การสังเคราะห์พีเอชเอในเซลล์จุลินทรีย์จากระบบปฏิกรณ์สลับเป็นกะโดยใช้สารอาหารอะซิเตตและกลูโคส

เฉลิมราช วันทวิน [1] และ อรรนพ ฤทธิปัญญาวงศ์ [2]

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี บางมด ทุ่งครุ กรุงเทพฯ 10140

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการสังเคราะห์โพลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอต (PHA) จากสลัดจ์ที่เกิดจากกระบวนการบำบัดน้ำเสีย โดยศึกษาปัจจัยที่มีผล ซึ่งได้แก่ชนิดสลัดจ์จากกระบวนปฏิกรณ์สลับเป็นกะแอนแอโรบิก-แอโรบิก 2 กระบวนการที่มีปริมาตรขนาด 10 ลิตร โดยกระบวนการหนึ่งป้อนน้ำเสีย อะซิเตตความเข้มข้น COD 1500 มก./ล. และ COD/P เท่ากับ 42/1 (ASBR) และอีกกระบวนการเป็นการบำบัด COD ที่ใช้กลูโคสที่มีความเข้มข้น COD 1000 มก./ล. และ COD/P เท่ากับ 100/1 (GSBR) และชนิดสารอาหารในกระบวนการผลิตแบบแบตช์ที่สภาวะแอนแอโรบิก โดยใช้เวลา 24 ชั่วโมง สารอาหารที่ใช้มี 4 ชนิด ได้แก่ อะซิเตต กลูโคส กลูโคสต่ออะซิเตตสองต่อหนึ่ง และกลูโคสต่ออะซิเตตหนึ่งต่อสอง โดยมีความเข้มข้นรวม 1,500 มก. COD/ล. สำหรับทุกสารอาหาร

ผลการทดลองพบว่าสลัดจ์ ASBR ซึ่งเป็นสลัดจ์ที่คุ้นเคยกับอะซิเตต และถูกเลี้ยงด้วยสัดส่วนฟอสฟอรัสที่เอื้ออำนวยต่อการเกิดของจุลินทรีย์กลุ่มสะสมฟอสเฟต สามารถสะสม PHA ได้มากกว่าสลัดจ์จากการเลี้ยงด้วยกลูโคสในทุกสารอาหารที่ทดลอง โดยปริมาณการสะสมเรียงตามสารอาหารดังนี้ สารอาหารอะซิเตต กลูโคสต่ออะซิเตตหนึ่งต่อสอง กลูโคสต่ออะซิเตตสองต่อหนึ่ง และกลูโคส ได้ PHA เท่ากับ 19.8 14.9 12.8 และ 8.9 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ส่วนสลัดจ์จากการเลี้ยงด้วยกลูโคส (GSBR) มีการสะสม PHA ไม่แตกต่างกันในทุกสารอาหารที่ใช้คือมีค่าอยู่ในช่วง 5.2-5.9 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก นอกจากนี้พบว่าองค์ประกอบของ PHA ได้แก่ โพลีไฮดรอกซีบิวทิเรต (PHB) และ โพลีไฮดรอกซีวาลีเรต (PHV) ขึ้นกับสัดส่วนระหว่างอะซิเตตต่อกลูโคส การเพิ่มสัดส่วนของสารอาหารอะซิเตตจะมีแนวโน้มทำให้สลัดจ์สามารถสะสม PHA ได้สูงขึ้น และมีองค์ประกอบ PHB สูงขึ้น

คำสำคัญ : อะซิเตต / กลูโคส / การสะสมโพลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอต / โพลีไฮดรอกซีบิวทิเรต / โพลีไฮดรอกซีวาลีเรต / จุลินทรีย์กลุ่มสะสมฟอสเฟต

---

[1] *ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม*

[2] *นักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม*

Production of PHA by Mixed Culture from Sequencing Batch Reactor (SBR) with Substrates of Acetate and Glucose

Chalermraj Wantawin [1] **and Annop Rittiphunyawong** [2]

King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangmod, Toongkru, Bangkok 10140

Abstract

To study the production of polyhydroxylakanoate PHA by excess activated sludge which is the waste from wastewater treatment plant, parameters effecting to the production that are types of organic substrate and type of activated sludge itself were investigated. Two anaerobic-aerobic sequencing batch reactors, each volume of 10 liters, labeled as ASBR and GSBR were operated with the same COD concentration of 1500 mg/l but different type of carbon source. ASBR was fed with acetate and COD/P ratio of 42/1 while the other with glucose and COD/P ratio of 100/1. The sludge from steady operated SBRs were conducted in batch experiments under anaerobic condition for 24 hours. Four types of organic substrates used in batch experiments were acetate, glucose, glucose to acetate (2:1) and glucose to acetate (1:2) with the COD of 1,500 mg/l in all.

The results in the batch experiments showed that ASBR sludge, acclimated with acetate and fed with phosphorus enough for the proliferation of polyphosphate accumulated organisms PAOs, synthesized more PHA than GSBR sludge in all substrates used. PHA accumulated in ASBR sludges were 19.8 14.9 12.8 and 8.9 percent by weight for acetate, glucose to acetate (1:2), glucose to acetate (2:1) and glucose, respectively. Same amount of PHA around 5.2-5.9 percent by weight were synthesized in GSBR sludges. Furthermore, the PHA composition like polyhydroxybutyrate (PHB) and polyhydroxyvalerate (PHV) depended on the ratio of acetate to glucose in the substrate, higher acetate, more PHB composition in PHA production.

Keywords : Acetate / Glucose / Production of Polyhydroxyalkanoate / Polyhydroxybutyrate / Polyhydroxyvalerate / Polyphosphate Accumulating Organisms

---

[1] *Assistant Professor, Department of Environmental Engineering.*

[2] *Graduate Student, Department of Environmental Engineering.*

1. บทนำ

ในการดำเนินงานของกระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์ (Activated Sludge Process, AS) ต้องมีการระบายสลัดจ์ส่วนเกินออก (Excess Sludge) ปัจจุบันจึงมีผู้ทำการศึกษาการนำสลัดจ์ส่วนเกินนี้ไปใช้ประโยชน์ แนวคิดในการนำสลัดจ์จาก AS มาผลิตสารโพลีไฮดรอก-ซีอัลคาโนเอต (Polyhydroxy-alkanoate, PHA) ซึ่งเป็นสารโพลีเมอร์และย่อยสลายได้โดยธรรมชาติ (biodegradable thermoplastic material) มีแนวโน้มที่เป็นไปได้ [1] [2] ซึ่งสาร PHA สามารถพบได้อยู่ในเซลล์จุลินทรีย์ทั่วๆ ไป การสะสม PHA จะเกิดขึ้นในเซลล์จุลินทรีย์เมื่อมีปริมาณสารอาหารอินทรีย์คาร์บอนภายนอกมากเกิน ในขณะที่ขาดธาตุจำเป็นในการเติบโต เช่น ออกซิเจน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ฯลฯ [3] ดังนั้นเมื่อมีการพัฒนากระบวนการบำบัดสารฟอสฟอรัสทางชีวภาพแบบเพิ่มพูน (Enhanced Biological Phosphorus Removal) ซึ่งจะต้องมีการควบคุมสภาวะไร้อากาศสลับกับสภาวะเติมอากาศเพื่อให้จุลินทรีย์กลุ่มสะสมโพลีฟอสเฟต (Polyphosphated Accumulated Organism, PAO) ทำงานได้ดี โดยในสภาวะไร้อากาศ PAO จะสะสม PHA นอกจากนี้การสะสม PHA ในจุลินทรีย์ในระบบบำบัดสารอินทรีย์ทั่วๆ ไปก็ยังมีความเป็นไปได้ เนื่องจากปัจจุบันพบว่าระบบบำบัดบางแห่งนิยมติดตั้งหน่วยบำบัดไร้อากาศในช่วงต้นก่อนการเติมอากาศเพื่อลดปริมาณสลัดจ์ลงและช่วยให้การตกตะกอนดีขึ้นในขณะที่ประสิทธิภาพการบำบัดเท่าเดิม ในภาคอุตสาหกรรมการผลิตสาร PHA ในเชิงพาณิชย์จะผลิตจากจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์หลายชนิด และต้องเสียค่าใช้จ่ายในส่วนของสารอาหารที่เลี้ยงจุลินทรีย์ให้มีปริมาณจำนวนมากพอ ดังนั้นข้อได้เปรียบของการผลิตสาร PHA จากสลัดจ์ AS คือสามารถลดต้นทุนการผลิตเนื่องจากไม่ต้องสิ้นเปลืองค่าสารอาหารในการเลี้ยงจุลินทรีย์ นอกจากนี้ยังเป็นการนำของเสียที่จะนำไปทิ้งมาใช้ประโยชน์อีกด้วย

องค์ประกอบของ PHA ส่วนใหญ่ได้แก่ โพลีไฮดรอกซีบิวทิเรต (Polyhydroxybutyrate, PHB) และ โพลีไฮดรอกซีวาลีเรต (Polyhydroxyvalerate, PHV) สัดส่วนยังขึ้นอยู่กับสารอินทรีย์คาร์บอนที่ใช้เป็นสารอาหาร โดยทั่วไปเป็นกรดไขมันระเหยง่าย (volatile fatty acid) เพราะจุลินทรีย์สามารถนำมาสร้าง PHA ได้โดยตรง ตัวอย่างเช่นเมื่อใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารพบปริมาณ PHB เป็นส่วนใหญ่ ในทางกลับกันเมื่อใช้โพรไพโอเนตจะพบปริมาณ PHV เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งสาเหตุในการผลิตสาร PHB และ PHV แตกต่างกัน เกิดจากความสามารถของจุลินทรีย์ในการดุลประจุ (redox balance) โดยใช้ reducing power (NADH) ที่ได้จากกระบวนการกลัยโคไลซิสของกลัยโคเจนภายในเซลล์ผ่านวิถี (pathway) ที่แตกต่างกัน การนำสารอินทรีย์คาร์บอนโมเลกุลใหญ่ที่ต้องผ่านกระบวนการกลัยโคลัยซิสก่อน ได้แก่กลูโคสมาเป็นสารอาหาร จุลินทรีย์ในสภาวะไร้อากาศก็สามารถจับใช้กลูโคสได้เช่นกัน แต่สามารถเปลี่ยนเป็นได้ทั้ง PHA และกลัยโคเจน เนื่องจากกลูโคสที่เติมเข้าไปช่วงแรกจะเข้าสู่วิถีกลัยโคไลซิสทำให้ได้พลังงาน (ATP) และ reducing power (NADH) ซึ่งจะนำไปใช้ในการสังเคราะห์ PHA ส่วนพลังงาน (ATP) ที่เหลือจะถูกนำไปใช้เพื่อทำให้เกิดสมดุลพลังงานโดยสุดท้ายจะเปลี่ยนกลูโคสไปเป็นกลัยโคเจน (Liu และคณะ [3])

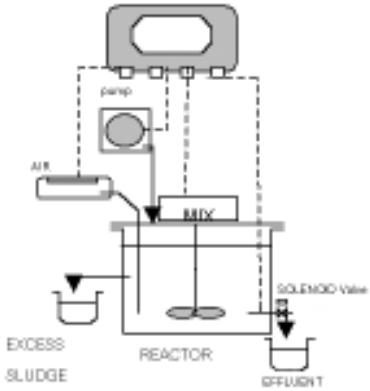
Satoh และคณะ [4] พบว่าเมื่อใช้แลคเทต (lactate) เป็นสารอาหาร จะมีการเพิ่มขึ้นของสัดส่วน PHV ในสาร PHA ของเซลล์จุลินทรีย์กลุ่มสะสมฟอสเฟต (Polyphosphate Accumulating Organisms, PAOs) Sudiana และคณะ [5] พบว่าองค์ประกอบของ PHA ที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นในสภาวะแอโรบิกโดยจุลินทรีย์ชนิด PAOs และจุลินทรีย์กลุ่มสะสมกลัยโคเจน (Glycogen Accumulating Organisms, GAOs) จะมีสัดส่วนของ PHB และ PHV แตกต่างกันและขึ้นกับชนิดสารอาหารค่อนข้างมาก กล่าวคือเมื่อป้อนสารอาหารเป็นอะซิเตต สัดส่วนของ PHB/PHV ของจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดจะมีปริมาณสูง โดยที่ของ GAOs จะต่ำกว่าเล็กน้อย แต่เมื่อป้อนสารอาหารเป็นกลูโคสสัดส่วนของ PHB/PHV จะมีปริมาณต่ำมากและเกิดการสะสมกลัยโคเจนด้วย

จากงานวิจัยต่างๆ ที่ผ่านมาพบว่า มีการศึกษาผลของการแปรสารอินทรีย์คาร์บอนที่มีต่อการสังเคราะห์ PHA และองค์ประกอบของ PHB และ PHV ไว้พอสมควร แต่ส่วนใหญ่เป็นการศึกษาของจุลินทรีย์กลุ่ม PAO เพื่อศึกษาวิถีกลไก โดยแปรสารอินทรีย์ที่เป็นสารที่พบในวิถีของกลไกต่างๆ ภายในของเซลล์เช่นในวิถี TCA ส่วนการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์จะเน้นในเรื่องการเปรียบเทียบการผลิต PHA ทั้งในเรื่องของปริมาณและองค์ประกอบ PHB, PHV จากกลุ่มเซลล์จุลินทรีย์ที่ถูกเลี้ยงมาในระบบ EBPR กล่าวคือจุลินทรีย์มีการสะสม polyphosphate เพื่อเป็นแหล่งพลังงานนอกเหนือจากกลัยโคเจน กับในระบบที่จุลินทรีย์ไม่มีการสะสม polyphosphate และใช้พลังงานจากการสลายกลัยโคเจนอย่างเดียว และเป็นการนำสารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่เช่นน้ำตาลมาใช้เพื่อเป็นการศึกษาเบื้องต้นถึงความเป็นไปได้ในการนำน้ำเสียประเภทคาร์โบไฮเดรตที่ยังไม่ผ่านการหมักมาใช้โดยตรงในการผลิต PHA

2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

2.1 อุปกรณ์และน้ำเสียสังเคราะห์

การดำเนินงานแบ่งเป็น 2 ช่วง ช่วงแรกเป็นการเตรียมสลัดจ์ AS จากการดำเนินงานระบบบำบัดแอนแอโรบิก-แอโรบิกเอสบีอาร์ต่างๆ กัน 2 กระบวนการคือ กระบวนการหนึ่งป้อนสารอาหารสังเคราะห์เป็น อะซิเตต 1500 มก. COD/ล. และค่าสัดส่วน COD/P เท่ากับ 42/1 (ASBR) ส่วนอีกแบบเป็นระบบบำบัดน้ำเสียทั่วๆ ไปที่ป้อนกลูโคส 1000 มก.COD /ล. และค่าสัดส่วน COD/P เท่ากับ 100/1 (GSBR) ทั้งสองแบบควบคุมอายุสลัดจ์ (solid residence time, SRT) เท่ากับ 10 วัน ขนาดปริมาตรเท่ากันคือ 10 ลิตร แสดงในรูปที่ 1



รูปที่ 1 อุปกรณ์ SBR และการควบคุม

ตารางที่ 1 ระยะเวลาในการดำเนินงานภายในวัฏจักร

ขั้นตอนดำเนินงาน	ASBR	GSBR
เติมสารอาหาร (ชม.)	0.5 } 5	0.5 } 1.5
ไร้อากาศ (ชม.)		
เติมอากาศ (ชม.)	4	3
แอนอกซิก (ชม.)	2	-
ตกตะกอน (ชม.)	0.5	1
ระบายน้ำออก (ชม.)	0.5	0.5
รวมเวลาในวัฏจักร (ชม.)	12	6

หมายเหตุ ปริมาณน้ำป้อนเข้าและถ่ายออกต่อวัฏจักรเท่ากับ 60 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรน้ำทั้งหมด

เวลาในวัฏจักรแตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 1 และควบคุมการทำงานโดยระบบพีเอลซี (Programmable Logic Control, PLC) องค์ประกอบของสารอาหารที่ใช้ในการทดลองแสดงอยู่ในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ส่วนประกอบของน้ำเสียสังเคราะห์ในแต่ละระบบเอสบีอาร์

ส่วนประกอบ		ASBR	GSBR
Glucose	mg as COD/l	-	1000 (943)
CH_3COOH and CH_3COONa	mg as COD/l	1,500	-
NH_4Cl	mg as N/l	40	50
KH_2PO_4	mg as P/l	18	-
K_2HPO_4	mg as P/l	23	10
$MgCl_2$	mg as Mg^{2+}/l	23	62
$CaCl_2$	mg as a^{2+}/l	7	26
KCl	mg as K^+/l	70	148
Yeast Extract	(mg/l)	120	100

หมายเหตุ การเติมอะซิเตตในระบบเอสบีอาร์ใช้ CH_3COOH และ CH_3COONa ในสัดส่วนที่ช่วยปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 7-8

สำหรับช่วงที่สองเป็นการนำสลัดจ์เอเอสจากปลายแอนแอโรบิกของ ASBR และ GSBR มาทดสอบในแบตช์ (flask) ถึงความสามารถในการผลิต PHA โดยแปรค่าสัดส่วนกลูโคสต่ออะซิเตตในสารอาหารเท่ากับ 1:0 2:1 1:2 และ 0:1 โดยที่ค่า COD รวมของทุกการทดลองเท่ากับ 1500 มก.COD/ล.

2.2 การเก็บตัวอย่าง และพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่วิเคราะห์

เนื่องจากจุลินทรีย์เริ่มต้นในการทดลองแบบแบตช์มาจากระบบเอสบีอาร์ ดังนั้นจำเป็นต้องทำการควบคุมระบบเอสบีอาร์ให้มีการดำเนินงานในสภาวะคงที่ (steady state) ทำการวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ ได้แก่ SCOD (soluble COD) MLSS และสารละลายฟอสฟอรัสสำหรับ ASBR ประมาณอาทิตย์ละ 2 ครั้ง และตรวจสอบค่า pH และออกซิเจนละลายน้ำเป็นครั้งคราวและมีการตรวจวัดคุณสมบัติของจุลินทรีย์ในรูปของ PHA กลัยโคเจน รวมทั้งโพลีฟอสเฟตที่สะสม ทุกครั้งที่นำไปทดลองในแบตช์

ส่วนในการทดลองในแบตช์ (flask) จะทำการควบคุมให้อยู่ในสภาวะแอนแอโรบิกเพียงอย่างเดียว ซึ่งจะมีการพ่นก๊าซไนโตรเจนที่ผิวหน้าเพื่อป้องกันออกซิเจนที่สามารถละลายน้ำได้ โดยที่สภาวะแอนแอโรบิกนี้เป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับจุลินทรีย์ในการสะสม PHA และในการทดลองควบคุมความเข้มข้นของตะกอนเริ่มต้นประมาณ 3,500 มก. MLSS /ล. ทำการเก็บตัวอย่างตามเวลาดังนี้ที่ช่วงเวลา 0, 0.5, 3, 5, 15 และ 24 ชั่วโมง และทำการวัดพารามิเตอร์ต่างๆ ได้แก่ SCOD MLSS MLVSS PHA กลัยโคเจน และกลูโคส ที่เวลาเดียวกับการเก็บตัวอย่าง

วิธีวิเคราะห์ตามวิธี Standard Methods for Examination of Water and Wastewater [6] ยกเว้น PHA ใช้ Gas Chromatography วิธีการสกัดและการเตรียมตัวอย่างตามวิธีของ Satoh และคณะ [7] ส่วนกลัยโคเจนและกลูโคสใช้ Spectrophotography การเตรียมตัวอย่างตามวิธีของ Gaudy และคณะ [8]

3. ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

3.1 คุณสมบัติสลัดจ์จากระบบ ASBR และ GSBR

คุณสมบัติของสลัดจ์ที่ปลายแอโรบิกในปฏิกรณ์ ASBR และ GSBR ควบคุมดำเนินงานในสภาวะคงตัว (steady state) ซึ่งจะเป็นคุณสมบัติของสลัดจ์เริ่มต้นในการทดลองแบบแบตช์สำหรับการผลิต PHA แสดงในตารางที่ 3 ซึ่งจะพบว่า สลัดจ์ในระบบ GSBR มีการเปลี่ยนแปลงคาร์บอนภายในไม่ว่าการเปลี่ยนแปลง PHA (ΔPHA) เท่ากับ 6 มก.C/ก.VSS หรือการเปลี่ยนแปลงกลัยโคเจน (ΔGLY) เท่ากับ 26 มก.C/ก.VSS มีค่าน้อยกว่าในสลัดจ์ของระบบ ASBR ซึ่งเท่ากับ 48 มก.C/ก.VSS และ 83 มก.C/ก.VSS ตามลำดับ ในขณะที่สารอินทรีย์ที่ป้อนเข้าระบบจะถูกใช้เกือบหมดที่ปลายแอนแอโรบิกของระบบ ASBR คือเหลือเพียง 20-30 มก. COD/ล. ในขณะที่ระบบ GSBR ดำเนินงานโดยมีสัดส่วนของช่วงแอนแอโรบิกต่อแอโรบิกสั้นกว่า จะมีสารละลายสารอินทรีย์เหลือที่ปลายแอนแอโรบิกสูงกว่า คือเท่ากับ 180-191 มก. COD/ล.

ตารางที่ 3 คุณสมบัติของน้ำและสลัดจ์ที่ปลายแอนแอโรบิกและแอโรบิกของปฏิกรณ์ ASBR และ GSBR

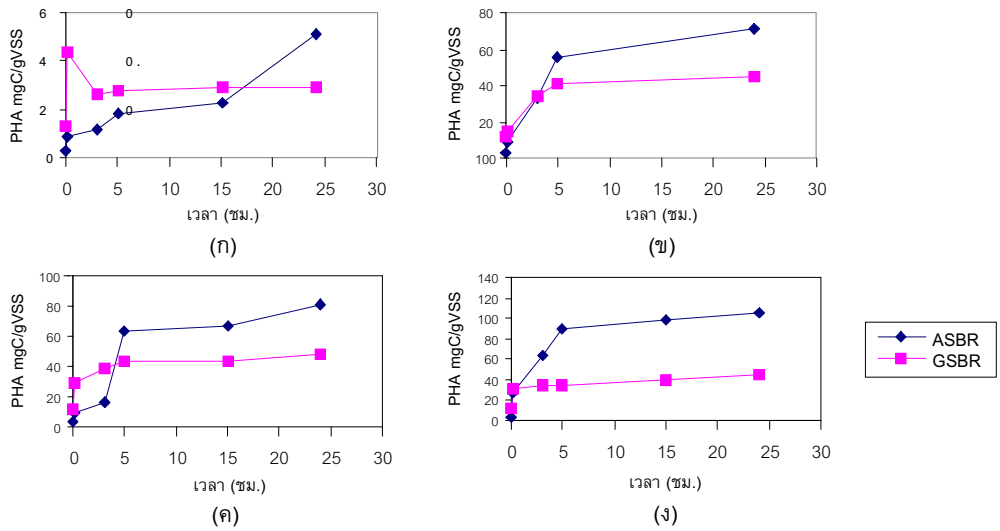
	ASBR			GSBR		
	คุณสมบัติน้ำเข้า	ปลายแอนแอโรบิก	ปลายแอโรบิก	คุณสมบัติน้ำเข้า	ปลายแอนแอโรบิก	ปลายแอโรบิก
สารละลาย COD, mg/l	1500	20 - 30	8 - 12	1000	180 - 191	15 - 18
สารละลายฟอสเฟต, mgP/l	41	40	14	10	6.5	4
PHA, mgC/gVSS		48	0		20	14
PHB:PHV		46 : 54	-		7:93	-
กลัยโคเจน, mgC/gVSS		83	166		112	138
MLSS, mg/l		-	~7,200		-	~7,200

<u>หมายเหตุ</u> ปริมาณน้ำป้อนเข้าและถ่ายออกในหนึ่งวัฏจักรเท่ากับ 60 เปอร์เซ็นต์ของน้ำในปฏิกรณ์ทั้งหมด

นอกจากนี้ในระบบ ASBR ยังมีพฤติกรรมในลักษณะเป็นระบบแบบบำบัดฟอสฟอรัสทางชีวภาพแบบเพิ่มพูน (EBPR) โดยมีกลุ่มจุลินทรีย์ที่สะสมโพลีฟอสเฟต ทั้งนี้เนื่องจากมีการปลดปล่อยโพลีฟอสเฟตในช่วงแอนแอโรบิกและนำเข้าฟอสฟอรัสมาเก็บเป็นโพลีฟอสเฟตในเซลล์ในสภาวะแอโรบิก อย่างไรก็ดีประสิทธิภาพการกำจัดฟอสฟอรัสค่อนข้างต่ำคือได้เพียง 60 เปอร์เซ็นต์

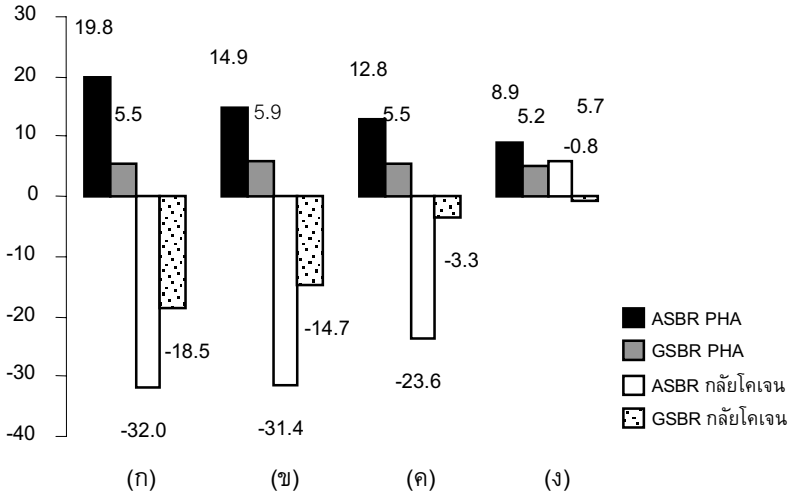
3.2 การผลิต PHA ในการทดลองแบบแบตช์

งานวิจัยนี้ใช้สารอาหารที่เป็นสารอินทรีย์คาร์บอนอยู่ 2 ชนิด คือ กูลโคส (G) ซึ่งเป็นสารที่ยังหมักได้และกรดอะซิติค (A) ซึ่งเป็นกรดระเหยง่ายที่เกิดจากการหมัก และแปรสัดส่วนของ G:A อยู่ 4 ค่า คือ 1:0, 2:1, 1:2 และ 0:1 ผลการทดลองในเรื่องการสร้าง PHA ในเซลล์ของสลัดจ์จาก ASBR และ GSBR ของสารอาหารต่างๆ แสดงอยู่ในรูปที่ 2 ซึ่งจะพบว่าสลัดจ์จากระบบ ASBR สามารถใช้สารอาหารที่เป็นอะซิเตตอย่างเดียว (G:A=0:1) ในการสร้าง PHA ได้ดีที่สุด โดยที่สามารถผลิต PHA ได้ 105.2 มก.C/ก.VSS ในชั่วโมงที่ 24 (เทียบเท่ากับร้อยละ 19.8 ของมวลVSS) และได้ PHA ที่ชั่วโมงที่ 24 เท่ากับ 81.5 มก.C/ก.VSS 71.0 มก.C/ก.VSS และ 51.0 มก.C/ก.VSS หรือร้อยละ 14.9 12.8 และ 8.9 เมื่อใช้สารอาหาร G:A เท่ากับ 1:2 2:1 และ 1:0 ตามลำดับ



รูปที่ 2 PHA ในเซลล์ของสลัดจ์ ASBR และ GSBR เมื่อป้อนสารอาหารกลูโคสต่ออะซิเตต (G:A)
(ก) 1:0 (ข) 2:1 (ค) 1:2 (ง) 0:1

สลัดจ์จากระบบ GSBR มีการสะสม PHA สูงสุดจากสารอาหารทั้ง 4 ชนิดไม่แตกต่างกัน กล่าวคือ สามารถสะสม PHA ได้ประมาณ 42~48 มก.C/ก.VSS หรือร้อยละ 5.2~5.9 โดยที่เมื่อใช้กลูโคสเพียงอย่างเดียวเป็นสารอาหารค่าสูงสุดอยู่ที่ 0.25 ชั่วโมง และยังมีค่าต่ำกว่าค่าต่ำสุดของสลัดจ์ ASBR ที่สะสมได้ Sudiana [8] พบว่า ความสามารถในการจับใช้สารอาหารของกลุ่ม PAOs จะสูงกว่า GAOs เสมอแม้ว่าจะคุ้นเคยกับน้ำเสียต่างชนิดกันก็ตาม สลัดจ์ GSBR เป็นสลัดจ์ที่คุ้นเคยกับน้ำเสียกลูโคสในระบบเอสบีอาร์มาก่อน และสลัดจ์ที่ใช้สารอาหารกลูโคสสามารถจับใช้กลูโคสและเปลี่ยนเป็นกลัยโคเจนได้ดีกว่าสลัดจ์ ASBR (Liu และคณะ [9]) อย่างไรก็ดีในการสร้าง PHA จุลินทรีย์ทั้ง PAO และ GAO จำเป็นต้องใช้กลัยโคเจน โดย PAO จะใช้กลัยโคเจนเพื่อให้ได้ reducing power (NADH) และใช้พลังงานจากการสลายโพลีฟอสเฟตในเซล (Mino และคณะ [10]) ส่วน GAO จะใช้กลัยโคเจนเพื่อให้ได้ทั้ง reducing power และพลังงาน แต่เนื่องจากสลัดจ์จากระบบ GSBR คุ้นเคยกับกลไกการเปลี่ยนสารอาหารภายนอกมาสะสมอยู่ในรูปกลัยโคเจน ดังนั้นเมื่อมีทั้งการสะสมกลัยโคเจนและการใช้ไปจึงทำให้ผลต่างของกลัยโคเจนระหว่างชั่วโมงที่ 24 กับตอนเริ่มต้นมีค่าต่ำกว่าสลัดจ์จาก ASBR ในทุกสารอาหาร ยกเว้นสารอาหารที่ใช้กลูโคสเพียงอย่างเดียว (G:A 1:0) ดังแสดงไว้ในรูปที่ 3



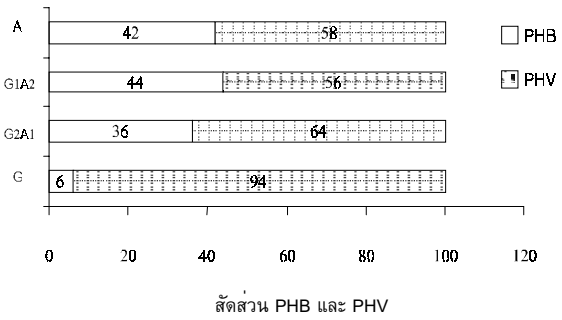
รูปที่ 3 ปริมาณ PHA และกลัยโคเจนในสลัดจ์ ASBR และ GSBR สำหรับสารอาหาร 4 ชนิด เมื่อ G:A (ก) 0:1 (ข) 1:2 (ค) 2:1 (ง) 1:0

สลัดจ์ ASBR ปลดปล่อยออโธฟอสเฟตเรียงตามลำดับจากมากไปน้อยคือ 33, 29, 24 และ 22 มก./ล. เมื่อใช้สารอาหาร G:A เท่ากับ 0:1 1:0 2:1 และ 1:2 ตามลำดับ โดยความสัมพันธ์ของการปลดปล่อยออโธฟอสเฟตจะมีแนวโน้มตรงกันข้ามกับการสลายไกลโคเจน ซึ่งในกรณีของสารอาหาร G:A เท่ากับ 1:0 สลัดจ์ ASBR สลายกลัยโคเจนน้อยที่สุด มีผลให้ได้พลังงานจากส่วนนี้น้อย ดังนั้นจำเป็นต้องสลายพลังงานจากโพลีฟอสเฟตภายในเซลล์ของตัวมันเองเพื่อใช้ในการจับใช้สารอาหาร ซึ่งจะมีความสัมพันธ์เหมือนกับกรณี G:A เท่ากับ 2:1 และ 1:2 แต่ในกรณีของสารอาหารที่เป็นอะซิเตต

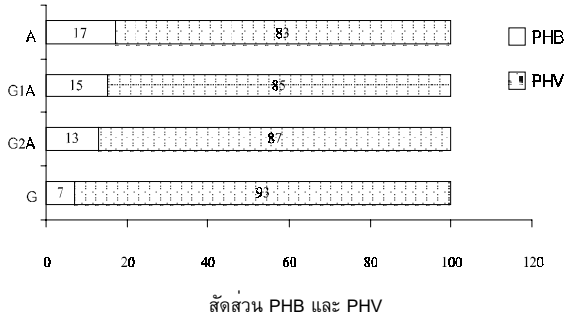
เพียงอย่างเดียว (G:A เท่ากับ 0:1) และเป็นการทดลองที่พบ PHA สูงสุด พบว่าจะมีการสลายกลัยโคเจนที่สูง รวมทั้งมีการปลดปล่อยออโธฟอสเฟตที่สูงด้วย ทั้งนี้เพราะกลัยโคเจนส่วนนี้ถูกนำไปใช้เป็นแหล่งให้ reducing power ด้วย

สำหรับสลัดจ์ GSBR ปลดปล่อยออโธฟอสเฟตสูงสุด เมื่อสารอาหารที่ใช้เป็นกลูโคสเพียงอย่างเดียว รองลงมาได้แก่สารอาหาร G:A 2:1 คือเท่ากับ 37 และ 11 มก./ล. ตามลำดับ ส่วนสารอาหารที่เป็นอะซิเตตเพียงอย่างเดียวหรือมีอะซิเตตในปริมาณที่มากกว่ากลูโคส (G:A 1:2) กลับพบการปลดปล่อยปริมาณฟอสฟอรัสในปริมาณใกล้เคียงกันและค่อนข้างต่ำคือประมาณ 5 มก./ล. และเช่นเดียวกับสลัดจ์ ASBR กล่าวคือสลัดจ์ GSBR มีการปลดปล่อยออโธฟอสเฟตในปริมาณที่มีความสัมพันธ์ไปในทิศทางตรงกันข้ามกับการสลายกลัยโคเจนในทุกสารอาหาร

องค์ประกอบของ PHA ที่สะสมโดยสลัดจ์ ASBR และ GSBR ด้วยสารอาหารชนิดต่างๆ แสดงดังรูปที่ 4 และ 5 ตามลำดับ



รูปที่ 4 องค์ประกอบของ PHA สำหรับสลัดจ์ ASBR



รูปที่ 5 องค์ประกอบ PHA สำหรับสลัดจ์ GSBR

ซึ่งจะพบว่าสลัดจ์ ASBR จะมีองค์ประกอบ PHB ต่อ PHV สูงกว่าในสลัดจ์ GSBR เมื่อเทียบที่สารอาหารเดียวกันในทุกสารอาหารที่ใช้ โดยที่สารอาหาร G:A 0:1 1:2, 2:1 และ 1:0 ให้องค์ประกอบของ PHB เท่ากับร้อยละ 42, 44, 36 และ 6 ตามลำดับ ในสลัดจ์ ASBR และให้องค์ประกอบของ PHB เท่ากับร้อยละ 17, 15, 13 และ 7 ตามลำดับ ในสลัดจ์ GSBR จากผลทั้งหมดแสดงให้เห็นผลของชนิดสารอาหารต่อองค์ประกอบของ PHA

อย่างไรก็ดี Mino และคณะ [11] ได้ใช้โมเดลที่พัฒนาขึ้นอธิบายกลไกและองค์ประกอบของ PHA และพบว่ากรณีของจุลินทรีย์ที่เป็น PAO (กล่าวคือใช้กลัยโคเจนเป็นแหล่งผลิต NADH เท่านั้น) และใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารจะได้ PHA ในรูปของ PHB ทั้งหมด แต่ถ้าเป็นจุลินทรีย์ GAO ซึ่งมีการสลายกลัยโคเจนเพื่อเป็นแหล่งพลังงานด้วยจะพบองค์ประกอบของ PHV อยู่ด้วยเสมอ (Liu และคณะ [3]) สำหรับ PHA ที่ได้จากการทดลองทั้งจากสลัดจ์ ASBR และ GSBR จะมี PHV เป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย เพราะสลัดจ์ทั้งสองเป็นสลัดจ์ผสมที่มีทั้ง PAO และ GAO อย่างไรก็ดี สลัดจ์ ASBR ซึ่งเป็นสลัดจ์ที่มีองค์ประกอบของ PAO สูงกว่าเพราะมาจากปฏิกรณ์ที่ดำเนินการในลักษณะ EBPR จะพบสัดส่วน PHB:PHV สูงกว่าสลัดจ์จาก GSBR ดังแสดงในตารางที่ 4 และเนื่องจากสลัดจ์

GSBR คุ้นเคยกับการใช้กลูโคสมาก่อนจึงมีกลไกของการสลายกลัยโคเจนเพื่อเป็นพลังงาน ดังนั้นถึงแม้ว่าในการทดลองในแบตช์จะเติมสารอาหารเป็นอะซิเตตล้วน แต่เปอร์เซ็นต์ของ PHV ใน PHA ยังสูงอยู่ถึง 83 เปอร์เซ็นต์ ใกล้เคียงกับเมื่อใช้กลูโคสซึ่งมี PHV 93 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4 ความสัมพันธ์ของการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ และองค์ประกอบของ PHA ในการใช้สารอาหารอะซิเตต

ชนิดสลัดจ์	โมลของการสลายกลัยโคเจน	โมลของการจับใช้อะซิเตต	โมลของการสะสม PHA	ΔPHA/ΔACE	ΔGLY/ΔACE	องค์ประกอบของPHA	
						%PHB	%PHV
ค่าทางทฤษฎี* PAOs	0.17	1	0.67	-	-	100	0
ASBR	0.47	1	0.49	-1.12	+1.40	42	58
GSBR	0.53	1	0.27	-0.64	+1.60	17	83

<u>หมายเหตุ</u> *ค่าทางทฤษฎี มาจาก Mino [11] ΔPHA/ΔACE และ ΔGLY/ΔACE คือ สัดส่วนโดยน้ำหนักของคาร์บอน เมื่อ ΔPHA คือการเปลี่ยนแปลงของ PHA ΔGLY คือการเปลี่ยนแปลงกลัยโคเจน และ ΔACE คือการเปลี่ยนแปลงอะซิเตต

4. สรุปผลการทดลอง

การสะสม Polyhydroxyl alkanoate PHA ของจุลินทรีย์เกิดขึ้นในช่วงแอนแอโรบิกของกระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบแอนแอโรบิก-แอโรบิกเอสบีอาร์ โดยปริมาณสะสมขึ้นกับคุณสมบัติของน้ำเสีย ถ้าเทียบที่ความเข้มข้นสารอินทรีย์ในรูป COD ใกล้เคียงกันประมาณ 1000~1500 มก./ล. น้ำเสียที่มีสารอินทรีย์ที่หมักแล้ว คือมีปริมาณอะซิเตตอยู่ในสัดส่วนที่สูงและมีสัดส่วน COD ต่อฟอสฟอรัสที่ต่ำ หรือกระบวนการ EBPR พบว่าสลัดจ์จุลินทรีย์สามารถสะสม PHA ที่ปลายสภาวะแอนแอโรบิกได้สูงกว่า ในการทดลองนี้ ASBR คือระบบ EBPR มีค่า PHA เท่ากับ 48 มก.C/ก.VSS (ร้อยละ 9.6) สูงกว่าใน GSBR ที่ป้อนด้วยกลูโคส ซึ่งได้ PHA 20 มก.C/ก.VSS (ร้อยละ 3.4)

อย่างไรก็ดีในการดำเนินงานของกระบวนการบำบัดน้ำเสีย ค่า PHA ที่ได้ในสลัดจ์ยังไม่ใช่ค่าสูงสุดที่สะสมได้ ดังนั้นเมื่อนำมาทดลองในแบตช์ที่เพิ่มสารอินทรีย์เข้าเป็น 1500 มก./ล. และให้อยู่ในสภาพไร้อากาศจริงโดยไล่อากาศตลอดเวลาด้วยแก๊สไนโตรเจน พบว่า เมื่อสารอาหารเป็นสารอาหารชนิดเดียวกับที่ป้อนในแอนแอโรบิก-แอโรบิกเอสบีอาร์ การสะสม PHA สูงขึ้นทั้งในสลัดจ์ ASBR และ GSBR โดย PHA เท่ากับ 105.2 มก.C/ก.VSS และ 44.0 มก.C/ก.VSS ตามลำดับ

สำหรับสลัดจ์ ASBR เมื่อองค์ประกอบของสารอาหารในค่า COD เท่ากัน ถ้ามีอะซิเตตยิ่งสูงปริมาณ PHA ที่ผลิตได้จะมากตาม แต่องค์ประกอบของ PHV ใน PHA จะลดลงเท่ากับ 58 เปอร์เซ็นต์ และ 94 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเป็นสารอาหารอะซิเตตและกลูโคส ตามลำดับ

นอกจากนี้ แม้กระทั่งสลัดจ์ GSBR ที่คุ้นเคยกับการใช้กลูโคสในแอนแอโรบิก-แอโรบิก เอสบีอาร์มาก่อน เมื่อใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารก็สามารถผลิต PHA ในแบตช์ได้สูงเท่ากับเมื่อใช้กลูโคส (42~48 มก.C/ก.VSS) แตกต่างเฉพาะองค์ประกอบ คือ PHV เท่ากับ 83 เปอร์เซ็นต์ และ 93 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเป็นสารอาหารอะซิเตตและกลูโคส ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบกับสลัดจ์ ASBR พบว่าสลัดจ์ GSBR ไม่ว่าจะป้อนสารอาหารกลูโคส-อะซิเตตด้วยสัดส่วนใดจะมี PHV เป็นองค์ประกอบสูงกว่า

5. เอกสารอ้างอิง

1. Satoh, H., Iwamoto, Y., Mino, T., and Matsuo, T., 1998, "Activated Sludge As a Possible Source of Biodegradable Plastic," *Water Science and Technology*, Vol. 38, No. 2, pp. 103-109.

2. Chua, H. and Yu, L., 1991, Polymers From Biobased Materials, Noyes Data Corporation, New Jersey, Park Ridge, pp. 22-25.

3. Liu, W. T., Mino, T., Matsuo, T., and Nakamura, K., 1996, "Glycogen Accumulating Population and Its Anaerobic Substrate Uptake in Anaerobic-Aerobic Activated Sludge without Biological Phosphorus Removal," *Water Research*, Vol. 30, No. 1, pp. 75-82.

4. Satoh, H., Mino, T., and Matsuo, T., 1992, "Uptake of Organic Substrates and Accumulation of Polyhydroxyalkanoates Linked with Glycolysis of Intracellular Carbohydrates under Anaerobic Conditions in the Biological Excess Phosphate Removal Process," *Water Science and Technology*, Vol. 26, No. 6, pp. 933-942.

5. Sudiana, I. M., Mino, T., Satoh, H., Nakamura, K. and Matsuo, T., 1999, "Metabolism of Enhanced Biological Phosphorus Removal and Non-Enhanced Biological Phosphorus Removal Sludge with Acetate and Glucose as Carbon Source," *Water Science and Technology*, Vol. 39, No. 6, pp. 29-35.

6. APHA., 1992, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 18th ed., Washington DC, American Public Health Association, pp. 2120, 2320, 2540 and 5210.

7. Satoh, H., Ramey, W. D., Koch, F. A., Oldham, W. K., Mino, T., and Matsuo, T.,1996, "Anaerobic Substrate Uptake by the Enhanced Biological Phosphorus Removal Activated Sludge Treating Real Sewage," *Water Science and Technology*, Vol. 34, No. 1, pp. 8-15.

8. Gaudy, A. F. and Gaudy, E. T., 1981, *Microbiology for Environmental Engineers and Scienctist*, Tokyo, McGraw-Hill, pp. 201-202.

9. Liu, W., Mino, T., Nakamura, K., and Matsuo, T., 1996, "Glycogen Accumulating Populations and its Anaerobic Substrate Uptake in Anaerobic-Aerobic Activated Sludge without Biological Phosphorus Removal," *Water Research*, Vol. 30, No. 1, pp. 75-82.

10. Mino, T., Tsuzuki, Y., and Matsuo, T., 1987, "Effect of Phosphorus Accumulation on Acetate Metabolism in the Biological Phosphorus Removal Process," *Advanced Water Pollution Control*, pp. 27-38.