หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ปัจจุบันวิกฤติการณ์ทางด้านพลังงานและภาวะมลพิษเป็นปัญหาสำคัญของประเทศไทยโดยเฉพาะมลภาวะทางน้ำ กระบวนการบำบัดที่ได้รับความนิยมและสร้างแก๊สมีเธนได้แก่ระบบการบำบัดที่ไม่ใช้อากาศ (Anaerobic Treatment) ซึ่งเป็นกระบวนการที่ง่ายต่อการใช้งาน เครื่องมือไม่ซับซ้อน ให้แก๊สเชื้อเพลิงเป็นผลพลอยได้ และค่าใช้จ่ายต่ำเมื่อเทียบกับระบบบำบัดแบบที่ใช้อากาศ (Aerobic Treatment) (Sumaeth Chavadej, 1990)

ระบบบำบัดที่ไม่ใช้อากาศประกอบด้วยลำดับความซับซ้อน (Complex series) ของปฏิกริยาการย่อยสลาย (Digestive Reaction) และปฏิกริยาการหมัก (Fermentative Reaction) โดยแบคทีเรียหลายกลุ่มทำให้ได้แก๊สมีเธนและคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นผลิตภัณฑ์ซึ่งจัดเป็นสารระเหยง่าย (Volatile) ทำให้ปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำเสียลดลง เป็นการแสดงถึงประสิทธิภาพของการบำบัดในเทอมของค่าบี.โอ.ดีที่ลดลง

ด้วยเหตุที่ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม จึงมีของเหลือทิ้งประเภทเซลลูโลสที่สามารถนำมาผ่านระบบบำบัดแบบไม่ใช้อากาศและเกิดแก๊สเชื้อเพลิงขึ้น ซึ่งจากการที่ระบบบำบัดแบบไม่ใช้อากาศมีข้อดีดังกล่าว จึงมีผู้สนใจในการนำระบบนี้มาใช้มากขึ้น แต่ยังพบว่าข้อเสียของระบบนี้คือประสิทธิภาพในการบำบัดยังคงมีค่าต่ำ ค่าบี.โอ.ดี.ของน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดแล้วยังคงมีค่าสูง และผลิตแก๊สเชื้อเพลิงได้ปริมาณน้อยซึ่งเป็นผลจากความไม่เหมาะสมของแบคทีเรียในกากตะกอน จากรายงานของ Harada (1990) พบเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิดทำงานร่วมกันในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสีย ซึ่งจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญและมีบทบาทมากในระบบดังกล่าวคือแบคทีเรียกลุ่มที่เรียกว่า เมธาโนเจน

เมธาโนเจน เป็นแบคทีเรียในยุคเริ่มแรกของโลก (Archaebacteria) (Jain, Bhatnagar และ Zeikus, 1988) กล่าวคือ เกิดในช่วงที่บรรยากาศ

ของโลกอยู่ในสภาพปราศจากออกซิเจน จัดเป็นแบคทีเรียกลุ่มที่ไม่ต้องการอากาศในการดำรงชีวิต และสร้างมีเธนขึ้นจากซับสเทรตที่มีโครงสร้างง่ายๆ ดังแสดงในตารางที่ 1.1 (Jain และคณะ, 1988) และโดยสมบัติดังกล่าวนี้เองที่แยกเมธาโนเจนออกจากแบคทีเรียกลุ่มอื่น

ตารางที่ 1.1 ซับสเทรตของแบคทีเรียกลุ่มเมธาโนเจนที่ใช้ในการสร้างแก๊สมีเธน (Jain และคณะ, 1988)

Methanogenic species	Substrate
Methanobacterium formicicum	H_2-CO_2 , FORMATE
Methanobrevibacter ruminantium	H_2-CO_2 , FORMATE
Methanosphaera stadtmaniae	METHANOL+H_2
Methanothermus fervidus	H_2-CO_2
Methanococcus vannielii	H_2-CO_2 , FORMATE
Methanomicrobium mobile	H_2-CO_2 , FORMATE
Methanogenium aggregans	H_2-CO_2 , FORMATE
Methanospirillum hungatei	H_2-CO_2 , FORMATE
Methanosarcina barkeri	H_2-CO_2 , METHANOL , ACETATE
Methanohalophilus mahii	METHANOL , METHYLAMINES
Methanolobus tindarius	METHANOL , METHYLAMINES
Methanothrix soehngenii	ACETATE

ตารางที่ 1.1 แสดงชนิดของซับสเทรตที่แบคทีเรียกลุ่มเมธาโนเจนสามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน กระบวนการเกิดมีเธนในธรรมชาติส่วนใหญ่เริ่มจากการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยการทำงานของแบคทีเรียกลุ่มอื่น (Gottschalk, 1986) จนได้ซับสเทรตซึ่งเมธาโนเจนสามารถนำไปใช้ในการสร้างแก๊สมีเธนได้

ซึ่งการอยู่ร่วมกันของแบคทีเรียสองกลุ่มนี้เป็นแบบพึ่งพาอาศัยกัน (Syntrotroph) เนื่อ รักษาสภาวะความดันบางส่วน (Partial Pressure) ของไฮโดรเจนให้ต่ำ (Yang และ Guo, 1991)

สามารถแบ่งชนิดซับสเทรตของเมธาโนเจนได้เป็น 3 กลุ่มคือ

1. ACETOCLASTIC SUBSTRATE ได้แก่ กรดอะซิติค

2. CO_2-TYPE SUBSTRATES ได้แก่ คาร์บอนไดออกไซด์ , ฟอร์เมท

3. METHYL SUBSTRATES ได้แก่ เมธานอล , เมธิลลามีน

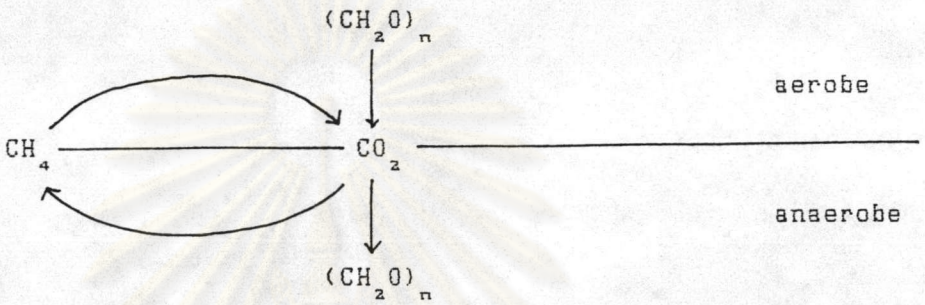
ถึงแม้ว่าเมธาโนเจนจะเจริญได้ในแหล่งอาหารง่ายๆเหล่านี้ แต่การเติมสาร บางอย่าง เช่น สารสกัดจากยีสต์ (Yeast Extract) 0.05% ลงไปเล็กน้อยเป็นการ กระตุ้นการเจริญเติบโตของเมธาโนเจน (Jain และคณะ, 1988) และช่วยให้เกิดการ สร้างมีเธนได้มากขึ้น

กระบวนการเกิดแก๊สมีเธน เป็นกระบวนการที่มีอยู่ทั่วไปทุกแห่งในสภาพแวดล้อม ที่ไร้อากาศ เช่น ในทางเดินอาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้อง ในโคลน ในดินที่น้ำทะเลหรือ น้ำจืดท่วมถึง ในเครื่องปฏิกรณ์ที่บำบัดน้ำเสียชนิดต่างๆ (Jain และคณะ, 1988) และ บางครั้งมีการพบแก๊สมีเธนเป็นองค์ประกอบของแก๊สติดไฟที่พบภายในลำต้นของต้นไม้บริเวณ ท่อลำเลียงน้ำและอาหารของพืชที่ตายแล้วและบริเวณเนื้อเยื่อของพืช (Zeikus, 1977) ซึ่งเป็นบริเวณที่เหมาะสมต่อการเจริญของเมธาโนเจน กล่าวคือสภาพไร้ออกซิเจน ความชื้นสูง และค่าความเป็นกรดด่างเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเมธาโนเจน จึงทำให้เกิดการย่อยสลายสารอินทรีย์และเกิดเป็นแก๊สมีเธนภายใน แต่ถ้าในสิ่งแวดล้อม ที่มันอาศัยอยู่มีออกซิเจน เมธาโนเจนจะเกิดการ Inactivated และถึงตายได้ ในบางกลุ่ม

เมธาโนเจนเป็นแบคทีเรียกลุ่มที่ทำหน้าที่สุดท้าย ในห่วงโซ่อาหารที่มีการ ย่อยสลายสารอินทรีย์ (Gottschalk, 1986) กระบวนการดังกล่าวจะเกิดได้ดีหรือไม่ ขึ้นอยู่กับความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียกลุ่มต่างๆที่อยู่ด้วยกัน กระบวนการนี้เกิดได้ดี เมื่อแบคทีเรียกลุ่มอื่นสามารถย่อยสลายและส่งซับสเทรตที่จำเป็นให้แก่เมธาโนเจน การ ทำงานร่วมกันนี้มีประโยชน์ในการผลักดันปฏิกริยาบางชนิดที่เกิดยาก (พิจารณาค่า Gibb's free energy) ให้เกิดได้ง่ายขึ้น กระบวนการดังกล่าวมีความสำคัญมากในวัฏจักร คาร์บอนในธรรมชาติ (รูปที่ 1.1) (Brock, 1991) เพราะเป็นสาเหตุของการ

ย่อยสลายสารอินทรีย์ซับซ้อนโดยไม่ใช้อากาศ เพื่อให้เกิดผลิตภัณฑ์แก๊สที่สะอาดและง่ายต่อการทำให้บริสุทธิ์ คือ แก๊สมีเธนและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ โดยมีการเจริญเติบโตของแบคทีเรียเพียงเล็กน้อย

รูปที่ 1.1 วัฏจักรคาร์บอนในธรรมชาติ (Brock, 1991)



เมธาโนเจนเป็นแบคทีเรียกลุ่มที่มีรูปร่างแตกต่างกัน ไม่มีลักษณะจำเพาะ คือ มีตั้งแต่รูปแท่ง (ROD) รูปกลม (COCCUS) ซาร์ซินา (SARCINA) และสไปริลลัม SPIRILLUM) แต่อย่างไรก็ตาม การจำแนกแบคทีเรียกลุ่มนี้ก็ยังคงใช้รูปร่างลักษณะโคโลนี การย้อมติดสีแกรม และความสามารถในการใช้ซับสเทรตรวมถึงสารจำเป็นอื่นๆเป็นสมบัติเบื้องต้นในการจำแนก (Jain, Bhatnagar และ Zeikus, 1991) แสดงดังตารางที่ 1.2 เมธาโนเจนยังมีลักษณะเฉพาะที่ทำให้จัดเป็นแบคทีเรียกลุ่มพิเศษคือการมีโคเอ็นไซม์ที่ต่างจากแบคทีเรียทั่วไป คือ โคเอ็นไซม์ M F_{420} F_{430} Methanofuran Methanopterin และจากสมบัติของ F_{420} นี้เองที่ทำให้เซลล์ของเมธาโนเจนเกิดการเรืองแสง เมื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนต์

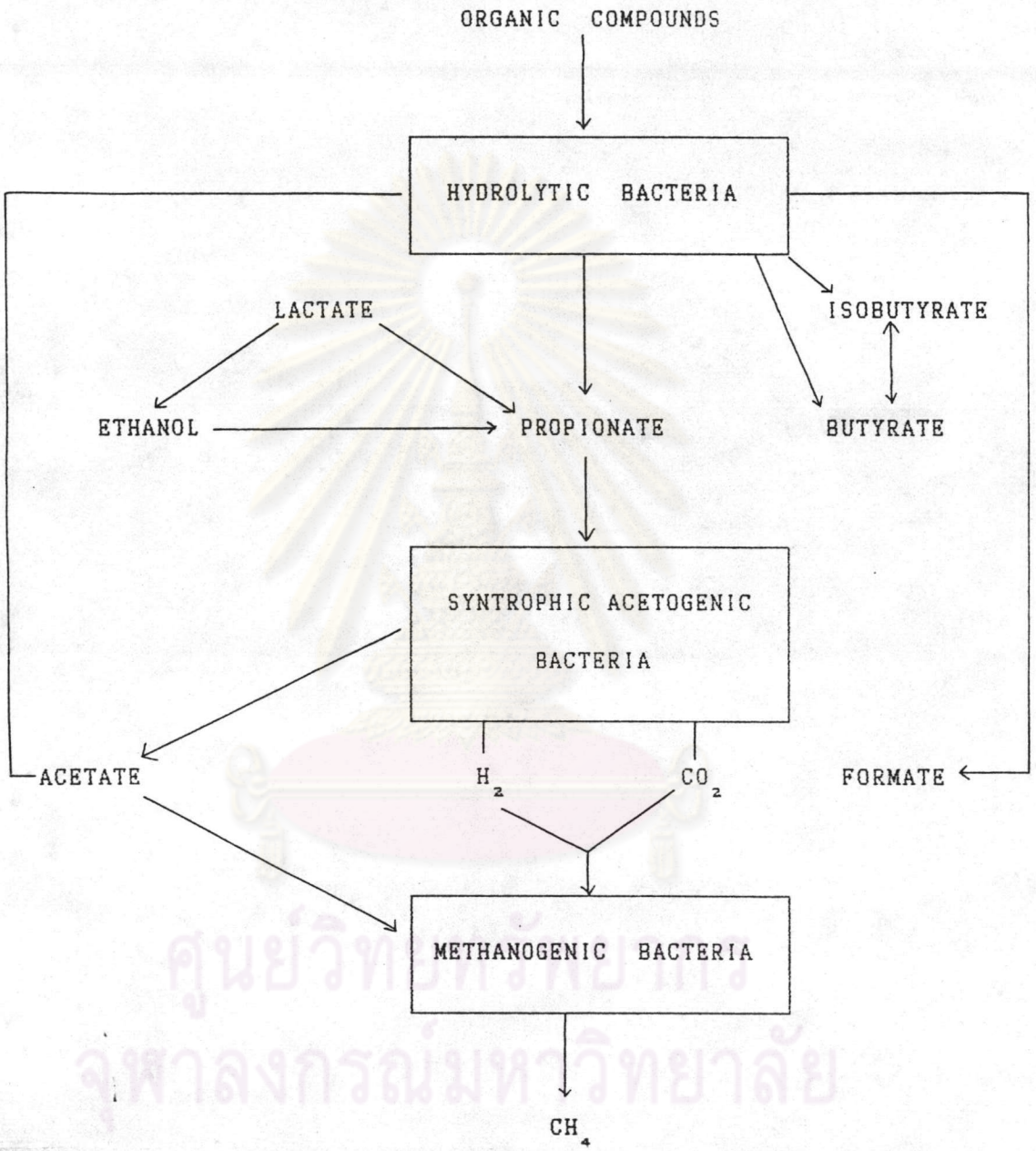
ตารางที่ 1.2 การจำแนกเมธาโนเจนเป็นorderโดยอาศัยสมบัติทางรูปร่างและการใช้ซับสเทรต (Jain และคณะ, 1991)

ORDER	ลักษณะทางรูปร่าง	ซับสเทรตที่ใช้
METHANOBACTERIALES	รูปแท่งหรือแลนเซท	H_2-CO_2 , FORMATE
METHANOCOCCALES	รูปกลม	H_2-CO_2 , FORMATE
METHANOMICROBIALES	ซาร์ซินาหรือรูปกลมหรือรูปแท่งที่มีเปลือกหุ้ม	METHANOL , METHYLAMINES H_2-CO_2 , FORMATE

ในกระบวนการผลิตแก๊สมีเธนจากน้ำทิ้งนั้น นอกจากต้องการเมธาโนเจนแล้วยังต้องการแบคทีเรียอีก 2 กลุ่มคือ ไฮโดรไลติคแบคทีเรีย (Hydrolytic Bacteria) และอะซิโตเจน (Acetogenic Bacteria) ซึ่งทำงานร่วมกันในวัฏจักรห่วงโซ่อาหารดังรูปที่ 1.2 (Jain, Bhatnagar และ Zeikus, 1990) โดยเฉพาะอย่างยิ่งแบคทีเรียกลุ่มอะซิโตเจนและเมธาโนเจนที่อยู่ด้วยกันแบบพึ่งพาอาศัยโดยการให้และรับสารบางตัวเพื่อสนับสนุนการเจริญของกันและกัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 1.2 การย่อยสลายสารเชิงซ้อนโดยการทำงานร่วมกันของแบคทีเรีย 3 กลุ่ม (Jain และคณะ, 1990)



จากรูป 1.2 จะเห็นว่าในการย่อยสลายสารอินทรีย์เริ่มต้นโดยการทำงานของไฮโดรไลติคแบคทีเรียเพื่อให้เกิดซับสเทรตสำหรับอะซิโตเจน เมื่ออะซิโตเจนนำไปใช้จะเกิดซับสเทรตสำหรับเมธาโนเจนที่จะนำไปใช้ในการสร้างแก๊สมีเธน ซึ่งลำดับของปฏิกริยาที่เกี่ยวข้องกันในการเปลี่ยนแปลงสารอินทรีย์ซับซ้อนเป็นมีเธน (ยกเว้นการ

Hydrolysis) อธิบายได้ในเทอมของInterdependent Hydrogen Transfer (IHT) คือการที่แบคทีเรียพึ่งพาอาศัยกันและกันโดยการให้และรับไฮโดรเจน ซึ่งไฮโดรเจนที่เกิดต้องถูกใช้ทันที เพราะถ้าเกิดการสะสมจะเป็นตัวยับยั้งปฏิกริยา IHT ทำให้ปฏิกริยาควบคู่บางปฏิกริยาที่เกิดยากเกิดได้ง่ายขึ้น ดังตัวอย่าง

$$2\ CH_3CH_2OH + 2\ H_2O \longrightarrow 4\ H_2 + 2\ CH_3COO^- + 2\ H^+$$

+19.2 KJ/Reaction

(Zeikus และ Thiele, 1988)

พบว่าปฏิกริยาดังกล่าวเกิดไม่ได้โดยตัวเอง แต่หากไฮโดรเจนที่เกิดถูกดึงไปใช้โดยเมธาโนเจน ดังสมการ

$$4\ H_2 + HCO_3^- + H^+ \longrightarrow CH_4 + 3H_2O \quad -135.6\ KJ/Reaction$$

(Zeikus และ Thiele, 1988)

พบว่าปฏิกริยาทั้งคู่จะเกิดได้ดี นั่นคือ IHT จัดเป็นกระบวนการที่เกิดระหว่างกลุ่มของแบคทีเรียและให้ประโยชน์ในการอยู่ร่วมกัน เพราะพบว่าถ้าเกิดกระบวนการ IHT ในระบบแล้ว จะมีความดันบางส่วนของแก๊สไฮโดรเจน (Hydrogen Partial Pressure) ต่ำมาก ซึ่งเป็นประโยชน์ในการผลักดันบางปฏิกริยาที่เกิดยาก (จากการถูกยับยั้งโดย High Pressure of Hydrogen) ให้เกิดได้ง่ายขึ้น โดยไฮโดรเจนที่เกิดจะถูกเมธาโนเจนดึงไปใช้อย่างรวดเร็ว

จากแนวความคิดดังกล่าว ทำให้เกิดความสนใจที่จะทำการศึกษาแบคทีเรียบางกลุ่ม เช่น เมธาโนเจน อะซิโตเจน ในกากตะกอน โดยใช้พื้นฐานความรู้ทางจุลชีววิทยา โดยการใช้ซับสเทรตชนิดต่างๆเพื่อคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์สำหรับนำมาทำกากตะกอน ที่มีส่วนประกอบของแบคทีเรียกลุ่มต่างๆในปริมาณที่พอเหมาะในการนำไปใช้ในระบบบำบัดน้ำเสียให้ได้ผลดี

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อสำรวจดูชนิดและปริมาณแบคทีเรียกลุ่มอะซิโตเจนและเมธาโนเจนจากกากตะกอนที่ได้จากบ่อบำบัดน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรมนม

2. เพื่อปรับปรุงคุณภาพของกากตะกอนที่จะนำไปใช้ในงานบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศ

ขอบเขตของการวิจัย

1. ศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์ในกากตะกอนจากบ่อบำบัดน้ำเสียของโรงงานผลิตภัณฑ์นมโดยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน

2. ศึกษาผลของซับสเทรตชนิดต่างๆทั้งในอาหารเหลวและอาหารแข็งที่มีผลต่อการเจริญเติบโต , ปริมาณที่นับได้ และการผลิตแก๊สมีเธน

3. คัดเลือกและแยกเชื้อบริสุทธิ์โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีซับสเทรตชนิดต่างๆ

4. ศึกษาและเปรียบเทียบอัตราส่วนต่างๆของกลุ่มเชื้อที่สามารถผลิตแก๊สมีเธนได้มากที่สุด

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย