บทที่ 3

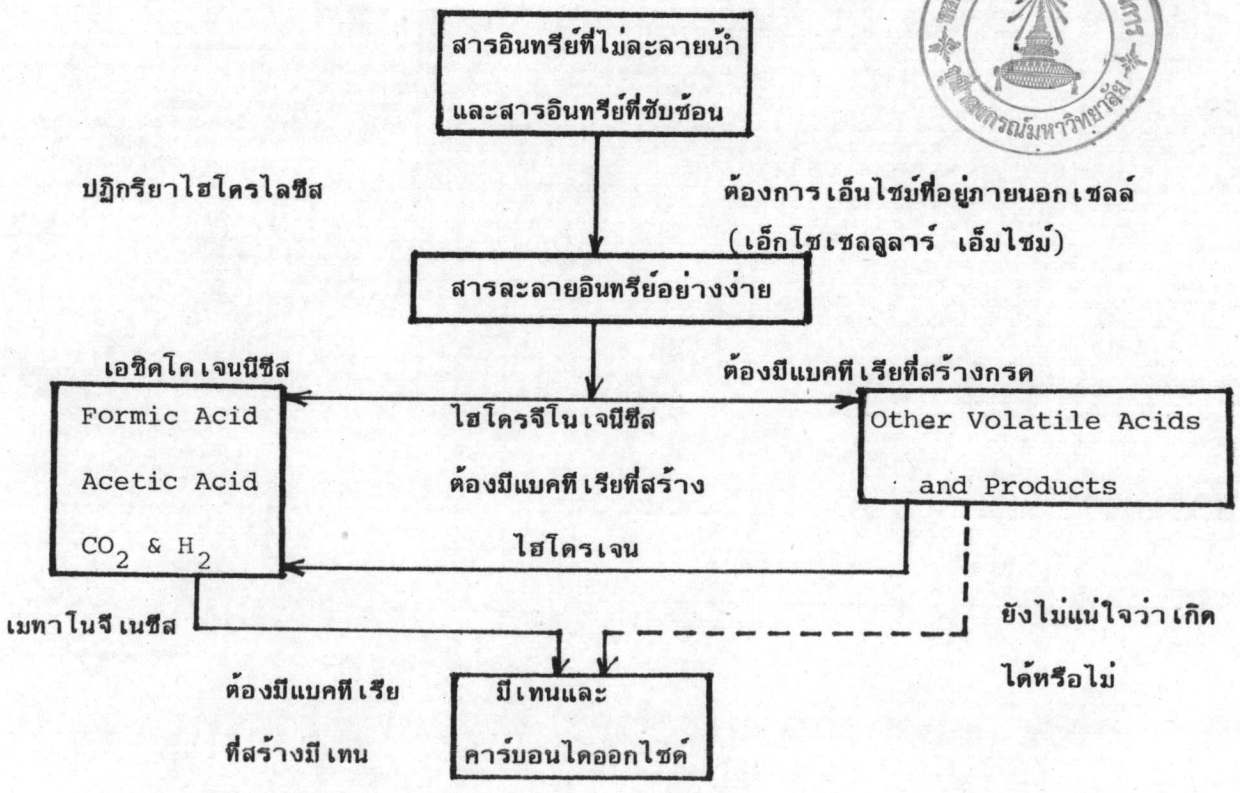
ทฤษฎีและแนวความคิด

3.1 ชีวเคมีและจุลชีววิทยาของขบวนการหมักแบบไร้ออกซิเจน

เนื่องจากระบบผลิตก๊าซชีวภาพ ทำงานได้ด้วยจุลินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobe) ดังนั้น จึงจำเป็นที่จะต้องกล่าวถึงขบวนการทำงานของจุลินทรีย์พวกที่ไม่ใช้ออกซิเจน เหล่านี้บ้างพอสังเขป

3.1.1 ลักษณะโดยทั่วไปของระบบปฏิกริยาชีวเคมีแบบไม่ใช้ออกซิเจน

การย่อยสลายสารอินทรีย์โดยขบวนการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic digestion) เกิดจากแบคทีเรียหลายพวก ลักษณะที่เป็นขั้นตอนของระบบปฏิบัติการชีวเคมี สามารถแสดงให้เห็นได้ด้วยรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 ลักษณะที่เป็นขั้นตอนของระบบปฏิบัติการเคมีที่ไม่ใช้ออกซิเจน[11]

ในขั้นแรกสารประกอบอินทรีย์ที่ไม่ละลายน้ำและสารประกอบอินทรีย์ที่ซับซ้อนจะถูกทำให้ละลายน้ำเสียก่อน นอกจากนี้สารละลายอินทรีย์ที่มีขนาดใหญ่จะถูกลดขนาดลงเพื่อให้ง่ายต่อการนำผ่านเซลล์เมมแบรนเข้าไปในเซลล์

ปฏิกริยาที่มีหน้าที่ทำให้เกิดการละลายน้ำและลดขนาดโมเลกุลของสารอินทรีย์ เรียกว่า ปฏิกริยาไฮโดรไลซีส (Hydrolysis) ซึ่งใช้เอ็มไซม์ที่ขับออกมาสู่ภายนอกเซลล์ของแบคทีเรียเป็นตัวเร่งปฏิกริยา

สารประกอบโมเลกุลขนาดเล็กลง ที่สร้างขึ้นโดยปฏิกริยาไฮโดรไลซีสเหล่านี้จะถูกใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานของแบคทีเรียโดยขบวนการเฟอร์เมนเทชั่น (Fermentation) ผลปฏิกริยาของขบวนการเฟอร์เมนเทชั่นมีทั้งพวกที่อยู่ในรูปออกซิไดส์และรูปรีดิวส์ ส่วนที่เป็นรูปออกซิไดส์ ส่วนใหญ่จะเป็นกรดโวลาไทล์ (Volatile acid) ที่มีคาร์บอนอะตอมไม่เกิน 5 ตัว เช่น กรดอะซิติค (Acetic acid) กรดโพรไพโอนิค (Propionic acid) กรดบิวไทริค (Butyric) กรดแวเลริค (Valeric acid) และกรดคาโพรอิค (Caproic acid) ปฏิกริยาที่สร้างกรดเหล่านี้เรียกว่า เอซิโดจีเนซีส (Acidogenesis) แบคทีเรียที่รับผิดชอบเรียกว่า แบคทีเรียพวกสร้างกรด (Acid former) ส่วนผลปฏิกริยาที่อยู่ในรูปรีดิวส์ขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรียและสภาพแวดล้อมของปฏิกริยา ยกตัวอย่าง เช่น แบคทีเรียที่สร้างกรดบางชนิดสามารถใช้ไฮโดรเจนไอออนเป็นสารรับอีเลคตรอนแทนสารอินทรีย์ได้ ทำให้เกิดไฮโดรเจนโมเลกุลขึ้นมา ในกรณีเช่นนี้ ผลปฏิกริยาที่อยู่ในรูปรีดิวส์ตัวอื่น ๆ (เช่นอัลกอฮอล์) จะไม่เกิดขึ้นหรือเกิดขึ้นเล็กน้อย แต่ถ้าในกรณีที่ไม่สร้างไฮโดรเจนโมเลกุลขึ้นมา แบคทีเรียเหล่านี้จะต้องใช้สารประกอบอินทรีย์เป็นตัวรับอีเลคตรอน ทำให้เกิดผลปฏิกริยาที่อยู่ในรูปรีดิวส์ตัวอื่น ๆ เช่น บิวทานอล, เอทธานอลหรือกรดแลคติก เป็นต้น นอกจากนี้แบคทีเรียบางชนิดสามารถที่จะสร้างกรดอะซิติก, กรดฟอร์มิค, คาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนโมเลกุลได้จากกรดโวลาไทล์อื่น ๆ ที่มีขนาดใหญ่กว่ากรดอะซิติกหรือผลปฏิกริยาในรูปรีดิวส์ตัวอื่น ๆ ที่เกิดขึ้นในปฏิกริยาตอนแรก ๆ (ดูรูปที่ 3.1 ประกอบ) ปฏิกริยาของแบคทีเรียที่สร้างไฮโดรเจนเรียกว่า ไฮโดรจีโนเจนีซีส (Hydrogenogenesis) อันที่จริงแล้วเรายังไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างแบคทีเรียที่สร้างกรดและสร้างไฮโดรเจนได้อย่างชัดแจ้ง

ด้วย เหตุที่ว่าแบคทีเรียที่สร้างไฮโดรเจนมักสร้างกรดได้ด้วย แต่แบคทีเรียที่สร้างกรดอาจไม่สามารถสร้างไฮโดรเจน เราจึงอาจจัดว่าแบคทีเรียที่สร้างไฮโดรเจนเป็นชนิดหนึ่งของแบคทีเรียที่สร้างกรด อย่างไรก็ตามแบคทีเรียทั้งสองชนิดนี้อาจจะเรียกรวมกันได้ว่าเป็น Non-Menthanogenic Bacteria ซึ่งผลปฏิกริยาสุดท้ายจากเมตาบอลิสมของแบคทีเรียเหล่านี้คือ กรดฟอร์มิค, กรดอะซิติค, ก๊าซไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ ถ้าไม่มีการสร้างไฮโดรเจนเกิดขึ้น น้ำทิ้งที่ผ่านขั้นตอน Non-Menthanogenic Phase จะยังมีสับเสตรทเหลืออยู่เกือบเท่าเดิม การที่สับเสตรทถูกกำจัดออกไป เป็นส่วนน้อยมาก เพราะอีเลคตรอนที่อยู่ในสับเสตรทจะถูกส่งต่อไปยังสารอินทรีย์ที่ยังคงอยู่ในน้ำทิ้ง ส่วนของสับเสตรทที่ลดน้อยลงไป มักมาจากการสูญเสียประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ (Microbial Inefficiency) ในระหว่างที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปของสารอินทรีย์เท่านั้น อย่างไรก็ดี เมื่อมีการสร้างไฮโดรเจน อีเลคตรอนจะถูกส่งผ่านไปให้กับไฮโดรเจนอิออนทำให้กลายเป็นก๊าซหนีออกจากระบบ ดังสมการ (3.1)

$$2\,e + 2H^{+} \longrightarrow H_2 \qquad (3.1)$$

การสร้างไฮโดรเจนจึงเป็นการลดจำนวนอีเลคตรอนของสับเสตรททำให้สภาวะออกซิเดชั่น (Oxidation State) ลดลงซึ่งเป็นการลดปริมาณสับเสตรทนั่นเอง

ผลปฏิกริยาในขั้นตอนของการหมักที่ยังไม่มีการสร้างมีเทน (CO_2, H_2 กรดอะซิติคและกรดฟอร์มิค) จะถูกใช้โดยแบคทีเรียที่สร้างมีเทน (Methane Former) เพื่อผลิตก๊าซมีเทนต่อไป ถึงแม้ว่าอาจจะมีแบคทีเรียบางพวกที่สามารถสร้างมีเทนได้จากกรดโวลาไทล์ตัวอื่น ๆ หรือจากสารอินทรีย์ที่เป็นผลปฏิกริยาตัวอื่น ๆ แต่ในขณะนี้เรายังไม่สามารถแยกแบคทีเรียเช่นที่ว่านี้ให้อยู่ในรูปของเชื้อพันธุ์บริสุทธิ์ (Pure Culture) ได้เลย ด้วยเหตุนี้ ถ้าพิจารณารูปที่ 3.1 จะเห็นได้ว่าวิถีทางจากกรดโวลาไทล์อื่น ๆ ไปยังมีเทนเป็นเส้นประอยู่ (คือยังไม่แน่ใจว่ามีจริง)

ในระหว่างการสร้างมีเทน พลังงานส่วนใหญ่ของสับเสตรทจะถูกสะสมไว้ในก๊าซมีเทน (ซึ่งจะหนีออกจากระบบ) ตามทฤษฎี มีเทน 1 กรัมโมล (16 กรัม) ต้องการออกซิเจน 2 กรัมโมล (64 กรัม)

$$CH_4 + 2\,O_2 \longrightarrow CO_2 + 2H_2O \qquad (3.2)$$

16 64

หรืออาจพูดได้ว่า $\frac{1}{64}$ กรัมโมลของมีเทนจะเท่ากับ 1 กรัม ซี โอ ดี และเนื่องจาก 1 กรัมโมลของก๊าซทุกชนิดที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐานจะมีปริมาตร 22.4 ลิตร ดังนั้น จึงสรุปได้ว่าทุกกรัม ซี โอ ดี ที่ถูกกำจัดจะผลิตก๊าซมีเทนได้ $\frac{22.4}{64}$ = 0.35 ลิตร ที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน

3.1.2 ขบวนการขั้นตอนที่ยังไม่มีการผลิตก๊าซมีเทน (Non-Methanogenic Phase)

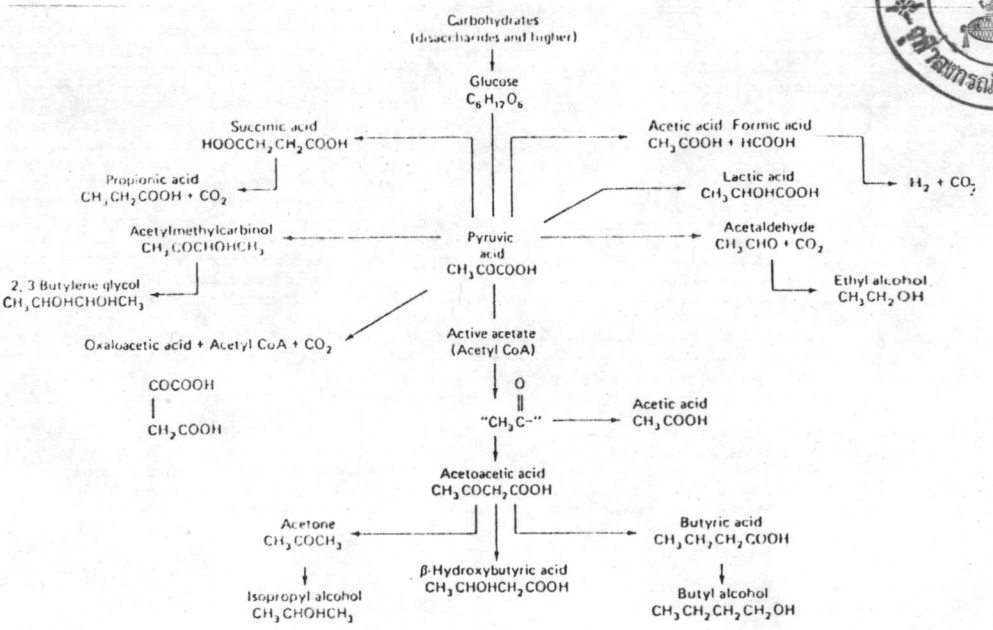
ในขั้นตอนที่ยังไม่มีการผลิตมีเทน (Non-Methanogenic Phase) นี้แบคทีเรียที่ทำงานจะมีทั้งประเภท Facultative และ Obligate Anaerobic Bacteria แต่ในปัจจุบันนี้พบว่าจำนวน Obligate Anaerobic Bacteria มีมากกว่า Facultative Anaerobe เกินกว่า 100 เท่า[12] ชนิดต่าง ๆ ของ Non-Methanogenic Bacteria ที่เป็นเชื้อบริสุทธิ์ (Pure Culture) ที่ค้นพบจนถึงปี 2512 แสดงไว้ในตารางที่ 3.1[13]

ตารางที่ 3.1 แสดง Non-Methanogenic Bacteria ที่พบในถังหมักแบบไร้ออกซิเจน[13]

Genus	Bacterial species	Reference
Aerobacter	*A. aerogenes*	TOERIEN (1967a)
Aeromonas	*Aeromonas* sp.	KOTZÉ *et al.* (1968)
Alcaligenes	*A. bookerii*	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. endorhythmos	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. aminovalericum*	HARDMAN and STADTMAN (1960)
	C. carnofoetidum	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. perolens	TOERIEN (1967b)
	P. pseudomallei	TOERIEN (1967a)
	P. reptillivora	MCCARTY *et al.* (1962), TOERIEN (1967b)
	P. riboflavina	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. cooksonii*	COOKSON and BURBANK (1965), BURBANK *et al.* (1966)
	S. lutea	MCCARTY *et al.* (1962)
Serratia	*S. indicans*	BURBANK *et al.* (1966)
Streptococcus	*S. diploidus*	BUCK *et al.* (1953)
Streptomyces	*S. bikiniesis*	TOERIEN (1967b)

<u>การย่อยสารประกอบคาร์โบไฮเดรท</u>

รูปที่ 3.2 แสดงขั้นตอนการย่อยสลายสารประกอบพวกคาร์โบไฮเดรท ขั้นแรกสารประกอบพวกคาร์โบไฮเดรท เช่น พวกแป้ง, น้ำตาล รวมทั้งพวกเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส จะถูกไฮโดรไลซีสโดยแบคทีเรียและมีเอ็มไซม์เป็นตัวเร่งให้ผลปฏิกริยาเป็นสารพวกโมโนแซคคาไรด์ ต่อจากนั้นสารพวกโมโนแซคคาไรด์นี้จะถูกย่อยต่อไป เช่น กลูโคส จะเข้าสู่ขบวนการย่อยสลายที่เรียกว่า วิถีทางไกลคอลิซีส (Clycolysis Pathway) และให้ Intermediate Products เป็นสารไพรูเวท (Pyruvate) จากนั้นไพรูเวทจะถูกย่อยสลายต่อไปให้ผลปฏิกริยาในรูปต่าง ๆ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อม (เช่น พีเอช, อุณหภูมิ) และชนิดของแบคทีเรีย ผลปฏิกริยาที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่จะเป็นไฮโดรเจน, คาร์บอนไดออกไซด์, เอทธานอล, กรดไวลาไทล์ ที่มีคาร์บอนอะตอมต่ำกว่า 5 ตัว เช่น กรดอะซิติค, กรดฟอร์มิคและกรดบิวทิริค ส่วนกรดไวลาไทล์ที่มีคาร์บอนอะตอมสูง ๆ เช่น กรดวาแลริคและกรดคาโพรอิคมักจะไม่ค่อยพบ ต่อจากนี้ไฮโดรเจน คาร์บอนไดออกไซด์



รูปที่ 3.2 สารประกอบที่เกิดจากการเฟอร์เมนเทชั่นที่ใช้กรดไพรูวิคเป็น Intermidate Product[14]

กรดฟอร์มิคและกรดอะซิติคจะถูกใช้เป็นสับเสตรทของเมทาโนจีนิคแบคทีเรียต่อไป ส่วนผลปฏิกริยาตัวอื่น ๆ เช่น อัลกอฮอล์หรือกรดไวลาไทล์ตัวอื่น ๆ เชื่อว่าจะถูกใช้โดยแบคทีเรียพวกไฮโดรจีโนเจเนซีส และให้ผลปฏิกริยาเป็นไฮโดรเจน, คาร์บอนไดออกไซด์หรือกรดอะซิติค ซึ่งต่อไปจะถูกใช้เป็นสับเสตรทของเมทาโนจีนิคแบคทีเรีย

ตัวอย่างที่แสดงให้เห็นถึงบทบาทความสำคัญของแบคทีเรียพวกที่สร้างไฮโดรเจนก็คือเรื่องของการใช้ เอทธานอล (Ethanol) เป็นสับเสตรทในการผลิตก๊าซมีเทนโดยแบคทีเรีย Methanobacillus omelianski ซึ่งในอดีตเชื่อกันว่า เอทธานอลสามารถที่จะถูกออกซิไดซ์ให้เป็นกรดอะซิติคซึ่งให้ผลว่า อีเลคตรอนจะถูกย้ายไปเพื่อรีดิวส์คาร์บอนไดออกไซด์ให้กลายเป็นมีเทนโดยมีเทนแบคทีเรียตัวเดียวที่ชื่อว่า M. omelianski[15] ดังแสดงในสมการที่ 3.3 แต่ต่อมา Bryant[16]

$$2\ C_2H_5OH + CO_2 \longrightarrow 2CH_3COOH + CH_4 \qquad (3.3)$$

(ethanol) (acetic acid)

พบว่า ที่แท้จริงแล้ว M. omelianski มิใช้แบคทีเรียตัวเดียว แต่ประกอบด้วยแบคทีเรียสองชนิดที่อาศัยกันอยู่แบบ Symbiotic association แบคทีเรียชนิดแรกเรียกว่า S-Organism จะทำหน้าที่ออกซิไดซ์ เอทธานอลให้เป็นกรดอะซิติคและไฮโดรเจน แสดงว่า S-Organism นี้ก็คือแบคทีเรียพวก Hydrogenogenasis นั่นเอง(สมการที่ 3.4)

$$2H_2O + 2C_2H_5OH \xrightarrow{S.Org.} 2CH_3COOH + 4H_2 \qquad (3.4)$$

ต่อจากนั้น แบคทีเรียอีกชนิดหนึ่งคือ Methanobacterium Strain M.O.H. จะออกซิไดซ์ไฮโดรเจนและรีดิวส์คาร์บอนไดออกไซด์ (ซึ่งถูกใส่เข้ามาหรือมาจากปฏิกริยาอื่น) ให้กลายเป็นมีเทนและน้ำ (สมการ 3.5)

$$4H_2 + CO_2 \xrightarrow{Mb.\ M.O.H.} CH_4 + H_2) \qquad (3.5)$$

ปฏิกริยา Hydrogenogenesis ซึ่งมีบทบาทสำคัญในปฏิกริยาชีวเคมีที่ไม่ต้องใช้ออกซิเจนนี้จะมีกลไก

การทำงานเป็นอย่างไร ปัจจุบันยังไม่ทราบกันอย่างแน่ชัด แต่เมื่อไม่นานมานี้เอง จึงได้ทราบกันว่า การควบคุมเอ็มไซม์ไฮโดรเจนาส (Hydrogenase) ภายในจุลินทรีย์บางอย่างขึ้นอยู่กับโมเลกุลไฮโดรเจนที่ถูกสร้างขึ้นเป็นอย่างมาก ยกตัวอย่างเช่น ถ้าก๊าซไฮโดรเจนถูกปล่อยให้สะสมตัว Selenomonas ruminatium จะผลิตไฮโดรเจนได้เพียงเล็กน้อยใน Batch Culture แต่ถ้าไฮโดรเจนที่ถูกสร้างขึ้นถูกกำจัดออกตลอดเวลา เซลล์จะผลิตไฮโดรเจนได้เพิ่มมากขึ้นตลอดเวลาในถังหมักที่ใช้สำหรับกำจัดน้ำทิ้ง แต่เนื่องจากไฮโดรเจนเหล่านี้ถูกใช้ไปอย่างรวดเร็วโดยแบคทีเรีย พวกที่สร้างมีเทนทำให้จำนวนไฮโดรเจนภายในถังหมักมีระดับต่ำอยู่เสมอ

ในถังหมักที่ทำงานอยู่ในสภาพเหมาะสมจะพบว่า จะมีกรดโวลาไทล์อยู่ในระดับความเข้มข้นไม่สูงนัก ส่วนใหญ่ของกรดโวลาไทล์เหล่านี้จะเป็นกรดอะซิติค (80 %) เป็นกรดโพรพิโอนิค และกรดบิวทิริคประมาณ 15 % กรดไอโซวาเลอริคประมาณ 5 % กรดฟอร์มิคไม่ค่อยพบ เนื่องจากสภาพการฟอร์มตัวของกรดชนิดนี้ขึ้นอยู่กับ พี เอช และ พี เอช ที่เหมาะสมในถังหมักขณะทำงานในสภาพที่ดีมักจะทำให้กรดนี้อยู่ในสภาพก๊าซไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์[18]

<u>การย่อยสลายสารประกอบไนโตรเจน</u>

สารประกอบไนโตรเจนที่เป็นโปรตีนจะถูกย่อยสลายโดยปฏิกริยาไฮโดรไลซีสให้เป็นสารโพลีเพ็บไทด์ (Polypeptides) และกรดอะมิโนด้วยเอ็มไซม์ Protease จากนั้นกรดอะมิโนจะถูกย่อยสลายต่อไปโดยขบวนการต่าง ๆ หลายอันขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์และให้ผลปฏิกริยา Intermidiate Product เป็นกรดไพรูวิค ซึ่งต่อไปกรดไพรูวิคก็จะถูกย่อยสลายให้กรดโวลาไทล์ ฯลฯ เหมือนกับในสารประกอบคาร์โบไฮเดรทดังที่ได้อธิบายมาแล้ว นอกจากนี้ยังมีกรดอะมิโนมากกว่า 25 ชนิดที่สามารถถูกสังเคราะห์เป็นกรดโวลาไทล์ได้เลยโดยไม่ต้องผ่านการเป็นกรดไพรูวิค เช่น กรดลูซิน (Leucine) กับกรดวาลีน (Valine) จะถูกออกซิไดซ์เป็นกรดไอโซวาเลอริค (Isovaleric acid) และกรดไอโซบิวไทริค (Isobutyric acid) กรดไกลซีน (Glycine) และกรดโพรีน (Poline จะถูกออกซิไดซ์ให้ก๊าซไฮโดรเจน เป็นต้น

สำหรับสารประกอบไนโตรเจนที่มิใช้โปรตีน เช่น ยูเรีย พิวรีน (Purines) พีรีมิดีน (Pyrimidines) สามารถย่อยสลายได้เช่นกัน ดังแสดงในตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 แสดงชนิดของจุลินทรีย์และผลปฏิกริยาที่เกิดขึ้นในการย่อยสลายสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนในขั้นตอน Non-Methanogenic Phase[18]

Organisms	Nonprotein N. Compound	Products
Mixed rumen bact.	Xanthine, Uric acid, Guanine	CO_2,NH_3,CH_3COOH
Micrococcus aerogenes	Ademine, Guanine	Lactic acid (Mainly) NH_3,CO_2, some H_2
Micrococcus Lactilyticus	Hypoxanthine, Xanthine	H_2,CO_2.NH_3, Urea Propionic acid, Acetic acid
Clostridium acidi urici and Closcylindrosporum	Uric acid	NH_3,CO_2, Acetic acid & formic acid
Cl. acidi urici	Xanthrine, Hypoxanthine	CO_2, Acetate, NH_3
Micrococcus aerogenes	Pyrimimidine, Uracil Cytosine, Thymine	Acetic acid, Lactic acid CO_2,H_2,NH_3
Cl. uracilicum	Uracil	β-Alumine, CO_2,NH_3

การย่อยสลายสารประกอบไขมัน

ไขมันจะถูกย่อยสลายโดยขบวนการไฮโดรไลซีสให้เป็นกลีเซลรอล (Glycerol) และกรดไขมัน (Long-chain fatty acids) เช่น กรดสเตียริค, กรดโอเลริคและกรดพาลมิติก ฯลฯ โดยการทำงานของเอ็นไซม์ไลเปส (Lipase) กลีเซอรอลจะถูกย่อยสลายต่อไปตามวิถีไกลคอลิซิส (Glycolysis) ให้ผลปฏิกริยาเป็นกรดไพรูวิค ซึ่งต่อไปจะถูกย่อยสลายไปในลักษณะเดียวกับที่ได้อธิบายมาแล้วในการย่อยสลายสารพวกคาร์โบไฮเดรท

ส่วนกรดไขมัน (Fatty acid) เช่นกรดสเตียริคจะถูกออกซิไดซ์ด้วยปฏิกริยาเคมีที่เรียกว่า เบต้าออกซิเดชั่น (Beta-Oxidation) ได้กรดอะซิติคและไฮโดรเจน

$$CH_3(CH_2)_{16}COOH + 16H_2O \xrightarrow{\text{beta-oxidation}} 9CH_3COOH + 32H \quad (3.6)$$

ซึ่งไฮโดรเจนที่เกิดสามารถที่จะใช้โดยมีเทนแบคทีเรียให้เป็นมีเทนได้

ที่กล่าวมาทั้งหมดเป็นขั้นตอนของขบวนการ Non-Methanogenic Phase ซึ่งให้ผลปฏิกริยาสุดท้ายเป็นไฮโดรเจน, คาร์บอนไดออกไซด์, กรดอะซิติค, กรดฟอร์มิกและบางครั้งอาจจะมีเมทธานอลซึ่งจะถูกใช้โดย มีเทนแบคทีเรียในการสร้างมีเทนต่อไป

3.1.3 ขบวนการขั้นตอนที่ผลิตมีเทน (Methanogenic Phase)

แบคทีเรียที่ผลิตก๊าซมีเทนจะใช้ผลปฏิกริยาสุดท้ายจากพวก นอน-เมทาโนจีนิคแบคทีเรียเป็นสับเสตรทในการผลิตมีเทน แบคทีเรียพวกนี้ทุกพันธุ์ (Species) ไม่สามารถทนสภาวะที่มีออกซิเจนแม้แต่เพียงเล็กน้อยได้เลย มีเทนแบคทีเรียสามารถจะเจริญเติบโตอยู่ได้ในช่วง พี เอช แคบ ๆ เท่านั้น อุณหภูมิที่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตของมันส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 30-35^{0} ซ.

ในอดีตเชื่อกันว่าสับเสตรทที่ใช้ในการผลิตมีเทน โดยมีเทนแบคทีเรียที่เป็น Pure Culture นอกจากไฮโดรเจน, คาร์บอนไดออกไซด์และ CO แล้ว ยังมีกรดไวลาไทล์ที่มีคาร์บอนอะตอม C_1-C_6 และอัลกอฮอล์ที่มีคาร์บอนอะตอม C_1-C_5 ที่สามารถจะย่อยสลายให้กลายเป็น

มีเทนไปโดยตรง ตารางที่ 3.3 แสดงสารประกอบซึ่งในอดีต (2499) เชื่อกันว่าเป็นสับเสตรทโดยตรงในการผลิตมีเทนของมีเทนแบคทีเรียที่เป็น pure culture[19]

ตารางที่ 3.3 สารประกอบที่เชื่อกันในปี 1956 ว่าเป็นสับเสตรทของมีเทนแบคทีเรีย[19]

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-Caproic	n-Pentanol	

ในปัจจุบันเชื้อพันธุ์ Cultures ซึ่งคิดว่าบริสุทธิ์หรือเกือบจะบริสุทธิ์ในเวลานั้น (2499) เป็นที่น่าสงสัยว่าเป็นจริงหรือไม่ ในปี 2514 Wolfe[20] รายงานว่ามี มีเทนแบคทีเรียที่เป็น pure culture เพียง 8 ชนิดเท่านั้น ที่รู้จักกันในปี 2514 ดังที่แสดงในตารางที่ 3.4[20]

ส่วนสับเสตรทที่พบว่ามีแบคทีเรียสามารถนำไปใช้ได้ก็มีเพียง ไฮโดรเจน, คาร์บอนไดออกไซด์และกรดฟอร์มิค ยกเว้นแบคทีเรียชนิดเดียวกันเท่านั้น คือ Methanosarcina barkeri ที่สามารถใช้ไฮโดรเจน + คาร์บอนไดออกไซด์, เมทานอลหรือกรดอะซิติคได้ด้วย แต่ต่อมา Zeikus[24] ได้พบแบคทีเรียที่เป็น pure culture อีกตัวหนึ่งคือ Methanobacterium thermoautophicum ซึ่งสามารถเปลี่ยนกรดอะซิติคให้เป็นมีเทนได้โดยมีไฮโดรเจนเป็นแหล่งพลังงาน รวมเป็นมีเทนแบคทีเรียที่เป็น pure culture เพียง 9 ชนิดเท่านั้นที่ค้นพบจนถึงปี พ.ศ. 2523.

ตารางที่ ๓.๔ ชนิดของมีเทนแบททีเรียที่เป็น pure culture[20]

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
Methanospirillum sp.	Sludge	Spirillum	+	H_2 + CO_2 formate	-	-	-
Methanococcus sp.	Sludge	Coccus	+	H_2 + CO_2 formate	-	-	-

จากตารางที่ 3.4 จะเห็นได้ว่า มีเทนแบคทีเรียจะมีรูปร่างลักษณะแตกต่างกันไป มีทั้งเป็นท่อน (rods), Cocci, spirilla หรือ Sarcina มีทั้ง gram negative และ gram positive และมีเพียง 2 ชนิดเท่านั้นที่เคลื่อนที่ได้คือ Methanococcus Vannielii และ Methanobacterium mobiles[20] มีเทนแบคทีเรียทุกตัวมีอัตราการเจริญเติบโตช้ามาก เมื่อเปรียบเทียบกับแบคทีเรียพวกแอโรบิก

เนื่องจากพบว่าประมาณ 70 % ของมีเทนมาจากเมทีลกรุ๊ป (Methyl group) ของกรดอะซิติคและอีก 30 % มาจากการรีดิวซ์คาร์บอนไดออกไซด์ด้วยไฮโดรเจน[21] [22] ดังนั้น เราอาจจะแบ่งมีเทนแบคทีเรียออกเป็น 2 ชนิดได้โดยถือตามแหล่งที่มาของมีเทน ประเภทแรกคือ มีเทนแบคทีเรียที่สามารถสร้างพลังงานจากการออกซิเดชั่นไฮโดรเจน (H_2 Utilization Bacteria) และมีเทนแบคทีเรียพวกที่สองคือ พวกที่สามารถสร้างมีเทนได้จากกรดอะซิติค (Acetic Utilizing Bacteria)

แบคทีเรียพวกที่ใช้ไฮโดรเจนเป็นแหล่งพลังงานทุกตัวล้วนแต่เป็น Obligate Anaererobe ซึ่งไม่สามารถทนต่อออกซิเจนได้เลย แบคทีเรียพวกนี้จะได้รับพลังงานจากไฮโดรเจนและได้คาร์บอนจากคาร์บอนไดออกไซด์ในระหว่างที่มันมีชีวิตอยู่ มันจะใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นสารตัวสุดท้ายที่รับอิเลคตรอน ทำให้ได้มีเทนดังสมการ 3.7.

$$4H_2 + CO_2 \longrightarrow CH_4 + 2H_2O + 33.21 \text{ Kcal} \qquad (3.7)$$

พลังงานที่ได้ 33.21 Kcal นี้แบคทีเรียจะนำไปใช้ในการเจริญเติบโตและสร้างเซลล์แบคทีเรียชนิดนี้ส่วนใหญ่จะสามารถใช้กรดฟอร์มมิค (Formic acid) เพียงอย่างเดียวเป็นสับเสตรทได้ แต่ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะว่า กรดฟอร์มิคสามารถถูกย่อยสลายให้กลายเป็นไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ได้ง่าย มีเทนแบคทีเรียเกือบทุกตัวจะมีเอ็มไซม์ Formate dehydrogenase ยกเว้น Methanobact. MOH เท่านั้น[20] แม้ว่าจากการศึกษาของ Kirsch & Sykes[23] จะพบว่าการผลิตมีเทนบางส่วนจากการย่อยสลายกรดฟอร์มิคโดยมีเทนแบคทีเรียที่เป็น enrichment cultures เกิดขึ้นได้โดยการย่อยสลายกรดฟอร์มิคให้เป็นมีเทนได้โดยตรงเลย โดยไม่ต้องผ่าน

ขั้นตอนที่เปลี่ยนกรดฟอร์มิคให้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนก่อน แต่อย่างไรก็ตาม เชื่อกันว่าส่วนใหญ่แล้วกรดฟอร์มิคที่เกิดขึ้นโดยขบวนการขั้นตอน Non-Methanogenic Phase จะถูกเปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนก่อนแล้ว คาร์บอนไดออกไซด์จึงจะถูกรีดิวส์เป็นมีเทนอีกทีหนึ่ง[12] ยกตัวอย่างเช่น การสร้างมีเทนจากกรดฟอร์มิคโดย Methanococcus Vannielii มีสองขั้นตอนดังนี้

$$4HCOOH \longrightarrow 4H_2 + 4CO_2 \qquad (3.8\ a)$$

$$4H_2 + CO_2 \longrightarrow CH_4 + 2H_2O \qquad (3.8\ b)$$

$$4HCOOH \longrightarrow CH_4 + 3CO_2 + 2H_2O + 62.09\ Kcal \qquad (3.8)$$

ในสภาวะแวดล้อมที่มี พี เอช ประมาณ 7 และมีปริมาณไฮโดรเจนสูง มีเทนแบคทีเรียที่สร้างมีเทนจากไฮโดรเจนจะเจริญเติบโตด้วย μ ประมาณ 0.04 ชม$^{-1}$. นอกจากนี้ ยังพบว่าแบคทีเรียพวกนี้ไวต่อ พี เอช มากและปรากฏว่า พี เอช ที่อยู่นอกช่วง 6.7-7.4 จะชลอการเจริญเติบโตของแบคทีเรียเหล่านี้ นอกจากนี้แล้ว เนื่องจากแบคทีเรียประเภทนี้เป็นแบบสร้างอาหารเอง ค่าผลผลิตของเซลล์จึงต่ำเสมอ

แม้ว่าจะเป็นที่ยอมรับกันทั่วไปว่า กรดอะซิติคเป็น Intermediate product ที่สำคัญในการสร้างมีเทน แต่ในปัจจุบันพบว่ายังไม่สามารถใช้ CH_3COOH เป็นทั้งแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอนให้กับ Methane bact. ที่เป็น pure culture ได้ ยกเว้นมีเทนแบคทีเรียเพียงตัวเดียวเท่านั้น คือ Methanosarcina barkeri ซึ่ง Wolfe[20] (ตารางที่ 3.4) อ้างว่าสามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้โดยป้อนกรดอะซิติคเป็นแหล่งพลังงานของมันเพียงอย่างเดียว อย่างไรก็ตาม เป็นที่น่าสงสัยว่า M. barkeri จะสามารถใช้กรดอะซิติคเป็นพลังงานสำหรับการเจริญเติบโตได้จริงหรือ เนื่องจากเมื่อลองพิจารณาดูสมการที่ 3.9 ข้างล่างจะเห็นได้ว่าพลังงานที่ได้จากการสลายตัวของกรดอะซิติคมาเป็นมีเทนและคาร์บอนไดออกไซด์นั้นแทบจะไม่พอที่จะใช้ในการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (ตามทฤษฎีของ Thermodynamics สามารถพิสูจน์ได้ว่า สมการ (3.9) ไม่

สามารถให้พลังงานพอเพียงกับการเจริญเติบโตของเซลล์)

$$CH_3COOH \longrightarrow CH_4 + CO_2 + 6.71 \text{ Kcal} \qquad (3.9)$$

Zeikus at al[24] เชื่อในการทดลองของ Stadman & Barker[25] ที่อ้างว่าการย่อยสลายกรดอะซิติคเป็นมีเทนโดย M. barkeri ซึ่งใช้เวลานานมาก (15 อาทิตย์) อาจจะมิได้เกิดจากการกระทำของมีเทนแบคทีเรียที่เป็น pure culture พวกเขาคิดว่าอาจจะมีไฮโดรเจนเข้ามาเกี่ยวข้องโดยไฮโดรเจนนี้มาจาก mixed culture ของ M. barkeri ซึ่งเกิดจากการ contaminate ของแบคทีเรียพวก Heterotrophic

Torien et al[26] รายงานว่า มีเทนแบคทีเรียอาจจะต้องการแหล่งพลังงานจากที่อื่นมาใช้คู่กับกรดอะซิติค เพื่อที่จะให้ได้พลังงานพอเพียงในการเจริญเติบโตและ Pretorius[27] ก็รายงานว่า การใช้กรดอะซิติคอย่างเดียวเป็นแหล่งพลังงานสำหรับมีเทนแบคทีเรีย (enrichment culture) ไม่สามารถจะทำได้

Zeikus, et al[24] ได้สนับสนุนแนวความคิดเห็นของ Torien, et al[26] และรายงานว่า จากการทดลอง Methanobact. thermoautotrophicum และ M. barkeri สามารถเปลี่ยนกรดอะซิติคให้กลายเป็นมีเทนได้โดยมีไฮโดรเจนเป็นแหล่งพลังงานซึ่งแสดงให้เห็นได้ดังสมการ 3.10.

$$CH_3COOH \longrightarrow CH_4 + CO_2 + 6.71 \text{ Kcal} \qquad (3.10\ a)$$

$$CO_2 + 4H_2 \longrightarrow CH_4 + 2H_2O + 32.3 \text{ Kcal} \qquad (3.10\ b)$$

$$\text{Net} \quad CH_3COOH + 4H_2 \longrightarrow 2CH_4 + 2H_2O + 39.01 \text{ Kcal} \qquad (3.10\ c)$$

สมการ 3.10b และ 3.10c ให้พลังงานพอเพียง (ตามทฤษฎี) สำหรับการสร้าง ATP พอเพียงสำหรับการเจริญเติบโตของเซลล์ Zeikus รายงานต่อไปว่ามีเทนแบคทีเรีย

ทั้งสองตัวคือ M. barkeri และ M. thermoautotrophicum สามารถใช้ทั้งกรดอะซิติกและคาร์บอนไดออกไซด์โดยมีไฮโดรเจนเข้ามาเกี่ยวข้อง ในกรณีนี้ทั้งคู่ คือ คาร์บอนไดออกไซด์และกรดอะซิติกจะทำหน้าที่เป็นสารรับอีเลคตรอน และทั้งคู่จะถูกรีดิวส์เป็นมีเทน ขณะที่ไฮโดรเจนทำหน้าที่เป็นสารให้อีเลคตรอนในทั้งสองกรณีดังสมการต่อไปนี้

$$CH_3COOH + 4H_2 \longrightarrow 2CH_4 + 2H_2O + 39\ Kcal$$

$$CO_2 + 4H_2 \longrightarrow CH_4 + 2H_2O + 32.3\ kcal$$

เป็นการยากที่จะบอกได้ว่า ปฏิกริยาทั้งสองนี้อันไหนควรจะเกิดขึ้นมากกว่ากัน อย่างไรก็ตาม Zeikus[24] ได้กล่าวว่า ทั้งกรดอะซิติกและ H_2/HCO_3^- สามารถที่จะรับอีเลคตรอนได้จากไฮโดรเจนในระหว่างที่มีการผลิตมีเทน แต่ในสภาวะแวดล้อมที่มีเปอร์เซนต์ไฮโดรเจนอยู่ในบรรยากาศของก๊าซสูง H_2/HCO_3^- จะเป็นตัวรับอีเลคตรอนที่ดีกว่าในขบวนการผลิตมีเทน ส่วนในสภาวะแวดล้อมที่เปอร์เซนต์ไฮโดรเจนในบรรยากาศของก๊าซต่ำและความเข้มข้นของกรดอะซิติกสูง กรดอะซิติกจะเป็นตัวรับอีเลคตรอนที่ดีกว่า ดังนั้น ในกรณีเช่นนี้ก๊าซมีเทนส่วนใหญ่จะมาจากเมทีลกรุ๊ปของกรดอะซิติก

เท่าที่กล่าวมาอาจจะสรุปได้ว่า Acetate Ulitizing bacteria สามารถที่จะผลิตมีเทนได้จากทั้งกรดอะซิติกและคาร์บอนไดออกไซด์ ส่วนไฮโดรเจน Ultilizing bacteria สามารถที่จะผลิตมีเทนได้จากคาร์บอนไดออกไซด์เท่านั้น และยังไม่มีหลักฐานยืนยันแน่ชัดว่า แบคทีเรียทั้งสองชนิดนี้จะเป็นชนิดเดียวกัน อย่างไรก็ตามในปัจจุบันนี้ความรู้ทางชีวเคมีของแบคทีเรียที่สร้างมีเทนจากอะซิติกยังมีไม่มากพอที่จะอธิบายกลไกการทำงานที่แท้จริงของมันได้ทุกอย่าง แต่ก็เชื่อว่า กรดอะซิติกคงเป็นสารต้นกำเนิดที่สำคัญของมีเทน

สำหรับเมทานอล (Methanol) ตามตารางที่ 3.4 จะเห็นได้ว่า M. barkeri สามารถใช้เมทานอลเป็นสับเสตรทในการผลิตมีเทนได้ แต่ความสำคัญของเมทานอลยังมีน้อย เนื่องจากตามธรรมชาติแล้วในขบวนการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจนส่วนใหญ่มักจะไม่เกิดเมทานอล ดังนั้น

การผลิตมีเทนจากเมทานอลตามธรรมชาติจึงไม่ค่อยเกิดขึ้น อย่างไรก็ตาม M. barkeri สามารถใช้เมทานอลเป็นสับเสตรทในการผลิตมีเทนดังสมการที่ 3.11

$$4CH_3OH \xrightarrow{M.\ barkeri} 3CH_4 + CO_2 + 2H_2 + 74.55\ Kcal \qquad (3.11)$$

3.2 วิศวกรรมของขบวนการหมักแบบไร้ออกซิเจน (Engineering Aspects)

3.2.1 ความสำคัญของ HRT และ SRT

เนื่องจากปฏิกริยาแบบไร้ออกซิเจน มีจุลินทรีย์ที่ทำงานที่สำคัญอยู่ 2 กลุ่ม ซึ่งรับผิดชอบต่อขบวนการปฏิกริยาที่แตกต่างกัน 4 อย่างคือ ไฮโดรไลซีส, เอซิโดจีเนซีส, ไฮโดรจีโนจีเนซีสและมีเทโนจีเนซีส ขบวนการที่ประกอบด้วยปฏิกริยาหลายขั้นตอนเช่นนี้ ขั้นตอนที่มีอัตราปฏิกริยาช้าที่สุดจะเป็นตัวกำหนดอัตราเร็วของปฏิกริยาเป็นส่วนรวม (Rate-Limiting step) ในกรณีที่สับเสตรทส่วนใหญ่เป็นสารอินทรีย์ที่ไม่มีไขมันปนอยู่ ขั้นตอนที่กำหนดอัตราเร็วของปฏิกริยาทั้งหมดจะอยู่ที่ปฏิกริยาที่เปลี่ยนกรดอินทรีย์ให้เป็นมีเทน[28]

อัตราเร็วของปฏิกริยาการเปลี่ยนกรดโวลาไทล์ให้เป็นมีเทน มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาที่แบคทีเรียอยู่ในถังหมัก ระยะเวลาเช่นนี้เรียกว่า เวลากักตะกอนหรือ Solids Retention Time ในกรณีที่ระบบกำจัดเป็นแบบต่อเนื่องและมีการกวนอย่างสมบูรณ์ การทำงานของระบบจะถึงสภาพคงที่ (Steady state situation) ได้ก็ต่อเมื่อจำนวนจุลินทรีย์ในระบบมีปริมาณคงที่ ซึ่งหมายความว่า อัตราการระบายจุลินทรีย์ออกไปจากระบบจะต้องเท่ากับอัตราการสร้างเซลล์ใหม่ขึ้นมา ดังนั้น ถ้ากำหนดให้

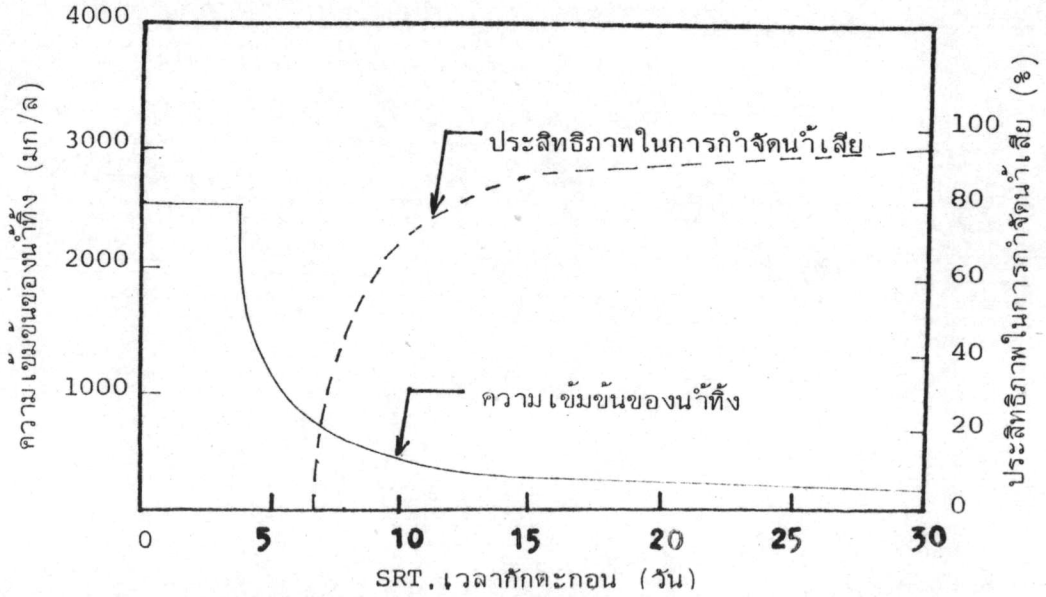
M_T = น้ำหนักของตะกอนจุลินทรีย์ที่แข็งแรงภายในระบบ (มวล)

$(\Delta M/\Delta T)_t$ = ปริมาณตะกอนจุลินทรีย์ที่แข็งแรงที่ระบายออกไปจากระบบแต่ละวันรวมทั้งตะกอนที่หลุดออกไปกับน้ำทิ้ง (มวล/เวลา)

จะได้ว่า $SRT = \dfrac{M_T}{(\Delta M/\Delta T)_t}$

ดังนั้น SRT ก็คือระยะเวลาเฉลี่ยที่จุลินทรีย์อยู่ในระบบกำจัดน้ำเสียซึ่งมีความหมายเหมือนกันกับคำว่า "Sludge age" ในระบบแอ็คติเว้ตเต็ดสลัจต์

ในถังหมักแบบธรรมดาที่ทำงานต่อเนื่องและมีการกวนอย่างสมบูรณ์ ปริมาณความเข้มข้นของจุลินทรีย์ในระบบจะเท่ากับปริมาณความเข้มข้นของจุลินทรีย์ในน้ำทิ้ง ปริมาณตะกอนจุลินทรีย์ที่ระบายทิ้งในแต่ละวัน $(\Delta M/\Delta T)_t$ จะเท่ากับอัตราส่วน $\frac{Q}{V}$ คูณกับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในระบบ (M_T) โดยที่ Q และ V คือปริมาณน้ำเสียที่ป้อนเข้าสู่ถังหมักและปริมาตรของถังหมักตามลำดับ เนื่องจาก $\frac{Q}{V}$ คือส่วนกลับ HRT ดังนั้น ในถังหมักแบบธรรมดาที่ทำงานแบบต่อเนื่องและมีการกวนสมบูรณ์จะมี SRT = HRT รูปที่ 3.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง SRT, ความเข้มข้นของน้ำทิ้งที่ออกจากระบบและประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำเสีย จะเห็นได้ว่า ประสิทธิภาพในการทำลายสารอินทรีย์ขึ้นอยู่กับ SRT การลดลงของ SRT จะทำให้ประสิทธิภาพของระบบหมักแบบไร้ออกซิเจนลดลง ระดับของ SRT จะต้องอยู่สูงกว่าจุด ๆ หนึ่ง ซึ่งถือว่าเป็นระดับที่เกิดการว้อชเอ้าท์ (Wash out) ของแบคทีเรียที่สร้างมีเทน ถ้า SRT ต่ำกว่าจุดดังกล่าว การกำจัดสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งจะหยุดเพราะไม่มีการสร้างมีเทนและจะทำให้ระบบการหมักแบบไร้ออกซิเจนกลายเป็นระบบเฟอร์เมนเตชั่นธรรมดาเท่านั้น



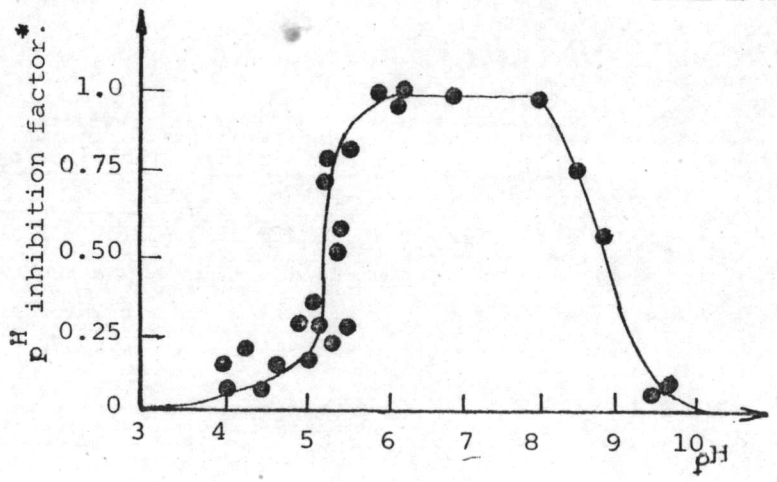
รูปที่ 3.3 ความสัมพันธ์ระหว่าง SRT, ความเข้มข้นของน้ำทิ้งที่ออกจากระบบและประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำเสียของถังหมักที่สภาวะการทำงานคงที่ (29)

อย่างไรก็ตามในระบบกำจัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจนประเภทอื่น เช่น ระบบแอนแอโรบิคคอนแท็คและเครื่องกรองไร้ออกซิเจน SRT อาจจะมีค่าสูงกว่า HRT ได้ ทั้งนี้เนื่องจากในระบบแอนแอโรบิคคอนแท็คมีการเวียนตะกอนกลับและในเครื่องกรองไร้ออกซิเจนมีการกรองแบคทีเรียไว้ในเครื่องกรองตามลำดับ

3.2.2 ความสำคัญของ พี เอช สภาพความเป็นด่างและกรดไวลาไทล์

เนื่องจากในขบวนการปฏิกริยาชีวเคมีแบบไม่ใช้ออกซิเจน ค่า พี เอช ความเป็นด่างและกรดไวลาไทล์ที่เกิดในขบวนการมีความสัมพันธ์ซึ่งกันและกัน ดังนั้น จึงจะได้กล่าวถึงความสำคัญของทั้ง 3 ตัวไปพร้อม ๆ กัน

ค่า พี เอช ที่เหมาะสมสำหรับมีเทนแบคทีเรียอยู่ในช่วงแคบ ๆ McCarty[30] รายงานว่า พีเอช ระหว่าง 6.7-7.3 เป็นช่วงที่มีเทนแบคทีเรียทำงานได้ดี Clark & Speece[31] ได้ทำการทดลองและแสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของ พี เอช ที่มีต่ออัตราการทำงานของมีเทนแบคทีเรีย ดังในรูปที่ 3.4



รูปที่ 3.4 ผลของ พี เอช ที่มีต่อการทำงานของมีเทนแบคทีเรีย[31]

---

* inhibition factor = inhibited organic loading/optimal organic loading (at pH 6.7-7.3)

i 17142520

สภาวะที่สมดุลย์ภายในเครื่องกรองไร้ออกซิเจนจะเป็นไปได้ก็ต่อเมื่อปริมาณของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดกรดและแบคทีเรียที่ทำ ก๊าซมีเทน อยู่ในอัตราส่วนที่จะทำให้การย่อยสลายอินทรีย์สารเป็นกรดโวลาไทล์ กับการเปลี่ยนกรดโวลาไทล์ให้เป็นก๊าซมีเทนสมดุลย์กัน โดยปกติในถังหมักแบบไร้ออกซิเจนควรจะมีปริมาณกรดโวลาไทล์ประมาณ 50-500 มก./ล. (วัดในเทอมกรดอะซิติก) หากปริมาณของกรดโวลาไทล์มีมากกว่า 2,000 มก./ล. อาจจะทำให้ประสิทธิภาพของระบบลดลง อย่างไรก็ตามปริมาณความเข้มข้นของกรดโวลาไทล์ยังไม่สำคัญเท่ากับอัตราการเปลี่ยนแปลงของมัน (30) ด้วยเหตุผลที่ว่า ทั้งนี้เนื่องจากความเข้มข้นของกรดโวลาไทล์ในระบบได้รับอิทธิพลจากแบคทีเรียทั้งสองประเภท แต่อัตราการเปลี่ยนแปลงของมันเป็นเครื่องวัดโดยตรงที่บอกได้ก่อน ถึงอัตราเร็วของปฏิกริยาของแบคทีเรีย ด้วยเหตุนี้การเพิ่มขึ้นหรือลดลงอย่างรวดเร็วของความเข้มข้นของกรดโวลาไทล์แสดงว่ามีอะไรบางอย่างเกิดขึ้นกับแบคทีเรียชนิดใดชนิดหนึ่งหรือทั้งสองชนิดในระบบและอาจจะทำให้ระบบเสียสมดุลย์และล้มเหลวได้

สภาพความเป็นด่างบอกให้เราทราบถึงว่ามีกำลังบัฟเฟอร์ (Buffer Capacity) เหลืออยู่เท่าใดในระบบไร้ออกซิเจนถ้ากำลังบัฟเฟอร์ต่ำ บริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยก็จะสามารถทำให้ พี เอช ลดลงได้มาก และเร็วซึ่งเป็นอันตรายต่อมีเทนแบคทีเรีย ในทางตรงกันข้ามถ้าระบบมีสภาพความเป็นด่างสูงพอ ระบบก็จะสามารถทนต่อการเปลี่ยนแปลงของกรดโวลาไทล์โดยไม่ส่งผลกระเทือนต่อ พี เอช มากนัก โดยทั่วไประบบไร้ออกซิเจนควรจะมีสภาพความเป็นด่างประมาณ 1,500-2,000 มก./ล. (ในเทอมแคลเซียมคาร์บอเนต)

ปัจจัยที่สำคัญกว่าระดับสภาพความเป็นด่างคือ อัตราส่วนของกรดโวลาไทล์ต่อสภาพความเป็นด่างในรูปของไบคาร์บอเนต ตราบใดที่อัตราส่วนนี้น้อยกว่า 0.4 ระบบไร้ออกซิเจนจัดว่ามีกำลังบัฟเฟอร์สูง แต่ถ้าอัตราส่วนนี้สูงกว่า 0.8 แสดงว่าระบบมีกำลังบัฟเฟอร์ต่ำมากและ พี เอช สามารถที่จะลดลงได้อย่างรวดเร็ว ถ้ามีกรดโวลาไทล์เพิ่มขึ้นแม้แต่เพียงเล็กน้อย

สภาพความเป็นด่างภายในถังหมักส่วนหนึ่งมาจากสภาพความเป็นด่างที่เติมลงไปหรือที่มีอยู่ในน้ำเสียที่เข้าสู่ถังหมักโดยตรง และอีกส่วนหนึ่งจะมาจากเกลือแอมโมเนีย เช่น NH_4HCO_3 และ

CH_3COONH_4 ซึ่งเกิดจากการย่อยสารประกอบพวกไนโตรเจนภายในถังหมัก การเปลี่ยนแปลง พี เอช ในถังหมัก นอกจากจะขึ้นอยู่กับปริมาณกรดโวลาไทล์และสภาพความเป็นด่างแล้ว ยังขึ้นอยู่กับปริมาณของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้น โดยมีความสัมพันธ์กับสภาพด่างในรูปของไบคาร์บอเนตและปริมาณของคาร์บอนไดออกไซด์ดังสมการ 3.12

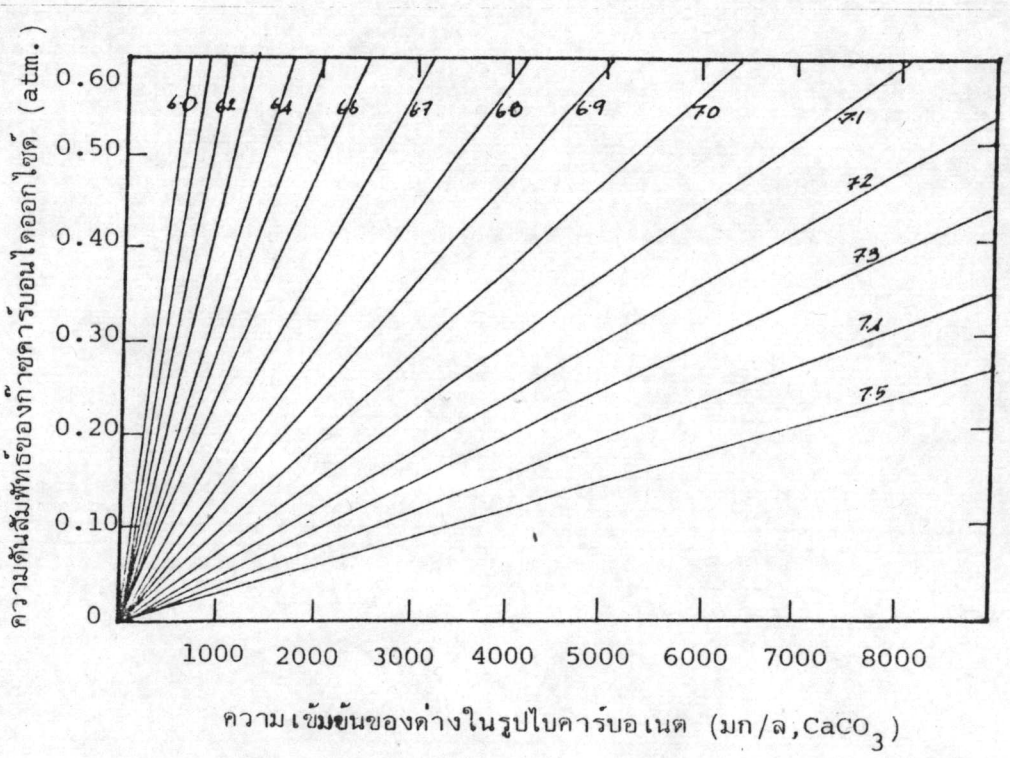
$$pH = 5.14 - \text{Log } (\%CO_2) + \text{Log } (HCO_3^-) \qquad (3.12)$$

$$\text{Bicarbonate Alkalinity} = TA - (0.85)(0.833)\ TVA \qquad (3.13)$$

TA = Total Alkalinity (มก./ล. $CaCO_3$)

TVA = Total Volatile acid (มก./ล. CH_3COOH)

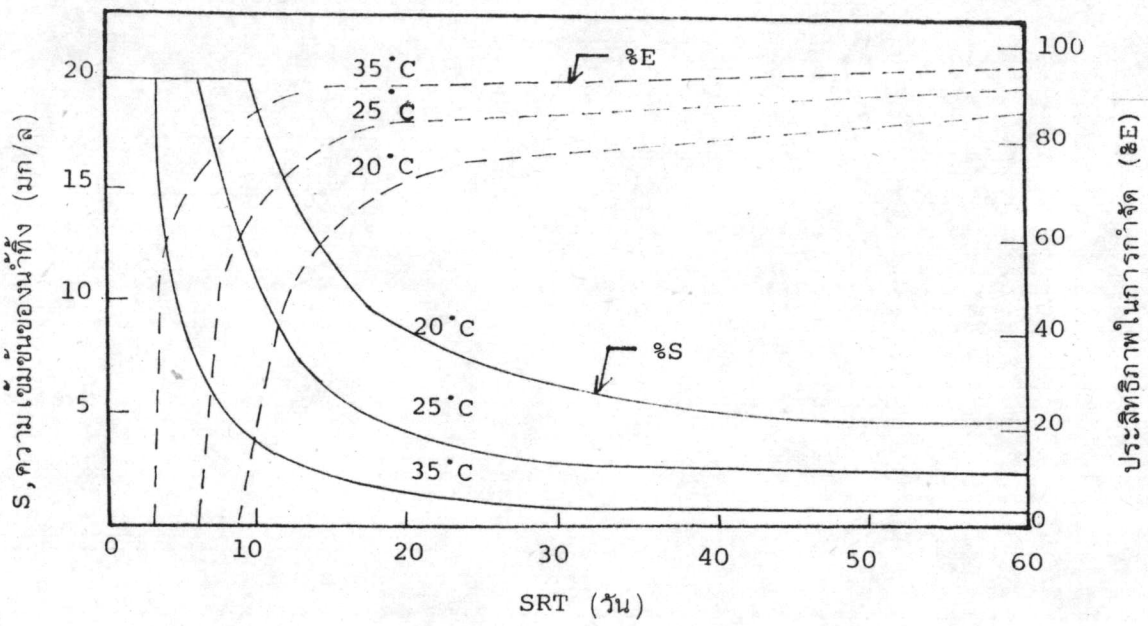
นอกจากนี้ Capri & Marais[32] ได้เสนอกราฟแสดงความสัมพันธ์ทางทฤษฎีระหว่างคาร์บอนไดออกไซด์และสภาพความเป็นด่างในรูปไบคาร์บอเนตในถังหมักไร้ออกซิเจน ดังแสดงในรูป 3.5 และในบางครั้งถ้าภายในถังหมักมีค่าความเป็นด่างสำหรับเป็นกำลังบัฟเฟอร์ในการควบคุม พี เอช ไม่พอเพียง อาจจะต้องเติมสารเคมีเข้าไปเพื่อให้มีกำลังบัฟเฟอร์สูงขึ้น สารเคมีที่ใช้มีอยู่หลายตัวเช่น ด่างแก่ (Strong base) สารพวกไบคาร์บอเนตและสารพวกคาร์บอเนต อนึ่ง การกำจัดคาร์บอนไดออกไซด์ออกจากระบบก็อาจจะเป็นวิธีควบคุม พี เอช วิธีหนึ่ง[33] อย่างไรก็ตาม การใช้สารเคมีบางตัวก็อาจจะทำให้มีปัญหาบางอย่างตามมา Kirsch & Sykes[23] แนะนำว่า $NaHCO_3$ เป็นสารเคมีตัวที่ดีที่สุดในการควบคุม พี เอช แม้ว่าจะมีราคาแพงกว่าสารเคมีตัวอื่น เช่น ปูนขาว (Lime) อยู่บ้างก็ตาม



รูปที่ 3.5 ความสัมพันธ์ในทางทฤษฎีระหว่าง CO_2 pH ,และความเป็นด่างของถังหมัก-ไร้ออกซิเจน (32)

3.2.3 ความสำคัญของอุณหภูมิ

ปฏิกริยาชีวเคมีแบบไม่ใช้ออกซิเจน จะเกิดได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิสองช่วง คือ ช่วง 30-35°ซี (Mesophilic) และช่วง 48-57°ซี (Thermophilic) Lawrence & McCarty[29] ได้แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของอุณหภูมิและระยะเวลาการกักตะกอน SRT ต่อประสิทธิภาพของการกำจัดน้ำทิ้งด้วยวิธีทางชีววิทยาแบบไม่ใช้ออกซิเจน ดังรูปที่ 3.6



รูปที่ 3.6 ความสัมพันธ์ของอุณหภูมิ, ระยะเวลาการเก็บตะกอนจุลินทรีย์และประสิทธิภาพในการกำจัดสารอินทรีย์ด้วยวิธีทางชีววิทยาแบบไม่ใช้ออกซิเจน[29]

ซึ่งจะเห็นได้ว่า เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นระยะเวลาการกักตะกอนจะน้อยลงโดยที่ประสิทธิภาพของการกำจัดสารอินทรีย์ยังคงเดิม หรือถ้าอุณหภูมิลดลงระยะเวลาในการกักตะกอนก็จะต้องเพิ่มขึ้นเพื่อที่จะให้มีประสิทธิภาพของระยะกำจัดคงเดิม

อย่างไรก็ตาม เนื่องจากปฏิกริยาชีวเคมีแบบไม่ใช้ออกซิเจน ต้องใช้แบคทีเรียหลายประเภททำปฏิกริยาชีวเคมีหลายปฏิกริยา ซึ่งมีความสัมพันธ์ซึ่งกันและกันอย่างใกล้ชิด ด้วยเหตุนี้การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิเพียงไม่กี่องศาอาจจะทำให้เสียสมดุลย์ระหว่างจุลินทรีย์ประเภทต่าง ๆ ที่

เกี่ยวข้องกัน อันทำให้การทำงานของระบบล้มเหลวได้ ดังนั้น การรักษาระดับอุณหภูมิให้คงที่ในปฏิกริยาชีวเคมีแบบไม่ใช้ออกซิเจนจึงถือว่าเป็นเรื่องสำคัญมากและสำคัญยิ่งกว่าการพยายามรักษาระดับอุณหภูมิที่จะทำให้ได้อัตราเร็วของปฏิกริยาสูงสุดเสียอีก[12]

3.2.4 อิทธิพลของความรวดเร็วในการเปลี่ยนแปลง

จากการศึกษาทางจลศาสตร์ พบว่าแบคทีเรียที่ไม่สร้างมีเทนจะมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) สูงกว่าของแบคทีเรียที่สร้างมีเทนมาก ทำให้แบคทีเรียชนิดแรกมีการตอบสนองต่อความกดดันทางสภาวะแวดล้อมได้รวดเร็วกว่า เนื่องจากการสร้างเสถียรภาพให้กับน้ำทิ้ง เกิดจากการทำงานอย่างเหมาะสมของแบคทีเรียที่สร้างมีเทน ดังนั้น เราจึงต้องมีความระมัดระวังในทุกทางในการป้องกันมิให้มีการขัดขวางการทำงานของแบคทีเรียเหล่านี้ การเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมใด ๆ ในถังปฏิกริยาจะต้องเกิดอย่างช้า ๆ ในอัตราที่แบคทีเรียที่สร้างมีเทนจะสามารถทนได้ มิฉะนั้นแล้ว ถังหมักไร้ออกซิเจนจะทำงานล้มเหลว

3.2.5 ความสำคัญของสารอาหารที่จำเป็น (Nutrient requirement)

Speece & McCarty[34] ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับสารอาหารที่จำเป็น โดยทำการทดลองกับจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจน พบว่า จุลินทรีย์เหล่านี้ต้องการธาตุไนโตรเจนประมาณ 0.106 เท่าของน้ำหนักเซลล์และต้องการฟอสฟอรัสประมาณ 0.143 เท่าของความต้องการธาตุไนโตรเจน McCarty[30] ยืนยันว่าปริมาณธาตุไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่จุลินทรีย์ต้องการนั้นอย่างน้อยต้องเป็นไปตามอัตราส่วนดังนี้ คือ BOD_L:N:P - 100:1.1:0.2

3.2.6 อิทธิพลของสารเป็นพิษ (Toxic material)

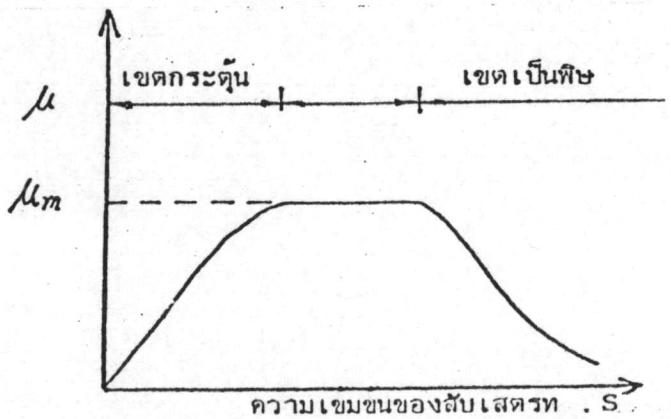
รูปที่ 3.7 แสดงอิทธิพลของความเข้มข้นของสารอินทรีย์ใด ๆ ที่มีต่อการเติบโตจำเพาะของแบคทีเรีย (μ) เมื่ออาหารอย่างอื่นมีครบถ้วน

ด้านซ้ายมือของกราฟเป็นกราฟของสมการ Monod ที่แสดงว่าค่า μ จะเพิ่มขึ้นตามการเพิ่มของสับเสตรท จนกระทั่งถึงจุดหนึ่งที่ μ จะมีค่าสูงสุดคือ μ_m บริเวณของกราฟที่ μ ขึ้นอยู่

กับความเข้มข้นของสับเสตรท เรียกว่า Stimulatory region หรือในภาษาไทยที่ว่า เขตกระตุ้น ขนาดของเขตกระตุ้นนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสับเสตรท เมื่อสับเสตรทเพิ่มขึ้นอีก μ ก็ยังคงที่จนกระทั่งถึงจุดที่ μ จะเริ่มลดลงต่ำกว่าค่า μ_m แสดงว่าสับเสตรทเริ่มยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ จึงถือได้ว่าเป็นสารพิษ (Toxic material) ความเข้มข้นนี้จะเป็นเท่าใดขึ้นอยู่กับชนิดของสารพิษนั้น สารหลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับการหมักแบบไร้ออกซิเจน สามารถแสดงความเป็นพิษได้ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ สารเหล่านี้ได้แก่ กรดไวลาไทล์ แอมโมเนีย, สารโลหะเบา, สารโลหะหนักและซัลไฟด์ เป็นต้น สารทุกชนิดล้วนแต่มีพิษ แต่พิษจะปรากฏที่ระดับใดนั้นเป็นอีกกรณีหนึ่ง ซึ่งสามารถแตกต่างกันได้อย่างกว้างขวาง

3.2.6.1 พิษของโลหะหนัก

โลหะหนัก เช่น Cu, Zn, Cd, Hg มีพิษต่อแบคทีเรียทั้งสองประเภทในขบวนการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจนแม้จะมีระดับความเข้มข้นต่ำก็ตาม อย่างไรก็ตามโลหะหนักที่เป็นพิษจะต้องอยู่ในรูปสารละลายเท่านั้นในทางปฏิบัติ พิษของโลหะหนักมักจะไม่ปรากฏในถังหมัก เพราะมันสามารถถูกกำจัดออกได้ด้วยซัลไฟด์ที่เกิดอยู่ตามธรรมชาติ ในถังหมักนั่นเอง จากการคำนวณพบว่า ซัลไฟด์ 1 ส่วน (นน.) สามารถตกตะกอนโลหะหนักได้ 2 ส่วน (นน.) ถ้าซัลไฟด์ที่เกิดเองในถังหมักไม่พอเราอาจจะเติม เฟอรัสซัลเฟตแทนก็ได้[35]



ภาพที่ 3.7 กราฟแสดงอิทธิพลของความเข้มข้นของสับเสตรทต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของแบคทีเรีย

3.2.6.2 พิษของโลหะเบาหรือเกลืออนินทรีย์

เกลือของพวกสารอนินทรีย์ เช่น พวก Alkali และ Alkali Earth อันได้แก่ Na, K, Ca, และ Mg สามารถแตกตัวให้ไอออนบวกที่เป็นพิษต่อมีเทนแบคทีเรีย ถ้าโลหะเบาเหล่านี้ปรากฏอยู่รวมกัน มันจะสามารถส่งผลกระทบซึ่งกันและกันทำให้มีพิษเพิ่มขึ้นหรือลดลงแล้วแต่ปริมาณความเข้มข้นและชนิดของสารเหล่านั้น แต่โดยทั่วไปแล้วโลหะเบาเหล่านี้จะแสดงพิษที่ระดับความเข้มข้นสูงเท่านั้น และสามารถเป็นตัวเร่งอัตราการเจริญเติบโตได้ถ้ามีความเข้มข้นต่ำ ตารางที่ 3.5 แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลดังกล่าวของ Na, K, Ca, Mg

ตารางที่ 3.5 อิทธิพลของเกลืออนินทรีย์หรือโลหะเบา[30]

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

3.2.6.3 พิษของซัลไฟด์

ซัลไฟด์ที่มีอยู่ในระบบกำจัดแบบไม่ใช้ออกซิเจนอาจมีอยู่ในน้ำทิ้งที่เข้าสู่ระบบกำจัดหรืออาจเกิดจากการรีดัคชั่นของซัลเฟตที่อยู่ในน้ำทิ้งหรือจากการย่อยสลายสารโปรตีน ซัลไฟด์ที่เกิดขึ้นในระบบกำจัดจะอยู่ในรูปของซัลไฟด์ที่ละลายอยู่ในน้ำ หรือไม่ละลายน้ำนั้นขึ้นอยู่กับไอออนของโลหะที่รวมอยู่ ถ้ารวมกับพวกโลหะหนักก็จะตกตะกอนลงมา จึงทำให้ไม่เป็นอันตรายต่อจุลินทรีย์ ส่วนซัลไฟด์ที่ละลายน้ำจะอยู่ในรูปของ H_2S (Solubility) McCarty[30] พบว่า แบคทีเรียซึ่ง

ไม่สามารถใช้ออกซิเจนสามารถทนปริมาณซัลไฟด์ที่ละลายน้ำ (Soluble Sulfide) มีความเข้มข้น 50-100 มก./ล. ได้ และที่ความเข้มข้น 200 มก./ล. จะเป็นพิษต่อแบคทีเรีย

3.2.6.4 <u>พิษของกรดไวลาไทล์</u>

อิทธิพลของกรดไวลาไทล์ที่มีต่อจุลินทรีย์ในถังหมักไร้ออกซิเจน อาจจะมองเห็นได้ยาก เพราะกรดเหล่านี้ส่งผลกระทบต่อ พี เอช ของน้ำด้วย อย่างไรก็ดีเมื่อรักษาระดับ พี เอช ให้คงที่และใกล้ 7 ปรากฏว่า กรดอะซิติกและบิวไทริคที่มีความเข้มข้นสูงถึง 10,000 มก./ล. ไม่แสดงความเป็นพิษอย่างเด่นชัดต่อแบคทีเรียที่สร้างมีเทนจากไฮโดรเจน[36] ในทางตรงกันข้ามกันกรดโพรไพโอนิคเพียง 1,000 มก./ล. แสดงพิษต่อแบคทีเรียที่สร้างมีเทนที่ พี เอช เป็นกลาง นอกจากนี้แล้วยังปรากฏว่า กรดโพรไพโอนิคสามารถชลอการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่สร้างกรดไวลาไทล์ได้ด้วย ด้วยเหตุนี้จึงปรากฏว่า เมื่อ พี เอช เป็นกลางจะมีแต่เพียงกรดโพรไพโอนิคที่ส่งพิษต่อการทำงานของปฏิกริยาไร้ออกซิเจนและจะเกิดที่ความเข้มข้นสูงเท่านั้น Andrew[37] เสนอหลักฐานว่า กรดโพรไพโอนิคที่อยู่ในรูปซึ่งไม่ไอออนไนซ์ (unionized form) เท่านั้นที่เป็นพิษและพิษจะมีมากขึ้นเมื่อ พี เอช ลดต่ำลงแต่ก็ไม่มีหลักฐานที่จะแสดงว่าถ้า พี เอช ลดต่ำลง กรดอะซิติกและกรดบิวไทริคจะเป็นพิษยิ่งขึ้น

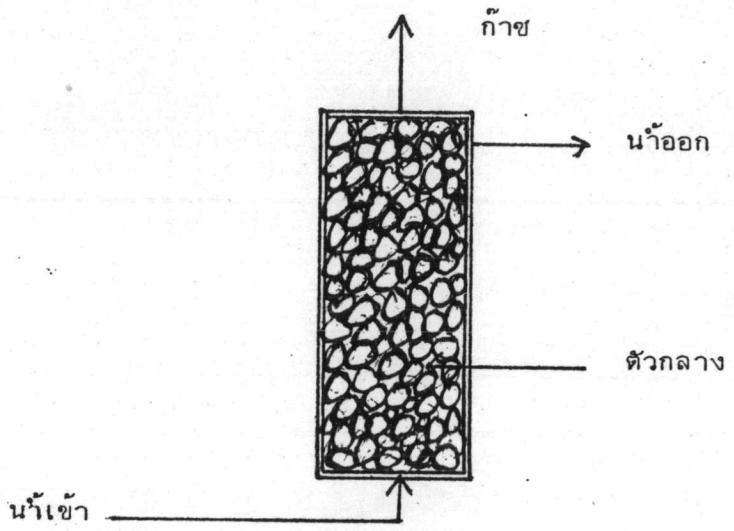
3.2.6.5 <u>พิษของแอมโมเนีย</u>

แอมโมเนียเป็นสารอีกชนิดหนึ่งที่เกิดตามธรรมชาติจากการหมักสารพวกที่ประกอบด้วยไนโตรเจน แอมโมเนียอาจจะอยู่ในรูปของ NH_3 ซึ่งเป็นสารอิสระหรืออาจจะอยู่ในรูป NH_4^+ ที่ไม่อิสระ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับ พี เอช ของระบบแอมโมเนียในรูป NH_3 เป็นพิษมากกว่า NH_4^+[30] ซึ่งถ้ามันมีความเข้มข้นเกินกว่า 150 มก./ล. พิษรุนแรงจะเกิดขึ้น ส่วน NH_4^+ จะต้องมีความเข้มข้นสูงถึง 3000 มก./ล. จึงจะมีพิษเท่ากับ NH_3 ตราบเท่าที่ พี เอช เท่ากับ 7.2 หรือต่ำกว่าแอมโมเนีย ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของ NH_4^+ ดังนั้น พิษของมันจะแทบไม่ปรากฏ แม้ว่าความเข้มข้นของแอมโมเนียจะสูงถึง 3,000 มก./ล. เชื่อกันว่า แอมโมเนียมีพิษต่อแบคทีเรียที่สร้างมีเทนมากกว่าที่สร้างกรด ทั้งนี้เพราะผลงานวิจัยอันหนึ่งแสดงให้เห็นว่าเมื่อแอมโมเนียเป็นพิษจะมีการสะสมตัวของกรดไวลาไทล์เกิดขึ้น

3.3 การใช้ระบบการหมักแบบเครื่องกรองไร้ออกซิเจน

3.3.1 ลักษณะทั่ว ๆ ไปและความเป็นมาของเครื่องกรองไร้ออกซิเจน

เครื่องกรองไร้ออกซิเจนที่ใช้กันทั่ว ๆ ไปมีลักษณะเป็นปล่องหรือหอสูงดังรูปที่ 3.8



รูปที่ 3.8 ลักษณะของเครื่องกรองไร้ออกซิเจน

ภายในเครื่องกรองจะบรรจุตัวกลางซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นหินหรือวัสดุที่มีคุณสมบัติคงทนถาวร ไม่ผุกร่อน น้ำเสียจะไหลเข้าสู่เครื่องกรองทางด้านล่างและออกจากเครื่องกรองทางด้านบน ภายในเครื่องกรองจะมีน้ำเสียท่วมอยู่ จุลินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจนที่ทำงานภายในเครื่องกรองจะเปลี่ยนสารอินทรีย์ที่ผ่านเครื่องกรองให้กลายเป็นก๊าซมีเทน, ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และเซลล์แบคทีเรีย ก๊าซที่เกิดขึ้นจะออกจากเครื่องกรองทางด้านบนเช่นกัน การที่น้ำเสียไหลผ่านเครื่องกรองในลักษณะไหลย้อนขึ้นจะทำให้เซลล์ของแบคทีเรียมีการสัมผัสกับน้ำเสียอย่างทั่วถึงและเซลล์ของแบคทีเรียที่เกิดขึ้นจะถูกกักกรองให้ตกค้างอยู่ในช่องว่างระหว่างตัวกลางและบางส่วน อาจจะเกาะอยู่รอบ ๆ ตัวกลางทำให้แบคทีเรียมีระยะเวลาอยู่ในเครื่องกรองได้นาน (SRT สูง) ซึ่งเป็นข้อดีอย่างมากที่ทำให้เครื่องกรองไร้ออกซิเจนมีประสิทธิภาพในการกำจัด ซีโอดี ได้สูง

เครื่องกรองไร้ออกซิเจน (Anaerobic filter) เพิ่งจะเริ่มเข้ามามีบทบาทในงานด้านวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมเมื่อไม่นานนี้ โดย Young & McCarty[38] ได้เป็นคนค้นคิดสร้างเครื่องกรองไร้ออกซิเจนขนาดเล็กขึ้นมาใช้สำหรับทดลองในห้องปฏิบัติการ โดยใช้หินเป็นตัวกลางและใช้น้ำเสียสังเคราะห์ (Synthetic waste) ในการทดลอง Young & McCarty เชื่อว่าเครื่องกรองแบบนี้จะสามารถกำจัดน้ำเสียโดยขบวนการชีววิทยาแบบไม่ใช้ออกซิเจนได้ดีแม้แต่กับน้ำเสียที่มีความเข้มข้นต่ำ ๆ (ซึ่งถังหมักธรรมดาไม่เหมาะสม) ด้วยเหตุผลที่ว่า เครื่องกรองแบบนี้สามารถเก็บตะกอนเซลล์แบคทีเรียแยกออกจากน้ำเสียให้อยู่ในช่องว่างระหว่างตัวกลางทำให้เครื่องกรองมี SRT สูง แต่สามารถใช้ HRT ที่ต่ำ และอีกประการหนึ่ง ตัวเครื่องกรองมีโครงสร้างเป็นแบบง่าย ๆ ไม่สลับซับซ้อน เมื่อเปรียบเทียบกับระบบกำจัดน้ำเสียโดยวิธีชีววิทยาที่ไม่ใช้ออกซิเจนแบบอื่น ๆ เช่น แบบ Anaerobic Contact หรือแบบ Two-stage-Anaerobic Digestion ซึ่งจะต้องมีการแยกตะกอนแบคทีเรียออกจากน้ำทิ้งและมีการเวียนตะกอนกลับ (Recycle) อันทำให้ระบบเหล่านี้จำเป็นต้องมีเครื่องไม้เครื่องมือซับซ้อนและต้องการการควบคุมอย่างใกล้ชิด

ผลของการทดลองของ Young และ McCarty ปรากฏว่า ประสบความสำเร็จเป็นที่น่าพอใจ โดยเครื่องกรองมีประสิทธิภาพในการกำจัด ซีโอดี ได้สูงถึง 74-85 % ทำให้เขาทั้งสองได้สรุปว่า เครื่องกรองไร้ออกซิเจนเหมาะสมสำหรับการกำจัดน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม โดยเฉพาะน้ำเสียที่มีตะกอนแขวนลอยต่ำ

ต่อมาได้มีผู้ศึกษาถึงการใช้เครื่องกรองไร้ออกซิเจนในการกำจัดน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมประเภทต่าง ๆ และปรากฏว่าประสบความสำเร็จให้ผลดีกับโรงงานเกือบทุกประเภท ยกเว้นน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมเปโตรเคมิคัล (Pretrochemical wastes)[43] ผลจากการวิจัยเหล่านั้นทำให้เชื่อได้ว่า เครื่องกรองไร้ออกซิเจนเหมาะสมในการกำจัดน้ำเสียในขั้นต้น (Primary Treatment) สำหรับน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมที่มีความเข้มข้นสูงเพื่อทำให้น้ำเสียเหล่านั้นมีความเข้มข้นเจือจางลง และจะได้นำไปกำจัดโดยวิธีอื่นให้มีคุณสมบัติดียิ่งขึ้นต่อไป สำหรับน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมเปโตรเคมิคัล ซึ่งไม่ประสบความสำเร็จในการกำจัดด้วยระบบเครื่องกรอง

ตารางที่ ๓.๖ ผลงานการวิจัยเกี่ยวกับเครื่องกรองไร้ออกซิเจนที่ผ่านมา[๕๐]

ผู้วิจัย	รายละเอียดบางประการของถังปฏิกริยา	ลักษณะของน้ำเสีย	ออร์แกนิคโหลดดิ้ง* กก.ซีโอดี/ม๓-วัน	เวลากักน้ำ** (ชม.)	ประสิทธิภาพในการกำจัด ซีโอดี %
1) Young & McCarty[38]	๔.๕"x ๔.๕"- ๖ , ๑-๑.๕" หิน ϵ = ๐.๔๒ , T = ๒๕°c	น้ำทิ้งเทียมประกอบด้วยกรดไวลาไทล์ โปรตีน, คาโบไฮเดรท ซีโอดี ๓๗๕-๑๒,๐๐๐ มก/ล	๐.๔๓-๓.๔	๔.๕-๗.๒	๕๖-๙๘
2) Plummer & Malina[39]	๑๑-๑๖" สูง ตัวกลางวัสดุสังเคราะห์ ϵ = ๐.๖๕-๐.๗๕, T = ๓๑°c	โรงงานผลิตอาหาร (แป้ง) ซีโอดี ประมาณ ๒,๕๐๐ มก/ล	๑.๖ - ๑๐.๒	๑๓ - ๘๓	๓๐ - ๘๖
3) Clark & Speece[31]	๔.๕" x ๔.๕"-๓', หิน ๑-๑.๕" ϵ = ๐.๔๖ , T = ๓๓°c	กรดอะซิติก ซีโอดี ประมาณ ๖,๔๐๐ มก/ล	๕.๔๓	๑๒	๓๐-๘๐
4) Pailthorp et al[40]	๔'+ ๘' สูง , ๑.๕"-หิน, T = ๑๙-๒๒°c	โรงงานทำผลิตภัณฑ์มันสัมปะหลัง ซีโอดี ประมาณ ๓,๐๐๐ มก/ล	๐.๕๓-๒.๓๒	๑๓-๕๔	๔๑-๗๔
5) Richer et al, Taylor & Dorsal[41]	Ø ๓๐'x ๒๐'สูง (ขนาดของจริง) Sponkane , Washinton หิน ๑-๑" บน , ๒-๓" ล่าง, ϵ = ๐.๔	โรงงานแป้งสาลี ซีโอดี ประมาณ ๔,๙๓๐ - ๑๓,๑๐๐ (๘,๕๐๐) มก/ล	๓.๘	๒๒	๖๕ (๗๕% กรอง)
6) Foree etal[42]	๖" x ๖" - ๖', หินปูน ๑"-๕" ϵ = ๐.๔๕, T = ๓๕°c	โรงงานผลิตเบียร์ ซีโอดี ประมาณ ๖,๐๐๐ - ๒๗,๐๐๐ มก/ล	๐.๘-๖.๔	๑๕-๓๓๐	๓๐-๙๗

* คิดจากปริมาตรที่หมด

** คิดจากปริมาตรช่องว่างในถังหลังจากใส่ตัวกลางลงไปแล้ว

ตารางที่ ๓.๖ (ต่อ)

ผู้วิจัย	รายละเอียดบางประการของถังปฏิกริยา	ลักษณะของน้ำเสีย	ออร์แกนิคโหลดดิ้ง กก.ซีโอดี/ม๓วัน	เวลากักน้ำ (ชม.)	ประสิทธิภาพในการกำจัด ซีโอดี (%)
7) Hovious et al[43]	ขนาดใช้ในห้องปฏิบัติการ ๒๔" x ๓๕" Berl Saddles , ϵ = ๐.๔๘ T = ๓๒-๓๕°C	น้ำดิ้งเทียม ซีโอดี = ๒,๐๐๐ มก/ล	๐.๔๖-๒.๐๘	๑๗-๔๖	๖๔-๗๖
	ขนาดจำลอง ๑๒" x ๑๒" - ๖' กรวด ๑" , ϵ = ๐.๔๑ , T = ๓๔°C	โรงงานอุตสาหกรรม เปโตรเคมิคัล ซีโอดี ประมาณ ๒,๐๐๐-๘,๐๐๐ มก/ล	๐.๖๔-๒.๓๒	๗๒	๑๐-๑๓
8) Tadman[44]	๒" x ๓" -๕;๑"intalox Saddles ϵ = ๐.๘ , T = ๒๕ & ๓๕°C	น้ำดิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม ทีโอซี ประมาณ ๒๕,๐๐๐-๑๖,๐๐๐ มก/ล	๑-๗.๒ (ทีโอซี)	๑๒-๔๘	๗๓-๙๙ (คิดจากทีโอซี)
9) Campbell[45]	ลูกบิงปอง T = ๒๐°C	โรงงานผงชักฟอก ซีโอดี ประมาณ ๒,๐๐๐-๖,๐๐๐ มก/ล	๐.๔-๑.๒๐	๔๘	๕๕-๘๓
10) El-Shafie & Bloodgood[46]	เครื่องกรอง ๖ ตัว ต่ออนุกรม ๕.๕" x ๕.๕" - ๑๕" กรวด ๑"-๑.๕" , T = ๓๐°C	โรงงานอุตสาหกรรม ซีโอดี ประมาณ ๑๑,๐๐๐ มก/ล	๖.๘๔	๑๘	๗๐-๙๕
11) Dennis & Jennett[47]	๕.๕"-๓ หิน ๑-๑.๕", ϵ = ๐.๔๗ T = ๓๗°C	โรงงานผลิตยา (๔๕ % เมทานอล) ซีโอดี ประมาณ ๑,๒๕๐-๑๐,๐๐๐ มก/ล	๐.๒๒-๓.๕๒	๑๒-๔๘	๙๔-๙๘
12) Wilson & Timpany[48]	๕.๗" x ๕.๗"-๑๔'polypropylen-Intalox Saddles, ϵ = ๐.๘๓ T = ๓๕°C	น้ำเสียประกอบด้วยซัลไฟท์ บีโอดี ๕ ประมาณ ๑,๓๐๐-๕,๓๐๐ มก/ล	๒.๐-๖.๐	๘๔-๙๕	๒๗-๘๕ % การกำจัด บีโอดี

ตารางที่ ๓.๖ (ต่อ)

ผู้วิจัย	รายละเอียดบางประการของถังปฏิกรียา	ลักษณะของน้ำเสีย	ออร์แกนิคโหลดดิ้ง กก.ซีโอดี/ม^{๓}-วัน	เวลากักน้ำ (ชม.)	ประสิทธิภาพในการกำจัด ซีโอดี (%)
13) Frostell[14] (50)	๘.๕ ๘.๕ - ๑๒๕ ซม. วัสดุสังเคราะห์ ϵ = ๐.๙๖ T = 30 C°	น้ำเสียสังเคราะห์ ซีโอดี ประมาณ ๒,๐๐๐ - ๔,๐๐๐ มก/ล	๒.๗ - ๑๑.๕	๓๐ - ๒.๔	๔๓ - ๗๔
14) Mueller & Mancini	-Ø ๔" - ๖" วัสดุสังเคราะห์ ϵ = ๐.๘๕ T = 35 C°	น้ำเสียสังเคราะห์ประกอยด้วยโปรตีน และคาร์โบไฮเดรท ซีโอดี ประมาณ ๒,๐๐๐ - ๕,๐๐๐ มก/ล	๓.๕ - ๒๖.๔	๒๓.๖ - ๒.๘	๔๐ - ๕๐
15) สุรพล สายพานิช[51]	๒๒.๔ X ๒๒.๔ X ๒๑๐ ซม. หิน ๑" - ๒", ϵ = ๐.๔๗	โรงงานแป้งมันสำปะหลัง ซีโอดี ประมาณ ๖,๐๐๐ มก/ล	๑.๔๐ - ๔๐	๐.๕๘ - ๔.๐	๔๒ - ๔๗
16) ไพพรรณ พรประภา และ มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์[52]	๒๒.๔ X ๒๒.๔ X ๒๑๐ ซม. อนุกรม กับ Ø ๑๕ X ๒๓๐ ซม. หิน ๑" - ๒", ϵ = ๐.๔๗	โรงงานน้ำตาล ซีโอดี ๓,๐๐๐ มก/ล	๑.๖๕ - ๕.๐	๑๓ - ๖๐	มากกว่า ๔๐%
17) บุญส่ง ไข่เกษ[53]	๒ - Ø๓๐ X๑๒๕ ซม. หิน ๑" - ๑.๒๔", ϵ = ๐.๔๕ หิน ๑.๗๕" - ๒.๒๕", ϵ = ๐.๔๖ T = 25 - 35 C°	โรงงานผักกาดดอง ซีโอดี ประมาณ ๑,๒๕๐ - ๗,๖๐๐ มก/ล	๐.๕๖ - ๔.๕	๑๒ - ๓๖	๘๐ - ๙๗
18) ไกรสร อุดมรัตน์[54]	Ø ๓๐ X๒๑๐ ซม. หิน ๑" - ๒" ϵ = ๐.๔๑ T = ๒๕ - ๓๕ C	โรงงานทำเต้าหู้ ซีโอดี ประมาณ ๓,๐๐๐ - ๑๐,๐๐๐ มก/ล	๐.๖ - ๔.๑๐	๑๒ - ๔๘	๘๔ - ๙๗
19) สุเมธ ชวเดช และ เสริมพล รัตสุข[1]	ถังน้ำมัน ๒๐๐ ลิตร ไม้รวกตัด ท่อนขนาดประมาณ ๑", ϵ = .๖๘	มูลสุกรละลายน้ำ ซีโอดี ประมาณ ๒๕,๐๐๐ - ๓๑,๖๖๐ มก/ล	๓.๗๓ - ๑๕.๖๕	๔๐ - ๒๐๓	๖๑ - ๗๗

ไร้ออกซิเจนนั้น เป็นเพราะว่าน้ำเสียมีคุณสมบัติที่มีสารเป็นพิษ (Toxicity) สูง เกิดก๊าซมากทำให้ พี เอช ในเครื่องกรองต่ำจนแบคทีเรียในเครื่องกรองไม่สามารถจะทำงานได้ ตารางที่ 3.6 แสดงให้เห็นถึงรายละเอียดของการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเครื่องกรองไร้ออกซิเจนที่ผ่านมาในอดีต

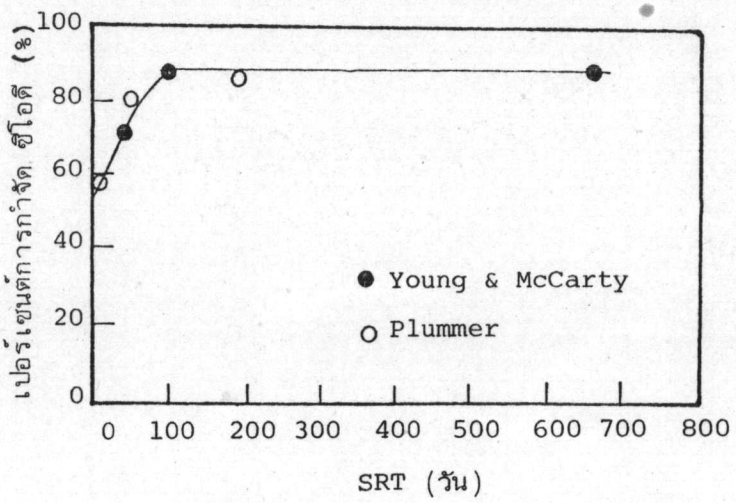
3.3.2 ประสิทธิภาพและการทำงานของเครื่องกรองไร้ออกซิเจน

เมื่อเปรียบเทียบการทำงานของเครื่องกรองไร้ออกซิเจนกับระบบกำจัดน้ำเสียแบบชีววิทยาที่ไม่ใช้ออกซิเจนแบบอื่น ๆ จะพบว่า เครื่องกรองไร้ออกซิเจนสามารถทำงานได้ที่ค่าอัตราการรับสารอินทรีย์ที่สูงกว่า ทั้งนี้เนื่องจากการที่มี SRT ที่ยาวนานดังที่ได้กล่าวมาแล้ว และแม้ว่าจะได้พูดถึงความสำคัญของ SRT ที่มีต่อระบบการหมักแบบไร้ออกซิเจนไปบ้างแล้วในหัวข้อที่ 3.2.1 แต่อย่างไรก็ตามเนื่องจาก SRT เป็นแฟคเตอร์ตัวสำคัญที่มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพการทำงานของเครื่องกรองไร้ออกซิเจน ดังนั้น จะกล่าวถึงรายละเอียดบางประการอีกครั้งหนึ่ง

ในการทำงานของระบบการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจนจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องให้ SRT ที่ใช้สูงกว่า SRT_{min} ซึ่งเครื่องกรองไร้ออกซิเจนสามารถตอบสนองความต้องการอันนี้ได้ โดยใช้ตัวกลางกรองให้แบคทีเรียมีระยะเวลาอยู่ในเครื่องกรองนานขึ้น

Mueller & Mancini[50] ได้นำผลการวิจัยของ Young & McCarty[38] และ Plummer[39] เสนอเป็นกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง SRT และประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดี ดังแสดงในรูปที่ 3.9

จากรูปที่ 3.9 จะเห็นได้ว่า เมื่อ SRT ต่ำกว่า 100 วัน ประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดี ของเครื่องกรองจะลดลงอย่างรวดเร็ว Mueller & Mancini[50] สรุปว่า SRT ที่เหมาะสมในการทำงานของเครื่องกรองไร้ออกซิเจนไม่ควรจะต่ำกว่า 100 วัน ทั้งนี้เนื่องมาจากสาเหตุที่มีเทนแบคทีเรียมีอัตราการเจริญเติบโตที่ช้ามาก

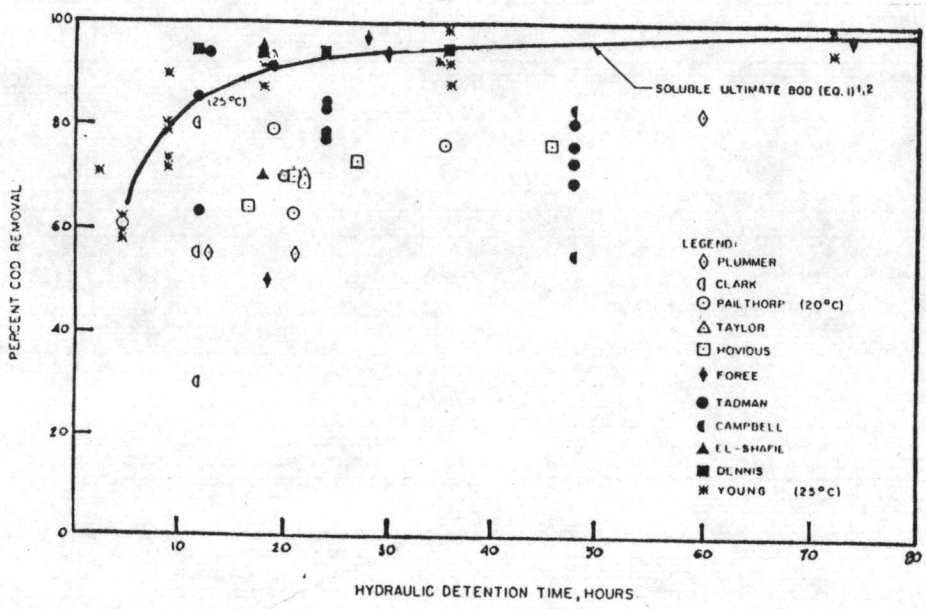


รูปที่ 3.9 ความสัมพันธ์ระหว่าง SRT และประสิทธิภาพในการกำจัด ซีโอดี ของเครื่องกรองไร้ออกซิเจน[50]

นอกจาก SRT แล้ว HRT ยังเป็นตัวแปรอีกตัวที่มีอิทธิพลต่อการทำงานของเครื่องกรองไร้ออกซิเจนเป็นอย่างยาก Mueller & Mancini[50] ได้รวบรวมผลการวิจัยของเครื่องกรองไร้ออกซิเจนที่ผ่านมาในอดีตและได้เสนอกราฟซึ่งแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของ HRT ต่อประสิทธิภาพในการกำจัด ซีโอดี ดังแสดงในรูปที่ 3.10 และก่อนหน้านี้ Young & McCarty[38] ได้เสนอสมการที่จะทำนายประสิทธิภาพในการกำจัด BOD_L ของเครื่องกรองไร้ออกซิเจนดังสมการ 3.14

$$\% E = 100\left(1 - \frac{1.8}{t}\right) \qquad (3.14)$$

โดย t = เวลากักน้ำหรือ HRT -(ชม.) (คิดจากปริมาตรช่องว่างในเครื่องกรอง)



รูปที่ 3.10 ผล HRT ต่อประสิทธิภาพในการกำจัด ซีโอดี ของเครื่องกรองไร้ออกซิเจน[50]

จะเห็นได้ว่า สมการ 3.14 ที่เสนอโดย Young & McCarty นี้อยู่ในส่วนบนของกราฟรูปที่ 3.10 ส่วนผลของ HRT ที่มีต่อประสิทธิภาพในการกำจัด ซีโอดี ของนักวิจัยคนอื่นที่ได้จะอยู่ต่ำกว่า สาเหตุที่เป็นเช่นนี้อาจจะเนื่องมาจากลักษณะที่แตกต่างกันของน้ำเสียจากโรงงานซึ่งอาจจะกำจัดได้ยากหรืออาจจะเป็นไปได้ว่า อัตราที่ตะกอนแบคทีเรียหลุดออกจากเครื่องกรองแตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม จากข้อมูลในการทำงานของเครื่องกรองไร้ออกซิเจนที่นำมาใช้กำจัดน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมจริง ๆ ที่เมือง Spokane, Washington ในปี 2513 โดยเครื่องกรองที่มีความสูง 25 ฟุต น้ำเสียของโรงงานผลิตแป้งสาลี ผลปรากฏว่า ให้ประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดี 65 % (76 % Soluble) ซึ่งต่ำกว่าค่าที่ออกแบบไว้ (80 %) Dorsal[41] ได้ให้ความ

สนใจและศึกษาถึงสาเหตุที่ทำให้ประสิทธิภาพของเครื่องกรองต่ำกว่าที่คำนวณไว้ในการออกแบบ และจากข้อมูลที่ได้ทำให้ทราบว่า ความสูงเพียง 6 ฟุต จากข้างล่างของเครื่องกรองเท่านั้นที่เป็นบริเวณที่มีการกำจัด ซีโอดี ของน้ำเสีย ซึ่งถ้าใช้สมการที่ 3.14 ของ Young & McCarty เมื่อประสิทธิภาพในการกำจัด ซีโอดี (Soluble) 76 % จะต้องใช้เวลากักน้ำ 8 ชม. ซึ่งเป็นเวลาที่ใกล้เคียงกับเวลาที่น้ำเสียอยู่ในเครื่องกรองภายในความสูง 6 ฟุต ที่แบคทีเรียทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพนั้นเอง จากข้อมูลที่ผ่านมาแสดงว่า สมการ 3.14 มีขีดจำกัดในการใช้ คือ สามารถใช้ได้กับเครื่องกรองที่มีความสูงไม่เกิน 6 ฟุตเท่านั้น

และจากตัวอย่างการทดลองของ ไกรสร อุดมรัตน์[54] พบว่า เมื่อเครื่องกรองทำงานอยู่ที่อัตราการรับสารอินทรีย์อันเดียวกัน คือ 2.45 กก. ซีโอดี/ม^3./วัน การทำงานโดยใช้ HRT 12 ชม. และความเข้มข้นของน้ำเสีย 3,000 มก./ล. จะให้ประสิทธิภาพในการกำจัด ซีโอดี 87 % แต่เมื่อให้เครื่องกรองทำงานด้วย HRT 24 ชม. ความเข้มข้นของน้ำเสีย 6,000 มก./ล. จะให้ประสิทธิภาพในการกำจัด ซีโอดี 94.87 % ดังนั้น อาจจะสรุปได้ว่า การลด HRT จะทำให้แบคทีเรียมีเวลาสัมผัสกับน้ำเสียลดลง และในบางครั้งการให้เครื่องกรองทำงานด้วย HRT ที่ต่ำเกินไปจะทำให้มีตะกอนแบคทีเรียหลุดออกมาจากเครื่องกรองมากทำให้ SRT ลดลงและทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัด ซีโอดี ลดลงด้วย

นอกจากนี้แล้ว ประสิทธิภาพในการทำงานของเครื่องกรองไร้ออกซิเจนยังขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมอื่น ๆ ที่เหมาะสมภายในเครื่องกรอง เช่น ค่า พี เอช, สภาพความเป็นด่าง, ปริมาณกรดโวลาไทล์, อุณหภูมิ, ความรวดเร็วในการเปลี่ยนแปลง, อาหารเสริมและปริมาณสารเป็นพิษ ฯลฯ ซึ่งได้กล่าวไปแล้วในหัวข้อที่ 3.2

3.3.3 ข้อดีและข้อเสียของเครื่องกรองไร้ออกซิเจน

จากผลงานวิจัยทดลองที่ผ่านมาได้มีผู้แจกแจงให้เห็นถึงข้อดีและข้อเสียของเครื่องกรองไร้ออกซิเจนไว้และพอสรุปได้ดังนี้

ข้อดี

1. ให้ผลผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นก๊าซมีเทน ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นเชื้อเพลิงได้

2. เนื่องจากเครื่องกรองไร้ออกซิเจนทำงานด้วยจุลินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจน ซึ่งจะเปลี่ยนสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งส่วนใหญ่ให้กลายเป็นก๊าซมีเทนและพลังงานที่ใช้ในการดำรงชีพของมัน สารอินทรีย์ส่วนน้อยเท่านั้นที่จะเปลี่ยนเป็นเซลล์ อันทำให้ลดปัญหาในการกำจัดตะกอนส่วนเกินที่จะเกิดขึ้น

3. เครื่องกรองไร้ออกซิเจนไม่ต้องมีการแยกตะกอนแบคทีเรียออกจากน้ำทิ้งที่ไหลออกจากเครื่องกรองกลับมาใช้อีก เพราะตัวกลางจะทำหน้าที่กรองแบคทีเรียเอาไว้แล้ว

4. เซลล์ของแบคทีเรียจะถูกสะสมอยู่ในเครื่องกรองมากขึ้นตลอดเวลาทำให้เครื่องกรองมีประสิทธิภาพในการกำจัด ซีโอดี สูง

5. ในกรณีที่เครื่องกรองยังทำงานไม่เต็มกำลังความสามารถ (Under Load) เครื่องกรองสามารถที่จะรับออร์แกนิคโหลดดิงที่เพิ่มอย่างกระทันหัน (Shock Load) ได้โดยที่ไม่ทำให้ระบบล้มเหลวแต่ต้องใช้เวลาในการปรับตัวเล็กน้อย

6. เนื่องจากเครื่องกรองไม่ต้องการออกซิเจนในการทำงานของจุลินทรีย์ทำให้ไม่สิ้นเปลืองพลังงาน

7. ต้องการอาหารเสริม (Nutrient) น้อยกว่าระบบชีววิทยาแบบใช้ออกซิเจน

8. การฟื้นตัวของเครื่องกรองไร้ออกซิเจนเกิดขึ้นได้รวดเร็ว ยกตัวอย่าง เช่น จากการทดลองของ Young & McCarty[38] และไกรสร อุดมรัตน์[54] เครื่องกรองสามารถทำงานได้ดีหลังจากที่มีการหยุดทำงานไปชั่วระยะเวลาหนึ่ง โดยไม่ต้องมีการเริ่มเลี้ยงจุลินทรีย์ใหม่

ข้อเสีย

1. มีก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์และบางครั้งมีปัญหาเรื่องกลิ่นเหม็น เช่นเดียวกับระบบกำจัดน้ำเสีย โดยวิธีชีววิทยาที่ไม่ใช้ออกซิเจนแบบอื่น ๆ

2. ไม่เหมาะสมกับน้ำที่มีตะกอนแขวนลอยสูง เพราะอาจจะทำให้มีปัญหาอุดตันได้

3. ในกรณีที่ตัวกลางเป็นหิน จะทำให้จำเป็นต้องมีฐานราก (Foundation) ของโครงสร้างที่แข็งแรงใหญ่โต ทำให้สิ้นเปลืองค่าก่อสร้างเพิ่มขึ้น แต่ในกรณีที่ใช้ตัวกลางเป็นพวกวัสดุสังเคราะห์ แม้ว่าจะมีน้ำหนักเบา แต่มีข้อเสียที่ราคาแพง

4. การใช้งานในภาคปฏิบัติจริง ๆ ในปัจจุบันยังมีปัญหาเกี่ยวกับการออกแบบระบบกระจายน้ำยังทำได้ไม่ดีพอ อันมีผลทำให้เกิดการไหลลัดทาง (Short Circuit) ได้