขาดแคลนอาหาร (famine phase) ในถังกวนผสมแบบสมบรูณ์ถึงที่ 2 ซึ่งความเข้มข้นของสารอินทรีย์ในถังควรมีค่าต่ำ แต่กลับมีค่าซีโอดีสูงขึ้นภายหลังการเพิ่มความเข้มข้นของกลีเซอรอล ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ (Albuquerque และคณะ, 2010) ที่ทำการเพิ่มความเข้มข้นของสารอินทรีย์ที่เข้าสู่ระบบจาก 60 CmmolVFA/L เป็น 120 CmmolVFA/L พบว่าหลังจากการเพิ่มความเข้มข้นของสารอินทรีย์เข้าสู่ระบบ ส่งผลให้ความเข้มข้นของสารอินทรีย์ที่เหลือในระบบมีค่าเพิ่มขึ้นด้วย โดยมีค่าความเข้มข้นของสารอินทรีย์คงเหลือในถัง feast เฉลี่ยเป็น 6 Cmmol VFA/L จากเดิมที่ความเข้มข้นของสารอินทรีย์คงเหลือในถัง feast เท่ากับ 0 Cmmol VFA/L โดยระบบสามารถผลิตพีเอชเอได้สูงสุด 61 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (%gPHA/gMLSS) สำหรับค่าความเข้มข้นของตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) พบว่าภายหลังการเพิ่มความเข้มข้นของกลีเซอรอลจาก

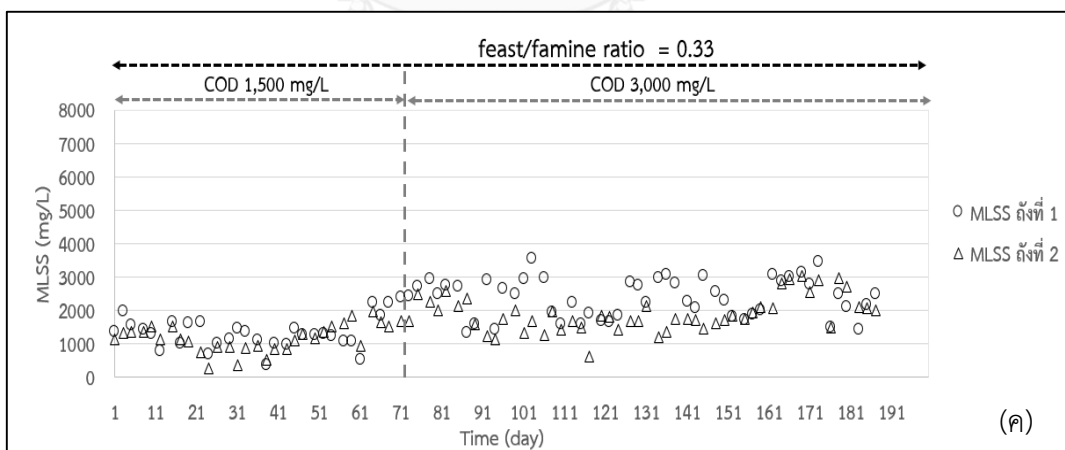
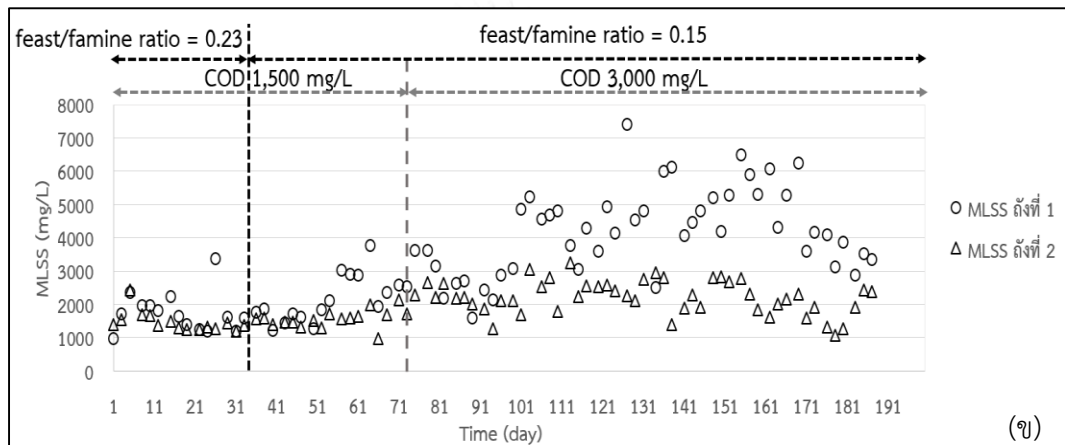
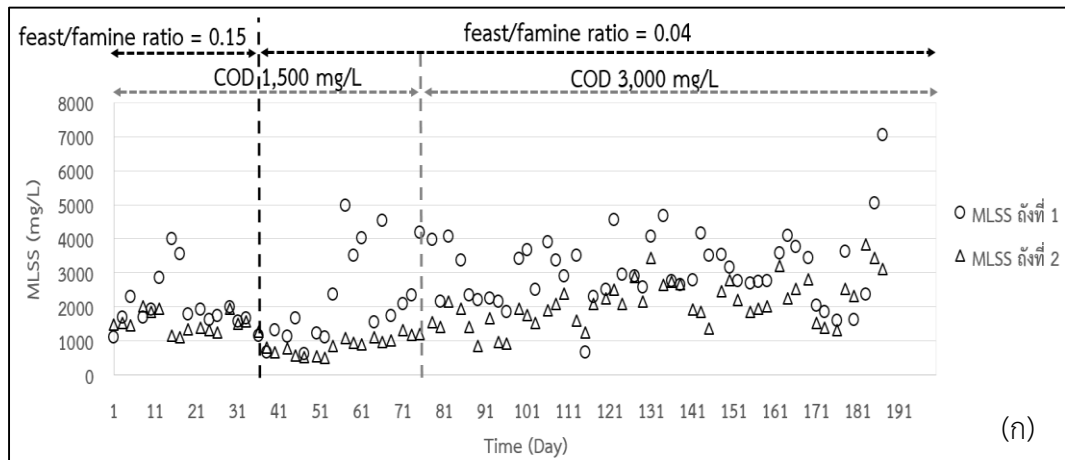
1,500 มิลลิกรัมซีโอดี/ลิตรเป็น 3,000 มิลลิกรัมซีโอดี/ลิตร ค่าความเข้มข้นของตะกอนจุลินทรีย์มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นทั้งในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังที่ 1 และในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังที่ 2 โดยความเข้มข้นของตะกอนจุลินทรีย์มีค่า  $3,100 \pm 1,058$   $4,161 \pm 1286$  และ  $2,383 \pm 583$  มิลลิกรัม MLSS/ลิตร ในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังที่ 1 และมีค่า  $2,080 \pm 689$   $2,206 \pm 504$  และ  $1,905 \pm 525$  มิลลิกรัม MLSS/ลิตร ในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังที่ 2 ในชุดการทดลองที่ 1 2 และ 3 ตามลำดับ

อย่างไรก็ตามการเพิ่มความเข้มข้นของกลีเซอรอลที่ป้อนเข้าสู่ระบบกลับส่งผลให้ปริมาณพีเอชเอที่ผลิตได้มีค่าน้อยลงในช่วงแรก แต่มีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นในภายหลัง ทั้งนี้การเพิ่มความเข้มข้นกลีเซอรอลที่ป้อนเข้าสู่ระบบนั้นส่งผลต่อการเกิดสภาวะอาหารเกิดพอ (feast phase) ในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังที่ 1 ซึ่งความเข้มข้นของสารอินทรีย์ในถังควรมีค่าสูง แต่ก็ส่งผลเสียต่อสภาวะขาดแคลนอาหาร (famine phase) ในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังที่ 2 เช่นกัน อย่างไรก็ตามภายหลังจากเพิ่มความเข้มข้นกลีเซอรอลเป็นระยะเวลา 117 วัน ระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังที่ 1 สามารถผลิตพีเอชเอได้สูงสุด 20.06 13.67 และ 8.95 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (%gPHA/gMLSS) และในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังที่ 2 สามารถผลิตพีเอชเอได้สูงสุด 18.11 4.00 และ 5.95 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (%gPHA/gMLSS) ที่ค่าสัดส่วนของระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหารเป็น 0.04 (ชุดการทดลองที่ 1) 0.15 (ชุดการทดลองที่ 2) และ 0.33 (ชุดการทดลองที่ 3) ซึ่งจากผลการทดลองจะเห็นว่าค่าสัดส่วนของระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เท่ากับ 0.04 สามารถสะสมพีเอชเอได้สูงสุด

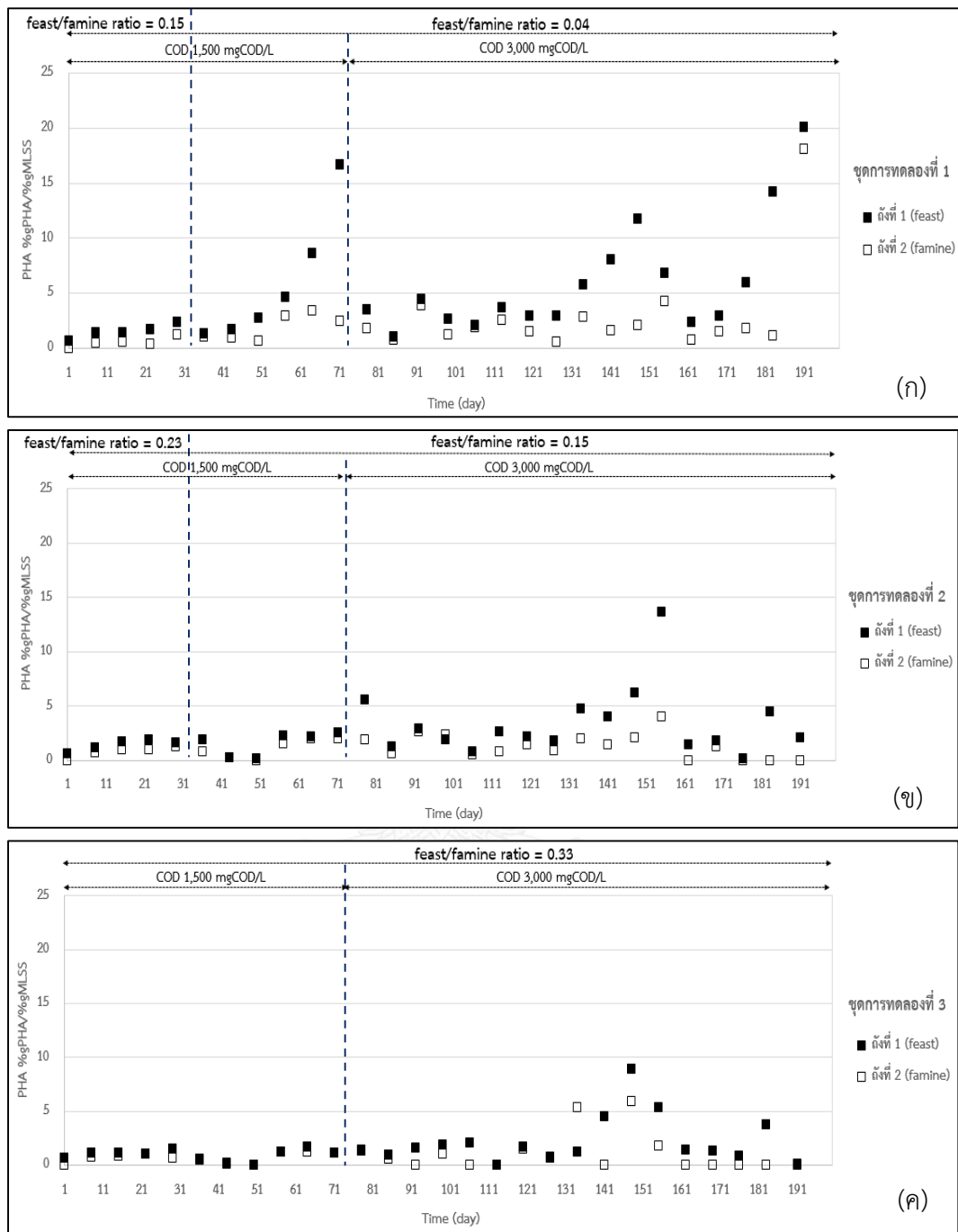


ภาพที่ 40 ความเข้มข้นซีโอดีในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังที่ 1 และถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังที่ 2

(ก) ชุดการทดลองที่ 1 (ข) ชุดการทดลองที่ 2 (ค) ชุดการทดลองที่ 3



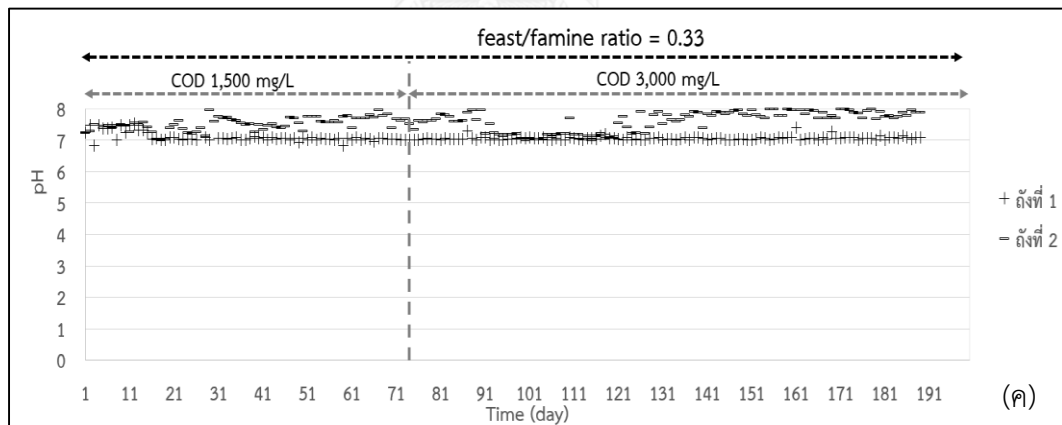
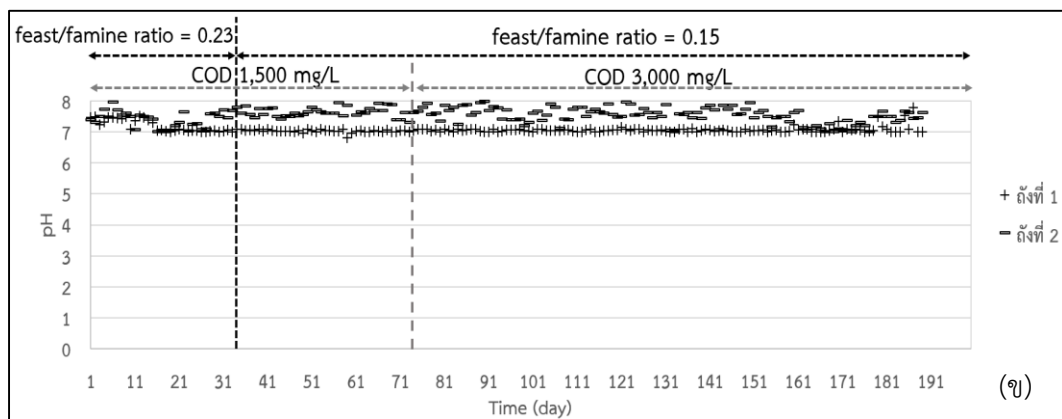
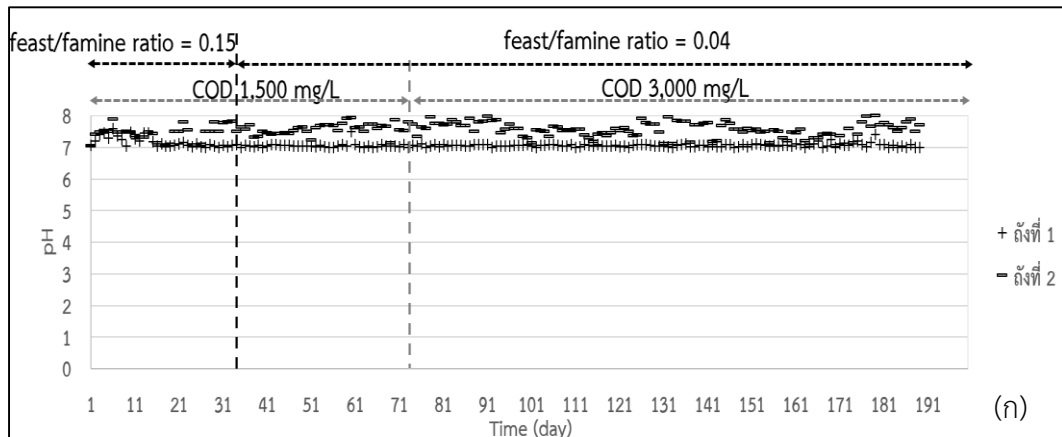
ภาพที่ 41 ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ในถังกวนผสมแบบสมบูร์ณถังที่ 1 และถังกวนผสมแบบสมบูร์ณถังที่ 2 (ก) ชุดการทดลองที่ 1 (ข) ชุดการทดลองที่ 2 (ค) ชุดการทดลองที่ 3



ภาพที่ 42 ปริมาณพืเอชเอ (PHA) ในถังกวนผสมแบบสมบูร์ณถังที่ 1 และถังกวนผสมแบบสมบูร์ณถังที่ 2 (ก) ชุติการทดลองที่ 1 (ข) ชุติการทดลองที่ 2 (ค) ชุติการทดลองที่ 3

#### 4.1.2 ค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย อุณหภูมิ และแอมโมเนียในการเดินระบบ

จากการวัดค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย และอุณหภูมิในระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนของทั้ง 3 ชุดการทดลอง จากการทดลองพบว่า เมื่อเริ่มต้นเดินระบบที่ค่า feast/famine ratio เท่ากับ 0.15 0.23 และ 0.33 จนกระทั่งเปลี่ยนค่า feast/famine ratio เป็น 0.04 0.15 และ 0.33 พบว่าถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 1 ซึ่งควบคุมพีเอชด้วยเครื่องควบคุมพีเอชอัตโนมัติ มีค่าพีเอชเฉลี่ยเท่ากับ  $7.08 \pm 0.10$   $7.08 \pm 0.13$  และ  $7.05 \pm 0.10$  ตามลำดับ ซึ่งมีค่าคงที่ตลอดการทดลอง และในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 2 ซึ่งไม่มีการใช้เครื่องควบคุมพีเอชอัตโนมัติ มีค่าพีเอชเฉลี่ยเท่ากับ  $7.54 \pm 0.23$   $7.53 \pm 0.25$  และ  $7.58 \pm 0.29$  ซึ่งมีค่าสูงกว่าในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 1 จากการศึกษาของ Dionis และคณะ (2005) ซึ่งทำการทดลองที่ค่าพีเอชที่แตกต่างกันระหว่าง 4.5-10.5 พบว่าอัตราการสะสมพีเอชเอสูงสุดอยู่ในช่วงพีเอชเท่ากับ 7.5-8.5 ซึ่งในการทดลองนี้สามารถควบคุมให้ค่าพีเอชให้อยู่ในช่วงใกล้เคียงกับช่วงดังกล่าวตลอดการทดลอง ค่าพีเอชในระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนของทั้ง 3 ชุดการทดลองแสดงดังภาพที่ 43



ภาพที่ 43 ค่าพีเอชในถังกวนผสมแบบสมบูร์ณถังที่ 1 และถังกวนผสมแบบสมบูร์ณถังที่ 2

(ก) ชุดการทดลองที่ 1 (ข) ชุดการทดลองที่ 2 (ค) ชุดการทดลองที่ 3

จากการวัดปริมาณออกซิเจนละลาย (ภาพที่ 44) เมื่อเริ่มเดินระบบพบว่าค่าออกซิเจนละลายในถังกวนผสมสมบูรณ์ถึงที่ 1 มีค่าเท่ากับ  $4.45 \pm 0.76$   $5.69 \pm 0.85$  และ  $5.88 \pm 0.48$  มิลลิกรัม/ลิตร และค่าออกซิเจนละลายในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 2 มีค่าเท่ากับ  $6.63 \pm 0.53$   $6.88 \pm 0.56$  และ  $6.89 \pm 0.46$  มิลลิกรัม/ลิตร ในระบบที่ค่าสัดส่วนของระยะเวลาที่อาหารกินพอดต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.15 (ชุดการทดลองที่ 1) 0.23 (ชุดการทดลองที่ 2) และ 0.33 (ชุดการทดลองที่ 3) ตามลำดับ ซึ่งจะสังเกตได้ว่าปริมาณออกซิเจนละลายในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 2 นั้นมีค่าสูงกว่าในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 1

หลังจากปรับเปลี่ยนระบบในวันที่ 34 ด้วยการเปลี่ยนค่าสัดส่วนของระยะเวลาที่อาหารกินพอดต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) ที่แตกต่างกันจำนวน 3 ชุดการทดลอง เป็น 0.04 0.15 และ 0.33 โดยยังคงเดินระบบด้วยการใช้กลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนที่ความเข้มข้น 1,500 มิลลิกรัมซีโอดี/ลิตร พบว่าค่าออกซิเจนละลายในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 1 มีค่าเท่ากับ  $4.06 \pm 1.12$   $3.38 \pm 0.88$  และ  $4.71 \pm 1.03$  มิลลิกรัม/ลิตร และในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 2 จะเพิ่มสูงขึ้นเป็น  $5.66 \pm 0.91$   $5.90 \pm 0.48$  และ  $6.07 \pm 0.86$  มิลลิกรัม/ลิตร ในระบบที่ค่าสัดส่วนของระยะเวลาที่อาหารกินพอดต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหารเป็น 0.04 (ชุดการทดลองที่ 1) 0.15 (ชุดการทดลองที่ 2) และ 0.33 (ชุดการทดลองที่ 3) ซึ่งค่าออกซิเจนละลายมีแนวโน้มเช่นเดียวกับในระบบที่ค่าสัดส่วนของระยะเวลาที่อาหารกินพอดต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.15 0.23 และ 0.33 ก่อนการปรับเปลี่ยนระบบ

หลังจากนั้นเมื่อเพิ่มค่าความเข้มข้นของน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีกลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนเป็น 3,000 มิลลิกรัมซีโอดี/ลิตร เพื่อให้ถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 1 มีความเข้มข้นของสารอินทรีย์ที่หลงเหลืออยู่สูงขึ้น (ช่วงที่อาหารกินพอด) ส่งผลให้ค่าออกซิเจนละลายในถังกวนผสมสมบูรณ์ถึงที่ 1 มีค่าลดลงเป็น  $1.25 \pm 0.96$   $1.62 \pm 1.38$  และ  $1.15 \pm 1.00$  มิลลิกรัม/ลิตร และค่าออกซิเจนละลายในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 2 มีค่าออกซิเจนละลายเท่ากับ  $3.97 \pm 0.94$   $5.04 \pm 1.09$  และ  $4.98 \pm 1.03$  มิลลิกรัม/ลิตร ในชุดการทดลองที่ 1 2 และ 3 ตามลำดับ

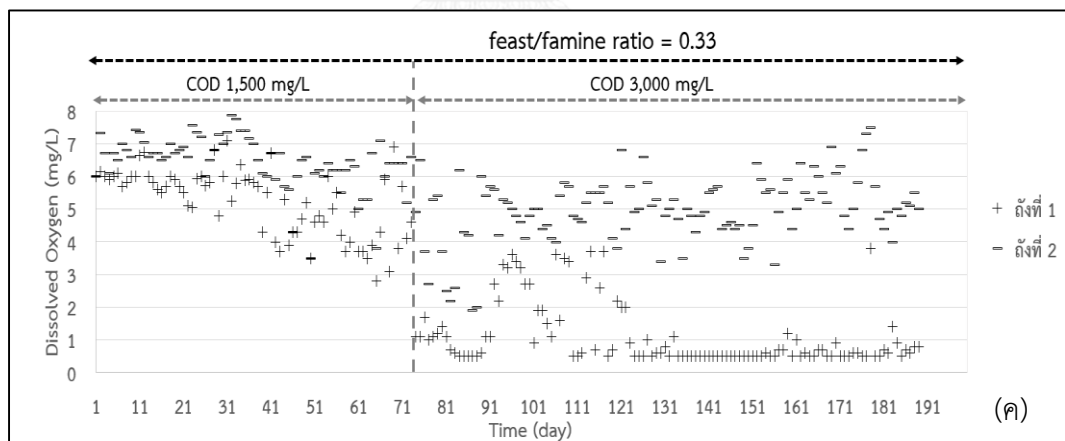
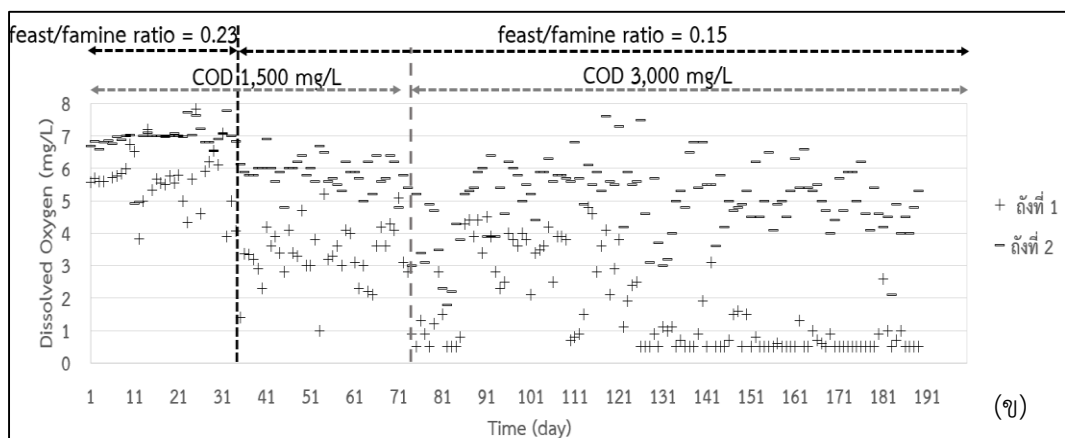
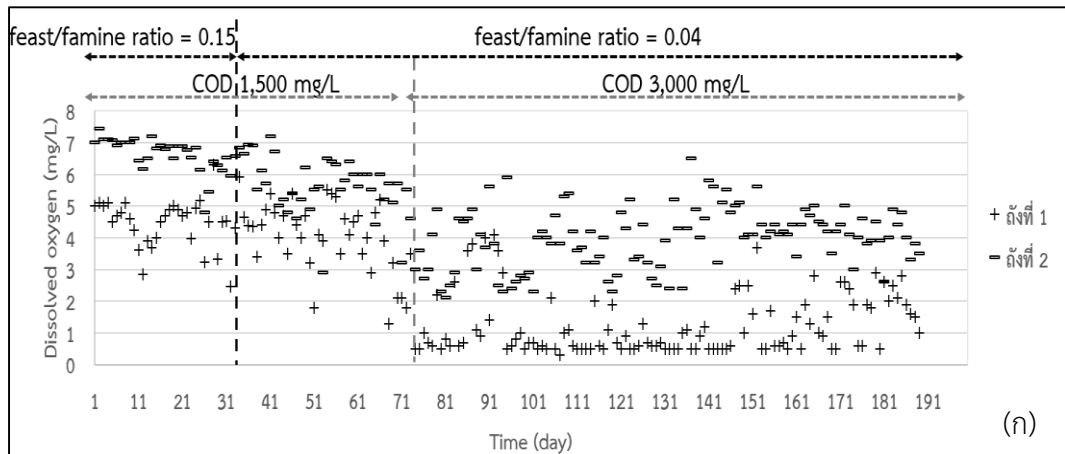
จากผลการทดลองข้างต้นพบว่าปริมาณออกซิเจนละลายในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 2 นั้นมีค่าสูงกว่าในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 1 เนื่องจากในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 1 ซึ่งมีการป้อนอาหารเข้าสู่ระบบเพื่อให้เกิดสภาวะอาหารกินพอด (feast phase) จุลินทรีย์มีอัตราการย่อยสลายสารอินทรีย์สูงกว่าในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 2 ซึ่งเป็นสภาวะขาดแคลนอาหาร ซึ่งย่อมส่งผลให้



อัตราการใช้ออกซิเจนละลายในถังที่ 1 นั้นสูงกว่าถังที่ 2 เช่นกัน ค่าออกซิเจนละลายในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังที่ 1 จึงมีค่าต่ำกว่าในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังที่ 2

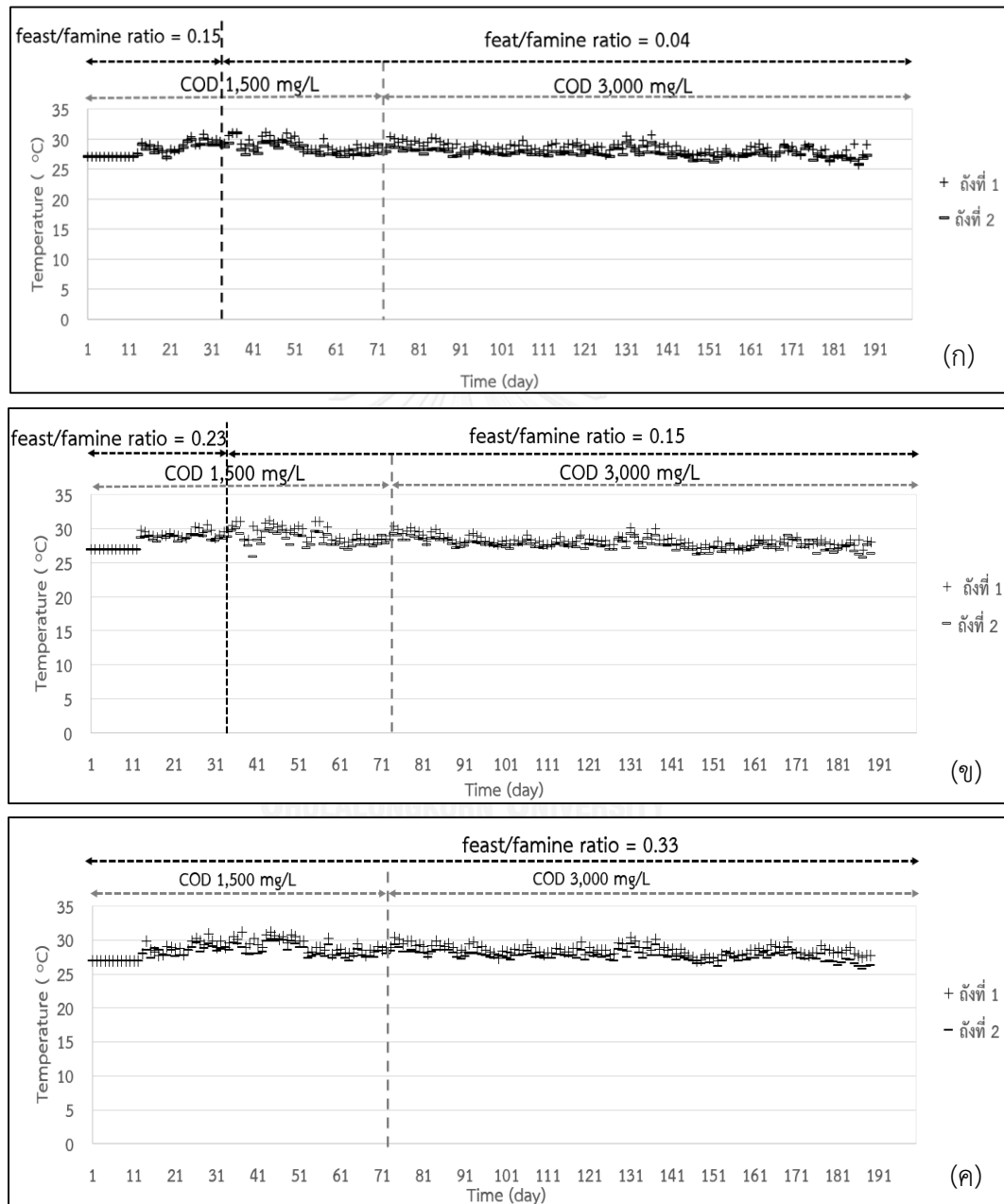
ทั้งนี้งานวิจัยที่ผ่านมาของ Villano และคณะ (2014) ได้ประยุกต์ใช้ค่าออกซิเจนละลายในระบบเพื่อบ่งบอกสถานะที่มีอาหารเกินพอหรือสถานะที่ขาดแคลนอาหาร โดยวัดค่าออกซิเจนละลายและจัดทำ DO profile ในระบบแบบแบทช์ ซึ่งพบว่าเมื่อเติมสารอาหารลงไปในระบบ ค่าออกซิเจนละลายในช่วงเริ่มต้นจะลดลงอย่างรวดเร็ว เนื่องจากจุลินทรีย์ใช้ออกซิเจนเพื่อย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีความเข้มข้นสูง แต่เมื่อเวลาผ่านไปสารอาหารเริ่มหมดลง ค่าออกซิเจนละลายจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้น (Villano และคณะ, 2014) ทั้งนี้ค่าออกซิเจนละลายในระบบจึงสามารถใช้แบ่งสถานะที่มีอาหารมากเกินพอกับสถานะที่ขาดอาหารได้ โดยค่าออกซิเจนละลายจะมีค่าต่ำในช่วงที่มีอาหารมากเกินพอ (feast phase) และมีค่าสูงขึ้นในช่วงที่ขาดแคลนอาหาร (famine phase) ซึ่งแนวโน้มดังกล่าวนี้สอดคล้องกับผลการทดลองในงานวิจัยนี้คือค่าออกซิเจนละลายในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังที่ 1 ซึ่งออกแบบให้เกิดสถานะที่มีอาหารเกินพอนั้นต่ำกว่าค่าออกซิเจนละลายในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังที่ 2 ซึ่งออกแบบให้เกิดสถานะขาดแคลนอาหาร

นอกจากนี้ค่าออกซิเจนละลายยังมีความสำคัญต่อการผลิตพีเอชเอ เพราะถ้าหากค่าออกซิเจนละลายในระบบไม่เพียงพออาจส่งผลให้ระบบเปลี่ยนสถานะจากระบบที่มีอากาศเพียงพอตลอดเวลา ซึ่งมีกลไกการสะสมพีเอชเอในระบบเป็นแบบที่มีสถานะอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลนกลายเป็นระบบแบบมีอากาศเล็กน้อยสลับกับมีอากาศ (Microaerophilic-aerobic system) หรือเป็นระบบไร้อากาศสลับกับมีอากาศ (Anaerobic-aerobic system) ซึ่งจะส่งผลต่อกลไกและวิธีการผลิตพีเอชเอของจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม ทำให้ปริมาณพีเอชเอในระบบเปลี่ยนไป ซึ่งในการทดลองนี้สามารถควบคุมให้ค่าออกซิเจนละลายมากกว่า 0.5 มิลลิกรัม/ลิตรตลอดการทดลอง จึงสามารถมั่นใจได้ว่ากลไกการสะสมพีเอชเอในระบบที่เกิดขึ้นนั้นเป็นแบบที่มีสถานะอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลนอย่างแน่นอน



ภาพที่ 44 ค่าปริมาณออกซิเจนละลายในถังกวนผสมแบบสมบูรณถังที่ 1 และถังกวนผสมแบบสมบูรณถังที่ 2 (ก) ชุดการทดลองที่ 1 (ข) ชุดการทดลองที่ 2 (ค) ชุดการทดลองที่ 3

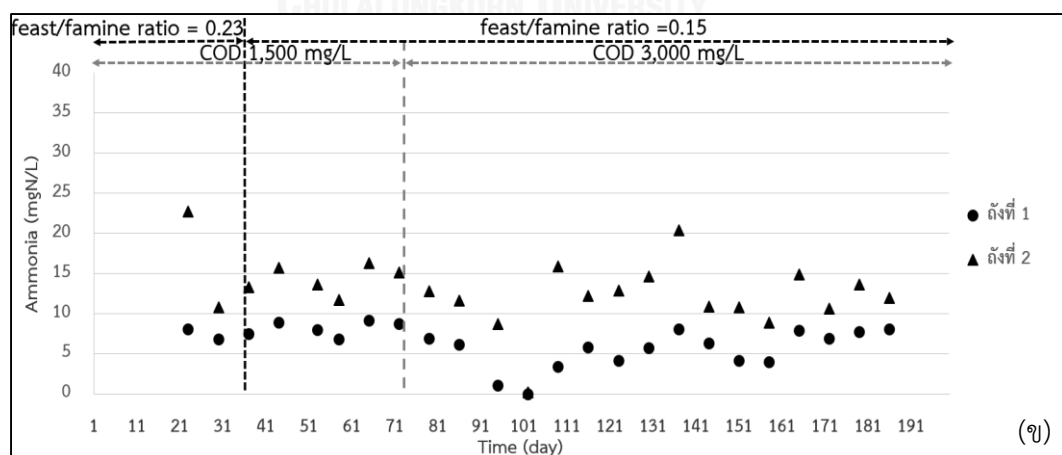
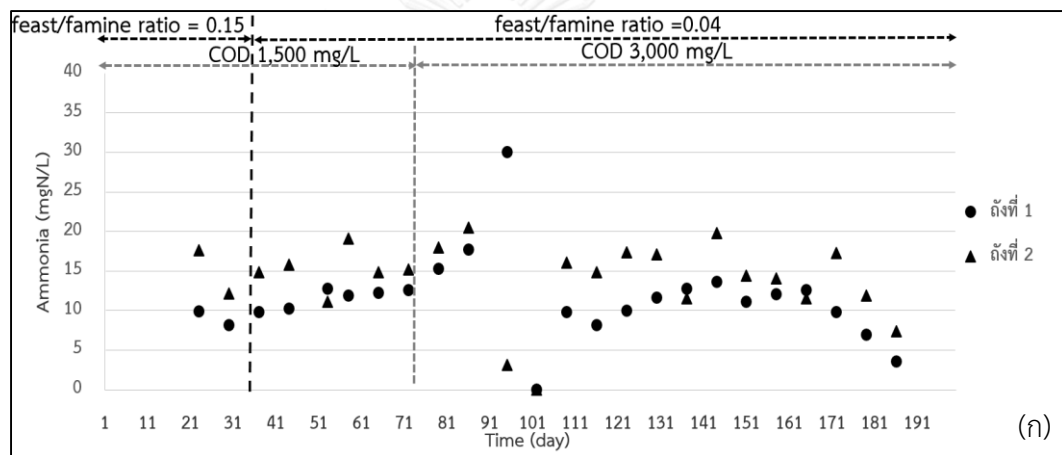
สำหรับค่าอุณหภูมิในระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองชั้นตอนสามารถวัดค่าอุณหภูมิได้อยู่ในช่วง  $28.61 \pm 1.05$   $28.51 \pm 1.01$  และ  $28.67 \pm 0.94$  องศาเซลเซียสในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังที่ 1 และค่าอุณหภูมิอยู่ในช่วง  $27.82 \pm 0.88$   $27.85 \pm 0.87$  และ  $27.87 \pm 0.84$  องศาเซลเซียสในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังที่ 2 แสดงดังภาพที่ 45

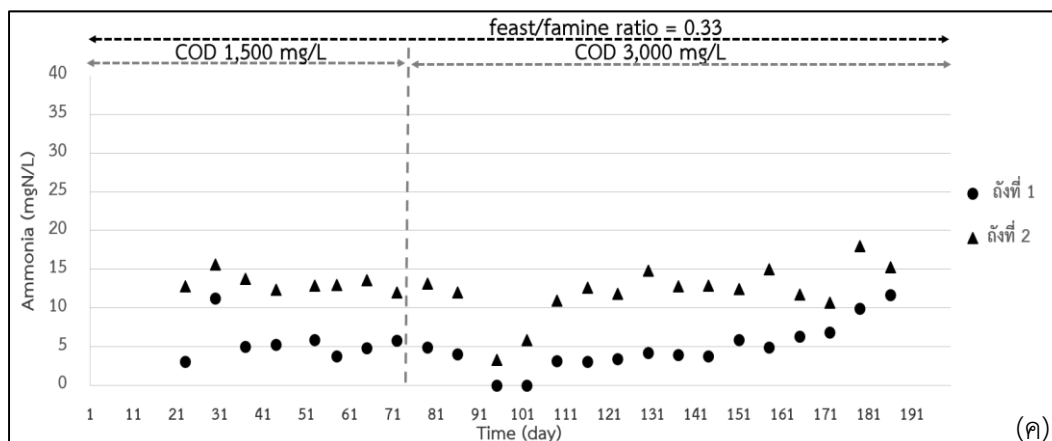


ภาพที่ 45 ค่าอุณหภูมิในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังที่ 1 และถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถังที่ 2

(ก) ชุดการทดลองที่ 1 (ข) ชุดการทดลองที่ 2 (ค) ชุดการทดลองที่ 3

สำหรับค่าแอมโมเนียในระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองชั้นตอน แสดงดังภาพที่ 46 จากการทดลองพบว่าค่าแอมโมเนียในระบบเท่ากับ  $11.36 \pm 5.36$   $6.25 \pm 2.38$  และ  $5.02 \pm 2.83$  มิลลิกรัมไนโตรเจน/ลิตรในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 1 และมีค่าแอมโมเนียเท่ากับ  $13.98 \pm 4.93$   $12.94 \pm 4.24$  และ  $12.46 \pm 2.94$  มิลลิกรัมไนโตรเจน/ลิตรในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 2 แสดงดังภาพที่ 46 โดยผลของความเข้มข้นของไนโตรเจนอาจมีผลต่อการสะสมพีเอชเอ ซึ่งจะเห็นได้ว่าความเข้มข้นของแอมโมเนียในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 2 มีค่าเพิ่มสูงขึ้นจากถึงที่ 1 คาดว่าเนื่องจากการย่อยสลายตัวของจุลินทรีย์ในสภาวะขาดแคลนอาหารในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 2 นั้นสามารถปลดปล่อยแอมโมเนียออกมา ส่งผลให้ค่าแอมโมเนียมีค่าสูงขึ้นในถึงที่ 2 ในทุกชุดการทดลอง





ภาพที่ 46 ค่าแอมโมเนียในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 1 และถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 2

(ก) ชุดการทดลองที่ 1 (ข) ชุดการทดลองที่ 2 (ค) ชุดการทดลองที่ 3

#### 4.1.3 สถานะการตกตะกอนของจุลินทรีย์ในระบบ

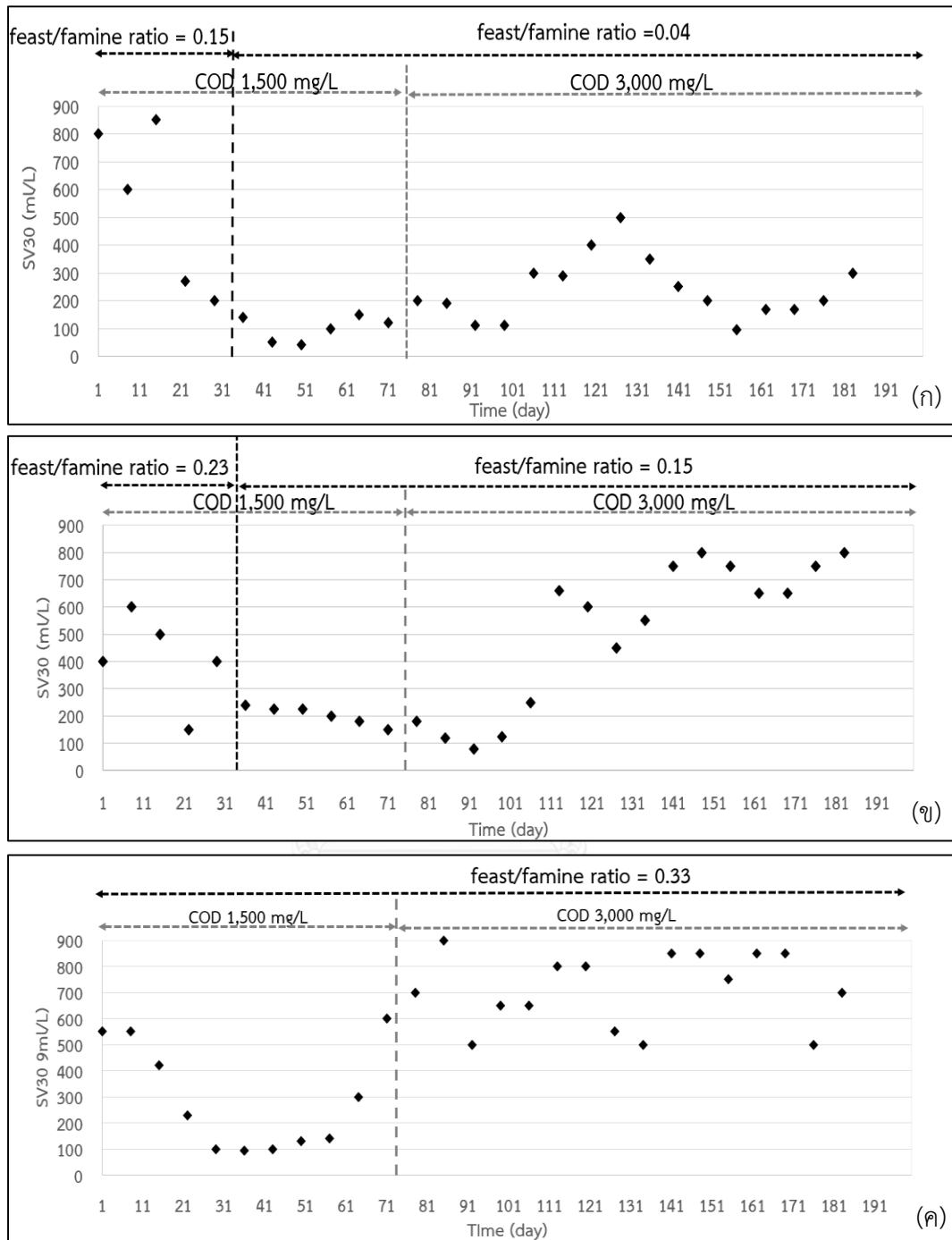
จากผลการวัดค่าปริมาตรตกตะกอนที่ 30 นาที (SV30) (ภาพที่ 47) พบว่าในช่วงแรกของการเดินระบบ (วันที่ 1 ถึง วันที่ 33) ซึ่งอยู่ในช่วงที่เดินระบบด้วยค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.15 0.23 และ 0.33 ในชุดการทดลองที่ 1 2 และ 3 ตามลำดับ ตะกอนจุลินทรีย์ไม่สามารถตกตะกอนได้ดี โดยวัดค่าปริมาตรตะกอนที่ 30 นาที (SV30) ได้ค่าประมาณ  $544 \pm 298$   $410 \pm 167$  และ  $370 \pm 200$  มิลลิลิตร/ลิตรตามลำดับ และคิดเป็นค่าดัชนีปริมาณตะกอน (SVI) ได้มากกว่า  $305 \pm 251$   $410 \pm 167$  และ  $219 \pm 132$  มิลลิลิตร/กรัม ในชุดการทดลองที่ 1 2 และ 3 ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 48

ในช่วงวันที่ 34 ถึงวันที่ 72 ซึ่งได้มีการปรับเปลี่ยนค่าสัดส่วนของระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 0.15 และ 0.33 ในชุดการทดลองที่ 1 2 และ 3 ตามลำดับ ตะกอนจุลินทรีย์สามารถตกตะกอนได้ดีขึ้น วัดค่าปริมาตรตกตะกอนที่ 30 นาที (SV30) ได้ประมาณ  $101 \pm 45$   $203 \pm 34$  และ  $227 \pm 198$  มิลลิลิตร/ลิตร และคิดเป็นค่าดัชนีปริมาณตะกอน (SVI) ได้เท่ากับ  $92.5 \pm 37$   $203 \pm 34$  และ  $152 \pm 103$  มิลลิลิตร/กรัมในชุดการทดลองที่ 1 2 และ 3 ตามลำดับ

จากนั้นในช่วงวันที่ 73 ถึงวันที่ 190 ซึ่งได้ทำการปรับเปลี่ยนค่าความเข้มข้นของน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีกลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนเท่ากับ 1,500 มิลลิลิตรซีโอดี/ลิตรเป็น

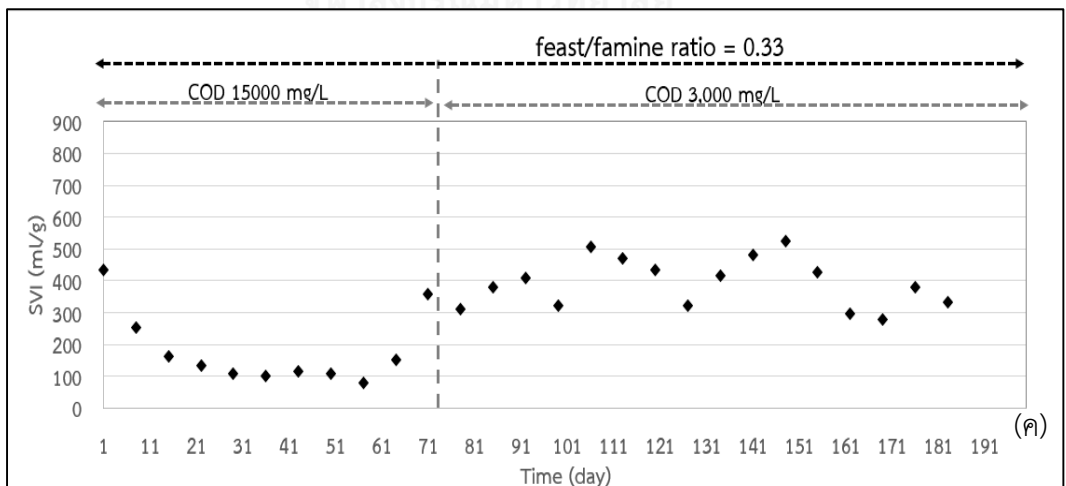
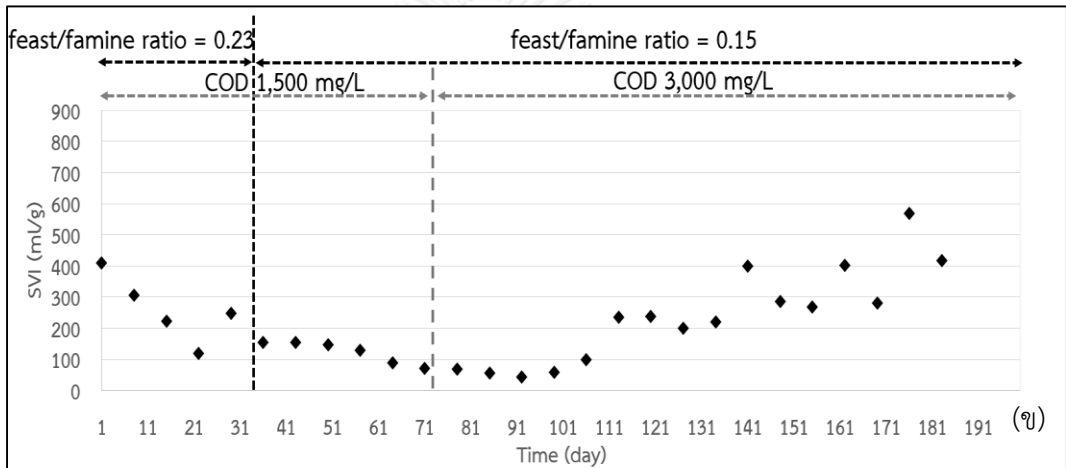
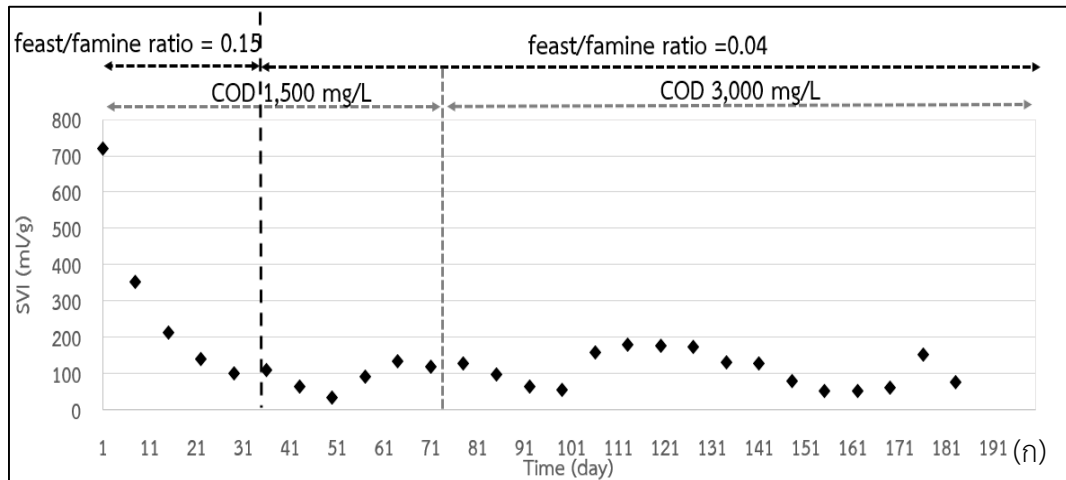
3,000 มิลลิกรัมซีไอดี/ลิตร พบว่าตะกอนจุลินทรีย์ในระบบไม่สามารถตกตะกอนได้ดีเช่นเดิม วัดค่า ปริมาตรตกตะกอนที่ 30 นาที (SV30) ได้เท่ากับ  $240 \pm 112$   $510 \pm 268$  และ  $713 \pm 141$  มิลลิเมตร/ลิตร และมีค่าดัชนีตะกอนเท่ากับ  $111 \pm 48$   $510 \pm 268$  และ  $394 \pm 78$  มิลลิเมตร/กรัมในชุดการทดลองที่ 1 2 และ 3 ตามลำดับ โดยค่าดัชนีปริมาตรตะกอนกลับสูงขึ้นอีกครั้งในชุดการทดลองที่ 2 และ 3 และค่า ดัชนีตะกอนลดลงในช่วงท้ายก่อนการปิดระบบในชุดการทดลองที่ 1 ค่าปริมาตรตะกอนและค่าดัชนี ตะกอนตลอดการทดลอง แสดงดังภาพที่ 47 และภาพที่ 48 ตามลำดับ

ทั้งนี้สาเหตุของการเกิดสลัดจ์ไม่จมตัวยังไม่สามารถสรุปได้อย่างชัดเจน อย่างไรก็ตาม จุลินทรีย์กลุ่มเส้นใยซึ่งมักเป็นต้นเหตุของการเกิดสลัดจ์ไม่จมตัวนั้นเคยมีรายงานการสะสมฟิเอชเอได้ เช่นกัน จากงานวิจัยของ Bengtoss และคณะ (2008) ได้ทำการผลิตฟิเอชเอโดยใช้น้ำเสียจากโรงงาน กระดาษ ผลการทดลองพบว่าประชากรจุลินทรีย์กลุ่มเด่นในถังคัดพันธุ์เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเส้นใยที่ สามารถสะสมฟิเอชเอได้ โดยค่าดัชนีปริมาณตะกอน (SVI) ในระบบนั้นมีค่ามากกว่า 200 มิลลิเมตรต่อกรัมขึ้นไป



ภาพที่ 47 ค่าปริมาณตะกอนที่ 30 นาที (SV30)

(ก) ชุดการทดลองที่ 1 (ข) ชุดการทดลองที่ 2 (ค) ชุดการทดลองที่ 3



ภาพที่ 48 ค่าดัชนีปริมาณตะกอน (SVI)

(ก) ชุดการทดลองที่ 1 (ข) ชุดการทดลองที่ 2 (ค) ชุดการทดลองที่ 3



โดยสรุป จากผลการทดลองการสะสมพีเอชเอของจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยกลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนพบว่าชุดการทดลองที่ 1 ที่ค่าสัดส่วนเวลาที่อาหารกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 ระบบสามารถสะสมพีเอชเอได้สูงสุดถึง 20.06 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (%gPHA/gMLSS) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Moita และคณะ (2014) ซึ่งพบว่าหลังจากที่จุลินทรีย์ปรับตัวเข้ากับกลีเซอรอลแล้ว ที่อัตราส่วนระยะที่มีอาหารกินพอต่อระยะขาดแคลนอาหารในช่วง 0.04 – 0.12 ระบบจะมีการสะสมพีเอชเอแทนการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ อย่างไรก็ตามงานวิจัยของ Moita และคณะ (2014) นั้นทำการทดลองโดยใช้ระบบถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเทซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยนี้ที่ใช้ระบบถังปฏิกรณ์แบบไหลต่อเนื่อง นอกจากนี้งานวิจัยของ Moralejo-Gárate และคณะ (2011) ซึ่งใช้ระบบถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเทร่วมกับการใช้กลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนเช่นกัน พบว่าสามารถผลิตโพลีไฮดรอกซีบิวทิเรต (polyhydroxybutyrate; PHB) ได้ 47 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (gPHB/gMLSS) โดยเปอร์เซ็นต์พีเอชเอที่ผลิตได้จากงานวิจัยของ Moita และคณะ (2014) และ Moralejo-Gárate และคณะ (2011) นั้นสูงกว่าพีเอชเอที่ผลิตได้ในงานวิจัยนี้ ทั้งนี้เนื่องมาจากงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาโดยใช้ระบบถังปฏิกรณ์แบบไหลต่อเนื่องซึ่งมีลักษณะที่แตกต่างจากถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเท เนื่องจากระบบระบบถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเทสามารถสร้างสภาวะที่มีอาหารกินพอและสภาวะขาดอาหารได้แตกต่างกันอย่างชัดเจนมากกว่าในระบบถังปฏิกรณ์ที่มีการไหลแบบต่อเนื่องถึงแม้จะมีการพยายามแบ่งระบบออกเป็น 2 ขั้นตอนก็ตาม ซึ่งอาจส่งผลให้การกระตุ้นการผลิตพีเอชเอขึ้นได้ดีกว่าในถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเทเมื่อเทียบกับถังปฏิกรณ์แบบไหลต่อเนื่อง

ในปัจจุบันนี้มีงานวิจัยจำนวนน้อยมากที่ศึกษาถึงการใช้ระบบบำบัดแบบต่อเนื่องในการผลิตพีเอชเอ จากงานวิจัยที่ผ่านมาของ Bengtsson และคณะ (2008) ทำการศึกษาเกี่ยวกับระบบบำบัดแบบไหลต่อเนื่องเพื่อผลิตพีเอชเอโดยใช้น้ำเสียของโรงงานกระดาษที่ผ่านการหมักแบบไร้อากาศมาผลิตพีเอชเอโดยใช้ระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน พบว่าระบบนี้สามารถสะสมพีเอชเอได้สูงสุดถึง 48 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และงานวิจัยของ Albuquerque และคณะ (2010) ได้ทำการศึกษาคล้ายคลึงกัน โดยใช้กากน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอน และกระบวนการหมักแบบไร้อากาศร่วมกับระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน ในการคัดเลือกและผลิตสะสมพีเอชเอภายใต้สภาวะที่การให้อาหารกินพอสลับกับขาดแคลน พบว่าระบบนี้สามารถสะสม

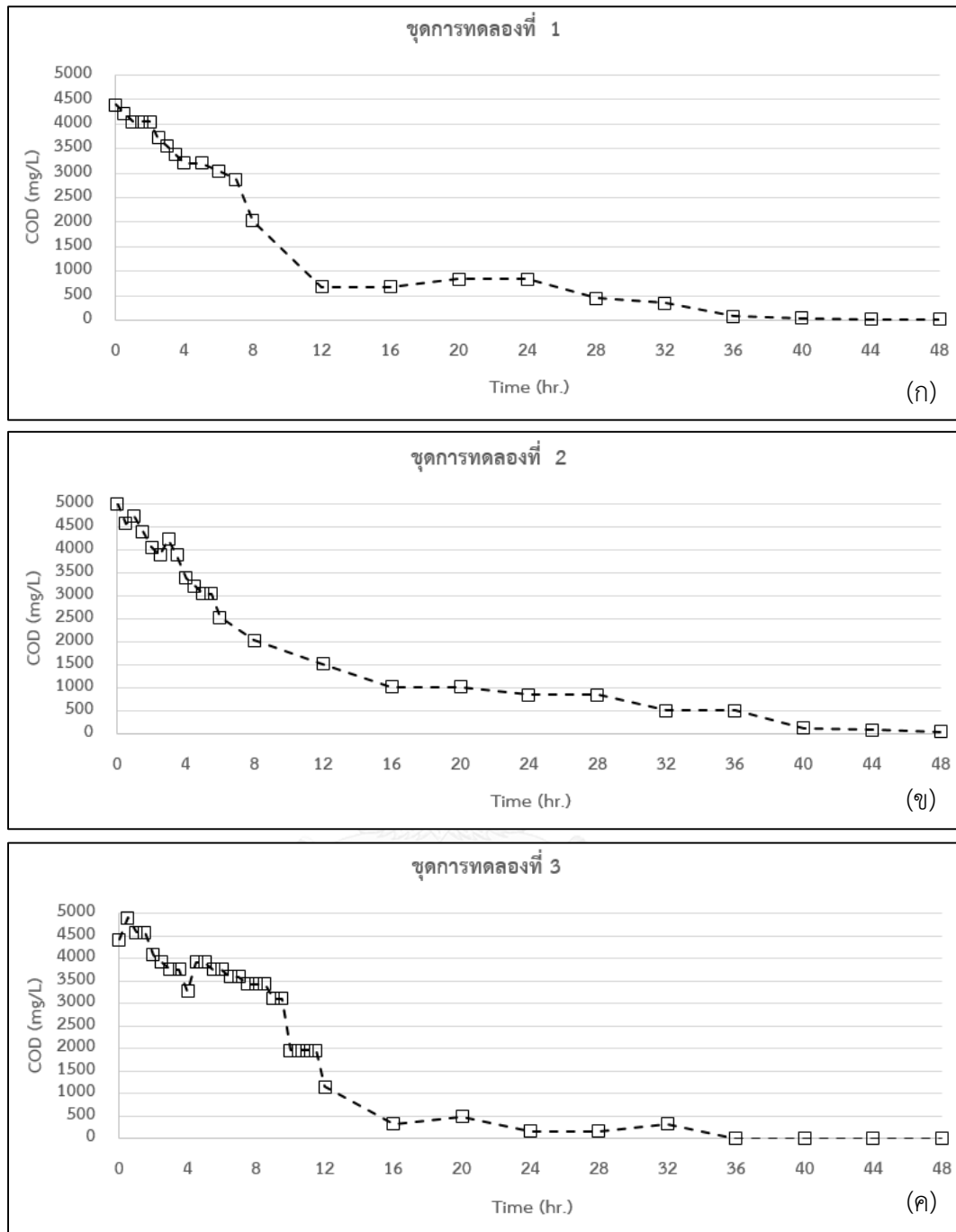
พีเอชเอได้สูงสุดถึง 61 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณพีเอชเอที่ผลิตได้ในงานวิจัยนี้กับงานวิจัยที่ผ่านมาของ Bengtsson และคณะ (2008) และ Albuquerque และคณะ (2010) จะเห็นได้ว่าปริมาณพีเอชเอที่สะสมได้ในงานวิจัยนี้ซึ่งใช้กลีเซอรอลเป็นสารตั้งต้นนั้นมีค่าน้อยกว่า ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารตั้งต้นคือกลีเซอรอลนั้นมีแนวโน้มที่จะนำมาใช้ผลิตพีเอชเอได้ยากกว่ากรดอินทรีย์ระเหย (volatile fatty acids) ซึ่งเป็นสารอินทรีย์กลุ่มหลักที่ออกจากกระบวนการหมักแบบไร้อากาศซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนตั้งต้นในการผลิตพีเอชเอในงานวิจัยของ Bengtsson และคณะ (2008) และ Albuquerque และคณะ (2010) นอกจากนี้ปัจจัยในการควบคุมระบบอื่น ๆ เช่น ค่าอายุตะกอน พีเอช อุณหภูมิ สัดส่วนอาหารต่อตะกอนจุลินทรีย์ (F/M ratio) ก็อาจส่งผลกระทบต่อการผลิตพีเอชเอได้ด้วยเช่นกัน แต่อย่างไรก็ตามเมื่อนำกลีเซอรอลมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนจะไม่จำเป็นต้องมีขั้นตอนการหมักแบบไร้อากาศก่อนที่จะนำมาผลิตเป็นพีเอชเอ ทำให้สามารถลดขั้นตอนกระบวนการผลิตโดยรวมได้

#### 4.2 ผลการศึกษาปริมาณพีเอชเอที่ผลิตได้จากตะกอนจุลินทรีย์ในระบบแบบแบทช์และระบบแบบ fed-batch

สำหรับการทดลองในส่วนนี้เป็นการนำตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนทั้ง 3 ชุดการทดลองซึ่งเดินระบบที่สภาวะสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 0.15 และ 0.33 มาทำการทดลองการสะสมพีเอชเอในระบบแบบแบทช์และระบบแบบ fed-batch เมื่อเดินระบบผ่านไปเป็นระยะเวลา 169 วัน 176 วัน และ 183 วันตามลำดับ ทั้งนี้ในการทดลองในระบบแบบ fed-batch จำเป็นต้องมีการเติมสารอินทรีย์คือ กลีเซอรอลเข้าสู่ระบบอย่างต่อเนื่องเพื่อช่วยให้ตะกอนจุลินทรีย์สามารถเกิดการสะสมพีเอชเอได้สูงสุด ซึ่งอัตราการเติมสารอินทรีย์ในระบบแบบ fed-batch นี้สามารถคำนวณได้โดยคร่าวๆจากการทดลองเบื้องต้นในระบบแบบแบทช์ซึ่งทำการวัดเฉพาะอัตราการใช้ในรูปของซีไอดี ดังจะอธิบายในหัวข้อ 4.2.1 แต่สำหรับการทดลองศึกษาปริมาณพีเอชเอที่ผลิตได้จากตะกอนจุลินทรีย์ในระบบแบบแบทช์และระบบแบบ fed-batch นั้นจะดำเนินการทดลองพร้อมกัน ดังจะอธิบายในหัวข้อที่ 4.2.2 และ 4.2.3 ตามลำดับ

#### 4.2.1 อัตราการใช้น้ำเสียสังเคราะห์สารอินทรีย์ (COD)

ผลการทดลองเพื่อวิเคราะห์อัตราการใช้สารอินทรีย์ในระบบแบบพีชของตะกอนจุลินทรีย์จาก ทั้ง 3 ชุดการทดลองแสดงดังภาพที่ 49 ในชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งตะกอนจุลินทรีย์ผ่านการคัดเลือกจากระบบตะกอนเร่งชนิดถังผสมแบบสมบูรณ์สองชั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 พบว่า มีอัตราการใช้น้ำเสียสังเคราะห์ในระบบแบบแบบพีชเท่ากับ 5.16 มิลลิกรัมซีโอดี/ลิตร/นาทีก ในชุดการทดลองที่ 2 ซึ่งตะกอนจุลินทรีย์ผ่านการคัดเลือกจากระบบตะกอนเร่งชนิดถังผสมแบบสมบูรณ์สองชั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.15 พบว่ามีอัตราการใช้น้ำเสียสังเคราะห์เท่ากับ 4.15 มิลลิกรัมซีโอดี/ลิตร/นาทีก และในชุดการทดลองที่ 3 ซึ่งตะกอนจุลินทรีย์ผ่านการคัดเลือกจากระบบตะกอนเร่งชนิดถังผสมแบบสมบูรณ์สองชั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.33 พบว่ามีอัตราการใช้น้ำเสียสังเคราะห์เท่ากับ 4.25 มิลลิกรัมซีโอดี/ลิตร/นาทีก ซึ่งอัตราการใช้อินทรีย์เหล่านี้จะนำไปใช้เป็นอัตราการผลิตบิโอสโอดเข้าสู่ระบบในการทดลองแบบ fed-batch (4.2.3) ต่อไป

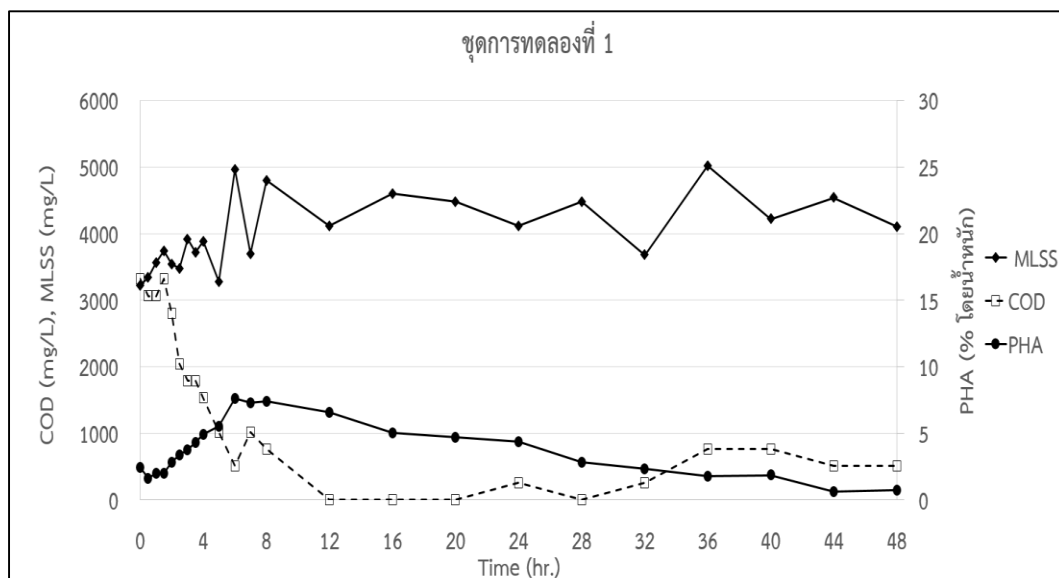


ภาพที่ 49 ความเข้มข้นซีโอดีเพื่อวิเคราะห์หาอัตราการใช้สารอินทรีย์ในระบบแบบแบทช์ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดกึ่งกวนผสมแบบสมบูรณสองขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 (ก.ชุดการทดลองที่ 1) 0.15 (ข. ชุดการทดลองที่ 2) และ 0.33 (ค.ชุดการทดลองที่ 3)

## 4.2.2 ปริมาณพีเอชเอของตะกอนจุลินทรีย์ในระบบแบบแบทช์

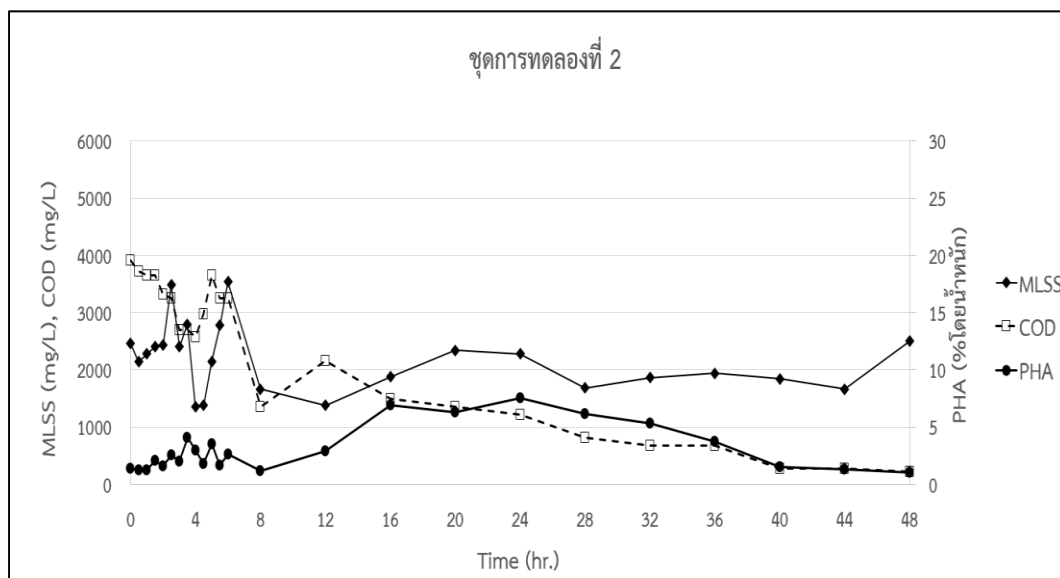
### 4.2.2.1 ความเข้มข้นซีไอดี ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณพีเอชเอ (PHA) ในระบบแบบแบทช์

จากผลการศึกษาปริมาณพีเอชเอที่เกิดขึ้นและถูกใช้ไปในระบบแบบแบทช์ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 0.15 และ 0.33 ในชุดการทดลองที่ 1 2 และ 3 ตามลำดับ ในชุดการทดลองที่ 1 ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 ผลการทดลองพบว่าจุลินทรีย์สามารถใช้สารอินทรีย์ได้เกือบหมดภายในระยะเวลา 12 ชั่วโมง ดังภาพที่ 50 ซึ่งจะเห็นได้ว่ากลีเซอรอลถูกใช้โดยจุลินทรีย์สำหรับการเจริญเติบโต ดังแสดงจากผลการวัดความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นในช่วงต้น และในขณะเดียวกันจุลินทรีย์จะใช้แหล่งคาร์บอนนั้นเพื่อเก็บสะสมไว้ในรูปของพีเอชเอ และเมื่อสารอินทรีย์ถูกใช้ไปหมด พีเอชเอที่ถูกสะสมโดยจุลินทรีย์จะถูกนำมาใช้เพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานสำหรับจุลินทรีย์ต่อไป ซึ่งจะเห็นได้จากการที่ช่วงท้ายของการเดินระบบพีเอชเอมีปริมาณลดลงจนเกือบเท่ากับปริมาณพีเอชเอตอนเริ่มต้น โดยจุลินทรีย์สามารถผลิตพีเอชเอได้สูงสุดร้อยละ 7.61 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (%gPHA/gMLSS) เมื่อระยะเวลาผ่านไป 6 ชั่วโมง



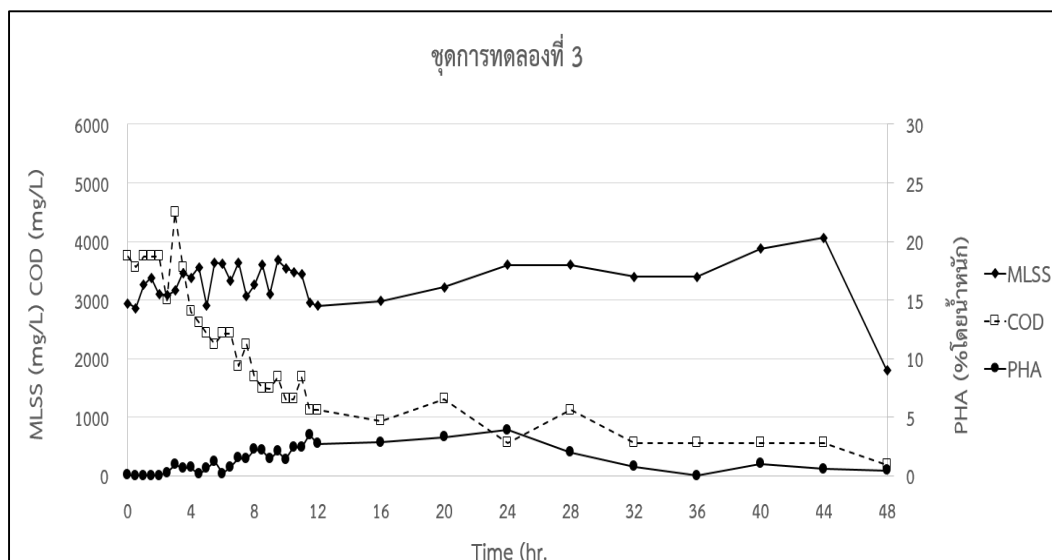
ภาพที่ 50 ความเข้มข้นซีโอดี ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณพีเอชเอในระบบแบบแบทช์ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินต่อระยะเวลาที่ขาดแคลน (feast/famine ratio) เป็น 0.04 (ชุดการทดลองที่ 1)

ในชุดการทดลองที่ 2 ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.15 ผลการทดลองพบว่าตะกอนจุลินทรีย์สามารถใช้สารอินทรีย์ในระบบแบบแบทช์โดยมีค่าความเข้มข้นของซีโอดีลดลงและหมดลงในระยะเวลา 48 ชั่วโมงจากภาพที่ 51 จะพบว่าค่าซีโอดีของชุดการทดลองนี้ลดลงค่อนข้างช้าเมื่อเทียบกับในการทดลองชุดที่ 1 ส่งผลให้การสะสมพีเอชเอเกิดขึ้นช้า โดยจุลินทรีย์สามารถผลิตพีเอชเอได้สูงสุดร้อยละ 7.51 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (%gPHA/gMLSS) เมื่อระยะเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง ซึ่งช้ากว่าในชุดการทดลองที่ 1 และหลังจากนั้นปริมาณพีเอชเอช่วงท้ายมีปริมาณลดลงจนเกือบเท่ากับปริมาณพีเอชเอตอนเริ่มต้น โดยจะค่อยๆ ลดลงพร้อมกับความเข้มข้นของสารอินทรีย์ในระบบที่ลดลงด้วย



ภาพที่ 51 ความเข้มข้นซีโอดี ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณพีเอชเอ ในระบบแบบแบทช์ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สอง ขั้นตอนที่สำคัญส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินต่อระยะเวลาที่ขาดแคลน (feast/famine ratio) เป็น 0.15 (ชุดการทดลองที่ 2)

ในชุดการทดลองที่ 3 ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.33 ผลการทดลองพบว่าจุลินทรีย์สามารถใช้สารอินทรีย์โดยมีค่าความเข้มข้นของซีโอดีลดลง และหมดลงในระยะเวลา 48 ชั่วโมง ดังภาพที่ 52 ซึ่งมีแนวโน้มคล้ายกับชุดการทดลองที่ 2 โดยจุลินทรีย์สามารถผลิตพีเอชเอได้สูงสุดร้อยละ 3.92 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (%gPHA/gMLSS) เมื่อผ่านไป 24 ชั่วโมง และหลังจากนั้นปริมาณพีเอชเอช่วงท้ายของการเดินระบบจะมีปริมาณลดลงเกือบเท่ากับปริมาณพีเอชเอตอนเริ่มต้น โดยจะค่อยๆ ลดลงพร้อมกับความเข้มข้นของสารอินทรีย์ในระบบที่ลดลงด้วย



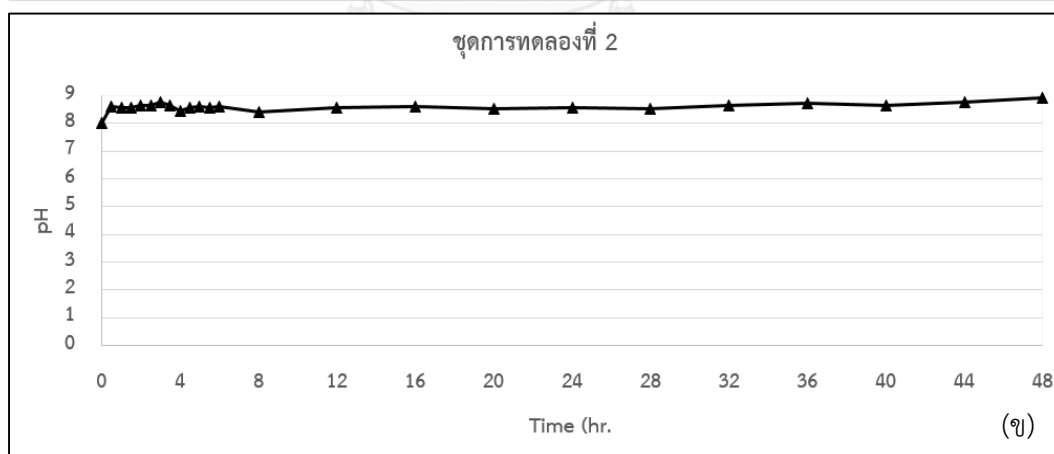
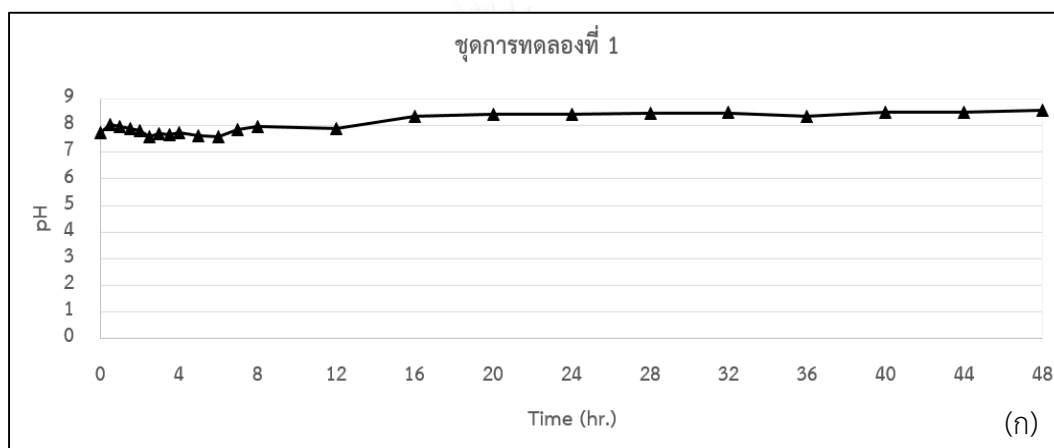
ภาพที่ 52 ความเข้มข้นซีไออดี ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณฟิเอซเอ ในระบบแบบแบทช์ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สอง ขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินต่อระยะเวลาที่ขาดแคลน (feast/famine ratio) เป็น 0.33 (ชุดการทดลองที่ 3)

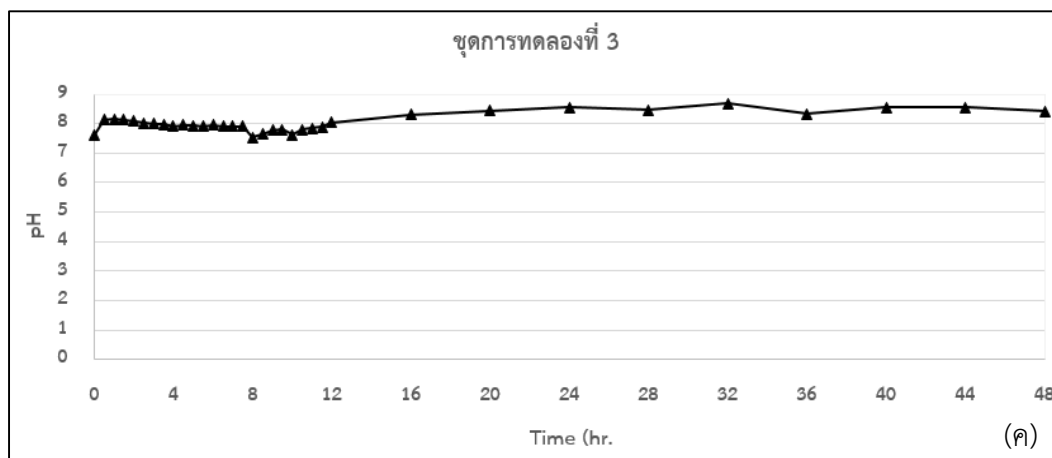
อย่างไรก็ตามปริมาณฟิเอซเอที่ผลิตได้สูงสุดจะคงอยู่ในช่วงที่ความเข้มข้นของสารอินทรีย์ที่คงเหลืออยู่ในระบบมีค่าสูง หรือช่วงที่อาหารมากเกินพอ (feast phase) ในทั้ง 3 ชุดการทดลอง และจะมีปริมาณของฟิเอซเอลดลงเมื่อเข้าสู่ช่วงที่ความเข้มข้นของสารอินทรีย์มีค่าต่ำหรืออยู่ในสภาวะขาดแคลนอาหาร (famine phase) ทั้งนี้จะกอนจุลินทรีย์สามารถผลิตฟิเอซเอได้สูงสุดร้อยละ 7.61 7.51 และ 3.92 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (%gPHA/gMLSS) สำหรับตะกอนจุลินทรีย์ซึ่งนำมาจากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหารเป็น 0.04 (ชุดการทดลองที่ 1) 0.25 (ชุดการทดลองที่ 2) และ 0.33 (ชุดการทดลองที่ 3) ตามลำดับ ซึ่งจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าค่าสัดส่วนของระยะที่อาหารเกินพื่อต่อระยะที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เท่ากับ 0.04 สามารถสะสมฟิเอซเอได้สูงสุด โดยมีความสอดคล้องกับผลการทดลองการเดินระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน คือที่ค่าสัดส่วนส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพื่อต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหารน้อย ระบบจะสามารถผลิตฟิเอซเอได้สูงสุด



#### 4.2.2.2 ค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย อุณหภูมิ และแอมโมเนียในการเดินระบบแบบแบทช์

จากการวัดค่าพีเอช วัดปริมาณออกซิเจนละลาย และอุณหภูมิในระบบแบบแบทช์ เพื่อตรวจสอบสภาวะการเดินระบบแบบแบทช์ของทั้ง 3 ชุดการทดลอง พบว่าที่ค่า feast/famine ratio เท่ากับ 0.04 0.15 และ 0.33 มีค่าพีเอชเฉลี่ยเท่ากับ  $8.05 \pm 0.35$   $8.59 \pm 0.16$  และ  $8.05 \pm 0.30$  ตามลำดับ โดยในการทดลองในระบบแบทช์นี้ไม่ได้ทำการควบคุมค่าพีเอชด้วยเครื่องควบคุมพีเอชอัตโนมัติ จึงทำให้ค่าพีเอชในการทดลองนี้มีค่าค่อนข้างสูงตลอดการทดลอง แสดงดังภาพที่ 53

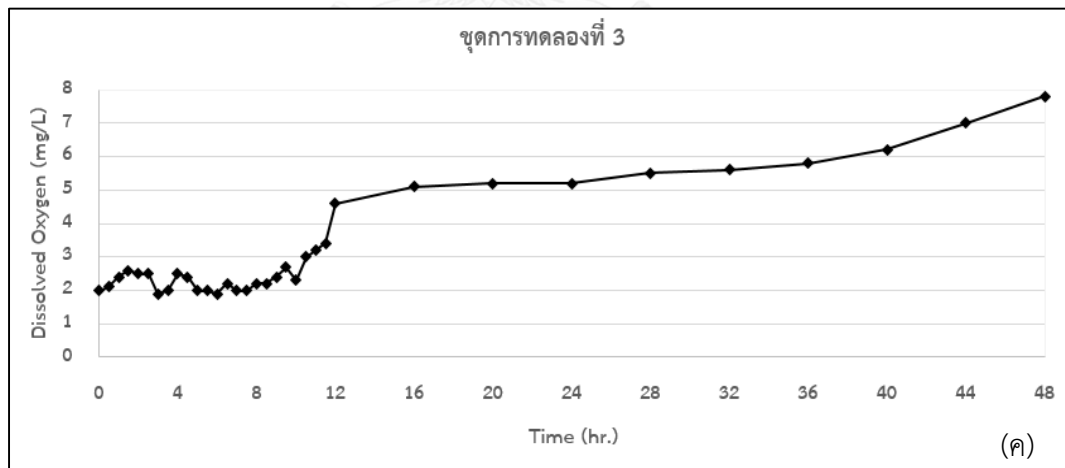
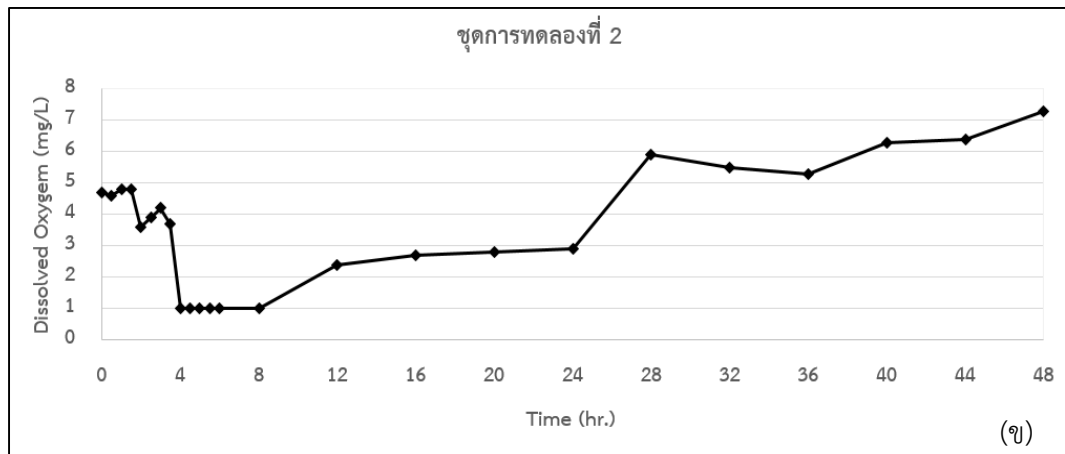
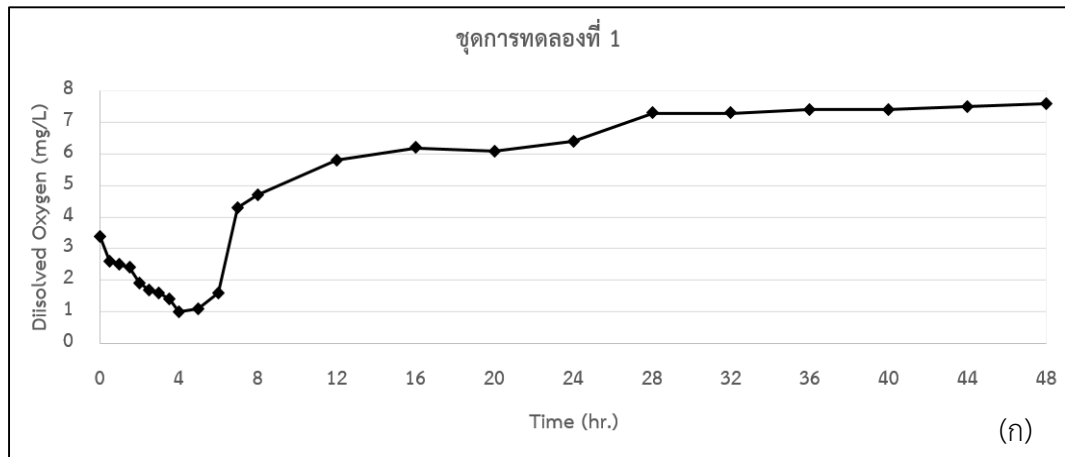




ภาพที่ 53 ค่าพีเอชในระบบแบบแบทช์ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 (ก.ชุดการทดลองที่ 1) 0.15 (ข. ชุดการทดลองที่ 2) และ 0.33 (ค.ชุดการทดลองที่ 3)

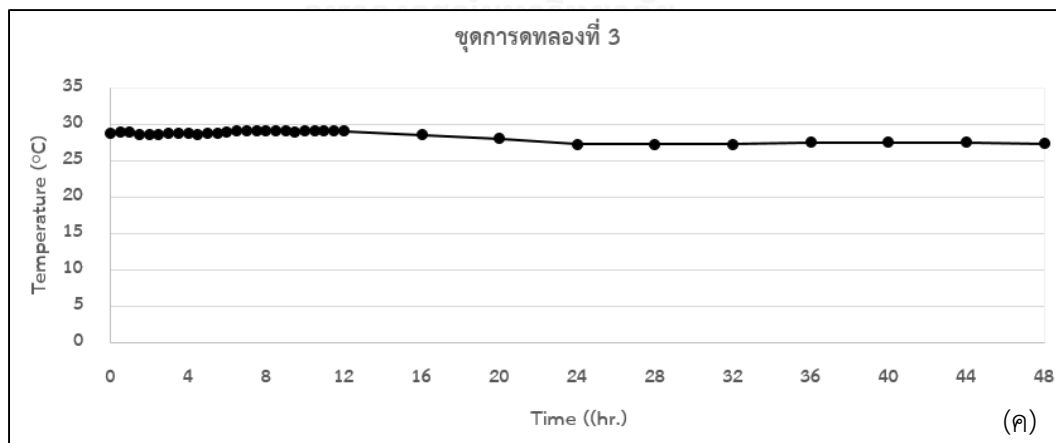
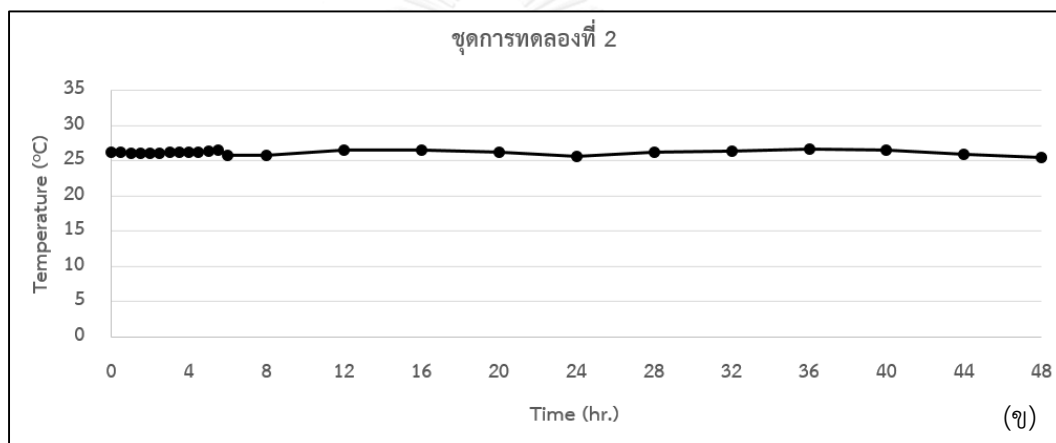
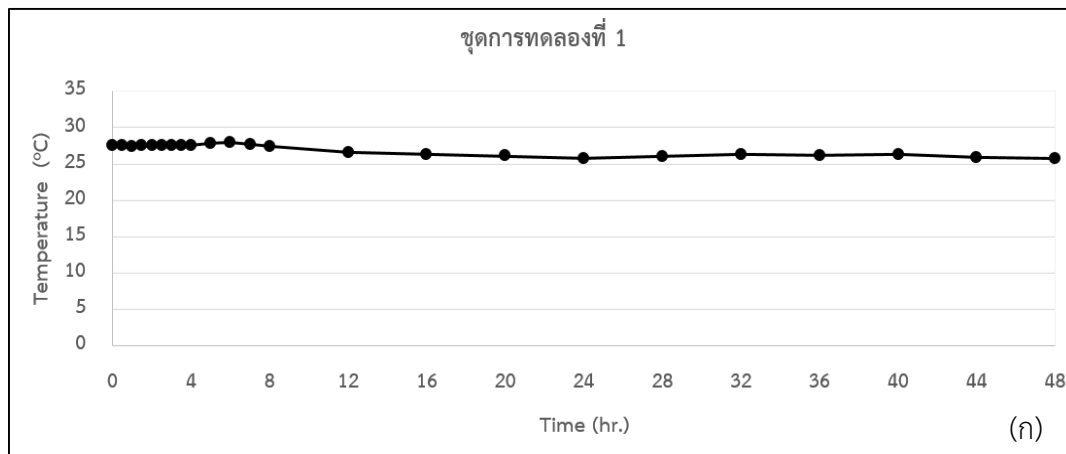
จากการวัดปริมาณออกซิเจนละลาย (ภาพที่ 54) พบว่าค่าออกซิเจนละลายในเดินระบบแบบแบทช์ของทั้ง 3 ชุดการทดลอง มีค่าเพิ่มสูงขึ้นคาดว่าเนื่องจากในช่วงเริ่มต้นจุลินทรีย์มีการใช้ออกซิเจนอย่างรวดเร็วเพื่อย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีความเข้มข้นสูงในระบบ (ช่วงที่อาหารเกินพอ) แต่ภายหลังเมื่อเข้าสู่ช่วงที่สารอินทรีย์ในระบบเหลือน้อย (ช่วงขาดแคลนอาหาร) ค่าออกซิเจนละลายในระบบจึงเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งอย่างไรก็ตามในการทดลองนี้สามารถคุมค่าออกซิเจนละลายในระบบให้มีค่าออกซิเจนละลายมากกว่า 1 มิลลิกรัม/ลิตร ตลอดการทดลอง

จากผลการทดลองข้างต้นพบว่าปริมาณออกซิเจนละลายในช่วงกลางของการทดลองในชุดการทดลองที่ 2 และ 3 นั้นมีค่าปริมาณออกซิเจนละลายต่ำกว่าชุดการทดลองที่ 1 เนื่องจากในช่วงดังกล่าวยังคงมีการลดลงของปริมาณความเข้มข้นของสารอินทรีย์ในระบบ ส่งผลให้ยังคงมีการใช้ออกซิเจนในระบบ



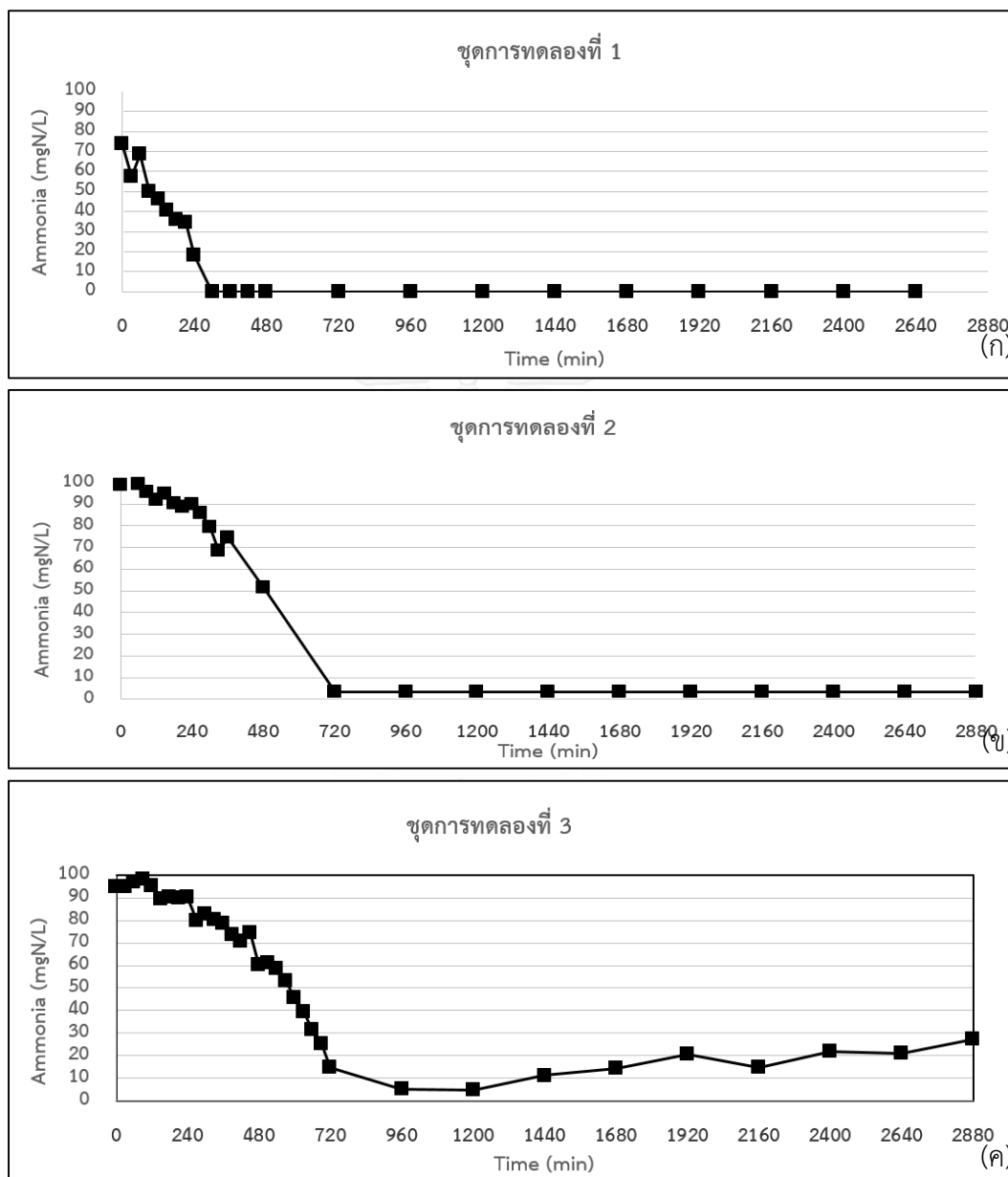
ภาพที่ 54 ค่าปริมาณออกซิเจนในระบบแบบแบทช์ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถัง กวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 (ก.ชุดการทดลองที่ 1) 0.15 (ข. ชุดการทดลองที่ 2) และ 0.33 (ค.ชุดการทดลองที่ 3)

สำหรับค่าอุณหภูมิสามารถวัดค่าอุณหภูมิได้อยู่ในช่วง  $26.95 \pm 0.77$   $26.20 \pm 0.72$  และ  $28.52 \pm 0.62$  องศาเซลเซียสในระบบแบบแบทช์ แสดงดังภาพที่ 55



ภาพที่ 55 ค่าอุณหภูมิในระบบแบบแบทช์ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (fast/famine ratio) เป็น 0.04 (ก.ชุดการทดลองที่ 1) 0.15 (ข. ชุดการทดลองที่ 2) และ 0.33 (ค.ชุดการทดลองที่ 3)

สำหรับค่าแอมโมเนียในระบบแบบแบทช์แสดงดังภาพที่ 56 จากการทดลองพบว่าค่าแอมโมเนียในระบบมีค่าลดลงในทั้ง 3 ชุดการทดลอง แสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์มีการใช้แหล่งไนโตรเจนเพื่อการเจริญเติบโต ซึ่งบ่งบอกว่าสารอินทรีย์ (กลีเซอรอล) นั้นส่วนหนึ่งถูกใช้ไปในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เช่นกัน

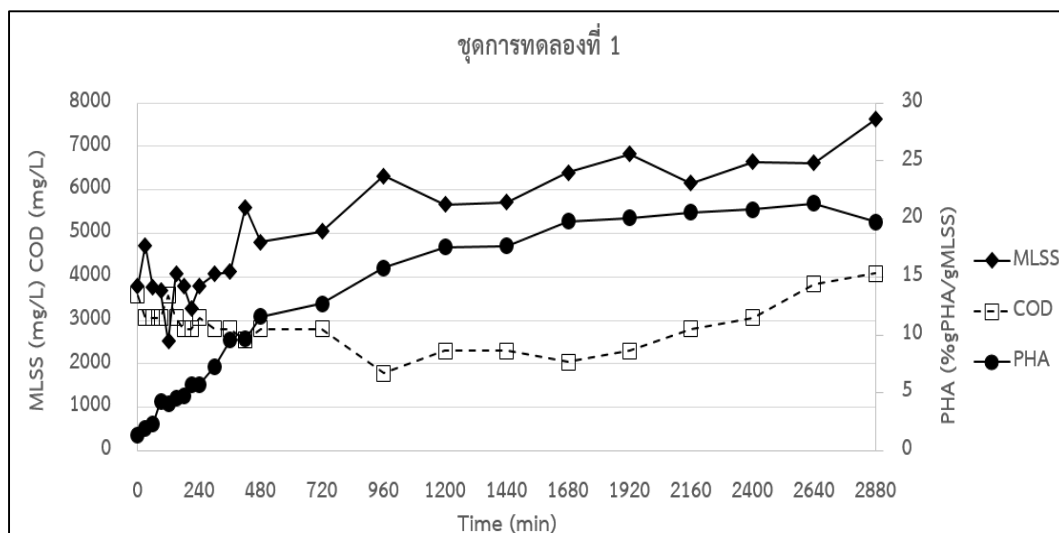


ภาพที่ 56 ค่าแอมโมเนียในระบบแบบแบทช์ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 (ก.ชุดการทดลองที่ 1) 0.15 (ข. ชุดการทดลองที่ 2) และ 0.33 (ค.ชุดการทดลองที่ 3)

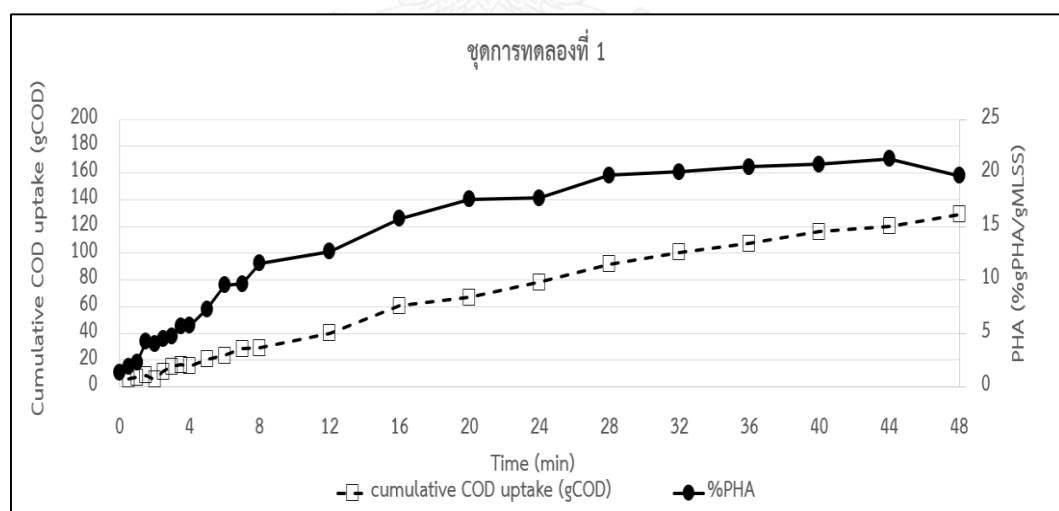
#### 4.2.3 ความสามารถในการสะสมพีเอชเอสูงสุดของตะกอนจุลินทรีย์ในระบบแบบ fed-batch

##### 4.2.3.1 ความเข้มข้นซีโอดี ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณพีเอชเอ (PHA) ในระบบแบบ fed-batch

จากผลการศึกษาความสามารถในการสะสมพีเอชเอสูงสุดในระบบแบบ fed-batch ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองชั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 0.15 และ 0.33 ในชุดการทดลองที่ 1 ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 จากภาพที่ 57 แสดงให้เห็นว่ากลีเซอรอลที่ถูกใช้โดยจุลินทรีย์มีความใกล้เคียงกับกลีเซอรอลที่ถูกเติมเข้าสู่ระบบอย่างต่อเนื่อง โดยมีค่าความเข้มข้นของซีโอดีเฉลี่ยในระบบตลอดการทดลองเท่ากับ  $2,885 \pm 576$  มิลลิกรัมซีโอดี/ลิตร อย่างไรก็ตามค่าความเข้มข้นของตะกอนจุลินทรีย์ในช่วงท้ายของระบบเพิ่มสูงถึง 7,620 มิลลิกรัม MLSS/ลิตร แม้ว่าในการทดลองนี้จะไม่มีการเติมไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเข้าสู่ระบบ แต่อาจเป็นไปได้ว่ายังคงมีไนโตรเจนและฟอสฟอรัสบางส่วนหลงเหลือในตะกอนจุลินทรีย์ที่นำมาใช้เริ่มต้นการทดลอง โดยในช่วงท้ายของระบบจุลินทรีย์สามารถผลิตพีเอชเอได้สูงสุดร้อยละ 21.35 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (%gPHA/gMLSS) นอกจากนี้ภาพที่ 58 แสดงให้เห็นถึงปริมาณการใช้สารอินทรีย์สะสมตามระยะเวลาเทียบกับปริมาณพีเอชเอที่สะสมในตะกอนจุลินทรีย์ ซึ่งจะเห็นได้ว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในลักษณะคล้ายกัน

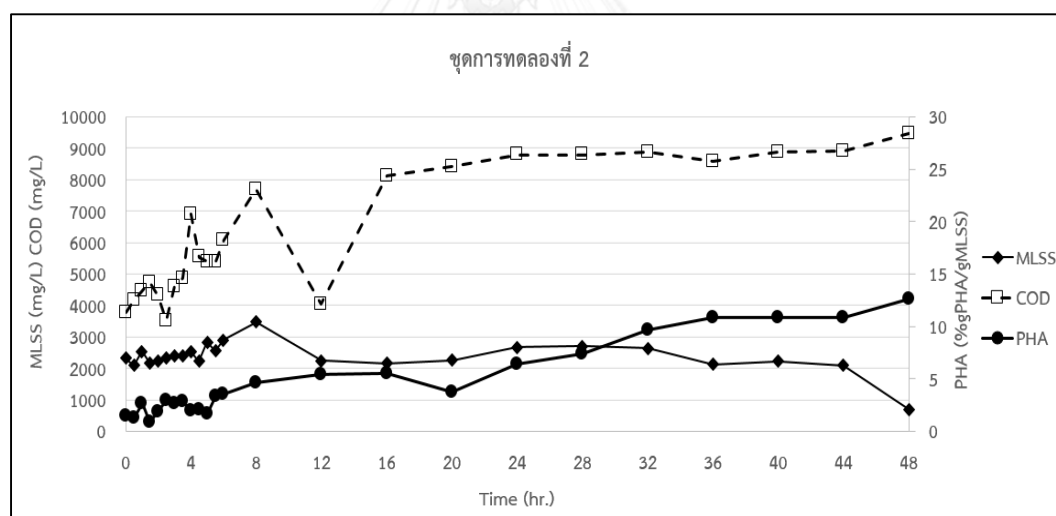


ภาพที่ 57 ความเข้มข้นซีไออดี ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณฟิเอซเอในระบบแบบ fed-batch ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินต่อระยะเวลาที่ขาดแคลน (feast/famine ratio) เป็น 0.04 (ชุดการทดลองที่ 1)



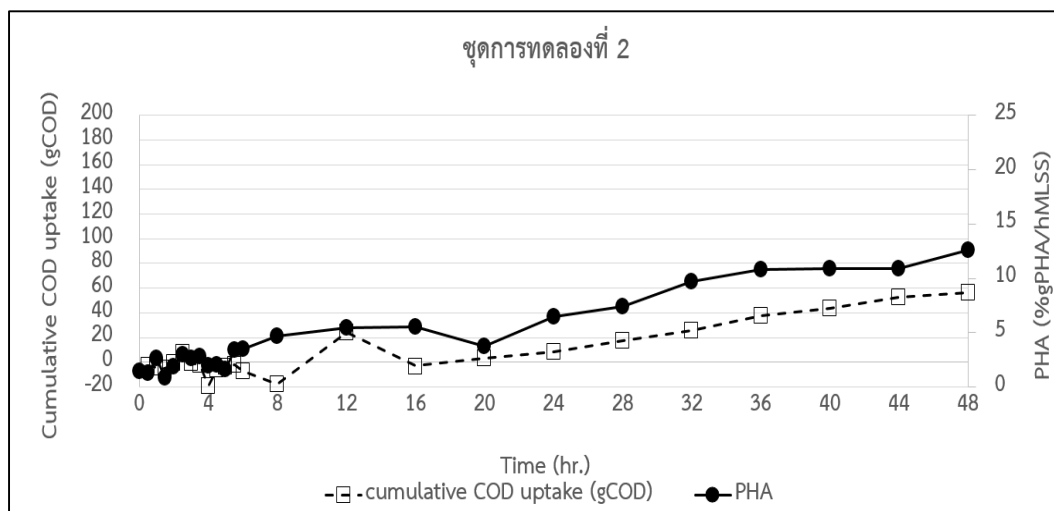
ภาพที่ 58 ปริมาณการใช้สารอินทรีย์สะสมและปริมาณฟิเอซเอในระบบแบบ fed-batch ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินต่อระยะเวลาที่ขาดแคลน (feast/famine ratio) เป็น 0.04 (ชุดการทดลองที่ 1)

ในชุดการทดลองที่ 2 ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.15 จากภาพที่ 59 แสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์ไม่สามารถใช้สารอินทรีย์ได้ทันเทียบกับสารอินทรีย์ที่ถูกเติมลงในระบบอย่างต่อเนื่อง ส่งผลให้ความเข้มข้นของสารอินทรีย์ในระบบมีค่าสูงขึ้น ซึ่งสาเหตุอาจเนื่องมาจากอัตราการใช้สารอินทรีย์ในการทดลองนี้ไม่สอดคล้องกับอัตราการใช้สารอินทรีย์ที่ทำการทดลองไว้ก่อนหน้านี้ (4.2) จากผลการทดลองพบว่าความเข้มข้นของตะกอนจุลินทรีย์ในระบบเพิ่มสูงสุดถึง 3,480 มิลลิกรัมMLSS/ลิตร แต่อย่างไรก็ตามในช่วงท้ายของการทดลอง ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ในระบบมีค่าลดลงและมีแนวโน้มคงที่ แสดงว่าจุลินทรีย์ไม่มีการใช้สารอินทรีย์เพื่อการเจริญเติบโตแต่อาจใช้สำหรับการสะสมพิเอชเอ โดยในช่วงท้ายของระบบจุลินทรีย์สามารถผลิตพิเอชเอได้สูงสุดร้อยละ 12.58 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (%gPHA/gMLSS) นอกจากนี้ภาพที่ 60 แสดงให้เห็นถึงปริมาณการใช้สารอินทรีย์สะสมตามระยะเวลาเทียบกับปริมาณพิเอชเอที่สะสมในตะกอนจุลินทรีย์ ซึ่งมีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน



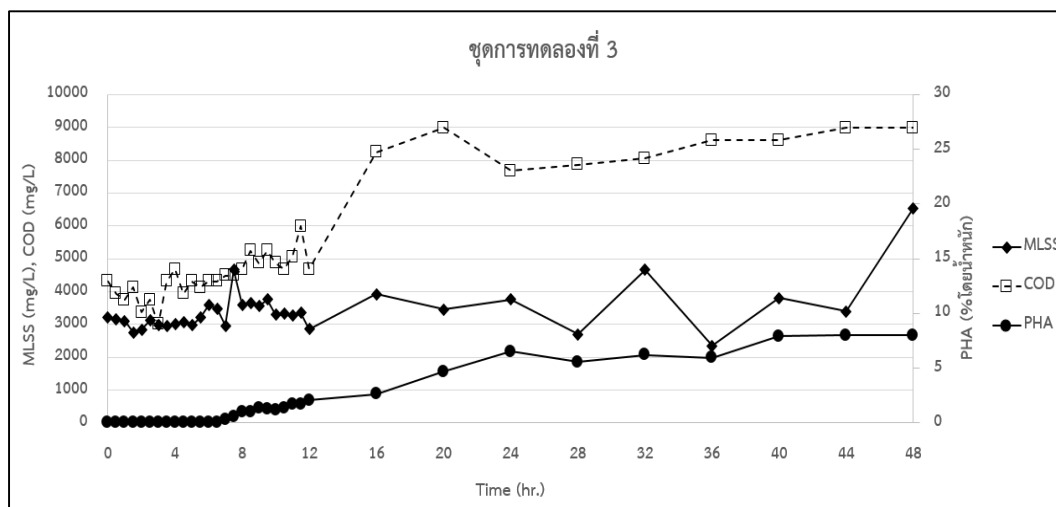
ภาพที่ 59 ความเข้มข้นซีโอดี ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณพิเอชเอในระบบแบบ fed-batch ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลน (feast/famine ratio) เป็น 0.15 (ชุดการทดลองที่ 2)



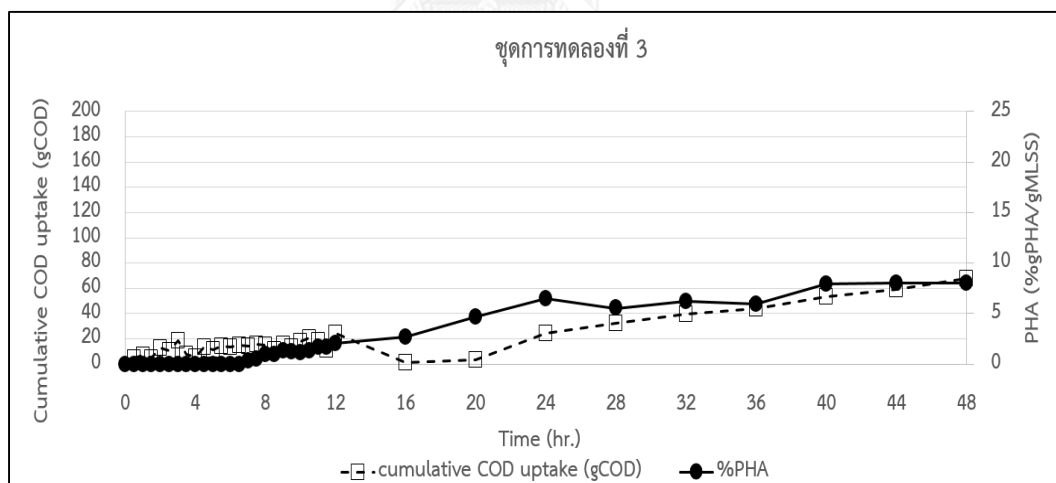


ภาพที่ 60 ปริมาณการใช้สารอินทรีย์สะสมและปริมาณพีเอชเอในระบบแบบ fed-batch ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดกึ่งกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินต่อระยะเวลาที่ขาดแคลน (feast/famine ratio) เป็น 0.15 (ชุดการทดลองที่ 2)

สำหรับชุดการทดลองที่ 3 ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.33 จากภาพที่ 61 แสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์ไม่สามารถใช้สารอินทรีย์ได้เท่ากับ สารอินทรีย์ที่ถูกเติมลงในระบบอย่างต่อเนื่องเช่นเดียวกับในชุดการทดลองที่ 2 ส่งผลให้ความเข้มข้นของสารอินทรีย์ในระบบมีค่าสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง ซึ่งสาเหตุอาจเนื่องมาจากอัตราการใช้สารอินทรีย์ในการทดลองนี้ไม่สอดคล้องกับอัตราการใช้สารอินทรีย์ที่ทำการทดลองไว้ก่อนหน้านี้ (4.2) จากผลการทดลองพบว่าค่าความเข้มข้นของตะกอนจุลินทรีย์ในระบบมีแนวโน้มค่อนข้างคงที่ในช่วงเริ่มต้นเดินระบบ และมีค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์เพิ่มสูงสุดถึง 6,540 มิลลิกรัมMLSS/ลิตรในช่วงท้ายของระบบ ซึ่งจุลินทรีย์สามารถผลิตพีเอชเอได้สูงสุดร้อยละ 8.01 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (%gPHA/gMLSS) และจากภาพที่ 62 ปริมาณการใช้สารอินทรีย์สะสมตามระยะเวลาและปริมาณพีเอชเอที่สะสมแนวโน้มไปในทางเดียวกัน



ภาพที่ 61 ความเข้มข้นซีไอดี ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) และปริมาณพีเอชเอในระบบแบบ fed-batch ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินต่อระยะเวลาที่ขาดแคลน (feast/famine ratio) เป็น 0.33 (ชุดการทดลองที่ 3)

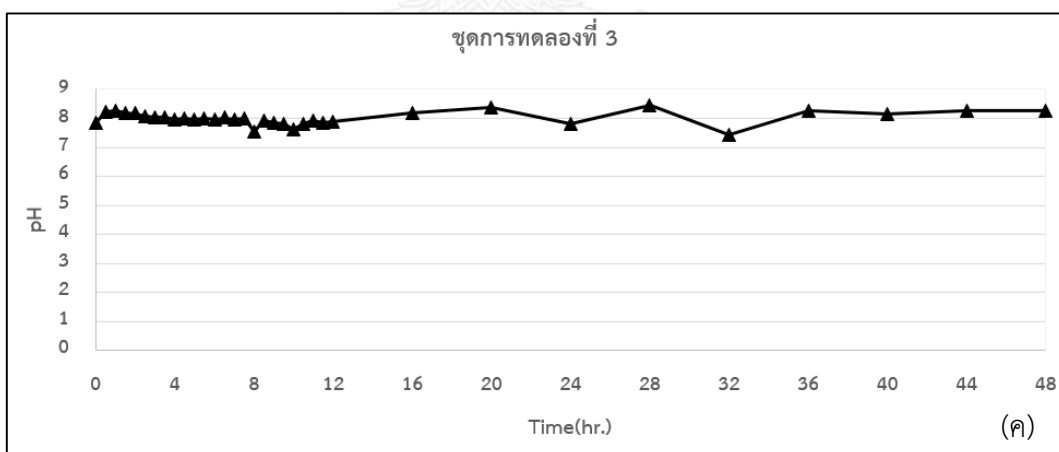
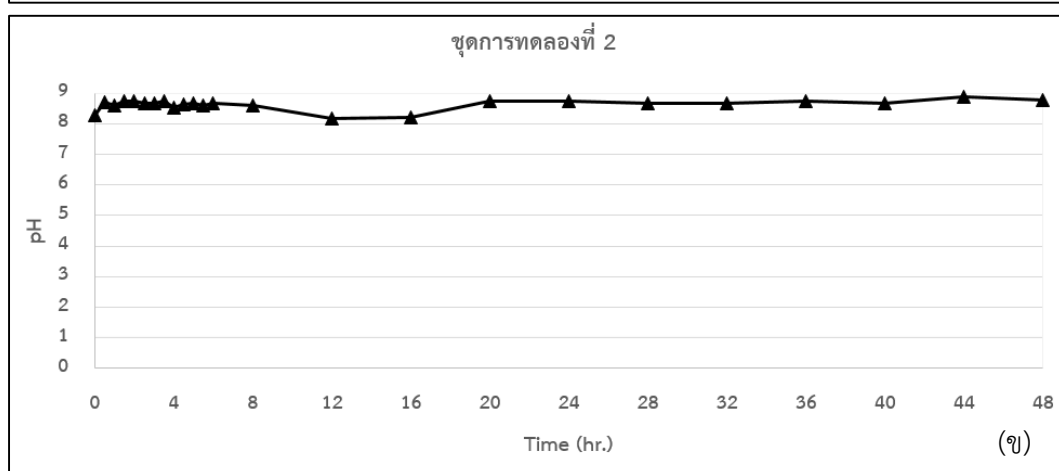
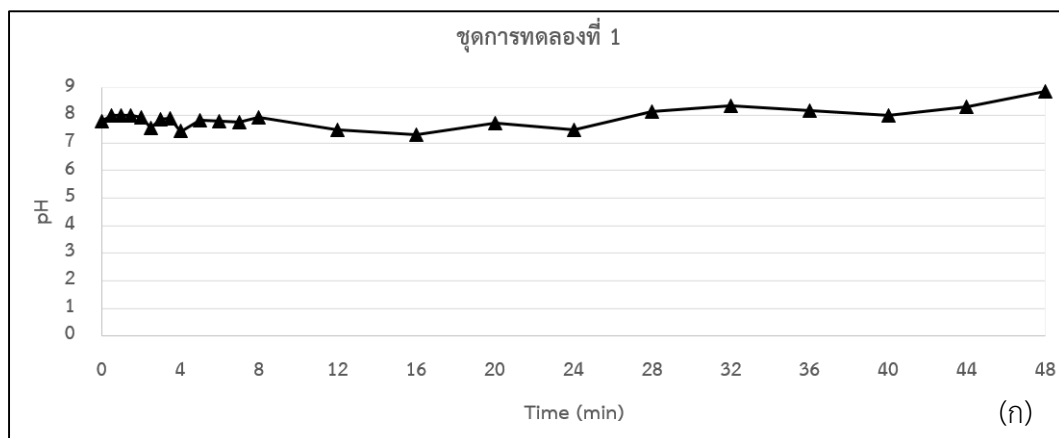


ภาพที่ 62 ปริมาณการใช้สารอินทรีย์สะสมและปริมาณพีเอชเอในระบบแบบ fed-batch ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินต่อระยะเวลาที่ขาดแคลน (feast/famine ratio) เป็น 0.33 (ชุดการทดลองที่ 3)

จากผลการทดลองข้างต้นพบว่าความสามารถของจุลินทรีย์ในระบบแบบ fed-batch ที่มีการเติมสารอาหารเข้าสู่ระบบอย่างต่อเนื่องสามารถผลิตพีเอชเอได้สูงขึ้นจากทดลองในระบบแบบแบทช์ ทั้งนี้ระบบแบบ fed-batch สามารถผลิตพีเอชเอได้สูงสุดร้อยละ 21.35 12.58 และ 8.01 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (%gPHA/gMLSS) ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหารเป็น 0.04 (ชุดการทดลองที่ 1) 0.25 (ชุดการทดลองที่ 2) และ 0.33 (ชุดการทดลองที่ 3) ซึ่งจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าค่าสัดส่วนของระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เท่ากับ 0.04 สามารถสะสมพีเอชเอได้สูงสุด โดยมีความสอดคล้องกับการทดลองในระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนและระบบแบบแบทช์ คือที่ค่าสัดส่วนส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหารน้อย ระบบจะสามารถผลิตพีเอชเอได้สูงสุด

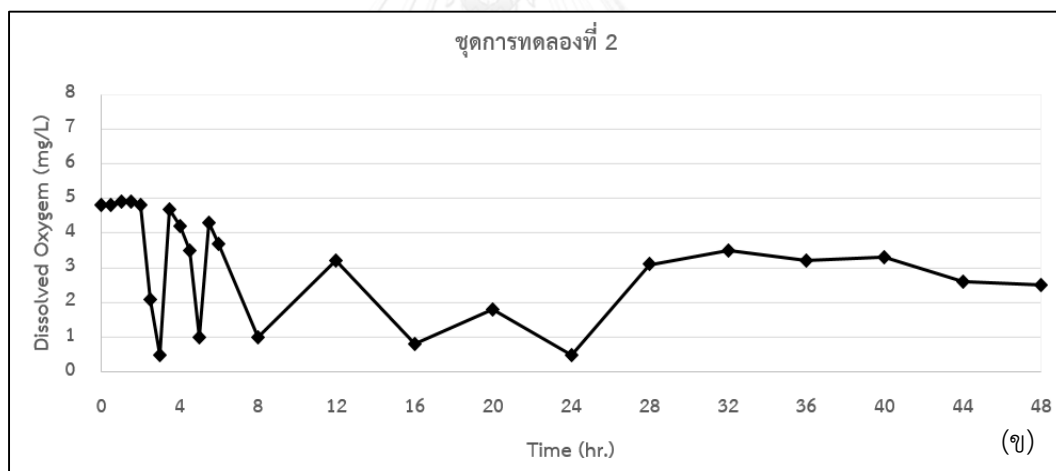
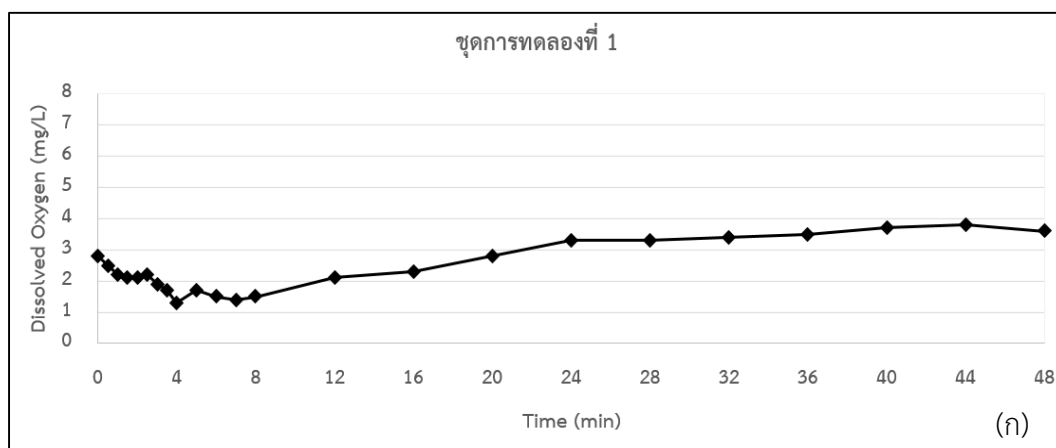
#### 4.2.3.2 ค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย และอุณหภูมิในระบบแบบ fed-batch

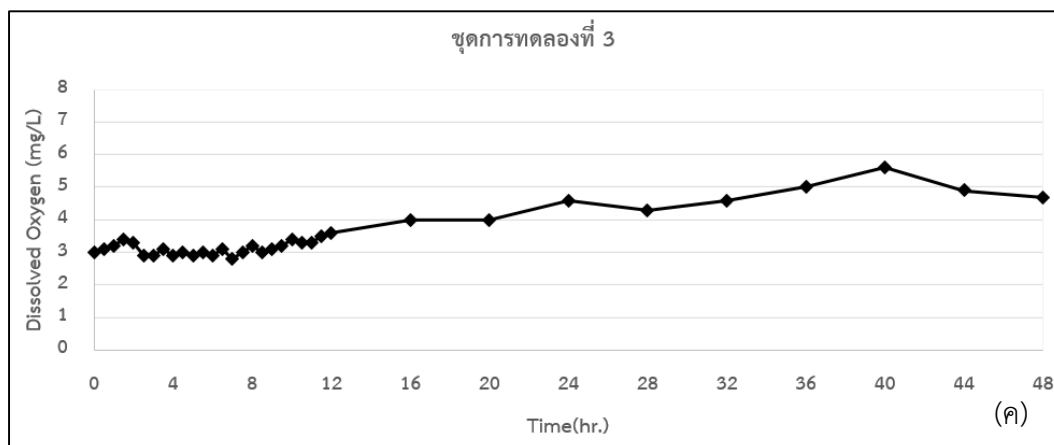
จากการวัดค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนละลาย และอุณหภูมิในระบบแบบ fed-batch เพื่อตรวจสอบสภาวะการเดินระบบแบบ fed-batch ของทั้ง 3 ชุดการทดลอง พบว่าที่ค่า feast/famine ratio เท่ากับ 0.04 0.15 และ 0.33 มีค่าพีเอชเฉลี่ยเท่ากับ  $7.9 \pm 0.35$   $8.63 \pm 0.17$  และ  $8.00 \pm 0.23$  ตามลำดับ โดยในการทดลองในระบบแบบ fed-batch นี้ไม่ได้ทำการควบคุมค่าพีเอชด้วยเครื่องควบคุมพีเอชอัตโนมัติ จึงทำให้ค่าพีเอชในการทดลองนี้มีค่าสูงตลอดการทดลอง แสดงดังภาพที่ 63



ภาพที่ 63 ค่าพีเอชในระบบแบบ fed-batch ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวน ผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 (ก.ชุดการทดลองที่ 1) 0.15 (ข. ชุดการทดลองที่ 2) และ 0.33 (ค.ชุดการทดลองที่ 3)

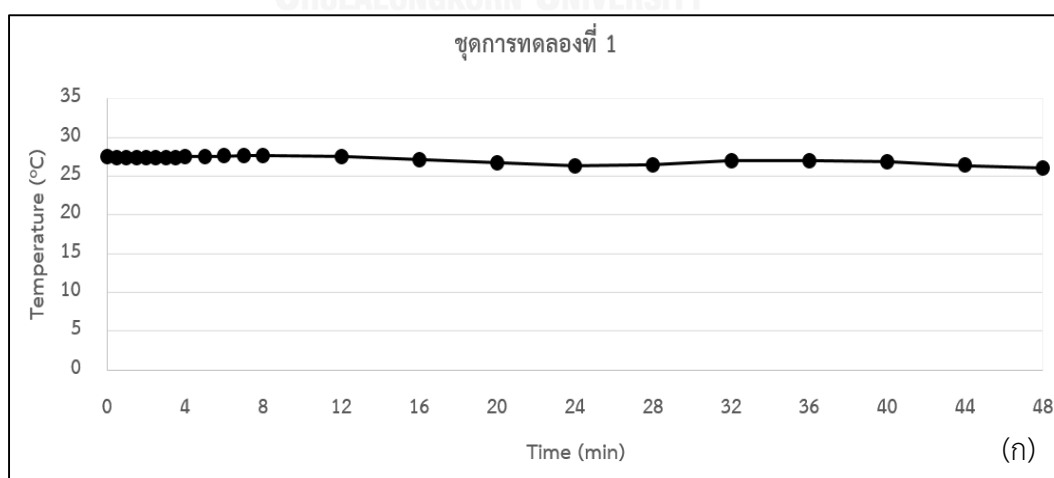
จากการวัดปริมาณออกซิเจนละลาย (ภาพที่ 64) พบว่าค่าออกซิเจนละลายในระบบแบบ fed-batch มีค่าค่อนข้างต่ำแต่มีแนวโน้มคงที่มากกว่าในระบบแบบแบทช์เนื่องจากจุลินทรีย์มีการใช้ออกซิเจนเพื่อย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ถูกเติมเข้าระบบอย่างต่อเนื่อง โดยค่าออกซิเจนละลายมีค่าเท่ากับ  $2.47 \pm 0.81$   $3.07 \pm 1.5$  และ  $3.5 \pm 0.74$  มิลลิกรัม/ลิตรในชุดการทดลองที่ 1 2 และ 3

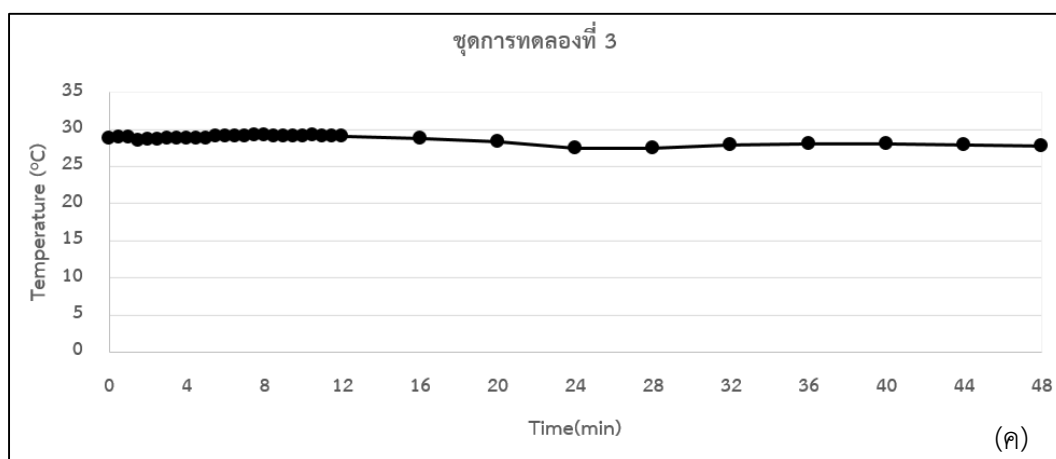
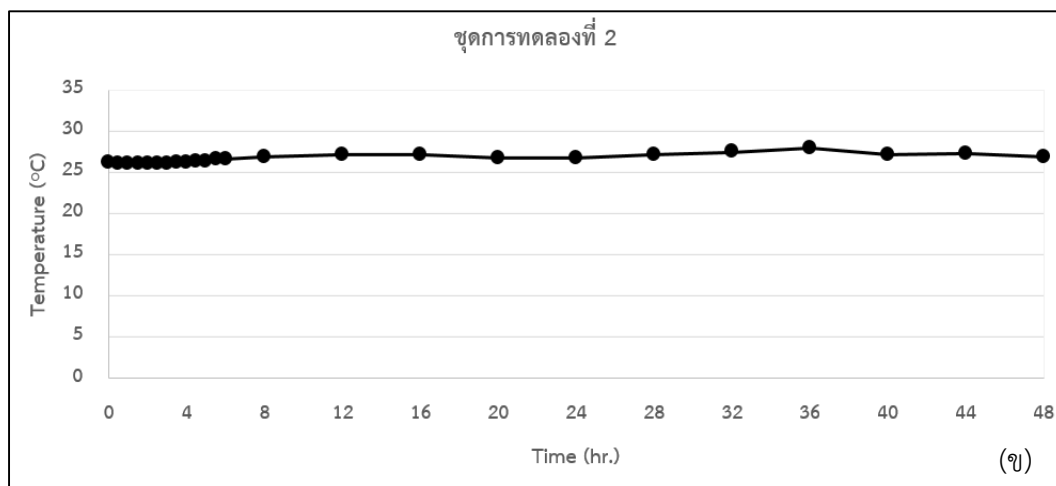




ภาพที่ 64 ค่าปริมาณออกซิเจนในระบบแบบ fed-batch ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถึงกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 (ก.ชุดการทดลองที่ 1) 0.15 (ข. ชุดการทดลองที่ 2) และ 0.33 (ค.ชุดการทดลองที่ 3)

สำหรับอุณหภูมิในระบบแบบ fed-batch ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถึงกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 0.15 และ 0.33 อยู่ในช่วง  $27.17 \pm 0.47$   $26.66 \pm 0.53$  และ  $28.7 \pm 0.52$  องศาเซลเซียส แสดงดังภาพที่ 65



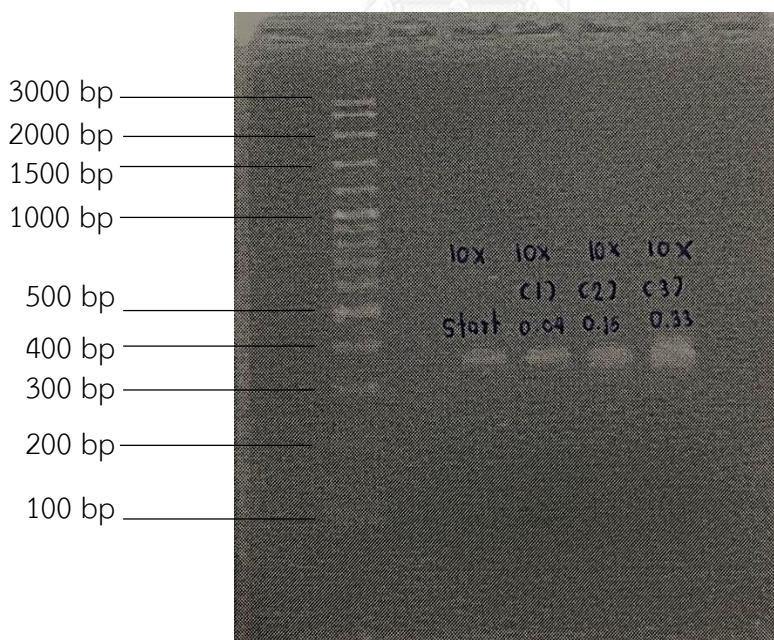


ภาพที่ 65 ค่าอุณหภูมิในระบบแบบ fed-batch ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถัง กวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 (ก.ชุดการทดลองที่ 1) 0.15 (ข. ชุดการทดลองที่ 2) และ 0.33 (ค.ชุดการทดลองที่ 3)

### 4.3 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบ

ผลการศึกษาความหลากหลายและการเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้น และตะกอนจุลินทรีย์ในแต่ละชุดการทดลองที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 0.15 และ 0.33 โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล คือ 16S rRNA gene amplicon sequencing เป็นดังนี้

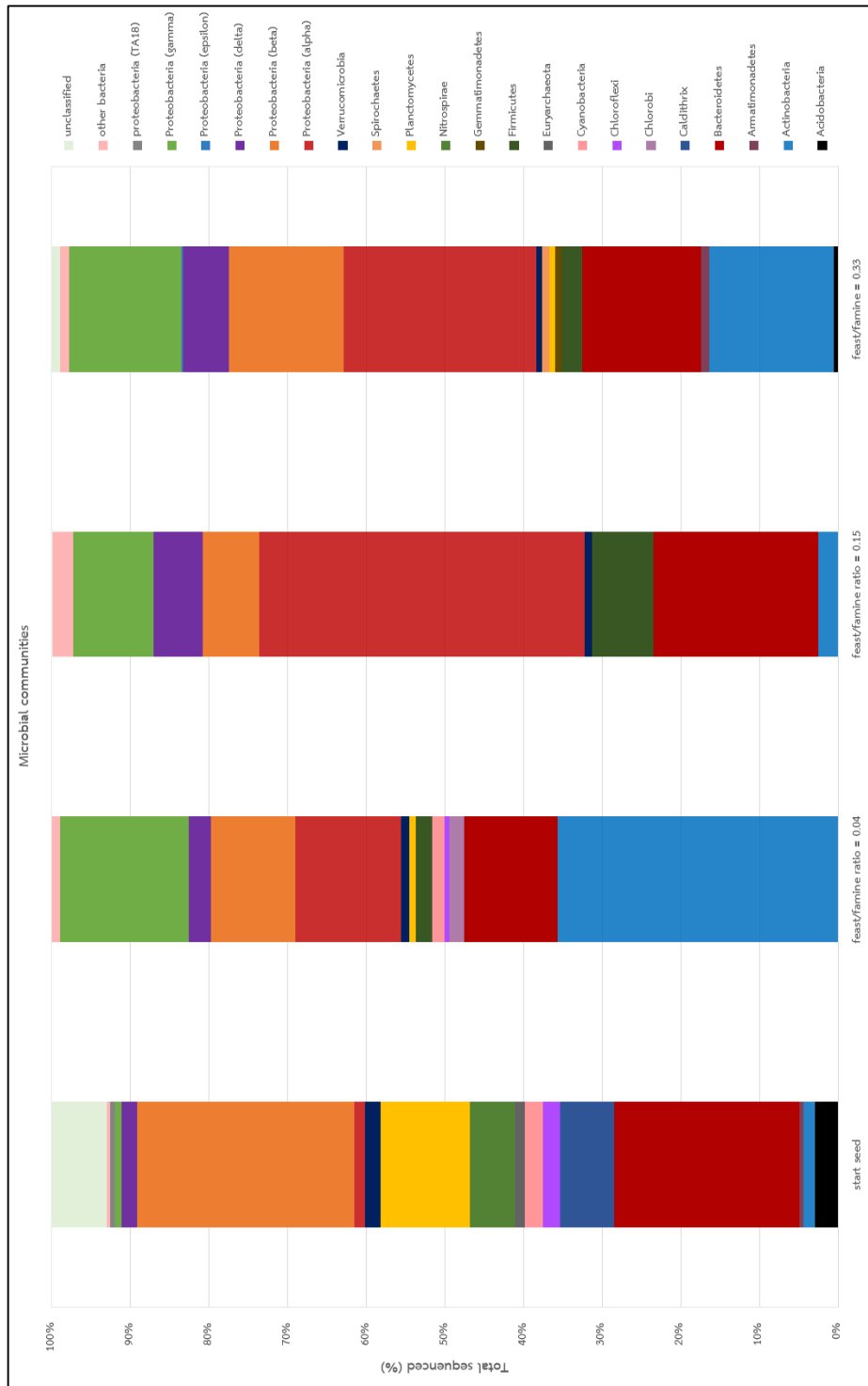
เมื่อนำตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 0.15 และ 0.33 มาสกัดดีเอ็นเอและเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอบริเวณ V4 region ของ 16S rRNA gene ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ F515 และ R806 ซึ่งครอบคลุมทั้งแบคทีเรียและอาร์เคีย ผลที่ได้จากการทำ PCR พบว่าสายดีเอ็นเอมีความยาวประมาณ 350 base pair แสดงดังภาพที่ 66 จากนั้นนำ PCR product ที่ได้ส่งไปยังศูนย์วิทยาศาสตร์โอมิกส์และชีวสารสนเทศ (Omics Science & Bioinformatics Center) คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่ออ่านลำดับเบสทั้งหมดของ 16S rRNA gene ด้วยระบบ Miseq (Illumina)



ภาพที่ 66 ผลการทำ PCR ของตะกอนจุลินทรีย์ตัวอย่าง



ผลจากการวิเคราะห์ลำดับเบสทั้งหมดของ 16S rRNA gene ในตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์ด้วยระบบ Miseq (Illumina) แจกแจงตามไฟล์ที่พบแสดงดังภาพที่ 67 จากผลการทดลองพบว่าไฟล์ที่พบมากที่สุดในทั้ง 3 ชุดการทดลองที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 0.15 และ 0.33 คือไฟล์ Proteobacteria ในคลาส Alphaproteobacteria และ Betaproteobacteria ซึ่งมีความแตกต่างกันในแง่ของจำนวนที่พบในแต่ละไฟล์ อาจเนื่องมาจากสภาวะในการเดินระบบที่แตกต่างกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร ซึ่งปัจจัยดังกล่าวนี้อาจมีผลต่อการคัดเลือกกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบ นอกจากนี้กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในทั้ง 3 ชุดการทดลองนั้นมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจนเมื่อเทียบตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้น โดยกลุ่มจุลินทรีย์เริ่มต้นจากโรงงานผลิตเครื่องดื่มผักและผลไม้ ประกอบด้วยคลาส Betaproteobacteria เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเด่น โดยมีแบคทีเรียในแฟมิลี Rhodocyclaceae เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเด่นในคลาสนี้ รองลงมาคือไฟล์ Bacteroidetes โดยมีแบคทีเรียในแฟมิลี Cryomorphaceae เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเด่นในไฟล์ ตามด้วยไฟล์ Caldithrix แต่อย่างไรก็ตามจากงานวิจัยที่ผ่านมาไม่เคยมีรายงานว่าจุลินทรีย์กลุ่มในไฟล์ Bacteroidetes และไฟล์ Caldithrix นี้สามารถสะสมพีเอชเอได้ ซึ่งหลังจากการคัดเลือกกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ขึ้นพบว่ากลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในคลาส Betaproteobacteria มีปริมาณลดลง ในขณะที่กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในคลาส Alphaproteobacteria มีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น แสดงให้เห็นว่าได้มีการคัดเลือกกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ขึ้นภายหลังจากการเดินระบบ



ภาพที่ 67 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์แยกตามไฟลัมที่พบในตะกอนจุลินทรีย์ในระบบตะกอนเร่งชนิดถัง กวนผสมแบบสมบูรณ์สองชั้นตอนในแต่ละชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยกลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอน

จากผลการวิเคราะห์พบว่ากลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นจากโรงงานผลิตเครื่องดื่มผักและผลไม้ (บริษัทท็อปโก้ เอฟ แอนด์ บี จำกัด) (ตารางที่ 17 และตารางที่ 18) ประกอบด้วยคลาส *Betaproteobacteria* เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเด่น คิดเป็นร้อยละ 27.7 ของลำดับเบสทั้งหมด โดยมีแบคทีเรียในแฟมิลี *Rhodocyclaceae* เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเด่นในคลาสนี้ รองลงมาคือไฟลัม *Bacteroidetes* คิดเป็นร้อยละ 23.6 ของลำดับเบสทั้งหมด โดยมีแบคทีเรียในแฟมิลี *Cryomorphaceae* เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเด่นในไฟลัม ตามด้วยไฟลัม *Caldithrix* คิดเป็นร้อยละ 6.9 ของลำดับเบสทั้งหมด

ตารางที่ 17 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นจากโรงงานผลิตเครื่องดื่มผักและผลไม้

กลุ่มจุลินทรีย์		ร้อยละของลำดับเบสทั้งหมด (%)
Unassigned		7.0
Other bacteria		0.4
ไฟลัม	<i>Armatimonadetes</i>	0.5
	<i>Euryarchaeota</i>	1.30
	<i>Actinobacteria</i>	1.5
	<i>Verrucomicrobia</i>	2.0
	<i>Chloroflexi</i>	2.1
	<i>Cyanobacteria</i>	2.3
	<i>Acidobacteria</i>	2.9
	<i>Nitrospirae</i>	5.7
	<i>Caldithrix</i>	6.9
	<i>Planctomycetes</i>	11.4
	<i>Bacteroidetes</i>	23.6
คลาส	<i>Proteobacteria (TA18)</i>	0.7
	<i>Proteobacteria (gamma)</i>	0.9
	<i>Proteobacteria (alpha)</i>	13
	<i>Proteobacteria (delta)</i>	1.9
	<i>Proteobacteria (beta)</i>	27.7

ตารางที่ 18 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่จำนวนลำดับเบสสูงสุด 5 อันดับแรกที่พบในตะกอนจุลินทรีย์ เริ่มต้นจากโรงงานผลิตเครื่องตีผักและผลไม้

กลุ่มจุลินทรีย์	ร้อยละของลำดับเบสทั้งหมด (%)
Family <i>Cryomorphaceae</i>	14.0
Family <i>Rhodocyclaceae</i>	11.1
Class <i>Betaproteobacteria</i>	7.3
Phylum <i>Caldithrix</i>	6.9
Others	7.0

จากผลการวิเคราะห์พบว่ากลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในตะกอนจุลินทรีย์จากชุดการทดลองที่ 1 ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 (ตารางที่ 19 และตารางที่ 20) ประกอบด้วยไฟลัม *Actinobacteria* คิดเป็นร้อยละ 35.60 ของลำดับเบสทั้งหมด โดยมี *Mycobacterium* spp. และ *Gordonia* spp. เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเด่นในไฟลัมนี้ รองลงมาคือคลาส *Gammaproteobacteria* คิดเป็นร้อยละ 16.30 ของลำดับเบสทั้งหมด โดยมี *Dokdonella* spp. เป็นจุลินทรีย์กลุ่มหลักในคลาสนี้ ตามด้วยคลาส *Alphaproteobacteria* คิดเป็นร้อยละ 13.5 ของลำดับเบสทั้งหมด ซึ่งมี *Rhodobacter* spp. เป็นจุลินทรีย์กลุ่มหลักในคลาสนี้ และคลาส *Betaproteobacteria* คิดเป็นร้อยละ 10.7 ของลำดับเบสทั้งหมด โดยมีแบคทีเรียในแฟมิลี *Comamonadaceae* เป็นจุลินทรีย์กลุ่มหลักในคลาสนี้

สำหรับ *Mycobacterium* นั้นเป็นจีโนมหนึ่งในไฟลัม *Actinobacteria* ซึ่งประกอบด้วยจุลินทรีย์มากกว่า 150 สายพันธุ์ ซึ่งมีบางสายพันธุ์เช่น *M. bovis* และ *M. tuberculosis* เป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค ซึ่งปัญหาด้านสุขภาพที่สำคัญ (J. W. Lee และคณะ, 2017) แต่อย่างไรก็ตามในงานวิจัยนี้ไม่สามารถระบุถึงสายพันธุ์ที่พบได้ และในปัจจุบันยังไม่พบรายงานที่ *Mycobacterium* สามารถสะสมฟิเอชเอได้ สำหรับ *Gordonia* spp. เป็นแบคทีเรียย้อมติดสีแกรมบวก ลักษณะเป็นเส้นใย ซึ่งมักพบในระบบบำบัดน้ำเสียแบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์และมีส่วนก่อให้เกิดปัญหาสลัดจ์ไม่จมตัว (sludge bulking) (Marrengane และคณะ, 2011) โดยปัจจุบันยังไม่พบรายงานที่จุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถสะสมฟิเอชเอได้ สำหรับ *Dokdonella* spp. นั้นเป็นแบคทีเรียย้อมติดสีแกรมลบ รูปท่อน เจริญเติบโตภายใต้สภาวะที่ใช้ออกซิเจน (Yoon, Kang และ Oh, 2006) ซึ่งใน

งานวิจัยของ Woraittinun และ Suwannasilp, (2017) พบว่า *Dokdonella spp.* เป็นจุลินทรีย์ที่พบเป็นจำนวนมากที่สุดในระบบถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเทที่ที่สามารถผลิตพีเอชเอได้โดยใช้โพรพิโอเนตเป็นแหล่งคาร์บอน อย่างไรก็ตามจากงานวิจัยที่ผ่านมาไม่เคยมีรายงานว่าจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถสะสมพีเอชเอได้ สำหรับ *Rhodobacter spp.* นั้นเป็นแบคทีเรียย้อมติดสีแกรมลบ เจริญเติบโตภายใต้สภาวะที่ใช้ออกซิเจน และใช้ไพรวุคและกลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอน (Srinivas และคณะ, 2008) ซึ่งมีรายงานว่าจุลินทรีย์กลุ่มนี้มีความสามารถในการสะสมพีเอชเอ (Koller และคณะ, 2010) นอกจากนี้จากงานวิจัยที่ผ่านมาเคยมีรายงานการตรวจพบแบคทีเรียในแฟมิลี *Comamonadaceae* ในระบบ fed-batch ซึ่งมีความสามารถในการผลิตพีเอชเอโดยใช้น้ำเสียจริงจากชุมชนเป็นสารตั้งต้น (Cavaille และคณะ, 2013) ซึ่งบางจีโนมของ *Comamonadaceae* เช่น *Comamonas* เคยมีรายงานถึงความสามารถในการสะสมพีเอชเอ (Koller และคณะ, 2010)

หากกล่าวโดยสรุปในชุดการทดลองที่ 1 ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 ตรวจพบ *Rhodobacter spp.* ในคลาส *Alphaproteobacteria* และแบคทีเรียในแฟมิลี *Comamonadaceae* ในคลาส *Betaproteobacteria* เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่เคยมีรายงานว่ามีความสามารถในการผลิตพีเอชเอ ซึ่งคาดว่าอาจมีบทบาทในการผลิตพีเอชเอในงานวิจัยนี้เช่นกัน

ตารางที่ 19 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากชุดการทดลองที่ 1 ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04

กลุ่มจุลินทรีย์		ร้อยละของลำดับเบสทั้งหมด (%)
Other bacteria		1.1
ไฟลัม	<i>Chloroflexi</i>	0.6
	<i>Planctomycetes</i>	0.8
	<i>Verrucomicrobia</i>	1.0
	<i>Cyanobacteria</i>	1.6
	<i>Chlorobi</i>	1.9
	<i>Firmicutes</i>	2.1
	<i>Bacteroidetes</i>	11.90
	<i>Actinobacteria</i>	35.60
คลาส	<i>Proteobacteria (delta)</i>	2.80
	<i>Proteobacteria (beta)</i>	10.70
	<i>Proteobacteria (alpha)</i>	13.50
	<i>Proteobacteria (gamma)</i>	16.30

ตารางที่ 20 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่จำนวนลำดับเบสสูงสุด 5 อันดับแรกที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากชุดการทดลองที่ 1 ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04

กลุ่มจุลินทรีย์	ร้อยละของลำดับเบสทั้งหมด (%)
Genus <i>Mycobacterium</i>	26.30
Genus <i>Dokdonella</i>	12.20
Genus <i>Gordonia</i>	7.6
Genus <i>Rhodobacter</i>	5.5
Family <i>Comamonadaceae</i>	5.1

จากผลการวิเคราะห์พบว่ากลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในตะกอนจุลินทรีย์จากชุดการทดลองที่ 2 ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.15 (ตารางที่ 21 และตารางที่ 22) ประกอบด้วยคลาส *Alphaproteobacteria* คิดเป็นร้อยละ 41.3 ของลำดับเบสทั้งหมด โดยมีแบคทีเรียออกเดอไร *Rhizobiales* และแบคทีเรียในแฟมิลี *Xanthobacteraceae* เป็นจุลินทรีย์กลุ่มสำคัญที่พบในคลาสนี้ รองลงมาคือไฟลัม *Bacteroidetes* คิดเป็นร้อยละ 20.9 ของลำดับเบสทั้งหมด โดยมี *Dysgonomonas* spp. เป็นจุลินทรีย์กลุ่มหลักและแบคทีเรียในแฟมิลี *Porphyromonadaceae* ตามด้วยคลาส *Deltaproteobacteria* คิดเป็นร้อยละ 6.3 ของลำดับเบสทั้งหมด

จากงานวิจัยที่ผ่านมาเคยมีรายงานว่าแบคทีเรียในออกเดอไร *Rhizobiales*. เช่น *Methylobacterium* spp. และแบคทีเรียในแฟมิลี *Xanthobacteraceae* เช่น *Xanthobacter* มีความสามารถสะสมในการสะสมฟิเอซเอ (Koller และคณะ, 2010) แต่สำหรับ *Dysgonomonas* spp. และแบคทีเรียในแฟมิลี *Porphyromonadaceae* ซึ่งอยู่ในไฟลัม *Bacteroidetes* นั้นยังไม่มีเคยมีรายงานว่าสามารถสะสมฟิเอซเอได้ อย่างไรก็ตามจุลินทรีย์ในไฟลัม *Bacteroidetes* มีบทบาทในการย่อยสลายโปรตีนและสามารถพบได้ทั่วไปในระบบบำบัดน้ำเสียแบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์ (Woraittinun และ Suwannasilp, 2017) สำหรับการพบ *Desulfovibrio* spp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียกลุ่มไร้อากาศนั้นค่อนข้างเป็นที่น่าแปลกใจ ซึ่งอาจเกิดจากการเก็บตัวอย่างที่ไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอ อย่างไรก็ตามจุลินทรีย์กลุ่มนี้ไม่มีความสามารถในการสะสมฟิเอซเอ

หากกล่าวโดยสรุปกลุ่มจุลินทรีย์ที่เคยมีรายงานถึงความสามารถในการสะสมฟิเอซเอในชุดการทดลองที่ 2 ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.15 ประกอบด้วยแบคทีเรียในออกเดอไร *Rhizobiales* และแบคทีเรียในแฟมิลี *Xanthobacteraceae* ในคลาส *Alphaproteobacteria*

ตารางที่ 21 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากชุดการทดลองที่ 2 ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.15

กลุ่มจุลินทรีย์		ร้อยละของลำดับเบสทั้งหมด (%)
Unassigned		0.1
Other bacteria		2.6
ไฟลัม	<i>Verrucomicrobia</i>	0.9
	<i>Actinobacteria</i>	2.5
	<i>Firmicutes</i>	7.9
	<i>Bacteroidetes</i>	20.9
คลาส	<i>Proteobacteria (delta)</i>	6.3
	<i>Proteobacteria (beta)</i>	7.2
	<i>Proteobacteria (gamma)</i>	10.2
	<i>Proteobacteria (alpha)</i>	41.3

ตารางที่ 22 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่จำนวนลำดับเบสสูงสุด 5 อันดับแรกที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากชุดการทดลองที่ 2 ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.15

กลุ่มจุลินทรีย์	ร้อยละของลำดับเบสทั้งหมด (%)
Order <i>Rhizobiales</i>	30.2
Genus <i>Desulfovibrio</i>	5.9
Genus <i>Dysgonomonas</i>	5.5
Family <i>Xanthobacteraceae</i>	5.4
Family <i>Porphyromonadaceae</i>	5.1



จากผลการวิเคราะห์พบว่ากลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในตะกอนจุลินทรีย์จากชุดการทดลองที่ 3 ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.33 (ตารางที่ 23 และตารางที่ 24) ประกอบด้วยคลาส *Alphaproteobacteria* คิดเป็นร้อยละ 24.5 ของลำดับเบสทั้งหมด โดยพบแบคทีเรียในออเดอร์ *Rhizobiales* และ *Rhodobacter* spp. เป็นจุลินทรีย์กลุ่มสำคัญในคลาสนี้ รองลงมาคือไฟลัม *Actinobacteria* คิดเป็นร้อยละ 15.9 ของลำดับเบสทั้งหมด โดยมี *Gordonia* spp. เป็นจุลินทรีย์กลุ่มหลักในคลาสนี้ ตามด้วยคลาส *Betaproteobacteria* คิดเป็นร้อยละ 14.6 ของลำดับเบสทั้งหมด โดยพบแบคทีเรียในแฟมิลี *Comamonadaceae* เป็นจุลินทรีย์กลุ่มหลักในคลาส และพบจุลินทรีย์คลาส *Gammaproteobacteria* คิดเป็นร้อยละ 14.3 ของลำดับเบสทั้งหมด โดยพบ *Dokdonella* spp. เป็นจุลินทรีย์กลุ่มหลักในคลาสนี้

สำหรับแบคทีเรียในออเดอร์ *Rhizobiales* เช่น *Methylobacterium* spp. รวมถึง *Rhodobacter* spp. และแบคทีเรียในแฟมิลี *Comamonadaceae* จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า จุลินทรีย์กลุ่มเหล่านี้สามารถสะสมฟิเอชเอได้ ดังที่กล่าวมาแล้วในผลการทดลองของชุดการทดลองที่ 1 และ 2 ส่วน *Gordonia* spp. และ *Dokdonella* spp. จากงานวิจัยที่ผ่านมาไม่เคยมีรายงานว่า จุลินทรีย์สองกลุ่มนี้สามารถสะสมฟิเอชเอได้

ทั้งนี้กลุ่มจุลินทรีย์ที่เคยมีรายงานว่ามีความสามารถสะสมฟิเอชเอในชุดการทดลองที่ 3 ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.33 ประกอบด้วย แบคทีเรียในออเดอร์ *Rhizobiales* และ *Rhodobacter* spp. ในคลาส *Alphaproteobacteria* และ แบคทีเรียในแฟมิลี *Comamonadaceae* ในคลาส *Betaproteobacteria*

ตารางที่ 23 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากชุดการทดลองที่ 3 ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.33

กลุ่มจุลินทรีย์		ร้อยละของลำดับเบสทั้งหมด (%)
Unassigned		1.1
Other bacteria		1.1
ไฟลัม	<i>Acidobacteria</i>	0.5
	<i>Planctomycetes</i>	0.7
	<i>Verrucomicrobia</i>	0.8
	<i>Spirochaetes</i>	0.9
	<i>Gemmatimonadetes</i>	0.9
	<i>Armatimonadetes</i>	1.0
	<i>Firmicutes</i>	2.6
	<i>Bacteroidetes</i>	15.1
	<i>Actinobacteria</i>	15.9
คลาส	<i>Proteobacteria (epsilon)</i>	0.2
	<i>Proteobacteria (delta)</i>	5.8
	<i>Proteobacteria (gamma)</i>	14.3
	<i>Proteobacteria (beta)</i>	14.6
	<i>Proteobacteria (alpha)</i>	24.5

ตารางที่ 24 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่จำนวนลำดับเบสสูงสุด 5 อันดับแรกที่พบในตะกอนจุลินทรีย์จากชุดการทดลองที่ 3 ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.33

กลุ่มจุลินทรีย์	ร้อยละของลำดับเบสทั้งหมด (%)
Genus <i>Gordonia</i>	14.0
Genus <i>Dokdonella</i>	9.8
Orders <i>Rhizobiales</i>	9.2
Genus <i>Rhodobacter</i>	8.5
Family <i>Comamonadaceae</i>	7.6

จากผลการวิเคราะห์กลุ่มประชากรจุลินทรีย์จะสังเกตได้ว่ากลุ่มจุลินทรีย์ที่เคยมีรายงานถึงความสามารถในการสะสมฟิเอชเอที่พบในงานวิจัยนี้ ได้แก่ *Rhodobacter* spp. แบคทีเรียในแฟมิลี *Comamonadaceae* แบคทีเรียในอเดอร์ *Rhizobiales* และแบคทีเรียในแฟมิลี *Xanthobacteraceae* ซึ่งกลุ่มจุลินทรีย์ดังกล่าวล้วนแล้วแต่อยู่ในคลาส *Alphaproteobacteria* และ *Betaproteobacteria* จึงอาจกล่าวได้ว่าจุลินทรีย์ในคลาสเหล่านี้คาดว่าจะมีบทบาทสำคัญในการผลิตฟิเอชเอในระบบ

นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์จุลินทรีย์ในงานวิจัยนี้กับงานวิจัยที่ผ่านมาแล้วพบว่าสอดคล้องกับงานวิจัยของ ดลหทัย สรวมศิริ, 2560 ซึ่งทำการวิเคราะห์และคาดการณ์จุลินทรีย์ในระดับที่ลึกกว่าคลาสใน *Proteobacteria* ที่มีความสามารถในการผลิตและสะสมฟิเอชเอโดยใช้เทคนิค 16S rRNA gene amplicon sequencing ร่วมกับเทคนิค FISH และการย้อมสีฟิเอชเอด้วย Nile Blue A ในระบบถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเตด้วยอะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งพบแบคทีเรียในในคลาส *Alphaproteobacteria* และ *Betaproteobacteria* เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเด่นเช่นกันกับงานวิจัยนี้ โดยแบคทีเรียในคลาส *Betaproteobacteria* พบประชากร *Thauera* spp. เป็นจุลินทรีย์กลุ่มเด่นในคลาส คิดเป็นร้อยละ 48.88 ของลำดับเบสทั้งหมด รองลงมาคือ แบคทีเรียในแฟมิลี *Comamonadaceae* ร้อยละ 0.3 โดยงานวิจัยนี้พบแบคทีเรียในแฟมิลี *Comamonadaceae* เช่นกันเมื่อใช้กลีเซอรอลเป็นสารตั้งต้น ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 5.1 ของลำดับเบสทั้งหมดในตะกอนจุลินทรีย์จากชุดการทดลองที่ 1 ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 และคิดเป็นร้อยละ 7.6 ของลำดับเบสทั้งหมดในตะกอนจุลินทรีย์จากชุดการทดลองที่ 2 ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.15

โดยในงานวิจัยของ ดลหทัย สรวมศิริ, 2560 พบแบคทีเรียในในคลาส *Alphaproteobacteria* ได้แก่ *Hyphomonas* ร้อยละ 3.84 *Caulobacteraceae* ร้อยละ 2.21 *Sphingopyxis* ร้อยละ 0.27 และ *Amaricoccus* ร้อยละ 0.16 โดยแบคทีเรียในคลาส *Alphaproteobacteria* ที่พบในงานวิจัยนี้ประกอบด้วย *Rhodobacter* spp. และแบคทีเรียในอเดอร์ *Rhizobiales* ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบถังปฏิกรณ์แบบกึ่งเต อาจเป็นเพราะปัจจัยในการเดินระบบเช่น สารตั้งต้น โดยกลีเซอรอลนั้นมีแนวโน้มที่จะนำมาใช้ผลิตฟิเอชเอได้ยากกว่ากรดอินทรีย์ เช่น อะซิเตท และโพรพิโอเนต ซึ่งเป็น

สารอินทรีย์กลุ่มหลักที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอน จึงอาจส่งผลให้กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในระบบ  
หลังจากการผ่านคัดเลือกมีความแตกต่างกัน



## บทที่ 5

### สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลงานวิจัย

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาผลกระทบของสัดส่วนของระยะเวลาที่เก็บน้ำในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ขั้นตอนที่ 1 (ช่วงอาหารเกินพอ) และขั้นตอนที่ 2 (ช่วงขาดแคลนอาหาร) ซึ่งจะสื่อถึงสัดส่วนของระยะเวลาที่มีอาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) ต่อการผลิตพีเอชเอในระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน สำหรับตะกอนจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมที่ได้มาจากตะกอนจุลินทรีย์ส่วนเกินจากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานผลิตน้ำผลไม้ (บริษัท ทิปโก้ เอฟแอนด์บี จำกัด) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ชุดการทดลองที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหารที่แตกต่างกันเป็น 0.15 0.23 และ 0.33 ด้วยการใช้น้ำเสียสังเคราะห์ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นกลีเซอรอลความเข้มข้น 1,500 มิลลิกรัมซีไอดี/ลิตร และทำการปรับค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหารที่แตกต่างกันเป็น 0.04 0.15 และ 0.33 ร่วมกับการใช้น้ำเสียสังเคราะห์ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นกลีเซอรอลความเข้มข้น 3,000 มิลลิกรัมซีไอดี/ลิตร เพื่อศึกษาการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตพีเอชเอในช่วงที่มีอาหารเกินพอสลับกับขาดแคลน นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาปริมาณพีเอชเอที่เกิดขึ้นและถูกใช้ไปในระบบแบบแบทช์ การศึกษาความสามารถในการสะสมพีเอชเอสูงสุดในระบบแบบ fed-batch และการศึกษาการเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล คือ 16S rRNA gene amplicon sequencing ด้วย Miseq System (Illumina) โดยจากการทดลองสามารถสรุปผลได้ดังนี้

1. ตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงในระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน ด้วยการใช้ น้ำเสียที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นกลีเซอรอลความเข้มข้น 1,500 มิลลิกรัมซีไอดี/ลิตร ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหารเป็น 0.04 0.15 และ 0.33 โดยได้ปริมาณพีเอชเอสูงสุดร้อยละ 16.71 2.6 และ 1.68 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (%gPHA/gMLSS) ตามลำดับชุดการทดลองที่ 1 2 และ 3

2. ตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงในระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน ด้วยการใช้ น้ำเสียที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นกลีเซอรอลความเข้มข้น 3,000 มิลลิกรัมซีไอดี/ลิตร ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหารเป็น 0.04 0.15 และ 0.33 โดยได้ปริมาณพีเอชเอสูงสุดร้อยละ 20.06 13.67 และ 8.95 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (%gPHA/gMLSS) ตามลำดับชุดการทดลองที่ 1 2 และ 3

3. การเพิ่มความเข้มข้นของกลีเซอรอลที่ป้อนเข้าสู่ระบบจาก 1,500 มิลลิกรัม-ซีไอดี/ลิตร เป็น 3,000 มิลลิกรัมซีไอดี/ลิตร กลับส่งผลให้ปริมาณพีเอชเอที่ผลิตได้มีค่าน้อยลงในช่วงแรก แต่มีปริมาณพีเอชเอเพิ่มสูงขึ้นในภายหลัง ทั้งนี้การเพิ่มความเข้มข้นกลีเซอรอลที่ป้อนเข้าสู่ระบบนั้นส่งผลต่อการเกิดสภาวะอาหารเกินพอ (feast phase) ในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 1 ซึ่งความเข้มข้นของสารอินทรีย์ในถังควรมีค่าสูง แต่ก็ส่งผลเสียต่อสภาวะขาดแคลนอาหาร (famine phase) ในถังกวนผสมแบบสมบูรณ์ถึงที่ 2 เช่นกัน

4. ตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงในระบบแบบแบทช์ ด้วยด้วยการใช้น้ำเสียที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นกลีเซอรอลความเข้มข้น 3,000 มิลลิกรัมซีไอดี/ลิตร ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหารเป็น 0.04 0.15 และ 0.33 โดยได้ปริมาณพีเอชเอสูงสุดร้อยละ 7.61 7.51 และ 3.92 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (%gPHA/gMLSS) ตามลำดับชุดการทดลองที่ 1 2 และ 3 จุลินทรีย์สามารถใช้สารอาหารและผลิตพีเอชเอสะสมไว้ภายในเซลล์ควบคู่ไปกับการเจริญเติบโตของเซลล์ในช่วงแรกที่ยังคงมีอาหารเกินพอ (feast phase) จากนั้นในช่วงขาดแคลนอาหาร (famine phase) จุลินทรีย์จึงนำพีเอชเอที่สะสมไว้ภายในเซลล์มาใช้เป็นแหล่งอาหารต่อไป ซึ่งจะเห็นได้จากช่วงท้ายของการเดินระบบพีเอชเอมีปริมาณลดลงเกือบเท่าปริมาณพีเอชเอตอนเริ่มต้น โดยที่ค่าสัดส่วนส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหารน้อย (feast/famine ratio เท่ากับ 0.04 ระบบสามารถผลิตพีเอชเอได้สูงสุด ซึ่งมีความสอดคล้องกับการทดลองในระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน

5. ตะกอนจุลินทรีย์ที่เลี้ยงในระบบแบบ fed-batch ซึ่งมีการเติมกลีเซอรอลเข้าสู่ระบบอย่างต่อเนื่อง ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหารเป็น 0.04 0.15 และ 0.33 โดยได้ปริมาณพีเอชเอสูงสุดร้อยละ 21.35 12.58 และ 8.01 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักแห้ง (%gPHA/gMLSS) โดยในระบบแบบ fed-batch จุลินทรีย์สามารถผลิตพีเอชเอได้สูงสุด หลังจากการเติมสารอินทรีย์เข้าสู่ระบบอย่างต่อเนื่อง โดยที่ค่าสัดส่วนส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหารน้อย (feast/famine ratio เท่ากับ 0.04 ) ระบบสามารถผลิตพีเอชเอได้สูงสุด ซึ่งมีความสอดคล้องกับการทดลองในระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนและระบบแบบแบทช์

6. จากการวิเคราะห์กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบโดยใช้เทคนิค 16S rRNA gene amplicon sequencing ด้วย Miseq System (Illumina) ในระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน พบกลุ่มจุลินทรีย์ที่เคยมีรายงานว่าสามารถสะสมพีเอชเอได้ในงานวิจัยที่ผ่านมา

ดังนั้น พบ *Rhodobacter spp.* และแบคทีเรียในแฟมิลี *Comamonadaceae* ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 ซึ่งเป็นชุดการทดลองที่สามารถผลิตฟิเอชเอได้สูงสุด พบแบคทีเรียในออคเตอร์ *Rhizobiales* และแบคทีเรียในแฟมิลี *Xanthobacteraceae* ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.15 และพบแบคทีเรียในออคเตอร์ *Rhizobiales Rhodobacter spp.* และแบคทีเรียในแฟมิลี *Comamonadaceae* ที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.33



## 5.2 ข้อเสนอแนะ

1. งานวิจัยในอนาคตควรมีการศึกษาหาสภาวะในการเดินระบบบำบัดแบบต่อเนื่องที่เหมาะสม เพื่อให้จุลินทรีย์มีความสามารถในการผลิตพีเอชเอได้มากขึ้น เช่น ความเข้มข้นของซีไอดีเริ่มต้นที่เข้าระบบ ระยะเวลาในการกักเก็บน้ำ (HRT) ในแต่ละขั้นตอน ระยะเวลาในการกักเก็บตะกอน (SRT) ค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนและค่าสัดส่วนอาหารต่อจุลินทรีย์ (F/M ratio) เป็นต้น

2. สภาวะในการเดินระบบแบบ fed-batch อาจสามารถมีการปรับปรุงให้เหมาะสมยิ่งขึ้น เพื่อให้จุลินทรีย์มีความสามารถในการสะสมพีเอชเอสูงมากขึ้น เช่น ปรับเปลี่ยนอัตราการป้อนสารอินทรีย์เข้าสู่ระบบให้เหมาะสมยิ่งขึ้น และอาศัยการจำกัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสอย่างมีประสิทธิภาพเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในระบบแบบ fed-batch

3. อาจมีการใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลเพิ่มเติมเพื่อศึกษากลุ่มจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่สะสมพีเอชเอที่แท้จริงในระบบถึงปฏิกิริยาแบบต่อเนื่องที่ให้กลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอน เช่น การใช้เทคนิค Fluorescence In-situ Hybridization (FISH) ร่วมกับการย้อมสีพีเอชเอด้วย Nile blue A ซึ่งเป็นสีฟลูออเรสเซนต์ ซึ่งจะช่วยให้เพิ่มความเข้าใจเกี่ยวกับการสะสมพีเอชเอในระบบที่ประกอบด้วยจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมภายใต้สภาวะที่มีอาหารเกินพอสลั้กับขาดแคลนมากยิ่งขึ้น

4. ควรมีการสกัดโพลีเมอร์ที่ผลิตได้จากตะกอนจุลินทรีย์ เพื่อศึกษาโครงสร้างพีเอชเอ คุณสมบัติทางความร้อนของพีเอชเอ และอาจนำมาทำการขึ้นรูป และวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเชิงกลต่าง ๆ เช่น ค่าความเหนียว (toughness) ค่าต้านทางแรงดึง (tensile strength) และค่าเปอร์เซ็นต์การยืดตัวก่อนขาด (elongation to break) เพื่อศึกษาคุณสมบัติของพีเอชเอที่ผลิตได้โดยนำไปเปรียบเทียบกับโพลีโพรพิลีนซึ่งเป็นพลาสติกที่สังเคราะห์ขึ้นมาจากปิโตรเคมี และเพื่อดูแนวโน้มการนำไปใช้ประโยชน์ในด้านการแพทย์ ด้านการเกษตร และผลิตภัณฑ์ต่างๆ ในอนาคตของพีเอชเอที่ผลิตได้จากตะกอนจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสม



## รายการอ้างอิง

- Albuquerque, M., Concas, S., Bengtsson, S., & Reis, M. (2010). Mixed culture polyhydroxyalkanoates production from sugar molasses: the use of a 2-stage CSTR system for culture selection. *Bioresource Technology*, 101(18), 7112-7122.
- Anterrieu, S., Quadri, L., Geurkink, B., Dinkla, I., Bengtsson, S., Arcos-Hernandez, M., . . . Werker, A. (2014). Integration of biopolymer production with process water treatment at a sugar factory. *New Biotechnology*, 31(4), 308-323. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nbt.2013.11.008>
- Bengtsson, S., Werker, A., Christensson, M., & Welander, T. (2008). Production of polyhydroxyalkanoates by activated sludge treating a paper mill wastewater. *Bioresource Technology*, 99(3), 509-516. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2007.01.020>
- Cavaillé, L., Grousseau, E., Pocquet, M., Lepeuple, A.-S., Uribelarrea, J.-L., Hernandez-Raquet, G., & Paul, E. (2013). Polyhydroxybutyrate production by direct use of waste activated sludge in phosphorus-limited fed-batch culture. *Bioresource Technology*, 149, 301-309.
- Cech, J. S., & Hartman, P. (1990). Glucose induced break down of enhanced biological phosphate removal. *Environmental Technology*, 11(7), 651-656. doi: 10.1080/09593339009384907
- Chakravarty, P., Mhaisalkar, V., & Chakrabarti, T. (2010). Study on polyhydroxyalkanoate (PHA) production in pilot scale continuous mode wastewater treatment system. *Bioresource Technology*, 101(8), 2896-2899. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2009.11.097>
- Chanprateep, S. (2010). Current trends in biodegradable polyhydroxyalkanoates. *Journal of bioscience and bioengineering*, 110(6), 621-632.
- Chanprateep, S., Katakura, Y., Visetkoop, S., Shimizu, H., Kulpreecha, S., & Shioya, S. (2008). Characterization of new isolated *Ralstonia eutropha* strain A-04 and kinetic study of biodegradable copolyester poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate) production. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 35(11), 1205-1215. doi: 10.1007/s10295-008-0427-5

- Ding, K., Wen, X., Li, Y., Shen, B., & Zhang, B. (2014). Ammonia-oxidizing archaea versus bacteria in two soil aquifer treatment systems. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(3), 1337-1347. doi: 10.1007/s00253-014-6188-3
- Dionisi, D., Carucci, G., Papini, M. P., Riccardi, C., Majone, M., & Carrasco, F. (2005). Olive oil mill effluents as a feedstock for production of biodegradable polymers. *Water Research*, 39(10), 2076-2084. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2005.03.011>
- Dobroth, Z. T., Hu, S., Coats, E. R., & McDonald, A. G. (2011). Polyhydroxybutyrate synthesis on biodiesel wastewater using mixed microbial consortia. *Bioresource Technology*, 102(3), 3352-3359. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.11.053>
- Fakas, S., Makri, A., & Aggelis, G. (2009). Pathways to Aerobic Glycerol Catabolism.
- Johnson, K., Jiang, Y., Kleerebezem, R., Muyzer, G., & van Loosdrecht, M. C. M. (2009). Enrichment of a Mixed Bacterial Culture with a High Polyhydroxyalkanoate Storage Capacity. *Biomacromolecules*, 10(4), 670-676. doi: 10.1021/bm8013796
- Johnson, K., van Geest, J., Kleerebezem, R., & van Loosdrecht, M. C. M. (2010). Short- and long-term temperature effects on aerobic polyhydroxybutyrate producing mixed cultures. *Water Research*, 44(6), 1689-1700. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2009.11.022>
- Koller, M., Salerno, A., Dias, M., Reiterer, A., & Brauneegg, G. (2010). Modern biotechnological polymer synthesis: a review. *Food technology and biotechnology*, 48(3), 255-269.
- Krishna, Chundakkadu, Van Loosdrecht, & M., M. C. (1999). Effect of temperature on storage polymers and settleability of activated sludge. *Water Research*, 33(10), 2374-2382. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0043-1354\(98\)00445-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0043-1354(98)00445-X)
- Kumar, M., Mudliar, S. N., Reddy, K. M. K., & Chakrabarti, T. (2004). Production of biodegradable plastics from activated sludge generated from a food processing industrial wastewater treatment plant. *Bioresource Technology*, 95(3), 327-330. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2004.02.019>
- Lee, J. W., Parlane, N. A., Rehm, B. H., Buddle, B. M., & Heiser, A. (2017). Engineering mycobacteria for the production of self-assembling biopolyesters displaying

- mycobacterial antigens for use as a tuberculosis vaccine. *Applied and environmental microbiology*, 83(5), e02289-02216.
- Lee, S. Y., & Chang, H. N. (1995). Production of poly(3-hydroxybutyric acid) by recombinant *Escherichia coli* strains: genetic and fermentation studies. *Can J Microbiol*, 41 Suppl 1, 207-215.
- Liu, H.-Y., Hall, P. V., Darby, J. L., Coats, E. R., Green, P. G., & Thompson, D. E. (2008). Production of polyhydroxyalkanoate during treatment of tomato cannery wastewater. *Water Environ Res.*, 80. doi: 10.2175/106143007x221535
- Luengo, J. M., García, B., Sandoval, A., Naharro, G., & Olivera, E. a. R. (2003). Bioplastics from microorganisms. *Current Opinion in Microbiology*, 6(3), 251-260. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S1369-5274\(03\)00040-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1369-5274(03)00040-7)
- Marrengane, Z., Kumar, S. K. S., Pillay, L., & Bux, F. (2011). Rapid quantification and analysis of genetic diversity among *Gordonia* populations in foaming activated sludge plants. *Journal of basic microbiology*, 51(4), 415-423.
- Moita, R., Freches, A., & Lemos, P. C. (2014). Crude glycerol as feedstock for polyhydroxyalkanoates production by mixed microbial cultures. *Water Research*, 58, 9-20. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2014.03.066>
- Moralejo-Gárate, H., Kleerebezem, R., Mosquera-Corral, A., Campos, J. L., Palmeiro-Sánchez, T., & van Loosdrecht, M. C. M. (2014). Substrate versatility of polyhydroxyalkanoate producing glycerol grown bacterial enrichment culture. *Water Research*, 66, 190-198. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2014.07.044>
- Moralejo-Garate, H., Mar'atusalihat, E., Kleerebezem, R., & van Loosdrecht, M. C. (2011). Microbial community engineering for biopolymer production from glycerol. *Appl Microbiol Biotechnol*, 92(3), 631-639. doi: 10.1007/s00253-011-3359-3
- Ojumu, T. V., Yu, J., & Solomon, B. O. (2004). Production of Polyhydroxyalkanoates, a bacterial biodegradable polymer. *African Journal of Biotechnology*, 3(1), 18-24. doi: 10.5897/ajb2004.000-2004
- Paul, E., Neuhauser, E., & Liu, Y. (2012). Biodegradable bioplastics from fermented sludge, wastes, and effluents. *Biological Sludge Minimization and Biomaterials/Bioenergy Recovery Technologies*, 465-498.

- Qu, Bo, Liu, & JunXin. (2009). Determination of optimum operating conditions for production of polyhydroxybutyrate by activated sludge submitted to dynamic feeding regime. *Chinese Science Bulletin*, 54(1), 142-149. doi: 10.1007/s11434-008-0566-0
- Saito, Soejina, Tomozawa, Doi, & Kiya. (1995). Production of biodegradable plastics from volatile acids using activated sludge. *Environ Systems Eng*(52), 143-154.
- Salehizadeh, H., & Van Loosdrecht, M. C. M. (2004). Production of polyhydroxyalkanoates by mixed culture: recent trends and biotechnological importance. *Biotechnology Advances*, 22(3), 261-279. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2003.09.003>
- Satoh, H., Mino, T., & Matsuo, T. (1998). Anaerobic uptake of glutamate and aspartate by enhanced biological phosphorus removal activated sludge. *Water Science and Technology*, 37(4-5), 579-582. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0273-1223\(98\)00163-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0273-1223(98)00163-2)
- Serafim, L. S., Lemos, P. C., Albuquerque, M. G., & Reis, M. A. (2008). Strategies for PHA production by mixed cultures and renewable waste materials. *Appl Microbiol Biotechnol*, 81(4), 615-628. doi: 10.1007/s00253-008-1757-y
- Srinivas, T., Kumar, P. A., Sasikala, C., Spröer, C., & Ramana, C. V. (2008). *Rhodobacter ovatus* sp. nov., a phototrophic alphaproteobacterium isolated from a polluted pond. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 58(6), 1379-1383.
- Steinbüchel, A., & Pieper, U. (1992). Production of a copolyester of 3-hydroxybutyric acid and 3-hydroxyvaleric acid from single unrelated carbon sources by a mutant of *Alcaligenes eutrophus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 37(1), 1-6. doi: 10.1007/bf00174193
- Tamis, J., Lužkov, K., Jiang, Y., Loosdrecht, M. C. M. v., & Kleerebezem, R. (2014). Enrichment of Plasticicumulans acidivorans at pilot-scale for PHA production on industrial wastewater. *Journal of Biotechnology*, 192, Part A, 161-169. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2014.10.022>
- Ueno, Satoh, Mino, & Matsuo. (1993). Production of biodegradable plastic. *Polym Preprint*(42), 981-986.

- Van Loosdrecht, M. C. M., Pot, M. A., & Heijnen, J. J. (1997). Importance of bacterial storage polymers in bioprocesses. *Water Science and Technology*, 35(1), 41-47. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0273-1223\(96\)00877-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0273-1223(96)00877-3)
- Villano, M., Valentino, F., Barbeta, A., Martino, L., Scandola, M., & Majone, M. (2014). Polyhydroxyalkanoates production with mixed microbial cultures: from culture selection to polymer recovery in a high-rate continuous process. *New biotechnology*, 31(4), 289-296.
- Woraittinun, N., & Suwannasilp, B. B. (2017). polyhydroxyalkanoate production from different carbon substrates using sludge from a wastewater treatment plant: Microbial communities, polymer compositions, and thermal characteristics. *Environmental Progress & Sustainable Energy*.
- Yang, F., Hanna, M. A., & Sun, R. (2012). Value-added uses for crude glycerol--a byproduct of biodiesel production. *Biotechnology for Biofuels*, 5(1), 1-10. doi: 10.1186/1754-6834-5-13
- Yoon, J.-H., Kang, S.-J., & Oh, T.-K. (2006). *Dokdonella koreensis* gen. nov., sp. nov., isolated from soil. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 56(1), 145-150.
- ณัฐมน ตีปะติ. (2551). การผลิตและพัฒนากระบวนการทำให้บริสุทธิ์ของกลีเซอรินที่ได้จากกากของเสียโรงงานอุตสาหกรรมผลิตถัณฑ์นม. (วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์), มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.
- ปิยนากู อินทนกุล. (2547). การทำกลีเซอรอลที่ได้จากการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลชีวภาพให้บริสุทธิ์. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.
- ยุวเรศ, & พิเชษฐ์. (2555). หนึ่งพลังงานทางเลือกเพื่อการผลิตอาหารสัตว์กระเพาะเดี่ยว. (ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตรกำแพงแสน), มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ศิริพร จงผาดูฒ. (2551). กลีเซอรอลผลิตถัณฑ์พลอยได้จากไบโอดีเซล. วารสารส่งเสริมเทคโนโลยี, 35(198), 70-76.
- ศิริวรรณ, & ศิริพร. (2549). การเปรียบเทียบวิธีการตรวจหา *ESBLs* และ *AmpC* และอุบัติการณ์ของ *CTX-M gene* ในเชื้อ *Enterobacteriaceae* ที่แยกได้จากโรงพยาบาลรามาริบัติ. มหาวิทยาลัยมหิดล.
- เศารยา กิจพ่อค้า. (2557). ผลของอายุตะกอนต่อการผลิตโพลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอตด้วยจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมโดยการให้อาหารแบบเกินพอสลักับขาดแคลน. (วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโทมหาบัณฑิต), จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อลิษา, อรุณช, วรณวิสาข์, ศุภศักดิ์, อนันต์ชัย, & ศิษณุเศศ. (2555). เทคโนโลยีเอ็นจีเอสและการประยุกต์ใน  
งานวิจัยโอเมก้า. วารสารวิชาการสมาคมพันธุศาสตร์แห่งประเทศไทย. วารสารวิชาการสมาคมพันธุศาสตร์  
แห่งประเทศไทย, 5(2), 104-129.









## บริษัททีปโก้ เอฟ แอนด์ บี จำกัด

### 1. ข้อมูลโดยทั่วไปของโรงงาน

เป็นผู้ผลิตและจำหน่ายน้ำผักและผลไม้พร้อมดื่ม 100% และ 40% เครื่องดื่มธัญญาหาร และ น้ำแร่ธรรมชาติ น้ำผักผลไม้พร้อมดื่ม 100% ได้แก่ น้ำส้มเขียวหวาน น้ำสั้มาเลนเซีย น้ำสั้สีทอง น้ำสั้ 4 สายพันธุ์ น้ำสั้สีทับทิม น้ำสั้มิโซกุน น้ำสั้สายน้ำผึ้ง น้ำองุ่นแดง น้ำแอปเปิ้ล น้ำสั้ปกระด น้ำฝรั่ง น้ำมะเขือเทศ น้ำบรีตโคลี่ผสมน้ำผลไม้รวม น้ำบิทูทผสมน้ำผลไม้รวม น้ำแครอทผสมน้ำผลไม้รวม น้ำแครอทม่วงผสมน้ำผลไม้รวม น้ำกีวีผสมน้ำองุ่น น้ำพ룬ผสมน้ำองุ่น น้ำทับทิมผสมน้ำผลไม้รวม น้ำแครนเบอร์รี่ผสมน้ำผลไม้รวม น้ำว่านหางจระเข้ผสมน้ำองุ่นขาว น้ำผักโขมผสมวิทกราส น้ำเชอริเบอร์รี่ น้ำมังคุดผสมน้ำผลไม้รวม น้ำทับทิมผสมน้ำแอปเปิ้ลไซเดอร์ น้ำโกจิเบอร์รี่ ทีปโก้ จูช ลา เต้ (น้ำผลไม้ 98% ผสมนมถั่วเหลือง 2%) สูตรปอมมี ลาเต้ และสูตรออเรนจ์ ลาเต้ น้ำผักผสมน้ำผลไม้รวม 32 ชนิด และน้ำทับทิมสกัดเข้มข้น Super Fruit Essence

### 2. ที่ตั้ง

โรงงานผลิตตั้งอยู่ที่ 90/1 ม.7 ตำบลสนับทึบ อำเภอวังน้อย จังหวัดพระนครศรีอยุธยา

### 3. ข้อมูลระบบบำบัดน้ำเสีย

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



ภาพที่ ก ระบบบำบัดน้ำเสียแบบเอสปีอาร์ ของบริษัททีปโก้ เอฟ แอนด์ บี จำกัด

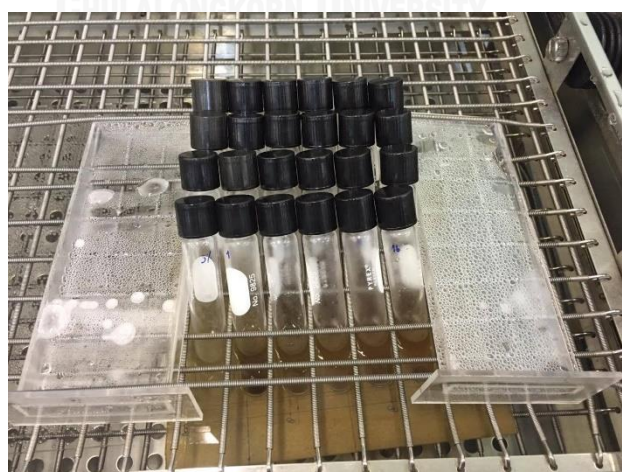
ภาคผนวก ข

ภาพประกอบการทดลองการสกัดฟิเอชเอไอโดยใช้คลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลาย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY



ภาพที่ ข1 สกัดโพลีเมอร์โดยใช้คลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลาย  
ใช้วิธีการสกัดโดยใช้ชุดสกัดซอก์เลต

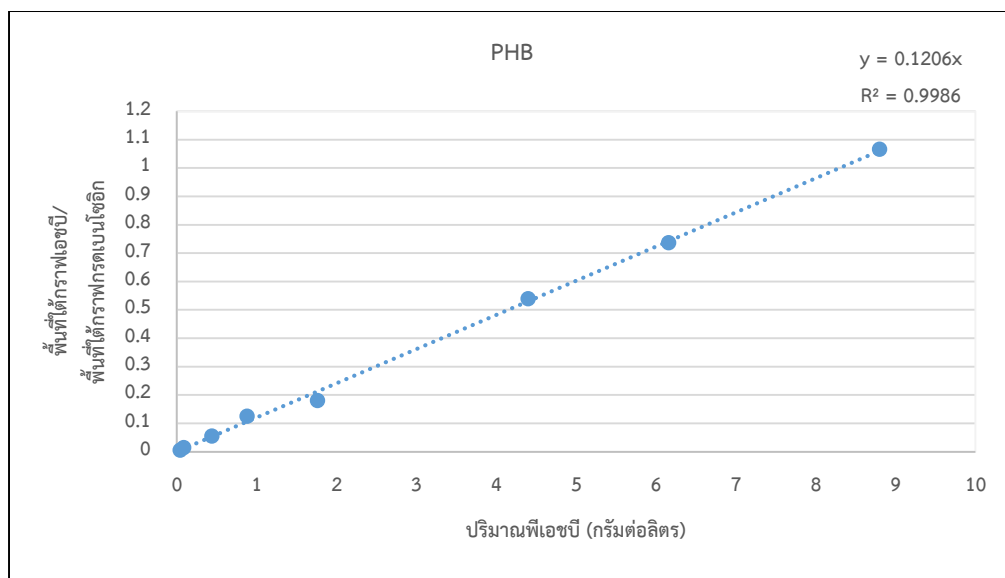


ภาพที่ ข2 สกัดตัวอย่างโดยใช้คลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลายร่วมกับการให้ความร้อนบน water bath



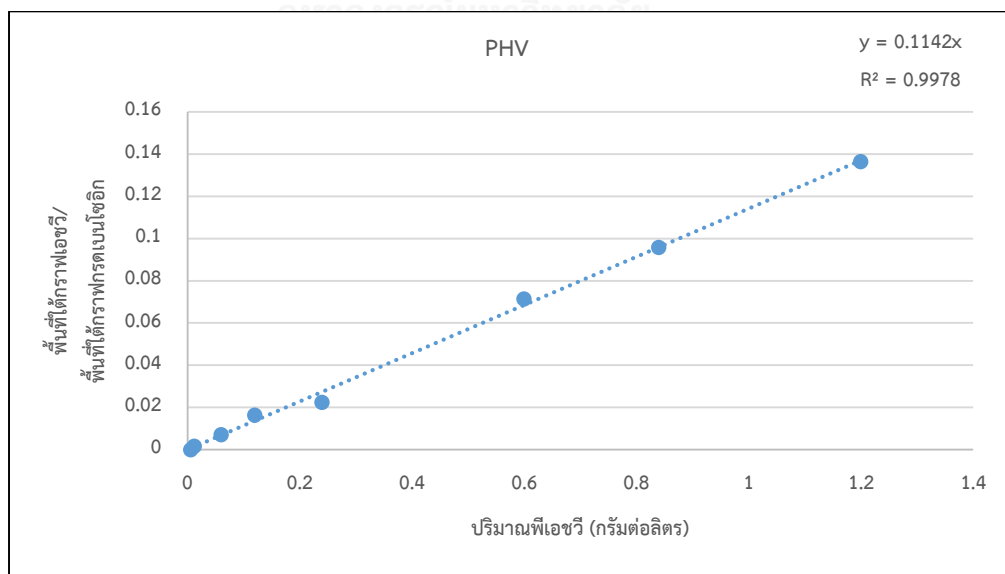
## กราฟมาตรฐาน

### 1. กราฟมาตรฐานของเอชบีโมโนเมอร์



ภาพที่ ค1 กราฟมาตรฐานของเอชบีโมโนเมอร์

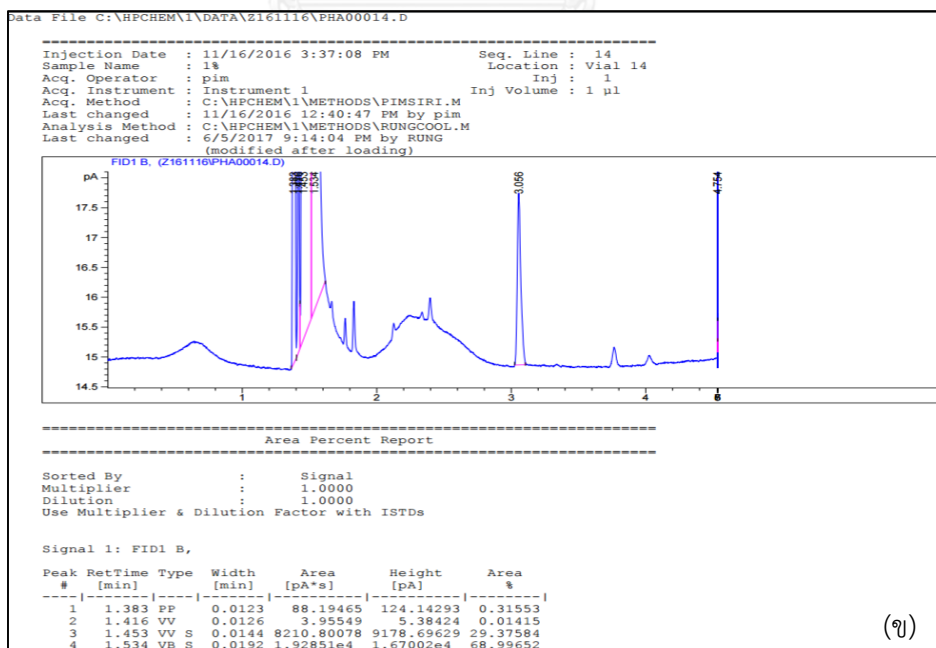
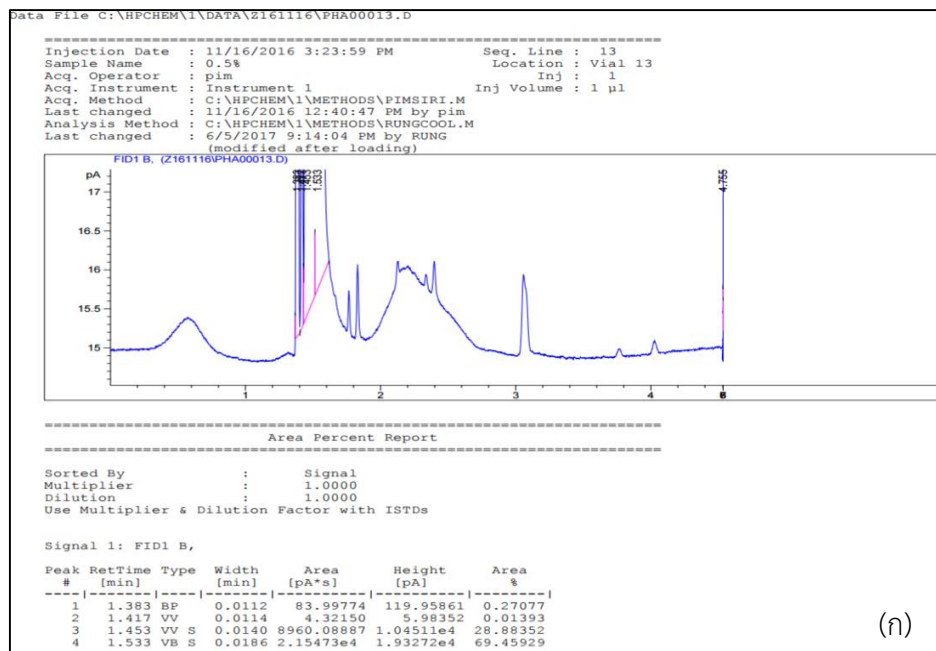
### 2. กราฟมาตรฐานของเอชวีโมโนเมอร์



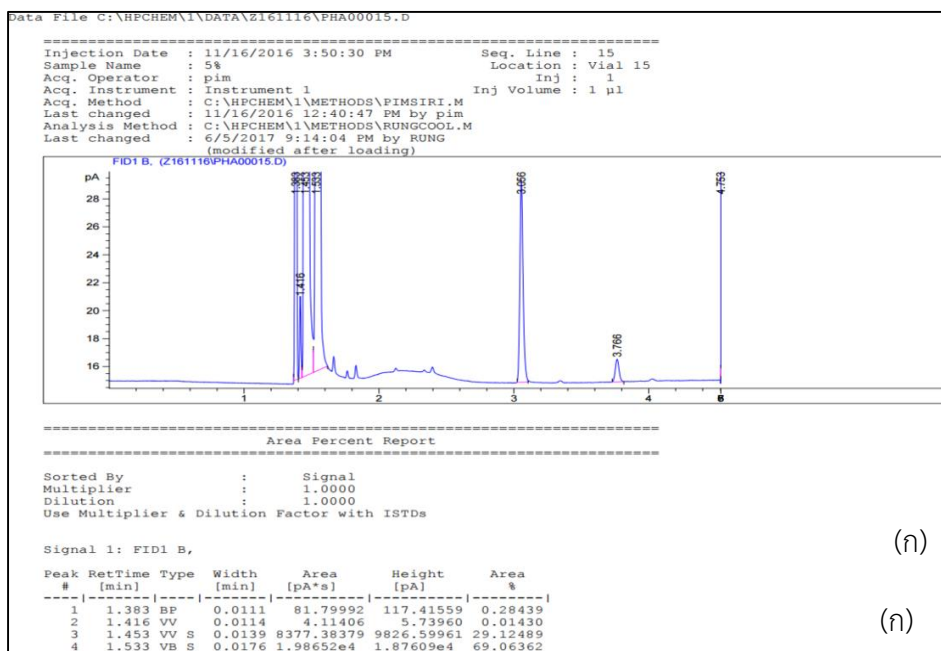
ภาพที่ ค2 กราฟมาตรฐานของเอชวีโมโนเมอร์

## โครมาโตแกรมของพีเอชเอ

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

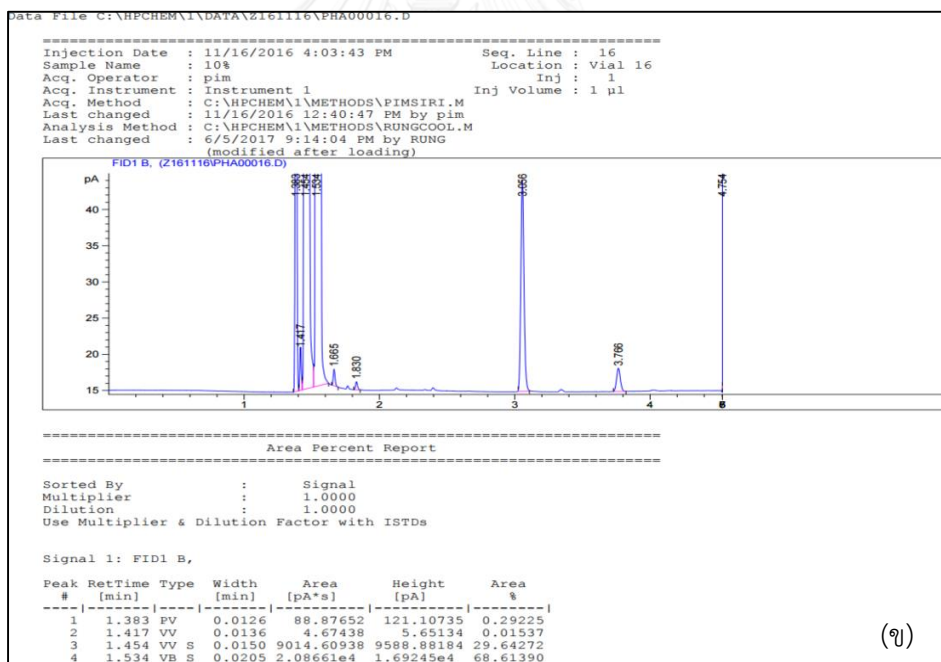


ภาพที่ ค3 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน Poly(3-hydroxybutyric acid-co-12%-3-hydroxyvaleric acid) (ก) ปริมาณ 0.05 กรัมต่อลิตร (ข) ปริมาณ 0.1 กรัมต่อลิตร



(ก)

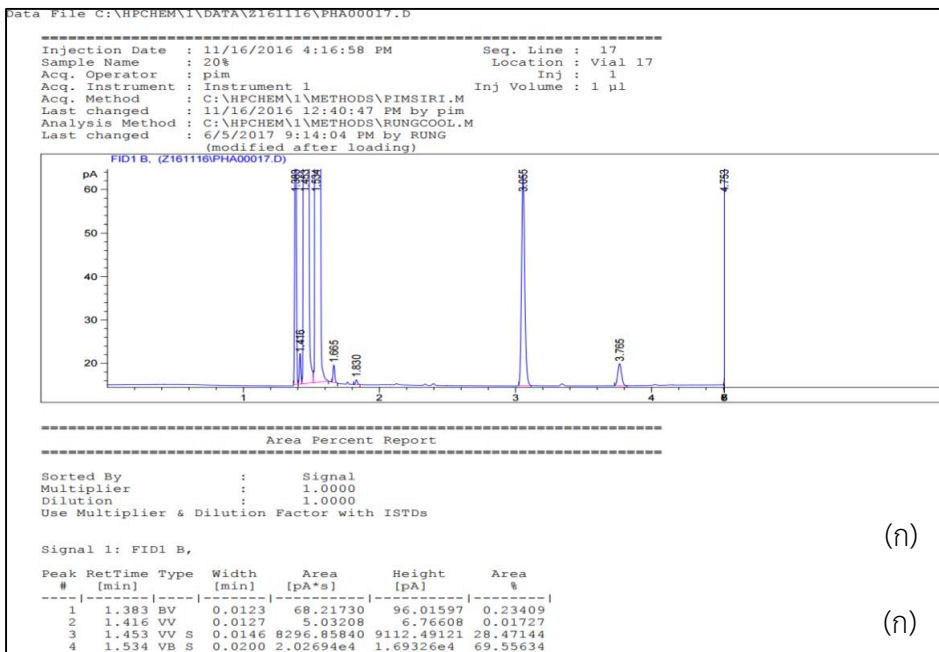
(ก)



(ข)

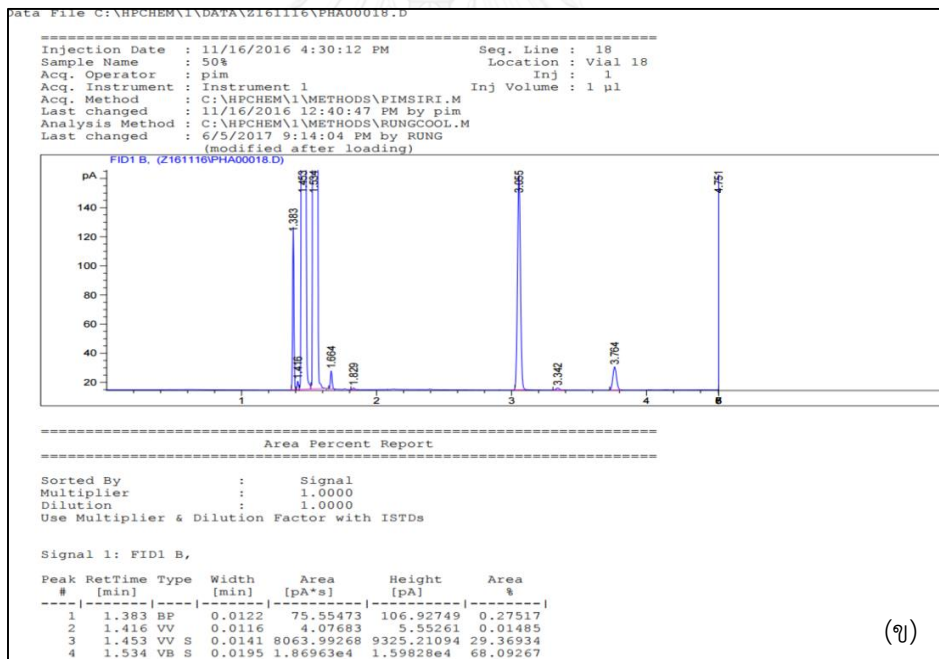
ภาพที่ ค3 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน Poly(3-hydroxybutyric acid-co-12%-3-hydroxyvaleric acid) (ค) ปริมาณ 0.5 กรัมต่อลิตร (ง) ปริมาณ 1 กรัมต่อลิตร





(ก)

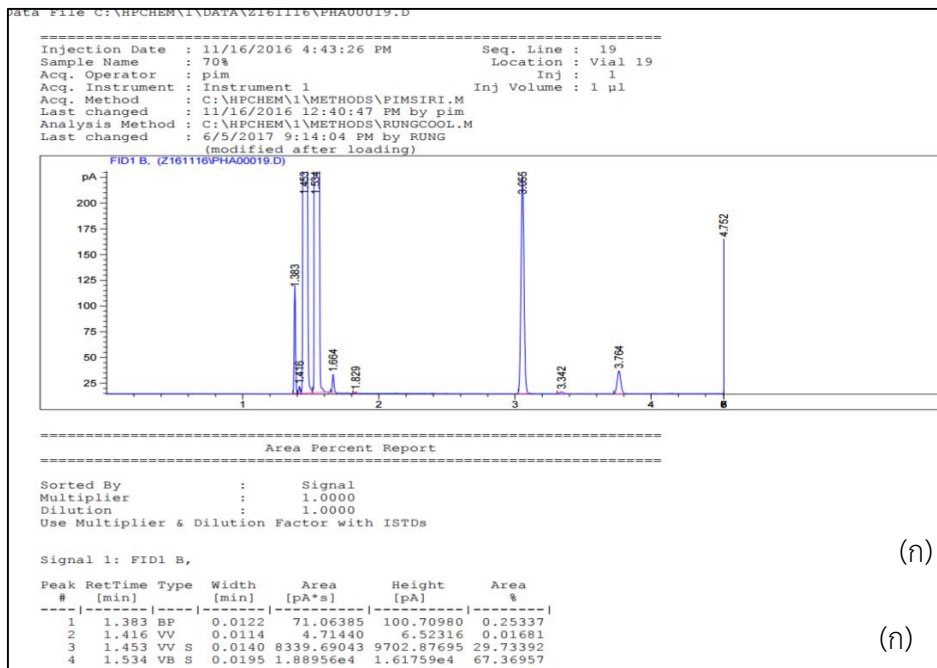
(ก)



(ข)

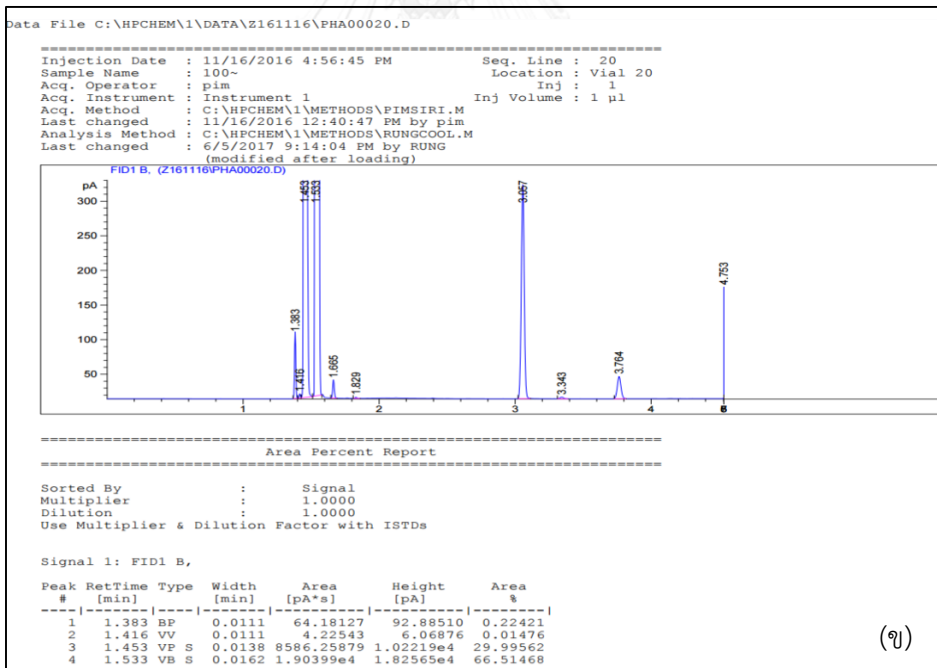
ก

ภาพที่ ค3 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน Poly(3-hydroxybutyric acid-co-12%-3-hydroxyvaleric acid) (จ) ปริมาณ 2 กรัมต่อลิตร (ฉ) ปริมาณ 5 กรัมต่อลิตร



(ก)

(ก)



(ข)

ภาพที่ ค3 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน Poly(3-hydroxybutyric acid-co-12%-3-hydroxyvaleric acid) (ข) ปริมาณ 7 กรัมต่อลิตร (ช) ปริมาณ 10 กรัมต่อลิตร



## ผลการทดลอง

## 4.1 ผลการศึกษาการคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมพีเอชเอในระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอน

ตารางที่ ง1 ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ความเข้มข้นซีโอติและค่าพีเอชเอตลอดระยะเวลาการเดินระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่เลี้ยงด้วยกลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนในชุดการทดลองที่ 1

ระยะเวลา (วัน)	วันเดือนปี	ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.) ถึงที่ 1	ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.) ถึงที่ 2	ซีโอติขาเข้า (มก./ล.)	ซีโอติถึงที่ 1 (มก./ล.)	ซีโอติถึงที่ 2 (มก./ล.)	ปริมาณพีเอชเอถึงที่ 1 (gPHA/gMLSS)	ปริมาณพีเอชเอถึงที่ 2 (gPHA/gMLSS)
1	6/7/2559	1110	1490	1258	109	34	0.7	0
2	7/6/2559							
3	8/6/2559	1700	1520	1554	204	50		
4	9/6/2559							
5	10/6/2559	2300	1460	1569	134	66		
6	11/6/2559							
7	12/6/2559							
8	13/6/2559	1700	2020	1409	432	111	1.41	0.5
9	14/6/2559							
10	15/6/2559	1920	1860	2090	704	180		
11	16/6/2559							
12	17/6/2559	2860	1940	1321	425	53		
13	18/6/2559							
14	19/6/2559							
15	20/6/2559	4000	1160	1344	176	61	1.44	0.58
16	21/6/2559							
17	22/6/2559	3560	1100	1456	56	6.4		
18	23/6/2559							
19	24/6/2559	1780	1340	1152	147.2	72.8		
20	25/6/2559							
21	26/6/2559							
22	27/6/2559	1920	1380	1248	411.2	157.6	1.71	0.33
23	28/6/2559							
24	29/6/2559	1620	1320	1348	110	67		
25	30/6/2559							

ระยะเวลา (วัน)	วันเดือนปี	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 1	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 2	ซีโอดี ขาเข้า (มก./ล.)	ซีโอดี ถังที่ 1 (มก./ล.)	ซีโอดี ถังที่ 2 (มก./ล.)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 1 (gPHA/ gMLSS)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 2 (gPHA/ gMLSS)
26	1/7/2559	1740	1260	1856	112	70		
27	2/7/2559							
28	3/7/2559							
29	4/7/2559	2000	1940	3088	1056	163	2.33	1.23
30	5/7/2559							
31	6/7/2559	1580	1500	1505	108	75		
32	7/7/2559							
33	8/7/2559	1660	1580	2642	561	54		
34	9/7/2559							
35	10/7/2559							
36	11/7/2559	1160	1280	1500	269	79	1.33	0.99
37	12/7/2559							
38	13/7/2559	680	820	1500	289	70		
39	14/7/2559							
40	15/7/2559	1320	660	1500	181	129		
41	16/7/2559							
42	17/7/2559							
43	18/7/2559	1140	780	1500	413	96	1.73	0.97
44	19/7/2559							
45	20/7/2559	1660	580	1500	196	63		
46	21/7/2559							
47	22/7/2559	620	520	1500	327	48		
48	23/7/2559							
49	24/7/2559							
50	25/7/2559	1220	560	1500	417	58	2.77	0.65
51	26/7/2559							
52	27/7/2559	1120	500	1500	422	70		
53	28/7/2559							
54	29/7/2559	2360	860	1500	375	150		
55	30/7/2559							
56	31/7/2559							
57	1/8/2559	4980	1080	1500	241	70	4.60	2.93
58	2/8/2559							
59	3/8/2559	3500	950	1500	208	42		

ระยะเวลา (วัน)	วันเดือนปี	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 1	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 2	ซีโอดี ขาเข้า (มก./ล.)	ซีโอดี ถังที่ 1 (มก./ล.)	ซีโอดี ถังที่ 2 (มก./ล.)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 1 (gPHA/ gMLSS)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 2 (gPHA/ gMLSS)
60	4/8/2559							
61	5/8/2559	4020	900	1500	192	53		
62	6/8/2559							
63	7/8/2559							
64	8/8/2559	1560	1120	1500	211	42	8.63	3.41
65	9/8/2559							
66	10/8/2559	4540	960	1500	239	62		
67	11/8/2559							
68	12/8/2559	1740	1020	1500	70	22		
69	13/8/2559							
70	14/8/2559							
71	15/8/2559	2080	1320	1500	543	26	16.71	2.46
72	16/8/2559							
73	17/8/2559	2340	1180	3000	435	28		
74	18/8/2559							
75	19/8/2559	4180	1200	3000	632	82		
76	20/8/2559							
77	21/8/2559							
78	22/8/2559	3980	1560	3000	905	71	3.51	1.81
79	23/8/2559							
80	24/8/2559	2160	1420	3000	864	82		
81	25/8/2559							
82	26/8/2559	4060	2160	3000	258	58		
83	27/8/2559							
84	28/8/2559							
85	29/8/2559	3360	1960	3000	792	58	1.02	0.74
86	30/8/2559							
87	31/8/2559	2340	1420	3000	984	70		
88	1/9/2559							
89	2/9/2559	2200	860	2634.24	564.48	84.67		
90	3/9/2559							
91	4/9/2559							
92	5/9/2559	2260	1680	2751.84	1223.04	97.14	4.43	3.88
93	6/9/2559							

ระยะเวลา (วัน)	วันเดือนปี	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 1	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 2	ซีโอดี ขาเข้า (มก./ล.)	ซีโอดี ถังที่ 1 (มก./ล.)	ซีโอดี ถังที่ 2 (มก./ล.)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 1 (gPHA/ gMLSS)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 2 (gPHA/ gMLSS)
94	7/9/2559	2160	980	2784	1072	143.52		
95	8/9/2559							
96	9/9/2559	1860	920	3628.8	1097.6	135.52		
97	10/9/2559							
98	11/9/2559							
99	12/9/2559	3420	1940	3530.24	734.72	72.8	2.68	1.26
100	13/9/2559							
101	14/9/2559	3680	1760	2528.74	839.52	76.32		
102	15/9/2559							
103	16/9/2559	2500	1540	2986.66	736.2	50.88		
104	17/9/2559							
105	18/9/2559							
106	19/9/2559	3900	1900	3400	516.8	70.72	2.10	1.90
107	20/9/2559							
108	21/9/2559	3380	2080	3590	652.8	66.64		
109	22/9/2559							
110	23/9/2559	2900	2400	3000	722	54		
111	24/9/2559							
112	25/9/2559							
113	26/9/2559	3500	1600	3000	546.5	20.79	3.71	2.59
114	27/9/2559							
115	28/9/2559	660	1240	3000	286.57	88.65		
116	29/9/2559							
117	30/9/2559	2300	2080	3000	332.42	46.22		
118	1/10/2559							
119	2/10/2559							
120	3/10/2559	2500	2260	3000	765.31	82.65	2.92	1.51
121	4/10/2559							
122	5/10/2559	4560	2520	3000	144.83	43.45		
123	6/10/2559							
124	7/10/2559	2960	2080	3000	960	79.2		
125	8/10/2559							
126	9/10/2559							
127	10/10/2559	2900	2880	3000	1500	135	2.91	0.59

ระยะเวลา (วัน)	วันเดือนปี	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 1	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 2	ซีโอดี ขาเข้า (มก./ล.)	ซีโอดี ถังที่ 1 (มก./ล.)	ซีโอดี ถังที่ 2 (มก./ล.)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 1 (gPHA/ gMLSS)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 2 (gPHA/ gMLSS)
128	11/10/2559							
129	12/10/2559	2580	2160	3000	1305	110.29		
130	13/10/2559							
131	14/10/2559	4060	3440	3000	442	43.53		
132	15/10/2559							
133	16/10/2559							
134	17/10/2559	4680	2660	3000	300	48.24	5.73	2.84
135	18/10/2559							
136	19/10/2559	2760	2740	3000	683.33	68.33		
137	20/10/2559							
138	21/10/2559	2640	2680	3000	943.6	123.08		
139	22/10/2559							
140	23/10/2559							
141	24/10/2559	2780	1920	3000	712.3	64.81	8.05	1.60
142	25/10/2559							
143	26/10/2559	4160	1860	3000	576.3	78.64		
144	27/10/2559							
145	28/10/2559	3520	1360	3000	498.73	40.01		
146	29/10/2559							
147	30/10/2559							
148	31/10/2559	3540	2460	3000	941.61	63.5	11.76	2.11
149	1/11/2559							
150	2/11/2559	3160	2780	3329.04	1024.32	73		
151	3/11/2559							
152	4/11/2559	2760	2200	2677.2	651.84	65.18		
153	5/11/2559							
154	6/11/2559							
155	7/11/2559	2700	1860	3000	327.27	141.81	6.85	4.28
156	8/11/2559							
157	9/11/2559	2730	1940	3000				
158	10/11/2559							
159	11/11/2559	2760	2020	3531.8	220.8	72.86		
160	12/11/2559							
161	13/11/2559							



ระยะเวลา (วัน)	วันเดือนปี	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 1	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 2	ซีโอดี ขาเข้า (มก./ล.)	ซีโอดี ถังที่ 1 (มก./ล.)	ซีโอดี ถังที่ 2 (มก./ล.)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 1 (gPHA/ gMLSS)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 2 (gPHA/ gMLSS)
162	14/11/2559	3580	3200	3000	1476.92	55.38	2.37	0.77
163	15/11/2559							
164	16/11/2559	4100	2260	3000	800	65		
165	17/11/2559							
166	18/11/2559	3770	2530	3000				
167	19/11/2559							
168	20/11/2559							
169	21/11/2559	3440	2800	3059.2	611.84	53.54	2.90	1.48
170	22/11/2559							
171	23/11/2559	2040	1520	3000	1569.23	145.38		
172	24/11/2559							
173	25/11/2559	1860	1400	3000	1418.18	106.36		
174	26/11/2559							
175	27/11/2559							
176	28/11/2559	1600	1320	3447.2	1645.76	84.51	5.98	1.76
177	29/11/2559							
178	30/11/2559	3620	2540	3002.4	733.92	57.82		
179	1/12/2559							
180	2/12/2559	1620	2320	3112.8	667.2	60.05		
181	3/12/2559							
182	4/12/2559							
183	5/12/2559	2380	3840	2604.8	378.88	85.25	14.22	1.17
184	6/12/2559							
185	7/12/2559	5040	3440	3131.2	355.2	92.35		
186	8/12/2559							
187	9/12/2559	7040	3120	3249.6	584.16	73.41		
188	10/12/2559							
189	11/12/2559							
190	12/12/2559						20.06	18.11

ตารางที่ ๖2 ค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนและอุณหภูมิตลอดระยะเวลาการเดินระบบตะกอนเร่งชนิดถัง  
กวนผสมแบบสมบูรณ์สองชั้นตอนที่เลี้ยงด้วยกลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนในชุดการทดลองที่ 1

ระยะ เวลา (วัน)	วัน เดือน ปี	พีเอช ถึงที่ 1	พีเอช ถึงที่ 2	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 1	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 2	อุณหภูมิ (°๓) ถึงที่ 1	อุณหภูมิ (°๓) ถึงที่ 2
1	6/6/2559	7.06	7.05	5	7	27	27
2	7/6/2559	7.2	7.4	5.11	7.43	27	27
3	8/6/2559	7.41	7.48	5	7.1	27	27
4	9/6/2559	7.45	7.53	5.1	7.09	27	27
5	10/6/2559	7.28	7.49	4.5	7.07	27	27
6	11/6/2559	7.59	7.88	4.7	6.9	27	27
7	12/2559	7.35	7.48	4.8	6.99	27	27
8	13/6/2559	7.24	7.48	5.1	7	27	27
9	14/6/2559	7.03	7.49	4.6	7.01	27	27
10	15/6/2559	7.48	7.47	4.23	7.12	27	27
11	16/6/2559	7.26	7.35	3.62	6.42	27	27
12	17/6/2559	7.21	7.32	2.86	6.15	27	27
13	18/6/2559	7.44	7.32	3.9	6.5	27.7	27.3
14	19/6/2559	7.44	7.47	3.7	7.2	29.4	29.1
15	20/6/2559	7.18	7.42	4	6.8	28.9	28.3
16	21/6/2559	7.04	7.12	4.5	6.9	29.1	28.9
17	22/6/2559	7.11	7.07	4.7	6.78	28.3	27.7
18	23/6/2559	7.04	7.05	4.9	6.88	28.9	28.3
19	24/6/2559	7.05	7.08	5	6.5	28.1	27.9
20	25/6/2559	7.07	7.5	4.9	6.89	27.1	26.8
21	26/6/2559	7.1	7.5	4.7	6.88	28.3	28.1
22	27/6/2559	7.15	7.8	4.8	6.75	28.1	27.9
23	28/6/2559	7.07	7.55	3.98	6.51	28.3	28.1
24	29/6/2559	7.02	7.06	4.94	6.83	29.1	28.6
25	30/6/2559	7.1	7.07	5.18	6.13	29.9	29.6
26	1/7/2559	7.02	7.09	3.23	4.79	30.4	29.9
27	2/7/2559	7	7.5	4.5	5.45	29.1	28.9
28	3/7/2559	7.08	7.5	6.3	6.4	29.1	29.1
29	4/7/2559	7.04	7.79	3.34	6.27	30.8	30
30	5/7/2559	7	7.5	4.5	6.12	30	29.1
31	6/7/2559	7.06	7.76	4.53	6.53	29.6	29
32	7/7/2559	7.02	7.8	2.46	5.95	29.9	29.1
33	8/7/2559	7.06	7.82	4.31	6.57	29.6	29

ระยะเวลา (วัน)	วัน เดือน ปี	พีเอช ถึงที่ 1	พีเอช ถึงที่ 2	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 1	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 2	อุณหภูมิ (°ซ) ถึงที่ 1	อุณหภูมิ (°ซ) ถึงที่ 2
34	9/7/2559	7.09	7.5	5.92	6.82	29.3	28.7
35	10/7/2559	7	7.64	4.66	6.65	30.6	29.3
36	11/7/2559	7.07	7.56	4.38	6.92	31	31
37	12/7/2559	7.04	7.7	4.37	6.91	31	31
38	13/7/2559	7.02	7.31	3.4	5.5	29.2	28.2
39	14/7/2559	7.06	7.33	4.4	6.1	28.5	27.4
40	15/7/2559	7	7.49	4.9	5.7	29.9	29
41	16/7/2559	7.03	7.45	5.4	7.2	28.9	28.1
42	17/7/2559	7.08	7.4	4.8	6.7	28.6	27.6
43	18/7/2559	7.09	7.42	4	5	30.5	29.4
44	19/7/2559	7.07	7.43	4.7	5.2	31.1	29.6
45	20/7/2559	7.06	7.44	3.5	4.8	30.6	29.4
46	21/7/2559	7.07	7.43	5.4	5.4	29.8	29
47	22/7/2559	7.04	7.53	4.4	4.6	29.5	28.5
48	23/7/2559	7.05	7.62	4	5.2	30	29.6
49	24/7/2559	7.04	7.63	4.7	6.2	31	29.5
50	25/7/2559	7.05	7.49	3.2	4.9	30.2	29.2
51	26/7/2559	7.05	7.22	1.8	5.5	30.5	28.8
52	27/7/2559	7.02	7.6	4.1	5.6	29.5	28.4
53	28/7/2559	7.07	7.67	3.9	2.9	27.9	28.9
54	29/7/2559	7.02	7.71	5.5	6.5	28.3	27.7
55	30/7/2559	7	7.7	5.4	6.4	28.3	27.7
56	31/7/2559	7	7.69	5.3	6.3	28.3	27.7
57	1/8/2559	7.03	7.53	3.5	5.5	28	27.2
58	2/8/2559	7.08	7.75	4.6	5.8	30.1	28.8
59	3/8/2559	7.05	7.9	4.1	6.4	28.7	27.5
60	4/8/2559	7.49	7.93	4.5	6	28.3	27.5
61	5/8/2559	7.09	7.62	4.7	5.6	27.9	27.4
62	6/8/2559	7.02	7.63	3.5	6	28.1	27
63	7/8/2559	7	7.5	4	6	28	27
64	8/8/2559	7.05	7.73	2.9	5.5	28.3	27.4
65	9/8/2559	7	7.73	4.8	4.4	27.4	28.2
66	10/8/2559	7.02	7.59	5.2	6	29.1	27.3
67	11/8/2559	7.09	7.68	3.9	5.2	28.6	27.6
68	12/8/2559	7.03	7.65	1.3	5.7	28.6	27.2
69	13/8/2559	7.04	7.13	3.2	5.1	28.5	27.3

ระยะ เวลา (วัน)	วัน เดือน ปี	พีเอช ถึงที่ 1	พีเอช ถึงที่ 2	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 1	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 2	อุณหภูมิ (°ซ) ถึงที่ 1	อุณหภูมิ (°ซ) ถึงที่ 2
70	14/8/2559	7.03	7.86	2.1	5.7	28.9	27.7
71	15/8/2559	7.01	7.55	2.1	3.2	28.6	29.1
72	16/8/2559	7.08	7.53	1.8	5.5	28.6	27.6
73	17/8/2559	7	7.8	3.5	4.6	28.6	27.9
74	18/8/2559	7.07	7.72	0.5	3	30.4	29
75	19/8/2559	7.05	7.34	0.5	3.6	30.1	28.6
76	20/8/2559	7.1	7.63	1	2.7	29.5	28.6
77	21/8/2559	7	7.58	0.7	3	30	28
78	22/8/2559	7.03	7.96	0.6	4.1	29.7	28.5
79	23/8/2559	7.09	7.74	2.2	4.9	29.1	28.2
80	24/8/2559	7.02	7.75	0.5	2.3	29.7	28.1
81	25/8/2559	7.09	7.71	0.8	2.1	29.4	28.2
82	26/8/2559	7.05	7.72	0.6	2.5	28.9	27.5
83	27/8/2559	7.06	7.87	2.6	2.9	29.5	28.2
84	28/8/2559	7.07	7.8	0.6	4.6	30.2	28.3
85	29/8/2559	7.06	7.68	0.7	4.5	30.1	28.4
86	30/8/2559	7.04	7.69	3.6	4.6	29.6	28.1
87	31/8/2559	7.03	7.9	3.8	4.9	29.1	28.3
88	1/9/2559	7.08	7.5	1.1	3	29.3	27.9
89	2/9/2559	7.09	7.79	0.9	4.1	28.5	27
90	3/9/2559	7.08	7.82	4	3.7	29.2	27.1
91	4/9/2559	7.08	7.97	1.4	5.6	27.8	27.6
92	5/9/2559	7	7.85	4.1	3.8	28.7	27.9
93	6/9/2559	7.05	7.87	3.6	2.5	27.5	27.9
94	7/9/2559	7.03	7.44	2.9	2.3	28.8	28.2
95	8/9/2559	7.04	7.57	0.5	5.9	29.1	28
96	9/9/2559	7.05	7.73	0.6	2.4	28.2	28
97	10/9/2559	7.06	7.58	0.8	2.6	28.8	27.8
98	11/9/2559	7.07	7.59	1	2.8	28	27.6
99	12/9/2559	7.06	7.33	0.5	2.7	28.3	27.6
100	13/9/2559	7.08	7.3	0.7	2.9	28.7	27.6
101	14/9/2559	7.05	7.13	0.7	2.3	28.4	27.3
102	15/9/2559	7	7.55	0.5	4	28.4	27.2
103	16/9/2559	7.07	7.51	0.6	4.2	29.1	27.7
104	17/9/2559	7.06	7.49	0.5	4	28.9	27.6
105	18/9/2559	7.08	7.33	2.1	3.8	29	27.9

ระยะ เวลา (วัน)	วัน เดือน ปี	พีเอช ถึงที่ 1	พีเอช ถึงที่ 2	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 1	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 2	อุณหภูมิ (°ซ) ถึงที่ 1	อุณหภูมิ (°ซ) ถึงที่ 2
106	19/9/2559	7.09	7.66	0.5	4.7	29.8	28.1
107	20/9/2559	7.07	7.63	0.3	3.8	28.9	27.8
108	21/9/2559	7.04	7.53	1	5.3	28.3	27.3
109	22/9/2559	7.05	7.54	1.1	5.4	28.4	27.4
110	23/9/2559	7.09	7.53	0.6	4.2	27.9	27.3
111	24/9/2559	7	7.56	0.5	3.6	28.2	27.4
112	25/9/2559	7.01	7.57	0.5	3.7	28.9	27.1
113	26/9/2559	7.09	7.38	0.5	3.2	29.1	27.9
114	27/9/2559	7.07	7.28	0.5	4.2	29.3	27.9
115	28/9/2559	7.05	7.18	2	3.2	28.1	27.5
116	29/9/2559	7.09	7.41	0.6	3.4	28.7	27.7
117	30/9/2559	7.04	7.46	0.5	4	29.2	27.9
118	1/10/2559	7.05	7.35	1.1	2.6	29.1	27.5
119	2/10/2559	7.05	7.45	1.9	2.3	29.4	28.8
120	3/10/2559	7.07	7.58	0.7	2.8	28.3	27.2
121	4/10/2559	7.01	7.53	0.5	4.8	29.1	27.9
122	5/10/2559	7.05	7.61	0.9	4.3	28.3	27.7
123	6/10/2559	7	7.5	0.5	5.2	28.6	28
124	7/10/2559	7.07	7.37	0.5	3.3	28.8	27.5
125	8/10/2559	7.08	7.38	0.6	3.4	28.7	27.4
126	9/10/2559	7.09	7.9	1.3	4.4	27.4	27.2
127	10/10/2559	7.09	7.77	0.7	3.2	28.2	27
128	11/10/2559	7.07	7.73	0.6	2.7	29.1	28.5
129	12/10/2559	7.03	7.72	0.6	2.5	29.1	28.4
130	13/10/2559	7.04	7.48	0.7	3.1	28.4	27.4
131	14/10/2559	7.04	7.1	0.5	3.9	30.5	29.4
132	15/10/2559	7.02	7.96	0.5	2.4	29.9	28.8
133	16/10/2559	7	7.1	0.5	5.2	28.5	28
134	17/10/2559	7.07	7.83	0.5	4.3	27.9	27.4
135	18/10/2559	7.09	7.81	1	2.4	29.8	28.8
136	19/10/2559	7.1	7.82	1.1	4.3	28.9	27.8
137	20/10/2559	7.01	7.16	0.5	6.5	30.7	29.4
138	21/10/2559	7.02	7.71	0.5	4.9	29	27.8
139	22/10/2559	7.07	7.7	0.9	4	28.7	27.6
140	23/10/2559	7.07	7.75	1.2	4.6	29.2	27.5
141	24/10/2559	7.01	7.76	0.5	5.8	28.8	27.5

ระยะ เวลา (วัน)	วัน เดือน ปี	พีเอช ถึงที่ 1	พีเอช ถึงที่ 2	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 1	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 2	อุณหภูมิ (°ซ) ถึงที่ 1	อุณหภูมิ (°ซ) ถึงที่ 2
142	25/10/2559	7.08	7.17	0.5	5.6	28	26.8
143	26/10/2559	7.02	7.2	0.5	3.2	28.9	27.5
144	27/10/2559	7.02	7.68	0.5	5.1	28.1	27.3
145	28/10/2559	7.09	7.86	0.5	5.5	28	27.1
146	29/10/2559	7.09	7.74	0.6	4.8	27.6	26.9
147	30/10/2559	7	7.56	2.4	5	27.4	26.3
148	31/10/2559	7.01	7.57	2.5	5.1	27.5	26.4
149	1/11/2559	7.09	7.47	1	4	27.8	27.3
150	2/11/2559	7.02	7.58	2.5	4.1	27.8	26.4
151	3/11/2559	7.09	7.52	1.6	4.1	28.3	27.5
152	4/11/2559	7.1	7.57	3.7	5.6	27.1	26.1
153	5/11/2559	7.09	7.48	0.5	4.4	27.9	26.7
154	6/11/2559	7.07	7.5	0.5	4	27	27.1
155	7/11/2559	7.03	7.12	1.7	4.2	28.4	27.8
156	8/11/2559	7.06	7.55	0.6	4.4	27.3	27.2
157	9/11/2559	7.05	7.5	0.6	4.1	27	27.1
158	10/11/2559	7.06	7.3	0.7	4.2	27	27.1
159	11/11/2559	7.06	7.21	0.5	4.1	27.7	27
160	12/11/2559	7.03	7.48	0.9	4.4	28.3	27.2
161	13/11/2559	7.11	7.45	1.5	3.4	28.8	27.5
162	14/11/2559	7.09	7.57	0.5	4.4	28.7	27.6
163	15/11/2559	7	7.2	1.9	4.9	29.2	28
164	16/11/2559	7.1	7.05	1.3	4.7	28.4	27.2
165	17/11/2559	7.1	7.3	2.8	5	28.6	27.8
166	18/11/2559	7.2	7.3	1	4.5	27	27.1
167	19/11/2559	7	7.4	0.9	4.4	27	27.1
168	20/11/2559	7.04	7.42	1.5	4.2	28	27.8
169	21/11/2559	7.25	7.4	0.5	3.5	29.2	28.8
170	22/11/2559	7	7.03	0.5	4.2	28.1	28.6
171	23/11/2559	7.1	7.36	2.6	4.4	28.8	28
172	24/11/2559	7.06	7.08	2.6	5	27.9	27.4
173	25/11/2559	7.06	7.58	2.4	4.1	27.4	27.4
174	26/11/2559	7.18	7.14	1.9	3	29	28.4
175	27/11/2559	7.2	7.4	0.6	4	28.7	29
176	28/11/2559	7.09	7.8	0.6	4.6	28.3	26.4
177	29/11/2559	7.01	7.97	1.9	3.8	27	27.5

ระยะ เวลา (วัน)	วัน เดือน ปี	พีเอช ถึงที่ 1	พีเอช ถึงที่ 2	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 1	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 2	อุณหภูมิ (°ซ) ถึงที่ 1	อุณหภูมิ (°ซ) ถึงที่ 2
178	30/11/2559	7.15	7.65	1.8	3.9	28.1	27
179	1/12/2559	7.41	7.99	2.9	4.5	28.3	26.9
180	2/12/2559	7.08	7.7	0.5	3.9	26.3	26.3
181	3/12/2559	7.09	7.77	2.6	2.6	27	27
182	4/12/2559	7	7.7	2	4	27.4	26.9
183	5/12/2559	7.07	7.6	2.5	4.9	27.1	27.1
184	6/12/2559	7	7.5	2.1	4.4	28.2	26.5
185	7/12/2559	7.03	7.6	2.8	4.8	26.7	26.7
186	8/12/2559	7	7.8	1.9	4	29.2	26.4
187	9/12/2559	7.08	7.88	1.6	3.3	25.7	25.7
188	10/12/2559	7	7.5	1.5	3.8	27.4	26.7
189	11/12/2559	7	7.7	1	3.5	29.1	27.2

ตารางที่ 33 ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียตลอดระยะเวลาการเดินทางระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบ  
สมบูรณ์สองชั้นตอนที่เลี้ยงด้วยกลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนในชุดการทดลองที่ 1

ระยะ เวลา (วัน)	วัน เดือน ปี	แอมโมเนีย (มกไนโตรเจน./ล) ถึงที่ 1	แอมโมเนีย (มกไนโตรเจน./ล.) ถึงที่ 2
1	6/6/2559	-	-
8	13/6/2559	-	-
15	20/6/2559	-	-
22	27/6/2559	9.8821	-ข17.6327
29	4/7/2559	8.1479	12.1261
36	11/7/2559	9.7813	14.8193
43	18/7/2559	10.2548	15.7865
50	25/7/2559	12.7662	11.1565
57	1/8/2559	11.8652	19.1247
64	8/8/2559	12.2568	14.8193
71	15/8/2559	12.5619	15.1982
78	22/8/2559	15.2739	17.9364
85	29/8/2559	17.6871	20.4856
92	5/9/2559	30.0679	3.1295
99	12/9/2559	0	0
106	19/9/2559	9.7845	16.0961

ระยะ เวลา (วัน)	วัน เดือน ปี	แอมโมเนีย (มกไนโตรเจน./ล.) ถังที่ 1	แอมโมเนีย (มกไนโตรเจน./ล.) ถังที่ 2
113	26/9/2559	8.1673	14.867
120	3/10/2559	9.9871	17.3671
127	10/10/2559	11.6744	17.0914
134	17/10/2559	12.7964	11.5632
141	24/10/2559	13.6123	19.8177
148	31/10/2559	11.1497	14.4122
155	7/11/2559	12.038	14.0657
162	14/11/2559	12.5739	11.5682
169	21/11/2559	9.814	17.2791
176	28/11/2559	6.9981	11.8643
183	5/12/2559	3.5621	7.4152

ตารางที่ 4 ค่าปริมาณตะกอนที่ 30 นาที (SV30) และค่าดัชนีปริมาณตะกอน (SVI) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองชั้นตอนที่เลี้ยงด้วยกลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนในชุดการทดลองที่ 1

ระยะ เวลา (วัน)	วันเดือนปี	ปริมาณตะกอนที่ 30 นาที (มล./ล.)	ดัชนีปริมาณตะกอน (มก./ล.)
1	6/6/2559	800	720
8	13/6/2559	600	353
15	20/6/2559	850	213
22	27/6/2559	270	140
29	4/7/2559	200	100
36	11/7/2559	140	109
43	18/7/2559	50	64
50	25/7/2559	43	35
57	1/8/2559	100	93
64	8/8/2559	150	134
71	15/8/2559	120	120
78	22/8/2559	200	128
85	29/8/2559	190	97
92	5/9/2559	110	65.48
99	12/9/2559	110	56.7
106	19/9/2559	300	157.89
113	26/9/2559	290	179.01



ระยะเวลา (วัน)	วันเดือนปี	ปริมาณตะกอนที่ 30 นาที (มล./ล.)	ดัชนีปริมาณตะกอน (มก./ล.)
120	3/10/2559	400	177
127	10/10/2559	500	174
134	17/10/2559	350	131
141	24/10/2559	250	130
148	31/10/2559	200	81.3
155	7/11/2559	96	52
162	14/11/2559	170	53
169	21/11/2559	170	61
176	28/11/2559	200	151.52
183	5/12/2559	300	78.13

ตารางที่ ง5 ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ความเข้มข้นซีโอดีและค่าพีเอชเอตลอดระยะเวลาการเดินระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองชั้นตอนที่เลี้ยงด้วยกลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนในชุดการทดลองที่ 2

ระยะเวลา (วัน)	วันเดือนปี	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 1	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 2	ซีโอดี ขาเข้า (มก./ล.)	ซีโอดี ถังที่ 1 (มก./ล.)	ซีโอดี ถังที่ 2 (มก./ล.)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 1 (gPHA/ gMLSS)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 2 (gPHA/ gMLSS)
1	6/7/2559	975	1395	1258	769	34	0.66	0
2	7/6/2559							
3	8/6/2559	1720	1540	1554	174	50		
4	9/6/2559							
5	10/6/2559	2360	2420	1569	74	52		
6	11/6/2559							
7	12/6/2559							
8	13/6/2559	1960	1700	1409	318	118	1.22	0.71
9	14/6/2559							
10	15/6/2559	1960	1660	2999	1647	182		
11	16/6/2559							
12	17/6/2559	1820	1360	1465	602	63		
13	18/6/2559							
14	19/6/2559							
15	20/6/2559	2240	1500	922	64	48	1.72	0.98
16	21/6/2559							

ระยะเวลา (วัน)	วันเดือนปี	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 1	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 2	ซีโอดี ขาเข้า (มก./ล.)	ซีโอดี ถังที่ 1 (มก./ล.)	ซีโอดี ถังที่ 2 (มก./ล.)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 1 (gPHA/ gMLSS)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 2 (gPHA/ gMLSS)
17	22/6/2559	1640	1300	1280	88	52		
18	23/6/2559							
19	24/6/2559	1380	1240	1370	80	69		
20	25/6/2559							
21	26/6/2559							
22	27/6/2559	1240	1240	1136	192	89	1.89	0.99
23	28/6/2559							
24	29/6/2559	1200	1320	1097	89	71		
25	30/6/2559							
26	1/7/2559	3380	1260	1856	160	82		
27	2/7/2559							
28	3/7/2559							
29	4/7/2559	1620	1440	3056	1032	145	1.63	1.26
30	5/7/2559							
31	6/7/2559	1200	1200	1505	94	67		
32	7/7/2559							
33	8/7/2559	1580	1360	2746	208	60		
34	9/7/2559							
35	10/7/2559							
36	11/7/2559	1760	1560	1500	110	71	1.88	0.85
37	12/7/2559							
38	13/7/2559	1860	1600	1500	105	56		
39	14/7/2559							
40	15/7/2559	1220	1400	1500	120	81		
41	16/7/2559							
42	17/7/2559							
43	18/7/2559	1440	1460	1500	144	72	0.28	0.28
44	19/7/2559							
45	20/7/2559	1720	1460	1500	49	48		
46	21/7/2559							
47	22/7/2559	1620	1320	1500	192	46		
48	23/7/2559							
49	24/7/2559							
50	25/7/2559	1280	1520	1500	143	41	0.14	0

ระยะเวลา (วัน)	วันเดือนปี	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 1	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 2	ซีโอดี ขาเข้า (มก./ล.)	ซีโอดี ถังที่ 1 (มก./ล.)	ซีโอดี ถังที่ 2 (มก./ล.)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 1 (gPHA/ gMLSS)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 2 (gPHA/ gMLSS)
51	26/7/2559							
52	27/7/2559	1840	1300					
53	28/7/2559			1500	169	39		
54	29/7/2559	2100	1720					
55	30/7/2559							
56	31/7/2559							
57	1/8/2559	3020	1560	1500	210	79	2.33	1.59
58	2/8/2559							
59	3/8/2559	2900	1590	1408	144	43		
60	4/8/2559							
61	5/8/2559	2880	1640	1696	160	43		
62	6/8/2559							
63	7/8/2559							
64	8/8/2559	3760	1980	1500	80	27	2.23	2.05
65	9/8/2559							
66	10/8/2559	1940	960	1500	136	75		
67	11/8/2559							
68	12/8/2559	2360	1680	1500	43	21		
69	13/8/2559							
70	14/8/2559							
71	15/8/2559	2580	2140	1500	340	57	2.60	1.98
72	16/8/2559							
73	17/8/2559	2540	1720	2198	307.02	10.24		
74	18/8/2559							
75	19/8/2559	3620	2280	3000	278	72		
76	20/8/2559							
77	21/8/2559							
78	22/8/2559	3620	2660	3000	295	67	5.63	1.88
79	23/8/2559							
80	24/8/2559	3160	2200	2957	134	77		
81	25/8/2559							
82	26/8/2559	2180	2640	3091	134			
83	27/8/2559					72		
84	28/8/2559							

ระยะเวลา (วัน)	วันเดือนปี	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 1	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 2	ซีโอดี ขาเข้า (มก./ล.)	ซีโอดี ถังที่ 1 (มก./ล.)	ซีโอดี ถังที่ 2 (มก./ล.)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 1 (gPHA/ gMLSS)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 2 (gPHA/ gMLSS)
85	29/8/2559	2640	2180	3360	552	89	1.32	0.66
86	30/8/2559							
87	31/8/2559	2700	2220	3504	168	144		
88	1/9/2559							
89	2/9/2559	1580	2020	2422.56	253.12	68.91		
90	3/9/2559							
91	4/9/2559							
92	5/9/2559	2420	1860	2587.2	611.52	61.86	2.95	2.61
93	6/9/2559							
94	7/9/2559	2140	1260	2688	96	66.4		
95	8/9/2559							
96	9/9/2559	2880	2120	3548.16	257.6	100.8		
97	10/9/2559							
98	11/9/2559							
99	12/9/2559	3080	2120	2544	280	77.95	1.96	2.38
100	13/9/2559							
101	14/9/2559	4860	1680	3444.58	139.92	44.01		
102	15/9/2559							
103	16/9/2559	5240	3060	3644.8	101.76	41.98		
104	17/9/2559							
105	18/9/2559							
106	19/9/2559	4560	2540	3000	190.4	54.4	0.83	0.55
107	20/9/2559							
108	21/9/2559	4680	2800	3000	408	68		
109	22/9/2559							
110	23/9/2559	4800	1780	3000	636	76		
111	24/9/2559							
112	25/9/2559							
113	26/9/2559	3760	3260	3000	589.83	78.4	2.69	0.80
114	27/9/2559							
115	28/9/2559	3040	2240		158.18	58.9		
116	29/9/2559							
117	30/9/2559	4300	2560		300	47.37		
118	1/10/2559							

ระยะ เวลา (วัน)	วันเดือนปี	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 1	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 2	ซีโอดี ขาเข้า (มก./ล.)	ซีโอดี ถังที่ 1 (มก./ล.)	ซีโอดี ถังที่ 2 (มก./ล.)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 1 (gPHA/ gMLSS)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 2 (gPHA/ gMLSS)
119	2/10/2559							
120	3/10/2559	3600	2520	3000	147.1	65.03	2.20	1.48
121	4/10/2559							
122	5/10/2559	4940	2574	3000	51.43	56.28		
123	6/10/2559							
124	7/10/2559	4140	2400	3000	76.92	54.77		
125	8/10/2559							
126	9/10/2559							
127	10/10/2559	7400	2260	3000	600	102	1.83	0.95
128	11/10/2559							
129	12/10/2559	4540	2120	3000	358.7	94.57		
130	13/10/2559							
131	14/10/2559	4800	2760	3000	720	135		
132	15/10/2559							
133	16/10/2559							
134	17/10/2559	2500	2960	3000	169.52	33.93	4.74	2.00
135	18/10/2559							
136	19/10/2559	6000	2800	3000	101.05	40.1		
137	20/10/2559							
138	21/10/2559	6120	1400	3000	960	351		
139	22/10/2559							
140	23/10/2559							
141	24/10/2559	4060	1880	3000	300	57.33	4.04	1.43
142	25/10/2559							
143	26/10/2559	4460	2280	3000	363.75	60.75		
144	27/10/2559							
145	28/10/2559	4820	1900	3000	61.86	51.65		
146	29/10/2559							
147	30/10/2559							
148	31/10/2559	5200	2800	3000	120	43	6.22	2.12
149	1/11/2559							
150	2/11/2559	4200	2840	3320.04	246.77	57.27		
151	3/11/2559							
152	4/11/2559	5280	2680	3375.6	498.19	72.17		

ระยะเวลา (วัน)	วันเดือนปี	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 1	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 2	ซีโอดี ขาเข้า (มก./ล.)	ซีโอดี ถังที่ 1 (มก./ล.)	ซีโอดี ถังที่ 2 (มก./ล.)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 1 (gPHA/ gMLSS)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 2 (gPHA/ gMLSS)
153	5/11/2559							
154	6/11/2559							
155	7/11/2559	6500	2790	2870.4	154.56	46.37	13.67	4.00
156	8/11/2559							
157	9/11/2559	5896	2315	3000	170	55		
158	10/11/2559							
159	11/11/2559	5292	1840	3312	88.32	26.5		
160	12/11/2559							
161	13/11/2559							
162	14/11/2559	6060	1620	3000	600	100	1.48	0
163	15/11/2559							
164	16/11/2559	4320	2000	3000	250	52.5		
165	17/11/2559							
166	18/11/2559	5280	2160	3000	220	67		
167	19/11/2559							
168	20/11/2559							
169	21/11/2559	6240	2320	2963.6	420.64	65	1.85	1.32
170	22/11/2559							
171	23/11/2559	3600	1580	2581.2	488.89	64.44		
172	24/11/2559							
173	25/11/2559	4160	1920	3000	841.28	117.39		
174	26/11/2559							
175	27/11/2559							
176	28/11/2559	4080	1320	4448	845.12	82.29	0.16	0
177	29/11/2559							
178	30/11/2559	3120	1060	2446.4	556	73.4		
179	1/12/2559							
180	2/12/2559	3860	1260	2891.2	644.96	80.06		
181	3/12/2559							
182	4/12/2559							
183	5/12/2559	2880	1920	3670.4	213.12	73.41	4.53	0
184	6/12/2559							
185	7/12/2559	3520	2420	4144	402.56	127.87		
186	8/12/2559							

ระยะ เวลา (วัน)	วันเดือนปี	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 1	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 2	ซีโอดี ขาเข้า (มก./ล.)	ซีโอดี ถังที่ 1 (มก./ล.)	ซีโอดี ถังที่ 2 (มก./ล.)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 1 (gPHA/ gMLSS)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 2 (gPHA/ gMLSS)
187	9/12/2559	3360	2380	3788.8	431.52	101.824		
188	10/12/2559							
189	11/12/2559							
190	12/12/2559						2.15	0

ตารางที่ ๖ ค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนและอุณหภูมิตลอดระยะเวลาการเดินระบบตะกอนเร่งชนิดถัง  
กวนผสมแบบสมบูรณ์สองชั้นตอนที่เลี้ยงด้วยกลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนในชุดการทดลองที่ 2

ระยะ เวลา (วัน)	วัน เดือน ปี	พีเอช ถังที่ 1	พีเอช ถังที่ 2	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล.) ถังที่ 1	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล.) ถังที่ 2	อุณหภูมิ (°ซ) ถังที่ 1	อุณหภูมิ (°ซ) ถังที่ 2
1	6/7/2559	7.47	7.39	5.57	6.7	27	27
2	7/6/2559	7.49	7.3	5.69	6.84	27	27
3	8/6/2559	7.23	7.5	5.61	6.6	27	27
4	9/6/2559	7.32	7.73	5.59	6.81	27	27
5	10/6/2559	7.48	7.48	5.49	6.87	27	27
6	11/6/2559	7.48	7.95	5.73	6.77	27	27
7	12/6/2559	7.46	7.7	5.77	6.98	27	27
8	13/6/2559	7.44	7.53	5.83	6.89	27	27
9	14/6/2559	7.49	7.6	5.99	7	27	27
10	15/6/2559	7.1	7.49	6.75	7.03	27	27
11	16/6/2559	7.37	7.06	6.53	4.93	27	27
12	17/6/2559	7.51	7.53	3.82	4.98	27	27
13	18/6/2559	7.47	7.5	5	7	29.7	28.7
14	19/6/2559	7.39	7.47	7.2	7.1	29.5	28.8
15	20/6/2559	7.31	7.4	5.33	7	29.1	28.9
16	21/6/2559	7.04	7	5.67	7	28.9	28.3
17	22/6/2559	7.06	7.05	5.55	7	28.7	28.1
18	23/6/2559	7.03	7	5.49	6.99	29.1	28.9
19	24/6/2559	7	7.05	5.76	7.01	28.9	28.7
20	25/6/2559	7.05	7.2	5.55	7.07	29.3	29.1
21	26/6/2559	7.08	7.3	5.79	7	29.1	28.9
22	27/6/2559	7.06	7.65	5	6.97	28.9	28.1

ระยะ เวลา (วัน)	วัน เดือน ปี	พีเอช ถึงที่ 1	พีเอช ถึงที่ 2	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 1	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 2	อุณหภูมิ (°ซ) ถึงที่ 1	อุณหภูมิ (°ซ) ถึงที่ 2
23	28/6/2559	7.02	7.02	4.34	7.73	28.7	28.3
24	29/6/2559	7.05	7.24	5.68	7.04	28.6	28.6
25	30/6/2559	7.05	7.25	7.83	7.63	29.3	29
26	1/7/2559	7	7.06	4.61	7.23	30.2	29.2
27	2/7/2559	7	7.1	5.91	6.8	30.1	29.1
28	3/7/2559	7.03	7.58	6.2	6.8	29.4	28.9
29	4/7/2559	7.05	7.6	6.54	6.54	30.6	29.6
30	5/7/2559	7	7.5	6.1	6.9	29.8	28.3
31	6/7/2559	7.02	7.71	7.09	7.08	28.6	28.2
32	7/7/2559	7.07	7.46	3.9	7.77	29.1	28.7
33	8/7/2559	7.01	7.68	4.99	7.01	29.5	28.6
34	9/7/2559	7.09	7.8	4.08	6.83	29.5	28.8
35	10/7/2559	7.1	7.6	1.4	6.14	30.5	29.7
36	11/7/2559	7.05	7.84	3.36	5.9	31	30.1
37	12/7/2559	7.06	7.55	3.35	5.8	31	29.3
38	13/7/2559	7.05	7.46	3.2	5.8	28.2	28.4
39	14/7/2559	7.09	7.75	2.9	6	28.4	27.5
40	15/7/2559	7.03	7.55	2.3	6	30.4	25.9
41	16/7/2559	7.08	7.74	4.2	6.9	29.7	28.4
42	17/7/2559	7.04	7.77	3.6	6	28.7	27.8
43	18/7/2559	7.02	7.5	3.9	5.6	30.8	29.6
44	19/7/2559	7.02	7.4	3.4	5.9	31.2	30
45	20/7/2559	7.02	7.51	2.8	4.8	30.7	29.5
46	21/7/2559	7.03	7.5	4.1	6	30.2	29.3
47	22/7/2559	7	7.61	3.4	6	30.5	29.8
48	23/7/2559	7.04	7.52	3.3	6.2	29.4	28.6
49	24/7/2559	6.96	7.55	4.7	6.4	29.7	27.7
50	25/7/2559	7.09	7.65	3	5.8	30	29.3
51	26/7/2559	7.04	7.8	3	6	30.3	29
52	27/7/2559	7	7.7	3.8	5.6	30	28.9
53	28/7/2559	7.09	7.65	1	6.7	28	27.2
54	29/7/2559	7.05	7.61	5.2	6.5	28.7	27.7
55	30/7/2559	7.04	7.6	3.2	5.6	31.1	29.6
56	31/7/2559	7.03	7.59	3.3	5.7	31	29.5
57	1/8/2559	7.02	7.93	3.6	5.5	28.7	27.8
58	2/8/2559	7.09	7.52	3	5.3	30.2	29.2



ระยะ เวลา (วัน)	วัน เดือน ปี	พีเอช ถึงที่ 1	พีเอช ถึงที่ 2	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 1	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 2	อุณหภูมิ (°ซ) ถึงที่ 1	อุณหภูมิ (°ซ) ถึงที่ 2
59	3/8/2559	6.82	7.85	4.1	6.2	28.4	27.7
60	4/8/2559	6.96	8.04	4	5.9	28.2	27.6
61	5/8/2559	7.03	7.53	3.1	5.9	28.6	27.9
62	6/8/2559	7.05	7.64	2.3	5.7	28	27.2
63	7/8/2559	7	7.6	3	5	28	27
64	8/8/2559	7	7.75	2.2	6.2	28.3	27.4
65	9/8/2559	7.05	7.69	2.1	5.2	29.2	28.4
66	10/8/2559	7.03	7.91	3.6	6.4	28.6	27.7
67	11/8/2559	7	7.68	4.2	5.6	28.4	27.7
68	12/8/2559	7.07	7.89	3.6	5.7	28.5	27.6
69	13/8/2559	7.01	7.87	4.3	6.4	28.3	27.4
70	14/8/2559	7	7.38	4.1	6.2	28.5	27.8
71	15/8/2559	7.05	7.38	5.1	4.8	28.4	29.1
72	16/8/2559	7.04	7.63	3.1	5.8	28.5	27.9
73	17/8/2559	7	7.3	2.8	5.4	28.9	28.3
74	18/8/2559	7.05	7.63	0.9	3	30.3	29.3
75	19/8/2559	7.1	7.67	0.5	5.2	29.9	29
76	20/8/2559	7.08	7.8	1.3	3.4	29.3	28.4
77	21/8/2559	7.09	7.92	0.9	3.1	29.6	28.4
78	22/8/2559	7.02	7.55	0.5	4.9	30.1	29
79	23/8/2559	7.06	7.59	1.2	4.7	29.6	28.8
80	24/8/2559	7	7.35	2.8	3.5	29.5	28.6
81	25/8/2559	7.08	7.86	1.5	2.3	29.1	28.5
82	26/8/2559	7.04	7.69	0.5	1.8	28.1	27.6
83	27/8/2559	7	7.79	0.5	2.2	29.5	28.6
84	28/8/2559	7.08	7.23	0.5	4.3	29.9	28.7
85	29/8/2559	7.05	7.86	0.8	3.8	29.3	28.3
86	30/8/2559	7.06	7.87	4.3	5.2	28.6	28.3
87	31/8/2559	7.09	7.54	4.4	5.3	28.7	28.4
88	1/9/2559	7.08	7.62	3.9	5.4	28.3	27.8
89	2/9/2559	7.03	7.93	4.4	5.9	27.8	27.2
90	3/9/2559	7	7.98	3.4	6	28	27.3
91	4/9/2559	7	7.68	4.5	3.9	27.9	27.5
92	5/9/2559	7.09	7.82	3.9	6.4	29.1	28.1
93	6/9/2559	7	7.77	2.8	3.9	29.3	28.1

ระยะเวลา (วัน)	วัน เดือน ปี	พีเอช ถึงที่ 1	พีเอช ถึงที่ 2	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 1	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 2	อุณหภูมิ (°ซ) ถึงที่ 1	อุณหภูมิ (°ซ) ถึงที่ 2
94	7/9/2559	7.03	7.4	2.3	5.4	28.9	28
95	8/9/2559	7.07	7.7	2.5	4.6	28.7	27.9
96	9/9/2559	7.06	7.38	4	6.2	28.1	27.7
97	10/9/2559	7.07	7.39	3.8	6	28	27.6
98	11/9/2559	7.08	7.4	3.6	5.8	27.9	27.5
99	12/9/2559	7.05	7.19	4	5	27.7	27.4
100	13/9/2559	7.03	7.31	3.8	5.5	28.1	27.6
101	14/9/2559	7	7.6	2.1	5.2	28.2	27.3
102	15/9/2559	7.09	7.66	3.4	4.4	27.8	27.1
103	16/9/2559	7.08	7.36	3.5	5.9	28.4	27.7
104	17/9/2559	7.04	7.54	3.6	5.9	28.1	27.6
105	18/9/2559	7.05	7.9	4.2	6.3	28.1	27.8
106	19/9/2559	7.05	7.79	2.5	5.6	29	28.3
107	20/9/2559	7.05	7.12	3.9	5.8	28.4	27.8
108	21/9/2559	7.07	7.4	3.9	5.8	27.9	27.3
109	22/9/2559	7.06	7.39	3.8	5.7	28.1	27.3
110	23/9/2559	7.02	7.72	0.7	5.6	27.7	27.2
111	24/9/2559	7.01	7.8	0.8	6.8	27.7	27.4
112	25/9/2559	7	7.79	0.9	5.7	27.7	27.4
113	26/9/2559	7.06	7.5	1.5	4.9	28.6	27.9
114	27/9/2559	7.1	7.64	4.8	6.1	28.8	27.8
115	28/9/2559	7	7.72	4.6	5.5	28.1	27.5
116	29/9/2559	7	7.65	2.8	5.9	27.8	27.4
117	30/9/2559	7.04	7.6	3.6	5.3	28	27.6
118	1/10/2559	7.05	7.89	4.1	7.6	28.1	27.3
119	2/10/2559	7.07	7.55	2.1	5.6	29.1	28.7
120	3/10/2559	7.06	7.48	2.9	5.5	27.8	27.1
121	4/10/2559	7.15	7.49	3.8	7.3	28.5	27.8
122	5/10/2559	7.09	7.95	1.1	4.2	28.3	27.6
123	6/10/2559	7.05	7.89	1.9	5.9	28.2	27.7
124	7/10/2559	7.09	7.54	2.4	5.5	28.1	27.4
125	8/10/2559	7.1	7.55	2.5	5.6	28.2	27.5
126	9/10/2559	7	7.74	0.5	7.5	27.6	27
127	10/10/2559	7.07	7.63	0.5	4.6	27.7	26.9
128	11/10/2559	7.04	7.46	0.5	3.1	28.8	28.5
129	12/10/2559	7.05	7.62	0.9	5.7	28.7	28.1

ระยะ เวลา (วัน)	วัน เดือน ปี	พีเอช ถึงที่ 1	พีเอช ถึงที่ 2	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 1	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 2	อุณหภูมิ (°ซ) ถึงที่ 1	อุณหภูมิ (°ซ) ถึงที่ 2
130	13/10/2559	7.06	7.5	0.5	3.7	28.1	27.2
131	14/10/2559	7.03	7.88	1.1	3	30.1	29.3
132	15/10/2559	7	7.05	1	3.2	29.2	28.8
133	16/10/2559	7	7	1.1	4	28.1	27.9
134	17/10/2559	7.09	7.58	0.5	5	28	27.2
135	18/10/2559	7.09	7.56	0.7	5.3	29.3	28.6
136	19/10/2559	7.01	7.63	0.5	4.8	28.5	27.8
137	20/10/2559	7.11	7.45	0.5	6.5	30	29
138	21/10/2559	7.01	7.63	0.5	6.8	28.4	27.6
139	22/10/2559	7.04	7.42	0.9	5.4	28.4	27.7
140	23/10/2559	7.09	7.77	1.9	6.8	28.5	27.5
141	24/10/2559	7.07	7.86	0.5	5.5	28.6	27.6
142	25/10/2559	7.02	7.7	3.1	5.5	27.7	26.8
143	26/10/2559	7.04	7.06	0.5	3.6	28.3	27.6
144	27/10/2559	7.06	7.86	0.5	5.8	27.9	27.2
145	28/10/2559	7.04	7.73	0.5	4.2	27.9	26.9
146	29/10/2559	7.01	7.86	0.7	5	27.4	26.9
147	30/10/2559	7	7.56	1.5	4.7	27.1	26.3
148	31/10/2559	7.01	7.57	1.6	4.8	27.2	26.4
149	1/11/2559	7.09	7.72	0.5	4.9	27.7	27.1
150	2/11/2559	7.03	7.93	1.5	5.3	27.2	26.4
151	3/11/2559	7.04	7.46	0.5	4.5	27.3	27.3
152	4/11/2559	7.04	7.62	0.8	6.2	28.1	27.2
153	5/11/2559	7.06	7.69	0.5	4.5	27.3	26.6
154	6/11/2559	7	7.5	0.5	5	27.1	27
155	7/11/2559	7.04	7.15	0.5	6.5	27.9	27.6
156	8/11/2559	7.06	7.45	0.5	4.1	27.1	27
157	9/11/2559	7	7.5	0.6	4.9	27	26.9
158	10/11/2559	7	7.5	0.5	5	27	27.3
159	11/11/2559	7.03	7.33	0.5	4.5	27.4	26.8
160	12/11/2559	7.23	7.63	0.5	5.3	27.5	26.9
161	13/11/2559	7.06	7.69	0.5	6.3	28.4	27.3
162	14/11/2559	7.1	7.13	1.3	5.4	28.2	27.6
163	15/11/2559	7.1	7.03	0.5	6.6	28.4	28
164	16/11/2559	7.01	7.11	0.5	5.4	27.7	27.2
165	17/11/2559	7.01	7.2	1	5.3	28.4	27.6

ระยะ เวลา (วัน)	วัน เดือน ปี	พีเอช ถึงที่ 1	พีเอช ถึงที่ 2	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 1	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 2	อุณหภูมิ (°ซ) ถึงที่ 1	อุณหภูมิ (°ซ) ถึงที่ 2
166	18/11/2559	7	7.1	0.7	5.5	27.3	27.2
167	19/11/2559	7	7	0.6	5	28.1	26.9
168	20/11/2559	7.04	7.25	0.5	4.7	28.5	27.8
169	21/11/2559	7.1	7	0.9	4	27.4	29.1
170	22/11/2559	7.34	7.1	0.5	4.4	28.4	28.6
171	23/11/2559	7.01	7.07	0.5	5.7	28.7	28.3
172	24/11/2559	7.08	7.36	0.5	4.7	27.8	27.3
173	25/11/2559	7.06	7	0.5	5.9	27.8	27.3
174	26/11/2559	7.08	7.2	0.5	5.9	27.7	28.3
175	27/11/2559	7.07	7.3	0.5	5	27.8	28.3
176	28/11/2559	7	7.2	0.5	6.2	28	26.4
177	29/11/2559	7.02	7	0.5	4.6	28.3	27.6
178	30/11/2559	7.04	7.5	0.5	4.1	28	26.8
179	1/12/2559	7.49	7.5	0.5	5.4	27.8	27
180	2/12/2559	7.17	7.67	0.9	4.6	27.7	26.5
181	3/12/2559	7.09	7.5	2.6	4.2	27.2	26.9
182	4/12/2559	7	7.5	1	4.5	27.7	27.5
183	5/12/2559	7	7.3	0.5	2.1	27.4	27.4
184	6/12/2559	7	7.36	0.7	4.9	28.4	27.8
185	7/12/2559	7.53	7.67	1	4	27.5	26.7
186	8/12/2559	7.1	7.62	0.5	4.5	28.4	26.3
187	9/12/2559	7.8	7.42	0.5	4	26.8	25.8
188	10/12/2559	7.01	7.45	0.5	4.8	28.1	27.6
189	11/12/2559	7.01	7.63	0.5	5.3	28	26.4

ตารางที่ ๗ ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียตลอดระยะเวลาการเดินระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบ  
สมบูรณ์สองชั้นตอนที่เลี้ยงด้วยกลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนในชุดการทดลองที่ 2

ระยะ เวลา (วัน)	วันเดือนปี	แอมโมเนีย (มกไนโตรเจน./ล) ถึงที่ 1	แอมโมเนีย (มกไนโตรเจน./ล.) ถึงที่ 2
1	6/7/2559	-	-
8	13/6/2559	-	-
15	20/6/2559	-	-
22	27/6/2559	8.0286	22.7717
29	4/7/2559	6.8219	10.8001

ระยะเวลา เวลา (วัน)	วันเดือนปี	แอมโมเนีย (มกไนโตรเจน./ล.) ถังที่ 1	แอมโมเนีย (มกไนโตรเจน./ล.) ถังที่ 2
36	11/7/2559	7.4673	13.3287
43	18/7/2559	8.9213	15.6895
50	25/7/2559	7.9371	13.6330
57	1/8/2559	6.7942	11.6823
64	8/8/2559	9.1265	16.3478
71	15/8/2559	8.7321	15.1132
78	22/8/2559	6.8719	12.7879
85	29/8/2559	6.1253	11.6182
92	5/9/2559	1.0512	8.7250
99	12/9/2559	0	0.198
106	19/9/2559	3.3761	15.8962
113	26/9/2559	5.7851	12.2467
120	3/10/2559	4.1392	12.8829
127	10/10/2559	5.7394	14.6481
134	17/10/2559	8.0175	20.3903
141	24/10/2559	6.2671	10.8901
148	31/10/2559	4.1452	10.7954
155	7/11/2559	3.9813	8.8956
162	14/11/2559	7.9012	14.8761
169	21/11/2559	6.8913	10.6243
176	28/11/2559	7.7313	13.6705
183	5/12/2559	8.0409	11.974

ตารางที่ 8 ค่าปริมาณตะกอนที่ 30 นาที (SV30) และค่าดัชนีปริมาณตะกอน (SVI) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองชั้นตอนที่เลี้ยงด้วยกลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนในชุดการทดลองที่ 2

ระยะเวลา เวลา (วัน)	วันเดือนปี	ปริมาณตะกอนที่ 30 นาที (มล./ล.)	ดัชนีปริมาณตะกอน (มก./ล.)
1	6/7/2559	400	410
8	13/6/2559	600	306
15	20/6/2559	500	223
22	27/6/2559	150	120

ระยะ เวลา (วัน)	วันเดือนปี	ปริมาณตะกอนที่ 30 นาที (มล./ล.)	ดัชนีปริมาณตะกอน (มก./ล.)
29	4/7/2559	400	247
36	11/7/2559	240	154
43	18/7/2559	225	154
50	25/7/2559	225	148
57	1/8/2559	200	128
64	8/8/2559	180	90
71	15/8/2559	150	70
78	22/8/2559	180	68
85	29/8/2559	120	55
92	5/9/2559	80	43
99	12/9/2559	125	58.96
106	19/9/2559	250	98.43
113	26/9/2559	660	235.71
120	3/10/2559	600	238
127	10/10/2559	450	199
134	17/10/2559	550	220
141	24/10/2559	750	399
148	31/10/2559	800	286
155	7/11/2559	750	269
162	14/11/2559	650	401
169	21/11/2559	650	280
176	28/11/2559	750	568.18
183	5/12/2559	800	416.67

ตารางที่ 9 ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ความเข้มข้นซีไอดีและค่าพีเอชเอตลอดระยะเวลาการเดินระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองชั้นตอนที่เลี้ยงด้วยกลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนในชุดการทดลองที่ 3

ระยะ เวลา (วัน)	วันเดือนปี	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 1	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 2	ซีไอดี ขาเข้า (มก./ล.)	ซีไอดี ถังที่ 1 (มก./ล.)	ซีไอดี ถังที่ 2 (มก./ล.)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 1 (gPHA/ gMLSS)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 2 (gPHA/ gMLSS)
1	6/7/2559	1365	1155	1258	259	50	0.7	0
2	7/6/2559							
3	8/6/2559	1960	1340	1554	294	84		
4	9/6/2559							
5	10/6/2559	1560	1355	1569	84	55		
6	11/6/2559							
7	12/6/2559							
8	13/6/2559	1440	1380	1409	250	164	1.44	0.77
9	14/6/2559							
10	15/6/2559	1300	1520	2408	1340	69		
11	16/6/2559							
12	17/6/2559	800	1140	1250	313	78		
13	18/6/2559							
14	19/6/2559							
15	20/6/2559	1640	1520	1248	256	59	1.15	0.87
16	21/6/2559							
17	22/6/2559	1000	1140	1274	88	72.8		
18	23/6/2559							
19	24/6/2559	1620	1060	1152	152	76.8		
20	25/6/2559							
21	26/6/2559							
22	27/6/2559	1640	740	1152	112	88.8	1.03	1.01
23	28/6/2559							
24	29/6/2559	680	280	784	73.7	64		
25	30/6/2559							
26	1/7/2559	1000	920	1792	128	85		
27	2/7/2559							
28	3/7/2559							
29	4/7/2559	1140	920	3104	928	163	1.54	0.64
30	5/7/2559							
31	6/7/2559	1460	360	1236	296	84		

ระยะเวลา (วัน)	วันเดือนปี	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 1	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 2	ซีโอดี ขาเข้า (มก./ล.)	ซีโอดี ถังที่ 1 (มก./ล.)	ซีโอดี ถังที่ 2 (มก./ล.)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 1 (gPHA/ gMLSS)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 2 (gPHA/ gMLSS)
32	7/7/2559							
33	8/7/2559	1360	880	2974	208	99		
34	9/7/2559							
35	10/7/2559							
36	11/7/2559	1120	940	1500	83	78	0.60	0.46
37	12/7/2559							
38	13/7/2559	360	540	1500	114	59		
39	14/7/2559							
40	15/7/2559	1000	840	1500	94	58		
41	16/7/2559							
42	17/7/2559							
43	18/7/2559	980	860	1500	60	59	0.22	0.10
44	19/7/2559							
45	20/7/2559	1460	1120	1500	60	44		
46	21/7/2559							
47	22/7/2559	1280	1300	1500	230	54		
48	23/7/2559							
49	24/7/2559							
50	25/7/2559	1280	1180	1500	56	49	0	0
51	26/7/2559							
52	27/7/2559	1300	1380	1500	21	2		
53	28/7/2559							
54	29/7/2559	1220	1520	1500	173	98		
55	30/7/2559							
56	31/7/2559							
57	1/8/2559	1060	1620	1500	193	20	1.22	1.19
58	2/8/2559							
59	3/8/2559	1060	1840	1440	160	61		
60	4/8/2559							
61	5/8/2559	540	960	1408	224	51		
62	6/8/2559							
63	7/8/2559							
64	8/8/2559	2240	1980	1500	50	42	1.68	1.19
65	9/8/2559							



ระยะเวลา (วัน)	วันเดือนปี	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 1	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 2	ซีโอติ ขาเข้า (มก./ล.)	ซีโอติ ถังที่ 1 (มก./ล.)	ซีโอติ ถังที่ 2 (มก./ล.)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 1 (gPHA/ gMLSS)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 2 (gPHA/ gMLSS)
66	10/8/2559	1840	1660	1500	102	62		
67	11/8/2559							
68	12/8/2559	2220	1540	1500	23	22		
69	13/8/2559							
70	14/8/2559							
71	15/8/2559	2400	1680	1500	292	33	1.11	1.09
72	16/8/2559							
73	17/8/2559	2420	1680	3174	282	51		
74	18/8/2559							
75	19/8/2559	2720	2480	3000	80	72		
76	20/8/2559							
77	21/8/2559							
78	22/8/2559	2940	2260	3000	95	79	1.30	1.44
79	23/8/2559							
80	24/8/2559	2480	2020	2800	112	76		
81	25/8/2559							
82	26/8/2559	2740	2580	3113.6	112	100		
83	27/8/2559							
84	28/8/2559							
85	29/8/2559	2720	2140	3216	264	98	0.92	0.53
86	30/8/2559							
87	31/8/2559	1320	2360	3312	768	120		
88	1/9/2559							
89	2/9/2559	1580	1580	2469.6	701.12	119.96		
90	3/9/2559							
91	4/9/2559							
92	5/9/2559	2900	1220	2469.6	117.6	93.38	1.60	0
93	6/9/2559							
94	7/9/2559	1440	1140	2614.4	72	60.8		
95	8/9/2559							
96	9/9/2559	2660	1740	3458.56	246.4	110.88		
97	10/9/2559							
98	11/9/2559							
99	12/9/2559	2480	2020	2576	212.8	101.92	1.87	1.06

ระยะเวลา (วัน)	วันเดือนปี	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 1	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 2	ซีโอดี ขาเข้า (มก./ล.)	ซีโอดี ถังที่ 1 (มก./ล.)	ซีโอดี ถังที่ 2 (มก./ล.)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 1 (gPHA/ gMLSS)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 2 (gPHA/ gMLSS)
100	13/9/2559							
101	14/9/2559	2940	1340	2477.86	176	61.06		
102	15/9/2559							
103	16/9/2559	3560	1680	2935.78	76.32	73.78		
104	17/9/2559							
105	18/9/2559							
106	19/9/2559	2980	1280	3753.6	108.8	65.28	2.05	0
107	20/9/2559							
108	21/9/2559	1940	1960	3536	244.8	65.56		
109	22/9/2559							
110	23/9/2559	1580	1440	3000	524	68		
111	24/9/2559							
112	25/9/2559							
113	26/9/2559	2220	1700	3000	615.48	79.52	0	0
114	27/9/2559							
115	28/9/2559	1600	1480	3000	228.48	60.41		
116	29/9/2559							
117	30/9/2559	1920	620	3000	268.42	53.68		
118	1/10/2559							
119	2/10/2559							
120	3/10/2559	1700	1840	3000	254.71	52.4	1.74	1.53
121	4/10/2559							
122	5/10/2559	1660	1820	3000	222.22	72		
123	6/10/2559							
124	7/10/2559	1840	1420	3000	379.31	69.98		
125	8/10/2559							
126	9/10/2559							
127	10/10/2559	2840	1700	3000	170	126	0.64	0.74
128	11/10/2559							
129	12/10/2559	2760	1680	300	247	88.24		
130	13/10/2559							
131	14/10/2559	2240	2140	3000	282.55	90.35		
132	15/10/2559							
133	16/10/2559							

ระยะ เวลา (วัน)	วันเดือนปี	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 1	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 2	ซีโอดี ขาเข้า (มก./ล.)	ซีโอดี ถังที่ 1 (มก./ล.)	ซีโอดี ถังที่ 2 (มก./ล.)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 1 (gPHA/ gMLSS)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 2 (gPHA/ gMLSS)
134	17/10/2550	2960	1200	3000	512.5	41.88	1.24	5.33
135	18/10/2559							
136	19/10/2559	3080	1380	3000	332.48	44.71		
137	20/10/2559							
138	21/10/2559	2800	1760	3000	448.6	100.95		
139	22/10/2559							
140	23/10/2559							
141	24/10/2559	2260	1760	3000	231	56.79	4.50	0
142	25/10/2559							
143	26/10/2559	2080	1720	3000	157.5	66.38		
144	27/10/2559							
145	28/10/2559	3040	1466	3000	546.94	75.1		
146	29/10/2559							
147	30/10/2559							
148	31/10/2559	2540	1620	3000	730.43	97.57	8.95	5.95
149	1/11/2559							
150	2/11/2559	2300	1720	3492	684.43	80.56		
151	3/11/2559							
152	4/11/2559	1800	1860	3492	954.48	182.98		
153	5/11/2559							
154	6/11/2559							
155	7/11/2559	1720	1760	2649.6	88.32	68.45	5.32	1.76
156	8/11/2559							
157	9/11/2559	1870	1940	3000	101	55		
158	10/11/2559							
159	11/11/2559	2020	2120	3091.2	66.24	55.2		
160	12/11/2559							
161	13/11/2559							
162	14/11/2559	3060	2060	3000	184.62	55.38	1.42	0
163	15/11/2559							
164	16/11/2559	2880	2820	3000	240	153.6		
165	17/11/2559							
166	18/11/2559	3010	2930	3000	120	61		
167	19/11/2559							

ระยะเวลา (วัน)	วันเดือนปี	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 1	ความเข้มข้น ตะกอน จุลินทรีย์ (มก./ล.) ถังที่ 2	ซีโอดี ขาเข้า (มก./ล.)	ซีโอดี ถังที่ 1 (มก./ล.)	ซีโอดี ถังที่ 2 (มก./ล.)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 1 (gPHA/ gMLSS)	ปริมาณ พีเอชเอ ถังที่ 2 (gPHA/ gMLSS)
168	20/11/2559							
169	21/11/2559	3140	3040	2963.6	305.92	80.3	1.32	0
170	22/11/2559							
171	23/11/2559	2780	2560	3000	276.92	90		
172	24/11/2559							
173	25/11/2559	3440	2900	3346	611.84	87.95		
174	26/11/2559							
175	27/11/2559							
176	28/11/2559	1480	1480	3336	1134.24	37.81	0.83	0
177	29/11/2559							
178	30/11/2559	2500	2960	3669.6	511.52	149		
179	1/12/2559							
180	2/12/2559	2100	2700	3336	422.56	108.98		
181	3/12/2559							
182	4/12/2559							
183	5/12/2559	1420	2100	3433.6	236.8	7.1	3.73	0
184	6/12/2559							
185	7/12/2559	2180	2060	3670.4	394.72	54.46		
186	8/12/2559							
187	9/12/2559	2500	2000	2841.6	384.16	56.83		
188	10/12/2559							
189	11/12/2559							
190	12/12/2559						0.10	0

ตารางที่ 10 ค่าพีเอช ปริมาณออกซิเจนและอุณหภูมิตลอดระยะเวลาการเดินระบบตะกอนเร่งชนิด  
ถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองชั้นตอนที่เลี้ยงด้วยกลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนในชุดการทดลองที่ 3

ระยะ เวลา (วัน)	วัน เดือน ปี	พีเอช ถึงที่ 1	พีเอช ถึงที่ 2	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 1	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 2	อุณหภูมิ (°C) ถึงที่ 1	อุณหภูมิ (°C) ถึงที่ 2
1	6/7/2559	7.24	7.24	6	6	27	27
2	7/6/2559	7.48	7.3	6.15	7.32	27	27
3	8/6/2559	6.83	7.5	6	6.7	27	27
4	9/6/2559	7.47		5.9	6.1	27	27
5	10/6/2559	7.38	7.41	6	6.7	27	27
6	11/6/2559	7.37	7.49	6.1	6.5	27	27
7	12/6/2559	7.41	7.41	5.7	7	27	27
8	13/6/2559	7	7.48	5.8	6.8	27	27
9	14/6/2559	7.47	7.5	6	6.6	27	27
10	15/6/2559	7.24	7.49	6.01	7.42	27	27
11	16/6/2559	7.49	7.26	6.64	7.36	27	27
12	17/6/2559	7.52	7.56	6.74	7.05	27	27
13	18/6/2559	7.31	7.51	6	6.6	28	28
14	19/6/2559	7.31	7.57	5.8	6.7	29.8	28.5
15	20/6/2559	7.25	7.42	5.6	6.7	28.6	27.3
16	21/6/2559	7.04	7.26	5.5	6.5	28.3	28.8
17	22/6/2559	7.07	7.04	5.7	6.6	27.7	28.6
18	23/6/2559	7.01	7	6	7	27.9	27.9
19	24/6/2559	7.02	7.04	5.9	6.7	29.1	27.7
20	25/6/2559	7.09	7.4	5.7	6.8	28.9	28.6
21	26/6/2559	7.08	7.5	5.5	6.9	28.7	27.6
22	27/6/2559	7.03	7.64	5.1	6.6	28.8	27.8
23	28/6/2559	7.02	7.37	5.05	7.56	27.9	27.7
24	29/6/2559	7.03	7.24	5.92	7.34	28.6	28.6
25	30/6/2559	7.03	7.21	6.01	7.21	29.9	29
26	1/7/2559	7.01	7.26	5.72	6	30.3	29.6
27	2/7/2559		7.4	5.8	6.5	29.8	28.3
28	3/7/2559	7.08	7.13	6.8	6.8	29.3	28.8
29	4/7/2559	7.02	7.96	4.8	7.27	30.9	29.4
30	5/7/2559		7.6	6	7	29.8	29.1
31	6/7/2559	7.07	7.77	7.08	7.36	29	28.4
32	7/7/2559	7.05	7.72	5.24	7.86	29.9	28.7
33	8/7/2559	7.04	7.74	5.79	7.76	29	29

ระยะเวลา (วัน)	วัน เดือน ปี	พีเอช ถึงที่ 1	พีเอช ถึงที่ 2	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 1	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 2	อุณหภูมิ (°ซ) ถึงที่ 1	อุณหภูมิ (°ซ) ถึงที่ 2
34	9/7/2559	7.05	7.67	6.36	7.4	29.6	28.5
35	10/7/2559	7.09	7.62	5.89	7.4	30.5	29.6
36	11/7/2559	7	7.55	5.91	7.15	30.1	29.5
37	12/7/2559	7.02	7.51	5.8	7	31.2	28.9
38	13/7/2559	7.07	7.53	5.7	6.5	28.9	28
39	14/7/2559	7.11	7.27	4.3	6.1	29.5	27.9
40	15/7/2559	7.07	7.5	5.5	6	30.3	28
41	16/7/2559	7.08	7.36	6.7	6.7	29.3	28
42	17/7/2559	7.02	7.47	4	5.9	28.9	28.3
43	18/7/2559	7.08	7.52	3.7	6.7	30.8	29.9
44	19/7/2559	7.04	7.42	5.3	5.7	31.2	30.1
45	20/7/2559	7.05	7.4	3.9	5.6	30.6	29.9
46	21/7/2559	7.06	7.46	4.3	4.3	30.1	30.1
47	22/7/2559	7.02	7.73	4.3	6	30.5	30
48	23/7/2559	7.06	7.7	4.7	6.5	29.6	28.6
49	24/7/2559	6.92	7.55	5.2	6.6	30.8	29.9
50	25/7/2559	7.07	7.3	3.5	3.5	30.5	29.5
51	26/7/2559	7.01	7.75	4.6	6.1	29.9	28.9
52	27/7/2559	7.09	7.76	4.8	6.2	29.8	28.9
53	28/7/2559	7	7.76	4.6	6	28.1	27.4
54	29/7/2559	7.05	7.6	6	6.4	28.3	27.6
55	30/7/2559	7.04	7.59	5	6.2	28.9	27.9
56	31/7/2559	7.03	7.58	5.5	6.2	29	28
57	1/8/2559	7.01	7.63	4.2	5.5	28.5	27.6
58	2/8/2559	7.05	7.58	3.7	6.2	30.3	29.3
59	3/8/2559	6.82	7.77	4	6.5	27.9	27.3
60	4/8/2559	7.07	7.78	4.9	6.3	28.5	27.8
61	5/8/2559	7	7.4	3.7	5	28.7	28
62	6/8/2559	7.09	7.7	3.7	5.3	28.2	27.3
63	7/8/2559	7	7.7	3.5	5.3	28	27
64	8/8/2559	7.06	7.72	3.9	6.7	28.1	27.6
65	9/8/2559	7.04	7.81	2.8	3.8	29.4	28.7
66	10/8/2559	6.96	7.73	4.3	7.1	28.6	27.8
67	11/8/2559	7.07	7.96	5.9	6	27.8	27.5
68	12/8/2559	7.05	7.78	3.1	6.4	28.5	27.6
69	13/8/2559	7.04	7.83	6.9	6.4	28.3	27.5

ระยะ เวลา (วัน)	วัน เดือน ปี	พีเอช ถึงที่ 1	พีเอช ถึงที่ 2	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 1	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 2	อุณหภูมิ (°ซ) ถึงที่ 1	อุณหภูมิ (°ซ) ถึงที่ 2
70	14/8/2559	7.03	7.4	3.8	6.4	29.1	28.4
71	15/8/2559	7.04	7.68	5.7	6.4	28.6	29
72	16/8/2559	7.02	7.63	4.1	5.2	29	28
73	17/8/2559	7	7.69	4.6	6.6	28.9	28.4
74	18/8/2559	7.01	7.54	1.1	4.9	30.4	29.3
75	19/8/2559	7	7.34	1.1	6.5	30.1	28.9
76	20/8/2559	7	7.64	1.7	3.7	29.4	28.3
77	21/8/2559	7.04	7.58	1	2.7	29.8	28.3
78	22/8/2559	7.07	7.63	1.1	5.3	29.9	28.6
79	23/8/2559	7.04	7.63	1.2	5.4	29.2	28.3
80	24/8/2559	7.04	7.68	1.4	3.7	29.3	28.2
81	25/8/2559	7.02	7.85	1.1	2.5	29.1	28.2
82	26/8/2559	7.06	7.82	0.7	2.2	28	27.5
83	27/8/2559	7.04	7.75	0.6	2.6	29.2	28.3
84	28/8/2559	7.03	7.6	0.5	6.2	29.9	28.5
85	29/8/2559	7.03	7.61	0.5	4.3	29.2	28.6
86	30/8/2559	7.04	7.62	0.5	4.2	29.1	28.5
87	31/8/2559	7.3	7.9	0.5	1.9	29.4	28.5
88	1/9/2559	7.07	7.97	0.5	2	28.9	28.1
89	2/9/2559	7	7.66	0.6	6	28.2	27.5
90	3/9/2559	7.08	7.96	1.1	5.4	28.5	27.2
91	4/9/2559	7.09	7.22	1.1	5.7	28.3	27.6
92	5/9/2559	7	7.54	2.7	5.6	29.5	28
93	6/9/2559	7.06	7.25	2.2	4.2	29.7	28.2
94	7/9/2559	7	7.2	3.3	5.3	29	28
95	8/9/2559	7	7.14	3.2	5.2	29.1	27.9
96	9/9/2559	7.03	7.19	3.6	5	28.5	27.7
97	10/9/2559	7.04	7.2	3.4	4.8	28.3	27.5
98	11/9/2559	7.05	7.21	3.2	4.6	28	27.3
99	12/9/2559	7.08	7.07	2.7	4.1	27.4	27.7
100	13/9/2559	7.05	7	2.7	4.8	28.4	27.6
101	14/9/2559	7.09	7.05	0.9	5	28.3	27.3
102	15/9/2559	7.05	7.04	1.9	5	28.2	27.1
103	16/9/2559	7.06	7.04	1.9	4.4	28.7	27.8
104	17/9/2559	7.08	7.07	1.5	4.5	28.6	27.7
105	18/9/2559	7.02	7.2	1.1	4.1	28.6	27.9

ระยะ เวลา (วัน)	วัน เดือน ปี	พีเอช ถึงที่ 1	พีเอช ถึงที่ 2	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 1	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 2	อุณหภูมิ (°ซ) ถึงที่ 1	อุณหภูมิ (°ซ) ถึงที่ 2
106	19/9/2559	7.01	7.12	3.6	4	29.3	28.4
107	20/9/2559	7.05	7.18	1.6	5.4	28.9	28
108	21/9/2559	7.01	7.22	3.5	5.8	28.1	27.5
109	22/9/2559	7	7.21	3.4	5.7	28.3	27.6
110	23/9/2559	7.08	7.72	0.5	4.8	27.9	27.4
111	24/9/2559	7.05	7.2	0.5	4.7	28.2	27.4
112	25/9/2559	7.04	7.19	0.6	4.6	28.2	27.4
113	26/9/2559	7	7.04	2.9	5.2	28.8	27.9
114	27/9/2559	7.05	7.15	3.7	5.5	28.7	27.9
115	28/9/2559	7.06	7.01	0.7	5.5	28.3	27.8
116	29/9/2559	7.04	7.13	2.6	5.5	28.3	27.6
117	30/9/2559	7.13	7.21	3.7	5.7	28.8	27.7
118	1/10/2559	7.19	7.07	0.5	5.2	28.8	27.4
119	2/10/2559	7.06	7.1	0.7	4.1	29.7	28.6
120	3/10/2559	7.07	7.11	2.2	3.8	27.9	27.1
121	4/10/2559	7.03	7.56	2	6.8	29	28.1
122	5/10/2559	7.01	7.77	2	4.4	28.3	27.6
123	6/10/2559	7.09	7.43	0.9	5.7	28.5	27.9
124	7/10/2559	7.02	7.23	0.5	4.9	28.5	27.5
125	8/10/2559	7.03	7.24	0.5	5	28.6	27.6
126	9/10/2559	7.02	7.92	0.5	6.6	27.9	27.1
127	10/10/2559	7	7.22	1	5.8	28	26.9
128	11/10/2559	7.06	7.42	0.5	5.1	29.6	28.7
129	12/10/2559	7.07	7.82	0.6	5.3	29.5	28.5
130	13/10/2559	7.08	7.93	0.6	3.4	28.4	27.5
131	14/10/2559	7.01	7.54	0.8	4.8	30.4	29.4
132	15/10/2559	7.03	7.82	0.5	5	29.9	28.9
133	16/10/2559	7.04	7.66	1.1	5.3	29	28.2
134	17/10/2559	7.01	7.61	0.5	4.7	28.1	27.3
135	18/10/2559	7.03	7.65	0.5	3.5	29.7	28.8
136	19/10/2559	7.09	7.82	0.5	5	28.6	27.7
137	20/10/2559	7	7.75	0.5	4.8	30.1	29.3
138	21/10/2559	7.09	7.92	0.5	4.3	28.7	27.8
139	22/10/2559	7.08	7.88	0.5	4.8	28.9	27.8
140	23/10/2559	7.07	7.4	0.5	4.9	28.6	27.5
141	24/10/2559	7	7.83	0.5	5.5	28.7	27.6



ระยะ เวลา (วัน)	วัน เดือน ปี	พีเอช ถึงที่ 1	พีเอช ถึงที่ 2	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 1	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 2	อุณหภูมิ (°ซ) ถึงที่ 1	อุณหภูมิ (°ซ) ถึงที่ 2
142	25/10/2559	7.03	7.8	0.5	5.6	28	27.1
143	26/10/2559	7.05	7.92	0.5	5.7	28.7	27.6
144	27/10/2559	7.07	7.9	0.5	4.4	28.1	27.4
145	28/10/2559	7.02	7.83	0.5	4.5	27.7	27.1
146	29/10/2559	7	7.9	0.5	4.6	27.5	26.9
147	30/10/2559	7.02	7.95	0.5	4.4	27	26.5
148	31/10/2559	7.03	7.96	0.5	4.5	27.1	26.6
149	1/11/2559	7.04	7.85	0.5	3.5	27.9	27.3
150	2/11/2559	7.02	7.8	0.5	3.8	27.4	26.7
151	3/11/2559	7.02	7.96	0.5	4.5	27.4	27.4
152	4/11/2559	7.04	7.82	0.5	6.4	27	26.2
153	5/11/2559	7.09	7.77	0.5	5.9	27.9	27
154	6/11/2559	7.06	7.7	0.6	5.5	27.8	28.3
155	7/11/2559	7	7.99	0.5	5.6	28.1	28
156	8/11/2559	7.04	7.99	0.5	3.3	27.6	27.4
157	9/11/2559	7.09	7.8	0.7	4.9	27.8	27
158	10/11/2559	7.07	7.8	0.7	5.5	27.7	27.7
159	11/11/2559	7.09	7.99	1.2	5.9	28	27.1
160	12/11/2559	7.1	7.96	0.5	4.4	28.5	27.3
161	13/11/2559	7.39	8.18	1	5	28.6	27.4
162	14/11/2559	7	7.96	0.5	6.4	28.8	27.7
163	15/11/2559	7.04	7.84	0.6	5.5	28.4	28.2
164	16/11/2559	7.05	7.97	0.5	5.3	28.5	27.3
165	17/11/2559	7.06	7.94	0.5	6.3	29.3	27.8
166	18/11/2559	7	7.7	0.7	6	29.1	28
167	19/11/2559	7.1	7.9	0.7	5.5	28.9	28.1
168	20/11/2559	7.04	7.71	0.5	5.2	28.5	27.7
169	21/11/2559	7.27	7.8	0.5	6.9	29.7	28.9
170	22/11/2559	7.07	7.71	0.9	6.1	28	28.6
171	23/11/2559	7.05	7.99	0.5	6.3	28.2	28.1
172	24/11/2559	7.09	7.99	0.5	4.8	28.1	27.4
173	25/11/2559	7.09	7.97	0.5	4.4	27.9	27.2
174	26/11/2559	7.08	7.9	0.6	5	27.7	27.7
175	27/11/2559	7.01	7.87	0.6	5.8	28.1	27.4
176	28/11/2559	7.06	7.71	0.5	6.8	28.2	27.2
177	29/11/2559	7.05	7.95	0.5	7.3	29.2	28

ระยะเวลา (วัน)	วัน เดือน ปี	พีเอช ถึงที่ 1	พีเอช ถึงที่ 2	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 1	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล) ถึงที่ 2	อุณหภูมิ (°ซ) ถึงที่ 1	อุณหภูมิ (°ซ) ถึงที่ 2
178	30/11/2559	7.06	7.99	3.8	7.5	28.7	26.8
179	1/12/2559	7	7.69	0.5	5.7	28.5	27
180	2/12/2559	7.13	7.92	0.5	4.7	28.2	26.8
181	3/12/2559	7.02	7.75	0.7	4.4	28.3	26.3
182	4/12/2559	7.1	7.8	0.6	4.9	28.1	26.7
183	5/12/2559	7.09	7.71	1.4	4	28.6	27.2
184	6/12/2559	7.07	7.77	0.9	5	28.9	27.1
185	7/12/2559	7.14	7.89	0.5	4.8	28	26.6
186	8/12/2559	7.09	7.8	0.7	5.2	27.7	26.2
187	9/12/2559	7.04	7.98	0.6	5.1	27.5	25.8
188	10/12/2559	7.08	7.9	0.8	5.5	27.8	26.1
189	11/12/2559	7.1	7.89	0.8	5	27.7	26.3

ตารางที่ ง11 ค่าความเข้มข้นแอมโมเนียตลอดระยะเวลาการเดินระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสม  
แบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่เลี้ยงด้วยกลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนในชุดการทดลองที่ 3

ระยะเวลา (วัน)	วันเดือนปี	แอมโมเนีย (มก.ไนโตรเจน/ล) ถึงที่ 1	แอมโมเนีย (มก.ไนโตรเจน/ล) ถึงที่ 2
1	6/7/2559	-	-
8	13/6/2559	-	-
15	20/6/2559	-	-
22	27/6/2559	3.0581	12.7464
29	4/7/2559	11.2421	15.5886
36	11/7/2559	4.9812	13.7591
43	18/7/2559	5.2714	12.3125
50	25/7/2559	5.8321	12.8900
57	1/8/2559	3.781	12.9578
64	8/8/2559	4.761	13.5618
71	15/8/2559	5.7619	11.9781
78	22/8/2559	4.9123	13.1172
85	29/8/2559	3.9879	11.9986
92	5/9/2559	0.0000	3.2894
99	12/9/2559	0	5.85
106	19/9/2559	3.0857	10.9655
113	26/9/2559	3.0134	12.6547

ระยะ เวลา (วัน)	วันเดือนปี	แอมโมเนีย (มกไนโตรเจน./ล) ถังที่ 1	แอมโมเนีย (มก.ไนโตรเจน./ล.) ถังที่ 2
120	3/10/2559	3.3892	11.784
127	#####	4.2104	14.8135
134	#####	3.8915	12.7644
141	#####	3.7275	12.8751
148	#####	5.8904	12.4397
155	7/11/2559	4.891	14.9835
162	14/11/2559	6.2793	11.7426
169	21/11/2559	6.8211	10.6794
176	28/11/2559	9.8944	17.98
183	5/12/2559	11.6783	15.2389

ตารางที่ 12 ค่าปริมาณตะกอนที่ 30 นาที (SV30) และค่าดัชนีปริมาณตะกอน (SVI) ตลอดระยะเวลาการเดินระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองชั้นตอนที่เลี้ยงด้วยกลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนในชุดการทดลองที่ 3

ระยะ เวลา (วัน)	วันเดือนปี	ปริมาณตะกอนที่ 30 นาที (มล./ล.)	ดัชนีปริมาณตะกอน (มก./ล.)
1	6/7/2559	550	433
8	13/6/2559	550	254
15	20/6/2559	420	164
22	27/6/2559	230	135
29	4/7/2559	100	109
36	11/7/2559	94	100
43	18/7/2559	100	116
50	25/7/2559	130	110
57	1/8/2559	140	80
64	8/8/2559	300	151
71	15/8/2559	600	357
78	22/8/2559	700	310
85	29/8/2559	900	381
92	5/9/2559	500	409
99	12/9/2559	650	321.78
106	19/9/2559	650	507.81
113	26/9/2559	800	470.59
120	3/10/2559	800	434.78
127	10/10/2559	550	323.53

ระยะเวลา เวลา (วัน)	วันเดือนปี	แอมโมเนีย (มก.ไนโตรเจน./ล.) ถังที่ 1	แอมโมเนีย (มก.ไนโตรเจน./ล.) ถังที่ 2
134	17/10/2559	500	416.67
141	24/10/2559	850	482.95
148	31/10/2559	850	525
155	7/11/2559	750	426
162	14/11/2559	850	297
169	21/11/2559	850	279.6
176	28/11/2559	500	378.79
183	5/12/2559	700	333.33

## 2. ผลการศึกษาปริมาณพีเอชเอที่ผลิตได้จากตะกอนจุลินทรีย์ในระบบแบบแบทช์และระบบแบบ fed-batch

ตารางที่ 13ง ความเข้มข้นซีไอดีเพื่อวิเคราะห์หาอัตราการใช้สารอินทรีย์ในระบบแบบแบทช์ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04

วันเดือนปี	เวลา	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ระยะเวลา (นาที)	ซีไอดี (มก./ล.)
14/11/2559	9.00 น.	0	0	4388
	9.30 น.	0.5	30	4220
	10.00 น.	1	60	4051.2
	10.30 น.	1.5	90	4051.2
	11.00 น.	2	120	4051.2
	11.30 น.	2.5	150	3713.6
	12.00 น.	3	180	3544.8
	12.30 น.	3.5	210	3376
	13.00 น.	4	240	3207.2
	14.00 น.	5	300	3207.2
	15.00 น.	6	360	3038.4
	16.00 น.	7	420	2869.6
	17.00 น.	8	480	2025.6
	21.00 น.	12	720	675.2
	01.00 น.	16	960	675.2
	05.00 น.	20	1200	844
	09.00 น.	24	1440	844
	13.00 น.	28	1680	444

วันเดือนปี	เวลา	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ระยะเวลา (นาที)	ซีไอดี (มก./ล.)
	17.00 น.	32	1920	344
	21.00 น.	36	2160	80
	01.00 น.	40	2400	41
	05.00 น.	44	2640	20
	09.00 น.	48	2880	20

ตารางที่ 14ง ความเข้มข้นซีไอดีเพื่อวิเคราะห์หาอัตราการใช้สารอินทรีย์ในระบบแบบแบทช์ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดกึ่งกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.15

วันเดือนปี	เวลา	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ระยะเวลา (นาที)	ซีไอดี (มก./ล.)
14/11/2559	9.00 น.	0	0	4995.2
	9.30 น.	0.5	30	4557.6
	10.00 น.	1	60	4726.4
	10.30 น.	1.5	90	4388.8
	11.00 น.	2	120	4051.2
	11.30 น.	2.5	150	3882.4
	12.00 น.	3	180	4220
	12.30 น.	3.5	210	3882.4
	13.00 น.	4	240	3376
	13.30 น.	4.5	270	3207.2
	14.00 น.	5	300	3038.4
	14.30 น.	5.5	330	3038.4
	15.00 น.	6	360	2532
	17.00 น.	8	480	2025.6
	21.00 น.	12	720	1512
	01.00 น.	16	960	1012.8
	05.00 น.	20	1200	1012.8
	09.00 น.	24	1440	844
	13.00 น.	28	1680	844
	17.00 น.	32	1920	506.4
	21.00 น.	36	2160	506.4
	01.00 น.	40	2400	120
	05.00 น.	44	2640	82
	09.00 น.	48	2880	43

ตารางที่ 15ง ความเข้มข้นซีไอดีเพื่อวิเคราะห์หาอัตราการใช้สารอินทรีย์ในระบบแบบแบทช์ของ ตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลา ที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.33

วันเดือนปี	เวลา	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ระยะเวลา (นาที)	ซีไอดี (มก./ล.)
14/11/2559	09.00 น.	0	0	4406.4
	09.00 น.	0.5	30	4896
	10.00 น.	1	60	4569.6
	10.30 น.	1.5	90	4569.6
	11.00 น.	2	120	4080
	11.30 น.	2.5	150	3916.8
	12.00 น.	3	180	3753.6
	12.30 น.	3.5	210	3753.6
	13.00 น.	4	240	3264
	13.30 น.	4.5	270	3916.8
	14.00 น.	5	300	3916.8
	14.30 น.	5.5	330	3753.6
	15.00 น.	6	360	3753.6
	15.30 น.	6.5	390	3590.4
	16.00 น.	7	420	3590.4
	16.30 น.	7.5	450	3427.2
	17.00 น.	8	480	3427.2
	17.30 น.	8.5	510	3427.2
	18.00 น.	9	540	3100.8
	18.30 น.	9.5	570	3100.8
	19.00 น.	10	600	1958.4
	19.30 น.	10.5	630	1958.4
	20.00 น.	11	660	1958.4
	20.30 น.	11.5	690	1958.4
	21.00 น.	12	720	1142.4
	1.00 น.	16	960	326.4
	5.00 น.	20	1200	489.6
	9.00 น.	24	1440	163.2
	13.00 น.	28	1680	163.2
	17.00 น.	32	1920	326.4
	21.00 น.	36	2160	0
	1.00 น.	40	2400	0
	5.00 น.	44	2640	0

วันเดือนปี	เวลา	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ระยะเวลา (นาที)	ซีไอดี (มก./ล.)
14/11/2559	9.00 น.	48	2880	0

ตารางที่ 16ง ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ค่าความเข้มข้นซีไอดีและปริมาณพีเอชเอในระบบแบบแบทช์ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินต่อระยะเวลาที่ขาดแคลน (feast/famine ratio) เป็น 0.04

วันเดือนปี	เวลา	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ระยะเวลา (นาที)	ความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.)	ซีไอดี (มก./ล.)	ปริมาณพีเอชเอ (%gPHA/gMLSS)
5/12/2559	9.00 น.	0	0	3220	3317.6	2.43
	9.30 น.	0.5	30	3340	3062.4	1.61
	10.00 น.	1	60	3560	3062.4	1.99
	10.30 น.	1.5	90	3740	3317.6	2.00
	11.00 น.	2	120	3540	2807.2	2.84
	11.30 น.	2.5	150	3480	2041.6	3.38
	12.00 น.	3	180	3920	1786.4	3.79
	12.30 น.	3.5	210	3720	1786.4	4.31
	13.00 น.	4	240	3880	1531.2	4.92
	14.00 น.	5	300	3280	1020.8	5.53
	15.00 น.	6	360	4960	510.4	7.61
	16.00 น.	7	420	3700	1020.8	7.31
	17.00 น.	8	480	4800	765.6	7.41
	21.00 น.	12	720	4120	0	6.57
	01.00 น.	16	960	4600	0	5.06
	05.00 น.	20	1200	4480	0	4.69
	09.00 น.	24	1440	4120	255.2	4.39
	13.00 น.	28	1680	4480	0	2.82
	17.00 น.	32	1920	3680	255.2	2.35
	21.00 น.	36	2160	5020	765.6	1.80
	01.00 น.	40	2400	4220	765.6	1.87
	05.00 น.	44	2640	4540	510.4	0.63
	09.00 น.	48	2880	4100	510.4	0.76

ตารางที่ 17ง ค่าพีเอช ค่าปริมาณออกซิเจน อุณหภูมิและแอมโมเนียในระบบแบบแบทช์ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถึงกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04

วันเดือนปี	เวลา	ระยะ เวลา (ชั่วโมง)	ระยะ เวลา (นาที)	พีเอช	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล.)	อุณหภูมิ (°ซ)	แอมโมเนีย (มก. ไนโตรเจน/ล.)
5/12/2559	9.00 น.	0	0	7.74	3.4	27.6	73.99
	9.30 น.	0.5	30	8.05	2.6	27.5	57.39
	10.00 น.	1	60	7.99	2.5	27.4	68.82
	10.30 น.	1.5	90	7.89	2.4	27.5	49.72
	11.00 น.	2	120	7.82	1.9	27.5	46.21
	11.30 น.	2.5	150	7.59	1.7	27.6	40.42
	12.00 น.	3	180	7.72	1.6	27.6	35.87
	12.30 น.	3.5	210	7.67	1.4	27.6	34.62
	13.00 น.	4	240	7.73	1	27.6	18.11
	14.00 น.	5	300	7.62	1.1	27.8	0.00
	15.00 น.	6	360	7.57	1.6	27.9	0.00
	16.00 น.	7	420	7.85	4.3	27.7	0.00
	17.00 น.	8	480	7.98	4.7	27.4	0.00
	21.00 น.	12	720	7.9	5.8	26.6	0.00
	01.00 น.	16	960	8.34	6.2	26.3	0.00
	05.00 น.	20	1200	8.43	6.1	26.1	0.00
	09.00 น.	24	1440	8.45	6.4	25.8	0.00
	13.00 น.	28	1680	8.46	7.3	26	0.00
	17.00 น.	32	1920	8.49	7.3	26.3	0.00
	21.00 น.	36	2160	8.35	7.4	26.2	0.00
	01.00 น.	40	2400	8.5	7.4	26.3	0.00
	05.00 น.	44	2640	8.52	7.5	25.9	0.00
	09.00 น.	48	2880	8.57	7.6	25.7	0.00



ตารางที่ 18ง ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ค่าความเข้มข้นซีไอดีและปริมาณพีเอชเอในระบบแบบ fed-batch ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินต่อระยะเวลาที่ขาดแคลน (feast/famine ratio) เป็น 0.04

วันเดือนปี	เวลา	ระยะ เวลา (ชั่วโมง)	ระยะ เวลา (นาที)	ความเข้มข้น ตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.)	ซีไอดี (มก./ล.)	ปริมาณ พีเอชเอ (%gPHA/ gMLSS)
5/12/2559	9.00 น.	0	0	3780	3572.8	1.32
	9.30 น.	0.5	30	4720	3062.4	1.90
	10.00 น.	1	60	3760	3062.4	2.30
	10.30 น.	1.5	90	3680	3062.4	4.26
	11.00 น.	2	120	2520	3572.8	4.03
	11.30 น.	2.5	150	4060	3062.4	4.50
	12.00 น.	3	180	3800	2807.2	4.76
	12.30 น.	3.5	210	3280	2807.2	5.72
	13.00 น.	4	240	3800	3062.4	5.74
	14.00 น.	5	300	4060	2807.2	7.29
	15.00 น.	6	360	4120	2807.2	9.54
	16.00 น.	7	420	5600	2552	9.63
	17.00 น.	8	480	4800	2807.2	11.58
	21.00 น.	12	720	5040	2807.2	12.67
	01.00 น.	16	960	6320	1786.4	15.76
	05.00 น.	20	1200	5660	2296.8	17.56
	09.00 น.	24	1440	5720	2296.8	17.68
	13.00 น.	28	1680	6400	2041.6	19.80
	17.00 น.	32	1920	6820	2296.8	20.09
	21.00 น.	36	2160	6160	2807.2	20.58
	01.00 น.	40	2400	6640	3062.4	20.82
	05.00 น.	44	2640	6620	3828	21.35
	09.00 น.	48	2880	7620	4083.2	19.76

ตารางที่ 19ง ค่าพีเอช ค่าปริมาณออกซิเจนและอุณหภูมิในระบบแบบ fed-batch ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถึงกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04

วันเดือนปี	เวลา	ระยะ เวลา (ชั่วโมง)	ระยะ เวลา (นาที)	พีเอช	ออกซิเจนละลาย (มก./ล.)	อุณหภูมิ (°ซ)
5/12/2559	9.00 น.	0	0	7.81	2.8	27.5
	9.30 น.	0.5	30	8.01	2.5	27.4
	10.00 น.	1	60	7.99	2.2	27.4
	10.30 น.	1.5	90	7.99	2.1	27.4
	11.00 น.	2	120	7.95	2.1	27.4
	11.30 น.	2.5	150	7.55	2.2	27.4
	12.00 น.	3	180	7.88	1.9	27.4
	12.30 น.	3.5	210	7.9	1.7	27.4
	13.00 น.	4	240	7.43	1.3	27.5
	14.00 น.	5	300	7.82	1.7	27.5
	15.00 น.	6	360	7.79	1.5	27.6
	16.00 น.	7	420	7.75	1.4	27.7
	17.00 น.	8	480	7.93	1.5	27.7
	21.00 น.	12	720	7.48	2.1	27.5
	01.00 น.	16	960	7.29	2.3	27.1
	05.00 น.	20	1200	7.73	2.8	26.7
	09.00 น.	24	1440	7.47	3.3	26.3
	13.00 น.	28	1680	8.13	3.3	26.5
	17.00 น.	32	1920	8.35	3.4	27
	21.00 น.	36	2160	8.18	3.5	27
	01.00 น.	40	2400	8	3.7	26.9
	05.00 น.	44	2640	8.33	3.8	26.4
	09.00 น.	48	2880	8.88	3.6	26.1

ตารางที่ 20ง ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ค่าความเข้มข้นซีโอดีและปริมาณพีเอชเอในระบบแบบแบทช์ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินต่อระยะเวลาที่ขาดแคลน (feast/famine ratio)) เป็น 0.15

วันเดือนปี	เวลา	ระยะ เวลา (ชั่วโมง)	ระยะ เวลา (นาที)	ความเข้มข้น ตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.)	ซีโอดี (มก./ล.)	ปริมาณ พีเอชเอ (%gPHA /gMLSS)
28/11/2559	9.00 น.	0	0	2460	3920.8	1.39
	9.30 น.	0.5	30	2140	3715.2	1.21
	10.00 น.	1	60	2280	3650.4	1.22
	10.30 น.	1.5	90	2400	3650.4	2.08
	11.00 น.	2	120	2440	3326.4	1.61
	11.30 น.	2.5	150	3480	3244.8	2.55
	12.00 น.	3	180	2400	2704	2.00
	12.30 น.	3.5	210	2800	2704	4.05
	13.00 น.	4	240	1360	2568.8	2.95
	13.30 น.	4.5	270	1380	2974.4	1.82
	14.00 น.	5	300	2140	3650.4	3.54
	14.30 น.	5.5	330	2780	3244.8	1.67
	15.00 น.	6	360	3540	3244.8	2.60
	17.00 น.	8	480	1660	1352	1.14
	21.00 น.	12	720	1380	2163.2	2.88
	01.00 น.	16	960	1880	1487.2	6.91
	05.00 น.	20	1200	2340	1352	6.28
	09.00 น.	24	1440	2280	1216.8	7.51
	13.00 น.	28	1680	1680	811.2	6.15
	17.00 น.	32	1920	1860	676	5.32
	21.00 น.	36	2160	1940	676	3.72
	01.00 น.	40	2400	1840	270.4	1.51
	05.00 น.	44	2640	1660	270.4	1.32
	09.00 น.	48	2880	2500	220	1.00

ตารางที่ 21ง ค่าพีเอช ค่าปริมาณออกซิเจน อุณหภูมิและแอมโมเนียในระบบแบบแบทช์ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถึงกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.15

วันเดือนปี	เวลา	ระยะ เวลา (ชั่วโมง)	ระยะ เวลา (นาที)	พีเอช	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล.)	อุณหภูมิ (°ซ)	แอมโมเนีย (มก. ไนโตรเจน/ล.)
28/11/2559	9.00 น.	0	0	8.01	4.7	26.3	98.8773
	9.30 น.	0.5	30	8.59	4.6	26.2	102.0876
	10.00 น.	1	60	8.56	4.8	26.1	99.1448
	10.30 น.	1.5	90	8.55	4.8	26.1	95.7562
	11.00 น.	2	120	8.66	3.6	26.1	91.7433
	11.30 น.	2.5	150	8.63	3.9	26.1	94.6861
	12.00 น.	3	180	8.76	4.2	26.2	90.3165
	12.30 น.	3.5	210	8.65	3.7	26.2	88.8005
	13.00 น.	4	240	8.45	1.0	26.3	89.8706
	13.30 น.	4.5	270	8.55	1.0	26.3	85.7686
	14.00 น.	5	300	8.59	1.0	26.4	79.3480
	14.30 น.	5.5	330	8.57	1.0	26.5	68.2902
	15.00 น.	6	360	8.59	1.0	25.8	74.3541
	17.00 น.	8	480	8.39	1.0	25.8	51.6145
	21.00 น.	12	720	8.57	2.4	26.6	3.4600
	01.00 น.	16	960	8.60	2.7	26.6	3.4600
	05.00 น.	20	1200	8.51	2.8	26.2	3.4600
	09.00 น.	24	1440	8.58	2.9	25.7	3.4600
	13.00 น.	28	1680	8.54	5.9	26.2	3.4600
	17.00 น.	32	1920	8.65	5.5	26.4	3.4600
	21.00 น.	36	2160	8.74	5.3	26.7	3.4600
	01.00 น.	40	2400	8.65	6.3	26.5	3.4600
	05.00 น.	44	2640	8.78	6.4	25.9	3.4600
	09.00 น.	48	2880	8.91	7.3	25.5	3.4600

ตารางที่ 22ง ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ค่าความเข้มข้นซีไอดีและปริมาณพีเอชเอในระบบแบบ fed-batch ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินต่อระยะเวลาที่ขาดแคลน (feast/famine ratio) เป็น 0.15

วันเดือนปี	เวลา	ระยะ เวลา (ชั่วโมง)	ระยะ เวลา (นาที)	ความเข้มข้น ตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.)	ซีไอดี (มก./ล.)	ปริมาณ พีเอชเอ (%gPHA/ gMLSS)
28/11/2559	9.00 น.	0	0	2320	3785.6	1.46
	9.30 น.	0.5	30	2100	4191.2	1.29
	10.00 น.	1	60	2540	4461.6	2.69
	10.30 น.	1.5	90	2160	4732	0.87
	11.00 น.	2	120	2240	4326.4	1.87
	11.30 น.	2.5	150	2340	3515.2	2.97
	12.00 น.	3	180	2410	4596.8	2.66
	12.30 น.	3.5	210	2410	4867.2	2.84
	13.00 น.	4	240	2540	6895.2	1.95
	13.30 น.	4.5	270	2220	5543.2	2.07
	14.00 น.	5	300	2840	5408	1.64
	14.30 น.	5.5	330	2560	5408	3.39
	15.00 น.	6	360	2900	6084	3.53
	17.00 น.	8	480	3480	7706.4	4.68
	21.00 น.	12	720	2240	4056	5.42
	01.00 น.	16	960	2160	8112	5.53
	05.00 น.	20	1200	2260	8404.8	3.72
	09.00 น.	24	1440	2680	8797.2	6.44
	13.00 น.	28	1680	2700	8797.2	7.37
	17.00 น.	32	1920	2640	8876.4	9.67
	21.00 น.	36	2160	2140	8579.8	10.86
	01.00 น.	40	2400	2220	8876.4	10.86
	05.00 น.	44	2640	2100	8900	10.86
	09.00 น.	48	2880	700	9464	12.58

ตารางที่ 23 ค่าพีเอช ค่าปริมาณออกซิเจนและอุณหภูมิในระบบแบบ fed-batch ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถึงกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.15

วันเดือนปี	เวลา	ระยะ เวลา (ชั่วโมง)	ระยะ เวลา (นาที)	พีเอช	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล.)	อุณหภูมิ (°ซ)
28/11/2559	9.00 น.	0	0	8.27	4.8	26.2
	9.30 น.	0.5	30	8.69	4.8	26.1
	10.00 น.	1	60	8.58	4.9	26.1
	10.30 น.	1.5	90	8.75	4.9	26.1
	11.00 น.	2	120	8.75	4.8	26.1
	11.30 น.	2.5	150	8.66	2.1	26.1
	12.00 น.	3	180	8.66	0.5	26.1
	12.30 น.	3.5	210	8.73	4.7	26.2
	13.00 น.	4	240	8.53	4.2	26.2
	13.30 น.	4.5	270	8.64	3.5	26.4
	14.00 น.	5	300	8.68	1	26.4
	14.30 น.	5.5	330	8.6	4.3	26.6
	15.00 น.	6	360	8.67	3.7	26.6
	17.00 น.	8	480	8.61	1	26.9
	21.00 น.	12	720	8.17	3.2	27.2
	01.00 น.	16	960	8.2	0.8	27.1
	05.00 น.	20	1200	8.72	1.8	26.8
	09.00 น.	24	1440	8.73	0.5	26.7
	13.00 น.	28	1680	8.68	3.1	27.2
	17.00 น.	32	1920	8.68	3.5	27.5
	21.00 น.	36	2160	8.72	3.2	27.9
	01.00 น.	40	2400	8.67	3.3	27.2
	05.00 น.	44	2640	8.87	2.6	27.3
	09.00 น.	48	2880	8.78	2.5	26.9

ตารางที่ 24ง ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ค่าความเข้มข้นซีไอดีและปริมาณพีเอชเอในระบบแบบแบทช์ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินต่อระยะเวลาที่ขาดแคลน (feast/famine ratio) เป็น 0.33

วันเดือนปี	เวลา	ระยะ เวลา (ชั่วโมง)	ระยะ เวลา (นาที)	ความเข้มข้น ตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.)	ซีไอดี (มก./ล.)	ปริมาณ พีเอชเอ (%gPHA/ gMLSS)
21/11/2559	09.00 น.	0	0	2940	3744	0.08
	09.00 น.	0.5	30	2860	3556.8	0.00
	10.00 น.	1	60	3260	3744	0.00
	10.30 น.	1.5	90	3380	3744	0.00
	11.00 น.	2	120	3100	3744	0.00
	11.30 น.	2.5	150	3080	2995.2	0.25
	12.00 น.	3	180	3160	4492.8	0.96
	12.30 น.	3.5	210	3460	3556.8	0.68
	13.00 น.	4	240	3380	2808	0.71
	13.30 น.	4.5	270	3560	2620.8	0.14
	14.00 น.	5	300	2900	2433.6	0.63
	14.30 น.	5.5	330	3640	2246.4	1.25
	15.00 น.	6	360	3620	2433.6	0.16
	15.30 น.	6.5	390	3320	2433.6	0.73
	16.00 น.	7	420	3640	1872	1.52
	16.30 น.	7.5	450	3060	2246.4	1.44
	17.00 น.	8	480	3260	1684.8	2.25
	17.30 น.	8.5	510	3600	1497.6	2.17
	18.00 น.	9	540	3100	1487.6	1.45
	18.30 น.	9.5	570	3680	1684.8	2.10
	19.00 น.	10	600	3540	1310.4	1.38
	19.30 น.	10.5	630	3480	1310.4	2.45
	20.00 น.	11	660	3440	1684.8	2.43
	20.30 น.	11.5	690	2960	1123.2	3.49
	21.00 น.	12	720	2900	1123.2	2.75
	1.00 น.	16	960	2980	936	2.87
	5.00 น.	20	1200	3220	1310.4	3.32
	9.00 น.	24	1440	3600	561.6	3.92
	13.00 น.	28	1680	3600	1123.2	2.00
	17.00 น.	32	1920	3400	561.6	0.78
	21.00 น.	36	2160	3400	561.6	0.00

วันเดือนปี	เวลา	ระยะ เวลา (ชั่วโมง)	ระยะ เวลา (นาที)	ความเข้มข้น ตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.)	ซีไอดี (มก./ ล.)	ปริมาณ พีเอชเอ (%gPHA/ gMLSS)
21/11/2559	1.00 น.	40	2400	3880	561.6	1.02
	5.00 น.	44	2640	4060	561.6	0.59
	9.00 น.	48	2880	1800	187.2	0.45

ตารางที่ 25ง ค่าพีเอช ค่าปริมาณออกซิเจน อุณหภูมิและแอมโมเนียในระบบแบบแบทช์ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถึงกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.33

วันเดือนปี	เวลา	ระยะ เวลา (ชั่วโมง)	ระยะ เวลา (นาที)	พีเอช	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล.)	อุณหภูมิ (°ซ)	แอมโมเนีย (มก. ไนโตรเจน/ล.)
21/11/2559	09.00 น.	0	0	7.62	2	28.8	95.0114
	09.00 น.	0.5	30	8.13	2.1	28.9	95.0114
	10.00 น.	1	60	8.16	2.4	28.9	97.2241
	10.30 น.	1.5	90	8.14	2.6	28.6	98.2969
	11.00 น.	2	120	8.08	2.5	28.6	95.5478
	11.30 น.	2.5	150	8.01	2.5	28.6	89.6473
	12.00 น.	3	180	8.00	1.9	28.7	90.1837
	12.30 น.	3.5	210	7.97	2.0	28.7	89.9155
	13.00 น.	4	240	7.91	2.5	28.7	90.3849
	13.30 น.	4.5	270	7.95	2.4	28.6	80.0590
	14.00 น.	5	300	7.93	2.0	28.8	82.7410
	14.30 น.	5.5	330	7.91	2	28.8	80.2602
	15.00 น.	6	360	7.95	1.9	28.9	78.7180
	15.30 น.	6.5	390	7.92	2.2	29.0	73.7562
	16.00 น.	7	420	7.92	2	29.0	70.7389
	16.30 น.	7.5	450	7.9	2	29.1	74.3597
	17.00 น.	8	480	7.53	2.2	29.1	60.4130
	17.30 น.	8.5	510	7.65	2.2	29.0	61.0835
	18.00 น.	9	540	7.77	2.4	29.0	58.4686
	18.30 น.	9.5	570	7.79	2.7	28.9	53.2386
	19.00 น.	10	600	7.62	2.3	29.0	45.7288
	19.30 น.	10.5	630	7.79	3	29.1	39.3590
	20.00 น.	11	660	7.85	3.2	29.0	31.3129
	20.30 น.	11.5	690	7.89	3.4	29.0	25.0101
	21.00 น.	12	720	8.04	4.6	29.0	14.7512



วันเดือนปี	เวลา	ระยะ เวลา (ชั่วโมง)	ระยะ เวลา (นาที)	พีเอช	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล.)	อุณหภูมิ (°ซ)	แอมโมเนีย (มก. ไนโตรเจน/ล.)
21/11/2559	1.00 น.	16	960	8.31	5.1	28.5	5.1629
	5.00 น.	20	1200	8.43	5.2	28.0	4.7606
	9.00 น.	24	1440	8.54	5.2	27.2	11.1305
	13.00 น.	28	1680	8.46	5.5	27.2	14.3489
	17.00 น.	32	1920	8.68	5.6	27.2	20.6517
	21.00 น.	36	2160	8.33	5.8	27.5	14.5501
	1.00 น.	40	2400	8.55	6.2	27.5	21.7246
	5.00 น.	44	2640	8.55	7	27.5	21.0540
	9.00 น.	48	2880	8.41	7.8	27.3	27.4239

ตารางที่ 26ง ค่าความเข้มข้นตะกอนจุลินทรีย์ (MLSS) ค่าความเข้มข้นซีโอดีและปริมาณพีเอชเอในระบบแบบ fed-batch ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินต่อระยะเวลาที่ขาดแคลน (feast/famine ratio) เป็น 0.33

วันเดือนปี	เวลา	ระยะ เวลา (ชั่วโมง)	ระยะ เวลา (นาที)	ความเข้มข้น ตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.)	ซีโอดี (มก./ล.)	ปริมาณ พีเอชเอ (%gPHA /gMLSS)
21/11/2559	09.00 น.	0	0	3200	4305.6	0.00
	09.00 น.	0.5	30	3160	3931.6	0.00
	10.00 น.	1	60	3100	3744	0.00
	10.30 น.	1.5	90	2760	4118.4	0.00
	11.00 น.	2	120	2840	3369.6	0.00
	11.30 น.	2.5	150	3120	3744	0.00
	12.00 น.	3	180	2980	2995.2	0.00
	12.30 น.	3.5	210	2940	4305.6	0.00
	13.00 น.	4	240	3020	4680	0.00
	13.30 น.	4.5	270	3080	3931.2	0.00
	14.00 น.	5	300	2980	4305.6	0.00
	14.30 น.	5.5	330	3200	4118.4	0.00
	15.00 น.	6	360	3580	4305.6	0.00
	15.30 น.	6.5	390	3480	4305.6	0.01
	16.00 น.	7	420	2960	4492.8	0.33
	16.30 น.	7.5	450	4660	4492.8	0.56
	17.00 น.	8	480	3600	4680	0.97
	17.30 น.	8.5	510	3640	5241.6	1.00

วันเดือนปี	เวลา	ระยะ เวลา (ชั่วโมง)	ระยะ เวลา (นาที)	ความเข้มข้น ตะกอนจุลินทรีย์ (มก./ล.)	ซีไอที (มก./ล.)	ปริมาณ พีเอชเอ (%gPHA /gMLSS)
	18.00 น.	9	540	3560	4867.2	1.34
	18.30 น.	9.5	570	3760	5241.6	1.23
	19.00 น.	10	600	3300	4867.2	1.13
	19.30 น.	10.5	630	3320	4680	1.37
	20.00 น.	11	660	3260	5054.4	1.68
	20.30 น.	11.5	690	3360	5990.4	1.73
	21.00 น.	12	720	2860	4680	2.07
	1.00 น.	16	960	3920	8236.8	2.66
	5.00 น.	20	1200	3460	8985.6	4.69
	9.00 น.	24	1440	3760	7675.2	6.50
	13.00 น.	28	1680	2700	7862.4	5.54
	17.00 น.	32	1920	4660	8049.6	6.19
	21.00 น.	36	2160	2340	8611.2	5.97
	1.00 น.	40	2400	3800	8611.2	7.92
	5.00 น.	44	2640	3400	8985.6	7.99
	9.00 น.	48	2880	6540	8985.6	8.01

ตารางที่ 27ง ค่าพีเอช ค่าปริมาณออกซิเจนและอุณหภูมิในระบบแบบ fed-batch ของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบตะกอนเร่งชนิดถึงกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินพอต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.33

วันเดือนปี	เวลา	ระยะ เวลา (ชั่วโมง)	ระยะ เวลา (นาที)	พีเอช	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล.)	อุณหภูมิ (°ซ)
21/11/2559	09.00 น.	0	0	7.86	3	28.7
	09.00 น.	0.5	30	8.24	3.1	28.9
	10.00 น.	1	60	8.26	3.2	28.9
	10.30 น.	1.5	90	8.18	3.4	28.5
	11.00 น.	2	120	8.17	3.3	28.6
	11.30 น.	2.5	150	8.07	2.9	28.6
	12.00 น.	3	180	8.03	2.9	28.7
	12.30 น.	3.5	210	8.04	3.1	28.7
	13.00 น.	4	240	7.96	2.9	28.8
	13.30 น.	4.5	270	7.99	3.0	28.8

วันเดือนปี	เวลา	ระยะ เวลา (ชั่วโมง)	ระยะ เวลา (นาที)	พีเอช	ออกซิเจน ละลาย (มก./ล.)	อุณหภูมิ (°ซ)
	14.00 น.	5	300	7.96	2.9	28.8
	14.30 น.	5.5	330	7.99	3.0	29.0
	15.00 น.	6	360	7.97	2.9	29.0
	15.30 น.	6.5	390	8.02	3.1	29.1
	16.00 น.	7	420	7.98	2.8	29.1
	16.30 น.	7.5	450	8	3.0	29.2
	17.00 น.	8	480	7.55	3.2	29.2
	17.30 น.	8.5	510	7.93	3.0	29.1
	18.00 น.	9	540	7.84	3.1	29.1
	18.30 น.	9.5	570	7.8	3.2	29.1
	19.00 น.	10	600	7.63	3.4	29.1
	19.30 น.	10.5	630	7.82	3.3	29.2
	20.00 น.	11	660	7.91	3.3	29.1
	20.30 น.	11.5	690	7.84	3.5	29.1
	21.00 น.	12	720	7.89	3.6	29.1
	1.00 น.	16	960	8.19	4.0	28.8
	5.00 น.	20	1200	8.38	4.0	28.3
	9.00 น.	24	1440	7.82	4.6	27.4
	13.00 น.	28	1680	8.44	4.3	27.5
	17.00 น.	32	1920	7.42	4.6	27.9
	21.00 น.	36	2160	8.25	5.0	28.1
	1.00 น.	40	2400	8.14	5.6	28.0
	5.00 น.	44	2640	8.28	4.9	27.9
	9.00 น.	48	2880	8.27	4.7	27.7

4.3 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นจากบริษัท ทิปโก้ เอฟแอนด์บี และตะกอนจุลินทรีย์ในระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สอง ขั้นตอนที่ค่าสัดส่วนระยะเวลาที่อาหารเกินต่อระยะเวลาที่ขาดแคลนอาหาร (feast/famine ratio) เป็น 0.04 0.15 และ 0.33 โดยใช้เทคนิค 16S rRNA gene amplicon sequencing

ตารางที่ 28ง แสดงรายชื่อในลำดับไฟลัมที่พบในงานวิจัยนี้

ไฟลัม	ตะกอน จุลินทรีย์เริ่มต้น เปอร์เซ็นต์ (%)	ระบบ ตะกอนเร่งที่ feast/famine ratio = 0.04 เปอร์เซ็นต์ (%)	ระบบ ตะกอนเร่งที่ feast/famine ratio = 0.15 เปอร์เซ็นต์ (%)	ระบบ ตะกอนเร่งที่ feast/famine ratio = 0.33 เปอร์เซ็นต์ (%)
1. Acidobacteria	2.9	-	-	0.5
2. Actinobacteria	1.5	35.6	2.5	15.9
3. Armatimonadetes	0.5	-	-	1
4. Bacteroidetes	23.6	11.9	20.9	15.1
5. Caldithrix	6.9	-	-	-
6. Chlorobi	-	1.9	-	-
7. Chloroflexi	2.1	0.6	-	-
8. Cyanobacteria	2.3	1.6	-	-
9. Euryarchaeota	1.3	-	-	-
10. Firmicutes	-	2.1	7.9	2.6
11. Gemmatimonadetes	-	-	-	0.9
12. Nitrospirae	5.7	-	-	-
13. Planctomycetes	11.4	0.8	-	0.7
14. Spirochaetes	-	-	-	0.9
15. Verrucomicrobia	2	1	0.9	0.8
<b>16. Proteobacteria</b>	<b>32.4</b>	<b>43.3</b>	<b>65</b>	<b>59.4</b>
17. other bacteria	0.4	1.1	2.6	1.1
18. unclassified	7	-	0.1	1.1
รวม	100	99.9	99.9	100

ตารางที่ 29 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในงานวิจัยนี้

ลำดับ		ลำดับ เบส ทั้งหมด	ตกอน จุดินทรีย์ เริ่มต้น เปอร์เซ็นต์	ระบบ ตกอนเร่งที่ feast/famine ratio = 0.04 เปอร์เซ็นต์	ระบบ ตกอนเร่งที่ feast/famine ratio = 0.15 เปอร์เซ็นต์	ระบบ ตกอนเร่งที่ feast/famine ratio = 0.33 เปอร์เซ็นต์
1	Unassigned;Other;Other;Other;Other	2.10%	7.00%	0.00%	0.10%	1.10%
2	k__Archaea;p__Euryarchaeota;c__Methanobacteria;o__Methanobacteriales;f__Methanobacteriaceae;g__Methanobacterium	0.30%	0.50%	0.30%	0.30%	0.20%
3	k__Archaea;p__Euryarchaeota;c__Methanomicrobia;o__Methanomicrobiales;f__Methanoregularaceae;g__Methanolinea	0.10%	0.30%	0.00%	0.00%	0.00%
4	k__Archaea;p__Euryarchaeota;c__Methanomicrobia;o__Methanosarcinales;f__Methanosarcinaceae;g__Methanosarcina	0.10%	0.50%	0.00%	0.00%	0.00%
5	k__Bacteria;p__Acidobacteria;c__Acidobacteria-6;o__iii1-15;f__g__	0.10%	0.00%	0.10%	0.00%	0.20%
6	k__Bacteria;p__Acidobacteria;c__Solibacteres;o__Solibacteres;f__g__	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.10%
7	k__Bacteria;p__Acidobacteria;c__Solibacteres;o__Solibacteres;f__Solibacteraceae;g__	0.10%	0.00%	0.00%	0.30%	0.10%
8	k__Bacteria;p__Acidobacteria;c__Solibacteres;o__Solibacteres;f__Bryobacteraceae;g__	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.10%
9	k__Bacteria;p__Acidobacteria;c__[Chloracidobacteria];o__f__g__	0.70%	2.90%	0.00%	0.00%	0.00%
10	k__Bacteria;p__Acidobacteria;c__[Chloracidobacteria];o__RB41;f__Elin6075;g__	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
11	k__Bacteria;p__Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;Other;Other	0.50%	0.00%	1.70%	0.10%	0.10%
12	k__Bacteria;p__Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;f__Corynebacteriaceae;g__Corynebacterium	0.10%	0.60%	0.00%	0.00%	0.00%
13	k__Bacteria;p__Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;f__Gordoniaceae;g__Gordonia	5.80%	0.00%	7.60%	1.50%	14.00%
14	k__Bacteria;p__Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;f__Mycobacteriaceae;g__Mycobacterium	7.40%	0.50%	26.30%	0.90%	1.70%
15	k__Bacteria;p__Actinobacteria;c__KIST-JY010;o__f__g__	0.10%	0.50%	0.00%	0.00%	0.00%
16	k__Bacteria;p__Armatimonadetes;c__0319-6E2;o__f__g__	0.20%	0.00%	0.30%	0.00%	0.70%
17	k__Bacteria;p__Armatimonadetes;c__OS-1;o__f__g__	0.10%	0.50%	0.00%	0.00%	0.00%
18	k__Bacteria;p__Armatimonadetes;c__[Fimbrimonadiales];f__[Fimbrimonadaceae];g__Fimbrimonas	0.10%	0.00%	0.00%	0.30%	0.30%
19	k__Bacteria;p__Bacteroidetes;c__Bacteroidia;o__Bacteroidales;f__g__	0.40%	0.00%	0.10%	1.10%	0.20%

ตารางที่ 29 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในงานวิจัยนี้ (ต่อ)

ลำดับ		ลำดับ เบส ทั้งหมด	ตะกอน จุลินทรีย์ เริ่มต้น เปอร์เซ็นต์	ระบบ ตะกอนแห้งที่ feast/famine ratio = 0.04 เปอร์เซ็นต์	ระบบ ตะกอนแห้งที่ feast/famine ratio = 0.15 เปอร์เซ็นต์	ระบบ ตะกอนแห้งที่ feast/famine ratio = 0.33 เปอร์เซ็นต์
19	k_Bacteriap_Bacteroidetes;c_Bacteroidiario_Bacteroidales;f_g__	0.40%	0.00%	0.10%	1.10%	0.20%
20	k_Bacteriap_Bacteroidetes;c_Bacteroidiario_Bacteroidales;f_BA008;g__	0.20%	0.00%	0.10%	0.10%	0.70%
21	k_Bacteriap_Bacteroidetes;c_Bacteroidiario_Bacteroidales;f_Bacteroidaceae;Other	0.10%	0.00%	0.00%	0.20%	0.00%
22	k_Bacteriap_Bacteroidetes;c_Bacteroidiario_Bacteroidales;f_Bacteroidaceae;g_Bacteroides	0.10%	0.00%	0.30%	0.00%	0.00%
23	k_Bacteriap_Bacteroidetes;c_Bacteroidiario_Bacteroidales;f_Porphyromonadaceae;g__	1.40%	0.00%	0.30%	5.10%	0.20%
24	k_Bacteriap_Bacteroidetes;c_Bacteroidiario_Bacteroidales;f_Porphyromonadaceae;g_Dyssonomonas	1.60%	0.00%	0.50%	5.50%	0.30%
25	k_Bacteriap_Bacteroidetes;c_Bacteroidiario_Bacteroidales;f_Porphyromonadaceae;g_Paludibacter	1.00%	0.00%	1.70%	1.70%	0.50%
26	k_Bacteriap_Bacteroidetes;c_Cytophagario_Cytophagales;f_Cytophagaceae;g__	2.20%	4.80%	2.70%	0.40%	1.10%
27	k_Bacteriap_Bacteroidetes;c_Cytophagario_Cytophagales;f_Cytophagaceae;g_Cytophaga	0.10%	0.00%	0.00%	0.40%	0.00%
28	k_Bacteriap_Bacteroidetes;c_Cytophagario_Cytophagales;f_Cytophagaceae;g_Flectobacillus	0.50%	0.00%	0.10%	1.90%	0.00%
29	k_Bacteriap_Bacteroidetes;c_Cytophagario_Cytophagales;f_Cytophagaceae;g_Runella	0.30%	0.00%	0.40%	0.50%	0.40%
30	k_Bacteriap_Bacteroidetes;c_Flavobacteriario_Flavobacteriales;f_Cryomorphaceae;g__	4.60%	14.30%	2.00%	0.20%	2.00%
31	k_Bacteriap_Bacteroidetes;c_Flavobacteriario_Flavobacteriales;f_Flavobacteriaceae;g_Flavobacterium	0.20%	0.00%	0.00%	0.60%	0.00%
32	k_Bacteriap_Bacteroidetes;c_Flavobacteriario_Flavobacteriales;f_Weeksellaceae;g_Chryseobacterium	0.00%	0.00%	0.10%	0.00%	0.00%
33	k_Bacteriap_Bacteroidetes;c_Flavobacteriario_Flavobacteriales;f_Weeksellaceae;g_Cloacibacterium	0.80%	0.00%	1.20%	1.30%	0.80%
34	k_Bacteriap_Bacteroidetes;c_Sphingobacteriario_Sphingobacteriales;f_g__	0.80%	2.40%	0.00%	0.00%	0.70%
35	k_Bacteriap_Bacteroidetes;c_VC2_1_Bac22;o_f_g__	0.80%	0.00%	0.30%	0.10%	2.80%
36	k_Bacteriap_Bacteroidetes;c_Saprospirae]o_Saprospirales;f_g__	0.20%	1.00%	0.00%	0.00%	0.00%
37	k_Bacteriap_Bacteroidetes;c_Saprospirae]o_Saprospirales;f_Chitinophagaceae;g__	2.30%	0.00%	2.10%	1.90%	5.30%
38	k_Bacteriap_Bacteroidetes;c_Saprospirae]o_Saprospirales;f_Chitinophagaceae;g_Sediminibacterium	0.00%	0.00%	0.10%	0.00%	0.00%
39	k_Bacteriap_Bacteroidetes;c_Saprospirae]o_Saprospirales;f_Saprospiraceae;g__	0.30%	1.10%	0.00%	0.00%	0.00%

ตารางที่ 29 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในงานวิจัยนี้ (ต่อ)

ลำดับ	ลำดับ เบส ทั้งหมด	ตะกอน จุลินทรีย์ เริ่มต้น เปอร์เซ็นต์	ระบบ ตะกอนเร่งที่ feast/famine ratio = 0.04 เปอร์เซ็นต์	ระบบ ตะกอนเร่งที่ feast/famine ratio = 0.15 เปอร์เซ็นต์	ระบบ ตะกอนเร่งที่ feast/famine ratio = 0.33 เปอร์เซ็นต์
40	k_Bacteria;Chlamydiae;c__Chlamydia;o__Chlamydiales;f__Parachlamydiaceae;g__Parachlamydia	0.10%	0.30%	0.20%	0.00%
41	k_Bacteria;Chlorobic__Ignavibacteria;o__Ignavibacteriales;f__Ignavibacteriaceae;g__	0.10%	0.00%	0.30%	0.20%
42	k_Bacteria;Chlorobic__OPB56;o__f__g__	0.50%	1.80%	0.00%	0.00%
43	k_Bacteria;Chlorobic__SJA-28;o__f__g__	0.10%	0.00%	0.00%	0.00%
44	k_Bacteria;Chloroflexic__Anaerolineae;o__A31;f__S47;g__	0.20%	0.00%	0.00%	0.00%
45	k_Bacteria;Chloroflexic__Anaerolineae;o__Caldlineales;f__Caldlineaceae;g__	0.20%	0.00%	0.00%	0.00%
46	k_Bacteria;Chloroflexic__Anaerolineae;o__GCA004;f__g__	0.10%	0.00%	0.00%	0.00%
47	k_Bacteria;Chloroflexic__Anaerolineae;o__SBR1031;f__A4b;g__	0.20%	0.60%	0.00%	0.10%
48	k_Bacteria;Chloroflexic__Thermomicrobia;o__JG30-KF-CM45;f__g__	0.00%	0.10%	0.00%	0.00%
49	k_Bacteria;Cyanobacteria;c__4C0d-2;o__MLE1-12;f__g__	0.40%	1.60%	0.00%	0.00%
50	k_Bacteria;Cyanobacteria;c__Chloroplasto__Chlorophyta;f__g__	0.10%	0.20%	0.00%	0.00%
51	k_Bacteria;Cyanobacteria;c__Chloroplasto__Stramenopiles;f__g__	0.50%	0.00%	0.00%	0.00%
52	k_Bacteria;Deferribacteres;c__Deferribacteres;o__Deferribacteres;f__Deferribacteraceae;g__	0.10%	0.00%	0.20%	0.00%
53	k_Bacteria;Firmicutes;c__Bactli;o__Lactobacillales;f__Lactobacillaceae;g__Lactobacillus	0.20%	0.00%	0.00%	0.00%
54	k_Bacteria;Firmicutes;c__Clostridia;o__Clostridiales;f__g__	0.30%	0.00%	0.80%	0.40%
55	k_Bacteria;Firmicutes;c__Clostridia;o__Clostridiales;f__Christensenellaceae;g__	1.00%	0.00%	3.60%	0.50%
56	k_Bacteria;Firmicutes;c__Clostridia;o__Clostridiales;f__Clostridiaceae;g__Clostridium	0.20%	0.10%	0.10%	0.40%
57	k_Bacteria;Firmicutes;c__Clostridia;o__Clostridiales;f__Ruminococcaceae;g__	0.30%	0.00%	0.60%	0.80%
58	k_Bacteria;Firmicutes;c__Clostridia;o__Clostridiales;f__Ruminococcaceae;g__Oscillospira	0.80%	0.00%	2.60%	0.30%
59	k_Bacteria;Firmicutes;c__Clostridia;o__Clostridiales;f__Ruminococcaceae;g__Ruminococcus	0.30%	0.00%	0.90%	0.00%
60	k_Bacteria;Firmicutes;c__Clostridia;o__Clostridiales;f__Veillonellaceae;g__	0.00%	0.00%	0.10%	0.10%

ตารางที่ 29 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในงานวิจัยนี้ (ต่อ)

ลำดับ		ลำดับ เบส ทั้งหมด	ตะกอน จุลินทรีย์ เริ่มต้น เปอร์เซ็นต์	ระบบ ตะกอนแรงที่ feast/famine ratio = 0.04 เปอร์เซ็นต์	ระบบ ตะกอนแรงที่ feast/famine ratio = 0.15 เปอร์เซ็นต์	ระบบ ตะกอนแรงที่ feast/famine ratio = 0.33 เปอร์เซ็นต์
61	k__Bacteria;p__Firmicutes;c__Clostridia;o__Clostridiales;f__[Mogibacteriaceae];g__	0.00%	0.00%	0.00%	0.10%	0.10%
62	k__Bacteria;p__Firmicutes;c__Clostridia;o__Clostridiales;f__[Mogibacteriaceae];g__Anaerovorax	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.10%
63	k__Bacteria;p__GN02;c__BD1-5;o__f__g__	0.10%	0.00%	0.00%	0.40%	0.00%
64	k__Bacteria;p__Gemmatimonadetes;c__Gem-1;o__f__g__	0.10%	0.00%	0.00%	0.00%	0.40%
65	k__Bacteria;p__Gemmatimonadetes;c__Gemmatimonadetes;o__f__g__	0.10%	0.00%	0.00%	0.00%	0.50%
66	k__Bacteria;p__Lentisphaerae;c__[Lentisphaeria]o__Victivallales;f__Victivallaceae;g__	0.10%	0.00%	0.00%	0.00%	0.20%
67	k__Bacteria;p__Nitrospirae;c__Nitrospira;o__Nitrospirales;f__Nitrospiraceae;g__Nitrospira	1.40%	5.70%	0.00%	0.00%	0.00%
68	k__Bacteria;p__OD1;c__o__f__g__	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.10%
69	k__Bacteria;p__OD1;c__ABY1;o__f__g__	0.10%	0.00%	0.00%	0.00%	0.30%
70	k__Bacteria;p__Planctomycetes;c__OM190;o__CL500-15;f__g__	0.30%	0.20%	0.30%	0.00%	0.50%
71	k__Bacteria;p__Planctomycetes;c__Phycisphaerae;o__Pla1;f__g__	0.10%	0.40%	0.00%	0.00%	0.00%
72	k__Bacteria;p__Planctomycetes;c__Planctomycetia;o__Gemmatales;f__Gemmataceae;g__	0.80%	3.10%	0.00%	0.00%	0.00%
73	k__Bacteria;p__Planctomycetes;c__Planctomycetia;o__Gemmatales;f__Gemmataceae;g__Gemmata	0.40%	1.40%	0.00%	0.00%	0.00%
74	k__Bacteria;p__Planctomycetes;c__Planctomycetia;o__Gemmatales;f__Isosphaeraeae;g__	0.20%	0.00%	0.50%	0.20%	0.00%
75	k__Bacteria;p__Planctomycetes;c__Planctomycetia;o__Pirellulales;f__Pirellulaceae;g__	1.20%	5.00%	0.00%	0.00%	0.00%
76	k__Bacteria;p__Planctomycetes;c__Planctomycetia;o__Planctomycetales;f__Planctomycetaceae;g__Planctomycetes	0.40%	1.30%	0.00%	0.00%	0.20%
77	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__f__g__	0.10%	0.00%	0.30%	0.00%	0.20%
78	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__BD7-3;f__g__	0.10%	0.00%	0.00%	0.00%	0.30%
79	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhizobiales;f__g__	10.30%	0.60%	1.40%	30.20%	
80	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhizobiales;f__Bradyrhizobiaceae;g__	0.20%	0.00%	1.00%	0.00%	9.20%
81	k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhizobiales;f__Hyphomicrobiaceae;g__	0.10%	0.10%	0.00%	0.00%	0.00%



ตารางที่ 29 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในงานวิจัยนี้ (ต่อ)

ลำดับ	ลำดับ เบส ทั้งหมด	ตะกอน จุลินทรีย์ เริ่มต้น เปอร์เซ็นต์	ระบบ ตะกอนแห้งที่ feast/famine ratio = 0.04 เปอร์เซ็นต์	ระบบ ตะกอนแห้งที่ feast/famine ratio = 0.15 เปอร์เซ็นต์	ระบบ ตะกอนแห้งที่ feast/famine ratio = 0.33 เปอร์เซ็นต์
82	k__Bacteriia__Proteobacteria__Alphaproteobacteria__Rhizobiales__Hyphomicrobiales__Devesia	0.20%	0.20%	0.10%	9.20%
83	k__Bacteriia__Proteobacteria__Alphaproteobacteria__Rhizobiales__Hyphomicrobiales__Hyphomicrobium	0.20%	0.30%	0.10%	0.00%
84	k__Bacteriia__Proteobacteria__Alphaproteobacteria__Rhizobiales__Hyphomicrobiales__Pedomicrobium	0.00%	0.20%	0.00%	0.00%
85	k__Bacteriia__Proteobacteria__Alphaproteobacteria__Rhizobiales__Hyphomicrobiales__Rhodoplanes	0.00%	0.10%	0.00%	0.70%
86	k__Bacteriia__Proteobacteria__Alphaproteobacteria__Rhizobiales__Agrobacterium	0.50%	0.30%	0.50%	0.60%
87	k__Bacteriia__Proteobacteria__Alphaproteobacteria__Rhizobiales__Rhizobiales__Kaistia	0.00%	0.10%	0.00%	0.00%
88	k__Bacteriia__Proteobacteria__Alphaproteobacteria__Rhizobiales__Xanthobacteraceae__Other	1.80%	1.60%	5.40%	0.10%
89	k__Bacteriia__Proteobacteria__Alphaproteobacteria__Rhizobiales__Xanthobacteraceae__Xanthobacter	0.40%	0.20%	1.20%	1.10%
90	k__Bacteriia__Proteobacteria__Alphaproteobacteria__Rhodobacterales__Hyphomonadaceae__g__	0.70%	0.20%	0.00%	0.00%
91	k__Bacteriia__Proteobacteria__Alphaproteobacteria__Rhodobacterales__Rhodobacteraceae__Other	0.00%	0.00%	0.00%	0.20%
92	k__Bacteriia__Proteobacteria__Alphaproteobacteria__Rhodobacterales__Rhodobacteraceae__g__	1.00%	1.40%	2.00%	0.00%
93	k__Bacteriia__Proteobacteria__Alphaproteobacteria__Rhodobacterales__Rhodobacteraceae__Amaricoccus	0.10%	0.30%	0.20%	2.60%
94	k__Bacteriia__Proteobacteria__Alphaproteobacteria__Rhodobacterales__Rhodobacteraceae__Rhodobacter	3.80%	5.50%	1.40%	0.20%
95	k__Bacteriia__Proteobacteria__Alphaproteobacteria__Rhodospirillales__f__g__	0.10%	0.00%	0.00%	0.60%
96	k__Bacteriia__Proteobacteria__Alphaproteobacteria__Rhodospirillales__f__Rhodospirillaceae__g__	0.10%	0.20%	0.10%	0.00%
97	k__Bacteriia__Proteobacteria__Alphaproteobacteria__Sphingomonadales__Sphingomonadales__Sphingomonadaceae__g__Sphingobium	0.10%	0.00%	0.00%	0.10%
98	k__Bacteriia__Proteobacteria__Alphaproteobacteria__Sphingomonadales__Sphingomonadales__Sphingomonadaceae__g__Sphingopyxis	0.10%	0.10%	0.10%	0.00%
99	k__Bacteriia__Proteobacteria__Betaproteobacteria__f__g__	2.00%	0.60%	0.00%	0.20%
100	k__Bacteriia__Proteobacteria__Betaproteobacteria__ASSO-13__f__g__	0.60%	0.00%	0.00%	0.20%
101	k__Bacteriia__Proteobacteria__Betaproteobacteria__Burkholderiales__f__Comamonadaceae__Other	3.20%	1.20%	3.90%	7.60%

ตารางที่ 29 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในงานวิจัยนี้ (ต่อ)

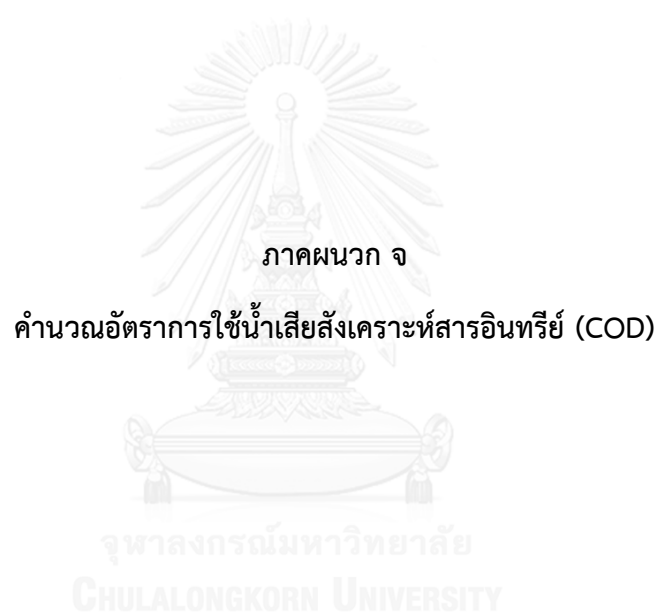
ลำดับ		ลำดับ เบส ทั้งหมด	ตะกอน จุลินทรีย์ เริ่มต้น เปอร์เซ็นต์	ระบบ ตะกอนแร่ที่ feast/famine ratio = 0.04 เปอร์เซ็นต์	ระบบ ตะกอนแร่ที่ feast/famine ratio = 0.15 เปอร์เซ็นต์	ระบบ ตะกอนแร่ที่ feast/famine ratio = 0.33 เปอร์เซ็นต์
102	k_Bacteriap__Proteobacteria_c__Betaproteobacteria_o__Burkholderiales_f__Comamonadaceae_g__	1.60%	0.00%	5.10%	0.00%	7.60%
103	k_Bacteriap__Proteobacteria_c__Betaproteobacteria_o__Burkholderiales_f__Comamonadaceae_g__Comamonas	0.20%	0.00%	0.40%	0.20%	1.30%
104	k_Bacteriap__Proteobacteria_c__Betaproteobacteria_o__Burkholderiales_f__Comamonadaceae_g__Hydrogenophaga	0.20%	0.00%	0.10%	0.40%	0.10%
105	k_Bacteriap__Proteobacteria_c__Betaproteobacteria_o__Burkholderiales_f__Comamonadaceae_g__Methylibium	1.20%	0.00%	0.30%	0.20%	0.40%
106	k_Bacteriap__Proteobacteria_c__Betaproteobacteria_o__Burkholderiales_f__Oxalobacteraceae_g__Ralstonia	0.10%	0.10%	0.20%	0.10%	4.40%
107	k_Bacteriap__Proteobacteria_c__Betaproteobacteria_o__Elin6067_f__g__	0.10%	0.30%	0.00%	0.00%	0.00%
108	k_Bacteriap__Proteobacteria_c__Betaproteobacteria_o__Methylophilales_f__Methylophilaceae_g__	0.00%	0.00%	0.10%	0.00%	0.10%
109	k_Bacteriap__Proteobacteria_c__Betaproteobacteria_o__Proteobacteriaes_f__Procabacteriaceae_g__	0.10%	0.00%	0.30%	0.00%	0.00%
110	k_Bacteriap__Proteobacteria_c__Betaproteobacteria_o__Rhodocyclales_f__Rhodocyclaceae__Other	2.80%	11.10%	0.10%	0.00%	0.00%
111	k_Bacteriap__Proteobacteria_c__Betaproteobacteria_o__Rhodocyclales_f__Rhodocyclaceae_g__Dechloromonas	0.60%	0.00%	0.20%	2.00%	0.00%
112	k_Bacteriap__Proteobacteria_c__Betaproteobacteria_o__Rhodocyclales_f__Rhodocyclaceae_g__Dok59	1.50%	5.90%	0.00%	0.00%	0.10%
113	k_Bacteriap__Proteobacteria_c__Betaproteobacteria_o__Rhodocyclales_f__Rhodocyclaceae_g__Propionivibrio	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
114	k_Bacteriap__Proteobacteria_c__Betaproteobacteria_o__Rhodocyclales_f__Rhodocyclaceae_g__Thauera	0.10%	0.50%	0.00%	0.00%	0.10%
115	k_Bacteriap__Proteobacteria_c__Betaproteobacteria_o__Rhodocyclales_f__Rhodocyclaceae_g__Zoosloea	0.70%	0.10%	1.90%	0.40%	0.00%
116	k_Bacteriap__Proteobacteria_c__Deltaproteobacteria_o__f__g__	0.20%	0.00%	0.00%	0.10%	0.20%
117	k_Bacteriap__Proteobacteria_c__Deltaproteobacteria_o__Bdellovibrionales_f__Bdellovibrionaceae_g__Bdellovibrio	0.10%	0.00%	0.20%	0.00%	7.60%
118	k_Bacteriap__Proteobacteria_c__Deltaproteobacteria_o__Desulfobacterales_f__Desulfobulbaceae_g__Desulfobulbus	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	1.30%
119	k_Bacteriap__Proteobacteria_c__Deltaproteobacteria_o__Desulfobivriales_f__Desulfobivriaceae_g__Desulfobivrio	2.20%	0.00%	0.80%	5.90%	0.10%
120	k_Bacteriap__Proteobacteria_c__Deltaproteobacteria_o__Myxococcales_f__g__	0.80%	1.60%	1.00%	0.30%	0.40%
121	k_Bacteriap__Proteobacteria_c__Deltaproteobacteria_o__Myxococcales_f__Myxococcales_g__	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	4.40%
122	k_Bacteriap__Proteobacteria_c__Deltaproteobacteria_o__Myxococcales_f__Nannocystaceae_g__Nannocystis	0.80%	0.00%	0.70%	0.10%	0.10%

ตารางที่ 29 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในงานวิจัยนี้ (ต่อ)

ลำดับ		ลำดับ เบส ทั้งหมด	ตะกอน จุลินทรีย์ เริ่มต้น เปอร์เซ็นต์	ระบบ ตะกอนเร่งที่ feast/famine ratio = 0.04 เปอร์เซ็นต์	ระบบ ตะกอนเร่งที่ feast/famine ratio = 0.15 เปอร์เซ็นต์	ระบบ ตะกอนเร่งที่ feast/famine ratio = 0.33 เปอร์เซ็นต์
123	k__Bacteri__Proteobacteria__Deltaproteobacteria__Syntrophobacteriales__Syntrophobacteraceae__Syntrophobacter	0.10%	0.30%	0.00%	0.00%	0.00%
124	k__Bacteri__Proteobacteria__Epsilonproteobacteria__Campylobacteriales__Helicobacteraceae__Sulfuricurvum	0.10%	0.00%	0.00%	0.00%	0.20%
125	k__Bacteri__Proteobacteria__Gammaproteobacteria__Other__Other	0.10%	0.30%	0.00%	0.00%	0.00%
126	k__Bacteri__Proteobacteria__Gammaproteobacteria__Enterobacteriales__Enterobacteriaceae__	2.10%	0.00%	2.30%	4.40%	1.80%
127	k__Bacteri__Proteobacteria__Gammaproteobacteria__Enterobacteriales__Enterobacteriaceae__Erwinia	0.20%	0.00%	0.20%	0.30%	0.20%
128	k__Bacteri__Proteobacteria__Gammaproteobacteria__Legionellales__Coxiellaceae__	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.10%
129	k__Bacteri__Proteobacteria__Gammaproteobacteria__Methylococcales__Methylococcaceae__Methylocaldum	0.10%	0.60%	0.00%	0.00%	0.00%
130	k__Bacteri__Proteobacteria__Gammaproteobacteria__Pseudomonadales__Moraxellaceae__Acinetobacter	0.20%	0.00%	0.80%	0.00%	0.00%
131	k__Bacteri__Proteobacteria__Gammaproteobacteria__Pseudomonadales__Pseudomonadaceae__Pseudomonas	0.90%	0.00%	0.00%	2.10%	1.60%
132	k__Bacteri__Proteobacteria__Gammaproteobacteria__Xanthomonadales__Xanthomonadaceae__Other	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.10%
133	k__Bacteri__Proteobacteria__Gammaproteobacteria__Xanthomonadales__Xanthomonadaceae__Aquimonas	0.30%	0.00%	0.00%	0.60%	0.40%
134	k__Bacteri__Proteobacteria__Gammaproteobacteria__Xanthomonadales__Xanthomonadaceae__Arenimonas	0.00%	0.00%	0.10%	0.00%	0.00%
135	k__Bacteri__Proteobacteria__Gammaproteobacteria__Xanthomonadales__Xanthomonadaceae__Dokdonella	6.10%	0.00%	12.20%	2.50%	9.80%
136	k__Bacteri__Proteobacteria__Gammaproteobacteria__Xanthomonadales__Xanthomonadaceae__Pseudoxanthomonas	0.30%	0.00%	0.70%	0.30%	0.40%
137	k__Bacteri__Proteobacteria__TA18__CV90__f__g__	0.20%	0.70%	0.00%	0.00%	0.00%
138	k__Bacteri__Spirochaetes__MVP-15__PL-11B10__f__g__	0.10%	0.00%	0.00%	0.10%	0.10%

ตารางที่ 29 กลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่พบในงานวิจัยนี้ (ต่อ)

ลำดับ	ลำดับ เบส ทั้งหมด	ตะกอน จุลินทรีย์ เริ่มต้น เปอร์เซ็นต์	ระบบ ตะกอนเร่งที่ feast/famine ratio = 0.04 เปอร์เซ็นต์	ระบบ ตะกอนเร่งที่ feast/famine ratio = 0.15 เปอร์เซ็นต์	ระบบ ตะกอนเร่งที่ feast/famine ratio = 0.33 เปอร์เซ็นต์
139	k_Bacteria; p_Spirochaetes; c_Spirochaetes; o_Spirochaetales; f_Spirochaetaeaceae; g_Treponema	0.30%	0.00%	0.20%	0.00%
140	k_Bacteria; p_Verrucomicrobia; c_Opitutae; o_Opitutales; f_Opitutaceae; g_	0.00%	0.10%	0.00%	0.20%
141	k_Bacteria; p_Verrucomicrobia; c_Opitutae; o_Opitutales; f_Opitutaceae; g_Opitutus	0.20%	0.30%	0.00%	0.00%
142	k_Bacteria; p_Verrucomicrobia; c_Verruco-5; o_LD1-PB3; f_	0.10%	0.00%	0.00%	1.80%
143	k_Bacteria; p_Verrucomicrobia; c_Verruco-5; o_WCHB1-41; f_RFP12; g_	0.00%	0.00%	0.20%	0.20%
144	k_Bacteria; p_Verrucomicrobia; c_Verrucomicrobiae; o_Verrucomicrobiales; f_Verrucomicrobiaceae; g_Luteolibacter	0.10%	0.00%	0.30%	0.10%
145	k_Bacteria; p_Verrucomicrobia; c_Verrucomicrobiae; o_Verrucomicrobiales; f_Verrucomicrobiaceae; g_Prosthecobac ter	0.30%	0.00%	0.30%	0.00%
146	k_Bacteria; p_Verrucomicrobia; c_Pedosphaerae; o_Pedosphaerales; f_	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
147	k_Bacteria; p_Verrucomicrobia; c_Pedosphaerae; o_Pedosphaerales; f_	0.40%	1.40%	0.00%	1.60%
148	k_Bacteria; p_Caldithrix; c_KSB1; o_Ucn15732; f_	1.70%	6.90%	0.00%	0.10%
139	k_Bacteria; p_Spirochaetes; c_Spirochaetes; o_Spirochaetales; f_Spirochaetaeaceae; g_Treponema	0.30%	0.00%	0.20%	0.40%
140	k_Bacteria; p_Verrucomicrobia; c_Opitutae; o_Opitutales; f_Opitutaceae; g_	0.00%	0.10%	0.00%	0.00%
141	k_Bacteria; p_Verrucomicrobia; c_Opitutae; o_Opitutales; f_Opitutaceae; g_Opitutus	0.20%	0.00%	0.00%	9.80%
142	k_Bacteria; p_Verrucomicrobia; c_Verruco-5; o_LD1-PB3; f_	0.10%	0.00%	0.00%	0.40%
143	k_Bacteria; p_Verrucomicrobia; c_Verruco-5; o_WCHB1-41; f_RFP12; g_	0.00%	0.00%	0.20%	0.00%
144	k_Bacteria; p_Verrucomicrobia; c_Verrucomicrobiae; o_Verrucomicrobiales; f_Verrucomicrobiaceae; g_Luteolibacter	0.10%	0.00%	0.30%	0.10%



ชุดการทดลองที่ 1 (feast/famine = 0.04)

$$\text{จาก rate COD } 5.16 \frac{\text{mgCOD/L}}{\text{min}}$$

ปริมาตรการใช้งานของระบบแบบ fed-batch เท่ากับ 9 ลิตร

$$\text{จะได้ } 5.16 \frac{\text{mgCOD/L}}{\text{min}} \times 9 \text{ L} = 46.44 \frac{\text{mgCOD}}{\text{min}}$$

เมื่อทำการเก็บตัวอย่างอย่างละเอียดเพื่อไปทำการวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ จะต้องเหลือปริมาตรน้ำ 20% ของระบบ จะได้  $20\% \times 9 \text{ L} = 1800 \text{ mL}$

$$\text{จากอัตราการทำงานของ pump diagram } 2.8 \text{ rpm. เติมน้ำเข้าระบบได้ } 0.65 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$$

$$\text{จะได้ } 2880 \text{ min (48 ชั่วโมง)} \times 0.65 \frac{\text{ml}}{\text{min}} = 1872 \text{ ml}$$

$$\begin{aligned} \text{จากน้ำเสียสังเคราะห์ } 46.44 \frac{\text{mgCOD}}{\text{min}} \times \frac{\text{min}}{0.65 \text{ ml}} &= 71.45 \frac{\text{mgCOD}}{\text{ml}} \\ &= 71.45 \frac{\text{mgCOD}}{\text{ml}} \times \frac{1000 \text{ ml}}{1 \text{ L}} \times \frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ mg}} \\ &= 71.45 \text{ g/L} \end{aligned}$$

จากออกซิเจน 112 กรัม ทำปฏิกิริยาพอดีกับกลีเซอรอล 92 กรัม  
ดังนั้น ต้องการทำปฏิกิริยาพอดีกับออกซิเจน 71.45 กรัม/ลิตร ต้องใช้กลีเซอรอล  
(71.45 × 92)/112 กรัมกลีเซอรอลต่อลิตร จะได้ 58.69 กรัมกลีเซอรอลต่อลิตร

จากกลีเซอรอล 99% จะได้ (58.69 × 100)/99 = 59.28 กรัมกลีเซอรอล/ลิตร  
เตรียมในน้ำ 2 ลิตร จะต้องเตรียมกลีเซอรอลเท่ากับ 59.28 × 2 = 118.56 กรัมกลีเซอรอล/2ลิตร

จากความหนาแน่นของกลีเซอรอลเท่ากับ 1.261 g/cm<sup>3</sup>

$$\text{จะได้ } 118.56 \text{ g glycerol/2L} \div 1.261 \text{ g/cm}^3 = 94.02 \text{ ml}$$

ชุดการทดลองที่ 2 (feast/famine = 0.15)

จาก rate COD  $4.15 \frac{mgCOD/L}{min}$

ปริมาณการใช้งานของระบบแบบ fed-batch เท่ากับ 9 ลิตร

$$\text{จะได้ } 4.15 \frac{mgCOD/L}{min} \times 9 L = 37.35 \frac{mgCOD}{min}$$

เมื่อทำการเก็บตัวอย่างอย่างละเอียดเพื่อไปทำการวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ จะต้องเหลือปริมาตรน้ำ 20% ของระบบ จะได้  $20\% \times 9 L = 1800 mL$

จากอัตราการทำงานของ pump diagram 2.8 rpm. เติมน้ำเข้าระบบได้  $0.65 \frac{ml}{min}$

$$\text{จะได้ } 2880 \text{ min (48 ชั่วโมง)} \times 0.65 \frac{ml}{min} = 1872 \text{ ml}$$

$$\begin{aligned} \text{จากน้ำเสียสังเคราะห์ } 37.35 \frac{mgCOD}{min} \times \frac{min}{0.65 \frac{ml}{min}} &= 57.46 \frac{mgCOD}{ml} \\ &= 57.46 \frac{mgCOD}{ml} \times \frac{1000 \text{ ml}}{1 L} \times \frac{1 g}{1000 \text{ mg}} \\ &= 57.46 \text{ g/L} \end{aligned}$$

จากออกซิเจน 112 กรัม ทำปฏิกิริยาพอดีกับกลีเซอรอล 92 กรัม

ดังนั้น ต้องการทำปฏิกิริยาพอดีกับออกซิเจน 57.46 กรัม/ลิตร ต้องใช้กลีเซอรอล

$(57.46 \times 92) / 112$  กรัมกลีเซอรอลต่อลิตร จะได้ 47.2 กรัมกลีเซอรอลต่อลิตร

จากกลีเซอรอล 99% จะได้  $(47.2 \times 100) / 99 = 47.68$  กรัมกลีเซอรอล/ลิตร

เตรียมในน้ำ 2 ลิตร จะต้องเตรียมกลีเซอรอลเท่ากับ  $47.68 \times 2 = 95.36$  กรัมกลีเซอรอล/2ลิตร

จากความหนาแน่นของกลีเซอรอลเท่ากับ  $1.261 \text{ g/cm}^3$

$$\text{จะได้ } 95.36 \text{ g glycerol/2L} \div 1.261 \text{ g/cm}^3 = 76.62 \text{ ml}$$

ชุดการทดลองที่ 3 (feast/famine = 0.33)

$$\text{จาก rate COD } 4.15 \frac{\text{mgCOD/L}}{\text{min}}$$

ปริมาณการใช้งานของระบบแบบ fed-batch เท่ากับ 9 ลิตร

$$\text{จะได้ } 4.25 \frac{\text{mgCOD/L}}{\text{min}} \times 9 \text{ L} = 38.25 \frac{\text{mgCOD}}{\text{min}}$$

เมื่อทำการเก็บตัวอย่างอย่างละเอียดเพื่อไปทำการวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ จะต้องเหลือปริมาตรน้ำ 20% ของระบบ จะได้  $20\% \times 9 \text{ L} = 1800 \text{ mL}$

$$\text{จากอัตราการทำงานของ pump diagram } 2.8 \text{ rpm. เติมน้ำเข้าระบบได้ } 0.65 \frac{\text{ml}}{\text{min}}$$

$$\text{จะได้ } 2880 \text{ min (48 ชั่วโมง)} \times 0.65 \frac{\text{ml}}{\text{min}} = 1872 \text{ ml}$$

$$\begin{aligned} \text{จากน้ำเสียสังเคราะห์ } 38.25 \frac{\text{mgCOD}}{\text{min}} \times \frac{\text{min}}{0.65 \text{ ml}} &= 58.85 \frac{\text{mgCOD}}{\text{ml}} \\ &= 58.85 \frac{\text{mgCOD}}{\text{ml}} \times \frac{1000 \text{ ml}}{1 \text{ L}} \times \frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ mg}} \\ &= 58.85 \text{ g/L} \end{aligned}$$

จากออกซิเจน 112 กรัม ทำปฏิกิริยาพอดีกับกลีเซอรอล 92 กรัม

ดังนั้น ต้องการทำปฏิกิริยาพอดีกับออกซิเจน 58.85 กรัม/ลิตร ต้องใช้กลีเซอรอล

$(58.85 \times 92) / 112$  กรัมกลีเซอรอลต่อลิตร จะได้ 48.34 กรัมกลีเซอรอลต่อลิตร

จากกลีเซอรอล 99% จะได้  $(48.34 \times 100) / 99 = 48.83$  กรัมกลีเซอรอล/ลิตร

เตรียมในน้ำ 2 ลิตร จะต้องเตรียมกลีเซอรอลเท่ากับ  $48.83 \times 2 = 97.66$  กรัมกลีเซอรอล/2ลิตร

จากความหนาแน่นของกลีเซอรอลเท่ากับ  $1.261 \text{ g/cm}^3$

$$\text{จะได้ } 97.66 \text{ g glycerol/2L} \div 1.261 \text{ g/cm}^3 = 77.45 \text{ ml}$$



## ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวพิมพ์ศิริ หีบแก้ว เกิดเมื่อวันที่ 13 กุมภาพันธ์ 2535 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตศรีราชา เมื่อปีการศึกษา 2557 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตร วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2557

### การเผยแพร่ผลงานวิจัย

พิมพ์ศิริ หีบแก้ว และ เบญจพร สุวรรณศิลป์. (2007). การผลิตพีเอชเอในระบบตะกอนเร่งชนิดถังกวนผสมแบบสมบูรณ์สองขั้นตอนโดยใช้กลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอน (PHA Production in 2-stage continuous stirred tank reactor activated sludge system using glycerol as carbon source). เอกสารประกอบการประชุมวิชาการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติครั้งที่ 16 ณ โรงแรมเดอะทวิน ทาวเวอร์ รongเมือง กรุงเทพฯ 17-18 พฤษภาคม 2560. หน้า 3-4.