



การศึกษาการผลิตก๊าซชีวภาพจากหญ้าหมักร่วมกับของเสียจากฟาร์มสุกร



รุ่งตะวัน ปันทะวงศ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2558

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม

ชื่อเรื่อง

การศึกษาการผลิตก๊าซชีวภาพจากหญ้าหมักร่วมกับของเสียจากฟาร์มสุกร

โดย

รุ่งตะวัน ปันทะวงศ์

พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รूपน ชื่นบาล)

วันที่ 4 เดือน สิงหาคม พ.ศ. 2558

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริภรณ์ ชื่นบาล)

วันที่ 4 เดือน สิงหาคม พ.ศ. 2558

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(อาจารย์ ดร.ศรียาณูจนา คล้ายเรือง)

วันที่ 4 เดือน สิงหาคม พ.ศ. 2558

ประธานอาจารย์ประจำหลักสูตร

(อาจารย์ ดร.มูจลินทร์ ผลจันทร์)

วันที่ 4 เดือน สิงหาคม พ.ศ. 2558

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จาดุพงษ์ วาสุทธิ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 6 เดือน สิงหาคม พ.ศ. 2558

ชื่อเรื่อง	การศึกษาการผลิตก๊าซชีวภาพจากหญ้าหมักร่วมกับของเสียจากฟาร์มสุกร
ชื่อผู้เขียน	นางสาวรุ่งตะวัน ปันทะวงศ์
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ฐปน ชื่นบาล

บทคัดย่อ

การศึกษานี้ได้คัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติก (Lactic Acid Bacteria, LAB) จากอาหารหมักคองของภาคเหนือ และพืชอาหารสัตว์หมัก โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร MRS และ M17 Agar ซึ่งสามารถคัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติกได้จำนวน 137 ไอโซเลท จากนั้นศึกษาการเจริญและการผลิตกรดแลคติกของแบคทีเรียในน้ำหมักสกัด โดยใช้ปริมาณเชื้อตั้งต้นที่ 10^4 CFU/มิลลิลิตร บ่มในสภาวะไร้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำเซลล์แขวนลอยมาวัดการเจริญของแบคทีเรียโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร และปริมาณกรดแลคติก ผลการศึกษาพบว่า สามารถคัดเลือกแบคทีเรียกรดแลคติกได้จำนวน 11 ไอโซเลท ที่สามารถเจริญได้ดีในน้ำหมักสกัด ($OD_{600}=0.508-0.593$) โดยผลิตกรดแลคติกได้ประมาณร้อยละ 1.7-2.1 และเมื่อจำแนกแบคทีเรียด้วยวิธีการหาลำดับเบสของดีเอ็นเอในส่วน 16S rRNA พบว่าสามารถแยกได้ 3 จินัส จัดออกเป็น 4 สปีชีส์ คือ *Enterococcus gallinarum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis* และ *Pediococcus pentosaceus* โดยคัดเลือกแบคทีเรียที่เจริญได้ดีและผลิตกรดแลคติกได้สูงจำนวน 3 สายพันธุ์เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของหญ้ารูซี่ หญ้ากินนี หญ้าขน และหญ้านคา พบว่า หญ้าขนมีค่าวัตถุแห้งอยู่ที่ร้อยละ 25.67 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสมต่อการหมัก ในขณะที่หญ้ารูซี่ หญ้ากินนี และหญ้านคามีค่าวัตถุแห้งที่ร้อยละ 24.72, 22.72 และ 31.75 ตามลำดับ ซึ่งหญ้ารูซี่ หญ้ากินนี หญ้าขน และหญ้านคา มีปริมาณเชื้อยีส ADF ที่ร้อยละ 25.66, 27.46, 26.71 และ 37.36 และมีปริมาณเชื้อยีส NDF ที่ร้อยละ 55.29-72.72 จากนั้นทำการหมักหญ้าขนร่วมกับแบคทีเรียสายพันธุ์ *L. plantarum* 107, *P. pentosaceus* 115 และ *L. plantarum* 309 ที่ 10^6 CFU/g ของวัสดุหมัก เป็นเวลา 30 วัน ในสภาวะไร้ออกซิเจน ผลการศึกษา พบว่า หญ้าขนที่ปรับสภาพด้วยแบคทีเรียสายพันธุ์ *L. plantarum* 107 มีคุณภาพของหญ้าหมักดีโดยมีค่าวัตถุแห้ง ปริมาณเชื้อยีส ADF และปริมาณเชื้อยีส NDF อยู่ที่ร้อยละ 18.94, 20.86 และ 50.70 ตามลำดับ

จากการศึกษาศักยภาพในการผลิตก๊าซมีเทนจากการหมักร่วมระหว่างน้ำเสียจากสุกรและหญ้าขนหมักในระดับห้องปฏิบัติการ นำหญ้าขนที่ปรับสภาพด้วยแบคทีเรียสายพันธุ์ *L. plantarum* 107 จากนั้นศึกษาอัตราส่วนการหมักร่วมที่เหมาะสมโดยใช้ชุดการทดลองขนาด 1 ลิตร (ปริมาตรการหมัก 800 มิลลิลิตร) ระหว่างน้ำเสียจากสุกรและหญ้าขนหมักที่อัตราส่วน 50:50, 60:40 และ 70:30 วัดปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้นทุกวันจนสิ้นสุดปฏิกิริยา ผลการศึกษาพบว่า การหมักร่วมของเสียจากสุกรและหญ้าขนหมักที่อัตราส่วน 50:50, 60:40 และ 70:30 สิ้นสุดปฏิกิริยาการเกิดก๊าซที่ 36, 34 และ 31 วัน ซึ่งสามารถผลิตก๊าซมีเทนเท่ากับ 353.7, 349.1 และ 377.6 มิลลิลิตร CH_4 /กรัม VS_{added} และมีศักยภาพในการย่อยสลายสารอินทรีย์ให้ก๊าซมีเทนที่ร้อยละ 41.24 , 42.16 และ 42.64 ตามลำดับ จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าการหมักร่วมระหว่างน้ำเสียจากสุกรและหญ้าขนหมักในอัตราส่วน 70:30 มีประสิทธิภาพในการผลิตก๊าซมีเทนสูงสุด และมีระยะในการหมักที่สั้นที่สุด

จากนั้นศึกษาประสิทธิภาพการผลิตก๊าซมีเทนระหว่างน้ำเสียจากฟาร์มสุกรร่วมกับหญ้าขนหมักในสภาวะไร้ออกซิเจนโดยใช้อัตราส่วนที่ 70:30 ที่ระยะเวลาเก็บกัก 15, 20 และ 25 วัน ผลการศึกษาพบว่า ที่ระยะเวลากักเก็บที่ 15, 20 และ 25 วัน มีประสิทธิภาพในการกำจัดค่าซีโอดีที่ร้อยละ 45.5, 37.3 และ 34.2 และประสิทธิภาพในการกำจัดค่าของแข็งระเหยง่ายที่ร้อยละ 47.3, 43.7 และ 43.4 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อพิจารณาการผลิตก๊าซมีเทนพบว่า ที่ระยะเวลาเก็บกัก 15 วัน สามารถผลิตก๊าซมีเทนได้สูงสุดที่ 3,852 มิลลิลิตร CH_4 /กรัม VS_{added} และที่ระยะเวลาเก็บกักที่ 20 และ 25 วัน ผลิตก๊าซมีเทนได้ที่ 3,540 และ 3,466 มิลลิลิตร CH_4 /กรัม VS_{added} ตามลำดับ

Title	Study on Biogas Production from Co-Digestion of Grass Silage Mixed with Swine Waste
Author	Miss Rungtawan Pantawong
Degree of	Master of Science Program in Environmental Technology
Advisory Committee Chairperson	Assistant Professor Dr. Tapan Cheunbarn

ABSTRACT

In this study, lactic acid bacteria (LAB) were isolated from northern Thai traditional fermented foods and grass silage using MRS and M17 agar as selective media. A total of 137 isolated LAB were obtained. Growth and lactic acid production of bacterial isolates were investigated in grass extract medium at an initial quantity of 10^4 CFU/ml of LAB which were then inoculated in grass extract broth at an anaerobic condition of 37 °C for 48 h. Bacterial growth was measured by optical density at 600 nm and using standard titration method. Results indicated that 11 LAB isolates showed satisfactory growth in grass extract (OD 0.5-0.6) by producing 1.7-2.1% of lactic acid. These bacterial isolates were then identified by base sequencing of their 16S rRNA genes and were found that they belong to 3 genera comprising of 4 species: *Enterococcus gallinarum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis* and *Pediococcus pentosaceus*. From these, 3 isolates were selected for further study.

From the laboratory chemical analysis using *Brachiaria ruziziensis* (BR), *Panicum maximum* (PM), *Brachiaria mutica* (BM) and *Imperata Cylindrical Beauv* (IB), it was found that BM with 25.67% dry matter, was considered suitable for fermentation, Meanwhile, dry matter content of BR, PM and IB were shown at 24.72, 22.72 and 31.75 %, respectively, ADF of 25.66, 27.46, 26.71 and 37.36%, were obtained from BR, PM, BM and IB, respectively, while their NDF content was found to range from 55.29-72.72%. BM was then fermented with addition of *L. plantarum* 107, *P. pentosaceus* 115 and *L. plantarum* 309 as bacterial inoculum (10^6 CFU/ g fresh plants) at 30 days in an anaerobic condition. Results showed that BM with strain of *L. plantarum* 107 gave the best quality silage with dry matter content ADF and NDF at 18.94, 20.86 and 50.70, respectively.

Production properties of *L. plantarum* 107 silage was then investigated for methane production potential using a combination of swine waste (SW) and *Brachiaria mutica* (BM) silage in laboratory-scale. The appropriate co-digestion ratio between SW: BM silage was studied in 1L bioreactor (working volume of 800 ml) with ratio 50:50, 60:40 and 70:30. Methane volume produced from each digester was measured daily until the reaction was terminated. Results indicated that co-digestion ratios of SW: BM silage were completed at 36, 34 and 31 days, with highest specific methane yields of 353.7, 349.1 and 377.6 ml CH₄ /g VS_{added}, respectively, with biochemical methane potential (BMP) at 41.24%, 42.16% and 42.64%, respectively. This study showed that 70:30 SW: BM silage ratio provided the highest efficient production of methane yield at the shortest digestion time.

Afterwards, the study on the efficiency of methane production using 70:30 ratio of SW: BM silage of SW and BM silage in an anaerobic condition at hydraulic retention time (HRT): 15, 20 and 25 days period, was conducted. Results showed that COD removal efficiency was at 45.5, 37.3 and 34.2%, respectively, while VS removal efficiencies at 47.3, 43.7 and 43.4%, respectively. No statistical difference ($P>0.05$) was found when considering the rates of methane production, but results showed that at HRT 15 days, highest methane gas was produced at $3,852\pm47.4$ CH₄/g VS_{added} and at HRT 20 and 25 days, methane gas yields were $3,540\pm31.4$ and $3,466\pm30.7$ ml CH₄/g VS_{added}, respectively.

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ฐปน ชื่นบาล อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริภรณ์ ชื่นบาล และอาจารย์ ดร.ศรีกาญจนา คล้ายเรือง อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำการทำวิจัยครั้งนี้ ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ตลอดจนช่วยแก้ไขข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการ สาขาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม และสาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในด้านสถานที่ อุปกรณ์ และเครื่องวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในการทำวิจัย ตลอดจนนักศึกษาทุกคนในห้องปฏิบัติการสิ่งแวดล้อม ที่ให้ความช่วยเหลือในงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณ คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ในการอนุเคราะห์น้ำเสียจากฟาร์มสุกร และคุณแดง พรหมมินทร์ เจ้าของฟาร์มสุกร ในการอนุเคราะห์ตะกอนจากบ่อหมักแบบไร้อากาศ

ท้ายที่สุดนี้ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่คอยอบรมสั่งสอน เป็นกำลังใจ ตลอดจนสนับสนุนทุนการศึกษาแก่ข้าพเจ้าเสมอมา

รุ่งตะวัน ปันทะวงศ์

สิงหาคม 2558

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
ABSTRACT	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบัญ	(8)
สารบัญตาราง	(10)
สารบัญภาพ	(11)
สารบัญตารางผนวก	(13)
สารบัญภาพผนวก	(14)
อักษรย่อ	(15)
บทที่ 1 บทนำ	1
ความสำคัญของปัญหา	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	3
กระบวนการเกิดก๊าซชีวภาพ	3
กระบวนการการย่อยสลายในสภาวะไร้ออกซิเจน	4
การหมักร่วม	12
หญ้าหมัก	14
การเลี้ยงสุกรในประเทศไทย	19
ลักษณะน้ำเสียจากฟาร์มสุกร	21
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการวิจัย	25
อุปกรณ์ในการวิจัย	25
วิธีการดำเนินการวิจัย	30
บทที่ 4 ผลและอภิปรายผลการทดลอง	40
ผลการแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติก	40

ผลการทดสอบการเจริญ และการผลิตกรดของแบคทีเรียกรดแลคติก ในน้ำหมักสุก	45
ผลการจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกโดยการลำดับเบส ในส่วนของยีน 16S rRNA	48
ผลการคัดเลือกหญ้าที่ใช้ในการหมัก	55
ผลของหญ้าหมักในระดับห้องปฏิบัติการ	56
ผลการทดลอง BMP Test	59
ผลของระยะเวลาเก็บเก็บต่อประสิทธิภาพในการผลิตก๊าซมีเทน	62
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ	77
สรุปผลการวิจัย	77
ข้อเสนอแนะ	79
บรรณานุกรม	80
ภาคผนวก	88
ภาคผนวก ก ผลการทดสอบแบคทีเรีย และการเตรียมน้ำหมักสุก	89
ภาคผนวก ข ลำดับเบสดีเอ็นเอในส่วนของยีน 16s rRNA ของแบคทีเรีย เมื่อเทียบกับ GenBank database	96
ภาคผนวก ค กราฟมาตรฐาน	103
ภาคผนวก ง ประวัติผู้วิจัย	114

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1 ความเข้มข้นและยับยั้งของไอออนประจุบวกของโลหะเบา	9
2 ระดับความเป็นพิษของโลหะหนักในการย่อยสลายภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน	10
3 แบคทีเรียแลคติกที่พบในหญ้าหมัก	15
4 อัตราการเกิดน้ำเสียและลักษณะสมบัติของน้ำเสียจากฟาร์มสุกรจำแนกตามขนาดฟาร์ม	20
5 ปริมาณน้ำเสียที่เกิดขึ้นตามกิจกรรมการก่อให้เกิดน้ำเสียของฟาร์มสุกรแต่ละประเภท	21
6 ปริมาณสิ่งขับถ่ายจากสุกรระยะต่างๆ เฉลี่ยต่อตัวต่อวัน	22
7 มาตรฐานน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร	22
8 พารามิเตอร์ที่ทำการวิเคราะห์	39
9 จำนวนเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จากอาหารหมักพื้นเมืองและพืชอาหารสัตว์ในเขตจังหวัดเชียงใหม่	42
10 ประสิทธิภาพการเจริญ และการผลิตกรดแลคติกของแบคทีเรียกรดแลคติก	48
11 การจัดจำแนกแบคทีเรียกรดแลคติก โดยการหาลำดับเบสของ DNA ในส่วนของยีน 16S rRNA	55
12 องค์ประกอบทางเคมีของหญ้า	56
13 องค์ประกอบทางเคมีของหญ้าขนหมัก	58
14 ลักษณะเบื้องต้นของน้ำเสียจากฟาร์มสุกรและหญ้าขนหมัก	59
15 ค่าพารามิเตอร์การหมักร่วมที่อัตราส่วนต่างๆ	61
16 ความสัมพันธ์ของอัตราการเติมน้ำเสียและระยะเวลาเก็บน้ำที่ใช้ในการทดลอง	62
17 อัตราการผลิตก๊าซมีเทนของแต่ชุดการทดลอง	74

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
1 กระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศ	3
2 การย่อยสลายของไพรวาท	5
3 กระบวนการสร้างมีเทน	6
4 สรุปขั้นตอนการดำเนินการวิจัย	29
5 การหมักหญ้าในระดับห้องปฏิบัติการ	34
6 ชุดการทดลองที่ใช้ในการทดลอง	36
7 แบบจำลองของชุดการทดลอง	38
8 ตัวอย่างที่ใช้ในการคัดแยกเชื้อ	41
9 ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกจากแหล่งต่างๆ	43
10 การจัดเรียงตัวของเซลล์ของแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกจากแหล่งต่างๆ	44
11 การเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกในสารสกัดจากหญ้าที่ OD _{600 nm}	45
12 จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกในน้ำหมัก	46
13 การผลิตกรดแลคติกของแบคทีเรียกรดแลคติกที่ 48 ชั่วโมง	47
14 ขนาดของดีเอ็นเอ ที่ได้จากการทำ PCR ในส่วนของยีน 16s rRNA	49
15 ลำดับเบสของ DNA ในส่วนของยีน 16S rRNA ของแบคทีเรีย ไอโซเลต LGF 107	50
16 ลำดับเบสของ DNA ในส่วนของยีน 16S rRNA ของแบคทีเรีย ไอโซเลต LGF115	50
17 ลำดับเบสของ DNA ในส่วนของยีน 16S rRNA ของแบคทีเรีย ไอโซเลต LNF309	51
18 ลำดับชื่อของแบคทีเรียที่มีลำดับเบสคล้ายแบคทีเรียไอโซเลต LGF 107	52
19 ลำดับชื่อของแบคทีเรียที่มีลำดับเบสคล้ายแบคทีเรียไอโซเลต LGF115	53
20 ลำดับชื่อของแบคทีเรียที่มีลำดับเบสคล้ายแบคทีเรียไอโซเลต LKF 309	54
21 ปริมาณก๊าซมีเทนสะสมที่เกิดขึ้นทั้งหมดของแต่ละชุดการทดลอง	60
22 ค่าซีโอดีของน้ำเข้าและน้ำออกที่ระยะเวลาเก็บกักต่างๆ	63
23 ค่าซีโอดีกรองของน้ำเข้าและน้ำออกที่ระยะเวลาเก็บกักต่างๆ	64
24 ค่าของแข็งทั้งหมดของน้ำเข้าและน้ำออกที่ระยะเวลาเก็บกักต่างๆ	65

ภาพ		หน้า
25	ค่าของแรงระเหยง่ายของน้ำเข้าและน้ำออกที่ระยะเวลาเก็บกักต่างๆ	66
26	ปริมาณกรดอะซิดิกของน้ำออกที่ระยะเวลาเก็บกักต่างๆ	67
27	ปริมาณกรดโพธิ์ฟิโณนิกของน้ำออกที่ระยะเวลาเก็บกักต่างๆ	68
28	ปริมาณกรดบิวทิริกของน้ำออกที่ระยะเวลาเก็บกักต่างๆ	69
29	การเปลี่ยนแปลงค่าสภาพด่างของน้ำออกที่ระยะเวลากักเก็บต่างๆ	70
30	การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของน้ำออกที่ระยะเวลาเก็บกักต่างๆ	71
31	การเปลี่ยนแปลงค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนของน้ำออกที่ระยะเวลาเก็บกักต่างๆ	72
32	การเปลี่ยนแปลงค่าไนโตรเจนทั้งหมดของน้ำออกที่ระยะเวลาเก็บกักต่างๆ	73
33	ปริมาณก๊าซมีเทนที่ระยะเวลาเก็บกักที่ต่างกัน	74
34	ปริมาณก๊าซมีเทนต่อกรัมของแฉะระเหย	75

สารบัญตารางผนวก

ตารางผนวก		หน้า
1	ผลการทดสอบลักษณะของแบคทีเรียกรดแลกติกที่แยกได้จากแหล่งต่างๆ	90
2	ปริมาณกรดไขมันระเหยเจ็ลของการหมักร่วมระหว่างน้ำเสียจากฟาร์มสุกรและหญ้าขนหมัก	105
3	ผลวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของน้ำเข้าระบบ	107
4	ผลวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของน้ำที่ผ่านการบำบัดที่ระยะเวลากักเก็บ 15 วัน	108
5	ผลวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของน้ำที่ผ่านการบำบัดที่ระยะเวลากักเก็บ 20 วัน	109
6	ผลวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของน้ำที่ผ่านการบำบัดที่ระยะเวลากักเก็บ 25 วัน	110
7	ข้อมูลปริมาณก๊าซชีวภาพ และสัดส่วนก๊าซมีเทนที่ระยะเวลากักเก็บ 15 วัน	111
8	ข้อมูลปริมาณก๊าซชีวภาพ และสัดส่วนก๊าซมีเทนที่ระยะเวลากักเก็บ 20 วัน	112
9	ข้อมูลปริมาณก๊าซชีวภาพ และสัดส่วนก๊าซมีเทนที่ระยะเวลากักเก็บ 25 วัน	113

สารบัญภาพผนวก

ภาพผนวก	หน้า
1 ขั้นตอนการเตรียมน้ำหุ้มสัปดาห์	95
2 ลำดับเบสของดีเอ็นเอขนาดประมาณ 840 คู่เบส ในส่วนของยีน 16 s rRNA ของแบคทีเรียไอโซเลต LGF 106	97
3 ชื่อของแบคทีเรียที่มีลำดับเบสคล้ายแบคทีเรียไอโซเลต LGF 106	97
4 ลำดับเบสของดีเอ็นเอขนาดประมาณ 840 คู่เบส ในส่วนของยีน 16 s rRNA ของแบคทีเรียไอโซเลต LGF 2	98
5 ชื่อของแบคทีเรียที่มีลำดับเบสคล้ายแบคทีเรียไอโซเลต LGF 2	98
6 ลำดับเบสของดีเอ็นเอขนาดประมาณ 840 คู่เบส ในส่วนของยีน 16 s rRNA ของแบคทีเรียไอโซเลต LGF 101	99
7 ชื่อของแบคทีเรียที่มีลำดับเบสคล้ายแบคทีเรียไอโซเลต LGF 101	99
8 ลำดับเบสของดีเอ็นเอขนาดประมาณ 840 คู่เบส ในส่วนของยีน 16 s rRNA ของแบคทีเรียไอโซเลต LKF 207	100
9 ชื่อของแบคทีเรียที่มีลำดับเบสคล้ายแบคทีเรียไอโซเลต LKF 207	100
10 ลำดับเบสของดีเอ็นเอขนาดประมาณ 840 คู่เบส ในส่วนของยีน 16 s rRNA ของแบคทีเรียไอโซเลต LGF 108	101
11 ชื่อของแบคทีเรียที่มีลำดับเบสคล้ายแบคทีเรียไอโซเลต LKF 108	101
12 กราฟมาตรฐานการหาความเข้มข้นของกรดอะซิติก	103
13 กราฟมาตรฐานการหาความเข้มข้นของโพर्फิโอริน	103
14 กราฟมาตรฐานการหาความเข้มข้นของบิวทิริก	104

อักษรย่อ

อักษรย่อ	ย่อมาจาก	ความหมาย
AD	Anaerobic digestion	การย่อยสลายแบบไร้ออกซิเจน
ADF	Acid Detergent Fiber	เยื่อใยที่ละลายได้ในสารละลายที่เป็นกรด
Alk	Alkalinity	สภาพด่างของสารละลายใด ๆ คือความสามารถของสารละลายนั้นในการรับโปรตอน
AS	Activated Sludg	ตะกอนที่มีจุลินทรีย์ซึ่งเลี้ยงไว้ในถังเติมอากาศ
BMP	Biochemical Methane Potential	อัตราการผลิตก๊าซมีเทน
CF	Crude Fiber	เยื่อใยหยาบ
CFU	Colony forming unit	หน่วยที่ได้จากวิธีตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์
COD	Chemical oxygen demand	ปริมาณออกซิเจนทั้งหมดที่ต้องการใช้เพื่อออกซิเดชันสารอินทรีย์ในน้ำให้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ
CP	Crude Protein	โปรตีนหยาบ
DM	Dry Matter	วัตถุแห้ง
DNA	Deoxyribonucleic Acid	ชื่อย่อของสารพันธุกรรม มีชื่อแบบเต็มว่า กรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิก
EE	Ether Extract	ไขมันหยาบ
HRT	Hydraulic Retention Time	ระยะเวลาเก็บกัก
LAB	Lactic Acid Bacteria	แบคทีเรียกรดแลคติก
SRT	Solid Retention Time	ระยะเวลาที่จุลินทรีย์อยู่ในระบบ
NDF	Neutral Detergent Fiber	เยื่อใยที่ละลายได้ในสารละลายที่เป็นกลาง
NH ₃ -N	ammonia-nitrogen	ปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในน้ำ
RNA	Ribonucleic Acid	สายพอลิเมอร์ของนิวคลีโอไทด์
SCOD	Soluble Chemical oxygen demand	ซีโอดีที่ละลายน้ำได้
SMY	Specific Methane Yield	ปริมาณก๊าซมีเทนสะสมทั้งหมด

อักษรย่อ	ย่อมาจาก	ความหมาย
SS	Suspended Solids	ส่วนที่ไม่ละลายในน้ำแต่มีขนาดเล็กพอที่จะแขวนลอย (suspend) อยู่ในน้ำได้
PCR	Polymerase Chain Reaction	กระบวนการในการสังเคราะห์ชิ้นส่วนของดีเอ็นเอ
TA	Total Acidity	ปริมาณกรดทั้งหมด
TP	Total Phosphorus	ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด
TKN	Total Kjeldahl Nitrogen	ไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์และแอมโมเนียในไนโตรเจน
TOC	Total Organic Carbon	ปริมาณคาร์บอนที่มีอยู่ในน้ำประกอบด้วยอินทรีย์คาร์บอน
TS	Total Solid	ปริมาณของแข็งในน้ำ สามารถคำนวณจากการระเหยน้ำออก
OLR	Organic Loading Rate	อัตราการป้อนสารอินทรีย์
VS	Volatile Solids	ของแข็งที่สลายไปเมื่อเผาที่อุณหภูมิ 550-600° C ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นสารประกอบอินทรีย์กลายเป็น CO ₂ และ H ₂ O

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันความต้องการใช้พลังงานมีเพิ่มมากขึ้น แต่พลังงานจากแหล่งอื่นๆ มีปริมาณน้อย จึงทำให้มีการคิดค้นและนำพลังงานจากแหล่งต่างๆ มาใช้ทดแทน คือ พลังงานจากชีวมวลซึ่งเป็นพลังงานทางเลือกรูปแบบหนึ่ง โดยอาศัยเทคโนโลยีจากการผลิตก๊าซชีวภาพ และในปัจจุบันกำลังได้รับความสนใจอย่างกว้างขวาง เนื่องจากช่วยเพิ่มปริมาณพลังงานทดแทนให้กับประเทศ และยังช่วยลดปริมาณเชื้อเพลิงที่นำเข้าจากต่างประเทศได้สูง ซึ่งทำให้ทุกประเทศทั่วโลกให้ความสนใจ โดยการนำวัตถุดิบเหลือใช้มาตามชุมชนหรือบ้านเรือนนำกลับมาใช้ให้ก่อประโยชน์

ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน ฟาร์มสุกรในประเทศไทยสามารถผลิตก๊าซชีวภาพจากของเสียที่เกิดขึ้นมาใช้ภายในฟาร์ม แต่เนื่องจากพลังงานทดแทนที่ผลิตได้จากระบบก๊าซชีวภาพของแต่ละฟาร์มมีศักยภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพที่ไม่เพียงพอ จึงมีความจำเป็นต้องใช้สารอินทรีย์อื่นๆ มาทำการหมักร่วม (Co-Digestion) โดยการนำวัตถุดิบสองชนิดหรือมากกว่ามาทำการหมัก ซึ่งวัตถุดิบหมักหลักจะเป็นพวกมูลสัตว์หรือกากตะกอน และวัตถุดิบหมักรองเป็นพวกที่มีเส้นใยในปริมาณสูง

การนำวัตถุดิบรองเช่น วัชพืช ของเหลือทางการเกษตร ของเหลือจากอุตสาหกรรมเศษอาหาร เป็นต้น มาใช้เป็นสารอินทรีย์ในการหมักร่วม ควรมีการปรับสภาพเบื้องต้น เพื่อให้เส้นใยของวัตถุดิบหมักรองย่อยสลายได้ง่ายขึ้น โดยอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์ภายใต้สภาวะแบบไร้ออกซิเจน (Anaerobic Condition) เพื่อช่วยให้เกิดกระบวนการหมัก นอกจากนี้ยังช่วยรักษาคุณภาพของวัตถุดิบ เพื่อใช้ในเวลาที่ขาดแคลน ซึ่งการหมักระหว่างวัตถุดิบหมักหลักร่วมกับวัตถุดิบรองจะช่วยลดขั้นตอนของกระบวนการหมัก โดยมีระยะเวลาการหมักที่สั้น และสามารถผลิตก๊าซชีวภาพได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ก๊าซชีวภาพที่ผลิตได้จากการหมักร่วมเพื่อนำมาเป็นพลังงานทดแทนเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ปัจจุบันมีการทำวิจัยอย่างแพร่หลายในประเทศทั่วโลก เนื่องจากเป็นพลังงานที่มีประสิทธิภาพสูงสามารถผลิตได้จากชีวมวล และสารอินทรีย์หลากหลายชนิด ทำให้ก๊าซชีวภาพที่ผลิตได้จากการหมักร่วมถูกจัดเป็นพลังงานหมุนเวียน และสามารถใช้เป็นเชื้อเพลิงในรูปของ

พลังงานทดแทนในรูปต่างๆ ได้ เช่น พลังงานความร้อน พลังงานไฟฟ้า เป็นต้น และเป็นการจัดการของเสียได้อีกทางหนึ่งด้วย

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้มีการปรับสภาพหญ้าเบื้องต้นโดยอาศัยกิจกรรมของแบคทีเรียกรดแลคติกภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน เพื่อลดปริมาณเส้นใยของหญ้าให้มีปริมาณลดลง และช่วยให้มีระยะเวลาการหมักที่สั้น เพื่ออัตราส่วนการหมักระหว่างน้ำเสียจากฟาร์มสุกรร่วมกับหญ้าหมักที่เหมาะสม ต่อศักยภาพผลิตก๊าซชีวภาพอย่างมีประสิทธิภาพ

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อคัดเลือกแบคทีเรียกรดแลคติกที่เหมาะสมต่อการหมักหญ้า
2. เพื่อศึกษาผลของอัตราส่วนการหมักระหว่างน้ำเสียจากฟาร์มสุกรร่วมกับหญ้าหมักต่อศักยภาพการผลิตก๊าซมีเทน
3. เพื่อศึกษาระยะเวลาเก็บกักที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการผลิตก๊าซมีเทนระหว่างน้ำเสียจากฟาร์มสุกรร่วมกับหญ้าหมัก

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

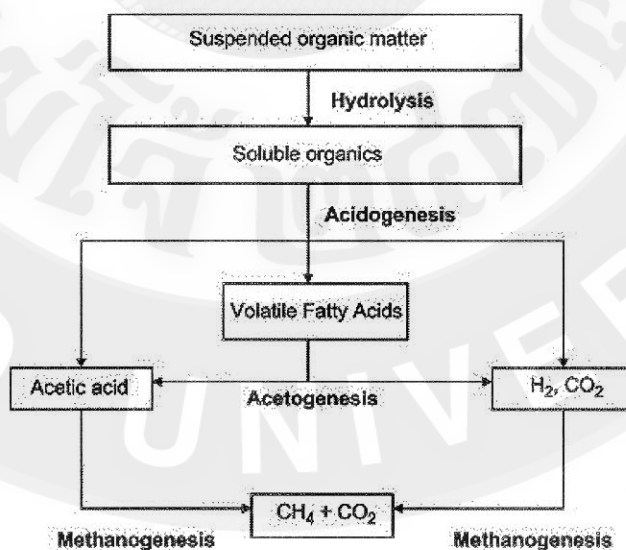
1. ได้แบคทีเรียกรดแลคติกที่มีประสิทธิภาพ และมีความเหมาะสมต่อการหมักหญ้า
2. สามารถผลิตก๊าซชีวภาพจากหญ้าหมักร่วมกับน้ำเสียจากฟาร์มสุกรได้ ลดค่าใช้จ่ายในการบำบัดน้ำเสีย
3. ใช้เป็นแนวทางสำหรับการส่งเสริมการผลิตก๊าซชีวภาพ โดยใช้วัตถุดิบจากของเสียจากฟาร์มในระดับครัวเรือนและระดับชุมชน

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

กระบวนการเกิดก๊าซชีวภาพ

ก๊าซชีวภาพ (Biogas) คือ ก๊าซที่เกิดขึ้นจากกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนด้วยแบคทีเรีย 2 กลุ่ม คือ แบคทีเรียผลิตกรด (Acid Forming Bacteria) และแบคทีเรียผลิตมีเทน (Methane Forming Bacteria) โดยแบคทีเรียกลุ่มผลิตกรดจะทำการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีโครงสร้างโมเลกุลใหญ่ ให้กลายเป็นสารโมเลกุลขนาดเล็ก จากนั้นแบคทีเรียกลุ่มผลิตมีเทนจะใช้สารอินทรีย์ที่มีโครงสร้างโมเลกุลเล็กเป็นสารอาหาร และย่อยสลายให้ผลผลิตเป็นก๊าซมีเทน (CH_4) และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) โดยมีก๊าซอื่นๆ เกิดขึ้นเล็กน้อย เช่น ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) และก๊าซแอมโมเนีย (NH_3) เป็นต้น ซึ่งเป็นองค์ประกอบของก๊าซชีวภาพ ดังสมการ (1) และภาพ 1



ภาพ 1 กระบวนการย่อยสลายแบบไร้ออกซิเจน

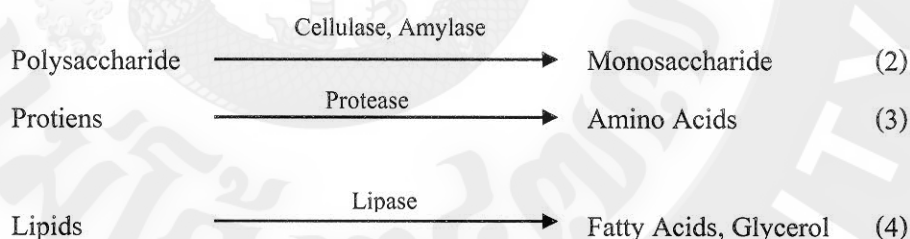
ที่มา Lise et al. (2008)

กระบวนการการย่อยสลายในสภาวะไร้ออกซิเจน

ระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจน เป็นระบบที่มีความสำคัญต่อการบำบัดน้ำเสียที่มีปริมาณสารอินทรีย์ (Organic Matter) เข้มข้นสูง ภายในระบบจะมีการย่อยสลายสารอินทรีย์ในสภาวะไร้ออกซิเจนซึ่ง ประกอบด้วย การย่อยสลายหลายขั้นตอนที่มีความซับซ้อน โดยการทำงานร่วมกันของแบคทีเรียหลายกลุ่ม แต่ละกลุ่มก็จะทำหน้าที่ต่างกันในแต่ละขั้นตอนของการย่อยสลายเพื่อให้ได้ก๊าซชีวภาพซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานได้

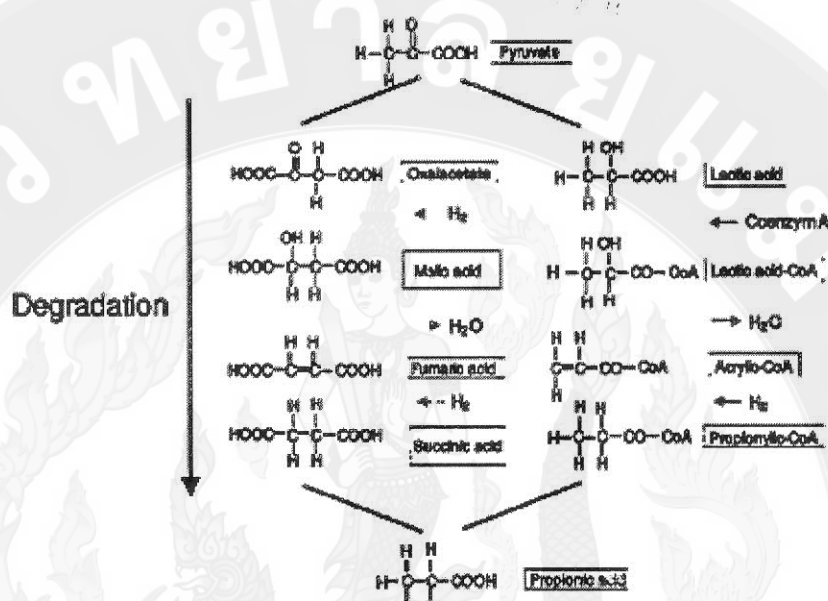
ขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไร้ออกซิเจน

ขั้นตอนที่ 1 กระบวนการไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) ในขั้นตอนนี้ สารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน จะถูกแบคทีเรียย่อยสลายให้กลายเป็นสารอินทรีย์โมเลกุลเล็ก ความเร็วของกระบวนการย่อยสลายขึ้นอยู่กับเอนไซม์ที่ถูกปล่อยออกมาจากแบคทีเรีย รวมถึงความเข้มข้นของสารอินทรีย์ ความเข้มข้นของเอนไซม์ อุณหภูมิ และการสัมผัสระหว่างเอนไซม์กับสารอินทรีย์ เป็นต้น ดังสมการ (2), (3) และ (4) (กรมควบคุมมลพิษ, 2546)



ขั้นตอนที่ 2 กระบวนการอะซิโดจีนิซิส (Acidogenesis) ในขั้นตอนนี้สารอินทรีย์โมเลกุลเล็กซึ่งเป็นสารผลิตภัณฑ์ของการย่อยในขั้นตอนแรก จะถูกเปลี่ยนให้เป็นการดอินทรีย์ชนิดโมเลกุลเล็ก เช่น กรดแลคติก (Lactic Acid) กรดอะซิติก (Acetic Acid) กรดโพรไพโอนิก (Propionic Acid) และกรดวาเลอริก (Valeric Acid) โดยแบคทีเรียกลุ่มนี้ เรียกว่า แบคทีเรียกลุ่มผลิตกรด (Acid Forming Bacteria) ซึ่งชนิดของแบคทีเรียจะถูกเรียกแตกต่างกันไปตามชนิดของสารอินทรีย์นั้นๆ ขั้นตอนต่อมากรดอินทรีย์ระเหยง่ายที่เกิดขึ้นดังกล่าว จะถูกแบคทีเรียกลุ่มอะซิโตเจนนิค (Acetogenic Bacteria) เปลี่ยนให้เป็นอะซิเตต ฟอ์เมต ก๊าซไฮโดรเจน และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งเป็นสารประกอบที่สำคัญในการผลิตก๊าซมีเทน ปฏิกริยานี้ถือได้ว่าเป็นสำคัญในการผลิต

ก๊าซมีเทน (ภาพ 2) แบคทีเรียกลุ่มนี้อาจเรียกว่าแบคทีเรียกลุ่มผลิตไฮโดรเจน (Hydrogen Forming Bacteria) เนื่องจากแบคทีเรียกลุ่มไฮโดรเจนมักสร้างกรดอินทรีย์ แต่ตัวที่ผลิตกรดแลกติกได้อาจไม่สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ จึงถือว่าแบคทีเรียกลุ่มผลิตไฮโดรเจนเป็นชนิดของแบคทีเรียกลุ่มผลิตกรดด้วย (กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2553)

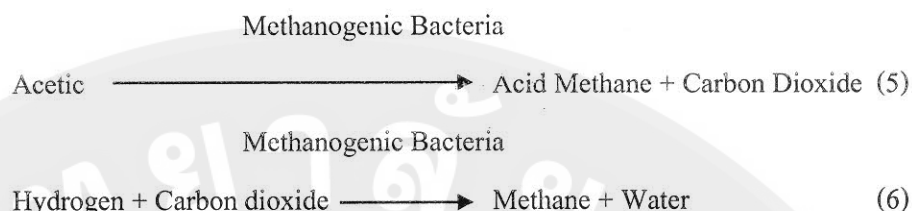


ภาพ 2 การย่อยสลายของไพรูเวท
ที่มา Teodorita (2008)

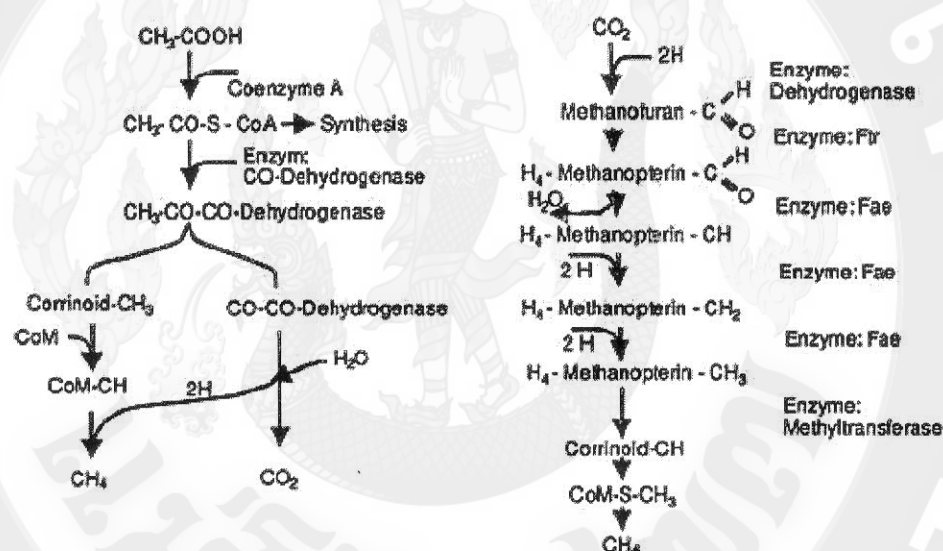
ขั้นตอนที่ 4 กระบวนการสร้างมีเทน (Methanogenesis) ในกระบวนการสร้างก๊าซมีเทนจะสร้างจาก กรดอะซิติก ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และก๊าซไฮโดรเจน (H_2) ที่ได้จากกระบวนการสร้างกรด โดยแบคทีเรียสร้างมีเทน การสร้างก๊าซมีเทนมีได้ 2 แบบ คือ แบบแรกจะเกิดจากการเปลี่ยนกรดอะซิติกเป็นก๊าซมีเทนโดยคิดเป็นร้อยละ 70 ของก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้นได้ในระบบ และอีกแบบหนึ่งเกิดจากการรวมตัวกันของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และก๊าซไฮโดรเจนให้กลายเป็นก๊าซมีเทน

แบคทีเรียที่เป็นตัวสร้างก๊าซมีเทนเจริญเติบโตได้ช้า และสภาพแวดล้อมมีผลต่อการเจริญเติบโตค่อนข้างมาก ช่วงค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของแบคทีเรีย โดยสามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วงพีเอชประมาณ 6.8-7.2 นอกจากนี้ อุณหภูมิก็มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตเช่นกัน อีกทั้งแบคทีเรียในกลุ่มนี้ต้องการสารอาหารที่โครงสร้างไม่ซับซ้อนในการดำรงชีพ ดังนั้น การเติบโตของแบคทีเรียที่เป็นตัวสร้างมีเทนจึงขึ้นอยู่กับการทำงานของแบคทีเรียในขั้นตอน

ไฮโดรไลซิส และการสร้างกรด โดยแบคทีเรียทุกกลุ่มต้องทำงานอย่างสัมพันธ์กัน ดังสมการ (5) และ (6)



เมทาโนเจนิซิสเป็นขั้นตอนที่จำเป็นในกระบวนการย่อยสลายในสภาวะแบบไร้ออกซิเจน และเป็นปฏิกิริยาทางชีวเคมีที่ช้าสุดในกระบวนการ ดังแสดงในภาพ 3



ภาพ 3 กระบวนการสร้างมีเทน
ที่มา Teodorita (2008)

ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะแบบไร้ออกซิเจน

เนื่องจากในระบบการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะแบบไร้ออกซิเจนประกอบด้วย จุลินทรีย์ 2 กลุ่มที่เกี่ยวข้องกัน ได้แก่ แบคทีเรียที่ไม่สร้างก๊าซมีเทน และแบคทีเรียที่สร้างก๊าซมีเทน ดังนั้น จึงจำเป็นต้องรักษาสภาวะแวดล้อมให้มีสภาพที่เหมาะสมที่จะทำให้จุลินทรีย์เหล่านี้อยู่ด้วยกันได้เป็นอย่างดี ในการที่จะควบคุมระบบให้ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพจะต้องทำให้ จุลินทรีย์อยู่ในสภาวะสมดุลกัน ซึ่งขึ้นอยู่กับปัจจัย 2 ประการคือ ปัจจัยทางด้านสิ่งแวดล้อม และ ปัจจัยทางการทำงาน

1. ปัจจัยทางด้านสิ่งแวดล้อม (Environmental Factor)

1.1 อุณหภูมิ

การย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะแบบไร้ออกซิเจนมีอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ 2 ช่วงคือ อุณหภูมิระหว่าง 30-40 องศาเซลเซียส (Mesophilic Temperature) จุลินทรีย์ที่ทำงานในช่วงนี้เรียกว่า Mesophilic Bacteria และอุณหภูมิระหว่าง 50-60 องศาเซลเซียส (Thermophilic Temperature) จุลินทรีย์ที่ทำงานในช่วงนี้เรียกว่า Thermophilic Bacteria ในช่วง Thermophilic Temperature อัตราเร็วของปฏิกิริยาและประสิทธิภาพของระบบจะมากกว่าในช่วง Mesophilic Temperature สามารถทำให้ผลิตก๊าซชีวภาพได้มากที่ระยะเวลาย่อยสลายสั้นลง และลดปริมาณถังหมักลง แต่ระบบการหมักที่อุณหภูมิสูงมีข้อเสียคือ Thermophilic Bacteria ทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิได้ไม่ดีเท่า Mesophilic Bacteria การควบคุมระบบจึงมีความเสี่ยงสูงต่อการล้มเหลวของระบบ และยังสิ้นเปลืองพลังงานในการควบคุมอุณหภูมิของระบบอีกด้วย

1.2 พีเอช

พีเอชเป็นปัจจัยที่สำคัญของระบบการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะแบบไร้ออกซิเจนที่ต้องรักษาให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมประมาณ 6.5-7.5 ถ้าค่าพีเอชมีค่าสูงหรือต่ำกว่านี้ประสิทธิภาพของระบบจะลดลงและถ้าพีเอชมีค่าต่ำกว่า 6.2 ประสิทธิภาพของระบบจะลดลงตัวอย่างรวดเร็ว เพราะที่สภาวะนี้จะเป็นอันตรายต่อแบคทีเรียพวกที่สร้างก๊าซมีเทน เนื่องจากแบคทีเรียเหล่านี้ใช้กรดไขมันระเหยไม่ทัน ทำให้ปริมาณกรดไขมันระเหยถูกสะสมมากขึ้นพีเอชจึงต่ำลงอย่างรวดเร็ว ถ้าพีเอชลดต่ำลงถึง 4.5-5.0 จะทำให้ Methanogenic Bacteria หยุดการเจริญเติบโตซึ่งสามารถป้องกันได้โดยการเติมสารเคมีพวกต่างๆ ลงไป เช่น ปูนขาว (CaO) โซเดียมไบคาร์บอเนต (NaHCO_3) โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) และโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) เป็นต้น หรืออาจจะลดปริมาณสารอินทรีย์ที่เข้าระบบลง ในการใช้ด่างแก่หรือคาร์บอเนตปรับสภาพจะทำให้คาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายน้ำเกิดสมดุลชั่วคราว เนื่องจากในคาร์บอนไดออกไซด์ในบรรยากาศถูกดึงเข้าไปทดแทนคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำเพื่อสร้างด่างไบคาร์บอเนตทำให้พีเอชเพิ่มขึ้น แต่เมื่อแบคทีเรียพวกสร้างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มาแทนที่จะทำให้จุดสมดุลเคลื่อนไปจนกระทั่งคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายในน้ำสมดุลกับคาร์บอนไดออกไซด์ในบรรยากาศ (Diaz et al., 1995)

ดังนั้นค่าพีเอชที่เหมาะสมภายในระบบบำบัดจึงเป็นช่วงของค่าพีเอชที่เหมาะสมของจุลินทรีย์ทั้ง 2 กลุ่มคือ มีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 6.6-7.4 หากค่าพีเอชต่ำกว่านี้ ประสิทธิภาพของระบบบำบัดจะลดลง เนื่องจากในสภาวะที่เป็นกรดหรือด่างจะเป็นอันตรายต่อจุลินทรีย์

1.3 กรดไขมันระเหย

กรดไขมันระเหย เช่น กรดอะซิติก กรดบิวทีริก กรดโพรพิโอนิก กรดฟอร์มิค หากพบว่ามีสารผสมของกรดไขมันระเหยในระบบอยู่มาก มักเป็นสัญญาณเตือนถึงความล้มเหลวของระบบบำบัด เนื่องจากกรดเหล่านี้เป็นผลิตภัณฑ์สารตัวกลางที่เกิดขึ้นในกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในสภาวะแบบไร้ออกซิเจน ระบบที่มีกรดไขมันระเหยสะสมในปริมาณมาก ในช่วงแรกกรดไขมันระเหยจะมีผลทำให้ค่าความเป็นด่างของระบบลดลง ต่อมาหาวยังไม่มีการใช้หรือกำจัดกรดไขมันระเหยให้มีปริมาณลดน้อยลง ค่าพีเอชของระบบจะต่ำลง และถ้าค่าพีเอชต่ำกว่า 6.6 จะเป็นอันตรายต่อจุลินทรีย์กลุ่มผลิตก๊าซมีเทน

ถ้าระบบล้มเหลว เนื่องจากมีความเข้มข้นของกรดไขมันสะสมอยู่ภายในระบบสูง วิธีการแก้ไขที่ดีที่สุดเพื่อให้ระบบกลับมาทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ คือ หยุดป้อนน้ำเสียเข้าสู่ระบบ จนกระทั่งความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยจะลดลงมาอยู่ในระดับปกติ แล้วจึงค่อยป้อนน้ำเสียเข้าสู่ระบบอีกครั้ง

1.4 สารอาหาร

สารอาหารแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ สารอาหารหลัก ได้แก่ คาร์บอน (C) ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) กำมะถัน (S) และสารอาหารรอง ได้แก่ แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) สังกะสี (Zn) แมงกานีส (Mn) ทองแดง (Cu) โคบอลต์ (Co) เหล็ก (Fe) นิกเกิล (Ni) ปริมาณไนโตรเจน และฟอสฟอรัสที่จุลินทรีย์ต้องการในการย่อยสลายอินทรีย์ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนจะมีอัตราส่วน BOD:N:P เท่ากับ 100:1.1:0.2 โดยใช้คาร์บอนในการสังเคราะห์พลังงาน ไนโตรเจนในการสังเคราะห์โปรตีน และฟอสฟอรัสในการสังเคราะห์ กรดนิวคลีอิก

1.5 สารพิษ

สารบางอย่างถ้ามีความเข้มข้นสูงเกินไปจะเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ได้ ซึ่งระดับความเป็นพิษจะขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของสารพิษ ได้แก่

1.5.1 ไอออนประจุบวกของโลหะเบา (Light Metal Cation)

ไอออนประจุบวกของโลหะเบา ได้แก่ โซเดียม (Na^+) โพแทสเซียม (K^+) แคลเซียม (Ca^+) และแมกนีเซียม (Mg^+) ซึ่งเกิดขึ้นมาจากการย่อยสลายสารอินทรีย์หรือการเติมสารเคมีเพื่อปรับพีเอชในระบบ จะมีผลเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ ซึ่งความเป็นพิษของมันเป็นปฏิกิริยาที่ซับซ้อน และขึ้นอยู่กับปริมาณของไอออนประจุบวกของโลหะเบาด้วยว่ามีปริมาณมากน้อยเท่าใดแสดงดังตาราง 1 (Mc Carty., 1991)

ตาราง 1 ความเข้มข้นและยับยั้งของไอออนประจุบวกของโลหะเบา

ไอออนประจุบวก	ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/ลิตร)		
	กระตุ้น	เริ่มยับยั้ง	ยับยั้งอย่างรุนแรง
โซเดียม (Na^+)	100-200	3,500-5,500	8,000
โพแทสเซียม (K^+)	200-400	2,500-4,500	12,000
แคลเซียม (Ca^{2+})	100-200	2,500-4,500	8,000
แมกนีเซียม (Mg^{2+})	75-150	1,000-1,500	3,000

ความเป็นพิษของไอออนประจุบวกของโลหะเบาแต่ละชนิดรุนแรงไม่เท่ากัน ไอออนประจุบวกของโลหะเบาที่มีวาเลนซ์เท่ากับ 1 จะมีความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์น้อยกว่าไอออนประจุบวกของโลหะเบาที่มีวาเลนซ์เท่ากับ 2 ซึ่งพิษของ Ca^{2+} และ Mg^{2+} จะมากกว่าพิษของความเป็นพิษของ Na^+ และ K^+ ถึง 10 เท่า ดังนั้นพิษของไอออนประจุบวกของโลหะเบาสามารถลดลงได้ถ้ามีไอออนประจุบวกของโลหะเบาอีกชนิดหนึ่งอยู่ด้วย โดยจะทำให้ความเป็นพิษของไอออนประจุบวกของโลหะเบาชนิดแรกลดลง ซึ่งปรากฏการณ์นี้เรียกว่า Antagonism

ในทางตรงกันข้ามไอออนประจุบวกของโลหะเบาบางชนิด จะไปเพิ่มความเป็นพิษของไอออนประจุบวกของโลหะเบาอีกชนิดหนึ่ง เมื่อมีอยู่ร่วมกัน เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า Synergism

1.5.2 สารพิษและสารยับยั้งปฏิกิริยา

1.5.2.1. แอมโมเนีย (Ammonia) เป็นสารที่เกิดจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ประกอบด้วย ไนโตรเจนภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน เช่น โปรตีน เป็นแอมโมเนียไนโตรเจน ซึ่งไนโตรเจนอาจอยู่ในรูปของแอมโมเนียไอออน (NH_4^+) หรือก๊าซแอมโมเนีย (NH_3) ดังสมการ (7)



ถ้าพีเอชต่ำกว่า 7.2 จะมี NH_4^+ มากกว่าแต่ถ้าพีเอชสูงกว่า 7.2 จะมี NH_3 มากกว่าซึ่งจะยับยั้งการทำงาน และมีความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์มากกว่า NH_4^+ แอมโมเนียเมื่ออยู่ในรูปของ NH_3 จะเป็นพิษก็ต่อเมื่อมีความเข้มข้นประมาณ 100 มิลลิกรัม/ลิตร แต่ในรูปของ NH_4^+ จะเป็นพิษเมื่อมีความเข้มข้นสูงเท่ากับ 7,000-9,000 มิลลิกรัม/ลิตร

1.5.2.2. ซัลไฟด์ (Sulfide) ในระบบไร้ออกซิเจนเกิดขึ้นจากซัลเฟต (Sulfate) ที่มีอยู่ในน้ำที่เข้าสู่ระบบ หรือเกิดจากการย่อยสลายของสารอินทรีย์ที่มีซัลเฟอร์ เช่น โปรตีน ซึ่งซัลไฟด์ที่ละลายน้ำเท่านั้นและมีความเข้มข้นสูงกว่า 200 มิลลิกรัม/ลิตร ที่เป็นพิษต่อจุลินทรีย์ เมื่อโลหะหนักทำปฏิกิริยากับซัลไฟด์จะสร้างผลิตภัณฑ์ที่ไม่ละลายน้ำขึ้น ดังนั้น การเติมโลหะบางชนิด เช่น เหล็กสามารถลดความเป็นพิษของซัลไฟด์ละลายได้ ซัลไฟด์จะถูกแยกออกมาอยู่ในรูปของก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ดังนั้น ความเข้มข้นของซัลไฟด์ละลายขึ้นอยู่กับพีเอชของของเหลว และส่วนประกอบของก๊าซ

1.5.2.3 โลหะหนัก (Heavy Metal) โลหะหนักได้แก่ เหล็ก ดีบุก ตะกั่ว สังกะสี ทองแดง แคดเมียม โคบอลต์ โครเมียม นิกเกิล เป็นต้น ซึ่งไอออนของโลหะหนักเหล่านี้เป็นพิษต่อจุลินทรีย์ และพิษของโลหะหนักขึ้นอยู่กับว่าเกลือของโลหะนั้นจะละลายน้ำได้มากน้อยเพียงใด และพิษของโลหะหนักจะมากหรือน้อยเพียงใดก็ขึ้นอยู่กับปริมาณความเข้มข้นของซัลไฟด์ที่มีอยู่ในของเสีย นั้น แสดงดังตาราง 2 เพราะซัลไฟด์จะรวมตัวกับโลหะหนักเกิดเป็นเกลือซัลไฟด์ที่ไม่ละลายน้ำ และตกตะกอน ถ้าของเสียมีปริมาณซัลไฟด์ไม่เพียงพอที่จะทำให้เกิดการตกตะกอนได้ ต้องเติมเกลือซัลไฟด์หรือเกลือซัลเฟตลงไป เกลือทั้งสองชนิดจะถูกรีดิวซ์ไปเป็นซัลไฟด์ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน ทำให้สามารถลดพิษของโลหะหนักลงได้ (Hayes and Theis, 1978)

ตาราง 2 ระดับความเป็นพิษของโลหะหนักในการย่อยสลายภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน

โลหะหนัก	ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/ลิตร)		
	ยับยั้ง	เป็นพิษ	หยุดทำงาน
Cr(III)	130	260	<200
Cr(II)	110	420	<180
Cu	40	70	<50
Ni	10	30	>30
Cd	-	>20	>10
Pb	340	>340	>250
Zn	400	600	<1,700

1.6 คุณลักษณะสารอาหาร (Substrate Characteristic)

องค์ประกอบของสารอาหารจะเป็นตัวกำหนดลักษณะของระบบภายในถังหมักโดยจะทำหน้าที่เป็นตัวคัดเลือกจุลินทรีย์ที่จะใช้สารประกอบต่าง ๆ ซึ่งของเสียที่จะนำมาย่อยสลายภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน มักประกอบด้วยองค์ประกอบไนโตรเจนจากเซลล์ของสิ่งมีชีวิต

2. ปัจจัยทางด้านการทำงาน (Operational Factor)

2.1 อัตราการป้อนสารอินทรีย์ (Organic Loading Rate, OLR)

เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะแบบไร้ออกซิเจน และเป็นตัวแปรสำคัญในการออกแบบระบบบำบัดในสภาวะแบบไร้ออกซิเจน เนื่องจากการเปลี่ยนสารอินทรีย์ในระบบให้กลายเป็นก๊าซมีเทน ต้องมีความเข้มข้นของแบคทีเรียที่พอเหมาะกับปริมาณของสารอินทรีย์ จึงจะทำให้แบคทีเรียมีการย่อยสลายสารอินทรีย์ลดลง เนื่องจากแบคทีเรียบางส่วนถูกทำลายไปเพราะสภาพที่ไม่สมดุล ในทางตรงกันข้ามถ้ามีการป้อนสารอินทรีย์เข้าระบบน้อยเกินไป การปรับอัตราการป้อนสารอินทรีย์ให้มีค่าแตกต่างกัน ทำให้โดยเปลี่ยนอัตราการไหลของของเสียที่ไหลผ่านถังหมัก หรือเปลี่ยนค่าความเข้มข้นของของแข็งหรือความเข้มข้นของสารอินทรีย์ที่ใส่เข้าไป ซึ่งการเปลี่ยนอัตราการป้อนสารอินทรีย์จะมีผลต่อระยะเวลาเก็บกักด้วย

2.2 ระยะเวลาเก็บกัก (Hydraulic Retention Time, HRT)

เป็นปัจจัยหนึ่งใช้ควบคุมประสิทธิภาพของระบบการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะแบบไร้ออกซิเจนอัตราเร็วของการย่อยสลายจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาเก็บกักสารอินทรีย์จนถึงค่าสูงสุดค่าหนึ่ง ต่อจากนั้นก็จะลดลงจนกระทั่งถึงขั้นหนึ่งที่จุลินทรีย์ถูกล้างออกจากระบบในอัตราที่เร็วกว่าจุลินทรีย์จะเพิ่มจำนวนขึ้น ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้ระบบล้มเหลวได้สามารถแก้ไขการที่จุลินทรีย์ถูกล้างออกจากระบบได้โดยการเพิ่มระยะเวลาเก็บกักให้นานขึ้น นอกจากนี้ระยะเวลาเก็บกักจะเป็นปัจจัยหลักในการออกแบบระบบการหมักกล่าวคือ ระยะเวลาเก็บกักเป็นระยะเวลาที่ของเสียอยู่ในถังหมัก สามารถหาได้โดยการหารปริมาณถังหมักด้วยปริมาณของเสียที่เติมลงในถังหมักต่อหน่วยเวลา

ระยะเวลาที่จุลินทรีย์อยู่ในระบบ (Solid Retention Time, SRT) หมายถึงมวลของของแข็งภายในระบบหารด้วยมวลของของแข็งที่ปล่อยออกจากระบบต่อวัน ในถังหมักแบบธรรมดาที่ไม่มีการหมุนเวียนตะกอน มีระยะเวลาที่จุลินทรีย์อยู่ในระบบจะเท่ากับระยะเวลาเก็บ-กัก ($SRT=HRT$) แต่ในถังหมักที่มีการหมุนเวียนตะกอน มีระยะเวลาที่จุลินทรีย์อยู่ในระบบมากกว่าระยะเวลาเก็บกักน้ำเสีย ($SRT>HRT$)

ดังนั้น ในระบบถังหมักแบบธรรมดาที่ไม่มีการหมุนเวียนตะกอน HRT จะเท่ากับ SRT โดยสามารถคำนวณได้จากสมการ (8)

$$HRT = SRT = \text{Volume/Flow Rate} = V/Q \quad (8)$$

2.3 การกวน (Mixing)

การกวนเป็นสิ่งสำคัญในการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะแบบไร้ออกซิเจน โดยมีหลักการ คือ ทำให้สารอินทรีย์อยู่ในสภาพสารแขวนลอย เพื่อให้เกิดการสัมผัสกันระหว่างสารอาหารกับจุลินทรีย์ เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของระบบด้วย และป้องกันการเกิดการสะสมของสารอินทรีย์ตามจุดต่างๆ ของถังหมัก และทำให้ของเหลวภายในถังหมักมีสภาพเป็นเนื้อเดียวกัน (อวัสดา, 2545)

การหมักร่วม

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม ในแต่ละปีประเทศไทยมีผลผลิตด้านการเกษตรเป็นจำนวนมาก อาทิ เช่น ข้าว อ้อย ข้าวโพด มันสำปะหลัง ฯลฯ จากการเพาะปลูกพืชผลทางการเกษตรส่งผลให้มีเศษวัสดุเหลือใช้ในพื้นที่แปลงเพาะปลูกเป็นจำนวนมาก ดังนั้นรัฐบาลจึงมีนโยบายให้เกษตรกรมีความสนใจต่อการจัดการวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร โดยนำมาเปลี่ยนแปลงเป็นพลังงานหรือนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นอาหารสัตว์ การหมักเอทานอล เป็นต้น ซึ่งการเก็บรักษาคุณภาพของวัสดุที่เหลือทางการเกษตรที่เป็นที่นิยมมี 2 รูปแบบ คือ การเก็บแบบแห้ง และการหมัก โดยการเก็บรักษาแบบแห้งที่ได้มีคุณภาพที่ไม่ค่อยดี เสี่ยงต่อการเน่าเปื่อย ส่วนการเก็บรักษาแบบหมักเป็นการเก็บรักษาโดยอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติก (Lactic Acid Bacteria) ในสภาวะที่ไร้ออกซิเจน โดยใช้น้ำตาลที่มีในวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร และยับยั้งการเจริญของของจุลินทรีย์ชนิดอื่น ทำให้สามารถเก็บรักษาคุณภาพของวัสดุที่หมักไว้ได้ (Mc Donald et al., 1991) โดยทั่วไปการผลิตก๊าซชีวภาพสามารถทำได้โดยการหมักด้วยวัตถุดิบเพียงประเภทเดียว เช่น การใช้มูลสัตว์เป็นวัสดุหมัก แต่ปัจจุบันได้มีการหมักร่วมกันระหว่างสองวัตถุดิบหรือมากกว่า ที่เรียกว่า การหมักร่วม ซึ่งจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพให้สูงขึ้น โดยจะทำให้ได้ก๊าซชีวภาพในปริมาณที่มากขึ้น และได้ผลผลิตของมีเทนที่สูงขึ้น นอกจากนี้ยังช่วยกำจัดขยะของเสียจากแหล่งต่างๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพและเกิดประโยชน์สูงสุด

หลักเกณฑ์พื้นฐานสำหรับการเลือกวัตถุดิบในการหมักร่วมเพื่อผลิตก๊าซชีวภาพ คือ วัตถุดิบต้องประกอบไปด้วยวัตถุดิบหมักหลักและวัตถุดิบหมักรอง โดยวัตถุดิบหมักหลักส่วนใหญ่เป็นพวกมูลสัตว์หรือกากตะกอน และวัตถุดิบหมักรองเป็นพวกที่มีเส้นใยในปริมาณที่สูง เนื่องจากเส้นใยจะมีสารประกอบพวกเซลลูโลสในปริมาณมากส่งผลให้เกิดก๊าซมีเทนได้เพิ่มขึ้น การหมักร่วมช่วยให้เกิดความสมดุลระหว่างค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N Ratio) อย่างไรก็ตาม การนำเศษพืชมาใช้ในการหมักร่วมกับมูลสัตว์นั้น การปรับสภาพเศษพืชเบื้องต้นด้วยแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกก่อนนำไปหมักร่วมกับมูลสัตว์ทำให้ได้ปริมาณก๊าซมีเทนที่เพิ่มขึ้น (Neureiter et al., 2005)

จากการศึกษาข้อมูลงานวิจัยการหมักร่วมที่ผ่านมาพบว่าการหมักร่วมสามารถผลิตก๊าซชีวภาพให้เป็นพลังงานทดแทนได้สูง และยังสามารถแก้ไขปัญหาด้านสิ่งแวดล้อมของสารอินทรีย์ที่มีระยะเวลาการย่อยสลายที่ใช้เวลานาน เช่น การศึกษาเก็บข้อมูลจากสถานที่จริงโดย Lindorfer et al. (2007) ได้ทำการศึกษากำผลิตก๊าซชีวภาพจากของเหลือทางการเกษตรซึ่งทำการหมักย่อยระหว่างมูลสัตว์กับพืชพลังงาน พบว่าการหมักย่อยร่วมดังกล่าวสามารถเพิ่มภาระบรรทุกสารอินทรีย์ได้มากขึ้นถึงหนึ่งเท่าตัว ส่งผลให้สามารถเพิ่มกำลังการผลิตไฟฟ้าจากเดิม 500 กิโลวัตต์ เป็น 1,000 กิโลวัตต์โดยใช้ถังหมักย่อยเดิม นอกจากนี้ Forster et al. (2008) ได้ทำการศึกษาผลของการหมักย่อยร่วมแบบต่อเนื่อง โดยทำการศึกษการหมักย่อยร่วมระหว่างมูลวัวกับเศษพืชผัก และผลไม่ผสมกับมูลไก่ พบว่า การหมักย่อยร่วมในอัตราส่วนผสมของเศษผักผลไม้อยู่ละ 50 มีการเกิดการย่อยสลายร่วมในรูปแบบมีเทนได้ดี และการหมักร่วมระหว่างตะกอนปศุสัตว์กับมูลไก่ พบว่าไม่ประสบผลสำเร็จซึ่งเมื่อเพิ่มอัตราภาระบรรทุกทำให้ค่ามีเทนลดลง และการศึกษาสถาบันวิจัยและพัฒนาพลังงานมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้ดำเนินการการหมักร่วมทดลองหาชนิดของของเสียที่จะนำมาหมักย่อยร่วมกับของเสียที่เกิดจากฟาร์มสุกร โดยทดลองกับของเสียทั้งหมด 5 ชนิด คือ เศษอาหาร กลิเชอรีน หล้าเนเปียร์ ฟางข้าว และต้นข้าวโพด โดยของเสียที่มีเส้นใยสูง เช่นหล้าเนเปียร์ ฟางข้าว และต้นข้าวโพด ต้องบำบัดเบื้องต้นด้วยการลดขนาด และแช่ในสารเคมี ก่อนนำไปหมักร่วม ผลการทดลองพบว่า ฟางข้าวที่อัตราส่วนร้อยละ 60 ของของแข็งระเหย มีศักยภาพในการเพิ่มการผลิตมีเทนของน้ำเสียฟาร์มสุกรมากที่สุด รองลงมาคือหล้าเนเปียร์ที่อัตราส่วนร้อยละ 30 ของของแข็งระเหย ต้นข้าวโพดที่อัตราส่วนร้อยละ 60 ของของแข็งระเหย เศษอาหารที่อัตราส่วนร้อยละ 60 ของของแข็งระเหย ส่วนกลีเซอรีน พบว่ายังไม่เพียงพอต่อความต้องการ

ปัจจุบันการเลี้ยงสัตว์ภายในประเทศเจริญเติบโตและมีการพัฒนาขึ้นอย่างรวดเร็ว ผลจากการเลี้ยงสัตว์ได้ก่อให้เกิดปัญหาของเสีย และน้ำเน่าจากฟาร์มเลี้ยงสัตว์โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากฟาร์มสุกรเป็นปัญหาทำให้เกิดน้ำเสียและสภาพเสื่อมโทรมเนื่องจากของเสียที่เกิดจากมูลสัตว์

น้ำเสียและขยะ ซึ่งปัญหานี้นับวันจะทวีความรุนแรงมากขึ้น ก๊าซชีวภาพเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่มีการนำมาประยุกต์ใช้ในฟาร์มเลี้ยงสัตว์และมีการนำเทคโนโลยีใหม่ๆ มาพัฒนาการเปลี่ยนแปลงเพื่อให้เกิดพลังงานเพิ่มขึ้น ก๊าซชีวภาพซึ่งเป็นก๊าซที่ผลิตขึ้นจากจุลินทรีย์ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนซึ่งเป็นแหล่งพลังงานอีกแหล่งหนึ่ง นอกเหนือจากแหล่งพลังงานธรรมชาติซึ่งมีการใช้กันมากและมีมูลค่าสูงขึ้นในปัจจุบัน (Chae et al., 2008)

หญ้าหมัก

หญ้าหมัก หมายถึง หญ้าชนิดต่างๆ ที่เก็บเกี่ยวในขณะที่มีความชื้นเหมาะสม นำมาหมักในสภาวะแบบไร้ออกซิเจน และเก็บถนอมไว้ในสภาพหมัก เมื่อหญ้าสดเปลี่ยนเป็นหญ้าหมักจะสามารถเก็บไว้ได้นาน โดยคุณค่าทางอาหารไม่เปลี่ยนแปลง พืชเกือบทุกชนิด หญ้า ต้นข้าวโพด ข้าวฟ่าง หรือธัญพืชต่างๆ รวมทั้งวัชพืชสามารถทำการหมักได้ทั้งสิ้น การที่หญ้าสดเปลี่ยนสภาพเป็นหญ้าหมักนั้นต้องอาศัยจุลินทรีย์เป็นตัวช่วยที่สำคัญ ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้จะมีอยู่ตามธรรมชาติและติดอยู่กับหญ้าที่จะนำมาหมัก อาจมีทั้งชนิดที่ต้องการออกซิเจน ไม่ต้องการออกซิเจน และกลุ่มที่เจริญอยู่ได้ในสภาวะที่มีหรือไม่มีออกซิเจน จุลินทรีย์เหล่านี้จะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในหญ้าที่กำลังหมักได้รับความนิยมนำมาใช้ในการถนอมหญ้าหมักสำหรับเก็บไว้ในฤดูแล้งที่มีหญ้าสดไม่เพียงพอ

กระบวนการหมักหญ้า

หญ้าหมักเกิดขึ้นได้ตามธรรมชาติโดยอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์ที่อยู่ตามส่วนต่างๆ ของหญ้า (Epiphytic Microbial) ซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการหมักของหญ้าที่จะให้หญ้าหมักมีคุณภาพดี ซึ่งคุณภาพโดยแท้จริงของหญ้าหมักนั้นจะขึ้นอยู่กับแบคทีเรียกรดแลคติก (Lactic Acid Bacteria, LAB) ที่มีอยู่ในส่วนของหญ้าซึ่งเป็นแบคทีเรียกลุ่มที่ผลิตกรดแลคติกภายใต้สภาวะที่ไร้ออกซิเจน ทำให้ค่าพีเอชในหญ้าหมักลดลง มีผลทำให้จุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการลดจำนวนลง มีผลทำให้จุลินทรีย์กลุ่มที่ไม่ต้องการลดลง เนื่องจากไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีความเป็นกรดได้ ถ้าปริมาณกรดแลคติกที่ผลิตได้มีมาก แบคทีเรียกรดแลคติกก็จะหยุดการเจริญเติบโตด้วยเช่นกัน ทำให้หญ้าหมักเข้าสู่สภาวะคงที่ แบคทีเรียจะหยุดการใช้สารอาหารในหญ้าเพื่อการเจริญเติบโต ทำให้เหลือปริมาณสารอาหารในหญ้าหมักมากขึ้น ลดการสูญเสียสารอาหาร (McDonald et al., 1991) แบคทีเรียกรดแลคติกในกลุ่มของหญ้าหมักมีอยู่ 2 กลุ่ม ดังแสดงในตาราง

ตาราง 3 แบคทีเรียแลคติกที่พบในหญ้าหมัก

Genus	Glucose fermentation	Morphology	Species
Lactobacillus	Homofermentation	Rod	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i>
			<i>L. plantarum</i> , <i>L. salivarius</i>
	Heterofermentation	Rod	<i>L. brevis</i> , <i>L. buchneri</i> <i>L. fermentum</i>
Pediococcus	Homofermentation	Coccus/tetrad	<i>P. acidilacti</i> , <i>P. pentosaceus</i> <i>P. damnosus (cerevisiae)</i>
Enterococcus	Homofermentation	Coccus	<i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i>
Lactococcus	Homofermentation	Coccus	<i>L. lactis</i>
Streptococcus	Homofermentation	Coccus	<i>S. bovis</i>
Leuconostoc	Heterofermentation	Coccus	<i>L. mesenteroides</i>

ที่มา McDonald et al. (1991)

แบคทีเรียกรดแลคติกสามารถเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 5-50 องศาเซลเซียส ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิด และลักษณะของหญ้าที่ใช้แบคทีเรียกรดแลคติก เมื่อพิจารณาถึงการให้ประโยชน์จากน้ำตาลของแบคทีเรียกรดแลคติกสามารถจำแนกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆด้วยกัน (จันทกานต์, 2545) คือ

1. Obligative Homofermenter หมายถึง แบคทีเรียพวกที่หมักแล้วได้ผลผลิตเป็นกรดแลคติกเพียงอย่างเดียวในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน ได้แก่ *P. damnosus* และ *L. ruminis* แบคทีเรียในกลุ่มนี้สามารถผลิตกรดแลคติกได้มากกว่าร้อยละ 85 จากน้ำตาล Hexose (น้ำตาลที่มีคาร์บอนอยู่ 6 อะตอม หรือ 6 C sugar) เช่น กลูโคส แต่ไม่สามารถย่อยสลายน้ำตาล Pentose (น้ำตาลที่มีคาร์บอนอยู่ 5 อะตอม หรือ 5 C sugar) เช่น Xylose ได้

2. Facultative Heterofermenter หมายถึง แบคทีเรียพวกที่หมักแล้วให้ผลผลิตเป็นกรดแลคติก ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และกรดอะซิติก หรือเอทานอล ได้ทั้งในสภาพที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน ได้แก่ *L. plantarum*, *L. pentosus*, *P. acidilactici*, *P. pentosaceus* และ *E. faecium* แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถผลิตกรดแลคติกจากน้ำตาล Hexose ได้ และสามารถใช้น้ำตาล Pentose ได้เล็กน้อย

3. Obligative Heterofermenter หมายถึง แบคทีเรียพวกที่หมักแล้วให้ผลผลิตเป็นกรดแลคติก ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และกรดอะซิติก หรือเอทานอล ได้ในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน

ได้แก่ แบคทีเรียในกลุ่มของ *Leuconostoc* และกลุ่มของ *Lactobacillus* บางชนิด เช่น *L. brevis* และ *L. buchneri* แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถใช้น้ำตาล Hexose และ Pentose ได้ดี

ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการผลิตหญาหมักให้มีคุณภาพคือนั้น โดยหญาที่นำมาหมักควรมีปริมาณวัตถุแห้งในหญาหมักร้อยละ 25-30 มีปริมาณน้ำตาลมากกว่าร้อยละ 2 ของน้ำหนัก (Ohmomo et al. 2002) โดยทั่วไปปริมาณน้ำตาลในหญาเขตร้อนมีปริมาณค่อนข้างต่ำ และต่ำกว่าในเขตหนาว (Catchpole and Henzell, 1971) นอกจากนั้นจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกในหญาเขตร้อนยังมีจำนวนน้อยกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ที่อาศัยอยู่ เช่น ยีสต์ และเชื้อรา (Cai et al., 1994; Ohmomo et al., 2002; Yahaya et al., 2004) ทำให้ไม่สามารถแข่งขันกับจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ใช้น้ำตาลที่มีอยู่ในปริมาณจำกัดในการผลิตกรดแลคติกได้ปริมาณกรดแลคติกที่ผลิตได้จึงไม่เพียงพอต่อการรักษาสภาพหญาหมัก การเกิดจุลินทรีย์ในระหว่างกระบวนการหมักด้วย ซึ่งการทำงานของแบคทีเรียกลุ่มนี้จะทำให้เกิดการใช้น้ำตาลอย่างรวดเร็ว และมีประสิทธิภาพส่งผลให้ผลิตกรดแลคติกในปริมาณมาก และค่าพีเอชของระบบลดลงอย่างรวดเร็วรวมถึงประสิทธิภาพในการลดการสูญเสียเมื่อสัมผัสอากาศ และเพิ่มประสิทธิภาพในตัวสัตว์ ซึ่งแบคทีเรียกรดแลคติกที่ใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสมควรมีคุณสมบัติดังนี้ (Weinberg and Muck, 1996)

1. จัดอยู่ในกลุ่ม Homofermentative Lactic Acid Bacteria
2. สามารถแข่งขันกับแบคทีเรียที่อิงอาศัยในพืชได้และเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว
3. ผลิตกรดแลคติกปริมาณมากในเวลาอันสั้น
4. ทนทานต่อความเป็นกรด
5. สามารถเจริญเติบโตในอุณหภูมิที่สูงถึง 50 องศาเซลเซียส และในวัตถุดิบที่มีความชื้นต่ำ

ความชื้นต่ำ

โดยหลักการแล้วหญาหมักที่มีคุณภาพที่ดีควรมีค่าพีเอชประมาณ 4.2 หรืออาจจะต่ำกว่านี้ประกอบด้วยกรดแลคติกร้อยละ 3-13 กรดบิวทีริก (Butyric Acid) น้อยกว่าร้อยละ 2 และแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ($\text{NH}_3\text{-N}$) น้อยกว่าร้อยละ 11 ของไนโตรเจน (สายพันธ์, 2540) มีวัตถุแห้งอยู่ร้อยละ 25-30 หญาหมักที่ดีควรมีสีเขียวแกมเหลืองหรือน้ำตาลอ่อน และมีกลิ่นหอมของกรด ไม่น่าเหม็น และกลิ่นไม่ฉุน

ปัจจัยที่ควบคุมคุณภาพของหญ้าหมัก

ในการทำหญ้าหมักมีปัจจัยหลายอย่างที่เกี่ยข้องและมีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลง ส่วนประกอบทางเคมี และคุณสมบัติทางกายภาพต่างๆของหญ้าสดเมื่อทำเป็นหญ้าหมัก ดังนั้น เพื่อให้ได้หญ้าหมักที่มีคุณภาพสูงจะต้องคำนึงปัจจัยดังต่อไปนี้

1. ชนิดของหญ้าที่เหมาะสมในการทำหญ้าหมักควรเลือกหญ้าที่มีปริมาณแป้งหรือน้ำตาลสูงพอสมควรเพื่อเป็นอาหารให้แบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติกให้เจริญได้เร็ว ซึ่งเป็นการป้องกันไม่ให้จุลินทรีย์ชนิดอื่นเจริญเติบโต ลักษณะของหญ้าควรมีลำต้นขนาดเล็กเพื่อลดปริมาณอากาศให้น้อยที่สุด ถ้าใช้หญ้าที่มีลำต้นกลวงทำหญ้าหมักจะต้องพยายามทำให้ปล้องแตก และอัดให้แน่นเพื่อไล่อากาศออกให้มากที่สุด

2. การตัดหญ้า คือ การตัดหญ้าที่อายุเหมาะสมไม่แก่ และไม่อ่อนจนเกินไป โดยตัดในช่วงที่หญ้าให้ผลผลิตสูงพร้อมทั้งยังมีคุณค่าทางอาหารเพียงพอทั้งโปรตีนแร่ธาตุ และวิตามิน ซึ่งอายุของหญ้าที่จะตัดทำฟีดหมักไม่แน่นอน

3. ความยาวของท่อนหญ้า เนื่องจากหญ้าหมักต้องอยู่ในสภาพไร้ออกซิเจน ดังนั้น การตัด หรือสับหญ้าให้เป็นชิ้นจะมีผลต่อการอัดแน่นเพื่อไล่อากาศออก ความยาวของท่อนหญ้านั้นขึ้นอยู่กับชนิดหญ้า ควรจะหั่นให้สั้นกว่าหญ้าที่มีความชื้นสูง การที่ต้องตัดหญ้าเป็นท่อนสั้นๆ นั้น ก็เพื่อที่จะช่วยในการอัดแน่นในถังหมักทำได้ง่าย และทำได้ดียิ่งขึ้นรวมทั้งเพื่อให้ น้ำตาลถูกปล่อยออกมาได้เร็ว ซึ่งจะช่วยให้เกิดกรดแลกติกเร็วขึ้นเป็นผลดีต่อคุณภาพของหญ้าหมัก

4. ระดับความชื้นที่เหมาะสมในหมักหญ้าโดยปกติแล้วหญ้าจะมีความชื้นอยู่ระหว่างร้อยละ 65-70 ถ้าหญ้าแห้งเกินไปจะอัดให้แน่นได้ยาก ทำให้มีอากาศหลงเหลือค้างอยู่มาก เป็นผลให้เกิดเชื้อราได้ง่าย หญ้าหมักที่มีความชื้นต่ำจะทำให้กิจกรรมของจุลินทรีย์ที่สร้างกรดลดลงด้วย ดังนี้ ถ้าหากหญ้าแห้งมากไป อาจแก้ไขโดยพยายามตัดเป็นท่อนสั้น ๆ หรือใช้น้ำพรมก่อนบรรจุลงในหลุมหรือถังหมัก ในทางตรงข้ามถ้าหญ้านำมาหมักมีความชื้นมากเกินไปโอกาสที่จะทำให้หญ้าหมักมีคุณภาพลดลง อาจทำให้หญ้าหมักมีลักษณะเป็นเมือกหรือเปรี้ยวจัดเกินไป และจะดึงเอาธาตุอาหารในหญ้าหมักออกมาด้วย

5. การกำจัดอากาศออกจากหลุมหมัก ในการทำหญ้าหมักมีหลักสำคัญที่จะต้องทำให้แบคทีเรียกรดแลกติกเจริญได้เร็ว และผลิตกรดแลกติกได้สูง เนื่องจากแบคทีเรียกรดแลกติกจะช่วยรักษาคุณภาพของหญ้าหมัก และช่วยป้องกันไม่ให้จุลินทรีย์ชนิดอื่นเจริญขยายจำนวนขึ้น หญ้าสดเมื่อตัดมาใหม่ ๆ เซลล์ของหญ้าในถังหมักจะคายคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ และคายความร้อนออก ถ้ายังมีอากาศอยู่ภายหลังเซลล์หญ้าตายแล้ว พวกเชื้อราและยีสต์จะเจริญขึ้น ทำให้หญ้าหมักมี

คุณภาพไม่ดี ด้วยเหตุนี้ จึงต้องพยายามกำจัดอากาศให้ออกจากหลุมหมักมากที่สุด เพื่อที่เมื่อเซลล์หญ้าตาย เชื้อแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจน ซึ่งเป็นพวกที่สร้าง กรดอินทรีย์ต่าง ๆ เจริญขยายจำนวน ช่วยให้หญ้าอยู่ในรูปของพืชหมัก

6. สารช่วยหมัก เป็นพวกสารหรือวัตถุอื่นที่ใส่เพิ่มคุณภาพของหญ้าหมักหรือรักษาหญ้าหมักให้อยู่ในสภาพหมัก นอกจากปัจจัยต่างๆ ที่กล่าวแล้ว การที่จะทำให้เกิดกรดแลคติกเร็ว จึงต้องเพิ่มปริมาณสารเสริมเพื่อช่วยเป็นอาหารของเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก ทำให้หญ้าหมักมีประสิทธิภาพสูง (กรมปศุสัตว์, 2546)

หญ้าแต่ละชนิดสามารถปรับตัว เจริญเติบโต และให้ผลผลิตสูงภายใต้ปัจจัยสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน ทั้งสภาพพื้นที่ ความอุดมสมบูรณ์ของดิน และสภาพภูมิอากาศ ได้แก่ อุณหภูมิ ช่วงแสง ความชื้น เป็นต้น ดังนั้นพืชที่จะนำมาใช้เป็นพืชหมักให้ได้ผลดีจึงจำเป็นต้องพิจารณาเลือกชนิดของหญ้าให้เหมาะสมกับสถานที่นั้นๆ และการนำไปทำหญ้าหมัก ซึ่งหญ้าแต่ละชนิดมีความเหมาะสมสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์ที่แตกต่างกัน

หญ้างินนี้ (*Panicum maximum*)

ลักษณะทั่วไป

เป็นหญ้าที่มีอายุหลายปี ลักษณะเป็นกอตั้งตรงแตกกอดี มีใบขนาดใหญ่ ใบดกและอ่อนนุ่ม ส่วนของข้อปล้อง กลุ่มดอก และเมล็ดมีสีม่วงอมเขียว เหมาะสำหรับปลูกบนพื้นที่ดอนมีดินเหนียวจนถึงดินทราย และในพื้นที่เขตชลประทาน ทนทานต่อสภาพพื้นที่แห้งแล้ง และสามารถเติบโตได้ในสภาพร่ม ให้ผลผลิตน้ำหนักแห้งประมาณ 2.5-3 ตัน/ไร่/ปี มีโปรตีนประมาณร้อยละ 8-10 ของน้ำหนักแห้ง

หญ้ารูซี่ (*Brachiaria ruziziensis*)

ลักษณะทั่วไป

หญ้ารูซี่เป็นหญ้าอายุหลายปี มีลักษณะการเจริญเติบโตแบบกึ่งเลื้อยกึ่งตั้งต้นสูงปานกลาง ชอบอากาศในเขตร้อนที่มีฝนตก ต้องการดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ค่อนข้างดี แต่ก็สามารถเจริญเติบโตในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำได้ ผลผลิตน้ำหนักแห้งประมาณ 2.0-2.5 ตัน/ไร่/ปี มีโปรตีนร้อยละ 7-10 ลักษณะเด่นของหญ้ารูซี่คือ สามารถผลิตเมล็ดได้มาก และเมล็ดมีความงอกสูง แต่หญ้ารูซี่มีข้อเสียคือ มีระยะพักตัวในช่วงฤดูแล้ง ทำให้ผลผลิตของหญ้าในช่วงฤดูแล้งขาดแคลน

หญ้าขน (*Brachiaria mutica*)

ลักษณะทั่วไป

หญ้าขนมีลักษณะการเจริญเติบโตของลำต้นแบบกึ่งเลื้อยกึ่งตั้ง (Semi-Erect Type) ในกรณีที่มีพื้นที่ว่างมาก ๆ จะเลื้อยและมีไหล (Stolon) เกิดขึ้นมากมาย มีลักษณะลำต้นเป็นเถาเลื้อยคลุมดินแตกหน่อ และรากตามข้อที่แตะพื้นดิน เมื่อโตเต็มที่อาจสูงถึง 2 เมตร บริเวณข้อมีขนปกคลุมเป็นสีขาว บริเวณข้อและกาบใบมีขนสีขาวปกคลุมช่อดอกเป็นแบบ Panicle ซึ่งกาบยาว 10-30 เซนติเมตร กว้าง 1-2 เซนติเมตร

ลักษณะทางเกษตร

หญ้าขนมีอายุหลายปีและเหมาะสมสำหรับใช้ปลูกในเขตร้อนหรือเขตอบอุ่นซึ่งชื้นมาก ๆ สามารถเจริญเติบโตได้ดีในดินทุกชนิด เพียงแต่ให้มีความชื้นเพียงพอ สำหรับในสภาพที่มีน้ำขัง (Water Logging) หรือน้ำอาจท่วม การใช้หญ้าขนปลูกเหมาะสมที่สุด (บุญฤา, 2532)

หญ้าคา (*Imperata Cylindrica Beauv*)

ลักษณะทั่วไป

หญ้าคาเป็นวัชพืชอายุหลายปีแพร่ระบาดด้วยไหลใต้ดินและเมล็ด ลำต้นตั้งตรงสูง 15-20 เซนติเมตร ไหลใต้ดินมีใบเกล็ดหุ้ม ใบเรียบรูปขนาน ปลายใบแหลม อาจยาวถึง 150 เซนติเมตร กว้าง 4-18 มิลลิเมตร มีขนที่บริเวณโคนต้น และขอบกาบใบ ช่อดอกแบบแขนง ดอกย่อยอัดกันแน่น ยาว 3-20 เซนติเมตร กว้าง 0.5-2.5 เซนติเมตร สีขาวหรือครีม ดอกย่อยยาว 3-6 มิลลิเมตร ล้อมรอบด้วยขน อ่อนนุ่มยาว 10 มิลลิเมตร ผลิดเมล็ดได้

เนื่องจากหญ้าคาเป็นวัชพืชที่มีความสามารถในการกระจายพันธุ์ได้ดีทั้งจากเมล็ด โดยลมที่พัดพาเมล็ดไป และการแตกหน่อจากไหลทำให้สามารถปกคลุมพื้นที่ได้รวดเร็ว

การเลี้ยงสุกรในประเทศไทย

การเลี้ยงสุกรเป็นอาชีพหนึ่งที่มีความสำคัญต่อระบบเศรษฐกิจของไทย และสุกรเป็นสินค้าเกษตรกรรมที่มีบทบาทสำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศ ทั้งทางด้านการผลิต การบริโภค และการค้าระหว่างประเทศ แต่การเลี้ยงสุกรในปัจจุบันได้ก่อให้เกิดปัญหา และอุปสรรคตามมาหลายประการทั้งในด้านการปรับปรุงคุณภาพเนื้อสุกรให้ได้มาตรฐานความปลอดภัยต่อผู้บริโภค และปัญหาการก่อกมลภาวะที่มีผลกระทบต่อสภาพแวดล้อมอันเนื่องมาจากมูลสัตว์ และของเสียต่างๆ ที่เกิดจากกิจกรรมการเลี้ยงสุกรภายในฟาร์ม โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากฟาร์มที่ยังไม่สามารถ

กำจัดของเสียเหล่านี้ได้อย่างถูกต้องเหมาะสม ทำให้เกิดปัญหามลภาวะทั้งภายในฟาร์มเอง และชุมชนใกล้เคียงจนกลายเป็นปัญหาต่อคุณภาพชีวิตและสิ่งแวดล้อม

จากการแบ่งขนาดฟาร์มเลี้ยงสุกรเป็น 3 ขนาด คือ ขนาดเล็กที่เลี้ยงสุกรน้อยกว่า 500 ตัว ขนาดกลางที่เลี้ยงตั้งแต่ 500-5000 ตัว ฟาร์มขนาดใหญ่ที่เลี้ยงเกินกว่า 5000 ตัวขึ้นไป มีรายงานถึงปริมาณน้ำเสียที่เกิดขึ้นมีค่า BOD และ COD ซึ่งสูงถึง 3000 และ 7000 มิลลิกรัม/ลิตร ในฟาร์มขนาดใหญ่นับว่าเป็นน้ำที่สกปรกมาก (ตาราง 4) ซึ่งเกษตรกรควรมีระบบบำบัดน้ำเสียภายในฟาร์มที่มีประสิทธิภาพ สามารถกำจัดของเสียภายในฟาร์มและน้ำทิ้งปล่อยสู่สาธารณะเป็นไปตามกฎเกณฑ์มาตรฐาน อย่างไรก็ตามพบว่าน้ำเสียเหล่านี้มีธาตุอาหารต่างๆ อยู่มาก

จากสาเหตุดังกล่าวก่อให้เกิดการพัฒนาเปลี่ยนแปลงระบบการเลี้ยงไปสู่ระบบฟาร์มมาตรฐาน ซึ่งทำให้สัตว์แพทย์มิได้มีบทบาทเพียงแค่การดูแลสุขภาพสัตว์เท่านั้น ยังคงต้องมีความรู้ในเรื่องขององค์ประกอบ การจัดการฟาร์ม รวมถึงการจัดการสิ่งแวดล้อมซึ่งเป็นองค์ประกอบหนึ่งในการป้องกันมิให้เกิดการแพร่ระบาดของโรคสู่ภายนอก (กรมปศุสัตว์, 2546) อันเป็นหน้าที่ของสัตวแพทย์ผู้ควบคุมฟาร์มและเจ้าหน้าที่ในฐานะผู้ตรวจรับรองในระบบฟาร์มมาตรฐาน (อดิสร, 2549)

ตาราง 4 อัตราการเกิดน้ำเสียและลักษณะสมบัติของน้ำเสียจากฟาร์มสุกรจำแนกตามขนาดฟาร์ม

ขนาดฟาร์ม สุกร	อัตราการเกิดน้ำเสีย (ลิตร/ตัว/วัน)	ลักษณะสมบัติของน้ำเสีย (มิลลิกรัม/ลิตร)				
		BOD	COD	SS	TKN	TP
ขนาดใหญ่*	10	3,000	7,000	4,800	540	8.0
ขนาดกลาง**	16	2,500	6,900	3,000	540	9.6
ขนาดเล็ก***	20	1,500	4,000	2,000	400	17.0

ที่มา: กรมควบคุมมลพิษ (2546)

หมายเหตุ: ฟาร์มขนาดใหญ่ (ฟาร์มที่มีจำนวนสุกรตั้งแต่ 5000 ตัวขึ้นไป)

ฟาร์มขนาดกลาง (ฟาร์มที่มีจำนวนสุกรในช่วง 500-5000 ตัว)

ฟาร์มขนาดเล็ก (ฟาร์มที่มีจำนวนสุกรในช่วง 50-500 ตัว)

ลักษณะน้ำเสียจากฟาร์มสุกร

ในฟาร์มสุกรของเสียเกิดขึ้นในรูปแบบต่าง ๆ คือ เศษอาหาร มูล ปัสสาวะ น้ำล้างคอก ก๊าซต่าง ๆ และสารระเหยที่มีกลิ่นจากการสลายตัวของมูลและปัสสาวะที่ขับถ่ายแล้วปริมาณสิ่งขับถ่าย และลักษณะน้ำเสียที่เกิดขึ้นในฟาร์มแต่ละวัน ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ ขนาดของฟาร์ม หรือจำนวนสัตว์ขุนคอก ลักษณะอาหาร และวิธีการให้อาหาร ขนาด ชนิดของสัตว์ ประเภทสัตว์ที่เลี้ยง ลักษณะโรงเรือน ระบบการจัดการของเสีย วิธีการทำความสะอาดคอก และปริมาณน้ำที่ใช้ล้างหรือทำความสะอาด โดยปริมาณสิ่งขับถ่ายของสุกรในแต่ละวันจะแตกต่างกันตามขนาดของสุกร ดังนั้น น้ำเสียส่วนใหญ่จะเกิดจากการล้างทำความสะอาดคอก และโรงเรือนสุกร (ตาราง 5) ซึ่งมักจะทำการทำความสะอาดพื้นคอก และประเภทของสุกรที่เลี้ยง ขณะที่กรมปศุสัตว์ (2546) รายงานว่า ส่วนประกอบทางเคมี และปริมาณมูลสุกรที่ขับถ่ายออกมาขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ อายุ น้ำหนักตัว พันธุ์ อาหาร ปริมาณน้ำที่กิน ความสามารถในการย่อยอาหาร สิ่งแวดล้อม และการจัดการเกี่ยวกับของเสีย ซึ่งลักษณะน้ำเสียของฟาร์มสุกรโดยทั่วไป ปริมาณสิ่งขับถ่ายจากสุกรระยะต่างๆ เฉลี่ยต่อตัวต่อวัน เช่น แม่สุกรกับสุกรขุนที่มีน้ำหนักเท่ากัน คือ 90-120 กิโลกรัม จะขับถ่ายของเสียเท่ากับ 4 และ 12 ลิตรต่อวัน ตามลำดับ (ตาราง 6) และเมื่อเปรียบเทียบกับการขับถ่ายของสัตว์ชนิดอื่น ปรากฏว่าสุกรขับถ่ายมากกว่าม้าและโค กระบือถึงสองเท่า (เมื่อคิดต่อหน่วยน้ำหนัก)

ตาราง 5 ปริมาณน้ำเสียที่เกิดขึ้นตามกิจกรรมการก่อให้เกิดน้ำเสียของฟาร์มสุกรแต่ละประเภท

กิจกรรม	ค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำเสียที่เกิดขึ้น (วัน/ตัว/ลูกบาศก์เมตร)		
	พ่อ-แม่พันธุ์	สุกรขุน	สุกรอนุบาล
การล้างคอก/โรงเรือน	0.038	0.012	0.011
การระบายความร้อนให้สุกร/ส้วมน้ำ	0.026	0.012	0.009
รวม	0.064	0.024	0.02

ที่มา กรมควบคุมมลพิษ (2546)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Habiba et al. (2009) ศึกษาการหมักร่วมระหว่างเศษผักผลไม้ร่วมกับตะกอน โดยศึกษาผลของของแข็งทั้งหมดระหว่างเศษผักผลไม้ และตะกอนที่อัตราส่วนการหมักที่ต่างกันมีประสิทธิภาพต่อการหมัก อัตราส่วนของแข็งระหว่างของแข็งทั้งหมดระหว่างเศษผักผลไม้ ต่อตะกอน (FVW:AS) ที่ 100:0, 65:35 และ 35 :65 ที่ระยะเวลาเก็บ 20 วัน และที่อัตราส่วน (FVW:AS) ที่ 30:70, 20:80, 15:85, 10:90 และ 0:100 ที่ระยะเวลากักเก็บ 10 วัน โดยมีการควบคุมอุณหภูมิที่ 35 องศาเซลเซียส ผลการทดลองพบว่า การเพิ่มขึ้นของปริมาณเศษผักผลไม้ไม่มีผลทำให้อัตราในการผลิตก๊าซมีเทนเพิ่มขึ้น ซึ่งอยู่ในระหว่างร้อยละ 58- 60 ในขณะที่การย่อยตะกอนเพียงอย่างเดียวมีอัตราการผลิตก๊าซชีวภาพที่ 0.29 มิลลิลิตร CH_4 /กรัม VS_{added} ผลจากการทดลองการย่อยสลายร่วมระหว่างเศษผักผลไม้ และตะกอนที่อัตราส่วนที่ 30:70 สามารถกำจัดค่าของแข็งระเหยมากที่สุดที่ร้อยละ 88 และมีอัตราการผลิตก๊าซชีวภาพ 0.57 มิลลิลิตร CH_4 /กรัม VS_{added} ที่ระยะเวลากักเก็บ 10 วัน และมีอัตราการบรรทุกสารอินทรีย์ที่ 1.03 กิโลกรัม VS (ลูกบาศก์เมตร/วัน)

Burak and Paul (2009) ศึกษาการผลิตก๊าซชีวภาพโดยใช้วัตถุดิบที่มีค่าความเป็นกรดสูง ในการทดลองได้ทำการหมักร่วมระหว่างน้ำเสีย และดิน Sugar Beet เพื่อใช้เป็นวัสดุหมักร่วม ทำการทดลองในสภาวะ Mesophilic ซึ่งมีค่าพีเอช อยู่ที่ 3.3-3.4 ใช้ถังปฏิกรณ์ขนาด 6 ลิตร (ปริมาตรการหมัก 5.7 ลิตร) ทำการป้อนของเสียวันละครั้ง ที่ระยะเวลาเก็บกักน้ำมี 9.5 และ 15 วัน กำหนดให้มีอัตราการบรรทุกสารอินทรีย์อยู่ในช่วง 6.35 และ 10 กิโลกรัม VS (ลูกบาศก์เมตร/วัน) พบว่า ที่ระยะเวลาเก็บกัก 9.5 วัน ซึ่งมีอัตราการบรรทุกสารอินทรีย์อยู่ในช่วง 6.35 กิโลกรัม VS (ลูกบาศก์เมตร/วัน) สามารถผลิตก๊าซมีเทนได้สูงที่ 0.67 มิลลิลิตร CH_4 /กรัม VS_{added}

Benjamin et al. (2001) ทำการศึกษาหาประสิทธิภาพของการหมักร่วมโดยใช้มูลสุกรผสมกับมูลไก่ในอัตราส่วน 80:20 70:30 60:40 และ 50:50 โดยใช้ถังปฏิกรณ์แบบแบทช์ (Batch) ขนาด 125 มิลลิลิตร ทำการทดลองทั้งหมด 113 วัน ที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส ลักษณะของน้ำเสียจะมีค่า COD อยู่ในช่วง 9,750-17,400 มิลลิกรัม/ลิตร และค่าของแข็งระเหยเท่ากับ 7,000-14,000 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งอัตราส่วนที่ให้ประสิทธิภาพสูงสุดคือ 80:20 โดยปริมาตรซึ่งได้ค่าอัตราการเกิดก๊าซมีเทนเท่ากับ 0.13 มิลลิลิตร CH_4 /กรัม VS_{added}

Callaghan et al. (2002) ทำการศึกษาการหมักร่วม เพื่อเพิ่มอัตราการเกิดก๊าซมีเทน โดยใช้ Substrate เป็นมูลวัว (CM) และเศษผักผลไม้ (FVW) โดยใช้ถังปฏิกรณ์ขนาด 18 ลิตร ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ที่เวลากักเก็บ 21 วัน ใช้อัตราบรรทุกสารอินทรีย์ที่ 3.15-5.01 กิโลกรัม VS (ลูกบาศก์เมตร/วัน) และใช้อัตราส่วน CM:FVW ที่ 100:0, 80:20, 70:30, 60:40 และ 50:50 เริ่มต้นระบบโดยใช้มูลวัวเป็นเชื้อตั้งต้น ผลการทดลองพบว่า สามารถกำจัดของแข็งระเหยได้ที่ร้อยละ

ละ 50 ของของแข็งระเหยที่เข้าสู่ระบบ และให้อัตราการเกิดก๊าซมีเทนในช่วง 0.23-0.45 มิลลิลิตร CH_4 /กรัม VS_{added} โดยที่อัตราส่วน 50:50 จะให้อัตราการเกิดก๊าซมีเทนสูงสุดที่ 0.45 มิลลิลิตร CH_4 /กรัม VS_{added}

Prasad and Jukka (2005) ได้ศึกษาการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนระหว่างน้ำเสียจากอุตสาหกรรมมันสำปะหลังร่วมกับมูลสุกรในระดับห้องปฏิบัติการ ได้ทำการย่อยสลายแบบกึ่งต่อเนื่อง โดยมีอัตราการป้อนสารอินทรีย์แบบต่อเนื่องที่ 2 ลูกบาศก์เมตร/กิโลกรัม VS_{added} อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อัตราส่วนการหมักร่วมระหว่างมูลสุกรร่วมกับน้ำเสียจากอุตสาหกรรมมันสำปะหลัง 100:0, 85:15 และ 80:20 ผลการทดลองพบว่า ที่อัตราส่วนการหมักร่วมระหว่างมูลสุกรร่วมกับน้ำเสียจากอุตสาหกรรมมันสำปะหลัง 100:0, 85:15 และ 80:20 ให้ผลผลิตมีเทนที่ 0.13–0.15, 0.21–0.24 และ 0.30–0.33 ลูกบาศก์เมตร/กิโลกรัม VS_{added} ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการหมักร่วมระหว่างมูลสุกรร่วมกับน้ำเสียจากอุตสาหกรรมมันสำปะหลังสามารถนำมาเป็นพลังงานทดแทน และสามารถนำมาบำบัดของเสียในอุตสาหกรรมมันสำปะหลังได้

Xie et al. (2011) ศึกษาการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนของหญ้าหมักแห้งร่วมกับมูลสุกรในอัตราส่วนของ VS ที่ 100:0, 75:25, 50:50, 25:75 และ 0:100 ได้ประเมินการดำเนินของระบบและศักยภาพการผลิตก๊าซมีเทน ผลที่ได้พบว่า การหมักร่วมระหว่างหญ้าหมักแห้งร่วมกับมูลสุกรมีระยะเวลาการเกิดก๊าซมีเทนที่ต่างกันคือ 29.5, 28.1, 24.6 และ 21.3 วัน ของการหมักที่อัตราส่วน 100:0, 75:25, 50:50 และ 25:75 ตามลำดับ โดยในอัตราส่วนของหญ้าหมักแห้งร่วมกับมูลสุกรที่อัตราส่วน 75:25 และ 50:50 มีประสิทธิภาพในการผลิตก๊าซมีเทนได้สูงสุดที่ 304.2 และ 302.8 มิลลิลิตร CH_4 /กรัม VS_{added} ก๊าซมีเทนที่ผลิตขึ้นในแต่ละวันมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของกรดอะซิติก ซึ่งบ่งบอกได้ว่า ก๊าซมีเทนมีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการของจุลินทรีย์ที่ผลิตมีเทน

Lehtomaki et al. (2006) ศึกษากระบวนการย่อยสลายร่วมระหว่างมูลวัวร่วมกับเศษผัก ฟางข้าว และหญ้าเลี้ยงสัตว์เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการหมักโดยใช้มูลวัวเพียงอย่างเดียว โดยทำการทดลองในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ซึ่งใช้มูลวัวเป็นเชื้อตั้งต้น และมีอัตราส่วนมูลวัวร่วมกับเศษผัก ฟางข้าว และหญ้าเลี้ยงสัตว์ที่ 90:10 จนถึง 60:40 และเพิ่มอัตราภาระป้อนสารอินทรีย์เป็น 3 และ 4 กิโลกรัม และศึกษาระยะเวลาที่เก็บที่ 16 และ 18 วัน ผลจากการทดลองการหมักร่วมระหว่างมูลวัวหมักร่วมกับเศษผัก ฟางข้าว และหญ้าเลี้ยงสัตว์ที่อัตราส่วน 70:30 มีอัตราการเกิดก๊าซมีเทนสูงสุดที่ 229, 213 และ 268 มิลลิลิตร CH_4 /กรัม VS_{added} ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรหมักโดยใช้มูลวัวเพียงอย่างเดียวมีอัตราการเกิดก๊าซมีเทนเท่ากับ 150 มิลลิลิตร CH_4 /กรัม VS_{added}

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

อุปกรณ์ในการวิจัย

อุปกรณ์

1. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer: Spectronic genesis 5, Germany)
2. ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven: Memmert/ UM 500 , Norway)
3. หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave: Hirayama, Model HVE – 50, Japan)
4. เครื่องกวนสารด้วยแม่เหล็กและให้แทนความร้อน (Magnetic Stirrer& Hot plate: Clifton cerastis,)
5. เครื่องวัดความเป็นกรด – ด่าง (pH Meter: Satorius, Model PP -50, Germany)
6. ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Air Fow Cabinet: Forma Scientific, Model 1285, USA)
7. ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator: Binder, Model ED240 (E2), Norway)
8. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath: Memmert, Model TW 20, USA)
9. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (Analytical Balance: Metter Toledo/ PL 3002, Switzerland)
10. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Analytical Balance: Precisa/ 62 A, Switzerland)
11. เครื่องปั่นเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ (Centrifuge: MSE, Model Harrier 18/80, UK)
12. เครื่องเขย่าผสม (Vortex Mixer: Vortex genic2, USA)
13. ตู้แช่แข็ง -20 °C (Sharp/ FC27)
14. เครื่องกลั่นหาปริมาณไนโตรเจน (Nitrogen apparatus: Buchi/ K-424)
15. เครื่องดักไอกรด (Nitrogen apparatus: Buchi/ B-414)
16. เครื่องกลั่น (Nitrogen apparatus: Buchi/ K-350)
17. เครื่องโครมาโทกราฟ/แมสสเปกโตรมิเตอร์ (Gas chromatograph/ mass spectrometer: Agilent 6890/ HP5973)
18. กล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบ (Compound Microscope with Image Analysis System)

19. จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
20. กระบอกตวง (Cylinder)
21. แผ่นสไลด์และแผ่นกระจกปิดสไลด์ (Slide and Cover glass)
22. ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol Burner)
23. ห่วงถ่ายเชื้อ (Loop)
24. ตะแกรงวางหลอดทดลอง (Rack)
25. ไมโครปิเปต 100- 1000 ul (Micropipette)
26. ไมโครปิเปต 20-200 ul (Micropipette)
27. หลอดไมโครทิวป์ (Microcentrifuge tube)
28. บีกเกอร์ (Beaker)
29. ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร (Erlenmeyer flask)
30. ขวด Duran
31. ถูชิเบิล (Crucible)
32. หลอดทดลอง (Test tube)
33. แท่งแก้วคนสาร (Stirring Rod)
34. ปิเปต Pipette)
35. บิวเรตต์ (Burette)
36. ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask)
37. กระดาษกรองใยแก้ว GF/C
38. โทคูตความชื้น
39. หลอด COD
40. หลอดตัวอย่าง (Digestion tube)

สารเคมีและน้ำยาทดสอบ

1. Sodium chloride (NaCl)
2. Glycerol
3. Hydrogen peroxide (H_2O_2)
4. Glucose
5. Potassium Dichomate ($K_2Cr_2O_7$)

6. Sulfuric acid (H_2SO_4)
7. Silver sulfate (AgSO_4)
8. Ferroin
9. Ammonium ferrous sulphate (FAS)
10. Phenolphthalein
11. Methyl orange
12. Sodium hydroxide (NaOH)
13. Mixed indicator
14. Boric acid 4%
15. Potassium sulfate (K_2SO_4)
16. Copper sulfate ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)
17. Hydrochloric acid (HCl)
18. Sodium Carbonate Anhydrous (Na_2CO_3)

ตัวอย่างอาหารหมักดองภาคเหนือ และพืชอาหารสัตว์หมัก

- | | |
|-------------------------------|---------------------------------------------|
| 1. เมี่ยง | ตลาดแม่โจ้ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ |
| 2. ผักกาดดอง | ตลาดแม่โจ้ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ |
| 3. กะหล่ำปลีดองตลาดหนองอุโบสถ | อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ |
| 4. ผักเสี้ยนดอง | ตลาดแม่โจ้ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ |
| 5. หญ้าเนเปียร์หมัก | บริษัท ยูเอซี โกลบอล จำกัด (มหาชน) อ.แม่แตง |
| จ.เชียงใหม่ | |
| 6. ข้าวโพดหมัก | ฟาร์มโคนม อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่ |

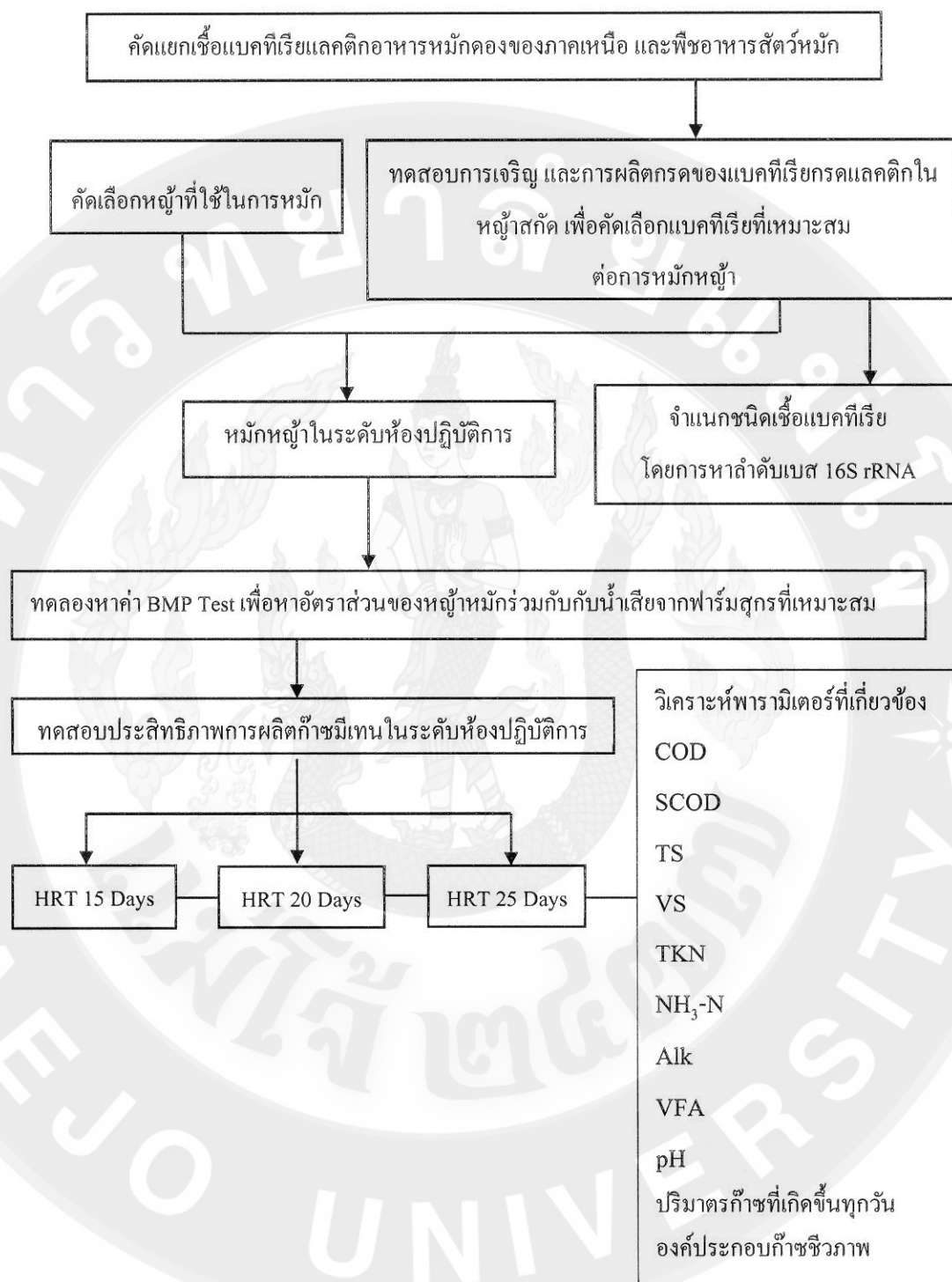
อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Men Rogosa Sharp Agar (MRS)
2. M17 Base Agar (M17)

หญ้า

1. หญ้ากีนี่ (*Panicum maximum*)
2. หญ้ารูซี่ (*Brachiaria ruzizensis*)
3. หญ้าขน (*Brachiaria mutica*)
4. หญ้าคา (*Imperata Cylindrica* Beauv)





ภาพ 4 สรุปขั้นตอนการดำเนินการวิจัย

วิธีการดำเนินการวิจัย

การคัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติก

1. การเตรียมตัวอย่าง

ตัวอย่างที่นำมาทดสอบจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ ตัวอย่างอาหารหมักดองของภาคเหนือ จำนวน 4 ชนิด คือ เมี่ยง ผักกาดดอง กะหล่ำปลีดอง ผักเสี้ยนดอง ตัวอย่างจากพืชอาหารสัตว์หมัก จำนวน 2 ชนิด คือ หญ้าเนเปียร์หมัก และข้าวโพดหมัก นำตัวอย่างชนิดละ 25 กรัม นำมาเจือจางในโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 225 มิลลิลิตร ต่อจากนั้นทำการเจือจาง (Serial Dilution) จนถึง 10^{-5} บีบตัวอย่างที่เจือจางปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เกลี่ยสารละลายของเชื้อ (Spread-Plate) บนอาหารแข็งสูตร MRS และ M17 Agar จากนั้นนำไปบ่มในโถไร้ออกซิเจน (Anaerobic Jar) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สังเกตลักษณะของโคโลนี และนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งสองชนิด จากนั้นสุ่มเลือกโคโลนีที่มีลักษณะแตกต่างกัน นำมาทำใบรีซูธรีด้วยเทคนิค Cross Streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร MRS และ M17 Agar บ่มในโถไร้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

2. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานของแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกได้

นำโคโลนีเชื้อที่คัดเลือกมาทดสอบโดยการย้อมสีแบบแกรม (Gram's Staining) เพื่อศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา รูปร่าง และการติดสีแกรม ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3. การทดสอบการสร้างเอนไซม์อะตาเลส (Catalase Enzyme) (Garbutt, 1997)

หยดสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ลงบนแผ่นกระจกสไลด์ จากนั้นแตะโคโลนีที่บริสุทธิที่เตรียมไว้มาย้ายลงบนแผ่นกระจกสไลด์ สังเกตผล หากมีฟองก๊าซเกิดขึ้น แสดงผลเป็นบวก (เชื้อจุลินทรีย์ชนิดนั้นสามารถสร้างเอนไซม์อะตาเลสได้) แสดงผลลบ (เชื้อจุลินทรีย์ชนิดนั้นไม่สามารถสร้างเอนไซม์อะตาเลสได้) เลือกเฉพาะโคโลนีที่ไม่เกิดฟองก๊าซไว้ใช้ขั้นตอนต่อไป

4. การเก็บรักษาเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก

นำโคโลนีที่บริสุทธิมาเลี้ยงลงในอาหารเหลวสูตร MRS บ่มในโถไร้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อทำเป็น Stock Culture โดยเก็บรักษาในกลีเซอรอลความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นจึงนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้สำหรับการศึกษาต่อไป

ทดสอบการเจริญ และการผลิตกรดแลคติกของแบคทีเรียกรดแลคติกในน้ำหมัก เพื่อคัดเลือก แบคทีเรียที่เหมาะสมต่อการหมักหญ้า

1. การเตรียมน้ำหมัก

นำหญ้ากินนีและหญ้านวลน้อยอย่างละ 500 กรัม ตัดให้มีขนาด 0.5-1 เซนติเมตร ต่อก่อนปริมาณ 5 ลิตร นำไปปั่นให้ละเอียด กรองน้ำหญ้าด้วยผ้าขาวบาง จากนั้นนำน้ำหญ้า ผสมกับโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ และกลูโคสเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ในอัตราส่วน 1:2 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที (Saarisalo, 2007)

2. การเตรียมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก

เตรียมตัวอย่างแบคทีเรียกรดแลคติกที่ต้องการทดสอบให้เท่ากับสารละลาย McFarland Standards No.0.5 นำไปวัดความขุ่นด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร โดยใช้ค่าการดูดกลืนแสงให้อยู่ในช่วง 0.09-0.1 ซึ่งมีเชื้อปริมาณเท่ากับ 1×10^8 CFU/ มิลลิลิตร แล้วเจือจางตัวอย่างแบคทีเรียกรดแลคติกในโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นปลูกเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบลงในน้ำหมักให้มีความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 1×10^4 CFU/มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยเก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง โดยทดสอบ ดังต่อไปนี้

2.1. วัดปริมาณเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกโดยเปิดตัวอย่างปริมาณ 1 มิลลิลิตร นำมาเจือจางในโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ ให้มีระดับความเจือจางที่เหมาะสม นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร MRS และ M17 Agar ด้วยวิธีการ Pour Plate บ่มในโถไร้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น โดยนับจำนวนเพาะเชื้อที่มีโคโลนี อยู่ในช่วง 30-300 โคโลนี คำนวณจำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก ทั้งหมด ดังสมการ

$$\begin{aligned} \text{จำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก} &= \text{จำนวนโคโลนีที่นับได้} \times \text{Dilution Factor} \\ (\text{โคโลนีต่อมิลลิลิตร}) & \end{aligned}$$

2.2 วัดค่าการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกโดยวัดค่าการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ 600 นาโนเมตร

2.3. วัดค่าพีเอชด้วยเครื่องวัดพีเอช

2.4. วัดปริมาณกรดแลคติกวิธีโดยวิธี Titratable Acidity (AOAC, 1990)

นำตัวอย่างปริมาตร 2 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 20 มิลลิลิตร นำไปต้มให้เดือด ตั้งทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องจนเย็น หยดฟีนอล์ฟทาลีน 2-3 หยด นำไปไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.01 นอร์มอล จนกระทั่งสารละลายตัวอย่างจากสีใสเปลี่ยนเป็นสีชมพู กำหนดปริมาณกรดแลกติก ดังสมการ

$$\text{ร้อยละกรดแลกติก} = \frac{(N \times V_1 \times 90.08 \times 100)}{1000 \times V_2}$$

N = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ (N)

V_1 = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไทเทรต (มิลลิลิตร)

V_2 = ปริมาตรของสารตัวอย่างที่ใช้ (มิลลิลิตร)

90.08 = น้ำหนักโมเลกุลของกรดแลกติก (กรัม/โมล)

จำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรีย โดยการหาลำดับเบส 16S rRNA

1. การสกัดดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรีย

นำเชื้อบริสุทธิ์เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MRS แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นแยกเซลล์แบคทีเรียออกจากอาหารเหลว MRS โดยการนำไปปั่นเหวี่ยง 10,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที เซลล์แบคทีเรียจะตกตะกอนอยู่ที่ก้นหลอด Eppendorf Tube ทำการสกัดดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียด้วยชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป Genomic DNA Mini Kit (Blood/Cultured Cell) (Gene Aid, Taiwan)

2. การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR (Polymerase Chain Reaction) และตรวจสอบความบริสุทธิ์ของผลิตภัณฑ์ PCR (PCR Product) ด้วยอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส (Agarose Gel Electrophoresis)

นำดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียมาเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค PCR ด้วยเครื่อง PCR Master Cycler Personal โดยใช้ Primer คือ 27F (5'AGAGTTTGATCMTGG CTCAG-3') และ 1522R (5' AAGGAGGTGATCCRCCGCA -3') จากนั้นตรวจสอบ PCR Product ด้วย Agarose Gel Electrophoresis โดยนำเจลไปส่องภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตด้วยเครื่อง Transluminator ทำให้สังเกตเห็นแถบของดีเอ็นเอปรากฏขึ้น จากนั้นนำ PCR Product ของชิ้นส่วน 16S rDNA ที่ได้มาทำ

ให้บริสุทธิ์ ด้วยชุด GEL/PCR DNA Fragments Extraction Kit ดีเอ็นเอบรรจุอยู่ใน Eppendorf Tube และนำไปเก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส

3. การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย โดยการหาลำดับเบสในส่วนของยีน 16S rRNA

นำ PCR product ที่ทำให้บริสุทธิ์แล้ววิเคราะห์หาลำดับเบสในส่วนของยีน 16S rRNA โดยในการวิจัยครั้งนี้ได้จัดส่งไปหาลำดับเบสที่บริษัท First BASE Laboratories ณ ประเทศมาเลเซีย แล้วนำลำดับเบสที่ได้ไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล โดยใช้โปรแกรม BLAST ของ The National Center for Biotechnology Information (NCBI) ([http:// www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) เพื่อระบุสายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรีย

การคัดเลือกหญ้าที่ใช้ในการหมัก

ในการเลือกตัวแทนหญ้าที่ใช้ในการหมักพิจารณาผลผลิตต่อไร่ต่อปีเป็นหลัก และนอกจากนี้ยังพิจารณาถึงอายุการเก็บเกี่ยวด้วย ซึ่งหญ้าที่มีอายุน้อยจะมีองค์ประกอบทางเคมีต่ำกว่าหญ้าที่มีอายุมาก โดยคัดเลือกหญ้าที่มีการเจริญเติบโต และแตกกอได้ดี มีจำนวนใบมาก ตั้งต้นเป็นกอ เพื่อง่ายต่อการเก็บเกี่ยว จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ หญ้าลูซี่ หญ้ากินนี หญ้าคา และหญ้าขน ซึ่งทำการตัดที่อายุประมาณ 45-50 วัน ตัดให้มีขนาด 1-2 เซนติเมตร จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง บดให้ละเอียดแล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร นำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของหญ้า ประกอบด้วย วัตถุแห้ง (Dry Matter) , โปรตีนหยาบ (Crude Protein), เถ้า (Ash), ปริมาณเยื่อใยหยาบ (Crude Fiber), ไขมัน (Ether Extract) ตามวิธีการของ Association of Official Analytical Chemists (1995) และปริมาณเยื่อใย NDF (Neutral Detergent Fiber), ปริมาณเยื่อใย ADF (Acid Detergent Fiber)

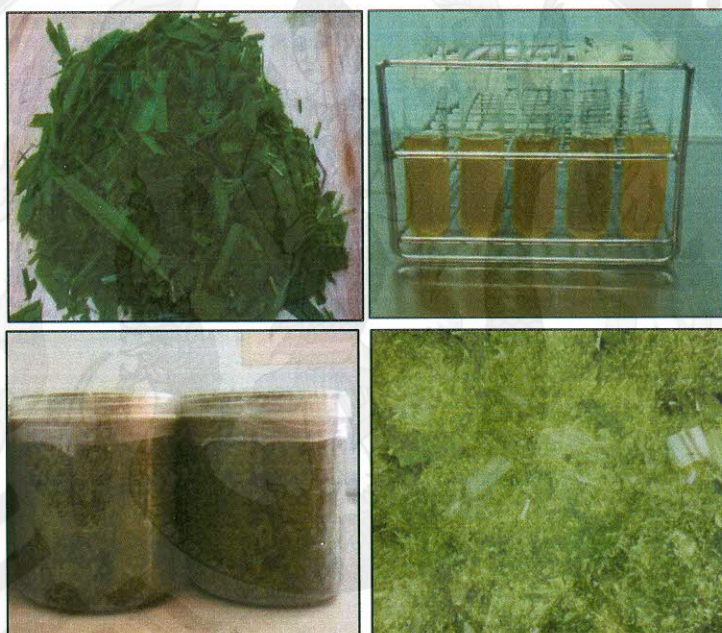
เลือกหญ้าที่มีองค์ประกอบทางเคมีที่อยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสม มาทำการหมักในระดับห้องปฏิบัติการ

การทำหญ้าหมักในระดับห้องปฏิบัติการ

1. การเตรียมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก

นำเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกจำนวน 3 ไอโซเลท (คัดเลือกได้จากข้อ 1) มาทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อสูตร MRS Broth บ่มในโถไร้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 37 องศา

เซลล์เซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เตรียมตัวอย่างแบคทีเรียกรดแลกติกให้เท่ากับสารละลาย McFarland Standards No.0.5 ซึ่งมีจำนวนเชื้อปริมาณ 1×10^8 CFU/มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางตัวอย่างแบคทีเรียกรดแลกติกปริมาตร 1 มิลลิลิตรในโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ให้ได้ความเข้มข้นของเชื้อเริ่มต้นประมาณ 1×10^6 CFU/กรัมของวัสดุหมัก หลังจากนั้นปลูกเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบลงในลงในภาชนะที่มีฝาเกลียวลิ้นขนาด 1.5 ลิตร ที่มีหญ้าสดขนาด 2-3 เซนติเมตรอัดหญ้าลงภาชนะให้แน่นเพื่อไล่อากาศออกให้มากที่สุด แล้วปิดฝาภาชนะให้สนิทในสภาวะไร้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 วัน (ภาพ 5)



ภาพ 5 การหมักหญ้าในระดับห้องปฏิบัติการ

2. การเก็บตัวอย่างหญ้าหมัก

เก็บตัวอย่างหญ้าหมักโดยใช้ปากคีบ (ทำให้ปลอดเชื้อก่อนใช้ โดยจุ่มแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ แล้วผ่านเปลวไฟ ทิ้งให้เย็นประมาณ 15 วินาที ก่อนใช้งาน) คีบตัวอย่างออกจากภาชนะ เพื่อนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในห้องปฏิบัติการ

3. การวิเคราะห์ตัวอย่างหญ้าหมัก

นำตัวอย่างหญ้าหมักที่ได้ อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง บดผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิลิตร และนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่

3.1 วัตถุแห้ง (Dry Matter), โปรตีนหยาบ (Crude Protein), เถ้า (Ash), ปริมาณเยื่อใยหยาบ (Crude Fiber), ไขมัน (Ether Extract) และปริมาณเยื่อใย NDF (Neutral Detergent Fiber), ปริมาณเยื่อใย ADF (Acid Detergent Fiber)

3.2 วัดค่าฟิเอช และปริมาณกรดแลกติก กรดอะซิติก กรดบิวทีริก และ โพรพิโอนิก ด้วยเครื่อง GC-MS

3.3 ตรวจนับปริมาณแบคทีเรียกรดแลกติกในตัวอย่างหญ้าหมักด้วยวิธีนับมาตรฐาน (Standard Plate Count) บนอาหารแข็งสูตร MRS และ M17 Agar จากนั้นนำไปบ่มในโกลีไรออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สังเกตลักษณะของโคโลนี และนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น

เลือกหญ้าหมักที่มีคุณภาพการหมักที่ดี และมีปริมาณเยื่อใยหยาบ (Crude Fiber) ปริมาณเยื่อใย NDF (Neutral Detergent Fiber), และปริมาณเยื่อใย ADF (Acid Detergent Fiber) สูงที่สุดไปทำการทดสอบในขั้นต่อไป

การทดลอง Biochemical Methane Potential เพื่อศึกษาอัตราส่วนการหมักที่เหมาะสม

1. การทำ BMP Test

ในการทดลองหาศักยภาพในการผลิตก๊าซมีเทนจะใช้อัตราส่วนการหมักในรูปของของแข็งระหว่างน้ำเสียจากฟาร์มสุกรร่วมกับหญ้าหมักในอัตรา 50:50, 60:40 และ 70:30 (v/v) ในขวดปริมาตร 1000 มิลลิลิตร (ปริมาตรการหมัก 800 มิลลิลิตร) (ภาพ 6) และเติมตะกอนหัวเชื้อปริมาตร 10 เปอร์เซ็นต์ของชุดการทดลอง ปิดขวดการทดลองให้สนิท นำไปต่อเข้ากับชุดเก็บก๊าซโดยใช้วิธีแทนที่น้ำ โดยอุปกรณ์วัดก๊าซจะบรรจุด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 30 ลิตร หยดฟีนอล์ฟทาลิน (จนสารละลายมีสีชมพูเข้ม) ปริมาณก๊าซมีเทนทั้งหมดจะถูกเก็บสะสมไว้ในชุดเก็บก๊าซ จากนั้นทำการบันทึกค่าปริมาณก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้นตามระยะเวลาที่กำหนดจนกระทั่งไม่พบปริมาณของก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้น ซึ่งในการทดลองจะควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วง 35 ± 2 องศาเซลเซียส เมื่อสิ้นสุดการทดลองทำการวัดค่าฟิเอชทันที จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปทำการวิเคราะห์ค่าซีโอดี (COD) กรดไขมันระเหยง่าย (VFA) สภาพด่าง (Alk) ของแข็งทั้งหมด (TS) ของแข็งระเหยทั้งหมด (VS) ไนโตรเจนทั้งหมด (TKN) และแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ($\text{NH}_3\text{-N}$) เพื่อศึกษาศักยภาพการเกิดก๊าซมีเทนสูงสุด (สถาบันวิจัยและพัฒนาพลังงาน, 2552)



ภาพ 6 ชุดการทดลองที่ใช้ในการทดลอง

2. การวิเคราะห์ข้อมูล

นำผลการทดลองที่ได้มาศึกษาศึกษาภาพในการผลิตก๊าซมีเทนของของเสียตามอัตราส่วนที่แตกต่างกัน โดยอาศัยปริมาณก๊าซมีเทนที่วัดได้แต่ละวัน นำมาพล็อตกราฟแสดงปริมาณก๊าซมีเทนสะสมตามระยะเวลาที่ทำการทดลอง และนำค่าปริมาณก๊าซมีเทนสะสมทั้งหมดลบปริมาณก๊าซมีเทนสะสมที่เกิดจากเชื้อตั้งต้นเพียงอย่างเดียว เพื่อนำปริมาณก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้นจริงมาคำนวณหาอัตราการผลิตก๊าซมีเทน (Total Specific Methane Yield) ของของเสียในรูปของ Volatile Solid ที่ป้อนเข้าระบบ ซึ่งผลการวิเคราะห์ส่วนผสมในขวดทดลองเริ่มต้นและสิ้นสุดการทดลอง เป็นค่าที่ใช้ในการประเมินประสิทธิภาพของระบบ ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{อัตราการผลิตก๊าซมีเทน (มล./กก.VS}_{\text{added}}) = \frac{\text{ปริมาณของก๊าซมีเทนสะสมทั้งหมด (มล.)} - \text{ปริมาณของก๊าซมีเทนสะสมจากเชื้อ (มล.)}}{\text{กรัมของ VS ที่ป้อนเข้า}}$$

ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ ทำให้ทราบถึงปริมาณมีเทนสูงสุดที่สามารถผลิตได้ และประสิทธิภาพการย่อยสลายสารอินทรีย์ในรูป VS อย่างไรก็ตาม การออกแบบระบบก๊าซชีวภาพให้เหมาะสมกับการนำไปใช้จริงจะต้องทำการทดลองด้วยการเดินระบบแบบต่อเนื่อง เพื่อศึกษาระยะเวลาที่เก็บ และวิธีการเดินระบบที่เหมาะสม

การทดสอบประสิทธิภาพการผลิตก๊าซมีเทนในระดับห้องปฏิบัติการ

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาอัตราส่วนการหมักของน้ำเสียจากฟาร์มสุกร และหญ้าหมัก ในอัตราส่วนการหมัก 50:50, 60:40 และ 70:30 (v/v) โดยเลือกใช้อัตราส่วนที่ให้ค่าการเกิดมีเทนจำเพาะที่ได้จากการทดลองหาศักยภาพการเกิดมีเทนสูงสุดมาดำเนินการทดลอง คือ ที่อัตราส่วนการหมักของน้ำเสียจากฟาร์มสุกร และหญ้าหมัก ในอัตราส่วนการหมัก 70:30 และทำการศึกษาการทดลองที่ระยะเวลาเก็บที่ 15 20 และ 25 วัน โดยทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการกำจัดสารอินทรีย์ในรูป Volatile Solid (VS) ที่สามารถย่อยสลายให้กลายเป็นก๊าซมีเทนได้ รวมทั้งอัตราการผลิตก๊าซมีเทน

1. การเตรียมวัสดุหมักรวม

1.1 หญ้าหมัก

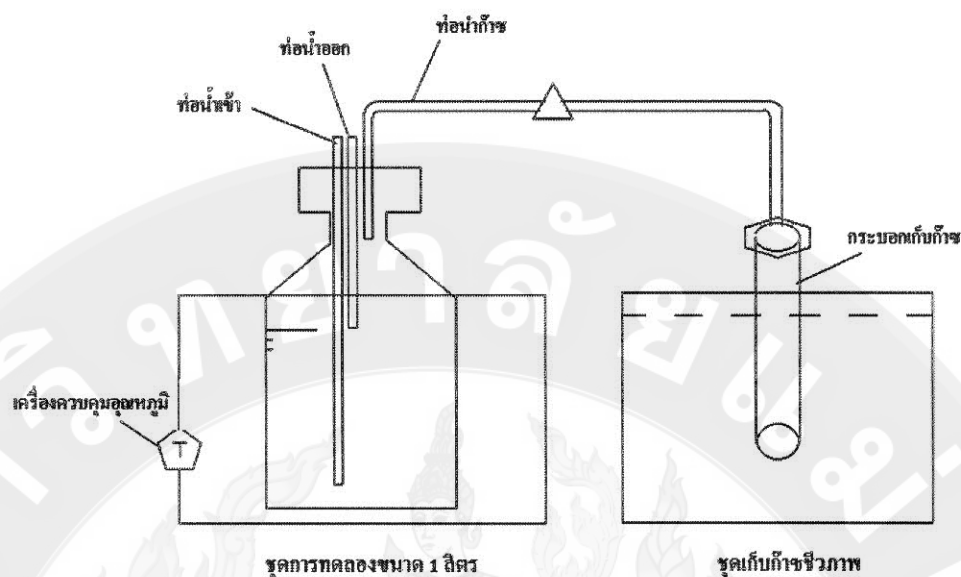
ตัดหญ้าสดให้มีขนาด 2-3 เซนติเมตร ลงในภาชนะที่มีฝาเกลียวลิ้นคขนาด 1.5 ลิตร จากนั้นเติมเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก ปิดฝาภาชนะให้สนิทในสภาวะไร้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 วัน

1.2. แบบจำลองของชุดการทดลอง

ชุดการทดลองที่ใช้ในการทดลองของศึกษาประสิทธิภาพการผลิตก๊าซมีเทนของน้ำเสียจากฟาร์มสุกรและหญ้าหมักในรูปแบบการหมักย่อยร่วม (ภาพ 7) โดยแบบจำลองที่ใช้ในการดำเนินการวิจัยมีรายละเอียดดังนี้

ก. ชุดการทดลองเป็นขวดปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ที่ฝาด้านบนของชุดการทดลองติดตั้งท่อนำก๊าซซึ่งเป็นสายยางพลาสติกใสทำหน้าที่ในการนำก๊าซไปยังชุดเก็บก๊าซ และท่อสำหรับการเติมน้ำเสีย และระบายน้ำเสียออกจากชุดการทดลอง

ข. ชุดเก็บก๊าซทำจากขวดพลาสติกขนาด 600 มิลลิลิตร ด้านล่างของขวดเจาะรูเชื่อมต่อกับชุดการทดลอง และอีกสายหนึ่งใช้เพื่อสำหรับปล่อยก๊าซออก (Gas Releasing) ซึ่งในการเก็บตัวอย่างก๊าซจะใช้หลักการแทนที่น้ำโดยการวัดปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้นในแต่ละวัน



ภาพ 7 แบบจำลองของชุดการทดลอง

2. การดำเนินการทดลอง

เริ่มต้นระบบโดยนำตะกอนหัวเชื้อจากบ่อหมักแบบไร้ออกซิเจนจากฟาร์มสุกรของคุณแดง พรหมมินทร์ ในการทดลองใช้เชื้อตั้งต้นมีค่าของแข็งแขวนลอย และของแข็งระเหยง่ายเท่ากับ 18,975 และ 15,180 มิลลิกรัม/ลิตร โดยนำตะกอนหัวเชื้อมาใส่ยังชุดการทดลองปริมาตร 10 เปอร์เซ็นต์ของชุดการทดลอง เติมน้ำเสียจากฟาร์มสุกรที่ผสมกับวัสดุหมักพร้อมเข้าสู่ชุดการทดลองเพื่อให้ตะกอนหัวเชื้อปรับสภาพให้เข้ากับน้ำเสียเป็นเวลา 1 สัปดาห์ จนครบปริมาตรการหมักสังเกตองค์ประกอบของมีเทน หลังจากนั้นจึงเริ่มเดินระบบโดยการป้อนน้ำเสียตามปริมาณที่กำหนดไว้ตามระยะเวลาเก็บน้ำ

หลังจากปรับสภาพน้ำเสียจากฟาร์มสุกรและหุ้หมักที่ใช้ในการทดลอง โดยสังเกตการเกิดก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นในแต่ละวัน จากนั้นป้อนน้ำเสียเข้าสู่ระบบตามอัตราส่วนที่ใช้ในการทดลองโดยทำการทดลองที่เวลากักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน ในชุดการทดลองขนาด 1 ลิตร (ปริมาตรการหมัก 800 มิลลิลิตร) จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างของน้ำเข้า และน้ำออกจากระบบ ก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นในแต่ละวัน และวิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซสัปดาห์ละ 3 ครั้ง ทำการเดินระบบจนเข้าสู่สภาวะคงที่ (เมื่อความแปรปรวนของค่าซีโอดีในน้ำออกมีค่าที่ค่อนข้างคงที่หรือใช้ระยะเวลาในการเดินระบบไม่น้อยกว่า 2 เท่าของระยะเวลากักเก็บ) พารามิเตอร์ที่ทำการวิเคราะห์และวิธีวิเคราะห์ที่ใช้ (ตาราง 8)

ทำการวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ตาม Standard Method for the Examination of Water and Wastewater (American Public Health Association, 1998)

ตาราง 8 พารามิเตอร์ที่ทำการวิเคราะห์

พารามิเตอร์	ตัวอย่าง	ความถี่	วิธีการวิเคราะห์
pH	น้ำเข้า น้ำออก	ทุกวัน	pH Meter
COD	น้ำเข้า น้ำออก	3 ครั้ง/สัปดาห์	Close Reflux Method
VS	น้ำเข้า น้ำออก	3 ครั้ง/สัปดาห์	Gravimetric Method
VSS	น้ำเข้า น้ำออก	3 ครั้ง/สัปดาห์	Gravimetric Method
VFA	น้ำเข้า น้ำออก	3 ครั้ง/สัปดาห์	GC-MS
Alkalinity	น้ำเข้า น้ำออก	3 ครั้ง/สัปดาห์	Titration Method
TKN	น้ำเข้า น้ำออก	3 ครั้ง/สัปดาห์	Kjedahl Method
ปริมาณก๊าซ	ก๊าซชีวภาพ	ทุกวัน	เครื่องวิเคราะห์ห้องค์ประกอบ
องค์ประกอบก๊าซ	ก๊าซชีวภาพ	3 ครั้ง/สัปดาห์	ก๊าซชีวภาพ (BIOGAS 5000)

3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติทำโดยโปรแกรม SPSS V.16 โดยเปรียบเทียบด้วยวิธี One-Way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และเลือกใช้การแบ่งจุดต่างโดยวิธี Duncan

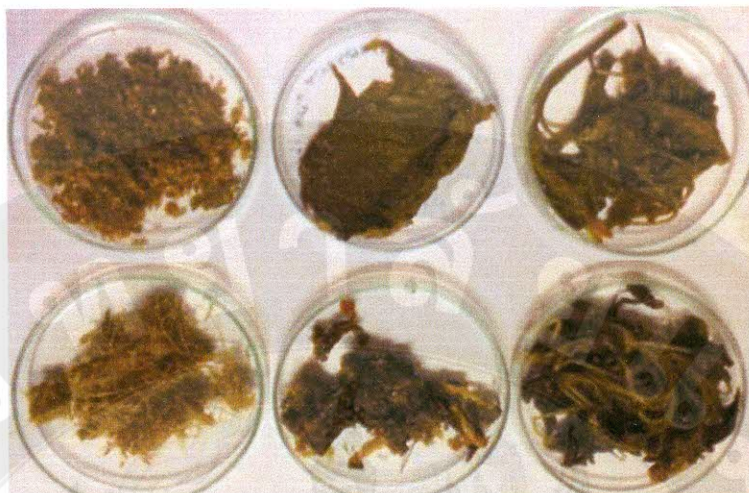
บทที่ 4

ผลและอภิปรายผลการทดลอง

การศึกษานี้แบ่งการทดลองออกเป็น 5 การทดลองคือ การทดลองที่ 1 คัดเลือกแบคทีเรียกรดแลคติกที่เหมาะสมต่อการหมักเหู้าที่สามารถผลิตกรดแลคติก และเจริญได้ดี การทดลองที่ 2 คือ คัดเลือกเหู้า ได้แก่ เหู้ารัฐ เหู้ากินนี เหู้าขน และเหู้าคา โดยเลือกจากองค์ประกอบทางเคมีของเหู้าที่อยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสมต่อการหมัก การทดลองที่ 3 คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเหู้าหมัก การทดลองที่ 4 ศึกษาศักยภาพในการผลิตก๊าซมีเทนจากการหมักร่วมระหว่างน้ำเสียจากฟาร์มสุกร และเหู้าหมักในระดับห้องปฏิบัติการ โดยการปรับสภาพก่อนการหมักด้วยแบคทีเรียกรดแลคติกสายพันธุ์ *L. plantarum* 107 ที่อัตราส่วน 50:50, 60:40 และ 70:30 การทดลองที่ 5 ศึกษาผลของระยะเวลาเก็บเก็บต่อประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียจากการหมักร่วมระหว่างน้ำเสียจากฟาร์มสุกรกับเหู้าหมักซึ่งจะใช้อัตราส่วนระหว่างน้ำเสียจากฟาร์มสุกรกับเหู้าหมักที่อัตราส่วน 70:30 โดยใช้ชุดการทดลองขนาด 1 ลิตร (ปริมาตรการหมัก 800 มิลลิลิตร) ที่ระยะเวลาเก็บเก็บ 15, 20 และ 25 วัน ซึ่งผลการทดลอง และการวิจารณ์ผลแสดงในหัวข้อต่อไป

ผลการแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก

คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกจากตัวอย่างที่นำมาทดสอบจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ ตัวอย่างอาหารหมักดองของภาคเหนือ จำนวน 4 ชนิด คือ เมี่ยง ผักกาดดอง กะหล่ำปลีดอง ผักเสี้ยนดอง และตัวอย่างจากพืชอาหารสัตว์หมัก จำนวน 2 ชนิด คือ เหู้าเนเปียร์หมัก และข้าวโพดหมัก (ภาพ 8) มาทำการคัดแยก และตรวจนับจำนวนของแบคทีเรียกรดแลคติกที่อยู่ในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อสูตร MRS และ M17 Agar ด้วยเทคนิค Spread Plate บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะไร้ออกซิเจน เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และทำการสุมเก็บโคโลนีตามลักษณะฐานฐานวิทยาที่แตกต่างกันมาทำให้บริสุทธิ์ด้วยการ Cross Streak เพื่อศึกษาในขั้นต่อไป



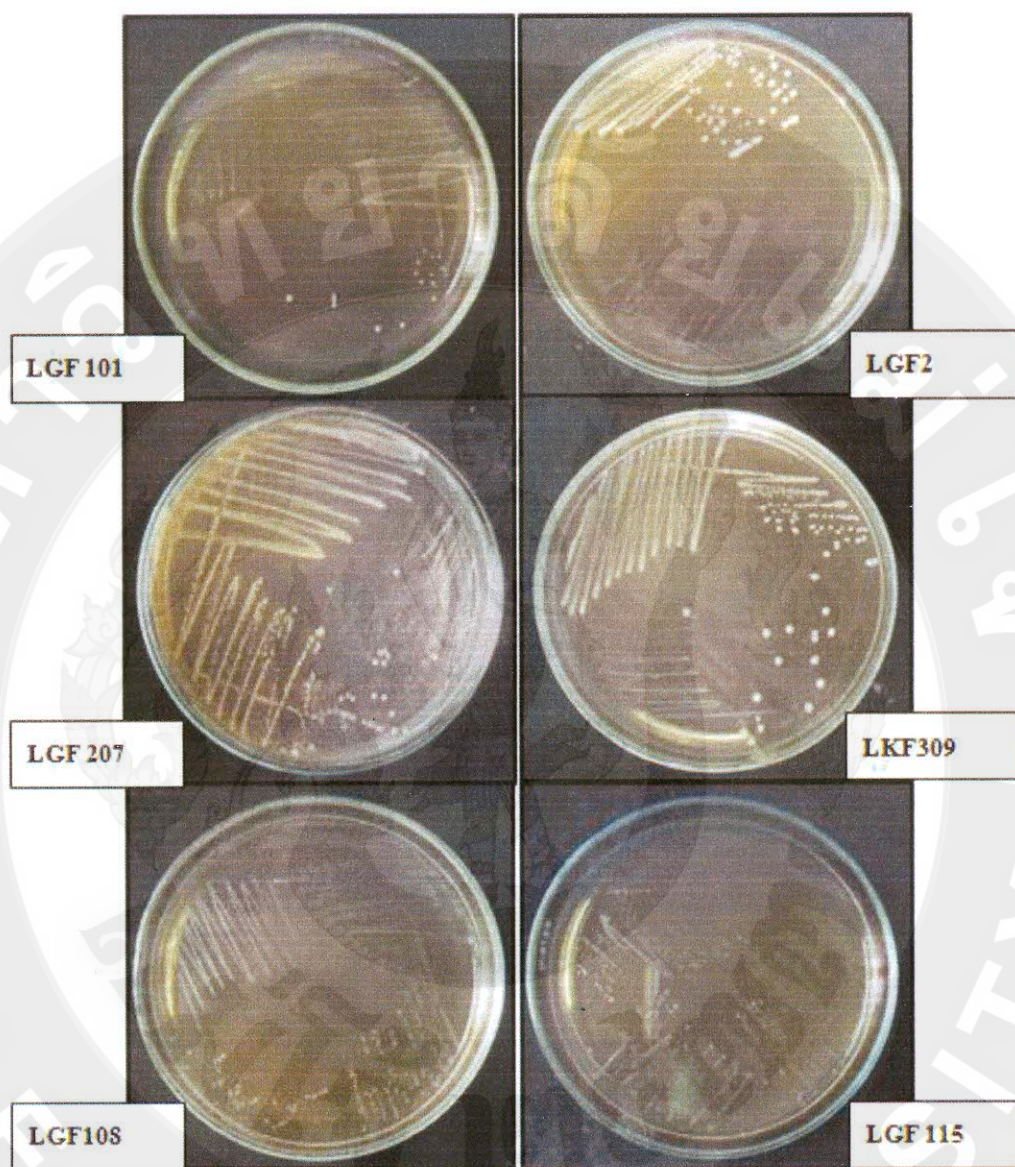
ภาพ 8 ตัวอย่างที่ใช้ในการคัดแยกเชื้อ

จากการคัดแยกแบคทีเรียกรดแลกติกจากตัวอย่าง พบว่า ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียกรดแลกติกที่เจริญบนสูตรอาหารดังกล่าว จะมีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกันออกไป ซึ่งสามารถคัดแยกแบคทีเรียกรดแลกติกได้ทั้งหมดจำนวน 137 ไอโซเลท บนอาหาร MRS Agar จำนวน 79 ไอโซเลท และอาหาร M17 Agar จำนวน 58 ไอโซเลท (ตาราง 9) และจากการสังเกตลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียกรดแลกติกที่แยกได้จากตัวอย่างทั้งหมด พบว่า สีของโคโลนีมีทั้งสีขาว และสีขาวขุ่น ลักษณะโคโลนีค่อนข้างทึบแสง บริเวณรอบๆ โคโลนีมีลักษณะกลม (Circular) ขอบเรียบ (Entire) บริเวณด้านบนของโคโลนีมีลักษณะแบนราบ (Flat) แบบนูน (Raised) แบบโค้งนูน (Convex) และแบบนูนตรงกลางเล็กน้อย (Umbonate) ขนาดของโคโลนีมีทั้งขนาดใหญ่มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2-3 มิลลิเมตร ขนาดเล็กมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5-1 มิลลิเมตร (ภาพ 9) โดยลักษณะโคโลนีแบคทีเรียกรดแลกติกที่พบดังกล่าว มีลักษณะทั่วไปของแบคทีเรียกรดแลกติก (Kandler and Weiss, 1993)

ตาราง 9 จำนวนเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จากอาหารหมักพื้นเมืองและพืชอาหารสัตว์ในเขต
จังหวัดเชียงใหม่

ลำดับ	ชนิดตัวอย่าง	จำนวนแบคทีเรียแลคติก (ไอโซเลท)	
		MRS Agar	M17 Agar
1.	ผักกาดดอง	17	12
2	เมี่ยง	10	8
3	ผักเสี้ยนดอง	11	9
4.	กระหล่ำดอง	12	10
5	ต้นข้าวโพดหมัก	11	6
6	หนุ่ยเนเปียร์หมัก	18	13
รวม		79	58

สำหรับจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกที่อยู่ในตัวอย่างอาหารหมักดอง และพืชอาหารสัตว์หมักทั้ง 6 โดยจำนวนเฉลี่ยของแบคทีเรียกรดแลคติกอยู่ในช่วง 10^4 - 10^5 CFU/กรัมของตัวอย่าง ซึ่งช่วงที่ตรวจเชื้อมีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาของ ทองเลียน (2541; สุริลักษณ์, 2554) ที่พบว่า จำนวนของแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกได้จากอาหารหมักดอง และพืชอาหารสัตว์หมักมีค่าอยู่ในช่วง 10^4 - 10^6 CFU/กรัมของตัวอย่าง

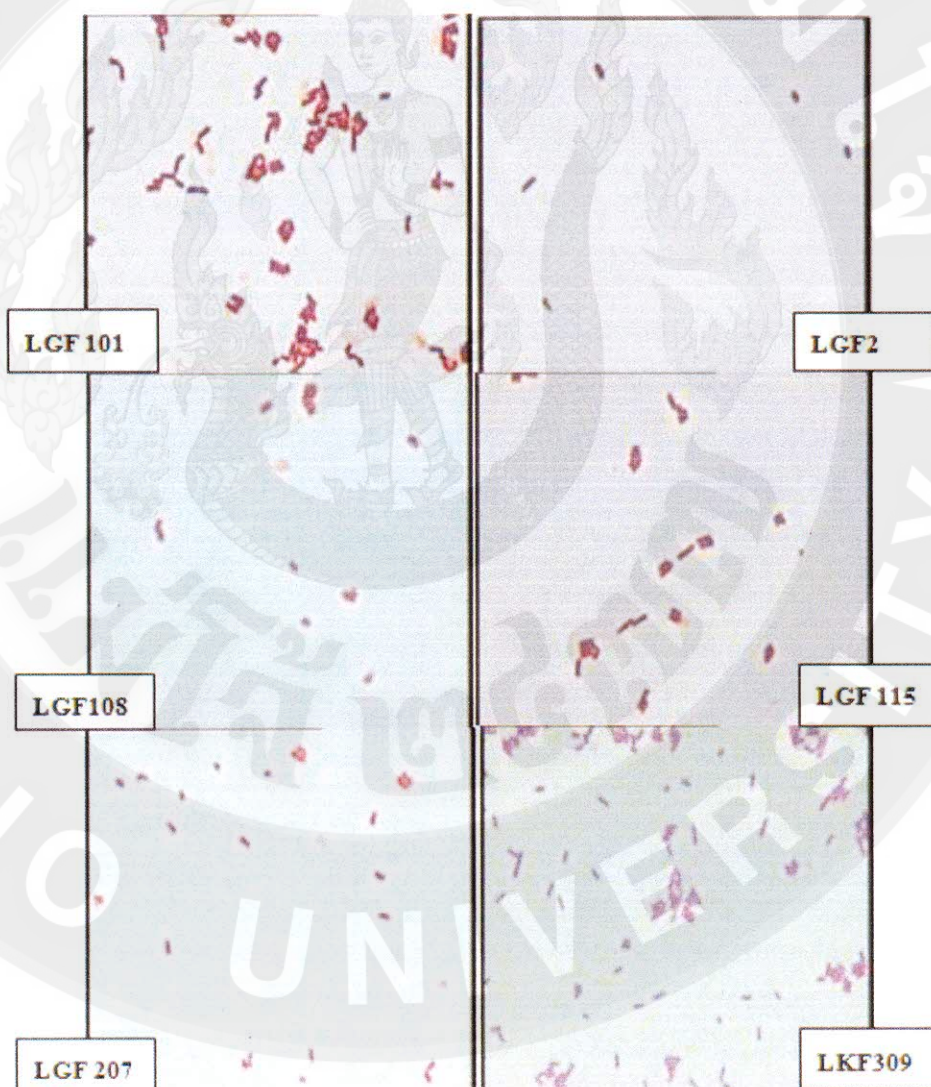


ภาพ 9 ลักษณะ โคโลนีของแบคทีเรียกรดแลกติกที่แยกจากแหล่งต่างๆ

นำตัวอย่างของแบคทีเรียกรดแลกติกที่บริสุทธิ์ นำไปศึกษาลักษณะทางด้าน
 สัณฐานทางวิทยา โดยการย้อมสีแกรมเพื่อตรวจสอบรูปร่าง และการจัดเรียงตัวของเชื้อแบคทีเรีย
 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า ลักษณะของแบคทีเรียกรดแลกติกที่แยกได้ ติดสีแกรมบวก ซึ่งมี
 ลักษณะรูปร่างของเซลล์ทั้งแบบท่อน และแบบกลม บางลักษณะของเซลล์คล้ายรูปท่อนออกกลมรี

การจัดเรียงตัวของเซลล์แบบท่อนจะมีการจัดเรียงตัวต่อกันเป็นสายโซ่ เป็นคู่ ขนาดของเซลล์จะแตกต่างกันออกไป (ภาพ 10)

หลังจากที่มีการทดสอบการสร้างเอนไซม์อะเลส พบว่า แบคทีเรียกรดแลคติกไม่เกิดปฏิกิริยากับสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งให้ผลเป็นลบ ซึ่งจากการทดสอบทางชีวเคมีของแบคทีเรียกรดแลคติก พบว่า ได้แบคทีเรียกรดแลคติกจำนวน 87 ไอโซเลท ซึ่งแบ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกรูปร่างท่อน จำนวน 79 ไอโซเลท เชื้อแบคทีเรียแกรมบวกรูปร่างกลม จำนวน 8 ไอโซเลท

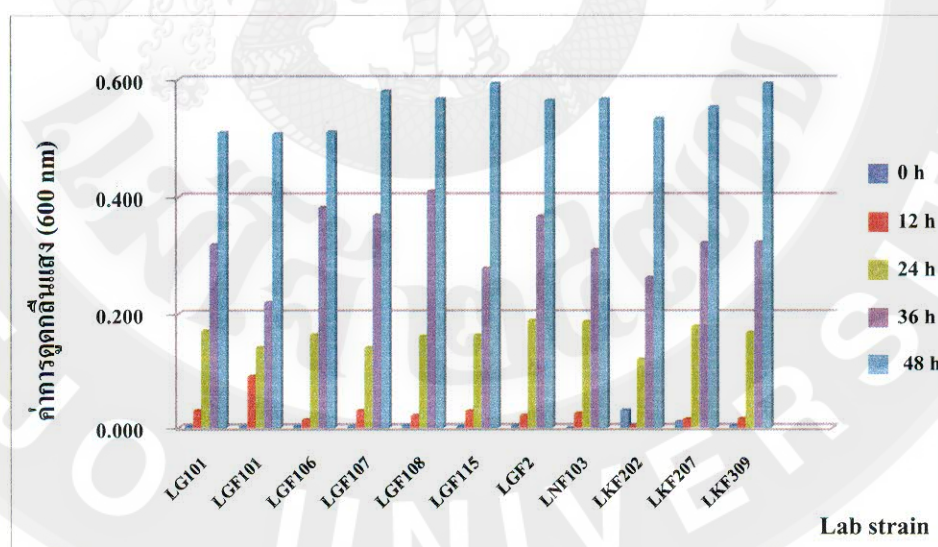


ภาพ 10 การจัดเรียงตัวของเซลล์ของแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกจากแหล่งต่างๆ

ผลการทดสอบการเจริญ และการสร้างกรดของ แบคทีเรียกรดแลกติกในน้ำหมักสาคัด

ผลของการเจริญของแบคทีเรียกรดแลกติก

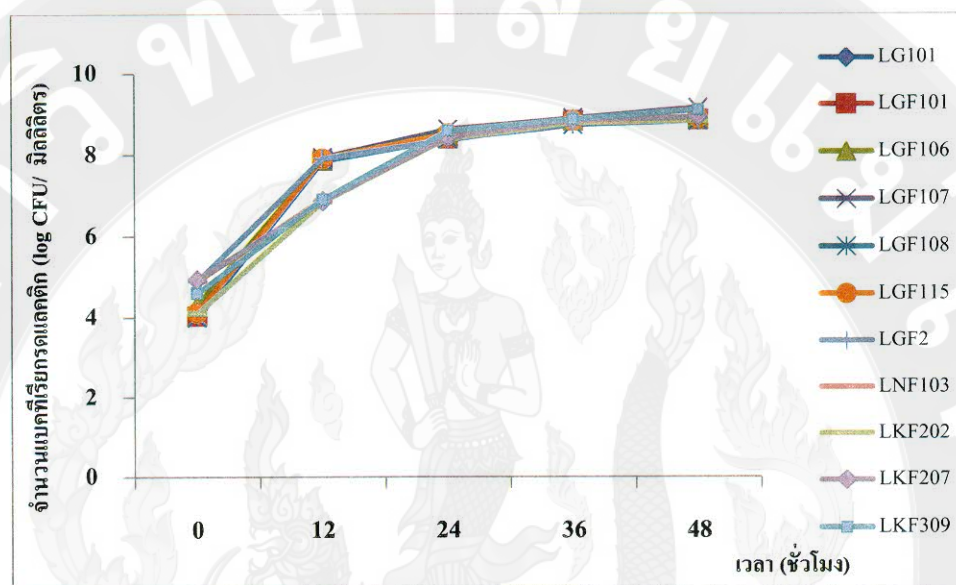
จากการนำเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติกที่คัดแยกได้มาเพาะเลี้ยงในน้ำหมักสาคัดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสในสภาวะไร้ออกซิเจน โดยวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ Analysis of Variance (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test ด้วยโปรแกรม SPSS พบว่า แบคทีเรียกรดแลกติกจำนวน 11 ไอโซเลต (LG101, LGF101, LGF106, LGF107, LGF108, LGF115, LGF2, LNF103, LNF202, LNF207 และ LNF309) สามารถเจริญได้สูงกว่าไอโซเลตอื่นๆ (ภาพ 11) โดยสามารถเจริญเติบโตได้สูงที่สุด (OD_{600} ที่ 0.508-0.593) ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Akerberg et al. (1998); Yumoto and Ikeda (1995) พบว่า เชื้อแบคทีเรียกรดแลกติกสามารถเจริญได้สูงสุด เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 33-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยมีค่าการเจริญของแบคทีเรียที่ $OD_{600} = 0.530-0.660$



ภาพ 11 การเจริญของแบคทีเรียกรดแลกติกในน้ำหมักสาคัดที่ $OD_{600 \text{ nm}}$

เมื่อทำการนับจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติกโดยทำการเก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะไร้ออกซิเจน ซึ่งการเจริญของแบคทีเรียกรดแลกติกทั้ง 11 ไอโซเลต สามารถเจริญได้สูงสุดในชั่วโมงที่ 24-48 ซึ่งมีปริมาณเซลล์สูงสุดโดยเฉลี่ยที่ $10^8 - 10^9 \text{ CFU/}$

มิลลิลิตร ซึ่งพบว่า แบคทีเรีย LGF107 มีปริมาณเซลล์ที่ 9.14 log CFU/ มิลลิลิตร รองลงมาคือ LGF115 และ LNF309 มีปริมาณเซลล์ที่ 9.10 และ 9.09 log CFU/ มิลลิลิตร ส่วน LG101, LGF101, LGF106, LGF108, LGF2, LNF103, LNF202 และ LNF207 มีปริมาณเซลล์ที่ 8.82-8.89 log CFU/ มิลลิลิตร ตามลำดับ (ภาพ 12)



ภาพ 12 จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกในน้ำหมัก

ผลทดสอบการผลิตกรดแลคติกของแบคทีเรียกรดแลคติก

ผลการทดสอบความสามารถในการผลิตกรดแลคติกที่คัดแยกได้โดยการปลูกเชื้อลงในน้ำหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พบว่า แบคทีเรียกรดแลคติกจำนวน 11 ไอโซเลทสามารถผลิตกรดแลคติกได้ประมาณสูงสุดที่ร้อยละ 1.7-2.1 (ดังภาพ 13) ซึ่งผลที่ได้ใกล้เคียงกับผลการทดลองของ Marques et al. (2008) ได้ศึกษาการผลิตกรดแลคติกในน้ำที่จากโรงงานผลิตเยื่อกระดาษ พบว่า แบคทีเรียสามารถผลิตกรดแลคติกได้ร้อยละ 1.1 และ Beatriz et al. (2004) ได้ใช้น้ำแช่ข้าวโพดเป็นแหล่งอาหารในการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติก หลังจากบ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมงพบว่า แบคทีเรียสามารถผลิตกรดแลคติกถึงร้อยละ 2.1 และงานวิจัยของ Kimaryo et al. (2000; Sanni et al, 2002) ได้คัดเลือกแบคทีเรียกรดแลคติกที่สามารถย่อยเซลลูโลสจากมันสำปะหลัง และธัญพืช พบว่า แบคทีเรียกรดแลคติกมีความสามารถในการย่อยแป้ง และผลิตกรดแลคติกได้ถึงร้อยละ 1.2



ภาพ 13 การผลิตกรดแลกติกของแบคทีเรียกรดแลกติกที่ 48 ชั่วโมง

ผลการทดสอบการเจริญ และการผลิตกรดของแบคทีเรียกรดแลกติกในน้ำหญา สกัด เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า ในช่วงเริ่มต้นน้ำหญาสกัดมีค่าพีเอชเท่ากับ 5.3 ซึ่งแบคทีเรียกรดแลกติกจะอาศัยน้ำตาลกลูโคสจากน้ำหญาสกัดเป็นแหล่งพลังงานเพื่อใช้ในการสร้างกรดแลกติก ทำให้ค่าพีเอชมีค่าที่ลดลง โดยที่เวลา 48 ชั่วโมง มีค่าพีเอชเท่ากับ 3.8-4.1 ซึ่งเป็นช่วงที่แบคทีเรียสามารถผลิตกรดแลกติกได้ดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ McDonald et al. (1991; Muck, 1991) ที่พบว่า ค่าพีเอชเหมาะสมสำหรับการผลิตกรดแลกติกของแบคทีเรียควรมีจะค่าระหว่าง 3.8 - 4.6

เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ แบคทีเรียกรดแลกติกจำนวน 11 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพการเจริญ และการผลิตกรดแลกติกที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยแบคทีเรียกรดแลกติกรหัส LGF107, LGF115 และ LNF309 มีประสิทธิภาพในการเจริญได้ดี (OD_{600} ที่ 0.580, 0.593 และ 0.593) และผลิตกรดแลกติกได้สูงสุดเท่ากับ 2.10 ตามลำดับ (ตาราง 10)

ตาราง 10 ประสิทธิภาพการเจริญ และการผลิตกรดแลกติกของแบคทีเรียกรดแลกติก

ไอโซเลท	OD600nm	(ร้อยละ) กรดแลกติก	พีเอช
LGI01	0.510 ^{bc}	2.00 ^{ab}	4.1 ^{abc}
LGI101	0.508 ^{bc}	1.80 ^{abc}	3.2 ^a
LGI106	0.511 ^{bc}	1.80 ^{abc}	4.0 ^{abc}
LGI107	0.580 ^a	2.10 ^a	3.9 ^{ab}
LGI108	0.567 ^{ab}	1.80 ^{abc}	4.1 ^{abc}
LGI115	0.593 ^a	2.10 ^a	3.4 ^a
LGI2	0.564 ^{ab}	2.00 ^{ab}	4.1 ^{abc}
LNI103	0.566 ^{ab}	1.80 ^{abc}	3.6 ^a
LKI202	0.533 ^{abc}	1.80 ^{abc}	4.0 ^{ab}
LKI207	0.553 ^{abc}	1.70 ^{abc}	4.1 ^{abc}
LKI309	0.593 ^a	2.10 ^a	4.0 ^{ab}
F-test	*	*	*

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

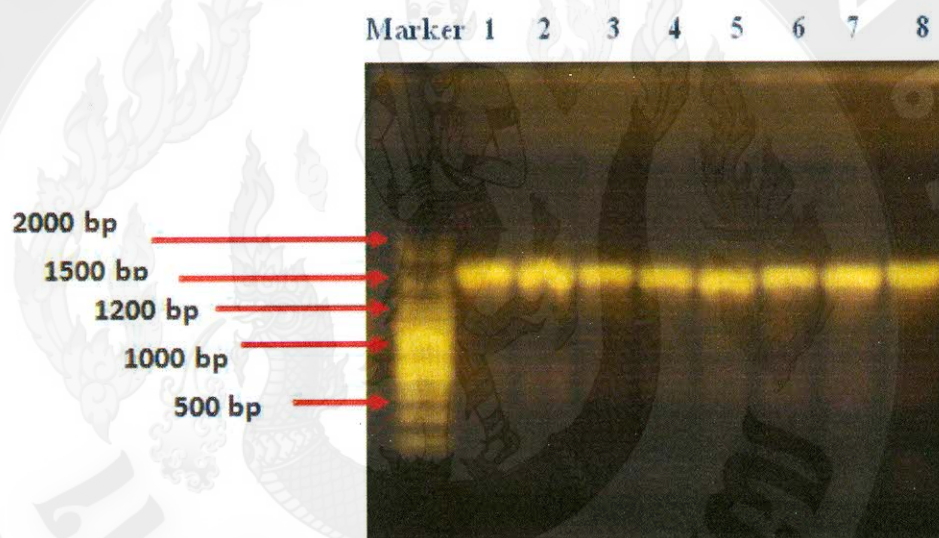
ดังนั้น ในการทดลองนี้จึงคัดเลือกแบคทีเรียกรดแลกติกที่มีประสิทธิภาพในการเจริญได้ดี และการผลิตกรดแลกติกได้สูงที่สุดจำนวน 3 ไอโซเลท คือ LGI107, LGI115 และ LNI309 เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการปรับสภาพเบื่องต้นของหมักในขั้นตอนต่อไป

ผลการจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติก

โดยการลำดับเบสในส่วนของยีน 16S rRNA

หลังจากที่ศึกษาลักษณะพื้นฐานทางวิทยาของแบคทีเรียกรดแลกติก และทดสอบการเจริญและการผลิตกรดแลกติกในหมักสัปดาห์ พบว่า ปัจจัยที่ต้อง พิจารณา คือ ความสามารถในการเจริญ และการผลิตกรดแลกติกที่สูง มีชีวิตรอดในกระบวนการผลิต จากนั้นคัดเลือกแบคทีเรียกรดแลกติกจำนวน 8 ไอโซเลท ที่มีการผลิตกรดแลกติกสูง มาสกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป Genomic DNA Mini Kit (Blood/Cultured Cell) (Geneaid, Taiwan) แล้วเพิ่มปริมาณ

ชิ้นส่วนของยีน 16S rRNA ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ 27F และ 1522R ตรวจสอบ PCR Product โดยการทำให้ Agarose Gel Electrophoresis ได้ PCR Product ของยีน 16S rRNA มีขนาดประมาณ 1,500 คู่เบส (ภาพ 14) จากการวิจัยครั้งนี้ ดำเนินการวิเคราะห์หาลำดับเบสของยีน 16S rRNA โดยบริษัท First BASE ประเทศมาเลเซีย จากนั้นนำมาจัดเรียงต่อกัน โดยใช้โปรแกรม Bio Edit เมื่อเป็นสายดีเอ็นเอที่ต่อเนื่องกันแล้วนำเอาลำดับเบสที่ได้ไปเปรียบเทียบกับลำดับเบสในฐานข้อมูลใน The National Center for Biotechnology Information (NCBI) ได้ผลการวิเคราะห์ลำดับเบสของยีน 16S sRNA ดังนี้ (ภาพ 15-17)



ภาพ 14 ขนาดของดีเอ็นเอ ที่ได้จากการทำ PCR ในส่วนของยีน 16s rRNA

หมายเหตุ: Lane Marker คือ O' GeneRuler™ 100bp Plus DNA Ladder
Lane 1-8 คือขนาดของดีเอ็นเอที่ได้จากการทำ PCR ของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท LG101, LGF101, LGF106, LGF107, LGF108, LGF115, LGF2, LNF103, LNF202, LNF207 และ LNF309 ตามลำดับ

CATGATTTACATTTGAGTGAGTGGCGAACTGGTGAGTAACACGTGGGAAACCTGCCCAGAAGCGG
 GGGATAACACCTGGAAACAGATGCTAATACCGCATAACAACCTTGGACCGCATGGTCCGAGTTTGA
 AAGATGGCTTCGGCTATCACTTTTGGATGGTCCCGCGGCGTATTAGCTAGATGGTGAGGTAACGGC
 TCACCATGGCAATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGG
 CCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAA
 CGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAACTCTGTTGTTAAAGAAGAACATATCTGAG
 AGTAACTGTTTACAGGTATTGACGGTATTTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCG
 CGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGATTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTT
 TTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATCGGAAACTGGGAAACTTGAGT
 GCAGAAGAGGACAGTGGAACCTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCA
 GTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCTCGAAAGTATGGGTAGCAAACAGG
 ATTAGATACCCTGGTAGTCCATACCGTAAACGATGAATGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTC
 AGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAAC

ภาพ 15 ลำดับเบสของ DNA ในส่วนของยีน 16S rRNA ของแบคทีเรียไอโซเลต LGF 107

GCTTGCACTGAATGAGATTTTAACACGAAGTGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACC
 TGCCCAGAAGCAGGGGATAACACCTGGAAACAGATGCTAATACCGTATAACAGAGAAAACCGCC
 TGGTTTTCTTTTAAAGATGGCTCTGCTATCACTTCTGGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTG
 GTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCGATGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGG
 GACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGCAA
 GTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAGCTCTGTTGTTAAAGA
 AGAACGTGGGTGAGAGTAACTGTTTACCCAGTGACGGTATTTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTA
 CGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGATTATTGGGCGTAAAGCGA
 GCGCAGGCGGTCTTTTAAGTCTAATGTGAAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATTGGAAAC
 TGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACCTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATA
 TGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCTCGAAAGCATG
 GGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAAACGATGATTACTAAGTGTGGAG
 GGTTCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGTAATCCGCCTGGGGAGTACGACCG

ภาพ 16 ลำดับเบสของ DNA ในส่วนของยีน 16S rRNA ของแบคทีเรียไอโซเลต LGF115

GCATCATGATTTACATTTGAGTGAGTGGCGAACTGGTGAGTAACACGTGGGAAACCTGCCCAGAA
 GCGGGGGATAACACGTGGAAACAGATGCTAATACCGCATAACAACCTTGGACCGCATGGTCCGAGT
 TTGAAAGATGGCTTCGGCTATCACTTTTGGATGGTCCCGCGGCGTATTAGCTAGATGGTGGGGTAA
 CGGCTCACCATGGCAATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGAC
 ACGGCCCAAACCTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGA
 GCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAACTCTGTTGTTAAAGAAGAACATATC
 TGAGAGTAACTGTTTCAGGTATTGACGGTATTTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCA
 GCCGCGGTAAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGG
 TTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATCGGAAACTGGGAAACTT
 GAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAAC
 ACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCTCGAAAGTATGGGTAGCAAA
 CAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATACCGTAAACGATGAATGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGC
 CCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTG

ภาพ 17 ลำดับเบสของ DNA ในส่วนของยีน 16S rRNA ของแบคทีเรียไอโซเลต LKF 309

จากนั้นนำลำดับเบสที่ได้ไปเทียบความคล้ายจากฐานข้อมูลลำดับเบสใน GenBank โดยใช้โปรแกรม BLAST ได้ผลดังนี้คือ แบคทีเรียไอโซเลต LKF101 และ LKF106 มีลำดับเบสของยีน 16S rRNA เหมือนกับ *Enterococcus gallinarum* 100 เปอร์เซ็นต์ แบคทีเรียไอโซเลต LKF107, LKF2, LKF207 และ LKF309 มีลำดับเบสของยีน 16S rRNA เหมือนกับ *Lactobacillus plantarum* 100 เปอร์เซ็นต์ แบคทีเรียไอโซเลต LKF108 มีลำดับเบสของยีน 16S rRNA เหมือนกับ *Lactobacillus brevis* 100 เปอร์เซ็นต์ และแบคทีเรียไอโซเลต LKF115 มีลำดับเบสของยีน 16S rRNA เหมือนกับ *Pediococcus pentosaceus* 100 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 11 และภาพ 18-20)

ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้ สามารถแยกเชื้อได้ 3 สกุล คือ *Lactobacillus* sp., *Pediococcus* sp. และ *Enterococcus* sp. ซึ่งสอดคล้องกับ McDonald et al. (1976; Muck, 1991) ที่พบว่า โดยทั่วไปแบคทีเรียกรดแลคติกที่พบในอาหารหมักพื้นเมืองและพืชอาหารสัตว์มี 5 สกุล คือ *Lactobacillus* sp., *Pediococcus* sp., *Streptococcus* sp., *Enterococcus* sp. และ *Leuconostoc* sp.

Lactobacillus plantarum strain L2C21E8 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
 Sequence ID: gb|KM103933.1| Length: 1348 Number of Matches: 1
 Range 1: 33 to 872

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1552 bits(840)	0.0()	840/840(100%)	0/840(0%)	Plus/Plus	
Features:					
Query 1	CATGATTTACATTGAGTGAGTGGCGAACTGGTGAGTAACACGTGGGAAACCTGCCCAGA	60			
Sbjct 33	CATGATTTACATTGAGTGAGTGGCGAACTGGTGAGTAACACGTGGGAAACCTGCCCAGA	92			
Query 61	AGCGGGGATAACACCTGGAAACAGATGCTAATACCGCATAACAACCTGGACCGCATGGT	120			
Sbjct 93	AGCGGGGATAACACCTGGAAACAGATGCTAATACCGCATAACAACCTGGACCGCATGGT	152			
Query 121	CCGAGTTTGAAAGATGGCTTCGGCTATCACTTTTGGATGGTCCCGCGCGTATTAGCTAG	180			
Sbjct 153	CCGAGTTTGAAAGATGGCTTCGGCTATCACTTTTGGATGGTCCCGCGCGTATTAGCTAG	212			
Query 181	ATGGTGAGGTAACGGCTCACCATGGCAATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGC	240			
Sbjct 213	ATGGTGAGGTAACGGCTCACCATGGCAATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGC	272			
Query 241	CACATTGGGACTGAGACACGGCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGAATCTTCCA	300			
Sbjct 273	CACATTGGGACTGAGACACGGCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGAATCTTCCA	332			
Query 301	CAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAA	360			
Sbjct 333	CAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAA	392			
Query 361	AACTCTGTTGTTAAAGAAGAACATATCTGAGAGTAACTGTTTCAGGTATTGACGGTATTTA	420			
Sbjct 393	AACTCTGTTGTTAAAGAAGAACATATCTGAGAGTAACTGTTTCAGGTATTGACGGTATTTA	452			
Query 421	ACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGT	480			
Sbjct 453	ACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGT	512			
Query 481	TGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGC	540			
Sbjct 513	TGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGC	572			
Query 541	CTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATCGGAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGACAG	600			
Sbjct 573	CTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATCGGAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGACAG	632			
Query 601	TGGAATCCATGTGTAGCGGTGAAATGCCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGG	660			
Sbjct 633	TGGAATCCATGTGTAGCGGTGAAATGCCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGG	692			
Query 661	CGGCTGTCTGGTCTGTAACGTGACGCTGAGGCTCGAAAGTATGGGTAGCAAACAGGATTAG	720			
Sbjct 693	CGGCTGTCTGGTCTGTAACGTGACGCTGAGGCTCGAAAGTATGGGTAGCAAACAGGATTAG	752			
Query 721	ATACCCTGGTAGTCCATACCGTAAACGATGAATGCTAAGTGTGGAGGGTTCCGCCCTT	780			
Sbjct 753	ATACCCTGGTAGTCCATACCGTAAACGATGAATGCTAAGTGTGGAGGGTTCCGCCCTT	812			
Query 781	CAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAAC	840			
Sbjct 813	CAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAAC	872			

ภาพ 18 ลำดับชื่อของแบคทีเรียที่มีลำดับเบสคล้ายแบคทีเรียไอโซเลต LGF 107

Pediococcus pentosaceus strain SM76 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: gb|KJ729070.1| Length: 932 Number of Matches: 1

Range 1: 6 to 845

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1552 bits(840)	0.0()	840/840(100%)	0/840(0%)	Plus/Plus	
Features:					
Query 1	GCTTGCACTGAATGAGATTTTAAACACGAAGTGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGG	60			
Sbjct 6	GCTTGCACTGAATGAGATTTTAAACACGAAGTGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGG	65			
Query 61	TAACCTGCCCAGAAGCAGGGGATAACACCTGGAAACAGATGCTAATACCGTATAACAGAG	120			
Sbjct 66	TAACCTGCCCAGAAGCAGGGGATAACACCTGGAAACAGATGCTAATACCGTATAACAGAG	125			
Query 121	AAAACCGCCTGGTTTTCTTTTAAAGATGGCTCTGCTATCACTTCTGGATGGACCCGCGG	180			
Sbjct 126	AAAACCGCCTGGTTTTCTTTTAAAGATGGCTCTGCTATCACTTCTGGATGGACCCGCGG	185			
Query 181	CGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCGATGATGCGTAGCCGACCTGAG	240			
Sbjct 186	CGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCGATGATGCGTAGCCGACCTGAG	245			
Query 241	AGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTA	300			
Sbjct 246	AGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTA	305			
Query 301	GGGAATCTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGT	360			
Sbjct 306	GGGAATCTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGT	365			
Query 361	TTCGGCTCGTAAAGCTCTGTTGTTAAAGAAGAACGTGGGTGAGAGTAACTGTTACCCAG	420			
Sbjct 366	TTCGGCTCGTAAAGCTCTGTTGTTAAAGAAGAACGTGGGTGAGAGTAACTGTTACCCAG	425			
Query 421	TGACGGTATTTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTA	480			
Sbjct 426	TGACGGTATTTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTA	485			
Query 481	GGTGGCAAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGCGGCTTTTAAAGTC	540			
Sbjct 486	GGTGGCAAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGCGGCTTTTAAAGTC	545			
Query 541	TAATGTGAAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATTGGAACTGGGAGACTTGAGTGC	600			
Sbjct 546	TAATGTGAAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATTGGAACTGGGAGACTTGAGTGC	605			
Query 601	AGAAGAGGACAGTGGAATCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACAC	660			
Sbjct 606	AGAAGAGGACAGTGGAATCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACAC	665			
Query 661	CAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCTCGAAAGCATGGGTAGC	720			
Sbjct 666	CAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCTCGAAAGCATGGGTAGC	725			
Query 721	GAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCATGCCGTAAACGATGATTACTAAGTGTGGAGG	780			
Sbjct 726	GAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCATGCCGTAAACGATGATTACTAAGTGTGGAGG	785			
Query 781	GTTTCCGCCCTTCAGTGTGCAGCTAACGCATTAAGTAATCCGCCTGGGGAGTACGACCG	840			
Sbjct 786	GTTTCCGCCCTTCAGTGTGCAGCTAACGCATTAAGTAATCCGCCTGGGGAGTACGACCG	845			

ภาพ 19 ลำดับชื่อของแบคทีเรียที่มีลำดับเบสคล้ายแบคทีเรียโอโซเลด LGF115

Lactobacillus plantarum strain B21, complete genome

Sequence ID: gb|CP010528.1| Length: 3284260 Number of Matches: 5

Range 1: 1169577 to 1170416

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1552 bits(840)	0.0()	840/840(100%)	0/840(0%)	Plus/Plus	
Features:					
rRNA-16S ribosomal RNA					
Query 1		GCATCATGATTTACATTTGAGTGAGTGGCGAACTGGTGAGTAACACGTGGGAAACCTGCC			60
Sbjct 1169577		GCATCATGATTTACATTTGAGTGAGTGGCGAACTGGTGAGTAACACGTGGGAAACCTGCC			1169636
Query 61		CAGAAGCGGGGATAACACCTGGAACAGATGCTAATACCGCATAACAACCTGGACCGCA			120
Sbjct 1169637		CAGAAGCGGGGATAACACCTGGAACAGATGCTAATACCGCATAACAACCTGGACCGCA			1169696
Query 121		TGGTCCGAGCTTGAAAGATGGCTTCGGCTATCACTTTTGGATGGTCCCGCGGCGTATTAG			180
Sbjct 1169697		TGGTCCGAGCTTGAAAGATGGCTTCGGCTATCACTTTTGGATGGTCCCGCGGCGTATTAG			1169756
Query 181		CTAGATGGTGGGGTAACGGCTCACCATGGCAATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAAT			240
Sbjct 1169757		CTAGATGGTGGGGTAACGGCTCACCATGGCAATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAAT			1169816
Query 241		CGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCT			300
Sbjct 1169817		CGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCT			1169876
Query 301		TCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTC			360
Sbjct 1169877		TCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTC			1169936
Query 361		GTAAGAACTCTGTTGTTAAAGAAGAATATCTGAGAGTAACGTTCAGGTATTGACGGTA			420
Sbjct 1169937		GTAAGAACTCTGTTGTTAAAGAAGAATATCTGAGAGTAACGTTCAGGTATTGACGGTA			1169996
Query 421		TTTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAA			480
Sbjct 1169997		TTTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAA			1170056
Query 481		GCGTTGTCCGGATTTATTTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTAAGTCTGATGTGA			540
Sbjct 1170057		GCGTTGTCCGGATTTATTTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTAAGTCTGATGTGA			1170116
Query 541		AAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATCGGAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGG			600
Sbjct 1170117		AAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATCGGAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGG			1170176
Query 601		ACAGTGGAACCTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAAGTGGCG			660
Sbjct 1170177		ACAGTGGAACCTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAAGTGGCG			1170236
Query 661		AAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCTCGAAAGTATGGGTAGCAACAGGA			720
Sbjct 1170237		AAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCTCGAAAGTATGGGTAGCAACAGGA			1170296
Query 721		TTAGATACCCTGGTAGTCCATACCGTAAACGATGAATGCTAAGTGTGGAGGGTTCCGC			780
Sbjct 1170297		TTAGATACCCTGGTAGTCCATACCGTAAACGATGAATGCTAAGTGTGGAGGGTTCCGC			1170356
Query 781		CCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTG			840
Sbjct 1170357		CCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTG			1170416

ภาพ 20 ลำดับชื่อของแบคทีเรียที่มีลำดับเบสคล้ายแบคทีเรียไอโซเลต LKF 309

ตาราง 11 การจัดจำแนกแบคทีเรียกรดแลคติก โดยการหาลำดับเบสของ DNA ในส่วนของยีน
16S rRNA

Isolate code	16s rRNA database	Accession Number	Identities	% Homology
LGF101	<i>Enterococcus gallinarum</i>	KM65455.1	840/840	100
LGF106	<i>Enterococcus gallinarum</i>	KM65455.1	840/840	100
LGF107	<i>Lactobacillus plantarum</i>	KM103933.1	840/840	100
LGF108	<i>Lactobacillus brevis</i>	KM985456.1	840/840	100
LGF115	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	KJ729070.1	840/840	100
LGF2	<i>Lactobacillus plantarum</i>	CP010528.1	840/840	100
LKF207	<i>Lactobacillus plantarum</i>	EU626010.1	840/840	100
LKF309	<i>Lactobacillus plantarum</i>	CP010528.1	840/840	100

ผลการคัดเลือกหญ้าที่ใช้ในการหมัก

ในการเลือกตัวแทนหญ้าที่ใช้ในการหมักพิจารณาจากผลผลิตต่อไร่ต่อปีเป็นหลัก และนอกจากนี้ยังพิจารณาถึงอายุการเก็บเกี่ยวร่วมด้วย ซึ่งหญ้าที่มีอายุน้อยจะมีองค์ประกอบทางเคมีต่ำกว่าหญ้าที่มีอายุมาก โดยคัดเลือกหญ้าที่มีการเจริญเติบโต และแตกกอได้ดี มีจำนวนใบมาก ตั้งต้นเป็นกอเพื่อต่อการเก็บเกี่ยว และให้ผลผลิตสูงจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ หญ้ารูซี่ หญ้ากินนี หญ้าคา และหญ้าขน ซึ่งทำการตัดที่อายุประมาณ 45-50 วัน พบว่า หญ้ารูซี่ และหญ้ากินนี มีปริมาณโปรตีนรวมร้อยละ 6-10 ผลผลิตน้ำหนัสด 8-10 ตัน /ไร่ /ปี หรือน้ำหนักแห้ง 2.0-2.5 ตัน /ไร่ /ปี โดยหญ้ารูซี่ และหญ้ากินนีสามารถเจริญเติบโตในสภาพร่มเงา เหมาะสำหรับการปลูกในพื้นที่ชุ่มน้ำ และที่ดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ดี หญ้าคาเป็นหญ้าพื้นเมืองที่ไม่ได้ทำการสำรวจข้อมูลผลผลิตต่อไร่ และข้อมูลอื่นๆ เนื่องจากไม่ได้เป็นหญ้าที่ส่งเสริมเพื่อปลูกขาย และหญ้าขนเป็นหญ้าที่มีองค์ประกอบทางเคมีสูง มีผลผลิตน้ำหนัสด 6-8 ตัน /ไร่ /ปี หรือน้ำหนักแห้ง 1.4-3.7 ตัน /ไร่ /ปี ซึ่งจะให้มีค่าโปรตีนรวมร้อยละ 6-10 (กรมปศุสัตว์, 2546)

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของหญ้า (หญ้ากินนี, หญ้ารูซี่, หญ้าขน และหญ้าคา) ตาราง 12 พบว่า พบว่า หญ้าขน มีค่าวัตถุแห้งที่ร้อยละ 25.67 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสมต่อการหมัก รองลงมา คือหญ้ากินนีซึ่งมีค่าวัตถุแห้งอยู่ที่ร้อยละ 24.72 ส่วนหญ้ารูซี่มีค่า

วัตถุแห้งที่ร้อยละ 22.72 และหญ้าคามีค่าวัตถุแห้งที่ร้อยละ 31.75 โดย Haigh (1990) รายงานว่า ปริมาณวัตถุแห้งที่เหมาะสมต่อการหมักควรอยู่ที่ร้อยละ 26

ตาราง 12 องค์ประกอบทางเคมีของหญ้า

	หญ้างินนี้	หญ้ารูซี่	หญ้าขน	หญ้าคา
วัตถุแห้ง DM %	24.72	22.72	25.67	31.75
เถ้า Ash %	15.15	14.32	15.74	12.68
ปริมาณเยื่อใยหยาบ CF %	21.89	22.60	22.26	34.75
โปรตีนหยาบ CP%	9.60	9.86	10.07	10.30
ไขมัน EE %	4.22	3.99	3.55	2.41
NDF %	57.37	55.29	58.62	72.71
ADF %	25.66	27.46	26.71	37.36
pH	5.84	5.69	5.46	5.76

เมื่อพิจารณาปริมาณปริมาณเยื่อใย ADF และ NDF พบว่า หญ้าขนมีปริมาณเยื่อใย ADF และ NDF สูงที่ร้อยละ 26.71 และ 53.62 หญ้างินนี้, หญ้ารูซี่ และหญ้าคา ซึ่งมีปริมาณเยื่อใย ADF ที่ร้อยละ 25.66, 27.46 และ 37.36 ปริมาณเยื่อใย ADF ที่ร้อยละ 57.37, 55.29 และ 72.71 แต่เนื่องจากหญ้าคามีองค์ประกอบทางเคมีสูงจึงไม่เหมาะต่อการนำมาทำหญ้าหมัก

ดังนั้นในการคัดเลือกหญ้าเพื่อใช้เป็นตัวแทนในการหมักจึงเลือกใช้ หญ้าขน เนื่องจากมีปริมาณวัตถุแห้งที่เหมาะสมต่อการหมัก และมีปริมาณเยื่อใย ADF และ NDF สูง

ผลของหญ้าหมักในระดับห้องปฏิบัติการ

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของหญ้าขนหมักที่นำมาปรับสภาพด้วย แบคทีเรียกรดแลคติกจำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *L. plantarum* 107, *P. pentosaceus* 115 และ *L. plantarum* 309 และไม่เติมแบคทีเรียกรดแลคติก (ชุดควบคุม) ที่อุณหภูมิการหมัก 37 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณโปรตีนที่ได้จากการเติมแบคทีเรียกรดแลคติกมีปริมาณโปรตีนที่ร้อยละ 10.3, 9.4 และ 10.1 และปริมาณโปรตีนที่ได้จากชุดควบคุมที่ร้อยละ 8.9 ซึ่งการหมักที่มีการเติมด้วยแบคทีเรียจะมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าสถานะการชุดควบคุม (ตาราง 13)

องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญอีกอย่างที่ต้องคำนึงคือ ปริมาณเยื่อใย ADF และ NDF ซึ่งคำดังกล่าวจะเป็นตัวบ่งชี้การย่อยได้ของสารเยื่อใย ซึ่งจากการศึกษาพบว่า ปริมาณเยื่อใย ADF และ NDF ที่ได้จากการปรับสภาพด้วยด้วย *L. plantarum* 107 มีปริมาณลดลงมากที่สุดเท่ากับ ร้อยละ 20.86 และ 50.70 รองลงมาคือ หนุ่ขุนที่ปรับสภาพด้วย *P. pentosaceus* 115 และ *L. plantarum* 309 ซึ่งมีปริมาณเยื่อใย ADF เท่ากับร้อยละ 28.11 และ 24.11 และมีปริมาณเยื่อใย NDF เท่ากับร้อยละ 53.43 และ 53.61 ตามลำดับ ขณะที่ชุดควบคุมมีปริมาณเยื่อใย ADF และ NDF ที่ร้อยละ 26.04 และ 54.22 ซึ่งมีปริมาณที่สูงกว่าการหมักที่ปรับสภาพด้วยแบคทีเรีย จะเห็นว่าหนุ่ขุนหมักจะมีปริมาณเยื่อใย ADF และ NDF ลดลง เมื่อเทียบกับหนุ่ขุนก่อนการหมัก ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Muhammad et al. (2008) ที่พบว่า การหมักหนุ่ขุนนอกจากจะช่วยรักษาระดับโปรตีนแล้ว ยังสามารถลดปริมาณของ ปริมาณเยื่อใย ADF และ NDF ในหนุ่ขุนได้อีกด้วย และรายงานของ Bureenok et al. (2007; Owen et al, 2009) ที่พบว่า การลดลงของปริมาณเยื่อใย ADF และ NDF ที่ได้จากการเติมแบคทีเรียกรดแลคติกระหว่างการหมัก ทำให้เกิดการเสื่อมสลายเนื่องจากการทำลายโดยจุลินทรีย์ที่เจริญพร้อมกับแบคทีเรียกรดแลคติก อาจเกิดจากการไฮโดรไลซิสและความร้อนระหว่างการหมัก ซึ่งหนุ่ขุนหมักที่ดีควรมีปริมาณเยื่อใย NDF สูง และมีปริมาณเยื่อใย ADF ต่ำ ซึ่งเป็นส่วนประกอบของคาร์โบไฮเดรตที่เป็นโครงสร้างของหนุ่ขุนที่เกิดจากการย่อยสลายในส่วนของเฮมิเซลลูโลส McDonald et al. (1991)

จากการเปรียบเทียบการหมักที่ปรับสภาพด้วยแบคทีเรียกรดแลคติก และชุดควบคุม พบว่า ทุกชุดการทดลองมีปริมาณกรดอะซิติกสูง ซึ่งกรดอะซิติกจะเป็นตัวบ่งชี้การเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติก เมื่อมีการใช้เซลล์โลสในหนุ่ขุนเป็นแหล่งอาหาร ซึ่งผลจากการศึกษาพบว่า หนุ่ขุนที่ปรับสภาพด้วย *L. plantarum* 107 พบว่ามีปริมาณกรดอะซิติกสูงสุด เท่ากับ 1,083.3 มิลลิกรัม/ ลิตร รองลงมาคือ หนุ่ขุนที่ปรับสภาพด้วย *L. plantarum* 309 และ *P. pentosaceus* 115 พบว่ามีปริมาณกรดอะซิติกเท่ากับ 898.5 และ 747.8 มิลลิกรัม/ ลิตร ปริมาณโปรพิโอนิกเท่ากับ 217.4, 202.1 และ 104.1 มิลลิกรัม/ ลิตร ปริมาณบิวทีริกเท่ากับ 388.4, 477.5 และ 348.0 มิลลิกรัม/ ลิตร ส่วนชุดควบคุมมีปริมาณกรดอะซิติกเท่ากับ 666.3 มิลลิกรัม/ ลิตร ปริมาณโปรพิโอนิกเท่ากับ 119 มิลลิกรัม/ ลิตร และปริมาณกรดบิวทีริกเท่ากับ 326 มิลลิกรัม/ ลิตร ซึ่งสอดคล้องกับ Shao et al. (2003) และ Bureenok et al. (2005) ที่มีการเติมเชื้อ *L. plantarum* ลงในหนุ่ขุนหมัก พบว่าหนุ่ขุนหมักมีปริมาณกรดอะซิติกสูงที่สุด ($P < 0.05$) และสอดคล้องกับ Parvin and Nishino (2009; 2010) ได้ศึกษาการเติมเชื้อ *L. plantarum* ลงในหนุ่ขุนนี้ พบว่ามีปริมาณกรดอะซิติกในหนุ่ขุนนี้หมักสูงที่สุด นอกจากนั้นยังพบว่า ในกรณีที่กระบวนการหมักมีน้ำตาลไม่เพียงพอ *L. plantarum* สามารถเปลี่ยนกรดแลคติกที่ได้จากการกระบวนการหมักเป็นกรดอะซิติกได้

เมื่อพิจารณาค่าพีเอชของหญ้าขนหมักที่ปรับสภาพด้วยแบคทีเรียสายพันธุ์ *L. plantarum* 107, *P. pentosaceus* 115 และ *L. plantarum* 309 พบว่า มีค่าพีเอชที่ 4.2, 4.3 และ 4.3 และการหมักจากชุดควบคุมมีค่าพีเอชเท่ากับ 4.7 โดยระดับของพีเอชที่เหมาะสมของหญ้าหมักที่มีคุณภาพดีควรมีค่าพีเอชอยู่ระหว่าง 3.8-4.5 McDonald et al. (1991) ซึ่งหญ้าหมักที่มีค่าพีเอชสูงอาจทำให้จุลินทรีย์สามารถมีชีวิตและทำกิจกรรมได้ ซึ่งมีผลต่อคุณภาพของหญ้าหมักที่อาจมีการสูญเสียองค์ประกอบทางเคมีได้ง่าย แต่เนื่องจากหญ้าขนมีปริมาณเยื่อใยที่สูงจึงทำให้ค่าพีเอชในหญ้าขนหมักลดลงช้า

ตาราง 13 องค์ประกอบทางเคมีของหญ้าขนหมัก

องค์ประกอบ	Control	<i>L. plantarum</i> 107	<i>P. pentosaceus</i> 115	<i>L. Plantarum</i> 309
วัตถุแห้ง DM %	19.18	18.94	20.34	15.5
เถ้า Ash %	2.35	1.70	1.63	1.68
ไขมัน EE %	1.76	2.40	2.15	2.46
โปรตีนหยาบ CP%	8.9	10.03	9.4	10.01
เยื่อใยหยาบ CF %	18.60	15.69	16.04	15.10
ADF %	26.04	20.86	28.11	24.11
NDF%	54.22	50.70	53.43	53.61
pH	4.7	4.2	4.3	4.3
Acetic acid (มิลลิกรัม/ลิตร)	666.3	1,083.3	747.8	898.5
Propionic acid (มิลลิกรัม/ ลิตร)	119	217.4	104.1	202.1
Butyric acid (มิลลิกรัม/ ลิตร)	326	388.4	348.0	477.5
Lactic Acid Bacteria (Cfu/ กรัม)	5.1×10^7	7.1×10^8	6.8×10^8	6.4×10^8

ดังนั้น ในการคัดเลือกหญ้าหมัก จึงพิจารณาจากองค์ประกอบทางเคมีที่มีปริมาณการย่อยของเยื่อใย ซึ่งในการทดลอง พบว่า หญ้าขนหมักที่ปรับสภาพด้วยแบคทีเรียกรดแลคติกสายพันธุ์ *L. Plantarum* 107 มีปริมาณเยื่อใยลดลงมากที่สุด จึงใช้เป็นตัวแทนสำหรับการศึกษาศักยภาพในการผลิตก๊าซมีเทนโดยวิธี BMP ในขั้นตอนต่อไป

ผลการทดลอง BMP Test

การศึกษ้อัตราส่วนการหมักร่วมระหว่างน้ำเสียจากฟาร์มสุกรและหญ้าขนหมัก ต่อประสิทธิภาพการผลิตก๊าซมีเทน โดยศึกษ้อัตราส่วนการหมักร่วมระหว่างน้ำเสียจากฟาร์มสุกร และหญ้าขนหมักที่ 50:50, 60:40 และ 70:30 ตามลำดับ ซึ่งมีลักษณะเบื้องต้นของน้ำเสียจากฟาร์มสุกร และหญ้าขนหมัก ดังตาราง 14

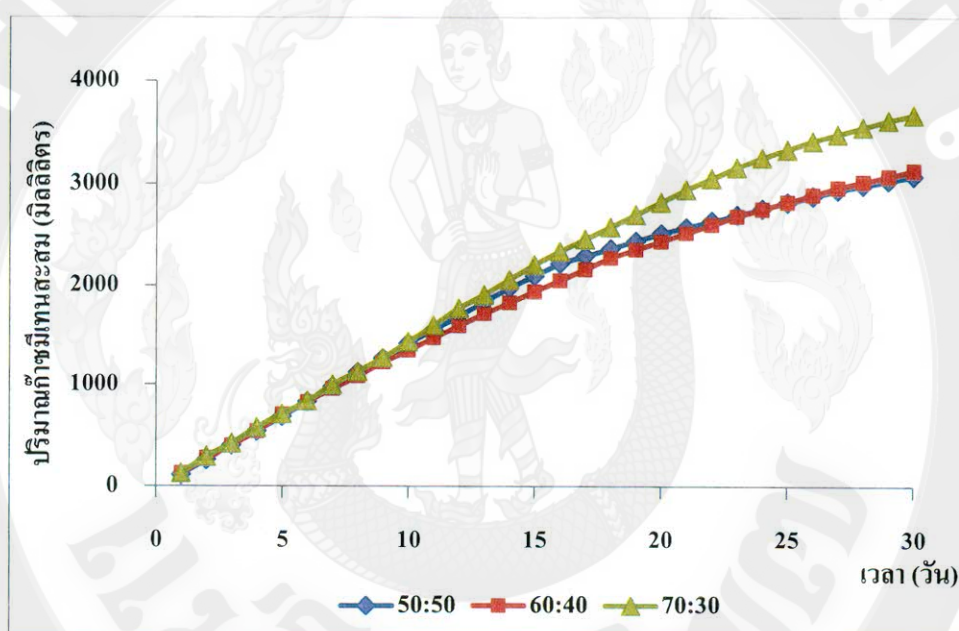
ตาราง 14 ลักษณะเบื้องต้นของน้ำเสียจากฟาร์มสุกรและหญ้าขนหมัก

พารามิเตอร์	น้ำเสียจาก ฟาร์มสุกร	หญ้าขน หมัก	อัตราส่วนการหมักร่วมระหว่างน้ำเสีย จากฟาร์มสุกรและหญ้าขนหมัก		
			50:50	60:40	70:30
pH	7.4	4.5	6.9	7.4	7.6
TS (มิลลิกรัม/ ลิตร)	2,101	77,563	50,800	52,768	43,656
VS (มิลลิกรัม/ ลิตร)	1,065	38,161	25,148.3	22,548.3	14,440.5
เยื่อใยหยาบ (CF%)	-	15.69	-	-	-
ADF%	-	20.86	-	-	-
NDF%	-	50.70	-	-	-
โปรตีน CP%	-	10.03	-	-	-
COD (มิลลิกรัม/ ลิตร)	7,200	-	16,040	15,830	15,280
TKN (มิลลิกรัม/ ลิตร)	717.6	-	605.6	585.9	506.8
NH ₃ -N (มิลลิกรัม/ ลิตร)	1,592.2	-	1,968.5	1,907.9	1,754.6
Lactic acid Bacteria CFU/กรัม	-	7.1X10 ⁷	-	-	-
Acetic acid (มิลลิกรัม/ ลิตร)	1,119.1	1,083.3	1,328.6	1,286.4	1,284.9
Propionic acid (มิลลิกรัม/ ลิตร)	719.5	217.4	564.5	585.6	633.8
Butyric acid (มิลลิกรัม/ ลิตร)	617.9	388.4	432.0	369.3	301.9

จากการทดลองหาอัตราส่วนการหมักที่เหมาะสมระหว่างน้ำเสียจากฟาร์มสุกร ร่วมกับหญ้าขนหมัก 50:50, 60:40 และ 70:30 พบว่า มีอัตราการผลิตก๊าซมีเทนสะสมเท่ากับ 3569.1, 3665.9 และ 3919.2 มิลลิลิตร โดยสิ้นสุดปฏิกิริยาที่ 36, 34 และ 31 วัน ตามลำดับ (ภาพ 21) ซึ่งมีผลใกล้เคียงกับการทดลองของ Dechruga et al. (2013) ที่ได้ศึกษ้อัตราการส่วนการผลิตก๊าซมีเทน

ระหว่าง มูลสุกรและหญ้าที่อัตราส่วน 100: 0 75:25 50:50 และ 25:75 พบว่า ที่อัตราส่วนการหมัก มูลสุกรร่วมกับหญ้าที่ 75:25 มีศักยภาพในการย่อยสลาย 475.0 มิลลิกรัม /กรัม VS_{added} โดยมี ระยะเวลาสิ้นสุดปฏิกิริยาที่ 45 วัน

เมื่อพิจารณาค่าพีเอชของทั้ง 3 ชุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 7.5, 7.4 และ 7.6 ซึ่งเป็น ช่วงที่แบคทีเรียสามารถเจริญได้ดี โดยงานวิจัยของ Chitchanoke et al. (2011) พบว่า ค่าพีเอช ระหว่าง 7.0-7.8 มีความเหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียกลุ่มผลิตก๊าซมีเทน ซึ่งมีความสามารถในการย่อยสลายวัตถุดิบที่มีเซลลูโลสสูง



ภาพ 21 ปริมาณก๊าซมีเทนสะสมที่เกิดขึ้นทั้งหมดของแต่ละชุดการทดลอง

จากการทดลองเพื่อศึกษาอัตราส่วนการหมักที่เหมาะสมระหว่างน้ำเสียจากฟาร์ม สุกรและหญ้าขจรหมัก โดยพิจารณาจากค่าอัตราการผลิตก๊าซมีเทนในรูปปริมาณก๊าซมีเทนที่ผลิตได้ ต่อน้ำหนักของของแข็งระเหยที่ป้อนเข้าระบบ พบว่า ที่อัตราส่วน 50:50, 60:40 และ 70:30 มี ศักยภาพในการผลิตก๊าซมีเทนเท่ากับ 377.6, 353.7 และ 349.1 มิลลิกรัม CH₄ /กรัม VS_{added} (ตาราง 15) และมีศักยภาพในการย่อยสลายที่ร้อยละ 41.24, 42.16 และ 42.64 เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพใน การกำจัดของของแข็งได้ถึงร้อยละ 55.4, 56.8 และ 58.3 ตามลำดับ ซึ่งจากการเปรียบเทียบ ประสิทธิภาพในการกำจัดของแข็งโดยวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ Analysis of Variance (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test พบว่า

ประสิทธิภาพในการกำจัดของแข็งของชุดปฏิกรณ์ที่ 50:50, 60:40 และ 70:30 มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ซึ่งการทดลองที่ได้มีผลใกล้เคียงกับ xie et al. (2011) รายงานว่า ศึกษาอัตราส่วนการหมักร่วมระหว่างมูลสุกรและหญ้าหมักที่ 75:25 พบว่ามีศักยภาพการผลิตก๊าซมีเทนที่ 330 มิลลิลิตร CH_4 /กรัม VS_{added} และมีศักยภาพในการย่อยสลายอยู่ในช่วงร้อยละ 50.1-54.7 ซึ่งสามารถกำจัดของแข็งระเหยได้ถึงร้อยละ 63.8 รายงานของ Thygesen et al. (2012) ได้ศึกษาอัตราส่วนการหมักระหว่างมูลสุกรร่วมกับน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมที่ 85:15 และ 60:40 พบว่าศักยภาพในการผลิตก๊าซมีเทนเท่ากับ 156-240 มิลลิลิตร CH_4 /กรัม VS_{added} และมีศักยภาพในการย่อยสลายที่ร้อยละ 49.4 และ 47.3

ตาราง 15 ค่าพารามิเตอร์การหมักร่วมที่อัตราส่วนต่างๆ

	อัตราส่วนการหมักร่วมระหว่างน้ำเสียจากฟาร์มสุกร และหญ้าขนหมัก		
	50:50	60:40	70:30
SW/BM ratio	50:50	60:40	70:30
Total methane production (มิลลิลิตร)	3569.1	3665.9	3919.2
SMY (มิลลิลิตร CH_4 /กรัม VS_{added})	353.7	349.1	377.6
%BMP	41.24	42.16	42.64
Acetic acid (มิลลิกรัม/ ลิตร)	935.2	866.6	546.7
Propionic acid (มิลลิกรัม/ ลิตร)	869.9	640.5	244.8
Butyric acid (มิลลิกรัม/ ลิตร)	980.4	891.3	438.5
pH	7.5	7.4	7.6
$\text{NH}_3\text{-N}$ (มิลลิกรัม/ ลิตร)	1750.12	1631.18	1592.2
TKN (มิลลิกรัม/ ลิตร)	570.8	533.2	497.8
$\text{VS}_{\text{removal}}$ (%)	55.4	56.8	58.3

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันระเหยง่ายเมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยา พบว่ามีปริมาณของกรดอะซิติกเป็นองค์ประกอบในสัดส่วนที่สูงกว่ากรดไขมันชนิดอื่นๆ นอกจากนี้ยังพบปริมาณกรดไขมันระเหยชนิดอื่นที่เกิดขึ้นในชุดการทดลอง ซึ่งได้แก่ กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทิริก (ตาราง 15) พบว่า อัตราส่วนการหมักที่ 50:50, 60:40 และ 70:30 มีปริมาณกรดอะซิติกที่ 935.2, 866.6 และ 546.7 มิลลิกรัม/ ลิตร ปริมาณโพรพิโอนิกที่ 869.9, 640.5 และ 244.8

มิลลิกรัม/ ลิตร ซึ่งสอดคล้องกับ Kenneth et al. (2010) ได้ศึกษาการผลิตก๊าซมีเทนจากขยะมูลฝอย พบว่า การเปลี่ยนแปลงของกรดอะซิติก และบิวทีริก ส่งผลให้มีปริมาณก๊าซมีเทนที่เพิ่มขึ้น เมื่อพิจารณาค่าแอมโมเนีย พบว่าที่อัตราส่วนที่ 50:50, 60:40 และ 70:30 มีค่าแอมโมเนียที่สิ้นสุดปฏิกิริยามีค่าลดลงเท่ากับ 1750.12, 1631.18 และ 1592.2 มิลลิกรัม/ ลิตร ซึ่งสอดคล้องกับ Karapaju and Rintala (2005; Gelegenis et al, 2007) พบว่าการหมักร่วมระหว่างมูลสุกรและหญ้าหมักช่วยยับยั้งการสะสมแอมโมเนียในระบบ และช่วยให้มีศักยภาพในการผลิตมีเทนได้สูง

จากข้อมูลที่ได้จากการศึกษาอัตราส่วนการหมักระหว่างน้ำเสียฟาร์มจากสุกรและหญ้าหมักในอัตรา 50:50, 60:40 และ 70:30 ต่อประสิทธิภาพการผลิตก๊าซมีเทนที่ได้สูงสุด พบว่าที่อัตราส่วนระหว่างน้ำเสียฟาร์มจากสุกรและหญ้าหมัก 70:30 เป็นอัตราส่วนที่ผลิตก๊าซมีเทนที่ได้สูงสุด จึงนำมาทำการทดลองในขั้นตอนต่อไป

ผลของระยะเวลาการกักเก็บต่อประสิทธิภาพในการผลิตก๊าซมีเทน

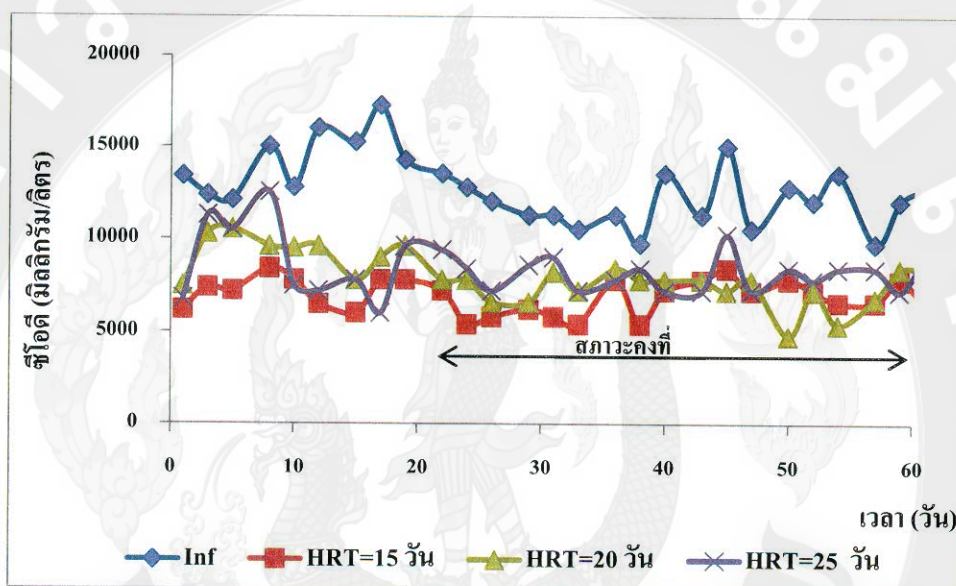
เริ่มต้นเดินระบบการทดลองสำหรับชุดการทดลอง ซึ่งตะกอนที่ใช้ในการเริ่มต้นระบบเป็นกากตะกอนจากถังหมักแบบ ไร้ออกซิเจน ของฟาร์มแดง พรหมมินทร์ โดยนำตะกอนหัวเชื้อมาใส่ยังชุดการทดลองร้อยละ 10 จากนั้นเติมน้ำเสียจากฟาร์มสุกรที่ผสมกับวัสดุหมักร่วมเข้าสู่ชุดการทดลองจนครบปริมาตรใช้งาน ทั้งไว้ 7 วันเพื่อให้จุลินทรีย์ปรับตัว โดยสังเกตว่ามีก๊าซเกิดขึ้นจึงเริ่มป้อนน้ำเสียเข้าที่ผสมกับวัสดุหมักเข้าสู่ระบบแบบต่อเนื่อง (Continuous) จนกระทั่งระบบเข้าสู่สภาวะคงที่ แล้วจึงป้อนน้ำเสียเข้าระบบตามค่าระยะเวลาการกักเก็บที่ทำการทดลองโดยป้อนปริมาณน้ำเสีย ของแต่ละชุดการทดลองให้คงที่ และอัตราส่วนที่ใช้ในแต่ละวัน ผลการวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ ของน้ำเสียที่ป้อนเข้าระบบและน้ำออกจากระบบของแต่ละชุดการทดลอง (ตาราง 16) ประสิทธิภาพในการกำจัดสารอินทรีย์ของน้ำ และอัตราการผลิตก๊าซมีเทน ผลแสดงดังต่อไปนี้

ตาราง 16 ความสัมพันธ์ของอัตราการเติมน้ำเสียและระยะเวลาการกักเก็บน้ำที่ใช้ในการทดลอง

ระยะเวลาการกักเก็บ (วัน)	15	20	25
อัตราการเติมน้ำเสีย (ลิตร/วัน)	53.4	40	32
จำนวนวันที่ใช้ในการทดลอง (วัน)	60	60	60

ประสิทธิภาพการกำจัดค่าซีโอดี

ค่าซีโอดีของน้ำเสียที่ป้อนเข้าสู่ชุดการทดลองตลอดช่วงของการทดลองที่ระยะเวลา กักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน มีค่าเฉลี่ย $12,758 \pm 623.4$ มิลลิกรัม/ลิตร ส่วนค่าซีโอดีของน้ำออกในชุด การทดลองที่ระยะเวลากักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $6,953.6 \pm 230.5$, $7,997.7 \pm 123.2$ และ $8,397.4 \pm 209.0$ มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ (ภาพ 22)

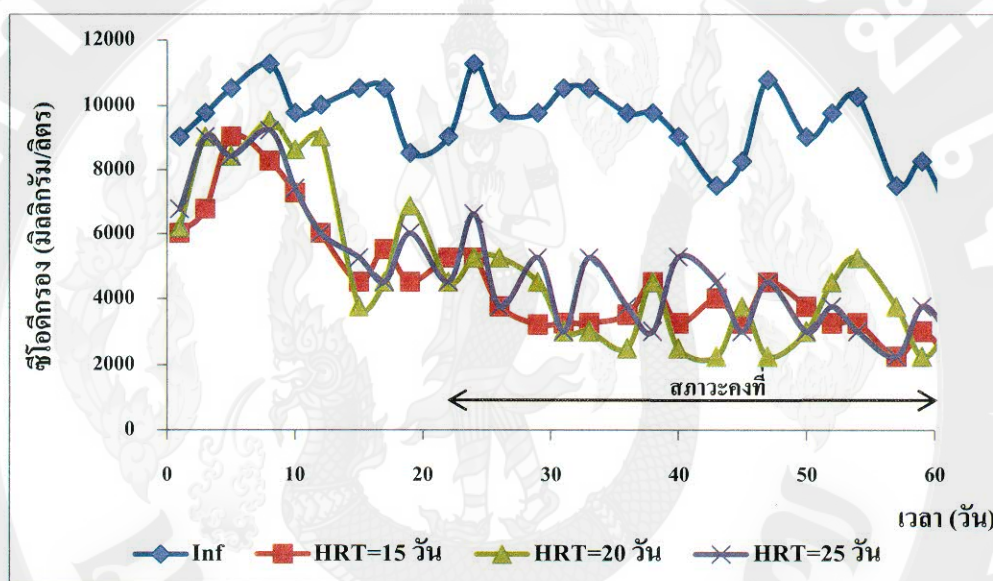


ภาพ 22 ค่าซีโอดีของน้ำเข้าและน้ำออกที่ระยะเวลากักเก็บต่างๆ

จากผลการทดลอง พบว่า ค่าซีโอดีของน้ำออกทั้ง 3 ชุดการทดลองในช่วงแรกของการเริ่มต้นระบบมีค่าค่อนข้างสูงตามความเข้มข้นของสารอินทรีย์ที่เข้าสู่ระบบ และเริ่มลดลงเมื่อระบบเข้าสู่สภาวะคงที่ แสดงให้เห็นว่าน้ำเสียจากฟาร์มสุกรและหมูขุนหมักที่เข้าระบบมีลักษณะการย่อยทางชีวภาพได้ดี เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพในการกำจัดค่าซีโอดีของชุดการทดลองที่ระยะเวลากักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน พบว่า มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายซีโอดีเท่ากับร้อยละ 45.5, 37.3 และ 34.2 ตามลำดับ โดยเมื่อเปรียบเทียบการกำจัดซีโอดีโดยการการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ Analysis of Variance (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test ด้วยโปรแกรม SPSS พบว่า ที่ระยะเวลากักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน มีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) ซึ่งประสิทธิภาพในการกำจัดสารอินทรีย์ในรูปซีโอดี แสดงถึงประสิทธิภาพในการทำงานของจุลินทรีย์ในชุดการทดลอง ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่อยู่ในรูปของอนุภาคของแข็ง และสารละลายซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงาน

และแหล่งคาร์บอนของจุลินทรีย์ได้ (Korenaga et al. (1990) และสอดคล้องกับ Metcalf and Eddy. (2004) ที่พบว่า ความเข้มข้นของชีโอดีมีค่าแปรปรวนไปตามความเข้มข้นของชีโอดีของน้ำเสียที่เข้าสู่ระบบ ซึ่งมีค่าความเข้มข้นของชีโอดีในน้ำออกอยู่ในช่วง 3000-5000 มิลลิกรัม/ลิตร

จากการวิเคราะห์ค่าชีโอดีกรองของน้ำเสียที่ป้อนเข้าสู่ชุดการทดลองตลอดช่วงของการทดลองที่ระยะเวลากักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน มีค่าเฉลี่ย $11,280 \pm 109.2$ มิลลิกรัม/ลิตร ส่วนค่าชีโอดีของน้ำออกที่ระยะเวลากักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $4,546.5 \pm 112.4$, $4,856.7 \pm 161.0$ และ $4,962.6 \pm 125.3$ มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ (ภาพ 23)



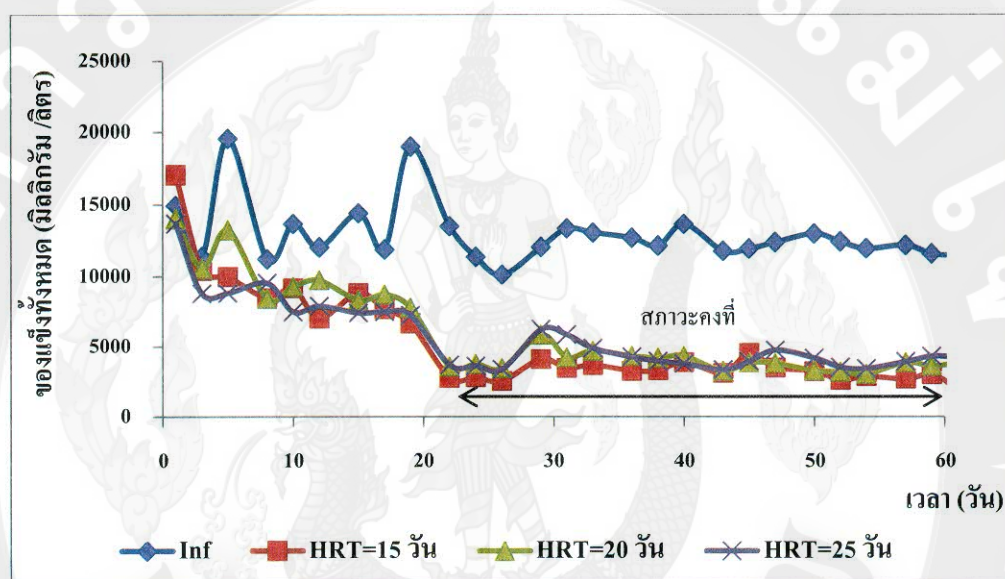
ภาพ 23 ค่าชีโอดีกรองของน้ำเข้าและน้ำออกที่ระยะเวลากักเก็บต่างๆ

จากผลการทดลอง พบว่า ค่าชีโอดีกรองของน้ำออกทั้ง 3 ชุดการทดลองในช่วงแรกของการเริ่มต้นระบบที่ระยะเวลากักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน มีค่าค่อนข้างสูง และเริ่มลดลงเมื่อระบบเข้าสู่สภาวะคงที่ เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพในการกำจัดค่าชีโอดีกรองของชุดการทดลองที่ระยะเวลากักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน พบว่า มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายชีโอดีกรองเท่ากับร้อยละ 52.4, 49.1 และ 48.0 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบการกำจัดชีโอดีกรองโดยการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ที่ระยะเวลากักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน ประสิทธิภาพในการกำจัดชีโอดีกรองมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$)

ซึ่งจากความสัมพันธ์ของค่าชีโอดี และค่าชีโอดีกรองของน้ำเข้า และน้ำออกจากระบบของทุกชุดการทดลอง พบว่า น้ำเข้ามีค่ามากกว่าน้ำออก แสดงว่า ในระบบมีการย่อยสลายสารอินทรีย์จึงทำให้ความเข้มข้นของสารอินทรีย์ของน้ำเสียลดลง

ของแข็งทั้งหมดและของแข็งระเหยทั้งหมด

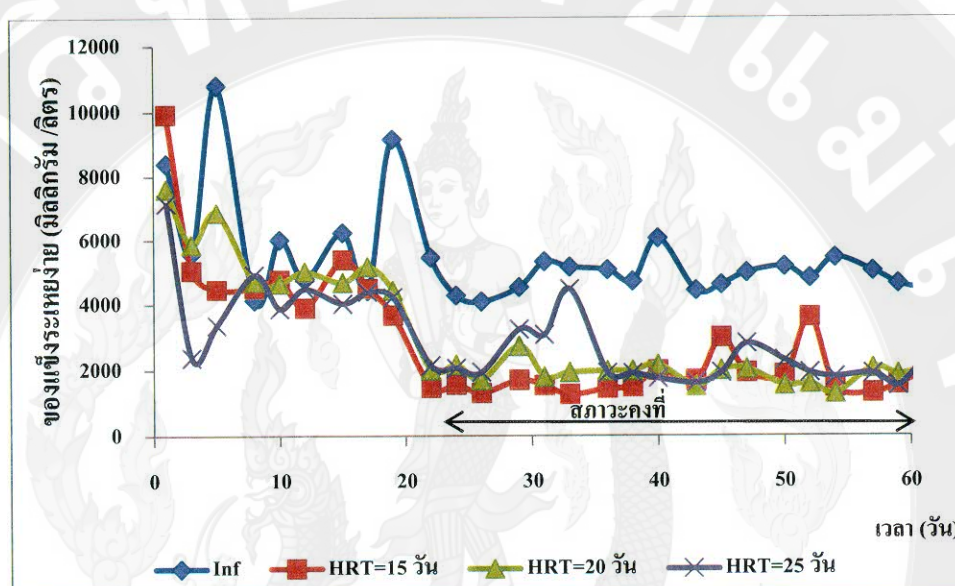
ปริมาณของแข็งทั้งหมดของน้ำเสียที่ป้อนเข้าสู่ชุดการทดลองตลอดช่วงของการทดลองที่ระยะเวลาพักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน มีค่าเฉลี่ยที่ $12,911.8 \pm 319.2$ มิลลิกรัม/ลิตร ส่วนปริมาณของแข็งทั้งหมดของน้ำออกที่ระยะเวลาพักเก็บ 15, 20 และ 25 วันมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $5,266.9 \pm 409.0$, $5,932.0 \pm 389.0$ และ 5691.3 ± 234.0 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ (ภาพ 24)



ภาพ 24 ค่าของแข็งทั้งหมดของน้ำเข้าและน้ำออกที่ระยะเวลาพักเก็บต่างๆ

จากผลการทดลอง พบว่า ปริมาณของแข็งทั้งหมดของน้ำออกทั้ง 3 ชุดการทดลองที่ระยะเวลาพักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน ในช่วงแรกของการเริ่มต้นระบบมีค่าค่อนข้างสูง และเริ่มลดลงเมื่อระบบเข้าสู่สภาวะคงที่ เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพในการกำจัดค่าของแข็งทั้งหมดของชุดการทดลองที่ระยะเวลาพักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน พบว่า ประสิทธิภาพในการย่อยสลายของแข็งทั้งหมดเท่ากับร้อยละ 59.2, 54.0 และ 55.9 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบการกำจัดของแข็งทั้งหมดโดยวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ Analysis of Variance (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test ด้วยโปรแกรม SPSS พบว่า ที่ระยะเวลาพักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน มีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณของแข็งในช่วงแรกจุลินทรีย์ในชุดการทดลองอยู่ในช่วงระยะเวลากำจัดตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ จึงทำให้มีสารอินทรีย์แขวนลอยหลุดออกจากชุดการทดลอง

จากการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งระเหยทั้งหมดของน้ำเสียที่ป้อนเข้าสู่ชุดการทดลองตลอดช่วงของการทดลองที่ระยะเวลาพักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน มีค่าเฉลี่ย $5,474.7 \pm 688.0$ มิลลิกรัม/ลิตร ส่วนปริมาณของแข็งระเหยทั้งหมดของน้ำออกที่ระยะเวลาพักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $2,885.9 \pm 120.3$, $3,082.4 \pm 190.3$ และ $2,934.3 \pm 234.0$ มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ (ภาพ 25)



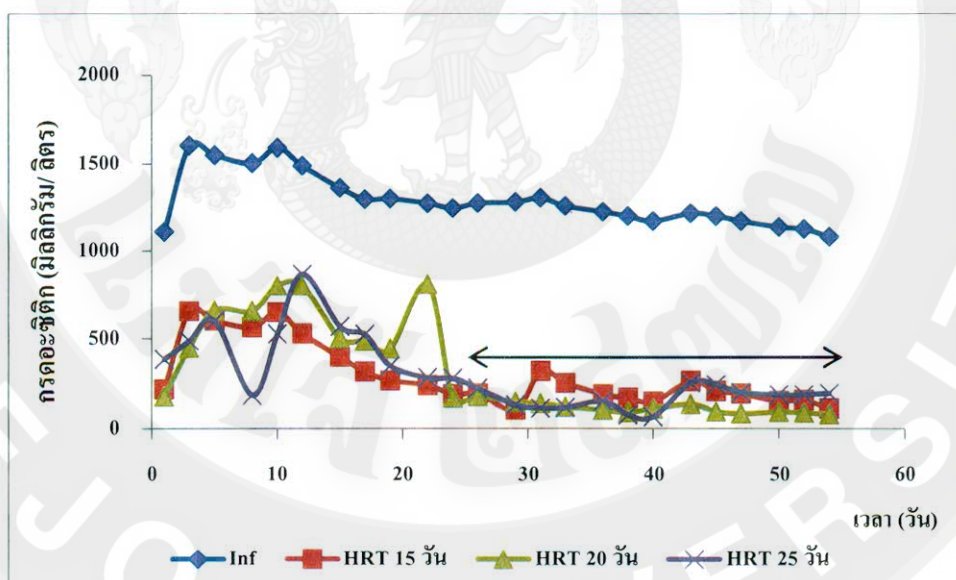
ภาพ 25 ค่าของแข็งระเหยง่ายของน้ำเข้าและน้ำออกที่ระยะเวลากักเก็บต่างๆ

จากผลการทดลอง พบว่า ปริมาณของแข็งระเหยง่ายของน้ำออกทั้ง 3 ชุดการทดลองที่ระยะเวลากักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน ในช่วงแรกของการเริ่มต้นระบบมีค่าค่อนข้างสูง และเริ่มลดลงเมื่อระบบเข้าสู่สภาวะคงที่ เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพในการกำจัดค่าของแข็งระเหยง่ายของชุดการทดลองที่ระยะเวลากักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน พบว่า ประสิทธิภาพในการย่อยสลายของแข็งทั้งหมดเท่ากับร้อยละ 47.3, 43.7 และ 43.4 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาการกำจัดของแข็งทั้งหมด พบว่า ที่ระยะเวลากักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายของแข็งระเหยง่ายไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Fischer et al. (1983) ที่พบว่า ในช่วงแรกของการทดลองจะมีแนวโน้มของแข็งระเหยง่ายในปริมาณที่สูง แต่เมื่อระบบเข้าสู่สภาวะคงที่ปริมาณของแข็งระเหยง่ายจะค่อยลดลง ซึ่งมีประสิทธิภาพในการกำจัดได้ถึงร้อยละ 65

ค่ากรดไขมันระเหยง่าย

ปริมาณกรดไขมันที่เข้าระบบในชุดการทดลองทั้ง 3 ชุดการทดลองที่ระยะเวลาเก็บ 15, 20 และ 25 วัน ซึ่งค่ากรดไขมันระเหยง่ายที่วิเคราะห์หาคืออยู่ในรูปของกรดอะซิติก บิวทีริก และโพรพิโอนิก พบว่า ปริมาณกรดอะซิติกของน้ำออกทั้ง ที่ระยะเวลาเก็บ 15, 20 และ 25 วันมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 295.3 ± 38.3 , 309.3 ± 69.2 และ 300.8 ± 54.1 มิลลิกรัม/ลิตร (ภาพ 26)

ในช่วงแรกของทั้ง 3 ชุดการทดลองมีปริมาณกรดอะซิติกที่มีค่าสูง หลังจากจากระบบเข้าสู่คงที่แล้วปริมาณกรดอะซิติกอยู่ในช่วงที่เหมาะสม ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองสอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Alexiou and Panter, (2004; Siedlecka, 2008) ที่พบว่า สารอินทรีย์ที่เข้าสู่ระบบจะถูกย่อยสลายโดยสารอินทรีย์ที่ผ่านขั้นตอนการย่อยจะถูกแบคทีเรียกลุ่มสร้างกรดเปลี่ยนเป็นกรดอินทรีย์ ซึ่งปกติแล้วกรดไขมันระเหยง่ายควรมีค่าอะซิติกประมาณ 20-200 มิลลิกรัม/ ลิตร ซึ่งระบบมีความต้องการใช้กรดอะซิติกเป็นสารตั้งต้นหลักสำหรับเปลี่ยนเป็นก๊าซมีเทน

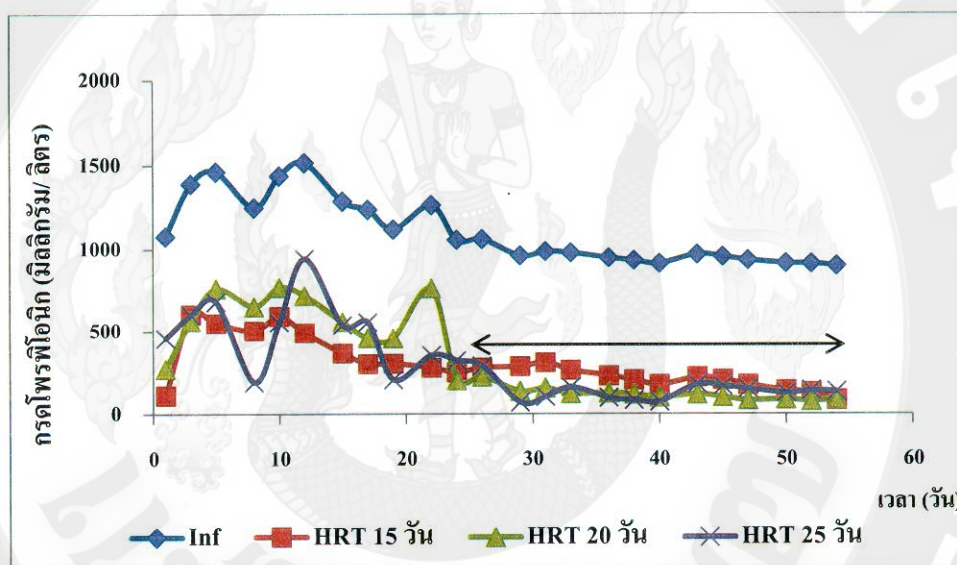


ภาพ 26 ปริมาณกรดอะซิติกของน้ำออกที่ระยะเวลาเก็บต่างๆ

จากการทดลองหลังจากระบบเข้าสู่สภาวะคงที่ พบว่า ปริมาณสารอินทรีย์ที่ป้อนเข้าสู่ระบบจะถูกย่อยสลายเป็นกรดไขมันระเหยซึ่งอยู่ในรูปของกรดอะซิติก กรดบิวทีริก และโพรพิโอนิก โดยจะพบปริมาณกรดอะซิติกเป็นองค์ประกอบหลัก และเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายในขั้นตอนการหมักกรด ซึ่งปริมาณกรดไขมันระเหยในระบบจะเป็นตัวชี้วัดประสิทธิภาพการผลิตก๊าซ

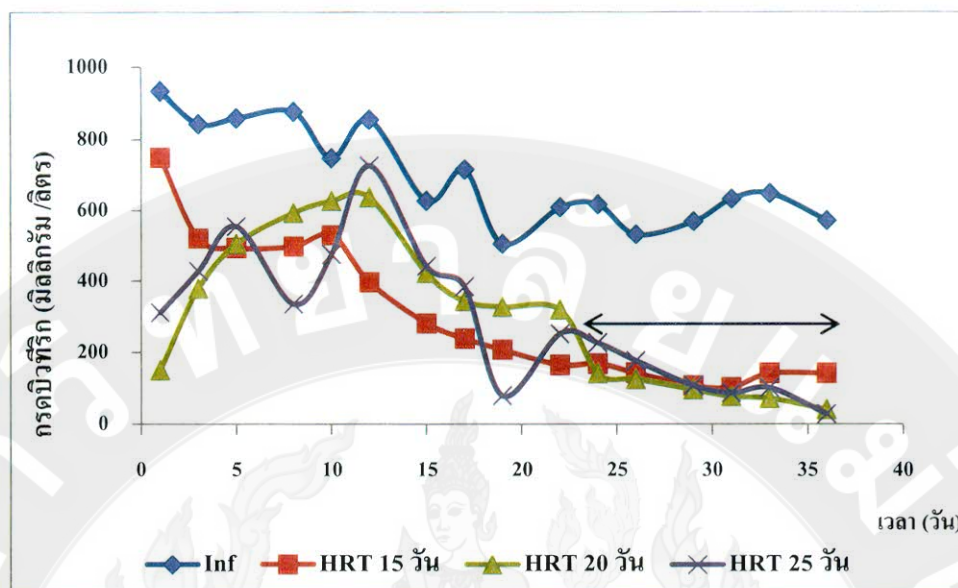
มีเทนของระบบ โดยแบคทีเรียในกลุ่มผลิตก๊าซมีเทนจะใช้กรดอะซิดิกเพื่อผลิตก๊าซมีเทน จึงทำให้ปริมาณกรดอะซิดิกลดลง จากนั้นจึงมีการใช้กรดโฟฟิโอนิก และกรดบิวทีริก ในการหมักกรดในขั้นต่อไป Li and Nishino (2011; Xie et al, 2011)

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณกรดโฟฟิโอนิกของน้ำเสียที่ป้อนเข้าสู่ชุดการทดลองตลอดช่วงของการทดลองที่ระยะเวลากักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน มีปริมาณกรดโฟฟิโอนิกเท่ากับ $1,103.8 \pm 88.4$ มิลลิกรัม/ลิตร ส่วนปริมาณกรดโฟฟิโอนิกของน้ำออกที่ระยะเวลากักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 291.6 ± 36.5 , 321.0 ± 119.7 และ 299.0 ± 196.9 มิลลิกรัม/ลิตร (ภาพ 27)



ภาพ 27 ปริมาณกรดโฟฟิโอนิกของน้ำออกที่ระยะเวลากักเก็บต่างๆ

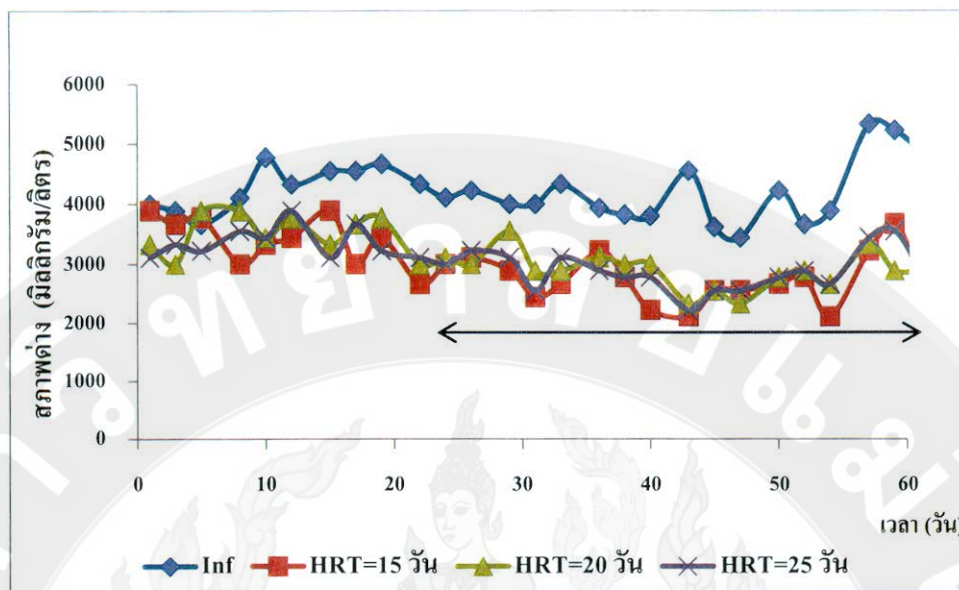
และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณกรดบิวทีริกของน้ำเสียที่ป้อนเข้าสู่ชุดการทดลองตลอดช่วงของการทดลองที่ระยะเวลากักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน มีปริมาณกรดบิวทีริกเท่ากับ 697.2 ± 112.0 มิลลิกรัม/ลิตร ส่วนปริมาณกรดบิวทีริกของน้ำออกที่ระยะเวลากักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 305.2 ± 183.3 , 304.0 ± 112.7 และ 295.0 ± 122.2 มิลลิกรัม/ลิตร (ภาพ 28)



ภาพ 28 ปริมาณกรดบิวที่รีกของน้ำออกที่ระยะเวลากักเก็บต่างๆ

สภาพต่าง

จากการวิเคราะห์สภาพต่างทั้งหมดของน้ำเสียที่ป้อนเข้าสู่ชุดการทดลองตลอดช่วงของการทดลองที่ระยะเวลากักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน มีค่าเฉลี่ย $4,220 \pm 267.3$ มิลลิกรัม/ลิตรในรูปของแคลเซียมคาร์บอเนต ส่วนสภาพต่างทั้งหมดของน้ำออกที่ระยะเวลากักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $2,996 \pm 160.5$, $3,123 \pm 148.0$ และ $3,065 \pm 148.5$ มิลลิกรัม/ลิตรในรูปของแคลเซียมคาร์บอเนต ตามลำดับ (ภาพ 29)

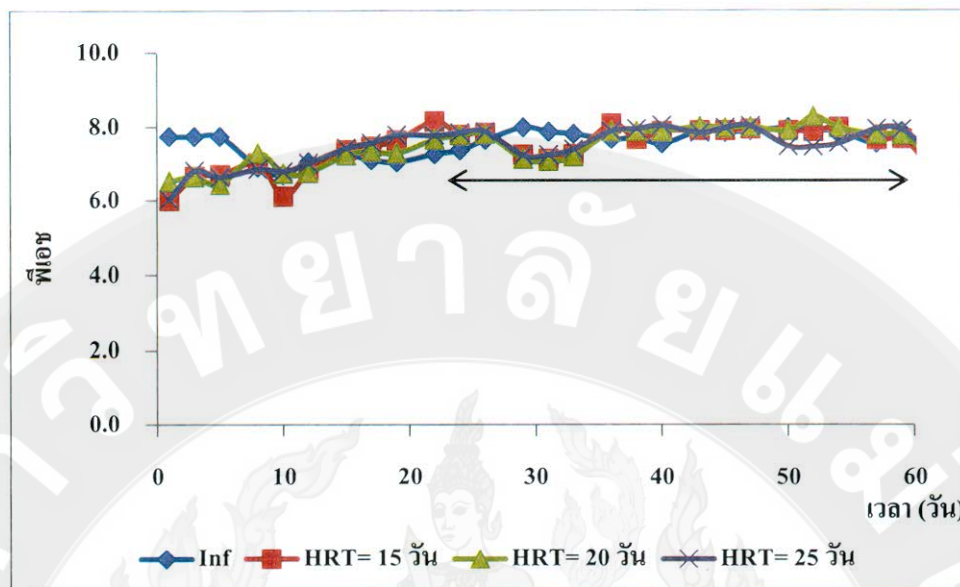


ภาพ 29 การเปลี่ยนแปลงค่าสภาพต่างของน้ำออกที่ระยะเวลาเก็บเก็บต่างๆ

ผลการทดลอง พบว่า เมื่อระบบเข้าสู่สภาวะคงที่สภาพต่างในระบบส่วนหนึ่งมาจากแอมโมเนียจากน้ำเสียจากฟาร์มสุกรที่ช่วยรักษาสภาพต่างให้อยู่ในระดับที่ด้านทานการเปลี่ยนแปลงของพีเอช ซึ่งน้ำออกจากชุดการทดลองจะมีสภาพต่างที่เปลี่ยนไปในแนวโน้มเดียวกัน ($P>0.05$) ซึ่งอยู่ในช่วงที่เหมาะสม และสอดคล้องกับผลการทดลองของ Osman and Delia. (2005 ; Kim et al, 2003) ที่พบว่า สภาพต่างซึ่งควรมีค่าอยู่ในช่วง 1,000-5,000 มิลลิกรัม/ลิตรในรูปของแคลเซียมคาร์บอเนต ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมของระบบ

พีเอช

เมื่อพิจารณาค่าพีเอชเมื่อเข้าสู่สภาวะคงที่ พบว่า ค่าพีเอชของน้ำออกจากชุดการทดลองที่ระยะเวลากักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน มีค่าเฉลี่ย 7.4, 7.5 และ 7.5 ตามลำดับ (ภาพ 30) ซึ่งหากค่าพีเอชมีความแปรผันไปจากช่วง 6.5-7.5 อาจส่งผลกระทบต่อการทำงานของจุลินทรีย์สร้างก๊าซมีเทน ซึ่งจากการทดลองพบว่าตั้งแต่วันที่ 10 ค่าพีเอชของทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อย และค่าพีเอชของน้ำออกจากชุดการทดลองยังมีสภาพเป็นกลาง ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$)

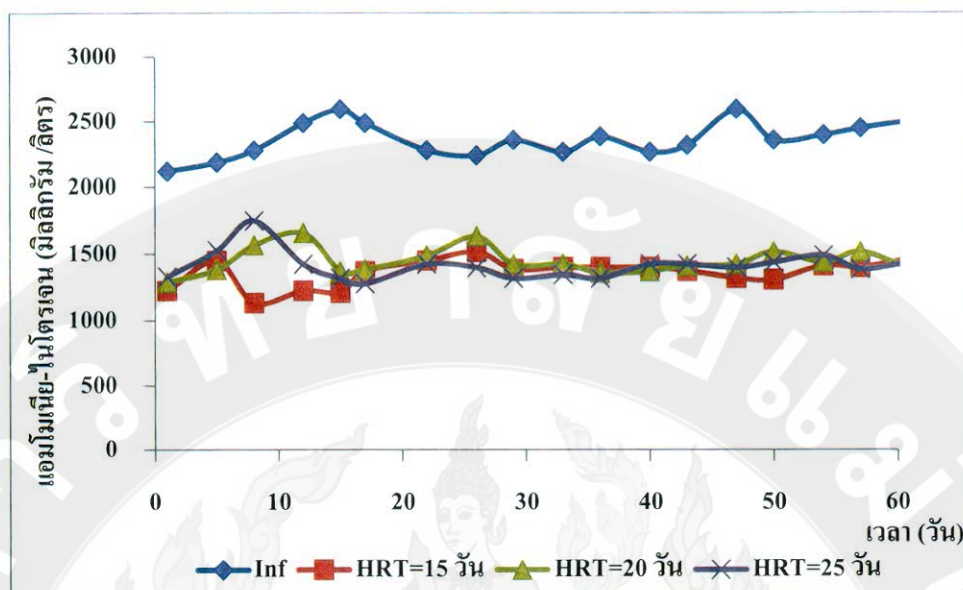


ภาพ 30 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของน้ำออกที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยวต่างๆ

ผลการทดลอง พบว่า ค่าพีเอชของน้ำออกตลอดช่วงการทดลอง พบว่า ช่วงแรกของชุดการทดลองค่าพีเอชในระบบจะมีค่าอยู่ในช่วง 6.5-7.5 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Bryant (1991; Yu and Fang, 2002) ที่พบว่า ค่าพีเอชที่เหมาะสมแก่การสร้างกรดมีค่าพีเอชเท่ากับ 6 การที่ระบบสามารถรักษาค่าพีเอชในช่วงที่เหมาะสมต่อการทำงานของจุลินทรีย์ในระบบได้ทุกสภาวะการทดลอง ส่วนหนึ่งเนื่องมาจากส่วนผสมของของเสียที่เข้าสู่ชุดการทดลองที่ประกอบด้วยน้ำเสียจากฟาร์มสุกรถึงร้อยละ 70 ปริมาณความเข้มข้นของ $\text{NH}_3\text{-N}$ ที่สูงในน้ำเสีย สามารถเพิ่มสภาพด่าง ทำให้ระบบสามารถรักษาค่าพีเอชที่เหมาะสมได้

แอมโมเนีย-ไนโตรเจน

จากการวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจนของน้ำเสียที่ป้อนเข้าระบบตลอดช่วงของชุดทดลองที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยว 15, 20 และ 25 วัน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $2,362.6 \pm 48.3$ มิลลิกรัม/ลิตร ส่วนปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจนของน้ำออกที่ระยะเวลาเก็บเกี่ยว 15, 20 และ 25 วันมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $1,354.0 \pm 70.2$, $1,44.5 \pm 39.1$ และ $1,410.2 \pm 25.1$ มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ (ภาพ 31)



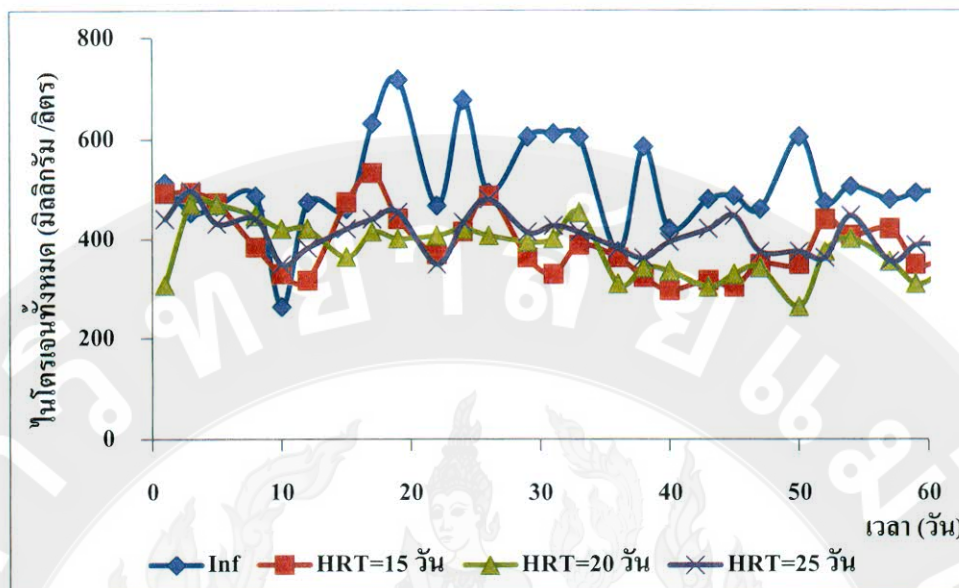
ภาพ 31 การเปลี่ยนแปลงค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนของน้ำออกที่ระยะเวลากักเก็บต่างๆ

จากการวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจนของแต่ละชุดการทดลอง พบว่า ที่ระยะเวลากักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน มีปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจนไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ซึ่งจะเห็นได้ว่าแต่ละชุดการทดลองมีปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจนค่อนข้างใกล้เคียงกัน อาจเนื่องมาจากปริมาณน้ำเสียที่ป้อนเข้าระบบมีปริมาณที่ใกล้เคียงกัน

เมื่อพิจารณาปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจนของน้ำออกจากระบบที่สภาวะคงที่พบว่า ที่ระยะเวลากักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน อยู่ในช่วงที่ไม่เกิดผลเสียต่อจุลินทรีย์ ซึ่งค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วง 1,500-3,000 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งอาจจะมีผลยับยั้งต่อระบบเมื่อมีค่าพีเอชสูง McCarty, (1991) โดยที่ค่าแอมโมเนียที่เกิดขึ้นมีปัจจัยมาจากค่าของแข็งทั้งหมดที่เข้าสู่ถังปฏิกรณ์ และระยะเวลากักเก็บน้ำ (Laclos et al., 1997)

ไนโตรเจนทั้งหมด

เมื่อพิจารณาจากปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของน้ำเสียที่ป้อนเข้าระบบตลอดช่วงของชุดทดลองที่ระยะเวลากักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 263.3 ± 38.5 มิลลิกรัม/ลิตร ส่วนปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของน้ำออกที่ระยะเวลากักเก็บ 15, 20 และ 25 วันมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 391.0 ± 51.3 , 377.9 ± 28.3 และ 410.4 ± 15.9 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ (ภาพ 32)



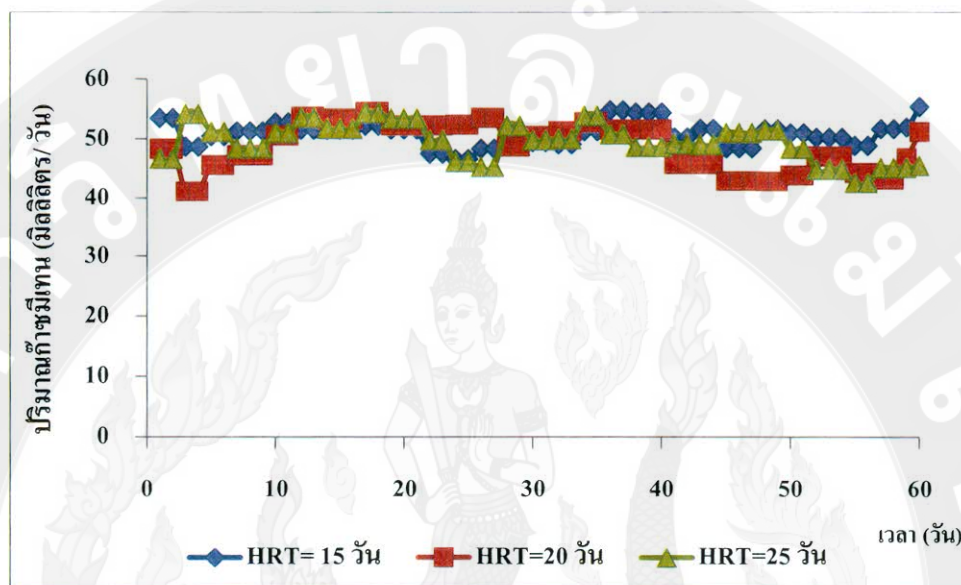
ภาพ 32 การเปลี่ยนแปลงค่าไนโตรเจนทั้งหมดของน้ำออกที่ระยะเวลากักเก็บต่างๆ

จากการเปรียบเทียบปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดโดยการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ระยะเวลากักเก็บที่ 15, 20 และ 25 วัน ค่าไนโตรเจนทั้งหมดของทั้ง 3 ชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ภาพ 32 จะเห็นได้ว่า ที่ระยะเวลากักเก็บ 15 วัน มีค่าค่อนข้างต่ำกว่าการทดลองอื่น อาจเนื่องมาจากระบบต้องได้รับภาระบรรทุกสารอินทรีย์ที่สูงกว่า ประกอบกับปริมาณอินทรีย์คาร์บอนของน้ำเสียจากฟาร์มสุกรที่เข้าสู่ชุดการทดลองมีการแปรผันตลอดช่วงเวลากักเก็บ และค่าไนโตรเจนทั้งหมดจะมีค่าสูงขึ้นที่ระยะเวลากักเก็บสูงด้วย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Prochazka et al. (2012; Yenigun and Demirel, 2013) พบว่าค่าไนโตรเจนในน้ำควรมีค่าอยู่ที่ 600-8000 มิลลิกรัม/ลิตร และมีค่าพีเอชในช่วง 7.2 -7.5 ซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสมของระบบ ซึ่งระบบจะมีปริมาณไนโตรเจนไม่เกิน 3,500 มิลลิกรัม/ลิตร (Laclos et al., 1997)

ปริมาณก๊าซชีวภาพและองค์ประกอบก๊าซชีวภาพ

ปริมาณการเกิดก๊าซชีวภาพต่อวันที่สภาวะคงมีค่าค่อนข้างคงที่โดยมีอัตราการเกิดก๊าซเฉลี่ยเท่ากับ 255, 244 และ 235 มิลลิลิตร/วัน ที่ระยะเวลากักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน และจากการตรวจวัดองค์ประกอบของก๊าซชีวภาพมีอัตราส่วนมีเทนมีค่าเฉลี่ยที่ร้อยละ 50.8, 49.5 และ 48.7 (ภาพ 33) ปริมาณก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นในแต่ละวันตลอดช่วงระยะเวลาการในช่วงแรกที่เริ่มดำเนินการทดลองของชุดการทดลองที่ระยะเวลากักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน พบว่า ในช่วงเริ่มแรก

ของการทดลองปริมาณของก๊าซมีเทนจะต่ำเนื่องจากอยู่ในสภาวะการปรับตัวของแบคทีเรียในกลุ่มที่ผลิตก๊าซมีเทนและมีปริมาณของแบคทีเรียที่น้อย เมื่อระบบเข้าสู่สภาวะสมดุลที่พบว่า ได้ องค์ประกอบของก๊าซมีเทนมีค่าที่ใกล้เคียงกัน



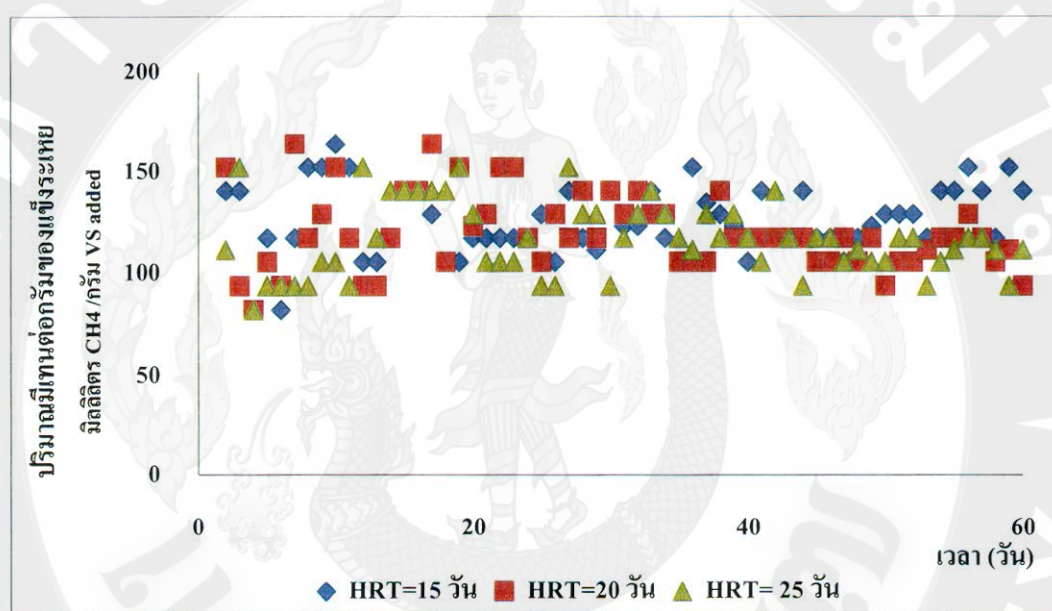
ภาพ 33 ปริมาณก๊าซมีเทนที่ระยะเวลากักเก็บ ที่ต่างๆ

ปริมาณก๊าซมีเทนต่อกรัมของแข็งระเหยในช่วงที่สภาวะคงที่ซึ่งผลจากการเปรียบเทียบปริมาณก๊าซชีวภาพโดยวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ Analysis of Variance (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test ด้วยโปรแกรม SPSS พบว่า ที่ระยะเวลากักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน มีปริมาณมีเทนที่ผลิตได้ต่อกรัมของแข็งระเหยได้ที่ $3,852 \pm 47.4$, $3,540 \pm 31.4$ และ $3,466 \pm 30.7$ มิลลิลิตร CH_4 /กรัม VS_{added} และปริมาณมีเทนที่ผลิตได้ต่อกรัมของชีโอดีที่ $1,718 \pm 21.0$, $1,526 \pm 13.6$ และ $1,481 \pm 13.0$ มิลลิลิตร CH_4 /กรัม COD_{added} ตามลำดับ (ตาราง 17)

ตาราง 17 อัตราการผลิตก๊าซมีเทนของแต่ละชุดการทดลอง

การทดลอง	มิลลิลิตร CH_4 /กรัม VS _{added}	มิลลิลิตร CH_4 /กรัม COD _{added}
HRT= 15 วัน	$3,852 \pm 47.4$	$1,718 \pm 21.0$
HRT= 20 วัน	$3,540 \pm 31.4$	$1,526 \pm 13.6$
HRT= 25 วัน	$3,466 \pm 30.7$	$1,481 \pm 13.0$

เมื่อพิจารณาจากปริมาณการผลิตก๊าซมีเทนที่ผลิตได้ต่อปริมาณมีเทนที่ผลิตได้ต่อปริมาณสารอินทรีย์ที่ป้อนเข้าระบบ ที่ระยะเวลากักเก็บน้ำ 15 และ 20 วัน จึงเป็นระยะเวลาที่เหมาะสมในการนำไปใช้งานโดยอัตราการผลิตก๊าซมีเทนเท่ากับ 3,852 และ $3,540 \pm 31.4$ มิลลิลิตร $\text{CH}_4/\text{กรัม VS}_{\text{added}}$ ซึ่งมีค่าสูงกว่าที่ระยะเวลากักเก็บที่ 25 วัน (ภาพ 34) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Fiseher et al. (1983) ที่พบว่า การหมักรวมนั้นที่ระยะเวลากักเก็บที่ 15 วัน และมีอัตราการระบรทุกสารอินทรีย์ที่ 3.8 กิโลกรัม VS (ลูกบาศก์เมตร/วัน) สามารถผลิตก๊าซมีเทนได้เท่ากับ 3,200 มิลลิลิตร $\text{CH}_4/\text{กรัม VS}_{\text{added}}$

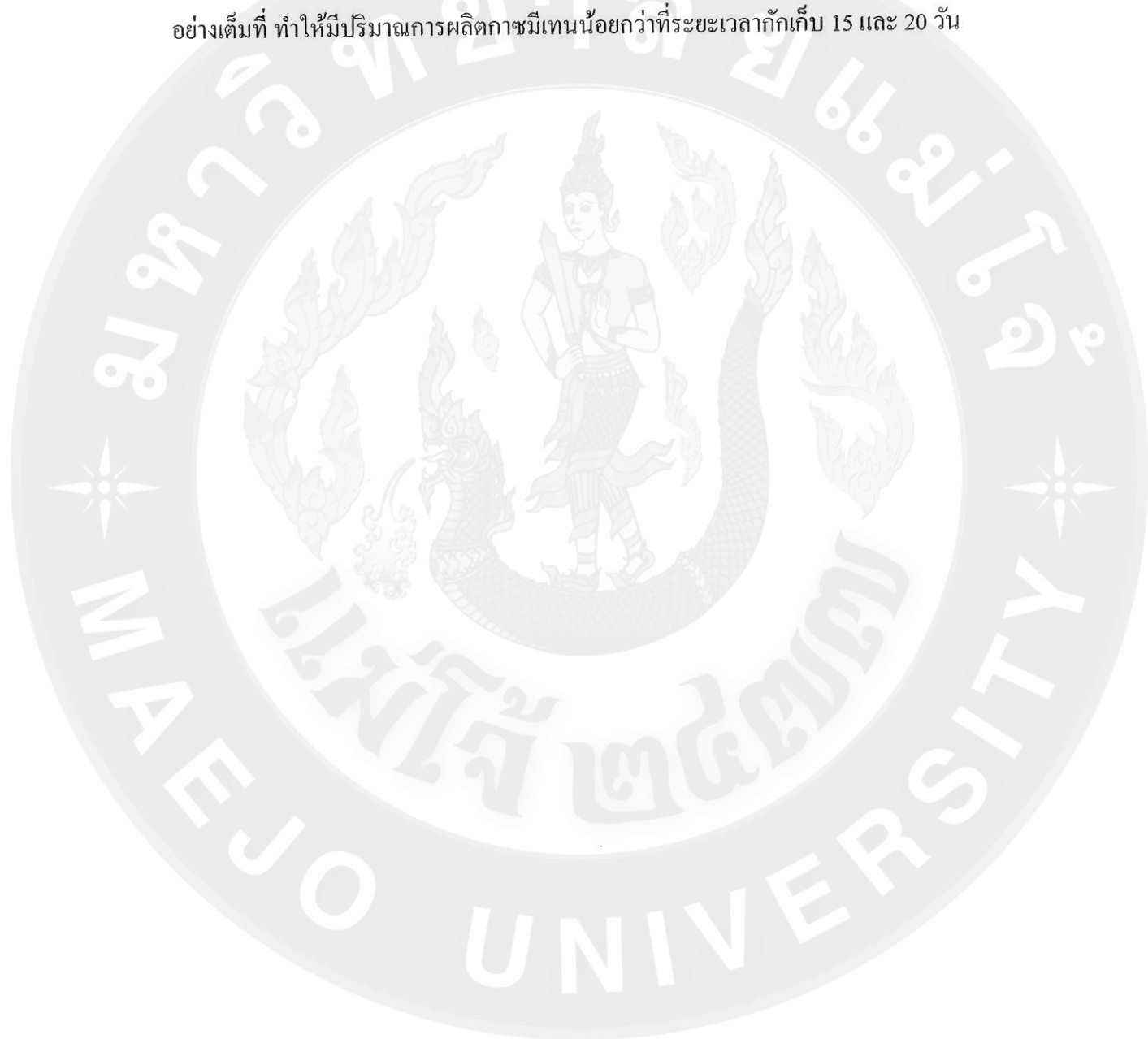


ภาพ 34 ปริมาณก๊าซมีเทนต่อกรัมของแข็งระเหย

การเปลี่ยนแปลงอัตราการผลิตก๊าซชีวภาพมีความสำคัญเป็นตัวบ่งชี้ถึงการทำงานของจุลินทรีย์กลุ่มที่สร้างมีเทน เนื่องจากคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี โดยเฉพาะส่วนที่ย่อยสลายได้ยาก ได้แก่ เส้นใยของหญ้า (เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน) ซึ่งมีผลต่อจุลินทรีย์ในระบบที่ส่งผลต่ออัตราการผลิตก๊าซและประสิทธิภาพระบบ อัตราการผลิตก๊าซชีวภาพในระบบบำบัดแบบไร้ออกซิเจนในชุดการทดลองขึ้นอยู่กับระยะเวลากักเก็บที่เหมาะสม

จากการวิเคราะห์อัตราการผลิตก๊าซชีวภาพต่อประสิทธิภาพในการบำบัดสารอินทรีย์ในรูปของซีไอดี ปริมาณของแข็งทั้งหมด และปริมาณของแข็งระเหย ที่ระยะเวลากักเก็บ 15, 20 และ 25 วัน พบว่า ถึงแม้ว่าปริมาณมีเทนที่ผลิตได้ต่อหนึ่งหน่วยของของแข็งระเหยง่ายเมื่อใช้หญ้าหมักเป็นวัสดุหมักมีความแปรปรวนในช่วงต้น แต่เมื่อระบบมีการปรับตัวทำให้ค่าดังกล่าวมีค่าค่อนข้างคงที่ อาจเนื่องจากอัตราส่วนของสารอินทรีย์ที่ย่อยสลายระหว่างน้ำเสียจาก

ฟาร์มสุกรและหลุมขุมหมักที่ใช้เป็นวัสดุหมักรวม พบว่า มีค่าค่อนข้างคงที่ตลอดเวลาการทดลองจึงทำให้ปริมาณมีเทนที่เกิดขึ้นมีค่าแปรปรวน อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาปริมาณมีเทนที่ผลิตได้ในระยะเวลากักเก็บ 25 วัน จะพบว่า มีอัตราการผลิตก๊าซมีเทนน้อยกว่าที่ระยะเวลากักเก็บ 15 และ 20 วัน ทั้งนี้อาจเกิดขึ้นจากการทำงานของจุลินทรีย์ในระบบไม่สามารถสัมผัสกับของเสียในระบบได้อย่างเต็มที่ ทำให้มีปริมาณการผลิตก๊าซมีเทนน้อยกว่าที่ระยะเวลากักเก็บ 15 และ 20 วัน



บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก

จากการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากอาหารหมักดองพื้นเมืองของไทย และพืชอาหารสัตว์นั้น สามารถคัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติกได้ทั้งสิ้น 137 ไอโซเลท และมีแบคทีเรียจำนวน 11 ไอโซเลท (LGI01, LGF101, LGF106, LGF107, LGF108, LGF115, LGF2, LNF103, LNF202, LNF207 และ LNF309) ที่สามารถเจริญได้ในหญ้าสดได้ดี ($OD_{600} = 0.508-0.593$) ซึ่งสามารถผลิตกรดแลคติกได้ประมาณร้อยละ 1.7-2.1 เมื่อหาลำดับเบสในส่วนของยีน 16S rRNA พบว่า สามารถจำแนกแบคทีเรียกรดแลคติกได้ 3 จีนัส จัดออกเป็น 4 สปีชีส์ ได้แก่ *Enterococcus gallinarum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis* และ *Pediococcus pentosaceus* และคัดเลือกแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแลคติกและเจริญได้ดีที่สุดจำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *L. plantarum* 107, *P. pentosaceus* 115 และ *L. plantarum* 309

การหมักพืชในระดับห้องปฏิบัติการ

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของหญ้ารูซี่ หญ้ากินนี หญ้าขน และหญ้านาที่อายุ 45 วัน พบว่า หญ้าขนมีค่าวัตถุแห้งที่ร้อยละ 25.67 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสมต่อการหมัก และมีปริมาณเยื่อใย ADF กับ NDF ที่ร้อยละ 26.71 และ 58.62 ส่วนหญ้ากินนี หญ้ารูซี่ และหญ้านามีค่าวัตถุแห้งที่ร้อยละ 24.72, 22.72 และ 31.75 และมีปริมาณเยื่อใย ADF ที่ร้อยละ 25.66, 27.46 และ 37.36 ปริมาณเยื่อใย NDF ที่ร้อยละ 57.37, 55.29 และ 72.72 ตามลำดับ

หญ้าขนที่ปรับสภาพด้วยแบคทีเรียสายพันธุ์ *L. plantarum* 107, *P. pentosaceus* 115 และ *L. plantarum* 309 มีค่าวัตถุแห้งที่ร้อยละ 18.94, 20.34 และ 15.5 มีค่าปริมาณเยื่อใย ADF ที่ร้อยละ 20.86, 28.11 และ 24.11 ปริมาณเยื่อใย NDF ที่ร้อยละ 50.70, 53.43 และ 53.61 โดยมีค่าพีเอชของหญ้าขนหมักเท่ากับ 4.2, 4.3 และ 4.7 ตามลำดับ จากองค์ประกอบทางเคมีของหญ้าขนหมักพบว่า หญ้าขนที่ปรับสภาพด้วยแบคทีเรีย *L. plantarum* 107 สามารถลดปริมาณเยื่อใย ADF และปริมาณเยื่อใย NDF ได้สูง

ผลการทดลอง BMP Test

จากการทดลองหาค่า BMP Test เพื่อหาอัตราส่วนของหญ้าหมักที่เหมาะสมต่อศักยภาพการผลิตก๊าซมีเทนที่อัตราส่วน 50:50, 60:40 และ 70:30 (v/v) พบว่า อัตราส่วนวัสดุหมักร่วมระหว่างน้ำเสียฟาร์มสุกรและหญ้าขนเป็นวัสดุหมักร่วมจะใช้อัตราส่วนที่ 70:30 (v/v) เป็นอัตราส่วนที่ให้ ศักยภาพการเกิดมีเทน (Biochemical Methane Potential) สูงสุด ซึ่งสามารถผลิตก๊าซมีเทนได้ถึง 3919.2 มิลลิลิตร และใช้ระยะเวลาในการย่อยสลายที่สั้น รองลงมาที่ 60:40 และ 50:50 ซึ่งผลิตก๊าซมีเทนได้ที่ 3665.9, 3569.1 มิลลิลิตร และที่ 50:50 60:40 และ 70:30 มีศักยภาพการย่อยสลายให้ก๊าซมีเทนได้ถึง 353.7, 349.1 และ 377.6 มิลลิลิตร CH_4 /กรัม VS_{added} ตามลำดับ จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าการหมักร่วมระหว่างน้ำเสียจากสุกรและหญ้าขนหมักในอัตราส่วน 70:30 มีประสิทธิภาพในการผลิตก๊าซมีเทนสูงสุด และมีระยะในการหมักที่สั้นที่สุด

ทดสอบประสิทธิภาพการผลิตก๊าซมีเทนในระดับห้องปฏิบัติการ

จากการศึกษาประสิทธิภาพการผลิตก๊าซมีเทนระหว่างน้ำเสียจากฟาร์มสุกรร่วมกับหญ้าขนหมักในสภาวะแบบไร้ออกซิเจน โดยใช้อัตราส่วนที่ 70:30 ซึ่งศึกษาผลของระยะเวลาเก็บกักต่อประสิทธิภาพของชุดการทดลองแบบไร้ออกซิเจนระดับห้องปฏิบัติการ โดยมีระยะเวลาเก็บกักที่ 15, 20 และ 25 วัน มีประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีมีเท่ากับ ร้อยละ 45.5, 37.3 และ 34.2 ที่ระยะเวลาเก็บกัก 15, 20 และ 25 วัน ตามลำดับ และมีประสิทธิภาพในการกำจัดของแข็งระเหยเท่ากับ ร้อยละ 47.3, 43.7 และ 43.4

เมื่อพิจารณาอัตราการผลิตก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้นตลอดช่วงเวลาการทดลองที่ระยะเวลาเก็บกัก 15, 20 และ 25 วันมีค่าเฉลี่ยที่ 3,852, 3,540 และ 3,466 มิลลิลิตร CH_4 /กรัม VS_{added} และมี 1,718, 1526 และ 1,481 มิลลิลิตร CH_4 /กรัม $\text{COD}_{\text{added}}$ ตามลำดับ เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่า เมื่อดำเนินระบบที่ระยะเวลากักเก็บที่ 15, 20 และ 25 วัน มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) จากผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่า เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพในการกำจัดสารอินทรีย์ควรดำเนินระบบที่ระยะเวลาเก็บกักที่ 15 วัน ซึ่งเป็นค่าที่เหมาะสมต่อการดำเนินระบบ โดยสามารถผลิตก๊าซได้สูงสุด

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการพัฒนากระบวนการเก็บก๊าซมีเทนให้ง่าย และสะดวกต่อการนำไปใช้ประโยชน์ เพื่อนำก๊าซมีเทนไปใช้เป็นเชื้อเพลิงในฟาร์มสุกรมากขึ้น
2. สามารถใช้เป็นแนวทางสำหรับการส่งเสริมการผลิตแก่เกษตรกรผู้เลี้ยงสุกร วัว สามารถนำไปประยุกต์ใช้ และสามารถผลิตก๊าซชีวภาพจากของเสียจากฟาร์มในระดับครัวเรือน และระดับชุมชน
3. การนำหญ้าหมักมาใช้เป็นวัตถุดิบหมักร่วมเพื่อสำรองไว้ในยามจำเป็น เนื่องจากอาจจะขาดแคลนวัตถุดิบจากแหล่งต่างๆ

บรรณานุกรม

- กรมควบคุมมลพิษ. 2546. คู่มือการเลือกใช้และการบำรุงรักษาระบบบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกรตาม
แบบมาตรฐานกรมปศุสัตว์. กรุงเทพฯ: สำนักจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ: 33 น.
- กรมปศุสัตว์. 2546. พืชมาราสัตว์พันธุ์ดี. กรุงเทพฯ: สำนักพัฒนาการปศุสัตว์และถ่ายทอด
เทคโนโลยี กรมปศุสัตว์. 49 น.
- กรมโรงงานอุตสาหกรรม. 2553. คู่มือการปฏิบัติงานเกี่ยวกับการออกแบบการผลิต การควบคุม
คุณภาพ และการใช้ก๊าซชีวภาพ (Biogas) สำหรับโรงงานอุตสาหกรรม. กรุงเทพฯ: สำนัก
เทคโนโลยีและความปลอดภัย. 346 น.
- จันทกานต์ อรุณนันท. 2545. กระบวนการหมักพืชมาราสัตว์และการปรุงแต่ง. ข้าวพืชมาราสัตว์.
7(1): 11-19.
- ทองเทียน บัวจุม. 2541. การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ย่อยสลายเพื่อใช้ปรับปรุงคุณภาพพืชมาราสัตว์. กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 203 น.
- ธงชัย พรรณสวัสดิ์. 2544. การกำจัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสทางชีวภาพ. กรุงเทพฯ: สมาคม
วิศวกรรมสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย. 703 น.
- บุญญา วิไลพล. 2532. พืชมาราสัตว์เขตร้อนและการจัดการ. ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
127 น.
- สถาบันวิจัยและพัฒนาพลังงาน. 2552. โครงการศึกษาเพิ่มศักยภาพการผลิตก๊าซชีวภาพของน้ำเสีย
จากฟาร์มสุกรในรูปแบบการหมักย่อยร่วมโดยดัดแปลง UASB และ CSTR เพื่อการใช้
พลังงานอย่างมีประสิทธิภาพ. เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 17 น.
- สายัณห์ ทัดศรี. 2540. พืชมาราสัตว์เขตร้อน การผลิตและการจัดการ. กรุงเทพฯ: ไร่เขียว : 375 น.
- สุริยลักษณ์ รอดทอง. 2554. การพัฒนารูปแบบกล้ำเชื้อหมัก: นครราชสีมา: มหาวิทยาลัย
เทคโนโลยีสุรนารี. 112 น.
- อดิสร จันทรประภาเลิศ. 2549. การจัดการฟาร์มสุกร. กรุงเทพฯ: สำนักพัฒนาระบบและรับรอง
มาตรฐานสินค้าปศุสัตว์. ส่วนพัฒนาสิ่งแวดล้อมด้านปศุสัตว์. 97 น.
- อัสดา ฉลาณวัฒน์. 2545. อิทธิพลของระยะเวลาเก็บกัก และอัตราป้อนสารอินทรีย์ต่อการผลิตก๊าซ
ชีวภาพจากเศษอาหาร. กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สถาบันเทคโนโลยีพระจอม
เกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 112 น.

- Ahring K.B, M. Sandberg and I. Anglidak.1995. Volatile Fatty Acids as Indicators of Process Imbalance in Anaerobic Digesters. **Applied Microbiology**. (43): 559-565.
- Akerberg, C. K.HofvendahlL, G. Zacchi and B. Hahn-Hagerdal. 1998. Modeling the influence of pH, temperature, glucose and lactic acid concentration on the kinetics of lactic acid production by *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* ATCC 19435 in whole-wheat flour. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 49(6): 682-690.
- Alexiou I.E. and Panter K. 2004. A review of two-phase application to define best practice for the treatment of various waste streams. pp.1178. **In Anaerobic Digestion Anaerobie. 10th World Congress**. Sept 2004. Montreal, Quebec, Canada: IWA Publishing Company.
- American Public Health Association (APHA).1998. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 20th Edition**. Baltimore, Maryland: United Book Press, Inc.335 p.
- Association of Official Analytical Chemists. (AOAC). 1990. Official methods of analysis. p. 1230.**Applied and Environmental Microbiology**. 55: 2095-2097.
- Beatriz, R., Ana B.M., Jose, M.D. and Juan C.P. 2004 Development of culture media containing spent yeast cells of *Debaryomyces hansenii* and corn steep liquor for lactic acid production with *Lactobacillus rhamnosus*. **Internation Journal of food Microbiology**. 8(10): 1894-1899.
- Benjamin, S.M.Jr., T.T. Admas and J.Phillip. 2001. Anaerobic co digestion of hog and poultry waste. **Bioresource Technology**. 76:165-168.
- Bolzonella D, P.Battistoni, J. Mata-Alvarez and F. Cechi. 2003. Anaerobic Digestion of Organic Solid Wastes : Process Behaviour in Transient Conditions. **Water Science and Technology**. 48(4):1-8.
- Bryant, M.P., 1991. Microbial Methane Production- Theoretical Aspects. **J.Animal Sci**. 48: 193-201.
- Burak, D. and S. Paul. 2009. Bio-methanization of energy crops through mono-digestion for continuous production of renewable biogas. **Renewable Energy** 34 :2940–2945.

- Bureenok, S., T. Namihira, M. Tamaki, S. Mizumachi, Y. Kawamoto and T. Nakada. 2005. Fermentative quality of guinea grass silage by using fermented juice of the epiphytic lactic acid bacteria (FJLB) as a silage additive. *Asian- Aust. J. Anim. Sci.* 18(6): 807-811.
- Bureenok, S., M. Tamaki, Y. Kawamoto and T. Nakada. 2007. Additive effects green tea on fermented juice of epiphytic lactic acid bacteria and the fermentative quality of Rhodesgrass silage. *Asian-Aust. J. Anim.Sci.* 20: 920-924.
- Cai, Y., S. Ohmomo and S. Kumai. 1994. Distribution and lactate fermentation characteristics of lactic acid bacteria on forage crops and grasses. *J. Japan Grassl. Sci.* 39: 420-428.
- Callaghan, F.J., D.A.J. Wase, K.Thayanithy, C.F. Foster. 2002. Continous co-digestion of cattle Slurry with fruit and vegetable waste and chicken manure. *Biomass and Bioenergy*, 27: 71-77.
- Catchpoole, V. R. and E. F. Henzell. 1971. Silage and silage-making from tropical herbage species. *Herb. Abst.* 41: 213-221.
- Chae, K.J., A. Jang, S.K. Yim and I. S. Kim. 2008. The effects of digestion temperature and temperatureshock on thebiogas yields from the mesophilic anaerobicdigestion of swine manure. *Bioresource Technology*. 99: 1-6.
- Chitchanoke Kongdang, Chaisri Suksaroj and Juntima Chungsiriporn. 2011. Biogas Production by Anaerobic Batch co-digestion of Pig Manure and Rubber Leaves. The 5th PSU-UNS **International Conference on Engineering and Technology**. Phuket: Merlin Beach Resort Hotel, Tritrang Beach.
- Diaz-Benjumea, F. J. and S. M. Cohen. 1995. Serrate signals through Notch to establish a Wingless-dependent organizer at the dorsal /ventral compartment boundary of the *Drosophila* wing. *Development* 121: 4215- 4225.
- Dechrugsa, S., K Duangporn, C. Sumate. 2013. Effects of inoculum to substrate ratio, substrate mix ratio and inoculum source on batch codigestion of grass and pig manure. *Bioresource Technology* 146(0): 101-108.

- Feng, C., S. Shimada, Z. Zhang and T. Maekawa. 2007. A pilot plant two-phase anaerobic digestion system for bioenergy recovery from swine wastes and garbage. **Waste Management** 28 (10): 1827-1834.
- Fischer, J.R., E.L. Iannotti and C.D. Fulhage 1983. Production on of methane gas from combinations of wheat straw and swine manure. **Transactions of the American Society of Agriculture Engineers**. 26(2): 546-548.
- Forster-Carneiro, T, M. Perez. and L.I. Romero. 2008. Thermophilic anaerobic digestion of sourcesorted organic fraction of municipal solid waste. **Bioresource Technology**. 99: 6763–6770.
- Garbutt, J. 1997. **Essentials of Food Microbiology**. 2nd ed. Arnold. London. England: CRC Press 288 p.
- Gelegenis, J., D. Georgakakis, I. Angelidaki, N. Christopoulou and M. Goumenaki. 2007. Optimization of biogas production from olive-oil mill wastewater, by codigesting with diluted poultry-manure. **Applied Energy** 84: 646-663.
- Habiba, L., H.Bouallagui and M. Hamdi. 2009. Improvement of activated sludge stabilisation and filterability during anaerobic digestion by fruit and vegetable waste addition. **Bioresource Technology**, 100(4): 1555–1560.
- Hayes, T.P. and T.L. Theis. 1978. The Distribution of Heavy Metals in Anaerobic Digestion. **J. Water Pollut. Control Fed.** 50: 307-313.
- Heinsoo, K., I. Melts, M. Sammul and B. Holm. 2010. The potential of Estonian semi-natural grasslands for bioenergy production. **Agriculture ecosystems and environment**. 137(1.): 86-92.
- Haigh, P.M. 1990. Effect of herbage water-soluble carbohydrate content and weather conditions at ensilage on the fermentation of grass silages made on commercial farms. **Grass Forage Sci.** 45:263-271.
- Laclos HF, B.Desbois and C. Saint-Joly. 1997. Anaerobic digestion of municipal solid organic waste: VALORGA Full-scale plant in Tilburg, the Netherlands. **Water Sci. Technol.**, 36 (6–7): 457–462.

- Lehtomaki, A., S. Huttunen and A.J. Rintala. 2006. Laboratory investigations on co-digestion of energy crops and crop residues with cow manure for methane production: Effect of crop to manure ratio. **Resour. Conserv. Recycl.** 51(3): 591–609.
- Li, Y. and N. Nishino. 2011. Monitoring the bacterial community of maize silage stored in a bunker silo inoculated with *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri*. **Journal of Applied Microbiology**. 110: 1561-1570.
- Lindorfer, H., C. Perez Lopez, C. Resch, R. Braun and R. Kirchmayr. 2007. The impact of increasing energy crop addition on process performance and residual methane potential in anaerobic digestion. **Water Sci. Technol.** 56(10): 55–63.
- Lise, A., J. Baeyens, J. Degreve, and R. Dewil. 2008. Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. **Progress in Energy and Combustion Science**. 34: 755-781.
- Kandler, O and N. Weiss. 1993. Regular, nonsporing gram-positive rods. pp. 1208-1223. In **Bergey's manual of systematic bacteriology**. Baltimore: Williams e Wilkins.
- Kaparaju, P. and R. Rintala. 2005. Anaerobic co-digestion of potato tuber and its industrial by-products with pig Resour. **Conserv. Recycl.** 43: 175–188.
- Kapetanios, E.G., M. Loizidou and G. Valkanas. 1993. Compost production from Greek domestic refuse. **Biores. Technol.** 44: 13 – 16.
- Kenneth N. T., McGenity, Terry J., Meer, Jan Roelof, de Lorenzo, Victor. 2010. **Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology**. Germany: Helmholtz Centre for Infection Research. 91 p.
- Kim M, S.M. Youn, S.H. Shin, J.G. Jang, S.H. Han, M.S. Hyun, G.M. Gadd and H.J. Kim, 2003. Practical field application of a novel BOD monitoring system. **J. Environ. Monit.** 5: 640–643.
- Kimaryo, V.M., G.A. Massawe, N.A., Olasupo and W.H. Holzapfel. 2000. The use of starter culture in the fermentation of cassava for the production of “Kinvunde” a traditional Tanzanian food product. **Int J. Food Microbiol.** 56: 179-190.

- Korenaga, T., Takahashi, T., Moriwake, T., Sanuki, S., 1990. Water quality monitoring system using flow-through sensing device. pp. 781. *In* Briggs, R. (Ed.), **Instrumentation, Control and Automation of Water and Waste Water Treatment and Transport Systems. Advances in Water Pollution Control**. London. Pergamon Press.
- Marques, S., J.A.L. Santons, F.M. Girio and J.C. Roseiro. 2008. Lactic acid production from recycled paper sludge by simultaneous saccharification and fermentation. **J. Biochem. Eng.** 41: 210-216.
- Mc Donald, P., A.R. Henderson and S.J.E. Heron. 1991. **The Biochemistry of silage**. 2nd ed. Marlow, England: Chalcombe Publications: 340 p.
- Mc Carty, P. 1991. Anaerobic waste Treatment fundamentals. **Pubic Works**. 9(10): 107-112 P.
- Metcalf and Eddy. 2003. Inc. Wastewater Engineering: Treatment and Reuse. 4th Edition. New York: McGrawHill, Inc. 1819 p.
- Muck, R. E. 1991. **Silage fermentation in Mixed Cultures in Biotechnology**. New York: McGraw Hill. 438 p.
- Muhammad, I. R., M. Baba, A. Mustapha, M.Y. Ahmad and L.S. Abdurrahman. 2008. Use of Legume in the Improvement of Silage Quality of Columbus Grass (*Sorghum alnum Parody*). **Res. J. Anim. Sci.** 2: 109-112.
- Neureiter M., Teixeira P.D.S.J., Lopez C.P., Pichler H., Kirchmayr R., Braun R., 2005. Effects of silage preparation on methane yields from whole crop maize silages. pp. 267-271 *In* Ahring B.K. and Hartmann H. (ed.). **Proc Of the 4th Int. Symp. on Anaerobic Digestion of Solid Waste**, August–September 2005, Copenhagen, Denmark: Taylor and Francis Grop.
- Nizami, A.-S., A. Orozco, E. Groom, B. Dieterich and J.D. Murphy. 2012. How much gas can we get from grass. **Applied Energy** 92: 783–790.
- Ohmomo, S., O. Tanaka, H.K. Kitamoto and Y. Cai. 2002. Silage and microbial performance, old story but new problems. **Jpn. Agric. Res. Q.** 36: 59-71.
- Osman N.A., D.T. Sponza. 2005. Anaerobic/aerobic treatment of municipal landfill leachate in sequential two-stage up-flow anaerobic sludge blanket reactor (UASB)/completely stirred tank reactor (CSTR) systems. **Process Biochemistry** 40: 895–902.

- Owens, D., M. Mcgee, T. Boland and P.O. Kiely. 2009. Rumen fermentation, microbial protein synthesis, and nutrient flow to the omasum in cattle offered corn silage, grass silage, or whole-crop wheat. **J. Anim. Sci.** 87: 658-668.
- Panesar, P.S., R. Panesar, R.S. Singh and M.B. Bera, 2007. Permeabilization of yeast cells with organic solvents for β -galactosidase activity. **Res. J. Microbiol.**, 2: 34-41.
- Parvin, S. and N. Nishino. 2009. Bacterial community associated with ensilage process of wilted guinea grass. **Journal of Applied Microbiology**. 107: 2029-2036.
- _____. 2010. Succession of lactic acid bacteria in wilted rhodesgrass silage assessed by plate culture and denaturing gradient gel electrophoresis. **Grassland Science**. 56: 51-55.
- Prasad, K. and R. Jukka. 2005. Anaerobic co-digestion of potato tuber and its industrial product with pig manure. **Resources, Conservation and Recycling**. 43: 175-188.
- Prochazka, J., P., Dolejs. J., Maca. M., Dohanyos. 2012. Stability and inhibition of anaerobic processes caused by insufficiency or excess of ammonia nitrogen. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 93: 439-447.
- Saarisalo, E., E. Skytta, A. Haikara, T. Jalava and S. Jaakkola. 2007. Screening and Selection of lactic acid bacteria strains suitable for ensiling grass. **J. Appl Microbiol.** 102(2): 327-336.
- Sanni, I., M. Asiedu and G.S. Ayernor. 2002. Microflora and chemical composition of Momoni, a Ghanaian fermentation fish condiment. **Journal of food composition and Analysis** 15: 577-583.
- Shao, H.J., J.T. Feng, J. Han, G.Z. Li, X. Zhang. 2003. Primary study on antifungal activity of 32 plant extracts. **Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry**. 31(6) : 59-62.
- Siedlecka E.M., J. Kumirska, T. Ossowski, P. Glamowski, M. Golebiowski, J. Gajdus, Z. Kaczynski and P. Stepnowski. 2008. Determination of Volatile Fatty Acids in Environmental Aqueous Samples. **Polish J. of Environ. Stud.** 17(3): 351-356.
- Sosnowski, P., A. Wieczorek and S. Ledakowicz. 2003. Anaerobic co-digestion of sewage sludge and organic fraction of municipal solid wastes. **Advances in Environmental Research**. 7:3. 609-616.

- Teodorita, A. S. 2008. **Biogas Handbook**. Esbjerg: University of Southern Denmark Esbjerg.
- Thygesen O., J. M. Triolo and S.G. Sommer. 2012. Indicators of Physical Properties and Plant Nutrient Content of Animal Slurry and Separated Slurry. **Biological Engineering Transactions**. 5(3): 123-135.
- Triolo, J. M., Pedersen, L., Qu, H., and S. G. Sommer. 2012. Biochemical methane potential and anaerobic biodegradability of non-herbaceous and herbaceous phytomass in biogas production. **Bioresource Technology**, 125: 226-232.
- Weinberg, Z.G. and R.E. Muck. 1996. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. **FEMS Microbiol. Rev.** 19: 53-68.
- Yahaya, M. S., M. Goto, W. Yimiti, B. Smerjai and Y. Kawamoto. 2004. Additives effects of fermented juice of epiphytic lactic acid bacteria and acetic acid on silo fermentation and luminal degradability of tropical elephant grass. **J. Anim.** 3: 115-121.
- Yenigun, O. and Demirel, B., 2013. Ammonia inhibition in anaerobic digestion: a review. **Process Biochem.** 48: 901-911.
- Yomoto, I. and I. Kpji. 1995. Direct fermentation of starch to L (+) lactic acid using *Lactobacillus amylophilus*. **Biotechnol Lett** 17(5): 543-546.
- Yu, H.Q. and H.H.P. Fang. 2002. Acidogenesis of dairy wastewater at various pH levels. **Water Science and Technology** 45: 201-206.
- Xie, S., P.G. Lawlor, P.G. Frost, Z. Hu and X. Zhan. 2011. Effect of pig manure to grass silage ratio on methane production in batch anaerobic co-digestion of concentrated pig manure and grass silage. **J. Bioresource Technology**. 102: 5728-5733.





ตารางผนวก 1 ผลการทดสอบลักษณะของเบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกได้จากแหล่งต่างๆ

แหล่งที่มา	รหัสไอโซเลท	รูปร่าง	การติดสีแกรม	การทดสอบ กะตะเลส
กระหล่ำตอง (MRS)	LkF1	กลม	+	-
	LkF102	ท่อน	+	-
	LkF103	ท่อน	+	+
	LkF104	ท่อน	+	+
	LkF105	กลม	+	+
	LkF106	ท่อน	+	+
	LkF107	ท่อน	+	+
	LkF108	ท่อน	+	+
	LkF109	ท่อน	+	+
	LkF110	กลม	+	-
	LkF111	ท่อน	+	-
	LkF112	ท่อน	+	+
ผักกาดตอง (MRS)	LkF2	กลม	+	+
	LkF201	ท่อน	+	+
	LkF202	ท่อน	+	+
	LkF203	ท่อน	+	+
	LkF204	ท่อน	+	-
	LkF205	ท่อน	+	+
	LkF206	ท่อน	+	+
	LkF207	ท่อน	+	+
	LkF208	กลม	+	+
	LkF209	ท่อน	+	-
	LkF210	ท่อน	+	-
	LkF211	ท่อน	+	+
	LkF212	ท่อน	+	+
	LkF213	ท่อน	+	+
	LkF214	ท่อน	+	+
	LkF215	ท่อน	+	+
	LkF216	กลม	+	-

ตารางผนวก 1 (ต่อ)

แหล่งที่มา	รหัสไอโซเลท	รูปร่าง	การติดสีแกรม	การทดสอบ อะซิเดส
เมี่ยง (MRS)	LkF217	ท่อน	+	-
	LKF3	ท่อน	+	-
	LKF302	ท่อน	+	-
	LKF303	กลม	+	+
	LKF304	ท่อน	+	+
	LKF305	ท่อน	+	+
	LKF306	กลม	+	+
	LKF307	ท่อน	+	+
	LKF308	ท่อน	+	+
	LKF309	ท่อน	+	+
	LKF310	ท่อน	+	-
	LKF4	ท่อน	+	+
	LKF402	ท่อน	+	-
	LKF403	กลม	+	-
	LKF404	ท่อน	+	+
ผักเสี้ยนคอง (MRS)	LKF405	ท่อน	+	+
	LKF406	ท่อน	+	+
	LKF407	ท่อน	+	+
	LKF408	ท่อน	+	+
	LKF409	ท่อน	+	+
	LKF410	ท่อน	+	-
	LKF411	กลม	+	-
	LCF1	ท่อน	+	-
	LCF102	ท่อน	+	+
ข้าวโพดหมัก (MRS)	LCF103	ท่อน	+	+
	LCF104	กลม	+	+
	LCF105	กลม	+	-
	LCF106	ท่อน	+	+
	LCF107	ท่อน	+	+

ตารางผนวก 1 (ต่อ)

แหล่งที่มา	รหัสไอโซเลท	รูปร่าง	การติดสีแกรม	การทดสอบ กะตะเลส
ข้าวโพดหมัก (MRS)	LCF108	ท่อน	+	+
	LCF109	ท่อน	+	+
	LCF110	ท่อน	+	+
	LCF111	ท่อน	+	+
หยู้นเปียร์หมัก (MRS)	LGF102	ท่อน	+	-
	LGF103	กลม	+	+
	LGF104	ท่อน	+	+
	LGF105	ท่อน	+	+
	LGF106	ท่อน	+	+
	LGF107	ท่อน	+	+
	LGF108	ท่อน	+	-
	LGF110	กลม	+	-
	LGF112	ท่อน	+	+
	LGF113	ท่อน	+	+
	LGF114	ท่อน	+	+
	LGF115	ท่อน	+	-
	LGF203	ท่อน	+	+
	LGF204	ท่อน	+	+
	LGF205	ท่อน	+	-
	LGF206	ท่อน	+	-
	LGF207	กลม	+	+
กะหล่ำคอง (M17)	Lk1	ท่อน	+	-
	Lk102	ท่อน	+	+
	Lk103	กลม	+	+
	Lk104	ท่อน	+	-
	Lk105	ท่อน	+	+
	Lk106	ท่อน	+	+
	Lk107	ท่อน	+	+
	Lk108	ท่อน	+	+

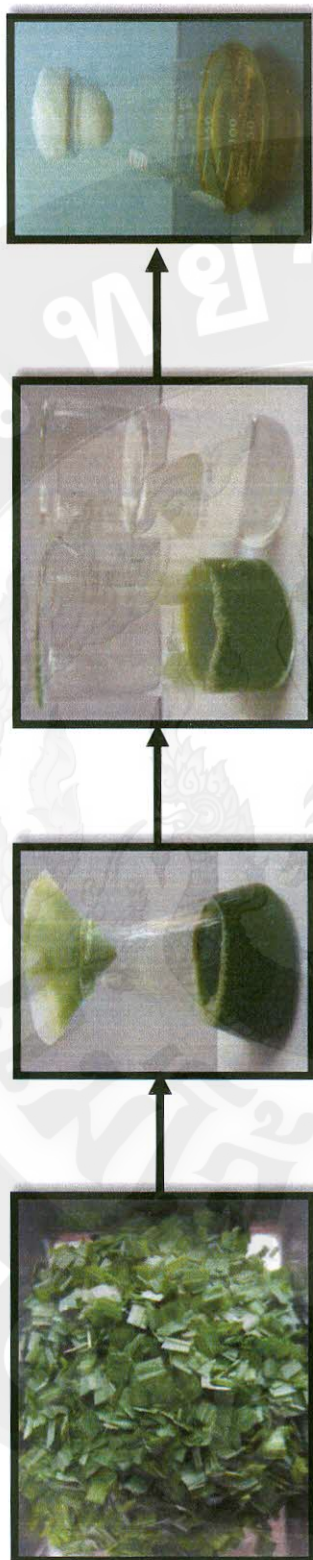
ตารางผนวก 1 (ต่อ)

แหล่งที่มา	รหัสไอโซเลท	รูปร่าง	การติดสีแกรม	การทดสอบ อะซิเดส
	Lk109	ท่อน	+	+
	Lk110	กลม	+	-
	Lk2	ท่อน	+	-
	Lk202	ท่อน	+	+
	Lk203	กลม	+	+
	Lk204	ท่อน	+	+
	Lk205	ท่อน	+	-
	Lk206	ท่อน	+	+
	Lk207	ท่อน	+	+
	Lk208	ท่อน	+	+
	Lk209	ท่อน	+	+
	Lk210	ท่อน	+	+
เมือง (M17)	Lk211	ท่อน	+	+
	Lk212	ท่อน	+	+
	Lk3	ท่อน	+	-
	Lk301	กลม	+	+
	Lk302	ท่อน	+	+
	Lk303	ท่อน	+	+
	Lk304	ท่อน	+	+
	Lk305	ท่อน	+	-
	Lk306	ท่อน	+	-
	Lk307	ท่อน	+	+
ผักเสี้ยนคอง (M17)	Lk4	ท่อน	+	+
	Lk401	ท่อน	+	+
	Lk402	ท่อน	+	+
	Lk403	กลม	+	-
	Lk404	ท่อน	+	-
	Lk405	ท่อน	+	+
	Lk406	ท่อน	+	+
	Lk407	ท่อน	+	+

ตารางผนวก 1 (ต่อ)

แหล่งที่มา	รหัสไอโซเลท	รูปร่าง	การติดสีแกรม	การทดสอบ อะซิเดส
ข้าวโพดหมัก (M17)	Lk408	ท่อน	+	+
	LC1	ท่อน	+	+
	LC102	ท่อน	+	+
	LC103	ท่อน	+	-
	LC104	กลม	+	-
	LC105	ท่อน	+	+
	LC106	ท่อน	+	+
หญ้าเนเปียร์หมัก (M17)	LG1	ท่อน	+	+
	LG102	ท่อน	+	-
	LG103	ท่อน	+	+
	LG104	กลม	+	+
	LG105	ท่อน	+	+
	LG106	ท่อน	+	-
	LG201	ท่อน	+	-
	LG202	ท่อน	+	+
	LG203	ท่อน	+	+
	LG204	ท่อน	+	+
	LG205	กลม	+	-
	LG206	ท่อน	+	-
	LG207	ท่อน	+	+

การเตรียมน้ำหยาบสกัด



หยาบกินและหยาบสกัดให้ขนาด 0.5-1 เซนติเมตร บดให้ละเอียด
กรองน้ำหยาบด้วยผ้าขาวบางนำหยาบผสมกับ (NaCl 0.85% + Glucose 1%)
ในอัตราส่วน 1:2 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ภาพผนวก 1 ขั้นตอนการเตรียมน้ำหยาบสกัด

ภาคผนวก ข

ลำดับเบสดีเอ็นเอในส่วนขงยีน 16s rRNA ของแบคทีเรีย
เมื่อเทียบกับ GenBank database

CCGAAAGAAAAAGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACTGCCCATCAGAAGGGGATAACACTTGGAA
 ACAGGTGCTAATACCGTATAACACTATTTCCGCATGGAAGAAAGTTGAAAGGCGCTTTTCGCTCACTGATGGATG
 GACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCCACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGA
 TCGGCCACACTGGGACTGAGACACGCCCCAGACTCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGACGA
 AAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGTTTTCGGATCGTAAACTCTGTTGTTAGAGAAGAACAAGG
 ATGAGAGTAGAACGTTTCATCCCTTGACGGTATCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTA
 ATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAA
 AGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAAATCCATG
 TGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGA
 GGCTCGAAAGCGTGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTG
 GAGGGTTTCGCCCTTCAGTGCTGCAGCAAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAAC
 TCAAAGG

ภาพผนวก 2 ลำดับเบสของดีเอ็นเอขนาดประมาณ 840 คู่เบส ในส่วนของยีน 16 s rRNA
 ของแบคทีเรียโอโซเลด LGF 106

Enterococcus gallinarum strain RTCS11 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
 Sequence ID: gb|KM654555.1| Length: 1321 Number of Matches: 1
 Range 1: 39 to 878

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1552 bits(840)	0.0()	840/840(100%)	0/840(0%)	Plus/Plus	
Features:					
Query 1	CCGAAAGAAAAAGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACTGCCCATCAGAAGG	60			
Sbjct 39	CCGAAAGAAAAAGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACTGCCCATCAGAAGG	98			
Query 61	GGATAACACTTGGAAACAGGTGCTAATACCGTATAACACTATTTTCGCGATGGAAGAAAG	120			
Sbjct 99	GGATAACACTTGGAAACAGGTGCTAATACCGTATAACACTATTTTCGCGATGGAAGAAAG	158			
Query 121	TTGAAAGGCGCTTTTCGCTCACTGATGGATGGACCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAG	180			
Sbjct 159	TTGAAAGGCGCTTTTCGCTCACTGATGGATGGACCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAG	218			
Query 181	GTAACGGCTCACCAAGGCCACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGG	240			
Sbjct 219	GTAACGGCTCACCAAGGCCACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGG	278			
Query 241	GACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGAC	300			
Sbjct 279	GACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGAC	338			
Query 301	GAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCGGATCGTAAACTCTGT	360			
Sbjct 339	GAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCGGATCGTAAACTCTGT	398			
Query 361	TGTTAGAGAAGAACAAGGATGAGAGTAGAACGTTTCATCCCTTGACGGTATCTAACCAGAA	420			
Sbjct 399	TGTTAGAGAAGAACAAGGATGAGAGTAGAACGTTTCATCCCTTGACGGTATCTAACCAGAA	458			
Query 421	AGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGG	480			
Sbjct 459	AGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGG	518			
Query 481	ATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCCGGC	540			
Sbjct 519	ATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCCGGC	578			
Query 541	TCAACCGGGGAGGGTCATTGGAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATT	600			
Sbjct 579	TCAACCGGGGAGGGTCATTGGAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATT	638			
Query 601	CCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTCT	660			
Sbjct 639	CCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTCT	698			
Query 661	CTGGTCTGTAACAGCGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCT	720			
Sbjct 699	CTGGTCTGTAACAGCGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCT	758			
Query 721	GGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCT	780			
Sbjct 759	GGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCT	818			
Query 781	GCAGCAAAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGG	840			
Sbjct 819	GCAGCAAAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGG	878			

ภาพผนวก 3 ชื่อของแบคทีเรียที่มีลำดับเบสคล้ายแบคทีเรียโอโซเลด LGF 106

GCATCATGATTTACATTTGAGTGAGTGGCGAACTGGTGAGTAACACGTGGGAAACCTGCCCAGAAGCGGGGGATAA
CACCTGGAACAGATGCTAATACCGCATAACAACTTGGACCGCATGGTCCGAGTTTGAAAGATGGCTTCGGCTATC
ACTTTTGGATGGTCCCGCGGCGTATTAGCTAGATGGTGGGTAACGGCTCACCATGGCAATGATACGTAGCCGACC
TGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACCTCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCC
ACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAACTCTGTTGTTAAA
GAAGAACATATCTGAGAGTAACTGTTACAGTATTGACGGTATTTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGC
AGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGATTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTTAAGT
CTGATGTGAAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATCGGAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTG
GAACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAA
CTGACGCTGAGGCTCGAAAGTATGGGTAGCAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATACCGTAAACGATGAATG
CTAAGTGTGGAGGGTTTCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCATTCGCCCTGGGGAGTACGGCCGCA
AGGCTG

ภาพผนวก 4 ลำดับเบสของดีเอ็นเอขนาดประมาณ 840 คู่เบส ในส่วนของยีน 16 s rRNA

ของแบคทีเรียไอโซเลต LGF 2

Lactobacillus plantarum strain B21, complete genome

Sequence ID: gb|CP010528.1| Length: 3284260 Number of Matches: 5

Range 1: 501615 to 502454

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1552 bits(840)	0.0()	840/840(100%)	0/840(0%)	Plus/Plus	
Features:					
Query 1	GCATCATGATTTACATTTGAGTGAGTGGCGAACTGGTGAGTAACACGTGGGAAACCTGCC				60
Sbjct 501615	GCATCATGATTTACATTTGAGTGAGTGGCGAACTGGTGAGTAACACGTGGGAAACCTGCC				501674
Query 61	CAGAAAGCGGGGATAACACCTGGAACAGATGCTAATACCGCATAACAACTTGGACCGCA				120
Sbjct 501675	CAGAAAGCGGGGATAACACCTGGAACAGATGCTAATACCGCATAACAACTTGGACCGCA				501734
Query 121	TGGTCCGAGTTTGAAGATGGCTTCGGCTATCACTTTTGGATGGTCCCGCGGCGTATTAG				180
Sbjct 501735	TGGTCCGAGTTTGAAGATGGCTTCGGCTATCACTTTTGGATGGTCCCGCGGCGTATTAG				501794
Query 181	CTAGATGGTGGGGTAACGGCTCACCATGGCAATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAAT				240
Sbjct 501795	CTAGATGGTGGGGTAACGGCTCACCATGGCAATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAAT				501854
Query 241	CGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACCTCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGGAATCT				300
Sbjct 501855	CGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACCTCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGGAATCT				501914
Query 301	TCCACAATGGACGAAAGTCTGTAGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTC				360
Sbjct 501915	TCCACAATGGACGAAAGTCTGTAGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTC				501974
Query 361	GTAAGCTCTGTTGTTAAAGAAGAACATATCTGAGAGTAACGTGTTACAGTATTGACGGTA				420
Sbjct 501975	GTAAGCTCTGTTGTTAAAGAAGAACATATCTGAGAGTAACGTGTTACAGTATTGACGGTA				502034
Query 421	TTTAACGAGAAAGCCACGGCTAATACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAA				480
Sbjct 502035	TTTAACGAGAAAGCCACGGCTAATACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAA				502094
Query 481	GCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTAAAGTCTGATGTGA				540
Sbjct 502095	GCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTAAAGTCTGATGTGA				502154
Query 541	AAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATCGGAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGG				600
Sbjct 502155	AAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATCGGAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGG				502214
Query 601	ACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCG				660
Sbjct 502215	ACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCG				502274
Query 661	AAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAACGTGACGCTGAGGCTCGAAAGTATGGGTAGCAACAGGA				720
Sbjct 502275	AAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAACGTGACGCTGAGGCTCGAAAGTATGGGTAGCAACAGGA				502334
Query 721	TTAGATACCCTGGTAGTCCATACCGTAAACGATGAATGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGC				780
Sbjct 502335	TTAGATACCCTGGTAGTCCATACCGTAAACGATGAATGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGC				502394
Query 781	CCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCATTCGCCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTG				840
Sbjct 502395	CCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCATTCGCCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTG				502454

ภาพผนวก 5 ชื่อของแบคทีเรียที่มีลำดับเบสคล้ายแบคทีเรียไอโซเลต LGF 2

CACCGAAAGAAAAAGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCATCAGAAGGGGATAACACTTGG
 AAACAGGTGCTAATACCGTATAACACTATTTTCCGCATGGAAGAAAGTTGAAAGGCGCTTTTTCGCTCACTGATGGA
 TGGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCCACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGT
 GATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGAC
 GAAAGTCTGACCGAGCAACGCCCGGTGAGTGAAGAAGGTTTTCGGATCGTAAACTCTGTTGTTAGAGAAGAACA
 GGATGAGAGTAGAACGTTTCATCCCTTGACGGTATCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGG
 TAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTG
 AAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCCA
 TGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAAGTACGCT
 GAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCGTAAACGATGAGTGCTAAGTG
 TTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCAAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGA
 AACTCAAA

ภาพผนวก 6 ลำดับเบสของดีเอ็นเอขนาดประมาณ 840 คู่เบส ในส่วนของยีน 16S rRNA
 ของแบคทีเรียโอโซเลด LGF 101

Enterococcus gallinarum strain RTCS11 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
 Sequence ID: gb|KM654555.1| Length: 1321 Number of Matches: 1
 Range 1: 37 to 876

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1552 bits(840)	0.0()	840/840(100%)	0/840(0%)	Plus/Plus	
Features:					
Query 1	CACCGAAAGAAAAAGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCATCAGAA				60
Sbjct 37	CACCGAAAGAAAAAGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCATCAGAA				96
Query 61	GGGGATAACACTTGGAAACAGGTGCTAATACCGTATAACACTATTTTCCGCATGGAAGAA				120
Sbjct 97	GGGGATAACACTTGGAAACAGGTGCTAATACCGTATAACACTATTTTCCGCATGGAAGAA				156
Query 121	AGTTGAAAGGCGCTTTTTCGCTCACTGATGGATGGACCCGCGTGCTAGCTAGTTGGTG				180
Sbjct 157	AGTTGAAAGGCGCTTTTTCGCTCACTGATGGATGGACCCGCGTGCTAGCTAGTTGGTG				216
Query 181	AGGTAACGGCTCACCAAGGCCACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACT				240
Sbjct 217	AGGTAACGGCTCACCAAGGCCACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACT				276
Query 241	GGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGG				300
Sbjct 277	GGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGG				336
Query 301	ACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCCGGTGAGTGAAGAAGGTTTTCGGATCGTAAACTCT				360
Sbjct 337	ACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCCGGTGAGTGAAGAAGGTTTTCGGATCGTAAACTCT				396
Query 361	GTTGTTAGAGAAGAACAAGGATGAGAGTAGAACGTTTCATCCCTTGACGGTATCTAACCAG				420
Sbjct 397	GTTGTTAGAGAAGAACAAGGATGAGAGTAGAACGTTTCATCCCTTGACGGTATCTAACCAG				456
Query 421	AAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCC				480
Sbjct 457	AAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCC				516
Query 481	GGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCCG				540
Sbjct 517	GGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCCG				576
Query 541	GCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGA				600
Sbjct 577	GCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGA				636
Query 601	TTCCATGTGTAGCGGTGAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGCGGCT				660
Sbjct 637	TTCCATGTGTAGCGGTGAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGCGGCT				696
Query 661	CTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACC				720
Sbjct 697	CTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACC				756
Query 721	CTGGTAGTCCACGCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTG				780
Sbjct 757	CTGGTAGTCCACGCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTG				816
Query 781	CTGCAGCAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAA				840
Sbjct 817	CTGCAGCAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAA				876

ภาพผนวก 7 ชื่อของแบคทีเรียที่มีลำดับเบสคล้ายแบคทีเรียโอโซเลด LGF 101

ATGATTACATTTGAGTGAGTGGCGAACTGGTGAGTAACACGTGGGAAACCTGCCAGAAGCGGGGGATAACACCT
 GGAAACAGATGCTAATACCGCATAACAACCTGGACCGCATGGTCCGAGCTTGAAAGATGGCTTCGGCTATCACTTT
 TGGATGGTCCCGCGGCGTATTAGCTAGATGGTGGGTAACGGCTCACCATGGCAATGATACGTAGCCGACCTGAGA
 GGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAAT
 GGACGAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAACTCTGTTGTTAAAGAAGA
 ACATATCTGAGAGTAACCTGTTGAGGTATTGACGGTATTAAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCG
 CGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTAAAGTCTGAT
 GTGAAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATCGGAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACCT
 CCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCACTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAACCTGAC
 GCTGAGGCTCGAAAGTATGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATACCGTAAACGATGAATGCTAAG
 TGTGGAGGGTTTCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCATTCCGCCCTGGGGAGTACGGCCGAAGGCT
 GAAACT

ภาพผนวก 8 ลำดับเบสของดีเอ็นเอขนาดประมาณ 840 คู่เบส ในส่วนของยีน 16S rRNA
 ของแบคทีเรียโอโซเลด LKF207

Lactobacillus plantarum strain KLD5 1.0725 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
 Sequence ID: **gb|EU626010.1|** Length: 1472 Number of Matches: 1
 Range 1: 61 to 900

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1552 bits(840)	0.0()	840/840(100%)	0/840(0%)	Plus/Plus	
Features:					
Query 1	ATGATTACATTTGAGTGAGTGGCGAACTGGTGAGTAACACGTGGGAAACCTGCCAGAA	60			
Sbjct 61	ATGATTACATTTGAGTGAGTGGCGAACTGGTGAGTAACACGTGGGAAACCTGCCAGAA	120			
Query 61	GCGGGGGATAACACGTGGAAACAGATGCTAATACCGCATAACAACCTGGACCGCATGGTC	120			
Sbjct 121	GCGGGGGATAACACGTGGAAACAGATGCTAATACCGCATAACAACCTGGACCGCATGGTC	180			
Query 121	CGAGTTTGAAAGATGGCTTCGGCTATCACTTTTGGATGGTCCCGCGCGTATTAGCTAGA	180			
Sbjct 181	CGAGTTTGAAAGATGGCTTCGGCTATCACTTTTGGATGGTCCCGCGCGTATTAGCTAGA	240			
Query 181	TGGTGGGGTAACGGCTCACCATGGCAATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGTAATCGGCC	240			
Sbjct 241	TGGTGGGGTAACGGCTCACCATGGCAATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGTAATCGGCC	300			
Query 241	ACATTGGGACTGAGACACGGCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCAC	300			
Sbjct 301	ACATTGGGACTGAGACACGGCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCAC	360			
Query 301	AATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAA	360			
Sbjct 361	AATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAA	420			
Query 361	ACTCTGTTGTTAAAGAAGACATATCTGAGAGTAACCTGTTGAGGTATTGACGGTATTTAA	420			
Sbjct 421	ACTCTGTTGTTAAAGAAGACATATCTGAGAGTAACCTGTTGAGGTATTGACGGTATTTAA	480			
Query 421	CCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTT	480			
Sbjct 481	CCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTT	540			
Query 481	GTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTAAAGTCTGATGTGAAAGCC	540			
Sbjct 541	GTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTAAAGTCTGATGTGAAAGCC	600			
Query 541	TTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATCGGAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGT	600			
Sbjct 601	TTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATCGGAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGT	660			
Query 601	GGAATCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCACTGGCGAAGGC	660			
Sbjct 661	GGAATCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCACTGGCGAAGGC	720			
Query 661	GGCTGTCTGGTCTGTAACGTGACGCTGAGGCTCGAAAGTATGGGTAGCAAACAGGATTAGA	720			
Sbjct 721	GGCTGTCTGGTCTGTAACGTGACGCTGAGGCTCGAAAGTATGGGTAGCAAACAGGATTAGA	780			
Query 721	TACCTGGTAGTCCATACCGTAAACGATGAATGCTAAGTGTGGAGGGTTTCGCCCTTC	780			
Sbjct 781	TACCTGGTAGTCCATACCGTAAACGATGAATGCTAAGTGTGGAGGGTTTCGCCCTTC	840			
Query 781	AGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCATTCCGCCCTGGGGAGTACGGCCGAAGGCTGAAACT	840			
Sbjct 841	AGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCATTCCGCCCTGGGGAGTACGGCCGAAGGCTGAAACT	900			

ภาพผนวก 9 ชื่อของแบคทีเรียที่มีลำดับเบสคล้ายแบคทีเรียโอโซเลด LKF207

ACGTGGGAAATCTGCCCAGAAGCAGGGGATAACACTTGGAAACAGGTGCTAATACCGTATAACAACAAAATCCGC
 ATGGATTTTGTGTTGAAAGGTGGCTTCGGCTATCACTTCTGGATGATCCCGCGCGTATTAGTTAGTTGGTGAGGTAA
 AGGCCACCAAGACGATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAAA
 CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAATGCCGCGTGAGTGAAG
 AAGGGTTTCGGCTCGTAAAACTCTGTTGTTAAAGAAGAACACCTTTGAGAGTAACTGTTCAAGGGTTGACGGTATTT
 AACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCGGATTATTG
 GCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTTAACCGGAGAAGTGCATCGGAAA
 CTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAAC
 ACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTAGTCTGTAACGTACGCTGAGGCTCGAAAGCATGGGTAGCGAACAGGATTAGAT
 ACCCTGGTAGTCCATGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTCCGCCCTTCAGTGTGCAGCTAACGCA
 TTAAGCACTCCGCTGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGACAAGCGGTG
 GAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCTTCCCAATCTTAGAGATAAGA
 CGTTCCTTCGGGGACAGAATGACAGGTGGTGGAGCAT

ภาพผนวก 10 ลำดับเบสของดีเอ็นเอขนาดประมาณ 840 คู่เบส ในส่วนของยีน 16 s rRNA

ของแบคทีเรียโอโซเลต LGF108

Lactobacillus brevis strain CSCWL1-17 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
 Sequence ID: **gb|KM985456.1|** Length: 1453 Number of Matches: 1
 Range 1: 91 to 930

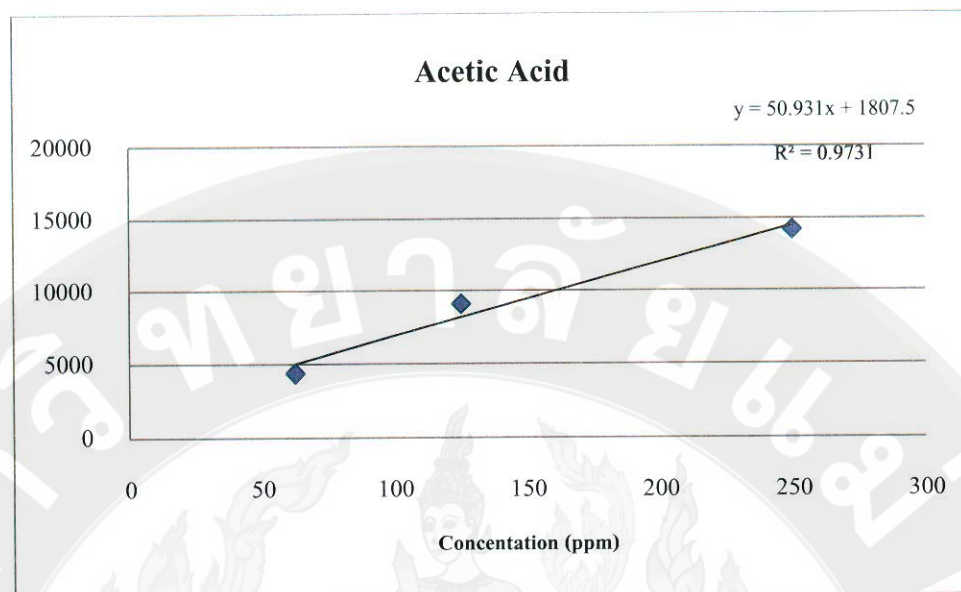
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1552 bits(840)	0.0()	840/840(100%)	0/840(0%)	Plus/Plus	
Features:					
Query 1	ACGTGGGAAATCTGCCCAGAAGCAGGGGATAACACTTGGAAACAGGTGCTAATACCGTAT				60
Sbjct 91	ACGTGGGAAATCTGCCCAGAAGCAGGGGATAACACTTGGAAACAGGTGCTAATACCGTAT				150
Query 61	AACAACAAAATCCGCATGGATTGTTGTTGAAAGGTGGCTTCGGCTATCACTTCTGGATGA				120
Sbjct 151	AACAACAAAATCCGCATGGATTGTTGTTGAAAGGTGGCTTCGGCTATCACTTCTGGATGA				210
Query 121	TCCCGCGGCGTATTAGTTAGTTGGTGAGGTAAAGGCCACCAAGACGATGATACGTAGCC				180
Sbjct 211	TCCCGCGGCGTATTAGTTAGTTGGTGAGGTAAAGGCCACCAAGACGATGATACGTAGCC				270
Query 181	GACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACTCCTACGGGAGG				240
Sbjct 271	GACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACTCCTACGGGAGG				330
Query 241	CAGCACTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAATGCCGCGTGAGTGA				300
Sbjct 331	CAGCACTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAATGCCGCGTGAGTGA				390
Query 301	AGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAACTCTGTTGTTAAAGAAGAAGACCTTTGAGAGTAACTGT				360
Sbjct 391	AGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAACTCTGTTGTTAAAGAAGAAGACCTTTGAGAGTAACTGT				450
Query 361	TCAAGGGTTGACGGTATTTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGT				420
Sbjct 451	TCAAGGGTTGACGGTATTTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGT				510
Query 421	AATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCGGGATTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTT				480
Sbjct 511	AATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCGGGATTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTT				570
Query 481	TTTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTTAACCGGAGAAGTGCATCGGAAACTGGGAGAC				540
Sbjct 571	TTTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTTAACCGGAGAAGTGCATCGGAAACTGGGAGAC				630
Query 541	TTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGG				600
Sbjct 631	TTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGG				690
Query 601	AAGAACACCAGTGGCGAAGGCGCTGTCTAGTCTGTAACGTACGCTGAGGCTCGAAAGCA				660
Sbjct 691	AAGAACACCAGTGGCGAAGGCGCTGTCTAGTCTGTAACGTACGCTGAGGCTCGAAAGCA				750
Query 661	TGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGT				720
Sbjct 751	TGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGT				810
Query 721	GTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGTGTCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAG				780
Sbjct 811	GTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGTGTCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAG				870
Query 781	TACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGACAAGCGGTGGAGCAT				840
Sbjct 871	TACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGACAAGCGGTGGAGCAT				930

ภาพผนวก 11 ชื่อของแบคทีเรียที่มีลำดับเบสคล้ายแบคทีเรียโอโซเลต LGF108

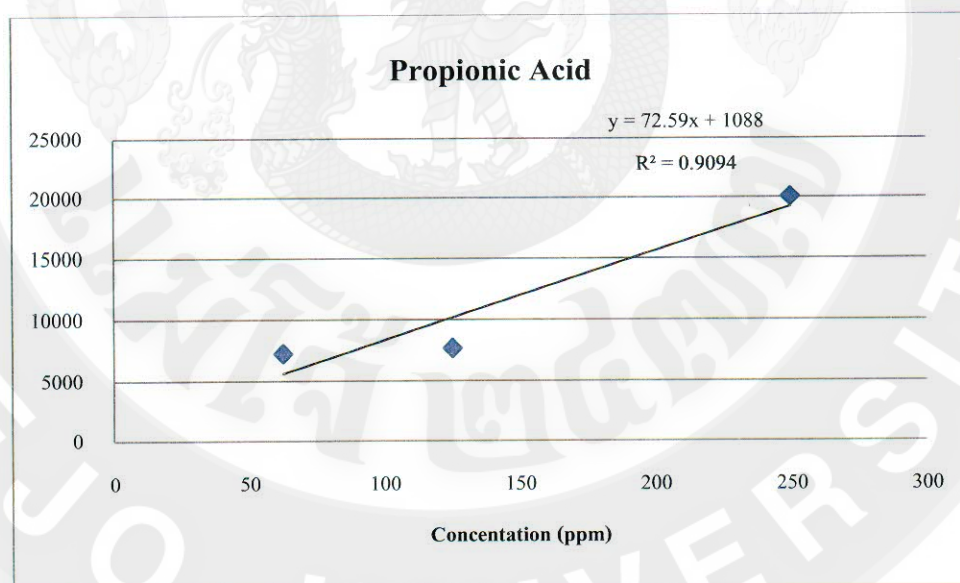


ภาคผนวก ค

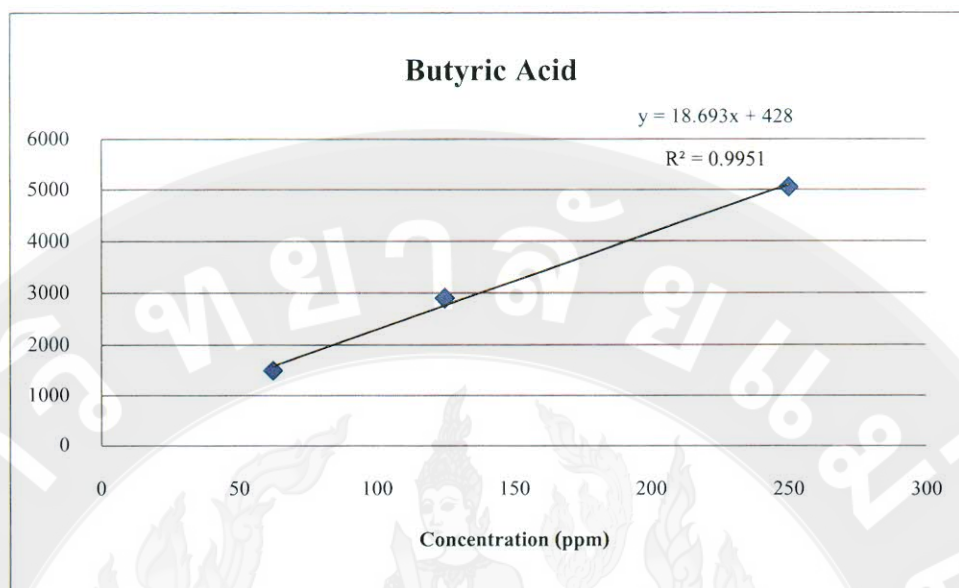
กราฟมาตรฐาน



ภาพผนวก 12 กราฟมาตรฐานการหาความเข้มข้นของกรดอะซิติก



ภาพผนวก 13 กราฟมาตรฐานการหาความเข้มข้นของโพรพิโอนิก



ภาพผนวก 14 กราฟมาตรฐานการหาความเข้มข้นของบิวทีริก

ตารางผนวก 2 ปริมาณกรดไขมันระเหยเลี่ยของการหมักวาระหว่างน้ำเสียจากฟาร์มสุกรและหญ้าขนหมัก

วัน	อะซิติก (มก./ล.)				โพรพิโอนิก (มก./ล.)				บิวทีริก (มก./ล.)			
	น้ำเข้า	HRT15	HRT20	HRT25	น้ำเข้า	HRT15	HRT20	HRT25	น้ำเข้า	HRT15	HRT20	HRT25
	1109.4	216.8	178.1	386.5	1078.9	109.4	269.7	457.6	933.5	748.3	150.9	311.3
3	1602.9	652.8	449.1	489.1	1389.8	602.9	563.3	603.4	844.1	520.2	377.9	427.6
5	1549.4	601.4	658.7	599.7	1463.4	549.4	760.6	680.3	860.1	492.4	504.5	554.3
8	1503.9	563.1	656.4	185.2	1248.9	503.9	653.3	189.6	878.0	497.2	593.1	335.5
10	1591.2	647.2	799.6	526.3	1438.9	591.2	768.9	556.7	747.5	529.0	627.1	474.8
12	1490.3	529.0	799.4	867.3	1517.6	490.3	719.3	943.1	856.0	396.2	637.1	725.8
15	1362.9	398.0	504.2	568.3	1286.7	362.9	558.0	539.1	628.4	280.7	423.0	442.1
17	1298.5	316.4	488.4	524.3	1238.3	298.5	458.8	557.6	715.6	238.3	343.5	384.6
19	1301.2	267.0	444.5	350.1	1121.4	301.2	458.1	204.9	505.6	206.8	327.5	80.2
22	1275.0	240.7	809.2	283.4	1264.0	275.0	763.0	354.1	609.8	165.7	319.9	252.1
24	1247.4	189.0	171.5	280.0	1057.1	247.4	201.8	322.3	618.3	169.0	142.6	226.9
26	1275.4	193.8	181.0	224.6	1061.9	275.4	222.3	287.9	532.9	143.3	126.4	177.7
29	1282.8	103.5	148.8	131.8	962.5	282.8	135.7	69.1	569.8	108.0	97.5	108.9
31	1307.0	320.0	140.4	114.4	987.7	307.0	154.4	101.7	634.0	103.5	78.3	88.4
33	1260.3	253.2	121.3	117.3	980.1	260.3	121.1	158.8	649.5	142.5	73.1	102.5

ตารางผนวก 2 (ต่อ)

วัน	อะชิติก (มก./ล.)				โพธิ์อินิก (มก./ล.)				บิวทริก (มก./ล.)			
	น้ำเข้า	HRT15	HRT20	HRT25	น้ำเข้า	HRT15	HRT20	HRT25	น้ำเข้า	HRT15	HRT20	HRT25
38	1201.7	169.7	91.0	76.3	933.8	201.7	117.3	82.5	933.5	748.3	150.9	311.3
40	1172.6	150.1	110.6	65.1	915.5	172.6	100.1	73.7	844.1	520.2	377.9	427.6
43	1217.7	263.5	136.1	255.9	970.9	217.7	117.7	177.3	860.1	492.4	504.5	554.3
45	1202.8	208.2	94.7	245.3	957.1	202.8	101.2	167.3	878.0	497.2	593.1	335.5

ตารางผนวก 3 ผลวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของน้ำเข้าระบบ

DAY	น้ำเข้าจากระบบ (มก./ล.)							
	COD	SCOD	TS	VS	pH	Alk	TKN	NH ₃ -N
1	13,409	9,024	14,950	8,395	7.7	4,000	513.5	2,118
3	12,378	9,776	11,385	5,575	7.7	3,889	454.2	
5	12,119	10,528	19,570	1,0795	7.7	3,667	467.4	2,184
8	15,040	11,280	11,230	4,125	6.9	4,111	487.2	2,276
10	12,784	9,776	13,655	6,010	6.7	4,778	263.3	
12	16,048	10,024	12,050	4,795	7.0	4,333	474.0	2,486
15	15,280	10,528	14,395	6,235	7.2	4,556	460.8	2,592
17	17,296	10,528	11,895	4,420	7.1	4,556	632.0	
19	14,288	8,520	19,010	9,150	7.0	4,667	717.6	2,486
22	13,536	9,024	13,480	5,460	7.3	4,333	467.4	2,276
24	12,784	11,280	11,380	4,275	7.4	4,111	678.1	
26	12,032	9,776	10,125	4,085	7.6	4,222	493.7	2,236
29	11,280	9,776	12,045	4,535	8.0	4,000	605.7	2,355
31	11,280	10,528	13,315	5,325	7.9	4,000	612.2	
33	10,528	10,528	13,040	5,165	7.8	4,333	605.7	2,263
36	11,280	9,776	12,670	5,070	7.7	3,933	375.2	2,381
38	9,776	9,776	12,125	4,720	7.7	3,822	585.9	
40	13,536	9,024	13,630	6,060	7.5	3,800	421.3	2,263
43	11,280	7,520	11,780	4,430	7.9	4,556	480.6	2,315
45	15,040	8,272	11,940	4,615	7.9	3,622	487.2	
47	10,528	10,784	12,370	4,985	7.9	3,444	460.8	2,592
50	12,784	9,024	12,975	5,175	8.0	4,222	605.7	2,355
52	12,032	9,776	12,420	4,815	7.9	3,667	474.0	
54	13,536	10,280	11,950	5,450	7.9	3,889	506.9	2,394
57	9,776	7,520	12,185	5,035	7.6	5,330	480.6	2,447
59	12,032	8,272	11,600	4,640	7.9	5,222	493.7	
61	12,784	6,768	11,450	4,450	7.3	4,889	500.3	2,500

ตารางผนวก 4 ผลวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของน้ำที่ผ่านการบำบัดที่ระยะเวลาเก็บ 15 วัน

DAY	น้ำออกจากระบบ (มก./ล.)							
	COD	SCOD	TS	VS	pH	Alk	TKN	NH ₃ -N
1	6,189	6,016	17,070	9,920	6.0	3,889	492.4	1,223
3	7,414	6,768	10,420	5,045	6.6	3,667	494.1	
5	7,219	9,024	9,975	4,450	6.7	3,778	472.4	1,447
8	8,422	8,272	8,450	4,505	7.0	3,000	283.1	1,131
10	7,821	7,272	9,170	4,760	6.1	3,333	329.2	
12	6,516	6,016	7,015	3,885	6.8	3,444	316	1,223
15	6,016	4,512	8,830	5,375	7.4	3,889	474	1,210
17	7,821	5,512	7,670	4,495	7.5	3,000	533.2	
19	7,821	4,512	6,640	3,655	7.6	3,444	441.1	1,368
22	7,219	5,264	2,750	1,460	8.2	2,667	368.7	1,447
24	5,414	5,264	2,785	1,545	7.8	3,000	414.7	
26	5,813	3,760	2,510	1,290	7.8	3,111	487.2	1,513
29	6,211	3,208	4,095	1,685	7.2	2,889	362.1	1,381
31	5,813	3,256	3,450	1,515	7.1	2,444	329.2	
33	5,414	3,256	3,665	1,245	7.2	2,667	388.4	1,394
36	7,821	3,508	3,245	1,430	8.1	3,222	362.1	1,394
38	5,414	4,512	3,290	1,475	7.7	2,778	322.6	
40	7,219	3,256	3,860	1,970	7.9	2,222	296.2	1,394
43	7,821	4,008	3,100	1,680	7.9	2,111	316	1,368
45	8,422	3,256	4,530	2,980	7.9	2,556	302.8	
47	7,219	4,512	3,480	1,915	7.9	2,556	348.9	1,315
50	7,821	3,760	3,220	1,845	7.9	2,667	348.9	1,302
52	7,219	3,256	2,575	3,595	7.9	2,778	539.8	
54	6,618	3,256	2,845	1,465	8.0	2,111	408.2	1,407
57	6,618	2,256	2,665	1,300	7.6	3,222	421.3	1,394
59	7,821	3,008	2,990	1,545	7.7	3,667	348.9	
61	6,611	2,256	1,910	1,890	7.0	2,778	355.5	1,460

ตารางผนวก 5 ผลวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของน้ำที่ผ่านการบำบัดที่ระยะเวลาพักเก็บ 20 วัน

DAY	น้ำออกจากระบบ (มก./ล.)							
	COD	SCOD	TS	VS	pH	Alk	TKN	NH ₃ -N
1	7,520	6,188	14,000	7,615	6.5	3,333	307.4	1,289
3	10,280	9,024	10,560	5,865	6.6	3,000	570.8	
5	10,536	8,428	13,215	6,870	6.4	3,889	470.2	1,381
8	9,626	9,528	8,410	4,695	7.3	3,889	447.7	1,565
10	9,528	8,625	9,275	4,645	6.7	3,444	421.3	
12	9,626	9,024	9,745	5,010	6.8	3,778	421.3	1,658
15	7,821	3,760	8,310	4,680	7.2	3,333	263.3	1,368
17	9,024	4,512	8,715	5,175	7.3	3,667	414.7	
19	9,626	6,872	7,785	4,435	7.3	37,78	401.6	1,381
22	7,821	4,512	3,580	2,000	7.7	3,000	408.2	1,486
24	7,821	5,264	3,760	2,155	7.8	3,111	421.3	
26	6,618	5,264	3,465	1,700	7.8	3,000	408.2	1,631
29	6,611	4,512	5,850	2,720	7.1	3,556	395.0	1,421
31	8,224	3,008	4,235	1,790	7.1	2,889	401.6	
33	7,219	3,008	4,705	1,920	7.2	2,889	454.2	1,421
36	8,422	2,504	4,330	1,975	7.9	3,111	309.4	1,355
38	7,821	4,512	4,205	1,980	7.9	3,000	342.3	
40	7,821	2,504	4,320	2,150	7.9	3,000	335.7	1368
43	7,821	2,256	3,260	1,500	8.0	2,333	302.8	1407
45	7,219	3,760	3,840	1,995	8.0	2,556	329.2	
47	7,821	2,256	3,805	2,020	8.0	2,333	342.3	1,421
50	4,813	3,008	3,280	1,535	7.9	2,778	263.3	1,513
52	7,219	4,512	3,195	1,585	8.3	2,889	375.2	
54	5,414	5,264	3,025	1,280	8.0	2,667	401.6	1,434
57	6,822	3,760	3,865	2,055	7.8	3,333	355.5	1,513
59	8,422	2,256	3,615	1,860	7.8	2,889	309.4	
61	8,422	3,008	3,815	2,015	7.3	2,889	329.2	1,381

ตารางผนวก 6 ผลวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของน้ำที่ผ่านการบำบัดที่ระยะเวลาเก็บ 25 วัน

DAY	น้ำออกจากระบบ (มก./ล.)							
	COD	SCOD	TS	VS	pH	Alk	TKN	NH ₃ -N
1	6,807	6,768	13,670	7,160	6.0	3,111	441.0	1,329
3	11,280	9,024	8,795	2,370	6.8	3,333	497.8	
5	10,528	8,422	8,815	3,355	6.6	3,222	632.0	1,526.4
8	12,536	9,227	9,550	4,915	6.9	3,556	441.1	1,750
10	7,520	7,430	7,470	3,865	6.8	3,444	348.9	
12	7,219	6,016	7,890	4,480	7.0	3,889	381.8	1,421
15	7,821	5,264	7395	4,025	7.4	3,111	421.3	1,315
17	6,016	4,512	7,485	4,380	7.6	3,667	441.1	
19	9,626	6,016	7,245	4,215	7.8	3,222	454.2	1,276
22	9,414	4,512	3,690	2,130	7.8	3,111	348.9	1,421
24	8,422	6,620	3,625	2,055	7.8	3,000	434.5	
26	7,219	3,760	3,370	1,930	7.9	3,222	480.6	1,394
29	8,618	5,264	6,220	3,235	7.2	3,111	414.7	1,315
31	9,024	3,008	5,855	3,070	7.2	2,556	427.9	
33	7,219	5,264	4,890	4,477	7.4	3,111	414.7	1,342
36	7,821	3,760	4,260	1,905	7.9	2,889	381.8	1,315
38	8,422	3,008	3,960	1,895	8.0	2,778	362.1	
40	7,219	5,284	3,780	1,740	8.0	2,778	395.0	1,421
43	7,219	4,512	3,340	1,610	7.8	2,222	421.3	1,421
45	10227	3,008	3,945	1,915	8.0	2,556	447.7	
47	7,219	4,512	4,755	2,795	8.0	2,556	375.2	1394
50	8,422	3,008	4,190	2,290	7.5	2,778	375.2	1434
52	7,821	3,760	3,535	1,915	7.5	2,889	362.1	
54	8,422	3,008	3,430	1,790	7.6	2,667	447.7	1,486
57	8,422	2,256	3,935	1,880	8.0	3,444	355.5	1,381
59	7,219	3,760	4,320	1,520	7.9	3,556	388.4	
61	9,024	3,008	4,250	2,310	7.4	2,889	388.4	1,434

ตารางผนวก 7 ข้อมูลปริมาณก๊าซชีวภาพ และสัดส่วนก๊าซมีเทนที่ระยะเวลาเก็บ 15 วัน

วัน	ปริมาณก๊าซชีวภาพ (ml/d)	สัดส่วนก๊าซมีเทน (ml/d)	วัน	ปริมาณก๊าซชีวภาพ (ml/d)	สัดส่วนก๊าซมีเทน (ml/d)
1	285	53.51	31	249	49.49
2	285	53.51	32	249	49.1
3	285	48.7	33	285	49.1
4	166	48.7	34	237	51.31
5	237	50.49	35	214	51.31
6	166	50.49	36	309	54.79
7	237	51.28	37	273	54.79
8	309	51.28	38	261	54.41
9	309	51.28	39	249	54.41
10	332	52.79	40	214	54.41
11	309	52.79	41	285	50.23
12	214	51.55	42	237	50.23
13	214	51.55	43	237	51.7
14	237	51.55	44	285	51.7
15	285	51.55	45	237	48.41
16	285	51.55	46	237	48.41
17	261	52.24	47	214	48.41
18	214	52.24	48	237	51.58
19	214	51.58	49	249	51.58
20	237	51.58	50	261	50.94
21	237	51.58	51	261	50.94
22	237	47.58	52	261	50.18
23	237	47.58	53	237	50.18
24	237	46.65	54	285	50.18
25	261	46.65	55	285	48.84
26	214	48.36	56	309	48.84
27	285	48.36	57	285	51.66
28	237	50.07	58	237	51.66
29	226	50.07	59	309	51.91
30	285	49.49	60	285	55.39

ตารางผนวก 8 ข้อมูลปริมาณก๊าซชีวภาพ และสัดส่วนก๊าซมีเทนที่ระยะเวลาเก็บ 20 วัน

วัน	ปริมาณก๊าซชีวภาพ (ml/d)	สัดส่วนก๊าซมีเทน (ml/d)	วัน	ปริมาณก๊าซชีวภาพ (ml/d)	สัดส่วนก๊าซมีเทน (ml/d)
1	285	48.33	31	261	50.49
2	309	48.33	32	285	51.28
3	190	41.1	33	261	51.28
4	166	41.1	34	261	52.77
5	214	45.55	35	214	52.77
6	190	45.55	36	214	51.55
7	332	47.24	37	214	51.55
8	237	47.24	38	285	51.55
9	261	47.24	39	237	51.55
10	309	50.5	40	237	51.55
11	237	50.5	41	237	45.79
12	190	53.66	42	237	45.79
13	190	53.66	43	237	45.79
14	237	53.34	44	237	45.79
15	285	53.34	45	214	42.91
16	285	53.34	46	214	42.91
17	332	54.45	47	237	42.91
18	214	54.45	48	214	42.89
19	309	52.27	49	237	42.89
20	249	52.27	50	190	43.84
21	261	52.27	51	214	43.84
22	309	52.27	52	214	47.01
23	309	52.27	53	226	47.01
24	237	52.38	54	237	47.01
25	214	52.38	55	237	44.28
26	261	53.51	56	261	44.28
27	237	53.51	57	237	43.16
28	285	48.7	58	214	43.16
29	237	48.7	59	226	46.73
30	285	50.49	60	190	51.15

ตารางผนวก 9 ข้อมูลปริมาณก๊าซชีวภาพ และสัดส่วนก๊าซมีเทนที่ระยะเวลาเก็บ 25 วัน

วัน	ปริมาณก๊าซชีวภาพ (ml/d)	สัดส่วนก๊าซมีเทน (ml/d)	วัน	ปริมาณก๊าซชีวภาพ (ml/d)	สัดส่วนก๊าซมีเทน (ml/d)
1	237	46.66	31	237	49.78
2	226	46.66	32	261	49.93
3	309	54.12	33	285	49.93
4	166	54.12	34	261	53.85
5	190	51.19	35	237	53.85
6	190	51.19	36	226	50.73
7	190	48.44	37	261	50.73
8	190	48.44	38	237	48.6
9	214	48.44	39	261	48.6
10	214	51.03	40	237	48.6
11	190	51.03	41	214	49.17
12	309	53.57	42	285	49.17
13	237	53.57	43	237	49.03
14	285	51.66	44	190	49.03
15	285	51.66	45	237	51.03
16	285	51.66	46	237	51.03
17	285	54.33	47	214	51.03
18	285	54.33	48	226	51.38
19	309	53.36	49	214	51.38
20	261	53.36	50	214	48.33
21	214	53.36	51	237	48.33
22	214	49.77	52	237	44.79
23	214	49.77	53	190	44.79
24	237	46.18	54	214	44.79
25	190	46.18	55	226	42.62
26	190	45.31	56	237	42.62
27	309	45.31	57	237	45.11
28	261	52.18	58	226	45.11
29	261	52.18	59	190	45.11
30	190	49.78	60	226	45.5



ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ – สกุล	นางสาวรุ่งตะวัน ปันทะวงศ์
วัน/ เดือน/ ปีเกิด	15 พฤษภาคม 2532
E- Mail	rungtawan_pan@hotmail.com
ประวัติการศึกษา	<p>มัธยมศึกษา โรงเรียนบ้านกาดวิทยาคม พ.ศ.2548 จังหวัดเชียงใหม่</p> <p>ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ พ.ศ. 2551</p> <p>ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีสิ่งแวดล้อมคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ พ.ศ. 2555</p>
ประวัติการทำงาน	<p>นักศึกษาฝึกงานด้านจุลชีววิทยาทางอาหารและน้ำ ที่ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 10 พ.ศ. 2553</p>
ผลงานทางด้านวิชาการ	<p>การนำเสนอผลงานการประชุมวิชาการระดับ นานาชาติ ครั้งที่ 10 “เครือข่ายงานวิจัย สร้างความรู้ สู่อาเซียน” ณ.มหาวิทยาลัยนเรศวร พ.ศ. 2557 เรื่อง การศึกษาการเจริญของแบคทีเรียกรดแลกติก ในหญ้าสด</p> <p>การนำเสนอผลงานการประชุมวิชาการระดับชาติ “วิทยาศาสตร์วิจัย” ครั้งที่ 7 ณ.มหาวิทยาลัยนเรศวร พ.ศ. 2558 เรื่อง ศักยภาพในการผลิตก๊าซมีเทนจากการหมัก ร่วมของน้ำเสียจากฟาร์มสุกรและหญ้าขนหมัก</p>

