

การหาความเข้มข้นยูเรียที่เหมาะสมในมันสำปะหลังร่วมกับมูลโคเพื่อการผลิตก๊าซชีวภาพ
OPTIMIZATION OF UREA CONCENTRATION BY CASSAVA MIXED WITH COW DUNG
FOR BIOGAS PRODUCTION

วิภาดา ศิริอนุสรณ์ศักดิ์ (Wipada Siri-anusornsak)* ปิยะภา หิรัญพัทรวงศ์ (Piyapha Hirunpatrawong)*
สุพางค์ จุฬาลักษณ์านุกูล (Suphang Chulalaksananukul)** วรวิทย์ จุฬาลักษณ์านุกูล (Warawut Chulalaksananukul)***

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตก๊าซชีวภาพ โดยใช้มันสำปะหลังเป็นสารตั้งต้นร่วมกับมูลโค เนื่องจากมันสำปะหลังมีสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตในปริมาณสูง เหมาะสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ เมื่อมันสำปะหลังผ่านกระบวนการไฮโดรไลซิสมันจะได้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ขณะที่มูลโคมีจุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทนที่สามารถเปลี่ยนน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวให้กลายเป็นก๊าซมีเทน ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญของก๊าซชีวภาพ สำหรับสภาวะการหมักมันสำปะหลังร่วมกับมูลโค สามารถรักษาสภาพจุลินทรีย์ได้ในช่วงแรกเท่านั้น เนื่องจากเกิดปริมาณกรดที่มากเกินไป ดังนั้นการเติมยูเรียส่งผลให้สภาวะในการหมักเหมาะสมขึ้น โดยพบว่า ความเข้มข้นของยูเรีย 0.08 เปอร์เซ็นต์เหมาะสำหรับการหมักร่วมกับความเข้มข้นมันสำปะหลัง 2 เปอร์เซ็นต์และความเข้มข้นมูลโค 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสภาวะดังกล่าวได้ปริมาณก๊าซเฉลี่ยเท่ากับ 650 ลิตรต่อวัน ประกอบด้วยก๊าซมีเทนเฉลี่ย 6.26 เปอร์เซ็นต์

ABSTRACT

Optimum condition for biogas production was studied using cassava as substrate and mixed with cow dung. According to high content of carbohydrate in cassava, it was suitable for microbial growth. After hydrolysis process of cassava, monosaccharide was obtained. While cow dung contained many of methanogenic bacteria which could convert monosaccharide to methane gas, the main component of biogas. For the fermentation condition of cassava mixed with cow dung only the first stage of microorganism growth could be maintained, due to the excess acid production. In order to contribute the optimum digestion, urea was added. The results found that 0.08% of urea, 2% (w/v) of cassava and 10% (w/v) of cow dung were suitable conditions for the fermentation. The gas yield at these conditions was 650 liter per day containing 6.26 %methane.

คำสำคัญ : มันสำปะหลัง ยูเรีย ก๊าซชีวภาพ

Key Words: Cassava, Urea, Biogas

* มหาวิทยาลัย หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

*** รองศาสตราจารย์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทนำ

ก๊าซชีวภาพเกิดจากการย่อยสลายของสารอินทรีย์โดยจุลินทรีย์ด้วยกระบวนการทางชีวเคมี โดยปราศจากออกซิเจน ก๊าซชีวภาพที่ได้ประกอบด้วยก๊าซมีเทน 55 ถึง 75 เปอร์เซ็นต์ ก๊าซชีวภาพมีคุณสมบัติไม่มีสี ไม่มีกลิ่น และติดไฟได้ สามารถนำไปเผาไหม้โดยตรงเพื่อให้ความร้อนหรือนำไปใช้สำหรับการผลิตไฟฟ้า ก๊าซมีเทนบริสุทธิ์ให้ค่าความร้อนประมาณ 35,800 กิโลจูลต่อลูกบาศก์เมตร (Tchobanoglous และคณะ, 2003) ปัจจัยหนึ่งส่งผลในการย่อยสลายของสารอินทรีย์ไปเป็นก๊าซชีวภาพขึ้นอยู่กับปริมาณคาร์บอนและไนโตรเจนเป็นสำคัญ โดยคาร์บอนจะถูกนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงาน ส่วนไนโตรเจนจะใช้ประโยชน์ในการรักษาสภาพของเซลล์จุลินทรีย์ โดยปกติจะใช้ปริมาณคาร์บอนมากเป็น 30 เท่าของปริมาณไนโตรเจน การย่อยสลายจึงจะสมดุล ถ้าปริมาณคาร์บอนมากเกินไป ประสิทธิภาพการย่อยจะลดลง จุลินทรีย์จะตายไปบางส่วน สัดส่วนที่เหมาะสมคือคาร์บอน : ไนโตรเจน ควรอยู่ระหว่าง 20:1 ถึง 30:1 (Bardiya และ Guar, 1997) ดังนั้นการปรับสภาพค่าคาร์บอนและไนโตรเจนของระบบจึงเป็นสิ่งสำคัญ ซึ่งสามารถทำได้โดยการเติมยูเรียเพื่อเพิ่มปริมาณไนโตรเจน ดังนั้นในการศึกษากครั้งนี้เลือกใช้มันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบ โดยหัวมันสำปะหลังสดมีส่วนประกอบหลักคือแป้งอยู่ในปริมาณ 60 ถึง 65 เปอร์เซ็นต์ (Sriroth และ Piyachomkwan, 2003) ซึ่งแป้งถูกเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และจุลินทรีย์สามารถย่อยสลายน้ำตาลไปเป็นก๊าซชีวภาพได้ทันทีในสภาวะที่เหมาะสม

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

งานวิจัยนี้ เน้นการศึกษาหาความเข้มข้นของยูเรียที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพ

วิธีการวิจัย

การศึกษาองค์ประกอบของวัตถุดิบ

มูลโคเก็บจากโคเนื้อที่เลี้ยงตามธรรมชาติในอำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี ลักษณะเป็นของเหลวข้น กึ่งของแข็ง มีกากเศษหญ้าผสมอยู่ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มูลโคสดจะนำมาตรวจหาคุณลักษณะเบื้องต้นทางกายภาพและทางเคมี ได้แก่ ค่าบีโอดี (BOD) ซีโอดี (COD) ของแข็งทั้งหมด (TS) ของแข็งระเหยได้ทั้งหมด (TVS) ปริมาณคาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โลหะทองแดง อ้างอิงจากมาตรฐานของ APHA (2005) และความชื้น อ้างอิงจากมาตรฐานของ AOAC (2000) ส่วนมันสำปะหลัง สายพันธุ์ห้วยบง นำมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ จากนั้นนำไปอบแห้ง วัดปริมาณความชื้นและนำมาบดให้เล็กลง (มีขนาดเล็กกว่า 0.4 มิลลิเมตร) โดยใช้เครื่องบด ทำการวัดค่าซีโอดีโดยใช้วิธีฟลักซ์แบบปิด (Lapara และคณะ, 2000) ค่าคาร์บอนทั้งหมดและไนโตรเจนทั้งหมดตามวิธีของ Soccol (Soccol, 1996)

การศึกษาความเข้มข้นของยูเรีย

การศึกษาค้นหาความเข้มข้นของยูเรียที่เหมาะสมเพื่อรักษาสภาพจุลินทรีย์ในน้ำมันสำปะหลังร่วมกับน้ำมูลโค โดยนำตัวอย่างมันสำปะหลังผสมกับน้ำกลั่นให้มี ความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร เติมน้ำมูลโคความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (National Academy of Sciences, 2001; ASAE Standard, 2003) ทำการเติมยูเรียที่ความเข้มข้น 0.02 ถึง 0.20 เปอร์เซ็นต์ โดยความเข้มข้นยูเรียที่ 0 เปอร์เซ็นต์ เป็นชุดควบคุม เก็บตัวอย่างน้ำทุกวัน เป็นเวลา 7 วัน ตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงของค่าซีโอดี

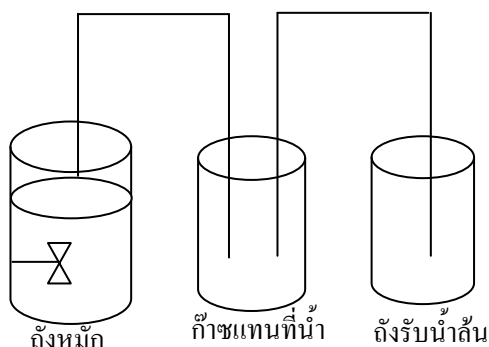
การศึกษาสภาวะการหมักก๊าซชีวภาพ

เตรียมตัวอย่างน้ำมันสำปะหลัง ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ และมูลโค เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ หมักรวมกันที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสในระบบปิด โดยใช้ถังหมักแบบกะชั้นตอนเดียว (Batch single-stage digester) ขนาด 3 ลิตร (ตารางที่ 1, ภาพที่ 1)

ตารางที่ 1 ลักษณะทางกายภาพของถังหมักขนาด 3

Parameter	3 L
Digester height (cm)	22.00
Liquid height (cm)	18.00
Empty volume (L)	5.00
Filled volume (L)	3.00

ในกระบวนการหมักประกอบด้วย ถังหมักเพียงหนึ่งถัง ขนาด 3 ลิตร ภายในถังหมักมีการต่อท่อและใบพัดกวนเพื่อปรับสภาวะภายใน ใช้เกียร์บล็อกซ์มอเตอร์ (Gear-Box Motor) เป็นตัวควบคุมใบพัดเพื่อการกวน ใช้ความเร็วรอบในการปั่นกวน 100 รอบต่อนาที อีกลักษณะหนึ่งทำหน้าที่ในการเก็บก๊าซที่เกิดขึ้นโดยอาศัยการแทนที่น้ำ (Anunputtikul และ Rodtong, 2004) ดังรูปที่ 1



ภาพที่ 1 ถังหมักแบบกะชั้นตอนเดียว (Batch single-stage bioreactor)

ทำการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบ ค่าซีไอดี วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวกลุ่มน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นด้วยวิธี Dinitrosalicylic colorimetric method (DNS method) ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Miller (Miller, 1959) กลุ่มตัวอย่างตรวจหาปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด โดยใช้วิธี Phenol-sulfuric acid (Masuko *et al.*, 2002) และวัดปริมาตรก๊าซที่เกิดขึ้นจากปริมาตรน้ำที่ล้นออกมาเป็นเวลา 30 วัน

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

ผลการศึกษาค่าประกอบของวัตถุดิบ

จากผลการวิเคราะห์คุณลักษณะเบื้องต้นของตัวอย่างมูลโคสด (ตารางที่ 2) พบว่า มีปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสสูงมากพอที่จะเป็นอาหารเสริมสร้างเพื่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในสภาวะไร้อากาศ ส่วนปัจจัยในการย่อยสลายสารอินทรีย์ขึ้นอยู่กับคาร์บอนและไนโตรเจนเป็นสำคัญ เพราะคาร์บอนจะนำไปใช้เป็นพลังงาน ส่วนไนโตรเจนจะนำไปใช้ในการรักษาสภาพเซลล์ของ จุลินทรีย์ มูลโคที่ใช้ในการทดลองนี้มีอัตราส่วน คาร์บอนต่อไนโตรเจน เป็น 29 : 1 ซึ่งเป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมต่อการผลิตก๊าซชีวภาพเนื่องจากสัดส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจน ที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 15:1 ถึง 30:1 (Yadvika และคณะ, 2004)

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์คุณลักษณะเบื้องต้นของมูลโคสด

Cow dung characteristics	Value
BOD, mg/g	15.00
COD, mg/g	126.00
TS, mg/g	196.00
TVS, mg/g	99.90
Carbon, %	15.27
Nitrogen, %	0.52
Phosphorous, %	0.041
Copper, %	3.00×10^{-4}
Moisture, %	81.00

ส่วนสารยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ คือ โลหะหนักจากการทดลองพบว่า ปริมาณโลหะทองแดงที่พบในมูลโค คือ 0.0003 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีผลต่อการทำงานของจุลินทรีย์ เนื่องจากมีปริมาณน้อยกว่า 0.30 ถึง 2.00 เปอร์เซ็นต์ (Scullion และคณะ, 2006) ผลการ

วิเคราะห์ค่าซีไอดี พบว่าห้วงมันสำปะหลังแห้งบดมีค่าซีไอดีมากกว่าห้วงมันสำปะหลังสดและอบแห้ง คือ 1,675.00 มิลลิกรัมต่อลิตร และจากการคำนวณพบว่า มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน คือ 84 : 1 (ตารางที่ 3) ซึ่งพบว่า มีปริมาณคาร์บอนสูงมาก ส่งผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของจุลินทรีย์ เนื่องจากเซลล์จุลินทรีย์แตกและตายไปบางส่วน ทั้งนี้มีรายงานของอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่สูงที่สุดที่สามารถผลิตก๊าซชีวภาพได้ คือ 80:1 (Seenayya และคณะ, 1992)

ตารางที่ 3 ปริมาณซีไอดี คาร์บอนและไนโตรเจนของห้วงมันสำปะหลังสด อบแห้งและแห้งบด

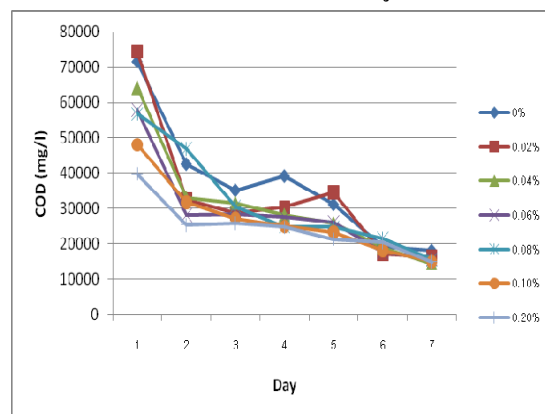
Cassava strain		COD	Total carbon	Total Nitrogen
		(mg/l)	%	%
Huaybong	Fresh	422.25	17.94	0.19
	Dry	701.75	36.54	0.42
	Grind	1675.00	37.69	0.45

มันสำปะหลังสด มีค่าซีไอดีเท่ากับ 422.25 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็นอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 94 : 1 ในขณะที่มันสำปะหลังแห้งบดมีค่าซีไอดี เท่ากับ 1675.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าในห้วงมันสำปะหลังสด แต่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน เท่ากับ 84: 1 ซึ่งมีค่าต่ำกว่า แต่อย่างไรก็ตามอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่สูงเกินไป ถือเป็นสถานะที่ไม่เหมาะสมต่อการผลิตก๊าซชีวภาพ ทั้งนี้มีการกำหนดอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่สูงที่สุดไว้ที่ 80:1 (Seenayya และคณะ, 1992).

ผลการศึกษาความเข้มข้นยูเรียที่เหมาะสม

จากภาพที่ 2 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่า

ซีไอดี เมื่อมีการเติมยูเรียที่ความเข้มข้น 0.02 0.04 0.06 0.08 0.10 และ 0.20 เปอร์เซนต์ ในการหมักร่วมกันระหว่างมันสำปะหลัง เข้มข้น 2 เปอร์เซนต์ และมูลโค เข้มข้น 10 เปอร์เซนต์ ชุดควบคุม คือการหมักร่วมกันระหว่างมันสำปะหลัง เข้มข้น 2 เปอร์เซนต์ และมูลโค เข้มข้น 10 เปอร์เซนต์ โดยไม่เติมยูเรีย (0% ยูเรีย) ทั้งนี้ผลการทดลองพบว่าค่าซีไอดีมีแนวโน้มลดลงตามเวลาการหมักที่เพิ่มขึ้น ซึ่งค่าซีไอดีมีแนวโน้มลดลงในการทำนองเดียวกันที่ทุกความเข้มข้นของยูเรีย ถ้าพิจารณาถึงความสามารถในการย่อยสลายสารอินทรีย์ของจุลินทรีย์แล้ว พบว่า ที่ความเข้มข้นของยูเรีย 0.08 เปอร์เซนต์ สามารถลดค่าซีไอดีได้มากกว่าที่ความเข้มข้นของยูเรีย 0.06 เปอร์เซนต์ ณ วันที่ 7 ซึ่งหมายถึงปริมาณการผลิตก๊าซชีวภาพที่ปริมาณสูงกว่า

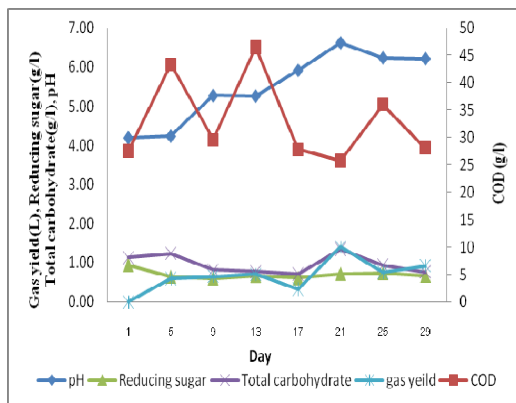


ภาพที่ 2 ค่าซีไอดีเปลี่ยนแปลงไปตามความเข้มข้นต่างๆของยูเรีย

ผลการศึกษาสภาวะการหมักก๊าซชีวภาพ

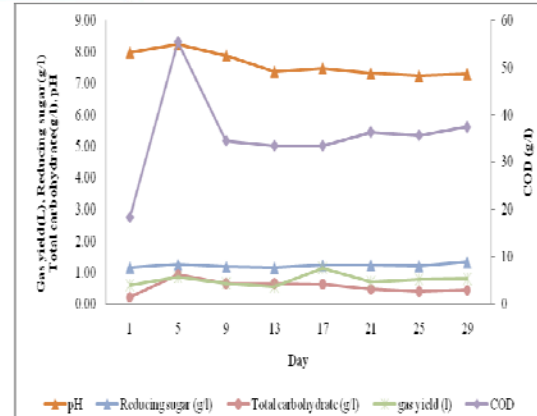
ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการผลิตก๊าซชีวภาพ มีปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ อุณหภูมิและความเป็นกรด-ด่างของระบบต่อการย่อยสลายสารอินทรีย์และการผลิตก๊าซในสภาพปราศจากออกซิเจน ซึ่งการทดลองครั้งนี้ได้ทำการศึกษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเป็นกรด-ด่าง ระหว่าง 6.60 ถึง 8.00 โดยความเป็นกรด-ด่างในระบบที่ต่ำเกินไป จะเกิดอันตรายต่อจุลินทรีย์ที่สร้างก๊าซมีเทน จากผลการทดลองพบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างในการผลิตก๊าซชีวภาพโดยไม่เติมยูเรียในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (ภาพที่ 3) มีค่าต่ำกว่า 6.60 ในช่วงแรก

ของการหมัก หลังจากวันที่ 17 มีค่าประมาณ 6.60 ซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในสภาวะที่สามารถผลิตก๊าซมีเทนได้ ช่วงการหมักที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า 6.60 นั้น ส่งผลต่อจุลินทรีย์ที่สร้างก๊าซมีเทน เนื่องจากมีความเป็นกรดในระบบมากเกินไป ทำให้จุลินทรีย์ตาย ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดจึงมีค่าไม่คงที่เนื่องจากการย่อยสลายในระบบไม่สมบูรณ์ ทำให้การเปลี่ยนแปลงของค่าซีโอดี มีค่าไม่คงที่ นอกจากนี้ความสามารถในการย่อยสลายของจุลินทรีย์และการนำน้ำตาลรีดิวซ์ไปใช้เพื่อการผลิตก๊าซชีวภาพจึงไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงด้วย



ภาพที่ 3 การผลิตก๊าซชีวภาพโดยไม่เติมยูเรียในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ

ขณะที่การผลิตก๊าซชีวภาพโดยเติมยูเรียในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ 0.08 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4) มีค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่าง 7.00 ซึ่งอยู่ในช่วงการเกิดก๊าซมีเทนได้ดี ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดค่อนข้างคงที่ ส่วนการเปลี่ยนแปลงของค่าซีโอดีนั้น พบว่ามีค่าสูงขึ้นเรื่อยๆ จนกระทั่งวันที่ 5 ซึ่งมีค่าซีโอดีสูงที่สุด จากนั้นค่าซีโอดีจะลดต่ำลง ส่วนปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นไม่มีการเปลี่ยนแปลงทั้งระบบ แสดงถึงแป่งถูกย่อยสลายกลายเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวได้และจุลินทรีย์สามารถนำน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวไปใช้เพื่อการผลิตก๊าซชีวภาพ



ภาพที่ 4 การผลิตก๊าซชีวภาพโดยเติมยูเรียในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ 0.08 เปอร์เซ็นต์

สำหรับ ปริมาตร ก๊าซที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักแบบไม่เติมยูเรีย พบว่ามีปริมาตร 590 ลิตรต่อวัน แต่ไม่มีองค์ประกอบของก๊าซมีเทน เนื่องจากอาจเกิดสภาวะกรดมากเกินไปในระบบนี้ ขณะที่ ปริมาตรก๊าซที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักแบบเติมยูเรียที่ความเข้มข้น 0.08 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีปริมาตร 650 ลิตรต่อวัน ประกอบด้วยก๊าซมีเทน 6.26 เปอร์เซ็นต์

สรุปผลการวิจัย

การเติมยูเรียในระบบโดยการหมักมันสำปะหลังร่วมกับมูลโคสามารถเพิ่มปริมาณการผลิตก๊าซได้ เมื่อเติมยูเรียเข้มข้น 0.08 เปอร์เซ็นต์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ สามารถผลิตก๊าซชีวภาพได้เฉลี่ย 650 ลิตรต่อวัน ประกอบด้วยก๊าซมีเทน 6.26 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมากกว่าการผลิตก๊าซชีวภาพโดยไม่เติมยูเรีย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการเชื้อเพลิงชีวภาพ ด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

- Anunputtikul, W., and Rodtong, S. (2004). Laboratory scale experiment for biogas production from cassava tubers. The Joint 4 International Conference on “Sustainable Energy and Environment (SEE)”, Hua Hin, Thailand, Dec.1-3, 2004: 238-243.
- AOAC. (2000). Official methods of analysis (16th ed.). Washington, DC: Association of Official Analysis Chemists.
- APHA. (2005). Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water (16th ed). APHA, AWWA, WPCF. American Public Health Association, Washington, DC.
- ASAE Standard. (2003). Manure production and characteristics. St. Joseph. USA.
- Bardiya, N. and Gaur, A.C. (1997). Effects of carbon and nitrogen ratio on rice straw biomethanation. J. Rural Energy, 4 (1-4): 1-16.
- Lapara, T.M., Alleman, J.E., and Pope, P.G. (2000). Miniaturized closed reflux, colorimetric method for the determination of chemical oxygen demand. Waste Management, 20: 295-298.
- Masuko, T., Hariyama, Y., Takahashi, Y., Cao, L.M., Goto, M., and Ohshima, M. 2002. Effect of addition of fermented juice of epiphytic lactic acid bacteria prepared from timothy [*Phleum pratense*] and orchardgrass [*Dactylis glomerata*] on fermentation quality of silages. Grassland Science 48(2): 120-125.
- Miller, G.L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Analytical Chemistry, 31(3): 426-428.
- National Academy of Sciences. (2001). Methane generation from human, animal and agricultural wastes. Books for Business: New York.
- Scullion, J., Winson, M. and Matthews, R. (2007). Inhibition and recovery in a fixed microbial film leachate treatment system subject to shock loading of copper and zinc. Water Research, 41: 4129 – 4138.
- Seenayya, G., Rao, C.V., Shivaraj, D., Preeti Rao, S. and Venkatswamy, M. (1992). Biogas production technology: An Indian perspective. Final report submitted to Department of Non-Conventional Energy Sources, Government of India, New Delhi: 85.
- Socol, C.R. (1996). Biotechnology products from cassava root by solid state fermentation. Journal of Scientific and Industrial research, 55: 358 -364.
- Sriroth, K., Piyachomkwan, K. (2003). Technology of starch. Kasetsart University Press. Bangkok.
- Tchobanoglous, G., Burton, F.L., and Stensel, H.D. (2003). Wastewater engineering: treatment and reuse, International Edition. McGraw-Hill Book Company Limited.
- Yadvika, S., Sreekrishnan, T.R., Kohli, S., and Rana, V. (2004). Enhancement of biogas production from solid substrates using different techniques-a review. Bioresource Technology, 95: 1-10.