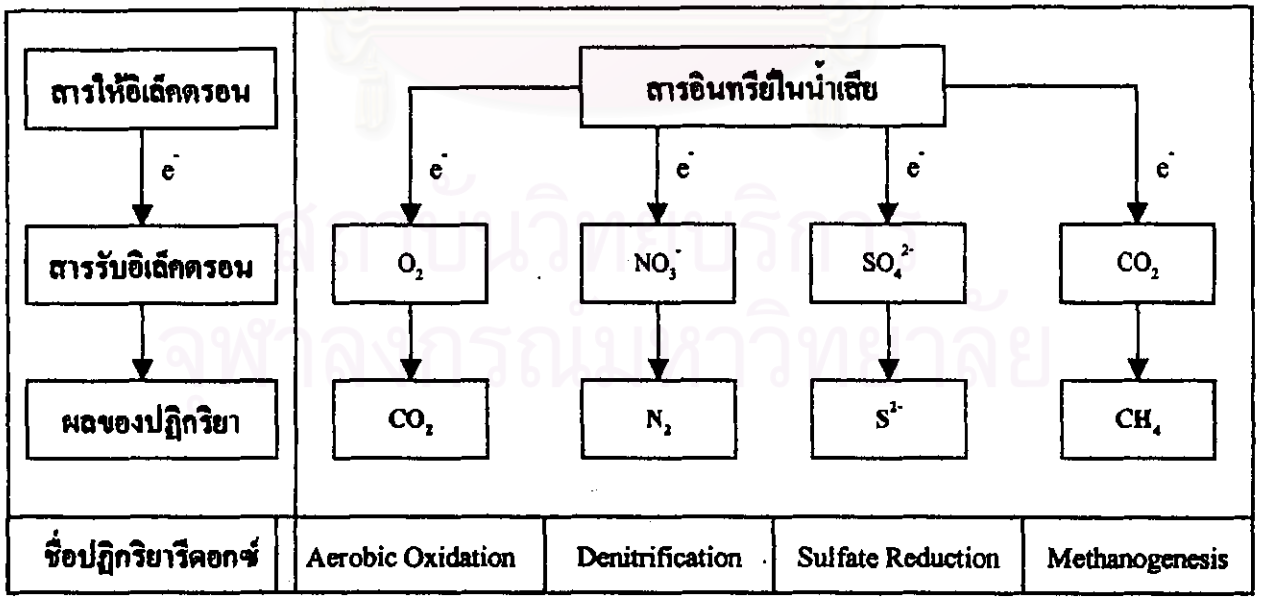
บทที่ 2

ทฤษฎีและแนวความคิด

2.1 กลไกพื้นฐานในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสีย

กลไกพื้นฐานในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสีย คือ ปฏิกิริยาเคมีที่มีการถ่ายเทอิเล็คตรอนเกิดขึ้นระหว่างตัวให้อิเล็คตรอน (electron donor) และสารรับอิเล็คตรอน (electron acceptor) ซึ่งก็คือปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชันหรือรีดอกซ์นั่นเอง

สารให้อิเล็คตรอนในน้ำเสียจะเป็นสารอินทรีย์หรือมลสารในน้ำเสีย ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนและพลัง-งานให้กับจุลชีพ ในขณะที่สารรับอิเล็คตรอนจะมีหลายชนิด และผลของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเมื่อสารรับอิเล็ค-ตรอนแตกต่างกันก็จะให้ผลที่แตกต่างกันออกไป ดังนั้นเมื่อพิจารณาที่ชนิดสารรับอิเล็คตรอนตัวสุดท้ายจะสามารถจำแนกกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ต่างๆ ที่เกิดขึ้นได้ ดังรูปที่ 2.1 และตารางที่ 2.1 ตัวอย่างเช่น ถ้าสารรับอิเล็คตรอนตัวสุดท้ายเป็นออกซิเจน เรียกว่าการออกซิไดซ์แบบใช้ออกซิเจน (aerobic oxidation) ถ้าใช้สารอินทรีย์เป็นตัวรับอิเล็คตรอนจะเรียกว่าหมัก (fermentation) และถ้าใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวรับอิเล็คตรอน เรียกว่า ปฏิกิริยาการผลิตมีเทน (methanogenesis) เป็นต้น



รูปที่ 2.1 ปฏิกิริยารีดอกซ์ในการบำบัดน้ำเสีย (มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์,2536)

ตารางที่ 2.1 ปฏิกิริยารีดอกซ์ในการบำบัดน้ำเสีย

ลำดับที่	สารรับอิเล็คตรอน	ผลของปฏิกริยาที่เกิดขึ้น	ชื่อของปฏิกริยา
1	ออกซิเจน	คาร์บอนไดออกไซด์	Aerobic Oxidation
2	ไนเตรต	ไนโตรเจน	Denitrification
3	ซัลเฟต	ซัลไฟด์	Sulfate Reduction
4	คาร์บอนไดออกไซด์	มีเทน	Methanogenesis
5	สารอินทรีย์	สารอินทรีย์ที่มีโมเลกุลเล็กลง	Fermentation

สำหรับในกรณีที่มีสารรับอิเล็คตรอนหลายชนิดในน้ำเสียหนึ่งๆ เมื่อพิจารณาเฉพาะปัจจัยทางเทอร์-โมไดนามิกส์เป็นหลัก จะสามารถเรียงลำดับปฏิกริยาตามปริมาณพลังงานที่ได้รับจากมากไปน้อยตามชนิดของสารรับอิเล็คตรอนในกรณีที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ชนิดเดียวกันได้ดังนี้ คือ ออกซิเจน, ไนเตรต, ซัลเฟต และคาร์บอนไดออกไซด์ ตามลำดับ และโอกาสจากมากไปน้อยที่ปฏิกริยาต่างๆจะเกิดขึ้นก็จะเป็นไปตามลำดับดังกล่าวด้วยเช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตามยังจะต้องพิจารณาปัจจัยด้านอื่น เช่น ปัจจัยทางไคเนติก และปัจจัยทางสภาวะแวดล้อมต่างๆ เช่น ช่วงอุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลชีพที่มีบทบาทสำคัญ เป็นต้น และปัจจัยที่สำคัญอื่นๆ จึงจะได้ภาพรวมที่แท้จริงของการเกิดปฏิกริยาย่อยสลายสารอินทรีย์โดยจุลชีพในการบำบัดน้ำเสีย โดยปัจจัยทางเทอร์โมไดนามิคส์จะมีประโยชน์ในการใช้เป็นแนวทางที่สำคัญในการพิจารณาโอกาสในการเกิดปฏิกิริยาต่างๆในเบื้องต้น

2. 2 การย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไร้อากาศที่ผลิตมีเทน

ในสภาพความเป็นจริงสำหรับการเกิดปฏิกริยาต่างๆตามชนิดของสารรับอิเล็คตรอน สิ่งที่สำคัญเบื้องต้นคือการมีสารรับอิเล็คตรอนชนิดนั้นๆอยู่ในน้ำเสียซึ่งจะเกิดการย่อยสลายต่อไปหรือไม่ โดยทั่วไปสำหรับน้ำเสียที่มีความสกปรกสูง การไม่มีการเติมอากาศให้กับน้ำเสียจะเป็นการปิดโอกาสสำหรับการย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจนโดยสมบูรณ์ ในกรณีของไนเตรต และซัลเฟตก็มีลักษณะเช่นเดียวกับกรณีของออกซิเจน นั่นคือถ้าในน้ำเสียที่เกิดขึ้นมีปริมาณของสารดังกล่าวอยู่ต่ำก็จะเป็นการปิดโอกาสของปฏิกริยาทั้งสองในการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยสมบูรณ์เช่นเดียวกัน ประเด็นหนึ่งที่แตกต่างระหว่างไนเตรต และซัลเฟต ก็คือโดยทั่วไปในน้ำประปาจะมีซัลเฟตอยู่ปริมาณหนึ่งเสมอจากการใช้สารส้มเป็นสารโคแอกกู-แลนท์ ดังนั้นในน้ำเสียทั่วไปก็จะพบซัลเฟตได้ไม่ยากนักแต่ก็จะไม่พบในปริมาณสูง ยกเว้นใน

น้ำเสียจากกิจกรรมที่มีการทิ้งซัลเฟตสูง ขณะที่โอกาสที่จะพบไนเตรตในน้ำประปาจะมีน้อยกว่ามาก และจะเป็นในกรณีที่มีไนเตรตอยู่ในน้ำดิบตั้งแต่ต้น ซึ่งก็มักจะหลีกเลี่ยงในการใช้แหล่งน้ำดังกล่าวเป็นแหล่งน้ำดิบ เนื่องจากไนเตรตเป็นอันตรายต่อเด็กทารกแม้มีในปริมาณต่ำก็ตาม สำหรับในน้ำเสียดิบโดยทั่วไปมักจะพบไนโตรเจนที่อยู่ในรูปของ ไนโตรเจนอินทรีย์ และแอมโมเนียไนโตรเจนเท่านั้น โดยในการเปลี่ยนไนโตรเจนทั้งสองรูปดังกล่าวให้ไปอยู่ในรูปไนเตรทจะต้องผ่านน้ำเสียนั้นเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสียแบบใช้อากาศ และไนเตรทมักจะถูกกำจัดออกจากน้ำเสียในรูปก๊าซไนโตรเจนด้วยปฏิกริยาดีไนตริฟิเคชัน ดังนั้นในแหล่งน้ำทั่วไปจะไม่พบไนเตรทในปริมาณสูง ยกเว้นในน้ำเสียจากกิจกรรมที่มีการทิ้งไนเตรทสูงเช่นเดียวกับกรณีของซัลเฟต ขณะที่กรณีของคาร์บอนไดออกไซด์จะมีความแตกต่างจากสารรับอิเล็คตรอนตัวอื่นที่กล่าวถึงข้างต้น เนื่องจากการทำงานของแบคทีเรียไร้อากาศประเภทต่างๆในขั้นตอนการหมักจะเกิด คาร์บอนไดออกไซด์ออกมาอยู่ตลอดเวลา ซึ่งจะเป็นแหล่งของคาร์บอนไดออกไซด์ที่จะเกิดขึ้นเองภายในน้ำเสียโดยไม่จำเป็นต้องมีการเติมจากแหล่งภายนอก ทำให้กลไกของการย่อยสลายสารอินทรีย์อย่างสมบูรณ์ในสภาวะไร้อากาศโดยทั่วไปมักจะเป็นการย่อยสลายสารอินทรีย์ด้วยปฏิกริยาการผลิตมีเทน

2.2.1 กลไกการผลิตมีเทน

ภายใต้สภาวะไร้อากาศที่มีปริมาณซัลเฟตหรือไนเตรตเพียงเล็กน้อยหรือไม่มีเลย ขั้นตอนการย่อยสลายในการเปลี่ยนรูปสารอินทรีย์ในน้ำเสียจะเป็นกระบวนการไร้อากาศที่มีผลิตภัณฑ์หลัก คือ ก๊าซมีเทน โดยในกรณีที่สารอินทรีย์อยู่ในรูปสารละลาย ขั้นตอนการย่อยสลายที่สำคัญจะประกอบด้วยขั้นตอนต่างๆ 4 ขั้นตอนดังนี้คือ

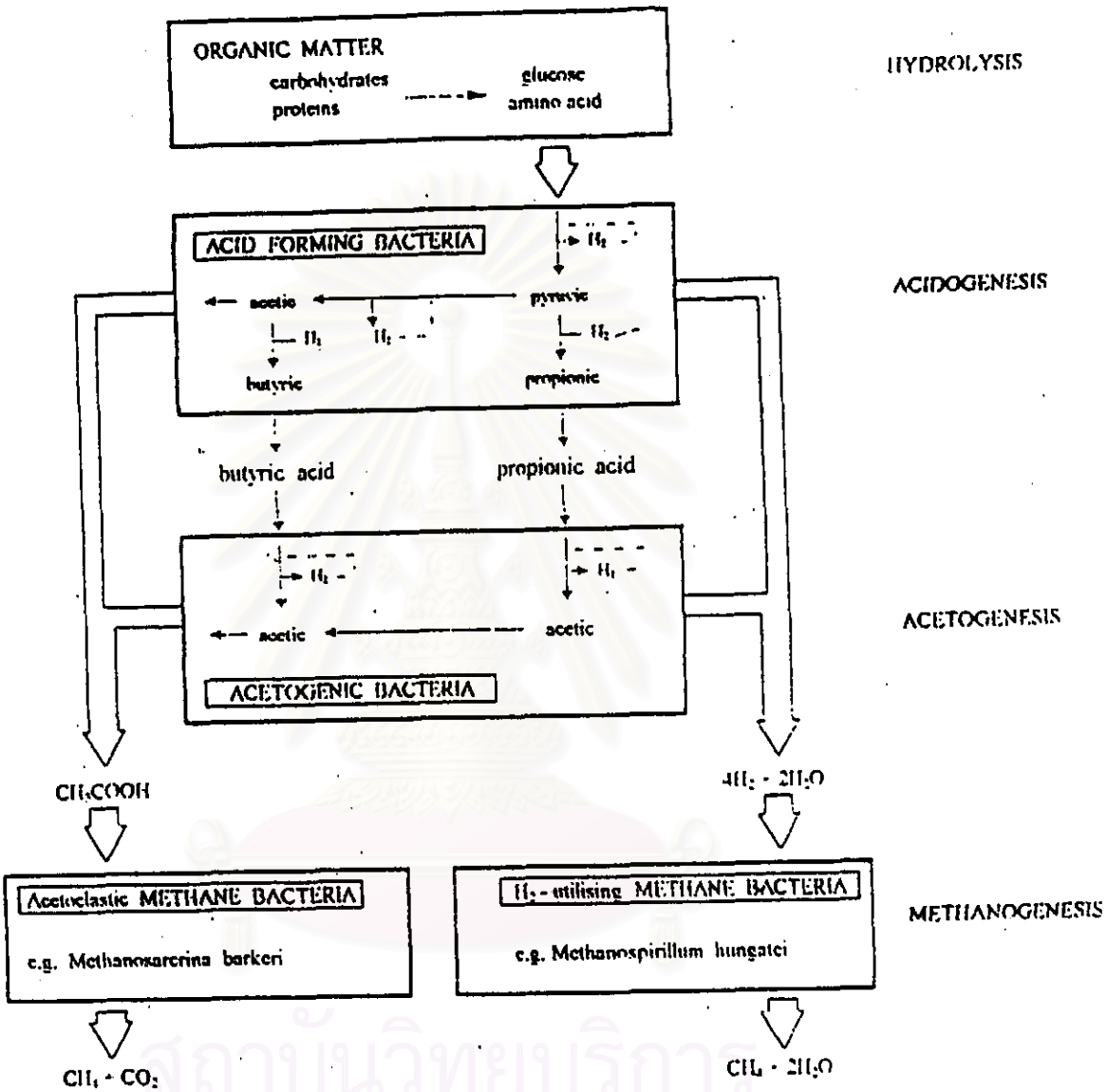
ขั้นที่ 1 ไฮโดรไลซิส (hydrolysis)

ขั้นที่ 2 การสร้างกรดไขมันระเหย (acidogenesis)

ขั้นที่ 3 การสร้างกรดอะซิติก (acetogenesis)

ขั้นที่ 4 การสร้างมีเทน (methanogenesis)

และเกี่ยวข้องกับแบคทีเรีย 3 กลุ่มคือ acidogenic bacteria, acetogenic bacteria และ methanogenic bacteria โดยรูปที่ 2.2 แสดงขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์ละลายในกระบวนการไร้อากาศที่มีผลิตภัณฑ์หลัก คือ ก๊าซมีเทน



รูปที่ 2.2 ขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์ละลายในกระบวนการไร้อากาศ ที่มีผลิตภัณฑ์หลัก คือ ก๊าซมีเทน (Mosey,1982)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขั้นที่ 1 ไฮโดรไลซิส

ปฏิกริยาไฮโดรไลซิสเป็นขั้นตอนการแตกสารประกอบโมเลกุลใหญ่ เช่น โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต เป็นต้น ให้กลายเป็นสารประกอบโมเลกุลเล็ก เช่น น้ำตาล และกรดอะมิโน เป็นต้น จากการทำงานของแบคทีเรียหลายจำพวกซึ่งส่วนใหญ่เป็นพวกแบคทีเรียสร้างกรด โดยแบคทีเรียเหล่านี้ปล่อยเอนไซม์ออกมาภายนอกเซล ซึ่งจะไปลดพลังงานกระตุ้นเป็นการช่วยให้เกิดปฏิกิริยาได้เร็วขึ้น เอนไซม์เป็นโปรตีนที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อปฏิกิริยาและสารที่จะทำปฏิกิริยา ดังนั้นเอนไซม์ที่แบคทีเรียปล่อยออกมานอกเซลจึงขึ้นอยู่กับสารอินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำเสีย เช่น แป้งและไกลโคเจนต้องใช้เอนไซม์อะไมเลส (amylase) ไขมันและไลปิดใช้เอนไซม์ไลเปส (lipase) และเอสเตอเรส (esterases) โปรตีนต้องใช้เอนไซม์โปรตีส (protease) ส่วนกรดอะมิโนและไลซีน (lysine) ต้องใช้เอนไซม์ทริปซิน (tripsin) เป็นต้น การทำงานของเอนไซม์ก็ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น ความเข้มข้นของสารอินทรีย์ ความเข้มข้นของเอนไซม์ อุณหภูมิ พื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างเอนไซม์กับสารอินทรีย์ ดังนั้นการย่อยสลายสารแต่ละชนิดจึงใช้เวลาต่างกัน

ขั้นที่ 2 การสร้างกรดไขมันระเหย

ผลผลิตจากขั้นที่ 1 จะได้เป็นสารประกอบอินทรีย์โมเลกุลเล็ก เช่น กรดอะมิโน น้ำตาลและกรดไขมัน เป็นต้น แล้วแต่ชนิดของสารอินทรีย์เริ่มต้น ผลผลิตดังกล่าวจะถูกแบคทีเรียกลุ่มเดียวกับขั้นที่ 1 คือพวกแบคทีเรียสร้างกรดดูดซึมเข้าไปภายในเซลเพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน โดยผ่านกระบวนการหมัก (fermentation) ภายในเซลล์และเปลี่ยนเป็นกรดไขมันระเหย เช่น กรดอะซิติก กรดโพรพิ-โอนิก และ กรดบิวทิริก เป็นต้น ผลผลิตที่ได้จะขึ้นอยู่กับ

a) ชนิดของสารอินทรีย์ที่ถูกย่อยสลาย

b) ความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนในขณะนั้น

เช่น การย่อยสลายน้ำตาลเป็นกรดอะซิติกโดยผ่านวิถีชีวเคมีที่เรียกว่าEmden-Meyerhof pathway ในกรณีที่ความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนสูงและต่ำเป็นไปตามสมการต่อไปนี้

ความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนต่ำ

$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CH_3COOH(\text{acetic acid}) + 2CO_2 + 4H_2$

ความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนสูง

$C_6H_{12}O_6 \rightarrow CH_3CH_2COOH(\text{propionic acid}) + CH_3COOH + CO_2 + 4H_2$

$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow CH_3CH_2CH_2COOH(\text{butyric acid}) + 2CO_2 + 2H_2$$

ส่วนกรดไขมันชนิดยาวจะเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติกและไฮโดรเจน ภายใต้ความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนต่ำ และเปลี่ยนเป็นกรดโพรพิโอนิกและกรดบิวทิริกภายใต้สภาวะความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนสูง

ขั้นที่ 3 การสร้างกรดอะซิติก

กรดไขมันระเหยที่ผลิตขึ้นในขั้นที่ 2 จะเป็นอาหารให้แบคทีเรียกลุ่มที่ทำหน้าที่สร้างมีเทนต่อไป แต่เนื่องจากแบคทีเรียที่สร้างมีเทนไม่สามารถใช้กรดไขมันระเหยที่มีคาร์บอนมากกว่า 2 อะตอม เช่น กรดบิวทิริก กรดโพรพิโอนิก เป็นสารอาหารได้ จึงต้องอาศัยแบคทีเรียอะซิโดเจนนิก (แบคทีเรียสร้างอะซิเตตและสามารถสร้างไฮโดรเจนได้) ทำการย่อยกรดไขมันที่มีคาร์บอนอะตอมมากกว่า 2 อะตอมให้กลายเป็นกรดอะซิติก ดังสมการข้างล่าง จึงจะทำให้แบคทีเรียสร้างมีเทนนำไปใช้ต่อไปได้

$$CH_3CH_2COOH(\text{propionic acid}) + 2H_2O \rightarrow CH_3COOH + CO_2 + 3H_2$$

$$CH_3CH_2CH_2COOH(\text{butyric acid}) + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COOH + 2H_2$$

โดยกระบวนการนี้จะเกิดขึ้นภายใต้สภาวะความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนมีค่าต่ำเท่านั้น กรดไขมันระเหยไม่สามารถย่อยสลายกลายเป็นกรดอะซิติกใต้สภาวะที่มีไฮโดรเจนมีความดันพาร์เชียลสูง และแบคทีเรียประเภทนี้จะมีส่วนช่วยไม่ให้มีการสะสมตัวของกรดบิวทิริก และกรดโพรพิโอนิกในถังปฏิกิริยาซึ่งเป็นเหตุให้พีเอชลดต่ำลงจนยับยั้งแบคทีเรียสร้างมีเทนได้

ขั้นที่ 4 การสร้างมีเทน

ขั้นตอนการสร้างมีเทนเป็นขั้นตอนสุดท้ายที่มีความสำคัญในการเปลี่ยนความสกปรกในรูปสารอินทรีย์ละลายและก๊าซไฮโดรเจนให้เปลี่ยนรูปไปอยู่ในรูปก๊าซมีเทน และคาร์บอนไดออกไซด์โดยบทบาทของแบคทีเรียผลิตมีเทน(Methane Producing Bacteria, MPB หรือ Methanogen)จากปฏิกริยาการสร้างมีเทนซึ่งเป็นปฏิกริยาไร้ออกซิเจนชนิดเคร่งขาด (obligate anaerobic reaction) ที่มีความเฉพาะเจาะจงในชนิดสารอาหารที่จะสามารถนำมาใช้ได้ โดยแสดงชนิดสารอาหารในตารางที่2.2

ตารางที่ 2.2 กลุ่มสารอาหารที่ใช้ในปฏิกริยาการสร้างมีเทน (Brock,Madigan และHall, 1988)

กลุ่มสารอาหาร	สารอาหาร
1. กลุ่มคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2 – type substrates)	คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) กรดฟอร์มิก (HCOOH) คาร์บอนมอนออกไซด์ (CO)
2. กลุ่มสารประกอบที่มีกลุ่มเมทิล (-CH3) (Methyl substrates)	เมทานอล (CH_3OH) เมทิลลามีน ($CH_3NH_3^+$) ไดเมทิลลามีน ($(CH_3)_2NH_3^+$) ไตรเมทิลลามีน ($(CH_3)_3NH_3^+$)
3. กรดอะซิติก (Acetoclastic substrate)	กรดอะซิติก(CH_3COOH)

โดยปฏิกริยาสร้างมีเทนจากกลุ่มสารอาหารจากตารางที่2.2 เป็นดังนี้

1. กลุ่มคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2 – type substrates) :

<u>คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2)</u> : $4H_2 + CO_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O$

<u>กรดฟอร์มิก (HCOOH)</u> : $4\,HCOOH \rightarrow 4CO_2 + 4H_2$

$$\underline{CO_2 + 4H_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O}$$

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

<u>คาร์บอนมอนออกไซด์ (CO)</u> $4CO + 2H_2O \rightarrow CH_4 + 3CO_2$

สำหรับปฏิกริยาสร้างมีเทนที่เกิดจากสารอาหารกลุ่มคาร์บอนไดออกไซด์นี้ ส่วนใหญ่จะมีก๊าซไฮโดรเจนเป็นสารให้อิเล็คตรอน ดังนั้นจึงเรียกปฏิกริยานี้ว่า hydrogenotrophic reactions และเรียกแบคทีเรียที่ใช้สารอาหารกลุ่มนี้ว่า hydrogenotrophic methanogens หรือ hydrogen utilizers โดยประมาณว่าร้อยละ 30 ของก๊าซมีเทนที่ถูกสร้างขึ้นจะได้ผ่านทาง hydrogenotrophic reactions

2. กลุ่มสารประกอบที่มีกลุ่มเมทิล ($-CH_3$) (Methyl substrates)

<u>เมทานอล (CH_3OH)</u>

$$CH_3OH + 2H_2O \rightarrow CO_2 + 6H$$
$$3CH_3OH + 6H \rightarrow 3CH_4 + 3H_2O$$
$$4CH_3OH \rightarrow 3CH_4 + CO_2 + 2H_2O$$

<u>เมทิลเอมีน ($CH_3NH_2^+$)</u> $4CH_3NH_3Cl + 2H_2O \rightarrow 3CH_4 + CO_2 + 4NH_4Cl$

ก๊าซมีเทนที่ได้จากสารอาหารประเภทนี้จะสร้างจากกลุ่มเมทิลในสารอาหาร ปฏิกริยาเหล่านี้บางโมเลกุลของสารตั้งต้นจะเป็นสารให้อิเล็คตรอน และถูกออกซิไดซ์เป็นคาร์บอนไดออกไซด์ ขณะที่บางโมเลกุลจะถูกรีดิวซ์และใช้เป็นสารรับอิเล็คตรอน

3. กรดอะซิติก (Acetoclastic substrate)

<u>กรดอะซิติก(CH_3COOH)</u> $CH_3COOH \rightarrow CH_4 + CO_2$

ก๊าซมีเทนจากสารอาหารประเภทนี้จะสร้างจากกลุ่มเมทิลในโมเลกุลของกรดอะซิติกเช่นกัน ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นนี้เรียกว่า acetoclastic reaction เป็นการแยก (cleavage) กรดอะซิติกเป็นก๊าซมีเทน และคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งจะผลิตมีเทนในระบบถึงร้อยละ 70 ของมีเทนที่ได้ทั้งหมด โดยเรียกแบคทีเรียที่ใช้กรดอะซิติกเป็นสารอาหารว่า acetoclastic methanogens โดยมี 2 genera ที่สำคัญ คือ *Methanosarcina* และ*Methanotrix*

2.2.2 แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับระบบไร้อากาศที่ผลิตก๊าซมีเทน

2.2.2.1 <u>แบคทีเรียสร้างกรด</u> (Acidogenic Bacteria)

ในขั้นตอนการสร้างกรดของกระบวนการไร้ออกซิเจน กรดจะผลิตขึ้นโดยแบคทีเรียทั้งพวก obligate anaerobes และ facultative โดยส่วนใหญ่จะผลิตขึ้นด้วยแบคทีเรียพวกแรกมากกว่าเพราะมีจำนวนมากกว่า แบคทีเรียในหลายๆ สปีชี่ส์ของ *Pseudomonas, Flavobacterium Alcaligenes,*

Escherichia และ *Aerobacter* เป็นต้น เป็นพวกที่สร้างกรด โดยแบคทีเรีย obligate anaerobes ที่มีบทบาทสำคัญในการสร้างกรดก็คือกลุ่ม *Costridium* เมตาบอลิซึมของแบคทีเรียกลุ่มนี้มีหลายแบบจึงสามารถใช้สารอาหารทั้งที่เป็นพวก โพลีแซค-คาไรด์ และโปรตีนได้ ผลปฏิกิริยาที่ได้จึงมีหลายแบบต่างๆ กันออกไป เช่น กรดบิวทิริก, กรดอะซิติก, ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์, ก๊าซไฮโดรเจน, เอทานอล, บิวทานอล และอะซิโตน เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีแบคทีเรียในกลุ่ม *Propionibacterium* ที่ผลิตกรดโพรพิโอนิก และกรดอะซิติกจากกรดแลคติก (Fenchel, 1995 และ Medigan, 1997)

2.2.2.2 <u>แบคทีเรียสร้างกรดอะซิติก</u> (Acetogenic Bacteria)

เมื่อผลผลิตจากแบคทีเรียสร้างกรดยังเป็นสารที่แบคทีเรียสร้างมีเทนยังไม่สามารถใช้เป็นสารอาหารได้ ซึ่งต้องถูกเปลี่ยนให้เป็นสารโมเลกุลอย่างง่ายก่อน แบคทีเรียสร้างมีเทนจึงจะสามารถนำไปใช้ได้ ซึ่งแบคทีเรียที่สามารถเปลี่ยนกรดไขมันระเหยที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ให้กลายเป็นกรดอะซิติก, ก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้นั้น สามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิดดังนี้

1) Homoacetogenic Bacteria

เป็นแบคทีเรียที่ใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นสารรับอิเล็คตรอน และผลิตกรดอะซิติกขึ้นมา (เป็นปฏิกริยาการหายใจแบบไร้อากาศ) ผ่านวิถีที่เรียกว่า acetyl-CoA pathway แบคทีเรียชนิดนี้ เช่น *Acetobacterium woodii* และ *Clostridium aceticum* สามารถเจริญเติบโตทั้งในแบบออโทโทรฟิก (autotrophic) คือใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นสารรับอิเล็คตรอนและแหล่งคาร์บอน และใช้ก๊าซไฮโดรเจนเป็นสารให้อิเล็คตรอน เพื่อเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติก อีกทั้งเจริญเติบโตเป็นแบบเฮเทอโรโทรฟิก(heterotrophic) ก็ได้ โดยการหมักน้ำตาลดังสมการข้างล่าง

$$2CO_2 + 4H_2 \xrightarrow{\text{autotrophic bacteria}} CH_3COOH + 2H_2O$$

$$C_6H_{12}O_6 \xrightarrow{\text{heterotrophic bacteria}} 3CH_3COOH$$

2) H_2 – producing Acetogenic Bacteria

แบคทีเรียชนิดนี้จะใช้กรดไขมันระเหย (ที่ไม่ใช่กรดอะซิติก) หรือใช้แอลกอฮอล์เป็นสารอาหารแล้วสร้างกรดอะซิติกและก๊าซไฮโดรเจนขึ้นมา ซึ่งเป็นสารอาหารที่สำคัญของแบคทีเรียสร้าง

มีเทน ดังนั้นแบคทีเรียชนิดนี้จึงมีบทบาทสำคัญเพราะเป็นตัวเชื่อมระหว่างแบคทีเรียสร้างกรดกับแบคทีเรียสร้างมีเทน แบคทีเรียประเภทสร้างไฮโดรเจนนี้ จะไม่ทำให้เกิดการสะสมของกรดอินทรีย์ซึ่งอาจทำให้พีเอชในระบบลดลงได้จนเป็นอันตรายต่อแบคทีเรียสร้างมีเทน ส่วนไฮโดรเจนที่สร้างขึ้นมาหากมีการสะสมตัวอยู่ภายในระบบจะเป็นพิษต่อแบคทีเรียที่สร้างมันขึ้นมา อย่างไรก็ตามแบคทีเรียสร้างมีเทนสามารถใช้ไฮโดรเจนในการสร้างมีเทนได้ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการอยู่ร่วมกันระหว่างแบคทีเรียที่สร้างกรดและสร้างมีเทนให้ประโยชน์ซึ่งกันและกัน คือแบคทีเรียสร้างกรดสร้างอาหารให้แก่แบคทีเรียสร้างมีเทน ส่วนแบคทีเรียสร้างมีเทนก็ช่วนทำลายก๊าซไฮโดรเจนหใกับแบคทีเรียสร้างกรด

แบคทีเรียชนิดนี้จะอยู่ในกลุ่ม *Syntrophomonas* และกลุ่ม *Syntrophobacter* โดยแบคทีเรีย *Syntrophomonas wolfei* จะย่อยกรดไขมันระเหยที่มีคาร์บอนตั้งแต่ 4 ถึง 8 อะตอม ให้กลายเป็นกรดอะซิติก, ก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ส่วนแบคทีเรีย *Syntrophobacter wolinii* จะย่อยกรดโพรพิโอ-นิกให้กลายเป็นกรดอะซิติก, ก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

2.2.2.3 <u>แบคทีเรียสร้างมีเทน</u> (Methanogenic Bacteria)

ในขั้นตอนการสร้างมีเทน แบคทีเรียที่ผลิตก๊าซมีเทนจะเป็นแบคทีเรียกลุ่มเล็กๆ ของพวก obligate anaerobes ซึ่งไม่อาจทนต่อออกซิเจนได้แม้มีปริมาณเพียงเล็กน้อย แบคทีเรียพวกนี้จะเจริญเติบโตช้าและเลือกชนิดของอาหารมาก โดยส่วนใหญ่จะใช้กรดอะซิติกเป็นสารอาหารในการสร้างมีเทนมากที่สุด เมื่อแบคทีเรียสร้างมีเทนมีความจำเพาะต่อการใช้สารอาหารไม่กี่ชนิด (ตารางที่ 2.2) แต่แบคทีเรียสร้างกรดสามารถสร้างกรดอินทรีย์ได้หลายชนิด ทำให้แบคทีเรียสร้างไฮโดรเจนมีส่วนสำคัญดังที่กล่าวไปแล้วข้างต้นการเจริญเติบโตของแบคทีเรียสร้างมีเทนบางชนิดต้องการวิตามิน ซึ่งได้แก่ ไรโบฟลาวิน, แพนโททินิคแอ-ซิด, ไทอามิน, ไบโอติน และพาราอิมิโนเบนโซเอต แบคทีเรียสร้างมีเทนทุกชนิดใช้แอมโมเนียมอิออน(NH_4^+)เป็นแหล่งไนโตรเจน นอกจากนี้ยังต้องการธาตุอาหารเสริมสร้าง (trace element) ในปริมาณเพียงเล็กน้อยแต่ถ้าขาดจะมีผลเสียต่อการเจริญเติบโตได้ที่สำคัญ คือ นิเกิล ,เหล็ก และโคบอลต์ (Brock,Madigan และHall, 1988)

แบคทีเรียสร้างมีเทนหลายชนิดได้ถูกค้นพบและสามารถเพาะแยกเชื้อได้ การศึกษาทั้งทางกายภาพและระดับโมเลกุล ทำให้สามารถแยกแบคทีเรียชนิดนี้ได้เป็น 7 กลุ่ม รวมทั้งสิ้น 17 จีนัส (genus)รูปร่างของแบคทีเรียชนิดนี้มีทั้งที่เป็นแท่ง(ทั้งshort rods และ long rods),ทรงกลม(cocci)ที่มีการจัดรูปแบบเซลต่างๆ หรือเป็น plate-shaped รวมทั้งที่เป็นเส้นใย (filamentous) การติดสีมีทั้งแกรมลบ และแกรมบวก ดังแสดงในตารางที่ 2.3

ตารางที่2.3 ตัวอย่างแบคทีเรียสร้างมีเทน และสารอาหารที่ใช้ (Madigan และคณะ ,1997)

Genus	Morphology	Gram reaction	Number of species	Substrates for methanogenesis
Group I				
Methanobacterium	Long rods	+or−	8	H_2+CO_2, formate
Methanobrevibacter	Short rods	+	3	H_2+CO_2, formate
Methanosphaera	Cocci	+	1	Methanol + H_2 (both needed
Group II				
Methanothermus	Rods	+	2	H_2+CO_2; can also reduce S^0
Group III				
Methanococcus	Irregular cocci	−	5	H_2+CO_2, pyruvate + CO_2, formate
Group IV				
Methanomicrobium	Short rods	−	2	H_2+CO_2, formate
Methanogenium	Irregular cocci	−	3	H_2+CO_2, formate
Methanospirillum	Spirilla	−	1	H_2+CO_2, formate
Methanoplanus	Plate-shaped cells occuring as thin plates with sharp edges	−	2	H_2+CO_2, formate
Group V				
Methanosarcina	Large irregular cocci in packets	+	6	H_2+CO_2, methanol, methylamines, acetate
Methanolobus	Irregular cocci in aggregates	−	5	Methanol, Methylamines
Methanoculleus	Irregular cocci	−	4	H_2+CO_2, alcohols, formate
Methanohalobium	Irregular cocci	−	1	Methanol, methylamines; halophilic
Methanococcoides	Irregular cocci	−	2	Methanol, methylamines
Methanohalophilus	Irregular cocci	−	3	Methanol, methylamines, methyl sulfides; halophile
Methanothrix (Methanosaeta)	Long rods to filaments	−	3	Acetate
Group VI				
Methanopyrus	Rods in chains	+	1	H_2+CO_2; hyperthermophile, growth at 110°C
Group VII				
Methanopusculum	Irregular cocci	−	3	H_2+CO_2, formate, alcohols

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.3 ระบบยูเอเอสบี Upflow Anaerobic Sludge Blanket: UASB)

2.3.1 ความเป็นมาของระบบยูเอเอสบี

เนื่องจากปัญหาการขาดแคลนพลังงานที่ทวีความรุนแรงขึ้น ทำให้มีความพยายามในการคิดค้นระบบบำบัดน้ำเสียแบบใหม่ๆ มาทดแทนหรือลดค่าใช้จ่ายของงระบบบำบัดน้ำเสียแบบใช้ออกซิเจน ซึ่งต้องใช้พลังงานสูงในการเติมอากาศและภาระในการทิ้งสลัดจ์ส่วนเกิน ระบบใหม่ที่จะนำมาทดแทนจึงต้องเป็นระบบที่ประหยัดค่าใช้จ่ายในการลงทุน การเดินระบบและการดูแลรักษาทำให้นักวิทยาศาสตร์และวิศวกรกลับมาให้ความสนใจกับระบบไร้อากาศอีกครั้ง หลังจากถูกละเลยไม่ได้รับความนิยมในการนำมาใช้เนื่องจากประสบปัญหาอยู่หลายประการ

- ต้องใช้เวลากักน้ำมากทำให้ระบบมักมีขนาดใหญ่ เช่น บ่อไร้ออกซิเจน (anaerobic pond)
- ระบบไม่มีเสถียรภาพในการทำงาน เนื่องจากขาดความรู้ที่ถูกต้องในการควบคุมระบบ
- ตะกอนจุลินทรีย์มักจะหลุดออกไปกับน้ำทิ้งจากระบบทำให้น้ำทิ้งมีคุณภาพต่ำ ขณะเดียวกันเมื่อไม่สามารถเก็บกักตะกอนจุลินทรีย์ได้ดี ทำให้ปริมาณตะกอนจุลินทรีย์ซึ่งเป็นหัวใจของการบำบัดทางชีวภาพ มีน้อย ผลก็คือ เป็นการยากที่จะให้ระบบทำงานได้ดีประสิทธิภาพสูง

จากปัญหาเหล่านี้ทำให้มีความพยายามที่จะพัฒนาแก้ไขปัญหาดังกล่าวของกระบวนการไร้อากาศกันอย่างกว้างขวาง ก่อให้เกิดระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจนในรูปแบบต่างๆหลายชนิด แต่ก็ยังไม่ได้ระบบที่มีประสิทธิภาพสูง จนสามารถเปลี่ยนแปลงทัศนคติด้านลบของระบบไร้อากาศตามที่กล่าวข้างต้นได้ จนกระทั่งในช่วง ค.ศ. 1972 Dr. Lettinga (Mosey,1982) ได้ทำการทดลองศึกษาการย่อยแบบไร้อากาศของน้ำเสียจากโรงงานน้ำตาล beet sugar แห่งหนึ่งในประเทศฮอลแลนด์ โดยเริ่มแรกเป็นการศึกษาโดยใช้ถังกรองไร้อากาศ (anaerobic filter) แต่ต่อมาได้มีการปรับปรุงพัฒนาอุปกรณ์ให้สามารถแยกน้ำเสีย ตะกอนแบคทีเรีย และก๊าซชีวภาพ ออกจากกันได้ทั้ง 3 สถานะ หลังจากนั้น Lettinga และคณะ (1980) (อ้างถึงใน พีรพงษ์ ทิพยากร, 2530) จึงได้ตั้งชื่อกระบวนการนี้ว่า Upflow Anaerobic Sludge Blanket ; UASB และยังสามารถเลี้ยงให้เชื้อแบคทีเรียในระบบมีลักษณะเป็นเกล็ดหรือ เม็ด(granullar or pellet)

ปัจจุบันระบบยูเอเอสบีได้รับความสนใจและยอมรับอย่างกว้างขวาง มีการติดตั้งระบบยูเอเอสบีเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างต่อเนื่องทั่วโลก โดยนำมาใช้สำหรับการบำบัดทางชีวภาพขั้นต้น เพื่อลดภาระบรรทุกสารอินทรีย์ให้กับระบบใช้ออกซิเจนที่อยู่ตามมา

2.3.2 ลักษณะและการทำงานของระบบยูเอเอสบี

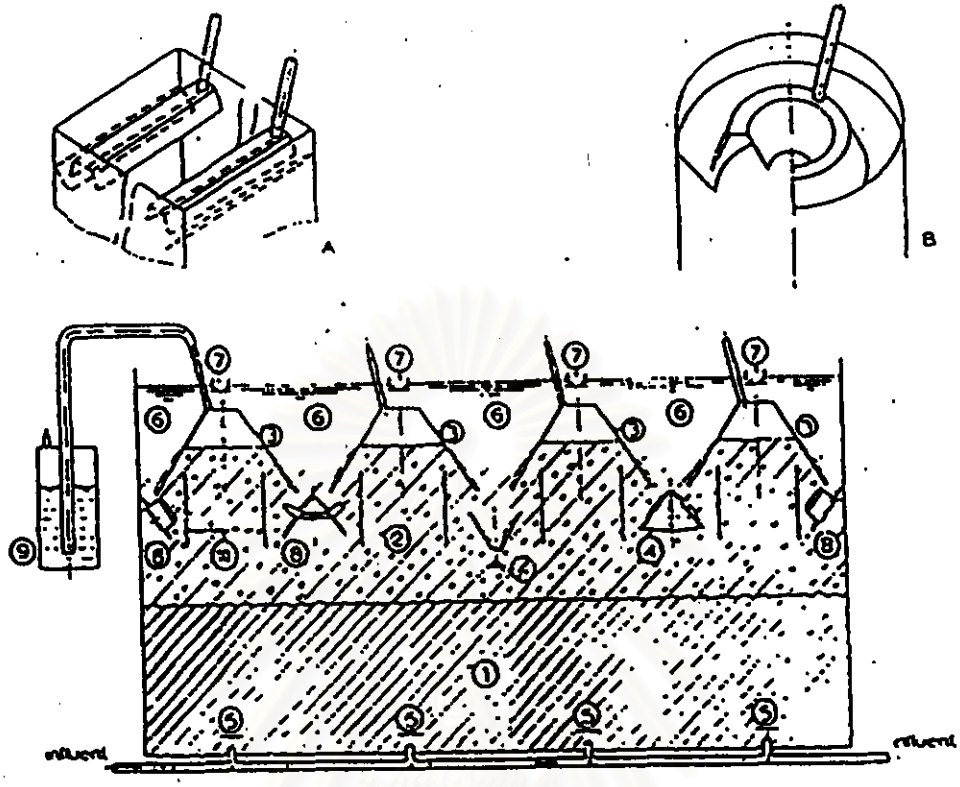
ลักษณะทั่วไปของถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีเป็นถังปิดรูปทรงสี่เหลี่ยมหรือรูปทรงกระบอกก็ได้ โดยถังยูเอเอสบีจะประกอบด้วยส่วนสำคัญ 2 ส่วนคือ ส่วนที่เป็นถังปฏิกรณ์พร้อมด้วยระบบกระจายน้ำเสียและส่วนตกตะกอนและแยกก๊าซบริเวณด้านบน ดังแสดงในรูปที่ 2.3 โดยมีลักษณะการทำงานดังนี้

1) สำหรับส่วนที่เป็นถังปฏิกรณ์ การป้อนน้ำเสียเข้าทางด้านล่างผ่านระบบการกระจายน้ำเสียเข้าอย่างทั่วหน้าตัดถัง การไหลของน้ำเสียในถังเป็นการไหลจากด้านล่างขึ้นด้านบน

2) มีการเลี้ยงเชื้อแบบไร้ออกซิเจนให้เกิดเป็นชั้นสลัดจ์ที่มีความหนาแน่น โดยเชื้อในชั้นสลัดจ์จะรวมกันเป็นเม็ดหรือเกล็ด (granule or pellet)

3) เชื้อที่มีความหนาแน่นสูงจะจมตัวอยู่ด้านล่าง โดยมีการเรียงตัวจากขนาดใหญ่ขึ้นไปหาเล็กเหมือนชั้นทรายกรองเป็นชั้นตะกอนล่าง(sludge bed) ส่วนกลุ่มที่มีความหนาแน่นต่ำและมีความเร็วในการจมตัวต่ำกว่า จะถูกฟองก๊าซที่ผุดขึ้นมาและการไหลของน้ำที่เข้ามาจากทางด้านล่างถัง กวนขึ้นมาเป็นชั้นตะกอนแขวนลอย (sludge blanket)

4) เพื่อควบคุมให้เชลล์หลุดออกไปกับน้ำทิ้งที่ออกจากถังน้อยลงและสามารถเก็บก๊าซมีเทนไปใช้ได้ จึงมีการติดตั้งอุปกรณ์แยกก๊าซ น้ำเสียและเชื้อจุลินทรีย์ในรูปตะกอนแขวนลอยไว้ด้านบนของถังเรียกว่า GSS(Gas-Solids Seperator) อุปกรณ์ GSS นี้มีการออกแบบหลายลักษณะตามขนาดและรูปร่างของถังปฏิกรณ์ แต่ใช้หลักการเดียวกันคือ
   - เก็บก๊าซไว้โดยการแทนที่น้ำ
   - แยกน้ำกับก๊าซไม่ให้ไหลออกทางเดียวกัน โดยอาศัยหลักการที่ว่าน้ำสามารถไหลเลี้ยวไปมาได้ แต่ก๊าซมีการลอยตัวจากด้านล่างขึ้นสู่ด้านบนเป็นเส้นตรงเท่านั้น ยกเว้นมีสิ่งกีดขวางหรือแผ่นปะทะใดๆ มาเปลี่ยนทิศทางการลอยตัวขึ้น หลังจากผ่านพ้นสิ่งกีดขวางนั้นแล้วก็จะลอยตัวเป็นเส้นตรงดังเดิม
   - แยกตะกอนออกจากน้ำโดยการตกตะกอน ดังนั้นในส่วนของ GSS จึงต้องมีเนื้อที่ส่วนที่เป็นน้ำนิ่งเพียงพอที่ตะกอนจะตกกลับลงมายังถังปฏิกรณ์ได้



. Various UASB reactor configurations (A = rectangular; B = cylindrical. 1 = sludge bed, 2 = liquid phase + gas, 3 = gas collectors, 4 and 5 = different designs to direct the gas into the gas collector, 5 = feed inlet system, 6 = settling compartment, 7 = overflow, 8 = water seal).

รูปที่ 2.3 ลักษณะรูปร่างต่างๆ ของอุปกรณ์ GSS และอุปกรณ์อื่นๆ ในระบบยูเอเอสบี (Lettinga (1986),

หัวใจสำคัญของระบบยูเอเอสบี คือ การเก็บกักตะกอนไว้ภายในถังปฏิกรณ์ได้มาก โดยการเลี้ยงแบคทีเรียให้รวมตัวเป็นเม็ดหรือเกล็ดตะกอนจนกระทั่งมีขนาดใหญ่และมีน้ำหนักมาก มีความเร็วในการจมตัวสูง (high setting velocity) สามารถตกตะกอนได้ดี การรวมตัวเป็นเม็ดของตะกอนจุลินทรีย์จะขึ้นกับลักษณะน้ำเสียและเชื้อของแบคทีเรียที่นำมาใช้ในตอนเริ่มเดินระบบ ประกอบกับต้องออกแบบอุปกรณ์ GSS ให้ทำงานได้ดี โดยตะกอนจุลินทรีย์ที่ตกตะกอนแยกตัวลงมาแล้วต้องสามารถตกกลับเข้าถังปฏิกรณ์ได้ง่าย ไม่มีการสะสมตัวอยู่ในส่วนตกตะกอนและมีตะกอนหลุดออกไปกับน้ำทิ้งน้อยที่สุด

2.3.3 ปัจจัยที่มีผลกับการทำงานของระบบยูเอเอสบี

ระบบยูเอเอสบีเป็นกระบวนการไร้อากาศแบบหนึ่ง ซึ่งต้องอาศัยแบคทีเรีย 3 กลุ่มร่วมกันทำงานอย่างต่อเนื่องและอยู่ในสภาพที่สมดุลกัน การทำงานของระบบจึงขึ้นกับการทำงานของจุลินทรีย์ในระบบ ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของจุลินทรีย์แบ่งได้เป็น 2 ประเภทด้วยกันคือ ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับสภาวะแวดล้อมของจุลินทรีย์และปัจจัยที่ใช้ควบคุมการทำงานของจุลินทรีย์

2.3.3.1 ปัจจัยเกี่ยวกับสภาวะแวดล้อมของจุลินทรีย์

1) อุณหภูมิ

อุณหภูมิมีอิทธิพลต่อแบคทีเรียอย่างมากในการย่อยสลายสารอินทรีย์ โดยทั่วไปอัตราการย่อยสลายจะสูงเป็น 2 เท่า เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจาก 20°C เป็น 30°C สำหรับแบคทีเรียไร้อากาศสามารถแบ่งช่วงการทำงานในช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสม อยู่ 3 ช่วง คือ

-ช่วง 5 – 20 °C เรียกว่า ไซโคฟิลิก (psychrophilic)
-ช่วง 30 – 40 °C เรียกว่า เมโซฟิลิก (mesophilic)
-ช่วง 45 – 55 °C เรียกว่า เทอร์โมฟิลิก (thermophilic)

แต่ละช่วงอุณหภูมิจะมีกลุ่มแบคทีเรียที่แตกต่างกัน โดยช่วงอุณหภูมิเทอร์โมฟิลิก จะเป็นแบคทีเรียกลุ่ม thermophilic bacteria ซึ่งจะมีอัตราการย่อยสลายสารอินทรีย์ได้รวดเร็วกว่าในช่วงอุณหภูมิอื่นๆ โดย Zeikus (1979) พบว่าการใช้อุณหภูมิสูงกว่า 60 °C จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของระบบ สามารถลดเวลากักน้ำของถังปฏิกรณ์ได้ ระบบมีเสถียรภาพ ปฏิกิริยาการย่อยสลายเกิดได้ดี อย่างไรก็ตาม เนื่องจาก thermophilic bacteria มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิกว่าแบคทีเรียในช่วงอุณหภูมิอื่น ดังนั้นระบบที่ใช้จะมีค่าใช้จ่ายเพิ่มในส่วนของอุปกรณ์การควบคุมอุณหภูมิ และพลังงานที่ใช้สำหรับช่วงไซโคฟิลิกอัตราการผลิตก๊าซมีเทนจะมีค่าต่ำ และอัตราการ hydrolysis จะลดต่ำลงเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า 20°C ขณะที่ในภูมิภาคเขตร้อนจะเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกลุ่ม เมโซฟิลิก อย่างไรก็ตามในทุกกลุ่มช่วงอุณหภูมิการรักษาอุณหภูมิให้สม่ำเสมอเป็นสิ่งที่ความสำคัญมาก ต่อการทำงานที่เป็นปกติของระบบ

2) พีเอช

ภายใต้กระบวนการบำบัดไร้อากาศ จุดประสงค์สำคัญ คือการเปลี่ยนรูปสารอินทรีย์ให้ไปอยู่ในรูปก๊าซมีเทน, คาร์บอนไดออกไซด์ และไฮโดรเจนซัลไฟด์ จึงถือว่าเป็นการย่อยสลายในกระบวนการไร้อากาศอย่างสมบูรณ์ ซึ่งจำเป็นต้องสร้างสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียที่ทำหน้าที่ดังกล่าว ซึ่งปัจจัยแวดล้อมหนึ่งที่สำคัญคือค่าพีเอชของระบบ และแบคทีเรียที่ทำหน้าที่ดังกล่าวต้องการค่าพีเอชที่อยู่ในช่วง 6.8 – 7.2 และถ้าพีเอชต่ำกว่า 6.2 ประสิทธิภาพระบบจะลดลงอย่างรวดเร็ว อย่างไรก็ตามสารอาหารที่แบคทีเรียเหล่านี้ใช้ได้ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปกรดไขมันระเหย ซึ่งเกิดจากขั้นตอนการย่อยสารอินทรีย์โมเลกุล-ใหญ่โดยแบคทีเรียสร้างกรด ซึ่งนอกจากกรดไขมันระเหยแล้วยังมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้น ซึ่งด่างทำให้ค่าสภาพกรดของระบบเพิ่มขึ้น ทำลายค่าสภาพด่างของระบบและจะทำให้ค่าพีเอชของระบบลดลง ในกรณีที่มีแบคทีเรียผลิตมีเทน และ แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต เพียงพอกับ กรดไขมันระเหยที่ถูกสร้างขึ้น กรดไขมันที่ถูกสร้างขึ้นจะถูกใช้โดย แบคทีเรียผลิตมีเทน และแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตทันที และจะเปลี่ยนกรดไขมันระเหยเป็นก๊าซมีเทน, คาร์บอนไดออกไซด์ และไฮโดรเจนซัลไฟด์ ซึ่งมองได้ว่าเป็นการเปลี่ยนรูปของกรดให้มีฤทธิ์อ่อนลง อย่างไรก็ตามจะยังมีค่าสภาพกรดจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่จะต้องเติมด่างให้พอเพียงเพื่อรักษาค่าพีเอชของระบบยังอยู่ในช่วงกลาง อย่างไรก็ตามปริมาณด่างที่เติมจะมีน้อยกว่าในกรณีที่ แบคทีเรียผลิตมีเทน และ แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตน้อยเกินไป ซึ่งกรดไขมันระเหยที่ถูกสร้างขึ้น ถูกใช้ไม่หมดจนมีการสะสมตัวภายในระบบและจะทำให้ค่าพีเอชของระบบมีค่าลดลง ซึ่งในกรณีที่แบคทีเรียผลิตมีเทน และ แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตน้อยนี้ ปริมาณด่างที่เติมจะมีบทบาทสำคัญในการช่วยรักษาค่าพีเอชในระบบไม่ให้ต่ำลง ถึงแม้กรดไขมันระเหยที่สร้างขึ้นจะถูกใช้ไปไม่ทันก็ตาม และปริมาณค่าสภาพด่างที่เติมลงไปจะมากกว่ากรณีที่เชื้อภายในระบบมีมาก โดยปริมาณด่างที่เติมต้องมีเพียงพอและเหมาะสม โดยมีค่ามากหรือน้อยขึ้นอยู่กับภาระบรรทุกสารอินทรีย์ที่ใช้ และปริมาณเชื้อ แบคทีเรียผลิตมีเทน และ แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่มีอยู่ในระบบเป็นสำคัญ

นอกจากนั้น สำหรับระบบที่มีการแยกถังปฏิกรณ์เป็น ถังสร้างกรด และถังสร้างก๊าซ ปริมาณที่เติมด่างลงในถังกรดจะใช้น้อยกว่า เนื่องจากแบคทีเรียสร้างกรดสามารถปรับตัวได้ในช่วงพีเอชที่กว้างกว่า และเจริญเติบโตได้ดีที่ค่าพีเอชในช่วง 5.8-6.2 (Lettinga และคณะ 1991) นั่นคือไม่จำเป็นต้องเติมด่างในปริมาณมากเท่ากับระบบที่ไม่มีการแยกถังซึ่งต้องรักษาค่าพีเอชให้อยู่ในช่วง 6.8 – 7.2 โดยเผื่อไว้สำหรับการดำรงชีพของเชื้อแบคทีเรียผลิตมีเทน และแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต ขณะที่ในถังสร้างก๊าซปริมาณด่างที่เติมก็จะมีปริมาณน้อยลงจนอาจถึงระดับไม่เติมด่างได้ในบางกรณี

3) กรดไขมันระเหยและสภาพด่าง

กรดไขมันระเหยที่ผลิตโดยแบคทีเรียสร้างกรดควรมีค่าประมาณ 200 – 400 มก./ล. กรดอะซิติก กรดไขมันระเหยที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจะเป็นสัญญาณว่าระบบกำลังเสียสมดุล เพราะทำให้พีเอชลดลงจนไม่อยู่ในช่วงที่เหมาะสมของแบคทีเรียในระบบไม่ว่าจะเป็นแบคทีเรียผลิตมีเทนหรือแบคทีเรียที่ผลิตกรดเองก็ตาม แม้ว่าแบคทีเรียที่ผลิตกรดจะค่อนข้างทนต่อกรดที่ผลิตขึ้นได้มากกว่าแบคทีเรียสร้างมีเทน ซึ่งสังเกตได้จากแบคทีเรียที่ผลิตกรดสามารถอยู่ได้ในช่วงพีเอชที่กว้างกว่า ขณะที่สภาพด่างแสดงถึงกำลังบัฟเฟอร์ของระบบซึ่งจะรักษาระบบให้มีพีเอชค่อนข้างคงที่และทนต่อการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันระเหยได้ โดยทั่วไปกระบวนการไร้ออกซิเจนควรมีสภาพด่างประมาณ 1,500 – 2,000 มก./ล. ในรูปแคลเซียมคาร์บอเนต นอกจากจะดูจากสภาพความเป็นด่างแล้วยังต้องพิจารณาอัตราส่วนของกรดไขมันระเหย (มก./ล.ในรูปกรดอะซิติก) ต่อสภาพด่างไบคาร์บอเนต(มก./ล. ในรูปแคลเซียมคาร์บอเนต) ด้วย

ถ้าอัตราส่วนน้อยกว่า 0.4 แสดงว่ามีกำลังบัฟเฟอร์สูง ระบบยังทำงานได้ดี

ถ้าอัตราส่วนมากกว่า 0.8 แสดงว่ามีกำลังบัฟเฟอร์ต่ำ ระบบอาจมีประสิทธิภาพลดลงหรือล้มเหลวได้

สารเคมีที่ใช้เพิ่มความเป็นด่างให้แก่ระบบเพื่อควบคุมพีเอชมีอยู่หลายชนิด เช่นสารพวกไบคาร์บอเนตหรือคาร์บอเนต ซึ่งโซเดียมไบคาร์บอเนตเป็นสารเคมีที่ดีที่สุดในการควบคุมพีเอช เพราะสามารถให้ไบคาร์บอเนตแก่ระบบโดยตรง แต่ข้อเสียก็คือเป็นสารเคมีที่มีราคาแพง

4) อาหารเสริม (nutrient)

ถึงแม้ว่าเซลแบคทีเรียที่สร้างขึ้นมาในกระบวนการไร้ออกซิเจนจะมีน้อยกว่าแบบใช้ออกซิเจน แต่จากอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัสต่อซัลเฟอร์ (C:N:P:S) ในเซลมีค่าประมาณ 100:10:1:1 จึงจำเป็นต้องรักษาอัตราส่วนนี้ไว้ไม่ให้น้อยกว่านี้ จุลินทรีย์จึงต้องการอาหารเสริมนอกเหนือจากคาร์บอน เช่น ไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ซึ่งอัตราส่วนระหว่างบีโอดีต่อไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัสอย่างน้อยควรมีค่าเท่ากับ 100:1:0:2 (McCarty, 1964) สำหรับกระบวนการไร้อากาศ นอกจากนี้ยังมีธาตุบางชนิดที่แบคทีเรียผลิตมีเทนต้องการปริมาณน้อยแต่ขาดไม่ได้ ได้แก่ เหล็ก โคบอลท์ นิเกิล และซัลเฟอร์ อย่างไรก็ตาม สำหรับการเติมธาตุโลหะหนักโดยตรงให้กับระบบไร้อากาศที่เกิดซัลไฟด์จะมีปัญหาจากการตกตะกอนผลึกโลหะหนักซัลไฟด์ซึ่งเป็นรูปที่แบคทีเรียไม่สามารถนำไปใช้ได้ ปัจจุบันอาจแก้ไขได้โดยเติม yeast extract หรือ milorganite หรือ โลหะหนักที่อยู่ในรูปคีเลต ซึ่งจะไม่เกิดตะกอนผลึกกับซัลไฟด์

5) สารพิษ

สารที่เป็นพิษต่อแบคทีเรียในระบบไร้อากาศโดยเฉพาะแบคทีเรียผลิตมีเทนมีอยู่หลายชนิด ความรุนแรงขึ้นอยู่กับชนิดและความเข้มข้นของสารเหล่านั้น สารที่เป็นพิษบางตัวเป็นอาหารที่จำเป็นแต่ต้องมีปริมาณพอเหมาะ ถ้ามีปริมาณมากเกินไปจะกลายเป็นสารพิษได้

<u>- พิษของอิออนบวกและโลหะหนัก</u>

ได้แก่ Na^+, K^+, Mg^{2+} และ Ca^{2+} ซึ่งถ้ามีความเข้มข้นต่ำพอเหมาะจะเป็นประโยชน์ต่อแบคทีเรีย ถ้ามากเกินความจำเป็นจะเป็นพิษต่อแบคทีเรีย โดยอิออนบวกที่มีวาเลนซีสูงจะมีความเป็นพิษมากกว่าที่มีวา-เลนซีต่ำ ซึ่งพิษของ Mg^{2+} และ Ca^{2+} มีมากกว่า Na^+ และ K^+ ถึง 10 เท่า ดังนั้นพิษของอิออน บวกจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อวาเลนซีสูงขึ้นและน้ำหนักอะตอมเพิ่มมากขึ้น การลดความเป็นพิษทำได้โดยการทำแอน-ทาโกนิซึม (antogonism) คือ เมื่ออิออนบวกอยู่ร่วมกันในความเข้มข้นที่พอเหมาะ พิษของอิออนบวกหนึ่งสามารถลดความเป็นพิษของอิออนอีกชนิดหนึ่งได้ เช่น พิษของ Na^+ ที่ความเข้มข้น 3,500 มก./ล. จะลดลงได้ถ้ามี Mg^{2+} และ Ca^{2+} ในปริมาณที่เหมาะสม ในทางตรงข้ามอิออนบางชนิดอาจเป็นพิษเพิ่มมากขึ้นถ้ามีอิออนอีกชนิดหนึ่งอยู่ด้วย

ส่วนโลหะหนักได้แก่แมงกานีส สังกะสี แคดเมียม นิเกิล โคบอลท์ ทองแดง และโครเมียม โลหะหนักเหล่านี้จะอยู่ในรูปของอิออน พบว่า Cu^{2+} มีผลต่อระบบมากที่สุด โดยความเป็นพิษของ $Cu^{2+} > Cu^+ > Fe^{2+} > Cd^{2+} > Zn^{2+}$ ความเป็นพิษของโลหะหนักลดลงได้ถ้าน้ำเสียมีปริมาณซัลไฟด์พอเหมาะ เพราะสามารถรวมกับโลหะหนักเกิดเป็นโลหะซัลไฟด์ซึ่งสามารถตกตะกอนได้ อย่างไรก็ดี โลหะหนักบางประเภทยังมีความจำเป็นสำหรับแบคทีเรีย แม้ปริมาณเพียงเล็กน้อยก็ตาม

<u>- พิษของสารอินทรีย์</u>

สารอินทรีย์บางชนิดจะยับยั้งการทำงานของแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนอิสระ สารพวกนี้ได้แก่ แอลกอฮอล์ และกรดไขมันที่มีโมเลกุลยาว เช่น กรดโพรพิโอนิก ซึ่งความเป็นพิษของสารอินทรีย์เหล่านี้สามารถทำลายได้โดยนำน้ำที่มีสารอินทรีย์ดังกล่าวเข้าสู่ระบบอย่างสม่ำเสมอเพื่อทำให้แบคทีเรียคุ้นเคยและปรับตัวได้ แม้ว่าจะมีความเข้มข้นของสารอินทรีย์ที่เป็นพิษถึง 10,000 มก./ล. ก็ตาม หรืออาจแก้ไขได้โดยการเติมสารเคมีลงไป เพื่อทำให้เกิดการตกตะกอนของสารอินทรีย์ที่เป็นพิษ

- พิษของแอมโมเนีย

แอมโมเนียในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศมาจากการย่อยสลายสารพวกโปรตีน ซึ่งมีไนโตรเจนรวมอยู่ด้วยในโมเลกุล โดยไนโตรเจนที่ปล่อยออกมาจะอยู่ในรูป NH_4^+ และ NH_3 ดังสมการ

$$NH_4^+ \longleftrightarrow NH_3 + H^+$$

ถ้าพีเอชต่ำกว่า 7.2 ปฏิกิริยาจะดำเนินไปทางซ้าย ถ้าพีเอชมากกว่า 7.2 ปฏิกิริยาจะดำเนินไปทางขวาซึ่ง NH_3 จะยับยั้งการทำงานและเป็นพิษต่อแบคทีเรียไร้อากาศมากกว่า NH_4^+ ผลของแอมโมเนียและแอมโมเนียมไนโตรเจนต่อระบบบำบัดไร้อากาศแสดงได้ดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 ผลของแอมโมเนียและแอมโมเนียมไนโตรเจนต่อระบบไร้อากาศ (McCarty ,1964)

$(NH_3 + NH_4^+)$-N (มก./ล.)	ผลต่อระบบ
50-200	ปริมาณพอเหมาะ
200-1000	ยังไม่เกิดผลเสีย
1500-3000	เริ่มยับยั้งเมื่อพีเอชสูง
>3000	เป็นพิษโดยตรง

โดยสัดส่วนของปริมาณแอมโมเนีย (NH_3)ขึ้นอยู่กับค่าพีเอช คือที่พีเอช 7 ความเข้มข้นของแอมโมเนียจะมีประมาณ 1% ของผลรวมแอมโมเนียและแอมโมเนียมไนโตรเจน แต่ถ้าพีเอชสูงขึ้นปริมาณแอมโมเนียจะมีมากขึ้นซึ่งมีโอกาสเกิดผลยับยั้งต่อแบคทีเรียมากขึ้น ดังนั้นการรักษาค่าพีเอชให้มีค่าประมาณ 7 หรือต่ำกว่า จะทำให้อยู่ในรูปแอมโมเนียมเป็นส่วนใหญ่และเป็นอันตรายต่อแบคทีเรียน้อยกว่า

- พิษของซัลไฟด์

ถ้ามีปริมาณของซัลไฟด์ในระบบมาก ไม่ว่าจะมาจากน้ำเสียที่เข้าระบบหรือการย่อยสลายซัลเฟตก็ตาม ซัลไฟด์จะเป็นพิษต่อแบคทีเรียสร้างมีเทนในกระบวนการไร้อากาศ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอิออนบวกที่มีอยู่ในระบบ ถ้าในระบบมีโลหะหนัก ซัลไฟด์จะจับกับโลหะหนักแล้วตกตะกอนลงมา ซึ่งจะช่วยให้ความเข้มข้นซัลไฟด์ลดลง โดยระดับความเข้มข้นซัลไฟด์ทั้งหมดที่ทำให้เกิดการยับยั้งการทำงานของแบคทีเรียในระบบไร้อากาศยังไม่มีตัวเลขที่แน่นอนโดยมีค่าอยู่ในช่วง 200 – 1500 มก./ล. (Stronach, Rudd, และ Lester, 1986 อ้างถึงใน Pohland , 1992) ซัลไฟด์ที่อยู่ภายในระบบสามารถแตกตัวได้ในลักษณะเดียวกับแอมโมเนียโดยที่ค่าพีเอชต่ำกว่า 7 รูปของซัลไฟด์จะอยู่ในรูป $H_2S_{(aq)}$ มากขึ้น ซึ่งจะเป็นอันตรายต่อเซลได้มากกว่า ดังนั้นสำหรับระบบไร้อากาศที่มีซัลไฟด์การรักษาระดับพีเอชให้มีค่าสูงของช่วงการทำงานที่เหมาะสมจะมีความปลอดภัยมากกว่า

2.3.3.2 ปัจจัยที่ใช้ควบคุมการทำงานของจุลินทรีย์

นอกจากสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมดังในหัวข้อที่กล่าวมาแล้ว การควบคุมจุลินทรีย์ให้คงทนทำงานได้ดี จำเป็นต้องรักษาสภาพทางกายภาพต่อตัวจุลินทรีย์ให้เหมาะสมดังนี้

1) การรักษาปริมาณจุลินทรีย์ไว้ให้สูงสุด

เนื่องจากการรักษาปริมาณจุลินทรีย์ในระบบให้มีจำนวนมากเป็นจุดเด่นของระบบยูเอเอสบี ซึ่งทำให้สามารถรับภาระบรรทุกสารอินทรีย์ได้มากขึ้น ผลิตน้ำทิ้งที่มีคุณภาพดีขึ้น ทั้งนี้เป็นเพราะระบบนี้จะเลี้ยงแบคทีเรียให้จับตัวกันเป็นเม็ดตะกอนและมีขนาดใหญ่ มีน้ำหนักมากจนตกตะกอนได้ดี และยังมีอุปกรณ์ในการแยกก๊าซออกจากกลุ่มตะกอนจุลินทรีย์และดักตะกอนจุลินทรีย์ไม่ให้ออกไปกับน้ำทิ้งด้วย ทำให้ตะกอนจุลินทรีย์อยู่ในระบบได้นาน เรียกอุปกรณ์นี้ว่าอุปกรณ์แยกสามสถานะ การออกแบบอุปกรณ์แยกสามสถานะจะต้องพิจารณาถึงสมบัติของน้ำเสีย ซึ่งมีส่วนในการกำหนดชนิดของตะกอนจุลินทรีย์ที่จะปรากฏในระบบ อัตราบรรทุกสารอินทรีย์ที่เข้าสู่ระบบ ปริมาณก๊าซชีวภาพที่คาดว่าจะเกิดขึ้น ขนาดและรูปร่างของถังยูเอเอสบี ตัวอย่างเช่น การบำบัดน้ำเสียเจือจาง ซึ่งจำเป็นต้องควบคุมเวลากักเก็บตะกอนจุลินทรีย์ให้ได้ตามเงื่อนไขของระบบ จะต้องออกแบบอุปกรณ์แยกสามสถานะให้มีประสิทธิภาพสูงในการป้องกันการหลุดออกจากระบบของตะกอนจุลินทรีย์ ขณะที่การบำบัดน้ำเสียที่มีความเข้มข้นสูงและมีโปรตีนหรือไขมันมากจะต้องติดตั้งอุปกรณ์กำจัดฟองหรือฝ้าไข(foam หรือ scum)ที่เกิดขึ้นในส่วนบนของอุปกรณ์เก็บก๊าซ

2) การกระจายน้ำเสียเข้าถังอย่างทั่วถึง

เนื่องจากระบบยูเอเอสบีเป็นระบบไร้อากาศจึงไม่มีการเติมอากาศในถังปฏิกรณ์ ดังนั้นจึงควรออกแบบระบบป้อนน้ำเข้าให้สามารถกระจายน้ำเสียเข้าถังปฏิกรณ์ได้อย่างทั่วถึง เพื่อป้องกันการไหลลัดวงจรของน้ำเสียผ่านชั้นสลัดจ์(bed)

3) อัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์

อัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสารอินทรีย์ การตกตะกอนของจุลินทรีย์และก๊าซที่เกิดในระบบ น้ำเสียที่ป้อนเข้าสู่ระบบควรมีอัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ต่ำกว่าอัตราสูงสุดในการกำจัดสารอินทรีย์ของระบบ เพื่อเป็นการรักษาเสถียรภาพของระบบ

2.4 การย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะไร้อากาศแบบซัลเฟตรีดักชัน

2.4.1 วัฏจักรซัลเฟอร์ทางชีวภาพ (The Biological Sulfur Cycle)

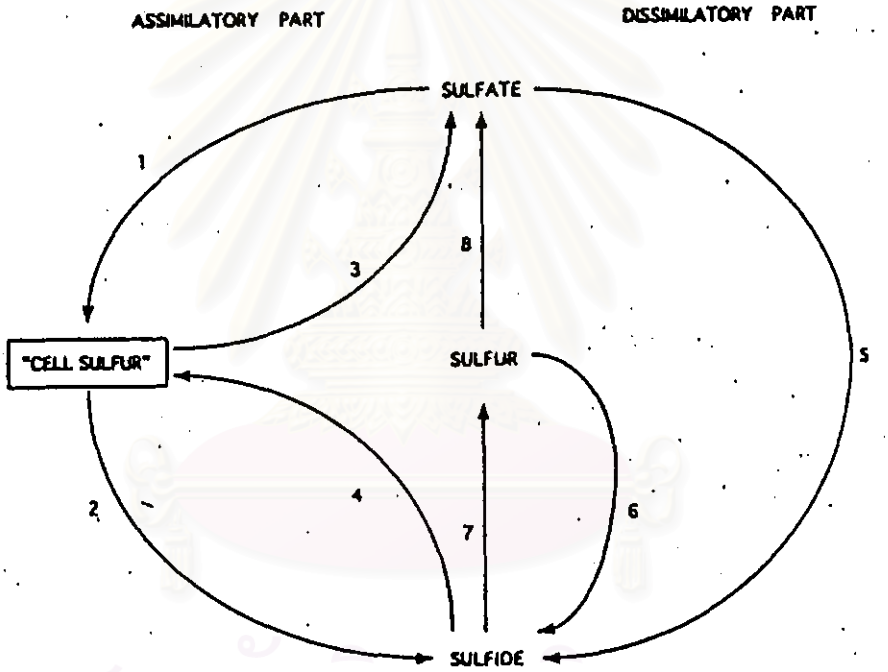
ธาตุซัลเฟอร์เป็นธาตุที่อยู่ในหมู่ 6 ของระบบตารางธาตุ เมื่ออยู่ในรูปสารประกอบจะมีระดับเลขออกซิเดชันได้อยู่ระหว่าง -2 ถึง +6 และค่าที่สำคัญคือ –2, 0, +2, +4 และ +6 ในทางเคมีซัลเฟต และซัลไฟด์จัดว่าเป็นสารประกอบของธาตุซัลเฟอร์รูปที่มีความคงตัวดีที่สุด เนื่องจากมีระดับเลขออกซิเดชันสูงสุดและต่ำที่สุดซึ่งเท่ากับ +6 และ –2 ตามลำดับ โดยตารางที่ 2.5 แสดงระดับเลขออกซิเดชันของตัวอย่างชนิดของธาตุซัลเฟอร์และสารประกอบของธาตุซัลเฟอร์ ที่พบในธรรมชาติ

ตารางที่ 2.5 ระดับเลขออกซิเดชันของตัวอย่างชนิดธาตุซัลเฟอร์และสารประกอบของธาตุซัลเฟอร์

รูปของธาตุหรือสารประกอบซัลเฟอร์		ระดับเลขออกซิเดชัน
สารอินทรีย์ซัลเฟอร์	Organic S (R-SH)	-2
รูปซัลไฟด์	Sulfide (H_2S)	-2
ธาตุซัลเฟอร์	Elemental sulfur (S^0)	0
ไธโอซัลเฟต	Thio sulfate ($S_2O_3^{2-}$)	+2 (average per S)
เตตระไธโอเนต	Tetra thionate($S_4O_6^{2-}$)	+2.5 (average per S)
ซัลเฟอร์ไดออกไซด์	Sulfur dioxide(SO_2)	+4
รูปซัลไฟท์	Sulfite(SO_3^{2-})	+4
ซัลเฟอร์ไตรออกไซด์	Sulfur trioxide(SO_3)	+6
ซัลเฟต	Sulfate(SO_4^{2-})	+6

แหล่งของธาตุซัลเฟอร์และสารประกอบของธาตุซัลเฟอร์ในธรรมชาติพบได้ในหลายรูปแบบ เช่น รูปแร่ต่างๆที่อยู่ใต้ดิน เช่น แร่ธาตุซัลเฟอร์บริสุทธิ์ Elemental sulfur (S^0), แร่ยิบซัม Gypsum ($CaSO_4*2H_2O$), แร่ไพไรต์ Pyrite (FeS_2), เป็นส่วนผสมที่ไม่ต้องการในถ่านหิน ก๊าซธรรมชาติ และน้ำมันปิโตรเลียม เป็นต้น การระเบิดของภูเขาไฟเป็นต้นเหตุสำคัญอย่างหนึ่งในการปลดปล่อยสารซัลเฟอร์สู่บรรยากาศทั้งในรูป ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO_2) ซึ่งอาจทำให้เกิดปรากฏการณ์ฝนกรดตามมา รวมทั้งขี้เถ้าซัลไฟด์รูปต่างๆ ขณะที่อิออนซัลเฟต(SO_4^{2-})เป็นแอนอิออนที่สำคัญพบได้ทั้งในน้ำทะเลและแหล่งน้ำจืด ในทางอุตสาหกรรมกรดซัลฟุริก(H_2SO_4) มีบทบาทที่สำคัญในกระบวนการผลิตของโรงงานหลายประเภท

กิจกรรมของมนุษย์ และปรากฏการณ์ธรรมชาติเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการเคลื่อนย้าย และเปลี่ยนรูปของสารประกอบของธาตุซัลเฟอร์ต่างๆอยู่ตลอดเวลา ในทางชีวภาพซัลเฟอร์เป็นธาตุที่มีความสำคัญกับสิ่งมีชีวิตทุกชนิด เป็นองค์ประกอบของเซล เอนไซม์ และโปรตีนต่างๆ สารประกอบของซัลเฟอร์ในรูปออกซิไดซ์หลายชนิดทำหน้าที่เป็นสารรับอิเล็คตรอนตัวสุดท้ายในกระบวนการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจนอิสระของจุลชีพบางกลุ่ม และในทางกลับกันสารประกอบของซัลเฟอร์ในรูปรีดิวซ์บางรูปก็จะถูกใช้เป็นสารให้อิเล็คตรอนสำหรับการดำรงชีพของจุลชีพอีกบางกลุ่มได้เช่นเดียวกัน การเปลี่ยนแปลงไปมาโดยจุลชีพกลุ่มต่างๆ ระหว่างสารประกอบของซัลเฟอร์ในรูปออกซิไดซ์ จากปฏิกริยาซัลเฟตหรือซัลเฟอร์รีดักชัน กับสารประกอบของซัลเฟอร์ในรูปรีดิวซ์จากปฏิกริยาซัลไฟด์หรือซัลเฟอร์ออกซิเดชัน เรียกว่า วัฏจักรซัลเฟอร์ทางชีวภาพ *(The Biological Sulfur Cycle)* Fauque (1995) ซึ่งแบ่งได้เป็น 2 ส่วนที่สำคัญ คือ ส่วน assimilatory และ ส่วน dissimilatory ดังแสดงในรูปที่ 2.4



"CELL SULFUR" includes sulfur bound in bacteria, fungi, animals and plants.

1 Assimilatory sulfate reduction by bacteria, plants and fungi.

2 Death and decomposition by bacteria and fungi.

3 Sulfate excretion by animals.

4 Sulfide assimilation by bacteria (and some plants).

5 Dissimilatory sulfate reduction

6 Dissimilatory elemental sulfur reduction

7 Chemotrophic and phototrophic sulfide oxidation

8 Chemotrophic and phototrophic sulfur oxidation

รูปที่ 2.4 วัฏจักรซัลเฟอร์ทางชีวภาพ (The Biological Sulfur Cycle) (Fauque,1995)

จากรูปที่ 2.4 วัฏจักรซัลเฟอร์ทางชีวภาพในส่วนของassimilatory ประกอบด้วย การเกิด assimilation ของซัลเฟตและซัลไฟด์ (1 และ 4) รวมทั้งการปลดปล่อยสารประกอบของซัลเฟอร์ จากการขับถ่ายของเซลที่มีชีวิต และการย่อยสลายซากสิ่งมีชีวิตที่ตายแล้ว (2 และ 3) โดยการเกิด assimilatory reduction ของซัลเฟตและซัลไฟด์เป็นการดึงซัลเฟตและซัลไฟด์ เข้าสู่เซลของสิ่งมีชีวิตต่างๆ เช่น แบคทีเรีย, เชื้อรา, สาหร่ายเซลเดียว และพืช เป็นต้น เพื่อตอบสนองการสร้างสารประกอบซัลเฟอร์ในรูปรีดิวซ์ที่จำเป็นต่อเซล เช่น การสร้างกรดอะมิโนบางชนิดที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ เช่น cysteine, cystine และ methionine เป็นต้น รวมทั้งการสร้าง วิตามิน หรือ growth factors บางชนิดที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ เช่น biotin, lipoic acid และ thiamin เป็นต้น นอกจากนั้นการขับถ่ายของเซลที่มีชีวิตที่มีการปลดปล่อยสารประกอบของซัลเฟอร์ออกภายนอกเซลในรูปของซัลเฟต และการตายของสิ่งมีชีวิตรวมทั้งการย่อยสลายซากสิ่งมีชีวิตที่ตายแล้วโดยแบคทีเรีย และเชื้อรา ซึ่งเป็นการปลดปล่อยสารประกอบของซัลเฟอร์ออกภายนอกเซลในรูปของซัลไฟด์ ก็เป็นส่วนหนึ่งของวัฏจักรซัลเฟอร์ทางชีวภาพในด้าน assimilatory ซึ่งจะเห็นได้ว่าในส่วน assimilatory นี้ซัลเฟตและซัลไฟด์ที่เข้าสู่เซลจะไม่ถูกนำมาใช้สำหรับการสร้างพลังงานสำหรับการดำรงชีวิตและการเจริญเติบโตของเซล และจะไม่เกี่ยวข้องกับธาตุซัลเฟอร์ Elemental sulfur (S°) ทั้งนี้เพราะซัลเฟอร์ที่อยู่ในรูปธาตุซัลเฟอร์ Elemental sulfur (S°) จะไม่สามารถถูกดูดซึมเข้าสู่เซลของสิ่งมีชีวิตได้โดยตรง

สำหรับส่วน dissimilatory ของวัฏจักรซัลเฟอร์ทางชีวภาพ จะเป็นการใช้สารประกอบซัลเฟอร์ในทุกๆรูป ทั้งรูปรีดิวซ์, ธาตุซัลเฟอร์ และรูปออกซิไดส์เพื่อนำมาใช้สำหรับการสร้างพลังงานในการเจริญเติบโตของเซลโดยเฉพาะแบคทีเรีย ซึ่งประกอบด้วย reductive processes(5และ 6) และ oxidative processes (7 และ 8) โดย ตัวอย่างกลุ่มปฏิกริยาของ oxidative processes คือ microbial chemotrophic and phototrophic sulfur , sulfide oxidation เป็นการใช้ซัลเฟอร์ และซัลไฟด์ เพื่อเป็นสารให้อิเล็คตรอนสำหรับการดำรงชีพ และ ตัวอย่างกลุ่มปฏิกริยาของ reductive processes คือ microbial sulfate and sulfur reduction เป็นการใช้สารประกอบของซัลเฟอร์ในรูปออกซิไดซ์ และธาตุซัลเฟอร์ ทำหน้าที่เป็นสารรับอิเล็คตรอนตัวสุดท้ายในกระบวนการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจนอิสระ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.4.2 แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต (Sulfate Reducing Bacteria: SRB)

แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเป็นแบคทีเรียไร้ออกซิเจนชนิดเด็ดขาด(obligate anaerobe) จัดอยู่ในกลุ่มของแบคทีเรียชนิดเคโมเฮเทโรทรอป ซึ่งดำรงชีพและเจริญเติบโตโดยได้รับพลังงานจากปฏิกิริยาทางเคมีในการย่อยสลายสารอินทรีย์ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนของแบคทีเรียประเภทนี้ ลักษณะเด่นของแบคทีเรียกลุ่มนี้ คือความสามารถในการรีดิวซ์สารประกอบของซัลเฟอร์ที่ถูกออกซิไดส์ เช่น ซัลเฟต ซัลไฟท์ ไธโอซัลเฟต เป็นต้น โดยทำให้เปลี่ยนไปอยู่ในรูปของซัลไฟด์ เนื่องจากแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะใช้ซัลเฟตเป็นตัวรับอิ-เล็คตรอนตัวสุดท้ายในการออกซิไดซ์สารประกอบอินทรีย์หลายชนิด เช่น กรดอินทรีย์ กรดไขมัน และแอลกอฮอล์ หรือไฮโดรเจนโมเลกุลได้เนื่องจากมีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ hydrogenase แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต สามารถแบ่งออกได้เป็น 10 genera และสามารถแบ่งได้ออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ตามความสามารถในการย่อยสลายสารอินทรีย์เพื่อการดำรงชีพและเจริญเติบโต คือ

1) *แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตชนิดย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ไม่สมบูรณ์ (Incompletely Oxidizing Sulfate Reducing Bacteria; I-SRB)* โดยสารอินทรีย์ที่เหลือจากการย่อยสลาย คืออะซิเตต
2) *แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตชนิดย่อยสลายสารอินทรีย์ได้อย่างสมบูรณ์ (Completely Oxidizing Sulfate Reducing Bacteria; C-SRB)* โดยสารอินทรีย์จะถูกย่อยสลายอย่างสมบูรร์จนได้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

โดยตารางที่ 2.6 และ 2.7 แสดงรายชื่อ genera ของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่แยกออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ (Brock,Madigan และHall, 1988) และแสดงตัวอย่างของปฏิกิริยาการย่อยสลายสารอาหารของ I-SRB และ C-SRB (Widdle, 1988) ตามลำดับ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่2.6 Genera ของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่แบ่งเป็น 2 กลุ่ม (Brock,Madigan และHall, 1988)

กลุ่ม	GENERA	ลักษณะสมบัติสำคัญ
กลุ่มที่ 1 Incompletely-SRB Non-acetate oxidizers	*Desulfovibrio* *Desulfomonas* *Desulfotomaculum* *Archaeoglobus* *Desulfobulbus*	- ใช้แลคเตท, ไพรูเวท, เอทธานอล หรือ กรดไขมัน เป็นแหล่งคาร์บอน และ แหล่งพลังงาน -รีดิวซ์สารซัลเฟต เป็นไฮโดรเจนซัลไฟด์
กลุ่มที่ 2 Completely-SRB Acetate oxidizers	*Desulfobacter* *Desulfobacterium* *Desulfococcus* *Desulfonema* *Desulfosarcina*	-มีความสามารถพิเศษในการออกซิไดซ์กรดไขมัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งอะซิเตด -รีดิวซ์สารซัลเฟต เป็นไฮโดรเจนซัลไฟด์

ตารางที่2.7 ตัวอย่างปฏิกิริยาการย่อยสลายสารอาหารของ I-SRBและ C-SRB (Widdle, 1988)

ลำดับที่	สารให้อิเล็คตรอน	แบคทีเรีย	ปฏิกริยา
1	ไฮโดรเจน	I-SRBและ C-SRB	$4H_2+SO_4^{2-}+H^+ \rightarrow 4H_2O+HS^-$
2	อะซิเตด	C-SRB	$CH_3COO^- + SO_4^{2-} \rightarrow 2HCO_3^-+HS^-$
3	โพรพิโอเนด	C-SRB I-SRB	$4CH_3CH_2COO^- + 7SO_4^{2-} \rightarrow 12HCO_3^-+7HS^-+H^+$ $4CH_3CH_2COO^- + 3SO_4^{2-} \rightarrow 4CH_3COO^- +4HCO_3^-+ 3HS^-+H^+$
4	บิวทิเรด	C-SRB I-SRB	$2CH_3(CH_2)_2COO^- + 5SO_4^{2-} \rightarrow 8HCO_3^-+5HS^-+H^+$ $4CH_3CH_2COO^- + 3SO_4^{2-} \rightarrow 4CH_3COO^- +4HCO_3^-+ 3HS^-+H^+$
5	แลคเตด	C-SRB I-SRB	$2CH_3CHOHCOO^- + 3SO_4^{2-} \rightarrow 6HCO_3^-+3HS^-+H^+$ $2CH_3CHOHCOO^- + SO_4^{2-} \rightarrow 2CH_3COO^- +2HCO_3^-+ HS^-+H^+$
6	เบนโซเอด	C-SRB I-SRB	$4C_6H_5COO^- + 15SO_4^{2-}+ 16H_2O \rightarrow 28HCO_3^-+15HS^-+ 9H^+$ $4C_6H_5COO^-+3SO_4^{2-}+16H_2O \rightarrow 12CH_3COO^-+4HCO_3^-+3HS^-+9H^+$

แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต สามารถใช้สารอาหารที่เป็นตัวรับอิเล็คตรอนได้หลายชนิด โดย แลคเตต และไพรูเวท ถูกใช้มากที่สุด โดยแบคทีเรียกลุ่ม I-SRB หลาย species สามารถใช้ มาเลต, ฟอร์เมต และ primary alcohol (เช่นเมทานอล, เอทานอล, โพรพานอล และบิวทานอล) ได้ และบางสายพันธุ์(strains) ของ *Desulfotomaculum* สามารถใช้กลูโคสได้แต่พบค่อนข้างยาก สำหรับแบคทีเรียกลุ่ม C-SRB สามารถใช้กรดไขมัน, แลคเตต, ซัคซิเนต และแม้แต่เบนโซเอต ได้โดยจะย่อยสลายอย่างสมบูรณ์ จนได้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ขณะที่แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต genera *Desulfosarcina Desulfotomaculum Desulfovibrio* มีการเจริญเติบโตแบบ lithotrophic ได้เช่นกัน กล่าวคือ สามารถใช้ไฮโดรเจนเป็นสารให้อิ-เล็คตรอน ใช้ซัลเฟตเป็นสารรับอิเล็คตรอน และใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอน

การที่แบคทีเรียกลุ่ม I-SRB ต้องปล่อยอะซิเตตออกมาเป็นผลิตภัณฑ์จากการย่อยสลายสารอินทรีย์ รวมทั้งยังไม่สามารถนำอะซิเตตไปใช้ได้แม้ว่าจะเป็นสารอาหารที่มีอยู่เพียงประเภทเดียวก็ตาม มีสาเหตุเนื่องมาจาก I-SRB ขาดกลไกที่เกี่ยวข้องกับการจัดการเอนไซม์บางชนิดที่มีบทบาทต่อการย่อยอะ-ซิเตตนั่นเอง อย่างไรก็ตาม I-SRB อาจใช้อะซิเตตเป็นแหล่งคาร์บอนได้ เมื่อสารให้อิเล็คตรอนที่ใช้คือไฮโดรเจนหรือฟอร์เมต ข้อแตกต่างอีกประการหนึ่งของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตทั้งสองกลุ่มนี้ก็คือ เมื่ออยู่ในสภาพที่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของแต่ละกลุ่มพบว่ากลุ่มของ I-SRB มักจะมีอัตราการเจริญเติบโตที่เร็วกว่ากลุ่ม C-SRB

นอกเหนือจากการใช้ซัลเฟตแล้ว แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตหลายชนิดยังสามารถใช้ไนเตรตเป็นสารรับอิเล็คตรอนโดยผลจากการรีดิวซ์เกิดเป็นแอมโมเนีย และยังสามารถใช้สารอินทรีย์บางชนิดเพื่อใช้ในการสร้างพลังงานโดยผ่านทาง fermentative pathways ในกรณีที่ไม่มีซัลเฟต หรือสารรับอิเล็คตรอนชนิดอื่นเหลืออยู่ โดยสารอินทรีย์ดังกล่าวที่ใช้มาก คือไพรูเวทซึ่งถูกเปลี่ยนผ่านปฏิกริยา phosphoroclastic ไปเป็นอะซิเตต, ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และไฮโดรเจน สำหรับกรณีที่สารอินทรีย์เป็นแลคเตตหรือเอทา-นอล พลังงานที่ได้จากเฉพาะปฏิกริยาทาง fermentative pathway จะไม่เพียงพอและปฏิกริยาดังกล่าวจะไม่เกิดขึ้น: แต่สามารถเกิดขึ้นได้ถ้าไฮโดรเจนที่เกิดขึ้น ถูกใช้ไปในทันทีโดยแบคทีเรียผลิตมีเทนหรือแบคทีเรียรีดิวซ์ซัล-เฟตที่ใช้ไฮโดรเจน เป็นต้น อย่างไรก็ตามถ้าเปรียบเทียบกับปฏิกริยาซัลเฟตรีดักชันตามปกติ พลังงานที่ได้จากปฏิกริยาซัลเฟตรีดักชันจะมีค่าสูงกว่ามาก

I 19195916

ปัจจัยทางสภาวะแวดล้อมที่มีความสำคัญต่อการปรับตัวของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต

1) อุณหภูมิ

โดยทั่วไปแบคทีเรียไร้ออกซิเจนจะสามารถเจริญเติบโตได้ใน 2 ช่วงอุณหภูมิคือ

-30 - 40 C ซึ่งจัดอยู่ในประเภทมีโซฟิลิกแบคทีเรีย (Mesophilic Bacteria)

-45 – 55 C ซึ่งจัดอยู่ในประเภทเทอร์โมฟิลิกแบคทีเรีย (Thermophilic Bacteria)

สำหรับแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ได้จากการเลี้ยงกลุ่มเชื้อบริสุทธิ์ (pure cultures) โดยส่วนใหญ่จะมีช่วงของอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตในช่วงเดียวกันคือ 30 – 40 °C การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิมีผลต่อการทำงานของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตอย่างมาก โดยมีรายงานที่พบว่า การเกิดซัลเฟตรีดักชันของตะกอนดินน้ำเค็มลดลงระหว่าง 2 – 3.9 เท่าเมื่ออุณหภูมิเปลี่ยนแปลงไปจากช่วงที่เหมาะสม 10 °C

2) ความต้องการเกลือและความทนต่อเกลือ

ความต้องการเกลือของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต ซึ่งแยกเป็นพวกที่ได้จากแหล่งน้ำเค็มหรือน้ำกร่อยกับพวกที่ได้จากแหล่งน้ำจืด แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจากแหล่งน้ำเค็มหรือน้ำกร่อยมักต้องการปริมาณเกลือในระดับหนึ่งจึงจะเจริญเติบโตได้ดี และในทางตรงข้ามถ้านำแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตกลุ่มนี้มาเลี้ยงในตัวกลางน้ำจืดก็จะได้ผลในทางลบต่อการเจริญเติบโต ชนิดและปริมาณของเกลือสำหรับแบคทีเรียรีดิวซัลเฟตจากแหล่งน้ำเค็มที่เหมาะสมคือ โซเดียมคลอไรด์ 20ก./ล. และ แมกนีเซียมคลอไรด์ 1.5 ก./ล. นอกเหนือจากเกลือ 2 ชนิดนี้แล้วบางสายพันธุ์ยังต้องการแคลเซียมคลอไรด์เพิ่มอีกที่ความเข้มข้นอย่างต่ำ 0.5 ก./ล. และปริมาณความต้องการเกลือที่จำเป็นจะลดลงสำหรับกลุ่มที่มาจากแหล่งน้ำกร่อย แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจากแหล่งน้ำจืดอาจถูกยับยั้งการเจริญเติบโตได้ถ้าในตัวกลางมีโซเดียมคลอไรด์ในระดับความเข้มข้นเท่าที่มีอยู่ในน้ำทะเล (ประมาร 27 ก./ล.) อย่างไรก็ตามก็มีรายงานถึงความสามารถในการปรับตัวของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจากแหล่งน้ำจืดบางสายพันธ์ ซึ่งสามารถทนอยู่ในตัวกลางที่มีระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์สูงเท่ากับในระดับความเข้มข้นในน้ำทะเล และบางพวกจะสามารถปรับตัวให้อยู่ได้ทั้งในระดับความเข้มข้นของโซเดียม-คลอไรด์เท่ากับ 60 ก./ล. หรือแม้ไม่มีโซเดียมคลอไรด์อยู่เลยก็ตาม

3) พีเอช

ช่วงพีเอชที่เหมาะสมต่อแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะอยู่ในค่าเป็นกลางคือ 7 และมักถูกยับยั้งเมื่อค่าพี-เอชต่ำกว่า 6 หรือสูงกว่า 9 อย่างไรก็ตามพบว่าปฏิกิริยาซัลเฟตรีดักชันสามารถเกิดขึ้นได้ในแหล่งน้ำขังจากเหมืองแร่ซึ่งมีค่าพีเอชในแหล่งน้ำประมาณ 3 – 4 แต่เมื่อนำแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจากแหล่งน้ำนี้มาเพาะเชื้อและทดสอบกลับพบว่าจะถูกยับยั้งการเจริญเติบโต เมื่อพีเอชต่ำกว่า 6 ทำให้เกิดข้อสันนิษฐานว่าแบคทีเรียรี-ดิวซ์ซัลเฟตที่อยู่ในแหล่งน้ำของเหมืองแร่จะอาศัยอยู่ในช่องว่างหรือรูขนาดเล็กมาก

(microniches) ซึ่งจะมีค่าพีเอชที่สูงขึ้นและเหมาะสมต่อการดำรงชีพมากกว่า โดยค่าพีเอชที่สูงขึ้นในช่องว่างขนาดเล็กที่มีแบคทีเรียรี-ดิวซ์ซัลเฟตอาศัยอยู่นี้ อาจเกิดจากผลของปฏิกิริยาการออกซิไดซ์สารอาหารของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต ทั้งนี้เมื่อพิจารณาถึงปฏิกิริยาการย่อยสลายสารอาหารของแบคทเรียรีดิวซ์ซัลเฟตพบว่า อาจเป็นปฏิกิริยาที่มีการใช้ไฮโดรเจนไอออนหรือเป็นปฏิกิริยาการสร้างบัฟเฟอร์ เช่น ไบคาร์บอเนตหรือไบซัลไฟด์เมื่อใช้ไฮโดรเจนหรืออะซิเตตเป็นสารอาหาร แต่เมื่อสารอาหารคือสารอินทรีย์โซ่ยาว ผลของปฏิกิริยาการย่อยสลายสารอาหารจะผลิตไฮโดรเจนอิออนขึ้นมาทำให้ค่าพีเอชลดลงได้ อย่างไรก็ตามโดยภาพรวมเมื่อพิจารณาไฮโดรเจนอิออนร่วมกับไบคาร์บอเนตหรือไบซัลเฟต์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาซัลเฟตรีดักชัน สามารถมองได้ว่าถ้าก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์หรือไฮโดรเจนซัลไฟด์หนีออกจากตัวกลางได้ ปฏิกิริยาซัลเฟตรีดักชันมักทำให้ค่าพีเอชสูงขึ้นเสมอ

4) ความมีชีวิตรอดในสภาวะที่มีออกซิเจน

ถึงแม้ว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจัดเป็นแบคทีเรียชนิดทนออกซิเจนไม่ได้แม้มีปริมาณเพียงเล็กน้อยก็ตาม แต่ก็พบว่ายังดำรงชีพอยู่ได้เมื่ออยู่ในสภาพที่มีออกซิเจนอิสระอยู่ชั่วคราว และสามารถฟื้นตัวได้เมื่อกลับเข้าสู่สภาพไร้ออกซิเจน นอกจากนั้นพบว่าซัลไฟด์ที่มีอยู่ในตัวกลางมีบทบาทต่อผลกระทบของออกซิเจนที่มีต่อแบคทีเรียรดิวซ์ซัลเฟตบางสายพันธุ์ในลักษณะที่แตกต่างกัน ในกรณีที่มีซัลไฟด์พร้อมกับออกซิเจนจะมีผลกระทบในทางลบมากกว่ากรณีที่มีเพียงออกซิเจนอย่างเดียว โดยแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจีนัส *Desulfovibrio* สามารถทนอยู่ในสภาพที่มีออกซิเจนได้หลายชั่วโมงแต่ต้องไม่มีซัลไฟด์อยู่ในตัวกลาง

5) การปรับเปลี่ยนรูปร่างลักษณะ : การจับกลุ่มของเซลและเซลชนิดเส้นใย (Morphological adaptation : aggregating cells and glinding filaments)

การรวมกลุ่มของเซลของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตอาจเกิดจากการปรับตัวเพื่อรับกับสภาพที่ไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีพ เช่น ค่าพีเอช อุณหภูมิ การมีสารให้อิเล็คตรอนหรือเกลือที่อยู่ในช่วงที่ไม่เหมาะสม หรือการมีออกซิเจนในตัวกลาง ในสภาวะดังกล่าวแบคทีเรียจะแสดงลักษณะผิดปกติ (morbid) เช่น เซลมีขนาดใหญ่ขึ้นเนื่องจากการบวมหรือหยุดการเคลื่อนที่จากเดิมที่เคลื่อนที่ได้ นอกจากสาเหตุจากการปรับตัวให้รับกับสภาพที่ไม่เหมาะสมแล้ว อาจเป็นลักษณะปกติที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตบางสายพันธุ์ อย่างไรก็ตามมีการพบว่าข้อดีของการเกาะกลุ่มหรือการเกาะติดผนังก็คือจะเพิ่มประสิทธิภาพในการดึงสารอาหารที่เป็นตัวจำกัดการเจริญเติบโตได้ดีกว่าเซลที่แขวนลอยอยู่ในตัวกลาง

แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตชนิดเส้นใย; ลักษณะแบบเส้นใยของเซลแบคทีเรียจะเอื้อประโยชน์ต่อการดึงสารอาหารเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตได้ นอกจากนั้นลักษณะแบบเส้นใยของเซลช่วยต่อต้านการล่า (phagocytosis) จากพวกซิลิเอตและอะมีบาที่มักใช้แบคทีเรียเป็นอาหาร

2.4.3 แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟอร์ (Sulfur Reducing Bacteria)

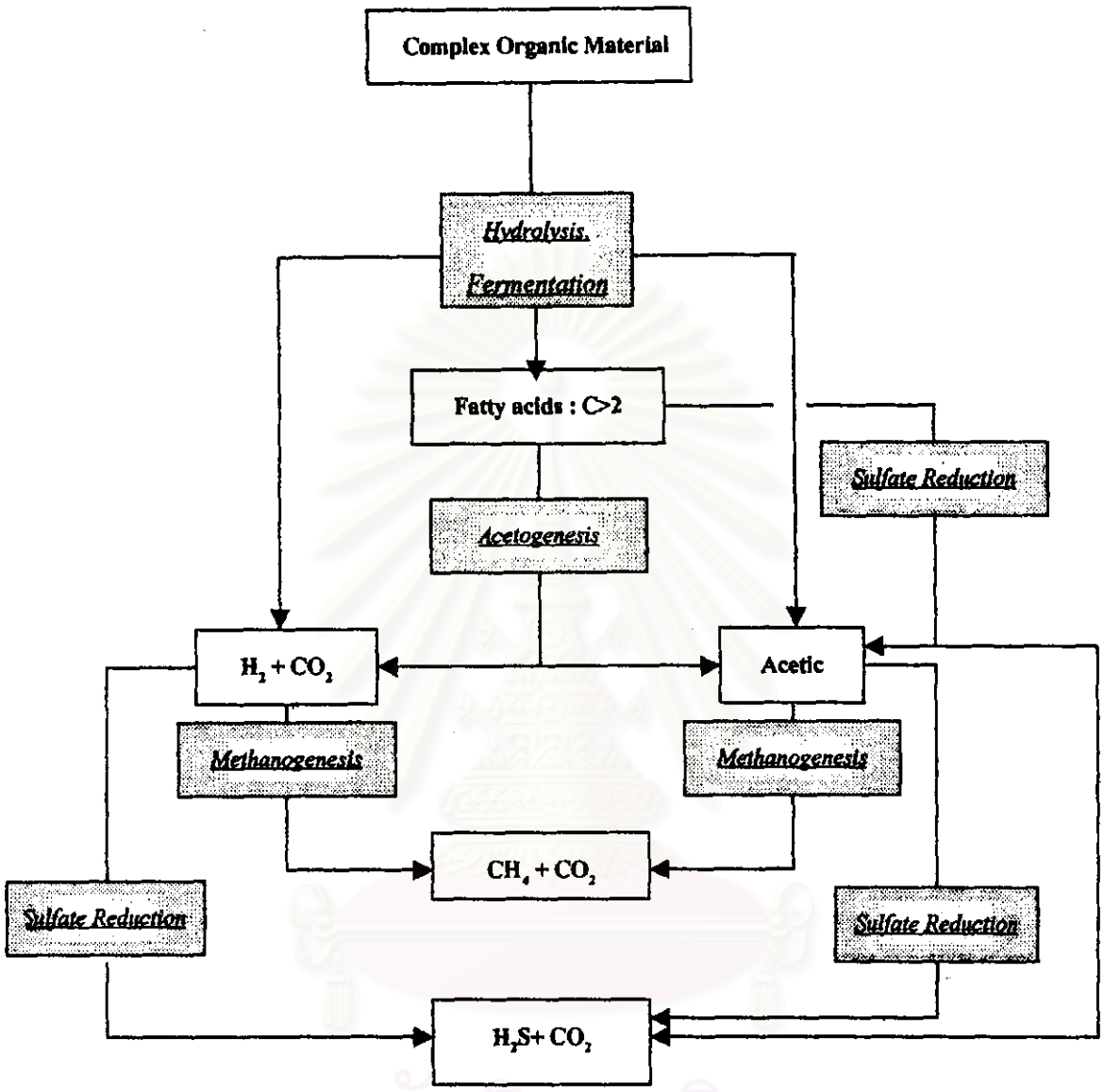
แบคทีเรียหลายชนิดสามารถรีดิวซ์ธาตุซัลเฟอร์ (elemental sulfur) ไปเป็นซัลไฟด์ แต่กลับไม่สามารถรีดิวซ์ซัลเฟตไปเป็นซัลไฟด์ อย่างไรก็ตามความสามารถในการรีดิวซ์ธาตุซัลเฟอร์ หรือสารประกอบของซัลเฟอร์ในรูปออกซิไดส์อื่นๆ เช่น ไธโอซัลเฟต, ซัลไฟต์ หรือไดเมทธิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) ยังสามารถพบได้ในแบคทีเรีย facultative anaerobe อื่นๆอีกหลายชนิด เช่น *Proteus* , *Campylobacter, Pseudomonas* และ *Salmonella* แต่ *Desulfuromonas* ต่างจากแบคทีเรียเหล่านี้เนื่องจากเป็น obligate anaerobe และสามารถใช้เพียงธาตุซัลเฟอร์เป็นสารรับอิเล็คตรอนได้เพียงอย่างเดียว

2.4.4 ความสัมพันธ์ของแบคทีเรียกลุ่มต่างๆ ในกระบวนการไร้อากาศที่มีซัลเฟต

ในสภาวะไร้ออกซิเจน แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียผลิตมีเทนเป็นแบคทีเรีย 2 กลุ่มที่มีความสำคัญต่อขั้นตอนสุดท้ายในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียที่มีซัลเฟตให้เปลี่ยนไปอยู่ในรูปแร่ (mineralization) โดยแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด มีความคล้ายคลึงเชิงสรีระวิทยา (physiological similarities) หลายประการ Holt และคณะ (1994) (อ้างโดย Fang H.H.P., Lui Y. และ Chen T., 1997) คือมีลักษณะเป็นแบคทีเรียไร้ออกซิเจนชนิดเด็ดขาด (obiligate anaerobe), มีช่วงอุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตคล้ายกัน และมีลักษณะเป็นแบคทีเรียชนิดเตโมเฮเทโรทรอปร่วมกัน ดังนั้นจึงสามารถพบแบคทีเรีย 2 กลุ่มนี้ร่วมกันในระบบบำบัดไร้ออกซิเจนที่มีซัลเฟต นอกเหนือจากแบคทีเรียสร้างกรด โดยรูปที่ 2.5 แสดงขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในกระบวนการไร้ออกซิเจนเมื่อมีซัลเฟตอยู่ในน้ำเสีย

ความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต แบคทีเรียผลิตมีเทน และแบคทีเรียสร้างอะซิเตตที่มีความสำคัญจำแนกได้ดังนี้

- การแข่งขันเพื่อแย่งใช้ไฮโดรเจนและอะซิเตตเป็นสารอาหารระหว่างแบคทีเรียผลิตมีเทนและแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต โดยผลของการแข่งขันเป็นการกำหนดผลผลิตสุดท้ายของกระบวนการย่อยสลายแบบไร้ออกซิเจน ซึ่งอาจจะได้ก๊าซมีเทนหรือซัลไฟด์
- การแข่งขันเพื่อแย่งใช้โพรพิโอเนตและบิวทิเรตเป็นสารอาหาร ระหว่างแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตกับแบคทีเรียสร้างอะซิเตต (acetogens)
- การแข่งขันเพื่อแย่งใช้ซัลเฟตของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตกลุ่มต่างๆ ซึ่งจะมีความสำคัญเพิ่มขึ้นที่ความเข้มข้นของซัลเฟตมีค่าต่ำ



รูปที่ 2.5 การย่อยสลายสารอินทรีย์ในกระบวนการไร้อากาศที่มีซัลเฟตในน้ำเสีย (Visser, 1994)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.4.4.1 การแข่งขันระหว่างแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียผลิตมีเทน

ความสัมพันธ์แบบแข่งขันระหว่างแบคทีเรียทั้ง 2 กลุ่มที่ได้รับความสนใจมาก คือการแย่งใช้อะซิ-เตตและไฮโดรเจน ซึ่งเป็นสารอาหารหลักที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียสร้างมีเทน โดยประมาณว่า 30% และ 70% ของซีโอดีที่ถูกย่อยสลายในกระบวนการไร้ออกซิเจน จะถูกย่อยผ่านทางไฮโดรเจนและอะซิเตตตามลำดับ โดย hydrogenotrophic SRB ; H-SRB และ hydrogenotrophic MPB ; H-MPB คือแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียผลิตมีเทนที่ใช้ไฮโดรเจนเป็นสารอาหารได้ ขณะที่ acetotrophic SRB ; A-SRB และ acetotrophic-MPB ; A-MPB คือแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียผลิตมีเทนที่ใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารได้ สำหรับปัจจัยต่างๆ ที่ใช้สำหรับการพิจารณาการแข่งขันมีดังนี้

1) ปัจจัยทางเทอร์โมไดนามิกส์

ปัจจัยทางเทอร์โมไดนามิกส์กล่าวถึงพลังงานอิสระที่ได้จากปฏิกริยาการใช้ไฮโดรเจนและอะซิ-เตตเป็นสารอาหารของแบคทีเรียทั้ง 2 กลุ่ม ค่าลบของ ΔG° หมายถึง ปฏิกิริยาดังกล่าวสามารถเกิดขึ้นได้เนื่องจากเป็นปฏิกริยาที่ได้พลังงาน ดังนั้น ปฏิกริยาที่มีค่า ΔG° เป็นลบมากกว่าก็จะให้พลังงานออกมามากกว่า โดยตารางที่ 2.8 แสดงค่าค่าพลังงานทางเทอร์โมไดนามิกส์ที่ได้จากการใช้สารอาหารโดยแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต(SRB) และแบคทีเรียผลิตมีเทน(MPB)

ตารางที่ 2.8 ค่าพลังงานเทอร์โมไดนามิกส์ที่ได้จากการใช้สารอาหารโดย SRB และ MPB (Visser,1991)

Reaction		ΔG° *(kJ/react.)*
Hydrogen-consuming		
By H-SRB	$4H_2+SO_4^{2-}+H^+ \rightarrow 4H_2O+HS^-$	-152.0
By H-MPB	$4H_2+HCO_3^-+H^+ \rightarrow CH_4+3H_2O$	-130.8
Acetate-consuming		
By A-SRB	$CH_3COO^- + SO_4^{2-} \rightarrow 2HCO_3^-+HS^-$	-39.5
By A-MPB	$CH_3COO^- +H_2O \rightarrow CH_4+HCO_3^-$	-28.2

จากตารางที่ 2.8 จะเห็นได้ว่าพลังงานที่ได้จากการใช้ไฮโดรเจนและอะซิเตตเป็นสารอาหารของ H-SRB และ A-SRB มีความได้เปรียบเหนือ H-MPB และ A-MPB เนื่องจากได้ค่า ΔG° เป็นลบมากกว่า ดังนั้นเมื่อพิจารณาปัจจัยทางเทอร์โมไดนามิกส์ กรณีที่สารอาหารไม่เป็นตัวจำกัดการเจริญเติบโตแล้ว แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีแนวโน้มที่จะเอาชนะแบคทีเรียผลิตมีเทนได้

2) ปัจจัยทางไคเนติก

สมการทางไคเนติกที่นำมาใช้ในการพิจารณาการแข่งขันแย่งใช้สารอาหารชนิดเดียวกันเพื่อการดำรงชีพและการเจริญเติบโตระหว่างแบคทีเรีย 2 กลุ่มที่อาศัยอยู่ร่วมกันคือ

$$\mu = \frac{\mu_{max} S}{K_s + S} \text{----------(2.1)}$$

μ = อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (เวลา$^{-1}$)

μ_{max} = อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ สูงสุด (เวลา$^{-1}$)

S = ความเข้มข้นของสารอาหารที่พิจารณาในระบบ (มวลสารอาหาร/ปริมาตร)

K_s = ความเข้มข้นของสารอาหารที่พิจารณาเมื่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ มีค่าเป็นครึ่งหนึ่งของอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ สูงสุด(มวลสารอาหาร/ปริมาตร)

พิจารณาอัตราส่วน

$$\frac{\mu_1}{\mu_2} = \frac{\mu_{max1}}{\mu_{max2}} \times \frac{K_{s2} + S}{K_{s1} + S} \text{----------(2.2)}$$

อัตราส่วนดังกล่าว ได้จากการนำสมการ(2.1) ที่แทนค่าด้วยค่าตัวแปรของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียผลิตมีเทนมาเข้าอัตราส่วน และเนื่องจากเป็นการเปรียบเทียบระหว่างแบคทีเรีย 2 กลุ่มที่ใช้สารอาหารชนิดเดียวกันในระบบเดียวกัน ดังนั้น ค่า S ซึ่งเป็นตัวแปรร่วมสำหรับสมการ(1) จะตัดกันออกไป และจะได้อัตราส่วนตามที่แสดงในสมการ(2.2) ซึ่งสามารถนำมาใช้ในการพิจารณาเปรียบเทียบการแข่งขันเพื่อการดำรงชีพและการเจริญเติบโตระหว่างแบคทีเรีย 2 กลุ่มที่อาศัยอยู่ร่วมกันได้ โดยตัวห้อย 1 และ 2 เป็นค่าตัวแปรของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียผลิตมีเทนตามลำดับ

- ในกรณีที่ S น้อยกว่า K_s อย่างมาก สมการ(2.2)จะลดรูปลงเป็นสมการ(2.3)

$$\frac{\mu_1}{\mu_2} = \frac{\mu_{max1} / K_{s1}}{\mu_{max2} / K_{s2}} \text{----------(2.3)}$$

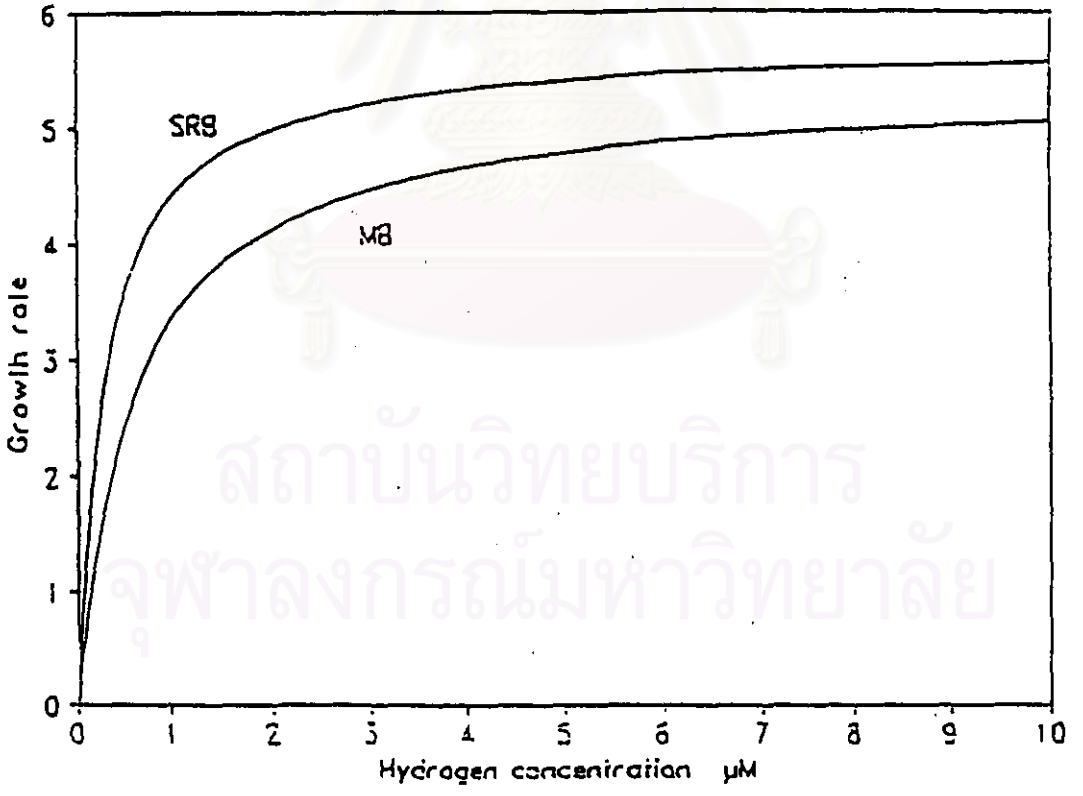
จากสมการที่ (2.3) จะได้ว่าอัตราส่วน μ_{max}/K_s จะเป็นพารามิเตอร์ที่กำหนดอัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแต่ละกลุ่ม และสามารถนำมาใช้เปรียบเทียบการแข่งขันระหว่างแบคทีเรีย 2 กลุ่ม ในสภาวะที่สารอาหารเป็นตัวกำหนดการเจริญเติบโต เมื่ออยู่ในสภาวะแวดล้อมเดียวกันได้

- ในกรณีที่ S มากกว่า K_s อย่างมาก สมการ(2.2)จะถดรูปลงเป็นสมการ(2.4)

$$\frac{\mu_1}{\mu_2} = \frac{\mu_{max1}}{\mu_{max2}} \text{----------(2.4)}$$

จากสมการที่ (2.4) จะได้ว่า เมื่ออยู่ในสภาวะที่สารอาหารไม่จำกัดการเจริญเติบโต (มีมากเกินพอ) จะเป็นค่าอัตราการเจริญเติบโตสูงสุด (μ_{max}) ที่นำมาใช้เปรียบเทียบการแข่งขันระหว่างแบคทีเรีย 2 กลุ่ม เมื่ออยู่ในสภาวะแวดล้อมเดียวกัน ดังนั้น ค่าพารามิเตอร์ทางไคเนติกที่สำคัญในการใช้พิจารณาการแข่งขันเพื่อการดำรงชีพและเจริญเติบโตในสภาวะแวดล้อมเดียวกันคือ μ_{max} และอัตราส่วน μ_{max}/K_s โดยค่าที่มากกว่าแสดงถึงความสามารถในการเจริญเติบโตได้ดีกว่า

ในกรณีที่สารอาหารที่พิจารณา คือ ไฮโดรเจน Visser (1994) ได้แสดงรูปกราฟอัตราการเจริญเติบโตของ H-SRB เทียบกับ H-MPB เมื่อใช้ไฮโดรเจนเป็นสารอาหารโดยได้อ้างอิงข้อมูลของ Robinson และ Tiedjie (1984) ดังรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 อัตราการเจริญเติบโตของ H-SRB และ H-MPB ที่ความเข้มข้นไฮโดรเจนต่าง ๆ (Visser, 1994)

รูปที่ 2.6 แสดงอย่างเด่นชัดว่า H-SRB มีอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่า H-MPB ในทุกๆ ความเข้มข้นไฮโดรเจน โดยข้อมูลนี้สอดคล้องกันในงานวิจัยหลายๆ ชิ้น (Visser, 1994) นอกจากนั้น H-SRB จะมีความได้เปรียบทางไคเนติกที่เหนือกว่า H-MPB หลายประการ ตัวอย่างเช่น อัตราการเจริญเติบโตที่สูงกว่า มีค่า K_s ต่ำกว่า (better substrate affinity) และค่ายีลด์ของเซลล์สูงกว่า Widdel (1983), Rinzema และ Lettinga (1988) (อ้างถึงใน Visser, 1994) จากข้อมูลเหล่านี้ สามารถสันนิษฐานได้ว่า (Visser, 1994) ในถังปฏิกรณ์ไร้ออกซิเจน H-SRB สามารถแย่งใช้ไฮโดรเจนจาก H-MPB ได้ทั้งหมด ถ้ามีปริมาณซัลเฟตเพียงพอ ดังนั้นถ้ามีปริมาณซัลเฟตอย่างเพียงพอ 30% ของซีโอดีทั้งหมดที่ถูกย่อยสลายผ่านทางไฮโดรเจนจะถูกใช้ในปฏิกิริยาซัลเฟตรีดักชันทั้งหมด แทนที่จะถูกใช้ในปฏิกิริยาการผลิตมีเทน โดย Lovely และคณะ (1982) และ Lovely (1985) (อ้างถึงใน Visser, 1994) ได้อธิบายในลักษณะที่ว่า เนื่องจาก H-SRB มีความสามารถในการใช้ไฮโดรเจนได้เหนือกว่า H-MPB ดังนั้น ความเข้มข้นไฮโดรเจนที่เหลือจากการใช้ของ H-SRB จะมีค่าต่ำกว่าที่ H-MPB จะสามารถนำไปใช้ได้

สำหรับอะซิเตด ตารางที่ 2.9 แสดงค่าพารามิเตอร์ทางไคเนติกของ SRB และ MPB บางสายพันธุ์ เมื่อใช้อะซิเตดเป็นสารอาหาร โดยพารามิเตอร์ทางไคเนติกที่นำมาใช้ในการพิจารณาเปรียบเทียบความสามารถในการเจริญเติบโตและการใช้สารอาหารของแบคทีเรียต่างชนิดกัน คือ ค่า μ_m (อัตราการเจริญเติบโตสูงสุดจำเพาะ) ถ้ามีค่าสูงกว่า หมายถึงเจริญเติบโตได้ดีกว่า, ค่า K_s (ความเข้มข้นของสารอาหารที่อัตราการเจริญเติบโตเป็นครึ่งหนึ่งของอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดหรือ substrate affiniy) โดยถ้ามีค่าต่ำหมายความว่าสามารถดึงสารอาหารชนิดนั้นมาใช้ได้ดี สำหรับค่า Y (ยิลด์) ไม่ใช่พารามิเตอร์ที่นำมาใช้ในการเปรียบเทียบ แต่เป็นค่าที่แสดงปริมาณเซลที่เกิดขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับสารอาหารที่บริโภคเข้าไป โดยถ้ามีค่ามากกว่า หมายความว่าเมื่อใช้สารอาหารเท่ากัน จะสามารถสร้างเซลได้มากกว่า

จากตารางที่ 2.9 พบว่า โดยรวมค่า K_s ของ A-SRB จะต่ำกว่าค่าของ A-MPB และค่า μ_m ของ A-SRB จะสูงกว่า A-MPB ดังนั้นแสดงว่า A-SRB มีความได้เปรียบ A-MPB ในปัจจัยด้านไคเนติกเช่นเดียวกับที่ H-SRB ที่เหนือกว่า H-MPB นั่นคือ โดยปัจจัยทางไคเนติกแล้ว SRB มีความได้เปรียบ MPB ในการใช้ทั้งไฮโดรเจนและอะซิเตดเป็นสารอาหาร

ตารางที่ 2.9 ค่าพารามิเตอร์ไคเนติกของ A-SRB และ A-MPB บางสายพันธุ์ เมื่อใช้อะซิเตตเป็นสารอาหาร (Visser, 1994)

	K_s mM.	μ_m day^{-1}	Y g VSS. mol^{-1} C2	PH.	T °C	REF
SRB						
Desulfobacter						
postagei		1.03	2.56		28	1
Desulfotomaculum						
acetoxidans		0.55	5.52	7.1	36	2
acetoxidans		1.44	7.55	7.1	36	3
Desulfonema						
limicola		0.55		7.6	30	4
Enrichment culture	0.10	0.51			31	5
Biofilm	0.17	0.015	3.7	7.5	30	6
Granular sludge	0.9	0.11		7.5	30	7
crushed granular sludge	0.17	0.06		7.5	30	7
MB						
Methanotrix						
soehngenii	0.44	0.11	1.47	7.6	37	8
concilii	1.20	0.69	1.15	7.2	35	9
Methanosarcina						
barkeri	0.69	2.4		6.3	35	10
Enrichment culture	5.60	0.26	3.2		30	11
Enrichment culture	0.55	0.037		7.5	30	6
Granular sludge	0.9	0.08		7.5	30	7
crushed granular sludge	0.41	0.04		7.5	30	7

1 Brandis-Heep et al. 1983 ; 2 Widdel and Pfennig 1977 ; 3 Widdel and Pfennig 1981; 4 Widdel 1980 ; 5 Middleton and Lawrence 1977 ; 6 Yoda et al. 1987 ; 7 Visser (1994) ; 8 Huser 1981 ; 9 Patel 1984 ; 10 Powell et al. 1983 ; 11 Lawrence and Mc Carty 1969

3) ความสามารถในการยึดเกาะของแบคทีเรีย (immobilisation of bacteria)

ในถังปฏิกรณ์ไร้อากาศที่รับภาระบรรทุกสารอินทรีย์สูง สามารถรักษาเวลากักเซลล์ได้ยาวนาน ส่วนหนึ่งเนื่องจากความสามารถในการยึดเกาะหรือเกาะตัวเป็นเม็ดของแบคทีเรียแต่ละชนิด อย่างไรก็ตาม ความสามารถดังกล่าวจะแตกต่างกันไปในแบคทีเรียแต่ละชนิด พวกที่เกาะยึดได้ดีจะคงอยู่ในระบบ ขณะที่พวกเกาะยึดได้ไม่ดีจะถูกพัดออกไปกับน้ำออก

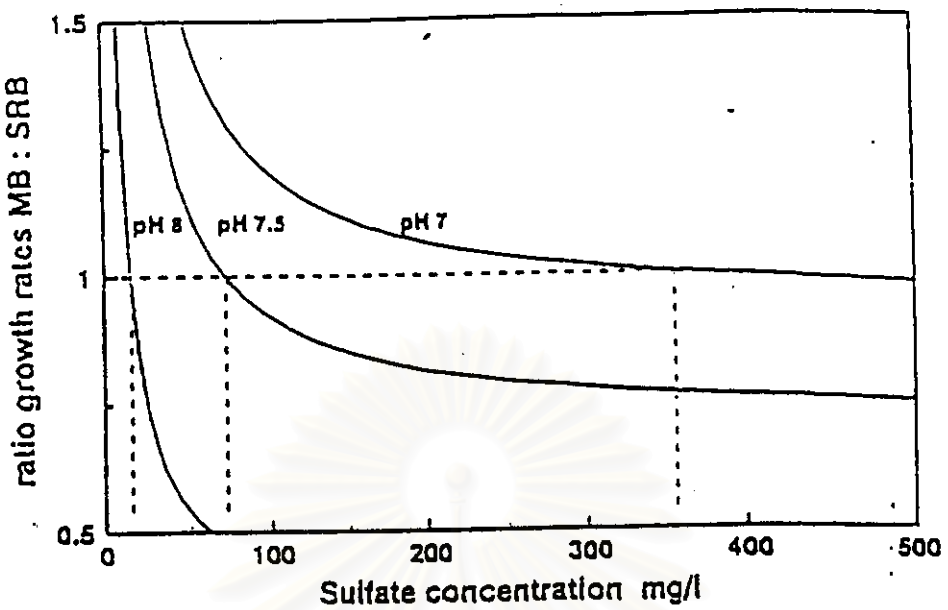
Isa Z., Grusenmeyer S. และ Verstraete W. (1986b) สรุปว่า ความสามารถในการเกาะติดของแบคทีเรียผลิตมีเทนที่เหนือกว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเป็นเหตุผลสำคัญหนึ่งที่ทำให้ แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตใช้สัดส่วนของซีโอดีได้เพียง 10 –20% ของทั้งหมด โดยใช้ถังกรองไร้อากาศที่รับภาระบรรทุกสารอินทรีย์สูง

Visser และคณะ (1993) ทำการทดลองเกี่ยวกับการเกิดเม็ดตะกอนแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียผลิตมีเทนในถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบี พบว่าในระบบที่สภาพแวดล้อมและสารอาหารเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเต็มที่ สลัดจ์ภายในระบบไม่จับตัวเป็นเม็ด แต่มีลักษณะเป็นฟล็อค ขณะที่ในระบบที่สภาพแวดล้อมและสารอาหารเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียผลิตมีเทนเต็มที่หรือเหมาะสมต่อการแข่งขันของแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด พบว่า สลัดจ์ในระบบจะจับตัวเป็นเม็ด แสดงว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตไม่สามารถจับเป็นเม็ดได้โดยลำพัง อย่างไรก็ตามเมื่ออยู่ร่วมกับแบคทีเรียผลิตมีเทนก็สามารถจับตัวเป็นเม็ดได้ โดยสันนิษฐานว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตอาจใช้แบคทีเรียผลิตมีเทนเป็นแกนในการจับตัวเป็นเม็ด

นอกจากนั้น Visser (1994) ได้วิจารณ์วิธีการวัดและวิเคราะห์ข้อมูลในงานของ Isa และคณะ (1986a,b) โดยระบุว่ามีจุดบกพร่องเกี่ยวกับวิธีการนับจำนวนแบคทีเรียและได้ตั้งคำถามต่อการนำข้อสรุปในงานดังกล่าวมาใช้อ้างอิง ขณะเดียวกันก็ได้ยืนยันถึงความสามารถของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในการยึดเกาะว่าเพียงพอที่จะแข่งขันกับแบคทีเรียสร้างมีเทนที่มีความสามารถจับตัวเป็นเม็ดหรือเกาะติดในการแย่งใช้ไฮโดรเจนและอะซิเตตเป็นสารอาหารในถังปฏิกรณ์ไร้อากาศที่รับภาระบรรทุกสารอินทรีย์สูงได้

4) ความเข้มข้นของซัลเฟตในระบบ

ในระบบที่ความเข้มข้นซัลเฟตถูกจำกัด อัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะถูกจำกัดไปพร้อมกัน และจะทำให้แบคทีเรียสร้างมีเทนสามารถเจริญเติบโตโดดเด่นขึ้นมาแทนได้ รูปที่ 2.7 แสดงผลของความเข้มข้นซัลเฟตในระบบต่ออัตราการเจริญเติบโตของ A-MPB และ A-SRB ในแต่ละความเข้มข้นซัลเฟต ซึ่งแสดงอย่างชัดเจนถึงโอกาสที่สูงขึ้นของ A-MPB ในการเอาชนะ A-SRB เมื่อความเข้มข้นของซัลเฟตในระบบมีค่าต่ำ



รูปที่ 2.7 ผลของความเข้มข้นซัลเฟตในระบบต่ออัตราการเจริญเติบโตของ A-MPB และ A-SRB (Visser, 1994)

นอกจากนั้น เมื่อปริมาณซัลเฟตในระบบถูกจำกัด แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตประเภทต่างๆ จะยังต้องแข่งขันกันเองเพื่อแย่งใช้ซัลเฟตที่มีอยู่อย่างจำกัดโดยตารางที่ 2.10 แสดงค่า K_s-SO_4^{2-} ของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัล-เฟตบางสายพันธุ์ ซึ่งเห็นได้อย่างชัดเจนว่า A-SRB ที่เลี้ยงแบบ enrichment cultures และ A-SRB สปีชีส์ *Desulfobacter postagei* มีค่า K_s-SO_4^{2-} สูงสุด หมายถึงมี affinities ในการใช้ซัลเฟตต่ำสุด Laanbroek และคณะ (1984) (อ้างโดย Visser, 1994) ได้จัดลำดับ affinities ของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต จีนัสต่างๆ ตามลำดับ สูง-ต่ำ ดังนี้ :*Desulfovibiro, Desulfobulbus* และ *Desulfobacter* ซึ่งเป็นจีนัสแยกของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต ที่มีความชอบในการย่อยไฮโดรเจน โพรพิโอเนตและอะซิเตตเป็นสารอาหาร ตามลำดับ

ดังนั้น ในสภาวะที่มีปริมาณซัลเฟตจำกัด A-SRB จะถูกแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ย่อยสารอื่นๆ แย่งใช้ซัลเฟตไปได้มากกว่า ซึ่งเป็นผลดีต่อ A-MPB ในการใช้อะซิเตต ในทางกลับกันถ้ามีปริมาณซัล-เฟตมากเกินพอการแย่งใช้ซัลเฟตจะไม่ใช่ประเด็นสำคัญ อย่างไรก็ตามจะต้องคำนึงถึงข้อจำกัดด้านการแพร่ (diffusion limitation) ของซัลเฟตเข้าสู่ฟิล์มชีวะหรือเม็ดสลัดจ์ (sludge granule) Nielsen (1987) (อ้างโดย Visser, 1994) ให้ค่าความเข้มข้นของซัลเฟตที่จะจำกัดการใช้ในถังปฏิกิริยาแบบฟิล์มชีวะเท่ากับ 50 มก./ล.และ Lens (1994) (อ้างโดย Visser, 1994) ได้คำนวณค่าความเข้มข้นซัลเฟตที่จะจำกัดการใช้ใน เม็ดสลัดจ์ไว้ ซึ่งมีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 300 มก./ล.

ตารางที่ 2.10 ค่า K_s-SO_4^{2-} ของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตบางสายพันธุ์ (Visser, 1994)

	K_s -SO_4^{2-} ($mg.l^{-1}$)	Ref.
Desulfovibrio vulgalis (Marburg)	0.5	1
Desulfovibrio vulgalis (Hildenborough)	3	1
Desulfovibrio sapovorans	0.7	1
Desulfovibrio salexigens	7	1
Desulfobacter postagei	19	2
Enrichment culture[a]	45	3
Enrichment culture[b]	30	4

1. Ingvorsen and Jorgensen 1984, 2. Ingvorsen et al. 1984, 3. 3Yoda et al. 1987, 4 Middleton and Lawrence 1977

[a] biofilm, electrondonor acetate. [b] suspended sludge, electrondonor acetate

5) อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟต

ปัจจัยทางไคเนติกและเทอร์โมไดนามิกส์ที่ได้กล่าวข้างต้นแสดงถึงความได้เปรียบของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตต่อแบคทีเรียผลิตมีเทนในการเจริญเติบโตและใช้สารอาหาร นอกจากนั้น ความสามารถในการยึดเกาะของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตก็มีเพียงพอในการแข่งขันกับแบคทีเรียผลิตมีเทน ขณะที่ระดับความเข้มข้นของซัลเฟตที่อยู่ในระบบก็เป็นตัวแปรในการกำหนดผลแพ้ชนะของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียผลิตมีเทนอย่างมีนัยสำคัญ เช่นในกรณีที่ซัลเฟตเป็นตัวจำกัดการเจริญเติบโตของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต แบคทีเรียผลิตมีเทนก็มีโอกาสที่จะเอาชนะแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตได้ หรือในกรณีที่สารอินทรีย์ในระบบมีอยู่อย่างจำกัดในขณะที่มีซัลเฟตเหลือเฟือ ซีโอดีเป็นตัวจำกัดการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทั้ง 2 ประเภท แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตก็มีโอกาสเอาชนะแบคทีเรียผลิตมีเทนได้ จากเหตุผลดังกล่าว งานวิจัยเกี่ยวกับการแข่งขันระหว่างแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียผลิตมีเทนในช่วงหลังๆ จะให้ความสนใจกับค่าอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟต โดยที่ศักยภาพของแบคทีเรียผลิตมีเทนในการเอาชนะแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราส่วนนี้เพิ่มขึ้น ในทางกลับกัน แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะมีศักยภาพในการเอาชนะแบคทีเรียผลิตมีเทนเมื่ออัตราส่วนนี้ลดลง โดยที่ความเข้มข้นของซัลไฟด์ที่เกิดขึ้นจะต้องไม่สะสมจนเป็นพิษต่อแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต อย่างไรก็ตามยังไม่มีค่าตัวเลขของอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตที่แน่นอนในการชี้ถึงผลแพ้ชนะระหว่างแบคทีเรีย 2 กลุ่ม ตารางที่ 2.11 แสดงค่าอัตราส่วนระหว่างซีโอดีต่อซัลเฟตที่มีการศึกษาหรืออ้างถึง

ตารางที่ 2.11 อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตที่มีการศึกษาหรืออ้างถึง

ลำดับที่	อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟต		ชนิดสารอาหาร	ชนิดถังปฏิกรณ์	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 และOleszkiewicz (1993)
3	1.7	2.7	แลคเตต	-	Choi และคณะ (1991)
4	-	>1	-	-	Prasad และคณะ (1991)

6) ปัจจัยอื่นๆ

- อุณหภูมิ

ผลของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในช่วงมีโซฟิลิกกระทบต่อการแข่งขันระหว่างแบคทีเรียรีดิวซ์ซัล เฟตและแบคทีเรียผลิตมีเทนไม่มากนัก ขณะที่ในช่วงเทอร์โมฟิลิกจะมีผลที่เห็นได้ชัดเจนกว่า Visser และคณะ (1993a) (อ้างโดย Visser, 1994) ทำการศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในช่วงสั้นๆ ต่อการเกิดปฏิกิริยาซัลเฟตรีดักชันและปฏิกิริยาผลิตมีเทนในถังปฏิกรณ์ยูเอเสบีเมื่อใช้อะซิเตตเป็นสารอาหาร โดยพบว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มอย่างกระทันหันเป็น 55°C จะเอื้อให้แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตได้เปรียบเหนือแบคทีเรียผลิตมีเทน นอกจากนั้นพบว่าอัตราการใช้สารอาหารของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีค่าเพิ่มขึ้น ภายหลังการเพิ่มของอุณหภูมิอย่างกระทันหัน Rintella และ Lettinga (1992), Visser และคณะ (1992) (อ้างโดย Visser, 1994) สรุปว่า ในสภาวะเทอร์โมฟิลิกแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะเอาชนะแบคทีเรียผลิต-มีเทนได้ ไม่ว่าสารอาหารจะเป็นไฮโดรเจนหรืออะซิเตตก็ตาม

- พีเอช

พีเอชเป็นปัจจัยทางกายภาพที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทุกชนิด รวมทั้งแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียผลิตมีเทน การศึกษาของ Visser และคณะ (1993b) (อ้างโดย Visser, 1994) พบว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะได้เปรียบแบคทีเรียผลิตมีเทนมากขึ้น เมื่อค่าพีเอชอยู่ในช่วง 8 – 8.5 และแบคทีเรียผลิตมีเทนจะแข่งขันกับแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตได้ดีขึ้น เมื่อค่าพีเอชอยู่ในช่วง 6.3 – 7.5

- ปริมาณของเหล็กเฟอร์รัส (Fe^{2+}) ในระบบ

ผลิตผลของการเกิดซัลเฟตรีดักชั่นโดยแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่เกิดขึ้นเสมอ คือ ซัลไฟด์ ดังนั้น ความเข้มข้นของเหล็กเฟอร์รัส (Fe^{2+}) ในระบบอาจลดลงจนไม่เพียงพอต่อความต้องการของทั้งแบคทีเรียสร้างมีเทนและแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตได้ เนื่องจากเกิดการตกตะกอนผลึกของเหล็กซัลไฟด์ และถึงแม้จะมีงานวิจัยที่ระบุว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีความต้องการปริมาณธาตุเหล็กสูงก็ตาม Postgate (1979) (อ้างโดย Visser, 1994) แต่ก็ไม่สามารถสรุปได้ว่าแบคทีเรียผลิตมีเทนจะชนะแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในระบบที่มีความเข้มข้นของธาตุเหล็กจำกัด ทั้งนี้เพราะธาตุเหล็กก็เป็นธาตุอาหารที่สำคัญต่อแบคทีเรียสร้างมีเทนด้วยเช่นกัน

- เชื้อ (seed) ที่นำมาใช้เมื่อเริ่มเดินระบบและระยะเวลาในการทดลอง

ชนิดเชื้อที่นำมาใช้ในการเริ่มเดินระบบมีผลอย่างมากต่อระยะเวลาที่แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะต้องใช้เพื่อเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนเหนือพวกแบคทีเรียผลิตมีเทน โดยถ้านำเชื้อที่ได้จากการเลี้ยงด้วยอาหารที่มีอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตสูงมาใช้ในการเริ่มเดินระบบ ก็จะใช้เวลาค่อนข้างนานเพื่อให้แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตชนะแบคทีเรียผลิตมีเทน ถึงแม้จะเลี้ยงด้วยน้ำเสียที่มีอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตมีค่าต่ำก็ตามโดยเฉพาะ A-SRB อย่างไรก็ตาม สำหรับ H-SRB มักจะพบว่าสามารถเจริญเติบโตและชนะ H-MPB ได้อย่างรวดเร็วถึงแม้เชื้อที่นำมาใช้ได้จากการเลี้ยงด้วยอาหารที่มีอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตสูง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะทั้ง I-SRB และ H-SRB สามารถดำรงชีวิตอยู่ในสภาวะที่มีความเข้มข้นซัลเฟตต่ำได้ และจะทำหน้าที่คล้ายแบคทีเรียผลิตอะซิเตตแทน โดยงานของ Visser และคณะ (1993c) (อ้างโดย Visser, 1994) ยืนยันแนวคิดนี้ โดยพบว่าเมื่อนำเชื้อที่ได้จากการเลี้ยงด้วยอาหารที่มีความเข้มข้นซัลเฟตสูงมาใช้ในถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีและป้อนด้วยน้ำเสียที่ปราศจากซัลเฟต จะทำให้จำนวนเซลล์ของ A-SRB ลดน้อยลงมาก ขณะที่ H-SRB ยังคงมีอยู่ในปริมาณสูง

2.4.4.2 การแข่งขันระหว่างแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างอะซิเตต

จนปัจจุบันความรู้เกี่ยวกับการแข่งขันระหว่างแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตกับแบคทีเรียสร้างอะซิเตตยังมีไม่มากนัก (Visser, 1994) โดยสันนิษฐานว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะชนะแบคทีเรียสร้างอะซิเตตได้เมื่อความเข้มข้นซัลเฟตในระบบสูง แต่ก็ยังไม่มีรายละเอียดที่ชัดเจน อย่างไรก็ตามสามารถจำแนกพฤติกรรมของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในการย่อยสลายสารอินทรีย์เมื่อพิจารณาตามชนิดของสารรับอิเล็คตรอนที่แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตใช้ได้ จะมี 2 ลักษณะคือ

- การย่อยสลายสารอินทรีย์โดยใช้ซัลเฟตเป็นสารรับอิเล็คตรอน เมื่อมีซัลเฟตมากเกินพอ
- การย่อยสลายสารอินทรีย์โดยใช้สารอินทรีย์เป็นสารรับอิเล็คตรอน เมื่อซัลเฟตมีปริมาณจำกัด

ซึ่งทั้ง 2 กรณีข้างต้นถูกกำหนดโดยปริมาณซัลเฟตที่มีอยู่ในระบบ

- กรณีที่มีซัลเฟตมากเกินพอ

สารอินทรีย์จะถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและจะใช้ซัลเฟตเป็นสารรับอิเล็คตรอน ซึ่งอาจจะเป็นได้ทั้งการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์จนได้คาร์บอนไดออกไซด์ หรือการย่อยสลายไม่สมบูรณ์ และได้อะซิเตดเหลือออกมา และเมื่อพิจารณาถึงอัตราการเจริญเติบโตที่สูงกว่าของ I-SRB เมื่อเทียบกับ C-SRB ดังนั้น การย่อยสลายสารอินทรีย์อย่างไม่สมบูรณ์น่าจะเกิดขึ้นได้มากกว่า โดยในสภาวะดังกล่าวแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตน่าที่จะชนะแบคทีเรียสร้างอะซิเตดได้

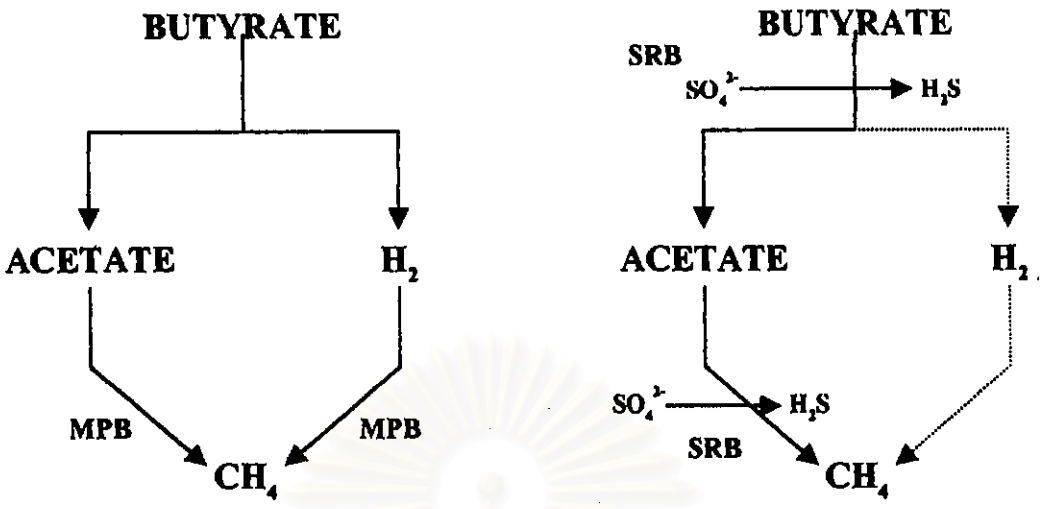
- กรณีที่มีซัลเฟตมีปริมาณจำกัดหรือไม่มี
  - แบคทีเรียสร้างกรดและแบคทีเรียสร้างอะซิเตดจะทำหน้าที่ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ ขณะเดียวกันแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะใช้ซัลเฟตที่อยู่เป็นสารรับอิเล็คตรอนในการย่อยไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นจากแบคทีเรียสร้างอะซิเตด ซึ่งถือว่าเป็นการพึ่งพาระหว่างกันของแบคทีเรียสร้างอะซิเตดกับ H-SRB
  - H-SRB ที่อยู่ในระบบทำหน้าที่ย่อยสลายสารอินทรีย์โดยปฏิกิริยาการหมักได้เช่นกัน

ดังนั้นในกรณีที่ปริมาณซัลเฟตมีจำกัด, ซัลเฟตน้อยหรือไม่มี แบคทีเรียสร้างอะซิเตดมีโอกาสที่จะเอาชนะแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตได้

- กรณีที่มีปริมาณซัลเฟตในช่วงกลาง

H-SRB จะแย่งใช้ซัลเฟตได้ดีที่สุด เมื่อเทียบกับแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตชนิดอื่นๆ และซัลเฟตที่เหลือจะถูกใช้โดยทั้ง I-SRB และ C-SRB และ จะแย่งใช้สารอินทรีย์ที่มีอยู่ในระบบกับแบคทีเรียสร้างอะซิเตด ดังนั้นปริมาณซัลเฟตที่มีอยู่ในระบบจะกำหนดโอกาสชนะของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเช่นเดียวกับกรณีอื่น

Mizuno, O., Li, Y.Y., และ Noike, T. (1994) เสนอแผนภาพการย่อยสลายบิวทิเรตที่อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟอร์สูงและต่ำ ดังแสดงในรูปที่ 2.8 จากผลการทดลองสรุปว่า ที่อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟอร์สูง บิวทิเรตส่วนใหญ่จะถูกย่อยสลายเป็นมีเทนผ่านทางอะซิเตดและไฮโดรเจนด้วยเช่นกัน ถึงแม้จะมีซัลเฟตเพียงเล็กน้อย ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยของ Chatrain และ Zeikus (1986) (อ้างถึงใน Mizuno และคณะ, 1994) ในทางกลับกันถ้าอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟอร์ต่ำ บิวทิเรตจะถูกเปลี่ยนเป็นซัลไฟด์และอะซิเตดในขั้นตอนแรก หลังจากนั้นอะซิเตดที่เกิดขึ้นจะถูกแย่งกันใช้ต่อไปโดยแบคทีเรียสร้างมีเทนและแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ใช้อะซิเตด และสารตัวกลาง (intermediate) ในการผลิตมีเทนที่สำคัญเป็นอะซิเตดมากกว่าไฮโดรเจน



(a) High COD/S ratio (b) Low COD/S ratio

รูปที่ 2.8 อิทธพลของ อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟอร์ ต่อ pathway การย่อยบิวทิเรต (Mizuno, 1994)

——► ปฏิกริยาหลัก

Harada H.,Uemura S. และ Momonoi K. (1994) สันนิษฐานว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตอาจมีบทบาทในการลดการสะสมตัวของโพรพิณอเนตโดยการย่อยให้เป็นอะซิเตด ซึ่งจะถูกนำไปใช้ต่อโดยแบคทีเรียสร้างมีเทนหรือแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต

Visser และคณะ (1993b) (อ้างโดย Visser, 1994) รายงานว่า ในถังปฏิกรณ์ที่อัตราส่วนซีโอดีต่อซัล เฟตเท่ากับ 10 ปฏิกิริยาการย่อยสลายโพรพิโอเนตที่เด่น คือ การสร้างอะซิเตดและไฮโดรเจนโดยแบคทีเรียสร้างอะซิเตด ขณะเดียวกันแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่มีอยู่ในระบบจะย่อยไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นโดยใช้ซัลเฟตเป็นสารรับอิเล็คตรอนซึ่งจัดว่าเป็น syntrophic oxidation ของ H-SRB ที่มีต่อแบคทีเรียสร้างอะซิเตด แต่เมื่ออัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตมีค่าต่ำ ปริมาณซัลเฟตมีมากพอ แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะย่อยโพรพิโอเนตได้โดยตรงและเป็นปฏิกิริยาเด่น ทั้งนี้อาจเป็นเพราะที่ความเข้มข้นซัลเฟตต่ำ แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตพวกที่สามารถย่อยโพรพิโอเนตได้โดยตรงถูกจำกัดการเจริญเติบโตโดยปริมาณซัลเฟต เนื่องจากถูก H-SRB แย่งใช้ซัลเฟตไปทั้งหมด Laanbrock และคณะ (1984) (อ้างโดย Visser, 1994) สรุปว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจีนัส *Desulfovibrio* ซึ่งชอบใช้ไฮโดรเจนเป็นสารอาหารมีความสามารถในการดึงซัลเฟตไปใช้ (sulfate affinity) ดีกว่า แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจีนัส*Desulfobulbus* ซึ่งใช้โพรพิโอเนตเป็น

สารอาหาร ดังนั้นแบคทีเรียสร้างอะซิเตตสามารถแข่งขันกับแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในการใช้ไพรพิโอเนตได้ที่ความเข้มข้นซัลเฟตต่ำ

จากงานวิจัยที่อ้างถึงข้างต้น แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีบทบาทในการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีคาร์บอนอะตอมมากกว่า 2 ได้เช่นกัน และปัจจัยที่มีความสำคัญในการกำหนดความเด่นคือปริมาณของซัลเฟตที่มีอยู่ในระบบ

2.4.5 ความเป็นพิษจากสารต่างๆในกระบวนการไร้อากาศที่มีซัลเฟต

2.4.5.1 ความเป็นพิษเนื่องจากซัลไฟด์

ซัลไฟด์เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการใช้ซัลเฟตเป็นตัวรับอิเล็คตรอนของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต แต่ซัลไฟด์ที่ผลิตขึ้นมานั้นเป็นพิษต่อทั้งแบคทีเรียที่ผลิตมันขึ้นมาและแบคทีเรียในระบบทั้งหมดซึ่งรวมทั้งแบคทีเรียผลิตมีเทนด้วย โดยรูปของซัลไฟด์ที่เป็นพิษต่อแบคทีเรียมากที่สุดคือไฮโดรเจนซัลไฟด์ละลายน้ำที่ไม่แตกตัว ($H_2S_{(aq)}$:unionized sulfide-UIS) รองลงมาคือซัลไฟด์ทั้งหมดและที่เป็นพิษน้อยที่สุดก็คือซัลเฟต แต่ซัลไฟด์ในน้ำจะอยู่ในรูปใดขึ้นอยู่กับพีเอชในระบบเป็นหลัก นั่นคือถ้าในน้ำมีปริมาณซัลไฟด์ทั้งหมดเท่ากัน น้ำที่มีพีเอชต่ำกว่าจะมีไฮโดรเจนซัลไฟด์ละลายน้ำที่ไม่แตกตัวมากกว่าและเป็นพิษต่อแบคทีเรียมากกว่า

Tursman&Cork (1989) (อ้างโดย McCartney และ Oleszkiewica, 1993) อธิบายว่าเซลของสิ่งมีชีวิตจะมีระบบขนส่งอิออนโดยเฉพาะ ดังนั้นซัลไฟด์อิออนใดๆ ไม่สามารถผ่านเซลเมมเบรนเข้าไปในเซลได้ แต่ไฮโดรเจนซัลไฟด์ละลายน้ำที่ไม่แตกตัวมีประจุเป็นกลางจะถูกผลักดันด้วยแรงดันออสโมติกทำให้สามารถเข้าสู่เซลได้ง่ายกว่า จึงเป็นพิษมากกว่าซัลไฟด์ในรูปอิออน แต่ในกรณีที่ความเข้มข้นของซัลไฟด์อิออนสูง ซัลไฟด์เหล่านี้ก็เป็นพิษกับเซลได้เช่นกัน

สำหรับงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับความเป็นพิษของซัลไฟด์ต่อแบคทีเรียไร้ออกซิเจนที่ผ่านมาส่วนใหญ่ศึกษาไปที่กลุ่มแบคทีเรีย A-MPB ดังแสดงในตารางที่ 2.12

ตารางที่ 2.12 ความเข้มข้นไฮโดรเจนซัลไฟด์ละลายน้ำไม่แตกตัว($H_2S_{(aq)}$) และซัลไฟด์ละลายน้ำทั้งหมด (TS) ที่ยับยั้งปฏิกิริยาการผลิตมีเทนจาก A-MPB ได้ถึง 50% (Visser, 1994)

ชนิดตะกอนสลัดจ์	pH	T(°C)	H_2S(mg/l)	TS (mg/l)	Ref.
Suspended	6.5-7.4	30	100	-	1
	7.7-7.9		125	-	1
	6.3-6.4	55	18	33	2
	7.1-7.2		21	78	2
	7.9-8.0		24	400	2
Granular	6.4-6.6	30	246	357	3
	7.0-7.2		252	810	3
	7.8-8.0		50	841	3
	6.3-6.4	55	54	81	2
	7.1-7.2		75	338	2
	7.9-8.0		24	450	2

1. Oleskiewicz และคณะ, 1989 ; 2. Visser และคณะ, 1993e ; 3. Koster และคณะ, 1986

จากตารางที่ 2.12 จะเห็นได้ว่าสำหรับสลัดจ์แบบแขวนลอย เมื่อค่าพีเอชเพิ่มขึ้น A-MPB จะสามารถทนฤทธิ์ของทั้งไฮโดรเจนซัลไฟด์ละลายน้ำที่ไม่แตกตัวและซัลไฟด์ละลายน้ำทั้งหมดเพิ่มขึ้น ในทางกลับกันสำหรับสลัดจ์แบบเม็ด ผลของการยับยั้งจากไฮโดรเจนซัลไฟด์ละลายน้ำที่ไม่แตกตัวรุนแรงมากขึ้นเมื่อพีเอชสูงขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างสลัดจ์แบบแขวนลอยกับแบบเม็ด พบว่าสลัดจ์แบบแขวนลอยจะถูกยับยั้งโดยซัลไฟด์ได้ง่ายกว่าสลัดจ์แบบเม็ด อย่างไรก็ตามแบคทีเรียสร้างมีเทนจะสามารถฟื้นตัวขึ้นมาได้อย่างสมบูรณ์หลังจากถูกยับยั้งโดยซัลไฟด์ แต่ยังไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับระยะเวลาการฟื้นตัวที่แน่นอน (Parkin และคณะ 1983) (อ้างโดย Visser, 1994)

สำหรับงานวิจัยที่เกี่ยวกับพิษของซัลไฟด์ต่อแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตยังมีไม่มากนัก และยังไม่มีข้อสรุปที่ชัดเจนเช่นกัน

- Reis และคณะ (1992) รายงานว่าการเติบโตของแบคทีเรียจีนัส *Desulfovibrio* เมื่อใช้แลคเตตเป็นสารอาหารจะถูกยับยั้งอย่างสมบูรณ์ เมื่อความเข้มข้นไฮโดรเจนซัลไฟด์เท่ากับ 550 มก./ล. โดยมีค่าพีเอชอยู่ระหว่าง 6.2 – 6.8

- Okabe และคณะ (1992) (อ้างโดย Visser, 1994) พบว่า *Desulfovibrio desulfobulbus* ถูกยับยั้ง 50% เมื่อความเข้มข้นไฮโดรเจนซัลไฟด์เท่ากับ 250 มก./ล. ที่พีเอช 7

- Stucki และคณะ (1992) (อ้างโดย Visser, 1994) พบว่าในถังปฏิกรณ์แบบ fixed bed ที่มีสภาวะเหมาะสมต่อการเกิดซัลเฟตรีดักชันและใช้อะซิเตดเป็นอาหาร จะล้มเหลวเมื่อความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์มากกว่า 50 มก./ล. ซึ่งแสดงให้เห็นว่า A-SRB ไม่สามารถทนต่อพิษของซัลไฟด์ได้มากนัก

- Visser (1994) รายงานว่า A-SRB สามารถทนต่อซัลไฟด์ในระดับเดียวกับแบคทีเรียสร้างมีเทนโดยการยับยั้งที่ 50% ของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างมีเทนเกิดที่ 175 และ 180 มก./ล. ตามลำดับ เมื่อพีเอชเท่ากับ 7.2 – 7.4 และเมื่อพีเอชมีค่าสูงขึ้นเป็น 8.1 –8.3 แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะทนต่อพิษของซัลไฟด์ได้ดีกว่า นอกจากนั้นก็พบว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตสามารถฟื้นตัวขึ้น หลังจากถูกยับยั้งโดยซัลไฟด์ได้เช่นเดียวกัน

จากผลการวิจัยที่อ้างอิงข้างต้น ยังไม่สามารถสรุปตัวเลขที่ชัดเจนจากพิษของซัลไฟด์ต่อทั้งแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างมีเทนได้ อย่างไรก็ตามมีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการบำบัดน้ำเสียที่มีซัลเฟตด้วยถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีและมีข้อมูลเกี่ยวกับผลของความเข้มข้นซัลไฟด์ต่อการทำงานของระบบดังนี้

Fang และคณะ (1997) ได้ศึกษาผลของซัลเฟตต่อการย่อยสลายเบนโซเอตในถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบี โดยพบว่าความเข้มข้นของปริมาณซัลไฟด์ทั้งหมดและไฮโดรเจนซัลไฟด์ละลายน้ำที่ไม่แตกตัว มีค่าสูงสุดเท่ากับ 769 มก./ล. และ 234 มาก.ซัลเฟอร์/ล. ตามลำดับ แต่ก็ไม่พบผลกระทบในทางลบต่อการทำงานของระบบแต่อย่างใด

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.4.5.2 ความเป็นพิษเนื่องจากซัลไฟต์ (sulfite; SO_3^{2-})

ซัลไฟต์เคยถูกมองว่าเป็นสารที่จะมีผลยับยั้งต่อแบคทีเรียไร้ออกซิเจนได้อย่างรุนแรง โดยเฉพาะต่อพวกแบคทีเรียสร้างมีเทน อย่างไรก็ตามระบบไร้ออกซิเจนที่มีแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะสามารถทนต่อซัล-ไฟต์ได้เป็นอย่างดี ทั้งนี้เพราะแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะสามารถปรับตัวและดึงซัลไฟต์มาใช้เป็นสารรับอิเล็คตรอนได้ โดยมีรายงานที่ระบุว่าในถังปฏิกรณ์แบบไร้ออกซิเจนสามารถบำบัดน้ำเสียที่มีซัลไฟต์สูงถึง 800 มก.ซัลไฟต์/ล. ได้เป็นอย่างดี Eis และคณะ (1983), Ferguson และคณะ (1983), Samer (1989) (อ้างโดย Visser, 1994)

2.4.5.3 การยับยั้งเนื่องจากอิออนบวก

อิออนบวกที่ได้รับความสนใจคือ Ca^{2+} และ Na^{+} ถึงแม้ว่า Ca^{2+} จะไม่เป็นพิษโดยตรงต่อแบคทีเรีย อย่างไรก็ตามในระบบที่มีปริมาณซัลเฟตสูง การเกิดตะกอนผลึกของแคลเซียมซัลเฟต ($CaSO_4$) และจับตัวบนผิวของมวลจุลชีพอาจก่อให้เกิดการจำกัดการถ่ายเทสารอาหารเข้าสู่เซลล์ได้ Lettinga และคณะ (1987) (อ้างโดย Visser, 1994) โดยระดับความเข้มข้นของ Ca^{2+} เท่ากับ 400 มก./ล. ก็อาจก่อให้เกิดปัญหาดังกล่าวได้ถ้ามีปริมาณซัลเฟตสูง นอกจากนั้นการเกิดตะกอนผลึกของแคลเซียมฟอสเฟต ($Ca_3(PO_4)_2$) จะทำให้ปริมาณฟอสเฟตไม่เพียงพอต่อความต้องการของแบคทีเรียได้ Callander และ Barford (1983), Lettinga และคณะ (1987) (อ้างโดย Visser, 1994)

ขณะที่ความเข้มข้นของโซเดียมที่มีผลยับยั้ง 50% ต่อแบคทีเรียสร้างมีเทนอาจมีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 6 –40 ก./ล. De Baere และคณะ (1976), Kugelmann และ McCarty (1964) Lettinga และ Vinken (1981), van den Berg และคณะ (1976) (อ้างโดย Visser, 1994) โดยจะต้องพิจารณาร่วมกับความคุ้นเคยของสถัดจ์ต่อโซเดียม, ผลของ antagonistic และ synergistic รวมถึงวิธีการทดสอบที่ใช้ สำหรับผลของ Na^{+} ต่อแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตอาจต้องพิจารณาถึงชนิดของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตว่าเป็นพวกน้ำจืดหรือน้ำเค็ม โดยแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตน้ำเค็มต้องการปริมาณ Na^{+} ในระดับสูงเพื่อการเจริญเติบโต ขณะที่แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตน้ำจืดอาจถูกยับยั้งโดย Na^{+} ได้ถ้ามีความเข้มข้นสูง

2.4.6 ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S)

ไฮโดรเจนซัลไฟด์จัดเป็นก๊าซพิษ ไม่มีสี(colorless) ไม่ติดไฟ (inflammable) มีกลิ่นเหม็นเหมือนไข่เน่า (rotten eggs) แม้ความเข้มข้นต่ำ (0.05-500 ppm.) ไฮโดรเจนซัลไฟด์ละลายน้ำได้กรดอ่อน ผลิตภัณฑ์จากการเผาได้เป็นก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO_2) ซึ่งมีคุณสมบัติให้เกิดการกัดกร่อนสูง และเมื่อปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อมจะทำให้เกิดสภาวะฝนกรด (acid rain) ไฮโดรเจนซัลไฟด์มีความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตสูงมากเมื่อเทียบกับไฮโดรเจนไซยาไนด์ (HCN) ปริมาณต่ำสุดที่สามารถทำให้เกิดความเป็นพิษเท่ากับ 10 ppm. ปริมาณก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ 1.2 - 2.8 มก./ล. ของอากาศ หรือ 0.1% สามารถทำให้เสียชีวิตได้ในทันที หรือ 0.6 มก./ล.ของอากาศ (0.05%) จะเสียชีวิตภายในครึ่งชั่วโมงถึงหนึ่งชั่วโมง (Muche และคณะ,1985)

การเกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์เป็นปัญหาสำคัญในระบบบำบัดน้ำเสียไร้อากาศที่บำบัดน้ำเสียที่มีซัลเฟตสูง ซึ่งจะทำให้เกิดปัญหากลิ่นเหม็นไข่เน่า ปัญหาการสึกกร่อนของอุปกรณ์โลหะ เป็นพิษต่อแบคทีเรียผลิตมีเทน ทำให้ปริมาณก๊าซมีเทนลดลง ต้องทำความสะอาดก๊าซชีวภาพก่อนนำไปใช้ รวมทั้งมีผลต่อระบบเติมอากาศที่ตามหลัง เนื่องจากซัลไฟด์เป็นสารรีดิวซ์ที่ทำปฏิกริยากับออกซิเจนได้

การแก้ปัญหาต้นเหตุจากไฮโดรเจนซัลไฟด์ทางชีววิทยาวิธีหนึ่งคือ การยับยั้งการเกิดซัลเฟตรีดักชัน โดยใช้ตัวยับยั้ง (inhibitor) ที่มีฤทธิ์ตรงต่อแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต โดยสารที่มีการศึกษาและนำมาใช้มากตัวหนึ่ง คือ โมลิบเดท (Molybdate) อย่างไรก็ตาม พบว่ามีผลยับยั้งต่อแบคทีเรียผลิตมีเทนด้วยเช่นกัน นอกจากนั้นยังเป็นสารที่มีราคาสูงไม่เหมาะที่นำมาใช้จริงในระบบบำบัด (Hiltonและ Archer, 1988 , Yadav Archer, 1989) ขณะที่ Tanimato และคณะ (1989) พบว่าการเติม gentamicin ในปริมาณเพียงเล็กน้อย สามารถยับยั้งการเกิดซัลเฟตรีดักชันได้ในระยะยาว โดยไม่มีผลต่อกระบวนการสร้างมีเทน

สำหรับการกำจัดซัลไฟด์ที่เกิดขึ้นในน้ำออกจากระบบไร้อากาศที่ได้ผลดี และนำมาปฏิบัติได้ คือการใช้กระบวนการทางชีววิทยาโดยแบคทีเรีย ได้แก่ แบคทีเรียกลุ่ม chemoheterotrophs (Gadre,1989) *Thiobacillus denitrificans* (sublette และ Sylvester, 1987) และแบคทีเรียกลุ่ม colorless sulfur bacteria (Buisman และคณะ,1980 ;Buissman, wit และ Lettinga, 1990 ; Buisman และ Lettinga, 1990)

2.5 สมดุลมวลซีโอดีและซัลเฟอร์ในกระบวนการไร้อากาศ ที่มีซัลเฟต

2.5.1 สมดุลมวลซีโอดี

ความหมายของค่าซีโอดีที่เป็นที่เข้าใจกันโดยทั่วไป คือความต้องการออกซิเจนทางเคมีของตัวอย่างน้ำที่นำมาวิเคราะห์ แต่ในอีกความหมายหนึ่งจะหมายถึงปริมาณอิเล็คตรอนที่มีอยู่ในระบบโดยจะอยู่ในรูปต่างๆ เช่น สารอินทรีย์, ซัลไฟด์อิออน หรือเหล็กเฟอร์รัส เป็นต้น ซึ่งอิเล็คตรอนดังกล่าวสามารถที่จะถ่ายเทจากสารหนึ่งไปยังอีกสารหนึ่งได้ ถ้าได้รับการกระตุ้นจากสารที่มีอำนาจในการออกซิไดส์สูงกว่า โดยในการวัดซีโอดีตามมาตรฐานนิยมที่จะใช้ไดโครเมตเป็นสารออกซิไดส์เพื่อหาค่าซีโอดี สำหรับในการบำบัดน้ำเสียมีการไหลหรือถ่ายเทอิเล็คตรอนเช่นเดียวกัน แต่จะมีแบคทีเรียเป็นตัวการที่ทำให้เกิดปฏิกิริยา ดังนั้นอาจพิจารณาได้ว่าปริมาณซีโอดีก็คือปริมาณอิเล็คตรอนที่มีอยู่ในระบบ และการลดลงของซีโอดีก็คือการเปลี่ยนรูปของอิเล็คตรอนจากเดิมไปสู่แหล่งอื่น (อยู่ในรูปอื่น)

ในกระบวนการไร้ออกซิเจนเมื่อมีซัลเฟตอยู่ในน้ำเสีย ปริมาณซีโอดีจากสารอินทรีย์จะถูกเปลี่ยนรูปเป็นกรดอินทรีย์ระเหย, ก๊าซมีเทน ซัลไฟด์อิออน บางส่วนของจุลชีพที่เพิ่มขึ้น และอาจมีบางส่วนที่อยู่ในรูปของสารอินทรีย์ชนิดเดิมเนื่องจากไม่ถูกย่อยสลาย อย่างไรก็ตามสามารถพิจารณาสมดุลมวลของซีโอดีก่อนและหลังผ่านกระบวนการย่อยสลายได้ดังนี้

$$COD_{inf} = COD_{eff} + COD_{accumulated\ in\ biomass} \quad (2.5)$$

โดย

COD_{inf} = ค่าซีโอดีทั้งหมดก่อนเข้าระบบ

COD_{eff} = ค่าซีโอดีทั้งหมดหลังผ่านระบบ

$COD_{accumulated\ in\ biomass}$ = ค่าซีโอดีที่ของมวลจุลชีพที่เพิ่มขึ้นและสะสมในระบบ

และ

$$COD_{eff} = organicCOD_{eff} + \Delta SO_4^{2-} - COD \quad (2.6)$$

โดย

$organicCOD_{eff}$ = ค่าซีโอดีหลังผ่านระบบในรูปอินทรีย์สาร

$\Delta SO_4^{2-} - COD$ = ค่าซีโอดีที่ถูกใช้รีดิวซ์ซัลเฟต

และ

$$organicCOD_{eff} = org.COD_{sol} + org.COD_{ss} + CH_4 - COD \quad (2.7)$$

โดย

$org.COD_{sol}$ = ซีโอดีในรูปกรดอินทรีย์และสารอินทรีย์เริ่มต้นที่ไม่ถูกย่อยสลาย

$org.COD_{ss}$ = ซีโอดีในรูปสารอินทรีย์แขวนลอย

CH_4 – COD = ซีโอดีในรูปมีเทน

โดยค่า $org.COD_{sol}$ และ$org.COD_{ss}$ เป็นค่าที่วัดได้โดยตรงจากการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ ขณะที่ค่า CH_4 – CODและ ΔSO_4^{2-} - COD ได้ค่าทางอ้อมจากการคำนวณทาง stoichiometric ดังนี้คือ

$$CH_4 + 2O_2 \rightarrow CO_2 + 2H_2O$$

16มก. 64มก. 44มก. 36มก.

นั่นคือ มีเทน 16 มก. จะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนจำนวน 64 มก.พอดี หรืออัตราส่วน 1:4 ดังนั้นมีเทน 1 มก. มีค่าเทียบเท่ากับซีโอดี 4 มก.นั่นเอง สำหรับค่า ΔSO_4^{2-} - COD สามารถพิจารณาได้จากสมการเคมีดังนี้ คือ

$$S^{2-} + 2O_2 \rightarrow SO_4^{2-}$$

32มก. 64มก. 96มก.

นั่นคือซัลไฟด์ 32 มก. จะทำปฏิกิริยากับออกซิเจน 64 มก.พอดี และจะได้ซัลเฟตเท่ากับ 96 มก.หรืออัตราส่วน 1:2:3 ดังนั้นซัลไฟด์ 1 มก.จะมีค่าเทียบเท่ากับซีโอดี 2 มก. หรือซัลเฟตที่ลดลง 3 มก.ต้องใช้ซีโอดีเป็นสารให้อิเล็คตรอนจำนวน 2 มก. และสามารถนำมาใช้หาค่าซีโอดีจากซัลเฟตที่ลดลงได้

นอกจากนั้น เมื่อพิจารณาจากรายการคำนวณข้างต้น อาจเป็นไปได้ว่าที่อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตของระบบโดยรวมเท่ากับ 2/3 หรือ 0.67 ปริมาณซีโอดีและซัลเฟตในระบบทั้งหมดจะถูกใช้โดยแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตได้อย่างสมบูรณ์ และถ้าต้องการให้เกิดซัลไฟด์ 1 กก. จะต้องใช้ซัลเฟตและซีโอดีเท่ากับ 3 และ 2 กก. ตามลำดับ อย่างไรก็ตามมีเหตุผลหลายประการ เช่น ความสามารถในการใช้สารอาหารของแบคทีเรีย การแข่งขันใช้ซีโอดีระหว่างแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างมีเทน เป็นต้น ที่จะทำให้ผลในทางปฏิบัติแตกต่างไปจากการคำนวณทาง stoichiometric ได้ สำหรับค่าซีโอดีในบางส่วนของมวลจุลชีพที่เพิ่มขึ้นเป็นค่าที่ไม่สามารถวัดได้ แต่สามารถคำนวณได้โดยตั้งสมมติฐานว่า "ซีโอดีที่ถูกย่อยสลายและไม่สามารถตรวจสอบได้ คือซีโอดีที่สะสมอยู่ในมวลจุลชีพ"

พิจารณาจากสมการ

$$COD_{accumulated\ in\ biomass} = COD_{removed} - (CH_4 - COD + \Delta SO_4^{2-} - COD) \quad (2.8)$$

โดย

$$COD_{removed} = COD_{inf} - (org.COD_{sol} + org.COD_{ss}) \quad (2.9)$$

จากสมมติฐานข้างต้นจะทำให้ % recovery ของซีโอดีเป็น 100% เสมอ เนื่องจากค่าซีโอดีที่หายไปเปลี่ยนไปอยู่ในเซลทั้งหมด โดย % recovery หมายถึงการเปรียบเทียบสมดุลมวลของซีโอดีภายหลังผ่านระบบกับสมดุลมวลซีโอดีก่อนเข้าระบบ อย่างไรก็ตาม โอกาสที่จะวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ ของ COD_{eff} ให้ถูกต้องทั้งหมด 100% เป็นไปได้ยาก ดังนั้นถ้าพิจารณาว่า ค่าซีโอดีที่หายไปและเปลี่ยนเป็นเซลจุลชีพที่เพิ่มขึ้นมีค่าน้อย (เนื่องจากเป็นระบบแบบไร้อากาศที่มีเวลากักเซลยาวนาน ซึ่งค่า yield observed จะต่ำมาก) และตัดทิ้งไปได้โดยไม่ต้องนำมาพิจารณา ประโยชน์ที่ได้รับคือจะทำให้สามารถตรวจสอบความน่าเชื่อถือในการทำงานทั้งหมดได้ จากสมดุลมวลซีโอดีที่ถูกสร้างขึ้นมาจากพารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้อง ซึ่งก็คือ % COD recovery และหาได้จากสมการนี้

$$\% \text{ COD recovery} = (CH_4 - COD + \Delta SO_4^{2-} - COD + org.COD_{out} + org.COD_{in})/ COD_{in} \quad (2.10)$$

นอกจากนั้น จากสมดุลมวลซีโอดีที่สร้างขึ้นจะทำให้สามารถหาสัดส่วนของซีโอดีที่ถูกใช้โดยแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียผลิตมีเทนได้ โดยเรียกว่าเปอร์เซ็นต์การไหลอิเล็คตรอน (% electron flow) และสามารถหาได้จากสมการ

$$\% \text{ electron flow MPB} = (CH_4 - COD)/((CH_4 - COD + \Delta SO_4^{2-} - COD) \quad (2.11)$$

$$\% \text{ electron flow SRB} = (\Delta SO_4^{2-} - COD)/((CH_4 - COD + \Delta SO_4^{2-} - COD) \quad (2.12)$$

และสามารถนำค่าเปอร์เซ็นต์การไหลอิเล็คตรอนมาใช้ในการเปรียบเทียบการแข่งขันระหว่างแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตกับแบคทีเรียผลิตมีเทนได้ โดยแบคทีเรียชนิดที่มีเปอร์เซ็นต์การไหลอิเล็คตรอนมากกว่าหมายถึง เป็นกลุ่มที่โดดเด่น (predominate) มากกว่าในระบบนั้นๆ ตารางที่ 2.13 แสดงตัวอย่างของผลการคำนวณสมดุลมวลซีโอดีในงานของ Harada และคณะ (1994) ซึ่งศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียผลิตมีเทนในถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีที่อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตต่างๆ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2.13 ตัวอย่างผลการคำนวณสมดุลมวลซีโอดี (Harada และคณะ, 1994)

Table 1. Recovery of COD and distribution of electrons to methanogenesis and sulfate reduction

	Loading rate	eff-SS (1) (%)	eff-sol. (2) (%)	CH_4 gas-COD (3) (%)	CH_4 aq-COD (4) (%)	ΔSO_4-COD (5) (%)	Recovery (6) (%)	Electro flow (%) (7) SRB	MPB
Reactor A	1.0	3.7 (2.2)	11.0 (2.7)	59.1 (6.5)	14.6 (1.5)	4.5 (0.5)	92.8 (5.4)	5.8	94.2
	1.5	2.6 (1.8)	12.7 (4.0)	53.3 (4.4)	12.9 (0.1)	3.8 (0.2)	85.3 (1.6)	5.4	94.6
	2.0	3.7 (0.4)	13.4 (0.6)	54.4 (0.6)	11.5 (0.2)	3.5 (0.8)	86.3 (1.0)	5.0	95.0
	2.5	7.2 (1.5)	15.2 (1.3)	49.5 (1.4)	11.9 (0.3)	3.5 (0.5)	87.1 (0.3)	5.3	94.7
	3.0	4.8 (2.0)	12.7 (2.3)	58.2 (4.3)	11.9 (0.8)	3.5 (0.6)	91.1 (3.6)	4.8	95.3
	Total	4.3 (2.3)	12.4 (2.9)	57.2 (7.3)	12.9 (1.6)	3.8 (0.7)	90.5 (4.7)	5.1	94.9
Reactor B	1.0	2.9 (2.1)	11.6 (2.7)	44.7 (10.7)	12.5 (2.6)	20.4 (2.4)	92.0 (6.0)	22.8	77.2
	1.5	3.4 (2.1)	13.5 (2.1)	33.8 (6.8)	14.4 (2.7)	21.1 (1.9)	85.8 (1.2)	30.4	69.9
	2.0	4.7 (0.2)	12.0 (1.8)	42.0 (4.7)	12.3 (0.4)	20.0 (0.8)	90.9 (4.2)	26.9	73.1
	2.5	6.3 (1.9)	12.2 (0.1)	33.0 (0.3)	11.8 (0.3)	23.1 (2.9)	86.3 (0.5)	34.0	66.0
	3.0	4.8 (1.5)	9.5 (1.1)	41.4 (1.7)	11.5 (0.6)	18.9 (1.5)	86.1 (1.0)	26.3	73.7
	Total	4.0 (2.1)	11.6 (2.4)	40.8 (8.8)	12.5 (2.2)	20.4 (2.3)	89.1 (1.0)	27.7	72.3
Reactor C	1.0	3.0 (3.1)	15.8 (2.0)	32.4 (5.0)	14.0 (1.9)	29.5 (2.7)	94.4 (7.7)	38.9	61.1
	1.5	4.6 (0.7)	13.4 (1.6)	25.7 (3.9)	12.5 (0.2)	31.0 (2.8)	87.1 (1.0)	44.8	55.2
	2.0	7.3 (1.3)	13.7 (1.6)	17.2 (2.4)	11.4 (0.3)	42.2 (1.4)	91.8 (1.6)	59.6	40.4
	2.5	9.7 (3.1)	11.9 (0.5)	15.0 (1.3)	10.4 (0.1)	38.7 (2.6)	85.7 (5.0)	60.4	39.6
	3.0	6.3 (4.4)	12.4 (2.3)	8.5 (2.7)	8.8 (0.4)	51.6 (4.5)	87.7 (4.1)	74.9	25.1
	Total	5.5 (3.8)	13.9 (2.3)	21.4 (9.7)	12.0 (2.2)	37.9 (8.7)	90.5 (4.7)	53.2	46.8

(1) eff-SS = COD of suspended solids in the effluent; (2) eff-sol = soluble COD in the effluent; (3) CH_4 gas-COD = recovered CH_4-COD in gas phase; (4) CH_4 aq-COD = dissolved CH_4-COD in the effluent; (5) ΔSO_4-COD = COD used for sulfate reduction; (6) recovery = the sum of items from (1)-(5), which represents the COD recovery; and (7) electron flow = electron flows distributed to MPB and to SRB. Loading rate = organic loading rate (kg COD $m^{-3} d^{-1}$). Figures in parentheses represent standard deviation.

2.5.2 สมดุลมวลซัลเฟอร์

แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตใช้ซัลเฟตเป็นสารรับอิเล็คตรอน โดยรีดิวซ์ให้เปลี่ยนไปอยู่ในรูปของซัลไฟด์ โดยซัลไฟด์ที่เกิดขึ้นสามารถวัดได้ในรูปก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ในวัฏภาคก๊าซ (gas phase) และในรูปของไฮโดรเจนซัลไฟด์ละลายน้ำที่แตกตัว(HS^-และS^{2-})และไม่แตกตัว(H_2S), ที่อยู่ในวัฏภาคของเหลว(liquid phase) รวมทั้งที่ตกตะกอนผลึกกับโลหะหนักเป็นตะกอนผลึกของโลหะซัลไฟด์ โดยสภาวะสมดุลระหว่างก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์และไฮโดรเจนซัลไฟด์ละลายน้ำที่ไม่แตกตัว สามารถอธิบายได้โดย Henry's Law ดังสมการที่ (2.13) จาก Lawrence, McCartey และ Guerin (1966) (อ้างโดย Isa และคณะ, 1986b)

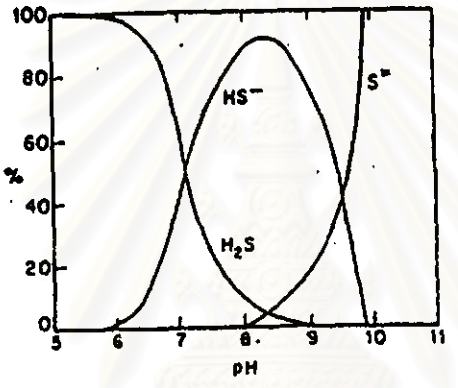
$$[H_2S]_{sol} = \alpha[H_2S]_g \qquad (2.13)$$

โดยค่า α คือ absorption coefficient

สำหรับ H_2S_{sol} ในวัฏภาคของเหลวซึ่งถือว่าเป็นกรดอ่อน จะแตกตัวตามสมการเคมีดังนี้

$$H_2S_{sol} \leftrightarrow H^+ + HS^-$$
$$HS^- \leftrightarrow H^+ + S^{2-}$$

อย่างไรก็ตามสำหรับค่าพีเอชที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการไร้อากาศจะอยู่ในช่วงกลาง ประกอบกับสัดส่วนของ S^{2-}ในระบบสมดุลของ H_2S, HS^- และ S^{2-}เมื่อค่าพีเอชน้อยกว่า 9 จะมีค่าน้อยมาก ดังรูปที่ 2.9



Effect of pH on hydrogen sulfide–sulfide equilibrium (10^{-3} molar solution, 32 mg H_2S/l).

รูปที่ 2.9 ผลของพีเอชต่อสมดุลของ H_2S, HS^- และ S^{2-}ในสารละลาย H_2S, 32 มก./ล.

(Sawyer และ McCarty, 1967)

ดังนั้น สมการการแตกตัวครั้งที่ 1 ของไฮโดรเจนซัลไฟด์จะมีความสำคัญอย่างมากและจะนำมาใช้ในการคำนวณหาสมดุลของ H_2S และ HS^- ในระบบ โดยค่าคงที่ของการแตกตัวครั้งที่ 1 ของ H_2S ที่สภาวะสมดุลได้จากสมการ

$$K_1 = [H^+]*[HS^-]/[H_2S_{sol}] \quad (2.14)$$

โดยค่า K_1 คือค่าคงที่ของการแตกตัวครั้งที่ 1 ของ H_2S_{sol}

ความเข้มข้นของ H_2S ละลายน้ำที่ไม่แตกตัวสามารถคำนวณได้จากค่า K_1, ค่าพีเอชและปริมาณซัลไฟด์ละลายน้ำทั้งหมด ตามสมการ (15) โดย Kroiss และ Wabnegg (1983) (อ้างโดย Isa และคณะ, 1986a) ดังนี้

$$f = (1+K_1/10^{-pH})^{-1} \quad (2.15)$$

โดยค่า f คือ อัตราส่วนระหว่าง H_2S ละลายน้ำที่ไม่แตกตัวต่อปริมาณซัลไฟด์ละลายน้ำทั้งหมด ดังนั้น สมดุลมวลซัลเฟอร์ในระบบหาได้จาก

$$SO_4^{2-}\text{-}S_{inf} = (SO_4^{2-}\text{-}S_{eff}) + (HS^- - S) + (H_2S_{sol}\text{-}S) + (H_2S_g\text{-}S) \quad (2.16)$$

โดย

$SO_4^{2-}\text{-}S_{inf}$ = :ซัลเฟอร์ในรูปซัลเฟตน้ำเข้า

$SO_4^{2-}\text{-}S_{eff}$ = ซัลเฟอร์ในรูปซัลเฟตน้ำออก

$HS^- - S$ = ซัลเฟอร์ในรูปไบซัลไฟด์

$H_2S_{sol}\text{-}S$ = ซัลเฟอร์ในรูปซัลไฟด์ละลายที่ไม่แตกตัว

$H_2S_g\text{-}S$ = ซัลเฟอร์ในรูปก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์

และ

$$\%\ \text{sulfur recovery} = [(SO_4^{2-}\text{-}S_{eff}) + (HS^- - S) + (H_2S_{sol}\text{-}S) + (H_2S_g\text{-}S)]/\ SO_4^{2-}\text{-}S_{inf} \quad (2.17)$$

ตารางที่ 2.14 แสดงตัวอย่างผลการคำนวณสมดุลมวลซัลเฟอร์ในงานของ Harada และคณะ (1994) ซึ่งศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียผลิตมีเทนในถังยูเอเอสบี ที่อัตราส่วนซี-โอดีต่อซัลเฟตต่างๆ

ตารางที่ 2.14 ตัวอย่างการคำนวณสมดุลมวลซัลเฟอร์ (Harada และคณะ, 1994)

Table 2. Sulfur balance for Reactors A, B and C

	Loading rate	eff-S (%)			H_2Sgas-S (4) (%)	Recovery (5) (%)
		SO_4-S (1)	Ionized-S (2)	H_2S-S (3)		
Reactor A	1.0	9.4 (4.1)	70.4 (17.1)	11.8 (3.8)	1.7 (0.4)	93.1 (11.2)
	1.5	12.2 (1.3)	42.5 (6.5)	24.2 (4.2)	2.0 (0.2)	80.8 (6.0)
	2.0	19.4 (4.5)	44.3 (4.2)	26.1 (4.9)	1.4 (1.0)	90.6 (1.6)
	2.5	14.6 (4.7)	51.0 (6.7)	27.2 (4.9)	2.2 (0.5)	95.0 (3.7)
	3.0	17.7 (6.5)	47.5 (7.3)	29.0 (5.6)	3.1 (0.6)	96.7 (9.6)
	Total	14.0 (6.2)	54.7 (16.0)	21.9 (8.9)	2.3 (0.8)	93.2 (9.6)
Reactor B	1.0	7.6 (4.1)	73.9 (3.8)	9.1 (0.4)	1.2 (0.4)	90.6 (9.1)
	1.5	6.6 (2.4)	66.8 (4.6)	16.5 (5.4)	1.5 (0.4)	91.2 (6.9)
	2.0	5.8 (3.0)	63.0 (2.7)	24.7 (4.7)	1.4 (0.3)	93.7 (6.1)
	2.5	3.9 (0.3)	61.9 (3.2)	23.9 (2.0)	1.6 (0.2)	90.6 (1.3)
	3.0	4.6 (1.7)	66.6 (6.0)	26.1 (9.8)	1.3 (0.4)	98.1 (6.9)
	Total	6.1 (3.2)	66.9 (6.5)	14.4 (9.0)	1.3 (0.5)	98.1 (6.9)
Reactor C	1.0	70.8 (8.3)	18.9 (2.0)	2.1 (0.5)	0.2 (0.1)	92.9 (8.7)
	1.5	61.9 (2.9)	26.3 (2.7)	5.0 (0.7)	0.4 (0.1)	93.5 (5.0)
	2.0	52.7 (4.3)	32.4 (4.9)	9.7 (4.1)	0.4 (0.1)	95.1 (2.5)
	2.5	53.8 (2.7)	29.6 (3.4)	14.0 (0.6)	0.3 (0.0)	98.0 (1.6)
	3.0	36.0 (6.2)	39.4 (11.7)	14.4 (1.5)	0.3 (0.1)	90.0 (5.2)
	Total	57.8 (13.7)	27.5 (9.3)	7.6 (5.4)	0.3 (0.1)	95.5 (6.5)

(1) SO_4-S = sulfate-S remaining in the effluent; (2) ionized-S = (HS^--S + S^{2-}-S) in the effluent; (3) H_2S-S = dissolved H_2S in the effluent; (4) H_2S gas-S = gaseous H_2S-S recovered in biogas and (5) recovery = (SO_4-S + ionized-S + H_2S dissol. + H_2S-S gas) per removed sulfate. Loading rate = organic loading rate (kg COD $m^{-3}d^{-1}$). Figures in parentheses represent standard deviation.

2.6 การศึกษาที่ผ่านมา

2.6.1 ความสัมพันธ์ในเชิงการใช้สารอาหาร

Fang และคณะ (1997) ได้ศึกษาผลของซัลเฟตต่อการย่อยสลายเบนโซเอตในสภาวะไร้ออกซิเจนในถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบี โดยแปรค่าความเข้มข้นซัลเฟตระหว่าง 1,000 – 7,500 มก./ล. และรักษาค่าซีโอดีจากเบนโซเอตเท่ากับ 5,000 มก./ล. ตลอดระยะเวลาการทดลอง 320 วันที่อุณหภูมิ 34 –37 °C พบว่าสามารถลดซีโอดีได้สูงถึง 98% ถึงแม้จะมีความเข้มข้นซัลไฟด์ทั้งหมดเท่ากับ 769 มก./ล. และไฮโดรเจนซัลไฟด์ละลายเท่ากับ 234 มก.ซัลเฟอร์/ล. ก็ตาม และพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นซัลเฟตประสิทธิภาพในการรีดิวซ์ซัลเฟตจะลดลง แต่จะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป โดยการทดลองที่มีประสิทธิภาพการเกิดซัลเฟตรีดักชันสูงสุดมีค่าเท่ากับ 89% ของซัลเฟตเข้าระบบ ความล้มเหลวของระบบเกิดขึ้นที่ระดับความเข้มข้นซัลเฟตเท่ากับ 7,500 มก./ล. โดยประสิทธิภาพในการลดซีโอดีและรีดิวซ์ซัลเฟตลดลงอย่างรวดเร็ว และระบบไม่สามารถฟื้นตัวกลับมาได้ โดยตั้งข้อสังเกตว่า อาจเกิดจากปริมาณของซัลเฟตมากกว่าความเป็นพิษจากซัลไฟด์

O. Mizuno และคณะ (1994) ได้ศึกษาผลกระทบของความเข้มข้นซัลเฟตและอัตราส่วนซีโอดีต่อซัล-เฟอร์ที่มีต่อการย่อยสลายบิวทิเรตในสภาพไร้ออกซิเจนโดยใช้ถังปฏิกรณ์ chemostat ขนาด 2 ลิตร ทดลองที่อุณหภูมิ 35 °C ด้วยการแปรค่าซีโอดีระหว่าง 2,500 – 10,000 มก./ล. และความเข้มข้นซัลเฟตระหว่าง 68 - 1667 มก.ซัลเฟอร์/ล. ซึ่งทำให้ได้อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟอร์ในช่วงกว้างระหว่าง 1.5 – 148 พบว่าอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟอร์ในสารอาหารมีอิทธิพลต่อความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียผลิตมีเทนและแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตอย่างมีนัยสำคัญ เมื่ออัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟอร์มากกว่า 6 อัตราการผลิตมีเทนจะเป็นปฏิกิริยาเด่น โดยแบคทีเรียผลิตมีเทนสามารถใช้ซีโอดีได้ถึง 80% แต่เมื่ออัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟอร์เท่ากับ 1.5 แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะเป็นตัวใช้ซีโอดีเป็นส่วนใหญ่ และใช้มากกว่า 50% นอกจากนั้นขั้นตอนการย่อยสลายบิวทิเรตก็ถูกกำหนดด้วยอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟอร์ด้วยเช่นกัน โดยสรุปว่าเมื่ออัตราส่วนซี-โอดีต่อซัลเฟอร์สูง บิวทิเรตจะถูกย่อยสลายเปลี่ยนเป็นมีเทนผ่านทางอะซิเตตและก๊าซไฮโดรเจนโดยแบคทีเรียผลิตมีเทน ในทางกลับกันเมื่ออัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟอร์เป็น 1.5 บิวทิเรตจะถูกย่อยสลายเปลี่ยนเป็นซัลไฟด์และอะซิเตตโดยแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต และอะซิเตตที่เกิดขึ้นจะถูกแย่งกันใช้ต่อไปโดยกลุ่มของแบคทีเรียผลิตมีเทนและแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ใช้อะซิเตตเป็นสารอาหาร ซึ่งเป็นขั้นตอนสุดท้ายของกระบวนการย่อยสลายในสภาพไร้ออกซิเจนอย่างสมบูรณ์ และพบว่าอัตราการผลิตมีเทนจากอะซิเตตจะถูกยับยั้งเมื่อปริมาณซัลไฟด์ในถังปฏิกรณ์มีค่าสูงขึ้น

Harada H. และคณะ(1994) ได้ศึกษาถึงการอยู่ร่วมกันระหว่างแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียผลิตมีเทนในกระบวนการไร้ออกซิเจนโดยใช้ถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีในระดับห้องปฏิบัติการจำนวน 3 ถังที่มีลักษณะเหมือนกัน และใช้น้ำเสียสังเคราะห์ที่มีแป้งและน้ำตาลซูโครสเป็นสารอาหารหลัก โดยเตรียมให้มีความเข้มข้นเทียบเท่ากับค่าซีโอดี 500 มก./ล. คงที่ทุกๆ ถังปฏิกรณ์ ขณะที่แปรค่าความเข้มข้นซัลเฟตในแต่ละถังปฏิกรณ์เท่ากับ 30, 150 และ 600 มก./ล. ตามลำดับ จากสมดุลมวลซีโอดีและซัลเฟอร์ตลอดช่วงการทดลอง 180 วัน พบว่าเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นซัลเฟต อัตราการผลิตก๊าซมีเทนจะลดลง เนื่องจากซีโอดีจะถูกใช้ไปโดยแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมากขึ้น และที่ค่าความเข้มข้นซัลเฟตสูงสุดพบว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีบทบาทในการย่อยซีโอดีสูงถึง 75% นอกจากนั้นยังมีการนำตัวอย่างสลัดจ์จากถังปฏิกรณ์มาทดสอบหาค่าอัตราการผลิตมีเทนจำเพาะ (specific methanogenic activities; SMAs) พบว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตช่วยในการย่อยสลายกลูโคสได้ดีกว่าแบคทีเรียประเภทสร้างกรดและยังมีบทบาทที่สำคัญในการลดการสะสมของโพรพิโอเนต นอกจากนั้นยังพบว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตชอบที่จะใช้ไฮโดรเจนมากกว่าอะซิเตด ขณะเดียวกันแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตก็สามารถออกซิไดซ์ไฮโดรเจนได้ดีกว่าแบคทีเรียผลิตมีเทนที่ใช้ไฮโดรเจนด้วยเช่นกัน สำหรับการแข่งขันกันเพื่อใช้อะซิเตด พบว่า ในช่วงแรกของการแข่งขันแบคทีเรียผลิตมีเทนที่ใช้อะซิ-เตดจะออกซิไดส์อะซิเตดได้มากกว่า อย่างไรก็ตามเมื่อระยะเวลาการแข่งขันนานขึ้น แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตก็สามารถปรับตัวและเอาชนะแบคทีเรียผลิตมีเทนในการออกซิไดส์อะซิเตดได้

McCarney D.M. และ Oleszkiewica J.A. (1993) ได้ศึกษาการแข่งขันกันระหว่างแบคทีเรียผลิตมีเทนและแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในการใช้แลคเตดภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนที่ความเข้มข้นของซัลเฟตและซัลไฟด์สูง โดยเปรียบเทียบระหว่างเชื้อที่ผ่านและยังไม่ผ่านการปรับให้ชินกับสภาพน้ำเสีย (acclimate) ทำการทดลองในขวดซีรัม และเก็บข้อมูลความเข้มข้นที่เปลี่ยนไปของสารต่างๆ ในระบบเปรียบเทียบระหว่างเชื้อที่ผ่านและยังไม่ผ่านการปรับให้ชินกับสภาพน้ำเสียที่อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตต่างๆ โดยที่ค่าอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตเท่ากับ 3.7 g/g พบว่า pathway ที่ได้จะเป็นการผลิตโพรพิโอ-เนตและอะซิเตดโดยไม่มีการ รีดิวซ์ซัลเฟต แต่ถ้าอัตราส่วนนี้น้อยกว่า1.6 พบว่า pathway จะเป็นการผลิตแต่อะซิเตดเพียงอย่างเดียวและมีกระบวนการรีดิวซ์ซัลเฟตเกิดขึ้นด้วย ซึ่งการเปลี่ยน metabolic pathway นี้จะทำให้ความไว (sensivity) ต่อซัลไฟด์ของแบคทีเรียผลิตมีเทนและแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเปลี่ยนไปด้วย

Guptha และคณะ (1993) ได้ศึกษาปฏิสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียผลิตมีเทนและแบคทีเรียรีดิวซ์ซัล-เฟตในการใช้อะซิติก เมทานอลและกรดฟอร์มิกโดยใช้ถังปฏิกรณ์ไร้ออกซิเจนชนิด chemostat จำนวน 2 ชุด ชุดแรกสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาสร้างมีเทนและชุดที่สองสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเกิดซัลเฟตรีดักชัน จำนวนชุดละ 3 การทดลอง พบว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเอาชนะ

แบคทีเรียสร้างมีเทนได้ใน chemostat ที่เลี้ยงด้วยอะซิเตต ในขณะที่เมทานอลไม่สามารถถูกใช้ได้โดยแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต ส่วนในการใช้กรดฟอร์มิกพบว่าแบคทีเรียผลิตมีเทนและแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตใช้ฟอร์มิกในสัดส่วน 24% กับ 62% ตามลำดับ การทดลองนี้มีการเติมเหล็กลงในถังปฏิกรณ์ที่มีสภาพแวดล้อมเหมาะต่อการเกิดซัลเฟตรี-ดักชันเพื่อตกตะกอนไฮโดรเจนซัลไฟด์ ดังนั้นจึงสามารถกำจัดการยับยั้งเนื่องจากซัลไฟด์และเพิ่มความคงตัวให้กับระบบได้ โดยพวกเขาได้ให้เหตุผลว่า สาเหตุที่แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเอาชนะแบคทีเรียผลิตมีเทนได้อย่างสมบูรณ์ในการแย่งใช้อะซิเตต เพราะค่าความเข้มข้นของสารอาหารที่อัตราการเจริญเติบโตเป็นครึ่งหนึ่งของอัตราการรเจริญเติบโตสูงสุด (Ks) ของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตต่ำกว่าแบคทีเรียสร้างมีเทน ส่วนสาเหตุที่แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเอาชนะแบคทีเรียผลิตมีเทนได้ไม่สมบูรณ์ ในการใช้กรดฟอร์มิกแม้จะมีซัลเฟตมากเกินพอนั้น เนื่องมาจากจะมีช่วงแคบๆ อยู่ช่วงหนึ่งของค่าตัวแปรทางไดเนติกในระหว่างการทำงานที่ทำให้แบคทีเรียทั้งสองชนิดอยู่ร่วมกันได้

Yoda M. และคณะ (1987) ศึกษาถึงการแข่งขันกันระหว่างแบคทีเรียผลิตมีเทนและแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในการใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารในระยะยาว (long term)โดยใช้ถังปฏิกรณ์ anaerobic fluidized bed ในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่าเมื่อปริมาณอะซิเตตถูกจำกัด จะทำให้ทั้งอัตราการผลิตก๊าซมีเทนและมวลของแบคทีเรียผลิตมีเทนลดลงอย่างช้าๆ ขณะที่ปริมาณซัลเฟตที่ถูกรีดิวซ์และมวลของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนถึงความสามารถของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในการเอาชนะแบคทีเรียผลิตมีเทนในฟิล์มจุลชีพที่ระดับความเข้มข้นอะซิเตตต่ำๆ และผลของการวิเคราะห์น้ำออกจากระบบในช่วงที่อัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ต่ำนี้จะได้ค่าเฉลี่ยของอะซิเตตเท่ากับ 1.7 มก.คาร์บอน/ล. และซัลเฟตเท่ากับ 78.5 มก./ล. ในทางกลับกัน เมื่อความเข้มข้นของอะซิเตตที่ป้อนเข้าสู่ระบบมีความเข้มข้นสูงขึ้น แบคทีเรียผลิตมีเทนจะมีบทบาทมากกว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในการใช้อะซิเตต

Isa และคณะ (1986 a,b) ได้ศึกษาการแปรชนิดสารอาหาร ปริมาณของซัลเฟตและซัลไฟด์ต่อความสัมพันธ์ระหว่างการผลิตมีเทนและการเกิดซัลเฟตรีดักชันในถังกรองไร้อากาศที่มีอัตราบำบัดสูงพบว่าระบบสามารถปรับตัวได้เป็นอย่างดี และรับความเข้มข้นซัลเฟตได้สูงถึง 5,000 มก./ล.ของซัลเฟอร์ในรูปซัลเฟตโดยไม่มีผลกระทบต่อปฏิกิริยาการผลิตมีเทน ขณะที่การเกิดซัลเฟตรีดักชันจะเหมาะสมที่ความเข้มข้นซัล-เฟตไม่สูงนัก ประมาณ 500 มก./ล. ของซัลเฟอร์ในรูปซัลเฟต แต่ความเข้มข้นที่สูงขึ้นก็ไม่มีผลกระทบมากนักและพบว่าทั้งแบคทีเรียผลิตมีเทนที่ใช้ไฮโดรเจนและอะซิเตต สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพที่มีไฮโดรเจนซัลไฟด์อิสระได้ค่อนข้างสูง โดยปฏิกิริยาการผลิตมีเทนถูกยับยั้งเพียง 50 % เมื่อความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์อิสระสูงถึง 1,000 มก./ล. ขณะเดียวกันก็ยับยั้งแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเพียงเล็กน้อย สำหรับชนิดของสารอาหารที่แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตชอบ พบว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะชอบก๊าซไฮโดรเจนหรือเอทานอลมากกว่าฟอร์เมตหรืออะซิเตต ในส่วนของเปอร์เซ็นต์การใช้ซีโอดีพบว่า

แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตใช้เพียง 10 – 20% และแตกต่างกับสภาพที่เกิดขึ้นจริงในธรรมชาติและในถังปฏิกรณ์ไร้ออกซิเจนชนิดอื่น ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยาซัลเฟตรีดักชันเป็นส่วนใหญ่ โดยให้เหตุผลเกี่ยวกับความสามารถของแบคทีเรียผลิตมีเทนในการเกาะอยู่กับตัวกลางที่ใส่ลงไปในถังปฏิกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งสามารถทดแทนข้อด้อยของแบคทีเรียผลิตมีเทนได้ทั้งหมด ทั้งในแง่ของไคเนติก โดยเฉพาะค่าอัตราการใช้สารอาหารสูงสุด (V_{max}) และความเข้ม-ข้นของสารอาหารที่อัตราการใช้สารอาหารเป็นครึ่งหนึ่งของอัตราการใช้สารอาหารสูงสุด (K_s) ซึ่งบ่งชี้ว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะใช้สารอาหารได้ดีกว่าแบคทีเรียผลิตมีเทน และในแง่ของค่าพลังงานอิสระที่ได้จากปฏิกิริยาในเชิงเทอร์โมไดนามิกส์ ซึ่งต่างแสดงถึงโอกาสของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่จะชนะแบคทีเรียผลิตมีเทนในการใช้สารอาหาร

2.6.2 การเกิดเป็นเม็ดสลัดจ์

Visser A. และคณะ (1993) ศึกษาถึงการรวมเป็นเม็ดและการเกาะติดของแบคทีเรียผลิตมีเทนและแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีที่มีอัตราการบำบัดสูง จำนวน 3 ถัง แต่ละถังป้อนชนิดสารอาหารที่แตกต่างกัน ทำให้ลักษณะเชื้อจุลชีพภายในถังทั้งสามแตกต่างกันโดยถังแรกเป็นระบบผลิตมีเทน ถังที่สองเป็นระบบผลิตซัลไฟด์ ส่วนถังที่สามเป็นระบบผสมระหว่างสองระบบแรก พบว่าเชื้อจุลชีพภายในระบบผลิตซัลไฟด์ไม่เกิดการรวมเป็นเม็ดเกิดขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนอีกสองระบบที่เหลือเกิดเม็ดขึ้นได้ดีและมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางใกล้เคียงกัน สลัดจ์ที่เกิดขึ้นในระบบทั้งสามนี้แบ่งออกเป็น 3 ประเภท ประเภทแรกคือเม็ดสลัดจ์ผลิตมีเทนในระบบผลิตมีเทน ประเภทที่สองคือเม็ดสลัดจ์ที่ผลิตซัลไฟด์(ผลิตซัลไฟด์มากกว่ามีเทน)ในระบบผสม และประเภทที่สามคือฟลือคของสลัดจ์รีดิวซ์ซัลเฟตในระบบผลิตซัลไฟด์

นอกจากนี้ยังได้ข้อมูลอื่นๆ ว่า

- ถังปฏิกรณ์ไร้อากาศที่ทำงานภายใต้สภาวะซัลเฟตมากเกินพอ ไฮโดรเจนทั้งหมดในระบบถูกใช้โดยแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต แต่การใช้อะซิเตดโดยแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบคทีเรียสร้างมีเทนยังไม่เป็นที่ชัดเจนว่าแบคทีเรียชนิดใดจะเป็นผู้ชนะ
- ในระบบผลิตมีเทน อะซิเตดทั้งหมดถูกใช้โดยแบคทีเรียสร้างมีเทน ส่วนไฮโดรเจนทั้งหมดถูกใช้โดยแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต
- แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ดำรงชีวิตอยู่ในสภาวะขาดซัลเฟตได้ทำหน้าที่ผลิตกรดอะซิติก
- ในถังปฏิกรณ์ที่มีจำนวนของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตน้อยกว่าแบคทีเรียสร้างมีเทนมากในช่วงเริ่มต้น จะต้องให้เวลากับแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตอย่างมากในการเอาชนะแบคทีเรียสร้างมีเทน ถึงแม้สภาวะต่างๆ ภายในถังเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตก็ตาม

- แบคทีเรียสร้างมีเทนใช้เวลาในการสร้างเม็ดสลัดจ์สั้นกว่า ดังนั้นในตอนแรกของการเลี้ยงแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตให้เกิดเป็นเม็ดสลัดจ์จึงควรมีแบคทีเรียสร้างมีเทนอยู่ด้วย เพราะแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตขาดความสามารถในการรวมกันเป็นเม็ดในเวลาอันสั้น

2.6.3 ความเป็นพิษเนื่องจากซัลไฟด์

Reis M.A.M., lemos P.C., Almedia J.S. and Corrando M.J.T. (1992) ได้ศึกษาผลของไฮโดรเจนซัลไฟด์ต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต โดยนำเชื้อถังหมักไร้อากาศที่รับน้ำเสียที่มีความเข้มข้นซัลเฟตและกรดแลคติกสูงมาเพาะเลี้ยง โดยใช้แลคเตตและซัลเฟตเป็นอาหาร ช่วงพีเอชที่ทำการศึกษาคือ 5.8 – 7.0 พบว่าอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดเมื่อค่าพีเอชเท่ากับ 6.7 และไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่เกิดจากปฏิกิริยาซัลเฟตรีดักชันมีผลยับยั้งโดยตรงต่อแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต โดยการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตอย่างสมบูรณ์เกิดขึ้นที่ความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์เท่ากับ 547 มก./ล. อย่างไรก็ตามพบว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตสามารถฟื้นตัวได้เมื่อใส่ไฮโดรเจนซัลไฟด์ออกจากตัวกลาง

McCartney และคณะ (1990) ได้ศึกษาถึงผลของซัลไฟด์ที่มีต่อการใช้แลคเตตและอะซิเตตในระบบบำบัดไร้ออกซิเจน ทำการทดลองโดยนำเชื้อจากถังเลี้ยงเชื้อที่ปือนด้วยอะซิเตตและแลคเตตพร้อมกับโซเดียมซัลเฟตมาเพาะเลี้ยงต่อในขวดซีรัม ที่ป้อนอะซิเตตและแลคเตตพร้อมกับโซเดียมซัลเฟตและโซเดียมซัลไฟด์ พบว่าความเข้มข้นของซัลไฟด์ทั้งหมดที่ต่ำกว่า 1,080 มก./ล. และไฮโดรเจนซัลไฟด์เข้มข้น 320 มก./ล. ไม่กระทบกระเทือนต่อการใช้แลคเตต ส่วนการใช้อะซิเตตจะถูกยับยั้งเป็นสัดส่วนโดยตรงกับซัลไฟด์ที่ไม่แตกตัวเป็นไอออน (Unionized Sulfide-UIS) แต่ถ้าความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์ต่ำกว่า 80 มก./ล. การยับยั้งจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของซัลไฟด์ทั้งหมดแทน นอกจากนั้นโพรพิโอเนตจะเริ่มสะสมในระบบเมื่อความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์มากกว่า 112 มก./ล. โดยที่โพรพิโอเนตที่เพิ่มขึ้นจะมีความสัมพันธ์กับซัลเฟตรีดักชันที่ลดลง แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการย่อยโพรพิโอเนตและการใช้ไฮโดรเจนของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต ซึ่งช่วยลดความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจน ทำให้การย่อยสลายกรดอินทรีย์ระเหยไปเป็นกรดอะซิติกเกิดได้ดีขึ้น

Koster และคณะ(1986) ได้ทำการศึกษาการยับยั้งปฏิกิริยาการผลิตมีเทนของสลัดจ์ที่จับเป็นเม็ดจากถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีซึ่งใช้อะซิเตตเป็นสารอาหาร ที่ระดับพีเอชต่างๆ โดยทำการทดสอบในขวดซีรัมและปิดขวดสนิท ซึ่งจะให้ค่าพีเอชคงที่และทำให้ซัลไฟด์ไม่สามารถหนีออกจากขวดในรูปของก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ได้ พบว่าความเป็นพิษเนื่องจากซัลไฟด์จะสัมพันธ์กับความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์อิสระในช่วงพีเอช 6.4 – 7.2 อย่างไรก็ตามไม่สามารถใช้ความสัมพันธ์ดังกล่าวได้เมื่อ

พีเอชอยู่ในช่วง 7.8 – 8.0 โดยได้ให้ความสำคัญกับลักษณะการเกาะตัวเป็นเม็ดของแบคทีเรียซึ่งทำให้สามารถทนต่อความเป็นพิษของซัลไฟด์ได้สูง เนื่องจากการเกาะติดดังกล่าวทำให้เกิดเกรเดียนท์ของพีเอชในเม็ดสลัดจ์ โดยส่วนในของเม็ดสลัดจ์จะมีค่าพีเอชสูงขึ้น

2.6.4 การบำบัดโลหะหนัก

Dvorak K.H., Hedin R.S.,Edenborn H.M. and McIntire P.E. (1992) ได้ทดลองใช้ถังปฏิกรณ์ลักษณะคล้ายถังกรองไร้ออกซิเจนในการบำบัดน้ำที่ถูกปนเปื้อนด้วยโลหะหนักจากเหมืองถ่านหิน พบว่าความเข้มข้นของ Al, Cd, Fe, Mn, Ni และ Zn ลดลงกว่า 95% โดย Cd, Fe, Ni และบางส่วนของ Zn จับตัวกับซัลไฟด์อยู่ในรูปของโลหะซัลไฟด์ในรูปที่ไม่ละลายน้ำโดยได้ซัลไฟด์มาจากแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต ขณะที่ Al, Mn และบางส่วนของ Zn จะอยู่ในรูปของโลหะไฮดรอกไซด์หรือคาร์บอนเนตโดยน้ำออกจากถังปฏิกรณ์มีค่าพีเอชเป็นกลางและมีค่าความเป็นด่างสูงขึ้น

Wijaya S. , Henderson W.D. , Bewtran J.K. และ Biswas N. (1993) ได้ทำการวิจัยโดยใช้ถังปฏิกรณ์ถังกรองไร้อากาศขนาดห้องปฏิบัติการ ในการศึกษาเกี่ยวกับบทบาทของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเพื่อการบำบัดโลหะหนักโดยใช้น้ำเสียสังเคราะห์ที่มีแลคเตตเป็นแหล่งคาร์บอนพบว่าระบบมีความสามารถบำบัดโลหะหนักละลายได้อย่างน่าพอใจ โดยมีประสิทธิภาพในการลด Cr , Pb , Cu และ Cd ได้ถึง 80% , >90%,>90% และ 99% ตามลำดับ โดยความเข้มข้นสูงสุดของแต่ละชนิดโลหะหนักเท่ากับ 45 มก./ล. Cr, > 18 มก./ล. Pb, 400มก. /ล. Cu และ 550 มก. /ล. Cd

Gundry M.J. , Henry J.G. และ Prasad D. (1990) ได้ทดลองป้อนน้ำเสียจากโรงงานชุบโลหะซึ่งมี Ni ปนเปื้อนเข้มข้น 80 มก./ล. และ ซัลเฟต 210 มก./ล. ผสมน้ำเสียชุมชนซึ่งมีค่าซีโอดีประมาณ 700 มก./ล. เข้าสู่ถังปฏิกรณ์แบบถังกรองไร้อากาศโดยความเข้มข้นของ Ni ในน้ำเสียที่ผสมแล้วมีความเข้มข้นเท่ากับ 47 มก./ล. และเมื่อผ่านระบบมีค่าลดลงเหลือ 0.36 มก./ล.