บทที่ 2

วารสารปริทรรศน์

2.1 ทฤษฎีระบบหมักแบบไม่ใช้ออดซิเจน

กระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยจุลินทรีย์ภายใต้สภาวะไม่ใช้ออกซิเจนสามารถแบ่งขั้นตอนการทำงาน ออกได้เป็น 3 ขั้นตอน ดังแสดงตามรูปที่ 2.1 (National Academy of Science, 1977) คือ

การแตกสลายโพลิเมอร์ (polymer breakdown)

การสร้างกรด (acid production)

การสร้างมีเทน (methane production)

2.1.1 การแตกสลายโพลิเมอร์ (polimer breakdown)

ในขั้นนี้สารอินทรีย์ที่อยู่ในรูปของโมเลกุลใหญ่ เช่น โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของเซลลูโลสและส่วนประกอบต่าง ๆ ของเนื้อเยื่อพืช เช่น เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) และลิกนิน (lignin) โดยแบคทีเรียจะปล่อยน้ำย่อย (enzymes) ออกมาภายนอกเซลล์เพื่อทำให้โมเลกุลเหล่านี้ แตกออกเป็นโมเลกุลเล็ก ๆ ซึ่งละลายน้ำได้ เช่น กรดอะมิโน กลูโคส กลีเซอรอล และกรดไขมัน ดังแสดงตามรูปที่ 2.2 เอนไซม์ที่แบคทีเรียปล่อยออกมา ได้แก่ cellulytic, lypolytic และ proteolytic เป็นต้น

การเปลี่ยนแปลงของเซลลูโลส และสารประกอบเชิงซ้อนอื่น ๆ ให้เป็นสารพวกเชิงเดี่ยวอย่างง่าย ๆ อาจจะเป็นขั้นตอนที่ช้าที่สุด (rate limiting step) ในการผลิตมีเทนก็ได้ จากผลการทดลองของ Chan และ Pearson (1970) พบว่าขั้นตอนการย่อยสลาย (hydrolysis) ของเซลลูโลสนั้นเป็นขั้นตอนที่ช้าที่สุดของการเปลี่ยนเซลลูโลสไปเป็นมีเทน ตารางที่ 2.1 (National Academy of Science, 1977)

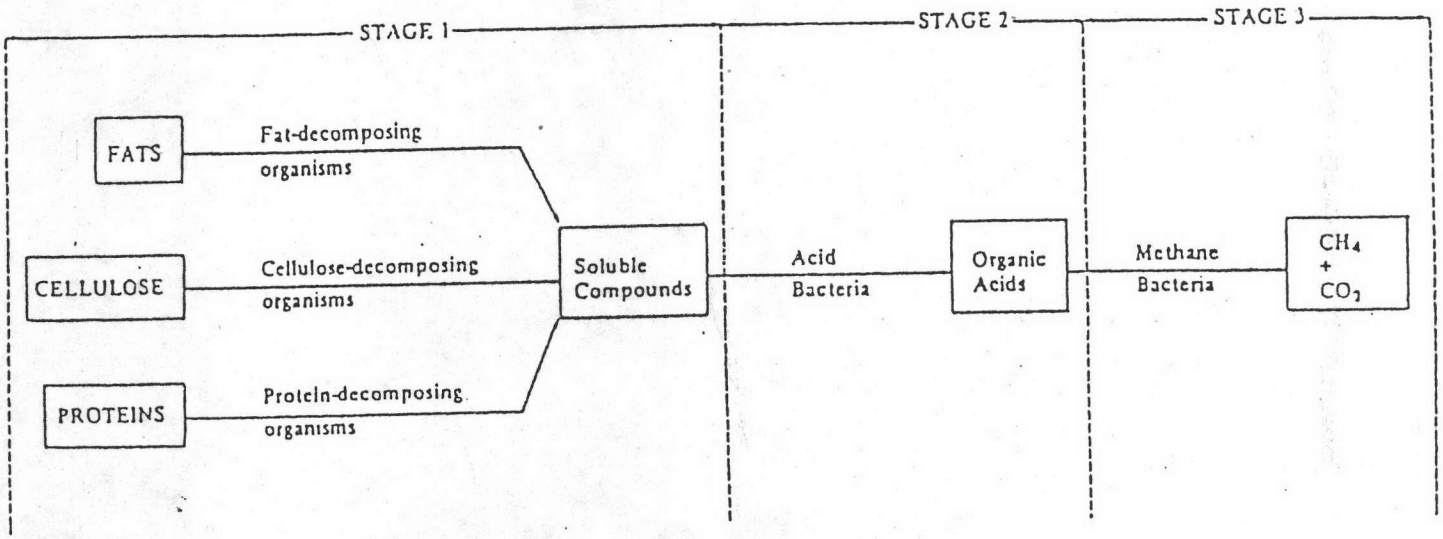
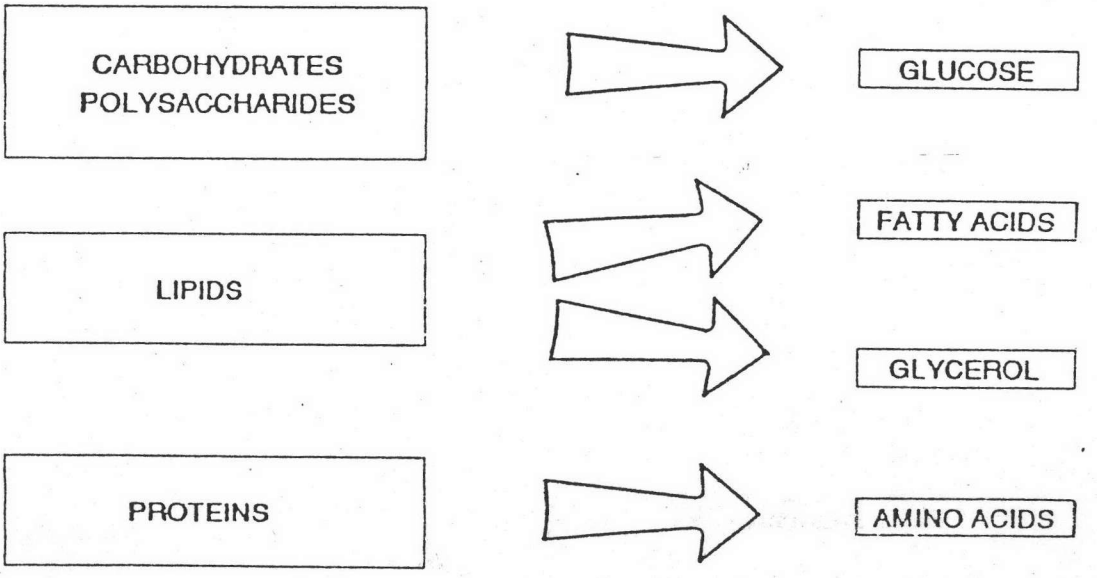


FIGURE II-1 Anaerobic fermentation of organic solids.

รูปที่ 2.1 การย่อยสลายสารอินทรีย์ที่เป็นของแข็งภายใต้ภาวะไม่ใช้ออกซิเจน

(National Academy of Science, 1977)



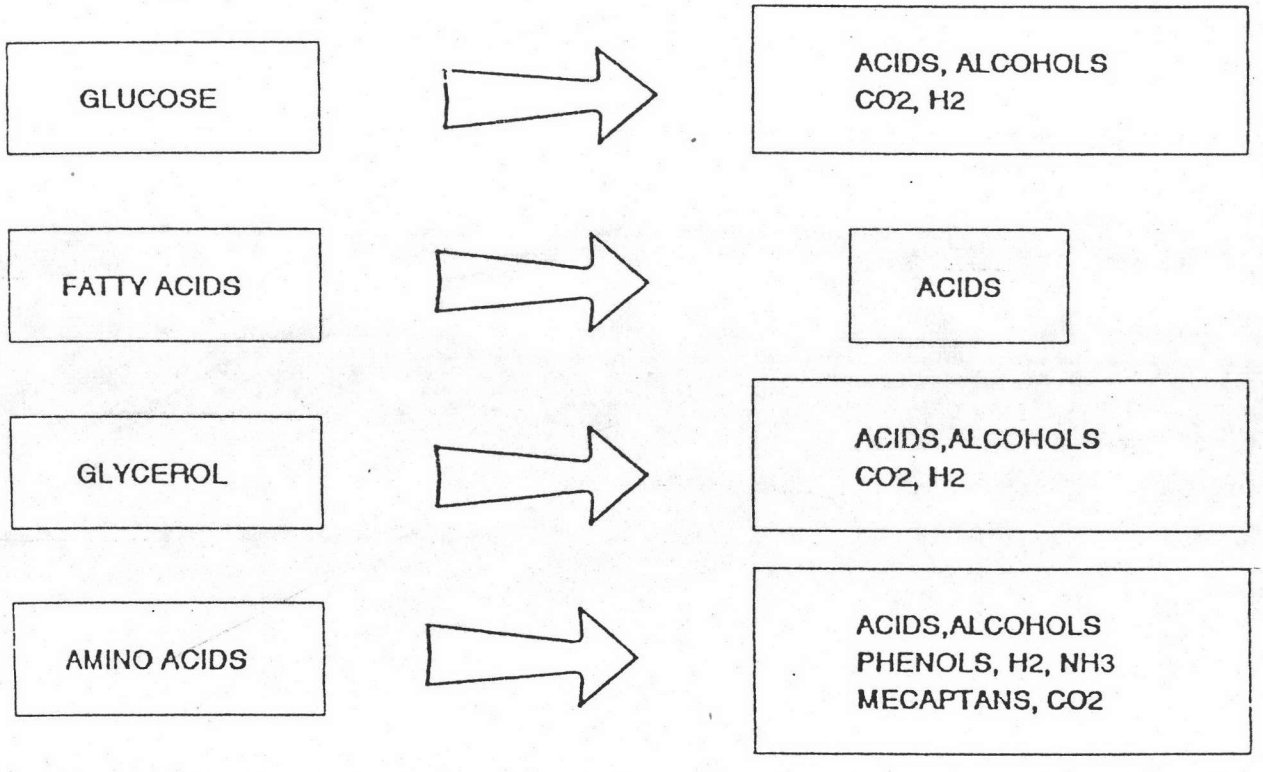
รูปที่ 2.2 การย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจน ของขั้นตอนไฮโดรไลซีส (hydrolysis)

ตารางที่ 2.1 แสดงอัตราการย่อย (hydrolysis)เซลลูโลสภายใต้การย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน (National Academy of Science, 1977)

System and Culture	Initial Cellulose Concentration Material	Cellulose Material	pH	Hydrolysis Rate (mg/l per day)
Batch, mixed 2 pure cultures from sewage, 38°C, mesophilic	2,000	Whatman #1 filter paper	6.8	260 660
Batch, pure culture from sewage, 25°C, mesophilic	3,120	Cellulose in sewage sludge	7.4	142
Batch, pure culture from soil and manure, 55°C,thermophilic	744 2,980	Absorbent cotton	- -	149 426
Batch, mixed culture from rumen, 60°C, thermophilic	41,200	Whatman 2 filter paper	6.5	11,400

2.1.2 ขั้นตอนการสร้างกรด (acid production)

สารประกอบอินทรีย์อย่างง่าย (simple organic) ที่ถูกย่อยสลายมาจากขั้นตอนไฮโดรไลซีส จะถูกดูดซึมเข้าเซลของจุลินทรีย์พวกสร้างกรด เพื่อใช้ในการสร้างเซลล์ใหม่และใช้เป็นพลังงาน ในช่วงนี้สารอินทรีย์จะถูกเปลี่ยนแปลงเป็นกรดอินทรีย์ (volatile fatty acids) และสารอื่น ๆ โดยกลไกย่อยสารภายในเซลล์ จะได้กรดอินทรีย์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ มีคาร์บอนอะตอมไม่เกิน 5 ตัว แอลกอฮอล์ แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ดังแสดงในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 การย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจนในขั้นตอนสร้างกรด (Acid Production)

การย่อยสลายสารอินทรีย์ โดยแบคทีเรียพวกสร้างกรด ส่วนใหญ่จะได้กรดไพรูวิค (pyruvic acid) ก่อนเสมอ หลังจากนั้นกรดไพรูวิคจึงจะถูกย่อยสลายต่อไปเป็นกรดอินทรีย์โมเลกุลใหญ่กว่าอะซิติก เช่น กรดโพรพิโอนิค (propionic acid) กรดบิวทีริค (bytyric acid) เป็นต้น หรืออาจจะได้เป็นกรดอะซิติกเลยก็ได้ กรดอินทรีย์จะถูกย่อยสลายด้วยแบคทีเรีย ที่สร้างไฮโดรเจน (hydrogen production acetogenic bacteria) ดังสมการ (TISTR, 1987)

$$CH_2\ CHOHCOO^- + 2H_2O \longrightarrow CH_3COO^- + HCO_3 + H^+ + 2H_2$$

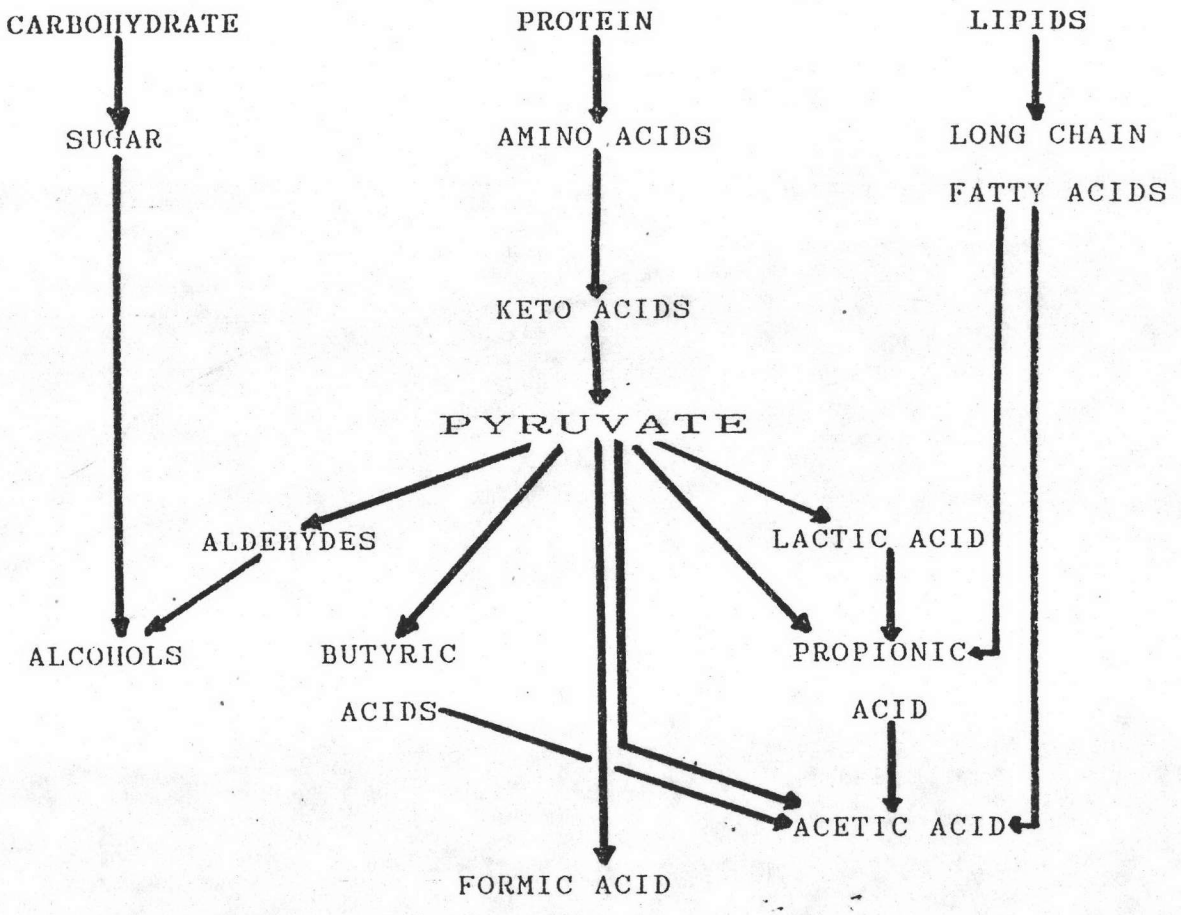
การย่อยสลายที่ไม่ผ่านกรดไพรูวิค สามารถเกิดขึ้นได้บ้าง เช่นการรวมตัวของคาร์บอนไดออกไซด์ และไฮโดรเจน โดยจุลินทรีย์ Clostridium aceticum ได้กรดอะซิติก ดังสมการ (อภิสิทธิ์ ศรีสุรินทร, 1990)

$$2CO_2 + 4H_2 \longrightarrow CH_3COOH + 2H_2O$$

การย่อยสลายสารอินทรีย์ ของจุลินทรีย์พวกสร้างกรด (acidogenic bacteria) ดังแสดงในรูปที่ 2.4 ขั้นตอนการย่อยสลายที่ทำให้เกิดกรดนี้ จะมีผลทำให้ซีโอดี ลดน้อยมากหรืออาจจะกล่าวได้ว่าไม่ลดลงเลยถ้าไม่มีการเกิดไฮโดรเจน ซีโอดีที่ลดลงไปนั้น เป็นผลมาจากการสูญเสียประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ ในระหว่างที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปของสารอินทรีย์เท่านั้น และเมื่อมีการสร้างไฮโดรเจน โดยอิเลคตรอน ถูกส่งให้กับไฮโดรเจนอิออน ทำให้เกิดแก๊สจึงเป็นการลดอิเลคตรอนของสารอินทรีย์ ทำให้สภาวะออกซิเดชั่นลดลง (อภิสิทธิ์ ศรีสุรินทร์, 1990) แบคทีเรียกลุ่มสร้างกรดนี้ดำรงชีวิตอยู่ได้ทั้งในสภาวะที่ใช้และไม่ใช้ออกซิเจน (facutative anaerobic bacteria) ดังแสดงในตารางที่ 2.2

2.1.3 ขบวนการสร้างมีเทน (methane production)

ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากขั้นตอนผลิตกรดซึ่งส่วนใหญ่ ได้แก่กรดอินทรีย์ระเหยง่าย จะถูกนำไปใช้เป็นอาหาร (substrate) โดยแบคทีเรียกลุ่มสร้างมีเทน โดยขั้นตอนนี้จะได้แก๊สมีเทน และคาร์บอนไดออกไซด์ แบคทีเรียกลุ่มนี้ ไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ถ้ามีออกซิเจน (obligate) และสามารถจะเจริญเติบโตได้ดีในช่วง พีเอชเป็นกลาง ประมาณ 7 - 8 อุณหภูมิที่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตของมัน ส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 30 - 35 ^{o} C (Barker, H.A., 1956)



รูปที่ 2.4 การย่อยสลายสารอินทรีย์ของแบคทีเรียพวกสร้างกรด
(อภิสิทธิ์ ศรีสุรินทร์, 1990)

ตารางที่ 2.2 ชนิดของจุลินทรีย์ที่สร้างกรด (acedogenic bacteria)

(Toerien, D.F., 1969)

Genus	Bacterial species	Reference
Aerobacter	*A. aerogenes*	Toerien (1967a)
Aeromonas	*Aeromonas* sp.	Kotzé *et al.* (1968)
Alcaligenes	*A. bookeri*	Toerien (1967b)
	A. faecalis	McCarty *et al.* (1962), Toerien (1967b)
	A. viscolactis	McCarty *et al.* (1962)
	Alcaligenes sp.	Kotzé *et al.* (1968)
Bacillus	*B. cereus*	Hattingh *et al.* (1967), Toerien (1967a,b)
	B. cereus var. *mycoides*	Hattingh *et al.* (1967), Toerien (1967a,b)
	B. circulans	Toerien (1967a,b)
	B. coagulans	Buck *et al.* (1954)
	B. firmus	Toerien (1967b)
	B. knefelkampi	Cookson and Burbank (1965), Burbank *et al.* (1966)
	B. megaterium	Hattingh *et al.* (1967), Toerien (1967a, b)
	B. pantothenticus	Hattingh *et al.* (1967)
	B. pumilis	Hattingh *et al.* (1967), Toerien (1967b)
	B. sphaericus	Toerien (1967b)
	B. subtilis	Toerien (1967a)
	Bacillus sp.	Toerien (1967a)
Bacteroides	*Bacteroides* sp.	Post *et al.* (1967)
Clostridium	*C. amilovalericum*	Hardman and Stainsman (1960)
	C. cuenofoetidum	Cookson and Burbank (1965), Burbank *et al.* (1966)
Escherichia	*E. coli*	McCarty *et al.* (1962), Cookson and Burbank (1965) Burbank *et al.* (1966), Toerien (1967b)
	E. intermedia	Toerien (1967a)
	Escherichia sp.	Kotzé *et al.* (1968)
Klebsiella	*Klebsiella* sp.	Burbank *et al.* (1966)
Leptospira	*L. biflexa*	Toerien (1967b)
	Leptospira sp.	Maki (1954)
Micrococcus	*M. candidus*	Toerien (1967a, b)
	M. luteus	Toerien (1967b)
	M. varians	McCarty *et al.* (1962), Toerien (1967a, b)
	M. ureae	Toerien (1967a, b)
	Micrococcus sp.	Kotzé *et al.* (1968)
Neisseria	*N. catarrhalis*	McCarty *et al.* (1962)
Paracolobactrum	*P. intermedium*	Toerien (1967b)
	P. coliforme	Toerien (1967b)
Proteus	*P. vulgaris*	Toerien (1967b)
Pseudomonas	*P. aeruginosa*	Toerien (1967a)
	P. ambigua	Toerien (1967a)
	P. denitrificans	Burbank *et al.* (1966)
	P. oleovorans	Toerien (1967a)
	P. peralcal	Toerien (1967b)
	P. pseudomallei	Toerien (1967a)
	P. reptilivora	McCarty *et al.* (1962), Toerien (1967b)
	P. viscosa	Toerien (1967b)
	Pseudomonas spp.	Burbank *et al.* (1966), Hattingh *et al.* (1967) Kotzé *et al.* (1968) Toerien (1967a, b)
Rhodopseudomonas	*R. palustris*	Toerien (1967b)
Sarcina	*S. coahuili*	Cookson and Burbank (1965), Burbank *et al.* (1966)
	S. lutea	McCarty *et al.* (1962)
Serratia	*S. indicans*	Burbank *et al.* (1966)
Streptococcus	*S. diplolidi*	Buck *et al.*, (1953)
Streptomyces	*S. bikiniensis*	Toerien (1967b)

ในอดีตเชื่อกันว่า ซับเสทรตที่ใช้ในการผลิตมีเทน โดยมีเทนแบคทีเรียที่เป็น pure culture นอกจากไฮโดรเจน, คาร์บอนไดออกไซด์ และ คาร์บอนมอนนอกไซด์ แล้วยังมีกรดวิวลาไทล์ที่มีคาร์บอนอะตอม $C_1 - C_6$ และ แอลกอฮอลล์ที่มีคาร์บอนอะตอม $C_1 - C_5$ ที่สามารถจะย่อยสลายให้กลายเป็นมีเทนได้โดยตรง ตารางที่ 2.3 แสดงสารประกอบในอดีต (1956) เชื่อกันว่าเป็นซับเสทรตโดยตรงในการผลิตมีเทนของมีเทนแบคทีเรียที่เป็น pure culture (Barker,H.A., 1956)

ตารางที่ 2.3 สารประกอบที่เชื่อกันในปี 1956ว่าเป็นสับเสตรทของมีเทนแบคทีเรีย

(Barker,H.A.,1956)

Fatty acid	Alcohols	Gas
Formic	Methanol	H_2
Acetic	Ethanol	CO
Propionic	n-propanol	CO_2
n-Butyric	Iso-propanol	
n-Valeric	n-Butanol	
n-Caproci	n-Pentanol	

ในปัจจุบันเชื้อพันธุ์ (cultures) ซึ่งคิดว่าบริสุทธิ์หรือเกือบบริสุทธิ์ในเวลานั้น (1956) เป็นที่น่าสงสัยว่าเป็นจริงหรือไม่ ในปี 1971 Wolfe รายงานว่ามีมีเทนแบคทีเรีย ที่เป็น pure culture เพียง 8 ชนิดเท่านั้น ที่รู้จักกันในปี 1971 ดังแสดงในตารางที่ 2.4

ส่วนซับเสทรตที่พบว่ามีแบคทีเรียสามารถนำไปใช้ได้ก็มีเพียงไฮโดรเจน , คาร์บอนไดออกไซด์ และกรดฟอร์มิค ยกเว้น แบคทีเรียชนิดเดียวกันเท่านั้น คือ Methanosarcina barkeri ที่สามารถใช้ไฮโดรเจน, คาร์บอนไดออกไซด์, เมทานอล หรือกรดอะซิติคได้ด้วย แต่ต่อมา Zeikus ได้พบแบคทีเรีย pure culture อีกตัวหนึ่ง คือ Methanobacterium thermoautophicum ซึ่งสามารถเปลี่ยนกรดอะซิติคให้เป็นมีเทนได้โดยมีไฮโดรเจนเป็นแหล่งพลังงานรวมเป็นมีเทนแบคทีเรียที่เป็น pure culture เพียง 9 ชนิดเท่านั้นที่ค้นพบจนถึงปี ค.ศ.1980

พบว่ามีเทนแบคทีเรียมีรูปร่างลักษณะต่าง ๆ คือ เป็นท่อน, กลมและเส้นยาว มีทั้งเป็น gram negative และ gram positive และ มีเพียง 2 ชนิดเท่านั้นที่เคลื่อนที่ได้ คือ Methanococcus vannielii และ Methanobacterium mobiles มีเทนแบคทีเรียทุกตัวมีอัตราการเจริญเติบโตช้ามากเมื่อเปรียบเทียบกับแบคทีเรียพวกaerobic bacteria (Wolfe, 1971) เนื่องจากพบว่าประมาณ 70 % ของมีเทนมาจากเมทิลกรุ๊ป (methyl group) ของกรดอะซิติคและอีก 30 % มาจากการรีดักชั่น (reduction) คาร์บอนไดออกไซด์ด้วยไฮโดรเจน ดังนั้นเราอาจจะแบ่งมีเทนแบคทีเรียออกเป็น 2 ชนิดได้โดยถือตามแหล่งที่มาของมีเทน ประเภทแรก คือ มีเทนแบคทีเรีย ที่สามารถสร้างพลังงานจากการออกซิเดชั่นไฮโดรเจน (H_2 utilization bacteria)และมีเทนแบคทีเรียพวกที่สองคือพวกที่สามารถสร้างมีเทนได้จากกรดอะซิติค(acetic utilizing bacteria)(Jeris,1965)

แบคทีเรียพวกที่ใช้ไฮโดรเจนเป็นแหล่งพลังงานทุกตัวล้วนแต่เป็นobligate anaerobe ซึ่งไม่สามารถทนต่อออกซิเจนได้เลย แบคทีเรียพวกนี้จะได้รับพลังงาน จากไฮโดรเจน และได้คาร์บอนไดออกไซด์ โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นสารตัวสุดท้ายที่รับอิเลคตรอนทำให้ได้มีเทนตามสมการ

$$4H_2 + CO_2 \text{ --------> } CH_4 + 2H_2O$$

นอกจากนี้แบคทีเรียกลุ่มนี้ยังสามารถใช้กรดฟอร์มิค (formic acid) แต่ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่า กรดฟอร์มิคสามารถถูกย่อยสลายให้กลายเป็นไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ได้ง่าย มีเทนแบคทีเรียเกือบทุกตัว จะมีเอนไซม์ formate dehydrogenase ยกเว้น Methanobac.Molt เท่านั้น แม้ว่าจากการศึกษาของ Kirsch & Sykes (1971) จะพบว่า การผลิตมีเทนบางส่วนจากการย่อยสลายกรดฟอร์มิค โดยมีเทนแบคทีเรียที่เป็น enrichment cultures เกิดขึ้นได้โดยการย่อยสลายกรดฟอร์มิคให้เป็นมีเทนได้โดยตรงเลย โดยไม่ต้องผ่านขั้นตอนที่เปลี่ยนกรดฟอร์มิคให้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์ และไฮโดรเจนก่อน แต่อย่างไรก็ตาม เชื่อกันว่า ส่วนใหญ่แล้วกรดฟอร์มิคที่เกิดขึ้นโดยขบวนการขั้นตอน non - methanogenic phase จะถูกเปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ และไฮโดรเจนก่อน แล้วคาร์บอนไดออกไซด์จึงจะถูกรีดิวส์เป็นมีเทนอีกทีหนึ่งยกตัวอย่าง เช่น การสร้างมีเทนจากกรดฟอร์มิคโดย Methanococcus vannielii มีสองขั้นตอนดังนี้ (Toerien, 1967)

$$4HCOOH \longrightarrow 4H_2 + 4CO_2$$

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

$$4HCOOH \longrightarrow CH_4 + 3CO_2 + 2H_2O$$

ในสภาวะแวดล้อมที่มี พีเอชประมาณ 7 และปริมาณไฮโดรเจนสูง มีเทนแบคทีเรียที่สร้างมีเทนจากไฮโดรเจน จะเจริญเติบโตเร็วโดยมีค่าสัมประสิทธิ์การเจริญเติบโต ( )ประมาณ 0.04 ชม^3 นอกจากนี้ยังพบว่าแบคทีเรียพวกนี้ไวต่อพีเอชมากและปรากฏว่า pH ที่อยู่นอกช่วง 6.7-7.4 จะชลอการเจริญเติบโตของแบคทีเรียเหล่านี้ นอกจากนี้แล้วเนื่องจากแบคทีเรียประเภทนี้เป็นแบบสร้างอาหารเองค่าผลผลิตของเซลล์จึงต่ำเสมอ(Toerien,1967)

Wolfe (1971) อ้างว่าสามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์ Methanosarcina barkeri ได้โดยป้อนกรดอะซิติคเป็นแหล่งพลังงานของมันเพียงอย่างเดียว อย่างไรก็ตามเป็นที่น่าสงสัยว่า M. barkeri จะสามารถใช้กรดอะซิติคเป็นพลังงานสำหรับการเจริญเติบโต

ได้หรือไม่เนื่องจากเมื่อพิจารณาดูสมการข้างล่าง จะเห็นได้ว่า พลังงานที่ได้จากการสลายตัวของกรดอะซิติค มาเป็นมีเทน และคาร์บอนไดออกไซด์นั้น แทบจะไม่พอที่จะใช้ในการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

$$CH_3COOH \text{ ----------> } CH_4 + CO_2 + 6.71 \text{ Kcal.}$$

Zeikus และคณะ(1971) เชื่อในการทดลองของ Stadman & Barker (1951) ที่อ้างว่าการย่อยสลายกรดอะซิติคเป็นมีเทนโดย M. barkeri ซึ่งใช้เวลานานมากถึง 15 สัปดาห์ อาจไม่ใช่เกิดจากการกระทำของมีเทนแบคทีเรียที่เป็น pure culture พวกเขาคิดว่า อาจมีไฮโดรเจนเข้ามาเกี่ยวข้อง โดยไฮโดรเจนนี้มาจาก mixed culture ของ M. barkeri ซึ่งเกิดจากการปนเปื้อน ของแบคทีเรียพวก Heterotrophic

Torien และคณะ (1970) รายงานว่ามีเทนแบคทีเรียได้พลังงานจากสารอื่น นอกจากกรดอะซิติคเพื่อที่จะให้ได้พลังงานพอเพียงในการเจริญเติบโต และได้รายงานว่า การใช้กรดอะซิติคอย่างเดียวเป็นแหล่งพลังงานสำหรับมีเทนแบคทีเรีย (enrichment cultures) ไม่สามารถเกิดขึ้นได้ Zeikus และคณะ (1971) ได้สนับสนุนแนวความคิดเห็นของ Torien และคณะ (1970) รายงานว่าจากการทดลอง Methanobact. thermo autotrophicum และ M. barkeri สามารถเปลี่ยนกรดอะซิติคให้กลายเป็นมีเทนได้โดยมีไฮโดรเจนเป็นแหล่งพลังงานร่วมด้วย ซึ่งแสดงให้เห็นได้ดังสมการ

$$CH_3COOH \text{ ----------> } CH_4 + CO_2 + 6.71 \text{ Kcal.}$$

$$CO_2 + 4H_2 \text{ ----------> } CH_4 + 2H_2O + 32.3 \text{ Kcal.}$$

สมการที่ 2 ให้พลังงานพอเพียงสำหรับการสร้างATP และพอเพียงสำหรับการเจริญเติบโตของเซลล์ Zeikus (1971) ได้รายงานต่อไปว่า มีเทนแบคทีเรียทั้งสองตัว คือ M. barkeri และ M. thermoautotrophicum สามารถใช้ทั้งกรดอะซิติก และคาร์บอนไดออกไซด์โดยมีไฮโดรเจนเข้ามาเกี่ยวข้อง คือ คาร์บอนไดออกไซด์และกรดอะซิติก

ตารางที่ 2.4 มีเทนแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ (อภิสิทธิ์ ศรีสุรินทร์, 1990)

ORGANISM	SOURCE	MORPHOLOGY	GRAM REACTION	SUBSTRATES	NUTRITIONAL REQUIREMENT		
					NITROGEN	VITAMINS	OTHER
Methanobacterium ruminantium	Rumen	Coccus to rod in chain	+	H_2+ CO_2 formate	NH_3	Growth factor from rumen fluid	Acetate, 2–Methylbutyrate
	Sludge	As above	+	H_2+ CO_2 formate	NH_3	Above growth factor not required B.Vitamin stimulatory	Acetate
Methanobacterium strain M.O.H.	Methanobacillus Omelianski	Irregularly curved rod	Variable	H_2+ CO_2 (formate not used)	NH_3	B.Vitamins stimulatory	Acetate stimulatory
Methanobacterium formicicum	Mud , sludge	Irregularly curved rod	Variable	H_2+ CO_2 formate	NH_3	(?)	(?)
Methanobacterium mobilis	Rumen	Short rod motile	-	H_2 + CO_2	NH_3	Growth factor from rumen fluid	(?)
Methanobacterium barkeri	Mud , sludge	Sarcina	+	formate H_2 + CO_2 Methanol,acetate	NH_3	None	None
Methanococcus vanniclii	Mud	Motile coccus	(?)	H_2 + CO_2 formate	NH_3	None	None
Metnanospirillum sp.	Sludge	Spirillum	+	H_2 + CO_2 formate	-	-	-
Methanococcus sp.	Sludge	Coccus	+	H_2 + CO_2 formate	-	-	-

จะทำหน้าที่เป็นสารรับอิเลคตรอนและทั้งคู่จะถูกรีดิวส์เป็นมีเทน ขณะที่ไฮโดรเจนทำหน้าที่เป็นสารให้อิเลคตรอนในทั้งสองกรณี ดังสมการดังต่อไปนี้

$$CH_3COOH + 4H_2 \text{ ----------> } 2CH_4 + 2H_2O + 39 \text{ Kcal.}$$

$$CO_2 + 4H_2 \text{ ----------> } CH_4 + 2H_2O + 32.3 \text{ Kcal.}$$

เป็นการยากที่จะบอกได้ว่า ปฏิกิริยาทั้งสองนี้ อันไหนควรจะเกิดขึ้นมากกว่ากัน เนื่องจากทั้งสองสมการให้พลังงานใกล้เคียงกัน อย่างไรก็ตาม Zeikus (1971) ได้กล่าวว่า ทั้งกรดอะซิติค และ H_2/HCO_3 สามารถที่จะรับอิเลคตรอนได้จากไฮโดรเจนในระหว่างที่มีการผลิตมีเทน แต่ในสภาวะแวดล้อมที่มีปริมาณไฮโดรเจนสูงในบรรยากาศของแก๊สไฮโดรเจน จะเป็นตัวรับอิเลคตรอนที่ดีกว่าในขบวนการผลิตมีเทน ส่วนในสภาวะแวดล้อมที่มีปริมาณไฮโดรเจนในบรรยากาศของแก๊สต่ำ และความเข้มข้นของกรดอะซิติกสูง กรดอะซิติกจะเป็นตัวรับอิเลคตรอนที่ดีกว่า ดังนั้น ในกรณีเช่นนี้แก๊สมีเทนส่วนใหญ่จะมาจากเมทิลกรุ๊ปของกรดอะซิติกเท่าที่กล่าวมา อาจสรุปได้ว่า acetate utilizing bacteria สามารถผลิตมีเทนได้จากทั้งกรดอะซิติกและคาร์บอนไดออกไซด์ ส่วน hydrogen utilizing bacteria สามารถที่จะผลิตมีเทนได้จากคาร์บอนไดออกไซด์ เท่านั้น และยังไม่มีหลักฐานยืนยันแน่ชัดว่าแบคทีเรียทั้งสองชนิดนี้จะเป็นชนิดเดียวกัน อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันนี้ความรู้ทางชีวเคมีของแบคทีเรียที่สร้างมีเทนจากอะซิติก ยังมีไม่มากพอที่จะอธิบายกลไกการทำงานที่แท้จริงของมันได้ทุกอย่าง แต่ก็เชื่อว่ากรดอะซิติกคงเป็นสารต้นกำเนิดที่สำคัญของมีเทน

ดังแสดงใน ตารางที่ 2.4 M. barkeri สามารถใช้เมทานอลเป็นสารอาหารในการผลิตมีเทนได้ แต่ความสำคัญของเมทานอลยังมีน้อย เนื่องจากตามธรรมชาติแล้วในขบวนการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน ส่วนใหญ่มักจะไม่เกิดเมทานอล ดังนั้นการผลิตมีเทนจากเมทานอลตามธรรมชาติจึงไม่ค่อยเกิดขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม M. barkeriสามารถใช้เมทานอลเป็นซับเสทรตในการผลิตมีเทน ดังสมการ (Zeikus, 1971)

M. barkeri

$$4CH_3OH \text{ ---------> } 3CH_4 + CO_2 + 2H_2 + 74.55 \text{ Kcal.}$$

2.2 แก๊สชีวภาพที่เกิดจากกระบวนการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน

McCarty (1964) ได้แสดงความสัมพันธ์ระหว่างแก๊สมีเทนกับปริมาณของซีโอดี ที่ถูกย่อยสลาย ว่า 1 ปอนด์ ของซีโอดี หรือ บีโอดี ที่ถูกย่อยสลายจะได้แก๊สมีเทน 5.62 ฟุต^3 ที่ STP หรือ 1 กรัม ของซีโอดี หรือ บีโอดี ที่ถูกย่อยสลายจะได้แก๊สมีเทน 0.351 ลิตร ที่ STP แก๊สชีวภาพประกอบด้วย แก๊สมีเทน (CH_4) ประมาณ 60-70 % และ แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ประมาณ 30 - 40 % ส่วนปริมาณไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) มีความชื้นปนอยู่เพียงเล็กน้อย คุณสมบัติของแก๊สชีวภาพส่วนใหญ่ถูกกำหนดโดยแก๊สมีเทน ซึ่งเป็นส่วนประกอบหลัก แก๊สชีวภาพมีค่าความร้อนประมาณ 4,500 - 5,000 กิโลแคลอรี/ม.^{3} เนื่องจากแก๊สชีวภาพประกอบด้วย แก๊สมีเทน และคาร์บอนไดออกไซด์เป็นส่วนใหญ่ ดังนั้นคุณสมบัติของแก๊สชีวภาพจึงเกี่ยวข้องโดยตรงกับคุณสมบัติของแก๊สมีเทน และคาร์บอนไดออกไซด์ โดยตารางที่ 2.5 แสดงคุณสมบัติของแก๊สมีเทนและคาร์บอนไดออกไซด์

2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน

2.3.1 อุณหภูมิ

Jannasch และ Meteles (1974) ได้แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิที่มีผลต่อสรีระวิทยา และส่วนประกอบทางเคมีของเซลล์ ในระหว่างที่มีการเจริญเติบโตอย่างต่อเนื่อง เพราะเอนไซม์มีความเหมาะสมในการทำงานที่อุณหภูมิแตกต่างกัน ในระยะต่อมามีรายงานว่าจุลินทรีย์ที่สร้างแก๊สมีเทน สามารถอาศัยอยู่ได้ในสภาพแวดล้อมที่มีอุณหภูมิตั้งแต่ 0 - 97 ^oC (Hughes และคณะ, 1981; Maatta, 1985) ส่วน Gaudy (1981) ได้แบ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ไว้เป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

psychrophilic ได้แก่กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตได้ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 0-20^oC

mesophilic ได้แก่กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตได้ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 20-45^oC

thermophilic ได้แก่กลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตได้ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 45-90^oC

ตารางที่ 2.5 คุณสมบัติของแก๊สมีเทน (CH_4) และ คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2)

(McCarty, 1964)

Properties of Methane and Carbon Dioxide

METHANE (Synonyms: Marsh Gas; Methyl Hydride) CH_4

Physical Constants

Molecular Weight	16.04
Specific Volume at 70°F, 1 atm	23.7 cu ft/lb
Boiling Point at 1 atm	−258.9°F (−161.61°C)
Freezing Point at 1 atm	−296.5°F (−182.5°C)
Specific Gravity, Gas 60°F, 1 atm, Air=1)	0.5549
Density, Gas at 32°F, 1 atm	0.04475 lb/cu ft
Critical Temperature	−115.8°F (−82.1°C)
Critical Pressure	673.3 psia (45.8 atm)
Critical Density	0.162 g/cc
Latent Heat of Vaporization at bp	121.87 cal/g
Latent Heat of Fusion at mp	14.03 cal/g
Specific Heat, Gas at 60°F	
Cp	0.5271 Btu/(lb) (°F)
Cv	0.4032 Btu/(lb) (°F)
Ratio, Cp/Cv	1.307
Flammable Limits in Air	5.3-14% (by volume)
Heat of Combustion at 25°C	97.8 Btu/cu ft
Gross Heat of Combustion, 60°F., 1 atm	1011.6 Btu/cu ft
Viscosity at 60°F	0.012 centipoise
Viscosity, Gas, 32°F, 1 atm	0.0109 centipoise

CARBON DIOXIDE (Synonym: Carbonic Anhydride) CO_2

Physical Constants

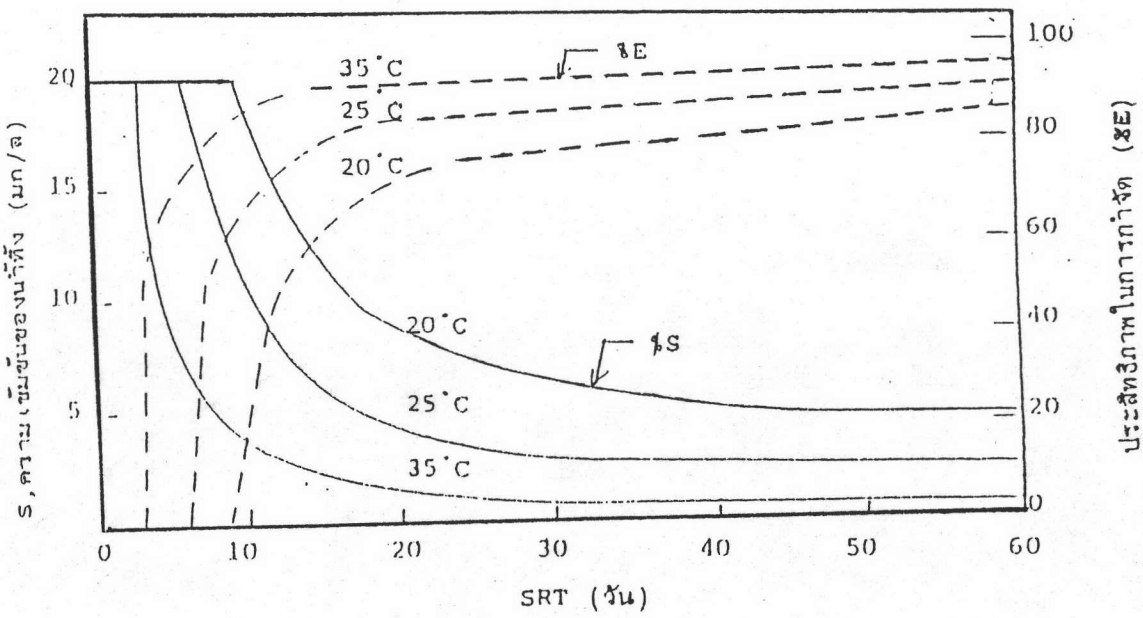
Molecular Weight	44.01
Vapor Pressure at 70°F	830 psig
Specific Volume at 70°F, 1 atm	8.76 cu ft/lb
Sublimation Point at 1 atm	−109.3°F (−78.5°C)
Triple Point at 5.11 atm	−69.9°F (−56.6°C)
Density, Gas at 70°F, 1 atm	0.1146 lb/cu ft
Specific Gravity, Gas (Air=1)	1.5239
Critical Temperature	87.8°F (31.0°C)
Critical Pressure	1071.6 psia (72.9 atm)
Critical Density	0.468 g/ml
Latent Heat of Vaporization	
at tp	149.6 Btu/lb
at 0°C	101.03 Btu/lb
Specific Heat at 60°F	
Gas Cp	0.1988 Btu/(lb) (°F)
Gas, Cv	0.1525 Btu/(lb) (°F)
Ratio Cp/Cv	1.303
Thermal Conductivity	
at 32°F	0.0085 Btu/(hr) (sq ft) (°F/ft)
at 212°F	0.0133 Btu/(hr) (sq ft) (°F/ft)
Viscosity of Gas at 70°F, 1 atm	0.0148 centipoise

Hughes และคณะ (1981) ได้รายงานการตรวจพบการสร้างแก๊สมีเทนโดยจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 4 ^{o}C แสดงว่าใน psychrophilic มีการเจริญเติบโตของมีเทนแบคทีเรียบางชนิด Lettinga และคณะ (1984)ได้รายงานว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการย่อยสลายมากที่สุดของ mesophilic เป็นที่ 37 ^{o}C Henze และ Harremoes (1983) ได้แนะนำถึงการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิว่าควรเปลี่ยนแปลงเป็นขั้น ๆ อย่างช้า ๆ วันละ 1 ^{o}C Stafford และคณะ (1980) ได้รายงานว่า การเพิ่มอุณหภูมิทุก 10-15 ^{o}C จะทำให้ความสามารถของมีเทนแบคทีเรียเพิ่มขึ้นเท่าตัว Zoete meyer และคณะ (1982) ได้รายงานว่าที่อุณหภูมิ 52 ^{o}C เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการย่อยสลายมากที่สุดใน thermophilic Souza (1986) Fannin และคณะ (1980) ได้รายงานว่า ใน thermophilic จะมีประสิทธิภาพของการย่อยสลายมากกว่า mesophilic สุเมธ ชวเดช (1986) ได้แนะนำว่าอุณหภูมิของน้ำเสียที่เข้าสู่ระบบควรมีความผันแปรน้อยที่สุด และการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของระบบขึ้น ๆ ลง ๆ จะทำให้ระบบมีประสิทธิภาพต่ำลง

Maly & Fadrus (1971) ได้ทำการทดลองใน batch culture ที่อุณหภูมิ 20 ^{o}C, 30 ^{o}C และ 50 ^{o}C ผลปรากฏว่าที่อุณหภูมิสูง อัตราการเกิดแก๊สในช่วงแรกจะเร็วกว่า ที่อุณหภูมิต่ำส่วนปริมาณแก๊สสุดท้ายที่ได้ในช่วงเวลาที่ใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์นานมากที่สุดนั้นให้ผลเช่นเดียวกัน แต่โปรตีนจะถูกย่อยสลายมากขึ้นที่อุณหภูมิสูง. Pfetter & Liebman(1974) พบว่าจะเกิดการยับยั้งต่อแบคทีเรียพวกที่สร้างมีเทนที่อุณหภูมิประมาน 63^{o}C

Garber และคณะ (1972) ได้ทำการทดลองระบบหมักขนาดใหญ่ (full scale) ที่อุณหภูมิช่วง thermophilic ที่ Hyperlon Treatment Plantในลอสเองเจลิส และRimkus และคณะ (1982)ได้ทำการทดลองที่ West-Southwest Sewage Treatment Work ชิคาโก, อิลลินอย ผลการทดลองปรากฏว่า ได้ผลดีสำหรับการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจนที่อุณหภูมิในช่วง thermophlic รายละเอียดการทดลองดังแสดงไว้ในตารางที่ 2.6

Lawrence & McCarty (1969) พบว่า ปฏิกิริยาชีวเคมีแบบไม่ใช้ออกซิเจนจะเกิดได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิสองช่วงคือ 30-35°C (Mesophilic) และช่วง 45-57°C (Thermophilic) และแสดงให้เห็นถึง อิทธิพลของอุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บกักตะกอน SRT ต่อประสิทธิภาพของการกำจัดน้ำทิ้ง ดังแสดงในรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 ความสัมพันธ์ของอุณหภูมิ , ระยะเวลาการเก็บกักตะกอนจุลินทรีย์และประสิทธิภาพการกำจัด (Lawrence & McCarty, 1969)

ตารางที่ 2.6 แสดงผลการทดลองต่าง ๆ เกี่ยวกับผลของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิต่อการเกิดแก๊ส (Garber และคณะ, 1972)

Fair & Moore (1932)		Hatfield et al. (1928)		Rodolf (1927)		UARL (1973)		Hashimoto & Furukawa (1982)	
Temp. C	Gas ml/g	Temp. C	Gas ml/g	Temp. C	Gas ml/g	Temp. C	Gas ml/g	Temp. C	Gas ml/g
10	450	11.5	400	10	130	37	8.59	25	1500
15	530	18.7	500	18	250	48	7.92	28	1600
20	610	25.3	552	24	320	55	8.54	37	1700
25	710	31.4	572	29.5	400			40	1300
30	760	35.2	566	35	400			45	385
								50	540
								55	580

Cooney & Hise (1975)		Maly & Fadrus (1971)		Pfeffer (1974 b)		Rimkus (1982)		Garber (1982)	
Temp. C	Gas l/d	Temp. C	Gas ml/lsludg	Temp. C	Gas l/g	Temp. C	Gas cu.m/kg	Temp. C	Gas cu.m/kg
37	11.61	20	10660	35	0.228	34.4	0.32	35.6	0.70
42	3.39	30	11710	40	0.375	52.7	0.40	49	0.75
45	1.89	40	11820	45	0.313				
49	2.23			50	0.400				
54	1.02			55	0.426				
57	1.22								
65	14.44								

จากรูปที่ 2.5 จะเห็นได้ว่า เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นระยะเวลาการกักตะกอนจะน้อยลงโดยที่ประสิทธิภาพของการกำจัดสารอินทรีย์ยังคงเดิม หรือถ้าอุณหภูมิลดลงระยะเวลาในการกักตะกอนจะต้องเพิ่มขึ้น เพื่อที่จะให้มีประสิทธิภาพของระยะกำจัดคงเดิม

2.3.2 ค่าพีเอช (pH)

ค่า pH มีอิทธิพลต่อเสถียรภาพของระบบ โดยการขจัดโปรตรอนส่วนเกิน เนื่องจากโปรตรอนส่วนเกินจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของ H_2 ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ Gaudy (1981) ได้ตั้งสมมุติฐานว่า ค่า pH ที่แตกต่างกันไปจะมีปริมาณไฮโดรเจนอิออนแตกต่างกัน ซึ่งทำให้ค่าความแตกต่างศักย์ทางเคมีไฟฟ้า(electrochemical gradient) ของการขนถ่ายสารอาหาร และกำจัดของเสียออกจากเซลล์เปลี่ยนแปลง โดยที่ค่า pH ต่ำ ๆ จะมีปริมาณไฮโดรเจนอิออนอยู่มากทำให้การซึมเข้าและออกจากเซลล์เป็นไปได้ยากเป็นเหตุให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตและการตายของจุลินทรีย์

โดยทั่วไปในกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน ถ้าค่า pH ต่ำกว่า 6.5 ประสิทธิภาพการทำงานของจุลินทรีย์พวกสร้างมีเทนจะลดลงอย่างมาก แต่ถ้าต่ำกว่า 5.0 จะยับยั้งการเจริญเติบโตและตาย สำหรับจุลินทรีย์พวกสร้างกรด มีความสามารถทนต่อสภาพความเป็นกรดได้ต่ำกว่า 4.5 โดยที่ไม่เป็นอันตราย เนื่องจากธรรมชาติของจุลินทรีย์ชนิดนี้เมื่อย่อยสลายสารอินทรีย์แล้วจะได้กรดอินทรีย์ และมีค่า pH ที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนควรจะเป็น 6.6 - 7.6 (McCarty, 1964)

Albertson (1961) ได้แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง pH. คาร์บอนไดออกไซด์ และค่าความเป็นด่าง ดังสมการ

$$pH : 5.14 - \log (\%\ CO_2) + \log (HCO_3\ mg/las\ CaCO_3)$$

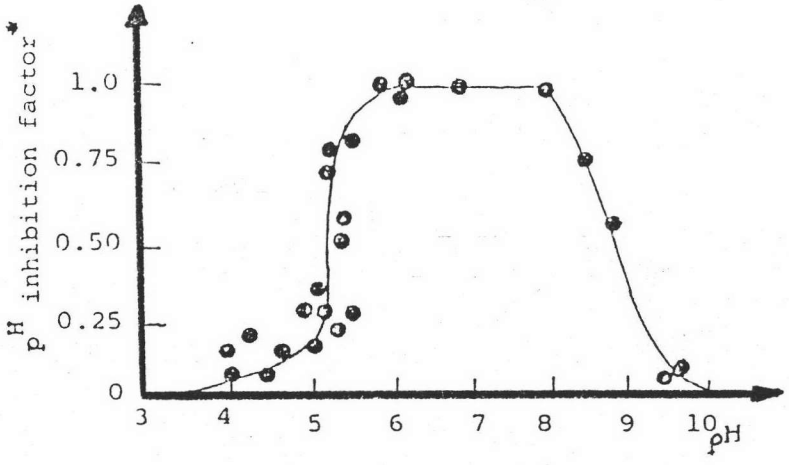
Hughes และคณะ (1981) กล่าวไว้ว่า โดยทั่วไป pH ที่เหมาะสมในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจนคือ 6-8 และที่เหมาะสมต่อการทำงานมากที่สุดคือ pH 7 แต่ยังตรวจพบการเกิดแก๊สมีเทนที่ pH 3 เรียกสภาพ acid bogs pH ที่เหมาะสมสำหรับแบคทีเรียที่สร้างกรดคือ 5-6 และทนได้ถึง pH 4.5 โดยสภาพธรรมชาติทำให้แบคทีเรียกลุ่มนี้ทนต่อความเป็นกรดได้ดีกว่าแบคทีเรียทั่วไป แต่ขั้นตอนที่เป็นข้อจำกัดในขบวนการย่อยสลายของ

ระบบคือขั้นตอนการย่อยสลายของมีเทนแบคทีเรีย (Maatta, 1985) เช่น การเกิดสภาพการรับภาระเกิน (overload) ทำให้ความเข้มข้นกรดไขมันเพิ่มสูง ทำให้ค่า pH ต่ำลง จึงยับยั้งขบวนการเจริญเติบโตของมีเทนแบคทีเรีย (Whitomre และคณะ. 1987) เนื่องจากมีเทนแบคทีเรียพยายามส่งถ่ายอิเลคตรอนจากโมเลกุลของ H_2 ไปให้ส่วนปลายที่รับอิเลคตรอนของ CO_2 แต่จะทำไม่ได้ในสภาพที่มี pH ต่ำ เพราะอิเลคตรอนจะค่อย ๆ รวมตัวกับโปรตรอนทีละน้อย เกิดสภาพเทอร์โมไดนามิคที่ไม่เอื้ออำนวยต่อการออกซิไดซ์ ของมีเทนแบคทีเรียในการเปลี่ยน H_2 ไปเป็น CH_4 แต่จะเกิดปฏิกริยาย้อนกลับของโปรตอนที่ละน้อยดังปฏิกริยา (Lane, 1981)

$$H_2 \longleftrightarrow H^+ + 2e \text{ --------> } CH_4 \quad \text{(Lane, 1981)}$$

แต่ค่า pH จะสัมพันธ์กับค่าความเป็นด่าง ดังนั้นจึงสามารถรักษาระดับของ pH ในถังหมักให้สูงกว่า 6 ได้ โดยการใช้ด่าง เช่น ปูนขาว, โซเดียมไบคาร์บอเนต เพื่อรักษาความสมดุลของจุลินทรีย์ที่สร้างกรด และจุลินทรีย์ที่สร้างแก๊สมีเทน (Kerbu และคณะ. 1980) เมื่อคิดถึงค่าใช้จ่ายแล้ว การใช้โซเดียมไบคาร์บอเนตจะเหมาะสมที่สุด (Henze และ Harremoes. 1983) ซึ่ง Souza (1986) ได้รายงานว่า ค่า pH ที่ต่ำกว่า 6.5 หรือสูงกว่า 7.5 จะเป็นอันตรายต่อมีเทนแบคทีเรีย โดยที่ค่า pH จะสัมพันธ์กับค่า alkalinity และความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ เมื่อมีกรดอินทรีย์มากขึ้นค่า alkalinity จะลดลงก่อนเนื่องจากเป็น buffer ของถังหมัก จากนั้นค่า pH จึงลดลง

Clark & Specae (1970) ได้ทำการทดลองและแสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของ pH ที่มีต่ออัตราการทำงานของมีเทนแบคทีเรีย ดังแสดงในรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 ผลของ pH ที่มีต่อการทำงานของมีเทนแบคทีเรีย (Clark&Specae,1970)

Kirsch & Sykers (1971) แนะนำว่า $NaHCO_3$ เป็นสารเคมีตัวที่ดีที่สุดในการควบคุม pH แม้ว่าจะมีราคาแพงกว่าสารเคมีตัวอื่น เช่น ปูนขาว (lime) อยู่บ้างก็ตาม

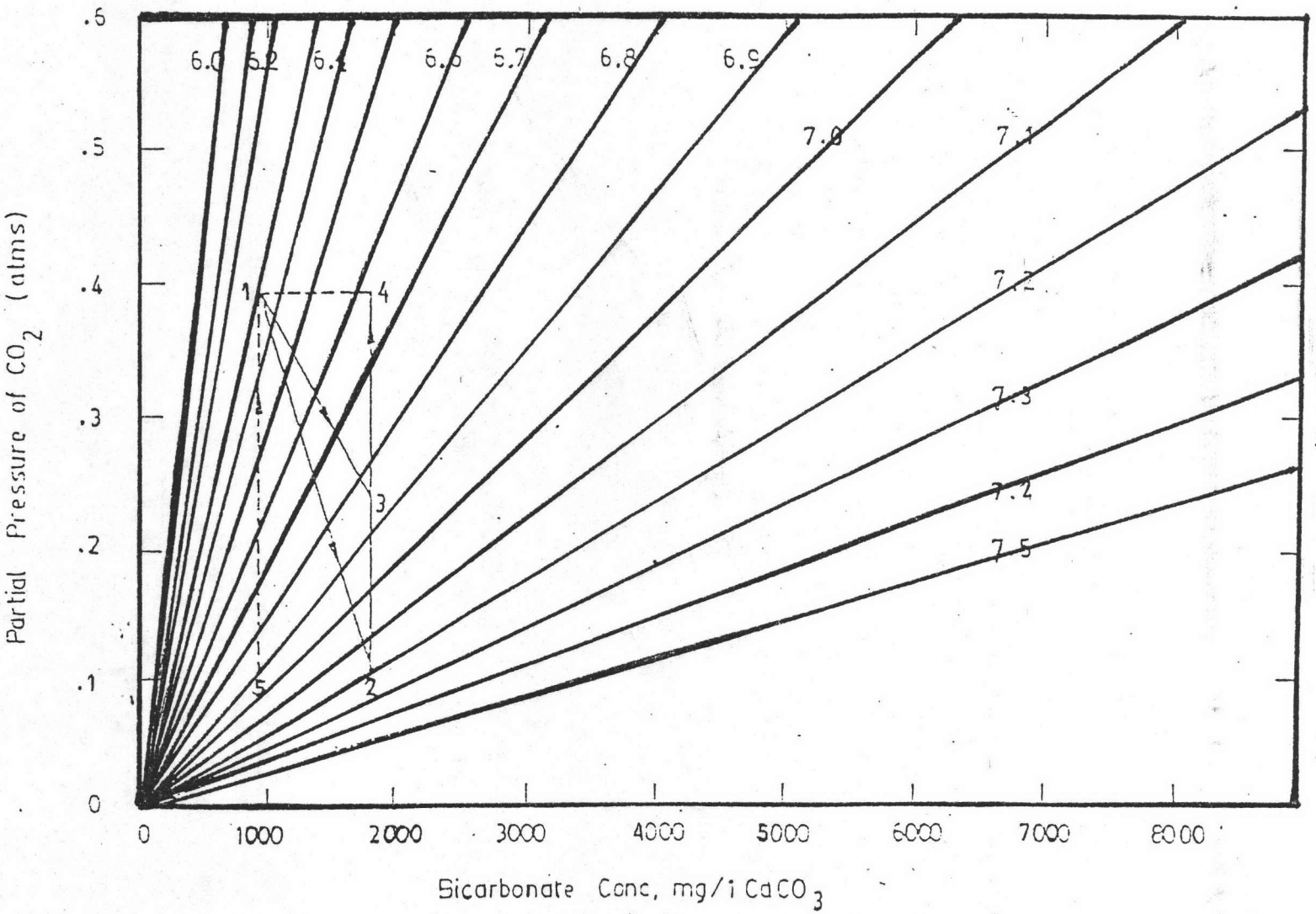
ศักดิ์ชัย รอภาสวัตชัย (1984) รวบรวมข้อมูลว่า สารเคมีที่ใช้เพิ่ม pH ในถังหมักมีหลายอย่างเช่น ปูนขาว (CaO), $NaHCO_3$, NaOH หรือ Na_2CO_3 เป็นต้น ถ้าใช้ NaOH หรือ ปูนขาว หรือ Na_2CO_3 สมดุลทางไอออนิคจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้ CO_2 ถูกดึงออกจากบรรยากาศของแก๊สที่อยู่ในถังหมักเข้าไปทดแทนส่วนของ CO_2 ในน้ำซึ่งถูกทำลายโดยสารละลายด่างที่เติมลงไป เพื่อสร้างความเป็นด่างไบคาร์บอเนต ยกตัวอย่างเช่น ถ้าสภาวะเริ่มต้นของถังหมักอยู่ที่ตำแหน่ง 1 ดังแสดงในรูปที่ 2.7 การเติม NaOH หรือ$Ca(OH)_2$

ทำให้ความดันย่อย (partial pressure) ของ CO_2 และไบคาร์บอเนตเพิ่มขึ้น จุดสมดุลก็จะเลื่อนไปอยู่จุดที่ 2 แต่อย่างไรก็ดี แบคทีเรียจะสร้าง CO_2 ขึ้นมาใหม่ ทำให้ค่าความดันย่อยของ CO_2 เพิ่มขึ้นไปอยู่ที่ระดับเดิม จุดสมดุลจึงเลื่อนจากจุดที่ 2 ไปอยู่ที่จุด 4 เป็นผลให้ pH ลดลงทั้งที่ความเป็นด่างยังคงเดิมอยู่ ถ้า Na_2CO_3 มีจำนวนโมลเท่ากันถูกเติมลงไปแทน จุดสมดุลจะเลื่อนจากจุด 1 ไปอยู่จุดที่ 3 ก่อนที่จะหยุดที่จุด 4 ด้วยเหตุผลเดียวกัน ในทำนองเดียวกัน ถ้า $NaHCO_3$ จำนวนเดียวกันถูกใช้แทน สมดุลจะเลื่อนจากจุด 1 ไปอยู่จุดที่ 4 โดยตรง ทั้งนี้เพราะ CO_2 ในถังหมักไม่ถูกดึงไปใช้สร้างคาร์บอเนต อนึ่งการกำจัด CO_2 ออกจากแก๊สในถังหมักโดยตรง ก็อาจช่วยทำให้ pH สูงขึ้นได้ ในกรณีนี้จุดสมดุลจะเลื่อนจากจุด 1 ไปจุด 5 แต่เมื่อแบคทีเรียสร้าง CO_2 ขึ้นใหม่ จุดสมดุลจะเลื่อนกลับไปจุดที่ 1 อีก การปรับ pH แบบนี้ จึงไม่ใช้วิธีการถาวร

ศักดิ์ชัย รอภาสวัตชัย(1984) แนะนำว่าการเลือกใช้สารเคมีต้องพิจารณาปัจจัย 2 ประการ คือ

ปัจจัยแรก เกี่ยวข้องกับการเติมสารเคมี สารเคมีที่จับ CO_2 ทำให้ pH สูงเกินความต้องการก่อนเสมอ จากนั้น CO_2 ที่สร้างใหม่ จะทำให้ pH ค่อยลดลงไปจนถึงจุดที่ต้องการ ถ้าปริมาณของสารเคมีที่ต้องการใช้อยู่ในระดับสูง การเติมลงไปทีเดียวอาจทำให้ pH เพิ่มขึ้นสูง จนถึงระดับที่อาจเป็นพิษได้ ด้วยเหตุนี้การเติมสารเคมีที่จับ CO_2 จึงค่อย ๆ เติมทีละน้อยอย่างช้า ๆ เพื่อให้การเปลี่ยนแปลงของ pH เป็นไปอย่างช้า ๆ ส่วนการเติมสารประกอบไบคาร์บอเนตโดยตรงนั้น ไม่มีผลแบบที่เกิดขึ้นกับสารจับ CO_2 ทำให้มีความสะดวกกว่า ทำให้สามารถเติมสารเคมี และปรับ pH ได้อย่างละเอียดแม่นยำ

ปัจจัยที่สอง คือ ความสามารถในการละลายน้ำของสารที่เป็นผลสุดท้ายของปฏิกริยาการเติมปูนขาวให้กับถังหมัก จะทำให้ความเป็นด่างเพิ่มขึ้น เนื่องจากปูนขาวจะรวมกับ CO_2 หรือ H_2CO_3 ทำให้ได้สารไบคาร์บอเนต แต่เนื่องจากแคลเซียมไบคาร์บอเนตมีขีดจำกัดในการละลายน้ำอยู่ที่ประมาณ 500-1000 มก/ล การเติมปูนขาวเพิ่มขึ้นจะทำให้เกิดตะกอนหินปูน $CaCO_3$ ซึ่งไม่ละลายน้ำ เป็นเหตุให้เกิดภาระกำจัด CO_2 โดยที่ความเป็นด่างไบคาร์บอเนตไม่เพิ่มขึ้น การลดลงของ CO_2 ทำให้ความดันย่อยของ CO_2 ลดลงด้วย pH จึงสูงขึ้นอย่างรวดเร็วแต่เนื่องจากความเป็นด่างไม่ได้เพิ่มขึ้นตาม จึงทำให้ pHไม่มีเสถียรภาพ ทันทีที่แบคทีเรียผลิต CO_2 ขึ้นมาใหม่ pH จะลดลงทันที



รูปที่ 2.7 ความสัมพันธ์ทางทฤษฎีระหว่างคาร์บอนไดออกไซด์, pH และ
ความเป็นด่างของถังหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน

2.3.3 <u>ความเป็นด่าง (alkalinity)</u>

ความเป็นด่างในถังหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจนส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของไบคาร์บอเนต ซึ่งเกิดมาจากปฏิกริยาระหว่างแอมโมเนียกับ CO_2 และน้ำ ให้อยู่ในรูปของแอมโมเนียมไบคาร์บอเนต ดังสมการ (Albertson. 1961)

$$NH_4^+ + OH^- + H^+ \; HCO_3^- \rightleftharpoons NH_4^+ + H_2O$$

$$(NH_3 + H_2O) \quad (CO_2 + H_2O)$$

ความสำคัญของความเป็นด่างคือ จะเป็นบัฟเฟอร์ที่ดีให้แก่ระบบที่จะควบคุม pH ให้อยู่ระหว่าง 6.8 ถึง 7.2 แต่เมื่อความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ระเหยง่าย ภายในระบบเพิ่มขึ้น ความเป็นด่างไบคาร์บอเนตที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ จะถูกทำลายไปและถูกแทนที่โดย volatile acid alkalinity (VAA) ดังสมการ

$$HCO_3^- + HAc \longrightarrow CO_2 + H_2O + Ac$$

การทำลายความสามารถในการบัฟเฟอร์นี้เป็นสาเหตุทำให้ pH ลดลงและถึงแม้ว่าความเป็นด่างจะมีความจำเป็น ในการควบคุมสภาวะสมดุลของการหมักก็ตาม แต่ความเป็นด่างอย่างเดียว ไม่สามารถที่จะชี้ถึงปัญหาที่จะเกิดขึ้นในการหมักได้ นอกจากจะใช้เปรียบเทียบกับความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ ค่าความเป็นด่างที่แสดงในรูปของแคลเซียมคาร์บอเนตควรจะสูงกว่าค่าความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ที่อยู่ในรูปของแคลเซียมคาร์บอเนต เช่นเดียวกันเมื่อความเข้มข้นทั้งสองเท่ากัน ความสามารถในการบัฟเฟอร์ก็จะลดลงเหลือเพียงเล็กน้อย ปัญหาก็จะเกิดขึ้นทันที

รูปที่ 2.8 (McCarty, 1964) แสดงให้เห็นว่า ความเป็นด่างไบคาร์บอเนต ควรจะรักษาให้อยู่ในระดับอย่างน้อย 1000 มก/ล. ในรูป $CaCO_3$ เพื่อที่จะให้แน่ใจว่าเพียงพอในการควบคุม pH ไม่ให้ต่ำลงจนถึงขีดอันตราย การหาค่าความเป็นด่างไบคาร์บอเนต จำเป็นจะต้องหา ค่าความเข้มข้มของกรดอินทรีย์ และค่าความเป็นด่างทั้งหมด

มาก่อน เมื่อทราบค่าเหล่านี้แล้ว จึงนำมาคำนวนหาความเป็นด่างไบคาร์บอเนต ได้จากสมการซึ่งพัฒนาขึ้นมาครั้งแรกโดย Pohland & Bloodgood (1963) และต่อมาได้รับการปรับปรุงโดย McCarty (1964, part two) ดังสมการ

$$BA = TA - (0.85)\ (0.833)\ TVA$$ เมื่อ

BA = ความเป็นด่างไบคาร์บอเนต (bicarbonate alkalinity): มก/ล ในรูป $CaCO_3$

TA = ความเป็นด่างทั้งหมด (total alkalinity); มก/ล ในรูป $CaCO_3$

TVA = ความเข้มข้นทั้งหมดของกรดอินทรีย์ระเหยง่าย (total volatine acid concentration) ; มก/ล สมดุลกับกรดอะซิติก

ค่า มก/ล สมดุลกับกรดอะซิติก เมื่อเปลี่ยนให้เท่ากับความเป็นด่างสมดุลกับ $CaCO_3$ ทำได้โดยการคูณ 0.833 (0.833 = น้ำหนักสมมูลย์ของ $CaCO_3$ / น้ำหนักสมมูลย์ของ CH_3COOH) ส่วนค่า 0.85 นั้นหมายความว่ามีเพียง 85% ของvolatile acid alkalinity ที่วัดได้จากการไทเทรตของความเป็นด่างรวมจนถึง pH4 สมการนี้สมมติว่าไม่มีความเข้มข้นของสารอื่น ๆ เช่น ฟอสเฟต, ซิลิเกต หรือกรดเกลือ (acid salt) อื่น ๆ ซึ่งสามารถให้ความเป็นด่างได้เช่นกัน จากสมการก็สามารถจะทราบได้ว่า ปริมาณความเป็นด่างมีเพียงพอหรือไม่ ถ้าปริมาณความเป็นด่างไม่เพียงพอก็จะต้องเติมสารเคมีลงไป เพื่อเพิ่มปริมาณความเป็นด่าง เพื่อช่วยป้องกันไม่ให้ pH ต่ำลง ปริมาณสารเคมีที่ต้องเติมนั้นสามารถคำนวณได้จากสมการ

$$N = 8.34\ AEV$$ โดยที่

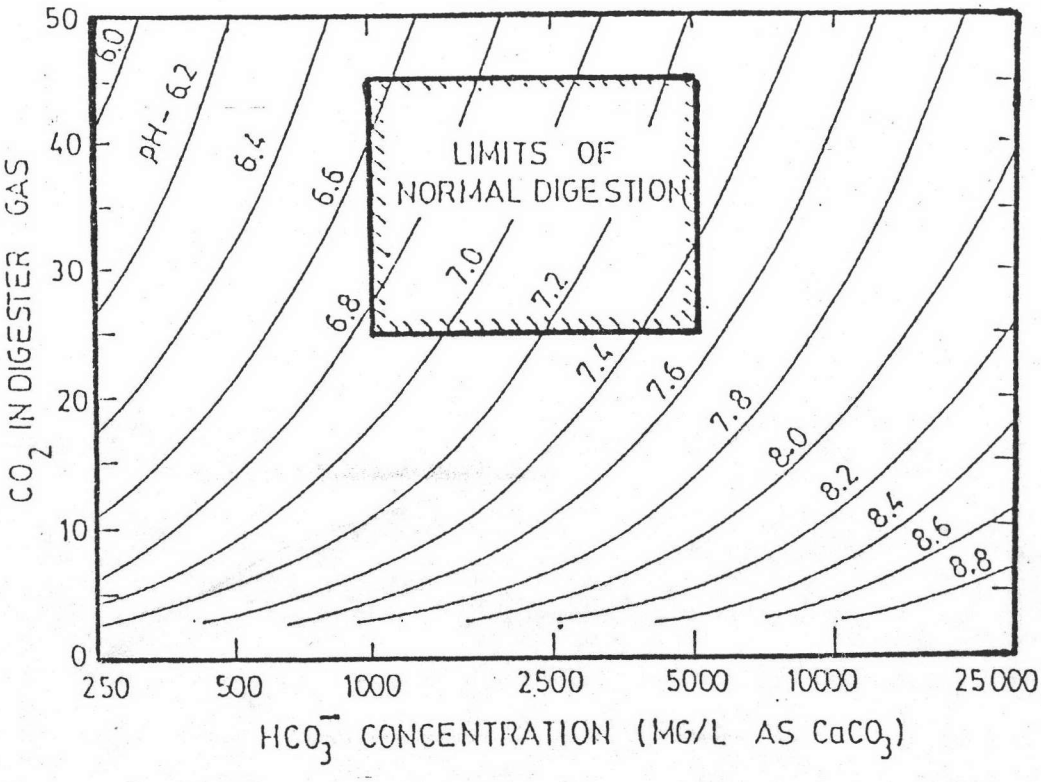
N = ปริมาณของสารเคมีที่ต้องเติมลงไป, ปอนด์

A = ปริมาณของสภาพความเป็นด่างที่ขาดไป, มอ/ล ในรูปของ $CaCO_3$

E = น้ำหนักสมมูลย์ของสารเคมีที่ต้องเติมลงไปต่อน้ำหนักสมมูลย์ของ $CaCO_3$

V = ปริมาตรของตัวถัง (digester volume) 10^5 แกลลอน

8.34 = conversion factor, ปอนด์/แกลลอน



รูปที่ 2.8 ความสัมพันธ์ระหว่าง pH และความเข้มข้นไบคาร์บอเนต

(McCarty, 1964)

สำหรับค่าความเป็นด่างคาร์บอเนตที่เหมาะสม เพื่อที่จะให้มีความสามารถในการบัฟเฟอร์อย่างเพียงพออยู่ในช่วงระหว่าง 2500-5000 มก/ล ซึ่ง Graef & Andrew (1974) พบว่าการเพิ่มความเป็นด่างไบคาร์บอเนต จะทำให้ระบบสามารถที่จะทนทานต่อการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วของสารอาหาร ตัวอย่างเช่น ที่ SRT 15 วัน การเพิ่มค่าความเป็นด่างไบคาร์บอเนตจาก 3000 เป็น 4000 มก/ล จะทำให้เสถียรภาพของระบบเพิ่มขึ้นอีกประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์

2.3.4 <u>กรดอินทรีย์ระเหยง่าย (volatile fatty acids)</u> เป็นสารที่สำคัญในการผลิตแก๊สมีเทน McCarty และคณะ (1964) รายงานว่า การเพิ่มความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ระเหยง่ายอย่างกระทันหันจะทำให้ระบบเสียสมดุลชั่วคราวสำหรับระบบที่เพิ่งจะเริ่มเดินและ เสียสมดุลอย่างถาวร สำหรับระยะที่ระบบเดินคงที่แล้ว สาเหตุเกิดจากการสะสมกรดโพรพิโอนิกในปริมาณสูงมาก แต่กรดอะซิติกแม้ที่ความเข้มข้น 10000 มก/ลิตร ก็ไม่เป็นพิษต่อมีเทนแบคทีเรีย จากการทดลองผสมกรดอินทรีย์ระเหยง่ายหลายชนิดที่ความเข้มข้นสูงจะไม่เป็นพิษต่อแบคทีเรีย แต่กลับทำให้เปอร์เซ็นต์ของแก๊สมีเทนสูงขึ้น เมื่อปรับ pH ให้เป็นกลาง

Andrew (1971) พบว่ากรดอินทรีย์ระเหยง่าย ที่มีอยู่ในกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนนี้ มี 2 รูปแบบ คือ ชนิดที่แตกตัว (ionized) และไม่แตกตัว (unionized) โดยที่กรดไม่แตกตัว (unionized acid) เป็นฟังก์ชั่นของ pH และความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ทั้งหมดดังสมการ

$$[HS] = \frac{[H^+][S^-]}{Ka}$$

[HS] = ความเข้มข้นของกรดที่ไม่แตกตัว (unionized acid concentration)

$[H^+]$ = ความเข้มข้นของไฮโดรเจนอิออน (hydrogen ion concentration)

$[S^-]$ = ความเข้มข้นของกรดทั้งหมด (total acid concentration)

Ka = ค่าคงที่ของการแตกตัว (ionization constant)

กรดนี้จะทำปฏิกริยากับด่างไบคาร์บอเนต เกิดเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบ และ อัตราการเกิดของแก๊ส ซึ่งจากการเพิ่มขึ้นของคาร์บอนไดออกไซด์ และการลดลงของความเป็นด่างเป็นสาเหตุให้ pH ลดลง ทั้งการเพิ่มขึ้นของกรดอินทรีย์ระเหยง่ายและการลดลงของ pH เป็นผลให้ความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ระเหยง่ายที่ไม่แตกตัวเพิ่มมากขึ้นจนถึงระดับที่ยับยั้งแบคทีเรีย พวกที่สร้างมีเทนได้ เพราะว่าผนังเซลของแบคทีเรียจะยอมให้โมเลกุลที่ไม่แตกตัวซึมผ่านได้ดีกว่า เพราะฉะนั้นกรดอินทรีย์จะถูกแบคทีเรียใช้มากขึ้นที่ pH ต่ำ และกรดอินทรีย์ระเหยง่ายภายในเซลล์จะทำให้ pH ลดลง ซึ่งทำให้เอ็นไซม์ไม่สามารถทำงานตามปกติ

Buswell & Mueller (1952) ได้กล่าวว่า กรดอินทรีย์ระเหยง่ายภายในถังหมักจะต้องไม่เกิน 2.000 มก/ลิตร ถ้าเกินจะทำให้ปริมาณแก๊สลดลงและอาจหยุดยั้งขั้นตอนการเกิดมีเทน และการเติมด่างเข้าไปก็จะไม่ช่วยให้ดีขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับทฤษฎี ของ Statford(1980) ที่รายงานว่า ความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ระเหยง่ายที่ 2000 มก/ลิตร เป็นพิษต่อมีเทนแบคทีเรียในขณะที่ Henze และ Harremoes (1983) ได้รายงานว่า กรดอินทรีย์ที่อยู่ในรูปอิสระและไม่ละลายที่ความเข้มข้น 1-2 กรัม/ม^3 จะมีศักยภาพของความเป็นพิษสูง

2.3.5 <u>สารอาหารที่จำเป็น (nutrient)</u>

สารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ที่ไม่ต้องการออกซิเจนได้แก่ ไนโตรเจน และ ฟอสฟอรัส ซึ่งต้องมีปริมาตรที่เพียงพอ Speece & McCarty (1962) กล่าวว่า แบคทีเรียเหล่านี้ ต้องการธาตุไนโตรเจนประมาณ 0.106 เท่าของน้ำหนักเซล และต้องการฟอสฟอรัสประมาณหนึ่งในเจ็ดของไนโตรเจนเท่านั้น และได้แสดงสูตรของแบคทีเรีย โดยเขียนเป็นสูตรของธาตุต่าง ๆ ที่มารวมกันคือ $C_6H_9O_3N$ หลังจากนั้นได้คำนวณปริมาณของไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่ต้องการ โดยคิดจากค่าเฉลี่ยสูตรทางเคมีของเซล ซึ่งจะมีไนโตรเจนอยู่ประมาณ 11 เปอร์เซนต์ของน้ำหนักเซล และต้องการฟอสฟอรัสประมาณ 1 ใน 5 ของน้ำหนักเซล และ ได้แสดงอัตราส่วน BOD_L หรือ BOD : N : P = 100 : 1.1 : 0.2 เมื่อเปรียบเทียบกับแบคทีเรียพวกใช้ออกซิเจนซึ่งมีอัตราส่วน BOD : N : P = 100 : 5 : 1

Sander & Bloodgood (1965) กล่าวว่า อัตราส่วนของไนโตรเจนกับคาร์บอนไดออกไซด์ประมาณ 0.620 เป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดต่อการย่อยสลายอินทรีย์สารของจุลชีพ และเสนอว่าจุลินทรีย์ต้องการฟอสฟอรัส เท่ากับ 1 ใน 7 ของธาตุไนโตรเจน และนอกจากสารอาหารหลักที่จำเป็นแล้ว จุลินทรีย์ยังต้องการสารอาหารรอง เพื่อให้การย่อยสลายสารอินทรีย์เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพดังตารางที่ 2.7

ตารางที่ 2.7 แสดงปริมาณสารอาหารรองที่จำเป็น

(Sander & Bloodgood, 1965)

สารอาหาร	ความเข้มข้น (มก/ล)
โซเดียม	125 - 250
โปตัสเซียม	200 - 400
แคลเซียม	100 - 200
แมกนีเซียม	75 - 125
แอมโมเนีย	80 - 170
เหล็ก	1 - 10
โคบอลท์	1 - 5
ไทอะมีน	1 - 5
กรดเพนโทเทนิค (Pentothenic acid)	1 - 5

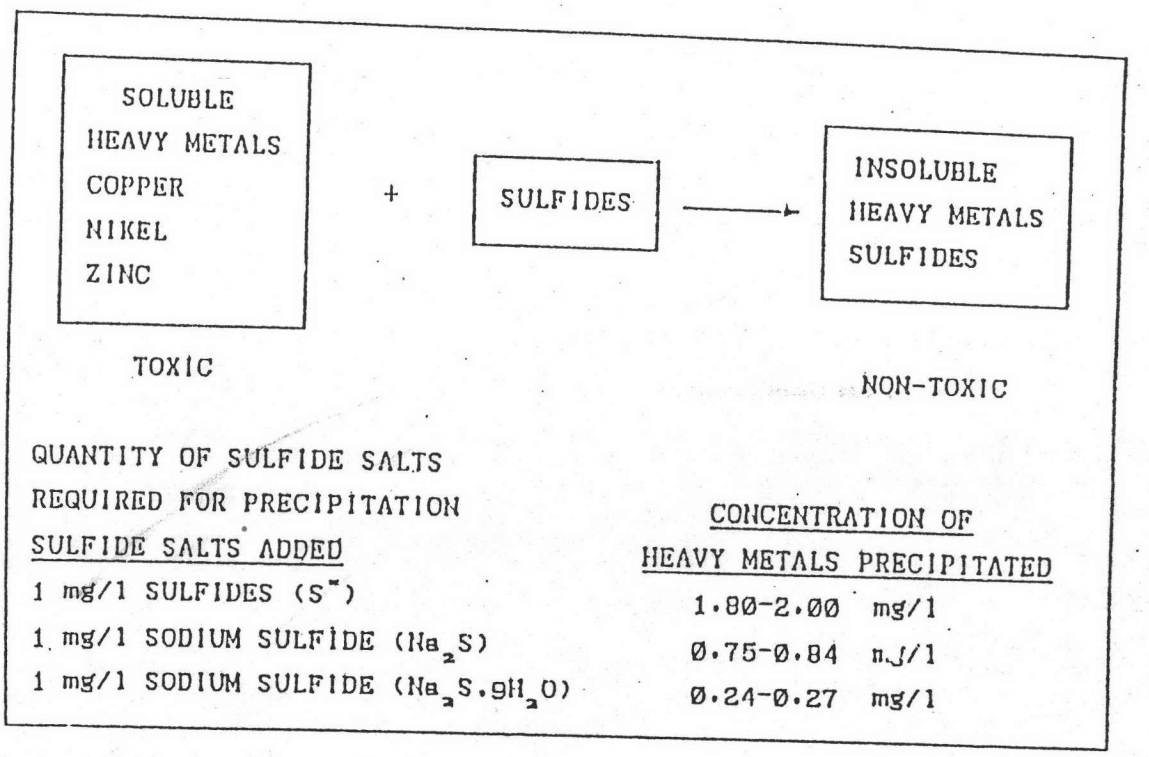
2.3.6 สารพิษ (toxic substances)

ในระบบบำบัดที่มีความเข้มข้นของอินทรีย์สาร และ อนินทรีย์สารสูงมาก ซึ่งจะทำให้เสถียรภาพของระบบลดลง สารเหล่านั้นจัดเป็นสารพิษ (toxic) ความเป็นพิษต่อระบบนี้มิได้ตั้งแต่การยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (inhibition) จนถึงการทำลายจุลินทรีย์ ซึ่งสามารถ แสดงอิทธิพลของความเข้มข้นของสารอินทรีย์ใด ๆ ที่มีต่อการเติบโตจำเพาะของแบคทีเรีย (μ)

โลหะหนักพวก Cu, Zn, Cd, Hg มีพิษต่อแบคทีเรียในขบวนการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน แม้จะมีระดับความเข้มข้นต่ำก็ตาม McCarty (1964) ได้สรุปว่า โลหะที่แตกตัวให้ valency สูงจะมีพิษมากกว่า และพิษของโลหะก็ขึ้นอยู่กับว่า เกลือของโลหะนั้นจะละลายน้ำได้มากน้อยเพียงใด (solubility) เช่น Fe และ Al จะไม่เป็นพิษ เนื่องจากเกลือของโลหะทั้งสองละลายนี้ได้น้อย และพิษของโลหะนั้นจะมากหรือน้อยเพียงใดก็ขึ้นอยู่กับปริมาณของไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ที่มีอยู่ในน้ำทิ้ง เพราะไฮโดรเจนซัลไฟด์จะรวมกับโลหะหนักเกิดเป็นเกลือซัลไฟด์ซึ่งไม่ละลายน้ำ จากการคำนวน พบว่า ซัลไฟด์ 1 ส่วน (นน.) สามารถตกตะกอนโลหะหนักได้ 2 ส่วน (นน.) ถ้าซัลไฟด์ในระบบมีปริมาณไม่พอ ก็จะทำให้เกิดตะกอนได้ ก็จะต้องเติมพวกเกลือซัลไฟด์ (sulfide salts) ลงไป เช่น เติมโซเดียมซัลไฟด์ (Na_2S) หรือเติมเกลือซัลเฟต(sulfate salts)ลงไป เกลือทั้งสองชนิดจะถูกริดิวซ์ (reduce)ไปเป็นซัลไฟด์ ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ทำให้สามารถลดพิษของโลหะหนักได้ ปฏิกิริยาการทำลายพิษของโลหะหนัก แสดงในรูปที่ 2.9

Mosey & Hugres (1975) ได้ทำการทดลองพบว่า พิษของสังกะสีนั้นน้อยกว่าทองแดง แคดเมียม และนิเกิล และพบว่า พิษของสังกะสีนั้นน้อยกว่า เมื่อ pH สูงถึง 7.6 และระบบจะเสียเสถียรภาพ ถ้าความเข้มข้นของสังกะสีมากกว่า 163 มก/ล ส่วนโลหะอื่น เช่น แคดเมียน, ทองแดง, เหล็ก, โครเมียม และปรอท จะมีผลต่อเสถียรภาพของระบบเมื่อมีความเข้มข้นมากกว่า 180, 170 , 1750 , 450-530 และ 1365 มก/ล ตามลำดับ

สารอนินทรีย์เกือบทุกสารถ้ามีปริมาณมากเกินไปก็จะเป็นพิษต่อแบคทีเรียได้ โดยทั่วไปพวกที่มีน้ำหนักอะตอมสูงกว่า จะส่งผลพิษรุนแรงกว่าพวกที่มีน้ำหนักอะตอมต่ำกว่าและไอออนที่มี valency สูงจะส่งผลพิษรุนแรงกว่าพวกไอออนที่มี valency ต่ำกว่าอัลคาไลเอิร์ท เช่น โซเดียม, โปตัสเซี่ยม, แคลเซียมและแมกนีเซียม สามารถแตกตัวเป็นไอออนได้ดีมากถ้า



รูปที่ 2.9 ปฏิกริยาการทำลายพิษของโลหะหนักโดยซัลไฟด์ (S^*)ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (McCarty, 1964)

โลหะเบาเหล่านี้อยู่รวมกันจะสามารถส่งผลกระทบซึ่งกันและกัน ทำให้มีพิษเพิ่มขึ้นหรือลดลง แล้วแต่บริเวณความเข้มข้นและชนิดของสารเหล่านั้น แต่โดยทั่วไปโลหะเบาเหล่านี้ จะแสดงพิษที่ระดับความเข้มข้นสูงเท่านั้น และสามารถเป็นตัวเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตได้ถ้ามีความเข้มข้นต่ำ ตารางที่ 2.8 แสดงความเข้มข้นสารอนินทรีย์ต่าง ๆ ที่ส่งผลพิษต่อแบคทีเรีย

McCarty และคณะ (1964) ได้ศึกษาความเป็นพิษของ cation ต่างๆ คือโลหะ alkalineได้แก่ โซเดียม โปตัสเซียม และ alkaline earth ได้แก่ แคลเซียม. แมกนีเซียม, แอมโมเนีย พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของ monovalent ions ได้แก่ โซเดียม โปตัสเซียม และ แอมโมเนีย คือ 0.01 โมล ส่วนของ bivalent ion พวก แมกนีเซียมและแคลเซียม คือ 0.005 โมล พบปรากฏการณ์ antagonismคือไอออนหนึ่งช่วยลดความเป็นพิษของอีกไอออนหนึ่ง แต่ในทางตรงกันข้าม cation บางชนิดไปเพิ่มพิษของอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งเรียกปรากฏการณ์นี้ว่า synergism ดังรูปที่ 2.10

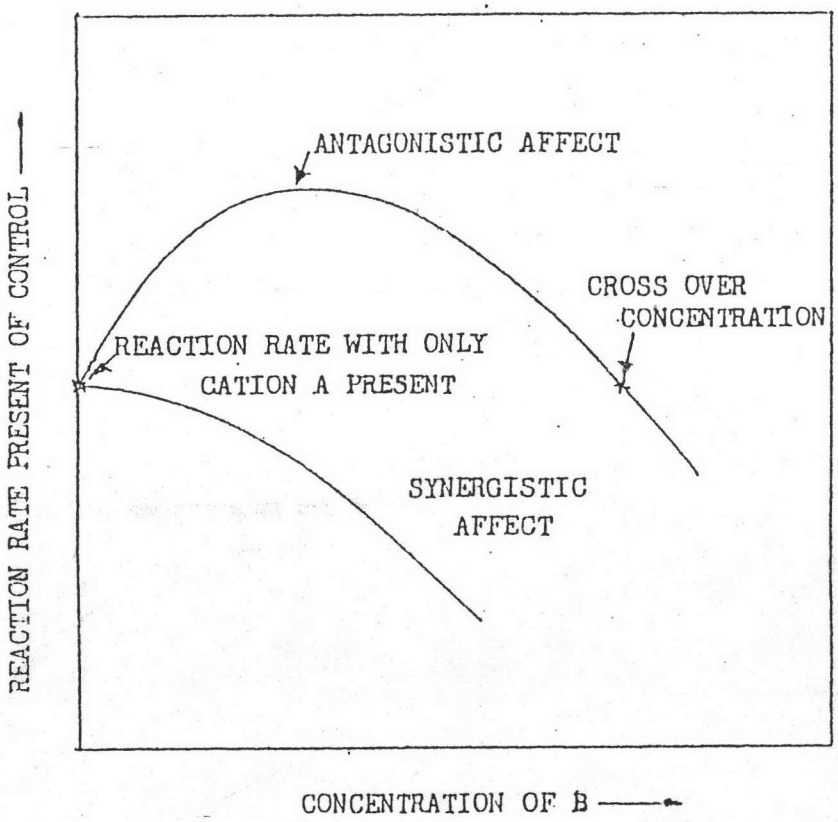
จากตารางที่ 2.8 จะพบว่า ความเป็นพิษของ cation แต่ละชนิดรุนแรงไม่เท่ากันโดยจะเห็นว่า พิษของ cation จะสูงขึ้นเมื่อจำนวน valency เพิ่มขึ้น

I17168181

ตารางที่ 2.8 อิทธิพลของเกลืออนินทรีย์หรือโลหะเบา

(McCarty, 1964)

สารประจุบวก	ความเข้มข้น (มก./ล.)		
	กระตุ้น	ยับยั้งปานกลาง	ยับยั้งอย่างมาก
โซเดียม	100 - 200	3500 - 5500	8000
โปแตสเซียม	200 - 400	2500 - 4500	12000
แคลเซียม	100 - 200	2500 - 4500	8000
แมกนีเซียม	75 - 150	1000 - 1500	3000



รูปที่ 2.10 แสดงความสัมพันธ์ของ cation 2 ชนิด คือ A และ B ซึ่งเมื่ออยู่ด้วยกันแล้ว จะเกิด antagonism หรือ synergism ได้ (McCarty, 1964)

อิทธิพลของกรดอินทรีย์ในระบบค่อนข้างจะสังเกตได้ยาก เนื่องจากกรดเหล่านี้ส่งผลถึงระดับ pH ของน้ำด้วย แต่เดิมเคยเชื่อกันว่า ถ้าในระบบมีความเข้มข้นของกรดอินทรีย์สูงถึง 2,000 มก/ล. ระบบจะเสียเสถียรภาพ แต่จากการศึกษาของ McCarty & Mckinney (1961) พบว่า ถ้ารักษาระดับ pH ให้คงที่ และใกล้ 7 ได้ กรดอะซิติกและบิวเทริคที่มีความเข้มข้นสูงถึง 10,000 มก/ล.ก็ไม่ได้แสดงผลเด่นชัดต่อแบคทีเรียที่สร้างมีเทนจากไฮโดรเจน ในทางตรงกันข้ามกัน กรดโพรไพโอนิคเพียง 1,000 มก/ล. แสดงพิษต่อแบคทีเรียที่สร้างมีเทน ที่พีเอชเป็นกลาง นอกจากนี้ยังพบว่า กรดโพรไพโอนิคสามารถชลอการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่สร้างกรดอินทรีย์ระเหยง่ายได้ด้วย Andrew (1969) เสนอหลักฐานว่า กรดโพรไพโอนิคที่อยู่ในรูปไม่แตกตัว (unionized form) เท่านั้นที่เป็นพิษ และพิษจะมีมากขึ้นเมื่อ pH ลดต่ำลง ส่วนการแก้พิษของกรดอินทรีย์ระเหยง่ายทำได้โดยลดปริมาณการจ่ายสารอาหารลง การเติมสารปรับสภาพ เช่น $NaHCO_3$ และการใช้ระยะเวลาในการเก็บกักน้ำทิ้ง (HRT) ในระบบกำจัดให้ยาวนานขึ้น

แอมโมเนียที่เกิดขึ้นในระบบเกิดจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนรวมอยู่ คือ โปรตีน ซึ่งจะอยู่ในสองรูปแบบคือ แอมโมเนียอิออน ($NH4^+$) หรือ แก๊สแอมโมเนีย NH_3 ขึ้นอยู่กับ pH ดังสมการ

$$NH_4^+ \longleftrightarrows NH_3 + H^+$$

โดยถ้า pH มีค่ามากกว่า 7.2 จะมี NH_3 มากกว่า $NH4^+$ แต่ถ้าค่า pH น้อย 7.2 จะมี $NH4^+$ มากกว่า โดยที่แอมโมเนีย NH_3 เป็นพิษมากกว่า $NH4^+$ คือ NH_3 จะมีความเป็นพิษเมื่อมีความเข้มข้นถึง 150 มก/ล. ส่วน NH_4^+ จะมีความเป็นพิษก็ต่อเมื่อมีความเข้มข้นถึง 3000 มก/ล. และเชื่อกันว่า แอมโมเนียมีพิษต่อแบคทีเรียพวกที่สร้างมีเทนมากกว่าที่สร้างกรด ขนาดความเข้มข้นของแอมโมเนียที่มีผลต่อแบคทีเรีย ดังแสดงในตารางที่ 2.9 การลดพิษของแอมโมเนียทำได้โดยเจือจางน้ำทิ้งที่จะเข้าสู่ระบบหรือกำจัดแอมโมเนียออกจากน้ำทิ้งก่อนเข้าระบบ

ซัลไฟด์ที่มีอยู่ในระบบอาจเกิดจากการย่อยสลายซัลเฟต (SO_4) หรือย่อยสลายโปรตีน หรือซัลไฟด์ที่มีอยู่แล้วในน้ำทิ้งก่อนเข้าระบบ ซัลไฟด์อาจจะอยู่ในรูปของซัลไฟด์ที่ละลายน้ำ หรือไม่ละลายน้ำ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับ cation ที่รวมอยู่ ถ้ารวมกับพวกโลหะหนักก็จะตกตะกอนลงมา จึงไม่เป็นอันตรายต่อจุลชีพ แต่ถ้ามีความเข้มข้นถึง 200 มก/ล ก็จะเป็นพิษต่อแบคทีเรียได้ (McCarty. 1964) ในกรณีที่ซัลไฟด์ละลายน้ำอยู่ในรูปของ H_2S วิธีแก้ไขความเป็นพิษทำได้โดยทำให้เกิดการตกตะกอนของซัลไฟด์ หรือใช้ gas scrubbing หรือ ทำให้เจือจางหรือแยกสารพวกซัลไฟด์, ซัลเฟต ออกจากน้ำทิ้งก่อนเข้าระบบ

ตารางที่ 2.9 ผลของ ammonia-nitrogen ต่อระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน (McCarty, 1964)

NH_3-N mg/l	Effect on anaerobic treatment
50 - 200	Beneficial
200 - 1,000	No adverse effect
1,500 - 3,000	Inhibitory at high pH value
> 3,000	Toxic

Bryant และ คณะ (1979) ทำการทดลองพบว่า โคโรฟอร์ม 0.96 มก/ล. สามารถยับยั้งแบคทีเรียที่ผลิตมีเทน ทำให้ความสามารถในการผลิตมีเทนลดลงถึง 50%

McCarty (1964) พบว่า แอลกอฮอลพวกเมทานอล (methanol) 1,000-2,000 มก/ล. ระบบสามารถทำงานได้ แต่ต้องมีเข้าสู่ระบบอย่างสม่ำเสมอ เพื่อให้แบคทีเรียปรับตัวได้

โดยทั่วไป สารพิษที่เป็นสารอินทรีย์ในระบบ สามารถถูกกำจัดได้โดยขบวนการทางชีววิทยาถ้าปริมาณความเข้มข้นของสารไม่สูงเกินไป ตารางที่ 2.10 แสดงปริมาณความเข้มข้นสารอินทรีย์ต่าง ๆ ที่ส่งผลพิษต่อแบคทีเรียในระบบหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน

ตารางที่ 2.10 แสดงสารพิษและสารยับยั้งของระบบที่ใช้แบคทีเรียที่มี

ขบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน

Compound	Concentration	Effect	ac-clim.	unac-clim.	susp.	attached
Acetaldehyde						
Acetates						
Acetic acid						
Acetylene	8 uM	Total inhib.		+	+	
Acrolein	0.2 mM	50 % inhib.	+			
	0.5 kg/m^3	inhib. begins		+		+
Acrylic acid	12 mM	50 % inhib.	+			
Acrylonitrile	4 mM	50 % inhib.	+			
Ammonia	8 kg/m^3	inhib. begins (pH not known)	+		+	
	6 kg/m^3	inhib. begins (pH not known)	+			+
	24 kg/m^3	inhib. begins (pH not known)		+	+	
	4 - 6 kg/m^3	partial inhibition	+		+	
	0.4 kg/m^3	inhib.	+		+	
Free ammonia	0.05 - 0.1	Acceptable			+	
Aniline	26 mM	50 % inhib.				
Calciumchloride						
Carbon tetrachloride					+	
Catechol	24 mM	50 % inhib.	+			
	0.2 - 0.4 kg/m^3	no inhib.	+			+

Compound	Concentration	Effect	ac-clim.	unac-clim.	susp.	attached
1-Cl-propene	1.9 mM	50 % inhib.	+			
1-Cl-Propene	0.1 mM	50 % inhib.	+			
2-Cl-Propionic Acid	8 mM	50 % inhib.	+			
3-Cl-1.2-Propandiol	6 mM	50 % inhib.	+			
Chloride	<8.3 kg/m^3	inhib.			+	
Chloroform	0.002 kg/m^3	inhib. begins		+	+	
	0.020 kg/m^3	inhib. begins	+		+	
	0.040 kg/m^3	inhib. begins	+			+
	0.040 kg/m^3	no inhib.	+			+
	0.2 kg/m^3	recovery after 5 days	+			+
Copper	0.05 kg/m^3	inhib. begins		+		+
Crotonaldehyde	6.5 mM		+			
Cyanide	0.01 kg/m^3	inhib. begins		+		
	0.02 kg/m^3	no inhib.	+			+
	0.75 kg/m^3	recovery after 5 days	+			+
S-cymene			+		+	

ตารางที่ 2.10 แสดงสารพิษและสารยับยั้งของระบบที่ใช้แบคทีเรียที่มี

ขบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน

Compound	Concentration	Effect	ac-clim.	una-acclim.	susp.	atta-ched
Difurfuryl-disulfide	0.001 kg/m³	inhib.		+	-	
	0.01 kg/m³	total inhib.		+	-	
2.4-dinitro-phenol	0.25 kg/m³	recovery after 1 day		+		+
Ethylacetate	11 mM	50 % inhib.	+			
Ethylbenzene	3.2 mM	50 % inhib.	+			
Ethylene dischloride	0.005 kg/m³	inhib. begins	(+)		+	
Eugenol	0.1 - 0.5 kg/m³	inhib.	+		+	
	1.0 kg/m³	total inhib.	+		+	
Formaldehyde	<0.3 kg/m³	inhib. begins		+	-	
	0.4 kg/m³	inhib. begins	+		+	
	0.4 kg/m³	inhib. begins	+			+
	0.4 mM	50 % inhib.				
	0.8 - 1 kg/kg VSS	total kill				
Furfural	0.5 kg/m³	inhib.		+	-	
	2 kg/m³	total inhib.		+	-	
	5 kg/m³	total inhib.	+		-	
Guaiacol	1.0 kg/m³	inhib.		+	-	
	3.0 kg/m³	inhib.	+		-	
	5.0 kg/m³	total inhib.		+	-	

Compound	Concentration	Effect	ac-clim.	una-acclim.	susp.	atta-ched
Hydrogen	200 l.Pa part. pressure	inhib.	+		+	
Lauric acid	2.6 mM	50 % inhib.	+			
Limonene	0.5 kg/m³	inhib.		+		
Magnesium Chloride					-	
Methylene chloride	0.002 kg/m³	inhib. begins	(+)		+	
Nickel	0.8 kg/m³	inhib. begins		+	+	
	0.2 kg/m³	inhib. begins	+		+	
	0.25 kg/m³	inhib. begins	+			+
Nitrobenzene	0.1 mM	50 % inhib.	+			
Pentachloro-phenol	0.27 kg/m³	inhib.	+			
Phenol	26 mM	50 % inhib.				
	0.2 - 0.4 kg/m³	no inhib.	+			+
Potassium-chloride						
Propanal	90 mM	50 % inhib.	+			
Resorcinol	29 mM	50 % inhib.	+			
Sodium	10 kg/m³	acceptable				
	10 kg/m³	inhib.			-	
Sulfide	<1.5 kg/m³	inhib. begins		+	+	
Vinyl acetate	8 mM	50 % inhib.	+			
Vinyl chloride	>0.064 kg/m³	inhib. begins	(+)		-	