เลขทะเบียน คพ. 08-020
เล่มที่ 4/4

กรมควบคุมมลพิษ
POLLUTION CONTROL DEPARTMENT

คู่มือวิชาการระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศ
เล่มที่ 2

ISBN 974-9558-56-1

กรมควบคุมมลพิษ

กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

รายการของรายงานหลักและรายงานประกอบ

การจัดทำคู่มือวิชาการระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศ

เล่มที่ 1/4 **รายงานสรุปสำหรับผู้บริหาร**

เล่มที่ 2/4 **รายงานหลัก**

เล่มที่ 3/4 **คู่มือวิชาการระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศ ชุดที่ 1**

เล่มที่ 4/4 **คู่มือวิชาการระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศ ชุดที่ 2**

งานที่ปรากฏในเอกสารฉบับนี้รวมทั้งโสตทัศนวัสดุ สิ่งบันทึกเสียงและงานอื่นๆ เป็นลิขสิทธิ์ของกรมควบคุมมลพิษ ซึ่งที่ปรึกษาของกรมควบคุมมลพิษได้จัดทำขึ้นเพื่อใช้เป็นแนวทางในการแก้ไขปัญหาสิ่งแวดล้อม

ห้ามผู้ใดนำงานนี้ไม่ว่าทั้งหมดหรือบางส่วนไปทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ต่อสาธารณชนในทางการค้า ให้เช่า หรือกระทำการใดอันเป็นการละเมิดลิขสิทธิ์ของกรมควบคุมมลพิษ เว้นแต่จะได้รับอนุญาตจากกรมควบคุมมลพิษตามกฎหมายว่าด้วยลิขสิทธิ์ ทั้งนี้ผู้ได้รับอนุญาตจะต้องอ้างอิงชื่อกรมควบคุมมลพิษในฐานะเจ้าของลิขสิทธิ์ทุกครั้งที่นำงานไปใช้ไม่ว่าทั้งหมดหรือบางส่วน

กรมควบคุมมลพิษไม่รับผิดชอบในความเสียหายที่เกิดขึ้นหรืออาจเกิดขึ้นเพราะการนำงานนี้ไปใช้ไม่ว่าโดยวิธีใดวิธีหนึ่ง ฉะนั้น การนำงานนี้ไปใช้ไม่ว่าทั้งหมดหรือบางส่วนควรปรึกษากับผู้ที่มีความรู้ความชำนาญเกี่ยวกับงานนั้นๆ ด้วย

คำนำ

กรมควบคุมมลพิษก่อตั้งขึ้นตามพระราชกฤษฎีกาแบ่งส่วนราชการกรมควบคุมมลพิษ กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม พ.ศ. 2535 มีอำนาจหน้าที่ตามกฎกระทรวงแบ่งส่วนราชการกรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม พ.ศ.2545 ดังต่อไปนี้ เสนอความเห็นเพื่อจัดทำนโยบายและแผนการส่งเสริมและรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อมแห่งชาติด้านการควบคุมมลพิษ เสนอแนะการกำหนดมาตรฐานคุณภาพสิ่งแวดล้อมและมาตรฐานควบคุมมลพิษจากแหล่งกำเนิด จัดทำแผนจัดการคุณภาพสิ่งแวดล้อมและมาตร-การในการควบคุม ป้องกันและแก้ไขปัญหาสิ่งแวดล้อม ติดตามตรวจสอบคุณภาพสิ่งแวดล้อม และจัดทำรายงานสถานการณ์มลพิษ พัฒนาระบบ รูปแบบและวิธีการที่เหมาะสมสำหรับระบบต่างๆ เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการจัดการคุณภาพน้ำ อากาศ ระดับเสียง สารอันตราย และกากของเสีย ดำเนินการตามกฎหมายว่าด้วยการส่งเสริมและรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อมแห่งชาติด้านการควบคุมมลพิษ และดำเนินการเกี่ยวกับเรื่องราวร้องทุกข์ด้านมลพิษ

ฝ่ายคุณภาพสิ่งแวดล้อมและห้องปฏิบัติการ มีอำนาจหน้าที่ในการสนับสนุนงานวิจัยและพัฒนาเกี่ยวกับการจัดการมลพิษ พัฒนาระบบ รูปแบบและวิธีการตรวจประเมินเทคโนโลยีการควบคุมมลพิษ ให้คำปรึกษาแนะนำเกี่ยวกับงานด้านวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม สนับสนุนและสร้างกลไกการแปลงแนวคิดของเทคโนโลยีการจัดการมลพิษสู่การใช้ในทางปฏิบัติ สนับสนุนการเสริมสร้างศักยภาพการแข่งขันเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์และธุรกิจเทคโนโลยีการควบคุมมลพิษ และวิเคราะห์ตัวอย่างสิ่งแวดล้อมของกรม

โครงการจัดทำคู่มือวิชาการระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศ มีวัตถุประสงค์เพื่อ พัฒนาความรู้ทางวิชาการในด้านระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศ อันเป็นเทคโนโลยีการบำบัดน้ำเสียที่เหมาะสมกับสภาพภูมิอากาศเขตร้อนของประเทศไทย การมีคู่มือวิชาการนี้จะช่วยให้ผู้บริหาร วิศวกร ช่างเทคนิค ตลอดจนถึงนักศึกษา สามารถใช้เป็นคู่มืออ้างอิงเพื่อเสริมสร้างความรู้ความเข้าใจ ซึ่งจะทำให้การปฏิบัติงานมีประสิทธิภาพต่อไป

หากท่านมีข้อสงสัยหรือข้อเสนอแนะเกี่ยวกับรายงานนี้ ท่านสามารถติดต่อได้ที่ฝ่ายคุณภาพสิ่งแวดล้อมและห้องปฏิบัติการ กรมควบคุมมลพิษ โทรศัพท์ 0 2298 2554

ฝ่ายคุณภาพสิ่งแวดล้อมและห้องปฏิบัติการ
กรมควบคุมมลพิษ

กิตติกรรมประกาศ

โครงการการจัดทำคู่มือวิชาการระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศ ดำเนินการโดย ศูนย์บริการวิชาการแห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยมี รศ.ดร.มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์ เป็นหัวหน้าโครงการ

คณะทำงานของที่ปรึกษาขอขอบพระคุณอธิบดีกรมควบคุมมลพิษและรองอธิบดีกรมควบคุมมลพิษที่ได้กรุณาให้คำแนะนำอันมีค่าต่อโครงการนี้ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่กรมควบคุมมลพิษทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์และร่วมมือในด้านต่างๆ รวมทั้งผู้เข้าร่วมการสัมมนาผลการดำเนินงานของโครงการทุกท่านที่ได้ให้ความเห็นในการปรับปรุงรายงานให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

สุดท้ายนี้ที่ปรึกษาขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่กรมควบคุมมลพิษที่ได้ช่วยเหลือและให้คำปรึกษารวมทั้งให้ข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ต่อการจัดทำรายงานและการดำเนินงานโครงการจนเสร็จสิ้นสมบูรณ์ดังมีรายนามต่อไปนี้

1. นายชนินทร์ ทองธรรมชาติ ผู้อำนวยการสำนักจัดการคุณภาพน้ำ
2. นางกัญชลี นาวิกภูมิ ผู้อำนวยการส่วนน้ำเสียเกษตรกรรม
3. นางสาวสุรีรัตน์ ถมยาศิริกุล นักวิชาการสิ่งแวดล้อม 6 ว
4. นายภัทรพล ตุลารักษ์ นักวิชาการสิ่งแวดล้อม 5
5. นางสาวนวนุช ทองแป้น นักวิชาการสิ่งแวดล้อม 4

รายการคำย่อและคำเต็ม

คำย่อ	คำเต็ม
AD	Anaerobic Digestion
A_2O	Anaerobic Anoxic Oxic
AF	Anaerobic Filter
AFB	Anaerobic Fluidized Bed
APB	Acid Producing Bacteria
ADP	Adenosine Diphosphate
ATP	Adenosine Triphosphate
BAT	Best Available Technology
BOD	Biochemical Oxygen Demand
COD	Chemical Oxygen Demand
DO	Dissolved Oxygen
EGSB	Expanded Granular Sludge Blanket
EB	Expanded Bed
FB	Fluidized Bed
FMN	Flavin Mononucleotide
GJ	Giga Joule
GSS	Gas Solid Separator
GTZ	Deutsche Gesellschaft fur Technische Zusammenarbeit
IC	Internal Circulation
IEA	International Energy Agency
kJ	Kilo Joule
MPB	Methane Producing Bacteria

คำย่อ	คำเต็ม
OECD	Organization for Economic Cooperation and Development
ORP	Oxidation Reduction Potential
RNA	Ribonucleic Acid
SRB	Sulfate Reducing Bacteria
SRT	Solids Retention Time
SS	Suspended Solids
TSIC	Thailand Standard Industrial Classification
TVS	Total Volatile Solids
UASB	Upflow Anaerobic Sludge Blanket
VSS	Volatile Suspended Solids

รายการคำศัพท์และคำแปล

คำศัพท์	คำแปล
Acid Fermentation	ปฏิกิริยาแบบไม่ใช้อากาศที่มีการสร้างกรดไขมันระเหยจากสารอินทรีย์อย่างง่าย เช่น กลูโคส หรือกรดอะมิโน
Acid Forming	การสร้างกรดไขมันระเหยในกระบวนการบำบัดแบบไม่ใช้อากาศ
Aerobic Oxidation	กลไกพื้นฐานในการบำบัดน้ำเสียด้วยกระบวนการทางชีวภาพแบบใช้อากาศโดยมีสารให้อิเล็กตรอนเป็นสารอินทรีย์ในน้ำเสีย และสารรับอิเล็กตรอนเป็นออกซิเจน
Anaerobic	สภาวะแวดล้อมที่ไม่มีไนเตรทและไม่มีออกซิเจน
Anaerobic Digestion (AD)	มีความหมาย 2 อย่างดังนี้ 1. โดยทั่วไปหมายถึงระบบการหมักแบบไม่ใช้อากาศทุกรูปแบบที่มีการสร้างมีเทน หรือ 2. ถังปฏิกิริยาแบบกวนสมบูรณ์ที่ใช้สร้างเสถียรภาพ(ย่อย)ให้กับตะกอนอินทรีย์หรือสลัดจ์จุลินทรีย์หรือน้ำเสียเข้มข้น
Anoxic	สภาวะแวดล้อมที่มีไนเตรทแต่ไม่มีออกซิเจน
Anoxic-Oxic (AO)	ระบบกำจัดไนโตรเจนที่มีถังปฏิกิริยาแบบ Anoxic และแบบ Oxic
ATP	สารประกอบฟอสเฟตที่มีพลังงานสูง

คำศัพท์	คำแปล
Autotrophic	ใช้สารอนินทรีย์ เช่น คาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอน
Binary Fission	การขยายพันธุ์แบบเพิ่มเท่าตัว
Chemiosmosis	ปรากฏการณ์การขนส่งโปรตอนผ่านแผ่นเยื่อบางเป็นผลให้เกิดความต่างศักย์ ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้
Chemoheterotroph	แบคทีเรียที่ดำรงชีพและเจริญเติบโตโดยได้รับพลังงานจากปฏิกิริยาเคมีในการย่อยสลายสารอินทรีย์ต่างๆ ซึ่งเป็นทั้งแหล่งคาร์บอนและสารให้อิเล็กตรอน เช่น กรดไขมันระเหยหรือแอลกอฮอล์
Chemolithoautotrophs	จุลินทรีย์ที่ใช้สารอนินทรีย์เป็นแหล่งพลังงานและใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอน
Chemolithotrophs	จุลินทรีย์ที่ใช้สารอนินทรีย์เป็นแหล่งพลังงาน
Chemoorganotroph	จุลินทรีย์ที่ใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งพลังงาน
Chemostat	ถังปฏิกิริยาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ภายใต้สภาวะมีการป้อนสารละลายสับสเตรทอย่างต่อเนื่อง
Co Digester	ถังหมักไม่ใช้อากาศที่ใช้ย่อยสับสเตรทมากกว่า 1 อย่าง เช่น ย่อยมูลสัตว์ร่วมกับการย่อยน้ำเสียอุตสาหกรรม เป็นต้น
Denitrification	ปฏิกิริยาที่เปลี่ยนไนเตรตเป็นไนไตรท์และไนโตรเจนโดยมีไนเตรตเป็นสารรับอิเล็กตรอน

	และสารอินทรีย์คาร์บอนเป็นสารให้อิเล็กตรอน
คำศัพท์	**คำแปล**
Emden-Meyerhof Pathway (EMP)	วิถีเมตาบอลิสมที่ใช้ย่อยกลูโคสเป็นกรดไพรูวิก ชื่อที่นิยมเรียกคือ ไกลโคลัยซิส (Glycolysis)
Enrichment	การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยอาหารสังเคราะห์ เพื่อให้เจริญเติบโตได้เต็มที่
Enrichment Culture	สายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ได้รับการเลี้ยงด้วยอาหารสังเคราะห์
Facultative Anaerobes	แบคทีเรียที่อยู่ได้ทั้งสภาวะที่มีอากาศหรือไม่มีอากาศ
Fermentation	การหมัก คือปฏิกิริยารีดอกซ์ทางชีวภาพของสารประกอบอินทรีย์ที่เกิดขึ้นในภาวะที่ไม่มีสารรับอิเล็กตรอนภายนอก
Gram Negative	ประเภทของแบคทีเรียแบบแกรมลบ
Gram Positive	ประเภทของแบคทีเรียแบบแกรมบวก
Granular Sludge	แบคทีเรียที่เลี้ยงให้เติบโตเป็นเม็ด
Heterotrophic	ใช้สารอินทรีย์ เช่น บีโอดี เป็นแหล่งคาร์บอน
Lyse	การแตกของเซลล์ ทำให้สารภายในรั่วออกนอกเซลล์
Luxury Phosphorus Uptake	กลไกการกำจัดฟอสฟอรัสด้วยกระบวนการชีวภาพ โดยการเลี้ยงเพาะเชื้อแบบไม่ใช้ออกซิเจนตามด้วยถังแบบใช้ออกซิเจนหรือแอโรบิกทำให้เกิดการคัดพันธุ์แบคทีเรียชนิดพิเศษ ซึ่งสามารถจับฟอสฟอรัสได้มากกว่าปริมาณที่เซลล์ต้องการ

ใช้ในการเจริญเติบโต

คำศัพท์	คำแปล
Mesophilic	ช่วงของอุณหภูมิ 8-45 oซ ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย
Methane Fermentation	ปฏิกิริยาแบบไม่ใช้อากาศที่มีการสร้างกาซมีเทนจากกรดอะซิติก
Methanogens	แบคทีเรียสร้างมีเทน
Mixotrophs	จุลินทรีย์ที่ใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอนและใช้ทั้งสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์เป็นแหล่งพลังงาน
Obligate Anaerobes	แบคทีเรียไม่ใช้อากาศชนิดเด็ดขาด
Oxic	สภาวะแวดล้อมที่มีออกซิเจน
Predator	จุลินทรีย์ผู้ทำลาย (ผู้ล่า)
Prey	จุลินทรีย์ผู้ถูกทำลาย (เหยื่อ)
Stoichiometric Equation	สมการแสดงสมดุลย์ทั้งสองข้าง
Sulfate Reduction	กระบวนการไม่ใช้อากาศแบบเด็ดขาดที่อาศัยแบคทีเรียรีดิวซิงซัลเฟต(SRB) ทำหน้าที่ย่อยสลายไฮโดรเจนหรือสารประกอบอะซิเตทหรือสารอินทรีย์อื่น(ใช้เป็นสารให้อิเล็กตรอน)และมีซัลเฟต ซัลไฟต์ หรือไธโอซัลเฟตเป็นสารรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย ซึ่งจะถูกรีดิวส์เป็นซัลไฟด์
Syntrophy	ความสัมพันธ์ของการอยู่ร่วมกันของสิ่งมีชีวิตแบบให้ประโยชน์ซึ่งกันและกัน
Thermophilic	ช่วงของอุณหภูมิ 40-70 oซ ที่เหมาะสมต่อการ

	เจริญเติบโตของแบคทีเรีย
คำศัพท์	**คำแปล**
Xenobiotic	สารอินทรีย์สังเคราะห์ซึ่งจุลินทรีย์ไม่รู้จัก (จึงยากที่จะถูกย่อยสลายทางชีวภาพ)
Yeast Extract	สารอาหารชนิดหนึ่งที่สมบูรณ์ไปด้วยธาตุและสารอินทรีย์ต่างๆที่แบคทีเรียต้องการเล็กน้อยแต่จำเป็น
Yield	ผลผลิตของจุลินทรีย์ที่ประเมินจากสับสเตรทที่บริโภค

ความหมายของสัญลักษณ์

สัญลักษณ์	ความหมาย
b	อัตราจำเพาะการย่อยสลายเซลล์ (ชม.$^{-1}$)
b_d	อัตราจำเพาะการย่อยสลายเซลล์ตาย (ชม.$^{-1}$)
b_v	อัตราจำเพาะการย่อยสลายเซล์ที่มีชีวิต (ชม.$^{-1}$)
E_s	ประสิทธิภาพการกำจัดสับสเตรท (เปอร์เซ็นต์)
f_s^o	สัดส่วนของสารให้อิเล็กตรอนที่ถูกใช้ในการสร้างเซลล์
k_d	อัตราจำเพาะการย่อยสลายเซลล์ (ชม.$^{-1}$)
K_I	สัมประสิทธิ์การชลอตัว (มก./ล.)
K_m	ความเข้มข้นสับสเตรทเมื่ออัตราจำเพาะการใช้สับสเตรทมีค่าเป็นครึ่งหนึ่งของอัตราจำเพาะการใช้สับสเตรทสูงสุด (มก./ล.)
K_S	ความเข้มข้นสับสเตรทเมื่ออัตราจำเพาะการเติบโตมีค่าเป็นครึ่งหนึ่งของอัตราจำเพาะการเติบโตสูงสุด (มก./ล.)
P_X	เซลล์แบคทีเรียส่วนเกินที่เกิดขึ้น (กรัม/ชม.)
q	อัตราจำเพาะการใช้สับสเตรท (ชม.$^{-1}$)
q_m	อัตราการใช้สับสเตรทจำเพาะสูงสุด (ชม.$^{-1}$)
Q	อัตราไหลน้ำเข้า (ลิตร/ชม.)
r	อัตราหมุนเวียนตะกอน
r_{dx}	อัตราการสลายตัวและตาย (มก./ล.-วัน)
r_{DXD}	อัตราการสลายตัวของเซลล์ตาย (มก./ล.-ชม.)
r_{DXV}	อัตราการสลายตัวของเซลล์มีชีวิต (มก./ล.-ชม.)

สัญลักษณ์	ความหมาย
r_{GXV}	อัตราการเพิ่มเซลล์มีชีวิต (มก./ล.-ชม.)
r_s	อัตราการใช้สับสเตรท (มก./ล.-ชม.)
S_{min}	ความเข้มข้นสับสเตรทต่ำสุดที่ทำให้อัตราการเติบโตของแบคทีเรียเท่ากับอัตราการตาย (ความเข้มข้นสับสเตรทน้ำออกต่ำสุดที่สามารถทำได้) (มก./ล.)
S	ความเข้มข้นสับสเตรทในน้ำออก (มก./ล.)
S_o	ความเข้มข้นสับสเตรทน้ำเข้า (มก./ล.)
V_{max}	อัตราการใช้สารอาหารจำเพาะสูงสุด (ชม.$^{-1}$)
X	ความเข้มข้นของแข็งแขวนลอย (มก./ล.)
X_d	ความเข้มข้นเซลล์ตาย
X_r	ความเข้มข้นของแข็งแขวนลอยที่ก้นถังตกตะกอน (มก./ล.)
X_v	ความเข้มข้นของเซลล์ที่มีชีวิต (มก./ล.)
Y_g	ยีลด์แท้ (มก.VSS/มก.ซีโอดีที่ถูกกำจัด)
Y_{obs}	ยีลด์ปรากฏ (มก.VSS/มก.ซีโอดีที่ถูกกำจัด)
μ	อัตราจำเพาะการเจริญเติบโต (ชม.$^{-1}$)
μ_m	อัตราจำเพาะการเจริญเติบโตสูงสุด (ชม.$^{-1}$)
θ_c	เวลากักตะกอน (ชม.)
θ_{cmin}	เวลากักตะกอนต่ำสุดที่แบคทีเรียสามารถเพิ่มจำนวนได้ (ชม.)
τ	เวลากักน้ำของถัง (ชม.)
τ_{min}	เวลากักน้ำต่ำสุด (ชม.)

สารบัญ

บทที่ 1 บทนำ

1.1 หลักการบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีชีวภาพ 1-1
1.2. การจำแนกประเภทของจุลินทรีย์ 1-6
1.2.1 การจำแนกตามลักษณะโครงสร้างของเซลล์ 1-6
1.2.2 การจำแนกตามแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอน 1-12
1.2.3 การจำแนกตามช่วงอุณหภูมิ 1-14
1.2.4 การจำแนกตามสารรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย 1-14
1.3 หลักการบำบัดแบบไม่ใช้อากาศ 1-17

บทที่ 2 จุลชีววิทยาและชีวเคมีของกระบวนการย่อยแบบไม่ใช้อากาศ

2.1 ประเภทของแบคทีเรียในกระบวนการย่อยแบบไม่ใช้อากาศ 2-1
2.1.1 แบคทีเรียสร้างกรดไขมันระเหย (Acidogenic Bacteria) 2-1
2.1.2 แบคทีเรียสร้างกรดอะซิติก (Acetogenic Bacteria) 2-3
2.1.3 แบคทีเรียสร้างมีเทน 2-7
2.2 ชีวเคมีของแบคทีเรียสร้างมีเทน 2-12
2.2.1 โคเอนไซม์เฉพาะ 2-12
2.2.2 กระบวนการสร้างมีเทนจากไฮโดรเจนและ
คาร์บอนไดออกไซด์ 2-12
2.2.3 กระบวนการสร้างมีเทนจากสารประกอบเมทิล 2-17
2.2.4 กระบวนการสร้างมีเทนจากอะซิเตต 2-19

สารบัญ (ต่อ)

2.3 ขั้นตอนของปฏิกิริยาย่อยแบบไม่ใช้อากาศ 2-21
2.4 ตัวอย่างวิถีชีวเคมีที่เกิดขึ้นในขั้นตอนการสร้างกรดไขมันระเหยจากกลูโคส 2-26
2.5 บทบาทของไฮโดรเจนที่มีต่อกระบวนการย่อยไม่ใช้อากาศ 2-30
2.5.1 ผลกระทบต่อการสร้างกรดไขมันระเหย 2-31
2.5.2 ผลกระทบต่อการสร้างกรดอะซิติก 2-32
2.6 ปัจจัยทางสภาวะแวดล้อมที่ส่งผลการทำงานของแบคทีเรียสร้างมีเทน 2-33
2.6.1 อุณหภูมิ 2-33
2.6.2 พีเอช 2-35
2.6.3 กรดไขมันระเหยและสภาพด่าง 2-35
2.6.4 ธาตุอาหาร (nutrient) 2-36
2.6.5 สารพิษ 2-38
2.6.6 พิษของซัลไฟด์ 2-40
2.6.7 พิษจากสารอื่นๆ 2-40

บทที่ 3 จุลชีววิทยาและชีวเคมีของกระบวนการไนเตรทรีดักชัน
3.1 แบคทีเรียดีไนตริฟายเออร์ 3-1
3.2 ชีวเคมีของปฏิกิริยาไนเตรทรีดักชันแบบสร้างพลังงาน 3-2
3.2.1 วิถีชีวเคมีของปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชัน 3-2

สารบัญ (ต่อ)

3.2.2 สารให้อิเล็กตรอน 3-5
3.2.3 ที่อยู่อาศัยของดีไนตริฟายเออร์ 3-5
3.2.4 บทบาทของออกซิเจนละลาย (DO) 3-6
3.2.5 บทบาทของพีเอช 3-7

บทที่ 4 จุลชีววิทยาและชีวเคมีของกระบวนการซัลเฟตรีดักชัน

4.1 จุลชีววิทยาของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต 4-1
4.2 ชีวเคมีของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต 4-11
4.3 ปัจจัยทางสภาวะแวดล้อมที่ส่งผลการทำงานของ
แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต 4-25

บทที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียกลุ่มต่างๆ ในระบบไม่ใช้อากาศ

5.1 แบคทีเรียสร้างมีเทนกับแบคทีเรียสร้างกรดอะซิติก 5-2
5.2 ความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียกลุ่มต่างๆ ในการย่อยสลาย
สารอินทรีย์ในน้ำเสียที่มีซัลเฟต 5-5
5.2.1 การแข่งขันระหว่างแบคทีเรียสร้างอะซิเตทและ
แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต 5-7
5.2.2 การแข่งขันระหว่างแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรีย
สร้างมีเทนในการแย่งใช้ไฮโดรเจน 5-9
5.2.3 การแข่งขันระหว่างแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรีย
สร้างมีเทนในการแย่งใช้อะซิเตท 5-11

สารบัญ (ต่อ)

5.3 ปัจจัยแวดล้อมที่มีผลต่อความสัมพันธ์ของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต และแบคทีเรียสร้างมีเทน 5-15

บทที่ 6 จลน์ศาสตร์ของระบบบำบัดแบบไม่ใช้อากาศ

6.1 กิจกรรมต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในระหว่างการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์ 6-1
6.1.1 การเติบโตของจุลินทรีย์และการบริโภคสับสเตรต 6-4
6.1.2 การย่อยสลายตัวเองของจุลินทรีย์ (Microbial Decay) 6-6
6.1.3 ค่าของยีล 6-11
6.2 สมการของโมโนด (Monod Equation) 6-16
6.2.1 รูปแบบของกราฟโมโนด 6-16
6.2.2 สารอาหารที่เป็นตัวกำหนดอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์ 6-24
6.2.3 อิทธิพลของ μ_m และ K_S ที่มีต่อสมการของโมโนด 6-25
6.2.4 ค่าของ μ_m และ K_S 6-25
6.3 การใช้ประโยชน์จากสมการโมโนด 6-31
6.3.1 การใช้สมการของโมโนดในการออกแบบระบบถังย่อยไม่ใช้อากาศ (Anaerobic Digester) 6-31
6.3.2 โมเดลคณิตศาสตร์ของถังเอเอสแบบไม่ใช้อากาศ (Anaerobic Contact หรือระบบเอซี) 6-39
6.3.3 การใช้กราฟโมโนดในการคัดเลือกพันธุ์เด่นของแบคทีเรีย 2 ชนิด 6-41

เอกสารอ้างอิง

บทที่ 1
บทนำ

1.1. หลักการบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีชีวภาพ

คนบริโภคอาหารเพื่อการดำรงชีวิต เพื่อการเจริญเติบโต เพื่อให้มีกำลังในการทำกิจการงานต่างๆ แต่ไม่สามารถใช้อาหารที่บริโภคเข้าไปนั้นได้ทั้งหมด ส่วนที่ไม่สามารถนำเอาไปใช้ได้นี้จะถูกขับออกมาทางปัสสาวะและอุจจาระ เมื่อคนมาอยู่ร่วมกันเป็นชุมชนใหญ่ๆ ปริมาณของเสียก็เริ่มมีมากขึ้นตามจำนวนคน ซึ่งในอดีตถึงแม้จะมีคนมาอยู่อาศัยรวมกันเป็นชุมชนขนาดใหญ่ มีของเสียเกิดขึ้นในปริมาณมาก แต่ปัญหาแม่น้ำลำคลองเน่าเสียก็มีไม่มากและไม่รุนแรงเช่นในปัจจุบัน เนื่องจากจำนวนคนในอดีตมีน้อยกว่าจำนวนคนในปัจจุบันมาก แต่ในปัจจุบันนี้นอกจากจำนวนประชากรที่เพิ่มขึ้นกว่าเดิมอย่างมากมายแล้ว ยังมีโรงงานอุตสาหกรรมทั้งใหญ่และเล็กอยู่เป็นจำนวนมากที่ช่วยกันปล่อยน้ำเสียลงสู่แม่น้ำลำคลองจนปัญหาสะสมรุนแรงและเห็นกันได้ชัดเจนในขณะนี้ และเมื่อปัญหาที่เกิดขึ้นส่งผลต่อคนส่วนใหญ่ในสังคม คนทั่วไปจึงเริ่มเอาใจใส่พร้อมทั้งได้เริ่มตระหนักว่าตนก็เป็นสาเหตุหนึ่งของปัญหาที่เกิดขึ้น ส่งผลให้สังคมเริ่มหาทางแก้ไขและป้องกันขึ้น รูปธรรมที่พอจะเห็นกันได้ค่อนข้างชัดเจน เช่น การออกกฎหมายเกี่ยวกับสิ่งแวดล้อม การออกกฎกระทรวงฉบับต่างๆ การก่อสร้างโรงบำบัดน้ำเสีย การเข้มงวดกับโรงงานอุตสาหกรรมปล่อยน้ำทิ้งลงสู่แหล่งน้ำ การเรียนการสอนในโรงเรียนที่มีเนื้อหาวิชาเกี่ยวกับสิ่งแวดล้อมรอบตัวและการอนุรักษ์สิ่งแวดล้อมมากขึ้นหรือการนำเสนอของสื่อโทรทัศน์และวิทยุต่างๆ เหล่านี้เป็นต้น

ในแหล่งน้ำตามธรรมชาติที่เห็นโดยทั่วไปมีสิ่งมีชีวิตอาศัยอยู่มากมาย ทั้งสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กและขนาดใหญ่ เช่น ปลา กุ้ง ฯ และสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าซึ่งรวมเรียกว่า ‘จุลินทรีย์’ สิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่มีบทบาทสำคัญในการทำให้น้ำเน่าเสียก็คือ ‘แบคทีเรีย’

เนื่องจากแบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิต จึงต้องการอาหารในการดำรงชีวิตและมีการสืบพันธุ์เช่นเดียวกันกับคน แต่อาหารของแบคทีเรียคือสิ่งสกปรกในน้ำเสียที่ปล่อยลงสู่แหล่งน้ำแบคทีเรียไม่ได้บริโภคสิ่งสกปรกในน้ำเสียเหล่านั้นทั้งหมด สิ่งสกปรกส่วนที่แบคทีเรียสามารถใช้เป็นอาหารได้ก็คือ สารอินทรีย์ในน้ำเสียและแร่ธาตุบางอย่างที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตและสร้างเซลล์ใหม่ เช่น ไนโตรเจนและฟอสฟอรัส เป็นต้น แบคทีเรียไม่ได้กินแต่สารอินทรีย์ในน้ำเสียเพียงอย่างเดียว แต่แบคทีเรียยังต้องการออกซิเจนในน้ำด้วย เนื่องจากแบคทีเรียต้องนำออกซิเจนมาใช้ในกระบวนการเผาผลาญอาหารเพื่อให้ได้พลังงานในการดำรงชีวิต สารอินทรีย์ถูกเอนไซม์ที่แบคทีเรียขับออกมานอกเซลล์ย่อยให้มีขนาดเล็กลงพอที่จะขนส่งเข้าเซลล์ได้ แล้วจึงนำสารอินทรีย์ที่เล็กลงแล้วนั้นผ่านผนังเซลล์ของแบคทีเรียเข้าสู่ภายในเซลล์ สารอินทรีย์ที่มีขนาดเล็กลงนั้นจะผ่านกระบวนการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ภายในเซลล์หลายชนิด จนท้ายที่สุดสารอินทรีย์เหล่านั้นส่วนหนึ่งจะถูกเปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์กับน้ำ อีกส่วนหนึ่งถูกนำไปใช้ในการสร้างเซลล์ใหม่ (สืบพันธุ์) พร้อมกับได้พลังงานมาใช้ในการสร้างเซลล์ใหม่และการดำรงชีวิตด้วย แบคทีเรียทั้งที่มีอยู่เดิมและที่เกิดขึ้นใหม่ก็จะกินสารอินทรีย์ในน้ำเสียที่ยังเหลืออยู่ต่อไปจนกว่าสารอินทรีย์ในน้ำเสียนั้นจะหมดลงหรือออกซิเจนในน้ำไม่เพียงพอต่อความต้องการ ซึ่งจะเห็นได้ว่าการปล่อยน้ำเสียลงสู่แหล่งน้ำจะทำให้ปริมาณออกซิเจนในน้ำนั้นลดลง แต่โดย

ปกติในธรรมชาติจะมีการเติมออกซิเจนให้กับแหล่งน้ำอยู่ตลอดเวลาอยู่แล้ว เช่น จากการไหลของน้ำซึ่งทำให้น้ำสัมผัสกับอากาศ หรือจากพืชน้ำสังเคราะห์แสง เป็นต้น แต่ในกรณีที่มีปริมาณน้ำเสียมากๆ หรือน้ำเสียปริมาณไม่มากแต่มีความสกปรกสูงไหลลงสู่แหล่งน้ำ ปริมาณออกซิเจนที่มีอยู่ในแหล่งน้ำและอัตราการเติมอากาศตามธรรมชาติไม่เพียงพอต่อความต้องการออกซิเจนของแบคทีเรีย แบคทีเรียจะใช้ออกซิเจนในแหล่งน้ำนั้นจนหมด เมื่อออกซิเจนในแหล่งน้ำนั้นหมดลง น้ำในแหล่งน้ำก็เริ่มเน่าเสีย สิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำที่ต้องใช้ออกซิเจนนั้นก็จะตายในขณะที่ออกซิเจนลดลงต่ำ หรือแม้แต่แบคทีเรียเองเมื่อขาดออกซิเจน แบคทีเรียซึ่งเป็น
ผู้ใช้ออกซิเจนและเป็นสาเหตุให้น้ำเน่าเสียก็ต้องตายด้วยเช่นกัน ในสภาวะเช่นนี้ แบคทีเรียอีกพวกหนึ่งซึ่งไม่ใช้อากาศในการดำรงชีวิตจะเจริญเติบโตขึ้นมาแทน โดยใช้สารอินทรีย์ที่ยังเหลืออยู่ในแหล่งน้ำเป็นอาหาร แบคทีเรียกลุ่มที่ไม่ใช้อากาศนี้จะย่อยสลายสารอินทรีย์ในลักษณะที่ต่างออกไปจากแบคทีเรียกลุ่มแรก โดยแบคทีเรียกลุ่มนี้จะเปลี่ยนสารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ให้เล็กลงและขนส่งเข้าสู่เซลล์ด้วยเอนไซม์ที่ขับออกมานอกเซลล์เช่นเดียวกับพวกที่ใช้ออกซิเจน แต่แบคทีเรียที่ไม่ใช้อากาศเพียงชนิดเดียวไม่สามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ได้อย่างสมบูรณ์เช่นเดียวกับแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจน จำต้องอาศัยแบคทีเรียหลายๆ ชนิดในการย่อยสลายสารอินทรีย์จนกระทั่งได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่เสถียรและไม่สามารถย่อยสลายได้ต่อไป โดยปกติแบคทีเรียที่ไม่ใช้อากาศกลุ่มแรกที่จะทำหน้าที่ย่อยสลายสารอินทรีย์คือแบคทีเรียสร้างกรดซึ่งจะย่อยสลายสารอินทรีย์ให้เป็นกรดอินทรีย์แล้วขับออกมานอกเซลล์ ต่อจากนั้นแบคทีเรียที่ไม่ใช้อากาศอีกกลุ่มหนึ่งจึงจะใช้กรดอินทรีย์ที่ขับออกมานั้นเปลี่ยนให้เป็นกรดอินทรีย์ที่มีขนาดเล็กลง กาซไนโตรเจน กาซมีเทน สารประกอบเมอร์แคปเทนหรือกาซไฮโดรเจน-ซัลไฟด์ (เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดกลิ่นเหม็น) นอกจากนั้นซัลไฟด์ที่เกิดขึ้นยัง

ตกตะกอนโลหะหนักได้ดี ทำให้แหล่งน้ำที่เน่าเสียนั้นมีสีดำน่ารังเกียจ (ซัลไฟด์เกิดขึ้นในภาวะไม่ใช้อากาศและในน้ำนั้นมีสารอินทรีย์และซัลเฟต โดยซัลเฟตมาจากสารส้มที่ใช้เติมในกระบวนการผลิตน้ำประปา ส่วนตะกอนโลหะซัลไฟด์สีดำส่วนใหญ่เป็นเหล็กซัลไฟด์ โดยเหล็กส่วนใหญ่มาจากท่อที่เป็นสนิม) ภาวะเช่นนี้จะหมดไปได้เมื่อสารอินทรีย์ในน้ำเสียหมดลงหรือมีเหลืออยู่น้อยมาก แบคทีเรียหมดสารอาหารที่ใช้ในการดำรงชีวิต จากนั้นการเติมอากาศโดยธรรมชาติ (หรือโดยเครื่องจักร) ก็จะค่อยๆ ทำให้น้ำในแหล่งน้ำนั้นมีออกซิเจนเพิ่มขึ้นจนเข้าสู่ระดับปกติ

เพื่อป้องกันการเน่าเสียของแหล่งน้ำ ระบบบำบัดน้ำเสียหลายๆแบบจึงถูกคิดค้นและพัฒนาขึ้น โดยใช้วิธีการทั้งทางกายภาพ ทางเคมีและทางชีวภาพ ระบบบำบัดน้ำเสียจึงอาจมีทั้งวิธีกายภาพ, เคมีและชีวภาพประกอบกัน แต่กระบวนการบำบัดทางชีวภาพจัดเป็นวิธีการที่ใช้บำบัดน้ำเสียอย่างได้ผลและมีประสิทธิภาพ นอกจากนั้นยังมีต้นทุนการบำบัดต่ำกว่าวิธีการแบบอื่นและเป็นเทคโนโลยีที่สะอาดเพราะไม่เพิ่มสารเคมีให้กับสิ่งแวดล้อม

หลักการของการบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีทางชีวภาพส่วนใหญ่จะใช้หลักการเดียวกัน คือ การเลียนแบบธรรมชาติ กล่าวคือ ใช้แบคทีเรียในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสีย สำหรับกระบวนการบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพที่ใช้ออกซิเจนก็จะใช้แบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนย่อยสลายสารอินทรีย์ส่วนหนึ่งให้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์กับน้ำ และอีกส่วนหนึ่งเปลี่ยนไปเป็นเซลล์แบคทีเรีย เช่นเดียวกับที่เกิดขึ้นในธรรมชาติ แต่ในระบบบำบัดน้ำเสีย แบคทีเรียในระบบจะมีปริมาณมากกว่าในธรรมชาติมาก อัตราการย่อยสลายสารอินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียจะเกิดขึ้นในอัตราที่เร็วกว่าหลายเท่า จึงต้องมีการเติมอากาศให้กับน้ำเสียเพื่อให้

เพียงพอกับความต้องการออกซิเจนของแบคทีเรีย น้ำที่ผ่านระบบบำบัดน้ำเสียมีความสกปรกน้อยและได้ค่าบีโอดีต่ำ อย่างไรก็ตาม ระบบบำบัดแบบใช้อากาศมีข้อเสียที่ต้องสิ้นเปลืองพลังงานในการเติมอากาศมาก และเซลล์แบคทีเรียที่เกิดขึ้นมีปริมาณมาก ทำให้ต้องเสียค่าใช้จ่ายในการนำสลัดจ์อันเกิดจากเซลล์แบคทีเรียที่เกิดขึ้นไปทิ้ง แต่ข้อดีของระบบบำบัดแบบใช้อากาศก็คือสามารถบำบัดน้ำเสียให้มีค่าบีโอดีต่ำกว่ามาตรฐานได้ และมีความน่าเชื่อถือสูง

ในส่วนของระบบบำบัดแบบไม่ใช้อากาศ ก็จะใช้การเลียนแบบธรรมชาติเช่นเดียวกัน แต่ใช้แบคทีเรียที่ไม่ใช้อากาศในการบำบัดน้ำเสียแทน โดยแบคทีเรียที่ไม่ใช้อากาศจะย่อยสลายสารอินทรีย์ส่วนหนึ่งเป็นกรดอินทรีย์ กาซมีเทน กาซไฮโดรเจนซัลไฟด์ และคาร์บอนไดออกไซด์ อีกส่วนหนึ่งจะถูกเปลี่ยนเป็นเซลล์แบคทีเรีย ข้อดีของระบบบำบัดแบบนี้ก็คือ ไม่ต้องสิ้นเปลืองพลังงานในการเติมอากาศ ทำให้ประหยัด อีกทั้งยังได้กาซมีเทนซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นเชื้อเพลิงเผาผลาญให้พลังงานได้อีกด้วย นอกจากนั้นเซลล์แบคทีเรียที่เกิดขึ้นก็มีปริมาณน้อยกว่าระบบบำบัดแบบใช้อากาศมาก ทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการกำจัดสลัดจ์น้อยกว่า แต่ข้อเสียก็คือ เป็นระบบที่มีกลิ่นและใช้ได้กับน้ำเสียบางประเภท เช่น น้ำเสียที่มีความเข้มข้นค่อนข้างสูง เป็นต้น นอกจากนี้น้ำที่ผ่านระบบบำบัดไม่ใช้อากาศไม่สามารถทิ้งได้ในทันทีเนื่องจากค่าบีโอดี ไนโตรเจนและของแข็งแขวนลอยมักมีค่าเกินมาตรฐานน้ำทิ้ง ดังนั้นระบบบำบัดแบบไม่ใช้อากาศจึงเหมาะสำหรับใช้กับน้ำเสียอุตสาหกรรมที่มีค่าบีโอดีสูง โดยใช้เพื่อลดค่าบีโอดีของน้ำเสียให้ต่ำลงก่อนผ่านเข้าสู่ระบบเติมอากาศ เพื่อประหยัดพลังงานในการเติมอากาศและลดค่าใช้จ่ายในการกำจัดสลัดจ์ที่เกิดขึ้น ส่วนระบบแบบใช้อากาศมักนิยมใช้กับน้ำเสียชุมชนซึ่งมีค่าบีโอดีไม่สูงนัก

1.2. การจำแนกประเภทของจุลินทรีย์

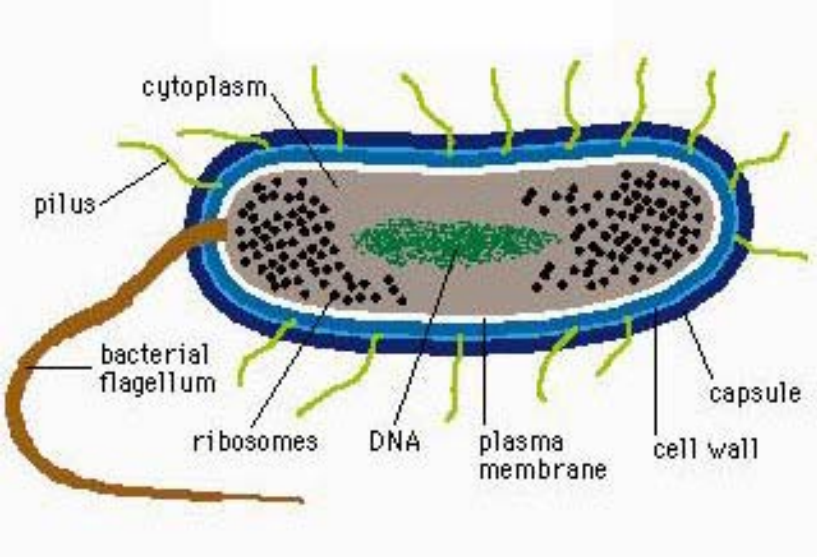
การจำแนกจุลินทรีย์ออกเป็นกลุ่มต่างๆ เป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการศึกษา เพราะทำให้การศึกษาเป็นไปอย่างมีระบบระเบียบ และทำให้เพื่อได้ทราบถึงการทำงานของกลุ่มจุลินทรีย์ได้ละเอียดขึ้น แต่โดยอาศัยหลักเกณฑ์ที่แตกต่างกัน ทำให้สามารถแบ่งจุลินทรีย์ออกได้เป็นหลายๆ กลุ่ม ตามแต่การพิจารณาของผู้แบ่ง

1.2.1 การจำแนกตามลักษณะโครงสร้างของเซลล์

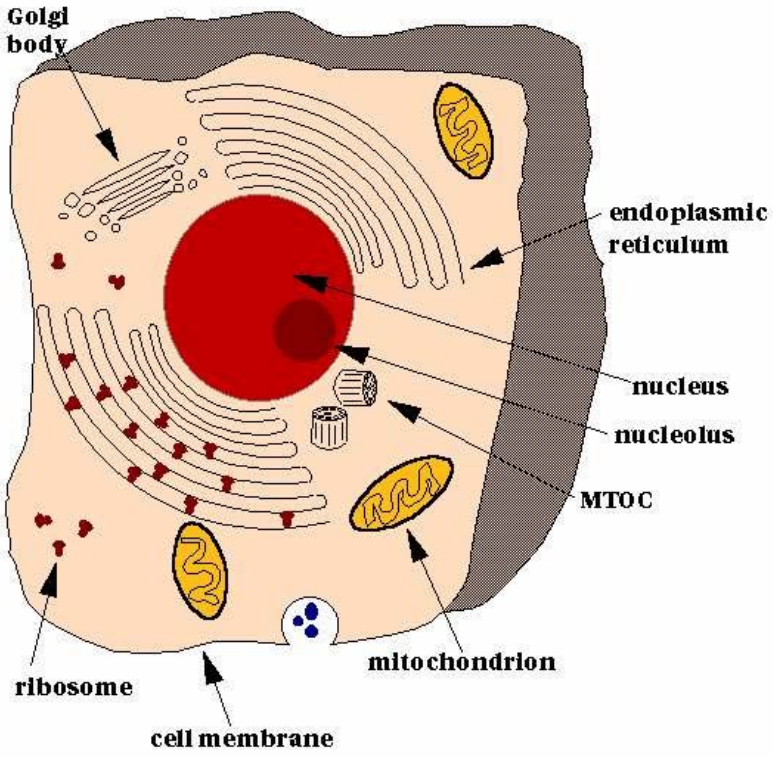
ในปี ค.ศ. 1866 เฮกเกล (E.H. Haeckel) นักสัตววิทยาเยอรมันจำแนกสิ่งมีชีวิตออกเป็น 3 อาณาจักร ได้แก่ อาณาจักรพืช อาณาจักรสัตว์และอาณาจักรโปรติสตา (อาณาจักรของสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว) ต่อมาในช่วงทศวรรษ 1950 การพัฒนากล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนทำให้นักวิทยาศาสตร์ทราบถึงโครงสร้างของเซลล์ละเอียดมากขึ้น จึงได้มีการจำแนกเซลล์ของสิ่งมีชีวิตออกเป็น 2 แบบ คือ เซลล์โปรคาริโอต (Procaryotic Cell) ซึ่งเป็นเซลล์ของสิ่งมีชีวิตที่ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส และเซลล์ยูคาริโอต (Eucaryotic Cell) คือเซลล์ของสิ่งมีชีวิตที่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส พวกแรกได้แก่ แบคทีเรียและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ส่วนพวกหลังได้แก่ รา โปรโตซัว สาหร่ายชนิดอื่น พืช และสัตว์ ลักษณะของเซลล์โปรคาริโอตแสดงดังรูปที่ 1.1 ส่วนลักษณะของเซลล์ยูคาริโอตแสดงดังรูปที่ 1.2

ต่อมาในปี ค.ศ. 1969 วิทเทเกอร์ (R.H. Whittaker) ได้จำแนกสิ่งมีชีวิตออกเป็น 5 อาณาจักร ได้แก่

- อาณาจักรโมเนรา (Monera) ซึ่งเป็นอาณาจักรของสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวที่ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียสได้แก่ แบคทีเรียและไซยาโนแบคทีเรีย (Cyanobacteria)
- อาณาจักรโปรติสตา (Protista) เป็นอาณาจักรของสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวที่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียสได้แก่ สาหร่ายขนาดเล็ก โปรโตซัว



รูปที่ 1.1 ลักษณะทั่วไปของเซลล์โปรคาริโอต (Kenneth Todar 2001)



รูปที่ 1.2 ลักษณะทั่วไปของเซลล์ยูคาริโอต (Kenneth Todar 2001)

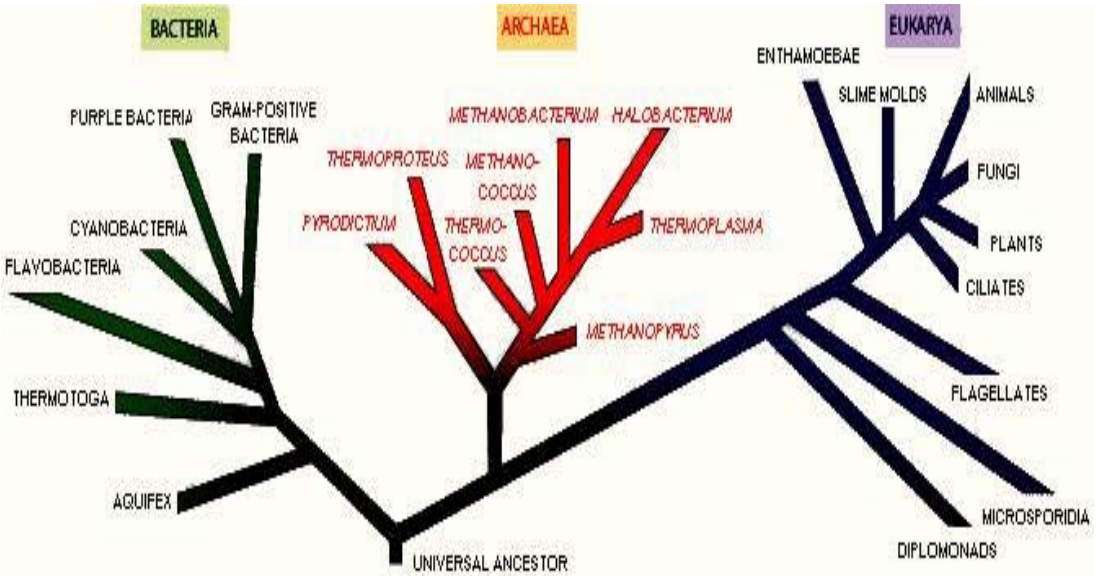
- อาณาจักรเห็ดรา (Fungi) เป็นทั้งพวกที่มีเซลล์เดียวและหลายเซลล์ ได้อาหารจากการดูดซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ ได้แก่ยีสต์ รา และเห็ด
- อาณาจักรพืช ซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดใหญ่ มีหลายเซลล์ ได้อาหารจากการสังเคราะห์แสง ได้แก่พืชสีเขียว และสาหร่ายชั้นสูง
- อาณาจักรสัตว์ เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดใหญ่ มีหลายเซลล์ และได้อาหารจากการกิน

แต่ต่อมาในปี ค.ศ.1977 คาร์ล อาร์ โวเซ (Carl R. Woese) และคณะได้จำแนกสิ่งมีชีวิตโดยอาศัย Small Subunit Ribosomal RNA (ssrRNA) ทำให้สามารถจำแนกสิ่งมีชีวิตออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ คือ อาร์เค (Archaea เดิมเรียกอาร์เคแบคทีเรีย), แบคทีเรีย (Bacteria เดิมเรียกยูแบคทีเรีย) และยูคารีอา (Eukarya) ดังแสดงในรูป 1.3

จากการจำแนกด้วยวิธีนี้ โดยแท้จริงแล้วจะทำให้สิ่งมีชีวิตแยกออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ สิ่งมีชีวิตที่ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียสหรือพวกโปรคาริโอต ได้แก่ แบคทีเรียและอาร์เค (Archaea) ส่วนกลุ่มที่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียสคือ พวกยูคาริโอต ได้แก่ ยูคาริอา (Eukarya)

ความแตกต่างของแบคทีเรีย, อาร์เค และยูคาริอาแสดงดังตารางที่ 1.1

แบคทีเรียสร้างมีเทนจัดอยู่ในกลุ่มอาร์เค ส่วนแบคทีเรียอื่น ได้แก่ แบคทีเรียสร้างกรด แบคทีเรียดีไนตริฟายเออร์ และแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต ถูกจัดอยู่ในกลุ่มแบคทีเรียทั้งหมด



รูปที่ 1.3 การจำแนกสิ่งมีชีวิตด้วย ssrRNA ตามเกณฑ์ของ Woese

(Madigan และคณะ 2000)

ตารางที่ 1.1 ลักษณะที่ต่างกันของแบคทีเรีย อาร์เค และยูคาริอาในส่วนที่เกี่ยวข้องกับการบำบัดน้ำเสีย (Rittmann McCarty 2001)

ลักษณะสมบัติ	ประเภทจุลินทรีย์		
	แบคทีเรีย	อาร์เค	ยูคาริอา
เยื่อหุ้มนิวเคลียส	ไม่มี	ไม่มี	มี
ผนังเซลล์ (Cell Wall)	มีกรดมิวรามิก	ไม่มีกรดมิวรามิก	ไม่มีกรดมิวรามิก
การสังเคราะห์แสง	ทำได้	ทำไม่ได้	ทำได้
การสร้างมีเทน	ทำไม่ได้	ทำได้	ทำไม่ได้
การสร้าง H_2S จาก S	ทำได้	ทำได้	ทำไม่ได้
ไนตริฟิเคชัน	ทำได้	ทำไม่ได้	ทำไม่ได้
ดีไนตริฟิเคชัน	ทำได้	ทำได้	ทำไม่ได้
การตรึงไนโตรเจน	ทำได้	ทำได้	ทำไม่ได้
การสร้าง PHA*	ทำได้	ทำได้	ทำไม่ได้
ไวต่อสารปฏิชีวนะ**	ไว	ไม่ไว	ไม่ไว
ไรโบโซมไวต่อทอกซินไดพเธเรีย (diphtheria toxin)	ไม่ไว	ไว	ไว

*** Poly-β- Hydroxyalkanoate **Chloramphenicol, Streptomycin และ Kanamycin**

1.2.2 การจำแนกตามแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอน

สิ่งมีชีวิตขนาดเล็กได้พลังงานมาจาก 2 แหล่ง คือ จากการสังเคราะห์แสงและจากปฏิกิริยาเคมี พวกที่ได้พลังงานจากการสังเคราะห์แสงเรียกว่า Phototrophs ส่วนพวกที่ได้พลังงานจากปฏิกิริยาเคมีเรียกว่า Chemotrophs ส่วนคาร์บอนก็มีที่มาจาก 2 แหล่งเช่นกัน คือ คาร์บอนจากอนินทรีย์สาร คือ คาร์บอนไดออกไซด์ และคาร์บอนจากสารอินทรีย์ แบคทีเรียที่ได้คาร์บอนจากสารอนินทรีย์เรียกว่า Autotrophs และแบคทีเรียที่ได้คาร์บอนจากสารอินทรีย์จะถูกเรียกว่าHeterotrophs (Chemoorganotroph) การจำแนกจุลินทรีย์ดังกล่าวข้างต้นสามารถสรุปได้ดังแสดงอยู่ในตารางที่ 1.2

ตารางที่ 1.2 การจำแนกจุลินทรีย์ตามแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอน

แหล่งคาร์บอน	แหล่งพลังงาน	
	แสง	เคมี
สารอินทรีย์	**Photoherotrophs** แบคทีเรียบางอย่างและแอลจียูคาริโอติกบางอย่าง	**Chemoheterotrophs** สัตว์ชั้นสูง โปรโตซัว ฟังไจ และ แบคทีเรียส่วนใหญ่
คาร์บอนได-ออกไซด์	**Photoautotrophs** พืชชั้นสูง แอลจียูคาริโอติก แอลจีน้ำเงินแกมเขียวและแบคทีเรียบางอย่าง	**Chemoautotrophs** แบคทีเรียบางอย่าง

จากเกณฑ์ในการจำแนกข้างต้น ทำให้สามารถจำแนกแบคทีเรียออกได้เป็น 4 กลุ่ม ได้แก่

- Photoautotrophs คือ แบคทีเรียที่ได้พลังงานจากการสังเคราะห์แสงและได้คาร์บอนจากสารอนินทรีย์ ตัวอย่างเช่น พวก Photosynthetic Purple and Green Sulfur Bacteria บางชนิด และ Cyanobacteria เป็นต้น
- Photoheterotrophs คือแบคทีเรียที่ได้พลังงานจากการสังเคราะห์แสงและได้คาร์บอนจากสารอินทรีย์ เช่น พวก Photosynthetic Purple and Green Bacteria เป็นต้น จะสังเกตุเห็นได้ว่า แบคทีเรียสีม่วงและสีเขียวสามารถใช้แหล่งคาร์บอนได้ทั้งสองชนิด
- Chemoautotrophs คือแบคทีเรียที่ได้พลังงานจากปฏิกิริยาเคมีและได้คาร์บอนจากสารอนินทรีย์ ตัวอย่างเช่น ไนตริฟายอิงแบคทีเรียและแบคทีเรียสร้างมีเทนที่บริโภคไฮโดรเจน เป็นต้น
- Chemoheterotrophs คือแบคทีเรียที่ได้พลังงานจากปฏิกิริยาเคมีและได้คาร์บอนจากสารอินทรีย์ ตัวอย่างเช่น โปรโตซัว รา และแบคทีเรียส่วนใหญ่ เป็นต้น

แบคทีเรียกลุ่ม Chemoheterotroph จัดเป็นแบคทีเรียที่มีบทบาทมากที่สุดในกระบวนการบำบัดน้ำเสีย เพราะมีแบคทีเรียในกระบวนการบำบัดน้ำเสียหลายชนิดทั้งที่ใช้และไม่ใช้อากาศถูกจัดอยู่ในกลุ่มนี้

1.2.3 การจำแนกตามช่วงอุณหภูมิ

แบคทีเรียอาจถูกจำแนกออกได้เป็น 4 ชนิดตามช่วงอุณหภูมิที่อาศัยอยู่ (Rittmann และ McCarty 2001)ได้แก่

- Psychrophile คือที่อุณหภูมิ -5 ถึง 20 องศาเซลเซียส
- Mesophile คือที่อุณหภูมิ 8 ถึง 45 องศาเซลเซียส
- Thermophile คือที่อุณหภูมิ 40 ถึง 70 องศาเซลเซียส
- Hyperthermophile คือที่อุณหภูมิ 65 – 110 องศาเซลเซียส

แบคทีเรียในระบบบำบัดน้ำเสียมักอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 2 ช่วง คือ Mesophile และ Thermophile เท่านั้น

1.2.4 การจำแนกตามสารรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย

ดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น หากใช้สารรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายเป็นเกณฑ์จะทำให้แบ่งกลุ่มจุลินทรีย์ออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ

- แบคทีเรียที่ไม่ใช้สารรับอิเล็กตรอนภายนอกได้แก่ Fermenting Bacteria ต่างๆ
- แบคทีเรียที่มีสารรับอิเล็กตรอนภายนอก ซึ่งจะแบ่งย่อยออกได้เป็น 2 กลุ่มย่อย คือ ใช้ออกซิเจนเป็นสารรับอิเล็กตรอนกับใช้สารอื่นที่ไม่ใช่ออกซิเจน

แต่หากพิจารณาถึงออกซิเจนเป็นหลักก็จะสามารถแยกออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ คือ

- แบคทีเรียใช้อากาศ (Aerobes, Aerobic Bacteria) เป็นแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนเป็นสารรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายซึ่งไม่สามารถมีชีวิตอยู่ได้ถ้าขาดออกซิเจน แบคทีเรียใช้อากาศยังแบ่งย่อยออกไปอีก 2 ชนิด คือ
  - Obligate Aerobes เป็นแบคทีเรียใช้อากาศต้องหายใจด้วยออกซิเจนเสมอและไม่สามารถขาดออกซิเจน
  - Microaerophiles เป็นแบคทีเรียใช้อากาศที่หายใจด้วยออกซิเจนที่มีความเข้มข้นต่ำ
- แบคทีเรียไม่ใช้อากาศ (Anaerobes, Anaerobic Bacteria) เป็นแบคทีเรียที่ใช้สารอื่นซึ่งไม่ใช่ออกซิเจนเป็นสารรับอิเล็กตรอน และไม่สามารถอยู่ได้หากมีออกซิเจนเข้มข้นมากเกินขีดจำกัด แบคทีเรียไม่ใช้อากาศยังแบ่งย่อยออกไปอีก 2 ชนิด คือ
  - Obligate Anaerobes เป็นแบคทีเรียไม่ใช้อากาศที่ไม่อาจทนต่อออกซิเจนแม้เพียงเล็กน้อย
  - Aerotolerant Anaerobes เป็นแบคที่เรียไม่ใช้อากาศที่ทนต่อออกซิเจนได้แต่เจริญเติบโตได้ไม่ดีนัก
- แบคทีเรียที่อยู่ได้ทั้งสภาวะที่มีหรือไม่มีอากาศ (Facultative bacteria)

การจำแนกโดยใช้ออกซิเจนเป็นเกณฑ์ในการแบ่งดังกล่าวข้างต้นพร้อมตัวอย่างของแบคทีเรียได้แสดงอยู่ในตารางที่ 1.3

ตารางที่ 1.3 ความสัมพันธ์ของออกซิเจนกับแบคทีเรีย (Madigan และคณะ, 2000)

ประเภทแบคทีเรีย	ความสัมพันธ์กับออกซิเจน	ประเภทเมตาบอลิสม	ตัวอย่าง	ที่อยู่อาศัย
ประเภทใช้อากาศ (Aerobe)				
เด็ดขาด (Obligate)	ต้องใช้	หายใจด้วยออกซิเจน	*Micrococcus luteus*	ผิวหนัง,ฝุ่น
ใช้ทั้งสองแบบ (Facultative)	ไม่จำเป็น แต่โตได้ดีกว่าในที่มีออกซิเจน	หายใจโดยใช้และไม่ใช้ออกซิเจน, เฟอร์เมนเตชัน	Escherichia coli	ลำไส้ใหญ่ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม
Microaerophilic	จำเป็น	หายใจด้วยออกซิเจน	Spirillum volutans	น้ำทะเลสาบ
ประเภทไม่ใช้อากาศ (Anaerobe)				
Aerotolerant	ทนออกซิเจนได้บ้าง	เฟอร์เมนเตชัน	Streptococcus pyogenes	Respiratory Tract(Upper)
เด็ดขาด (Obligate)	เป็นอันตรายถ้ามีออกซิเจน	ไม่ใช้ออกซิเจน , เฟอร์เมนเตชัน	Methano-bacterium formicicum	ถังย่อยสลัดจ์ตะกอนก้นทะเลสาบ

ถ้าพิจารณาเฉพาะจุลินทรีย์กลุ่มที่ไม่ใช้อากาศและใช้ชนิดสารรับอิเล็กตรอนเป็นเกณฑ์ในการแบ่งเป็นหลักสามารถแบ่งแบคทีเรียออกได้เป็น 4 กลุ่มใหญ่ๆ ได้แก่

- แบคทีเรียสร้างกรด
- แบคทีเรียดีไนตริฟายเออร์
- แบคทีเรียสร้างมีเทน
- แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต

1.3 หลักการบำบัดแบบไม่ใช้อากาศ

ในการบำบัดน้ำเสียด้วยกระบวนการทางชีวภาพ ไม่ว่าจะเป็นแบบใช้อากาศหรือไม่ใช้อากาศก็ตาม จะมีลักษณะเหมือนกันคือ เป็นปฏิกิริยาเคมีแบบออกซิเดชัน–รีดักชันหรือปฏิกิริยารีดอกซ์ (ดูรูปที่ 1.4)

ปฏิกิริยารีดอกซ์หมายถึงปฏิกิริยาที่มีการถ่ายเทอิเล็กตรอนเกิดขึ้นระหว่างสารให้อิเล็กตรอนและสารรับอิเล็กตรอนซึ่งมีผลทำให้ได้พลังงานเกิดขึ้นจำนวนหนึ่ง สารให้อิเล็กตรอนจึงถือว่าเป็นแหล่งพลังงานเสมอ พลังงานที่เกิดขึ้นนี้ส่วนหนึ่งสูญเสียไปในรูปของพลังงานความร้อน อีกส่วนหนึ่งถูกนำไปใช้การดำรงชีวิตและสร้างเซลล์ใหม่

สารให้อิเล็กตรอนในน้ำเสียส่วนใหญ่มักเป็นสารอินทรีย์ซึ่งมักเป็นแหล่งคาร์บอนของจุลินทรีย์ด้วย สารอินทรีย์จึงเป็นได้ทั้งแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน อย่างไรก็ตามจุลินทรีย์อาจมีแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอนเป็นสารคนละชนิดได้ ข้อมูลรีดอกซ์ของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆแสดงอยู่ในตารางที่ 1.4

ตารางที่ 1.4 ข้อมูลรีดอกซ์ของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ

ชนิดจุลินทรีย์	สารให้อิเล็กตรอน	สารรับอิเล็กตรอน	แหล่งคาร์บอน	ชื่อปฏิกิริยา
Aerobic Heterotroph	บีโอดี	ออกซิเจน	บีโอดี	แอโรบิกออกซิเดชัน
Denitrifier	บีโอดี	ไนเตรท	บีโอดี	Heterotrophic Denitrification
	ไฮโดรเจน	ไนเตรท	CO_2	Autotrophic Denitrification
	กำมะถัน	ไนเตรท	CO_2	Autotrophic Denitrification
Nitrifying Autotroph	แอมโมเนีย	ออกซิเจน	CO_2	Nitrification
	ไนไตรต์	ออกซิเจน	CO_2	
Methanogen	อะซิเตท	อะซิเตท	อะซิเตท	Methanogenesis
	ไฮโดรเจน	CO_2	CO_2	Methanogenesis
Sulfide Oxidizing Autotroph	ไฮโดรเจน	ออกซิเจน	CO_2	ซัลไฟด์ออกซิเดชัน
	ซัลไฟด์			
Sulfate Reducer	ไฮโดรเจน	ซัลเฟต	CO_2	ซัลเฟตรีดักชัน
	อะซิเตท	ซัลเฟต	อะซิเตท	ซัลเฟตรีดักชัน
Fermenter	บีโอดี	บีโอดี	บีโอดี	เฟอร์เมนเตชัน

ส่วนสารรับอิเล็กตรอนในน้ำเสียมีหลายชนิดและมักเป็นสารอื่นๆที่ไม่ใช่สารอินทรีย์ เช่น ออกซิเจน,ไนเตรทหรือซัลเฟตเป็นต้น ผลของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นก็ต่างกันไปตามชนิดของสารรับอิเล็กตรอน เช่น ถ้าสารรับอิเล็กตรอนเป็นออกซิเจน ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเรียกว่า Aerobic Oxidation ถ้าสารรับอิเล็กตรอนเป็นไนเตรทก็จะเกิดปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชันขึ้นเป็นต้น จึงสามารถแบ่งชนิดของปฏิกิริยารีดอกซ์ที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ของแบคทีเรียออกได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ ตามสารรับอิเล็กตรอน คือ

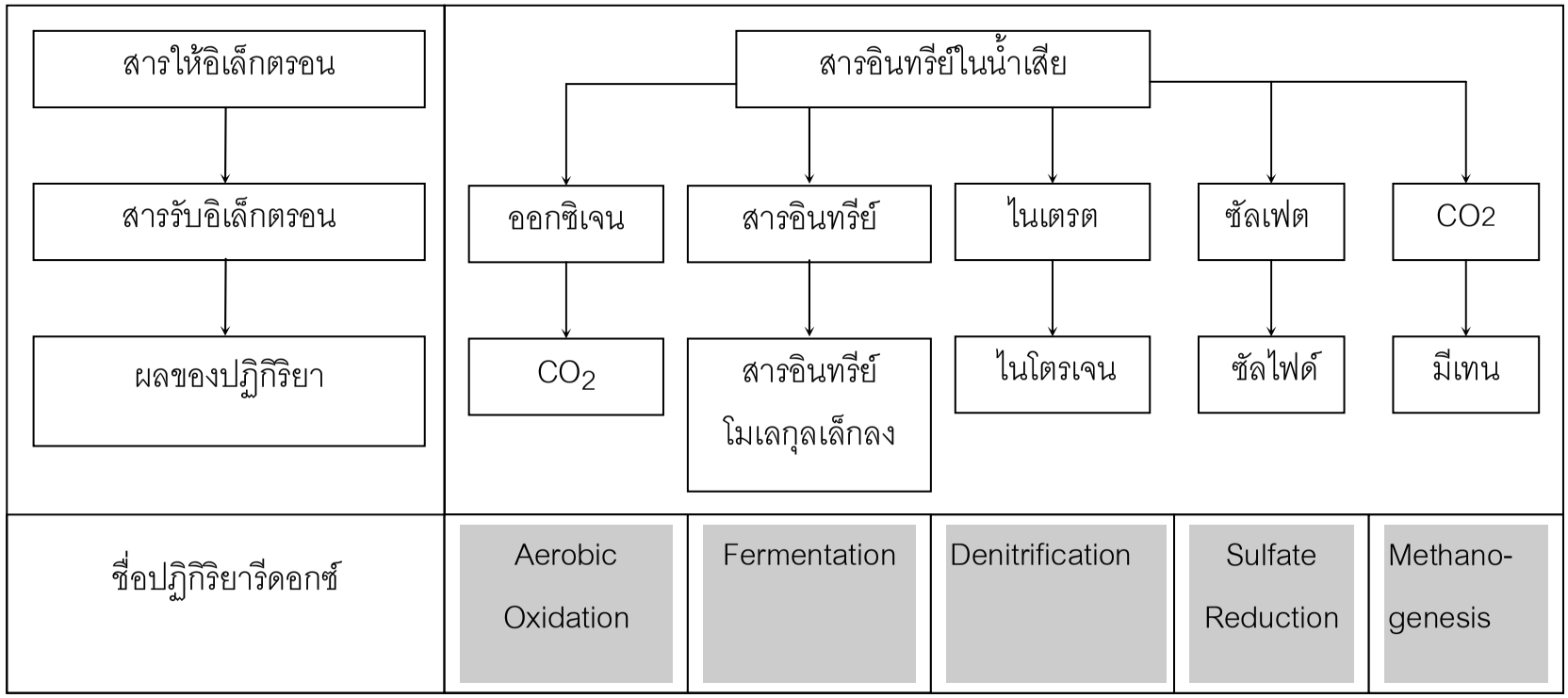
ก. การหมัก (Fermentation) คือ ปฏิกิริยารีดอกซ์ของสารประกอบอินทรีย์ที่เกิดขึ้นในภาวะที่ไม่มีสารรับอิเล็กตรอนภายนอก

ข. การหายใจ (Respiration) คือ ปฏิกิริยารีดอกซ์ที่มีสารรับอิเล็กตรอนภายนอกเป็นสารรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย ซึ่งสามารถแบ่งย่อยลงไปได้อีก 2 ประเภท

Aerobic Respiration เป็นปฏิกิริยารีดอกซ์ที่มีโมเลกุลของออกซิเจนเป็นสารรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย

Anaerobic Respiration เป็นปฏิกิริยารีดอกซ์ที่ไม่ใช้โมเลกุลของออกซิเจนเป็นสารรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย สารรับอิเล็กตรอนที่ใช้แทนออกซิเจน ได้แก่ ไนเตรท ซัลเฟต หรือ คาร์บอนไดออกไซด์

รายละเอียดของปฏิกิริยารีดอกซ์ที่เกิดขึ้นในการบำบัดน้ำเสียแสดงดังรูปที่ 1.4



รูปที่ 1.4 ปฏิกิริยารีดอกซ์ในการบำบัดน้ำเสีย (มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์ 2542)

จากรูปที่ 1.4 จะเห็นได้ว่าระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศแตกต่างจากระบบใช้อากาศตรงที่สารรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายไม่ใช่ออกซิเจน แต่เป็นสารรับอิเล็กตรอนอื่นในน้ำเสีย เช่น ไนเตรท, ซัลเฟต หรือคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นต้น ปฏิกิริยาชีวเคมีที่เกิดขึ้นแตกต่างกันออกไปตามชนิดของสารรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย สิ่งที่จะกำหนดว่าจะมีปฏิกิริยาชนิดใดเกิดขึ้นก็คือ สภาพของน้ำเสียในขณะนั้นว่า มีสารให้และสารรับอิเล็กตรอนชนิดใดในน้ำเสีย พีเอช และอุณหภูมิเท่าใด ขอให้พิจารณาแหล่งน้ำแห่งหนึ่งซึ่งมีอุณหภูมิ, พีเอช, มีปริมาณธาตุอาหารและปริมาณสารอินทรีย์อยู่ในช่วงที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย มีระดับน้ำที่ไม่สูงนัก (ทำให้ออกซิเจนสามารถละลายลงไปในดินตะกอนใต้น้ำ) บริเวณผิวน้ำตอนบนจะมีแบคทีเรียกลุ่มที่ใช้ออกซิเจนเป็นสารรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายอาศัยอยู่ ดำรงชีพด้วยการใช้สารอินทรีย์ในน้ำบริเวณนั้นเป็นสารอาหาร แบคทีเรียกลุ่มอื่น เช่น แบคทีเรียที่ใช้ไนเตรทหรือซัลเฟตจะไม่สามารถอาศัยอยู่ได้ เนื่องจากการใช้ออกซิเจนเป็นสารรับอิเล็กตรอนจะได้พลังงานสูงกว่าการใช้ไนเตรทหรือซัลเฟตมาก ทำให้แบคทีเรียกลุ่มอื่นเจริญเติบโตและแย่งใช้สารอินทรีย์ในน้ำสู้กับพวกที่ใช้ออกซิเจนไม่ได้ แม้ว่าน้ำในบริเวณนั้นจะมีไนเตรทหรือซัลเฟตอยู่ก็ตาม

ในดินที่ลึกลงไปออกซิเจนในน้ำจะเริ่มลดลงเนื่องจากออกซิเจนจากอากาศแพร่ลงไปได้น้อยลงและจากการใช้ออกซิเจนของแบคทีเรีย แบคทีเรียกลุ่มอื่นจะเจริญเติบโตขึ้นมาแทนที่ โดยแบคทีเรียกลุ่มที่ใช้ไนเตรทเป็นสารรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายจะเป็นกลุ่มต่อไปที่เจริญเติบโตขึ้นมา เนื่องจากการใช้ไนเตรทเป็นสารรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายได้พลังงานรองลงมาจากออกซิเจน เช่นเดียวกัน ในบริเวณที่ไนเตรทเริ่มหมดไป แบคทีเรียกลุ่มอื่น ได้แก่ พวกที่ใช้ซัลเฟต, คาร์บอนไดออกไซด์ และสารอินทรีย์เป็นสารรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายจะ

เจริญเติบโตขึ้นมาแทน แต่แบคทีเรียกลุ่มใดจะเป็นกลุ่มเด่นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการเพราะแบคทีเรียทั้งสามกลุ่มนี้มีความเกี่ยวข้องสัมพันธ์กันเป็นอย่างมาก ทั้งการพึ่งพาอาศัยกันและแข่งขันกัน

ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศก็เป็นเช่นเดียวกับที่เกิดขึ้นในธรรมชาติในบริเวณที่ไม่มีออกซิเจน แต่สิ่งที่ระบบบำบัดน้ำเสียต่างออกไปจากธรรมชาติก็คือ ปริมาณของแบคทีเรียในระบบบำบัดน้ำเสียจะมีมากกว่าในธรรมชาติมาก สารอินทรีย์ถูกทำให้ลดลงได้ในเวลาที่รวดเร็วโดยแบคทีเรียจำนวนมากในระบบ แต่ระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศเป็นระบบที่ซับซ้อน มีกลุ่มจุลินทรีย์อาศัยอยู่ร่วมกันมากมายหลายกลุ่ม ความสัมพันธ์ของกลุ่มจุลินทรีย์เหล่านี้มีทั้งการพึ่งพาอาศัยกันและการแข่งขันกัน สารอินทรีย์ที่เข้าสู่ระบบจะถูกเปลี่ยนรูปไปเนื่องจากการย่อยสลายโดยกลุ่มจุลินทรีย์หลายๆ กลุ่มต่อๆ กัน ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการย่อยสลายของกลุ่มจุลินทรีย์หนึ่งจะถูกย่อยสลายต่อโดยกลุ่มจุลินทรีย์อีกกลุ่มหนึ่ง เกิดเป็นความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยกัน แต่ถ้าผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นสามารถใช้ได้โดยกลุ่มจุลินทรีย์หลายกลุ่ม กลุ่มจุลินทรีย์ที่ใช้สารอาหารชนิดเดียวกันก็ทำให้เกิดความสัมพันธ์แบบแข่งขันกันขึ้น กลุ่มจุลินทรีย์หลายกลุ่มที่อาศัยอยู่ร่วมกันและมีปฏิสัมพันธ์กันเหล่านี้เองที่ทำให้เกิดปฏิกิริยารีดอกซ์และเปลี่ยนรูปสารอินทรีย์ในน้ำเสียให้อยู่ในรูปต่างๆ เช่น กรดอินทรีย์,มีเทน,คาร์บอนไดออกไซด์ หรือซัลไฟด์ เป็นต้น แต่สารอินทรีย์ในระบบจะถูกใช้โดยจุลินทรีย์กลุ่มใดและถูกใช้ไปในสัดส่วนเท่าใดนั้น ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ มากมาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งปัจจัยทางสภาวะแวดล้อมซึ่งจะส่งผลให้แบคทีเรียกลุ่มใดกลุ่มหนึ่งโดดเด่นที่สุดในระบบ ถ้าหากพิจารณาในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศโดยทั่วไปที่ผลิตมีเทน จุลินทรีย์กลุ่มที่โดดเด่นที่สุดใน

ระบบก็คือแบคทีเรียสร้างมีเทนและแบคทีเรียสร้างกรดที่ทำงานร่วมกัน ได้ผลิตภัณฑ์หลักเป็นกาซมีเทน

ดังนั้นพื้นฐานของการบำบัดน้ำเสียด้วยกระบวนการไม่ใช้อากาศก็คือการเปลี่ยนรูปสารอินทรีย์ด้วยปฏิกิริยารีดอกซ์โดยแบคทีเรียกลุ่มที่ไม่ใช้อากาศ ผลิตภัณฑ์ที่ได้ก็จะแตกต่างหลากหลายกันออกไปขึ้นอยู่กับสภาพของน้ำเสียกับปริมาณและชนิดของแบคทีเรียในระบบ

บทที่ 2
จุลชีววิทยาและชีวเคมีของกระบวนการย่อยแบบไม่ใช้อากาศ

กระบวนการย่อยแบบไม่ใช้อากาศ (Anaerobic Digestion) หมายถึงการเปลี่ยนสารอินทรีย์ในน้ำเสียหรือในสลัดจ์ให้กลายเป็นกาซมีเทน โดยทั่วไปเมื่อกล่าวถึงการบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศ มักหมายถึงการย่อยแบบไม่ใช้อากาศนั่นเอง กาซมีเทนเป็นผลผลิตของกระบวนการไม่ใช้อากาศนี้เสมอ

กระบวนการไม่ใช้อากาศเกิดขึ้น 4 ขั้นตอนตามลำดับ (รูปที่ 2.1) ดังนี้

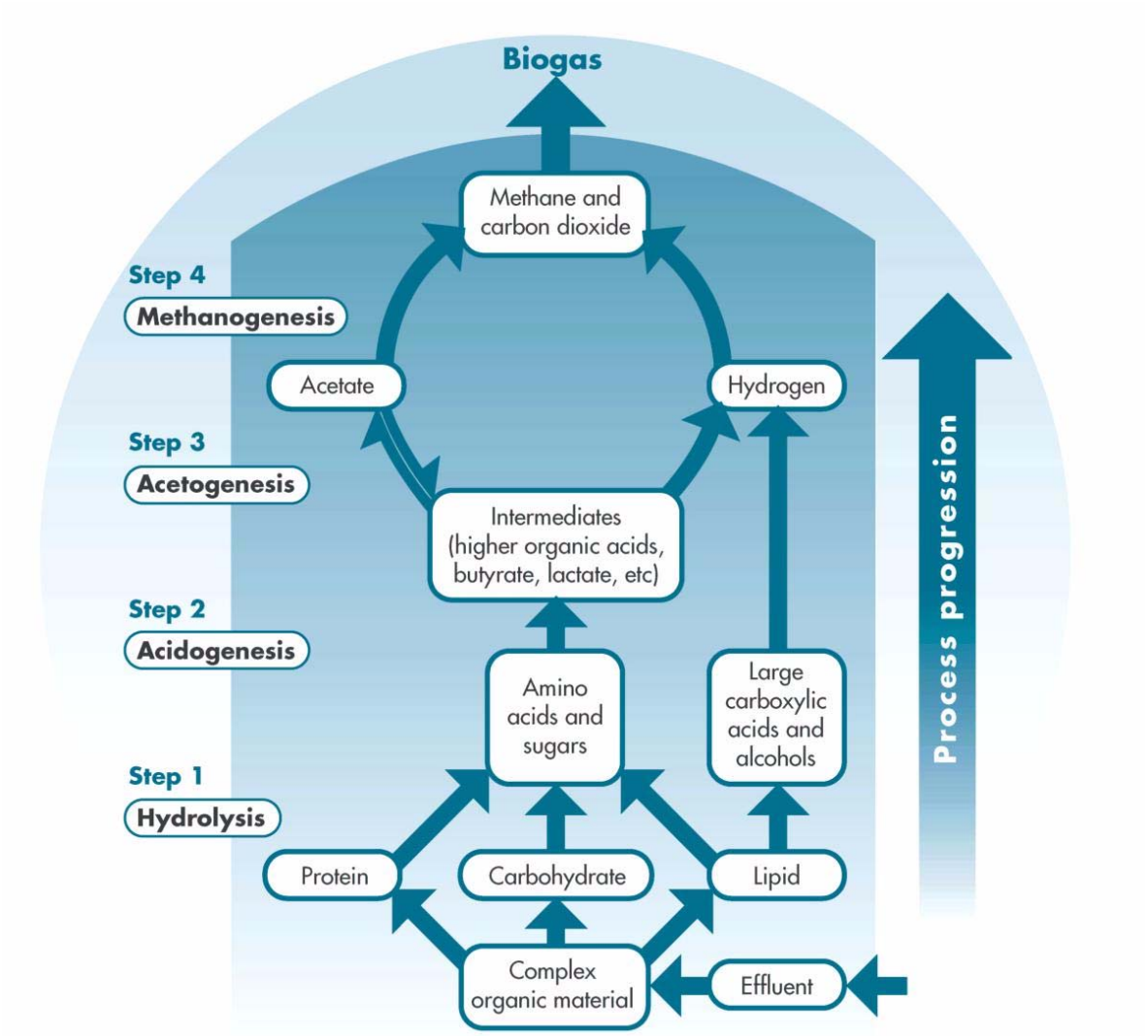
ไฮโดรไลซิส
การสร้างกรดไขมันระเหย (Acidogenesis)
การสร้างอะซิเตท (Acetogenesis)
การสร้างมีเทน (Methanogenesis)

ขั้นตอนทั้ง 4 ต้องอาศัยแบคทีเรีย 3 ประเภท ได้แก่ แบคทีเรียสร้างกรดไขมันระเหย (Volatile Fatty Acid : VFA) แบคทีเรียสร้างอะซิเตท และแบคทีเรียสร้างมีเทน

2.1 ประเภทของแบคทีเรียในกระบวนการย่อยแบบไม่ใช้อากาศ

2.1.1 แบคทีเรียสร้างกรดไขมันระเหย (Acidogenic Bacteria)

ในขั้นตอนการสร้างกรดไขมันระเหยของกระบวนการไม่ใช้อากาศ กรดจะผลิตขึ้นโดยแบคทีเรียไม่ใช้อากาศชนิดเด็ดขาด (Obligate Anaerobes) มากกว่าชนิด Facultative ทั้งนี้เพราะแบคทีเรียชนิดเด็ดขาดมีจำนวนมากกว่า



รูปที่ 2.1 ขั้นตอนของปฏิกิริยาไม่ใช้อากาศ (Wheatley,A.D 1997)

แบคทีเรียไม่ใช้อากาศชนิดเด็ดขาดที่มีบทบาทในการสร้างกรดไขมันระเหย ก็คือ กลุ่ม Clostridium ซึ่งมีเมตาบอลิซึมหลายแบบ จึงสามารถใช้สารอาหารทั้งที่เป็นพวกแป้งหรือโปรตีนได้ ผลปฏิกิริยาที่ได้มีหลากหลายชนิดเช่น กรดบิวทิริก กรดอะซิติก กาซคาร์บอนไดออกไซด์ กาซไฮโดรเจน เอทานอล บิวทานอล อะซีโตน เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีแบคทีเรียในกลุ่ม Propionibacterium ที่ผลิตกรดพรอพิออนิก (Propionic Acid) และกรดอะซิติกจากกรดแลกติก (Fenchel and Finlay 1995, Madigan และคณะ 1997)

2.1.2 แบคทีเรียสร้างกรดอะซิติก (Acetogenic Bacteria)

เมื่อผลผลิตจากแบคทีเรียสร้างกรดมีหลายชนิดดังที่กล่าวข้างต้น และบางชนิดยังเป็นสารโมเลกุลใหญ่ที่แบคทีเรียสร้างมีเทนไม่สามารถนำไปใช้เป็นสารอาหารได้ จึงต้องมีการเปลี่ยนสารเหล่านั้นให้กลายเป็นสารอาหารอย่างง่ายสำหรับแบคทีเรียที่สร้างมีเทนเพื่อให้สามารถดูดซึมเข้าไปใช้ได้ในเซลล์ แบคทีเรียที่ย่อยกรดไขมันระเหยโมเลกุลใหญ่ให้กลายเป็นกรดอะซิติก ไฮโดรเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ได้นั้น สามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิด ดังนี้

2.1.2.1) <u>แบคทีเรียผลิตอะซิเตทอย่างเดียว</u> (Homoacetogenic Bacteria)
แบคทีเรียชนิดนี้เป็นแบคทีเรียที่ใช้กาซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นสารรับอิเล็กตรอนและผลิตกรดอะซิติกขึ้นมา (เป็นกระบวนการหายใจแบบไม่ใช้อากาศ) ผ่านวิถีชีวเคมีที่เรียกว่า Acetyl-CoA ตัวอย่างแบคทีเรียชนิดนี้ ได้แก่ Acetobacterium woodii และClostridium aceticum สามารถเจริญเติบโตทั้งในแบบออโทโทรฟิก (autotrophic) คือใช้กาซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นสารรับอิเล็กตรอนและแหล่งคาร์บอนและใช้กาซไฮโดรเจนเป็นสารให้อิเล็กตรอนเพื่อเปลี่ยนคาร์บอนไดออกไซด์เป็นกรดอะซิติก

$$2CO_2 + 4H_2 \rightarrow CH_3COOH + 2H_2O$$ ออโทโทรฟิก

อีกทั้งเจริญเติบโตในแบบเฮทเธอโรโทรฟิก (Heterotrophic) ก็ได้ โดยการหมักน้ำตาลดังสมการข้างล่าง

$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 3CH_3COOH$$ เฮทเธอโรโทรฟิก

แบคทีเรียที่อยู่ในจีนัส Clostridium พบอยู่ทั้งในกลุ่มแบคทีเรียที่สร้างกรดไขมันระเหยทั่วไป (Acidogenic Bacteria) และกลุ่มแบคทีเรียที่สร้างกรดอะซิติก (Acetogeneic Bacteria) แบคทีเรียกลุ่มนี้จึงมีเมตาบอลิซึมหลายแบบดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ลักษณะสมบัติของแบคทีเรียบางกลุ่มในจีนัส Clostridium

(Medigan et al., 1997)

ลักษณะสำคัญ	ผลผลิตและลักษณะอื่น	ชนิด
1. ย่อยคาร์บอไฮเดรท		
ย่อยเซลลูโลสได้	**อะซิเตท,แลคเตท,**	**C. cellobioparum**
	ซัสสิเนท, ไฮโดรเจน, เอทธานอล,	**C. thermocellum**
	คาร์บอนไดออกไซด์	
ย่อยน้ำตาล,แป้งและ	**ผลผลิตคือ อะเซโทน, บิวทานอล,**	**C. butyricum**
เปคติน (pectin) ได้	**เอทธานอล, ไอโซพรอพินอล,**	**C. acetobutylicum**
บางชนิดตรึง	**บิวไทเรต, อะซิเตท, พรอพิโอเนท,**	**C. pasteurianum**
ไนโตรเจนได้	**ซัสสิเนท, ไฮโดรเจน,**	**C. perfringens**
	คาร์บอนไดออกไซด์	**C. thermosulfurogenes**

ตารางที่ 2.1 ลักษณะสมบัติของแบคทีเรียบางกลุ่มในจีนัส Clostridium

(Medigan et al., 1997) **(ต่อ)**

ลักษณะสำคัญ	ผลผลิตและลักษณะอื่น	ชนิด
ย่อยน้ำตาลให้เป็นกรดอะซิติก ได้	ผลิตอะซิเตทจากคาร์บอนไดออกไซด์	C. aceticum C. thermoaceticum C. formicoaceticum
ย่อยเฉพาะ pentoses หรือ methylpentoses ได้	ผลผลิตคือ อะซิเตท, พรอพิโอเนท, n- บิวทานอล, ไฮโดรเจน, คาร์บอนไดออกไซด์	C. methylpentosum
2. ย่อยโปรตีนและกรดอะมิโนได้	ผลผลิตคือ อะซิเตท, กรดไขมันระเหยอื่น, แอมโมเนีย, คาร์บอนไดออกไซด์, อาจให้ไฮโดรเจน	C. sporogenes C. tetani C. botulinum
อาจย่อยน้ำตาลได้	ผลผลิตคือ บิวไทเรตและอะซิเตท อาจผลิตเอกโซทอกซิน (exotoxins)	C. tetanomorphum
ย่อยสารประกอบที่มีคาร์บอน 3 อะตอม	พรอพิออเนท,อะซิเตทและคาร์บอนไดออกไซด์	C. propionicum
3. ย่อยคาร์บอไฮเดรทหรือกรดอะมิโนได้	อะซิเตท, ฟอร์เมท, มีไอโซบิวไทเรทและ ไอโซวาเลอเรท (isovalerate) เล็กน้อย	C. bifermentans
4. ย่อยพิวรีน (Purine) ได้	อะซิเตท, purines, forming acetate, คาร์บอนไดออกไซด์, แอมโมเนีย	C. acidurici
5.ย่อยเอทธานอลให้เป็นกรดไขมันได้	ใช้อะซิเตทเป็นสารรับอิเล็กตรอน	C. kluyveri

2.1.2.2) <u>แบคทีเรียสร้างอะซิเตทที่ผลิตไฮโดรเจนได้</u>

(H_2-Producing Acetogenic Bacteria)

แบคทีเรียชนิดนี้จะใช้กรดไขมันระเหย (ที่ไม่ใช่กรดอะซิติก) หรือแอลกอฮอลล์เป็นสารอาหาร แล้วสร้างกรดอะซิติกและกาซไฮโดรเจนซึ่งเป็นสารอาหารของแบคทีเรียสร้างมีเทนขึ้นมา ดังนั้นแบคทีเรียชนิดนี้จึงมีบทบาทสำคัญ เพราะเป็นตัวเชื่อมระหว่างแบคทีเรียสร้างกรดกับแบคทีเรียสร้างมีเทน อย่างไรก็ดี แบคทีเรียชนิดนี้จะไม่เจริญเติบโตเมื่ออยู่ตามลำพัง ทั้งนี้เพราะเมื่อมีการสะสมของกาซไฮโดรเจนที่ผลิตขึ้นมา (ทำให้มีความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนสูง) ปฏิกิริยาสร้างกรดอะซิติกจะไม่สามารถเกิดขึ้นได้ (ดูหัวข้อ 2.4) เนื่องจากแบคทีเรียสร้างกรดอะซิติกหยุดการเจริญเติบโต ดังนั้น จะต้องมีการกำจัดไฮโดรเจนก่อน แบคทีเรียสร้างกรดอะซิติกจึงจะเจริญเติบโตได้ แบคทีเรียสร้างมีเทนจึงเข้ามามีบทบาทในตรงนี้เพราะแบคทีเรียสร้างมีเทนสามารถบริโภคไฮโดรเจนได้

การอยู่ร่วมกันระหว่างแบคทีเรียสร้างกรดอะซิติกและแบคทีเรียสร้างมีเทนให้ประโยชน์ซึ่งกันและกัน เรียกความสัมพันธ์นี้ว่า Syntrophy และต่างก็ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ถ้าอยู่เพียงลำพัง นั่นคือ แบคทีเรียสร้างกรดอะซิติกจะสร้างอาหารให้แก่แบคทีเรียที่สร้างมีเทน ส่วนแบคทีเรียที่สร้างมีเทนก็ช่วยทำลายกาซไฮโดรเจนให้กับแบคทีเรียที่สร้างกรด

แบคทีเรียชนิดนี้อยู่ในกลุ่ม Synthrophomonas และกลุ่ม Synthrophobacter แบคทีเรีย Synthrophomonas wolfei ย่อยกรดไขมันระเหยที่มีคาร์บอนตั้งแต่ 4 ถึง 8 อะตอม ให้กลายเป็นกรดอะซิติก ไฮโดรเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ ส่วนแบคทีเรีย Syntrophobacter wolinii จะย่อยกรดพรอพิออนิกให้กลายเป็นกรดอะซิติก ไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์เช่นกัน

2.1.3 แบคทีเรียสร้างมีเทน

แบคทีเรียสร้างมีเทนเป็นแบคทีเรียไม่ใช้อากาศชนิดเด็ดขาด ไม่อาจทนต่อออกซิเจนได้แม้มีปริมาณเพียงเล็กน้อย จัดอยู่ในกลุ่มของแบคทีเรียชนิดเคโมเฮ-เทโรทรอพ ดำรงชีวิตอยู่และเจริญเติบโตโดยได้รับพลังงานจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ประมาณ 10 ชนิดเท่านั้น (ดูในตารางที่ 2.2)

สารอาหารชนิดอื่นนอกเหนือจากนี้ ไม่ว่าจะเป็นกรดไขมันระเหย เช่น บิวทิริก หรือพรอพิออนิก ซึ่งปกติเป็นสารอาหารของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต แบคทีเรียสร้างมีเทนไม่สามารถนำไปใช้ได้

แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถจำแนกออกได้เป็น 3 ชนิด ตามชนิดของสารอาหารที่ใช้ได้แก่

- เมทธานอเจนที่บริโภคเฉพาะอะซิเตท (Obligate Acetoclastic Methanogen) เป็นแบคทีเรียสร้างมีเทนที่ใช้กรดอะซิติกเป็นแหล่งพลังงาน ตามสมการดังนี้

$$CH_3COOH \rightarrow CH_4 + CO_2$$

- เมทธานอเจนที่บริโภคเฉพาะไฮโดรเจน (Obligate Hydrogenotrophic Methanogen หรือ Hydrogen Utilizer) เป็นแบคทีเรียที่ใช้กาซไฮโดรเจนในการผลิตกาซมีเทนโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอน ตามสมการดังนี้

$$4H_2 + CO_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O$$

ตารางที่ 2.2 สารอาหารที่แบคทีเรียสร้างมีเทนนำไปใช้ได้

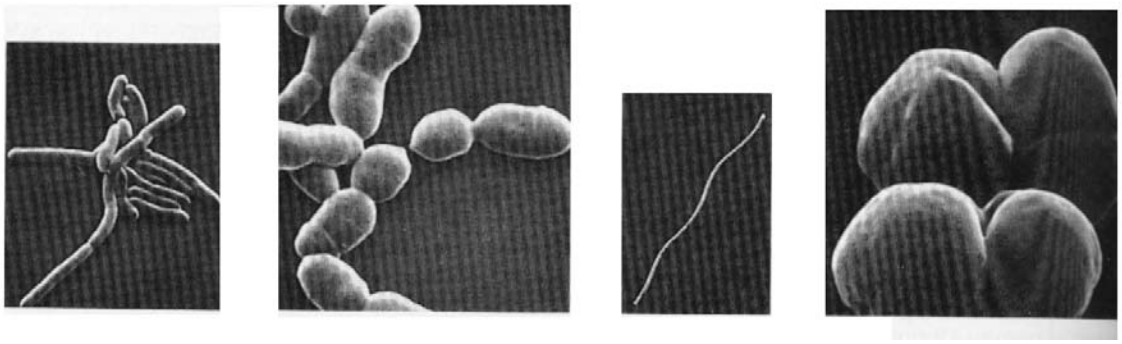
(Madigan และคณะ 1997)

สับสเตรทประภทคาร์บอนไดออกไซด์
คาร์บอนไดออกไซด์
$CO_2 + 4H_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O$; $\Delta G^{0\prime} = -131$ kJ/reaction
ฟอร์เมต, $HCOO^-$
$4HCOO^- + 4H^+ \rightarrow CH_4 + 3CO_2 + 2H_2O$; $\Delta G^{0\prime} = -145$ kJ/reaction
คาร์บอนมอนอกไซด์, CO
$4CO + 2H_2O \rightarrow CH_4 + 3CO_2$; $\Delta G^{0\prime} = -210$ kJ/reaction
สับสเตรทประภทเมทธิล
Methanol, CH_3OH
$4CH_3OH \rightarrow 3CH_4 + CO_2 + 2H_2O$; $\Delta G^{0\prime} = -319$ kJ/reaction
Methylamine, CH_3NH^+
$4CH_3NH_3^+ + 2H_2O \rightarrow 3CH_4 + CO_2 + 4NH_4^+$; $\Delta G^{0\prime} = -230$ kJ/reaction
Dimethylamine, $(CH_3)_2NH_2^+$
$(CH_3)_2NH_2^+ + 2H_2O \rightarrow 3CH_4 + CO_2 + 2NH_4^+$; $\Delta G^{0\prime} = -230$
Trimethylamine, $(CH_3)_3NH^+$
$4(CH_3)_3NH^+ + 6H_2O \rightarrow 9CH_4 + 3CO_2 + 4NH_4^+$; $\Delta G^{0\prime} = -666$
Methylmercaptan, CH_3SH
Dimethylsulfide, $(CH_3)S$
อะซิเตท
Acetate, CH_3COO^-
$CH_3COO^- + H^+ \rightarrow CH_4 + CO_2$; $\Delta G^{0\prime} = -31$ kJ/reaction

นอกจากกาซไฮโดรเจนแล้ว แบคทีเรียชนิดนี้ยังสามารถใช้กรดฟอร์มิกเป็นแหล่งอาหารเพียงอย่างเดียวได้ เพราะกรดฟอร์มิกสามารถแตกตัวเป็นไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ได้

- เมทธานอเจนที่บริโภคได้ทั้งไฮโดรเจนและอะซิเตท (Hydrogenotrophic/ Acetoclastic Methanogen) เป็นแบคทีเรียที่สร้างมีเทนได้ทั้งจากกรดอะซิติกหรือกาซไฮโดรเจน แต่ใช้ไฮโดรเจนได้ดีกว่า

รูปร่างของเซลล์ของแบคทีเรียสร้างมีเทนแสดงดังรูปที่ 2.2 และถ้าแบ่งแบคทีเรียสร้างมีเทนตามลักษณะทางกายภาพและลักษณะในระดับโมเลกุล จะแยกแบคทีเรียสร้างมีเทนออกได้เป็น 7 กลุ่มใหญ่ๆ ดังแสดงในตารางที่ 2.3



รูปที่ 2.2 รูปร่างของเซลล์ของแบคทีเรียสร้างมีเทน (Madigan และคณะ, 1997)

ตารางที่ 2.3 แบคทีเรียสร้างมีเทนจำแนกตามลักษณะทางกายภาพและสมบัติในระดับโมเลกุล (Madigan และคณะ, 1997)

จีนัส	รูปร่าง	ปฏิกิริยาแกรม	จำนวนชนิด	สับสเตรท
Group I				
Methanobacterrium	**ท่อนยาว**	**+ or -**	**8**	**$H_2 + CO_2$, formate**
Methanobrevibacter	**ท่อนสั้น**	**+**	**3**	**$H_2 + CO_2$, formate**
Methanosphaera	**กลม**	**+**	**1**	**ใช้ Methanol + H_2 ทั้งคู่**
Group II				
Methanothermus	**เป็นท่อน**	**+**	**2**	**H_2+CO_2,can also reduce S^0**
Group III				
Methanococcus	**กลมบู้บี้**	**-**	**5**	**$H_2 + CO_2$, pyruvate + CO_2, formate**
Group IV				
Methanomicrobium	**ท่อนสั้น**	**-**	**2**	**$H_2 + CO_2$, formate**
Methanogenium	**กลมบู้บี้**	**-**	**3**	**$H_2 + CO_2$, formate**
Methanospirillum	**เป็นสาย**	**-**	**1**	**$H_2 + CO_2$, formate**
Methanoplanus	**เป็นแผ่นมีขอบคม**	**-**	**2**	**$H_2 + CO_2$, formate**

ตารางที่ 2.3 แบคทีเรียสร้างมีเทนจำแนกตามลักษณะทางกายภาพและสมบัติในระดับโมเลกุล (Madigan และคณะ, 1997) (ต่อ)

จีนัส	รูปร่าง	ปฏิกิริยาแกรม	จำนวนชนิด	สับสเตรท
Group V				
Methanosarcina	กลมบู้บี้ขนาดใหญ่จับกันเป็นกลุ่ม	+	6	$H_2 + CO_2$,acetate, methanol, methylamines
Methanolobus	กลมบู้บี้จับกันเป็นกลุ่ม	-	5	Methanol, methylamines
Methanoculleus	กลมบู้บี้	-	4	$H_2 + CO_2$, alcohol, formate
Methanohalobium	กลมบู้บี้	-	1	Methanol, methylamines; halophilic
Methanococcoides	กลมบู้บี้	-	2	Methanol, methylamines
Methanohalophilus	กลมบู้บี้	-	3	Methanol, methylamines, methyl sulfides; halophile
Methanothrix (Methanosaeta)	ท่อนยาวและเป็นเส้นใย	-	3	Acetate
Group VI				
Methanopyrus	ท่อนยาวต่อเป็นสายโซ่	+	1	$H_2 + CO_2$; growth at 110°c hyperthermophile,
Group VII				
Methano-corpusculum	กลมบู้บี้	-	3	$H_2 + CO_2$, formate, alcohols

2.2 ชีวเคมีของแบคทีเรียสร้างมีเทน

2.2.1 โคเอนไซม์เฉพาะ

โคเอนไซม์เป็นสารตัวกลางที่ทำหน้าที่ขนส่งอิเล็กตรอนในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต ดังนั้นโคเอนไซม์จึงมีบทบาทสำคัญในกระบวนการสงวนพลังงานของจุลินทรีย์ โคเอนไซม์จะแตกต่างกันออกไปในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด แบคทีเรียสร้างมีเทนมีโคเอนไซม์บางตัวซึ่งเป็นโคเอนไซม์เฉพาะแตกต่างจากสิ่งมีชีวิตอื่น ได้แก่ (ดูในรูปที่ 2.3)

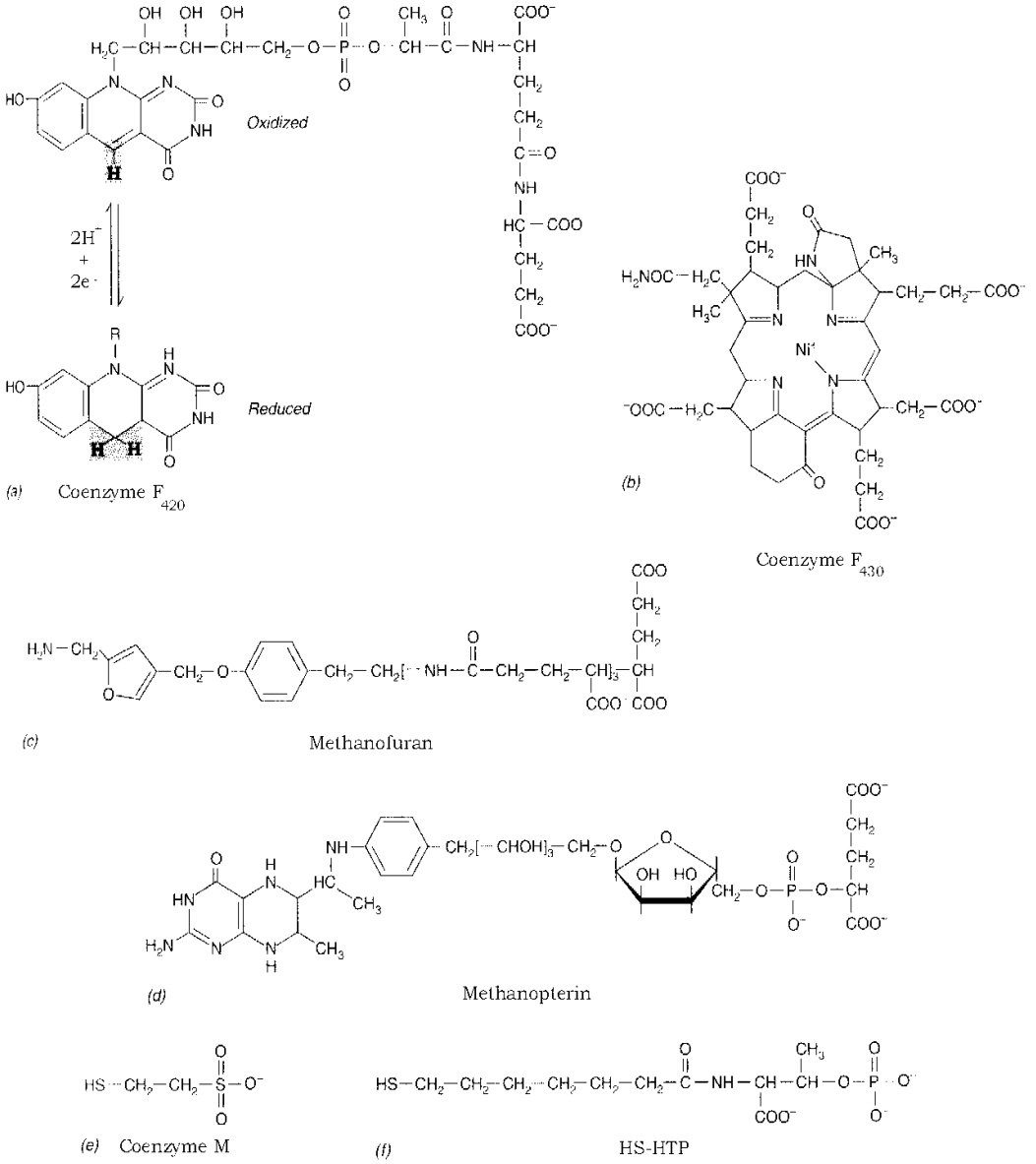
- โคเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ขนส่งสารประกอบที่มีคาร์บอน 1 อะตอม เช่น Methanofuran, Methanopterin, Coenzyme M, Coenzyme F_{430} และ
- โคเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยารีดอกซ์เช่น Coenzyme F_{420}, HS-HTP (7-mercaptoheptanoyl threonine phosphate)

2.2.2 กระบวนการสร้างมีเทนจากไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์

โดยทั่วไปแล้วปฏิกิริยารีดักชันของคาร์บอนไดออกไซด์เป็นมีเทนนั้นจะขึ้นอยู่กับไฮโดรเจนซึ่งเป็นสารให้อิเล็กตรอน แต่ฟอร์เมต คาร์บอนมอนอกไซด์หรือแม้แต่ธาตุเหล็ก (Fe^0) ก็ทำหน้าที่เป็นสารให้อิเล็กตรอนได้เช่นกัน โดยในกรณีของธาตุเหล็ก เหล็กจะให้อิเล็กตรอนกับโปรตอนกลายเป็นไฮโดรเจน

$$Fe + 2H^+ \longrightarrow Fe^{2+} + H_2$$

จากนั้นแบคทีเรียสร้างมีเทนจึงใช้ไฮโดรเจนเป็นสารให้อิเล็กตรอนอีกทอดหนึ่ง



รูปที่ 2.3 โคเอนไซม์ของแบคทีเรียสร้างมีเทน (Madigan และคณะ 1997)

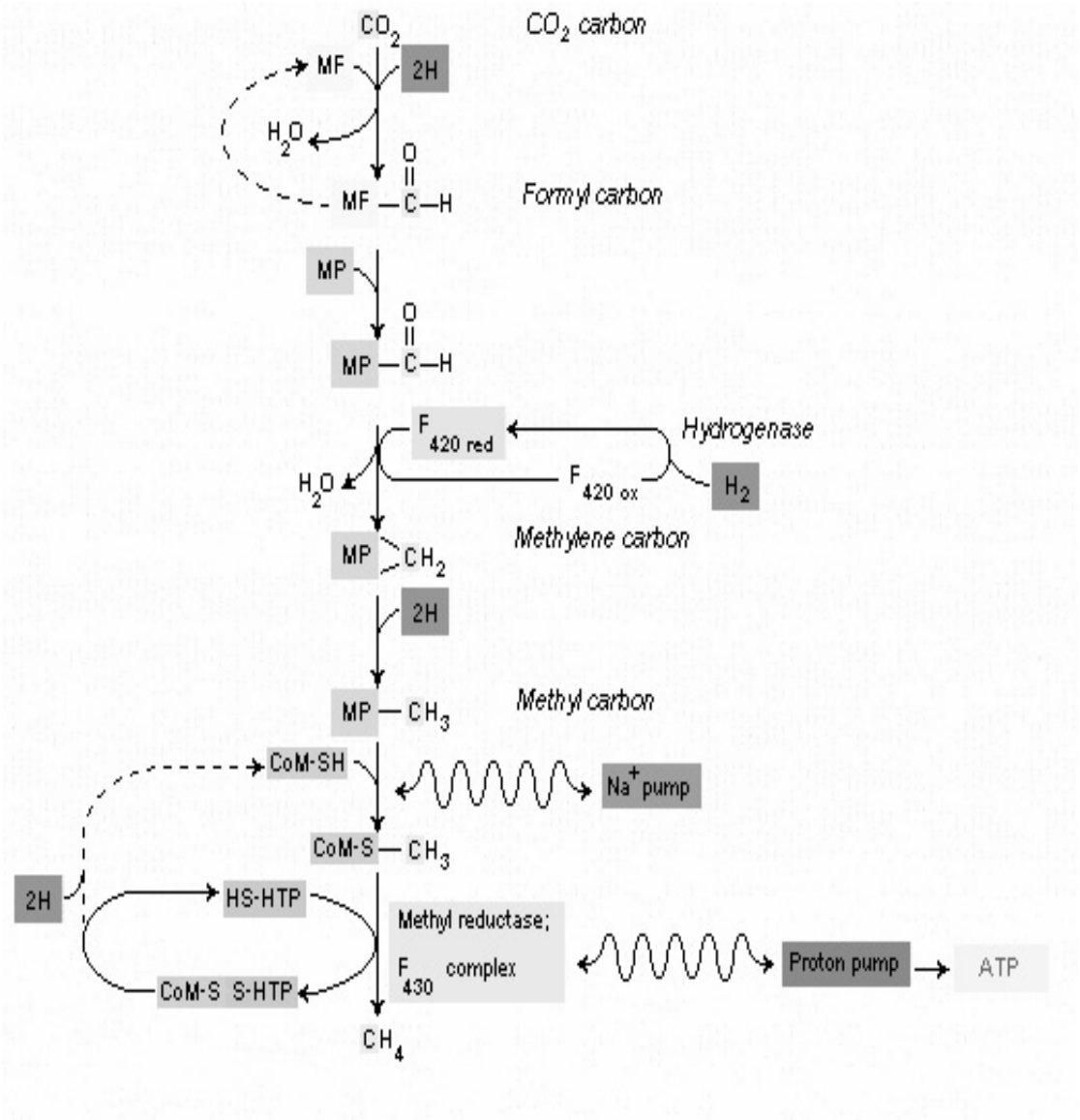
ปฏิกิริยารีดักชันของคาร์บอนไดออกไซด์เป็นมีเทนโดยไฮโดรเจนพอสรุปได้เป็นขั้นตอนดังนี้

1) คาร์บอนไดออกไซด์ถูกกระตุ้นโดย methanofuran พร้อมกับถูกรีดิวซ์ให้เป็น formyl carbon
2) กลุ่มฟอร์มิลถูกส่งจาก methanofuran ไปยัง tetrahydromethanopterin (MP) พร้อมกับถูกรีดิวซ์ให้ methylene carbon และรีดิวซ์ต่อให้เป็น methyl carbon
3) กลุ่มเมทิลถูกส่งจาก methanopterin ไปยังโคเอนไซม์เอ็ม
4) Methyl-coenzyme M ถูกรีดิวซ์ไปเป็นมีเทนโดยระบบ methyl reductase ซึ่งมี F_{430} และ HS-HTP เกี่ยวข้องด้วย โดย HS-HTP จะเป็นตัวให้อิเล็กตรอน ได้ผลิตภัณฑ์เป็นมีเทน ไดซัลไฟด์ของโคเอนไซม์เอ็มและ HTP (CoM-S-S-HTP) ผลิตภัณฑ์อื่นที่ได้นอกเหนือจากมีเทนแล้วจะถูกรีดิวซ์โดยไฮโดรเจนได้ผลิตภัณฑ์เป็น CoM และ HS-HTP กลับมาใช้ใหม่ พลังงานที่ได้จากการรีดิวซ์ methyl-CoM เป็นมีเทนถูกสงวนไว้ใช้ด้วยกลไก chemiosmosis

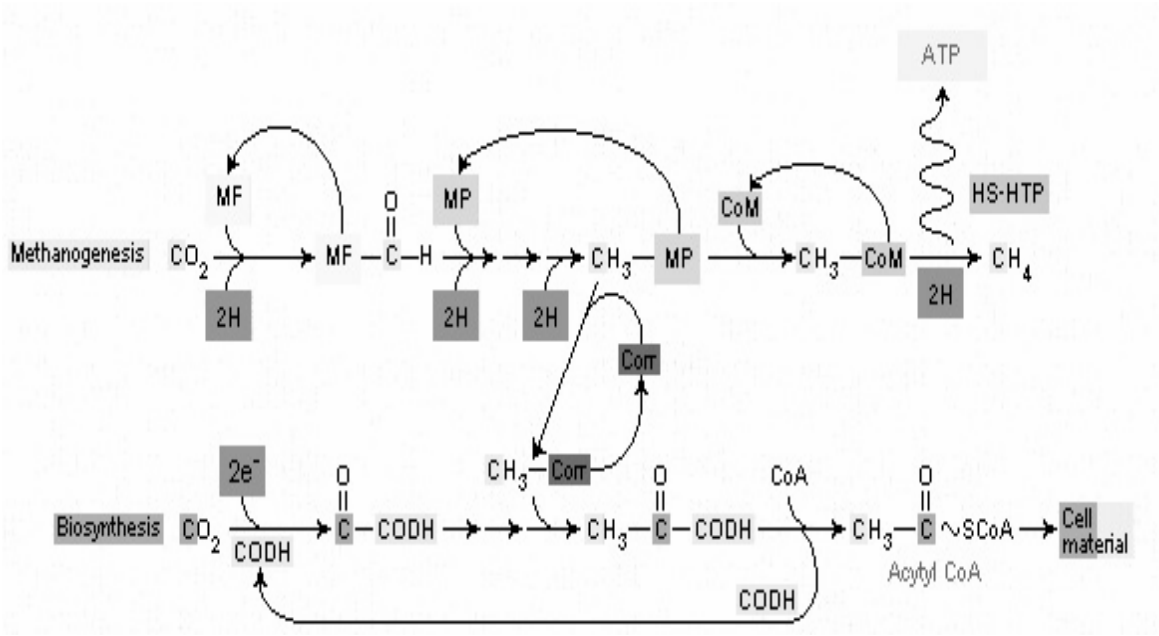
ขั้นตอนทั้งหมดแสดงดังรูปที่ 2.4

ในขั้นสุดท้าย HS-HTP จะรวมกับ CH_3-S-CoM เกิดเป็น CH_4 และ CoM-S-S-HTP ซึ่ง CoM-S-S-HTP จะถูกกระตุ้นด้วยเอนไซม์ Heterodisulfide Reductase ให้เกิดปฏิกิริยารีดอกซ์กับไฮโดรเจนหรือโคเอนไซม์ F_{420} ที่อยู่ในรูปรีดิวซ์เพื่อให้ CoM-S-S-HTP กลายเป็น CoM-SH และ HS-HTP และนำกลับไปใช้ใหม่ ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนการคายพลังงาน ซึ่งพลังงานส่วนนี้จะถูกสงวนไว้ด้วยกลไก chemiosmosis ส่วนกระบวนการชีวสังเคราะห์ของแบคทีเรียสร้างมีเทนจะ

ใช้วิถีทางชีวเคมีบางส่วนร่วมกับวิถีทางชีวเคมีของกระบวนการสงวนพลังงาน ดังแสดงในรูปที่ 2.5 จะเห็นว่าการเติบโตได้กลุ่มเมธิล (CH_3-)จากการสร้างมีเทน



รูปที่ 2.4 วิถีการสร้างมีเทนจากคาร์บอนไดออกไซด์ (Madigan และคณะ, 1997)



รูปที่ 2.5 ความสัมพันธ์ระหว่างวิถีทางชีวเคมีของกระบวนการชีวสังเคราะห์และกระบวนการสงวนพลังงานของแบคทีเรียสร้างมีเทน (Madigan และคณะ, 1997)

แบคทีเรียสร้างมีเทนจะให้กลุ่มเมทิลที่ได้จาก Methyl Tetrahydromethanopterin (CH_3-MP) ในวิถีการสร้างมีเทนกับเอนไซม์ที่มี Corrinoid เกิดเป็น CH_3-Corrinoid จากนั้นก็ปล่อยกลุ่มเมทิลต่อให้กับ Carbon Monoxide Dehydrogenase เพื่อใช้ในการสร้างอะซิติลโคเอซึ่งถูกนำไปใช้ในกระบวนการชีวสังเคราะห์ต่อไป

เมื่อเทียบกับคาร์บอนไดออกไซด์ที่ถูกใช้ในการสร้างมีเทนแล้ว คาร์บอนไดออกไซด์ที่ถูกเปลี่ยนเป็นส่วนประกอบของเซลล์มีปริมาณน้อยมากและจะเห็นได้ว่าในการใช้วิถีทางชีวเคมีบางส่วนร่วมกันระหว่างการสร้างเซลล์และการสงวนพลังงาน ทำให้แบคทีเรียสามารถดึงเอากลุ่มเมทิลที่เกิดขึ้นในวิถีการสร้างมีเทนมาใช้ได้เลยโดยไม่ต้องสร้างเอนไซม์ที่เร่งการสร้างกลุ่มเมทิลจากคาร์บอนได-

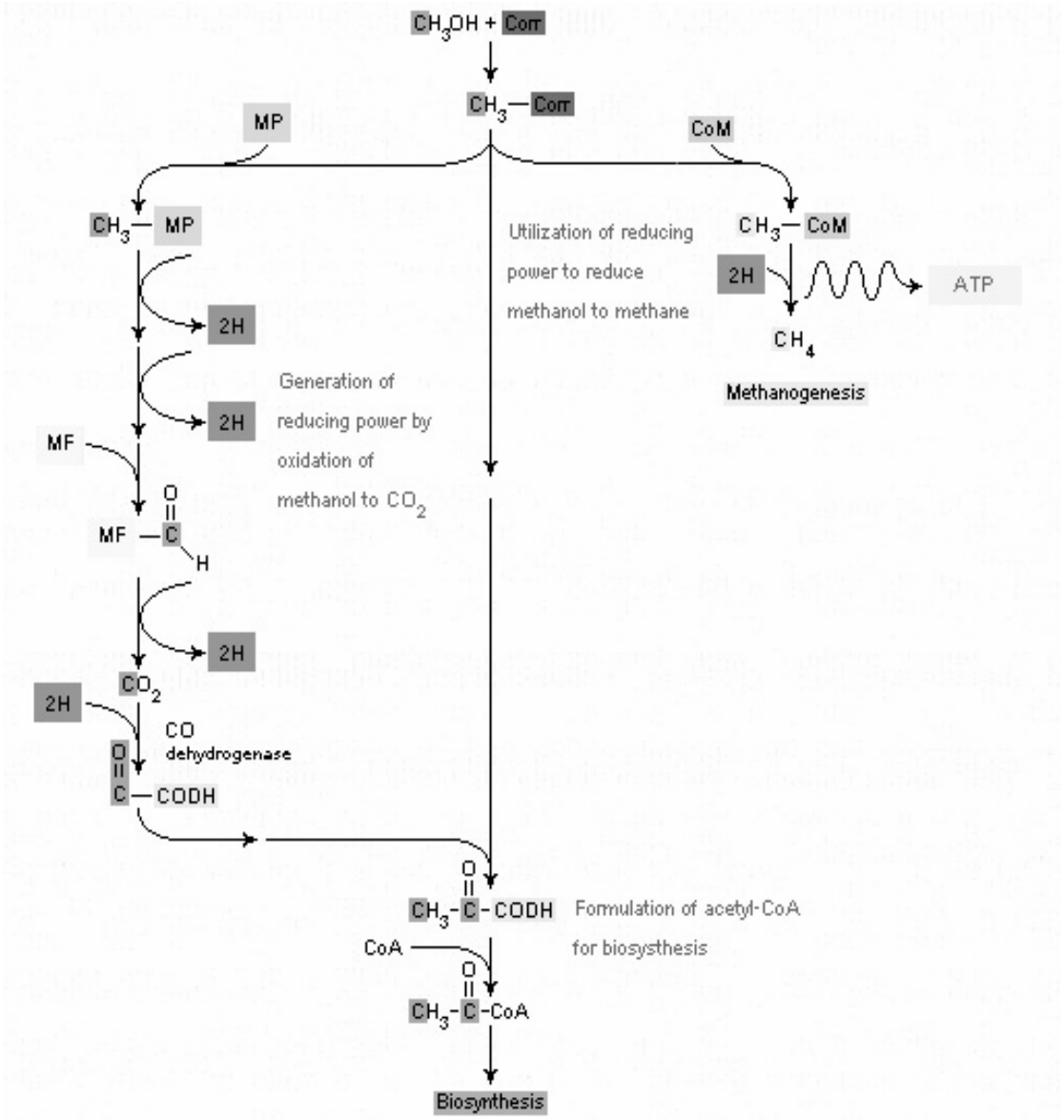
ออกไซด์ขึ้นมาใหม่ แบคทีเรียสร้างมีเทนจึงประหยัดพลังงานที่ใช้สร้างเอนไซม์ส่วนนี้ลงได้

2.2.3 กระบวนการสร้างมีเทนจากสารประกอบเมทิล

ในขั้นตอนแรกของการสร้างมีเทนจากสารประกอบเมทิล เช่น เมทานอล เป็นต้น สารประกอบเมทิลจะให้กลุ่มเมทิลกับ Corrinoid เพื่อสร้าง CH_3-Corrinoid ซึ่ง Corrinoid นี้มีโครงสร้างเป็นวงแหวน Porphyrin-Like Corrin ที่มีโคบอลต์อยู่ตรงกลางและเป็นโครงสร้างต้นแบบของสารประกอบบางอย่างเช่น วิตามินบี 12 เป็นต้น จากนั้น CH_3-Corrinoid จะให้กลุ่มเมทิลต่อกับโคเอนไซม์เอ็มเกิดเป็น CH_3-CoM และ CH_3-CoM จะรับอิเล็กตรอนกลายเป็นมีเทน ซึ่งอิเล็กตรอนที่ให้กับ CH_3-CoM จะได้มาจากการเปลี่ยนโมเลกุลเมทานอลอื่นเป็นคาร์บอนไดออก-ไซด์ ดังแสดงในสมการต่อไปนี้

$$CH_3OH + H_2O \rightarrow CO_2 + 6H^+ + 6e^-$$

ส่วนกระบวนการชีวสังเคราะห์ เริ่มจากการใช้กลุ่มเมทิลที่ได้จากเมทานอลมารับอิเล็กตรอนเพื่อสร้างคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งรวมกับกลุ่มเมทิลเข้าด้วยกันเพื่อสร้างอะซิติลโคเอในขั้นต่อมาทั้งนี้โดยใช้เอนไซม์ Carbon Monoxide Dehydrogenase ดังแสดงในรูปที่ 2.6

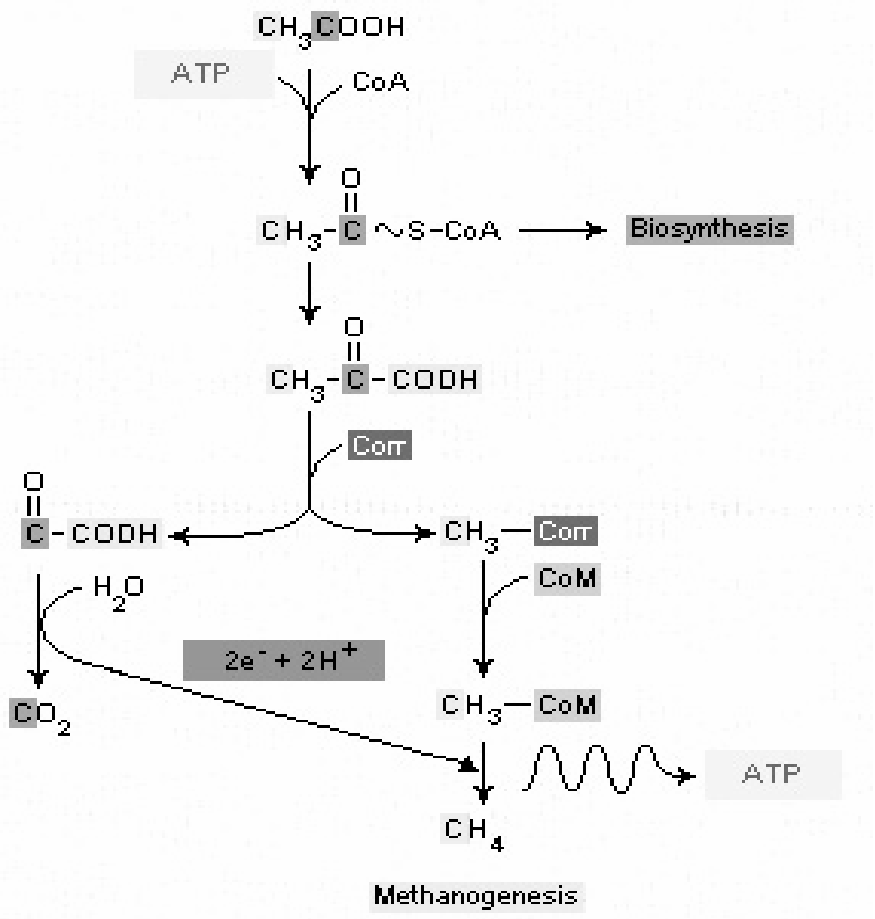


รูปที่ 2.6 วิถีทางชีวเคมีของกระบวนการชีวสังเคราะห์และกระบวนการสงวนพลังงานของแบคทีเรียสร้างมีเทนที่ใช้เมทานอล (Madigan และคณะ 1997)

จะเห็นได้ว่าแบคทีเรียสร้างมีเทนที่ใช้สารประกอบเมทิล ต้องใช้กลุ่มเมทิลรับอิเล็กตรอนจากไฮโดรเจนเพื่อผลิตมีเทน แต่ในกรณีที่ไม่มีไฮโดรเจน แบคทีเรียจะใช้ Sodium Pump แทนเพื่อสร้างความแตกต่างของความเข้มข้นของโซเดียมระหว่างเซลล์เมมเบรนซึ่งจะทำให้เกิดความต่างศักย์ขึ้น วิธีนี้เป็นการเปลี่ยนรูปพลังงานเคมีจากปฏิกิริยารีดอกซ์มาเก็บอยู่ในรูปพลังงานไฟฟ้า เซลล์จะใช้พลังงานที่เก็บไว้นี้ผลักดันให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลุ่มเมทิลและเกิดการสร้างมีเทน นอกจากนี้ Sodium Pump ยังเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยน CH_3-Tetrahydromethanopterin เป็น CH_3-CoM และการ Carboxylation ของ Methano-furan (MF) ของแบคทีเรียสร้างมีเทนที่ใช้ไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ด้วย

2.2.4 กระบวนการสร้างมีเทนจากอะซิเตท

แบคทีเรียสร้างมีเทนจากอะซิเตทสามารถนำอะซิเตทไปใช้ในกระบวนการชีว-สังเคราะห์ได้โดยตรง ส่วนในกระบวนการสงวนพลังงาน แบคทีเรียสร้างมีเทนจากอะซิเตทจะกระตุ้นอะซิเตทให้มีพลังงานสูงขึ้น โดยการสร้างเป็นอะซิติลโค-เอ ซึ่งจะไปทำปฏิกิริยากับ Carbon Monoxide Dehydrogenase ต่อ และตามมาด้วยการส่งกลุ่มเมทิลจากอะซิเตทให้กับเอนไซม์ Corrinoid เพื่อสร้าง CH_3-corrinoid จากขั้นตอนนี้เอง กลุ่มเมทิลถูกส่งต่อให้กับ Tetrahydromethanopterin และส่งต่อไปให้กับโคเอนไซม์เอ็มอีกทอดหนึ่งเพื่อสร้างเมทิลโคเอ็ม (CH_3CoM) แบคทีเรียสร้างมีเทนจะใช้เมทิลโคเอ็ม รับอิเล็กตรอนที่ได้จากการเปลี่ยนคาร์บอนมอนอกไซด์เป็นคาร์บอนไดออกไซด์โดยเอนไซม์ชื่อ CO dehydrogenase และได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นมีเทนและคาร์บอนไดออกไซด์ ดังแสดงในรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 วิถีทางชีวเคมีของกระบวนการชีวสังเคราะห์และกระบวนการสงวนพลังงานของแบคทีเรียสร้างมีเทนที่บริโภคอะซิเตท (Madigan และคณะ 1997)

การสร้าง ATP เกิดขึ้นในขั้นตอนการเปลี่ยน CH_3CoM เป็นมีเทนซึ่งเป็นขั้นตอนสุดท้ายด้วยกลไก Chemiosmosis เช่นเดียวกับที่เกิดในแบคทีเรียสร้างมีเทนที่ใช้ไฮโดรเจนกับคาร์บอนไดออกไซด์

2.3 ขั้นตอนของปฏิกิริยาย่อยแบบไม่ใช้อากาศ

ดังได้กล่าวแล้วว่า กระบวนการไม่ใช้อากาศมี 4 ขั้นตอนซึ่งเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องไปตามลำดับ ดังนี้

ไฮโดรไลซิส
การสร้างกรดไขมันระเหย (Acidogenesis)
การสร้างอะซิเตท (Acetogenesis)
การสร้างมีเทน

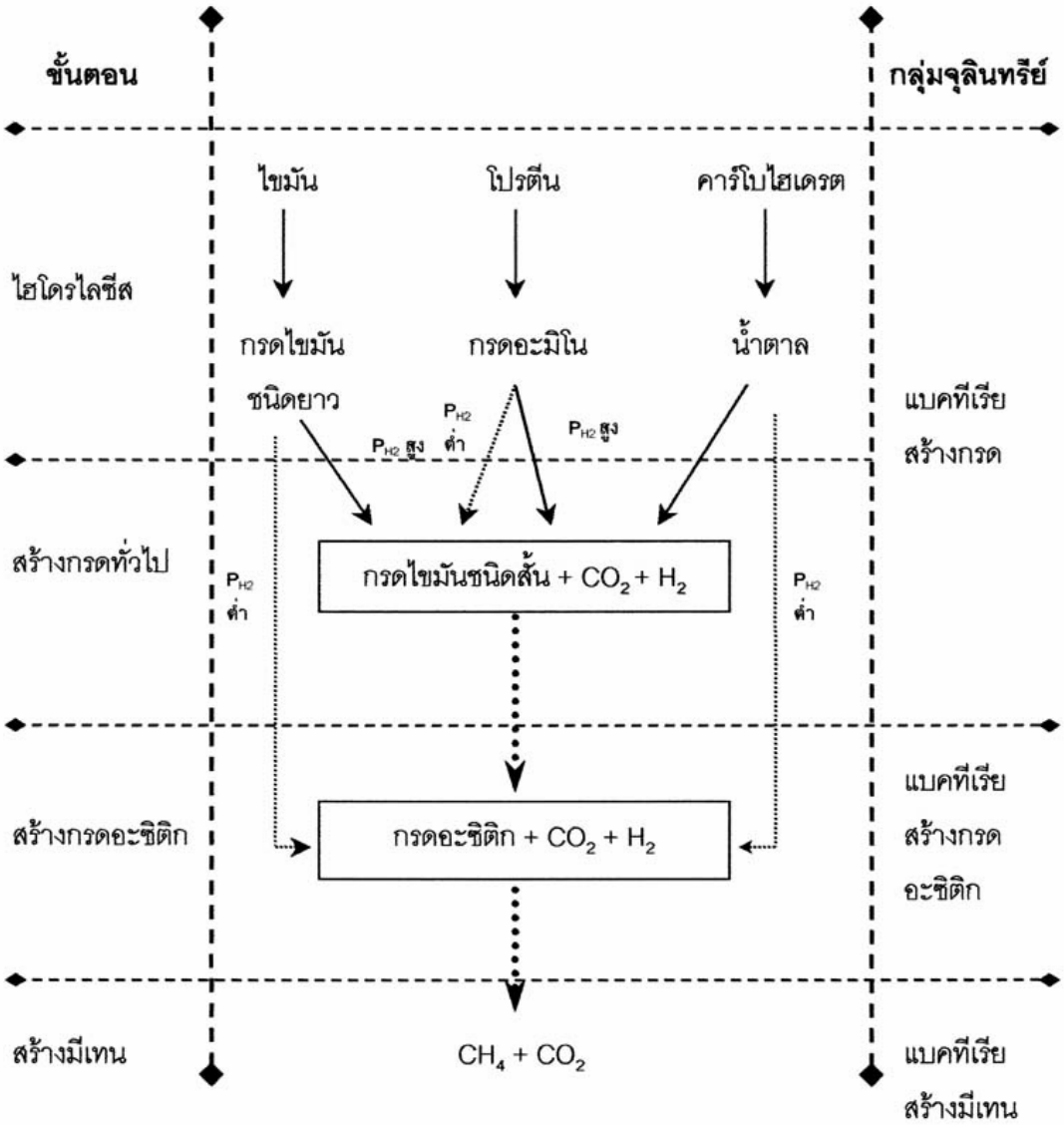
รูปที่ 2.8 แสดงวิถีการเปลี่ยนแปลงด้วยกระบวนการไม่ใช้อากาศของสารอาหารทั้ง 3 ประเภทคือไขมัน, โปรตีนและคาร์โบไฮเดรต หรือแป้ง

<u>ขั้นตอนที่ 1</u> "ไฮโดรไลซิส (Hydrolysis)"
ไฮโดรไลซิสป็นขั้นตอนการย่อยสลายสารประกอบโมเลกุลใหญ่ เช่น คาร์โบไฮ-เดรต โปรตีนและไขมัน ให้กลายเป็นสารประกอบโมเลกุลเล็ก เช่น น้ำตาล กรดอะมิโน และกรดไขมันชนิดยาวตามลำดับ ขั้นตอนนี้สามารถเกิดขึ้นได้ภายนอกเซลล์แบคทีเรียโดยอาศัยเอนไซม์ที่แบคทีเรียปล่อยออกมาใช้ในการย่อยสลายดังกล่าว

<u>ขั้นตอนที่ 2</u> "การสร้างกรดไขมันระเหย (Acidogenesis)"
ผลผลิตของขั้นตอนที่ 1 จะถูกแบคทีเรียสร้างกรดดูดซึมเข้าไปภายในเซลล์ เพื่อไปใช้เป็นอาหารและถูกเปลี่ยนเป็นกรดไขมันระเหย (Volatile Fatty Acid) เช่น กรดอะซิติก กรดบิวไทริก กรดพรอพิออนิก เป็นต้น และผลิตไฮโดรเจนกับคาร์บอนไดออกไซด์ออกมาด้วยกระบวนการทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นในระหว่างการ

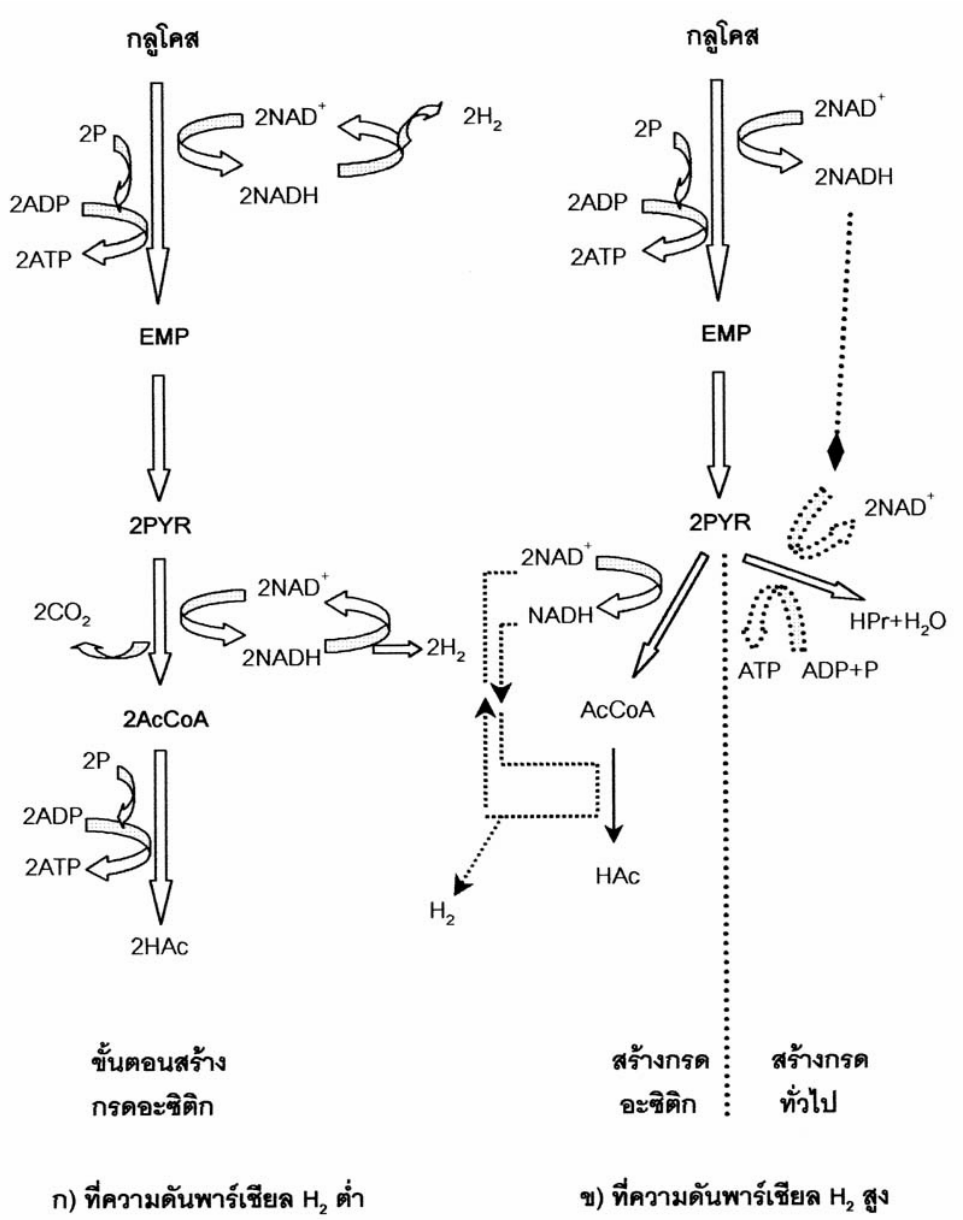
ย่อยสลายสารประกอบโมเลกุลเล็กและชนิดของผลผลิตที่ได้ขึ้นอยู่กับปัจจัย 2 ประการ คือ ชนิดของสับสเตรท และความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนที่เกิดขึ้น ยกตัวอย่างเช่น กรดไขมันชนิดยาวจะถูกย่อยสลายกลายเป็นกรดอะซิติกและไฮโดรเจน ภายใต้สภาวะที่ความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนมีค่าต่ำ แต่จะย่อยสลายกลายเป็นกรดบิวไทริกและกรดพรอพิออนิก เมื่ออยู่ภายใต้สภาวะที่ไฮโดร-เจนมีความดันพาร์เชียลสูง น้ำตาลถูกย่อยสลายเป็นกรดอะซิติก ไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์โดยผ่านวิถี Embden-Meyerhof ภายใต้สภาวะที่มีความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนมีค่าต่ำ แต่ถ้าไฮโดรเจนมีความดันพาร์เชียลสูงผลผลิตที่ได้คือ กรดอะซิติก กรดพรอไพออนิก กรดบิวไทริก ไฮโดรเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ (ดูรูปที่ 2.9)

<u>ขั้นตอนที่ 3</u> "การสร้างกรดอะซิติกจากกรดไขมันระเหยอื่นๆ (Acetogenesis)" แบคทีเรียอะเซโตจีนิก (แบคทีเรียสร้างอะซิเตท) มีบทบาทสำคัญในการเป็นตัวเชื่อมระหว่างขั้นตอนการสร้างกรดและขั้นตอนการสร้างมีเทน แบคทีเรียสร้างมีเทนนั้นต้องการสับสเตรตเฉพาะเจาะจงมากได้แก่ กรดอะซิติก กรดฟอร์มิก ไฮโดรเจน เมทานอล และเมทธิลามีน (Methylamine) กรดไขมันระเหยที่มีคาร์บอนมากกว่า 2 อะตอมไม่อาจใช้เป็นสับสเตรตในการผลิตมีเทนได้โดยตรง แบคทีเรียอะเซโตจีนิค (ที่ผลิตไฮโดรเจนได้ด้วย) มีความสามารถในการย่อยสลายกรดไขมันระเหยที่มีคาร์บอนมากกว่า 2 อะตอมให้กลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ กรดอะซิติก และไฮโดรเจนภายใต้สภาวะที่ไฮโดรเจนมีความดันพาร์เชียลต่ำกว่า $2x10^{-3}$ บรรยากาศ และต่ำกว่า $9x10^{-3}$ บรรยากาศ สำหรับการย่อยสลายกรดบิวไทริกและกรดพรอพิออนิก ตามลำดับ



รูปที่ 2.8 ขั้นตอนการย่อยสลายไขมัน โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต แบบไม่ใช้อากาศ

(Sam-Soon 1987)



EMP = Embden-Meyerhof pathway HPr = กรดโพรพิออกนิก (Propionic acid)

PYR = กรดไพรูวิก (Pyruvic acid) HAc = กรดอะซิติก(Acetic acid)

รูปที่ 2.9 การย่อยกลูโคสที่สภาวะความดันพาร์เชียลของกาซไฮโดรเจนต่ำและสูง

(Sam-Soon 1987)

$$CH_3CH_2COOH + 2H_2O \rightarrow CH_3COOH + CO_2 + 3H_2$$

$$CH_3CH_2CH_2COOH + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COOH + 2\,H_2$$

ขั้นตอนที่ 3 นี้ จะเกิดขึ้นได้เฉพาะในสภาวะที่ไฮโดรเจนมีความดันพาร์เชียลต่ำเท่านั้น กรดไขมันระเหยไม่สามารถย่อยสลายกลายเป็นกรดอะซิติกภายใต้สภาวะที่ไฮโดรเจนมีความดันพาร์เชียลสูง

<u>ขั้นตอนที่ 4</u> "การสร้างมีเทน"
กรดอะซิติกและไฮโดรเจนจะถูกแบคทีเรียใช้สร้างกาซมีเทนภายใต้สภาวะไม่ใช้อากาศอย่างเด็ดขาด

$$CH_3COOH + H_2O \rightarrow CH_4 + H_2CO_3$$

$$4H_2 + H_2CO_3 \rightarrow CH_4 + 3H_2O$$

กรดไขมันระเหยที่มีคาร์บอนมากกว่า 2 อะตอม ไม่สามารถถูกเปลี่ยนเป็นมีเทนได้โดยตรง แบคทีเรียจะต้องเปลี่ยนกรดไขมันระเหยต่างๆ ให้เป็นกรดอะซิติกหรือไฮโดรเจนเสียก่อนจึงจะใช้ผลิตมีเทนได้ นอกจากกรดอะซิติกและไฮโดรเจนแล้ว แบคทีเรียอาจใช้สับสเตรตอย่างง่ายอีกเพียงไม่กี่ชนิดในการผลิตมีเทน เช่น เมทานอล, กรดฟอร์มิก (HCOOH)

$$4CH_3OH \rightarrow 3CH_4 + CO_2 + 2H_2O$$

$$4HCOOH \rightarrow CH_4 + 3CO_2 + 2H_2O$$

2.4 ตัวอย่างวิถีชีวเคมีที่เกิดขึ้นในขั้นตอนการสร้างกรดไขมันระเหยจากกลูโคส

แบคทีเรียที่ไม่สร้างมีเทนจะดูดซึมกลูโคสเข้าไปย่อยสลายภายในเซลล์ภายใต้วิถีทางชีวเคมีแบบ Embden-Meyerhof Pathway (EMP) กลูโคสจะถูกออกซิไดซ์กลายเป็นกรดไพรูวิก ดังนี้

$$C_6H_{12}O_6 + 2\,NAD^+ + 2\,ADP + 2P \rightarrow 2CH_3COCOOH + 2NADH + ATP \qquad (2.1)$$

แต่ละโมลของกลูโคส จะผลิตกรดไพรูวิก 2 โมล และ ATP 1 โมล โคเอนไซม์ NAD^+ จะถูกใช้เป็นพาหะของอีเล็กตรอนและไฮโดรเจน ทำให้เกิด NADH เนื่องจาก NAD^+ มีจำกัด จึงต้องมีวิธีปลดปล่อย H^+ ออกจาก NADH ให้กลายเป็น NAD^+ ใหม่ เพื่อให้มีพาหะสำหรับขนส่งอีเล็กตรอนตลอดไป โดยปกติการฟื้นอำนาจของ NAD^+ เกิดขึ้นได้ดังนี้

$$NADH + H^+ \rightarrow NAD^+ + H_2 \qquad (2.2)$$

สมการ (2.2) สามารถเกิดขึ้นเองได้ตราบเท่าที่ H_2 (ในด้านขวาของสมการ) สามารถหนีออกไปจากปฏิกิริยาได้ ถ้าไฮโดรเจนที่อยู่ในบรรยากาศเหนือน้ำมีความดันพาร์เชียลต่ำจนทำให้ไฮโดรเจนละลายน้ำได้น้อยมาก ไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นในสมการ (2.2) ก็จะหนีจากน้ำสู่บรรยากาศได้ง่าย ทำให้สมการ (2.2) สามารถเกิดจากซ้ายไปขวาได้เอง ทำให้มีการคืนกลับของ NAD^+ เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง

กรดไพรูวิกที่เกิดขึ้นจะถูกออกซิไดซ์ต่อไปกลายเป็นอะเซทีลโคเอ (CH_3CoA) ดังนี้

$$2CH_3COCOOH + 2NAD^+ \rightarrow 2\,CH_3CoA + 2\,CO_2 + 2NADH \qquad (2.3)$$

NAD^+ ก็ยังทำหน้าที่เป็นตัวพาหะของอีเล็กตรอนอีกเหมือนเคย อะเซทีลโคเอจะถูกย่อยสลายต่อไป กลายเป็นกรดอะซิติก พร้อมกับการสร้าง ATP ดังนี้

$$2CH_3CoA + 2\,ADP + 2\,P \rightarrow 2\,CH_3COOH + 2\,ATP \qquad (2.4)$$

เมื่อรวมสมการ (2.1), (2.3) และ (2.4) เข้าด้วยกัน จะได้ปฏิกิริยาเฟอร์เมนเตชันที่สมบูรณ์ดังนี้

$$C_6H_{12}O_6 + 2H_2O + 4ADP + 4P \rightarrow 2CH_3COOH + 2CO_2 + 4H_2 + 4ATP \qquad (2.5)$$

จะเห็นได้ว่าการย่อยสลายแบบไม่ใช้อากาศของกลูโคส 1 โมล จะได้กรดอะซิติก 2 โมล คาร์บอนไดออกไซด์ 2 โมล ไฮโดรเจน 4 โมล และ ATP 4 โมล ทั้งนี้ปฏิกิริยาของสมการ (2.5) จะเกิดขึ้นภายใต้บรรยากาศที่ไฮโดรเจนมีความดันพาร์เชียลต่ำมากเท่านั้น

เมื่อปฏิบัติการไม่ใช้อากาศสามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ ไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นจะถูกใช้ผลิตมีเทนโดยแบคทีเรียที่เรียกว่า ตัวบริโภคไฮโดรเจน (H_2 Utilizer) ซึ่งเป็นแบคทีเรียสร้างมีเทนชนิดหนึ่ง

$$4\ H_2 + H_2\ CO_3 \quad \rightarrow \quad CH_4 + 3\ H_2O \qquad (2.6)$$

เป็นผลทำให้ความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนมีค่าต่ำเสมอ

อย่างไรก็ตาม หากมีปัญหาเกิดขึ้นทำให้แบคทีเรียบริโภคไฮโดรเจนหรือ H_2 Utilizer ไม่สามารถดำรงอยู่ได้ หรือไม่มีแบคทีเรียชนิดนี้อาศัยอยู่ในถังหมักไม่ใช้อากาศ ไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นก็จะไม่ถูกนำไปใช้ประโยชน์และมีการสะสมตัวของไฮโดรเจน จนกระทั่งความดันพาร์เชียลมีค่าสูง ผลกระทบจะเกิดขึ้นกับการปลดปล่อย H^+ ออกจาก NADH นั่นคือวิธีการปลดปล่อย H^+ แบบปกติ (ดูสมการ 2.2) จะไม่สามารถเกิดขึ้นเองได้ เนื่องจาก H_2 ไม่สามารถหนีไปจากปฏิกิริยาได้ แบคทีเรียชนิดไม่สร้างมีเทนจึงต้องใช้วิธีการอื่นในการฟื้นอำนาจของ NADH เพื่อให้ปฏิกิริยาเฟอร์เมนเตชันสามารถเกิดขึ้นต่อไปได้ วิธีการที่ใช้คือ สร้างปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเองได้และใช้เป็นปฏิกิริยาควบคู่ในการเปลี่ยน NADH ให้กลายเป็น NAD^+ ปรากฏว่าการเปลี่ยนกรดไพรูวิกให้กลายเป็นกรดพรอพิออนิกสามารถทำให้ NADH ปลดปล่อย H^+ ได้ดังนี้

$$CH_3COCOOH + 2NADH + ADP + P \quad \rightarrow$$
$$CH_3CH_2COOH + 2NAD^+ + ATP + H_2O \qquad (2.7)$$

จะเห็นได้ว่ากรดไพรูวิกเพียง 1 โมลสามารถใช้ปลดปล่อย H^+ จาก NADH 2 โมล ซึ่งได้จากการย่อยสลายกลูโคสในขั้นตอนแรกของปฏิกิริยาเฟอร์เมนเตชัน แต่กลูโคส 1 โมลใช้ผลิตกรดไพรูวิกได้ 2 โมล จึงยังมีกรดไพรูวิกเหลืออีก 1 โมล ซึ่งจะถูกย่อยสลายเป็น Acetyl CoA ไปตามปกติ ดังนี้

$$CH_3COCOOH + NAD^+ \rightarrow CH_3CoA + CO_2 + NADH \qquad (2.8)$$

เมื่อถึงขั้นตอนนี้ ก็มีปัญหาในการฟื้นอำนาจให้กับ NAD^+ อีกเหมือนเดิม กล่าวคือ ถ้าความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนมีค่าต่ำ การปลดปล่อย H^+ จาก NADH ก็คงเป็นวิธีปกติ (ตามสมการ 2.2) แต่ถ้าความดันพาร์เชียลมีค่าสูง การปลดปล่อย H^+ จะต้องเกิดขึ้นควบคู่กับการเปลี่ยน Acetyl CoA ให้เป็นกรดอะซิติก
ดังนี้

$$CH_3CoA + NADH \rightarrow CH_3COOH + H_2 + NAD^+ \qquad (2.9)$$

เมื่อรวมสมการ (2.1), (2.3), (2.8) และ (2.9) เข้าด้วยกันจะได้สมการเฟอร์เมน-เตชันที่ใช้ย่อยสลายกลูโคส 1 โมลภายใต้บรรยากาศที่ความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนมีค่าสูง ดังนี้

$$C_6H_{12}O_6 + 3ADP + 3P \rightarrow$$
$$CH_3COOH + CH_3CH_2COOH + CO_2 + H_2 + 3ATP \qquad (2.10)$$

นั่นคือแต่ละโมลของกลูโคสสามารถผลิตกรดอะซิติก 1 โมล กรดพรอพิออนิก 1 โมล คาร์บอนไดออกไซด์ 1 โมล ไฮโดรเจน 1 โมล และ ATP 3 โมล

เมื่อเปรียบเทียบสมการที่ (2.6) และ (2.7) จะเห็นได้ว่าการย่อยแบบไม่ใช้อากาศภายใต้สภาวะที่มีความดันพาร์เชียลต่ำ จะให้ ATP 4 โมลและผลิตกรดอะซิติก 2 โมล (ไม่มีกรดพรอพิออนิก เกิดขึ้น) แต่ถ้าความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนสูง จะได้ ATP เพียง 3 โมล และสร้างกรดอะซิติกและพรอพิออนิก อย่างละ 1 โมล

2.5 บทบาทของไฮโดรเจนที่มีต่อกระบวนการย่อยไม่ใช้อากาศ

เป็นที่ทราบกันอย่างแน่นอนแล้วว่า ขั้นตอนต่างๆ ของการย่อยไม่ใช้อากาศมีการผลิตไฮโดรเจน เกิดขึ้นตลอดเวลา ไฮโดรเจนเกิดขึ้นจากปฏิกิริยาปลดปล่อย H^+ ของโคเอนไซม์ NADH ดังนี้

$$NADH + H^+ \rightarrow NAD^+ + H_2 \qquad (2.11)$$

ปฏิกิริยาข้างต้นเป็นการฟื้นอำนาจของ NAD^+ เพื่อใช้เป็นพาหะของอีเล็กตรอนในปฏิกิริยารีดอกซ์

$$NAD^+ + 2e^- + H^+ \rightarrow NADH \qquad (2.12)$$

ในสภาวะที่ความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนมีค่าต่ำ H_2 ในสมการ (2.10) จะสามารถหนีจากน้ำขึ้นสู่บรรยากาศภายในถังย่อย เป็นผลให้ปฏิกิริยา (2.11) สามารถเกิดขึ้นจากซ้ายไปขวาได้ตลอดเวลาปฏิกิริยาเช่นนี้จึงเกิดขึ้นได้เอง ดังนั้น

จะเห็นได้ว่า การถ่ายเทอีเล็กตรอนของปฏิกิริยาย่อยไม่ใช้อากาศจะมี H_2 เกิดขึ้นพร้อมๆ กัน หากปฏิบัติการไม่ใช้อากาศสามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพแล้ว ไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นจะถูกใช้ผลิตมีเทนโดยอาศัยแบคทีเรียสร้างมีเทนที่เรียกว่า Hydrogen Utilizer หรือผู้บริโภคไฮโดรเจน

$$4H_2 + H_2CO_3 \rightarrow CH_4 + 3H_2O \qquad (2.13)$$

การสะสมตัวของไฮโดรเจนจึงไม่เกิดขึ้น ความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนจึงมีค่าต่ำตลอดเวลา อย่างไรก็ตาม ถ้าการทำลายไฮโดรเจนมิได้เกิดขึ้นอาจเป็นเพราะไม่มีแบคทีเรียผู้บริโภคไฮโดรเจนหรือเพราะเหตุอื่นๆ ไฮโดรเจนละลายจะสะสมตัวมากขึ้นจนถึงจุดอิ่มตัวและทำให้ความดันพาร์เชียลสูงขึ้น สภาพเช่นนี้มีผลกระทบต่อปฏิบัติการไม่ใช้อากาศ 2 อย่างคือ ผลกระทบต่อการสร้างกรดไขมันระเหยและผลกระทบต่อการสร้างกรดอะซิติกจากกรดพรอพิออนิก

2.5.1 ผลกระทบต่อการสร้างกรดไขมันระเหย

เมื่อไฮโดรเจนละลายน้ำมากจนมีความดันพาร์เชียลสูง ปฏิกิริยา (2.11) จะไม่สามารถเกิดขึ้นได้เองเนื่องจาก H_2 ที่เกิดขึ้นไม่สามารถหนีจากปฏิกิริยา (2.11) นั่นคือ NADH ไม่สามารถปลดปล่อย H^+ ได้ด้วยวิธีปกติ แบคทีเรียจึงจำเป็นต้องใช้วิธีอื่นในการปลดปล่อย H^+ จาก NADH ให้กลับคืนเป็น NAD^+ ใหม่ นักวิจัยพบว่าการปลดปล่อย H^+ ของNADHสามารถเกิดขึ้นควบคู่กับปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไพรูวิกให้กลายเป็นกรดพรอพิออนิก ดังนี้

$$CH_3COCOOH+2NADH+ADP+P \rightarrow CH_3CH_2COOH+2NAD^{+}+ATP+H_2O \quad (2.14)$$

ปฏิกิริยาข้างต้นเกิดขึ้นได้ภายใต้สภาวะที่ความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนมีระดับสูงกว่า $2x10^{-3}$ บรรยากาศ (เท่ากับไฮโดรเจนละลายน้ำ 4×10^{-3} มก./ล.)

อนึ่ง ถ้าความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนมีระดับต่ำ กรดไพรูวิกจะถูกออกซิไดซ์กลายเป็นกรดอะซิติก

$$2CH_3COCOOH + NAD^{+} + 2ADP +2P \rightarrow 2CH_3COOH+2ATP+2NADH +2CO_2 \quad (2.15)$$

2.5.2 ผลกระทบต่อการสร้างกรดอะซิติก

หากมีกรดพรอพิออนิกเกิดขึ้นในระหว่างการย่อยไม่ใช้อากาศ กรดพรอพิออนิกจะต้องถูกเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติกก่อนจึงจะใช้สร้างมีเทนได้ ปฏิกิริยาชีวเคมีจะเป็นดังนี้

$$CH_3CH_2COOH + 2\ H_2O \rightarrow CH_3COOH + CO_2 + 3H_2 \quad (2.16)$$

จะสังเกตได้ว่ามีไฮโดรเจนเกิดขึ้นด้วย หากไม่สามารถกำจัดไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นได้ ปฏิกิริยาก็จะหยุดและไม่สามารถเปลี่ยนกรดไพรไพโอนิคให้เป็นกรดอะซิติก นักวิจัยรายงานว่า ปฏิกิริยา (2.16) สามารถเกิดขึ้นได้ หากความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนมีค่าไม่เกิน $9\ x10^{-3}$ บรรยากาศ หากความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนมี

ค่าสูงกว่า $9x10^{-3}$ บรรยากาศ จะมีกรดพรอพิออนิกสะสมตัวอยู่ในระบบเนื่องจากไม่สามารถเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติก ในทำนองเดียวกันถ้าความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนต่ำกว่า $2x10^{-3}$ บรรยากาศ กรดบิวไทริกสามารถเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติกได้ดังนี้

$$CH_3CH_2CH_2COOH + 2H_2O \rightarrow 2\ CH_3COOH + 2H_2 \qquad (2.17)$$

ปฏิกิริยา (2.17) จะไม่เกิดขึ้น หากความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจน เกิน $2x10^{-3}$ บรรยากาศการสะสมตัวของกรดพรอพิออนิก หรือกรดไขมันระเหยต่างๆ จะทำให้พีเอชของระบบมีค่าต่ำลง จนกระทั่งอยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย นอกจากนี้ นักวิจัยยังพบว่า กรดพรอพิออนิกเป็นพิษต่อแบคทีเรียไม่ใช้อากาศอีกด้วย

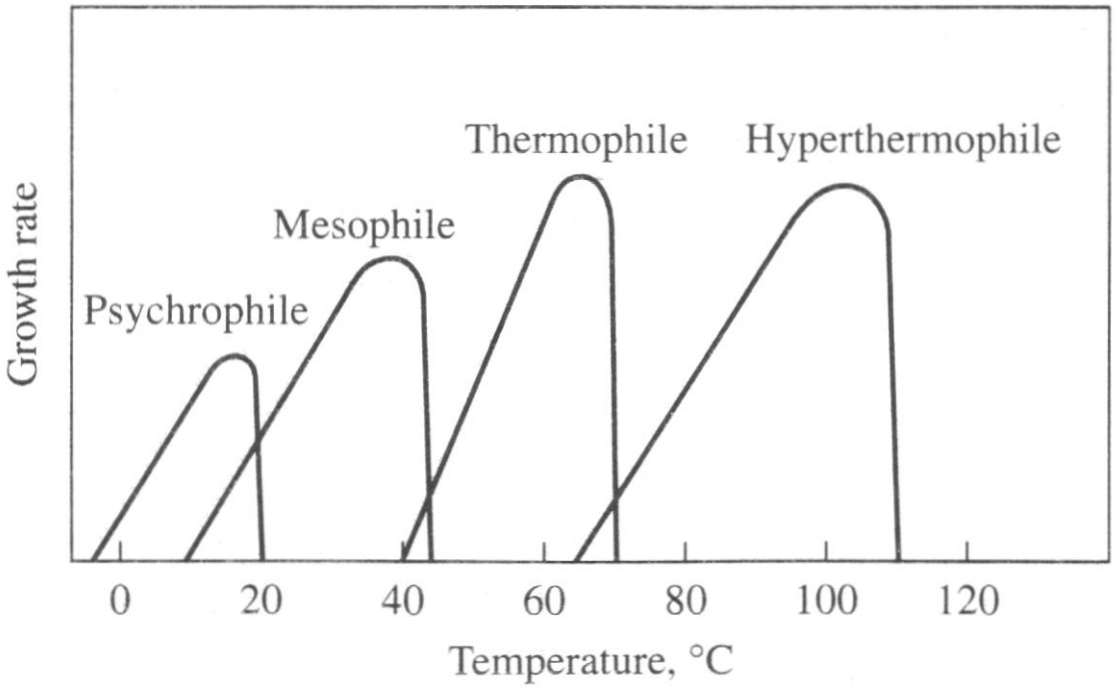
2.6 ปัจจัยสภาวะแวดล้อมที่มีผลต่อการทำงานของแบคทีเรียสร้างมีเทน

26.1 อุณหภูมิ

ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในกระบวนการไม่ใช้อากาศมีอยู่ 2 ช่วง คือ

- ช่วง 8 – 45°C เรียกว่า เมโซฟิลิก (mesophilic)
- ช่วง 40 – 70°C เรียกว่า เทอร์โมฟิลิก (thermophilic)

ตามปกติแล้ว เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น อัตราการเกิดปฏิกิริยาเคมีและการทำงานของเอนไซม์ภายในเซลล์จะเร็วขึ้น อัตราการเจริญเติบโตก็เพิ่มขึ้น แต่อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นถ้าเพิ่มสูงเกินกว่าที่เซลล์ทำงานได้ โปรตีน กรดนิวคลีอิก และส่วนประกอบของเซลล์หลายส่วนจะถูกทำลายจนไม่อาจกลับคืนสภาพได้ การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิจึงเพิ่มการเจริญเติบโตและการทำงานของเซลล์ได้จนถึงอุณหภูมิหนึ่ง เมื่ออุณหภูมิสูงกว่านั้น การทำงานและการเจริญเติบโตจะลดลงเป็นศูนย์อย่างรวดเร็วมาก (ดูรูปที่ 2.10)



รูปที่ 2.10 ผลของอุณหภูมิที่มีต่ออัตราการเจริญเติบโตของเซลล์

(Rittmann และMcCarty 2001)

2.6.2 พีเอช

จุลินทรีย์แต่ละชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ในช่วงพีเอชช่วงหนึ่ง ค่าพีเอชที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดก็จะอยู่ในช่วงนี้ จุลินทรีย์ส่วนใหญ่มักมีค่าพีเอชที่เหมาะสมอยู่ในช่วงพีเอช 5–10 เพราะสภาพแวดล้อมส่วนใหญ่ในธรรมชาติมักมีพีเอชอยู่ในช่วง 5–10 จุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตได้ที่พีเอชต่ำกว่า 5 เรียกว่า Acidophiles เช่น ราและแบคทีเรียบางชนิด ส่วนพวกที่เจริญเติบโตได้ที่พีเอช 10–11 เรียกว่า Alkaliphiles พีเอชที่เหมาะสมต่อกระบวนการไม่ใช้อากาศควรอยู่ระหว่าง 6.8–7.2 ซึ่งเป็นค่าที่เหมาะสมต่อการทำงานของแบคทีเรียสร้างมีเทน ถ้าพีเอชน้อยกว่า 6.2 ประสิทธิภาพของระบบจะลดลงอย่างรวดเร็ว

2.6.3 กรดไขมันระเหยและสภาพด่าง

โดยปกติ กรดไขมันระเหย (VFA)ในถังบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศที่ทำงานได้ดีควรมีค่าประมาณ 20-200 มก.กรดอะซิติกต่อลิตร กรดไขมันระเหยที่สะสมจนมีความเข้มข้นสูงกว่าระดับที่กล่าวแสดงว่าระบบมีแบคทีเรียสร้างมีเทนน้อยเกินไป หรือแสดงว่าแบคทีเรียสร้างกรดผลิตกรด VFA ได้เร็วเกินไป กรดไขมันระเหยที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจะเป็นสัญญาณว่าระบบกำลังเสียสมดุล เพราะทำให้พีเอชลดลงจนไม่อยู่ในช่วงที่เหมาะสมของแบคทีเรียที่อยู่ในระบบไม่ว่าจะเป็นแบคทีเรียสร้างมีเทนหรือแบคทีเรียสร้างกรด แม้ว่าแบคทีเรียสร้างกรดจะทนต่อกรดที่ผลิตขึ้นได้มากกว่าแบคทีเรียสร้างมีเทนก็ตาม สังเกตได้จากแบคทีเรียสร้างกรดสามารถอยู่ได้ในช่วงพีเอชที่กว้างกว่า ดังนั้นสภาพด่างจึงแสดงถึงกำลังบัฟเฟอร์ของระบบซึ่งจะรักษาระบบให้มีพีเอชค่อนข้างคงที่และทนต่อการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันระเหยได้ โดยทั่วไปกระบวนการไม่ใช้อากาศควรมีสภาพด่าง (Alkalinity) ประมาณ 1,500–2,000 มก./ล.สำหรับย่อยสลัดจ์หรือน้ำเสียเข้มข้น ปริมาณสภาพด่างที่พอเพียงขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของซีโอดีที่ย่อยสลายได้

นอกจากจะดูสภาพด่างแล้ว ยังต้องพิจารณาอัตราส่วนของกรดไขมันระเหยในรูปกรดอะซิติกต่อสภาพด่างด้วย โดยค่าอัตราส่วนกรดไขมันระเหยต่อสภาพด่างน้อยกว่า 0.4 ถือได้ว่าระบบยังทำงานได้ดี แต่ถ้าอัตราส่วนกรดไขมันระเหยต่อสภาพด่างสูงกว่า 0.8 แล้ว แสดงว่าระบบมีบัฟเฟอร์ต่ำ ควรหาสาเหตุที่ทำให้อัตราส่วนสูงขึ้นและแก้ไข เพราะพีเอชมีแนวโน้มลดลงจนระบบอาจล้มเหลวได้

2.6.4 ธาตุอาหาร (nutrient)

ถึงแม้ว่าเซลล์ของแบคทีเรียที่สร้างขึ้นมาในกระบวนการไม่ใช้อากาศจะมีน้อยกว่าแบบใช้ออกซิเจน แต่จากอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัสต่อซัลเฟอร์ (C:N:P:S) ในเซลล์มีค่าประมาณ 100:10:1:1 จึงจำเป็นต้องรักษาอัตราส่วนนี้ไว้ไม่ให้น้อยกว่านี้ จุลินทรีย์จึงต้องการอาหารเสริมนอกเหนือจากคาร์บอน เช่น ไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ซึ่งอัตราส่วนระหว่างบีโอดีต่อไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัสอย่างน้อยควรมีค่าเท่ากับ 100:1:0.2 (McCarty 1964) สำหรับกระบวนการไม่ใช้อากาศ นอกจากนี้ยังมีธาตุบางอย่างที่แบคทีเรียสร้างมีเทนต้องการในปริมาณน้อยแต่ขาดไม่ได้ ได้แก่ เหล็ก โคบอลต์ นิกเกิล และซัลเฟอร์ นอกจากนี้ยังมีรายงานถึงความต้องการธาตุอีก 3 ชนิด คือ โมลิบดินัม, ทังสเตนและเซเลเนียม แต่ยังไม่มีข้อยืนยันอย่างแน่นอนเหมือนอีก 4 ธาตุข้างต้น

- **เหล็กและโคบอลต์**

เหล็กเป็นธาตุอาหารที่ละลายน้ำได้น้อยและสามารถรวมกับซัลไฟด์ในระบบแยกตัวออกจากน้ำ ตกตะกอนผลึกในรูปของเหล็กซัลไฟด์ ทำให้อาจเกิดปัญหาการจำกัดของเหล็กได้ ส่วนโคบอลต์มีความสามารถในการละลายน้ำได้ดีกว่า แต่ก็อาจเกิดปัญหาเดียวกันได้

- **นิกเกิล**

นิกเกิลเป็นส่วนประกอบสำคัญของโคเอนไซม์ F_{430} ซึ่งเป็นหนึ่งในโคเอนไซม์สำคัญต่อแบคทีเรียสร้างมีเทน ซึ่งได้แก่ โคเอนไซม์ F_{420}, F_{430} และ 2-Mercaptoethane Sulfonic Acid โดยปกติแล้วนิกเกิลเป็นมลทินที่ติดอยู่ใน Yeast Extract และในเกลือแร่อื่นๆ ทำให้แบคทีเรียสร้างมีเทนได้รับนิกเกิลโดยไม่ได้ตั้งใจ อย่างไรก็ตามนิกเกิลอาจรวมกับซัลไฟด์และตกผลึกได้เช่นเดียวกับผลึกเหล็ก จึงอาจมีความจำเป็นต้องเติมนิกเกิลบ้างในกรณีที่ไม่มีหรือมีนิกเกิลไม่เพียงพอ

- **ซัลไฟด์**

บทบาทของซัลไฟด์ที่มีต่อระบบไม่ใช้อากาศมีทั้งเชิงบวกและเชิงลบ ซัลไฟด์มีผลเสียต่อแบคทีเรียสร้างมีเทนเนื่องจากสามารถตกผลึกเหล็ก นิกเกิลและโลหะหนักที่จำเป็นต่างๆ นอกจากนี้ซัลไฟด์ในรูปกาซไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่ระดับความเข้มข้นสูงกว่า 100–150 มก./ล. เป็นพิษต่อแบคทีเรียสร้างมีเทน (มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์, 2536) แต่อย่างไรก็ดี ซัลไฟด์ในปริมาณเพียงเล็กน้อยก็เป็นสารที่จำเป็นและขาดไม่ได้สำหรับแบคทีเรียสร้างมีเทน เมื่อวิเคราะห์เซลล์ของแบคทีเรียสร้างมีเทนปรากฏว่าพบซัลไฟด์สูงถึง 2.6 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้งทั้งหมด ในขณะที่โคเอนไซม์ 2-Mercaptoethane Sulfonic Acid มีซัลไฟด์เพียง 4 เปอร์เซ็นต์ของที่พบทั้งหมด ดังนั้นซัลไฟด์ 2.6 เปอร์เซ็นต์นี้ต้องเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของแบคทีเรีย ความต้องการซัลไฟด์ของแบคทีเรียสร้างมีเทนอาจแปรเปลี่ยนอยู่ในช่วง 1–25 มก./ล. ซึ่งปริมาณซัลไฟด์ในน้ำที่แบคทีเรียนำไปใช้ได้จะถูกกำหนดโดยพีเอชและความดันพาร์เชียลของกาซไฮโดรเจนซัลไฟด์ในบรรยากาศเหนือน้ำของถังปฏิกรณ์

2.6.5 สารพิษ

สารที่เป็นพิษต่อแบคทีเรียในระบบไม่ใช้อากาศโดยเฉพาะแบคทีเรียสร้างมีเทนมีอยู่หลายชนิด ระดับความรุนแรงขึ้นอยู่กับชนิดและความเข้มข้นของสารเหล่านั้น สารที่เป็นพิษบางตัวเป็นสารอาหารที่จำเป็นแต่ต้องมีปริมาณพอเหมาะ ถ้ามีปริมาณมากเกินไปจะกลายเป็นพิษได้

- **พิษของอิออนบวก**

อิออนบวกในน้ำเสียที่อาจเป็นพิษต่อแบคทีเรียได้ ได้แก่ โซเดียม, โปแตสเซียม, แมกนีเซียมและแคลเซียมอิออนเหล่านี้ถ้ามีความเข้มข้นที่พอเหมาะจะเป็นประโยชน์ต่อแบคทีเรีย แต่ถ้าความเข้มข้นสูงเกินไปก็จะเริ่มเป็นพิษต่อแบคทีเรีย โดยอิออนบวกที่มีวาเลนซีสูงจะมีความเป็นพิษมากกว่าอิออนที่มีวาเลนซีต่ำ ซึ่งพิษจากอิออนของแมกนีเซียมและแคลเซียมมีมากกว่าโซเดียมและโปแตสเซียมถึง 10 เท่า ดังนั้นพิษของอิออนบวกจึงเพิ่มขึ้นเมื่อวาเลนซีสูงขึ้น แต่ความเข้มข้นของอิออนบวกที่ทำให้เกิดการยับยั้งการผลิตมีเทนยังไม่เป็นที่แน่นอนว่าเกิดขึ้น ณ ความเข้มข้นเท่าใด มีรายงานถึงความเข้มข้นของโซเดียมที่ทำให้เกิดการยับยั้งการผลิตมีเทนที่ 50 เปอร์เซ็นต์อยู่เป็นจำนวนมาก โดยค่าความเข้มข้นในงานเหล่านั้นมีค่าอยู่ระหว่าง 6 – 40 ก./ล.

- **โลหะหนัก**

โลหะหนักที่อาจเป็นพิษต่อแบคทีเรีย ได้แก่ แมงกานีส, สังกะสี, แคดเมียม, นิกเกิล, โคบอลต์, ทองแดง และโครเมียม โลหะหนักเหล่านี้จะอยู่ในรูปอิออน พบว่าลำดับความเป็นพิษของโลหะหนักจะเรียงตามลำดับดังนี้ คือ ทองแดง,

เหล็ก, แคดเมียม และสังกะสี แต่ความเป็นพิษของโลหะหนักลดลงได้ถ้าน้ำเสียมีปริมาณซัลไฟด์พอเหมาะ เพราะสามารถรวมกับโลหะหนักเกิดเป็นโลหะซัลไฟด์ซึ่งสามารถตกตะกอนได้

- **พิษของแอมโมเนีย**

แอมโมเนียในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศมาจากการย่อยสลายสารพวกโปรตีน ซึ่งมีไนโตรเจนรวมอยู่ในโมเลกุลด้วย โดยไนโตรเจนที่ปล่อยออกมาจะอยู่ในรูปแอมโมเนียและแอมโมเนียมอิออน ดังสมการ

$$NH_4^+ \leftrightarrow \quad NH_3 \quad + \quad H^+$$

ถ้าพีเอชต่ำกว่า 7.2 ปฏิกิริยาจะดำเนินไปทางซ้าย ถ้าพีเอชมากกว่า 7.2 ปฏิกิริยาจะดำเนินไปทางขวา ดังนั้นที่พีเอชสูงขึ้นก็จะมีแอมโมเนียอยู่ในระบบมากขึ้น แอมโมเนียจะเป็นพิษต่อแบคทีเรียไม่ใช้อากาศมากกว่าแอมโมเนียมอิออน ผลของแอมโมเนียไนโตรเจนต่อระบบบำบัดน้ำเสียแสดงได้ดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ผลของแอมโมเนียไนโตรเจนที่มีต่อ
ระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศ (McCarty, 1964)

แอมโมเนีย (มก.N/ล.)	ผลต่อระบบ
50 – 200	**ปริมาณพอเหมาะ**
200 – 1,000	**ยังไม่เกิดผลเสีย**
1,500 – 3,000	**เริ่มยับยั้งเมื่อพีเอชสูง**
มากกว่า 3,000	**เป็นพิษโดยตรง**

2.6.6 พิษของซัลไฟด์

ถ้าปริมาณของซัลไฟด์ในระบบมีความเข้มข้นถึงระดับหนึ่ง ซัลไฟด์จะเป็นพิษต่อแบคทีเรียสร้างมีเทน ไม่ว่าซัลไฟด์นั้นจะมาจากน้ำเสียที่เข้าระบบหรือการย่อยสลายของซัลเฟตก็ตาม ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณอิออนบวกในระบบด้วย เพราะถ้าในระบบมีโลหะหนัก ซัลไฟด์จะรวมตัวกับโลหะหนักแล้วตกตะกอนผลึกลงมา ทำให้ความเข้มข้นของซัลไฟด์ลดลงได้ ระดับความเข้มข้นของซัลไฟด์ที่เป็นพิษต่อแบคทีเรียสร้างมีเทนแสดงดังตารางที่ 2.4

2.6.7 พิษจากสารอื่น ๆ

สารพิษอื่นๆที่มีอยู่ในน้ำและอาจทำให้เกิดการยับยั้งกระบวนการผลิตมีเทน ได้แก่

ออกซิเจน - เป็นพิษอย่างมากแม้จะมีปริมาณเพียงเล็กน้อย เพราะจะทำการแตกของโมเลกุลของเอนไซม์ F_{420} Dehydrogenase

สารรับอิเล็กตรอนอื่น เช่น ไนเตรท หรือซัลเฟต ถ้ามีอยู่ในปริมาณมากจะทำให้ผลิตกาซมีเทนได้ลดลง เนื่องจากเส้นทางการไหลของอิเล็กตรอนก็จะเปลี่ยนไป ทั้งนี้เพราะแบคทีเรียที่ใช้ไนเตรทหรือซัลเฟตได้พลังงานมากกว่าจากการรีดิวซ์คาร์บอนไดออกไซด์ และมีอัตราการเจริญเติบโตที่สูงกว่า ทำให้สารอินทรีย์ส่วนหนึ่งถูกใช้โดยแบคทีเรียกลุ่มอื่น แบคทีเรียสร้างมีเทนจึงใช้สารอินทรีย์ได้ลดลง

ตารางที่ 2.4 ไฮโดรเจนซัลไฟด์และความเข้มข้นของซัลไฟด์ทั้งหมดที่ทำให้เกิดการยับยั้งการผลิตมีเทนจากกรดอะซิติกที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (Visser 1994)

ลักษณะเชื้อ	พีเอช	อุณหภูมิ (^{o}ซ)	ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (มก./ล.)	ของแข็งทั้งหมด (มก./ล.)
แขวนลอย	6.5-7.4	30	100	-
	7.7-7.9		125	-
	6.3-6.4	55	18	33
	7.1-7.2		21	78
	7.9-8.0		24	400
เป็นเม็ด	6.4-6.6	30	246	357
	7.0-7.2		252	810
	7.8-8.0		50	841
	6.3-6.4	55	54	81
	7.1-7.2		75	338
	7.9-8.0		24	450

สารเคมีบางชนิด เช่น 2-Bromoethanesulfonic Acid (BES; $BrCH_2CH_2SO_3$) ขัดขวางการทำงานของแบคทีเรียสร้างมีเทน เนื่องจากมีลักษณะสมบัติคล้ายกับโคเอนไซม์เอ็ม, สารพวก Chlorinated Methanes อย่างคลอโรฟอร์มหรือคาร์บอนเตตระคลอไรด์, สารที่มีพันธะระหว่างคาร์บอนอะตอมสองตัวที่ไม่อิ่มตัว อย่างอะเซติลีน หรือเอธิลีน, Corrinoid Antagonists และ Monensin เป็นต้น

บทที่ 3
จุลชีววิทยาและชีวเคมีของกระบวนการไนเตรทรีดักชัน

3.1 แบคทีเรียดีไนตริฟายเออร์ (Denitrifier Bacteria)

กระบวนการดีไนตริฟิเคชัน (Denitrification) คือ กระบวนการทางเคมีที่ใช้ไนเตรทเป็นสารรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายและได้ผลิตภัณฑ์เป็นกาซไนโตรเจน แบคทีเรียดีไนตริฟายเออร์พบอยู่ในทุกกลุ่มของแบคทีเรีย แต่ส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มแบคทีเรียเคโมเฮเทโรทรอฟ (Chemoheterotroph) เกือบทั้งหมด ดำรงชีวิตอยู่และเจริญเติบโตโดยได้รับพลังงานจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ โดยใช้ออกซิเจนเป็นสารรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายในกรณีที่มีออกซิเจน และใช้ไนเตรทแทนออกซิเจนในกรณีที่ไม่มีออกซิเจน จึงจัดเป็นแบคทีเรียที่อยู่ได้ทั้งสภาวะที่มีหรือไม่มีอากาศ อย่างไรก็ตาม นอกเหนือจากไนเตรทแล้ว ยังพบว่าในกรณีที่ไม่มีทั้งออกซิเจนและไนเตรท แบคทีเรียดีไนตริฟายเออร์บางชนิดสามารถเจริญเติบโตโดยใช้เหล็กเฟริค (Fe^{3+}) เป็นสารรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายแทนไนเตรทได้ด้วย นอกจากนั้นแบคทีเรียดีไนตริฟายเออร์ที่อยู่ในกลุ่มเคโมลิโททรอฟ (Chemolithotroph) สามารถใช้ซัลเฟอร์ (HS^-, S), เหล็กเฟรัส (Fe^{2+}) หรือไฮโดรเจนเป็นแหล่งพลังงานโดยใช้ไนเตรทเป็นสารรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายได้อีกด้วย

ดีไนตริฟายเออร์ทุกตัวจัดอยู่ในกลุ่ม Facultative Aerobes ซึ่งหมายความว่าสามารถหายใจด้วยออกซิเจน แต่ถ้าไม่มีออกซิเจนก็สามารถหายใจด้วยไนเตรทหรือไนไตรท์ แบคทีเรียกลุ่มนี้มักอยู่ในตระกูล Gram Negative Proteobacteria เช่น Pseudomonas, Alcaligenes และ Thiobacillus อย่างไรก็ตาม แบคทีเรียใน

กลุ่ม Gram Positive รวมทั้ง Bacillus ก็สามารถหายใจด้วยไนเตรทได้ รวมทั้งแบคทีเรียอาร์เค (Archaea) ซึ่งเป็นแบคทีเรียดึกดำบรรพ์ เช่น Halobacterium ก็หายใจด้วยไนเตรทได้เช่นกัน แสดงว่าแบคทีเรียดีไนตริฟายเออร์มีหลากหลายชนิด

แบคทีเรียในกลุ่ม Pseudomonas และกลุ่ม Alcaligenes ถือเป็นแบคทีเรียดีไนตริ-ฟายเออร์ที่พบมากที่สุดในธรรมชาติ เช่น ในดินและตะกอนก้นบ่อ ตารางที่ 3.1 เป็นรายชื่อแบคทีเรียต่างๆที่พบว่าสามารถหายใจด้วยไนเตรทได้

3.2 ชีวเคมีของปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชัน

3.2.1 วิถีชีวเคมีของปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชัน

ไนเตรทเป็นสารรับอิเล็กตรอนที่พบได้สามัญที่สุดชนิดหนึ่งของสภาวะไม่ใช้อากาศ ภายใต้ปฏิกิริยารีดักชัน ไนเตรท (NO_3) จะกลายเป็น N_2O, NO และ N_2 ซึ่งล้วนแต่เป็นกาซที่สูญหายไปในอากาศ ปฏิกิริยารีดักชันที่เปลี่ยนไนเตรทเป็นกาซเรียกว่า ดีไนตริฟิเคชัน (Denitrification)

ในการเปลี่ยนแปลงจากไนเตรทจนกลายเป็นกาซไนโตรเจน เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับดีไนตริฟิเคชัน 4 ชนิด คือ

Nitrate reductase (NaR)	เปลี่ยน	NO_3	ให้กลายเป็น	NO_2
Nitrite reductase (NiR)	เปลี่ยน	NO_2	ให้กลายเป็นกาซ	NO
Nitric Oxide reductase (NOR)	เปลี่ยน	NO	ให้กลายเป็นกาซ	N_2O
Nitrous Oxide reductase (N_2OR)	เปลี่ยน	N_2O	ให้กลายเป็นกาซ	N_2

ตารางที่ 3.1 รายชื่อของแบคทีเรียดีไนตริฟายเออร์

ชื่อจีนัส	ตัวอย่าง
Achromobacter	**เดี๋ยวนี้เรียกว่า Alcaligenes รวม Denitrifying Methane Oxidizer**
Alcaligenes	**Alcaligenes faecalis, Alcaligenes eutrophus, Alcaligenes denitrificans , Alcaligenes odorans**
Pseudomonas	**P.aerogenes,P.aureofaciens,P.caryophylli, P.chlororaphis, P.denitrificans , P.fluorescens , P.lemoignei ,P.mallei , P.mendocina, P.perfectomarinus , P.picketti, Pstutzeri, P.pseudoalcaligenes, P.pseudomallei , P.solonacearum**
Spirillum	**Spirillum lipoferum ,Spirillum psychrophilum**
Bacillus	**Bacillus Azotofomans, Bacillus licheniformis**
Chromobacterium	**Chromobacterium lividum, Chromobacterium violaceum**
Corynebacterium	**Corynebacterium nephridii**
Flavobacterium	
Halobacterium	**Halobacterium marismortui**
Hyphomicrobium	**Hyphomicrobium vulcare**
Neisseria	**Neisseria sicca, Neisseria flavescens, Neisseria subflavo , Neisseria mucosa**
Paracoccus (Micrococcus)	**P.halodenitrificans**
Thiobacillus	**Thiobacillus denitrificans**

แบคทีเรียหลายชนิด (ดังกล่าวในหัวข้อ 3.1) มีบทบาทในปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชัน แต่ละชนิดมีจำนวนเอนไซม์ไม่เท่ากัน แบคทีเรียที่มีเอนไซม์เฉพาะทำหน้าที่ในขั้นตอนของปฏิกิริยาตามชนิดเอนไซม์ที่มีอยู่

เอนไซม์ตัวแรกคือ Nitrate Reductase มีบทบาทในขั้นตอนที่ 1 เปลี่ยนไนเตรทให้เป็นไนไตรท์ (NO_2) เอนไซม์ตัวนี้เป็นโปรตีนที่มีโลหะหนักโมลิบดีนัมเป็นแกนกลาง การเปลี่ยนไนไตรท์เป็นไนตริกออกไซด์จะต้องอาศัยเอนไซม์ NiR

ปฏิกิริยาเกิดขึ้นเป็นขั้นตอนทีละขั้น ดังแสดงในสมการข้างล่างนี้

NO_3^-	+ $2e^-$ +	$2H^+$ =	NO_2^-	+	H_2O	Nitrate Reductase
NO_2^-	+ e^- +	$2H^+$ =	NO	+	H_2O	Nitrite Reductase
NO	+ e^- +	H^+ =	$0.5N_2O$	+	$0.5H_2O$	Nitric Oxide Reductase
$0.5N_2O$	+ e^- +	H^+ =	$0.5N_2$	+	$0.5H_2O$	Nitrous Oxide Reductase
NO_3^-	+ $5e^-$ +	$6H^+$ =	$0.5N_2$	+	$3H_2O$	

จะเห็นได้ว่า ปฏิกิริยารวมมีการรับอิเล็กตรอนทั้งหมด 5 ตัวต่อ 1 ไนโตรเจน ขั้นตอนแรกรับอิเล็กตรอน 2 ตัวซึ่งมากที่สุด ขั้นตอนอื่นๆ รับ 1 อิเล็กตรอนต่อไนโตรเจน 1 อะตอม

3.2.2 สารให้อิเล็กตรอน

ดีไนตริฟายเออร์ที่ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในเทคโนโลยีชีวภาพสิ่งแวดล้อม จัดเป็นคีโมทรอพ (Chemotroph) ที่สามารถใช้สารให้อิเล็กตรอนที่เป็นสารอินทรีย์ (เช่น BOD) หรือใช้สารอนินทรีย์ เช่น H_2 หรือซัลเฟอร์ (รูปรีดิวซ์) ข้อมูลรีดอกซ์ของปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชันแสดงอยู่ในตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 ข้อมูลรีด๊อกซ์ของปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชัน

สารให้อิเล็กตรอน	สารรับอิเล็กตรอน	แหล่งคาร์บอน	สมการรีดอกซ์
BOD	NO_3^-	BOD	$5CH_3COOH + 8NO_3^- + 4H_2O \rightarrow 4N_2 + 10H_2CO_3 + 8OH^-$
H_2	NO_3^-	CO_2	$5H_2 + 2NO_3^- \rightarrow N_2 + 4H_2O + 2OH^-$
S	NO_3^-	CO_2	$5S + 6NO_3^- + 2H_2O \rightarrow 3N_2 + SO_4^{2-} + 4H^+$

สารอินทรีย์เป็นสารให้อิเล็กตรอนที่พบมากที่สุด ดีไนตริฟายเออร์ที่บริโภคสารอินทรีย์จะเป็นแบคทีเรียที่พบได้เป็นประจำในถังเติมอากาศของระบบเอเอส แบคทีเรียกลุ่มนี้มักเป็น Heterotroph ที่มีชื่อว่า Proteobacteria

3.2.3 ที่อยู่อาศัยของดีไนตริฟายเออร์

เนื่องจากดีไนตริฟายเออร์พบอยู่ในทุกกลุ่มของแบคทีเรีย และมีวิถีเมตาบอลิกที่หลากหลาย จึงพบดีไนตริฟายเออร์ได้ทุกแห่ง เช่น ในดิน, ตะกอนก้นบ่อ, น้ำผิวดิน, น้ำใต้ดิน, ระบบบำบัดน้ำเสีย เป็นต้น

3.2.4 บทบาทของออกซิเจนละลาย (DO)

ดีไนตริฟายเออร์จะหายใจด้วยไนโตรเจนได้หรือไม่ ขึ้นอยู่กับ ความเข้มข้นของ DO ในน้ำ กลไกในการควบคุมดีไนตริฟิเคชันของ DO มี 2 อย่างคือ

- ยับยั้งการสร้างเอนไซม์ Nitrogen Reduction
- ชะลอหรือยับยั้งปฏิกิริยารับอิเล็กตรอน

กลไกแรกเกิดเมื่อ DO มีค่าสูงกว่า 2.5-5 มก./ล. กลไกนี้มีผลทำให้ไม่เกิดปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชัน ส่วนกลไกหลังมีความไวต่อ DO สูงมาก ระดับความเข้มข้นต่ำถึง 0.1 มก./ล. ก็มีผลต่อการถ่ายเทอิเล็กตรอนซึ่งมีความหมายว่า ปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชันยังเกิดได้แต่ไม่สมบูรณ์ บทบาทของ DO ข้างต้น ทำให้พบว่าปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชันสามารถเกิดขึ้นได้ในน้ำที่มี DO สูงถึง 2 มก./ล. หรือมากกว่า เนื่องจากในกรณีดังกล่าวมีดีไนตริฟายเออร์อาศัยอยู่ภายในฟล้อค หรือฟิล์มชีวภาพซึ่งออกซิเจนเข้าไม่ถึงภายใน ปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชันจึงเกิดขึ้นภายในฟล้อค หรือฟิล์มชีวภาพได้ (กรณีนี้ กล่าวได้ว่า Microenvironment ของดีไนตริฟายเออร์มีออกซิเจนละลายต่ำทั้งๆที่สภาวะแวดล้อมในน้ำภายนอกในฟล้อค หรือฟิล์มชีวภาพมีออกซิเจนละลายสูงกว่ามาก)

ในกรณีที่สารให้อิเล็กตรอนมีปริมาณน้อยเกินไป ปฏิกิริยาจะเกิดไม่สมบูรณ์ การรับอิเล็กตรอนอาจหยุดอยู่ที่ NO_2^- หรือ Intermediate เนื่องจากไม่มี e^- มาส่งให้ NO_2^- เพื่อเปลี่ยนเป็นไนโตรเจน ในกรณีที่มี DO สูงเกินไป ปฏิกิริยาก็จะเกิดไม่สมบูรณ์ เช่น การสะสมของ Internediate จะเกิดขึ้นเหมือนกรณีแรก DO ที่สูง

เกินไปจะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เปลี่ยนแปลง NO_2^- และ NO ก่อนที่จะมีการยับยั้งการเปลี่ยนแปลง NO_3^- เป็น NO_2^- เกิดขึ้น

3.2.5 บทบาทของพีเอช

ดีไนตริฟายเออร์ไม่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอช ระดับพีเอชที่ไม่เหมาะสมมีผลทำให้ปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชันเกิดได้ไม่สมบูรณ์ การสะสมของ NO_2^- หรือ Intermediate อื่น จึงอาจพบได้ในกรณีที่สภาวะแวดล้อมมีพีเอชอยู่นอกช่วง 7-8

บทที่ 4
จุลชีววิทยาและชีวเคมีของกระบวนการซัลเฟตรีดักชัน

4.1 จุลชีววิทยาของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต

สิ่งมีชีวิตหลายชนิดในธรรมชาติทั่วๆ ไปไม่ว่าจะเป็นพืชชั้นสูง สาหร่าย รา และเซลล์ของพวกโปรคาริโอตหลายชนิดสามารถใช้ซัลเฟตเป็นแหล่งซัลเฟอร์ที่ใช้ในการสร้างเซลล์ แต่ความสามารถในการใช้ซัลเฟตเป็นสารรับอิเล็กตรอนจำกัดอยู่แต่ในแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเท่านั้น แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเป็นแบคทีเรียไม่ใช้อากาศชนิดเด็ดขาด (Desulfovibrio ค่อนข้างจะทนต่อออกซิเจนและแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตบางส่วนสามารถรีดิวซ์ไนเตรทเป็นแอมโมเนียได้ด้วย) จัดอยู่ในกลุ่มของแบคทีเรียชนิดเคโมเฮเทโรทรอพ (Chemoheterotroph) ดำรงชีพและเจริญเติบโตโดยได้รับพลังงานจากปฏิกิริยาทางเคมีในการย่อยสลายสารอินทรีย์ ลักษณะเด่นของแบคทีเรียกลุ่มนี้คือ ความสามารถในการรีดิวซ์ซัลเฟตทำให้ซัลเฟตเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของซัลไฟด์ เนื่องจากแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะใช้ซัลเฟตเป็นสารรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายในการออกซิไดส์ไฮโดรเจนโมเลกุลหรือสารประกอบอินทรีย์หลายชนิด ในกรณีที่สารให้อิเล็กตรอนคือโมเลกุลไฮโดรเจนหรืออะซิเตท ขั้นตอนดังกล่าวนี้จัดเป็นขั้นตอนสุดท้ายของกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้อากาศเช่นเดียวกับขั้นตอนการสร้างมีเทนตามปกติ ดังนั้นในกระบวนการบำบัดน้ำเสียที่มีซัลเฟตแบบไม่ใช้อากาศจึงมักจะพบแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต
อยู่ร่วมกับแบคทีเรียสร้างกรดอินทรีย์ระเหยและแบคทีเรียสร้างมีเทนอยู่เสมอ

ในการแบ่งกลุ่มของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตอย่างกว้างๆ ตามความสามารถในการย่อยสลายสารอินทรีย์เพื่อการดำรงชีพและเจริญเติบโต สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

- แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตชนิดย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ไม่สมบูรณ์ (Incompletely Oxidizing Sulfate Reducing Bacteria; I-SRB) โดยสารอินทรีย์ที่เหลือจากการย่อยสลายก็คือ อะซิเตท
- แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตชนิดย่อยสลายสารอินทรีย์ได้อย่างสมบูรณ์ (Completely Oxidizing Sulfate Reducing Bacteria; C-SRB)

แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตสามารถใช้สารอาหารได้หลายชนิด ซึ่งจะต่างกับแบคทีเรียสร้างมีเทนตรงที่สามารถใช้สารอินทรีย์ที่มีคาร์บอนอะตอมมากกว่า 1 อะตอมได้ แต่ไม่สามารถใช้สารอินทรีย์กลุ่มเมทิลได้ ตัวอย่างของสารอินทรีย์ที่เป็นสารอาหารและปฏิกิริยาการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต แสดงดังตารางที่ 4.1

เนื่องจากแบคทีเรียกลุ่ม I-SRB ได้อะซิเตทเป็นผลิตภัณฑ์จากการย่อยสลายสารอินทรีย์และไม่สามารถนำอะซิเตทไปใช้ได้แม้จะเป็นสารอาหารที่มีอยู่เพียงประเภทเดียวก็ตาม มีสาเหตุเนื่องมาจาก I-SRB ขาดกลไกที่เกี่ยวข้องกับการจัดการเอนไซม์บางชนิดที่มีบทบาทต่อการย่อย อะซิเตทนั่นเอง อย่างไรก็ตาม I-SRB อาจใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอนได้เมื่อสารให้อิเล็กตรอนคือไฮโดรเจนหรือฟอร์เมท ข้อแตกต่างอีกประการหนึ่งของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตทั้งสองกลุ่มนี้คือ แบคทีเรียกลุ่ม I-SRB มีอัตราการเจริญเติบโตที่เร็วกว่ากลุ่ม C-SRB เมื่ออยู่ในภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทั้งสองกลุ่ม

ตารางที่ 4.1 ตัวอย่างปฏิกิริยาการย่อยสลายสารอินทรีย์ของ I-SRB และ C-SRB

(Widdel, 1988)

ลำดับที่	สารให้อิเล็กตรอน	ประเภทแบคทีเรีย	ปฏิกิริยาซัลเฟตรีดักชัน
1	ไฮโดรเจน ฟอร์เมท	I-SRB และ C-SRB	$4H_2 + SO_4^{2-} + H^+ \rightarrow 4H_2O + HS^-$
2	อะซิเตท	C-SRB	$CH_3COO^- + SO_4^{2-} \rightarrow 2HCO_3^- + HS^-$
3	พรอพิออเนท	C-SRB	$4CH_3CH_2COO^- + 7SO_4^{2-} \rightarrow 12HCO_3^- + 7HS^- + H^+$
		I-SRB	$4CH_3CH_2COO^- + 3SO_4^{2-} \rightarrow 4CH_3COO^- + 4HCO_3^- + 3HS^- + H^+$
4	บิวทิเรต	C-SRB	$2CH_3(CH_2)COO^- + 5SO_4^{2-} \rightarrow 8HCO_3^- + 5HS^- + H^+$
		I-SRB	$2CH_3(CH_2)COO^- + SO_4^{2-} \rightarrow 4CH_3COO^- + HS^- + H^+$
5	แลกเตท	C-SRB	$2CH_3CHOHCOO^- + 3SO_4^{2-} \rightarrow 6HCO_3^- + 3HS^- + H^+$
		I-SRB	$2CH_3CHOHCOO^- + SO_4^{2-} \rightarrow 2CH_3COO^- + 2HCO_3^- + HS^- + H^+$
6	เบนโซเอต	C-SRB	$4C_6H_5COO^- + 15SO_4^{2-} + 16H_2O \rightarrow 28HCO_3^- + 15HS^- + 9H^+$
		I-SRB	$4C_6H_5COO^- + 3SO_4^{2-} + 16H_2O \rightarrow 12CH_3COO^- + 4HCO_3^- + 3HS^- + 9H^+$

C-SRB = SRBชนิดย่อยได้อย่างสมบูรณ์ **I-SRB = SRBชนิดย่อยได้ไม่สมบูรณ์**

ถ้าแบ่งแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตตามลักษณะทางสรีระและสมบัติในระดับโมเลกุล สามารถแยกแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ ดังแสดงในตารางที่ 4.2 ภาพตัวอย่างลักษณะของเซลล์แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต สามารถดูได้จากรูปที่ 4.1-4.4

ตารางที่ 4.2 ลักษณะสมบัติของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต (Madigan และคณะ 1997)

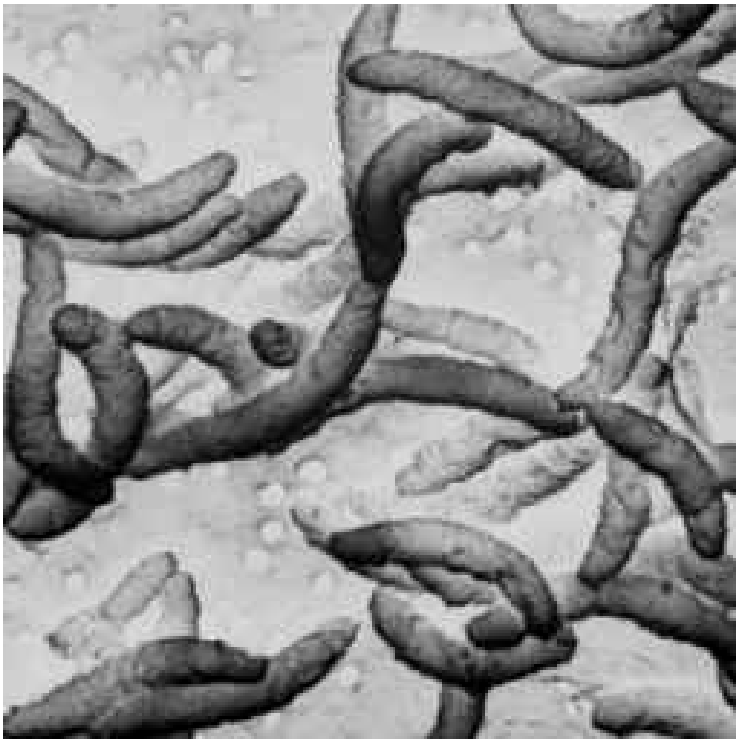
จีนัส	ลักษณะสมบัติ
กลุ่มที่ 1:ไม่บริโภคอะซิเตท	
Desulfovibrio	**Polarly flagellated, curved rods, no spores; gram-negative; contain desulfoviridin; twelve species, one thermophilic**
Desulfomicrobium	**Motile rods, no spores; gram-negative; desulfoviridin absent; two species**
Desulfobotulus	**Vibrios; gram-negative; motile; deslufoviridin absent; one species**
Desulfotomaculum	**Straight or curved rods; motile by peritrichous or polar flagellation; gram-negative; desulfoviridin absent; produce endospores; four species, one thermophilic; one species capable of utilizing acetate as energy source**
Desulfomonile	**Rod; capable of reductive dechlorination of 3-chlorobenzoate to benzoate**
Desulfobacula	**Oval to coccoid cells, marine; can oxidize various aromatic compounds including the aromatic hydrocarbon toluene, to CO_2; one species**

ตารางที่ 4.2 ลักษณะสมบัติของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต (Madigan และคณะ 1997) **(ต่อ)**

จีนัส	ลักษณะสมบัติ
Archaeoglobus	**Archaean; hyhyperthermophile, temperature optimum, 83°C; contains some unique coenzymes of methanogenic bacteria, makes small amount of methane during growth; H_2, formate, glucose, lactate, and pyruvate are electron donors, SO_4^{2-}, $S_2O_3^{2-}$, or SO_3^{2-}, electron acceptors; two species**
Desulfobulbus	**Ovoid or lemon-shaped cells; no spores; gram-negative; desulfoviridin absent; if motile, by single polar flagellum; utilizes propionate as electron donor with acetate + CO_2 as products; three species**
Thermodusulfo-bacterium	**Small, gram-negative rods; desulfoviridin present; thermophilic, optimum growth at 70°C**
กลุ่มที่ 2:บริโภคอะซิเตท	
Desulfobacter	**Rods; no spores, gram-negative; desulfoviridin absent; if motile, by single polar flagellum; utilizes only acetate as electron donor and oxidizes it to CO_2 via the citric acid cycle; four species**
Desulfobacterium	**Rods, some with gas vesicles, marine; capable of autotrhphic growth via the acety-CoA pathway; three species**
Desulfococcus	**Spherical cells; nonmotile; gram-negative; desulfoviridin present, no spores; utilizes C_1 to C_{14} fatty acid as electron donor with complete oxidation to CO_2; capable of autotrophic growth via the acetyl-CoA pathway; two species**

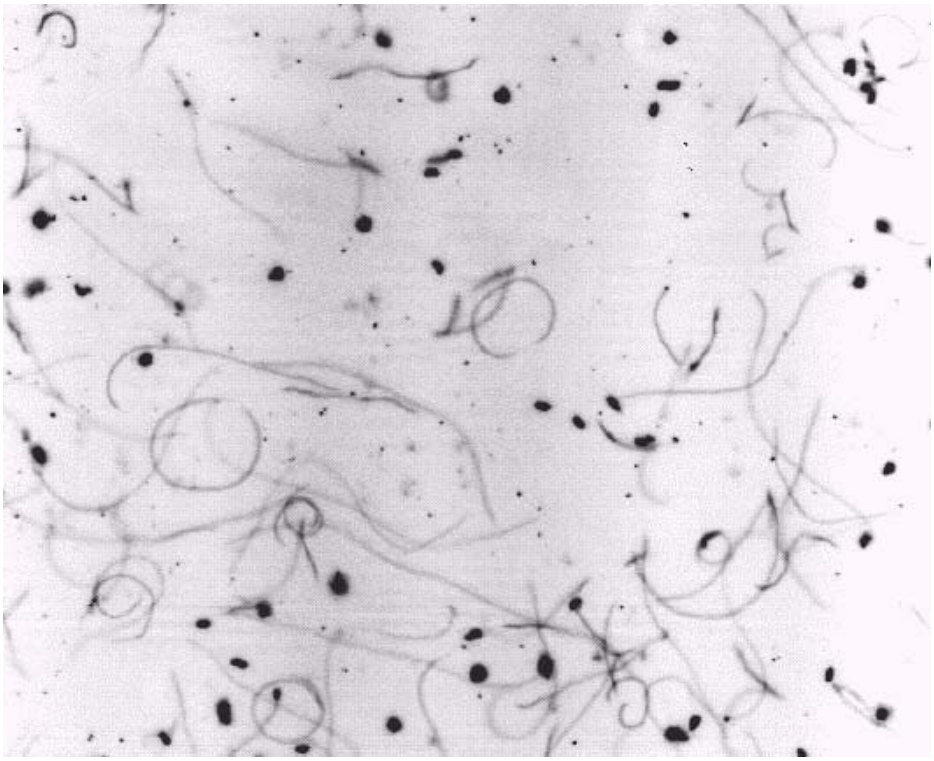
ตารางที่ 4.2 ลักษณะสมบัติของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต (Madigan และคณะ 1997) **(ต่อ)**

จีนัส	ลักษณะสมบัติ
Desulfonema	**Large, filamentous gliding bacteria; gram-positive, no spores; desulfoviridin present or absent; utilizes C_2 to C_{12} fatty acids as electron donor with complete oxidation to CO_2; capable of autotrophic growth via the acetyl-CoA pathway (H_2 as electron donor); two species**
Desulfosarcina	**Cells in packets (sarcina arrangement); gram-negative; no spores; desulfoviridin absent; utilizes C_2 to C_{14} fatty acids as electron donor with complete oxidation to CO_2; capable of autotrophic growth via the acetyl-CoA pathway (H_2 as electron donor); one species**
Desulfoarculus	**Vibrios; gram-negative; motile; desulfoviridin absent; utilizes only C_1 to C_{18} fatty acids as electron donor**
Desulfacinum	**Cocci to oval-shaped cells; gram-negative; utilizes C_1 to C_{18} fatty acids, very nutritionally diverse, capable of autotrophic growth; thermophile**
Desulforhabdus	**Rods; no spores; gram-negative; nonmotile; utilizes fatty acids with complete oxidation to CO_2**
Thermodesulfor-habdus	**Gram-negative motile rods; thermophilic; uses fatty acids up to C_{18}**



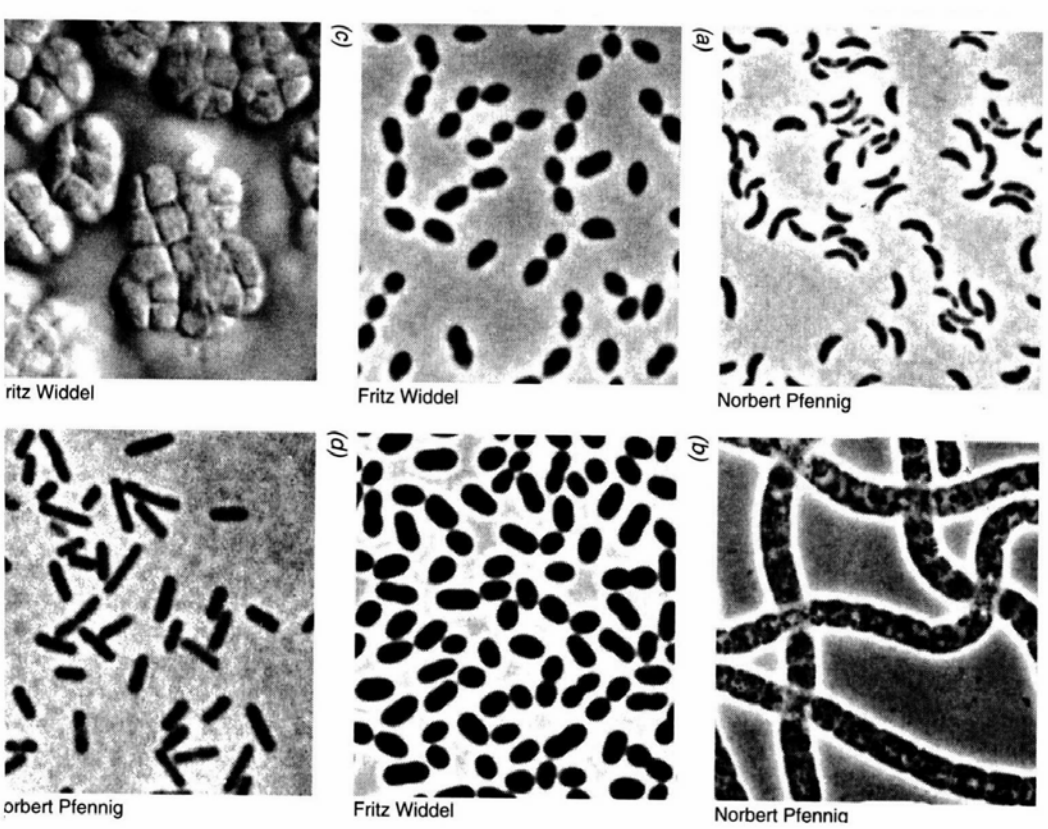
รูปที่ 4.1 แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่เจริญเติบโตบนผิวท่อน้ำมัน

(www.corrosion-doctors.org)



รูปที่ 4.2 แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต D.desulfuricans (www.icbm.de/pmbio)

รูปที่ 4.3 แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่พบในบริเวณหนองซึ่งเป็นดินเค็ม (saltmarsh)

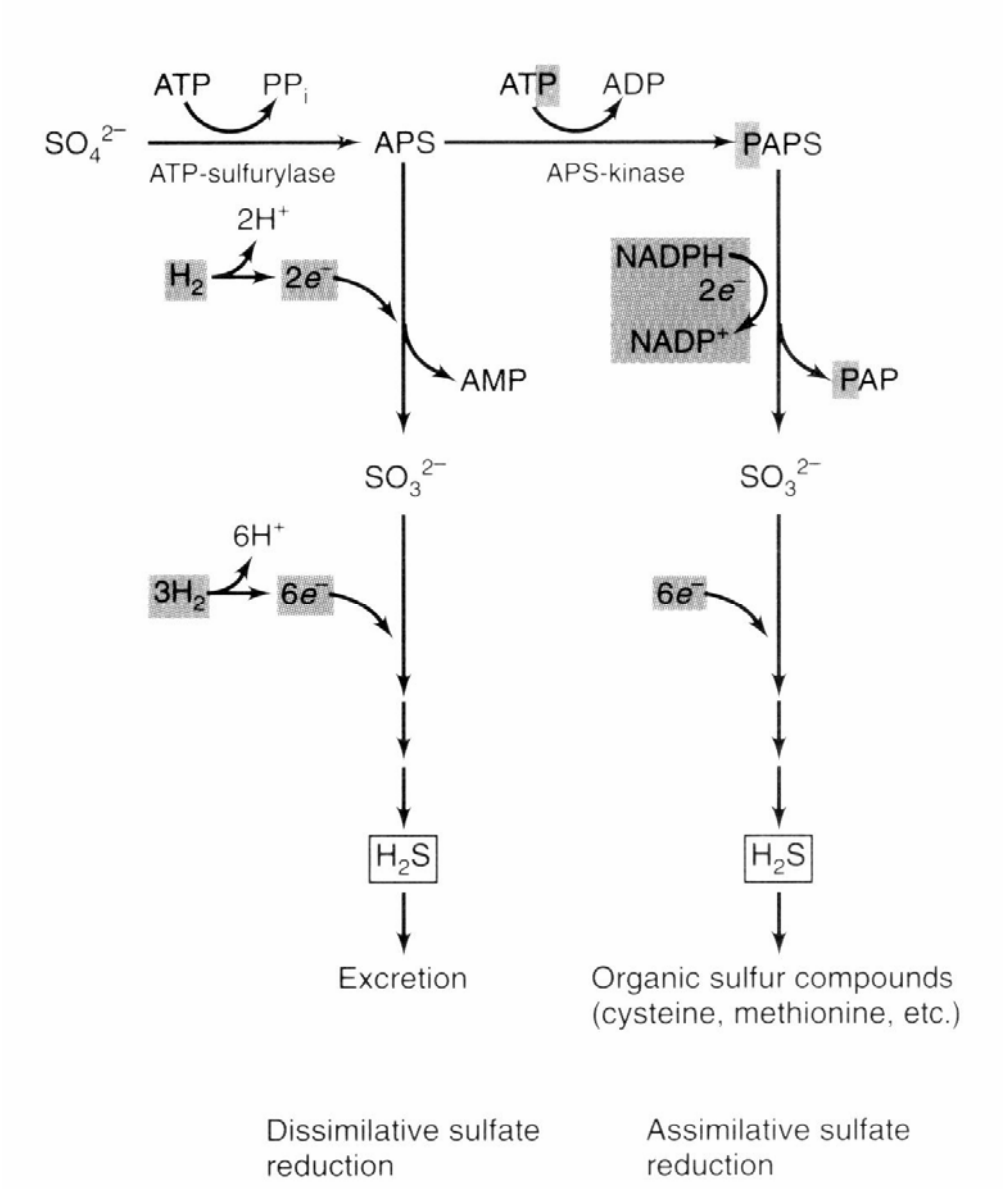


รูปที่ 4.4 ตัวอย่างภาพขยายของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต (Widdel 1988)

4.2 ชีวเคมีของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต

แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตหลายชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ด้วยการรีดิวซ์ไนเตรทให้เป็นแอมโมเนียได้ในกรณีที่มีไนเตรทหรือสามารถใช้ไทโอซัลเฟต ($S_2O_3^{2-}$) และซัลเฟอร์ (S^0) ได้ด้วย นอกจากนี้ แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตยังสามารถใช้สารอินทรีย์บางตัวเป็นแหล่งพลังงานโดยการเกิดการหมักได้ในกรณีที่ไม่มีซัลเฟตหรือสารรับอิเล็กตรอนตัวอื่นซึ่งโดยทั่วไปแล้วแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตสามารถหมักไพรูเวตเป็นอะซิเตทคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนได้เมื่อไม่มีซัลเฟต แต่ไม่สามารถหมักแลกเตทหรือเอทานอลได้เพราะได้พลังงานไม่เพียงพอต่อการดำรงชีพ ดังนั้นในกรณีที่ไม่มีซัลเฟตอยู่ แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตบางส่วนก็ยังมีชีวิตรอดอยู่ได้ แต่พลังงานที่ได้จากการหมักมีค่าน้อยกว่าพลังงานที่ได้จากการ
รีดิวซ์ซัลเฟต ดังนั้นแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะใช้ซัลเฟตในระบบให้หมดก่อนจึงจะหันไปใช้กระบวนการหมัก (เฟอร์เมนเตชัน)

เมื่อพิจารณาถึงชีวเคมีของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในการรีดิวซ์ซัลเฟตให้เป็นไฮโดรเจนซัลไฟด์ จะมีสารอินเทอร์มีเดียทจำนวนมากเข้ามาเกี่ยวข้อง เนื่องจากซัลเฟตอิออนเป็นสารที่เสถียรจึงต้องมีการกระตุ้นซัลเฟตให้มีพลังงานสูงขึ้นก่อนด้วยการสลายพันธะพลังงานสูงใน ATP และเกิดการรวมตัวกันระหว่างหมู่ฟอสเฟตใน ATP กับซัลเฟต โดยมีเอนไซม์ ATP Sulfurylase เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเกิดเป็น Adenosine Phosphosulfate (APS) และ PP (Pyrophosphate) ซึ่งเป็นขั้นแรกของกระบวนการรีดิวซ์ซัลเฟต ดังแสดงในรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.5 วิถีทางชีวเคมีของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต (Madigan และคณะ 1997)

ปฏิกิริยาการสร้าง APS ถูกผลักดันให้เกิดขึ้นเรื่อยๆ ด้วยการทำงานของเอนไซม์ Pyrophosphatase ซึ่งทำหน้าที่กระตุ้นปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของ PP เป็น 2Pi อย่างไรก็ตาม การทำงานของเอนไซม์ Pyrophosphatase ยังไม่เป็นที่แน่ชัด เพราะเอนไซม์ชนิดนี้มี Activity ต่ำ จึงเกิดข้อโต้แย้งถึงกลไกที่ใช้ผลักดันให้เกิด APS แต่นักวิจัยก็ยังเชื่อว่าแม้จะมี Activity ต่ำแต่เอนไซม์ชนิดนี้ก็ยังสามารถกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาได้ดี

สำหรับการรีดิวซ์ซัลเฟตเพื่อสร้าง ATP สารอินเทอร์มีเดียท APS ถูกรีดิวซ์เกิดเป็น AMP และซัลไฟต์ด้วยการกระตุ้นของเอนไซม์ APS Ruductase โดยมี FAD เข้ามาเกี่ยวข้อง เริ่มจากในขั้นแรก FAD รับอิเล็กตรอนเกิดเป็น $FADH_2$ จากนั้น $FADH_2$ ทำปฏิกิริยากับ APS ทำให้หมู่ซัลไฟต์ใน APS ส่งผ่านมายัง $FADH_2$ โดยจะติดอยู่กับ N ในตำแหน่งที่ 5 ของวงแหวน Isoalloxazine จากนั้นจึงแตกสารให้ซัลไฟต์และได้ FAD กลับคืนมา ดังแสดงในสมการ

$$E\text{-}FAD + Red \longleftrightarrow E\text{-}FADH_2 + Ox$$

$$E\text{-}FADH_2 + APS \longleftrightarrow E\text{-}FADH_2(SO_3) + AMP$$

$$E\text{-}FADH_2(SO_3) \longleftrightarrow E\text{-}FAD + SO_3^{2-}$$

ส่วนการรีดิวซ์ซัลเฟตเพื่อสร้างเซลล์ APS จะรวมกับฟอสเฟตที่เกิดจากการแตกพันธะพลังงานสูงใน ATP เกิดเป็น Phosphoadenosine Phosphosulfate (PAPS) ดังแสดงในรูป 4.5 แล้ว PAPS จึงถูกรีดิวซ์ต่อเกิดเป็น PAP และซัลไฟต์ต่อไป จะเห็นได้ว่าทั้งสองกรณีคือทั้งการสร้าง ATP และการสร้างเซลล์ ในขั้นแรกของการรีดิวซ์ซัลเฟตจะได้ซัลไฟต์เป็นผลิตภัณฑ์ เมื่อเกิดซัลไฟต์ขึ้นก็จะเกิดปฏิกิริยาอื่นๆ

ต่อเนื่องตามกันมา จนกว่าจะได้ซัลไฟด์เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย แต่ขั้นตอนของปฏิกิริยาเหล่านี้ยังคงเป็นเรื่องที่ต้องศึกษาเพิ่มเติมกันอีกมาก เอนไซม์ที่ใช้ในปฏิกิริยาก็ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดเช่นกัน เอนไซม์ที่ระบุได้มีเพียง Sulfite Reductase ซึ่งก็ยังไม่ทราบว่ารับผิดชอบปฏิกิริยาการเปลี่ยนซัลไฟต์เป็นซัลไฟด์ในทุกๆ ขั้นตอนหรือมีส่วนเพียงบางขั้นตอน เช่นเดียวกับกระบวนการสงวนพลังงานที่ยังคงคลุมเครือในเรื่องของรายละเอียดอีกมาก แต่เฉพาะขั้นตอนของการเปลี่ยนซัลไฟต์เป็นซัลไฟด์ในเวลานี้แบ่งได้เป็น 2 สมมติฐาน โดยสมมติฐานแรก ซัลไฟต์ถูกรีดิวซ์ด้วยอิเล็กตรอน 6 ตัวเกิดเป็นซัลไฟด์ในขั้นตอนเดียว ส่วนอีกสมมติฐานหนึ่ง การรีดิวซ์ซัลไฟต์เป็นซัลไฟด์จะมีสารอินเทอร์มีเดียท 2 ตัวเกิดขึ้น ได้แก่ ไตรไทโอเนท และไทโอซัลเฟต ปฏิกิริยารีดิวซ์ไทโอซัลเฟตเป็นซัลไฟด์เกิดขึ้นเป็นขั้นสุดท้าย ดังแสดงในสมการข้างล่างนี้

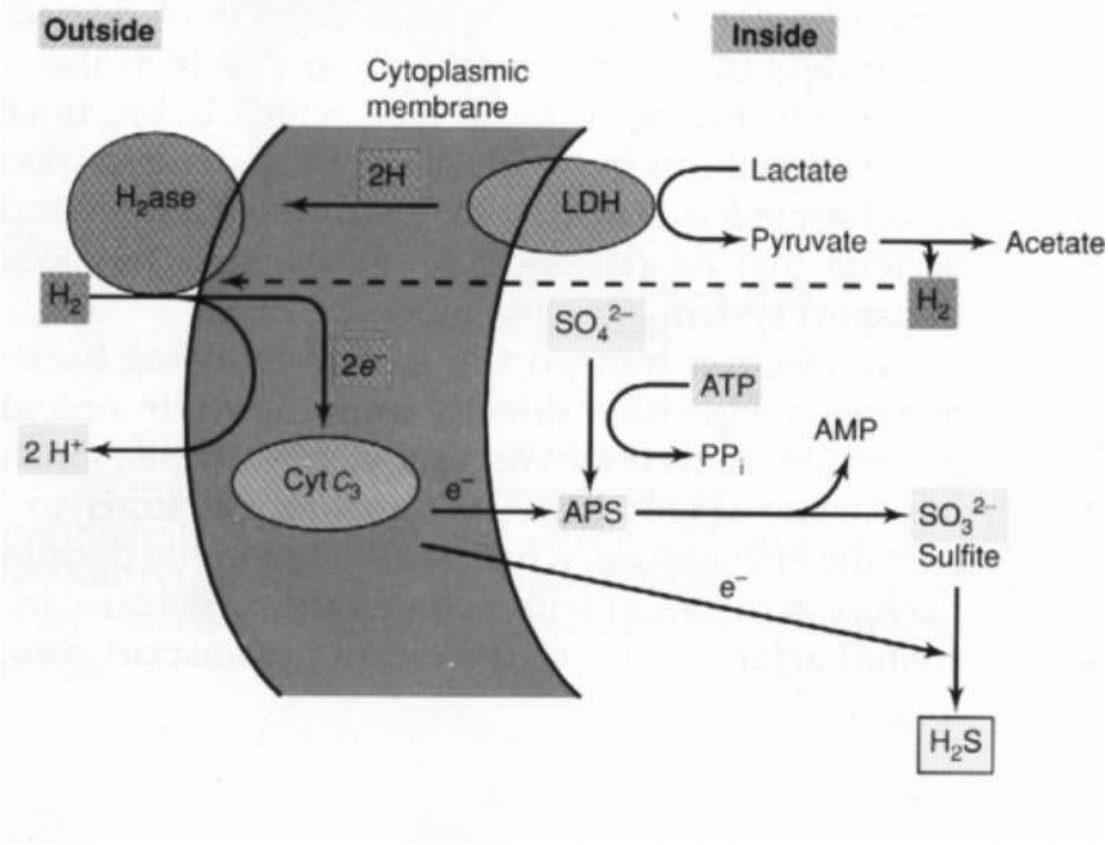
$$\underset{\text{(sulfite)}}{3SO_3^{2-}} \xrightarrow{2e^-} \underset{\text{(trithionate)}}{S_3O_6^{2-}} \xrightarrow{2e^-} \underset{\text{(thiosulfate)}}{S_2O_3^{2-}} + SO_3^{2-} \xrightarrow{2e^-} S^{2-} + SO_3^{2-}$$

การขนส่งอิเล็กตรอนในแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเกิดขึ้นผ่านไซโตโครม 2 ตัวคือ Ferredoxin และ Flavodoxin ไซโตโครมในแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตคือ ไซโตโครมซีที่มีสมบัติเป็นลบทางไฟฟ้ามาก เรียกว่า ไซโตโครม C_3 ไซโตโครมนี้เป็นไซโตโครมเฉพาะซึ่งไม่พบในสิ่งมีชีวิตที่ใช้สารรับอิเล็กตรอนชนิดอื่น ทำหน้าที่ขนส่งอิเล็กตรอนจากสารให้อิเล็กตรอนไปให้กับหมู่ซัลเฟตใน APS และซัลไฟต์ แต่นอกจากไซโตโครม, ferredoxin และ flavodoxin แล้ว แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตบางชนิดยังมีไซโตโครมชนิดบีอยู่ในลูกโซ่ขนส่งอิเล็กตรอนด้วย แบคทีเรีย

รีดิวซ์ซัลเฟตบางชนิดซึ่งขาดไซโตโครมบีจะไม่สามารถย่อยสลายกรดไขมันได้ ทำให้แบคทีเรียกลุ่มนี้ใช้สารอาหารได้เฉพาะแต่อะซิเตทหรือไฮโดรเจนเท่านั้น เมื่อพิจารณาจากสารอาหารของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต เช่น ฟอร์เมท, ฟูมาเรต, พรอพิออเนท, บิวทิเรต และกรดอินทรีย์ที่มีคาร์บอนอะตอมมากถึง 18 ตัว ดังแสดงในตารางที่ 4.1 และ 4.2 สามารถแบ่งแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตออกได้เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ใช้ไฮโดรเจนหรือแลกเตท กับกลุ่มที่ใช้อะซิเตท ซึ่งการแบ่งกลุ่มในลักษณะนี้จะมีแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตบางตัวที่อาจพิจารณาได้ว่าอยู่ได้ทั้งสองกลุ่มคือ แบคทีเรียที่บริโภคไฮโดรเจนแต่ใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน

- **กระบวนการซัลเฟตรีดักชันที่ใช้ไฮโดรเจนหรือแลกเตทเป็นสารอาหาร**

เนื่องจากการขาดความรู้ความเข้าใจในเรื่องของขั้นตอนต่างๆ ของกระบวนการสงวนพลังงานโดยแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต ทำให้ไม่อาจแสดงรายละเอียดของกระบวนการสงวนพลังงานที่เกิดขึ้นในแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต ในลักษณะที่เป็นบรรทัดฐานสำหรับแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในกลุ่มเดียวกันได้ แต่สามารถอธิบายได้ด้วยการยกตัวอย่างกระบวนการที่เกิดขึ้นในแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต Desulfovibrio ซึ่งถูกศึกษาและสามารถเข้าใจรายละเอียดที่เกิดขึ้นได้ค่อนข้างแน่นอนแล้ว ใน Desulfovibrio ไฮโดรเจนที่ถูกใช้ไม่ว่าจะมาจากสภาพแวดล้อมในขณะนั้นที่มีไฮโดรเจนอยู่แล้วหรือผลิตขึ้นจากการหมักของสารอินทรีย์ก็ตาม จะเกิดขึ้นดังแสดงในรูปที่ 4.6



รูปที่ 4.6 การใช้ไฮโดรเจนเป็นสารอาหารโดยแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต

(Madigan และคณะ, 1997)

จากรูปที่ 4.6 ขั้นตอนของกระบวนการซัลเฟตรีดักชันโดยแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตพอจะสรุปได้ดังนี้

- เอนไซม์ไฮโดรเจนเนส (Hydrogenase) ซึ่งอยู่ใน Periplasm ใกล้กับไซโต-โครม C_3 จะออกซิไดส์ไฮโดรเจนและทำหน้าที่เป็นตัวขนส่งอิเล็กตรอน ไฮโดรเจนที่ถูกออกซิไดส์เกิดเป็นไฮโดรเจนอิออนอยู่นอกเซลล์ เนื่องจากการจัดตัวของระบบขนส่งอิเล็กตรอนในเซลล์เมมเบรน อิเล็กตรอนจากเอนไซม์ไฮโดรเจนเนสจะถูกส่งต่อให้ไซโตโครม C_3 และขนส่งเข้าสู่ภายในเซลล์ ซึ่งการขนส่งอิเล็กตรอนผ่านเซลล์เมมเบรนและการสร้างไฮโดรเจนอิออนรอบๆ เซลล์จะทำให้เซลล์สามารถสังเคราะห์ ATP ได้ด้วยกลไก Chemiosmosis
- อิเล็กตรอนจากไซโตโครม C_3 ที่ถูกส่งเข้าเซลล์จะเข้าไปอยู่ในไซโตปลาสซึม และจะถูกนำไปใช้ในการรีดิวซ์ APS และซัลไฟต์เกิดเป็นไฮโดรเจนซัลไฟด์

ส่วนการใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอนจะเกิดขึ้นผ่านวิถีอะซิทีลโคเอ (Acetyl-CoA Pathway) ดังจะกล่าวถึงในหัวข้อต่อไป

จากที่กล่าวมาข้างต้น โปรตอนที่ถูกใช้ไปในการขนส่งซัลเฟตเข้าสู่เซลล์หรือ ATP ที่ถูกใช้ในการกระตุ้นซัลเฟตเป็น APS และซัลไฟต์ จะทำให้ ATP สุทธิที่ได้มีค่าน้อยลง ค่ายีลจึงควรจะมีค่าต่ำ แต่นักวิจัยพบว่าค่า ยีลที่พบจริงกลับมีค่ามากกว่าที่ควรจะเป็นตามทฤษฎี แสดงให้เห็นถึงการขาดความรู้ความเข้าใจในเรื่องของกลไกการสงวนพลังงานอยู่อีกมาก

- **กระบวนการซัลเฟตรีดักชันที่ใช้อะซิเตทเป็นสารอาหาร**

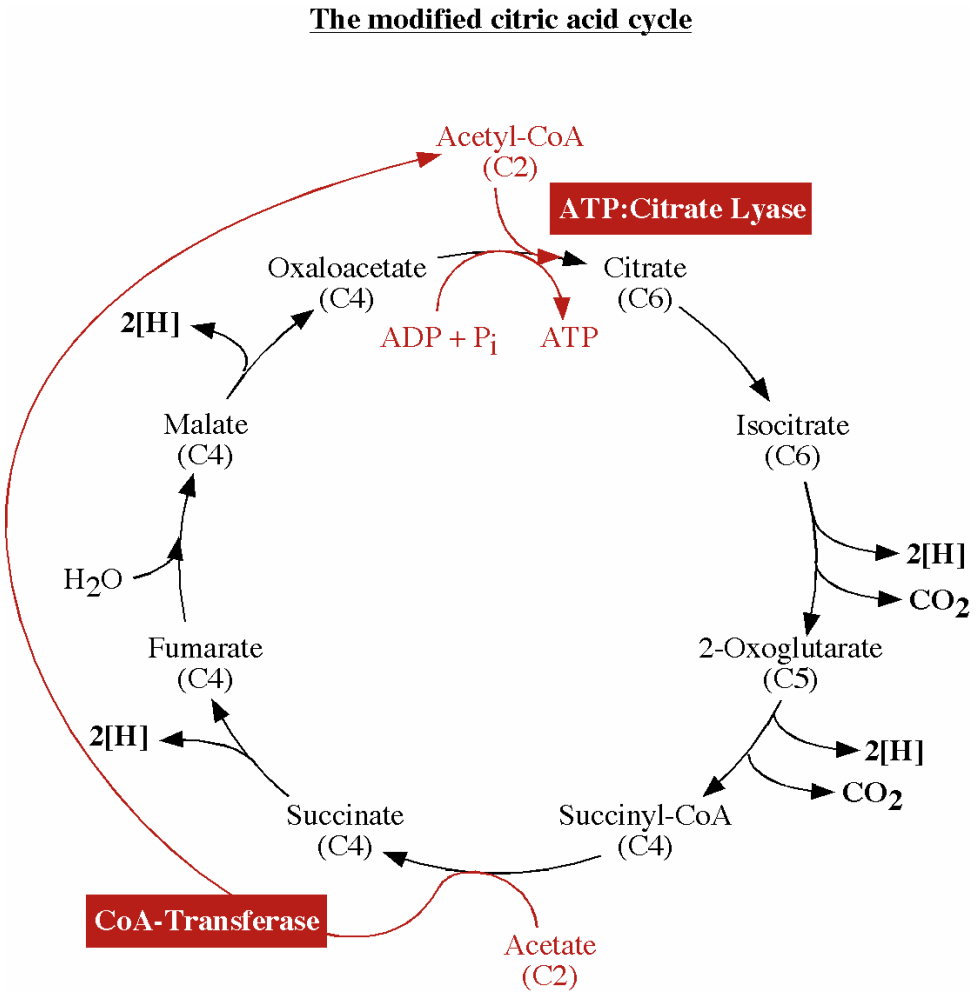
แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตบางชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ด้วยการใช้อะซิเตทเพียงอย่างเดียวเป็นสารอาหาร ส่วนใหญ่ของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตประเภทนี้เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในน้ำเค็ม แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตสามารถย่อยสลายอะซิเตทได้อย่างสมบูรณ์จนเกิดเป็นคาร์บอนไดออกไซด์

การย่อยสลายอะซิเตทในสิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นผ่านวัฏจักรกรดซิตริก (Citric Acid Cycle) ดังแสดงในรูปที่ 4.7 แต่แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตประเภทนี้จะใช้อะซิเตทผ่านวัฏจักรกรดซิตริกแบบประยุกต์ (Modified Citric Acid Cycle) และวิถีอะซิติลโคเอแบบย้อนกลับ (Reversed Acetyl-Coa Pahtway) แทน

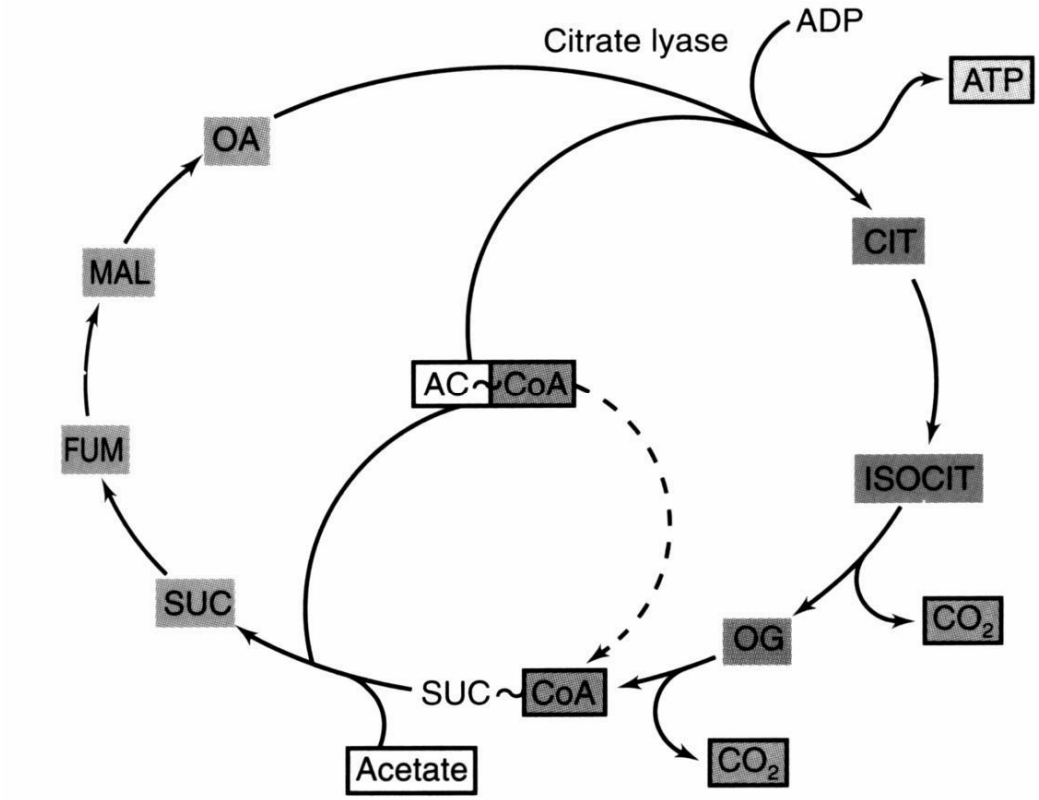
- **Modified Citric Acid Cycle**

ในขั้นแรก Succinyl-CoA จะทำปฏิกิริยากับอะซิเตทด้วยการกระตุ้นของเอนไซม์ชนิดหนึ่ง ได้ Succinate และอะซิติลโคเอเป็นผลิตภัณฑ์ อะซิติลโคเอจะเข้าสู่วัฏจักรกรดซิตริกด้วยการทำปฏิกิริยากับ Oxaloacetate ผ่านการกระตุ้นของเอนไซม์ ATP–Citrate Lyase ได้ซิเตรตเป็นผลิตภัณฑ์ ดังแสดงในรูปที่ 4.8

NADPH หรือ Ferredoxin ที่ถูกรีดิวซ์ในวัฏจักรกรดซิตริกจะถ่ายเทอิเล็กตรอนไปสู่ซัลเฟต เปลี่ยนซัลเฟตให้เป็นซัลไฟด์ พลังงานที่ได้จากการถ่ายเทอิเล็กตรอนไปสู่ซัลเฟตจะถูกเก็บไว้ในรูปของ ATP ด้วยกระบวนการ Chemiosmosis



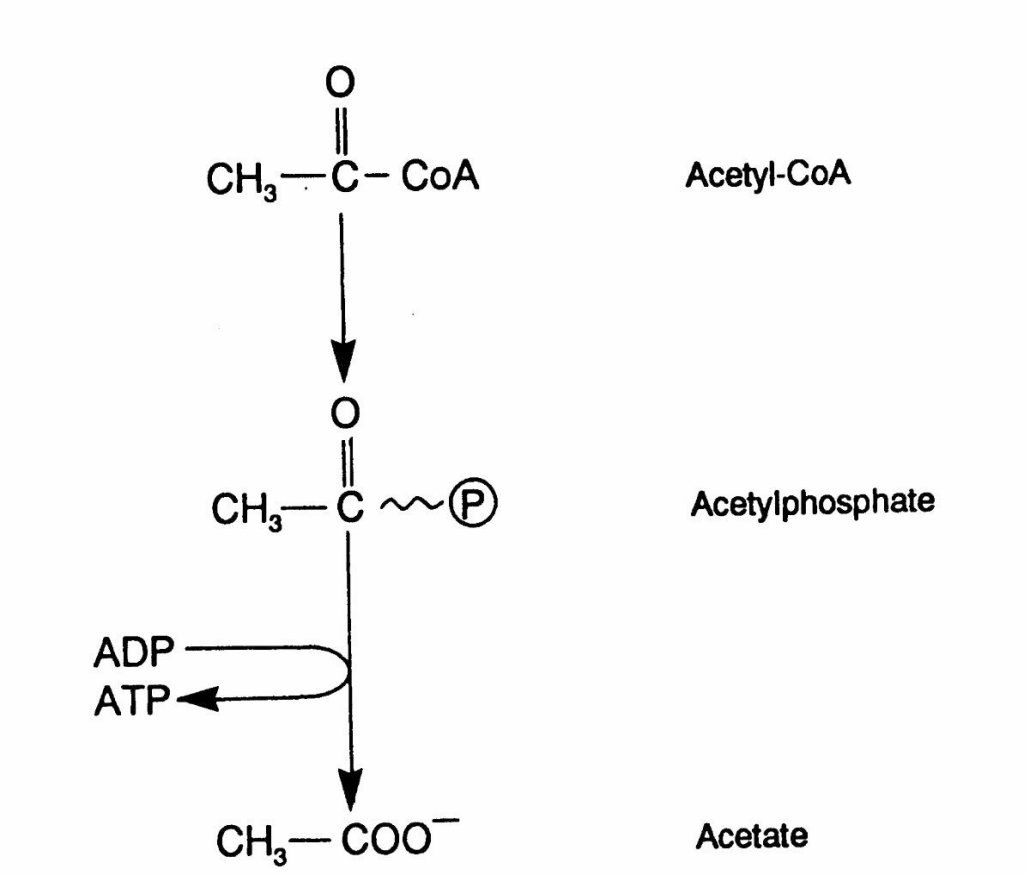
รูปที่ 4.7 วัฏจักรกรดซิตริก (Madigan และคณะ 1997)



รูปที่ 4.8 กลไกการออกซิไดส์อะซิเตทเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยวัฏจักรกรดซิตริก (Madigan และคณะ, 1997)

ดังที่กล่าวมาก่อนหน้านี้ ในขั้นตอนแรกของการเกิดกระบวนการซัลเฟตรีดักชัน พลังงานส่วนหนึ่งประมาณ 2 ATP จะต้องถูกใช้ในการกระตุ้นให้เกิด APS ทำให้เกิดปัญหาว่าพลังงานที่ได้จากการรีดิวซ์ซัลเฟตด้วยอะซิเตทผ่านวัฏจักรกรดซิตริกจะได้พลังงานเพียงพอหรือไม่ เพราะพลังงานที่ใช้กระตุ้นให้เกิด APS มีค่าใกล้เคียงกับพลังงานที่ได้จากการรีดิวซ์ซัลเฟต แต่เมื่อดูถึงพลังงานสุทธิที่ได้จากการย่อยสลายอะซิเตทหลายๆ โมเลกุลแล้ว พลังงานที่ได้ก็เพียงพอต่อการสร้าง ATP และต่อการเจริญเติบโต เหตุผลที่ใช้อธิบายก็คือแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตประเภทนี้มีเอนไซม์ Citrate Lyase ซึ่งสร้าง ATP ได้จากกระบวนการ Substrate-Level Phosphorylation ในขั้นตอนการเปลี่ยนอะซิติลโคเอเป็นอะซิเตท ดังแสดงในรูป 4.9 ระหว่างการผลิตกรดซิตริก โดยอะซิเตท 1 โมลที่ถูกออกซิไดส์เป็นคาร์บอน-ไดออกไซด์ 2 โมลจะสร้าง ATP 1 โมลจากกระบวนการ Substrate-Level Phosphorylation ATP ที่เพิ่มขึ้นนี้จะทำให้แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตสามารถเจริญเติบโตได้เมื่อใช้อะซิเตทเป็นสารอาหาร

ตัวอย่างของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ย่อยสลายอะซิเตทโดยใช้วิถีชีวเคมีแบบ Modified Citric Acid Cycle ได้แก่ Desulfobacter

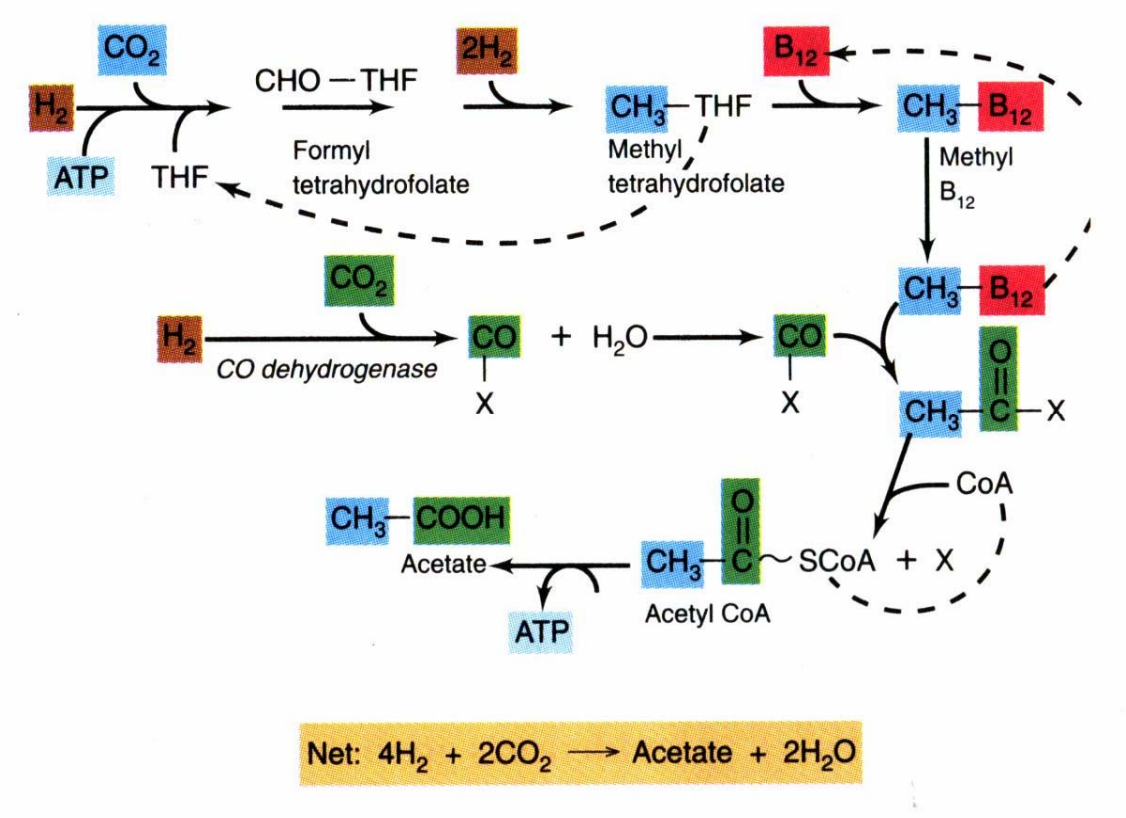


รูปที่ 4.9 กระบวนการ Substrate-Level Phosphorylation ที่เกิดขึ้นในการเปลี่ยนอะซิติลโคเอเป็นอะซิเตท (Fenchel และ Finlay, 1995)

- **Acetyl-CoA Pathway**

การใช้อะซิเตทโดยแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเกิดขึ้นโดยผ่านทาง Acetyl-CoA Pathway แบบย้อนกลับ วิถีชีวเคมีแบบ Acetyl-CoA เริ่มต้นจากคาร์บอนไดออกไซด์ถูกรีดิวซ์ด้วยไฮโดรเจน (รูปที่ 4.10) โมเลกุลหนึ่งของคาร์บอนไดออกไซด์ถูกรีดิวซ์เป็นกลุ่มเมทิลของอะซิเตทด้วยปฏิกิริยาหลายขั้นที่เกี่ยวข้องกับโคเอนไซม์ Tetrahydrofolate โดยขั้นแรกคาร์บอนไดออกไซด์ถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของฟอร์เมทก่อนโดยเอนไซม์ Formate Tetrahydrofolate จากนั้นจะรับอิเล็กตรอนอีก 4 ตัวกลายเป็น Methyl Tetrahydrofolate กลุ่มเมทิลจะถูกส่งต่อไปให้กับเอนไซม์ที่มีวิตามินบี 12 เป็นโคแฟคเตอร์ ส่วนคาร์บอนไดออกไซด์อีกโมเลกุลหนึ่งถูกรีดิวซ์เป็นกลุ่มคาร์บอนิลของอะซิเตทโดยเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญก็คือ Carbon Monoxide Dehydrogenase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ประกอบด้วยโลหะนิกเกิล เหล็ก และสังกะสีเป็นโคแฟคเตอร์ ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการรีดิวซ์คาร์บอนไดออกไซด์ให้เป็นคาร์บอนมอนอกไซด์ ท้ายที่สุดกลุ่ม CH_3 จะเข้ารวมอยู่กับกลุ่ม CO ใน Carbon Monoxide Dehydrogenase โดย CH_3 จะอยู่ติดกับนิกเกิลส่วน CO อยู่ติดกับเหล็ก จากนั้นก็จะรวมกับ CoA เกิดเป็นอะซิติลโคเอ แล้วจึงเกิดเป็นอะซิเตทขึ้นมา กระบวนการซัลเฟตรีดักชันก็จะใช้อะซิเตทในทิศทางที่ย้อนกลับกับปฏิกิริยาที่กล่าวมา แต่ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะไม่ใช่คาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจน เพราะซัลเฟตทำหน้าที่เป็นสารรับอิเล็กตรอนได้ผลิตภัณฑ์เป็นซัลไฟด์และคาร์บอนไดออกไซด์แทน

ตัวอย่างแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ย่อยสลายอะซิเตทโดยใช้วิถี Reversed Acetyl-CoA ได้แก่ Desulfomena และ Deslufobacterium เป็นต้น



รูปที่ 4.10 Acetyl-CoA pathway (Madigan และคณะ, 1997)

ส่วนแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ใช้สารประกอบอินทรีย์ที่ไม่ใช่อะซิเตทจะเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ขึ้นในลักษณะเดียวกับการใช้ไฮโดรเจน ขนส่งอิเล็กตรอนด้วยลูกโซ่ขนส่งอิเล็กตรอนแบบเดียวกันเพื่อสร้างความต่างศักย์ระหว่างในและนอกเซลล์เมมเบรน และสร้าง ATP ได้ด้วยกระบวนการ Chemiosmosis

จากการศึกษาแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต Desulfovibrio ทำให้ทราบว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตสามารถสร้าง ATP สุทธิได้ 1 โมเลกุลต่อซัลเฟตที่ถูกเปลี่ยนเป็นซัลไฟด์ 1 โมเลกุล และได้ ATP 3 โมเลกุลต่อซัลไฟด์ที่ถูกเปลี่ยนเป็นซัลไฟด์ 3 โมเลกุล

4.3 ปัจจัยทางสภาวะแวดล้อมที่ส่งผลต่อการทำงานของแบคทีเรียรีดิวซ์-ซัลเฟต

- **อุณหภูมิ**

โดยทั่วไป แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อบริสุทธิ์จะมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตในช่วง 30–40°C การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิมีผลต่อแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตค่อนข้างมาก โดยมีรายงานการวิจัยที่พบว่าการเกิดซัลเฟต-รีดักชันโดยแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในดินตะกอนน้ำเค็มลดลงระหว่าง 2–3.9 เท่า เมื่ออุณหภูมิเปลี่ยนแปลงไปจากช่วงที่เหมาะสม 10 องศาเซลเซียส

- **ความต้องการเกลือและความทนต่อเกลือ**

ความต้องการเกลือของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของแบคทีเรีย ซึ่งแยกเป็นพวกที่ได้จากแหล่งน้ำเค็มหรือน้ำกร่อยกับพวกที่ได้จากแหล่งน้ำจืด แบคทีเรียดิวซ์ซัลเฟตที่ได้จากแหล่งน้ำเค็มหรือน้ำกร่อยมักต้องการปริมาณเกลือในระดับหนึ่งจึงจะเจริญเติบโตได้ดี และในทางตรงข้าม ถ้านำแบคทีเรียรีดิวซ์

ซัลเฟตกลุ่มนี้มาเลี้ยงในสภาพที่มีความเค็มต่ำก็จะได้ผลในทางลบต่อการเจริญเติบโต ชนิดและปริมาณของเกลือสำหรับแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจากแหล่งน้ำเค็มที่เหมาะสมคือ โซเดียมคลอไรด์ 20 ก./ล. และแมกนีเซียมคลอไรด์ 1.5 ก./ล. นอกเหนือจากเกลือทั้งสองชนิดนี้แล้ว บางสายพันธุ์ยังต้องการแคลเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นขั้นต่ำ 0.5 ก./ล. ปริมาณความต้องการเกลือจะลดลงสำหรับกลุ่มที่มาจากน้ำกร่อย ส่วนแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่มาจากน้ำจืดอาจถูกยับยั้งการเจริญเติบโตได้ถ้ามีโซเดียมคลอไรด์ในระดับที่เข้มข้นเท่ากับที่มีอยู่ในน้ำทะเล (ประมาณ 27 ก./ล.) อย่างไรก็ตาม มีรายงานถึงความสามารถในการปรับตัวของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจากแหล่งน้ำจืดบางสายพันธุ์ ซึ่งสามารถทนอยู่ได้ในตัวกลางที่ระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์สูงเท่ากับในระดับความเข้มข้นในน้ำทะเลและบางพวกสามารถปรับสารให้อยู่ได้ทั้งในระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 60 ก./ล. หรือแม้แต่ในสภาวะที่ไม่มีโซเดียมคลอไรด์อยู่เลยก็ตาม

- **พีเอช**

ช่วงพีเอชที่เหมาะสมต่อแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะอยู่ในช่วงที่เป็นกลาง คือประมาณ 7 และมักถูกยับยั้งเมื่อค่าพีเอชต่ำกว่า 6 หรือสูงกว่า 9 อย่างไรก็ตาม พบว่าปฏิกิริยาซัลเฟตรีดักชันสามารถเกิดขึ้นได้ในแหล่งน้ำจากเหมืองแร่ซึ่งมีค่าพีเอชในแหล่งน้ำประมาณ 3–4 แต่เมื่อนำแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจากแหล่งน้ำนี้มาเพาะเชื้อและทดสอบกลับพบว่าถูกยับยั้งการเจริญเติบโตเมื่อพีเอชต่ำกว่า 6 ทำให้เกิดข้อสันนิษฐานว่า แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่อยู่ในแหล่งน้ำของเหมืองแร่อาจมีสภาพแวดล้อมเล็กๆ เช่น โพรง หรือซอกหินขนาดเล็กมากๆ (Microniches) หรือสภาพแวดล้อมโดยรอบๆตัวของแบคทีเรีย (Microenvironment) มีค่าพีเอชที่สูงกว่าพีเอชของทั้งระบบ เนื่องจากปฏิกิริยาซัลเฟตรีดักชันโดยแบคทีเรียรีดิวซ์

ซัลเฟตเป็นปฏิกิริยาที่ใช้โปรตอนหรืออิออนไฮโดรเจน การใช้สารอาหารของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจึงสร้างสภาพด่างให้กับระบบ (ยกเว้นกรณีการเกิดซัลเฟต-รีดักชันของสารอาหารที่มีจำนวนอะตอมของคาร์บอนมากซึ่งจะสร้างสภาพกรด แต่จำนวนแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตประเภทนี้ก็มีอยู่ในปริมาณที่น้อยกว่ามาก) จึงทำให้แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตสามารถดำรงชีวิตได้แม้พีเอชโดยรวมของระบบจะมีค่าต่ำก็ตาม

บทที่ 5
ความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียกลุ่มต่างๆ ในระบบไม่ใช้อากาศ

จุลินทรีย์ไม่ใช้อากาศที่มีบทบาทสำคัญในการบำบัดน้ำเสียและสลัดจ์เป็นแบคทีเรียประเภทต่างๆ ดังนี้

- แบคทีเรียเฟอร์เมนติง (Fermenting Bacteria)
- แบคทีเรียสร้างกรดอินทรีย์ระเหย (Acidogenic Bacteria)
- แบคทีเรียดีไนตริฟายเออร์ (Denitrifying Bacteria)
- แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต (Sulfate Reducing Bacteria)
- แบคทีเรียสร้างมีเทน (Methanogenic Bacteria)
- แบคทีเรียสร้างอะซิเตท (Acetogenic Bacteria)

ภายใต้สภาวะที่มีอากาศ แบคทีเรียส่วนใหญ่ข้างต้นจะไม่สามารถมีชีวิตอยู่ได้ ถ้าไม่มีอากาศแต่มีไนเตรท แบคทีเรียดีไนตริฟายเออร์จะสามารถเจริญเติบโตได้ดีและไม่มีแบคทีเรียอื่นสามารถเติบโตแข่งขันได้ แต่ถ้าไม่มีอากาศและไม่มีไนเตรท แบคทีเรียทั้งหมดข้างต้นยกเว้นดีไนตริฟายเออร์จะเจริญเติบโตอยู่ได้บางชนิดอยู่รวมกันโดยมีชีวิตอยู่ร่วมกันอย่างเป็นมิตร (Syntrophy) ซึ่งหมายความว่าเติบโตไปด้วยกัน แต่ถ้ามีแบคทีเรียชนิดใดชนิดหนึ่งในกลุ่มไปอยู่ตามลำพังจะไม่สามารถเจริญเติบโตได้ การอยู่ร่วมกันอย่างเป็นมิตรเป็นปฏิสัมพันธ์ที่เด่นชัดและเป็นปัจจัยที่ขาดไม่ได้ของปฏิกิริยาสร้างมีเทนจากการบำบัดน้ำเสียและสลัดจ์ อย่างไรก็ตามบางครั้งแบคทีเรียคนละพันธุ์จะแย่งชิงอาหารกันหรือแม้แต่แบคทีเรียคนละชนิดที่อยู่ในกลุ่มพันธุ์เดียวกันก็อาจแย่งชิงอาหารตัวเดียวกันได้

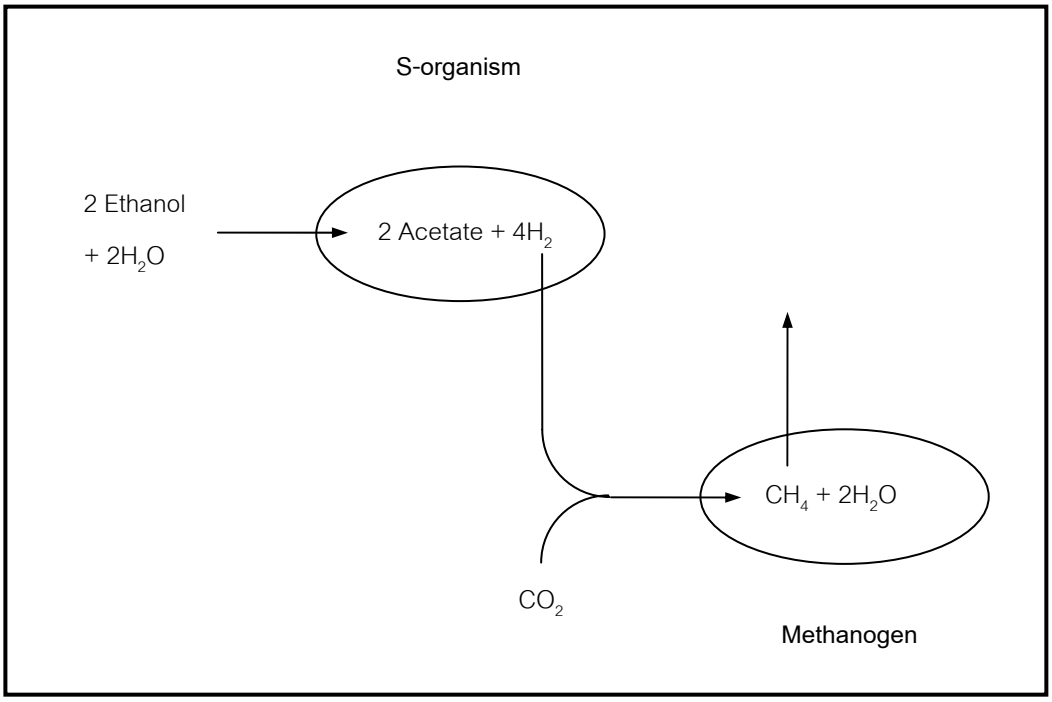
5.1 แบคทีเรียสร้างมีเทนกับแบคทีเรียสร้างกรดอะซิติก

ถึงแม้ว่ากาซมีเทนจะเป็นสารประกอบคาร์บอนที่เป็นส่วนน้อยของวัฏจักรคาร์บอนในธรรมชาติ แต่เนื่องจากกาซมีเทนเป็นผลผลิตสุดท้ายจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์ในระบบไม่ใช้อากาศ ทำให้การผลิตกาซมีเทนด้วยแบคทีเรียสร้างมีเทนเป็นขั้นตอนสำคัญของระบบไม่ใช้อากาศ จากที่ได้กล่าวมาแล้วว่าในการผลิตกาซมีเทนนั้น แบคทีเรียสร้างมีเทนจะใช้กาซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นสารรับอิเล็กตรอนในกระบวนการหายใจและเปลี่ยนเป็นกาซมีเทน และมีสารให้อิเล็กตรอนเป็นสารประกอบที่มีคาร์บอนอะตอมน้อย เช่น ไฮโดรเจน หรือกรดอะซิติก ฯลฯ สารประกอบเหล่านี้ส่วนใหญ่มักจะเป็นผลิตผลของการหมักโดยแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ดังนั้น การผลิตกาซมีเทนด้วยแบคทีเรียสร้างมีเทนในระบบไม่ใช้อากาศ จึงขึ้นอยู่กับขั้นตอนการย่อยสารอาหารที่ซับซ้อนให้กลายเป็นสารประกอบที่มีอะตอมคาร์บอนน้อยโดยแบคทีเรียชนิดอื่น

จากที่ได้กล่าวไว้แล้วในบทที่ 2 ว่า การย่อยสลายสารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ เช่น สารพอลีแซคคาไรด์ โปรตีน และไขมัน จนกลายเป็นกาซมีเทนต้องอาศัยการทำงานร่วมกันของแบคทีเรียหลายชนิดโดยสารประกอบสำคัญที่เกิดขึ้นระหว่างขั้นตอนการย่อยสารอินทรีย์แบบไม่ใช้อากาศคือ ไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ กลุ่มแบคทีเรียที่บริโภคไฮโดรเจน (H_2-Consuming Bacteria) ซึ่งได้แก่ แบคทีเรียสร้างมีเทน แบคทีเรียสร้างกรดอะซิติก และแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต ล้วนสามารถใช้ไฮโดรเจนเป็นสารอาหาร

แบคทีเรียที่เป็นกุญแจสำคัญของการย่อยสลายสารอินทรีย์ซับซ้อน คือ แบคทีเรียเฟอร์เมนติงที่ผลิตไฮโดรเจน (H_2-Producing Bacteria) ซึ่งสามารถใช้สารอาหารพวกกรดไขมันหรือแอลกอฮอลล์เป็นแหล่งพลังงาน แบคทีเรียประเภทนี้ผลิตคาร์บอนไดออกไซด์และกรดอะซิติกพร้อมกับไฮโดรเจนซึ่งล้วนเป็นสารอาหารสำหรับแบคทีเรียสร้างมีเทน นักวิจัยพบมานานแล้วว่าแบคทีเรียชนิดนี้จะไม่สามารถเจริญเติบโตได้ดีเมื่อทำการเพาะเป็นเชื้อบริสุทธิ์ แต่เมื่ออยู่ร่วมกับแบคทีเรียที่ใช้กาซไฮโดรเจนเป็นสารอาหารแล้ว แบคทีเรียจะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า การอยู่ร่วมกันแบบ Syntrophy ซึ่งมีความหมายว่า “กินด้วยกัน” ซึ่งเป็นที่มาของชื่อแบคทีเรียชนิดนี้เช่น Syntrophomonas และ Syntro-phobacter ที่ย่อยกรดอินทรีย์และแอลกอฮอลล์บางชนิดให้เป็นกรดอะซิ-ติก กาซไฮโดรเจน และกาซคาร์บอนไดออกไซด์

ตัวอย่างของการกินอยู่ร่วมกันแบบส่งเสริมกันหรือเป็นมิตรกัน (Syntrophy) ที่โจษขานกันจนเป็นตำนานคือ เรื่องของแบคทีเรียที่มีชื่อว่า Methanobacillus omelianskii ซึ่งเคยเชื่อกันว่าเป็นแบคทีเรียสร้างมีเทนที่สามารถบริโภคเอทานอลได้ แต่ในทุกวันนี้รู้กันแล้วว่าแบคทีเรียสร้างมีเทนไม่สามารถบริโภคเอทานอลได้ Bryant และคณะ (1967) ได้พบว่า จริงแล้ว M.omelianskii ไม่มีตัวตน หากแต่ประกอบด้วยแบคทีเรีย 2 ชนิดอาศัยอยู่ร่วมกันแบบส่งเสริมกัน กล่าวคือประกอบด้วยจุลินทรีย์แบบคีโมโทรฟิกชื่อว่าจุลินทรีย์ S (S-organism) และแบคทีเรียสร้างมีเทนชื่อ Methanobactrium Bryantii ไบรแอนท์และคณะได้พบว่าวิถีชีวเคมีของการย่อยเอทานอลให้กลายเป็นมีเทนเริ่มจาก S-organism ย่อยเอทานอลด้วยกลไกไม่ใช้อากาศให้กลายเป็นอะซิเตทและไฮโดรเจน แบคทีเรียสร้างมีเทน (ที่อาศัยอยู่ด้วยกัน) บริโภคไฮโดรเจนได้และผลิตมีเทน ความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรีย 2 กลุ่มนี้แสดงในรูปที่ 5.1



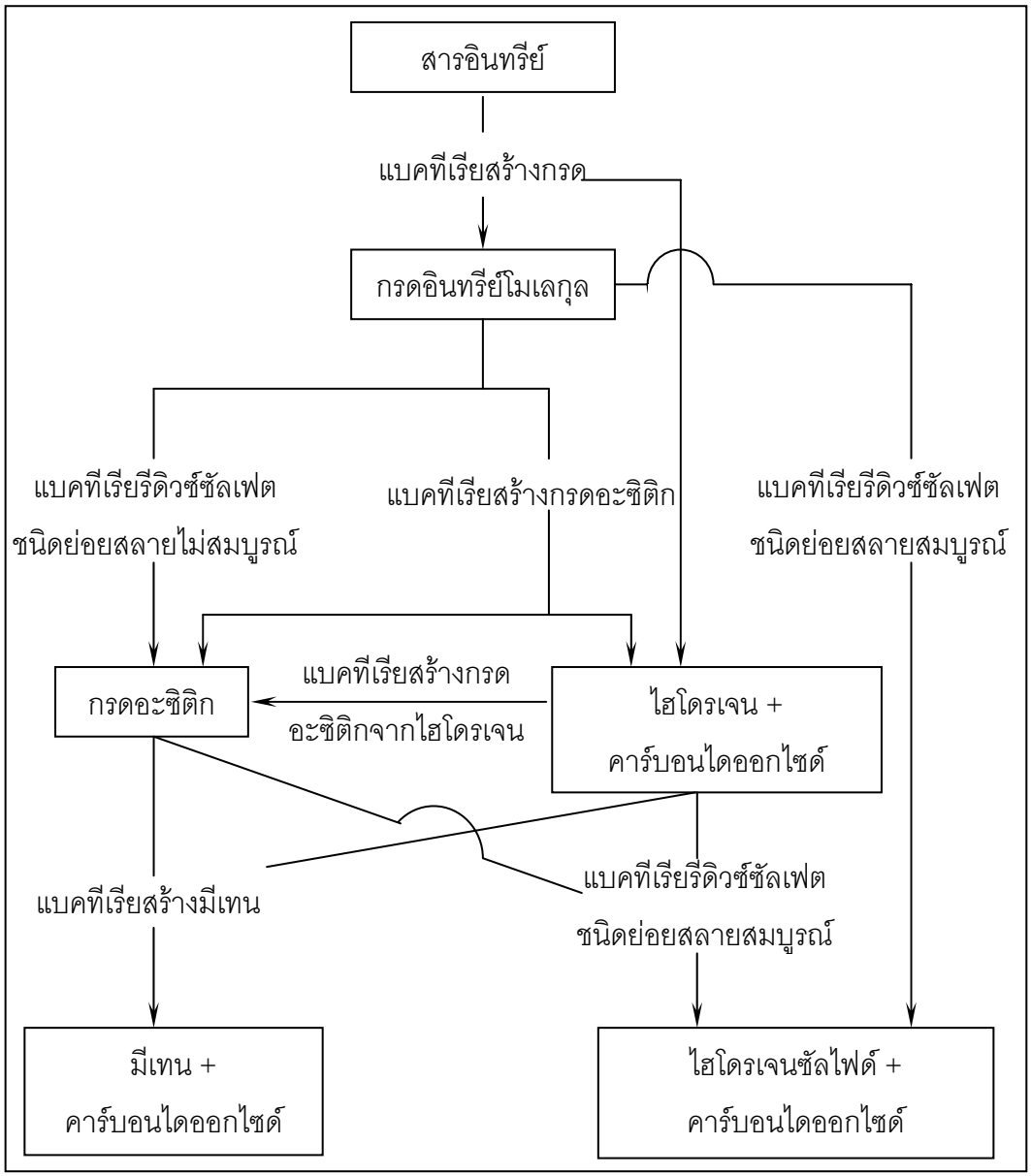
รูปที่ 5.1 ตัวอย่างความสัมพันธ์แบบ Syntrophy (Fenchel and Finlay, 1995)

กรณีดังกล่าวข้างต้นนี้ ไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นเป็นอันตรายต่อ S-organism จุลินทรีย์-S ต้องอาศัยแบคทีเรียสร้างมีเทนในการกำจัดกาซไฮโดรเจนมิให้สะสมอยู่ในระบบจนเป็นอันตรายต่อผู้สร้างเอง ในขณะเดียวกันแบคทีเรียสร้างมีเทนก็ได้ไฮโดรเจนเป็นสับสเตรตในการเจริญเติบโต ถ้าไม่มีแบคทีเรียสร้างมีเทน จุลินทรีย์-S ก็เติบโตไม่ได้ การขาดแบคทีเรียตัวใดตัวหนึ่ง แบคทีเรียอีกตัวหนึ่งอาจไม่สามารถเจริญเติบโตได้ การอาศัยอยู่ร่วมกันแบบส่งเสริมกันเรียกว่า Syntrophy

5.2 ความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียกลุ่มต่างๆ ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียที่มีซัลเฟต

ปฏิกิริยาการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่เกิดขึ้นในระบบไม่ใช้อากาศ ขึ้นอยู่กับสารรับอิเล็กตรอนและประเภทของแบคทีเรียในระบบ ในกรณีที่มีซัลเฟตอยู่ในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศ กลไกการย่อยสลายสารอินทรีย์ในระบบจะเกิดขึ้นจากการทำงานร่วมกันของแบคทีเรียสร้างกรด, แบคทีเรียสร้างอะซิเตท, แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างมีเทน แต่แบคทีเรียหลายกลุ่มในระบบใช้สารอาหารประเภทเดียวกัน ในขณะที่แบคทีเรียบางกลุ่มก็ใช้ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากแบคทีเรียอีกกลุ่มหนึ่งเป็นสารอาหาร ความสัมพันธ์ของแบคทีเรียกลุ่มต่างๆในกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไม่ใช้อากาศจึงเป็นเรื่องที่ค่อนข้างซับซ้อน ดังแสดงรายละเอียดโดยสังเขปในรูป 5.2 แต่พอที่จะแบ่งความสัมพันธ์ที่เกิดขึ้นระหว่างแบคทีเรียกลุ่มต่างๆ ได้ดังนี้

- การแข่งขันระหว่างแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต แบคทีเรียสร้างมีเทน และแบคทีเรียสร้างอะซิเตทที่บริโภคไฮโดรเจน ในการแย่งใช้ไฮโดรเจนและการแข่งขันระหว่างแบคทีเรียสร้างมีเทนและแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในการแย่งใช้อะซิเตท ซึ่งผลของการแข่งขันจะเป็นตัวกำหนดผลิตภัณฑ์สุดท้ายของกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้อากาศว่าเป็นมีเทนหรือซัลไฟด์
- การแข่งขันระหว่างแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างอะซิเตท ในการแย่งใช้กรดไขมันระเหยที่มีคาร์บอนมากกว่า 2 อะตอม



รูปที่ 5.2 ความสัมพันธ์ของแบคทีเรียกลุ่มต่างๆ ในระบบบำบัดแบบไม่ใช้อากาศ

(อนุตร เปียงแก้ว 2542)

5.2.1 การแข่งขันระหว่างแบคทีเรียสร้างอะซิเตทและแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต

ถึงแม้ว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะมีความสามารถในการใช้สารอาหารที่มีจำนวนคาร์บอนอะตอมสูงได้ (Desulfoarculus และ Thermodesulforhabdus ใช้กรดอินทรีย์ที่มีคาร์บอนอะตอมได้สูงถึง 18 อะตอม) แต่ความสามารถดังกล่าวก็จำกัดอยู่เฉพาะบางชนิด สารอาหารที่ใช้ได้โดยทั่วไปมีเพียง ไฮโดรเจน, แลกเตท และไพรูเวต เท่านั้น ส่วนสารอาหารอื่นนอกเหนือจากนี้จะมีข้อจำกัดในการใช้มากขึ้น การแข่งขันเพื่อแย่งใช้สารอาหารกับแบคทีเรียสร้างอะซิเตทจึงน่าจะเกิดขึ้นค่อนข้างรุนแรงในสารอาหารทั้งสามชนิดนี้ แต่ไพรูเวตเป็นสารอินเทอร์มีเดียทที่สำคัญมากในกระบวนการหมัก ทำให้การย่อยสลายสารอินทรีย์ในกระบวนการบำบัดน้ำเสียที่ไม่ใช้อากาศมีเส้นทางที่หลากหลายมากขึ้นหากมีซัลเฟตอยู่ในระบบด้วย โดยเส้นทางการย่อยสลายอาจแยกออกได้เป็น 2 เส้นทางผ่านแบคทีเรียสร้างกรดหรือแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต คือ

- สารอินทรีย์ในระบบถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรียสร้างกรด และถูกย่อยสลายต่อกลายเป็นอะซิเตทและไฮโดรเจนผ่านแบคทีเรียสร้างอะซิเตท แล้วจึงถูกแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างมีเทนย่อยสลายต่อ
- สารอินทรีย์ในระบบถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรียสร้างกรดและถูกย่อยสลายต่อโดยแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตโดยตรง ถ้าเป็นพวกที่ย่อยสลายได้อย่างสมบูรณ์จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นคาร์บอนไดออกไซด์และซัลไฟด์ แต่ถ้าเป็นพวกที่ย่อยสลายได้ไม่สมบูรณ์จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นอะซิเตทกับซัลไฟด์ อะซิเตทที่เกิดขึ้นจะถูกใช้ต่อโดยแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่สามารถใช้อะซิเตทได้และแบคทีเรียสร้างมีเทน

แต่จนถึงบัดนี้ ความรู้เกี่ยวกับการแข่งขันระหว่างแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างอะซิเตทยังคงมีไม่มากนัก เส้นทางใดจะเป็นเส้นทางที่เกิดขึ้นจริงในระบบบำบัดไม่ใช้อากาศยังคงไม่เป็นที่กระจ่างชัด ปัจจัยที่เป็นตัวกำหนดเส้นทางการย่อยสลายสารอินทรีย์น่าจะเป็นอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตหรือความเข้มข้นของซัลเฟต

- **กรณีอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตสูง**

ที่อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตสูง ความเข้มข้นของซัลเฟตจะเป็นตัวจำกัดการเจริญเติบโตของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในระบบ ทำให้แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ใช้ไฮโดรเจนได้เปรียบในการแย่งใช้ซัลเฟต เป็นเหตุให้แบคทีเรียรีดิวว์ซัลเฟตที่ออกซิไดส์กรดอินทรีย์โดยตรงไม่อาจแข่งขันกับแบคทีเรียสร้างอะซิเตทได้ เส้นทางการย่อยสลายสารอินทรีย์ส่วนใหญ่จึงเกิดขึ้นผ่านการทำงานร่วมกันของแบคทีเรียสร้างกรด แบคทีเรียสร้างอะซิเตท และแบคทีเรียสร้างมีเทน ได้ผลิตภัณฑ์หลักเป็นมีเทนและคาร์บอนไดออกไซด์

- **กรณีอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตต่ำ**

ในกรณีนี้ ซัลเฟตในระบบมีอยู่อย่างไม่จำกัด แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตแต่ละกลุ่มไม่ต้องแย่งใช้ซัลเฟตกันเอง จึงคาดว่าสารอินทรีย์ในระบบน่าจะถูกย่อยสลายผ่านทางแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะขึ้นอยู่กับแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตว่าเป็นชนิดย่อยสลายสมบูรณ์หรือไม่ แต่จากปัจจัยทางจลน์ศาสตร์ของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต พบว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตชนิดย่อยสลายไม่สมบูรณ์มีอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่า เส้นทางการย่อยสลายสารอินทรีย์จึงน่าจะเกิดผ่านแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตชนิดย่อยสลายไม่สมบูรณ์ และแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่บริโภคอะซิเตท ได้คาร์บอนไดออกไซด์และซัลไฟด์เป็นผลิตภัณฑ์หลัก

จากเหตุผลดังที่กล่าวมา อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตน่าจะเป็นปัจจัยสำคัญในการกำหนดเส้นทางในการย่อยสลายสารอินทรีย์และเป็นตัวกำหนดว่าแบคทีเรียชนิดใดจะแย่งใช้สารอินทรีย์ได้มากกว่ากัน อย่างไรก็ตาม ดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้นว่าความรู้เกี่ยวกับการแข่งขันระหว่างแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างอะซิเตทยังคงมีไม่มากนัก งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับแบคทีเรียทั้งสองชนิดนี้โดยตรงก็ยังมีไม่มากนัก จึงเป็นการยากที่จะระบุอย่างชัดเจนว่าแบคทีเรียชนิดใดจะเป็นแบคทีเรียที่มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายสารอินทรีย์ แต่สามารถสรุปได้ว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะมีบทบาทมากขึ้นในการย่อยสลายกรดอินทรีย์ระเหยซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากกระบวนการหมัก เมื่ออัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตมีค่าลดต่ำลง

5.2.2 การแข่งขันระหว่างแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างมีเทนในการแย่งใช้ไฮโดรเจน

ไฮโดรเจนเป็นสารอินเทอร์มีเดียทที่สำคัญในกระบวนการไม่ใช้อากาศ เนื่องจากการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยทั่วไปแล้ว ประมาณ 20–30 เปอร์เซ็นต์ของซีโอดีจะถูกย่อยสลายผ่านทางไฮโดรเจน ซึ่งทั้งแบคทีรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างมีเทนต่างก็สามารถใช้เป็นสารอาหารได้

ผลของการแข่งขันระหว่างแบคทีเรียทั้งสองชนิด สามารถดูได้จากข้อมูลทางเทอร์โมไดนามิกส์และจลน์ศาสตร์

- **ปัจจัยทางเทอร์โมไดนามิกส์**

ค่าพลังงานทางเทอร์โมไดนามิกส์ที่ได้จากการใช้ไฮโดรเจนเป็นแหล่งพลังงานของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต, แบคทีเรียสร้างมีเทน และแบคทีเรียสร้างอะซิเตทที่บริโภคไฮโดรเจนแสดงดังตารางที่ 5.3 ซึ่งจะเห็นได้ถึงแนวโน้มที่ได้เปรียบของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่บริโภคไฮโดรเจนเหนือแบคทีเรียสร้างมีเทน และแนวโน้มที่ได้เปรียบของแบคทีเรียสร้างทีเทนเหนือแบกทีเรียสร้างอะซิเตทที่สร้างไฮโดรเจน ในส่วนของแบคทีเรียสร้างอะซิเตทที่บริโภคไฮโดรเจนเนื่องจากค่าพลังงานทางเทอร์โมไดนามิกส์ที่น้อยกว่าแบคทีเรียกลุ่มอื่นที่บริโภคไฮโดรเจนด้วยกัน อีกทั้งยังมีความสำคัญน้อยในระบบที่ความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนต่ำ เพราะการแข่งขันแย่งไฮโดรเจนเกิดขึ้นอย่างรุนแรง จึงไม่นำแบคทีเรียชนิดนี้มาร่วมพิจารณาด้วย ส่วนแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างมีเทน ข้อมูลทางเทอร์โมไดนามิกส์เพียงลำพังยังไม่เพียงพอต่อการทำนายผลการแข่งขันของแบคทีเรียทั้งสองกลุ่มนี้ได้ จำเป็นต้องพิจารณาถึงปัจจัยทางจลน์ศาสตร์ร่วมด้วย

ตารางที่ 5.3 ค่าพลังงานทางเทอร์โมไดนามิกส์ของแบคทีเรียที่บริโภคไฮโดรเจน

(ปรับปรุงจาก Madigan และคณะ, 1997)

ประเภทแบคทีเรีย	สารอาหาร	สมการปฏิกิริยา	$\Delta G^{0\prime}$ (kJ/mol)
SRB	ไฮโดรเจน	$4H_2 + SO_4^{2-} + H^+ \rightarrow 4H_2O + HS^-$	-38.0
MPB	ไฮโดรเจน	$4H_2 + CO_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O$	-33.9
Homoacetogens	ไฮโดรเจน	$4H_2 + H^+ + 2HCO_3^- \rightarrow CH_3COO^- + 4H_2O$	-26.2

- **ปัจจัยทางจลน์ศาสตร์**

ค่าพารามิเตอร์ทางจลน์ศาสตร์ที่ใช้พิจารณาในการแข่งขันเพื่อแย่งใช้ไฮโดรเจนของแบคทีเรียทั้งสองกลุ่ม แสดงดังตารางที่ 5.4 ซึ่งจะเห็นได้ว่า แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตส่วนใหญ่มีค่า q_{max}/K_m , μ_{max} และ μ_{max}/K_s สูงกว่าแบคทีเรียสร้างมีเทน แต่แบคทีเรียสร้างมีเทนบางชนิดก็มีพารามิเตอร์ทางจลน์ศาสตร์ที่ได้เปรียบกว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเช่นกัน อย่างไรก็ตาม ถ้าพิจารณาถึงค่ายีลด์ในตารางที่ 5.5 ประกอบด้วย จะพบว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีค่ายีลด์ที่สูงกว่าอย่างเห็นได้ชัด

ข้อมูลที่ได้จากตารางที่ 5.4 และ 5.5 ชี้ให้เห็นว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่บริโภคไฮโดรเจนส่วนใหญ่จะมีค่าอัตราการเจริญเติบโตที่สูงกว่า, มีความชอบที่จะใช้ไฮโดรเจนมากกว่า (higher affinity) และมีค่ายีลด์ที่สูงกว่าแบคทีเรียสร้างมีเทนที่บริโภคไฮโดรเจน จึงพอจะสรุปได้ว่า ในทางจลน์ศาสตร์ แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตส่วนใหญ่มีสมบัติในการเจริญเติบโตที่เหนือกว่าแบคทีเรียสร้างมีเทนที่บริโภคไฮโดรเจน

5.2.3 การแข่งขันระหว่างแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างมีเทนในการแย่งใช้อะซิเตท

อะซิเตทเป็นสารอินเทอร์มีเดียทที่สำคัญที่สุดในกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้อากาศ เนื่องจากประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ของซีโอดีที่ถูกกำจัดจะถูกย่อยสลายผ่านอะซิเตท ซึ่งในกระบวนการไม่ใช้อากาศที่มีซัลเฟต แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างมีเทนต่างก็แข่งขันกันเพื่อใช้อะซิเตทที่มีอยู่ในระบบ แต่แบคทีเรียประเภทใดจะเป็นฝ่ายชนะและสามารถกลายเป็นกลุ่มที่โดดเด่น

ตารางที่ 5.4 ค่าพารามิเตอร์ทางจลน์ศาสตร์สำหรับการใช้ไฮโดรเจน
โดยแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างมีเทน (Widdel, 1988)

แบคทีเรีย	อุณห-ภูมิ	สำหรับการบริโภคไฮโดรเจน			สำหรับการเติบโตด้วยไฮโดรเจน		
		V_{max}	K_m	V_{max}/K_m	μ_{max}	K_S	μ_{max}/K_S
	°C	$\mu mol \cdot g^{-} \cdot h^{-1}$	$\mu mol \cdot l^{-1}$	$L \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$	(h^{-1})	$\mu mol \cdot l^{-1}$	$L \cdot \mu mol \cdot h^{-1}$
แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต							
Desulfovibrio							
Vulgaris (Marburg)	**35**	**880**	**1.3**	**660**	**nd**	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**
	35	**79,000**	**วัดไม่พบ**	**nd**	**0.23**	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**
Vulgaris	**37**	**1,770**	**1.9**	**930**	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**
Desulfuricans	**37**	**5,280**	**1.8**	**2,930**	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**
sp.G11	**37**	**3,300**	**11**	**3,000**	**0.057**	**3.3**	**0.017**
sp.PS1	**37**	**3,300**	**0.7**	**4,710**	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**
Lake sediment + SO_4^{2-}	**20**	**วัดไม่พบ**	**1.1**	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**
(freshwater, eutrophic)							
แบคทีเรียสร้างมีเทน							
Methanobrevibacter	**35**	**8,510**	**6.6**	**1,290**	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**
Arboriphilus	**33**	**215,000**	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**	**0.144**	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**
	23	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**	**5**	**วัดไม่พบ**
Methanospirillum							
Hungatei	**37**	**4,200**	**5.0**	**840**	**0.053**	**0.6**	**0.008**
sp.PM1	**37**	**5,400**	**2.5**	**2,160**	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**
Methanococcus	**37**	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**	**0.18**	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**
Maripaludis							
Methanosarcina	**37**	**6,600**	**13**	**510**	**0.058**	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**
Barkeri							
Lake sediment	**20**	**วัดไม่พบ**	**4.7**	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**
(freshwater, eutrophic)	**10-14**	**วัดไม่พบ**	**1.1-4.1**	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**
Sewage digester Sludge	**33**	**วัดไม่พบ**	**78**	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**	**วัดไม่พบ**

ตารางที่ 5.5 ค่ายีลด์ (Y) ของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต, แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟอร์และแบคทีเรียสร้างมีเทนในการใช้ไฮโดรเจน (Widdel, 1988)

ชนิด	สับสเตรท	ยีลด์แท้ (ก.เซลล์/โมล ไฮโดรเจน)
Desulfovibrio	$H_2 + SO_4^{2-}$	**2.1; 2.9**
Vulgaris (Marburg)	$H_2 + S_2O_3^{2-}$	**4.2**
Desulfotomaculum	$H_2 + SO_4^{2-}$	**1.9; 3.1**
Orientis (Singapore I)	$H_2 + SO_3^{2-}$	**4**
	$H_2 + S_2O_3^{2-}$	**4.5**
แบคทีเรียสร้างมีเทน		
Methanosarcina	$H_2 + CO_2$	**0.7-2.2**
เมทธาโนเจนบริโภคไฮโดรเจนตัวอื่น	$H_2 + CO_2$	**0.5-1.0**

ในระบบนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ปัจจัยประการแรกๆ ที่นำมาพิจารณาก่อนได้แก่ปัจจัยทางเทอร์โมไดนามิกส์และปัจจัยทางจลน์ศาสตร์

- **ปัจจัยทางเทอร์โมไดนามิกส์**

ค่าพลังงานทางเทอร์โมไดนามิกส์ที่ได้จากการใช้อะซิเตทเป็นแหล่งพลังงานของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างมีเทน แสดงในตารางที่ 5.6

ตารางที่ 5.6 ค่าพลังงานทางเทอร์โมไดนามิกส์ของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างมีเทนที่บริโภคอะซิเตท (ปรับปรุงจาก Mizuno และคณะ, 1994)

ประเภทแบคทีเรีย	สารอาหาร	สมการ	ΔG_0 (kJ/mol)
SRB	อะซิเตท	$CH_3COO^- + SO_4^{2-} \rightarrow HS^- + 2HCO_3^-$	-47.6
MPB	อะซิเตท	$CH_3COO^- + H_2O \rightarrow CH_4 + HCO_3^-$	-28.0

จะเห็นได้ว่าพลังงานที่ได้จากการใช้ซัลเฟตเป็นตัวรับอิเล็กตรอนโดยแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต จะมากกว่าพลังงานที่ได้จากการผลิตมีเทนของแบคทีเรียสร้างมีเทน ดังนั้นเมื่อพิจารณาเฉพาะปัจจัยทางเทอร์โมไดนามิกส์ กรณีที่สารอาหารไม่เป็นตัวจำกัดอัตราการเจริญเติบโตแล้ว แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีแนวโน้มที่จะเอาชนะแบคทีเรียสร้างมีเทนได้

- **ปัจจัยทางจลน์ศาสตร์**

ค่าพารามิเตอร์ทางจลน์ศาสตร์ที่นำมาพิจารณาในการแข่งขันกันแย่งใช้อะซิเตทของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างมีเทน แสดงในตารางที่ 5.7

ซึ่งจากข้อมูลทางเทอร์โมไดนามิกส์ พบว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีข้อได้เปรียบแบคทีเรียสร้างมีเทนอย่างชัดเจน ส่วนข้อมูลทางจลน์ศาสตร์ในตารางที่ 5.7 พิจารณาค่า μ_{max}/K_S ที่สภาพแวดล้อมในการวิจัยคล้ายๆ กัน (เช่น เปรียบเทียบระหว่าง Enrichment culture ด้วยกัน หรือ Granular sludge ด้วยกัน) พบว่าค่า μ_{max}/K_S ของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีค่ามากกว่าทั้งหมด โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ความเข้มข้นของอะซิเตทต่ำ แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตสามารถเอาชนะแบคทีเรีย

สร้างมีเทนได้เนื่องจากอัตราการใช้สารอาหารที่สูงกว่า และเมื่อพิจารณาถึงค่ายีลด์ก็พบว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตส่วนใหญ่ก็มีค่ายีลด์ที่สูงกว่าด้วย แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการใช้สารอาหารและการเจริญเติบโตที่เหนือกว่าของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต

5.3 ปัจจัยแวดล้อมที่มีผลต่อความสัมพันธ์ของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างมีเทน

ในประเด็นเรื่องการแข่งขันระหว่างแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างเทน ความรู้ทางทฤษฎีแสดงให้เห็นแล้วว่า แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตควรจะชนะแบคทีเรียสร้างมีเทนในการแย่งใช้สับสเตรท อย่างไรก็ตาม การทดลองวิจัยในห้องปฏิบัติการได้ผลที่ขัดแย้งกัน บางชิ้นก็สนับสนุนข้อมูลจลน์ศาสตร์และเทอร์โมไดนามิกซ์ แต่หลายชิ้นก็ขัดแย้ง ดังจะเห็นได้จากตารางที่ 5.8 ซึ่งแสดงผลวิจัยที่ได้จากการทดลองบำบัดน้ำเสียที่มีซัลเฟตสูง (Visser 1994) การทดลองนี้มีการเลี้ยงแบคทีเรียในสภาพที่เป็นเม็ดและที่เป็นฟิล์มด้วยสับสเตรท 2 ชนิดคือ อะซิเตทและกรดอินทรีย์ระเหยอื่น ปรากฏว่าบางการทดลองมีเฉพาะกาซมีเทนแต่ก็มีการทดลองที่ไม่เกิดกาซมีเทนเลย Visser (1994) อธิบายว่า ในสภาพแวดล้อมบางอย่างที่เหมาะสม แบคทีเรียสร้างมีเทนยังมีโอกาสที่จะเอาชนะแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตได้ นั่นก็คือ นอกเหนือจากปัจจัยทางเทอร์โมไดนามิกส์และจลน์ศาสตร์ที่จะต้องนำมาพิจารณาแล้ว ยังคงมีปัจจัยอื่นๆ อีกที่ต้องนำมาพิจารณาประกอบ เพื่อดูว่าแบคทีเรียประเภทใดจะเป็นฝ่ายชนะในการแย่งใช้อะซิเตท ปัจจัยที่อาจมีผลต่อการแข่งขันระหว่างแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างเทน ปัจจัยเหล่านั้น ได้แก่

ตารางที่ 5.7 ค่าพารามิเตอร์ทางจลน์ศาสตร์ของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างมีเทนที่ใช้อะซิเตทเป็นสารอาหาร (Visser, 1994)

ชนิด	K_S (mM)	μ_{max} (วัน $^{-1}$)	μ_{max}/K_S	ยีลด์แท้ (g VSS·mol^{-1})	พีเอช	อุณหภูมิ ($^{\circ}$ซ)
SRB						
Desulfobacter postagei		**1.03**		**2.56**		**28**
Desulfotomaculum						
Acetoxidans		**0.55**		**5.52**	**7.1**	**36**
Acetoxidans		**1.44**		**7.55**	**7.1**	**36**
Deslufonema limicola		**0.55**			**7.6**	**30**
Enrichment culture	**0.10**	**0.51**	**5.1**			**31**
Biofilm	**0.17**	**0.015**	**0.088**	**3.7**	**7.5**	**30**
Granular sludge	**0.9**	**0.11**	**0.12**		**7.5**	**30**
crushed granular sludge	**0.17**	**0.06**	**0.35**		**7.5**	**30**
MPB						
Methanothrix						
Soehngenii	**0.44**	**0.11**	**0.25**	**1.47**	**7.6**	**37**
Concilii	**1.20**	**0.69**	**0.575**	**1.15**	**7.2**	**35**
Methanosarcina barkeri	**0.69**	**2.4**	**3.47**		**6.3**	**35**
Enrichment culture	**5.60**	**0.26**	**0.046**			**30**
Enrichment culture	**0.55**	**0.037**	**0.067**	**3.2**	**7.5**	**30**
Granular sludge	**0.9**	**0.08**	**0.089**		**7.5**	**30**
Crushed granular sludge	**0.41**	**0.04**	**0.098**		**7.5**	**30**

ตารางที่ 5.8 ผลการวิจัยของการใช้ถังปฏิกรณ์ไม่ใช้อากาศบำบัดน้ำเสียที่มีซัลเฟตสูง

(ดัดแปลงจาก Visser, 1994)

สับสเตรท	Biomass	% COD กลายเป็นไฮโดรเจนซัลไฟล์	อัตราส่วน CH_4:H_2S	Ref.
อะซิเตท	ฟิล์มชีวภาพ	62.5	0.5	1
อะซิเตท	ฟิล์มชีวภาพ	-	>0.9	1
อะซิเตท	สลัดจ์เม็ด	0.0	∞	2
อะซิเตท	สลัดจ์เม็ด	100	0	3
กรดไขมัน	สลัดจ์เม็ด	25	3	4
ระเหยต่างๆ	สลัดจ์เม็ด	66.7	0.5	5

1. Yoda และคณะ, 1988; 2. Renzema, 1988; 3. Visser, 1994; 4. Rinzema และคณะ,1986

5. Rinzema และ Schultz, 1987

- **อุณหภูมิ**

แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างมีเทนที่ใช้อะซิเตทมีช่วงอุณหภูมิที่สามารถเจริญเติบโตได้และอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดต่อการเจริญเติบโตใกล้เคียงกันโดยเฉพาะในช่วงอุณหภูมิเมโซฟิลิก ซึ่งจากผลการทดลองของ Visser (1994) พบว่า activity ของสลัดจ์ของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและของแบคทีเรียสร้างมีเทนมีค่าใกล้เคียงกันซึ่งค่า activity นี้เป็นฟังก์ชันของอุณหภูมิ ดังนั้นเมื่อพิจารณาในช่วงเวลาสั้นๆ จึงคาดว่าจะไม่มีผลกระทบจากอุณหภูมิในช่วงเมโซฟิลิก

Visser และคณะ (1993 อ้างถึงใน Visser, 1994) ศึกษาถึงผลกระทบเนื่องจากอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงอย่างกระทันหันที่มีต่อกระบวนการซัลเฟตรีดักชัน และกระบวนการสร้างมีเทนในถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบี พบว่าการเพิ่มอุณหภูมิเข้าสู่ช่วง

55–65 องศาเซลเซียสอย่างกระทันหัน ทำให้แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตได้เปรียบแบคทีเรียสร้างมีเทนในการแย่งใช้อะซิเตทและหลังจากการเพิ่มอุณหภูมินี้ก็พบว่าการใช้สารอาหารเนื่องจากแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีค่าสูงขึ้น แสดงให้เห็นว่าสภาวะในช่วงเทอร์โมฟิลิกเอื้ออำนวยให้แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเอาชนะแบคทีเรียสร้างมีเทนได้ ทั้งในการแย่งใช้ไฮโดรเจนและอะซิเตท

- **ความเข้มข้นของอิออนของเหล็ก (Fe^{2+})**

กระบวนการไม่ใช้อากาศที่มีซัลเฟตอยู่ด้วยมักได้ผลิตภัณฑ์เป็นซัลไฟด์เกิดขึ้นเสมอ และก็เป็นที่รู้กันมานานแล้วว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีความต้องการเหล็กในปริมาณที่สูง ดังนั้นการตกตะกอนของเหล็กซัลไฟด์สามารถทำให้เกิดการจำกัดการเจริญเติบโตของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเนื่องจากการขาดเหล็กได้ และอาจทำให้แบคทีเรียสร้างมีเทนมีข้อได้เปรียบและสามารถเอาชนะแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตได้

- **การเกาะติดของแบคทีเรีย**

นอกจากลักษณะสมบัติเฉพาะตัว (ทางจลน์ศาสตร์ส์และเทอร์โมไดนามิกส์)แล้ว ความสามารถในการเกาะติดหรือสร้างเม็ดตะกอนเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่กำหนดผลการแข่งขัน สิ่งที่ทำให้ถังปฏิกรณ์แบบไม่ใช้อากาศแบบฟิล์มชีวภาพสามารถทำงานได้ที่อัตราบำบัดสูงอย่างมีประสิทธิภาพนั้น ขึ้นอยู่กับการเกาะติดของมวลชีวภาพและเวลากักเซลล์ แบคทีเรียที่ไม่มีความสามารถในการเกาะตัวเป็นเม็ดสลัดจ์หรือฟิล์มชีวภาพจะถูกพัดพาออกไป ในขณะที่แบคทีเรียที่มีความสามารถในการเกาะติดจะยังคงอยู่ในถังปฏิกรณ์

Isa และคณะ (1986) ทำการทดลองหาบทบาทของความสามารถในการเกาะติดของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างมีเทนในถังกรองไม่ใช้อากาศที่ป้อนด้วย อะซิเตท, เอทธานอลและซัลเฟตมากเกินพอ พบว่าอะซิเตทและเอทธานอลจำนวนมากถูกย่อยสลายได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ Isa ยังสังเกตเห็นว่าอัตราส่วนระหว่างจำนวนของแบคทีเรียสร้างมีเทนที่มีอยู่ในถังปฏิกรณ์ต่อจำนวนที่มีอยู่ในน้ำทิ้งมีค่าสูงกว่าอัตราส่วนของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมาก ยิ่งไปกว่านั้น Isa ยังพบว่า activity ที่วัดได้ในถังปฏิกรณ์จะสัมพันธ์กับแบคทีเรียสร้างมีเทนมากกว่า ส่วนในน้ำทิ้งจะสัมพันธ์กับแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมากกว่า ข้อมูลเหล่านี้แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการเกาะติดที่เหนือกว่าของแบคทีเรียสร้างมีเทน ทำให้แบคทีเรียสร้างมีเทนสามาถแข่งขันกับแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่ Visser (1994) ได้แสดงความคิดเห็นเกี่ยวกับการทดลองของ Isa และคณะ (1986) ไว้ว่าการทดลองของ Isa ขาดความถูกต้องในเรื่องการนับจำนวนแบคทีเรียและการวัด activity ซึ่งอาจทำให้ผลการทดลองที่ได้คลาดเคลื่อนจากความเป็นจริง

ต่อมา Alphenaar และคณะ (1993) และ Visser และคณะ (1993b) (อ้างถึงใน Visser, 1994:8) ได้ศึกษาถึงกระบวนการเกิดเป็นเม็ดสลัดจ์ในถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีที่บำบัดน้ำเสียที่มีซัลเฟต พบว่ากระบวนการซัลเฟตรีดักชันจะกลายเป็นกระบวนการหลักในการกำจัดสารอินทรีย์ถ้าหากมีเวลามากพอ เม็ดสลัดจ์เกิดขึ้นได้ดีและเป็นเม็ดสลัดจ์ที่ทำให้เกิดการรีดิวซ์ซัลเฟตเป็นหลัก แต่อย่างไรก็ตามในการทดลองเดียวกันนี้พบว่า แบคทีเรียรีดิวว์ซัลเฟตไม่สามารถสร้างเม็ดสลัดจ์ขึ้นมาได้เองโดยไม่มีแบคทีเรียสร้างมีเทน โดยสลัดจ์ที่เกิดขึ้นจะมีลักษณะเป็น

เ พี ย ง

ฟล็อคเท่านั้น ซึ่งสันนิษฐานว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตอาจใช้แบคทีเรียสร้างมีเทนเป็นแกนในการเกิดเม็ด แสดงว่าในระบบผสมที่มีทั้งแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างมีเทน แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะมีความสามารถในการเกาะติดเพียงพอที่จะแข่งขันกับแบคทีเรียสร้างมีเทนในการใช้สารอาหารทั้งไฮโดรเจนและอะซิเตท ดังนั้น จึงน่าจะตั้งสมมติฐานได้ว่าความสามารถในการเกาะติดของแบคทีเรียสร้างมีเทนและแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีค่าใกล้เคียงกันมากกว่าที่จะแตกต่างกันอย่างมากมาย

- **อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟต**

จากปัจจัยทางจลน์ศาสตร์และเทอร์โมไดนามิกส์ที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น จะเห็นได้ว่าแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตได้เปรียบแบคทีเรียสร้างมีเทนในการแข่งขันใช้สารอาหารและมีแนวโน้มว่าจะชนะแบคทีเรียสร้างมีเทนได้ แต่ในทางปฏิบัติแล้วแบคทีเรียชนิดใดจะเป็นผู้ชนะขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมในขณะนั้นเป็นอย่างมาก เช่น ในกรณีที่ซัลเฟตเป็นตัวจำกัดการเจริญเติบโตของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต แบคทีเรียสร้างมีเทนก็มีโอกาสที่จะเอาชนะแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตได้ หรือในกรณีที่สารอินทรีย์ในระบบมีอยู่อย่างจำกัดในขณะที่มีซัลเฟตอยู่อย่างเหลือเฟือ ซีโอดีเป็นตัวจำกัดการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทั้งสองประเภท แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตก็มีโอกาสเอาชนะแบคทีเรียสร้างมีเทนได้เช่นกัน ดังนั้น ปัจจัยอีกประการหนึ่งที่สำคัญมากในการตัดสินว่าแบคทีเรียประเภทใดจะเป็นฝ่ายชนะในระบบหนึ่งๆ จึงขึ้นอยู่กับอัตราส่วนระหว่างซีโอดีต่อซัลเฟต โดยที่ศักยภาพของแบคทีเรียสร้างมีเทนในการเอาชนะแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะมีมากขึ้นเมื่ออัตราส่วนนี้มีค่าสูงขึ้น ในทางกลับกันแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตก็มีโอกาสเอาชนะแบคทีเรียสร้างมีเทนได้มากขึ้นเมื่ออัตราส่วนนี้ลดต่ำลงและความเข้มข้นของซัลไฟด์ที่เกิดขึ้นไม่สะสมจนทำให้เกิดการยับยั้งการใช้สารอาหาร แต่ข้อมูล

เกี่ยวกับอัตราส่วนนี้ยังไม่เป็นที่แน่นอนเช่นเดียวกับความเข้มข้นของซัลไฟด์ที่ทำให้เกิดการยับยั้งการทำงานของแบคทีเรีย โดยงานวิจัยของ Choi และ Rim (1991 อ้างถึงใน McCartney และ Oleskiewicz, 1993: 656) พบว่าอัตราส่วนนี้มีค่าระหว่าง 1.7–2.7 ถ้าอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตมีค่าอยู่ระหว่างนี้จะเกิดการแข่งขันระหว่างแบคทีเรียทั้งสองประเภท แต่ถ้าอัตราส่วนสูงกว่านี้ แบคทีเรียสร้างมีเทนจะเป็นฝ่ายชนะ ในทางกลับกันถ้าอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตต่ำกว่าค่านี้ แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตก็จะเอาชนะได้เช่นกัน งานวิจัยของ Prasad (1991 อ้างถึงใน McCartney และ Oleskiewicz, 1993: 656) พบว่าอัตราส่วนนี้มีค่าเท่ากับ 1 และในงานวิจัยของ McCartney และ Oleskiewicz (1993:663) เองพบว่าอัตราส่วนนี้มีค่าระหว่าง 1.6–3.7 จากงานวิจัยทั้งหลายที่ได้กล่าวมานี้สามารถสรุปได้ดังตารางที่ 5.9

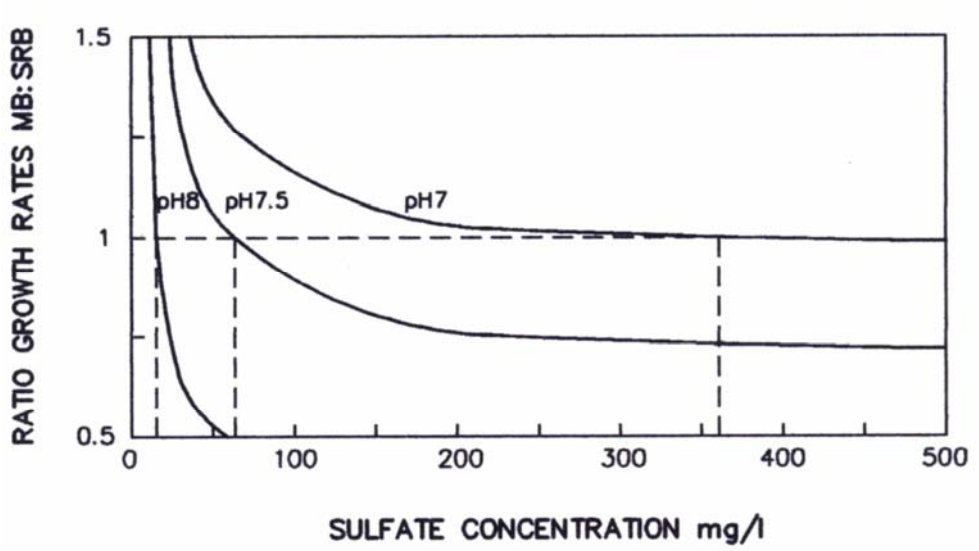
ตารางที่ 5.9 ผลของอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตต่อการแข่งขันของแบคทีเรียสร้างมีเทนและแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในงานวิจัยต่าง ๆ

ลำดับที่	อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟต		ชนิดของสารอาหาร	ลักษณะถังปฏิกรณ์	ผู้วิจัย
	SRB ชนะ	MPB ชนะ			
1	0.5	6	บิวทิเรต	chemostat	Mizuno O., Li Y.Y. และ Noike T. (1994)
2	1.6	3.7	-	ขวดซีรัม	McCartney และ Oleszkiewicz (1993)
3*	1.7	2.7	แลกเตท	-	Choi และคณะ (1991)
4*	-	> 1	-	-	Prasad และคณะ (1991)

* อ้างถึงใน McCartney และ Oleszkiewicz (1993)

- **ความเข้มข้นของซัลเฟต**

ดังที่ได้กล่าวมาแล้วก่อนหน้านี้ การเจริญเติบโตของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตสามารถถูกจำกัดได้เนื่องจากความเข้มข้นในระบบของสารให้อิเล็กตรอน (อะซิเตท) และสารรับอิเล็กตรอน (ซัลเฟต) ดังแสดงในรูปที่ 5.3 ซึ่งแสดงให้เห็นถึงผลกระทบของความเข้มข้นของซัลเฟตที่มีต่อพารามิเตอร์ทางจลน์ศาสตร์ที่วัดได้จากเม็ดสลัดจ์ รูปที่ 5.3 แสดงให้เห็นได้อย่างชัดเจนว่า ที่ความเข้มข้นของซัลเฟตต่ำๆ นั้น แบคทีเรียสร้างมีเทนเจริญเติบโตได้ดีกว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต



รูปที่ 5.3 ความเข้มข้นของซัลเฟตที่มีผลต่อการเติบโตของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างมีเทน

นอกเหนือจากการจำกัดอัตราการเจริญเติบโตเนื่องจากซัลเฟตโดยตรงแล้ว ที่ระดับความเข้มข้นของซัลเฟตต่ำๆ แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ย่อยสลายอะซิเตทจะต้องแข่งขันกับแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตชนิดอื่นๆ เพื่อแย่งซัลเฟตที่มีอยู่ด้วย ซึ่งแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตแต่ละชนิดก็มีความสามารถในการนำซัลเฟตมาใช้ที่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 5.10 จะเห็นได้ว่า Desulfobacter postagei ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่บริโภคอะซิเตทมีความชอบซัลเฟต (Sulfate Affinity, K_S) น้อยกว่า Desulfovibrio ซึ่งเป็นพวกบริโภคไฮโดรเจน Visser (1994) แสดงให้เห็นว่าความชอบซัลเฟตจะลดลงตามลำดับต่อไปนี้ คือ Desulfovibrio, Desulfobulbus และ Desulfobacter ซึ่งมีความสามารถในการย่อยสลายไฮโดรเจน, โพรพิโอเนต และอะซิเตทตามลำดับ

ตารางที่ 5.10 ความชอบซัลเฟต (Sulfate Affinity, K_S) ของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต

Species	K_S (mg/l SO_4)
Desulfovibrio vulgaris (Marburg)	**0.5**
Desulfovibrio vulgaris (Hildenborough)	**3**
Desulfovibrio sapovorans	**0.7**
Desulfovibrio salexigens	**7**
Desulfobacter postagei	**19**
ฟิล์มชีวภาพ, อะซิเตทเป็นตัวให้อิเล็กตรอน	**45**
สลัดจ์แขวนลอย, อะซิเตทเป็นตัวให้อิเล็กตรอน	**30**

ดังนั้นภายใต้สภาวะที่มีซัลเฟตอยู่อย่างจำกัด จึงเป็นที่คาดกันว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่บริโภคอะซิเตทจะถูกแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตประเภทอื่นๆ เอาชนะได้ ซึ่งจะทำให้แบคทีเรียสร้างมีเทนสามารถแข่งขันกับแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตได้ในการแย่งใช้อะซิเตท แต่สำหรับน้ำเสียที่มีซัลเฟตมากเกินพอ การแข่งขันเพื่อแย่งซัลเฟตดูเหมือนว่าจะมีความสำคัญลดลง อย่างไรก็ตาม เนื่องจากมีข้อจำกัดในการแพร่ของซัลเฟตเข้าไปในฟิล์มชีวภาพหรือเม็ดสลัดจ์ อาจทำให้การจำกัดเนื่องจากซัลเฟตในมวลชีวภาพยังคงมีอยู่ นักวิจัยยังพบว่าความเข้มข้นของซัลเฟตที่น้อยกว่า 50 มก./ล. ทำให้เกิดการจำกัดเนื่องจากซัลเฟตในฟิล์มชีวภาพและสำหรับการเติบโตเป็นสลัดจ์ ระดับความเข้มข้นซัลเฟตที่ต่ำกว่า 300 มก./ล. ทำให้เกิดการจำกัดเนื่องจากซัลเฟต

- **พีเอช**

เช่นเดียวกับสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กในน้ำทั่วไป การเจริญเติบโตของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างมีเทนขึ้นอยู่กับพีเอชในน้ำที่อาศัยอยู่ Visser และคณะ (1994) ศึกษาถึงผลกระทบของพีเอชที่มีต่อกระบวนการซัลเฟตรีดักชันและกระบวนการสร้างมีเทนภายใต้สภาวะเทอร์โมฟิลิก (55°ซ) ผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 5.11 ซึ่งแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าที่พีเอชสูง กระบวนการซัลเฟตรีดักชันจะกลายเป็นกระบวนการที่โดดเด่น ในขณะที่ค่าพีเอชเข้าใกล้ค่าพีเอชที่เป็นกลางมากขึ้น แบคทีเรียสร้างมีเทนก็สามารถแข่งขันกับแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตได้มากขึ้น ส่วนผลการทดลองในช่วงเมโซฟิลิกก็ได้ผลที่คล้ายคลึงกัน (Visser, 1994)

ตารางที่ 5.11 สัดส่วนการใช้ซีโอดีของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างมีเทน

(Visser และคณะ1994)

ระดับพีเอชที่ใช้	%สับสเตรทที่ย่อยโดย SRB และ MPB*			
	ซีโอดีทั้งหมด**		อะซิเตท	
	SRB	MPB	SRB	MPB
6.5-7.5 เฉลี่ย	48	52	33	67
8.0-8.5 เฉลี่ย	85	15	79	21

*** การทดลองใช้ถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบี, อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส**

**** ใช้อะซิเตท, พรอพิโอเนท และบิวทิเรท ร่วมกับซัลเฟต**

- **สารประกอบที่เป็นพิษ**

แบคทีเรียสร้างมีเทนและแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตก็เหมือนกับแบคทีเรียอื่นที่ถูกยับยั้งเนื่องจากสารประกอบที่เป็นพิษชนิดต่างๆ กัน ซัลไฟด์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการซัลเฟตรีดักชันก็เป็นสารประกอบที่เป็นพิษชนิดหนึ่งด้วย ความเป็นพิษที่เกิดจากซัลไฟด์มีผลต่อการแข่งขันระหว่างแบกทีเรียทั้งสองกลุ่ม

บทที่ 6
จลน์ศาสตร์ของระบบบำบัดแบบไม่ใช้อากาศ

6.1 กิจกรรมต่างๆ ที่เกิดขึ้นในระหว่างการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์

การสร้างโมเดลทางจลน์ศาสตร์ของระบบชีวเคมี จำเป็นต้องจำแนกกิจกรรมต่างๆ ที่เกิดขึ้นในระหว่างการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์ให้ได้เสียก่อน จากนั้นจึงวิเคราะห์จลน์ศาสตร์ของกิจกรรมเหล่านั้นทีละอย่างให้มีความสัมพันธ์กับพารามิเตอร์หลักของระบบชีวเคมี เช่น ความเข้มข้นของจุลินทรีย์และของสับสเตรต เป็นต้น จลน์ศาสตร์ของระบบชีวเคมีต่างประเภทกันจะประกอบด้วยจลน์ศาสตร์ของกิจกรรมต่างๆ ของจุลินทรีย์รวมกันในหลากหลายแง่มุม

กิจกรรมต่าง ๆ ของจุลินทรีย์ที่มีชีวิตสามารถจำแนกออกได้เป็น 3 อย่าง ดังนี้

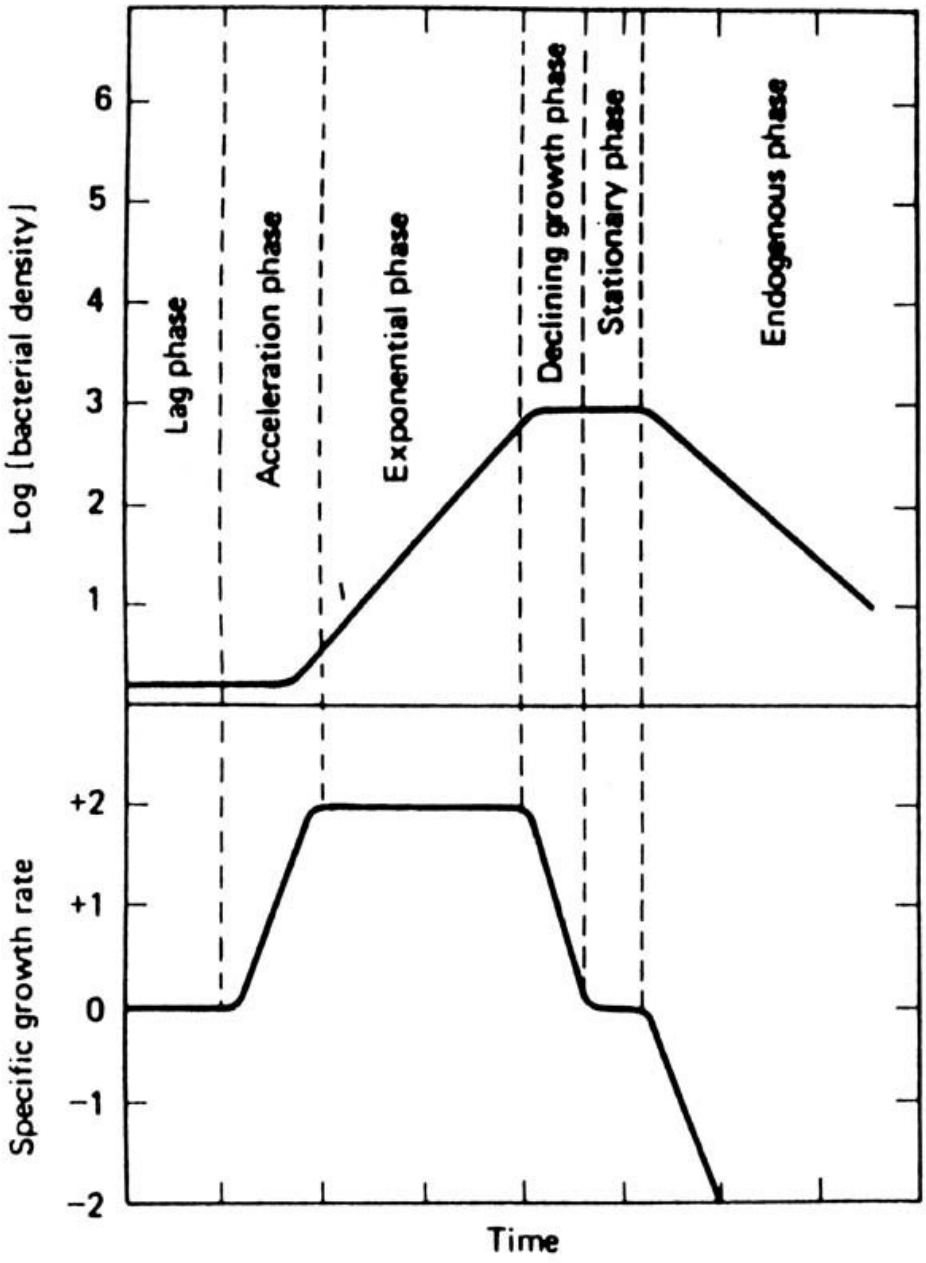
ก) การเจริญเติบโตของเซลล์ (ใช้หรือบริโภคสับสเตรต)
ข) การย่อยสลายตัวของเซลล์ (Decay) ซึ่งรวมถึงกิจกรรมทุกอย่างที่ทำให้มวลชีวภาพลดน้อยลง
ค) การตาย

การเจริญเติบโตและการใช้สับสเตรตเกิดขึ้นต่อเนื่องกัน จึงสามารถกล่าวไปพร้อมๆ กันได้ จุลินทรีย์บริโภคสับสเตรตเพื่อให้ได้พลังงานสำหรับดำรงชีวิตและเพื่อสร้างเซลล์ใหม่หรือซ่อมแซมส่วนสึกหรอ

เมื่อเติมแบคทีเรียที่มีชีวิตจำนวนเล็กน้อยลงไปในขวดเพาะเชื้อที่มีสารละลายอาหารอยู่อย่างสมบูรณ์และพอเพียง สภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมจะทำให้แบคทีเรียมีการเจริญเติบโตอย่างเต็มที่ การเติบโตของเซลล์เป็นการสะท้อนให้เห็นถึงการ

ทำงานของระบบเอนไซม์ที่ใช้ผลิตมหโมเลกุลต่างๆให้กับไซโตพลาสม อย่างไรก็ตาม การเพิ่มมวลให้กับไซโตพลาสมและการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์มีขีดจำกัด กล่าวคือ เมื่อเติบโตขึ้นถึงขนาดแล้ว เซลล์จะมีการแบ่งตัวทำให้ได้เซลล์ใหม่เกิดขึ้นซึ่งถือว่าเป็นการขยายพันธุ์นั่นเอง อัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรียส่วนใหญ่จะมีรูปแบบดังแสดงได้ด้วยกราฟในรูปที่ 6.1 กราฟในภาพนี้เรียกว่า กราฟของการเติบโต (Growth Curve) การเติบโตของจุลินทรีย์อาจแบ่งออกได้เป็น 6 ระยะ ดังนี้

1. ระยะปรับตัว (Lag Phase) จุลินทรีย์กำลังปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่จึงต้องการเวลาแบ่งตัวมาก ไม่มีการเติบโตเกิดขึ้น ขนาดของเซลล์และอัตราการเกิดเมตาบอลิสมมีค่าสูงสุด
2. ระยะเร่งเติบโต (Acceleration Phase) เวลาแบ่งตัวสั้นลง และมีอัตราเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น
3. ระยะเจริญเติบโตถึงขีดสุด (Exponential Phase) เวลาแบ่งตัวคงที่และสั้นที่สุด อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะถึงระดับสูงสุดและคงที่ การบริโภคสับสเตรตมีอัตราสูงสุด ระยะนี้ถือว่าเป็นสภาวะคงตัว (Steady State) ของเซลล์ ซึ่งแสดงให้เห็นได้จากการที่พารามิเตอร์ต่างๆ เช่น DNA/Cell,RNA/Cell, Protein/Cell ความหนาแน่นของเซลล์ เป็นต้น มีค่าคงที่และเซลล์มีขนาดเล็กที่สุด
4. ระยะลดการเติบโต (Declining Growth หรือ Retardation Phase) ต้องการเวลาแบ่งตัวของเซลล์เพิ่มขึ้นและอัตราการเจริญเติบโตเริ่มลดลงเพราะสับสเตรตมีปริมาณลดลง ระยะนี้มีการสะสมของเมตาบอไลต์ที่เป็นพิษเพิ่มขึ้น
5. ระยะพักการเติบโต (Stationary Phase) ไม่มีอาหารหรือสับสเตรตเหลืออีกแล้ว เมตาบอไลต์ที่เป็นพิษมีปริมาณสูง



รูปที่ 6.1 กราฟของการเติบโตของจุลินทรีย์

6. ระยะย่อยสลายตัวเอง (Endogenous Phase) การขาดแคลนอาหารที่อยู่ภายนอกเซลล์ ทำให้แบคทีเรียในระยะนี้ต้องย่อยสลายตัวเอง เพื่อให้ได้พลังงานสำหรับใช้ดำรงชีวิต (ทำให้ความเข้มข้นของแบคทีเรียมีปริมาณลดลง) อัตราตายของแบคทีเรียอยู่ในระดับสูง และมีการแตกของเซลล์เกิดขึ้นด้วย

อนึ่ง ควรต้องตระหนักว่า การเติบโตเป็นระยะทั้ง 6 ช่วงนี้ไม่ได้เป็นคุณสมบัติร่วมขั้นพื้นฐานของเซลล์แบคทีเรียทั่วไป กล่าวคือ แบคทีเรียไม่จำเป็นต้องมีการเติบโตทั้ง 6 ระยะการเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย (แบบไม่ต่อเนื่อง) ในถังเท (Batch Reactor) มีโอกาสจะพบการเติบโตทั้ง 6 ระยะเกิดขึ้นตามลำดับ แต่การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียแบบต่อเนื่อง อาจสามารถกำหนดและรักษาระยะเติบโตให้อยู่ในช่วงใดๆ ที่ต้องการได้

6.1.1 การเติบโตของจุลินทรีย์และการบริโภคสับสเตรต

เนื่องจากแบคทีเรียแบ่งตัวโดยอาศัยวิธีไบนารีฟิซชัน (Binary Fission) ซึ่งเป็นผลให้จำนวน (หรือมวล) ของมันเพิ่มขึ้นอย่างทวีคูณ (Exponential) อัตราเร็วของการเติบโตของแบคทีเรียจึงเป็นปฏิกิริยาที่มีลำดับหนึ่งดังนี้

$$r_{GXv} = \mu X_V \qquad (6.1)$$

โดยที่ r_{GXv} = เป็นอัตราการเพิ่มของแบคทีเรียที่มีชีวิต (มก./ล.- ชม.)

X_V = เป็นความเข้มข้นของแบคทีเรียที่มีชีวิต (มก./ล.)

μ = เป็นอัตราจำเพาะของการเติบโต (Specific Growth Rate) (ชม$^{-1}$)

μ นับเป็นค่าจำเพาะ เพราะหมายถึงอัตราการเติบโตของเซลล์ที่วัดในเทอมของความเข้มข้นของเซลล์ที่มีอยู่ในขณะที่ทำการวัด กล่าวคือ เป็นอัตราการเพิ่มของเซลล์ที่มีชีวิตต่อหนึ่งหน่วยมวลของเซลล์ที่มีชีวิตที่มีอยู่แล้วในขณะนั้น

ดังได้กล่าวมาแล้วว่า Y_g (True Growth Yield) เป็นยีลที่ได้จากการเจริญเติบโตซึ่งไม่ต้องแบ่งสับสเตรตให้กับการสร้างพลังงาน อาจเขียนแทน Y_g ได้ด้วยสมการดังนี้

$$Y_g = r_{GXv} / r_S \qquad (6.2)$$

โดย r_S = เป็นอัตราการบริโภคสับสเตรต (มก./ล. - ชม.)
เมื่อรวมสมการ (6.1) และ (6.2) เข้าด้วยกัน จะได้สมการลำดับหนึ่งที่มีรูปคล้ายกับสมการ (6.1) ดังนี้

$$r_S = (\mu / Y_g) X_V \qquad (6.3)$$

จะเห็นได้ว่า r_S แปรโดยตรงกับปริมาณของแบคทีเรียที่มีชีวิต (X_V) ถ้าให้ $q = \mu/Y_g$ และเรียก q ว่าเป็นอัตราจำเพาะในการกำจัดสับสเตรต (Specific Rate of Substrate Removal) จะได้สมการใหม่จากสมการ (6.3) ดังนี้

$$r_S = q X_V \qquad (6.4)$$

สมัยก่อนเชื่อกันว่า การเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียแบบทวีคูณนี้สามารถเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อมีสับสเตรตและสารอาหาร (Nutrient) อย่างอื่นอยู่เป็นจำนวนมาก

อย่างไรก็ดีนับตั้งแต่ปี พ.ศ.2483 เป็นต้นมา มีข้อพิสูจน์ว่า แบคทีเรียสามารถเพิ่มจำนวนแบบทวีคูณได้ แม้กระทั่งในขณะที่มีสารอาหารและสับสเตรตในจำนวนน้อย (1) นอกจากนี้ยังพบอีกว่า μ ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารที่เป็นตัวกำหนดอัตราการเติบโตเท่านั้น (Growth Limiting Nutrient) สารที่กำหนดอัตราเร็วของการเติบโตคือสารที่มีปรากฏอยู่ในจำนวนน้อยกว่าจำนวนที่เซลล์ต้องการใช้สำหรับการเจริญเติบโต (เมื่อเปรียบเทียบกับสารอาหารตัวอื่น ซึ่งมีจำนวนเหลือเฟือ) สารนี้อาจจะเป็นสารอินทรีย์สับสเตรต, ไนโตรเจน, ฟอสฟอรัส, ออกซิเจน หรือธาตุอะไรก็ได้ที่จำเป็นต้องใช้ในการเจริญเติบโตของเซลล์

อย่างไรก็ตาม สารกำหนดอัตราการเติบโตจะต้องมีอยู่ตัวเดียวและเป็นตัวแปรตามที่มีปริมาณเปลี่ยนแปลง นับตั้งแต่เวลานั้นเป็นต้นมา แนวความคิดหรือการค้นพบดังกล่าวได้รับการขยายความเพิ่มเติมออกไปเป็นอันมาก และเป็นที่ยอมรับกันในปัจจุบันว่าเป็นพื้นฐานของความรู้ในด้านจลน์ศาสตร์ของจุลินทรีย์

6.1.2 การย่อยสลายตัวเองของจุลินทรีย์ (Microbial Decay)

การย่อยสลายตัวเองของเซลล์ เป็นพารามิเตอร์ที่รวมถึงการสูญเสียของมวลชีว-ภาพทุกแบบ การที่ต้องให้นิยามของพารามิเตอร์ตัวนี้ก่อน เพราะว่าการสูญเสียมวลชีวภาพโดยเฉพาะในการเลี้ยงจุลินทรีย์แบบผสม (Mixed Culture) มีสาเหตุมาจากหลายทางนอกเหนือจากการย่อยสลายตัวเองอย่างแท้จริงของเซลล์ ซึ่งหมายถึงการใช้ส่วนประกอบภายในเซลล์เพื่อสร้างพลังงานสำหรับดำรงชีวิตในระหว่างที่ไม่มีสับสเตรตอยู่ภายนอกเซลล์ ตัวอย่างก็คือความสัมพันธ์ระหว่าง ผู้ล่าและเหยื่อ (Predator and Prey) เช่น โปรโตซัวกินแบคทีเรีย ทำให้มวลของโปรโตซัวเพิ่มขึ้น ส่วนมวลของแบคทีเรียจะลดลง แต่เนื่องจากประสิทธิภาพของการเจริญเติบโตไม่มีทางถึง 100% มวลที่เพิ่มขึ้นของโปรโตซัวย่อมน้อยกว่ามวลของ

แบคทีเรียที่ถูกกินเสมอ ผลสุทธิที่ปรากฏก็คือมีการลดลงของมวลชีวภาพทั้งหมด แม้ว่าปฏิสัมพันธ์ระหว่าง Prey และ Predator สามารถถ่ายทอดออกมาให้เห็นเป็นโมเดลได้ แต่ก็มีความสลับซับซ้อนมาก ดังนั้นสมการที่ใช้ออกแบบปฏิบัติการชีวเคมี มักพอใจแค่เพียงสะท้อนความสัมพันธ์ระหว่าง Predator และ Prey ออกมาให้เห็นเป็นการสูญเสียมวลชีวภาพที่รวมอยู่ในเทอม อัตราการย่อยสลาย (Decay) ของเซลล์ ตัวอย่างอีกประการหนึ่งของการสูญเสียมวลชีวภาพก็คือ การแตกของเซลล์ (Cell Lysis) เป็นเหตุให้มีการรั่วไหลออกมาภายนอกเซลล์ของโปรโตพลาสม หรือส่วนประกอบอย่างอื่นของเซลล์

ด้วยเหตุนี้ จึงเห็นได้ว่าการย่อยสลายของเซลล์เป็นเทอมรวมที่มาจากสาเหตุหลายอย่างๆ ในการเขียนสมการสำหรับการย่อยสลายของเซลล์จึงมักสมมุติว่าอัตราเร็วของการสลายตัวของเซลล์ขึ้นอยู่กับชนิดของเซลล์ (ตายหรือมีชีวิต) ดังนี้

อัตราการสลายตัว ของเซลล์มีชีวิต = r_{DXv} = $b_V X_V$ (6.4)

อัตราการสลายตัวของเซลล์ตาย = r_{DXd} = $b_d X_d$ (6.5)

โดยที่ b_V และ b_d เป็นอัตราจำเพาะของการย่อยสลายของเซลล์ที่มีชีวิตและเซลล์ตายตามลำดับ เซลล์ที่มีชีวิตจะสูญเสียมวลชีวภาพไปได้โดยทุกแบบของการย่อยสลายของเซลล์ (เช่นย่อยสลายตัวเอง, เซลล์แตก และถูกกินโดยเซลล์ที่อยู่ตระกูลสูงกว่า ส่วนการสูญเสียมวลของเซลล์ที่ตายแล้วมีอยู่ 2 แบบ คือ โดยทางไลซิสและถูกกินโดยจุลินทรีย์อื่น ดังนั้นจึงน่าจะเป็นไปได้ว่า ค่า b_V ควรจะสูงกว่า b_d

โมเดลทางจลน์ศาสตร์โดยทั่วไป มักไม่แยกความแตกต่างระหว่าง b_V และ b_d กล่าวคือมักใช้ค่า b เพียงอย่างเดียวแทนทั้ง b_V และ b_d ทั้งนี้โดยถือว่า b เป็น

ค่าเฉลี่ยของเซลล์ที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต เนื่องจากดังกล่าวมาแล้วว่า b_d ควรจะต่ำกว่า b_v ดังนั้นในกรณีที่ระดับความมีชีวิต (Viability) ของกลุ่มจุลินทรีย์ลดน้อยลง ค่าของ b จึงควรจะลดลงด้วยหมายความว่า b ไม่ควรมีค่าคงที่เพราะสามารถเปลี่ยนแปลงได้ตามสภาวะการเจริญเติบโตของเซลล์ อย่างไรก็ดี ในทางปฏิบัติมักถือว่า ค่า b จะคงที่สำหรับการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์นั่นคือ

$$b = b_d = b_v \qquad (6.6)$$

เนื่องจากในเอกสารอ้างอิงส่วนใหญ่มักจะกล่าวถึงเฉพาะแต่ค่าของ b ข้อมูลเกี่ยวกับ b_d และ b_v หาได้ยากมาก จึงสมมุติว่าสมการ 6.6 สามารถใช้ได้ในทางปฏิบัติ

ตารางที่ 6.1 เป็นค่าทั่วไปของ b ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ใช้อากาศแบบผสมในน้ำเสียจากแหล่งต่างๆ (ข้อมูลของตารางนี้ได้มาจากการเลี้ยงจุลินทรีย์ให้เติบโตอย่างช้าๆ) งานวิจัยแสดงให้เห็นว่าชนิดของจุลินทรีย์มีอิทธิพลต่อค่าของ b และแหล่งคาร์บอนที่ใช้ก็มีอิทธิพลบ้างเหมือนกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากอิทธิพลที่มีต่อชนิดของสารพลังงานสูงที่สะสมอยู่ภายในเซลล์ ข้อที่น่าสนใจยิ่งกว่าคือความแตกต่างของค่า b ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แบบบริสุทธิ์และแบบผสม ค่า b ที่ได้มาจากการเลี้ยงเซลล์ผสมมักน้อยกว่าประมาณ 10 เท่า

สำหรับการออกแบบระบบเอเอสที่ใช้บำบัดน้ำเสียชุมชนเมือง ค่า b ควรมีค่าระหว่าง 0.002-0.003 ชม$^{-1}$ ส่วนค่า b ที่ใช้ในการบำบัดแบบไม่ใช้อากาศมีค่าอยู่ในช่วง 0.009-0.04 ต่อวัน (ดูตารางที่ 6.2) ขอให้สังเกตว่าข้อมูลดังกล่าวเป็นของแบคทีเรียหลักทั้ง 4 ชนิดที่มีบทบาทร่วมกันในการย่อยแบบไม่ใช้อากาศ

ตารางที่ 6.1 ค่า b ของจุลินทรีย์ผสมแบบใช้อากาศที่เลี้ยงในน้ำเสียประเภทต่างๆ

ชนิดของน้ำเสีย	b , ชม.$^{-1}$
น้ำเสียชุมชน	0.0020-0.0029
โรงงานสัตว์ปีก	0.030
กระดาษและเยื่อกระดาษ	0.0083
กระดาษและเยื่อกระดาษ	0.0015
โรงกลั่นน้ำมัน	0.010
แปรรูปกุ้ง	0.067
ถั่วเหลือง	0.006
สิ่งทอ	0.030-0.05
สิ่งทอ	0.001
ไทโอซัลเฟต	0.00042-0.00083
แปรรูปผักและผลไม้	0.0012-0.0079
เนยสด เนยแข็งและ หางนม	0.0023

ที่มา: Grady, C.P.L. Jr. and Lim,H.C (1980)

ในกรณีของระบบ UASB ที่มีเชื้อแบคทีเรียแบบเป็นเม็ด Dollfing (อ้างถึงใน Sam Soon PALNS และคณะ 1991) รายงานว่าส่วนผสมของเม็ดเชื้อแบคทีเรียที่บำบัดน้ำเสียของโรงงานน้ำตาลมีส่วนประกอบดังนี้

Acidogen :H_2 Utilizing Methanogen : Acetoclastic Methanogen:Acetogen= 0.9:0.08:0.01:0.01

จะเห็นได้ว่า แบคทีเรียสร้างกรดอินทรีย์ระเหยเป็นส่วนประกอบที่มีมากที่สุด (90%) ค่าคงที่ต่างๆ จึงควรพิจารณา จากแบคทีเรียสร้างกรด ดังนั้น b จึงควรมีค่าประมาณ 0.04 ต่อวัน

ตารางที่ 6.2 ค่าคงที่ b และ Yg ที่รวบรวมโดยSam Soon PALNS และคณะ (1991)

ชนิดของแบคทีเรียและที่มาของข้อมูล	b (ต่อวัน)	Y_g
Acidogens		
Hill and Barth (1977)	**0.04**	**0.14**
Denac *et al.* (1988)	**0.04**	**0.03**
Zoetemeyer *et al.* (1982)	**-**	**0.10**
Acetogens		
Lawrence and McCarty (1969)	**0.01**	**0.042**
Heyes and Hall (1983)	**0.015**	**-**
Heyes and Hall (1983)	**-**	**-**
Gujer and Zehnder (1983)	**-**	**0.036**
Acetoclastic methanogens		
Hill and Barth (1977)	**0.04**	**0.04**
Denac *et al.* (1988)	**0.015**	**0.03**
Ten Brummeler *et al.* (1985)	**-**	**0.031-0.034**
Lawrence and McCarty (1969)	**0.037**	**0.038**
Smith and Mah (1978)	**-**	**0.04**
Gujer and Zehnder (1983)	**0.015**	**0.04**
Lawrence and McCarty (1969)	**0.02**	**0.04**
H_2-utilising methanogens		
Shea *et al.* (1968)	**0.009**	**0.043**
Denac *et al.* (1988)	**0.09**	**0.029**
Gujer and Zehnder (1983)	**-**	**0.04**
Kaspar and Wuhrmann (1978)	**-**	**-**

6.1.3 ค่าของยีล

ยีล (Yield) หมายถึง ผลผลิตมวลชีวภาพ (จุลินทรีย์) ที่เกิดขึ้นจากการบริโภคสับสเตรทคิดต่อ 1 หน่วยของสับสเตรทที่ถูกใช้ไป ยีลมี 2 ชนิดคือ ยีลปรากฏ (Apparent Yield) และยีลแท้ (True Growth Yield) สัญลักษณ์ที่ใช้คือ Y และ Y_g ตามลำดับ

ขอยกตัวอย่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำซึ่งใช้เวลาเลี้ยงประมาณ 4 เดือน สมมติว่าชาวนากุ้งใส่อาหารกุ้งไปทั้งหมด 1.5 ตัน ในการเลี้ยงกุ้งให้ได้ 1 ตัน ยีลหรือผลผลิตกุ้งที่ได้คือ 1/1.5 = 0.67 ตัน/ตันอาหาร ตัวเลขนี้เป็นยีลปรากฏ (Y) ชาวนาแต่ละคนจะได้ค่ายีลปรากฏไม่เท่ากัน ผู้ที่มีความสามารถจะได้ค่า Y สูงกว่า ในทางจลน์ศาสตร์ของระบบบำบัดน้ำเสีย ค่ายีลปรากฏเป็นผลที่ได้จากการบำบัดน้ำเสียภายใต้สภาวะต่างๆ จึงมีค่าไม่คงที่ ในการวิเคราะห์ทางจลน์ศาสตร์ วิศวกรต้องการค่ายีลที่มีความคงที่มากกว่ายีลปรากฏ

ถ้าสับสเตรตทั้งหมดถูกใช้ในการสังเคราะห์เซลล์โดยไม่ต้องนำไปใช้เป็นพลังงาน ยีลที่ได้เรียกว่ายีลแท้หรือ True Growth Yield (Y_g) และอาจถือว่า Y_g ข อ ง จุลินทรีย์มีค่าคงที่ โดยปกติจุลินทรีย์ไม่สามารถนำสับสเตรตไปใช้สร้างเซลล์ได้ทั้งหมดเนื่องจากต้องใช้สร้างพลังงานด้วย ในทางปฏิบัติ ค่า Y_g ไม่มีจริงและวัดไม่ได้ แต่ค่าที่ใกล้เคียงที่สุด คือ ยีลที่วัดได้ในขณะที่จุลินทรีย์เจริญเติบโตอย่างรวดเร็วโดยไม่ถูกจำกัดด้วยสารอาหารใดๆ สับสเตรทแต่ละตัวควรให้ค่าผลผลิตเท่ากัน Y_g เป็นค่ายีลที่ดีที่สุดที่มีอยู่

ถ้าบางส่วนของสับสเตรตถูกนำไปใช้สร้างพลังงานเพื่อดำรงชีวิต ยีลที่ได้จะเป็นยีลปรากฏหรือ Observed Yield (Y_{obs}) พารามิเตอร์ตัวนี้มีค่าไม่คงที่และจะขึ้นอยู่กับสภาวะการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งสามารถควบคุมได้

ตารางที่ 6.3 แสดงถึงค่ายีลแท้ (Y_g) ของจุลินทรีย์ต่างๆ ของกระบวนการบำบัดน้ำเสีย จะเห็นได้ว่า Heterotroph (ในระบบเอเอส) มีค่า Y_g สูงกว่าแบคทีเรียอื่น (ขอให้เปรียบเทียบในหน่วยเดียวกัน) MPB มีค่า Y_g ต่ำกว่ามาก

สำหรับการบำบัดน้ำเสียชุมชนและสลัดจ์ ค่า Y_g และค่าคงที่อื่นๆ แสดงอยู่ในตารางที่ 6.4 และ 6.5 ตามลำดับ ค่า Y ในตารางนี้หมายถึงค่า Y_g จะเห็นได้ว่า Y_g ต้องเกิดจากแบคทีเรีย APB และ MPB และมีค่า 0.18 มก./มก.ซีโอดี ค่านี้ค่อนข้างสูงกว่าตัวเลขที่พบในที่อื่น แต่ก็ยังต่ำกว่า Y_g ของระบบใช้อากาศ

เนื่องจากสารอาหารแต่ละชนิดใช้เลี้ยงแบคทีเรีย 2 ตระกูล (คือพวกสร้างกรดและพวกสร้างกาซ) ผลผลิตเซลล์จึงต้องคิดรวมกันจากแบคทีเรียทั้ง 2 พวก

ตารางที่ 6.6 แสดงค่ายีลด์ที่ได้จากการย่อยสลายอาหารต่างๆชนิดภายใต้สภาวะที่ไม่ใช้อากาศ คาร์โบไฮเดรตให้พลังงานมากกว่าโปรตีน จึงสามารถสร้างเซลล์ได้มากกว่าดังจะเห็นได้จากค่า Y_g ที่สูงกว่า

ตารางที่ 6.7 ชี้ให้เห็นว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่บริโภคไฮโดรเจนส่วนใหญ่จะมีค่ายีลด์ที่สูงกว่าแบคทีเรียสร้างมีเทนที่บริโภคไฮโดรเจน

ตารางที่ 6.3 ค่ายีลแท้ของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ

(Rittmann, B.E and McCarty, P.L 2001)

ชนิดจุลินทรีย์	สารให้อิเล็กตรอน	สารรับอิเล็กตรอน	แหล่งคาร์บอน	f_s^o	ยีลแท้,Yg	
					ค่า	หน่วย
Aerobic,	Carbohydrate	O_2	BOD	0.7	0.49	ก.VSS/ก. BOD_L
Heterotroph	Other BOD	O_2	BOD	0.6	0.42	ก.VSS/ ก.BOD_L
Denitrifier	BOD	NO_3^-	BOD	0.5	0.25	ก.VSS/ก. BOD_L
	H_2	NO_3^-	CO_2	0.2	0.81	ก.VSS/ก. H_2
	S(s)	NO_3^-	CO_2	0.2	0.15	ก.VSS/ก.S
Nitrifying	NH_4^+	O_2	CO_2	0.14	0.34	ก.VSS/ ก.NH_4^+-N
Autrotroph	NO_2^-	O_2	CO_2	0.1	0.08	ก.VSS/ก. NO_2^--N
Methanogen	Acetate BOD	Acetate	Acetate	0.05	0.035	ก.VSS/ก. BOD_L
	H_2	CO_2	CO_2	0.08	0.45	ก.VSS/ก. H_2
Sulfide Oxidizing Autrotroph	H_2S	O_2	CO_2	0.2	0.28	ก.VSS/ ก. H_2S-S
Sulfate Reducer	H_2	SO_4^-	CO_2	0.05	0.28	ก.VSS/ก. H_2
	Acetate BOD	SO_4^-	Acetate	0.08	0.057	ก.VSS/ก. BOD_L
Fermenter	Sugar BOD	Sugar	Sugar	0.18	0.13	ก.VSS/ก. BOD_L

ตารางที่ 6.4 ค่าคงที่จลน์ศาสตร์ของการย่อยสลายแบบไม่ใช้อากาศของน้ำเสียชุมชนเมือง

(Henzen,M and Harremoes,P 1983)

ค่าคงที่	หน่วย	APB	MPB	รวม
μ_m	วัน$^{-1}$	2.0	0.4	0.4
K_s	มก.ซีโอดี /ล.	200	50	-
Y	มก.VSS/มก.ซีโอดี	0.15	0.03	0.18
K_m	มก.ซีโอดี/มก.VSS -วัน$^{-1}$	13	13	2

ตารางที่ 6.5 ค่าคงที่จลน์ศาสตร์ของการย่อยสลัดจ์ของน้ำเสียครัวเรือนแบบไม่ใช้อากาศ

(Grady,C.P.Jr and Lim,H.C1980)

ค่าคงที่	หน่วย	ช่วง	ค่าเฉลี่ย
K	วัน$^{-1}$	0.5-2	1.0
K_s	มก.ซีโอดี /ล.	500-2500	1500
Y	มก.VSS/มก.ซีโอดี	0.05-0.15	0.1
k_d	วัน$^{-1}$	0.02-0.05	0.03

ตารางที่ 6.6 ค่ายีลด์ที่ได้จากการย่อยสลายอาหารต่างๆ ชนิดภายใต้สภาวะที่ไม่ใช้อากาศ

(Grady,C.P.Jr and Lim,H.C1980)

ชนิดของสารอาหาร	Y_g (กรัมเซลล์/กรัมซีโอดีที่ถูกกำจัด)
คาร์โบไฮเดรท	0.35
โปรตีน	0.20
อะซิเตท	0.032
พรอพิออเนท	0.037
บิวไทเรท	0.058
ไฮโดรเจน	0.030
ไขมัน	0.038

ตารางที่ 6.7 ค่ายีลด์ (Y) ของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต, แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟอร์และแบคทีเรียสร้างมีเทนในการใช้ไฮโดรเจน (Widdel, F 1988)

ประเภทแบคทีเรีย	แหล่งพลังงาน	ยีล (กรัม/ โมล ไฮโดรเจน)
Desulfovibrio vulgaris (Marburg)	$H_2 + SO_4^{2-}$ $H_2 + S_2O_3^{2-}$	2.1;2.9 4.2
Desulfotomaculum orientis (Singapore I)	$H_2 + SO_4^{2-}$ $H_2 + SO_3^{2-}$ $H_2 + S_2O_3^{2-}$	1.9;3.1 4 4.5
Methanosarcina barkeri strains	$H_2 + CO_2$	0.7-2.2
Other H_2-utilizing methanogens	$H_2 + CO_2$	0.5-1.0

6.2 สมการของโมโนด (Monod Equation)

6.2.1 รูปแบบของกราฟโมโนด

<u>กราฟโมโนดแบบธรรมดา</u>

โมโนด (Monod) ได้ทำการทดลองศึกษา เกี่ยวกับพฤติกรรมของจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตในขวดเพาะเชื้อจุลินทรีย์ การทดลองเริ่มจากการเตรียมขวดเพาะเชื้อหลายๆ ใบซึ่งภายในขวดแต่ละใบบรรจุสารละลายเจือจางที่มีสารอาหาร (Nutrient) ต่างๆ อยู่อย่างครบถ้วนในจำนวนที่พอเพียง ต่อไปเติมสารอินทรีย์ให้เป็นสับสเตรต (ที่กำหนดอัตราการเติบโต) ในจำนวนต่างๆ กัน แต่ต้องระวังอย่าให้มากเกินไปและเติมเชื้อแบคทีเรียจำนวนเล็กน้อยลงไปด้วย แบคทีเรียที่เติมลงไปจะต้องถูกทำให้คุ้นเคยกับสารอินทรีย์ที่ต้องการศึกษามาก่อน จากนั้นให้ติดตามการเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นของเซลล์ในเวลาต่างๆ รูปที่ 6.2 เป็นกราฟที่ได้จากการทดลองนี้จะเห็นได้ว่าเมื่อสับสเตรตมีความเข้มข้นสูง จะให้กราฟที่มีความชันมากกว่าสับสเตรตที่มีความเข้มข้นต่ำ ความชันของกราฟเหล่านี้จะแทนอัตราเร็วของการเจริญเติบโตของเซลล์ และดูเหมือนว่าความชันของกราฟเหล่านี้มีค่าจำกัด โดยจะสังเกตเห็นว่าเมื่อความเข้มข้นของสับสเตรตมีค่าสูงกราฟจะอยู่ไม่ห่างกันมาก ดังนั้น ถ้าเพิ่มความเข้มข้นขึ้นไปอีกเชื่อว่ากราฟเหล่านี้จะต้องทับกัน ถ้านำเอาค่าความเข้มข้นของเซลล์ไปพล็อตบนสเกล Log จะได้รูปที่ 6.3 ซึ่งเป็นกราฟเส้นตรงอยู่ส่วนหนึ่ง กราฟเส้นตรงจะแทนอัตราการเพิ่มอย่างทวีคูณของแบคทีเรีย การหาค่า μ สามารถกระทำได้โดยใช้สูตร $\mu = 0.693/t_d$ โดยที่ t_d เป็นเวลาที่ต้องการในการเพิ่มมวลของเซลล์ให้เป็นสองเท่า ถ้านำเอาค่า μ ที่คำนวณจากค่าความเข้มข้นเริ่มต้นของสับสเตรตต่างๆ (S) มาพล็อตเข้าด้วยกันดังแสดงในรูปที่ 6.3 ก็จะเห็นความสัมพันธ์ระหว่าง S และ μ อย่างชัดเจน การเพิ่ม S จะทำให้ μ เพิ่มตาม แต่เมื่อ S มีค่าสูง อัตราการเพิ่มของ μ จะ

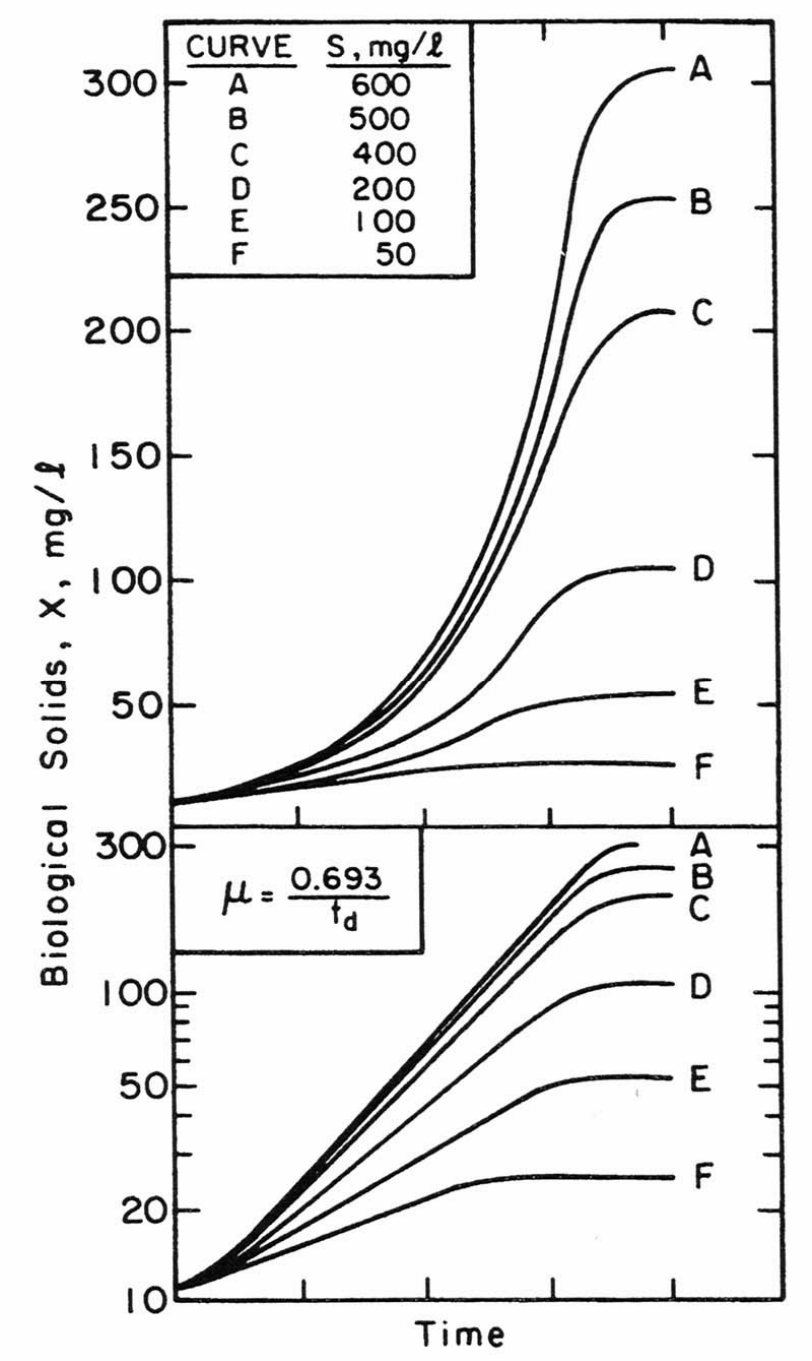
ช้าลงจนกระทั่งถึงระดับหนึ่งของ S ค่า μ จะไม่เพิ่มอีกเลย (อันที่จริงเพิ่มขึ้นแต่ด้วยอัตราน้อยมาก) กล่าวได้ว่า ถึงจุดสูงสุดหรือ μ_m

โมโนดได้สร้างสมการที่ใช้แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง S และ μ ขึ้นดังนี้

$$\mu = \mu_m \, S / (K_S + S) \qquad (6.7)$$

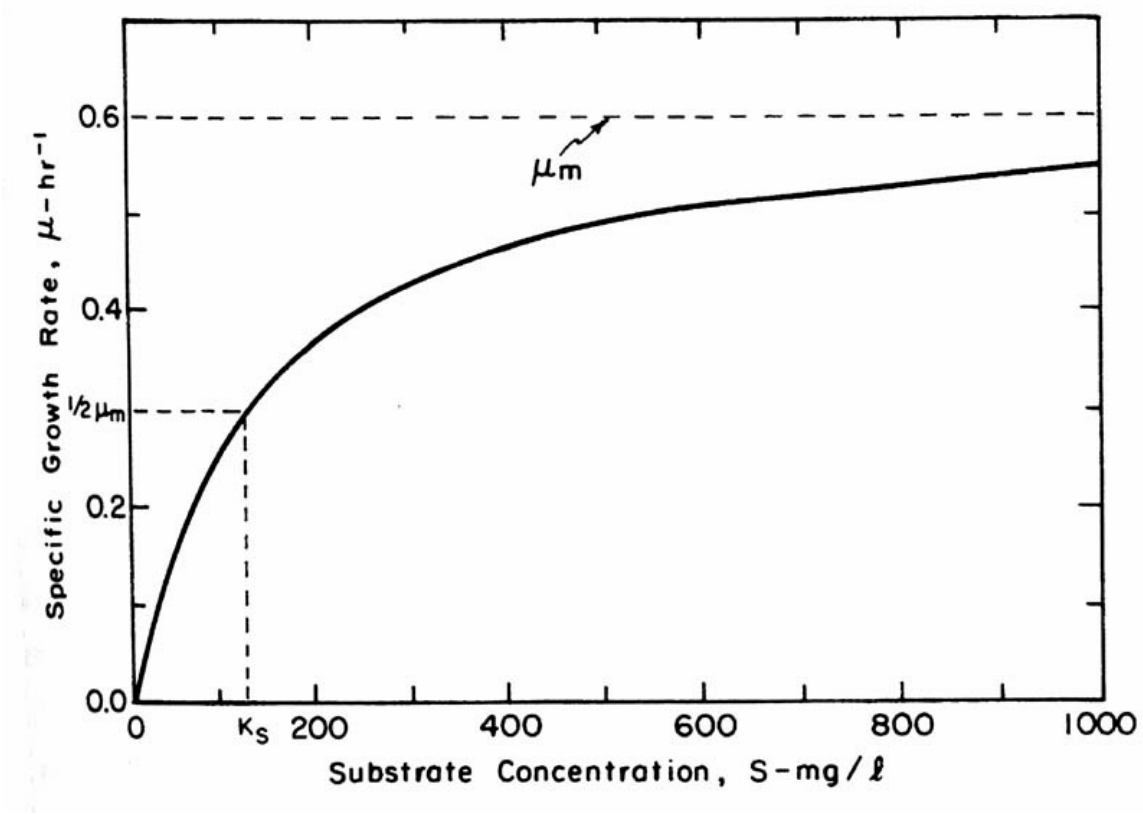
สมการ (6.7) จึงมีชื่อเรียกว่าเป็น "สมการของโมโนด" ปัจจุบันสมการโมโนดถือได้ว่าเป็นจุดเริ่มต้นของจลศาสตร์ของระบบชีวเคมีที่มีแบคทีเรียเป็นตัวเร่งของปฏิกิริยาในการย่อยสลายสารอินทรีย์และในปฏิกิริยาที่มีการเปลี่ยนรูปของสารอนินทรีย์

ในสมการ (6.7) S เป็นสารกำหนดอัตราเร็วของปฏิกิริยา (ในที่นี้คือการเติบโต) μ_m เป็นค่าสูงสุดที่เป็นไปได้ของ μ ส่วน K_S เป็นค่าคงที่ซึ่งมีค่าเท่ากับความเข้มข้นของสับสเตรต ในขณะที่ $\mu = 1/2 \, \mu_m$



รูปที่ 6.2 อิทธิพลของความเข้มข้นเริ่มต้นของสับสเตรตที่มีต่ออัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

(Grady, C.P.L. Jr. and Lim,H.C 1980)



รูปที่ 6.3 ลักษณะของกราฟโมโนด (Grady, C.P.L. Jr. and Lim,H.C 1980)

ถึงแม้ว่าในการทดลองข้างต้นจะใช้สารอินทรีย์เป็นสับสเตรตที่กำหนดอัตราเร็วของการเจริญเติบโต การใช้สารอนินทรีย์เช่น N, P เป็นต้น เป็นสารกำหนดอัตราเร็วก็จะได้ผลอย่างเดียวกัน ข้อสำคัญก็คือ สารกำหนดอัตราเร็วจะต้องมีเพียงตัวเดียวและเป็นตัวที่ต้องการศึกษา สารอาหารตัวอื่นๆนอกเหนือจากนั้นจะต้องมีจำนวนอย่างเหลือเฟือ รูปร่างของกราฟ (ระหว่าง S และ μ) อาจผิดแผกไปจากรูปที่ 6.3 บ้าง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของสารที่ต้องการศึกษาและปัจจัยอื่นๆ เนื่องจากความคล้ายคลึงระหว่างสมการของโมโนดกับสมการของ Michaelis-Menten ที่ใช้ในเรื่องจลน์ศาสตร์ของเอนไซม์มักทำให้มีผู้เข้าใจผิดว่า สมการทั้งสองเป็นสมการเดียวกัน บางคนจึงเรียกสมการของโมโนดว่าเป็นสมการของ Michaelis Menten ความเข้าใจข้างต้นต้องถือว่าคลาดเคลื่อน (แม้ว่าจะไม่ได้ส่งผลกระทบต่อการวิเคราะห์ด้านจลน์ศาสตร์หรืออื่นๆ ปรากฏให้เห็นก็ตาม) ทั้งนี้เพราะสมการของโมโนดนั้นเป็นสมการที่ตั้งเพื่อให้สอดคล้องกับข้อมูลที่ได้จากการทดลอง จึงควรถือว่าเป็นสมการเอ็มไพริคัล (Empirical) ส่วนสมการของ Michaelis-Menten นั้นมีกำเนิดมาจากทฤษฎีของเอนไซม์ ไม่ถือว่าเป็นสมการเอ็มไพริคัล

<u>กราฟโมโนดแบบที่อิงอัตรากำจัดสับสเตรท</u>

การใช้กราฟเจริญเติบโตดังเช่นในรูปที่ 6.3 อาจไม่ตรงกับความต้องการของวิศวกรหรือนักวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อมซึ่งคำนึงถึงการกำจัดหรือบริโภคสับสเตรทมากกว่า จึงมีการปรับรูปแบบของกราฟโมโนดให้อยู่ในรูปของอัตราจำเพาะในการกำจัดสับสเตรต (q) ดังนี้

เนื่องจาก $q = \mu / Y_g$

จาก $\mu = \mu_m S / (K_S + S)$

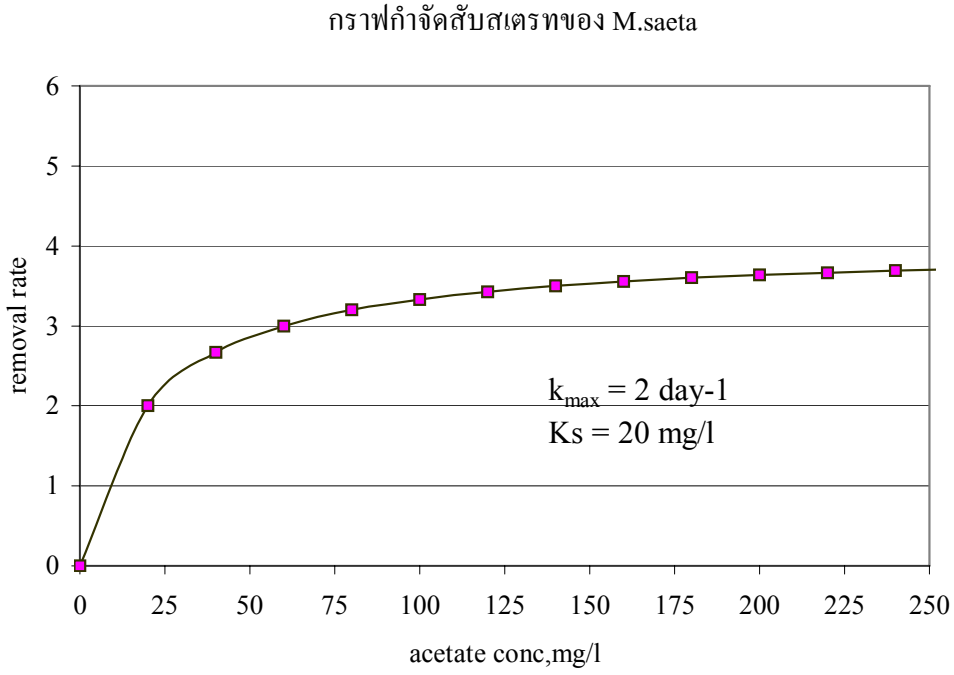
ดังนั้น $q = \mu_m S / (K_S + S) Y_g$ (6.8)

ถ้าให้ $(\mu_m / Y_g) = q_m$ (6.9)

จะได้ $q = q_m S / (K_S + S)$ (6.10)

สมการ 6.10 นี้เป็นสมการเอ็มไพริคัลที่มีลักษณะเดียวกับสมการ 6.7 ซึ่งเป็นสมการโมโนด

รูปที่ 6.4 เป็นตัวอย่างของกราฟโมโนดที่อยู่ในรูปของอัตราจำเพาะในการกำจัดสับสเตรต (q) จะเห็นได้ว่ามีลักษณะคล้ายกับกราฟโมโนดแบบธรรมดา



รูปที่ 6.4 ตัวอย่างของกราฟโมโนดที่อยู่ในรูปของอัตราจำเพาะในการกำจัดสับสเตรต

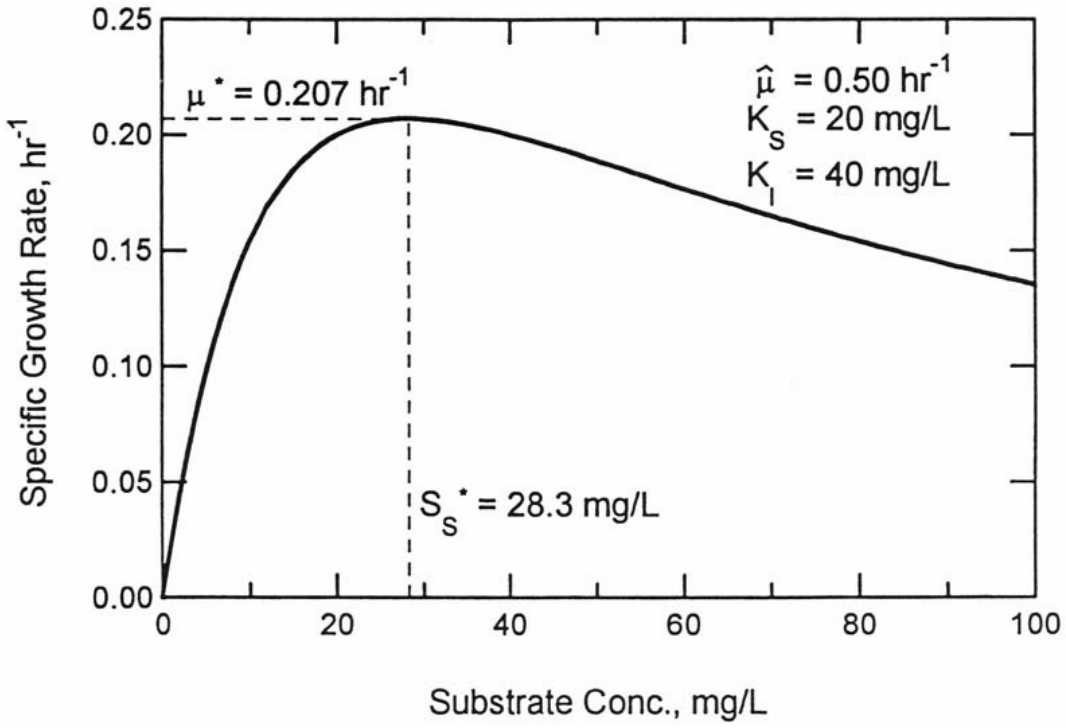
(Speece,R.E 1996)

<u>สมการโมโนดแบบที่มีการชลอการเจริญเติบโต</u>

สับสเตรทบางชนิดอาจชลอการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เมื่อความเข้มข้นสูงเกินระดับที่เหมาะสม ขอให้ดูกราฟโมโนดในรูปที่ 6.5 เป็นตัวอย่าง สับสเตรทดังกล่าวมักเป็นสารอินทรีย์เคมีประเภท Xenobiotic สมการโมโนดไม่สามารถใช้อธิบายการเจริญเติบโตที่มีการชลอเช่นนี้ได้ครบถ้วน นักวิจัยหลายคนได้เสนอโมเดลคณิตศาสตร์ของกราฟดังกล่าว แต่โมเดลที่ใช้กันอยู่มากที่สุดคือ สมการของ Andrews ซึ่งอิงมาจากโมเดลเอนไซม์ของ Haldane สมการเจริญเติบโตที่มีการชลอเป็นดังนี้

$$\mu = \mu_m S / (K_S + S + S^2 / K_I) \qquad (6.11)$$

โดยที่ K_I เป็นสัมประสิทธิ์ของการชลอตัว



รูปที่ 6.5 ลักษณะของกราฟโมโนดที่มีการชลอการเติบโต

(Grady, C.P.L. Jr.,Daigger,G.T and Lim,H.C 1999)

จะเห็นได้ว่า เมื่อ K_I มีค่ามากๆ สมการชลอตัวนี้จะกลายเป็นสมการโมโนดแบบธรรมดา นั่นคือ สับสเตรทที่มีผลในการชลอการเติบโตได้มาก จะมีค่า K_I ต่ำ สับสเตรทที่มีผลน้อยกว่าจะมีค่า K_I สูง

ในกรณีที่มีการชลอการเติบโตเช่นนี้ ทำให้ไม่สามารถหาค่า μ_m ได้จากการทดลอง K_S จึงเป็นค่าที่หาได้อย่างไม่แม่นยำนัก ค่า μ สูงสุดของกราฟในรูปที่ 6.5 จึงเป็นค่า μ^* ซึ่งได้จากการทดลอง

$$\mu^* = \mu_m / [2(K_S / K_I)^{0.5} + 1] \qquad (6.12)$$

และ
$$S^* = (K_S \times K_I)^{0.5} \qquad (6.13)$$

โดยที่ S^* เป็นความเข้มข้นของสับสเตรท เมื่อ μ มีค่าเท่ากับ μ^*

จากสมการที่ (2) จะเห็นได้ว่า (K_S/K_I) ยิ่งมีค่าต่ำ μ^* ก็ยิ่งมีค่าสูง แต่ถ้า (K_S/K_I) มีค่าสูง μ^* ก็ยิ่งมีค่าต่ำ แสดงถึง การชลอเจริญเติบโตยิ่งมีมาก ดังนั้น ระดับของการชลอตัว ควรขึ้นอยู่กับเทอม K_S/K_I มากกว่า ค่า K_I โดยลำพัง

6.2.2 สารอาหารที่เป็นตัวกำหนดอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์

ค่า S ในสมการของโมโนดหรือสมการที่เกี่ยวข้อง จะต้องเป็นค่าความเข้มข้นของสารอาหารที่กำหนดอัตราเร็วของการเจริญเติบโตของเซลล์ และเป็นสับสเตรตหรือสารอาหารที่เราต้องการศึกษา สำหรับในกรณีของปฏิบัติการชีวเคมีที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสีย สารกำหนดอัตราเร็วจะเป็นสารที่ต้องการกำจัด ซึ่งมักจะเป็นสารอินทรีย์คาร์บอนต่างๆ ที่ละลายอยู่ในน้ำเสีย กรณีเช่นนี้ ควรมีสารอาหารอย่างอื่นอยู่ในปริมาณที่สูงเกินความต้องการของเซลล์ (นอกจากคาร์บอนแล้ว สารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ที่สำคัญมีอีก 3 ชนิดคือ ออกซิเจน ไนโตรเจนและฟอสฟอรัส) สมการสตอยชิโอเมตริค (Stoichiometric Equation) อาจใช้คำนวณปริมาณของสารอาหารเหล่านี้ แต่ละตัวที่ต้องการใช้ในการเติบโตของเซลล์ ความเข้มข้นของสารอาหารที่ไม่ต้องการศึกษาจะต้องสูงกว่าปริมาณที่คำนวณได้ จากสมการสตอยชิโอเมตริคเพื่อป้องกันมิให้เกิดการขาดแคลนขึ้นได้ในระหว่างการเลี้ยงจุลินทรีย์ทั้งนี้หากสารอาหารตัวใดเกิดมีจำนวนที่ไม่พอเพียงสารนั้นจะกลายเป็นสาร กำหนดอัตราเร็วด้วยทำให้เกิดความยุ่งยากต่างๆ ขึ้นได้ หลักปฏิบัติที่นิยมกันในเรื่องนี้ได้แก่ การรักษาระดับความเข้มข้นของ N, P และ O_2 ในน้ำเสียให้มีค่าสูงกว่าค่าที่คำนวณได้จากสมการสตอยชิโอเมตริคไม่น้อยกว่า 1 มก./ล. , 0.5 มก./ล. และ 1 มก./ล. ตามลำดับ

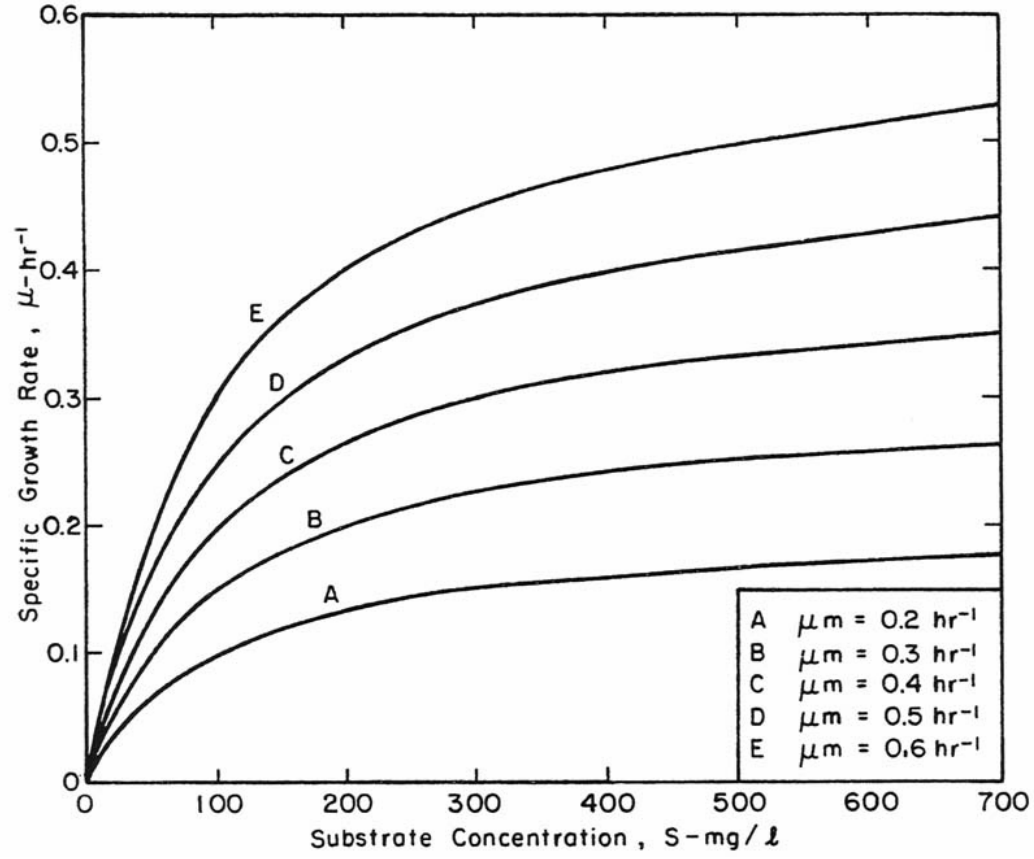
ในกรณีที่ต้องการกำจัดแอมโมเนียด้วยกระบวนการไนตริฟิเคชัน (Nitrification) แอมโมเนีย และไนไตรต์ จะเป็นสารกำหนดอัตราเร็วของปฏิกิริยา และต้องระวังให้มี P, C และ O_2 อยู่ในปริมาณที่สูงมากเกินความต้องการของเซลล์อยู่เสมอ

6.2.3 อิทธิพลของ μ_m และ K_s ที่มีต่อสมการของโมโนด

ผลกระทบของ μ_m และ K_S ที่มีต่อรูปร่างของกราฟโมโนดสามารถเห็นได้ง่ายด้วยรูปที่ 6.6 และ 6.7 ตามลำดับ รูปที่ 6.6 เป็นกราฟที่แสดงถึงอิทธิพลของ μ_m ที่มีต่อสมการโมโนด โดยให้มี K_S คงที่ จะเห็นได้ว่าเมื่อ μ_m มีค่าสูงจะทำให้ μ ที่ทุกระดับของ S มีค่าสูงด้วยเสมอ ส่วนรูปที่ 6.7 เป็นกราฟระหว่าง μ และ S ที่ระดับต่างๆ ของ K_S โดยมี μ_m คงที่ จะเห็นได้ว่าเมื่อ K_S มีค่าต่ำ กราฟจะชันขึ้นอย่างรวดเร็วและหักไปทางขวาทันที ในกรณีเช่นนี้ μ จะมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงของ S ที่มีค่าต่ำ กล่าวคือถ้า S มีค่าต่ำ การเปลี่ยนแปลงของ S เพียงเล็กน้อยจะส่งผลกระทบให้กับค่า μ เป็นอันมาก แต่ในกรณีที่ K_S มีค่าสูงความชันของกราฟจะต่ำ ทำให้การเปลี่ยนแปลงของ S ส่งผลกระทบให้กับ μ น้อยกว่ากรณีที่ K_S มีค่าต่ำ ระบบชีวเคมีที่ให้กราฟที่มีความชันต่ำ ดังเช่นในกรณีของกราฟ A และ E ในรูปที่ 6.6 และ 6.7 ตามลำดับ จะเป็นระบบที่มีเสถียรภาพดีกว่า

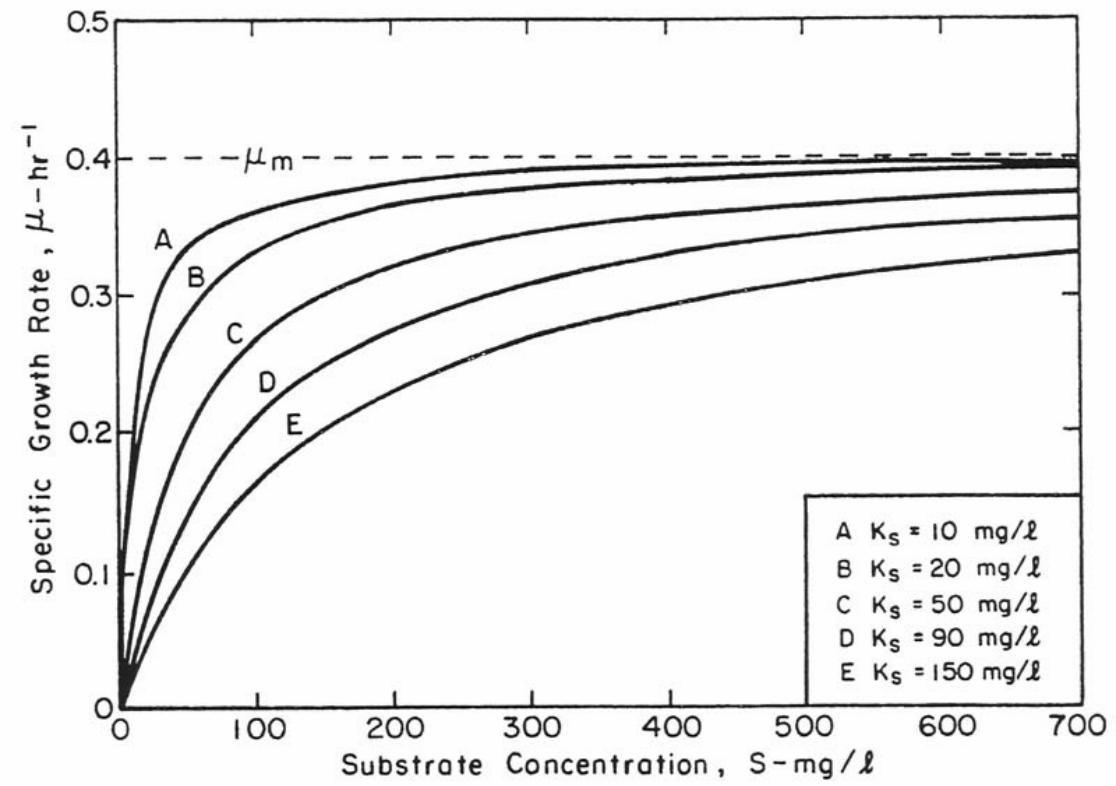
6.2.4 ค่าของ μ_m และ K_s

ค่า μ_m และ K_S ขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์และสับสเตรตเป็นอย่างมาก ถ้าเลี้ยงจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งในสับสเตรตหลายๆ ชนิดทีละอย่างภายใต้สภาวะแวดล้อมที่เหมือนกันทุกครั้ง ค่า μ_m และ K_S จะขึ้นอยู่กับชนิดของสับสเตรต ในทำนองเดียวกัน ถ้าเลี้ยงจุลินทรีย์ทีละชนิดให้เติบโตในสับสเตรตชนิดเดียวกัน ภายในสภาวะแวดล้อมเช่นเดียวกัน ค่าของ μ_m และ K_S จะขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ โดยทั่วไปแล้ว สับสเตรตซึ่งย่อยสลายได้ยากจะมีค่า μ_m ต่ำ และ K_S สูง ในทางตรงกันข้าม สับสเตรตที่ย่อยได้ง่ายมักจะมี μ_m สูงและ K_S ต่ำ



รูปที่ 6.6 อิทธิพลของ μ_m ที่มีต่อลักษณะรูปร่างของกราฟโมโนด

(Grady, C.P.L. Jr.and Lim,H.C 1980)



รูปที่ 6.7 อิทธิพลของ K_S ที่มีต่อลักษณะรูปร่างของกราฟโมโนด

(Grady, C.P.L. Jr.and Lim,H.C 1980)

K_S เป็นพารามิเตอร์ที่แปรเปลี่ยนมากและคาดคะเนได้ยากที่สุด ค่าของ K_S ขึ้นอยู่กับความสามารถในการใช้ประโยชน์จากสับสเตรท (Substrate Affinity) เช่น K_S ที่มีค่าต่ำ หมายถึง ความสามารถในการเจริญเติบโตได้ดีภายใต้สภาวะที่มีสับสเตรทต่ำ (แสดงว่ามีชีวิตอยู่ได้แม้จะมีอาหารน้อย)

เนื่องจากประเภทของจุลินทรีย์มีอิทธิพลในการกำหนดค่าของ μ_m และ K_S การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แบบผสมจึงมีค่าพารามิเตอร์ทั้งสองแปรเปลี่ยนได้มาก ถึงแม้ว่าจะเลี้ยงอยู่ในสับสเตรตชนิดเดียวก็ตาม เมื่อนำสมการของโมโนดไปใช้กับการบำบัดแบบไม่ใช้อากาศ พบว่าค่าของ μ_m จะต่ำกว่าที่ใช้กับระบบใช้อากาศ ส่วนค่าของ K_S จะสูงกว่าที่ใช้กับระบบใช้อากาศ หลายเท่า

ตารางที่ 6.8 เป็นการรวบรวมค่าคงที่จลน์ศาสตร์และค่าคงที่สตอยซิโอเมตริกของแบคทีเรียไม่ใช้อากาศ 4 ประเภท (Sam–Soon, PALNS et al 1991)จะเห็นได้ว่าค่าคงที่มีความแปรปรวนสูง ยกตัวอย่างเช่น μ_m ของ Acetogen มีค่าอยู่ในช่วง 0.16–1.4 ต่อวัน ส่วน K_S มีค่าอยู่ในช่วง 48–330 มก./ล.COD ขอให้เปรียบเทียบค่าค่าคงที่จลน์ศาสตร์ของแบคทีเรียใช้อากาศในตารางที่ 6.9

ตารางที่ 6.8 ค่าคงที่ μ_m และ K_S ที่รวบรวมโดยSam Soon PALNS และคณะ (1991)

ชนิดของแบคทีเรียและที่มาของข้อมูล	μ_m (ต่อวัน)	K_S (มก./ล. COD)
แบคทีเรียสร้างกรดไขมันระเหย (Acidogens)		
Hill and Barth (1977)	**0.4**	**150**
Denac *et al.* (1988)	**1.2**	**140**
Zoetemeyer *et al.* (1982)	**7.2**	**22**
แบคทีเรียสร้างอะซิเตท(Acetogens)		
Lawrence and McCarty (1969)	**0.31**	**48**
Heyes and Hall (1983)	**1.4**	**250**
Heyes and Hall (1983)	**1.2**	**330**
Gujer and Zehnder (1983)	**0.155**	**246**
Acetoclastic Methanogens		
Hill and Barth (1977)	**0.4**	**25**
Denac *et al.* (1988)	**0.34**	**237**
Ten Brummeler *et al.* (1985)	**0.45-0.72**	**320**
Lawrence and McCarty (1969)	**0.24**	**356**
Smith and Mah (1978)	**0.60**	**320**
Gujer and Zehnder (1983)	**0.34**	**165**
Lawrence and McCarty (1969)	**0.39**	**180**
H_2-Utilising Methanogens		
Shea *et al.* (1968)	**1,06**	**9**
Denac *et al.* (1988)	**1.40**	**0.6**
Gujer and Zehnder (1983)	**1.40**	**0.6**
Kaspar and Wuhrmann (1978)	**-**	**1.26**

ตารางที่ 6.9 ค่าของ μ_m และ K_s สำหรับจุลินทรีย์ผสมแบบใช้อากาศที่เลี้ยงในสับสเตรตชนิดต่างๆ (Grady, C.P.L. Jr.and Lim,H.C 1980)

สับสเตรต	μ_m (ชม.$^{-1}$)	K_s	หน่วยของ K_s
กลูโคส	0.31-0.77	11-181	มก./ล. ซีโอดี
กลูโคส	0.69	26	มก./ล. ซีโอดี
กลูโคส	0.18	-	-
กลูโคส	-	133	มก./ล. บีโอดี
กลูโคส	0.36	103	มก./ล. ซีโอดี
กลูโคส	0.38-0.49	11-29	มก./ล. กลูโคส
กลูโคส	0.35	8	มก./ล. กลูโคส
แลคโตส	0.20-0.53	33-55	มก./ล. แลคโตส
หางนม (Skim Milk)	0.10	100	มก./ล. บีโอดี
หางนม (Skim Milk)	0.12	110	มก./ล. ซีโอดี
ซูโครส	0.28-0.55	6-17	มก./ล. กลูโคส
กรดกลูตามิก	0.59-0.78	47-95	มก./ล.กรดกลูตามิก
เซอรีน (Serine)	0.43-0.54	30-50	มก./ล. Serine
เปปโทน (Peptone)	0.26	109	มก./ล. บีโอดี
เปปโทน	-	296	มก./ล. บีโอดี
กรดอะซิติก	0.29-0.36	41-47	มก./ล. กรดอะซิติก
กรดพรอพิออนิก	0.37-0.38	6-7	มก./ล. กรดอะซิติก
น้ำเสียสัตว์ปีก	3.0	300	มก./ล. บีโอดี
น้ำเสียถั่วเหลือง	0.50	355	มก./ล. บีโอดี
น้ำเสียฟอกย้อม	0.29	86	มก./ล. บีโอดี

6.3 การใช้ประโยชน์จากสมการโมโนด

6.3.1 การใช้สมการของโมโนดในการออกแบบระบบถังย่อยไม่ใช้อากาศ

ในการเรียนรู้เกี่ยวกับระบบบำบัดน้ำเสียแบบชีวภาพ จำเป็นต้องอาศัยแนวคิดในเรื่องการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์มาอธิบายให้ผู้ศึกษาได้มีความเข้าใจอย่างชัดเจน ทฤษฎีจุลชีววิทยาที่เป็นโมเดลสำหรับใช้อธิบายมี 2 ชนิด คือ โมเดลที่มีสภาวะนิ่ง (Stable หรือ Steady State Model) และแบบไดนามิก (Dynamic Model) ซึ่งมีการเคลื่อนไหว โมเดลแบบนิ่งสามารถอธิบายหรือสร้างโมเดลได้ง่ายกว่า ใช้กับถังหมักที่มีการป้อนน้ำเสียอย่างคงที่ภายใต้สภาวะที่มีอุณหภูมิคงที่ น้ำทิ้งและผลผลิตต่างๆ ก็มีค่าคงที่ด้วย ในขณะที่โมเดลไดนามิกใช้กับโลกแห่งความเป็นจริงมากกว่า แต่การสร้างโมเดลคณิตศาสตร์เช่นนี้กระทำได้ยากมาก ในทุกวันนี้ แม้ว่าจะมีผู้สร้างโมเดลไดนามิกมาใช้ได้ แต่ก็ไม่สามารถครอบคลุมสภาวะที่เป็นจริงได้มากจนถึงจุดที่โมเดลจะมีประโยชน์ได้ตามที่หวังไว้ โมเดลแบบนิ่งก็ยังมีประโยชน์กว่าและใช้ได้ง่าย ในที่นี้จึงจะพูดเฉพาะโมเดลแบบที่มีสภาวะคงที่หรือแบบนิ่ง

สมการของ Monod ได้มาจากการทดลองเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์พันธุ์เดียว (Pure Culture) ในสับสเตรตที่ประกอบด้วยสารอินทรีย์ชนิดเดียว ดังนั้นเมื่อนำไปใช้อธิบายถึงพฤติกรรมของกลุ่มแบคทีเรียที่อยู่ในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศ จะเกิดปัญหายุ่งยากที่สืบเนื่องมาจากสาเหตุ 2 ประการ ประการแรกเกิดขึ้นเพราะระบบบำบัดน้ำเสียมีสับสเตรตหลายชนิด ทำให้การวัดค่า S ต้องกระทำด้วยการวัดค่าซีโอดี (COD) ของสับสเตรต แต่เนื่องจาก COD ไม่ใช้ค่าเฉพาะของสารอินทรีย์ จึงอาจทำให้ความสัมพันธ์ของพารามิเตอร์ต่างๆ กับสับสเตรตที่วัดในเทอมของ COD มีความคลาดเคลื่อนไปจากทฤษฎี สาเหตุประการที่สองเกิดจากการที่ระบบบำบัดน้ำเสียมีกลุ่มจุลินทรีย์ที่ประกอบด้วย

แบคทีเรียหลายชนิด ทำให้ K_S และ μ_m มีค่าแตกต่างกันได้อย่างกว้างขวาง นอกจากนี้ความยุ่งยากยังอาจเกิดขึ้นได้จาก ความไม่คงที่ของกลุ่มจุลินทรีย์เพราะส่วนประกอบของกลุ่มจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อมของการเจริญเติบโตด้วย

การศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่าง μ และ S ด้วยการเลี้ยงจุลินทรีย์หลายพันธุ์ผสมกัน (Mixed Culture) อยู่ในสับสเตรตนานาชนิดผสมกัน (Mixed Substrate) ทำให้พบว่า สมการของโมโนดก็ยังใช้การได้ดีอยู่ นักวิจัยได้ชี้ให้เห็นถึงอิทธิพลของสภาวะแวดล้อมที่มีต่อพฤติกรรม และส่วนประกอบของกลุ่มจุลินทรีย์และได้พบว่าค่า μ_m และ K_S ที่จะใช้ในสมการของโมโนดควรเป็นค่าเฉลี่ยที่คิดจากกลุ่มแบคทีเรียหลักซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของกลุ่มเท่านั้น ค่า K_S และ μ_m ที่จะใช้ควรเป็นค่าที่อยู่ในช่วงอันหนึ่งมากกว่าจะเป็นค่าเดียว ดังนั้น จึงอาจสรุปได้ว่าสมการของโมโนดสามารถจะนำมาใช้อธิบายถึงพฤติกรรมของแบคทีเรียในระบบบำบัดน้ำเสียได้

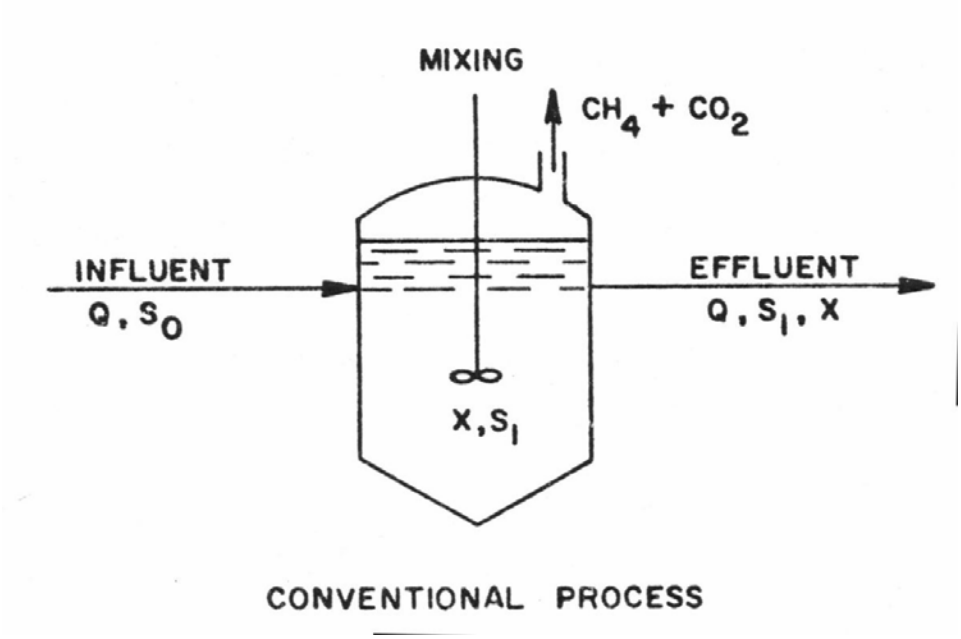
ตัวอย่างลักษณะทางจลน์ศาสตร์ของแบคทีเรียสร้างมีเทน 2 ชนิดคือแบคทีเรียบริโภคอะซิเตทและแบคทีเรียบริโภคไฮโดรเจนแสดงอยู่ในตารางที่ 6.10 ข้อมูลนี้แสดงว่าแบคทีเรียบริโภคอะซิเตทเติบโตช้ากว่าแบคทีเรียบริโภคไฮโดรเจนเป็นอย่างมากและยังมียีลน้อยกว่ามาก

การออกแบบถังย่อยสลัดจ์ที่มีการกวนอาศัยโมเดลที่สร้างมาจากถังปฏิกิริยาแบบอุดมคติที่เรียกว่า Simple CSTR (Continuous Stirred Tank Reactor)

รูปที่ 6.8 เป็นลักษณะทั่วไปของถังกวนสมบูรณ์ แบบธรรมดา (Simple CSTR)

ตารางที่ 6.10 ลักษณะทางจลน์ศาสตร์ของแบคทีเรียสร้างมีเทน 2 ชนิด

	แบคทีเรียบริโภคอะซิเตท	แบคทีเรียบริโภคไฮโดรเจน
สารให้อิเล็กตรอน	อะซิเตท	ไฮโดรเจนและฟอร์เมต
สารรับอิเล็กตรอน	อะซิเตท	คาร์บอนไดออกไซด์
แหล่งคาร์บอน	อะซิเตท	คาร์บอนไดออกไซด์
F_S^o	0.05	0.08
Y	0.04 ก.VSS/ก. อะซิเตท	0.45 ก.VSS/ก. H_2
q at 35 °C	7 ก. อะซิเตท/ก.VSS- วัน	3 ก. H_2/ก.VSS- วัน
K	400 มก. อะซิเตท/ลิตร	?
b	0.03 /วัน	0.03 /วัน
θ_x^{min}	4 วัน	0.76 วัน
S_{min}	48 มก. อะซิเตท/ลิตร	?



รูปที่ 6.8 ถังย่อยไม่ใช้อากาศแบบธรรมดา

- น้ำเข้ามีความเข้มข้นของสารละลายสับสเตรตเท่ากับ S_o และมีอัตราไหลเท่ากับ Q
- กำหนดให้ถังปฏิกิริยามีปริมาตร V และมีของแข็งแขวนลอย X
- น้ำออกมีความเข้มข้นของสับสเตรต, ของแข็งแขวนลอยเท่ากับ S_1 และ X ตามลำดับ

การคำนวณ ความเข้มข้นของสับสเตรตที่ละลายน้ำ

จากการเขียนสมดุลทางมวลของจุลินทรีย์ที่อยู่ภายในถังปฏิกิริยา จุลินทรีย์ที่มีชีวิตออกจากถังปฏิกิริยาด้วยความเข้มข้น X ซึ่งเท่ากับความเข้มข้นที่มีอยู่ในน้ำออก เทอมปฏิกิริยาจะมี 2 เทอม คือ เติบโต, ตายและสลายตัวเอง เทอมแรกเป็นการสร้างมวล ส่วนเทอมหลังเป็นการลดมวลของจุลินทรีย์ ดังนั้น เทอมแรกจะมีเครื่องหมายบวกและเทอมหลังจะมีเครื่องหมายลบท้ายที่สุด เนื่องจากพิจารณาเฉพาะในขณะที่มีสภาวะคงที่ เทอมสะสมจึงมีค่าเท่ากับศูนย์

$$\text{เข้า} - \text{ออก} + \text{สร้าง} - \text{สลายตัวและตาย} = \text{สะสม}$$

หรือ
$$0 - Q.X + r_{GX}\,V - r_{dX}\,V = 0 \qquad (6.15)$$

$$-QX_V + \mu\,XV - bXV = 0$$

$$\mu\,V = Q + bV$$

$$\mu = \frac{Q}{V} + b$$

และ
$$\tau = \frac{V}{Q}$$

จะได้
$$\mu = \frac{1}{\tau} + b \qquad (6.16)$$

สมการ 6.16 ชี้ให้เห็นว่า เนื่องจาก b มีค่าคงที่ อัตราการเจริญเติบโต จึงอาจควบคุมได้โดยการเลือกค่า τ ซึ่งสามารถกระทำได้โดยการปรับค่าอัตราน้ำไหล (Q) เมื่อถังปฏิกิริยามีขนาดคงที่หรือปรับขนาดของถังปฏิกิริยา ถ้ากำหนด F ให้คงที่

การหาค่า S ในเทอมของ τ อาจกระทำได้โดยแทนค่า μ ใน สมการ 6.16 ลงในสมการโมโนด ดังนั้น

$$\mu = \frac{1}{\tau} + b = \frac{\mu_m S}{K_s + S}$$

$$\text{จะได้} S = \frac{K_s \left(\frac{1}{\tau} + b\right)}{\mu_m - \left(\frac{1}{\tau} + b\right)} \qquad (6.17)$$

สมการ 2.6 กล่าวว่า ค่าความเข้มข้นของสับสเตรต, S, ใน CSTR จะถูกกำหนดโดยค่า τ เพียงอย่างเดียว นอกจากนี้แล้ว เนื่องจากไม่ปรากฏเทอม S_o อยู่ในสมการ 6.17 จึงหมายความว่า S ไม่ขึ้นอยู่กับ S_o

เมื่อพิจารณาสมการ 6.16 ให้ละเอียดจะพบว่า หาก τ มีค่าสูงมากๆ (จนกระทั่ง $1/\tau$ เข้าใกล้ศูนย์) อัตราจำเพาะของการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์มีค่าเท่ากับผลบวกของอัตราสลายตัว (b) นี่หมายความว่า ภายใน CSTR จะต้องมีสับสเตรตอยู่จำนวนหนึ่งเสมอ (แม้ว่าจะน้อยมากก็ตาม) เพื่อใช้ผลักดันให้เกิดมีการเจริญ

เติบโต ด้วยเหตุนี้ CSTR จะต้องมี S ไม่น้อยกว่าค่าต่ำสุด ซึ่งได้จากการให้ $1/\tau$ เข้าใกล้ศูนย์มากๆ ทำให้สมการ 6.17 กลายเป็นดังนี้

$$S_{min} = \frac{K_s \, b}{\mu_m + b} \qquad (6.18)$$

สมการ 6.18 แสดงว่า S_{min} ขึ้นอยู่กับพารามิเตอร์จลน์ศาสตร์ นั่นคือขึ้นอยู่กับธรรมชาติหรือลักษณะของสับสเตรตและประเภทของจุลินทรีย์ที่ย่อยสับสเตรตนั้น ถ้าใช้ CSTR ในการกำจัดสับสเตรตจะไม่สามารถลดสับสเตรตให้น้อยกว่า S_{min} ได้

สมการของโมโนดบอกให้ทราบว่าแบคทีเรียจะมีอัตราจำเพาะของการเติบโตสูงสุดหรือ □ ก็ต่อเมื่อ S มีค่าสูงสุดเท่าที่จะเป็นไปได้ หรือ $S = S_o$ ในกรณีดังกล่าวนี้สมการ 6.7 จะกลายเป็น ดังนี้

$$\mu \text{ สูงสุด} = \square = \frac{\mu_m S_o}{K_s + S_o} \qquad (6.19)$$

เนื่องจาก μ แปรผกผันกับ τ ดังนั้น เมื่อ μ มีค่าสูงสุด (□) τ จะมีค่าต่ำที่สุด (τ_{min}) ดังนั้นจึงสามารถคำนวณค่าต่ำสุดของเวลากักน้ำหรือ τ_{min} ได้โดยแทนค่า □ ในสมการ 2.5 ด้วย □ และแทนค่า □ ที่ได้อีกครั้งหนึ่งในสมการ 6.19 จากนั้นจึงจัดเรียงสมการใหม่เพื่อหาค่า τ_{min} จะได้ดังนี้

$$\tau_{min} = \frac{K_s + S_o}{S_o\ (\mu_m - b) - K_s\ b)} \qquad (6.20)$$

ถังกวนสมบูรณ์หรือ CSTR จะต้องมี τ สูงกว่า τ_{min} เสมอ ถ้า τ ต่ำกว่า τ_{min} จะเกิด Washout ซึ่งหมายความว่าจุลินทรีย์จะออกจากถังกวนสมบูรณ์เร็วกว่าอัตราการเพิ่มของจุลินทรีย์ภายในถัง ทำให้ไม่มีการเจริญเติบโตเกิดขึ้นและไม่มีการทำลายสับสเตรตด้วย

<u>การคำนวณ ความเข้มข้นของตะกอนแขวนลอย</u>

ความเข้มข้นของจุลินทรีย์สามารถหาได้โดยสร้างสมการแสดงสมดุลทางมวลของสับสเตรต ดังนี้

$$Q \cdot S_o - Q \cdot S - r_s\ V = 0$$

โดยที่ r เป็นอัตราการใช้สับสเตรต ซึ่งอยู่ในเทอมของ X ดังนี้

$$r_s = (\mu / Y_g)X$$

จัดรูปสมการสมดุลทางมวลของสับสเตรตใหม่ จะได้สมการของ X ดังนี้

$$X = \frac{Y_g\ (S_o - S)}{\mu . \tau} \qquad (6.21)$$

ถ้าแทนค่า μ ในสมการ 6.21 ด้วยนิพจน์ของ μ ในสมการ 6.16 จะกลายเป็นดังนี้

$$X = \frac{Y_g (S_o - S)}{(1 + b\tau)} \qquad (6.22)$$

เนื่องจาก S ขึ้นอยู่กับ τ (ดูสมการ 6.17) ดังนั้น จำนวนเซลล์ (X) จึงอยู่กับ S_o , τ และพารามิเตอร์ทางจลน์ศาสตร์ต่างๆ ผู้อ่านจะต้องตระหนักว่า CSTR ที่ได้รับสับสเตรตจำนวนคงที่ จำนวนเซลล์จะขึ้นอยู่กับ τ ซึ่งไม่เป็นตัวแปรอิสระที่จะเปลี่ยนแปลงได้โดยผู้ควบคุม

ได้กล่าวแล้วว่า ยีลปรากฏ (Y) จะเปลี่ยนไปตามสภาวะของการเติบโตของเซลล์ในถังปฏิกิริยาลักษณะของการเปลี่ยนแปลงนี้จะเห็นได้จากการจัดรูปสมการ 6.22 ใหม่ ดังนี้

ถ้าหาร (S_o-S) ให้กับทั้งสองข้างของสมการ 6.22

$$\frac{X}{S_o - S} = \frac{Y_g (S_o - S)}{(1 + b\tau)(S_o - S)} \qquad (6.23)$$

ตามค่านิยาม, $$Y = \frac{X}{S_o - S}$$

จะได้ $$Y = \frac{Y_g}{1 + b\tau} \qquad (6.24)$$

จะเห็นได้ว่าค่ายีลปรากฏ (Y) แปรผกผันกับ τ ถ้า τ ยิ่งมากค่ายีล (Y) ก็ยิ่งน้อย นี่ก็เป็นผลโดยตรงจากการสลายตัวเองของจุลินทรีย์

6.3.2 โมเดลคณิตศาสตร์ของถังเอเอสแบบไม่ใช้อากาศ (Anaerobic Contact)

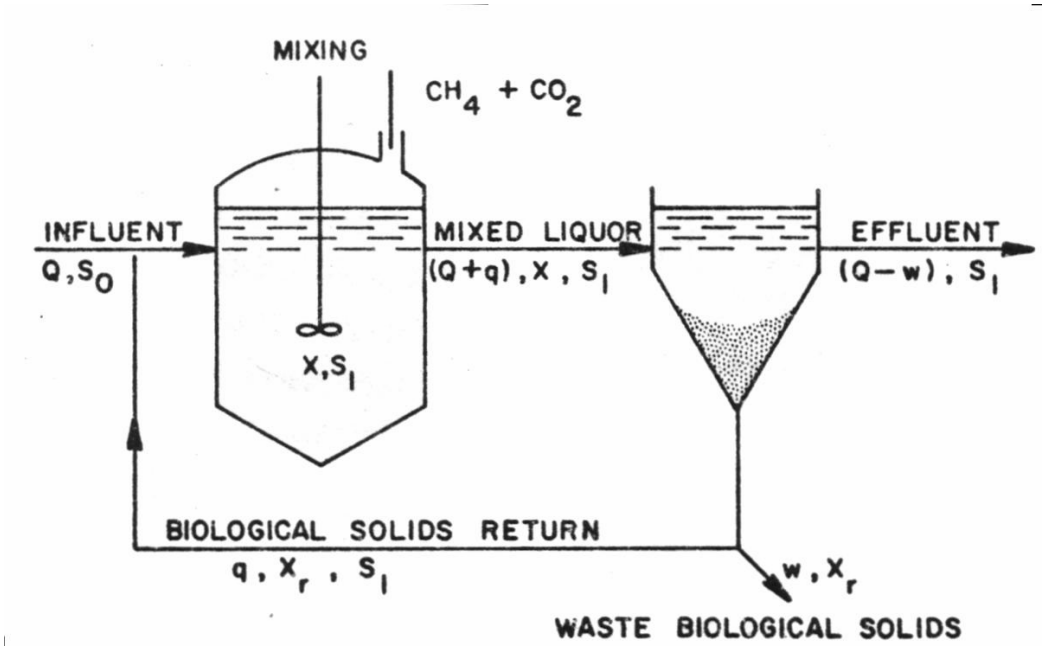
การวิเคราะห์ทางจลน์ศาสตร์ของระบบเอซีเพื่อหาสมการออกแบบสามารถทำได้คล้ายกับหัวข้อ 6.3.1 ซึ่งเป็นการวิเคราะห์สำหรับระบบถังย่อยไม่ใช้อากาศซึ่งเป็นมีรูปแบบเป็นถังปฏิกิริยา CSTR แบบธรรมดา

สำหรับถังเอเอสแบบไม่ใช้อากาศ (ระบบเอซี) มีรูปแบบเป็นถังปฏิกิริยา CSTR แบบหมุนเวียนสลัดจ์ (ดูรูปที่ 6.9) ทำให้สมการจลน์ศาสตร์มีความแตกต่างจากของถังย่อยไม่ใช้อากาศซึ่งเป็น CSTR แบบธรรมดา ความแตกต่างดังกล่าวอยู่ที่ค่าของเวลากักสลัดจ์หรือ SRT ดังนี้

ในกรณีของ CSTR ธรรมดา	SRT	=	เวลากักน้ำหรือ
	HRT	=	V/Q
ในกรณีของ CSTR ที่มีการหมุนเวียนสลัดจ์	SRT	$\neq$	HRT

สมการจลน์ศาสตร์ของระบบเอซีหรือถังปฏิกิริยา CSTR แบบหมุนเวียนสลัดจ์มีลักษณะคล้ายกับของถังปฏิกิริยา CSTR แบบธรรมดาโดยมีข้อแตกต่างอยู่ที่ค่าของ SRT ซึ่งแตกต่างกัน

ตารางที่ 6.11 แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างดังกล่าว



รูปที่ 6.9 ถังย่อยไม่ใช้อากาศแบบเอซี

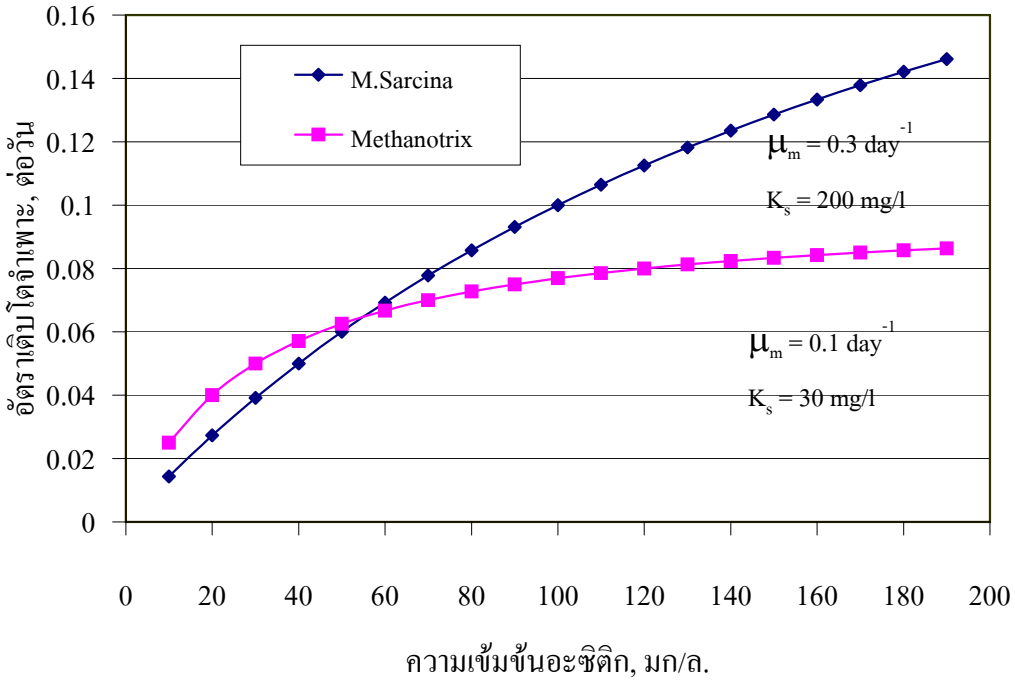
ตารางที่ 6.11 การเปรียบเทียบให้เห็นถึงข้อแตกต่างและข้อเหมือนของสมการจลน์ศาสตร์ของถัง CSTR ทั้ง 2 แบบ (Lawrence, A.W ,1971)

พารามิเตอร์	CSTR แบบธรรมดา	CSTR แบบหมุนเวียนตะกอน
ประสิทธิภาพกำจัดสับสเตรท(%)	$E_S = \frac{100(S_0 - S_1)}{S_0}$	$E_S = \frac{100(S_0 - S_1)}{S_0}$
ความเข้มข้นสับสเตรทในน้ำทิ้ง(มก./ล.)	$S_1 = \frac{K_s[1 + b(\theta_c)]}{\theta_c(Yk - b) - 1}$	$S_1 = \frac{K_s[1 + b(\theta_c)]}{\theta_c(Yk - b) - 1}$
ความเข้มข้นเซลล์แบคทีเรียในถังปฏิกิริยา (มก./ล.)	$X = \frac{Y(S_0 - S_1)}{1 + b\theta_c}$	$X = \frac{Y(S_0 - S_1)}{1 + b\theta_c}\left(\frac{\theta_c}{\tau}\right)$
เซลล์แบคทีเรียส่วนเกินที่เกิดขึ้น (กรัม/วัน)	$P_X = \frac{YQ(S_0 - S_1)}{1 + b\theta_c}$	$P_X = \frac{YQ(S_0 - S_1)}{1 + b\theta_c}$
เวลากักน้ำ (HRT)	$\tau = V/Q$	$\tau = V/Q$
เวลากักตะกอน (SRT) Solid retention times	$\theta_c = \tau$	$\theta_c = \tau / [1 + r - r(X_r / X)]$

6.3.3 การใช้กราฟโมโนดในการคัดเลือกพันธุ์เด่นของแบคทีเรีย 2 ชนิด

ขอยกตัวอย่างที่มีการแข่งขันของแบคทีเรียสร้างมีเทน 2 ชนิด คือ M.mazei และ M.saeta ในการบริโภคอะซิเตท รูปที่ 6.10 แสดงถึงกราฟโมโนดสำหรับในระบบยูเอเอสบี แบคทีเรีย M.saeta ที่มีค่า K_S ต่ำจะบริโภคสับสเตรทได้ดีกว่า โดยดูได้จากค่า K_S = 20 มก./ล. ซึ่งน้อยกว่าของ M.mazei (มีค่า K_S = 400 มก./ล.) และโต

เร็วกว่า M.mazei ภายใต้สภาวะที่มีอะซิเตทต่ำ แต่เมื่อมีความเข้มข้นของอะซิเตทสูง M.mazei จะเจริญเติบโตได้ดีกว่า M.saeta ใช้ประโยชน์จากอะซิเตทได้ดีกว่า



รูปที่ 6.10 กราฟโมโนดของแบคทีเรีย Acetoclastic Methanogen 2 ชนิด

(คำนวนมาจากข้อมูลของ van Haandel,A.C และ Lettinga,G 1994)

ลักษณะกราฟโมโนดข้างต้นใช้อธิบายการเกิดปัญหาสลัดจ์ไม่จมตัว (Sludge Bulking) ของระบบเอเอส (Activated Sludge) ได้เช่นกัน เมื่อถังเติมอากาศมีแบคทีเรียสร้างฟล้อคและแบคทีเรียแบบเส้นใยเจริญเติบโตอยู่ด้วยกัน แบคทีเรียเส้นใยจะมีค่า K_S ต่ำกว่าของแบคทีเรียสร้างฟล้อค ดังนั้น แบคทีเรียเส้นใยจะ

เจริญเติบโตได้ดีกว่าภายใต้สภาวะที่มีค่าซีโอดีต่ำ ปัญหาสลัดจ์ไม่จมตัว (Sludge Bulking) เนื่องจากมีแบคทีเรียเส้นใยเติบโตเป็นพันธุ์เด่น จึงพบได้เสมอกับระบบเอเอสที่ผลิตน้ำทิ้งที่มีคุณภาพสูง (มีค่าซีโอดีต่ำ)

ตัวอย่างของการใช้ประโยชน์จากสมการจลน์ศาสตร์อีกอย่างหนึ่งคือ การอธิบายถึงความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างมีเทน

ขอให้พิจารณาสมการของโมโนดของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างมีเทน

$$\mu_1 = \frac{\mu_{m1} S}{K_{S1} + S}$$

และ

$$\mu_2 = \frac{\mu_{m2} S}{K_{S2} + S}$$

โดยตัวห้อย 1 และ 2 เป็นค่าตัวแปรของแบคทีรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างมีเทนตามลำดับ

พิจารณาอัตราส่วน μ_{m1}

$$\frac{\mu_1}{\mu_2} = \frac{\mu_{m1}}{\mu_{m2}} \times \frac{(K_{S2} + S)}{(K_{S1} + S)} \qquad (6.26)$$

- กรณี S น้อยกว่า K_s มาก ๆ

$$\frac{\mu_1}{\mu_2} = \frac{\mu_{m1} / K_{S1}}{\mu_{m2} / K_{S2}} \qquad (6.27)$$

จากสมการที่ 6.27 จะได้ว่าอัตราส่วน μ_m/K_S จะเป็นพารามิเตอร์ที่กำหนดอัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแต่ละกลุ่ม และสามารถนำไปเปรียบเทียบการแข่งขันระหว่างแบคทีเรียสองกลุ่ม ในสภาวะที่สารอาหารเป็นตัวกำหนดการเจริญเติบโต เมื่ออยู่ในสภาวะแวดล้อมเดียวกันได้

- กรณีที่ S มากกว่า K_S มาก ๆ

$$\frac{\mu_1}{\mu_2} = \frac{\mu_{m1}}{\mu_{m2}} \qquad (6.28)$$

จากสมการที่ 6.28 จะได้ว่า เมื่ออยู่ในสภาวะที่สารอาหารมากเกินพอ ค่าอัตราการเจริญเติบโตสูงสุด (μ_m) จะเป็นพารามิเตอร์ที่ใช้เปรียบเทียบการแข่งขันของแบคทีเรียสองกลุ่มที่อยู่ในสภาวะแวดล้อมโดยเดียวกันได้ ดังนั้น ค่าพารามิเตอร์ทางจลน์ศาสตร์ที่สำคัญในการใช้พิจารณาการแข่งขันเพื่อดำรงชีพและการเจริญเติบโตในสภาวะแวดล้อมเดียวกัน ก็คือ μ_m และอัตราส่วน μ_m/K_S โดยค่าที่มากกว่าแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการเจริญเติบโตที่ดีกว่า

สมการทางจลน์ศาสตร์อีกสมการหนึ่งคือสมการที่แสดงความสัมพันธ์ของอัตราการใช้สารอาหารจำเพาะของแบคทีเรียกับความเข้มข้นของสารอาหาร ดังแสดงในสมการที่ 6.29

$$R = \frac{V_m \times S}{K_m + S} \qquad (6.29)$$

โดย R = อัตราการใช้สารอาหารจำเพาะ, เวลา$^{-1}$

V_m = อัตราการใช้สารอาหารจำเพาะสูงสุด, เวลา$^{-1}$

S = ความเข้มข้นของสารอาหารที่พิจารณา, มวลสารอาหารต่อปริมาตร

K_m = ความเข้มข้นของสารอาหารที่พิจารณาเมื่ออัตราการใช้สารอาหารจำเพาะมีค่าเป็นครึ่งหนึ่งของอัตราการใช้สารอาหารจำเพาะสูงสุด, มวลสารอาหารต่อปริมาตร

สมการที่ 6.29 สัมพันธ์กับสมการที่ 6.25 ดังนี้

$$\mu = R \times Y_g$$

โดย Y_g = ยีลด์แท้

ในทำนองเดียวกับก่อนหน้านี้ ค่าพารามิเตอร์ทางจลน์ศาสตร์ที่สำคัญซึ่งใช้ในการใช้พิจารณาการแข่งขันเพื่อการดำรงชีพและการเจริญเติบโตในสภาวะแวดล้อมเดียวกันของแบคทีเรียสองกลุ่ม ก็คือ V_m และอัตราส่วน V_m/K_m

ค่าพารามิเตอร์ทางจลน์ศาสตร์ที่ใช้พิจารณาในการแข่งขันเพื่อแย่งใช้ไฮโดรเจนของแบคทีเรียทั้งสองกลุ่ม แสดงดังตารางที่ 6.7 และ 6.11 ซึ่งจะเห็นได้ว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตส่วนใหญ่มีค่า V_m/K_m, ค่า μ_m และ μ_m/K_S สูงกว่าแบคทีเรียสร้างมีเทน แต่แบคทีเรียสร้างมีเทนบางชนิดก็มีพารามิเตอร์ทางจลน์ศาสตร์ที่ได้เปรียบกว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเช่นกัน อย่างไรก็ตาม ถ้ามองถึงค่ายีลด์ในตารางที่ 6.7 ประกอบด้วยพบว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีค่ายีลด์ที่สูงกว่าอย่างเห็นได้ชัดและเมื่อมองถึงอัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรียรีดิวซ์

ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างมีเทนที่ความเข้มข้นของไฮโดรเจนค่าต่างๆ จะได้กราฟ
ดังแสดงในรูปที่ 6.7 ซึ่งชี้ให้เห็นว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีอัตราการเจริญเติบโตที่สูงกว่าแบคทีเรียสร้างมีเทนเสมอ ไม่ว่าความเข้มข้นของไฮโดรเจนจะมากหรือน้อยก็ตาม
อาศัยข้อมูลที่ได้จากตารางที่ 6.7 และ 6.12 ซึ่งชี้ให้เห็นว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่บริโภคไฮโดรเจนส่วนใหญ่จะมีค่าอัตราการเจริญเติบโตที่สูงกว่า, มีความชอบที่จะใช้ไฮโดรเจนมากกว่า (higher affinity) และมีค่ายีลที่สูงกว่าแบคทีเรียสร้างมีเทนที่บริโภคไฮโดรเจน จึงพอจะสรุปได้ว่า ในทางจลน์ศาสตร์ แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตส่วนใหญ่มีสมบัติในการเจริญเติบโตที่เหนือกว่าแบคทีเรียสร้างมีเทนที่บริโภคไฮโดรเจน

ตารางที่ 6.12 ค่าพารามิเตอร์ทางจลน์ศาสตร์สำหรับการใช้ไฮโดรเจน ของ MPB และ SRB(Visser,A.1994)

ชนิดแบคทีเรียหรือระบบ	อุณหภูมิ °ซ	ใช้กับสมการบริโภคสับสเตรท			ใช้กับสมการเติบโตด้วย H_2		
		V_m $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$	K_m $\mu mol \cdot l^{-1}$	V_m/K_m $l \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$	μ_m (h^{-1})	K_S $\mu mol \cdot l^{-1}$	μ_m/K_S $l \cdot \mu mol \cdot h^{-1}$
Sulfate Reducers							
Desulfovibrio							
vulgaris (Marburg)	**35**	**880**	**1.3**	**660**	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
	35	**79,000**	ไม่พบ	ไม่พบ	**0.23**	ไม่พบ	ไม่พบ
vulgaris	**37**	**1,770**	**1.9**	**930**	**nd**	ไม่พบ	ไม่พบ
desulfuricans	**37**	**5,280**	**1.8**	**2,930**	**nd**	ไม่พบ	ไม่พบ
sp.(G11)	**37**	**3,300**	**11**	**3,000**	**0.057**	**3.3**	**0.017**
sp.(PS1)	**37**	**3,300**	**0.7**	**4,710**	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
Lake sediment + SO_4^{2-} (freshwater, eutrophic)	**20**	ไม่พบ	**1.1**	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
Methanogens							
Methanobrevibacter	**35**	**8,510**	**6.6**	**1,290**	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
arboriphilus (AZ)	**33**	**215,000**	ไม่พบ	ไม่พบ	**0.144**	ไม่พบ	ไม่พบ
	23	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	**5**	ไม่พบ
Methanospirillum							
hungatei (JF-1)	**37**	**4,200**	**5.0**	**840**	**0.053**	**0.6**	**0.008**
sp.(PM1)	**37**	**5,400**	**2.5**	**2,160**	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
Methanococcus	**37**	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	**0.18**	ไม่พบ	ไม่พบ
Maripaludis							
Methanosarcina barkeri(MS)	**37**	**6,600**	**13**	**510**	**0.058**	ไม่พบ	ไม่พบ
Lake sediment	**20**	ไม่พบ	**4.7**	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
(freshwater, eutrophic)	**10-14**	ไม่พบ	**1.1-4.1**	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
Sewage digester sludge	**33**	ไม่พบ	**78**	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ

เอกสารอ้างอิง

1. Barton, L.L, Editor (1995) “Sulfate Reducing Bacteria”, Plenum Press, New York, London
2. Cheynoweth, D.P. and Isaacson, R (1987), Editors “Anaerobic Digestion of Biomass”, Elseveir Applied Science, London and New York.
3. Erickson, L.E. and Fung, D.Y-C Co Editors (1988) “Handbook on Anaerobic Fermentations”, Marcel Dekker, Inc, New York, Basel
4. Fenchel T. and Finlay J.B.(1995) Ecology and Evolution in Anoxic Worlds. New York: Oxford University Press
5. Grady, C.P.L. Jr. and Lim,H.C (1980) "Biological Wastewater Treatment : Theory and Applications " Marcel Dekker, Inc.,New York and Basel
6. Grady, C.P.L. Jr.,Daigger,G.T and Lim,H.C (1999) "Biological Wastewater Treatment : " Second Edition, Marcel Dekker, Inc.,New York and Basel
7. Harada H., Uemura S. and Komonoi K. Interaction Between Sulfate Reducing Bacteria and Methane Producing Bacteria in UASB Reactors Fed with Low Strength Wastes Containing Different Levels Of Sulfate. Water Research. Vol. 28, No. 2, 1994: 355-367.
8. Henzen,M and Harremoes,P 1983 "Anaerobic Treatment of Wastewater in Fixed Film Reactors-a Literature Review" Water Science and Technology,15,1

9. Hughes, D.E et al. Editors (1981) “Anaerobic Digestion 1981”, Proceedings of the 2nd. International Symposium on Anaerobic Digestion, Travemunde, Federal Republic of Germany,6-11 Sept.1981 Elseveir Biomedical Press, Amsterdam, New York-Oxford
10. Lawrence, A.W (1971) "Application of Process Kinetics to Design of Anaerobic Processes " in Anaerobic Biological Treatment Processes ,American Chemical Society Advanced in Chemical series 105: 163-189
11. Lawrence, A.W and McCarty, P.L (1969) "Kinetics of Methane Fermentation in Anaerobic Treatment" J.WPCF,41(2) ,R1-R17
12. Macfarlane G.T. and Gibson G.R. (1991) Sulphate Reducing Bacteria. In Levett P.N. (ed.), Anaerobic Microbiology: A Practical Approach. pp. 201-222. New York: IRL Press, .
13. Macfarlane G.T. and Gibson G.R. Sulphate-reducing bacteria. In Levett P.N. (ed.), Anaerobic Microbiology: A Practical Approach. pp. 201-222. New York: IRL Press, 1991.
14. Madigan T.M., Martinko J.M. and Parker J. *Brock* Biology of Microorganisms. 8th ed. USA.: Prentice Hall International, 1997.
15. Madigan T.M., Martinko J.M. and Parker J. Brock Biology of Microorganisms. 8th ed. USA.: Prentice Hall International, 1997.
16. McCarty, P.L (1964) “Anaerobic Waste Treatment Fundamentals” Public Works.

17. Mosey,F.E (1982) “New Developments in the Anaerobic Treatment of Industrial Wastes” Wat.Pollut.Control., 1982: 540-552.
18. Rittmann, B.E and McCarty, P.L (2001) "Environmental Biotechnology: Principles and Applications" McGraw-Hill International Editions
19. Sam Soon ,PALNS ,et al (1991) "Mathematical Modelling of Upflow Anaerobic Sludge Bed (UASB) Systems Treating Carbohydrate Wastewater " Water SA, Vol.17,No.2 ,pp.91-106
20. Sam-Soon ,Palns et al (1987) "Hypothesis for Pelletisation in the Upflow Sludge Bed Reactor" Water SA, 13,2, 69-80
21. Speece, R.E (1996) “Anaerobic Biotechnology for Industrial Wastewaters”, Archae Press, Nashville, Tennessee
22. Speece,R.E (1983) "Anaerobic Biotechnology for Industrial Wastewater Treatment" Environ.Sci.Technol.,17 ,9, 416A-427A
23. van Haandel, A.C and Lettinga, G (1994) “Anaerobic Sewage Treatment: a practical Guide for Regions with a Hot Climate”, John Wiley & Sons.
24. van Haandel, A.C and Lettinga, G (1994) “Anaerobic Sewage Treatment: a practical Guide for Regions with a Hot Climate”, John Wiley & Sons.
25. Visser A. (1994.) Anaerobic Treatment of Sulfate Containing Wastewaters. International Training Course on Anaerobic and Low Cost Treatment of Wastewater and Wastes. 10 to 21 October, 1994, Asian Institute of Technology. Thailand

26. Visser, A.,Gao, Y and Lettinga, G (1992) "Anaerobic Treatment of Synthetic Sulfate containing Wastewater under Thermophilic Conditions" Wat.Sci.Tech., 25, 193-202

27. Widdel ,F.(1988) Microbiology and Ecology of Sulfate and Sulfur Reducing Bacteria. In Widdel ,F. (ed.), Biology of Anaerobic Microorganisms, pp. 469-585.

28. Wheatley,A.D (1997) "Applications of Anaerobic Digestion for the Treatment of Industrial Wastewaters in Europe" Water and Environmental Management,11,39-46

29. Zehnder, A.J.B. Editor (1988) “Biology of Anaerobic Microorganisms”, A Wiley-Interscience Publication, John Wiley & Sons.

ภาษาไทย

1. ธงชัย พรรณสวัสดิ์ (2544), “ การกำจัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสทางชีวภาพ”, สมาคมวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย
2. มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์ (2542) , “เทคโนโลยีบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรม เล่ม 1,2” , พิมพ์ครั้งที่ 1 สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
3. โสภา ชินเวชกิจวานิชย์ และ มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์(2543) "ความสำคัญของสภาพด่างในระบบบำบัดแบบไร้อากาศ" การประชุมวิชาการประจำปีระดับชาติ ครั้งที่ 13 สวสท.’43
4. อนุตร เปียงแก้ว "การควบคุมระดับการเกิดซัลเฟตรีดักชันด้วยปริมาณซัลเฟตและชนิดของแหล่งคาร์บอน" วิทยานิพนธ์ปริญญาวิศวกรรมศาสตร์มหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2542.

ISBN 974-9558-56-1

ฝ่ายคุณภาพสิ่งแวดล้อมและห้องปฏิบัติการ **เล่มที่ 4/4**

กรมควบคุมมลพิษ **กรกฎาคม 2546**

การจัดทำคู่มือวิชาการระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศ

- **คู่มือวิชาการระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศ เล่มที่ 2**

ดำเนินการศึกษาโดย :

ดร.มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์

ศูนย์บริการวิชาการแห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

344 ซ.จุฬา 22 ถ.บรรทัดทอง เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ

10330

กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

เป็นเจ้าของกรรมสิทธิ์และมีลิขสิทธิ์ในเอกสารฉบับนี้