บทที่ 3
ทฤษฎีและแนวความคิด

3.1 จุลชีวเคมีของกระบวนการไม่ใช้ออกซิเจน

กลไกกระบวนการไม่ใช้ออกซิเจนดังกล่าวสรุปได้ว่า*

*การย่อยสลายแบบนี้เกิดในสภาพแวดล้อมที่ไม่ใช้ออกซิเจน ปฏิกิริยาการบำบัดน้ำเสียไม่ว่าจะเป็นแบบใช้ออกซิเจนหรือไม่ใช้ออกซิเจนล้วนมีกลไกพื้นฐานร่วมกัน กล่าวคือทั้งคู่เป็นปฏิกิริยาเคมีแบบออกซิเดชั่น-รีดักชั่นหรือปฏิกิริยารีดอกซ์ ซึ่งหมายความว่าจะเกิดปฏิกิริยาที่มีการถ่ายเทอิเลคตรอนเกิดขึ้นระหว่างสารให้(electron donor)และสารรับอิเลคตรอน(electron acceptor) โดยสารอินทรีย์ในน้ำเสียจะเป็นสารให้อิเลคตรอนและสารตัวอื่นที่อยู่ในน้ำจะเป็นสารรับอิเลคตรอน สำหรับปฏิกิริยาแบบใช้ออกซิเจนสารรับอิเลคตรอนก็คือออกซิเจน ส่วนถ้าสารรับอิเลคตรอนเป็นสารอื่น เช่น คาร์บอนไดออกไซด์ ปฏิกิริยาก็เป็นแบบไม่ใช้ออกซิเจน (รูปที่ 3.1)

กระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจน มีลักษณะเฉพาะตัวที่แตกต่างจากกระบวนการย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจน คือ

- ไม่มีออกซิเจนอิสระซึ่งเป็นสารรับอิเลคตรอนเข้ามาเกี่ยวข้อง
- ได้ผลสุดท้ายของปฏิกิริยาคือ ก๊าซมีเทน
- มีอัตราการสร้างตะกอนจุลินทรีย์ต่ำมาก
- มีเสถียรภาพต่ำ
- ไม่อาจลดความเข้มข้นสารอินทรีย์ให้เหลือต่ำมาก
- ต้องการไนโตรเจน และฟอสฟอรัสต่ำ

นอกจากนี้ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นของกระบวนการมีลักษณะเป็นขั้นตอนที่ค่อนข้างซับซ้อนลักษณะเฉพาะตัวเหล่านี้มีผลเนื่องมาจากลักษณะสมบัติทางชีวเคมีของกระบวนการไม่ใช้ออกซิเจน (มั่นสิน 2536: 1,4)

กลไกการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยกระบวนการไม่ใช้ออกซิเจนแบ่งออกได้เป็น 4 ขั้นตอนดังนี้คือ

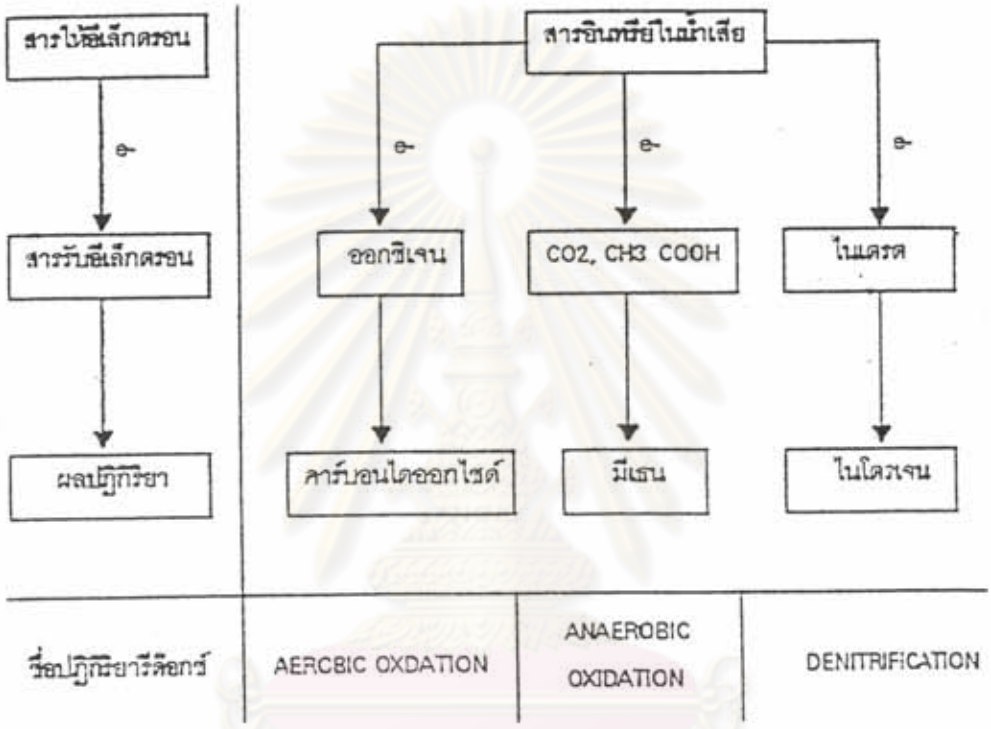
ขั้นตอนที่ 1 : Solubilisation (or hydrolysis)

ขั้นตอนที่ 2 : Acidogenesis

ขั้นตอนที่ 3 : Acetogenesis of Short-chain fatty acid

ขั้นตอนที่ 4 : Methanogenesis

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.1 แสดงปฏิกิริยารีดอกซ์ในการบำบัดน้ำเสีย (มั่นสิน ,2536)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ซึ่งทั้ง 4 ขั้นตอนจะเกี่ยวข้องกับกลุ่มจุลินทรีย์ 3 กลุ่ม คือ

กลุ่มที่ 1 : Acidogenic Bacteria

กลุ่มที่ 2 : Acetogenic Bacteria

กลุ่มที่ 3 : Methanogenic Bacteria

3.1.1 ขั้นตอนที่ 1 : Solubilisation (or hydrolysis)

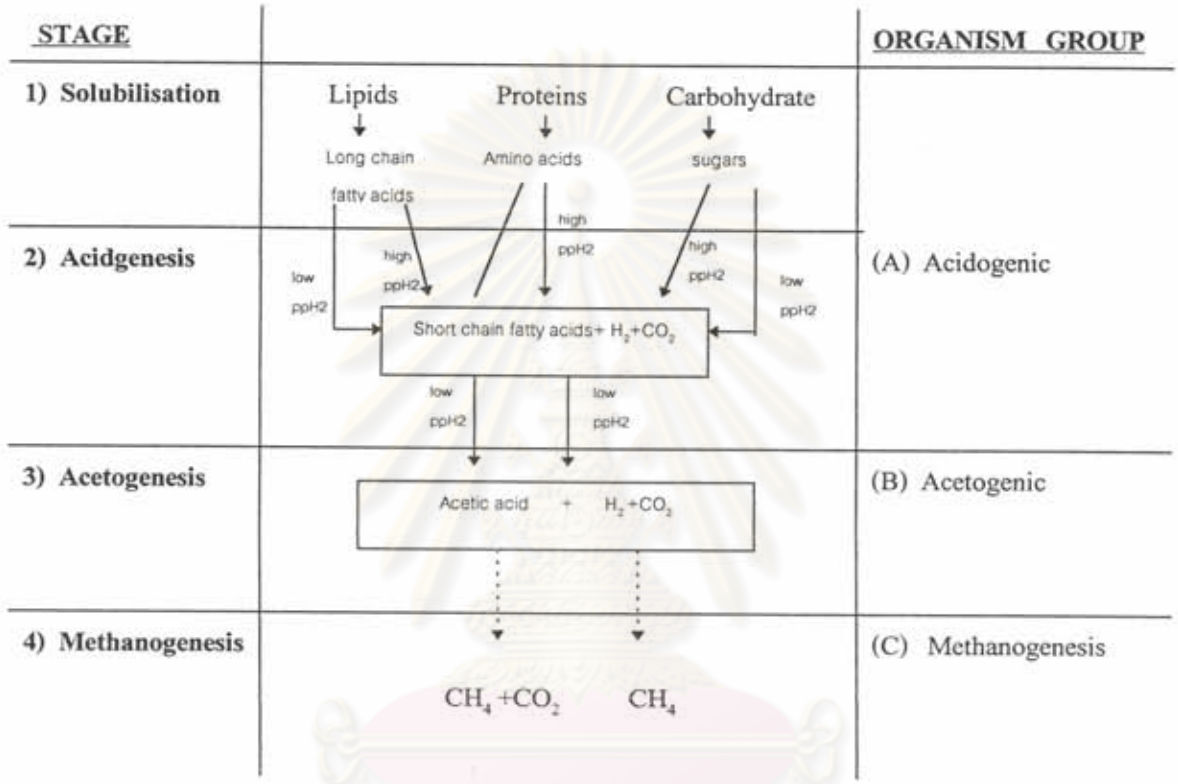
ในขั้นตอนนี้เกิดภายนอกเซลล์โดยสารอินทรีย์ที่มีโมเลกุลใหญ่และซับซ้อนเช่น คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และโปรตีน จะถูกทำให้มีโมเลกุลเล็กลง และละลายน้ำได้ด้วยเอนไซม์ (Extracellular Enzyme) ที่ถูกปล่อยออกมาโดยจุลชีพจำพวก Acidogenic โปรตีน คาร์โบไฮเดรตและไขมันจะถูกย่อยสลายเป็นกรดอะมิโน น้ำตาล และกรดไขมัน (long-chain fatty acid) ดังรูปที่ 3.2

การย่อยสลายในขั้นตอนนี้ค่อนข้างช้า ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น pH ,เวลากักเซลล์ (cell residence time) และอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวต่อปริมาตรของสารอินทรีย์ โดยถ้าสารนั้นมีอัตราส่วนพื้นที่ผิวต่อปริมาตรต่ำ ก็จะใช้เวลาในการย่อยสลายนานกว่าสารที่มีอนุภาคขนาดเล็กๆ ดังนั้นการพบว่าเวลาที่ใช้ในการย่อยแป้ง, โปรตีน และเซลลูโลส แตกต่างกันไปก็เนื่องมาจากเหตุผลดังกล่าว

3.1.2 ขั้นตอนที่ 2 : Acidogenesis

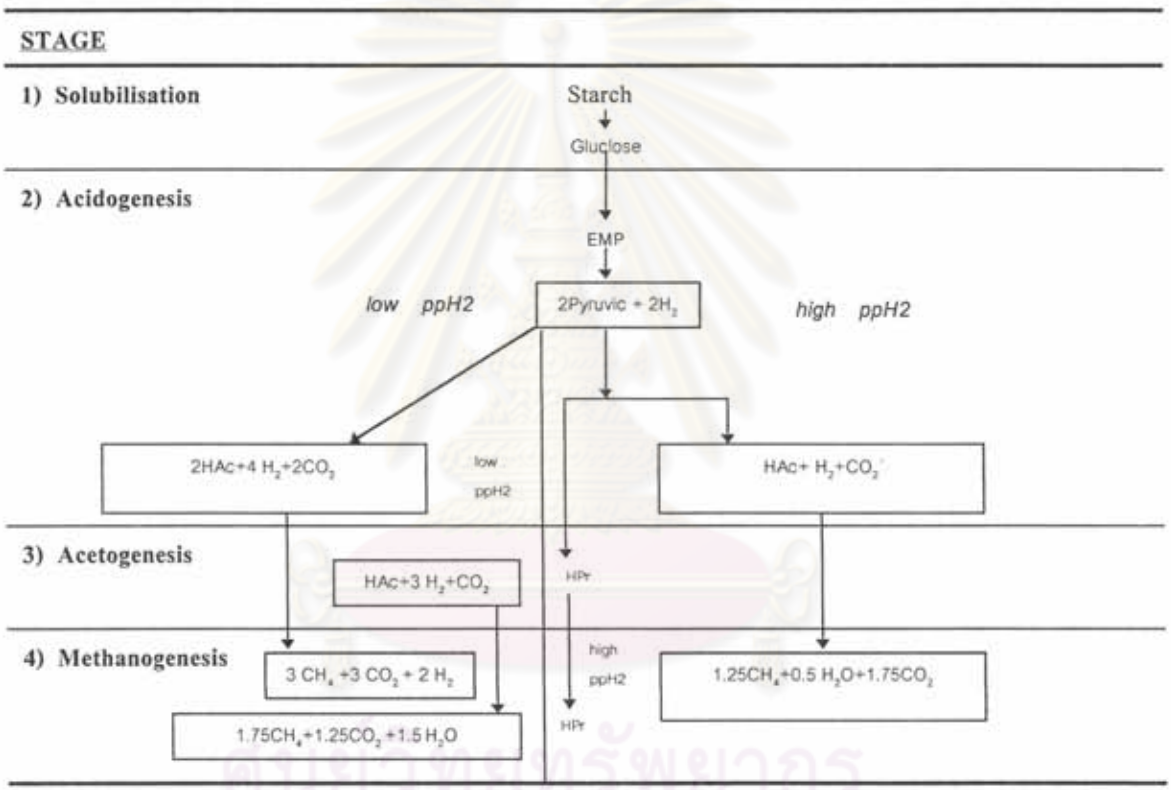
ผลผลิตจากกระบวนการไฮโดรไลซิสโมเลกุลของสารอินทรีย์จะได้เป็นกรดอะมิโน,น้ำตาลและกรดไขมัน แล้วแต่ชนิดสารอินทรีย์ ผลผลิตดังกล่าวจะถูกใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานของจุลชีพกลุ่มเดียวกับขั้นตอนแรกคือพวก Acidogenic organisms โดยผ่านกระบวนการหมัก (Fermentation) ภายในเซลล์และถูกเปลี่ยนไปเป็นกรดไขมันระเหย(Volatile Fatty Acids) เช่น กรดอะซิติก (acetic acid) กรดโพรพิออนิก(propionic acids) กรดบิวทิริก (butyric acid) และคาร์บอนไดออกไซด์

ผลสุดท้ายของขั้นตอนที่ 2 ที่ได้จากการหมัก (Fermentation) จะเป็นสารอะไรขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่ผ่านจากขั้นตอนที่ 1 และ hydrogen partial pressure (ppH_2) ตัวอย่างเช่น การย่อยสลายกลูโคสโดยผ่านกระบวนการย่อยสลายที่เรียกว่า Embden-Meyerhof Pathway จะได้กรดอะซิติก, ไฮโดรเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ ภายใต้ low hydrogen partial pressure แต่จะได้ กรดอะซิติก, กรดโพรพิออนิก (propionic acid) คาร์บอนไดออกไซด์ และไฮโดรเจน ภายใต้ high hydrogen partial pressure (รูปที่ 3.3) รูปที่ 3.4 แสดงรายละเอียดของวิถีทางของกลูโคส ภายใต้ low และ high hydrogen partial pressure ภายใต้วิถีทางดังกล่าวทั้ง 2 แบบ กลูโคสจะถูกย่อยสลายเปลี่ยนไปเป็นกรดอะซิติกและกรดไขมันระเหยอื่นๆ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของตัวรับอิเลคตรอน (ภายใต้สภาวะlow และ high hydrogen partial pressure)



รูปที่ 3.2 แสดงขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียโดยกระบวนการไม่ใช้ออกซิเจน
(Sam - soon,1987)

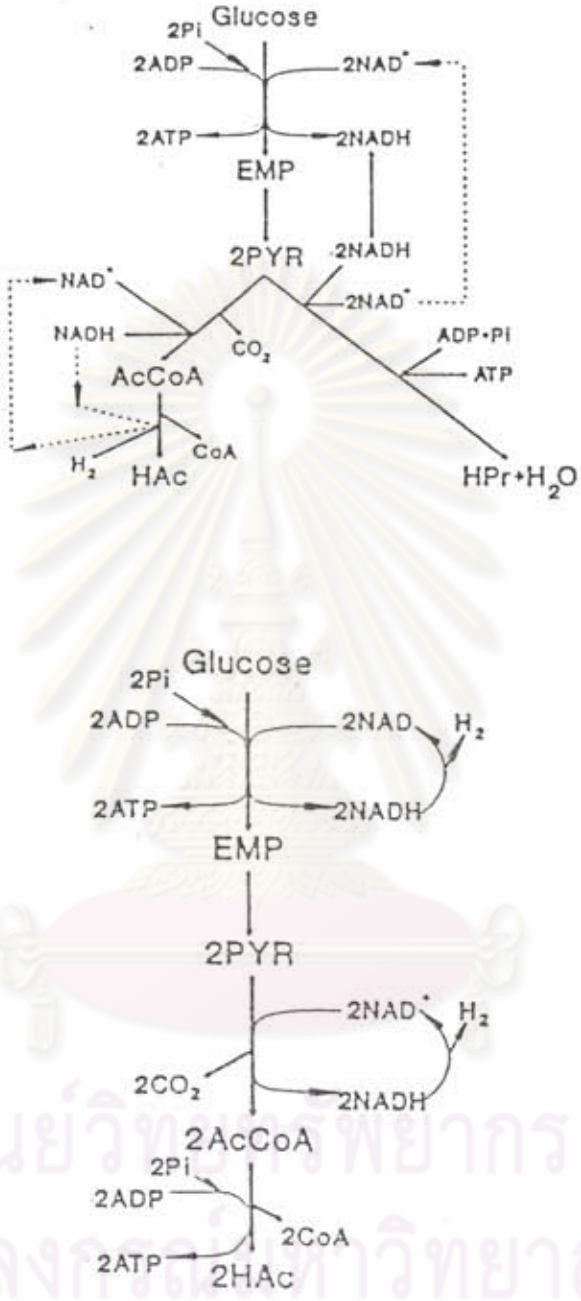
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.3 แสดงการย่อยสลายของแป้งภายใต้สภาวะที่มี Low และ High H_2 partial pressure

(Sam - soon,1987)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.4 การย่อยสลายกลูโคส ภายใต้สภาวะ High (บน)และ Low H_2–partial pressure(ล่าง)
(EMP - Embden Meyerhof pathway) (Sam - soon ,1987)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.1.3 ขั้นตอนที่ 3 :Acetogenesis of Short-chain fatty acid

เนื่องจาก Methanogensis organisms สามารถผลิตมีเทน จากกรดฟอร์มิค (formic acid) กรดอะซิติก ไฮโดรเจน เมธานอล (methanol) และเมธิลลามิน (methylamines) แต่ไม่สามารถใช้กรดไขมันระเหยที่มีคาร์บอนอะตอมมากกว่า 2 อะตอม เช่น กรดบิวทีริค กรดโพรพิออนิก เป็นสารอาหาร (substrate) ในการผลิตมีเทนได้ จุลชีพที่สร้างไฮโดรเจน (hydrogen-producing acetogenic bacteria) สามารถเปลี่ยนกรดไขมันที่มีคาร์บอนอะตอมมากกว่า 2 (C_2) ไปเป็นกรดอะซิติก คาร์บอนไดออกไซด์ และก๊าซไฮโดรเจนได้ ภายใต้ภาวะ low hydrogen partial pressure ดังสมการ

$$CH_3CH_2COOH \text{ (propionic acid)} + H_2O \longrightarrow CH_3COOH + CO_2 + 3H_2 \quad (3.1)$$

$$CH_3CH_2CH_2COOH \text{ (butyric acid)} + 2H_2O \longrightarrow 2CH_3COOH + 2H_2 \quad (3.2)$$

3.1.4 ขั้นตอนที่ 4 : Methanogenesis

ในขั้นตอนนี้ ประกอบด้วยจุลชีพ 2 ประเภท คือ จุลชีพที่สร้างมีเทนได้จากกรดอะซิติก (Acetoclastic Methane Bacteria) จุลชีพเหล่านี้สามารถเจริญเติบโตได้ในช่วงพีเอชแคบๆเท่านั้น (ประมาณ 6.7-7.2) อุณหภูมิที่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตอยู่ในช่วง 30-35 ^{o}ซ ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนที่เกิดขึ้นช้า ดังนั้นจึงเป็นขั้นตอนที่กำหนดอัตราการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน

- The Acetoclastic Methane Bacteria

$$CH_3COOH \longrightarrow CH_4 + CO_2 \quad (3.3)$$

เป็นปฏิกิริยาที่มีส่วนสำคัญในการสร้างมีเทนซึ่งจะผลิตมีเทนในระบบถึง 70 % ของมีเทนที่ได้ทั้งหมด และเกิดขึ้นช้าในเวลาประมาณ 2-3 วัน

- The Hydrogen-Utilizing Methane Bacteria

$$4H_2 + CO_2 \longrightarrow CH_4 + 2H_2O \quad (3.4)$$

ปฏิกิริยาเกิดค่อนข้างเร็วใช้เวลาประมาณ 6 ชั่วโมง และเป็นการเคลื่อนย้ายก๊าซไฮโดรเจนในระบบออกจากระบบ

ไฮโดรเจนจะเป็นตัวควบคุมอัตราการเปลี่ยนแปลง กรดบิวทิริก และกรดโพรพิออนิกไปเป็นกรดอะซิติก ซึ่งควบคุมการทำงานของ acidogenic bacteria มีส่วนสำคัญในการเริ่มดำเนินการระบบ (start-up) และการรับภาระบรรทุกมากเกินไป (over load) ของกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2 ตัวอย่างวิถีชีวเคมีที่เกิดขึ้นในขั้นตอนการสร้างกรดไขมันระเหย (Acidogenesis)จากกลูโคสภายใต้วิถีชีวเคมีแบบ EMP (Embden Meyerhof Pathway)

แบ่งขั้นตอนดังกล่าวออกได้เป็น 2 ขั้นตอนคือ

<u>ขั้นตอนแรก</u> ภายใต้วิถีชีวเคมีแบบ EMP กลูโคส จะถูกออกซิไดส์กลายเป็นกรดไพรูวิกดังสมการ

$$C_6H_{12}O_6 + 2NAD^+ + 2ADP + 2P \longrightarrow 2CH_3COCOOH + 2NADH + 2ATP \qquad (3.5)$$

โดยแต่ละโมเลกุลของกลูโคส จะผลิตกรดไพรูวิก 2 โมล และ ATP 2 โมล โดยมีโคเอนไซม์ NAD^+ เป็นพาหนะของอิเลคตรอน และไฮโดรเจนทำให้เกิด NADH และเนื่องจากปริมาณ NAD^+ มีจำกัด จึงต้องมีวิธีปลดปล่อย H^+ ออกจาก NADH ให้เป็น NAD^+ เพื่อให้เป็นพาหนะสำหรับขนส่งอิเลคตรอนต่อไป โดยปกติการปลดปล่อย H^+ จาก NADH ให้เป็น NAD^+ จะเกิดขึ้นดังสมการ

$$2NADH \longrightarrow 2NAD^+ + 2H_2 \qquad (3.6)$$

สมการที่ 3.6 จะเกิดขึ้นได้ตราบเท่าที่ H_2 สามารถหมดไปจากระบบได้ ดังนั้นสมการที่ 3.6 จะเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อ Hydrogen partial pressure มีค่าต่ำ (น้อยกว่า 10^{-6} บรรยากาศ, PALNS Sam-Soon และผู้ร่วมงาน, 1967)

<u>ขั้นตอนที่สอง</u> เป็นขั้นตอนในการเปลี่ยนกรดไพรูวิก จากขั้นตอนแรก ให้เป็นกรดไขมันระเหยซึ่งจะได้กรดไขมันระเหยชนิดใดขึ้นอยู่กับค่า Hydrogen partial pressure ดังนี้

<u>กรณี</u> Low hydrogen partial pressure กรดไพรูวิกที่เกิดขึ้นจะถูกกรดออกซิไดซ์ต่อไปเป็นอะแซทิลโคเอ (CH_3CoA) ดังสมการ

$$2CH_3COCOOH + 2NAD^+ \longrightarrow 2CH_3CoA + 2CO_2 + 2NADH \qquad (3.7)$$

โดยมี NAD^+ เป็นพาหนะของอิเลคตรอน โดยมี NAD^+ จากการปลดปล่อย H^+ จากสมการ (3.6) และ CH_3CoA จะถูกเปลี่ยนต่อไปเป็นกรดอะซิติก พร้อมกับการสร้าง ATP ดังสมการ

$$2CH_3CoA + 2ADP + 2P \longrightarrow 2CH_3COOH + 2ATP \qquad (3.8)$$

เมื่อรวมสมการ (3.5), (3.6), (3.7) และ (3.8) เข้าด้วยกัน จะได้ปฏิกิริยาการหมัก (Fermentation) ที่สมบูรณ์ ภายใต้สภาวะ low hydrogn partiai pressure ดังนี้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

$$C_6H_{12}O_6 + 2H_2O + 4ADP + 4P \longrightarrow 2CH_3COOH + 2CO2 + 4H_2 + 4ATP \quad (3.9)$$

จากสมการที่ (3.9) พบว่าการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนของกลูโคส 1 โมล ภายใต้สภาวะ Low hydrogen partial pressure จะได้กรดอะซิติก 2 โมล คาร์บอนไดออกไซด์ 2 โมล ไฮโดรเจน 4 โมล และ ATP 4 โมล และถ้าระบบสามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดย H_2-Utilizing bacteria สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นจะถูกใช้ในการผลิตมีเทนดังสมการ

$$4H_2 + H_2CO_3 \longrightarrow CH_4 + 3H_2O \quad (3.10)$$

<u>กรณี</u> High hydrogen partal pressure

แต่อย่างไรก็ตาม หากไม่สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ หรือไม่มีจุลชีพชนิดดังกล่าวอยู่ในระบบ ทำให้ไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นสะสมอยู่ในระบบ จนทำให้ Hydrogen partial pressure มีค่าสูง ทำให้ NADH ไม่สามารถปลดปล่อย ตามสมการ (3.6)ได้ เนื่องจาก H_2 ไม่สามารถหนีไปจากปฏิกิริยาได้ จุลชีพชนิดไม่สร้างมีเทนจึงต้องหาวิธีการฟื้นอำนาจของNADH โดยวิธีอื่นเพื่อให้ปฏิกิริยาการหมักสามารถดำเนินต่อไปได้โดยการใช้วิธีการสร้างปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเองได้ และใช้เป็นปฏิกิริยาควบคู่ในการเปลี่ยน NADH ให้เป็น NAD^+ และพบว่าการเปลี่ยนกรดไพรูวิกให้เป็นกรดโพรพิออนิก สามารถทำให้ NADH ปลดปล่อย H^+ได้ดังสมการ

$$CH_3COCOOH + 2NADH + ADP + P \longrightarrow CH_3CH_2COOH + 2NAD^+ + ATP + H_2O \quad (3.11)$$

จะเห็นว่ากรดไพรูวิก 1 โมล ใช้ปลดปล่อย NADH ได้ 2 โมล แต่ยังมีกรดไพรูวิกเหลืออยู่อีก 1 โมล ซึ่งจะถูกออกซิไดซ์ไปเป็น CH_3CoA ตามปกติ ดังสมการ

$$CH_3COCOOH + NAD^+ \longrightarrow CH_3CoA + CO_2 + NADH \quad (3.12)$$

และพบว่าเมื่อมาถึงขั้นตอนนี้ก็จะเกิดปัญหาในการฟื้นอำนาจให้แก่ NADH เช่นเดิม ถ้า low hydrogen partial presure การฟื้นอำนาจก็จะเป็นไปตามปกติ แต่ถ้า high hydrogen partial pressure การฟื้นอำนาจของ NADH ก็จะควบคู่ไปกับการเปลี่ยน CH_3CoA ไปเป็นกรดอะซิติก ดังสมการ

$$CH_3CoA + NADH \longrightarrow CH_3COOH + H_2 + NAD^+ \quad (3.13)$$

เมื่อรวมสมการ (3.5) , (3.11) , (3.12) , (3.13) เข้าด้วยกันจะได้ปฏิกิริยาการหมักที่สมบูรณ์ ภายใต้สภาวะ high hydrogen partial pressure ดังนี้

$$C_6H_{12}O_6 + 3ADP + 3P \longrightarrow CH_3CH_2COOH + CH_3COOH + CO_2 + H_2 + 3ATP \qquad (3.14)$$

นั่นคือการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนของกลูโคส 1 โมล ภายใต้สภาวะ high hydrogen partial pressure จะได้กรดโพรพิออนิก 1 โมล กรดอะซิติก 1 โมล คาร์บอนไดออกไซด์ 1 โมล ไฮโดรเจน 1 โมล และ ATP 3 โมล

เมื่อเปรียบเทียบสมการ (3.9)และ(3.14) ในขั้นตอนการสร้างกรด (acidogenic)จะเห็นว่าการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนภายใต้ Low hydrogen partial pressure จะให้ ATP 4 โมล และผลิตกรดอะซิติก 2 โมล ในขณะที่ในสภาวะ High hydrogen partial pressure จะให้ ATP เพียง 3 โมล และผลิตกรดอะซิติกและกรดโพรพิออนิก อย่างละ 1 โมล

3.3 บทบาทของไฮโดรเจนที่มีต่อกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน

ขั้นตอนต่าง ๆ ของกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน จะมีการผลิตไฮโดรเจน เกิดขึ้นตลอดเวลา ไฮโดรเจนเกิดจากปฏิกิริยาการปลดปล่อย H ของ NADH ดังสมการ

$$2NADH \longrightarrow 2NAD^+ + 2H_2 \qquad (3.6)$$

ซึ่งปฏิกิริยาดังกล่าวเป็นการฟื้นอำนาจของ NAD^+ เพื่อใช้เป็นพาหนะของอีเล็คตรอนในปฏิกิริยารีดือกซ์

$$NAD^+ + e^- + H^+ \longrightarrow NADH \qquad (3.15)$$

ภายใต้สภาวะ low hydrogen partial pressure สมการที่ (3.6) จะเกิดขึ้นได้โดย H_2 จะสามารถหนีจากน้ำสู่บรรยากาศภายในถังย่อย ทำให้สมการที่(3.6) สามารถเกิดขึ้นจากซ้ายไปขวาได้ตลอดเวลา หากกระบวนการไม่ใช้ออกซิเจนสามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพแล้วไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นจะถูกใช้ผลิตมีเทนโดย H-Utilizing Bacteria ดังสมการ

$$4H_2 + H_2CO_3 \longrightarrow CH_4 + 3H_2O \qquad (3.10)$$

การสะสมตัวของไฮโดรเจนจึงไม่เกิดขึ้น hydrogen partial pressure จึงมีค่าต่ำตลอดเวลา แต่ถ้าการทำลายไฮโดรเจน ไม่มีประสิทธิภาพ หรือไม่เกิดขึ้น ทำให้ไฮโดรเจนเกิดสะสมตัวขึ้น ทำให้ hydrogen partial pressure มีค่าสูงขึ้นสภาพเช่นนี้จะมีผลกระทบต่อกระบวนการไม่ใช้ออกซิเจน 2 ประการ คือ

3.3.1 ผลกระทบต่อการสร้างกรดไขมันระเหย

กล่าวคือ เมื่อไฮโดรเจนละลายน้ำมากจนเกิด high hydrogen partial pressure ทำให้สมการปฏิกิริยาที่ (3.6) ไม่สามารถเกิดขึ้นได้ จุลชีพชนิดไม่สร้างมีเทน จึงต้องหาวิธีในการปลดปล่อย H^+ จาก NADH ให้กลับคืนเป็น NAD^+ และพบว่าการปลดปล่อย H^+ ของNADH สามารถเกิดควบคู่กับปฏิกิริยาการเปลี่ยนกรดไพรูวิก ไปเป็นกรดโพรพิออนิก ดังสมการ

$$CH_3COCOOH + 2NADH + ADP + P \longrightarrow CH_3CH_2COOH + 2\,NAD^+ + ATP + H_2O \qquad (3.11)$$

ปฏิกิริยาข้างต้นจะเกิดขึ้นได้ที่สภาวะ high hydrogen partial pressure ที่มีระดับสูงกว่า $2x10^{-3}$ บรรยากาศ

3.3.2 ผลกระทบต่อการสร้างกรดอะซิติก

ขั้นตอน Acidogenesis เป็นขั้นตอนในการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันระเหยที่มีคาร์บอนอะตอมมากกว่า 2 อะตอม ให้เป็นกรดอะซิติก โดย Acetogenic bacteria

การเปลี่ยนแปลงกรดโพรพิออนิก ไปเป็นกรดอะซิติก

$$CH_3CH_2COOH + 2H_2O \rightarrow CH_3COOH + CO_2 + 3H_2 \qquad (3.15)$$

จะพบว่ามีไฮโดรเจนเกิดขึ้นด้วย หากไม่สามารถกำจัดไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นได้ปฏิกิริยาที่(3.15)ก็จะหยุดไม่สามารถเปลี่ยนกรดโพรพิออนิกไปเป็นกรดอะซิติกได้ ปฏิกิริยาที่(3.15)จะเกิดขึ้นได้หาก hydrogen partial pressure มีค่าไม่เกิน $9x10^{-3}$ atm; หาก hydrogen partial pressure มีค่าสูงกว่า $9x10^{-3}$ atm จะทำให้มีปริมาณกรดโพรพิออนิกสะสมอยู่ในระบบ เนื่องจากไม่สามารถเปลี่ยนไปเป็นกรดอะซิติก การสะสมตัวของกรดโพรพิออนิกหรือกรดไขมันระเหย อื่น ๆ จะทำให้พีเอชของระบบมีค่าต่ำสูง จนทำให้อยู่ในภาวะที่ไม่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของจุลชีพในระบบ และยังพบว่ากรดโพรพิออนิก เป็นพิษต่อจุลชีพไม่ใช้ออกซิเจนอีกด้วย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.4 ความสำคัญของไอออนของโลหะกับจุลชีพแบบไม่ใช้ออกซิเจน

3.4.1 ไอออนโลหะในธรรมชาติที่สำคัญต่อสิ่งมีชีวิต

ความสัมพันธ์ของไอออนโลหะกับจุลชีพนั้นก็มีการอ้างถึงกันอย่างกว้างขวางว่า มีหน้าที่ในการควบคุมความดันออสโมติก ,เป็นสารเชื่อมประสานโครงสร้าง(Structural Glue) ,เป็นดังหัวใจของคะตะลิตส์ของปฏิกิริยานับร้อยภายในเซลล์ ความสำคัญของโลหะในการกระตุ้นปฏิกิริยาทางชีวะอาจกล่าวอ้างได้อีกว่ามากกว่าหนึ่งในสามของเอ็นไซม์หลักทั้งหมดเป็นพวก metalloenzyme(Beveridge and Doyle ,1989)มากกว่าหนึ่งในสี่ของธาตุทั้งหมดบนตารางธาตุ มีความจำเป็นต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิต ดังรูปที่ 3.5 ซึ่งอาจแบ่งธาตุเหล่านี้ออกได้เป็น 3 กลุ่มได้แก่

1) ธาตุที่มีความจำเป็นต่อสิ่งมีชีวิตทั่วไป
2) ธาตุที่มีปริมาณน้อย(trace element) และเป็นที่ต้องการของสิ่งมีชีวิตบางชนิดในปริมาณน้อย
3) ธาตุที่คาดว่าอาจมีความจำเป็นต่อสิ่งมีชีวิต

IA	IIA	IIIA	IVA	VA	VIA	VIIA	VIII	VIII	VIII	IB	IIB	IIIB	IVB	VB	VIB	VIIB	0
(H)																	He
Li	Be											B	(C)	(N)	(O)	[F]	Ne
(Na)	(Mg)											Al	[Si]	(P)	(S)	(Cl)	Ar
(K)	(Ca)	Sc	Ti	[V]	[Cr]	[Mn]	[Fe]	[Co]	[Ni]	[Cu]	[Zn]	Ga	Ge	[As]	[Se]	[Br]	Kr
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	[Mo]	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	[Sn]	Sb	Te	[I]	Xe
Cs	Ba	Ln	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn
Fr	Ra	Ac	Th	Pa	U												

(○) ธาตุที่มีความจำเป็นต่อสิ่งมีชีวิต [□] ธาตุปริมาณน้อย(trace elements) ที่เชื่อว่าจำเป็นต่อพืชและสัตว์บางชนิด [⋯] ธาตุปริมาณน้อย(trace elements) ที่คาดว่าอาจจำเป็นสิ่งมีชีวิต

รูปที่ 3.5 แสดงธาตุซึ่งมีความจำเป็นต่อสิ่งมีชีวิต (Silva & Williams,1991)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Silva และWilliams(1991)ได้อ้างว่าโดยทั่วไปธาตุที่สิ่งมีชีวิตใช้ประโยชน์ในการดำรงชีวิตจะมีลักษณะอยู่ 2 อย่างได้แก่

1) ธาตุนั้นจะต้องมีมากพอในรูปที่สิ่งมีชีวิตสามารถนำมาใช้ได้ง่าย(bioavailability)

2) ธาตุนั้นมีส่วนร่วมในทางตรงหรือทางอ้อมกับหน้าที่บางอย่างในสิ่งมีชีวิต(essential function)

ตัวอย่างของธาตุบางตัวเช่นธาตุกลุ่ม Li , Rb , Cs , Be ,Sr , Ba ที่สามารถทำหน้าที่ได้เหมือนกับธาตุกลุ่ม Na , K , Mg ,Ca แต่สิ่งมีชีวิตก็เลือกจะนำโลหะกลุ่มหลังมาใช้ประโยชน์ เพราะโลหะกลุ่มนี้มีปริมาณมากในธรรมชาติและมีความยืดหยุ่นสามารถทำงานได้หลายหน้าที่

Silva และWilliams(1991)ได้ให้ความหมายของคำว่าธาตุใดๆที่มีมากในธรรมชาติและคุณสมบัติของธาตุที่สิ่งมีชีวิตสามารถนำมาใช้ได้(bioavailability)ว่าธาตุนั้นมีนัยของความสามารถในการละลายน้ำอยู่ด้วย จะสังเกตว่าสารประกอบในหมู่ I, II, III รวมทั้ง O ,S ในหมู่ VI มีความสามารถในการละลายสูงพบได้มากในทะเลรวมทั้งในพืชและสัตว์ ในขณะที่ธาตุในหมู่ IIIA , IVA ไม่เหมาะกับระบบสิ่งมีชีวิต แม้ว่ามันจะพบมากในรูปแอมโฟเทอริกออกไซด์แต่ไม่ละลายน้ำและต้องใช้พลังงานมากในการนำธาตุเหล่านี้มาใช้ที่พีเอชเท่ากับ 7 จึงอาจกล่าวได้ว่าธาตุใดก็ตามที่สิ่งมีชีวิตนำมาใช้ประโยชน์ในการดำรงชีวิตจะมีลักษณะดังกล่าวนี้ คือมีมากในธรรมชาติและจะต้องสามารถนำมาใช้ได้ง่ายๆ อันสอดคล้องกับหลักเศรษฐศาสตร์การใช้ทรัพยากรที่ว่า เลือกใช้ธาตุที่เสียค่าใช้จ่าย(พลังงาน)น้อยกว่าเพื่อดึงมาใช้ ในขณะที่สามารถตอบสนองหน้าที่ที่ต้องการ

Oleszkiewicz และSharma (1990)กล่าวว่า ปริมาณโลหะที่อยู่ในรูปที่ 3.6 สามารถเป็นได้ทั้งธาตุอาหารหรือสารพิษ ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นแต่ละรูปแบบ(species)ของโลหะชนิดนั้นในถังปฏิกิริยาและสภาพแวดล้อมของระบบ เช่น พีเอช ศักย์ไฟฟ้าของสาร(ORP) การสร้างตะกอนแข็ง(precipitation)กับซัลไฟด์ ,คาร์บอเนต ,ฟอสเฟต หรือการเกิดคีเลชั่นกับสารอินทรีย์ลิแกนด์ที่มีอยู่ในระบบหรือที่สร้างขึ้นโดยจุลชีพ เป็นต้น เนื่องจากสภาพแวดล้อมเหล่านี้เป็นตัวกำหนดว่าโลหะชนิดนั้นจะอยู่ในรูปแบบใด โลหะที่รูปแบบแตกต่างกันก็จะมีบทบาทต่อสิ่งมีชีวิตต่างกันด้วย เช่น นิกเกิลในรูปไอออนอิสระปริมาณต่ำๆเป็นธาตุที่จำเป็นต่อจุลชีพสร้างมีเทน แต่เมื่ออยู่ในรูปนิกเกิลซัลไฟด์ จุลชีพไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ใดๆได้เลย หรือ แคดเมียมจะเป็นพิษต่อ M. Luteusมากขึ้นถ้าพีเอชมีสูงขึ้น เป็นต้น

Callander และBarford (Oleszkiewicz และSharma, 1990)พบว่าปริมาณโลหะที่อยู่ในรูปละลายน้ำ(soluble species) ในถังย่อยตะกอนแบบไม่ใช้ออกซิเจน มีค่าสูงกว่าค่าที่คำนวณได้จากสมดุลหรือค่าK_{sp} ซึ่งอธิบายไว้ว่าโลหะละลายเหล่านี้เกิดจากการรวมตัวกับสารอินทรีย์และอนินทรีย์อยู่ในรูปของสารเชิงซ้อน

ที่ละลายน้ำ(Chelation)ทำให้โลหะนี้อยู่ในรูปสารละลายในปริมาณสูงกว่าค่า K_{sp} โดยไม่จับตัวเป็นตะกอนแข็ง(precipitation)

Bhattacharya (Oleszkiewicz และSharma, 1990) ได้ทดลองในถังย่อยแบบไม่ใช้ออกซิเจนพบว่าที่อายุตะกอน(SRT)เท่ากับ 40 วัน ปริมาณนิกเกิลทั้งหมดเท่ากับ 100 มิลลิกรัม/ลิตร ไม่ทำให้เกิดภาวะยับยั้งในจุลชีพสร้างมีเทนแต่อย่างใด โดยพบว่ามีนิกเกิลละลายทั้งหมด(total soluble nickel) 31.6 มิลลิกรัม/ลิตรแต่เป็นรูปของนิกเกิลอิสระ(free nickel) 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร เมื่อลดค่าอายุตะกอน(SRT) จาก 40 วัน เหลือ 15 วัน ซึ่งทำให้สภาพแวดล้อมของระบบเปลี่ยนไป ปริมาณนิกเกิลอิสระจึงเพิ่มเป็น 6.5 มิลลิกรัม/ลิตร ปรากฏว่าระบบล้มเหลวโดยสิ้นเชิง

Takashima และ Speece (1988)ได้ทำการทดลองในถังย่อยตะกอนและถังปฏิกิริยาแบบไม่ใช้ออกซิเจนอ้างว่า แม้จะสามารถวัดปริมาณโลหะที่จำเป็นอย่างเช่น เหล็ก นิกเกิล โคบอลต์ ในระบบหรือมวลจุลชีพได้ ก็ไม่ได้หมายความว่าระบบจะทำงานได้อย่างปกติ ยังต้องพิจารณาสภาพแวดล้อมทางกายภาพและเคมีของระบบว่าเอื้ออำนวยต่อการนำโลหะนั้นมาใช้ได้ดังเช่น โลหะในรูปสารประกอบซัลไฟด์จุลชีพจะไม่สามารถนำโลหะไปใช้ได้ และพบว่าหากระบบของจุลชีพอยู่ในสภาวะที่แปรปรวนมากอาจทำให้จุลชีพไม่สามารถนำโลหะนั้นเข้าสู่เซลได้

3.4.2 กลไกการนำโลหะเข้าสู่เซลของจุลชีพกลุ่มอาร์ชิโอแบคทีเรีย

ไรโบโซมเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในหน่วยสิ่งมีชีวิต โดยมีไรโบโซมอลไรโบนิวคลิอิกแอซิด (ribosomal ribonucleic acid)หรือrRNA เป็นส่วนประกอบมีหน้าที่สำคัญในการสังเคราะห์โปรตีนซึ่งจำเป็นต่อการอยู่รอดของเซลสิ่งมีชีวิต rRNA มีลักษณะเป็นโซ่ยาวประกอบด้วยหน่วยย่อยๆที่เรียกว่า ไรโบนิวคลิโอไทด์(ribonucleotide) ซึ่งมีอยู่ 4 ชนิด ไรโบนิวคลิโอไทด์(ribonucleotide) ทั้ง 4 ชนิดนี้จะถูกนำมาเรียงสลับกันด้วยจำนวนและลำดับที่แตกต่างกันจนกลายต่อกันเป็นโซ่ยาวเส้นเดียวที่มีหลายร้อยหน่วยย่อยซึ่งแตกต่างกัน โซ่ยาวของ rRNA ในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจะมีลักษณะการเรียงตัวของไรโบนิวคลิโอไทด์ (ribonucleotide) ที่แตกต่างกันไปตามสายพันธุ์

Peljar, Chan และKrieg (1993)กล่าวว่าแม้จะผ่านมาหลายล้านปีแล้ว เนื่องจากยีนส์ที่ควบคุมลำดับของนิวคลิโอไทด์ในโซ่rRNAมีวิวัฒนาการที่ช้ามาก ทำให้สามารถเปรียบเทียบความเกี่ยวข้องของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดได้โดยใช้rRNAเป็นเครื่องบ่งชี้ความใกล้ชิดและความห่างของสายพันธุ์ โดยหากrRNAยิ่งใกล้เคียงกันก็แสดงถึงความใกล้ชิดของสายพันธุ์ แทบไม่น่าเชื่อว่าบางส่วนของ rRNA ของสิ่งมีชีวิตทั้งหลายในโลกนี้ยังเกือบเหมือนกัน และด้วยการใช้เกณฑ์การศึกษาเปรียบเทียบไรโบโซม 16S RNA หน่วยของเซลสิ่งมี

ชีวิตก็สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ยูคาริโอต(eukaryotes) , ยูแบคทีเรีย(eubacteria) , และ อาร์ชิโอแบคทีเรีย(araeobacteria)

อาร์ชิโอแบคทีเรีย(araeobacteria) ชื่อดังกล่าวตั้งขึ้นเนื่องจากเชื่อว่า จุลชีพกลุ่มนี้มีความเหมาะสมต่อสิ่งแวดล้อมในยุคดึกดำบรรพ์ โดยมีทั้งกลุ่มstrict anaerobe กลุ่ม aerobic กลุ่ม autotrophic และกลุ่ม heterotrophic ซึ่งนักจุลชีววิทยาได้จัดแยกออกเป็นกลุ่ม 3 กลุ่มได้แก่

1) Methanogen และ extreme halophile

2) Thermoacidophile

3) Sulphur-dependent bacteria

ทราบมานานแล้วว่ายูแบคทีเรียและอาร์ชิโอแบคทีเรียที่เดิมเข้าใจว่าเป็นกลุ่มเดียวกันแล้วเรียกรวมว่าพวกโปรคาริโอตนั้น มีความสามารถในการรักษาสัดส่วนของไอออนบวกและไอออนลบของสารอนินทรีย์โดยใช้กลไกการขนส่งจำเพาะที่มีอยู่ที่ผิวเซล การศึกษาเรื่องการถ่ายเทไอออนของสารอนินทรีย์ในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่ยังจำกัดอยู่แค่ ยูแบคทีเรีย(eubacteria) และอาร์ชิโอแบคทีเรียน้ำเค็มกลุ่มใช้ออกซิเจนที่เรียกว่าฮาโลแบคทีเรีย(halobacteria) ส่วนความเข้าใจเรื่องกลไกการขนสารต่างๆเข้าเซลของอาร์ชิโอแบคทีเรียที่ในที่นี้สนใจยังไม่มีความชัดเจนโดยเฉพาะกลไกการขนส่งไอออนของโลหะชนิดต่างๆเข้าสู่เซล

Silva และWilliams(1991)อ้างว่า จุลชีพนำโลหะเข้าเซลโดยไม่ได้เลือกชนิดแต่เป็นไปตามสภาพแวดล้อมที่เซลจุลชีพนั้นอาศัยอยู่ ในระบบชีวะของจุลชีพบางชนิดจะดึงธาตุบางตัวมาสะสมเอาไว้ทั้งๆที่บ่อยครั้งพบโลหะบางตัวที่ถูกดึงเข้าสู่เซลนั้นไม่ได้มีความจำเป็นและไม่เป็นที่ต้องการของมันเลย แต่นักวิจัยกลุ่มนี้เชื่อว่าจุลชีพมีความสามารถในการเลือกขับไอออนที่ไม่ต้องการออกจากเซลได้ตัวอย่างเช่นธาตุที่มีปริมาณน้อย(trace element)บางตัว อย่างไรก็ตามเป็นเรื่องยากที่จะวิเคราะห์วิจัยในเรื่องนี้ เนื่องจากธาตุที่มีปริมาณน้อย(trace element)มีโอกาสที่จะปนเปื้อนในได้ตลอดเวลา

อย่างไรก็ตาม Collins และStotzky(1989)ได้สรุปว่ากลไกการขนส่งไอออนโลหะเข้าสู่เซลของจุลชีพทั่วไปอาจแบ่งออกเป็นกลุ่มดังนี้

1) การอาศัยพาหะ (carrier) สำหรับไอออนสารอาหารที่สำคัญต่อการดำรงชีวิตเช่น Mg^{+2}, Ca^{+2}, Mn^{+2}

2) ช่องทางเฉพาะเจาะจงสำหรับโลหะบางชนิด โดยการสร้างสารประกอบเชิงซ้อนกับลิแกนด์เฉพาะ เช่น สารประกอบที่นำเหล็กเข้าเซล(siderphores หรือ ferrichromes)

3) ช่องทางเข้าที่ไม่เฉพาะเจาะจง โดยไอออนโลหะนั้นจะรวมตัวเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับสาร

อาหาร แล้วเข้าสู่เซลโดยช่องทางการนำสารอาหาร เช่น การขนส่งของ Ge เข้าสู่เซลของ P. Putida โดยช่องทางที่ไม่เฉพาะตัวในรูป สารประกอบเชิงซ้อนGe-catechol โดยระบบขนส่งเฉพาะของcatechol

4) การอาศัยผ่านห่วงโซ่อาหาร โดยโลหะหนักอาจถูกสะสมอยู่ในตัวจุลชีพและส่งต่อไปยังสิ่งมีชีวิตอื่นโดยจุลชีพตัวนั้นเป็นอาหาร

โซเดียม(Na)

บทบาททางชีวเคมีของโซเดียมในจุลชีพสร้างมีเทนเริ่มโดดเด่นขึ้น เพราะมีความจำเป็นในการใช้สร้างมีเทนและยังช่วยกระตุ้นการสร้างสารATP ที่เกิดจากความต่างศักย์ในกระบวนการแพร่ของ K^+ใน Mb.Thermoautotrophicum ถึงปัจจุบันกลไกที่ถูกระบุว่าช่วยการขนส่งของNa^+ ในจุลชีพสร้างมีเทนมี 2 กลไกกล่าวคือ กลไกการสร้าง ATP โดยการไหลเข้าของโซเดียมผ่านช่องทางที่เรียกว่า Na^+-ATPase ที่จะคล้ายคลึงกับNa^+-ATPase ที่พบในยูแบคทีเรียหลายๆตัว และกลไกการปรับพีเอชของไซโตปลาสซึมโดยกลไกการไหลสวนทาง(antipoter)ของ Na^+ และ H^+

โปแตสเซียม(K) และการแลกเปลี่ยนระหว่างแอมโมเนียกับโปแตสเซียม(NH_3/K^+ exchange)

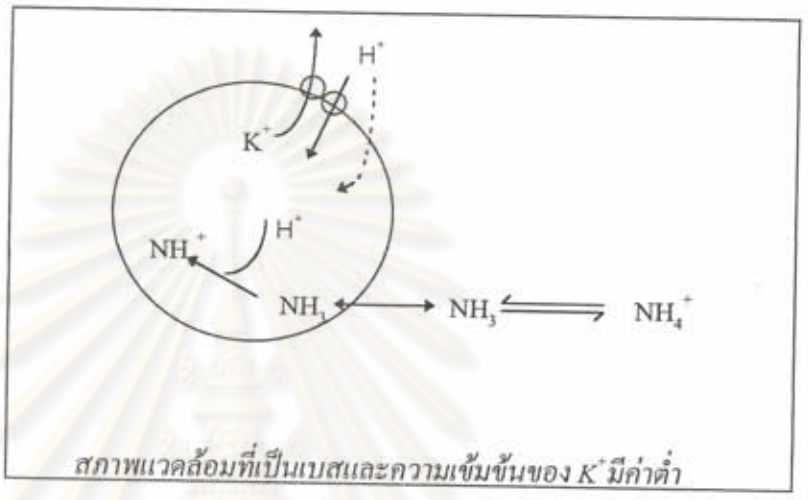
โปแตสเซียมมีความสำคัญในด้านต่างเช่นต้องการในเอ็นไซม์ , ใช้ปรับความดันออสโมติกและ ใช้ปรับค่าพีเอชในไซโตปลาสซึม กลไกสำคัญที่เกี่ยวข้องกับโปแตสเซียมคือการแลกเปลี่ยนระหว่างแอมโมเนียกับโปแตสเซียมในไซโตปลาสซึม(NH_3/K^+ exchange) ได้เกิดขึ้นในจุลชีพสร้างมีเทนหลายตัวรวมทั้งในยูแบคทีเรีย

จากการศึกษาใน Msp. Hungatei พบว่าเซลจุลชีพจะสูญเสีย K^+ ถึง 98 % เมื่ออยู่ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่ปราศจากโปแตสเซียมแต่มีแอมโมเนียและพีเอชเท่ากับ 8 การแลกเปลี่ยนนี้จะเกิดขึ้นทันทีเมื่อเซลเผชิญกับความเป็นพิษจากออกซิเจนหรือจากสารยับยั้ง(inhibitor) แรงขับดันให้โปแตสเซียมไหลผ่านเยื่อหุ้มเซลเกิดจากความแตกต่างของความเข้มข้นของK^+นั่นเอง

ดังนั้นหากความเข้มข้น K^+ของสารละลายภายนอกมีค่ามากแอมโมเนียก็จะหยุดไหลเข้าทันที จากรูปที่ 3.6 จะอธิบายกลไกการแลกเปลี่ยนระหว่างแอมโมเนียกับโปแตสเซียมในไซโตปลาสซึมได้ชัดเจนขึ้นว่าแอมโมเนียเข้าสู่เซลในรูป NH_3 ที่สภาพแวดล้อมมีพีเอชเป็นเบส แล้วเข้ามารวมตัวกับ H^+ ในไซโตปลาสซึม เพื่อลดสภาพกรดภายในเซลและสร้าง NH_4^+สะสมเอาไว้) ถ้าหากประกอบกับสมมุติฐานกลไกการไหลสวนระหว่างโปแตสเซียมและโปรตอน(K^+ / H^+ antiporter) กระแสของแอมโมเนียจะไหลเข้าเซลต่อไป

ถ้าหากสารละลายด้านนอกมีความเข้มข้นของNH_3สูงและพีเอชสูงก็จะทำให้โปรตอนที่ไหลเข้าเซลเกิดการไหลเข้าในแบบแบบขัดกับธรรมชาติ(passive uptake) ดังเส้นประ โปแตสเซียมยังคงออกจากเซล

และปล่อยให้NH_3ไหลเข้าต่อไปจนทำให้ความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ผิวของเซลหมดไป ในกรณีที่ศึกษาในMsp.hugatei ได้มีการแนะนำว่ากลไก NH_3/K^+ exchange จะช่วยรักษาสมดุลไม่ให้เซลสูญเสียค่าศักย์ไฟฟ้าที่ผิวจากการนำแอมโมเนียเข้าเซล(ammonia uptake)



รูปที่ 3.6 กลไกการแลกเปลี่ยนแอมโมเนียกับโปแตสเซียม (Bevereridge/Doyle,1989)

นิกเกิล(Ni)และโคบอลต์(Co)

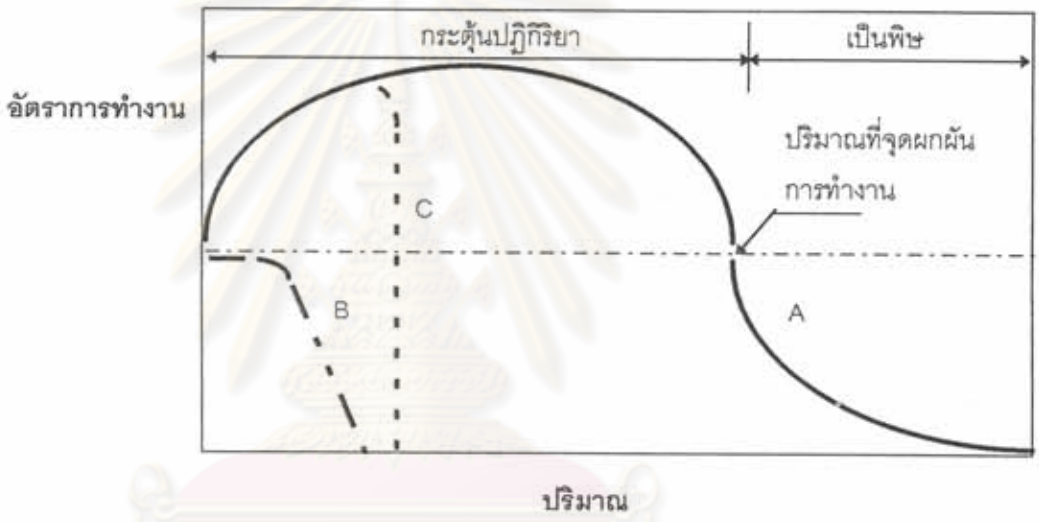
Silva และWilliams(1991) กล่าวว่าการนำนิกเกิลเข้าสู่เซลจุลชีพจะเป็นไปด้วยกลไกบางอย่างที่ต้องใช้พลังงาน มีข้อสมมุติฐานว่ากลไกที่อ้างถึงคือกลไกการดูดแมกนีเซียม (magnesiam pump) ทั้งนี้เนื่องจากสมบัติของรูปไฮเดรตของนิกเกิลและโคบอลต์นั้นจะคล้ายคลึงกับของรูปไฮเดรตของแมกนีเซียมเป็นอย่างมาก จึงเป็นไปได้ว่าการนำนิกเกิลและโคบอลต์เข้าสู่เซลจะใช้กลไกดังกล่าว อย่างไรก็ตามความบังเอิญดังกล่าวไม่ได้ให้ผลดีเสมอไปเพราะว่าแมกนีเซียมมีความสำคัญเป็นอย่างมากต่อสิ่งมีชีวิตในขณะที่นิกเกิลนั้นอาจก่อให้เกิดความเป็นพิษขึ้นได้ทั้งแก่จุลชีพและคน Sprott(1989) กล่าวว่าแมกนีเซียมไม่สามารถแข่งขันกับนิกเกิลในการเข้าเซลได้แต่โคบอลต์สามารถแข่งได้ อย่างไรก็ตามจนถึงปัจจุบันยังไม่อาจอธิบายได้ชัดเจนว่าเหตุใดไอออนโลหะศูนย์กลางของระบบวงแหวนโคแฟกเตอร์อย่าง F420 , F430 และB12 จึงต้องเป็นนิกเกิลและโคบอลต์เท่านั้น

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.4.4 ประโยชน์และโทษของโลหะต่อระบบดำรงชีวิตแบบไม่ใช้ออกซิเจน

โดยทั่วไปในระบบไม่ใช้ออกซิเจน โลหะจะมีบทบาทดังนี้

1) เป็นคะตะลิสต์ต่อปฏิกิริยามากมาย
2) เป็นตัวช่วยลดหรือยับยั้งพิษของซัลไฟด์
3) เป็นสื่อกลาง(agent)ที่ช่วยจับสารอาหารอย่างเช่น ฟอสเฟต
4) เป็นสารพิษหรือตัวยับยั้งต่อจุลชีพ
5) เป็นตัวกระตุ้นการเพิ่มมวลจุลชีพจากการเป็นคะตะลิสต์ต่อปฏิกิริยาเช่น กระตุ้นการทำงานของจุลชีพสร้างมีเทนที่ใช้อะซิเทตเป็นอาหาร , ช่วยในการรวมกลุ่มของจุลชีพ



รูปที่ 3.7 ผลของปริมาณโลหะต่างๆต่อการทำงานของระบบไม่ใช้ออกซิเจน

(Oleszkiewicz & Sharma,1990)

โดยทั่วไปผลของโลหะทั้งที่จำเป็นหรือไม่จำเป็น ทั้งที่เป็นประโยชน์หรือเป็นโทษต่อระบบไม่ใช้ออกซิเจน จะมีลักษณะทั่วๆไปดังรูปที่ 3.7 อธิบายได้ดังนี้

เส้นกราฟรูป A (———) แสดงผลของโลหะที่จำเป็นต่อสิ่งมีชีวิตในระบบ จะเห็นว่าหากเติมในปริมาณที่สูงเกินไปก็จะเป็นพิษต่อระบบได้ เช่น Ni , Co , Fe เป็นต้น

เส้นกราฟรูป B (— · — · —) แสดงผลของโลหะที่ไม่จำเป็นและเป็นพิษ ดังนั้นนอกจากจะไม่ช่วยกระตุ้นการทำงานของระบบนั้น หากเติมมากเกินไปจะไปยับยั้งต่อปฏิกิริยา เช่น เบริลเลียม ตีบุก

เส้นกราฟรูป C (- - - - - - -) แสดงถึงปรากฏการณ์ที่มักเกิดในระบบที่เลี้ยงจุลชีพแบบคละพันธุ์ เช่นถังย่อยตะกอน ที่การเพิ่มปริมาณโลหะขึ้นเรื่อยจะช่วยกระตุ้นการทำงานแต่ถึงจุดหนึ่งก็ทำให้ระบบล้มเหลวอย่างฉับพลัน

Oleszkiewicz และ Sharma(1990)กล่าวว่าตัวเลขปริมาณโลหะเพียงอย่างเดียว มักไม่สามารถทำนายผลว่าจะเป็นประโยชน์หรือโทษต่อกลุ่มจุลชีพ โดยเฉพาะอย่างยิ่งขีดของปริมาณโลหะ(Threshold)ที่เป็นพิษหรือยับยั้งต่อระบบอาจเพิ่มขึ้นหรือลดลงหากลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของสภาพแวดล้อมของระบบเปลี่ยนแปลง

3.4.4.1 ประโยชน์ของโลหะต่อจุลชีพแบบไม่ใช้ออกซิเจน

สาเหตุที่ทำให้การเลี้ยงจุลชีพไม่ใช้ออกซิเจนมีปัญหาดังกล่าวมาจาก จุลชีพสร้างมีเทนมีความต้องการสิ่งแวดล้อมบางอย่างที่เฉพาะตัว ที่อาจขาดไปในสภาวะปกติ ดังตารางที่3.1ที่แสดงว่าธาตุบางอย่างที่จุลชีพต้องการในปริมาณน้อยแต่ขาดไม่ได้ ได้แก่ เหล็ก โคบอลต์ นิกเกิล และซัลเฟอร์ (ในรูปของซัลไฟด์) จากการศึกษาของ TakashimaและSpeece(1988) ได้วิเคราะห์จุลชีพสร้างมีเทน 10 สายพันธุ์ พบว่ามีสัดส่วนปริมาณโลหะที่ประกอบในเซลดังนี้ Fe >> Zn > Ni > Co = Mo > Cu

ตารางที่ 3.1 บทบาทของโลหะบางตัวในปฏิกิริยาแบบไม่ใช้ออกซิเจน(. Oleszkiewicz & Sharma,1990)

เลขอะตอม	โลหะ	หน้าที่	อ้างอิง
24	Cr	คาดว่าไม่จำเป็น	Brock et. al . (1984)
25	Mn	สร้างสเถียรภาพให้ methyltransferase , ปฏิกิริยารีดอกซ์	Fisher(1973) , Perry&Silver(1982)
26	Fe	ธาตุจำเป็นในไซโตโครม, ในferredoxin hydrogenase , ใน CODH , ใน formate dehydrogenase (FDH)	Brock et. al . (1984)
27	Co	พบในคอร์รินอยด์ , CODH	Schonheit et al (1979)
28	Ni	CODH , การสังเคราะห์Coenzyme A , โคแฟกเตอร์ F-430 , CH3-CoM reductase, สร้างเสถียรภาพให้ DNA , RNA	Thauer et. al. (1980) , Hausinger (1987)
29	Cu	Superoxide dimutase (SODM) และhydrogenase ในMPB , ใน facultative anaerobes และ Clostridia	Kirby et al (1981) , Jones et al (1987)
30	Zn	Hydrogenaseใน MPBและSRB , FDH , SODM	Kirby et. al (1981) , Adams et al (1986)

ตารางที่ 3.1 บทบาทของโลหะบางตัวในปฏิกิริยาแบบไม่ใช้ออกซิเจน(. Oleszkiewicz & Sharma,1990)(ต่อ)

เลขอะตอม	โลหะ	หน้าที่	อ้างอิง
34	Se	Hydrogenase , FDH ใน MPBและClostridia	Stadtman(1980) , Jones& Stadtman(1977)
42	Mo	พบในFDH , inhibitorใน SRB	Schauer&Ferry (1982)
74	W	พบในFDH ,ใน 20 MPB , จำเป็นในacetogenic Clostridia , มีผลหักล้างกับMo	Ljungdahl & Andreesen (1975)

โดยที่ CODH คือ CO dehydrogenase , FDH คือ Formate dehydrogenase

SODH คือ Superoxide dimutase , MPB คือ Methane producer

SRB คือ Sulfate reducing bacteria

ความสัมพันธ์ของโลหะไอออนกับจุลชีพกลุ่มอื่นๆนั้นก็มีการอ้างถึงกันอย่างกว้างขวางว่า มีหน้าที่ในการควบคุมความดันออสโมติก ,เป็นสารเชื่อมประสานโครงสร้าง(Structural Glue) ,เป็นดังหัวใจของการคะตะลิตส์ของปฏิกิริยานับร้อยภายในเซลล์ ความสำคัญของโลหะในการกระตุ้นปฏิกิริยาทางชีวะอาจกล่าวอ้างได้ว่า มากกว่าหนึ่งในสามของเอ็นไซม์หลักทั้งหมดเป็นพวก metalloenzyme

ประโยชน์ของโลหะต่อการกระตุ้นปฏิกิริยาการเติบโตของจุลชีพไม่ใช้ออกซิเจนพึ่งมาได้รับการสนใจอย่างมากเพราะมีความพยายามที่จะนำระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนมาใช้แทนระบบบำบัดน้ำเสียแบบเติมอากาศ เนื่องจากโรงงานอุตสาหกรรมที่มีของเสียเข้มข้นสูงหากใช้ระบบบำบัดน้ำเสียแบบเติมอากาศจะทำให้เกิดตะกอนจุลชีพจำนวนมากเป็นภาระของโรงงานในการนำตะกอนไปทิ้ง หรือน้ำเสียบางชนิดที่มีผลให้ตะกอนจุลชีพเกิดความต้องการโลหะบางชนิดเป็นพิเศษเช่น น้ำเสียเมทธานอลที่ต้องการโคบอลต์ หรือน้ำเสียที่เกิดจากน้ำปราศจากไอออนใดเลยเช่นจากน้ำกลั่น

Silva และWilliams(1991) กล่าวถึงวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตต่อความจำเป็นของนิกเกิลและโคบอลต์ว่าธาตุทั้งสองเป็นธาตุที่มีหน้าที่สำคัญในระบบสิ่งมีชีวิตแบบดึกดำบรรพ์ ที่ปฏิกิริยาทางชีวเคมีการดำรงชีวิตนั้นขึ้นอยู่กับระบบเคมีของCH_4และH_2 ในยุคดังกล่าวธาตุทั้งสองชนิดนี้จะมีความสำคัญอย่างมาก แต่เมื่อถึงประมาณ2500 ล้านปีก่อน ในสมัยก่อนแคมเบรียมได้เกิดก๊าซออกซิเจนขึ้นในโลกทำให้บรรยากาศของโลกเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างรุนแรงจนสิ่งมีชีวิตเซลเดียวที่ไม่ใช้ออกซิเจนในยุคแรกสูญพันธ์ไปมาก(ประสานต่างใจ, 2538) ระบบของสิ่งมีชีวิตที่ไม่ใช้ออกซิเจนถูกจำกัดตัวแคบลงพร้อมกับความจำเป็นของโลหะทั้งสองนั้นก็หดหายไปด้วยเช่นกัน

บทบาทของนิกเกิลในระบบสิ่งมีชีวิตระดับสูงยุคปัจจุบันถูกจำกัดอยู่เพียงแค่เอ็นไซม์ตัวเดียวคือยูรีเอส(urease) แม้ว่าจะมีกลุ่มจุลชีพแบบไม่ใช้ออกซิเจนอย่างจุลชีพที่สร้างมีเทนที่ยังคงใช้เอ็นไซม์ที่มีนิกเกิลประกอบอย่าง ไฮโดรจิเนส(hydrogenase)และนิกเกิลเอ็นไซม์ตัวอื่นๆ แต่จุลชีพที่สร้างมีเทนก็ถูกจัดให้เป็นจุลชีพประเภทพิเศษ คือ อาร์ชิโอแบคทีเรีย(archeobacteria) ซึ่งมีโคแฟกเตอร์ชนิดพิเศษที่ต่างออกไปเช่น วงแหวนสารคีแลนท์ของนิกเกิลที่เรียกว่า F-430 เชื่อว่าจุลชีพกลุ่มนี้ก็เป็นสิ่งมีชีวิตยุคดึกดำบรรพ์เช่นกัน(Silva และWilliams,1991)

หน้าที่ของโคบอลต์ที่รู้จักกันดีถูกจำกัดอยู่แค่หน้าที่ของวิตามินบี12 ขณะที่หน้าที่การกระตุ้นของโคบอลต์ถูกมองว่าไม่โดดเด่น และหากพิจารณาในเชิงวิวัฒนาการทางชีววิทยาแล้ว วิตามินบี12เองก็กำลังจะหายไปจากสิ่งมีชีวิต เพราะว่าหน้าที่ต่างๆที่วิตามินบี12ทำได้ เช่น กลไกการขนส่ง Methyl group และกลไกการสลับที่(rearragement)โดยกลไกทางกัมมันต์ มีสารอื่นที่สามารถทำหน้าที่แทนได้ เช่น methyionyl CoA หรือเอ็นไซม์ที่ใช้เหล็กและแมงกานีสในระบบสิ่งมีชีวิตอื่นๆโดยที่เอ็นไซม์ทั้งสองชนิดใช้ออกซิเจน

พิจารณาทางด้านชีวเคมีของฮีม(heam)โคแฟกเตอร์ซึ่งมีเหล็กเป็นโลหะศูนย์กลางจะพบว่ามีรูปแบบและสามารถทำหน้าที่ต่างๆภายในเซลได้หลากหลาย ในขณะที่วงแหวนของวิตามินบี12และF-430เท่าที่เราทราบวงแหวนนั้นมีรูปแบบตายตัวแบบเดียว ยังมีอีกหลายปัจจัยที่ทำให้บทบาทของนิกเกิลและโคบอลต์ในระบบสิ่งมีชีวิตปัจจุบันถูกจำกัดอย่างเช่น

1) ไม่มีบทบาททางเคมีเป็นพิเศษในการเป็นคะตะลิสต์กรดหรือเบสหากเทียบกับสังกะสีที่ทำหน้าที่นี้ได้อย่างดี
2) หน้าที่การรับส่งอิเลกตรอน(redox)ในบรรยากาศที่มีก๊าซออกซิเจนถูกแทนที่โดย เหล็ก ทองแดง แมงกานีส ที่หาง่ายกว่ามาก
3) แหล่งใหญ่ของคาร์บอนในปัจจุบันคือ CO_2 ดังนั้นจึงใช้ O_2 ในการสังเคราะห์สารประกอบคาร์บอน ซึ่งง่ายกว่าที่จะใช้ H_2 โดยใช้ CH_4 เป็นแหล่งคาร์บอนในการสังเคราะห์สารประกอบคาร์บอน
4) โคบอลต์เป็นธาตุหายากและนิกเกิลในปัจจุบันมักพบอยู่ในรูปเสถียรที่นำมาใช้ได้ยาก
5) จากที่ลักษณะโครงสร้างของMg^{+2}มีความคล้ายคลึงโลหะทั้งสองมาก จึงเชื่อว่าในอนาคตแมกนีเซียมอาจจะมาแทนที่นิกเกิลในปฏิกิริยาก็เป็นได้

- เอ็นไซม์ที่มีนิกเกิลเป็นส่วนประกอบ(nickel enzyme)

นิกเกิลเป็นโลหะทรานสิชันที่ถูกมองข้ามจากนักวิจัยด้านสารอนินทรีย์และสารโลหะอินทรีย์ ทั้งที่มีอยู่มากถึงประมาณ 8 % ของแกนกลางของโลก และ 0.01 %ของเปลือกโลก สิ่งมีชีวิตรับนิกเกิลจากการชะละลายNi^{+2} ที่มีอยู่มากบนผิวโลก จึงน่าแปลกใจว่าทำไมนิกเกิลที่มีอยู่มากมายถึงพึ่งมารู้จักในฐานะส่วน

ประกอบของเอ็นไซม์สำคัญ เมื่อล่วงถึงปี 1975 (Kendrick , May , Plishka,1992) เท่าที่ทราบในขณะนี้มีเอ็นไซม์ประเภทนี้ในธรรมชาติอยู่เพียง 4 กลุ่มเท่านั้นได้แก่

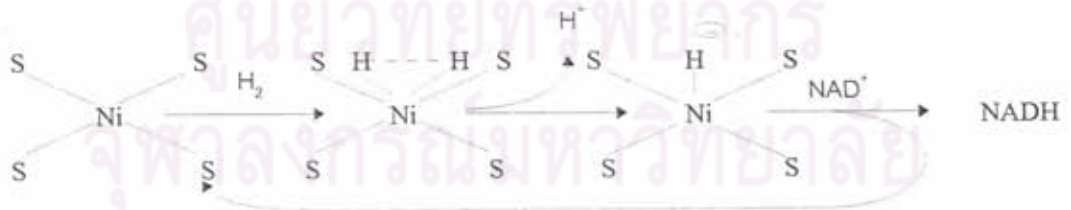
ตารางที่ 3.2 ตัวอย่างของเอ็นไซม์ที่ต้องการนิกเกิล(Silva &Williams,1991)

เอ็นไซม์	ตำแหน่ง	หน้าที่
Urease	ภายนอกเซล	ไฮโดรไลซิสยูเรีย
CO-dehydrogenase	เยื่อหุ้มเซล	คะตะลิสต์ปฏิกิริยา $4H_2 + 2CO_2 \rightleftharpoons CH_3COOH+2H_2O$
F-430	เยื่อหุ้มเซล	คะตะลิสต์ปฏิกิริยา $4H_2 + CO_2 \rightleftharpoons CH_4+2H_2O$
Bacterial hydrogenase	เยื่อหุ้มเซล	คะตะลิสต์ปฏิกิริยา $H_2 \rightleftharpoons 2H^+ +2e$

ในที่นี้จะกล่าวถึงเฉพาะเอ็นไซม์กลุ่มที่เกี่ยวข้องกับจุลชีพสร้างมีเทนโดยตรงดังนี้

Hydrogenase

เป็นปฏิกิริยาที่เกิดกับH_2 ดังรูปที่3.9หรือปฏิกิริยาสร้างH_2จากน้ำซึ่งเป็นที่รู้จักดีในทางเคมี ในระบบชีวะปฏิกิริยานี้สามารถถูกคะตะไลส์จากสารประกอบโลหะหลายชนิด เช่น Fe , Co , Ni , Cu แน่นอนว่าไอออนของโลหะที่เหมาะสมจะเป็นคะตะลิสต์เหล่านี้ล้วนเป็นไอออนของโลหะทรานสิชันที่มีอิเลกตรอนมาก แต่ถ้าพิจารณาว่าในยุคดึกดำบรรพ์นั้นทองแดงยังไม่สามารถนำมาใช้ได้ โคบอลต์เป็นธาตุที่หาได้ยากเมื่อเทียบกับนิกเกิลและเหล็ก ดังนั้นนิกเกิลและเหล็กที่จะอยู่ในรูปสารเชิงซ้อนกับซัลเฟอร์(ดูรูปที่ 3.8) จึงเหมาะสมในระบบชีวะมากกว่า แต่เนื่องจากปฏิกิริยานี้เป็นปฏิกิริยารีดอกซ์ที่เกี่ยวกับเลขวาเลนซี่เท่ากับ 2 ซึ่งนิกเกิลจะแตกตัวจากโปรตีนได้น้อยกว่าเหล็ก



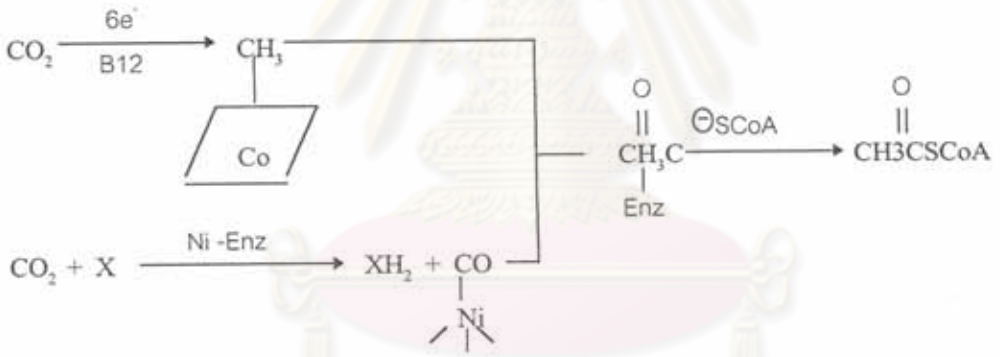
รูปที่ 3.8 กลไกทางเคมีของเอ็นไซม์ไฮโดรจิเนส (Silva & Williams,1991)

CO- dehydrogenase

เอ็นไซม์นี้เรียกว่าคาร์บอนมอนนอกไซด์หรือคาร์บอนิวดีไฮโดรจิเนส มีหน้าที่ในปฏิกิริยาเวียนกลับระหว่างคาร์บอนไดออกไซด์กับคาร์บอนมอนนอกไซด์ ดังนี้

$$CO + H_2O \rightleftharpoons CO_2 + 2e^- + 2H^+ \qquad (3.16)$$

เป็นเอ็นไซม์ที่มีใช้ทั้งในภาวะใช้ออกซิเจนและไม่ใช้ออกซิเจน เช่น พวกPseudomonasในภาวะใช้ออกซิเจนหรือพวกสร้างกรดอะซิติกและพวกสร้างมีเทนในภาวะไม่ใช้ออกซิเจน เอ็นไซม์จากทั้งสองกลุ่มจุลชีพนี้มีข้อแตกต่างอยู่มากมายดังนี้ ในกลุ่มใช้ออกซิเจนไม่ได้สร้างเอ็นไซม์ CO- dehydrogenaseขึ้นเอง แต่ได้มาโดยถูกเหนี่ยวนำเข้าเซลโดยคาร์บอนมอนนอกไซด์และใช้เพียงคาร์บอนมอนนอกไซด์เป็นทั้งแหล่งคาร์บอนและพลังงาน ส่วนกลุ่มสร้างกรดอะซิติกและกลุ่มสร้างมีเทน จะสร้างเอ็นไซม์นี้ขึ้นมาเองในกระบวนการแบบเคมโมลิโทออโตโทรฟิก(chemolithoautotrophic reaction) จุลชีพจะเจริญเติบโตโดยใช้ CO_2 และ H_2 โดยจะใช้CO_2 สร้างCOขึ้นมาและนำไปรวมตัวกับกลุ่มเม็ทธิว(methyl group)กลายเป็นอะซิ-เทตปฏิกิริยานี้จะต้องใช้ CO- dehydrogenase(ดังรูปที่ 3.9) ดังนั้นในกรณีของจุลชีพพวกสร้างอะซิเทตและพวกสร้างมีเทนก็อาจเรียกว่า acetate(acthyl CoA) synthase(Wackett , Orme-Johnson และ Walsh ,1989)



รูปที่ 3.9 การสร้างอะซิเทตจากจุลชีพสร้างอะซิเทตโดยCO dehydrogenase(Ni- Enz ตามรูปนี้)
(Wackett , Orme-Johnson และ Walsh ,1989)

ในกรณีไม่ใช้ออกซิเจนส่วนถ่ายเทอิเลกตรอนในเอ็นไซม์ดังกล่าวประกอบด้วย Ni , 4Fe4s cluster , Zn และเมื่อเอ็นไซม์ตัวนี้จาก Clostridium thermoaceticum มาวิเคราะห์พบว่ามีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 400,000 ดาลตัน แต่ละโมลของเอ็นไซม์นี้ประกอบด้วย Ni 2 ไอออน , Fe กับ S อย่างละ 32-40 ไอออน และ Zn 3 ไอออน จากรูปที่ 3.9 หากมี คาร์บอนมอนนอกไซด์ ,เม็ธธิลเต็ทตระไฮโดรโฟเล็ท ,โคเอ็นไซม์ เอ ,เอ็นไซม์ บี 12 , เม็ธธิลเต็ทตระไฮโดรโฟเล็ท บี12 เม็ธธิลทรานสเฟอร์เรส และ ไดซัลไฟด์ รีดักเทส CO dehydrogenaseจะสังเคราะห์ acetyl-S-CoAขึ้นได้

Methyl - S - coenzyme M reductaseและ F-430

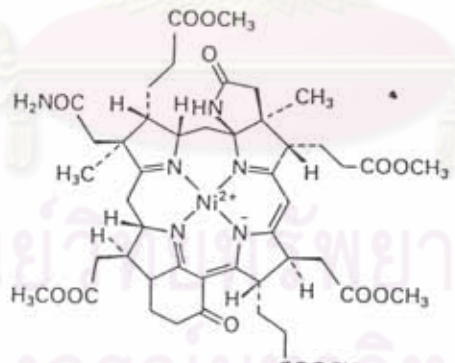
Methyl - S - coenzyme M reductase คือโปรตีนของเซลที่ละลายน้ำได้ มีปริมาณรวมประมาณ 10 เปอร์เซนต์ของโปรตีนเซลที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด เอ็นไซม์ตัวนี้มีลักษณะเป็นกลุ่มก้อนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 300,000 ดาลตัน มีสีเหลืองเนื่องจากการถูกโมเลกุลของ tetrahydrocorphinoid (อันมีNi เป็นโลหะศูนย์กลาง)มาจับอยู่ 2 โมเลกุลต่อทุกโมลของเอ็นไซม์ โมเลกุลtetrahydrocorphinoid ที่เกาะกับเอ็นไซม์ อยู่นี้เรียกว่า โคแฟกเตอร์ F-430 (ดังรูปที่ 3.10)

Methyl - S - coenzyme M reductase กระตุ้นปฏิกิริยารีดักชั่นการสร้างมีเทนในขั้นตอนของอิเลกตรอนสองตัวสุดท้ายของจุลชีพ จุลชีพสร้างมีเทนทุกชนิดจะมีเอ็นไซม์ Methyl - S - coenzyme M reductaseเป็นส่วนประกอบในเซล ไม่ว่าสารอาหารของมันจะเป็น คาร์บอนไดออกไซด์หรือกรดอะซิติก หรือพวกเม็ทธิลามีน(methylamine) มีปฏิกิริยาดังนี้

$$CH_3\text{-}SCH_2CH_2SO_3^- + 2e^- + 2H^+ \longrightarrow CH_4 + HSCH_2CH_2SO_3 \qquad (3.17)$$

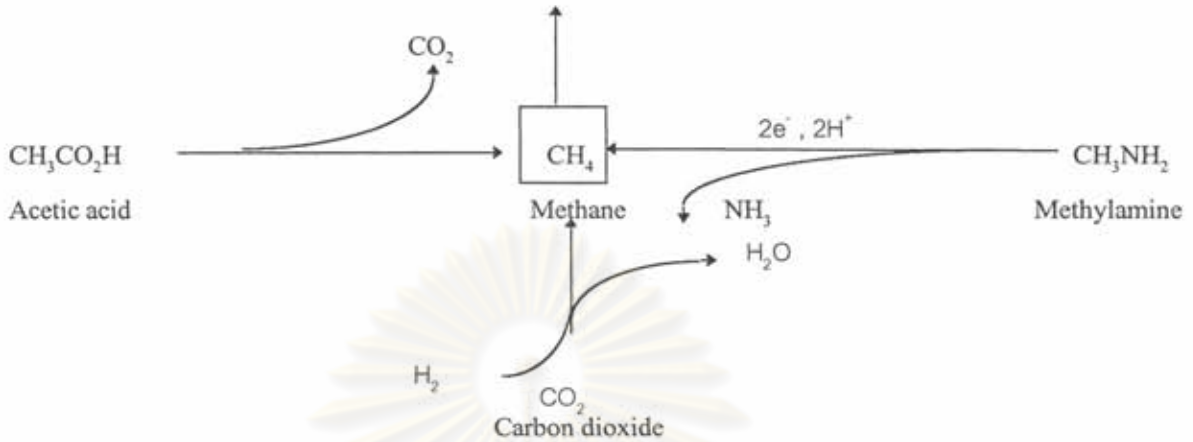
(Methyl - S - coenzyme M) (S - coenzyme M)

ประมาณกันว่าปริมาณการสร้างมีเทนจากสารอาหารต่างๆ(ดังรูปที่ 3.11)จากเอ็นไซม์นี้ทั่วโลกมีมากถึง10^{15} กรัม/ ปี



F-430

รูปที่ 3.10 โครงสร้างของ โคเอ็นไซม์-F430 ที่มีนิกเกิลเป็นไอออนศูนย์กลาง (Silva & Williams,1991)



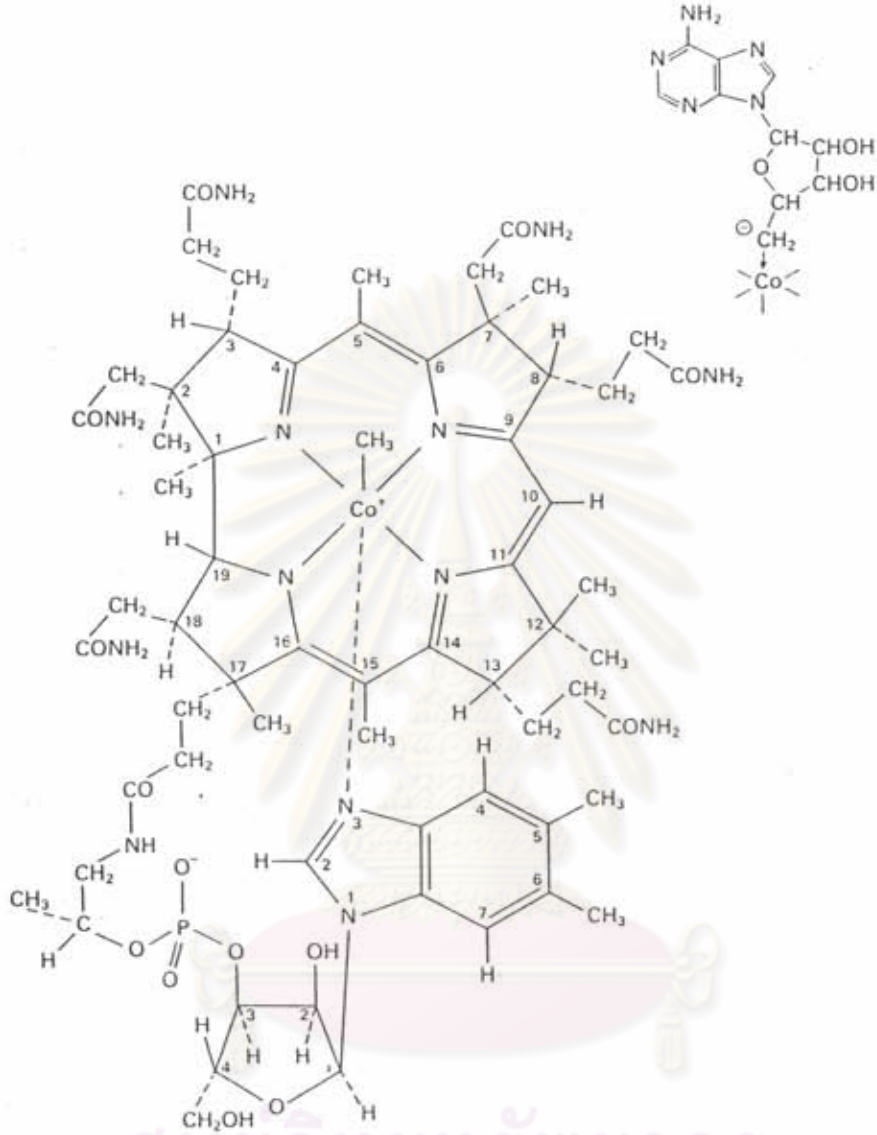
รูปที่ 3.11 แสดงการสร้างมีเทนจากสารอาหารหลายชนิด (Bevereridge/Doyle,1989)

- บทบาทของโคบอลต์ในรูปวิตามินบี12ต่อจุลชีพ

โคบอลต์เป็นธาตุหายาก โคบอลต์ปริมาณสูงสุดในธรรมชาติที่จะพบอยู่ในร่างกายมนุษย์ในรูปของวิตามิน บี12 (ดังรูปที่ 3.12)ซึ่งตัววิตามิน บี12 หรือ corrin -cobalt complexeหรือคอร์รินอยด์ เป็นวิตามินที่มีปริมาณต่ำที่สุดในร่างกาย จากตารางที่ 3.3 จะพบว่ามีปฏิกิริยาอย่างน้อย 5 กลุ่มที่ใช้ บี 12

ตารางที่ 3.3 ตัวอย่างของเอ็นไซม์ที่ต้องการโคเอ็นไซม์ บี12 (Silva & Williams,1991)

เอ็นไซม์	ตำแหน่งในจุลชีพ	หน้าที่
Methionine synthetase	ไซโตซอล	เปลี่ยนhomocystein เป็นmethione
Methylmalonyl CoA-mutase	ไซโตซอล	เปลี่ยนmethylmalonyl-Co-Aเป็นsuccinyl-CoA
Glutamate mutase	ไซโตซอล	เปลี่ยน L-glutamateไปเป็น L-threo-β-methylaspartate
Dio dehydratase	ไซโตซอล	เปลี่ยนdiolไปเป็นaldehyde
Lysine mutase	ไซโตซอล	เปลี่ยน D-lysineไปเป็น 2,5 - diaminohexanoic acid
Ethanolamine deaminase	ไซโตซอล	แยกกลุ่มกรดอะมิโนจาก $NH_2CH_2CH_2OH \longrightarrow CH_3CHO + NH3$
Ribonucleotide reductase	ไซโตซอล	ปฏิกิริยารีดักชั่นของribonucleotides ไปเป็น deoxyribonucleotide



รูปที่ 3.12 โครงสร้างของmethylated coenzymeที่สร้างจากวิตามินบี12ซึ่งบรรจุโคบอลต์ โคเอ็นไซม์บี12 ปฏิกิริยาหลายชุดจะมีพันธะโคบอลต์-คาร์บอนที่ตำแหน่ง 5′ -$CH_2^{\cdot}$ ของadenosyl ในรูปเล็ก(Silva & Williams , 1991)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การเติบโตของจุลชีพสร้างกรดอะซิติกและมีเทนต้องพึ่งพาโคบอลต์ ไอออนของโคบอลต์จะถูกจุลชีพใช้ในการสังเคราะห์สารประกอบโปรตีนคอร์รินอยด์(corrinoid protein)หรือวิตามินบี12ซึ่งมีโคบอลต์เป็นไอออนศูนย์กลาง บี12 มีบทบาทสำคัญมากมายในกระบวนการดำรงชีวิต เป็นต้นว่าการขนส่งกลุ่มเม็ธธิล(methyl group) กรณีการสร้างการผลิตกรดอะซิติก บี12นี้เป็นสื่อในการส่งผ่านกลุ่มเม็ธธิล(methyl group)ไปสร้างอะเซทิลโคเอดังรูปที่ 3.10ซึ่งเป็นสารตั้งต้นก่อนจะถูกแปลงต่อไปเป็นกรดอะซิติกและไปสร้างเซล กรณีของการสร้างมีเทน บี12จะเกี่ยวข้องในการสร้างmethyl coenzyme M ซึ่งเป็นสารตั้งต้นก่อนจะถูกแปลงต่อไปเป็นมีเทนนอกจากนี้คอร์รินอยด์(corrinoid)ยังเกี่ยวข้องในการสร้างเซลของจุลชีพสร้างมีเทนอีกด้วย

ปริมาณของคอร์รินอยด์(corrinoid) ในจุลชีพแบบไม่ใช้ออกซิเจนมีค่าแตกต่างตามสปีชีส์ของจุลชีพและชนิดสารอาหารที่มันใช้ ในกลุ่มจุลชีพสร้างมีเทนนั้น Ms.barkeri จะมีค่าปริมาณของคอร์รินอยด์(corrinoid)ในเซลสูงสุดก็ต่อเมื่อเลี้ยงจุลชีพนั้นด้วยเมธานอลโดยมีค่าเป็นสามเท่าของเมื่อเลี้ยงด้วยอะซิเทต เนื่องจากประมาณ 98 เปอร์เซนต์ของปริมาณโคบอลต์ทั้งหมดในเซลจะพบอยู่ในรูปคอร์รินอยด์ (corrinoid) จากปริมาณคอร์รินอยด์สะสมมากกว่าจึงเป็นเหตุผลว่าทำไมโคบอลต์จึงมีผลในการกระตุ้นการทำงานของกลุ่มจุลชีพสร้างมีเทนที่ใช้สารอาหารกลุ่มเม็ทธิล(methyl group)เช่น เมธานอลได้มากกว่ากลุ่มที่ใช้กรดอะซิติเป็นสารอาหาร

3.4.4.2 ความเป็นพิษ(Toxicity)ของโลหะต่อจุลชีพ

ความเป็นพิษของสารพิษอาจแยกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

1) ตัวยับยั้งแบบไม่เจาะจง(nonspecific inhibitor) คือ ตัวยับยั้งที่จะไม่เลือกทำปฏิกิริยากับเฉพาะสารอาหารหรือเอ็นไซม์ตัวใดตัวหนึ่งเป็นพิเศษ เช่น ไซยาไนด์
2) ตัวยับยั้งแบบเจาะจง(specific inhibitor) คือ ตัวยับยั้งที่จะเลือกทำปฏิกิริยากับเฉพาะสารอาหารหรือเอ็นไซม์บางตัวเท่านั้น

โลหะหนักโดยทั่วไปเป็นตัวยับยั้งที่ไม่เจาะจง(nonspecific inhibitor) และเป็นการยับยั้งแบบย้อนกลับได้กล่าวคือเมื่อจับตัวกับเอ็นไซม์ตัวใดแล้วก็สามารถปล่อยและสามารถกลับมาจับตัวอีกได้ ดังแสดงในสมการข้างล่างนี้

เอ็นไซม์ (E) +ตัวยับยั้ง(I) $\rightleftharpoons$ สารเชิงซ้อนของเอ็นไซม์ กับตัวยับยั้ง(EI)

เอ็นไซม์ (E)+สารอาหาร(S)+ตัวยับยั้ง(I) $\rightleftharpoons$ สารเชิงซ้อนของเอ็นไซม์ กับสารอาหารกับตัวยับยั้ง(ESI)

การยับยั้งของโลหะทั่วไปอาจแยกเป็นอีก 2 แบบคือ

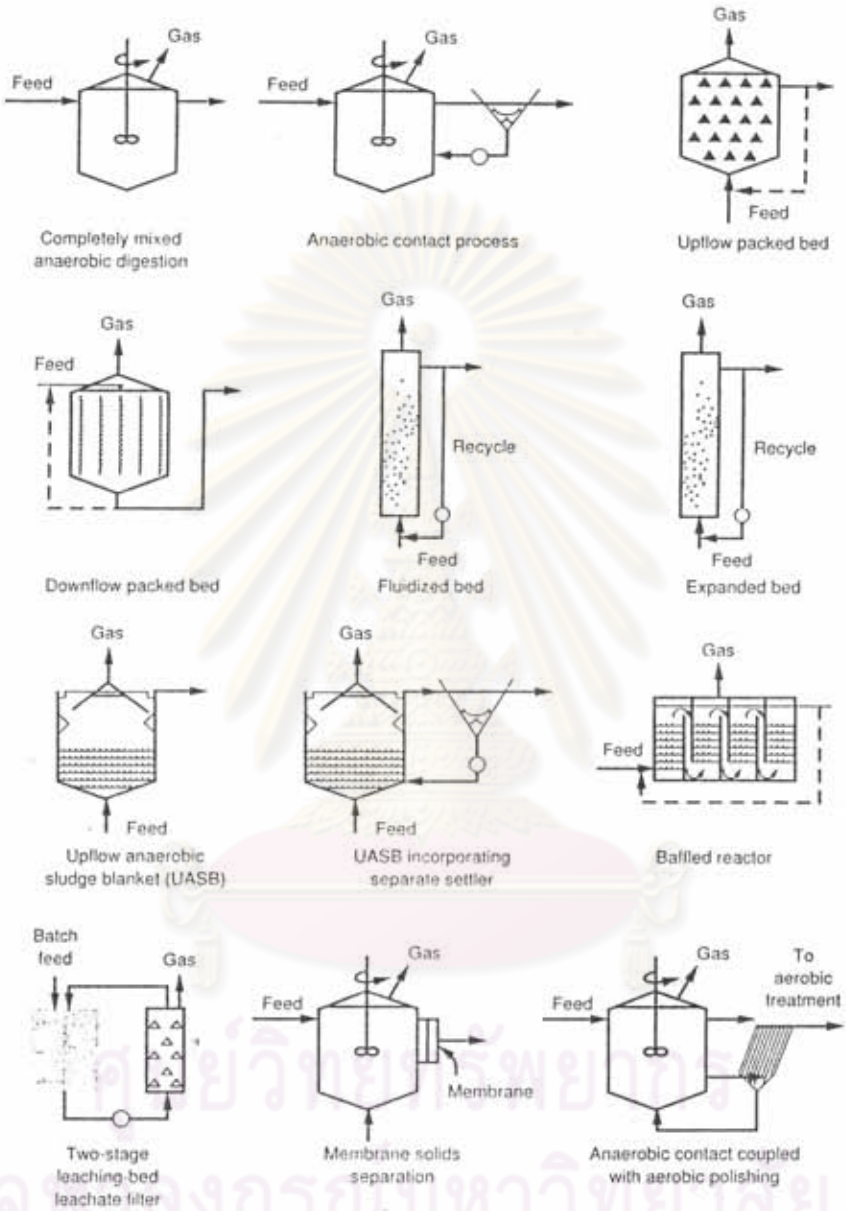
-ตัวยับยั้งแบบไม่แข่งขัน(incompetitive inhibitor)คือตัวยับยั้งจะไม่ไปยับยั้งปฏิกิริยาด้วยการแย่งการจับตัวของสารอาหาร โลหะที่มีการยับยั้งแบบนี้จะไปจับตัวกับเอ็นไซม์ (E) หรือสารประกอบของสารอาหารกับเอ็นไซม์ (ES) เกิดเป็น EI หรือ ESI ผลการยับยั้งแบบนี้คือค่าความเข้มข้นอิ่มตัว(K_m)จะคงที่ แต่อัตราค่าการกำจัด(k_{max})และการเติบโตสูงสุด(μ_{max}) จะมีค่าลดลงเป็นสัดส่วนกับปริมาณโลหะหนักที่เติมลงไป ตัวอย่างของโลหะที่มีการยับยั้งแบบนี้เช่น นิกเกิล เป็นต้น

-ตัวยับยั้งแบบแข่งขัน(competitive inhibitor)เป็นตัวที่ไม่พบบ่อยกล่าวคือโลหะที่เป็นตัวยับยั้งจะไปแทนที่ในตำแหน่งของโลหะที่เอ็นไซม์กำลังหา การยับยั้งแบบนี้ขึ้นกับว่าเอ็นไซม์ แต่ละชนิดมีความชอบ(affinity)โลหะตัวใดมากกว่ากันและความเข้มข้นของโลหะที่มาแข่งขันสูงแค่ไหน เช่น Cd กับZn ซึ่งมีความคล้ายคลึงกัน ทำให้ Cd สามารถเข้าไปแทนที่ตำแหน่งของZnในเอ็นไซม์ซึ่งจะไปทำให้คุณสมบัติเดิมของเอ็นไซม์เสียไป

3.5 ระบบยูเอเอสบี (Upflow Anaerobic Sludge Blanket, UASB Process)

ระบบกำจัดสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งแบบไม่ใช้ออกซิเจน มีอยู่ด้วยกันหลายแบบ เช่น บ่อเกรอะ(Septic tank), บ่อหมัก (Anaerobic Lagoons), ถังหมักธรรมดา (Conventional Anaerobic Digestion), ระบบถังหมักแบบสัมผัส (Anaerobic Contact หรือ Anaerobic Acivated Sludge), ระบบถังหมักสองเฟส (Two-Phase Anaerobic Digestion),ระบบเครื่องกรองไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic Filter), ระบบ Anaerobic Fluidized Bed (AFB) และ Anaerobic Attached Film Expanded Bed (AAFEB),ระบบ Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB), ระบบจานชีวหมุนแบบไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic Reacting Biological Contactor), ระบบแผ่นกั้นไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic Baffled Reactor) เป็นต้น ดังแสดงในรูปที่ 3.13 ซึ่งแต่ละระบบมีคุณสมบัติและความเหมาะสมในการใช้งานแตกต่างกัน จากการศึกษาและทดลอง พบว่ากระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน มักจะประสบปัญหาบางประการในการออกแบบ และควบคุมการทำงาน เช่น

- ความล้มเหลวในการแยกตะกอนจุลินทรีย์ไม่ให้หลุดออกไปกับน้ำออก (effluent)
- ระยะเวลาที่น้ำเสียอยู่ในระบบ (hydraulic retention time) นานกว่ากระบวนการบำบัดน้ำเสียใช้ออกซิเจน
- ความมีเสถียรภาพในการทำงานของระบบต่ำ เป็นต้น



รูปที่ 3.13 ลักษณะของระบบต่างๆ ในกระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน(Metcalf & Eddy , 1991)

จากปัญหาดังกล่าวข้างต้นได้มีความพยายามที่จะพัฒนาแก้ไขปัญหาดังกล่าวของกระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนกันอย่างกว้างขวาง ทำให้เกิดรูปแบบต่าง ๆ ของระบบไม่ใช้ออกซิเจน เช่น

- ระบบถังหมักแบบสัมผัส เพื่อแยกตะกอนจุลินทรีย์ออกจากน้ำทิ้ง และนำกลับเข้าสู่ถังหมักใหม่

- ระบบถังหมักแบบสองเฟส แยกถังหมักออกเป็นสองส่วน ตามลักษณะการทำงานของจุลินทรีย์แบบไร้อากาศ ทำให้ง่ายต่อการควบคุมสภาวะแวดล้อม

- ระบบเครื่องกรองไม่ใช้ออกซิเจนใส่ตัวกลางในถังหมักเพื่อช่วยกระจายการไหลของน้ำและเป็นที่ยึดเกาะของจุลินทรีย์ ทำให้มีระยะเวลากักเก็บตะกอนจุลินทรีย์สูง เป็นต้น Stander (1966) ได้ค้นพบว่าการเลี้ยงตะกอนจุลินทรีย์ให้มีอยู่ในถังหมักเป็นจำนวนมากโดยการติดตั้งถังตกตะกอนไว้ตอนบนของถังหมัก จะทำให้สามารถลดระยะเวลาในการบำบัดให้สั้นลง และยังสามารถรับปริมาณน้ำเสียเข้าสู่ระบบได้มากขึ้นด้วย ต่อมาระบบนี้ได้รับการพัฒนาขึ้นตามลำดับในประเทศเนเธอร์แลนด์ โดย Lettinga และ คณะ (1980) โดยการพัฒนาอุปกรณ์ให้สามารถแยกน้ำเสีย ตะกอนจุลินทรีย์ และก๊าซชีวภาพ (Gas-solid separator device , GSS device) ให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น ระบบดังกล่าวคือ ระบบยูเอเอสบี(Upflow Anaerobic Sludge Blanket , UASB)

ปัจจุบันสภาวะขาดแคลนพลังงานเป็นปัญหาสำคัญ ทำให้วิศวกรได้หันกลับมาสนใจและพัฒนากระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนมากขึ้น เนื่องจากกระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน จะได้ก๊าซชีวภาพ ซึ่งนำมาใช้เป็นแหล่งพลังงานได้ จากที่ได้กล่าวข้างต้นแล้วว่ากระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนมีอยู่ด้วยกันหลายรูปแบบ แต่ระบบที่วิศวกรต้องการจะต้องเป็นระบบที่มีความประหยัดที่สุด ทั้งในด้านการลงทุน และในด้านการควบคุมระบบ รวมถึงการบำรุงรักษา เมื่อพิจารณาจากระบบต่าง ๆ ที่มีอยู่ในปัจจุบันพบว่า ระบบยูเอเอสบี จะมีความเหมาะสมที่สุด ได้มีการพัฒนาและศึกษาถึงความเป็นไปได้ของระบบนี้กันอย่างกว้างขวางจำนวนของถังยูเอเอสบี ที่ใช้อยู่จนถึงเดือนกันยายน ค.ศ. 1990 มีประมาณ 205 ถังเป็นอย่างน้อย (ตารางที่ 3.4)

3.5.1 ลักษณะและการทำงานของระบบยูเอเอสบี

ลักษณะทั่วไปของถังยูเอเอสบี เป็นถังปิดรูปทรงสี่เหลี่ยมหรือรูปทรงกระบอกก็ได้ถังยูเอเอสบีจะแบ่งออกเป็นสองส่วนคือ (รูปที่ 3.14)

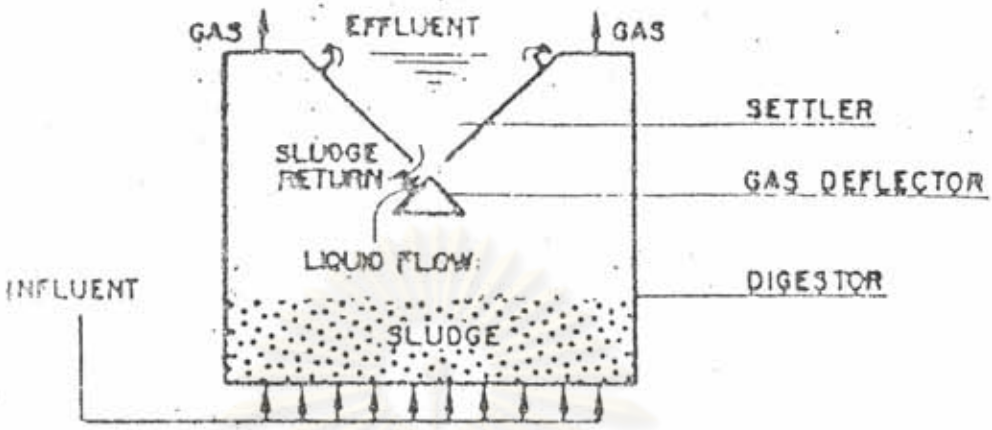
- ส่วนแรก เป็นถังหมักพร้อมด้วยระบบป้อนน้ำเสีย(Feed inlet system) อยู่ด้านล่างของถัง

- ส่วนที่สอง ดังรูปที่ 3.15 เป็นถังตกตะกอนอยู่ด้านบนของถังประกอบด้วยแผ่นกั้นเอียง ทำมุมประมาณ 45 - 60 องศา (Lettinga , 1991) โดยมีวัตถุประสงค์หลัก คือ ทำหน้าที่แยกของเหลว ก๊าซ และตะกอนจุลินทรีย์ออกจากกัน และยังทำหน้าที่ป้องกันการหลุดออกมาของตะกอนจุลินทรีย์ ตารางที่ 3.5 และ 3.6 แสดงวัตถุประสงค์ของอุปกรณ์แยกสามสถานะและข้อแนะนำออกแบบอุปกรณ์แยกสามสถานะตามลำดับ

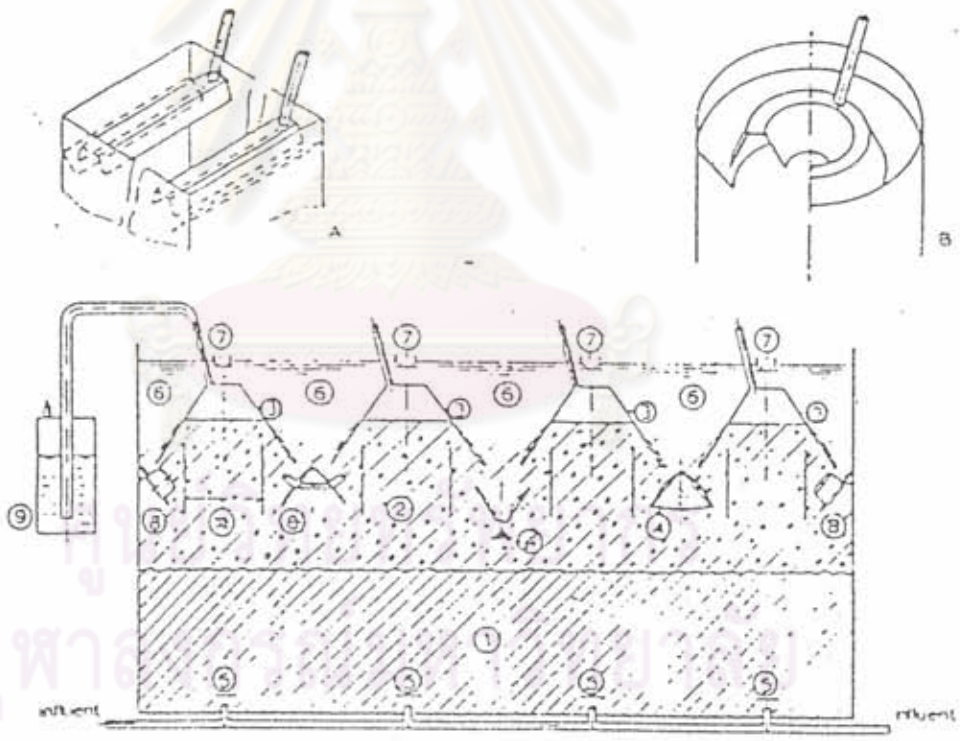
ตารางที่ 3.4 แสดงจำนวนโรงบำบัดน้ำเสียที่ใช้ระบบ UASB ก่อนเดือนกันยายน ค.ศ. 1990(Lettiga , 1991)

ชนิดน้ำเสีย	จำนวนโรงบำบัดยูเอเอสบี	ปริมาตรถัง(ลบ.ม.)
แอลกอฮอลล์	20	52,000
ยีสต์ของเบเกอรี่	5	9,900
เบเกอรี่	2	347
เบียร์	30	60,600
ลูกกวาด	2	350
อาหารกระป๋อง	3	2,800
เคมี	2	2,600
ช็อกโกแล็ต	1	285
กรดซิตริก	2	6,700
กาแฟ	2	1,300
ผลิตภัณฑ์นมและชีส	6	2,300
สุรา	8	24,000
น้ำเสียชุมชน	3	3,200
การหมัก	1	750
น้ำผลไม้	3	4,600
การผลิตฟรุกโตส	1	240
น้ำชะหลุมฝังกลบ	6	2,495
กระดาษและเยื่อกระดาษ	28	67,197
เภสัชกรรม	2	400
มันสำปะหลัง	27	25,610
ยาง	1	650
คะกอนน้ำเสียชุมชน	1	1,000
โรงฆ่าสัตว์	3	950
น้ำอัดลม	4	1,385
น้ำแป้ง(ข้าวบาร์เล่ห์, ข้าวโพด,มันสำปะหลัง ,ข้าวสาลี)	16	33,500
ผลิตน้ำตาล	19	23,100
พืชผักผลไม้	3	2,800
ยีสต์	4	8,550
ทั้งหมด	205	339,609

แหล่งที่มา: Biogas Technology ประเทศเนเธอร์แลนด์ จัดพิมพ์โดยหน่วยงานเพื่อการพลังงานและสิ่งแวดล้อมประเทศเนเธอร์แลนด์(ไม่มีชื่อผู้แต่ง, 1988) และข้อมูลจาก Biotim,Gb Biothane International ,Paques BV and ATO



รูปที่ 3.14 ลักษณะทั่วไปของถัง UASB (M.E Souza, 1986)



. Various UASB reactor configurations (A = rectangular; B = cylindrical, 1 = sludge bed, 2 = liquid phase = gas, 3 = gas collectors, 4 and 8 = different designs to direct the gas into the gas collector, 5 = feed inlet system, 6 = settling compartment, 7 = overflow, 9 = water seal).

รูปที่ 3.15 แสดงลักษณะรูปแบบต่างๆของอุปกรณ์แยกสามสถานะ(Gas Device)และอุปกรณ์อื่นๆในระบบ UASB (Lettinga , 1986)

T 17031916

ตารางที่ 3.5 วัตถุประสงค์ในการติดตั้งอุปกรณ์แยกสามสถานะ (GSS Device) สำหรับระบบยูเอเอสบี (Lettinga, 1991)

1. ทำหน้าที่แยกและนำก๊าซชีวรูปที่เกิดขึ้นออกจากถังปฏิกิริยา
2. ป้องกันการหลุดออกของตะกอนจุลินทรีย์ และเม็ดตะกอนจุลินทรีย์
3. ช่วยให้ตะกอนจุลินทรีย์ที่ตกตะกอน กลับลงสู่ส่วนล่างของถังปฏิกิริยา
4. ทำหน้าที่เป็นส่วนตกตะกอน ก่อนปล่อยน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดแล้วออกจากระบบ
5. ช่วยป้องกันและกั้นไม่ให้ตะกอนจุลินทรีย์ในชั้นตะกอนลอย (sludge blanket) ซึ่งมีการขยายตัวและฟุ้งกระจายอย่างรวดเร็ว เข้าไปในส่วนตกตะกอน

ตารางที่ 3.6 สรุปแนวทางและข้อแนะนำในการออกแบบอุปกรณ์แยกสามสถานะ (GSS Device) (Lettinga, 1991)

1. ความลาดเอียงของแผ่นกั้นควรมีค่าประมาณ 45 - 60 องศา
2. พื้นที่ผิวของอุปกรณ์ในส่วนที่เป็นก๊าซ ควรมีพื้นที่ประมาณ 15-20% ของพื้นที่ผิวของถังปฏิกิริยา
3. อุปกรณ์ควรมีความสูงประมาณ 1.5-2.0 เมตร สำหรับถังปฏิกิริยาที่มีความสูง 5.0-7.0 เมตร
4. พื้นที่ว่างภายในอุปกรณ์แยกสามสถานะ ต้องออกแบบให้เพียงพอสำหรับการจัดการเกี่ยวกับ การสะสมและารปลดปล่อยก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้น รวมทั้งการติดตั้งอุปกรณ์อื่น ๆ ที่จำเป็นเช่นอุปกรณ์กำจัด ฝ้าไข (scum)
5. แผ่นกั้นด้านล่างและส่วนตกตะกอน ต้องมีระยะเหลื่อมกันไม่น้อยกว่า 10-20 ซม. เพื่อป้องกัน ไม่ให้ก๊าซชีวภาพหลุดเข้าไปในส่วนตกตะกอน
6. ท่อนำก๊าซชีวภาพออกจากถังปฏิกิริยา ต้องมีขนาดใหญ่เพียงพอที่ก๊าซชีวภาพสามารถไหลออกได้สะดวก แม้ในกรณีที่มีฟอง (foaming) เกิดขึ้น
7. ในกรณีที่ใช้บำบัดน้ำเสียที่ทำให้เกิดฟองมาก ต้องติดตั้งอุปกรณ์สำหรับกำจัดฟองที่เกิดขึ้น
8. ควรติดตั้งแผ่นกั้นฝ้าไขไว้ทางด้านหน้าของเวียร์น้ำออก

การทำงานของระบบยูเอเอสบี จะต้องมีการเติมเชื้อจุลชีพ เข้าสู่ถังยูเอเอสบีก่อนและรักษาสภาพแวดล้อมให้เหมาะสม เพื่อให้เกิดชั้นของตะกอนจุลินทรีย์ ที่มีความเข้มข้น 40-100 kg.VSS/m^3 ขึ้นที่ก้นถัง (Sludge bed) ตะกอนจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นจะมีความหนาแน่น และมีลักษณะเป็นเม็ดหรือเกล็ด (granular or pellet) มีความเร็วในการจมตัวสูง (high setting velocity) การรวมตัวเป็นเม็ดของตะกอนจุลินทรีย์ จะขึ้นกับลักษณะของน้ำเสียที่จะมาบำบัด และเชื้อจุลชีพที่เราใช้ในครั้งแรก ด้านบนของชั้นตะกอนล่างจะเป็นชั้นของตะกอน

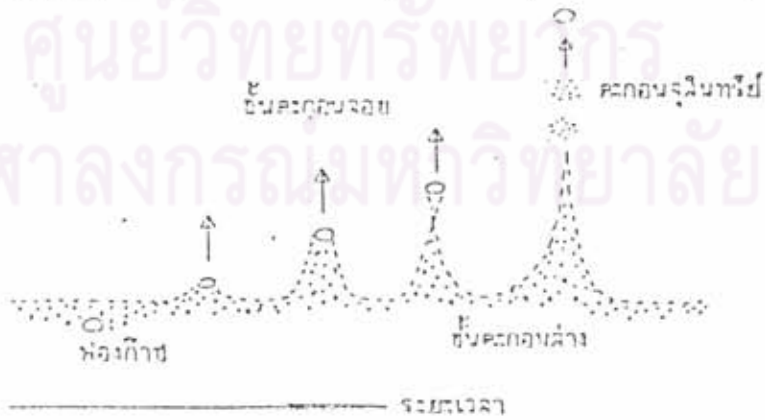
ลอย (sludge blanket) ที่มีความเร็วในการจมตัวต่ำ (low setting velocity) และมีความเข้มข้นประมาณ 15-30 kg.VSS/m^3

น้ำเสียจะถูกป้อนเข้าทางตอนล่างของถัง เพื่อให้สัมผัสกับตะกอนจุลินทรีย์ในถังอย่างทั่วถึง น้ำเสียจะถูกจุลินทรีย์ในชั้นตะกอนล่างย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสีย ทำให้เกิดเซลล์ของจุลินทรีย์และก๊าซต่าง ๆ ก๊าซที่เกิดขึ้นจะเกาะอยู่ตามตะกอนจุลินทรีย์ ความเร็วของน้ำเสียที่ป้อนเข้าสู่ระบบและฟองก๊าซที่เกิดขึ้นจะไหลขึ้นพาเอาตะกอนจุลินทรีย์ขึ้นสู่ด้านบน ทำให้มีการสัมผัสกันระหว่างน้ำเสีย กับตะกอนที่แขวนลอยที่มีปริมาณความเข้มข้นต่ำกว่าชั้นตะกอนล่างๆ และในระหว่างที่น้ำเสียไหลขึ้นสู่ส่วนที่เป็นถังตกตะกอนทางด้านบน สารอินทรีย์ในน้ำเสียยังคงถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ในชั้นตะกอนลอย เมื่อน้ำเสียไหลสู่ส่วนบนของถัง ซึ่งเป็นอุปกรณ์แยกสามสถานะ น้ำเสียจะปะทะกับแผ่นกั้น ซึ่งเอียงทำมุม 45°-60° ซึ่งจะทำหน้าที่แยกก๊าซที่เกิดขึ้นให้หลุดออกจากกลุ่มตะกอนจุลินทรีย์ ก๊าซที่เกิดจะถูกเก็บกักในส่วนบน แล้วไหลออกไปตามท่อสู่ที่เก็บกักเมื่อแรงดันของก๊าซที่เกิดมากกว่าแรงดันของที่เก็บกัก น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดแล้วจะแยกตัวจากตะกอนจุลินทรีย์ และไหลออกทางด้านบนของถัง ส่วนตะกอนจุลินทรีย์จะตกสู่ถังตกตะกอนและจมลงสู่ด้านล่างของถังยูเอเอสบีต่อไป

ในระบบนี้ ปัจจัยสำคัญของระบบคือการเลี้ยงจุลินทรีย์ให้รวมตัวกันเป็นเม็ดหรือเกล็ดตะกอน จนกระทั่งมีขนาดใหญ่และมีน้ำหนักมากจนสามารถตกตะกอนได้ดี เพราะถ้าไม่สามารถตกตะกอนจุลินทรีย์ให้มีลักษณะดังกล่าวได้ ข้อดีของระบบนี้จะกลายเป็นข้อเสียของระบบกล่าวคือ จะเกิดปัญหาการหลุดออกของตะกอนจุลินทรีย์ ทำให้ประสิทธิภาพของระบบด้อยลงและอาจทำให้ระบบล้มเหลวได้ในที่สุด

3.5.2 กลไกการเกิดเม็ด หรือเกล็ดตะกอนจุลินทรีย์ (Pelletisation)

Hulshoff Pol และคณะ (1993) ได้ศึกษาการเกิดเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ ผลจากผลการทดลองให้ผลที่คล้ายคลึงกัน โดยสังเกตุจากพฤติกรรมในการคงอยู่ หรือการหลุดออกของตะกอนจุลินทรีย์ (รูปที่ 3.16)



รูปที่ 3.16 แสดงลักษณะการลอยขึ้นของตะกอนจุลชีพ โดยก๊าซที่เกิดขึ้นในชั้นตะกอนนอน(sludge bed) (ณรงค์ ,2529)

จากการทดลองของ Hulshoff Pol และคณะ ได้กล่าวถึงขั้นตอนการเกิดเม็ดตะกอนตะกอนจุลินทรีย์ไว้เป็น 3 ขั้นตอนดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 (อัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ < 2 กก. ซีโอดี/ลบ.ม.วัน)

ในขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนเริ่มต้น เมื่อป้อนน้ำเสียเข้าสู่ถังยูเอเอสบีแล้ว ชั้นตะล่างจะเกิดการขยายตัวเนื่องมาจากน้ำเสียที่เราป้อนเข้าไป และการเริ่มเกิดก๊าซในระบบ เกิดจุลินทรีย์จำพวกเส้นใย (filamentous organisms) ในระบบ ซึ่งทำให้ตะกอนจุลินทรีย์จมตัวได้น้อยลง

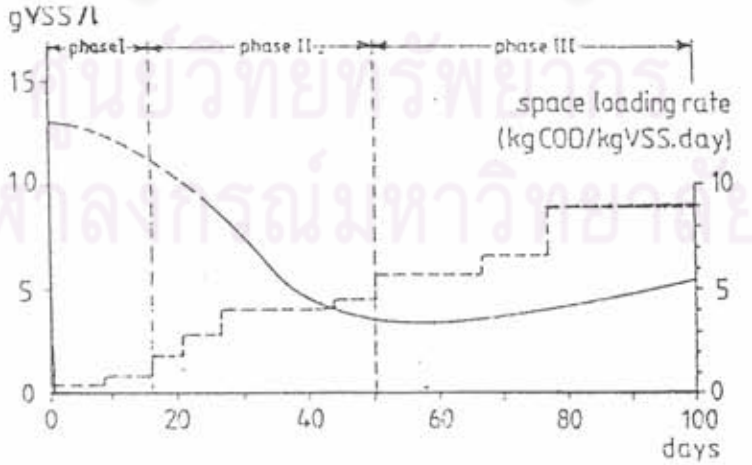
ขั้นตอนที่ 2 (อัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ 2-5 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.วัน)

มีการหลุดออกของตะกอนจุลินทรีย์ที่มีขนาดเล็ก ๆ ออกนอกถัง ส่วนตะกอนจุลินทรีย์ที่มีขนาดใหญ่และหนักจะสามารถคงอยู่ในถังได้ ระบบมีการสร้างจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น และมีการรวมตัวกันของตะกอนจุลินทรีย์ ทำให้มีลักษณะเป็นเม็ดตะกอนจมอยู่ในส่วนล่างของถัง ขนาดของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์จะมีขนาดใหญ่ขึ้น พบว่ามีขนาดถึง 5 มม.

ขั้นตอนที่ 3 (อัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ > 3-5 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.วัน)

ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนที่อัตราการเกิดเม็ดตะกอนจุลินทรีย์มีมากกว่าการหลุดออกนอกถังของตะกอนจุลินทรีย์ ซึ่งเมื่อหลังจากระบบได้ผ่านขั้นตอนนี้แล้ว ระบบจะสามารถรับภาระบรรทุก สารอินทรีย์ได้มากขึ้น จนถึงค่าสูงสุดที่ระบบจะสามารถรับได้ ซึ่งจากการทดลองที่ผ่านมา อาจรับได้สูงถึง 50 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.วัน

ลักษณะของการเกิดเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ในขั้นตอนทั้ง 3 ขั้นตอน แสดงในรูปที่ 3.17 ซึ่งใช้เส้นกราฟความเข้มข้นของตะกอนจุลินทรีย์ (g.SS/l) ตามความสูงของถังแสดง ถึงขั้นตอนทั้ง 3 ดังกล่าว



รูปที่ 3.17 แสดงการเพิ่มขึ้นของปริมาณตะกอนจุลินทรีย์และภาระบรรทุกสารอินทรีย์ ระหว่างขั้นตอนการเกิดเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ ในถัง UASB (Hulshoff Pol, 1983)

PALNS. Sam-Soon และคณะ (1987) ทำการทดลองระบบยูเอเอสบี เพื่อศึกษาถึงที่มาและสภาวะที่เหมาะสมต่อการเกิดเม็ดหรือเกล็ดตะกอนจุลินทรีย์ ทำการทดลองโดยใช้น้ำแอบเปิ้ลเป็นน้ำเสีย และให้ข้อสังเกตดังนี้ การเกิดเม็ดหรือเกล็ดตะกอนจุลินทรีย์เกิดขึ้นจากพฤติกรรมของ H-Utilizing methane bacteria ชนิดหนึ่ง คือ Methanobacterium strain AZ (M.strain. AZ) กล่าวคือในสภาพแวดล้อมที่มีสารอาหารเกินพอ คือมี hydrogen partial pressureสูง ดังนั้นที่สภาวะนี้จะมีอัตราส่วน ATP/ADP สูงเพราะผลิตพลังงานได้มาก

อย่างไรก็ตามสาเหตุที่ M.strain AZ สามารถใช้ H_2 เป็นแหล่งพลังงานและสร้างกรดอะมิโนที่จำเป็นได้แต่ไม่สามารถสร้าง cysteine ซึ่งเป็นกรดอะมิโนชนิดหนึ่งและมีความสำคัญในการสร้างโปรโตพลาสซึม ทำให้ต้องอาศัย cysteine จากภายนอกเซลล์ ในสภาพแวดล้อมดังกล่าวคือมีพลังงานสะสมมาก หากประกอบเข้ากับการมีปริมาณ NH_3-N เกินพอ รวมทั้งปริมาณกรดอะมิโน cysteine จากภายนอกมีจำกัด จะทำให้การเจริญเติบโตของM.strain AZ ถูกจำกัดด้วยปริมาณ cysteine ในขณะที่จุลชีพสามารถสร้างกรดอะมิโนตัวอื่นๆ ขึ้นปริมาณมากเกินพอและที่สภาวะนี้ M.strain จะหาทางออกโดยขับกรดอะมิโนเหล่านั้นออกสู่ภายนอกเซลล์หรือโดยเกิดการเชื่อมโยงกันเป็นสาย polypeptide แล้วขับออกมาสะสมตัวรอบๆเซลล์ และด้วยสายของpolypeptide นี้เองจะเป็นตัวเชื่อมโยงให้จุลชีพกลุ่มอื่นๆรวมกันเป็นกลุ่ม โดยสร้างสิ่งแวดล้อมทางชีวะที่แยกตัวออกมา ที่เรียกว่า เม็ดตะกอน หรือ bio pellet

PALNS. Sam-Soon และคณะ ได้สรุปลักษณะสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมสำหรับการเกิดเม็ดหรือเกล็ดตะกอนจุลินทรีย์ไว้ดังนี้

1. ระบบจะต้องมี Hydrogen partial pressure สูง
2. ปริมาณ NH_3-N ในระบบจะต้องมีในปริมาณที่เพียงพอ
3. ปริมาณ cysteine ในระบบต้องมีในปริมาณที่จำกัด
4. ค่าพีเอชในระบบจะต้องเป็นกลาง
5. ลักษณะการไหลของน้ำเสียจะต้องเป็นลักษณะ plug flow เพราะหากเป็นแบบ completely mix จะทำให้ค่า hydrogen partial pressure ในระบบต่ำ

Dolfing(1987)ได้แบ่งชนิดของการรวมตัวเป็นเม็ดตะกอนไว้ 3 ชนิดคือ

1. Floc : เม็ดตะกอนที่มีโครงสร้างที่รวมตัวกันหลวมๆ
2. Pellet : เม็ดตะกอนที่มีโครงสร้างการรวมตัวดี(ลักษณะภายนอกคล้ายชนิดแรก)และตกตะกอนได้ดี
3. Granule :เป็นpellet ที่มีลักษณะเป็นเม็ด

3.5.3 ปัจจัยที่เกี่ยวกับสภาวะแวดล้อมและความต้องการของจุลินทรีย์

ระบบยูเอเอสบีเป็นกระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนชนิดหนึ่ง ซึ่งต้องอาศัย จุลชีพ 3 กลุ่ม ดังกล่าวในหัวข้อ 3.1 ซึ่งจะต้องทำงานอย่างต่อเนื่องและอยู่ในสภาพที่สมดุลย์กัน ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการทำงานของระบบ แบ่งได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ คือ ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับสภาวะแวดล้อม และความต้องการของจุลินทรีย์ได้แก่ อุณหภูมิ , พีเอช , โออาร์พี , กรดไขมันระเหย, สภาพสภาพด่าง, อาหารเสริม, สารพิษเป็นต้น ส่วนปัจจัยอีกประเภทหนึ่ง คือ ปัจจัยที่ใช้ควบคุมการทำงานของระบบ เช่น ภาระบรรทุกสารอินทรีย์ การกระจายน้ำเสียเข้าอย่างทั่วถึงการรักษาปริมาณจุลินทรีย์ในระบบ เป็นต้น

3.5.3.1 อุณหภูมิ (Temperature)

ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน จะมีอยู่สองช่วงคือ

-ช่วงการทำงานของมีโซฟิลิคจุลชีพ (Mesophilic Bacteria)จะมีอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 30-40^{o}C

-ช่วงการทำงานของเทอร์โมฟิลิคแบคทีเรีย (Thermophilic Bacteria)จะมีอุณหภูมิอยู่ระหว่าง

45-55^{o}C

อุณหภูมิมีผลต่อการผลิตก๊าซของจุลินทรีย์อย่างมากการลดหรือเพิ่มอุณหภูมิแม้เพียง 2-3 ^{o}C จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของก๊าซมีเทนเป็นอย่างมาก

3.5.3.2 พีเอช กรดไขมันระเหย และสภาพด่าง (pH, Volatile Fatty Acids, Alkalinity)

พีเอชที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 6.7-7.2 ซึ่งเหมาะแก่การทำงานของจุลชีพที่สร้างมีเทน ประสิทธิภาพของระบบจะลดลงอย่างรวดเร็ว ถ้าพีเอชต่ำกว่า 6.2 การควบคุมพีเอชในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนทำได้โดยการควบคุมปริมาณของกรดไขมันระเหย(Volatile Fatty Acids) และสภาพด่าง (Alkalinity) โดยปกติปริมาณกรดไขมันระเหยควรมีค่าประมาณ 200-400 มก./ล. ในรูปของกรดอะซิติค หากปริมาณกรดไขมันระเหยเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจะเป็นสัญญาณให้เห็นถึงความเสียสมดุลย์เกิดขึ้นในถังย่อย ซึ่งการเพิ่มขึ้นหรือลดลงอย่างรวดเร็วของความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยแสดงว่ามีบางอย่างเกิดขึ้น ทำให้ชะลอการเจริญเติบโตของจุลชีพที่สร้างมีเทน หรือทำให้การเจริญเติบโตของจุลชีพที่สร้างกรดถูกเร่งให้เร็วขึ้นสภาพด่างในรูปไบคาร์บอเนตจะบอกให้ทราบถึงกำลังบัฟเฟอร์(Buffer Capacity)ของระบบ หากกำลังบัฟเฟอร์ต่ำ ปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยจะทำให้พีเอชของระบบลดลงและเกิดขึ้นรวดเร็ว หากในระบบมีสภาพด่างสูงพอระบบก็จะสามารถทนต่อการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันระเหยได้ โดยทั่วไประบบไม่ใช้ออกซิเจนควรจะมีสภาพด่างประมาณ 1500-2000 มก./ล. ปัจจัยที่สำคัญอีกข้อหนึ่งก็คือ อัตราส่วนของความเข้มข้นของกรดไขมันระเหย(มก./ล. ในรูปกรดอะซิติก) ต่อระดับสภาพด่างไบคาร์บอเนต (มก./ล.ในรูปแคลเซี่ยมคาร์บอเนต) อัตราส่วนดังกล่าวนี้ถ้าน้อยกว่า 0.4 แสดงว่าระบบไม่ใช้ออกซิเจนมีกำลังบัฟเฟอร์สูง หากอัตราส่วนนี้สูงกว่า

0.8 จะเห็นได้ว่า พีเอชของระบบจะลดลงอย่างรวดเร็วหรือได้ลดลง สารเคมีที่ใช้เติมเพื่อเพิ่มสภาพด่างให้แก่ระบบ มีอยู่หลายประเภท เช่น พวกด่างแก่ สารไบคาร์บอเนต และสารพวกคาร์บอเนต แต่ละประเภทจะมีข้อดีและข้อเสียต่างกันไปเช่นโซเดียมไบคาร์บอเนต($NaHCO_3$) เป็นสารเคมีตัวที่ดีที่สุดในการควบคุมพีเอชเพราะว่าโซเดียมไบคาร์บอเนตสามารถละลายน้ำได้ และให้สภาพด่างไบคาร์บอเนตแก่ ระบบโดยตรง แต่จะมีราคาแพงกว่าสารเคมีตัวอื่น ๆ Lettinga และคณะ (1983) ได้ศึกษาการใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ ($Ca(OH)_2$) เป็นบัฟเฟอร์แทนโซเดียมไบคาร์บอเนต โดยใช้ถังยูเอเอสบีบำบัดน้ำเสียจากโรงงานที่ใช้มะเขือเทศเป็นวัตถุดิบ ปรากฏว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์สามารถรักษากำลังบัฟเฟอร์ได้ดี และทำให้ตะกอนจุลินทรีย์มีความสามารถในการตกตะกอนได้ดีขึ้น และยังทำให้ระบบมีความสามารถในการรับภาระบรรทุกสารอินทรีย์ได้เพิ่มขึ้น

นอกจากนี้มีการรายงานจากจากนักวิจัยหลายท่านว่าปริมาณของกรดโพรพิโอนิกและกรดอะซิติกมีอิทธิพลต่อการลดซีโอดีของระบบบำบัด McCarty and Brosseau(1963) ปริมาณกรดโพรพิโอนิกสูงกว่า 1000 mg/l จะเป็นพิษต่อจุลชีพ อีกทั้ง Mawsonและคณะ(1991) อ้างว่ากรดอะซิติกสูงกว่า 500 และ 1000mg/l จะไปชะลอปฏิกิริยาการกำจัดกรดโพรพิโอนิกได้ 30%และ 55% ตามลำดับ หรือกรดอะซิติกปริมาณสูงๆจะทำให้ความสามารถในการกำจัดกรดโพรพิโอนิกลดลงและจะทำให้ค่าพีเอชลดลงตามไปด้วย ในที่สุดสภาพแวดล้อมจะไม่เหมาะแก่จุลชีพที่ใช้กรดอะซิติกเป็นอาหาร ทำให้ประสิทธิภาพของระบบตกต่ำลงเนื่องจากกำจัดกรดอะซิติกได้ลดลง

Gorris , Van Deursen and Van der Drift (1989) พบว่าการย่อยสลายของกรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และ กรดบิวทิเรต ในการเริ่มเลี้ยงถังปฏิกิริยาแบบชั้นตะกอนนอนขยายตัว(Fluidized bed reactor)พบว่าปริมาณกรดอะซิติกมากกว่า 200 มิลลิกรัมต่อลิตรจะชะลออัตราปฏิกิริยาการย่อยกรดโพรพิโอนิกลง 60 เปอร์เซนต์ แต่ที่ปริมาณต่ำกว่า 100 มิลลิกรัมต่อลิตร จะไม่ส่งผลใดๆต่อการย่อยสลายกรดโพรพิโอนิก

Mustafa Öztürk (1991)ได้ทำการทดสอบการย่อยกรดไขมันระเหยตัวต่างๆ(กรดอะซิติก,กรดโพรพิโอนิก,กรดบิวทิเรต)และหาค่าสูงสุดของทำงานของเม็ดตะกอนที่ได้จากถังปฏิกิริยาย่อยโมแลสแบบอุณหภูมิสูง พบว่ากรดโพรพิโอนิกจะเปลี่ยนมาเป็นกรดอะซิติกก็ต่อเมื่อกรดบิวทิเรตและกรดอะซิติกได้ถูกใช้จนหมด

3.5.3.3 ศักยภาพการให้และรับอิเลคตรอน (Oxidation - Reduction Potential)

ปฏิกิริยาที่มีการถ่ายเทอิเลคตรอนจากสารหนึ่งไปสู่อีกสารหนึ่งเรียกปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน (Oxidation - Reduction Reaction) หรือปฏิกิริยารีดอกซ์(Redox Reaction) ซึ่งเกิดจากผลรวมของปฏิกิริยาออกซิเดชัน (ปฏิกิริยาที่มีการให้อิเลคตรอน) และปฏิกิริยารีดักชัน (ปฏิกิริยาที่มีการรับอิเลคตรอน) ความ

แตกต่างทางด้านศักยภาพหรือความสามารถในการให้และรับอิเลคตรอนระหว่างปฏิกิริยาทั้งสองอาจวัดได้ด้วย ค่าออกซิเดชัน-รีดักชันโพเทนเชียล หรือเรียกสั้นว่า โออาร์พี (ORP)

ปฏิกิริยาทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นในน้ำส่วนใหญ่มากเป็นปฏิกิริยารีดอกซ์ จึงต้องมีสารที่รับอิเลคตรอน (Oxidizing Agent) และสารที่ให้อิเลคตรอน (Reducing Agent) ควบคู่กันเสมอ สารอินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำเสียมักเป็นตัวที่ให้อิเลคตรอนและเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญในระบบบำบัดน้ำเสียแบบใช้ออกซิเจน จะมีออกซิเจนเป็นตัวอิเลคตรอน ซึ่งจะออกซิไดซ์ สารอินทรีย์ให้มีพลังงานลดลง นั่นคือมีการปรับสภาพน้ำเสียให้มีคุณภาพดีขึ้น ส่วนในระบบบำบัดแบบไม่ใช้ออกซิเจนจะไม่ใช้ออกซิเจนเป็นสารรับอิเลคตรอน แต่จะใช้คาร์บอนไดออกไซด์หรือกรดอะซิติคแทน

การนำเอาโออาร์พีมาใช้ควบคุมระบบหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน พบว่ามีตัวแปรที่มีผลต่อค่าที่วัดได้หลายประการ คือ

1. ชนิดของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในระบบ
2. สภาวะของจุลินทรีย์
3. วัฏภาคของการเจริญเติบโต (Growth Phase) ของมวลจุลชีพ
4. ปัจจัยทางสภาวะแวดล้อม รวมทั้งชนิดและปริมาณของสารภายในระบบ
5. สภาวะของการปฏิบัติในการควบคุมขบวนการ
6. ระยะเวลาในการวัด

3.5.3.4 ความต้องการสารอาหารที่จำเป็น (Nutrient Requirment)

ในเซลล์ของจุลินทรีย์จะประกอบไปด้วย คาร์บอน (C) ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) และซัลเฟอร์ (S) ในอัตราส่วน C:N:P:S = 100 : 10 : 1 : 1 ดังนั้นเพื่อการเจริญเติบโตและการดำรงชีพของจุลินทรีย์จึงต้องมีสารอาหารที่เพียงพอ นอกจากธาตุดังกล่าวแล้ว ในปัจจุบันยังพบว่าจุลชีพสร้างมีเทนยังต้องการธาตุบางอย่างในปริมาณที่น้อยมากแต่ขาดไม่ได้ ธาตุดังกล่าวได้แก่ เหล็ก โคบอลต์ นิกเกิล และซัลเฟอร์ (ในรูปของซัลไฟด์) ดังนั้นถ้าในน้ำเสียขาดธาตุต่าง ๆ ดังกล่าว ปฏิกิริยาไม่ใช้ออกซิเจนก็จะไม่สามารถเกิดขึ้นได้ อย่างไรก็ตามการเติมธาตุดังกล่าวเพื่อให้จุลชีพสร้างมีเทนสามารถเจริญเติบโตได้ดีก็ไม่ใช่เรื่องง่าย เนื่องจากซัลไฟด์สามารถทำให้โลหะต่าง ๆ ตกผลึกและแยกตัวออกจากน้ำ และโลหะซัลไฟด์ เช่น FeS หรือ NiS ละลายน้ำได้น้อยมาก ดังนั้นจะต้องมั่นใจว่าจุลชีพได้ธาตุโลหะที่เติมให้

3.5.3.5 สารพิษ (Toxic Materials)

น้ำเสียที่จะนำมากำจัดสารอินทรีย์ทางชีววิทยาแบบไม่ใช้ออกซิเจน จะต้องไม่มีสารเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ ความรุนแรงของพิษขึ้นอยู่กับชนิดและความเข้มข้นของสารนั้นๆ นอกจากนั้นยังพบว่าความเป็นพิษมีตั้งแต่พิษโดยตรง (Toxic) ซึ่งจะยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ (Inhibited) แต่อย่างไรก็ตามถ้าสารเหล่านี้มีปริมาณน้อยพอเหมาะก็อาจช่วยให้จุลชีพทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้นได้ สารที่เป็นพิษต่อจุลินทรีย์ในระบบกำจัดสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งทางชีววิทยา แบ่งออกเป็น 4 ประเภท คือ

- พิษของกรดไขมันระเหย (Volatile Fatty Acid Toxicity)

กรดไขมันระเหยเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ที่สร้างมีเทน เพราะการที่เกิดกรดไขมันระเหยเพิ่มมากขึ้น จะทำให้พีเอชลดลงซึ่งเป็นอันตรายต่อจุลินทรีย์

- พิษของไอออนหรือโลหะหนัก (Ion or Heavy Metal Toxicity)

ระดับความเป็นพิษของไอออนหรือโลหะหนัก ถ้ามีมากเกินจำนวน_หนึ่งก็จะเกิดการเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ในระบบได้ ไอออนที่สำคัญได้แก่ Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} และ S^{2-} โดยปกติไอออนบวกจะมีความเป็นพิษมากกว่าไอออนลบ นอกจากนี้จากการศึกษายังพบว่าไอออนบวกที่มีวาเลนซี่เท่ากับ 1 จะมีพิษต่อจุลชีพน้อยกว่าไอออนที่มีวาเลนซี่เท่ากับ 2 ซึ่งพิษของ Ca^{2+} และ Mg^{2+} , Na^+ และ K^+ ถึง 10 เท่า ดังนั้นพิษของไอออนบวกจะเพิ่มขึ้นเมื่อวาเลนซี่สูงขึ้น และน้ำหนักอะตอมเพิ่มมากขึ้น เราสามารถลดความเป็นพิษของไอออนบวกได้ โดยการทำแอนทาโกนิสซึม (Antagonism) คือเมื่อไอออนบวกอยู่ร่วมกันในความเข้มข้นที่พอเหมาะ พิษของไอออนบวกชนิดหนึ่งสามารถลดความเป็นพิษไอออนอีกชนิดหนึ่งได้ เช่น พิษของ Na^+ เข้มข้น 3500 มก./ล. สามารถจะทำให้หมดไปได้ ถ้ามี Ca^{2+} และ Mg^{2+} ที่มีความเข้มข้นอยู่ระหว่าง 50-1000 มก./ล. แต่ในทางตรงกันข้าม ไอออนบวกบางชนิดจะไปเพิ่มพิษของไอออนอีกชนิดหนึ่งเมื่ออยู่รวมกัน เราเรียกปรากฏการณ์เช่นนี้ว่า ซินเนอร์ยีสซึม (Synergism)

ส่วนพิษของโลหะหนักได้แก่ แมงกานีส, สังกะสี , แคดเมี่ยม ,นิกเกิล, โคบอลต์ , ทองแดง และโครเมียม โลหะหนักเหล่านี้จะอยู่ในน้ำทิ้งในรูปของไอออน อนึ่งพิษของโลหะหนักจะมากน้อยเพียงใด ขึ้นอยู่กับปริมาณไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ที่มีอยู่ในน้ำเสียเพราะไฮโดรเจนซัลไฟด์สามารถรวมกับโลหะหนักเกิดเป็นเกลือของโลหะหนักขึ้น ซึ่งจะไม่ละลายน้ำ

อย่างไรก็ตามไอออนบวกต่างๆเหล่านี้ถ้ามีในปริมาณที่เหมาะสมก็ยังเป็นสารอาหาร(Nutrient)ที่จำเป็นเพื่อนำไปใช้ในการเจริญเติบโตของเซลล์

- พิษของก๊าซบางชนิด

พิษของแอมโมเนีย (Ammonia Toxicity) แอมโมเนียที่เกิดขึ้น_ในระบบบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีทางชีววิทยาแบบไม่ใช้ออกซิเจน จะมาจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนรวมอยู่ด้วย คือ พวกโปรตีนหรือปุ๋ยยูเรีย (Urea) ซึ่งไนโตรเจนอาจอยู่ในรูปแอมโมเนียไอออน (NH_4^+) หรือก๊าซแอมโมเนีย (NH_3) โดยสารสองตัวนี้จะเปลี่ยนไปมาได้ขึ้นกับพีเอช ดังแสดงในสมการที่ 3.21

$$NH_4^+ \longrightarrow NH_3 + H^+ \qquad ...(3.21)$$

ถ้าพีเอชสูงกว่า 8 ปฏิกิริยาจะดำเนินไปทางขวาซึ่ง NH_3 จะยับยั้งการทำงาน และเป็นพิษต่อจุลชีพชนิดไม่ใช้ออกซิเจนมากกว่า NH_4^+ ปริมาณของแอมโมเนียไนโตรเจน ซึ่งวิเคราะห์ได้ในห้องปฏิบัติการจะรวมทั้ง NH_4^+ และ NH_3 ในตารางที่ 3.8 แสดงปริมาณของแอมโมเนียไนโตรเจนที่มีผลต่อระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน

ตารางที่ 3.7 ผลของแอมโมเนียไนโตรเจนต่อระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน

แอมโมเนียไนโตรเจน ;มก./ล.	ผลต่อระบบ
50-200	ปริมาณพอเหมาะ
200-1000	ยังไม่เกิดผลเสีย
1500-3000	เริ่มยับยั้งเมื่อพีเอชสูง
> 3000	เป็นพิษโดยตรง

การลดพิษของแอมโมเนียไนโตรเจนทำได้โดยการเจือจาง (Dilution) น้ำเสียก่อนเข้าสู่ระบบบำบัด หรืออาจกำจัดแอมโมเนียไนโตรเจนก่อนเข้าสู่ระบบบำบัด

พิษของซัลไฟด์ (Sulfide Toxicity) ในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพวิทยาแบบไม่ใช้ออกซิเจนจะเกิดการเป็นพิษของซัลไฟด์ต่อจุลชีพเมื่อน้ำเสียที่เข้าสู่ระบบบำบัดมีปริมาณของซัลไฟด์มากหรือเกิดการย่อยสลายของซัลเฟต(SO_3^{2-}) หรือเกิดการย่อยสลายโปรตีนซัลไฟด์ในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนอาจอยู่ในรูปที่ละลายน้ำหรือไม่ละลายน้ำ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับไอออนบวกที่รวมอยู่ ถ้ารวมกับโลหะหนักก็จะตกตะกอนลงมา ส่วนที่เหลือจะละลายน้ำในรูปแบบของก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ และสามารถเปลี่ยนเป็นกรดซัล

ฟูริคได้ (H_2SO_4) จุลชีพชนิดที่ไม่ใช้ออกซิเจนอิสระสามารถทนต่อซัลไฟด์ที่ละลายน้ำอันมีความเข้มข้นถึง 50 ถึง 100 มก./ล. แต่ความเข้มข้นที่มากกว่า 200 มก./ล. จะเป็นพิษต่อจุลชีพชนิดนี้

การลดพิษของซัลไฟด์ทำได้โดยการทำให้ตกตะกอนของซัลไฟด์ การทำให้น้ำเจือจาง หรือโดยการแยกซัลไฟด์ออกจากน้ำเสียก่อนเข้าระบบ

- พิษของสารอินทรีย์ (Toxic Organic Material)

สารอินทรีย์บางชนิดจะยับยั้งการทำงานของจุลชีพชนิดที่ไม่ใช้ออกซิเจนอิสระ สารพวกนี้ได้แก่ แอลกอฮอล์ (Alcohol) และกรดไขมันที่มีโมเลกุลยาว (Long-Chain Fatty Acid) เช่น เมทานอล (Methanol) ซึ่งความเป็นพิษของสารอินทรีย์เหล่านี้สามารถทำลายได้โดยการนำน้ำทิ้งที่มีสารอินทรีย์เข้าสู่ระบบบำบัดอย่างสม่ำเสมอ(Continous Feed) เพื่อทำให้จุลชีพคุ้นเคยและปรับตัวได้ แม้ว่าจะมีความเข้มข้นของสารอินทรีย์ที่เป็นพิษถึง 10000 มก./ล. ก็ตาม หรืออาจแก้ไขได้โดยการเติมสารเคมีลงไป เพื่อทำให้เกิดการตกตะกอนของสารอินทรีย์ที่เป็นพิษ

3.6 การศึกษาที่ผ่านมา

G. Lettinga และผู้ร่วมงานได้เริ่มทำการค้นคว้า และทดลองระบบยูเอเอสบี ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1971 ดังนี้

ค.ศ. 1971 ขนาดของถังที่ใช้ทดลอง มีปริมาตรตั้งแต่ 2.7-61 ลิตร ความสูง 0.30-1.05 เมตร ใช้น้ำเสียจากโรงงานต่าง ๆ เช่น โรงงานน้ำตาล โรงงานอาหารกระป๋อง ซึ่งมีค่าซีโอดี ตั้งแต่ 5,000-20,000 มก/ล. ประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดี ระหว่าง 65-95 % ที่ภาระบรรทุกสารอินทรีย์ 10-14 กก.ซีโอดี/ลบ.ม. วัน

ค.ศ. 1975 ทำการทดลองโดยใช้ถังปริมาตร 6 ลบ.ม. ความสูง 3.00 เมตร บำบัดน้ำเสียจากโรงน้ำตาล และโรงงานที่ใช้มะเขือเทศเป็นวัตถุดิบ มีค่าซีโอดีระหว่าง 2,000-16,500 มก/ล. ประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดี 60-95% ที่ภาระบรรจุสารอินทรีย์ 10-45 กก. ซีโอดี/ลบ.ม. วัน

ค.ศ. 1975 ใช้ความสูงของถังปฏิกิริยา 6.00 เมตร ความสูง 30 ลบ.ม. บำบัดน้ำเสียจากโรงงานน้ำตาล รับภาระบรรทุกสารอินทรีย์ได้ 16.7 กก. ซีโอดี/ลบ.ม. วัน และได้นำข้อมูลดังกล่าวไปใช้ในการออกแบบถังยูเอเอสบี

ค.ศ. 1977 ขนาดปริมาตรถังปฏิกิริยา 200 ลบ.ม. ความสุง 4.5 เมตร บำบัดน้ำเสียจาก โรงงานน้ำตาล มีค่าซีโอดีระหว่าง 4,000-5,200 มก./ล. เวลากักเก็บน้ำเสีย 6-8 ชั่วโมงประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดี 87-95% ที่ภาระบรรทุกสารอินทรีย์ 14-16 กก. ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน

ค.ศ. 1983 ได้ทดลองนำระบบยูเอเอสบี มาใช้บำบัดน้ำเสียชุมชน ทำการทดลองโดยใช้ขนาดปริมาตรถัง 120 ลิตร ความสูง 2.00 เมตร ค่าซีโอดีอยู่ระหว่าง 320-950 มก./ล. ที่อุณหภูมิ 5-20 ^{o}C ใช้เวลากักเก็บน้ำ 12 ชั่วโมง ประสิทธิภาพในการกำจัด ซีโอดี 65-90% อัตราการผลิตก๊าซชีวภาพ 100-200 ลิตร ของก๊าซ/กก. ซีโอดีที่เข้าสู่ระบบ

Wiegant และ G.Lettinga (1985) ได้ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการเพื่อศึกษาผลการทดลองที่อุณหภูมิ 55 ^{o}C โดยใช้ถังปริมาตร 5.75 ลิตร และใช้น้ำเสียสังเคราะห์มีค่าซีโอดี 14,650 มก./ล. เวลากักเก็บน้ำ 3.2 ชม. ประสิทธิภาพในกำจัด ซีโอดี 77.6% ที่ค่าภาระบรรทุกสารอินทรีย์ 104 กก. ซีโอดี/ลบ.ม.วัน

Cail และ Barford (1985) ได้ศึกษาลักษณะของตะกอนจุลินทรีย์ที่อยู่ในถังยูเอเอสบีเปรียบเทียบกับถังปฏิกิริยาแบบ upflow floc ซึ่งใช้โพลีอิเล็คโตรไลท์(polyelectrolyte)ช่วยในการตกตะกอนจุลินทรีย์ โดยใช้น้ำเสียจากโรงงานทำผลไม้เป็นสารอาหาร มีค่าซีโอดี 7,500 มก./ล. ผลปรากฏว่าตะกอนจุลินทรีย์ในถังยูเอเอสบีมีลักษณะเป็นเส้นใยประสานกันอย่างหนาแน่น (filamentous granular) ส่วนตะกอนจุลินทรีย์ในถัง upflow floc มีลักษณะเป็นแท่ง (rod-shaped) เกาะกันเป็นจำนวนมาก นอกจากนี้ยังพบว่าโพลีอิเล็คโตรไลต์จะช่วยเพิ่มขนาดปริมาณตะกอนจุลินทรีย์ และป้องกันการเกิดตะกอนจุลินทรีย์แบบเส้นใย

Christensen, Gerick และ Eblen (1984) ได้ทำการทดลองโดยใช้ถังยูเอเอสบี ปริมาตร 2,200 ลบ.ม. บำบัดน้ำเสียจากโรงงาน Ore-Ida ซึ่งใช้มะเขือเทศเป็นวัตถุดิบ มีค่าซีโอดี 2,500 มก/ล. ที่อุณหภูมิ 35^{o}C ระยะเวลากักเก็บน้ำเสีย 21.2 ชั่วโมง มีประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดี 85% ที่ภาระบรรทุกสารอินทรีย์ 3 กก.ซีโอดี/ลบ.ม. วัน

Sonia M. และผู้ร่วมงาน (1986) ได้ทดลองนำระบบยูเอเอสบีมาใช้บำบัดน้ำเสียชุมชนที่อุณหภูมิของบรรยากาศในเมืองเซาเปาโล ประเทศบราซิล โดยใช้ถังยูเอเอสบี ขนาด106 ลิตร ที่เวลากักเก็บน้ำประมาณ 4 ชั่วโมง พบว่าประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีในฤดูหนาวและฤดูร้อน ประมาณ 82-83% อัตราการผลิตก๊าซชีวภาพ 110-119 ลิตร ของก๊าซ/กก. ซีโอดีที่เข้าสู่ระบบ และนำข้อมูลในการออกแบบถังขนาด 106 ลิตร มาใช้ออกแบบ ถังขนาด 120 m^3 รับน้ำเสียชุมชน 30 ลบ.ม./ชั่วโมง เวลากักเก็บน้ำ 4 ชั่วโมง สามารถกำจัดซีโอดีได้ดี และมีราคาถูกเมื่อเทียบกับระบบที่ใช้อยู่ในขณะนั้น

ณรงค์ จิตต์จรุงเกียรติ (2526) ได้ทการศึกษาโดยนำระบบยูเอเอสบี มาใช้บำบัดน้ำเสียจากกากถั่วเหลือง โดยมีค่าซีโอดีระหว่าง 13,784-43,734 มก./ล. ที่เวลากักเก็บน้ำ 5 วัน ให้ประสิทธิภาพสูงสุดในการกำจัดซีโอดี 95% ที่ภาระบรรทุกสารอินทรีย์ ประมาณ 2.67 กก. ซีโอดี/ลบ.ม. วัน ผลิตก๊าซมีเทนได้ 170 ลิตร/วัน

พีรพงษ์ พิทยากร (2530)ได้นำระบบยูเอเอสบีมาใช้บำบัดน้ำเสียที่มีความเข้มข้นต่ำและพีเอชสูงโดยใช้น้ำเสียของโรงงานผลิตเครื่องดื่มสำเร็จรูปจากน้ำนมถั่วเหลืองและเครื่องดื่มอัดลมต่าง ๆ แบ่งการทดลอง

เป็น 2 ชุด คือ ชุดแรกไม่มีถังสร้างกรดและชุดที่สองมีถังสร้างกรด โดยถังยูเอเอสบีมีขนาด 14.3 ลิตร ความสูง 2.75 เมตร ถ้าสร้างกรด มีขนาด 16 ลิตรความสูง 2.0 เมตร การทดลองชุดแรกมีค่าซีโอดีระหว่าง 923-1260 มก./ล. ประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดี 57-94 % การทดลองชุดที่สอง มีค่าซีโอดีระหว่าง 797-1209 มก./ล. ประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดี 89-95 % ทั้งสองชุดการทดลองใช้เวลากักเก็บน้ำ 4-24 ชั่วโมง

Lalit Kumar Agrawal (1991) ได้ทดลองระบบยูเอเอสบี โดยใช้ถังยูเอเอสบีมีปริมาตร 140 ลิตร ความสูง 4.0 ม. บำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ มีค่าซีโอดีประมาณ 500 มก./ล. ที่เวลากักเก็บน้ำ 8-24 ชม. ประสิทธิภาพในการกำจัด ซีโอดี 86% ที่ภาระบรรทุกสารอินทรีย์ 1.56 กก.ซีโอดี/ลบ.ม. วัน อัตราการผลิตก๊าซชีวภาพ 128 ลิตร/กก. ซีโอดีที่กำจัด ใช้เวลาในการศึกษาทดลอง 6 เดือน

ต่อมา Kripa Shankar Singh ได้ทำการศึกษาทดลองต่อจาก Lalit Kumar Agrawal (1991) ใช้น้ำเสียสังเคราะห์ มีค่าซีโอดีประมาณ 500 มก./ล. ที่เวลากับเก็บน้ำ 3-6 ชั่วโมง ประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดี 92% ที่เวลากักเก็บน้ำ 3 ชั่วโมง ที่ภาระบรรทุกสารอินทรีย์ 4 กก. ซีโอดี/ลบ.ม. วัน อัตราการผลิตกาซชีวภาพ 141 ลิตร/กก. ซีโอดีที่ถูกกำจัดใช้เวลาในการศึกษาทดลองนาน 6 เดือน

สมพงษ์ นิลประยูร และเสนีย์ กาญจนวงศ์ (2536) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียชุมชนของระบบยูเอเอสบี โดยใช้ถังยูเอเอสบีขนาดปริมาตร 24.4 ลิตร สูง 3 เมตร บำบัดน้ำเสียชุมชนจากมหาวิทยาลัยเชียงใหม่นำมาเติมน้ำตาลให้มีค่าซีโอดีประมาณ 228.6 และ 241.3 มก./ล. ใช้เวลากักเก็บน้ำ 4.5-24 ชั่วโมง มีภาระบรรทุกสารอินทรีย์ 0.22-1.59 กก. ซีโอดี/ลบ.ม.- วัน ประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดี 76.4 - 88.1 % อัตราการผลิตก๊าซชีวภาพ 25.6 - 101.3 ลิตร/กก. ซีโอดีที่เข้าสู่ระบบ

Callander และBarford(1983) พบว่ามีการสร้างรูปแบบต่างๆของโลหะในถังย่อยตะกอนแบบไม่ใช้ออกซิเจน โดยพบว่ามีปริมาณโลหะต่างๆที่อยู่ในรูปละลาย(soluble species) สูงกว่าค่าที่คำนวณได้จากสมดุลหรือ ค่าK_{sp} โดยอธิบายไว้ว่าโลหะละลายเหล่านี้อยู่ในรูปของสารเชิงซ้อนของสารอินทรีย์และอนินทรีย์ที่ละลาย ทำให้ส่วนนี้ไม่จับตัวเป็นตะกอน(precipitation)

Bhattacharya (1988) พบว่าปริมาณนิกเกิลทั้งหมด(รวมทุกรูปแบบ) เท่ากับ 100 มิลลิกรัม/ลิตร ไม่ทำให้เกิดภาวะยับยั้งในจุลชีพสร้างมีเทน โดยเกิดเป็นนิกเกิลละลายทั้งหมด 31.6 มิลลิกรัม/ลิตร และนิกเกิลอิสระ0.5 มิลลิกรัม/ลิตร เมื่อเปลี่ยนค่าอายุตะกอน(SRT) จาก 40 วัน เป็น 15 วัน ปริมาณนิกเกิลอิสระกลายเป็น 6.5 มิลลิกรัม/ลิตรจุดนี้ทำให้ระบบล้มเหลวโดยสิ้นเชิง

W.D.Murray and L van den Berg (1981) พบว่า มีเทนจุลชีพในถังปฏิกิริยาฟิล์มตรึงแบบไม่ใช้ออกซิเจนได้รับการกระตุ้นการทำงานโดยการเติมนิกเกิลและโคบอลต์พร้อมกันที่ 100 นาโนโมล และ 50 นาโนโมล ตามลำดับ ในขณะที่ การเติมโมลิบดินัม 50 นาโนโมล พร้อมด้วยมี ผลต่อการปฏิกิริยาเพียงเล็กน้อย

LGM Gorris , JMA van Deursen , C van der Drift and GD Vogels(1989) .ในการย่อยสลายของ กรดอะซิติก , กรดโพรพิโอนิก และ กรดบิวทิริก ในการเริ่มเลี้ยงถังปฏิกิริยาแบบชั้นตะกอนนอนขยายตัวพบว่าปริมาณกรดอะซิติกมากกว่า 200 มิลลิกรัมต่อลิตรจะชะลออัตราปฏิกิริยาการย่อยกรดโพรพิโอนิกลง 60 เปอร์เซนต์แต่ที่น้อยกว่า 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่มีผลใดๆต่อการย่อยกรดโพรพิโอนิก

Mustafa Öztürk (1991)ได้ทำการทดสอบการย่อยกรดไขมันระเหยตัวต่างๆ(กรดอะซิติก,กรดโพรพิโอนิก,กรดบิวทิเรต)และหาค่าสูงสุดของทำงานของเม็ดตะกอนที่ได้จากถังปฏิกิริยาย่อยโมแลสแบบอุณหภูมิสูง พบว่ากรดโพรพิโอนิกจะเปลี่ยนมาเป็นกรดอะซิติกก็ต่อเมื่อกรดบิวทิริกและกรดอะซิติกได้ถูกใช้จนหมด

C.F. Shen , N. Kosaric and R. Blaszczyk(1993) ได้ทดลองเติม นิกเกิล , โคบอลต์และเหล็กด้วยระบบยูเอเอสบีพบว่าการเติมโลหะดังกล่าวไม่มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีในระยะ 200 วัน อย่างไรก็ตามเมื่อหยุดการเติมยีสต์ เอ็กซ์แทร็ก 60 วันพบว่าประสิทธิการกำจัดซีโอดีลดลงอย่างมาก ในถังปฏิกิริยาที่ไม่ได้เติมเหล็ก เหล็กและโคบอลต์ที่พบที่สารอีพีเอส(Extracellular polymeric substance , EPS)จะอยู่ในรูปยึดเกาะอยู่ซึ่งอาจมีความสำคัญต่อการรวมตัวกันเป็นเม็ดของจุลชีพ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย