ภาคผนวก

ภาคผนวก ก-1 แบบสอบถามการถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตน้ำหมักชีวภาพและปุ๋ยหมักจากวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าวในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์

ภาคผนวก ก-2 แบบสอบถามการติดตามผลการถ่ายทอดเทคโนโลยีฯ ของผู้เข้าร่วมอบรมด้านความเข้าใจและการนำเทคโนโลยีผลิตน้ำหมักชีวภาพและปุ๋ยหมักไปปรับใช้ในพื้นที่

ภาคผนวก ข ข้อมูลลักษณะทางเศรษฐกิจและสังคมของผู้เข้าร่วมอบรม (ชุมชนนำร่อง)

ภาคผนวก ค-1 ภาพกิจกรรมการถ่ายทอดเทคโนโลยีฯ ระยะที่ 1

ภาคผนวก ค-2 ภาพกิจกรรมการถ่ายทอดเทคโนโลยีฯ ระยะที่ 2

ภาคผนวก ง วารสาร

ภาคผนวก ก - 1

แบบสอบถาม

การถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยหมักและน้ำหมักชีวภาพจากวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าว ในระดับชุมชน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

ประเด็นในแบบสอบถาม มีทั้งหมด 6 ตอน

ตอนที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของผู้ให้สัมภาษณ์

ตอนที่ 2 ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการจัดการวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าว

ตอนที่ 3 ความเข้าใจต่อการจัดการวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าวในชุมชน

ตอนที่ 4 ความคิดเห็นของชุมชนต่อการยอมรับเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยหมักและน้ำหมักชีวภาพจากขุยมะพร้าวและน้ำทิ้งจากการผลิตน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์

ตอนที่ 5 การร่วมมือของชุมชนต่อการสร้างโรงงานต้นแบบผลิตปุ๋ยหมักและน้ำหมักชีวภาพจากวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าวระดับชุมชน

ตอนที่ 6 ปัญหาและอุปสรรคต่อการมีส่วนร่วมของชุมชนต่อการสร้างโรงงานต้นแบบผลิตปุ๋ยหมักและน้ำหมักชีวภาพจากวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าวระดับชุมชน

คำชี้แจง โปรดกาเครื่องหมาย ✓ ลงใน ☐ ให้ตรงกับสภาพความเป็นจริง

ตอนที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของผู้ให้สัมภาษณ์

1. ชื่อ-สกุล .....
2. ที่อยู่ .....
3. เบอร์โทรศัพท์ (บ้าน) ..... มือถือ .....
4. เพศ ☐ ชาย ☐ หญิง
5. อายุ .....อายุ
6. สถานะภาพการสมรส ☐ โสด ☐ สมรส
7. การศึกษาสูงสุดของท่าน
   - ☐ ระดับประถมศึกษา
   - ☐ ระดับมัธยมศึกษาตอนต้น
   - ☐ ระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย
   - ☐ ระดับปริญญาตรีขึ้นไป
8. อาชีพที่เกี่ยวข้องกับมะพร้าว
   - ☐ เกษตรกรสวนมะพร้าว
   - ☐ ผู้รวบรวมรับซื้อมะพร้าว (ล้ง)
   - ☐ ผู้ประกอบการแปรรูปมะพร้าว (ระบุ) .....
   - ☐ ผู้ใช้แรงงานแปรรูปมะพร้าว (ระบุ) .....
9. รายได้เฉลี่ยของครอบครัวต่อเดือน (ไม่หักค่าใช้จ่าย) ..... บาท
10. จำนวนสมาชิกในครอบครัว ..... คน

ตอนที่ 2 ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการจัดการวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าว

ข้อ 1-6 แยกตอบตามอาชีพของท่าน ตั้งแต่ข้อ 7 ให้ทุกอาชีพตอบ

<u>เกษตรกรสวนมะพร้าว</u>

1. พื้นที่เพาะปลูกมะพร้าว ..... ไร่
2. ปริมาณผลผลิตมะพร้าว ..... ต่อปี

<u>ผู้รวบรวมรับซื้อมะพร้าว (ล้ง)</u>

3. พื้นที่สำหรับรวบรวมรับซื้อมะพร้าว .....ไร่
4. ปริมาณมะพร้าวที่รวบรวมรับซื้อ ..... ต่อปี

<u>ผู้ประกอบการแปรรูปมะพร้าว</u> (ระบุ) .....

5. พื้นที่ประกอบการ ..... ไร่
6. กำลังการผลิต ..... ต่อปี

7. กลไกการตลาด-การจำหน่ายผลผลิต

☐ ภายในจังหวัดทั้งหมด ☐ ทั้งภายในจังหวัดและต่างจังหวัด

☐ ต่างจังหวัดทั้งหมด ☐ ต่างประเทศทั้งหมด

8. ชนิดและปริมาณของวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าว

☐ กากมะพร้าว ปริมาณ ..... ตันต่อปี

☐ เปลือกมะพร้าว ปริมาณ ..... ตันต่อปี

☐ ขุยมะพร้าว ปริมาณ ..... ตันต่อปี

☐ กะลามะพร้าว ปริมาณ ..... ตันต่อปี

☐ น้ำมะพร้าว ปริมาณ ..... ลิตรต่อปี

☐ น้ำทิ้งจากการผลิตน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ ปริมาณ ..... ลิตรต่อปี

☐ อื่นๆ ..... ปริมาณ ..... ตันต่อปี

9. ปริมาณและการใช้ประโยชน์วัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าว

ชนิดวัสดุเหลือทิ้ง	ปริมาณและวิธีการใช้ประโยชน์วัสดุเหลือทิ้ง	
	ทิ้ง	ใช้ประโยชน์
1. กากมะพร้าว		
2. เปลือกมะพร้าว		
3. ขุยมะพร้าว		
4. กะลามะพร้าว		
5. น้ำมะพร้าว		
6. น้ำทิ้งจากการผลิตน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์		

10. ปัญหาจากวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าว

☐ ไม่มี

☐ มี ได้แก่ .....

.....

ตอนที่ 3 ความเข้าใจต่อการจัดการวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าวในชุมชน

รายละเอียด	เห็นด้วย	ไม่เห็นด้วย
1. ท่านคิดว่าวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าวเป็นปัญหาและภาระต่อการกำจัดของท่าน		
2. ท่านสามารถนำวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าวไปทิ้งบนที่ว่างเปล่าหรือที่สาธารณะได้เพราะประหยัดงบประมาณ		
3. ท่านคิดว่าในชุมชนของท่านมีปัญหาจากวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าวที่ต้องรีบแก้ไข		
4. การจัดการวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าวโดยไม่สร้างปัญหาต่อสิ่งแวดล้อมและชุมชน ซึ่งเป็นเรื่องที่ทุกคนในชุมชนควรรับผิดชอบ		
5. ท่านสามารถนำวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าวมาใช้ประโยชน์ สร้างรายได้ และยึดเป็นอาชีพเสริมได้		

ตอนที่ 4 ความคิดเห็นของชุมชนต่อการยอมรับเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยหมักและน้ำหมักชีวภาพจากขุยมะพร้าวและน้ำทิ้งจากการผลิตน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์

1. ถ้ามีเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยหมักและน้ำหมักชีวภาพจากขุยมะพร้าวและน้ำทิ้งจากการผลิตน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ ท่านมีความต้องการหรือไม่

   ☐ ไม่ต้องการ (ข้ามไปตอบตอนที่ 4)

   ☐ ต้องการ

2. ประเภทของเทคโนโลยีใดที่ท่านต้องการใช้ในการจัดการวัสดุเหลือทิ้งจากขุยมะพร้าวและน้ำทิ้งจากการผลิตน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์

   ☐ การผลิตปุ๋ยหมัก ☐ การผลิตน้ำหมักชีวภาพ ☐ ทั้งปุ๋ยหมักและน้ำหมักชีวภาพ

3. ท่านต้องการเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยหมักหรือน้ำหมักชีวภาพจากขุยมะพร้าวและน้ำทิ้งจากการผลิตน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ เพื่ออะไร

   ☐ ผลิตเพื่อใช้เอง กับอะไร (ระบุ) .....

   ☐ ผลิตเพื่อจำหน่าย

   ☐ ทั้งผลิตเพื่อใช้เองและจำหน่าย

4. ปริมาณความต้องการผลิตและใช้ประโยชน์จากปุ๋ยหมักและน้ำหมักชีวภาพจากขุยมะพร้าวและน้ำทิ้งจากการผลิตน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ มากน้อยเพียงใด (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

   ☐ ปริมาณความต้องการปุ๋ยหมัก ..... ต่อปี

   ☐ ปริมาณความต้องการน้ำหมักชีวภาพ ..... ต่อปี

5. ท่านต้องการผลิตปุ๋ยหมักหรือน้ำหมักชีวภาพจากขุยมะพร้าวและน้ำทิ้งจากการผลิตน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ในลักษณะใด

   ☐ ผลิตคนเดียว

   ☐ รวมกลุ่มผลิตระดับชุมชน

   ☐ รวมกลุ่มผลิตระดับอุตสาหกรรม

ตอนที่ 5 การร่วมมือของชุมชนต่อการการจัดการสร้างโรงงานต้นแบบผลิตปุ๋ยหมักและน้ำหมักชีวภาพจากวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าวระดับชุมชน

รายละเอียด	ระดับการมีส่วนร่วม				
	มากที่สุด	มาก	ปานกลาง	น้อย	น้อยที่สุด
1. ท่านเคยเสนอแนวทางการแก้ปัญหาวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าวในชุมชน					
2. ท่านเคยนำวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าวมาใช้ประโยชน์					
3. ท่านมีส่วนร่วมในการตัดสินใจเลือกแนวทางการแก้ปัญหาวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าว					
4. ท่านเคยนำวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าวมาผลิตปุ๋ยหมักและน้ำหมักชีวภาพ					
5. ถ้ามีโรงงานผลิตปุ๋ยหมักและน้ำหมักชีวภาพจากวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าวในชุมชน ท่านสนใจและยินดีเข้าร่วมกิจกรรม					
6. ท่านสามารถเข้าร่วมดำเนินกิจกรรมของโรงงานผลิตปุ๋ยหมักและน้ำหมักชีวภาพได้					

ตอนที่ 6 ปัญหาและอุปสรรคต่อการมีส่วนร่วมของชุมชนต่อการสร้างโรงงานต้นแบบผลิตปุ๋ยหมักและน้ำหมักชีวภาพจากวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าวระดับชุมชน

รายละเอียด	ระดับปัญหาและอุปสรรค				
	มากที่สุด	มาก	ปานกลาง	น้อย	น้อยที่สุด
1. ท่านไม่มีเวลาในการเข้าไปร่วมการดำเนินกิจกรรมได้					
2. ท่านคิดว่าการเข้าร่วมกิจกรรม ทำให้ท่านขาดรายได้					
3. ท่านขาดความรู้ความเข้าใจในเรื่องการผลิตปุ๋ยหมักและน้ำหมักชีวภาพ					
4. ท่านขาดผู้นำในชุมชนสำหรับการดำเนินกิจกรรม					
5. ท่านขาดการสนับสนุนการจากหน่วยงานภาครัฐและองค์กรบริหารส่วนท้องถิ่น					
6. ท่านเบื่อหน่าย เพราะคนในชุมชนไม่ให้ความร่วมมือกัน					

ขอขอบคุณในความร่วมมือ

ภาคผนวก ก - 2

แบบสอบถาม

การติดตามผลการถ่ายทอดเทคโนโลยีฯ ของผู้เข้าร่วมอบรม

ด้านความเข้าใจและการนำเทคโนโลยีผลิตน้ำหมักชีวภาพและปุ๋ยหมักไปปรับใช้ในพื้นที่

ประเด็นในแบบสอบถาม มีทั้งหมด 2 ตอน

ตอนที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของผู้ให้สัมภาษณ์

ตอนที่ 2 การนำเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยหมักและน้ำหมักชีวภาพไปปรับใช้ในพื้นที่

คำชี้แจง โปรดกาเครื่องหมาย ✓ ลงใน ☐ และเติมช่องว่างที่เว้นไว้ โดยตอบตรงตามสภาพความเป็นจริง

ตอนที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของผู้ให้สัมภาษณ์

1. ชื่อ-สกุล .....
2. ที่อยู่ .....
3. เบอร์โทรศัพท์ (บ้าน) ..... มือถือ .....
4. เพศ ☐ ชาย ☐ หญิง
5. อายุ ..... อายุ
6. สถานะภาพการสมรส ☐ โสด ☐ สมรส
7. การศึกษาสูงสุดของท่าน
   - ☐ ระดับประถมศึกษา ☐ ระดับมัธยมศึกษาตอนต้น
   - ☐ ระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย ☐ ระดับปริญญาตรีขึ้นไป
8. อาชีพที่เกี่ยวข้องกับมะพร้าว
   - ☐ เกษตรกรสวนมะพร้าว ☐ ผู้รวบรวมรับซื้อมะพร้าว (ล้ง)
   - ☐ ผู้ประกอบการแปรรูปมะพร้าว (ระบุ) .....
   - ☐ ผู้ใช้แรงงานแปรรูปมะพร้าว (ระบุ) .....
9. รายได้เฉลี่ยของครอบครัวต่อเดือน (ไม่หักค่าใช้จ่าย) ..... บาท
10. จำนวนสมาชิกในครอบครัว ..... คน

ตอนที่ 2 การนำเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยหมักและน้ำหมักชีวภาพไปปรับใช้ในพื้นที่

1. การนำเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยหมักและน้ำหมักชีวภาพจากวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าวไปปรับใช้ในพื้นที่

☐ มีการผลิต (ข้ามไปตอบข้อ 2-7)

O ปุ๋ยหมักจากวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าว

O น้ำหมักชีวภาพจากวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าว

O ทั้งปุ๋ยหมักและน้ำหมักชีวภาพจากวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าว

☐ ไม่มีการผลิต (ข้ามไปตอบข้อ 8-9)

2. สาเหตุของความสนใจและความต้องการต่อเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยหมักและน้ำหมักชีวภาพจากวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าว (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

☐ ได้รับปัญหาและผลกระทบจากวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าว

(ระบุปัญหาที่ได้รับ) .....

☐ ต้องการผลิตเพื่อนำไปใช้ในการเกษตร

(ระบุชนิดของพืช) .....

☐ ต้องการผลิตเพื่อสร้างเป็นอาชีพและรายได้

☐ อื่นๆ (ระบุ) .....

3. วัตถุประสงค์ของการผลิต

☐ ผลิตเพื่อใช้เอง (ระบุชนิดของพืช) .....

☐ ผลิตเพื่อจำหน่าย

☐ ผลิตเพื่อทั้งใช้เองและจำหน่าย

4. รูปแบบการผลิต

☐ ผลิตคนเดียว

☐ รวมกลุ่มผลิต ชื่อกลุ่ม ..... จำนวนสมาชิก ..... คน

5. วิธีการผลิตปุ๋ยหมักและน้ำหมักชีวภาพจากวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าว

5.1 <u>วิธีการและสูตรในการผลิต</u>

☐ ใช้สูตรที่ได้รับจากการถ่ายทอดเทคโนโลยี เมื่อวันที่ 11 กันยายน 2552 (ข้ามไปตอบข้อ 6)

☐ มีการปรับสูตร

O ปุ๋ยหมัก (ข้ามไปตอบข้อ 5.2)

O น้ำหมักชีวภาพ (ข้ามไปตอบข้อ 5.3)

5.2 ปุ๋ยหมัก

- ชนิดและสัดส่วนของวัสดุหมัก

วัสดุหมัก / สูตร	ชนิดและปริมาณของวัสดุหมัก (โดยน้ำหนัก)				

- วิธีการผลิตปุ๋ยหมัก

O หมักแบบกลับกอง O หมักแบบกองต่อท่อ

O หมักในถังหรือกระสอบ O อื่นๆ (ระบุ) .....

- ปริมาณการผลิต .....

5.3 น้ำหมักชีวภาพ

- ชนิดและสัดส่วนของวัสดุหมัก

วัสดุหมัก / สูตร	ชนิดและปริมาณของวัสดุหมัก (โดยน้ำหนัก)				

- วิธีการผลิตปุ๋ยหมัก

O หมักในถังแบบปิด O หมักในถังแบบกวนให้อากาศ

O อื่นๆ (ระบุ) .....

- ปริมาณการผลิต .....

6. ปัญหาและอุปสรรคในการผลิต

☐ ไม่มี

☐ มี ได้แก่ 6.1 .....

6.2 .....

6.3 .....

7. ท่านต้องการความช่วยเหลือและความร่วมมือกับคณะวิจัยฯ สำหรับการผลิตปุ๋ยหมักและน้ำหมักชีวภาพจากวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าว

☐ ไม่ต้องการ

☐ ต้องการ ได้แก่ 7.1 .....

7.2 .....

7.3 .....

8. สาเหตุที่ไม่มีการผลิตปุ๋ยหมักและน้ำหมักชีวภาพจากวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าว

8.1 .....

8.2 .....

8.3 .....

9. ท่านมีความต้องการการอบรมและความรู้การผลิตปุ๋ยหมักและน้ำหมักชีวภาพจากวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าวอีกครั้งหรือไม่

☐ ไม่ต้องการ

☐ ต้องการ ในประเด็นเรื่อง

9.1 .....

9.2 .....

9.3 .....

ขอขอบคุณที่กรุณาให้ความร่วมมือในการตอบแบบสอบถาม

คณะวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

ภาคผนวก ข

ตารางแสดงข้อมูลลักษณะทางเศรษฐกิจและสังคมของผู้เข้าร่วมอบรม (ชุมชนนำร่อง)

ลำดับที่	รายละเอียด	ผู้เข้าร่วมอบรม (ชุมชนนำร่อง) (N = 15)	
		N = 15	%
1	**เพศ**		
	- ชาย	3	20
	- หญิง	12	80
2	**อายุ**		
	- ไม่เกิน 30 ปี	2	13
	- 31-40 ปี	4	27
	- 41-50 ปี	4	27
	- 51-60 ปี	3	20
	- 61 ปีขึ้นไป	2	13
3	**สถานะภาพการสมรส**		
	- โสด	5	33
	- สมรส	10	67
4	**จำนวนคนในครอบครัว**		
	- 1-2 คน	3	20
	- 3-4 คน	5	33
	- 5 คนขึ้นไป	7	47
5	**ระดับการศึกษา**		
	- ประถมศึกษาหรือต่ำกว่า	7	47
	- มัธยมศึกษาตอนต้น	0	0
	- มัธยมศึกษาตอนปลาย	6	40
	- ปริญญาตรีขึ้นไป	2	13
6	**รายได้ครอบครัว ต่อเดือน**		
	- ต่ำกว่า 10,000 บาท	10	67
	- 10,000-30,000 บาท	3	20
	- 30,001-50,000 บาท	1	7
	- 50,000 บาทขึ้นไป	1	7

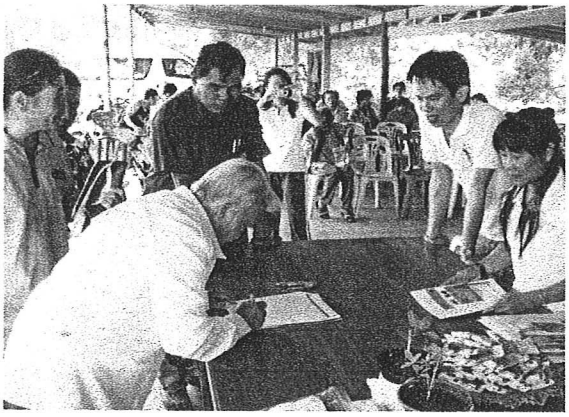
ที่มา: ข้อมูลจากผู้เข้าร่วมอบรม (ชุมชนนำร่อง) จำนวน 15 คน

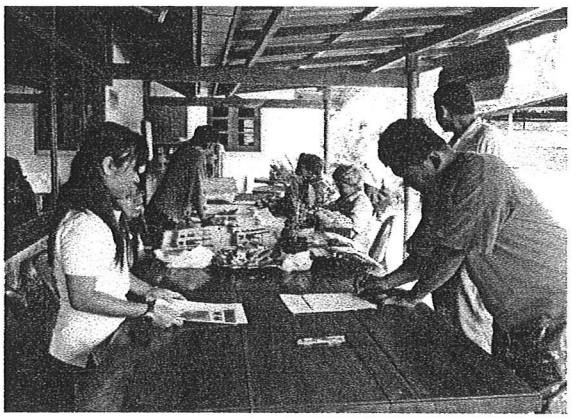
ภาพกิจกรรม

การถ่ายทอดเทคโนโลยีฯ ระยะที่ 1

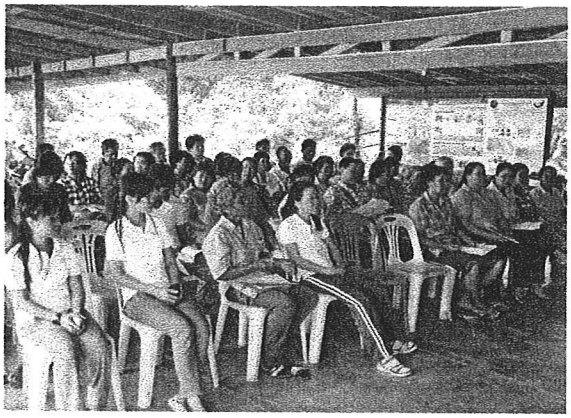
ภายใต้โครงการ "การผลิตปุ๋ยหมักและน้ำหมักชีวภาพจากวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าว"

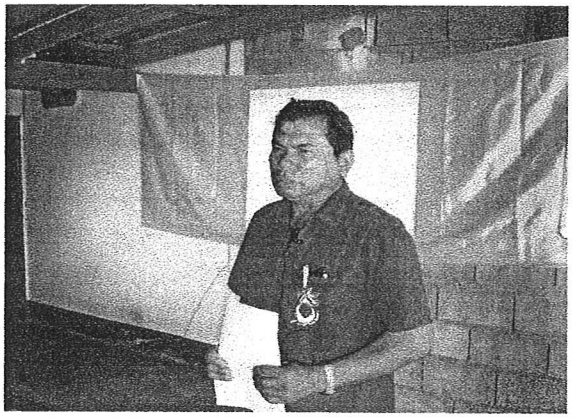
วันที่ 11 กันยายน 2552 ณ อำเภอทับสะแก จังหวัดประจวบคีรีขันธ์



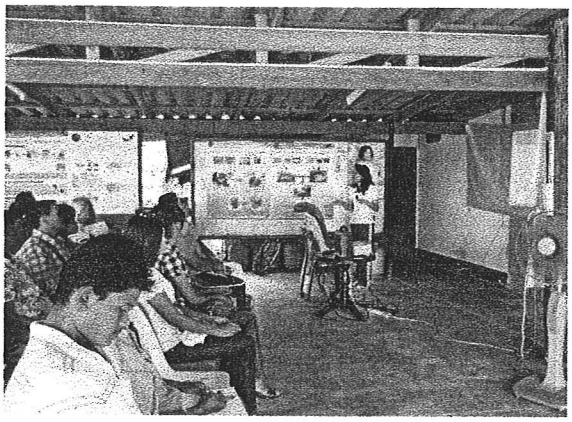


ผู้เข้าร่วมอบรม ลงทะเบียน พร้อมรับเอกสารคู่มือ และ VCD การผลิตปุ๋ยหมักและน้ำหมักชีวภาพ





เชิญ นายโชติ เงินแท่ง หัวหน้าศูนย์การเรียนรู้มะพร้าวครบวงจร อ.ทับสะแก และอดีตนายก อบต. ทับสะแก เป็นประธานกล่าวเปิดงาน



กิจกรรมภาคบรรยายให้ความรู้แก่ผู้เข้าร่วมอบรม

เวทีแลกเปลี่ยนความรู้เกี่ยวกับการผลิตปุ๋ยหมักและน้ำหมักชีวภาพในชุมชนของผู้เข้าร่วมอบรม

กิจกรรมการผลิตปุ๋ยหมักร่วมกับชุมชน

ภาพถ่ายร่วมกันของผู้เข้าร่วมอบรม(ชุมชนนำร่อง) และคณะวิจัย

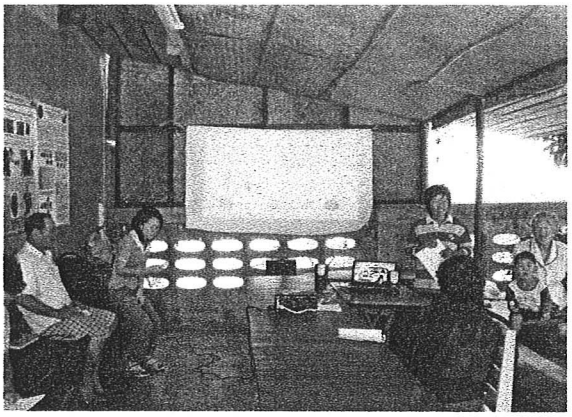
ภาคผนวก ค - 2

ภาพกิจกรรม

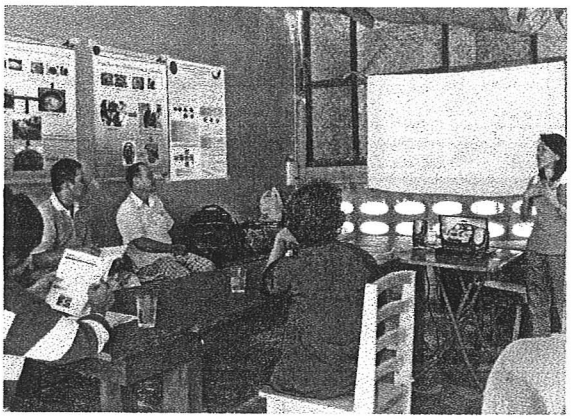
การถ่ายทอดเทคโนโลยีฯ ระยะที่ 2

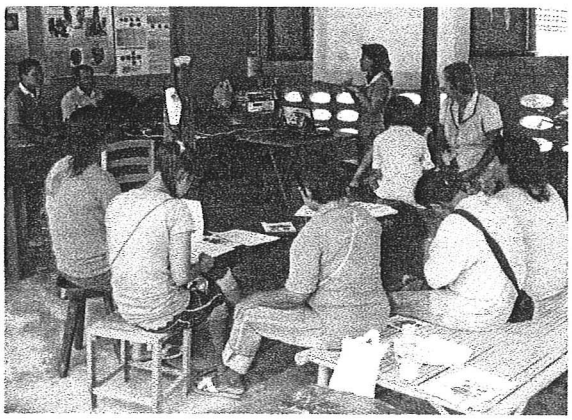
ภายใต้โครงการ "การผลิตปุ๋ยหมักและน้ำหมักชีวภาพจากวัสดุเหลือทิ้งจากการแปรรูปมะพร้าวร่วมกับชุมชน"

วันที่ 28 เมษายน 2553 ณ ตำบลแสงอรุณ อำเภอทับสะแก จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

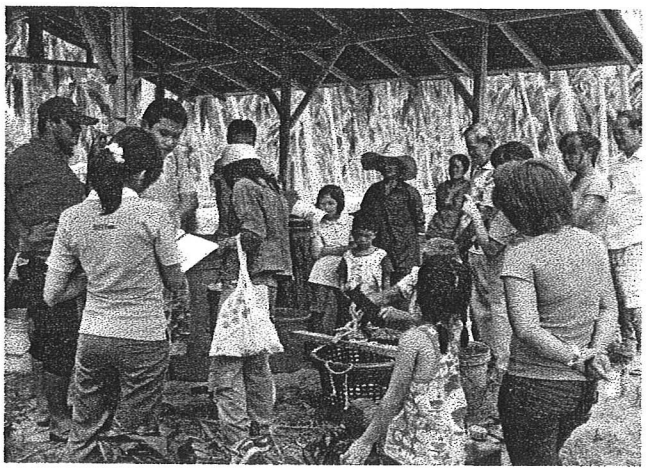


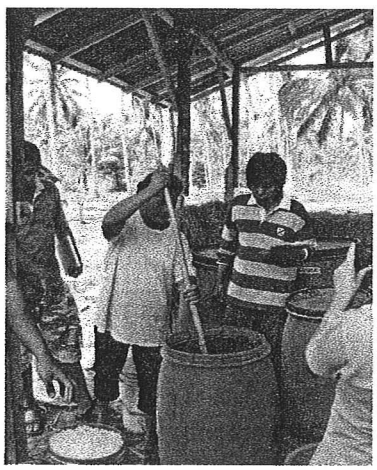
คุณอารมย์ สุจริตรักษ์ ประธานกลุ่มผลิตน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์แสงอรุณ และกลุ่มเกษตรอินทรีย์ ต.แสงอรุณ กล่าวต้อนรับคณะวิจัย และกล่าวเปิดงาน





กิจกรรมภาคบรรยายให้ความรู้แก่ผู้เข้าร่วมอบรม (ชุมชนนำร่อง)





กิจกรรมการผลิตน้ำหมักชีวภาพร่วมกับชุมชน

กิจกรรมการผลิตปุ๋ยหมักร่วมกับชุมชน

ภาพถ่ายร่วมกันของผู้เข้าร่วมอบรม(ชุมชนนำร่อง) และคณะวิจัย

ARTICLE IN PRESS

Bioresource Technology xxx (2010) xxx–xxx

Contents lists available at ScienceDirect

Bioresource Technology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/biortech

Utilization of wastewater originated from naturally fermented virgin coconut oil manufacturing process for bioextract production: Physico-chemical and microbial evolution

Sudarut Tripetchkul [a,*], Sasithorn Kusuwanwichid [b], Songpon Koonsrisuk [b], Saengchai Akeprathumchai [a]

[a] School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi, ThaKham, BangKhuntien 10150, Thailand
[b] Pilot Plant Development and Training Institute, King Mongkut's University of Technology Thonburi, ThaKham, BangKhuntien 10150, Thailand

ARTICLE INFO

Article history:
Received 12 November 2009
Received in revised form 10 February 2010
Accepted 13 March 2010
Available online xxxx

Keywords:
Bioextract
Wastewater from fermented virgin coconut oil manufacturing process
Fish waste
Pineapple waste

ABSTRACT

Production of virgin coconut oil via natural fermentation has led to large amount of wastes being generated, i.e., coconut pulp and wastewater containing coconut crème. Objective of this study is to gain more insight into the feasibility of utilization of such wastes as raw materials together with several types of wastes such as fish waste and/or pineapple peel for bioextract production. Chemical, physico-chemical and biological changes including phytotoxicity of the fermented mixture were closely monitored. Physical observation suggested that fermentation of bioextract obtained with fish waste appeared to be complete within the first month of fermentation while bioextract obtained using pineapple waste seemed to be complete after 8 months post-fermentation. Fermentation broth is of blackish color with alcoholic as well as acidic odour with no gas bubble and/or yeast film present on top of the surface. During the whole fermentation interval, several attributes of both bioextracts, e.g., pH, chemical oxygen demand (COD) and organic acids, were statistically different. Further, the total bacteria and lactic acid bacteria present in pineapple bioextract were statistically higher than those of the fish bioextract ($p < 0.01$). The highest germination indices of 123 and 106 were obtained at 21 and 14 days post-fermentation for fish and pineapple bioextracts, respectively. In addition, qualities of both bioextracts conformed well with those specified by the Thai standard for liquid biofertilizer after 1 month fermentation. Results further showed that wastewater derived from virgin coconut oil manufacturing process could effectively be employed together with other types of wastes such as fish waste and pineapple peel for bioextract production. However, for the best bioextract quality, fermentation should be carefully planned since over fermentation led to bioextract of low qualities.

© 2010 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Prachuabkerikhan province is the number one coconut producer of Thailand. In 2008, 434,719 tons or 29.3% of the total coconut produced in Thailand were that produced by Prachuabkerikhan (Office of Agricultural Economics, 2008). Approximately 2% of coconut produced in Prachuabkerikhan province was employed annually to produce virgin coconut oil by natural fermentation. Typically, fermentation starts by mixing coconut milk with boiled water at 1:1 (w/w) ratio and left to stand at room temperature for 24 h leading to more or less yield of 20% virgin coconut oil while the rest consisting of coconut whey and wastewater, i.e., 80%, was considered wastes. Annually, total amount of wastewater originated from virgin coconut oil production of 560 cubic meters was approximated (Fuangworawong et al., 2008). Presently, such wastewater was discharged into soil and natural water resource without treatment causing pollution of both soil and public water reservoir including air pollution.

Coconut milk, raw material used for virgin coconut oil production by natural fermentation, consists of (w/w) 21.3% fat, 2.0% protein, 2.8.0% carbohydrate and 2.1% of sugar (US Department of Agriculture, 2001) together with some vitamins and trace elements such as vitamin A, Ca^{2+} and Fe^{3+}. The compositions of wastewater as well as protein whey derived from the virgin coconut oil manufacturing process composed of several nutrients and trace elements including by-products produced by microorganisms during natural fermentation (Nevin and Rajamohan, 2006). Attempts have been made to employ such wastes prolifically. For instance, it has been suggested that whey protein of several origins such as soy whey and cottonseed whey including coconut whey may be employed for the preparation of egg white substitute (Chang, 1977) and multipurpose cleaner (Lam, 1996). Since wastewater originated from virgin coconut oil production by

* Corresponding author. Tel.: +662 4707556; fax: +662 4523455.
E-mail address: sudarut.tri@kmutt.ac.th (S. Tripetchkul).

0960-8524/$ - see front matter © 2010 Elsevier Ltd. All rights reserved.
doi:10.1016/j.biortech.2010.03.056

Please cite this article in press as: Tripetchkul, S., et al. Utilization of wastewater originated from naturally fermented virgin coconut oil manufacturing process for bioextract production: Physico-chemical and microbial evolution. Bioresour. Technol. (2010), doi:10.1016/j.biortech.2010.03.056

ARTICLE IN PRESS

fermentation contains a number of nutrients of which could potentially be used for cultivation of microorganisms, therefore, these wastewater could also be employed to produce bioextract which could reduce amount of wastewater disposed into natural water resource, hence, reduce impact on environment as a whole.

Bioextract is generally defined as a fermented product obtained by aerobic and/or anaerobic fermentation of either plant or animal wastes supplemented with appropriate carbon source (Tancho, 2006). Normally, bioextract obtained contains organic acids and amino acids as well as several growth stimulating factors to a differing extent depending particularly on the types of starting raw materials (Agricultural Chemistry Division, 2002). Several studies reported that chemical constituents present in bioextract could effectively promote plant growth, increase productivity and simultaneously enhance efficacy of chemical and/or biofertilizers (Pumprasead and Poungjik, 2005; Phosri et al., 2006).

Traditionally, Thai farmers employed bioextract as supplement for enhancing productivity of both fruit and vegetable during plantation such as Chinese Kale (Pumprasead and Poungjik, 2005), soybean (Phosri et al., 2006), Chinese green mustard, French marigolds. It has also been demonstrated that bioextract contains a diverse consortium of microbes such as *Bacillus* sp., lactic acid bacteria and yeast (Sassanarakij, 2004; Tancho, 2006). Further, Thai farmers have typically considered bioextract a vital component for effective composting of agricultural materials. Due to an effort to reduce chemical fertilizer and insecticide utilization, the Thai government has attempted to promote organic agriculture and, subsequently, encourage the farmers to produce bioextract themselves. Unfortunately, qualities of bioextract produced around Thailand varied significantly due to differences of raw materials as well as other additives employed. Therefore, production of bioextract with consistent quality is rather difficult since information regarding the nature and qualities of bioextract available in literature is scarce. Application of bioextract of low quality may pose an adverse on both growth and productivity of plants. Previous studies have focused on quantification of fermentative products, i.e., nutrients, plant hormones, organic acids and total bacterial count, present in bioextract produced using raw materials of different origins (Agricultural Chemistry Division, 2002). Additionally, factors influencing the qualities of bioextract have also been investigated to a certain degree (Agricultural Chemistry Division, 2002; Tancho, 2006; Youprayong and Suksringam, 2006). For instance, effects of inoculum on physico-chemical and microbiological evolution during bioextract production have been conducted. Further, a number of studies have focused on effects of bioextract on plant performances in terms of growth and productivity (Pumprasead and Poungjik, 2005; Phosri et al., 2006). Extent of decomposition and quality of the bioextract could, in general, be affected by fermentation time. Nonetheless, information regarding physical development, microbial consortium evolution and chemical aspect of bioextract fermentation including phytotoxicity upon application to plants is seldom available in literature.

Objectives of this study is to assess the feasibility of utilizing wastewater originated from virgin coconut oil manufacturing process together with agricultural wastes abundantly available in Thailand such as fish and pineapple wastes for the production of bioextract. Physico-chemical, microbiological changes and phytotoxicity were closely monitored during whole fermentation process. Results obtained may help reduce environmental impact stemming from discharging such wastes to public water reservoirs and may simultaneously add-value to wastewater containing high lipid content by means of producing bioextract, which may be employed as an alternative to chemical fertilizer for other agricultural activities. Preliminary results obtained could possibly be employed for standardizing qualities of bioextract including specifying appropriate fermentation time for bioextract production.

2. Methods

2.1. Raw materials

Raw materials used in this study were fish scrap, pineapple peel, molasses and wastewater, a by-product from virgin coconut oil (VCO) manufacturing process prepared by naturally fermenting coconut milk and water at the ratio of 1:1 (w/w) for 24 h at room temperature (Jeyashoke et al., 2007). Chemical and biological characteristics of all materials are provided in Table 1.

3. Experimental

Two types of bioextracts were prepared (in duplicate) which are fish and pineapple bioextracts. The former consists of fish waste, molasses and VCO wastewater at ratio of 3:1:1 (by weight) according to preliminary results while, likewise, for the latter, pineapple peel was employed rather than fish scrap. Each bioextract was prepared by combing all designated ingredients together and thoroughly mixed. Subsequently, the mixture was individually transferred to a separate vessel, closed tightly and left to stand at room temperature for a year. Small sample was taken periodically in the following manner, every week (7 days) for the first month of fermentation, and, from then onwards, every month. Samples col-

Table 1
Chemical compositions of individual raw material used for the preparation of bioextract.

Characteristics	Raw materials			
	VCO wastewater[a]	Fish waste	Pineapple peel	Molasses
pH	4.03 ± 0.01	5.64 ± 0.02	3.76 ± 0.02	4.84 ± 0.01
Total solid (%)	5.45 ± 0.35	34.34 ± 2.60	18.44 ± 0.14	36.22 ± 5.84
Oil and grease (%)	4.04 ± 0.01	nd[f]	nd[f]	nd[f]
COD (mg L^{-1})[b]	3540 ± 0.10	nd[f]	nd[f]	nd[f]
TN (% g/gDW)[c]	0.29 ± 0.00	11.18 ± 0.78	0.75 ± 0.02	0.23 ± 0.01
TC (% g/gDW)[d]	5.87 ± 1.88	41.92 ± 0.79	52.49 ± 0.41	30.25 ± 1.29
C/N ratio	20.24 ± 3.98	3.74 ± 0.29	69.98 ± 1.98	131.52 ± 3.88
Total bacterial (cfu/ml)	1.08×10^5	nd[f]	nd[f]	nd[f]
Total LAB[e] (cfu/ml)	5.53×10^3	nd[f]	nd[f]	nd[f]

[a] VCO wastewater.
[b] COD.
[c] TN.
[d] TC.
[e] LAB.
[f] nd denote, respectively, wastewater derived from virgin coconut oil manufacturing, chemical oxygen demand, total nitrogen, total carbon, lactic acid bacteria and not determine.

Please cite this article in press as: Tripetchkul, S., et al. Utilization of wastewater originated from naturally fermented virgin coconut oil manufacturing process for bioextract production: Physico-chemical and microbial evolution. Bioresour. Technol. (2010), doi:10.1016/j.biortech.2010.03.056

ARTICLE IN PRESS

lected were centrifuged at 10,000 rpm for 5 min. Pellet was discarded while supernatant was immediately subjected to further analyses.

Physical characteristics of bioextract, i.e., color and texture, were visually observed. The evolution of pH and electrical conductivity (EC) was monitored according to standard methods (AOAC, 1995). The chemical oxygen demand (COD) was determined using the close reflux and titrimetric method (Manahan, 1994). The total carbon (TC) was accomplished by incineration at 550 °C for 24 h (AOAC, 1995) and approximated according to method proposed by Navarro and coworkers (1993). Total nitrogen (TN) and reducing sugar concentration were also quantified according to the methods recommended by the AOAC (1995). Concentrations of ethanol and organic acids such as acetic acid, propionic acid, butyric acid and lactic acid produced during the fermentation were closely followed using FID gas chromatography (APHA, 1989). The total bacteria and lactic acid bacteria (LAB) were enumerated by plate count using, respectively, nutrient agar and MRS agar (Johnson and Case, 1989). Phytotoxicity was tested against the lettuce, *Lactuca sativa*, seed following the seed germination test. Then, the germination index was calculated using the method proposed by Tiquia et al. (1996). Analysis of variance and multiple comparison using Fisher's least significant difference (LSD) test, otherwise stated, at the confidence interval of 99% were conducted by SPSS version 15 (SPSS Inc., Chicago, USA).

4. Results and discussion

4.1. Physical appearance

The physical appearance in terms of odour, color and general characteristics of both fish and pineapple bioextracts suggested that degradation of fish and pineapple peel was rather rapid during the first month of fermentation since the size of starting materials was greatly and continually reduced providing that a significant decrease in oil initially present on top of the surface of the mixture was also observed. Further, the odour of the fermented mixture was quite pleasant, of alcoholic smell, while color was more intense, blacker in tone. At the end of the second month, almost all of the starting materials in both sets of experiments as well as oil present initially were disappeared. Smell of fish bioextract was more pleasant and quite similar to that of typical Thai bioextract whilst the odour of the pineapple bioextract was of more alcoholic since it was anticipated that microbial consortium involved in their fermentation was dominated by yeast as yeast film could be noticed on top of the fermented broth's surface from the start to the end of the seventh month. Physical changes of fish bioextract were insignificantly different from the third month onwards. However, for pineapple bioextract, no salient changes could be noted from the eighth month onwards providing that yeast film floating on the surface of the mixture also disappeared. The attribute of both bioextracts mentioned above are in good agreement with the desirable characteristics of stable bioextract reported by Soil and Water Conservation Division (2002), i.e., less alcoholic and acidic in smell and no gas bubble present.

4.2. pH

Fig. 1 shows time profiles of pH evolved during the fermentation of wastewater originated from VCO manufacturing process together with molasses and either fish waste or pineapple peel. It is obvious from Fig. 1 that insignificant changes in pH could be observed for each bioextract ($p > 0.01$) after 1 month fermentation. Further, the pH of fish bioextract remained approximately at 5.0 which was statistically significant higher than that of the pineapple

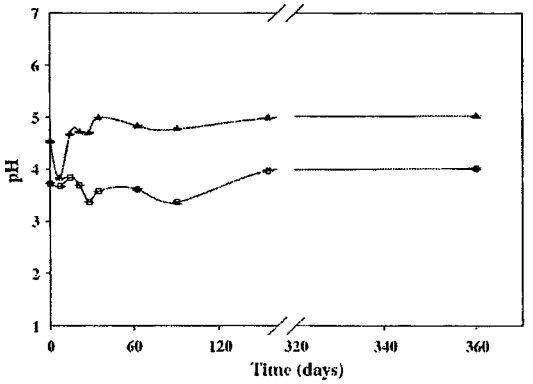


Fig. 1. Time course of pH during fermentation of fish (Δ) and pineapple (□) bioextract.

bioextract whose pH was about 4.0 ($p < 0.01$). It is anticipated that higher pH observed in fish bioextract may stem from proteolysis of fish protein resulting in ammonia production leading simultaneously to acid neutralization. Additionally, it is also worthy to note that the final pHs of both fish and pineapple bioextracts were in good keeping with the Thai standard of liquid biofertilizer (Ministry of Agriculture and Cooperatives, 2001; Tancho, 2006). Therefore, both fish and pineapple bioextracts produced should be considered feasible for application in agricultural activities such as organic farming, horticulture and husbandry.

4.3. Electrical conductivity (EC)

Mineral salts, total dissolved solid, present in suspension were generally determined in terms of electrical conductivity (EC). Changes of EC of both fish and pineapple bioextracts are illustrated in Fig. 2. For fish bioextract, the ECs increased rather rapidly from 0.2 ds/m initially to 5.4 ds/m at the end of the first month of fermentation (Fig. 2). Additionally, evolution of EC of pineapple bioextract was less than that observed with the fish bioextract, from 0.1 to 0.4 ds/m during the same fermentation interval. A rapid increase in EC observed coincided with a swift reduction of both organic and inorganic substances present in fermentation mixture prepared originally (Fig. 3). It is also evident from Fig. 2 that after the first month to the end of fermentation, 360 days, ECs of both fish and pineapple bioextracts remained unchanged given that at

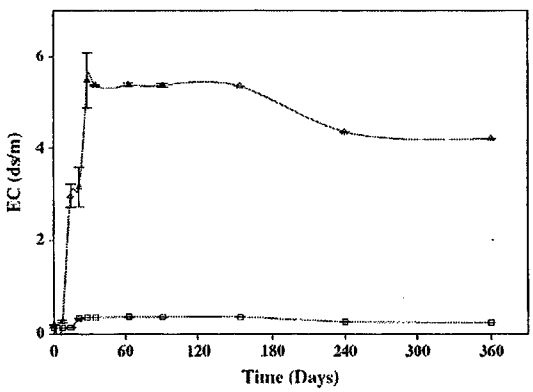


Fig. 2. Evolution of electrical conductivity (EC) during fish (Δ) and pineapple (□) bioextract production.

Please cite this article in press as: Tripetchkul, S. et al. Utilization of wastewater originated from naturally fermented virgin coconut oil manufacturing process for bioextract production: Physico-chemical and microbial evolution. Bioresour. Technol. (2010), doi:10.1016/j.biortech.2010.03.056

ARTICLE IN PRESS

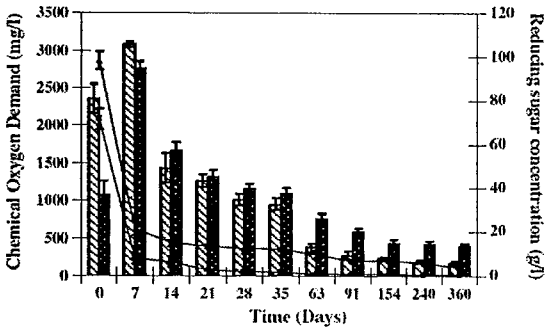


Fig. 3. Profiles of chemical oxygen demand (COD, (□)) and reducing sugar concentration (—— ——) during fish (▨), (■——■) and pineapple (■), (▲——▲) bioextract fermentation.

5 months of fermentation, a slight drop in EC was observed for fish bioextract. The final EC of bioextract produced using fish waste as main raw material was 5.0 ds/m in comparison with 0.2 ds/m of the pineapple bioextract. This maybe due possibly to the differences of starting raw materials, fish against pineapple wastes, whose compositions, protein, carbohydrate and vitamins as well as trace mineral, varied to a greater extent (Sales and Janssens, 2003). During bioextract fermentation, these macromolecules contained in fish underwent enzymatic degradation into smaller molecules and/or freely dissolved ionic forms leading, consequently, to an increase in the salt concentrations of fish bioextract which was higher than those of pineapple bioextract whose major compositions are soluble fiber and carbohydrates (Larrauri et al., 1997).

The electrical conductivities of both bioextracts during an entire fermentation period were found to comply well with that specified by the Thai standard of liquid biofertilizer, approximately 10 ds/m (Tancho, 2006). Nevertheless, it has been reported that for the highest efficacy electrical conductivity of bioextract should not exceed 4 ds/m (Luengarepaphong, 2002); therefore, prior to application to plant, dilution of fish bioextract produced in this study was necessary.

4.4. Chemical changes

4.4.1. Reducing sugar and chemical oxygen demand

Since molasses was employed as readily available carbon source for the production of both fish and pineapple bioextracts, the time profile particularly of reducing sugar during fermentation may be used primarily as indicator of the extent of degradation of organic matter. Further, the chemical oxygen demand (COD) of the mixture, signifying the extent of oxygen demand for oxidizing organic as well as inorganic matter present in the mixture under anaerobic degradation (Manahan, 1994), was also monitored throughout the fermentation regime. The time profile of both COD and reducing sugar concentrations (Fig. 3) during the fermentation of fish and pineapple bioextracts suggested that for the first week of fermentation reducing sugar in both mixtures declined very rapidly from 71 and 98 g L^{-1} initially to 8 and 21 g L^{-1}, respectively. It should also be noted that during this time interval CODs of both bioextracts increased swiftly and reached the highest value of approximately 2800–3100 mg L^{-1} providing that an increase in COD was particularly highlighted for bioextract produced using pineapple waste (159% increase) as raw material in comparison with that of fish bioextract (30% increase). It is not surprising that an increase in COD also corresponded to the peak in both total bacteria and total lactic acid bacteria (Fig. 5) enumerated suggesting high hydrolytic activities towards degradation of organic matter of both fish and pineapple wastes.

It could be observed from Fig. 3 that CODs of both fish and pineapple bioextracts decreased sharply, approximately 50% and 40% within the first 2 weeks of fermentation, and then declined continuously to the final CODs of 100 and 300 mg L^{-1}, respectively. CODs of both bioextracts remained rather constant from the end of the second week to the end of the first month of fermentation. Additionally, no noticeable decrease in CODs of both bioextracts was observed from the second month onwards. It could be clearly seen that for fish bioextract approximately 95% COD reduction was noted which was statistically significant higher than that observed with pineapple bioextract, 85% COD reduction. In addition, concentration of reducing sugar present in pineapple bioextract was higher than that of fish bioextract for entire fermentation period given that a sharp decrease in reducing sugar was evident within the first week of fermentation (Fig. 3). It is also worthy to note that towards the end of fermentation concentration of reducing sugar remained in the mixture was relatively low, approximately 100% metabolized.

4.4.2. Total carbon, total nitrogen and C/N ratio

Table 2 shows changes of total carbon (TC), total nitrogen (TN) and C/N ratio during the whole period of fermentation of fish and pineapple bioextracts. As can be seen from Table 2 that fermentation time as well as types of raw materials, either fish waste or pineapple peel, play significant roles on the concentrations of total carbon, total nitrogen and C/N ratio during fermentation. Total carbon of both fish and pineapple bioextracts decreased slowly during the first 2 months and declined gradually from then onwards. At the end of fermentation (12th month) of both bioextracts, the total carbon present was found to be statistically indifferent ($p > 0.01$). A decline of the total carbon may stem from the fact that microorganisms involved in fermentation utilized the organic matter in raw materials, fish waste and pineapple waste, for growth as well as several metabolic by-product production (Youprayong and Suksringam, 2006). In addition, some bacteria are capable of transforming carbon in raw materials into carbon dioxide. For example, the heterofermentative lactic acid bacteria could produce lactic acid and ethanol as well as carbon dioxide using glucose as carbon sources (Beasley, 2004).

According to Table 2, the total nitrogen detected in both fish and pineapple bioextracts increased continually during the 12 month fermentation interval. The evolution of total nitrogen in fish bioextract was statistically significant higher than that of pineapple bioextract for the whole fermentation period ($p < 0.01$) which is not surprising since nitrogen content of fish waste was much higher than that of pineapple waste, 11.18 ± 0.78% g/gDW in comparison with 0.75 ± 0.02% g/gDW for fish waste and pineapple waste (Table 1), respectively. After 2 months of fermentation, total nitrogen content of both bioextracts, fish bioextract in particular, continued to increase gradually to the end of fermentation ($p > 0.01$) (Table 2). For both fish and pineapple bioextracts, the content of total nitrogen evolved during 12 months of fermentation remained within an acceptable range (<3% by weight) specified by the Thai standard of liquid biofertilizer (Tancho, 2006).

C/N ratio is typically used as a measure of maturity as well as stability of compost (Golueke, 1991) and at the same time maybe used as an indicator of extent of decomposition of organic matter present in the compost pile. Therefore, C/N ratio was adopted to assess a degree of degradation taking place during bioextract preparation. As can be seen from Table 2 that within the first 2 weeks of fermentation more than 50% reduction of C/N ratio of bioextract produced using fish waste as major raw material was noted and, from then on, decreased continuously to the final value of 27.79 ± 0.45, approximately 16.7% of the initial value. It should also

Please cite this article in press as: Tripetchkul, S., et al. Utilization of wastewater originated from naturally fermented virgin coconut oil manufacturing process for bioextract production: Physico-chemical and microbial evolution. Bioresour. Technol. (2010), doi:10.1016/j.biortech.2010.03.056

ARTICLE IN PRESS

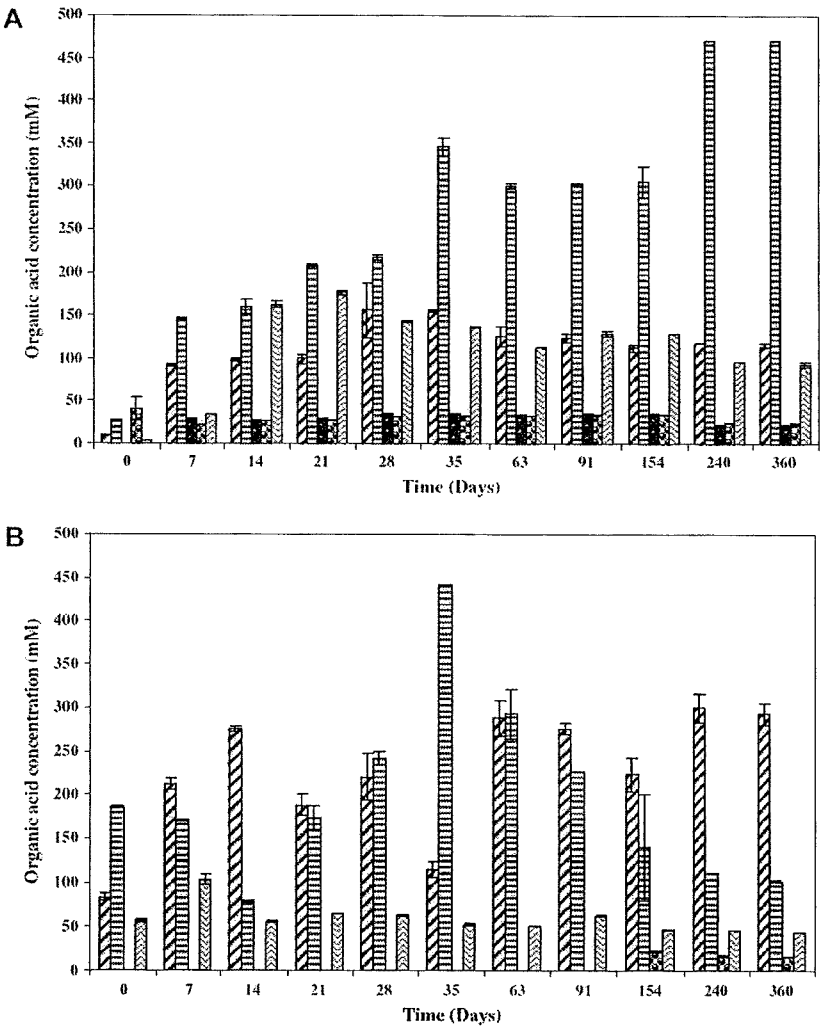


Fig. 4. Concentrations of organic acids detected during fish (A) and pineapple (B) bioextract production: ethanol (▨), acetic acid (▤), butyric acid (■), propionic acid (▩), and L-lactate (▧).

be noted further that the C/N ratio of fish bioextract remained virtually stable from 8 months post-fermentation indicating slow degradation of organic matter. Additionally, changes of C/N ratio of the pineapple bioextract were unanticipated in that an increase of 63% of that of an initial value was found within the first month of fermentation. This may due possibly to degradation of organic compounds present in the pineapple waste. Subsequently, the C/N ratio started to decline continually and reached a stable value within 8 months post-fermentation. The C/N ratios of both fish and pineapple bioextracts varied, respectively, within the range of 27–28 and 177–198.

4.4.3. Organic acid and ethanol production

Typically, Thai farmers employed bioextract in a similar manner as that of liquid biofertilizer to promote plant growth. Several organic acids, e.g., acetic acid and butyric acid, and short-chain alcohol such as ethanol, have been demonstrated to confer several beneficial effects to plant (Lynch, 1977; Adkins et al., 1984). Therefore, it is of significant interest to closely monitored evolution of such metabolites during the production of bioextract. It was found that several organic acids such as acetic acid, propionic acid, butyric acid and lactic acid including ethanol were present for entire fermentation process. Fig. 4 shows time profiles of organic acid as well ethanol production during the fermentation of fish (Fig. 4A) and pineapple (Fig. 4B) bioextracts. It is evident from Fig. 4 that concentration profiles of each organic acid differed depending on the starting raw materials prior to bioextract preparation. It was further found that during an entire period of 12 months acetic acid, butyric acid, propionic acid and lactic acid as well as ethanol could be detected in the bioextract produced using fish waste while for bioextract produced using pineapple peel as starting raw material all organic acids found in fish bioextract excluding butyric acid were also detected. Additionally, concentrations of acetic acid, propionic acid, butyric acid and lactic acid present in fish bioextract are significantly higher than those found in the pineapple bioextract at the confidence interval of 99%. However, the level of ethanol present in the pineapple bioextract was statistically significant higher than that found in the fish bioextract

Please cite this article in press as: Tripetchkul, S., et al. Utilization of wastewater originated from naturally fermented virgin coconut oil manufacturing process for bioextract production: Physico-chemical and microbial evolution. Bioresour. Technol. (2010), doi:10.1016/j.biortech.2010.03.056

ARTICLE IN PRESS

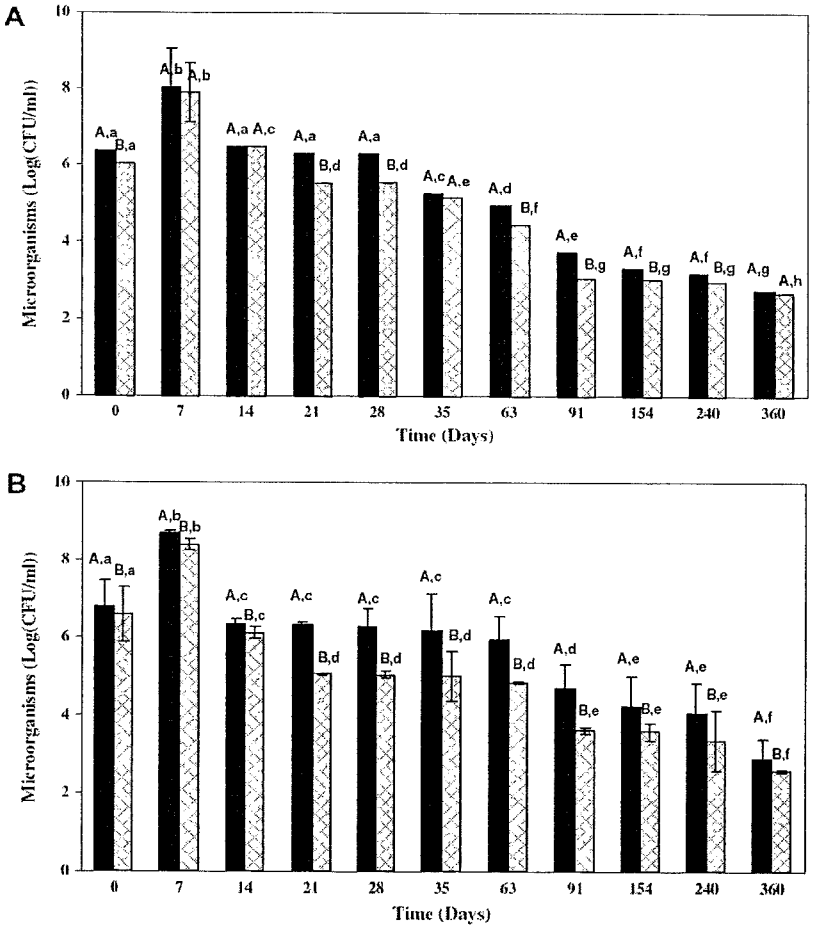


Fig. 5. Evolution of both total bacteria (■) and lactic acid bacteria (▨) during fish (A) and pineapple (B) bioextract production. The capital letters signify multiple comparisons of means of different experiments at various fermentation times whereas the lower case letters denote multiple comparisons of the same experiment at different time. The different letters imply statistically significant difference at the confidence interval of 99%. Each value is expressed as mean ± S.D. (n = 3).

Table 2
Total carbon, total nitrogen and C/N ratio of fish and pineapple bioextract at different fermentation intervals.

Time	Total carbon (%w/v)		Total nitrogen (%w/v)		C/N Ratio	
	I	II	I	II	I	II
Day 0	$54.06 \pm 0.72^{A,a}$	$54.90 \pm 0.50^{A,a}$	$0.32 \pm 0.00^{A,a}$	$0.20 \pm 0.00^{B,a}$	$166.41 \pm 4.33^{A,a}$	$280.39 \pm 4.64^{B,a}$
Week 2	$54.22 \pm 0.37^{A,a}$	$54.53 \pm 0.22^{A,a}$	$0.71 \pm 0.01^{A,b}$	$0.14 \pm 0.00^{B,b}$	$76.52 \pm 1.79^{A,b}$	$381.16 \pm 2.10^{B,b}$
Month 1	$53.02 \pm 0.78^{A,a}$	$53.76 \pm 0.62^{A,a}$	$0.92 \pm 0.02^{A,c}$	$0.12 \pm 0.01^{B,b}$	$57.41 \pm 0.95^{A,c}$	$445.97 \pm 0.29^{B,c}$
Month 2	$51.47 \pm 2.29^{A,ab}$	$49.53 \pm 1.14^{A,b}$	$1.15 \pm 0.01^{A,d}$	$0.18 \pm 0.01^{B,a}$	$44.58 \pm 2.15^{A,d}$	$273.51 \pm 0.70^{B,a}$
Month 3	$49.20 \pm 2.58^{A,b}$	$50.93 \pm 0.58^{A,b}$	$1.22 \pm 0.01^{A,e}$	$0.21 \pm 0.00^{B,a}$	$40.15 \pm 2.21^{A,de}$	$239.77 \pm 1.14^{B,d}$
Month 5	$49.78 \pm 0.52^{A,b}$	$50.36 \pm 0.24^{A,b}$	$1.26 \pm 0.03^{A,e}$	$0.22 \pm 0.02^{B,a}$	$39.52 \pm 0.72^{A,e}$	$228.89 \pm 0.54^{B,d}$
Month 8	$47.57 \pm 0.71^{A,b}$	$45.82 \pm 0.62^{A,b}$	$1.65 \pm 0.00^{A,f}$	$0.23 \pm 0.01^{B,a}$	$28.80 \pm 0.43^{A,f}$	$198.06 \pm 0.73^{B,e}$
Month 12	$47.24 \pm 0.37^{A,b}$	$45.69 \pm 0.10^{A,b}$	$1.70 \pm 0.00^{A,f}$	$0.26 \pm 0.04^{B,a}$	$27.79 \pm 0.45^{A,f}$	$177.97 \pm 0.50^{B,e}$

Note: I = fish bioextract; II = pineapple bioextract.
Multiple comparisons for each parameter was conducted using LSD providing that different capital letter-superscripts (A–B) represent significant ($p < 0.01$) differences within a row, while lower case-superscripts (a–e) represent differences within a column. Each value is expressed as mean ± S.D. ($n = 3$).

($p < 0.01$) which may be due possibly to the fact that different microbial consortium are responsible for decomposition of bioextracts prepared from different starting materials. For instance, during the pineapple bioextract production, yeasts are dominant since yeast film could be observed visually during the first 8 months of fermentation.

Considering individual fermentation period reveals that at the end of the first month of both fish and pineapple bioextract fermentation, concentration of ethanol present, approximately 160 and 200 mM, respectively, was much higher than those of other organic acids. From then onwards, concentration of ethanol detected in the fish bioextract declined continually while the level of etha-

Please cite this article in press as: Tripetchkul, S., et al. Utilization of wastewater originated from naturally fermented virgin coconut oil manufacturing process for bioextract production: Physico-chemical and microbial evolution. Bioresour. Technol. (2010), doi:10.1016/j.biortech.2010.03.056

ARTICLE IN PRESS

nol in pineapple bioextract increased and remained rather constant at the final concentration of 320 mM. Further, since it was found that lactic acid bacteria is dominant for the whole period of fermentation of both bioextracts (Fig. 5), the presence of lactic acid produced in both bioextracts is therefore of significant interest. Evolution of lactic acid in both bioextracts was of similar trend; however, the content of lactic acid found in pineapple bioextract was much higher than those detected in fish bioextract for an entire fermentation interval.

Additionally, as is evident from Fig. 4 that acetic acid detected in pineapple bioextract reached the highest concentration (440 mM) at approximately 1 month post-fermentation whereas the time profile of acetic acid in fish bioextract attained a rather high concentration (320 mM) and accumulated to the highest concentration of 470 mM at the end of fermentation. In general, the fermentative products were quite similar for both fish and pineapple bioextracts. However, it was found that the concentrations of acetic acid, butyric acid, propionic acid and lactic acid present in pineapple bioextract were much lower than those found in fish bioextract ($p < 0.01$). It has been demonstrated that organic acids play a vital role on plant cultivation. For example, propionic acid, butyric acid and acetic acid have been shown to be capable of accelerating root elongation (Gudjonsdottir, 1966) while butyric acid is toxic to plant's leaves. Moreover, propionic acid when applied to plants typically could help preventing infection of plant pathogens such as viruses and bacteria (Copeland and McDonald, 1995).

4.5. Biological changes

4.5.1. Time profile of bacteria during fermentation

Fig. 5 provides time profiles of total bacteria and lactic acid bacteria found in both fish (Fig. 5A) and pineapple (Fig. 5B) bioextracts during the fermentation period of one year. It is evident that the dominant microorganisms responsible for most decomposition of both fish and pineapple bioextracts were lactic acid bacteria since the LAB/TB ratios of both bioextracts, fish and pineapple, were, respectively, 0.88–1.0 and 0.77–0.97. However, from the third weeks onwards, the LAB/TB ratio detected in fish bioextract was statistically significant higher than that found in the pineapple bioextract at the confidence interval of 99%.

As can be clearly observed from Fig. 5 that as fermentation proceeded a number of both total bacteria and lactic acid bacteria declined accordingly. A number of total bacteria as well as lactic acid bacteria were highest on day 7 post-fermentation at approximately 1.1×10^8 and 8.2×10^7 cfu/ml, respectively, for fish bioextract and 4.8×10^8 and 2.4×10^8 cfu/ml, respectively, for pineapple bioextract. This significant growth was in good agreement with the fact that concentrations of reducing sugar declined rather rapidly from 71 and 98 g L^{-1} to 8 and 21 g L^{-1}, respectively, for fish and pineapple bioextracts on day 7 after fermentation (Fig. 3). After the second week of fermentation, the total bacteria and lactic acid bacteria count present in both bioextracts were lower than 10^8 cfu/mL and, subsequently, declined continuously. Such decline may be due primarily to a swift depletion of reducing sugar (Fig. 3) and the presence of secondary metabolites which maybe inappropriate for bacterial growth. It is well accepted that with the presence of hexose such as glucose, several secondary metabolites, i.e., acetic acids, CO_2, diacetyl and acetoin, could be produced by lactic acid bacteria (Hugenholtz et al., 1993; Kleerebezem et al., 2000). It is also evident from Fig. 5 that after the first month of fermentation the total bacteria detected in fish bioextract was statistically significant lower than that present in pineapple bioextract whereas, during the second to the eighth month of fermentation, the lactic acid bacteria found in fish bioextract was lower than that found in pineapple bioextract ($p < 0.01$).

4.5.2. Phytotoxicity

In this study, germination index (GI), percentages of seed germination relative to an elongation of root (Tiquia et al., 1996), was employed to assess the qualities of both fish and pineapple bioextracts produced intended for horticulture application. Germination indices of both bioextracts produced using fish and pineapple wastes as raw materials at different fermentation time interval were given in Fig. 6. The germination indices of both fish and pineapple bioextracts reached the highest values of 123% and 106% at 21 and 14 days post-fermentation, respectively. It is generally accepted that biofertilizer (plant supplement) with germination index of higher that 80% could be applied as plant supplement (Tiquia et al., 1996). Therefore, as is obvious from Fig. 6 that during the second week until the eighth week (2 months) post-fermentation, GIs of both fish and pineapple bioextracts were approximately 92% and 80%, respectively. Further, the GIs of both bioextracts started to decline rather rapidly when fermentation was allowed to take place more than 1 month and remained rather constant after 3 month of fermentation, respectively, at 98% and 59% for fish and pineapple bioextracts. This decline in the GIs may be due possibly to high concentrations of both acetic acid and ethanol detected in both bioextracts (Fig. 4A and B). It has been reported in literature that effect of ethanol on seed germination are dose and species dependent. Results found are in good agreement with that reported by Kato-Noguchi and Kugimiya (2001) who found that the presence of high concentration of exogenous ethanol could restrict growth of seedlings such as rice seedling. In addition, Lynch (1977) reported that acetic acid, propionic acid and butyric acid were the products of anaerobic fermentation which could probably be toxic to plants. The author further showed that acetic acid at concentration of higher than 15 mM could inhibit seed germination while treatment with acetic acid at concentration of less than 5 mM could on the contrary enhance germination.

According to Fig. 6, it maybe deduced that bioextract produced using pineapple peel as principal raw material was more toxic than that obtained using fish waste as starting raw material, in other words, lower germination indices, which maybe due to the presence to high concentration of ethanol, 220–300 mM (Salehi et al., 2008). Morales-Payan and Santos (1997) further showed that ethanol at high concentration could in effect damage plant cells. Generally, for compost product, germination index of more than 80% is considered nontoxic and maybe use to enhance seed germination as well as root elongation (Tiquia et al., 1996). Consequently, fish bioextract fermented for more than 1 week could be applied to

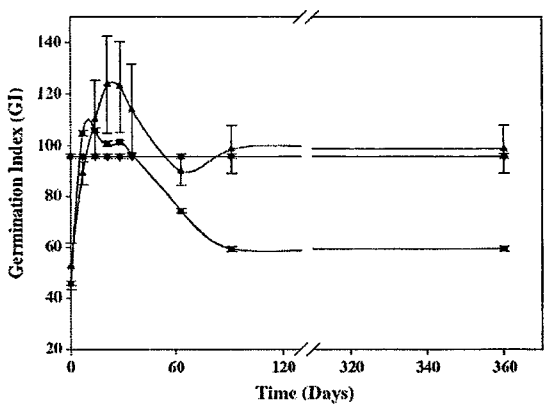


Fig. 6. Germination indices of both fish (▲) and pineapple (■) bioextracts obtained at various fermentation times during the whole course of production against control (♦).

Please cite this article in press as: Tripetchkul, S., et al. Utilization of wastewater originated from naturally fermented virgin coconut oil manufacturing process for bioextract production: Physico-chemical and microbial evolution. Bioresour. Technol. (2010), doi:10.1016/j.biortech.2010.03.056

ARTICLE IN PRESS

Table 3
Characteristics of fish and pineapple bioextract.

Parameters	Bioextract[A]		Standard of liquid biofertilizer[B]
	Fish	Pineapple	
pH			⩽5
Electrical conductivity (ds/m)	4.98 ± 0.00[a]	3.57 ± 0.00[b]	⩽10
	5.37 ± 0.02[a]	0.36 ± 0.03[b]	⩽3, bioextract of animal origin
Nitrogen (N, %, w/v)	0.92 ± 0.02[a]	0.12 ± 0.01[b]	⩽2, bioextract of plant origin
Phosphorus (P,%, w/v)	0.90 ± 0.00[a]	0.31 ± 0.00[b]	
Potassium (K, %, w/v)	5.46 ± 0.00[a]	2.73 ± 0.00[b]	⩾1
Arsenic (As, %, w/v)	0	0	⩾1
Cadmium (Cd, %, w/v)	0	0	⩽50 mg/kg
Chromium (Cr, %, w/v)	0	0	⩽5 mg/kg
Lead (Pb, %, w/v)	0	0	⩽300 mg/kg
Mercury (Hg, %, w/v)	0	0	⩽500 mg/kg
Copper (Cu,%, w/v)	0.01 ± 0.00[a]	0.01 ± 0.00[a]	⩽2
Ethanol (mM)	155 ± 1[a]	115 ± 9[b]	⩽500 mg/kg
Acetic acid (mM)	346 ± 11[A]	441 ± 1[b]	-
Butyric acid (mM)	35 ± 1[a]	0 ± 0[b]	-
Propionic acid (mM)	32 ± 0[a]	0 ± 0[b]	-
Lactic acid (mM)	137 ± 1[a]	53 ± 2[b]	-
Total bacteria (cfu/ml)	1.9×10^{5a}	2.0×10^{6b}	-
Lactic acid bacteria (cfu/ml)	1.4×10^{5a}	9.9×10^{4a}	-
	113 ± 2[a]	97 ± 1[b]	-
Germination index			⩾80%

[A] Both bioextracts were of 1 month old. For comparison, different superscripts represent significant ($p < 0.01$) differences within a row. Each value is expressed mean ± S.D. ($n = 3$).
[B] The Thai standard of liquid biofertilizer (Ministry of Agriculture and Cooperatives, 2001; Tancho, 2006).

as plant supplement without any adverse effect. On the contrary, pineapple bioextract fermented for more than 2 months were considered inappropriate to be used as plant supplement since the corresponding germination indices remained lower than 80%. Therefore, for effective application as plant supplement, both fish and pineapple bioextracts should be used at the age of more than 1 week and less than 2 months.

4.5.3. Qualities of fish and pineapple bioextract

Since the principal starting materials for the production of each bioextract were different, it is therefore, of considerable interest to characterize the qualities of both fish and pineapple bioextracts obtained. Table 3 shows qualities of fish and pineapple bioextract at 1 month post-fermentation. It is evident that the contents of nitrogen (N), phosphorus (P) and potassium (K) as well as organic acids, i.e., acetic acid and butyric acid, in fish bioextract were statistically significant higher than those detected in pineapple bioextract ($p < 0.01$). In addition, in order to conform to the Thai standard of liquid biofertilizer, the presence of several heavy metals, i.e., Cu, Hg, Cd and Cr, at low concentrations was considered acceptable. As can be clearly seen from Table 3 that in both bioextracts, copper (Cu) was the only trace element found and their concentrations are statistically significant indifference at 99% confidence interval. It is also worthy to note that characteristics of both fish and pineapple bioextracts produced in this study conformed well with the Thai standard of liquid biofertilizer (Ministry of Agriculture and Cooperatives, 2001) indicating that these bioextracts could be employed as biofertilizer when diluted to appropriate concentrations.

5. Conclusion

Wastewater originated from the virgin coconut oil manufacturing process could efficiently be employed as raw material for bioextract production together with either fish waste or pineapple waste. In order for the bioextract produced to be of highest effectiveness, the mixture should not be fermented for more than 2 months during which the highest concentration of total bacteria and the lowest fermentative by-products, the cause of phytotoxicity, were resulted. Qualities of fish and pineapple bioextracts at the age of 1 month old abide by the Thai standard of liquid biofertilizer; therefore, suitable for applying as biofertilizer for horticulture with appropriate dilution.

Acknowledgements

This study was financially supported in part by the Commission of Higher Education (The Western Network) and King Mongkut's University of Technology Thonburi.

References

Adkins, S.W., Simpson, G.M., Naylor, J., 1984. The physiological basis of seed dormancy in Avena fatya: 6. Respiration and the stimulation of germination by ethanol. Physiologia Plantarum 62, 148–152.
Agricultural Chemistry Division, 2002. Plant Hormones and Nutrients in Bio-extract. Department of Agriculture. Ministry of Agriculture and Cooperatives (pp. 19–125, in Thai).
American Public Health Association (APHA), 1989. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th ed. American Public Health Association, Washington, DC, USA. pp. 9–61.
AOAC International, 1995, 16th ed.. In: Cunniff, P. (Ed.), Official Methods of Analysis, vol. I AOAC International, Arlington, VA, USA.
Beasley, S., 2004. Isolation identification and exploitation of lactic acid bacteria from human and animal microbiota. Academic dissertation. Department of Applied Chemistry and Microbiology. University of Helsinki, pp. 97–105.
Chang, P.K., 1977. Production of Egg White Substitute from Whey. United States Patent 4029825.
Copeland, L.O., McDonald, M.B., 1995. Principles of Seed Science and Technology, third ed. Thomson publishing Company, Mexico. 409p.
Fuangworawong, P., Tripetchkul, S., Koonsrisuk, S., Akeprathumchai, S., 2008. Study on availability and utilization of wastes from coconut processing in Prachuapkhirikhan province. Silapakorn University Journal 28 (3), 13–31.
Golueke, C.G., 1991. Principle of Composting. Biocycle Journal. The Art and Science of Composting. The JG Press, Inc., PA, USA.
Gudjonsdottir, S., 1966. Growth-promoting effects of fatty acids on excised wheat roots and oat coleoptiles. Physiologia Plantarum 19, 523–540.
Hugenholtz, J., Perdon, L., Abee, T., 1993. Growth and energy generation by *Lactococcus lactis* subsp. lactis biovar diacetylactis during citrate metabolism. Applied and Environmental Microbiology 59 (12), 4216–4222.
Jeyashoke, N., Koonsrisuk, S., Suchaitanawanich, S., 2007. Quality improvement of virgin coconut oil produced by Reun Samunphai Auw Noi. Pamphlet of the Lower Central Region Research Network 3 (1), 9–12 (in Thai).
Johnson, T.R., Case, C.L., 1989. Laboratory Experiments in Microbiology, 2nd ed. The Benjamin/Cumnings Publishing Company, Inc., California, USA. pp. 56–62.
Kato-Noguchi, H., Kugimiya, T., 2001. Effects of ethanol on growth of rice seedlings. Plant Growth Regulation 35, 93–96.
Kleerebezem, M., Hols, P., Hugenholtz, J., 2000. Lactic acid bacteria as a cell factory: rerouting of carbon metabolism in *Lactococcus lactis* by metabolic engineering. Enzyme and Microbial Technology 26, 840–848.
Lam, T., 1996. Preparation of a Multi-purpose Cleaner. United States Patent 5510051.
Larrauri, J.A., Rupérez, P., Calixto, F.S., 1997. Pineapple shell as a source of dietary fiber with associated polyphenols. Journal of Agriculture and Food Chemistry 45, 4028–4031.
Luengarepaphong, P., 2002. Bioextract. Available from: <http://www.kasetcity.com/data/articledetails.asp> (in Thai).
Lynch, J.M., 1977. Phytotoxicity of acetic acid produced in the anaerobic decomposition of wheat straw. Journal of Applied Bacteriology 42, 81–87.
Manahan, S.E., 1994. Environmental Chemistry, sixth ed. Lewis Publishers, CRC Press, USA.
Ministry of Agriculture and Cooperatives, 2001. Available from: <http://www.doa.go.th/sootin_webs/crop_fert/> (in Thai).
Morales-Payan, J.P., Santos, B.M., 1997. Effects of different ethanol concentrations on the initial growth of lettuce. Proceedings of the Carribbean Food Crops Society 33, 442–447.
Navarro, A.F., Cegarra, J., Roig, A., Garcia, D., 1993. Relationships between organic matter and carbon contents of organic wastes. Bioresource Technology 44 (3), 203–207.
Nevin, K.G., Rajamohan, T., 2006. Virgin coconut oil supplemented diet increases the antioxidant status in rats. Food chemistry 99, 260–266.
Office of Agricultural Economics, 2008. Data on Agricultural Commodities. Available from: <http://www2.oae.go.th/statistic/yearbook50/production/horticulturalcrop/coconut51.xls> (in Thai).

Please cite this article in press as: Tripetchkul, S., et al. Utilization of wastewater originated from naturally fermented virgin coconut oil manufacturing process for bioextract production: Physico-chemical and microbial evolution. Bioresour. Technol. (2010), doi:10.1016/j.biortech.2010.03.056

71

ARTICLE IN PRESS

Phosri, P., Sutthitham, W., Vachirapatama, N., 2006. Effect of bioextract on growth and yield of vegetable soybean under substrate culture. In: The Fifth Departmental Science and Technology Conference: Science and Technology and Self-sufficient Economics, 3 November 2006. Faculty of Science and Technology, Thammasat University, Rangsit Campus, Pathumthani, pp. 86–90 (in Thai).

Pumprasead, J., Poungjik, T., 2005. Effects of bioextract on growth, yield and reduced production cost of chinese kale grown under the substrate culture. Journal of Science and Technology 13 (2), 13–21 (in Thai).

Salehi, M.R., Ashiri, F., Salehi, H., 2008. Effect of different ethanol concentrations on seed germination of three turfgrass genera. Advances in Natural and Applied Sciences 2 (1), 6–9.

Sales, J., Janssens, G.P.J., 2003. Nutrient requirements of ornamental fish. Aquatic Living Resources 16, 533–540.

Sassanarakij, S., 2004. Technology for High Quality Biofertilizer Production. Thailand Institute of Science and Technology, pp. 1–49 (in Thai).

Soil and Water Conservation Division, Land Development Department, 2002. Soil Quality Improvement using Several Organic Composts. Natural Farming, 56p (in Thai).

Tancho, A., 2006. Nature Applied Agriculture. National Science and Technology Development Agency, first ed. NSTDA Cyberbookstore Publishing Company, Pathumthani, 299p (in Thai).

Tiquia, S.M., Tam, N.F.Y., Hodgkiss, I.J., 1996. Effect of composting on phytotoxicity of spent pig-manure sawdust litter. Environment Pollution 93 (3), 249–256.

US Department of Agriculture, Agricultural Research Service, 2001. USDA Nutrient Database for Standard Reference Release 14. US Department of Agriculture, USA.

Youprayong, W., Suksringam, B., 2006. Effect of *Bacillus* spp. starter cultures to bio-extract fermentation of plant. In: The Fifth Departmental Science and Technology Conference: Science and Technology and Self-sufficient Economics, 3 November 2006. Faculty of Science and Technology, Thammasat University, Rangsit Campus, Pathumthani, pp. 102–113 (in Thai).

Please cite this article in press as: Tripetchkul, S., et al. Utilization of wastewater originated from naturally fermented virgin coconut oil manufacturing process for bioextract production: Physico-chemical and microbial evolution. Bioresour. Technol. (2010), doi:10.1016/j.biortech.2010.03.056