บทคัดย่อ

เพื่อกำจัดซัลไฟด์ในน้ำทิ้งที่ออกจากถังรีดิวซ์ซัลเฟตเพื่อลดปริมาณไฮโดรเจนซัลไฟด์ในถังหมักแก๊สชีวภาพได้แยกและคัดเลือกแบคทีเรียออกซิไดซ์ซัลไฟด์ (sulfide oxidizing bacteria : SOB) แบคทีเรียสังเคราะห์แสงกลุ่มไม่สะสมซัลเฟอร์ภายในเซลล์ (purple nonsulfer photosynthetic bacteria : PNSB) และดีไนตริฟายอิงแบคทีเรีย (denitrifying bacteria) โดยตัวอย่างที่ใช้แยกเชื้อทั้ง 3 กลุ่มมาจากแหล่งต่าง ๆ ได้แก่น้ำเสียจากโรงงานแปรรูปน้ำยาง บ่อน้ำพุร้อน น้ำในนากุ้งและดินบริเวณฝังกลบขยะ ผลการแยกเชื้อในกลุ่มของ SOB แยกได้ Thiobacilli ที่เป็นพวกเจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลาง (mesophile) จำนวน 69 ไอโซเลทและพวกที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูง (thermophile) จำนวน 78 ไอโซเลท และมีเชื้อกลุ่ม mesophile เพียง 8 ไอโซเลท และ thermophile 14 ไอโซเลท ที่สามารถเจริญได้ดีในน้ำเสียจากโรงงานแปรรูปน้ำยางพาราที่มาจากถัง UASB (upflow anaerobic sludge blanket) และ SRR (sulfate reduction reactor) ส่วนการแยกเชื้อกลุ่ม PNSB แยกเชื้อได้ 105 ไอโซเลท และคัดเลือกมาได้ 5 ไอโซเลทที่มีความสามารถเจริญได้ดีในน้ำเสียที่กล่าวมา แต่อย่างไรก็ตามเชื้อทั้ง 5 ไอโซเลทไม่สามารถใช้ซัลไฟด์ได้ และสำหรับพวก denitrifiers แยกมาได้ 130 ไอโซเลท แต่มีเพียง 5 ไอโซเลทที่สามารถรีดิวซ์ในเตรทเป็นแก๊สไนโตรเจน (denifrification) ได้ดี และไอโซเลท D20 มีความสามารถสูงสุดในการลดไนเตรทได้ดีที่สุด (84.1%) ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเชื้อ (พีเอช 5 และอุณหภูมิ 35°C) และผลการเทียบเคียงพบว่าคือ *Pseudomonas* sp. และเนื่องจากเชื้อดังกล่าวเป็นพวกที่ใช้สารอินทรีย์ในการเจริญ (heterotroph) จึงต้องการสารอาหารมากกว่าพวก SOB จึงเป็นเหตุผลที่ไม่ได้นำไปศึกษาต่อ

ผลการคัดเลือกการลดซัลไฟด์ในน้ำเสียจากถัง SRR ที่มีการปรับพีเอชเริ่มต้นโดย *Thiobacillus* sp. พบว่ากลุ่ม mesophile ภายใน 48 ชม. ของการเลี้ยง T307 มีความสามารถสูงสุดในการลดซัลไฟด์ทั้งหมด (Total sulfide: TS) ได้ 86.7% ขณะที่ TT502 ของกลุ่ม thermophile ลดได้ 83.8% และการที่ความเข้มข้นของซัลเฟตอยู่ในระดับต่ำกว่า 300 มก/ล ทำให้ประสิทธิภาพการลดซัลไฟด์ของเชื้อ SOB ดีขึ้น เชื้อทั้งสองไอโซเลทนอกจากเจริญได้ในสภาพใช้ซัลไฟด์เป็นแหล่งพลังงานและคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) เป็นแหล่งคาร์บอน (chemolithoautotroph) เชื้อดังกล่าวยังสามารถเจริญได้ในสภาพที่ใช้แหล่งพลังงานจากซัลไฟด์ แต่ใช้แหล่งคาร์บอนจากสารอินทรีย์เช่นยีสต์สกัด (mixotroph) ได้ดีกว่า และเชื้อยังสามารถเจริญได้โดยการใช้สารอินทรีย์เช่นยีสต์สกัดและเปปโตน เป็นแหล่งพลังงานและคาร์บอน (heterotroph) เชื้อเจริญในสภาพมีอากาศได้ดีกว่าสภาพไร้อากาศ และเนื่องจากสภาพของน้ำเสียอุณหภูมิอยู่ในช่วงที่เหมาะต่อการเจริญของพวก mesophile จึงเลือกศึกษาเฉพาะกับ T307 การเจริญของเชื้อ T307 ในสภาพ mixotroph ขึ้นกับปริมาณของยีสต์สกัด เช่นในกรณีที่มียีสต์สกัด 0.10% เชื้อมีค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (μ) 0.156 ชม$^{-1}$ พีเอชและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อคือ 7 และ 25-30°C และพบว่าการเติม

NH_4NO_3 ในน้ำเสียที่ใช้เลี้ยง (จากถัง SRR) ไม่มีผลช่วยเร่งการเจริญของเชื้อ และความเร็วรอบของการเขย่าทำให้เชื้อเจริญได้ดีและเกิดการออกซิไดซ์ซัลไฟด์ที่ไม่สมบูรณ์ได้ซัลเฟอร์แทนซัลเฟต (partial oxidation) คือ 70 rpm และภายใต้สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเชื้อ T307 สามารถลดซัลไฟด์ไม่ว่าจะอยู่ในรูป TS และ dissolved sulfide (DS) ได้เกือบหมดภายใน 48 ชม. และเมื่อนำเชื้อ T307 มาเทียบเคียงพบว่าใกล้เคียงกับ *Thiobacillus delicatus* การลดลงของซัลไฟด์ขึ้นกับปริมาณเชื้อที่มีอยู่ และสำหรับการลดปริมาณซัลไฟด์โดยใช้สารเคมี ($FeCl_2$ 0.8 mM) สามารถลด TS ได้ 77.8% และทำให้มีการลดลงของค่า pH ซึ่งถ้าหากต้องการกำจัดให้ได้ 100% ส่งผลให้ต้องมีการปรับ pH ให้เป็นกลางก่อนที่จะนำไปหมักแก๊สชีวภาพ ดังนั้นผลจากการศึกษาจึงเลือกใช้การกำจัดซัลไฟด์โดยใช้ T307 เท่านั้น

ผลการหมักแก๊สชีวภาพในอาหารซัลไฟด์ที่มีการเติมโซเดียมอะซิเตท 1% พบว่าในอาหารที่ผ่านการเลี้ยง T307 มาก่อนเป็นเวลา 20 ชม ส่งผลให้ปริมาณของแก๊สชีวภาพที่เกิดขึ้น และสัดส่วนของมีเทนที่เกิดมากกว่าชุดควบคุมที่ไม่ผ่านการเลี้ยงและการเกิดแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ก็น้อยกว่าชุดควบคุม โดยผลจากการทดลองทำซ้ำ 2 ครั้งพบว่าชุดเติมเชื้อ T307 มีปริมาณแก๊สชีวภาพที่เกิดมากกว่าชุดควบคุม 8.86 และ 8.49 เท่า สัดส่วนของมีเทนในชุดเติมเชื้อครั้งที่ 1 คือ อยู่ในช่วง 33.5-58.3% ส่วน CO_2 อยู่ในช่วง 41.6-66.5% มี H_2S น้อยกว่า 0.1% แต่ชุดควบคุมมี CH_4 อยู่ในช่วง 20-50% ส่วน CO_2 49.6-79.8% และ H_2S อยู่ในช่วง 0.24-0.37% และสำหรับการทดลองครั้งที่ 2 ของชุดที่ผ่านการเลี้ยง T307 พบว่ามีเทนเกิดในช่วง 42-50% ขณะที่แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์อยู่ในช่วง 49-57% มี H_2S อยู่ระหว่าง 0.13-1.33% แต่สำหรับชุดควบคุมพบว่าได้มีเทนอยู่ในช่วง 25-50% ส่วน CO_2 48-74% และมีแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์อยู่ระหว่าง 0.62-1.76 % ประสิทธิภาพการลดค่า BOD และ COD ในการหมักแก๊สชีวภาพพบว่าชุดที่ได้ผ่านการเลี้ยง T307 ลดค่าทั้งสองได้ 49.7% ขณะที่ชุดควบคุมลดค่าทั้งสองได้ 37.3% และค่า biogas productivity ของชุดที่ผ่านการเลี้ยง T307 คือ 0.10 cm^3/mg COD/d ขณะที่ชุดควบคุมคือ 0.013 cm^3/mg COD/d

Abstract

In order to devise a suitable process for the biological removal of sulfide from the effluent of a sulfate reduction reactor used for reducing H_2S in biogas, bacteria of the following types; sulfur oxidizing bacteria (SOB), purple nonsulfur photosynthetic bacteria (PNSB) and denitrifying bacteria, were isolated and tested. Isolates were obtained from water samples collected from various sources such as rubber wastewater treatment plants, hot spring ponds, shrimp ponds and landfill. Sixty nine SOB isolates were mesophiles and 78 were thermophiles; however, only 8 of the mesophilic isolates and 14 of the thermophiles grew with wastewater from a UASB (upflow anaerobic sludge blanket) and a SRR (sulfate reduction reactor). One hundred and five isolates of PNSB were obtained but only 5 isolates were selected for further study because they grew well in wastewater from both a UASB and SRR. Unfortunately, non of them could utilize sulfide. One hundred and thirty denitrifying bacteria were isolated and 5 showed good denitrifying activity. Isolate, D20, showing the best nitrate reduction (84.1%) under optimized growth conditions (pH 5 and 35°C) was identified as a *Pseudomonas* sp. However, as a heterotroph it required more nutrient than an SOB and, therefore was not used for further study.

Based on sulfide removal from the effluent of a SRR with an adjusted initial pH of 7 over a 48 hr period, mesophilic thiobacillus T307 and thermotolerant thiobacillus TT502 produced the best reduction of sulfide of 86.7 and 83.8% respectively. When sulfate levels in the SRR wastewater were less than 300 mg/l this facilitated a higher removal of sulfide by SOB's. The two isolates preferred to grow as mixotrophs (yeast extract as carbon source) rather than as chemolithoautotrophs (CO_2 as carbon source). In addition, as heterotrophs, both isolates grew with yeast extract and peptone and they were facultative anaerobes. The isolate T307 was used for further study because wastewater temperature is normally within the growth range of mesophiles. Bacterial growth with mixotrophic conditions depended on the amount of yeast extract i.e. 0.10% gave a μ was 0.156 hr^{-1}. The optimum growth condition of the isolate T307 was pH 7 and in a temperature range of 25-30°C. Addition of NH_4NO_3 into the wastewater from a SRR did not support the growth of the bacteria. The speed of shaking that allowed for growth and partial oxidation (sulfide was oxidized to sulfur) was 70 rpm. The isolate T307 was able to convert most of both the total sulfide (TS) and dissolved sulfide (DS) under optimum growth over a 48 h period of cultivation. Identification tests on T307 showed that it was closely related to *Thiobacillus delicatus*. In order to remove sulfide by chemical treatment, 0.8 mM$FeCl_2$ removed 77.8% of TS with a concomitant decrease of pH. Hence, in order to effect complete sulfide removal for biogas

production, the pH of the effluent must be adjusted to neutral before cultivating. According to the results, only the isolate T307 was chosen to remove sulfide.

Sulfide medium with added 1% acetate was inoculated with *Thiobacillus* sp. T307 (T307) and incubated for 20 hr to remove sulfide before testing for biogas production. It was found that in a biogas reactor set which pre-treated with T307 showed a higher amount of biogas with higher CH_4 but less H_2S than in a control set (without treatment by the isolate T307). The experiment of treating the biogas reactor was repeated twice and levels of biogas in treatment of pre-treated T307 were 8.86 and 8.49 times that of the control. The Biogas composition in the first experiment with T307 contained CH_4 (33.5-58.3%), CO_2 (41.6-66.5) and H_2S (<0.01%), whereas in the control $CH_4$was (20-50%), CO_2 (49.6-79.8) and H_2S (0.24-0.37%). In the second experiment, biogas composition was CH_4 (42-50%), CO_2 (49-57) and H_2S (0.13-1.33%), whereas in the control CH_4 was (25-50%), CO_2 (48-74) and H_2S (0.62-1.76%). Reductions of BOD and COD in biogas reactors, which pre-treated T307 were both 49.7%, while in the control sets both values were also identical with 37.3%. Biogas productivity in a set of pre-treated T307 was 0.10 cm^3/mgCOD/d, whereas in the control it was 0.013 cm^3/mg COD/d.