กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

บทที่ 3

ทฤษฎีและแนวความคิด

3.1 ชีวเคมี และจุลชีววิทยาของกระบวนการหมักแบบไร้ออกซิเจน

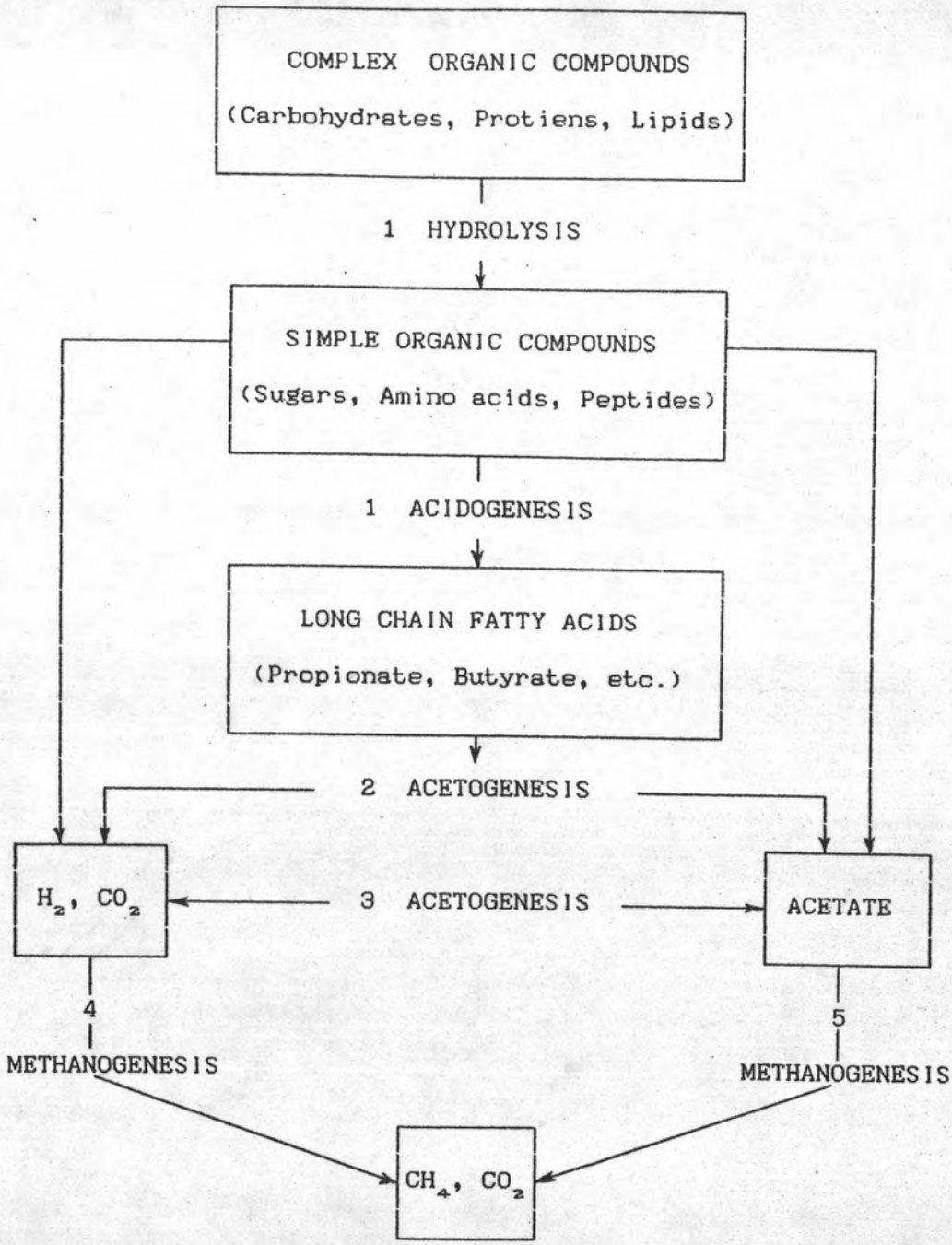
การย่อยสลายสารอินทรีย์ในระบบบ่อหมักไร้ออกซิเจน เป็นกระบวนการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic digestion) ที่เกิดจากการทำงานร่วมกันของจุลชีพหลายๆ ชนิด ปฏิกิริยาชีวเคมีของกระบวนการหมักแบบไร้ออกซิเจน เป็นปฏิกิริยาที่สารอินทรีย์ถูกเปลี่ยนโดยจุลชีพให้เป็น ก๊าซมีเทน และคาร์บอนไดออกไซด์ การเปลี่ยนแปลงของสารอินทรีย์จนกระทั่งได้ผลสุดท้าย มีอยู่หลายขั้นตอนดังแสดงในรูปที่ 3.1

ขั้นตอนในการย่อยสลายสารอินทรีย์ โดยกระบวนการหมักแบบไร้ออกซิเจน สามารถแบ่งเป็นขั้นตอนใหญ่ๆ ได้ 2 ขั้นตอนคือ

1. ขั้นตอนการย่อยสลายที่ทำให้เกิดกรด (acid forming หรือ non - methanogenic phase)
2. ขั้นตอนการย่อยสลายที่ทำให้เกิดก๊าซมีเทน (methane formation หรือ methanogenic phase)

3.1.1 ขั้นตอนการย่อยสลายที่ทำให้เกิดกรด

ขั้นตอนการย่อยสลายที่ทำให้เกิดกรดนี้ เป็นขั้นตอนที่สารอินทรีย์ต่างๆ ที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ เช่น คาร์โบไฮเดรท ไขมัน และโปรตีน จะถูกย่อยสลายให้เป็นสารอินทรีย์ที่มีขนาดโมเลกุลเล็ก ซึ่งผลสุดท้ายของการย่อยสลายจะได้ กรดอินทรีย์ แอลกอฮอล์ และอื่นๆ สารเหล่านี้จะถูกใช้เป็นซับสเตรต (substrates) ของแบคทีเรียในขั้นตอนการย่อยสลายที่ทำให้เกิดก๊าซมีเทน



1) fermentation bacteria

2) H_2- producing acetogenic bacteria

3) H_2- Consuming acetogenic or homoacetogenic bacteria

4) CO_2-reducingmethanogenic bacteria

5) Acetoclastic methanogenic bacteria

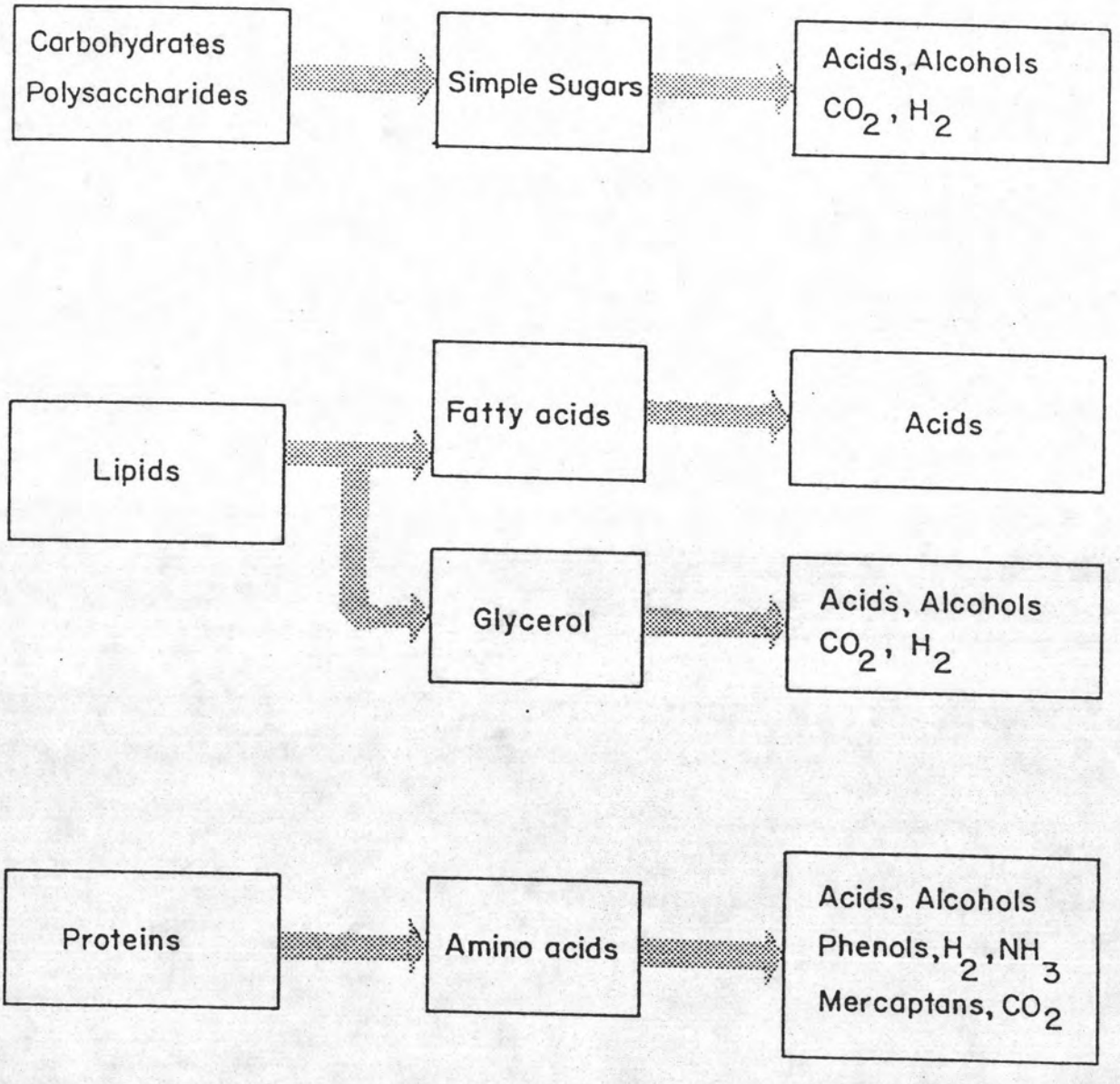
รูปที่ 3.1 กระบวนการเมตาบอลิซึมของกระบวนการหมักแบบไร้ออกซิเจน (5)

การย่อยสลายในขั้นตอนนี้ประกอบด้วยแบคทีเรีย 2 ประเภท คือ Fermentative bacteria และ Acetogenic bacteria โดยที่แบคทีเรียเหล่านี้จะมีทั้งพวกที่สามารถดำรงชีพอยู่ในสภาวะที่มีหรือไม่มีออกซิเจนอิสระ (facultative anaerobic bacteria) และพวกที่ดำรงชีพในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนอิสระเลย (obligate anaerobic bacteria) โดยทั่วไปพบว่าแบคทีเรียพวก Obligate มีมากกว่าพวก Facultative anaerobic bacteria (1, 2, 3, 4)

ในขั้นตอนแรกสารประกอบอินทรีย์ที่ซับซ้อน (complex organic compound) ซึ่งมีโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น คาร์โบไฮเดรท โปรตีน และไขมัน จะถูกทำให้เป็นสารประกอบอินทรีย์อย่างง่าย ที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก สามารถละลายน้ำได้ เช่น น้ำตาล กรดอะมิโน กรดไขมัน โดยอาศัยปฏิกิริยาไฮโดรไลซีส (hydrolysis) ซึ่งแบคทีเรียที่เรียกว่า Fermentative bacteria จะปล่อยเอ็นไซม์ออกมาสู่ภายนอก (external enzymes) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

สารประกอบอินทรีย์อย่างง่าย ที่ถูกสร้างขึ้นโดยปฏิกิริยาไฮโดรไลซีส จะถูกดูดซึมเข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรีย เพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอน และพลังงานของแบคทีเรีย ในช่วงนี้เองสารอินทรีย์ดังกล่าวจะถูกเปลี่ยนเป็นกรดอินทรีย์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ และมีคาร์บอนอะตอมไม่เกิน 5 ตัว เช่น กรดอะซิติค (acetic acid) กรดโพรไพโอนิค (propionic acid) กรดบิวไทริค (butyric) เป็นต้น แอลกอฮอล์ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และอื่นๆ ปฏิกิริยาที่สร้างกรดเหล่านี้เรียกว่า Acidogenesis แบคทีเรียที่รับผิดชอบเรียกว่า แบคทีเรียพวกสร้างกรด (acid former) การย่อยสลายสารอินทรีย์ในขั้นตอน hydrolysis และ Acidogenesis แสดงในรูปที่ 3.2

การย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก โดยแบคทีเรียพวกสร้างกรดเหล่านี้ ส่วนใหญ่จะได้กรดไพรูวิค (pyruvic acid) ก่อนเสมอ (6) แล้วกรดไพรูวิคจึงถูกย่อยสลายได้กรดอะซิติก และกรดที่มีน้ำหนักโมเมกุลต่ำอื่นๆ นอกนั้นเป็นแอลกอฮอล์ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ตัวอย่างเช่น การย่อยสลายกลูโคสโดยผ่านกระบวนการย่อยสลายที่เรียกว่า วิถีทางไกลคอลิซีส (pathway of glycolysis) (ดูรูปที่ 3.3) ซึ่งให้ Intermediate products เป็น กรดไพรูวิค และให้ End products เป็นเอทธานอล (เมื่อเป็นกระบวการไกลโคลิซีสเกิดจากยีสต์) และ/หรือ กรดอะเซติค (เมื่อกระบวนการ



รูปที่ 3.2 การย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไร้ออกซิเจนขั้นตอน Hydrolysis และ Acidogenesis (46)

ไกลโคลิซีลเกิดจากแบคทีเรีย)

การย่อยสลายที่ไม่ผ่านกรดไพรูวิคก็มีบ้าง เช่น หนึ่งโมเลกุลของกลูโคสแตกตัวภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนได้ 2 โมเลกุลของอะซิติค (7) หรือกรดไขมันที่มีขนาดใหญ่ (long chain fatty acids) จะมีการย่อยสลายแบบ Beta oxidation (ดังรูปที่ 3.4)

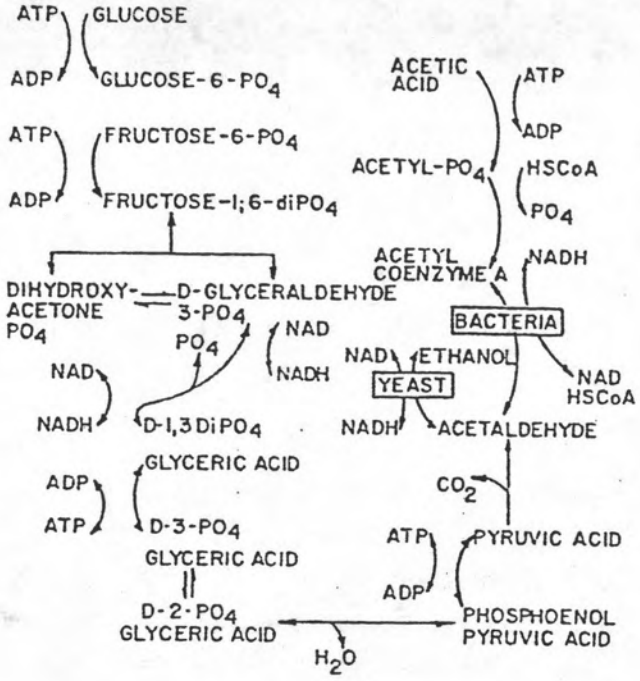
กรดอินทรีย์ที่มีโมเลกุลใหญ่ เช่น กรดบิวไทริด โพรไพโอนิค จะถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรียที่สร้างไฮโดรเจน (hydrogen producing acetogenic bacteria) ได้ กรดอะซิติค คาร์บอนไดออกไซด์ และไฮโดรเจน ปฏิกิริยาของแบคทีเรียที่สร้างไฮโดรเจนเรียกว่า Acetogenesis นอกจากนี้ยังมีแบคทีเรียอีกพวกหนึ่งคือ Homoacetogenic bacteria ซึ่งจะทำหน้าที่ออกซิไดส์ ไฮโดรเจนภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนในขณะเดียวกันกับการเกิดรีดัคชันของคาร์บอนไดออกไซด์ ได้เป็น กรดอะซิติค (8)

Braun, Mayer และ Gottschalk (8) พบว่า Homoacetogenic bacteria ที่ชื่อว่า Clostridium aceticum สามารถทำให้เกิดกรดอะซิติคจากโมเลกุลของไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ ดังสมการที่ 3.1

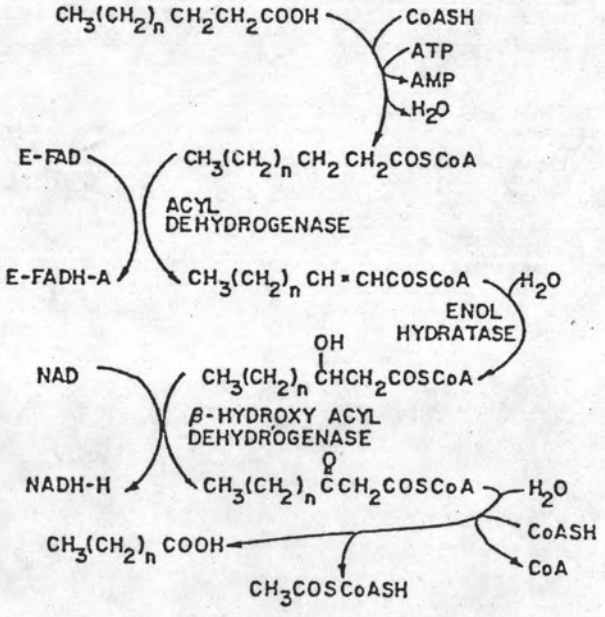
$$2\ CO_2 + 4\ H_2 \text{ ----------> } CH_3COOH + 2H_2O \ldots\ldots \quad (3.1)$$

เนื่องจากแบคทีเรียที่สร้างไฮโดรเจนสามารถสร้างกรดได้ แต่แบคทีเรียที่สร้างกรดอาจไม่สามารถสร้างไฮโดรเจน เราจึงอาจจัดว่าแบคทีเรียที่สร้างไฮโดรเจนเป็นชนิดหนึ่งของแบคทีเรียที่สร้างกรดอย่างไรก็ตาม แบคทีเรียทั้งสองชนิดนี้อาจจะเรียกรวมกันได้ว่าเป็น Non - methanogenic bacteria ซึ่ง Non - methanogenic bacteria ที่พบในกระบวนการหมักแบบไร้ออกซิเจนได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.1

จากที่กล่าวมาแล้วข้างต้น ถึงแม้ว่าแบคทีเรียจะทำหน้าที่รับผิดชอบในกระบวนการหมักแบบไร้ออกซิเจน แต่ก็ยังพบว่ามีจุลชีพอื่นๆ เข้ามามีส่วนเกี่ยวข้องในการย่อยสลายในขั้นตอนนี้ด้วยเช่นกัน จากการศึกษาของ Hungate (9) พบว่าโปรโตซัว (protozoa) และรา (fungi) สามารถสร้างเอนไซม์เพื่อใช้ในการย่อยสลาย Lignocellulosis material ส่วน Toerien และ Hattingh (10) ได้พบ โปรโตซัว รา และยีสต์ ใน



รูปที่ 3.3 การย่อยสลายกลูโคส โดยผ่านกระบวนการไกลคอลิซิส (7)



รูปที่ 3.4 การย่อยสลายกรดไขมัน โดยผ่านกระบวนการเบตาออกซิเดชัน (7)

ตารางที่ 3.1 ชนิดของแบคทีเรียในขั้นตอนการย่อยสลายที่ทำให้เกิดกรด (10)

Genus	Bacterial species	Reference
Aerobacter	A. aerogenes	TOERIEN(1967a)
Aeromonas	Aeromonas sp.	KOTZE et al.(1968)
Alcaligenes	A. bookerii	TOERIEN(1967b)
	A. faccalis	McCARTY et al.(1962), TOERIEN(1967b)
	A. viscolactis	McCARTY et al.(1962)
	Alcaligenes sp.	KORZE et al.(1968)
Bacillus	B. cereus	HATTINGH et al.(1967), TOERIEN(1967a,b)
	B. cereus var mycoides	HATTINGH et al.(1967), TOERIEN(1967a,b)
	B. circulans	TOERIEN(1967a,b)
	B. endorhythmos	BUCK et al.(1954)
	B. firnus	TOERIEN(1967b)
	B. knefelkampi	COOKSON and BURBANK(1965), BURBANK et al.(1966)
	B. megaterium	HATTINGH et al.(1967), TOERIEN(1967a,b)
	B. pantothenticus	HATTINGH et al.(1967)
	B. pumilis	HATTINGH et al.(1967), TOERIEN(1967b)
	B. sphaericus	TOERIEN(1967b)
	B. subtilis	TOERIEN(1967a)
	Bacillus sp.	TOERIEN(1967a)
Bacteroides	Bacteroides sp.	POST et al.(1967)
Clostridium	C. aminovalericum	HARDMAN and ATADTMAN(1960)
	C. carmofoetidum	COOKSON and BURBANK(1965), BURBANK et al.(1966)
Escherichia	E. coli	McCARTY et al.(1962), COOKSON and BUKBANK(1965) BURBANK et al.(1966), TOERIEN(1967b)
	E. intermcdia	TOERIEN(1967a)
	Escherichia sp.	KOTZE et al.(1968)
Klebsielia	Klebsiella sp.	BURBANK et al.(1966)
Leptospira	L. bitlexa	TOERIEN(1967b)
	Leptospira sp.	MAKI(1954)
Micrococcus	M. candidus	TOERIEN(1967a,b)
	M. luteus	TOERIEN(1967b)
	M. varians	McCARTY et al.(1962), TOERIEN(1967a,b)
	M. ureae	TOERIEN(1967a,b)
	Micrococcus sp.	KOTZE et al.(1968)
Neisseria	N. catarrhalls	McCARTY et al.(1962)
Paracolobacirum	P. intermedium	TOERIEN(1967b)
	P. coliforme	TOERIEN(1967b)
Proteus	P. vulgaris	TOERIEN(1967b)
Pseudonionas	P. acruginosa	TOERIEN(1967a)
	P. ambigua	TOERIEN(1967a)
	P. denitrificans	BURBANK et al.(1966)
	P. oleovorans	TOERIEN(1967a)
	P. perolens	TOERIEN(1967b)
	P. pseudomallei	TOERIEN(1967a)
	P. reptilivora	McCARTY et al.(1962), TOERIEN(1967b)
	P. riboflavina	TOERIEN(1967b)
	Pseudonionas spp.	BURBANK et al.(1966), HATTING et al.(1967) KOTZE et al.(1968) TOERIEN(1967a,b)
Rhodopscudomonas	R. pulusiris	TOERIEN(1967b)
Sarclna	S. cooksonli	COOKSON and VURBANK(1965), BURBANK et al.(1966)
	S. lutea	McCARTY et al.(1962)
Serratia	S. indlcans	BURBANK et al.(1966)
Streptococcus	S. diploidus	BUCK et al.(1953)
Streptomyces	S. bikiniesis	TOERIEN(1967b)

ถังหมักชีว (biodigester)

ขั้นตอนการย่อยสลายที่ทำให้เกิดกรดนี้จะมีผลทำให้ค่า ซีโอดี ลดลงน้อยมาก หรืออาจกล่าวได้ว่า ไม่ลดลงเลยเมื่อไม่มีการสร้างไฮโดรเจน เนื่องจากอีเล็คตรอนที่อยู่ในซับสเตรตเดิม จะถูกส่งต่อไปให้สารอินทรีย์ที่ยังคงอยู่ในน้ำเสีย ส่วนซับสเตรตที่ลดน้อยลงไป มักเป็นผลมาจากการสูญเสียประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ (microbialinefficiency) ในระหว่างที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปของสารอินทรีย์เท่านั้น ดังนั้นเมื่อมีการสร้างไฮโดรเจน โดยที่อีเล็คตรอนถูกส่งให้กับไฮโดรเจนอิออน ทำให้ก๊าซหนีออกไปจากระบบ จึงเป็นการลดอีเล็คตรอนของซับสเตรต ทำให้สภาวะออกซิเดชันลดลง เป็นผลให้ค่าซีโอดีลดลง

3.1.2 <u>ขั้นตอนการย่อยสลายที่ทำให้เกิดก๊าซมีเทน</u>

ในขั้นตอนนี้ แบคทีเรียที่สร้างมีเทน (methanogenic bacteria) จะทำหน้าที่ย่อยสลาย ผลผลิตจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ในขั้นตอนแรก อันได้แก่ กรดอินทรีย์ คาร์บอนไดออกไซด์ ไฮโดรเจน และอื่นๆ การย่อยสลายในขั้นตอนนี้ จะเป็นการลดค่าซีโอดีในน้ำเสีย และเกิดก๊าซมีเทนขึ้น ประมาณว่าพลังงานเคมีที่อยู่ในรูป ซีโอดี กว่าร้อยละ 90 จะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของก๊าซมีเทน (11)

แบคทีเรียที่สร้างมีเทนสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ แบคทีเรียที่สร้างมีเทนได้จากอะซิเตต (acetoclastic methanogenic bacteria) และแบคทีเรียที่สร้างมีเทน ได้จากการรีดัคชันของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2 - reduction methanogenic bacteria) (ดูรูปที่ 3.1) แบคทีเรียเหล่านี้เป็นพวก Obligate anaerobic bacteria คือ เป็นแบคทีเรียที่ดำรงชีพในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนอิสระเลย แบคทีเรียที่สร้างมีเทน สามารถจะเจริญเติบโตอยู่ได้ ในช่วงพีเอชแคบๆเท่านั้น อุณหภูมิที่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตของมันส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 30 - 35 ° ซ.

กลไกการย่อยสลายที่ทำให้เกิดก๊าซมีเทนนี้เป็นที่สนใจ และศึกษากันมานานจนในปัจจุบัน มีการใช้เทคนิคสารกัมมันตรังสี และมีการแยกแบคทีเรียที่สร้างมีเทนให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ (pure culture) ออกมาได้ Balch et.al.(12) ได้แสดงชนิดของแบคทีเรียที่สร้างมีเทนที่เป็นเชื้อบริสุทธิ์ ซึ่งได้จัดลำดับเป็นหมวดหมู่ไว้ในตารางที่ 3.2 สำหรับกลไกการ

ตารางที่ 3.2 การจัดหมู่ของแบคทีเรียที่สร้างมีเทนที่เป็นเชื้อบริสุทธิ์โดย Balch และคณะ(12)

	Type strain	Former designation	Substrates for growth and CH_4 production
Order I. *Methanobacteriales* (type order)			
Family I. *Methanobacteriaceae*			
Genus I. *Methanobacterium* (type genus)			
1. *Methanobacterium formicicum* (neotype species)	MF	*Methanobacterium formicicum*	H_2, formate
2. *Methanobacterium bryantii*	M.o.H.	*Methanobacterium* sp. strain M.o.H.	H_2
Methanobacterium bryantii strain M.o.H.G.		*Methanobacterium* sp. strain M.o.H.G.	H_2
3. *Methanobacterium thermoautotrophicum*	ΔH	*Methanobacterium thermoautotrophicum*	H_2
Genus II. *Methanobrevibacter*			
1. *Methanobrevibacter ruminantium* (type species)	MI	*Methanobacterium ruminantium* strain MI	H_2, formate
2. *Methanobrevibacter arboriphilus*	DHI	*Methanobacterium arbophilicum*	H_2
Methanobrevibacter arboriphilus strain AZ		*Methanobacterium* sp. strain AZ	H_2
Methanobrevibacter arboriphilus strain DC		*Methanobacterium* strain DC	H_2
3. *Methanobrevibacter smithii*	PS	*Methanobacterium ruminantium* strain PS	H_2, formate
Order II. *Methanococcales*			
Family I. *Methanococcaceae*			
Genus I. *Methanococcus*			
1. *Methanococcus vannielii* (neotype species)	SB	*Methanococcus vannielii*	H_2, formate
2. *Methanococcus voltae*	PS	*Methanococcus* sp. strain PS	H_2, formate
Order III. *Methanomicrobiales*			
Family I. *Methanomicrobiaceae* (type family)			
Genus I. *Methanomicrobium* (type genus)			
1. *Methanomicrobium mobile* (type species)	BP	*Methanobacterium mobile*	H_2, formate
Genus II *Methanogenium*			
1. *Methanogenium cariaci* (type species)	JR1	Cariaco isolate JR1	H_2, formate
2. *Methanogenium marisnigri*	JR1	Black Sea isolate JR1	H_2, formate
Genus III. *Methanospirillum*			
1. *Methanospirillum hungarii*	JF1	*Methanospirillum hungatii*	H_2, formate
Family II. *Methanosarcinaceae*			
Genus II. *Methanosarcina* (type genus)			
1. *Methanosarcina barkeri* (type species)	MS	*Methanosarcina barkeri*	H_2, CH_3OH, CH_3NH_2, acetate
Methanosarcina barkeri strain 227		*Methanosarcina barkeri* strain 227	H_2, CH_3OH, CH_3NH_2, acetate
Methanosarcina barkeri strain W		*Methanosarcina barkeri* strain W	H_2, CH_3OH, CH_3NH_2, acetate

ย่อยสลายนั้น จากการทดลองของ Pine และ Barker (13) พบว่า การสร้างมีเทนเกิดจากกระบวนการ 2 กระบวนการคือ กระบวนการ Acetate decarboxylation และ Carbondioxide reduction ดังแสดงในสมการที่ 3.2 และ 3.3

Acetate decarboxylation : CH_3COOH ---> CH_4 + CO2 .....(3.2)

Carbondioxide reduction : CO_2+ 8H --->CH_4 + $2H_2O$ .....(3.3)

McCarty (14) และ Jeris (7) พบว่า ประมาณร้อยละ 70 ของก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้นทั้งหมดเกิดจากกระบวนการ Acetate decarboxylation

3.2 สภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการทำงานของกระบวนการหมักแบบไร้ออกซิเจน

3.2.1 อุณหภูมิ (Temperature)

อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการทำงานของกระบวนการหมักแบบไร้ออกซิเจนสามารถแบ่งออกได้เป็นสองช่วง คือ ช่วงแรกอยู่ระหว่าง 30° - 40°ซ. เรียกอุณหภูมิช่วงนี้ว่า มีโซฟิลิค (mesophilic) และช่วงอุณหภูมิระหว่าง 45° - 55° ซ. เรียกอุณหภูมิช่วงนี้ว่า เทอร์โมฟิลิค (thermophilic)

Schlenz (15) พบว่า อุณหภูมิระหว่าง 32° - 35°ซ. เป็นช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการหมักแบบไร้ออกซิเจน และมีความเป็นไปได้ทางเศรษฐศาสตร์ด้วย แต่งานวิจัยอื่นสนับสนุนช่วงอุณหภูมิที่กว้างกว่า กล่าวคือ 30 - 38° ซ. (McCarty (16) และ 26 - 40°ซ. (Eckenfelder และ O' connor) (17)

อย่างไรก็ตาม เนื่องจากกระบวนการหมักแบบไร้ออกซิเจน ต้องใช้แบคทีเรียหลายประเภท ทำปฏิกิริยาชีวเคมีหลายปฏิกิริยา ซึ่งมีความสัมพันธ์ซึ่งกันและกันอย่างใกล้ชิด ด้วยเหตุนี้การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิเพียงไม่กี่องศาอาจทำให้เสียสมดุลย์ ระหว่างจุลชีพประเภทต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกัน อันทำให้การทำงานของระบบล้มเหลวได้ ดังนั้นการรักษาระดับอุณหภูมิให้คงที่ในกระบวนการหมักแบบไร้ออกซิเจน จึงถือว่าเป็นเรื่องสำคัญมาก และสำคัญยิ่งกว่าการพยายามรักษาระดับอุณหภูมิที่จะทำให้ได้อัตราเร็วของปฏิกิริยาสูงสุดเสียอีก (4)

3.2.2 พีเอช กรดโวลาไทล์ และสภาพความเป็นด่าง (pH , Volatile Acids and Alkalinity)

เนื่องจากในกระบวนการปฏิกิริยาชีวเคมีแบบไร้ออกซิเจน ค่าพีเอช ความเป็นด่าง และกรดโวลาไทล์ที่เกิดในกระบวนการมีความสัมพันธ์ซึ่งกันและกัน ดังนั้น จึงได้กล่าวถึงความสำคัญของทั้ง 3 ตัวไปพร้อมๆ กัน

ค่าพีเอชที่เหมาะสมสำหรับการทำงานของแบคทีเรียที่สร้างมีเทน อยู่ในช่วงแคบๆ คือ 6.8 - 7.2 (18, 19) แต่ McCarty (20) เสนอว่าพีเอชที่เหมาะสมควรเป็น 6.6 - 7.6 และที่ค่าพีเอชต่ำกว่า 6.2 ประสิทธิภาพของระบบจะลดลงอย่างรวดเร็ว การควบคุมพีเอชในระบบหมักไร้ออกซิเจน ทำได้โดยการควบคุมปริมาณของกรดโวลาไทล์ (volatile acids) และสภาพความเป็นด่าง (alkalinity) โดยปกติปริมาณกรดโวลาไทล์ควรมีค่าประมาณ 50 - 500 มก./ล. เมื่อคิดอยู่ในรูปของกรดอะซิติค หากปริมาณกรดโวลาไทล์มีมากกว่า 2,000 มก./ล. อาจจะทำให้ประสิทธิภาพของระบบลดลง อย่างไรก็ตาม ปริมาณความเข้มข้นของกรดโวลาไทล์ ยังไม่สำคัญเท่ากับอัตราการเปลี่ยนแปลงของมัน ด้วยเหตุผลที่ว่า ความเข้มข้นของกรดโวลาไทล์ในระบบได้รับอิทธิพลจากแบคทีเรียทั้งสองประเภท แต่อัตราการเปลี่ยนแปลงของมัน เป็นเครื่องวัดโดยตรงที่บอกได้ก่อนถึงอัตราเร็วของปฏิกิริยา ของแบคทีเรีย ด้วยเหตุนี้การเพิ่มขึ้นหรือลดลงอย่างรวดเร็วของความเข้มข้นของกรดโวลาไทล์ แสดงว่า มีอะไรบางอย่างเกิดขึ้นกับแบคทีเรียชนิดใดชนิดหนึ่ง หรือทั้งสองชนิดในระบบ และอาจทำให้ระบบเสียสมดุลย์และล้มเหลวได้

สภาพความเป็นด่าง บอกให้ทราบถึงว่าระบบมีกำลังบัฟเฟอร์ (buffer capacity) เหลืออยู่เท่าใดในระบบหมักไร้ออกซิเจน ถ้ากำลังบัฟเฟอร์ต่ำ ปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยก็จะสามารถทำให้พีเอชลดลงได้มาก และเร็ว ซึ่งเป็นอันตรายต่อแบคทีเรียที่สร้างมีเทน ในทางตรงกันข้าม ถ้าระบบมีสภาพความเป็นด่างสูงพอ ระบบก็จะสามารถทนต่อการเปลี่ยนแปลงของกรดโวลาไทล์ โดยไม่ส่งผลกระเทือนต่อพีเอชมากนัก โดยทั่วไประบบไร้ออกซิเจน ควรจะมีสภาพความเป็นด่างประมาณ 1,500 - 2,000 มก./ล. เมื่อคิดอยู่ในรูปของแคลเซียมคาร์บอเนต

ปัจจัยที่สำคัญกว่าสภาพความเป็นด่าง คือ อัตราส่วนของกรดโวลาไทล์ต่อสภาพความเป็นด่างในรูปของไบคาร์บอเนต ตราบใดที่อัตราส่วนนี้น้อยกว่า 0.4 ระบบหมักไร้ออกซิเจน จัดว่ามีกำลังบัฟเฟอร์สูง แต่ถ้าอัตราส่วนนี้สูงกว่า 0.8 แสดงว่าระบบมีกำลังบัฟเฟอร์ต่ำมาก และพีเอช สามารถที่จะลดลงได้อย่างรวดเร็ว ถ้ามีกรดโวลาไทล์เพิ่มขึ้นแม้แต่เพียงเล็กน้อย

การเปลี่ยนแปลงพีเอช ในระบบหมักไร้ออกซิเจน นอกจากจะขึ้นอยู่กับปริมาณกรดโวลาไทล์ และสภาพความเป็นด่างแล้ว ยังขึ้นอยู่กับปริมาณของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นอีกด้วย โดยมีความสัมพันธ์ระหว่างพีเอช ไบคาร์บอเนต (bicarbonate) สภาพความเป็นด่าง และร้อยละของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ดังสมการ 3.4 (21)

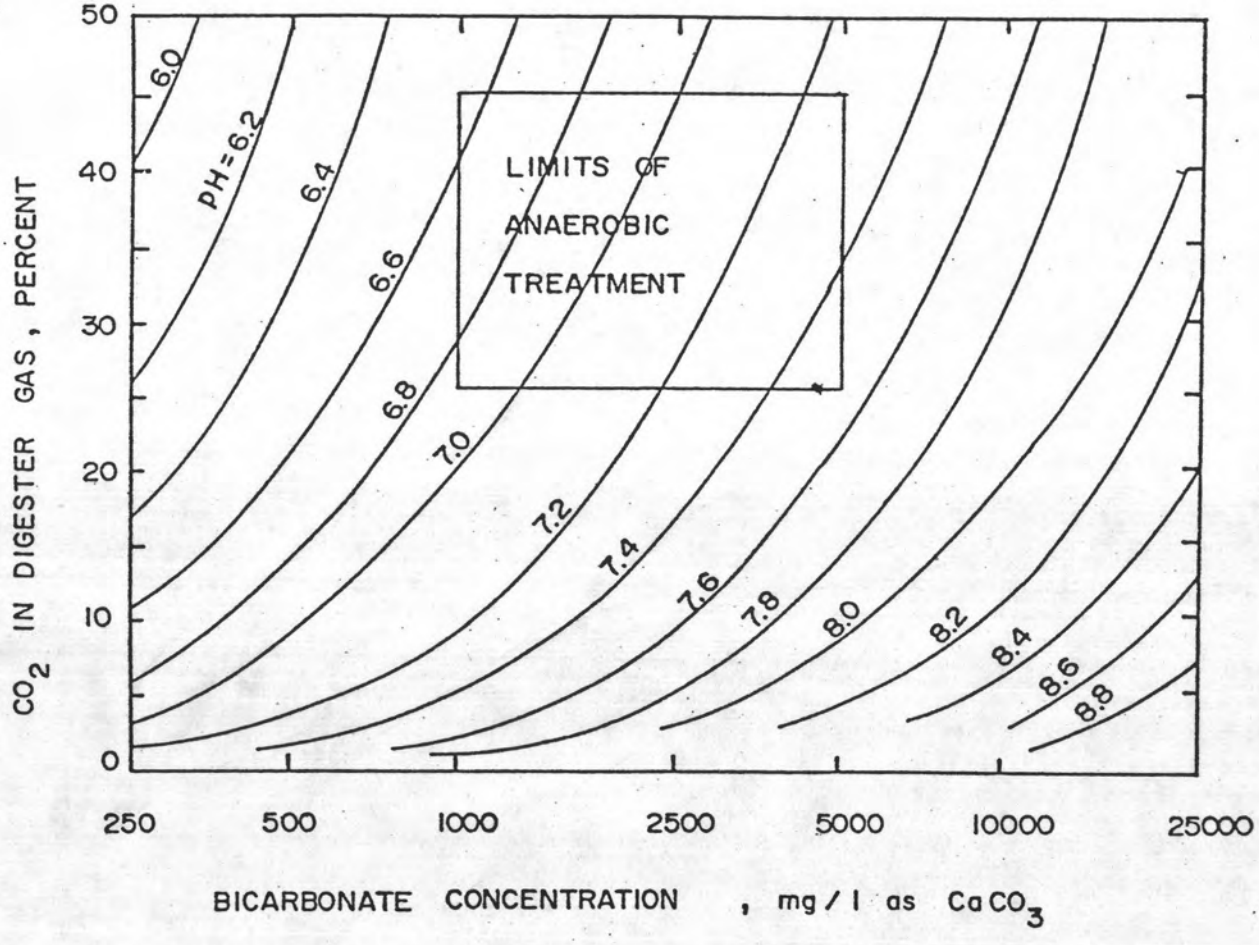
$$pH = 5.14 - \log (\%CO_2) + \log (HCO_3 \text{ as mg/l } CaCO_3) \quad \ldots\ldots (3.4)$$

McCarty (20) ได้แสดงความสัมพันธ์ระหว่างพีเอช และปริมาณความเข้มข้นของไบคาร์บอเนต ดังรูปที่ 3.5 ซึ่งจะเห็นได้ว่าปริมาณความเข้มข้นของไบคาร์บอเนตที่เหมาะสม ไม่ควรต่ำกว่า 1000 มก./ล. เมื่อคิดในรูปของแคลเซียมคาร์บอเนต เพื่อมิให้พีเอชต่ำลง จนเป็นอันตรายต่อจุลชีพในระบบ

3.2.3 <u>ความต้องการสารอาหารที่จำเป็น</u> (Nutrient Requirement)

Speece และ McCarty (22) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับสารอาหารที่จำเป็น พบว่าแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจน ต้องการธาตุไนโตรเจนประมาณ 0.106 เท่าของน้ำหนักเซลล์ และต้องการฟอสฟอรัสประมาณ 0.143 เท่าของความต้องการธาตุไนโตรเจน Sanders และ Bloodgood (23) ได้ทำการศึกษาพบว่าจุลชีพที่ไม่ใช้ออกซิเจน ต้องการฟอสฟอรัสเท่ากับ 1 ใน 7 ของปริมาณธาตุไนโตรเจน ที่ประกอบเป็นเซลล์ (N/P = 7) และ McCarty (22) กล่าวว่า ปริมาณธาตุไนโตรเจน และฟอสฟอรัสที่จุลชีพต้องการนั้นอย่างน้อยต้องเป็นไปตามอัตราส่วนดังนี้คือ BOD_L : N : P = 100 : 1.1 : 0.2

015786



รูปที่ 3.5 ความสัมพันธ์ระหว่างพีเอชกับปริมาณความเข้มข้นของ bicarbonate alkalinity ที่อุณหภูมิ 95 °F (20)

3.2.4 สารพิษ (Toxic Materials)

ในระบบหมักไร้ออกซิเจน สารที่เป็นพิษต่อจุลชีพมีหลายชนิด ความรุนแรงของพิษขึ้นอยู่กับชนิด และความเข้มข้นของสารนั้นๆ ความเป็นพิษนั้น อาจเป็นพิษโดยตรง (toxic) หรือยับยั้งการทำงานของจุลชีพ (inhibited) แต่อย่างไรก็ตาม ถ้าสารเหล่านี้มีความเข้มข้นพอเหมาะก็อาจช่วยกระตุ้นให้แบคทีเรียทำงานมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้นได้ ดังรูปที่ 3.6

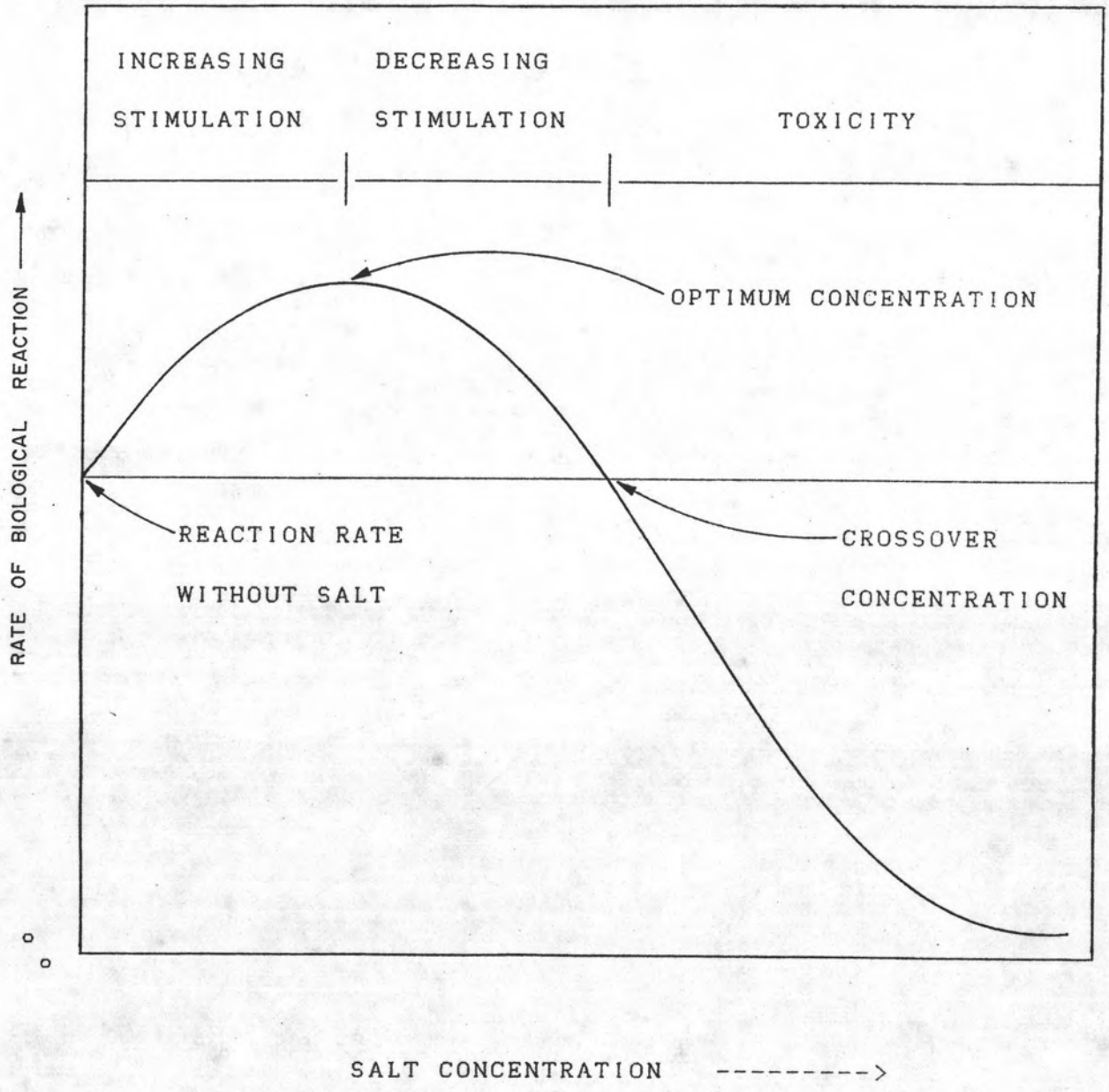
สารที่เป็นพิษต่อจุลชีพ ในกระบวนการหมักแบบไร้ออกซิเจน ได้แก่ กรดโวลาไทล์ แอมโมเนีย สารโลหะเบา สารโลหะหนัก และซัลไฟด์เป็นต้น

3.2.4.1 พิษของกรดโวลาไทล์ (Volatile Acid Toxicity)

อิทธิพลของกรดโวลาไทล์ที่มีต่อจุลชีพในกระบวนการหมักแบบไร้ออกซิเจนจะมองเห็นได้ยาก เพราะกรดเหล่านี้ส่งผลกระทบต่อพีเอชของน้ำด้วย McCarty และ McKinney (25) ได้ทำการทดลองพบว่า กรดโวลาไทล์ที่มีความเข้มข้นสูงถึง 10,000 มก./ล. จะไม่เป็นพิษโดยตรงต่อแบคทีเรียที่สร้างมีเทน ถ้ามีกำลังบัฟเฟอร์ (buffer capacity) เพียงพอ แต่ถ้ามีกำลังบัฟเฟอร์ไม่เพียงพอ จะทำให้พีเอชต่ำ ซึ่งมีผลทำให้แบคทีเรียที่สร้างมีเทนทนอยู่ไม่ได้

3.2.4.2 พิษของโลหะเบาหรือเกลืออนินทรีย์ (Alkali and Alkali Earth Salt Toxicity)

เกลือของพวกสารอนินทรีย์ที่มีพิษต่อแบคทีเรีย คือ เกลือของธาตุอัลคาไล (alkali) และอัลคาไลเอิร์ท (alkali earth) เช่น โซเดียม (Na) โปตัสเซียม (K) แคลเซียม (Ca) และแมกนีเซียม (Mg) เกลือเหล่านี้สามารถแตกตัวให้อิออนบวกที่เป็นพิษมากกว่าอิออนลบ ซึ่งความเป็นพิษของไอออนบวกแต่ละชนิดจะรุนแรงไม่เท่ากัน ดังในตารางที่ 3.3



รูปที่ 3.6 อิทธิพลของเกลือต่อปฏิกิริยาการทำงานของจุลชีพชนิดที่ไม่ใช้ออกซิเจน (24)

ตารางที่ 3.3 ปริมาณอิออนบวกที่มีผลต่อการทำงานของจุลชีพในกระบวนการหมักแบบไร้ออกซิเจน (24)

Cation	Concentration in mg/l		
	Stimulatory	Moderate Inhibition	Strong Inhibition
Sodium	100-200	3,500-5,500	8,000
Potassium	200-400	2,500-4,500	12,000
Calcium	100-200	2,500-4,500	8,000
Magnesium	75-150	1,000-1,500	3,000

3.2.4.3 <u>พิษของโลหะหนัก</u> (Heavy Metal Toxicity)

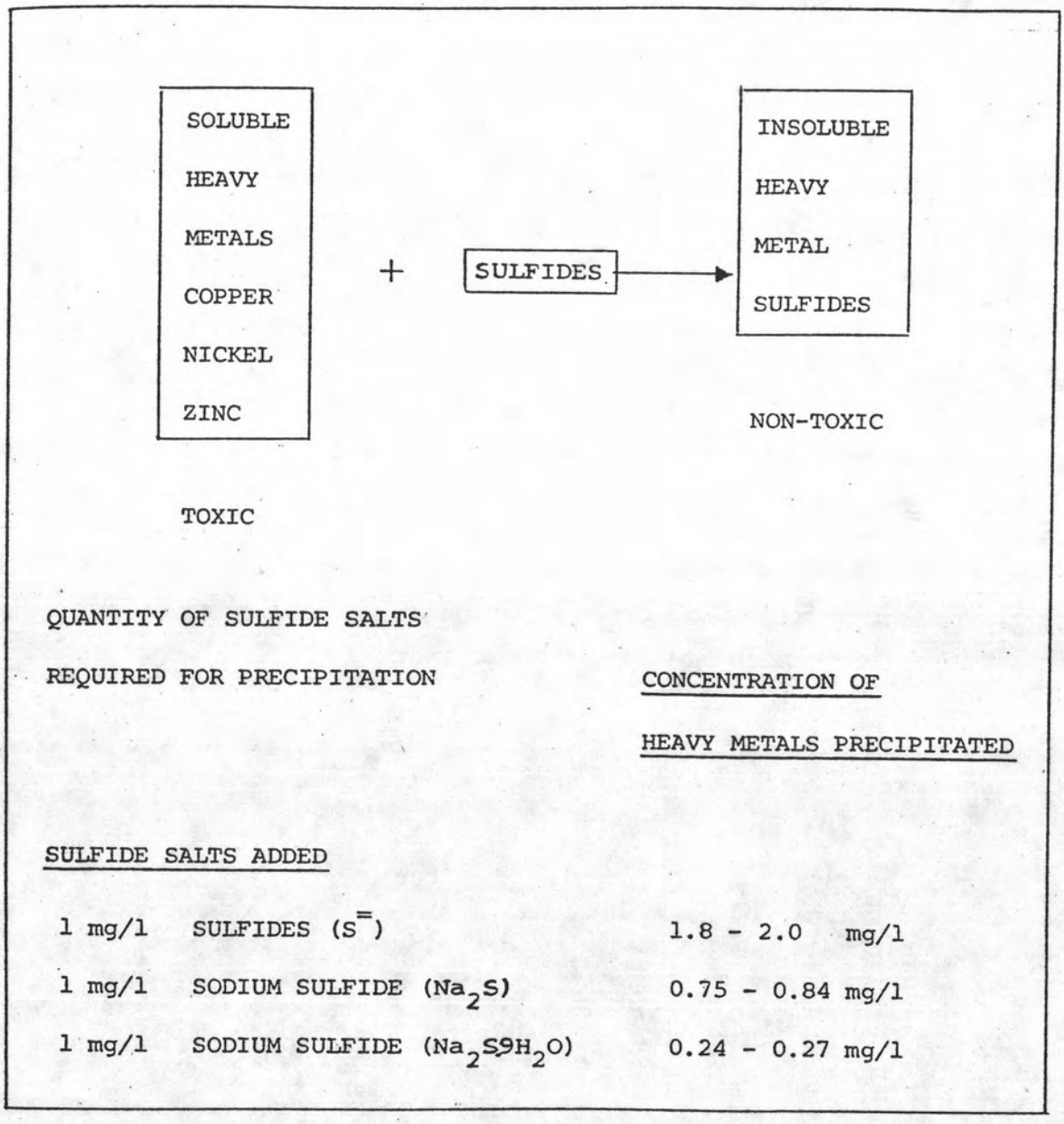
โลหะหนัก เช่น ทองแดง (Cu) สังกะสี (Zn) แคดเมียม (Cd) และปรอท (Hg) มีพิษต่อแบคทีเรียในกระบวนการหมักแบบไร้ออกซิเจน แม้ว่าจะมีระดับความเข้มข้นต่ำก็ตาม พิษของโลหะหนักขึ้นกับความสามารถในการละลายน้ำของโลหะ และปริมาณความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ที่มีอยู่ในน้ำเสีย เพราะไฮโดรเจนซัลไฟด์จะรวมกับโลหะหนักได้เกลือซัลไฟด์ ซึ่งไม่ละลายน้ำ (24) (ดังรูปที่ 3.7)

3.2.4.4 <u>พิษของแอมโมเนีย</u> (Ammonia Toxicity)

แอมโมเนียเป็นสารที่เกิดตามธรรมชาติจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนอยู่ด้วย คือ พวกโปรตีน โดยอาจอยู่ในรูปแอมโมเนียอิออน (NH_4^+) หรือก๊าซแอมโมเนีย (NH_3) ขึ้นอยู่กับค่าพีเอชของระบบ ดังแสดงในสมการที่ 3.5

$$NH_4^+ \rightleftharpoons NH_3 + H^+ \qquad (3.5)$$

ถ้าพีเอชต่ำกว่า 7.2 ปฏิกิริยาจะดำเนินไปทางซ้าย แต่ถ้าพีเอชสูงกว่า 7.2 ปฏิกิริยาจะ



รูปที่ 3.7 ปฏิกิริยาการทำลายพิษของโลหะหนัก โดยซัลไฟด์ ($S^{=}$) ในสภาวะไร้ออกซิเจนอิสระ(24)

ดำเนินไปทางขวา ซึ่ง NH_3 จะยับยั้งการทำงาน และเป็นพิษต่อแบคทีเรียชนิดไม่ใช้ออกซิเจนมากกว่า NH_4^+ (26) ซึ่งถ้า NH_3 มีความเข้มข้นเกินกว่า 1,500 มก./ล. พิษรุนแรงจะเกิดขึ้น ความเข้มข้นของ NH_4^+ จะต้องสูงถึง 3,000 มก./ล. จึงจะมีพิษเท่ากับ NH_3 ในตารางที่ 3.4 แสดงปริมาณของแอมโมเนียไนโตรเจน (NH_3- N) ที่มีผลต่อกระบวนการหมักแบบไร้ออกซิเจน

ตารางที่ 3.4 ผลของแอมโมเนียไนโตรเจนต่อกระบวนการหมักแบบไร้ออกซิเจน (24)

Ammonia Nitrogen, mg/l	Affect on Anaerobic Treatment
100 - 200	Beneficial
200 - 1,000	No Adverse Effect
1,500 - 3,000	Inhibitory at High pH Valve
> 3,000	Toxic

3.2.4.5 <u>พิษของซัลไฟด์</u> (Sulfide Toxicity)

ซัลไฟด์ที่มีอยู่ในระบบกำจัดแบบไร้ออกซิเจน อาจมีอยู่ในน้ำเสียที่เข้าสู่ระบบกำจัด หรืออาจเกิดจากการรีดัคชันของซัลเฟตที่มีอยู่ในน้ำเสีย หรือจากการย่อยสลายสารโปรตีน ซัลไฟด์ที่เกิดขึ้นจะอยู่ในรูปของซัลไฟด์ที่ละลายน้ำ หรือไม่ละลายน้ำขึ้นอยู่กับ อิออนของโลหะที่รวมอยู่ ถ้ารวมกับพวกโลหะหนักก็จะตกตะกอนลงมา จึงทำให้ไม่เป็นอันตรายต่อจุลชีพ ส่วนซัลไฟด์ที่ละลายน้ำ จะอยู่ในรูปของ H_2S (solubility) McCarty (24) พบว่า แบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนสามารถทนต่อซัลไฟด์ละลายน้ำ (soluble sulfide) ที่มีความเข้มข้น 50-100 มก./ล. ได้ และถ้าทำให้แบคทีเรียเกิดความเคยชิน (acclimation) ก่อน ก็จะสามารถทนต่อซัลไฟด์ละลายน้ำได้ถึง 200 มก./ล. แต่ถ้าซัลไฟด์ละลายน้ำมีความเข้มข้นมากกว่า 200 มก./ล. จะเป็นพิษต่อแบคทีเรีย

3.2.5 <u>ศักยภาพการให้และรับอิเล็คตรอน</u>(Oxidation-Reduction Potential)

ปฏิกิริยาการกำจัดน้ำเสียไม่ว่าจะเป็นแบบใช้ออกซิเจนหรือไม่ใช้ออกซิเจน ล้วนแต่มีกลไกพื้นฐานร่วมกัน กล่าวคือ ทั้งคู่เป็นปฏิกิริยาเคมีแบบออกซิเดชัน (oxidation-reduction reaction) หรือปฏิกิริยารีดอกซ์ (redox reaction) ซึ่งเกิดจากผลรวมของปฏิกิริยาออกซิเดชัน (ปฏิกิริยาที่มีการให้อิเล็คตรอน) และปฏิกิริยารีดัคชัน (ปฏิกิริยาที่มีการรับอิเล็คตรอน) ดังนั้นปฏิกิริยารีดอกซ์จะเกิดสมบูรณ์ได้จะต้องประกอบด้วยสารให้อิเล็คตรอน และสารรับอิเล็คตรอน

ในระบบกำจัดน้ำเสีย สารอินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำเสียจะเป็นสารให้อิเล็คตรอน (เนื่องจากมีพลังงานอยู่ในตัวสูง) และสารอย่างอื่นที่อยู่ในน้ำจะเป็นสารรับอิเล็คตรอน กล่าวคือ ถ้าสารรับอิเล็คตรอนเป็นออกซิเจน ปฏิกิริยาก็เป็นแบบใช้ออกซิเจน แต่ถ้าสารรับอิเล็คตรอนไม่ใช่ออกซิเจน แต่เป็นคาร์บอนไดออกไซด์หรือสารอื่น ปฏิกิริยาก็เป็นแบบไร้ออกซิเจน

พารามิเตอร์ที่แสดงความแตกต่างกันในแนวโน้มที่จะรับ หรือให้อิเล็คตรอน คือ ออกซิเดชัน-รีดัคชันโพเทนเชียล (oxidation-reduction potential) หรือเรียกสั้นๆว่า โออาร์พี (ORP) ซึ่งใช้สำหรับแสดงปริมาณแนวโน้มในการรับอิเล็คตรอน และถูกรีดิวซ์ ค่าของพารามิเตอร์นี้สามารถวัดได้โดยใช้วิธีไฟฟ้าเทียบกับสารมาตรฐาน ซึ่งมักเป็นไฮโดรเจน สารที่ถูกรีดิวซ์มากจะมีพลังงานมากและจะมีค่าโพเทนเชียลต่ำ นั่นก็คือ มีแนวโน้มรับอิเล็คตรอนน้อย หรืออาจกล่าวได้ว่า มีแนวโน้มให้อิเล็คตรอนสูง ในการถ่ายเทและรับอิเล็คตรอนนั้น สารที่มีโพเทนเชียลต่ำกว่าสามารถให้อิเล็คตรอนแก่สารที่มีโพเทนเชียลสูงกว่า ดังนั้นสารเคมีส่วนใหญ่สามารถเป็นได้ทั้งสารที่ให้หรือรับอิเล็คตรอน ซึ่งขึ้นอยู่กับว่าจะทำปฏิกิริยากับสารชนิดใด

ในกระบวนการหมักแบบไร้ออกซิเจน การลดค่าซีโอดีเป็นผลมาจากปฏิกิริยารีดอกซ์ โดยการถ่ายเทอิเล็คตรอนจากสารอินทรีย์ไปยังสารรับอิเล็คตรอน ซึ่งสารรับอิเลคตรอนได้แก่ คาร์บอนไดออกไซด์ กรดอะซิติค และไฮโดรเจนอิออน ตัวอย่างของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในระบบกำจัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจน แสดงไว้ในสมการต่อไปนี้

$$2\ e^- + 2\ H^+ \text{ ------> } H_2 \quad \text{.....(3.6)}$$

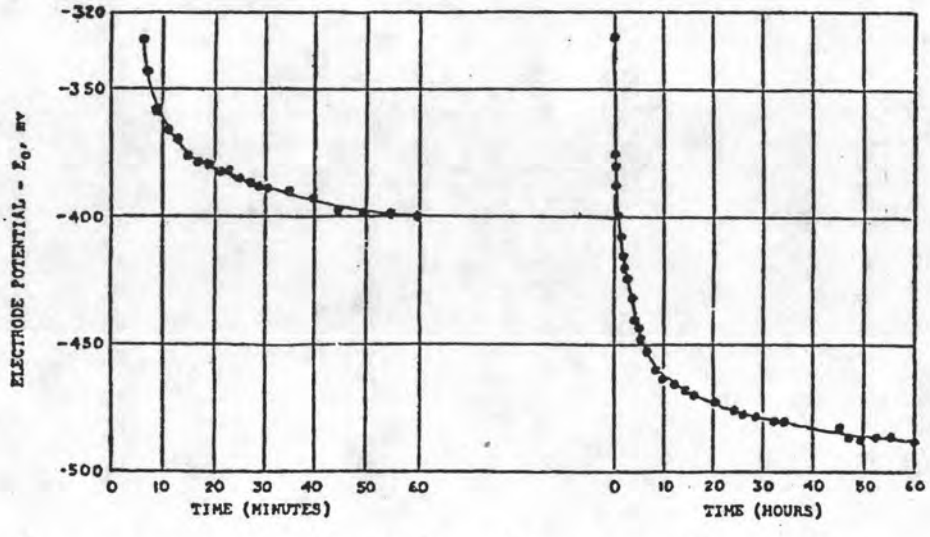
$$^1/_2CO_2 + H^+ + e^- \text{ ------> } ^1/_2CH_4 + ^1/_4H_2O \quad \text{.....(3.7)}$$

$$^1/_8CH_3COOH + H^+ + e^- \text{ ------> } ^1/_4CH_4 + ^1/_4H_2O \quad \text{.....(3.8)}$$

<u>บทบาทของโออาร์พีในกระบวนการหมักแบบไร้ออกซิเจน</u>

เนื่องจากค่าโออาร์พีมีบทบาทสำคัญต่อพฤติกรรมของระบบ ดังนั้นจึงมีนักวิจัยหลายท่านได้ให้ความสนใจต่อค่าโออาร์พี และทำการศึกษาอย่างต่อเนื่องเพื่อหาข้อสรุปต่าง ๆ ดังนี้

Longworth & MacInnes (26) พบว่า ค่าโออาร์พีมีความสัมพันธ์ต่อการเกิดกรดและการสร้างมีเทน และให้ข้อสังเกตว่า ค่าโออาร์พีจะเริ่มมีค่าคงที่ก่อนที่ระบบจะมีการผลิตก๊าซมีเทนได้ดี Blanc, et.al.(27) พบว่าค่าโออาร์พีเป็นพารามิเตอร์ที่ชี้ให้เห็นถึงผลการทำงานของกระบวนการสร้างมีเทน และโออาร์พียังมีความสัมพันธ์กับปริมาณกรดโวลาไทล์และค่าพีเอชกล่าวคือ ค่าโออาร์พีจะเพิ่มขึ้นตามปริมาณกรดโวลาไทล์ที่เพิ่มขึ้น ในขณะที่พีเอชจะมีค่าลดลง Reed & Orr (28) รายงานว่า ศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมจะช่วยให้จุลชีพสามารถดำรงอยู่ได้ด้วยดี เมื่อมีการเติมสารอาหารที่เป็นพิษอย่างอ่อน ๆ ปรากฏว่า จุลชีพจะสร้างภูมิคุ้มกันเฉพาะแห่งขึ้น โดยการลดค่าโออาร์พีลง เพื่อปรับสภาพให้เหมาะแก่การเจริญ-เติบโต Molof (29) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาที่ใช้วัด กับค่าโออาร์พี โดยพบความผิดพลาด จากการใช้เวลาในการวัดค่าโออาร์พีที่ต่างกัน และรายงานว่าเวลาที่เหมาะสมสำหรับการวัดโออาร์พี ควรประมาณ 10-48 ชั่วโมง (รูปที่ 3.8 แสดงค่าโออาร์พีที่ระยะเวลาการวัดต่างๆ กัน)



รูปที่ 3.8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างโออาร์พีกับระยะเวลาในการวัด Molof (29)

จากงานวิจัยต่าง ๆ ปรากฏว่ามีผู้วัดค่าโออาร์พีในสภาวะไร้ออกซิเจนได้ค่าต่าง ๆ กัน ดังแสดงในตารางที่ 3.5

ตารางที่ 3.5 ผลงานวิจัยเกี่ยวกับค่าโออาร์พีที่วัดได้ในสภาพไร้ออกซิเจน (30)

ผู้วิจัย	โออาร์พี (E_h), มิลลิโวลท์	หมายเหตุ
Smith & Hungate	-355 ถึง -346	ศึกษาจากการดำรงชีพของแบคทีเรียที่สร้างมีเทน
Reed & Orr	-200	ศึกษาจากแบคทีเรีย 15 ชนิด จำพวก Clostridium Spp.
Maslova & Pantskhava	-316 ถึง -356	ศึกษาจากถังหมักที่อุณหภูมิเทอร์โมฟิลิคส์
Molof	-220 ถึง -290	ศึกษาจากถังหมักไร้ออกซิเจน
Dirasian	-276 ถึง -867	ศึกษาจากถังหมักไร้ออกซิเจน
Hewitt	+50 ถึง -400	ศึกษาจากถังหมักไร้ออกซิเจน
Grune	-130 ถึง -223	ศึกษาจากถังหมักไร้ออกซิเจนที่รับน้ำเสียจากบ้านเรือน

(หมายเหตุ E_h = ค่าโออาร์พีที่วัดได้เมื่อใช้ H_2 reference electrode)

3.3 ประเภทของบ่อกำจัดน้ำเสีย

บ่อกำจัดน้ำเสีย (waste stabilization ponds) เป็นระบบกำจัดน้ำเสียที่ง่ายที่สุด และอาศัยธรรมชาติมากที่สุด รูปร่างและความลึกของบ่อขึ้นอยู่กับจุดประสงค์ในการกำจัดน้ำเสีย การทำงานของบ่ออาจเป็นแบบไหลต่อเนื่อง คือ น้ำเสียจะไหลเข้าระบบและจะมีน้ำทิ้งระบายออกจากระบบตลอดเวลา หรือแบบไหลเป็นช่วง ๆ ตัวอย่างเช่น ให้บ่อทำงานในช่วงฤดูร้อนและหนาว โดยไม่มีการระบายน้ำออกจากบ่อ แต่เมื่อถึงฤดูฝนก็ยอมให้มีการระบายน้ำออกได้ เป็นต้น บ่อกำจัดน้ำเสียใช้กันมากในการกำจัดน้ำเสียจากชุมชน และโรงงานอุตสาหกรรมที่ซึ่งมีพื้นที่มาก และราคาที่ดินไม่สูงนัก

การจำแนกประเภทของบ่อกำจัดน้ำเสีย อาจกระทำได้หลายวิธี แต่วิธีที่นิยมที่สุด คือ จำแนกตามระดับออกซิเจนที่มีในบ่อ ซึ่งแบ่งได้ดังนี้

3.3.1 บ่อแอโรบิค (Aerobic Ponds)

บ่อชนิดนี้มีออกซิเจนตลอดทั้งบ่อ หรืออาจกล่าวได้ว่ามีสาหร่ายสีเขียวอยู่ตลอดทั้งบ่อ บ่อแอโรบิคมักรู้จักในชื่อว่า High rate oxidation pond เนื่องจากถูกควบคุมให้มีออกซิเจนทั้งบ่อ ความลึกของบ่อจึงถูกจำกัดเป็นอย่างมาก โดยปกติมักไม่ลึกเกินกว่า 0.3 เมตร บ่อแอโรบิคจำเป็นต้องมีการกวนครั้งหนึ่งหรือสองครั้งในแต่ละวัน เพื่อให้ตะกอนที่ตกอยู่ลอยขึ้นมา และจะต้องมีการแยกสาหร่ายออกจากน้ำทิ้ง บ่อชนิดนี้มีประสิทธิภาพการกำจัดบีโอดีสูง กล่าวคือ สามารถกำจัดบีโอดีได้ ประมาณ 80-95 % (31) แต่อย่างไรก็ดีก็มีข้อเสียคือ ต้องการผู้ที่มีความชำนาญในการควบคุมการทำงาน และบำรุงรักษาโรงกำจัดสาหร่าย

3.3.2 บ่อกึ่งแอโรบิค (Facultative Ponds)

บ่อประเภทนี้มีออกซิเจนอยู่ในตอนบนเท่านั้น ส่วนล่างของบ่อไม่มีออกซิเจนหรืออยู่ในสภาวะไร้ออกซิเจน ลักษณะเช่นนี้ทำให้บ่อแบบนี้มีความลึกมากกว่าแบบแอโรบิคคือ มีความลึกประมาณ 1.0-2.0 เมตร น้ำเสียที่เข้าสู่บ่อจะถูกกักเป็นเวลาหลายวัน เพื่อให้คงตัวและไม่น่ารังเกียจเมื่อปล่อยลงสู่แหล่งน้ำ กระบวนการที่เป็นกลไกสำคัญในการทำลายความ

สกปรก จะมีทั้งทางฟิสิกส์ เคมี และชีววิทยา ซึ่งเรียกกันว่า การทำความสะอาดตัวเอง (self - purification) กระบวนการดังกล่าวจะดำเนินไปได้ต้องอาศัยการทำงานร่วมกันของแบคทีเรีย และสาหร่ายสีเขียว กล่าวคือ เมื่อน้ำเสียไหลเข้ามาในบ่อจะมีการตกตะกอนเกิดขึ้น ทำให้มีสลัดจ์เกิดขึ้นที่ก้นบ่อ พร้อม ๆ กันนั้นส่วนที่ไม่ตกตะกอนจะถูกย่อยสลายกลายเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส ซึ่งจะถูกสาหร่ายสีเขียวใช้ในการขยายพันธุ์ และสร้างออกซิเจน แบคทีเรียก็จะใช้ออกซิเจนที่สาหร่ายผลิตขึ้นในการหายใจ และย่อยสลายสารอินทรีย์ ดังนั้นแบคทีเรียและสาหร่ายสีเขียวภายในบ่อจึงมีชีวิตอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัยกัน โดยทั่วไปแล้วจะใช้บ่อกึ่งแอโรบิคนี้ในการกำจัดน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดขั้นต้นแล้ว

3.3.3 บ่อหมักไร้ออกซิเจน (Anaerobic Ponds)

บ่อประเภทนี้ มีการทำงานคล้ายคลึงกับถังหมักไร้ออกซิเจนที่ไม่มีฝาปิด สภาวะไร้ออกซิเจนตลอดทั้งบ่อ เป็นเงื่อนไขสำคัญของบ่อหมัก อาจมีออกซิเจนปรากฏอยู่ในบริเวณใกล้ผิวน้ำเนื่องจากไม่มีฝาปิด การรักษาสภาวะไร้ออกซิเจนกระทำได้โดยการให้บ่อหมักได้รับความสกปรกในอัตราสูงมาก จนกระทั่งสาหร่ายสีเขียว และบรรยากาศไม่สามารถสร้างหรือถ่ายเทออกซิเจน ให้กับน้ำได้ทันกับอัตราการใช้ออกซิเจน บ่อประเภทนี้มักมีความลึกประมาณ 2-4 เมตร ซึ่งนับว่าสูงมากกว่าบ่อแบบอื่นๆ

3.4 การกำจัดน้ำเสียด้วยบ่อหมักไร้ออกซิเจน

3.4.1 ลักษณะทั่วไปและการทำงานของบ่อหมักไร้ออกซิเจน

บ่อหมักไร้ออกซิเจนเป็นวิธีกำจัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจนที่ง่ายที่สุด กล่าวคือ เป็นระบบที่ไม่ใช้เครื่องจักรกล และอาศัยธรรมชาติมากที่สุด ระบบบ่อหมักไร้ออกซิเจนได้ถูกพัฒนาขึ้นมาโดยบังเอิญในประเทศออสเตรเลีย ทั้งนี้เพราะวิศวกรบังเอิญปล่อยสารอินทรีย์จำนวนมากเกินไป ลงในบ่อกำจัดน้ำเสียแบบกึ่งแอโรบิค (facultative oxidation pond) จนทำให้ไม่มีออกซิเจนเหลืออยู่ในน้ำ แต่ก็ปรากฏว่าบ่อยังสามารถกำจัดน้ำเสียได้ โดยเหตุนี้วิศวกรจึงมีการออกแบบระบบบ่อกำจัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจน ด้วยเกณฑ์ออกแบบที่สูงกว่าบ่อกึ่งแอโรบิค เพื่อกำจัดออกซิเจนออกจากน้ำ

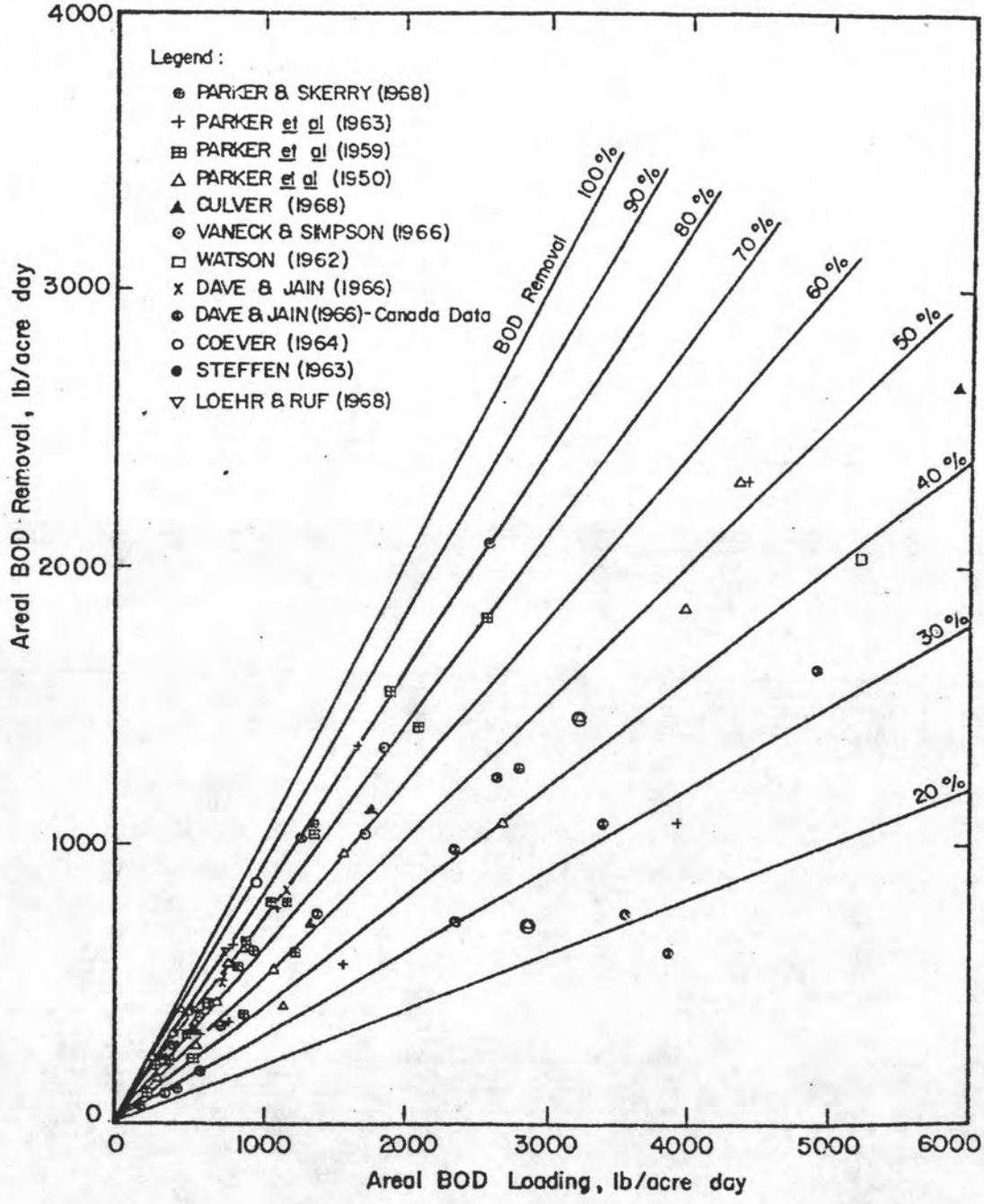
บ่อหมักไร้ออกซิเจนมักเป็นบ่อดินขนาดใหญ่ มีความลึก 2-4 เมตร น้ำเสียจะไหลเข้าไปในบ่อ และถูกทิ้งไว้เป็นเวลานานหลายวัน จึงไหลออกจากบ่อ ในระหว่างที่น้ำเสียอยู่ในบ่อ สารอินทรีย์ในน้ำเสียจะถูกแบคทีเรียทำการย่อยสลาย ด้วยกระบวนการหมักแบบไร้ออกซิเจน ซึ่งผลสุดท้ายของกระบวนการจะได้ก๊าซมีเทน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และเซลล์ใหม่

3.4.2 <u>แฟคเตอร์ที่มีผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของบ่อหมักไร้ออกซิเจน</u>

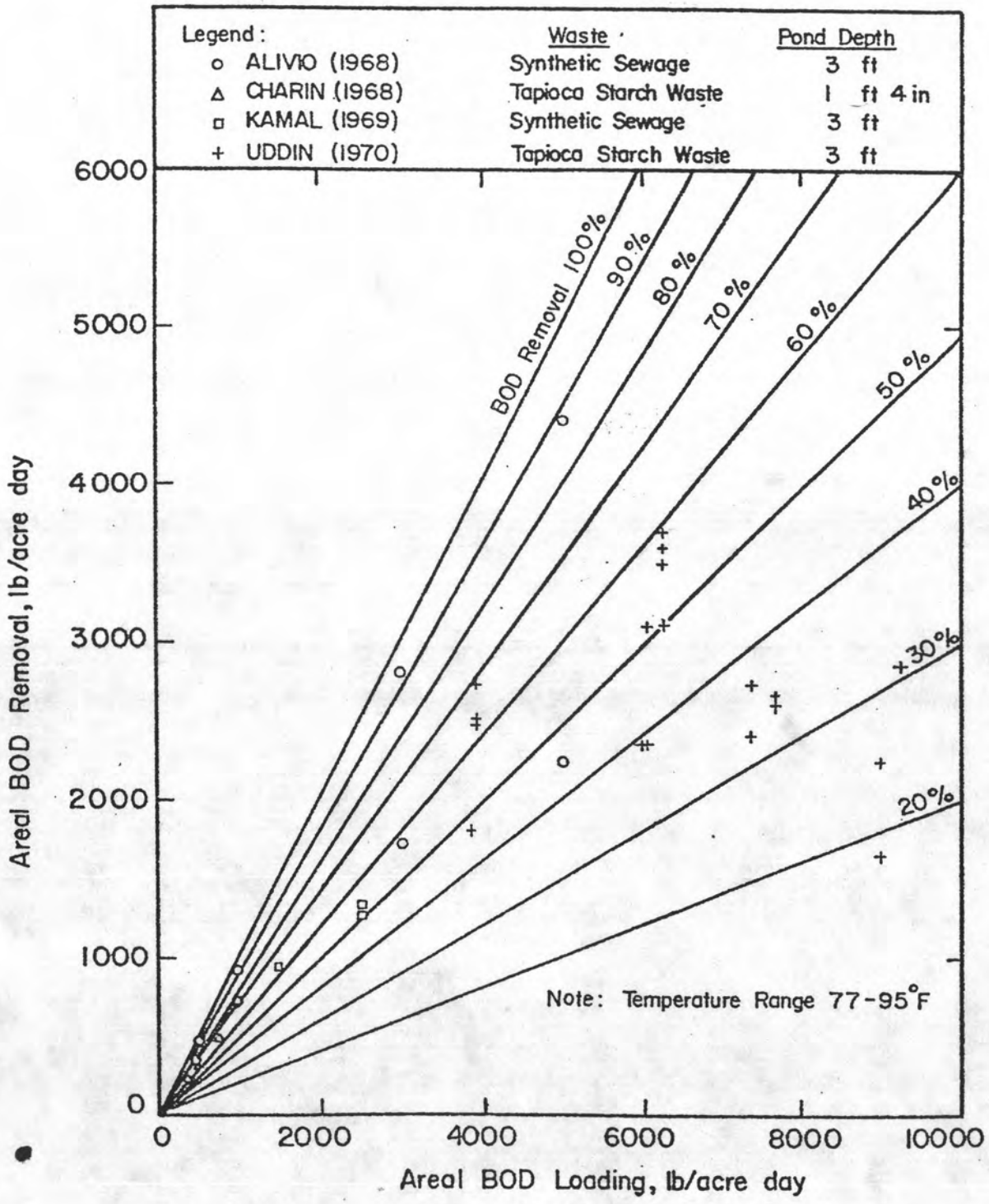
3.4.2.1 <u>ออร์แกนิคโหลดดิง</u> (Organic Loading)

จากการวิเคราะห์และวิจัยของ McGarry & Pescod (32) ปรากฏว่า ออร์แกนิคโหลดดิงเป็นแฟคเตอร์ที่มีความสำคัญที่สุด ที่กำหนดความสามารถในการกำจัดบีโอดี ออร์แกนิคโหลดดิงที่ใช้ในการออกแบบ และควบคุมบ่อกำจัดน้ำเสีย คือ Areal organic loading ซึ่งเป็นบีโอดีโหลด (BOD load) ที่คิดต่อพื้นที่ผิวน้ำและมีหน่วยเป็นปอนด์บีโอดี ต่อเอเคอร์ต่อวัน หรือ กรัมบีโอดีต่อตร.ม. ต่อวัน อันที่จริงแล้วบีโอดีโหลดดิงที่คิดต่อปริมาตรหรือความจุน้ำซึ่งเรียกว่า Volumetric organic loading จะมีความหมายดีกว่า Areal organic loading ในด้านต่างๆ (33, 34) แต่ความนิยมในอดีตมักใช้ Areal loading กับบ่อหมักเช่นเดียวกับที่ใช้กับบ่อแอโรบิค ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าทำให้สามารถเห็นความแตกต่าง ของเกณฑ์ออกแบบระหว่างบ่อกำจัดน้ำเสียทั้งสองแบบ ข้อมูลที่ได้จากการรวบรวมงานวิจัย ของนักวิจัยหลาย ๆ ท่าน ที่แสดงถึงอิทธิพลของ Areal BOD_5 loading ที่มีต่อประสิทธิภาพการทำงานของบ่อหมักไร้ออกซิเจน แสดงไว้ในรูปที่ 3.9 และ 3.10 ข้อมูลดังกล่าวมิได้กล่าวถึงแฟคเตอร์อื่น ๆ เช่น พีเอช เวลากักน้ำ และอุณหภูมิ ดังนั้นรูปที่ 3.9 และ 3.10 จึงอธิบายได้เพียงว่า ความสามารถในการกำจัดบีโอดีเพิ่มขึ้นเมื่อ Areal BOD_5 loading เพิ่มขึ้น

จากรายงานของ Enders et. al. (35) พบว่าในการกำจัดน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์ ด้วยระบบบ่อหมักไร้ออกซิเจน ประสิทธิภาพในการกำจัดบีโอดีจะสูงถึง 90% เมื่อให้ Areal BOD loading เท่ากับ 16,600 ปอนด์บีโอดีต่อเอเคอร์ต่อวัน Van Eck et. al. (36) รายงานว่า ประสิทธิภาพในการกำจัดบีโอดีจะอยู่ระหว่าง 62% และ 81% ที่ Areal BOD loading เท่ากับ 1,692 และ 2,590 ปอนด์บีโอดีต่อเอเคอร์



รูปที่ 3.9 ผลการทำงานของบ่อหมักจากแหล่งข่าวสารต่าง ๆ (31)



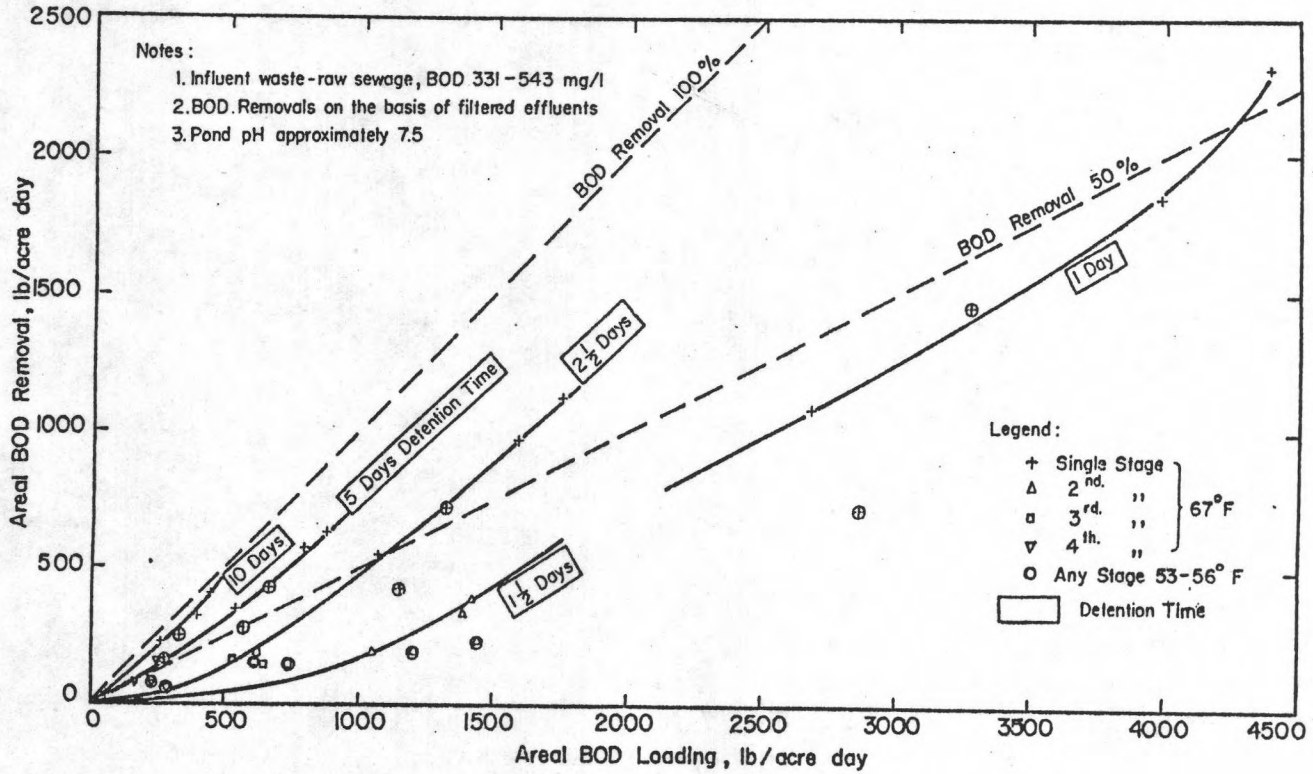
รูปที่ 3.10 ผลการทำงานของบ่อหมักที่ทำการทดลองในประเทศไทย (31)

ต่อวัน และจากการทดลองของ Uddin (37) พบว่า การกำจัดน้ำเสียจากโรงงานแป้งมันสำปะหลัง โดยใช้ Areal BOD loading เท่ากับ 6,000 ปอนด์บีโอดีต่อเอเคอร์ต่อวัน จะทำให้ความสามารถในการกำจัดบีโอดีสูงสุด และถ้า Areal BOD loading มากกว่า 6,000 ปอนด์บีโอดีต่อเอเคอร์ต่อวัน จะทำให้น้ำที่ผ่านการกำจัดมีพีเอชต่ำกว่า 6 ซึ่งจะส่งผลต่อการทำงานของบ่อหมักไร้ออกซิเจน ดังนั้นจึงอาจสรุปได้ว่า ความสามารถในการกำจัดบีโอดีจะเพิ่มขึ้นเมื่อ Areal BOD loading เพิ่มขึ้นตราบเท่าที่ พีเอชและสภาวะแวดล้อมอื่นๆ อยู่ในช่วงที่เหมาะสม

3.4.2.2 <u>เวลากักน้ำ</u> (Detention Time)

เวลากักน้ำเป็นแฟคเตอร์ที่สำคัญแฟคเตอร์หนึ่ง ในการกำหนดความสามารถในการกำจัดบีโอดี รองมาจากออร์แกนิคโหลดดิง Amalorpavan (32) พบว่า อัตราการย่อยสลายในกระบวนการหมักแบบไร้ออกซิเจนจะเพิ่มขึ้นตามเวลาที่เพิ่มขึ้น จนถึงค่าสูงสุดค่าหนึ่ง ต่อจากนั้นก็จะลดลงและจากการศึกษาของ Loehr (38) พบว่า ในการกำจัดน้ำเสียจากโรงโคนม ที่มีความเข้มข้นบีโอดีประมาณ 1,000 มก./ล. ที่เวลากักน้ำมากกว่า 4 วัน มิได้ทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของบ่อเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับความคิดของ Amalorpavan

Parker et. al.(32) ได้ทำการศึกษาถึงอิทธิพลของเวลากักน้ำ ที่มีต่อการทำงานของบ่อหมักไร้ออกซิเจน (ดูรูปที่ 3.11) พบว่า ประสิทธิภาพในการกำจัดบีโอดีจะเพิ่มขึ้นเมื่อให้เวลากักน้ำเพิ่มขึ้น และที่เวลากักน้ำเดียวกันจะพบว่า เมื่อใช้ Areal BOD loading เพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพในการกำจัดบีโอดีก็จะเพิ่มขึ้นด้วย Alivio (39) ได้รวบรวมผลจากการศึกษา การทำงานของบ่อหมักไร้ออกซิเจน ที่ใช้น้ำเสียสังเคราะห์ป้อนให้กับระบบ และพบว่าเวลากักน้ำมีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพในการกำจัดบีโอดี ซึ่งผลดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ Parker McGarry & Pescod (32) ได้ให้ความเห็นที่ต่างออกไป โดยชี้ให้เห็นว่า เวลากักน้ำมิได้มีอิทธิพลต่อความสามารถในการกำจัดบีโอดี ของบ่อหมักไร้ออกวิเจนอย่างมีนัยสำคัญ แต่สิ่งที่น่าจะมีอิทธิพลต่อการกำจัดบีโอดี คือ ระยะเวลาที่ตะกอนสลัดจ์อยู่ในบ่อ (SRT) ผลของเวลากักน้ำที่แท้จริงก็คือการรักษาตะกอนแบคทีเรียมิให้หลุดออกจากระบบ เพราะถ้าเวลากักน้ำต่ำเกินไป จะมีผลทำให้ตะกอนแบคทีเรียหลุดจากระบบได้มาก ซึ่งมีผลทำให้ SRT ลดลง และทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดบีโอดีลดลง



รูปที่ 3.11 อิทธิพลของเวลากักน้ำที่มีต่อการทำงานของบ่อหมัก (31)

3.4.2.3 อุณหภูมิ (Temperature)

อุณหภูมิ เป็นแฟคเตอร์ที่เกี่ยวกับสภาวะแวดล้อม ที่มีผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของบ่อหมักไร้ออกซิเจน Loehr (38) ชี้ให้เห็นว่า การทำงานของบ่อหมักไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิต่ำ จะทำให้ระบบล้มเหลวได้ และเสนอว่าการทำงานของบ่อหมักไร้ออกซิเจนจะมีประสิทธิภาพดี ที่อากาศอบอุ่น และประสิทธิภาพจะต่ำ ที่อากาศเย็น Etzel (40) ได้ทำการศึกษาพบว่า ในการกำจัดน้ำเสียที่มีความเข้มข้นของสารอินทรีย์สูง ประสิทธิภาพการกำจัดบีโอดีเท่ากับ 90% ที่อุณหภูมิ 21 °ซ และที่อุณหภูมิ 5 °ซ ประสิทธิภาพการกำจัดเท่ากับ 40% McIntosh & McGeorge (41) รายงานว่าประสิทธิภาพในการกำจัดบีโอดีของบ่อหมักไร้ออกซิเจนเท่ากับ 58% ที่อุณหภูมิ 15 °ซ ในฤดูหนาว และจะเท่ากับ 92% ที่อุณหภูมิ 32 °ซ ในฤดูร้อน

3.4.3 ข้อดีและข้อเสียของบ่อหมักไร้ออกซิเจน

ข้อดี

1. สามารถกำจัดน้ำเสียที่มีความเข้มข้นของสารอินทรีย์สูง
2. ไม่สิ้นเปลืองพลังงานในการเติมอากาศ เพราะบ่อหมักไร้ออกซิเจนไม่ต้องการใช้ออกซิเจนในการทำงาน
3. เนื่องจากบ่อหมักไร้ออกซิเจน สามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิบรรยากาศประมาณ 30-38 °ซ ดังนั้นบ่อหมักไร้ออกซิเจนจึงเหมาะที่จะใช้ในประเทศไทย เพราะไม่ต้องเสียพลังงานในการเพิ่มอุณหภูมิ
4. ลดปัญหาการกำจัดกากตะกอน เนื่องจากสารอินทรีย์ที่ถูกย่อยสลายจะเปลี่ยนเป็นมวลของจุลชีพ ประมาณร้อยละ 10-20 ในขณะที่ระบบใช้ออกซิเจน สารอินทรีย์ที่ถูกย่อยสลายจะเปลี่ยนเป็นมวลจุลชีพประมาณร้อยละ 50
5. ต้องการอาหารเสริมน้อยกว่าระบบที่ใช้ออกซิเจน
6. ควบคุมได้ง่าย และไม่ต้องการผู้ควบคุมที่มีความรู้สูง

ข้อเสีย

1. จุลชีพเจริญเติบโตช้า จึงต้องใช้ระยะเวลาในการเริ่มเลี้ยงจุลชีพ (start up) นาน
2. ต้องใช้พื้นที่มาก ทำให้ไม่เหมาะที่จะสร้างในสถานที่ที่ซึ่งมีที่ดินราคาสูง
3. อาจมีกลิ่นเหม็น อันเนื่องจากก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) หรือสารประกอบซัลไฟด์อื่นๆ ซึ่งเกิดขึ้นในระหว่างการกำจัดน้ำเสียแบบไร้-ออกซิเจน

3.5 ลักษณะการทำงานของบ่อหมักไร้ออกซิเจนแบบสองขั้นตอน

ดังได้กล่าวมาแล้ว ขั้นตอนในการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยกระบวนการหมักแบบไร้ออกซิเจนมีอยู่ 2 ขั้นตอนคือ ขั้นตอนการย่อยสลายที่ทำให้เกิดกรด และขั้นตอนการย่อยสลายที่ทำให้เกิดก๊าซมีเทน อัตราการย่อยสลายในขั้นตอนการย่อยสลายที่ทำให้เกิดก๊าซมีเทนช้ามากเมื่อเปรียบเทียบกับขั้นตอนการย่อยสลายที่ทำให้เกิดกรด ดังนั้นในระบบบ่อหมักไร้ออกซิเจนทั่วไป ซึ่งปฏิกิริยาชีวเคมีทั้ง 2 ขั้นตอนเกิดขึ้นในบ่อหมักพร้อมกัน ปฏิกิริยาชีวเคมีของการหมักจึงถูกควบคุมด้วยขั้นตอนการย่อยสลายที่ทำให้เกิดก๊าซมีเทน ในทางปฏิบัติที่กระทำกันก็คือ การควบคุมสภาวะแวดล้อมให้เหมาะสมกับการทำงานของแบคทีเรียที่สร้างมีเทน โดยการควบคุมอัตราการป้อนน้ำเสียไม่ให้สูงจนเกินไป เพื่อให้แบคทีเรียที่สร้างมีเทนสามารถใช้กรดอินทรีย์จากขั้นตอนการย่อยสลายที่ทำให้เกิดกรดได้ทัน เพราะถ้าอัตราการป้อนน้ำเสียสูงจนเกินไปจะทำให้กรดอินทรีย์ ซึ่งเป็นผลิตผลจากขั้นตอนการย่อยสลายที่ทำให้เกิดกรดมีมาก จนไประงับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่สร้างมีเทน ทำให้ไม่สามารถเกิดการย่อยสลายในขั้นตอนที่สองได้ เรียกว่าเกิด "Stuck digestion" ขึ้น ทำให้ระบบทำงานล้มเหลวในที่สุด

การใช้บ่อหมักไร้ออกซิเจนแบบสองขั้นตอน โดยการแยกบ่อหมักออกเป็น 2 บ่อ บ่อแรกเป็นขั้นตอนการย่อยสลายที่ทำให้เกิดกรด และบ่อที่สองเป็นขั้นตอนการย่อยสลายที่ทำให้เกิดก๊าซมีเทน จะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของบ่อหมักให้สูงขึ้นได้ ทั้งนี้เนื่องจากแบคทีเรียที่สร้างกรด และแบคทีเรียที่สร้างมีเทนในบ่อหมักที่แยกออกจากกัน จะสามารถถูกควบคุมให้เกิดสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการทำงาน ของแบคทีเรียแต่ละพวก สำหรับบ่อแรกซึ่งเป็นขั้นตอนการย่อยสลายที่ทำให้เกิดกรด เรียกว่า บ่อกรด และบ่อที่สองซึ่งเป็นขั้นตอนการย่อยสลายที่ทำให้เกิดมีเทน เรียกว่า บ่อมีเทน น้ำเสียจะถูกป้อนเข้าสู่บ่อกรดก่อน

จากนั้นน้ำทิ้งที่ออกจากบ่อกรดจะเข้าสู่บ่อมีเทน เพื่อการกำจัดสารอินทรีย์และผลิตก๊าซมีเทนต่อไป บ่อมีเทนนี้ต้องมีขนาดใหญ่กว่าบ่อกรด เนื่องจากปฏิกิริยาชีวเคมีในขั้นตอนการย่อยสลายที่ทำให้เกิดก๊าซมีเทน ช้ากว่าในขั้นตอนการย่อยสลายที่ทำให้เกิดกรดดังที่กล่าวมาแล้ว

3.6 การศึกษาวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Ghosh et al. (42,43,44) เป็นนักวิจัยกลุ่มแรกที่ได้ทำการศึกษาทดลองระบบหมักไร้ออกซิเจนแบบสองขั้นตอนขึ้นในห้องปฏิบัติการ ซึ่งสรุปผลได้ว่าระบบหมักไร้ออกซิเจนแบบสองขั้นตอนดีกว่าระบบหมักไร้ออกซิเจนแบบขั้นตอนเดียว กล่าวคือ ปี 1975 Ghosh et al. ได้ทำการศึกษาการหมักแบบสองขั้นตอนโดยการแยกแบคทีเรียพวกสร้างกรด และแบคทีเรียพวกสร้างมีเทนออกจากกัน โดยการควบคุมอัตราการป้อนสารอินทรีย์ที่เหมาะสม ซึ่งสรุปผลได้ว่าในถังหมักกรด เวลาในการกำจัดที่เหมาะสมมีค่าอยู่ระหว่าง 10 ถึง 24 ชั่วโมง และค่าออร์แกนิคโหลดดิงที่เหมาะสมมีค่าอยู่ระหว่าง 31.92 ถึง 80.16 กก.VS/ลบ.ม-วัน โดยการทดลองนี้ใช้เวลาในการกำจัดในถังหมักมีเทนคงที่ที่ 6.46 วัน ซึ่งดีกว่าระบบหมักแบบขั้นตอนเดียวที่ต้องใช้เวลาในการกำจัดถึง 14 วันหรือมากกว่า

ปี 1982 Ghosh et al. ทำการทดลองระบบหมักไร้ออกซิเจนแบบสองขั้นตอนเปรียบเทียบกับระบบหมักแบบขั้นตอนเดียว โดยใช้น้ำเสียจากโรงงานผลิตเครื่องดื่ม ได้ผลการทดลองตามตารางที่ 3.6 ซึ่งจะเห็นได้ว่าประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีของระบบหมักไร้ออกซิเจนแบบสองขั้นตอนสูงกว่าระบบหมักไร้ออกซิเจนแบบขั้นตอนเดียว และสามารถรับออร์-แกนิคโหลดดิงได้สูงกว่าด้วย และเมื่อพิจารณาถึงสมรรถนะการทำงานของระบบหมักกรด โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นของกรดโวลาไทล์ต่อซีโอดี (ที่กรองแล้ว) ของน้ำที่ออกจากระบบหมักกรดพบว่ามีค่า 43 %

Xu Jie-quan et al.(45) ทำการศึกษาขั้น pilot scale เพื่อผลิตก๊าซชีวภาพจากมูลสุกร ระบบหมักที่ใช้ทดลองประกอบด้วยถังหมักกรด มีความจุ 1.97 ลม.ม และถังหมักมีเทนมีความจุ 3.18 ลม.ม จากผลการทดลอง สรุปได้ว่า ก๊าซมีเทนส่วนใหญ่เกิดจากถังหมักมีเทน และพบว่าถังหมักมีเทนมีจำนวนแบคทีเรียพวกสร้างมีเทนสูงกว่าถังหมักกรดถึง 104 เท่า

ตารางที่ 3.6 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการทำงานระหว่างระบบหมักไร้ออกซิเจนแบบสองขั้นตอนกับระบบหมักไร้ออกซิเจนแบบขั้นตอนเดียวจากผลการทดลองในห้องปฏิบัติการ (44)

Item	Two – Stage *			Single Stage
	Acid	Methane	System	
COD Loading;kg/m^3-d	20.5	-	6.1	0.8
Influent COD;mg/l	45,000	-	45,000	12,000
Hydraulic Retention Time;days	2.2	5.2	7.4	15
COD Removal;%	59	98	96	84
Effluent VFA;mg/l	7,880	450	450	180
Filtrate Effluent COD;mg/l	18,380	455	455	–
Effluent pH	4.7	7.5	7.5	6.8
Gas Production Rate;m^3/m^3-d	1.03	3.68	2.9	0.4

* First - stage was CSTR and second stage was anaerobic filter

I 10304502

ชาดา ฉัตรชานี(46) ได้วิจัยเกี่ยวกับการกำจัดน้ำเสียจากโรงงานแป้งมันสำปะหลังโดยกระบวนการไร้ออกซิเจนแบบสองขั้นตอน โดยทำการเปรียบเทียบกับระบบหมักแบบขั้นตอนเดียว ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 3.7 ซึ่งจะเห็นได้ว่าระบบหมักแบบสองขั้นตอนสามารถรับออร์แกนิคโหลดดิงได้สูงกว่าระบบหมักแบบขั้นตอนเดียว และมีขนาดของถังหมักเล็กกว่า 1 เท่าตัว ทั้งยังให้อัตราการเกิดก๊าซมีเทนในขนาดถังหมักที่เท่ากันสูงกว่า อีกทั้งยังให้เปอร์เซนต์มีเทนเฉลี่ยในก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นสูงกว่าด้วย และเมื่อพิจารณาถึงสมรรถนะการทำงานของระบบหมักกรดพบว่ามีค่า 43.5%

ตารางที่ 3.7 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการทำงานระหว่างระบบหมักแบบสองขั้นตอนกับระบบหมักแบบขั้นตอนเดียว

Item	Two - Stage			Single Stage
	Acid	Methane	System	
COD Loading;kg/m^3- d	21.76	3.06	3.63	1.64
Hydraulic Retention Time;days	1	5	6	13
COD Removal;%	38.9	95.8	97.1	98.4
Effluent VFA;mg/l	5,790	480	480	426
Filtrate Effluent COD;mg/l	13,290	636	636	-
Effluent pH	5.97	7.5	7.5	7.31
Gas Production Rate;m^3/m^3-d	1.471	1.295	1.325	0.798
CH_4 Composition;%	13.5	61.7	52.9	46.8