

หัวข้อวิทยานิพนธ์	โครงสร้างชุมชนจุลินทรีย์ในระบบหมักย่อยรวมแบบไร้อากาศของ ของเสียผสมในถังหมักขนาดทดลอง	
ผู้เขียน	นางสาวดวงหทัย สิงห์กะ	
ปริญญา	วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (จุลชีววิทยาประยุกต์)	
คณะกรรมการที่ปรึกษา	อ. ดร. วสุ ปฐมอารีย์	อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
	ผศ. ดร. สกุนต์ บวรสมบัติ	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
	ผศ. ดร. ปิฎฐป ผลจันทร์	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาโครงสร้างชุมชนจุลินทรีย์ และผลกระทบของระยะเวลา
กักเก็บน้ำที่ 10, 20 และ 30 วัน ในถังปฏิกรณ์ Channel Digester-Upflow Anaerobic Sludge Blanket
(CD-UASB) และ Completely Stirred Tank Reactor (CSTR) ระดับห้องปฏิบัติการ เปรียบเทียบการ
หมักย่อยรวมระหว่างน้ำเสียมูลสุกรกับหญ้าเนเปียร์ และน้ำเสียมูลสุกรกับเศษอาหาร ในอัตราส่วน
70:30 และ 60:40 ตามลำดับ ผลการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของประชากรจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์
ในระหว่างการดำเนินระบบ ด้วยเทคนิค Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) และการ
จัดความสัมพันธ์ของแบคทีเรีย โดยการวิเคราะห์ทางสถิติตามวิธีของ Jaccard และจัดกลุ่มโดยวิธี
Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA) พบว่ารูปแบบการเปลี่ยนแปลง
ของประชากรแบคทีเรียในแต่ละการทดลองมีความแตกต่างกัน และมีความสัมพันธ์กับการผลิตก๊าซ
มีเทน โดยแบคทีเรียในถังปฏิกรณ์ CD-UASB ที่ใช้หญ้าเป็นวัสดุหมักร่วม มีรูปแบบค่อนข้างคงที่ใน
ช่วงแรก และช่วงกลางของการดำเนินระบบ คล้ายคลึงกับเชื้อตั้งต้น ในขณะที่แบคทีเรียในถัง CSTR
พบการเปลี่ยนแปลงมากในช่วงแรก จากนั้นแบคทีเรียในถังปฏิกรณ์ทั้ง 2 ชนิด จะคงที่ในช่วงท้ายของ
การดำเนินระบบซึ่งการผลิตก๊าซมีเทนเข้าสู่สภาวะเสถียร ส่วนแบคทีเรียในถังปฏิกรณ์ที่ใช้เศษอาหาร
เป็นวัสดุหมักร่วม พบว่ามีรูปแบบค่อนข้างคงที่ นอกจากนี้ยังพบว่าประชากรอาร์เคียในแต่ละการ
ทดลองมีความหลากหลายน้อยกว่าแบคทีเรีย และมีรูปแบบค่อนข้างคงที่ตลอดการเดินระบบ แสดงให้
เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงระยะเวลากักเก็บน้ำ ชนิดของถังปฏิกรณ์ และวัสดุหมักร่วมมีผลเล็กน้อยต่อ
ประชากรอาร์เคีย

ผลการสร้างแผนภาพความสัมพันธ์แบบ UPGMA ของแบคทีเรียจากเทคนิค DGGE โดยวิเคราะห์ทางสถิติตามวิธีการของ Jaccard ในสภาวะคงที่ของระบบในแต่ละการทดลอง เพื่อศึกษาผลกระทบของระยะเวลาการกักเก็บน้ำ ชนิดของถังปฏิกรณ์ และวัสดุหมักร่วม พบว่าระยะเวลาการกักเก็บน้ำ มีผลต่อโครงสร้างประชากรแบคทีเรียเมื่อใช้หญ้าเป็นวัสดุหมักร่วม โดยโครงสร้างของแบคทีเรียในถังปฏิกรณ์แต่ละชนิด ที่ระยะเวลาการกักเก็บน้ำ 20 และ 30 วัน มีความคล้ายคลึงกัน และสอดคล้องกับอัตราการผลิตมีเทน ในขณะที่การใช้เศษอาหารเป็นวัสดุหมักร่วม พบว่าชนิดของถังปฏิกรณ์มีผลกระทบต่อโครงสร้างประชากรแบคทีเรียมากกว่าระยะเวลาการกักเก็บ นอกจากนี้ยังพบว่าโครงสร้างของประชากรแบคทีเรีย เมื่อใช้วัสดุหมักร่วม 2 ชนิด มีความแตกต่างกัน ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงระยะเวลาการกักเก็บน้ำ ชนิดของถังปฏิกรณ์ และวัสดุหมักร่วมมีผลต่อโครงสร้างประชากรแบคทีเรีย

การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วน 16S rDNA จากแถบดีเอ็นเอหลักที่คัดเลือกจากเจล DGGE พบว่าแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่พบในถังปฏิกรณ์ยังไม่สามารถระบุชนิดได้ โดยพบแบคทีเรียไฟลัม *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi* และ *Cloacamonas* ในถังปฏิกรณ์ที่ใช้วัสดุหมักร่วมทั้ง 2 ชนิด นอกจากนี้ยังพบแบคทีเรียไฟลัม *Spirochaete* เมื่อใช้หญ้าเป็นวัสดุหมักร่วม และไฟลัม *Flavobacteria* และ *Acidobacteria* เมื่อใช้เศษอาหารเป็นวัสดุหมักร่วม แบคทีเรียเด่นที่พบตลอดการเดินระบบเมื่อใช้หญ้าเป็นวัสดุหมักร่วม คือไฟลัม *Firmicutes* และเมื่อใช้เศษอาหารเป็นวัสดุหมักร่วม คือไฟลัม *Firmicutes* และ *Bacteroidetes* แบคทีเรียสร้างก๊าซมีเทนที่เป็นกลุ่มเด่นในถังปฏิกรณ์ ได้แก่แก่ออเดอร์ *Methanomicrobiales* ตามด้วย *Methanosarcinales* แสดงให้เห็นว่ามีเทนส่วนใหญ่ในระบบอาจสร้างจากไฮโดรเจน และคาร์บอนไดออกไซด์

Thesis Title	Microbial Community Structure in Anaerobic Co-Digestion System of Mixed Waste in Lab-Scale Bioreactor	
Author	Ms. Doungthatai Singka	
Degree	Doctor of Philosophy (Applied Microbiology)	
Advisory Committee	Dr. Wasu Pathom-aree	Advisor
	Asst. Prof. Dr. Sakunnee Bovonsombut	Co-advisor
	Asst. Prof. Dr. Patiroop Pholchan	Co-advisor

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the microbial community structure and the effect of hydraulic retention time (HRT) at 10, 20 and 30 days in lab-scale bioreactors, Channel Digester-Upflow Anaerobic Sludge Blanket (CD-UASB) and Completely Stirred Tank Reactor (CSTR). The comparison was made between co-digestion of pig manure with Napier grass and pig manure with food waste at the ratios of 70:30 and 60:40 respectively. Investigation on the microbial community change in the reactors during the operation by Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) technique and the Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean (UPGMA) dendrogram generated from bacterial DGGE profile by Jaccard similarity coefficient method indicated that the changing pattern of bacterial population in each reactor was different and related to the methane production. Bacterial population in CD-UASB reactor co-digested with Napier grass was relatively stable during the initial and middle periods of operation similar to the original seed, whereas that in CSTR showed more variation. After that, the bacterial population in both types of reactors was stable during the final stage of steady methane production, while that in the reactor co-digested with food waste were considerably stable. Moreover, the archaeal population was less diverse than the bacteria with stable pattern throughout the operation. These observations indicated that HRT, type of reactor and substrate for co-digestion had little effect on the archaeal population.

The UPGMA dendrogram generated from bacterial DGGE profile during steady state of each reactor analyzed by Jaccard similarity coefficient method showed that HRT affected bacterial population structure when Napier grass was used as co-substrate. Bacterial population structures at HRT 20 and 30 days were similar, corresponding to the methane production rate. However, co-digestion with food waste showed that the type of reactor had more impact on the bacterial population structure than HRT. Moreover, the bacterial population structure between both types of substrates was also different. These results indicated that HRT, type of reactor and substrate for co-digestion had influence on the structure of bacterial community.

Analysis of 16S rDNA sequences obtained from selected dominant DGGE bands revealed that most bacteria in the reactors could not be identified to specific species. Bacteria in the Phyla *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi* and *Cloacamonas* were found in the reactors with both types of substrates. Moreover, bacteria in the Phylum *Spirochaete* were also found when co-digested with Napier grass, whereas *Flavobacteria* and *Acidobacteria* were found in food waste co-digestion. The dominant bacteria found throughout the process in the reactor co-digested with Napier grass were in the Phylum *Firmicutes* while those in the Phyla *Firmicutes* and *Bacteroidetes* were found in the reactor co-digested with food waste. The hydrogenotrophic *Methanomicrobiales* were dominated in the reactors followed by acetoclastic *Methanosarcinales* indicating that most methane in the system might be produced from hydrogen and carbon dioxide.