กว่าร้อยละ 70 ของก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นในระบบบำบัดของเสียแบบไม่ใช้อากาศ มาจาก กรดอะซิติก เนื่องจากอัตราการเจริญเติบโตที่ช้า ส่งผลให้จำนวนของจุลินทรีย์ในกลุ่มมีเธน แบกทีเรียมีปริมาณต่ำ ทำให้ขั้นตอนการเปลี่ยนกรดอะซิติกไปเป็นมีเธน เป็น rate-limiting step ของการเกิดก๊าซชีวภาพจากของเสียหลายๆชนิด งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการเพิ่มปริมาณของ กลุ่มจุลินทรีย์ที่ผลิตมีเธนโดยการทำ enrichment เพื่อเร่งปฏิกิริยาการใช้กรดอะซิติกเป็นมีเธน enriched culture ถูกนำมาทดสอบการใช้กรดอะซิติกที่ความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบกับจุลินทรีย์ ที่มาจากระบบการบำบัดที่ไม่ผ่านการ enrichment และศึกษาผลการเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายกรด โพรพิออนิกในการเกิดมีเธนด้วย

ในการเพิ่มจำนวนมีเธนแบคทีเรียในจุลินทรีย์ผสมจากถังปฏิกรณ์ผลิตก๊าซชีวภาพโดยทำการ enrichment ใช้วิธีการทำให้เจือจาง (dilution method) และ enriched culture technique ในอาหารเหลว basal media ชนิคต่างๆที่มีกรดอะซิติกอยู่ 15 มิลลิโมลาร์ เป็นแหล่งของคาร์บอนภายหลังการถ่ายเชื้อหลายครั้ง ได้ enriched acetoclastic methanogen ในสูตรสารอาหารที่เหมาะสม คือ DF และมีจำนวนเพิ่มขึ้นเป็น 1×10<sup>8</sup> เซลต่อมิลลิลิตร เมื่อเทียบกับ 2×10<sup>4</sup> เซลต่อมิลลิลิตรใน mixed culture มีเธนแบคทีเรียที่ enriched ได้นั้นเรื่องแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร ภายใต้กล้องฟลูออเรสเซนต์ (fluorescence microscopy) เซลมีรูปร่างเป็นท่อนยาว ปลายหัวท้ายตัดเจริญได้ในกรดอะซิติกและให้ก๊าซมีเธนและคาร์บอนไดออกไซด์ เชื้อที่ได้มีลักษณะเหมือนกับ Methanosaeta sp. (Methanothrix sp.)

เมื่อจำนวนของจุลินทรีย์ที่ผลิตมีเธนในจุลินทรีย์ผสมมีจำนวนมากขึ้น ช่วยเร่งการเปลี่ยน
กรดอะซิติกเป็นมีเธน และลดผลการยับยั้งของกรดอะซิติกที่มีต่อกลุ่มจุลินทรีย์ที่ผลิตมีเธน โดยที่
การใช้กรดอะซิติกใน enriched culture ไม่เห็นผลยับยั้งเมื่อความเข้มข้นของกรดอะซิติกสูงถึง 120
มิลลิโมลาร์ ในขณะที่ใน mixed culture ถูกยับยั้งเมื่อความเข้มข้นของกรดอะซิติกสูงกว่า 70 มิลลิโมลาร์ นอกจากนี้กรดอะซิติกเป็นกรดอินทรีย์ที่มีความสำคัญในการยับยั้งการย่อยสลายกรด
โพรพิออนิก ที่ความเข้มข้นของกรดอะซิติกสูงกว่า 3 มิลลิโมลาร์สามารถยับยั้งการย่อยสลายกรด
โพรพิออนิก ที่ความเข้มข้นของกรดอะซิติกสูงกว่า 3 มิลลิโมลาร์สามารถยับยั้งการใช้กรดโพรพิ
ออนิกเป็นมีเธน ทำให้มีการสะสมกรดพวกนี้อยู่ เมื่อจุลินทรีย์ที่ใช้กรดอะซิติกมีจำนวนมาก โดย
ใช้เชื้อจุลินทรีย์ผสมร่วมกับจุลินทรีย์ enriched กรดอะซิติกถูกดึงไปใช้ได้อย่างรวดเร็วทำให้การ
ย่อยสลายกรดโพรพิออนิกเป็นไปอย่างรวดเร็วด้วย ดังนั้นในการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ที่ผลิตมีเธน
ในจุลินทรีย์ผสมให้มีมากขึ้น ช่วยเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนกรดอะซิติกเป็นก๊าซชีวภาพ ลดผลการ
ยับยั้งของกรดอะซิติกที่มีต่อกลุ่มจุลินทรีย์ที่ผลิตมีเธนและจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายกรดโพรพิออนิก
และทำให้ระบบทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ

More than 70 percent of methane gas generated in anaerobic digestion process are attributable to acetic acid; therefore, the methanogenic population existing in the system is extremely crucial. However, methanogens are notorious for its slow growth, resulting in a relatively small population size. The conversion from acetic acid to methane gas, hence, becomes the rate-limiting step of the biogas production from various types of wastes. Consequently, the main objective of this research was to increase methanogenic population by the method of enrichment for enhancement of acetoclastic methanogenesis. The utilization of the enriched culture at various concentration of acetic acid were observed and compared with that of the mixed culture without enrichment from anaerobic digestor. The degradation of propionic acid was also studied.

An increase of methanogenic bacteria from the anaerobic digestor was succeeded in enrichment by the dilution method and culture enrichment technique in various basal medium supplemented with 15 mM acetic acid as sole carbon source. After many consecutive transfers, acetoclastic methanogen was enriched from the DF media containing  $1\times10^8$  cells/ml compared with  $2\times10^4$  cells/ml in the mixed culture. The enriched culture was fluoresced when illuminated at 420 nanometer. The cells were rod-shaped with flat ends and utilized acetate to methane and carbon dioxide. These characteristics were similar to *Methanosaeta* sp. (*Methanothrix* sp.).

An increase of acetoclastic methanogen accelerated acetic acid conversion to methane gas and alleviated acetic acid inhibition on methanogenic bacteria. Acetic acid utilization in acetoclastic enrichment culture still increased with increasing acetic acid to 120 mM whereas that in mixed culture reduced when acetic acid exceeded 70 mM. In addition, propionic acid degradation was retarded and accumulated in the system when the produced acetic acid from the breakdown of propionic acid was exceeded 3 mM. The increasing of acetoclastic methanogens in mixed culture inoculum accelerated the propionic acid degradation when acetic acid concentration was immediately removed. It was noted that an increase in methanogenic bacteria enhanced acetoclastic methanogenesis, alleviated acetic acid inhibition on both methanogen and propionate-utilizing bacteria, and improved the performance of the system.