บทที่ 1
บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ปาล์มน้ำมัน (*Elaeis quineensis* Jacq.) เป็นพืชเศรษฐกิจของภาคใต้ และอุตสาหกรรมปาล์มน้ำมันยังมีความสำคัญยิ่งต่อเศรษฐกิจของภาคใต้ ในปี พ. ศ. 2542 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันรวมทั้งหมดไม่ต่ำกว่า 1.4 ล้านไร่ การผลิตน้ำมันปาล์มมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ผลที่ตามมาคือ วัสดุเศษเหลือจากกระบวนการผลิตปาล์มน้ำมันเพิ่มขึ้น ในกระบวนการสกัดน้ำมันปาล์มมีวัสดุเศษเหลือในรูปของแข็ง ได้แก่ทะลายปาล์มเปล่า (empty fruit bunches) เส้นใยปาล์ม (palm pericarp fiber) กากเนื้อผลปาล์ม (palm kernel cake) กะลาปาล์ม (palm shell) กากตะกอนสลัดจ์ (sludge) และส่วนที่เป็นของเหลว คือ น้ำทิ้ง (palm oil mill effluent, POME) ซึ่งน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตมีประมาณ 0.87 ลูกบาศก์เมตรต่อตันทะลายปาล์มสด (อรัญ หันพงศ์กิตติกูล และคณะ, 2537) และน้ำทิ้งเหล่านี้มีลักษณะสีน้ำตาลเข้ม มีปริมาณสารอินทรีย์และความข้นหนืดสูง ปัญหาสำหรับการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มคือ น้ำทิ้งหลังการบำบัดยังคงมีสีน้ำตาลและไม่สามารถปล่อยทิ้งได้ มีความพยายามในการกำจัดสีจากน้ำทิ้งเหล่านี้ทั้งวิธีทางชีวภาพ เช่นการใช้เอนไซม์ วิธีการทางเคมี เช่น การใช้สารเคมีช่วยในการตกตะกอนสีและสารอินทรีย์ และวิธีการเชิงกายภาพ-เคมี เช่นการใช้ตัวดูดซับโดยใช้ถ่าน จากการบำบัดสีด้วยวิธีการเหล่านี้ การดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์ยังคงเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพที่สุด รองลงมาได้แก่การใช้สารเคมีช่วยในการตกตะกอน แต่วิธีการเหล่านี้มีข้อเสียคือค่าดำเนินการสูง การใช้สารเคมีในการบำบัดนอกจากจะสิ้นเปลืองแล้วยังเกิดตะกอนจากการบำบัดสูง ทั้งยังเป็นการเพิ่มสารเคมีเข้าสู่ระบบสิ่งแวดล้อม วิธีการทางชีวภาพจึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจทางหนึ่ง มีรายงานว่าเชื้อราในกลุ่มไวท์ร็อท มีศักยภาพในการย่อยสลายสารที่ย่อยสลายยาก โดยการผลิตเอนไซม์นอกเซลล์ และยังมีการใช้เห็ดราในกลุ่มนี้เพื่อการบำบัดสีและน้ำเสีย โดยพบว่าเห็ดสกุล *Lentinus* สามารถผลิตเอนไซม์นอกเซลล์หลายชนิดที่มีผลต่อการบำบัดสีและน้ำเสีย วสันณ์ เพชรรัตน์ (2541) พบเห็ดสกุล *Lentinus* 8 ชนิด และมี 3 ชนิด คือ *Lentinus strigosus* (Schein) Fr., *Lentinus squarrosulus* Mont., *Lentinus polychrous* Lev. พบในตลาดท้องถิ่นของภาคใต้ ปัจจุบันเห็ดทั้ง 3 สกุล มีการคัดเลือกพันธุ์และเพาะเลี้ยงทางการค้าในขี้เลื่อยและอาหารเสริม เนื่องจากพบเห็ดเหล่านี้ในภาคใต้ จึงคาดว่าน่าจะมีความเหมาะสมทางสภาพแวดล้อม และคุณสมบัติในการย่อยสลายสารที่ย่อยยากในธรรมชาติที่จะใช้ในบำบัดและลดสีของน้ำทิ้งจากกระบวนการสกัดน้ำมันปาล์ม ร่วมกับการใช้วิธีวิธีการทางเคมี ทั้งนี้เพื่อลดการใช้สารเคมี และหาแนวทางใหม่ๆ ที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดสีของน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

ตรวจเอกสาร

กระบวนการสกัดน้ำมันปาล์มดิบ

พูนสุข ประเสริฐสรรพ์ และคณะ (2533) สำรวจโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มในจังหวัด สงขลา สตูล และสุราษฎร์ธานี สรุปกระบวนการผลิตแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ

1. กระบวนการแบบไม่ใช้น้ำ หรือแบบแห้ง เป็นกระบวนการผลิตแบบง่าย ๆ ซึ่งใช้ความร้อนจากฟืนในการอบผลปาล์ม น้ำมันดิบที่ได้เป็นส่วนผสมระหว่างน้ำมันจากเปลือกและเมล็ดในการผลิตแบบนี้ไม่มีน้ำเสียออกจากกระบวนการผลิตเลย

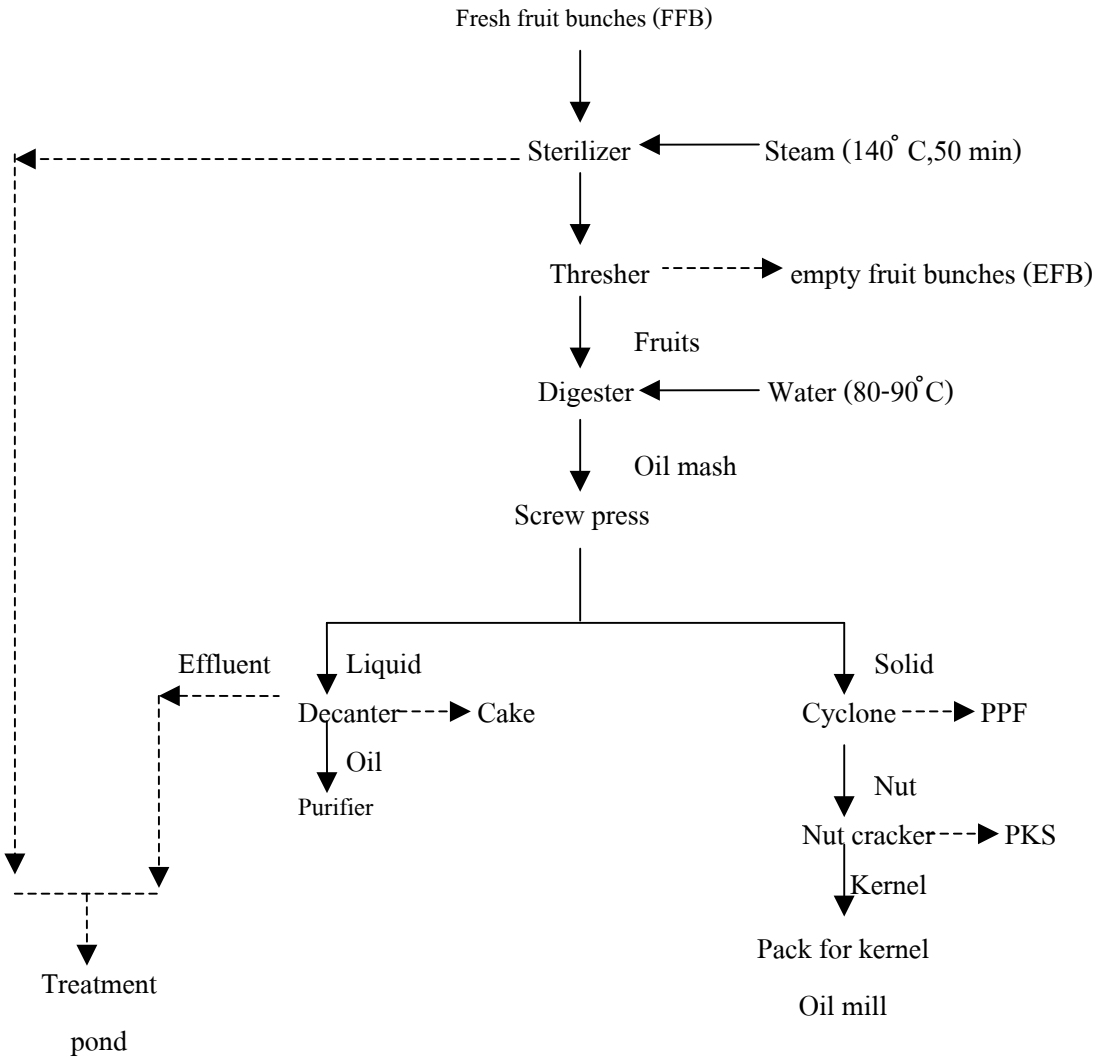
2. กระบวนการผลิตแบบใช้น้ำ หรือแบบมาตรฐาน สามารถแบ่งออกเป็น 2 ลักษณะ คือ แบบที่ใช้เครื่องดีแคนเตอร์ (decanter) สำหรับสกัดแยกน้ำมัน และแบบที่ไม่ใช้เครื่องดีแคนเตอร์ หรือ เครื่องแยก (separator) แหล่งที่มาของน้ำทิ้งส่วนใหญ่มาจาก 2 ขั้นตอน ได้แก่ น้ำทิ้งจากหม้อนึ่งอบผลปาล์ม และน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์หรือจากเครื่องเหวี่ยง

สำหรับขั้นตอนทั่วไปของการสกัดน้ำมันปาล์ม (ภาพที่ 1) แบบใช้น้ำเริ่มจากการอบทะลายปาล์มสดด้วยไอน้ำอุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส ความดัน 40 - 60 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ประมาณ 40 - 60 นาที การอบทะลายปาล์มสดนอกจากช่วยให้ผลปาล์มนุ่มหลุดจากทะลายปาล์มได้ง่ายขึ้นแล้วยังเป็นการยับยั้งปฏิกิริยาลิโปไลซิสที่จะทำให้เกิดกรดไขมันอิสระในผลปาล์ม ทะลายปาล์มที่ผ่านการอบแล้วถูกส่งเข้าเครื่องแยกผลปาล์ม แล้วส่งต่อผลปาล์มเข้าเครื่องย่อยผลปาล์ม ซึ่งภายในมีใบพัดกวนผลปาล์มให้เส้นใยฉีกออกจากเมล็ดและเซลล์น้ำมันแตกตัว ขณะย่อยผลปาล์มมีการเติมน้ำลงไปเล็กน้อย จากนั้นป้อนเข้าเครื่องหีบแบบอัดเกลียว เพื่อแยกน้ำมันออกจากเมล็ดในและเส้นใย (บางโรงงานอาจมีการแยกเมล็ดในเพื่อหีบแยกน้ำมันจากเมล็ดในปาล์ม) นำน้ำมันที่ได้จากเครื่องหีบกรองแยกเส้นใยผ่านตะแกรงแบบสั่น จากนั้นแยกกรวดทรายออกด้วยเครื่องแยกกรวดทรายแบบไฮโดรไซโคลน น้ำมันส่วนนี้จะเข้าสู่เครื่องดีแคนเตอร์เพื่อแยกน้ำมันออกจากน้ำและกากสลัดจ์ น้ำมันดิบจะเข้าสู่เครื่องเหวี่ยงแยกความเร็วสูงเพื่อกำจัดอนุภาคของแข็งก่อนผ่านการไล่ความชื้นและส่งเข้าถังเก็บ รอการทำบริสุทธิ์หรือจำหน่าย (อรัญ หันพงศ์กิตติกูล และคณะ, 2537)

องค์ประกอบและการใช้ประโยชน์จากวัสดุเศษเหลือของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

จากกระบวนการสกัดน้ำมันปาล์มก่อให้เกิดวัสดุเศษเหลือจำนวนมากได้แก่ ทะลายเปล่า เส้นใยปาล์ม กะลาปาล์ม กากเนื้อผลปาล์ม และน้ำทิ้ง ซึ่งความแตกต่างของวัสดุเศษเหลือขึ้นกับคุณภาพวัตถุดิบด้วย

1. เส้นใยปาล์ม (palm pericarp fiber) เป็นส่วนเปลือกนอกของผลปาล์มใช้เป็นเชื้อเพลิงให้กับหม้อไอน้ำทั้งยังสามารถนำไปใช้เป็นอาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้องได้ โดยใช้ในระดับร้อยละ 10 - 20 ถ้าใช้ในระดับที่สูง (ร้อยละ 40 - 60) จะทำให้การกินและการย่อยได้ของสัตว์ลดลง



ภาพที่ 1 กระบวนการสกัดน้ำมันปาล์ม

(———) Process; (- - - -) waste.

Figure 1 Palm oil milling process

(———) Process; (- - - -) waste.

ที่มา : Prasertsan and Prasertsan (1996)

2. กากเนื้อผลปาล์ม (palm kernel cake) เป็นกากที่ได้จากการสกัดน้ำมันจากเนื้อเมล็ดในปาล์ม เป็นอาหารที่เหมาะสมสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้องโดยเฉพาะโคนมและไก่

3. กากเมล็ดปาล์มน้ำมัน (oil palm seed meal) เป็นกากที่ได้จากการสกัดน้ำมันของเมล็ดปาล์ม ซึ่งมีน้ำหนักประมาณร้อยละ 6 ของผลปาล์มสด และมีน้ำมันอยู่สูงถึงร้อยละ 51 โดยน้ำหนัก ทำให้กากเมล็ดปาล์มน้ำมันมีทั้งกะลาและเนื้อเมล็ดรวมกันใช้เป็นอาหารของไก่กระทงได้ดี

4. กากปาล์มน้ำมัน (oil palm meal) หรือ **กากปาล์ม (palm cake)** เป็นกากที่เหลือจากการสกัดน้ำมันของปาล์มทั้งผล ประกอบด้วย เปลือกนอก กะลา และเนื้อในของเมล็ด สามารถผสมในอัตราร้อยละ 50 สำหรับเลี้ยงโครุ่น หรือร้อยละ 10 - 30 สำหรับเลี้ยงสัตว์กระเพาะรวม เช่น วัว ควาย นอกจากการใช้เป็นอาหารสัตว์ กากปาล์มน้ำมันยังใช้เป็นสับสเตรทในการเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus niger* ATCC 6275 เพื่อผลิตเอนไซม์ไซลาเนสและ carboxymethyl cellulase (CMCase) (Prasertsan *et al.*, 1997) และใช้ในการเพาะเห็ดหูหนู (*Auricularia polytricha* (Mont.) Sacc.) และเห็ดขอนขาว (*Lentinus squarrosulus* Mont.) (วสันณ์ เพชรรัตน์ และ อนุสรณ์ ทองวิเศษ, 2546)

5. น้ำทิ้ง น้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มมีปริมาณมากถึง 0.87 ลูกบาศก์เมตรต่อตันทะลายปาล์มสด (อรัญ หันพงศ์กิตติกูล และคณะ, 2537) เปรียบเทียบปริมาณน้ำทิ้งของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม 4 โรงงานในภาคใต้ พบว่าโรงงานที่ใช้เครื่อง separater มีปริมาณน้ำทิ้งต่อตันทะลายปาล์มสดสูงกว่าโรงงานที่ใช้เครื่องดีแคนเตอร์ (ตารางที่ 1) ในน้ำทิ้งมีมวลสารในรูป ซีโอดี บีโอดี ของแข็งแขวนลอย และน้ำมันในระดับสูง มีสีน้ำตาลเข้มถึงน้ำตาลปนดำ พีเอช 4 - 5 (ตารางที่ 2 และ 3) แร่ธาตุชนิดต่างๆ ที่พบได้ในน้ำทิ้งของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม แสดงในตารางที่ 4 เมื่อเปรียบเทียบสัดส่วนระหว่าง C:N พบว่ามีค่าที่สูงเพราะมีร้อยละของไนโตรเจนต่ำประมาณร้อยละ 2 ของน้ำหนักแห้ง แต่เนื่องจากน้ำทิ้งของโรงงานน้ำมันปาล์มมีสารอาหารสูง จึงมีการนำมาเป็นวัตถุดิบสำหรับเลี้ยงจุลินทรีย์เพื่อผลิตโปรตีนเซลล์เดียว และใช้เป็นแหล่งผลิตแก๊สชีวภาพ (พูนสุข ประเสริฐสรรพ์, 2542)

กระบวนการสกัดน้ำมันปาล์มไม่มีการเติมสารเคมีอื่นใดนอกจากน้ำ ดังนั้นสีน้ำตาลของน้ำทิ้งจากกระบวนการสกัดน้ำมันปาล์ม อาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบและโครงสร้างของสารอินทรีย์ต่างๆ ในปาล์มน้ำมันอันเนื่องจากการให้ความร้อนในขั้นตอนการนึ่งปาล์ม และการแตกตัวขององค์ประกอบ จากขั้นตอนการหีบอัด รงควัตถุพวกแอนโทไซยานิน (anthocyanins) และแคโรทีน (carotene) ที่มีอยู่ในผลปาล์มถูกสกัดออกมาพร้อมกับน้ำมันและไอน้ำเนื่องจากเซลล์ผลปาล์มถูกทำลาย (Hartley, 1977) นอกจากนี้ยังพบสารประกอบพวกโพลีฟีนอล แทนนิน และโพลีแอลกอฮอล์ โดยในน้ำทิ้งจากหม้อนึ่งฆ่าเชื้อมีปริมาณเพคตินและโพลีฟีนอลเท่ากับ 5.7 และ

ตารางที่ 1 ปริมาณมลสารโดยเฉลี่ยในน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม 4 โรงงาน

Table 1 Pollutant quantity of palm oil mill effluent from 4 mills

Palm oil mill	Work hours (h.)	FFB (tons)	Productivity (tons/h.)	Flow rate (m^3/h.)	Effluent (m^3./tons FFB)	COD (Kg./tons FFB)	BOD (Kg./tons FFB)	Suspended solids (Kg./tons FFB)	Oil and Grease (Kg./tons FFB)
Asian Palm Oil Co., Ltd.[A]	19.56	464.60	23.75	10.05	0.44	47.51	25.88	10.8	6.1
Southern Palm Oil Co., Ltd[B]	17.60	437.53	24.85	21.53	0.94	62.54	27.59	18.6	6.9
Siam Palm Oil and Industries Co., Ltd[C]	24.00	220.00	9.16	10.76	1.18	47.81	26.62	6.1	14.6
United Palm Oil Industries Co., Ltd[C]	15.88	414.67	26.11	22.37	0.90	51.93	26.24	15.8	7.3
Mean	19.21	384.20	21.14	16.19	0.87	52.45	26.58	12.8	8.7
Standard devesion	3.03	96.43	7.93	6.67	0.27	6.08	0.64	4.8	3.4

A: extracted oil by decanter

B: extracted oil by separator and decanter

C: extracted oil by separator

ที่มา : ดัดแปลงจาก อรัญ หันพงศ์กิตติกูล และคณะ (2537)

ตารางที่ 2 คุณลักษณะของน้ำทิ้งจากขั้นตอนต่างๆ ในการสกัดน้ำมันและน้ำทิ้งจากบ่อน้ำทิ้งรวม

Table 2 Characteristics of effluent from various steps during palm oil extraction and mixed effluent

Parameters	**Mixed effluent**	**Sterilizer condensate**	**Decanter effluent**
Color	Dark-brown	Brown	Brown or dark-brown
pH	4.05-4.62	4.84-5.35	4.61-4.89
BOD	54,750-60,000	22,800-41,985	21,000-45,375
COD	80,523-115,934	45,360-80,146	38,246-67,567
Volatile acid	3,128-5,870	998-7,125	1,838-2,273
Alkalinity	68-200	3.75-1,576	86.5-480
Oil and Grease	16-2,449	20.9-1,103	4.7
Total solid	49,063-88,508	26,367-76,733	25,634-47,242
Volatile solid	42,063-81,872	24,415-67,635	23,634-47,242
Suspended solid	18,500-52,000	2,600-6,100	23,056-39,617
Nitrogen			
- Ammonia	27-61	7.7-66.3	22.8-23.0
- Organic	551-1,172	22.4-1,287	518.5

All parameter units are mg/l except pH

ที่มา : ดัดแปลงจาก พูนสุข ประเสริฐสรรพ์ และคณะ (2533)

ตารางที่ 3 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

Table 3 Proximate composition of palm oil mill effluents

Component (%)	Sludge		Condensate	
	Dry wt. basis	Wet wt. basis	Dry wt. basis	Wet wt. basis
Total solids	-	4.6	-	6.0
Crude protein (Ñ 6.25)	10.9	0.5	8.8	0.5
Ether extract	25.6	1.2	34.6	2.1
Ash	11.4	0.5	14.2	0.9
Crude fiber	9.7	0.5	3.3	0.2
Nitrogen- free extract	42.4	1.9	39.1	2.3

ที่มา: Hwang *et al*. (1978)

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบองค์ประกอบของแร่ธาตุในวัสดุเศษเหลือของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มจากแหล่งต่างๆ (ร้อยละต่อน้ำหนักแห้ง)

Table 4 A comparison of the mineral composition of palm oil mill effluent as reported by different workers (dry weight basis)

Minerals	Muthurajah (1976)* Sludge	Rajagopaian & Webb (1975) Sludge	Wood (1977)* Mixed effluents	Hwang *et al*. (1978)	
				Sludge	Condensate
N	2.08	1.66	1.60	1.73	1.83
P	0.42	0.31	0.28	0.31	0.36
K	3.96	-	4.15	3.10	3.09
Na	-	-	0.10	0.06	0.05
Mg	1.04	0.01	0.77	1.88	2.41
Ca	0.42	0.78	0.77	0.21	0.33
Cr	-	-	0.0005	-	-[+]
Mn	-	0.008	0.008	-	-
Fe	-	-	0.31	0.10	0.04
Co	-	-	0.003	-	-
Cu	-	0.003	0.003	0.05	0.07
Zn	-	0.0006	0.0005	0.025	0.035
Cd	-	-	3$10^{-5}$	-	-

*Recalculated

[+]Analysis not attempted

ที่มา: ดัดแปลงจาก Hwang *et al*. (1978)

2.0 กรัมต่อลิตร (Barker and Worgan, 1981 อ้างโดย เบญจวรรณ ชิตมณี, 2534) การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลในน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านกระบวนการบำบัดทางชีวภาพแล้วพบฟีนอล 4.5-5.5 มิลลิกรัมฟีนอลต่อลิตร ที่พีเอชประมาณ 9.4 (จินตนา แก้วบริสุทธิ์, 2541) และในองค์ประกอบของน้ำทิ้งจากกระบวนการสกัดน้ำมันปาล์มยังพบสารในกลุ่มคาร์โบไฮเดรต ได้แก่ แป้ง น้ำตาล เพคติน และเพนโตแซน (pentosan) รวมทั้งโปรตีนทั้งในส่วนน้ำทิ้งและสลัดจ์ ปริมาณน้ำตาลและโปรตีนที่พบในส่วนของสลัดจ์ร้อยละ 2.5 และ 12.2 โดยน้ำหนักแห้งตามลำดับ (Hwang *et al*., 1978) จึงมีความเป็นไปได้ว่าสีของน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มส่วนหนึ่งเกิดจากสารประกอบพวกเมลานอยดิน (melanoidin) จากปฏิกิริยาไม่ใช้เอนไซม์ (non-enzymic browning reaction หรือ Maillard reaction) ระหว่างน้ำตาลและกรดอะมิโนภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูง โดยอาจเกิดสารประกอบเมลานอยดินก่อนการแยกสลัดจ์ออกจากน้ำทิ้ง สิ่งแปลกปลอมในน้ำทิ้งที่ทำให้เกิดสีอีกอย่างคือ สารประกอบพวกกัม (gum) ซึ่งเมื่อกัมโดนความร้อนในขั้นตอนการสกัดน้ำมันปาล์มจะทำให้เกิดสีน้ำตาลคล้ำขึ้น และกัมสามารถรวมตัวกับเกลือของโลหะเช่น เหล็ก แคลเซียม แมกนีเซียม และทองแดง ทำให้เกิดความคงตัวของสีและสารพวกออกซิเดทีพ (Salunkhe and Desia, 1986 อ้างโดย โสภา จันทภาโส, 2542)

น้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านกระบวนการบำบัดทางชีวภาพแล้วยังคงมีสีน้ำตาลอยู่นั้นเป็นสีแท้หรือสีจริง (true color) อันเกิดจากการสลายตัวของพืชและสารอินทรีย์ และจัดเป็นสารในกลุ่มฮิวมิค (humic material) ซึ่งเป็นสารที่เกิดจากการสลายตัวของสิ่งมีชีวิต และผลผลิตจากกระบวนการเมทแทบอลิซึมของสิ่งมีชีวิต ลิกนินและแทนนินในพืชเกิดการสลายตัวแล้วรวมตัวกันเกิดเป็นโพลิเมอร์ของฟีนอลลิกแล้วจึงเกิดปฏิกิริยาต่อไปเป็นสารในกลุ่มฮิวมิค หากพิจารณาความสามารถในการละลายสามารถแบ่งฮิวมิคเป็น 2 ประเภทคือ กรดฮิวมิค ละลายในสภาวะด่าง และ กรดฟูลวิค (fulvic acid) (Corroll, 1985 อ้างโดย จินตนา แก้วบริสุทธิ์, 2541) คาดว่าสีในน้ำทิ้งส่วนที่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพแล้วและมีพีเอชช่วงด่าง (พีเอช 8-9) น่าจะเป็นกรดฮิวมิคเนื่องจากน้ำทิ้งดังกล่าวมีพีเอชสูง

การบำบัดและการกำจัดสีของน้ำทิ้ง

วิธีการทางชีวภาพ

เนื่องจากน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมหลายประเภทประกอบด้วยสารที่มีโครงสร้างยากต่อการย่อยสลายและไม่สามารถบำบัดด้วยวิธีการโดยทั่วไปได้ ทั้งยังก่อให้เกิดปัญหาทางสิ่งแวดล้อม จึงมีความพยายามในการใช้วิธีทางชีวภาพ และเห็ดเป็นสิ่งมีชีวิตที่ได้รับความสนใจในการศึกษา จากรายงานของ Chagas และ Durrant (2001) ซึ่งทดสอบการกำจัดสี azo dyes 4 ชนิด

(ซึ่งเป็นสีกลุ่มใหญ่ที่สุดที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและมีโครงสร้างเป็นวงแหวนอะโรมาติก) โดยเส้นใย *P. chrysosporium* และ *Pleurotus sajor-caju* พบว่า *P. chrysosporium* มีประสิทธิภาพในการกำจัดสี amaranth, new cocine และ orange G (> 90%) สามารถลดสี tartrazine ได้ (60%) ขณะที่ *P. sajorcaju* มีประสิทธิภาพในการกำจัดสี amaranth และ new cocine แต่ลดสี orange G และ tartrazine ได้เพียงบางส่วน (< 50%) ทั้งนี้เอนไซม์ที่อาจมีส่วนเกี่ยวข้องสำหรับการลดสีของ *P. sajor- caju* คือ GOD (glucose - 1- oxidase) และแลคเคส ขณะที่ *P. chrysosporium* มีกิจกรรมของเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส และบีตา-กลูโคซิเดสสูง ซึ่งมีกิจกรรมการย่อยสลายสีได้ดีกว่า *P. sajor-caju* การที่เส้นใยราทั้งสองชนิดย่อยสลาย tartrazine ได้น้อยอาจเป็นเพราะสีชนิดนี้มีความเป็นพิษต่อเส้นใยเห็ดทั้งสองชนิด Immura และคณะ (1996) ศึกษาการบำบัดสารประกอบออแกนโนคลอรีน (organochlorine)โดยใช้เอนไซม์แลคเคส (200 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) ที่สกัดจากน้ำหมักเชื้อ *Coriolus versicolor* แล้วแยกด้วย SDS-PAGE พบว่าเอนไซม์แลคเคสสามารถย่อยสลาย tetrachloroguaiacol (2, 3, 4, 5- tetrachloro- 6- methoxyphenol) หรือ TeCG ร้อยละ 80 ภายในเวลา 4 ชั่วโมง แม้ว่า TeCG ถูกย่อยสลายแต่คลอไรด์อิออนทั้งหมดไม่ได้หลุดออกจากโครงสร้างแต่เป็นการเปลี่ยนสู่รูปอื่นแล้วปล่อยคลอไรด์อิออนบางส่วนออกมา

จากการคัดเลือก *Pleurotus* spp. 16 สายพันธุ์เพื่อทดสอบการการเจริญและการกำจัดสีของน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันมะกอก (ทดลองในน้ำทิ้งความเข้มข้นระหว่างร้อยละ 25 - 100 แบบจานอาหารแข็ง) พบว่าทุกสายพันธุ์เจริญในน้ำทิ้งไม่เจือจาง แม้ว่าส่วนใหญ่ (บางสายพันธุ์) จะมีระยะพัก (lag phase) สำหรับการเจริญระหว่าง 17 - 30 วัน ส่วนการกำจัดสีนั้นแบ่งระดับความสามารถในการกำจัดสีออกเป็น 5 กลุ่มตั้งแต่มีประสิทธิภาพการกำจัดสีสูงได้แก่ *P. ostreatus* ATCC 38538 และ *P. cornucopiae* ATCC 38547 กระทั่งไม่มีความสามารถในการกำจัดสีเลย (Flouri *et al*,. 1996) ขณะที่ Vinciquerra และคณะ (1995) รายงานการใช้ราไวท์ร็อท (white rot fungi) *L. edodes* บำบัดน้ำทิ้งจากกระบวนการแยกส่วนของแข็งออกจากของเหลวจากผลมะกอก โดยเลี้ยงเส้นใยในสภาพอาหารเหลวที่มีการกวน สามารถลดสีในน้ำทิ้งได้ประมาณร้อยละ 45 กำจัดคาร์บอนทั้งหมดได้ร้อยละ 75 ภายใน 4 วัน และยังลดสารประกอบฟีนอลทั้งหมดได้ถึงร้อยละ 66 จากการหมักนี้ยังเกิดเอนไซม์ที่มีผลต่อเมทแทบอลิซึมของฟีนอล เช่น ฟีนอลออกซิเดส และแมงกานีสเปอร์ออกซิเดส โดยที่เอนไซม์เหล่านี้มีผลต่อการตัดสายโพลิเมอร์ของโพลีฟีนอลแต่การทดลองยังไม่สามารถกำจัดสีได้อย่างสมบูรณ์ เพราะว่าการตัดสายโพลิเมอร์ไม่เพียงพอที่จะทำให้เกิดการย่อยสลายโดยสมบูรณ์ได้ ทั้งนี้กลศาสตร์การย่อยสลายฟีนอล ซึ่งแสดงในรูปฟีนอลทั้งหมดมีความสัมพันธ์อย่างสูงกับการกำจัดสีอย่างมีนัยสำคัญ

Aggelis และคณะ (2002) ทดสอบเลี้ยงเชื้อรากลุ่มไวท์รอท 8 สายพันธุ์ ในน้ำทิ้งจากกระบวนการกำจัดสารรสขมจากน้ำมันมะกอก พบว่า *P. ostreatus* ซึ่งพบกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสสูง ตามมาด้วยเอนไซม์แมงกานีสอินดีเพ็นเด้นเปอร์ออกซิเดส (manganese independent peroxidase) และ แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส ลดได้ทั้งสีและซีโอดีของน้ำทิ้งร้อยละ 49 และ 52 ตามลำดับ

การทดสอบเบื้องต้นของ งามนิจ เสริมเกียรติพงศ์ (2542) เพื่อคัดเลือกจุลินทรีย์สำหรับการลดสีของน้ำกากส่า พบว่าการใช้เชื้อเห็ด *Coriolus versicolor* (L.:Fr.) Quel สามารถลดความเข้มสีของน้ำกากส่าสูงสุดประมาณร้อยละ 55 ขณะที่เชื้อราในสกุล *Aspergillus* spp. ส่วนใหญ่ลดความเข้มสีของน้ำกากส่าได้ประมาณร้อยละ 30 แต่เมื่อลดความเข้มสีของน้ำกากส่า ด้วย *C. versicolor* ในสภาวะที่เหมาะสม คือ สูตรอาหารที่มีการเติมน้ำกากส่า ที่เจือจาง (OD_{475}= 3.5) พีเอช 6.0 บนเครื่องเขย่าอัตราเร็ว 120 ครั้งต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน สามารถลดความเข้มสีได้ประมาณร้อยละ 60 ทั้งนี้เป็นเพราะว่า *C. versicolor* มีเอนไซม์ที่ทำให้รงควัตถุเมลานอยดินจางลงได้ เนื่องจากสีที่ปรากฏในน้ำทิ้งส่วนใหญ่มีความซับซ้อนยากต่อการบำบัด จึงอาจเพิ่มประสิทธิภาพการบำบัดโดยการใช้การบำบัดร่วมของจุลินทรีย์ 2 ขั้นตอน โดย Miyata และคณะ (2000) ทดสอบกำจัดสีเมลานอยดินสังเคราะห์ (ผสมกลูโคสและไกลซีนแล้วให้ความร้อนที่ 120 องศาเซลเซียส) โดย *C. hirsutus* พบว่าในสภาวะที่ไม่มีการเติมแหล่งไนโตรเจน เชื้อชนิดนี้สามารถกำจัดสีเมลานอยดินสังเคราะห์ประมาณร้อยละ 80 ที่เวลา 120 ชั่วโมง และกำจัดสีของน้ำเสียที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน โดยวิธี activated sludge เพื่อลดปริมาณสารอินทรีย์และอินทรีย์ไนโตรเจนในน้ำทิ้ง ก่อนกำจัดสีด้วย *C. hirsutus* พบว่าการเติมแมงกานีสอิออน (Mn^{2+}) มีผลเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีผลต่อการเพิ่มความสามารถในการกำจัดสีของน้ำทิ้งที่ผ่านความร้อน

Kim และ Shoda (1999) พยายามกำจัดสีของกากน้ำตาลโดยใช้เส้นใย และเส้นใยที่ถูกตรึงของ *Geotrichum candidum* Dec 1 การใช้เส้นใยในการกำจัดสีแบบกึ่งกะ (semi-batch culture) มีการกำจัดสีร้อยละ 80 และเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสมีความคงตัวตลอด 4 สัปดาห์ ส่วนการใช้เส้นใยที่ถูกตรึงบนโพลียูรีเทนโฟม (polyurethane foam) สามารถก่อให้เกิดความสะดวกในการจัดการโดยที่ยังคงมีความคงตัวในการกำจัดสีและกิจกรรมของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสตลอด 8 สัปดาห์ ส่วน D'Annibale และคณะ (1998) ทดลองใช้เส้นใย *L. edodes* ที่ถูกตรึงบนฟองน้ำบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันมะกอก พบการลดสารอินทร์ทั้งหมด (TOC) ในการใช้เส้นใยที่ถูกตรึงรอบที่ 1, 2 และ 3 (รอบละ 8 วัน) ร้อยละ 73, 88 และ 75 ลดฟีนอลร้อยละ 83.5, 88.5 และ 78 ขณะที่สีน้ำทิ้งลดลงร้อยละ 75, 72 และ 34 การคัดเลือกเชื้อราไวท์รอท *Trametes versicolor* 11 สายพันธุ์ เพื่อกำจัดสี

ของน้ำทิ้งจากโรงงานฟอกเยื่อไม้ พบว่า *T. versicolor* B7 สามารถกำจัดสีของน้ำทิ้งสูงสุด เมื่อทดสอบชนิดของสับสเตรตร่วมหลายชนิดอันได้แก่ กลูโคส ซูโครส แป้ง เอทธานอล คาร์บอก-ซีเมทธิลเซลลูโลส ไมโครคริสตอลไลเซลลูโลส เยื่อกระดาษ และมอลส์ทสกัด พบว่าการเติมกลูโคสให้ผลการกำจัดสีสูงสุดมากกว่าร้อยละ 80 ภายในเวลา 3 วัน สภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดสีคือ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พีเอช 4.5 - 5.5 มีการใช้เชื้อแบบแผ่นเส้นใย (mycelia pellets) สามารถกำจัดสีสูงสุดที่ร้อยละ 93 ส่วนค่าซีโอดีลดลงร้อยละ 35 ที่ 48 ชั่วโมง และกิจกรรมการกำจัดสีของแผ่น เส้นใยไม่ลดลงเมื่อใช้อย่างต่อเนื่องมากกว่า 30 วัน (Bajpai *et al*., 1993)

นอกจากการบำบัดน้ำทิ้งยังมีการนำคุณสมบัติของเชื้อราไวท์รือทมาประยุกต์ใช้ในเพื่อประโยชน์ทางอุตสาหกรรม โดยการใช้เส้นใยราไวท์รือท *Trametes* (*Coriolus*) *versicolor* ที่ถูกตรึงบนโพลียูรีเทนโฟม ในการฟอกสีเยื้อไม้เนื้อแข็ง (hardwood kraft pulp) ทำให้เยื้อไม้ขาว (brightness) ขึ้นร้อยละ 50.2 ภายใน 5 วัน ซึ่งระหว่างการเจริญของเส้นใย ปริมาณเยื้อกระดาษลดลงในปริมาณที่สอดคล้องกับเส้นใยที่เพิ่มขึ้น กลไกการฟอกสีเยื้อไม้มีกับความสัมพันธ์กลไกของเซลล์และองค์ประกอบที่มีการขับออกมานอกเซลล์ (Kirkpatrick *et al*., 1990)

การใช้เชื้อรา *Aspergillus niger* ผลิตโปรตีนในระดับการทดลองของ Hamdi และคณะ (1991) โดยไม่ปรับพีเอชและฆ่าเชื้อ นอกจากจะได้ผลิตภัณฑ์โปรตีนแล้วยังลดค่าซีโอดีได้ร้อยละ 61 ลดสารประกอบฟีนอลทั้งหมดร้อยละ 58 น้ำทิ้งหลังการบำบัดเปลี่ยนจากสีดำเป็นสีน้ำตาล นอกจากนี้ยังมีการใช้เชื้อรา *P. chrysosporium* เพื่อบำบัดน้ำทิ้งจากกระบวนการสกัดน้ำมันมะกอก ซึ่ง Sayadi และ Ellouz (1992) พบว่าสามารถลดสีและซีโอดีได้ร้อยละ 74 และ 80 ตามลำดับ ส่วน วีรพันธุ์ เดิมหลิ่ม (2537) เลี้ยงเชื้อ *A. niger*, *P. chrysosporium* P1 Isolate ในน้ำทิ้งบ่อสุดท้ายของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม พบว่าการเลี้ยง *A. niger* เป็นเวลา 5 วันมีการลดสีและซีโอดีสูงสุดร้อยละ 46 และ 77 ตามลำดับ

วิธีการทางกายภาพและเคมี

วีรพันธุ์ เดิมหลิ่ม (2537) กำจัดสีน้ำทิ้งบ่อสุดท้ายของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มโดยการกรองด้วยถ่านกัมมันต์ พบว่ามีประสิทธิภาพในการกำจัดสีและลดค่าซีโอดี ร้อยละ 75 และ 71.40 ตามลำดับ ส่วนการใช้สารเคมีตกตะกอนอันได้แก่ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ อลูมิเนียมซัลเฟต เฟอรัสซัสเฟต คลอริเนตเตตคอปเปอรัส ไคโตแซน โพลิเมอร์และโพลิเมอร์ผสมแคลเซียมออกไซด์ (CaO) พบว่าการใช้โพลิเมอร์ชีวภาพผสมแคลเซียมออกไซด์ (40 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 30 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ) สามารถลดสีและซีโอดีร้อยละ 99 และ 93.8 ตามลำดับ

โสภา จันทภาโส (2542) เปรียบเทียบการลดสีน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านการกำจัดสารแขวนลอยแล้วโดยวิธีการทางชีวภาพ (เอนไซม์ทางการค้า เปอร์ออกซิเดส (0.5-1.5

ยูนิตต่อมิลลิลิตร) และจุลินทรีย์ *P. chrysosporium* และ *Coriolus versicolor*) วิธีการทางเคมี (สารช่วยตกตะกอน) และวิธีการทางกายภาพ (การดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์ เมล็ดยางพารา และการกรองด้วยถังทราย) พบว่าวิธีการทางเคมีให้ประสิทธิภาพดีที่สุด โดยการใช้โพลีเฟอริกซัลเฟตความเข้มข้น 10 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับแคลเซียมออกไซด์ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร สามารถลดความเข้มของสีร้อยละ 84.5 และลดซีโอดีได้ร้อยละ 86.5

การใช้อลูมิเนียมซัลเฟต แคลเซียมออกไซด์ และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซม์กำจัดสีน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันมะกอกพบว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ให้ผลการกำจัดสีดีที่สุดและการกำจัดสีเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไฮโดรเจน เปอร์ออกไซด์ และคงที่ที่ความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร กำจัดสีได้ประมาณร้อยละ 40 - 50 อลูมิเนียมออกไซด์ (อลูมิเนียมซัลเฟตถูกเปลี่ยนรูปเป็นอลูมิเนียมไฮดรอไซด์) ความเข้มข้น 4 กรัมต่อลิตร กำจัดสีได้ร้อยละ 25 ส่วนแคลเซียมออกไซด์ความเข้มข้นระหว่าง 4 - 35 กรัมต่อลิตร กำจัดสีได้สูงสุดเพียงร้อยละ 15 (Flouri *et al*., 1996) ขณะที่จินตนา แก้วบริสุทธิ์ (2541) ศึกษาการบำบัดสีและซีโอดีของน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านกระบวนการบำบัดทางชีวภาพแล้วด้วยถ่านชนิดต่างๆ พบว่าถ่านกัมมันต์จากที่ทำจากไม้โกงกางมีประสิทธิภาพในการดูดซับซีโอดีและสีได้ดีกว่าถ่านกัมมันต์จากกะลามะพร้าว และยังพบว่าถ่านกัมมันต์ที่ผ่านการฟื้นสภาพโดยการเผาที่ 650 องศาเซลเซียส 10 ครั้งมีแนวโน้มสามารถดูดซับสีและซีโอดีได้ดีขึ้น ส่วนการใช้ถ่านไม้ธรรมดาและถ่านกะลาปาล์มมีประสิทธิภาพในการ ดูดซับต่ำ จากผลการทดลองยังพบว่าค่าสี (วัดที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตร) ที่ลดลงมีแนวโน้มเช่นเดียวกับการลดลงของความเข้มข้นของฟีนอล

ในบางครั้งการใช้วิธีการบำบัดและกำจัดของน้ำทิ้งโดยวิธีการใดวิธีการหนึ่งอาจไม่เกิดผลสมบูรณ์จึงต้องมีการใช้วิธีการหลายๆ วิธีการเพื่อก่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุด Sarianuntapiboon และคณะ (1998) ศึกษาการกำจัดสีของน้ำเสียจากกากน้ำตาลโดยใช้วิธีการทางชีวภาพร่วมกับ วิธีการทางเคมี ระบบทางชีวภาพที่ใช้คือ ระบบ Bi-Act SCBA น้ำที่ออกจากระบบบำบัดทางชีวภาพนี้มีค่าซีโอดีลดลงระหว่างร้อยละ 44.0 ส่วนสีมีร้อยละการลดลงต่ำ แต่น้ำเสียที่ผ่านกระบวนการบำบัดทางชีวภาพแล้วสามารถตกตะกอนด้วยสารเคมีได้ง่ายกว่าน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัด สารเคมีที่ใช้ตกตะกอนได้แก่ $FeCl_2$, $Al_2(SO_4)$ และโซเดียมไฮดรอกไซด์ ประสิทธิภาพการกำจัดสีสูงถึง ร้อยละ 93 เมื่อตกตะกอนด้วย $FeCl_2$ ร้อยละ 6 หรือ $Al_2(SO_4)$ ร้อยละ 20

ชนิดและคุณสมบัติเอนไซม์จากเห็ด

เห็ดราในกลุ่มเชื้อราไวท์รอทหรือบราวร็อท (white/brown rot fungi) สามารถเจริญได้ดีบนขอนไม้ จึงเป็นตัวย่อยสลายท่อนไม้ในธรรมชาติ มีรายงานว่าเชื้อเห็ดมีประสิทธิภาพสูงในการ

ย่อยสลายไม้ซึ่งมีองค์ประกอบหลักที่สำคัญในเนื้อไม้คือ ลิกโนเซลลูโลส ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่าเกิดจากการที่เห็ดสามารถผลิตเอนไซม์นอกเซลล์กลุ่มลิกนิโนไลติก (ligninolitic enzyme) ซึ่งเป็นกลุ่มเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสอันประกอบด้วย 3 ส่วนที่สำคัญ ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน หากแบ่งกลุ่มเอนไซม์ตามชนิดของสับสเตรตสามารถแบ่งเอนไซม์ออกเป็น 3 กลุ่มคือ เอนไซม์ที่ย่อยสลายเซลลูโลส คือ เซลลูเลส ที่เป็นกลุ่มเอนไซม์เชิงซ้อนประกอบด้วย 3 ส่วนที่สำคัญ คือ เอนโดกลูคาเนส (endoglucanase) เซลโลไบโอไฮโดรเลส (cellobiohydrolase) และ บีตา- กลูโคสซิเดส (β- glucosidase) เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายเฮมิเซลูโลส ซึ่งมีไซแลนเป็นองค์ประกอบ คือ ไซลาเนส ประกอบด้วย เอนโดไซลาเนส (endoxylanase) เอกโซไซลาเนส (exo-xylanase) และ บีตา - ไซโลซิเดสหรือไซโลไบเอส (β-xylosidase/xylobiase) ส่วนลิกนินซึ่งเป็นสารประกอบโพลีฟีนนอล (polyphenol) ที่มีโครงสร้างซับซ้อน เป็นโพลิเมอร์ของ *p*-hydroxyphenylpropane ที่มาจากการเชื่อมโยงขององค์ประกอบ 3 กลุ่ม คือ coniferyl alcohol, sinapyl alcohol และ *p*-coumaryl alcohol พันธะที่พบภายในโครงสร้างหลักนั้นมีมากกว่า 10 ชนิด และพันธะที่สำคัญคือ พันธะเอสเตอร์ (C-O-C) ซึ่งจะทนต่อการถูก ย่อยสลายด้วยกรด นอกจากนี้ยังพบพันธะคาร์บอน (C-C) ซึ่งทนต่อการย่อยสลายด้วยกรดหรือด่าง จึงมีเอนไซม์หลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลาย (Zadrazil and Reinger,1988) และเนื่องจากเอนไซม์ในกลุ่มนี้มีความจำเพาะต่ำจึงสามารถย่อยสลายสารอื่นๆ ที่ไม่เกี่ยวข้องกับลิกนินได้อีก เช่นโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน โพลีคลอริเนทไบฟีนิล (polychlorinated biphenyls) สารประกอบฟีนอลิกที่มีคลอรีนในโครงสร้าง (Imura *et al*., 1996 ; Leontievsky *et al.*, 2001) และสีสังเคราะห์ (Abadulla *et al.*, 2000 ; Chagas and Durrant, 2001; Heinfling *et al*., 1998 ; Vinciquerra *et al.,*1995) เป็นต้น

เอนไซม์กลุ่มลิกนิโนไลติก

กิจกรรมของเอนไซม์เป็นปัจจัยที่มีผลร่วมต่อการย่อยสลายส่วนประกอบที่สำคัญของไม้ เช่น ลิกโนเซลลูโลส คือ ความสามารถในการผลิตเอนไซม์ลิกนิโนไลติก ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิดทำงานร่วมกัน เช่น เซลลูเลส (cellulase) ไซลาเนส (xylanase) แลคเคส (laccase) ลิกนินเปอร์ออกซิเดส (lignin peroxidase) เหตุผลที่ทำให้ราในกลุ่มราไวท์รอท เจริญได้ดีบนสับสเตรตที่มีลิกนินและแทนนินยังไม่เป็นที่แน่ชัด Cai และคณะ (1993) รายงานว่าเห็ดนางฟ้า (*Pleurotus sajor-caju*) และเห็ดหอม (*Lentinula edodes*) สามารถผลิตเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (phenol oxidase) และเอนไซม์อื่นๆที่มีผลต่อการย่อยสลายลิกนิน เช่น เปอร์ออกซิเดส (peroxidase) และเอนไซม์ที่ทำงานร่วมได้แก่ เซลลูเลส ไซลาเนส แลคเคส เพคติเนส เป็นต้น

ชริดา ปุกหุต และคณะ (2543) รายงานการผลิตเอนไซม์และระบบเอนไซม์ในเห็ดสกุล *Lentinus* spp. (*L. polychrous , L. squarrosulus* และ *Lentinus* sp.) ซึ่งเลี้ยงในอาหารเหลวพีดีบี และทดสอบระบบเอนไซม์ 3 ชนิด คือ เซลลูเลส ไซลาเนส และแลคเคส พบว่าระบบเอนไซม์มีความแตกต่างจัดได้ 4 กลุ่ม คือ (1) มีครบ 3 เอนไซม์ 14 ไอโซเลท (2) ขาดเอนไซม์เซลลูเลส 5 ไอโซเลท (3) ขาดเอนไซม์ไซลาเนส 2 ไอโซเลท (4) ขาดเอนไซม์แลคเคส 1 ไอโซเลท

เปอร์ออกซิเดสและฟีนอลออกซิเดสเป็นเอนไซม์ที่มีส่วนในการลดมลพิษและย่อยสลายสารในสภาวะแวดล้อม จากการศึกษาเห็ดในบราซิล 44 ชนิด โดยใช้ *P. chrysosporium* ATCC 28326 เป็นชุดควบคุม พบว่า เห็ด 12 ชนิด ตรวจไม่พบการผลิตเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส และ 7 ชนิดที่ไม่พบการผลิตเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส แต่เห็ดที่มีการผลิตเอนไซม์ 2 ชนิดนี้ได้แก่ สกุล *Lentinus, Melanoporia, Deniophoria, Trametes, Trichaptum* และ *Trogia* (Machado *et al*., 1996) และการเลี้ยง *L. edodes* ในกากแครนเบอรี่ (cranberry) พบว่ามีการผลิตเบตา-กลูโคซิเดส (beta-glucosidase) ย่อยสลายโพลีเมอร์ของสารประกอบฟีนอลจากกากแครนเบอรี่ได้สารประกอบฟีนอลอิสระเช่น gallic acid, chlorogenic acid, β-hydroxybenzoic acid และ β-coumaric acid (Zheng and Shetty, 2000)

รูปแบบการผลิตเอนไซม์ในเห็ดมีความแตกต่างกันแม้จะเป็นเชื้อเห็ดที่อยู่ในชนิดเดียวกัน จากการเพาะเลี้ยง *Lentinus* (*Lentinula*) *edodes* และ *Pleurotus ostreatus* ในซังข้าวโพด ซึ่งเห็ดทั้งสองชนิดนี้จัดเป็นรากลุ่มราไวท์รอท เมื่อทดสอบการผลิตเอนไซม์ 3 ชนิด คือ ฟีนอลออกซิเดส เซลลูเลสและไซลาเนส ในการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีลิกนินอยู่ พบว่าเห็ดมีการผลิตเฉพาะเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส และไม่พบเอนไซม์ในกลุ่มเซลลูเลสและไซลาเนส แสดงว่าลิกนินในองค์ประกอบของอาหารมีผลต่อการผลิตเอนไซม์ด้วย และความสามารถในการกำจัด ลิกนินของเห็ดหอม ดีกว่าเห็ดนางรม (Sermanni *et al*., 1994) Vinciquerra และคณะ (1995) รายงานการใช้ราไวท์รอท *L. edodes* บำบัดน้ำทิ้งจากกระบวนการแยกส่วนของแข็งออกจากของเหลวจากผลมะกอก โดยเลี้ยงเส้นใยในสภาพอาหารเหลวที่มีการกวน เกิดเอนไซม์ที่มีผลต่อเมทแทบอลิซึมของฟีนอล เช่น ฟีนอลออกซิเดส และ แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส ส่วน Chagas และ Durrant (2001) ทดสอบการขจัดสี azo dye 4 ชนิดโดยใช้เส้นใยเห็ด *P. chrysosporium* และ *Pleurotus sajor-caju* ทดสอบกิจกรรมเอนไซม์ดังต่อไปนี้ ลิกนินเปอร์ออกซิเดส แลคเคส ดี (laccase D: *o* - dianisidine) แลคเคส เอส (laccase S: syringaldazine) แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส วีราทริลแอลกอฮอล์ออกซิเดส (veratryl alchohol oxidase) กลูโคสออกซิเดส (glucose - 1- oxidase: GOD) บีต้า-กลูโคซิเดส รวมถึงเอนไซม์เซลโลไบโอส-ควิโนนีออกซิโดรีดักเตส (cellobiose - quinoneoxidoreductase: CBQ) และไม่พบกิจกรรมเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดสและวีราทริล-แอลกอฮอล์ออกซิเดสจาก

เส้นใยเห็ดทั้งสองชนิด ส่วนเอนไซม์ชนิดอื่นๆ พบแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของ azo dye (สีสังเคราะห์ซึ่งใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร) และสายพันธุ์เห็ด Aggelis และคณะ (2002) ทดสอบเลี้ยงเชื้อรากลุ่มไวท์รือท อันได้แก่ *Abortiporus biennis, Dichomitus squalens ,Iinonotus hispidus, Irpex lateus, Lentinus tigrinus, Panellus stipticus, Pleurotus ostreatus* และ *Trametes hirsuta* ในน้ำทิ้งจากกระบวนการกำจัดสารรสขมจากน้ำมันมะกอก สายพันธุ์เหล่านี้ส่วนใหญ่มีกิจกรรมของเอนไซม์ เลคแคสสูง ตามมาด้วยเอนไซม์ แมงกานีสอินดีเพ็นเด้นเปอร์ออกซิเดส เฉพาะ *P. ostreatus* กับ *A. biennis* เท่านั้นที่พบเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส แต่ไม่พบกิจกรรมของลินินเปอร์ออกซิเดสและวีราทริลแอลกอฮอล์ออกซิเดส (VAOx) จากทั้ง 8 สายพันธุ์ที่ทดสอบ

กลไกการทำงานของเอนไซม์

เอนไซม์ในกลุ่มลิกนิโนไลติกมีอยู่หลายชนิด และมีศักยภาพในการใช้กับงานทางสิ่งแวดล้อม ในอดีตเอนไซม์ในกลุ่มฟีนอลออกซิเดส หมายถึงเอนไซม์แลคเคสและเปอร์ออกซิเดส ซึ่งเอนไซม์ทั้งสองชนิดนี้มีความแตกต่างกัน คือ แลคเคสต้องการออกซิเจนจากแก๊สออกซิเจนในการเกิดปฏิกิริยากับสับสเตรต ขณะที่เปอร์ออกซิเดสต้องการออกซิเจนจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และเอนไซม์ทั้งสองชนิดสามารถย่อยสลายองค์ประกอบของลิกนินได้บางส่วนด้วยการตัดพันธะ alkyl-phenol C - C linkage ด้วยกลไกของปฏิกิริยาที่เกิดจากเอนไซม์ไปเร่งปฏิกิริยาการดึงอิเลคตรอน ตามด้วยปฏิกิริยาการกำจัดน้ำ (condensation reaction) และโปรตอนจากหมู่ไฮดรอกซิลของฟีนอล เพื่อให้อยู่ในรูปอนุมูลอิสระ และเนื่องจากเอนไซม์ในกลุ่มนี้มีความจำเพาะต่ำ จึงสามารถเกิดปฏิกิริยากับสับสเตรตได้เป็นช่วงกว้าง (Zadrazil and Reinger, 1988) มีการรวบรวมปฏิกิริยาของแต่ละเอนไซม์ดังแสดงในตารางที่ 5

กิจกรรมเอนไซม์แลคเคสและเปอร์ออกซิเดสสามารถเกิดเร่งปฏิกิริยาได้สองชนิด คือ ปฏิกิริยาการตัดสายโพลิเมอร์ (depolymerization) และการต่อสายโพลิเมอร์ (polymerization) ในกระบวนการย่อยสลายองค์ประกอบของลิกนินไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งในสภาพธรรมชาติมีกลไกทางชีวเคมีที่จะยับยั้งกิจกรรมการต่อสายโพลิเมอร์ของสารอะโรมาติก เช่น พบว่าการมีเซลลูโลสในปฏิกิริยาด้วย เอนไซม์สามารถเกิดปฏิกิริยาการสลายลิกนินซัลโฟเนตได้ดีกว่าการมีลิกนินอย่างเดียว ขณะที่การทำปฏิกิริยาแบบ *in vitro* เกิดปฏิกิริยาการต่อสายโพลิเมอร์โดยแลคเคสได้ชัดเจนกว่าปฏิกิริยาที่มีสารอื่นๆรบกวน (Kirk *et al*., 1981) จึงอาจกล่าวได้ว่าการมีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตมีผลยับยั้งกิจกรรมการต่อสายโพลิเมอร์ของเอนไซม์

1) แลคเคส (E.C. 1.10.3.2 benzenediol: oxidoreductase) เป็นเอนไซม์สำคัญที่ถูกจัดอยู่ในกลุ่มออกซิโดรีดักเทสที่มีมัลติคอปเปอร์ ในโครงสร้าง เกิดปฏิกิริยาออซิเดชั่นโดยใช้ออกซิเจนจากอากาศเป็นตัวรับอิเล็กตรอนไปเป็นน้ำ โดยสามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของ 1 อิเลคตรอน จาก

ตารางที่ 5 ความจำเพาะต่อสับสเตรตและปฏิกิริยาของเอนไซม์ภายนอกเซลล์จาก Basidiomycete ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายลิกโนเซลลูโลส

Table 5 Substrate specificity and mode of action basidiomycete extracellular enzymes involved in lignocellulose biodegradation

Name(s)	Reactions
Ligninase, Lignin peroxidase	Cα- Cβ cleavage of propyl side chains of lignin, lignin model compounds, partially depolymerises lignin.
Laccase, Phenol oxidase	Oxidises σ- and *p*- phenols and aromatic amines to quinones.
Endocellulase, 1,4 β- D-glucan 4 glucanohydrolase	Cleavage of internal 1, 4 β- D glycosidic bonds in cellulose chains.
Cellobiohydrolase , Exoglucanase, 1,4 β D- D glucan cellobiohydrolase	Removal of cellobiose units from non- reducing ends of cellulose chains.
β- glucosidase, β-D glucoside glucohydrolase	Cellobiose hydrolysis to glucose units. Glucose removal from non-reducing ends of cellulose chains.
Cellobiose dehydrogenase, Cellobiose: quinone 1 oxido- reductase	Cellobiose + quinone $\overset{<}{>}$ cellobionolactone + phenol.
Cellobiose dehydrogenase, Cellobiose: acceptor 1- dehydrogenase	Cellobiose + A $\overset{<}{>}$ cellobionolactone + AH_2
Xylanase, Endo- 1,4 β-xylanase	Cleavage of internal 1, 4, β- D glycosidic bond in xylans.
Xylosidase β- xylosidase	Xylobiose hydrolysis to xylose units. Xylose removal from non-reducing ends of xylan chains.

ที่มา: Zadrazil and Reinger (1988)

สับเสตรตที่เป็นสารอะโรมาติกหลายชนิด และมีสับสเตรตในช่วงกว้างมาก เช่น โพลีฟีนอล methoxy-substituted monophenols อะโรมาติกเอมีน และสารประกอบอื่นๆ ที่สามารถออกซิไดซ์ได้ง่าย กลไกปฏิกิริยาเริ่มจากการเป็นตัวให้อิเล็คตรอนเร่งการกำจัดอะตอมไฮโดรเจนจากหมู่ไฮดรอกซิลของสับสเตรต 1 อิเล็คตรอนทำให้เกิดอนุมูลอิสระ แล้วต่อด้วยปฏิกิริยาการตัดหรือต่อสายโพลิเมอร์ เมทธิลเลชั่นหรือการเกิด quinone (Abadulla *et al*., 2000)

2) เปอร์ออกซิเดส เอนไซม์ในกลุ่มนี้ที่พบศึกษามากได้แก่ ลิกนินเปอร์ออกซิเดส และแมงกานีสเปอร์ออกซิเดสซึ่งเอนไซม์ทั้งสองประกอบด้วยไกลโคโปรตีนที่มีน้ำตาลอยู่ประมาณร้อยละ 20 - 30 (Zadrazil and Reinger, 1988)ในการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชั่นจำเป็นต้องมีไฮโดรเจนเปอร์ออกไซม์เป็นสับสเตรตร่วม ทั้งนี้เพราะเปอร์ออกซิเดสเป็นเอนไซม์ที่มี iron porphyrin heme 1 หมู่ในโมเลกุล ซึ่งเหล็กอิออนนี้เองที่ถูกออกซิไดซ์ได้ง่ายโดยเปอร์ออกซิเดสแล้วเปลี่ยนไปสู่ออกซิเดชั่นสเตทที่สูงขึ้น เอนไซม์จึงสามารถออกซิไดซ์ลิกนิน และสารประกอบที่เกี่ยวข้องได้ นอกจากนี้เอนไซม์กลุ่มนี้ ยังมีผลต่อการเปลี่ยนรูป (biotransformation) สารที่คงตัวมากๆ ในสิ่งแวดล้อม คือ xenobiotics, pentachlorophenol 2,5 - dichlorophenol และ 2,4,6 - trichlorophenol (Makkar *et al*,. 2001 Heinfling *et at.*, 1998 ; Leontievsky *et al.*, 2001)

2.1) เอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดส สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชั่นโดยใช้ออกซิเจนจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซม์เป็นตัวรับอิเล็กตรอน แต่หากมีเปอร์ออกไซด์มากเกินพอจะมีผลต่อเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดสที่ถูกออกซิไดซ์ได้ง่ายในสภาพที่มีเปอร์ออกซิเดสเกินพอและเปลี่ยนอยู่ในรูปที่ไม่สามารถทำงานได้ (inactive form) (Zadrazil and Reinger, 1988) สับสเตรทจำเพาะจะเหมือนกับเปอร์ออกซิเดสทั่วไป คือ ลิกนินและสารที่ไม่อยู่ในกลุ่มฟีนอลิก ลิกนินเปอร์ออกซิเดสสามารถตัดพันธะระหว่าง C_{α} และ C_{β} ของหมู่ข้างโพรพิลแล้วให้เบนซิดิกอัลดีไฮด์ที่ C_{α} (Hammel *et al*., 1993) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาเริ่มต้นที่สำคัญในระบบการย่อยสลาย ร่วมทั้งสามารถตัด β- O- 4 ether linkage ในโครงสร้างของลิกนิน

2.2) เอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (E.C. 1.11.1.7) พบเอนไซม์นี้ 2 ชนิด ได้แก่ Manganese Peroxidase (MnP) และ Manganese Independent Peroxidase (MIP) มีสับสเตรตในกลุ่มเดียวกับลิกนินเปอร์ออกซิเดสคือ ลิกนิน สารประกอบในรูปแบบเดียวกับลิกนิน ไทออล (thiol) และเอมีน เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจาก $Mn^{+2} \longrightarrow Mn^{+3}$ จากการวิเคราะห์ทางกลศาสตร์ พบว่าเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสอาจเกิดปฏิกิริยาเข้าคู่รีดอกซ์ระหว่าง Mn^{+3} กับ Mn^{+2} มากกว่าการจับกันระหว่างเอนไซม์กับตัวกระตุ้นหรือสับสเตรต (Wariishi *et al*., 1992) ซึ่งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจะเหมือนกับเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสจากฮอร์สแรดดิช (horseradish) และ ลิกนินเปอร์ออกซิเดส ดังนี้

$$MnP + H_2O_2 \rightarrow MnPI + H_2O \quad (1)$$

$$MnPI + Mn^{II} \rightarrow MnPII + Mn^{III} \quad (2)$$

$$MnPII + Mn^{II} \rightarrow MnP + Mn^{III} \quad (3)$$

$$Mn^{III} + AH \rightarrow Mn^{II} + A. \quad (4)$$

แม้ว่าลิกนินเปอร์ออกซิเดสและแมงกานีสเปอร์ออกซิเดสสามารถเร่งปฏิกิริยาการตัดและต่อสายโพลิเมอร์ได้เหมือนกัน แต่พบว่าแมงกานีสเปอร์ออกซิเดส จาก *P. chrysosporium* มีกิจกรรมการตัดสายโพลิเมอร์สูงกว่า และมีกิจกรรมการต่อสายโพลิเมอร์ต่ำกว่าลิกนินเปอร์ออกซิเดส (lignin model *in vitro*) ซึ่งทำให้แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสไม่สามารถย่อยสลายโครงสร้างที่ไม่ใช่ฟีนอลิก (Hammel *et al*., 1993)

3) โพลีฟีนอลออกซิเดส หรือเอนไซม์ไทโรซิเนส (polyphenoloxidase/tyrosinase EC 1.14.18.1) เป็นโปรตีนที่มีทองแดงอยู่ในโครงสร้าง เกิดปฏิกิริยาแคตาไลส์ *o*- hydroxylation ของโมโนฟีนอลไปเป็น *o* - diphenol ด้วยกิจกรรมโมโนฟีนอลเลส (monophynolase activity) แล้วเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน *o* - diphenol ไปเป็น *o* - quinones ด้วยกิจกรรมไดฟีนอลเลส (diphenolase activity) ส่วนกระบวนการต่อสายโพลิเมอร์ต่อเนื่องจากควิโนนเป็นสารที่ไม่คงตัวจึงเกิดการต่อสายโพลิเมอร์ด้วยกลไกที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ได้เป็นสารสี การสังเคราะห์รงควัตถุเมลานินจาก L-DOPA (Rodriguez-Lo'pez *et al*., 2001) ปฏิกิริยาของไทโรซิเนสเหมือนกับเอนไซม์แลคเคส คือ เกิดทั้งปฏิกิริยาต่อและตัดโพลิเมอร์และมีสับสเตรตในกลุ่มเดียวกัน แต่อาจต่างกันที่ระดับการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของแลคเคสสูงกว่า

โดยสรุปเอนไซม์ในกลุ่มลิกนิโนไลติกสามารถตัดสายโพลิเมอร์ของสารอะโรมาติกและฟีนอลิก แต่ต่างกันที่ระดับศักย์รีดอกซ์ของสับสเตรตที่สามารถออกซิไดซ์ได้ ขณะเดียวกันสามารถเกิดปฏิกิริยาต่อสายโพลิเมอร์ของสับสเตรตในกลุ่มเดียวกันได้สายโพลิเมอร์ที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำ (Wada *et al*., 1993) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสับสเตรต และกิจกรรมต่อสายโพลิเมอร์มักทำการทดลองแบบ *in vitro* คือมีสารที่ต้องการทดสอบเพียงชนิดเดียวแล้วใช้เอนไซม์บริสุทธิ์ หรือถ้าใช้เอนไซม์ดิบจะเป็นเอนไซม์ที่ผ่านการทำบริสุทธิ์บางส่วนเพื่อลดปัจจัยรบกวน นอกจากนี้เอนไซม์ในกลุ่มนี้มีความสำคัญในแง่ของการเตรียมโครงสร้างของสารให้พร้อมสำหรับการย่อยสลาย เช่น การตัดสายโพลิเมอร์ลิกนินเป็นองค์ประกอบย่อยๆ การตัดหมู่ข้าง รวมถึงการทำให้วงแหวนเบซีนไม่เสถียรทำให้ง่ายต่อการตัดวงแหวนและมีการนำสารเหล่านั้นไปสร้างเป็นพลังงานโดยตัวมันเองหรือโดยจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ

ปัจจัยที่มีผลต่อกิจกรรมเอนไซม์และการเจริญของเส้นใยเห็ด

1. **สารอาหาร**

Buswell และคณะ (1995) ศึกษาระดับความเข้มข้นไนโตรเจนต่อการผลิตเอนไซม์แลคเคส โดยเห็ดหอม (*Lentinula edodes* strain L54) พบว่าไนโตรเจนมีผลลดการผลิตเอนไซม์ชนิดนี้ ปริมาณเอนไซม์แลคเคสสูงสุดเมื่อเส้นใยเห็ดหอมเจริญในสภาวะที่มีความเข้มข้นไนโตรเจนสูง (26 มิลลิโมลาร์ โดยทดสอบไนโตรเจน 2 แหล่ง คือ NH_4NO_3 และ L-asparagine) ขณะที่การผลิตเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสมีผลในทางกลับกันคือ มีการผลิตแมงนีสเปอร์ออกซิเดสสูงที่สภาวะมีไนโตรเจนต่ำ (2.6 มิลลิโมลาร์) สอดคล้องกับผลการทดลองของ D'souza และคณะ (1999) ศึกษาสภาวะต่างๆ ที่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์ของเส้นใยเห็ด *Ganoderma lucidum* พบว่าเส้นใยเห็ดมีการผลิตเอนไซม์แลคเคสในสภาวะที่มีไนโตรเจนสูง (24 มิลลิโมลาร์) ซึ่งสูงกว่าสภาวะที่มีความเข้มข้นไนโตรเจนต่ำ (2.4 มิลลิโมลาร์) ในมอลส์สกัด และการเพาะเลี้ยงในไม้

การใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนในการเพาะเลี้ยง *L. edodes* ในอาหารสังเคราะห์ พบว่าเชื้อผลิตเฉพาะเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส และแลคเคส แต่ไม่พบว่ามีการผลิตเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดส (Buswell *et al*., 1995) ส่วนการเพาะเลี้ยงเส้นใย *Ganoderma lucidum* โดยใช้ไม้สนและ poplar (ขนาด 100 mesh) รวมกันเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน พบว่าเห็ดมีการผลิตเอนไซม์แลคเคสสูงกว่าการใช้ไม้สนหรือ poplar เพียงอย่างเดียว และไม่พบการผลิตเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดสหรือแมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (D'souza *et al*., 1999) แสดงว่าองค์ประกอบของสับสเตรตที่แตกต่างกันสามารถกระตุ้นการสร้างเอนไซม์ได้ไม่เท่ากัน

ปริมาณโพลีกาแลคทูโรนิคในสับสเตรตมีผลต่อการผลิตเอนไซม์โพลีกาแลคทูโรเนส ซึ่งเป็นการกระตุ้นการผลิตเอนไซม์แบบการชักนำด้วยสับสเตรต แต่มีขีดจำกัดในการกระตุ้นเนื่องจากการเพิ่มปริมาณโพลีกาแลคทูโรนิคระดับหนึ่งเท่านั้นที่มีผลกระตุ้นการผลิตโพลีกาแลคทูโรเนส Zheng และ Shetty (2000) เลี้ยงเห็ดหอม (*L. edodes*) ในวัสดุเศษเหลือจากกระบวนการแปรรูปผลไม้ พบว่าระดับโพลีกาแลคทูโรนิคที่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์โพลีกาแลคทูโรเนส และพบว่าในกากสตอเบอรีซึ่งมีปริมาณโพลีกาแลคทูโรนิคเหมาะสมจึงผลิตโพลีกาแลคทูโรเนสสูง เมื่อทดสอบเพิ่มปริมาณโพลีกาแลคทูโรนิคในกากผลไม้ทั้ง 3 ชนิดโพลีกาแลคทูโรนิคมีผลเพิ่มกิจกรรมเอนไซม์ในกากแอปเปิลและกากแครนเบอรีแต่ไม่มีผลในกากสตอเบอรีซึ่งมีโพลีกาแลคทูโรนิคสูงอยู่แล้ว

Miyata และคณะ (2000) พบว่า *Coriolus hirsutus* สามารถกำจัดสีเมลานอยดินสังเคราะห์ได้ดีในสภาวะที่ไม่มีการเติมแหล่งไนโตรเจน ซึ่งการเปรียบเทียบผลของไนโตรเจนอินทรีย์ (เปบโตน) และไนโตรเจนอนินทรีย์ (แอมโมเนียมและไนเตรต) ต่อการกำจัดสีเมลานอยดิน พบว่าอินทรีย์ไนโตรเจนมีผลลดความสามารถในการกำจัดสีของเชื้อมากกว่าอนินทรีย์ไนโตรเจน

วสันณ์ เพชรรัตน์ (2538c) ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเห็ดกระด้าง (*L. polychrous*) พบว่า เส้นใยเจริญเติบโตได้ดีในอาหารวุ้นพีดีเอที่เติมยีสต์สกัดและเปปโตน ร้อยละ 0.05 และ 0.1 ตามลำดับ แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยคือ เปปโตนและกรดกลูตามิก สำหรับเส้นใยเห็ดขอนขาว (*L. squarrosulus*) เจริญดีที่สุดบนอาหารวุ้น พีดีเอผสมน้ำสกัดจากฟางข้าว แหล่งคาร์บอนที่ใช้ได้ดีคือ ฟรุคโตส กลูโคส และมอลโตส ส่วนแหล่งไนโตรเจนได้แก่ เปปโตน กรดกลูตามิก และแอมโมเนียมไนเตรต การเจริญของเห็ดบนวัสดุเพาะขี้เลื่อยพบว่าแป้งข้าวเหนียวร้อยละ 2 - 10 ทำให้การเจริญดีขึ้น (วสันณ์ เพชรรัตน์, 2538a) และเส้นใยเห็ดหูกวาง (*L. strigosus*) เจริญดีที่สุดบนอาหารวีแปด (V_8) รองลงมาคืออาหารจีพีเอ (glucose potato agar: GPA) และเอ็มอีเอ (malt extract agar: MEA) แหล่งคาร์บอนที่ใช้ได้ดีได้แก่ ฟรุคโตส กลูโคส และแป้งข้าวเหนียว แหล่งไนโตรเจนคือ เปปโตนและแอมโมเนียมซัลเฟต (วสันณ์ เพชรรัตน์, 2538b)

2. **อุณหภูมิและพีเอช**

วสันณ์ เพชรรัตน์ (2538c) ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเห็ดกระด้าง ในอาหารวุ้นสังเคราะห์ พบว่าอุณหภูมิที่เส้นใยเจริญเติบโตได้ดีคือ ช่วง 25 - 35 องศาเซลเซียส เจริญดีที่สุดที่ 35 องศาเซลเซียส พีเอช ระหว่าง 4 - 5 หากพีเอชสูงหรือต่ำกว่านี้เส้นใยเจริญเติบโตได้น้อย ส่วนเส้นใยเห็ดขอนขาวเจริญเติบโตได้ดีช่วงอุณหภูมิ 25 - 35 องศาเซลเซียส พีเอชช่วง 4 - 8 ดีที่สุดที่ พีเอช 6 ถ้าพีเอชสูงหรือต่ำกว่านี้เส้นใยเจริญน้อย (วสันณ์ เพชรรัตน์, 2538c) และเส้นใยเห็ดหูกวางเจริญได้ระหว่างอุณหภูมิ 25 - 35 องศาเซลเซียส หากอุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่านี้เส้นใยเจริญน้อย เห็ดชนิดนี้จัดเป็นเห็ดที่เจริญที่อุณหภูมิสูงมากเนื่องจากที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เห็ดหูกวางสามารถเจริญได้เล็กน้อย พีเอชที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 5 - 9 และเจริญดีที่สุดที่ พีเอช 6 (วสันณ์ เพชรรัตน์, 2538b)

ชริดา ปุกหุต และคณะ (2543) รายงานการผลิตเอนไซม์และระบบเอนไซม์ในเห็ดสกุล *Lentinus* spp. (L. *polychrous, L. squarrosulus* และ *Lentinus* sp.) ซึ่งเลี้ยงในอาหารพีดีเอและพีดีบี พบว่าเห็ดสกุลนี้เจริญได้ดีที่ 15, 20, 40 และ 45 องศาเซลเซียส สำหรับเห็ดหอม (*L. edodes*) ส่วนมากเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

3. **สารยับยั้ง**

ในบางกรณีผลิตภัณฑ์จากกระบวนการแคทาไลซิส หรือไฮโดรไลซิสของเอนไซม์นอกจากจะมีผลการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โดยตรงแล้วยังมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งแปรผันโดยตรงต่อการผลิตเอนไซม์ Chai และคณะ (1993) พบว่าโมโนฟีนอลจากการย่อยสลายโดยเห็ดมีผลทางด้านลบต่อการเจริญของเชื้อเห็ดนางฟ้า *Pleurotus sajor-caju* ซึ่งทนต่อพิษของโมโนฟีนอลและแทนนินได้ดีกว่าเห็ดหอมและเห็ดฟาง (*Volvariella volvacea*) Xu (1996) ศึกษากิจกรรมของ

เอนไซม์ แลคเคสพบว่าตัวยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ได้แก่อิออนของธาตุในหมู่ฮาโลเจน ลำดับการยับยั้งคือ $F^- > Cl^- > Br^-$

4. **อิออนโลหะ**

แร่ธาตุบางชนิดมีผลกระตุ้นหรือ ยับยั้งการผลิตเอนไซม์ของเห็ด Buswell และคณะ (1995) ศึกษาอิทธิพลของแมงกานีสต่อการผลิตเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (Mn-peroxidase) ของเห็ดหอม (*Lentinula edodes* strain L54) พบว่าความเข้มข้นเอนไซม์สูงสุดในการเพาะเลี้ยงที่ให้แมงกานีสในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม (1.1 ppm) ขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสจาก *Pleurotus ostreatus* คอปเปอร์อิออนกลับมีส่วนกระตุ้นการผลิตเอนไซม์ในระดับการผลิตโปรตีนในเซลล์ (Palmieri *et al*., 2000) ผลของอิออนโลหะสำหรับการกำจัดสีของน้ำทิ้งโดยจุลินทรีย์มีผลเกี่ยวเนื่องกันกับกิจกรรมของเอนไซม์โดย Miyata และคณะ (2000) กำจัดสีของน้ำเสียที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน ด้วย *Coriolus hirsutus* พบว่าการเติมแมงกานีสอิออน (Mn^{2+}) มีผลเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีผลต่อการเพิ่มความสามารถในการกำจัดสีของ *C. hirsutus*

วัตถุประสงค์

1. เพื่อคัดเลือกให้ได้เห็ดสกุล *Lentinus* สายพันธุ์ที่สามารถเจริญและบำบัดสีของน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

2. เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการลดสีของน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มโดยใช้เห็ดสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้

3. เพื่อทดสอบการกำจัดสีด้วยวิธีการทางเคมี