บทที่ 2

ทบทวนเอกสาร

2.1 กระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจน

2.1.1 กลไกพื้นฐานของกระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจน

กลไกพื้นฐานในการบำบัดน้ำเสียด้วยกระบวนการทางชีวภาพ ไม่ว่าจะเป็นแบบใช้ออกซิเจนหรือไม่ใช้ออกซิเจนก็ตาม จะมีลักษณะเหมือนกันคือ เป็นปฏิกิริยาเคมีแบบออกซิเดชัน – รีดักชัน หรือปฏิกิริยารีดอกซ์ ปฏิกิริยารีดอกซ์หมายถึงปฏิกิริยาที่มีการถ่ายเทอิเล็กตรอนเกิดขึ้นระหว่างสารให้อิเล็กตรอนและสารรับอิเล็กตรอน สารให้อิเล็กตรอนในน้ำเสียส่วนใหญ่มักเป็นสารอินทรีย์ ส่วนสารรับอิเล็กตรอนในน้ำเสียมักเป็นสารอื่น ๆ ที่ไม่ใช่สารอินทรีย์ เช่น ออกซิเจน, ไนเตรต หรือซัลเฟตเป็นต้น การถ่ายเทอิเล็กตรอนในปฏิกิริยารีดอกซ์จะได้พลังงานเกิดขึ้นจำนวนหนึ่ง พลังงานที่เกิดขึ้นนี้ส่วนหนึ่งสูญเสียไปในรูปของพลังงานความร้อน อีกส่วนหนึ่งถูกนำไปใช้การดำรงชีวิตและสร้างเซลล์ใหม่ ดังนั้นสารอินทรีย์จึงเป็นทั้งแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอนของจุลชีพ แต่สารรับอิเล็กตรอนในน้ำเสียมีหลายชนิด ผลของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นก็ต่างกันไปตามชนิดของสารรับอิเล็กตรอน เช่น ถ้าสารรับอิเล็กตรอนเป็นออกซิเจน ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยาที่เรียกว่า aerobic oxidation ถ้าสารรับอิเล็กตรอนเป็นไนเตรต ก็จะเกิดปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชันขึ้น เป็นต้น เราจึงสามารถแบ่งชนิดของปฏิกิริยารีดอกซ์ที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ของแบกทีเรียออกได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ ตามสารรับอิเล็กตรอน คือ

ก. การหมัก (Fermentation) คือ ปฏิกิริยารีดอกซ์ของสารประกอบอินทรีย์ที่เกิดขึ้นในภาวะที่ไม่มีสารรับอิเล็กตรอนภายนอก

ข. การหายใจ (Respiration) คือ ปฏิกิริยารีดอกซ์ที่มีสารรับอิเล็กตรอนภายนอกเป็นสารรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย ซึ่งสามารถแบ่งย่อยลงไปได้อีก 2 ประเภท

- Aerobic Respiration

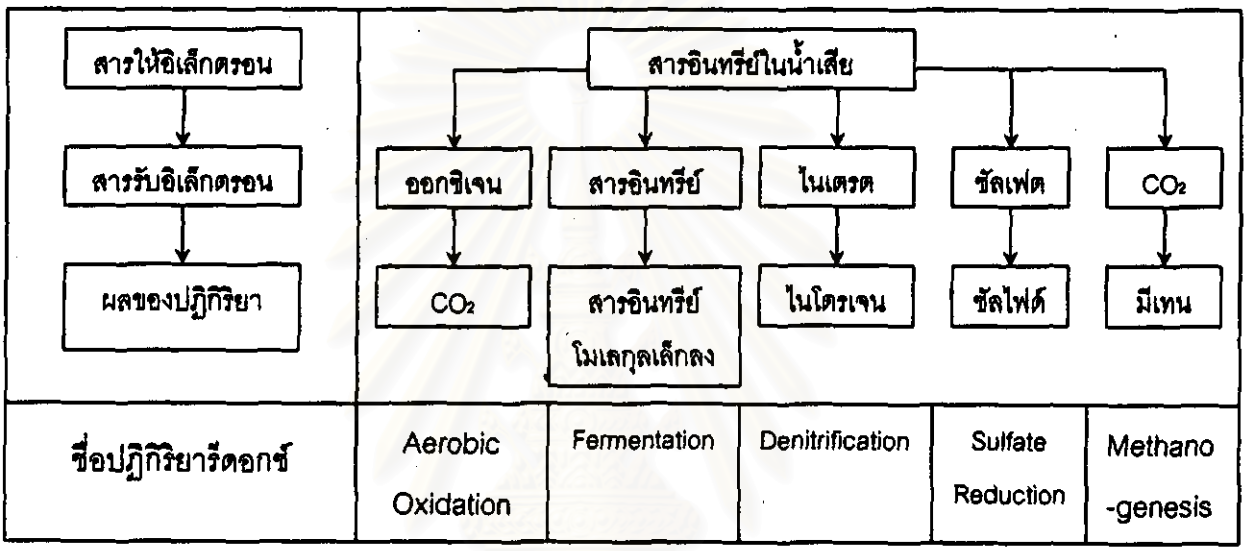
เป็นปฏิกิริยารีดอกซ์ที่มีโมเลกุลของออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- Anaerobic Respiration

เป็นปฏิกิริยารีดอกซ์ที่มีสารรับอิเล็กตรอนที่ไม่ใช่ออกซิเจน เช่น ไนเตรต ซัลเฟต หรือ ไบคาร์บอเนต เป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย

รายละเอียดของปฏิกิริยารีดอกซ์ที่เกิดขึ้นในการบำบัดน้ำเสียแสดงดังรูปที่ 2.1



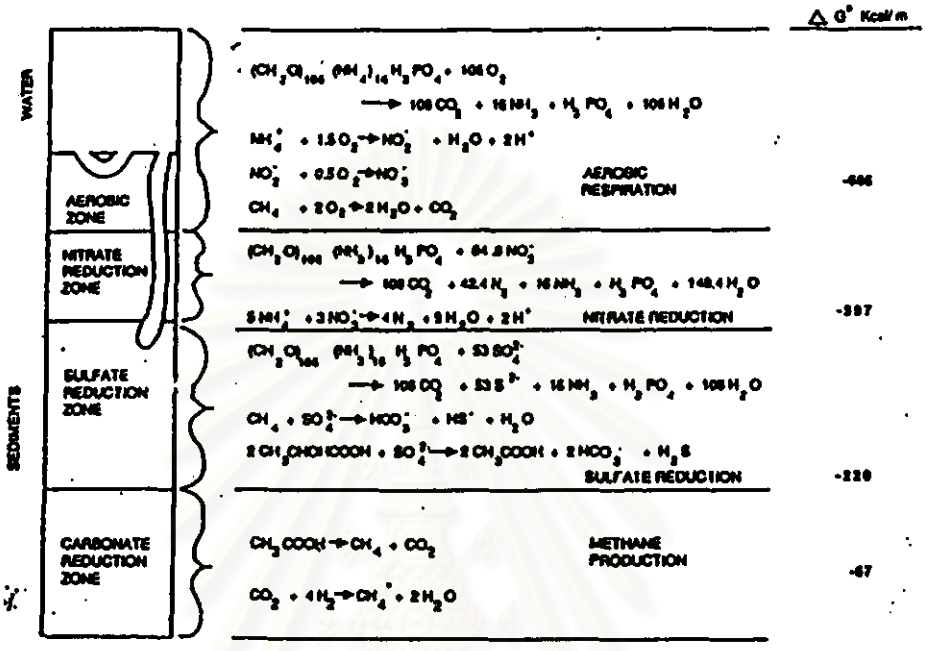
รูปที่ 2.1 ปฏิกิริยารีดอกซ์ในการบำบัดน้ำเสีย (ปรับปรุงจาก มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์, 2536)

จากรูปที่ 2.1 จะเห็นได้ว่าระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจนแตกต่างจากระบบไร้ออกซิเจนตรงที่ตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายไม่ใช่ออกซิเจน แต่เป็นสารรับอิเล็กตรอนอื่นในน้ำเสีย เช่น ไนเตรต, ซัลเฟต หรือคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นต้น ปฏิกิริยาชีวเคมีที่เกิดขึ้นจะแตกต่างกันออกไปตามชนิดของตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย สิ่งที่จะกำหนดว่าจะมีปฏิกิริยาชนิดใดเกิดขึ้นก็คือสภาพของน้ำเสียในขณะนั้น ว่ามีตัวให้และตัวรับอิเล็กตรอนชนิดใดในน้ำเสีย พีเอช และอุณหภูมิเท่าใด พิจารณาแหล่งน้ำแห่งหนึ่งซึ่งมีอุณหภูมิ, พีเอช, มีปริมาณธาตุอาหารและปริมาณสารอินทรีย์อยู่ในช่วงที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ มีระดับน้ำที่ไม่สูงนัก ออกซิเจนสามารถละลายลงไปในดินตะกอนใต้น้ำบริเวณผิวตอนบนได้ บริเวณนี้จะมีจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายอาศัยอยู่ ดำรงชีพด้วยการใช้สารอินทรีย์ในน้ำบริเวณนั้นเป็นสารอาหาร จุลินทรีย์กลุ่มอื่น เช่น แบกทีเรียที่ใช้ไนเตรตหรือซัลเฟตจะไม่สามารถอาศัยอยู่ได้ เนื่องจากการใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนจะได้พลังงานสูงกว่าการใช้ไนเตรตหรือซัลเฟตมาก ทำให้จุลินทรีย์กลุ่มอื่นเจริญเติบโตและแย่งใช้สารอินทรีย์ในน้ำสู้กับพวกที่ใช้ออกซิเจนไม่ได้ แม้ว่า

น้ำในบริเวณนั้นจะมีไนเตรตหรือซัลเฟตอยู่ก็ตาม ในดินที่ลึกลงไปออกซิเจนในน้ำจะเริ่มลดลงเนื่องจากออกซิเจนจากอากาศแพร่ลงไปได้น้อยลงและจากการใช้ออกซิเจนของจุลินทรีย์ จุลินทรีย์กลุ่มอื่นจะเจริญเติบโตขึ้นมาแทนที่ โดยจุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ไนเตรตเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายจะเป็นกลุ่มต่อไปที่เจริญเติบโตขึ้นมา เนื่องจากการใช้ไนเตรตเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายได้พลังงานรองลงมาจากออกซิเจน เช่นเดียวกัน ในบริเวณที่ไนเตรตเริ่มหมดไป จุลินทรีย์กลุ่มอื่น ได้แก่ พวกที่ใช้ซัลเฟต, คาร์บอนไดออกไซด์ และสารอินทรีย์เป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายจะเจริญเติบโตขึ้นมาแทน แต่จุลินทรีย์กลุ่มใดจะเป็นกลุ่มเด่นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เพราะจุลินทรีย์ทั้งสามกลุ่มนี้มีความเกี่ยวข้องสัมพันธ์กันเป็นอย่างมาก ทั้งการพึ่งพาอาศัยกันและแข่งขันกัน ดังรูปที่ 2.2 ซึ่งแสดงถึงปฏิกิริยาต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในดินตะกอนก้นบ่อตามสภาพธรรมชาติ

ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจนก็เป็นเช่นเดียวกับที่เกิดขึ้นในธรรมชาติในบริเวณที่ไม่มีออกซิเจน แต่สิ่งที่ระบบบำบัดน้ำเสียต่างออกไปจากธรรมชาติก็คือ ปริมาณของจุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียจะมีมากกว่าในธรรมชาติมาก สารอินทรีย์ถูกทำให้ลดลงได้ในเวลาที่รวดเร็วโดยจุลินทรีย์จำนวนมากในระบบ แต่ระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจนเป็นระบบที่ซับซ้อน มีกลุ่มจุลชีพอาศัยอยู่ร่วมกันมากมายหลายกลุ่ม ความสัมพันธ์ของกลุ่มจุลชีพเหล่านี้มีทั้งการพึ่งพาอาศัยกันและการแข่งขันกัน สารอินทรีย์ที่เข้าสู่ระบบจะถูกเปลี่ยนรูปไปเนื่องจากการย่อยสลายโดยกลุ่มจุลชีพหลาย ๆ กลุ่มต่อ ๆ กัน ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการย่อยสลายของกลุ่มจุลชีพหนึ่งจะถูกย่อยสลายต่อดดยกลุ่มจุลชีพอีกกลุ่มหนึ่ง เกิดเป็นความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยกัน แต่ถ้าผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นสามารถใช้ได้โดยกลุ่มจุลชีพหลายกลุ่ม กลุ่มจุลชีพที่ใช้สารอาหารชนิดเดียวกันก็ทำให้เกิดความสัมพันธ์แบบแข่งขันกันขึ้น กลุ่มจุลชีพหลายกลุ่มที่อาศัยอยู่ร่วมกันและมีปฏิ-สัมพันธ์กันเหล่านี้เองที่ทำให้เกิดปฏิกิริยารีดอกซ์และเปลี่ยนรูปสารอินทรีย์ในน้ำเสียให้อยู่ในรูปต่าง ๆ เช่น กรดอินทรีย์, มีเทน, คาร์บอนไดออกไซด์ หรือซัลไฟด์ เป็นต้น แต่สารอินทรีย์ในระบบจะถูกใช้โดยจุลชีพกลุ่มใดและถูกใช้ไปในสัดส่วนเท่าใดนั้น ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ มากมาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งปัจจัยทางสภาวะแวดล้อมซึ่งจะส่งผลให้แบกทีเรียกลุ่มใดกลุ่มหนึ่งโดดเด่นที่สุดในระบบ ถ้าหากพิจารณาในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจนโดยทั่วไปที่ผลิตมีเทน จุลชีพกลุ่มที่โดดเด่นที่สุดในระบบก็คือแบกทีเรียสร้างมีเทนและแบกทีเรียสร้างกรดที่ทำงานร่วมกัน ได้ผลิตภัณฑ์หลักเป็นก๊าซมีเทน

ดังนั้นพื้นฐานของการบำบัดน้ำเสียด้วยกระบวนการไร้ออกซิเจนก็คือการเปลี่ยนรูปสารอินทรีย์ด้วยปฏิกิริยารีดอกซ์โดยจุลินทรีย์กลุ่มที่ไม่ใช้ออกซิเจน ผลิตภัณฑ์ที่ได้ก็จะแตกต่างหลากหลายกันออกไปขึ้นอยู่กับสภาพของน้ำเสียกับปริมาณและชนิดของแบกทีเรียในระบบ



รูปที่ 2.2 ปฏิกิริยาการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่เกิดขึ้นในบ่อน้ำตามสภาพธรรมชาติ
(Day, 1989 อ้างถึงใน มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์, 2538: 83)

2.1.2 ขั้นตอนการทำงานของแบกทีเรียชนิดต่าง ๆ ในกระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจน

ในกระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจนที่ไม่มีไนเตรตอยู่ด้วย จะมีแบกทีเรียอาศัยอยู่ในระบบร่วมกัน 3 กลุ่มใหญ่ ๆ ได้แก่ แบกทีเรียสร้างกรด แบกทีเรียสร้างมีเทน และแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต สาเหตุที่ระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจนมีแบกทีเรียหลายกลุ่มอาศัยอยู่ร่วมกัน เป็นเพราะแบกทีเรียสร้างมีเทนและแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตใช้สารอาหารได้จำกัดชนิด ซึ่งมักเป็นสารอินทรีย์ที่มีขนาดโมเลกุลเล็ก ทำให้แบกทีเรียสร้างกรดใช้สารอินทรีย์ได้ก่อน และเปลี่ยนสารอินทรีย์

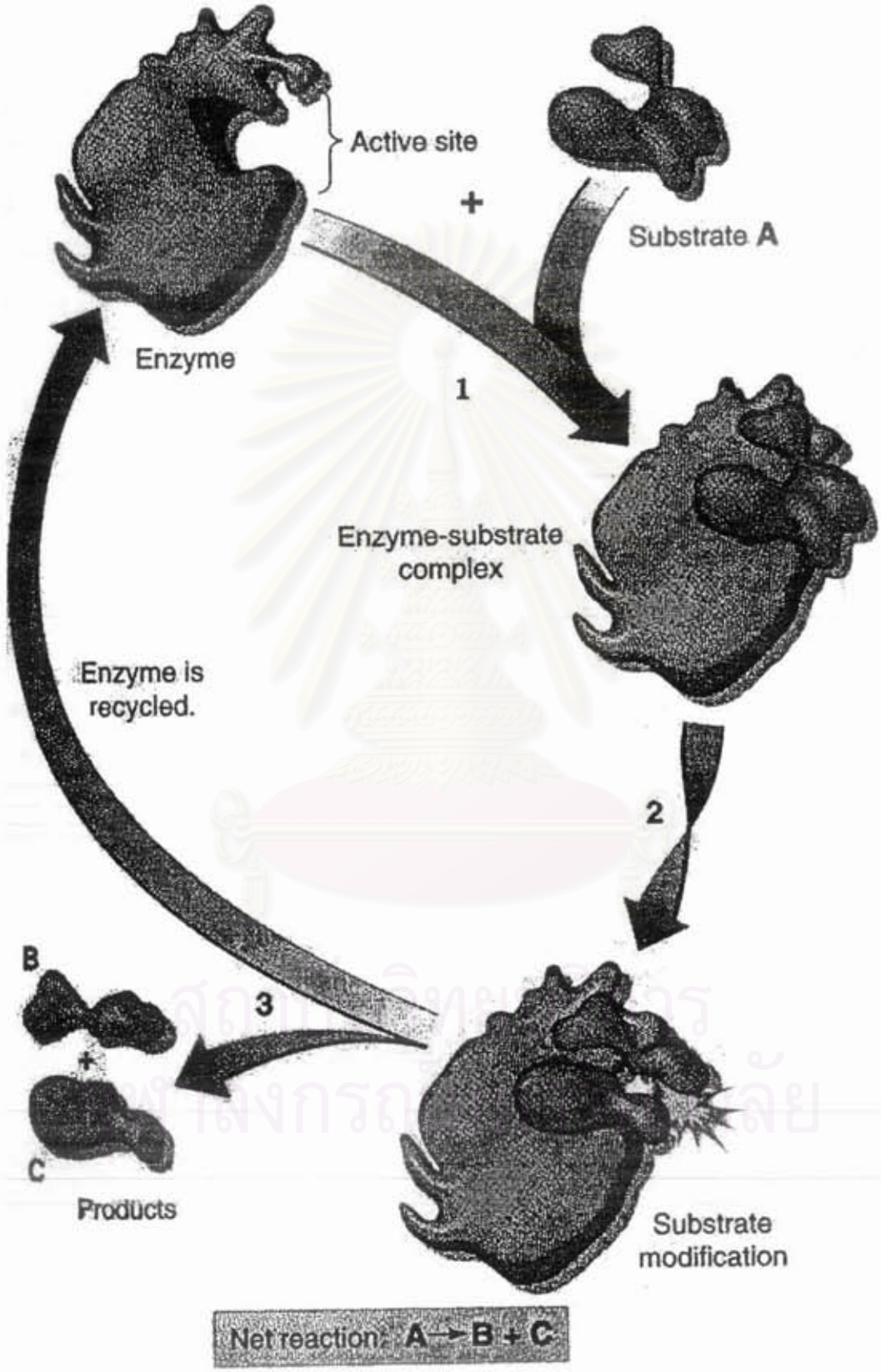
ให้เป็นกรดอินทรีย์ที่มีขนาดโมเลกุลเล็กลง แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทนจึงใช้กรดอินทรีย์ที่เกิดขึ้นนั้นต่อไป

สารอินทรีย์ที่เข้าสู่กระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจน จะถูกย่อยสลายผ่านขั้นตอนต่าง ๆ ดังนี้

1) ไฮโดรไลซิส (Hydrolysis)

แบกทีเรียใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน แต่การนำเอาสารอินทรีย์ไปใช้ของแบกทีเรีย จะต้องขนส่งสารอินทรีย์เข้าสู่เซลล์เสียก่อน จากนั้นจึงจะเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ขึ้นภายในเซลล์ได้พลังงานในการดำรงชีวิตและเจริญเติบโตดังที่ได้กล่าวมาก่อนหน้านี้ สารอินทรีย์แต่ละชนิดก็มีความยากง่ายในการขนส่งเข้าสู่เซลล์ต่างกัน สารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่จะไม่สามารถขนส่งเข้าสู่เซลล์ได้โดยตรง จำต้องผ่านกระบวนการย่อยสลายให้ขนาดโมเลกุลเล็กลงก่อน ทำให้สารโมเลกุลใหญ่ขนส่งเข้าสู่เซลล์ได้ยากกว่าสารอินทรีย์ที่มีขนาดโมเลกุลเล็ก

ในกระบวนการไร้ออกซิเจน แบกทีเรียซึ่งส่วนใหญ่แล้วเป็นแบกทีเรียสร้างกรดจะทำหน้าที่ย่อยสลายสารโมเลกุลใหญ่ เช่น ไขมัน โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต เป็นต้น ให้มีขนาดเล็กลง โดยการผลิตเอนไซม์ขึ้นภายในเซลล์และปล่อยเอนไซม์ออกมานอกเซลล์ เอนไซม์ที่ออกมาจะช่วยลดพลังงงานกระตุ้นของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของสารอินทรีย์ ช่วยเร่งอัตราการเกิดปฏิกิริยาให้เร็วขึ้น แต่เอนไซม์เป็นโปรตีนที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อปฏิกิริยาและตัวทำปฏิกิริยา ดังนั้นเอนไซม์ที่แบกทีเรียปล่อยออกมานอกเซลล์จึงขึ้นอยู่กับสารอินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำเสีย เช่น แป้งและไกลโคเจนต้องใช้เอนไซม์อะไมเลส (amylase) ย่อยสลายให้เป็นน้ำตาล ไขมันและไลปิดใช้เอนไซม์ไลเปส (lipase) และเอสเตอเรส (esterases) ย่อยสลายให้เป็นกลีเซอรอลและกรดไขมัน โปรตีนต้องใช้เอนไซม์โปรตีส (protease) ย่อยสลายให้กลายเป็นกรดอะมิโน เป็นต้น ขั้นตอนการไฮโดรไลซิสนี้เป็นขั้นตอนที่ค่อนข้างช้า และเป็นขั้นตอนที่จำกัดอัตราเร็วของปฏิกิริยา ความเร็วของปฏิกิริยาจะขึ้นกับปัจจัยหลายประการ เช่น ความเข้มข้นของสารอินทรีย์ที่เป็นสารตั้งต้นของปฏิกิริยาเคมี, ความเข้มข้นของเอนไซม์, อุณหภูมิ, พีเอช, พื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างเอนไซม์กับสารอินทรีย์ เป็นต้น ทำให้เวลาที่ใช้ในการย่อยสลายสารแต่ละชนิดแตกต่างกัน การทำงานของเอนไซม์สามารถแสดงได้ดังที่จำลองขึ้นในรูปที่ 2.3

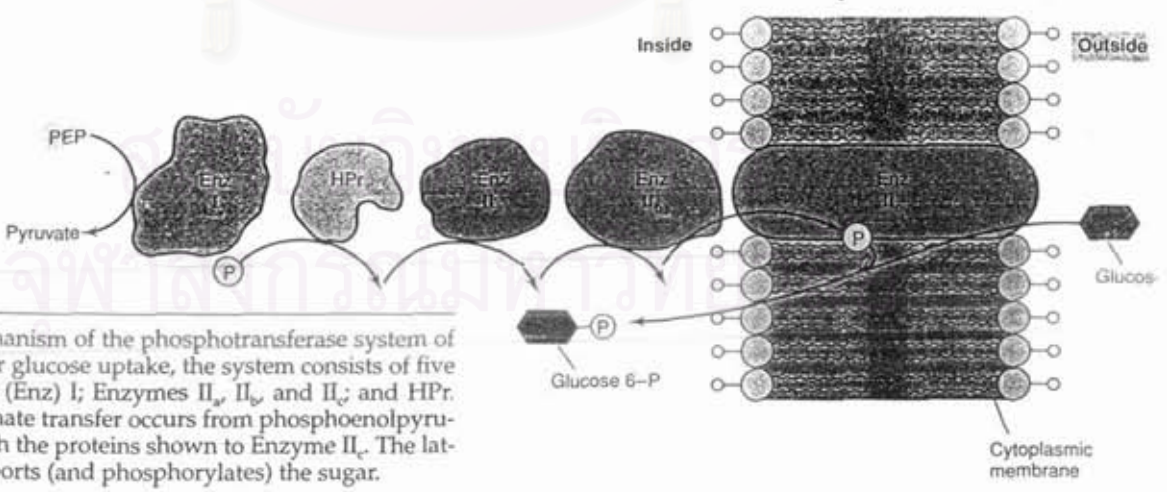


รูปที่ 2.3 ภาพจำลองการทำงานของเอนไซม์ (McKane และ Kandel, 1996: 143)

2) การสร้างกรด (Acidogenesis)

หลังจากขั้นตอนไฮโดรไลซิส สารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่จะถูกย่อยให้เล็กลง กลายเป็นสารประกอบอินทรีย์โมเลกุลเล็กลงและถูกแบกทีเรียสร้างกรดขนส่งเข้าสู่เซลล์ แบกทีเรียที่ทำหน้าที่สร้างกรดในกระบวนการไร้ออกซิเจนเป็นพวก obligate anaerobes และ facultative แต่แบกทีเรียพวก obligate anaerobes มีจำนวนมากกว่ามาก จึงเป็นแบกทีเรียกลุ่มหลักที่ทำหน้าที่ผลิตกรด ซึ่งได้แก่ แบกทีเรียหลาย ๆ สปีชี่ส์ของ *Pseudomonas, Flavobacterium, Alcaligenes, Escherichia* และ *Aerobacter*

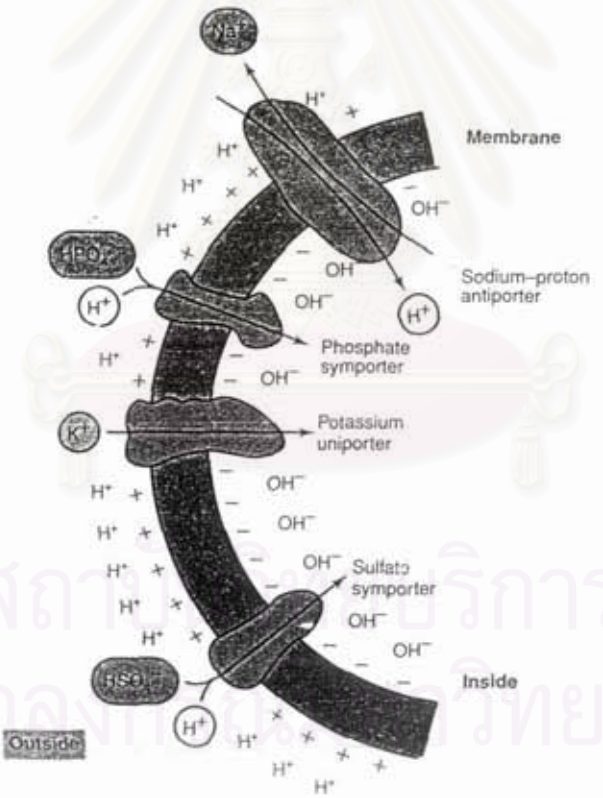
การขนส่งสารเข้าสู่เซลล์ตามปกติสามารถแบ่งได้เป็น 2 แบบ เรียกว่า Group translocation และ Active transport การขนส่งสารเข้าสู่เซลล์แบบ Group translocation เมื่อสารถูกขนส่งผ่านโปรตีน (เอนไซม์) ที่ฝังตัวอยู่ที่เซลล์เมมเบรนเข้าสู่ภายในเซลล์ สารที่ถูกขนส่งจะถูกเปลี่ยนรูปไปในระหว่างการขนส่งผ่านเซลล์เมมเบรนนั่นเอง การขนส่งสารเข้าสู่เซลล์ด้วยกลไกแบบนี้จะไม่ทำให้เกิดความแตกต่างของความเข้มข้นของสารระหว่างภายในและภายนอกเซลล์ (concentration gradient) ตัวอย่างของกลไกการขนส่งแบบนี้ ได้แก่ การขนส่งกลูโคส, ฟรุกโตส, mannose, *N*-acetylglucosamine, β - glucosides, purines, pyrimidines และกรดไขมัน เป็นต้น พลังงานที่ใช้ในการขนส่งสารเข้าสู่เซลล์ด้วยวิธีนี้ได้จากการใช้สลายพันธะฟอสเฟตพลังงานสูงใน ATP กลไกการขนส่งกลูโคสเข้าสู่เซลล์ด้วยวิธี group translocation แสดงดังรูปที่ 2.4



Mechanism of the phosphotransferase system of *Escherichia coli*. For glucose uptake, the system consists of five proteins: Enzyme (Enz) I; Enzymes II_A, II_B, and II_C; and HPr. Sequential phosphate transfer occurs from phosphoenolpyruvate (PEP) through the proteins shown to Enzyme II_C. The latter actually transports (and phosphorylates) the sugar.

รูปที่ 2.4 กลไกการขนส่งกลูโคสเข้าสู่เซลล์ด้วยกระบวนการ group translocation ผ่านระบบ phosphotransferase (Madigan และคณะ, 1997: 69)

แต่สารอื่น ๆ อีกหลายชนิดซึ่งก็รวมทั้งน้ำตาลบางชนิดจะขนส่งเข้าสู่เซลล์ด้วยกลไกแบบ active transport ซึ่งขนส่งสารเข้าสู่เซลล์ผ่านตัวขนส่งสารที่อยู่ที่เมมเบรนโดยรอบเซลล์ (membrane-bound carrier) สารที่ถูกขนส่งเข้าสู่เซลล์จะไม่ถูกเปลี่ยนแปลงสภาพทางเคมีระหว่างการขนส่ง สารที่ถูกขนส่งอยู่นอกเซลล์ในรูปใดเมื่อถูกขนส่งเข้าสู่เซลล์ด้วยวิธีนี้ก็จะอยู่ในเซลล์ในรูปนั้นโดยไม่เปลี่ยนแปลง ได้แก่ น้ำตาลบางชนิด, กรดอะมิโนส่วนใหญ่, กรดอินทรีย์ส่วนใหญ่ และสารอนินทรีย์ในรูปอิออนจำนวนมาก เช่น ซัลเฟต, ฟอสเฟต และโปแตสเซียม เป็นต้น พลังงานที่ใช้ในการขนส่งสารด้วยวิธีนี้ได้จาก proton motive force กลไกการขนส่งสารอนินทรีย์อิออนต่าง ๆ เข้าสู่เซลล์แสดงดังรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 การขนส่งอิออนต่างๆ เข้าสู่เซลล์ผ่านกลไก active transport

(Madigan และคณะ, 1997:70)

หลังจากสารอินทรีย์ถูกขนส่งเข้าสู่เซลล์แล้วจะถูกนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอนโดยผ่านกระบวนการหมักภายในเซลล์ เปลี่ยนสารอินทรีย์ที่เข้าสู่เซลล์ให้เป็นกรดอินทรีย์ระเหยง่าย คาร์บอนอะตอมไม่เกิน 5 ตัว เช่น กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทิริก เป็นต้น กระบวนการหมักภายในเซลล์ที่สำคัญมากสำหรับสิ่งมีชีวิต คือ การหมักกลูโคสเป็นไพรูเวตโดยผ่านวิถีทางชีวเคมีที่เรียกว่า Emden-Meyerhof pathway หรือวิถีไกลโคไลซิสดังแสดงในรูปที่ 2.6 ซึ่งจะเห็นได้ว่า การย่อยสลายกลูโคส 1 โมเลกุล จะได้ไพรูเวต 2 โมเลกุล, NADH 2 โมเลกุล และพลังงานจำนวนหนึ่งเทียบเท่ากับ 2 ATP โดย NADH คือ โคเอนไซม์ภายในเซลล์ของแบกทีเรีย ทำหน้าที่ขนส่งอิเล็กตรอนและโปรตอน โดย NADH 1 โมเลกุลมาจาก NAD^+ 1 โมเลกุลขนส่ง 2 อิเล็กตรอนและ 2 โปรตอน แต่เซลล์ของแบกทีเรียมี NAD^+ อยู่อย่างจำกัด เซลล์จึงต้องเปลี่ยน NADH ให้กลับไปอยู่ในรูป NAD^+ เพื่อนำ NAD^+ กลับไปใช้ใหม่ ในกรณีของกระบวนการไร้ออกซิเจน ขั้นตอนของการเปลี่ยน NADH เป็น NAD^+ จะเกิดขึ้นดังแสดงในสมการต่อไปนี้

$$NADH \longrightarrow 2H^+ + 2e^- + NAD^+$$

$$2H^+ + 2e^- \longrightarrow H_2$$

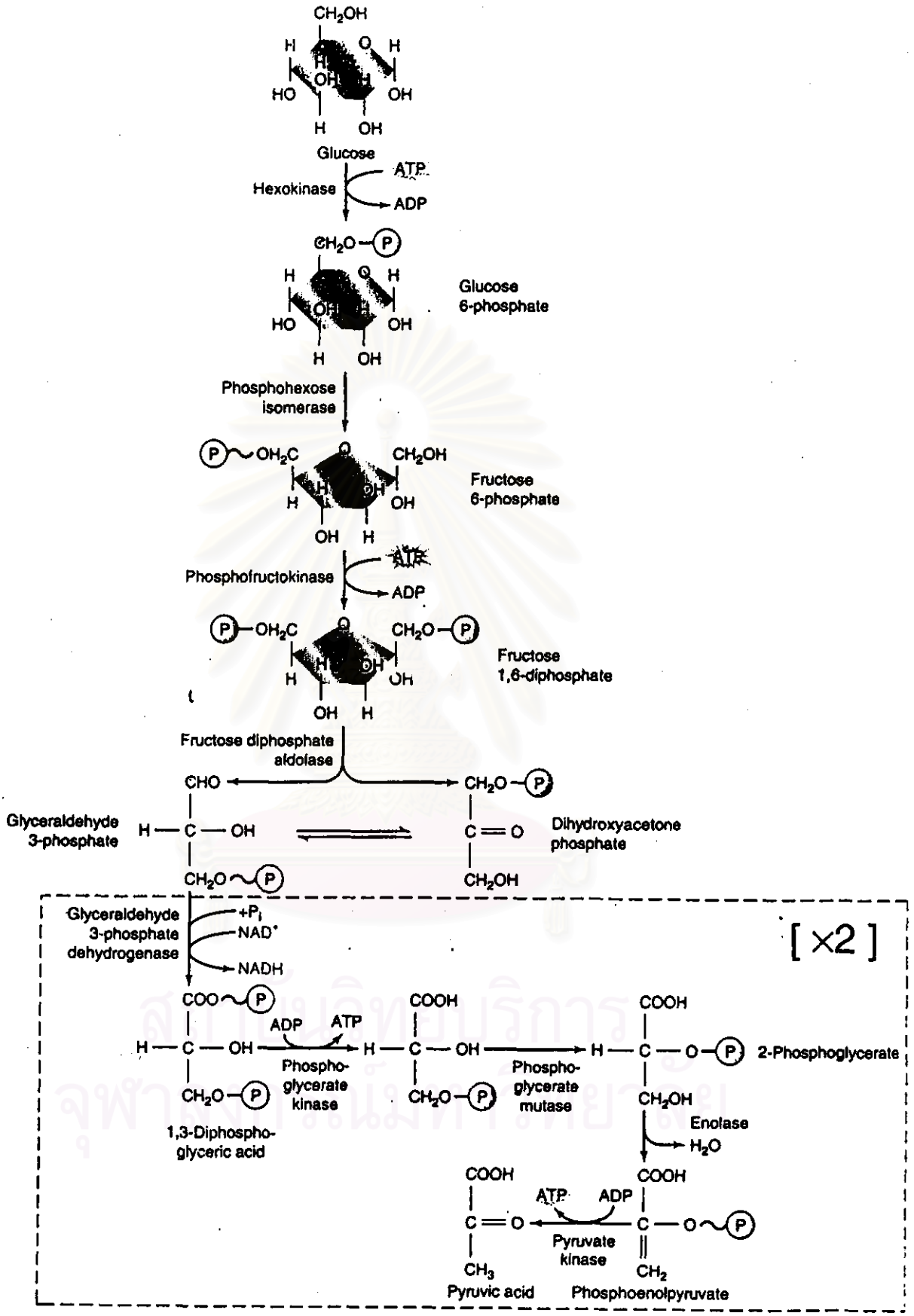
ไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นจะเป็นตัวกำหนดทิศทางของระบบ ถ้าในระบบมีแบกทีเรียกลุ่มอื่นที่สามารถใช้ไฮโดรเจนได้ ไฮโดรเจนสะสมอยู่ในระบบน้อย ความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนจะมีค่าต่ำ ได้กรดอะซิติกและคาร์บอนไดออกไซด์เป็นผลิตภัณฑ์ ดังแสดงตามสมการต่อไปนี้

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2CH_3COOH + 2CO_2 + 4H_2 \text{ (ได้พลังงานเทียบเท่า 4 ATP)}$$

แต่เมื่อใดก็ตามที่ความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนมีค่าสูง (มากกว่า 10^{-5} บรรยากาศ) อันเกิดขึ้นได้จากหลายสาเหตุ เช่น ความเข้มข้นของสารอินทรีย์ในระบบมีสูงมากเมื่อเทียบกับปริมาณแบกทีเรีย ทำให้แบกทีเรียที่บริโภคไฮโดรเจนใช้ไฮโดรเจนได้ไม่ทัน หรือพีเอชต่ำลงจนทำงานไม่ได้ เป็นต้น แบกทีเรียต้องหาวิธีใหม่ในการนำ NAD^+ กลับมาใช้ ทดแทนการสร้างไฮโดรเจนที่ลดลง ซึ่งก็คือการถ่ายเทอิเล็กตรอนจาก NADH ให้กับสารอินทรีย์ซึ่งจะทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอน ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะเปลี่ยนแปลงไป ดังแสดงในสมการข้างล่าง

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

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



รูปที่ 2.6 วิถีไกลโคไลซิส (McKane และ Kandel, 1996: 782)

แสดงให้เห็นว่าในกรณีที่ความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนสูง จะทำให้ได้กรดไขมันที่มีคาร์บอนอะตอมมากกว่า 2 เช่น กรดโพรพิโอนิก เป็นผลิตภัณฑ์ร่วมด้วย ดังนั้นในขั้นตอนของการสร้างกรดนี้ แบกทีเรียที่บริโภคไฮโดรเจนในระบบจะเป็นกลุ่มที่มีบทบาทสำคัญ เนื่องจากการทำงานของแบกทีเรียกลุ่มนี้จะมีผลต่อความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจน ถ้าทำงานได้ไม่ดี เกิดการสะสมของไฮโดรเจนทำให้ความดันพาร์เชียลสูงขึ้น เป็นเหตุให้เกิดการสะสมตัวของกรดโพรพิโอนิก ซึ่งความเข้มข้นของกรดโพรพิโอนิกที่มากกว่า 1,000 มก./ล. จะเป็นพิษต่อแบกทีเรียไม่ใช้ออกซิเจน ดังนั้นเมื่อมองโดยรวมแล้ว ในขั้นตอนการสร้างกรด แบกทีเรียสร้างกรดจะทำหน้าที่เปลี่ยนสารอินทรีย์ให้เป็นกรดอินทรีย์ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะขึ้นอยู่กับความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนในระบบเป็นสำคัญ ดังแสดงในรูปที่ 2.7

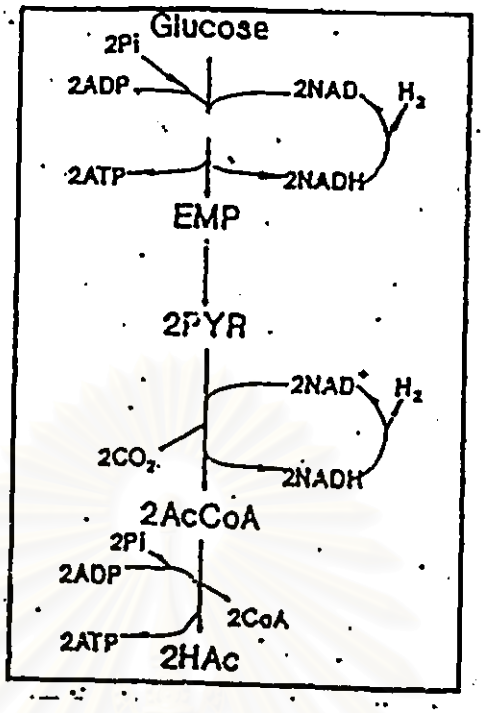
3) การใช้ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นโดยแบกทีเรียกลุ่มต่าง ๆ

แบกทีเรียที่ทำหน้าที่ในขั้นต่อมาก็คือแบกทีเรียสร้างมีเทน แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต และแบกทีเรียสร้างกรดอะซิติก แบกทีเรียเหล่านี้มีความสัมพันธ์ต่อกันและกันอย่างแนบแน่น ดังจะได้กล่าวถึงโดยละเอียดต่อไป ส่วนความสัมพันธ์อย่างคร่าว ๆ แสดงดังรูปที่ 2.8

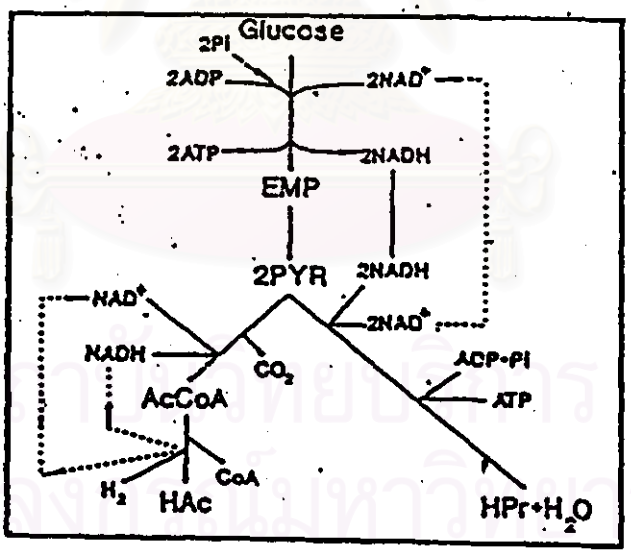
2.2 ระบบยูเอเอสบี

เนื่องจากปัญหาการขาดแคลนพลังงานที่ทวีความรุนแรงขึ้น ทำให้มีความพยายามในการค้นหาระบบบัดน้ำเสียใหม่ ๆ มาทดแทนหรือลดค่าใช้จ่ายของระบบบำบัดน้ำเสียแบบใช้ออกซิเจน ซึ่งต้องใช้พลังงานสูงในการเติมอากาศ ระบบใหม่ที่จะนำมาใช้จึงต้องเป็นระบบที่ประหยัดค่าใช้จ่ายทั้งในด้านการลงทุน การเดินระบบ และการดูแลรักษา ระบบไม่ใช้ออกซิเจนจึงได้รับความสนใจมากขึ้นเนื่องจากสามารถตอบสนองความต้องการใหม่ ๆ เหล่านั้นได้

ระบบบำบัดแบบไม่ใช้ออกซิเจนหลาย ๆ แบบ เช่น บ่อหมัก หรือถังกรองไร้ออกซิเจน เป็นต้น ได้ถูกนำมาใช้เพื่อลดอัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ในน้ำเสียที่มีค่าบีโอดีสูง ๆ ซึ่งแต่ละระบบที่นำมาใช้ต่างก็มีข้อเด่นข้อด้อยที่ต่างกันออกไป การเลือกใช้ระบบแบบใดในการบำบัดน้ำเสียจะต้องพิจารณาถึงความเหมาะสมของระบบกับลักษณะน้ำเสียเป็นสำคัญ ยกตัวอย่างเช่น บ่อหมักมีข้อดีที่ก่อสร้างง่าย ไม่ต้องเอาใจใส่ดูแลมาก สามารถใช้ได้กับน้ำเสียที่มีของแข็งแขวนลอยสูง แต่ระบบเซลล์ไว้ได้น้อย มีการสัมผัสของเซลล์แบกทีเรียกับน้ำเสียน้อย ทำให้ต้องใช้เวลากักที่ยาวนาน ระบบจึงมีขนาดใหญ่ ประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์ต่ำ และอาจเกิดปัญหาในการไหลลัดทาง

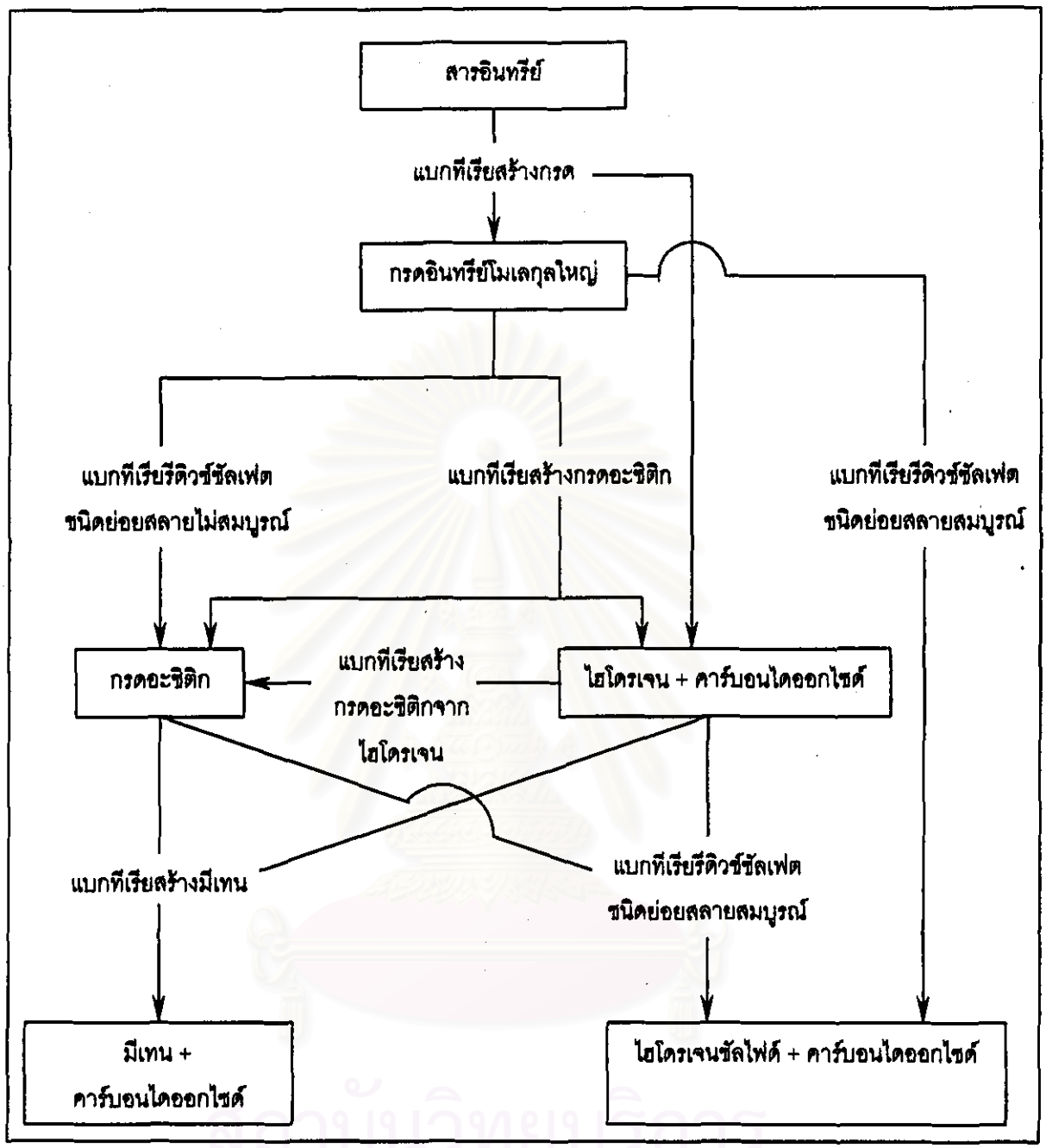


ก) ที่ความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนมีค่าต่ำ กลูโคสจะถูกย่อยสลาย กลายเป็นกรดอะซิติกเพียงอย่างเดียว



ข) ที่ความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนมีค่าสูง กลูโคสจะถูกย่อยสลาย กลายเป็นกรดอะซิติก และกรดโพรไพออนิก

รูปที่ 2.7 ปฏิกิริยาการสร้างกรดไขมันระเหยภายใต้สภาวะที่ความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนต่ำและสูง (Plans Sam-soon, 1987 อ้างถึงในมั่นสิน ตัณฑุลเวศม์, 2536: 13)



รูปที่ 2.8 ความสัมพันธ์ของแบกทีเรียกลุ่มต่าง ๆ ในระบบบำบัดแบบไร้ออกซิเจนอย่างคร่าว ๆ

หรือระบบถังกรองไร้ออกซิเจนซึ่งมีการใส่ตัวกลางให้แบกทีเรียเกาะ ช่วยกักเซลล์ของแบกทีเรียให้อยู่ในระบบได้มากขึ้น ทำให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น และมีขนาดเล็กลง แต่ก็มีข้อเสียคือ ต้องสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการลงทุนเรื่องตัวกลาง เกิดปัญหาการอุดตันและปัญหาการออกแบบให้น้ำเสียสัมผัสกับจุลินทรีย์อย่างทั่วถึง เป็นต้น ระบบยูเอเอสบีก็เป็นระบบไม่ใช้ออกซิเจนระบบหนึ่งซึ่งพัฒนาขึ้นมาเพื่อตอบสนองปัญหาหรือข้อด้อยที่เกิดขึ้น

2.2.1 ความเป็นมาของระบบยูเอเอสบี

ระบบบำบัดน้ำเสียแบบยูเอเอสบีพัฒนาขึ้นในเวลาที่ไม่นานนัก ระบบยูเอเอสบีสามารถเลี้ยงตะกอนจุลินทรีย์ให้อยู่ในถังหมักได้เป็นจำนวนมาก โดยติดตั้งถังตกตะกอนไว้ตอนบนถังหมัก ทำให้ให้เวลาในการบำบัดน้ำเสียสั้นลงและยังสามารถรับปริมาณน้ำเสียเข้าระบบได้มากขึ้นด้วย (Stander, 1966 อ้างถึงใน ชำนาญ กายประสิทธิ์, 2538) ในช่วงปี 1972 Lettinga และคณะ (Mosey, 1982 อ้างถึงในโสภา ชินเวชกิจวานิชย์, 1997: 37) ได้ศึกษาการใช้ถังกรองไร้อากาศบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตน้ำตาลแห่งหนึ่งในประเทศฮอลแลนด์ แต่ต่อมาได้ปรับปรุงอุปกรณ์ให้สามารถแยกน้ำเสีย ตะกอนจุลินทรีย์และก๊าซชีวภาพออกจากกันได้ จึงได้ตั้งชื่อกระบวนการนี้ว่า ยูเอเอสบี การพัฒนาระบบยูเอเอสบีในเวลาต่อมามีขึ้นโดยมีจุดมุ่งหมายในการเอาชนะปัญหาที่มักพบในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนโดยทั่วไปซึ่งมีอยู่หลายประการ เช่น

- ประสบความยากลำบากในการเก็บกักตะกอนจุลินทรีย์ ตะกอนจุลินทรีย์มักหลุดออกไปกับน้ำทิ้ง ทำให้น้ำทิ้งมีบีโอดี ซีโอดี และตะกอนแขวนลอยสูง ระบบมี SRT (Solids Retention Time) ต่ำ ทำให้ประสิทธิภาพของระบบในการกำจัดบีโอดีต่ำ
- ใช้เวลากักน้ำนานมาก ทำให้ระบบมีขนาดใหญ่
- ระบบไม่มีเสถียรภาพในการทำงาน เนื่องจากขาดความรู้ที่ถูกต้องในการควบคุมระบบ

แต่เชื้อแบกทีเรียในระบบยูเอเอสบีมีลักษณะเกาะตัวกันเป็นเม็ดใหญ่และมีความถ่วงจำเพาะมากกว่าน้ำ อีกทั้งยังมีอุปกรณ์แยกก๊าซ 3 สถานะช่วยในการตกตะกอนของแข็งแขวนลอย ทำให้สามารถกักเชื้อไว้ได้มาก ทำให้ระบบมีขนาดเล็กซึ่งเป็นข้อได้เปรียบที่เหนือกว่าระบบไร้ออกซิเจนแบบอื่น การนำเอาระบบยูเอเอสบีมาใช้เป็นระบบบำบัดน้ำเสียขั้นต้นเพื่อลดภาระบรรทุกสารอินทรีย์ให้กับระบบใช้ออกซิเจนจึงเป็นทางเลือกที่ได้รับความสนใจและยอมรับกันอย่างกว้างขวาง ดังจะเห็นได้จากจำนวนระบบยูเอเอสบีที่ติดตั้งเพิ่มขึ้นทั่วโลก นอกจากนี้ยังมีรายงานว่ามีการนำระบบยูเอเอสบีไปประยุกต์ใช้กับน้ำเสียหลายประเภท ทั้งที่เหมาะกับระบบไร้ออกซิเจน เช่น น้ำเสียจากอุตสาหกรรมการเกษตร น้ำเสียชุมชนที่มีความเข้มข้นสูง ไปจนถึงน้ำเสียที่ย่อยยากและมีสารพิษ เช่น น้ำเสียจากโรงงานเยื่อกระดาษ และโรงงานกระดาษอัดเป็นต้น

2.2.2 ลักษณะของระบบยูเอเอสบี

1) ป้อนน้ำเสียเข้าด้านล่างของถังปฏิกรณ์ผ่านระบบกระจายน้ำเสียให้เข้าถังอย่างทั่วถึง การไหลของน้ำเสียในถังปฏิกรณ์ไหลจากด้านล่างผ่านชั้นสลัดจ์ และไหลออกตอนบนของถังปฏิกรณ์
2) เลี้ยงเชื้อแบกทีเรียแบบไม่ใช้ออกซิเจนให้เกิดชั้นสลัดจ์ที่มีความหนาแน่น โดยเชื้อในชั้นสลัดจ์จะรวมกันเป็นเม็ดหรือเกล็ด (granule หรือ pellet)
3) เชื้อที่มีความหนาแน่นสูงจะจมตัวอยู่ด้านล่าง โดยมีการเรียงตัวจากขนาดใหญ่ขึ้นไปหาเล็กเหมือนชั้นทรายกรองเป็นชั้นสลัดจ์ ส่วนกลุ่มที่มีความหนาแน่นต่ำและมีความเร็วในการจมตัวต่ำกว่าจะถูกฟองก๊าซที่ผุดขึ้นมาและน้ำที่ไหลขึ้นกวนขึ้นมาเป็นชั้นตะกอนลอย (sludge blanket)
4) เพื่อควบคุมให้เซลล์หลุดออกไปกับน้ำทิ้งน้อยลงและสามารถเก็บก๊าซมีเทนไปใช้ได้ จึงมีการติดตั้งอุปกรณ์แยกก๊าซ, น้ำเสีย และเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ในรูปตะกอนแขวนลอยไว้ด้านบนของถัง เรียกว่า GSS (Gas Solids Separator) อุปกรณ์ GSS นี้มีการออกแบบหลายลักษณะตามขนาดและรูปร่างของถังปฏิกรณ์ แต่ใช้หลักการเดียวกันคือ

   - เก็บก๊าซไว้โดยการแทนที่น้ำ
   - แยกน้ำกับก๊าซไม่ให้ไหลออกทางเดียวกัน โดยอาศัยหลักการที่ว่าน้ำสามารถไหลเลี้ยวไปมาได้ แต่ก๊าซลอยตัวจากด้านล่างขึ้นสู่ด้านบนเป็นเส้นตรงเท่านั้น ยกเว้นถ้ามีสิ่งกีดขวางหรือแผ่นปะทะใดมาเปลี่ยนทิศทางของการลอยตัวขึ้น หลังจากผ่านพ้นสิ่งกีดขวางนั้นแล้วก็จะลอยตัวเป็นเส้นตรงเช่นเดิม
   - แยกตะกอนออกจากน้ำโดยการตกตะกอน ดังนั้นในส่วนของ GSS จึงต้องมีส่วนที่เป็นน้ำนิ่งเพียงพอที่ตะกอนจะตกกลับลงมายังถังปฏิกรณ์ได้

ดังที่ได้กล่าวมาแล้วก่อนหน้านี้ว่า จุดเด่นของระบบยูเอเอสบีคือมีความสามารถในการเก็บเซลล์ไว้ในระบบได้ดี ระบบจึงต้องมีส่วนประกอบ 2 ส่วนด้วยกัน คือ

- การเลี้ยงจุลินทรีย์ให้เป็นเกล็ดหรือเป็นเม็ดที่มีความหนาแน่นสูงและตกตะกอนได้ดี
- การออกแบบอุปกรณ์ GSS ให้ทำงานได้ดี ตะกอนจุลินทรีย์ที่ตกตะกอนแยกตัวลงมาแล้วต้องสามารถตกกลับเข้าถังปฏิกิริยาได้ง่าย ไม่มีการสะสมตัวอยู่ในส่วนตกตะกอนและมีเซลล์จุลินทรีย์หลุดออกไปกับน้ำทิ้งน้อยที่สุด

2.2.3 ข้อดีและข้อเสียของระบบยูเอเอสบี

ข้อดีของระบบยูเอเอสบี

- การก่อสร้างและควบคุมระบบสามารถกระทำได้ง่ายและมีราคาไม่แพงนัก
- มักไม่ต้องการใช้ไฟฟ้าและไม่ต้องใช้เครื่องจักรกล
- ไม่ต้องใช้ตัวกลาง เก็บเชื้อไว้ในระบบได้มากทำให้ระบบมีขนาดเล็กลง
- สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้ทั้งในระบบบำบัดขนาดเล็กมากไปจนถึงขนาดใหญ่มาก จึงไม่จำเป็นต้องใช้ระบบขนาดใหญ่เพียงแห่งเดียว
- เมื่อไม่จำเป็นต้องใช้โรงบำบัดน้ำเสียขนาดใหญ่เพียงแห่งเดียว จะทำให้ลดค่าใช้จ่ายในส่วนของระบบเก็บรวบรวมและขนส่งน้ำเสียได้
- เกิดสลัดจ์ในปริมาณน้อย โดยในระบบไม่ใช้ออกซิเจนสารอินทรีย์จะเปลี่ยนเป็นเซลล์จุลินทรีย์เพียง 10 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ระบบใช้ออกซิเจนสารอินทรีย์ถูกเปลี่ยนเป็นเซลล์ 50 – 60 เปอร์เซ็นต์
- สลัดจ์ที่เกิดขึ้นมีความคงตัวสูง สามารถ dewatering ได้ง่าย
- มักได้ก๊าซมีเทนเป็นผลิตภัณฑ์ของระบบซึ่งสามารถใช้เป็นแหล่งพลังงานได้
- ต้องการไนโตรเจนและฟอสฟอรัสต่ำกว่าระบบใช้ออกซิเจน
- สามารถหยุดระบบได้เป็นเวลาโดยไม่เป็นปัญหา การเริ่มเดินระบบใหม่ก็กระทำได้ง่าย ระบบสามารถฟื้นตัวได้รวดเร็ว จึงเหมาะกับอุตสาหกรรมที่ทำงานเป็นฤดู
- สามารถรับภาระบรรทุกสารอินทรีย์และภาระบรรทุกที่เพิ่มขึ้นกระทันหัน (organic load and shock load) ได้สูง
- สามารถบำบัดน้ำเสียมีพิษบางอย่างได้ เช่น พวกสารละลายฮาโลเจน เป็นต้น

ข้อเสียของระบบยูเอเอสบี

- ไม่สามารถใช้เป็นระบบบำบัดที่สมบูรณ์ในตัวเองได้ เนื่องจากยังมีสารอินเทอร์มีเดียท (intermediates) ต่าง ๆ หลงเหลืออยู่ ทำให้น้ำทิ้งมักมีบีโอดีสูง
- ระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนมักมีปัญหาที่อุณหภูมิต่ำ
- ความรู้และประสบการณ์ในการทำงานจริงยังมีอยู่ไม่มากนัก

2.3 แบกทีเรียสร้างมีเทน

2.3.1 ลักษณะทั่วไป

แบกทีเรียสร้างมีเทนเป็นแบกทีเรียไม่ใช้ออกซิเจนชนิดเด็ดขาด ไม่อาจทนต่อออกซิเจนได้ แม้มีปริมาณเพียงเล็กน้อย จัดอยู่ในกลุ่มของแบกทีเรียชนิดเคโมเฮเทโรทรอป ดำรงชีวิตอยู่และเจริญเติบโตโดยได้รับพลังงานจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่เป็นสารอาหารของแบกทีเรียกลุ่มนี้มีเพียงไม่กี่ชนิดเท่านั้น ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 สารอาหารที่แบกทีเรียสร้างมีเทนนำไปใช้ได้ (Madigan และคณะ, 1997: 749)

CO_2 – type substrates
Carbon dioxide (with electrons derived from H_2)
$CO_2 + 4H_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O$; $\Delta G^{0\prime} = -131$ kJ/reaction
Formate, $HCOO^-$
$4HCOO^- + 4H^+ \rightarrow CH_4 + 3CO_2 + 2H_2O$; $\Delta G^{0\prime} = -145$ kJ/reaction
Carbon monoxide, CO
$4CO + 2H_2O \rightarrow CH_4 + 3CO_2$; $\Delta G^{0\prime} = -210$ kJ/reaction
Methyl substrates
Methanol, CH_3OH
$4CH_3OH \rightarrow 3CH_4 + CO_2 + 2H_2O$; $\Delta G^{0\prime} = -319$ kJ/reaction
Methylamine, CH_3NH^+
$4CH_3NH_3^+ + 2H_2O \rightarrow 3CH_4 + CO_2 + 4NH_4^+$; $\Delta G^{0\prime} = -230$ kJ/reaction
Dimethylamine, $(CH_3)_2NH_2^+$
$(CH_3)_2NH_2^+ + 2H_2O \rightarrow 3CH_4 + CO_2 + 2NH_4^+$; $\Delta G^{0\prime} = -230$ kJ/reaction
Trimethylamine, $(CH_3)_3NH^+$
$4(CH_3)_3NH^+ + 6H_2O \rightarrow 9CH_4 + 3CO_2 + 4NH_4^+$; $\Delta G^{0\prime} = -666$ kJ/reaction
Methylmercaptan, CH_3SH
Dimethylsulfide, $(CH_3)S$
Acetotrophic substrate
Acetate, CH_3COO^-
$CH_3COO^- + H^+ \rightarrow CH_4 + CO_2$; $\Delta G^{0\prime} = -31$ kJ/reaction

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารอาหารชนิดอื่นนอกเหนือจากนี้ ไม่ว่าจะเป็นกรดอินทรีย์ระเหย เช่น บิวทิริกหรือโพรพิโอนิก ซึ่งปกติเป็นสารอาหารของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต แบกทีเรียสร้างมีเทนไม่สามารถนำไปใช้ได้

แบกทีเรียกลุ่มนี้สามารถจำแนกออกได้เป็น 3 ชนิด ตามชนิดของสารอาหารที่ใช้ ได้แก่

1) Obligate acetoclastic methanogen เป็นแบกทีเรียสร้างมีเทนที่ใช้กรดอะซิติกเป็นแหล่งพลังงาน ตามสมการ

$$CH_3COOH \rightarrow CH_4 + CO_2$$

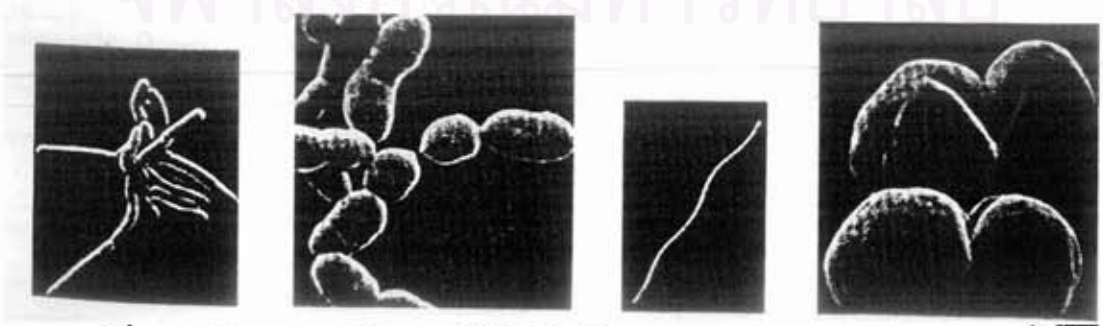
2) Obligate hydrogenotrophic methanogen (hydrogen utilizer) เป็นแบกทีเรียที่ใช้ก๊าซไฮโดรเจนในการผลิตก๊าซมีเทนโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอน ดังสมการ

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

นอกจากก๊าซไฮโดรเจนแล้ว แบกทีเรียชนิดนี้ยังสามารถใช้กรดฟอร์มิกเป็นแหล่งอาหารเพียงอย่างเดียวได้ เพราะกรดฟอร์มิกสามารถแตกตัวเป็นไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ได้

3) Hydrogenotrophic/acetoclastic methanogen เป็นแบกทีเรียที่สร้างมีเทนได้ทั้งจากกรดอะซิติกหรือก๊าซไฮโดรเจน แต่ใช้ไฮโดรเจนได้ดีกว่า

รูปร่างของเซลล์ของแบกทีเรียสร้างมีเทนแสดงดังรูปที่ 2.9 และถ้าเราแบ่งแบกทีเรียสร้างมีเทนตามลักษณะทางกายภาพและสมบัติในระดับโมเลกุล (physiology and molecular properties) จะแยกแบกทีเรียสร้างมีเทนออกได้เป็น 7 กลุ่มใหญ่ ๆ ดังแสดงในตารางที่ 2.2



รูปที่ 2.9 รูปร่างของเซลล์ของแบกทีเรียสร้างมีเทน (Madigan และคณะ, 1997: 750)

ตารางที่ 2.2 แบกทีเรียสร้างมีเทนจำแนกตามลักษณะทางกายภาพและสมบัติในระดับโมเลกุล (Madigan และคณะ, 1997: 750)

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

2.3.2 ชีวเคมีของแบกทีเรียสร้างมีเทน

- โคเอนไซม์เฉพาะ

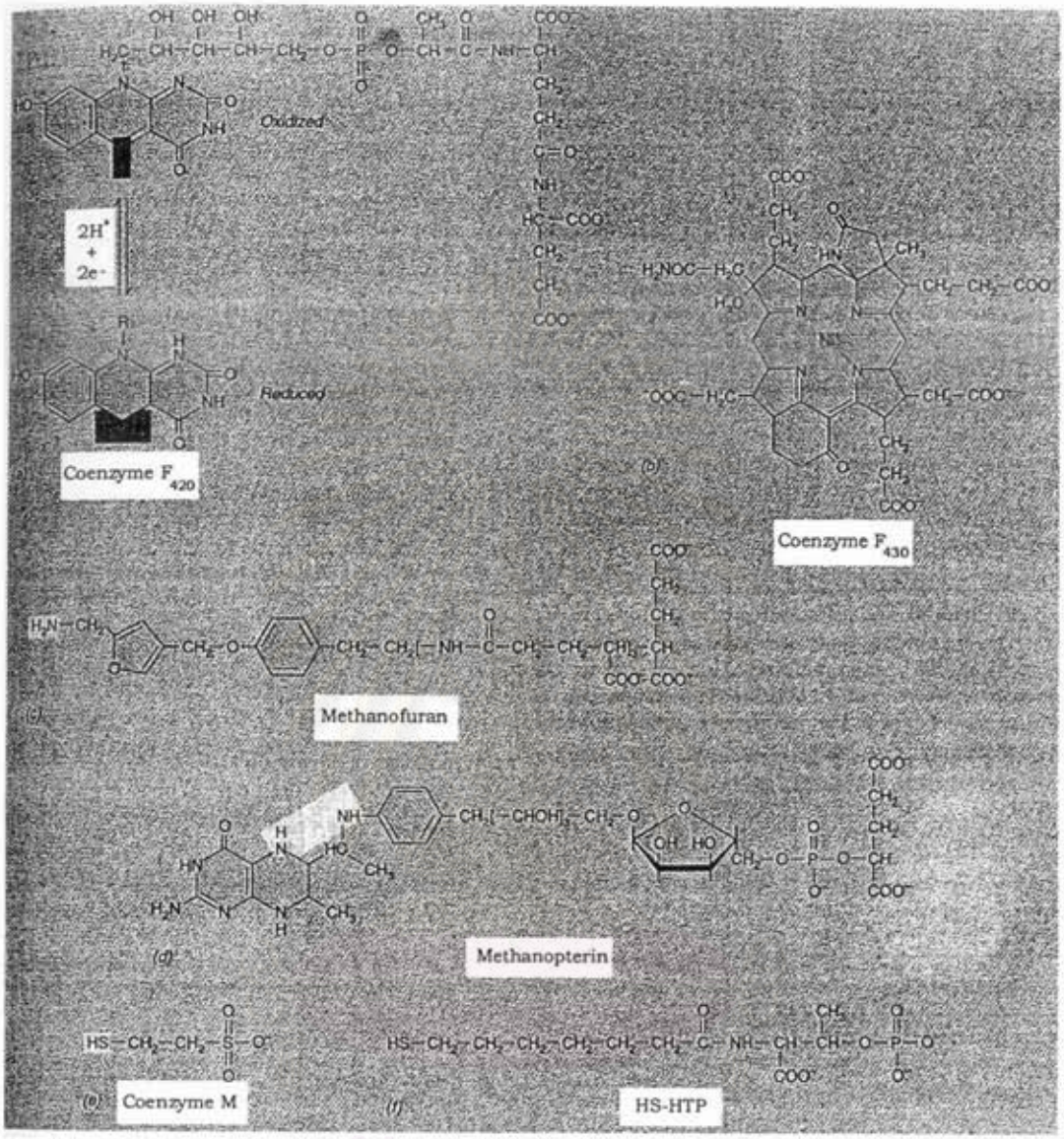
โคเอนไซม์เป็นสารตัวกลางที่ทำหน้าที่ขนส่งอิเล็กตรอนในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต ดังนั้น โคเอนไซม์จึงมีบทบาทสำคัญในกระบวนการสงวนพลังงาน (energy preservation) ของจุลินทรีย์ โคเอนไซม์จะแตกต่างกันออกไปในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด ซึ่งในเซลล์ของแบกทีเรียสร้างมีเทนจะมีโคเอนไซม์บางตัวซึ่งเป็นโคเอนไซม์เฉพาะซึ่งต่างจากสิ่งมีชีวิตอื่น ได้แก่ โคเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ขนส่งสารประกอบที่มีคาร์บอน 1 อะตอม: Methanofuran, Methanopterin, Coenzyme M, Coenzyme F_{430} และโคเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยารีดอกซ์: Coenzyme F_{420}, HS-HTP (7-mercaptoheptanoyl threonine phosphate) ดังแสดงในรูปที่ 2.10

- กระบวนการสร้างมีเทนจากไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์

โดยทั่วไปแล้วปฏิกิริยาการรีดักชันของคาร์บอนไดออกไซด์เป็นมีเทนนั้นจะขึ้นอยู่กับไฮโดรเจนซึ่งเป็นตัวให้อิเล็กตรอน แต่ฟอร์เมต, คาร์บอนมอนอกไซด์หรือแม้แต่ธาตุเหล็ก (Fe^0) ก็ทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอนได้เช่นกัน โดยในกรณีของธาตุเหล็ก เหล็กจะให้อิเล็กตรอนกับโปรตอนกลายเป็นไฮโดรเจน ($Fe + 2H^+ \longrightarrow Fe^{2+} + H_2$) จากนั้นแบกทีเรียสร้างมีเทนจึงใช้ไฮโดรเจนเป็นตัวให้อิเล็กตรอนอีกทอดหนึ่ง

การรีดักชันของคาร์บอนไดออกไซด์เป็นมีเทนโดยไฮโดรเจนพอสรุปได้เป็นขั้นตอนดังนี้

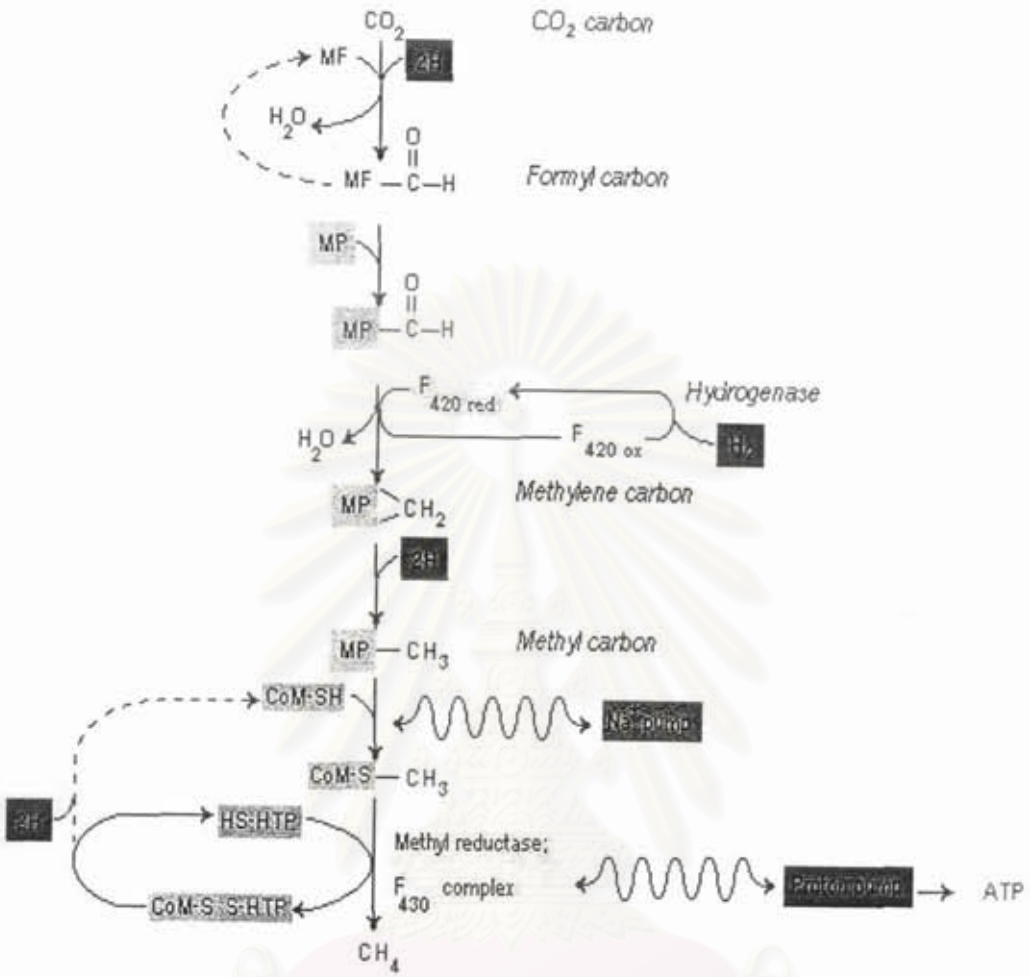
1) คาร์บอนไดออกไซด์ถูกกระตุ้นโดย methanofuran พร้อมกับถูกรีดิวซ์ให้เป็น formyl carbon
2) กลุ่มฟอร์มิลถูกส่งจาก methanofuran ไปยัง tetrahydromethanopterin (MP) พร้อมกับถูกรีดิวซ์ให้ methylene carbon และรีดิวซ์ต่อให้เป็น methyl carbon
3) กลุ่มเมทิลถูกส่งจาก methanopterin ไปยังโคเอนไซม์เอ็ม
4) Methyl-coenzyme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



รูปที่ 2.10 โคเอนไซม์ของแบกทีเรียสร้างมีเทน (Madigan และคณะ, 1997: 753)

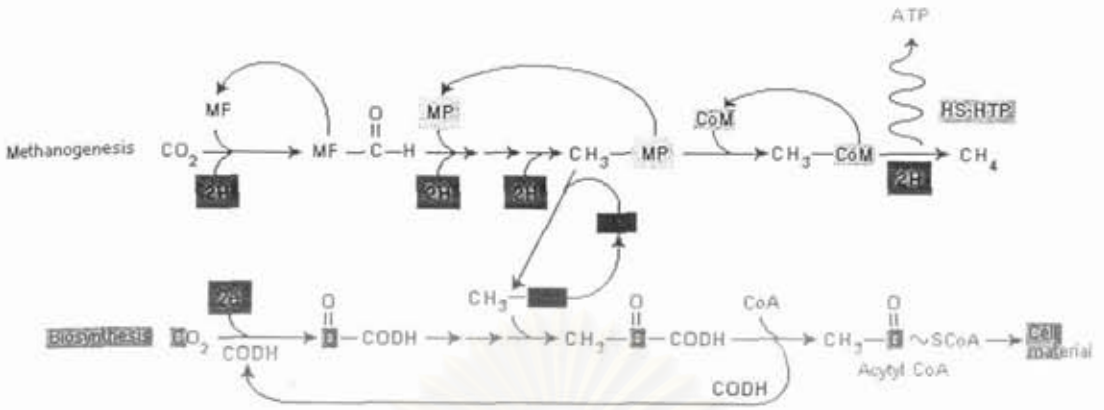
กลับมาใช้ใหม่ พลังงานที่ได้จากการรีดิวซ์ methyl-CoM เป็นมีเทนถูกสงวนไว้ใช้ด้วยกลไก chemiosmosis

ขั้นตอนทั้งหมดแสดงดังรูปที่ 2.11



รูปที่ 2.11 วิถีการสร้างมีเทนจากคาร์บอนไดออกไซด์ (Madigan และคณะ, 1997: 754)

ในขั้นสุดท้าย HS-HTP จะรวมกับ CH_3-S-CoM เกิดเป็น CH_4 และ CoM-S-S-HTP ซึ่ง CoM-S-S-HTP จะถูกกระตุ้นด้วยเอนไซม์ heterodisulfide reductase ให้เกิดปฏิกิริยารีดอกซ์กับไฮโดรเจนหรือโคเอนไซม์ F_{420} ที่อยู่ในรูปรีดิวซ์เพื่อให้ CoM-S-S-HTP กลายเป็น CoM-SH และ HS-HTP และนำกลับไปใช้ใหม่ ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนการคายพลังงาน ซึ่งพลังงานส่วนนี้จะถูกสงวนไว้ด้วยกลไก chemiosmosis ส่วนกระบวนการชีวสังเคราะห์ของแบคทีเรียสร้างมีเทนจะใช้วิถีทางชีวเคมีบางส่วนร่วมกับวิถีทางชีวเคมีของกระบวนการสงวนพลังงาน ดังแสดงในรูปที่ 2.12



รูปที่ 2.12 ความสัมพันธ์ระหว่างวิถีทางชีวเคมีของกระบวนการชีวสังเคราะห์และกระบวนการสงวนพลังงานของแบกทีเรียสร้างมีเทน (Madigan และคณะ, 1997: 755)

แบกทีเรียสร้างมีเทนจะให้กลุ่มเมทิลที่ได้จาก methyl tetrahydromethanopterin (CH_3-MP) ในวิถีการสร้างมีเทนกับเอนไซม์ที่มี corrinoid เกิดเป็น CH_3-corrinoid จากนั้นก็ถ่ายกลุ่มเมทิลต่อให้กับ *carbon monoxide dehydrogenase* เพื่อใช้ในการสร้างอะซิติลโคเอ ซึ่งอะซิติล-โคเอจะถูกนำไปใช้ในกระบวนการชีวสังเคราะห์ต่อไป

เมื่อเทียบกับคาร์บอนไดออกไซด์ที่ถูกใช้ในการสร้างมีเทนแล้ว คาร์บอนไดออกไซด์ที่ถูกเปลี่ยนเป็นส่วนประกอบของเซลล์มีปริมาณน้อยมาก และจะเห็นได้ว่าในการใช้วิถีทางชีวเคมีบางส่วนร่วมกันระหว่างการสร้างเซลล์และการสงวนพลังงาน ทำให้แบกทีเรียสามารถดึงเอากลุ่มเมทิลที่เกิดขึ้นในวิถีการสร้างมีเทนมาใช้ได้เลยโดยไม่ต้องสร้างเอนไซม์ที่เร่งการสร้างกลุ่มเมทิลจากคาร์บอนไดออกไซด์ขึ้นมาใหม่ แบกทีเรียสร้างมีเทนจึงประหยัดพลังงานที่ใช้สร้างเอนไซม์ส่วนนี้ลงได้

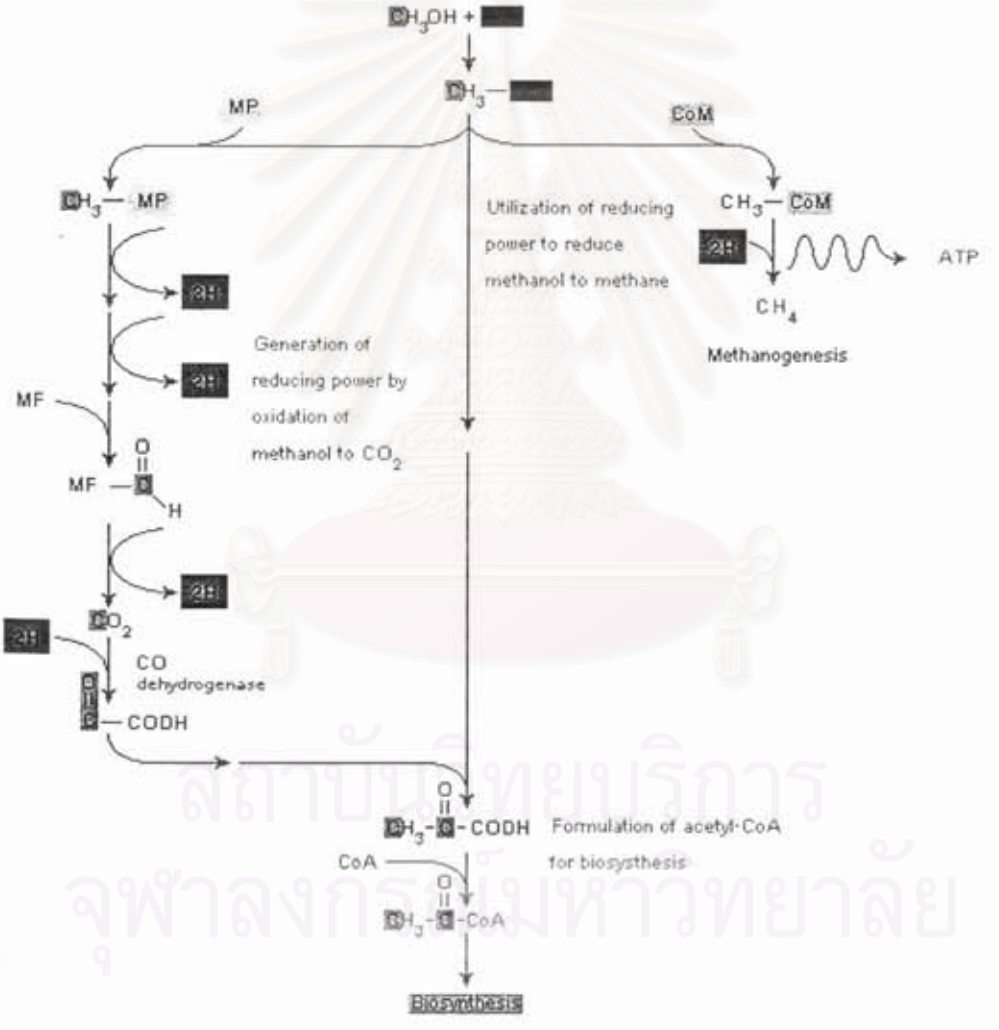
- กระบวนการสร้างมีเทนจากสารประกอบเมทิล

ในขั้นตอนแรกของการสร้างมีเทนจากสารประกอบเมทิล เช่น เมทานอล เป็นต้น สารประกอบเมทิลจะให้กลุ่มเมทิลกับ corrinoid เพื่อสร้าง CH_3-corrinoid ซึ่ง corrinoid นี้มีโครงสร้างเป็นวงแหวน porphyrin-like corrin ที่มีโคบอลต์อยู่ตรงกลางและเป็นโครงสร้างต้นแบบของสารประกอบบางอย่างเช่น วิตามินบี 12 เป็นต้น จากนั้น CH_3-corrinoid จะให้กลุ่มเมทิลต่อกับโคเอนไซม์เอ็มเกิดเป็น CH_3-CoM และ CH_3-CoM จะรับอิเล็กตรอนกลายเป็นมีเทน ซึ่งอิเล็กตรอนที่

ให้กับ CH_3-CoM จะได้มาจากการเปลี่ยนเมทานอลโมเลกุลอื่นเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ ดังแสดงในสมการต่อไปนี้

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

ส่วนกระบวนการชีวะสังเคราะห์จะเริ่มจากการใช้กลุ่มเมทิลที่ได้จากเมทานอลมารับอิเล็กตรอนเพื่อสร้างคาร์บอนมอนอกไซด์ และรวมคาร์บอนมอนอกไซด์กับกลุ่มเมทิลเข้าด้วยกันโดยมีเอนไซม์ carbon monoxide dehydrogenase เพื่อใช้สร้างอะซิติลโคเอในขั้นต่อมา ดังแสดงในรูปที่ 2.13

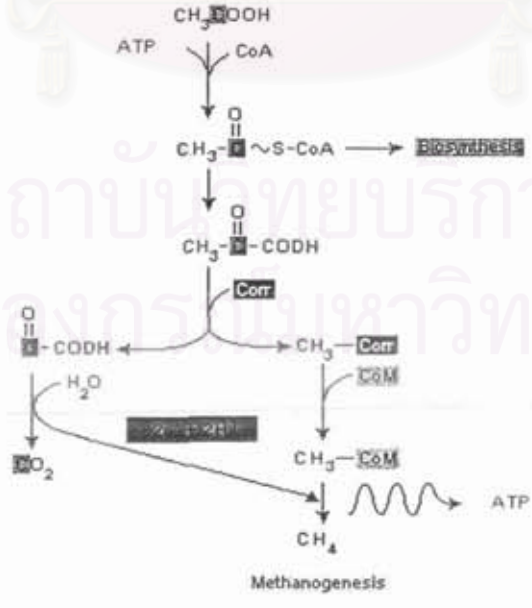


รูปที่ 2.13 วิถีทางชีวเคมีของกระบวนการชีวสังเคราะห์และกระบวนการสงวนพลังงานของแบกทีเรียสร้างมีเทนที่ใช้เมทานอล (Madigan และคณะ, 1997: 756)

จะเห็นได้ว่าแบกทีเรียสร้างมีเทนที่ใช้สารประกอบเมทิล ต้องใช้กลุ่มเมทิลรับอิเล็กตรอนจากไฮโดรเจนเพื่อผลิตมีเทน แต่ในกรณีที่ไม่มีไฮโดรเจนแบกทีเรียจะใช้ sodium pump แทนเพื่อสร้างความแตกต่างของความเข้มข้นของโซเดียมระหว่างเซลล์เมมเบรน ซึ่งจะทำให้เกิดความต่างศักย์ขึ้น เป็นการเปลี่ยนรูปพลังงานเคมีจากปฏิกิริยารีดอกซ์มาเก็บอยู่ในรูปพลังงานไฟฟ้า เซลล์จะใช้พลังงานที่เก็บไว้นี้จะผลักดันให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลุ่มเมทิลและเกิดการสร้างมีเทน นอกจากนี้ sodium pump ยังเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยน CH_3-tetrahydromethanopterin เป็น CH_3-CoM และการ carboxylation ของ methanofuran (MF) ของแบกทีเรียสร้างมีเทนที่ใช้ไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ด้วย

- กระบวนการสร้างมีเทนจากอะซิเตต

แบกทีเรียสร้างมีเทนจากอะซิเตตสามารถนำอะซิเตตไปใช้ในกระบวนการชีวสังเคราะห์ได้โดยตรง ส่วนในกระบวนการสงวนพลังงาน แบกทีเรียสร้างมีเทนจากอะซิเตตจะกระตุ้นอะซิเตตให้มีพลังงานสูงขึ้นโดยการสร้างเป็นอะซิติลโคเอ ซึ่งจะไปทำปฏิกิริยากับ carbon monoxide dehydrogenase ต่อ และตามมาด้วยการส่งกลุ่มเมทิลจากอะซิเตตให้กับเอนไซม์ corrinoid เพื่อสร้าง CH_3-corrinoid จากขั้นตอนนี้เอง กลุ่มเมทิลถูกส่งต่อให้กับ tetrahydromethanopterin และส่งต่อไปให้กับโคเอนไซม์เอ็มอีกทอดหนึ่งเพื่อสร้าง CH_3CoM ซึ่ง CH_3CoM จะรับอิเล็กตรอนที่ได้จากการเปลี่ยนคาร์บอนมอนอกไซด์เป็นคาร์บอนไดออกไซด์โดยเอนไซม์ CO dehydrogenase ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นมีเทนและคาร์บอนไดออกไซด์ ดังแสดงในรูปที่ 2.14



รูปที่ 2.14 วิถีทางชีวเคมีของกระบวนการชีวสังเคราะห์และกระบวนการสงวนพลังงานของแบกทีเรียสร้างมีเทนที่บริโภคอะซิเตต (Madigan et al., 1997: 756)

การสร้าง ATP จะเกิดขึ้นในขั้นตอนการเปลี่ยน CH_3CoM เป็นมีเทนซึ่งเป็นขั้นตอนสุดท้ายด้วยกลไก chemiosmosis เช่นเดียวกับที่เกิดในแบกทีเรียสร้างมีเทนที่ใช้ไฮโดรเจนกับคาร์บอนไดออกไซด์

2.3.3 ปัจจัยทางสภาวะแวดล้อมที่ส่งผลการทำงานของแบกทีเรียสร้างมีเทน

1) อุณหภูมิ

ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบกทีเรียในกระบวนการไร้ออกซิเจนมีอยู่ 2 ช่วง คือ

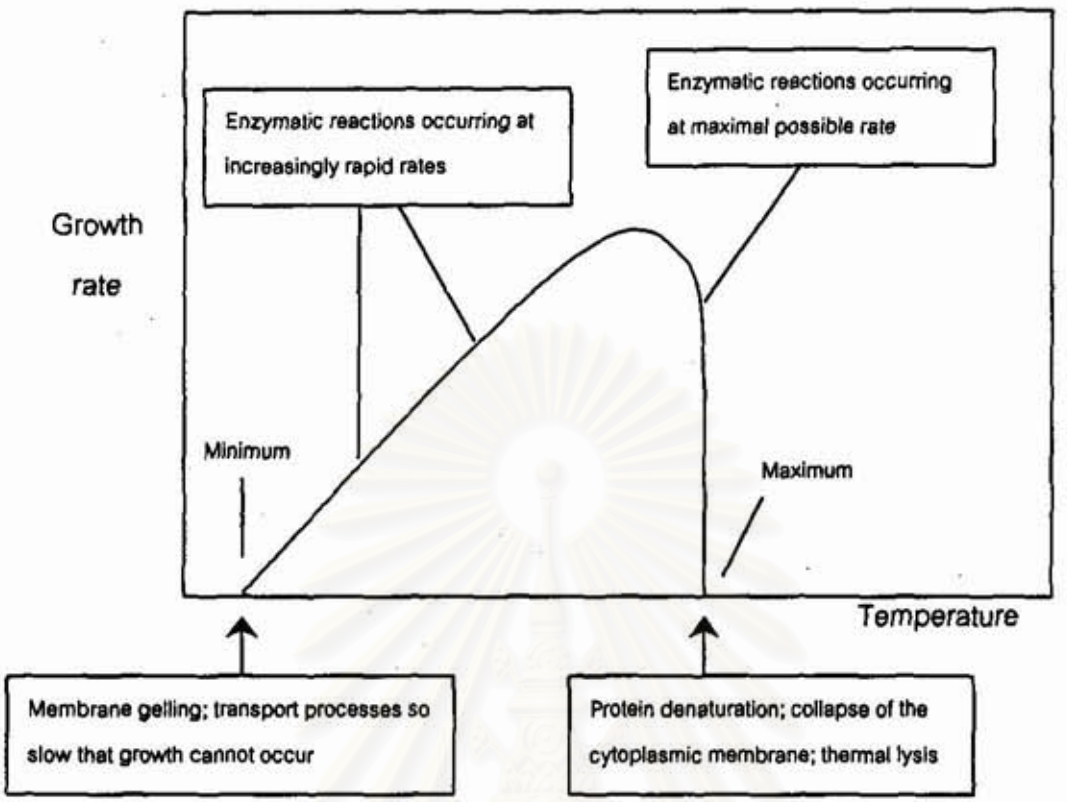
- ช่วง 20 – 45 °C เรียกว่า เมโซฟิลิก (mesophilic)
- ช่วง 45 – 80 °C เรียกว่า เทอร์โมฟิลิก (thermophilic)

ตามปกติแล้ว เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น อัตราการเกิดปฏิกิริยาเคมีและการทำงานของเอนไซม์ภายในเซลล์จะเร็วขึ้น อัตราการเจริญเติบโตก็เพิ่มขึ้น แต่อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นถ้าเพิ่มสูงเกินกว่าที่เซลล์ทำงานได้ โปรตีน กรดนิวคลีอิก และส่วนประกอบของเซลล์หลายส่วนจะถูกทำลายจนไม่อาจกลับคืนสภาพได้ การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิจึงเพิ่มการเจริญเติบโตและการทำงานของเซลล์ได้จนถึงอุณหภูมิหนึ่ง เมื่ออุณหภูมิสูงกว่านั้น การทำงานและการเจริญเติบโตจะลดลงเป็นศูนย์อย่างรวดเร็วมาก ดังแสดงในรูปที่ 2.15

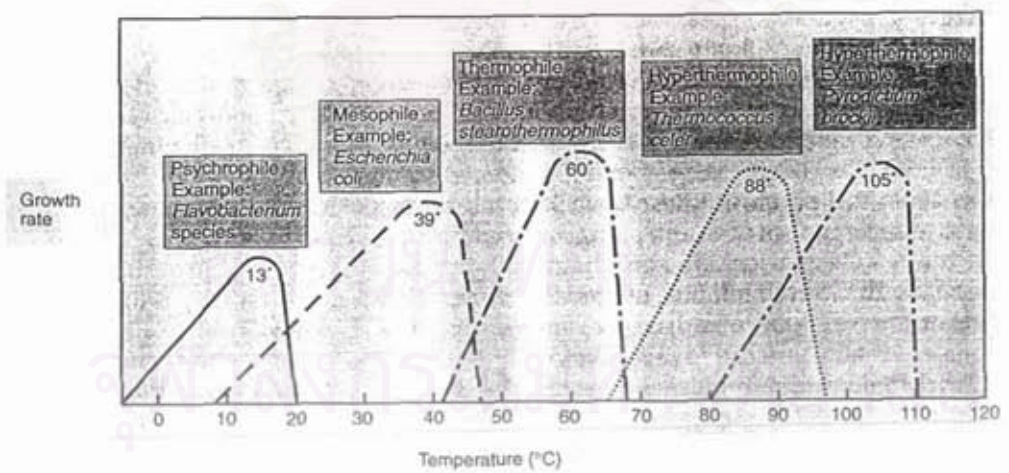
2) พีเอช

จุลินทรีย์แต่ละชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ในช่วงพีเอชช่วงหนึ่ง ค่าพีเอชที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดก็จะอยู่ในช่วงนี้ จุลินทรีย์ส่วนใหญ่มักมีค่าพีเอชที่เหมาะสมอยู่ในช่วงพีเอช 5 – 10 เพราะสภาพแวดล้อมส่วนใหญ่ในธรรมชาติมักมีพีเอชอยู่ในช่วง 5 – 10 จุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตได้ที่พีเอชต่ำกว่า 5 เรียกว่า acidophiles เช่น ราและแบกทีเรียบางชนิด ส่วนพวกที่เจริญเติบโตได้ที่พีเอช 10 – 11 เรียกว่า alkaliphiles

พีเอชที่เหมาะสมต่อกระบวนการไร้ออกซิเจนควรอยู่ระหว่าง 6.8 – 7.2 ซึ่งเป็นค่าที่เหมาะสมต่อการทำงานของแบกทีเรียสร้างมีเทน ถ้าพีเอชน้อยกว่า 6.2 ประสิทธิภาพของระบบจะลดลงอย่างรวดเร็ว



ก. ผลของอุณหภูมิที่มีต่ออัตราการเจริญเติบโตของเซลล์และผลที่เกิดขึ้นต่อเซลล์ในระดับโมเลกุล



ข. ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิต่ออัตราการเจริญเติบโตของแบกทีเรียกลุ่มต่าง ๆ ที่จำแนกตามอุณหภูมิ และอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดต่อการเจริญเติบโต

รูปที่ 2.15 ผลของอุณหภูมิที่มีต่ออัตราการเจริญเติบโตของเซลล์ (Madigan และคณะ 1997: 163)

3) กรดไขมันระเหยและสภาพด่าง

กรดไขมันระเหยที่ผลิตโดยแบกทีเรียสร้างกรดปกติควรมีค่าประมาณ 200 – 400 มก. กรดอะซิติก กรดไขมันระเหยที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจะเป็นสัญญาณว่าระบบกำลังเสียสมดุล เพราะทำให้พีเอชลดลงจนไม่อยู่ในช่วงที่เหมาะสมของแบกทีเรียที่อยู่ในระบบไม่ว่าจะเป็นแบกทีเรียสร้างมีเทนหรือแบกทีเรียสร้างกรด แม้ว่าแบกทีเรียสร้างกรดจะทนต่อกรดที่ผลิตขึ้นได้มากกว่าแบกทีเรียสร้างมีเทนก็ตาม สังเกตได้จากแบกทีเรียสร้างกรดสามารถอยู่ได้ในช่วงพีเอชที่กว้างกว่า ดังนั้นสภาพด่างจึงแสดงถึงกำลังบัฟเฟอร์ของระบบซึ่งจะรักษาระบบให้มีพีเอชค่อนข้างคงที่และทนต่อการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันระเหยได้ โดยทั่วไปกระบวนการไร้ออกซิเจนควรมีสภาพด่างประมาณ 1,500 – 2,000 มก./ล.

นอกจากจะดูสภาพด่างแล้ว ยังต้องพิจารณาอัตราส่วนของกรดไขมันระเหยในรูปกรดอะซิติกต่อสภาพด่าง(as $CaCO_3$) ด้วย โดยค่าอัตราส่วนกรดไขมันระเหยต่อสภาพด่างน้อยกว่า 0.4 ถือได้ว่าระบบยังทำงานได้ดี แต่ถ้าอัตราส่วนกรดไขมันระเหยต่อสภาพด่างสูงกว่า 0.8 แล้ว แสดงว่าระบบมีบัฟเฟอร์ต่ำ ควรหาสาเหตุที่ทำให้อัตราส่วนสูงขึ้นและแก้ไข เพราะพีเอชมีแนวโน้มลดลงจนระบบอาจล้มเหลวได้

4) ธาตุอาหาร (nutrient)

ถึงแม้ว่าเซลล์ของแบกทีเรียที่สร้างขึ้นมาในกระบวนการไร้ออกซิเจนจะมีน้อยกว่าแบบใช้ออกซิเจน แต่จากอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัสต่อซัลเฟอร์ (C:N:P:S) ในเซลล์มีค่าประมาณ 100:10:1:1 จึงจำเป็นต้องรักษาอัตราส่วนนี้ไว้ไม่ให้น้อยกว่านี้ จุลินทรีย์จึงต้องการอาหารเสริมนอกเหนือจากคาร์บอน เช่น ไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ซึ่งอัตราส่วนระหว่างบีโอดีต่อไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัสอย่างน้อยควรมีค่าเท่ากับ 100:1:0.2 (McCarty, 1964 อ้างถึงใน อรรถวุฒิ รื่นเริงใจ, 2541) สำหรับกระบวนการไร้ออกซิเจน นอกจากนี้ยังมีธาตุบางอย่างที่แบกทีเรียสร้างมีเทนต้องการเป็นปริมาณน้อยแต่ขาดไม่ได้ ได้แก่ เหล็ก โคบอลต์ นิกเกิล และซัลเฟอร์ นอกจากนี้ยังมีรายงานถึงความต้องการธาตุอีก 3 ชนิด คือ โมลิบดินัม, ทังสเตนและเซเลเนียม แต่ยังไม่มีข้อยืนยันอย่างแน่นอนเหมือนอีก 4 ธาตุข้างต้น

- เหล็กและโคบอลต์

เหล็กเป็นธาตุอาหารที่ละลายน้ำได้น้อยและสามารถรวมกับซัลไฟด์ในระบบแยกตัวออกจากน้ำ ตกตะกอนผลึกในรูปของเหล็กซัลไฟด์ ทำให้อาจเกิดปัญหาการจำกัดของเหล็กได้ ส่วนโคบอลต์มีความสามารถในการละลายน้ำได้ดีกว่า แต่ก็อาจเกิดปัญหาเดียวกันได้

- นิกเกิล

นิกเกิลเป็นส่วนประกอบสำคัญของโคเอนไซม์ F_{430} ซึ่งเป็นหนึ่งในโคเอนไซม์สำคัญต่อแบกทีเรียสร้างมีเทน ซึ่งได้แก่ โคเอนไซม์ F_{420}, F_{430} และ 2-mercaptoethane sulfonic acid โดยปกติแล้วนิกเกิลเป็นมลทินที่ติดอยู่ใน yeast extract และในเกลือแร่อื่น ๆ ทำให้แบกทีเรียสร้างมีเทนได้รับนิกเกิลโดยไม่ได้ตั้งใจ อย่างไรก็ตามนิกเกิลอาจรวมกับซัลไฟด์และตกผลึกได้เช่นเดียวกับผลึกเหล็ก จึงอาจมีความจำเป็นต้องเติมนิกเกิลบ้างในกรณีที่ไม่มีหรือมีนิกเกิลไม่เพียงพอ

- ซัลไฟด์

บทบาทของซัลไฟด์ที่มีต่อระบบไร้ออกซิเจนมีทั้งเชิงบวกและเชิงลบ ซัลไฟด์มีผลเสียต่อแบกทีเรียสร้างมีเทนเนื่องจากสามารถตกผลึกเหล็ก นิกเกิลและโลหะหนักที่จำเป็นต่าง ๆ นอกจากนี้ซัลไฟด์ในรูปก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่ระดับความเข้มข้นสูงกว่า 100 – 150 มก./ล. เป็นพิษต่อแบกทีเรียสร้างมีเทน (มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์, 2536) แต่อย่างไรก็ดี ซัลไฟด์ในปริมาณเพียงเล็กน้อยก็เป็นสารที่จำเป็นและขาดไม่ได้สำหรับแบกทีเรียสร้างมีเทน เมื่อวิเคราะห์เซลล์ของแบกทีเรียสร้างมีเทนปรากฏว่าพบซัลไฟด์สูงถึง 2.6 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้งทั้งหมด ในขณะที่โคเอนไซม์ 2-mercaptoethane sulfonic acid มีซัลไฟด์เพียง 4 เปอร์เซ็นต์ของที่พบทั้งหมด ดังนั้นซัลไฟด์ 2.6 เปอร์เซ็นต์นี้ต้องเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของแบกทีเรีย ความต้องการซัลไฟด์ของแบกทีเรียสร้างมีเทนอาจแปรเปลี่ยนอยู่ในช่วง 1 – 25 มก./ล. ซึ่งปริมาณซัลไฟด์ในน้ำที่แบกทีเรียนำไปใช้ได้จะถูกกำหนดโดยพีเอชและความดันพาร์เชียลของก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ในบรรยากาศเหนือน้ำของถังปฏิกรณ์

5) สารพิษ

สารที่เป็นพิษต่อแบกทีเรียในระบบไร้ออกซิเจนโดยเฉพาะแบกทีเรียสร้างมีเทนมีอยู่หลายชนิด ระดับความรุนแรงขึ้นอยู่กับชนิดและความเข้มข้นของสารเหล่านั้น สารที่เป็นพิษบางตัวเป็นสารอาหารที่จำเป็นแต่ต้องมีปริมาณพอเหมาะ ถ้ามีปริมาณมากเกินไปจะกลายเป็นพิษได้

- พิษของอิออนบวก

อิออนบวกในน้ำเสียที่อาจเป็นพิษต่อแบกทีเรียได้ ได้แก่ โซเดียมอิออน, โปแตสเซียมอิออน, แมกนีเซียมอิออน และแคลเซียมอิออน อิออนเหล่านี้ถ้ามีความเข้มข้นที่พอเหมาะจะเป็นประโยชน์ต่อแบกทีเรีย แต่ถ้าความเข้มข้นสูงเกินไปก็จะเริ่มเป็นพิษต่อแบกทีเรีย โดยอิออนบวกที่มีวาเลนซีสูงจะมีความเป็นพิษมากกว่าอิออนที่มีวาเลนซีต่ำ ซึ่งพิษจากอิออนของแมกนีเซียมและแคลเซียมมีมากกว่าโซเดียมและโปแตสเซียมถึง 10 เท่า ดังนั้นพิษของอิออนบวกจึงเพิ่มขึ้นเมื่อวาเลนซีสูงขึ้น แต่ความเข้มข้นของอิออนบวกที่ทำให้เกิดการยับยั้งการผลิตมีเทนยังไม่เป็นที่แน่นอนว่าเกิดขึ้น ณ ความเข้มข้นเท่าใด มีรายงานถึงความเข้มข้นของโซเดียมที่ทำให้เกิดการยับยั้งการผลิตมีเทนที่ 50 เปอร์เซ็นต์อยู่เป็นจำนวนมาก โดยค่าความเข้มข้นในงานเหล่านั้นมีค่าอยู่ระหว่าง 6 – 40 ก./ล. (de Baere และคณะ, 1984; Kugelmann และ McCarty, 1964; Lettinga และ Vinken, 1984; van den Berg และคณะ, 1976 อ้างถึงใน Visser, 1994)

- โลหะหนัก

โลหะหนักที่อาจเป็นพิษต่อแบกทีเรีย ได้แก่ แมงกานีส, สังกะสี, แคดเมียม, นิกเกิล, โคบอลต์, ทองแดง และโครเมียม โลหะหนักเหล่านี้จะอยู่ในรูปอิออน พบว่าลำดับความเป็นพิษของโลหะหนักจะเรียงตามลำดับดังนี้ คือ ทองแดง, เหล็ก, แคดเมียม และสังกะสี แต่ความเป็นพิษของโลหะหนักลดลงได้ถ้าน้ำเสียมีปริมาณซัลไฟด์พอเหมาะ เพราะสามารถรวมกับโลหะหนักเกิดเป็นโลหะซัลไฟด์ซึ่งสามารถตกตะกอนได้

- พิษของแอมโมเนีย

แอมโมเนียในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจนมาจากการย่อยสลายสารพวกโปรตีน ซึ่งมีไนโตรเจนรวมอยู่ในโมเลกุลด้วย โดยไนโตรเจนที่ปล่อยออกมาจะอยู่ในรูปแอมโมเนียและแอมโมเนียมอิออน ดังสมการ

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

ถ้าพีเอชต่ำกว่า 7.2 ปฏิกิริยาจะดำเนินไปทางซ้าย ถ้าพีเอชมากกว่า 7.2 ปฏิกิริยาจะดำเนินไปทางขวา ดังนั้นที่พีเอชสูงขึ้นก็จะมีแอมโมเนียอยู่ในระบบมากขึ้น แอมโมเนียจะเป็นพิษต่อแบกทีเรียไม่ใช้ออกซิเจนมากกว่าแอมโมเนียมอิออน ผลของแอมโมเนียไนโตรเจนต่อระบบบำบัดน้ำเสียแสดงได้ดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ผลของแอมโมเนียไนโตรเจนที่มีต่อระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจน (McCarty, 1964 อ้างถึงใน อรรถวุฒิ รื่นเริงใจ, 2541)

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

- พิษของซัลไฟด์

ถ้าปริมาณของซัลไฟด์ในระบบมีความเข้มข้นถึงระดับหนึ่ง ซัลไฟด์จะเป็นพิษต่อแบกทีเรียสร้างมีเทน ไม่ว่าซัลไฟด์นั้นจะมาจากน้ำเสียที่เข้าระบบหรือการย่อยสลายของซัลเฟตก็ตาม ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณอิออนบวกในระบบด้วย เพราะถ้าในระบบมีโลหะหนัก ซัลไฟด์จะรวมตัวกับโลหะหนักแล้วตกตะกอนผลึกลงมา ทำให้ความเข้มข้นของซัลไฟด์ลดลงได้ ระดับความเข้มข้นของซัลไฟด์ที่เป็นพิษต่อแบกทีเรียสร้างมีเทนแสดงดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 ไฮโดรเจนซัลไฟด์และความเข้มข้นของซัลไฟด์ทั้งหมดที่ทำให้เกิดการยับยั้งการผลิตมีเทนจากกรดอะซิติกที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (Visser, 1994: 14)

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

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

- พิษจากสารอื่น ๆ

สารพิษอื่น ๆ ที่มีอยู่ในน้ำและอาจทำให้เกิดการยับยั้งกระบวนการผลิตมีเทน ได้แก่

ออกซิเจน - เป็นพิษอย่างมากแม้จะมีปริมาณเพียงเล็กน้อย เพราะจะทำให้เอนไซม์ F_{420} dehydrogenase เกิด dissociation

ตัวรับอิเล็กตรอนอื่น เช่น ไนเตรต หรือซัลเฟต ถ้ามีอยู่ในปริมาณมากจะทำให้ผลิตก๊าซมีเทนได้ลดลง เนื่องจากเส้นทางการไหลของอิเล็กตรอนก็จะเปลี่ยนไป ทั้งนี้เพราะแบกทีเรียที่ใช้ไนเตรตหรือซัลเฟตได้พลังงานมากกว่าจากการรีดิวซ์ไนเตรตหรือซัลเฟต และมีอัตราการเจริญเติบโตที่สูงกว่า ทำให้สารอินทรีย์ส่วนหนึ่งถูกใช้โดยแบกทีเรียกลุ่มอื่น แบกทีเรียสร้างมีเทนจึงใช้สารอินทรีย์ได้ลดลง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I 19235136

สารเคมีบางชนิด เช่น 2-bromoethanesulfonic acid (BES; $BrCH_2CH_2SO_3$) ขัดขวางการทำงานของแบกทีเรียสร้างมีเทน เนื่องจากมีลักษณะสมบัติคล้ายกับโคเอนไซม์เอ็ม, สารพวก chlorinated methanes อย่างคลอโรฟอร์มหรือคาร์บอนเตตระคลอไรด์, สารที่มีพันธะระหว่างคาร์บอนอะตอมสองตัวที่ไม่อิ่มตัว อย่างอะเซติลีน หรือเอธิลีน, corrinoid antagonists และ monensin เป็นต้น

2.4 แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต

2.4.1 ลักษณะทั่วไป

สิ่งมีชีวิตหลายชนิดในธรรมชาติทั่ว ๆ ไปไม่ว่าจะเป็นพืชชั้นสูง สาหร่าย รา และเซลล์ของพวกโปรคาริโอตหลายชนิดสามารถใช้ซัลเฟตเป็นแหล่งซัลเฟอร์ที่ใช้ในการสร้างเซลล์ แต่ความสามารถในการใช้ซัลเฟตเป็นตัวรับอิเล็กตรอนจำกัดอยู่แต่ในแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเท่านั้น แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเป็นแบกทีเรียไม่ใช้ออกซิเจนชนิดเด็ดขาด (*Desulfovibrio* ค่อนข้างจะทนต่อออกซิเจนและแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตบางส่วนสามารถรีดิวซ์ไนเตรตเป็นแอมโมเนียได้ด้วย) จัดอยู่ในกลุ่มของแบกทีเรียชนิดเคโมเฮเทโรทรอป ดำรงชีพและเจริญเติบโตโดยได้รับพลังงานจากปฏิกิริยาทางเคมีในการย่อยสลายสารอินทรีย์ ลักษณะเด่นของแบกทีเรียกลุ่มนี้คือ ความสามารถในการรีดิวซ์ซัลเฟตทำให้ซัลเฟตเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของซัลไฟด์ เนื่องจากแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะใช้ซัลเฟตเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายในการออกซิไดส์ไฮโดรเจนโมเลกุลหรือสารประกอบอินทรีย์หลายชนิด ในกรณีที่สารให้อิเล็กตรอนคือไฮโดรเจนโมเลกุลหรืออะซิเตต ขั้นตอนดังกล่าวนี้จัดเป็นขั้นตอนสุดท้ายของกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนเช่นเดียวกับขั้นตอนการสร้างมีเทนตามปกติ ดังนั้นในกระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจนที่มีซัลเฟตจึงมักจะพบแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตอยู่ร่วมกับแบกทีเรียสร้างกรดและแบกทีเรียสร้างมีเทนอยู่เสมอ

ในการแบ่งกลุ่มของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตอย่างกว้าง ๆ ตามความสามารถในการย่อยสลายสารอินทรีย์เพื่อการดำรงชีพและเจริญเติบโต สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

1) แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตชนิดย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ไม่สมบูรณ์ (Incompletely Oxidizing Sulfate Reducing Bacteria; I-SRB) โดยสารอินทรีย์ที่เหลือจากการย่อยสลายก็คือ อะซิเตต

2) แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตชนิดย่อยสลายสารอินทรีย์ได้อย่างสมบูรณ์ (Completely Oxidizing Sulfate Reducing Bacteria; C-SRB)

แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตสามารถใช้สารอาหารได้หลายชนิด ซึ่งจะต่างกับแบกทีเรียสร้างมีเทนตรงที่สามารถใช้สารอินทรีย์ที่มีคาร์บอนอะตอมมากกว่า 1 อะตอมได้ แต่ไม่สามารถใช้สารอินทรีย์กลุ่มเมทิลได้ ตัวอย่างของสารอินทรีย์ที่เป็นสารอาหารและปฏิกิริยาการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตแสดงดังตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 ตัวอย่างปฏิกิริยาการย่อยสลายสารอินทรีย์ของ I-SRB และ C-SRB (Widdel, 1988)

ลำดับที่	สารให้อิเล็กตรอน	แบกทีเรีย	ปฏิกิริยา
1	ไฮโดรเจนหรือ ฟอร์เมต	I-SRB และ C-SRB	$4H_2 + SO_4^{2-} + H^+ \rightarrow 4H_2O + HS^-$
2	อะซิเตต	C-SRB	$CH_3COO^- + SO_4^{2-} \rightarrow 2HCO_3^- + HS^-$
3	โพรพิโอเนต	C-SRB	$4CH_3CH_2COO^- + 7SO_4^{2-} \rightarrow 12HCO_3^- + 7HS^- + H^+$
		I-SRB	$4CH_3CH_2COO^- + 3SO_4^{2-} \rightarrow 4CH_3COO^- + 4HCO_3^- + 3HS^- + H^+$
4	บิวทิเรต	C-SRB	$2CH_3(CH_2)COO^- + 5SO_4^{2-} \rightarrow 8HCO_3^- + 5HS^- + H^+$
		I-SRB	$2CH_3(CH_2)COO^- + SO_4^{2-} \rightarrow 4CH_3COO^- + HS^- + H^+$
5	แลกเตต	C-SRB	$2CH_3CHOHCOO^- + 3SO_4^{2-} \rightarrow 6HCO_3^- + 3HS^- + H^+$
		I-SRB	$2CH_3CHOHCOO^- + SO_4^{2-} \rightarrow 2CH_3COO^- + 2HCO_3^- + HS^- + H^+$
6	เบนโซเอต	C-SRB	$4C_6H_5COO^- + 15SO_4^{2-} + 16H_2O \rightarrow 28HCO_3^- + 15HS^- + 9H^+$
		I-SRB	$4C_6H_5COO^- + 3SO_4^{2-} + 16H_2O \rightarrow 12CH_3COO^- + 4HCO_3^- + 3HS^- + 9H^+$

เนื่องจากแบกทีเรียกลุ่ม I-SRB ได้อะซิเตตเป็นผลิตภัณฑ์จากการย่อยสลายสารอินทรีย์และไม่สามารถนำอะซิเตตไปใช้ได้แม้จะเป็นสารอาหารที่มีอยู่เพียงประเภทเดียวก็ตาม มีสาเหตุเนื่องมาจาก I-SRB ขาดกลไกที่เกี่ยวข้องกับการจัดการเอนไซม์บางชนิดที่มีบทบาทต่อการย่อยอะซิเตตนั่นเอง อย่างไรก็ตาม I-SRB อาจใช้อะซิเตตเป็นแหล่งคาร์บอนได้เมื่อสารให้อิเล็กตรอนคือไฮโดรเจนหรือฟอร์เมต ข้อแตกต่างอีกประการหนึ่งของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตทั้งสองกลุ่มนี้คือแบกทีเรียกลุ่ม I-SRB มีอัตราการเจริญเติบโตที่เร็วกว่ากลุ่ม C-SRB เมื่ออยู่ในภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบกทีเรียทั้งสองกลุ่ม

ถ้าเราแบ่งแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตตามลักษณะทางกายภาพและสมบัติในระดับโมเลกุล (physiology and molecular properties) จะแยกแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ ดังแสดงในตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.6 ลักษณะสมบัติของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต (Madigan และคณะ; 1997: 672)

Genus	Characteristics
Group I : Nonacetate oxidizers	
Desulfovibrio	Polarly flagellated, curved rods, no spores; gram-negative; contain desulfoviridin; twelve species, one thermophilic
Desulfomicrobium	Motile rods, no spores; gram-negative; desulfoviridin absent; two species
Desulfobotulus	Vibrios; gram-negative; motile; deslufoviridin absent; one species
Desulfotomaculum	Straight or curved rods; motile by peritrichous or polar flagellation; gram-negative; desulfoviridin absent; produce endospores; four species, one thermophilic; one species capable of utilizing acetate as energy source
Desulfomonile	Rod; capable of reductive dechlorination of 3-chlorobenzoate to benzoate
Desulfobacula	Oval to coccoid cells, marine; can oxidize various aromatic compounds including the aromatic hydrocarbon toluene, to CO_2; one species
Archaeoglobus	Archaean; hyhyperthermophile, temperature optimum, 83°C; contains some unique coenzymes of methanogenic bacteria, makes small amount of methane during growth; H_2, formate, glucose, lactate, and pyruvate are electron donors, SO_4^{2-}, $S_2O_3^{2-}$, or SO_3^{2-}, electron acceptors; two species
Desulfobulbus	Ovoid or lemon-shaped cells; no spores; gram-negative; desulfoviridin absent; if motile, by single polar flagellum; utilizes propionate as electron donor with acetate + CO_2 as products; three species
Thermodusulfobacterium	Small, gram-negative rods; desulfoviridin present; thermophilic, optimum growth at 70°C

ตารางที่ 2.6 (ต่อ) ลักษณะสมบัติของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต

Genus	Characteristics
Group II: Acetate oxidizers	
Desulfobacter	Rods; no spores, gram-negative; desulfoviridin absent; if motile, by single polar flagellum; utilizes only acetate as electron donor and oxidizes it to CO_2 via the citric acid cycle; four species
Desulfobacterium	Rods, some with gas vesicles, marine; capable of autotrhphic growth via the acety-CoA pathway; three species
Desulfococcus	Spherical cells; nonmotile; gram-negative; desulfoviridin present, no spores; utilizes C_1 to C_{14} fatty acid as electron donor with complete oxidation to CO_2; capable of autotrophic growth via the acetyl-CoA pathway; two species
Desulfonema	Large, filamentous gliding bacteria; gram-positive, no spores; desulfoviridin present or absent; utilizes C_2 to C_{12} fatty acids as electron donor with complete oxidation to CO_2; capable of autotrophic growth via the acetyl-CoA pathway (H_2 as electron donor); two species
Desulfosarcina	Cells in packets (sarcina arrangement); gram-negative; no spores; desulfoviridin absent; utilizes C_2 to C_{14} fatty acids as electron donor with complete oxidation to CO_2; capable of autotrophic growth via the acetyl-CoA pathway (H_2 as electron donor); one species
Desulfoarculus	Vibrios; gram-negative; motile; desulfoviridin absent; utilizes only C_1 to C_{18} fatty acids as electron donor
Desulfacinum	Cocci to oval-shaped cells; gram-negative; utilizes C_1 to C_{18} fatty acids, very nutritionally diverse, capable of autotrophic growth; thermophile
Desulforhabdus	Rods; no spores; gram-negative; nonmotile; utilizes fatty acids with complete oxidation to CO_2
Thermodesulforhabdus	Gram-negative motile rods; thermophilic; uses fatty acids up to C_{18}

รายละเอียดย่อยในระดับสปีชี่ส์ของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตแสดงดังตารางที่ 2.7 ส่วนภาพตัวอย่างลักษณะของเซลล์แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต สามารถดูได้จากรูปที่ 2.16

ตารางที่ 2.7 ลักษณะสมบัติของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ได้รับการแยกประเภทแล้ว (Widdel, 1988)

Species	Temperature Optimum(° C)	Electron donors: Oxidation	Hydrogen	Formate	Lactate	Ethanol	Acetate	Fatty acids: C-atoms	Isobutyrate	2-Methylbutyrate	3-Methylbutyrate	Fumarate	Malate	Benzoate	Other Readily Used	Growth Factor Requirement (a)	Sodium Chloride Requirement (g/l)
Desulfotomaculum																	
nigrificans	55 (max. 70)	i	+	+	+	+	-	-	nr	nr	nr	-	-	-	Fructose	Unknown	-
orientis	37	i	+ *	+ *	+	+	-	-	nr	nr	nr	-	-	-	Methanol	Unknown	-
ruminis	37	i	+	+	+	+	-	-	nr	nr	nr	-	-	-	Alanine	pa, bi	-
antarcticum	20-30	i	nr	nr	+	nr	-	-	nr	nr	nr	nr	nr	nr	Glucose	Unknown	-
acetoxidans	35	c	-	-	-	+	+	4-5	+	-	-	-	-	-	Butanol	bi	-
guttoideum	31	i	+	+	+	-	-	nr	nr	-	-	-	-	nr	-	Unknown	-
sapomandens	38	c	nr	nr	-	+	(+)	4-18	+	-	+	(+)	(+)	+	Phenylacetate, phenylpropionate	Unknown	-
Desulfovibrio																	
desulfuricans	30-36	i	+	+	+	+	-	-	nr	nr	nr	+	+	-	Choline	None	-
vulgaris	30-36	i	+	+	+	(+)(e)	-	-	nr	nr	nr	+	+	-	1 subsp. oxamate	None	-
gigas	30-36	i	+	+	+	(+)(e)	-	-	nr	nr	nr	-	-	-	nr	bi (e)	-
africanus	30-36	i	+	+	+	+ (e)	-	-	nr	nr	nr	-	+	-	nr	None	-
salexigens	30-36	i	+	+	+	+ (e)	-	-	nr	nr	nr	-	+	-	nr	None	20
baculatus	28-37	i	(+)	+	+	-	-	nr	nr	nr	nr	-	+	nr	nr	Unknown	-
sulfodismutans	30-35	i	(+)	-	+	+	-	-	nr	nr	nr	-	-	-	nr	bi, pt	-
thermophilus	65 (max. 85)	i	+	+	+	-	-	-	nr	nr	nr	nr	-	nr	nr	Unknown	-
sapovorans	34	i	-	-	+	-	-	4-46	-	+	-	-	-	-	nr	None	-
baarsii	35-39	c	-	+ *	-	-	(+)	(3)-16	+	(+)	+	-	-	-	nr	None	-
Desulfomonas																	
pigra	37	i	+ (e)	-	+	+	-	-	nr	nr	nr	-	nr		r	pa (e)	-
Thermodesulfobacterium commune	70 (max. 85)	i	+	nr	+	-	-	-	nr	nr	nr	nr	-	nr	nr	Unknown	-

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2.7 (ต่อ) ลักษณะสมบัติของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ได้รับการแยกประเภทแล้ว (Widdel, 1988)

Species	Temperature Optimum(° C)	Electron donors: Oxidation	Hydrogen	Formate	Lactate	Ethanol	Acetate	Fatty acids: C-atoms	Isobutyrate	2-Methylbutyrate	3-Methylbutyrate	Fumarate	Malate	Benzoate	Other Readily Used	Growth Factor Requirement (c)	Sodium Chloride Requirement (g/l)
Desulfobulbus																	
propionicus	28-39	i	+	-	+	+	-	3	-	-	-	-	-	-	nr	pa	-
elongantus	35	i	+	-	+	+	-	3	nr	nr	nr	-	-	nr	nr	Unknown	-
Desulfobacter																	
postgatei	28-32	c	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	nr	pa, bi	7(p)
hydrogenophilus	28-32	c	+ [a]	-	-	(+)	+	-	-	-	-	-	-	-	nr	pa, bi	20(p)
latus	28-32	c	-	-	-	(-)	+	-	-	-	-	-	-	-	nr	bi, th	20(p)
curvatus	28-30	c	(+)	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	nr	bi	10(p)
Desulfococcus																	
multivorans	35	c	-	+ [a]	+	+	(+)	3-16	+	+	+	-	-	+	Phenylactate, phenylpropionate	pa, bi,th	5(p)
niacini	29	c	+ [a]	+ [a]	-	+	(+)	(3)-16	-	-	-	+	+	-	Nicotinate, succinate,glutarate, pimelate	bi, th	15(p)
Desulfosarcina																	
variabilis	33	c	+ [a]	+ [a]	+	+	(+)	3-14	-	(+)	(+)	+	-	+	Phenylaate, phenylpropionate	None	15(p)
Desulfobacterium																	
autotrophicum	20-28	c	+ [a]	+ [a]	+	+	(+)	(3)-16	+	+	-	+	+	-	Succinate	bi, ni, th	20(p)
vacuolatum	25-30	c	+ [a]	+ [a]	+	(+)	(+)	(3)-16	+	(+)	(+)	+	+	-	Succinate	None	20(p)
phenolicum	28	c	-	(+)	-	(+)	(+)	(4)	-	-	-	(+)	(+)	+	Phenol, *p*-cresol, glutarate	None	20(p)
indolicum	28	c	-	(+)	-	(+)	(+)	(3)	-	-	-	(+)	(+)	-	Indole	B(12)	20(p)
catecholicum	28	c	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(3-20)	nr	nr	nr	(+)	(+)	+	Catechol	Unknown	-
Desulfonema																	
limicola	30	c	+ [a]	+ [a]	+	-	(+)	3-14	+	+	+	+	-	-	Succinate	bi	15(p)
magnum	32	c	-	+	-	-	(+)	3-10	+	(+)	+	+	(+)	+	Succinate	pa, bi, B(12)	20(p)

nr, not reported or not determined.

Symbols: +, utilized; +*, autotrophic growth; (), poorly utilized; -, not utilized.

i, incomplete oxidation to acetate as an end product; c, complete oxidation to carbon dioxide.

pa, *para*-a, inobenzoate; bi, biotin; pt, pantothenate; th, thiamine; ni, nicotinate.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 2.16 ตัวอย่างภาพขยายของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต (Widdel, 1988)

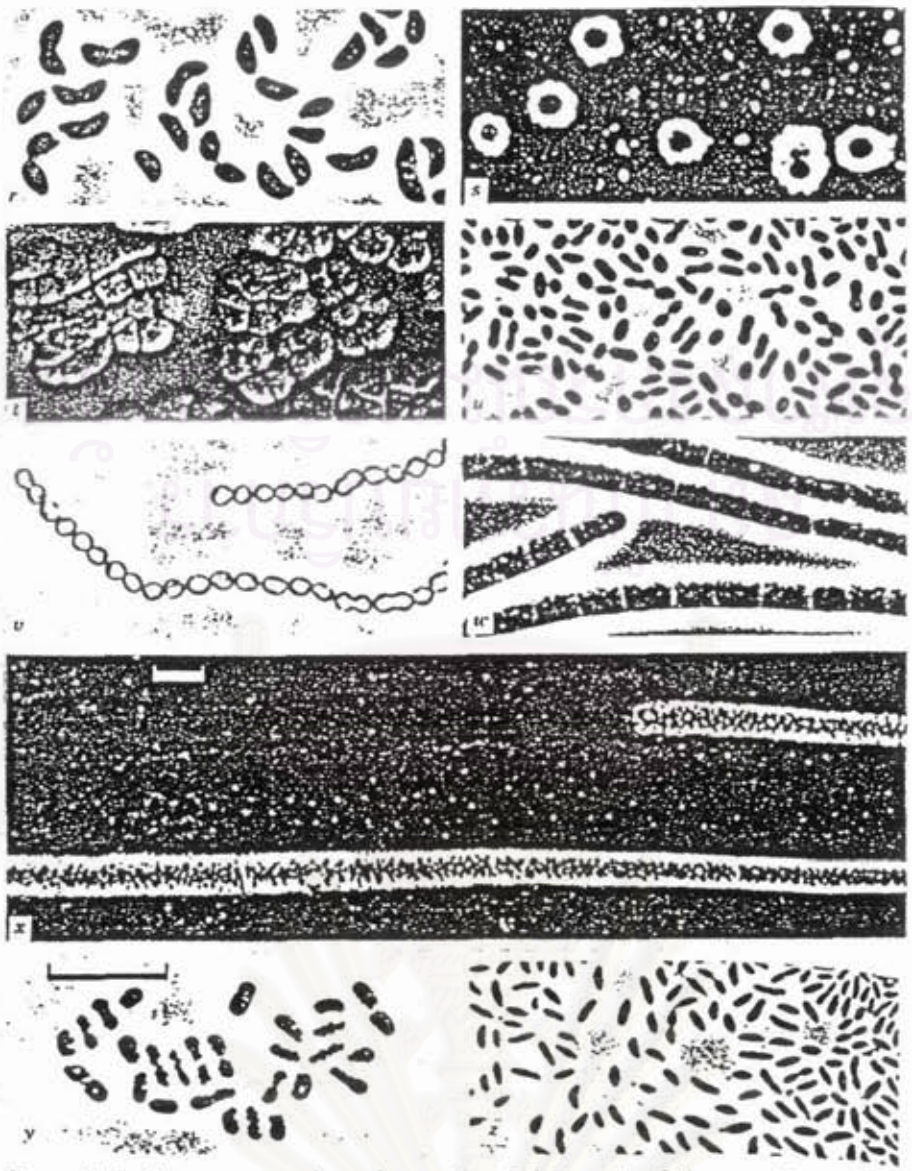


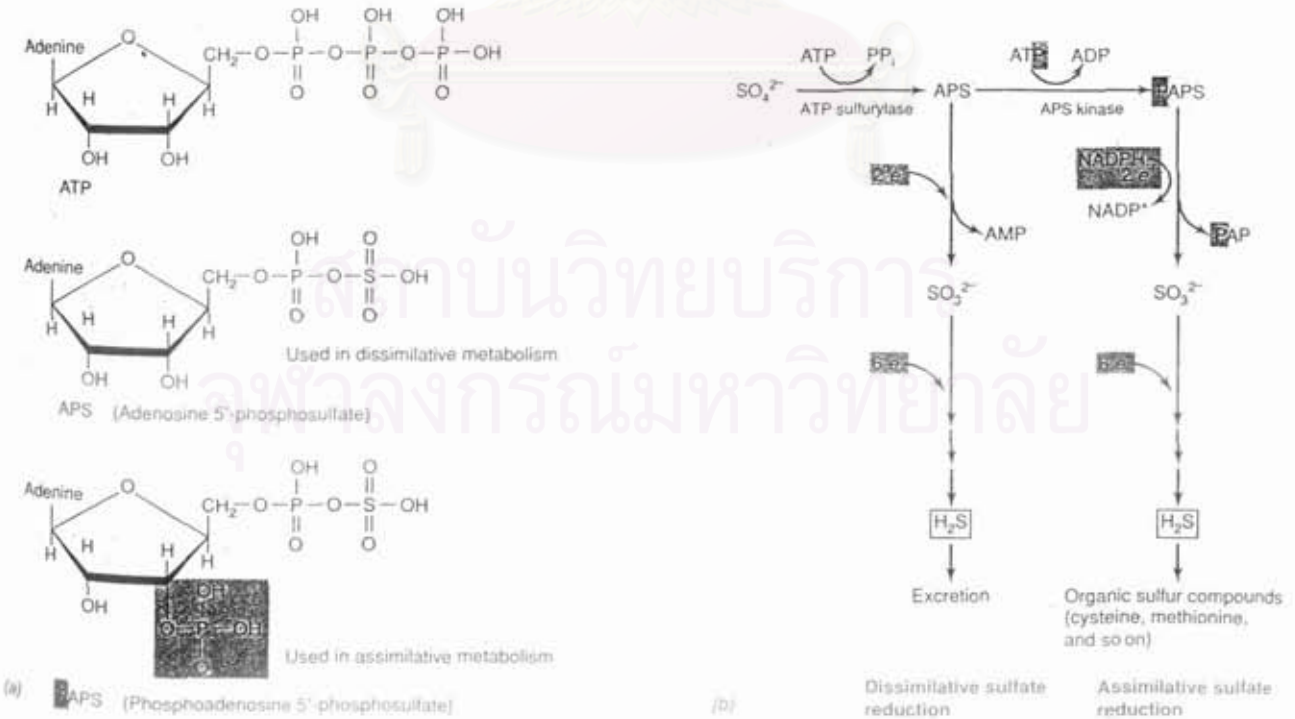
Figure 10.1 Phase-contrast photomicrographs of viable cells of diverse sulfate-reducing bacteria. Bars equal 10 μm; bars in (*a*), (*n*), and (*y*) applicable to all figures except for (*x*). (*a*) *Desulfotomaculum orientis*, with spores formed during sulfate-limited growth. (*b*) *Desulfotomaculum ruminis*, with few spores. (*c*) *Desulfotomaculum acetoxidans*, with spherical spores and cone-shaped gas vesicles, formed during growth in acetate/sulfate agar. (*d*) *Desulfovibrio desulfuricans* strain Essex. (*e*) *Desulfovibrio desulfuricans* strain Norway. (*f*) *Desulfovibrio gigas*. (*g*) *Desulfovibrio salexigens*. (*h*) Unnamed isolate with long, thin cells, physiologically similar to *Desulfovibrio* spp. (*i*) *Desulfovibrio thermophilus*. (*k*) *Desulfovibrio sapovorans*; cells contain granules of poly-β-hydroxybutyric acid. (*l*) *Desulfomonas pigra*. (*m*) *Desulfobulbus propionicus*. (*n*) *Desulfobacter postgatei*. (*o*) *Desulfobacter hydrogenophilus*. (*p*) *Desulfobacter latus*. (*q*) *Desulfobacter curvatus*. (*r*) Unnamed isolate with large curved cells, similar to *Desulfobacter* spp. (*s*) *Desulfococcus multivorans*, negative staining of cells surrounded by slime. (*t*) *Desulfosarcina variabilis*, cell packages. (*u*) *Desulfobacterium autotrophicum*. (*v*) *Desulfobacterium vacuolatum*. (*w*) *Desulfonema limicola*, from an enrichment with isobutyrate. (*x*) *Desulfonema magnum*; one filament leaves a trail behind in artificial sediment of aluminum phosphate. (*y*) Unnamed, long-chain fatty acid–degrading isolate; cells contain granules of poly-β-hydroxybutyric acid. (*z*) Unnamed benzoate-degrading sulfate reducer isolated from an oil tank. Photomicrograph (*a*) by H. Cypionka.

รูปที่ 2.16 (ต่อ) ตัวอย่างภาพขยายของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต (Widdel, 1988)

2.4.2 ชีวเคมีของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต

แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตหลายชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ด้วยการรีดิวซ์ไนเตรตให้เป็นแอมโมเนียได้ในกรณีที่มีไนเตรต หรือสามารถใช้ไทโอซัลเฟต ($S_2O_3^{2-}$) และซัลเฟอร์ (S^0)ได้ด้วย นอกจากนี้ แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตยังสามารถใช้สารอินทรีย์บางตัวเป็นแหล่งพลังงานโดยการเกิดการหมักได้ในกรณีที่ไม่มีซัลเฟตหรือตัวรับอิเล็กตรอนตัวอื่น ซึ่งโดยทั่วไปแล้วแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตสามารถหมักไพรูเวตเป็นอะซิเตต คาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนได้เมื่อไม่มีซัลเฟต แต่ไม่สามารถหมักแลกเตตหรือเอทานอลได้เพราะได้พลังงานไม่เพียงพอต่อการดำรงชีพ ดังนั้นในกรณีที่ไม่มีซัลเฟตอยู่ แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตบางส่วนก็ยังมีชีวิตรอดอยู่ได้ แต่พลังงานที่ได้จากการหมักมีค่าน้อยกว่าพลังงานที่ได้จากการรีดิวซ์ซัลเฟต ดังนั้นแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะใช้ซัลเฟตในระบบให้หมดก่อนจึงจะหันไปใช้กระบวนการเฟอร์เมนเตชัน

เมื่อพิจารณาถึงชีวเคมีของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในการรีดิวซ์ซัลเฟตให้เป็นไฮโดรเจนซัลไฟด์ จะมีสารอินเทอร์มีเดียทจำนวนมากเข้ามาเกี่ยวข้อง เนื่องจากซัลเฟตอิออนเป็นสารที่เสถียรจึงต้องมีการกระตุ้นซัลเฟตให้มีพลังงานสูงขึ้นก่อนด้วยการสลายพันธะพลังงานสูงใน ATP และเกิดการรวมตัวกันระหว่างหมู่ฟอสเฟตใน ATP กับซัลเฟต โดยมีเอนไซม์ ATP sulfurylase เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เกิดเป็น adenosine phosphosulfate (APS) และ PP (pyrophosphate) ซึ่งเป็นขั้นแรกของกระบวนการรีดิวซ์ซัลเฟต ดังแสดงในรูปที่ 2.17



รูปที่ 2.17 วิถีทางชีวเคมีของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต (Madigan, 1997: 506)

ปฏิกิริยาการสร้าง APS ถูกผลักดันให้เกิดขึ้นเรื่อย ๆ ด้วยการทำงานของเอนไซม์ pyrophosphatase ซึ่งทำหน้าที่กระตุ้นปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของ PP เป็น 2Pi อย่างไรก็ตาม การทำงานของเอนไซม์ pyrophosphatase ยังไม่เป็นที่แน่ชัด เพราะเอนไซม์ชนิดนี้มี activity ต่ำ (weak activity) จึงเกิดข้อโต้แย้งถึงกลไกที่ใช้ผลักดันให้เกิด APS แต่นักวิจัยก็ยังเชื่อว่าแม้จะมี activity ต่ำ แต่เอนไซม์ชนิดนี้ก็ยังสามารถกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาได้ดี

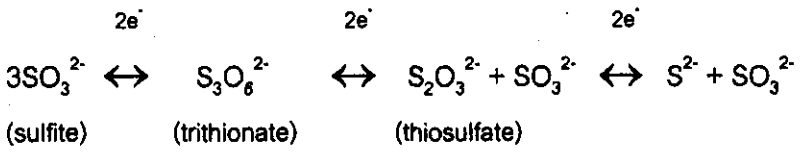
สำหรับการรีดิวซ์ซัลเฟตเพื่อสร้าง ATP สารอินเทอร์มีเดียท APS ถูกรีดิวซ์เกิดเป็น AMP และซัลไฟต์ด้วยการกระตุ้นของเอนไซม์ APS ruductase โดยมี FAD เข้ามาเกี่ยวข้อง เริ่มจากในขั้นแรก FAD รับอิเล็กตรอนเกิดเป็น $FADH_2$ จากนั้น $FADH_2$ ทำปฏิกิริยากับ APS ทำให้หมู่ซัลไฟต์ใน APS ส่งผ่านมายัง $FADH_2$ โดยจะติดอยู่กับ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

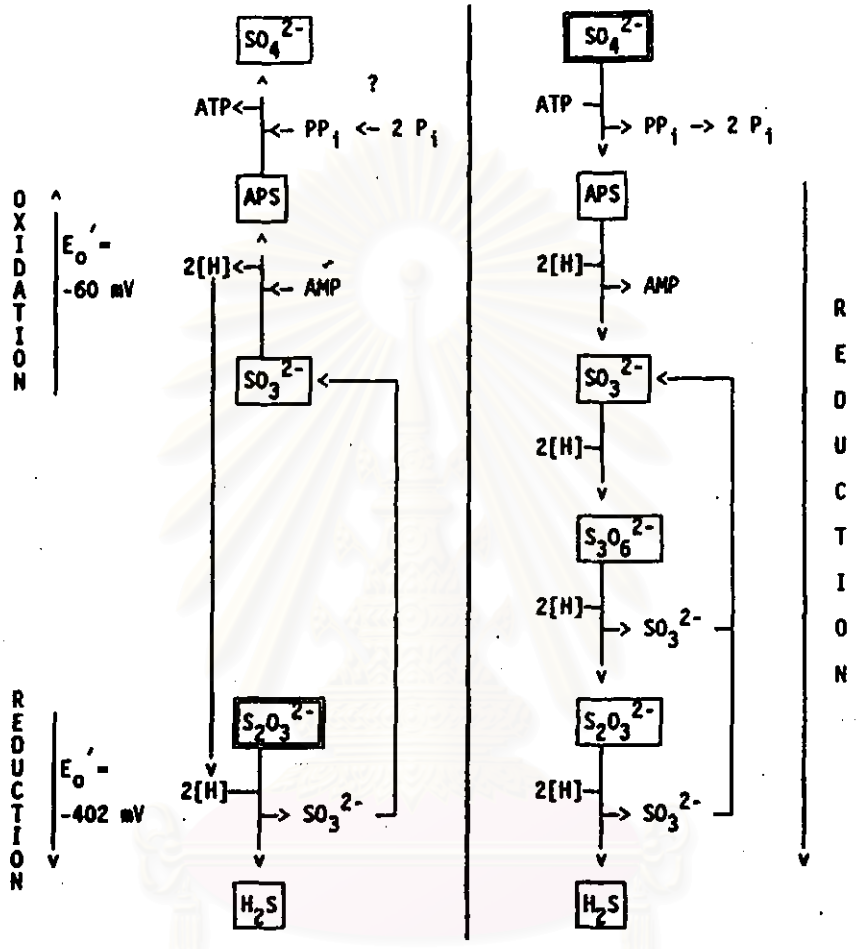
$$\text{E-FAD} + \text{electron carrier(red)} \leftrightarrow \text{E-FADH}_2 + \text{electron carrier(ox)}$$

$$\text{E-FADH}_2 + \text{APS} \leftrightarrow \text{E-FADH}_2(SO_3) + \text{AMP}$$

$$\text{E-FADH}_2(SO_3) \leftrightarrow \text{E-FAD} + SO_3^{2-}$$

ส่วนการรีดิวซ์ซัลเฟตเพื่อสร้างเซลล์ APS จะรวมกับฟอสเฟตที่เกิดจากการแตกพันธะพลังงานสูงใน ATP เกิดเป็น phosphoadenosine phosphosulfate (PAPS) ดังแสดงในรูป 2.17 b แล้ว PAPS จึงถูกรีดิวซ์ต่อเกิดเป็น PAP และซัลไฟต์ต่อไป จะเห็นได้ว่าทั้งสองกรณีคือทั้งการสร้าง ATP และการสร้างเซลล์ ในขั้นแรกของการรีดิวซ์ซัลเฟตจะได้ซัลไฟต์เป็นผลิตภัณฑ์ เมื่อเกิดซัลไฟต์ขึ้นก็จะเกิดปฏิกิริยาอื่น ๆ ต่อเนื่องตามกันมา จนกว่าจะได้ซัลไฟต์เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย แต่ขั้นตอนของปฏิกิริยาเหล่านี้ยังคงเป็นเรื่องที่ต้องศึกษาเพิ่มเติมกันอีกมาก เอนไซม์ที่ใช้ในปฏิกิริยาก็ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดเช่นกัน เอนไซม์ที่ระบุได้มีเพียง sulfite reductase ซึ่งก็ยังไม่ทราบว่ารับผิดชอบปฏิกิริยาการเปลี่ยนซัลไฟต์เป็นซัลไฟด์ในทุก ๆ ขั้นตอนหรือมีส่วนเพียงบางขั้นตอน เช่นเดียวกับกระบวนการสงวนพลังงานที่ยังคงคลุมเครือในเรื่องของรายละเอียดอีกมาก แต่เฉพาะขั้นตอนของการเปลี่ยนซัลไฟต์เป็นซัลไฟด์ในเวลานี้แบ่งได้เป็น 2 สมมติฐาน โดยสมมติฐานแรก ซัลไฟต์ถูกรีดิวซ์ด้วยอิเล็กตรอน 6 ตัวเกิดเป็นซัลไฟด์ในขั้นตอนเดียว ส่วนอีกสมมติฐานหนึ่ง การรีดิวซ์ซัลไฟต์เป็นซัลไฟต์จะมีสารอินเทอร์มีเดียท 2 ตัวเกิดขึ้น ได้แก่ ไตรไทโอเนต และไทโอซัลเฟต ปฏิกิริยารีดิวซ์ไทโอซัลเฟตเป็นซัลไฟด์เกิดขึ้นเป็นขั้นสุดท้าย ดังแสดงในสมการ และรูปที่ 2.18





รูปที่ 2.18 สมมติฐานการรีดิวซ์ซัลเฟตเป็นซัลไฟด์ผ่านสารอินเทอร์มีเดียทต่าง ๆ โดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต (Barton, 1995: 176)

การขนส่งอิเล็กตรอนในแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเกิดขึ้นผ่านไซโตโครม, ferredoxin และ flavodoxin ไซโตโครมในแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตคือ ไซโตโครมซี ที่มีสมบัติเป็นลบทางไฟฟ้ามาก (very electronegative) เรียกว่า ไซโตโครม c_3 ไซโตโครมนี้เป็นไซโตโครมเฉพาะ ไม่พบในสิ่งมีชีวิตที่ใช้ตัวรับอิเล็กตรอนชนิดอื่น ทำหน้าที่ขนส่งอิเล็กตรอนจากตัวให้อิเล็กตรอนไปให้กับหมู่ซัลเฟตใน APS และซัลไฟต์ แต่นอกจากไซโตโครม, ferredoxin และ flavodoxin แล้ว แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตบางชนิดยังมีไซโตโครมชนิดบีอยู่ในลูกโซ่ขนส่งอิเล็กตรอนด้วย แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตบางชนิดซึ่ง

ขาดไซโตโครมบีจะไม่สามารถย่อยสลายกรดไขมันได้ทำให้แบกทีเรียกลุ่มนี้ใช้สารอาหารได้เฉพาะแต่อะซิเตตหรือไฮโดรเจนเท่านั้น

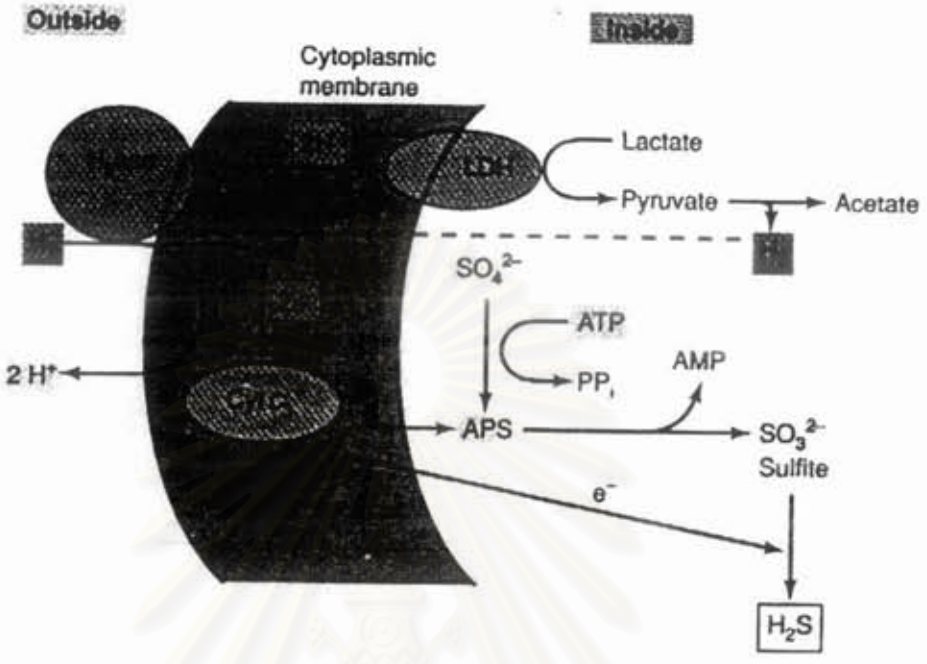
เมื่อพิจารณาจากสารอาหารของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต เช่น ฟอร์เมต, ฟูมาเรต, โพรพิโอเนต, บิวทิเรต และกรดอินทรีย์ที่มีคาร์บอนอะตอมมากถึง 18 ตัว ดังแสดงในตารางที่ 2.5 และ 2.6 เราสามารถแบ่งแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตออกได้เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ใช้ไฮโดรเจนหรือแลกเตต กับกลุ่มที่ใช้อะซิเตต ซึ่งการแบ่งกลุ่มในลักษณะนี้จะมีแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตบางตัวที่อาจพิจารณาได้ว่าอยู่ได้ทั้งสองกลุ่มคือ แบกทีเรียที่บริโภคไฮโดรเจนแต่ใช้อะซิเตตเป็นแหล่งคาร์บอน

- *กระบวนการซัลเฟตรีดักชันที่ใช้ไฮโดรเจนหรือแลกเตตเป็นสารอาหาร*

เนื่องจากการขาดความรู้ความเข้าใจในเรื่องของขั้นตอนต่าง ๆ ของกระบวนการสงวนพลังงานโดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต ทำให้ไม่อาจแสดงรายละเอียดของกระบวนการสงวนพลังงานที่เกิดขึ้นในแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต ในลักษณะที่เป็นบรรทัดฐานสำหรับแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในกลุ่มเดียวกันได้ แต่สามารถอธิบายได้ด้วยการยกตัวอย่างกระบวนการที่เกิดขึ้นในแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต *Desulfovibrio* ซึ่งถูกศึกษาและสามารถเข้าใจรายละเอียดที่เกิดขึ้นได้ค่อนข้างแน่นอนแล้ว ใน *Desulfovibrio* ไฮโดรเจนที่ถูกใช้ไม่ว่าจะมาจากสภาพแวดล้อมในขณะนั้นที่มีไฮโดรเจนอยู่แล้วหรือผลิตขึ้นจากการหมักของสารอินทรีย์ก็ตาม จะเกิดขึ้นดังแสดงในรูปที่ 2.19

จากรูปที่ 2.19 ขั้นตอนของกระบวนการซัลเฟตรีดักชันโดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตพอจะสรุปได้ดังนี้

1) เอนไซม์ไฮโดรเจนเนส (hydrogenase) ซึ่งอยู่ใน periplasm ใกล้กับไซโตโครม c_3 จะออกซิไดส์ไฮโดรเจนและทำหน้าที่เป็นตัวขนส่งอิเล็กตรอน ไฮโดรเจนที่ถูกออกซิไดส์เกิดเป็นไฮโดรเจนอิออนอยู่นอกเซลล์เนื่องจากการจัดตัวของระบบขนส่งอิเล็กตรอนในเซลล์เมมเบรน อิเล็กตรอนจากเอนไซม์ไฮโดรเจนเนสจะถูกส่งต่อให้ไซโตโครม c_3 และขนส่งเข้าสู่ภายในเซลล์ ซึ่งการขนส่งอิเล็กตรอนผ่านเซลล์เมมเบรนและการสร้างไฮโดรเจนอิออนรอบ ๆ เซลล์จะทำให้เซลล์สามารถสังเคราะห์ ATP ได้ด้วยกลไก chemiosmosis



รูปที่ 2.19 การใช้ไฮโดรเจนเป็นสารอาหารโดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต

(Madigan และคณะ, 1997: 515)

2) อิเล็กตรอนจากไซโตโครม c_3 ที่ถูกส่งเข้าเซลล์จะเข้าไปอยู่ในไซโตปลาสซึม และจะถูกนำไปใช้ในการรีดิวซ์ APS และซัลไฟต์เกิดเป็นไฮโดรเจนซัลไฟด์

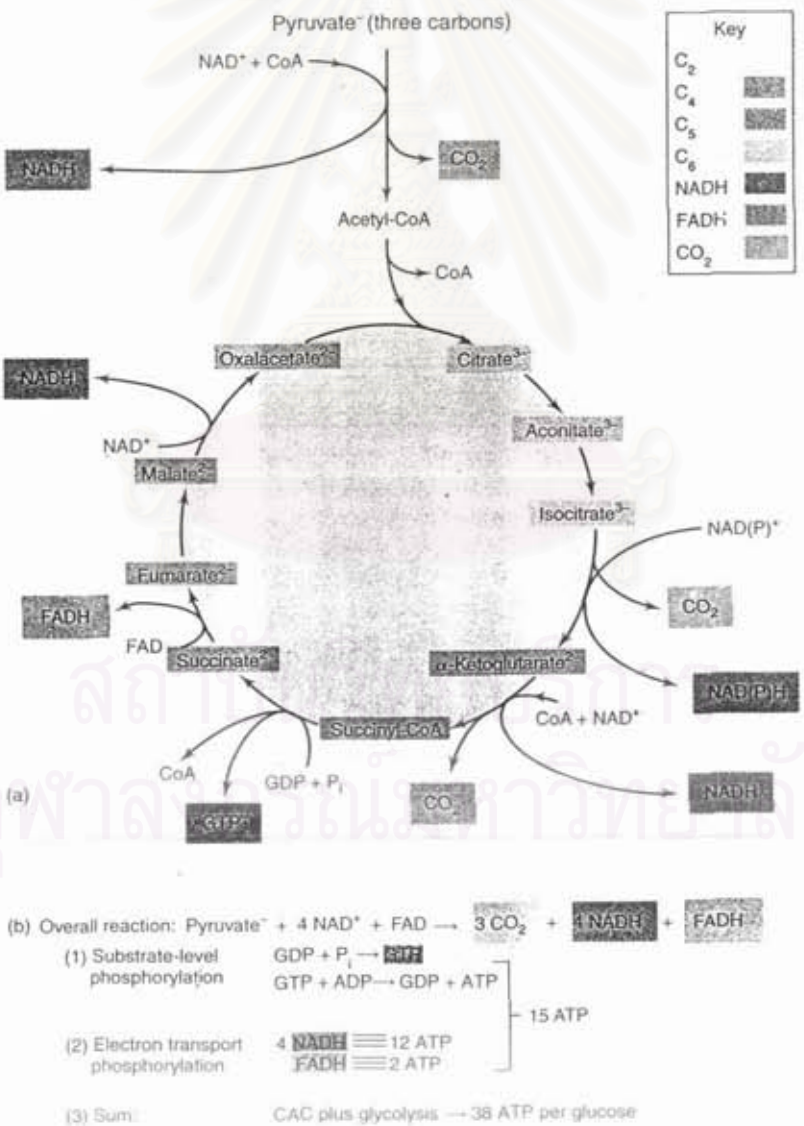
ส่วนการใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอนจะเกิดขึ้นผ่าน acetyl-CoA pathway ดังจะกล่าวถึงในหัวข้อต่อไป

จากที่กล่าวมาข้างต้น โปรตอนที่ถูกใช้ไปในการขนส่งซัลเฟตเข้าสู่เซลล์หรือ ATP ที่ถูกใช้ในการกระตุ้นซัลเฟตเป็น APS และซัลไฟต์ จะทำให้ ATP สุทธิที่ได้มีค่าน้อยลง ค่า growth yield จึงควรจะมีค่าต่ำ แต่จากงานของ Widdel และ Hansen (1992) และ Nethe-Jaenchen และ Thauer (1984) (อ้างถึงใน Fenchel และ Finlay, 1995) พบว่าค่า growth yield ที่พบจริงกลับมีค่ามากกว่าที่ควรจะเป็นตามทฤษฎี แสดงให้เห็นถึงการขาดความรู้ความเข้าใจในเรื่องของกลไกการสงวนพลังงานอยู่อีกมาก

- กระบวนการซัลเฟตรีดักชันที่ใช้อะซิเตตเป็นสารอาหาร

แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตบางชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ด้วยการใช้อะซิเตตเพียงอย่างเดียวเป็นสารอาหาร ส่วนใหญ่ของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตประเภทนี้จะเป็นพวกแบกทีเรียที่อาศัยอยู่ในน้ำเค็ม แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะย่อยสลายอะซิเตตได้อย่างสมบูรณ์จนเกิดเป็นคาร์บอนไดออกไซด์

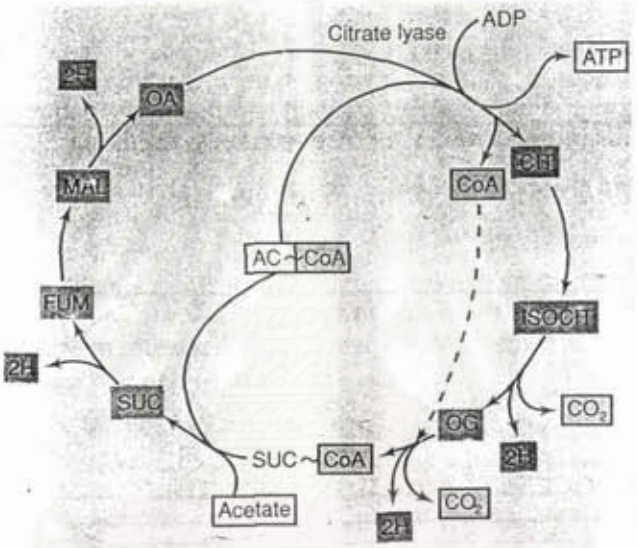
การย่อยสลายอะซิเตตในสิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นผ่านวัฏจักรกรดซิตริก (citric acid cycle) ดังแสดงในรูปที่ 2.20 แต่แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตประเภทนี้ จะใช้อะซิเตตผ่านวัฏจักรกรดซิตริกแบบประยุกต์ (modified citric acid cycle) และวิถีอะซิติลโคเอแบบย้อนกลับ (reversed Acetyl-CoA pahtway) แทน



รูปที่ 2.20 วัฏจักรกรดซิตริก (Madigan และคณะ, 1997: 136)

1) Modified citric acid cycle

ในขั้นแรก succinyl-CoA จะทำปฏิกิริยากับอะซิเตตด้วยการกระตุ้นของเอนไซม์ชนิดหนึ่ง ได้ succinate และอะซิติลโคเอเป็นผลิตภัณฑ์ อะซิติลโคเอจะเข้าสู่วัฏจักรกรดซิตริกด้วยการทำปฏิกิริยากับ oxaloacetate ผ่านการกระตุ้นของเอนไซม์ ATP – citrate lyase ได้ซิเตรตเป็นผลิตภัณฑ์ ดังแสดงในรูปที่ 2.21



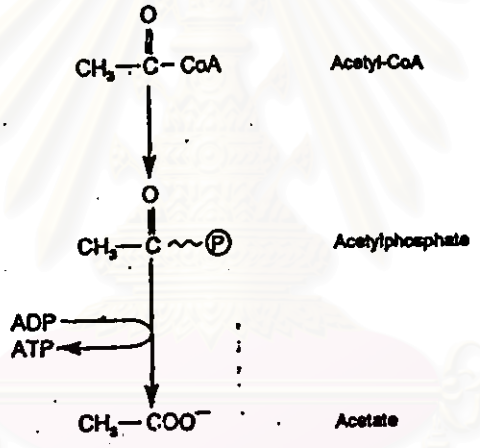
รูปที่ 2.21 กลไกการออกซิไดส์อะซิเตตเป็นคาร์บอนไดออกไซด์โดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ใช้วัฏจักรกรดซิตริก (Madigan และคณะ, 1997: 507)

NADPH หรือ ferredoxin ที่ถูกรีดิวซ์ในวัฏจักรกรดซิตริกจะถ่ายเทอิเล็กตรอนไปสู่ซัลเฟต เปลี่ยนซัลเฟตให้เป็นซัลไฟด์ พลังงานที่ได้จากการถ่ายเทอิเล็กตรอนไปสู่ซัลเฟตจะถูกเก็บไว้ในรูปของ ATP ด้วยกระบวนการ chemiosmosis

ดังที่กล่าวมาก่อนหน้านี้ ในขั้นตอนแรกของการเกิดกระบวนการซัลเฟตรีดักชัน พลังงานส่วนหนึ่งประมาณ 2 ATP จะต้องถูกใช้ในการกระตุ้นให้เกิด APS ทำให้เกิดปัญหาว่าพลังงานที่ได้จากการรีดิวซ์ซัลเฟตด้วยอะซิเตตผ่านวัฏจักรกรดซิตริกจะได้พลังงานเพียงพอหรือไม่ เพราะพลัง

งานที่ใช้กระตุ้นให้เกิด APS มีค่าใกล้เคียงกับพลังงานที่ได้จากการรีดิวซ์ซัลเฟต แต่เมื่อดูถึงพลังงานสุทธิที่ได้จากการย่อยสลายอะซิเตตหลาย ๆ โมเลกุลแล้ว พลังงานที่ได้ก็เพียงพอต่อการสร้าง ATP และต่อการเจริญเติบโต เหตุผลที่ใช้อธิบายก็คือแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตประเภทนี้มีเอนไซม์ citrate lyase ซึ่งสร้าง ATP ได้จากกระบวนการ substrate-level phosphorylation ในขั้นตอนการเปลี่ยนอะซิติลโคเอเป็นอะซิเตต ดังแสดงในรูป 2.22 ระหว่างการผลิตกรดซิตริก โดยอะซิเตต 1 โมลที่ถูกออกซิไดส์เป็นคาร์บอนไดออกไซด์ 2 โมลจะสร้าง ATP 1 โมลจากกระบวนการ substrate-level phosphorylation ATP ที่เพิ่มขึ้นนี้จะทำให้แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตสามารถเจริญเติบโตได้เมื่อใช้อะซิเตตเป็นสารอาหาร

ตัวอย่างของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ย่อยสลายอะซิเตตโดยใช้ modified citric acid cycle เช่น *Desulfobacter* เป็นต้น

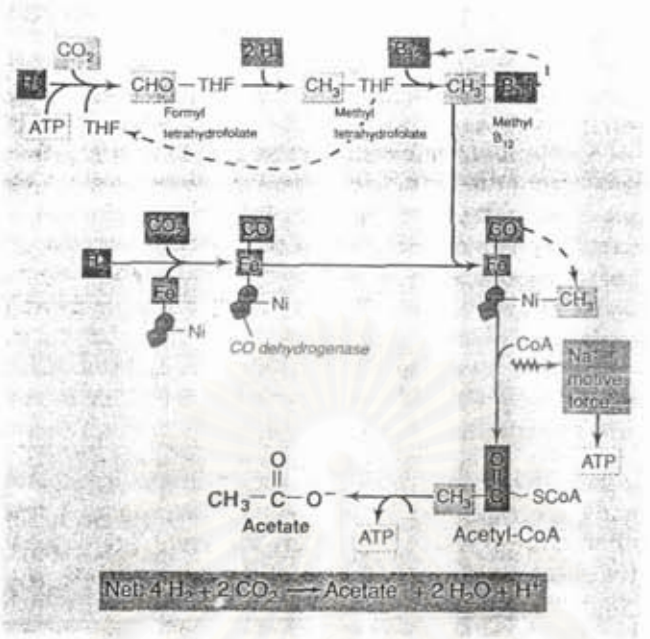


รูปที่ 2.22 กระบวนการ substrate-level phosphorylation ที่เกิดขึ้นในการเปลี่ยนอะซิติลโคเอเป็นอะซิเตต (Fenchel และ Finlay, 1995: 40)

2) Acetyl-CoA pathway

การใช้อะซิเตตโดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะเกิดขึ้นโดยผ่านทาง acetyl-CoA pathway แบบย้อนกลับ

acetyl-CoA pathway เกิดขึ้นดังแสดงในรูปที่ 2.23



รูปที่ 2.23 Acetyl-CoA pathway (Madigan และคณะ, 1997: 676)

acetyl-CoA pathway เริ่มต้นจากคาร์บอนไดออกไซด์ถูกรีดิวซ์ด้วยไฮโดรเจน โมเลกุลหนึ่งของคาร์บอนไดออกไซด์ถูกรีดิวซ์เป็นกลุ่มเมทิลของอะซิเตต ด้วยปฏิกิริยาหลายขั้นที่เกี่ยวข้องกับโคเอนไซม์ tetrahydrofolate โดยขั้นแรกคาร์บอนไดออกไซด์ถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของฟอร์เมตก่อนโดยเอนไซม์ formate tetrahydrofolate จากนั้นจะรับอิเล็กตรอนอีก 4 ตัวกลายเป็น methyl tetrahydrofolate กลุ่มเมทิลจะถูกส่งต่อไปให้กับเอนไซม์ที่มีวิตามินบี12 เป็นโคแฟคเตอร์ ส่วนคาร์บอนไดออกไซด์อีกโมเลกุลหนึ่งถูกรีดิวซ์เป็นกลุ่มคาร์บอนิลของอะซิเตต โดยเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญก็คือ carbon monoxide dehydrogenase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ประกอบด้วยโลหะนิกเกิล เหล็ก และสังกะสีเป็นโคแฟคเตอร์ ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการรีดิวซ์คาร์บอนไดออกไซด์ให้เป็นคาร์บอนมอนอกไซด์ ท้ายที่สุดกลุ่ม CH_3 จะเข้ารวมอยู่กับกลุ่ม CO ใน carbon monoxide dehydrogenase โดย CH_3 จะอยู่ติดกับนิกเกิลส่วน CO อยู่ติดกับเหล็ก จากนั้นก็จะรวมกับ CoA เกิดเป็นอะซิติลโคเอ แล้วจึงเกิดเป็นอะซิเตตขึ้นมา กระบวนการซัลเฟตรีดักชันก็จะใช้อะซิเตตในทิศทางที่ย้อนกลับกับปฏิกิริยาที่กล่าวมา แต่ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะไม่ใช่ไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ เพราะซัลเฟตจะทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอนได้ผลิตภัณฑ์เป็นซัลไฟด์และคาร์บอนไดออกไซด์แทน

ตัวอย่างของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ย่อยสลายอะซิเตตโดยใช้ reversed acetyl-CoA pathway เช่น *Desulfomena* และ *Deslufobacterium* เป็นต้น

ส่วนแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ใช้สารประกอบอินทรีย์ที่ไม่ใช่อะซิเตตจะเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ขึ้นในลักษณะเดียวกับการใช้ไฮโดรเจน ขนส่งอิเล็กตรอนด้วยลูกโซ่ขนส่งอิเล็กตรอนแบบเดียวกัน เพื่อสร้างความต่างศักย์ระหว่างในและนอกเซลล์เมมเบรน และสร้าง ATP ได้ด้วยกระบวนการ chemiosmosis

จากการศึกษาแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต *Desulfovibrio* ทำให้ทราบว่าแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตสามารถสร้าง ATP สุทธิได้ 1 โมเลกุลต่อซัลเฟตที่ถูกเปลี่ยนเป็นซัลไฟด์ 1 โมเลกุล และได้ ATP 3 โมเลกุลต่อซัลไฟด์ที่ถูกเปลี่ยนเป็นซัลไฟด์ 3 โมเลกุล

2.4.3 ปัจจัยทางสภาวะแวดล้อมที่ส่งผลการทำงานของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต

1) อุณหภูมิ

โดยทั่วไป แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อบริสุทธิ์จะมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตในช่วง 30 – 40 °C การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิมีผลต่อแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตค่อนข้างมาก โดยมีรายงานการวิจัยที่พบว่า การเกิดซัลเฟตรีดักชันโดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในดินตะกอนน้ำเค็มลดลงระหว่าง 2 – 3.9 เท่า เมื่ออุณหภูมิเปลี่ยนแปลงไปจากช่วงที่เหมาะสม 10 องศาเซลเซียส (Rintalla และ Lettinga, 1992; Visser และคณะ, 1992; Visser และคณะ, 1993b อ้างถึงใน Visser, 1994: 7)

2) ความต้องการเกลือและความทนต่อเกลือ

ความต้องการเกลือของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของแบกทีเรีย ซึ่งแยกเป็นพวกที่ได้จากแหล่งน้ำเค็มหรือน้ำกร่อยกับพวกที่ได้จากแหล่งน้ำจืด แบกทีเรียดิวซ์ซัลเฟตที่ได้จากแหล่งน้ำเค็มหรือน้ำกร่อยมักต้องการปริมาณเกลือในระดับหนึ่งจึงจะเจริญเติบโตได้ดี และในทางตรงข้าม ถ้านำแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตกลุ่มนี้มาเลี้ยงในสภาพที่มีความเค็มต่ำก็จะได้ผลในทางลบต่อการเจริญเติบโต ชนิดและปริมาณของเกลือสำหรับแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจากแหล่งน้ำเค็มที่เหมาะ

สมคือ โซเดียมคลอไรด์ 20 ก./ล. และแมกนีเซียมคลอไรด์ 1.5 ก./ล. นอกเหนือจากเกลือทั้งสองชนิดนี้แล้ว บางสายพันธุ์ยังต้องการแคลเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นขั้นต่ำ 0.5 ก./ล. ปริมาณความต้องการเกลือจะลดลงสำหรับกลุ่มที่มาจากน้ำกร่อย ส่วนแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่มาจากน้ำจืดอาจถูกยับยั้งการเจริญเติบโตได้ถ้ามีโซเดียมคลอไรด์ในระดับที่เข้มข้นเท่ากับที่มีอยู่ในน้ำทะเล (ประมาณ 27 ก./ล.) อย่างไรก็ตาม มีรายงานถึงความสามารถในการปรับตัวของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจากแหล่งน้ำจืดบางสายพันธุ์ ซึ่งสามารถทนอยู่ได้ในตัวกลางที่ระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์สูงเท่ากับในระดับความเข้มข้นในน้ำทะเล และบางพวกจะสามารถปรับตัวให้อยู่ได้ทั้งในระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 60 ก./ล. หรือแม้แต่ในสภาวะที่ไม่มีโซเดียมคลอไรด์อยู่เลยก็ตาม

3) พีเอช

ช่วงพีเอชที่เหมาะสมต่อแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะอยู่ในช่วงที่เป็นกลาง คือ ประมาณ 7 และมักถูกยับยั้งเมื่อค่าพีเอชต่ำกว่า 6 หรือสูงกว่า 9 อย่างไรก็ตามพบว่าปฏิกิริยาซัลเฟตรีดักชันสามารถเกิดขึ้นได้ในแหล่งน้ำจากเหมืองแร่ซึ่งมีค่าพีเอชในแหล่งน้ำประมาณ 3 – 4 แต่เมื่อนำแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจากแหล่งน้ำนี้มาเพาะเชื้อและทดสอบกลับพบว่าถูกยับยั้งการเจริญเติบโตเมื่อพีเอชต่ำกว่า 6 ทำให้เกิดข้อสันนิษฐานว่า แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่อยู่ในแหล่งน้ำของเหมืองแร่อาจมีสภาพแวดล้อมเล็ก ๆ เช่น โพรง หรือขอกหินขนาดเล็กมาก ๆ (microniches) หรือสภาพแวดล้อมในระดับโมเลกุลรอบ ๆ ตัวของแบกทีเรีย (microenvironment) มีค่าพีเอชที่สูงกว่าพีเอชของทั้งระบบ เนื่องจากปฏิกิริยาซัลเฟตรีดักชันโดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเป็นปฏิกิริยาที่ใช้โปรตอนหรือไฮโดรเจนอิออน การใช้สารอาหารของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจึงสร้างสภาพด่างให้กับระบบ (ยกเว้นกรณีการเกิดซัลเฟตรีดักชันของสารอาหารที่มีจำนวนอะตอมของคาร์บอนมากซึ่งจะสร้างสภาพกรด แต่จำนวนแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตประเภทนี้ก็มีอยู่ในปริมาณที่น้อยกว่ามาก) จึงทำให้แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตสามารถดำรงชีวิตได้แม้พีเอชโดยรวมของระบบจะมีค่าต่ำก็ตาม

2.5 ความสัมพันธ์ระหว่างแบกทีเรียกลุ่มต่าง ๆ ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียที่มีซัลเฟต

ดังที่ได้กล่าวมาแล้วในหัวข้อ 2.1 ว่าปฏิกิริยาการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่เกิดขึ้นในระบบไร้ออกซิเจน ขึ้นอยู่กับสารรับอิเล็กตรอนและประเภทของแบกทีเรียในระบบ ในกรณีที่มีซัลเฟตอยู่ใน

ระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจน กลไกการย่อยสลายสารอินทรีย์ในระบบจะเกิดขึ้นจากการทำงานร่วมกันของแบกทีเรียสร้างกรด, แบกทีเรียสร้างอะซิเตต, แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต และแบกทีเรียสร้างมีเทน แต่แบกทีเรียหลายกลุ่มในระบบใช้สารอาหารประเภทเดียวกัน ในขณะที่แบกทีเรียบางกลุ่มก็ใช้ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากแบกทีเรียอีกกลุ่มหนึ่งเป็นสารอาหาร ความสัมพันธ์ของแบกทีเรียกลุ่มต่าง ๆ ในกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจนจึงเป็นเรื่องที่ค่อนข้างซับซ้อน ดังแสดงรายละเอียดโดยสังเขปในรูป 2.8 แต่เราพอที่จะแบ่งความสัมพันธ์ที่เกิดขึ้นระหว่างแบกทีเรียกลุ่มต่าง ๆ ออกได้เป็น

- การแข่งขันระหว่างแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต, แบกทีเรียสร้างมีเทน และแบกทีเรียสร้างอะซิเตตที่บริโภคไฮโดรเจน ในการแย่งใช้ไฮโดรเจนและการแข่งขันระหว่างแบกทีเรียสร้างมีเทนและแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในการแย่งใช้อะซิเตต ซึ่งผลของการแข่งขันจะเป็นตัวกำหนดผลิตภัณฑ์สุดท้ายของกระบวนการย่อยสลายแบบไร้ออกซิเจนว่าเป็นมีเทนหรือซัลไฟด์
- การแข่งขันระหว่างแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างอะซิเตต ในการแย่งใช้กรดอินทรีย์ที่มีอะตอมของคาร์บอนมากกว่า 2

2.5.1 การแข่งขันระหว่างแบกทีเรียสร้างอะซิเตตและแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต

ถึงแม้ว่าแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะมีความสามารถในการใช้สารอาหารที่มีจำนวนคาร์บอนอะตอมสูงได้ (*Desulfoarculus* และ *Thermodesulforhabdus* ใช้กรดอินทรีย์ที่มีคาร์บอนอะตอมได้สูงถึง 18 อะตอม) แต่ความสามารถดังกล่าวก็จำกัดอยู่เฉพาะบางสปีชี่ส์ สารอาหารที่ใช้ได้โดยทั่วไปมีเพียง ไฮโดรเจน, แลกเตต และไพรูเวต เท่านั้น ส่วนสารอาหารอื่นนอกเหนือจากนี้จะมีข้อจำกัดในการใช้มากขึ้น (Madigan และคณะ, 1997: 505) การแข่งขันเพื่อแย่งใช้สารอาหารกับแบกทีเรียสร้างอะซิเตตจึงน่าจะเกิดขึ้นค่อนข้างรุนแรงในสารอาหารทั้งสามชนิดนี้ แต่ไพรูเวตเป็นสารอินเทอร์มีเดียทที่สำคัญมากในกระบวนการหมัก ทำให้การย่อยสลายสารอินทรีย์ในกระบวนการบำบัดน้ำเสียที่ไม่ใช้ออกซิเจนมีเส้นทางที่หลากหลายมากขึ้นหากมีซัลเฟตอยู่ในระบบด้วย โดยเส้นทางการย่อยสลายอาจแยกออกได้เป็น 2 เส้นทาง คือ

- สารอินทรีย์ในระบบถูกย่อยสลายโดยแบกทีเรียสร้างกรด และถูกย่อยสลายต่อกลายเป็นอะซิเตตและไฮโดรเจนผ่านแบกทีเรียสร้างอะซิเตต แล้วจึงถูกแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทนย่อยสลายต่อ
- สารอินทรีย์ในระบบถูกย่อยสลายโดยแบกทีเรียสร้างกรด และถูกย่อยสลายต่อโดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตโดยตรง ถ้าเป็นพวกที่ย่อยสลายได้อย่างสมบูรณ์จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นคาร์บอนไดออกไซด์และซัลไฟด์ แต่ถ้าเป็นพวกที่ย่อยสลายได้ไม่สมบูรณ์จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นอะซิเตตกับซัลไฟด์ อะซิเตตที่เกิดขึ้นจะถูกใช้ต่อโดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่สามารถใช้อะซิเตตได้และแบกทีเรียสร้างมีเทน

แต่จนถึงบัดนี้ ความรู้เกี่ยวกับการแข่งขันระหว่างแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างอะซิเตตยังคงมีไม่มากนัก เส้นทางใดจะเป็นเส้นทางที่เกิดขึ้นจริงในระบบบำบัดไร้ออกซิเจนยังคงไม่เป็นที่กระจ่างชัด Visser (1994) สันนิษฐานว่าที่ความเข้มข้นซัลเฟตสูง แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะเอาชนะแบกทีเรียผลิตกรดอะซิติกได้เนื่องจากมีสมบัติในการเจริญเติบโตที่เหนือกว่า ซึ่งจากผลการทดลองในตะกอนน้ำเค็ม พบว่ากรดไขมันระเหยง่าย เช่น โพรพิโอเนต และบิวทิเรตถูกย่อยสลายโดยตรงโดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต (Banat และ Nadwell, 1984 อ้างถึงใน Visser, 1994: 13) ดังนั้น ปัจจัยที่น่าจะเป็นตัวกำหนดเส้นทางการย่อยสลายสารอินทรีย์จึงน่าจะเป็น อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตหรือความเข้มข้นของซัลเฟต

O. Mizuno และคณะ (1994) ได้ศึกษาผลกระทบของความเข้มข้นซัลเฟตและอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตที่มีต่อการย่อยสลายบิวทิเรตในสภาพไร้ออกซิเจนโดยใช้ถังปฏิกรณ์ chemostat พบว่าอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟอร์ในสารอาหารมีอิทธิพลต่อความสัมพันธ์ระหว่างแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทน โดยที่อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟอร์มากกว่า 6 อัตราการผลิตมีเทนจะเป็นปฏิกิริยาเด่น โดยแบกทีเรียสร้างมีเทนสามารถใช้ซีโอดีได้ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่ออัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟอร์เท่ากับ 1.5 แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะเป็นตัวใช้ซีโอดีส่วนใหญ่ สามารถใช้ซีโอดีได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ โดยสรุปแล้ว เมื่ออัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟอร์สูง บิวทิเรตจะถูกย่อยสลายเป็นมีเทนผ่านทางอะซิเตตและก๊าซไฮโดรเจนโดยแบกทีเรียสร้างมีเทน ในทางกลับกัน เมื่ออัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตต่ำ บิวทิเรตจะถูกย่อยสลายเป็นซัลไฟด์และอะซิเตตโดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต และอะซิเตตที่เกิดขึ้นจะถูกย่อยสลายต่อไปโดยแบกทีเรียสร้างมีเทนและแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต อย่างไรก็ตามยังมีข้อสังเกตอยู่ว่า ข้อสรุปของ Mizuno ได้จากการเลี้ยงแบกทีเรียแบบ chemostat และใช้บิวทิเรตเป็นสารอาหารเพียงอย่างเดียว แต่ผลิตภัณฑ์จากการหมักสารอินทรีย์มีอยู่หลากหลายชนิดขึ้นกับสภาวะในระบบขณะนั้น ไม่ได้เกิดเฉพาะบิวทิเรต และในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้

ออกซิเจนหลายแบบใช้แบกทีเรียแบบฟิล์มตรึง (fixed film) ซึ่งจะมีปัจจัยเรื่องการเกาะตัวของแบกทีเรียเข้ามาเกี่ยวข้องด้วย ซึ่งเป็นสิ่งที่อยู่นอกเหนืองานวิจัยของ Mizuno อีกทั้งข้อสรุปของ Mizuno ได้จากการพิจารณาปริมาณแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่บริโภคบิวทิเรตที่มีอยู่เป็นจำนวนมาก แม้จะมีอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟอร์สูง ร่วมกับปัจจัยทางเทอร์โมไดนามิกส์ที่แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตได้เปรียบแบกทีเรียสร้างอะซิเตตจากบิวทิเรต แต่ Mizuno ไม่ได้วัดปริมาณแบกทีเรียสร้างอะซิเตต และการเปลี่ยนอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟอร์มีผลทำให้ปริมาณแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่บริโภคบิวทิเรตเปลี่ยนแปลงไม่มากนัก ซึ่งเป็นเรื่องที่น่าสังเกตมาก เพราะถ้าบิวทิเรตส่วนใหญ่ถูกย่อยสลายเป็นอะซิเตตและไฮโดรเจนผ่านทางแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟอร์ต่ำจริงดังข้อสรุปของ Mizuno เพราะเหตุใดปริมาณของแบกทีเรียประเภทนี้จึงไม่เพิ่มขึ้นอย่างเด่นชัด แต่กลับมีอยู่ในปริมาณที่ใกล้เคียงกันทุกอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟต นอกจากนั้นถ้าบิวทิเรตส่วนใหญ่ถูกใช้โดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตได้ผลิตภัณฑ์เป็นอะซิเตตกับซัลไฟด์จริง ไฮโดรเจนในระบบจะมีอยู่น้อยมาก ปริมาณของแบกทีเรียบริโภคไฮโดรเจนจึงน่าจะมีอยู่น้อยมาก (ทั้งแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทน) แต่ที่อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟอร์ต่ำแบกทีเรียที่บริโภคไฮโดรเจนก็ไม่ได้หายไปจากระบบแต่อย่างใด

Visser และคณะ (1993d อ้างถึงใน Visser, 1994: 13) แสดงให้เห็นว่าในถังปฏิกรณ์ที่ทำงานภายใต้ภาวะที่อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตสูง (เท่ากับ 10) การออกซิไดส์โพรพิโอเนตโดยการทำงานร่วมกันของแบกทีเรียสร้างอะซิเตตกับแบกทีเรียบริโภคไฮโดรเจนจะเป็นเส้นทางหลักในการย่อยสลายโพรพิโอเนต แต่ที่อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตต่ำ มีซัลเฟตมากเกินพอ การออกซิไดส์โพรพิโอเนตโดยตรงโดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะเป็นเส้นทางการย่อยสลายหลักแทน ซึ่ง Visser สันนิษฐานว่า ในกรณีที่ความเข้มข้นของซัลเฟตต่ำ แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ย่อยสลายโพรพิโอเนตถูกจำกัดจากความเข้มข้นของซัลเฟต และถูกแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่บริโภคไฮโดรเจนเอาชนะในการแย่งใช้ซัลเฟตที่มีอยู่ได้ ซึ่ง Laanbroek และคณะ (1984 อ้างถึงใน Visser, 1994: 13) ก็แสดงให้เห็นว่าแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่บริโภคไฮโดรเจน *Desulfovibrio* มีความสามารถในการใช้ซัลเฟตมากกว่าแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ย่อยสลายโพรพิโอเนต *Desulfobulbus* จึงเป็นเหตุให้แบกทีเรียสร้างอะซิเตตแข่งขันกับแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตได้ แต่ที่ความเข้มข้นซัลเฟตสูง การจำกัดจากซัลเฟตมีความสำคัญน้อยลง แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ใช้โพรพิโอเนตจึงน่าจะแข่งขันแย่งใช้โพรพิโอเนตกับแบกทีเรียสร้างอะซิเตตได้

ข้อสรุปที่ได้จากงานของ Mizuno และ Visser ก็คือ

- กรณีอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตต่ำ

ที่อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตต่ำ ความเข้มข้นของซัลเฟตจะเป็นตัวจำกัดการเจริญเติบโตของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในระบบ ทำให้แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ใช้ไฮโดรเจนได้เปรียบในการแย่งใช้ซัลเฟต เป็นเหตุให้แบกทีเรียรีดิวว์ซัลเฟตที่ออกซิไดส์กรดอินทรีย์โดยตรงไม่อาจแข่งขันกับแบกทีเรียสร้างอะซิเตตได้ เส้นทางการย่อยสลายสารอินทรีย์ส่วนใหญ่จึงเกิดขึ้นผ่านการทำงานร่วมกันของแบกทีเรียสร้างกรด, แบกทีเรียสร้างอะซิเตต และแบกทีเรียสร้างมีเทน ได้ผลิตภัณฑ์หลักเป็นมีเทนและคาร์บอนไดออกไซด์

- กรณีอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตสูง

ในกรณีนี้ ซัลเฟตในระบบมีอยู่อย่างไม่จำกัด แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตแต่ละกลุ่มไม่ต้องแย่งใช้ซัลเฟตกันเอง จึงคาดว่าสารอินทรีย์ในระบบน่าจะถูกย่อยสลายผ่านทางแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะขึ้นอยู่กับแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตว่าเป็นชนิดย่อยสลายสมบูรณ์หรือไม่ แต่จากปัจจัยทางไคเนติกของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต พบว่าแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตชนิดย่อยสลายไม่สมบูรณ์มีอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่า เส้นทางการย่อยสลายสารอินทรีย์จึงน่าจะเกิดผ่านแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตชนิดย่อยสลายไม่สมบูรณ์ และแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่บริโภคอะซิเตต ได้คาร์บอนไดออกไซด์และซัลไฟด์เป็นผลิตภัณฑ์หลัก

จากเหตุผลดังที่กล่าวมา อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตน่าจะเป็นปัจจัยสำคัญในการกำหนดเส้นทางในการย่อยสลายสารอินทรีย์และเป็นตัวกำหนดว่าแบกทีเรียชนิดใดจะแย่งใช้สารอินทรีย์ได้มากกว่ากัน อย่างไรก็ตาม ดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้นว่าความรู้เกี่ยวกับการแข่งขันระหว่างแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างอะซิเตตยังคงมีไม่มากนัก งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับแบกทีเรียทั้งสองชนิดนี้โดยตรงก็ยังมีไม่มากนัก จึงเป็นการยากที่จะระบุอย่างชัดเจนว่าแบกทีเรียชนิดใดจะเป็นแบกทีเรียที่มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายสารอินทรีย์ แต่สามารถสรุปได้ว่าแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะมีบทบาทมากขึ้นในการย่อยสลายกรดอินทรีย์ระเหยซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากกระบวนการหมักเมื่ออัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตมีค่าลดต่ำลง

2.5.2 การแข่งขันระหว่างแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทนในการแย่งใช้ไฮโดรเจน

ไฮโดรเจนเป็นสารอินเทอร์มีเดียทที่สำคัญในกระบวนการไร้ออกซิเจน เนื่องจากการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยทั่วไปแล้ว ประมาณ 20 – 30 เปอร์เซ็นต์ของซีโอดีจะถูกย่อยสลายผ่านทางไฮโดรเจน ซึ่งทั้งแบคทีรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทนต่างก็สามารถใช้เป็นสารอาหารได้

ผลของการแข่งขันระหว่างแบกทีเรียทั้งสองชนิดสามารถดูได้จากข้อมูลทางเทอร์โมไดนามิกส์และไคเนติก

- ปัจจัยทางเทอร์โมไดนามิกส์

ค่าพลังงานทางเทอร์โมไดนามิกส์ที่ได้จากการใช้ไฮโดรเจนเป็นแหล่งพลังงานของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต, แบกทีเรียสร้างมีเทน และแบกทีเรียสร้างอะซิเตตที่บริโภคไฮโดรเจนแสดงดังตารางที่ 2.8 ซึ่งจะเห็นได้ถึงแนวโน้มที่ได้เปรียบของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่บริโภคไฮโดรเจนเหนือแบกทีเรียสร้างมีเทน และแนวโน้มที่ได้เปรียบของแบกทีเรียสร้างทีเทนเหนือแบกทีเรียสร้างอะซิเตตที่สร้างไฮโดรเจน ในส่วนของแบกทีเรียสร้างอะซิเตตที่บริโภคไฮโดรเจน เนื่องจากค่าพลังงานทางเทอร์โมไดนามิกส์ที่น้อยกว่าแบกทีเรียกลุ่มอื่นที่บริโภคไฮโดรเจนด้วยกัน อีกทั้งยังมีความสำคัญน้อยในระบบที่ความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนต่ำ เพราะการแข่งขันแย่งไฮโดรเจนเกิดขึ้นอย่างรุนแรง จึงไม่นำแบกทีเรียชนิดนี้มาร่วมพิจารณาด้วย ส่วนแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทน ข้อมูลทางเทอร์โมไดนามิกส์เพียงลำพังยังไม่เพียงพอต่อการ

ตารางที่ 2.8 ค่าพลังงานทางเทอร์โมไดนามิกส์ของแบกทีเรียที่บริโภคไฮโดรเจน
(ปรับปรุงจาก Madigan และคณะ, 1997)

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

ทำนายผลการแข่งขันของแบกทีเรียทั้งสองกลุ่มนี้ได้ จำเป็นต้องพิจารณาถึงปัจจัยทางไคเนติกร่วมด้วย

- ปัจจัยทางไคเนติก

เมื่อพิจารณาถึงปัจจัยทางไคเนติก สมการที่ 2.1 แสดงให้เห็นถึงสมการทางไคเนติกที่ใช้แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของแบกทีเรียและความเข้มข้นของสารอาหาร ซึ่งเป็นสมการที่รู้จักกันดีของ Monod

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

μ = อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ, เวลา$^{-1}$

μ_{max} = อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด, เวลา$^{-1}$

S = ความเข้มข้นของสารอาหารที่พิจารณา, มวลสารอาหารต่อปริมาตร

K_s = ความเข้มข้นของสารอาหารที่พิจารณา เมื่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะมีค่าเป็นครึ่งหนึ่งของอัตราการเจริญเติบโตสูงสุด, มวลสารอาหารต่อปริมาตร

พิจารณาอัตราส่วน

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

โดยตัวห้อย 1 และ 2 เป็นค่าตัวแปรของแบคทีรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทนตามลำดับ อัตราส่วนจากสมการ 2.2 สามารถนำมาใช้พิจารณาเปรียบเทียบการแข่งขันเพื่อการดำรงชีพและการเจริญเติบโตระหว่างแบกทีเรียทั้ง 2 กลุ่มที่อาศัยอยู่ร่วมกันได้

1) กรณี S น้อยกว่า K_s มาก ๆ

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

จากสมการที่ 2.3 จะได้ว่าอัตราส่วน μ_{max}/K_s จะเป็นพารามิเตอร์ที่กำหนดอัตราการเจริญเติบโตของแบกทีเรียแต่ละกลุ่ม และสามารถนำไปเปรียบเทียบการแข่งขันระหว่างแบกทีเรียสองกลุ่ม ในสภาวะที่สารอาหารเป็นตัวกำหนดการเจริญเติบโต เมื่ออยู่ในสภาวะแวดล้อมเดียวกันได้

2) กรณีที่ S มากกว่า K_s มาก ๆ

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

จากสมการที่ 2.4 จะได้ว่า เมื่ออยู่ในสภาวะที่สารอาหารมากเกินพอ ค่าอัตราการเจริญเติบโตสูงสุด (μ_{max}) จะเป็นพารามิเตอร์ที่ใช้เปรียบเทียบการแข่งขันของแบกทีเรียสองกลุ่มที่อยู่ในสภาวะแวดล้อมโดยเดียวกันได้

ดังนั้น ค่าพารามิเตอร์ทางไคเนติกที่สำคัญในการใช้พิจารณาการแข่งขันเพื่อดำรงชีพและการเจริญเติบโตในสภาวะแวดล้อมเดียวกัน ก็คือ μ_{max} และอัตราส่วน μ_{max}/K_s โดยค่าที่มากกว่าแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการเจริญเติบโตที่ดีกว่า

สมการทางไคเนติกอีกสมการหนึ่งคือสมการที่แสดงความสัมพันธ์ของอัตราการใช้สารอาหารจำเพาะของแบกทีเรียกับความเข้มข้นของสารอาหาร ดังแสดงในสมการที่ 2.5

$$R = \frac{V_{max} \times S}{K_m + S} \qquad (2.5)$$

โดย

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

V_{max} = อัตราการใช้สารอาหารจำเพาะสูงสุด, เวลา$^{-1}$

S = ความเข้มข้นของสารอาหารที่พิจารณา, มวลสารอาหารต่อปริมาตร

K_m = ความเข้มข้นของสารอาหารที่พิจารณาเมื่ออัตราการใช้สารอาหารจำเพาะมีค่าเป็นครึ่งหนึ่งของอัตราการใช้สารอาหารจำเพาะสูงสุด, มวลสารอาหารต่อปริมาตร

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สมการที่ 2.5 สัมพันธ์กับสมการที่ 2.1 ดังนี้

$$\mu = R \times Y_g$$

โดย Y_g = ยีลด์จริง

ในทำนองเดียวกับก่อนหน้านี้ ค่าพารามิเตอร์ทางไคเนติกที่สำคัญซึ่งใช้ในการใช้พิจารณาการแข่งขันเพื่อการดำรงชีพและการเจริญเติบโตในสภาวะแวดล้อมเดียวกันของแบกทีเรียสองกลุ่ม ก็คือ V_{max} และอัตราส่วน V_{max}/K_m

ค่าพารามิเตอร์ทางไคเนติกที่ใช้พิจารณาในการแข่งขันเพื่อแย่งใช้ไฮโดรเจนของแบกทีเรียทั้งสองกลุ่ม แสดงดังตารางที่ 2.9 และ 2.10 ซึ่งจะเห็นได้ว่าแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตส่วนใหญ่มีค่า V_{max}/K_m ,ค่า μ_{max} และ μ_{max}/K_s สูงกว่าแบกทีเรียสร้างมีเทน แต่แบกทีเรียสร้างมีเทนบางชนิดก็มีพารามิเตอร์ทางไคเนติกที่ได้เปรียบกว่าแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเช่นกัน อย่างไรก็ตาม ถ้ามองถึงค่ายีลด์ในตารางที่ 2.10 ประกอบด้วย จะพบว่าแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีค่ายีลด์ที่สูงกว่าอย่างเห็นได้ชัด

และเมื่อมองถึงอัตราการเจริญเติบโตของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทนที่ความเข้มข้นของไฮโดรเจนค่าต่าง ๆ จะได้กราฟดังแสดงในรูปที่ 2.24 ซึ่งรูปที่ 2.24 นี้จะชี้ให้เห็นว่าแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีอัตราการเจริญเติบโตที่สูงกว่าแบกทีเรียสร้างมีเทนเสมอ ไม่ว่าความเข้มข้นของไฮโดรเจนจะมากหรือน้อยก็ตาม

อาศัยข้อมูลที่ได้จากตารางที่ 2.9 และ 2.10 และรูปที่ 2.24 ซึ่งชี้ให้เห็นว่าแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่บริโภคไฮโดรเจนส่วนใหญ่จะมีค่าอัตราการเจริญเติบโตที่สูงกว่า, มีความชอบที่จะใช้ไฮโดรเจนมากกว่า (higher affinity) และมีค่ายีลด์ที่สูงกว่าแบกทีเรียสร้างมีเทนที่บริโภคไฮโดรเจน จึงพอจะสรุปได้ว่า ในทางไคเนติก แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตส่วนใหญ่มีสมบัติในการเจริญเติบโตที่เหนือกว่าแบกทีเรียสร้างมีเทนที่บริโภคไฮโดรเจน

ตารางที่ 2.9 ค่าพารามิเตอร์ทางไคเนติกสำหรับการใช้ไฮโดรเจน โดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทนในช่วงเมโซฟิลิกทั้งในแบกทีเรียพันธุ์บริสุทธิ์และในธรรมชาติ [a,b] (Widdel, 1988)

Species(Strain) or System	Temp. °C	For H_2 Consumption			For growth of H_2		
		V_{max} µmol·g^{-1}·h^{-1}	K_m µmol·L^{-1}	V_{max}/K_m L·g^{-1}·h^{-1}	μ_{max} (h^{-1})	K_s µmol·L^{-1}	μ_{max}/K_s L·µmol·h^{-1}
Sulfate reducers							
Desulfovibrio							
vulgaris (Marburg)	35	880	1.3	660	nd	nd	nd
	35	79,000*	nd	nd	0.23	nd	nd
vulgaris[d]	37	1,770	1.9	930	nd	nd	nd
desulfuricans[d]	37	5,280	1.8	2,930	nd	nd	nd
sp.(G11)	37	3,300	11	3,000	0.057	3.3	0.017
sp.(PS1)	37	3,300	0.7	4,710	nd	nd	nd
Lake sediment + SO_4^{2-} (freshwater, eutrophic)	20	nd[e]	1.1[f]	nd	nd	nd	nd
Methanogens							
Methanobrevibacter	35	8,510	6.6	1,290	nd	nd	nd
arboriphilus (AZ)	33	215,000*	nd	nd	0.144	nd	nd
	23	nd	nd	nd	nd	5	nd
Methanospirillum							
hungatei (JF-1)	37	4,200	5.0	840	0.053	0.6	0.008
sp.(PM1)	37	5,400	2.5	2,160	nd	nd	nd
Methanococcus	37	nd	nd	nd	0.18	nd	nd
maripaludis							
Methanosarcina	37	6,600	13	510	0.058	nd	nd
barkeri(MS)							
Lake sediment	20	nd[e]	4.7[f]	nd	nd	nd	nd
(freshwater, eutrophic)	10-14	nd[e]	1.1-4.1[f]	nd	nd	nd	nd
Sewage digester sludge	33	nd[e]	78	nd	nd	nd	nd

[a] values reported before not considered.

[b] nd, not determined in the study.

[c] Most of values were obtained from resuspended ("resting") cells. Marked V_{max} values (*) were estimated from μ_{max} and the corresponding (real) growth yield ,(Y), according to $V=\mu/Y$. Grams refer to cell dry mass. assumption for conversion of protein mass: 1 g protein corresponds to 2 g cell dry mass.

[d] strain of H.D. Peck.

[e] No data, since cell densities in the muds could not determinded.

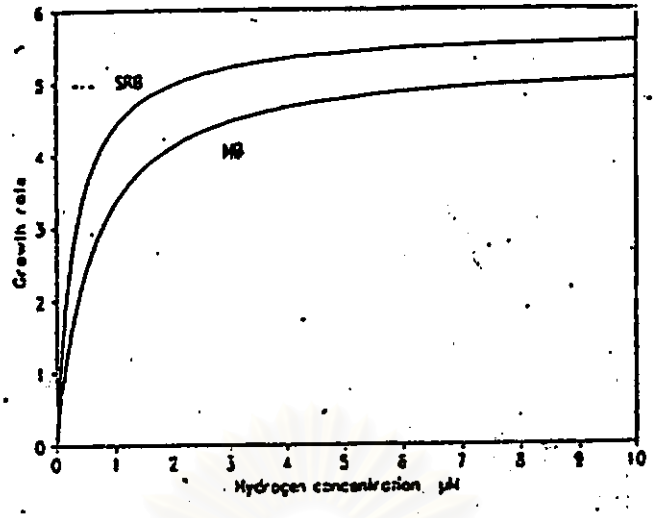
[f] calculated via solubility of H_2 at 101,325 Pa (1 atm):848 μ mol·L^{-1} at 10 °C; 804 μ mol·L^{-1} at 20 °C

ตารางที่ 2.10 ค่ายีลด์ [a] (Y) ของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต, แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟอร์และแบกทีเรียสร้างมีเทนในการใช้ไฮโดรเจน (Widdel, 1988)

Speices (Strain)	Energy Substrates	Y (g cell dry mass per mol H_2 dissimlated)
Desulfovibrio	$H_2 + SO_4^{2-}$	2.1;2.9
vulgaris (Marburg)	$H_2 + S_2O_3^{2-}$	4.2
Desulfotomaculum	$H_2 + SO_4^{2-}$	1.9;3.1
orientis (Singapore I)	$H_2 + SO_3^{2-}$	4
	$H_2 + S_2O_3^{2-}$	4.5
Methanosarcina	$H_2 + CO_2$	0.7-2.2
barkeri strains		
Other H_2-utilizing	$H_2 + CO_2$	0.5-1.0
methanogens		

[a] Only real Y values are listed, but no extrapolated Y_{max} values ($\mu=\infty$).

[b] From chemostat culture.



รูปที่ 2.24 อัตราการเจริญเติบโตของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทนที่ความเข้มข้นของไฮโดรเจนต่าง ๆ กัน (Robinson และ Tiedje, 1984 อ้างถึงใน Visser, 1994: 5)

แต่นอกจากปัจจัยทางเทอร์โมไดนามิกส์และไคเนติกที่แสดงให้เห็นถึงความได้เปรียบของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทนในการใช้ไฮโดรเจนเป็นสารอาหารแล้ว สาเหตุสำคัญอีกประการหนึ่งก็คือ แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตชนิดย่อยสลายได้ไม่สมบูรณ์ซึ่งก็รวมถึงพวกที่บริโภคไฮโดรเจนด้วย ยังคงทำงานและเจริญเติบโตได้ในลักษณะที่เป็นแบกทีเรียสร้างอะซิเตตในสภาวะที่ไม่มีซัลเฟต ดังนั้นสลัดจ์หรือเชื้อที่นำมาใช้จึงมีแบกทีเรียชนิดนี้คงอยู่ในปริมาณที่สูง Visser และคณะ (1993c อ้างถึงใน Visser, 1994: 12) สังเกตเห็นว่าสลัดจ์ที่ชินกับความเข้มข้นของซัลเฟตสูง เมื่อนำมาเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีที่เลี้ยงด้วยอะซิเตตโดยไม่มีซัลเฟต แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ย่อยสลายอะซิเตตจะหายไปในขณะที่แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ย่อยสลายไฮโดรเจนยังคงมีอยู่เป็นจำนวนมาก นอกจากเหตุผลที่กล่าวมาแล้ว ยังมีคำอธิบายอื่นเกี่ยวกับความสำเร็จของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในการเอาชนะแบกทีเรียสร้างมีเทนซึ่งแตกต่างออกไป โดย Lovley และคณะ (1982) และ Lovley (1985) ให้เหตุผลว่า เนื่องจากแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตบริโภคไฮโดรเจนได้อย่างมีประสิทธิภาพกว่า แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจึงสามารถรักษาระดับไฮโดรเจนให้ต่ำกว่าค่าต่ำสุดที่แบกทีเรียสร้างมีเทนจะนำไปใช้ได้ ทำให้การใช้ไฮโดรเจนเป็นแหล่งพลังงานโดยแบกทีเรียสร้างมีเทนได้พลังงานไม่เพียงพอ (อ้างถึงใน Visser, 1994: 5) และจากงานของ Mizuno และคณะ (1994) พบว่าเมื่อลดอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตลง ปริมาณแบกทีเรียสร้างมีเทนที่บริโภคไฮโดรเจนจะลดลงเมื่อเทียบกับแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่บริโภคไฮโดรเจน แต่ก็ยังคงมีแบกทีเรียสร้างมีเทนอยู่ในระบบแม้จะมีอยู่ในปริมาณที่น้อยกว่ามากก็ตาม

หากใช้การค้นพบเหล่านี้เป็นพื้นฐานแล้ว เป็นที่คาดกันว่าในถังปฏิกรณ์แบบไม่ใช้ออกซิเจน แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตน่าจะเอาชนะแบกทีเรียสร้างมีเทนได้ในการใช้ไฮโดรเจน

2.5.3 การแข่งขันระหว่างแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทนในการแย่งใช้อะซิเตต

อะซิเตตเป็นสารอินเทอร์มีเดียทที่สำคัญที่สุดในกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน เนื่องจากประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ของซีโอดีที่ถูกกำจัดจะถูกย่อยสลายผ่านอะซิเตต ซึ่งในกระบวนการไร้ออกซิเจนที่มีซัลเฟต แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทนต่างก็แข่งขันกันเพื่อใช้อะซิเตตที่มีอยู่ในระบบ แต่แบกทีเรียประเภทใดจะเป็นฝ่ายชนะและสามารถกลายเป็นกลุ่มที่โดดเด่นในระบบนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ปัจจัยประการแรก ๆ ที่นำมาพิจารณาก่อนได้แก่ ปัจจัยทางเทอร์โมไดนามิกส์และปัจจัยทางไคเนติก

- ปัจจัยทางเทอร์โมไดนามิกส์

ค่าพลังงานทางเทอร์โมไดนามิกส์ที่ได้จากการใช้อะซิเตตเป็นแหล่งพลังงานของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทน แสดงในตารางที่ 2.11

ตารางที่ 2.11 ค่าพลังงานทางเทอร์โมไดนามิกส์ของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทนที่บริโภคอะซิเตต (ปรับปรุงจาก Mizuno และคณะ, 1994)

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

จะเห็นได้ว่าพลังงานที่ได้จากการใช้ซัลเฟตเป็นตัวรับอิเล็กตรอนโดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะมากกว่าพลังงานที่ได้จากการผลิตมีเทนของแบกทีเรียสร้างมีเทน ดังนั้นเมื่อพิจารณาเฉพาะปัจจัยทางเทอร์โมไดนามิกส์ กรณีที่สารอาหารไม่เป็นตัวจำกัดอัตราการเจริญเติบโตแล้ว แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีแนวโน้มที่จะเอาชนะแบกทีเรียสร้างมีเทนได้

- ปัจจัยทางไคเนติก

ค่าพารามิเตอร์ทางไคเนติกที่นำมาพิจารณาในการแข่งขันกันแย่งใช้อะซิเตตของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทน แสดงในตารางที่ 2.12

ตารางที่ 2.12 ค่าพารามิเตอร์ทางไคเนติกของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทนที่ใช้อะซิเตตเป็นสารอาหาร (Visser, 1994: 6)

Type	K_s mM	μ_{max} day^{-1}	μ_{max}/K_s	Y g VSS·mol^{-1} C2	pH	T °C	Ref.
SRB							
Desulfobacter							
postagel		1.03		2.56		28	1
Desulfotomaculum							
acetoxidans		0.55		5.52	7.1	36	2
acetoxidans		1.44		7.55	7.1	36	3
Deslufonema							
limicola		0.55			7.6	30	4
Enrichment culture	0.10	0.51	5.1			31	5
Biofilm	0.17	0.015	0.088	3.7	7.5	30	6
Granular sludge	0.9	0.11	0.12		7.5	30	7
crushed granular sludge	0.17	0.06	0.35		7.5	30	7
MPB							
Methanothrix							
soehngenii	0.44	0.11	0.25	1.47	7.6	37	8
concilii	1.20	0.69	0.575	1.15	7.2	35	9
Methanosarcina							
barkeri	0.69	2.4	3.47		6.3	35	10
Enrichment culture	5.60	0.26	0.046			30	11
Enrichment culture	0.55	0.037	0.067	3.2	7.5	30	6
Granular sludge	0.9	0.08	0.089		7.5	30	7
crushed granular sludge	0.41	0.04	0.098		7.5	30	7

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

ซึ่งจากข้อมูลทางเทอร์โมไดนามิกส์ พบว่าแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีข้อได้เปรียบแบกทีเรียสร้างมีเทนอย่างชัดเจน ส่วนข้อมูลทางไคเนติกในตารางที่ 2.12 พิจารณาค่า μ_{max}/K_s ที่สภาพแวดล้อมในการวิจัยคล้าย ๆ กัน (เช่น เปรียบเทียบระหว่าง Enrichment culture ด้วยกัน หรือ Granular sludge ด้วยกัน) พบว่าค่า μ_{max}/K_s ของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีค่ามากกว่าทั้งหมด โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ความเข้มข้นของอะซิเตตต่ำ แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตสามารถเอาชนะแบกทีเรียสร้างมีเทนได้เนื่องจากอัตราการใช้สารอาหารที่สูงกว่า และเมื่อพิจารณาถึงค่ายีลด์ก็พบว่าแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตส่วนใหญ่ก็มีค่ายีลด์ที่สูงกว่าด้วย แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการใช้สารอาหารและการเจริญเติบโตที่เหนือกว่าของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต อย่างไรก็ตาม งานวิจัยหลายงานได้ให้ผลที่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2.13

ตารางที่ 2.13 ผลการวิจัยของการใช้ถังปฏิกรณ์ไร้ออกซิเจนบำบัดน้ำเสียที่มีซัลเฟตสูง (ดัดแปลงจาก Visser, 1994: 7)

Substrate	Biomass	% COD change to H_2S	Ratio of CH_4:H_2S	Ref.
acetate	Biofilm	62.5	0.5	1
	Biofilm	-	>0.9	1
	Granular sludge	0.0	∞	2
	Granular sludge	100	0	3
acid water	Granular sludge	25	3	4
	Granular sludge	66.7	0.5	5

1. Yoda และคณะ, 1988; 2. Renzema, 1988; 3. Visser, 1994; 4. Rinzema และคณะ, 1986
5. Rinzema และ Schultz, 1987

จากตารางที่ 2.13 พบว่างานวิจัยหลายต่อหลายงานที่ทำขึ้นให้ผลที่ขัดแย้งกัน ซึ่งดูได้จากค่าอัตราส่วนระหว่างก๊าซมีเทนต่อก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่มีค่าไม่คงที่ บางการทดลองไม่เกิดก๊าซมีเทนเลย ในขณะที่บางการทดลองก็เกิดแต่เฉพาะก๊าซมีเทนโดยไม่มีก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์เกิดขึ้น ซีโอดีที่ถูกเปลี่ยนไปเป็นซัลไฟด์อยู่ในช่วงตั้งแต่ 0 – 100 เปอร์เซ็นต์ ทั้งหมดนี้แสดงให้เห็นว่า ในสภาพแวดล้อมบางอย่างที่เหมาะสม แบกทีเรียสร้างมีเทนยังมีโอกาสที่จะเอาชนะแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตได้ นั่นก็คือ นอกเหนือจากปัจจัยทางเทอร์โมไดนามิกส์และไคเนติกที่จะต้องนำมาพิจารณาแล้ว ยังคงมีปัจจัยอื่น ๆ อีกที่ต้องนำมาพิจารณาประกอบ เพื่อดูว่าแบกทีเรียประเภทใดจะเป็นฝ่าย

ชนะในการแย่งใช้อะซิเตต ปัจจัยที่อาจมีผลต่อการแข่งขันระหว่างแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างเทน ปัจจัยเหล่านั้น ได้แก่

1) อุณหภูมิ

แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทนที่ใช้อะซิเตตมีช่วงอุณหภูมิที่สามารถเจริญเติบโตได้และอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดต่อการเจริญเติบโตใกล้เคียงกัน โดยเฉพาะพวกที่ทำงานอยู่ในช่วงอุณหภูมิเมโซฟิลิก ซึ่งจากผลการทดลองของ Visser (1994) พบว่า activity ของสลัดจ์ที่นำมาทดลอง ทั้งสลัดจ์ของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและของแบกทีเรียสร้างมีเทนมีค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งค่า activity นี้เป็นฟังก์ชันของอุณหภูมิ ดังนั้นเมื่อพิจารณาในช่วงเวลาสั้น ๆ จึงคาดว่าจะไม่มีผลกระทบจากอุณหภูมิในช่วงเมโซฟิลิก

Visser และคณะ (1993 อ้างถึงใน Visser, 1994) ศึกษาถึงผลกระทบเนื่องจากอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงอย่างกระทันหันที่มีต่อกระบวนการซัลเฟตรีดักชัน และกระบวนการสร้างมีเทนในถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบี พบว่าการเพิ่มอุณหภูมิเข้าสู่ช่วง 55 – 65 องศาเซลเซียสอย่างกระทันหัน ทำให้แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตได้เปรียบแบกทีเรียสร้างมีเทนในการแย่งใช้อะซิเตต และหลังจากการเพิ่มอุณหภูมินี้ก็พบว่าการใช้สารอาหารเนื่องจากแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีค่าสูงขึ้น แสดงให้เห็นว่าสภาวะในช่วงเทอร์โมฟิลิกเอื้ออำนวยให้แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเอาชนะแบกทีเรียสร้างมีเทนได้ ทั้งในการแย่งใช้ไฮโดรเจนและอะซิเตต (Rintalla และ Lettinga, 1992; Visser และคณะ, 1992; Virrer และคณะ,1993b อ้างถึงใน Visser, 1994: 7)

2) ความเข้มข้นของอิออนของเหล็ก (Fe^{2+})

กระบวนการไร้ออกซิเจนที่มีซัลเฟตอยู่ด้วยมักได้ผลิตภัณฑ์เป็นซัลไฟด์เกิดขึ้นเสมอ และก็เป็นที่รู้กันมานานแล้วว่าแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีความต้องการเหล็กในปริมาณที่สูง (Postgate, 1979 อ้างถึงใน Visser, 1994: 8) ดังนั้นการตกตะกอนของเหล็กซัลไฟด์สามารถทำให้เกิดการจำกัดการเจริญเติบโตของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเนื่องจากการขาดเหล็กได้ และอาจทำให้แบกทีเรียสร้างมีเทนมีข้อได้เปรียบและสามารถเอาชนะแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตได้

Isa (1986a,b) ทำการทดลองหาผลกระทบเนื่องจากปริมาณเหล็กที่แตกต่างกันที่มีผลต่อการทำงานของถังกรองไร้ออกซิเจนที่บำบัดน้ำเสียที่ผสมจากอะซิเตต, เอทานอล และซัลเฟต แต่

Isa ก็ไม่พบผลกระทบเนื่องจากเหล็กที่มีต่อกระบวนการรีดิวซ์ซัลเฟตและกระบวนการสร้างมีเทนอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามจนถึงบัดนี้ก็ยังไม่มีข้อสรุปที่ชัดเจนในเรื่องการจำกัดเนื่องจากเหล็กที่จะส่งผลต่อแบกทีเรียทั้งสองประเภทแต่อย่างใด

3) การเกาะติดของแบกทีเรีย

สิ่งที่ทำให้ถังปฏิกรณ์แบบไร้ออกซิเจนแบบฟิล์มชีวะสามารถทำงานได้ที่อัตราการบำบัดสูงอย่างมีประสิทธิภาพนั้น ขึ้นอยู่กับการเกาะติดของมวลชีวะและเวลากักเซลล์ แบกทีเรียที่ไม่มีความสามารถในการเกาะตัวเป็นเม็ดสลัดจ์หรือฟิล์มชีวะจะถูกพัดพาออกไป ในขณะที่แบกทีเรียที่มีความสามารถในการเกาะติดจะยังคงอยู่ในถังปฏิกรณ์ ซึ่งแบกทีเรียที่อยู่ภายในถังปฏิกรณ์แบบนี้นอกจากการแข่งขันกันด้วยสมบัติทางไคเนติกแล้ว สมบัติอีกประการหนึ่งที่กำหนดผลการแข่งขันก็คือสมบัติในการเกาะติดนั่นเอง Isa และคณะ (1986) ทำการทดลองหาบทบาทของความสามารถในการเกาะติดของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทนในถังกรองไร้ออกซิเจน ที่ป้อนด้วยอะซิเตต, เอทานอลและซัลเฟตมากเกินพอ พบว่าอะซิเตตและเอทานอลจำนวนมากถูกย่อยสลายได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ Isa ยังสังเกตเห็นว่าอัตราส่วนระหว่างจำนวนของแบกทีเรียสร้างมีเทนที่มีอยู่ในถังปฏิกรณ์ต่อจำนวนที่มีอยู่ในกระแสออกมีค่าสูงกว่าอัตราส่วนของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมาก ยิ่งไปกว่านั้น Isa ยังพบว่า activity ที่วัดได้ในถังปฏิกรณ์จะสัมพันธ์กับแบกทีเรียสร้างมีเทนมากกว่า ส่วนในกระแสออกจะสัมพันธ์กับแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมากกว่า ผลเหล่านี้แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการเกาะติดที่เหนือกว่าของแบกทีเรียสร้างมีเทน ทำให้แบกทีเรียสร้างมีเทนสามาถแข่งขันกับแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่ Visser (1994) ได้แสดงความคิดเห็นเกี่ยวกับการทดลองของ Isa และคณะ (1986) ไว้ว่าการทดลองของ Isa ขาดความถูกต้องในเรื่องการนับจำนวนแบกทีเรียและการวัด activity ซึ่งอาจทำให้ผลการทดลองที่ได้คลาดเคลื่อนจากความเป็นจริง

ต่อมา Alphenaar และคณะ (1993) และ Visser และคณะ (1993b) (อ้างถึงใน Visser, 1994:8) ได้ศึกษาถึงกระบวนการเกิดเป็นเม็ดสลัดจ์ในถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีทีบำบัดน้ำเสียที่มีซัลเฟต พบว่ากระบวนการซัลเฟตรีดักชันจะกลายเป็นกระบวนการหลักในการกำจัดสารอินทรีย์ถ้าหากมีเวลามากพอ เม็ดสลัดจ์เกิดขึ้นได้ดีและเป็นเม็ดสลัดจ์ที่ทำให้เกิดการรีดิวซ์ซัลเฟตเป็นหลัก แต่อย่างไรก็ตามในการทดลองเดียวกันนี้พบว่า แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตไม่สามารถสร้างเม็ดสลัดจ์ขึ้นมาได้เองโดยไม่มีแบกทีเรียสร้างมีเทน โดยสลัดจ์ที่เกิดขึ้นจะมีลักษณะเป็นเพียงฟล็อกเท่านั้น ซึ่งสันนิษฐานว่าแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตอาจใช้แบกทีเรียสร้างมีเทนเป็นแกนในการเกิดเม็ด แสดงว่าในระบบผสมที่

มีทั้งแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทน แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะมีความสามารถในการเกาะติดเพียงพอที่จะแข่งขันกับแบกทีเรียสร้างมีเทนในการใช้สารอาหาร ทั้งไฮโดรเจนและอะซิเตต ดังนั้น จึงน่าจะตั้งสมมติฐานได้ว่าความสามารถในการเกาะติดของแบกทีเรียสร้างมีเทนและแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีค่าใกล้เคียงกันมากกว่าที่จะแตกต่างกันอย่างมากมาย

4) อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟต

จากปัจจัยทางไคเนติกและเทอร์โมไดนามิกส์ที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น จะเห็นได้ว่าแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตได้เปรียบแบกทีเรียสร้างมีเทนในการแข่งขันใช้สารอาหารและมีแนวโน้มว่าจะชนะแบกทีเรียสร้างมีเทนได้ แต่ในทางปฏิบัติแล้วแบกทีเรียชนิดใดจะเป็นผู้ชนะขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมในขณะนั้นเป็นอย่างมาก เช่น ในกรณีที่ซัลเฟตเป็นตัวจำกัดการเจริญเติบโตของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต แบกทีเรียสร้างมีเทนก็มีโอกาสที่จะเอาชนะแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตได้ หรือในกรณีที่สารอินทรีย์ในระบบมีอยู่อย่างจำกัดในขณะที่มีซัลเฟตอยู่อย่างเหลือเฟือ ซีโอดีเป็นตัวจำกัดการเจริญเติบโตของแบกทีเรียทั้งสองประเภท แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตก็มีโอกาสเอาชนะแบกทีเรียสร้างมีเทนได้เช่นกัน ดังนั้น ปัจจัยอีกประการหนึ่งที่สำคัญมากในการตัดสินว่าแบกทีเรียประเภทใดจะเป็นฝ่ายชนะในระบบหนึ่ง ๆ จึงขึ้นอยู่กับอัตราส่วนระหว่างซีโอดีต่อซัลเฟต โดยที่ศักยภาพของแบกทีเรียสร้างมีเทนในการเอาชนะแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะมีมากขึ้นเมื่ออัตราส่วนนี้มีค่าสูงขึ้น ในทางกลับกันแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตก็มีโอกาสเอาชนะแบกทีเรียสร้างมีเทนได้มากขึ้นเมื่ออัตราส่วนนี้ลดต่ำลง และความเข้มข้นของซัลไฟด์ที่เกิดขึ้นไม่สะสมจนทำให้เกิดการยับยั้งการใช้สารอาหาร แต่ข้อมูลเกี่ยวกับอัตราส่วนนี้ยังไม่เป็นที่แน่นอนเช่นเดียวกับความเข้มข้นของซัลไฟด์ที่ทำให้เกิดการยับยั้งการทำงานของแบกทีเรีย โดยงานวิจัยของ Choi และ Rim (1991 อ้างถึงใน McCartney และ Oleskiewicz, 1993: 656) พบว่าอัตราส่วนนี้มีค่าระหว่าง 1.7 – 2.7 ถ้าอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตมีค่าอยู่ระหว่างนี้จะเกิดการแข่งขันระหว่างแบกทีเรียทั้งสองประเภท แต่ถ้าอัตราส่วนสูงกว่านี้ แบกทีเรียสร้างมีเทนจะเป็นฝ่ายชนะ ในทางกลับกันถ้าอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตต่ำกว่าค่านี้ แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตก็จะเอาชนะได้เช่นกัน งานวิจัยของ Prasad (1991 อ้างถึงใน McCartney และ Oleskiewicz, 1993: 656) พบว่าอัตราส่วนนี้มีค่าเท่ากับ 1 และในงานวิจัยของ McCartney และ Oleskiewicz (1993: 663) เองพบว่าอัตราส่วนนี้มีค่าระหว่าง 1.6 – 3.7 จากงานวิจัยทั้งหลายที่ได้กล่าวมานี้สามารถสรุปได้ดังตารางที่ 2.14

ตารางที่ 2.14 ผลของอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตต่อการแข่งขันของแบกทีเรียสร้างมีเทนและแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในงานวิจัยต่าง ๆ

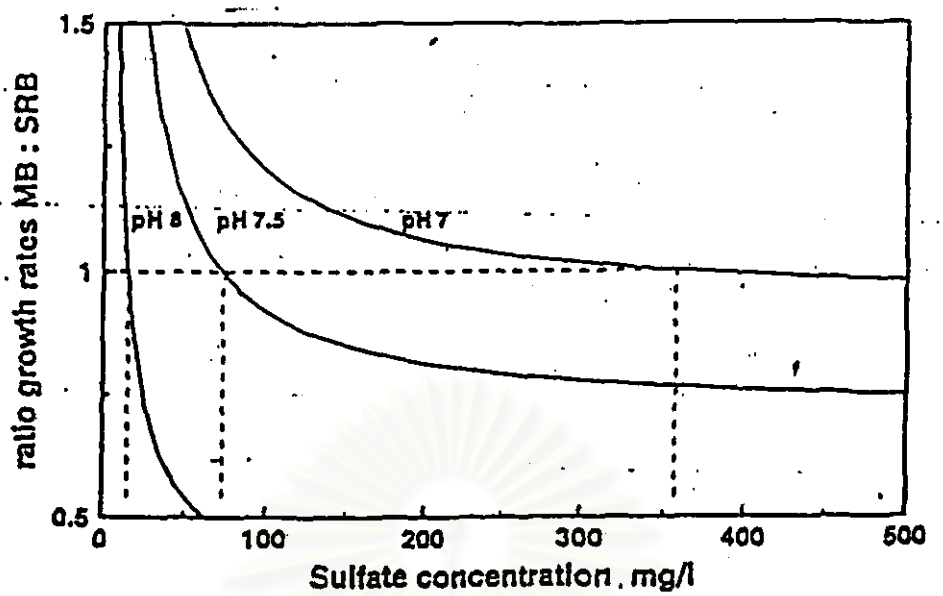
ลำดับที่	อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟต		ชนิดของสารอาหาร	ลักษณะถังปฏิกรณ์	ผู้วิจัย
	SRB ชนะ	MPB ชนะ			
1	0.5	6	บิวทิเรต	chemostat	Mizuno O., Li Y.Y. และ Noike T. (1994)
2	1.6	3.7	-	ขวดซีรัม	McCartney และ Oleszkiewicz (1993)
3*	1.7	2.7	แลกเตต	-	Choi และคณะ (1991)
4*	-	> 1	-	-	Prasad และคณะ (1991)

* อ้างถึงใน McCartney และ Oleszkiewicz (1993)

5) ความเข้มข้นของซัลเฟต

ดังที่ได้กล่าวมาแล้วก่อนหน้านี้ การเจริญเติบโตของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตสามารถถูกจำกัดได้เนื่องจากความเข้มข้นในระบบของตัวให้อิเล็กตรอน (อะซิเตต) และตัวรับอิเล็กตรอน (ซัลเฟต) ดังแสดงในรูปที่ 2.25 ซึ่งแสดงให้เห็นถึงผลกระทบของความเข้มข้นของซัลเฟตที่มีต่อพารามิเตอร์ทางไคเนติกที่วัดได้จากเม็ดสลัดจ์ รูปที่ 2.25 แสดงให้เห็นได้อย่างชัดเจนว่า ที่ความเข้มข้นของซัลเฟตต่ำ ๆ นั้น แบกทีเรียสร้างมีเทนเจริญเติบโตได้ดีกว่าแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต

นอกเหนือจากการจำกัดอัตราการเจริญเติบโตเนื่องจากซัลเฟตโดยตรงแล้ว ที่ระดับความเข้มข้นของซัลเฟตต่ำ ๆ แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ย่อยสลายอะซิเตตจะต้องแข่งขันกับแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตชนิดอื่น ๆ เพื่อแย่งซัลเฟตที่มีอยู่ด้วย ซึ่งแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตแต่ละชนิดก็มีความสามารถในการนำซัลเฟตมาใช้ที่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2.15 โดยจะเห็นได้ว่าใน enrichment culture ที่ออกซิไดส์อะซิเตตนั้น แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตสปีชีส์ *Desulfobacter postagei* ซึ่งเป็นแบกทีเรียที่บริโภคอะซิเตตมีความชอบซัลเฟตน้อยกว่าสปีชีส์ *Desulfovibrio* ซึ่งเป็นพวกบริโภคไฮโดรเจน Laanbroek และคณะ (1984 อ้างถึงใน Visser, 1994: 11) แสดงให้เห็นว่าความชอบซัลเฟตจะลดลงตามลำดับต่อไปนี้ คือ *Desulfovibrio*, *Desulfobulbus* และ *Desulfobacter* ซึ่งมีความเชี่ยวชาญในการย่อยสลายไฮโดรเจน, โพรพิโอเนตและอะซิเตตตามลำดับ



รูปที่ 2.25 ความเข้มข้นของซัลเฟตที่มีผลต่ออัตราส่วนระหว่างการเจริญเติบโตของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทนในการย่อยสลายอะซิเตตที่ความเข้มข้นของซัลเฟตต่าง ๆ กัน (Visser, 1994: 10)

ตารางที่ 2.15 ความชอบซัลเฟต (sulfate affinity, K_{SO4}) ของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต

Species	K_{SO4} (mg/l)	Ref.
Desulfovibrio vulgaris (Marburg)	0.5	1
Desulfovibrio vulgaris (Hildenborough)	3	1
Desulfovibrio sapovorans	0.7	1
Desulfovibrio salexigens	7	1
Desulfobacter postagei	19	2
enrichment culture[a]	45	3
enrichment culture[b]	30	4

1. Ingvorsen และ Jörgensen 1984; 2. Ingvorsen และคณะ, 1984; 3. Yoda และคณะ, 1987 4. Middleton และ Lawrence, 1977

[a] ฟิล์มชีวะ, อะซิเตตเป็นตัวให้อิเล็กตรอน [b] สลัดจ์แขวนลอย, อะซิเตตเป็นตัวให้อิเล็กตรอน

ดังนั้นภายใต้สภาวะที่มีซัลเฟตอยู่อย่างจำกัด จึงเป็นที่คาดกันว่าแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่บริโภคอะซิเตตจะถูกแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตประเภทอื่น ๆ เอาชนะได้ ซึ่งจะทำให้แบกทีเรียสร้างมีเทนสามารถแข่งขันกับแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตได้ในการแย่งใช้อะซิเตต แต่สำหรับน้ำเสียที่มีซัลเฟตมากเกินพอ การแข่งขันเพื่อแย่งซัลเฟตดูเหมือนว่าจะมีความสำคัญลดลง อย่างไรก็ตาม เนื่องจากมีข้อจำกัดในการแพร่ของซัลเฟตเข้าไปในฟิล์มชีวะหรือเม็ดสลัดจ์ อาจทำให้การจำกัดเนื่องจากซัลเฟตในมวลชีวะยังคงมีอยู่ Neil (1987 อ้างถึงใน Visser, 1994: 11) พบว่าความเข้มข้นของซัลเฟตที่น้อยกว่า 50 มก./ล. ทำให้เกิดการจำกัดเนื่องจากซัลเฟตในฟิล์มชีวะ Lens (1994 อ้างถึงใน Visser, 1994: 11) คำนวณว่าสำหรับเม็ดสลัดจ์ ระดับความเข้มข้นซัลเฟตที่ต่ำกว่า 300 มก./ล.ทำให้เกิดการจำกัดเนื่องจากซัลเฟต

6) พีเอช

เช่นเดียวกับสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กในน้ำทั่วไป การเจริญเติบโตของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทนขึ้นอยู่กับพีเอชในน้ำที่อาศัยอยู่ Visser และคณะ (1993b อ้างถึงใน Visser, 1994: 11) ศึกษาถึงผลกระทบของพีเอชที่มีต่อกระบวนการซัลเฟตรีดักชันและกระบวนการสร้างมีเทนภายใต้สภาวะเทอร์โมฟิลิก (55 องศาเซลเซียส) ผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 2.16 ซึ่งแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าที่พีเอชสูง กระบวนการซัลเฟตรีดักชันจะกลายเป็นกระบวนการที่โดดเด่น ในขณะที่ค่าพีเอชเข้าใกล้ค่าพีเอชที่เป็นกลางมากขึ้น แบกทีเรียสร้างมีเทนก็สามารถแข่งขันกับแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตได้มากขึ้น ส่วนผลการทดลองในช่วงเมโซฟิลิกก็ได้ผลที่คล้ายคลึงกัน (Visser, 1994: 11)

7) สารประกอบที่เป็นพิษ

แบกทีเรียสร้างมีเทนและแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตก็เหมือนกับแบกทีเรียอื่นที่ถูกยับยั้งเนื่องจากสารประกอบที่เป็นพิษชนิดต่าง ๆ กัน ซัลไฟด์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการซัลเฟตรีดักชันก็เป็นสารประกอบที่เป็นพิษชนิดหนึ่งด้วย ความเป็นพิษที่เกิดจากซัลไฟด์มีผลต่อการแข่งขันระหว่างแบกทีเรียทั้งสองกลุ่ม ปรากฏการณ์ความเป็นพิษเนื่องจากสารประกอบซัลไฟด์จะอภิปรายละเอียดมากขึ้นในหัวข้อ 2.6

ตารางที่ 2.16 สัดส่วนการใช้ซีโอดีของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทน (Visser และคณะ, 1993b อ้างถึงใน Visser, 1994: 12)

พีเอช	Percentage of substrate degraded by SRB and MPB*			
	Total COD**		Acetate	
	SRB	MPB	SRB	MPB
6.5-7.5				
Avg[a]	48	52	33	67
Std[b]	8.82	8.82	11.92	11.92
n[c]	73	73	73	73
8.0-8.5				
Avg[a]	85	15	79	21
Std[b]	8.52	8.52	11.20	11.20
n[c]	51	51	51	51

[a] Avg. = average, [b] Std = standard, [c] n = number of observations

* การทดลองใช้ถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบี, อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

** ใช้อะซิเตด, โพรพิโอเนต และบิวทิเรต ร่วมกับซัลเฟต

8) ชนิดของสลัดจ์ที่นำมาใช้เป็นเชื้อเพื่อเริ่มเดินระบบและระยะเวลาในการทดลอง

การทดลองจำนวนมากมายเกี่ยวกับการบำบัดน้ำเสียที่มีซัลเฟตด้วยกระบวนการไร้ออกซิเจนที่ทำขึ้นโดยใช้เชื้อที่ชินกับน้ำเสียที่มีความเข้มข้นของซัลเฟตต่ำ ซึ่งสันนิษฐานว่าปริมาณของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่บริโภคอะซิเตดมีอยู่น้อยเมื่อเทียบกับปริมาณของแบกทีเรียสร้างมีเทน Buisman และคณะ (1994 อ้างถึงใน Visser, 1994: 12) แสดงให้เห็นว่า สลัดจ์ที่ชินกับน้ำเสียที่มีอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตมากกว่า 20 จะพบการใช้อะซิเตดในกระบวนการซัลเฟตรีดักชันได้น้อยมาก จะมีเพียงน้ำเสียที่มีอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตน้อยกว่า 2 เท่านั้นที่จะพบการนำเอาอะซิเตดไปใช้ในกระบวนการซัลเฟตรีดักชันอย่างมาก

เนื่องจากถังปฏิกรณ์แบบไร้ออกซิเจนส่วนใหญ่ทำงานที่เวลากักเซลล์นาน ในกรณีที่จำนวนแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีน้อย จะต้องใช้เวลานานมากกว่าที่แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะเอาชนะแบกทีเรียสร้างมีเทนได้ ในการใช้แบบจำลองการแข่งขันอย่างง่ายและใช้พารามิเตอร์ทางไคเนติกที่

วัดได้จากการทดลองโดย Visser (1994: 12) สามารถคำนวณได้ว่าสำหรับถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีที่มีเวลากักเซลล์ 150 วันและเชื้อที่นำมาใช้เป็นเชื้อที่มีจำนวนแบกทีเรียดิวซ์ซัลเฟตที่บริโภคอะซิเตตอยู่น้อยแล้ว จะต้องใช้เวลามากกว่า 3 ปี กว่าที่แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะเอาชนะแบกทีเรียสร้างมีเทนได้

ในทางกลับกัน การใช้ไฮโดรเจนได้อย่างสมบูรณ์ของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีอยู่ในรายงานทั่วไปและเกิดขึ้นได้ในระยะเวลาอันสั้น แม้จะใช้สลัดจ์ที่ชินกับอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตสูงก็ตาม เนื่องจากแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ใช้ไฮโดรเจนหลายชนิดเจริญเติบโตได้ในลักษณะที่เป็นแบกทีเรียสร้างอะซิเตต ในสภาวะที่ไม่มีซัลเฟตดังที่ได้บรรยายมาก่อนหน้านี้ในหัวข้อ 2.4.2 ทำให้จำนวนของแบกทีเรียชนิดนี้ในสลัดจ์มีอยู่ค่อนข้างสูง แต่สำหรับแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารแล้ว ไม่มีรายงานว่าแบกทีเรียชนิดนี้มีสมบัติผลิตอะซิเตตในภาวะที่ไม่มีซัลเฟต Visser และคณะ (1993c อ้างถึงใน Visser, 1994: 12) สังเกตเห็นว่าสลัดจ์ที่ชินกับความเข้มข้นของซัลเฟตสูงเมื่อนำมาเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีที่เลี้ยงด้วยอะซิเตตโดยไม่มีซัลเฟต แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ย่อยสลายอะซิเตตจะหายไปจากระบบในขณะที่แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ย่อยสลายไฮโดรเจนยังคงมีอยู่ในปริมาณที่สูง แต่จนถึงบัดนี้ก็ยังไม่มีข้อสรุปที่แน่ชัดว่าแบกทีเรียชนิดใดจะเป็นฝ่ายชนะในการแย่งใช้อะซิเตต เนื่องจากสภาวะแวดล้อมในระบบ เช่น อุณหภูมิ, ความเข้มข้นของอะซิเตต, ซัลเฟต, ซัลไฟด์ และพีเอช ฯ มีบทบาทที่สำคัญมาก และถ้าเชื้อที่นำมาใช้ชินกับน้ำเสียที่ไม่มีหรือมีความเข้มข้นของซัลเฟตต่ำ ก็จำเป็นต้องใช้เวลานานกว่าที่แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะเอาชนะแบกทีเรียสร้างมีเทนได้ การจะดูว่าแบกทีเรียประเภทใดจะกลายเป็นกลุ่มที่โดดเด่นในระบบจำต้องพิจารณาปัจจัยต่าง ๆ ที่ได้กล่าวมาแล้วก่อนหน้านี้อย่างละเอียดทั้งหมด

2.6 ความเป็นพิษเนื่องจากสารประกอบซัลเฟอร์ที่ถูกออกซิไดส์ระหว่างการบำบัดน้ำเสียด้วยกระบวนการไร้ออกซิเจน

2.6.1 การยับยั้งการทำงานของแบกทีเรียเนื่องจากซัลไฟด์

ซัลไฟด์เป็นสารประกอบที่เป็นพิษสำหรับสิ่งมีชีวิตและแบกทีเรียหลายชนิด ซึ่งก็รวมถึงแบกทีเรียกลุ่มที่ไม่ใช้ออกซิเจนด้วย เป็นที่เชื่อกันว่าไฮโดรเจนซัลไฟด์ละลายน้ำที่ไม่แตกตัวเป็นสาเหตุที่ทำให้แบกทีเรียถูกยับยั้งการทำงาน Tursman&Cork (1989 อ้างถึงใน McCartney และ

Oleszkiewicz, 1993: 655) อธิบายว่า เซลล์ของสิ่งมีชีวิตมีระบบขนส่งอิออนโดยเฉพาะ ทำให้ซัลไฟด์อิออนใด ๆ ไม่สามารถเข้าออกเซลล์ได้อย่างอิสระผ่านเซลล์เมมเบรน แต่ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์มีประจุเป็นกลางจะถูกผลักดันด้วยแรงดันออสโมติก ทำให้สามารถเข้าสู่เซลล์ได้ง่ายกว่า จึงเป็นพิษมากกว่าซัลไฟด์ในรูปอิออน แต่ในกรณีที่ความเข้มข้นของซัลไฟด์อิออนสูง อิออนของซัลไฟด์ก็เป็นพิษกับเซลล์ได้เช่นกัน เหตุผลที่ซัลไฟด์เป็นพิษต่อแบกทีเรียนั้น Conn (1987 อ้างถึงใน McCartneyและ Oleszkiewicz, 1993: 657) อธิบายว่า เมื่อไฮโดรเจนซัลไฟด์ผ่านเซลล์เมมเบรนเข้าสู่ไซโตปลาสซึมได้ เอนไซม์ภายในเซลล์จะถูกดีเนเจอร์ (denature) โดยการสร้าง sulfide และ disulfide cross-links ระหว่างลูกโซ่โพลีเปปไทด์ รวมทั้งยังอาจเข้าไปรบกวนการทำงานของโคเอนไซม์เอและเอ็ม ทำให้โคเอนไซม์ที่สำคัญต่อการใช้สารอาหารไม่ทำงาน แต่กลไกการยับยั้งที่แท้จริงยังไม่เป็นที่แน่ชัด

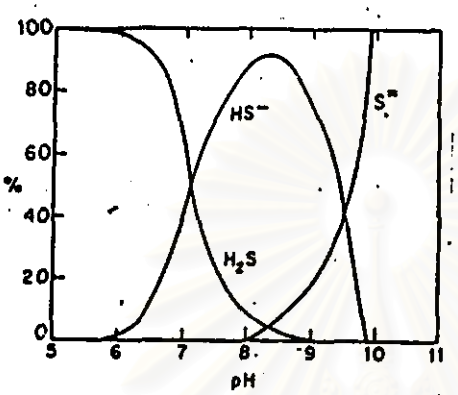
การศึกษาส่วนใหญ่เกี่ยวกับความเป็นพิษเนื่องจากซัลไฟด์เกี่ยวข้องกับการยับยั้งการผลิตมีเทนจากอะซิเตต มีเพียงส่วนน้อยที่สนใจเกี่ยวกับการยับยั้งการผลิตอะซิเตตและการยับยั้งการทำงานของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต โดยในช่วงทศวรรษที่ 50 นักวิจัยจำนวนมากได้ศึกษาถึงการยับยั้งการผลิตมีเทนแล้วพบว่าเนื่องจากซัลไฟด์ เช่น Kroiss และ Plahl Wabnegg (1983 อ้างถึง Visser, 1994: 14) พบว่าไฮโดรเจนซัลไฟด์มีผลกระทบต่อการผลิตมีเทนอย่างรุนแรง การยับยั้งการผลิตมีเทนที่ 50 เปอร์เซ็นต์เกิดขึ้นที่ความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์ 50 มก./ล. H_2S-S Karhadkar และคณะ (1987 อ้างถึงใน Visser, 1994: 14) พบว่าผลกระทบจากซัลไฟด์รุนแรงน้อยกว่า โดยพบว่าความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่ทำให้เกิดการยับยั้งการผลิตมีเทนที่ 50 เปอร์เซ็นต์ เกิดขึ้นที่ 130 มก./ล. ซึ่งในทั้งสองการทดลองใช้สลัดจ์แขวนลอยในการศึกษา อย่างไรก็ตามการศึกษาเหล่านี้ไม่ได้พิจารณาผลเนื่องจากพีเอชและการผลิตก๊าซ ทำให้แปรผลได้ไม่ชัดเจน แต่งานวิจัยที่ทำขึ้นต่อมาได้ให้ความสนใจในพารามิเตอร์เหล่านี้มากขึ้น

พีเอชในระบบเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดในการกำหนดปริมาณไฮโดรเจนซัลไฟด์ละลายน้ำ โดยเฉพาะในช่วงพีเอช 6 ถึง 8 ความเข้มข้นของซัลไฟด์จะขึ้นอยู่กับพีเอชเป็นอย่างมาก ซึ่งในถังปฏิกรณ์ไร้ออกซิเจนก็ทำงานในช่วงพีเอช 6 ถึง 8 ความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์ถูกกำหนดโดยสมการต่อไปนี้

$$H_2S_{(gas)} \leftrightarrow H_2S_{(aq)}$$

$$H_2S_{(aq)} \leftrightarrow HS^- + H^+$$

ค่า pK_s สำหรับสมการการแตกตัวมีค่าเท่ากับ 7.01 ที่ 18 °C (Weast, 1977 อ้างถึงใน Visser, 1994: 14) ค่าสัมประสิทธิ์การแตกตัวจากก๊าซเป็นของเหลวมีค่าประมาณ 2.27 ที่ 30 °C (Wilhelm และคณะ, 1977 อ้างถึงใน Visser, 1994: 14) ผลของพีเอชที่มีผลต่อปริมาณซัลไฟด์ในรูปต่าง ๆ แสดงดังรูปที่ 2.26



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

รูปที่ 2.26 ผลของพีเอชต่อสมดุลย์ H_2S, HS^- และ S^{2-} ในสารละลายไฮโดรเจนซัลไฟด์ 32 มก./ล. (Sawyer และ McCarty, 1967)

McCarty และ Oleskiewicz (1990) ได้ศึกษาถึงผลของซัลไฟด์ที่มีต่อการใช้แลกเตตและอะซิเตตของแบกทีเรียในระบบไร้ออกซิเจน ทำการทดลองโดยนำเชื้อจากถังเลี้ยงเชื้อที่ป้อนด้วยอะซิเตตและแลกเตตพร้อมกับโซเดียมซัลเฟตมาเลี้ยงในขวดซีรัมที่ป้อนด้วยอะซิเตต, แลกเตต, ไฮโดรเจนซัลไฟด์และซัลเฟต พบว่าสลัดจ์ที่ชินกับน้ำเสียสังเคราะห์ซึ่งมีแลกเตตและซัลเฟตเป็นส่วนประกอบ พบว่าความเข้มข้นของซัลไฟด์ทั้งหมดที่ต่ำกว่า 1,080 มก./ล. และไฮโดรเจนซัลไฟด์ 320 มก./ล. ไม่ส่งผลต่อการใช้แลกเตต ส่วนการใช้อะซิเตตจะถูกยับยั้งเป็นสัดส่วนโดนตรงกับซัลไฟด์ละลายน้ำที่ไม่แตกตัว แต่ถ้าความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์ต่ำกว่า 80 มก./ล.การยับยั้งการใช้อะซิเตตจะเกิดขึ้นจากซัลไฟด์ทั้งหมดแทน นอกจากนั้นแล้วที่อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตเท่ากับ 3.7 จะพบการสะสมตัวของกรดโพรพิโอเนต ถ้าความเข้มข้นของซัลไฟด์มากกว่า 112 มก./ล. โดยโพรพิโอเนตที่เพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับซัลเฟตรีดักชันที่ลดลง แสดงให้เห็นว่า แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่บริโภคไฮโดรเจนถูกยับยั้ง เป็นผลให้ความดันพาร์เชียลในระบบเพิ่มขึ้น แลกเตตจึงถูกย่อยสลายผ่านทางโพรพิโอเนตแทน ในทางตรงข้าม McCartney และ Oleskiewicz (1993, 665-663) ไม่พบการสะสมของโพรพิโอเนตในสลัดจ์แขวนลอยที่ชินกับน้ำเสียที่มีอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตเท่ากับ 1.6

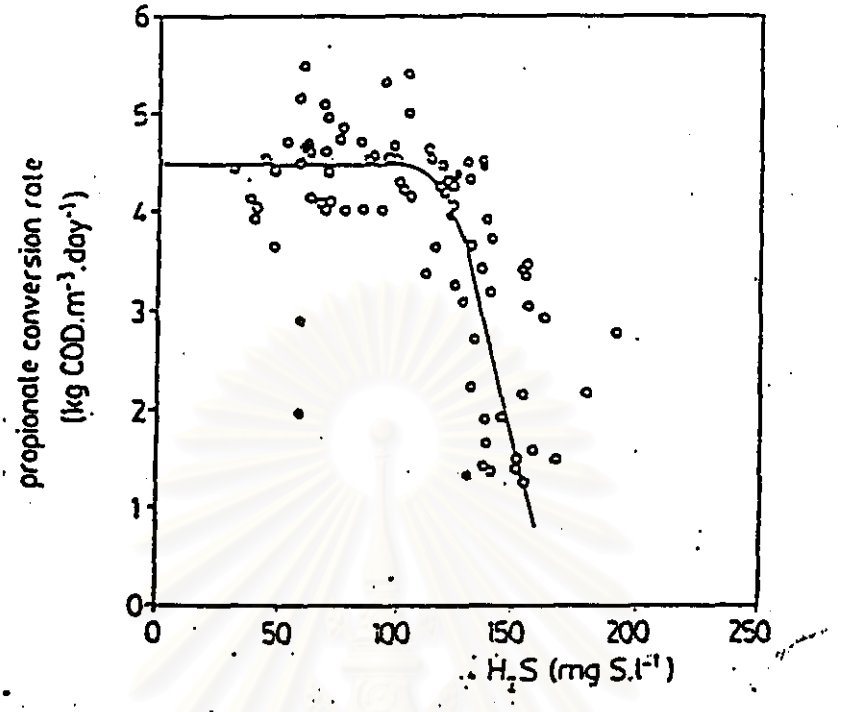
และ 0.8 แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของซัลไฟด์มีผลต่อการทำงานของแบกทีเรียจริง แต่จะเกิดการยับยั้งขึ้น ณ ระดับความเข้มข้นที่เท่าใดขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ

Koster และคณะ (1986) ได้ศึกษาการยับยั้งปฏิกิริยาการผลิตมีเทนของสลัดจ์ที่จับเป็นเม็ดจากปฏิกรณ์ยูเอเอสบีซึ่งใช้อะซิเตตเป็นสารอาหาร ที่ระดับพีเอชต่าง ๆ โดยทำการทดสอบในขวดซีรัมและปิดขวดสนิทซึ่งจะทำให้พีเอชคงที่ และทำให้ซัลไฟด์ไม่สามารถหนีจากระบบได้ พบว่าความเป็นพิษเนื่องจากซัลไฟด์สัมพันธ์กับความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์ละลายน้ำที่ไม่แตกตัว โดยในช่วงพีเอช 6.4 – 7.2 ถูกยับยั้งที่ความเข้มข้น 250 มก./ล.ของซัลเฟอร์ ในช่วงพีเอช 7.8 – 8.0 ถูกยับยั้งที่ความเข้มข้น 90 มก./ล.ของซัลเฟอร์ ซึ่ง Koster ได้แสดงทัศนะว่าลักษณะการเกาะตัวของแบกทีเรียที่เป็นเม็ดจะทำให้ทนต่อความเป็นพิษของซัลไฟด์ได้สูงขึ้น เพราะจะเกิดเกรเดียนท์ของพีเอชในเม็ดสลัดจ์ที่ทำให้พีเอชส่วนในของเม็ดสูงขึ้น

Rinzema และ Lettinga (1988 อ้างถึงใน Visser, 1994: 16) แสดงให้เห็นถึงผลของซัลไฟด์ที่มีต่อการย่อยสลายโพรพิโอเนตในถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีที่เลี้ยงด้วยโพรพิโอเนตและซัลเฟต โดยใช้สลัดจ์ที่ชินกับความเข้มข้นของน้ำเสียต่ำ ที่พีเอช 7.5 ดังแสดงในรูปที่ 2.27 ซึ่งพบว่า ความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่มีค่าเกิน 100 มก./ล. ทำให้การย่อยสลายโพรพิโอเนตเริ่มถูกยับยั้ง และความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์ 140 มก./ล. จะทำให้เกิดการยับยั้งการย่อยสลายโพรพิโอเนตที่ 50 เปอร์เซ็นต์

และด้วยสลัดจ์แบบเดียวกันกับ Rinzema และ Lettinga (1988), Koster และคณะ (1986 อ้างถึงใน Visser, 1994: 16) ประเมินผลของซัลไฟด์ที่มีต่อกระบวนการผลิตมีเทนได้ดังตารางที่ 2.4 และเมื่อเปรียบเทียบการทดลองของ Koster กับ Rinzema และ Lettinga ก็แสดงให้เห็นว่าแบกทีเรียที่ย่อยสลายโพรพิโอเนตถูกยับยั้งด้วยซัลไฟด์มากกว่าแบกทีเรียสร้างมีเทน

พิจารณาถึงตารางที่ 2.4 ซึ่งแสดงให้เห็นถึงสัดส่วนของไฮโดรเจนซัลไฟด์และซัลไฟด์ทั้งหมดที่พีเอชต่าง ๆ ด้วย พบว่า ความสัมพันธ์ระหว่างการยับยั้งการทำงานของแบกทีเรียและความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์ละลายน้ำที่ไม่แตกตัวเป็นไปอย่างแนบแน่นในสลัดจ์แขวนลอย แต่ในทางกลับกัน สำหรับเม็ดสลัดจ์แล้วผลกระทบจากไฮโดรเจนซัลไฟด์จะมากขึ้นเมื่อพีเอชสูงขึ้น แต่ในช่วงที่พีเอชสูงขึ้นนั้นการยับยั้งเนื่องจากซัลไฟด์จะถูกกำหนดโดยความเข้มข้นของซัลไฟด์ทั้งหมดแทน และจากตารางที่ 2.4 ดูเหมือนว่าสลัดจ์แขวนลอยจะถูกยับยั้งด้วยซัลไฟด์มากกว่าสลัดจ์ที่เป็นเม็ด ซึ่งก็เป็นเรื่องปกติที่แบกทีเรียสร้างมีเทนที่เจริญเป็นฟล็อกจะมีความไวต่อซัลไฟด์มากกว่าแบกทีเรีย



รูปที่ 2.27 ปริมาณโพรพิโอเนตที่ถูกกำจัดที่ระดับความเข้มข้นซัลไฟด์ค่าต่าง ๆ ในถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีที่เลี้ยงด้วยโพรพิโอเนตและซัลเฟต

(Rinzema และ Lettinga, 1988b อ้างถึงใน Visser, 1994: 15)

สร้างมีเทนที่เจริญเติบโตเป็นฟิล์มชีวะหรือเป็นเม็ดสลัดจ์ ซึ่งก็เป็นไปตามงานของ Perkin และคณะ (1991 อ้างถึงใน Visser, 1994:15)

Visser (1994: 16) สังเกตเห็นว่าในการทดลองกับสลัดจ์ที่ชินกับน้ำเสียที่มีอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตเป็น 1.3 การย่อยสลายโพรพิโอเนตถูกยับยั้งน้อยกว่าการย่อยสลายอะซิเตต ซึ่งผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นถึงความสำคัญของสภาวะแวดล้อมของสลัดจ์ก่อนที่จะนำมาใช้เป็นอย่างมาก สำหรับสลัดจ์ที่ชินกับน้ำเสียที่มีอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตสูงนั้น การย่อยสลายโพรพิโอเนตจะไวต่อซัลไฟด์ค่อนข้างมาก ซึ่งจากการทดลองของ Oleskiewicz และคณะ (1989 อ้างถึงใน Visser, 1994:16) แสดงให้เห็นถึงความไวต่อซัลไฟด์ที่เพิ่มขึ้นตามลำดับต่อไปนี้ คือ แลกเตต, บิวทิเรต, อะซิเตต และโพรพิโอเนต ส่วนสลัดจ์ที่ชินกับอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตต่ำ การย่อยสลายอะซิเตตดูเหมือนว่าจะเป็นขั้นตอนที่ถูกยับยั้งมากที่สุด

ดังที่ได้กล่าวมาแล้วก่อนหน้านี้ ข้อจำกัดของงานวิจัยส่วนใหญ่ก็คืองานเหล่านั้นมุ่งศึกษาแต่กระบวนการผลิตมีเทน ดังนั้นการทำนายค่าความเข้มข้นของซัลไฟด์สูงสุดที่ยอมให้มีโดยไม่ทำให้เกิดการยับยั้งแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างอะซิเตตจึงยังมีความจำเป็นต้องพิจารณากันต่อไปอีก จนกระทั่งบัดนี้ก็มีข้อมูลอยู่เพียงเล็กน้อยเท่านั้นที่พอจะหาได้เกี่ยวกับการยับยั้งแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเนื่องจากซัลไฟด์

Reiss และคณะ (1992 อ้างถึงใน Visser, 1994: 16) รายงานว่าการเจริญเติบโตของแบกทีเรียสปีชีส์ *Desulfovibrio* ที่เลี้ยงด้วยแลกเตตถูกยับยั้งอย่างสมบูรณ์ที่ความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์ 550 มก./ล. พีเอช 6.2 – 6.6

Okabe และคณะ (1992 อ้างถึงใน Visser, 1994: 16) พบว่าการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Desulfovibrio desulfuricans* ที่ 50 เปอร์เซ็นต์เกิดขึ้นที่ 250 มก./ล. ไฮโดรเจนซัลไฟด์ ที่พีเอช 7

McCartney และ Oleszkiewicz (1991 อ้างถึงใน Visser, 1994: 16) รายงานว่าสลัดจ์ที่ชินกับอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตเท่ากับ 3.6 ในระหว่างการย่อยสลายแลกเตต แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะไวต่อซัลไฟด์มากกว่าแบกทีเรียสร้างมีเทน และในการทดลองแบบแบทช์เพื่อย่อยสลายแลกเตตที่พีเอช 7.2 – 7.6 การยับยั้งการผลิตมีเทนและการรีดิวซ์ซัลเฟตที่ 50 เปอร์เซ็นต์เกิดขึ้นที่ความเข้มข้นของซัลไฟด์เท่ากับ 83 และ 240 มก./ล. ตามลำดับ ในทางกลับกัน McCartney และ Oleszkiewicz, 1993 อ้างถึงใน Visser, 1994: 16) รายงานว่า สลัดจ์ที่ชินกับอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตเท่ากับ 1.6 และ 0.8 แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตถูกยับยั้งน้อยกว่าแบกทีเรียสร้างมีเทนมากในระหว่างการย่อยสลายแลกเตต

Reis M.A.M. และคณะ (1992) ศึกษาถึงผลของไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่มีต่อการเจริญเติบโตของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต โดยนำเชื้อจากถังหมักไร้ออกซิเจนที่รับน้ำเสียที่มีความเข้มข้นซัลเฟตและกรดแลกติกสูงมาเพาะเลี้ยง โดยใช้แลกเตตและซัลเฟตเป็นสารอาหาร ช่วงพีเอชที่ทำการศึกษาคือ 5.8 – 7.0 พบว่าอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดเมื่อค่าพีเอชเป็น 6.7 และไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่เกิดจากปฏิกิริยาซัลเฟตรีดักชันมีผลโดยตรงต่อการยับยั้งแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต โดยการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์เมื่อความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์เท่ากับ 547 มก./ล. แต่แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตสามารถฟื้นตัวได้เมื่อไล่ซัลไฟด์ออกจากตัวกลาง

Stucki และคณะ (1992 อ้างถึงใน Visser, 1994: 16) สังเกตเห็นว่าถังปฏิกรณ์แบบ fixed bed ที่สร้างซัลไฟด์เป็นหลัก (sulfidogenic) ใช้ในการบำบัดน้ำเสียผสมระหว่างอะซิเตตกับซัลเฟต จะเกิดการล้มเหลวขึ้นที่ความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์สูงกว่า 50 มก./ล. ซึ่งผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเองก็มีความไวต่อซัลไฟด์มาก

Visser (1994: 16) พบว่าการยับยั้งการย่อยสลายอะซิเตตโดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเนื่องจากซัลไฟด์ไม่ได้เกิดขึ้นรุนแรงมากนัก โดยการยับยั้งการทำงานของแบกทีเรียสร้างมีเทนและแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ 50 เปอร์เซ็นต์เกิดขึ้นที่ 180 และ 175 มก./ล. ไฮโดรเจนซัลไฟด์ ตามลำดับ ที่พีเอช 7.2 ถึง 7.4 ส่วนที่พีเอชสูงขึ้นคือ 8.1 ถึง 8.3 แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะไวต่อซัลไฟด์น้อยกว่าแบกทีเรียสร้างมีเทน

จากงานทั้งหมดที่กล่าวมา พอจะสรุปได้ดังแสดงในตารางที่ 2.17 ซึ่งจะเห็นได้ว่า ความเข้มข้นของซัลไฟด์ที่ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อปบคทีเรียยังคงไม่ชัดเจน ค่าความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์มีค่าแตกต่างกันอย่างมาก ซึ่งระดับความเข้มข้นที่ทำให้เกิดการยับยั้งการทำงานที่ 50 % ที่แตกต่างกันนี้ น่าจะเป็นผลเนื่องมาจากสภาวะแวดล้อมในขณะทำการทดลอง เช่น อุณหภูมิ, พีเอช, รูปแบบของถังปฏิกรณ์ และที่มาของสลัดจ์ที่นำมาใช้ในการทดลองเป็นสำคัญ

ตารางที่ 2.17 ระดับความเข้มข้นของซัลไฟด์ ที่เป็นพิษต่อแบกทีเรีย

รายชื่อผู้วิจัย	ความเข้มข้น	กระบวนการที่ถูกยับยั้ง
Khan and Trottier, 1978*	ไฮโดรเจนซัลไฟด์ > 1.75 mM(56mg/l)	ยับยั้งการเปลี่ยนเซลลูโลสเป็นมีเทน
Kroiss and Wabnegg, 1983*	ไฮโดรเจนซัลไฟด์ > 1.70 mM(55mg/l)	ยับยั้งการเปลี่ยนอะซิเตตเป็นมีเทน
Isa, 1986b	ไฮโดรเจนซัลไฟด์ > 35.3 mM(1,200mg/l)	ยับยั้งการผลิตมีเทน 50 % ในการเปลี่ยนอะซิเตตและเอทานอลเป็นมีเทน
Koster, 1986*	ไฮโดรเจนซัลไฟด์ > 7.4 mM(250mg/l)	ยับยั้งการผลิตมีเทน 50 % ในการเปลี่ยนอะซิเตตเป็นมีเทน
Rinzema and Lettionga, 1986	ไฮโดรเจนซัลไฟด์ > 250 mg/l ของซัลเฟอร์ที่พีเอช 6.4-7.2 และ > 90 mg/l ของซัลเฟอร์ที่พีเอช 7.8 – 8.0	ยับยั้งการผลิตมีเทน 50 % ในการเปลี่ยนอะซิเตตเป็นมีเทน
Karhadkar และคณะ, 1987*	ไฮโดรเจนซัลไฟด์ > 3.13-7.0 mM(100-224 mg/l)	ยับยั้งการผลิตมีเทน 50 %ในการทดลองใช้ synthetic distillery wastewater

ตารางที่ 2.17(ต่อ) ระดับความเข้มข้นของซัลไฟด์ ที่เป็นพิษต่อแบกทีเรีย

รายชื่อผู้วิจัย	ความเข้มข้น	กระบวนการที่ถูกยับยั้ง
Rinzema and Lettinga, 1988*	ไฮโดรเจนซัลไฟด์ > 2.98 mM(100mg/l)	ยับยั้งการผลิตมีเทน 50 % ในการเปลี่ยนอะซิเตตเป็นมีเทนและประสิทธิภาพการกำจัดโพรพิโอเนตลดลง
Hilton and Oleszkiewicz, 1988*	แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตถูกยับยั้งเนื่องจากความเข้มข้นของซัลไฟด์ทั้งหมดมากกว่าความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์ แต่แบกทีเรียสร้างมีเทนถูกยับยั้งเนื่องจากไฮโดรเจนซัลไฟด์มากกว่าซัลไฟด์ทั้งหมด	
McCartney and Oleszkiewicz, 1990	ไฮโดรเจนซัลไฟด์ > 10 mM(320mg/l) หรือ ซัลไฟด์ทั้งหมด > 33 mM (1,060 mg/l)	ยับยั้งการเปลี่ยนแลกเตตเป็นอะซิเตต
Choi and Rim, 1991* (ที่ซีโอดีต่อซัลเฟตระหว่าง 1.7-2.7)	ซัลไฟด์ทั้งหมด > 5.0-6.25 mM(160-200 mg/l)	ยับยั้งแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต 50%
	ซัลไฟด์ทั้งหมด > 3.75-4.31 mM(120-140 mg/l)	ยับยั้งแบกทีเรียผลิตมีเทน 50%
Reis, M.A.M., Lemoa, P.C., Almedia, J.S. and Corrando M.J.T. (1992)	ไฮโดรเจนซัลไฟด์ > 547 mg/l	ยับยั้งการใช้แลกเตตโดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต
McCartney and Oleszkiewicz, 1993	ซัลไฟด์ละลายน้ำไม่แตกตัว > 3.13 mM (100 mg/l)	ยับยั้งการเปลี่ยนแลกเตตเป็นมีเทน 50%
	ซัลไฟด์ละลายน้ำไม่แตกตัว > 5.38 mM (172 mg/l)	ยับยั้งการใช้แลกเตตโดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต 50%
Reiss และคณะ, 1992**	ไฮโดรเจนซัลไฟด์ > 550mg/l	ยับยั้งการใช้แลกเตตโดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตสปีชี่ส์ *Desulfovibrio* อย่างสมบูรณ์
Okabe และคณะ, 1992**	ไฮโดรเจนซัลไฟด์ > 250mg/l	ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Desulfovibrio desulfuricans* ที่ 50%
Stucki และคณะ, 1992**	ไฮโดรเจนซัลไฟด์ > 50mg/l	ระบบที่ป้อนด้วยอะซิเตตและซัลเฟตสร้างซัลไฟด์เกิดการล้มเหลว
Visser, 1994	ไฮโดรเจนซัลไฟด์ > 180mg/l	ยับยั้งการผลิตมีเทน 50 % ในการเปลี่ยนอะซิเตตเป็นมีเทน
	ไฮโดรเจนซัลไฟด์ > 175mg/l	ยับยั้งการใช้อะซิเตตโดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ 50 %

* อ้างโดย McCartney และ Oleskiewicz, 1993

** อ้างโดย Visser, 1994

2.6.2 การยับยั้งเนื่องจากซัลไฟด์

มีการสันนิษฐานว่าซัลไฟด์ทำให้เกิดการยับยั้งการทำงานของแบกทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนอย่างมาก แต่จนถึงบัดนี้ก็มีความรู้เกี่ยวกับความเป็นพิษของซัลไฟด์เพียงเล็กน้อยเท่านั้น ซึ่งในการทดลองแบบแบทช์แสดงให้เห็นว่าซัลไฟด์ที่ถูกเติมเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิด lag phase ในการผลิตมีเทน โดยความยาวของ lag phase จะขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อมของมวลชีวะก่อนหน้านี้

Yang และคณะ (1979 อ้างถึงใน Visser, 1994: 16) สังเกตเห็นว่า lag phase นานถึง 60 ชั่วโมงและ 12 วัน สำหรับความเข้มข้นของซัลไฟด์ 25 และ 75 มก./ล. ตามลำดับ ใน enrichment culture

Eis และคณะ (1983 อ้างถึงใน Visser, 1994: 16) พบว่าไม่มี lag phase หลังจากเติมซัลไฟด์ 100 มก./ล.ให้กับสลัดจ์ที่ถูกปรับให้ชินแล้ว

Maaskant และ Hobma (1981) และ van Bellegem และคณะ (1979) (อ้างถึงใน Visser, 1994: 16) รายงานว่า การยับยั้งการผลิตมีเทนที่ 50 % เกิดขึ้นที่ความเข้มข้นของซัลไฟด์ 150 ถึง 200 มก./ล. อย่างไรก็ตาม Maaskant และ Hobma ก็แสดงให้เห็นว่าการเติมซัลไฟด์ซ้ำ ๆ กันจะช่วยให้การยับยั้งลดลงเนื่องจากการปรับตัวของสลัดจ์ ซึ่งดูเหมือนว่าการปรับตัวของสลัดจ์จะนำไปสู่การพัฒนาตัวเองของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตให้สามารถรีดิวซ์ซัลไฟด์เป็นซัลไฟด์ได้ สำหรับถังปฏิกรณ์ที่มีการป้อนน้ำเสียอย่างต่อเนื่อง การยับยั้งจากซัลไฟด์อาจไม่มีความสำคัญนัก (Rinzema และ Lettinga, 1988a อ้างถึงใน Visser, 1994: 17) เนื่องจากในระบบเหล่านี้ประชากรของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะยังคงอยู่ในระบบและปรับตัวเองให้สามารถกำจัดซัลไฟด์ได้ ดังจะเห็นได้จากถังปฏิกรณ์ไร้ออกซิเจนสามารถบำบัดน้ำเสียที่มีความเข้มข้นของซัลไฟด์ 800 มก./ล. ได้เป็นที่น่าพอใจ (Eis และคณะ, 1983; Ferguson และคณะ, 1983; Sämer, 1989 อ้างถึงใน Visser, 1997: 17)

2.6.3 การยับยั้งเนื่องจากอิออนบวก

แบกทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนสามารถถูกยับยั้งได้ถ้ามีความเข้มข้นของอิออนบวกที่สูงถึงระดับหนึ่ง ซัลเฟตเองก็เช่นกัน แม้ว่าตัวของมันเองจะไม่ได้เป็นพิษโดยตรงแต่ก็ทำให้เกิดการยับยั้งเนื่องจากอิออนบวกได้ แคลเซียมเองก็เป็นอิออนบวกอีกตัวหนึ่งที่ไม่ได้เป็นพิษอย่างรุนแรงโดยตรง แต่การตกผลึกเนื่องจากแคลเซียมซึ่งเกิดขึ้นอย่างทั่วถึงในมวลชีวะอาจทำให้การขนส่งสารอาหารเกิดขึ้นได้อย่างจำกัด (Lettinga และคณะ, 1987 อ้างถึงใน Visser, 1994: 17) ความเข้มข้นของแคลเซียมเพียง 400 มก./ล. ก็อาจทำให้เกิดการตกตะกอนผลึกของแคลเซียมในระดับที่รุนแรงพอที่จะส่งผลต่อมวลชีวะได้ ตะกอนผลึกที่เกิดขึ้นจะสะสมตัวมากขึ้นในถังปฏิกรณ์และในระบบท่อเมื่อเวลาเปลี่ยนไป ทำให้เกิดการสูญเสียมวลชีวะที่ active ไปและเกิดการอุดตันในเส้นท่อ ท้ายที่สุดอาจทำให้เกิดการสูญเสีย activity ของเม็ดสลัดจ์ไปอย่างสิ้นเชิงเนื่องจากการขนส่งสารอาหารถูกขัดขวางโดยชั้นแคลเซียมที่เกิดขึ้น (Visser, 1987; Pereboom, 1984 อ้างถึงใน Visser, 1994: 17) ยิ่งไปกว่านั้นการตกตะกอนผลึกของฟอสเฟตอาจทำให้เกิดการขาดแคลนฟอสเฟตขึ้นได้ด้วย (Callander และ Barford, 1983; Lettinga และคณะ, 1987 อ้างถึงใน Visser, 1994: 17)

โซเดียมเป็นอิออนบวกที่มีผลกระทบต่อกระบวนการไร้ออกซิเจนและเป็นอิออนที่ถูกศึกษาอย่างกว้างขวาง ผลการทดลองจำนวนมากตีพิมพ์เกี่ยวกับผลกระทบเนื่องจากโซเดียมที่มีต่อการสร้างมีเทน อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองเหล่านี้ได้แสดงให้เห็นถึงความขัดแย้งและไม่แน่นอน

ค่าความเข้มข้นของโซเดียมที่ทำให้เกิดการยับยั้งการผลิตมีเทนที่ 50 เปอร์เซ็นต์ มีค่าตั้งแต่ 6 ถึง 40 ก./ล. (de Baere และคณะ, 1984; Kugelmann และ McCarty, 1964; Lettinga และ Vinken, 1984; van den Berg และคณะ, 1976 อ้างถึงใน Visser, 1994: 17) ความแตกต่างนี้เชื่อว่าเป็นเพราะสภาพแวดล้อมของสลัดจ์ก่อนที่จะนำมาใช้ในการทดลอง, ผลกระทบเนื่องจากการเป็นปฏิปักษ์หรือการส่งเสริมกัน (antagonism or synergism) ของแบกทีเรียกลุ่มต่าง ๆ ในมวลชีวะ และวิธีการที่ใช้ในการทดสอบ สลัดจ์ที่ชินกับความเข้มข้นของโซเดียมในระดับที่สูงดูเหมือนว่าจะไวต่อโซเดียมน้อยกว่าสลัดจ์ที่ยังไม่ชิน

Rinzema และคณะ (1988 อ้างถึงใน Visser, 1994: 17) สังเกตเห็นว่าการยับยั้งการทำงานของแบกทีเรียสร้างมีเทนที่ใช้อะซิเตตที่ 10, 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ในเม็ดสลัดจ์เกิดขึ้นที่ความเข้มข้นของโซเดียม 5, 10 และ 14 ก./ล. ตามลำดับ โดยก่อนที่จะนำสลัดจ์มาใช้ได้เลี้ยงให้

สลัดจ์สัมผัสกับโซเดียมเข้มข้น 13.7 มก./ล.อย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 12 สัปดาห์ แสดงให้เห็นว่าสลัดจ์ยังไม่ปรับตัวให้ชินกับโซเดียมนัก

Visser (1994: 17) พบว่า เม็ดสลัดจ์ที่ถูกทำให้ชินกับโซเดียมเข้มข้น 1.5 – 2 และ 5.5 – 6 ก./ล. activity ของเม็ดสลัดจ์ที่ส่วนใหญ่เป็นแบกทีเรียสร้างมีเทนถูกยับยั้งที่ความเข้มข้นของโซเดียมมากกว่า 6 ก./ล. โดยความเข้มข้นที่ทำให้เกิดการยับยั้งการทำงานที่ 50 เปอร์เซ็นต์เกิดขึ้นที่ 7 – 8 ก./ล.

แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่อยู่ในทะเลส่วนใหญ่จำเป็นต้องใช้โซเดียมจำนวนมากในการเจริญเติบโต (Widdel, 1988) ในทางกลับกัน แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในน้ำจืดจะถูกยับยั้งเมื่อมีความเข้มข้นโซเดียมสูง โดย Visser (1994: 17) พบว่าเม็ดสลัดจ์ที่ส่วนใหญ่เป็นแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ชินกับโซเดียมในระดับความเข้มข้น 1.5 - 2 ก./ล. และ 5.5 – 6 ก./ล. activity ของเม็ดสลัดจ์จะถูกยับยั้งที่ความเข้มข้นของโซเดียมมากกว่า 11 ก./ล. แต่จนถึงบัดนี้ ข้อมูลเกี่ยวกับระดับความเข้มข้นของโซเดียมที่มีผลต่อแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตก็ยังคงมีอยู่ค่อนข้างน้อย

2.7 สมดุลมวลของซีโอดีและซัลเฟอร์ในกระบวนการไร้ออกซิเจน เมื่อมีซัลเฟตอยู่ในน้ำเสีย

2.7.1 สมดุลมวลของซีโอดี

ดังที่ได้กล่าวมาในหัวข้อก่อน ๆ แล้วว่า ในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจนที่มีซัลเฟตเข้ามาเกี่ยวข้อง จะมีการแข่งขันกันระหว่างแบกทีเรียสร้างมีเทนกับแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในการใช้สารอาหาร ซึ่งก็คือ อะซิเตตและไฮโดรเจน การวัดว่าแบกทีเรียชนิดใดสามารถใช้สารอาหารได้ในสัดส่วนเท่าใด สามารถวัดได้คร่าว ๆ ด้วยปริมาณซีโอดีที่ถูกใช้ไปโดยแบกทีเรียแต่ละชนิด

ความหมายของค่าซีโอดี คือ ปริมาณออกซิเจนทั้งหมดที่ใช้ในการออกซิไดส์สารอินทรีย์ของน้ำเสียเพื่อให้เกิดคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำเป็นผลสุดท้ายของปฏิกิริยา ดังสมการ

$$CHO + Cr_2O_7^{2-} \rightarrow CO_2 + H_2O + Cr^{3+} + Cr_2O_7^{2-}$$

(เกินพอ) (เหลือ)

ส่วนสารจำพวกกรดอะมิโนจะถูกเปลี่ยนเป็นแอมโมเนียไนโตรเจนเป็นผลสุดท้ายของปฏิกิริยาแทน เงื่อนไขสำคัญในการวิเคราะห์ซีโอดี คือ ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นต้องอาศัยสารออกซิไดส์อย่างแรง และต้องเกิดขึ้นภายใต้สภาวะที่เป็นกรดเข้มข้นและมีอุณหภูมิสูง

จากหลักการของซีโอดีที่ใช้สารออกซิไดส์อย่างแรงย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ ดังนั้นค่าซีโอดีจึงเป็นพารามิเตอร์ที่ใช้แสดงค่าความเข้มข้นของสารอินทรีย์ในน้ำได้ แต่การใช้สารออกซิไดส์ที่มีอำนาจในการออกซิไดส์สูง เช่น ไดโครเมต ทำให้สารให้อิเล็กตรอนอื่นในระบบที่ไม่จัดเป็นสารอินทรีย์ให้อิเล็กตรอนกับไดโครเมต และเปลี่ยนไปอยู่ในอีกรูปหนึ่ง เช่น ซัลไฟด์ไอออนถูกออกซิไดส์โดยไดโครเมตเป็นซัลเฟต เป็นต้น ดังนั้นการวัดซีโอดีจึงไม่ได้เป็นการวัดสารอินทรีย์ในน้ำแต่เพียงอย่างเดียว แต่เป็นการวัดปริมาณสารให้อิเล็กตรอนในน้ำทั้งหมด ดังนั้นต้องพยายามกำจัดสารให้อิเล็กตรอนอื่น ๆ ในน้ำก่อนการวัดค่าซีโอดี เช่น การปรับพีเอชของน้ำเสียให้ต่ำลงเพื่อไล่ไฮโดรเจนซัลไฟด์ในน้ำเสีย เป็นต้น จะทำให้ค่าซีโอดีที่วัดได้เป็นตัวแทนของสารอินทรีย์ในน้ำเสียได้ดีขึ้น

การพิจารณาสมดุลมวลของซีโอดีก่อนและหลังกระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจนสามารถพิจารณาได้ดังนี้

$$COD_{in} = \text{soluble } COD_{eff} + CH_{4\,gas}\ COD + COD_{acc} \quad \text{(2.1)}$$

เมื่อ

COD_{in} = ซีโอดีทั้งหมดก่อนเข้าระบบ

soluble COD_{eff} = ซีโอดีละลายหลังผ่านระบบ

$CH_{4\,gas}$ COD = ซีโอดีในรูปก๊าซมีเทน

COD_{acc} = ซีโอดีที่ถูกสะสมอยู่ในเซลล์จุลชีพ

โดย

$$\text{soluble } COD_{eff} = \Delta SO_4^{2-}\text{-COD} + \text{soluble } CH_4\text{-COD} + \text{soluble organic COD} \quad \text{(2.2)}$$

เมื่อ

ΔSO_4^{2-} COD = ซีโอดีที่ถูกใช้สำหรับรีดิวซ์ซัลเฟตให้เปลี่ยนเป็นซัลไฟด์

soluble CH_4-COD = ซีโอดีที่เกิดจากมีเทนละลายน้ำ

soluble organic COD = ซีโอดีในรูปกรดอินทรีย์ระเหยและสารอินทรีย์อื่นที่ไม่ถูกย่อยสลายด้วยกระบวนการไร้ออกซิเจน

ค่า COD_{in} และ soluble organic COD เป็นค่าที่วัดได้โดยตรงจากการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ ส่วนค่า $CH_{4\ gas}$- COD, soluble CH_4-COD และ ΔSO_4^{2-}—COD หาได้ทางอ้อมด้วยการคำนวณจาก stoichiometric ดังนี้ คือ

$$SO_4^{2-} + 8H^+ + 8e^- \rightarrow S^{2-} + 4H_2O \quad (2.3)$$

96 ก. 8 โมล 32 ก.

$$2H^+ + 1/2O_2 + 2e^- \rightarrow H_2O \quad (2.4)$$

16 ก. 2 โมล

จากสมการที่ 2.3 ซัลเฟตที่ลดลง 96 ก. เกิดจากการรับอิเล็กตรอน 8 โมล กลายเป็นซัลเฟอร์ 32 ก. และจากสมการที่ 2.4 อิเล็กตรอน 2 โมล คิดเทียบเป็นซีโอดีได้ 16 ก. นั่นคือ ซัลไฟด์ที่เกิดขึ้น 32 ก. มาจากซัลเฟตที่ลดลง 96 ก. และมีค่าเทียบเท่ากับซีโอดี 64 ก. เพราะฉะนั้น การหาค่า ΔSO_4^{2-}-COD ก็คำนวณได้จากซัลเฟตที่ลดลง โดยซัลเฟตที่ลดลง 3 มก. เทียบเท่ากับ ซีโอดี 2 มก.

ส่วน CH_4-COD (ทั้ง $CH_{4\ gas}$- COD และ soluble CH_4-COD) คำนวณได้จากสมการที่ 2.5

$$CH_4 + 2O_2 \rightarrow CO_2 + 2H_2O \quad (2.5)$$

16 ก. 64 ก. 44 ก.

จากสมการที่ 2.5 จะเห็นได้ว่า มีเทน 16 ก.ทำปฏิกิริยาพอดีกับออกซิเจน 64 มก. เกิดเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ แสดงว่า มีเทน 1 มก. มีค่าเทียบเท่ากับซีโอดี 4 มก. โดย $CH_{4\ gas}$ – COD หาได้จากการวัดปริมาตรก๊าซทั้งหมดและการวัดร้อยละของก๊าซมีเทนในปริมาตรก๊าซทั้งหมด แล้วจึงเปลี่ยนปริมาตรก๊าซที่คำนวณได้เป็นจำนวนโมลของก๊าซมีเทนด้วยกฎของก๊าซ ส่วน soluble CH_4-COD คำนวณโดยใช้กฎของเฮนรี

ส่วนซีโอดีที่ถูกเปลี่ยนเป็นเซลล์จุลชีพเป็นซีโอดีส่วนที่ไม่สามารถวัดได้ แต่ถ้าเราตั้งสมมติฐานว่า 'ซีโอดีที่ถูกย่อยสลายและไม่สามารถตรวจสอบได้ คือ ซีโอดีที่ถูกสะสมอยู่ในเซลล์จุลชีพ' เมื่อพิจารณาสมการ 2.1 และ 2.2 จะได้

$$COD_{acc} = COD_{in} - \Delta SO_4^{2-}\text{-COD} - \text{soluble organic COD} - \text{soluble } CH_4\text{-COD} - CH_{4\,gas}\ COD \quad (2.6)$$

สมการ 2.6 มีความสำคัญต่อการตรวจสอบความน่าเชื่อถือของข้อมูลทั้งหมด ซึ่งการตรวจสอบความน่าเชื่อถือของข้อมูลในแต่ละวันทำได้โดยการคำนวณสมดุลมวลของระบบ หามวลซีโอดีเข้าระบบและมวลซีโอดีที่ออกจากระบบ ความน่าเชื่อถือของข้อมูลจะดูจากร้อยละของมวลซีโอดีที่ออกจากระบบต่อร้อยละของมวลซีโอดีที่เข้าระบบ เรียกว่า % COD recovery ยิ่ง % recovery ใกล้เคียงกับ 100 % ก็แสดงว่าข้อมูลมีความน่าเชื่อถือมาก แต่จากสมการที่ 2.6 ค่าซีโอดีที่ไม่สามารถตรวจสอบได้คือซีโอดีที่ถูกเปลี่ยนสะสมอยู่ในเซลล์จุลชีพ ดังนั้นค่า % recovery จะมีค่าเป็น 100 % เสมอ เพราะค่าซีโอดีที่หายไปจะถูกสันนิษฐานว่าถูกสะสมอยู่ในเซลล์ทั้งหมด แต่ในความเป็นจริง โอกาสที่จะวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่าง ๆ ได้ถูกต้องทั้งหมด 100 % เป็นไปได้ยาก ถ้าพิจารณาโดยถือว่าซีโอดีที่หายไปจากการเปลี่ยนเป็นเซลล์จุลชีพมีค่าน้อย เนื่องจากเป็นระบบไร้ออกซิเจนที่มีเวลากักเซลล์ยาวนาน ค่า *Yield observed* มีค่าต่ำมาก สามารถตัดทิ้งได้โดยไม่ต้องนำมาพิจารณา ประโยชน์ที่ได้ก็คือสามารถตรวจสอบความน่าเชื่อถือในการทำงานทั้งหมดได้จากสมดุลมวลของซีโอดีที่ถูกสร้างขึ้นมาและจากพารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้อง ดังนั้น % COD recovery สามารถหาได้จากสมการ 2.7

$$\%\ COD\ recovery = \frac{\Delta SO_4^{2-}\text{-COD} + \text{soluble organic COD} + \text{soluble } CH_4\text{-COD} + CH_{4\,gas}\ COD}{COD_{in}} \quad (2.7)$$

นอกจากนั้น จากสมดุลมวลของซีโอดีที่สร้างขึ้นยังทำให้หาสัดส่วนซีโอดีที่ถูกใช้โดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทนได้ โดยเรียกว่า เปอร์เซ็นต์การไหลของอิเล็กตรอน ซึ่งหาได้จากสมการ 2.8 และ 2.9

$$\%\ \text{electron flow to MPB} = (CH_4\text{-COD})/(CH_4\text{-COD}+\Delta SO_4^{2-}\text{-COD}) \quad (2.8)$$

$$\%\ \text{electron flow to SRB} = (\Delta SO_4^{2-}\text{-COD})/(CH_4\text{-COD}+\Delta SO_4^{2-}\text{-COD}) \quad (2.9)$$

จากเปอร์เซ็นต์การไหลของอิเล็กตรอน เราสามารถเปรียบเทียบการแข่งขันระหว่างแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทนได้ โดยแบกทีเรียชนิดใดที่มีเปอร์เซ็นต์การไหลของอิเล็กตรอนมากกว่าจะเป็นแบกทีเรียที่มีความโดดเด่น (predominate) มากกว่าในระบบนั้น ๆ

2.7.2 สมดุลมวลของซัลเฟอร์

เมื่อแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตใช้ซัลเฟตเป็นตัวรับอิเล็กตรอน ซัลเฟตจะถูกรีดิวซ์และเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของซัลไฟด์ โดยซัลไฟด์ที่เกิดขึ้นมีอยู่หลายรูปแบบ ได้แก่ ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ในวัฏภาคก๊าซ, ไฮโดรเจนซัลไฟด์ละลายน้ำที่ไม่แตกตัว, HS^- และ S^{2-} ในวัฏภาคของเหลว รวมถึงซัลไฟด์ที่ตกตะกอนผลึกกับโลหะหนักเป็นตะกอนผลึกของโลหะซัลไฟด์ โดยสภาวะสมดุลย์ระหว่างก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์และไฮโดรเจนซัลไฟด์ละลายน้ำที่ไม่แตกตัวสามารถอธิบายได้โดยใช้กฎของเฮนรี ส่วนสัดส่วนระหว่างไฮโดรเจนซัลไฟด์ละลายน้ำที่ไม่แตกตัว, HS^- และ S^{2-} สามารถดูได้จากพีเอชของระบบ

สมดุลมวลของซัลเฟอร์ในระบบหาได้จาก

$$SO_4^{2-}{}_{in} = SO_4^{2-}{}_{out} + S^{2-} + HS^- + H_2S_{(aq)} + H_2S_g \quad \text{(2.10)}$$

เมื่อ

$SO_4^{2-}{}_{in}$ = ซัลเฟอร์ในรูปซัลเฟตที่อยู่ในน้ำเข้า

$SO_4^{2-}{}_{out}$ = ซัลเฟอร์ในรูปซัลเฟตที่อยู่ในน้ำออก

S^{2-} = ซัลเฟอร์ในรูปซัลไฟด์ไอออน

HS^- = ซัลเฟอร์ในรูปไฮโดรเจนซัลไฟด์ละลายน้ำที่แตกตัว

$H_2S_{(aq)}$ = ซัลเฟอร์ในรูปซัลไฟด์ละลายน้ำที่ไม่แตกตัว

H_2S_g = ซัลเฟอร์ในรูปไฮโดรเจนซัลไฟด์ในสถานะก๊าซ

และ

$$\%\ \text{sulfur recovery} = (SO_4^{2-}{}_{out} + S^{2-} + HS^- + H_2S_{(aq)} + H_2S_g)/\ SO_4^{2-}{}_{in} \quad \text{(2.11)}$$

2.8 การควบคุมระดับการเกิดซัลเฟตรีดักชันด้วยการเติมซัลเฟต

การเกิดซัลเฟตรีดักชันในกระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจนเกิดขึ้นในน้ำเสียที่มีซัล-เฟตอยู่ด้วย สารอินทรีย์ส่วนหนึ่งถูกกลุ่มแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตใช้เป็นแหล่งอาหารและพลังงานโดย การใช้สารอินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำเสียเป็นตัวให้อิเล็กตรอนและใช้ซัลเฟตเป็นตัวรับอิเล็กตรอนได้ผลิต-ภัณฑ์เป็นซัลไฟด์ ปัจจัยที่ส่งผลต่อระดับการเกิดซัลเฟตรีดักชันก็คือปัจจัยที่ส่งผลต่อแบกทีเรียรีดิวซ์ ซัลเฟตในระบบ เพราะการทำงานของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดที่ส่งผลโดยตรง *ต่อระดับการเกิดซัลเฟตรีดักชัน การวัดระดับการเกิดซัลเฟตรีดักชันสามารถวัดได้จากซัลเฟตที่ลดลง* เพราะการลดลงของซัลเฟตในระบบเกิดขึ้นได้จากกระบวนการซัลเฟตรีดักชันเพียงสาเหตุเดียว

ในกระบวนการไร้ออกซิเจน แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตต้องแข่งขันกับแบกทีเรียกลุ่มอื่นในระบบ เพื่อแย่งใช้สารอาหาร และยังต้องแข่งขันกันเองเพื่อแย่งใช้ซัลเฟตในกรณีที่มีซัลเฟตอยู่จำกัด ถ้า แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีสัดส่วนในการดึงสารอาหารมาใช้ได้มาก *ระดับการเกิดซัลเฟตรีดักชันก็จะ* เกิดขึ้นสูง แต่การดึงสารอาหารมาใช้ได้มากหรือน้อยเพียงใดจะขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมและปัจจัย หลายประการ ปัจจัยประการหนึ่งที่สำคัญมากก็คือความเข้มข้นของสารอาหาร แบกทีเรียรีดิวซ์ ซัลเฟตต้องการตัวให้และรับอิเล็กตรอนซึ่งก็คือซีโอดีและซัลเฟต ถ้าในสภาวะที่มีซัลเฟตเหลือเฟือ ซีโอดีจะเป็นตัวจำกัดระดับการเกิดซัลเฟตรีดักชัน ในทางตรงข้ามถ้าในระบบมีซีโอดีเหลือเฟือ ซัลเฟตก็จะกลายเป็นตัวจำกัดการเจริญเติบโตของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตแทน และจะเป็นตัวแปร สำคัญในการกำหนดระดับการเกิดซัลเฟตรีดักชัน เพราะฉะนั้นหากต้องการควบคุมระดับการเกิด ซัลเฟตรีดักชันก็จำเป็นต้องศึกษาถึงอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตที่มีผลต่อระดับการเกิดซัลเฟตรีดักชัน

งานวิจัยที่เกี่ยวกับอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตที่มีผลต่อการเกิดซัลเฟตรีดักชัน ได้แก่ Isa และ คณะ (1986) , Callado และ Foresti (1992), Mizuno และคณะ (1994) และ Harada และคณะ (1994) ซึ่งนักวิจัยแต่ละคนต่างก็ใช้ถังปฏิกรณ์คนละรูปแบบกัน โดย Isa ใช้ถังกรองไร้ออกซิเจน, Mizuno ใช้ถังปฏิกรณ์ chemostat ส่วน Harada ใช้ถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบี

- Isa และคณะ (1986b)

จากการศึกษาของ Isa พบว่าเปอร์เซ็นต์การไหลของอิเล็กตรอนจะไหลไปทางแบกที-เรียรีดิวซ์ซัลเฟตมากขึ้น เมื่ออัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตลดลง ดังแสดงในตารางที่ 2.18

ตารางที่ 2.18 เปอร์เซ็นต์การไหลของอิเล็กตรอนของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทนในถังปฏิกรณ์ไร้ออกซิเจนที่มีอัตราการบำบัดสูง (ดัดแปลงจาก Isa, 1986b)

Medium	Sulfate-S added		%electron flow	
	g/l	COD:Sulfate	SRB	MPB
อะซิเตต	0.1	16.7	2.7±0.3	97.3±0.3
	0.2	8.33	3.6±0.9	96.4±0.9
	0.3	5.55	5.9±0.3	94.1±0.3
	0.4	4.16	7.1±0.4	92.9±0.4
	0.5	3.33	6.8±0.8	93.2±0.8
	5.0	0.33	6.8±1.9	93.2±1.93
	10.0	0.167	34.3±3.7	65.7±3.7
อะซิเตต +	0.1	16.7	3.4±0.2	96.6±0.2
เอทานอล	0.2	8.33	6.7±0.2	93.3±0.2
	0.3	5.55	8.8±0.7	91.2±0.7
	0.4	4.16	8.3±0.5	91.7±0.5
	0.5	3.33	11.3±0.8	88.7±0.8
	5.0	0.33	18.5±0.8	81.5±0.8
	10.0	0.167	33.4±0.8	66.6±0.8

ตารางที่ 2.18 แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตที่มีต่อการทำงานของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตอย่างแนบแน่น โดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะแย่งใช้สารอาหารได้มากขึ้นเมื่ออัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตมีค่าลดลง

- Callado N.H. และ Foresti E. (1992)

ศึกษาถึงผลของความเข้มข้นของซัลเฟตที่เพิ่มขึ้นต่อการทำงานของถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบี ซึ่งถังปฏิกรณ์มีเวลากักเท่ากับ 15.6 ชั่วโมง น้ำเสียเป็นน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นหลัก และมีอะซิเตตและเมทานอลอยู่ด้วย คิดเป็นซีโอดีประมาณ 2,000 มก./ล. ทดลองเพิ่มความเข้มข้นซัลเฟตจาก 25 มก./ล. เป็น 50, 100, 150, 200, 300, 400, 500, 750, 1,000, 1,250, 1,500, 2,000, 3,000, 4,000, 5,000, 7,500 และ 10,000 มก./ล. คิดเป็นอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตตั้งแต่ 8.0 ถึง 0.2 สลัดจ์ที่ใช้ในการทดลองมีลักษณะเป็นเม็ดและถูกใช้ในการทดลองหาระดับความเป็นพิษของซัลไฟด์มาก่อน ผลการทดลองพบว่าการเพิ่มความเข้มข้นซัลเฟตในตอนแรก (200 มก./ล. หรือซีโอดีต่อซัลเฟต 10) ทำให้ประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีเพิ่มขึ้น แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้น

ซัลเฟตจาก 500 มก./ล. จนถึง 10,000 มก./ล. (ซีโอดีต่อซัลเฟต 4 ถึง 0.2) ประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีลดลงจาก 95 % เป็น 82 % นอกจากนั้นการเพิ่มขึ้นของซัลเฟตยังทำให้สัดส่วนของก๊าซมีเทนลดลงจาก 72% เหลือ 60% ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้นจาก 27% เป็น 34% ในขณะที่ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์เพิ่มขึ้นจาก 1% เป็น 6% และพบว่าสัดส่วนการใช้ซีโอดีของแบกทีเรียสร้างมีเทนมีค่าลดลงเมื่ออัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตลดลง

- Mizuno และคณะ (1994)

การทดลองของ Mizuno ก็ได้ผลสอดคล้องกับการทดลองของ Isa โดยพบว่าซีโอดีในระบบถูกใช้ในการรีดิวซ์ซัลเฟตทำให้เกิดซัลไฟด์มากขึ้น เมื่ออัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตลดลง กล่าวคือ ที่อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตเท่ากับ 50 ซีโอดีมากกว่า 82 เปอร์เซ็นต์ถูกเปลี่ยนเป็นมีเทน และถูกเปลี่ยนเป็นซัลไฟด์น้อยกว่า 3 เปอร์เซ็นต์ แต่ถ้าอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตเปลี่ยนเป็น 0.5 ซีโอดีที่เปลี่ยนเป็นมีเทนจะลดลงเหลือเพียง 13 เปอร์เซ็นต์ แต่เปลี่ยนเป็นซัลไฟด์เพิ่มขึ้นเป็นมากกว่า 27 เปอร์เซ็นต์ รายละเอียดแสดงดังตารางที่ 2.19

ตารางที่ 2.19 สมดุลย์มวลของซีโอดีที่สภาวะคงตัวจากงานของ Mizuno (1994)

COD/SO_4^{2-}	SRT	Inf.	Effluent COD					%
	(วัน)	COD	CH_4	MLVSS	Sulfide	H_2S	VFA	revocery
50	20	100	85.7	7.4	0.2	0.01	1.8	95.1
	10	100	82.3	5.0	1.5	1.2	0	90.0
	5	100	87.9	5.0	0.1	0.3	4.1	97.4
5	20	100	82.6	8.8	3.5	1.1	1.4	97.4
	10	100	79.0	11.4	5.1	1.2	1.2	97.9
	5	100	71.1	10.1	7.9	4.4	2.5	96.0
2	20	100	72.6	8.1	7.5	1.5	1.8	91.5
	10	100	65.9	10.1	7.9	5.7	7.4	97.0
	5	100	57.1	11.3	7.9	7.5	4.4	88.2
1	20	100	51.8	13.5	9.2	1.6	96.7	85.8
	10	100	50.9	11.6	14.5	1.4	5.4	83.8
	5	100	57.2	21.3	9.8	1.9	2.6	92.8
0.5	20	100	15.1	26.1	27.4	2.6	2.8	74.0
	10	100	18.9	28.5	22.6	0.2	4.2	74.4
	5	100	13.4	51.3	13.0	0.7	1.1	79.5

- Harada และคณะ (1994)

งานวิจัยของ Harada ช่วยตอกย้ำถึงความสำคัญของอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตที่มีต่อระดับการเกิดซัลเฟตรีดักชันมากยิ่งขึ้น โดย Harada ทำการทดลองโดยใช้ถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีที่ป้อนด้วยน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตต่างกัน ที่อัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ต่างกัน ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 2.20

ตารางที่ 2.20 เปอร์เซ็นต์การไหลของอิเล็กตรอนที่ถูกใช้โดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทนในถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบี (ดัดแปลงจากงานของ Harada, 1994)

$COD:SO_4^{2-}$	Loading Rate	% electron flow	
		SRB	MPB
16.67	1.0	5.8	94.2
	1.5	5.4	94.6
	2.0	5.0	95.0
	2.5	5.3	94.7
	3.0	4.8	95.3
3.33	1.0	22.8	77.2
	1.5	30.4	69.9
	2.0	26.9	73.1
	2.5	34.0	66.0
	3.0	26.3	73.7
0.833	1.0	38.9	61.1
	1.5	44.8	55.2
	2.0	59.6	40.4
	2.5	60.4	39.6
	3.0	74.9	25.1

จากตารางที่ 2.20 จะเห็นได้อย่างชัดเจนถึงความสามารถในการแย่งใช้สารอาหารที่เพิ่มขึ้นของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต เมื่อค่าอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตลดลง

งานวิจัยที่กล่าวถึงก่อนหน้านี้ต่างก็แสดงให้เห็นถึงความสำคัญของอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตที่มีต่อแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต โดยสัดส่วนการใช้ซีโอดีของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตลดลง ดังนั้นในสภาวะหนึ่งถ้าควบคุมให้ปัจจัยอื่นที่มีผลต่อระบบไม่

เปลี่ยนแปลงแล้ว ระดับการเกิดซัลเฟตรีดักชันจะเกิดขึ้นได้สูงหรือต่ำเพียงใดจะขึ้นอยู่กับอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟต

2.9 การศึกษาที่ผ่านมา

2.9.1 ความเข้มข้นซัลเฟตและชนิดของสารอาหารที่มีผลต่อระบบบำบัดไร้ออกซิเจน

- Smul และ Verstraete (1999)

ศึกษาผลของแคลเซียมอิออน ชนิดของสารอาหารและความเร็วไหลขึ้นที่มีผลต่อการแข่งขันระหว่างแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทน งานวิจัยนี้ใช้ถังปฏิกรณ์อีจีเอสบี (EGSB-Expanded Granular Sludge Blanket; คล้ายกับยูเอเอสบี แต่ทำงานที่ความเร็วไหลขึ้นสูงกว่า) รูปทรงกระบอกขนาด 1.2 ลิตร 2 ถัง ถังแรกป้อนด้วยน้ำที่ไม่มีแร่ธาตุ 90 % ร่วมกับน้ำประปา 10 % (น้ำประปามีแคลเซียมอิออน 125 มก./ล.) ส่วนอีกถังหนึ่งใช้น้ำประปา ความเร็วไหลขึ้น 3.5 – 4.5 ม./ชม. คิดเป็นเวลากัก 5.5 ชม. พีเอช 8.0 – 8.5 เติมซัลเฟตในอัตรา 19.5 กรัม/ล.-วัน เติมอะซิเตตเป็นแหล่งคาร์บอนในอัตรา 6 ก.ซีโอดี/ก.ซัลเฟต เมื่อระบบเข้าสู่ภาวะคงตัวก็เริ่มการทดลองที่ 2 โดยการสลับน้ำเข้าของแต่ละถัง และเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ 2 เปลี่ยนชนิดสารอาหารเป็นฟอร์เมต เติมสาร 2-โบรโม-อีเทน ซัลโฟเนตยับยั้งการทำงานของแบกทีเรียสร้างมีเทนที่บริโภคไฮโดรเจน และแปรความเร็วไหลขึ้นระหว่าง 3.0-12.0 ม./ชม. เป็นการทดลองที่ 3

ผลการทดลองพบว่าน้ำเสียที่มีความเข้มข้นของแคลเซียมอิออนต่ำช่วยให้แบกทีเรียสร้างมีเทนสร้างมีเทนเจริญเติบโตและใช้ซีโอดีได้ดีกว่าน้ำที่มีความเข้มข้นของแคลเซียมอิออนสูง ส่วนในการทดลองที่ใช้ความเข้มข้นแคลเซียมอิออนสูงซึ่งแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเป็นแบกทีเรียหลักในระบบ เมื่อเปลี่ยนน้ำเสียมาเป็นน้ำที่มีความเข้มข้นแคลเซียมอิออนต่ำ ไม่ทำให้ปริมาณแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตหรือสัดส่วนการใช้ซีโอดีของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตลดลงแต่ประการใด Smul และ Verstraete สันนิษฐานว่าแคลเซียมอิออนช่วยให้เกิด bridging ระหว่างเซลล์ของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต ทำให้แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตสามารถคงอยู่ในระบบได้โดยไม่หลุดไปกับน้ำออก การเปลี่ยนมาใช้น้ำเสียที่ความเข้มข้นแคลเซียมอิออนต่ำในภายหลังจึงไม่มีผลกระทบ นอกจากนั้นยังไม่พบการเคลือบตัวของแคลเซียมอันอาจทำให้การขนส่งสารอาหารเข้าสู่เซลล์ล้มเหลวแต่ประการใด ส่วนการเปลี่ยนสารอาหารเป็นฟอร์เมต, การเติมสารเคมีเพื่อยับยั้งแบกทีเรียสร้างมีเทนที่บริโภค

ไฮโดรเจน และการเปลี่ยนความเร็วไหลขึ้นเพื่อดูผลของความเร็วไหลขึ้นที่มีต่อแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่บริโภคไฮโดรเจน พบว่าความเร็วไหลขึ้นที่มีค่าต่ำ (3.0 ม./ชม.) ทำให้แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตถูกพัดพาไปกับน้ำออกน้อยกว่าที่ความเร็วไหลขึ้นสูง ๆ แสดงให้เห็นว่าถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีที่ผลิตซัลไฟด์เป็นหลักไม่ควรใช้ความเร็วไหลขึ้นที่สูงเกินไป

- Fang และคณะ (1997)

ศึกษาผลของซัลเฟตต่อการย่อยสลายเบนโซเอตในสภาวะไร้ออกซิเจนในถังปฏิกรณ์แบบยูเอเอสบี โดยแปรค่าความเข้มข้นของซัลเฟตระหว่าง 1,000 ถึง 7,500 มก./ล. โดยควบคุมให้ค่าซีโอดีของเบนโซเอตเท่ากับ 500 มก./ล. ตลอดระยะเวลาการทดลอง 320 วัน ที่อุณหภูมิ 34 ถึง 37 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถลดซีโอดีได้สูงถึง 98 เปอร์เซ็นต์ ถึงแม้จะมีความเข้มข้นของซัลไฟด์ทั้งหมดเท่ากับ 769 มก./ล.และไฮโดรเจนซัลไฟด์ละลายเท่ากับ 234 มก.ซัลเฟอร์/ล. ก็ตาม นอกจากนั้นการเพิ่มความเข้มข้นของซัลเฟตให้มากขึ้นจะทำให้ประสิทธิภาพในการรีดิวซ์ซัลเฟตจะลดลง แต่จะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป โดยการทดลองที่มีประสิทธิภาพการรีดิวซ์ซัลเฟตสูงสุดมีค่าเท่ากับ 89 เปอร์เซ็นต์ ความล้มเหลวของระบบเกิดขึ้นที่ระดับความเข้มข้นของซัลเฟตในน้ำเข้าเท่ากับ 7,500 มก./ล. สังเกตได้จากประสิทธิภาพในการลดซีโอดีและการรีดิวซ์ซัลเฟตที่ลดลงอย่างรวดเร็วและระบบไม่สามารถฟื้นตัวกลับมาได้อีก Fang ตั้งของสังเกตว่าอาจเกิดจากความเข้มข้นของซัลเฟตมากกว่าความเป็นพิษจากซัลไฟด์

- Omil F. และคณะ (1998)

ศึกษาผลของชนิดสารอาหารและอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟต ที่มีต่อการแข่งขันของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทนในถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบี การทดลองแบ่งออกเป็น 4 ชุด 2 ชุดแรกใช้อะซิเตต:โพรพิโอเนต:บิวทิเรต ในอัตราส่วนซีโอดี 5:3:2 อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟต 2 และ 0.5 ส่วนอีก 2 ชุดการทดลองใช้อะซิเตตอย่างเดียวแต่แปรอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตเป็น 2 และ 0.5 สลัดจ์ที่ใช้ในการทดลองมีลักษณะเป็นเม็ด มาจากถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีที่ใช้บำบัดน้ำเสียโรงงานผลิตน้ำมันที่ใช้ในการทำอาหาร ผลการทดลองที่อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟต 0.5 แสดงให้เห็นว่า แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตสามารถเอาชนะแบกทีเรียสร้างมีเทนได้หลังจากเวลาผ่านไป 250 วัน และ 400 วัน สำหรับสารอาหารผสมระหว่างกรดอินทรีย์กับอะซิเตต และอะซิเตตอย่างเดียวตามลำดับ Omil จึงสรุปว่า สารอาหารมีผลต่อการแข่งขันระหว่างแบกทีเรียทั้งสองประเภท โดยสารอาหารผสมระหว่างกรดอินทรีย์กับอะซิเตตจะใช้เวลาสั้นกว่าการใช้อะซิเตตอย่างเดียว แต่เมื่อผ่าน

ไปเป็นระยะเวลานาน ๆ ท้ายที่สุดแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตก็สามารถเอาชนะแบกทีเรียสร้างมีเทนได้ อยู่ดีถ้ามีซัลเฟตมากเกินพอ พร้อมกันนั้น Omil ยังได้ตั้งข้อสังเกตว่า สำหรับการทำงานของแบกทีเรียที่มีลักษณะเป็นเม็ด พีเอชซึ่งเป็นตัวกำหนดปริมาณไฮโดรเจนซัลไฟด์อิสระในน้ำ อาจเปลี่ยนแปลงไปเมื่อพิจารณาภายในของเม็ดสลัดจ์ อีกทั้งระยะเวลาในการเลี้ยงแบกทีเรียให้ชินกับน้ำเสียที่มีความเข้มข้นซัลไฟด์สูง ๆ เป็นเหตุให้แบกทีเรียมีความทนทานต่อซัลไฟด์ได้ในปริมาณที่ต่างกัน ซึ่งในงานวิจัยของ Omil และคณะพบว่าแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่บริโภคอะซิเตตสามารถทำงานได้ที่ความเข้มข้นไฮโดรเจนซัลไฟด์อิสระและซัลไฟด์ทั้งหมดสูงถึง 100 มก./ล. และ 800 มก./ล. ตามลำดับ ส่วนผลการทดลองที่อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟต 2 สำหรับการใช้สารอาหารผสมระหว่างกรดอินทรีย์กับอะซิเตตพบว่าแบกทีเรียสร้างมีเทนมีสัดส่วนการใช้ซีโอดีมากกว่า (68%) ส่วนการใช้อะซิเตตเพียงอย่างเดียวแบกทีเรียสร้างมีเทนก็สามารถเอาชนะแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตได้เช่นกัน (77%) แต่เมื่อทดลองลดอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตลงเท่ากับ 1 ในการทดลองที่ใช้อะซิเตตอย่างเดียว ทำให้แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตใช้ซีโอดีได้เพิ่มขึ้น (40 – 50%) และเมื่อสังเกตถึงผลของการลดลงของอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟต พบว่าจะทำให้แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตใช้ซีโอดีได้มากขึ้นในขณะที่แบกทีเรียสร้างมีเทนใช้ซีโอดีได้น้อยลง อย่างไรก็ตามแม้ที่อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟต 0.5 ซึ่งซีโอดีเกือบทั้งหมดถูกใช้โดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต (กรดอินทรีย์ผสมกับอะซิเตต) หรือซีโอดีถูกใช้โดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตทั้งหมด (อะซิเตตอย่างเดียว) ก็ยังสามารถตรวจพบ activity ของแบกทีเรียสร้างมีเทนได้อยู่ดีแม้จะมีค่าต่ำมากก็ตาม แสดงว่านอกจากปัจจัยทางไคเนติกแล้ว ยังอาจมีกลไกของการขนส่งสารร่วมด้วย โดยภายในเม็ดสลัดจ์อาจเกรเดียนท์ความเข้มข้นของซัลเฟต ทำให้แบกทีเรียสร้างมีเทนอาศัยอยู่ได้ภายในเม็ดสลัดจ์ที่ความเข้มข้นของซัลเฟตต่ำมากหรือไม่มีซัลเฟต

ส่วนการแข่งขันเพื่อแย่งไฮโดรเจน Omil และคณะสรุปว่าไฮโดรเจนในระบบทั้งหมดถูกใช้โดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในกรณีที่มีซัลเฟตมากเกินพอ โดย Omil ให้เหตุผลว่าด้วยปัจจัยทางไคเนติกที่เหนือกว่าของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต, ความเข้มข้นต่ำสุดของไฮโดรเจนที่แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตสามารถใช้ได้มีค่าต่ำกว่าทำให้แบกทีเรียสร้างมีเทนที่บริโภคไฮโดรเจนขาดอาหาร และในกรณีที่ซัลเฟตมากเกินพอ ไฮโดรเจนได้เป็นสารอินเทอร์มีเดียทที่สำคัญ ทำให้แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเอาชนะแบกทีเรียสร้างมีเทนได้อย่างสมบูรณ์

- Omil F. และคณะ (1996)

ศึกษาถึงผลของความเร็วไหลขึ้นในถังปฏิกรณ์, สัดส่วนของกรดไขมันชนิดต่าง ๆ และพีเอชที่มีผลต่อการแข่งขันระหว่างแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทน การทดลองนี้ใช้

ถังปฏิกรณ์ทรงกระบอก เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.10 เมตร ขนาด 5.5 ลิตร บรรจุสลัดจ์ที่มีลักษณะเป็นเม็ด ควบคุมความเร็วไหลขึ้นด้วยการหมุนเวียนน้ำออกที่อัตราการไหลต่าง ๆ กัน พีเอชควบคุมด้วยเครื่องควบคุมพีเอชร่วมกับการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์กับกรดไฮโดรคลอริก ส่วนสารอาหารใช้อะซิเตต, โพรพิโอเนตและบิวทิเรตโดยปรับเปลี่ยนอัตราส่วนไปตามระยะเวลาการวิจัย จาก 1:1:1 เป็น 5:3:2 และ 1:2:2 อัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์แปรจาก 500 มก./ล.ถึง 2,600 มก./ล. ส่วนซัลเฟตแปรจาก 1,000 มก./ล.ถึง 5,000 มก./ล. เพื่อให้ได้ค่าซีโอดีต่อซัลเฟตคงที่เท่ากับ 0.5 หลังจากเดินระบบไประยะหนึ่ง สลัดจ์ยังคงเป็นเม็ดอยู่แต่เป็นสลัดจ์ที่ผลิตซัลไฟด์เป็นหลัก ผลการวิจัยพบว่าความเร็วไหลขึ้นระหว่าง 1 – 2 ม./ชม. สามารถกำจัดซีโอดีได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่การเพิ่มความเร็วไหลขึ้นให้มีค่าสูงขึ้น (4 – 6 ม./ชม.) ทำให้ประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีลดลงและมีเซลล์หลุดออกนอกระบบมากขึ้น จึงสรุปว่าไม่ควรใช้ความเร็วไหลขึ้นที่สูงเกินไปในการบำบัดน้ำเสียที่มีความเข้มข้นซัลเฟตสูง และพบว่าความแข็งแรงของเม็ดสลัดจ์จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับความเร็วไหลขึ้นเป็นสำคัญ การเพิ่มความเร็วไหลขึ้นแม้จะทำให้เม็ดสลัดจ์แข็งแรงขึ้น แต่ก็ทำให้แบกทีเรียหลุดออกนอกระบบเป็นจำนวนมาก ซึ่งที่ความเร็วไหลขึ้น 6 ม./ชม. มีแบกทีเรียที่มีลักษณะเป็นผงหลุดออกนอกระบบถึง 42 เปอร์เซ็นต์ ซึ่ง Omil พบว่าเม็ดสลัดจ์ของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีความแข็งแรง(ประมาณ 13 - 25 กิโลนิวตัน/ตร.ม.) น้อยกว่าเม็ดสลัดจ์ของแบกทีเรียสร้างมีเทน(ประมาณ 100 กิโลนิวตัน/ตร.ม.) ค่อนข้างมาก ทำให้แบกทีเรียสร้างมีเทนมีสัดส่วนการใช้ซีโอดีเพิ่มขึ้นที่ความเร็วไหลขึ้นสูง ๆ ส่วนการเพิ่มสัดส่วนของอะซิเตตในน้ำเสียเข้าระบบทำให้แบกทีเรียสร้างมีเทนมีสัดส่วนการใช้ซีโอดีมากขึ้น เพราะอะซิเตตที่เติมให้กับระบบมีค่ามากกว่าความสามารถในการกำจัดอะซิเตตของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตซึ่งมีค่าประมาณ 0.3 – 0.46 ก. ซีโอดี (อะซิเตต)/ก. VSS – ล. ในขณะที่การเพิ่มขึ้นของโพรพิโอเนตและบิวทิเรตทำให้แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีสัดส่วนการใช้ซีโอดีที่สูงขึ้น Omil จึงสรุปว่าแม้ที่ความเข้มข้นซัลเฟตสูง ๆ แบกทีเรียสร้างมีเทนก็ยังดำรงชีพอยู่ได้เนื่องจากความสามารถในการแย่งใช้อะซิเตต ส่วนการลดพีเอชจาก 8 เป็น 7 ทำให้ไฮโดรเจนซัลไฟด์ละลายน้ำที่ไม่แตกตัวหรือไฮโดรเจนซัลไฟด์อิสระเพิ่มสูงขึ้นอย่างกระทันหัน ทำให้แบกทีเรียสร้างมีเทนถูกยับยั้งอย่างรุนแรงโดยไม่มีผลต่อแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจึงใช้ซีโอดีในระบบได้เกือบทั้งหมด

- O. Mizuno และคณะ (1994)

*ศึกษาผลกระทบของความเข้มข้นซัลเฟตและอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตที่มีต่อการย่อย*สลายบิวทิเรตในสภาพไร้ออกซิเจนโดยใช้ถังปฏิกรณ์ chemostat ขนาด 2 ลิตร ทดลองที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส แปรค่าซีโอดีระหว่าง 2,500 ถึง 10,000 มก./ล. และความเข้มข้นของซัลเฟต 68

ถึง 1,667 มก./ล. ในรูปของซัลเฟอร์ ทำให้ได้อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตในช่วงกว้างระหว่าง 0.5 – 49.3 พบว่าอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตมีอิทธิพลต่อความสัมพันธ์ระหว่างแบกทีเรียสร้างมีเทนและแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตอย่างมีนัยสำคัญ เมื่ออัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตมากกว่า 2 อัตราการผลิตมีเทนจะเป็นปฏิกิริยาเด่น แบกทีเรียสร้างมีเทนสามารถใช้ซีโอดีได้ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่ออัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตลดลงเท่ากับ 0.5 แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะใช้ซีโอดีส่วนใหญ่ในระบบแทน นอกจากนั้นขั้นตอนการย่อยสลายบิวทิเรตก็ถูกกำหนดด้วยอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตด้วยเช่นกัน โดย *Mizuno* สรุปว่า เมื่ออัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตสูง บิวทิเรตส่วนใหญ่จะถูกย่อยสลายเป็นมีเทนผ่านทางอะซิเตตและไฮโดรเจนโดยแบกทีเรียสร้างมีเทน ในทางกลับกัน ที่อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตเท่ากับ 0.5 บิวทิเรตถูกย่อยสลายเป็นซัลไฟด์และอะซิเตตโดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต อะซิเตตที่เกิดขึ้นถูกแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทนแย่งใช้ต่อ แต่ส่วนใหญ่จะถูกใช้ต่อโดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่บริโภคอะซิเตต และพบว่าอัตราการผลิตมีเทนจากอะซิเตตถูกยับยั้งเมื่อปริมาณซัลไฟด์ในถังปฏิกรณ์เพิ่มสูงขึ้น

- McCartney D.M. และ Oleszkiewicz J.A. (1993)

ศึกษาถึงการแข่งขันกันระหว่างแบกทีเรียสร้างมีเทนและแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในการใช้แลกเตตภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนที่ความเข้มข้นของซัลเฟตและซัลไฟด์สูง โดยเปรียบเทียบระหว่างเชื้อที่ผ่านและยังไม่ผ่านการปรับให้ชินกับสภาพน้ำเสียที่อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตต่าง ๆ การทดลองทำในขวดซีรัมและเก็บข้อมูลความเข้มข้นที่เปลี่ยนแปลงไปของสารต่าง ๆ ในระบบ พบว่าที่อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตเท่ากับ 3.7 การย่อยสลายแลกเตตเกิดขึ้นผ่านโพรพิโอเนตและอะซิเตตโดยไม่มีการรีดิวซ์ซัลเฟต แต่ถ้าอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตน้อยกว่า 1.6 การย่อยสลายแลกเตตเกิดขึ้นผ่านทางอะซิเตตร่วมกับการเกิดซัลเฟตรีดักชันโดยไม่มีการสะสมของโพรพิโอเนต ส่วนการยับยั้งเนื่องจากซัลไฟด์พบว่าความเข้มข้นของซัลไฟด์ทั้งหมดที่ต่ำกว่า 1,080 มก./ล. และไฮโดรเจนซัลไฟด์ 320 มก./ล. ไม่ส่งผลต่อการใช้แลกเตต ส่วนการใช้อะซิเตตจะถูกยับยั้งเป็นสัดส่วนโดนตรงกับซัลไฟด์ละลายน้ำที่ไม่แตกตัว แต่ถ้าความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์ต่ำกว่า 80 มก./ล.การยับยั้งการใช้อะซิเตตจะเกิดขึ้นจากซัลไฟด์ทั้งหมดแทน นอกจากนั้นแล้วที่อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตเท่ากับ 3.7 จะพบการสะสมตัวของกรดโพรพิโอเนต ถ้าความเข้มข้นของซัลไฟด์มากกว่า 112 มก./ล. โดยโพรพิโอเนตที่เพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับซัลเฟตรีดักชันที่ลดลง

- Visser A. และคณะ (1993)

ศึกษาถึงการรวมเป็นเม็ดและการเกาะติดของแบกทีเรียผลิตมีเทนและแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีที่มีอัตราการบำบัดสูงจำนวน 3 ถัง แต่ละถังป้อนชนิดของสารอาหารที่แตกต่างกัน ทำให้ลักษณะของเชื้อจุลชีพในถังทั้งสามแตกต่างกัน โดยในถังแรกเป็นระบบผลิตมีเทน ถังที่สองเป็นระบบผลิตซัลไฟด์ ส่วนถังที่สามเป็นระบบผสมระหว่างสองระบบแรก พบว่าเชื้อจุลชีพในระบบผลิตซัลไฟด์ไม่เกิดการรวมตัวเป็นเม็ดเกิดขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนอีกสองระบบที่เหลือเกิดเม็ดขึ้นได้ดีและมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางใกล้เคียงกัน สลัดจ์ที่เกิดขึ้นระบบทั้งสามนี้แบ่งออกเป็น 3 ประเภท ประเภทแรกคือเม็ดสลัดจ์ผลิตมีเทนในระบบผลิตมีเทน ประเภทที่สองคือเม็ดสลัดจ์ผลิตซัลไฟด์(สัดส่วนการใช้ซีโอดีโดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตสูงกว่าแบกทีเรียสร้างมีเทน) ในระบบผสม และประเภทที่สามคือฟล็อกของสลัดจ์รีดิวซ์ซัลเฟตในระบบผลิตซัลไฟด์

Visser สรุปว่า ถังปฏิกรณ์ที่ทำงานภายใต้สภาวะที่ความเข้มข้นของซัลเฟตในระบบมีมากเกินพอ ไฮโดรเจนในระบบทั้งหมดในระบบถูกใช้โดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต แต่การใช้อะซิเตตโดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทนยังไม่เป็นที่แน่ชัดว่าแบกทีเรียชนิดใดจะเป็นผู้ชนะ ส่วนในระบบผลิตมีเทน อะซิเตตทั้งหมดถูกใช้โดยแบกทีเรียสร้างมีเทนในขณะที่ไฮโดรเจนถูกใช้โดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต และเมื่อมองถึงแหล่งที่มาของสลัดจ์ก่อนนำมาทดลอง Visser ให้ข้อสรุปว่า แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ดำรงชีพอยู่ในสภาวะที่ขาดซัลเฟตจะทำหน้าที่ผลิตกรดอะซิติก ทำให้จำนวนแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในเม็ดสลัดจ์มีอยู่ค่อนข้างสูงแม้จะนำสลัดจ์จากแหล่งที่ไม่มีซัลเฟตมาเลี้ยงก็ตาม นอกจากนั้นยังพบว่า ในถังปฏิกรณ์ที่มีแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตน้อยกว่าแบกทีเรียสร้างมีเทนมากในตอนเริ่มต้น จะต้องใช้เวลานานมากกว่าที่แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะเจริญเติบโตขึ้นมาเอาชนะแบกทีเรียสร้างมีเทนได้ แม้ว่าสภาวะต่าง ๆ ภายในถังเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตก็ตาม ส่วนการสร้างเม็ดสลัดจ์ของแบกทีเรีย พบว่าแบกทีเรียสร้างมีเทนใช้เวลาในการสร้างเม็ดสลัดจ์สั้นกว่า ดังนั้น Visser จึงแนะนำว่าควรมีแบกทีเรียสร้างมีเทนอยู่ด้วยเพราะแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตขาดความสามารถในการสร้างเม็ดสลัดจ์ในเวลาอันสั้น

- Guptha และคณะ (1993)

ศึกษาปฏิสัมพันธ์ระหว่างแบกทีเรียสร้างมีเทนและแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต ในการใช้อะซิเตต เมทานอล และกรดฟอร์มิก โดยใช้ถังปฏิกรณ์ chemostat จำนวน 2 ชุด ชุดแรกสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาการสร้างมีเทน ชุดที่ 2 มีสภาพแวดล้อมที่เหมาะต่อการเกิดซัล-

เฟตรีดักชัน แต่ละชุดทำการทดลอง 3 การทดลอง โดยมีการเติมเหล็กลงในชุดการทดลองที่มีสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเกิดซัลเฟตรีดักชันเพื่อตกตะกอนซัลไฟด์ทำให้สามารถกำจัดการยับยั้งเนื่องจากซัลไฟด์ได้ พบว่าแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตสามารถเอาชนะแบกทีเรียสร้างมีเทนได้อย่างสมบูรณ์ในชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอะซิเตต ในขณะที่เมทานอลไม่สามารถใช้ได้โดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต ส่วนการใช้กรดฟอร์มิกพบว่าแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตใช้ซีโอดีได้ 62 เปอร์เซ็นต์ แบกทีเรียสร้างมีเทนใช้ซีโอดีได้เพียง 24 เปอร์เซ็นต์ Guptha ให้เหตุผลว่า สาเหตุที่แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตสามารถเอาชนะแบกทีเรียสร้างมีเทนได้อย่างสมบูรณ์ในการใช้อะซิเตตเพราะค่าความเข้มข้นของสารอาหารที่อัตราการเจริญเติบโตเป็นครึ่งหนึ่งของอัตราการเจริญเติบโตสูงสุด (K_s) ของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตต่ำกว่าแบกทีเรียสร้างมีเทน แต่ในการใช้ฟอร์มิกเป็นสารอาหาร แม้ว่าแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจะเอาชนะแบกทีเรียสร้างมีเทนได้แต่ก็ไม่เกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ เป็นผลเนื่องมาจากช่วงแคบ ๆ ช่วงหนึ่งของปัจจัยทางไคเนติกของแบกทีเรียทั้งสองประเภทที่มีค่าใกล้เคียงกัน ทำให้แบกทีเรียสร้างมีเทนบางชนิดสามารถมีชีวิตอยู่ร่วมกับแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตได้

- Harada H. และคณะ (1993)

ศึกษาถึงการอยู่ร่วมกันของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและแบกทีเรียสร้างมีเทนในกระบวนการไร้ออกซิเจนโดยใช้ถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีจำนวน 3 ถังที่มีลักษณะเหมือนกัน และใช้น้ำเสียสังเคราะห์ที่มีแป้งและน้ำตาลซูโครสเป็นสารอาหารหลัก โดยเตรียมให้มีความเข้มข้นเทียบเท่ากับ 500 มก./ล. คงที่ทุก ๆ ถังปฏิกรณ์ แปรค่าความเข้มข้นของซัลเฟตในแต่ละถังปฏิกรณ์เท่ากับ 30, 150 และ 600 มก./ล. ตามลำดับ เดินระบบเป็นเวลา 180 วัน คำนวณหาสมดุลมวลของซีโอดีและซัลเฟอร์ พบว่าเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของซัลเฟต อัตราการผลิตก๊าซมีเทนจะมีค่าลดลงเนื่องจากซีโอดีถูกใช้ไปโดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมากขึ้น และที่ความเข้มข้นของซัลเฟตสูงสุดพบว่าแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีบทบาทในการย่อยสลายซีโอดีในระบบสูงถึง 75 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนั้นยังมีการนำตัวอย่างสลัดจ์จากถังปฏิกรณ์มาทดสอบหาค่าอัตราการผลิตมีเทนจำเพาะ (specific methanogenic activities; SMAs) พบว่าแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตช่วยย่อยสลายกลูโคสได้ดีกว่าแบกทีเรียสร้างกรด และยังมีบทบาทสำคัญในการลดการสะสมของโพรพิโอเนต นอกจากนั้นยังพบว่าแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตชอบที่จะใช้ไฮโดรเจนมากกว่าอะซิเตต และสามารถออกซิไดส์ไฮโดรเจนได้ดีกว่าแบกทีเรียผลิตมีเทนที่บริโภคไฮโดรเจนด้วยเช่นกัน สำหรับการแข่งขันเพื่อแย่งใช้อะซิเตตพบว่า ในช่วงแรกแบกทีเรียสร้างมีเทนออกซิไดส์อะซิเตตได้มากกว่า แต่เมื่อเวลาผ่านไปแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตก็สามารถปรับตัวและเอาชนะแบกทีเรียสร้างมีเทนได้ในการแย่งใช้อะซิเตต

- Callado N.H. และ Foresti E. (1992)

ศึกษาถึงผลของความเข้มข้นของซัลเฟตที่เพิ่มขึ้นต่อการทำงานของถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบี รายละเอียดของการทดลองแสดงมาแล้วก่อนหน้านี้ Callado และ Foresti พบว่าสัดส่วนของซัลเฟตที่ถูกรีดิวซ์ต่อซัลเฟตที่เข้ามีค่าลดลง และซัลเฟตน้ำออกมีค่าเพิ่มมากขึ้น เมื่อพิจารณาร่วมกับสัดส่วนของก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่มีน้อยมากและสัดส่วนการใช้ซีโอดีของแบกทีเรียสร้างมีเทนที่ลดลง ทำให้ Callado และ Foresti สรุปว่า แบกทีเรียสร้างมีเทนใช้ซีโอดีได้ลดลงเมื่อซัลเฟตเพิ่มขึ้น แต่ซีโอดีส่วนนี้ไม่ได้ถูกใช้โดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต จึงสันนิษฐานว่ามี pathway ใหม่ที่ไม่เกี่ยวข้องกับการรีดิวซ์ซัลเฟตและการสร้างมีเทนเกิดขึ้น และสรุปว่าอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตไม่เป็นพารามิเตอร์ที่กำหนดการทำงานของระบบแต่อย่างใด

ข้อสรุปของงานวิจัยนี้มีข้อผิดพลาดหลายประการ ได้แก่ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นซัลเฟตในน้ำเสีย พบว่าซัลเฟตในน้ำออกที่มีค่าสูงขึ้นและสัดส่วนของซัลเฟตที่ถูกรีดิวซ์ลดลง เหตุผลก็คือซัลเฟตมีมากเกินพอแต่ซีโอดีมีจำกัด ซัลเฟตที่เพิ่มขึ้นจึงไม่ถูกรีดิวซ์ ส่วนสัดส่วนของก๊าซไฮโดรเจนมีค่าน้อยก็เป็นเพราะไฮโดรเจนซัลไฟด์ละลายน้ำได้ดีมาก ไฮโดรเจนซัลไฟด์ส่วนใหญ่จึงอยู่ในอยู่ในวัฏภาคน้ำในรูปต่าง ๆ แทนที่จะอยู่ในวัฏภาคก๊าซ และสัดส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตก็เป็นตัวกำหนดการทำงานของระบบ ดังจะเห็นได้จากสัดส่วนการใช้ซีโอดีที่ลดลงของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต อย่างไรก็ตาม แม้ Callado และ Foresti จะแปรผลการวิจัยผิดพลาด แต่ผลการวิจัยก็ยังแสดงให้เห็นถึงแนวโน้มต่าง ๆ หลายประการที่เป็นประโยชน์และสอดคล้องกับข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยอื่น ๆ

- Yoda M. และคณะ (1987)

ศึกษาถึงการแข่งขันกันระหว่างแบกทีเรียผลิตมีเทนและแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในการใช้อะซิเตตเป็นสารอาหารในระยะยาว โดยใช้ถังปฏิกรณ์ไร้ออกซิเจนแบบฟลูอิดไดส์เบด (fluidized bed) ในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่าเมื่อปริมาณอะซิเตตถูกกำจัดจะทำให้ทั้งอัตราการผลิตก๊าซมีเทนและมวลจุลชีพของแบกทีเรียสร้างมีเทนลดลงอย่างช้า ๆ ในขณะที่ปริมาณของซัลเฟตที่ถูกรีดิวซ์และมวลจุลชีพของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตเพิ่มสูงขึ้น แสดงให้เห็นถึงความสามารถของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในการเอาชนะแบกทีเรียสร้างมีเทนในฟิล์มชีวะได้ ที่ระดับความเข้มข้นของอะซิเตตต่ำ ๆ ผลการวิเคราะห์น้ำออกในช่วงอัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ต่ำจะได้ค่าเฉลี่ยของอะซิเตตเท่ากับ 1.7 มก./ล.คาร์บอนและซัลเฟต 78.5 มก./ล. แต่เมื่อใดที่ความเข้มข้นของอะซิเตตที่เข้าระบบสูง แบกทีเรียสร้างมีเทนจะกลายเป็นแบกทีเรียที่มีบทบาทมากกว่า

- Isa และคณะ (1986a,b)

ศึกษาถึงการแปรชนิดของสารอาหาร ปริมาณของซัลเฟตและซัลไฟด์ที่มีต่อความสัมพันธ์ระหว่างการผลิตมีเทนและการเกิดซัลเฟตรีดักชันในถังกรองไร้ออกซิเจน ที่มีอัตราการบำบัดสูง พบว่าระบบสามารถปรับตัวได้เป็นอย่างดี สามารถรับความเข้มข้นของซัลเฟตได้สูงถึง 15,000 มก./ล. โดยไม่มีผลกระทบต่อการผลิตมีเทน แต่พบการเกิดซัลเฟตรีดักชันที่ความเข้มข้นของซัลเฟตเท่ากับ 500 มก./ล. แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของซัลเฟตที่สูงขึ้นไม่ได้มีผลต่อแบกทีเรียสร้างมีเทนเท่าใดนัก ไม่ว่าจะเป็นแบกทีเรียสร้างมีเทนที่บริโภคไฮโดรเจนหรืออะซิเตตก็ตาม นอกจากนั้นระบบยังปรับตัวให้เข้ากับไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่เกิดขึ้นได้อย่างดี โดยพบว่าปฏิกิริยาการสร้างมีเทนถูกยับยั้งที่ 50 เปอร์เซ็นต์ที่ความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์ละลายน้ำที่ไม่แตกตัวสูงถึง 1,000 มก./ล. ขณะเดียวกันก็ยับยั้งกระบวนการซัลเฟตรีดักชันเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

เมื่อมองในแง่ของความชอบสารอาหาร พบว่าแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตชอบไฮโดรเจนหรือเอทานอลมากกว่าฟอร์เมตหรืออะซิเตต (แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตใช้สารอาหารที่เป็นแอลกอฮอล์โดยตรงไม่ได้ ข้อสรุปนี้คาดว่าน่าจะเกิดจากเอทานอลถูกแบกทีเรียสร้างอะซิเตตเปลี่ยนเป็นอะซิเตตและไฮโดรเจนซึ่งถูกนำไปใช้ต่อโดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต) ส่วนการใช้ซีโอดีโดยแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตพบว่ามีสัดส่วนการใช้ซีโอดีเพียง 10 ถึง 20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งค่อนข้างต่ำและผิดกับสภาพที่เกิดขึ้นจริงในธรรมชาติและในถังปฏิกรณ์ชนิดอื่น Isa ให้เหตุผลว่าแบกทีเรียสร้างมีเทนมีความสามารถในการเกาะติดกับตัวกลางได้ดีซึ่งเป็นความสามารถที่ใช้ทดแทนข้อด้อยทั้งหมดของแบกทีเรียสร้างมีเทนได้ ทั้งในด้านปัจจัยทางไคเนติกและเทอร์โมไดนามิกส์

2.9.2 การใช้ระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจนในการกำจัดโลหะหนัก

- Uhrie J.L. และคณะ (1995)

ใช้ตะกอนดินที่ได้จากแม่น้ำ Lamarie (Albany Country, Wyoming) ซึ่งเป็นตะกอนที่มีแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตอยู่ในปริมาณที่สูง นำมาเพาะเลี้ยงในขวดซีรัมด้วยตัวกลางของ Posgate พร้อมกับเติมซัลเฟตให้มากเกินพอในปริมาณ 4.5 ก./ล. โดยใช้แลกเตตเป็นตัวให้อิเล็กตรอน ทดลองใช้ยูเรเนียมเข้มข้น 10, 20, 30 และ 40 มก./ล. อาร์เซนิก 10 มก./ล. เซเลเนียม 70 มก./ล. และวาเนเดียม 10 มก./ล. พบว่าหลังจากผ่านไป 3 วันสามารถตกตะกอนผลึกยูเรเนียมได้ถึง 98

เปอร์เซ็นต์ในรูปยูเรเนียมออกไซด์ ได้ความเข้มข้นต่ำสุดเป็น 0.1 มก./ล. มีประสิทธิภาพการตกตะกอนผลึกเซเลเนียมได้ถึง 95 เปอร์เซ็นต์ภายใน 4 ชั่วโมง ประสิทธิภาพการตกตะกอนผลึกอาร์-เซนิกได้ถึง 96 เปอร์เซ็นต์ภายใน 6 วันและมีประสิทธิภาพการกำจัดวาเนเดียมได้ถึง 98 เปอร์เซ็นต์ภายใน 8 วัน Uhrie J.L. และคณะจึงสรุปว่า แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีความสามารถในการกำจัดอาร์เซนิก, เซเลเนียม, วาเนเดียม และยูเรเนียมได้อย่างมีประสิทธิภาพที่พีเอชเป็นกลาง

- Somlev V. และ Tishkov S. (1994)

ใช้ถังกรองไร้ออกซิเจนบำบัดน้ำเสียที่มีซัลเฟตและอาร์เซนิกโดยใช้ตัวกลาง 2 ชนิด คือ โดโลไมต์และเหล็กเมทัลลิก (metallic iron) ใช้สลัดจ์จากลานตากตะกอนของระบบบำบัดน้ำเสียชุมชนร่วมกับสลัดจ์จากถังย่อยแบบไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic digester) ในอัตราส่วน 1:1 เป็นเชื้อเริ่มต้น น้ำเสียที่ใช้ป้อนให้กับถังปฏิกรณ์ได้มาจาก hydrometallurgic plant ซึ่งมีซัลเฟตเข้มข้น 6 - 8 ก./ล. เติมโมลาสให้กับน้ำเสียเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอน น้ำเสียมีพีเอชเริ่มต้น 4.1 ได้น้ำออกพีเอช 6.4 และ 6.6 ประสิทธิภาพการกำจัดซัลเฟต 60 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ประสิทธิภาพต่อพื้นผิวตัวกลาง 0.6 และ 3.45 ก./ตร.ม.-วัน สำหรับตัวกลางโดโลไมต์และเหล็กเมทัลลิกตามลำดับ ความเข้มข้นของอาร์เซนิกในน้ำออกน้อยกว่า 0.1 มก./ล.เมื่อเทียบกับน้ำเข้า 0.6 มก./ล. ส่วนความเข้มข้นของโลหะหนักตัวอื่น ๆ เช่น โมลิบดินัม, โคบอลต์, นิกเกิล, สังกะสี และตะกั่ว ตรวจไม่พบด้วยเครื่อง atomic adsorption

- Panchanadikar V.V. และ Kar R.N. (1993)

แยกแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่ได้จากตัวอย่างดินในนาข้าวมาเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง จากนั้นเลี้ยงเชื้อที่แยกได้ให้เจริญเติบโตในตัวกลางของ Barr (Barr's medium) ซึ่งมีแลกเตตเป็นแหล่งคาร์บอน ปรับพีเอชของตัวกลางให้เท่ากับ 6 พร้อมกับเติมทองแดง (Cu) ให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน จาก 25 พีพีเอ็มถึง 100 พีพีเอ็ม จากนั้นทิ้งไว้นาน 4 สัปดาห์จึงนำมาวิเคราะห์ พบว่าที่ความเข้มข้นของทองแดง 25 พีพีเอ็ม แบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีประสิทธิภาพในการลดทองแดงได้ถึง 75 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็มมีประสิทธิภาพลดลงเป็น 42 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการตกตะกอนผลึกโลหะหนักของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตได้เป็นอย่างดี ส่วนประสิทธิภาพการกำจัดทองแดงที่ลดลง Panchanadikar และ Kar สันนิษฐานว่าเกิดจากความเป็นพิษของทองแดง และการจำกัดของซัลเฟตและแลกเตต

- Dvorak D.H. และคณะ (1992)

ทดลองใช้ถังกรองไร้ออกซิเจนที่สร้างขึ้นอย่างง่าย ๆ ตัวกลางที่ใช้ทำจากหินปูน, ยิปซัม และส่วนผสมของหญ้าและฟางที่ใช้ในการเพาะเห็ด โดยหินปูนและยิปซัมจะช่วยปรับพีเอชให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของแบกทีเรีย ส่วนการหมักของส่วนประกอบของพืชที่ใช้ในการเพาะเห็ดจะเป็นแหล่งคาร์บอนให้กับแบกทีเรีย นำไปใช้ในการบำบัดน้ำเสียจากเหมืองถ่านหินที่ปนเปื้อนด้วยโลหะหนักหลายชนิด 2 แห่ง พีเอชของน้ำเสียเป็น 3.2 และ 6.2 ความเข้มข้นของซัลเฟตเป็น 1,002 และ 2,997 มก./ล. พบว่าน้ำที่ผ่านการบำบัดมีพีเอชสูงขึ้นเป็น 6.4 และ 7.1 ซึ่งสันนิษฐานว่าเกิดจากการละลายของหินปูนและปฏิกิริยาการสร้างสภาพด่างของแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต ความเข้มข้นของซัลเฟตลดลงประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ ซัลเฟตในน้ำออกเข้มข้นเท่ากับ 831 และ 2,387 มก./ล. ความเข้มข้นของโลหะหนักอะลูมิเนียม, แคดเมียม, เหล็ก, แมงกานีส, นิกเกิล และสังกะสีลดลงกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ โดยแคดเมียม, เหล็ก, นิกเกิล และบางส่วนของสังกะสีจะจับตัวกับซัลไฟด์อยู่ในรูปโลหะซัลไฟด์ ส่วนอะลูมิเนียม, แมงกานีส และบางส่วนของสังกะสีจะอยู่ในรูปของโลหะไฮดรอกไซด์หรือคาร์บอเนต

- Hammack R.W. และ Edenborn H.M. (1992)

ใช้ถังปฏิกรณ์รูปทรงกระบอกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5.1 ซม. ยาว 45.7 ซม. บรรจุด้วยตัวกลางที่ทำจากหินปูน, ยิปซัม และส่วนผสมของหญ้าและฟางที่ใช้ในการเพาะเห็ด เริ่มต้นเลี้ยงเชื้อด้วยน้ำชะจากกองหญ้าและฟางที่ใช้เพาะเห็ด ร่วมกับการเติมซัลเฟตเข้มข้น 2,000 มก./ล. ด้วยโซเดียมซัลเฟต อัตราการไหล 25 มล./ชม. เป็นเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นจึงเริ่มต้นทดลองโดยใช้น้ำเสียสังเคราะห์พีเอช 4.5 ที่มีซัลเฟตเข้มข้น 2,000 มก./ล. ป้อนให้กับระบบด้วยอัตราการไหล 15 – 25 มล./ชม. คิดเป็นเวลากักเฉลี่ย 12 ชั่วโมง เติมนิกเกิลเข้มข้น 50, 100, 500 และ 1,000 มก./ล. เพื่อดูประสิทธิภาพการกำจัดโลหะหนักนิกเกิล พบว่านิกเกิลถูกกำจัดด้วยกลไกการดูดติดและการแลกเปลี่ยนอิออน แต่ประสิทธิภาพการกำจัดนิกเกิลต่ำมากและไม่พบการเกิดซัลเฟตรีดักชันแต่อย่างใด ต่อมาเมื่อเติมโซเดียมแลกเตตเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนให้กับแบกทีเรีย พบว่าประสิทธิภาพการกำจัดนิกเกิลมีค่าสูงขึ้นถึง 7 เท่า Hammack และ Edenborn จึงสรุปว่าแบกทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีความสามารถในการกำจัดนิกเกิลได้อย่างมีประสิทธิภาพ แม้ประสิทธิภาพจะต่ำกว่าการใช้สารเคมี แต่ก็สามารถทดแทนได้ด้วยค่าใช้จ่ายที่ต่ำกว่าในการเดินระบบและการดูแลรักษา