



วิทยานิพนธ์

การศึกษาศักยภาพในการผลิตสารโพลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอตจากตะกอน
ของระบบบำบัดน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรม

**STUDY ON POTENTIAL OF POLYHYDROXYALKANOATE
PRODUCTION BY ACTIVATED SLUDGE FROM
INDUSTRIAL WASTEWATER TREATMENT SYSTEM**

นางสาวสิริลักษณ์ บัวทอง

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2551

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การศึกษาศักยภาพในการผลิตสารโพลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอตจากตะกอนของระบบบำบัดน้ำเสีย
โรงงานอุตสาหกรรม

Study on Potential of Polyhydroxyalkanoate Production from Activated Sludge Culture of
Industrial Wastewaters Treatment System

โดย

นางสาวสิริลักษณ์ บัวทอง

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อขอความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต (วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม)

พ.ศ. 2551

ศิริลักษณ์ บัวทอง 2551: การศึกษาศักยภาพในการผลิตสารโพลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอต จากตะกอนของระบบบำบัดน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรม ปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต (วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม) สาขาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์วิไล เจียมไชยศรี, D.Tech.Sc. 152 หน้า

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาศักยภาพในการผลิตสารโพลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอต (พีเอชเอ) จากตะกอนจุลินทรีย์ระบบบำบัดน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรม 5 แห่ง ได้แก่ โรงเส้นไหม หอแสง จำกัด บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน) บริษัท กรีนสปอต จำกัด บริษัท ปทุมธานี บิรเวอรี่ จำกัด และบริษัท สามเสนบิรเวอรี่ จำกัด เพื่อเปรียบเทียบความสามารถของตะกอนจุลินทรีย์ที่ไม่มีการปรับสภาพและตะกอนจุลินทรีย์ที่ผ่านการปรับสภาพแล้วด้วยน้ำเสียสังเคราะห์ ดำเนินการทดลองแบบที่ละเท ในสภาวะไร้อากาศเพื่อเปรียบเทียบความสามารถของจุลินทรีย์ในการผลิตสารพีเอชเอและศึกษาความสามารถในการผลิตสารพีเอชเอในสภาวะเติมอากาศ โดยเปรียบเทียบชนิดของสารอาหาร ได้แก่ อะซิเตต กลูโคส และบิวทีเรต และความเข้มข้นของสารอาหารแต่ละชนิดที่ 400, 800 และ 1,200 mgC/l ระยะเวลาการทดลอง 12 ชั่วโมง ผลการศึกษาศักยภาพตะกอนจุลินทรีย์ที่ไม่มีการปรับสภาพพบว่าเมื่อใช้อะซิเตต กลูโคส และบิวทีเรตเป็นสารอาหารตะกอนจุลินทรีย์สามารถผลิตสารพีเอชเอได้สูงสุดเท่ากับ 0.978 g/l (48.9% ของน้ำหนักแห้งตะกอน) 0.477 g/l (23.9%) และ 0.696 g/l (34.82%) ตามลำดับ ผลของตะกอนจุลินทรีย์ผ่านการปรับสภาพพบว่าเมื่อใช้อะซิเตต กลูโคส และบิวทีเรตเป็นสารอาหารตะกอนจุลินทรีย์สามารถผลิตสารพีเอชเอได้สูงสุดเท่ากับ 0.796 g/l (39.80%) 0.720 g/l (36.01%) และ 0.913 g/l (45.67%) ตามลำดับ โดยตะกอนจุลินทรีย์สามารถผลิตสารพีเอชเอได้สูงสุดภายใต้สภาวะเติมอากาศ และการปรับสภาพตะกอนจุลินทรีย์สามารถเพิ่มความสามารถในการสะสมสารพีเอชเอได้ดีขึ้น

Sirilak Buathong 2008: Study on Potential of Polyhydroxyalkanoate Production from Activated Sludge Culture of Industrial Wastewaters Treatment System.

Master of Engineering (Environmental Engineering), Major Field: Environmental Engineering, Department of Environmental Engineering. Thesis Advisor: Associate Professor Wilai Chiemchaisri, D.Tech.Sc. 152 pages.

The objective of this research is to study the potential of PHA production by activated sludge system from industrial wastewater, i.e. Cho heng rice vermicelli factory, Serm Suk company, Green spot company, Pathumthani Brewery company and Sam Sen Brewery company to compare the ability of PHA production of the non – acclimatized activated sludge and acclimatized activated sludge with synthetic wastewater. The study was conducted in batch system under anaerobic and aerobic conditions. Various types of substrate i.e. acetate, glucose and butyrate were compared at different concentration of 400, 800 and 1,200 mgC/l during 12 hours batch experiment. The potential of PHA production of non – acclimatized activated sludge when using acetate, glucose and butyrate as substrate was 0.978 g/l (48.9% of dry sludge weight) 0.477 g/l (23.9%) and 0.696 g/l (34.82%) respectively. Under acclimatized condition, the sludge could produce highest PHA of 0.796 g/l (39.80%), 0.720 g/l (36.01%) and 0.913 g/l (45.67%) when sludge using acetate, glucose and butyrate as substrate. The production of PHA was found higher under aerobic condition using acclimatized sludge.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.วิไล เจียมไชยศรี ประธานกรรมการที่ปรึกษา
วิทยานิพนธ์ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ แก้ไขข้อบกพร่องงานวิจัยในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้
ตลอดจนแก้ปัญหา วางแผนงานวิจัย และทุนสนับสนุนในการทำวิจัย ขอกราบขอบพระคุณรอง
ศาสตราจารย์ ดร.ชาติ เจียมไชยศรี กรรมการที่ปรึกษา ที่ช่วยให้คำแนะนำในงานวิจัย ให้สำเร็จ
ลุล่วงไปด้วยดี ขอกราบขอบพระคุณ Dr.Hiroyatsu Satoh ที่ให้ความอนุเคราะห์หัวข้อวิทยานิพนธ์
อุปกรณ์ สารเคมีในการวิจัย และวิธีการวิเคราะห์ งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอกราบ
ขอบพระคุณอาจารย์ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมทุกท่านที่ได้ให้ความรู้และแนวคิดเพื่อนำไปใช้
ในการทำงานต่อไป

ขอกราบขอบพระคุณ บริษัท สามเสนบริวเวอรี่ จำกัด บริษัทปทุมธานีบริวเวอรี่ จำกัด
บริษัทเสริมสุข จำกัด (มหาชน) บริษัท กรีนสปอต จำกัด และ โรงเส้นหมี่ช่อเฮง จำกัด ที่เอื้อเพื่อให้
ความสนับสนุนในการนำน้ำเสียและตะกอนจุลินทรีย์ในงานวิจัยครั้งนี้ ให้งานวิจัยสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณแม่ และน้องที่ให้กำลังใจ ความรัก และความช่วยเหลือ
แก่ผู้วิจัยตลอดมาจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ ขอขอบคุณเพื่อน ๆ พี่ ๆ น้อง ๆ ทุกคน ที่ให้
ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจเสมอมา และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมทุก
ท่านที่คอยให้ความช่วยเหลืองานวิจัยเป็นอย่างดี

สิริลักษณ์ บัวทอง

เมษายน 2551

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	39
เครื่องมือและอุปกรณ์	39
วิธีการ	40
ผลและวิจารณ์	49
สรุปและข้อเสนอแนะ	79
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	81
ภาคผนวก	89
ภาคผนวก ก ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้ตะกอนจุลินทรีย์ที่ไม่มีการปรับสภาพ	90
ภาคผนวก ข ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้ตะกอนจุลินทรีย์ที่ผ่านการปรับสภาพ	121
ภาคผนวก ค วิธีวิเคราะห์น้ำตาลกลูโคสทั้งหมดโดยวิธีฟินอล – ซัลฟูริก	145
ภาคผนวก ง วิธีการคำนวณปริมาณพีเอชเอ	150
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	152

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงหน่วยพื้นฐานของพีเอชเอ	7
2	แสดงโมโนเมอร์ที่พบใน mcl – พีเอชเอ	13
3	สมบัติทางเคมีและกายภาพของโพลีโพรพิลีนและ โพลีไฮดรอกซีบิวทีเรต	15
4	เปรียบเทียบเมทาบอลิซึมระหว่างพีเอ ไอและจีเอ ไอ	37
5	การผลิตพีเอชเอจากตะกอนจุลินทรีย์	38
6	พารามิเตอร์และวิธีการวิเคราะห์	41
7	ส่วนประกอบของน้ำเสียสังเคราะห์ที่ใช้ในการปรับสภาพตะกอนจุลินทรีย์	44
8	ลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของน้ำเสียและตะกอน	50
9	เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสารพีเอชเอกับชนิดของสารอาหารที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของโรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด	55
10	เปรียบเทียบการใช้ปริมาณสารอาหารต่อความสามารถในการผลิตสารพีเอชเอของโรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด	58
11	เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสารพีเอชเอกับชนิดของสารอาหารที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของบริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน)	60
12	เปรียบเทียบการใช้ปริมาณสารอาหารต่อความสามารถในการผลิตสารพีเอชเอของบริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน)	61
13	เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสารพีเอชเอกับชนิดของสารอาหารที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของบริษัท กรีนสปอต จำกัด	63
14	เปรียบเทียบการใช้ปริมาณสารอาหารต่อความสามารถในการผลิตสารพีเอชเอของบริษัท กรีนสปอต จำกัด	65
15	เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสารพีเอชเอกับชนิดของสารอาหารที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของบริษัท ปทุมธานีบริวเวอรี จำกัด	67
16	เปรียบเทียบการใช้ปริมาณสารอาหารต่อความสามารถในการผลิตสารพีเอชเอของบริษัท ปทุมธานีบริวเวอรี จำกัด	68

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
17	เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสารพีเอชเอกับชนิดของสารอาหารที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของบริษัท สามเสนบริวเวอรี่ จำกัด	70
18	เปรียบเทียบการใช้ปริมาณสารอาหารต่อความสามารถในการผลิตสารพีเอชเอของบริษัท สามเสนบริวเวอรี่ จำกัด	71
ตารางผนวกที่		
ก1	ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้อะซิเตดเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ โรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด	91
ก2	ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้อะซิเตดเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ โรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด	92
ก3	ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ โรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด	93
ก4	ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ โรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด	94
ก5	ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้บีวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ โรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด	95
ก6	ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้บีวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ โรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด	96
ก7	ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้อะซิเตดเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน)	97
ก8	ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้อะซิเตดเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน)	98
ก9	ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน)	99
ก10	ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน)	100

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
ก11	ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน)	101
ก12	ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน)	102
ก13	ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ บริษัท กรีนสปอต จำกัด	103
ก14	ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ บริษัท กรีนสปอต จำกัด	104
ก15	ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ บริษัท กรีนสปอต จำกัด	105
ก16	ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ บริษัท กรีนสปอต จำกัด	106
ก17	ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ บริษัท กรีนสปอต จำกัด	107
ก18	ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ บริษัท กรีนสปอต จำกัด	108
ก19	ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ บริษัท ปทุมธานีบิวเวอรี จำกัด	109
ก20	ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ บริษัท ปทุมธานี จำกัด	110
ก21	ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ บริษัท ปทุมธานีบิวเวอรี จำกัด	111
ก22	ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ บริษัท ปทุมธานีบิวเวอรี จำกัด	112

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ก23 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ บริษัท ปทุมธานี บรีวเวอรี่ จำกัด	113
ก24 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ บริษัท ปทุมธานี บรีวเวอรี่ จำกัด	114
ก25 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ บริษัท สามเสน บรีวเวอรี่ จำกัด	115
ก26 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ บริษัท สามเสนบรีวเวอรี่ จำกัด	116
ก27 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ บริษัท สามเสนบรีวเวอรี่ จำกัด	117
ก28 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ บริษัท สามเสนบรีวเวอรี่ จำกัด	118
ก29 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ บริษัท สามเสนบรีวเวอรี่ จำกัด	119
ก30 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ บริษัท สามเสนบรีวเวอรี่ จำกัด	120
ข1 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ โรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด	122
ข2 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ โรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด	122
ข3 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ โรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด (ต่อ)	123
ข4 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ โรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด	123

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ข5 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ โรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด (ต่อ)	124
ข6 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ โรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด	124
ข7 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ โรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด	125
ข8 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ โรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด	125
ข9 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ โรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด (ต่อ)	126
ข10 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน)	126
ข11 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ บริษัทเสริมสุข จำกัด (มหาชน) (ต่อ)	127
ข12 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน)	127
ข13 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน)	128
ข14 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน)	128
ข15 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน) (ต่อ)	129
ข16 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน)	129

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ข17 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน) (ต่อ)	130
ข18 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน)	130
ข19 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ บริษัท กรีนสปอต จำกัด	131
ข20 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ บริษัท กรีนสปอต จำกัด	131
ข21 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ บริษัท กรีนสปอต จำกัด (ต่อ)	132
ข22 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ บริษัท กรีนสปอต จำกัด	132
ข23 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ บริษัท กรีนสปอต จำกัด (ต่อ)	133
ข24 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ บริษัท กรีนสปอต จำกัด	133
ข25 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ บริษัท กรีนสปอต จำกัด	134
ข26 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ บริษัท กรีนสปอต จำกัด	134
ข27 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ บริษัท กรีนสปอต จำกัด (ต่อ)	135
ข28 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ บริษัท ปทุมธานีบิวเวอร์รี่ จำกัด	135

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ข29 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ บริษัท ปทุมธานีบริวเวอรี จำกัด (ต่อ)	136
ข30 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ บริษัท ปทุมธานี จำกัด	136
ข31 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ บริษัท ปทุมธานีบริวเวอรี จำกัด	137
ข32 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ บริษัท ปทุมธานีบริวเวอรี จำกัด	137
ข33 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ บริษัท ปทุมธานีบริวเวอรี จำกัด (ต่อ)	138
ข34 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ บริษัท ปทุมธานีบริวเวอรี จำกัด	138
ข35 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ บริษัท ปทุมธานีบริวเวอรี จำกัด (ต่อ)	139
ข36 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ บริษัท ปทุมธานีบริวเวอรี จำกัด	139
ข37 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ บริษัท สามเสนบริวเวอรี จำกัด	140
ข38 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ บริษัท สามเสนบริวเวอรี จำกัด	140
ข39 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ บริษัท สามเสนบริวเวอรี จำกัด (ต่อ)	141
ข40 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ บริษัท สามเสนบริวเวอรี จำกัด	141

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
ข41	ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ บริษัท สามเสนบริวเวอรี่ จำกัด (ต่อ)	142
ข42	ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ บริษัท สามเสนบริวเวอรี่ จำกัด	142
ข43	ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้บีวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ บริษัท สามเสนบริวเวอรี่ จำกัด	143
ข44	ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้บีวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ บริษัท สามเสนบริวเวอรี่ จำกัด	144
ค1	สารละลายน้ำตาลกลูโคส ความเข้มข้น 0 – 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	147

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	สูตร โครงสร้างของพีเอชเอ	8
2	ภาพตัดของเซลล์ <i>Alcaligenes eutrophus</i> จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดง พีเอชเอภายในแกรนูลของเซลล์	14
3	วัฏจักรของ PHA และพลาสติกชีวภาพในธรรมชาติ	16
4	แสดงการสังเคราะห์พีเอชเอใน <i>Pseudomonas</i>	18
5	วงจรการสังเคราะห์ การย่อยสลายพีเอชบีและเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง	19
6	ระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์แบบ conventional process	24
7	กระบวนการแอกทิเวเต็ดสลัดจ์แบบแอนแอโรบิก - แอโรบิก (กระบวนการ EBPR)	25
8	กระบวนการแอกทิเวเต็ดสลัดจ์แบบ Microaerophilic – aerobic	25
9	แสดงกลไกของระบบ EBPR และการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นในระบบที่ ต่อเนื่องกัน	27
10	โครงสร้างทางเคมีที่มีรูปแบบ โมโนเมอร์ของพีเอชเอ	29
11	เมทาบอลิซึมของพีเอชเอในระบบ EBPR (แบบจำลองของ Mino)	34
12	เมทาบอลิซึมของพีเอชเอในกระบวนการ EBPR	35
13	ถึงปฏิกรณ์ที่ใช้ในการทดลองในสภาวะไร้อากาศและเติมอากาศ	40
14	การทดลองแบบที่ละเทในสภาวะไร้อากาศ	42
15	การทดลองแบบที่ละเทในสภาวะเติมอากาศ	43
16	ขั้นตอนการทดลองเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสารพีเอชเอภายใต้ สภาวะไร้อากาศและเติมอากาศที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน โดยใช้ตะกอนที่ไม่มี การปรับสภาพ	47
17	ขั้นตอนการทดลองเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสารพีเอชเอภายใต้ สภาวะไร้อากาศและเติมอากาศที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน ระหว่างตะกอน จุลินทรีย์ที่ไม่มีการปรับสภาพและตะกอนจุลินทรีย์ที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว	48

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
18	ลักษณะทางกายภาพน้ำเสียและตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย โรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด	51
19	ลักษณะทางกายภาพน้ำเสียและตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน)	51
20	ลักษณะทางกายภาพน้ำเสียและตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย บริษัท กรีนสปอต จำกัด	52
21	ลักษณะทางกายภาพน้ำเสียและตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย บริษัท ปทุมธานีบริวเวอรี่ จำกัด	53
22	ลักษณะทางกายภาพน้ำเสียและตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย บริษัท สามเสนบริวเวอรี่ จำกัด	53
23	ปริมาณสาร PHA ที่ผลิตได้ในแต่ละสภาวะของโรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด	56
24	ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการสะสมสาร PHA และปริมาณ TOC และคาร์โบไฮเดรต ภายใต้สภาวะไร้อากาศ	57
25	ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการสะสมสาร PHA และปริมาณ TOC และคาร์โบไฮเดรต ภายใต้สภาวะเติมอากาศ	57
26	การเปรียบเทียบความสามารถของตะกอนจุลินทรีย์ที่ไม่มีการปรับสภาพและตะกอน จุลินทรีย์ที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว	74
27	การเปรียบเทียบความสามารถของตะกอนจุลินทรีย์ที่ไม่มีการปรับสภาพและตะกอน จุลินทรีย์ที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว (ต่อ)	75
28	องค์ประกอบของ PHA จากการทดลองแบบทีละเท	76
29	ความสัมพันธ์ระหว่างทีโอซี คาร์โบไฮเดรตและพีเอชเอจากการทดลอง แบบทีละเท	77
30	ปริมาณสาร PHA ที่ผลิตได้ตามระยะเวลาการทดลองโดยจุลินทรีย์ที่ผ่านการปรับ สภาพ	78

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
ค1 ภาพผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณน้ำตาลกลูโคสทั้งหมด โดยวิธีฟินอล – ซัลฟูริก	149

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

PHA	=	โพลีไฮดรอกซีอัลคานอยด์ (Polyhydroxyalkanoate)
PHB	=	โพลีไฮดรอกซีบิวทีเรต (Polyhydroxybutyrate)
PHV	=	โพลีไฮดรอกซีวาเลเรต (Polyhydroxyvalerate)
PAOs	=	จุลินทรีย์กลุ่มสะสมโพลีฟอสเฟต (polyphosphate accumulating organisms)
GAOs	=	จุลินทรีย์กลุ่มสะสมไกลโคเจน (Glycogen accumulating organisms)
TOC	=	สารอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมด (Total organic carbon)
EBPR	=	ระบบกำจัดฟอสฟอรัสทางชีวภาพแบบเพิ่มพูน (Enhanced biological phosphorus removal)
mgC/l	=	มิลลิกรัมคาร์บอนต่อลิตร (milligram carbon per litre)

การศึกษาศักยภาพในการผลิตสารโพลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอตจากตะกอนของระบบ
บำบัดน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรม

Study on Potential of Polyhydroxyalkanoate Production from Activated Sludge
Culture of Industrial Wastewaters Treatment System

คำนำ

เมื่อก้าวถึงระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ ระบบแอกทิเวเตดสลัดจ์เป็นระบบหนึ่งที่มีความสามารถในการกำจัดสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์สูง โดยใช้จุลินทรีย์ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสีย นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในโรงงานอุตสาหกรรม ในการเดินระบบจะมีตะกอนส่วนเกินถูกปล่อยทิ้ง บางครั้งไม่สามารถนำตะกอนเหล่านี้กลับมาใช้ประโยชน์ได้ ปัจจุบันพบว่าตะกอนจุลินทรีย์จากระบบแอกทิเวเตดสลัดจ์สามารถเปลี่ยนสารอินทรีย์ที่อยู่ในน้ำเสียให้เป็นโพลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอต (Polyhydroxyalkanoate; PHA) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการผลิตพลาสติก เนื่องจาก PHA เป็น โพลีเอสเตอร์ที่ขึ้นรูปและสามารถย่อยสลายได้ง่ายโดยจุลินทรีย์ในธรรมชาติ ด้วยเหตุนี้ PHA จึงเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เรียกอีกชื่อหนึ่งว่า “พลาสติกย่อยสลายได้”

ในปี 1972 มีการค้นพบ PHAs ในตะกอนจุลินทรีย์ที่ใช้ในระบบบำบัดน้ำเสียเป็นครั้งแรก (Wallen and Rohwedder, 1974) ซึ่ง PHAs มีบทบาทสำคัญมากในกระบวนการแอกทิเวเตดสลัดจ์แบบบำบัดสารอินทรีย์ โดยเฉพาะระบบที่เรียกว่าระบบกำจัดฟอสฟอรัสทางชีวภาพแบบเพิ่มฟูน (Enhanced biological phosphorus removal; EBPR) มีการศึกษาจำนวนมากที่สนใจเกี่ยวกับเมแทบอลิซึมของ PHAs ในระบบ EBPR ซึ่งระบบ EBPR ได้พัฒนามาจากระบบแอกทิเวเตดสลัดจ์เพื่อกำจัดฟอสฟอรัสในสารอินทรีย์ โดยเป็นกระบวนการหนึ่งในการหมุนเวียนตะกอนจุลินทรีย์ผ่านสภาวะที่จุลินทรีย์ดำรงชีพภายใต้สภาวะไร้อากาศและเติมอากาศ โดยใช้กลุ่มจุลินทรีย์ที่สะสมโพลีฟอสเฟต (polyphosphate accumulating organisms, PAOs) ที่มีในระบบ ดังนั้นมลพิษสารอินทรีย์จะถูกใช้ภายใต้สภาวะซึ่งดำรงชีพแบบ ไร้อากาศและสะสมเป็น PHAs ระบบ EBPR ยังได้อธิบายถึงการดำรงชีพของกลุ่มแบคทีเรียที่เรียกว่ากลุ่มจุลินทรีย์ที่สะสมกลัยโคเจน (Glycogen accumulating organisms; GAOs) ซึ่ง GAOs สามารถเปลี่ยนกลัยโคเจนไปเป็น PHAs เพื่อสะสมพลังงานและ สามารถเปลี่ยนกลูโคสไปเป็น PHAs ภายใต้สภาวะไร้อากาศได้ ดังนั้นการผลิตสาร PHA จากตะกอนส่วนเกินเป็นอีกทางเลือกในการนำตะกอนส่วนเกินกลับมาใช้

ประโยชน์อื่นทั้งยังสามารถใช้เป็นวัตถุดิบทดแทนพลาสติกที่ใช้ในปัจจุบัน ลดอัตราการผลิตผลิตภัณฑ์ที่มาจากพลาสติกสังเคราะห์ และลดค่าใช้จ่ายเกี่ยวกับต้นทุนการผลิตได้อีกด้วย

งานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาถึงความสามารถในการผลิต PHA จากตะกอนจุลินทรีย์ของโรงงานอุตสาหกรรมประเภทแป้ง น้ำตาลและแอลกอฮอล์ โดยศึกษาความสามารถในการผลิตสาร PHA จากกลุ่มจุลินทรีย์ที่ไม่มีการปรับสภาพภายใต้สภาวะไร้อากาศและสภาวะเติมอากาศ เปรียบเทียบกับความสามารถของจุลินทรีย์ที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว โดยศึกษาผลของความเข้มข้นของสารอาหารที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนโดยใช้อะซิเตต กลูโคส บีวทีเรต เป็นแหล่งคาร์บอนจากการทดลองแบบทีละเท (Batch)

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาศักยภาพของจุลินทรีย์ที่ยังไม่มีการปรับสภาพและที่มีการปรับสภาพแล้วจากโรงงานอุตสาหกรรมประเภทแป้ง น้ำตาล และแอลกอฮอล์ในการผลิตสาร PHA ภายใต้สภาวะไร้อากาศและสภาวะเติมอากาศ
2. ศึกษาผลของชนิดสารอาหารและความเข้มข้นสารอาหารต่อความสามารถในการผลิตสาร PHA ของจุลินทรีย์ในการทดลองแบบทีละเท
3. เปรียบเทียบความสัมพันธ์ของปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเสียต่อความสามารถในการผลิตสาร PHA ของโรงงานอุตสาหกรรมแต่ละประเภท

ขอบเขตของงานวิจัย

1. ใช้ตัวอย่างน้ำเสียและตะกอนจุลินทรีย์จากโรงงานอุตสาหกรรมประเภทแป้ง น้ำตาล และแอลกอฮอล์
2. ศึกษาศักยภาพของจุลินทรีย์ที่ยังไม่มีการปรับสภาพและที่ผ่านการปรับสภาพแล้วในการผลิตสาร PHA
3. สารอาหารที่ใช้ในการทดลองได้แก่ กรดอะซิติก กลูโคส และกรดบิวทิริก

การตรวจเอกสาร

1. พลาสติกย่อยสลายได้และโพลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอต (PHA)

1.1 พลาสติกย่อยสลายได้

ปัจจุบันนี้ อุตสาหกรรมการผลิตพลาสติกกำลังเจริญเติบโต ก่อให้เกิดปัญหาภาวะมลพิษเพิ่มขึ้นตามมาด้วย ส่งผลกระทบต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อมจากการทิ้งของเสียที่เป็นพลาสติกใช้แล้ว พลาสติกกำลังก่อให้เกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อมระดับโลก จากปัญหาข้างต้นการพัฒนาการผลิตพลาสติกที่ย่อยสลายได้จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ

พลาสติกที่ย่อยสลายได้เป็นสารโพลิเมอร์ซึ่งสามารถย่อยสลายได้อย่างสมบูรณ์ด้วยจุลินทรีย์ไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำภายใต้สภาวะเดิมอากาศ (และมีเทนภายใต้สภาวะไร้อากาศ) เมื่อพลาสติกถูกปล่อยทิ้งลงสู่สิ่งแวดล้อม พลาสติกที่ไม่สามารถย่อยสลายได้นั้นมีความเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมและไม่สามารถนำกลับมาใช้ได้อีก ก่อให้เกิดอันตรายต่อธรรมชาติ ซึ่งการนำพลาสติกที่ย่อยสลายได้มาประยุกต์ใช้จะช่วยลดความอันตรายและจะช่วยตรึงวัฏจักรคาร์บอนในธรรมชาติ เพราะพลาสติกเหล่านี้สามารถย่อยสลายได้โดยจุลินทรีย์และเกิดคาร์บอนไดออกไซด์จากการสังเคราะห์แสงของพืช การสังเคราะห์โพลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้อย่างสมบูรณ์เกิดขึ้นในเชิงพาณิชย์เมื่อปี 1990 เช่น โพลีแลคติกแอซิด (PLA) โพลีคาร์โพรแลคโตน (PCL) และโพลีไฮดรอกซีบิวทีเรต - วาลีเรต (PHBV) นอกจากนี้ไบโอโพลิเมอร์เหล่านี้ PHA เป็นโพลิเมอร์อีกชนิดหนึ่งที่น่าสนใจ ซึ่ง PHA มีลักษณะที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมเพราะมีการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์ และเป็นผลผลิตจากการนำทรัพยากรกลับมาใช้ (Satoh *et al.*, 2001)

1.1.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับพลาสติก

พลาสติก คือ สารอินทรีย์ที่นำไปสังเคราะห์โดยวิธีทางเคมี และทำให้เกิดการเชื่อมต่อกันของโมเลกุลเป็นจำนวนมาก ๆ ทำให้มีคุณลักษณะต่าง ๆ ได้แก่ ความแข็งแรง ความเหนียว ความทนต่อ การกัดกร่อน และเป็นฉนวนไฟฟ้า เป็นต้น พลาสติกเป็นสารประกอบจำพวกไฮโดรคาร์บอน ซึ่งมีธาตุคาร์บอนที่ทำหน้าที่เป็นศูนย์กลางรวมการเกาะตัวของธาตุต่าง ๆ ใน

พลาสติก เช่น ไฮโดรเจน ออกซิเจน ไนโตรเจน และอื่น ๆ (สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ, สำนักพัฒนาเทคนิคการศึกษา, 2544)

จ. เทอร์โมพลาสติก (Thermoplastic) มีลักษณะโครงสร้าง 2 แบบ คือ เส้นยาวตลอด ทำให้มีความแข็งแรงสูง ทนความร้อนได้ดี และแบบแตกแขนง ทำให้มีความหนาแน่นน้อย ซึ่งทั้ง 2 แบบ จะมีความยืดหยุ่นเมื่อได้รับความร้อน เมื่อเย็นตัวจะมีสภาพคงเดิม เมื่อถึงจุดหลอมละลายจะหลอมเหลวและนำกลับมาใช้ได้ใหม่

ข. เทอร์โมเซตติง (Thermosetting) มีลักษณะโครงสร้างเป็นแบบตาข่าย แบบแคบหรือร่างแห ทำให้ความหนาแน่นสูง แข็งแรงและทนความร้อนสูง เมื่อได้รับความร้อนจึงไม่ยืดหดตัว เมื่อถึงจุดหลอมละลายจะไหม้ไฟและนำมาใช้งานอีกไม่ได้

ค. อีลาสโตเมอร์ (Elastomer) มีลักษณะโครงสร้างเป็นแบบตาข่ายแบบแคบ อยู่ในสภาพอ่อนตัวได้ ทนความร้อนสูง เมื่อได้รับความร้อนจะยืดหยุ่นตัวได้เล็กน้อยมีคุณสมบัติคล้ายแบบเทอร์โมพลาสติก

1.1.2 การสลายตัวของพลาสติกมี 3 วิธีทาง คือ

ก. พลาสติกที่มีการสลายตัวโดยแสง (Photodegradable plastic)

พลาสติกชนิดนี้มีกลุ่มคาร์บอนิลเป็นองค์ประกอบที่มีความไวต่อแสง เมื่อสัมผัสกับแสงจะเกิดการแตกตัวของกลุ่มคาร์บอนิล ซึ่งจะทำให้พลาสติกกรอบและแตกเป็นชิ้นเล็ก ๆ แต่ย่อยสลายได้ไม่สมบูรณ์ เนื่องจากการย่อยขึ้นอยู่กับโครงสร้างทางเคมีของพลาสติก ความหนาของชิ้นส่วนพลาสติกและปริมาณของสารประกอบอื่นในพลาสติก ปัจจุบันพลาสติกที่สามารถทำลายโดยวิธีนี้ได้แก่ โพลีเอทิลีน (polyethylene, PE) โพลีสไตรีน (polystyrene, PS) โพลีโพรพิลีน (polypropylene, PP) โพลีบิวทีน (polybutent) โพลีบิวทาไดเอน (polybutadiene) โพลีไวนิลคลอไรด์ (polyvinyl chloride, PVC) และอะซิติลโลไนไตรล์ – บิวทาไดเอน – สไตรีน (acrylonitrile – butadiene – styrene, ABS) ซึ่งได้ผสมสาร photoactivator ลงไป

ข. พลาสติกที่ย่อยสลายได้บางส่วน

คือพลาสติกที่เติมสาร โพลิเมอร์ธรรมชาติซึ่งย่อยสลายได้โดยจุลินทรีย์ ในธรรมชาติ ได้แก่ เซลลูโลส ลิกนิน จีลีน แล็กโตส แป้งชนิดต่าง ๆ เช่น แป้งข้าวโพด และ สารเติมแต่งอื่น ๆ ลงในพลาสติก เช่น โพลีเอทิลีน (polyethylene, PE) โพลีโพรพิลีน (polypropylene, PP) โพลีสไตรีน (polystyrene, PS) เป็นต้น เพื่อให้จุลินทรีย์ในดินซึ่งอยู่ที่ ๆ มีความชื้นหรือน้ำย่อยสลายอนุภาคสารดังกล่าว ทำให้พลาสติกมีความพรุนมากขึ้น ช่วยในการทำลายร่างแหพลาสติกต่อไป แต่ยังคงเหลือชิ้นส่วนของพลาสติก ซึ่งไม่สามารถย่อยสลายได้ (ส่วนที่ไม่ใช่สารโพลิเมอร์ธรรมชาติ)

ค. พลาสติกที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพอย่างสมบูรณ์

ได้แก่เทอร์โมพลาสติกชนิดโพลิเอสเทอร์ ซึ่งเป็นพลาสติกที่สลายตัวด้วย เอนไซม์จากจุลินทรีย์ในธรรมชาติไปย่อยหมู่เอสเทอร์ชนิดเอลาติกของโพลิเมอร์ และได้สารที่ไม่เป็นอันตรายต่อสภาพแวดล้อม ได้แก่ คาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ และกรดคาร์บอกซิลิก ซึ่งพลาสติกชนิดนี้จะถูกสร้างและสะสมอยู่ในเซลล์ของจุลินทรีย์บางชนิด เป็นกลุ่มสารที่เรียกว่า โพลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอต (Polyhydroxyalkanoates, PHA) (Brandl *et al.*, 1990)

1.2 โพลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอต (PHA)

PHA เป็นโพลิเอสเทอร์ที่ย่อยสลายได้ ซึ่งถูกสังเคราะห์ขึ้นโดยแบคทีเรียบางชนิดเพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานภายใต้สภาวะที่จำกัดสารอาหาร เช่น แอมโมเนีย เหล็ก แมงกานีส แมกนีเซียมและฟอสเฟต และมีปริมาณคาร์บอนมากเกินไป เมื่อกลับคืนสู่สภาวะปกติ PHA จะถูกย่อยสลายไปเป็นคาร์บอนและพลังงาน แบคทีเรียสามารถย่อยสลาย PHA ไปเป็น คาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ พลาสติกถูกนำไปใช้ในอุตสาหกรรมการแพทย์อย่างแพร่หลาย มีการผลิต PHA ใช้เป็นวัสดุธรรมชาติเพื่อช่วยรักษากระดูกแตกร้าว หลังจากกระดูกได้รับการรักษา PHA จะสลายตัวอย่างช้า ๆ ในร่างกายเองในสภาวะปกติ

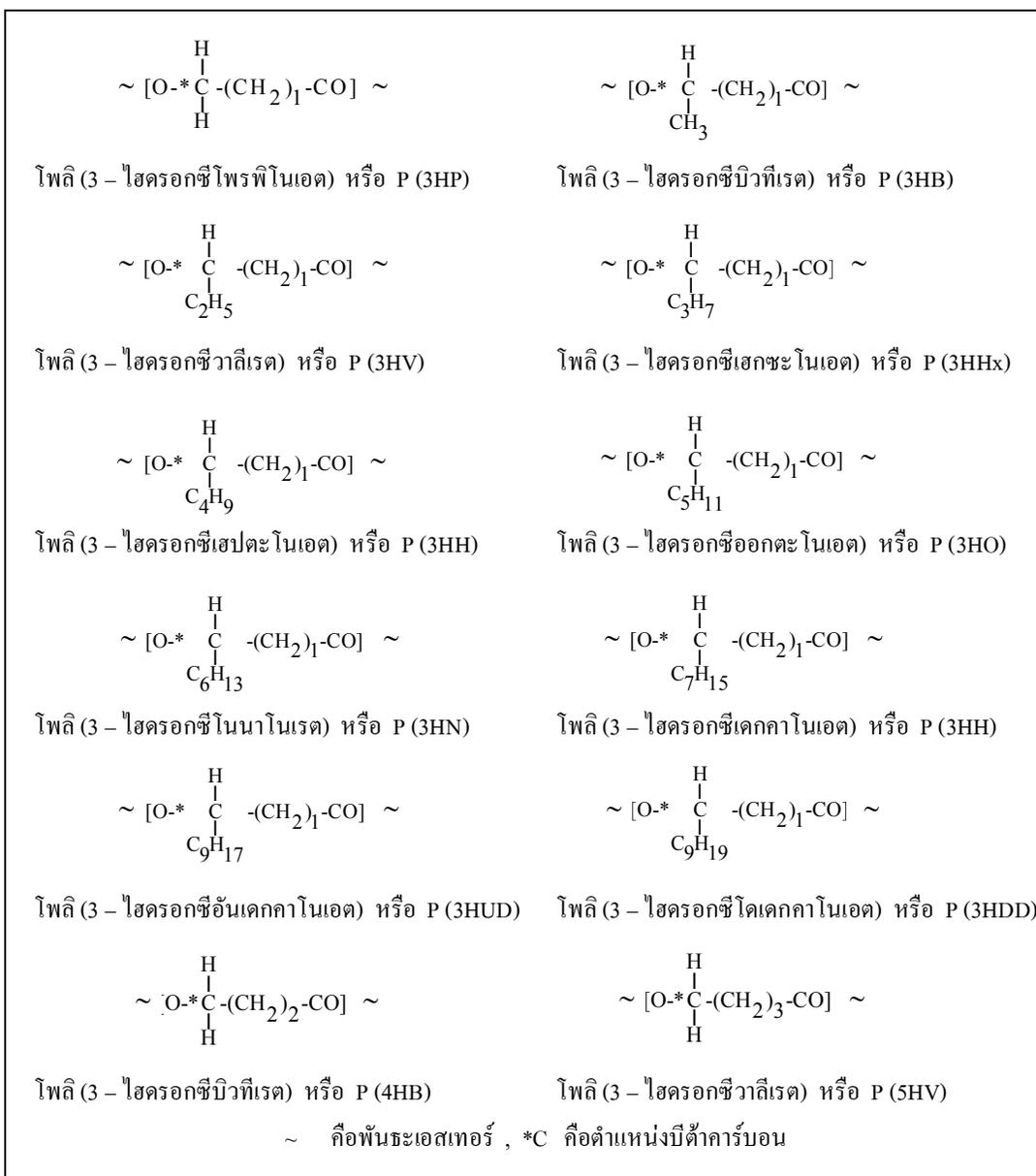
PHA มีคุณสมบัติของเทอร์โมพอลิเมอร์ คือ สามารถนำมาขึ้นรูป และทำให้เป็นฟิล์ม ชีท ไฟเบอร์ ได้ และมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับ PP และ PE แต่มีข้อที่ดึกว่าคือ สามารถย่อยสลายได้ในธรรมชาติ โดยจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ที่มีเอนไซม์เอสเตอเรส (esterase) และดีโพลิเมอเรส (depolymerase) จึงมีความน่าสนใจในการนำมาทดแทนการใช้พลาสติกที่ได้จากอุตสาหกรรมปิโตรเคมีบางชนิด เช่น PP PE และ PVC ซึ่งในปัจจุบันก่อปัญหาด้านการกำจัดและตกค้างในธรรมชาติเป็นเวลานาน PHA สามารถทำการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างได้ชัดเจนขึ้นอยู่กับชนิดของแหล่งคาร์บอน (Byrom, 1987)

ตารางที่ 1 แสดงหน่วยพื้นฐานของ PHA

	3-ไฮดรอกซี บิวทีเรต (3HB)	3-ไฮดรอกซี วาเลอเรต (3HV)	3-ไฮดรอกซี-2- -เมทิลบิวทีเรต (3H2MB)	3-ไฮดรอกซี-2- -เมทิลวาเลอเรต (3H2MV)
จำนวน คาร์บอน	4	5	4	5
สายหลัก	$\text{CH}_3 - \overset{\text{OH}}{\underset{ }{\text{CH}}} - \text{CH}_2 - \text{COOH}$	$\text{CH}_3 - \text{CH}_2 - \overset{\text{OH}}{\underset{ }{\text{CH}}} - \text{CH}_2 - \text{COOH}$	$\text{CH}_3 - \overset{\text{OH}}{\underset{ }{\text{CH}}} - \overset{\text{CH}_3}{\underset{ }{\text{CH}}} - \text{COOH}$	$\text{CH}_3 - \text{CH}_2 - \overset{\text{CH}}{\underset{ }{\text{CH}}} - \overset{\text{CH}_3}{\underset{ }{\text{CH}}} - \text{COOH}$
ในพีเอชเอ	$(-\text{O}-\overset{\text{CH}_3}{\underset{ }{\text{CH}}}-\text{CH}_2-\text{CO}-)$	$(-\text{O}-\overset{\text{CH}_3}{\underset{ }{\text{CH}_2}}-\overset{\text{CH}_3}{\underset{ }{\text{CH}}}-\text{CH}_2-\text{CO}-)$	$(-\text{O}-\overset{\text{CH}_3}{\underset{ }{\text{CH}}}-\overset{\text{CH}_3}{\underset{ }{\text{CH}}}-\text{CO}-)$	$(-\text{O}-\overset{\text{CH}_3}{\underset{ }{\text{CH}_2}}-\overset{\text{CH}_3}{\underset{ }{\text{CH}}}-\overset{\text{CH}_3}{\underset{ }{\text{CH}}}-\text{CO}-)$
สารเริ่มต้น	2 อะซิทิล - โคเอ	1 อะซิทิล - โคเอ 1 โพรไฟโอนิล - โคเอ	1 อะซิทิล - โคเอ 1 โพรไฟโอนิล - โคเอ	2 โพรไฟโอนิล - โคเอ

ที่มา : satoh *et al.* (1992)

PHA มีโครงสร้างเป็นโพลีเอสเตอร์สายตรง (aliphatic polyesters) ที่ประกอบด้วย ฆาตุคาร์บอน ออกซิเจน และไฮโดรเจน สูตรโครงสร้างทั่วไปแสดงดังภาพที่ 1 โมนอเมอร์ของ สายโพลิเมอร์ต่อกันแบบหัวต่อหาง โดยโมนอเมอร์ในกลุ่มไฮดรอกซีเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ เอสเทอร์ระหว่างหมู่คาร์บอกซิลิกของโมนอเมอร์ตัวถัดไปตรงตำแหน่งปีต้าคาร์บอน (Madison and Huisman, 1999) นอกจากนี้ยังสามารถต่อกันได้มากกว่า 1 โมนอเมอร์ ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 สูตรโครงสร้างของ PHA

PHA มีคุณสมบัติที่สำคัญคือสามารถย่อยสลายได้อย่างสมบูรณ์ มีPHA ไม่กี่ชนิดที่พบในปริมาณมากพอที่จะแยกมาวิเคราะห์หาคุณสมบัติและมีศักยภาพที่จะนำไปใช้ประโยชน์ได้จากงานวิจัยที่ศึกษามาทั้งหมดพบว่า มีการนำสาร โพลีเมอร์ 2 ชนิดนี้ไปใช้ทางด้านพาณิชย์กันมาก ได้แก่ P(3HB) และ P(3HB – co - 3HV) ชื่อเสียคือ P(3HB) เป็นโฮโมโพลีเมอร์ของ 3HB เปราะและแตกง่าย พบว่าเมื่อนำไปผสมกับสาร โพลีเมอร์เป็นโคโพลีเมอร์ของ 3HB และ 3HV จะมีความยืดหยุ่นมากกว่าโคโพลีเมอร์ของ 3HB ทำให้ความแข็งแรงลดลงและมีความเหนียวเพิ่มขึ้นซึ่งได้จากการเพิ่มโพรไพโนเอตหรือวาเลอเรตในตัวกลาง

Satoh *et al.* (2001) กล่าวว่าระบบเอกทิวเต็คสตัคจ์จะมีจุลินทรีย์หลากหลายสายพันธุ์ที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสีย โดยในตะกอนจุลินทรีย์มักมีการแข่งขันกันเองเพื่อแย่งอาหารในการอยู่รอดและPHA จะเกิดขึ้นเมื่อจุลินทรีย์ใช้เป็นแหล่งสะสมคาร์บอนชั่วคราวเพื่อให้จุลินทรีย์เหล่านั้นทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ PHA ที่ใช้สะสมแหล่งคาร์บอนชั่วคราวของจุลินทรีย์ยังมีความสัมพันธ์กับพลาสติกที่ย่อยสลายได้อีกด้วย (Doi 1990; Anderson and Dawes, 1990) มีการศึกษาเกี่ยวกับ PHA อย่างมากมายเพื่อใช้ในเชิงพาณิชย์ PHA สามารถขึ้นรูปและใช้เป็นชิ้นส่วนทางไฟฟ้า ส่วนประกอบพื้นฐานของ PHA คือ โพลีไฮดรอกซีบิวทีเรต (Polyhydroxybutyrate; PHB) PHB มีคุณสมบัติคล้ายกับกลุ่มโพลีโพรพิลีน (Polypropylene;PP) แต่อย่างไรก็ตาม PHB มีความแข็งและเปราะง่าย การนำ 3HB และ 3HV มาใช้เป็นโพลีเมอร์ร่วมกันทำให้สารมีความแข็งแรงน้อยแต่มีความเหนียวทนทานนำไปผลิตเป็นบรรจุภัณฑ์ หีบห่อเริ่มนำมาใช้ในเชิงพาณิชย์เมื่อปี 1980

1.2.1 การศึกษาความสัมพันธ์ของ PHA

สารโพลีเมอร์ Poly (3HB) (Poly(3 – hydroxybutyrate)) สามารถแยกมาวิเคราะห์เพื่อหาคุณสมบัติเป็นครั้งแรกในปี 1926 (Lamoigne,1926) ตั้งแต่นั้นมา Poly (3HB) และ PHAs ได้รับความสนใจในการศึกษากันอย่างกว้างขวาง นักวิทยาศาสตร์ได้ให้ผลสรุปเกี่ยวกับ Poly (3HB) ว่าแบคทีเรียจะสะสม Poly (3HB) เป็นแหล่งพลังงานคล้ายกับสัตว์ที่เลี้ยงลูกด้วยนมที่สะสมไขมัน ชื่อเสียของสาร Poly (3HB) คือเสถียรภาพของจุดหลอมเหลวต่ำ (Poor Melt Stability) เนื่องจากอุณหภูมิสลายตัว (200°C) ใกล้เคียงกับอุณหภูมิจุดหลอมเหลว (160 - 180°C) ทำให้มีปัญหาทางด้านการผลิต รวมทั้งมีคุณสมบัติที่เปราะง่ายขึ้นเมื่อสภาวะที่ใช้ในการสะสม PHA ใช้เวลานาน (Wallen and Rohwedder, 1974) จึงได้มีการปรับปรุงโดยการนำไปผสมให้เป็นสารโพลีเมอร์ร่วม เช่น การนำ Poly (3HB) ร่วมกับ 3HV กลายเป็น Poly (3HB – co – 3HV) หรือนำไป

ผสมกับสาร โพลีเมอร์อื่น ๆ พบว่า เมื่อสัดส่วนของ 3HV เพิ่มขึ้นจะช่วยทำให้คุณสมบัติทางกลของ Poly (3HB) ดีขึ้น ทำให้ความแข็งแรงลดลงมีความเหนียวมากขึ้น (Holmes, 1985)

Poly (3HB) ยังคงได้รับการสนใจจากนักวิชาการจนกระทั่ง W.R.Grace ในสหรัฐอเมริกาได้ผลิต โพลีเมอร์ขนาดเล็กในเชิงพาณิชย์ในช่วงปลายทศวรรษ 1950 จนถึงช่วงต้นทศวรรษ 1960 สิทธิบัตรหลายหลายได้ถูกตีพิมพ์ซึ่งเป็นผลจากความพยายามในเชิงพาณิชย์ และได้รับความสนใจอย่างกว้างขวางมากกว่าทศวรรษจนกระทั่ง ICI เริ่มการวิจัยและพัฒนาโครงการผลิต PHAs ซึ่ง ICI มีความชำนาญในการทดลองกระบวนการหมักสาร โพลีเมอร์ขนาดใหญ่จนสามารถรู้ว่าจะสามารถแยกส่วนพลาสติกได้อย่างไร (Holmes, 1985)

ในช่วงปลายทศวรรษ 1980 ICI ได้เริ่มเสนอขายสายพันธุ์ของ โคลิโพลีเมอร์ด้วยเครื่องหมายทางการค้าที่มีชื่อว่า Biopol (Biodegradable polymer) ในปี 1990 ธุรกิจทางด้านการเกษตรและยาของ ICI รวมทั้ง Biopol ได้คืนหุ้นทั้งหมดสู่บริษัทแม่คือ Zeneca Ltd. ในปี 1996 จากนั้น Monsanto ได้เข้ามาถือครองธุรกิจ Biopol จาก Zeneca Ltd. ตั้งแต่ได้ถือสิทธิ์ Monsanto ก็ได้ให้ความสำคัญเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ Biopol และหาความสัมพันธ์ของโคลิโพลีเมอร์ในพืชและปรับปรุงคุณสมบัติเพื่อให้ผู้ซื้อใช้ประโยชน์ได้อย่างหลากหลาย จากนั้นมีการพัฒนามาอย่างต่อเนื่องจนกระทั่ง Monsanto หยุดโครงการค้นคว้าวิจัย และธุรกิจการค้า Biopol ได้สิ้นสุดตั้งแต่ปี 1998 สรุปความเป็นมาของ PHA ที่มีการศึกษาจากข้อมูลด้านล่าง

- ค.ศ. 1925 ค้นพบการผลิต poly (3HB) เป็นครั้งแรก
- ค.ศ. 1972 ค้นพบ PHA ในตะกอนจุลินทรีย์และมีการรายงานเป็นครั้งแรก
- ค.ศ. 1988 มีการจำลองแบบ PHB ขึ้นเป็นครั้งแรก
- ค.ศ. 1988 สามารถผลิต poly (3HB) จาก E.coli เป็นครั้งแรก
- ค.ศ. 1991 ได้มีการเสนอโครงสร้างทางด้านวิศวกรรมเป็นครั้งแรก
- ค.ศ. 1993 พบผลกระทบจากการวิเคราะห์ด้านข้อจำกัดของไนโตรเจน
- ค.ศ. 1997 พบผลกระทบจากการวิเคราะห์ด้านข้อจำกัดของแหล่งคาร์บอน
- ค.ศ. 1998 การจำแนกกลไกการผลิตของ poly (3HB)
- ค.ศ. 1999 ผลกระทบจากการวิเคราะห์ด้านข้อจำกัดของออกซิเจน
- ค.ศ. 2001 ปัจจัยควบคุมของการจำแนกการผลิต poly (3HB)

1.2.2 การผลิต PHA ในเชิงพาณิชย์

ปัจจัยหนึ่งที่มีผลกระทบในการนำ PHAs ไปใช้ในเชิงพาณิชย์คือราคา เมื่อเปรียบเทียบกับโพลิเมอร์ที่สังเคราะห์จากปิโตรเคมี เช่น โพลีเอทิลีน (Polyethylene) โพลีโพรพิลีน (Polypropylene) และ โพลีไวนิลคลอไรด์ (Polyvinylchloride) ซึ่งราคาในการผลิต PHAs มีราคาสูงมาก (Sato *et al*, 2001) การผลิต PHAs ที่มีราคาสูงจึงเป็นอุปสรรคในการเสนอขาย PHAs

ยกตัวอย่างโพลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้ เช่น สารโพลิเมอร์ร่วมของ PHAs คือ Poly (3HB – co – 3HV) ผลิตจากแบคทีเรียที่มาจากกรมหมักภายใต้สัญลักษณ์ทางการค้าของ Biopol[®] เสนอขาย Poly (3HB – co – 3HV) ในราคา 15 US\$ / กิโลกรัม เมื่อเทียบกับการสังเคราะห์พลาสติกจะมีราคาเพียง 1 US\$ / กิโลกรัม เท่านั้น การหมักแบคทีเรียมีราคาสูงมาจากสาเหตุดังต่อไปนี้ : ราคาของแหล่งคาร์บอนส่วนเกิน ราคาการเดินระบบเพื่อแยก PHB มาวิเคราะห์ ราคาการผลิต กระบวนการหมัก โครงสร้างของระบบที่มีขนาดใหญ่ ด้วยเหตุนี้ จึงมีการค้นคว้าหาวิธีลดราคาการผลิตให้เหมาะสม นอกจากนี้ ปัจจัยต่าง ๆ ที่ส่งผลต่อราคาการผลิต PHAs ได้แก่ ความสามารถในการผลิต PHAs ราคาของสารอินทรีย์คาร์บอน และการนำ PHAs ที่ผลิตได้กลับมาใช้ยังอยู่ในขั้นตอนการตลาด ซึ่งสอดคล้องกับ Lee *et al.*, (1998) พบว่าราคาของกลูโคสต่ำกว่าราคาของบิวทิเรต (Butyrate) และสารอาหารชนิดอื่น ๆ ดังนั้นกลูโคสจึงเหมาะสมในการนำไปผลิต PHAs ในเชิงอุตสาหกรรม

1.2.3 การจำแนกชนิดของ PHA

ก. การจัดจำแนกกลุ่มโดยแบ่งตามชนิดของโมโนเมอร์ที่เป็นองค์ประกอบในสายโพลิเมอร์ แบ่งเป็น 2 ประเภทดังนี้

1) โฮโมโพลิเมอร์ (homopolymer) เป็นโพลิเมอร์ที่ประกอบด้วยโมโนเมอร์เพียงชนิดเดียวมาต่อกัน เช่น โพลี-3-ไฮดรอกซีบิวทิเรต (poly-3-hydroxybutyrate) และ โพลี-3-ไฮดรอกซีวาเลเรต (poly-3-hydroxyvalerate) เป็นต้น

2) เฮเทอโรโพลิเมอร์ (heteropolymer) เป็นโพลิเมอร์ที่ประกอบด้วย โมโนเมอร์มากกว่า 2 ชนิดมาต่อกัน โดยเรียกชื่อตามจำนวนของโมโนเมอร์ที่เป็นองค์ประกอบ ดังนี้

- โคโพลิเมอร์ (copolymer) ประกอบด้วยโมโนเมอร์ 2 ชนิดมาต่อกัน เป็นสายโพลิเมอร์ เช่น โพลี (3 - ไฮดรอกซีบิวทิเรต - โค - 3 - ไฮดรอกซีวาเลอเรต) [poly (3 - hydroxybutyrate - co - 3 - hydroxyvalerate), PHBV] โพลี (3 - ไฮดรอกซีบิวทิเรต - โค - 4 - ไฮดรอกซีบิวทิเรต) [poly (3 - hydroxybutyrate - co - 3 - hydroxyvalerate), P(3HB - co - 4HB)] เป็นต้น

- เทอร์โพลิเมอร์ (terpolymer) ประกอบด้วยโมโนเมอร์ 3 ชนิดต่อกัน เป็นสายโพลิเมอร์ เช่น โพลี (3 - ไฮดรอกซีบิวทิเรต - โค - 3 - ไฮดรอกซีวาเลอเรต - โค - 4 - ไฮดรอกซีบิวทิเรต) [poly (3 - hydroxybutyrate - co - 3 - hydroxyvalerate - co - 4 - hydroxybutyrate), P(3HB - co - 3HV - co - 4HB)] เป็นต้น

ข. การจัดจำแนกกลุ่มโดยแบ่งตามจำนวนคาร์บอนในหน่วยโมโนเมอร์ แบ่งออกเป็น 2 ประเภทดังนี้ (Lee, 1996b)

1) PHAs สายสั้น (short chain length, SCL) หรือ scl - PHAs เป็น PHA ที่มีคาร์บอนอะตอม 3 - 5

2) PHAs สายกลาง (medium chain length, MCL) หรือ mcl - PHAs

เป็น PHA ที่มีคาร์บอนอะตอม 6 - 14 โดยมีการค้นพบ mcl - PHAs ที่มีความแตกต่างของโมโนเมอร์ประมาณ 100 ชนิด ตัวอย่างดังตารางที่ 2 ซึ่งตำแหน่งที่ถูกออกซิไดซ์ในโมโนเมอร์ได้ อาจไม่ใช่ตำแหน่งคาร์บอนตัวที่ 3 แต่เป็นตำแหน่งอื่น ๆ ได้ เช่น 4 - ไฮดรอกซีบิวทิเรต และ 5 - ไฮดรอกซีวาเลอเรต เป็นต้น

3) PHAs สายยาว (long chain length, LCL) หรือ lel - PHAs เป็น PHA ที่มีคาร์บอนอะตอมตั้งแต่ 14 อะตอมขึ้นไป

ตารางที่ 2 แสดง โมโนเมอร์ที่พบใน mcl – PHAs

3 – Hydroxy acids	3 – Hydroxy acids (unsaturated)	3 – Hydroxy acids (branched)	3 – Hydroxy acids (substituted sidechain)	Other than 3 – Hydroxy acids
Propionic	2 – butenoic	2 – methylbutyric	Cyclohexylbutyric	4 – hydroxybutyric
Butyric	4 – pentenoic	2 – methylvaleric	5 – phenylvaleric	4 – hydroxyvaleric
Varelic	4 – hexanoic	2,6 – dimethyl – 5 – heptenoic	7 – fluoroheptanoic	4 – hydroxyhexanoic
Hexanoic	5 – hexanoic	4 – methylhexanoic	9 – fluorononanoic	4 – hydroxyheptanoic
Heptanoic	6 – heptenoic	5 – methylhexanoic	6 – chlorohexanoic	4 – hydroxyoctanoic
Octanoic	6 – octenoic	4 – methylloctanoic	8 – chlorooctanoic	5 – hydroxyvaleric
Nonanoic	7 – octenoic	5 – methylloctanoic	6 – bromohexanoic	5 – hydroxyhexanoic Malic
Decanoic	8 – nonenoic	6 – methylloctanoic	8 – bromooctanoic	
Undecanoic	9 – decanoic	7 – methylloctanoic	11 – bromoundecanoic	
Tetradecanoic	10 – undecenoic	6 – methylnonanoic	7 – cyanononanoic	
Hexadecanoic	6 – dodecenoic	7 – methylnonanoic	12 – hydroxydodecanoic	
	5 – tetradecenoic		Succinic methylester acid	
	5,8 – tetradecadienoic		Adipic acid methylester	
	5,8,11 – tetradecatrienoic		Suberic acid methylester	
	4 – hexadecenoic		Suberic acid ethylester	
	4,7 - hexadecadienoic		Pimelic acid propylester	
			Sebacic acid benzylester	

ที่มา : Witholt and Kessler (1999)

1.2.4 ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับโพลีไฮดรอกซีบิวทีเรต (polyhydroxybutyrate, PHB)

PHB เป็นสารในกลุ่ม PHA ซึ่งเป็นโพลิเมอร์ที่สร้างและสะสมอยู่ในเซลล์ของจุลินทรีย์เซลล์เดี่ยวต่าง ๆ ทำหน้าที่เป็นแหล่งสะสมอาหารประเภทคาร์บอนและแหล่งพลังงานให้แก่เซลล์ PHB ที่จุลินทรีย์สังเคราะห์ขึ้นถูกเก็บไว้ในแกรนูลภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์ (ดังแสดงในภาพที่ 2) ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.2 - 0.5 ไมครอน และมีเมมเบรนซึ่งประกอบด้วยไขมันและโปรตีนหนา 2 นาโนเมตร PHB ที่แยกได้จากเซลล์แบคทีเรียมีน้ำหนักโมเลกุลสูงประมาณ $10^5 - 10^6$ และมีโครงสร้างเป็นผลึก (crystalline) มีระดับความเป็นผลึก (degree of crystallinity) สูง (มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งสะท้อนแสงได้และมีโครงสร้างภายในเป็น fibril ที่ยึดหยุ่นได้ PHB เป็นไฮโมโพลิเมอร์ที่ประกอบด้วยโมเลกุลของ กรด 3 - ไฮดรอกซีบิวทีริก จำนวน

23,000 – 25,000 โมเลกุล มีจุดหลอมเหลวประมาณ 180 องศาเซลเซียส น้ำหนัก โมเลกุลของ PHB จะแตกต่างกันตามชนิดของจุลินทรีย์ วิธีการสกัด ช่วงการเจริญของเซลล์ที่นำมาสกัด และสภาวะที่ใช้เลี้ยงเซลล์ เช่น ค่าพีเอช อุณหภูมิ ปริมาณสารอาหารที่จำเป็น เป็นต้น (Anderson *et al.*, 1990)



ภาพที่ 2 ภาพตัดของเซลล์ *Alcaligenes eutrophus* จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดง PHA ภายในแกรนูลของเซลล์

ที่มา: Byrom (1987)

PHB เป็นวัสดุที่น่าสนใจในการนำไปใช้ในงานหลายประเภท เนื่องจากความสามารถย่อยสลายได้โดยธรรมชาติ และมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับโพลีเมอร์ที่ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมี เช่น PP แต่มีคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีบางประการที่ดีกว่า เช่น การทนทานต่อ UV ความหนาแน่น จุดหลอมเหลว ระดับความเป็นผลึก เป็นต้น แต่จะทนต่อตัวทำละลายน้อยกว่า และเปราะกว่า (Evans and Sikdar, 1990) ดังแสดงในตาราง 3

อย่างไรก็ตามมี PHA ไม่กี่ชนิดที่มีปริมาณสะสมอยู่ในเซลล์มากพอที่จะนำมาสกัดและมีศักยภาพในการนำไปใช้ประโยชน์ได้ Lee (1996b) ได้รายงานว่ามี PHA ที่ผลิตได้ในเชิงพาณิชย์แล้วได้แก่ P(3HB) หรือ PHB และ P(3HB-co-3HV) หรือ PHB+PHV ทั้งนี้สมบัติบางอย่างใกล้เคียงกับพลาสติกชนิด PP แต่เปราะบางและแตกหักง่ายกว่า ทำให้เป็นอุปสรรคในการนำพลาสติกที่ผลิตจาก P(3HB-co-3HV) ซึ่งพบว่าถ้าสารโพลีเมอร์นี้มีสัดส่วนของ 3HV เพิ่มขึ้น

สมบัติทางกลของพลาสติกจะดีขึ้น ก็มีความเปราะลดลงแต่มีความเหนียวเพิ่มขึ้น ผลิตภัณฑ์ที่ได้จึงมีคุณภาพดีขึ้น

ตารางที่ 3 สมบัติทางเคมีและกายภาพของโพลีโพรพิลีนและโพลีไฮดรอกซีบิวทีเรต

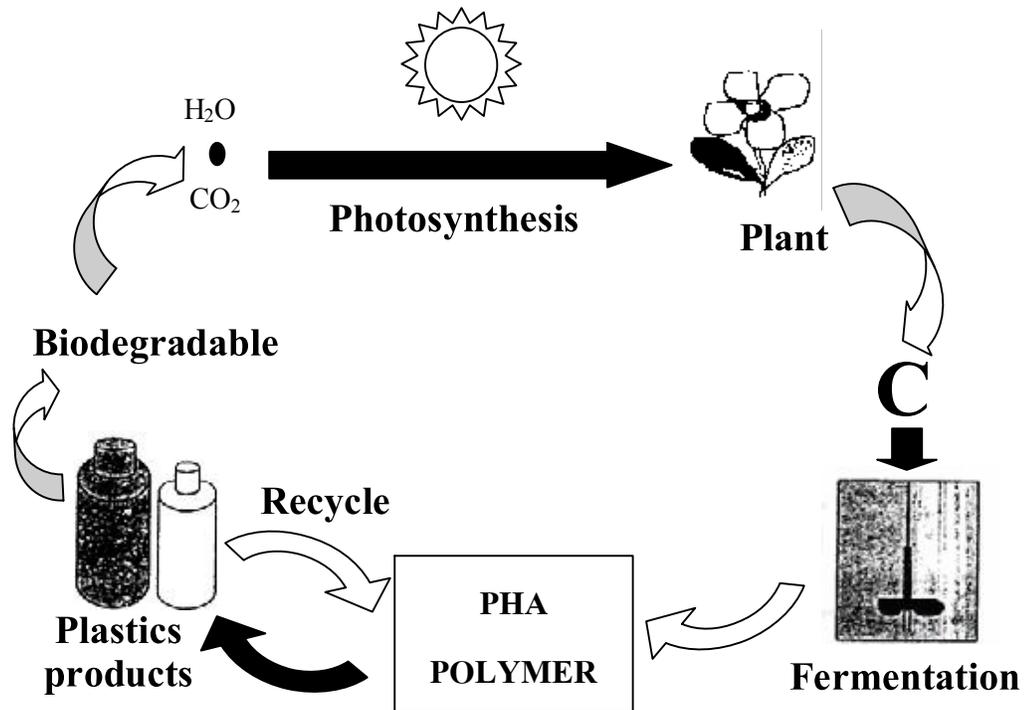
คุณสมบัติ	โพลีโพรพิลีน (PP)	โพลีไฮดรอกซีบิวทีเรต (PHB)
จุดหลอมเหลว (°C)	171 – 186	171 – 182
ความสามารถเป็นผลึก (%)	65 – 70	65 – 80
ความหนาแน่น (g/cm ³)	0.95 – 0.94	1.23 – 1.25
น้ำหนัก โมเลกุล (x10 ⁵)	2.2 – 7	1 – 8
การกระจายของน้ำหนักโมเลกุล (molecular weight distribution)	5 – 12	2.2 – 3
ความแข็ง (flexural modulus)(GPa)	1.7	3.5 – 4
ความสามารถในการต้านแรงดึง (tensile strength) (MPa)	39	40
ความสามารถในการขยายตัว (extension to break) (%)	400	6 – 8
ความทนทานต่อแสงอุลตราไวโอเลต (UV resistance)	ไม่ดี	ดี
ความสามารถให้ออกซิเจนผ่าน (oxygen permeability) (cm ⁻¹ m ⁻² atm ⁻¹ d ⁻¹)	ดี	ไม่ดี
	1700	45

ที่มา: Evans and Sikdar (1990)

1.2.5 วัฏจักรของ PHA

วัฏจักรของ PHA ดังแสดงในภาพที่ 3 เริ่มจากการผลิต PHA จากวัตถุดิบทางการเกษตรโดยกระบวนการหมัก จุลินทรีย์จะสร้างและสะสมแกรนูลของ PHA ที่ได้จากกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ จากนั้นนำ PHA มาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์พลาสติกต่าง ๆ

หลังจากผ่านการใช้งานแล้ว PHA อาจจะถูกกำจัดเช่นเดียวกับขยะประเภทของแข็งทั่วไป เมื่อเกิดการย่อยสลายโดยธรรมชาติจะได้เป็นปุ๋ยที่มีแหล่งอินทรีย์คาร์บอนที่สมบูรณ์ ช่วยเพิ่มปริมาณน้ำรักษาปริมาณสารอาหารในดิน (Lee, 1996b) เมื่อย่อยสลายสมบูรณ์จะได้คาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่ใช้สำหรับกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืชและนำกลับมาใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับผลิต PHA ต่อไป



ภาพที่ 3 วัฏจักรของ PHA และพลาสติกชีวภาพในธรรมชาติ

ที่มา: Lee (1996b)

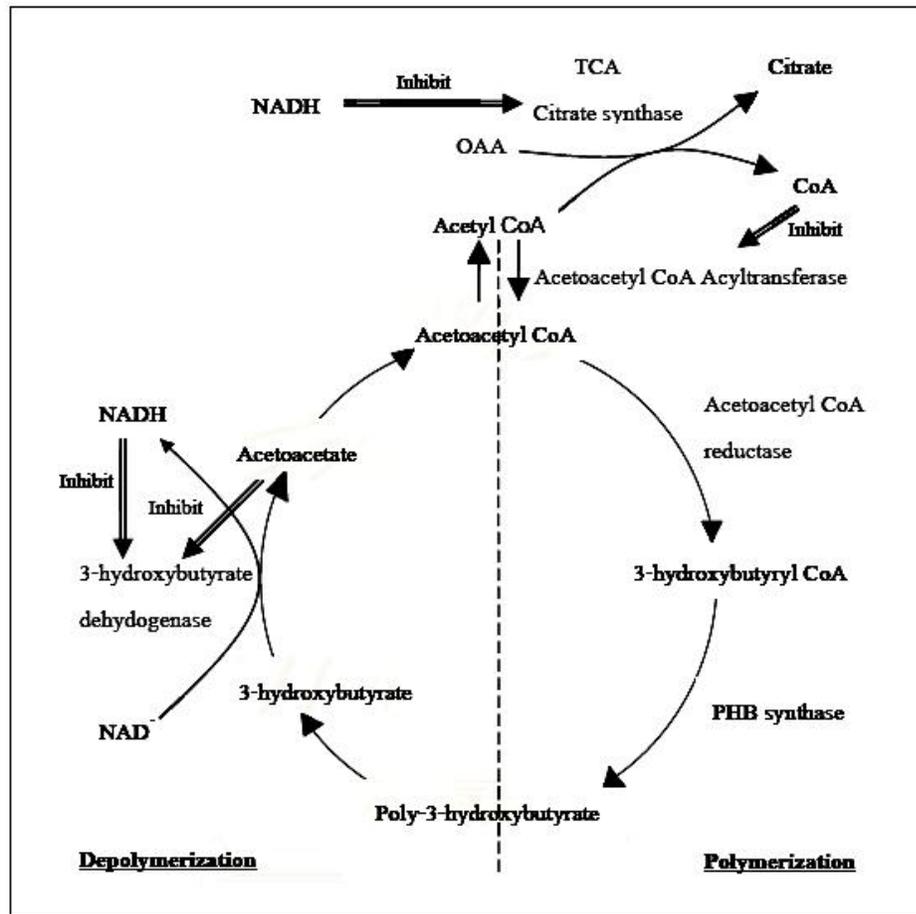
1.2.6 การสะสม PHA

การสะสม PHA ของจุลินทรีย์จะเกิดขึ้นเมื่อจุลินทรีย์อยู่ในสภาวะที่สารอาหารขาดความสมดุล คือ มีแหล่งคาร์บอนที่มากเกินไป แต่มีสารอาหารบางชนิด ได้แก่ ไนโตรเจน ออกซิเจน ฟอสฟอรัส ซัลเฟอร์ หรือ แมกนีเซียม อยู่ในปริมาณจำกัด จุลินทรีย์จะสะสม PHA ได้ในปริมาณสูง เมื่อการเจริญของจุลินทรีย์เข้าสู่ระยะช่วงปลายของการเจริญแบบทวีคูณ (Dawes and

Senior, 1973) นอกจากความเข้มข้นของสารอาหาร ปัจจัยอื่นที่มีผลกระทบต่อปริมาณโพลิเมอร์ของเซลล์ได้แก่ อัตราการเจริญซึ่งขึ้นอยู่กับอัตราการละลายของออกซิเจน และช่วงอายุเชื้อที่เก็บเซลล์มาวิเคราะห์ปริมาณโพลิเมอร์ (Haywood, 1958) เมื่อมีการจำกัดไนโตรเจนในช่วงการเจริญแบบทวีคูณ แต่มีแหล่งคาร์บอนและพลังงานมากเกินพอ ปริมาณ PHA ที่ผลิตได้เพิ่มขึ้นเป็น 4 เท่าของปริมาณ PHA ที่ผลิตได้ จากเดิมที่ไม่จำกัดปริมาณไนโตรเจน (Macrae and Wilkinson, 1958) จากการศึกษาของ Ballard *et al.* (1987) พบว่าเมื่อเลี้ยงเซลล์ในสภาวะที่เหมาะสมต่อการสะสม PHA จำนวนแกรนูลต่อเซลล์จะอยู่ในช่วง 8 ถึง 12 แกรนูล และทำให้เซลล์มีเส้นผ่านศูนย์กลางเพิ่มจาก 0.24 เป็น 0.50 ไมครอน รูปร่างของเซลล์เมื่อสะสม PHA จะเปลี่ยนเป็นค่อนข้างกลม และพบว่า การสะสม PHA จะหยุดเมื่อมีปริมาณ PHA ประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแก็ ถึงแม้ว่าจะยังคงมีเอนไซม์และสับเตรทที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ PHA ก็ตาม ทั้งนี้เนื่องมาจากเซลล์ไม่สามารถเก็บ PHA ได้มากกว่านี้ภายใต้ปริมาณผนังเซลล์ที่จำกัดนั่นเอง ภายในแกรนูลจะเป็น PHA ประมาณ 98 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก โปรตีน 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ที่เหลือเป็นไขมันจำพวกกรด Phosphatidic และสารประกอบที่ละลายในอะซิโตนปริมาณเล็กน้อย

1.2.7 การสังเคราะห์และย่อยสลาย PHA ในจุลินทรีย์

ในการสังเคราะห์ PHA นั้นจะมีกระบวนการที่สำคัญอยู่ 3 กระบวนการ (ดังภาพที่ 4) ได้แก่ *de novo fatty acid biosynthesis*, *chain elongation* และ *fatty acid β - oxidation* ซึ่งทั้ง 3 กระบวนการนี้จะมีสารประกอบคาร์บอนที่สามารถนำไปสู่การสังเคราะห์ PHA ได้ นั่นคือ (R) - 3 - hydroxyacyl - acyl carrier protein (ACP), ketoacyl - CoA, (S) - 3 - hydroxyacyl - CoA และ 2 - trans - enoyl - CoA โดยมีเอนไซม์ 3 - hydroxyacyl - acyl - CoA - ACP transferase, Ketoacyl - CoA reductase, 3 - hydroxyacyl - CoA epimerase และ Enoyl - CoA hydratase เปลี่ยนสารประกอบคาร์บอนดังกล่าวไปเป็น (R) - 3 - hydroxyacyl - acyl - CoA ซึ่งเมื่อ (R) - 3 - hydroxyacyl - acyl - CoA เกิดปฏิกิริยา Polymerization โดยเอนไซม์ PHA polymerase จะได้ PHA เป็นผลิตภัณฑ์



ภาพที่ 5 วงจรการสังเคราะห์ การสลาย PHB และเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง

ที่มา: Byrom (1987)

เมื่อเอนไซม์นี้หยุดการทำงานปริมาณโคเอนไซม์เอจะลดลง ทำให้เอนไซม์อะซีติล-โคเอ อะซีลทรานเฟอเรส (acetyl-CoA acyltransferase) ซึ่งโดยปกติจะถูกยับยั้งโดยโคเอนไซม์เอที่มากเกินไป สามารถทำงานได้ส่งผลให้เกิดปฏิกิริยารวมตัวกันของอะซีติลโคเอไปเป็นอะซีโตอะซีติลโคเอ และเข้าสู่วงจรการสังเคราะห์ PHB โดยสารดังกล่าวจะถูกเปลี่ยนให้เป็นไฮดรอกซีบิวทิริลโคเอ โดยการเร่งปฏิกิริยาของ NADPH/NADH-linked acetoacetyl-CoA reductase และเกิดปฏิกิริยาโพลิเมอร์ไรเซชัน (polymerization) ไปเป็น PHB โดยเอนไซม์ PHB synthetase สำหรับการย่อยสลาย PHB ภายในเซลล์หรือที่เรียกว่าปฏิกิริยาดีโพลิเมอร์ไรเซชัน (depolymerization) จะอาศัยปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งถูกควบคุมโดยเอนไซม์ 3-ไฮดรอกซีบิวทิเรต ดีไฮโดรจีเนส (3-hydroxybutyrate dehydrogenase) เอนไซม์นี้จะถูกยับยั้งโดย NADH

ดังนั้นเมื่อเกิดปฏิกิริยาโพลิเมอร์ไรซ์เซชันก็จะไม่เกิดปฏิกิริยาดีโพลิเมอร์ไรซ์เซชัน เนื่องจากเมื่อมีปริมาณสารต่าง ๆ ที่เอื้อให้เกิดปฏิกิริยาโพลิเมอร์ไรซ์เซชันหรือมี NADH ทำให้ไปยับยั้งปฏิกิริยาดีโพลิเมอร์ไรซ์เซชัน แต่เมื่อมีปริมาณสารต่าง ๆ เอื้อให้เกิดปฏิกิริยาดีโพลิเมอร์ไรซ์เซชันหรือไม่มี NADH ทำให้ไปยับยั้งปฏิกิริยาโพลิเมอร์ไรซ์เซชันเช่นเดียวกัน (Byrom, 1987)

1.2.8 การย่อยสลาย PHA ในสภาวะต่าง ๆ

PHA เป็นโพลิเมอร์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์และถูกย่อยได้โดยจุลินทรีย์ที่อยู่ในธรรมชาติ โดยทั่วไปพบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลาย และช่วงเวลาที่พลาสติกยังคงอยู่ในธรรมชาติได้แก่ สภาพแวดล้อม ชนิดของจุลินทรีย์ กิจกรรมของจุลินทรีย์ ปริมาณน้ำ อุณหภูมิ ความหนาของพลาสติก พื้นที่ผิวและลักษณะพื้นผิวของพลาสติก ซึ่งมีผลต่อการโคโลไนเซชันของแบคทีเรีย นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นอีกที่มีผลต่อการย่อยสลายของพลาสติกโดยจุลินทรีย์ ได้แก่ ความพรุน การเติมสารฟิลเลอร์ สารให้สี ค่า BOD และการให้สารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์ เช่น ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส เป็นต้น กระบวนการย่อยสลายในธรรมชาติพบว่าสามารถเกิดได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน (Holmes, 1985) โดยวิธีการย่อยสลาย PHA แบ่งออกเป็น

ก. ภายใต้อากาศปลอดเชื้อ

PHA จะถูกย่อยสลายโดยกระบวนการไฮโดรไลซิส โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ pH สูง การย่อยสลายแบบนี้มีความสำคัญต่อการนำไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ เช่น นำ PHA มาทำเป็นพาหะของตัวยาและค่อย ๆ ปล่อยยาออกมา หรือใช้เป็นไหมเย็บแผล

ข. ภายใต้อากาศการย่อยในธรรมชาติ

PHA จะถูกย่อยโดยเอนไซม์ที่ชื่อว่าดีโพลิเมอเรส (depolymerases) หรือเอนไซม์เอสเตอเรส (esterases) จากจุลินทรีย์ เช่น *Alcaligenes*, *faecalis*, *Pseudomonas lemoignei* และ *Penicillium simplicismum* หลังจากการย่อยสลายแล้วจะได้สารอินทรีย์ซึ่งจะถูกนำไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการเจริญเติบโต

1.2.9 การสกัดผลิตภัณฑ์ PHA ให้บริสุทธิ์ (Griffin, 1994)

ขั้นตอนทั่วไปในการสกัด PHA ให้บริสุทธิ์ คือการแยกเซลล์ออกจากน้ำหมัก นั้นนำไปย่อยเพื่อให้ผนังเซลล์แตกออกแล้วแยก PHA ออกจากกากของเซลล์ ในการสกัด PHA ให้บริสุทธิ์มีความสำคัญต่อการผลิต PHA เนื่องจากจะมีผลต่อความบริสุทธิ์และการย่อยสลายของ โพลีเมอร์ การแยกเซลล์ออกจากน้ำหมักโดยปกติจะใช้เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ส่วนการย่อย ผนังเซลล์ให้แตกเพื่อแยก PHA ออกจากเซลล์นั้นทำได้ 3 วิธีดังนี้

ก. การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction)

PHA จะถูกสกัดออกจากเซลล์ด้วยการละลายเซลล์ในตัวทำละลายอินทรีย์ บางชนิดได้แก่ คลอโรฟอร์ม, เมทิลีนคลอไรด์, 1,1,2-ไตรคลอโรเอเทน หรือโพรพิลีน คาร์บอเนต จากนั้นกรองแยกกากเซลล์ออกแล้วจึงทำให้การตกตะกอน PHA ด้วยการทำให้ สารละลายเย็นตัวลงอย่างช้า ๆ หรือเติมเมทานอล เอทานอล ไดเอทิลอีเธอร์ หรือเฮกเซน หาก ต้องการให้ PHA ที่ได้มีความบริสุทธิ์มากขึ้น ก็ทำได้โดยการนำ PHA ที่สกัดได้ไปละลายใน คลอโรฟอร์ม แล้วจึงตกตะกอนด้วยเฮกเซน หรือไดเอทิลอีเธอร์อีกครั้ง นอกจากนี้ยังพบว่า สามารถเพิ่มความบริสุทธิ์ของ PHA ได้ โดยการล้างเซลล์ด้วยเมทานอล หรืออะซิโตน ก่อนที่จะ สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ เพื่อเพิ่มความสามารถในการเลือกผ่านของเซลล์เมมเบรน ล้างไขมัน และย่อยสลายโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ๆ ออกก่อน PHA ที่สกัดได้จากวิธีนี้จะมีสีขาวน้ำหนัก โมเลกุลสูง และมีความบริสุทธิ์สูงแต่วิธีนี้ต้องใช้ตัวทำละลายในปริมาณที่มากในการสกัด PHA

ข. การย่อยด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (sodium hypochlorite digestion)

ทำการสกัด PHA โดยนำเซลล์ไปบ่มในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ เป็นระยะเวลา 30 – 60 นาที เพื่อย่อยผนังเซลล์และสารประกอบอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ PHA จากนั้นทำให้ PHA บริสุทธิ์โดยการล้างด้วยไดเอทิลอีเธอร์ หรือเมทานอลเพื่อแยกไขมันออก แต่การใช้สารที่มี ความเป็นด่างสูงจะไปย่อยสลายสายโพลีเมอร์ และทำให้น้ำหนักโมเลกุลเปลี่ยนแปลงด้วย

ก. การย่อยด้วยเอนไซม์เฉพาะ (selective enzymatic digestion)

วิธีนี้จะใช้ความร้อนเพื่อช่วยในการทำปฏิกิริยาระหว่างเซลล์และเอนไซม์ จากนั้นนำไปล้างด้วยสารลดแรงตึงผิว เพื่อละลายเศษชีวมวลออกจาก PHA แต่วิธีนี้จะทำให้ผลผลิตมีความบริสุทธิ์น้อย ถ้าต้องการเพิ่มความบริสุทธิ์ของสารผลิตภัณฑ์ต้องใช้วิธีนี้ร่วมกับการสกัดด้วยตัวทำละลาย

2. การผลิต PHA จากตะกอนจุลินทรีย์

Satoh *et al.*, (2001) ได้ค้นพบวิธีการใช้ประโยชน์จากตะกอนจุลินทรีย์ในระบบแอกทิเวเตดสลัดจ์ไปผลิตสาร PHAs โดยศึกษาการนำตะกอนมาใช้ให้เหมาะสมเพื่อให้สามารถผลิต PHAs โดยเจาะจงที่อัตราการเพิ่มของ PHAs ในระบบ โดยคาดว่า การผลิต PHAs จากระบบจะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ตามเหตุผลต่อไปนี้ (1) ราคาการผลิตจุลินทรีย์ในการผลิต PHAs จะลดลงเพราะ PHAs สามารถผลิตได้จากตะกอนจุลินทรีย์ (2) ราคาวัตถุดิบ PHAs จะลดลงถ้านำของเสียมาใช้เป็นวัตถุดิบและ (3) ราคาของถังปฏิกรณ์จะลดลง (ค่าก่อสร้างถังปฏิกรณ์) และการดูแลการเดินระบบจะลดลง

จากการใช้ระบบแอกทิเวเตดสลัดจ์ในการผลิตพลาสติกย่อยสลายได้ โดยนำของเสียอินทรีย์ในดินหรือน้ำเสียสามารถนำกลับมาใช้ประโยชน์หรือนำมาดัดแปลงเป็นพลาสติกย่อยสลายได้ นอกจากนี้ PHAs ไม่ต้องผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์ เพราะสามารถใช้จากตะกอนจุลินทรีย์แทนเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์ ยกตัวอย่าง PHAs ที่อยู่ในรูป 3-hydroxy-2-methylbutyrate (3H2MB) และ 3-hydroxy-2-methylvalerate (3H2MV) จะพบอยู่ในตะกอนจากระบบแอกทิเวเตดสลัดจ์ - แอโรบิกแอกทิเวเตดเท่านั้น ซึ่งไม่พบในจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์

ดังนั้นการศึกษความเป็นไปได้ในการใช้ตะกอนจุลินทรีย์แทนจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์ จะทำให้ค่าใช้จ่ายในการผลิต PHA จากการเดินระบบลดลง การดูรักษาและวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต PHAs จะลดลงเพราะการผลิต PHAs ในระบบแอกทิเวเตดสลัดจ์ง่ายกว่าการหมักจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์ ยิ่งไปกว่านั้นระบบนี้จะช่วยรักษาสิ่งแวดล้อม เป็นเทคโนโลยีที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมของเสียจากระบบแอกทิเวเตดสลัดจ์จะลดลงเป็นการนำของเสียกลับไปเป็นวัตถุดิบที่มีค่าได้

3. ระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์และการผลิตสาร PHA ในระบบ

ระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์เป็นกระบวนการหนึ่งในการบำบัดน้ำเสียแบบชีวภาพ ถูกคิดค้นขึ้นมานานแล้วจากระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์แบบ conventional แล้วพัฒนาและปรับปรุง เป็นกระบวนการแตกต่างกันอีกหลายแบบ เช่น ระบบ EBPR และระบบ Microaerophilic aerobic

3.1 ระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์แบบ conventional process

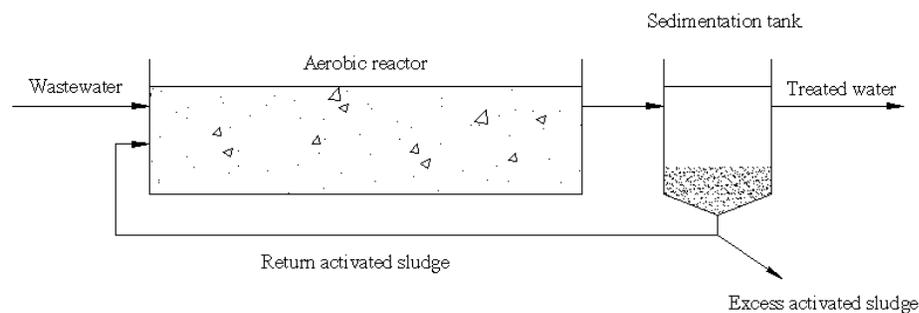
Tchobanoglous and Burton (1991) ได้พัฒนาระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์แบบ conventional ขึ้นในปี 1914 โดยปัจจัยสำคัญคือกำจัดมลพิษสารอินทรีย์ กระบวนการนี้ ประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ ของเสียสารอินทรีย์ถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพและ ส่งไปยังถังตกตะกอนเพื่อให้ตะกอนถูกแยกออกจากการบำบัดน้ำทิ้ง

ระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์แบบ conventional จะไม่มีสถานะไร้อากาศ Saito *et al.*, (1995) รายงานว่า PHAs จะสะสมอยู่ในตะกอนจุลินทรีย์ภายใต้สภาวะเดิมอากาศได้มากกว่าภายใต้ สภาวะไร้อากาศ สอดคล้องกับ Ueno *et al.*, (1993) รายงานว่าพบความแตกต่างการสะสม PHB ภายใต้สภาวะเดิมอากาศสูงถึง 36% ของน้ำหนักแห้งตะกอน และพบเพียง 17% เมื่ออยู่ภายใต้ สภาวะไร้อากาศ ซึ่งอธิบายจากความสามารถของพลังงานในการสะสม PHAs ที่แตกต่างกัน สารอาหารที่เพิ่มขึ้นในสภาวะไร้อากาศจะหยุด เมื่อแหล่งสะสมพลังงาน เช่น โพลีฟอสเฟตและ/ หรือ ไกลโคเจนถูกใช้หมด แม้ว่าพลังงานส่วนใหญ่สามารถผลิตขึ้นจากการย่อยสลายของ สารอาหารภายใต้สภาวะเดิมอากาศ (Satoh *et al.*, 1999)

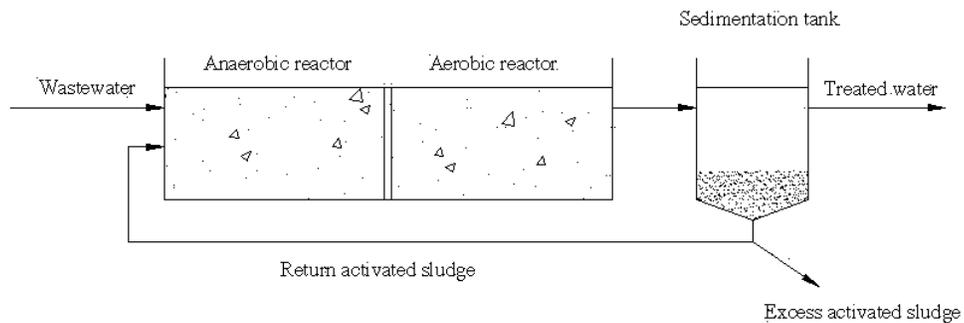
Hu *et al.*, (1997) ใช้ระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์แบบ conventional ในการผลิต PHA โดย ใช้นมเป็นแหล่งคาร์บอนหลัก และได้พบว่าการสะสมของ PHAs มีประมาณ 40% ของน้ำหนักแห้ง ในสภาวะเดิมอากาศที่มีบีวีทีเรดและ/หรือวาริเรด เป็นแหล่งคาร์บอน แม้ว่าระบบแอกทิเวเต็ด สลัดจ์แบบ conventional ในการบำบัดน้ำเสียจะสามารถกำจัดมลพิษสารอินทรีย์ (หรือ BOD) ได้แต่ ประสิทธิภาพในการกำจัดของมลพิษอื่น ๆ เช่น ไนโตรเจนและฟอสฟอรัสยังไม่สูงนัก แสดงดังภาพ ที่ 6

3.2 ระบบแอกทิเวตเต็ดสลัดจ์แบบ Microaerophilic – aerobic

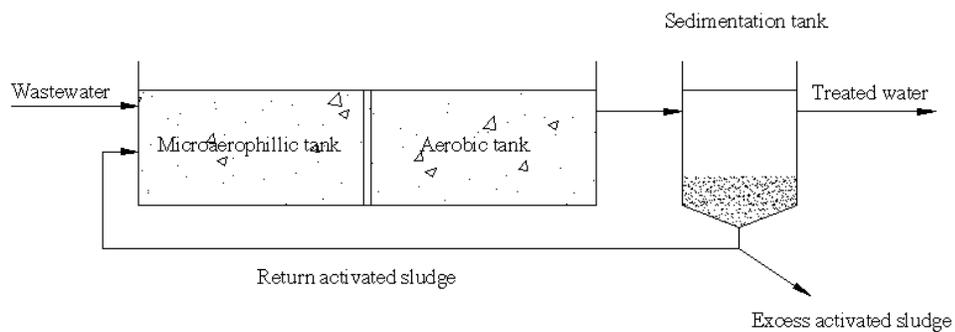
สำหรับการเพิ่มปริมาณ PHA ในแอกทิเวตเต็ดสลัดจ์ Satoh *et al.*, (1998) ได้เสนอระบบแอกทิเวตเต็ดสลัดจ์แบบใหม่ที่ได้ทำการทดลองเรียกว่า “Microaerophilic – aerobic” ของระบบแอกทิเวตเต็ดสลัดจ์แสดงภาพที่ 8 ระบบนี้เป็นระบบพื้นฐานที่พัฒนามาจากระบบแอกทิเวตเต็ดสลัดจ์แบบแอนแอโรบิก – แอโรบิก โดยปรับปรุงให้มีการใช้ออกซิเจนอย่างจำกัด โดยแนะนำให้มีความเข้มข้นออกซิเจนน้อย ๆ ในช่วงแอนแอโรบิก ซึ่งคาดว่าจะมีการสะสม PHA เพิ่มมากขึ้นในขณะที่ไม่สามารถสะสมกลัยโคเจนและ/หรือโพลีฟอสเฟต ผลของการศึกษานี้ ปริมาณ PHA สูงสุดของตะกอนจุลินทรีย์มีสูงถึง 62% โดยน้ำหนักแห้งตะกอน ปริมาณ PHA เพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าของระบบแอนแอโรบิก – แอโรบิกแอกทิเวตเต็ดสลัดจ์ แต่น้อยกว่าการสะสม PHA ของ A – eutrophus ที่ใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์ในการผลิต PHA เชิงพาณิชย์เพียงเล็กน้อยเท่านั้น ซึ่งปริมาณ PHA ในเชิงพาณิชย์มีปริมาณ 70 – 80% (Byron ,1992) อย่างไรก็ตาม กระบวนการสร้างและสลายของ Microaerophilic – aerobic ยังมีความซับซ้อน นอกจากนี้การผลิต PHA จากระบบ Microaerophilic – aerobic และกลไกในการทำให้จุลินทรีย์สะสม PHA เจริญเติบโตในระบบ Microaerophilic – aerobic ต้องมีการศึกษาและพัฒนาต่อไป (Satoh *et al.*, 1998)



ภาพที่ 6 ระบบแอกทิเวตเต็ดสลัดจ์แบบ conventional process



ภาพที่ 7 กระบวนการแยกที่เวเต็ดสตัคัจแบบแอนแอโรบิก - แอโรบิก (กระบวนการ EBPR)



ภาพที่ 8 กระบวนการแยกที่เวเต็ดสตัคัจแบบไมโครแอโรฟิลิก - แอโรบิก

3.3 ระบบแยกที่เวเต็ดสตัคัจแบบแอนแอโรบิก - แอโรบิก / ระบบ EBPR

ในการศึกษาครั้งนี้ให้ความสนใจเฉพาะระบบ EBPR ซึ่งใช้ตะกอนจุลินทรีย์ที่สะสมในสภาวะแอนแอโรบิก - แอโรบิก ระบบแยกที่เวเต็ดสตัคัจแบบแอนแอโรบิก - แอโรบิก หรือระบบ EBPR ซึ่งกระบวนการนี้ไม่เพียงกำจัดสารอินทรีย์แต่ยังสามารถกำจัดฟอสฟอรัสได้ด้วย แสดงดังภาพที่ 7

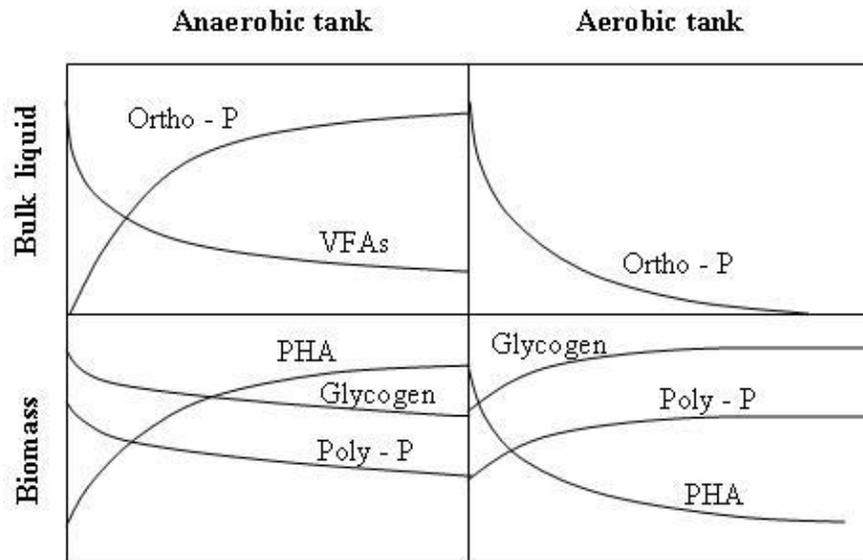
3.3.1 ลักษณะกระบวนการทางวิศวกรรมของระบบ EBPR

ระบบ EBPR ขึ้นอยู่กับการความสามารถของจุลินทรีย์ในการสะสมปริมาณของโพลีฟอสเฟตภายในเซลล์ (Marais *et al.*, 1983) ซึ่งหมายถึงประสิทธิภาพของระบบโดยตรงในการสร้าง PAOs เมื่ออยู่ในสภาวะแอนแอโรบิกแบคทีเรียกลุ่มนี้จะดูดซึมสารอาหารจำพวกกรด

ไขมันระเหยง่ายเข้าไปภายในเซลล์และจะเก็บสะสมไว้ในรูปของ PHA ซึ่งในขั้นตอนนี้แบคทีเรียจะใช้พลังงานจากการย่อยสลายโพลีฟอสเฟต และจากกลัยโคเจนบางส่วน ทำให้เกิดการปลดปล่อยฟอสฟอรัสออกมาในรูปของออร์โธฟอสเฟต (Orthophosphate) ทำให้ในน้ำมีปริมาณฟอสฟอรัสสูง ในส่วนของการย่อยสลายกลัยโคเจนนอกจากให้พลังงานแล้ว ยังมีหน้าที่ในการควบประจุภายในเซลล์ด้วย เมื่อเข้าสู่สภาวะแอโรบิกแบคทีเรียจะใช้ PHA ที่สะสมไว้ในสภาวะแอโรบิกเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต และมีการจับฟอสฟอรัสในปริมาณที่มากกว่าปกติ เพื่อที่จะสะสมเป็นแหล่งพลังงานในรูปโพลีฟอสเฟต และยังมีแบคทีเรียกลุ่มนี้ บางส่วนสามารถใช้ในเตรตเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายแทนออกซิเจนอิสระได้ (Mino *et al.*, 1995)

3.3.2 ลักษณะทางชีวเคมีในระบบ EBPR

Risink (1981) เป็นคนแรกที่คิดเรื่องความสัมพันธ์ทางโครงสร้างโดยตรงระหว่างการปลดปล่อยฟอสเฟตและการเพิ่มขึ้นของฟอสเฟตในระบบ EBPR ภายใต้สภาวะแอโรบิก โดยแบคทีเรียใช้โพลีฟอสเฟตเป็นแหล่งสะสมพลังงานสำหรับการผลิต ATP โดยอาศัยเอนไซม์จาก โพลีฟอสเฟตคือ AMP phosphatetransferase โดยใช้ ATP เพื่อเพิ่มกรดไขมันระเหย (VFA) และนำมาสร้าง PHA ภายหลังจากลดประจุอิเล็กตรอน โดยเปลี่ยน VFA เป็นไกลโคเจนแล้วจึงเปลี่ยนรูปเป็น PHA (Arun *et al.*, 1987) เนื่องจากพลังงานสำหรับการขนส่ง และจับใช้กรดไขมันระเหยจากการแตกตัวของโพลีฟอสเฟตและกลัยโคเจน ในการแตกตัวของโพลีฟอสเฟตจะมีการปล่อยฟอสเฟตออกมานอกเซลล์ พลังงานที่ใช้จับกรดไขมันระเหยขึ้นอยู่กับค่า pH โดยพลังงานที่ใช้ในการยั้งชีพของเซลล์จากการแตกตัวของโพลีฟอสเฟต ส่วนการเปลี่ยนกรดไขมันระเหยไปเป็น PHB จะใช้ NADH จากกลัยโคเจนเป็นแหล่งพลังงาน ในสภาวะแอโรบิกมีการใช้ PHB เพื่อสร้างมวลชีวภาพ ให้พลังงานในการดำรงชีพของเซลล์ สะสมโพลีฟอสเฟต และการสังเคราะห์กลัยโคเจน



ภาพที่ 9 กลไกของระบบ EBPR และการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นในระบบที่ต่อเนื่องกัน

เมื่อออกซิเจนที่เป็นสารอาหารจากภายนอกเกิดขาดแคลน PHA จะถูกสะสมในเซลล์แบคทีเรียเพื่อใช้เป็นสารอาหารภายใต้สภาวะนี้ แบคทีเรียไม่เพียงแต่ผลิตชีวมวลใหม่แต่ยังซ่อมแซมแหล่งสะสมของโพลีฟอสเฟตและกลัยโคเจน การสะสมฟอสเฟตในกระบวนการทั้งหมด สารอาหารมีโอกาสเปลี่ยนไปเป็น PHA แทนที่จะใช้ในการเจริญเติบโต (Kuba *et al.*, 1994 ; Bidjanovic *et al.*, 1999)

Comeau *et al.* (1986) and Wentzel *et al.* (1986) ได้เสนอโมเดลทางชีวเคมีที่อธิบายถึงแหล่งที่มาของ reducing power (NADH) ว่ามาจากวัฏจักรไตรคาร์บอกซิลิก (Tricarboxylic acid, TCA) โดยยังไม่มีคำอธิบายถึงกลไกที่เกี่ยวข้องกับกลัยโคเจน ซึ่งในสภาวะไร้อากาศ acetyl - CoA ที่ผลิตได้จะเข้าสู่วัฏจักร TCA เพื่อผลิต NADH หลังจากนั้นในสภาวะเติมอากาศ PHB จะถูกออกซิไดซ์โดยออกซิเจนเปลี่ยนไปเป็น acetyl - CoA เพียงอย่างเดียว Mino *et al.*, (1987) ได้เสนอแบบจำลองทางชีวเคมีที่อธิบายถึงแหล่งที่มาของ reducing power ว่ามาจากการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตภายในเซลล์ (กลัยโคเจน) ในสภาวะแอนแอโรบิก คาร์โบไฮเดรตจะถูกย่อยสลายได้ NADH ส่วนสภาวะที่มีการเติมอากาศ PHB จะถูกออกซิไดซ์โดยออกซิเจนเปลี่ยนไปเป็นคาร์โบไฮเดรตและ acetyl - CoA แบบจำลองของ Wentzel *et al.*, (1991) แตกต่างกับ Mino *et al.*, (1987) ตรงแหล่งของ reducing power ที่ใช้ในการเปลี่ยนอะซิเตตไปเป็น PHB ซึ่งได้มาจากการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตภายในเซลล์ (กลัยโคเจน) ผ่านวิถี Entner - Doudoroff (ED)

ในขณะที่แบบจำลองของ Mino *et al.*, (1987) นั้นจะผ่านวิถี Empden – Meyerhoff – Parnas (EMP) ซึ่งจะใช้คาร์โบไฮเดรตผ่านวิถี ED จะได้พลังงานน้อยกว่าวิถี EMP จุลินทรีย์ที่สะสมโพลีฟอสเฟตซึ่งผ่านวิถี ED ไม่สามารถสร้าง PHB จากกลูโคสโดยตรงภายใต้สภาวะแอนแอโรบิกแต่จะมีจุลินทรีย์กลุ่มที่ไม่สะสมโพลีฟอสเฟตเช่น GAOs จะเปลี่ยนกลูโคสให้เป็น VFA แล้วจุลินทรีย์ที่สะสมโพลีฟอสเฟตจึงใช้ VFA ในสภาวะแอนแอโรบิก

3.3.3 โครงสร้างทางเคมีในการผลิต PHA ด้วยระบบ EBPR

ในกลุ่มของสาร PHA สารโพลี-3-ไฮดรอกซีบิวทีเรต (Poly-3-hydroxybutyrate, Poly(3HB)) เป็นสารโพลิเมอร์เนื้อเดียว (homopolymer) ของ 3HB และเป็นที่รู้จักกันมาในปัจจุบัน (Lamoigne, 1926) ซึ่งกลุ่มโมโนเมอร์ใน PHA ถูกค้นพบว่ามีมากกว่า 80 ชนิด (Doi *et al.*, 1992) โดยสาร 3-Has สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ตามจำนวนของคาร์บอนอะตอมในแต่ละกลุ่มโมโนเมอร์ได้ดังนี้

1) Short – chain – length (SCL) : PHA ประกอบด้วยคาร์บอนจำนวน 3 – 5 อะตอม โดยตำแหน่งโมโนเมอร์ที่ถูกออกซิไดซ์อาจจะไม่ใช่ตำแหน่งที่ 3 แต่อาจเป็นตำแหน่งอื่น เช่น 4 – ไฮดรอกซีบิวทีเรต (Kunioka *et al.*, 1988) , 4 – ไฮดรอกซีวาเลรีเรต (Valentin *et al.*, 1992) และ 5 – ไฮดรอกซีวาเลรีเรต (Doi *et al.*, 1988)

2) Medium – chain – length (MCL) : PHA ประกอบด้วยคาร์บอนจำนวน 6 – 14 อะตอม โดยตำแหน่งที่โมโนเมอร์ถูกออกซิไดซ์จะเป็นตำแหน่งที่ 3 ทั้งหมดยกเว้น 4 – ไฮดรอกซีเฮกซาโนเอต

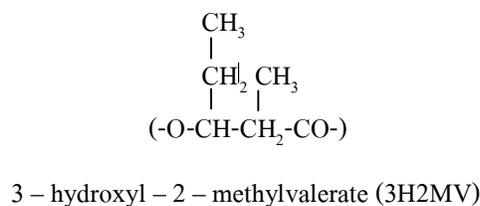
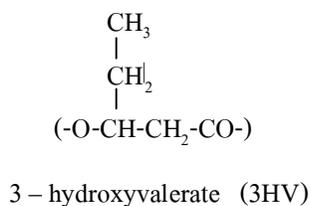
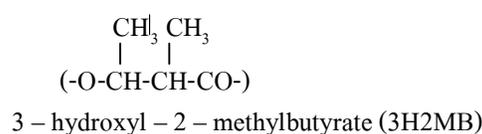
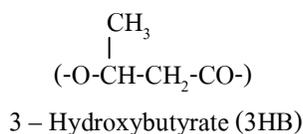
Satoh *et al.*, (1992) ได้ศึกษากลไกการเพิ่มของอะซิเตต โพรไพโนเอตและแลคเตดจากตะกอนในสภาวะแอนแอโรบิก ที่พัฒนาจากระบบ EBPR สารอาหารนี้สะสมในตะกอนอยู่ในรูป PHA ประกอบด้วย 3HB , 3HV , 3 – hydroxyl – 2 – methylbutyrate (3H2MB) และ 3 – hydroxyl – 2 – methylvalerate (3H2MV) (Satoh *et al.*, 1992; Satoh *et al.*, 1995; Mino *et al.*, 1998) รูปแบบโมโนเมอร์ของ PHA แยกที่เวกเตอร์แสดงในภาพที่ 10

Inoue *et al.*, (1996) ศึกษาโครงสร้างทางจุลชีววิทยาของ PHA ที่ผลิตจากตะกอนระบบ EBPR ประกอบด้วยสารหลัก ๆ คือ 3HV และ 3H2MV Fuchtenbusch *et al.*, (1996) ได้ใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์ผลิต PHA จะไม่พบสาร 3H2MB และ 3H2MV ซึ่ง PHA จะประกอบด้วยตัวหลัก ๆ คือ 3HB และ 3HV และมี 1 – 2 mol% ของ 3HMB

การผลิต PHA จากตะกอนจุลินทรีย์ภายใต้สภาวะแอโรบิกที่ผ่านมาได้มีการศึกษาเกี่ยวกับกรดไขมันสายโซ่สั้น เช่น อะซิเตต (acetate) โพรไพโอเนต (propionate) บิวทีเรต (butyrate) วาลีเรต (valerate) และ ไอ – วาลีเรต (i – valerate) และกรดเบนโซอิก (benzoic acid) ส่วนงานวิจัยนี้เน้นการศึกษาการผลิต PHA จากโฮโมโพลิเมอร์ของ 3HB หรือโคโพลิเมอร์ของ 3HB และ 3HV เท่านั้น



(A) โครงสร้างพื้นฐานรูปแบบโมโนเมอร์ของ PHA



(B) รูปแบบโมโนเมอร์ของ PHA ที่พบในระบบ EBPR

ภาพที่ 10 โครงสร้างทางเคมีที่มีรูปแบบโมโนเมอร์ของ PHA

ระบบแอกทิเวตเต็ดสลัดจ์แบบ conventional process ออกแบบให้ถึงปฏิบัติการทั้งหมดอยู่ในสภาวะแอโรบิก ส่วนกระบวนการแอนแอโรบิก – แอโรบิก (หรือระบบ EBPR) นั้นประกอบด้วยถังปฏิบัติการที่สภาวะแอนแอโรบิกและแอโรบิก ลักษณะหลัก ๆ ของระบบนี้คือน้ำเสีย

และตะกอนจะถูกผสมกันในช่วงแรกที่ถังแอนแอโรบิก ในสภาวะขาดออกซิเจน ไนเตรต/ไนไตรต์ สารประกอบอินทรีย์ จากนั้นน้ำเสียที่ผสมกับจุลินทรีย์จะผ่านไปถังเติมอากาศ ต่อมาที่ถัง ตกตะกอนและแยกตะกอนจากน้ำทิ้งโดยแรงโน้มถ่วง ตะกอนเกือบทั้งหมดจะถูกส่งกลับ (return) มาที่ถังบำบัดขั้นต้น และนำกลับมาใช้บำบัดน้ำเสียอีกครั้ง ตะกอนส่วนเกินจะถูกปล่อยทิ้งจากระบบ

ความสามารถในการกำจัดฟอสฟอรัสของระบบ EBPR เกิดจากจุลินทรีย์ที่สะสมฟอสเฟต (Phosphate accumulating organisms; PAOs) PAOs มีหน้าที่สำคัญในระบบ EBPR คือ ดึงคาร์บอนจากน้ำเสียที่เข้าสู่ระบบในสภาวะแอนแอโรบิก โดยใช้พลังงานจากการสลาย โพลีฟอสเฟตที่สะสมภายในเซลล์ และคายฟอสเฟตออกมา เมื่อจุลินทรีย์ทำการดึงคาร์บอนจากภายนอกเข้ามาภายในเซลล์จะทำการสะสมคาร์บอนในรูปของสาร โพลีเมอร์ PHA และเมื่อผ่านเข้าสู่สภาวะที่มีการเติมอากาศ จุลินทรีย์จะทำการดึงฟอสเฟตในน้ำเสียภายนอกเข้ามาภายในเซลล์เพื่อสร้างเป็น โพลีฟอสเฟตสะสมและปลดปล่อย PHA เพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานใช้ในการเจริญเติบโตในสภาวะที่มีการเติมอากาศ จุลินทรีย์จะทำการดึงฟอสเฟต เข้ามาสู่เซลล์มากกว่า ปริมาณของฟอสเฟตที่คายออกมาในสภาวะแอนแอโรบิก ทำให้ปริมาณฟอสเฟตในสารละลายโดยรวมลดลงจากการทำงานของจุลินทรีย์ดังกล่าว จึงทำให้ระบบ EBPR สามารถกำจัดฟอสฟอรัสออกจากน้ำเสียให้มาสะสมอยู่ในเซลล์จุลินทรีย์ แล้วนำสัจจากระบบไปทำการกำจัดต่อไป (Wentzel and Randall, 1991) จุลินทรีย์จะสะสม PHAs ชั่วคราวในสภาวะแอนแอโรบิกของกระบวนการ EBPR (Satoh *et al.*, 2001)

ในระบบแอนแอโรบิก – แอโรบิก เป็นที่ยอมรับว่า PHA จะสะสมภายในสภาวะแอนแอโรบิก แต่ผลแสดงว่า PHAs มักจะสะสมในสภาวะแอโรบิก ปริมาณ PHAs ที่พบมากพบที่สุดในแอนแอโรบิก – แอโรบิกคือ 15 – 20% ของ MLSS เมื่อใช้อะซิเตตเป็นแหล่งคาร์บอนภายในสภาวะแอนแอโรบิก และพบว่าปริมาณ PHA เพิ่มขึ้นถึง 30% เมื่อมีการเติมออกซิเจน (Satoh *et al.*, 1998)

3.3.4 การศึกษากลุ่มจุลินทรีย์ในระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์แบบ EBPR

แม้ว่าการผลิต PHA ในตะกอนจุลินทรีย์จะเกิดขึ้นตั้งแต่ปี 1974 (Wallen and Rohwdder , 1974) การศึกษาลักษณะของจุลินทรีย์ที่สะสม PHA ในตะกอนจุลินทรีย์ได้มีการศึกษาเมื่อไม่นานมานี้ เหตุผลหนึ่งคือในบางครั้งเมื่อจุลินทรีย์ต่างชนิดอยู่ร่วมกันตะกอนจะสูญเสียการกำจัดฟอสฟอรัสในทันทีและไม่มีผลต่อการผลิต PHA ดังนั้นจึงเป็นอันเข้าใจว่ากลุ่มจุลินทรีย์ใน EBPR มีความสำคัญ

Fuhs and Min Chen (1975) ซึ่งแสดงการทดลองกิจกรรมของจุลินทรีย์เกี่ยวกับการกำจัดฟอสฟอรัสส่วนเกินทางชีววิทยา จากการศึกษาในระบบ EBPR โดยใช้ *Acinetobacter* spp. เป็น PAOs ชนิดหลัก การศึกษานี้จะทำให้จุลินทรีย์ปลดปล่อยผลิตภัณฑ์จากการหมักในช่วงแอนแอโรบิกจากจุลินทรีย์กลุ่ม facultative ได้ง่าย จากการทดลอง *Acinetobacter* spp. สะสม PHB โดยใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารภายใต้สภาวะแอนโรบิก Nicholls and Osborn (1979) แสดงขั้นตอนสำคัญของกลไกการกำจัดฟอสฟอรัสทางชีววิทยาที่เข้าใจง่าย ๆ โดยสร้างความสัมพันธ์ระหว่างพฤติกรรมสะสมโพลีฟอสเฟตจากจุลินทรีย์และการสะสม PHB การบำบัดฟอสฟอรัสสามารถแยกจุลินทรีย์ที่สามารถสะสม PHB และโพลีฟอสเฟตออกเป็น 4 ชนิด ได้แก่ *Acinetobacter*, *Nocardia*, *Beyerinkia* และ *Azotobacter*

ตั้งแต่นั้นมา ได้มีการศึกษาเพิ่มเติมโดยการนำจุลินทรีย์ชนิด *Acinetobacter* spp. แยกจากตะกอนจุลินทรีย์ จากการทดลองของ Bunchan *et al.*, (1983) ยืนยันการทดลอง Fuhs and Chen (1975) โดยศึกษาการกำจัดฟอสฟอรัสที่เพิ่มขึ้นในระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์หลายแบบ การสะสมฟอสฟอรัสเกิดจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนและใช้กับการวิเคราะห์การแพร่กระจายพลังงานรังสี X พบว่าเซลล์ทั่วไปเกิดการรวมตัวของเซลล์เป็นกลุ่มก้อนใหญ่ และสามารถจำแนก *Acinetobacter* spp. ได้ โดยสรุปว่าระบบ EBPR ของตะกอนจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับการเจริญเติบโตของ *Acinetobacter* spp. ในระบบแน่นอน

Lotter *et al.*, (1985) ศึกษาคุณสมบัติของการสะสมโพลีฟอสเฟตที่เพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์ทุกชนิด แยกจาก 5 ขั้นตอนของ Bardenpho ในระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์ (anaerobic – anoxic – aerobic – anoxic – aerobic ในระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์) พบว่าขั้นแรก *Acinetobacter* spp. จะอยู่ในช่วงแอนโรบิก แต่ *Acinetobacter* spp. ไม่ใช่แบคทีเรียที่สะสมโพลีฟอสเฟตเพียงชนิดเดียว

ยังมี จุลินทรีย์ชนิดอื่น เช่น *Aeromonas* และ *Pseudomonas* spp. ที่สะสมโพลีฟอสเฟตในสภาวะนี้ด้วย ดังนั้นจากการทดลองจึงแสดงให้เห็นว่า *Acinetobacter* spp. ไม่ใช่จุลินทรีย์ดั้งเดิมในระบบ EBPR

Satoh and Mino (2001) ใช้รูปแบบ Quinone และ Fluorescence in situ hybridization (FISH) แสดงปริมาณ *Acinetobacter* spp. ในตะกอน EBPR ซึ่งพบว่ามีความน้อยมาก และยังพบจุลินทรีย์สายพันธุ์อื่นในระบบ EBPR นอกจากนี้สารอาหารจะเพิ่มขึ้นจากการย่อยสลายโพลีฟอสเฟตในสภาวะไร้อากาศ ซึ่งเป็นกุญแจสำคัญของ PAOs ในระบบ EBPR ที่ยังไม่สามารถคัดแยก *Acinetobacter* spp. จากระบบ EBPR ได้ (mino *et al.*, 1998) จากนั้นมีรายงานว่าพบความสำเร็จในการแยก PAOs ซึ่งเกิดขึ้นได้น้อยมาก การทดลองแยกเชื้อที่ชื่อว่า NM – 1 (*Microtholus phosphate*)(Nakamura *et al.*,1995) เมื่อให้บริโภคน้ำโพลีฟอสเฟตสามารถเพิ่มปริมาณกลูโคสและสะสมโพลีกลูโคสในสภาวะแอนแอโรบิก (Nakamura *et al.*,1991; Ubukata and Takii, 1994) อย่างไรก็ตามการแยกเชื้อนี้ไม่สามารถเพิ่มอะซิเตตและสะสม poly(3HB) ในสภาวะแอนแอโรบิกได้ Stante *et al.*, (1997) แยกเชื้อ *Lamproedia* spp. จากตะกอนระบบ EBPR การแยกเชื้อนี้สามารถเพิ่มอะซิเตตและสะสม PHB ถึงแม้ว่าจะใช้โพลีฟอสเฟตภายใต้สภาวะแอนแอโรบิก จำนวนมาก จำนวน PHB มีปริมาณน้อยกว่า 50% ของการนำอะซิเตตไปใช้

ในการวิจัย PAOs หลายทฤษฎีของโมเลกุลที่แตกต่างกัน โดยเฉพาะ FISH (wagner *et al.*, 1994; Kanmpfer *et al.*, 1996; Sudiana, 1998; Hessel mann *et al.*, 1999 ; Bond *et al.*, 1999; Crocetti *et al.*, 2000) และการเลียนแบบ (Christensson *et al.*,1998; Hessel mann *et al.*, 1999; Crocetti *et al.*, 2000) ถูกนำมาประยุกต์ใช้ แม้ว่านักวิจัยบางคณะ (Kanmpfer *et al.*, 1996) จะให้เห็นความเป็นไปได้มากของ G+ , Proteobacteria β , C – high แบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียกลุ่มย่อยที่สะสมโพลีฟอสเฟต ในระบบ EBPR (Bond *et al.*, 1999) ในทางตรงกันข้าม Kawaharasaki *et al.*, (1999) รายงานว่า G+ C high แบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียกลุ่มย่อยที่สะสมโพลีฟอสเฟต ในระบบ EBPR ทำการเติมสีด้วย 4,6 – diamidino – 2 – phenulindole dihydrochloride (DAPI) สำหรับ granules โพลีฟอสเฟตและการวิเคราะห์ FISH หากกลุ่มจุลินทรีย์แสดงว่า *Rhodocyclus* สัมพันธ์กับแบคทีเรียกลุ่มย่อย Proteobacteria β ซึ่งเป็น จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญมากในกลุ่มของ PAOs (Hessel mann *et al.*, 1999; Crocetti *et al.*, 2000)

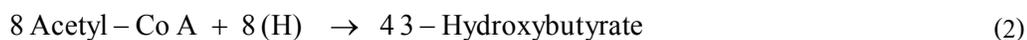
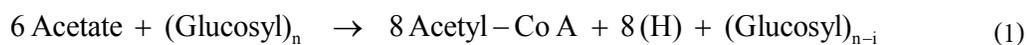
การศึกษากลไกทางจุลชีววิทยายังได้ศึกษาจุลินทรีย์กลุ่ม GAOs อย่างละเอียด เช่นกัน Nielsen et al.,(1999) ได้นำทฤษฎี PCR DGGE (polymerize chain reaction denaturing gradient gel electrophoresis) มาใช้วิเคราะห์การปรับตัวของตะกอนระบบ EBPR ด้วยอะซิเตต ในขณะที่เดียวกันยังมีคณะวิจัยอื่นทำการศึกษา DGGE และแบคทีเรียกลุ่มย่อยชนิด Proteobacteria γ นอกจากนี้ Cech and Hartman (1990) ได้รายงานเป็นครั้งแรกเกี่ยวกับโครงสร้างของ G แบคทีเรีย และพบว่ามีลักษณะการนำไฟฟ้าด้วย *Tetracoccus cechii* (Blackall et al.,1997) และ *Amaricoccus* spp. (Maszenan et al., 1997, 1998) เป็นแบคทีเรียกลุ่มย่อยของ Proteobacteria *Tesaracoccus* spp. (Maszenan et al., 1999) และ *Tetrashaera* spp.(Maszenan et al., 2000) เป็นแบคทีเรียกลุ่มย่อยของ G+C-high แกรมบวก ในการศึกษาเกี่ยวกับ G แบคทีเรีย

3.3.5 เมทาบอลิซึมของ PAOs และ GAOs

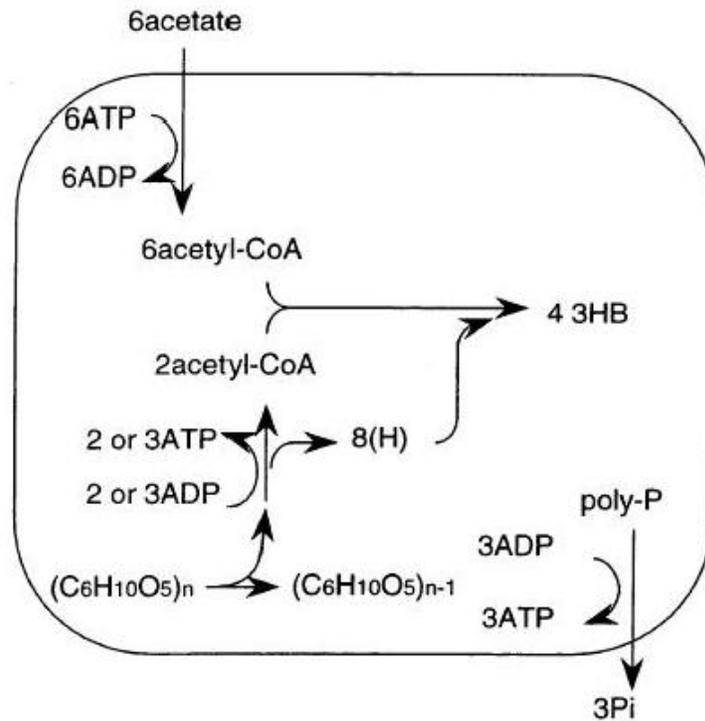
สิ่งหนึ่งที่สนใจที่สุดในการผลิต PHA ในตะกอนจุลินทรีย์คือสารประกอบ มักจะผลิตภายใต้สภาวะแอนแอโรบิก การผลิต PHA จาก PAOs และ GAOs ในสภาวะแอนแอโรบิกได้อธิบายตามกลไกด้านล่างนี้ กลไกการผลิต PHA ในสภาวะ แอโรบิกเป็นที่น่าสนใจแต่ยังไม่ได้ทำการศึกษาในรายละเอียด (Sato et al.,2001)

ก. เมทาบอลิซึมของ PAOs

กลไกของ PAOs ในกระบวนการ EBPR สอดคล้องกับแบบจำลองของ Mino จากภาพประกอบภาพที่ 11 Mino et al., (1987) สมมติกระบวนการไกลโคไลซิสในการย่อยสลาย กลัยโคเจนและกระบวนการไฮโดรไลซิสย่อยสลายโพลีฟอสเฟตให้พลังงานได้สภาวะแอนแอโรบิกโดยแบบจำลองนี้ เมื่ออะซิเตตเพิ่มขึ้น 6 โมเลกุล จะสูญเสียกลัยโคเจนไป 1 โมเลกุล และเมื่อ 4 โมเลกุลของ 3HB ถูกผลิตขึ้นแล้วฟอสเฟต 3 – 4 โมเลกุลจะถูกปล่อยออกมา ปฏิกริยาทั้งหมดแสดงดังสมการที่ 1 (Mino et al., 1987; Arun et al., 1988; Wentzel et al., 1999) การสร้างและการปล่อยของ ATP แสดงตามสมการที่ 1 และ 2



เป็นพลังงานที่ต้องการเพื่อเปลี่ยนอะซิเตตให้เป็น Acetyl-CoA จากกระบวนการกลัยโคไลซิสกับพลังงานที่เหลือจากกระบวนการไฮโดรไลซิสเพื่อย่อยสลายโพลีฟอสเฟตแบบจำลอง Mino เป็นที่ยอมรับโดยทั่วไปว่าเป็นกลไกหลักของการเพิ่มอะซิเตตในระบบแอนแอโรบิกจาก PAOs



ภาพที่ 11 เมทาบอลิซึมของ PHA ในระบบ EBPR (แบบจำลองของ Mino)

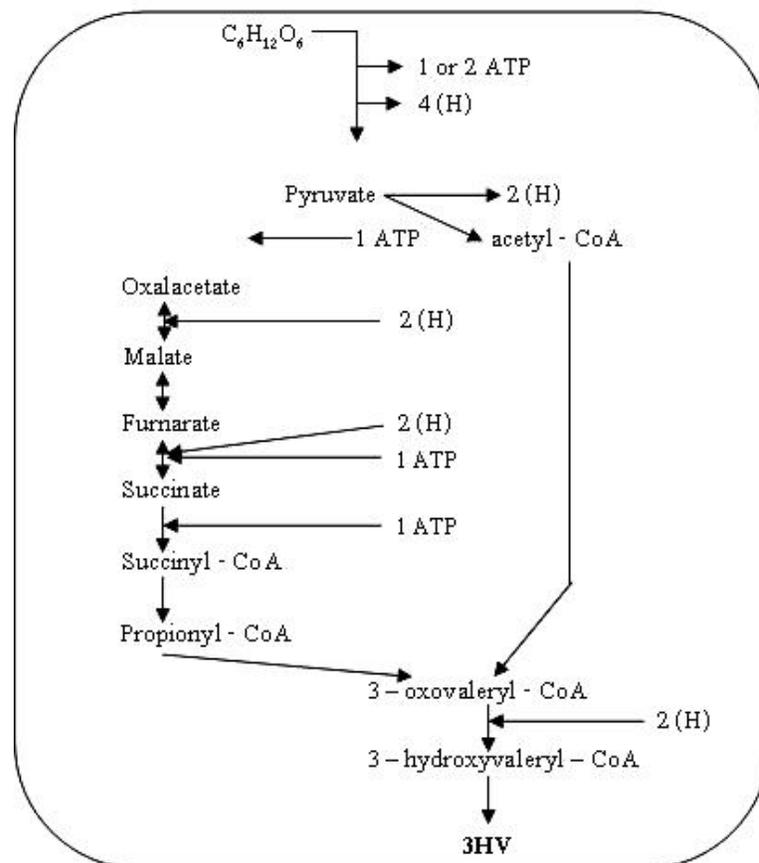
ข. เมทาบอลิซึมของ GAOs

ระบบแอนแอโรบิก – แอโรบิกแอกทีเวเต็ดสลัดจ์ไม่สามารถกระตุ้นการเพิ่ม PAOs ได้เสมอไป มีการศึกษาสารอาหารที่เพิ่มขึ้นโดยไม่มีการปลดปล่อยฟอสเฟตหรือใช้โพลีฟอสเฟตในแอนแอโรบิก การหมักของ 3HV ได้อธิบายว่าสารอาหารแอนแอโรบิกที่เพิ่มขึ้นอยู่กับโพลีฟอสเฟต

3HV เป็นการหมักจากกระบวนการไกลโคไลซิส การหมัก propionate และการผลิต PHA ถ้ากลัยโคเจนเปลี่ยนไปเป็น PHA และ Acetyl-CoA ปฏิกิริยาจะหยุดเนื่องจากปฏิกิริยา

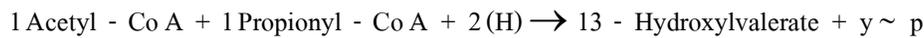
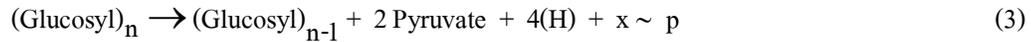
สมมูลรีดอกซ์ไม่คงที่ แต่ถ้าบางส่วนเปลี่ยนแปลงไปเป็น PHA ร่วมกับ propionyl-CoA อย่างรวดเร็วแล้วสมมูลรีดอกซ์จะคงที่ ในปฏิกิริยานี้พลังงานส่วนเกินจะถูกผลิตขึ้นเมื่อพลังงานที่ผลิตในเมทาบอลิซึมภายใต้สภาวะแอนแอโรบิกที่ 3HV เพิ่มเป็น PHA เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย อาจเรียกเมทาบอลิซึมนี้ว่า “3HV fermentation” การหมัก 3HV จะช่วยสะสมกลัยโคเจนมากกว่า PAOs ดังนั้นจึงเรียกว่าการสะสมนี้ว่า Glycogen – Accumulating Organisms (GAOs)

ตั้งแต่นั้นมา เมทาบอลิซึมของ G แบคทีเรียสามารถอธิบายการหมัก 3HV จากกลูโคสและเมทาบอลิซึมของ GAOs จะเหมือนการหมัก 3HV แต่มีความแตกต่างของสารตั้งต้นในกระบวนการ โดยใช้กลัยโคเจนแทนกลูโคส แสดงดังภาพที่ 12

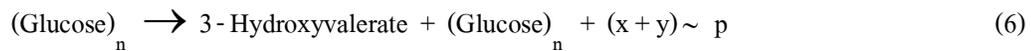


ภาพที่ 12 เมทาบอลิซึมของ PHA ในกระบวนการ EBPR

Satoh *et al.*, (1992) พบกลไกของพลังงานที่ได้รับจาก GAOs ในสภาวะแอนแอโรบิก และ Liu *et al.*, (1994) และ Satoh *et al.*, (1994) มีการทดลองทางสโตยเคมีโอเมตริก โดยแบบจำลองมีการรวมกระบวนการไกลโคไลซิส วิธีการหมัก succinate propionate และวิธีการสังเคราะห์ PHA ตามแบบจำลองด้านล่าง



รวมสมการทั้งหมดได้สมการดังต่อไปนี้



การเปลี่ยนกลูโคสไปเป็น 3HV จากการหมัก 3HV ไม่ต้องการพลังงานเพิ่มเติม อัตราการผลิต PHA จากแหล่งคาร์บอนจะสูงขึ้นและจะลดการเติมสารอาหารลง ถ้าการหมัก 3HV สามารถใช้ในการผลิต PHA

ก. การเปรียบเทียบเมแทบอลิซึมของ PAOs และ GAOs

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบเมแทบอลิซึมระหว่าง PAOs และ GAOs เห็นได้ชัดว่าเมแทบอลิซึมของ GAOs มีความคล้ายคลึงกับ PAOs ยกเว้นการนำโพลีฟอสเฟตไปเป็นแหล่งพลังงานภายใต้สภาวะแอนแอโรบิก ทั้งสองชนิดจะสะสม PHA ในสภาวะแอนแอโรบิกแต่ที่แตกต่างกันคือ ในกรณีของ GAOs จะมีการสะสมกลัยโคเจนไว้ภายในเซลล์เพื่อให้พลังงานเช่นเดียวกับการนำพลังงานไปใช้เมื่อจำเป็นสำหรับการเพิ่มสารอาหารในสภาวะแอนแอโรบิก (Mino *et al.*, 1994)

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบเมแทบอลิซึมระหว่าง PAOs และ GAOs

เมแทบอลิซึม	PAOs	GAOs
<i>ในสภาวะแอนแอโรบิก</i>		
การนำอินทรีย์สารจากภายนอกมาใช้	+	+
การใช้กลัยโคเจนภายในเซลล์	+	+
การสะสม PHA ภายในเซลล์	+	+
การใช้โพลีฟอสเฟตภายในเซลล์และการปล่อยออร์โธฟอสเฟต	+	
<i>ในสภาวะแอโรบิก</i>		
การนำกลัยโคเจนภายในเซลล์กลับมาใช้	+	+
การใช้ PHA ที่เก็บไว้	+	+
การเจริญเติบโต	+	+
การนำโพลีฟอสเฟตภายในเซลล์กลับมาใช้	+	

3.3.6 ความเป็นไปได้ในกลไกที่มีการแข่งขันระหว่าง PAOs และ GAOs

PAOs และ GAOs จะมีการแข่งขันซึ่งกันและกันเพื่อแย่งอินทรีย์สารในช่วงแอนแอโรบิกในระบบ EBPR ซึ่งกลไกการแข่งขันยังคงมีให้เห็นอย่างชัดเจน

สิ่งที่เกิดขึ้นระหว่าง PAOs และ GAOs มีวิถีเมแทบอลิซึมเหมือนกันแต่มีกลไกที่ควบคุมแตกต่างกัน สิ่งที่แตกต่างหลัก ๆ คือแหล่งของพลังงาน โดย PAOs ให้พลังงานที่มีประสิทธิภาพสูงจากการย่อยสลายโพลีฟอสเฟต ในทางตรงกันข้าม GAOs จะหมักกลัยโคเจนให้เป็น PHA และคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อเป็นแหล่งกำเนิดพลังงาน เมแทบอลิซึมของ GAOs เปลี่ยนจากกลัยโคเจน ให้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนอย่างมากมาย แต่ให้ประสิทธิภาพน้อยกว่าการผลิตพลังงานเมแทบอลิซึมโพลีฟอสเฟตของ PAOs Liu *et al.*, (1996a) รายงานว่าการเพิ่มกลูโคสให้มี GAOs มากขึ้น โดยลดอะซิเตดที่ใช้เป็นแหล่งสะสมกลัยโคเจนภายในสำหรับใช้อะซิเตดในสภาวะแอนแอโรบิก ผลที่ได้แสดงว่ากลูโคสจากภายนอกสามารถแทนที่กลัยโคเจนภายในใช้เป็นแหล่ง reducing power และเป็นแหล่งพลังงาน ในการผลิต PHA ภายใต้สภาวะแอนแอโรบิก ซึ่งโพลีฟอสเฟตจะถูกใช้ไปในกระบวนการนี้

4. การพัฒนางานวิจัยการผลิต PHA ในตะกอนจุลินทรีย์

เป็นที่ทราบกันดีว่าหลาย ๆ งานวิจัยได้ศึกษาวิธีการลดค่าใช้จ่ายในการผลิต PHA และศึกษาวิธีการเพิ่มปริมาณ PHA ในตะกอนจุลินทรีย์ โดยประยุกต์ทฤษฎีต่าง ๆ หลายทฤษฎีรวมกัน และในสถานะที่แตกต่างกันเพื่อผลิต PHA ผลที่ได้หลังจากการศึกษาในการผลิต PHA โดยระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์และที่ผ่านมารวบรวมได้ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 การผลิต PHA จากตะกอนจุลินทรีย์

รูปแบบระบบ แอกทิเวเต็ดสลัดจ์	แหล่งคาร์บอนที่ใช้ ผลิตสาร PHA	ปริมาณ PHA ที่ผลิตได้ (% น้ำหนักแห้งของเซลล์)	แหล่งอ้างอิง
Laboratory-acclimatized anaerobic-aerobic AS	Acetate	30	Ueno <i>et al.</i> , 1993
Laboratory-acclimatized anaerobic-aerobic AS	Acetate	40	Saito <i>et al.</i> , 1995
Laboratory-acclimatized anaerobic-aerobic AS	Acetate	57	Takabatake, 1997
Laboratory-acclimatized microaerophilic-aerobic AS	Acetate	62	Satoh <i>et al.</i> , 1998
Conventional AS treating real wastewater	Acetate	30	Takabatake <i>et al.</i> , 1999b
Laboratory-acclimatized anaerobic-aerobic AS	Acetate	50	Takabatake <i>et al.</i> , 2000

จากผลที่ได้แสดงดังตารางที่ 5 ระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์ถือเป็นระบบที่มีความสำคัญที่บอกให้ทราบถึงเมทาบอลิซึมของจุลินทรีย์ในการสังเคราะห์ PHA ในสถานะที่ตะกอนมีการสะสมอย่างสมบูรณ์และมีการผลิต PHA เชื่อว่าความสามารถของตะกอนจุลินทรีย์ในการผลิต PHA จะพัฒนาเพิ่มขึ้นต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

เครื่องมือและอุปกรณ์

อุปกรณ์ในการทดลองแบบที่ละเท

การทดลองภายใต้สภาวะไร้อากาศ ถึงปฏิกิริยาที่ใช้ในการทดลองประกอบด้วยขวดทดลอง(flask) ขนาด 1 ลิตร มีจุกยางปิดต่อด้วยแท่งแก้วกลวง 2 แท่ง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 มิลลิเมตร ยาว 25 เซนติเมตร ใช้สายยางต่อกับด้านปลายแท่งแก้วกลวง 2 แท่ง ด้านหนึ่งสำหรับต่อกับก๊าซไนโตรเจนเพื่อใช้ไล่อากาศ และอีกด้านเพื่อใช้เก็บตัวอย่าง รายละเอียดแสดงดังภาพที่ 13 โดยหลักการทำงานในสภาวะไร้อากาศจะนำถึงปฏิกิริยาใส่แท่งแม่เหล็กกวนวางบนเครื่องกวนแบบมีแม่เหล็ก (magnetic stirrer) ให้น้ำเสียและตะกอนผสมกันตลอดเวลา

การทดลองภายใต้สภาวะเดิมอากาศ ถึงปฏิกิริยาที่ใช้ในการทดลองประกอบด้วยบีกเกอร์หรือถังพลาสติกขนาด 1 ลิตร โดยมีหัวฟุ้งเดิมอากาศต่อกับปั๊มลมสำหรับเดิมอากาศให้กับตะกอนจุลินทรีย์มีอัตราการเป่าอากาศที่ 10 มิลลิลิตรต่อนาทีเพื่อให้ตะกอนจุลินทรีย์มีการกวนสมบูรณ์ในถึงปฏิกิริยา รายละเอียดแสดงดังภาพที่ 13

เครื่องมือวิเคราะห์

เครื่องวิเคราะห์สารอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมดของ SHIMADZU รุ่น TOC – 5000

เครื่อง Gas Chromatograph (GC) ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น GC-14B ที่ใช้ Flame Ionization Detector (FID) ติดตั้งคอลัมน์แก้ว , O.D. 3 มม. x 3 ม. ภายในบรรจุด้วย Carboxen 101/PEG20M 5% Uniport HP Mesh 60/80 โดยตั้งอุณหภูมิ Injector, Detector และ Column เท่ากับ 170, 180 และ 150 °C ตามลำดับและตั้งอัตราการไหลของก๊าซ N₂ 50 มิลลิลิตรต่อนาที



ภาพที่ 13 ถังปฏิกรณ์ที่ใช้ในการทดลองในสภาวะไร้อากาศและเติมอากาศ

วิธีการ

1. ศึกษาลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของน้ำเสียและตะกอนจุลินทรีย์จากโรงงานอุตสาหกรรม

เก็บตัวอย่างน้ำเสียและตะกอนจุลินทรีย์จากโรงงานประเภทแป้ง น้ำตาล และแอลกอฮอล์ ทั้งหมด 5 โรงงาน ได้แก่ โรงเส้นหมี่ชอง จำกัด (โรงงานประเภทแป้ง) ซึ่งมีระบบบำบัดยูเอเอสบีและระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์, บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน) (โรงงานประเภทน้ำตาล) มีระบบบำบัดแบบยูเอเอสบีและระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์, บริษัท กรีนสปอต จำกัด (โรงงานประเภทน้ำตาล) มีระบบบำบัดแบบเอสบีอาร์, บริษัท สามเสนบริวเวอรี่ จำกัด (โรงงานประเภทน้ำหวาน) มีระบบบำบัดแบบยูเอเอสบีและระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์ และบริษัท ปทุมธานีบริวเวอรี่ จำกัด (โรงงานประเภทแอลกอฮอล์) มีระบบบำบัดแบบยูเอเอสบีและระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์ โดยเก็บตัวอย่างน้ำเสียบริเวณบ่อกักน้ำเสียก่อนเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสียแล้วเก็บตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์จากถังเติมอากาศ (Aeration tank) ในระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์ ทั้งหมด 2 จุด จากนั้นนำมาวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำเสียและตะกอนดังตารางที่ 3 เพื่อจำแนกโรงงานที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงและโรงงานที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตต่ำเป็นดัชนีที่ใช้เปรียบเทียบปริมาณของคาร์โบไฮเดรตในน้ำเสียต่อการผลิตสาร PHA จากตะกอนจุลินทรีย์ในงานวิจัยครั้งนี้ด้วย

ตารางที่ 6 พารามิเตอร์และวิธีการวิเคราะห์

ตัวอย่าง	พารามิเตอร์	วิธีวิเคราะห์
น้ำเสีย	ค่าความเป็นกรดด่าง	pH meter
	COD	Dicromate close reflux
	TOC	Combustion Infrared or Oxidation Method
	TKN	Kjeldahl Method
	TP	Acid digestion – Ascorbic acid
	Carbohydrate	Phenol – sulfuric acid reduction ¹
	Suspended solids	Dried at 103 – 105 °C
ตะกอน	MLSS	Dried at 103 – 105 °C
	TKN	Kjeldahl Method

ที่มา: APHA (1998), Dubois *et al.* (1956)

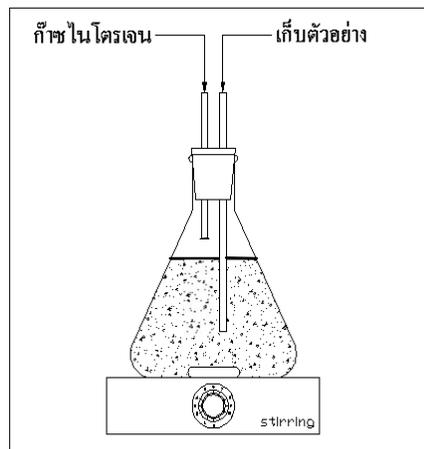
2. การศึกษาศักยภาพในการผลิตสาร PHA ของตะกอนจุลินทรีย์จากโรงงานอุตสาหกรรมที่ไม่มี การปรับสภาพ

ขั้นตอนนี้ทำการทดลองเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสาร PHA ของจุลินทรีย์แต่ละโรงงาน โดยแบ่งการทดลองเป็น 2 สภาวะได้แก่สภาวะไร้อากาศและสภาวะเดิมอากาศ มีปัจจัยที่ควบคุมอยู่ 2 ชนิดคือชนิดสารอาหารและความเข้มข้นของสารอาหาร โดยในแต่ละโรงงานจะใช้ชนิดสารอาหารในการทดลองทั้งหมด 3 ชนิดได้แก่ อะซิเตด กลูโคส และบิวทิเรต ซึ่งในแต่ละชนิดของสารอาหารจะทดลองที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กันคือ 400, 800 และ 1,200 mgC/l ตามลำดับ ทำการเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสาร PHA ตามสภาวะการทดลองดังนี้

2.1 ศึกษาความสามารถในการผลิตสาร PHA ของจุลินทรีย์ภายใต้สภาวะไร้อากาศ

นำตะกอนจุลินทรีย์จากโรงงานอุตสาหกรรม 5 แห่ง ได้แก่ โรงเส้นหมี่ชองเฮง จำกัด บริษัท เสริมสุข จำกัด(มหาชน) บริษัท กรีนสปอต จำกัด บริษัท ปทุมธานีบิวเวอรี จำกัด และ บริษัท สามเสนบิวเวอรี จำกัด มาทำการทดลองในห้องปฏิบัติการแบบทีละเท (Batch) โดยป้อน

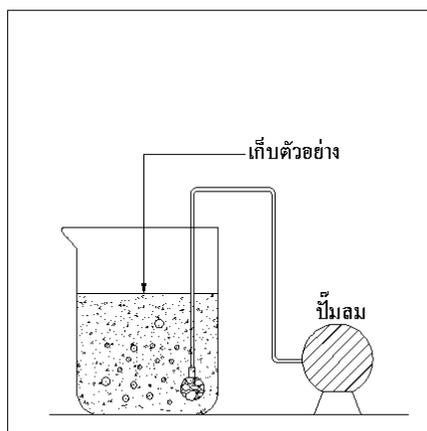
สารอาหารแต่ละชนิดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ควบคุมความเข้มข้นของตะกอนเริ่มต้นประมาณ 2,000 mg/l ในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 1 ลิตร ควบคุมให้อยู่ในสภาวะไร้อากาศโดยการพ่นก๊าซไนโตรเจนที่ผิวหน้าเพื่อป้องกันออกซิเจนที่สามารถละลายน้ำได้ ปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 7–8 ทำการทดลองแบบทีละเท (Batch) ระยะเวลาที่ใช้ในการทดลองทั้งหมด 12 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างตามช่วงเวลา 0, 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 ชั่วโมง และทำการวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่าง ๆ ได้แก่ PHA, TOC และคาร์โบไฮเดรต ตามช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่าง โดย TOC วิเคราะห์ตามวิธีของ APHA *et al.*, 1998 คาร์โบไฮเดรตวิเคราะห์ตามวิธีของ Dubois *et al.*, 1956 และ PHA ใช้วิธีวิเคราะห์ของ Satoh *et al.*, 1996



ภาพที่ 14 การทดลองแบบทีละเทในสภาวะไร้อากาศ

2.2 ศึกษาความสามารถในการผลิตสาร PHA ของจุลินทรีย์ภายใต้สภาวะเดิมอากาศ

นำตะกอนจุลินทรีย์จากโรงงานอุตสาหกรรม 5 แห่ง มาทำการทดลองในห้องปฏิบัติการแบบทีละเท (Batch) โดยป้อนสารอาหารแต่ละชนิดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ควบคุมความเข้มข้นของตะกอนเริ่มต้นประมาณ 2,000 mg/l ในบีกเกอร์ปริมาตร 1 ลิตร เดิมอากาศให้กับระบบ ทำการทดลองแบบทีละเท (Batch) ปรับ pH ให้มีค่าสูงกว่า 8 เล็กน้อย ระยะเวลาที่ใช้ในการทดลองทั้งหมด 12 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างตามช่วงเวลา 0, 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 ชั่วโมง และทำการวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่าง ๆ ได้แก่ PHA, TOC และคาร์โบไฮเดรต ตามช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่าง



ภาพที่ 15 การทดลองแบบที่ละเทินในสภาวะเดิมอากาศ

2.3 ศึกษาผลของชนิดสารอาหารแต่ละชนิดและความเข้มข้นของสารอาหารในการผลิตสาร PHA

เพื่อเปรียบเทียบชนิดของสารอาหารที่มีผลต่อความสามารถในการผลิตสาร PHA ของตะกอนจุลินทรีย์โรงงานอุตสาหกรรมแต่ละประเภทและเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสาร PHA เมื่อใช้ความเข้มข้นของสารอาหารต่างกัน

2.4 ศึกษาผลของปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเสียต่อความสามารถในการผลิตสาร PHA ของจุลินทรีย์

ในส่วนนี้จะศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่มีอยู่ในน้ำเสียของโรงงาน ต่อความสามารถในการผลิตสาร PHA โดยวิเคราะห์ความสามารถในการสะสมสาร PHA จากสารอาหาร ชนิดความเข้มข้น และชนิดของน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม

3. การศึกษาศักยภาพในการผลิตสาร PHA ของตะกอนจุลินทรีย์จากโรงงานอุตสาหกรรมที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว

หลังจากทดลองในห้องปฏิบัติการแบบที่ละเทกกับตะกอนจุลินทรีย์ที่ไม่มีการปรับสภาพแล้ว นำตะกอนจุลินทรีย์มาปรับสภาพด้วยน้ำเสียสังเคราะห์เพื่อให้จุลินทรีย์คุ้นเคยกับสารอาหารด้วยน้ำเสียสังเคราะห์ ระยะเวลาที่ใช้ในการปรับสภาพตะกอนจุลินทรีย์ 1 เดือน โดยดำเนินการทดลองด้วยระบบเอสบีอาร์ เติมน้ำเสียสังเคราะห์วันละ 1 ครั้ง ซึ่งส่วนประกอบของน้ำเสียสังเคราะห์แสดงดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ส่วนประกอบของน้ำเสียสังเคราะห์ที่ใช้ในการปรับสภาพตะกอนจุลินทรีย์

ส่วนประกอบของสารอาหาร	ความเข้มข้นของสารอาหาร (mg/l)
Glucose	8,000 ⁽¹⁾
NH ₄ Cl	1,530 ⁽²⁾
K ₂ HPO ₄	450 ⁽³⁾
CaCl ₂	188
Mg ₂ .6H ₂ O	900
FeCl ₃	75
MnCl ₂ .4H ₂ O	16
ZnCl ₂	12
CuCl ₂ .6H ₂ O	12
Na ₃ Citrate	112
Na ₂ B ₄ O ₇ .10H ₂ O	8

(1) เป็นความเข้มข้นของกลูโคสเพื่อให้ได้ความเข้มข้น MLSS 4,000 mg/l

(2) แหล่งของ NH₄⁺ - N เพื่อให้อัตราส่วน BOD:N:P = 100:5:1

(3) แหล่งของ PO₄³⁻ - P เพื่อให้อัตราส่วน BOD:N:P = 100:5:1

ที่มา: ปรับปรุงจาก Chao and Kienanth (1979)

ควบคุมความเข้มข้นของตะกอนจุลินทรีย์ให้มีความเข้มข้นประมาณ 4,000 mg/l เมื่อตะกอนจุลินทรีย์มีความคุ้นเคยกับน้ำเสียแล้วทำการทดลองแบบทีละเทเพื่อศึกษาความสามารถในการผลิตสาร PHA โดยป้อนสารอาหารและความเข้มข้นของสารอาหารเช่นเดียวกับตะกอนจุลินทรีย์ที่ไม่มีการปรับสภาพ

วิธีวิเคราะห์สาร PHA

PHA วิเคราะห์โดยใช้กระบวนการ Gas Chromatography (Sato *et al.*, 1996) ในวิธีการวิเคราะห์นี้ ส่วนประกอบของ PHA ในตัวอย่างจะถูกเปลี่ยนเป็นเมทิลเอสเทอร์ระหว่างการให้ความร้อนด้วยกรดเมทานอล จากนั้นส่วนประกอบและความเข้มข้นของเมทิลเอสเทอร์จะถูกตรวจพบด้วย Gas chromatography (GC)

สารเคมี

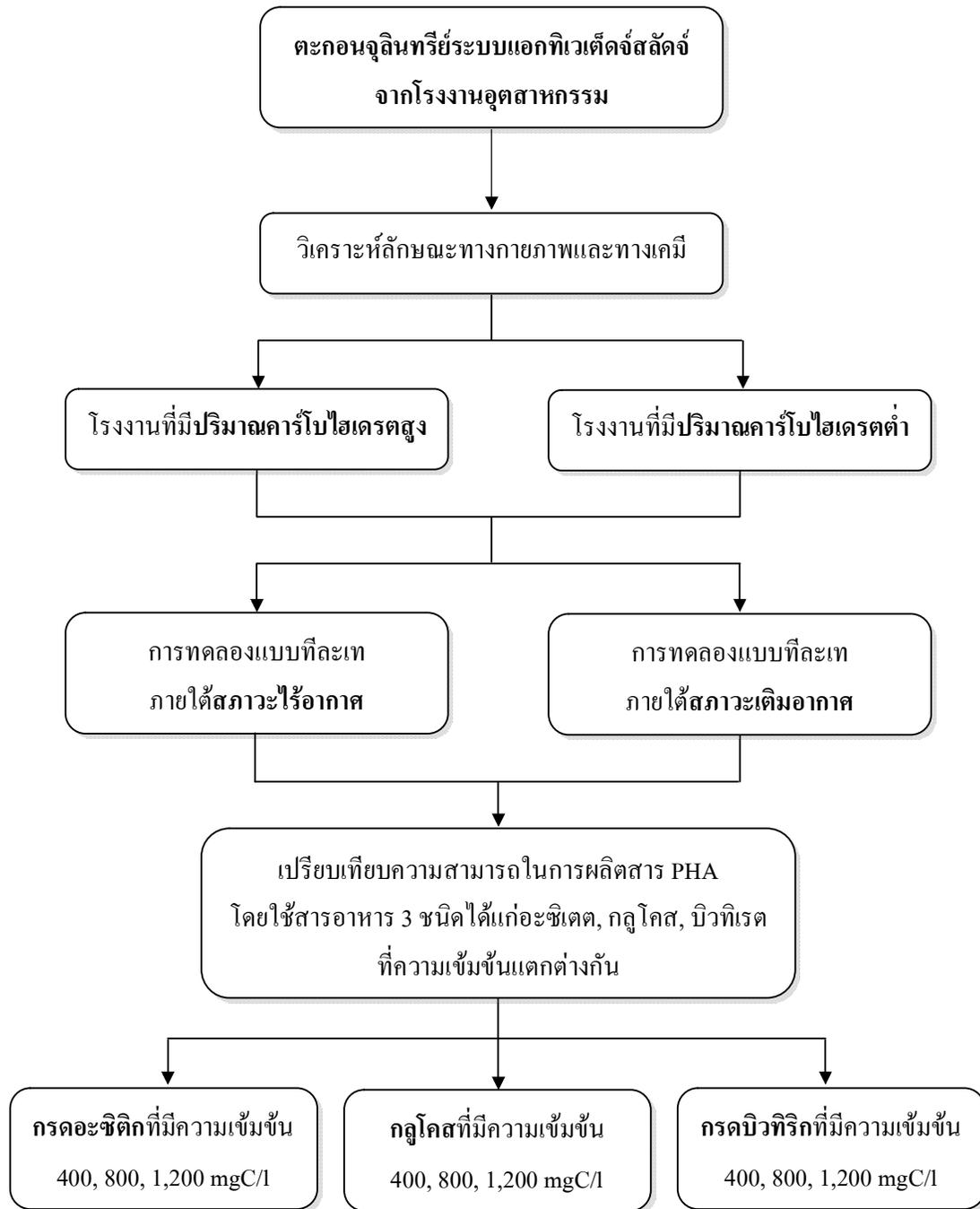
1. คลอโรฟอร์ม
2. กรดเมทานอล (10 v/v % H_2SO_4)

เนื่องจากเกิดปฏิกิริยารุนแรงและมีความร้อนสูงควรใช้ความระมัดระวังเป็นพิเศษ และควรเตรียมในตู้ดูดควัน โดยชั่ง benzoic acid 50 มิลลิกรัม (ใช้เป็น internal standard) เกล็ดเมทานอล 150 มิลลิลิตร (ควรใช้บีกเกอร์ขนาดใหญ่ประมาณ 2 ลิตรขึ้นไป) จากนั้นค่อย ๆ เท sulfuric acid 25 มิลลิลิตร ลงไปอย่างช้า ๆ เมื่อทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องจึงค่อยปรับปริมาตรด้วย volumetric flask ให้ได้ 250 มิลลิลิตร

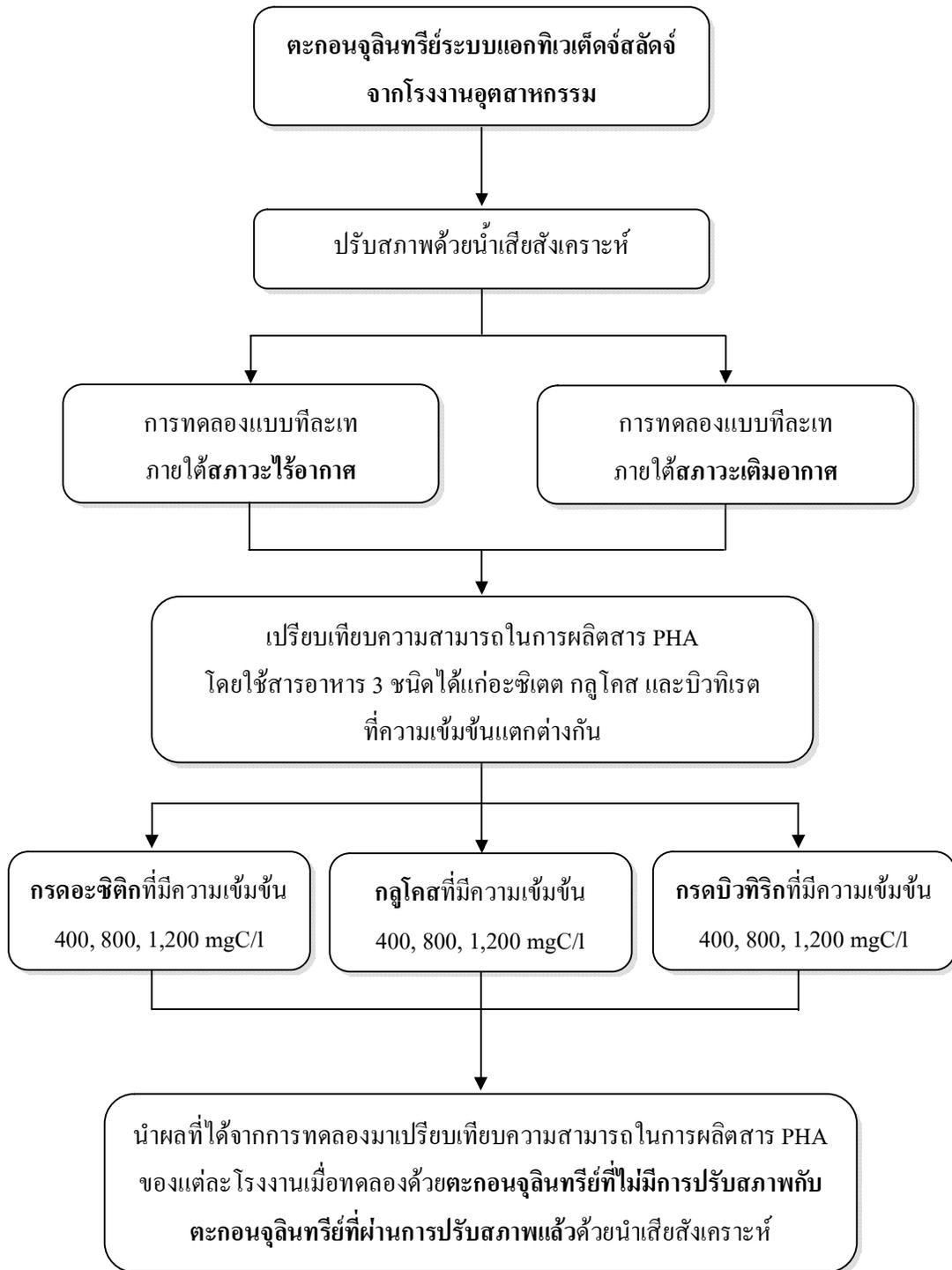
3. สารละลายแอมโมเนีย 14%

วิธีการ

1. สำหรับการเตรียมตัวอย่าง นำตะกอนจุลินทรีย์ 10 มิลลิลิตร เติลงในหลอด centrifuge นำไป centrifuge เพื่อแยกชั้นตะกอนและน้ำออกจากกัน จากนั้นรินส่วนที่เป็นน้ำใสออก
2. เติมเมทานอลปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไป centrifuge ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 6000 รอบต่อนาที ประมาณ 10 นาที ให้แยกชั้นส่วนตะกอนและเมทานอล แล้วรินส่วนที่เป็นเมทานอลออก
3. เติมคลอโรฟอร์มและกรดเมทานอล (10 v/v % H₂SO₄) อย่างละ 2 มิลลิลิตร แล้วปิดฝาให้แน่นและ mixed กันอย่างรวดเร็วด้วย vortex เพื่อให้คลอโรฟอร์มและกรดเมทานอลผสมเป็นเนื้อเดียวกัน
4. นำตัวอย่างไปอบที่ 100 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง หลังจากให้ความร้อนแล้วทิ้งให้เย็นในอุณหภูมิห้อง
5. เมื่อสารเย็นในอุณหภูมิห้อง เติมสารละลายแอมโมเนีย (14%) 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดแล้วนำไป mixed ให้เข้ากันประมาณ 1 นาที จากนั้นนำไป centrifuge อีกครั้ง
6. นำส่วนคลอโรฟอร์มที่ถูกแยกชั้นกันซึ่งอยู่ส่วนล่างสุดของหลอด centrifuge ออกมาประมาณ 1.5 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตร นำไป mixed และ centrifuge อีกครั้ง เพื่อแยกชั้นส่วนน้ำและคลอโรฟอร์ม จากนั้นนำส่วนที่เป็นคลอโรฟอร์มไปทำการวิเคราะห์ด้วย Gas chromatography (GC) ต่อไป



ภาพที่ 16 ขั้นตอนการทดลองเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสาร PHA ภายใต้สภาวะไร้
อากาศและเดิมอากาศที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน โดยใช้ตะกอนที่ไม่มีการปรับสภาพ



ภาพที่ 17 ขั้นตอนการทดลองเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสาร PHA ภายใต้สภาวะไร้อากาศและเติมอากาศที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน ระหว่างตะกอนจุลินทรีย์ที่ไม่มีการปรับสภาพและตะกอนจุลินทรีย์ที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว

ผลและวิจารณ์

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาความสามารถของตะกอนจุลินทรีย์จากระบบบำบัดน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรมประเภทแป้ง น้ำตาล และแอลกอฮอล์ ในการผลิตสาร PHA โดยนำตะกอนจุลินทรีย์ที่ไม่มีการปรับสภาพและตะกอนจุลินทรีย์ที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว มาทดลองในห้องปฏิบัติการแบบทีละเทและทดลองป้อนสารอาหาร 3 ชนิด ได้แก่ อะซิเตต กลูโคส และบิวทิเรต ซึ่งในแต่ละชนิดสารอาหารนั้นจะทดลองที่ความเข้มข้น 400, 800, 1,200 mgC/l ทุกความเข้มข้นตามลำดับ เพื่อเปรียบเทียบความสามารถของตะกอนจุลินทรีย์ในการผลิตสาร PHA โดยมีผลการศึกษาดังนี้

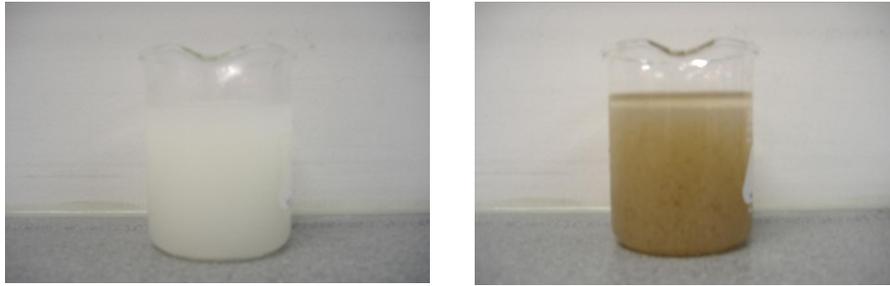
1. ศึกษาลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของน้ำเสียและตะกอนจุลินทรีย์จากโรงงานอุตสาหกรรม

ในการทดลองส่วนนี้ทำการศึกษาลักษณะทางกายภาพและทางเคมีเบื้องต้นของน้ำเสียและตะกอนจุลินทรีย์จากระบบบำบัดน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรมทั้งหมด 5 แห่ง เพื่อใช้ในการประเมินความสามารถในการผลิตสาร PHA เบื้องต้น โดยมีสมมุติฐานในงานวิจัยเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเสียมีผลต่ออัตราการผลิตสาร PHA ซึ่งผลจากการวิเคราะห์พารามิเตอร์เบื้องต้นของแต่ละโรงงานแสดงดังตารางที่ 8 โดยลักษณะทางกายภาพของน้ำเสียและตะกอนของแต่ละโรงงานเป็นดังนี้

ลักษณะน้ำเสียของโรงเส้นหมี่ช่อเฮง จำกัด เป็นน้ำเสียประเภทแป้ง น้ำเสียมีลักษณะเป็นสีขาวขุ่น ซึ่งมาจากกระบวนการผลิตเส้นก๋วยเตี๋ยว สำหรับน้ำเสียก่อนเข้าระบบบำบัดมีค่า COD ค่อนข้างสูงอยู่ในช่วง 3,500 – 4,000 mg/l และมีปริมาณของแข็งแขวนลอยประมาณ 2,000 – 2,100 mg/l มี pH อยู่ในช่วงเป็นกรด 5.0 - 6.5 อีกทั้งน้ำเสียประเภทแป้งส่งผลให้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตค่อนข้างสูงโดยอยู่ในช่วง 2,500 – 3,500 mg/l ส่วนปริมาณTKN และ TP ไม่สูงนักอยู่ระหว่าง 50.0 – 60.0 mg/l และ 8.0 -14.0 mg/l ตามลำดับ ตะกอนจุลินทรีย์ในถังเติมอากาศมีปริมาณ MLSS ประมาณ 3,000 - 3,500 mg/l ลักษณะของตะกอนมีสีน้ำตาลอ่อนและมีปริมาณ TKN ของตะกอนจุลินทรีย์ในถังเติมอากาศประมาณ 35 – 50 mg/kg ดังแสดงในภาพที่ 18

ตารางที่ 8 ลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของน้ำเสียและตะกอน

พารามิเตอร์		โรงงานอุตสาหกรรม				
		โรงเส้นไหมขอสง จำกัด	บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน)	บริษัท กรีนสปอต จำกัด	บริษัท ปทุมธานี บริวเวอรี่ จำกัด	บริษัท สามเสน บริวเวอรี่ จำกัด
น้ำเสีย	ชนิดของน้ำเสีย	น้ำเสียประเภทแป้ง	น้ำเสียประเภทน้ำตาล	น้ำเสียประเภทน้ำตาล	น้ำเสียประเภทแอลกอฮอล์	น้ำเสียประเภทน้ำตาล
	pH	5.0 – 6.5	10.0 – 11.0	10.0 – 11.5	7.5 – 8.5	8.0 – 9.0
	COD (mg/l)	3,500 - 4,000	1,000 – 1,500	1,000 – 1,500	1,200 – 1,500	500 - 2,000
	SS (mg/l)	2,000 - 2,100	10 – 40	150 – 200	300 – 400	20.0 - 30.0
	TKN (mg/l)	50.0 - 60.0	2.0 – 5.0	20.0 – 40.0	20.0 – 30.0	10.0 - 20.0
	TP (mg/l)	8.0 - 14.0	7.0 – 10.0	25.0 – 30.0	20.0 – 30.0	4.0 - 10.0
	Carbohydrate (mg/l)	2,500 – 3,500	600 – 700	500 – 600	70.0 – 100	20.0 – 50.0
ตะกอน	MLSS (mg/l)	3,000 - 3,500	1,500 – 2,500	3,000 – 3,500	2,000 – 3,000	3,000 - 3,200
	TKN (mg/kg)	36,000 – 43,000	50,000 – 57,000	20,000 - 25,000	40,000 – 48,000	16,000 – 26,000



ภาพที่ 18 ลักษณะทางกายภาพน้ำเสียและตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย
โรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด

ลักษณะน้ำเสียของบริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน) เป็นน้ำเสียประเภทน้ำตาล ซึ่งมาจากกระบวนการผลิตน้ำอัดลมและมาจากกระบวนการผลิต ลักษณะน้ำเสียจะมีลักษณะใสและขึ้นอยู่กับกระบวนการผลิตในแต่ละวัน สำหรับน้ำเสียก่อนเข้าสู่ระบบบำบัดมีค่า COD อยู่ในช่วง 1,000 – 1,500 mg/l มีปริมาณของแข็งแขวนลอยค่อนข้างต่ำประมาณ 10 – 40 mg/l เนื่องจากกระบวนการผลิตส่วนใหญ่เป็นน้ำที่อยู่ในกระบวนการผลิตจึงมีของเสียหรือสารแขวนลอยไม่มากนัก เมื่อวัด pH มีค่าค่อนข้างสูงที่ 10.0 – 11.0 เนื่องจากมีการใช้โซดาไฟในกระบวนการผลิตด้วย ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่เกิดขึ้นอยู่ในช่วง 600 -700 mg/l เพราะน้ำเสียมาจากการผลิตน้ำอัดลมซึ่งมีปริมาณน้ำตาลเป็นส่วนประกอบ ส่วนปริมาณ TKN และ TP มีค่าน้อยซึ่งอยู่ในช่วง 2.0 – 5.0 mg/l และ 7.0 – 10.0 mg/l ตามลำดับ สำหรับตะกอนจุลินทรีย์ในถังเติมอากาศมีปริมาณ MLSS ประมาณ 1,500 – 2,500 mg/l ลักษณะของตะกอนเป็นสีน้ำตาลเข้มและมีปริมาณ TKN ของตะกอนจุลินทรีย์ในถังเติมอากาศประมาณ 50 – 60 mg/kg ดังแสดงในภาพที่ 19



ภาพที่ 19 ลักษณะทางกายภาพน้ำเสียและตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย
บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน)

ลักษณะน้ำเสียของบริษัท กรีนสปอต จำกัด เป็นน้ำเสียประเภทนมและน้ำตาล ซึ่งมาจากกระบวนการผลิตน้ำหวานและนมถั่วเหลือง ลักษณะน้ำเสียจะมีลักษณะสีขาวขุ่น สำหรับน้ำเสียก่อนเข้าสู่ระบบบำบัดมีค่า COD อยู่ในช่วง 1,000 – 1,500 mg/l มีปริมาณของแข็งแขวนลอยประมาณ 150 – 200 mg/l จากกระบวนการผลิตนมถั่วเหลืองและน้ำหวาน เมื่อวัดค่า pH มีค่าเป็นด่างประมาณ 10.0 – 11.5 และมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่เกิดขึ้นอยู่ในช่วง 500 -600 mg/l เพราะน้ำเสียมาจากการผลิตน้ำหวานและนมถั่วเหลืองเป็นส่วนใหญ่ ส่วนปริมาณ TKN และ TP มีค่าประมาณ 20.0 – 40.0 mg/l และ 25.0 – 30.0 mg/l ตามลำดับ สำหรับตะกอนจุลินทรีย์ในถังเติมอากาศมีปริมาณ MLSS ประมาณ 3,000 – 3,500 mg/l ลักษณะของตะกอนเป็นสีน้ำตาลอ่อนและมีปริมาณ TKN ของตะกอนจุลินทรีย์ในถังเติมอากาศประมาณ 20 – 25 mg/kg ดังแสดงในภาพที่ 20



ภาพที่ 20 ลักษณะทางกายภาพน้ำเสียและตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย
บริษัท กรีนสปอต จำกัด

ลักษณะน้ำเสียของบริษัท ปทุมธานีบริวเวอรี่ จำกัด เป็นน้ำเสียประเภทแอลกอฮอล์ซึ่งมาจากกระบวนการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ลักษณะของน้ำเสียจะมีสีน้ำตาล โดยมีค่า COD ของน้ำเสียก่อนเข้าสู่ระบบบำบัดประมาณ 1,200 – 1,500 mg/l มีค่าปริมาณของแข็งแขวนลอยระหว่าง 300 – 400 mg/l ซึ่งมีค่าค่อนข้างสูงเนื่องมาจากวัตถุดิบที่นำมาผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ และบางส่วนมาจากขั้นตอนการผลิต ค่า pH อยู่ระหว่าง 7.5 – 8.5 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเสียพบว่าไม่สูงนักซึ่งอยู่มีค่าประมาณ 70 – 100 mg/l ส่วนปริมาณ TKN และ TP ของน้ำเสียมีค่าระหว่าง 20 – 30 mg/l ทั้งสองพารามิเตอร์ สำหรับปริมาณ MLSS ในถังเติมอากาศของระบบบำบัดอยู่ในช่วง 2,000 – 3,000 mg/l โดยลักษณะของตะกอนมีสีน้ำตาลเข้ม มีค่า TKN ของตะกอนจุลินทรีย์ในถังเติมอากาศประมาณ 40 – 50 mg/kg ซึ่งลักษณะน้ำเสียและตะกอนแสดงดังภาพที่ 21



ภาพที่ 21 ลักษณะทางกายภาพน้ำเสียและตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย
บริษัท ปทุมธานีบริวเวอรี่ จำกัด

ลักษณะน้ำเสียของบริษัทสามเสนบริวเวอรี่ จำกัด เป็นน้ำเสียประเภทน้ำตาลซึ่งมาจากกระบวนการผลิตน้ำดื่มและน้ำหวานเป็นส่วนใหญ่ ลักษณะของน้ำเสียจะมีสีใส โดยมีค่า COD ของน้ำเสียก่อนเข้าสู่ระบบบำบัดประมาณ 500 – 2,000 mg/l ปริมาณของแข็งแขวนลอยค่อนข้างต่ำ มีค่าระหว่าง 20 – 30 mg/l ซึ่งมีค่าค่อนข้างต่ำซึ่งน้ำเสียส่วนใหญ่มาจากขั้นตอนการผลิตน้ำดื่ม น้ำหวานและกระบวนการผลิตทำให้ปริมาณของแข็งมีไม่มากนัก เมื่อวัดค่า pH ของน้ำเสียอยู่ระหว่าง 8.0 – 9.0 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเสียพบว่าไม่สูงนักซึ่งอยู่มีค่าประมาณ 20 – 50 mg/l ส่วนปริมาณ TKN และ TP ของน้ำเสียมีค่าระหว่าง 10 – 20 mg/l และ 4 -10 mg/l ตามลำดับ สำหรับปริมาณ MLSS ในถังเติมอากาศของระบบบำบัดอยู่ในช่วง 3,000 - 3,200 mg/l โดยลักษณะของตะกอนมีสีน้ำตาลเข้ม มีค่า TKN ของตะกอนจุลินทรีย์ในถังเติมอากาศประมาณ 15 – 30 mg/kg ซึ่งลักษณะน้ำเสียและตะกอนแสดงดังภาพที่ 22



ภาพที่ 22 ลักษณะทางกายภาพน้ำเสียและตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย
บริษัท สามเสนบริวเวอรี่ จำกัด

คุณสมบัติของน้ำเสียและตะกอนจุลินทรีย์แต่ละโรงงานมีค่าแตกต่างกันขึ้นอยู่กับปริมาณน้ำเสีย แหล่งกำเนิดน้ำเสีย และกระบวนการผลิต เป็นต้น โดยน้ำเสียและตะกอนจุลินทรีย์จาก โรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด มีปริมาณ COD สูงสุดในช่วง 3,000 – 4,500 mg/l รองลงมาเป็นบริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน) บริษัท กรีนสปอต จำกัด บริษัท ปทุมธานีบิวเวอรี จำกัด และบริษัท สามเสนบิวเวอรี จำกัด ที่มีปริมาณ COD อยู่ในช่วง 500 – 2,000 mg/l และปริมาณคาร์โบไฮเดรตของแต่ละโรงงานเรียงลำดับจากมากที่สุด ไปน้อยที่สุด ได้แก่ โรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด (2,500 – 3,500 mg/l), บริษัท เสริมสุข จำกัด(มหาชน) (600 -700 mg/l), บริษัท กรีนสปอต จำกัด (70 -100 mgC/l), บริษัท ปทุมธานีบิวเวอรี จำกัด (70 – 100 mg/l) และบริษัท สามเสนบิวเวอรี จำกัด (20 – 50 mg/l) ผลการวิเคราะห์น้ำเสียและตะกอนเบื้องต้นนี้จะนำไปใช้ประเมินศักยภาพในการผลิตสาร PHA ซึ่งมีสมมติฐานเกี่ยวกับปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเสียมีผลต่ออัตราการผลิตสาร PHA ของตะกอนจุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียด้วย

2. การศึกษาศักยภาพในการผลิตสาร PHA ของตะกอนจุลินทรีย์จากโรงงานอุตสาหกรรมที่ไม่มี การปรับสภาพ

2.1 โรงเส้นหมี่ขอเฮง

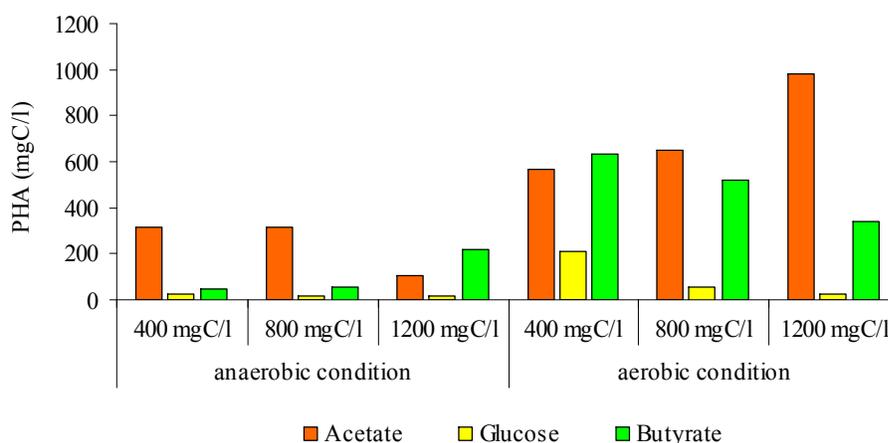
จากข้อมูลลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของน้ำเสียและตะกอนจุลินทรีย์ของ โรงงาน เมื่อนำมาทดลองในห้องปฏิบัติการ โดยการทดลองแบบที่ละเท้ายใต้สภาวะไร้อากาศและเติม อากาศแล้ว สามารถศึกษาความสามารถของตะกอนจุลินทรีย์ในการผลิตสาร PHA ได้ดังตารางที่ 9 เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสาร PHA กับชนิดของสารอาหารที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ผลการ ทดลองพบว่าที่ความเข้มข้นของสารอาหาร 400 mgC/l จุลินทรีย์สามารถนำอะซิเตตมาใช้เป็น สารอาหารในการผลิตสาร PHA ได้ดีที่สุดภายใต้สภาวะเติมอากาศ เท่ากับ 0.5698 g/l คิดเป็น 28.49% w/w และมีอัตราการผลิตสาร PHA เท่ากับ 0.2849 g/l/h รองลงมาเป็นบิวทีเรต มีการผลิต สาร PHA เท่ากับ 0.4239 g/l (0.0530 g/l/h) และกลูโคสมีการผลิตสารเท่ากับ 0.2074 g/l (0.0346 g/l/h) เมื่อเปลี่ยนความเข้มข้นของสารอาหารเป็น 800 mgC/l จุลินทรีย์สามารถผลิตสาร PHA ได้ดี ที่สุดเมื่อใช้อะซิเตตเป็นสารอาหาร ซึ่งสามารถผลิตสาร PHA ได้เท่ากับ 0.6485 g/l (32.42% w/w) และคิดเป็นอัตราการสะสม 0.1621 g/l/h ซึ่งบิวทีเรตและกลูโคสมีการสะสมเท่ากับ 0.5170 g/l (0.0431 g/l/h) และ 0.0543 g/l (0.0272 g/l/h) ตามลำดับ

ตารางที่ 9 เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสาร PHA กับชนิดของสารอาหารที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของโรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด

substance	concentration	anaerobic				aerobic			
		Time for max.PHA (h)	Max.PHA conc. (g/l)	Max. PHA content (%)	Productivity (g/l/h)	Time for max.PHA (h)	Max.PHA conc. (g/l)	Max. PHA content (%)	Productivity (g/l/h)
acetate	400 mgC/l	12	0.3177	15.88	0.0265	2	0.5698	28.49	0.2849
	800 mgC/l	6	0.3138	15.69	0.0523	4	0.6485	32.42	0.1621
	1200 mgC/l	2	0.1165	5.82	0.0582	4	0.9782	48.91	0.2445
glucose	400 mgC/l	8	0.0230	1.15	0.0029	6	0.2074	10.37	0.0346
	800 mgC/l	6	0.0164	0.82	0.0273	2	0.0543	2.71	0.0272
	1200 mgC/l	4	0.0178	0.89	0.0045	10	0.0229	1.14	0.0023
butyrate	400 mgC/l	10	0.0487	2.43	0.0049	8	0.4239	21.19	0.0530
	800 mgC/l	12	0.0588	2.94	0.0049	12	0.5170	25.85	0.0431
	1200 mgC/l	12	0.2160	10.80	0.0180	12	0.3410	17.05	0.0284

เมื่อเปลี่ยนความเข้มข้นของสารอาหารเป็น 1,200 mgC/l พบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิตสาร PHA ได้ดีเมื่อใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารเช่นกันโดยสามารถผลิตได้สูงสุดเท่ากับ 0.9782 g/l (48.91% w/w) คิดเป็นอัตราการผลิตสาร PHA เท่ากับ 0.2445 g/l/h ซึ่งบิวทีเรตและกลูโคสมีการผลิตสาร PHA เพียง 0.3410 g/l (0.0284 g/l/h) และ 0.0229 g/l (0.0023g/l/h) ตามลำดับ

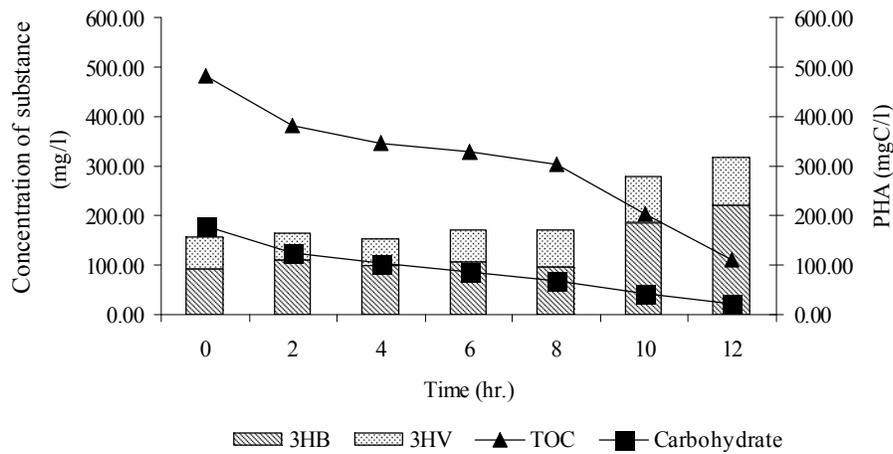
เมื่อเปรียบเทียบความสามารถของจุลินทรีย์ในการผลิตสาร PHA กับชนิดสารอาหารพบว่า ตะกอนจุลินทรีย์ของโรงเส้นหมี่ขอเฮงสามารถนำอะซิเตตมาใช้ในการผลิตสาร PHA ได้ดีที่สุดดังแสดงในภาพที่ 23 รองลงมาเป็นบิวทีเรตและกลูโคสตามลำดับ



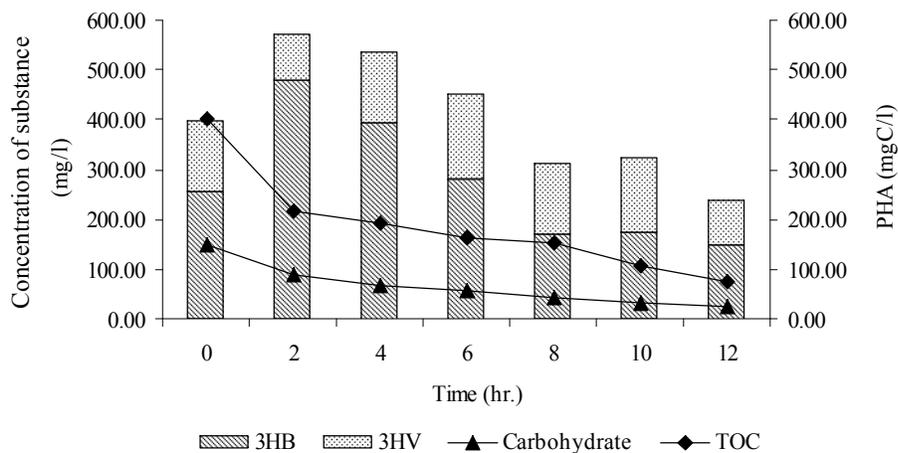
ภาพที่ 23 ปริมาณสาร PHA ที่ผลิตได้ในแต่ละสภาวะของโรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด

โดยพิจารณาจากอัตราการผลิตสาร PHA ซึ่งเปรียบเทียบกับระยะเวลาที่จุลินทรีย์ใช้สะสม นั้น จุลินทรีย์มีความสามารถในการนำอะซิเตตมาใช้ในการผลิตสาร PHA ได้ดีกว่าสารชนิดอื่น ทั้งนี้เนื่องจากอะซิเตตเป็นกรดไขมันโมเลกุลขนาดเล็ก ซึ่งสามารถนำมาใช้ได้ง่ายและรวดเร็ว (ปีวรา, 2546) และจุลินทรีย์สามารถสะสมสาร PHA ได้ดีในสภาวะเดิมอากาศ ทุกชนิดของสารอาหารและความเข้มข้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Satoh *et al.* (1998) ที่รายงานว่าตะกอนจุลินทรีย์สามารถผลิตสาร PHA ในสภาวะไร้อากาศได้ 22% และสามารถผลิตสาร PHA ในสภาวะเดิมอากาศได้ 30% เนื่องจากพลังงานส่วนใหญ่สามารถผลิตได้จากการย่อยสลายของสารอาหารภายใต้สภาวะเดิมอากาศ (Satoh *et al.*, 1999) อีกปัจจัยหนึ่งอาจมาจากการที่น้ำตะกอนมาทำการทดลองโดยไม่มีกรปรับสภาพ เพราะตะกอนจุลินทรีย์มีความคุ้นเคยกับสภาวะเดิมอากาศ จึงทำให้จุลินทรีย์สามารถผลิตสาร PHA ได้ดีในสภาวะเดิมอากาศมากกว่าสภาวะไร้อากาศ โดยการสะสม

สาร PHA ของจุลินทรีย์ที่ไม่มีการปรับสภาพพบว่าจุลินทรีย์สามารถสะสม PHA ได้ในช่วงแรก ๆ ดังภาพที่ 24 และ 25 ซึ่งอรรถกร (2541) อธิบายว่าเซลล์สามารถสร้าง PHA ได้ในช่วงการเจริญเติบโตแบบทวีคูณได้ปริมาณสูงสุด หลังจากนั้นความสามารถในการสังเคราะห์จะลดลงเมื่อเซลล์เข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตปกติ และจุลินทรีย์ไม่ได้นำสารอาหารไปใช้ในการสะสมสาร PHA ทั้งหมดแต่มีการนำสารอาหารบางส่วนไปใช้เป็นพลังงานในการดำรงชีพทำให้ปริมาณสาร PHA ที่ผลิตได้มีแนวโน้มลดลงในช่วงปลายการทดลอง



ภาพที่ 24 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการสะสมสาร PHA และปริมาณ TOC และคาร์โบไฮเดรต ภายใต้สภาวะไร้อากาศ



ภาพที่ 25 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการสะสมสาร PHA และปริมาณ TOC และคาร์โบไฮเดรต ภายใต้สภาวะเดิมอากาศ

นอกจากนี้ Ueno *et al.* (1993) และ Saito *et al.* (1995) ยังพบว่าเมื่อใช้อะซิเตดในการทดลองเลี้ยงตะกอนจุลินทรีย์ในระบบแอนแอโรบิก – แอโรบิก แอทิวเอตีดจ์สลิคจ์ ตะกอนสามารถสะสมสาร PHA ในสถานะเดิมอากาศได้มากกว่าสถานะไร้อากาศ เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสาร PHA ของสารอาหารทั้งหมดที่ใช้ในการทดลองกับตะกอนจุลินทรีย์ของโรงงาน จุลินทรีย์สามารถนำอะซิเตดไปใช้ในการผลิตสาร PHA ได้ดีที่สุด เนื่องจากกรดอะซิติกสามารถย่อยสลายและยังนำไปใช้ในการผลิตสาร PHA และเปลี่ยนเป็นพลังงานได้ง่าย (เฉลิมราช และ อรรณพ, 2545) อีกทั้งน้ำเสียส่วนใหญ่เป็นน้ำเสียประเภทเบ็งจุลินทรีย์จึงสามารถเปลี่ยนรูปไปเป็นกลัยโคเจนเพื่อผลิตสาร PHA และนำไปใช้ในรูปอื่นได้ เมื่อเปรียบเทียบการใช้ปริมาณสารอาหารต่อความสามารถในการผลิตสาร PHA กับระยะเวลาการทดลองสามารถอธิบายได้ดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 เปรียบเทียบการใช้ปริมาณสารอาหารต่อความสามารถในการผลิตสาร PHA ของโรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด

substrate	Concentration	anaerobic			aerobic		
		Δ PHA (g/l)	Δ TOC (%)	Δ Carbohydrate (%)	Δ PHA (g/l)	Δ TOC (%)	Δ Carbohydrate (%)
Acetate	400 mgC/l	0.160	86	67	0.172	73	65
	800 mgC/l	0.025	75	55	0.426	89	55
	1,200 mgC/l	0.014	38	43	0.879	97	70
Glucose	400 mgC/l	0.028	42	83	0.603	39	87
	800 mgC/l	0.046	26	78	0.502	28	84
	1,200 mgC/l	0.201	46	81	0.315	47	66
Butyrate	400 mgC/l	0.019	63	79	0.612	86	77
	800 mgC/l	0.041	38	80	0.495	65	84
	1,200 mgC/l	0.194	58	86	0.325	66	86

หมายเหตุ Δ PHA หมายถึง ปริมาณ PHA ที่ผลิตได้สูงสุด – ปริมาณ PHA เริ่มต้น

Δ TOC หมายถึง ปริมาณ TOC ที่ถูกใช้ไป

Δ Carbohydrate หมายถึง ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ถูกใช้ไป

จากตารางที่ 10 เมื่อพิจารณาปริมาณการผลิตสาร PHA ที่เพิ่มขึ้นนั้นสอดคล้องกับปริมาณ TOC และคาร์โบไฮเดรตที่ลดลง ซึ่งปริมาณ TOC และคาร์โบไฮเดรตที่ลดลงนั้นสามารถอธิบายได้ว่าจุลินทรีย์มีการทำสารอาหารมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตสาร PHA และบางส่วนเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงาน เนื่องจากปริมาณการใช้คาร์บอนในบางสภาวะอาจสูงกว่าปริมาณสาร PHA ที่ผลิตได้ ซึ่งจุลินทรีย์มีการนำคาร์โบไฮเดรตในน้ำเสียไปใช้ในสัดส่วนที่สูงเมื่อเทียบกับปริมาณ TOC โดยที่จุลินทรีย์อาจมีการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตในน้ำเสียก่อนจะนำสารอาหารไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนต่อไป และเมื่อพิจารณาจากทุกสภาวะการทดลองแล้ว ปริมาณสาร PHA ที่ผลิตได้ภายใต้สภาวะเดิมอากาศของโรงงานนั้นมีปริมาณสูงกว่าในสภาวะไร้อากาศเสมอ ซึ่งตะกอนจุลินทรีย์สามารถนำอะซิเตตไปใช้ในการผลิตสารได้ดีกว่าสารอาหารชนิดอื่น

2.2 บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน)

จากข้อมูลลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของน้ำเสียและตะกอนจุลินทรีย์ของโรงงาน เมื่อนำมาทดลองในห้องปฏิบัติการ โดยการทดลองแบบที่ละเทภายใต้สภาวะไร้อากาศและเดิมอากาศแล้ว สามารถศึกษาความสามารถของตะกอนจุลินทรีย์ในการผลิตสาร PHA ได้ดังตารางที่ 11 เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสาร PHA กับชนิดของสารอาหารที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ผลการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้นของสารอาหาร 400 mgC/l จุลินทรีย์สามารถนำอะซิเตตมาใช้เป็นสารอาหารในการผลิตสาร PHA ได้ดีที่สุดภายใต้สภาวะเดิมอากาศ เท่ากับ 0.2483 g/l คิดเป็น 12.41% w/w และมีอัตราการผลิตสาร PHA เท่ากับ 0.0414 g/l/h รองลงมาเป็นบิวทีเรต มีการผลิตสาร PHA เท่ากับ 0.1864 g/l (0.0466 g/l/h) และกลูโคสมีการผลิตสารเท่ากับ 0.0469 g/l (0.0047 g/l/h) เมื่อเปลี่ยนความเข้มข้นของสารอาหารเป็น 800 mgC/l จุลินทรีย์สามารถผลิตสาร PHA ได้ดีที่สุดเมื่อใช้อะซิเตตเป็นสารอาหาร ซึ่งสามารถผลิตสาร PHA ได้เท่ากับ 0.1978 g/l (9.89% w/w) และคิดเป็นอัตราการสะสม 0.0165 g/l/h ซึ่งบิวทีเรตและกลูโคสมีการสะสมเท่ากับ 0.1283 g/l (0.0128 g/l/h) และ 0.0592 g/l (0.0059 g/l/h) ตามลำดับ เมื่อเปลี่ยนความเข้มข้นของสารอาหารเป็น 1,200 mgC/l พบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิตสาร PHA ได้ดีเมื่อใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารเช่นกัน โดยสามารถผลิตได้สูงสุดเท่ากับ 0.2075 g/l (10.37% w/w) คิดเป็นอัตราการผลิตสาร PHA เท่ากับ 0.0173 g/l/h ซึ่งบิวทีเรตและกลูโคสมีการผลิตสาร PHA เพียง 0.0801 g/l (0.0068 g/l/h) และ 0.0237 g/l (0.0020 g/l/h) ตามลำดับ

ตารางที่ 11 เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสาร PHA กับชนิดของสารอาหารที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของบริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน)

substance	concentration	anaerobic				aerobic			
		Time for max.PHA (h)	Max.PHA conc. (g/l)	Max. PHA content (%)	Productivity (g/l/h)	Time for max.PHA (h)	Max.PHA conc. (g/l)	Max. PHA content (%)	Productivity (g/l/h)
acetate	400 mgC/l	12	0.1224	6.12	0.0102	6	0.2483	12.41	0.0414
	800 mgC/l	12	0.1161	5.80	0.0097	12	0.1978	9.89	0.0165
	1200 mgC/l	12	0.1466	7.33	0.0122	12	0.2075	10.37	0.0173
glucose	400 mgC/l	6	0.0422	2.11	0.0070	10	0.0469	2.34	0.0047
	800 mgC/l	12	0.0244	1.22	0.0047	10	0.0592	2.96	0.0059
	1200 mgC/l	4	0.0458	2.29	0.0115	12	0.0237	1.18	0.0020
butyrate	400 mgC/l	12	0.2580	12.90	0.0215	4	0.1864	9.32	0.0466
	800 mgC/l	12	0.4043	6.42	0.0337	10	0.1283	6.41	0.0128
	1200 mgC/l	8	0.2164	10.82	0.0271	12	0.0801	4.05	0.0068

จากผลการทดลองอัตราการสะสมสาร PHA ของจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับความสามารถในการผลิตสาร PHA ของจุลินทรีย์เนื่องจากในสภาวะต่าง ๆ กันนั้นปริมาณสาร PHA ที่ผลิตได้สูงสุดจะใช้เวลาในการสะสมแตกต่างกัน ซึ่งก็หมายถึงความสามารถของจุลินทรีย์ในการนำสารอาหารแต่ละชนิดไปใช้ในการผลิตสาร PHA แตกต่างกันโดยสภาวะที่จุลินทรีย์สามารถนำสารอาหารมาใช้ในการผลิตสาร PHA ได้ดีคือสภาวะเดิมอากาศ ซึ่งการสะสมสาร PHA ส่วนใหญ่เกิดขึ้นในสภาวะไร้อากาศใกล้เคียงกับสภาวะเดิมอากาศ เมื่อเปรียบเทียบช่วงเวลาที่จุลินทรีย์สามารถสะสมสาร PHA ได้สูงสุดกับปริมาณ TOC และคาร์โบไฮเดรตที่ลดลง แสดงดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 เปรียบเทียบการใช้ปริมาณสารอาหารต่อความสามารถในการผลิตสาร PHA ของบริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน)

substrate	Concentration	Anaerobic			Aerobic		
		Δ PHA (g/l)	Δ TOC (%)	Δ Carbohydrate (%)	Δ PHA (g/l)	Δ TOC (%)	Δ Carbohydrate (%)
Acetate	400 mgC/l	0.017	74	78	0.128	74	81
	800 mgC/l	0.036	72	83	0.087	51	79
	1,200 mgC/l	0.033	67	75	0.087	69	87
Glucose	400 mgC/l	0.010	60	74	0.016	53	80
	800 mgC/l	0.007	62	79	0.017	57	80
	1,200 mgC/l	0.023	67	74	0.004	65	73
Butyrate	400 mgC/l	0.167	78	72	0.055	75	76
	800 mgC/l	0.297	49	78	0.068	48	79
	1,200 mgC/l	0.088	58	63	0.018	54	76

หมายเหตุ Δ PHA หมายถึง ปริมาณ PHA ที่ผลิตได้สูงสุด – ปริมาณ PHA เริ่มต้น

Δ TOC หมายถึง ปริมาณ TOC ที่ถูกใช้ไป

Δ Carbohydrate หมายถึง ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ถูกใช้ไป

จากตารางที่ 12 ปริมาณสาร PHA ที่ผลิตได้ในแต่ละชนิดสารอาหารมีปริมาณแตกต่างกัน ทั้งนี้เพราะความสามารถในการผลิตสาร PHA เป็นผลจากความคุ้นเคยต่อชนิดน้ำเสียของจุลินทรีย์ด้วย (อรรณพ, 2543) โดยที่จุลินทรีย์สามารถนำอะซิเตตมาใช้ในการผลิตสาร PHA ได้ดีกว่าจาก

ปริมาณสาร PHA ที่เพิ่มขึ้นจากชั่วโมงเริ่มต้นนั้นมีปริมาณสูงกว่าเมื่อนำกลูโคสและบิวทีเรตมาใช้เป็นสารอาหาร สำหรับปริมาณสาร PHA ที่ผลิตได้ในแต่ละสภาวะการทดลองนั้นไม่สูงนัก อาจมาจากการที่จุลินทรีย์มีการนำสารอาหารบางส่วนไปใช้เป็นแหล่งพลังงานอาจเปลี่ยนรูปไปเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์หรือเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของสารโพลิเมอร์อื่น ๆ ก็เป็นไปได้ (อรรณพ, 2543) ส่วนหนึ่งอาจมาจากการนำตะกอนจุลินทรีย์ที่ไม่มีการปรับสภาพมาทดลองทำให้อัตราการผลิตสาร PHA ที่ได้ยังไม่สูงนัก

2.3 บริษัท กรีนสปอต จำกัด

จากข้อมูลลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของน้ำเสียและตะกอนจุลินทรีย์ของโรงงาน เมื่อนำมาทดลองในห้องปฏิบัติการ โดยการทดลองแบบที่ละเทกภายใต้สภาวะไร้อากาศและเติมอากาศแล้ว สามารถศึกษาความสามารถของตะกอนจุลินทรีย์ในการผลิตสาร PHA ดังแสดงในตารางที่ 13 เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสาร PHA กับชนิดของสารอาหารที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ผลการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้นของสารอาหาร 400 mgC/l จุลินทรีย์สามารถนำบิวทีเรตมาใช้เป็นสารอาหารในการผลิตสาร PHA ได้ดีที่สุดภายใต้สภาวะไร้อากาศเท่ากับ 0.4089 g/l คิดเป็น 20.44% w/w และมีอัตราการผลิตสาร PHA เท่ากับ 0.0341 g/l/h รองลงมาเป็นกลูโคสมีการผลิตสารเท่ากับ 0.3326 g/l (0.0277 g/l/h) และอะซิเตดมีการผลิตสาร PHA เท่ากับ 0.0412 g/l (0.0034 g/l/h) เมื่อเปลี่ยนความเข้มข้นของสารอาหารเป็น 800 mgC/l จุลินทรีย์สามารถผลิตสาร PHA ได้ดีที่สุดเมื่อใช้กลูโคสเป็นสารอาหาร ซึ่งสามารถผลิตสาร PHA ได้เท่ากับ 0.3113 g/l (15.56% w/w) และคิดเป็นอัตราการสะสม 0.0311 g/l/h ซึ่งบิวทีเรตและอะซิเตดมีการสะสมเท่ากับ 0.2709 g/l (0.0226 g/l/h) และ 0.1956 g/l (0.0163 g/l/h) ตามลำดับ เมื่อเปลี่ยนความเข้มข้นของสารอาหารเป็น 1,200 mgC/l พบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิตสาร PHA ได้ดีเมื่อใช้กลูโคสเป็นสารอาหารเช่นกันโดยสามารถผลิตได้สูงสุดเท่ากับ 0.3602 g/l (18.0% w/w) คิดเป็นอัตราการผลิตสาร PHA เท่ากับ 0.0362 g/l/h ซึ่งอะซิเตดและบิวทีเรตมีการผลิตสาร PHA เพียง 0.2532 g/l (0.0211 g/l/h) และ 0.2183 g/l (0.1092 g/l/h) ตามลำดับ

ตารางที่ 13 เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสาร PHA กับชนิดของสารอาหารที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของบริษัท กรีนสปอต จำกัด

substance	concentration	anaerobic				aerobic			
		Time for max.PHA (h)	Max.PHA conc. (g/l)	Max. PHA content (%)	Productivity (g/l/h)	Time for max.PHA (h)	Max.PHA conc. (g/l)	Max. PHA content (%)	Productivity (g/l/h)
acetate	400 mgC/l	12	0.0412	2.06	0.0034	12	0.0684	3.42	0.0057
	800 mgC/l	12	0.1956	9.78	0.0163	12	0.1035	5.18	0.0086
	1200 mgC/l	12	0.2532	12.66	0.0211	12	0.3144	15.72	0.0262
glucose	400 mgC/l	12	0.3326	16.63	0.0277	12	0.2444	12.22	0.0204
	800 mgC/l	10	0.3113	15.56	0.0311	12	0.3255	16.27	0.0271
	1200 mgC/l	10	0.3602	18.0	0.0362	12	0.3978	19.89	0.0331
butyrate	400 mgC/l	12	0.4089	20.44	0.0341	6	0.1998	9.9	0.0333
	800 mgC/l	12	0.2709	13.54	0.0226	12	0.1585	7.92	0.0132
	1200 mgC/l	2	0.2183	10.92	0.1092	10	0.2543	12.71	0.0254

เมื่อเปรียบเทียบการทดลองกับสารอาหารที่ใช้ทุกชนิดจุลินทรีย์สามารถผลิตสาร PHA ได้ใกล้เคียงกันทั้งในสภาวะไร้อากาศและเติมอากาศ ทั้งนี้ที่จุลินทรีย์สามารถผลิตสาร PHA ได้ดีในสภาวะไร้อากาศนั้นอาจมาจากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานนั้นเป็นระบบ SBR ซึ่งมีช่วงที่เป็นสภาวะไร้อากาศและเติมอากาศทำให้จุลินทรีย์มีความคุ้นเคยต่อสภาวะที่นำมาทำการทดลอง จุลินทรีย์จึงมีความสามารถในการผลิตสาร PHA ได้ดีทั้งสองสภาวะ ซึ่งแตกต่างจากผลการทดลองของโรงงานอื่น โดยจุลินทรีย์สามารถนำกรดบิวทริกมาใช้ในการผลิตสาร PHA ได้ดีที่สุด รองลงมาเป็นกลูโคสและกรดอะซิติก ซึ่งปริมาณสาร PHA ที่ผลิตได้เมื่อใช้กลูโคสเป็นสารอาหารมีค่าใกล้เคียงกันมากที่สุด ทั้งนี้เนื่องมาจากลักษณะของน้ำเสียของโรงงานเป็นประเภทน้ำหวานและนมที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตซึ่งเป็นน้ำเสียที่จุลินทรีย์มีความคุ้นเคยทำให้ปริมาณสาร PHA ที่ผลิตได้มีปริมาณใกล้เคียงกัน โดยอัตราการผลิตสาร PHA ที่เพิ่มขึ้นทุกสภาวะการทดลองนั้นมีความสัมพันธ์กับปริมาณ TOC และคาร์โบไฮเดรตที่ลดลง ทำให้สามารถอธิบายได้ว่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ลดลงนั้นเป็นผลมาจากการที่จุลินทรีย์นำไปใช้ในการผลิตสาร PHA เนื่องจากจุลินทรีย์สามารถเปลี่ยนรูปคาร์โบไฮเดรตไปเป็นกลัยโคเจนเพื่อสะสมสาร PHA ได้จากผลการทดลองเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสาร PHA กับปริมาณ TOC และคาร์โบไฮเดรตที่ถูกนำไปใช้ ดังแสดงในตารางที่ 14 ซึ่งผลจากตารางชี้ให้เห็นว่าเมื่อใช้อะซิเตตเป็นสารอาหาร จุลินทรีย์สามารถผลิตสาร PHA สูงสุดจากปริมาณสาร PHA ที่ผลิตได้สูงสุดเปรียบเทียบกับสาร PHA เริ่มต้น และยังสัมพันธ์กับปริมาณ TOC และคาร์โบไฮเดรตที่ถูกใช้ไปอีกด้วย โดยปริมาณสารอาหารที่ถูกใช้ไปนั้นพบว่าบางสภาวะมีปริมาณสูงกว่าสาร PHA ที่ผลิตได้ ซึ่งพิจิตร (2543) รายงานว่าจากการดูแลคาร์บอนของการทดลองแบบที่ละต่าง ๆ แสดงให้เห็นว่ามีการใช้สารอาหารโดยไม่ได้เปลี่ยนเป็นสาร PHA และกลัยโคเจนสะสมภายในเซลล์การสูญหายของคาร์บอนในตะกอนจุลินทรีย์แสดงว่าการใช้กลูโคสเป็นสารอาหารมีความเป็นไปได้ที่จุลินทรีย์จะมีการสร้างสารอื่นที่ไม่ใช่สาร PHA และกลัยโคเจนเกิดขึ้น

ตารางที่ 14 เปรียบเทียบการใช้ปริมาณสารอาหารต่อความสามารถในการผลิตสาร PHA ของบริษัท กรีนสปอต จำกัด

substrate	Concentration	anaerobic			Aerobic		
		Δ PHA (g/l)	Δ TOC (%)	Δ Carbohydrate (%)	Δ PHA (g/l)	Δ TOC (%)	Δ Carbohydrate (%)
Acetate	400 mgC/l	0.016	48	67	0.044	50	74
	800 mgC/l	0.053	55	55	0.020	48	79
	1,200 mgC/l	0.135	57	43	0.211	65	87
Glucose	400 mgC/l	0.111	41	84	0.037	39	77
	800 mgC/l	0.039	42	89	0.102	50	82
	1,200 mgC/l	0.081	49	82	0.204	49	88
Butyrate	400 mgC/l	0.236	76	83	0.072	57	84
	800 mgC/l	0.040	51	75	0.040	31	90
	1,200 mgC/l	0.095	42	87	0.095	49	82

หมายเหตุ Δ PHA หมายถึง ปริมาณ PHA ที่ผลิตได้สูงสุด – ปริมาณ PHA เริ่มต้น

Δ TOC หมายถึง ปริมาณ TOC ที่ถูกใช้ไป

Δ Carbohydrate หมายถึง ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ถูกใช้ไป

2.4 บริษัท ปทุมธานีบิวเวอรี จำกัด

จากข้อมูลลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของน้ำเสียและตะกอนจุลินทรีย์ของโรงงาน เมื่อนำมาทดลองในห้องปฏิบัติการ โดยการทดลองแบบที่ละลายภายใต้สภาวะไร้อากาศและเติมอากาศแล้ว สามารถศึกษาความสามารถของตะกอนจุลินทรีย์ในการผลิตสาร PHA ดังแสดงในตารางที่ 15 เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสาร PHA กับชนิดของสารอาหารที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ผลการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้นของสารอาหาร 400 mgC/l จุลินทรีย์สามารถนำบิวทีเรตมาใช้เป็นสารอาหารในการผลิตสาร PHA ได้ดีที่สุดในสภาวะเติมอากาศ เท่ากับ 0.0633 g/l คิดเป็น 3.16% w/w และมีอัตราการผลิตสาร PHA เท่ากับ 0.0053 g/l/h รองลงมาเป็นกลูโคสมีการผลิตสาร PHA เท่ากับ 0.0579 g/l (0.0048 g/l/h) และอะซิเตตมีการผลิตสารเท่ากับ 0.0218 g/l (0.0055 g/l/h) เมื่อเปลี่ยนความเข้มข้นของสารอาหารเป็น 800 mgC/l จุลินทรีย์สามารถผลิตสาร

PHA ได้ดีที่สุดเมื่อใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหาร ซึ่งสามารถผลิตสาร PHA ได้เท่ากับ 0.1820 g/l (9.10% w/w) และคิดเป็นอัตราการสะสม 0.0152 g/l/h ซึ่งกลูโคสและอะซิเตดมีการสะสมเท่ากับ 0.0603 g/l (0.0050 g/l/h) และ 0.0120 g/l (0.0020 g/l/h) ตามลำดับ เมื่อเปลี่ยนความเข้มข้นของสารอาหารเป็น 1,200 mgC/l พบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิตสาร PHA ได้ดีเมื่อใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารเช่นกัน โดยสามารถผลิตได้สูงสุดเท่ากับ 0.1296 g/l (2.17% w/w) คิดเป็นอัตราการผลิตสาร PHA เท่ากับ 0.0108 g/l/h ซึ่งกลูโคสและอะซิเตดมีการผลิตสาร PHA เพียง 0.0518 g/l (0.0152 g/l/h) และ 0.0569 g/l (0.0057 g/l/h) ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาการผลิตสาร PHA ของจุลินทรีย์เมื่อใช้สารอาหารทั้ง 3 ชนิดพบว่าจุลินทรีย์สามารถนำบิวทีเรตมาใช้ในการสะสมสาร PHA ได้ดีที่สุด รองลงมาคือกลูโคสและอะซิเตดตามลำดับ ซึ่งงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าเมื่อใช้สารอาหารเป็นพวกกรดไขมันระเหยง่ายจุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ในการผลิตสาร PHA ได้มากขึ้น (Satoh *et al.*, 1998) อีกทั้งลักษณะของน้ำเสียในระบบบำบัดของโรงงานเป็นน้ำเสียประเภทแอลกอฮอล์ ทำให้จุลินทรีย์มีความคุ้นเคยต่อน้ำเสียที่เป็นกรดไขมันระเหยง่ายด้วย โดยจุลินทรีย์สามารถสะสมสาร PHA ในสภาวะเดิมอากาศได้ดีกว่าสภาวะไร้อากาศ เพราะจุลินทรีย์มีความคุ้นเคยกับสภาวะเดิมอากาศจึงทำให้ความสามารถในการผลิตสาร PHA ในสภาวะเดิมอากาศมีปริมาณสูงกว่า เมื่อนำปริมาณสาร PHA ที่จุลินทรีย์ผลิตได้นั้นมาเปรียบเทียบกับปริมาณ TOC และคาร์โบไฮเดรตที่ถูกใช้ไปนั้นพบว่า จุลินทรีย์จากโรงงานสามารถสะสมสาร PHA ได้ดีเมื่อใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหาร รองลงมาเป็นอะซิเตดและกลูโคส ตามลำดับ ซึ่งปริมาณการนำสารอาหารไปใช้ในทุกสภาวะสูงกว่าปริมาณสาร PHA ที่ผลิตได้ ทั้งนี้ปัจจัยที่มีผลต่อการทดลองของสาร PHA ทุกสภาวะการทดลองนั้นมาจากการที่จุลินทรีย์ไม่มีการปรับสภาพด้วยทำให้ปริมาณสาร PHA ที่ผลิตได้ไม่สอดคล้องกับปริมาณสารอาหารที่จุลินทรีย์นำไปใช้ ดังตารางที่ 16

ตารางที่ 15 เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสาร PHA กับชนิดของสารอาหารที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของบริษัท ปทุมธานีบริวเวอรี จำกัด

substance	concentration	anaerobic				aerobic			
		Time for max.PHA (h)	Max.PHA conc. (g/l)	Max. PHA content (%)	Productivity (g/l/h)	Time for max.PHA (h)	Max.PHA conc. (g/l)	Max. PHA content (%)	Productivity (g/l/h)
acetate	400 mgC/l	8	0.0210	1.05	0.0026	4	0.0218	1.09	0.0055
	800 mgC/l	4	0.0075	0.37	0.0019	6	0.0120	0.60	0.0020
	1200 mgC/l	12	0.0127	0.63	0.0011	10	0.0569	2.85	0.0057
glucose	400 mgC/l	10	0.0571	2.86	0.0057	12	0.0579	2.89	0.0048
	800 mgC/l	12	0.0606	3.03	0.0055	12	0.0603	3.01	0.0050
	1200 mgC/l	6	0.0518	2.59	0.0063	4	0.0518	3.03	0.0152
butyrate	400 mgC/l	12	0.0543	2.71	0.0045	12	0.0633	3.16	0.0053
	800 mgC/l	4	0.0278	1.39	0.0070	12	0.1820	9.10	0.0152
	1200 mgC/l	12	0.0434	2.17	0.0036	12	0.1296	2.17	0.0108

ตารางที่ 16 เปรียบเทียบการใช้ปริมาณสารอาหารต่อความสามารถในการผลิตสาร PHA ของบริษัท ปทุมธานีบิโรวเออรี่ จำกัด

substrate	Concentration	Anaerobic			Aerobic		
		Δ PHA (g/l)	Δ TOC (%)	Δ Carbohydrate (%)	Δ PHA (g/l)	Δ TOC (%)	Δ Carbohydrate (%)
Acetate	400 mgC/l	0.016	75	67	0.015	68	80
	800 mgC/l	0.001	17	55	0.056	49	68
	1,200 mgC/l	0.008	67	43	0.050	62	82
Glucose	400 mgC/l	0.010	47	84	0.001	50	66
	800 mgC/l	0.033	51	89	0.015	41	65
	1,200 mgC/l	0.003	63	82	0.019	65	56
Butyrate	400 mgC/l	0.047	71	83	0.051	67	78
	800 mgC/l	0.009	49	75	0.171	63	83
	1,200 mgC/l	0.023	65	87	0.109	60	76

หมายเหตุ Δ PHA หมายถึง ปริมาณ PHA ที่ผลิตได้สูงสุด – ปริมาณ PHA เริ่มต้น

Δ TOC หมายถึง ปริมาณ TOC ที่ถูกใช้ไป

Δ Carbohydrate หมายถึง ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ถูกใช้ไป

2.5 บริษัท สามเสนบิโรวเออรี่ จำกัด

จากข้อมูลลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของน้ำเสียและตะกอนจุลินทรีย์ของโรงงาน เมื่อนำมาทดลองในห้องปฏิบัติการ โดยการทดลองแบบที่ละลายภายใต้สภาวะไร้อากาศและเติมอากาศแล้ว สามารถศึกษาความสามารถของตะกอนจุลินทรีย์ในการผลิตสาร PHA ดังแสดงใน ตารางที่ 17 เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสาร PHA กับชนิดของสารอาหารที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ผลการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้นของสารอาหาร 400 mgC/l จุลินทรีย์สามารถนำบิวทีเรตมาใช้เป็นสารอาหารในการผลิตสาร PHA ได้ดีที่สุดภายใต้สภาวะเติมอากาศ เท่ากับ 0.6268 g/l คิดเป็น 31.34% w/w และมีอัตราการผลิตสาร PHA เท่ากับ 0.0522 g/l/h รองลงมาเป็นอะซิเตตมีการผลิตสาร PHA เท่ากับ 0.2734 g/l (0.0228 g/l/h) และกลูโคสมีอัตราการผลิตสารเท่ากับ 0.1026 g/l (0.0085 g/l/h) เมื่อเปลี่ยนความเข้มข้นของสารอาหารเป็น 800 mgC/l จุลินทรีย์สามารถผลิตสาร

PHA ได้ดีที่สุดในเมื่อใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหาร ซึ่งสามารถผลิตสาร PHA ได้เท่ากับ 0.6965 g/l (34.82% w/w) และคิดเป็นอัตราการสะสม 0.0580 g/l/h ซึ่งอะซิเตตและกลูโคสมีการสะสมเท่ากับ 0.4055 g/l (0.0338 g/l/h) และ 0.1439 g/l (0.0120 g/l/h) ตามลำดับ เมื่อเปลี่ยนความเข้มข้นของสารอาหารเป็น 1,200 mgC/l พบว่า จุลินทรีย์สามารถผลิตสาร PHA ได้ดีเมื่อใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารเช่นกัน โดยสามารถผลิตได้สูงสุดเท่ากับ 0.5110 g/l (25.55% w/w) คิดเป็นอัตราการผลิตสาร PHA เท่ากับ 0.0426 g/l/h ซึ่งกลูโคสและบิวทีเรตมีการผลิตสาร PHA เพียง 0.4772 g/l (0.0398 g/l/h) และ 0.3744 g/l (0.0312 g/l/h) ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณการผลิตสาร PHA กับสารอาหารแต่ละชนิดพบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิตสาร PHA ได้สูงเมื่อใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหาร โดยอัตราการสะสมสาร PHA ของจุลินทรีย์จากชั่วโมงเริ่มต้นมีปริมาณสูงกว่าอะซิเตตและกลูโคส และปริมาณของ TOC และคาร์โบไฮเดรตที่ถูกลำนำไปใช้ยังสอดคล้องกับปริมาณ PHA ที่ผลิตได้เช่นเดียวกับโรงงานอื่น ๆ ทั้งนี้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ถูกลำนำไปใช้มีส่วนที่สูงกว่าปริมาณสารอาหารที่นำไปใช้อีกด้วย ดังแสดงในตารางที่ 18 ซึ่งอัตราการสะสมการ PHA นั้นไม่สัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารอาหารที่เพิ่มขึ้น เพราะตะกอนจุลินทรีย์จากโรงงานไม่มีความคุ้นเคยกับน้ำเสียที่ใช้ในการทดลองและเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารอาหารอาจทำให้ความสามารถในการนำสารอาหารไปใช้ลดลง

ตารางที่ 17 เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสาร PHA กับชนิดของสารอาหารที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของบริษัท สามเสนบริวเวอรี่ จำกัด

substance	concentration	anaerobic				aerobic			
		Time for max.PHA (h)	Max.PHA conc. (g/l)	Max. PHA content (%)	Productivity (g/l/h)	Time for max.PHA (h)	Max.PHA conc. (g/l)	Max. PHA content (%)	Productivity (g/l/h)
acetate	400 mgC/l	12	0.2228	11.14	0.0186	12	0.2734	13.67	0.0228
	800 mgC/l	10	0.3671	18.35	0.0367	12	0.4055	20.28	0.0338
	1200 mgC/l	12	0.3262	16.31	0.0271	12	0.5110	25.55	0.0426
glucose	400 mgC/l	12	0.1141	5.71	0.0095	12	0.1026	5.13	0.0085
	800 mgC/l	12	0.2072	10.36	0.0172	12	0.1439	7.19	0.0120
	1200 mgC/l	12	0.2210	11.05	0.0184	12	0.4772	23.86	0.0398
butyrate	400 mgC/l	12	0.3478	17.39	0.0290	12	0.6268	31.34	0.0522
	800 mgC/l	10	0.1895	9.48	0.0190	12	0.6965	34.82	0.0580
	1200 mgC/l	12	0.2720	13.60	0.0227	12	0.3744	18.72	0.0312

ตารางที่ 18 เปรียบเทียบการใช้ปริมาณสารอาหารต่อความสามารถในการผลิตสาร PHA
ของบริษัท สามเสนบริวเวอรี จำกัด

substrate	Concentration	Anaerobic			Aerobic		
		Δ PHA (g/l)	Δ TOC (%)	Δ Carbohydrate (%)	Δ PHA (g/l)	Δ TOC (%)	Δ Carbohydrate (%)
Acetate	400 mgC/l	0.114	77	60	0.164	51	49
	800 mgC/l	0.275	17	38	0.317	64	52
	1,200 mgC/l	0.206	69	82	0.414	90	76
Glucose	400 mgC/l	0.096	47	67	0.075	58	74
	800 mgC/l	0.071	40	60	0.117	66	70
	1,200 mgC/l	0.194	48	85	0.338	65	87
Butyrate	400 mgC/l	0.101	67	83	0.560	43	76
	800 mgC/l	0.097	86	81	0.631	67	75
	1,200 mgC/l	0.217	41	84	0.310	47	85

หมายเหตุ Δ PHA หมายถึง ปริมาณ PHA ที่ผลิตได้สูงสุด – ปริมาณ PHA เริ่มต้น

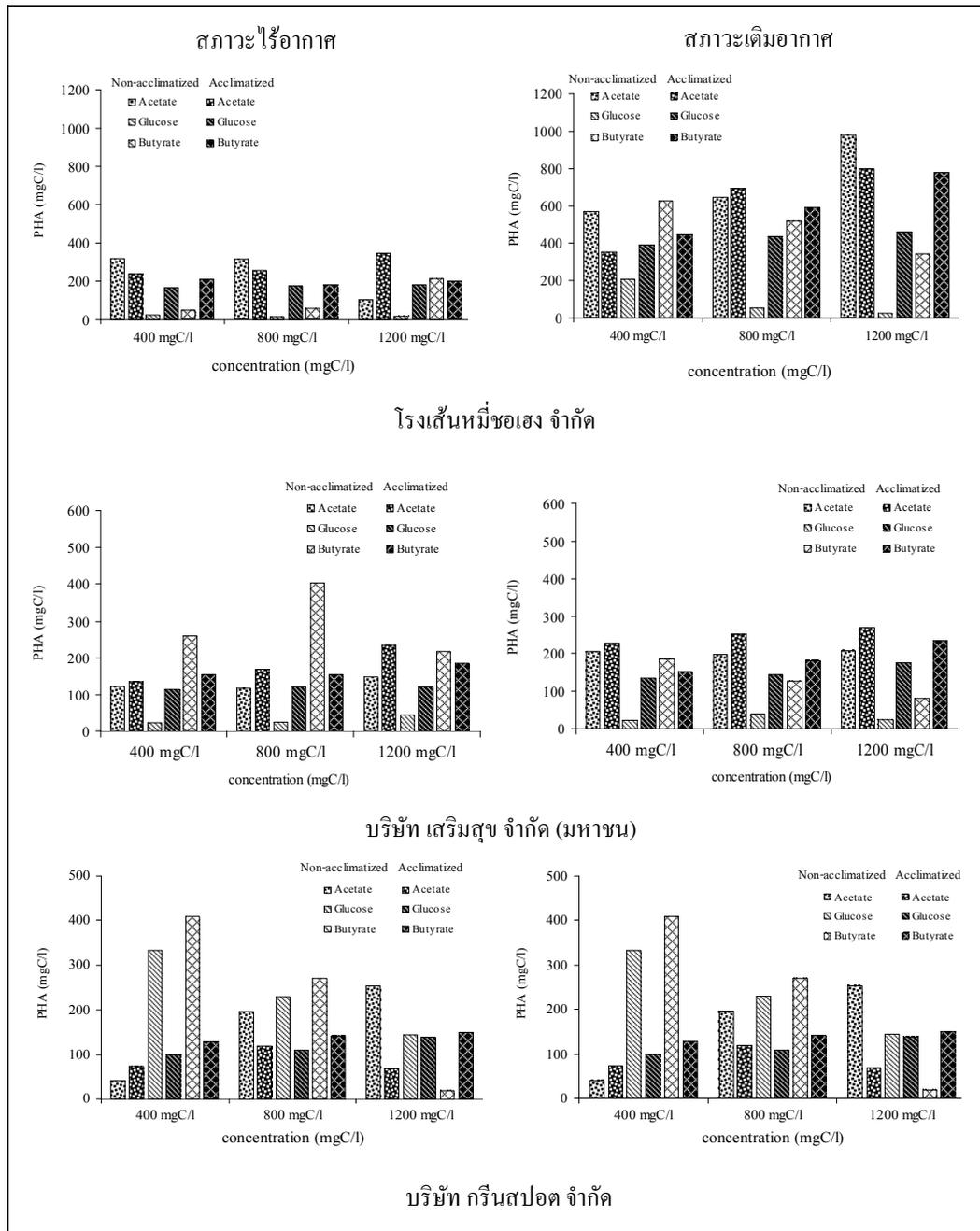
Δ TOC หมายถึง ปริมาณ TOC ที่ถูกใช้ไป

Δ Carbohydrate หมายถึง ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ถูกใช้ไป

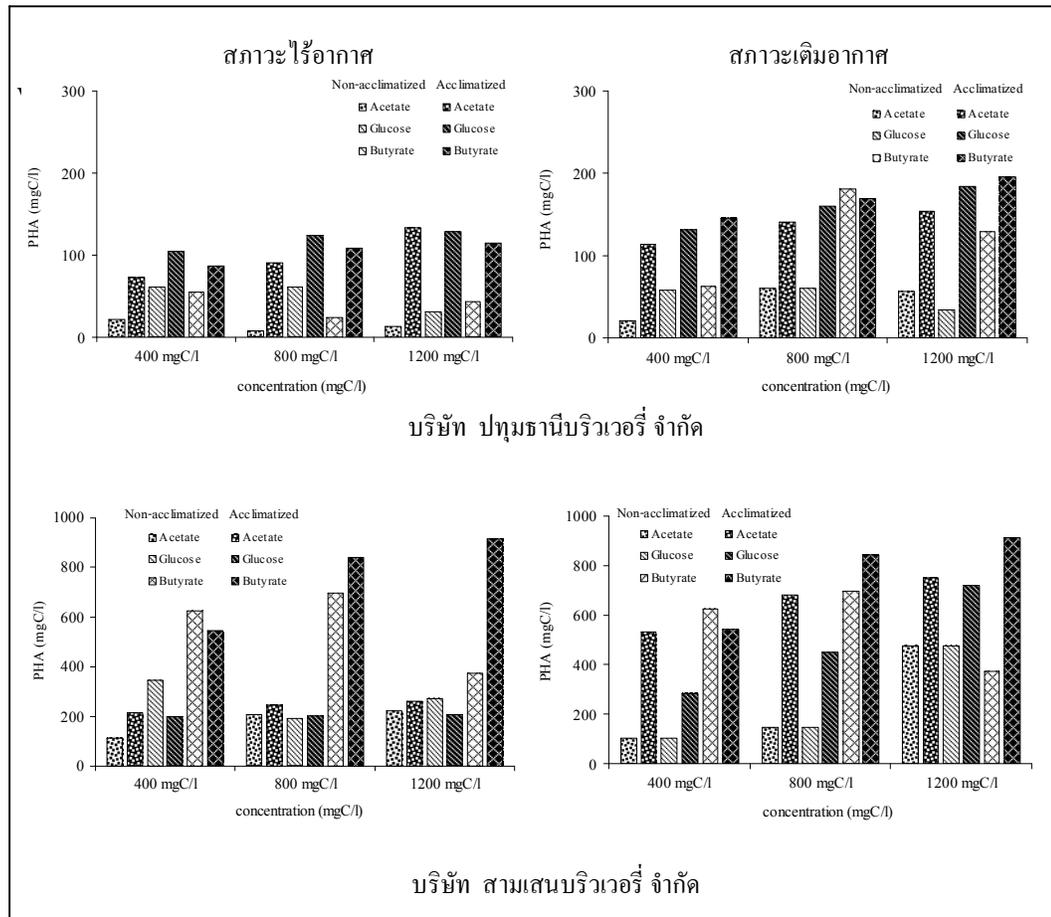
ผลการทดลองทุกโรงงานพบว่าจุลินทรีย์มีความสามารถในการผลิตสาร PHA ในสภาวะเดิมอากาศได้ดีกว่าสภาวะไร้อากาศ เนื่องจากจุลินทรีย์มีความคุ้นเคยกับระบบที่มีสภาวะการเดิมอากาศ โดยสามารถใช้อะซิเตตผลิตสาร PHA ได้สูงสุดได้แก่ โรงเส้นหมี่ซอเฮง จำกัด สามารถสะสมสาร PHA ได้ 0.879 g/l ที่ความเข้มข้น 1,200 mgC/l และใช้บิวทิเรตในการผลิตสาร PHA ได้สูงสุด 4 โรงงาน ได้แก่บริษัท เสริมสุข จำกัด สะสมสาร PHA ได้ 0.297 g/l ที่ความเข้มข้น 800 mgC/l และบริษัท กรีนสปอต จำกัด สะสมสาร PHA ได้ 0.236 g/l ที่ความเข้มข้น 400 mgC/l บริษัท ปทุมธานีบิวเวอรี จำกัด สะสมสาร PHA ได้ 0.171 g/l ที่ความเข้มข้น 800 mgC/l และบริษัท สามเสนบิวเวอรี จำกัด สะสมสาร PHA ได้ 0.631 g/l ที่ความเข้มข้น 800 mgC/l โดยในการทดลองแต่ละสภาวะนั้นเป็นการนำตะกอนจุลินทรีย์จากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานมาใช้ในการทดลองทันที आयตะกอนจุลินทรีย์จึงมีผลต่อการสะสมสาร PHA เพราะตัวอย่าง आयตะกอนจุลินทรีย์น้อยการผลิตสาร PHA จึงไม่มากเท่าที่ควร สำหรับองค์ประกอบของสาร PHA ที่ทำการศึกษาคือ PHB และ PHV โดยสัดส่วนของสาร PHA ที่พบจะมีองค์ประกอบของ PHB เป็นส่วนใหญ่ ดังแสดงในตารางภาคผนวก ก. ซึ่งองค์ประกอบที่พบ PHB เป็นส่วนใหญ่มาจากจุลินทรีย์กลุ่ม PAOs อีกทั้งในระบบแอกทีเวเต็ดจ์สลัดจ์ทั่วไปจะพบปริมาณ PAOs มากกว่า GAOs และ PAOs สามารถใช้สารอาหารได้สูงกว่า GAOs เสมอ แม้ว่าไม่คุ้นเคยกับน้ำเสียดังกล่าวก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบอัตราการผลิตสาร PHA กับ TOC และคาร์โบไฮเดรตที่ลดลงของโรงงานต่าง ๆ กล่าวได้ว่าจุลินทรีย์มีการใช้สารอาหารเพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตพลังงานและสะสมสาร PHA เพิ่มขึ้น โดยจุลินทรีย์มีการนำคาร์โบไฮเดรตไปใช้ในการสะสมสาร PHA ด้วย จากปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ลดลงจากการทดลอง สำหรับการศึกษาความสามารถในการผลิตสาร PHA ที่ไม่มีการปรับสภาพนั้นเป็นการศึกษาเบื้องต้นเพื่อเปรียบเทียบกับตะกอนจุลินทรีย์ที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว เพื่อใช้ในการประเมินความสามารถในการนำตะกอนส่วนเกินจากระบบบำบัดน้ำเสียไปใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตสาร PHA ทดแทนจุลินทรีย์สารพันธุ์บริสุทธิ์ต่อไป

4. การเปรียบเทียบศักยภาพของตะกอนจุลินทรีย์ที่ไม่มีการปรับสภาพและตะกอนจุลินทรีย์ที่ผ่านการปรับสภาพ

จากผลการศึกษาศักยภาพของตะกอนจุลินทรีย์ที่ไม่มีการปรับสภาพและตะกอนจุลินทรีย์ที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว ตะกอนจุลินทรีย์ที่ผ่านการปรับสภาพแต่ละโรงงานมีความสามารถในการสะสมสาร PHA ได้สูงขึ้น เนื่องจากตะกอนจุลินทรีย์ก่อนการปรับสภาพมีความคุ้นเคยกับน้ำเสียต่างชนิดกัน อีกทั้งระบบบำบัดน้ำเสียของแต่ละโรงงานมีปัจจัยที่ใช้ควบคุมสภาวะในระบบบำบัดต่างกันจึงส่งผลให้ความสามารถในการสะสมสาร PHA แตกต่างกันด้วย เมื่อพิจารณาถึงสารอาหารที่ใช้ในการทดลองพบว่า แม้ว่าจะมีการปรับสภาพตะกอนแล้วก็ตามตะกอนจุลินทรีย์ไม่สามารถผลิตสาร PHA ได้เท่ากันทุกชนิด ซึ่งส่วนหนึ่งมาจากลักษณะตะกอนเริ่มต้นและความคุ้นเคยกับชนิดสารอาหาร ข้อดีของการปรับสภาพตะกอนคือจุลินทรีย์สามารถผลิตสาร PHA ได้เพิ่มขึ้นและสามารถสะสมสารได้อย่างต่อเนื่องต่างจากตะกอนจุลินทรีย์ที่ไม่มีการปรับสภาพจะสามารถผลิตสาร PHA ได้ถึงช่วงเวลาหนึ่งแล้วจะมีการนำสาร PHA กลับมาใช้เป็นพลังงานหรือนำไปเปลี่ยนรูปไปเป็นสารชนิดอื่น ซึ่งสภาวะที่ตะกอนจุลินทรีย์สามารถผลิตสาร PHA ได้ดีเป็นสภาวะเดิมอากาศ เมื่อพิจารณาถึงปัจจัยอื่นที่มีผลต่อการผลิตสาร PHA ของตะกอนจุลินทรีย์ เช่น ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเสียนั้นมีผลต่อความสามารถในการผลิตสาร PHA หรือไม่นั้น ผลการทดลองทุกโรงงานมีความสอดคล้องกันคือเมื่อปริมาณสาร PHA ที่จุลินทรีย์เพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเสียที่ลดลง แม้ว่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่จุลินทรีย์ใช้ไปนั้นจะไม่ได้นำไปผลิตเป็นสาร PHA ทั้งหมดก็ตาม แต่จุลินทรีย์ยังคงมีการนำคาร์โบไฮเดรตไปใช้ในการสร้างพลังงานและเปลี่ยนเป็นกลัยโคเจนเพื่อนำไปสะสมเป็นสาร PHA ได้ เมื่อเปรียบเทียบความสามารถของตะกอนจุลินทรีย์ที่ไม่มีการปรับสภาพและมีการปรับสภาพแล้วแสดงดังภาพที่ 26 และ 27 เป็นการเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสาร PHA ของจุลินทรีย์ที่ไม่มีการปรับสภาพและผ่านการปรับสภาพแล้วของสารอาหารแต่ละชนิดภายใต้สภาวะไร้อากาศและเดิมอากาศ



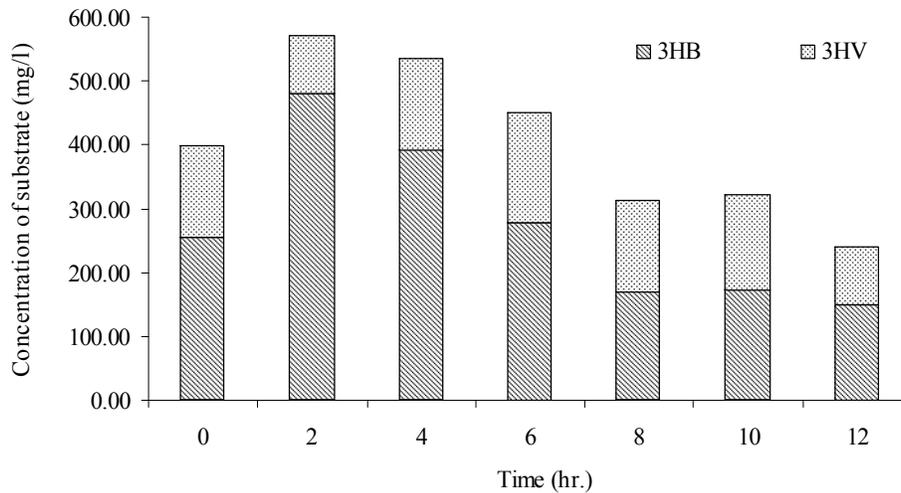
ภาพที่ 26 การเปรียบเทียบความสามารถของตะกอนจุลินทรีย์ที่ไม่มีการปรับสภาพและตะกอนจุลินทรีย์ที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว



ภาพที่ 27 การเปรียบเทียบความสามารถของตะกอนจุลินทรีย์ที่ไม่มีการปรับสภาพและตะกอนจุลินทรีย์ที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว (ต่อ)

การทดลองตะกอนจุลินทรีย์ที่ไม่มีการปรับสภาพพบว่าในสภาวะเติมอากาศจุลินทรีย์สามารถผลิตสาร PHA ได้มากกว่าสภาวะไร้อากาศ เนื่องจากพลังงานส่วนใหญ่สามารถผลิตได้จากคาร์บอนของสารอาหารภายใต้สภาวะเติมอากาศ องค์ประกอบของ PHA เมื่อใช้กรดอะซิติกและบิวทริกเป็นสารอาหารจะพบสัดส่วนของ PHB มากกว่า PHV ดังแสดงในภาพที่ 28 เนื่องจากกรดอะซิติกและกรดบิวทริกจะให้ปริมาณ acetyl Co – A และ 3 – hydroxybutyryl Co – A ภายในเซลล์เพิ่มขึ้น (Sato *et al.*, 1992) ซึ่งสารดังกล่าวเป็นส่วนประกอบของ PHB ส่งผลให้จุลินทรีย์สะสมสาร PHB ได้มากกว่า PHV อีกทั้งในระบบแอกทิเวเตดจ์สแตจ์ทั่วไปจะพบปริมาณ PAOs มากกว่า GAOs และ PAOs สามารถนำสารอาหารไปใช้ได้สูงกว่า GAOs เสมอ แม้ว่าไม่คุ้นเคยกับ

น้ำเสียดังกล่าวก็ตาม (Sudiana *et al.*, 1999)

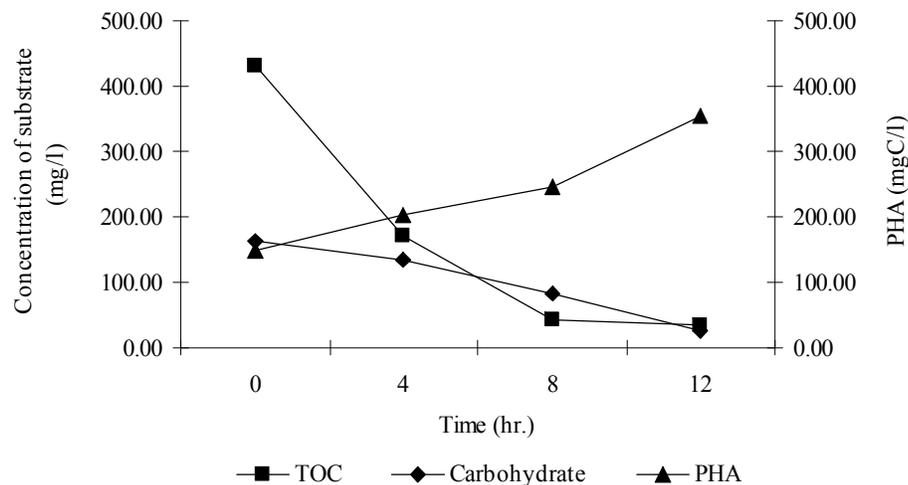


ภาพที่ 28 องค์ประกอบของ PHA จากการทดลองแบบที่ละเทของตะกอนจุลินทรีย์ที่ไม่มีการปรับสภาพ

ในการทดลองนี้เมื่อใช้กลูโคสเป็นสารอาหารสัดส่วนของ PHB จะสูงกว่า PHV แม้ว่างานวิจัยที่ผ่านมาใช้กลูโคสเป็นสารอาหารจะพบสัดส่วนของ PHV สูงกว่า PHB ในสภาวะไร้อากาศ (เฉลิมราช และ อรรณพ, 2545) เป็นเพราะจุลินทรีย์ในระบบแอกทีเวเต็ดจ์สแต็คจ์คุ้นเคยกับสภาวะเดิมอากาศ และมีจุลินทรีย์กลุ่ม PAOs มากกว่า ส่งผลให้อัตราการผลิตสาร PHA ของ GAOs น้อยลง อัตราการผลิตสาร PHA ของแต่ละโรงงานนั้นในสภาวะเดิมอากาศมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นต่างจากสภาวะไร้อากาศอัตราการผลิตสาร PHA ไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารอาหาร เนื่องจากจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการทดลองนั้นไม่ได้ผ่านการปรับสภาพ ดังนั้นอัตราการผลิตสาร PHA จึงไม่มีผลต่อความเข้มข้นในสภาวะไร้อากาศ เมื่อเปรียบเทียบอัตราการผลิตสาร PHA กับ TOC และคาร์โบไฮเดรตที่ลดลง กล่าวได้ว่าจุลินทรีย์มีการใช้สารอาหารเพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตพลังงานและสะสมสาร PHA เพิ่มขึ้น ซึ่งจุลินทรีย์มีการสะสมสาร PHA เมื่อใช้กรดอะซิติกและบิวทิริกได้มากกว่ากลูโคส เนื่องจากขนาดโมเลกุลของกรดอะซิติกและกรดบิวทิริกมีขนาดเล็กกว่าขนาดโมเลกุลของกลูโคสจึงทำให้จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้เป็นสารอาหารได้ง่ายกว่าในงานวิจัยนี้เมื่อใช้กลูโคสเป็นสารอาหารทดลองในสภาวะไร้อากาศ อัตราการผลิตสาร PHA มีปริมาณต่ำกว่าสารอาหารชนิดอื่นที่สภาวะเดียวกัน เนื่องจากจุลินทรีย์ที่นำมาจากระบบบำบัดน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรมไม่ได้ผ่านการปรับสภาพ มีเจริญเติบโตในสภาวะเดิมอากาศ จึงทำให้

อัตราการผลิตสาร PHA ในสภาวะไร้อากาศมีปริมาณต่ำ แม้วางานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าในสภาวะไร้อากาศเมื่อใช้กลูโคสเป็นสารอาหารจุลินทรีย์จะสามารถผลิตสาร PHA ได้สูงและมีสัดส่วน PHV สูงกว่า PHB ก็ตาม (Sato *et al.*, 1992)

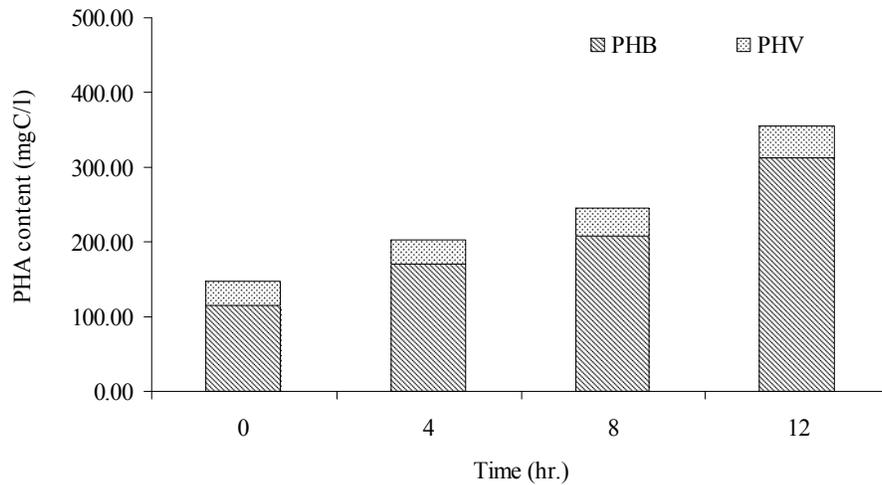
เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง TOC, คาร์โบไฮเดรต และ PHA เมื่อป้อนสารอาหารเข้าสู่ระบบจุลินทรีย์จะนำสารอาหารไปใช้เป็นพลังงานและสะสมเป็นสาร PHA โดยที่ปริมาณคาร์บอนที่มีอยู่ในระบบจะถูกใช้และมีปริมาณความเข้มข้นของสารอาหารลดลงเห็นได้จากปริมาณ TOC และคาร์โบไฮเดรตลดลงตามระยะเวลาการทดลองส่วนสาร PHA มีปริมาณเพิ่มขึ้นดังแสดงในภาพที่ 29 โดยสารอาหารบางส่วนอาจจะไม่ถูกนำไปใช้ในการผลิตสาร PHA แต่จะนำไปใช้เป็นพลังงานของจุลินทรีย์ในระบบ งานวิจัยนี้ยังชี้ได้ว่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเสียมีผลต่ออัตราการผลิตสาร PHA ของจุลินทรีย์ เพราะคาร์โบไฮเดรตสามารถเปลี่ยนเป็นกลัยโคเจนเพื่อให้จุลินทรีย์ใช้เป็นแหล่งพลังงานและผลิตสาร PHA แต่อย่างไรก็ตามปริมาณสาร PHA ที่ผลิตได้ยังไม่สูงนัก เนื่องจากจุลินทรีย์ที่มาจากระบบบำบัดไม่ได้ผ่านการปรับสภาพ



ภาพที่ 29 ความสัมพันธ์ระหว่าง TOC คาร์โบไฮเดรตและ PHA จากการทดลองแบบทีละเท

เมื่อตะกอนจุลินทรีย์ของแต่ละโรงงานผ่านการปรับสภาพด้วยน้ำเสียสังเคราะห์แล้วพบว่าจุลินทรีย์มีอัตราการผลิตสาร PHA สูงขึ้น และสะสมสาร PHA ได้มากขึ้นตามความเข้มข้นของสารอาหารที่ใช้ในการทดลอง โดยองค์ประกอบของ PHA ยังพบว่าทุกสภาวะการทดลองนั้นมี

ปริมาณ PHB สูงกว่า PHV เสมอ อีกทั้งจุลินทรีย์ยังสามารถสะสมได้อย่างต่อเนื่องดังแสดงในภาพที่ 30 ซึ่งเป็นผลจากการปรับสภาพทำให้จุลินทรีย์มีความคุ้นเคยกับน้ำเสียทำให้อัตราการสะสมสาร PHA ของตะกอนมีปริมาณมากขึ้น



ภาพที่ 30 ปริมาณสาร PHA ที่ผลิตได้ตามระยะเวลาการทดลองโดยจุลินทรีย์ที่ผ่านการปรับสภาพ

ซึ่งงานวิจัยนี้สามารถนำไปปรับใช้ในการประเมินศักยภาพของตะกอนจุลินทรีย์ในโรงงานอุตสาหกรรมเพื่อนำตะกอนจุลินทรีย์ส่วนเกินกลับมาใช้ประโยชน์ในการผลิตพลาสติกย่อยสลายได้เพื่อทดแทนพลาสติกที่ใช้อยู่ในปัจจุบันซึ่งมีการย่อยสลายได้ยากและก่อให้เกิดมลพิษต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อมได้

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

การศึกษาศักยภาพในการผลิตสาร PHA จากตะกอนจุลินทรีย์ระบบบำบัดน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรม ดำเนินการทดลองแบบที่ละเท่าภายใต้สภาวะไร้อากาศและเติมอากาศโดยเปรียบเทียบชนิดของสารอาหารได้แก่ อะซิเตต กลูโคส และบิวทิเรต และความเข้มข้นของสารอาหารแต่ละชนิดที่ 400, 800 และ 1,200 mgC/l โดยควบคุมความเข้มข้นของตะกอนที่ 2,000 mgC/l ระยะเวลาการทดลอง 12 ชั่วโมง ผลการทดลองสามารถสรุปได้ดังนี้

1. จากการศึกษาลักษณะน้ำเสียทางกายภาพและทางเคมีเบื้องต้นของโรงงานอุตสาหกรรม เมื่อแบ่งกลุ่มตามปริมาณคาร์โบไฮเดรตแบ่งออกได้เป็น โรงงานที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูง 3 โรงงาน ได้แก่ โรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน) บริษัท กรีนสปอต จำกัด และโรงงานที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตต่ำ 2 โรงงาน ได้แก่ บริษัท ปทุมธานีบริวเวอรี่ จำกัด บริษัท สามเสนบริวเวอรี่ จำกัด

2. ผลการทดลองการศึกษาศักยภาพในการผลิตสาร PHA จากตะกอนจุลินทรีย์ที่ไม่มีการปรับสภาพของโรงงานอุตสาหกรรม ภายใต้สภาวะไร้อากาศและเติมอากาศ โรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด สามารถสะสมสาร PHA ได้สูงสุดเท่ากับ 43.95% ที่ความเข้มข้น 1,200 mgC/l เมื่อใช้อะซิเตตเป็นสารอาหาร โดยบริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน) สามารถสะสมสาร PHA ได้สูงสุดเท่ากับ 14.85% ที่ความเข้มข้น 800 mgC/l และบริษัท กรีนสปอต จำกัด สามารถสะสมสาร PHA ได้สูงสุดเท่ากับ 11.8% ที่ความเข้มข้น 400 mgC/l บริษัท ปทุมธานีบริวเวอรี่ จำกัด สามารถสะสมสาร PHA ได้สูงสุดเท่ากับ 9.14% ที่ความเข้มข้น 800 mgC/l และบริษัท สามเสนบริวเวอรี่ จำกัด สามารถสะสมสาร PHA ได้สูงสุดเท่ากับ 33.15% ที่ความเข้มข้น 800 mgC/l เมื่อใช้บิวทิเรตเป็นสารอาหาร โดยตะกอนจุลินทรีย์สามารถผลิตสาร PHA ภายใต้สภาวะเติมอากาศได้ดีกว่าสภาวะไร้อากาศและจุลินทรีย์จะมีความสามารถสะสมสาร PHA ได้จำกัดกว่าจุลินทรีย์ที่ผ่านการปรับสภาพ เมื่อเปรียบเทียบชนิดของสารอาหารทั้ง 3 ชนิด ตะกอนจุลินทรีย์สามารถใช้บิวทิเรตเป็นสารอาหารในการผลิตสาร PHA ได้สูงสุด รองลงมาคืออะซิเตตและกลูโคส ตามลำดับ และความสามารถในการสะสมสาร PHA นั้นไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นสารอาหารที่ใช้ในสภาวะการทดลอง

3. ผลการทดลองการศึกษาศักยภาพในการผลิตสาร PHA จากตะกอนจุลินทรีย์ที่ผ่านการปรับสภาพของโรงงานอุตสาหกรรม ภายใต้สภาวะไร้อากาศและเติมอากาศ โรงเส้นหมี่ช่อเฮง จำกัด สามารถสะสมสาร PHA ได้สูงสุดเท่ากับ 32.10 % ที่ความเข้มข้น 1,200 mgC/l บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน) สามารถสะสมสาร PHA ได้สูงสุดเท่ากับ 10.21 % ที่ความเข้มข้น 1,200 mgC/l เมื่อใช้อะซิเตดเป็นสารอาหาร บริษัท กรีนสปอต จำกัด สามารถสะสมสาร PHA ได้สูงสุดเท่ากับ 12.96 % ที่ความเข้มข้น 1,200 mgC/l เมื่อใช้กลูโคสเป็นสารอาหาร โดยบริษัท ปทุมธานีบริวเวอรี่ จำกัด สามารถสะสมสาร PHA ได้สูงสุดเท่ากับ 7.0 % ที่ความเข้มข้น 1,200 mgC/l และบริษัท สามเสนบริวเวอรี่ จำกัด สามารถสะสมสาร PHA ได้สูงสุดเท่ากับ 87.15 % ที่ความเข้มข้น 1,200 mgC/l เมื่อใช้บิวทิเรตเป็นสารอาหาร จุลินทรีย์สามารถผลิตสาร PHA ภายใต้สภาวะเติมอากาศได้ดีกว่าสภาวะไร้อากาศ เมื่อเปรียบเทียบชนิดของสารอาหารทั้ง 3 ชนิด ตะกอนจุลินทรีย์สามารถใช้บิวทิเรตเป็นสารอาหารในการผลิตสาร PHA ได้สูงสุด รองลงมาคือ อะซิเตดและกลูโคส ตามลำดับ และความสามารถในการสะสมสาร PHA นั้นพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นสารอาหารจุลินทรีย์สามารถสะสมสาร PHA ได้เพิ่มขึ้นด้วย

4. ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเสียมีความสัมพันธ์กับปริมาณสาร PHA ที่เพิ่มขึ้นเพราะจุลินทรีย์สามารถนำคาร์โบไฮเดรตเปลี่ยนรูปเป็นกลัยโคเจนเพื่อนำไปใช้ในการผลิตสาร PHA โดยดูได้จากความสามารถของจุลินทรีย์ที่ผลิตสาร PHA ได้มากเมื่อมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตในน้ำเสียสูง

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาศักยภาพของตะกอนจุลินทรีย์โดยการดำเนินระบบแบบต่อเนื่องเพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการสะสมสาร PHA กับการทดลองแบบที่ละเท
2. ในการศึกษาครั้งต่อไปควรมีการวิเคราะห์หักกลัยโคเจนเพิ่มเติมเพื่อประกอบกับการจำแนกชนิดกลุ่มจุลินทรีย์ชนิด PAOs และ GAOs ในระบบได้อย่างชัดเจน
2. ควรมีการศึกษาผลของอายุตะกอนจุลินทรีย์และสัดส่วนของน้ำเสียสังเคราะห์ที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มอัตราการสะสมสาร PHA ให้สูงขึ้น

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

เฉลิมราช วันทวิน และอรรรณพ ฤทธิปัญญาวงศ์. 2545. การสังเคราะห์พีเอชเอในเซลล์จุลินทรีย์จากระบบปฏิบัติการสลับเป็นกะโดยใช้สารอาหารอะซิเตตและกลูโคส, วารสารวิจัยและพัฒนา มจร. 25(24) : 324 – 334.

ปิ้วรา บุตรวงศ์. 2546. การสังเคราะห์ PHA จากกระบวนการแอนแอโรบิก – แอโรบิก แยกทีละขั้นตอนที่ใช้บำบัดน้ำเสียต่างชนิดกัน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

พิจิตร เขียวม่วง. 2543. การศึกษาเบื้องต้นของปัจจัยที่ส่งผลต่อการสะสม PHA ในสัลด์จุลินทรีย์ของระบบแอนแอโรบิก – แอโรบิกเอสบีอาร์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ. สำนักพัฒนาเทคนิคการศึกษา. 2544. **พลาสติก 1.** สยามสปอร์ต ซินดิเคท, กรุงเทพฯ.

อรรรณพ ฤทธิปัญญาวงศ์. 2543. ผลของสารอินทรีย์คาร์บอนภายนอกต่าง ๆ กับการสังเคราะห์พีเอชเอในเซลล์จุลินทรีย์จากระบบแอนแอโรบิก – แอโรบิก แยกทีละขั้นตอน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

อรรรณกร ปาละสุวรรณ. 2541. การสังเคราะห์พอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอตจากอาหารที่มีกลูโคสและออกตาโนเอตโดย *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347. วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

Anderson, A.J. and E.A. Dawes. 1990. Occurrence, metabolism, metabolic role, and industrial uses of bacterial polyhydroxyalkanoates. **Microbiol. Rev.** 54: 450-472.

- Arun, V., T. Mino and T. Matsuo. 1988. Biological mechanism of acetate uptake mediated by carbohydrate consumption in excess phosphorus removal systems. **Water Res.** 22: 565 – 570.
- Ballard, D.G.H., P.A. Holmes and P.J. Snior. 1987. Formation of polyesters of β -hydroxybutyric acid in bacteria cell and a comparison of the morphology of growth the formation of polyethylene in the solid state. In M. Fontanille and A. Guyot (ed.) Recent advances in mechanistic and synthetic aspects of polymerization. 215: 239 – 314.
- Beun, J.J., F. Paletta, M.C.M. Van Loosdrecht, J.J. Heijnen. 2000a. Stoichiometry and kinetics of poly- β -hydroxybutyrate metabolism in aerobic, slow growing, activated sludge cultures. **Biotechnol. Bioeng.** 67: 379 – 389.
- Beun, J.J., E.V. Paletta Verhoef, M.C.M. Van Loosdrecht, J.J. Heijnen. 2000b. Stoichiometry and kinetics of poly- β -hydroxybutyrate metabolism under denitrifying conditions in activated sludge cultures. **Biotechnol. Bioeng.** 68: 496 – 507.
- Blackall, L.L., S. Rossetti, C. Christenson, M. Cunningham, P. Hartman, P. Hugenholtz, V. Tandoi. 1997. The characterization and description of representatives of “G” bacteria from activated sludge plant. **Lett. Appl. Microbiol.** 25: 63 – 69.
- Bond, P., P. Hugenholtz, J. Keller, L. Blackall. 1995. Bacterial community structures of phosphate removing and non-phosphate removing and non-phosphate removing activated sludge from sequencing batch reactor. **Appl. Environ. Microbiol.** 6: 1910 – 1916.
- Bunchen, L.J. 1983. Possible biological mechanism of phosphorus removal. **Water. Sci. Tech.** 15: 87 – 103.

- Bond, P.L., J. Keller., L.L. Blackall. 1999. Anaerobic phosphate release from activated sludge with enhanced biological phosphorus removal: a possible mechanism of intracellular pH control, **Biotech. Bioeng.** 63: 507–515.
- Brandl, H., R.A. Gross., R.W. Lenz., and R.C. Fuller. 1990. Plastic from bacteria: Poly(β - hydroxyalkanoates) as natural, biocompatible, and biodegradable polymers. **Adv. Biochem. Eng.** 41: 78 – 93.
- Brdjanovic, D., M.C.M. Van Loosdrecht., C.M. Hooijmans., T. Mino., G.J. Alaerts., J.J. Heijnen. 1999. Innovative methods for sludge characterization in biological phosphorus removal systems. **Water Sci. Tech.** 39 (6), 37–43.
- Byrom, D. 1987. Polymer synthesis by microorganism; technology and economic. **Tibtech.** 5: 246 – 250
- Byrom, D. 1992. Production of Poly- β -hydroxybutyrate: Poly- β - hydroxyvalerate copolymers. **FEMS Microbiol. Rev.** 103: 247-250.
- Chech, J.S., P. Hartman. 1990. Glucose induced break down of enhanced biological phosphorus removal. **Environ. Technol.** 2: 651 – 656.
- Christensson, M., L.L. Blackall., T. Welander. 1998. Metabolic transformations and characterization of the sludge community in anaerobic enhanced biological phosphorus removal system. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 49: 226 – 234.
- Chua H, P.H.F. Yu., L.Y. Ho. 1997. Coupling of wastewater treatment with storage polymer production. **Appl Biochem Biotechnol** (63):627–35.
- Comeau, Y., K.J. Hall., R.E.W. Hancock., R.E.W. Oldham. 1986. Biochemical model for enhanced biological phosphorus removal. **Water Res.** 20: 1511–1521.

- Crocetti, G.R., P. Hugenholtz., P.L. Bond., A. Schuler., J.Jenkins D Keller., L.L. Blackall. 2000. Identification of polyphosphate – accumulating organisms and design of r6S rRNA – directed probes for their detection and quantitation. **Appl. Environ. Microbiol.** 66: 1175 – 1182.
- Dave, H., C. Ramakrishna., and J.D. Desai. 1996 Production of polyhydroxybutyrate by petrochemical activated sludge and *Bacillus sp.* IPCB – 403. **Indian J. Exp. Biol.** 34: 216 – 219.
- Doi, Y., A. Tamaki., M. Kunioka., K. Soga. 1988. Production of copolyesters of 3-hydroxybutyrate and 3-hydroxyvalerate by *Alcaligenes eutrophus* from butyric and pentanoic acids. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 28: 330-334.
- Doi, Y., C. Abe. 1990. Biosynthesis and characterization of a new bacterial copolyester of 3-hydroxyalkanoates and 3-hydroxy- ω -chloroalkanoates. **Macromolecules.** 23: 3705-3707.
- Doi, Y., Y. Kawaguchi., N. Koyama., S. Nakamura., M. Hiramitsu., Y. Yoshida., U. Kimura. 1992. Synthesis and degradation of polyhydroxyalkanoates in *Alcaligenes eutrophus*. **FEMS Microbiol. Rev.** 103: 103-108.
- Evan, D.J. and K.S. Sikdar. 1990. Biodegradable plastic. **Chemtech.** 5: 38 – 42.
- Fang, H.H.P. and Y. Liu. 2000. Intracellular polymers in aerobic sludge of sequencing batch reactors. **J Environ Eng** (126):723–38.
- Fuhs, G.W. and Min Chen. 1975. Microbiological basis of phosphate removal in the activated sludge process for the treatment of wastewater. **Microb. Ecol.** 2: 119 – 138.

- Griffin, G.J.L. 1994. **Chemistry and Technology of Biodegradable Polymers**. London: Blackie academic and Professional.
- Haywood, A.C. 1958. Poly - β - hydroxybutyrate inclusion in the classification of aerobic gram negative bacteria. **Proc. Soc. Gen. Microbioa**. 56: ii – iii.
- Hesselmann, R.P.X., C. Werlen., D. Hahn., J.R. Vander Meer., A.J.B. Zehnder. 1999. Enrichment, phylogenetic analysis and detection of a bacterium that performs enhanced biological phosphate removal in activated sludge. **Syst. Appl. Microbiol**. 22: 454 – 465.
- Hiraishi, A., K. Masamune., H. Kittamura. 1989. Characterization of the bacterial population structure in anaerobic – aerobic activated sludge system on the basis of respiratory quinone profiles. **Appl. Environ. Microbiol**. 30: 32 – 36.
- Kampfer, P., R. Erhart., C. Beimfohr., J. Bohrer., M. Wagner., R. Amann. 1996. Characterization of bacterial communities from activated sludge : culture dependent numerical identification versus in situ identification using group- and genus-specific rRNA - targeted Oligonucleotide probes. **Microb. Ecol**. 32: 101 – 121.
- Holmes, P.A. 1985. Applications polyhydroxybutyrate—a microbially produced biodegradable thermoplastics. **Phys Technol**. 16: 32–6.
- Hu, W.F., H. Chua., P.H.F. Yu. 1997. Synthesis of poly(hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) from activated sludge. **Biotechnol Lett** ; 19(7):695–8.
- Lee, S.Y. 1996a. Plastic bacteria? Progress and prospects for polyhydroxyalkanoates production in bacteria. **Tibtech**. (14):431–8.
- Lemoigne, M. 1926. Produit de déshydratation et de polymérisation del'acide β -oxybutyrique. **Bull. Soc. Chim. Biol**. 8: 770-782.

- Liu, W.T., T. Mino., K. Nakamura., T. Matsuo., 1994. Role of glycogen in acetate uptake and polyhydroxyalkanoate synthesis in anaerobic-aerobic activated sludge with a minimized polyphosphate content. **J. Ferment. Bioeng.** 77 (5), 535–540.
- Liu, W.T., T. Mino., T. Matsuo., K. Nakamura. 1996. Biological phosphorus removal processes – effect of pH on anaerobic substrate metabolism, **Water Sci. Tech.** 34: 5 – 32.
- Liu, S.J., A. Steinbüchel. 2000. Exploitation of butyrate kinase and phosphotransbutyrylase from *Clostridium acetobutylicum* for the in vitro biosynthesis of poly(hydroxyalkanoic acid). **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 53: 545–552.
- Macrae, R.M., and J.F. Wilkinson. 1958. Poly- β -hydroxybutyrate metabolism in washed suspensions of *Bacillus cereus* and *Bacillus megaterium*. **J. Gen. Microbiol.** 19: 210 – 222.
- Madison, L.L. and G.W. Huisman. 1999. Metabolic engineering engineering of poly(3 – hydroxyalkanoates) from DNA to plastic. **Microbiol. Mole. Biol. Rev.** 63: 21 – 53.
- Maszenan, A.M., Seviour, R.J., Patel, B.K.C., Schumann, P., and Rees, G. N. 1999
Tessaacoccus bendigoensis gen. nov., sp. Nov., a Gram-positive coccus occurring in regular packages or tetrads, isolated from activated sludge biomass, **Int. J. Syst. Bacteriol.** 49, 459-468.
- Maszenan, A.M., R.J. Seviour., B.K.C. Patel., G.N. Rees and B. M. McDougall. 1997
Amaricoccus gen. nov., a Gram-negative coccus occurring in regular packages or tetrads, isolated from activated sludge biomass, and descriptions of *Amaricoccus veronensis* sp. nov., *Amaricoccus tamworthensis* sp. nov., *Amaricoccus macauensis* sp. nov., and *Amaricoccus kaplicensis* sp. nov. **Int. J. Syst. Bacteriol.** 47, 727-734

- Mino, T., V. Arun., Y. Tsuzuki., T. Matsuo., 1987. **Effect of phosphorus accumulation on acetate metabolism in the biological phosphorus removal process.** In: Proceedings IAWPRC International Conference on Biological Phosphate Removal from Wastewaters, Rome, Advances in Water Pollution Control, Oxford, pp. 27–38
- Mino, T., M.C.M. Van Loosdrecht., J.J. Heijnen. 1998. Microbiology and biochemistry of the enhanced biological phosphate removal process. **Water Res.** ;32(11):3193–207.
- Nakamura, K., A. Hiraishi., Y. Yoshimi., M. Kawaharrasaki., K. Masuda., Y. Kamagata. 1995. *Micrococcus phosphovorans* gen. nov., sp. nov., a new Gram-positive Polyphosphate accumulating bacterium isolated from activated sludge. **Int. J. Syst. Bacteriol.** 45, 17-22.
- Nielsen, A.T. W.T. Liu., C. Filipe., L. Jr. Grady., S. Molin., S-M. Stahl. 1999. Identification of a novel group of bacteria in sludge from a deteriorated biological Phosphorus removal reactor, **Appl. Environ. Microbiol.** 65, 1251-1258.
- Nicholls, H.A. and D.W. Osborn. 1979. Bacterial stress: prerequisite for biological removal of phosphorus, **J. water Pollut. Control Fed.**, 51(3), 557
- Saito, Y., T. Soejima., T. Tomozawa., Y. Doi., F. Kiya. 1995. Production of biodegradable plastics from volatile acids using activated sludge. **J. Environ. Syst. Eng.** (521):145–54 (In Japanese).
- Saito, Y. and Y. Doi. 1993. Biosynthesis of poly(3-hydroxyalkanoates) in *Pseudomonas aeruginosa* AO-232 from ¹³C-labeled acetate and propionate. **Int. J. Biol. Macromol.** 15: 287-292.

- Satoh, H., T. Mino., T. Matsuo., 1992. Uptake of Organic Substrates and Accumulation of Polyhydroxyalkanoates Linked with Glycolysis of Intracellular Carbohydrates Under Anaerobic Conditions in the Biological Excess Phosphate Removal Processes. **Water Sci. Tech.**
- Satoh, H., T. Mino., T. Matsuo., 1994. Deterioration of Enhanced Biological Phosphorus Removal by the Domination of Microorganisms Without Polyphosphate Accumulation. **Water Sci. Tech.** 30 (6), 203–211.
- Satoh, H., I. Iwamoto., T. Mino., T. Matsuo. 1998. Activated sludge as a possible source of biodegradable plastic. **Water Sci Tech.** (38):103–9.
- Satoh, H., T. Mino., T. Matsuo. 1999. PHA production by activated sludge. **Int. J. Biol. Macromol.** (25):105–9.
- Satoh, H. and T. Mino. 2001. Production of PHAs from activated sludge. In: Doi Y, Steinbuchel A, editors. **Biopolymers, vol. 3a.** New York: Wiley VCH :p. 337–52.
- Sudiana, I.M., T. Mino., H. Satoh., K. Nakamura. and T. Matsuo. 1999. Metabolism of Enhanced Biological Phosphorus Removal and Non - Enhanced Biological Phosphorus Removal Sludge with glucose as Carbon Source. **Water Sci. Tech.** 39 (6), 29 – 35.
- Ueno. T., H. Satoh., T. Mino., T. Matsuo. 1993. Production of biodegradable plastics. **Polym Preprints Jpn.** 42(9): 3673–5 (In Japanese).
- Valentin, H.E., P.A. Berger., K. J. Gruys. 1999. Biosynthesis and characterization of poly(3-hydroxy-4-pentenoic acid). **Macromolecules.** 32(22):7389–95.
- Witholt, B. and B. Kessler. 1999. Perspectives of medium chain length poly(hydroxyalkanoates), a versatile set of bacterial bioplastics. **Current Opinion in Biotechnology.** 10: 279–285.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก**ผลการทดลองแบบทีละทีโดยใช้ตะกอนจุลินทรีย์ที่ไม่มีการปรับสภาพ**

ตารางผนวกที่ 1 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
โรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด ควบคุมความเข้มข้นตะกอนเท่ากับ 2,000 mgC/l

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0913	0.0669	0.1581	7.9068	0.4836	0.1789
2	0.1098	0.0554	0.1652	8.2610	0.3832	0.1250
4	0.1016	0.0526	0.1541	7.7063	0.3457	0.1020
6	0.1081	0.0627	0.1708	8.5406	0.3287	0.0860
8	0.0979	0.0742	0.1721	8.6062	0.3050	0.0670
10	0.1856	0.0931	0.2788	13.9389	0.2034	0.0430
12	0.2206	0.0971	0.3177	15.8873	0.1091	0.0210
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1789	0.1098	0.2887	14.4340	0.7586	0.2807
2	0.0430	0.0274	0.0704	3.5179	0.7688	0.1860
4	0.1628	0.0962	0.2590	12.9491	0.7116	0.1640
6	0.1948	0.1190	0.3138	15.6888	0.7200	0.1250
8	0.0525	0.0334	0.0859	4.2960	0.9546	0.1020
10	0.1081	0.0778	0.1858	9.2910	0.7538	0.0860
12	0.1174	0.0852	0.2025	10.1269	0.6268	0.0670
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0461	0.0447	0.0908	4.5391	1.2303	0.4552
2	0.0717	0.0448	0.1165	5.8272	1.1520	0.3150
4	0.0459	0.0239	0.0697	3.4860	1.0656	0.2870
6	0.0451	0.0547	0.0998	4.9907	1.0751	0.2530
8	0.0473	0.0250	0.0723	3.6147	0.9484	0.2150
10	0.0326	0.0206	0.0531	2.6568	0.8033	0.1860
12	0.0622	0.0427	0.1049	5.2447	0.3866	0.1340

ตารางผนวกที่ 2 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้อะซิเตดเป็นสารอาหารในสภาวะเดิมอากาศ
โรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.2549	0.1428	0.3977	19.8857	0.4026	0.1490
2	0.4792	0.0906	0.5698	28.4914	0.2180	0.0870
4	0.3933	0.1434	0.5367	26.8343	0.1905	0.0680
6	0.2792	0.1711	0.4503	22.5154	0.1633	0.0560
8	0.1687	0.1438	0.3124	15.6213	0.1510	0.0430
10	0.1726	0.1490	0.3216	16.0804	0.1070	0.0320
12	0.1503	0.0883	0.2386	11.9287	0.0755	0.0260
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1416	0.0810	0.2226	11.1298	0.8400	0.3108
2	0.3947	0.0714	0.4661	23.3050	0.7268	0.2020
4	0.5881	0.0604	0.6485	32.4241	0.7106	0.1960
6	0.3194	0.0377	0.3570	17.8523	0.6330	0.1240
8	0.2703	0.1005	0.3709	18.5437	0.5768	0.1100
10	0.1512	0.0658	0.2170	10.8494	0.3888	0.0870
12	0.2940	0.0327	0.3267	16.3341	0.3054	0.0430
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0648	0.0348	0.0996	4.9791	1.1075	0.4098
2	0.4148	0.0665	0.4813	24.0658	1.0323	0.3100
4	0.7480	0.2302	0.9782	48.9109	0.8882	0.2560
6	0.2791	0.1102	0.3894	19.4682	0.5454	0.2010
8	0.0795	0.0511	0.1306	6.5303	0.4631	0.1680
10	0.1969	0.1998	0.3967	19.8336	0.3542	0.1350
12	0.1193	0.2093	0.3286	16.4298	0.3376	0.1020

ตารางผนวกที่ 3 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
โรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0205	0.0003	0.0208	1.0381	0.4160	0.3162
2	0.0096	0.0007	0.0103	0.5129	0.2656	0.2340
4	0.0132	0.0004	0.0136	0.6802	0.3350	0.1820
6	0.0190	0.0008	0.0199	0.9935	0.3160	0.1270
8	0.0221	0.0009	0.0230	1.1501	0.2870	0.0940
10	0.0197	0.0008	0.0205	1.0251	0.2560	0.0670
12	0.0201	0.0008	0.0208	1.0423	0.2410	0.0530
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0121	0.0004	0.0126	0.6294	0.7980	0.6065
2	0.0138	0.0008	0.0145	0.7271	0.7490	0.4680
4	0.0159	0.0003	0.0162	0.8112	0.7160	0.3150
6	0.0156	0.0008	0.0164	0.8191	0.6680	0.2560
8	0.0137	0.0002	0.0139	0.6931	0.6350	0.2140
10	0.0125	0.0005	0.0129	0.6463	0.6180	0.1860
12	0.0036	0.0000	0.0036	0.1797	0.5870	0.1350
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0210	0.0003	0.0213	1.0663	0.6480	0.2510
2	0.0149	0.0005	0.0155	0.7732	1.2780	0.9713
4	0.0140	0.0005	0.0145	0.7227	0.9640	0.6150
6	0.0174	0.0004	0.0178	0.8892	0.8670	0.5230
8	0.0134	0.0007	0.0141	0.7069	0.8340	0.4850
10	0.0120	0.0003	0.0123	0.6146	0.7860	0.3020
12	0.0154	0.0003	0.0157	0.7844	0.7460	0.2750

ตารางผนวกที่ 4 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะเดิมอากาศ
โรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0249	0.0009	0.0258	1.2899	0.4250	0.3230
2	0.0212	0.0007	0.0220	1.0984	0.3448	0.2340
4	0.2009	0.0018	0.2027	10.1344	0.2705	0.1960
6	0.2001	0.0074	0.2074	10.3723	0.2333	0.1580
8	0.0391	0.0011	0.0402	2.0122	0.2840	0.1200
10	0.0235	0.0002	0.0236	1.1822	0.2760	0.0880
12	0.0144	0.0007	0.0151	0.7540	0.2610	0.0420
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0143	0.0005	0.0148	0.7384	0.8540	0.6490
2	0.0528	0.0015	0.0543	2.7128	0.7680	0.4260
4	0.0259	0.0005	0.0264	1.3186	0.7410	0.3480
6	0.0180	0.0003	0.0183	0.9131	0.7320	0.2560
8	0.0069	0.0001	0.0070	0.3508	0.7160	0.1570
10	0.0148	0.0003	0.0151	0.7557	0.6420	0.1250
12	0.0201	0.0004	0.0205	1.0226	0.6120	0.1020
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0255	0.0002	0.0257	1.2862	1.2240	0.9302
2	0.0180	0.0004	0.0184	0.9223	1.1050	0.7480
4	0.0179	0.0005	0.0184	0.9206	0.9570	0.6130
6	0.0185	0.0001	0.0186	0.9298	0.9230	0.5340
8	0.0218	0.0004	0.0222	1.1091	0.8670	0.5160
10	0.0081	0.0001	0.0081	0.4064	0.8460	0.4230
12	0.0224	0.0005	0.0229	1.1427	0.7160	0.3180

ตารางผนวกที่ 5 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้ชีวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
โรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0278	0.0021	0.0299	1.4957	0.4160	0.1539
2	0.0098	0.0011	0.0109	0.5426	0.3338	0.0980
4	0.0187	0.0011	0.0199	0.9936	0.3040	0.0760
6	0.0250	0.0015	0.0266	1.3276	0.2850	0.0680
8	0.0367	0.0020	0.0386	1.9320	0.2610	0.0540
10	0.0466	0.0020	0.0487	2.4334	0.1980	0.0480
12	0.0396	0.0014	0.0409	2.0463	0.1530	0.0320
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0169	0.0011	0.0180	0.9008	0.8840	0.3271
2	0.0168	0.0015	0.0183	0.9167	0.7530	0.2670
4	0.0277	0.0017	0.0293	1.4672	0.7160	0.2100
6	0.0371	0.0018	0.0389	1.9428	0.6870	0.1680
8	0.0370	0.0015	0.0385	1.9245	0.6180	0.1340
10	0.0507	0.0026	0.0534	2.6688	0.5870	0.1080
12	0.0565	0.0023	0.0588	2.9424	0.5460	0.0670
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0200	0.0020	0.0220	1.1009	1.2580	0.4655
2	0.0167	0.0019	0.0185	0.9272	0.9250	0.2850
4	0.0196	0.0019	0.0216	1.0777	0.8460	0.1680
6	0.0210	0.0019	0.0229	1.1460	0.7870	0.1270
8	0.1115	0.0016	0.1131	5.6560	0.6980	0.1050
10	0.0307	0.0017	0.0324	1.6202	0.5860	0.0860
12	0.2132	0.0028	0.2160	10.7982	0.5430	0.0340

ตารางผนวกที่ 6 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้บัวที่เรตเป็นสารอาหารในสภาวะเดิมอากาศ
โรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0157	0.0016	0.0173	0.8655	0.4350	0.1610
2	0.0608	0.0017	0.0625	3.1247	0.3480	0.0940
4	0.1313	0.0012	0.1325	6.6263	0.2680	0.0850
6	0.1972	0.0020	0.1992	9.9619	0.2430	0.0610
8	0.4213	0.0026	0.4239	21.1942	0.1970	0.0530
10	0.1946	0.0019	0.1964	9.8220	0.1530	0.0490
12	0.6255	0.0034	0.6289	31.4463	0.0880	0.0370
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0206	0.0009	0.0215	1.0772	0.9240	0.3419
2	0.0663	0.0017	0.0679	3.3974	0.7680	0.2800
4	0.0708	0.0019	0.0727	3.6352	0.6910	0.2510
6	0.2159	0.0022	0.2181	10.9059	0.5710	0.2030
8	0.2581	0.0028	0.2609	13.0469	0.4930	0.1430
10	0.3959	0.0022	0.3981	19.9058	0.3680	0.0810
12	0.5112	0.0058	0.5170	25.8512	0.3210	0.0540
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0154	0.0005	0.0159	0.7943	1.2410	0.4592
2	0.1035	0.0018	0.1053	5.2660	0.9120	0.2870
4	0.1598	0.0017	0.1615	8.0735	0.8690	0.2340
6	0.2070	0.0020	0.2091	10.4543	0.7460	0.1670
8	0.1986	0.0028	0.2014	10.0702	0.6480	0.1430
10	0.3382	0.0028	0.3410	17.0493	0.5890	0.0880
12	0.0741	0.0034	0.0775	3.8755	0.4260	0.0640

ตารางผนวกที่ 7 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้อะซิเตดเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน)

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1017	0.0034	0.1051	5.2526	0.4694	0.1737
2	0.0636	0.0026	0.0662	3.3075	0.3290	0.1060
4	0.0660	0.0032	0.0692	3.4615	0.2570	0.0940
6	0.0897	0.0040	0.0937	4.6829	0.2230	0.0830
8	0.0886	0.0047	0.0934	4.6684	0.1890	0.0750
10	0.0965	0.0047	0.1012	5.0615	0.1670	0.0540
12	0.1154	0.0070	0.1224	6.1199	0.1220	0.0380
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0767	0.0035	0.0802	4.0122	0.7638	0.2826
2	0.0898	0.0032	0.0930	4.6514	0.6150	0.2060
4	0.0983	0.0033	0.1015	5.0774	0.5890	0.1870
6	0.0962	0.0034	0.0996	4.9782	0.4356	0.1320
8	0.1009	0.0037	0.1047	5.2342	0.3480	0.1050
10	0.1071	0.0029	0.1100	5.5002	0.3140	0.0880
12	0.1124	0.0037	0.1161	5.8043	0.2150	0.0480
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1082	0.0051	0.1132	5.6604	1.2905	0.4775
2	0.1125	0.0039	0.1164	5.8191	1.0780	0.3180
4	0.1115	0.0041	0.1155	5.7762	0.9160	0.2670
6	0.1183	0.0043	0.1226	6.1297	0.8760	0.2480
8	0.1225	0.0040	0.1265	6.3236	0.6480	0.2030
10	0.1239	0.0049	0.1288	6.4419	0.5880	0.1670
12	0.1420	0.0046	0.1466	7.3308	0.4260	0.1200

ตารางผนวกที่ 8 ผลการทดลองแบบที่ละเทโดยใช้อะซิเตดเป็นสารอาหารในสภาวะเติมอากาศ
บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน)

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0746	0.0027	0.0773	3.8635	0.4325	0.1600
2	0.1186	0.0028	0.1215	6.0725	0.3150	0.0890
4	0.2420	0.0035	0.2455	12.2745	0.2670	0.0670
6	0.2446	0.0037	0.2483	12.4130	0.2180	0.0510
8	0.2241	0.0036	0.2278	11.3897	0.1960	0.0480
10	0.2260	0.0041	0.2301	11.5042	0.1340	0.0370
12	0.2020	0.0029	0.2050	10.2485	0.1120	0.0310
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1078	0.0025	0.1103	5.5174	0.8031	0.2972
2	0.1282	0.0023	0.1306	6.5287	0.7460	0.2180
4	0.1301	0.0027	0.1328	6.6385	0.6180	0.1970
6	0.1686	0.0037	0.1723	8.6153	0.5670	0.1530
8	0.1592	0.0032	0.1624	8.1188	0.5310	0.1240
10	0.1744	0.0035	0.1778	8.8924	0.4260	0.0830
12	0.1939	0.0039	0.1978	9.8889	0.3940	0.0610
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1166	0.0036	0.1202	6.0121	1.2080	0.4470
2	0.1264	0.0035	0.1299	6.4959	0.9570	0.2480
4	0.1333	0.0038	0.1371	6.8528	0.8770	0.2190
6	0.1827	0.0031	0.1859	9.2944	0.6180	0.1810
8	0.1855	0.0033	0.1888	9.4401	0.5440	0.1340
10	0.1892	0.0031	0.1923	9.6156	0.4280	0.1190
12	0.2035	0.0039	0.2075	10.3744	0.3780	0.0570

ตารางผนวกที่ 9 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน)

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0318	0.0004	0.0322	1.6093	0.4160	0.3162
2	0.0198	0.0004	0.0201	1.0066	0.3560	0.2350
4	0.0218	0.0006	0.0224	1.1204	0.3180	0.1820
6	0.0415	0.0008	0.0422	2.1124	0.2760	0.1650
8	0.0265	0.0004	0.0269	1.3435	0.2390	0.1400
10	0.0210	0.0004	0.0214	1.0690	0.2070	0.1260
12	0.0219	0.0003	0.0223	1.1133	0.1680	0.0830
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0173	0.0003	0.0176	0.8784	0.7860	0.5974
2	0.0219	0.0003	0.0222	1.1111	0.6490	0.3750
4	0.0218	0.0003	0.0222	1.1080	0.6240	0.3160
6	0.0141	0.0002	0.0143	0.7171	0.5370	0.2840
8	0.0208	0.0004	0.0212	1.0583	0.4680	0.2060
10	0.0211	0.0004	0.0214	1.0719	0.3820	0.1680
12	0.0240	0.0003	0.0244	1.2199	0.2970	0.1250
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0227	0.0003	0.0230	1.1506	1.2530	0.9523
2	0.0237	0.0004	0.0241	1.2036	0.9670	0.7260
4	0.0452	0.0006	0.0458	2.2907	0.8540	0.6410
6	0.0288	0.0003	0.0291	1.4537	0.7550	0.5620
8	0.0256	0.0003	0.0259	1.2970	0.6480	0.5070
10	0.0248	0.0003	0.0251	1.2556	0.5390	0.4380
12	0.0172	0.0004	0.0176	0.8783	0.4120	0.2480

ตารางผนวกที่ 10 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะเติมอากาศ
บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน)

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0300	0.0006	0.0306	1.5302	0.4310	0.3276
2	0.0235	0.0003	0.0238	1.1912	0.3448	0.2160
4	0.0325	0.0005	0.0331	1.6545	0.3120	0.1970
6	0.0173	0.0007	0.0179	0.8967	0.2760	0.1240
8	0.0284	0.0004	0.0288	1.4396	0.2510	0.1090
10	0.0465	0.0004	0.0469	2.3452	0.2340	0.0860
12	0.0223	0.0003	0.0226	1.1280	0.2010	0.0640
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0217	0.0006	0.0223	1.1144	0.8240	0.6262
2	0.0108	0.0001	0.0108	0.5423	0.7180	0.4260
4	0.0307	0.0007	0.0314	1.5698	0.6580	0.3480
6	0.0341	0.0007	0.0349	1.7432	0.6240	0.2860
8	0.0425	0.0009	0.0434	2.1705	0.5190	0.2150
10	0.0583	0.0009	0.0592	2.9617	0.4670	0.1920
12	0.0389	0.0005	0.0394	1.9715	0.3570	0.1240
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0195	0.0003	0.0198	0.9897	1.2140	0.9226
2	0.0224	0.0004	0.0228	1.1399	1.0670	0.7230
4	0.0224	0.0003	0.0227	1.1351	0.9340	0.6180
6	0.0185	0.0004	0.0189	0.9470	0.8160	0.5140
8	0.0018	0.0002	0.0020	0.1022	0.7520	0.4260
10	0.0213	0.0004	0.0217	1.0829	0.6510	0.3850
12	0.0233	0.0003	0.0237	1.1830	0.4250	0.2460

ตารางผนวกที่ 11 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน)

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0907	0.0004	0.0912	4.5577	0.4270	0.1580
2	0.1016	0.0009	0.1025	5.1238	0.3160	0.1030
4	0.1093	0.0007	0.1100	5.5004	0.2880	0.0970
6	0.1714	0.0008	0.1723	8.6137	0.2500	0.0850
8	0.0824	0.0007	0.0831	4.1555	0.2340	0.0720
10	0.1241	0.0008	0.1249	6.2458	0.1120	0.0610
12	0.2562	0.0018	0.2580	12.9022	0.0940	0.0450
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1066	0.0007	0.1072	5.3619	0.8460	0.3130
2	0.0794	0.0007	0.0801	4.0071	0.7560	0.2380
4	0.1094	0.0009	0.1103	5.5130	0.7240	0.2060
6	0.1046	0.0010	0.1056	5.2809	0.6420	0.1780
8	0.1314	0.0016	0.1330	6.6499	0.5260	0.1580
10	0.1531	0.0012	0.1543	7.7127	0.4680	0.1120
12	0.4000	0.0043	0.4043	20.2145	0.4350	0.0680
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1272	0.0008	0.1280	6.4005	1.2360	0.4573
2	0.1213	0.0010	0.1223	6.1156	0.9670	0.3240
4	0.1068	0.0007	0.1076	5.3794	0.8750	0.2890
6	0.1735	0.0011	0.1746	8.7283	0.7430	0.2670
8	0.2150	0.0015	0.2164	10.8223	0.6890	0.2430
10	0.1441	0.0012	0.1454	7.2686	0.5340	0.2130
12	0.1469	0.0012	0.1481	7.4059	0.5240	0.1670

ตารางผนวกที่ 12 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะเดิมอากาศ
บริษัทเสริมสุข จำกัด (มหาชน)

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1304	0.0008	0.1313	6.5634	0.4220	0.1561
2	0.0584	0.0006	0.0591	2.9548	0.2680	0.1060
4	0.1848	0.0016	0.1864	9.3208	0.2310	0.0940
6	0.1597	0.0006	0.1604	8.0176	0.1970	0.0670
8	0.1198	0.0006	0.1204	6.0207	0.1640	0.0530
10	0.1123	0.0014	0.1136	5.6820	0.1340	0.0450
12	0.0746	0.0010	0.0756	3.7797	0.1040	0.0380
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0597	0.0005	0.0602	3.0079	0.8270	0.3060
2	0.0853	0.0009	0.0862	4.3120	0.6840	0.2430
4	0.0744	0.0001	0.0744	3.7216	0.6130	0.2060
6	0.0608	0.0002	0.0610	3.0499	0.5760	0.1860
8	0.0549	0.0004	0.0553	2.7673	0.5980	0.1570
10	0.1263	0.0020	0.1283	6.4175	0.4650	0.1080
12	0.0632	0.0007	0.0639	3.1963	0.4260	0.0640
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0624	0.0002	0.0626	3.1287	1.2450	0.4607
2	0.0485	0.0000	0.0485	2.4252	0.9040	0.3150
4	0.0691	0.0008	0.0699	3.4966	0.8760	0.2860
6	0.0609	0.0006	0.0615	3.0733	0.7650	0.2150
8	0.0679	0.0001	0.0679	3.3964	0.7240	0.1870
10	0.0703	0.0000	0.0704	3.5175	0.6840	0.1320
12	0.0794	0.0007	0.0801	4.0048	0.5670	0.1100

ตารางผนวกที่ 13 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้อะซิเตดเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
บริษัท กรีนสปอต จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0228	0.0022	0.0250	1.2525	0.4130	0.1528
2	0.0349	0.0015	0.0365	1.8233	0.3760	0.1060
4	0.0338	0.0013	0.0351	1.7554	0.3460	0.0870
6	0.0347	0.0008	0.0355	1.7759	0.3110	0.0680
8	0.0369	0.0016	0.0385	1.9263	0.2870	0.0560
10	0.0343	0.0012	0.0355	1.7768	0.2680	0.0420
12	0.0403	0.0009	0.0412	2.0603	0.2140	0.0340
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1381	0.0043	0.1424	7.1206	0.8430	0.3119
2	0.1420	0.0016	0.1436	7.1792	0.7650	0.2130
4	0.1342	0.0020	0.1362	6.8081	0.6890	0.1490
6	0.1296	0.0017	0.1313	6.5646	0.6410	0.1110
8	0.1345	0.0019	0.1364	6.8185	0.5860	0.0860
10	0.1577	0.0036	0.1613	8.0649	0.4670	0.0750
12	0.1935	0.0021	0.1956	9.7811	0.3780	0.0430
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1164	0.0017	0.1181	5.9058	1.1860	0.4388
2	0.1263	0.0018	0.1281	6.4043	0.9430	0.2860
4	0.1145	0.0014	0.1160	5.7979	0.8860	0.2130
6	0.1067	0.0015	0.1082	5.4113	0.7590	0.1950
8	0.1851	0.0025	0.1876	9.3819	0.7140	0.1640
10	0.2426	0.0048	0.2475	12.3734	0.6820	0.1230
12	0.2482	0.0050	0.2532	12.6604	0.5110	0.1100

ตารางผนวกที่ 14 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้อะซิเตดเป็นสารอาหารในสภาวะเดิมอากาศ
บริษัท กรีนสปอต จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0234	0.0009	0.0243	1.2150	0.4210	0.1558
2	0.0265	0.0013	0.0278	1.3898	0.3640	0.0970
4	0.0252	0.0018	0.0270	1.3516	0.3120	0.0860
6	0.0258	0.0016	0.0274	1.3682	0.2890	0.0710
8	0.0276	0.0010	0.0287	1.4344	0.2460	0.0680
10	0.0567	0.0014	0.0582	2.9076	0.2310	0.0520
12	0.0655	0.0029	0.0684	3.4205	0.2100	0.0410
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0811	0.0026	0.0836	4.1823	0.8950	0.3312
2	0.0926	0.0021	0.0948	4.7377	0.7640	0.2870
4	0.0943	0.0022	0.0965	4.8272	0.7210	0.1970
6	0.0956	0.0032	0.0988	4.9413	0.6410	0.1530
8	0.0940	0.0046	0.0986	4.9288	0.6130	0.1240
10	0.0933	0.0042	0.0975	4.8749	0.5220	0.0970
12	0.0998	0.0037	0.1035	5.1753	0.4670	0.0680
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1023	0.0012	0.1035	5.1738	1.2014	0.4445
2	0.1844	0.0013	0.1858	9.2889	0.8640	0.3180
4	0.2150	0.0018	0.2168	10.8424	0.8288	0.2640
6	0.1970	0.0025	0.1994	9.9715	0.7880	0.2130
8	0.2496	0.0024	0.2520	12.6004	0.6580	0.1530
10	0.2987	0.0039	0.3025	15.1260	0.6350	0.1190
12	0.3103	0.0040	0.3144	15.7175	0.4210	0.0560

ตารางผนวกที่ 15 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
บริษัท กรีนสปอต จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1961	0.0252	0.2214	11.0685	0.4056	0.3083
2	0.2018	0.0178	0.2196	10.9797	0.2656	0.2110
4	0.1636	0.0206	0.1842	9.2076	0.2332	0.1960
6	0.1226	0.0104	0.1330	6.6508	0.2012	0.1480
8	0.1504	0.0167	0.1671	8.3549	0.1664	0.1030
10	0.1474	0.0105	0.1579	7.8944	0.1496	0.0780
12	0.3158	0.0168	0.3326	16.6297	0.1124	0.0520
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.2488	0.0231	0.2719	13.5972	0.7874	0.5984
2	0.1793	0.0152	0.1945	9.7237	0.6740	0.3890
4	0.1271	0.0046	0.1317	6.5831	0.6340	0.3120
6	0.2553	0.0061	0.2613	13.0656	0.5990	0.2860
8	0.1615	0.0081	0.1696	8.4817	0.5120	0.2510
10	0.2984	0.0129	0.3113	15.5638	0.4870	0.1680
12	0.2073	0.0229	0.2301	11.5075	0.4570	0.1120
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.2421	0.0367	0.2789	13.9427	1.2902	0.9805
2	0.0886	0.0137	0.1023	5.1137	0.9420	0.6130
4	0.1280	0.0075	0.1355	6.7725	0.8770	0.5480
6	0.2135	0.0098	0.2233	11.1650	0.8160	0.4190
8	0.1427	0.0108	0.1535	7.6752	0.7360	0.3540
10	0.3321	0.0281	0.3602	18.0078	0.7100	0.2880
12	0.1320	0.0124	0.1445	7.2226	0.6480	0.1200

ตารางผนวกที่ 16 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะเติมอากาศ
บริษัท กรีนสปอต จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1842	0.0232	0.2074	10.3682	0.4435	0.3370
2	0.2244	0.0219	0.2463	12.3146	0.3448	0.2430
4	0.1855	0.0305	0.2160	10.7989	0.2705	0.2160
6	0.1946	0.0225	0.2171	10.8564	0.2333	0.1680
8	0.2123	0.0168	0.2291	11.4553	0.1865	0.1430
10	0.1931	0.0099	0.2030	10.1510	0.1665	0.1020
12	0.2234	0.0209	0.2444	12.2187	0.1098	0.0780
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.2045	0.0193	0.2238	11.1918	0.8443	0.6417
2	0.1835	0.0153	0.1989	9.9442	0.6576	0.3870
4	0.2222	0.0084	0.2306	11.5287	0.5688	0.3460
6	0.2606	0.0057	0.2663	13.3159	0.5204	0.3150
8	0.2831	0.0177	0.3008	15.0403	0.6580	0.2680
10	0.2907	0.0141	0.3048	15.2409	0.5380	0.1990
12	0.2930	0.0325	0.3255	16.2739	0.4260	0.1150
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1785	0.0156	0.1941	9.7046	1.2108	0.9202
2	0.1908	0.0147	0.2055	10.2747	0.9650	0.5610
4	0.2091	0.0145	0.2236	11.1803	0.9080	0.4160
6	0.1950	0.0132	0.2082	10.4122	0.8760	0.3590
8	0.3027	0.0265	0.3292	16.4604	0.8160	0.2740
10	0.2962	0.0036	0.2998	14.9900	0.7260	0.2160
12	0.3717	0.0261	0.3978	19.8897	0.6120	0.1140

ตารางผนวกที่ 17 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
บริษัท กรีนสปอต จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1632	0.0094	0.1726	8.6323	0.4510	0.1669
2	0.1182	0.0050	0.1232	6.1606	0.2860	0.0940
4	0.1391	0.0069	0.1460	7.2984	0.3330	0.0820
6	0.1623	0.0052	0.1675	8.3767	0.2480	0.0670
8	0.1685	0.0085	0.1770	8.8499	0.2190	0.0420
10	0.1517	0.0059	0.1576	7.8790	0.1155	0.0310
12	0.3996	0.0092	0.4089	20.4428	0.1077	0.0260
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1772	0.0077	0.1849	9.2440	0.8812	0.3260
2	0.1125	0.0045	0.1170	5.8507	0.6980	0.2410
4	0.1172	0.0069	0.1240	6.2024	0.6320	0.1980
6	0.1136	0.0055	0.1191	5.9530	0.5760	0.1350
8	0.1786	0.0042	0.1828	9.1396	0.5220	0.0860
10	0.1191	0.0071	0.1262	6.3095	0.4680	0.0640
12	0.2641	0.0067	0.2709	13.5445	0.4310	0.0360
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1086	0.0062	0.1148	5.7414	1.2340	0.4566
2	0.2084	0.0099	0.2183	10.9159	1.0650	0.2680
4	0.1657	0.0072	0.1730	8.6476	0.9240	0.2160
6	0.0658	0.0047	0.0705	3.5267	0.6780	0.1590
8	0.0934	0.0070	0.1004	5.0205	0.5598	0.1020
10	0.1019	0.0065	0.1084	5.4208	0.4460	0.0840
12	0.0167	0.0019	0.0186	0.9294	0.7150	0.0530

ตารางผนวกที่ 18 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะเดิมอากาศ
บริษัท กรีนสปอต จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1229	0.0053	0.1282	6.4113	0.4310	0.1595
2	0.1804	0.0041	0.1845	9.2249	0.3850	0.1020
4	0.1767	0.0032	0.1800	8.9981	0.3740	0.0810
6	0.1964	0.0034	0.1998	9.9891	0.3160	0.0670
8	0.1037	0.0011	0.1048	5.2388	0.2830	0.0540
10	0.1014	0.0009	0.1024	5.1184	0.2400	0.0340
12	0.0790	0.0056	0.0845	4.2259	0.1840	0.0250
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1120	0.0064	0.1184	5.9195	0.9481	0.3508
2	0.0794	0.0029	0.0823	4.1139	0.8760	0.2160
4	0.1108	0.0050	0.1158	5.7900	0.8430	0.1970
6	0.1256	0.0017	0.1273	6.3672	0.8120	0.1350
8	0.1214	0.0093	0.1307	6.5336	0.7540	0.1150
10	0.1380	0.0015	0.1394	6.9723	0.7260	0.0780
12	0.1465	0.0120	0.1585	7.9232	0.6580	0.0350
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1068	0.0044	0.1112	5.5594	1.2768	0.4724
2	0.0862	0.0033	0.0895	4.4747	1.1620	0.3160
4	0.1433	0.0044	0.1477	7.3843	0.8723	0.2480
6	0.2431	0.0040	0.2471	12.3566	0.8530	0.2100
8	0.0328	0.0018	0.0346	1.7292	0.8120	0.1680
10	0.2514	0.0029	0.2543	12.7131	0.7340	0.1230
12	0.2006	0.0052	0.2058	10.2883	0.6480	0.0860

ตารางผนวกที่ 19 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้อะซิเตดเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
บริษัท ปทุมธานีบริวเวอรี่ จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0044	0.0002	0.0046	0.2320	0.3118	0.1154
2	0.0059	0.0002	0.0061	0.3053	0.2964	0.0670
4	0.0060	0.0003	0.0063	0.3158	0.3075	0.0530
6	0.0076	0.0006	0.0082	0.4080	0.2925	0.0480
8	0.0190	0.0020	0.0210	1.0495	0.2942	0.0360
10	0.0080	0.0006	0.0086	0.4306	0.2760	0.0240
12	0.0027	0.0004	0.0031	0.1553	0.0782	0.0200
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0066	0.0002	0.0067	0.3374	0.5752	0.2128
2	0.0062	0.0002	0.0063	0.3171	0.4721	0.1430
4	0.0063	0.0011	0.0075	0.3729	0.5579	0.1240
6	0.0062	0.0002	0.0064	0.3194	0.4923	0.1050
8	0.0051	0.0001	0.0052	0.2601	0.4936	0.0940
10	0.0060	0.0001	0.0061	0.3059	0.4926	0.0760
12	0.0052	0.0002	0.0054	0.2679	0.4764	0.0530
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0049	0.0001	0.0050	0.2502	1.2040	0.4455
2	0.0082	0.0004	0.0086	0.4293	0.9270	0.3160
4	0.0077	0.0003	0.0079	0.3970	0.8260	0.2860
6	0.0096	0.0007	0.0103	0.5150	0.7460	0.2350
8	0.0072	0.0003	0.0075	0.3726	0.6240	0.1680
10	0.0067	0.0002	0.0069	0.3454	0.5230	0.1230
12	0.0121	0.0005	0.0127	0.6330	0.4020	0.0570

ตารางผนวกที่ 20 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้อะซิเตดเป็นสารอาหารในสภาวะเดิมอากาศ
บริษัท ปทุมธานี จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0067	0.0001	0.0069	0.3434	0.3112	0.1152
2	0.0141	0.0009	0.0149	0.7457	0.2615	0.0820
4	0.0201	0.0017	0.0218	1.0883	0.2687	0.0730
6	0.0084	0.0006	0.0090	0.4488	0.2117	0.0680
8	0.0064	0.0004	0.0068	0.3418	0.1474	0.0510
10	0.0046	0.0004	0.0051	0.2533	0.1115	0.0460
12	0.0049	0.0001	0.0050	0.2523	0.0994	0.0230
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0047	0.0000	0.0047	0.2359	0.4623	0.1711
2	0.0078	0.0005	0.0083	0.4136	0.5332	0.1350
4	0.0102	0.0009	0.0110	0.5514	0.5907	0.1250
6	0.0114	0.0006	0.0120	0.5995	0.4884	0.1090
8	0.0076	0.0007	0.0083	0.4127	0.3872	0.0970
10	0.0074	0.0006	0.0080	0.3993	0.2986	0.0830
12	0.0085	0.0002	0.0087	0.4334	0.2381	0.0540
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0070	0.0002	0.0072	0.3590	1.2458	0.4609
2	0.0149	0.0007	0.0157	0.7835	0.9860	0.3140
4	0.0198	0.0016	0.0213	1.0660	0.8760	0.2860
6	0.0270	0.0019	0.0289	1.4443	0.6480	0.2530
8	0.0115	0.0016	0.0131	0.6564	0.5730	0.1670
10	0.0540	0.0030	0.0569	2.8458	0.5340	0.1240
12	0.0096	0.0004	0.0099	0.4968	0.4690	0.0830

ตารางผนวกที่ 21 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
บริษัท ปทุมธานีบริวเวอรี จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0485	0.0023	0.0508	2.5408	0.4160	0.3162
2	0.0377	0.0020	0.0397	1.9851	0.3870	0.2340
4	0.0470	0.0018	0.0489	2.4431	0.3290	0.2190
6	0.0462	0.0025	0.0487	2.4374	0.2670	0.1890
8	0.0493	0.0017	0.0510	2.5510	0.2450	0.1520
10	0.0557	0.0014	0.0571	2.8572	0.2380	0.1080
12	0.0585	0.0022	0.0607	3.0337	0.2210	0.0780
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0256	0.0021	0.0278	1.3877	0.8180	0.6217
2	0.0455	0.0027	0.0483	2.4138	0.0710	0.4580
4	0.0482	0.0023	0.0505	2.5273	0.6490	0.4160
6	0.0371	0.0007	0.0378	1.8905	0.6370	0.3870
8	0.0445	0.0018	0.0462	2.3113	0.5280	0.3490
10	0.0443	0.0021	0.0464	2.3179	0.5100	0.2160
12	0.0582	0.0024	0.0606	3.0284	0.4030	0.1990
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0464	0.0023	0.0487	2.4356	1.2480	0.9485
2	0.0448	0.0016	0.0463	2.3174	0.9340	0.7680
4	0.0424	0.0025	0.0448	2.2415	0.8640	0.6480
6	0.0493	0.0025	0.0518	2.5907	0.7260	0.5390
8	0.0406	0.0015	0.0421	2.1060	0.6850	0.4250
10	0.0406	0.0009	0.0415	2.0760	0.6230	0.3150
12	0.0301	0.0011	0.0312	1.5601	0.4670	0.2580

ตารางผนวกที่ 22 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะเติมอากาศ
บริษัท ปทุมธานีบริวเวอรี จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0541	0.0029	0.0570	2.8489	0.4330	0.3291
2	0.0472	0.0034	0.0505	2.5255	0.3810	0.2480
4	0.0487	0.0026	0.0512	2.5610	0.3050	0.2590
6	0.0408	0.0015	0.0423	2.1171	0.2890	0.2100
8	0.0483	0.0024	0.0508	2.5378	0.2710	0.1840
10	0.0505	0.0021	0.0526	2.6306	0.2640	0.1620
12	0.0549	0.0031	0.0579	2.8970	0.2160	0.1110
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0433	0.0019	0.0452	2.2577	0.8460	0.6430
2	0.0294	0.0014	0.0308	1.5403	0.7160	0.4860
4	0.0506	0.0022	0.0528	2.6410	0.6940	0.4260
6	0.0461	0.0015	0.0477	2.3830	0.6370	0.3490
8	0.0480	0.0012	0.0492	2.4593	0.5560	0.3150
10	0.0336	0.0012	0.0348	1.7412	0.5310	0.2680
12	0.0586	0.0017	0.0603	3.0139	0.4980	0.2260
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0139	0.0022	0.0161	0.8050	1.2310	0.9356
2	0.0503	0.0028	0.0532	2.6582	0.9260	0.7670
4	0.0574	0.0032	0.0606	3.0293	0.7340	0.7310
6	0.0427	0.0016	0.0444	2.2180	0.7160	0.6490
8	0.0533	0.0027	0.0560	2.7985	0.6180	0.5840
10	0.0342	0.0026	0.0368	1.8391	0.5860	0.4530
12	0.0331	0.0018	0.0348	1.7412	0.4350	0.4110

ตารางผนวกที่ 23 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
บริษัท ปทุมธานี บิโรวเออรี่ จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0067	0.0003	0.0070	0.3483	0.4280	0.1584
2	0.0099	0.0002	0.0102	0.5087	0.3340	0.0930
4	0.0164	0.0005	0.0169	0.8453	0.3050	0.0880
6	0.0152	0.0003	0.0154	0.7712	0.2670	0.0620
8	0.0286	0.0006	0.0293	1.4625	0.2130	0.0510
10	0.0333	0.0008	0.0342	1.7090	0.1850	0.0430
12	0.0534	0.0009	0.0543	2.7144	0.1260	0.0220
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0141	0.0006	0.0147	0.7356	0.8260	0.3056
2	0.0097	0.0003	0.0100	0.5015	0.6850	0.2640
4	0.0272	0.0007	0.0278	1.3920	0.6240	0.2440
6	0.0094	0.0003	0.0097	0.4841	0.7230	0.2050
8	0.0233	0.0006	0.0239	1.1964	0.6120	0.1670
10	0.0193	0.0004	0.0197	0.9868	0.5020	0.1340
12	0.0126	0.0003	0.0129	0.6452	0.4200	0.1020
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0203	0.0004	0.0207	1.0347	1.2520	0.4632
2	0.0177	0.0005	0.0183	0.9129	0.9670	0.3520
4	0.0272	0.0005	0.0277	1.3868	0.8540	0.2680
6	0.0276	0.0007	0.0283	1.4161	0.6180	0.2150
8	0.0264	0.0007	0.0272	1.3581	0.5340	0.1950
10	0.0167	0.0007	0.0175	0.8735	0.5020	0.1560
12	0.0244	0.0191	0.0434	2.1709	0.4350	0.1120

ตารางผนวกที่ 24 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะเดิมอากาศ
บริษัท ปทุมธานี บิรเวอรี จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0120	0.0005	0.0125	0.6236	0.4150	0.1536
2	0.0390	0.0005	0.0395	1.9748	0.3160	0.1020
4	0.0375	0.0011	0.0387	1.9329	0.2870	0.0940
6	0.0462	0.0008	0.0470	2.3491	0.2340	0.0860
8	0.0523	0.0009	0.0532	2.6588	0.2160	0.0720
10	0.0556	0.0009	0.0565	2.8232	0.1840	0.0580
12	0.0619	0.0015	0.0633	3.1652	0.1350	0.0340
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0108	0.0004	0.0112	0.5595	0.8480	0.3138
2	0.0258	0.0008	0.0266	1.3323	0.6240	0.2150
4	0.0584	0.0010	0.0593	2.9670	0.5380	0.1680
6	0.0321	0.0007	0.0327	1.6354	0.5160	0.1260
8	0.0807	0.0005	0.0812	4.0590	0.4580	0.1070
10	0.0553	0.0013	0.0566	2.8304	0.3590	0.0860
12	0.1807	0.0013	0.1820	9.1000	0.3120	0.0520
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0203	0.0005	0.0208	1.0399	1.2060	0.4462
2	0.0261	0.0006	0.0267	1.3349	0.9340	0.3290
4	0.0307	0.0006	0.0314	1.5684	0.8570	0.2460
6	0.0758	0.0010	0.0768	3.8407	0.7160	0.2030
8	0.0719	0.0009	0.0728	3.6413	0.6480	0.1950
10	0.0969	0.0010	0.0979	4.8961	0.5230	0.1270
12	0.1289	0.0006	0.1296	6.4776	0.4850	0.1060

ตารางผนวกที่ 25 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้อะซิเตดเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
บริษัท สามเสน บิรเวอริ จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0877	0.0211	0.1088	5.4409	0.4392	0.1625
2	0.1070	0.0139	0.1210	6.0476	0.3409	0.1020
4	0.1063	0.0107	0.1170	5.8487	0.3328	0.0940
6	0.1413	0.0120	0.1533	7.6664	0.3092	0.0820
8	0.1730	0.0121	0.1850	9.2521	0.2558	0.0760
10	0.2098	0.0121	0.2219	11.0946	0.2162	0.0510
12	0.2085	0.0142	0.2228	11.1388	0.2104	0.0340
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0778	0.0143	0.0921	4.6030	0.8326	0.3081
2	0.1042	0.0138	0.1180	5.9013	0.7688	0.2140
4	0.1500	0.0261	0.1761	8.8062	0.7116	0.1950
6	0.2096	0.0161	0.2257	11.2851	0.7200	0.1340
8	0.2966	0.0181	0.3148	15.7381	0.6800	0.1040
10	0.2819	0.0202	0.3021	15.1069	0.7534	0.0940
12	0.3422	0.0249	0.3671	18.3549	0.6268	0.0820
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1021	0.0182	0.1202	6.0116	1.1580	0.4285
2	0.1306	0.0230	0.1537	7.6829	1.1445	0.2870
4	0.1397	0.0166	0.1563	7.8166	1.0055	0.2340
6	0.1871	0.0198	0.2069	10.3428	1.0625	0.2020
8	0.2293	0.0187	0.2480	12.4010	0.9825	0.1670
10	0.2685	0.0204	0.2889	14.4440	0.8135	0.1340
12	0.3020	0.0242	0.3262	16.3123	0.6830	0.1060

ตารางผนวกที่ 26 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้อะซิเตดเป็นสารอาหารในสภาวะเดิมอากาศ
บริษัท สามเสนบริวเวอรี จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0975	0.0117	0.1092	5.4599	0.4105	0.1519
2	0.1011	0.0130	0.1142	5.7080	0.3621	0.0980
4	0.1662	0.0120	0.1782	8.9089	0.2587	0.0860
6	0.2055	0.0093	0.2147	10.7359	0.1748	0.0740
8	0.2218	0.0097	0.2315	11.5765	0.1294	0.0680
10	0.2397	0.0125	0.2522	12.6102	0.1178	0.0510
12	0.2638	0.0096	0.2734	13.6676	0.1194	0.0230
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0755	0.0130	0.0884	4.4223	0.8400	0.3108
2	0.0861	0.0095	0.0957	4.7833	0.7268	0.2050
4	0.2376	0.0074	0.2449	12.2471	0.7106	0.1860
6	0.2890	0.0117	0.3006	15.0312	0.6330	0.1670
8	0.2728	0.0077	0.2805	14.0227	0.4762	0.1530
10	0.3466	0.0112	0.3578	17.8896	0.1548	0.1220
12	0.3889	0.0166	0.4055	20.2756	0.2866	0.0810
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0831	0.0135	0.0966	4.8310	1.2306	0.3560
2	0.1174	0.0115	0.1289	6.4457	1.1470	0.3240
4	0.1809	0.0104	0.1913	9.5640	0.9869	0.3180
6	0.3865	0.0155	0.4020	20.1021	0.8195	0.2760
8	0.4597	0.0158	0.4755	23.7737	0.7845	0.1950
10	0.4020	0.0194	0.4215	21.0727	0.6525	0.1340
12	0.4950	0.0160	0.5110	25.5509	0.5470	0.0840

ตารางผนวกที่ 27 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
บริษัท สามเสนบริวเวอรี จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0174	0.0004	0.0177	0.8866	0.4056	0.3083
2	0.0142	0.0035	0.0178	0.8877	0.3477	0.2260
4	0.0146	0.0072	0.0218	1.0913	0.3297	0.2070
6	0.0115	0.0101	0.0216	1.0792	0.2970	0.1910
8	0.0274	0.0255	0.0528	2.6415	0.2730	0.1640
10	0.0507	0.0573	0.1080	5.3982	0.2510	0.1530
12	0.0528	0.0613	0.1141	5.7074	0.2160	0.1030
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1326	0.0033	0.1359	6.7959	0.7874	0.5984
2	0.0911	0.0290	0.1202	6.0082	0.7280	0.4490
4	0.0658	0.1037	0.1695	8.4753	0.7164	0.4100
6	0.1167	0.0444	0.1611	8.0567	0.5913	0.3870
8	0.1344	0.0505	0.1849	9.2450	0.4766	0.3120
10	0.1686	0.0362	0.2048	10.2423	0.4726	0.2980
12	0.1744	0.0329	0.2072	10.3618	0.4699	0.2410
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0110	0.0158	0.0268	1.3405	1.2040	0.9150
2	0.0630	0.0531	0.1161	5.8042	0.9250	0.6550
4	0.0795	0.0240	0.1035	5.1771	0.8620	0.5200
6	0.0362	0.0237	0.0599	2.9957	0.7350	0.4740
8	0.0881	0.0236	0.1117	5.5855	0.7210	0.3810
10	0.0606	0.0269	0.0875	4.3741	0.6840	0.2560
12	0.1736	0.0473	0.2210	11.0477	0.6240	0.1350

ตารางผนวกที่ 28 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะเติมอากาศ
บริษัท สามเสนบริวเวอรี จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0215	0.0061	0.0276	1.3809	0.4437	0.3372
2	0.0262	0.0038	0.0300	1.4999	0.3160	0.2402
4	0.0500	0.0068	0.0568	2.8414	0.2890	0.1670
6	0.0760	0.0060	0.0820	4.1014	0.2640	0.1320
8	0.0840	0.0035	0.0874	4.3721	0.2480	0.1020
10	0.0981	0.0029	0.1010	5.0515	0.2120	0.0960
12	0.0986	0.0040	0.1026	5.1316	0.1860	0.0880
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0198	0.0074	0.0272	1.3582	0.8443	0.6417
2	0.0360	0.0136	0.0496	2.4800	0.6077	0.4619
4	0.0424	0.0059	0.0483	2.4153	0.5699	0.3150
6	0.0826	0.0099	0.0925	4.6237	0.5998	0.2970
8	0.1072	0.0051	0.1123	5.6172	0.4542	0.2650
10	0.1147	0.0100	0.1247	6.2344	0.3788	0.2430
12	0.1403	0.0036	0.1439	7.1945	0.2889	0.1920
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0994	0.0395	0.1389	6.9430	1.2108	0.9202
2	0.0892	0.0210	0.1101	5.5070	1.0670	0.7080
4	0.1119	0.0653	0.1772	8.8603	0.9310	0.6270
6	0.1420	0.0527	0.1947	9.7325	0.8250	0.5970
8	0.1578	0.0523	0.2101	10.5056	0.7860	0.3210
10	0.1804	0.0826	0.2630	13.1524	0.6480	0.2530
12	0.1479	0.3292	0.4772	23.8584	0.4230	0.1160

ตารางผนวกที่ 29 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
บริษัท สามเสนบิวเวอรี จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.2090	0.0379	0.2469	12.3448	0.3253	0.1204
2	0.2606	0.0357	0.2963	14.8149	0.3338	0.0850
4	0.2602	0.0397	0.3000	14.9982	0.3272	0.0760
6	0.2607	0.0430	0.3037	15.1843	0.3048	0.0660
8	0.2731	0.0334	0.3065	15.3249	0.3430	0.0590
10	0.2359	0.0365	0.2723	13.6167	0.1155	0.0430
12	0.3043	0.0435	0.3478	17.3891	0.1077	0.0210
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0750	0.0168	0.0918	4.5909	0.8812	0.3260
2	0.0848	0.0263	0.1112	5.5582	0.7863	0.2130
4	0.0898	0.0289	0.1187	5.9361	0.7628	0.1560
6	0.1349	0.0391	0.1740	8.7002	0.8120	0.1080
8	0.1289	0.0599	0.1888	9.4419	0.4351	0.0810
10	0.1494	0.0401	0.1895	9.4753	0.1600	0.0730
12	0.1479	0.0414	0.1892	9.4616	0.1198	0.0610
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0435	0.0114	0.0549	2.7440	1.2340	0.4566
2	0.0785	0.0292	0.1077	5.3870	1.0580	0.2890
4	0.1173	0.0265	0.1439	7.1931	0.9130	0.1860
6	0.0782	0.0278	0.1059	5.2962	0.8670	0.1350
8	0.1780	0.0398	0.2178	10.8882	0.8055	0.1120
10	0.1800	0.0273	0.2072	10.3622	0.7693	0.0830
12	0.2116	0.0605	0.2720	13.6025	0.7340	0.0720

ตารางผนวกที่ 30 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะเดิมอากาศ
บริษัท สามเสนบิวเวอรี จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0825	0.0440	0.1265	6.3239	0.3608	0.1335
2	0.2091	0.0471	0.2562	12.8119	0.2801	0.0730
4	0.2119	0.0494	0.2613	13.0640	0.2766	0.0640
6	0.2788	0.0652	0.3440	17.2009	0.2825	0.0540
8	0.3329	0.0548	0.3877	19.3839	0.2965	0.0430
10	0.4243	0.0760	0.5003	25.0143	0.2180	0.0380
12	0.5591	0.0677	0.6268	31.3383	0.2050	0.0320
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0525	0.0130	0.0655	3.2765	0.9481	0.3508
2	0.0661	0.0364	0.1026	5.1281	0.8150	0.2030
4	0.0962	0.0187	0.1149	5.7460	0.6720	0.1890
6	0.3681	0.0803	0.4483	22.4175	0.5340	0.1640
8	0.4398	0.0882	0.5280	26.3991	0.4260	0.1460
10	0.5381	0.0687	0.6069	30.3436	0.3480	0.1300
12	0.6197	0.0768	0.6965	34.8227	0.3150	0.0860
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0503	0.0143	0.0646	3.2302	1.2768	0.4724
2	0.0676	0.0019	0.0695	3.4730	1.1670	0.2660
4	0.0801	0.0219	0.1020	5.0977	0.9038	0.2130
6	0.1530	0.0255	0.1786	8.9289	0.8720	0.1760
8	0.1693	0.0218	0.1912	9.5577	0.8350	0.1520
10	0.1727	0.0297	0.2023	10.1154	0.7550	0.1000
12	0.3348	0.0396	0.3744	18.7179	0.6740	0.0730

ภาคผนวก ข

ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้ตะกอนจุลินทรีย์ที่ผ่านการปรับสภาพ

ตารางผนวกที่ 1 ผลการทดลองแบบทีละเท โดยใช้เชื้อตะตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
โรงเส้นหมี่ขอเฮง จักัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1279	0.0184	0.1463	7.32	0.3837	0.1458
2	0.1492	0.0198	0.1690	8.45	0.3016	0.1280
4	0.2141	0.0218	0.2359	11.80	0.1542	0.0670
6	0.2319	0.0261	0.2580	12.90	0.0870	0.0430
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1057	0.0174	0.1231	6.16	0.9163	0.3482
2	0.1226	0.0308	0.1534	7.67	0.6450	0.2180
4	0.1740	0.0318	0.2058	10.29	0.3886	0.1260
6	0.2175	0.0390	0.2564	12.82	0.3236	0.0430
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1280	0.0268	0.1549	7.74	1.1700	0.4446
2	0.1985	0.0261	0.2246	11.23	0.6336	0.2690
4	0.2248	0.0192	0.2440	12.20	0.3198	0.1370
6	0.3282	0.0192	0.3474	17.37	0.1884	0.0520

ตารางผนวกที่ 2 ผลการทดลองแบบทีละเท โดยใช้เชื้อตะตเป็นสารอาหารในสภาวะเดิมอากาศ
โรงเส้นหมี่ขอเฮง จักัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1144	0.0329	0.1474	7.37	0.4317	0.1640
2	0.1701	0.0327	0.2028	10.14	0.1714	0.1340
4	0.2084	0.0362	0.2446	12.23	0.0434	0.0820
6	0.3129	0.0419	0.3548	17.74	0.0338	0.0270

ตารางผนวกที่ 3 ผลการทดลองแบบทีละเท โดยใช้เชื้อตะตเป็นสารอาหารในสภาวะเดิมอากาศ
โรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด (ต่อ)

Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.2120	0.0550	0.2671	13.35	0.8684	0.3300
2	0.2523	0.0556	0.3079	15.40	0.5105	0.1860
4	0.3232	0.0760	0.3993	19.96	0.1585	0.1070
6	0.6028	0.0913	0.6941	34.70	0.0774	0.0260
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1461	0.0413	0.1874	9.37	1.1478	0.4362
2	0.2179	0.0526	0.2705	13.53	0.3588	0.2490
4	0.3722	0.0614	0.4336	21.68	0.1722	0.1340
6	0.7057	0.0902	0.7959	39.80	0.0630	0.0390

ตารางผนวกที่ 4 ผลการทดลองแบบทีละเท โดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
โรงเส้นหมี่ขอเฮง จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0693	0.0306	0.0998	4.99	0.4020	0.2734
2	0.1020	0.0200	0.1219	6.10	0.2328	0.1870
4	0.1299	0.0170	0.1469	7.34	0.1740	0.1260
6	0.1397	0.0290	0.1687	8.44	0.0828	0.0420
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0647	0.0281	0.0928	4.64	0.7835	0.5328
2	0.0753	0.0348	0.1101	5.50	0.5930	0.3480
4	0.1129	0.0456	0.1585	7.93	0.5065	0.1420
6	0.1296	0.0465	0.1761	8.81	0.3915	0.0640

ตารางผนวกที่ 5 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ โรง
เส้นหมี่ขอเฮง จำกัด (ต่อ)

Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0751	0.0417	0.1169	5.84	1.2285	0.4668
2	0.0823	0.0449	0.1272	6.36	1.0364	0.2860
4	0.1071	0.0598	0.1669	8.35	0.6683	0.1350
6	0.1179	0.0628	0.1807	9.04	0.4023	0.0520

ตารางผนวกที่ 6 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ โรง
เส้นหมี่ขอเฮง จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1156	0.0391	0.1547	7.74	0.4090	0.2781
2	0.1825	0.0424	0.2249	11.24	0.2675	0.1670
4	0.2544	0.0404	0.2948	14.74	0.1753	0.1050
6	0.3534	0.0373	0.3908	19.54	0.0795	0.0340
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1083	0.0362	0.1445	7.22	0.7924	0.5388
2	0.1676	0.0502	0.2178	10.89	0.6496	0.3670
4	0.2352	0.0838	0.3190	15.95	0.2328	0.1250
6	0.3348	0.1030	0.4378	21.89	0.1552	0.0310
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (mgC/l)	3HV (mgC/l)	PHA (mgC/l)	% PHA	TOC (mg/l)	Carbohydrate (mg/l)
0	0.1343	0.0386	0.1729	8.65	1.2645	0.8599
2	0.1749	0.0479	0.2228	11.14	0.9306	0.2980
4	0.2644	0.0854	0.3498	17.49	0.5468	0.1290
6	0.3492	0.1125	0.4617	23.08	0.2957	0.0450

ตารางผนวกที่ 7 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้ชีวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ โรง
เส้นหมี่ขอเฮง จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0435	0.0062	0.0497	2.49	0.4886	0.1857
2	0.0808	0.0083	0.0891	4.45	0.3928	0.1060
4	0.1093	0.0101	0.1194	5.97	0.2876	0.0760
6	0.1994	0.0123	0.2117	10.58	0.1866	0.0420
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0422	0.0058	0.0480	2.40	0.8720	0.3313
2	0.0619	0.0087	0.0706	3.53	0.7032	0.1840
4	0.1185	0.0103	0.1288	6.44	0.3041	0.0760
6	0.1707	0.0118	0.1825	9.12	0.1377	0.0430
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0499	0.0076	0.0575	2.88	1.1433	0.4345
2	0.1108	0.0115	0.1223	6.11	0.8560	0.1860
4	0.1416	0.0122	0.1538	7.69	0.6938	0.1260
6	0.1846	0.0140	0.1985	9.93	0.2652	0.0550

ตารางผนวกที่ 8 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้ชีวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ โรง
เส้นหมี่ขอเฮง จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1286	0.0219	0.1505	7.52	0.5434	0.2065
2	0.2096	0.0265	0.2361	11.80	0.3938	0.1260
4	0.3366	0.0310	0.3676	18.38	0.2662	0.0860
6	0.4136	0.0323	0.4459	22.30	0.1148	0.0280

ตารางผนวกที่ 9 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้บัวที่เรตเป็นสารอาหารในสภาวะเดิมอากาศ โรง
เส้นหมี่ขอเฮง จำกัด (ต่อ)

Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1469	0.0226	0.1694	8.47	0.8679	0.3298
2	0.2067	0.0233	0.2300	11.50	0.6575	0.1680
4	0.4123	0.0242	0.4365	21.82	0.2406	0.0860
6	0.5675	0.0276	0.5951	29.75	0.1238	0.0350
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1677	0.0388	0.2065	10.32	1.2230	0.4647
2	0.3007	0.0346	0.3353	16.76	0.9175	0.1760
4	0.4226	0.0355	0.4581	22.90	0.5629	0.1070
6	0.7178	0.0608	0.7786	38.93	0.1785	0.0460

ตารางผนวกที่ 10 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้อะซิเตดเป็นสารอาหารในสภาวะไร่้อากาศ
บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน)

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0180	0.0134	0.0315	1.57	0.4054	0.1541
2	0.0463	0.0152	0.0615	3.08	0.2096	0.1350
4	0.0959	0.0183	0.1142	5.71	0.1289	0.0840
6	0.1152	0.0196	0.1347	6.74	0.0959	0.0480
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0321	0.0106	0.0427	2.13	0.8365	0.3179
2	0.0547	0.0180	0.0727	3.63	0.5825	0.2240
4	0.0949	0.0236	0.1185	5.92	0.3440	0.1240
6	0.1370	0.0315	0.1685	8.42	0.2485	0.0620

ตารางผนวกที่ 11 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้อะซิเตดเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน) (ต่อ)

Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0524	0.0121	0.0645	3.23	1.1595	0.4406
2	0.0796	0.0157	0.0953	4.77	0.7895	0.2590
4	0.1364	0.0191	0.1555	7.78	0.5380	0.1340
6	0.2083	0.0258	0.2341	11.70	0.2860	0.0680

ตารางผนวกที่ 12 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้อะซิเตดเป็นสารอาหารในสภาวะเดิมอากาศ
บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน)

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0184	0.0377	0.0561	2.81	0.4325	0.1644
2	0.0404	0.0544	0.0948	4.74	0.2000	0.1260
4	0.0797	0.0706	0.1503	7.51	0.1290	0.0760
6	0.1338	0.0947	0.2285	11.43	0.0684	0.0350
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0480	0.0542	0.1022	5.11	0.8031	0.3052
2	0.0748	0.0574	0.1322	6.61	0.6724	0.2180
4	0.1027	0.0718	0.1745	8.72	0.3024	0.1060
6	0.1676	0.0847	0.2523	12.62	0.1840	0.0530
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0506	0.0486	0.0992	4.96	1.1530	0.4381
2	0.0688	0.0578	0.1265	6.33	0.7425	0.2670
4	0.1203	0.0703	0.1906	9.53	0.3855	0.1230
6	0.1694	0.1008	0.2702	13.51	0.0685	0.0580

ตารางผนวกที่ 13 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน)

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0424	0.0061	0.0485	2.42	0.4950	0.3366
2	0.0538	0.0068	0.0606	3.03	0.3588	0.2190
4	0.0752	0.0089	0.0842	4.21	0.2691	0.1260
6	0.1015	0.0121	0.1136	5.68	0.2289	0.0560
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0359	0.0099	0.0458	2.29	0.8588	0.5840
2	0.0448	0.0150	0.0598	2.99	0.5550	0.3280
4	0.0596	0.0217	0.0813	4.06	0.3134	0.1860
6	0.0813	0.0392	0.1205	6.02	0.2418	0.0620
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0479	0.0161	0.0640	3.20	1.2044	0.8190
2	0.0623	0.0170	0.0793	3.96	0.8597	0.5430
4	0.0806	0.0241	0.1047	5.23	0.5573	0.2570
6	0.0923	0.0275	0.1199	5.99	0.2688	0.1230

ตารางผนวกที่ 14 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ
บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน)

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0764	0.0104	0.0869	4.34	0.4968	0.3378
2	0.0818	0.0109	0.0927	4.63	0.3791	0.1860
4	0.0990	0.0114	0.1104	5.52	0.2795	0.1050
6	0.1200	0.0156	0.1356	6.78	0.1668	0.0420

ตารางผนวกที่ 15 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะเดิมอากาศ
บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน) (ต่อ)

Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0790	0.0254	0.1044	5.22	0.8796	0.5981
2	0.1068	0.0157	0.1225	6.13	0.6401	0.3180
4	0.1181	0.0162	0.1343	6.72	0.3812	0.1950
6	0.1321	0.0122	0.1443	7.22	0.1715	0.0530
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0848	0.0150	0.0998	4.99	1.1865	0.8068
2	0.1081	0.0232	0.1313	6.57	0.8394	0.5310
4	0.1383	0.0220	0.1603	8.01	0.4154	0.2490
6	0.1563	0.0212	0.1775	8.88	0.2501	0.1080

ตารางผนวกที่ 16 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้บีบีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน)

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0220	0.0125	0.0345	1.72	0.4339	0.1649
2	0.0428	0.0198	0.0626	3.13	0.3375	0.1210
4	0.0705	0.0325	0.1030	5.15	0.2888	0.0850
6	0.1105	0.0435	0.1539	7.70	0.2138	0.0410
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0374	0.0054	0.0428	2.14	0.7935	0.3015
2	0.0564	0.0180	0.0744	3.72	0.5985	0.2530
4	0.0773	0.0269	0.1042	5.21	0.3190	0.1070
6	0.1166	0.0385	0.1552	7.76	0.2085	0.0620

ตารางผนวกที่ 17 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้บิวทีเรดเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน) (ต่อ)

Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0321	0.0080	0.0401	2.00	1.2004	0.4562
2	0.0557	0.0181	0.0738	3.69	0.8752	0.3340
4	0.0746	0.0425	0.1172	5.86	0.4608	0.2160
6	0.1147	0.0698	0.1845	9.23	0.2472	0.0670

ตารางผนวกที่ 18 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้บิวทีเรดเป็นสารอาหารในสภาวะเดิมอากาศ
บริษัท เสริมสุข จำกัด (มหาชน)

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0320	0.0045	0.0365	1.83	0.4703	0.1787
2	0.0530	0.0095	0.0625	3.12	0.3524	0.1050
4	0.1032	0.0215	0.1248	6.24	0.2666	0.0760
6	0.1252	0.0273	0.1525	7.63	0.1659	0.0330
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0274	0.0308	0.0582	2.91	0.8174	0.3106
2	0.0428	0.0554	0.0983	4.91	0.5207	0.2410
4	0.0952	0.0644	0.1596	7.98	0.3680	0.1320
6	0.1092	0.0726	0.1818	9.09	0.2032	0.0570
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0291	0.0444	0.0735	3.68	1.1620	0.4416
2	0.0641	0.0626	0.1268	6.34	0.7545	0.3180
4	0.0962	0.0803	0.1765	8.83	0.4800	0.2060
6	0.1375	0.0982	0.2357	11.79	0.2112	0.0530

ตารางผนวกที่ 19 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้อะซิเตดเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
บริษัท กรีนสปอต จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0324	0.0052	0.0375	1.8759	0.3447	0.1310
2	0.0443	0.0071	0.0514	2.5684	0.3397	0.0940
4	0.0524	0.0092	0.0616	3.0792	0.2899	0.0720
6	0.0622	0.0113	0.0734	3.6712	0.1380	0.0460
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0221	0.0045	0.0267	1.3333	0.8365	0.3179
2	0.0488	0.0118	0.0606	3.0323	0.7078	0.2260
4	0.0712	0.0212	0.0925	4.6228	0.6348	0.1270
6	0.0887	0.0292	0.1179	5.8951	0.6420	0.0610
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0194	0.0052	0.0246	1.2287	1.1264	0.4280
2	0.0336	0.0071	0.0407	2.0332	1.1650	0.2670
4	0.0495	0.0074	0.0569	2.8451	0.9401	0.1690
6	0.0597	0.0091	0.0689	3.4438	0.3474	0.0570

ตารางผนวกที่ 20 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้อะซิเตดเป็นสารอาหารในสภาวะเดิมอากาศ
บริษัท กรีนสปอต จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0930	0.0010	0.0940	4.7014	0.3417	0.1298
2	0.1168	0.0025	0.1192	5.9617	0.2450	0.0870
4	0.1527	0.0038	0.1565	7.8233	0.2024	0.0640
6	0.1670	0.0054	0.1724	8.6178	0.1610	0.0410

ตารางผนวกที่ 21 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้อะซิเตดเป็นสารอาหารในสภาวะเดิมอากาศ
บริษัท กรีนสปอต จำกัด (ต่อ)

Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1069	0.0041	0.1110	5.5520	0.7479	0.2842
2	0.1381	0.0042	0.1424	7.1182	0.1458	0.1670
4	0.1618	0.0058	0.1676	8.3777	0.0905	0.1080
6	0.1772	0.0082	0.1854	9.2724	0.0653	0.0530
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1095	0.0014	0.1109	5.5468	1.3745	0.5223
2	0.1451	0.0038	0.1489	7.4468	0.9324	0.2480
4	0.1908	0.0051	0.1959	9.7947	0.3569	0.1640
6	0.2148	0.0068	0.2216	11.0803	0.2111	0.0550

ตารางผนวกที่ 22 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
บริษัท กรีนสปอต จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0533	0.0130	0.0663	3.3139	0.3828	0.2603
2	0.0616	0.0128	0.0744	3.7177	0.2988	0.1670
4	0.0759	0.0161	0.0920	4.5993	0.2308	0.1240
6	0.0826	0.0157	0.0983	4.9157	0.1488	0.0510
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0319	0.0118	0.0437	2.1837	0.7483	0.5088
2	0.0373	0.0162	0.0535	2.6762	0.5852	0.3180
4	0.0631	0.0186	0.0817	4.0833	0.4353	0.1860
6	0.0797	0.0299	0.1096	5.4810	0.2235	0.0780

ตารางผนวกที่ 23 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
บริษัท กรีนสปอต จำกัด (ต่อ)

Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0282	0.0095	0.0377	1.8840	1.1885	0.4516
2	0.0496	0.0154	0.0650	3.2492	0.8690	0.2860
4	0.0808	0.0232	0.1040	5.1987	0.3105	0.1290
6	0.1118	0.0266	0.1384	6.9200	0.4158	0.0480

ตารางผนวกที่ 24 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ
บริษัท กรีนสปอต จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1290	0.0135	0.1425	7.1246	0.4528	0.3079
2	0.1976	0.0216	0.2192	10.9587	0.3453	0.2490
4	0.2301	0.0231	0.2533	12.6637	0.2248	0.1080
6	0.3105	0.0261	0.3366	16.8308	0.1190	0.0360
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1097	0.0141	0.1238	6.1911	0.8448	0.5745
2	0.1861	0.0157	0.2018	10.0918	0.5988	0.3840
4	0.2575	0.0235	0.2809	14.0474	0.4132	0.1350
6	0.3298	0.0296	0.3594	17.9696	0.1332	0.0610
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1314	0.0149	0.1463	7.3160	1.2086	0.8218
2	0.1658	0.0164	0.1823	9.1140	0.9210	0.5740
4	0.2312	0.0265	0.2577	12.8854	0.3163	0.3150
6	0.3634	0.0316	0.3951	19.7536	0.2105	0.1060

ตารางผนวกที่ 25 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
บริษัท กรีนสปอต จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0154	0.0042	0.0196	0.9794	0.4628	0.1759
2	0.0318	0.0059	0.0377	1.8830	0.3124	0.1360
4	0.0732	0.0082	0.0814	4.0691	0.2308	0.0820
6	0.1146	0.0141	0.1287	6.4361	0.1384	0.0410
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0214	0.0302	0.0516	2.5793	0.8565	0.3255
2	0.0320	0.0386	0.0706	3.5306	0.7108	0.2490
4	0.0606	0.0489	0.1096	5.4779	0.4968	0.1350
6	0.0762	0.0652	0.1414	7.0712	0.2880	0.0680
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0178	0.0041	0.0219	1.0943	1.1880	0.4514
2	0.0466	0.0063	0.0530	2.6476	1.0905	0.3240
4	0.0854	0.0104	0.0958	4.7893	0.6302	0.1850
6	0.1342	0.0148	0.1489	7.4459	0.3786	0.0760

ตารางผนวกที่ 26 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะเติมอากาศ
บริษัท กรีนสปอต จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0984	0.0042	0.1026	5.1324	0.4723	0.1795
2	0.1426	0.0053	0.1479	7.3942	0.3568	0.1430
4	0.1887	0.0069	0.1956	9.7805	0.2403	0.0760
6	0.2102	0.0088	0.2189	10.9470	0.1418	0.0300

ตารางผนวกที่ 27 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสถานะเดิมอากาศ
บริษัท กรีนสปอต จำกัด (ต่อ)

Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0976	0.0119	0.1095	5.4764	0.8784	0.3338
2	0.1642	0.0206	0.1848	9.2398	0.5872	0.2680
4	0.1816	0.0187	0.2003	10.0141	0.2276	0.1170
6	0.2261	0.0258	0.2519	12.5936	0.1724	0.0520
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1482	0.0225	0.1707	8.5343	1.1559	0.4392
2	0.1948	0.0365	0.2313	11.5657	0.6342	0.3180
4	0.2597	0.0479	0.3076	15.3807	0.4752	0.1970
6	0.3056	0.0486	0.3543	17.7128	0.2576	0.0620

ตารางผนวกที่ 28 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารในสถานะไร้อากาศ
บริษัท ปทุมธานีบริวเวอรี่ จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0309	0.0063	0.0372	1.86	0.3898	0.1481
2	0.0375	0.0130	0.0505	2.52	0.3844	0.0940
4	0.0489	0.0157	0.0647	3.23	0.3678	0.0610
6	0.0547	0.0183	0.0731	3.65	0.0978	0.0530
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0167	0.0084	0.0251	1.25	0.8692	0.3303
2	0.0284	0.0174	0.0458	2.29	0.5608	0.2430
4	0.0450	0.0211	0.0662	3.31	0.2336	0.1680
6	0.0667	0.0242	0.0909	4.55	0.1180	0.0860

ตารางผนวกที่ 29 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้อะซิเตดเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
บริษัท ปทุมธานีบิโรวเออรี่ จำกัด (ต่อ)

Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0349	0.0082	0.0431	2.15	1.2762	0.4850
2	0.0450	0.0223	0.0674	3.37	0.8483	0.3160
4	0.0709	0.0414	0.1122	5.61	0.4185	0.2450
6	0.0771	0.0564	0.1335	6.67	0.1737	0.0580

ตารางผนวกที่ 30 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้อะซิเตดเป็นสารอาหารในสภาวะเดิมอากาศ
บริษัท ปทุมธานี จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0351	0.0090	0.0441	2.20	0.3891	0.1478
2	0.0412	0.0151	0.0563	2.81	0.3359	0.1060
4	0.0611	0.0397	0.1008	5.04	0.1842	0.0740
6	0.0695	0.0448	0.1143	5.72	0.1243	0.0450
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0384	0.0314	0.0698	3.49	0.8780	0.3336
2	0.0492	0.0376	0.0868	4.34	0.4560	0.2160
4	0.0650	0.0464	0.1114	5.57	0.1492	0.1140
6	0.0781	0.0633	0.1414	7.07	0.1056	0.0530
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0300	0.0292	0.0591	2.96	1.2479	0.4742
2	0.0536	0.0407	0.0944	4.72	0.7740	0.3410
4	0.0673	0.0586	0.1259	6.30	0.3857	0.1060
6	0.0799	0.0747	0.1546	7.73	0.1152	0.0670

ตารางผนวกที่ 31 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
บริษัท ปทุมธานีบริวเวอรี จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0135	0.0130	0.0264	1.32	0.4164	0.2831
2	0.0426	0.0296	0.0722	3.61	0.3657	0.1680
4	0.0660	0.0329	0.0989	4.95	0.2979	0.0690
6	0.0836	0.0212	0.1048	5.24	0.2580	0.0430
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0483	0.0101	0.0584	2.92	0.8454	0.5749
2	0.0785	0.0203	0.0988	4.94	0.7266	0.3410
4	0.0899	0.0254	0.1153	5.76	0.6326	0.1340
6	0.0947	0.0289	0.1235	6.18	0.5269	0.0840
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0436	0.0120	0.0555	2.78	1.2897	0.4901
2	0.0628	0.0136	0.0764	3.82	1.0553	0.5680
4	0.1051	0.0162	0.1213	6.06	0.8380	0.2410
6	0.1136	0.0145	0.1281	6.41	0.5384	0.0850

ตารางผนวกที่ 32 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะเดิมอากาศ
บริษัท ปทุมธานีบริวเวอรี จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0572	0.0130	0.0702	3.51	0.3881	0.2639
2	0.0691	0.0135	0.0826	4.13	0.3653	0.1570
4	0.1020	0.0170	0.1190	5.95	0.3198	0.0750
6	0.1139	0.0181	0.1320	6.60	0.2524	0.0290

ตารางผนวกที่ 33 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะเติมอากาศ
บริษัท ปทุมธานีบริวเวอรี จำกัด (ต่อ)

Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0684	0.0079	0.0763	3.82	0.7717	0.5248
2	0.0938	0.0167	0.1104	5.52	0.6526	0.3280
4	0.1194	0.0195	0.1390	6.95	0.6139	0.1280
6	0.1406	0.0200	0.1606	8.03	0.4558	0.0530
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0559	0.0264	0.0823	4.12	1.2952	0.8807
2	0.0846	0.0265	0.1111	5.56	1.0480	0.4250
4	0.1169	0.0226	0.1395	6.97	0.7080	0.1690
6	0.1617	0.0221	0.1838	9.19	0.3726	0.0560

ตารางผนวกที่ 34 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้บีบีทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
บริษัท ปทุมธานีบริวเวอรี จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0214	0.0051	0.0265	1.33	0.3842	0.1460
2	0.0403	0.0071	0.0474	2.37	0.2876	0.0960
4	0.0539	0.0093	0.0632	3.16	0.2609	0.0610
6	0.0756	0.0114	0.0870	4.35	0.2069	0.0340
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0529	0.0062	0.0591	2.95	0.8948	0.3400
2	0.0641	0.0062	0.0703	3.52	0.5179	0.2280
4	0.0848	0.0077	0.0924	4.62	0.4294	0.1250
6	0.0997	0.0083	0.1080	5.40	0.3927	0.0570

ตารางผนวกที่ 35 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
บริษัท ปทุมธานีบิวเวอรี จำกัด (ต่อ)

Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0446	0.0079	0.0525	2.63	1.1697	0.4445
2	0.0566	0.0164	0.0730	3.65	0.9964	0.2790
4	0.0707	0.0165	0.0872	4.36	0.9401	0.1340
6	0.0933	0.0208	0.1141	5.70	0.8955	0.0660

ตารางผนวกที่ 36 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะเติมอากาศ
บริษัท ปทุมธานีบิวเวอรี จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0529	0.0206	0.0735	3.67	0.4440	0.1687
2	0.0732	0.0197	0.0929	4.64	0.3463	0.1080
4	0.1028	0.0233	0.1262	6.31	0.3155	0.0590
6	0.1161	0.0296	0.1456	7.28	0.2929	0.0260
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0594	0.0139	0.0732	3.66	0.9438	0.3586
2	0.0940	0.0129	0.1069	5.34	0.6914	0.2160
4	0.1274	0.0136	0.1410	7.05	0.5703	0.1030
6	0.1552	0.0146	0.1698	8.49	0.6285	0.0430
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0477	0.0084	0.0562	2.81	1.1267	0.4281
2	0.0880	0.0148	0.1028	5.14	1.0146	0.2670
4	0.1582	0.0175	0.1757	8.79	0.9036	0.1360
6	0.1758	0.0203	0.1962	9.81	0.8409	0.0560

ตารางผนวกที่ 37 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้อะซิเตดเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
บริษัท สามเสนบริวเวอรี่ จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0236	0.0172	0.0408	2.041	0.4836	0.1838
2	0.0550	0.0258	0.0809	4.043	0.3457	0.1340
4	0.1046	0.0353	0.1399	6.993	0.3050	0.0840
6	0.1691	0.0461	0.2152	10.760	0.1091	0.0560
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0289	0.0189	0.0478	2.389	0.7586	0.2883
2	0.0679	0.0317	0.0996	4.981	0.7116	0.2360
4	0.1403	0.0438	0.1841	9.207	0.9546	0.1420
6	0.1870	0.0590	0.2460	12.301	0.6268	0.0650
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0292	0.0164	0.0455	2.277	1.2303	0.4675
2	0.0857	0.0317	0.1173	5.867	1.0656	0.3420
4	0.1499	0.0424	0.1923	9.613	0.9484	0.2510
6	0.1954	0.0644	0.2599	12.994	0.3866	0.1020

ตารางผนวกที่ 38 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้อะซิเตดเป็นสารอาหารในสภาวะเดิมอากาศ
บริษัท สามเสนบริวเวอรี่ จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1163	0.0018	0.1181	5.906	0.4026	0.1530
2	0.2266	0.0039	0.2305	11.527	0.1905	0.1240
4	0.3722	0.0063	0.3785	18.924	0.1510	0.0750
6	0.5195	0.0123	0.5319	26.594	0.0755	0.0430

ตารางผนวกที่ 39 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้เชื้อตะกอกเป็นสารอาหารในสภาวะเดิมอากาศ
บริษัท สามเสนบริวเวอรี จำกัด (ต่อ)

Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1053	0.0099	0.1152	5.758	0.8400	0.3192
2	0.2744	0.0135	0.2879	14.395	0.7106	0.2360
4	0.4022	0.0148	0.4170	20.848	0.5768	0.1570
6	0.6644	0.0158	0.6802	34.009	0.3054	0.0570
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1235	0.0081	0.1316	6.580	1.1075	0.4208
2	0.2531	0.0102	0.2633	13.164	0.8882	0.3290
4	0.4395	0.0110	0.4506	22.529	0.4631	0.2140
6	0.7365	0.0148	0.7513	37.566	0.3376	0.0850

ตารางผนวกที่ 40 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
บริษัท สามเสนบริวเวอรี จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0728	0.0075	0.0803	4.014	0.4056	0.2758
2	0.1050	0.0130	0.1180	5.899	0.2332	0.2040
4	0.1240	0.0142	0.1382	6.911	0.1664	0.1690
6	0.1811	0.0171	0.1981	9.906	0.1124	0.0860
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0940	0.0107	0.1047	5.237	0.7874	0.5354
2	0.1267	0.0154	0.1421	7.105	0.5955	0.3216
4	0.1651	0.0133	0.1783	8.916	0.3890	0.1206
6	0.1871	0.0172	0.2042	10.212	0.1710	0.0479

ตารางผนวกที่ 41 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
บริษัท สามเสนบริวเวอรี จำกัด (ต่อ)

Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1073	0.0124	0.1196	5.982	1.2902	0.8773
2	0.1257	0.0153	0.1409	7.047	0.9806	0.5295
4	0.1534	0.0208	0.1742	8.711	0.6737	0.2088
6	0.1844	0.0222	0.2066	10.331	0.2597	0.0727

ตารางผนวกที่ 42 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้กลูโคสเป็นสารอาหารในสภาวะเต็มอากาศ
บริษัท สามเสนบริวเวอรี จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1490	0.0104	0.1594	7.971	0.4435	0.3016
2	0.1622	0.0125	0.1746	8.732	0.2705	0.2060
4	0.2335	0.0152	0.2487	12.434	0.1865	0.1570
6	0.2702	0.0144	0.2846	14.232	0.1098	0.0420
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.2200	0.0018	0.2218	11.088	0.8443	0.5741
2	0.2927	0.0096	0.3023	15.114	0.5688	0.3072
4	0.3337	0.0130	0.3467	17.334	0.3388	0.1050
6	0.4336	0.0135	0.4471	22.356	0.1472	0.0412
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1576	0.0056	0.1632	8.161	1.2108	0.8233
2	0.2490	0.0108	0.2598	12.989	0.8055	0.4350
4	0.4172	0.0177	0.4349	21.744	0.4145	0.1285
6	0.6917	0.0285	0.7202	36.012	0.1094	0.0306

ตารางผนวกที่ 43 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะไร้อากาศ
บริษัท สามเสนบิวเวอรี จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0216	0.0210	0.0426	2.131	0.4263	0.1620
2	0.0359	0.0274	0.0632	3.161	0.2953	0.1270
4	0.0518	0.0532	0.1050	5.252	0.1483	0.0760
6	0.0719	0.0561	0.1280	6.401	0.1077	0.0430
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0154	0.0212	0.0366	1.830	0.8812	0.3349
2	0.0364	0.0293	0.0657	3.286	0.5308	0.2570
4	0.0570	0.0414	0.0984	4.918	0.1605	0.1340
6	0.0839	0.0497	0.1336	6.680	0.1163	0.0740
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.0206	0.0258	0.0463	2.317	1.1270	0.4283
2	0.0261	0.0359	0.0620	3.099	0.7618	0.2460
4	0.0444	0.0630	0.1074	5.370	0.5598	0.1970
6	0.0686	0.1021	0.1707	8.533	0.2448	0.1230

ตารางผนวกที่ 44 ผลการทดลองแบบทีละเทโดยใช้บิวทีเรตเป็นสารอาหารในสภาวะเดิมอากาศ
บริษัท สามเสนบิวเวอรี จำกัด

Time (hr.)	400 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1608	0.0066	0.1675	8.373	0.3858	0.1466
2	0.2763	0.0103	0.2866	14.330	0.2340	0.0860
4	0.4101	0.0114	0.4214	21.072	0.1513	0.0430
6	0.5187	0.0244	0.5431	27.154	0.1045	0.0240
Time (hr.)	800 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1744	0.0071	0.1815	9.077	0.9481	0.3603
2	0.2436	0.0120	0.2556	12.780	0.6713	0.2490
4	0.5538	0.0212	0.5750	28.752	0.5168	0.1370
6	0.8157	0.0258	0.8416	42.078	0.1663	0.0670
Time (hr.)	1200 mgC/l					
	3HB (g/l)	3HV (g/l)	PHA (g/l)	% PHA	TOC (g/l)	Carbohydrate (g/l)
0	0.1726	0.0093	0.1820	9.098	1.2768	0.4852
2	0.4037	0.0182	0.4220	21.099	0.8723	0.3160
4	0.5871	0.0234	0.6105	30.524	0.4930	0.1670
6	0.8879	0.0254	0.9133	45.665	0.2980	0.0940

ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์น้ำตาลกลูโคสทั้งหมด โดยวิธีฟินอล – ชัลฟูริก

วิธีวิเคราะห์น้ำตาลกลูโคสทั้งหมดโดยวิธีฟินอล – ชัลฟูริก

วิเคราะห์ตามวิธีการของ Dubios, 1956

หลักการ

การวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด อาศัยหลักการที่ว่ากรดชัลฟูริก จะทำการย่อยสลายสารประกอบจำพวก Polysaccharides และ dehydrate สารประกอบ mono-saccharides ให้อยู่ในรูปของ furfural จากน้ำตาล pentose หรือ hydroxymethy furfurals จากน้ำตาล hexoses จากนั้นสารประกอบ furfural และ hydroxymethy furfurals จะทำปฏิกิริยากับ phenol ทำให้เกิดสารประกอบที่ทำให้เกิดสีขึ้น ซึ่งสามารถวัดปริมาณที่เกิดขึ้น โดยเครื่อง colorimeter หรือ spectrophotometer ได้

สารประกอบคาร์โบไฮเดรตที่สามารถหาปริมาณได้โดยวิธีนี้คือ monosaccharide และ polysaccharide ที่เกิดจากน้ำตาล pentose, hexose, hoptose และ derivitive ของมัน ยกเว้น amino sugar นอกจากนั้นสารประกอบ triose และ tetraose ไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวได้

สารเคมี

2) Phenol Solution (ร้อยละ 5)

ละลาย phenol 5 กรัม (reagent grade) ในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วย volumetric flask

ข้อควรระวัง : สารประกอบ phenol เป็นอันตรายต่อผิวหนังและตาฉะนั้นควรใส่ถุงมือทุกครั้งระหว่างการเตรียม ห้ามใช้ปากดูดสารละลายขึ้นมาโดยเด็ดขาด

3) กรดชัลฟูริกเข้มข้น (conc.H₂SO₄)

วิธีการทดลอง

- 1) การเตรียมกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส
- 2) เตรียมสารละลายน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ซึ่ง 0.01 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร)
- 3) นำสารละลายน้ำตาลกลูโคส 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มาทำการเจือจาง ให้มีความเข้มข้น 20, 40, 60, 80 กรัมต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในตาราง

ตารางผนวกที่ 1 สารละลายน้ำตาลกลูโคส ความเข้มข้น 0–100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ความเข้มข้นของน้ำตาล กลูโคส ($\mu\text{g/ml}$)	ปริมาณน้ำกลั่น (ml.)	ปริมาณสารละลายน้ำตาล กลูโคส 100 $\mu\text{g/ml}$. (ml)
20	8	2
40	6	4
60	4	6
80	2	8
100	0	10

- 4) ดูดสารละลายที่เตรียมได้ 1ml. ใส่ในหลอดทดลอง
- 5) เติมสารละลาย 5 % phenol ลงในหลอด 1ml. ผสมให้เข้ากันอย่างรวดเร็วด้วย vortex mixer
- 6) เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 5 ml. ลงในหลอด ผสมให้เข้ากันอย่างรวดเร็วด้วย vortex mixer

7) ตั้งทิ้งไว้ในตู้ดูดควันเป็นเวลา 30 นาที (หรือตั้งทิ้งไว้ 10 นาที หลังจากนั้นวางใน water bath ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที)

8) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 485 nm.

9) สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่า Absorbance และค่าความเข้มข้นของน้ำตาล โดยให้ Absorbance อยู่แกน Y และค่าความเข้มข้นของน้ำตาลอยู่แกน X หาค่าความชันจากกราฟมาตรฐานที่ได้

วิธีวิเคราะห์

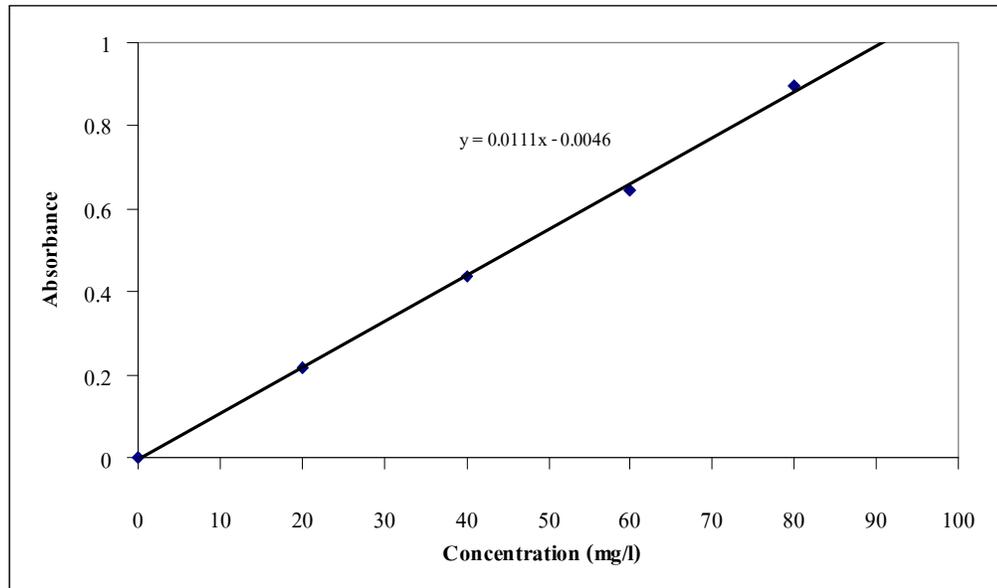
1) เตรียมตัวอย่างให้อยู่ในความเข้มข้นที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลไม่เกิน 100 $\mu\text{g/ml}$. โดยทำให้เจือจางด้วยน้ำกลั่น

หมายเหตุ : ในกรณีที่ตัวอย่างเป็นของแข็งจะต้องเตรียมให้อยู่ในรูปของสารละลายก่อน

2) ทำการทดลองดังขั้นตอนที่ 1

การคำนวณ

$$\text{ความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมด } (\mu\text{g/ml.}) = \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสง} \times \text{อัตราเจือจาง}}{\text{ความชันของกราฟมาตรฐาน}}$$



ภาพผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณน้ำตาลกลูโคสทั้งหมดโดยวิธีฟินอล - ชัลฟูริก

ภาคผนวก ง

วิธีการคำนวณปริมาณ PHA

การคำนวณปริมาณสาร PHA

$$\frac{\frac{\text{Area 3HB, standard}}{\text{Amount 3HB, standard}}}{\frac{\text{Area IS, standard}}{\text{Amount IS, standard}}} = \frac{\frac{\text{Area 3HB, sample}}{\text{Amount 3HB, sample}}}{\frac{\text{Area IS, sample}}{\text{Amount IS, sample}}}$$

Where :

Area 3HB, std	3HB peak area of the standard chromatogram
Amount 3HB, std	Amount of 3HB in the standard tube, or 1 mg
Area IS, std	Internal standard peak area of the standard chromatogram
Amount IS, std	Amount of Internal standard in the standard tube (200mg/1*2ml)
Area 3HB, sample	3HB peak area of the sample chromatogram
Amount 3HB, sample	Amount of 3HB in the sample tube, or 1 mg
Area IS, sample	Internal standard peak area of the sample chromatogram
Amount IS, sample	Amount of Internal standard in the sample tube (200mg/1*2ml)

By solving this equation, we obtain the amount of 3HB in the sample tube in milligram. So, the initial concentration is:

$$\text{Conc.} = \frac{\text{Amount 3HB, sample} \times 1000}{10} \text{ mg/l}$$

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล

นางสาวสิริลักษณ์ บัวทอง

วัน เดือน ปี ที่เกิด

วันที่ 17 มกราคม 2526

สถานที่เกิด

อุดรธานี

ประวัติการศึกษา

ระดับปริญญาตรี คณะวิศวกรรมและเทคโนโลยีการเกษตร

ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน

สถานที่ทำงานปัจจุบัน

ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ

ทุนการศึกษาที่ได้รับ