

## บทที่ 1

### เรื่อง จุลินทรีย์ในกระบวนการทางชีวภาพ

#### 1.1 ลักษณะการดำรงอยู่ของจุลินทรีย์

1.1.1 การแบ่งประเภทของจุลินทรีย์ตามแหล่งพลังงาน และแหล่งคาร์บอนที่ใช้ จะได้

1.1.1.1 โฟโตโทรฟ (Phototrophs) เป็นจุลินทรีย์ที่ใช้พลังงานจากแสงแดด เพื่อมาใช้ในการสร้างอาหาร จุลินทรีย์ประเภทนี้จะมีคลอโรฟิลล์ เป็นรงควัตถุในการสังเคราะห์แสง แบ่งได้ 2 ชนิด ตามแหล่งคาร์บอน

1.1.1.1.1 โฟโตลิโทโทรฟ (Photolithotrophs) เป็นการใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอนและใช้พลังงานจากแสงทำให้น้ำแตกตัวเป็นไฮโดรเจนกับออกซิเจน หรือทำให้ไฮโดรเจนซัลไฟด์แตกตัวเป็นไฮโดรเจนกับกำมะถัน โดยไฮโดรเจนจะรวมตัวกับแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ได้เป็นสารประกอบอินทรีย์คาร์โบไฮเดรต ในกระบวนการนี้จะมีน้ำและสารประกอบซัลเฟอร์ในรูปรีดิวซ์เป็นตัวให้อิเลคตรอน จุลินทรีย์ประเภทนี้ เช่น แบคทีเรียประเภท Purple sulfur green sulfur bacteria และ Green sulfur bacteria เช่น *Chromatium okenii* ที่สามารถใช้ไฮโดรเจนซัลไฟด์ เป็นสารอนินทรีย์ที่ทำหน้าที่ให้อิเลคตรอน



1.1.1.1.2. โฟโตออร์แกโนโทรฟ (Photoorganotrophs) สามารถใช้พลังงาน โดยมีแหล่งคาร์บอนเป็นสารอินทรีย์ที่ทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเลคตรอน กับไฮโดรเจนและสารอินทรีย์ โดยไฮโดรเจนจะไปรวมตัวกับคาร์บอนไดออกไซด์เป็นสารประกอบคาร์โบไฮเดรต เช่น แบคทีเรียประเภท Non sulfur purple bacteria

1.1.1.2 เคมีโทรฟ (Chemotrophs) เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถใช้พลังงานจากการออกซิเดชัน และรีดักชันของสารต่างๆไปใช้สร้างสารอาหารต่างๆ ซึ่งแบ่งได้ตามแหล่งคาร์บอนดังนี้

1.1.1.2.1 เคมีลิโทโทรฟ (Chemolithotrophs) จุลินทรีย์จะใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอน โดยอนินทรีย์สารที่เข้าสู่เซลล์จะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนได้เป็นพลังงาน ที่จะนำไปทำให้โมเลกุลของน้ำแตกตัวเป็นไฮโดรเจนและออกซิเจน โดยไฮโดรเจนจะไปรวมตัวกับคาร์บอนไดออกไซด์ได้เป็นอนินทรีย์ของคาร์โบไฮเดรต ในกรณีที่อนินทรีย์สารที่เข้าสู่เซลล์เป็นไฮโดรเจนซัลไฟด์ ( $H_2S$ ) จะได้ กำมะถัน แต่ถ้าเป็นกำมะถัน (S) จะได้ซัลเฟตเกิดขึ้นตามลำดับ

1.1.1.2.2 เคมีออร์กาโนโทรฟ (Chemoorganotrophs) จุลินทรีย์จะใช้สารประกอบอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งจะถูกลดสลายด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันได้เป็นพลังงานที่จะถูกนำไปใช้ในกิจกรรมต่างๆ รวมถึงสารตัวกลางที่จำเป็นต่อการสร้างสารต่างๆของเซลล์ด้วย

1.1.2 การแบ่งประเภทของจุลินทรีย์ตามความสามารถในการสังเคราะห์อาหาร จะได้

1.1.2.1 ออโตโทรฟ (Autotrophs) จุลินทรีย์ที่สามารถสังเคราะห์อาหารได้เอง โดยการใช้อนินทรีย์สารเป็นวัตถุดิบ และมีแหล่งพลังงานจากแสงหรือปฏิกิริยาทางเคมีในกระบวนการออกซิเดชันรีดักชัน เช่น โฟโตออโตโทรฟ หรือ เคมีออโตโทรฟ ตามลำดับ

1.1.2.2 เฮเทอโรโทรฟ (Heterotrophs) เป็นจุลินทรีย์ที่ไม่สามารถสังเคราะห์อาหารเองได้ จำเป็นต้องการสารอาหารต่างๆจากภายนอก เช่น โฟโตเฮเทอโรโทรฟ และ เคมีเฮเทอโรโทรฟ

1.2. การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับคาร์บอนด้วยกระบวนการทางชีวภาพ

1.2.1 การเปลี่ยนคาร์บอนไดออกไซด์ให้เป็นอินทรีย์สาร โดยกระบวนการสังเคราะห์แสง

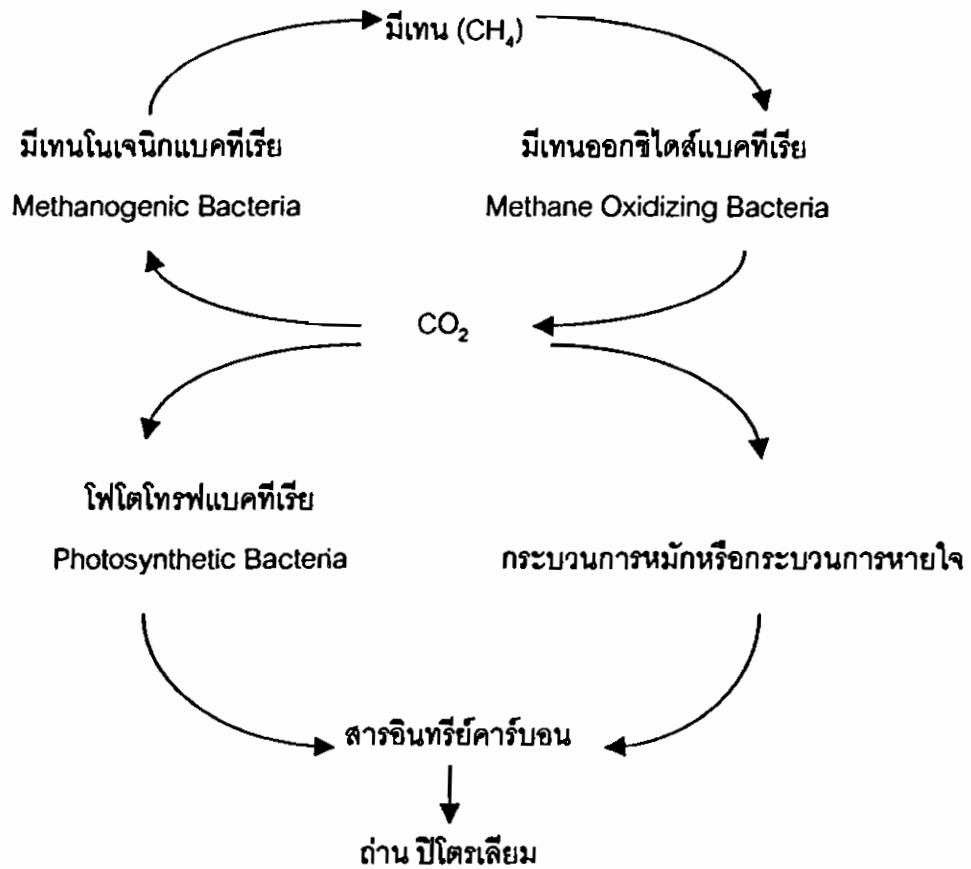
พืชและแบคทีเรียที่สังเคราะห์แสงได้หลายชนิดที่สามารถเปลี่ยน

คาร์บอนไดออกไซด์ให้เป็นอินทรีย์สารได้โดยกระบวนการสังเคราะห์แสง

1.2.2 การเปลี่ยนอินทรีย์สารโดยกระบวนการทางชีวภาพ

จุลินทรีย์และแบคทีเรียสามารถย่อยและสลายอินทรีย์สารหรือสิ่งมีชีวิตที่ตายแล้วให้เป็นแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศได้ ในขณะที่กลูโคสที่ได้จากการสังเคราะห์แสง จะเป็นสารเริ่มต้นในการเปลี่ยนแปลงเป็นอินทรีย์สารชนิดอื่นๆ ตลอดจนการสร้างพลังงานในกระบวนการ

การทางชีวภาพ ถ้าเป็นการย่อยสลายอินทรีย์สารในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน จะให้แก๊สมีเทน



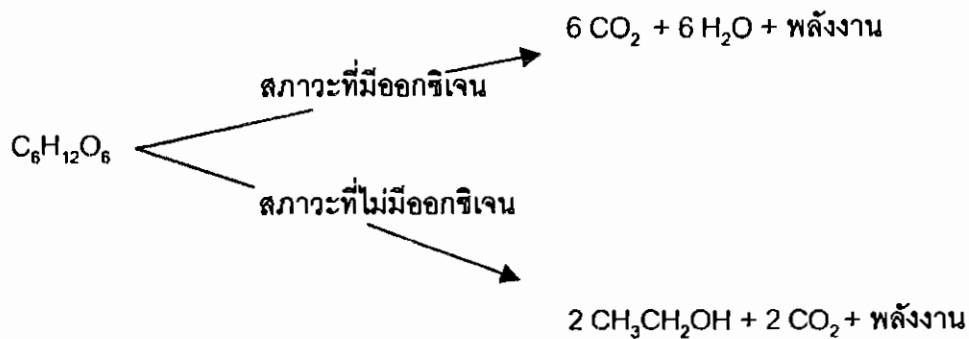
รูปที่ 1.1 แสดงวัฏจักรของคาร์บอน

### 1.2.3 การย่อยสลายเซลลูโลส

เซลลูโลสเป็นพอลิแซคคาไรด์ที่มีปริมาณมากที่สุดในธรรมชาติ ซึ่งประกอบด้วยสายตรงด้วยพันธะ  $\beta(1-4)$  ไกลโคซิดิก (glycosidic bond) เนื่องจากเซลลูโลสเป็นสารที่เป็นโมเลกุลที่ใหญ่และต่อกันเป็นสายยาวที่ไม่มีแขนง จึงทำให้ไม่ละลายน้ำ

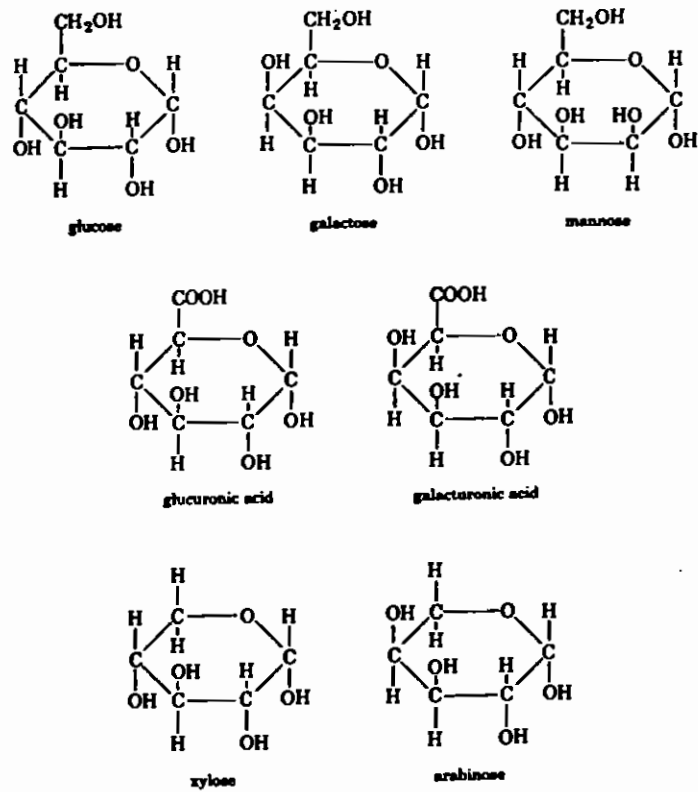


ในสภาพที่มีออกซิเจน ผลจากการย่อยสลายเซลลูโลสจะทำให้ได้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ส่วนการย่อยสลายเซลลูโลสในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน จะให้ผลผลิตที่ต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์แต่ละชนิด เช่น *Clostridium cellobioparum* จะให้ผลผลิตที่เป็นแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ แก๊สไฮโดรเจน เอทิลแอลกอฮอล์ กรดอะซิติก กรดแลคติก และกรดฟอร์มิก โดยเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยสลายเซลลูโลส คือ เอนไซม์เซลลูเลสสามารถผลิตโดยเชื้อ *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* เป็นต้น และผลที่ได้จากการย่อยสลาย คือ เซลโลทโทส (cellotetrose) เซลโลตรีโอส (cellotriose) และเซลโลไบโอส (cellobiose) ตามลำดับ



#### 1.2.4 การย่อยสลายเฮมิเซลลูโลส

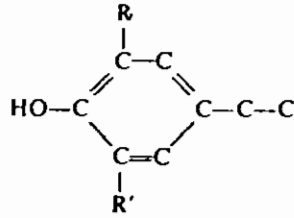
เฮมิเซลลูโลสเป็นเฮเทอโรพอลิเมอร์ (Heterogeneous polymer) ที่ประกอบด้วยน้ำตาลมอนอแซคคาไรด์หลายชนิด เช่น กลูโคส กาแลคโตส แมนโนส อะราบิโนส ไชโลส กรดกลูคูโรนิก และกรดกาแลคทูโรนิก ซึ่งเป็นอินทรีย์สารที่พบได้ในเนื้อเยื่อของพืชทั้งไม้เนื้ออ่อนและไม้เนื้อแข็ง การย่อยเฮมิเซลลูโลสจำเป็นต้องใช้การทำงานของเอนไซม์หลายชนิดร่วมกัน เช่น *Fusarium oxysporum* เป็นจุลินทรีย์ที่มีทั้งเอนไซม์ arabanase xylanase galactanase เป็นต้น



รูปที่ 1.2 แสดงสารที่เป็นองค์ประกอบของเฮมิเซลลูโลส  
ที่มา Alexander, M., 1977

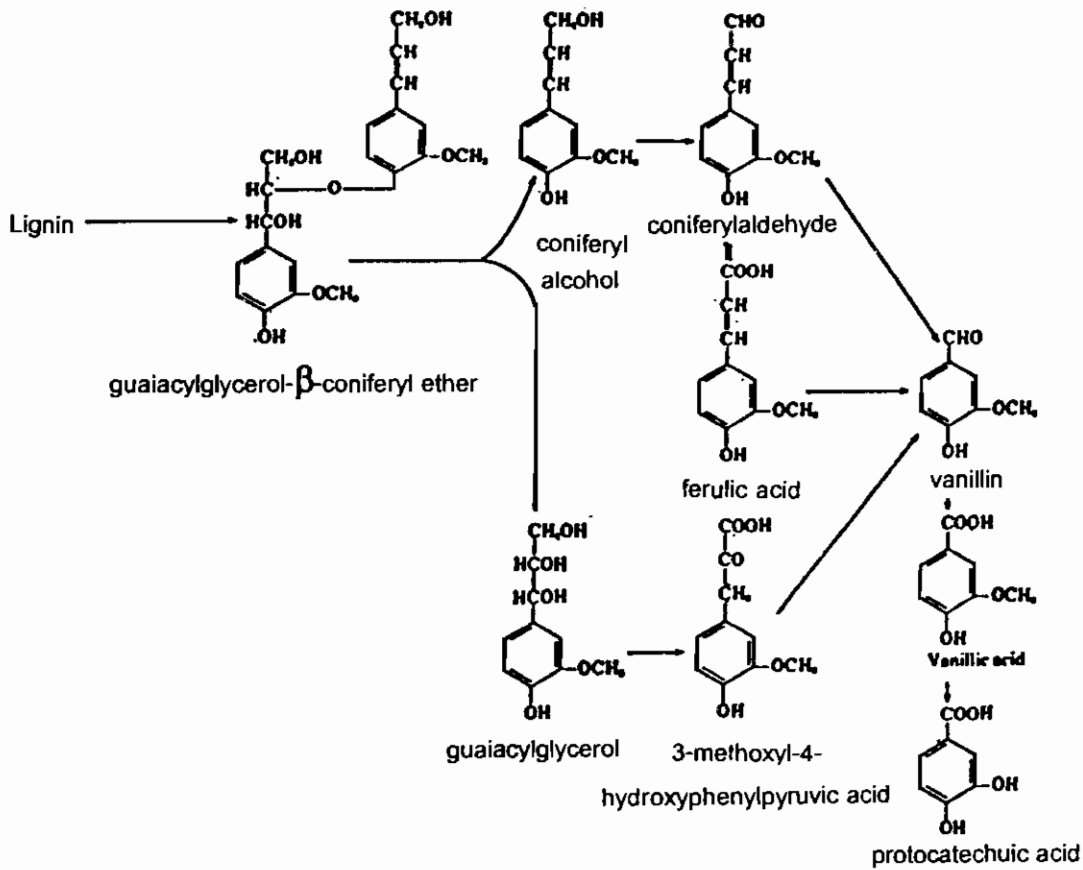
### 1.2.5 การย่อยสลายลิกนิน

ลิกนินเป็นพอลิแซคคาไรด์ที่พบในผนังเซลล์ เนื้อเยื่อ และมักพบอยู่ร่วมกับเซลลูโลส มีโครงสร้างที่เป็นอะโรมาติก โดยมีหน่วยย่อยที่มีโครงสร้างเป็นฟีนิลโพรเพน (phenylpropane, C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>) และมีหมู่ของเมทอกซิล (methoxyl group) ที่ C<sub>6</sub> ของวงเบนซีนที่เชื่อมกับ C<sub>3</sub> ของโพรพิล นอกจากนี้ยังมีหมู่อื่นที่มาเกาะบนตำแหน่งของเบนซีน เช่น ไฮดรอกซิล โดยมีจุลินทรีย์หลายชนิดที่สามารถย่อยสลายลิกนินได้ โดยเฉพาะเห็ดจะมีเอนไซม์ ligninase หรือ lignase เช่น *Agaricus spp* นอกจากนั้นยังมีเชื้อ *Cladosporium spp*, *Aspergillus spp* เป็นต้น



โดยที่ R และ R' เป็น H  
 R เป็น H และ R' เป็น OCH<sub>3</sub>  
 R และ R' เป็น OCH<sub>3</sub>

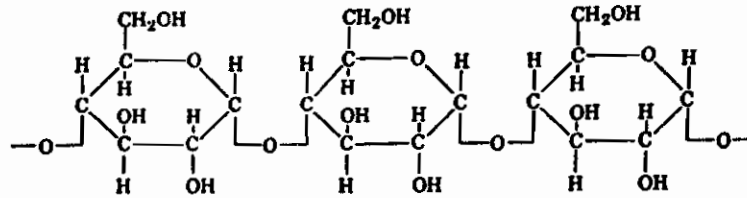
รูปที่ 1.3 แสดงโครงสร้างของลิกนิน  
 ที่มา Ken,K., 1994



รูปที่ 1.4 แสดงการย่อยสลายของลิกนินโดยจุลินทรีย์ ring opening  
 ที่มา Alexander, M., 1977

### 1.2.6 การย่อยสลายแป้ง

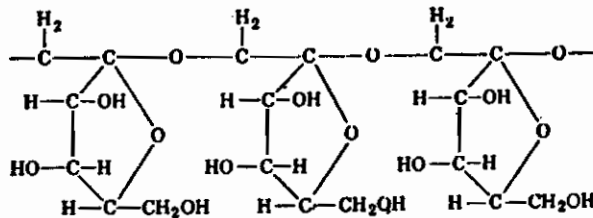
แป้งเป็นพอลิเมอร์ที่มีลักษณะที่แตกต่างกัน 2 ชนิด คือ อะมิโลส (amylose) ซึ่งประกอบด้วยกลูโคสที่ต่อกันด้วยพันธะ  $\alpha$ -(1-4) ในขณะที่อะมิโลเพคติน (amylopectin) จะต่อกันด้วยพันธะ  $\alpha$ -(1-4) เช่นกัน แต่มีแขนงแยกออกไปประมาณ 25-30 หน่วยของกลูโคสด้วยพันธะ  $\alpha$ -(1-6) ซึ่งสามารถย่อยสลายได้ด้วยเอนไซม์อะไมเลสที่ผลิตได้จากเชื้อ *Bacillus subtilis* *Aspergillus oryzae* เป็นต้น



รูปที่ 1.5 แสดงโครงสร้างของแป้ง  
ที่มา Alexander, M., 1977

### 1.2.7 การย่อยสลายอินนูลิน

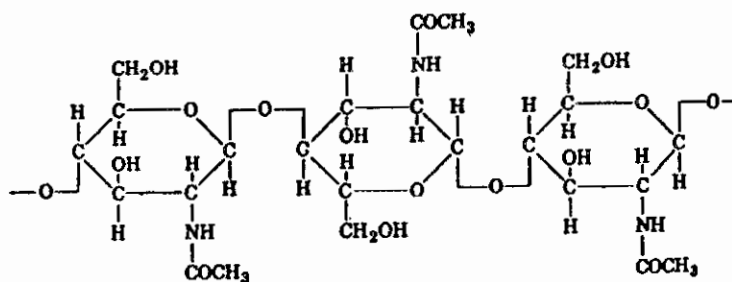
อินนูลินเป็นพอลิแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยโมเลกุลของน้ำตาลฟรุกโตส ซึ่งพบได้ในส่วนของใบ ลำต้น รากของพืช โดยอินนูลินสามารถถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์อินนูลิเนส (inulinase) หรือ 1,2-fructosanase และ 2,6-fructosanase



รูปที่ 1.6 แสดงโครงสร้างของอินนูลิน  
ที่มา Alexander, M., 1977

### 1.2.8 การย่อยสลายไคติน

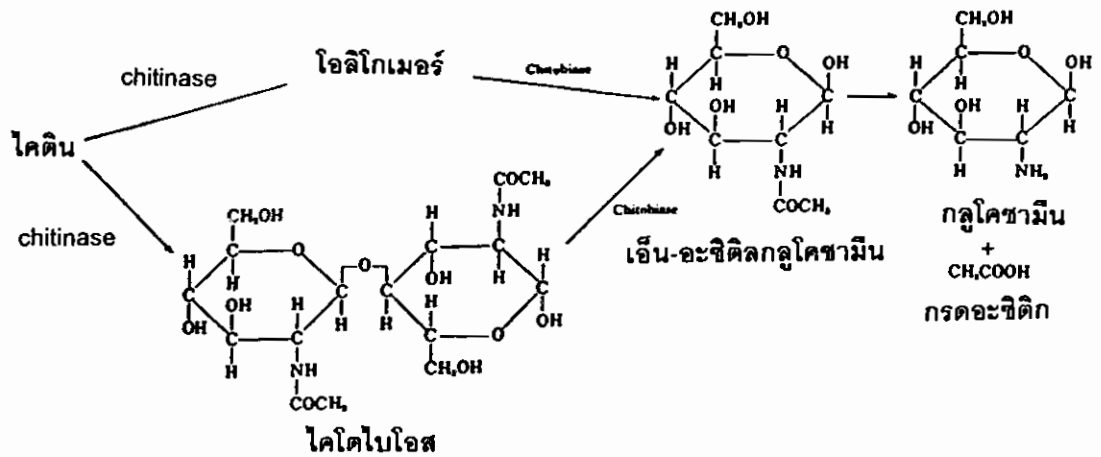
ไคติน (chitin) พบในโครงสร้างของเปลือกนอกของสัตว์จำพวก กุ้ง ปู และแมลงต่างๆ นอกจากนั้นยังพบได้ในผนังเซลล์ของเห็ดรา และสาหร่ายบางสายพันธุ์ด้วย ไคตินเป็นสารพอลิเมอร์ของน้ำตาลอะมิโน (amino sugar) ที่เรียกว่า N-acetyl-D-glucosamine โดยมีการเรียงตัวต่อกันด้วยพันธะ  $\beta$ -(1-4) ไคตินไม่ละลายในน้ำ แต่สามารถละลายได้ในสารอินทรีย์ต่างๆ และสามารถถูกย่อยสลายได้ด้วยเอนไซม์ chitinase ไคตินเป็นพอลิเมอร์ที่เป็นเส้นตรงที่มีโครงสร้างทางเคมีคล้ายกับเซลลูโลส แต่ต่างกันตรงที่หน่วยย่อยของเซลลูโลส คือ กลูโคส ส่วนหน่วยย่อยของไคติน คือ N-acetyl-D-glucosamine หรือ 2-acetamido-2-deoxy-D-glucose ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของกลูโคส ที่เรียงต่อกันด้วยพันธะ  $\beta$ -(1-4) และสามารถถูกย่อยสลายได้ด้วยเอนไซม์ โดยมีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง คือ เอนไซม์ Chitinase (EC 3.2.1.14) ซึ่งทำหน้าที่ย่อยสลายสายตรงของไคตินแบบสุ่มตรงตำแหน่งพันธะ  $\beta$ -(1-4) ทำให้ได้ N-acetylchitooligosaccharide เอนไซม์ Chitosanase (EC 3.2.1.132) ซึ่งทำหน้าที่ย่อยสลายสายของไคโตซานแบบสุ่มตรงตำแหน่ง  $\beta$ -(1-4) ทำให้ได้ chitooligosaccharide เอนไซม์ Lysozyme (EC 3.2.1.17) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่คล้ายกับเอนไซม์ chitinase เอนไซม์ N-acetylglucosaminidase (EC 3.2.1.30) และ N-acetylhexosaminidase (EC 3.2.1.52) ทำหน้าที่ย่อยสลาย N-acetylchitooligosaccharides เป็น N-acetyl-glucosamine โดยเริ่มจากปลายของสายโมเลกุล



รูปที่ 1.7 แสดงโครงสร้างของไคติน

ที่มา Alexander, M., 1977

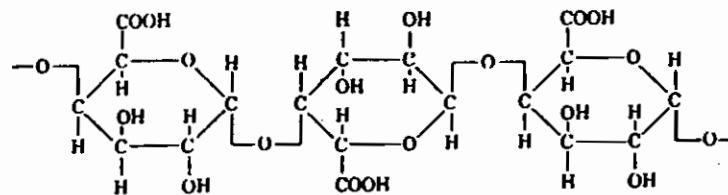




รูปที่ 1.8 แสดงการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายของไคติน  
ที่มา Alexander, M., 1977

### 1.2.9 การย่อยสลายเพคติน

เพคติน (pectic) เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์พืช ที่ประกอบด้วยกรดกาแลคทูโรนิก (galacturonic acid) และอนุพันธ์ ที่เรียงต่อกันด้วยพันธะเมทิลเอสเทอร์ ซึ่งสามารถย่อยสลายได้ด้วยเอนไซม์เพคเตท ไลเอส (pectate lyase) ซึ่งทำหน้าที่ย่อยสลายพันธะไกลโคซิลในเพคตินหรือกรดเพคติน เอนไซม์เพคตินเอสเทอเรส (pectinesterase) จะย่อยสลายหมู่เมทิลจากสารประกอบเพคติน เอนไซม์พอลิกลาแลคตูโรเนส (polygalacturonase) จะย่อยสลายพันธะไกลโคซิลในสารประกอบเพคติน



รูปที่ 1.9 แสดงโครงสร้างของเพคติน  
ที่มา Alexander, M., 1977

### 1.3. การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับไนโตรเจนด้วยกระบวนการทางชีวภาพ

ไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของสิ่งมีชีวิต เนื่องจากเป็นองค์ประกอบของโปรตีนและกรดนิวคลีอิก ทั้งในจุลินทรีย์ สัตว์ และเซลล์พืช

#### 1.3.1 การเปลี่ยนสภาพของโปรตีนเป็นอนินทรีย์ในโตรเจน

โปรตีนเป็นโครงสร้างที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน ที่สามารถถูกย่อยสลาย (proteolysis) โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์โปรติเอส (protease) เป็นเอนไซม์ประเภท exopeptidase ซึ่งย่อยพันธะเปปไทด์ของกรดอะมิโนที่อยู่ปลายข้างใดข้างหนึ่ง หรือที่ปลายทั้งสองของโปรตีน ส่วนเอนไซม์ประเภท Endopeptidase จะย่อยพันธะเปปไทด์อย่างอิสระภายในโปรตีน

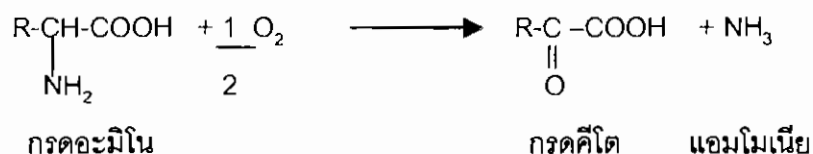


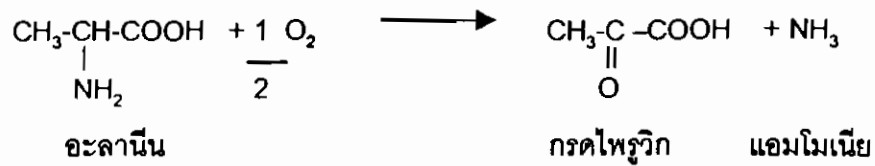
ผลสุดท้ายของการย่อยสลายโปรตีนและกรดอะมิโน จะขึ้นกับชนิดของเชื้อและสภาวะ ถ้าสภาวะของการย่อยสลายนั้นมีปริมาณออกซิเจนที่เพียงพอ จะทำให้ได้ผลผลิตเป็นแอมโมเนีย คาร์บอนไดออกไซด์และซัลเฟต แต่ถ้าเป็นสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนจะทำให้ได้แอมโมเนีย ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H<sub>2</sub>S) อินโดล (indole) เมอร์แคปแทน (mercaptan) เอมีน (amine) เป็นต้น ซึ่งเป็นสารที่ทำให้เกิดกลิ่นเหม็นเน่า

#### 1.3.2 กระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัลไลเซชัน

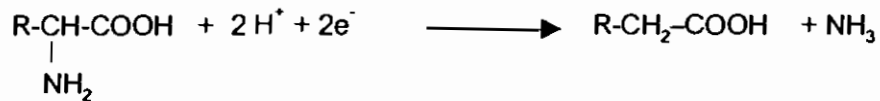
กระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัลไลเซชัน (Nitrogen Mineralization) เป็นกระบวนการที่ไนโตรเจนในรูปของสารประกอบอินทรีย์ในโตรเจน ถูกย่อยสลายและเปลี่ยนเป็นสารอนินทรีย์ในโตรเจน เช่น แอมโมเนียม โดยกรดอะมิโนที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนแล้วสามารถเปลี่ยนสภาพต่อไป โดยกระบวนการดึงหมู่อะมิโนออกจากโมเลกุลของกรดอะมิโน (Deamination) ทำให้ได้แอมโมเนีย (NH<sub>3</sub>) ด้วยกระบวนการออกซิเดชันและรีดักชัน หรือเรียกว่าปฏิกิริยาแอมมอไนฟิเคชัน (Ammonification)

ปฏิกิริยาการออกซิเดชัน เพื่อดึงหมู่อะมิโน (Oxidative deamination)

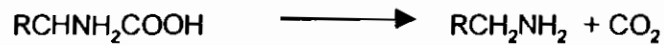




ปฏิกิริยารีดักชัน เพื่อการดึงหมู่อะมิโน (Reductive deamination)



โดยปริมาณแอมโมเนียที่เกิดขึ้นจะถูกจุลินทรีย์หรือพืชนำไปใช้ต่อไปในการเจริญ หรือการเปลี่ยนแอมโมเนียเป็นสารประกอบไนเตรตต่อไป นอกจากนี้ยังมีกระบวนการเปลี่ยนกรดอะมิโนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ ในกระบวนการดีคาร์บอกซิเลชัน (Decarboxylation) ซึ่งแสดงได้ดังนี้

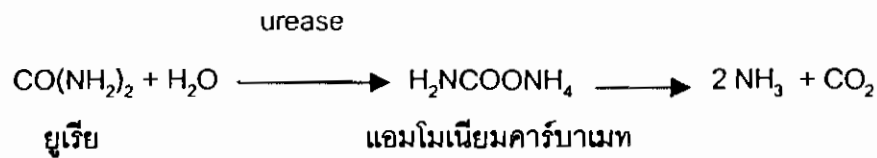


### 1.3.3 การเปลี่ยนกรดนิวคลีอิกในรูปของอนินทรีย์ในโตรเจน

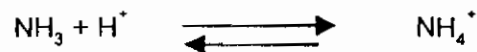
กรดนิวคลีอิกทั้งกรดไรโบนิวคลีอิก (RNA) และกรดดีออกซีนิวคลีอิก (DNA) จะมีองค์ประกอบเป็นนิวคลีโอไทด์ ที่ประกอบด้วย น้ำตาล ไรโบส ฟอสเฟต และไนโตรเจนเบส โดย DNA และ RNA สามารถถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ribonuclease (Rnase) เช่น *Bacillus* spp. *Pseudomonas* spp และ *Mycobacterium* spp และเอนไซม์ deoxyribonuclease (Dnase) เช่น *Arthrobacter* spp. *Clostridium* spp. *Fusarium* spp. เป็นต้น ส่วนไนโตรเจนที่ได้ คือ เบสพิวรีน (purine) และไพริมิดีน (pyrimidine) สามารถถูกสลายต่อได้ แอมโมเนียและยูเรีย โดย *Pseudomonas* spp. *Micrococcus* spp. *Clostridium* spp. เป็นต้น

### 1.3.4 กระบวนการย่อยสลายยูเรีย

ยูเรียที่เกิดจากกระบวนการย่อยสลายของโปรตีนหรือกรดนิวคลีอิก หรือปุ๋ยเคมี จะถูกย่อยสลายต่อเป็นแอมโมเนียได้ด้วยเอนไซม์ยูรีเอส (urease) ซึ่งได้จากเชื้อแบคทีเรีย เช่น *Bacillus spp.* *Pseudomonas spp.* และ *Mycobacterium spp.* เป็นต้น โดยการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น จะมีผลต่อความเป็นต่างที่เพิ่มขึ้น เมื่อมีการเกิดแอมโมเนียเพิ่มขึ้น



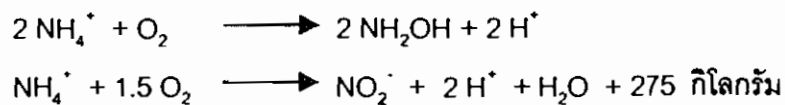
เนื่องจากแอมโมเนียที่เกิดขึ้นมักถูกเปลี่ยนเป็นเกลือของแอมโมเนียม ( $\text{NH}_4^+$ ) ในสภาพที่เป็นกลางหรือเป็นกรด โดยที่



### 1.3.5 กระบวนการไนตริฟิเคชัน

กระบวนการไนตริฟิเคชัน (Nitrification) เป็นการเปลี่ยนแอมโมเนียเป็นไนเตรต โดยอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์ ใน 2 ขั้นตอน

1.3.5.1 การเปลี่ยนแอมโมเนียเป็นสารประกอบไนไตรต์ ในกระบวนการไนเตรดิฟิเคชัน (Nitratification) โดยอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์ประเภท *Nitrosomonas spp.* เช่น *N. europaea* *N. oligocarbogenes* สามารถได้พลังงานจากกระบวนการออกซิเดชันแอมโมเนียเป็นไนไตรต์ ซึ่งเป็นสารที่อันตรายต่อพืชและจุลินทรีย์ ถ้ามีการสะสมในดินเป็นเวลานานๆ จะมีผลทำให้พืชหยุดการเจริญได้



1.3.5.2 การเปลี่ยนไนไตรต์เป็นไนเตรต ในกระบวนการไนตริฟิเคชัน (Nitrification) โดยอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์ประเภท *Nitrobacter* spp เช่น *N. agilis* *N. winogradski*



จากกระบวนการทั้ง 2 ขั้นตอน จะพบว่ากระบวนการไนตริฟิเคชันนี้จะเกิดได้ดี ในสภาพที่มีออกซิเจน และจะได้ไนเตรต ซึ่งเป็นสารอาหารของพืชและจุลินทรีย์ที่สามารถนำไปใช้ต่อไปได้

เมื่อพิจารณาจลนพลศาสตร์ของกระบวนการไนตริฟิเคชัน จะพบว่าอัตราการเจริญของ *Nitrobacter* spp สูงกว่า *Nitrosomonas* spp ดังนั้นขั้นตอนที่จำกัดในกระบวนการไนตริฟิเคชัน คือ การเปลี่ยนแอมโมเนียเป็นไนไตรต์ โดยเชื้อ *Nitrosomonas* spp ซึ่งแสดงอัตราการเจริญจำเพาะในลักษณะของสมการโมนอดได้ โดย

$$\mu = \frac{\mu_m [\text{NH}_4^+]}{K_s + [\text{NH}_4^+]}$$

โดยที่  $\mu$  เป็นอัตราการเจริญจำเพาะของ *Nitrosomonas* spp (ต่อวัน)

$\mu_m$  เป็นอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (ต่อวัน)

$[\text{NH}_4^+]$  เป็นความเข้มข้นของแอมโมเนีย (มิลลิกรัมต่อลิตร)

$K_s$  เป็นค่าคงที่ของแอมโมเนียกับ *Nitrosomonas* spp (มิลลิกรัมต่อลิตร)

อัตราการออกซิเดชันของแอมโมเนีย ( $q$ ) จะเกี่ยวข้องกับอัตราการเจริญจำเพาะของเชื้อ โดยที่

$$q = \frac{\mu}{\text{Yield}}$$

เมื่อ Yield เป็นผลได้ของการเจริญ

เมื่อพิจารณาในระบบบำบัดน้ำทิ้ง จะพบว่าปริมาณออกซิเจนจะเป็น  
พารามิเตอร์ที่จำกัดในการควบคุมการเจริญของเชื้อประเภทไนตริไฟเออร์ (Nitrifier  
Microorganism) ดังนั้นจึงสามารถดัดแปลงสมการได้ ดังนี้

$$\mu = \frac{\mu_m [NH_4^+]}{K_s + [NH_4^+]} \frac{[DO]}{K_o + [DO]}$$

เมื่อ [DO] เป็นความเข้มข้นของออกซิเจนที่ละลายได้ (mg/l)

$K_o$  เป็นค่าคงที่ของออกซิเจน โดยมีค่าประมาณ 0.15 – 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ขึ้นกับ  
อุณหภูมิ

ในกรณีที่พิจารณาว่ามีปัจจัยอื่นๆที่มีความสำคัญต่อจลนพลศาสตร์ด้วย เช่น  
อุณหภูมิ ความเป็นกรดต่าง เป็นต้น สามารถแสดงสมการที่เกิดขึ้นได้ ดังนี้

$$\mu_n = \mu_m \left( \frac{[NH_4^+] - [N]}{0.4 e^{0.118(T-15)} + [NH_4^+]} \right) \left( \frac{[DO] e^{0.095(T-15)}}{1 + [DO]} \right) (1.83) (pH_{opt} - pH)$$

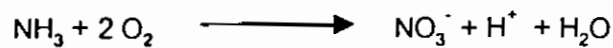
เมื่อ  $\mu_n$  เป็นอัตราการเจริญจำเพาะของจุลินทรีย์ประเภทไนตริไฟเออร์ ที่สามารถเปลี่ยนรูป  
แอมโมเนียมไปเป็นไนไตรต์และไนเตรตเทียบต่อเวลาและน้ำหนักของจุลินทรีย์ มี  
หน่วยเป็นมิลลิกรัมของ  $NO_3^- - N$  ต่อกรัมเอ็มวีเอสเอสต่อชั่วโมง

T เป็นอุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)

$pH_{opt}$  เป็นพีเอชที่เหมาะสม เท่ากับ 7.2

$\mu_m$  เป็น 0.3 ต่อวัน

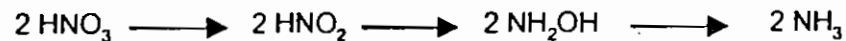
ส่วนปัจจัยที่มีต่อกระบวนการไนตริฟิเคชัน ได้แก่ สัดส่วนของแอมโมเนียต่อไนเตรต ปริมาณออกซิเจน ความเป็นกรดต่าง อุณหภูมิ สัดส่วนของ BOD<sub>5</sub> ต่อ TKN (total kjeldahl nitrogen) และปริมาณสารพิษ โดยการเจริญของเชื้อ *Nitrosomonas* spp และ *Nitrobacter* spp จะขึ้นกับปริมาณแอมโมเนียและปริมาณไนเตรตที่มีตามลำดับ ส่วนปริมาณออกซิเจนจะมีความสำคัญต่อการควบคุมกระบวนการไนตริฟิเคชัน เช่น กระบวนการให้อากาศในระบบแอกติเวทเตดสลัดจ์ ควรให้มีปริมาณออกซิเจนไม่น้อยกว่า 2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยกระบวนการออกซิไดส์แอมโมเนีย 1 มิลลิกรัม จะใช้ออกซิเจน 4.6 มิลลิกรัม

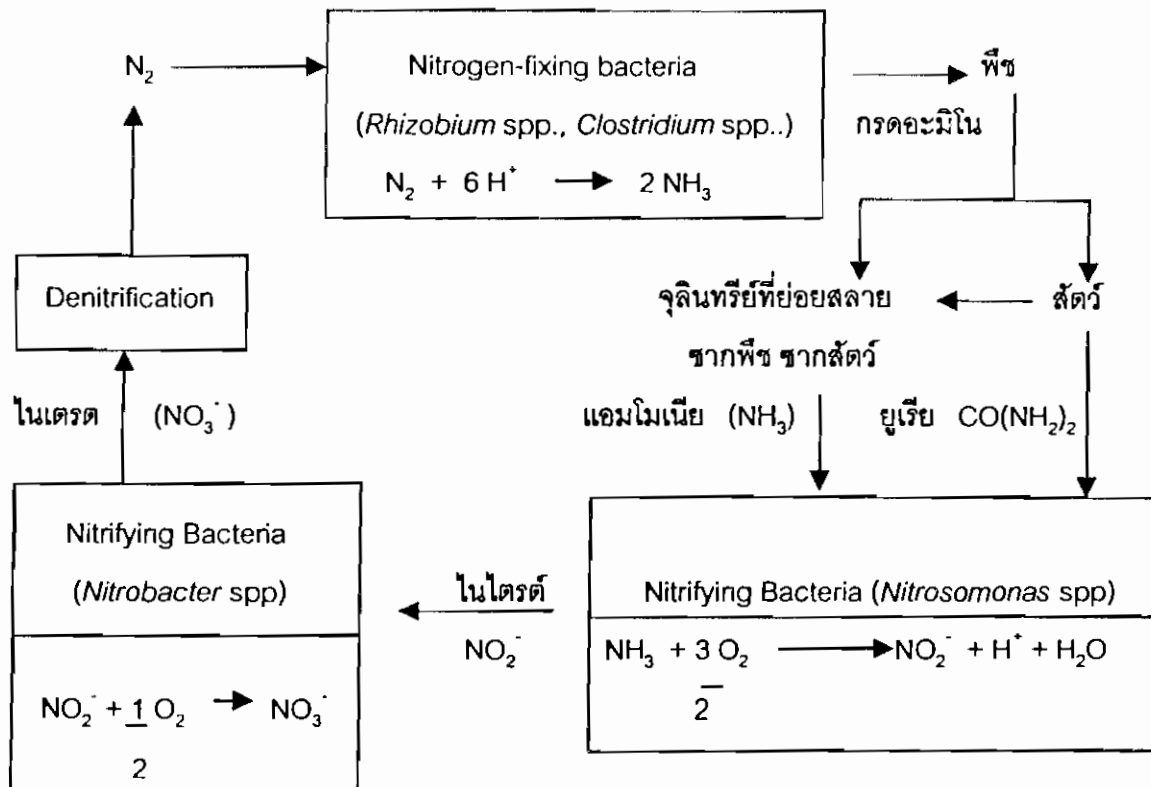


ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสมจะประมาณ 30 องศาเซลเซียส ในขณะที่ความเป็นกรดต่างจะพบว่าในกรณีของเชื้อ *Nitrosomonas* spp และ *Nitrobacter* spp จะมีพีเอชที่เหมาะสมเป็น 7.5-8.5 และกระบวนการไนตริฟิเคชัน จะหยุดเมื่อมีความเป็นกรดเท่ากับ 6

#### 1.3.6 กระบวนการรีดักชันของไนเตรตเป็นแอมโมเนีย

กระบวนการเปลี่ยนไนเตรตเป็นไนไตรต์และแอมโมเนียนั้น อาจกล่าวได้ว่าเป็นปฏิกิริยากลับกันกับกระบวนการไนตริฟิเคชัน กระบวนการนี้จะเกิดในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน โดยมีไนเตรตทำหน้าที่รับอิเล็กตรอนและไฮโดรเจนแทน และจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้อง เช่น *Agrobacterium* spp. *Azotobacter* spp. *Miceococcus* spp. *Penicillium* spp. เป็นต้น

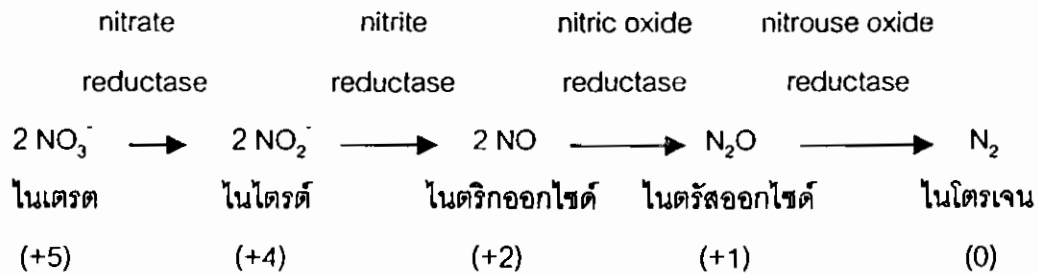




รูปที่ 1.10 แสดงวัฏจักรของไนโตรเจน

### 1.3.7 กระบวนการดีไนตริฟิเคชัน

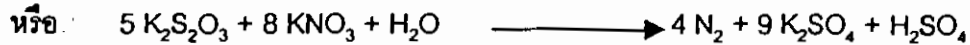
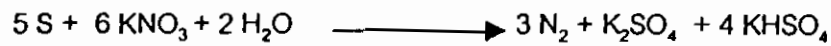
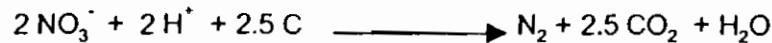
กระบวนการแปรสภาพของไนเตรตให้อยู่ในรูปของแก๊สไนโตรเจน โดยอาศัยแบคทีเรียประเภทเฮเทอโรโทรฟิก เช่น *Micrococcus denitrificans* เป็นต้น





เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของไนเตรต โดยไม่คำนึงถึงการนำไปใช้สร้าง

เซลล์



### 1.3.8 การตรึงไนโตรเจน

ถ้าแบ่งตามประเภทของการตรึงไนโตรเจน (Nitrogen Fixation)

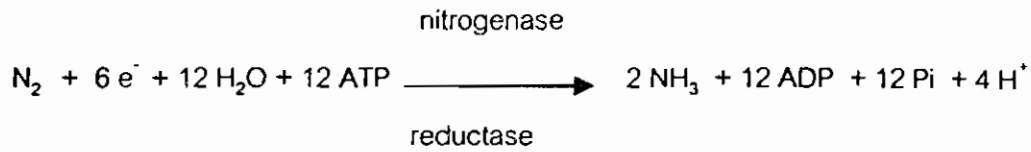
ได้เป็น

1.3.8.1 การตรึงไนโตรเจนแบบอิสระ (Nonsymbiotic Nitrogen Fixation) โดยแบคทีเรียประเภทเฮเทอโรโทรฟ เช่น *Aerobacter* spp. *Pseudomonas* spp. แบคทีเรียประเภทเคโมออโตโทรฟ เช่น *Methanobacillus* spp. สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เช่น *Anabaena* spp. *Nostoc* spp. จะสามารถตรึงไนโตรเจนได้ดีเมื่อมีแสงสว่าง โดยเฉพาะแบคทีเรีย *Azotobacter* spp. พบว่ามีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนได้สูง นอกจากนั้นยังสามารถใช้ในโตรเจนในรูปอื่นๆได้ด้วย เช่น แอมโมเนีย ไนเตรต ไนไตรท์ ยูเรีย เป็นต้น

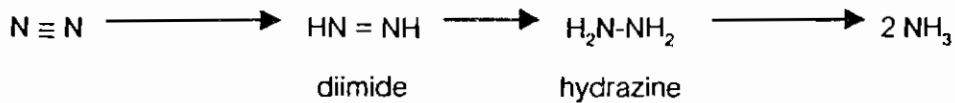
สภาวะที่มีผลต่อการตรึงไนโตรเจน จะพบว่า ปริมาณแอมโมเนีย ไนเตรต และสารประกอบไนโตรเจนอื่นๆที่มี ถ้ามีอยู่ปริมาณมาก จะทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศ เนื่องจากการใช้สารประกอบเหล่านี้สามารถใช้ได้ง่ายกว่า

1.3.8.2 การตรึงไนโตรเจนแบบอยู่ร่วมกัน (Symbiotic Nitrogen Fixation) การตรึงไนโตรเจนที่มีสิ่งมีชีวิตอย่างน้อยสองชนิดที่อาศัยอยู่ร่วมกันในลักษณะที่ให้ประโยชน์กัน เช่น การอยู่ร่วมกันของสาหร่ายกับเชื้อรา ที่เรียกว่าไลเคนส์ (Lichens) หรือแบคทีเรียประเภทไรโซเบียม (*Rhizobium*) กับพืชตระกูลถั่ว โดยไรโซเบียมจะได้รับคาร์บอนจากพืชตระกูลถั่ว ส่วนพืชตระกูลถั่วได้สารประกอบไนโตรเจนที่ไรโซเบียมสังเคราะห์ขึ้นจากแก๊สไนโตรเจน โดยไรโซเบียมที่เจริญอยู่โดยรอบรากของถั่ว จะเปลี่ยนทริปโทเฟนที่รากพืชปล่อยออกมาเป็นกรดอินโดลอะซิติก (indoleacetic acid, IAA) ซึ่ง IAA เป็นฮอร์โมนพืชที่ทำให้รากขนอ่อนม้วนตัวโดยรอบแบคทีเรียเมื่อแบคทีเรียแทรกตัวผ่านเข้าไปยังผนังเซลล์เข้าไปอยู่ระหว่างผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์แล้ว และมีการสร้างท่อเชื่อมที่เรียกว่า อินเฟกชันเทรด (infection thread) ซึ่งเป็นทางผ่านของแบคทีเรีย

ไปยังไซโทพลาสซึม นอกจากนั้นยังมีการสร้างฮอร์โมน kinetin ที่ทำให้เซลล์คอร์เท็กซ์ของรากมีการแบ่งเซลล์ที่ผิดปกติจนเกิดเป็นปมขึ้น



เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการตรึงไนโตรเจน คือ เอนไซม์ไนโตรจีเนส (nitrogenase) ซึ่งสามารถเปลี่ยนแก๊สไนโตรเจนเป็นแอมโมเนีย โดยอาศัย  $\text{Mg}^{2+}$  และพลังงานในรูปของ ATP โดยการเปลี่ยนแก๊สไนโตรเจน 1 โมล จะใช้ ATP ประมาณ 15-20 ATP ซึ่งกระบวนการดังกล่าวจะถูกควบคุมด้วยการทำงานของยีนที่เรียกว่า *nif* เนื่องจากเอนไซม์ชนิดนี้มีความไวต่อปริมาณออกซิเจน ในกรณีของเชื้อ *Azotobacter* spp พบว่ามีการผลิตสารประเภทพอลิแซคคาไรด์ ทำให้ลดการแพร่ของออกซิเจนเข้าสู่ตัวเซลล์ จึงทำให้กระบวนการเปลี่ยนแก๊สไนโตรเจนดำเนินได้ดี นอกจากนี้เอนไซม์ไนโตรจีเนส ยังต้องการโมลิบดีนัม แคลเซียม เหล็ก และฟอสฟอรัส ในกระบวนการตรึงไนโตรเจนด้วย

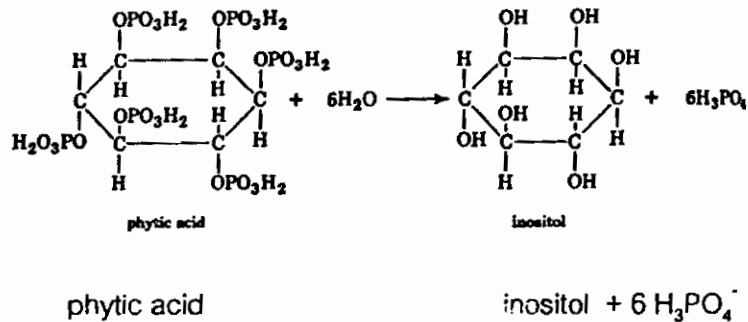


#### 1.4. การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับฟอสฟอรัสด้วยกระบวนการทางชีวภาพ

ฟอสเฟตเป็นธาตุที่จำเป็นและมีความสำคัญสำหรับการสร้างกรดนิวคลีอิก และเยื่อเมมเบรนของเซลล์ ตลอดจนถึงแหล่งพลังงาน ATP ด้วย ฟอสฟอรัสที่มีอยู่ในพืชหรือเศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของไฟติก (phytic) ซึ่งเป็นเกลือแคลเซียมหรือแมกนีเซียมของกรดไฟติก ฟอสโฟลิปิด (phospholipid) เป็นสารประกอบของฟอสฟอรัสกับลิปิด เช่น เลซิทีน (lecithin) หรือนิวคลีโอโปรตีน (nucleoprotein) เป็นสารประกอบของโปรตีนกับกรดนิวคลีอิก ซึ่งมีหมู่ฟอสเฟตรวมอยู่ด้วย

#### 1.4.1 กระบวนการเปลี่ยนอินทรีย์ฟอสฟอรัสเป็นอนินทรีย์ฟอสฟอรัสทางชีวภาพ

กระบวนการเปลี่ยนอินทรีย์ฟอสฟอรัสเป็นอนินทรีย์ฟอสฟอรัสทางชีวภาพหรือฟอสฟอรัสมินอรัลไลเซชัน (P-mineralization) ที่อาศัยการทำงานของจุลินทรีย์นั้น จะพบว่าอินทรีย์ฟอสเฟตที่อยู่ในรูปของกรดนิวคลีอิกจะสามารถแปรสภาพได้ง่ายกว่าไฟติน โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ phosphatase ในการย่อยสลายกรดนิวคลีอิกให้ได้นิวคลีโอไทด์และฟอสเฟต แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพการทำงานด้วย เช่น ความเป็นกรดต่าง อุณหภูมิ ความชื้น เป็นต้น ส่วนการเปลี่ยนสภาพของไฟตินจะอาศัยการทำงานของเอนไซม์ phytase ซึ่งพบได้ในจุลินทรีย์หลายชนิด เช่น *Aspergillus* spp. *Rhizopus* spp. เป็นต้น ซึ่งทำหน้าที่ย่อยสลายฟอสเฟตเอสเทอร์เกลือของกรดไฟติก (phytic acid) ทำให้ได้ inositol และ orthophosphate



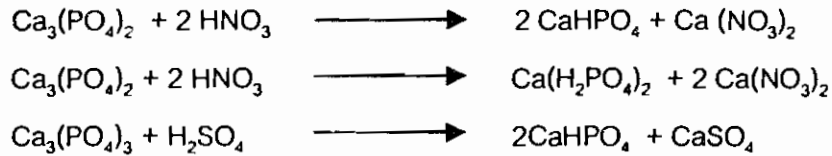
รูปที่ 1.11 แสดงโครงสร้างของกรดไฟติก

ที่มา Alexander, M., 1977

#### 1.4.2 การเปลี่ยนสภาพอนินทรีย์ฟอสฟอรัส

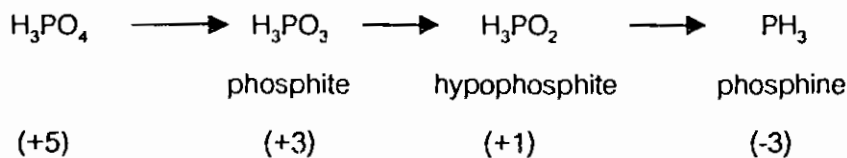
อนินทรีย์ฟอสฟอรัสส่วนใหญ่มักอยู่ในรูปที่ไม่ละลายน้ำ เช่น เกลือของอะลูมิเนียม แคลเซียม เหล็ก เป็นต้น เช่น ไฮดรอกซีอะพาไทต์ (hydroxyapatite,  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) วิเวียนไนต์ (vivianite,  $\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8 \text{H}_2\text{O}$ ) วาริสไซต์ (variscite,  $\text{AlPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ ) เพื่อให้ได้สภาพฟอสฟอรัสที่ละลายได้ จุลินทรีย์จะผลิตกรดอินทรีย์ เช่น กรดแลคติก กรดซิตริก หรือกรดอินทรีย์ เช่น กรดซัลฟูริก กรดไนตริก ขึ้นมา เพื่อทำปฏิกิริยากับสารอนินทรีย์ฟอสเฟต ให้ได้ฟอสฟอรัสในรูปที่ละลายน้ำได้ เช่น การใช้จุลินทรีย์ประเภท *Thiobacillus* spp. เปลี่ยนกำมะถัน

ให้เป็นกรดซัลฟูริก เพื่อเปลี่ยนสารอนินทรีย์ของแคลเซียมฟอสเฟตเป็นฟอสเฟตที่ละลายน้ำได้ ซึ่งอยู่ในสภาพที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ง่าย หรือการใช้จุลินทรีย์ประเภท *Nitrosomonas* spp. ที่สามารถผลิตกรดไนตริก *Nitrobacter* spp. ที่ผลิตกรดไนตริก เป็นต้น ซึ่งแสดงได้ด้วยปฏิกิริยาดังนี้



#### 1.4.3 การเปลี่ยนสภาพออกซิเดชันและรีดักชันของสารอนินทรีย์ฟอสฟอรัส

ฟอสฟอรัสที่พบมีสภาพออกซิเดชันได้หลายสภาพ เช่น -3 (phosphine,  $\text{PH}_3$ ) หรือ +5 (orthophosphate,  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) โดยการเปลี่ยนสภาพออกซิเดชันของฟอสฟอรัสจะทำให้ฟอสฟอรัสอยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้ดียิ่งขึ้น โดยแบคทีเรียประเภท *Clostridium butyricum* *E.coli* เป็นต้น



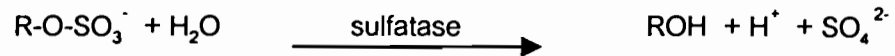
การเปลี่ยนแปลงสภาพของฟอสเฟตจะไม่เกิดขึ้น ถ้าในสภาพดังกล่าวมีไนเตรตหรือซัลเฟตอยู่ ทั้งนี้เพราะไนเตรตและซัลเฟตสามารถเป็นตัวรับอิเล็กตรอนได้ดีกว่า เนื่องจากมีสภาพออกซิเดชันที่สูงกว่า

#### 1.5. การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับกำมะถันด้วยกระบวนการทางชีวภาพ

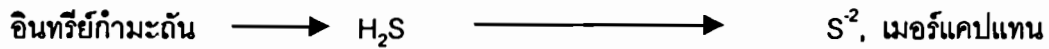
##### 1.5.1 กระบวนการเปลี่ยนอินทรีย์กำมะถันเป็นอนินทรีย์กำมะถันทางชีวภาพ

การแปลงสภาพของอินทรีย์กำมะถันเป็นอนินทรีย์ หรือซัลเฟอร์มิเนอรัลไลเซชัน (S-mineralization) โดยจุลินทรีย์นั้น จะมีลักษณะและขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงขึ้นอยู่กับปริมาณออกซิเจนที่มี ในกรณีที่มีปริมาณออกซิเจนที่เพียงพอ กระบวนการเปลี่ยนอินทรีย์กำมะถัน โดย

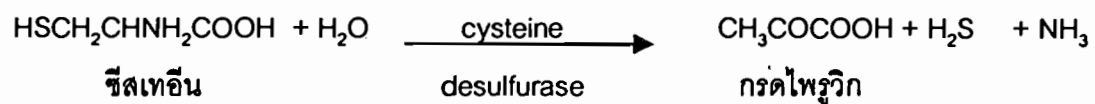
อาศัยเอนไซม์ sulfatase สามารถสลายพันธะซัลเฟตเอสเทอร์ ได้แก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์และกำมะถันในรูปของซัลเฟต ซึ่งแสดงได้ดังนี้



ในกรณีที่มีปริมาณอากาศไม่เพียงพอ จะพบว่าเกิดกำมะถันในรูปของซัลไฟด์ หรือสารประกอบเมอร์แคปแทน (mercaptan) ดังนี้

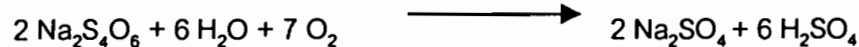
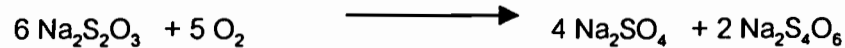
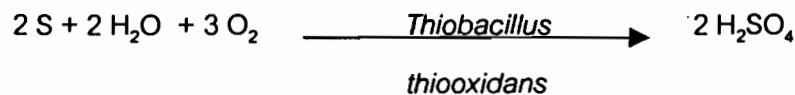
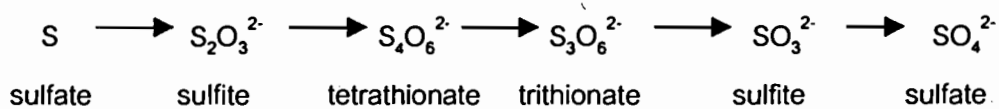


การย่อยสลายของกรดอะมิโน เช่น เมไทโอนีน ซีสทีน ซีสเทอีน ซึ่งจะทำได้ไฮโดรเจนซัลไฟด์ โดยที่

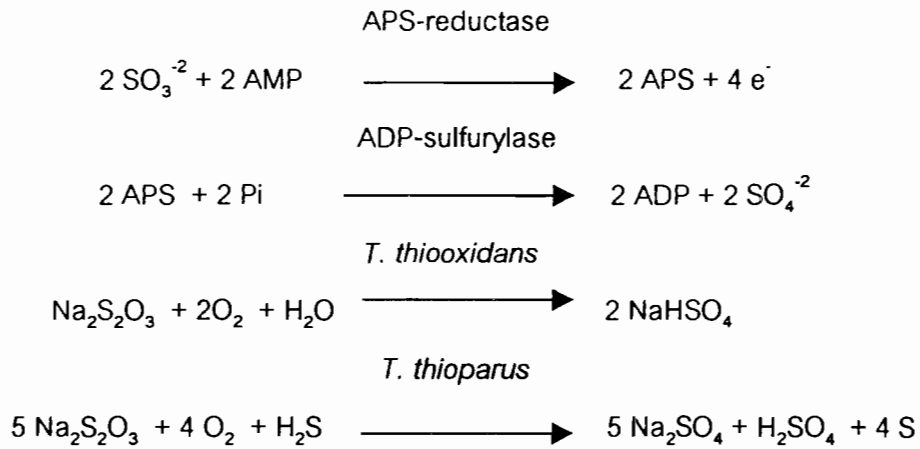


### 1.5.2 การเปลี่ยนแปลงสภาพออกซิเดชันของกำมะถัน

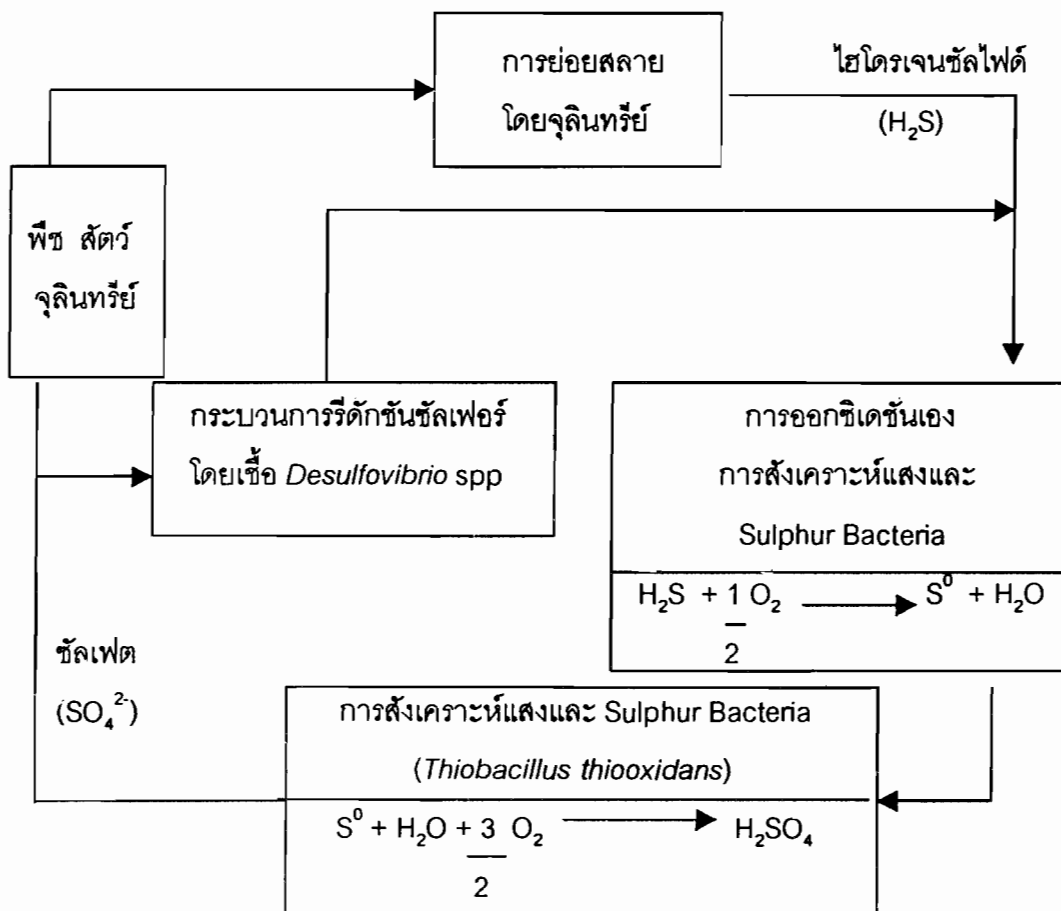
การเปลี่ยนแปลงสภาพออกซิเดชันของกำมะถัน หรือสารประกอบกำมะถันเพื่อให้ได้สารประกอบซัลเฟตหรือกรดซัลฟูริกด้วยเชื้อจุลินทรีย์ภายใต้สภาพที่มีออกซิเจน เช่น *Thiobacillus* spp. *Chromatium* spp. *Sulfolobus* spp. เป็นต้น



การออกซิไดซ์ซัลไฟด์หรือไฮโอซัลเฟตเป็นซัลเฟต โดยการทำงานของเชื้อ *Thiobacillus spp*



เมื่อ APS เป็น adenosine-5-phosphosulfate



รูปที่ 1.12 แสดงวัฏจักรของกำมะถัน

### 1.5.3 การรีดิวซ์ซัลเฟต

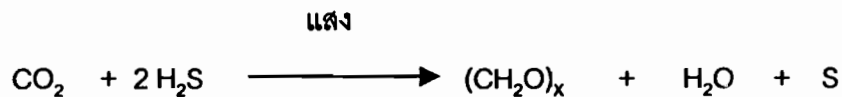
การรีดิวซ์ซัลเฟตเป็นไฮโดรเจนซัลไฟด์ โดยซัลเฟตรีดิวซิงแบคทีเรียหรือ เซลซาร์บี (sulfate reducing bacteria, SRB) เช่น *Desulfovibrio* spp, *Desulfomonas* spp, *Desulfococcus* spp. ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน จึงใช้ซัลเฟตทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอนสุดท้าย



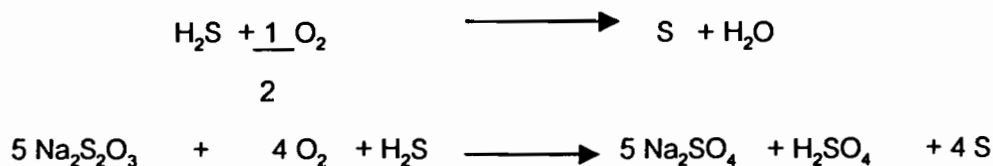
ไฮโดรเจนซัลไฟด์เป็นสารที่เป็นพิษต่อเซลล์ที่มีชีวิต และมีความเป็นกรดที่สามารถทำปฏิกิริยากับโลหะหนัก เช่น เหล็ก สังกะสี เป็นต้น ทำให้ได้เกลือของโลหะซัลไฟด์ที่ไม่ละลายน้ำ เช่น เหล็กซัลไฟด์ สังกะสีซัลไฟด์ ที่จะตกตะกอนในดิน

### 1.5.4 การรีดิวซ์ซัลไฟด์

ไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่ได้จากการรีดิวซ์ซัลเฟตและจากการย่อยสลายของกรดอะมิโนจะถูกออกซิไดซ์ต่อไปเป็นธาตุกำมะถันได้ โดยอาศัยแบคทีเรียที่สังเคราะห์แสงได้ เช่น *Chromatium* spp. และ *Chlorabium* spp. เป็นต้น



ถ้าเป็นการเปลี่ยนที่เกิดขึ้นในสภาวะที่มีออกซิเจน โดยเชื้อ *Thiobacillus* spp. จะได้



## 1.6 การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับสารประกอบของเหล็ก ด้วยกระบวนการทางชีวภาพ

### 1.6.1 การออกซิเดชันเฟอร์รัส

การออกซิเดชันเฟอร์รัสโดยการเปลี่ยนเฟอร์รัสเป็นเฟอร์ริกในสภาพที่มีออกซิเจน เช่น การออกซิไดส์เหล็กในรูปไพไรต์โดยเชื้อ *Thiobacillus ferrooxidans* ที่พีเอชในช่วง 2.0-4.5



### 1.6.2 การเปลี่ยนสภาพของเหล็กเป็นสารประกอบที่ไม่ละลายน้ำ

แบคทีเรียประเภทเฮเทอโรโทรฟ เช่น *Aerobacter* spp. สามารถใช้สารเฟอร์ริกแอมโมเนียมซิเตรต (ferric ammonium citrate) เป็นแหล่งพลังงาน โดยการย่อยสลายของสารดังกล่าว ทำให้ได้เฟอร์ริกไฮดรอกไซด์ (ferric hydroxide) ซึ่งเป็นสารที่ไม่ละลายน้ำ

