การคัดแยกและการประยุกต์ใช้เชื้อราทนร้อนจากมูลสัตว์และวัสดุเศษเหลือทางการเกษตร ในการบำบัดน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

Screening and Application of Thermotolerant Fungi from Dungs and Agriculture waste in Treatment of Palm Oil Mill Effluent

หัสลินดา บินมะแอ

Haslinda Binma-eil

บทคัดย่อ

ศึกษาเชื้อราทนร้อนจากมูลสัตว์และวัสดุเศษเหลือทางการเกษตร ที่มีความสามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซลาเนสได้ เพื่อใช้การบำบัดน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม พบเชื้อราทนร้อนจำนวน 15 ไอโซเลต คัดกรองจากการทดสอบความสามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซลาเนสได้ดีที่สุด 8 ไอโซเลต ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราทนร้อนที่แยกได้ พบว่า ไอโซเลต AO1, BO2, CO1, DO1, AS1 และ BS1 เป็นเชื้อราทนร้อนสกุล *Aspergillus* sp. ไอโซเลต AO3, BO3 และ CS1 เป็นเชื้อราทนร้อนสกุล *Scytalidium* sp. สายพันธุ์ BS2 เป็นเชื้อราทนร้อนสกุล *Oedocephalum* sp. และ ไอโซเลต CS2 เป็นเชื้อราทนร้อนสกุล *Thermomyces* sp. ทดสอบคุณสมบัติของเชื้อราทนร้อนที่แยกได้ในช่วงอุณหภูมิต่างๆ พบว่า CO1, AS1, BS1, CS1, AO1, BO1, BS2 และ DO1 มีคุณสมบัติทนร้อนและเชื้อเจริญได้ดีที่สุดทุกสายพันธุ์ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เมื่อศึกษาประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานน้ำมันปาล์มพบว่า เชื้อรา DO1 ได้ดีที่สุด คือสามารถลดค่าบีโอดีและซีโอดี 30.98 เปอร์เซ็นต์และ 48.75 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในการลดลงค่าบีโอดีและ ซีโอดีของเชื้อราทนร้อน DO1 ได้ดีนั้น เนื่องจากเชื้อมีความสามารถผลิตเอนไซม์ที่สามารถเปลี่ยนสารอินทรีย์ในน้ำมันปาล์มในน้ำทิ้งเป็นน้ำตาลได้ดี

คำสำคัญ : เชื้อราทนร้อน เอนไซม์เซลลูเลส เอนไซม์ไซลาเนส การบำบัดน้ำเสียจากโรงงาน น้ำมันปาล์ม

หลักสูตรจุลชีววิทยา สาขาชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา

Abstract

This study was aimed at studying a feasibility of using Thermotolerant Fungi for producing Cellulase and Xylanase to treat Palm Oil Mill Effluent and then studying efficiency of the treatment. In this study was used Thermotolerant Fungi from Dungs and Agriculture waste. Fifteen Fungi were isolated from Dungs and agriculture waste. The result showed that eight isolates gave the highest of Cellulose and Xylanase activities. The isolate AO1, BO2, CO1, DO1, AS1 and BS1 were classified as *Aspergillus* sp., AO3, BO3 and CS1 were classified as *Scytalidium* sp., BS2 was classified as *Oedocephalum* sp. and CS2 was classified as *Chrysosporium* sp. The optimum temperature of CO1, AS1, BS1, CS1, AO3, BO1, BS2 and DO1 at 45°C. This studies also demonstrate the effect of treatment efficiency in Palm oil Mill Effluent. The result showed that DO1 is the best strain which can reduced BOD and COD value after treatment by 30.98% and 48.75% respectively. This results indicated that the fungi can produced enzyme which used palm fiber to produce sugars by saccharification.

Keywords : Thermotolerant Fungi, Cellulose, Xylanase, Treatment of Palm Oil Mill Effluent

บทนำ

ในปัจจุบันปาล์มน้ำมัน (Elaeis quineensis Jacq.) กลายเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญอย่างหนึ่งทางภาคใต้ของประเทศไทย สถานการณ์การปลูกปาล์มน้ำมันมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เนื่องมีการปลูกแทนในที่นาร้างหรือที่นาดั้งและสวนยางพารา รวมถึงสวนไม้ผล เช่น ในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร นครศรีธรรมราช พัทลุง สงขลา เป็นต้น ตลอดจนมีการคาดว่าในปี 2555 มีความต้องการใช้ภายในประเทศมีปริมาณ รวมทั้งสิ้น 1.47 ล้านตัน เพิ่มขึ้นจากปี2554 ร้อยละ 14.71 โดยในจำนวนดังกล่าว ใช้เพื่อการบริโภค มีปริมาณ 960,000 ตัน และใช้เพื่อผลิตไบโอดีเซล (B100) ประมาณ 510,000 ตัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2555) และโดยเฉพาะอย่างยิ่งในสามจังหวัดชายแดนภาคใต้นี้แล้ว รัฐบาลมีนโยบายที่จะให้พื้นที่เหล่านั้นเป็นแหล่งเพาะปลูก ผลิตน้ำมันปาล์ม และผลิตไบโอดีเซล ในลำดับต้นๆ ของประเทศไทย จึงทำให้มีหน่วยงานที่เกี่ยวข้องต่างๆ ส่งเสริมการปลูกต้นปาล์มมากขึ้นอย่างรวดเร็ว และประชาชนก็ให้การตอบรับอย่างดี เห็นได้จากการปลูกที่เพิ่มขึ้นจาก 61,213 ไร่ ในปี 2254 เป็น 73,620 ในปี 2556 (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2555) จึงทำให้ในเขตสามจังหวัดชายแดนภาคใต้ มีปริมาณต้นปาล์มที่กำลังรอผลผลิต และที่ผลิตแล้วนั้นมากขึ้นตามไปด้วย และให้จังหวัดนราธิวาสเป็นแหล่งแปรรูปปาล์มดังกล่าว ซึ่งรัฐบาลได้จัดสรรงบประมาณและสร้างโรงงานขนาดใหญ่ สามารถรองรับผลผลิตในกระบวนการแปรรูปวันละหลายๆ ตัน ซึ่งตั้งอยู่ในบริเวณนิคมอุตสาหกรรมบาเจาะ จังหวัดนราธิวาส แต่ในการผลิตน้ำมันปาล์มผลที่ตามมาจะมีวัสดุเศษเหลือที่เป็นของเหลว คือ น้ำทิ้ง และส่วนของแข็ง ได้แก่ ทะลายปาล์มเปล่า กากเนื้อปาล์ม สลัดจ์ โดยเฉพาะน้ำทิ้งซึ่งเป็นวัสดุเศษเหลือที่ได้จากกระบวนการผลิต (Prasertsan และ Prasertsan, 1996) ส่วนใหญ่มาจากสามแหล่งคือน้ำทิ้งจากหม้อฆ่าเชื้อ (Sterilizer condensate), จากเครื่อง ดีแคนเตอร์ (decanter) หรือเครื่อง separator และน้ำจาก hydrocyclone (Foo และ Hameed, 2010) และ น้ำทิ้งดังกล่าวจะมีน้ำมันปนอยู่ประมาณ 10-20 กรัมต่อลิตร น้ำมันในน้ำทิ้งอยู่ในลักษณะอิมัลชั่น ซึ่งแยกออกได้ยากและไม่สามารถแยกออกได้ด้วยวิธีการทางกายภาพ (อรัญ หันพงศ์กิตติกุล และคณะ, 2537) และวิธีที่น่าจะเป็นไปได้ในการกำจัดน้ำมันออกจากน้ำทิ้งคือวิธีทางชีวภาพ มีการศึกษาเพื่อการกำจัดน้ำมันออกจากน้ำทิ้งโดยใช้วิธีทางชีวภาพโดยใช้จุลินทรีย์ เป็นการแยกหรือกำจัดน้ำมันในน้ำทิ้ง ซึ่งเป็นการบำบัดขั้นต้นก่อนเข้าสู่ระบบบำบัดขั้นที่สองด้วยกระบวนการชีวภาพ วิธีการแยกหรือกำจัดน้ำมันที่มีอยู่ในน้ำเสียมี 2 วิธี คือวิธีทางกายภาพและเคมีทำได้โดยการทำให้ไขมันและน้ำมันเกิดการลอยตัวโดยอาศัยการกระจายของฟองอากาศจากเครื่องอัดอากาศ (Forster, 1992 อ้างโดยโสภา จันทภาโส, 2542) และวิธีการบำบัดทางชีวภาพสามารถใช้จุลินทรีย์ทั้งที่ต้องการออกซิเจนและไม่ต้องการออกซิเจน ย่อยสลายสารอินทรีย์ต่างๆ ในน้ำเสีย

เนื่องจากมีจุลินทรีย์หลายสายพันธุ์สามารถใช้น้ำมันเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญได้แก่ Aspergillus sp., Rhizopus sp., Trichoderma harzianum, Myceliophtora thermophila, Trichoderma virid เป็นต้น Alam, Muhammad และMahmat (2005) ได้ศึกษาเชื้อรา T. harzianummu ที่มีความสามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลส ใน Oil Palm Empty Fruit Bunches พบว่า สามารผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ 0.0413 ยูนิตในวันที่ 3 ของการเลี้ยง Jamal และคณะ (2005) ได้ศึกษาเชื้อ Aspergillus sp. ที่มีความสามารถในการเจริญในน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม และยังสามารถผลิตกรดซิตริก 0.28 กรัมต่อลิตร และมีการวิจัยศึกษาเกี่ยวกับการประยุกต์เซลลูเลสและไซลาเนสซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ผลิตจาก Aspergillus niger ATCC 6275 และเอนไซม์ทางการค้ามาบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม พบว่าเอนไซม์ทั้งสองแหล่งสามารถแยกสารแขวนลอยในน้ำทิ้ง และน้ำมันออกจากน้ำมันของโรงงานน้ำมันปาล์มได้ ทำให้ของเหลวส่วนที่เหลือมีปริมาณน้ำมันเท่ากับร้อยละ 99 และค่าซีโอดีเท่ากับร้อยละ 71 (Prasertsan et al., 1997) Jamal และคณะ (2011) ได้พบว่า Aspergillus niger (IBS-103ZA) ยังสามารถผลิตฟีนอล เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม อีกด้วย ดัง

นั้นวิธีทางชีววิทยาโดยใช้จุลินทรีย์ จึงน่าจะเป็นวิธีการบำบัดน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่มีความเป็น ทำให้ปริมาณสารอินทรีย์ (ค่าบีโอดี, ค่าซีโอดี) ลดลง โดยเฉพาะเชื้อราที่สามารถใช้สับเสรตชนิดนี้ได้ดี นั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะใช้เชื้อราที่ทนร้อนในการบำบัดน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม เนื่องจ ขั้นตอนของการย่อยผลปาล์มนั้น จะมีการเติมน้ำร้อนลงไป (อุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส) เพื่อสกัดน้ำ ออกจากส่วนเปลือก (พูนสุข ประเสริฐ และคณะ, 2533) ทำให้น้ำทิ้งที่ออกมามีอุณหภูมิสูง จึงจำเป็ เลือกใช้จุลินทรีย์ที่ทนร้อนได้และเพื่อการบำบัดน้ำทิ้งมีประสิทธิภาพมากขึ้นและทำให้ช่วยลดปัญหาด้าน บำบัดน้ำเสียและด้านมลภาวะสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากการมีน้ำมันปนเปื้อนอยู่ในน้ำทิ้ง

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่าง

1.1 การเก็บตัวอย่างเชื้อราทนร้อน จากมูลสัตว์และวัสดุเศษเหลือทางการเกษตร จากแ ต่างๆ ในท้องถิ่นจังหวัดยะลา และพื้นที่ใกล้เคียง ดังนี้

- ตัวอย่างจากเตาเผาถ่าน ได้แก่ ด้านล่างของกองขี้เลื่อย ด้านข้างของกองขี้เลื่อย,ด้าน ของกองขี้เลื่อย ขี้เถ้าถ่าน และ เศษถ่าน จำนวน 100 กรัม ใส่ขวดฝาปิด (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว)

- ตัวอย่างจากโรงงานยางพารา ได้แก่ ขี้เลื่อยบนพื้นดิน,กองขี้เลื่อยความสูง 50 เซนติเมตร, พื้นดิน ขี้เลื่อยความสูง 2 เมตร, จากพื้นดิน ยอดกองขี้เลื่อย, น้ำในหม้ออบไม้, น้ำทิ้งตามทางเดิน, น้ำทิ้งหลัง อบน้ำยา กันปลวก, น้ำในท่อพักบำบัด, ขี้เถ้าปนดิน บริเวณหม้ออบไม้และขี้เถ้าบริเวณหม้ออบไม้ จำนวน กรัม ใส่ขวดที่ฝาปิด (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว) สำหรับของแข็ง ส่วนของเหลวเก็บ จำนวน 100 มิลลิลิตร ใส่ ฝาปิด (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว)

- แกลบ จำนวน 100 กรัม ใส่ขวดฝาปิด (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว)

- เก็บตัวอย่างมูลสัตว์ ได้แก่ มูลวัว มูลม้า มูลแพะ และมูลไก่ จำนวน 100 กรัม ใส่ขวดฝาปิด ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว)

1.2 การเก็บตัวอย่างตัวอย่างน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ในนิ อุตสาหกรรมบาเจาะ จังหวัดนราธิวาส เก็บตัวอย่างน้ำทิ้งจากท่อน้ำทิ้งของเครื่อง ดีแคนเตอร์ จำนวน 5 ลิตร ขวดฝาปิด (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว) เก็บที่อุณหภูมิต่ำ จนกว่าจะใช้

2. การคัดเลือกเชื้อราทนร้อน

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Broth (PDB) ปริมาณ 9 มิลลิลิตร แล้วใส่ตัวอย่าง เป็นของเหลวใช้ปิเปตดูดมา 1 มิลลิลิตร และตัวอย่างที่เป็นของแข็งนำมาชั่ง 1 กรัม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 45 อง เซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน และนำเชื้อดังกล่าวมาเลี้ยงในอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) และสังเกตเส้นใ ทุกวัน

3. การแยกเชื้อราทนร้อน

นำเชื้อราที่ทำการคัดเลือกได้จากข้อ 2 มาศึกษาลักษณะโครงสร้างของเชื้อราโดยการใช้เทคนิค slide culture

4. ศึกษาสมบัติบางประการของเชื้อราทนร้อนที่คัดเลือกได้ จากมูลสัตว์ชนิดต่างๆ และวัสดุเศษเหลือ ทางการเกษตรจากแหล่งต่างๆ

4.1 ทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและ ไซนาเนส เชิงคุณภาพ

4.1.1. ทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเชิงคุณภาพ ดัดแปล จากวิธีกรรณิการ์ (2545)

นำเชื้อราทนร้อนที่บริสุทธิ์มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน นำหัวของ Dopper ขนาดเส้นผ่าศูนกลาง 2 มิลลิเมตร ที่ปราศจากเชื้อเจาะตรงปลายเส้นใย นำมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Carboxymethyl Cellulose Agar (CMC Agar) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-5 วัน โดยให้โคโลนีมีเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 40 มิลลิเมตร จึงนำมาทดสอบด้วย congo red test โดยการเทร้อยละ 0.1 congo red ให้ท่วมอาหารทิ้งไว้ 10-15 นาที จึงเทสารละลาย congo red ออก จากนั้นล้างทับด้วย 1 M NaCl นาน 10 นาที เทสารละลายส่วนเกินทิ้ง จะเห็นวงใสที่เกิดจากการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส ตรวจผลความสามารถในการผลิตของเอนไซม์เซลลูเลส และวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของวงใสแล้วบันทึกข้อมูล

สำหรับเกณฑ์การแบ่งระดับความสามารถในการผลิตของเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อราสามารถแบ่งได้ดังนี้

Significant : ขนาดของวงใส (Clear zone) มากกว่าหรือเท่ากับโคโลนี

Moderate : ขนาดของวงใส (Clear zone) น้อยกว่าหรือขนาดของวงจาง (Pale zone) มากกว่าโคโลนี

Negligible : ขนาดของวงจาง (Pale zone) น้อยกว่าหรือเท่ากับโคโลนี

4.1.2 ทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไซนาเนสเชิงคุณภาพ ดัดแปลงจากวิธีของ ศรณีการ์ (2545)

นำเชื้อราที่บริสุทธิ์มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน นำหัวของ Dopper ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร ที่ปราศจากเชื้อ เจาะตรงปลายเส้นใย นำมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไซลาเนส และบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เป็นตัวควบคุม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1-5 วัน หลังจากนั้น นำเชื้อราที่ผ่านการเพาะเลี้ยง มา Flood plate ด้วย congo red 0.1 % เป็นเวลา 30 นาที และล้าง plate ด้วยน้ำกลั่น 1 ครั้ง เป็นเวลาประมาณ 1 วินาที ทำการ Flood plate อีก 2 ครั้ง ด้วย 1 M NaCl เป็นเวลา 10 นาที ตรวจสอบวงใส (clear zone) ที่เกิดรอบ ๆ โคโลนีของจุลินทรีย์บนพื้น background สีแดงหรือสีม่วงอ่อนบนตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อและวัดขนาดของวงใส (clear zone) และวงจาง (pale zone) เทียบกับขนาดโคโลนีจุลินทรีย์

สำหรับเกณฑ์การแบ่งระดับความสามารถการผลิตเอนไซม์ไซลาเนส ใช้เกณฑ์แบบเดียวกับความสามารถในการผลิตของเอนไซม์เซลลูเลส (ข้อ 4.1.1.)

4.2 สัณฐานวิทยา

นำรายละเอียดทั้งหมดที่ได้จากการศึกษาจากข้อ 3 โดยการศึกษาลักษณะทางสัณฐาน ได้แก่ รูปร่างของเชื้อราจุลินทรีย์ การจัดเรียงตัวของเซลล์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แล้วไปเปรียบเทียบกับหนังสือด้านอนุกรมวิธานเพื่อจำแนกชนิดของเชื้อรา

4.3 การทดสอบคุณสมบัติทนร้อนของเชื้อราสายพันธุ์ต่างๆ

ใช้เชื้อที่กำลังเจริญบนอาหาร PDA อายุ 5 วัน โดยตัดบริเวณขอบโคโลนีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ในจานเพาะเชื้อที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ (PDA) บ่มที่อุณหภูมิห้อง (30±2 องศาเซลเซียส, ชุดควบคุม) และที่อุณหภูมิ 45, 50, 55 และ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน สังเกตการเจริญของเชื้อ โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี และคัดเลือกจุลินทรีย์ทนร้อนที่เจริญได้อย่างรวดเร็ว เพื่อศึกษาต่อไป

5. ศึกษาประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มของเชื้อราทนร้อนที่คัดเลือกได้

5.1 คุณลักษณะของน้ำทิ้งน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

นำน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มมาบันทึกสี วัด pH วิเคราะห์ค่าบีโอดี และซีโอดี ตามวิธีของ APHA, AWWA และ WPCF (1998)

5.2 ทดสอบประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มของเชื้อราทนร้อนที่คัดเลือกได้

เก็บตัวอย่างน้ำทิ้งโรงงานปาล์ม มาทดสอบการบำบัดน้ำด้วยเชื้อราทนร้อนที่คัดเลือกได้ (จากข้อ 3 และ 4) โดยนำสปอร์ตัวอย่างเชื้อราเริ่มต้นเจือจางด้วยสารละลาย Tween 80 เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อแล้วหยดตัวอย่างบนฮีมาไซโตมิเตอร์ แล้วนับจำนวนสปอร์จากกล้องกำลังขยาย 10 เท่า ปรับความเข้มข้นของสปอร์ให้ได้ 2.4×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร โดยใช้ปริมาณร้อยละ 10 ลงใน ฟลาสก์ที่บรรจุ น้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม (หลังการฆ่าเชื้อท 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร วางฟลาสก์บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิที่เหมาะสม (จากข้อ4.3) เป็นเวลา 5 วัน แล้วนำมาบันทึกสี วัด pH วิเคราะห์ค่าบีโอดี และซีโอดี

ผลและวิจารณ์

1. แยกเชื้อราทนร้อนจากมูลสัตว์และวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

จากการเก็บตัวอย่างเพื่อแยกเชื้อราทนร้อนจากมูลสัตว์และวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ได้แก่ แกลบ ขี้เถ้าถ่าน ขี้เลื่อย และไม้ผุ ในบริเวณหมู่ที่ 8 ตำบล บุดี อำเภอเมือง จังหวัดยะลา ส่วนมูลวัว มูลม้า มูลแพะ และมูลไก่ เก็บตัวอย่างในเขตบริเวณ หมู่ที่ 3 ตำบลลิดล อำเภอเมือง จังหวัดยะลา โดยเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบว่าสามารถคัดแยกเชื้อราทนร้อนได้ทั้งหมด 15 ไอโซเลต โดยแยกจากแกลบและขี้เถ้าถ่านได้มากที่สุด ตัวอย่างละ 3 ไอโซเลต รองลงมาจากไม้ผุ 2 ไอโซเลต ส่วนมูลวัว มูลม้า และมูลแพะ ตัวอย่างละ 2 ไอโซเลต และจากขี้เลื่อยเพียง 1 ไอโซเลต ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 จำนวนไอโซเลตของเชื้อราทนร้อนที่คัดแยกได้จากมูลสัตว์และวัสดุเหลือทิ้งการเกษตร

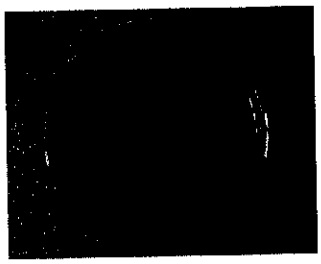
ตัวอย่าง	จำนวนไอโซเลตที่คัดแยกได้	รหัสไอโซเลต
แกลบ	3	AO1, AO2, AO3
ขี้เถ้าถ่าน	3	BO1, BO2, BO3
ขี้เลื่อย	1	CO1
ไม้ผุ	2	DO1, DO2
มูลวัว	2	AS1, AS2
มูลม้า	2	BS1, BS2
มูลแพะ	2	CS1, CS2
มูลไก่	Not found	-

2. แยกเชื้อราทนร้อนที่มีความสามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและเอนไซม์ไซลาเนส

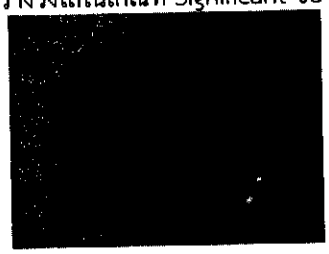
จากการนำเชื้อราทนร้อนทั้งหมดที่คัดแยกได้จำนวนทั้งหมด 15 ไอโซเลต มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC agar พบเชื้อราทนร้อนสามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC agar ได้ ยกเว้น ไอโซเลต BO1 และ AS2 เมื่อนำเชื้อราทนร้อนดังกล่าวมาทดสอบเอนไซม์เซลลูเลสด้วยวิธี Congo red test พบว่าไอโซเลต ต่าง ๆ สามารถสร้างวงใสอยู่ในเกณฑ์ทั้ง 3 ระดับ คือ ระดับ Significant 11 ไอโซเลต ได้แก่ AO1 ดังภาพที่ 1, AO3, BO2, BO3, CO1, DO1, AS1, BS1, BS2, CS1 และ CS2 ระดับ Moderate 1 ไอโซเลต ได้แก่ DO2 ดังภาพที่ 2 ส่วนระดับ Negligible 1 ไอโซเลต ได้แก่ AO2 ดังภาพที่ 3 ซึ่งเมื่อวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของวงใส พบว่า AO1, BO2, CO1, DO1, AS1, BS1, BS2 และ CS1 สามารถสร้างวงใสได้ดีที่สุดเท่ากับ 15 มิลลิเมตร รองลงมาคือ ไอโซเลต AO3 และ BO3 สามารถสร้างวงใสเท่ากับ 8 มิลลิเมตร และน้อยที่สุด คือ ไอโซเลต CS2 สามารถสร้างวงใสเท่ากับ 1 มิลลิเมตร ส่วนไอโซเลต DO2 มีวงใสน้อยกว่าขนาดของโคโลนี ส่วนไอโซเลต AO2 ไม่สามารถสร้างวงใสแต่จะสร้างวงจางน้อยกว่าขนาดของโคโลนี

ส่วนเชื้อราทนร้อนที่มีความสามารถผลิตเอนไซม์เอนไซม์ไซลาเนส พบว่า มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไซนาเนสได้ ยกเว้นไอโซเลต BO1 และ AS2 เมื่อนำเชื้อราทนร้อนดังกล่าวมาทดสอบเอนไซม์ดังกล่าว พบว่าไอโซเลตต่าง ๆ สามารถสร้างวงใสอยู่ในเกณฑ์ทั้ง 3 ระดับ คือ ระดับ Significant 11 ไอโซเลต ได้แก่ AO1, AO3, BO2, BO3, CO1, DO1, AS1, BS1, BS2, CS1 และ CS2 ระดับ Moderate 1 ไอโซเลต ได้แก่ DO2 ส่วนระดับ Negligible 1 ไอโซเลต ได้แก่ AO2 ซึ่งเมื่อวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของวงใส พบว่า AO1, BO2; CO1, DO1, AS1, BS1, BS2 และ CS1 สามารถสร้างวงใสได้ดีที่สุดเท่ากับ 30 มิลลิเมตร รองลงมาคือไอโซเลต AO3 และ BO3 สามารถสร้างวงใสเท่ากับ 16 มิลลิเมตร และน้อยที่สุด คือ ไอโซเลต CS2 สามารถสร้าง วงใสเท่ากับ 3 มิลลิเมตร ส่วนไอโซเลต DO2 มีวงใสน้อยกว่าขนาดของโคโลนี ส่วนไอโซเลต AO2 ไม่สามารถสร้างวงใสแต่จะสร้างวงจางน้อยกว่าขนาดของโคโลนี

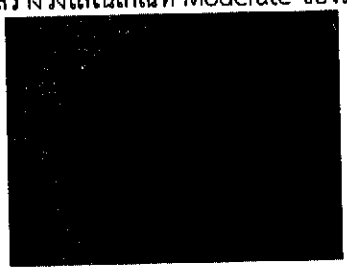
เมื่อเปรียบเทียบความสามารถผลิตเอนไซม์ทั้งสองชนิดของเชื้อราทนร้อนที่แยกได้ พบว่า เชื้อราทนร้อนดังกล่าวสามารถผลิตเอนไซม์ไซลาเนสได้ก่อนและมีปริมาณกิจกรรมสูงกว่าเอนไซม์ เซลลูเลส เนื่องจากเฮมิเซลลูโลสเป็นสารที่ย่อยได้ง่ายกว่าเซลลูโลส (Chahal, 1986 อ้างโดย จารุวรรณ มณีศรี, 2538) และไซแลนซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของเฮมิเซลลูโลสจะขัดขวางการผลิตของเอนไซม์เซลลูเลส (Gamerith, *et al*, 1992 อ้างโดยจารุวรรณ มณีศรี, 2538)



ภาพที่ 1 การสร้างวงใสในเกณฑ์ Significant ของไอโซเลต AO1



ภาพที่ 2 การสร้างวงใสในเกณฑ์ Moderate ของไอโซเลต DO2



ภาพที่ 3 การสร้างวงใสในเกณฑ์ Negligible ของไอโซเลต AO2

3. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราทนร้อนที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซลาเนส

ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราทนร้อนที่แยกได้ ซึ่งผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซลาเนสในระดับ Significant และมีลักษณะโคโลนีที่แตกต่าง ได้แก่ AO1, AO3, BS2 และ CS2 โดยศึกษาการเจริญและลักษณะโคโลนี และลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ซึ่งสามารถจัดจำแนกได้ดังนี้ ไอโซเลต AO1 เป็นเชื้อราทนร้อนสกุล *Aspergillus* sp., ไอโซเลต AO3 เป็นเชื้อราทนร้อนสกุล *Scytalidium* sp., BS2 เป็นเชื้อราทนร้อนสกุล *Acremonium* sp. และไอโซเลต CS2 เป็นเชื้อราทนร้อนสกุล *Chrysosporium* sp. ซึ่งสอดคล้องกับ

การศึกษาของ Jamal และคณะ (2005) ได้ศึกษาความสามารถในการเจริญของเชื้อในน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำ
ปาล์ม พบว่าเชื้อ *Aspergillus* sp. มีความสามารถในการเจริญของเชื้อในน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม และ
สามารถผลิตกรดซิตริก 0.28 กรัมต่อลิตร ตลอดจนสามารถลดค่า COD ได้ร้อยละ 72 หลังจากการเลี้ยง 2-4

4. การทดสอบคุณสมบัติของเชื้อราทนร้อนที่แยกได้ในช่วงอุณหภูมิต่างๆ

จากการเลี้ยงเชื้อราทนร้อนที่แยกได้ ได้แก่ AO1, BO2, CO1, DO1, AS1, BS1,BS2 และ CS1 อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 องศาเซลเซียส,ชุดควบคุม) 45, 50, 55 และ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีทุกวัน มีคุณสมบัติทนร้อนและเชื้อเจริญได้ดีที่สุดทุกพันธุ์ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ส่วนที่อุณหภูมิ 55 และ 60 องศาเซลเซียส ไม่มีเชื้อใดเจริญ สิ่งสอดคล้อง Aragno (1992) อ้างโดย ศิริพร หมาดล้า, (2544) ได้กล่าวว่า จุลินทรีย์ทนร้อน หรือ จุลินทรีย์ทนร้อนอุณหภูมิสูง หมายถึง จุลินทรีย์ที่มีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญที่อุณหภูมิไม่เกิน 45 องศาเซลเซียส และยังสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 45 องศาเซลเซียส ส่วน Crisan (1973) อ้างโดย มานะ กาญมณีเสถียร, (2537) ได้ความหมายของเชื้อราทนร้อน หมายถึง เชื้อราในกลุ่มที่สามารถเจริญได้ในแหล่งที่อุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาหรือ 55 องศาเซลเซียส

5. ศึกษาประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มของเชื้อราทนร้อนที่คัดเลือกไว้

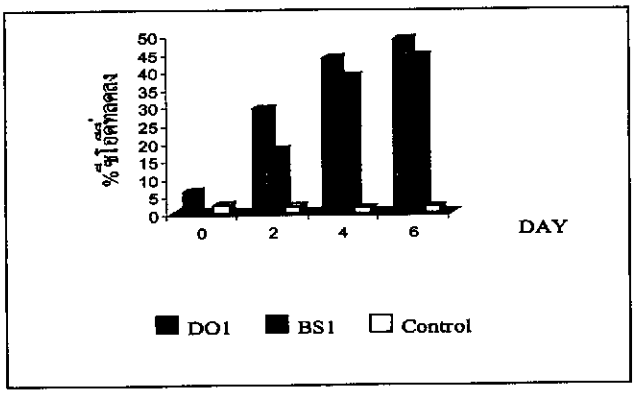
5.1 ศึกษาคุณสมบัติของน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันปาล์ม

จากการสังเกตคุณสมบัติของน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันปาล์ม อ.เมือง จ.นราธิวาส พบว่าคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันปาล์มที่นำมาวิเคราะห์มีสีเทาดำ มีความข้นหนืด กลิ่นเหม็นจัด และมีชั้นไขมันบางๆ ลอยอยู่บริเวณผิวหน้าของน้ำทิ้ง เมื่อนำมาวัดค่าพีเอช ได้เท่ากับ 4.52-52 วัดอุณหภูมิได้เท่ากับ 28 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ค่าบีโอดีมีค่าเท่ากับ 14,350 มิลลิกรัมต่อลิตร และวิเคราะห์ค่าซีโอดีเท่ากับ 42,336 มิลลิกรัมต่อลิตร

5.2 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราทนร้อนที่คัดเลือกไว้ ในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันปาล์ม

จากการสังเกตคุณสมบัติของน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันปาล์ม อ.เมือง จ.นราธิวาส พบว่าคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันปาล์มที่นำมาวิเคราะห์มีสีเทาดำ มีความข้นหนืด กลิ่นเหม็นจัด และมีชั้นไขมันบางๆ ลอยอยู่บริเวณผิวหน้าของน้ำทิ้ง เมื่อนำมาวัดค่าพีเอช ได้เท่ากับ 4.52 ซึ่งใกล้เคียงกับค่าพีเอชของน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์ของโรงงานตรังน้ำมันปาล์ม จำกัด ศึกษาโดย หัสลินดา บินมะแอ (2548) วิเคราะห์ค่าบีโอดีมีค่าเท่ากับ 14,350 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งแตกต่างกับค่าบีโอดี 71,950 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ศึกษาโดย หัสลินดา บินมะแอ (2548) และวิเคราะห์ค่าซีโอดีมีค่าเท่ากับ 42,336 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งจะมีค่าแตกต่างกับซีโอดี 50,850 มิลลิกรัมต่อลิตร ในน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์ของโรงงานตรังน้ำมันปาล์ม จำกัด ที่ศึกษาโดย หัสลินดา บินมะแอ (2548) ส่วนค่าบีโอดีและซีโอดีที่มีค่าแตกต่างกันในแต่ละโรงงาน เนื่องจากปริมาณสารอินทรีย์ของน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันปาล์มย่อมแตกต่างกันในเรื่องคุณภาพของวัตถุดิบกระบวนการผลิตช่วงเวลาในการเก็บตัวอย่างน้ำทิ้ง ฉะนั้นเมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารอินทรีย์โดยวัด ค่าซีโอดีและบีโอดีจึงมีค่าแตกต่างกัน และศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราทนร้อนที่คัดเลือกไว้ ในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันปาล์ม พบว่าเชื้อรา DO1 และ เชื้อรา BS1 วัดพีเอชระหว่างการทดสอบการบำบัดน้ำทิ้งจะอยู่ในช่วง 4.92- 5.31 จะเห็นได้ว่า พีเอชของน้ำทิ้งจะเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเจริญของเส้นใย เนื่องจากเชื้อมีการใช้สารอินทรีย์กรดอินทรีย์ต่างๆ เช่น กรดอะมิโน ไขมัน กรดระเหยได้ จำพวกกรดอะซิติก กรดโปริโอนิก กรดบิวทิริก และ isopropyl alcohol เป็นต้น สารประกอบที่อยู่ในน้ำทิ้ง และทำให้น้ำทิ้งมีความเป็นกรด (พูนสุข ประเสริฐสรรพ์ และคณะ, 2533) วัดอุณหภูมิจากการทดสอบการบำบัดน้ำทิ้ง เชื้อรา DO1 และเชื้อ BS1 มีอุณหภูมิอยู่ในช่วง 28.5 – 31 องศาเซลเซียส เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าบีโอดี พบว่าเชื้อรา DO1 มีประสิทธิภาพในการบำบัด น้ำเสียสูงกว่าเชื้อ BS1 คือ

โอดีมีค่าเท่ากับ 9,904 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือลดลง 30.98 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเชื้อ BS1 มีค่าบีโอดีเท่ากับ 10,121 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือลดลง 29.46 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าซีโอดีจากการเจริญของเชื้อ DO1 และ BS1 พบว่าเชื้อ DO1 มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียสูงกว่าเชื้อ BS1 คือมีค่าซีโอดีเท่ากับ 21,696 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือลดลง 48.75 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเชื้อ BS1 มีค่าซีโอดีเท่ากับ 23,616 มิลลิกรัมต่อลิตรหรือลดลง 44.21 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 6 ของการเจริญ ดังภาพที่ 4 การที่สารอาหารหรือสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มต่างกันจะมีผลทำให้ความสามารถในการลดสารอินทรีย์ต่างกัน และการเจริญของจุลินทรีย์จะขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของน้ำทิ้ง และความสามารถของเชื้อแต่ละชนิด ดังนั้นการที่เชื้อมีความสามารถในการบำบัดค่าซีโอดีและบีโอดีได้สูงหรือต่ำ อาจจะเนื่องจากปริมาณสารอาหารไม่เพียงพอหรือมากเกินไป และชนิดของสารอาหารไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ ตลอดจนความสามารถของเชื้อนั้นเช่นกัน



ภาพที่ 4 เปอร์เซ็นต์ซีโอดีที่ลดลงหลังจากทดสอบการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันปาล์ม ด้วยเชื้อราทนร้อนที่คัดเลือกไว้ เป็นเวลา 6 วัน

สรุป

จากการเก็บตัวอย่างเพื่อแยกเชื้อราทนร้อนจากมูลสัตว์และวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ได้แก่ แกลบ ขี้เถ้าถ่าน ขี้เลื่อย ไม้ผุ มูลวัว มูลม้า มูลแพะ และมูลไก่ พบเชื้อราทนร้อนทั้งหมด 15 ไอโซเลต คือ AO1, AO2, AO3, BO1, BO2, BO3, CO1, DO1, DO2, AS1, AS2, BS1, BS2, CS1 และ CS2 พบเชื้อราทนร้อนที่สามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC agar ได้ ยกเว้นไอโซเลต BO1 และ AS2 เมื่อนำเชื้อราทนร้อนดังกล่าวมาทดสอบเอนไซม์เซลลูเลสและเอนไซม์ไซนาเนสวิธี Congo red test พบว่า ไอโซเลตต่าง ๆ สามารถสร้างวงใสอยู่ในเกณฑ์ทั้ง 3 ระดับ คือ ระดับ Significant 11 ไอโซเลต ได้แก่ AO1, AO3, BO2, BO3, CO1, DO1, AS1, BS1, BS2, CS1 และ CS2 ระดับ Moderate 1 ไอโซเลต ได้แก่ DO2 ส่วนระดับ Negligible 1 ไอโซเลต ได้แก่ AO2 เมื่อศึกษาลักษณะทาง สัณฐานวิทยาของ เชื้อราทนร้อนที่แยกได้ พบว่ามีลักษณะโคโลนีที่แตกต่าง พบว่าไอโซเลต AO1, BO2, CO1, DO1, AS1 และ BS1 เป็นเชื้อราทนร้อนสกุล *Aspergillus* sp. ไอโซเลต AO3, BO3 และ CS1 เป็นเชื้อราทนร้อนสกุล *Scytalidium* sp. ส่วน BS2 เป็นเชื้อราทนร้อนสกุล *Oedocephalum* sp. และไอโซเลต CS2 เป็นเชื้อราทนร้อนสกุล *Chrysosporium* sp. เมื่อศึกษาคุณสมบัติของเชื้อราทนร้อนที่แยกได้ในช่วงอุณหภูมิต่างๆ พบว่ามีคุณสมบัติทนร้อนและเชื้อเจริญได้ดีที่สุดทุกสายพันธุ์ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ส่วนที่อุณหภูมิ 55 และ 60 องศาเซลเซียส ไม่มีเชื้อใดเจริญ และ จากการศึกษาประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันปาล์ม พบว่าเชื้อรา DO1 และ เชื้อรา BS1 วัดพีเอช ระหว่างการทดสอบการบำบัดน้ำทิ้งจะอยู่ในช่วง 4.92- 5.31 วัดอุณหภูมิจากการทดสอบการบำบัดน้ำทิ้งเชื้อรา DO1 และเชื้อ BS1 มีอุณหภูมิอยู่ในช่วง 28.5 – 31 องศาเซลเซียส ซึ่งเมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าบีโอดี พบว่าเชื้อรา DO1 มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียสูงกว่าเชื้อ BS1

คือมีค่าบีโอดีมีค่าลดลง 30.98 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเชื้อ BS1 มีค่าบีโอดีลดลง 29,46 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าซีโอดีจากการเจริญของเชื้อ DO1 และ BS1 พบว่าเชื้อ DO1 มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียสูงกว่าเชื้อ BS1 คือมีค่าซีโอดีลดลง 48.75 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเชื้อ BS1 มีค่าซีโอดีลดลง 44.21 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 6 ของการเจริญ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ในนิคมอุตสาหกรรมบาเจาะ จังหวัดนราธิวาส และสถาบันวิจัยและพัฒนาชายแดนภาคใต้ มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา ที่ได้ให้โอกาสรับทุนวิจัยในโครงการวิจัย ระดับมหาวิทยาลัย งบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2555

เอกสารอ้างอิง

กรรณิการ์ คำเกตุ. (2545). *การคัดแยกเชื้อราที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสในตัวอย่างดินที่เก็บได้จาก บริเวณน้ำตกโตนงาช้าง จังหวัดสงขลา*. ปัญหาทางชีววิทยา. มหาวิทยาลัยทักษิณ. สงขลา

จารุวรรณ มณีศรี. (2538). *การผลิตและการประยุกต์ใช้เอนไซม์ไซลาเนสและเซลลูเลสจากกากปาล์มและกาก สลัดจ์โดยเชื้อ Aspergillus niger ATCC 6275*. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลา นครินทร์. สงขลา

พูนสุข ประเสริฐสรรพ์, เสาวลักษณ์ จิตรบรรเจิดกุล และอรัญ หันพงศ์กิตติกุล. (2533). กระบวนการ ประโยชน์วัสดุเหลือทิ้งและคุณสมบัติของน้ำเสียของโรงงานน้ำมันปาล์ม. *วารสารสงขลานครินทร์* (2) : 169 – 176.

มานะ กาญจนมณีเสถียร. 2531. *ราที่เจริญในอุณหภูมิสูงและราทนร้อนจากดิน มูลสัตว์ และเศษเหลือจาก การจากการเกษตร : การจำแนก และประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์*. สาขาโรคพืช. มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร

ศิริพร หมาดล้า. 2544. *การคัดเลือกแบคทีเรียทนอุณหภูมิสูงที่ผลิตพอลิเมอร์การจำแนกชนิดและ คุณสมบัติของพอลิเมอร์*. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา

โสภา จันทภาโส. (2542). *ปัจจัยที่มีผลต่อการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันจากน้ำทิ้งโรงงานน้ำมันปาล์มโดย ใช้เอนไซม์และการลดความเข้มของสี*. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต.. สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2555). *สถานการณ์ปาล์มน้ำมัน ปี 2555*. วารสาร การพยากรณ์ผลผลิตการเกษตร ปีเพาะปลูก 2555/56, 8

หัสลินดา บินมะแอ. (2547). *การบำบัดน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มด้วยเชื้อราทนร้อนที่ผลิตพอลิเมอร์* วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลา นครินทร์. สงขลา

อรัญ หันพงศ์กิตติกูล, พูนสุข ประเสริฐสรรพ์, กัลยา ศรีสุวรรณ, เสาวลักษณ์ จิตรบรรเจิดกุล และ วีระศักดิ์ ทองจิ (2537). *การศึกษาวิธีการแยกน้ำมันในน้ำทิ้งของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม : เอกสารประกอบการประชุม สัมมนา การลดการสูญเสียน้ำมันในอุตสาหกรรมน้ำมันปาล์ม*. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 7 เมษายน 2537 ณ โรงแรมสยามธานีสุราษฎร์ธานี.

Alam, Z. M, Muhammad, N. and Mahmat,. E M. (2005). Production of Cellulase from oil Palm Biomass as Substrate by Solid State Bioconversion. American J. AppliedSci.

569-572.

APHA, AWWA and WPCF. (1998). Standard Methods for the Examination off Water and Wastewater. 18th ed. N.Y: American Public Health Association.

Foo, Y. K., Hameed, H. B. (2010). Insight into the applications of palm oil mill effluent: A renewable utilization of the industrial agricultural waste. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 14(5), 1445-1452.

Jamal, P, Alam, Z. M, Ramlan, M, Salleh. M, amd Nadzir, M. M. (2005). Screening of Aspergillus for citric acid produng from palm oil mill effluent. Biotechnology, 4(4), 275-278.

Jamal, P., Idris, M. Z. and Alam Z. M. (2011). Effects of physicochemical parameters on the production of phenolic acidsfrom palm oil mill effluent under liquid-state fermentation by Aspergillus niger. Food Chemistry, 124, 1595–1602.

Prasertsan, P., Kittikul, A.H, Kungnae, A., Maneesri J. and Oi, S. (1997). Optimization for xylanase and cellulase producion from *spergillus niger* ATCC 6275 in palm oil mill waste and ts application. World J. Microbiol. Biotcchnol. 13 :555-559.

Prasertsan, S. and Prasertsan, P. (1996). Biomass residues from plam oil mills in Thailad : an overview on quantity and potential usage. Biomass and Bioenergy 1 (5), 387-395