รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการย่อยกากขี้แป้ง

โดย ซูไฮมิน เจ๊ะมะลี และคณะ

สิงหาคม 2556

สัญญาเลขที่ RDG5550071

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการย่อยกากขี้แป้ง

คณะผู้วิจัย	สังกัด
1. นายซูไฮมิน เจ๊ะมะลี	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีฯ มหาวิทยาลัยอิสลามยะลา
2. นางสาวสะเราะ นิยมเดชา	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีฯ มหาวิทยาลัยอิสลามยะลา
3. นายดุลลาเต๊ะ อาแวกะจิ	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีฯ มหาวิทยาลัยอิสลามยะลา
3. นางสาวรอกีเยาะ อาแซ	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีฯ มหาวิทยาลัยอิสลามยะลา

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)
และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย วช. – สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

สัญญาเลขที่ RDG5550071

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการย่อยกากขี้แป้ง

คณะผู้วิจัย	สังกัด
นายซูไฮมิน เจ๊ะมะลี	สาขาวิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีฯ มหาวิทยาลัยอิสลามยะลา อ.ยะรัง จ.ปัตตานี 94160
นางสาวสะเราะ นิยมเดชา	สาขาวิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีฯ มหาวิทยาลัยอิสลามยะลา อ.ยะรัง จ.ปัตตานี 94160
นายดุลลาเต๊ะ อาแวกะจิ	สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีฯ มหาวิทยาลัยอิสลามยะลา อ.ยะรัง จ.ปัตตานี 94160

นางสาวรอกีเยาะ อาแซ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีฯ มหาวิทยาลัยอิสลามยะลา อ.ยะรัง จ.ปัตตานี 94160

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)
และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการย่อยกากขี้แป้ง

(ภาษาอังกฤษ) Isolation of Effective Microorganisms to Degrade Sludge

ชื่อหัวหน้าโครงการ หน่วยงานสังกัด และที่อยู่

ชื่อ-สกุล ซูไฮมิน เจ๊ะมะลี

หน่วยงาน สาขาวิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีฯ มหาวิทยาลัยอิสลามยะลา

ที่อยู่ 135/8 ม. 3 ต.เขาตูม อ. ยะรัง จ.ปัตตานี 94160

โทรศัพท์/โทรสาร 073-418609 **E-mail address** s4545305@hotmail.com

ผู้ร่วมวิจัย 1. นางสาวสะเราะ นิยมเดชา

2. นายดุลลาเต๊ะ อาแวกะจิ

3. นางสาวรอกีเยาะ อาแซ

งบประมาณทั้งโครงการ 140,000 บาท

ระยะเวลาดำเนินการ ตั้งแต่วันที่ 1 สิงหาคม 2555 – ถึงวันที่ 31 กรกฎาคม 2556

ปัญหาและความสำคัญของโครงการ

ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกยางมากถึง 14.3 ล้านไร่ (สำนักงานกองทุนสงเคราะห์การทำสวนยาง, 2550) จึงทำให้มีโรงงานอุตสาหกรรมยางพาราเป็นจำนวนมาก ซึ่งกระบวนการผลิตและส่งออกจะนิยมทำในรูปของ

น้ำยางข้น หรือยางแผ่น โดยกระบวนการผลิตน้ำยางข้นส่วนใหญ่จะนิยมใช้การปั่นเหวี่ยงซึ่งจะก่อให้เกิดของเสียที่เรียกว่า กากขี้แป้ง ที่เกิดจากส่วนของการตกตะกอนในถังพักน้ำยางสดและกระบวนการปั่นน้ำยางสดในอุตสาหกรรมผลิตน้ำยางข้น (วันชัย, 2540) ลักษณะของกากขี้แป้ง เป็นของแข็ง สีขาวหรือสีเหลืองอ่อน เนื่องจากมีแมกนีเซียมและฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบที่สำคัญ (สมทิพย์ และคณะ, 2545) ในทางเคมี เรียกว่า ตะกอนของแมกนีเซียม แอมโมเนียมฟอสเฟต ซึ่งเกิดจากการเติมไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต และสังกะสีออกไซด์ (Sathyaseelan, 2006) เพื่อปรับปรุงคุณภาพน้ำยางที่มีอยู่เดิม โดยอัตราการเกิดกากขี้แป้งต่อน้ำยางสด พบว่า น้ำยางสด 1 ตัน ทำให้เกิดกากขี้แป้งเฉลี่ย 9.7 กิโลกรัม (วราศรี, 2543) นอกจากนี้กากขี้แป้งยังประกอบด้วย สิ่งเจือปนต่างๆ เช่น ฝุ่น ทรายเปลือกไม้ มีนักวิจัยหลายท่านที่ศึกษาเกี่ยวกับสมบัติของกากขี้แป้งและพบว่า กากขี้แป้ง สามารถที่จะนำไปใช้ในการปลูกพืชได้ เนื่องจากมีธาตุอาหาร ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แมกนีเซียม และสังกะสีอยู่ในช่วง 3.40-3.71, 11.32-15.79, 0.64-1.56, 5.44-14.34 และ 0.16-0.51 ร้อยละโดยน้ำหนักแห้งตามลำดับ (สะเราะ, 2552) โดยปริมาณสังกะสีเมื่อนำไปปลูกพืชและวิเคราะห์แล้วพบว่า อยู่ในช่วงที่ยอมรับให้มีได้ในดินเพื่อการเกษตร คือไม่เกิน 280-300 mg/kg (วลัยพร, 2547) กากขี้แป้งที่เกิดขึ้นเป็นของเสียที่มีความชื้นสูง และมีค่าสัดส่วนของ BOD ต่อ COD ของของเหลวที่สกัดได้มากกว่า 0.5 ดังนั้น กากขี้แป้งเมื่อละลายน้ำมีสมบัติที่สามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้ (ธนธรณ์, 2546) ในปัจจุบันจึงมีการนำกากขี้แป้งไปประยุกต์ใช้ในการทำปุ๋ย วัสดุปลูก หรือวัสดุปรับปรุงดิน หรืออาจมีการนำไปหมักเป็นปุ๋ยเหลว หรือปุ๋ยหมัก ซึ่งการใช้จุลินทรีย์เพื่อช่วยย่อยสลายกากขี้แป้งจะทำให้มีการปลดปล่อยธาตุอาหารจากแหล่งธาตุอาหารให้กับพืชได้รวดเร็วยิ่งขึ้น นอกจากนี้ยังทำให้การเจริญของพืชและสมบัติของดินดีขึ้นเมื่อเติมสารอินทรีย์ที่เป็นปุ๋ยชีวภาพ (Soumaré *et al.*, 2002) การเติมจุลินทรีย์ลงไปไม่เพียงแต่เพิ่มการดูดซึมธาตุอาหารของพืชเท่านั้นแต่ยังปรับปรุงคุณภาพของดินด้วย เช่น ปริมาณอินทรียวัตถุและปริมาณไนโตรเจนในดิน เชื้อราไมคอร์ไรซา มีอัตราการเข้าสู่รากเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเติมแบคทีเรียลงไป (Wu *et al.* 2005) โดยปัจจุบันจะมีการเติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่มีขายตามท้องตลาด เช่น การเติมหัวเชื้อ EM ซึ่งสามารถย่อยสลายกากขี้แป้งได้ในระบบหมักแบบใช้อากาศ แต่หัวเชื้อจุลินทรีย์ทางการค้านั้น (สะเราะ, 2552) จะประกอบด้วยจุลินทรีย์หลายกลุ่มโดยบางชนิดอาจจะไม่มีส่วนช่วยในการย่อยกากขี้แป้งเลย ดังนั้นหากสามารถคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถย่อยกากขี้แป้งได้อย่างรวดเร็วก็สามารถนำกากขี้แป้งไปใช้ประโยชน์ได้ดียิ่งขึ้น งานวิจัยชิ้นนี้จึงเป็นการคัดแยกเพื่อหาจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูง ย่อยกากขี้แป้งได้ดีและรวดเร็วเพื่อนำกากขี้แป้งไปใช้ประโยชน์ต่อไป เช่น ใช้ในการทำปุ๋ย ใช้ในการหมักเพื่อผลิตแก๊สชีวภาพ เป็นต้น

วัตถุประสงค์

1. เพื่อคัดเลือกและแยกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายกากขี้แป้ง
2. เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายกากขี้แป้ง
3. เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยกากขี้แป้งของจุลินทรีย์ที่แยกได้กับหัวเชื้อทางการค้า

ผลการดำเนินงาน

เก็บตัวอย่างกากขี้แป้งที่กองทับถมรอบๆ โรงงานอุตสาหกรรมน้ำยางข้นทั้ง 3 แหล่ง ได้แก่ เก็บในกระสอบเป็นเวลาประมาณ 1 สัปดาห์ 1 เดือน และ 3 เดือน คัดเลือกและแยกจุลินทรีย์โดยการผสมกากขี้แป้งในอาหาร NA ความเข้มข้นต่างๆ คือร้อยละ 10 20 30 40 และ 50 พบว่า ไม่พบเชื้อจุลินทรีย์บนอาหารที่ผสมกากขี้แป้งที่เก็บเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ในทุกความเข้มข้น แต่พบจุลินทรีย์บนอาหารที่ผสมกากขี้แป้งความเข้มข้นร้อยละ 10 ที่เก็บเป็นเวลา 1 เดือน ในขณะที่กากขี้แป้งที่เก็บไว้เป็นเวลา 3 เดือน พบจุลินทรีย์เมื่อผสมในการอาหารที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 10 และ 20 อย่างไรก็ตาม จุลินทรีย์ที่พบมีน้อย สังเกตและแยกความแตกต่างได้ยาก เนื่องจากตะกอนกากขี้แป้งมีสีที่กลมกลืนกับเชื้อ จึงได้แยกเชื้อเพิ่มเติมด้วยวิธีการ pour plate จากการละลายกากขี้แป้งด้วยสารละลายเปปโตนเข้มข้นร้อยละ 0.5 และทำการเจือจางระดับต่างๆ พบว่า สารละลายกากขี้แป้งที่เจือจาง 10^{-2} สามารถตรวจนับจุลินทรีย์และแยกจุลินทรีย์ที่มีความแตกต่างได้

คัดแยกจุลินทรีย์ที่มีความแตกต่างของลักษณะโคโลนีเพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์โดยสังเกตภายใต้กล้องสเตอริโอ พบว่า จุลินทรีย์ในกากขี้แป้งมีทั้งจุลินทรีย์ที่ใช้อากาศและไม่ใช้อากาศ โดยสามารถแยกความแตกต่างของจุลินทรีย์ที่ใช้อากาศได้ 6 ไอโซเลท และไม่ใช้อากาศได้ 2 ไอโซเลท และนำจุลินทรีย์ที่ใช้อากาศมา streak plate บนอาหาร NA 2-3 รอบ เพื่อให้แน่ใจว่าได้เชื้อที่บริสุทธิ์ จากนั้นทำการย้อมสีแบบแกรม (Gram's staining) และสังเกตภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบลักษณะเซลล์จุลินทรีย์ชนิดแบคทีเรียติดสีแกรมบวกทุกไอโซเลทยกเว้นไอโซเลทที่ 2 เป็นเชื้อรา

นำเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์จากแต่ละไอโซเลทมาทดสอบประสิทธิภาพการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อคัดเลือกเชื้อที่เจริญได้ดีบนอาหาร NA ที่ผสมกากขี้แป้งเข้มข้นร้อยละ 15 พบว่า เชื้อแต่ละชนิดสามารถเจริญได้บนอาหาร NA ที่มีกากขี้แป้งแตกต่างกัน คือ เชื้อไอโซเลทที่ 4 เจริญได้ดีที่สุดโดยให้เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยสูงสุด 2.13 เซนติเมตร แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ รองลงมาคือ เชื้อไอโซเลทที่ 1 ให้เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 1.58 เซนติเมตร ในขณะที่เชื้อไอโซเลทที่ 2 3 5 และ 6 ให้เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีไม่แตกต่างทางสถิติ

ทดสอบความเข้มข้นที่เหมาะสมของกากขี้แป้งต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยเลือกศึกษาเฉพาะเชื้อไอโซเลทที่ 4 ซึ่งเป็นเชื้อที่เจริญได้ดีที่สุด มาเลี้ยงบนอาหาร NA ที่ผสมกากขี้แป้งเข้มข้นร้อยละ 10 20 30 40 และ 50 พบว่า ความเข้มข้นกากขี้แป้งเพิ่มขึ้น ส่งผลให้การขยายขนาดโคโลนีน้อยลง และเมื่อบ่มเป็นระยะเวลานานขึ้น กากขี้แป้งที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 และ 20 ให้การขยายขนาดโคโลนีมากไม่แตกต่างทางสถิติ เมื่อบ่มที่ระยะเวลา 48 และ 96 ชั่วโมง ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้นกากขี้แป้งที่ร้อยละ 20 เพื่อทดสอบประสิทธิภาพการย่อยโดยกลุ่มเชื้อต่อไป

ทดสอบประสิทธิภาพการย่อยกากขี้แป้งของกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์เปรียบเทียบกับจุลินทรีย์เดี่ยวๆ บนอาหารที่เติมกากขี้แป้งเข้มข้นร้อยละ 20 โดยแบ่งกลุ่มเชื้อ 2 กลุ่ม คือ เชื้อผสมไอโซเลทที่ 1 4 และ 8 และเชื้อรวมไอโซเลทที่ 1-8 เปรียบเทียบกับเชื้อเดี่ยวไอโซเลทที่ 4 พบว่า เชื้อไอโซเลทที่ 4 ให้เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยสูงที่สุด 3.3 เซนติเมตร รองลงมาคือ เชื้อผสมไอโซเลทที่ 1 4 และ 8 ให้เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 2.98 เซนติเมตร ไม่แตกต่างทางสถิติ เมื่อบ่มที่ระยะเวลา 96 ชั่วโมง

ทดสอบการย่อยสลายกากขี้แป้งโดยการหมักแต่ละทรีตเมนต์ของเชื้อคือ เชื่อเดี่ยวไอโซเลทที่ 4 เชื้อผสมไอโซเลทที่ 1 4 และ 8 เชื้อกลุ่มไอโซเลทที่ 1-8 เปรียบเทียบกับหัวเชื้อทางการค้า (EM) และชุดควบคุม

(หมักด้วยน้ำ) ซึ่งแต่ละทรีตเมนท์ทำการหมัก 2 แบบ คือ หมักแบบแห้ง (dry) ใช้จุลินทรีย์ที่ขยายในกากน้ำตาลจำนวน 10^6 CFU/ml เข้มข้นร้อยละ 10 และหมักแบบเปียก (submerge) ใช้จุลินทรีย์ที่ขยายในกากน้ำตาลจำนวน 10^6 CFU/ml เข้มข้นร้อยละ 50 ทำการวิเคราะห์ pH อุณหภูมิ และจำนวนจุลินทรีย์รวมทุกๆ 5 วัน เป็นเวลา 30 วัน และวิเคราะห์ของแข็งทั้งหมด ความชื้น ของแข็งที่ระเหยได้ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ก่อนและหลังหมัก 30 วัน จากการทดลองพบว่า กากขี้แป้งที่หมักแบบ submerge โดยเชื้อไอโซเลทที่ 4 ให้ค่า pH สูงสุด 7.78 ให้ค่าอุณหภูมิสูงสุด 30.5 องศาเซลเซียส และให้จำนวนจุลินทรีย์รวมมากที่สุด 25.5×10^{12} CFU/ml รองลงมาคือ เชื้อผสมไอโซเลทที่ 1 4 และ 8 เชื้อกลุ่มไอโซเลทที่ 1-8 หัวเชื้อทางการค้า (EM) และชุดควบคุม (หมักด้วยน้ำ) ตามลำดับ หลังจากหมัก 20 วัน สำหรับสมบัติทางกายภาพ พบว่า กากขี้แป้งที่ได้จากการหมักโดยเชื้อไอโซเลทที่ 4 ให้ปริมาณของแข็งทั้งหมดมีค่าลดลงจากเดิมมากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 15.64 โดยน้ำหนัก ในขณะที่ความชื้นมีค่าเพิ่มขึ้น ส่วนปริมาณของแข็งที่ระเหยได้มีค่าเพิ่มขึ้นจากเดิมมากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 18.13 โดยน้ำหนัก แต่ปริมาณของแข็งที่คงอยู่กลับลดลงมากที่สุด นอกจากนี้ศึกษาสมบัติของการให้ธาตุอาหารพืช พบว่า ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดลดลงจากเดิมมากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 36.15 โดยน้ำหนัก ในขณะที่ฟอสฟอรัสทั้งหมดและโพแทสเซียมมีค่าเพิ่มขึ้นจากเดิมมากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 82.34 และ 46.42 ตามลำดับ รองลงมาคือ เชื้อผสมไอโซเลทที่ 1 4 และ 8 เชื้อกลุ่มไอโซเลทที่ 1-8 หัวเชื้อทางการค้า (EM) และชุดควบคุม (หมักด้วยน้ำ) ตามลำดับ

สรุปผลการวิจัย

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการคัดเลือกและแยกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายกากขี้แป้ง เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายกากขี้แป้ง และเปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยกากขี้แป้งของจุลินทรีย์ที่แยกได้กับหัวเชื้อทางการค้า จากการทดลองสามารถคัดเลือกและแยกจุลินทรีย์จากกากขี้แป้งได้โดยผสมกากขี้แป้งที่ทับถมเป็นเวลานานๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่ผสมกากขี้แป้งเข้มข้นน้อยๆ หรือแยกได้โดยผสมกากขี้แป้งในสารละลายเปปโตนเข้มข้นร้อยละ 0.5 และเจือจางที่ระดับต่างๆ จากนั้น ทำการ pour plate และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า ที่ระดับเจือจาง 10^{-2} สามารถนับจำนวนจุลินทรีย์รวมเท่ากับ 6.53×10^5 CFU/g และแยกจุลินทรีย์แต่ละชนิดโดยการ streak plate สังเกตความแตกต่างของลักษณะโคโลนีและโครงสร้างภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จุลินทรีย์ที่คัดเลือกจากกากขี้แป้งทั้ง 2 วิธีมีทั้งหมด 8 ไอโซเลท แบ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ใช้อากาศ 5 ไอโซเลท และจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้อากาศ 2 ไอโลเลท โดยจุลินทรีย์ทั้งหมดเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ยกเว้นไอโซเลทที่ 2 เป็นเชื้อรา เมื่อได้จุลินทรีย์แล้วจึงทดสอบการย่อยกากขี้แป้งในจานเพาะเลี้ยงโดยเชื้อเดี่ยวๆ พบว่า เชื้อไอโซเลทที่ 4 มีการขยายขนาดโคโลนีบนอาหาร NA ที่ผสมกากขี้แป้งร้อยละ 15 สูงกว่าเชื้อไอโซเลทอื่นๆ จากนั้นนำเชื้อไอโซเลทที่ 4 มาศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ จากการทดลองกากขี้แป้งเข้มข้นร้อยละ 10-20 ที่ผสมในอาหาร NA ส่งเสริมการขยายขนาดโคโลนีได้ดี หลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 96 ชั่วโมง และทดสอบการย่อยกากขี้แป้งโดยกลุ่มเชื้อเปรียบเทียบกับเชื้อเดี่ยวไอโซเลทที่ 4 พบว่า เชื้อเดี่ยวไอโซเลทที่ 4 ให้การขยายขนาดโคโลนีสูงกว่ากลุ่มเชื้อในชุดทดลองอื่นๆ เมื่อทดสอบการย่อยสลายกากขี้แป้งในสภาพการหมักเป็นเวลา 30 วัน ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์ย่อยกากขี้แป้งได้ดีในการหมักแบบเปียกโดยใช้จุลินทรีย์ที่ขยายในกากน้ำตาลต่อกากขี้แป้ง 1:1 โดยน้ำหนัก โดยเชื้อไอโซ-

เลทที่ 4 ย่อยสลายกากขี้แป้งได้ดีที่สุด รองลงมาคือ เชื้อรวมไอโซเลทที่ 1 4 และ 8 ไอโซเลทรวม 1-8 เชื้อทางการค้า (effective microorganism) และชุดที่หมักด้วยน้ำ ตามลำดับ สอดคล้องกับผลการทดสอบการย่อยสลายกากขี้แป้งในจานเพาะเชื้อในเบื้องต้น โดยสังเกตจากค่า pH อุณหภูมิและปริมาณจุลินทรีย์รวมที่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วอย่างเห็นได้ชัดในทุกๆ 5 วัน ปริมาณของแข็งรวม ปริมาณของแข็งที่คงอยู่และปริมาณไนโตรเจนรวมมีค่าลดลง ปริมาณความชื้น ปริมาณของแข็งที่ระเหยได้ ปริมาณฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมมีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งค่าเริ่มต้นและค่าที่ได้หลังการหมัก 30 วัน มีการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน และเมื่อนำเชื้อไอโซเลทที่ 4 ไปตรวจวิเคราะห์ปรากฏว่าเป็นเชื้อชนิด *Bacillus cereus* หรือ *B. thuringiensis*

ข้อเสนอแนะที่คาดว่าควรวิจัยเพิ่มเติมและวิธีการที่ควรพัฒนาต่อยอดสู่ภาคปฏิบัติจริง

การวิจัยนี้มุ่งหวังในการย่อยกากขี้แป้งที่เป็นของเหลือจากโรงงานอุตสาหกรรมน้ำยางข้นโดยการใช้จุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ กากขี้แป้งที่ผ่านการย่อยสลายและทำให้แห้ง สามารถนำมาใช้เป็นปุ๋ยได้ หากบริษัทนำกลับมาใช้ประโยชน์ อาจจำหน่ายเชิงการค้าได้ เพิ่มมูลค่าของเสียจากอุตสาหรรมน้ำยางข้น ลดปัญหามลพิษต่อสิ่งแวดล้อมได้

กากขี้แป้งที่หมักร่วมกับจุลินทรีย์ชนิด *B. cereus* เพียงชนิดเดียวมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสูงกว่ากลุ่มเชื้อในชุดทดลองอื่นๆ ซึ่งใช้กากขี้แป้งผสมที่ทับถมมาแล้ว 1 สัปดาห์ 1 เดือน 3 เดือน คลุกเคล้ากัน ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ ดังนั้นควรมีการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมเกี่ยวกับการนำกากขี้แป้งสดมาหมักร่วมกับจุลินทรีย์ เพื่อศึกษาผลของกากขี้แป้งสดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อและระยะเวลาที่เหมาะสม ซึ่งในทางปฏิบัติจริง ถ้าสามารถนำกากขี้แป้งสดจากโรงงานมาหมักโดยจุลินทรีย์ได้ทันทีก็สามารถลดต้นทุนในการนึ่งฆ่าเชื้อกากขี้แป้งได้ ลดอิทธิพลของเชื้ออื่นๆ ที่มีผลต่อการเจริญของ *B. cereus* และลดปัญหามลพิษทางสิ่งแวดล้อมได้

ศึกษาวิจัยเพิ่มเติมเกี่ยวกับการขยายปริมาณจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพด้วยต้นทุนต่ำ และศึกษาวิธีการหมักกากขี้แป้งปริมาณมากที่ไม่ยุ่งยาก เพื่อให้บริษัทสามารถนำวิธีการดังกล่าวมาประยุกต์ใช้ได้

ศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับเกี่ยวกับการใช้วัสดุอื่นที่เป็นกากอินทรีย์หมักร่วมกับกากขี้แป้งและจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ ในกรณีที่กากขี้แป้งสดมีผลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ หรือในกรณีที่ต้องการร่นระยะเวลาในการย่อยสลาย หรือในกรณีที่ต้องการเพิ่มธาตุอาหารพืชให้เหมาะสมต่อการใช้ประโยชน์ต่อไป

ผลงานทางวิชาการที่คาดว่าจะเกิดขึ้น

งานวิจัยนี้กำลังนำมาเขียนผลงานวิชาการเพื่อนำเสนอในที่ประชุมวิชาการหรือตีพิมพ์ในวารสารต่อไป

รหัสโครงการ : RDG5550071

ชื่อโครงการ : การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการย่อยกากขี้แป้ง

ชื่อนักวิจัย : ซูไฮมิน เจ๊ะมะลี

สังกัด : สาขาวิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีฯ มหาวิทยาลัยอิสลามยะลา

โทรศัพท์ : 073418609

E-mail : s4545305@hotmail.com

ระยะเวลาโครงการ : 1 สิงหาคม 2555 ถึง 31 กรกฎาคม 2556

บทคัดย่อ

กากขี้แป้งเป็นของเสียจากกระบวนการผลิตน้ำยางข้น มีองค์ประกอบของธาตุอาหารพืช แต่ย่อยสลายช้าตามธรรมชาติ ดังนั้นจึงได้คัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการย่อยกากขี้แป้ง ซึ่งช่วยลดกลิ่นและสามารถนำกากขี้แป้งไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมปุ๋ย งานวิจัยนี้ได้คัดเลือกจุลินทรีย์จากกากขี้แป้งที่ทับถมเป็นเวลา 1 สัปดาห์ 1 และ 3 เดือน ผสมคลุกเคล้ากัน โดยวิธีการผสมกากขี้แป้งร้อยละ 15 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA และอีกวิธีคือ ผสมกากขี้แป้งในสารละลายเปปโตนร้อยละ 0.5 และทำการ pour plate ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ จากการทดลองพบว่า จุลินทรีย์ที่คัดเลือกจากกากขี้แป้งและทำการ streak plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA สังเกตความแตกต่างของลักษณะโคโลนีและโครงสร้างภายใต้กล้องจุลทรรศน์มีทั้งหมด 8 ไอโซเลท เมื่อได้จุลินทรีย์แล้วจึงทดสอบการย่อยกากขี้แป้งในจานเพาะเลี้ยงโดยเชื้อเดี่ยวๆ พบว่า เชื้อไอโซเลทที่ 4 มีการขยายขนาดโคโลนีบนอาหาร NA ที่ผสมกากขี้แป้งร้อยละ 15 สูงกว่าเชื้อไอโซเลทอื่นๆ จากนั้นศึกษาความเข้มข้นกากขี้แป้งที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อไอโซเลทที่ 4 พบว่า กากขี้แป้งเข้มข้นร้อยละ 10-20 ที่ผสมในอาหาร NA ส่งเสริมการขยายขนาดโคโลนีได้ดี และทดสอบการย่อยกากขี้แป้งโดยเชื้อผสมไอโซเลทที่ 1 4 และ 8 เชื้อกลุ่มไอโซเลทที่ 1-8 เปรียบเทียบกับเชื้อเดี่ยวไอโซเลทที่ 4 ในจานเพาะเลี้ยงที่มีกากขี้แป้งเข้มข้นร้อยละ 20 พบว่า เชื้อเดี่ยวไอโซเลทที่ 4 ยังคงให้การขยายขนาดโคโลนีสูงกว่ากลุ่มเชื้อในชุดทดลองอื่นๆ และทดสอบการย่อยสลายกากขี้แป้งในสภาพการหมักแบบเปียก (จุลินทรีย์ต่อกากขี้แป้ง 1:1 โดยน้ำหนัก) และแบบแห้ง (จุลินทรีย์ต่อกากขี้แป้ง 1:5 โดยน้ำหนัก) เป็นเวลา 30 วัน โดยใช้จุลินทรีย์ที่ขยายแต่ละชุดทดลองจำนวน 10^6 CFU/ml พบว่า เชื้อไอโซเลทที่ 4 ย่อยสลายกากขี้แป้งได้ดีกว่ากลุ่มเชื้ออื่นๆ รวมทั้งกลุ่มเชื้อทางการค้าด้วย โดยจุลินทรีย์ย่อยกากขี้แป้งได้ดีในการหมักแบบเปียกที่ใช้จุลินทรีย์ขยายต่อกากขี้แป้ง 1:1 โดยน้ำหนัก สอดคล้องกับผลการทดสอบการย่อยสลายกากขี้แป้งในจานเพาะเชื้อในเบื้องต้น โดยสังเกตจากค่า pH อุณหภูมิและปริมาณจุลินทรีย์รวมที่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วเห็นได้ชัดในทุกๆ 5 วัน ปริมาณของแข็งรวม ปริมาณของแข็งที่คงอยู่และปริมาณไนโตรเจนรวมมีค่าลดลงในขณะที่ปริมาณความชื้น ปริมาณของแข็งที่ระเหยได้ ปริมาณฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมมีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งค่าที่ได้ก่อนและหลังการหมัก 30 วัน มีการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน และเมื่อนำเชื้อไอโซเลทที่ 4 ไปตรวจวิเคราะห์ปรากฏว่าเป็นเชื้อชนิด *Bacillus cereus* หรือ *B. thuringiensis*

คำสำคัญ : กากขี้แป้ง การย่อยสลาย จุลินทรีย์

Project code: RDG5550071

Project title: Isolation of Effective Microorganisms to Degrade Sludge

Investigator: Suhaimin Chehmalee

Telephone number: 073-418609

E-mail: s4545305@hotmail.com

Project duration: 1 August 2012 to 31 July 2013

Abstract

Centrifuged sludge is waste from concentrated latex manufacturing process containing some plant nutrient elements, but slowly degrades naturally. Thus, the isolation of effective microorganism to degrade sludge could reduce odor and used as industrial fertilizer. In this study, isolation of microorganism from sludge at 1 week, 1 and 3 months old were carried out on nutrient agar (NA) added with 15% sludge as well pour plate technique of 0.5% peptone solution with varied amount of sludge. Eight isolates were isolated on NA. Each isolate were used for screening of sludge-degrading ability on NA supplemented with 15% sludge by using point inoculation technique. It was found that isolate 4 gave higher colony diameter than another isolate. Concentration of sludge on colony diameter of isolate 4 was investigated. The result showed that 10-20% sludge containing NA gave the highest colony diameter. The sludge degradation efficiency by mixed isolate (1,4 and 8 and 1-8) compared with single isolate 4 were compared on NA adding 20% sludge. Isolate 4 also gave higher colony diameter than mixed isolate. The sludge degradation efficiency of the microorganisms was monitored for 30 days. Comparing submerge (microorganism: sludge as the ratio of 1:1 (w/w)) and dry (1:5 (w/w)) system of fermentation using 10^6 CFU/ml of total microbial count from each treatment. The studied found that Isolate 4 gave the highest pH, temperature and total microbial count when compared with mixed isolate and commercial microorganisms (EM; effective microorganism) by submerge system for 20 days. Total solid content, fixed solid content and total nitrogen were lowered whereas moisture content, total phosphorous and potassium were higher when compared between initial and after 30 days of fermentation, the isolate 4 was identified as *Bacillus cereus/thuringiensis*.

Keyword: sludge, degradation, microorganism

ความสำคัญของโครงการ

ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกยางมากถึง 14.3 ล้านไร่ (สำนักงานกองทุนสงเคราะห์การทำสวนยาง, 2550) จึงทำให้มีโรงงานอุตสาหกรรมยางพาราเป็นจำนวนมาก ซึ่งกระบวนการผลิตและส่งออกจะนิยมทำในรูปของน้ำยางข้น หรือยางแผ่น โดยกระบวนการผลิตน้ำยางข้นส่วนใหญ่จะนิยมใช้การปั่นเหวี่ยงซึ่งจะก่อให้เกิดของเสียที่เรียกว่า กากขี้แป้ง ที่เกิดจากส่วนของการตกตะกอนในถังพักน้ำยางสดและกระบวนการปั่นน้ำยางสดในอุตสาหกรรมผลิตน้ำยางข้น (วันชัย, 2540) ลักษณะของกากขี้แป้ง เป็นของแข็ง สีขาวหรือสีเหลืองอ่อน เนื่องจากมีแมกนีเซียมและฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบที่สำคัญ (สมทิพย์ และคณะ, 2545) ในทางเคมี เรียกว่า ตะกอนของแมกนีเซียม แอมโมเนียมฟอสเฟต ซึ่งเกิดจากการเติมไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต และสังกะสีออกไซด์ (Sathyaseelan, 2006) เพื่อปรับปรุงคุณภาพน้ำยางที่มีอยู่เดิม โดยอัตราการเกิดกากขี้แป้งต่อน้ำยางสด พบว่า น้ำยางสด 1 ตัน ทำให้เกิดกากขี้แป้งเฉลี่ย 9.7 กิโลกรัม (วราศรี, 2543) นอกจากนี้กากขี้แป้งยังประกอบด้วย สิ่งเจือปนต่างๆ เช่น ฝุ่น ทรายเปลือกไม้ มีนักวิจัยหลายท่านที่ศึกษาเกี่ยวกับสมบัติของกากขี้แป้งและพบว่า กากขี้แป้ง สามารถที่จะนำไปใช้ในการปลูกพืชได้ เนื่องจากมีธาตุอาหาร ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แมกนีเซียม และสังกะสีอยู่ในช่วง 3.40-3.71, 11.32-15.79, 0.64-1.56, 5.44-14.34 และ 0.16-0.51 ร้อยละโดยน้ำหนักแห้งตามลำดับ (สะเราะ, 2552) โดยปริมาณสังกะสีเมื่อนำไปปลูกพืชและวิเคราะห์แล้วพบว่า อยู่ในช่วงที่ยอมรับให้มีได้ในดินเพื่อการเกษตร คือไม่เกิน 280-300 mg/kg (วลัยพร, 2547) กากขี้แป้งที่เกิดขึ้นเป็นของเสียที่มีความชื้นสูง และมีค่าสัดส่วนของ BOD ต่อ COD ของของเหลวที่สกัดได้มากกว่า 0.5 ดังนั้น กากขี้แป้งเมื่อละลายน้ำมีสมบัติที่สามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้ (ธนธรณ์, 2546) ในปัจจุบันจึงมีการนำกากขี้แป้งไปประยุกต์ใช้ในการทำปุ๋ย วัสดุปลูก หรือวัสดุปรับปรุงดิน หรืออาจมีการนำไปหมักเป็นปุ๋ยเหลว หรือปุ๋ยหมัก ซึ่งการใช้จุลินทรีย์เพื่อช่วยย่อยสลายกากขี้แป้งจะทำให้มีการปลดปล่อยธาตุอาหารจากแหล่งธาตุอาหารให้กับพืชได้รวดเร็วยิ่งขึ้น นอกจากนี้ยังทำให้การเจริญของพืชและสมบัติของดินดีขึ้นเมื่อเติมสารอินทรีย์ที่เป็นปุ๋ยชีวภาพ (Soumaré *et al.*, 2002) การเติมจุลินทรีย์ลงไปไม่เพียงแต่เพิ่มการดูดซึมธาตุอาหารของพืชเท่านั้นแต่ยังปรับปรุงคุณภาพของดินด้วย เช่น ปริมาณอินทรียวัตถุและปริมาณไนโตรเจนในดิน เชื้อราไมคอร์ไรซา มีอัตราการเข้าสู่รากเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเติมแบคทีเรียลงไป (Wu *et al.* 2005) โดยปัจจุบันจะมีการเติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่มีขายตามท้องตลาด เช่น การเติมหัวเชื้อ EM ซึ่งสามารถย่อยสลายกากขี้แป้งได้ในระบบหมักแบบใช้อากาศ แต่หัวเชื้อจุลินทรีย์ทางการค้านั้น (สะเราะ, 2552) จะประกอบด้วยจุลินทรีย์หลายกลุ่มโดยบางชนิดอาจจะไม่มีส่วนช่วยในการย่อยกากขี้แป้งเลย ดังนั้นหากสามารถคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถย่อยกากขี้แป้งได้อย่างรวดเร็วก็สามารถนำกากขี้แป้งไปใช้ประโยชน์ได้ดียิ่งขึ้น งานวิจัยชิ้นนี้จึงเป็นการคัดแยกเพื่อหาจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูง ย่อยกากขี้แป้งได้ดีและรวดเร็วเพื่อนำกากขี้แป้งไปใช้ประโยชน์ต่อไป เช่น ใช้ในการทำปุ๋ย ใช้ในการหมักเพื่อผลิตแก๊สชีวภาพ เป็นต้น

วัตถุประสงค์

1. เพื่อคัดเลือกและแยกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายกากขี้แป้ง

2. เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายกากขี้แป้ง

3. เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยกากขี้แป้งของจุลินทรีย์ที่แยกได้กับหัวเชื้อทางการค้า

แนวคิดในการวิจัย

ปริมาณกากขี้แป้งที่เพิ่มขึ้นตามความต้องการผลิตน้ำยางข้น โดยของเสียในรูปกากขี้แป้งจากกระบวนการผลิตน้ำยางข้นจะมีประมาณ 0.39-1.58 ตันต่อวันต่อโรงงาน (วันชัย, 2540) ซึ่งกากขี้แป้งที่เกิดขึ้นแทนที่จะทิ้งเป็นของเสียสะสมและส่งกลิ่นเหม็นอยู่บริเวณโรงงาน สามารถที่จะนำไปใช้ประโยชน์อย่างอื่นได้อีก เช่น นำไปผลิตเป็นปุ๋ย สารปรับปรุงดิน หรือวัสดุปลูก เนื่องจากมีธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยเฉพาะธาตุอาหารหลัก NPK และธาตุอาหารรอง Mg, Zn และ Ca (เสาวนีย์และคณะ, 2547) และสามารถนำกากขี้แป้งไปทำเป็นปุ๋ยหมักหรือปุ๋ยน้ำชีวภาพได้ มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการประยุกต์ใช้จุลินทรีย์ EM ในด้านการเกษตร โดย กนัฐยาและอุบล (2549) พบว่าจุลินทรีย์ EM ย่อยสลายกากขี้แป้งได้และทำให้ปริมาณของแข็งในกากขี้แป้งมีค่าลดลงเหลือร้อยละ 38.8-50.5 ซึ่งการนำกากขี้แป้งมาหมักหรือทำให้เกิดกระบวนการย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ เมื่อนำไปใช้ในการปลูกพืชจะทำให้พืชดูดมาใช้ง่ายขึ้นเนื่องจากสามารถดูดซึมธาตุอาหารได้ดีและดินมีคุณภาพที่ดีขึ้น แต่ในการใช้ย่อยสลายโดยใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์โดยทั่วไป ไม่สามารถทราบได้ว่าจุลินทรีย์ชนิดใดที่สามารถย่อยสลายกากขี้แป้งได้ ดังนั้นงานวิจัยชิ้นนี้จึงต้องการคัดแยกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายกากขี้แป้ง ซึ่งมีส่วนประกอบเป็นโปรตีนโมเลกุลใหญ่และมีตะกอนของแมกนีเซียม แอมโมเนียมฟอสเฟต ที่ย่อยสลายได้ยาก โดยเมื่อได้จุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายกากขี้แป้งได้ก็สามารถที่จะทำการขยายหัวเชื้อเพื่อใช้ในการผลิตปุ๋ยหมัก ปุ๋ยน้ำชีวภาพ และการหมักกากขี้แป้งเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ เป็นการใช้ประโยชน์กากขี้แป้งได้มากขึ้น ลดปริมาณกากขี้แป้งในโรงงานและลดการใช้จุลินทรีย์ทางการค้าที่ไม่ทราบกลุ่มจุลินทรีย์ที่แน่นอน