# บทที่ 5
# การเทียบเคียงเชื้อที่คัดเลือกได้และการหมักแก๊สชีวภาพ

นำเชื้อไอโซเลท T307 ที่ผ่านการคัดเลือกว่ามีความสามารถสูงในการลดซัลไฟด์ในน้ำเสียมาเทียบเคียงโดยใช้วิธีการทดสอบแบบดั้งเดิม (Conventional identification) ซึ่งอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา การทดสอบทางชีวเคมี และสรีรวิทยารวมถึงการใช้ชุดทดสอบ API 20E (test kit) และได้นำอาหารโซเดียมซัลไฟด์ที่ผ่านการเลี้ยงไอโซเลท T307 เพื่อลดซัลไฟด์แล้วมาหมักแก๊สชีวภาพเพื่อดูปริมาณแก๊สชีวภาพที่ได้ และประสิทธิภาพของแก๊สที่เกิดขึ้น (ปริมาณแก๊สมีเทนและไฮโดรเจนซัลไฟด์)

## อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

### 1. การเทียบเคียงแบบดั้งเดิม

นำเชื้อไอโซเลท T307 ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปแท่งสั้นที่เก็บไว้ในอาหารสูตร T มาเลี้ยงในอาหารชนิดเดิมเพื่อให้เชื้อมีการเจริญดีแล้วนำไปทดสอบการสร้างเอนไซม์ catalase oxidase urease ทดสอบการรีดิวซ์ไนเตรทในอาหาร nitrate broth ทดสอบการใช้แหล่งคาร์บอนและพลังงานที่เป็นสารอินทรีย์โดยใช้ 0.1 เปอร์เซ็นต์ในอาหารสูตร T ซึ่งไม่มีไทโอซัลเฟต (mineral medium) สารอินทรีย์ที่ทดสอบได้แก่ yeast extract glucose sucrose fructose lactose maltose mannitol sodium acetate sodium formate และ sodium citrate ทดสอบการใช้แหล่งพลังงานที่เป็นซัลไฟด์ ไทโอซัลเฟตและ เฟอร์รัส การเจริญแบบ mixotroph โดยใช้ อาหารสูตร T เติม yeast extract 0.05 เปอร์เซ็นต์ (Chen et al. 2004) การย่อยสลายกรดอะมิโนบางชนิด การเจริญในอาหาร TSI การเจริญในอาหารสูตร A ที่อุณหภูมิ 4 และ 42°C และในอาหารสูตร A ทดสอบการเจริญในสภาพมีอากาศและไร้อากาศโดยใช้พาราฟินเหลวเททับผิวหน้าหนาประมาณ 1 ซม. และได้นำเชื้อดังกล่าวที่เลี้ยงในอาหารสูตร A ไปส่องกล้องดูรูปร่างโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope) โดยใช้วิธีการอ้างอิงตาม WI-RES-SEM 5800-001 and WI-RES-SEM-001 นอกจากนี้ยังได้ใช้ชุดทดสอบ API 20E ของ Biomerieux ทดลองคู่ขนานไปด้วย

### 2. ความสามารถของเชื้อไอโซเลท T307 ในการลดซัลไฟด์

2.1 การลดซัลไฟด์ของน้ำเสียในสภาวะเชื้อเดี่ยว และเชื้อผสม

เนื่องจากน้ำเสียมีความแตกต่างของส่วนประกอบสำหรับพารามิเตอร์ที่ตรวจวิเคราะห์ในการทดลองก่อนหน้านี้ และยังอาจมีสารประกอบอื่นๆในน้ำเสียที่อาจมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อไอโซเลท T307 จึงได้นำน้ำเสียที่เก็บมาจากถังต่างๆมาตรวจสอบประสิทธิภาพการลดซัลไฟด์ของเชื้อโดยเตรียม starter ในอาหาร สูตร A ที่มีความเข้มข้นของ yeast extract 0.1% แล้วนำไปบ่มในเครื่อง

Incubator Shaker ที่ 100 rpm ที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 10 ชั่วโมง จากนั้นนำ starter ที่ได้มาเลี้ยงในอาหารดังนี้

น้ำเสียที่ผ่านการฆ่าเชื้อปรับพีเอชเป็น 7 (sterile optimized wastewater: SOW)

น้ำเสียที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อปรับพีเอชเป็น 7 (raw optimized wastewater: ROW)

ซึ่งบรรจุใน Flask ขนาด 250 ml มีอาหารอยู่ 100 ml จากนั้นนำไปบ่มในเครื่อง Incubator Shaker ที่ 70 rpm ที่อุณหภูมิ 30°C โดยมี 10% inoculum size ดูผลทุก 5 ชั่วโมง โดยวัดค่า OD 660 nm สำหรับการเจริญของเชื้อ , ค่า pH และหาจำนวนเชื้อโดยวิธี standard plate count โดยใช้อาหารสูตร A และที่เวลาเริ่มต้นและเวลาสิ้นสุดการเลี้ยง วิเคราะห์หาปริมาณ Total sulfide , Dissolved sulfide , Un-ionized hydrogen sulfide และ Sulfate โดยก่อนที่จะนำไปวิเคราะห์ได้ centrifuge 6000 rpm เป็นเวลา 25 นาที

2.2 การลดซัลไฟด์ของน้ำเสียในสภาวะเชื้อเดี่ยว

เตรียม starter โดยเลี้ยงเชื้อ T307 ในอาหาร สูตร A ที่มีความเข้มข้นของ yeast extract 0.1% แล้วนำไปบ่มในเครื่อง Incubator shaker ที่ 100 rpm ที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 10 ชั่วโมง จากนั้นนำ starter ที่ได้มาเลี้ยงในน้ำเสียที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ซึ่งบรรจุในขวดขนาด 1000 ml มีน้ำเสียอยู่ 800 ml จากนั้นนำไปบ่มในเครื่อง Incubator shaker ที่ 70 rpm ที่อุณหภูมิ 30°C โดยมี 10% inoculum size ดูผลที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 20 ชั่วโมง โดยวัดค่าต่างๆดังนี้ pH หาจำนวนเชื้อโดยวิธี standard plate count วิเคราะห์หาปริมาณ Total sulfide Dissolved sulfide Un-ionized hydrogen sulfide Sulfate COD และ BOD โดยก่อนที่จะนำไปวิเคราะห์ได้ centrifuge 6000 rpm เป็นเวลา 25 นาที สำหรับการทดลองนี้ได้ทดสอบซ้ำ 2 ครั้งกับน้ำเสียคนละถัง และแต่ละครั้งทำ 4 ซ้ำ

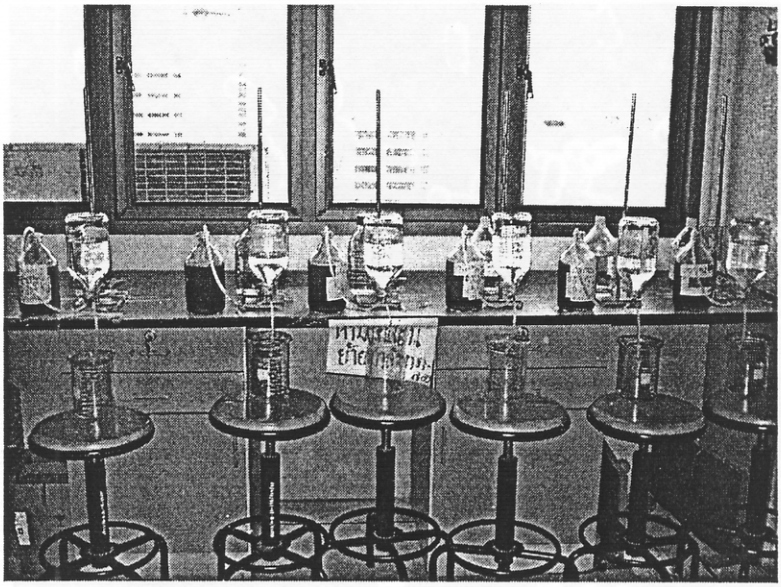
2.3 การลดซัลไฟด์ของน้ำเสียโดยใช้สารเคมี

จากการศึกษาของ Percheron et al. (1999) พบว่าการใช้ $FeCl_2$ 12 mM เติมลงในน้ำเสียที่อุดมด้วยซัลเฟตเพื่อตกตะกอน $H_2S$ ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการเกิดแก๊สมีเทน ดังนั้นในการศึกษานี้จึงทดลองใช้ $FeCl_2$ ในการกำจัดซัลไฟด์ในน้ำเสียของถัง SRR เทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติม และจากการทดลองพบว่าการใช้ความเข้มข้นของ $FeCl_2$ ตามที่กล่าวมาทำให้น้ำเสียมีค่าพีเอชเป็นกรดมากจนไม่เหมาะสมที่จะนำไปหมักแก๊สชีวภาพหรือไม่ก็ต้องปรับพีเอช ดังนั้นจึงได้ลดความเข้มข้นลงเป็น 0 0.002 0.02 0.2 0.4 และ 0.8 mM

**3. การหมักแก๊สชีวภาพ**

เตรียม starter โดยเลี้ยงเชื้อ T307 ในอาหาร สูตร A ที่มีความเข้มข้นของ yeast extract 0.1% แล้วนำไปบ่มในเครื่อง Incubator shaker ที่ 100 rpm ที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 10 ชั่วโมง จากนั้นนำ starter ที่ได้มาเลี้ยงในอาหารสูตร T ที่มี $Na_2S$ แทน $Na_2S_2O_3.5H_2O$ (จำเป็นต้องใช้อาหาร $Na_2S$ แทนน้ำเสียเพราะว่าน้ำเสียที่มีอยู่มีปริมาณซัลไฟด์ต่ำ แต่การทดลองต้องการดูผลในการลดซัลไฟด์

ที่มีปริมาณสูง) ซึ่งบรรจุในขวดขนาด 1000 ml มีอาหารอยู่ 800 ml จากนั้นนำไปบ่มในเครื่อง Incubator shaker ที่ 70 rpm ที่อุณหภูมิ 30°C โดยใช้ 10% inoculum size ดูผลที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 20 ชั่วโมง โดยวัดค่าต่างๆดังนี้ pH หาจำนวนเชื้อโดยวิธี standard plate count ในอาหาร สูตร A วิเคราะห์หาปริมาณ Total sulfide Dissolved sulfide Un-ionized hydrogen sulfide และSulfate โดยก่อนที่จะนำไปวิเคราะห์ได้ centrifuge 6000 rpm เป็นเวลา 25 นาที และที่เวลา 20 ชั่วโมง นำไปหมัก Biogas โดยก่อนหมักได้เติม sodium acetate 1% สำหรับ methanogenic bacteria ใช้ในการผลิตแก๊สมีเทน (Finstein, 1972) ซึ่งหมักในขวดขนาด 1000 ml มีอาหารอยู่ 900 ml และหัวเชื้อ (เป็นตะกอนก้นบ่อที่มีการบำบัดแบบไร้อากาศ) 100 ml ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทสะเดาพีเอส รับเบอร์รวมปริมาตรทั้งหมดเป็น 1000 ml เปรียบเทียบการหมักแก๊สชีวภาพกับ Control ที่ไม่ได้ผ่านการเลี้ยงเชื้อไอโซเลท T307 โดยที่ก่อนเริ่มการหมักแก๊สได้นำตัวอย่างส่วนหนึ่งไปวิเคราะห์หาค่าพีเอช BOD COD สำหรับการทดลองซ้ำในครั้งที่ 2 ในรูปที่ 1 แสดงการหมักแก๊สชีวภาพ สังเกตการเกิดแก๊สและปริมาณของแก๊สที่เกิดจากการแทนที่สารละลายด่าง (1N NaOH ใช้จับ $CO_2$ และ $H_2S$ เพราะเป็น acid gas) ด้วยแก๊ส ซึ่งแก๊สที่เหลือคือมีเทนเป็นส่วนใหญ่ แต่อย่างไรก็ตามก็ไม่ได้วัดชนิดของแก๊สจากขวดสารละลายด่าง แต่วัดในขวดหมักแก๊สชีวภาพบริเวณที่ว่างของขวด (headspace) ในการศึกษานี้การวัดชนิดของแก๊สจะวัดในรูปมีเทนและแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์โดยใช้เครื่องวัดแก๊สแบบพกพา (Oldham รุ่น MX2100) ซึ่งวัดไฮโดรเจนซัลไฟด์มีหน่วยเป็น มก/ล ขณะที่มีเทนเป็น % LEL (Low Explosive Level) โดยที่ 100% LEL = 5% volume methane หรือ 1% LEL = 500 mg/l $CH_4$ และคำนวณค่า $CO_2$จากผลต่างโดยคิดปริมาณแก๊สที่เกิดทั้งหมดหน่วยเป็นมิลลิลิตรมีค่าเท่ากับ 100 ดังนั้นปริมาณเปอร์เซ็นต์การเกิดแก๊สจึงมีหน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร การวัดชนิดและปริมาณของแก๊สด้วยวิธีนี้ค่าของแก๊สที่ได้จะถูกเจือจางด้วยอากาศบ้างทำให้ไม่ได้ปริมาณของแก๊สที่แท้จริงของแต่ละชนิด แต่ก็พอประเมินผลการทดลองได้เพราะอาศัยการเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และเมื่อหยุดการหมักแก๊สแล้วนำตัวอย่างส่วนหนึ่งไปวิเคราะห์หาค่า pH ดูการรอดชีวิตของ T307 โดยการใช้ 0.1 มล spread plate ในอาหาร สูตร A วิเคราะห์หาปริมาณ Total sulfide Dissolved sulfide Un-ionzed hydrogen sulfide Sulfate BOD และ COD โดยก่อนที่จะนำไปวิเคราะห์ได้ centrifuge 6000 rpm เป็นเวลา 25 นาที สำหรับการศึกษาในหัวข้อนี้ได้ทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง และในแต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ และการหมักแก๊สชีวภาพทั้ง 2 ครั้ง เมื่อวัดปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้นติดต่อกันเป็นเวลา 5 วันก็ต้องหยุดการทดลอง เพราะจุกยางที่ปิดขวดหมักเมื่อผ่านการแทงด้วยเข็มฉีดยา (syringe) เป็นจำนวนหลายๆครั้งทำให้เกิดการรั่วของจุกยางในบางขวดจึงต้องหยุดการทดลอง

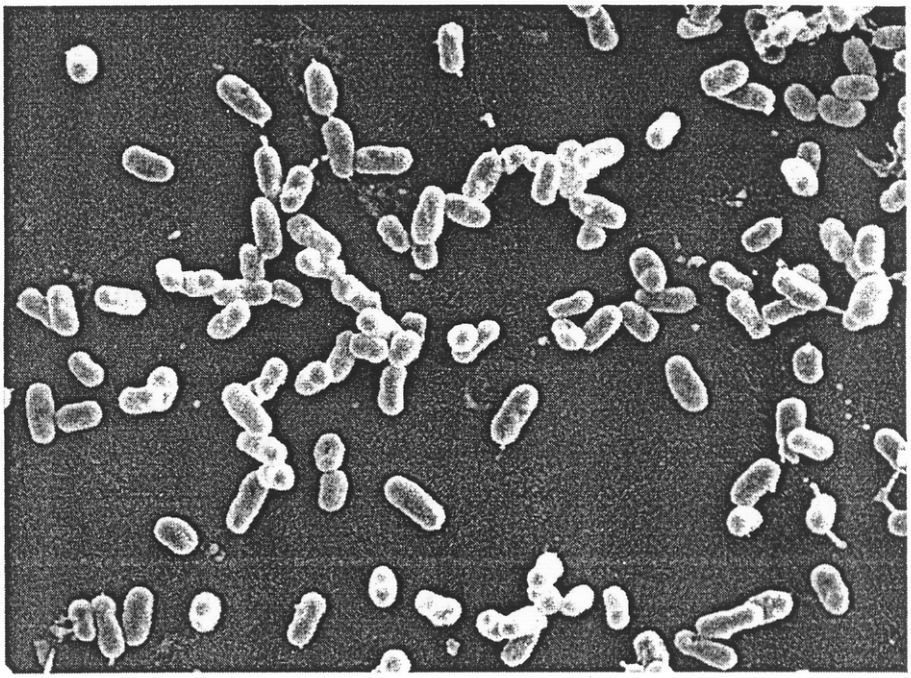


รูปที่ 1 การหมักแก๊สชีวภาพจากน้ำทิ้งที่ออกจากถัง SRR ที่ผ่านการกำจัดซัลไฟด์โดย T307

**ผลการทดลอง**

**1. ผลการเทียบเคียงเชื้อ**

จากตารางที่ 1 เชื้อไอโซเลท T307 ซึ่งเป็น sulfide oxidizing bacterium ติดสีแกรมลบ มีรูปร่างเป็นแท่งสั้นๆ ขนาดประมาณ 0.5x 1.0 μm ดังรูปที่ 2 ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ แยกได้จากบ่อบำบัดน้ำเสียของโรงงานแปรรูปน้ำยางในจังหวัดปัตตานีมีความสามารถเจริญได้หลายรูปแบบทั้ง chemolitrotroph ที่ได้พลังงานจากการออกซิไดซ์ซัลไฟด์ ไทโอซัลเฟต และเฟอร์รัสได้ (เจริญได้แต่ไม่ดีเท่ากับการใช้ซัลไฟด์ และ ไทโอซัลเฟต) โดยแหล่งคาร์บอนคือแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ และ mixotroph ที่ได้พลังงานจากสารอนินทรีย์ตามที่กล่าวมาแล้วเป็นแหล่งพลังงานและสารอินทรีย์อย่างเช่นยีสต์สกัด อีกทั้งยังสามารถเจริญแบบ heterotroph โดยใช้พวกสารอินทรีย์เช่น ยีสต์สกัด เปปโตน ฟอร์เมท อะซิเตท ฟรุกโตสเป็นแหล่งพลังงานและคาร์บอน แต่ยีสต์สกัดให้ผลการเจริญดีกว่า *เจริญได้ดีในช่วงพีเอชที่เป็นกลาง (พีเอช 7-7.5) ช่วงที่เป็นกรดหรือด่างเล็กน้อยก็* เจริญได้ดีพอสมควร (ผลการทดลองบทที่ 3) แต่ไม่เจริญในสภาวะที่เป็นกรดจัด (พีเอช 2-4) เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30 °C โดยช่วงอุณหภูมิที่เจริญได้อยู่ระหว่าง 4-45 °C ไม่รีดิวซ์ไนเตรทในการเจริญแบบ heterotroph *ไม่สร้างแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ เจริญในสภาพมีอากาศดีมากกว่าสภาพไร้อากาศ* และผลการทดสอบอื่นๆดังตารางที่ 1 และ 2 และ ผลการทดลองบทที่ 3 จากผลดังกล่าวเมื่อพิจารณาจาก Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Vol. 3 (Kelly and Harrison, 1989) พบว่าคุณสมบัติส่วนใหญ่เหมือน หรือใกล้เคียง แต่ก็มีที่ตรงกันข้ามเช่นผลการใช้ซิเตรทเพื่อการเจริญ ดังนั้นจึงพอสรุปได้ว่าเชื้อไอโซเลท T307 มีความใกล้เคียงกับ *Thiobacillus delicatus*



รูปที่ 2 รูปร่างเซลล์ไอโซเลท T307 เมื่อส่องดูด้วย SEM กำลังขยาย 10000 เท่า โดยที่ ——เท่ากับความยาว 1 μm

ตารางที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ชีวเคมี และสรีระวิทยาของเชื้อไอโซเลท T307

| Characteristic | T307 | *Thiobacillus delicatus* |
|---|---|---|
| Cell shape (size) | Short rod (0.5x1.0 μm) | Short rod (0.4-0.6x0.7-1.6 μm) |
| Cell arrangement | single, rarely in pairs | Single, rarely in pairs |
| Motility | Non motile | Non motile |
| Facultative anaerobe (reduce $NO_3^-$ to $NO_2^-$)* | + | + |
| Chemolithotroph (sulfide, thiosulfate, ferrous) | + | + |
| Mixotroph | + | + |
| Chemoorganotroph (i.e. yeast extract, peptone) | + | + |
| Catalase | + | + |
| Oxidase | - | - |
| Nitrate reduction (heterotroph) | - | - |
| Growth at 4 and 42°C | + | - (growth range 15-42°C) |
| Optimum temperature | 25-30°C | 30-35°C |
| Growth at pH 2-4 | - | - |
| Growth range: pH | 5-9 | 5.0-7.0 |
| Optimum pH | 7.0-7.5 | 5.5-6 |
| Fructose | (+) | (+) |
| Glucose | - | (+) |
| Hydrolysis of starch | - | ND |
| Sodium acetate | + | ND |
| Sodium formate | + | ND |
| Citrate | - | + |
| Indole | - | ND |
| Methyl red | - | ND |
| Voges-Proskauer | - | ND |
| $H_2S$ production (TSI medium) | K/N- | ND |
| Urease | + | + |
| Arginine | - | ND |
| Ornithine | - | ND |
| Lysine | - | ND |
| Maltose | - | ND |
| Sucrose | - | ND |
| Lactose | - | ND |
| Mannitol | - | ND |

*mixotrophic and autotrophic media with thiosulfate; (+) = weakly positive; ND = not determined

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบทางชีวเคมีโดยใช้ชุดทดสอบ API 20E ของบริษัท Biomerieux

| Characteristic | T307 | *Thiobacillus delicatus* |
|---|---|---|
| Citrate | - | + |
| Indole | - | ND |
| Voges-Proskauer | - | ND |
| Hydrogen sulfide production | - | ND |
| Urease | + | + |
| Gelatin | + | ND |
| O-F (glucose) | - | - |
| Mannose | - | ND |
| Arabinose | - | ND |
| Amygdalin | - | ND |
| Saccharose | - | ND |
| Rhamnose | - | ND |
| Sorbitol | - | ND |
| Inositol | - | ND |
| Ornithine decarboxylase | - | ND |
| Lysine decarboxylase | - | ND |
| Tryptophan deaminase | - | ND |

ND = not determined

**2. ผลความสามารถของเชื้อไอโซเลท T307 ในการลดซัลไฟด์**

2.1 การลดซัลไฟด์ของน้ำเสียในสภาวะเชื้อเดี่ยว และเชื้อผสม

ผลการกำจัดซัลไฟด์ของเชื้อในสภาวะเชื้อเดี่ยว (T307) ในชุดการทดลอง sterile optimized wastewater (SOW) ดีกว่าเชื้อผสม (T307 และที่มีมากับน้ำเสีย) ในชุดการทดลอง raw optimized wastewater (ROW) โดยสามารถลดซัลไฟด์ได้ 71.43 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่เชื้อผสมลดได้ 56.10 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3) และการลดก็เกิดจากบทบาทของเชื้อ T307 โดยพิจารณาผลจากการนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ในอาหารสูตร A (มีจำนวนเซลล์เพิ่มจาก 8.16 log CFU/ml เป็น 8.96 log CFU/ml) ซึ่งพวก heterotroph ทั่วไปมีโอกาสเจริญน้อยมากเพราะเป็นอาหารสำหรับการเจริญในสภาพ mixotroph สำหรับพวก SOB ขณะที่การเจริญในสภาพเชื้อเดี่ยวปริมาณเซลล์สูงสุดเมื่อเลี้ยงไปได้ 10 ชม (10.05 log CFU/ml ไม่ได้แสดงผล) ซึ่งผลที่ได้แสดงถึงความเป็นไปได้ในการนำเชื้อ T307 ไปใช้ในภาคสนาม และรายละเอียดของพารามิเตอร์อื่นๆดูได้จากตารางที่ 3 อย่างไรก็ตาม

สำหรับการศึกษาครั้งต่อไปจะศึกษาโดยใช้เชื้อเดี่ยวหรือเชื้อบริสุทธิ์ เพื่อจะได้ทราบถึงบทบาทของเชื้อ T307 ที่มีผลต่อการลดซัลไฟด์ในน้ำเสีย

ตารางที่ 3 ผลการบำบัดซัลไฟด์ในน้ำเสียในสภาวะเชื้อเดี่ยว T307 และเชื้อผสม

| Parameter | Sterile optimized wastewater: SOW | | Raw optimized wastewater: ROW | |
|---|---|---|---|---|
| mg/l* | T=0 | T=20 hr | T=0 | T=20 hr |
| pH | 6.86 | 8.29 | 6.87 | 8.52 |
| Growth (cfu/ml) | 8.41 | 9.02 | 8.16 | 8.96 |
| Total sulfide | 19.6 | 5.6 | 18.9 | 8.27 |
| DS | 8.27 | 4.93 | 8.27 | 5.6 |
| UHS | 1.18 | 0.31 | 3.64 | 0.90 |
| Sulfate | 298 | 287 | 285 | 291 |

* unless stated

2.2 ผลการลดซัลไฟด์ของน้ำเสียในสภาวะเชื้อเดี่ยว

ผลการบำบัดซัลไฟด์ในน้ำเสียโดยเชื้อ T307 มีความแปรผันมากเมื่อพิจารณาจากการทดลอง 2 ครั้งถึงการลดลงของซัลไฟด์ทั้งๆที่พารามิเตอร์ของน้ำเสียก็มีค่าไม่แตกต่างกันมากนัก ดังนั้นประสิทธิภาพการลดซัลไฟด์มีสาเหตุจากจำนวนเชื้อเริ่มต้นซึ่งถ้าหากมีมากกว่าย่อมทำให้ประสิทธิภาพดีกว่าดังเช่นการทดลองครั้งที่ 2 มีจำนวนเซลล์เริ่มต้นมากกว่าการทดลองที่ 1 อยู่ 1 log cycle จึงทำให้ลดซัลไฟด์ได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่การทดลองแรกลดได้ 82.86 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณซัลเฟตแทบไม่มีการเปลี่ยนแปลงเป็นเพราะเขย่าที่ความเร็วรอบ 70 rpm เพื่อจำกัดปริมาณออกซิเจน และสามารถสังเกตเห็นตะกอนเหลืองอ่อนของซัลเฟอร์ได้ รายละเอียดดูตารางที่ 4

ตารางที่ 4 การลดซัลไฟด์ของน้ำเสียในสภาวะเชื้อเดี่ยว (T307)

| Parameter | First experiment | | Second experiment | |
|---|---|---|---|---|
| mg/l* | t=0 | 20 hr | t=0 | 20 hr |
| Growth (cfu/ml) | 6.87 | 7.41 | 7.87 | 8.68 |
| pH | 7.0 | 6.90 | 6.87 | 7.02 |
| BOD | 503 | 483 | 553 | 575 |
| COD | 2500 | 1533 | 2450 | 1533 |
| BOD/COD | 0.20 | 0.32 | 0.23 | 0.38 |
| TS | 35 | 6 | 25.9 | 0 |
| DS | 36 | 4 | 35 | 4.4 |
| UHS | 17 | 0.64 | 15.27 | 1.42 |
| Sulfate | 306 | 332 | 309 | 315 |

*Unless stated

2.3 ผลการลดซัลไฟด์ของน้ำเสียโดยใช้สารเคมี

ผลการบำบัดซัลไฟด์ในน้ำเสียโดยใช้สารเคมี $FeCl_2$ ที่ความเข้มข้นต่างๆไม่สามารถกำจัดซัลไฟด์ได้หมดดังตารางที่ 5 โดยที่ความเข้มข้น 0.8 mM กำจัดซัลไฟด์ได้ 77.75% ซึ่งถ้าหากต้องการกำจัดได้หมดก็ต้องเพิ่มความเข้มข้นให้มากขึ้น และมีผลทำให้พีเอชลดต่ำลงจนไม่เหมาะสมที่จะนำไปหมักแก๊สชีวภาพ การที่พีเอชลดเกิดจากการเกิดกรดเกลือดังสมการ

$FeCl_2 + H_2S \longrightarrow FeS + 2HCl$ และขณะเดียวกันพีเอชที่ต่ำทำให้ซัลไฟด์เปลี่ยนรูปไปอยู่ในรูปของ $H_2S$ ดังนั้นหลังจากการกำจัดซัลไฟด์ในน้ำเสียโดยใช้สารเคมีแล้วจะต้องมีการปรับค่าพีเอชก่อนที่จะนำไปหมักแก๊สชีวภาพต่อ จากเหตุผลที่กล่าวมาการกำจัดซัลไฟด์ในน้ำเสียโดยการใช้ sulfide oxidizing bacteria จึงมีความเหมาะสมมากกว่า

ตารางที่ 5 การลดซัลไฟด์ของน้ำเสียโดยใช้สารเคมี

| $FeCl_2$ (mM) | TS (mg/l) | DS (mg/l) | UHS (mg/l) | pH | Precipitation (FeS) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 12.0 | 8.67 | 2.34 | 8.08 | - |
| 0.002 | 8.0 | 7.33 | 2.72 | 8.01 | - |
| 0.02 | 6.67 | 7.05 | 3.59 | 7.95 | - |
| 0.2 | 6.0 | 6.46 | 4.27 | 7.50 | + |
| 0.4 | 4.67 | 6.17 | 4.85 | 7.11 | + |
| 0.8 | 2.67 | 5.93 | 5.03 | 6.80 | + |

**3. ผลการหมักแก๊สชีวภาพ**

สำหรับผลการหมักแก๊สชีวภาพจะนำเสนอผล 3 ส่วนคือผลการลดซัลไฟด์ในอาหารของเชื้อ T307 ก่อนนำไปหมักแก๊ส (ตารางที่ 6) ส่วนที่สองคือผลการเกิดแก๊สทั้งชนิดและปริมาณ (ตารางที่ 7) และส่วนท้ายสุดลักษณะของอาหารซัลไฟด์หลังการหมักแก๊ส (ตารางที่ 8) ในตารางที่ 6 พบว่าพีเอชเพิ่มขึ้นเล็กน้อยสำหรับอาหารซัลไฟด์ที่ผ่านการเลี้ยง T307 ขณะที่ชุดควบคุมซึ่งไม่ได้เติมเชื้อค่าของพีเอชแทบไม่มีการเปลี่ยนแปลง และเช่นเดียวกับปริมาณของ TS DS UHS และ Sulfate แต่ในชุดที่เติมเชื้อมีการลดลงของซัลไฟด์ในรูปแบบต่างๆ โดยลดปริมาณ TS ได้ 83.22% ขณะที่ปริมาณ DS ลด 71.78% แต่สำหรับปริมาณของ Sulfate กล่าวได้ว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลง

ตารางที่ 6 การเปลี่ยนแปลงของซัลไฟด์ในรูปแบบต่างๆ และซัลเฟตในอาหารซัลไฟด์โดยเชื้อ T307

| Parameter* | Control (Uninoculated medium) | | T307 | |
|---|---|---|---|---|
| (mg/l) | T=0 | T=20 hr | T=0 | T=20 hr |
| pH | 7.30 | 7.32 | 7.33 | 7.44 |
| Viable cells (log cfu/ml) | 0 | 0 | 7.28 | 9.72 |
| Total sulfide | 71.1 | 72 | 72.1 | 12.1 |
| Dissolved sulfide | 61.6 | 62.1 | 60.6 | 17.1 |
| Unionized hydrogen sulfide | 0.74 | 0.63 | 0.73 | 0.57 |
| Sulfate | 486 | 498 | 442 | 449 |

*Unless stated

จากการที่นำอาหารซัลไฟด์ที่ผ่านการเลี้ยงและไม่ผ่านการเลี้ยงโดยเชื้อ T307 ไปหมักแก๊สชีวภาพโดยได้มีการเติมโซเดียมอะซิเตรท 1 เปอร์เซ็นต์ และการปรับพีเอชให้เป็น 7 โดยใช้หัวเชื้อจากตะกอนบ่อไร้อากาศพบว่าในอาหารที่ผ่านการเลี้ยงเชื้อ T307 เกิดแก๊สรวดเร็วกว่าโดยเกิดประมาณ 12 ชม หลังการเริ่มต้นหมัก ขณะที่ชุดควบคุมเกิดที่ ชม 36 (เกิดช้ากว่า 24 ชม) และปริมาณแก๊สที่เกิดต่อวันในอาหารที่ผ่านการเลี้ยงเชื้อ T307 เกิดในปริมาณที่สูงกว่ามาก และปริมาณของแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์แทบเป็นศูนย์ (ตารางที่ 7 และรูปที่ 3) แต่ในชุดควบคุมผลตรงกันข้าม และพบว่าปริมาณ $CH_4$ ที่เกิดของชุดที่ผ่านการเลี้ยงเชื้อ T307 มีค่าอยู่ในช่วง 33-58 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ $CO_2$ มีค่าระหว่าง 42-67 เปอร์เซ็นต์ ที่เหลือเป็น $H_2S$ (น้อยกว่า 0.1 เปอร์เซ็นต์) แต่ในชุดควบคุมเกิด $CH_4$ เพียง 20-50 เปอร์เซ็นต์เท่านั้นดังตารางที่ 8 โดยทั่วไปแก๊สส่วนใหญ่ที่พบในแก๊สชีวภาพคือ $CH_4$ (50-60เปอร์เซ็นต์) และ $CO_2$ (40-50 เปอร์เซ็นต์) ที่เหลือเล็กน้อยก็เป็น $NH_3$ และ $H_2S$ (Zicari, 2003) สำหรับผลการทดลองพบว่า $CO_2$ ดูมีค่าสูงสาเหตุเนื่องจากการวัดชนิดของแก๊ส

ด้วยเครื่องที่ใช้ทำให้แก๊สชีวภาพถูกเจือจางด้วยปริมาณอากาศส่วนหนึ่งและวิธีการหาค่า $CO_2$ ก็คำนวณจากผลต่างนั่นเอง (100-$CH_4$ - $H_2S$)

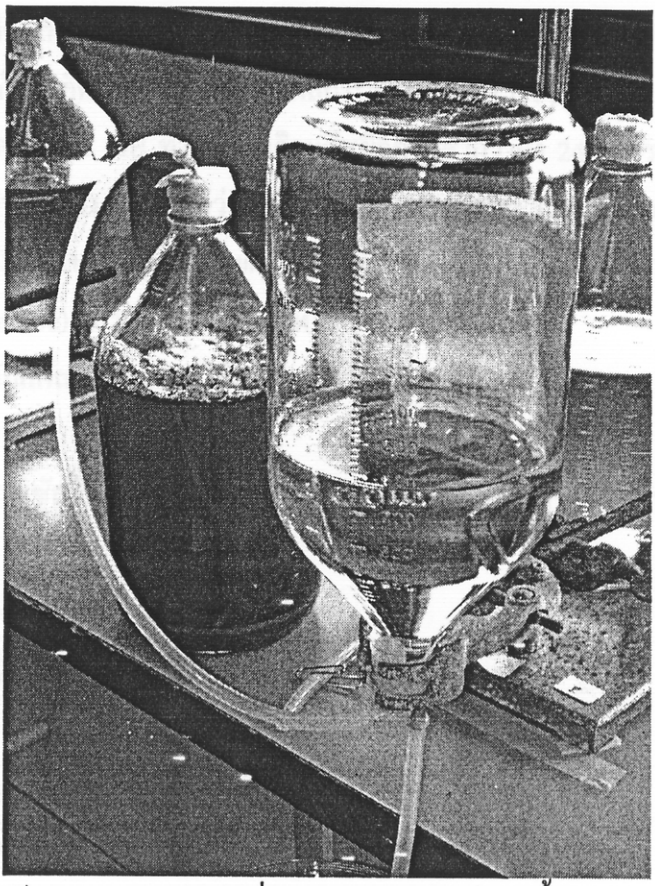
ตารางที่ 7 การเกิดแก๊สชีวภาพในอาหารซัลไฟด์ที่ผ่านการเลี้ยงเชื้อ T307 และไม่ผ่านการเลี้ยง

| Day | Control (Without T307) | | | T307 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Biogas (ml) | $CH_4$ (mg/l) | $H_2S$ (mg/l) | Biogas (ml) | $CH_4$ (mg/l) | $H_2S$ (mg/l) |
| 1 | 25 | 200 (5)* | 2.23 (0.06) | 275 | 335 (92.1) | 0 |
| 2 | 21 | 230 (4.8) | 2.15 (0.05) | 220 | 418 (92) | 0 |
| 3 | 25 | 250 (6.3) | 2.34 (0.06) | 210 | 500 (105) | 0 |
| 4 | 29 | 278 (8.1) | 3 (0.09) | 200 | 550 (110) | 0.84 (0.17) |
| 5 | 27 | 500 (13.5) | 3.67 (0.10) | 220 | 583 (128.3) | 0.67 (0.15) |

*ตัวเลขในวงเล็บคือปริมาณของแก๊สแต่ละชนิดมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมที่มีอยู่ในแก๊สชีวภาพที่เกิด

ตารางที่ 8 สัดส่วนของแก๊สต่างๆในแก๊สชีวภาพที่ผ่านการเลี้ยงเชื้อ T307 และไม่ผ่านการเลี้ยง

| Day | Control (Without T307) | | | T307 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | $CH_4$ (%) | $CO_2$ (%) | $H_2S$ (%) | $CH_4$ (%) | $CO_2$ (%) | $H_2S$ (%) |
| 1 | 20 | 79.76 | 0.24 | 33.49 | 66.51 | 0 |
| 2 | 22.86 | 76.90 | 0.24 | 41.82 | 58.18 | 0 |
| 3 | 25.20 | 74.56 | 0.24 | 50 | 50 | 0 |
| 4 | 27.93 | 71.76 | 0.31 | 55 | 44.91 | 0.09 |
| 5 | 50 | 49.63 | 0.37 | 58.32 | 41.61 | 0.07 |



รูปที่ 3 การเกิดแก๊สชีวภาพจากอาหารที่มีการกำจัดซัลไฟด์โดยเชื้อ T307 ก่อนแล้วจึงนำมาหมักแก๊สชีวภาพ

ในการทดลองหมักแก๊สชีวภาพครั้งแรกนี้เมื่อหมักไปได้เพียง 5 วัน พบว่ามีอยู่ 1 ขวด ที่เกิดการรั่วเนื่องจากจุกยางที่ผ่านการแทงโดยเข็มฉีดยามีขนาดใหญ่ขึ้นจึงหยุดการทดลอง และได้นำน้ำหมักไปตรวจสอบพารามิเตอร์คือพีเอช ซัลไฟด์ในรูปแบบต่างๆ รวมถึงปริมาณซัลเฟตด้วย และยังได้ทดสอบการอยู่รอดของ T307 อีกด้วย ผลการทดลองดังตารางที่ 9 พบว่าปริมาณซัลไฟด์ทั้งหมด ซัลไฟด์ในรูปที่ละลายได้ของที่ผ่านการเลี้ยงในชุดที่ผ่านการเลี้ยง T307 มีค่าต่ำกว่าชุดควบคุม (ปริมาณสารดังกล่าวมีค่าสูงขึ้นเมื่อเทียบกับเริ่มต้นการหมักแก๊สแสดงว่ามีปริมาณซัลเฟตในหัวเชื้อจึงส่งผลให้เกิดสารดังกล่าวขึ้น ไม่ได้วิเคราะห์หาซัลเฟตส่วนนี้เนื่องจากเปรียบเทียบผลกับชุดควบคุมซึ่งมีการคุมเงื่อนไขการทดลองเหมือนกันหมด ยกเว้นไม่ได้ผ่านการเลี้ยงด้วย T307) แต่ปริมาณซัลไฟด์ในรูปที่ไม่แตกตัวสูงกว่ามีสาเหตุจากค่าพีเอช (8.3) ที่ต่ำกว่าในชุดควบคุม (8.95) สภาพพีเอชต่ำทำให้อยู่ในรูปที่ไม่แตกตัว (Markl, 1999) และการที่พีเอชของชุดควบคุมมีค่าสูงกว่าสาเหตุหนึ่งน่ามาจากการนำอะซิเตทไปใช้ได้น้อยกว่า เพราะ methanogenic bacteria (MB) ถูกยับยั้งโดยซัลไฟด์ที่ความเข้มข้นสูงกว่าทำให้ sulfate reducing bacteria (SRB) เจริญได้ดีกว่าสังเกตจากการมีซัลเฟตเหลือในปริมาณ (88 มก/ล) ต่ำกว่าขณะที่ชุดผ่านการเลี้ยง T307 มีซัลเฟตสูงกว่า (125 มก/ล) และผลจากการใช้ซัลเฟตในชุดควบคุมทำให้ปริมาณปริมาณแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ในชุด

ควบคุมสูงการเกิดแก๊สมีเทนต่ำ (แก๊สชีวภาพที่ได้มีประสิทธิภาพต่ำกว่าชุดที่ผ่านการเลี้ยงด้วย T307 รวมถึงปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้นด้วย) แสดงถึงผลการแข่งขันระหว่าง MB และ SRB โดยในชุดควบคุม SRB ยับยั้งการเจริญของ MB ทำให้การเกิดแก๊สชีวภาพช้ากว่าถึง 24 ชม รวมทั้งปริมาณของแก๊สที่เกิดและแก๊สมีเทนก็มีปริมาณน้อยกว่าตามที่กล่าวมาแล้ว การที่ TS และ DS ของชุดที่เคยผ่านการเลี้ยง T307 มีค่าต่ำกว่าชุดที่ไม่เคยผ่านเป็นเพราะว่า T307 ยังคงสามารถเจริญได้แต่ช้ามาก (Facultative anaerobe) ทราบจากการทดสอบการอยู่รอดของ
T307 เมื่อเลิกหมักแก๊สชีวภาพโดยใช้อาหารสูตร A

ตารางที่ 9 ปริมาณซัลไฟด์และซัลเฟต ค่าพีเอชหลังจากหมักแก๊สชีวภาพในอาหารซัลไฟด์ไปได้ 5 วัน

| Parameter (mg/l) | Control | T307 |
|---|---|---|
| pH | 8.95 | 8.30 |
| Total sulfide | 69.6 | 52.9 |
| Dissolved sulfide | 74.3 | 60.9 |
| Unionized hydrogen sulfide | 0.89 | 1.83 |
| Sulfate | 88 | 125 |

สำหรับการทดลองซ้ำ (การทดลองครั้งที่ 2) ดังตารางที่ 10 พบว่าเชื้อ T307 สามารถลด TS ได้ 84.66% และ DS ได้ 76.84% โดยเชื้อมีการเพิ่มจำนวนภายใน 20 ชม จาก 7.22 log cfu/ml เป็น 9.63 log cfu/ml เพิ่มจำนวน 2.41 log cycle ซึ่งไม่แตกต่างจากการทดลองครั้งแรก (เพิ่ม 2.44 log cycle) ในตารางที่ 6 และเมื่อนำไปหมักแก๊สชีวภาพ ปริมาณและชนิดของแก๊สที่เกิดมีลักษณะเช่นเดียวกับการทดลองครั้งที่ 1 ทั้งในชุดควบคุม และชุดที่ผ่านการเลี้ยง T307 มาก่อน (ตารางที่ 11) แต่ปริมาณ $H_2S$ ที่เกิดขึ้นในครั้งหลังมากกว่าครั้งแรกทั้ง 2 ชุด ซึ่งมีสาเหตุจากซัลเฟตที่เหลือมากกว่าครั้งแรก (ตารางที่ 6 และ 10) และสำหรับซัลเฟตที่เหลือหลังหมักแก๊สชีวภาพเหมือนกับการทดลองครั้งแรก ดังนั้นการเกิด $H_2S$ ในชุดที่ผ่านการเลี้ยง T307 มาก่อนจึงต่ำกว่าชุดควบคุม และสอดคล้องกับปริมาณซัลเฟตที่เหลือมากกว่า (ตารางที่ 10) และปริมาณแก๊สชีวภาพที่เกิดมากมากกว่าในชุดที่ผ่านการเลี้ยง T307 มาก่อน (ตารางที่ 11) และสำหรับสัดส่วนของแก๊สที่เกิดขึ้นพบว่าปริมาณ $CH_4$ ที่เกิดของชุดที่ผ่านการเลี้ยงเชื้อ T307 มีค่าอยู่ในช่วง 42-50 เปอร์เซ็นต์ขณะที่ $CO_2$ มีค่าระหว่าง 49-57 เปอร์เซ็นต์ ที่เหลือเป็น $H_2S$ (0.13-1.33 เปอร์เซ็นต์) แต่ในชุดควบคุมเกิด $CH_4$ เพียง 25-50 เปอร์เซ็นต์เท่านั้นดังตารางที่ 12 และเมื่อพิจารณาจากค่า BOD และ COD เมื่อเริ่มต้นการหมักพบว่าค่าดังกล่าวของชุดควบคุม (2316 และ 5790 มก/ล ตามลำดับ) มีค่าสูงกว่า

เพราะว่าไม่ได้ผ่านการเลี้ยง T307 มาก่อน โดยชุดที่ผ่านการเลี้ยงมีค่า BODและ COD เท่ากับ 1956 และ 4890 มก/ล และการที่เลี้ยง T307 เพื่อกำจัดซัลไฟด์ส่งผลดีต่อปริมาณและชนิดของแก๊สที่เกิดเป็นผลจากการที่เชื้อจุลินทรีย์โดยเฉพาะ MB ใช้ สารอาหารได้ดีกว่าสังเกตจากการลดลงของค่า BOD และ COD ได้มากกว่าชุดควบคุม 12.38 เปอร์เซ็นต์ และค่า biogas productivity ของชุดที่ผ่านการเลี้ยง T307 คือ 0.10 $cm^3$/mg COD/d ขณะที่ชุดควบคุมคือ 0.013 $cm^3$/mg COD/d

ตารางที่ 10 การเปลี่ยนแปลงของซัลไฟด์ในรูปแบบต่างๆ และซัลเฟตในอาหารซัลไฟด์โดยเชื้อ T307 (ครั้งที่ 2)

| Parameter* | Control (Uninoculated medium) | | T307 | |
|---|---|---|---|---|
| (mg/l) | T=0 | T=20 hr | T=0 | T=20 hr |
| pH | 6.91 | 6.89 | 6.96 | 8.85 |
| Viable cells (log cfu/ml) | 0 | 0 | 7.22 | 9.63 |
| Total sulfide | 73 | 72.6 | 73 | 11.2 |
| Dissolved sulfide | 56.7 | 56.7 | 57 | 13.2 |
| Unionized hydrogen sulfide | 0.63 | 0.63 | 0.68 | 0.16 |
| Sulfate | 518 | 524 | 519 | 533 |

*Unless stated

ตารางที่ 11 การเกิดแก๊สชีวภาพในอาหารซัลไฟด์ที่ผ่านการเลี้ยงเชื้อ T307 (ครั้งที่ 2)

| Day | Control (Without T307) | | | T307 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Biogas (ml) | $CH_4$ (mg/l) | $H_2S$ (mg/l) | Biogas (ml) | $CH_4$ (mg/l) | $H_2S$ (mg/l) |
| 1 | 21 | 500 (10.5)* | 6.17 (0.13) | 270 | 500 (135) | 1.34 (0.36) |
| 2 | 20 | 500 (10) | 16.56 (0.33) | 250 | 500 (125) | 5.56 (1.39) |
| 3 | 30 | 335 (10.1) | 16.67 (0.50) | 235 | 500 (117.5) | 9.00 (2.12) |
| 4 | 34 | 250 (8.5) | 15 (0.51) | 220 | 420 (92.4) | 10.22 (2.25) |
| 5 | 37 | 500 (18.5) | 17.56 (0.65) | 230 | 500 (115) | 13.33 (3.05) |

* ตัวเลขในวงเล็บคือปริมาณของแก๊สแต่ละชนิดมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมที่มีอยู่ในแก๊สชีวภาพที่เกิด

ตารางที่ 12 สัดส่วนของแก๊สต่างๆในแก๊สชีวภาพที่ผ่านการเลี้ยงเชื้อ T307 และไม่ผ่านการเลี้ยง

| Day | Control (Without T307) | | | T307 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | $CH_4$ (%) | $CO_2$ (%) | $H_2S$ (%) | $CH_4$ (%) | $CO_2$ (%) | $H_2S$ (%) |
| 1 | 50 | 49.38 | 0.62 | 50 | 49.87 | 0.13 |
| 2 | 50 | 48.35 | 1.65 | 50 | 49.44 | 0.56 |
| 3 | 33.67 | 64.66 | 1.67 | 50 | 49.10 | 0.90 |
| 4 | 25 | 73.5 | 1.50 | 42 | 56.98 | 1.02 |
| 5 | 50 | 48.24 | 1.76 | 50 | 48.67 | 1.33 |

ตารางที่ 13 ปริมาณซัลไฟด์และซัลเฟต ค่าพีเอชเมื่อเกิดแก๊สชีวภาพในอาหารซัลไฟด์เป็นเวลา 5 วัน (ครั้งที่ 2)

| Parameter (mg/l) | Control | T307 |
|---|---|---|
| pH | 8.56 | 8.43 |
| Total sulfide | 72 | 51.2 |
| Dissolved sulfide | ND | ND |
| Unionized hydrogen sulfide | ND | ND |
| Sulfate | 96 | 140 |
| BOD | 1452 | 984 |
| BOD reduction (%) | 37.31 | 49.69 |
| COD | 3630 | 2430 |
| COD reduction (%) | 37.31 | 49.69 |

## บทสรุป

เมื่อนำเชื้อ T307 มาเทียบเคียงพบว่าใกล้เคียงกับ *Thiobacillus delicatus* ซึ่งนอกจากสามารถเจริญได้ทั้งแบบ chemolithoautotroph และ mixotroph แล้วเชื้อยังสามารถเจริญได้โดยการใช้สารอินทรีย์ (ยีสต์สกัดโปรตีน และเปปโตน เป็นต้น) เป็นแหล่งพลังงานและคาร์บอน (heterotroph) และเจริญในสภาพมีอากาศได้ดีกว่าสภาพไร้อากาศ เชื้อ T307 มีความสามารถลดซัลไฟด์ในสภาวะเชื้อเดี่ยว (71.43-100%) ดีกว่าเชื้อผสมที่มีมากับน้ำเสีย (56.10%) และการลดของซัลไฟด์ในเชื้อผสมเป็นบทบาทที่เกิดจาก T307 ที่เติมลงไป การลดลงของซัลไฟด์ขึ้นกับปริมาณเชื้อที่มีอยู่ การลดปริมาณซัลไฟด์โดยใช้สารเคมี ($FeCl_2$ 0.8 mM) สามารถลด TS ได้ 77.8% และทำให้มีการลดลงของค่า pH ซึ่งถ้าหากต้องการกำจัดให้ได้ 100% ส่งผลให้ต้องมีการปรับ pH ให้เป็นกลาง

ก่อนที่จะนำไปหมักแก๊สชีวภาพ ดังนั้นผลจากการศึกษาจึงเลือกใช้การกำจัดซัลไฟด์โดยใช้เชื้อไอโซเลท T307

ผลการหมักแก๊สชีวภาพในอาหารซัลไฟด์ที่มีการเติมโซเดียมอะซิเตท 1% พบว่าในอาหารที่ผ่านการเลี้ยง T307 มาก่อนเป็นเวลา 20 ชม ส่งผลต่อปริมาณของแก๊สชีวภาพที่เกิด และสัดส่วนของมีเทนที่เกิดมากกว่าชุดควบคุมที่ไม่ผ่านการเลี้ยงและการเกิดแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ ($H_2S$) ก็น้อยกว่าชุดควบคุม โดยผลจากการทดลองทำซ้ำ 2 ครั้งพบว่าชุดที่ผ่านการเลี้ยงเชื้อ T307 มาก่อนมีปริมาณแก๊สชีวภาพที่เกิดมากกว่าชุดควบคุม 8.86 และ 8.4 เท่า และสัดส่วนของมีเทนในชุดเดิมเชื้อครั้งที่ 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% และ $H_2S$ มีค่าระหว่าง 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

จากผลการศึกษาวิจัยนี้บ่งชี้ว่าการกำจัดซัลไฟด์ในน้ำเสียที่มาจากถังบำบัดซึ่งมีปริมาณซัลไฟด์อยู่สูงเป็นสิ่งจำเป็นที่ต้องบำบัดก่อนนำไปหมักแก๊สชีวภาพเพื่อให้ประสิทธิภาพการหมักเป็นไปด้วยดีได้แก๊สปริมาณมาก และมีเทนในสัดส่วนที่สูง และการกำจัดซัลไฟด์ควรใช้พวก sulfide oxidizing bacteria (SOB) เพราะจากคุณสมบัติของเชื้อที่ใช้สารอาหารต่ำโดยเฉพาะสารอินทรีย์แทบไม่มีความจำเป็นทำให้เหมาะสมกับน้ำเสียที่มีสารอินทรีย์ต่ำมากแต่มีซัลไฟด์สูงมาก และสามารถควบคุมให้การออกซิไดซ์ซัลไฟด์เป็นซัลเฟอร์ (partial oxidation) เป็นส่วนใหญ่โดยควบคุมที่ปริมาณการให้ออกซิเจน จึงไม่เกิดซัลเฟตหรือเกิดในปริมาณที่ต่ำจึงไม่เกิดสภาวะเป็นกรด ขณะที่การใช้สารเคมีในการตกตะกอนซัลไฟด์แล้วเกิดสภาวะเป็นกรด จึงต้องปรับสภาพของน้ำเสียให้เป็นกลางก่อนสำหรับการเจริญที่ดีของพวก methanogenic bacteria และสิ่งที่ควรศึกษาต่อจากงานวิจัยนี้คือการศึกษาในสเกลที่ใหญ่ขึ้นใช้น้ำเสียที่อุดมด้วยซัลไฟด์ หาปริมาณออกซิเจนที่เหมาะสมกับการทำให้เกิดการออกซิไดซ์บางส่วน และหาแนวทางให้การใช้เชื้อ SOB ให้มีการใช้ซ้ำได้ เช่นใช้หลักการตรึงเซลล์ เป็นต้น

## เอกสารอ้างอิง


1. Chen, X.G., Geng, A.L., Yan, R., Gould, W.D., Ng, L.Y. and Liang, D.T. 2004. Isolation and characterization of sulphur-oxidizing *Thiomonas* sp. and its potential application in biological deodorization. *Letters in Applied Microbiology*. 39, 495-503.

2. Finstein, M.S. 1972. Pollution Microbiology: A Laboratory Manual. Marcel Dekker, INC., New York.
3. Kelly, D.P. and Harrison, A.P. 1989. Genus *Thiobacillus*. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology vol. 3. Staley, J.T. Williams & Wilkins, Baltimore.
4. Markl, H. 1999. Modeling of biogas reactors. In Biotechnology 2nd ed., vol. 11a. ed. J. Winter, A Wiley Company, pp. 527-560.
5. Percheron, G., Bernet, N. and Moletta, R. 1999. Interactions between methanogenic and nitrate reducing bacteria during the anaerobic digestion of an industrial sulfate rich wastewater. *FEMS Microbiology Ecology*. **29**, 341-350.
6. Zicari, S.M. 2003. Removal of hydrogen sulphide from biogas using cow-manure compost. Master thesis. Cornell University.