รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ ประจำปีงบประมาณ 2554

การพัฒนาการผลิตปุ๋ยหมักจากฟางข้าวของกลุ่มเกษตรกร ตำบลบางเขียด อำเภอสิงหนคร จังหวัดสงขลา

The Development of Compost from Rice Straw Production of Agricultural Group from Bangcherd Singhanakorn, Songkhla

ผศ.เสาวนิตย์ ชอบบุญ

ดร.พัชรี หลุ่งหม่าน

นางสาวผจงสุข สุธารัตน์

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

มีนาคม 2559

รหัสโครงการ 2554A15662012

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ ประจำปีงบประมาณ 2554

การพัฒนาการผลิตปุ๋ยหมักจากฟางข้าวของกลุ่มเกษตรกร ตำบลบางเขียด อำเภอสิงหนคร จังหวัดสงขลา

ผศ.เสาวนิตย์ ชอบบุญ
ดร.พัชรี หลุ่งหม่าน
นางสาวผจงสุข สุธารัตน์

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

สนับสนุนโดยสำนักบริหารโครงการส่งเสริมการวิจัย
ในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ
สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา

ชื่องานวิจัย การพัฒนาการผลิตปุ๋ยหมักจากฟางข้าวของกลุ่มเกษตรกร ตำบลบางเขียด อำเภอสิงหนคร จังหวัดสงขลา
ผู้วิจัย เสาวนิตย์ ชอบบุญ[1] พัชรี หลุ่งหม่าน[2] และผจุงสุข สุธารัตน์[1]
คณะ [1]โปรแกรมวิชาชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
[2]สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี
ปี 2559

บทคัดย่อ

การพัฒนาการผลิตปุ๋ย หมักจากฟางข้าวของกลุ่มเกษตรกร ตำบลบางเขียด อำเภอสิงหนคร จังหวัดสงขลา มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาการผลิตปุ๋ยจากฟางข้าวจากสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสซึ่งคัดเลือกมาจากสิ่งแวดล้อมทางการเกษตร ผลการศึกษาพบว่า มีจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสบนอาหาร cellulose congo red agar ทั้งหมด 14 ไอโซเลท จากทั้งหมด 169 ไอโซเลท โดยจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสสามอันดับแรกบนอาหาร cellulose congo red agar คัดแยกได้มาจากดินคือ S-12 *Aspergillus* sp. S-41 และ Actinomycetes S-15 มีอัตราส่วนของเส้นผ่านศูนย์ของวงใสต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีบนอาหาร cellulose congo red agar บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง เท่ากับ 4.55±0.12, 4.50 ±0.08 และ 4.01±0.02 ตามลำดับ หลังการเพาะเลี้ยงเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ทั้งสามชนิดเพื่อศึกษาประสิทธิภาพการย่อยฟางข้าวในห้องปฏิบัติการ พบว่าจุลินทรีย์ทั้งสามชนิด *Aspergillus* sp. S-41 เจริญและสร้างสปอร์ได้รวดเร็วที่สุด รองลงมาคือ Actinomycetes S-15 ส่วน ไอโซเลท S-12 เจริญได้ช้ามาก จากการศึกษาประสิทธภาพการย่อยสลายฟางข้าว พบว่าจุลินทรีย์ทั้งสามไอโซเลทสามารถย่อยสลายฟางข้าวได้ไม่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงคัดเลือก *Aspergillus* sp. S-41 สำหรับการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายฟางข้าวในภาคสนาม จากการศึกษาพบว่า *Aspergillus* sp. S-41 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายฟางข้าวได้ดีกว่าสารเร่ง พด .1 โดยในทุกชุดการทดลองมีปริมาณความเป็นกรด -ด่าง ร้อยละของสารอินทรีย์วัตถุ และค่า C/N ratio อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานตามประกาศตามประกาศกรมวิชาการเกษตรและสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ

คำสำคัญ : ปุ๋ยหมัก ฟางข้าว จุลินทรีย์ อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน

Research Title The Development of Compost from Rice Straw Production of Agricultural Group from Bangcherd Singhanakorn, Songklha
Researcher Saowanit Chobbun[1] Patcharee Lungmann[2] ,and Pajongsuk Sutarath[1]
Faculty [1]Program of Biology and Applied Biology, Faculty of Science and Technology, Songkhla Rajabhat University , Songkhla
Program of Applied Biology, Applied Biology, Faculty of Science and Technology, Surattathani Rajabhat University, Surattathani
Year 2016

Abstract

The development of compost from rice straw of agricultural group from Bangcherd SInghanakorn aimed to develop the compost production from rice straw. Microorganisms that efficiently degrade cellulose selected from agricultural environment. It was found that 14 isolates from 169 isolates were efficiency to digest cellulose on cellulose congo red agar. The most efficiency microbials on cellulose congo red agar selected from S-12 *Aspergillus* sp. S-41 and Actinomycetes S-15 showed the ratio of clear zone to the diameter of a colony on a cellulose congo red agar of 4.55±0.12, 4.50±0.08 and 4.0±0.02 respectively at 45 °C for 72 h. After extra-culture in laboratory to investigate the rice straw digest efficiency, it was found that *Aspergillus* sp. S-41 showed the fastest growth and spore production followed by Actinomycetes S-15 and the S-12 isolate respectively. Regarding the degrade efficiency, all isolates can degrade rice straw insignificantly. Hence, *Aspergillus* sp. S-41 was selected to investigate the efficiency of rice straw digestion in the field. It could be summarised that *Aspergillus* sp. S-41 was more effective in decomposition of rice straw than microbial activator super LLD.1. The fertilizer showed pH, the percentage of organic materials, and C/N ratio which were acceptable following Department of Agriculture and food standards.

Keywords : Compost, Rice straw, Microorganism, C/ N ratio

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อการพัฒนาการผลิตปุ๋ย หมัก จากฟางข้าวของกลุ่มเกษตรกร ตำบลบางเขียด อำเภอสิงหนคร จังหวัดสงขลา (The Development of Compost from Rice Straw Production of Agricultural Group from Bangcherd Singhanakorn, Songklha) ได้รับเงินอุดหนุนจากโครงการส่งเสริมการวิจัยในสถาบันอุดมศึกษาฯ ประจำปี 2554 จำนวนรวมทั้งสิ้น 275,000 บาท (สองแสนเจ็ดหมื่นห้าพันบาทถ้วน) ผู้วิจัยขอขอบคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณผู้อำนวยการศูนย์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา และประธานโปรแกรมวิชาชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์ให้ใช้ห้องปฏิบัติการ อุปกรณ์และเครื่องมือวิจัย และขอขอบคุณ คุณปริญญา ทับเที่ยง ในความกรุณาให้คำปรึกษาและช่วยเหลือเกี่ยวกับการจัดซื้อ-จัดจ้าง ตลอดการวิจัยครั้งนี้

คณะผู้วิจัย

มีนาคม 2559

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย		ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		ข
กิตติกรรมประกาศ		ค
สารบัญ		ง
สารบัญตาราง		จ
สารบัญภาพ		ช
บทที่ 1	**บทนำ**	1
	ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
	วัตถุประสงค์ของการวิจัย	1
	ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย	2
	ขอบเขตของการวิจัย	2
บทที่ 2	**เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**	3
บทที่ 3	**วิธีการดำเนินการวิจัย**	24
	วัสดุและอุปกรณ์	24
	การดำเนินการวิจัย	26
	การถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ชุมชนหรือผลงานวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย	29
	สถานที่ดำเนินการวิจัย	29
	ระยะเวลาในการดำเนินการ	29
บทที่ 4	**ผลการทดลองและวิจารณ์ผล**	30
	การคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์	30
	การระบุชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลส	43
	การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยสลายฟางข้าวในห้องปฏิบัติการ	51
	การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยสลายฟางข้าวในภาคสนาม	57
	การอบรมถ่ายทอดเทคโนโลยี	53
บทที่ 5	**สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ**	66
	เอกสารอ้างอิง	68
	ภาคผนวก	71
	ประวัติผู้วิจัย	82

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้	4
2.2	ส่วนประกอบทางเคมีของฟางข้าวและฟางหมักยูเรีย	6
3.1	สัดส่วนของเชื้อจุลินทรีย์และวัตถุดิบสำหรับการหมักฟางข้าวในห้องปฏิบัติการ	28
4.1	จำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสแยกจากปุ๋ยหมัก มูลสัตว์ ดินและ พด.1 คัดแยกบนอาหาร cellulose congo red agar ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน	31
4.2	ประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสของจุลินทรีย์ (แบคทีเรีย) ที่คัดแยกจากปุ๋ยหมักบนอาหาร cellulose congo red agar บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง	32
4.3	ประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสของจุลินทรีย์ที่คัดแยกจากดินบนอาหาร cellulose congo red agar บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง	35
4.4	ประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสของจุลินทรีย์ที่คัดแยกจากมูลสัตว์เคี้ยวเอื้องบนอาหาร cellulose congo red agar บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง	38
4.5	ประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสของจุลินทรีย์ที่คัดแยกจากสารเร่งซุปเปอร์ พด.1 บนอาหาร cellulose congo red agar บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง	40
4.6	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ชีวเคมีและสรีรวิทยาบางประการของแบคทีเรียจากปุ๋ยหมักที่มีประสิทธิภาพการย่อยเซลลูโลสสูงสุด 5 ลำดับแรก	43
4.7	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมีบางประการของแบคทีเรียจากมูลสัตว์เคี้ยวเอื้อง ทั้ง 5 ไอโซเลทที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้มีประสิทธิภาพสูง	44
4.8	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ชีวเคมีและสรีรวิทยาของแบคทีเรียที่แยกจากดิน ไอโซเลท S-40 ที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส	45
4.9	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ชีวเคมีและสรีรวิทยาบางประการของแบคทีเรียจากสารเร่งซุปเปอร์ พด.1 ที่มีประสิทธิภาพการในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสสูงสุด 5 ลำดับแรก	50
4.10	ความเป็นกรด-ด่างวัดในน้ำของฟางข้าวหมักด้วยจุลินทรีย์ในถุงพลาสติก บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 42 วัน	54
4.11	ปริมาณของอินทรียวัตถุของฟางข้าวหมักในถุงพลาสติก บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 42 วัน	55
4.12	ปริมาณของอินทรีย์คาร์บอนและไนโตรเจนของฟางข้าวหมักในถุงพลาสติก บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 42 วัน	56
4.13	ค่า C/N ratio ของฟางข้าวหมักในถุงพลาสติก บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 42 วัน	56
4.14	ความเป็นกรด-ด่างวัดในน้ำของฟางข้าวหมักที่ด้วย *Aspergillus* sp. S-41 นาน 42	60

ตารางที่		หน้า
	วัน	
4.15	ปริมาณของอินทรียวัตถุของกองฟางข้าว หมักด้วย *Aspergillus* sp. S-41 นาน 42 วัน	61
4.16	ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนและไนโตรเจนของฟางข้าวที่หมักด้วย *Aspergillus* sp. S-41 นาน 42 วัน	62
4.17	ค่า C/N ratio ของฟางข้าวที่หมักด้วย *Aspergillus* sp. S-41 นาน 42 วัน	62
4.18	จำนวนและร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถามจำแนกตามช่วงอายุ	63
4.19	จำนวนและร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถามจำแนกตามระดับการศึกษา	64
4.20	แสดงความคิดเห็นด้านความพึงพอใจต่อการเข้าร่วมโครงการ “การพัฒนาการผลิตปุ๋ยหมักจากฟางข้าวของกลุ่มเกษตรกร ตำบลบางเขียด อำเภอสิงหนคร จังหวัดสงขลา”	64

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	การนำฟางข้าวมาทำเป็นปุ๋ยหมักฟางข้าว	7
2.2	การเตรียมฟางข้าวสำหรับการขนส่ง	7
2.3	กองปุ๋ยหมักปักท่อไม้ไผ่เป็นช่องระบายอากาศ	12
2.4	กองปุ๋ยหมักมีช่องระบายอากาศเกิดจากการถอนท่อไม้ไผ่ออกไป	12
4.1	กิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 ไอโซเลท ที่แยกได้จากตัวอย่างปุ๋ยหมักบนอาหาร Cellulose congo red agar ซึ่งบ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง	34
4.2	ประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสของแบคทีเรีย และเชื้อรา ทั้งสี่ไอโซเลทแรกที่คัดแยกจากดิน บนอาหาร cellulose congo red agar บ่มที่อุณหภูมิ45 องศาเซลเซียส นาน72 ชั่วโมง	37
4.3	ประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสของแบคทีเรีย ทั้งห้าไอโซเลทแรกที่คัดแยกจากมูลสัตว์เคี้ยวอื้อง บนอาหาร cellulose congo red agar บ่มที่อุณหภูมิ45 องศาเซลเซียส นาน72 ชั่วโมง	39
4.4	ประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสของแบคทีเรีย และเชื้อรา ทั้งห้าไอโซเลทแรกที่คัดแยกจาก สารเร่งซุปเปอร์. บนอาหาร cellulose congo red agar บ่มที่อุณหภูมิ45 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง	42
4.5	ลักษณะโคโลนีและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท S-15 บนอาหาร nutrient agar บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 14 วัน	47
4.6	ลักษณะโคโลนีและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท S12 บนอาหาร potato dextrose agar บ่มอุณหภูมิห้อง นาน 7 วัน	48
4.7	ลักษณะโคโลนีและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท S-41 บนอาหาร potato dextrose agar บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 7 วัน	49
4.8	หัวเชื้อจุลินทรีย์เพาะเลี้ยงในข้าวเหนียวนึ่งในถุงพลาสติก บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 7 วัน ก. ไอโซเลท S-12 ข. ไอโซเลท S-15 ค. ไอโซเลท S-41	52
4.9	ลักษณะของฟางข้าวที่ย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ จำนวน 7 สูตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 42 วัน	53
4.10	ลักษณะของฟางข้าวที่ย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ไอโซเลท S-41 จำนวน 7 ชุดการทดลอง หมักนาน 0 วัน	58
4.11	ลักษณะของฟางข้าวที่ย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ไอโซเลท S-41 จำนวน 7 ชุดการทดลอง หมักนาน 42 วัน	59

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ตามที่รัฐบาลได้ประกาศทำเกษตรอินทรีย์ – ชีวภาพเป็นวาระแห่งชาติ เพื่อให้มีการปรับเปลี่ยนระบบการผลิตที่พึ่งพาการใช้ปุ๋ยเคมีและสารเคมี มาเป็นการพึ่งพาตนเองในการผลิตปุ๋ยอินทรีย์และสารชีวภาพเพื่อใช้เองในประเทศ ตามแนวเศรษฐกิจพอเพียง ซึ่งการทำให้วาระนี้สัมฤทธิ์ผลนั้นจำเป็นต้องมีการถ่ายทอดความรู้ที่ถูกต้อง และเหมาะสม

ตำบลบางเขียด อำเภอสิงหนคร จังหวัดสงขลา เป็นที่ราบริมฝั่งทะเลด้านตะวันตกของพื้นที่คาบสมุทรสทิงพระ มีลำคลอง 3 สาย เดิมใช้เป็นเส้นทางคมนาคม เชื่อมติดต่อกับทะเลสาบ ได้แก่ คลองบ้านระฆัง คลองบ้านตกวัดและคลองบ้านใหญ่ สภาพพื้นที่ด้านทิศตะวันออกเป็นทุ่งราบดิน มีลักษณะเป็นดินเหนียวเหมาะแก่การเพาะปลูก ทำนา ทำสวน ชาวบ้านในพื้นที่ส่วนใหญ่จึงประกอบอาชีพทำนาควบคู่ไปกับอาชีพทำน้ำตาลโตนดเป็นหลัก ดังนั้นบริเวณตำบลบางเขียดจึงมีฟางข้าวจึงเป็นวัสดุเหลือใช้ในปริมาณมาก ฟางข้าวเหล่านี้จะถูกทิ้งหรือเผาอย่างไร้ประโยชน์ ซึ่งการเผานี้ทำให้ดินเสื่อมสภาพอย่างรวดเร็ว ส่งผลให้การทำการเกษตรได้ผลผลิตที่ไม่แน่นอน และยังก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้เกษตรกรส่วนใหญ่มักนิยมใช้ปุ๋ยเคมีในการผลิต เนื่องจากคิดว่าการทำปุ๋ยชีวภาพเป็นเรื่องที่ยุ่งยากซับซ้อน ใช้ระยะเวลานาน และให้ผลผลิตน้อย

ดังนั้นหากมีการพัฒนาการผลิตปุ๋ยชีวภาพให้มีระยะเวลาการหมักที่สั้นลง โดยคัดเลือกจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่เหมาะสมมาใช้เป็นตัวเร่งในการผลิต ประกอบกับมีการถ่ายทอดวิธีการผลิตที่ง่ายในทางปฏิบัติ ส่งผลให้เกษตรกรสามารถผลิตปุ๋ยหมักจากวัตถุดิบที่มีในท้องถิ่นใช้เอง ลดต้นทุนลงเนื่องจากไม่จำเป็นต้องมีการสั่งซื้อปุ๋ยเคมีมาใช้ ลดผลกระทบต่อคุณภาพน้ำและอากาศในพื้นที่ และปรับปรุงคุณภาพดิน อันจะก่อให้เกิดประโยชน์ทั้งเกษตรกรและชุมชน

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1) เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพในการใช้เป็นตัวเร่ ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพจากฟางข้าว

2) เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของกลุ่มจุลินทรีย์ที่ผสมใหม่กับกลุ่มจุลินทรีย์จากสารเร่งพด. 1

3) เพื่อพัฒนากระบวนการผลิตปุ๋ยหมักจากฟางข้าว ให้มีระยะเวลาการหมักที่สั้นลง

4) เพื่อถ่ายทอดกระบวนการผลิตปุ๋ยหมักจากฟางข้าว สู่เกษตรกรในชุมชน

5) เพื่อส่งเสริมให้เกษตรกรมีปุ๋ยหมักที่ผลิตจากวัตถุดิบในชุมชนใช้ในราคาถูก

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) ได้สายพันธุ์จุลินทรีย์ที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพในการใช้เป็นตัวเร่งในการผลิตปุ๋ยหมักจากฟางข้าว

2) สามารถพัฒนากระบวนการผลิตปุ๋ยหมักจากฟางข้าว ให้มีระยะเวลาการหมักที่สั้นลง

3) สามารถถ่ายทอดกระบวนการผลิตปุ๋ยหมักจากฟางข้าว สู่เกษตรกรในชุมชน

4) ส่งเสริมให้เกษตรกรมีปุ๋ยหมักที่ผลิตจากวัตถุดิบในชุมชนใช้ในราคาถูก

1.4 ขอบเขตของโครงการวิจัย

1) เก็บตัวอย่าง ได้แก่ ดิน เศษพืช มูลสัตว์ และปุ๋ยหมักจากแหล่งต่างๆ ตามธรรมชาติ เพื่อใช้ในการแยก และคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ โดยเลือกจากเชื้อที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ดี

2) เปรียบเทียบประสิทธิภาพ ของกลุ่มจุลินทรีย์ที่ผสมใหม่กับกลุ่มจุลินทรีย์จากสารเร่งพด. 1 ในการย่อยสลายฟางข้าวในห้องปฏิบัติการและภาคสนาม วิเคราะห์ข้อมูล

3) อบรมถ่ายทอดความรู้ในการทำปุ๋ยหมักจากฟางข้าวให้แก่ เกษตรกรในชุมชน ตำบลบางเขียด อำเภอสิงหนคร จังหวัดสงขลา ประเมินผลสัมฤทธิ์ของโครงการวิจัย และจัดทำรายงานและเตรียมนำเสนอผลงาน

1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ

ปุ๋ยหมัก หมายถึงปุ๋ยอินทรีย์ชนิดหนึ่ง โดยการนำเศษพืชมากองรวมกัน และอาศัยกิจกรรมของจุลินทรีย์มาช่วยย่อยสลายจนกระทั่งได้สารอินทรีย์วัตถุที่มีความคงทน ไม่มีกลิ่น มีสำน้ำตาลปนดำ (กรมพัฒนาที่ดิน, 2546

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ฟางข้าว

ฟางข้าวเป็นอินทรีย์วัตถุประกอบด้วยเซลลูโลสประมาณ 43 เปอร์เซ็นต์ เฮมิเซลลูโลส 25 เปอร์เซ็นต์ ลิกนิน 12 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 3-4 เปอร์เซ็นต์ และเถ้า 16-17 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อพืช ได้แก่ ไนโตรเจน โพแทสเซียม คาร์บอน และซิลิกอน ควรไถกลบฟางข้าวในแปลง หรือนำมาใช้ทำปุ๋ยหมัก การทดลองไถกลบฟางข้าวในประเทศศรีลังกา พบว่าช่วยลดปริมาณการใช้ปุ๋ยไนโตรเจน และโพแทสเซียม ที่ต้องใส่ในนาข้าวได้ นอกจากนี้ การย่อยสลายฟางข้าวโดยจุลินทรีย์ในดินจะช่วยเพิ่มปริมาณไนโตรเจน (N) ที่เป็นประโยชน์ในดิน ช่วยลดการถูกชะล้างของดินในระยะยาว ทำให้ดินมีอินทรียวัตถุสูงขึ้น ปริมาณจุลินทรีย์และสิ่งมีชีวิต ขนาดเล็กในดินเพิ่มสูงขึ้น ดินมีความอุดมสมบูรณ์ดีขึ้นและเหมาะสมกับการเพาะปลูกมากขึ้น (Amarasiri S., 1997)

ในประเทศไทยในนาเขตชลประทาน เกษตรกรส่วนใหญ่ทำนา 2-3 ครั้งต่อปี เกษตรกรมักจะนำฟางข้าวออกจากนาหรือเผาทิ้ง โดยไม่มีการเพิ่มอินทรียวัตถุกลับคืนให้กับดินนา ทำให้ดินเสื่อมคุณภาพขาดความสมบูรณ์ แม้ว่าจะมีการเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ให้แก่ดินโดยการใส่ปุ๋ยเคมีทดแทน แต่ก็ยังมีผลกระทบต่อดินนา กล่าวคือปุ๋ยเคมีจะเร่งการลดจำนวนของจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายอินทรียวัตถุในนาข้าวให้หมดไปเร็วขึ้น มีผลทำให้ดินนาเสื่อมสภาพทางกายภาพ ทำให้ดินแข็งตัวมากขึ้นและมีแนวโน้มว่าดินจะมีสภาพเป็นกรดมากขึ้นด้วย

2.2 เอนไซม์เซลลูเลส (cellulase)

เซลลูเลส เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยสลายเซลลูโลสให้มีขนาดโมเลกุลที่เล็กลง เช่น กลูโคส (glucose) โดยพบว่าเอนไซม์นี้สร้างได้โดยสิ่งมีชีวิตทั้งพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย และเชื้อรา เป็นต้น ส่วนใหญ่ถูกสร้างและหลั่งออกมานอกเซลล์ (extracellular enzyme) ซึ่งถูกเหนี่ยวนำให้สร้างโดยสิ่งแวดล้อม เนื่องจากโมเลกุลของเซลลูโลสไม่สามารถเข้าสู่เซลล์ของจุลินทรีย์ได้ ดังนั้นจุลินทรีย์จึงต้องขับเอนไซม์ออกสู่นอกเซลล์เพื่อย่อยเซลลูโลสจนได้น้ำตาลที่ละลายน้ำจากนั้นจึงดูดซึมเข้าสู่ภายในเซลล์ เพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนต่อไป

2.2.1 องค์ประกอบของเอนไซม์เซลลูเลส

เอนไซม์เซลลูเลส ประกอบด้วยเอนไซม์ 3 กลุ่ม ตามระบบการจัดจำแนกเอนไซม์ (Enzyme Classification (E.C)) ดังนี้ (พิจิตรา, 2548)

2.2.1.1 เอนโดกลูคาเนส หรือเอนโด-บีต้า-1,4-กลูคาเนส (E.C.3.2.1.4) ทำหน้าที่ย่อยโมเลกุลของเซลลูเลสในส่วนที่ไม่เป็นระเบียบ (amorphous) หรือย่อยอนุพันธ์ ของเซลลูโลส เช่น คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethyl cellulose) เซลลูโลสที่ผ่านการทำปฏิกิริยากับกรดฟอสฟอริก (phosphoric swollen cellulose) ไฮดรอกซีเอทิลเซลลูโลส (hydroxyethyl cellulose) และเซลโลโอลิโกเมอร์ (cello-oligomers) โดยตัดย่อยเซลล์ที่ตำแหน่ง พันธะบีต้า-1,4-ไกลโคซิดิกแบบสุ่ม (random) ทำให้ผลิตภัณฑ์ผสมหลายชนิด คือ เซลโลโอลิโก แซคคาไรด์ (cellooligo-saccharides)

เซลโลเพนธาโอส (cellopentaose) เซลโลไตรโอส (cellotriose) เซลโลไบโอส (cellobiose) และกลูโคส โดยจะได้ผลิตภัณฑ์หลักใดขึ้นอยู่กับสมบัติ ของแต่ละเอนไซม์

2.2.1.2 เอกโซกลูคาเนส หรือเอกโซ-1,4-กลูคาเนส หรือเอกโซบีต้า-1,4-กลูแคนกลูโคไฮโดร เนส หรือเอกโซบีต้า-1,4-เซลโลไบโอไฮโดรเนส (E.C.3.2.1.91) (อมรรัตน์ , 2547) พบว่ามักทำหน้าที่ร่วมกับเอนไซม์เอนโดกลูคาเนสในการย่อยโมเลกุลของเซลลูโลส โดยการย่อยสลายเซลลูโลสจากปลายด้านที่ไม่มี น้ำตาลรีดิวซ์ (non-reducing) ของเซลลูโลส ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายส่วนใหญ่คือ น้ำตาล เซลโลไบโอส นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถย่อยสลายเซลลูโลสที่จัดตัวอย่างเป็นระเบียบ (microcrystalline cellulose) ได้โดยอาศัยการทำงานร่วมกับเอนโดกลูคาเนส

2.2.1.3 เอนไซม์บีต้า-1,4-กลูโคไซเนส (E.C.3.2.1.21) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยโมเลกุลของเซลโลไบโอส เซลโลโอลิโกแซคคาไรด์ ที่ละลายน้ำได้ให้เป็นน้ำตาลกลูโคส แต่ไม่สามารถย่อยสลายโมเลกุลซับซ้อนขนาดใหญ่ของเซลลูโลสได้โดยตรง

2.2.2 จุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลส

เนื่องจากเซลลูโลสมีลักษณะโครงสร้างทางเคมีสายยาว จุลินทรีย์ไม่สามารถเข้าสู่เซลล์ได้โดยตรง ดังนั้นจุลินทรีย์ต้องสร้าง extracellular enzyme ออกมาย่อยเซลลูโลสให้เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ละลายน้ำได้ และสามารถผ่านเข้าไปในเซลล์ได้ เอนไซม์ที่ย่อยสลายเซลลูโลสได้เรียกว่า เอนไซม์เซลลูเลส มีสิ่งมีชีวิตหลายชนิดสามารถสร้างเอนไซม์นี้ได้ (พรเทพ, 2528 อ้างโดย ทิพวรรณ,2553)

จุลินทรีย์มีความสำคัญในการย่อยสลายเซลลูโลสมากจุลินทรีย์หลายชนิดที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสเพื่อย่อยสลายเซลลูโลสมักอยู่ในกลุ่มของเชื้อรา แบคทีเรีย และแอคติโนมัยสิท ดังตารางที่ 1 (พรเทพ, 2538)

ตารางที่ 2.1 จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้

เชื้อรา	เชื้อแบคทีเรีย	เชื้อแอคติโนมัยสิท
Alternaria sp.	*Bacillus sp.*	*Micrormonospora sp.*
Aspergillus sp.	*Cellulomonas sp.*	*Nocardia sp.*
Chaetomium sp.	*Clostridium sp.*	*Streptomyces sp.*
Corprinus sp.	*Corynebacterium sp.*	*Streotosporangium sp.*
Foames sp.	*Cytophaga sp.*	
Fusarium sp.	*Polyangium sp.*	
Myrothecium sp.	*Pseudomonas sp.*	
Penicillium sp.	*Sporocytophaga sp.*	
Polyporus sp.	*Vibrio sp.*	
Rhizoctonia sp.		
Sporotrichum sp.		
Thielavia sp.		
Trametes sp.		
Trichothecium sp.		

เชื้อรา	เชื้อแบคทีเรีย	เชื้อแอคติโนมัยสิท
Trichoderma sp.		
Verticillium sp.		
Zygorhynchus sp.		

ที่มา : (พรเทพ, 2538)

ในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อจุลินทรีย์ ปัจจัยสำคัญที่ควบคุมการผลิตเอนไซม์ นอกจากจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของจุลินทรีย์แล้ว ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นๆ อีก เช่น ชนิดความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน ธาตุอาหารหลัก และธาตุอาหารรอง รวมไปถึงสภาพแวดล้อมการผลิต ซึ่งได้แก่ อายุและปริมาณของเชื้อเริ่มต้น ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) อุณหภูมิ การให้อากาศ และอัตราการเขย่า (พรเทพ, 2538)

2.3 ประโยชน์ของฟางข้าวในนา

ฟางข้าวเป็นอินทรียวัตถุที่ได้มาหลังการเก็บเกี่ยวข้าวมีประโยชน์ต่อการปรับปรุงดิน ดังนี้

2.3.1 การปรับปรุงสมบัติทางกายภาพของดิน ฟางข้าวทำให้ดินโปร่ง ร่วนซุย เพราะอินทรียวัตถุที่ได้จากการย่อยสลายของฟางข้าวจะเข้าไปแทรกอยู่ตามช่องว่างของดินไว้ ทำให้เกิดโครงสร้างของดินที่สามารถดูดซับน้ำได้ ซึ่งง่ายต่อการเตรียมดิน การปักดำ และทำให้รากพืชเจริญเติบโตแพร่กระจายในดินได้มากขึ้น ดินมีการระบายอากาศมากขึ้น การซึมผ่านของน้ำและการอุ้มน้ำของดินดีขึ้น (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548) รวมทั้งรักษาความชื้นในดินให้อยู่ได้นาน

2.3.2 การปรับปรุงสมบัติทางเคมีของดิน เมื่อฟางข้าวย่อยสลาย จะปลดปล่อยให้ธาตุอาหารพืชแก่ดินโดยตรง มีทั้งธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรอง ได้แก่ ธาตุไนโตรเจน (N) ธาตุฟอสฟอรัส (P) ธาตุโพแทสเซียม (K) แคลเซียม (Ca) และแมกนีเซียม (Mg) ที่สำคัญมีธาตุซิลิกา (SiO) ซึ่งจะค่อยๆ ปลดปล่อยให้เป็นประโยชน์ต่อพืชในระยะยาว ช่วยดูดยึดธาตุอาหารจากการใส่ปุ๋ยเคมีไม่ให้สูญเสียไปจากดินโดยง่าย ซึ่งพืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพและลดปริมาณการใช้ปุ๋ยเคมี (นิรนาม, 2554)

2.3.3 การปรับปรุงสมบัติทางชีวภาพของดิน ฟางข้าวช่วยทำให้ดินมีปริมาณอินทรียวัตถุเพิ่มขึ้น อินทรียวัตถุที่เพิ่มขึ้นเป็นแหล่งอาหารและพลังงานของจุลินทรีย์ในดิน ทำให้ปริมาณและกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนธาตุอาหารในดินให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืชเพิ่มขึ้น รวมทั้งสัตว์ชนิดอื่น เช่น ไส้เดือน เป็นต้น (ยงยุทธ, อรรถศิษฐ์ และชวลิต, 2551)

2.4 การใช้ประโยชน์จากฟางข้าว

2.4.1 อาหารสัตว์ เกษตรกรนิยมนำฟางข้าวมาเป็นอาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้อง เช่น โค กระบือ แต่เนื่องจากฟางข้าวมีคุณค่าทางอาหารต่ำ มีอัตราการย่อยต่ำ ทำให้ฟางอยู่ในกระเพาะหมักเป็นเวลานาน เพราะจุลินทรีย์ต้องใช้เวลาในการย่อยมากขึ้น ดังนั้นการใช้ฟางข้าวเพียงอย่างเดียวเลี้ยงสัตว์เป็นเวลานาน ทำให้สัตว์ได้รับค่าโภชนะไม่เพียงพอกับความต้องการของร่างกายจึงทำให้น้ำหนักลดลง จึงมีการเพิ่ม

คุณค่าทางอาหารในฟางข้าวด้วยการหมักฟางข้าวกับยูเรีย ยูเรียที่ใช้ในการปรับปรุงคุณภาพของฟางข้าวใช้สูตร 46-0-0 ซึ่งมีไนโตรเจน 46 เปอร์เซ็นต์ หรือเทียบเท่ากับโปรตีน 289 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณของยูเรียที่เหมาะสมที่จะใช้ในการปรับปรุงคุณภาพของฟางข้าว คือ ที่ระดับ 6 เปอร์เซ็นต์ของฟางข้าว (แอมโมเนียที่เหมาะสม คือที่ 3-3.4 เปอร์เซ็นต์ของฟางข้าว โดยที่ยูเรีย 60 ส่วนจะสลายตัวให้แอมโมเนีย 34 ส่วน) ฟางข้าวก่อนทำการปรับปรุงคุณภาพด้วยการหมักยูเรียมีวัตถุแห้งอยู่ 90 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์ของโปรตีนรวม เยื่อใย และค่าโภชนะย่อยได้ทั้งหมด เท่ากับ 2.76, 38.18 และ 40.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ฟางข้าวหมักยูเรียมีวัตถุแห้งอยู่ 90 เปอร์เซ็นต์มีเปอร์เซ็นต์ของโปรตีนรวม เยื่อใย และค่าโภชนะย่อยได้ทั้งหมด เท่ากับ 7.88, 33.33 และ 53 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1) ฟางหมักมีค่าการย่อยได้ที่สูงกว่าฟางธรรมดา ทำให้สัตว์กินฟางมากขึ้นจึงทำให้ได้โภชนะต่าง ๆจากฟางเพิ่มขึ้นตามไปด้วย รวมทั้งแหล่งของไนโตรเจนจากแอมโมเนียอีกด้วย จึงทำให้ค่าโปรตีนรวมของฟางหมักสูงขึ้นเป็น 4-9 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 2.2 ส่วนประกอบทางเคมีของฟางข้าวและฟางหมักยูเรีย

โภชนะ	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง	
	ฟางข้าวไม่หมักยูเรีย	ฟางข้าวหมักยูเรีย
วัตถุแห้ง (DM)	90.00	90.00
โปรตีนรวม (CP)	2.76	7.88
เยื่อใย	38.18	33.33
เถ้า (Ash)	14.84	18.30
ไขมัน (E.E)	2.00	4.88
คาร์โบไฮเดรต (NFE)	32.37	25.61
ค่าโภชนะที่ย่อยได้ทั้งหมด (TDN)	40.20	44.55
โปรตีนย่อยได้ (DP)	0.00	4.24
การย่อยได้ (digestibility)	50.50	53.00

ที่มา : (สุรวุฒิ จันทร์ชูและนิรันดร หนักแดง, 2009)

2.4.2 อุตสาหกรรมกระดาษ (สารานุกรมภูมิปัญญาท้องถิ่นไทย – ภูมิปัญญาข้าวไทย, 2010)

2.4.3. ทำวัสดุเพาะเห็ดฟาง เป็นวัตถุดิบที่สำคัญที่สุดในการเพาะเห็ดฟาง ฟางข้าวที่ใช้เพราะเห็ดใช้ได้ทั้งฟางข้าวเหนียวและฟางข้าวเจ้า ภาคปฏิบัติจริงๆ ส่วนใหญ่ใช้ตอซังหรือต้นข้าว หากสามารถถอนโคนต้นติดดินนาด้วยจะทำให้เพาะแล้วเกิดดอกเห็ดได้ดีขึ้น ตอซังควรเป็นซังแห้งสนิทจริงๆ ไม่ควรโดนฝนมาก่อนจนซังหรือฟางเน่า

2.4.4 การทำปุ๋ยหมักจากฟางข้าว โดยการนำฟางข้าวหมักร่วมกับมูลสัตว์ ปุ๋ยเคมี หรือจุลินทรีย์เมื่อกระบวนการหมักเสร็จสิ้นได้ปุ๋ยฟางข้าวที่มีลักษณะเป็นผงเปื่อยยุ่ยสีน้ำตาลปนดำ สามารถนำไปใช้ได้เลย

ภาพที่ 2.1 การนำฟางข้าวมาทำเป็นปุ๋ยหมักฟางข้าว
ที่มา : (ทรงศักดิ์ มีศรีจันทร์, 2554)

2.4.5 พลังงานทดแทนจากฟางข้าว ฟางข้าวมีศักยภาพเพียงพอที่จะนำไปใช้เป็นพลังงานทดแทนได้ ด้วยการนำไปใช้เป็นเชื้อเพลิงของหม้อต้มน้ำอุตสาหกรรมในโรงงานจะมีศักยภาพมากว่าการผลิตกระแสไฟฟ้า การใช้ฟางเป็นเชื้อเพลิงทดแทนเชื้อเพลิงจากฟอสซิล จะช่วยให้หยุดมลพิษทางอากาศยังได้ พลังงานและ ลดโลกร้อน โดยการลดการปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ นอกจากนี้สามารถนำไปขายให้กับประเทศที่มีพันธกิจการลดการปล่อยก๊าซเรือนกระจก ภายใต้การตกลงในพิธีสารเกียวโตได้อีกทางหนึ่ง ในอนาคตชีวมวลจึงเป็นทางเลือกใหม่ที่จะเข้ามามีบทบาทอย่างมากในภาวะขาดแคลนพลังงาน (ไตรทิพย์ สุรเมธางกูร, 2552)

ภาพที่ 2.2 การเตรียมฟางข้าวสำหรับการขนส่ง
ที่มา: (ไตรทิพย์ สุรเมธางกูร, 2552)

2.5. ปุ๋ยหมัก (compost)

ปุ๋ยหมักคือปุ๋ยอินทรีย์ชนิดหนึ่งที่ได้จากวัสดุอินทรีย์ผ่านการหมักโดยสมบูรณ์ วัสดุอินทรีย์ ได้แก่ วัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตรหรือวัชพืช เช่น ฟางข้าว ซังข้าวโพด พืชตระกูลถั่ว หญ้าแห้ง ผักตบชวา หรืออาจใช้มูลสัตว์ ของเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม ตลอดจนขยะมูลฝอยตามบ้านเรือน ฯลฯ ตัวอย่างปุ๋ยหมักที่มีการผลิตใช้กัน แพร่หลาย ได้แก่ ปุ๋ยหมักฟางข้าว ปุ๋ยหมักผักตบชวา และปุ๋ยเทศบาล ซึ่งได้จากการหมักเศษชิ้นส่วน ซากพืช สัตว์ ตลอดจนสิ่งปฏิกูล

การทำปุ๋ยหมักอาจอาศัยจุลินทรีย์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติ หรือมีการเติมจุลินทรีย์ที่คัดเลือกจากธรรมชาติลงไป เพื่อย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีองค์ประกอบซับซ้อนให้มีขนาดเล็กลง โดยชนิดของเศษชิ้นส่วนซากพืชจะมีผลต่อระยะเวลาในการทำปุ๋ยหมัก เมื่อการหมักเกิดขึ้นระยะเวลาหนึ่งแล้ว เศษพืช จะเปลี่ยนสภาพจากไปเป็นผงเปื่อยยุ่ยสีน้ำตาลปนดำ จนกระทั่งได้ปุ๋ยหมักที่มีความคงตัว ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้โดยไม่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

2.5.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการสลายตัวของซากพืชในกองปุ๋ยหมัก

2.5.1.1 เศษวัสดุที่ใช้ในการกองปุ๋ยหมัก มีทั้งประเภทที่สลายตัวเร็ว เช่น ฟางข้าว ผักตบชวา เปลือกถั่วและต้นถั่ว เศษวัชพืชต่าง ๆ และประเภทที่สลายตัวยาก เช่น แกลบ ขี้เลื่อย ข้าวลีบ กากอ้อย ขุยมะพร้าว ซังข้าวโพด ดังนั้นในการกองปุ๋ยหมักไม่ควรเอาเศษวัสดุที่สลายตัวเร็วและสลายตัวยาก กองปนกัน เพราะจะทำให้ได้ปุ๋ยหมักที่ไม่สม่ำเสมอเนื่องจากเศษพืชบางส่วนยังสลายตัวไม่หมด

2.5.1.2 ความละเอียดของวัสดุหมัก วัสดุหมักละเอียดจะสลายตัวได้เร็ว ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม อาจใช้เวลาในการหมักเพียง 1 สัปดาห์ แต่ถ้าวัสดุหยาบ เช่น ฟางข้าวหรือหญ้าทั้งต้นอาจใช้เวลานาน 3-6 เดือน

2.5.1.3 อัตราส่วนของคาร์บอนและไนโตรเจน (C/N ratio) ตามปกติเซลล์จุลินทรีย์มีค่า C/N ratio ประมาณ 10-15 หมายความว่าเมื่อจุลินทรีย์ดูดสารอินทรีย์คาร์บอนเข้าไปใช้ในเซลล์ 10-15 หน่วย จะต้องใช้สารประกอบไนโตรเจน 1 หน่วย พืชที่มีอัตราส่วนของคาร์บอนและไนโตรเจนต่ำจะสลายตัวเร็ว เช่น พืชตระกูลถั่ว และหญ้า อ่อน จะมีค่า 20 หรือ 30 ส่วนฟางข้าวมีค่า 50–80 (Kumari A., 2008)

การใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีค่า C/N ratio ต่ำ ไม่จำเป็นต้องเติมสารไนโตรเจน หรืออาจเติมในปริมาณที่น้อยกว่าเมื่อใช้เศษวัสดุที่มีค่า C/N ratio สูง นอกจากนี้ค่า C/N ratio ยังใช้ใน การพิจารณาว่าปุ๋ยหมักนั้นจะใช้ได้หรือไม่ โดยปกติถ้าปุ๋ยหมักมีค่า C/N ratio ประมาณ 26–35 ถือว่าสามารถนำปุ๋ยหมักดังกล่าวไปใช้ใส่ในดินโดยไม่ทำให้พืชเป็นอันตราย แต่ถ้าค่า C/N ratio ลดลงถึง 20 ถือว่าปุ๋ยหมักนั้นมีคุณภาพดี (วรรณลดา สุนันทพงศ์. 2544)

2.5.1.4 การระบายน้ำและอากาศในกองปุ๋ย ถ้าอากาศระบายออกไม่ได้ ความร้อนในกองปุ๋ยจะฆ่า จุลินทรีย์ ทำให้การหมักดำเนินไปได้ช้า และถ้ากองปุ๋ยระบายน้ำออกไม่ได้ ก็จะเกิดการเน่า มีแก๊สพิษ เกิดขึ้น และมีการสูญเสียธาตุไนโตรเจนไปเป็นแก๊ส

2.5.1.5 ความชื้นในกองปุ๋ย ต้องมีสม่ำเสมอไม่แห้งหรือแฉะเกินไปและหมั่นรดน้ำเพื่อไม่ให้กองปุ๋ยแห้ง ความชื้นในกองปุ๋ยหมักที่มากเกินไป จะทำให้เกิดสภาพไม่มีอากาศ จะต้องจัดการระบายน้ำส่วนเกินออกจากกองปุ๋ย โดยความชื้นที่เหมาะสม คือประมาณ 50-60% ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของวัสดุอินทรีย์ที่ใช้หมักด้วย

2.5.1.6 อุณหภูมิในกองปุ๋ย เป็นปัจจัยสำคัญในการย่อยสลาย อุณหภูมิสูงจะช่วยทำลายเชื้อโรคและเมล็ดวัชพืชอุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักควรจะอยู่ระหว่าง 52–58 องศาเซลเซียส การควบคุมอุณหภูมิอาจทำได้โดยมีรูระบายภายในกองปุ๋ย หรือโดยการพลิกกลับกองปุ๋ยหมักซึ่งนอกจากจะช่วยลดอุณหภูมิใน กองปุ๋ยแล้วยังช่วยกระจายความชื้น ระบายอากาศ และทำให้เกิดการสลายตัวได้ทั่วทุกส่วนอีก

2.5.1.7 ความเป็นกรดด่าง การเกิดกรดอินทรีย์ในระหว่างการหมัก รวมทั้งอุณหภูมิที่สูงขึ้น ทำให้ความเป็นกรดด่างเปลี่ยนแปลงและกลับสู่สมดุลเมื่อการย่อยสลายสมบูรณ์

2.5.1.8 จุลินทรีย์ในการทำปุ๋ยหมัก มีหลายชนิด มีบทบาทเกี่ยวข้องกัน แต่ละชนิดเหมาะกับสภาวะแต่ละช่วงเวลา

2.5.1.9 ขนาดของกองปุ๋ยหมัก ควรมีความกว้างไม่เกิน 2-3 เมตร สูง 1-1.50 เมตร เพราะถ้ามี ขนาดใหญ่เกินไป จะทำให้เกิดความร้อนเกิน 70 องศาเซลเซียส ซึ่งจะเป็นผลทำให้เชื้อจุลินทรีย์ตายได้ แต่ถ้ากองปุ๋ยหมักมีขนาดเล็กเกินไป จะทำให้เก็บรักษาความร้อนและความชื้นไว้ได้น้อย ทำให้เศษพืช สลายตัวเป็นปุ๋ยหมักได้ช้า

2.5.1.10 สารช่วยเร่งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ได้แก่ ปุ๋ยคอก กากน้ำตาล ดิน และปุ๋ยเคมีที่ใส่เพิ่มเติมในกองปุ๋ย

2.5.2 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับปุ๋ยหมัก

2.5.2.1 รา (fungi) เป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มีความสามารถในการใช้อาหารกว้างมาก เมื่อดู จากกล้องจุลทรรศน์จะเห็นลักษณะเป็นเส้นใยต่อกันและมีสปอร์กระจายอยู่ทั่วไป ในกองปุ๋ยหมักจะ ตรวจพบราเสมอ แต่ชนิดและปริมาณของราจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับวัสดุที่นำมาทำปุ๋ยหมัก ความชื้น และอุณหภูมิ การที่อุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นและมีความชื้นสูงเป็นสภาพที่เหมาะสมต่อแบคทีเรียมากกว่ารา ดังนั้นจึงมักตรวจพบราเจริญอยู่บริเวณผิวนอกของปุ๋ยหมัก ซึ่งมีอุณหภูมิต่ำและมีความชื้นน้อยกว่าใน กองปุ๋ยหมัก จากการศึกษากองปุ๋ยหมักในช่วงอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สามารถพบราได้ แต่เมื่อ อุณหภูมิสูงขึ้นถึง 65 องศาเซลเซียส จะไม่พบราเลย และเมื่ออยู่ในสภาพที่แห้งพบว่าอุณหภูมิสูงขนาด 62 – 63 องศาเซลเซียส ยังสามารถตรวจพบราได้ (พิทยากร ลิ่มทอง และคณะ. 2534)

ปัจจัยต่าง ๆ ของสภาพแวดล้อมจะเป็นตัวควบคุมและคัดเลือกราที่มีความสามารถใน การดำรงกิจกรรมในกองปุ๋ยหมัก จากการศึกษาชนิดของราในระยะต่าง ๆ ของการทำปุ๋ยหมัก พบว่าใน ระยะแรกซึ่งอุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักเพิ่มสูงขึ้นมักจะตรวจพบราพวก *Geotrichum cardidum* และ *Aspergillus fumigatus* และเมื่ออุณหภูมิสูงถึงระดับ 45 – 55 องศาเซลเซียส มักจะตรวจพบพวก *Cladosporium* sp., *Aspergillus* sp. และ *Mucor* sp. เมื่ออุณหภูมิสูงกว่านี้อาจจะพบพวก *Penicillium duponti* อย่างไรก็ตามชนิดของราจะแตกต่างกันไปขึ้นกับสภาพแวดล้อมและวัสดุที่ใช้

2.5.2.2 แอคติโนมัยซิส เป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโตโดยทั่วไปมี อัตราการเจริญช้ากว่าแบคทีเรีย และรา ลักษณะของแอคติโนมัยซิสเมื่อเจริญเป็นกลุ่มบนวัสดุที่ใช้ทำ ปุ๋ยหมักจะสังเกตเห็นเป็นจุดสีขาว ๆ คล้ายผงปูนขาว ซึ่งลักษณะเช่นนี้จะเห็นได้ในกองปุ๋ยหมักหลังจากอุณหภูมิขึ้นสูงจนถึงจุดสูงสุด (Hesham, M. A. 2007)

2.5.3 หลักเกณฑ์ในการพิจารณาการได้ที่ของปุ๋ยหมัก

ข้อกำหนดในการที่จะบ่งบอกว่าปุ๋ยหมักได้ที่แล้ว คือค่าอัตราส่วนสารประกอบของคาร์บอนต่อ ไนโตรเจนของวัสดุ ควรมีค่าเท่ากับหรือต่ำกว่า 20: 1 ซึ่งเมื่อนำปุ๋ยหมักใส่ลงในดินแล้วจะไม่ทำให้ เกิดผลเสียต่อพืช แต่ในการปฏิบัติในภาคสนามการพิจารณาว่าปุ๋ยหมักมีการย่อยสลายได้ที่แล้ว อาจพิจารณาได้จากลักษณะดังต่อไปนี้ (วรพจน์ รัมพณีนิล. 2529: 160-165)

2.5.3.1 สีของวัสดุเศษพืช หลังจากเป็นปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์ จะมีสีน้ำตาลเข้มจนถึงสีดำ โดยปกติ เมื่อใช้เศษพืชในการทำปุ๋ยหมักจะเห็นความแตกต่างของสีอย่างชัดเจน

2.5.3.2 ลักษณะของวัสดุเศษพืช ที่เป็นปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์ จะมีลักษณะอ่อนนุ่มยุ่ยและขาดออก จากกันได้ง่าย ไม่แข็งกระด้างเหมือนวัสดุเริ่มแรกในการหมัก

2.5.3.3 กลิ่นของปุ๋ยหมักที่ได้ที่สมบูรณ์แล้ว จะไม่เหม็น ในกรณีที่มีกลิ่นเหม็นหรือฉุน แสดงว่า กระบวนการย่อยสลายภายในกองปุ๋ยยังไม่สมบูรณ์

2.5.3.4 ความร้อนในกองปุ๋ยหมัก หลังจากกองปุ๋ยหมักประมาณ 2 – 3 วัน อุณหภูมิภายในกองปุ๋ย จะสูงประมาณ 50 – 60 องศาเซลเซียส อุณหภูมิจะสูงอยู่ในระดับนี้ระยะหนึ่งแล้วจึงค่อย ๆ ลดลง จนกระทั่งใกล้เคียงกับอุณหภูมิภายนอกกองปุ๋ยจึงถือว่าเป็นปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์

2.5.3.5 ลักษณะพืชที่เจริญบนกองปุ๋ยหมัก เมื่อกองปุ๋ยหมักเกือบใช้ได้แล้วบางครั้งอาจมีพืชเจริญ บนกองปุ๋ยหมักได้ แสดงว่าปุ๋ยหมักดังกล่าวนำไปใส่ในดินโดยไม่เป็นอันตรายต่อพืช

2.2.5.4 คุณภาพและมาตรฐานที่ดีของปุ๋ยหมัก

ปุ๋ยหมักที่มีคุณภาพดี ได้มาตรฐาน ควรพิจารณาดังนี้

1) มีเกรดปุ๋ยไม่ต่ำกว่า 1:1:0.5 (ไนโตรเจน : ฟอสฟอรัส : โพแทสเซียม)
2) มีความชื้นและสิ่งที่ระเหยได้ไม่มากกว่าร้อยละ 35 - 40 โดยน้ำหนัก
3) ความเป็นกรดเป็นด่าง (ค่า pH) อยู่ระหว่าง 6.0 - 7.5
4) ปุ๋ยหมักที่ใช้ได้แล้วจะต้องไม่มีความร้อนหลงเหลืออยู่
5) ปุ๋ยหมักที่ใช้ได้แล้วไม่ควรมีวัสดุเจือปนอื่น ๆ
6) จะต้องมีปริมาณอินทรีย์วัตถุอยู่ระหว่าง 25 - 50 %
7) จะต้องมีอัตราส่วนระหว่างธาตุคาร์บอนต่อไนโตรเจนไม่มากกว่า 20 ต่อ 1

2.5.5 ประโยชน์ของปุ๋ยหมัก

2.5.5.1 ปรับปรุงคุณสมบัติทางกายภาพของดิน การใส่ปุ๋ยหมักลงในดินจะทำให้โครงสร้างและเนื้อ ดินดีขึ้น ในดินละเอียดอัดตัวแน่น เช่น ดินเหนียว ปุ๋ยหมักจะช่วยทำให้ดินนั้นมีสภาพร่วนซุยมากขึ้น ไม่ อัดตัวกันแน่นทึบ มีการระบายน้ำและอากาศดีขึ้น ส่วนในดินเนื้อหยาบ เช่น ดินทราย การใส่ปุ๋ยหมัก จะช่วยให้ดินแน่นขึ้น (เสียงแจ่ว พิริยพฤนต์, 2534). สามารถอุ้มน้ำหรือดูดซับความชื้นไว้ให้พืชได้มากขึ้น เป็นการเพิ่มความอุดม สมบูรณ์ให้แก่ดิน นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มความจุความต้านทานในการเปลี่ยนแปลงระดับความเป็นกรด-ด่าง (buffer capacity) ของดิน (กรมวิชาการเกษตร. 2542)

2.5.5.2. เพิ่มธาตุอาหารให้แก่ดินโดยตรง ปุ๋ยหมักมีแร่ธาตุอาหารที่สำคัญสำหรับพืชครบถ้วน คือมี ไนโตรเจนทั้งหมด 0.4–2.5 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัสในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืช 0.2–2.5 เปอร์เซ็นต์ และ โพแทสเซียมในรูปที่ละลายน้ำได้ 0.5–1.8 เปอร์เซ็นต์ และยังมีธาตุอาหารชนิดอื่น ๆ อีก เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน เหล็ก สังกะสี แมงกานีส โบรอน ทองแดง โมลิบดินัม ฯลฯ จึงช่วยปรับปรุง คุณภาพดินให้ดีขึ้น (ปรัชญา ธัญญาดี; และคณะ. 2534) นอกจากนี้ปุ๋ยหมัก ยังช่วยทำให้

ธาตุอาหารพืชที่มีอยู่ในดินแปรสภาพมาอยู่ในรูปที่พืชนำไปใช้ประโยชน์ได้ง่ายขึ้น และเมื่อ ปุ๋ยหมักย่อยสลายอย่างช้าๆ ในดิน ก็จะปลดปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกมา ทำให้พืช สังเคราะห์แสงได้เพิ่มขึ้น และให้ผลผลิตสูงขึ้น (วรพจน์ รัมพณีนิล. 2529)

2.5.5.3 ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการใช้ปุ๋ยเคมีและสามารถลดการใช้ปุ๋ยเคมีลงได้

2.5.5.4 การใส่ปุ๋ยหมักลงดินช่วยเพิ่มอาหารให้แก่จุลินทรีย์ ทำให้แบคทีเรียที่มีประโยชน์ต่อความ อุดมสมบูรณ์ของดิน นอกจากนี้ยังมีจุลินทรีย์บางชนิดที่ผลิตสาร ปฏิชีวนะช่วยลดการระบาดและความรุนแรงของโรคพืชบางชนิดได้ (Hoitink; & Fahy. 1986) และจุลินทรีย์บางชนิดทำให้เกิดกรดอินทรีย์ เช่น กรดฟอร์มิก และอะซิติก เป็นต้น กรดอินทรีย์บางชนิด จะถูกพืชนำไปใช้ได้โดยตรง บางชนิดมีผลต่อการปลดปล่อยและการเปลี่ยนแปลงธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อพืช ทำให้แร่ธาตุอาหารพืชที่มีอยู่ในดินแปรสภาพมาอยู่ในรูปที่พืชสามารถดูดซึมไปใช้ได้ง่าย

2.5.5.5. การใส่ปุ๋ยหมักช่วยควบคุมปริมาณไส้เดือนฝอยในดิน เนื่องจากจุลินทรีย์ที่เป็นศัตรูขอไส้เดือนฝอยสามารถเจริญเติบโตได้ดี จึงขับสารอัลคาลอยด์และกรดไขมันบางชนิดที่เป็นพิษออกมา ทำลายไส้เดือนฝอยได้

2.5.6 ปัจจัยที่มีผลต่อปุ๋ยหมักหรือการระบายอากาศ

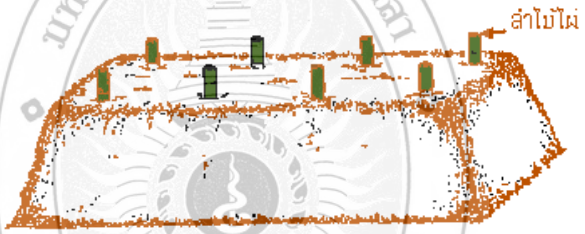
ในการตั้งกองปุ๋ยหมักต้องคำนึงถึงสภาพการระบายอากาศภายในกองปุ๋ย แม้ว่าในกองปุ๋ยจะมีแร่ธาตุอาหารอยู่อย่างครบถ้วน มีความชื้นมากพอ แต่ถ้าไม่มีอากาศให้จุลินทรีย์ใช้หายใจ ทำให้การย่อยสลายของกองปุ๋ยหมักเป็นการย่อยสลายแบบไม่มีอากาศ การสลายตัวของเศษพืชจะเกิดขึ้นแบบช้า ๆและมักทำให้เกิดกลิ่นเหม็น ความร้อนที่จะช่วยกำจัดสิ่งไม่พึงประสงค์ในกองปุ๋ยก็ไม่เกิดขึ้น ลักษณะเช่นนี้มักพบได้เสมอ ๆกับกองปุ๋ยที่แน่นทึบ หรือถูกรดน้ำจนเปียกแฉะ เศษพืชจะแปรสภาพไปเป็นปุ๋ยหมักได้จะใช้ระยะเวลานาน ดังนั้นถ้าต้องการให้เศษพืชสลายตัวได้รวดเร็ว ไม่มีกลิ่นเหม็นและเกิดความร้อนในกองปุ๋ยมากพอที่จะกำจัดเชื้อโรค เมล็ดวัชพืช ตัวอ่อนหรือไข่ของแมลงที่มีอยู่แล้ว จำเป็นต้องปฏิบัติดูแลให้กองปุ๋ยมีสภาพการระบายอากาศภายในกองที่ดีอยู่เสมอ โดยต้องคำนึงถึงสิ่ง ดังนี้

2.5.6.1 ขนาดของกองปุ๋ย ไม่ควรตั้งกองปุ๋ยให้สูงมากนัก ถ้ากองปุ๋ยสูงมากส่วนล่างของกองจะถูกน้ำหนักจากส่วนบนกดทับทำให้อัดตัวแน่น โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อกองปุ๋ยสลายตัวไประยะหนึ่งแล้ว เศษพืชถูกย่อยมีเนื้อละเอียดขึ้น กองปุ๋ยจะยุบตัวลง เนื้อปุ๋ยด้านล่างของกองก็ถูกกดจนแน่นทึบ ไม่สามารถระบายอากาศได้ ความสูงของกองปุ๋ยที่พอเหมาะไม่ควรเกิน 1.5- 1.8 เมตร สำหรับความกว้างของกองปุ๋ยก็อย่าให้กว้างเกินไป จะทำให้การระบายอากาศจากทางด้านข้างของกองไม่ดี การกลับกองก็ทำได้ไม่สะดวก ถ้าจะให้ดีควรกว้างไม่เกิน 2.4-3.0 เมตร ในทางตรงกันข้ามกองปุ๋ยก็ไม่ควรจะเตี้ยหรือแคบเกินไป เพราะจะทำให้ความร้อนที่เกิดขึ้นกระจายออกไปได้ง่าย กองปุ๋ยจะไม่ร้อนเท่าที่ควร อีกทั้งกองปุ๋ยก็แห้งได้ง่าย ถ้ากองปุ๋ยแห้ง การสลายตัวจะหยุดชะงักลง ขนาดของกองปุ๋ยไม่ควรเล็กไปกว่าขนาดประมาณ 1 ลูกบาศก์เมตร คือ กว้างยาวและสูงด้านละไม่ต่ำกว่า 1 เมตร

2.5.6.2 การรดน้ำกองปุ๋ย การรดน้ำขณะทำการตั้งกองปุ๋ยหมัก มีสิ่งที่ต้องการเอาใจใส่เป็นพิเศษอยู่ 2 ประการคือ ต้องรดน้ำจนเศษพืชมีความชื้นพอที่จุลินทรีย์จะเจริญเติบโตได้ และต้องไม่รดน้ำมากเกินไปจนกระทั่งการระบายอากาศของกองปุ๋ยไม่ดี ถ้าเศษพืชนั้นแห้งและมีขนาดใหญ่ เช่น ซังข้าวโพด ต้นข้าวโพด เศษวัชพืชแห้ง จะไม่ค่อยมีปัญหาเรื่องการระบายอากาศภายในกองปุ๋ย แต่อาจมีปัญหาเรื่องเศษพืชไม่ค่อยเปียกน้ำ ต้องรดน้ำจำนวนมาก เศษพืชจึงจะชื้นพอ หรือบางครั้งก็มีปัญหา

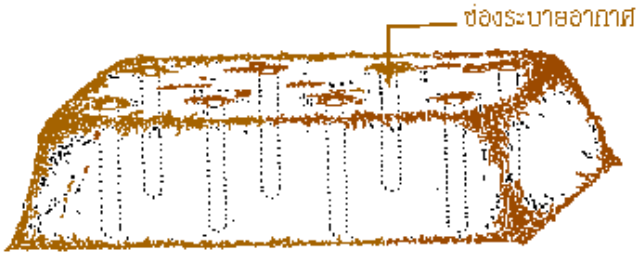
เรื่องกองปุ๋ยโปร่งเกินไป แต่ถ้าเศษพืชขนาดเล็ก ดูดซับน้ำได้ เช่น ชานอ้อย ขี้เลื่อย ขุยมะพร้าว กากตะกอนน้ำเสีย กากส่าเหล้า ฯลฯ การรดน้ำต้องทำด้วยความระมัดระวัง โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าเศษพืชเหล่านั้นมีความชื้นอยู่แล้ว ต้องรดน้ำพอแค่ให้วัสดุเหล่านั้นเปียกชื้นสม่ำเสมอ แต่อย่าให้เปียกจนแฉะ จะทำให้การระบายอากาศในกองไม่ดี นอกจากนี้แล้ว ขณะรดน้ำควรหลีกเลี่ยงการขึ้นไปเหยียบย่ำบนกองวัสดุ จะทำให้กองปุ๋ยแน่นทึบเกินไป เชื้อจุลินทรีย์จะเจริญได้ไม่ดีเท่าที่ควร ในกรณีของเศษพืชที่อวบและฉ่ำน้ำ เช่น ผักตบชวา หลังจากนำขึ้นจากน้ำ จะอมน้ำไว้มาก เปียกแฉะ มีน้ำหนักมาก ถ้านำมากองปุ๋ยทันทีจะอัดตัวกันแน่น ควรปล่อยทิ้งไว้ ให้เหี่ยวเฉาพอสมควร แล้วค่อยนำไปกอง จะช่วยให้กองปุ๋ยมีการระบายอากาศดีขึ้น

2.5.6.3 การทำช่องระบายอากาศ ถ้าวัสดุที่นำมาใช้กองมีขนาดค่อนข้างเล็ก ซึ่งเราเห็นว่าเมื่อกองไปแล้วกองปุ๋ยจะมีลักษณะค่อนข้างทึบ หรือเมื่อเราหมักเศษพืชไประยะหนึ่งแล้วเห็นว่าเศษพืชย่อยและอัดตัวกันแน่นมากขึ้น เกรงว่าการระบายอากาศภายในกองปุ๋ยไม่เพียงพอก็อาจช่วยเพิ่มระบบระบาย อากาศของกองปุ๋ยได้โดยวิธีง่าย ๆ กล่าวคือ เมื่อเราจะเริ่มตั้งกองปุ๋ยหรือจะตั้งกองปุ๋ยใหม่หลังจากการกลับกอง ก็หาไม้มาหลายๆ ลำ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง ของลำไม้ไผ่ประมาณ 3-4 นิ้ว มาปักตั้งไว้บนพื้นดินที่จะตั้งกองปุ๋ย โดยกะว่า เมื่อตั้งกองไปแล้ว ลำไม้ไผ่จะกระจายอยู่ทั่วๆ กอง แล้วจึงทำการตั้งกองปุ๋ย (ภาพที่ 2.3)



ภาพที่ 2.3 กองปุ๋ยหมักปักท่อไม้ไผ่เป็นช่องระบายอากาศ

เมื่อตั้งกองเสร็จเรียบร้อยดีแล้ว ก็ถอนลำไม้ไผ่ออก กองปุ๋ยของเราก็จะ มีช่องระบายอากาศตามที่ต้องการ (ภาพที่ 2.4) ก่อนถอนลำไม้ไผ่ควรโยกไม้ ไปรอบๆ จะทำให้ช่องระบายอากาศคงรูปได้ดีขึ้น ไม่ยุบตัว ควรทำช่องระบาย อากาศเช่นนี้ทุกครั้งที่มีการกลับกองปุ๋ย



ภาพที่ 2.4 กองปุ๋ยหมักมีช่องระบายอากาศเกิดจากการถอนท่อไม้ไผ่ออกไป

2.5.6.4 การกลับกองปุ๋ย หลังจากตั้งกองไประยะหนึ่งแล้ว ควรกลับกองปุ๋ย วิธีกลับก็โดยการคุ้ยกองปุ๋ยลงมาทั้งหมด เกลี่ยผสมคลุกเคล้ากัน แล้วนำวัสดุทั้งหมดกลับตั้งเป็นกองใหม่ใน

รูปทรงเดิม โดยพยายามกลับเอาเศษพืชที่เคยอยู่ด้านนอกของกองให้กลับเข้าไปอยู่ด้านในของกอง การกลับกองปุ๋ยจะทำให้สภาพของกองปุ๋ยโปร่งขึ้น การระบายอากาศดีขึ้น รวมทั้งเป็นการหมุนเวียนเอาวัสดุด้านนอกของกองที่ยังไม่สลายตัวให้เข้าไปรับความร้อนภายในกอง และช่วยกำจัดหนอนตัวอ่อนของแมลงวันที่อาจเกิดขึ้น บริเวณขอบนอกของกอง ขณะเดียวกันก็เป็นการผสมคลุกเคล้าวัสดุให้เข้ากัน มีความชื้นสม่ำเสมอทั้งกอง การกลับกองมีความสำคัญมากต่อการแปรสภาพของกองปุ๋ย ยิ่งสามารถกลับกองได้บ่อยครั้ง จะยิ่งช่วยให้เศษพืชแปรสภาพไปเป็นปุ๋ยหมักได้เร็วขึ้น เช่น การกลับกองทุกๆ 3-5 วัน หรือทุกอาทิตย์ จะทำให้เศษพืชย่อยสลายและแปรสภาพได้อย่างรวดเร็ว แต่การกลับกองเป็นขั้นตอนที่สิ้นเปลืองแรงงานอย่างมาก ดังนั้นถ้าไม่มีความจำเป็นต้องรีบใช้ปุ๋ยหมักในระยะเวลาอันสั้น เราก็สามารถลดจำนวนครั้งหรือความถี่ในการกลับกองปุ๋ยลงได้ตามเวลาหรือแรงงานที่มีอยู่ แต่อย่างน้อยที่สุดก็ควรจะได้มีการกลับกองสักประมาณ 3-4 ครั้ง คือกลับกองครั้งแรกเมื่อประมาณ 10 วันหลังจากเริ่มตั้งกองปุ๋ย ครั้งที่สองเมื่อประมาณ 15 วัน หลังจากกลับกองครั้งแรก หลังจากนั้นก็อาจกลับกองทุกๆ 20 วัน จนปุ๋ยสามารถนำไปใช้ได้

2.5.6.5 ความชื้นของกองปุ๋ย จุลินทรีย์ที่จะช่วยในการสลายวัสดุให้กลายเป็นปุ๋ยนั้น ต้องอาศัยน้ำ หรือความชื้นในการดำรงชีพ วัสดุที่นำมากองจึงต้องเปียกชื้นหรือต้องรดน้ำให้ การรดน้ำก็ต้องระมัดระวังพอสมควร โดยต้องรดน้ำให้อยู่ในระดับที่จุลินทรีย์ในกองปุ๋ยสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุด นั่นคือรดน้ำพอแค่ให้เศษพืช ในกอง "เปียกชื้น" ไม่เปียกจนแฉะ ส่วนใหญ่แล้วเศษพืชที่นำมาใช้มักจะแห้ง เกินไปเช่น เศษหญ้าแห้ง แกลบ ซังข้าวโพดแห้ง เมื่อนำมาตั้งกอง เศษพืชมัก ไม่ค่อยดูดซับน้ำ จึงอาจต้องรดน้ำให้มากเป็นพิเศษในวันแรก อีกสองสามวันต่อมาก็ต้องตรวจตราเลิกกองเศษพืชขึ้นดูว่าเศษพืชด้านในของกองเปียกน้ำหรือมีความชื้นพอเพียงหรือไม่ ถ้ายังชื้นไม่พอต้องรดน้ำเพิ่มเติมจนเปียกชื้นโดยทั่วถึงกัน จากนั้นก็เพียงคอยตรวจตราเป็นระยะๆ ดูแลให้กองปุ๋ยชื้นอยู่เสมอ ความชื้นที่พอดีของกองปุ๋ยอยู่ในช่วงประมาณ 40-60 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก ซึ่งเราอาจกะประมาณคร่าวๆ ได้โดยวิธีใช้มือล้วงไปหยิบเอาเศษพืช ในกองปุ๋ยออกมาแล้วกำบีบให้แน่น ถ้ามีน้ำไหลซึมออกมาตามซอกนิ้วไหลเป็นทาง แสดงว่ากองปุ๋ยแฉะเกินไป ไม่ควรรดน้ำ แต่ควรทำการกลับกองปุ๋ยให้บ่อยขึ้น หรือหาวัสดุที่แห้งดูดซับน้ำได้ดี เช่น ขี้เลื่อย เศษพืชแห้งผสมคลุกเคล้าลง ไป ถ้าบีบดูแล้วมีน้ำซึมออกมาตามซอกนิ้ว แต่ไม่ถึงกับไหลเป็นทางแสดงว่าความชื้นพอดีแล้ว แต่เมื่อบีบแล้วไม่มีน้ำซึมออกมาเลย แสดงว่าเศษพืชนั้น แห้งเกินไป ต้องรดน้ำเพิ่มเติม ความชื้นของปุ๋ยหมักจะมีผลต่อความหนาแน่นของเนื้อปุ๋ย (น้ำหนักต่อหน่วยปริมาตร) นอกจากนั้นยังมีผลต่อการจับต้องโดยผู้ใช้และการขนส่ง ปุ๋ยหมักที่แห้งเกินไป (ความชื้น 35% หรือน้อยกว่า)จะมีลักษณะเป็นฝุ่นระคายเคืองต่อการใช้งาน ส่วนที่มีความชื้นมากไปจะทำให้มีน้ำหนักมากเลอะเทอะทำให้การใช้งานยากการขนส่งต้องสิ้นเปลืองมากขึ้น

การตั้งกองปุ๋ยในที่โล่งแจ้งในฤดูฝน สิ่งที่ต้องระวังอีกอย่างหนึ่ง คือ สภาพของฝนที่ตกหนักติดต่อกันนาน ๆ อาจทำให้ภายในกองปุ๋ยเปียกแฉะได้ ดังนั้นถ้าเป็นช่วงที่มีฝนตกมากๆ เราอาจป้องกันไม่ให้กองปุ๋ยเปียกแฉะโดย การปรับแต่งด้านบนของกองให้มีลักษณะโค้งมนเป็นรูปครึ่งวงกลม การกองในลักษณะนี้ฝนที่ตกลงบนกองปุ๋ยส่วนใหญ่จะไหลออกไปทางด้านข้างๆของกอง ทำให้ด้านในของกองไม่เปียกแฉะ แต่ถ้าเราหมักกองปุ๋ยไประยะหนึ่งจนเศษพืชเปื่อยยุ่ยมากแล้ว กองปุ๋ยจะดูดซับน้ำฝนได้ง่ายจึงควรหาวัสดุมาคลุมด้านบนของกองไว้ ไม่ให้เปียกฝนจนแฉะ

2.5.7 การดูแลรักษากองปุ๋ยหมัก

หลังจากกองปุ๋ยหมักเสร็จแล้วจะต้องหมั่นตรวจดูแลกองปุ๋ยหมักอยู่เสมอโดยปฏิบัติดังนี้

2.5.7.1 จะต้องป้องกันไม่ให้สัตว์เข้าไปทำลาย หรือคุ้ยเขี่ยกองปุ๋ยหมัก ถ้ากองแบบในคอกก็ไม่มีปัญหาแต่ถ้ากองบนพื้นดินหรือในหลุมควรหาทางมะพร้าวหรือกิ่งไม้วางทับกองปุ๋ยหมักไว้กันสัตว์คุ้ยเขี่ย

2.5.7.2 ทำการให้น้ำกองปุ๋ยหมักให้มีความชื้นพอเหมาะอยู่เสมอ คือ ไม่ให้แห้งหรือแฉะเกินไปมีวิธีการตรวจอย่างง่าย ๆ คือ เอามือสอดเข้าไปในกองปุ๋ยหมักให้ลึก ๆ แล้วหยิบเอาชิ้นส่วนภายในกองปุ๋ยหมักมาบีบดู ถ้าปรากฏว่ามีน้ำติดฝ่ามือแสดงว่าความชื้นพอเหมาะไม่ต้องให้น้ำ ถ้าไม่มีน้ำติดฝ่ามือแสดงว่ากองปุ๋ยหมักแห้งเกินไปต้องให้น้ำในระยะนี้ ถ้าบีบดูมีน้ำทะลักออกมาตามง่ามนิ้วมือ แสดงว่าแฉะเกินไปไม่ต้องให้น้ำ

2.5.7.3 การกลับกองปุ๋ย นับเป็นหัวใจสำคัญในการทำปุ๋ยหมักจะละเลยมิได้ เพราะเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆก็ย่อมต้องการอากาศหายใจเหมือนมนุษย์ ดังนั้นการกลับกองปุ๋ยหมักนอกจากจะช่วยให้ออกซิเจนแก่จุลินทรีย์แล้ว ยังเป็นการระบายความร้อนออกจากกองปุ๋ยอีกด้วย ยิ่งขยันกลับกองปุ๋ยหมักมากเท่าไรก็จะทำให้ได้ปุ๋ยหมักใช้เร็วมากขึ้นเท่านั้น เพราะทำให้เศษพืชย่อยสลายทั่วทั้งกอง และได้ปุ๋ยหมักที่มีคุณภาพดีอีกด้วย ตามปกติควรกลับกองปุ๋ยหมักอย่างน้อยเดือนละ 1 ครั้ง

2.5.8 ปัจจัยที่มีผลต่อการสลายตัวของซากพืชในกองปุ๋ยหมัก

2.5.8.1 เศษวัสดุที่ใช้ในการกองปุ๋ยหมัก มีทั้งประเภทที่สลายตัวเร็ว เช่น ฟางข้าว ผักตบชวา เปลือกถั่วและต้นถั่ว เศษวัชพืชต่าง ๆ และประเภทที่สลายตัวยาก เช่น แกลบ ขี้เลื่อย ข้าวลีบ กากอ้อย ขุยมะพร้าว ซังข้าวโพด ดังนั้นในการกองปุ๋ยหมักไม่ควรเอาเศษวัสดุที่สลายตัวเร็วและสลายตัวยาก กองปนกัน เพราะจะทำให้ได้ปุ๋ยหมักที่ไม่สม่ำเสมอเนื่องจากเศษพืชบางส่วนยังสลายตัวไม่หมด

2.5.8.2 ความละเอียดของวัสดุหมัก วัสดุหมักละเอียดจะสลายตัวได้เร็ว ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม อาจใช้เวลาในการหมักเพียง 1 สัปดาห์ แต่ถ้าวัสดุหยาบ เช่น ฟางข้าวหรือหญ้าทั้งต้นอาจใช้เวลานาน 3-6 เดือน

2.5.8.3 อัตราส่วนของคาร์บอนและไนโตรเจน (C/N ratio) ตามปกติเซลล์จุลินทรีย์มีค่า C/N ratio ประมาณ 10-15 หมายความว่าเมื่อจุลินทรีย์ดูดสารอินทรีย์คาร์บอนเข้าไปใช้ในเซลล์ 10-15 หน่วย จะต้องใช้สารประกอบไนโตรเจน 1 หน่วย พืชที่มีอัตราส่วนของคาร์บอนและไนโตรเจนต่ำจะสลายตัวเร็ว เช่น พืชตระกูลถั่ว และหญ้า อ่อน จะมีค่า 20 หรือ 30 ส่วนฟางข้าวมีค่า 50–80 (Kumari, A. 2008)

การใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีค่า C/N ratio ต่ำ ไม่จำเป็นต้องเติมสารไนโตรเจน หรืออาจเติมในปริมาณที่น้อยกว่าเมื่อใช้เศษวัสดุที่มีค่า C/N ratio สูง นอกจากนี้ค่า C/N ratio ยังใช้ใน การพิจารณาว่าปุ๋ยหมักนั้นจะใช้ได้หรือไม่ โดยปกติถ้าปุ๋ยหมักมีค่า C/N ratio ประมาณ 26–35 ถือว่าสามารถนำปุ๋ยหมักดังกล่าวไปใช้ใส่ในดินโดยไม่ทำให้พืชเป็นอันตราย แต่ถ้าค่า C/N ratio ลดลงถึง 20 ถือว่าปุ๋ยหมักนั้นมีคุณภาพดี (วรรณลดา สุนันทพงศ์, 2544)

2.5.8.4 การระบายน้ำและอากาศในกองปุ๋ย ถ้าอากาศระบายออกไม่ได้ ความร้อนในกองปุ๋ยจะฆ่าจุลินทรีย์ ทำให้การหมักดำเนินไปได้ช้า และถ้ากองปุ๋ยระบายน้ำออกไม่ได้ ก็จะเกิดการเน่า มีแก๊สพิษ เกิดขึ้น และมีการสูญเสียธาตุไนโตรเจนไปเป็นแก๊ส

2.5.8.5 ความชื้นในกองปุ๋ย ต้องมีสม่ำเสมอไม่แห้งหรือแฉะเกินไป จะต้องจัดการระบายน้ำส่วนเกิน ออกจากกองปุ๋ย และหมั่นรดน้ำเพื่อไม่ให้กองปุ๋ยแห้ง

2.5.8.6 อุณหภูมิในกองปุ๋ย ควรจะอยู่ระหว่าง 52–58 องศาเซลเซียส การควบคุมอุณหภูมิอาจทำได้โดยมีรูระบายภายในกองปุ๋ย หรือโดยการพลิกกลับกองปุ๋ยหมักซึ่งนอกจากจะช่วยลดอุณหภูมิใน กองปุ๋ยแล้วยังช่วยกระจายความชื้น ระบายอากาศ และทำให้เกิดการสลายตัวได้ทั่วทุกส่วนอีกด้วย

2.5.8.7 ขนาดของกองปุ๋ยหมัก ควรมีความกว้างไม่เกิน 2-3 เมตร สูง 1-1.50 เมตร เพราะถ้ามี ขนาดใหญ่เกินไป จะทำให้เกิดความร้อนเกิน 70 องศาเซลเซียส ซึ่งจะเป็นผลทำให้เชื้อจุลินทรีย์ตายได้ แต่ถ้ากองปุ๋ยหมักมีขนาดเล็กเกินไป จะทำให้เก็บรักษาความร้อนและความชื้นไว้ได้น้อย ทำให้เศษพืช สลายตัวเป็นปุ๋ยหมักได้ช้า

2.5.8.9 สารช่วยเร่งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ได้แก่ ปุ๋ยคอก ปุ๋ยเคมีที่ใส่เพิ่มเติมในกองปุ๋ย

2.5.9 หลักเกณฑ์ในการพิจารณาการได้ที่ของปุ๋ยหมัก

ข้อกำหนดในการที่จะบ่งบอกว่าปุ๋ยหมักได้ที่แล้ว คือค่าอัตราส่วนสารประกอบของคาร์บอนต่อ ไนโตรเจนของวัสดุ ควรมีค่าเท่ากับหรือต่ำกว่า 20: 1 ซึ่งเมื่อนำปุ๋ยหมักใส่ลงในดินแล้วจะไม่ทำให้ เกิดผลเสียต่อพืช แต่ในการปฏิบัติในภาคสนามการพิจารณาว่าปุ๋ยหมักมีการย่อยสลายได้ที่แล้ว อาจพิจารณาได้จากลักษณะดังต่อไปนี้ (วรพจน์ รัมพณีนิล, 2529)

2.5.9.1 สีของวัสดุเศษพืช หลังจากเป็นปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์ จะมีสีน้ำตาลเข้มจนถึงสีดำ โดยปกติ เมื่อใช้เศษพืชในการทำปุ๋ยหมักจะเห็นความแตกต่างของสีอย่างชัดเจน

2.5.9.2 ลักษณะของวัสดุเศษพืช ที่เป็นปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์ จะมีลักษณะอ่อนนุ่มยุ่ยและขาดออก จากกันได้ง่าย ไม่แข็งกระด้างเหมือนวัสดุเริ่มแรกในการหมัก

2.5.9.3 กลิ่นของปุ๋ยหมักที่ได้ที่สมบูรณ์แล้ว จะไม่เหม็น ในกรณีที่มีกลิ่นเหม็นหรือฉุน แสดงว่า กระบวนการย่อยสลายภายในกองปุ๋ยยังไม่สมบูรณ์

2.5.9.4 ความร้อนในกองปุ๋ยหมัก หลังจากกองปุ๋ยหมักประมาณ 2 – 3 วัน อุณหภูมิภายในกองปุ๋ย จะสูงประมาณ 50–60 องศาเซลเซียส อุณหภูมิจะสูงอยู่ในระดับนี้ระยะหนึ่งแล้วจึงค่อย ๆ ลดลง จนกระทั่งใกล้เคียงกับอุณหภูมิภายนอกกองปุ๋ยจึงถือว่าเป็นปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์

2.5.9.5 ลักษณะพืชที่เจริญบนกองปุ๋ยหมัก เมื่อกองปุ๋ยหมักเกือบใช้ได้แล้วบางครั้งอาจมีพืชเจริญ บนกองปุ๋ยหมักได้ แสดงว่าปุ๋ยหมักดังกล่าวนำไปใส่ในดินโดยไม่เป็นอันตรายต่อพืช

2.6 การทำเกษตรอินทรีย์

หลักการทำเกษตรอินทรีย์คือ ระบบการผลิตที่คำนึงถึงสภาพแวดล้อมรักษาสมดุลของธรรมชาติและความหลากหลายของทางชีวภาพโดยมีระบบการจัดการนิเวศวิทยาที่คล้ายคลึงกับธรรมชาติและหลีกเลี่ยงการใช้สารสังเคราะห์ไม่ว่าจะเป็นปุ๋ยเคมี สารเคมีกำจัดศัตรูพืชและฮอร์โมนต่าง ๆ ตลอดจนไม่ใช้พืชหรือสัตว์ที่เกิดจากการตัดต่อทางพันธุกรรมที่อาจเกิดมลพิษในสภาพแวดล้อม เน้นการใช้อินทรียวัตถุ เช่น ปุ๋ยคอก ปุ๋ยหมัก ปุ๋ยพืชสด และ ปุ๋ยชีวภาพในการปรับปรุงบำรุงให้มีความอุดมสมบูรณ์ เพื่อให้ต้นพืชมีความแข็งแรงสามารถต้านทานโรคและแมลงด้วยตนเอง รวมถึงการนำเอาภูมิปัญญาชาวบ้านมาใช้ประโยชน์ด้วย ผลผลิตที่ได้จะปลอดภัยจากสารพิษตกค้างทำให้ปลอดภัยทั้งผู้ผลิตและผู้บริโภคและไม่ทำให้สภาพแวดล้อมเสื่อมโทรมอีกด้วย ปุ๋ยอินทรีย์จึงเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดในการทำเกษตรอินทรีย์อย่างยั่งยืน เพราะว่าปุ๋ยอินทรีย์มีคุณสมบัติในการปรับปรุงบำรุงดินทั้งในด้านกายภาพ เคมีและชีวภาพ รวมทั้ง

มีธาตุอาหารพืชครบทุกธาตุ การใช้ปุ๋ยอินทรีย์อย่างต่อเนื่องจะสามารถทำให้ดินที่ทำเกษตรกรรมมีความอุดมสมบูรณ์ยิ่งขึ้นเรื่อย ๆ การพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ให้มีประสิทธิภาพสูง สามารถผลิตปุ๋ยอินทรีย์ที่มีคุณภาพ มีมาตรฐาน มีธาตุอาหารพืชสูงในระยะเวลาอันสั้น จึงมีบทบาทสำคัญอย่างยิ่งในการทำเกษตรกรรมเพราะจะสามารถใช้ปุ๋ยอินทรีย์ทดแทนปุ๋ยเคมีที่มีราคาสูงได้อย่างเพียงพอ อันจะมีผลทำให้ต้นทุนในการผลิตลดลง แต่ได้ผลผลิตเพิ่มขึ้น อีกทั้งยังได้ผลผลิตที่ปลอดภัยจากสารพิษตกค้าง ทำให้ปลอดภัยทั้งผู้ผลิตและผู้บริโภค จึงจะเป็นการพัฒนาการเกษตรอินทรีย์ที่ยั่งยืนได้อย่างแท้จริง

ปุ๋ยอินทรีย์-ปุ๋ยหมัก (Organic fertilizer) ปุ๋ยอินทรีย์ หมายความว่า ปุ๋ยที่ได้หรือทำมาจากวัสดุอินทรีย์ ซึ่งผลิตด้วยกรรมวิธีทำให้ชื้น สับ หมัก บด ร่อน สกัด หรือด้วยวิธีการอื่น และวัสดุอินทรีย์ถูกย่อยสลายอย่างสมบูรณ์ด้วยจุลินทรีย์ ความสำคัญของปุ๋ยอินทรีย์

1) ช่วยทำให้ดินได้รับธาตุอาหารครบทุกธาตุตามที่พืชต้องการ
2) ช่วยทำให้ดินมีโครงสร้างดี มีลักษณะร่วนซุย มีการระบายน้ำและอากาศดี
3) ช่วยทำให้ดินมีความสามารถดูดซับน้ำและธาตุอาหารสูงขึ้น
4) ช่วยลดการชะล้างพังทลายของผิวหน้าดิน
5) ช่วยให้จุลินทรีย์ในดินทำงานได้ดีและมีปริมาณมากขึ้น
6) ช่วยรักษาสภาพความเป็นกรดเป็นด่างของดิน
7) ช่วยลดปริมาณความเค็มของดิน

2.6.1 ประโยชน์ของปุ๋ยหมักปุ๋ยอินทรีย์ในการปรับปรุงบำรุงดิน

2.6.1.1 ปุ๋ยอินทรีย์โดยทั่วไปจะมีธาตุไนโตรเจน(N) ฟอสฟอรัส (P) และโพแทสเซียม (K) ไม่เพียงพอต่อความต้องการของพืช แต่จะมีธาตุรองและจุลธาตุพอเพียงหรือเกือบพอดีตามความต้องการของพืช

2.6.1.2 ในระยะแรก ๆ ปุ๋ยอินทรีย์อาจทำให้พืชมีผลผลิตไม่สูงมากนัก แต่ถ้าพิจารณาในระยะยาวแล้วผลผลิตของพืชจะสูงขึ้นมาก เนื่องจากคุณสมบัติของดินดีขึ้นเรื่อยๆ

2.6.1.3 ปุ๋ยอินทรีย์จะช่วยให้ความเป็นกรดเป็นด่างของดินเปลี่ยนแปลงได้ยากขึ้น รวมทั้งช่วยดูดยึดธาตุอาหารต่างๆ เอาไว้ไม่ให้สูญหายไปจากดินได้โดยง่าย

2.6.1.4 ส่งเสริมให้อนุภาคของดินจับตัวกันเป็นก้อนหรือเป็นเม็ดดิน ดินไม่อัดตัวกันแน่น มีการถ่ายเทอากาศดี การอุ้มน้ำและการไหลซึมของน้ำในดินดีขึ้น

2.6.1.5 ส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในดิน จุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่มีประโยชน์ในดินเป็นพวกเฮทเทอโรโทรพ ซึ่งต้องใช้สารอินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อความอุดมสมบูรณ์ของดินด้วย

2.6.1.6 สามารถหาปุ๋ยอินทรีย์ได้ตามท้องถิ่นหรือตามฟาร์มทั่วไป บางกรณีอาจไม่ต้องซื้อ หรือซื้อในราคาถูก

2.6.1.7หากพิจารณาถึงคุณค่าของปุ๋ยอินทรีย์ในการปรับปรุงดินนอกเหนือไปจากปริมาณธาตุอาหารหลักที่มีอยู่
ในปุ๋ยอินทรีย์แล้ว เช่น การอุ้มน้ำ การถ่ายเทอากาศ การรักษาคุณสมบัติของดินในระยะยาว ปุ๋ยอินทรีย์จะมีราคาถูกกว่าปุ๋ยเคมีเสียอีก

2.6.1.8 วิธีการใส่ปุ๋ยอินทรีย์ไม่ยุ่งยาก

2.6.1.9 ธาตุอาหารในปุ๋ยอินทรีย์จะมีโอกาสสูญเสียน้อยกว่า เพราะธาตุอาหารบางส่วนเป็นองค์ประกอบของสารอินทรีย์ในปุ๋ย และบางส่วนจะถูกดูดยึดอยู่ในปุ๋ยอินทรีย์ในรูปของคีเลต

2.6.2 อิทธิพลของอินทรียวัตถุต่อความอุดมสมบูรณ์ของดิน

2.6.2.1 ด้านกายภาพของดิน โดยช่วยเพิ่มการเกาะตัวของอนุภาคดินให้เป็นเม็ดดินเพิ่มเสถียรของโครงสร้างดิน ก่อให้เกิดสมดุลระหว่างช่อขนาดเล็ก กลาง และใหญ่ รากพืชชอนไชได้ง่าย ดินทนต่อการชะล้าง พังทลาย เพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำ การแทรกซึมน้ำ การซาบซึมน้ำ และการระบายอากาศของดินดี

2.6.2.2 ด้านเคมีของดิน

1) เป็นแหล่งธาตุอาหาร มีธาตุอาหารสมดุล ปลดปล่อยให้พืชอย่างช้าๆ และธาตุอาหารถูกชะล้างจากดินได้น้อยลง ทำปฏิกิริยาคีเนกับไอออนของจุลธาตุในดิน เพิ่มความจุในการแลกเปลี่ยนไอออนบวกของดิน (CEC)

2) ลดการตรึงฟอสฟอรัส ด้านเคมีของดิน

- พืชได้รับธาตุอาหารหลายธาตุ เมื่อใช้ปุ๋ยเคมี พืชก็ตอบสนองต่อการใช้ปุ๋ยดี ให้ธาตุไนโตรเจน แต่ไม่มีผลตกค้างเป็นกรด เช่น ปุ๋ยแอมโมเนียมหรือยูเรีย พืชดูดให้จุลธาตุจากดินได้ดีขึ้น

-ดินดูดซับธาตุอาหารพวกแคตไอออนไว้เป็นประโยชน์ต่อพืชได้มากขึ้น พืชใช้ประโยชน์จากปุ๋ยฟอสเฟตได้มากขึ้น

2.6.2.3 ด้านชีวภาพของดิน

1) สภาพของดินเหมาะแก่การเจริญของจุลินทรีย์ดิน มีประชากรและกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์มากขึ้น เพิ่มปริมาณและกิจกรรมของสัตว์ในดิน ด้านชีวภาพ

2) พืชได้รับประโยชน์จากวงจรธาตุอาหารที่เหมาะสมในดิน การเคลื่อนย้ายและการสลายของซากพืชใหม่ ๆ เกิดได้เร็ว

2.7 การทำปุ๋ยหมัก

การทำปุ๋ยหมักสามารถทำได้จากเศษวัสดุเหลือใช้จากการเกษตรหลายชนิด และมีหลายวิธี โดยมีขั้นตอนและอัตราส่วนของส่วนประกอบแตกต่างกัน ดังต่อไปนี้

2.7.1 การทำปุ๋ยหมักฟางข้าว

ส่วนน้ำเสียอุตสาหกรรม สำนักจัดการคุณภาพน้ำกรมควบคุมมลพิษ โครงการเสริมสร้างศักยภาพการจัดการมลพิษจากแหล่งกำเนิดประเภทอุตสาหกรรมและอุตสาหกรรมชุมชนในพื้นที่ลุ่มน้ำทะเลสาบสงขลา ดำเนินการศึกษาโดยสถาบันสิ่งแวดล้อมไทย ได้ทำปุ๋ยหมักจากฟางข้าว เนื่องจากทุกปีหลังจากฤดูกาลเก็บเกี่ยวข้าวแล้ว จะมีเศษฟางในท้องนาเป็นจำนวนมาก เกษตรกรสามารถนำกลับมาใช้ประโยชน์ได้ เช่น การทำปุ๋ยหมัก ซึ่งเกษตรกรสามารถจะทำเองได้และเสียค่าใช้จ่ายน้อยที่สุด วิธีทำมีดังนี้ นำฟางข้าวมากองหรือวางเรียงให้ได้ขนาดกว้าง 2 เมตร ยาว 4 เมตร สูงประมาณ 25 เซนติเมตร ขึ้นย่ำพร้อมรดน้ำให้ชุ่ม จากนั้นให้นำมูลสัตว์ 40 กิโลกรัม และปุ๋ยยูเรีย 0.5 กิโลกรัม โรยให้ทั่วกอง ต่อมาทำชั้นที่ 2 ชั้นที่ 3 และชั้นที่ 4 เหมือนชั้นแรก ชั้นบนสุดให้เอาหน้าดินทับให้ทั่วกอง เพื่อกันความชื้นระเหยและเป็นการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ในกองปุ๋ยหมัก จากนั้นให้นำทางมะพร้าวมาคลุมไว้ กันสัตว์มาคุ้ยเขี่ย เมื่อกองได้ครบ

7 วัน ให้กลับกองปุ๋ยหมักและอีก 7 วันต่อมา กลับอีกครั้ง หลังจากนั้นให้กลับทุก ๆ 14 วัน ให้น้ำเมื่อเห็นว่ากองปุ๋ยแห้งเกินไป จะใช้เวลาประมาณ 3 เดือนครึ่ง ฟางข้าวก็จะสลายตัวเป็นปุ๋ยหมัก นำไปใช้ประโยชน์ แต่ทั้งนี้ จะต้องให้น้ำและกลับกองปุ๋ยหมักอย่างสม่ำเสมอ โดยการทำปุ๋ยหมักจากฟางข้าวตามขนาดของกองที่กล่าวมา คือ กว้าง 2 เมตร ยาว 4 เมตร และสูงประมาณ 1 เมตร จะผลิตปุ๋ยหมักได้ประมาณ 1,250 กิโลกรัม

2.7.2 การผลิตปุ๋ยหมัก โดยใช้สารเร่ง พด.-1 และวิธีการต่อเชื้อ

โครงการปรับปรุงดินด้วยอินทรีย์วัตถุ ได้ดำเนินการผลิตสารเร่งสำหรับทำปุ๋ยหมัก เพื่อใช้ย่อยเศษพืชให้เป็นปุ๋ยหมักได้รวดเร็ว ยิ่งขึ้น และให้ได้ปุ๋ยหมักที่มีคุณภาพดีและ ปลอดภัย ผลิตภัณฑ์สารเร่งที่ทางกรมพัฒนาที่ดินผลิตนี้ คือ พด.-1 สารเร่งชนิดนี้ประกอบ ด้วย เชื้อจุลินทรีย์รวมกันหลายสายพันธุ์ อยู่ในสภาพแห้งซึ่งสะดวกแก่การนำไปใช้และ การเก็บรักษา มีคุณสมบัติ โดยสังเขปดัง ต่อไปนี้ สารเร่งพด.-1 ประกอบด้วยเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ที่มีประโยชน์ เป็น เชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ที่มีประโยชน์เป็นเชื้อจุลินทรีย์ ประเภทรา แบคทีเรียและ แอคติโมมัยซีส ซึ่งสามารถย่อยสลายเศษพืชให้เป็นปุ๋ยหมักใช้ได้อย่าง รวดเร็ว เมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม ช่วยประหยัดเวลาในการทำ ปุ๋ยหมัก และสามารถนำปุ๋ยหมักไปให้ทันกับความต้องการ และได้ปุ๋ยหมัก ที่มีคุณภาพดี ทั้งนี้เพราะเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดที่ผสมอยู่ในผลิตภัณฑ์เป็นพวก ที่ทำการย่อยเศษพืชได้ดีในสภาพที่กองปุ๋ยมีความร้อนสูง สภาพดังกล่าว จะช่วยทำลายเมล็ดวัชพืชหรือเชื้อโรคที่ปะปนอยู่ได้ กรมพัฒนาที่ดินได้นำสาร เร่งนี้มาทดลองเพื่อย่อยเศษพืช ปรากฏว่าสามารถย่อยฟางข้าวใหม่ให้เป็น ปุ๋ยหมักใช้ได้ภายในเวลาไม่เกิน 30-45 วัน และกากอ้อยซึ่งสลายตัวยาก เป็นปุ๋ยหมักใช้ได้ไม่เกิน 60 วัน และได้ปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์และมีคุณภาพดี

2.7.2.1 ส่วนผสมในการกองปุ๋ยหมัก ประกอบด้วย เศษพืชแห้งหรือวัสดุอื่น 1,000 กิโลกรัม มูลสัตว์ 200 กิโลกรัม ยูเรีย 2 กิโลกรัม และสารเร่ง พด.1 จำนวน 1 ถุง

2.7.2.2 วิธีการกองปุ๋ยหมัก โดยการนำวัสดุที่จะใช้กองปุ๋ยหมักแบ่งเป็น 4 ส่วน (ในกรณีที่กอง 4 ชั้น) โดยเมื่อกองปุ๋ยหมักเสร็จ ควรมีขนาดของกองกว้าง 2-3 เมตร สูงประมาณ 1.0-1.5 เมตร โดยมีขั้นตอน ดังนี้

1) นำวัสดุที่จะใช้ทำปุ๋ยหมัก ส่วนแรกมากองเป็นชั้น ให้มีความกว้าง 2-3 เมตร สูงประมาณ 30-40 ซม. โดยย่ำให้แน่น และรดน้ำให้ชุ่ม

2) นำมูลสัตว์โรยบนชั้นของวัสดุให้ทั่ว สำหรับการกองปุ๋ยหมัก 4 ชั้นนี้ จะใช้มูลสัตว์ชั้นละประมาณ 50 กก. รดน้ำให้ชุ่ม

3) นำปุ๋ยยูเรียโรยลงบนชั้นของมูลสัตว์ สำหรับการกองปุ๋ยหมัก 4 ชั้น จะโรยยูเรียชั้นละประมาณ 0.5 กก. รดน้ำอีกเล็กน้อย

4) นำสารเร่ง พด.-1 จำนวน 1 ถุง มาละลายน้ำ 20 สิตร แล้วคนให้สารเร่งละลายให้ทั่วกัน ประมาณ 15 นาที แล้วแบ่งไว้ 5 ลิตร นำไปรดให้ทั่วชั้นที่ 2, 3 และ 4 ต่อไป

5) นำวัสดุกองทับลงบนชั้นแรกของกองปุ๋ยหมัก แล้วปฏิบัติแบบเดียวกับการกองปุ๋ยหมักชั้นแรก ดำเนินการจนกระทั่งครบ 4 ชั้น โดยชั้นบนสุด ควรโรยทับด้วยมูลสัตว์ หรือดินที่อุดมสมบูรณ์ให้ทั่วผิวหน้าของกองปุ๋ยหมัก

สำหรับการใช้ฟางข้าวทำปุ๋ยหมัก จะใช้เวลาประมาณ 30-45 วัน และสามารถนำปุ๋ยที่ได้ไปต่อเชื้อสำหรับกองปุ๋ยหมักกองใหม่ได้เป็นอย่างดี หรือนำไปใช้เป็นวัสดุปรับปรุงบำรุงดินตามความต้องการต่อไป

2.7.3 การทำปุ๋ยหมัก-โดยวิธีการต่อเชื้อ

การทำปุ๋ยหมัก-โดยวิธีการต่อเชื้อ หมายถึง การทำปุ๋ยหมักโดยใช้ ปุ๋ยหมักที่หมักเสร็จแล้วมาเป็นหัวเชื้อของเชื้อจุลินทรีย์ สำหรับการทำกองปุ๋ยหมักครั้งต่อไป ทั้งนี้เพราะจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายในกองปุ๋ยหมักกองเดิมยังคงมีชีวิตอยู่และยังมีความสามารถที่จะย่อยสลายเศษวัสดุต่าง ๆ ที่ใช้ในการทำปุ๋ยหมักในคราวถัดไปได้อีก การทำปุ๋ยหมักโดยวิธีการต่อเชื้อ จะช่วยประหยัดค่าใช้จ่าย และลดต้นทุนในการผลิตปุ๋ยหมัก แต่เกษตรกรจะต้องมีการดูแลและเก็บรักษาปุ๋ยหมักที่จะนำไปต่อเชื้อนี้ ให้อยู่ในสภาพที่ดี คือจะต้องไม่ทิ้งตากแดดตากลม และควรให้มีความชื้น อยู่ในระดับที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในกองปุ๋ยหมักด้วย

2.7.4 การทำปุ๋ยหมักแห้ง (กลุ่มช่วยเหลือเกษตรกรและโครงการพิเศษ สำนักงานเกษตรและสหกรณ์จังหวัดปทุมธานี, 2553)

2.7.4.1 ส่วนผสม สำหรับผลิตได้ 1 ตัน

1) แกลบขาว 400 กิโลกรัม
2) แกลบดำ 300 กิโลกรัม
3) มูลสัตว์ 200 กิโลกรัม
4) รา ละเอียด 30 กิโลกรัม
5) โดโลไมท์ 30 กิโลกรัม
6) เค้กอ้อย 60 กิโลกรัม
7) ยูเรีย 2 กิโลกรัม
8) สาร พ.ด.1 1 ซอง
9) สาร พ.ด.3 10 ซอง
10) กากน้ำตาล 10 ลิตร
11) น้ำ 150 ลิตร
12) เค้กอ้อย 60 กิโลกรัม

2.7.4.2 วิธีทำ

1) นำส่วนผสม แกลบขาว แกลบดำ มูลสัตว์ รา ละเอียด โดโลม์ ยูเรีย และเค้กอ้อย รวมกัน

2) ผสมสาร พ.ด.1 และสาร พ.ด.3 กากน้าตาล และน้ำ ลงในถังประมาณ 200 ลิตร

3) นำน้ำที่ผสมเตรียมไว้ตามข้อ 2 ราดลงบนส่วนผสมของวัสดุในข้อ 1 ที่เตรียมไว้

4) ทิ้งไว้ประมาณ 1 เดือน โดยกลับหน้าทุก 1 สัปดาห์

2.7.4 การผลิตปุ๋ยหมักด้วยระบบเติมอากาศ (กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร, 2558)

2.7.4.1 ชั่งส่วนผสมตามสูตร อาจจะหมักมูลไก่ แกลบอย่างเดียว หรือผสมมูลไก่ 150 กิโลกรัม มูลสัตว์เคี้ยวเอื้อง 150 กิโลกรัม และ ฟางข้าว ทะลายปาล์มบด หรือเศษพืช 50 กิโลกรัม (สัดส่วน 3:3:1) เติมน้ำประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก หรือเติมน้ำให้เปียกชุ่มจนสามารถปั้นเป็นก้อนได้ และเมื่อใช้หัวแม่มือกดก็แตกโดยง่าย แล้วจึงนำไปใส่ในซองหมักจนเต็มเสมอขอบซองหมัก โดยไม่ต้องย่ำกองให้แน่น เพื่อให้วัสดุอินทรีย์มีช่องว่างที่เหมาะสมให้อากาศกระจายในกองปุ๋ยหมักได้อย่างทั่วถึง

2.7.4.2 เปิด-ปิดระบบเติมอากาศด้วยนาฬิกาอัตโนมัติ วันละ 6 ครั้ง โดยเปิดครั้งละ 1 ชั่วโมง รวมทั้งสิ้นเปิดวันละ 6 ชั่วโมง และปิดครั้งละ 3 ชั่วโมง รวมทั้งสิ้นเปิดวันละ 18 ชั่วโมง ประมาณ 30 วัน (ค่าไฟฟ้าประมาณ 300 บาทต่อเดือน) เติมน้ำทุก 7 วัน โดยการพ่นน้ำด้านบนกองปุ๋ยให้ชุมหรืออาจจะติดหัวสปริงเกอร์พ่นน้ำเพื่อควบคุมความชื้น

2.7.4.3 เมื่อครบ 30 วัน นำปุ๋ยย้ายออกจากซองหมักระบบเติมอากาศ มากระจายเป็นกองเล็ก ๆ กว้าง 1.5 เมตร สูง 50 เซนติเมตร ยาวขึ้นอยู่กับขนาดของพื้นที่ เพื่อรอให้ปุ๋ยสุกหรือย่อยสลายสมบูรณ์อีกประมาณ 30-45 วัน ก่อนจะตรวจสอบการย่อยสลายที่สมบูรณ์และนำไปใช้ในการปลูกพืชต่อไป

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

พิรุฬห์พร ศรีมงคล (2552) ได้คัดเลือกจุลินทรีย์ในการผลิตเซลลูเลสและไซลาเนสจากตัวอย่างดินในจังหวัดกาญจนบุรี จำนวน 20 ตัวอย่าง พบว่า มีจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีแอลฟาเซลลูโลสเป็นแหล่งคาร์บอน รวมทั้งสิ้น 198 ไอโซเลท เมื่อทดสอบประสิทธิภาพการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสโดยวิธี congo red test บนอาหาร CMC agar และวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสในอาหารเหลว พบว่าเชื้อรา ไอโซเลท FA68 และ FA50 มีค่ากิจกรรมเอนไซม์สูงสุดเท่ากับ 0.17 และ 0.13 ยูนิตต่อมิลลิลิตร แอคติโนมัยซีท AA15 และ แบคทีเรียไอโซเลท BA118 มีกิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ 0.15 และ 0.06 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อนำจุลินทรีย์ทั้ง 4 ไอโซเลทมาทดสอบประสิทธิภาพการย่อยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร 5 ตัวอย่าง ได้แก่ กากกาแฟ ซังข้าวโพด เศษใบไม้ กากปาล์ม และฟางข้าว พบว่าจุลินทรีย์สามารถเจริญและผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซลาเนสได้ดี โดยเฉพาะ ไอโซเลท FA68 และจากการจัดจำแนกจุลินทรีย์ในระดับสกุลโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและทดสอบสมบัติทางชีวเคมีบางประการ พบว่า ไอโซเลท FA50 และ FA68 คือเชื้อราในสกุล *Aspergillus* แบคทีเรีย BA118 อยู่ในสกุล *Bacillus* และ แอคติโนมัยซีส AA15 อยู่ในสกุล *Streptomyces*

บุญส่ง แก้วจรัส (2553) ได้ศึกษาประสิทธิภาพการทำปุ๋ยหมักฟางข้าวแบบ Windrow system โดยการเติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ จุลินทรีย์อีเอ็ม (อีเอ็มคิวเซ) สารเร่งเอฟ -60 (บริษัทปุ๋ยไบโอนิค) และหัวเชื้อ พ.ด.1 (กรมพัฒนาที่ดิน) และได้มีการปรับสัดส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในวัสดุหมัก ผลการศึกษาพบว่า ฟางข้าวสามารถนำมาทำปุ๋ยหมักได้ในเวลา 51 วัน โดยไม่จำเป็นต้องเติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ และหากมีการปรับ C/N ratio ในวัสดุหมักเท่ากับ 25 : 1 โดยใช้มูลวัวและรำข้าว ปุ๋ยหมักที่ได้จะมีปริมาณธาตุอาหารหลัก (N, P, K) และอินทรีย์วัตถุ ได้ตามมาตรฐานของกรมพัฒนาที่ดิน

จามจุรี เกตุบัวขาว และคณะ (2555) ได้คัดแยกคัด แอคติโนมัยซีทจากมูลสัตว์เพื่อใช้ในการย่อยสลายวัสดุทางการเกษตร พบว่า สามารถคัดแยกแอคติโนมัยซีทที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการย่อยสลายเซลลูโลสใน เท่ากับ 6.2 เมื่อบ่มที่อุณหภูมิห้องนานเป็นเวลา 7 วัน และเมื่อเพาะเลี้ยงใน 0.5% carboxymethyl cellulose broth พบว่ามีกิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสสูงสุด เท่ากับ 0.217 ยูนิตต่อมิลลิลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงนาน 1 วัน

เสาวภา สุราวุธ และคณะ (2555) การคัดแยกเชื้อราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส จาก ดินในพื้นที่ป่าโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณีจังหวัดจันทบุรี จำนวน 74 ตัวอย่าง และนำมาทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสบนอาหารแข็ง Carboxyl methyl cellulose (CMC) agar และทดสอบการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสในอาหารเหลว CMC broth พบว่า สามารถแยกเชื้อราได้ 298 ไอโซเลท และมีเชื้อรา จำนวน 144 ไอโซเลทที่ให้ผลการเกิดบริเวณใส โดยไอโซเลทที่เกิดบริเวณใสกว้าง คือ RB85-1 (7 ± 0.1 cm), RB94-2 (6.5 ± 0 cm), RB135-2 (6.5 ± 0.1 cm), RB64-1 (6.0 ± 0.1 cm), RB89- 4 (6.0 ± 0.1 cm) และ RB145-8 (6.0 ± 0.1 cm) ตามลำดับ ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสในอาหารเหลว CMC broth พบว่า เชื้อราไอโซเลท RB145-8 สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้สูงที่สุด มีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value < 0.05) โดยมีค่า enzyme activity และ specific activity คือ 76.05 ± 5.69 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และ 23.58 ± 5.44 ยูนิตต่อไมโครกรัมโปรตีน ตามลำดับ และระบุชนิดเชื้อราไอโซเลท RB145-8 เป็น *Aspergillus niger*

นันทวัน ฤทธิ์เดช (2556) ได้คัดแยกแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยซีทที่สามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเพื่อผลิตน้ำตาลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร จากพื้นที่แปลงทดลองเขื่อนจุฬาภรณ์ จังหวัดชัยภูมิ จำนวน 4 แปลง แปลงทดลองละ 16 ตัวอย่าง พบว่า สามารถคัดแยกเชื้อได้ทั้งหมด 190 ไอโซเลท โดยพบว่า ไอโซเลท CDF2L1D13 ความสามารถย่อยสลายเซลลูโลสได้ดีที่สุด มีอัตราส่วนระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลางของเคลียร์โซนต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี เท่ากับ 14.02 และเมื่อศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ เบต้า-กลูโคสิเดส ในอาหาร CMC broth ที่มีการแปรผันแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน พบว่าไอโซเลท CDF2L1D13 มีกิจกรรมของเอนไซม์สูงสุดเท่ากับ 2.639 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ในแหล่งคาร์บอนที่ได้จากฟางข้าว ส่วนแหล่งไนโตรเจนที่ให้ปริมาณกิจกรรมของเอนไซม์เบต้า-กลู โคสิเดส สูงสุด คือ เปปโตน ซึ่งมีกิจกรรมของเอนไซม์ 5.443 ยูนิตต่อมิลลิลิตร จากการศึกษาลักษณะทาง สัณฐานวิทยาเบื้องต้นของเชื้อไอโซเลท CDF2L1D13 พบว่า มีรูปร่างของอับสปอร์ม้วนเป็นวงกลม ลักษณะคล้าย loop คาดว่าน่าจะอยู่ในจีนัส *Streptosporangium*

ทิพย์นภา วงษ์คูณ และคณะ (2556) ได้คัดแยกจุลินทรีย์จากดิน ฟิลเตอร์เค้ก และน้ำกากส่า ที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลส พบว่า สามารถคัดแยกแบคทีเรียจำนวน 26 ไอโซเลท โดยจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสได้ดี คือ แอคติโนมัยซีท จำนวน 4 ไอโซเลท และเชื้อรา จำนวน 1 ไอโซเลท เมื่อศึกษาการสามารถย่อยสลาย carboxy methyl cellulose (CMC) บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส (โดยแบคทีเรียเพาะเลี้ยงนานเป็นเวลา 2 และเชื้อราเพาะเลี้ยงนานเป็นเวลา 7 วัน) พบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีท ไอโซเลท ACSI, BDS31, BFC8 และ FFC2 ให้ผลการทดสอบของค่า hydrolysis capacity (HC value) เท่ากับ 2.5 2.25 2.0 และ 1.02 ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์เอนไซม์เซลลูเลส (exoglucanase) ที่ pH 7.0 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส พบว่า แบคทีเรียไอโซเลท BDS31 และไอโซเลท

BFC8 เชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท ACSI และเชื้อรา FFC2 มีค่ากิจกรรม ของเอนไซม์เท่ากับ 0.37 0.36 0.5 และ 0.16 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

ชฎาพร ผิวทอง และคณะ (2558) ได้การคัดแยกแบคทีเรียทนร้อนที่มีสมบัติในการย่อยสลายเซลลูโลสจากตัวอย่าง ดิน ขอนไม้ผุ และ ใบไม้ ในเขตเทศบาล นครอุบลราชธานี 10 แหล่ง สามารถคัดแยกเชื้อได้ทั้งสิ้น 207 ไอโซเลท และเมื่อนำเชื้อมาทดสอบด้วยวิธี Congo-red พบว่า มีเชื้อที่สามารถสร้างบริเวณใสได้ชัดเจนจำนวน 63 ไอโซเลท และพบว่าไอโซเลท LDP-1.4 มีค่ากิจกรรมของเซลลูเลสสูงสุด เท่ากับ 0.218 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

นงลักษณ์ สายเทพ (2558) ได้การคัดกรองจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเพื่อผลิตไบโอเอทานอล พบว่า สามารถแยกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ จำนวน 29 ไอโซเลท และจากตัวอย่างดินธรรมชาติจำนวน 15 ตัวอย่าง ซึ่งเก็บรวบรวมได้จากหมู่บ้านท่าแหน และอุทยานแห่งชาติแจ้ซ้อน จังหวัดลำปาง เมื่อศึกษาการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสจุลินทรีย์ อาหาร Carboxy Methyl Cellulose (CMC) agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยวิธี Point Inoculation Technique และราดทับด้วยสารละลายไอโอดีน พบจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดวงใสรอบรอยเจริญจำนวน 22 ไอโซเลท และได้คัดเลือกจุลินทรีย์ที่ให้ค่าความกว้างของวงใสสูงที่สุด มาทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสใน CMC broth พบว่า ไอโซเลท JS3P6 ให้ค่า enzyme activity ที่ 93.95 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

นิชรัตน์ ศรีโสภณ และคณะ (2558) ได้ศึกษาจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลสที่ย่อยสลายปุ๋ยหมัก ผักตบชวา พบว่า สามารถแยกเชื้อราได้ทั้งหมด 92 ไอโซเลท และเมื่อนำมาเชื้อราทั้งหมดไปทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์ พบว่าเชื้อราที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสมาก ที่สุด คือ เชื้อรา *Aspergillus flavus* (UPNCH-44) รองลงมาคือ เชื้อรา *A. flavus* (UPNCH-66) และ *Aspergillus candidus (*UPNCH-33) ซึ่งมีค่า Potency index (PI value) เท่ากับ 3.63, 2.77 และ 2.11 ตามลำดับ และเชื้อราที่ผลิตเอนไซม์เฮมิเซลลูเลสมากที่สุดคือ เชื้อ *รา A. flavus* (UPNCH-66) รองลงมาคือ เชื้อรา *Trichoderma* sp. (UPNCH-64) *และ A. candidus* (UPNCH-33) มีค่า Potency index (PI value) เท่ากับ 3.21, 3.03 และ 2.71 ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด มาย่อยสลายปุ๋ยหมักผักตบชวา พบว่าปุ๋ยหมักผักตบชวาที่ย่อยสลายโดยเชื้อรา *A. candidus* (UPNCH-33) มีปริมาณไนโตรเจนมากที่สุด มีค่าเท่ากับ 0.57% ในขณะที่ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ไม่มีความแตกต่างกัน

Abdulla (2007) ได้พัฒนาการหมักฟางข้าวโดยใช้แอคติโนมัยซีทที่สร้างเอนไซม์ลิกโนเซลลูโลส 3 สปีชีส์ คือ *Micromonospora chalcea*, *Streptomyces roseflavus* และ *Nocardiodes fulvus* ผลการศึกษาพบว่า ในสภาวะที่มีอากาศ หลังจากหมักนาน 3 เดือน มีร้อยละของปริมาตรฟางข้าวลดลง 38.6-64 ในขณะที่ชุดควบคุมมีร้อยละของปริมาตรฟางข้าวลดลงเท่ากับ 13.6 และ ชุดการทดลองที่ใช้หัวเชื้อ *Micromonospora chalcea* เหมาะสำหรับการทำปุ๋ยหมัก โดยมีร้อยละของอินทรียวัตถุเพิ่มขึ้นเท่ากับ 34.9 ปริมาณไนเตรทเท่ากับ 0.59 มิลลิกรัมต่อกรัม ในขณะที่ชุดควบคุมมีร้อยละของอินทรียวัตถุเพิ่มขึ้นเท่ากับ 20 และปริมาณไนโตรทเท่ากับ 0.21 มิลลิกรัมต่อกรัม

Son และคณะ (2008) ได้การย่อยสลายฟางข้าวโดยใช้ *Trichoderma* sp. ร่วมกับแบคทีเรีย nitrogen fixing bacteria ได้แก่ *Gluconacetabacter diazotrophicus*, *Bradyrhizobium japonicum* และ *Bradyrhizobiu*m spp. และแบคทีเรีย phosthate solubilizing bacteria คือ *Pseudomonas syringae* สำหรับปรับปรุงดินใน 3 จังหวัดของประเทศเวียดนาม พบว่าทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ในดินเพิ่มขึ้น $4.23x10^{8}$, $3.39x10^{8}$ และ $8.85x10^{8}$ CFU/g น้ำหนักของดินแห้ง ในจังหวัดอันเจียง (An Giang) คันโท (Can Tho) และหลงอาน (Long An) ตามลำดับ

Kumari และคณะ (2011) คัดแยกเชื้อราที่สร้างเอนไซม์เซลลูโลสจากดิน โดยศึกษากิจกรรมเอนไซม์บนอาหาร CMC agar และศึกษากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูโลสในอาหารเหลวที่มีแหล่งไนโตรเจนจากสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ พบว่าเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสสูงที่สุด

Puspita และคณะ (2012) ได้คัดแยกและศึกษาลักษณะของแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสจากดินพรุบริเวณโอกัน โกเมอริง อัลเลอร์ (Ogan Komering Ilir) สุมาตราใต้ ประเทศอินโดนีเซีย โดยใช้ CMC (carboxy methyl cellulose) เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นซับสเทรต และศึกษาค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสโดยวิธี DNS (3,5-dinitro salicyclic acid) ผลการศึกษาพบว่ามีแบคทีเรียจำนวน 4 ไอโซเลท มีค่ากิจกรรมเอนไซม์สูง คือ S3B40, S3B32, S3B37, and AB16 โดย *Paenibacillus elgii* S3B40 มีค่ากิจกรรมเอนไซม์สูงที่สุด เท่ากับ 14.5 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ที่ pH 8 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส รองลงมาคือ *Bacillus* sp. S3B32 มีค่ากิจกรรมเอนไซม์ เท่ากับ 0.506 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ที่ pH 8 อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส *Bacillus pumilus* AB16 มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ 0.361 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ที่ pH 5 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และ *Bacillus cereus* S3B37 มีค่ากิจกรรมเอนไซม์ เท่ากับ 1.167 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ที่ pH 5 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมี

3.1.1 วัสดุ อุปกรณ์

1) สไลด์ (slide)
2) ห่วงถ่ายเชื้อ (loop)
3) บีกเกอร์ (beaker; Kartell)
4) ขวดรูปชมพู่ (flask; Merck, Germany)
5) จานเพาะเชื้อ(petri dish; Pyrex, Germany)
6) หลอดทดลอง(test tube; Pyrex, Germany)
7) ปิเปต (pipett;Precicolor HBG, Germany)
8) แท่งแก้วงอ(spreader)
9) กระบอกตวงพลาสติก (Measuring Cylinder; Germany)
10) ช้อนตักสาร (spatula)
11) กระจกปิดสไลด์ (cover glass)
12) เข็มเขี่ยเชื้อ (needle)
13) ตะเกียงแอลกอฮอล์ (burner)
14) Cork borer
15) แท่งแก้วคนสาร
16) น้ำมันพาราฟินเหลว
17) น้ำกลั่น
18) กระดาษทิชชู
19) สำลี
20) ถุงพลาสติก

3.1.2 เครื่องมือ

1) เครื่องเขย่า (vortex)
2) ตู้บ่มเชื้อ (incubator; contherm รุ่น 620RHS)
3) ตู้อบลมร้อน (hot air oven; Memmert, Germany)
4) ตู้ปลอดเชื้อ - ตู้เขี่ยเชื้อ (laminar flow)
5) ตู้อบฆ่าเชื้อ(autoclave; Tomy รุ่น SS-325, Japan)
6) ไมโครเวฟ(LG, MS-2029 W)
7) เครื่องชั่งสาร (balance; Mettler Toledo)
8) อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath ; Memmert, Germany)
9) กล้องจุลทรรศน์ (Microscope; Nikon, Japan)
10) เครื่องวัดปริมาณไนโตรเจน

SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

11) เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง

3.1.3. อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1) Cellulose congo red agar (Merck, Germany)
2) Nutrient agar (Merck, Germany)
3) Potato dextrose agar (Merck, Germany)
4) MR - VP broth (Merck, Germany)
5) Simmons Citrate agar (Merck, Germany)
6) MIL media (Merck, Germany)
7) Starch agar (Merck, Germany)
8) Skim milk agar
9) Gelatin liquefaction medium
10) Arabinose (Merck, Germany)
11) Mannitol (Merck, Germany)
12) Glucose (Merck, Germany)
13) Lactose (Merck, Germany)
14) Maltose (Merck, Germany)
15) Raffinose (Merck, Germany)
16) Sucrose (Merck, Germany)
17) NaCl (Merck, Germany)
18) Crystal violet (Merck, Germany)
19) Safranin O (Merck, Germany)
20) Iodine O (Merck, Germany)
21) Malachite green (Merck, Germany)
22) α-napthylamine
23) 0.5% Sulfanilic acid
24) 5% α-naphthol solution
25) 40% KOH
26) Methyl red
27) Kovac’s reagent
28) Alcohol
29) 40% NaOH (Merck, Germany)
30) 4% Boric acid
31) 0.1 N HCl
32) 98% Sulfuric acid
33) Ammonium sulphate

3.1.4 วัตถุดิบ

1) ดิน
2) มูลวัว
3) ยูเรีย
4) ปุ๋ยหมัก
5) ฟางข้าว
6) ดินสีดา
7) มูลสัตว์เคี้ยวเอื้อง
8) สารเร่งซุปเปอร์ พด.1

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การแยกและคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์จากตัวอย่างปุ๋ยหมัก

3.2.1.1 เก็บตัวอย่างปุ๋ยหมัก ตัวอย่างที่เก็บมาใช้ในการแยกเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ ดิน เศษพืช มูลสัตว์ และปุ๋ยหมักจากแหล่งต่าง ๆ นำไปคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการ

3.2.1.2 ชั่งตัวอย่างจำนวน 10 กรัม ลงในฟลาสก์ ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 90 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ประมาณ 20-30 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน จากนั้นทำการเจือจางสารละลายปุ๋ยหมักด้วยวิธี dilution method นำตัวอย่างปุ๋ยหมักที่ระดับความเจือจางต่างๆ คือ 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6} และ 10^{-7} ไป spread plate บนอาหาร cellulose congo red agar บ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 25 , 37 และ 45 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง

3.2.1.3 เมื่อเชื้อจุลินทรีย์เจริญบนจานเพาะเชื้อ ทำการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลส โดยดูจากการสร้างวงใสรอบเชื้อจุลินทรีย์ เชื้อรานำมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง เชื้อแบคทีเรียนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร nutrient agar (NA) บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

3.2.2 **การทำเชื้อให้บริสุทธิ์**

3.2.2.1 นำเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้จากข้อ 1.3 มาเพาะเลี้ยงใหม่ให้ได้เชื้อจุลินทรีย์ที่บริสุทธิ์ โดยเชื้อรา ใช้เข็มงอที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เขี่ยบริเวณเส้นใยของเชื้อรามาวางคว่ำตรงกลางบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง เชื้อแบคทีเรียใช้ลูปเขี่ยเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว แตะบริเวณโคโลนีของเชื้อแบคทีเรีย โดยใช้เทคนิค streak plate ลงบนอาหาร nutrient agar (NA) บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นศึกษาลักษณะโคโลนีของเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียด้วยตาเปล่า

3.2.2.2 นำเชื้อราที่บริสุทธิ์ เพาะเลี้ยงในหลอดอาหาร potato dextrose agar (PDA) ชนิดเอียง บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง เชื้อแบคทีเรียที่บริสุทธิ์เพาะเลี้ยงในหลอดอาหาร nutrient agar (NA) ชนิดเอียง บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นปิดทับด้วยพาราฟินเหลว (liquid paraffin) เพื่อใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

3.2.3 การทดสอบประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสบนอาหารแข็ง

3.2.3.1 เตรียมหัวเชื้อสำหรับใช้ทดสอบความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสโดยนำเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียจากข้อ 2.2 มาเพาะเลี้ยงใหม่อีกครั้ง

3.2.3.2 นำเชื้อจากข้อ 3.1 มาทดสอบความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส เชื้อรา ใช้ cork borer ขนาด 0.5 เซนติเมตร ตัดบริเวณเส้นใยของเชื้อรา ที่มีอายุ 72 ชั่วโมง ใช้เข็มงอเขี่ยเชื้อที่ตัดไว้มาวางคว่ำตรงกลางบนอาหาร cellulose congo red agar (Hendricks และคณะ, 1995) โดยให้ส่วนเส้นใยของเชื้อราสัมผัสกับผิวหน้าอาหาร บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง การทดสอบความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสของเชื้อแบคทีเรีย ใช้ needle แตะบริเวณโคโลนีของเชื้อแบคทีเรีย ที่มีอายุ 24 ชั่วโมง เพาะเลี้ยงบนอาหาร cellulose congo red agar โดยวิธี point inoculation บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง จากนั้นวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสและเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์ ในหน่วยเซนติเมตร

$$\text{ประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลส} = \frac{\text{ความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (cm)}}{\text{ความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี (cm)}}$$

3.2.4 การระบุชนิดของเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย

คัดเลือกจุลินทรีย์ จากข้อ 3.2 ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสได้ดีที่สุด 5 ลำดับแรกระบุชนิดและจำแนกชนิด

3.2.4.1 เชื้อรา ระบุชนิดและจำแนกชนิดโดยการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้แก่ ลักษณะและสีของโคโลนี การสร้างสารสีในอาหารเลี้ยงเชื้อ ลักษณะ รูปร่าง และขนาดของ เส้นใย โครงสร้างสืบพันธุ์ เช่น สปอร์แรงเจียม สปอร์แรงจิโอสปอร์ โคนิดิโอสปอร์ สปอร์แรงจิโอฟอร์ โคนิดิโอฟอร์ เฟียไลด์ แวซิเคิล คลาไมโดสปอร์ และแอสโคสปอร์ เป็นต้น เปรียบเทียบกับรูปวิธาน (key) ตามหนังสือ Illustrated genera of Imperfect fungi (Barnett, 1999)

3.2.4..2 แบคทีเรีย ระบุชนิดและจำแนกชนิด โดยตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology) ได้แก่ การติดสีแกรม รูปร่าง การจัดเรียงตัวโดยการย้อม negative stain และการสร้างเอนโดสปอร์ (endospore) ตรวจสอบลักษณะทางสรีรวิทยา (physiology) โดยศึกษาลักษณะทางชีวเคมีบางประการตามวิธีของ ตามหนังสือ Bergey's Manaul of Determinative Bacteriology (1994) และ Adeleke et al. (2011) ได้แก่ การทดสอบ Motility, Catalase test, V-P reaction test, Indole production, Methyl Red test, Starch hydrolysis, Gelatin hydrolysis, Casein hydrolysis, Nitrate reduction, Citrate Utilization, การเจริญใน 6.5% NaCl, การเจริญที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส, 55 องศาเซลเซียส, 60 องศาเซลเซียส, 65 องศาเซลเซียส และดูการสร้างกรดจากน้ำตาลชนิดต่างๆ เช่น Arabinose, Glucose, Lactose, Mannitol, Maltose, Raffinose, Sucrose เป็นต้น

3.2.5 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยสลายฟางข้าวในห้องปฏิบัติการ

นำกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่ผ่านการคัดเลือก และกลุ่มจุลินทรีย์จากสารเร่งพด. 1 มาทดสอบความสามารถในการย่อยสลายฟางข้าวที่อุณหภูมิ 45°C โดยมีการระบายอากาศและรักษาความชื้นที่ 60-70 % เก็บตัวอย่างฟางข้าวทุกๆ 7 วัน นาน 6 สัปดาห์ เพื่อมาวิเคราะห์ความเป็นกรดเป็นด่าง (กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี , 2551) และ C/N ratio โดยวิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนตามวิธีของ Walkley and Black (1934) และวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดด้วย Kjeldahl method (กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี, 2551) ดังนี้

3.2.5.1 เตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์ จำนวน 3 ไอโซเลท มาศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายฟางข้าว คือ มาเพาะเลี้ยงในอาหาร PDA บ่มในบริเวณที่มีแสงสว่าง นาน 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นทำสารแขวนลอยสปอร์และเส้นใยด้วย tween 80 เข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ (ปลอดเชื้อ) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร มาเพิ่มปริมาณเส้นใยและสปอร์ในข้าวเหนียวสุกปลอดเชื้อในถุงพลาสติก ปริมาณ 200 กรัม บ่มในบริเวณที่มีแสงสว่างนาน 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

3.2. 5.2 เตรียมวัตถุดิบย่อยสลายฟางข้าว โดยตัดฟางข้าวขนาด 2-3 เซนติเมตร น้ำหนัก 20 กรัม แช่น้ำในถุงพลาสติกนาน 24 ชั่วโมง แล้วเททิ้ง เติมดินและมูลวัว อย่างละ 1 กรัม ตามสัดส่วนดังตารางที่ 3.1 (3 ซ้ำ) วางแผนการทดลองด้วยวิธี simple centroid design with three components นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ ที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

3.2.5 .3 ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายฟางข้าว เติมจุลินทรีย์ลงในถุงวัตถุดิบ ตามสัดส่วนตารางที่ 3.1 นำไปบ่มข้าวที่อุณหภูมิ 45°C ความชื้น 60-70 เปอร์เซ็นต์ นาน 6 สัปดาห์ สังเกตการย่อยสลายของฟางข้าว บันทึกผลการทดลองและเก็บตัวอย่างฟางข้าวเพื่อวิเคราะห์ความเป็นกรด - ด่าง และ C/N ratio ทุก ๆ 7 วัน นาน 6 สัปดาห์

ตารางที่ 3.1 สัดส่วนของเชื้อจุลินทรีย์และวัตถุดิบสำหรับการหมักฟางข้าวในห้องปฏิบัติการ

No. of Trials	เชื้อจุลินทรีย์ (กรัม)			วัตถุดิบ (น้ำหนักแห้ง)(กรัม)		
	ชนิดที่ 1	ชนิดที่ 2	ชนิดที่ 3	มูลวัว	ดิน	ฟางข้าว
1	2	0	0	1	1	20
2	0	2	0	1	1	20
3	0	0	2	1	1	20
4	1	1	0	1	1	20
5	1	0	1	1	1	20
6	0	1	1	1	1	20
7	2/3	2/3	2/3	1	1	20

3.2.6 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยสลายฟางข้าวในภาคสนาม

นำกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่ผ่านการคัดเลือก และกลุ่มจุลินทรีย์จากสารเร่งพด. 1 มาทดสอบในภาคสนาม โดยใช้ส่วนผสมของการทำปุ๋ยหมัก รักษาระดับความชื้นที่ 60-70% เก็บตัวอย่างฟางข้าวทุก ๆ 7 วัน นาน 6 สัปดาห์ เพื่อมาวิเคราะห์ความเป็นกรดเป็นด่าง และ C/N ratio

3.3 การถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย

ถ่ายทอดความรู้ในด้านการผลิตปุ๋ยชีวภาพจากฟางข้าว แก่กลุ่มเกษตรกร ในชุมชนตำบลบางเขียด อำเภอสิงหนคร จังหวัดสงขลา จำนวนกลุ่มละไม่ต่ำกว่า 20 คน จำนวน 2 ครั้ง ติดตามสรุปและประเมินผล

3.4 สถานที่ดำเนินการวิจัย

สถานที่ที่ใช้ในการดำเนินการวิจัย ณ ห้องปฏิบัติการชีววิทยา ศูนย์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา และโปรแกรมวิชาชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา อำเภอเมืองสงขลา จังวัดสงขลา และถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ชมชุน จำนวน 2 ครั้ง ณ ห้องประชุม โรงพยาบาลประจำตำบลบางเขียด ตำบลบางเขียด อำเภอสิงหนคร จังหวัดสงขลา

3.5 ระยะดำเนินการ

ใช้เวลา 1 ปี เริ่ม ตั้งแต่เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2554 ถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2555

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 การคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์

จากการคัดแยกจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสจากปุ๋ยหมัก จำนวน 8 แหล่ง (16 ตัวอย่าง) มูลสัตว์ จำนวน 11 แหล่ง (22 ตัวอย่าง) ดิน จำนวน 8 แหล่ง (16 ตัวอย่าง) และสารเร่งซุปเปอร์ พด. 1 จำนวน 4 แหล่ง (8 ตัวอย่าง) บนอาหาร cellulose congo red agar ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน พบว่ามีจุลินทรีย์ที่มีการสร้างวงใสรอบโคโลนีจำนวนทั้งหมด จำนวน 169 ไอโซเลท ประกอบด้วยเชื้อรา จำนวน 64 ไอโซเลท และแบคทีเรีย จำนวน 105 ไอโซเลท (ตารางที่ 4.1)

ตารางที่ 4.1 จำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสแยกจากปุ๋ยหมัก มูลสัตว์ ดิน และ พด .1 คัดแยกบนอาหาร cellulose congo red agar ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน

ตัวอย่าง	แหล่งที่มา	จำนวนจุลินทรีย์ (ไอโซเลท)	
		เชื้อรา	แบคทีเรีย
ปุ๋ยหมัก	1) ปุ๋ยหมักบ้านเคียน เลขที่ 7 ม.1 ต. พ่อมิ่ง อ. ปะนาเระ จ. ปัตตานี	-	2
	2) ปุ๋ยหมักบ้านดอน เลขที่ 33 ม.5 ต. ดอน อ. ปะนาเระ จ. ปัตตานี	-	3
	3) จุดสาธิตเกษตรอินทรีย์ (นายมานิต หนูเพชร) ม.1 ต. เกาะแต้ว อ. เมือง จ. สงขลา	-	3
	4) ปุ๋ยหมักศรีวิชัย ตรงข้ามสวนโมก อ.ไชยา จ. สุราษฎร์ธานี	-	3
	5) ปุ๋ยหมักคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา จ. สงขลา	-	6
	6) สหกรณ์ผู้ผลิตและใช้ปุ๋ยอินทรีย์เกาะแต้ว จำกัด ม.1 ต. เกาะแต้ว อ. เมือง จ. สงขลา	-	1
	7) นายสมคิด คงแก้ว เลขที่ 14/7 บ้านหูนบ ม. 4 ต.โคกเจริญ อ. ทับปุด จ.พังงา	-	6
	8) ปุ๋ยหมักเขาแก้ว เลขที่ 88 ม.1 ต.เขารูปช้าง อ. เมือง จ. สงขลา	-	12
	รวม	0	36
มูลสัตว์	1) มูลแพะจากบ้านปศุสัตว์ จังหวัดนราธิวาส	2	1
	2) มูลวัวจากบ้านปากรอ จังหวัดสงขลา	1	2
	3) มูลวัวจากบ้านเกาะแต้ว จังหวัดสงขลา	2	-
	4) มูลแพะจากแปลงเกษตรมหาวิทยาลัย-	3	2

ตัวอย่าง	แหล่งที่มา	จำนวนจุลินทรีย์ (ไอโซเลท)	
		เชื้อรา	แบคทีเรีย
	ราชภัฏสงขลา จังหวัดสงขลา		
	5) มูลแพะจากบ้านนาปึก จังหวัดสงขลา	-	1
	6) มูลวัวจากบ้านนาปึก จังหวัดสงขลา	-	2
	7) มูลวัวจากบ้านหาดสำราญ จังหวัดตรัง	1	2
	8) มูลวัวจากบ้านควนล้อน จังหวัดตรัง	-	2
	9) มูลแพะจากบ้านคลองสองปาก จังหวัดสตูล	2	4
	10) มูลวัวจากบ้านคลองสองปาก จังหวัดสตูล	-	1
	11) มูลแพะจากบ้านหูนบ จังหวัดพังงา	-	2
	รวม	11	19
ดิน	1) ดินแปลงผัก คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา	3	2
	2) ดินใต้ต้นชบา ศูนย์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา	5	6
	3) ดินใต้ต้นตะแบก ศูนย์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา	-	2
	4) ดินใต้ต้นโพธิ์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา	2	5
	5) ดินใต้ต้นไทร คณะเทคโนโลยีการเกษตร (อาคารเก่า) มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา	2	5
	6) ดินใต้ต้นเสม็ด หอประชุมเฉลิมพระเกียรติฯ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา	3	3
	7) ดินนา (1) ต.สาคร อ.ท่าแพ จ.สตูล	8	2
	8) ดินนา (2) ต.สาคร อ.ท่าแพ จ.สตูล	3	6
	รวม	26	31
พด.1	1) สำนักงานที่ดินจังหวัดปัตตานี สาขาโคกโพธิ์ ตำบลบ่อยาง อำเภอโคกโพธิ์ จังหวัดปัตตานี (ผลิต 02-12-2553 หมดอายุ 02-12-2554 วันทดลอง 21-10-2554)	15	5
	2) สำนักงานพัฒนาที่ดินจังหวัดยะลา ตำบลสะเตง อำเภอเมือง จังหวัดยะลา (ผลิต 24-03-2554 หมดอายุ 24-03-2555 วันทดลอง 31-10-2554)	4	3
	3) สำนักงานพัฒนาที่ดินเขต 12 สงขลา ตำบลเกาะแต้ว อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา (ผลิต 26-05-2554 หมดอายุ 26-05-2555 วันทดลอง 01-12-2554)	6	-
	4) สหกรณ์ผู้ผลิตและใช้ปุ๋ยอินทรีย์หมู่ที่ 1 ตำบลเกาะแต้ว อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา (ผลิต 13-07-2554 หมดอายุ 13-07-2555 วันทดลอง 24-12-2554)	2	11
	รวม	27	19
	รวมทั้งหมด	**64**	**105**

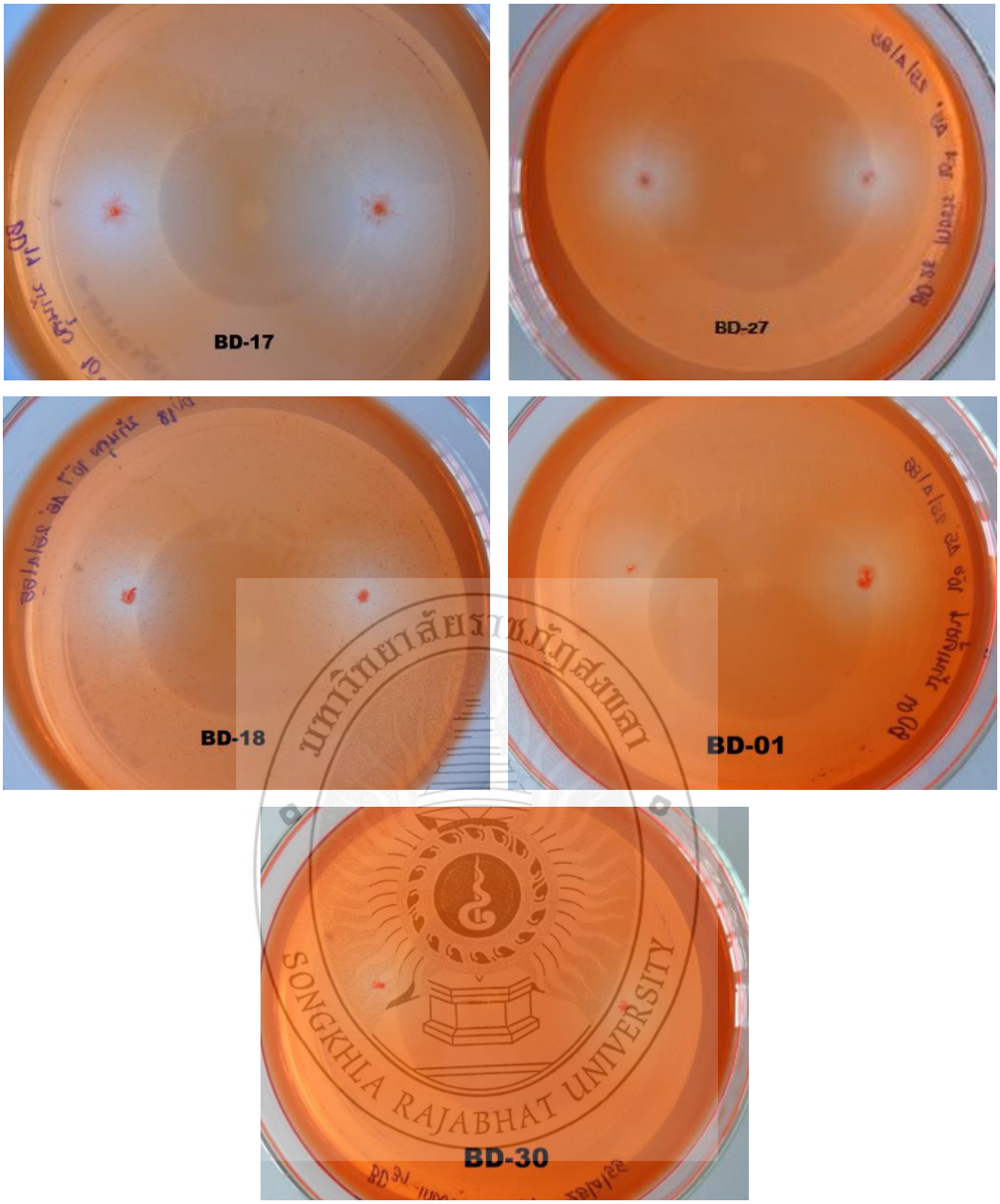
หลังจากนั้นนำมาทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสอีกครั้งบนอาหาร cellulose congo red agar ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง เพื่อคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสสูงสุดห้าลำดับแรก พบว่าจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้ดีที่สุดห้าลำดับที่คัดแยกจากปุ๋ยหมักคือ BD-18, BD-01, BD-17, BD-30 และ BD-27 มีประสิทธิภาพการย่อยสลายเซลลูโลส เท่ากับ 31.0±0.82, 29.0±0.82, 27.33±1.22, 27.0±0.82 และ 18.66±0.77 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2) จุลินทรีย์ที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้ดีที่สุดสี่ลำดับที่คัดแยกจากดินคือ S-40, S-12, S-41, และ S-15 มีประสิทธิภาพการย่อยสลายเซลลูโลส เท่ากับ 9.00±0.71, 4.55±0.12, 4.50±0.08 และ 4.01±0.02 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.3) จุลินทรีย์ที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้ดีที่สุดห้าลำดับที่คัดแยกจากมูลสัตว์มีประสิทธิภาพการย่อยสลายเซลลูโลส เท่ากับ PK-13, PK-27, PK-08, PK-14 และ PK-23 มีประสิทธิภาพการย่อยสลายเซลลูโลส เท่ากับ 50.00±0.40, 20.00±0.40, 18.00±0.40, 15.00±0.40 และ15.00±0.40 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4) จุลินทรีย์ที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้ดีที่สุดห้าลำดับที่คัดแยกจากสารเร่งซุปเปอร์ พด . 1 มีประสิทธิภาพการย่อยสลายเซลลูโลส เท่ากับ 16.83±0.43, 11.33±0.28, 8.33±0.28, 7.00±0.41 และ 6.50±0.41 ตามลำดับ(ตารางที่ 4.5)

ตารางที่ 4.2 ประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสของจุลินทรีย์ (แบคทีเรีย) ที่คัดแยกจากปุ๋ยหมักบนอาหาร cellulose congo red agar บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง

รหัสเชื้อ	เส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (ซม.)	เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี (ซม.)	ประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส
BD_{01}	2.90±0.08	0.10±0.00	29.00±0.82
BD_{02}	2.50±0.08	1.00±0.00	2.50±0.08
BD_{08}	0.30±0.00	0.20±0.00	1.50±0.00
BD_{09}	0.20±0.06	0.10±0.00	2.00±0.58
BD_{10}	2.80±0.08	0.20±0.41	14.00±2.84
BD_{15}	0.90±0.08	0.40±0.06	2.25±0.20
BD_{17}	4.10±0.18	0.15±0.00	27.33±1.22
BD_{18}	3.10±0.10	0.10±0.00	31.00±0.82
BD_{21}	2.60±0.08	0.20±0.00	13.00±0.41
BD_{22}	0.20±0.00	0.10±0.00	2.00±0.00
BD_{23}	0.20±0.03	0.10±0.00	2.00±0.29
BD_{26}	0.25±0.04	0.10±0.00	2.50±0.29
BD_{27}	2.80±0.12	0.15±0.00	18.66±0.77
BD_{28}	0.30±0.00	0.20±0.00	1.50±0.00
BD_{29}	3.20±0.14	0.40±0.06	8.00±0.35
BD_{30}	2.70±0.08	0.10±0.00	27.00±0.82

รหัสเชื้อ	เส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (ซม.)	เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี (ซม.)	ประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส
BD_{31}	2.10±0.08	1.00±0.13	2.10±0.21
BD_{32}	3.10±0.08	0.20±0.00	15.50±0.41
BD_{35}	2.20±0.00	0.15±0.00	14.66±0.00
BD_{36}	2.50±0.00	0.20±0.00	12.50±0.00
BD_{37}	1.50±0.08	0.40±.00	3.75±0.32
BD_{38}	0.50±0.00	0.30±0.00	1.67±0.00
BD_{39}	2.50±0.08	0.15±0.00	16.66±0.54
BD_{40}	0.20±0.00	0.10±0.00	2.00±0.00
BD_{49}	1.50±0.08	0.80±0.00	1.88 ±0.10
BD_{50}	2.60±0.08	0.15±0.00	17.33±.54
BD_{51}	2.80±0.10	0.30±0.00	9.33±0.27
BD_{52}	1.20±0.06	0.30±0.00	4.00±0.13
BD_{53}	3.40±0.10	0.40±0.00	8.50±0.20
BD_{54}	0.50±0.10	0.20±0.07	2.50±0.32
BD_{55}	0.80±0.008	0.40±0.00	2.00±0.02
BD_{56}	1.00±0.06	0.05±0.00	2.00±0.12
BD_{57}	0.10±0.00	0.10±0.00	1.00±0.00
BD_{58}	0.20±0.06	0.10±0.00	2.00±0.58
BD_{59}	2.10±0.08	0.30±0.00	7.00±0.27
BD_{60}	0.10±0.005	0.10±0.00	1.00±0.06

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY



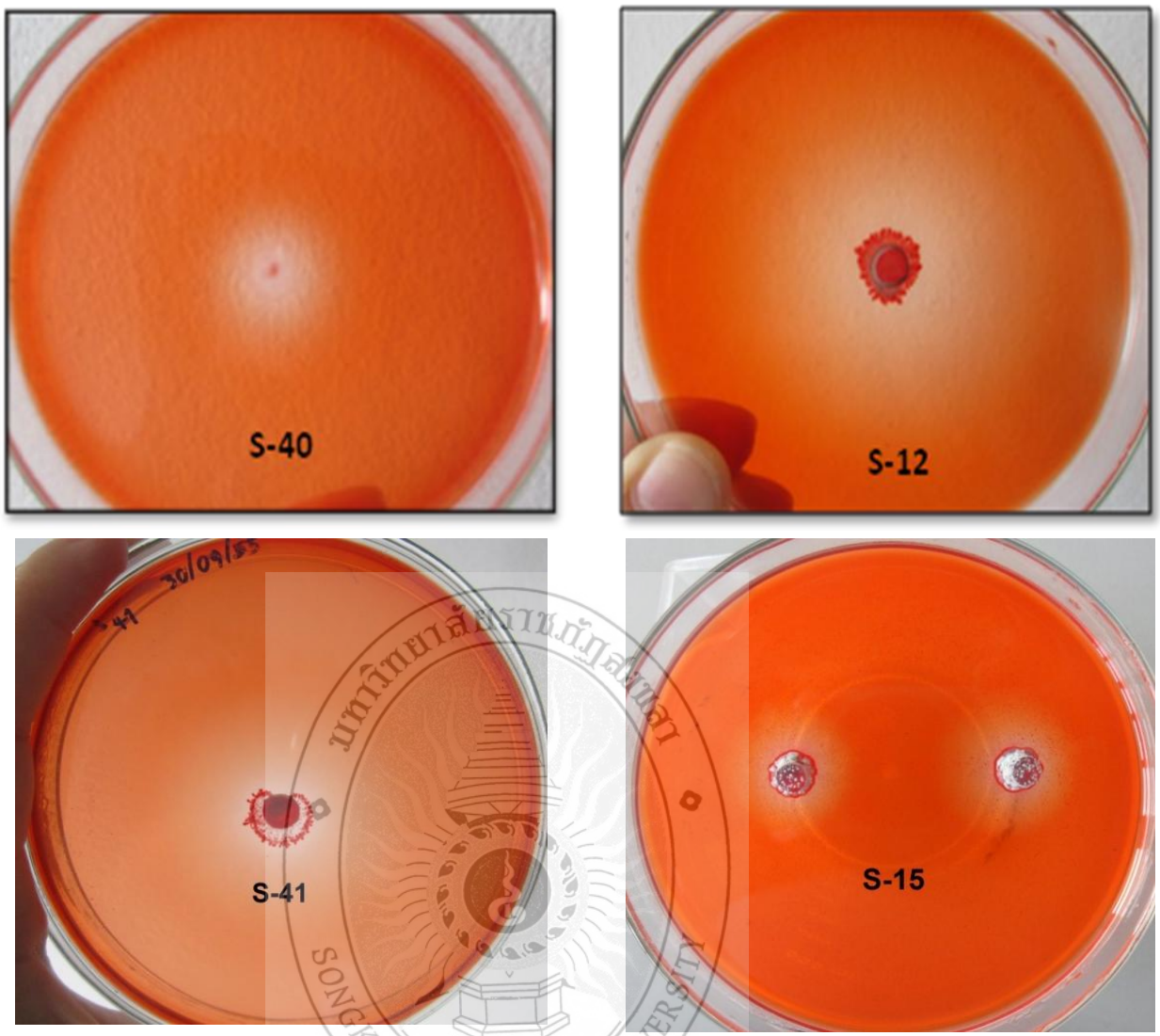
ภาพที่ 4.1 กิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 ไอโซเลท ที่แยกได้จากตัวอย่างปุ๋ยหมัก บนอาหาร Cellulose congo red agar ซึ่งบ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง

ตารางที่ 4.3 ประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสของจุลินทรีย์ที่คัดแยกจากดินบน อาหาร cellulose congo red agar บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง

รหัสเชื้อ	เชื้อ	เส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (ซม.)	เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี (ซม.)	ประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส
S-01	แบคทีเรีย	0.80±0.08	0.20±0.00	4.00±0.41
S-02	แบคทีเรีย	0.20±0.00	0.10±0.00	2.00±0.00
S-03	รา	2.00±0.16	0.70±0.08	2.80±0.23
S-04	รา	1.80±0.08	0.70±0.14	2.50±0.47
S-05	รา	1.50±0.07	0.70±0.08	2.10±1.73
S-06	แบคทีเรีย	0.50±0.00	0.20±0.00	2.50±0.00
S-07	แบคทีเรีย	0.40±0.00	0.20±0.00	2.00±0.00
S-08	แบคทีเรีย	0.60±0.00	0.20±0.00	3.00±0.00
S-09	แบคทีเรีย	0.50±0.00	0.20±0.00	2.50±0.00
S-10	แบคทีเรีย	0.40±0.00	0.20±0.00	2.00±0.00
S-11	รา	2.20±0.04	0.90±0.00	2.44±0.05
S-12	รา	5.62±0.04	1.24±0.03	4.55±0.12
S-13	รา	1.80±0.08	1.00±0.00	1.80±0.08
S-14	รา	1.50±0.10	0.80±0.05	1.87±0.09
S-15	แบคทีเรีย	3.03±0.08	0.76±0.06	4.01±0.02
S-16	รา	0.90±0.08	0.70±0.12	1.28±0.16
S-17	แบคทีเรีย	0.20±0.08	0.10±0.00	2.00±0.82
S-18	แบคทีเรีย	0.20±0.08	0.10±0.00	2.00±0.82
S-19	แบคทีเรีย	0.02±0.08	0.10±0.00	2.00±0.82
S-20	แบคทีเรีย	0.20±0.08	0.10±0.00	2.00±0.82
S-21	แบคทีเรีย	0.30±0.08	0.10±0.00	3.00±0.82
S-22	แบคทีเรีย	0.30±0.08	0.20±0.00	1.50±0.41
S-23	แบคทีเรีย	0.40±0.00	0.20±0.00	2.00±0.00
S-24	รา	1.50±0.07	1.00±0.00	1.50±0.07
S-25	รา	1.50±0.07	0.70±0.00	2.14±0.07
S-26	แบคทีเรีย	0.60±0.14	0.20±0.08	3.00±0.58
S-27	แบคทีเรีย	0.30±0.18	0.20±0.00	1.50±0.11
S-28	แบคทีเรีย	0.30±0.08	0.10±0.07	3.00±1.83
S-29	แบคทีเรีย	0.40±0.04	0.20±0.00	2.00±0.20
S-30	แบคทีเรีย	0.20±0.00	0.10±0.00	2.00±0.00
S-31	รา	1.80±0.18	0.70±0.04	2.57±0.31
S-32	รา	1.50±0.08	0.70±0.11	2.14±0.28
S-33	แบคทีเรีย	0.40±0.08	0.20±0.00	2.00±0.41
S-34	แบคทีเรีย	0.20±0.00	0.10±0.00	2.00±0.00
S-35	แบคทีเรีย	0.40±0.08	0.20±0.00	2.00±0.41
S-36	รา	1.80±0.18	0.70±0.04	2.57±0.31
S-37	รา	1.50±0.08	0.90±0.08	1.67±0.10
S-38	รา	1.40±0.18	0.70±0.23	2.00±0.41

รหัสเชื้อ	เชื้อ	เส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (ซม.)	เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี (ซม.)	ประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส
S-39	แบคทีเรีย	0.30±0.08	0.10±0.00	3.00±0.82
S-40	แบคทีเรีย	1.80±0.14	0.20±0.00	9.00±0.71
S-41	รา	4.50±0.08	1.00±0.00	4.50±0.08
S-42	รา	2.50±0.06	0.80±0.22	3.13±0.00
S-43	รา	1.20±0.28	0.70±0.00	1.71±0.31
S-44	รา	1.40±0.18	1.00±0.00	1.40±0.18
S-45	รา	1.50±0.06	0.72±0.68	2.14±0.00
S-46	รา	2.10±0.00	0.70±0.00	3.00±0.00
S-47	รา	1.80±0.08	0.90±0.08	2.00±0.09
S-48	รา	2.00±0.08	0.80±0.04	2.50±0.19
S-49	แบคทีเรีย	0.20±0.08	0.10±0.00	2.00±0.57
S-50	แบคทีเรีย	0.80±0.11	0.20±0.00	4.00±0.58
S-51	แบคทีเรีย	0.20±0.00	0.10±0.00	2.00±0.00
S-52	แบคทีเรีย	0.40±0.08	0.20±0.00	2.00±0.41
S-53	แบคทีเรีย	0.20±0.08	0.10±0.00	2.00±0.82
S-54	แบคทีเรีย	0.20±0.08	0.10±0.00	2.00±0.82
S-55	แบคทีเรีย	2.40±0.14	0.90±0.04	2.67±0.26
S-56	แบคทีเรีย	1.30±0.00	0.70±0.08	1.86±0.22
S-57	แบคทีเรีย	1.40±0.18	0.70±0.23	2.00±0.41

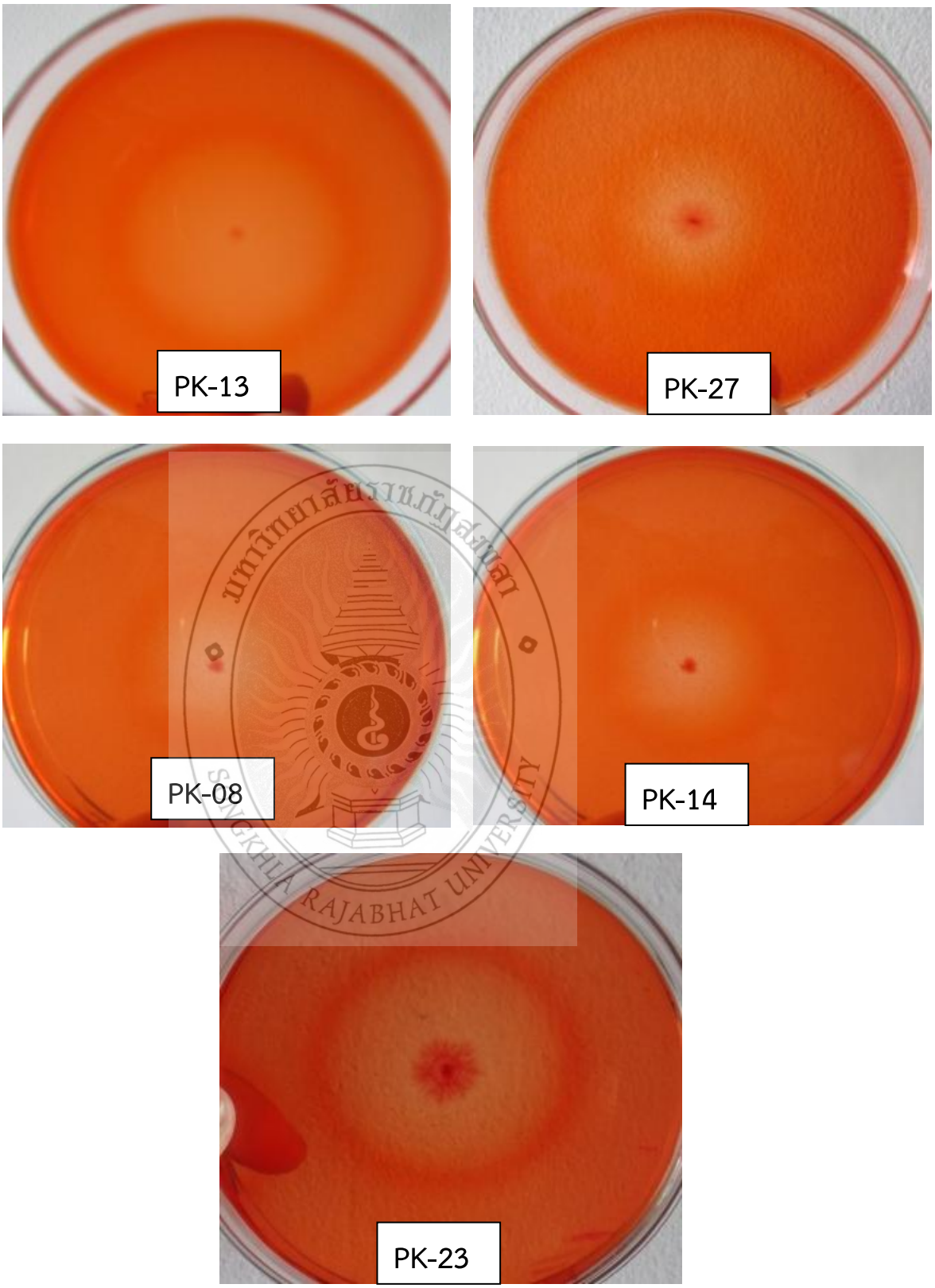
มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY



ภาพที่ 4.2 ประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสของแบคทีเรีย และเชื้อรา ทั้งสี่ไอโซเลทแรกที่คัดแยกจากดิน บนอาหาร cellulose congo red agar บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง

ตารางที่ 4.4 ประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสของจุลินทรีย์ที่คัดแยกจากมูลสัตว์เคี้ยวเอื้อง บนอาหาร cellulose congo red agar บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง

รหัสเชื้อ	เชื้อ	เส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (ซม.)	เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี (ซม.)	ประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส
PK01	รา	1.80±0.08	0.50±0.00	3.60±0.16
PK02	แบคทีเรีย	1.50±0.08	0.30±0.08	5.00±0.28
PK03	แบคทีเรีย	1.50±0.08	0.30±0.08	5.00±0.28
PK04	รา	2.00±0.00	0.50±0.00	4.00±0.00
PK05	รา	1.50±0.15	0.50±0.00	3.00±0.16
PK06	รา	2.00±0.00	0.50±0.00	4.00±0.00
PK07	แบคทีเรีย	2.00±0.00	0.20±0.00	10.00±0.00
PK08	แบคทีเรีย	3.60±0.12	0.20±0.00	18.00±0.40
PK09	รา	0.80±0.80	0.50±0.00	1.60±0.16
PK10	รา	2.80±0.00	0.50±0.00	5.60±0.00
PK11	แบคทีเรีย	2.00±0.81	0.20±0.80	10.00±0.00
PK12	แบคทีเรีย	2.00±0.00	0.30±0.00	6.66±0.00
PK13	แบคทีเรีย	5.00±0.18	0.10±0.00	50.00±0.40
PK14	แบคทีเรีย	4.50±0.20	0.30±0.08	15.00±0.40
PK15	รา	1.30±0.80	0.50±0.00	2.60±0.16
PK16	รา	2.20±0.80	0.50±0.00	4.40±0.16
PK17	แบคทีเรีย	1.00±0.80	0.10±0.00	10.00±0.81
PK18	รา	0.90±0.80	0.50±0.00	1.80±0.16
PK19	รา	0.90±0.80	0.50±0.00	1.80±0.16
PK20	รา	1.60±0.80	0.50±0.00	3.20±0.16
PK21	แบคทีเรีย	2.00±0.00	0.30±0.00	6.66±0.00
PK22	แบคทีเรีย	1.50±0.80	0.20±0.00	7.50±0.40
PK23	แบคทีเรีย	4.50±0.20	0.30±0.08	15.00±0.40
PK24	แบคทีเรีย	2.00±0.00	0.20±0.00	10.00±0.00
PK25	แบคทีเรีย	1.50±0.00	0.30±0.00	5.00±0.00
PK26	แบคทีเรีย	1.00±0.08	0.20±0.00	5.00±0.40
PK27	แบคทีเรีย	4.00±0.24	0.20±0.00	20.00±0.40
PK28	แบคทีเรีย	1.00±0.10	0.20±0.00	5.00±0.57
PK29	แบคทีเรีย	2.50±0.08	0.30±0.00	8.33±0.26
PK30	แบคทีเรีย	1.00±0.00	0.20±0.00	5.00±0.00



ภาพที่ 4.3 ประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสของแบคทีเรีย ทั้งห้าไอโซเลทแรกที่คัดแยกจากมูลสัตว์เคี้ยวอื้อง บนอาหาร cellulose congo red agar บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง

ตารางที่ 4.5 ประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสของจุลินทรีย์ที่คัดแยกจากสารเร่งซุปเปอร์ พด.1 บนอาหาร cellulose congo red agar บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง

รหัสเชื้อ	เชื้อ	เส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (ซม.)	เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี (ซม.)	ประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส
NK-01	รา	1.50±0.41	0.5±0.0	3.00±0.82
NK-02	รา	1.70±0.22	0.5±0.0	3.40±0.43
NK-03	รา	2.10±0.14	0.7±0.80	3.00±0.34
NK-04	รา	1.30±0.08	0.5±0.0	2.60±0.16
NK-05	รา	1.40±0.08	0.7±0.80	2.00±0.28
NK-06	รา	1.30±0.12	0.5±0.0	2.60±0.23
NK-07	รา	1.50±0.08	0.5±0.0	3.00±0.16
NK-08	รา	1.80±0.08	0.5±0.0	3.60±0.26
NK-09	รา	1.40±0.08	0.5±0.0	2.80±0.16
NK-10	รา	1.60±0.08	0.5±0.0	3.20±0.16
NK-11	รา	1.50±0.08	0.5±0.0	3.00±0.16
NK-12	รา	1.50±0.18	0.5±0.0	3.00±0.37
NK-13	รา	1.50±0.24	0.5±0.0	3.00±0.49
NK-14	รา	1.50±0.12	0.5±0.0	3.00±0.23
NK-15	รา	1.40±0.08	0.5±0.0	2.80±0.16
NK-21	รา	1.20±0.08	0.5±0.0	2.40±0.16
NK-22	รา	1.30±0.12	0.5±0.0	2.60±0.23
NK-23	รา	1.50±0.08	0.5±0.0	3.00±0.16
NK-24	รา	1.50±0.14	0.5±0.0	3.00±0.28
NK-30	รา	1.30±0.08	0.5±0.0	2.60±0.16
NK-32	รา	1.50±0.14	0.5±0.0	3.00±0.33
NK-33	รา	1.30±0.08	0.8±0.0	1.63±0.10
NK-40	รา	1.30±0.08	0.8±0.0	1.63±0.10
NK-41	รา	2.30±0.82	1.5±0.0	1.53±0.05
NK-16	แบคทีเรีย	1.00±0.14	0.2±0.0	5.00±0.71
NK-17	แบคทีเรีย	1.20±0.08	0.3±0.0	4.00±0.27
NK-18	แบคทีเรีย	3.40±0.08	0.3±0.0	11.33±0.28
NK-19	แบคทีเรีย	1.30±0.14	0.3±0.0	4.33±0.47
NK-20	แบคทีเรีย	1.30±0.08	0.2±0.0	6.50±0.41
NK-25	แบคทีเรีย	1.40±0.08	0.2±0.0	7.00±0.41
NK-26	แบคทีเรีย	2.50±0.08	0.3±0.0	8.33±0.28
NK-27	แบคทีเรีย	1.00± 0.82	0.2±0.0	5.00±0.41
NK-34	แบคทีเรีย	1.00±0.64	0.4±0.0	2.00±0.14

รหัสเชื้อ	เชื้อ	เส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (ซม.)	เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี (ซม.)	ประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส
NK-35	แบคทีเรีย	1.00±0.14	0.3±0.0	2.50±0.35
NK-36	แบคทีเรีย	1.00± 0.38	0.6±0.0	3.33±0.49
NK-37	แบคทีเรีย	1.00±0.04	0.4±0.0	1.67±0.12
NK-38	แบคทีเรีย	0.50± 0.08	0.3±0.0	1.25±0.45
NK-39	แบคทีเรีย	0.50±0.08	0.8±0.0	1.67±0.28
NK-42	แบคทีเรีย	5.05±0.13	0.3±0.0	16.83±0.43
NK-43	แบคทีเรีย	4.00 ± 0.08	1.2±0.0	4.38±0.13
NK-44	แบคทีเรีย	4.00 ± 0.82	1.0±0.0	4.00±0.82
NK-45	แบคทีเรีย	5.00 ± 0.82	1.2±0.0	4.17±0.68
NK-46	แบคทีเรีย	4.00 ±0.82	0.9±0.0	4.44±0.91

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

ภาพที่ 4.4 ประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสของแบคทีเรีย และเชื้อรา ทั้งห้าไอโซเลทแรกที่ คัดแยกจากสารเร่งซุปเปอร์ .พีอนอาหารcellulose congo red agar บ่มที่อุณหภูมิ45 องศาเซลเซียส นาน72 ชั่วโมง

4.2 การระบุชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลส

4.2.1 การระบุชนิดแบคทีเรีย

เมื่อนำแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสที่แยกมาจากปุ๋ยหมัก ดิน มูลสัตว์ เคี้ยวเอื้องและสารเร่งซุปเปอร์ พด. 1 มาระบุชนิดของเชื้อจุลินทรีย์โดยการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานทางวิทยา ได้แก่ ลักษณะรูปร่าง การจัดเรียงตัว ขนาดของเซลล์ การสร้างสปอร์ รูปร่างและตำแหน่งของสปอร์ ตรวจสอบลักษณะทางสรีรวิทยา ได้แก่ การติดสีแกรม และการ เคลื่อนที่ การเจริญในอาหารที่มีโซเดียมคลอไรด์6.5 เปอร์เซ็นต์ การเจริญที่อุณหภูมิ 50, 55, 60 และ 65 องศาเซลเซียส คุณสมบัติทางชีวเคมี ได้แก่ การสร้างเอนไซม์แคตาเลส ทริปโตฟาเนส เคซิเนส เจลาติเนส และอะไมเลส การสร้างกรดจากน้ำตาล ผลการศึกษาพบว่าแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสทุกไอโซเลทที่คัดแยกจากปุ๋ยหมัก มูลสัตว์ ดิน และสารเร่งซุปเปอร์ พด.1 พบว่า ส่วนใหญ่จัดจำแนกเป็นเชื้อ *Bacillus* คือ BD-01, BD-17, BD-18, BD-30, BD-27, PK-08, PK-14, PK-23, PK-27, S-40, NK-18, NK-25, NK-26 และ NK-42 (ตารางที่ 4.6-4.9) มีจำนวน 1 ไอโซเลท คัดแยกได้มูลสัตว์ จัดจำแนกเป็น *Pseudomonas* คือ PK-13 (ตารางที่ 4.7) และมีจำนวน 1 ไอโซเลท คัดแยกจากดินคือ โอโซเลท S-15 จัดจำแนกเป็นแบคทีเรียกลุ่ม Actinomycetes และแบคทีเรียคัดแยกสารเร่งซุปเปอร์ พด .1 ไอโซเลท NK-20 ไม่สามารถจัดจำแนกระบุจีนัส ได้เนื่องจากไม่สร้างสปอร์ และมีลักษณะสมบัติทางเคมีแตกต่างไปจากแบคทีเรียยีนัส *Bacillus* (ตารางที่ 4.9)

ตารางที่ 4.6 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ชีวเคมีและสรีรวิทยาบางประการของแบคทีเรียจากปุ๋ยหมักที่มีประสิทธิภาพการย่อยเซลลูโลสสูงสุด 5 ลำดับแรก

Characteristics	Isolate code				
	BD-01	BD-17	BD-18	BD-30	BD-27
Shape	Bacilli	Bacilli	Bacilli	Bacilli	Bacilli
Width (cm)	0.8-0.9	0.6-0.7	0.7-0.8	1.0-1.2	0.6-0.7
Length (cm)	2.5-2.7	1.8-1.9	2.3-2.5	1.9-2.0	2.1-2.5
Gram reaction	v	+	+	+	v
Spores shape	e	e	e	e	e
Spore position	s	c	c	s	s
Motility	+	+	+	+	+
Catalase test	+	+	+	+	+
V-P reaction test	+	+	+	-	+
Indole production	-	-	-	-	-
Methyl Red test	-	-	-	b	-
Starch hydrolysis	+	-	+	+	-
Gelatin hydrolysis	+	-	+	+	+
Casein hydrolysis	-	-	-	-	-
Nitrate reduction	+	+	+	+	-
Citrate utilization	-	+	b	b	+
Growth in 6.5% NaCl	+	-	+	+	+
Growth at 50 °C	+	+	+	+	+

Characteristics	Isolate code				
	BD-01	BD-17	BD-18	BD-30	BD-27
Growth at 55 °C	+	-	-	-	-
Growth at 60 °C	-	-	-	-	-
Growth at 65 °C	-	-	-	-	-
Acid from					
Arabinose	+	-	b	+	+
Glucose	+	+	+	+	+
Lactose	b	a	b	a	a
Manitol	b	a	a	a	b
Maltose	a	-	a	a	a
Raffinose	b	-	b	-	a
Sucrose	b	-	+	a	b

Key : + = 85-100% of the strains positive a = 50-84% of the strains positive
b = 15-49% of the stains positive - = 0-14% of the strains positive
e = ellipsoidal c = central
f = fermentative s = sub-terminal
v = character inconstant

ตารางที่ 4.7 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมีบางประการของแบคทีเรียจากมูลสัตว์เคี้ยวเอื้อง ทั้ง 5 ไอโซเลทที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้มีประสิทธิภาพสูง

Characteristics	Isolate code				
	PK-08	PK-13	PK-14	PK-23	PK-27
Shape	bacilli	bacilli	bacilli	bacilli	bacilli
Width (μm)	0.8-1.0	1.0-1.2	1.0-1.3	1.0-1.5	1.0-1.5
Length (μm)	3.0-5.0	2.0-3.0	3.0-5.0	2.0-5.0	3.0-5.0
Spores shape	e	-	e	e	e
Spore position	c	-	c	c	c
Gram reaction	+	-	+	+	+
Oxidase test	-	+	-	-	-
Indole production	-	-	-	-	-
Methyl Red test	-	-	-	-	-
Voges - Proskauer test	-	-	-	-	-
Starch hydrolysis	a	-	a	a	a
Gelatin hydrolysis	a	-	-	-	a
Casein hydrolysis	a	b	a	a	a
Catalase test	+	+	+	+	+
Nitrate reduction	+	-	+	+	+
Citrate Utilization	+	a	+	+	+
Growth 6.5% NaCl	-	-	-	-	-
Growth at 50 °C	+	-	+	+	+

Characteristics	Isolate code				
	PK-08	PK-13	PK-14	PK-23	PK-27
Growth at 55 °C	-	-	+	-	-
Growth at 60 °C	-	-	-	-	-
Growth at 65 °C	-	-	-	-	-
Acid form					
Arabinose	a	-	a	a	a
Glucose	a	-	+	a	a
Lactose	a	-	a	b	b
Mannitol	a	-	+	a	a
Maltose	a	-	a	a	a
Raffinose	a	-	a	a	a
Sucrose	a	-	b	b	a

Key : + = 85-100% of the strains positive a = 50-84% of the strains positive
b = 15-49% of the stains positive - = 0-14% of the strains positive
e = ellipsoidal c = central
f = fermentative s = sub-terminal

ตารางที่ 4.8 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ชีวเคมีและสรีรวิทยาของแบคทีเรียที่แยกจากดินไอโซเลท S-40 ที่มี ประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส

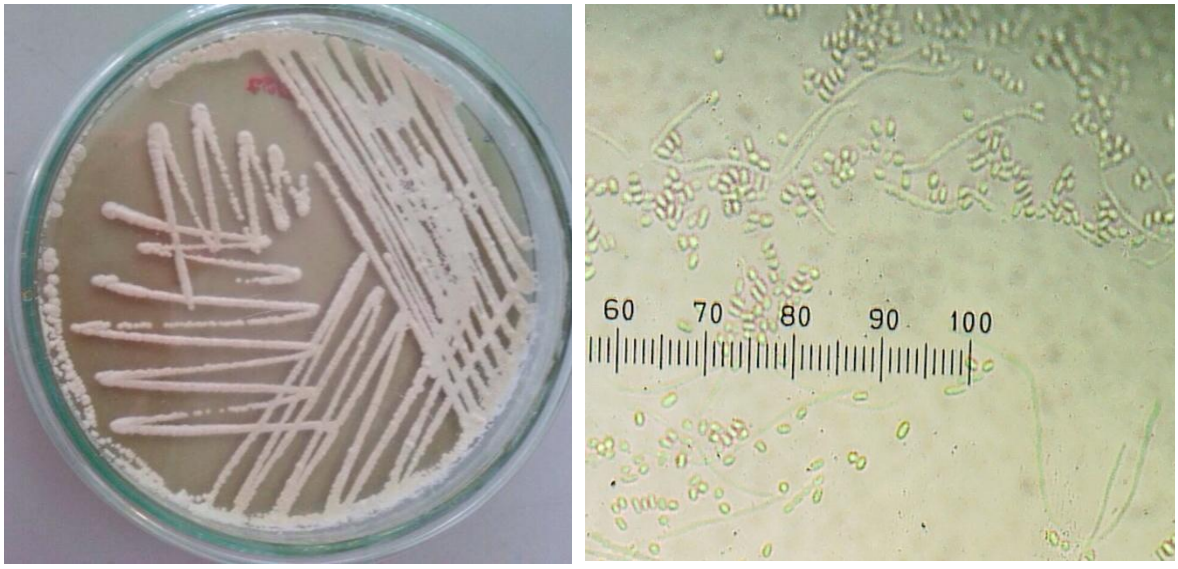
Characteristics	Isolate code S-40
Shape	Bacilli
Width (µm)	0.8-1.0
Length(µm)	2.0-3.0
Gram reaction	+
Spore shape	e
Spore position	c
Swellen cell	-
Oxidase test	-
Catalase test	+
Motility	+
Indole production	-
Lysine	-
Methyl Red test	-
Starch hydrolysis	+
Gelatin hydrolysis	-
Casein hydrolysis	+
Nitrate reduction	b
Citrate Utilization	b
V-P reaction	-

Characteristics	Isolate code S-40
Growth in 6.5% NaCl	-
Growth at 50 ℃	+
Growth at 55 ℃	-
Growth at 60 ℃	-
Growth at 65 ℃	-
Acid from	
Arabinose	a
Glucose	a
Lactose	a
Mannitol	a
Maltose	a
Raffinose	a
Sucrose	b

Key : + = 85-100% of the strains positive a = 50-84% of the strains positive
b = 15-49% of the stains positive - = 0-14% of the strains positive
e = ellipsoidal c = central
f = fermentative s = sub-terminal

ไอโซเลท S-15

มีลักษณะการเจริญบนอาหาร nutrient agar บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 14 ชั่วโมง ในที่มีแสงสว่างส่องถึงในเวลากลางวัน ลักษณะเจริญของโคโลนีอัดกันแน่น มีสีเทาเข้ม เกาะติดแน่นกับผิวหน้าอาหาร สีภายใต้จานเพาะเชื้ออาหารเป็นสีน้ำตาลเข้ม เส้นใยมีความกว้างขนาด 0.5-0.6 ไมโครเมตร มีสปอร์สีเขียวอ่อน รูปร่างรีขนาด (0.7-0.8) × (1-1.2) ไมโครเมตร เนื่องจากโคโลนีอัดกันแน่นจึงมองเห็นสปอร์ได้ยาก จึงได้เสมียร์ ทำให้ไม่สามารถเห็นการเรียงของสปอร์ได้ จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยา ตามหนังสือ Bergey's Manaul of Determinative Bacteriology (1994) พบว่าคุณสมบัติของแบคทีเรีย ไอโซเลท S-15 จัดเป็นแบคทีเรียกลุ่ม Actinomycetes



ก ข

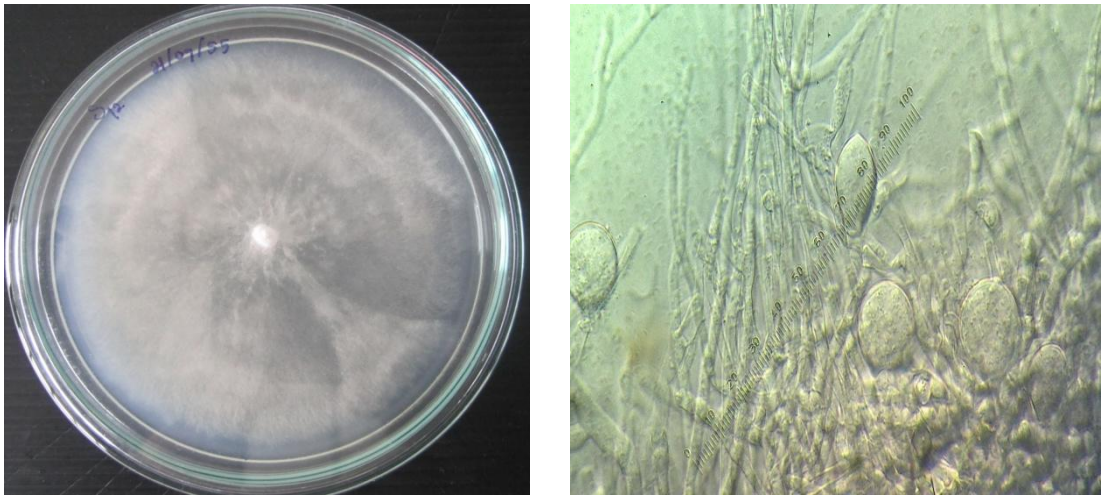
ภาพที่ 4.5 ลักษณะโคโลนีและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท S15 บนอาหาร nutrient agar บ่มที่อุณหภูมิห้องเซลเซียส นาน 14 วัน
ก. ลักษณะโคโลนี
ข. ลักษณะสปอร์และเส้นใย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด bright field กำลังขยาย 1,000 เท่า

4.2.2 การระบุชนิดเชื้อรา

จากผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสสูง โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิด bright field ศึกษาโครงสร้างสัณฐานวิทยาของราที่คัดแยกได้จากดิน คือ ไอโซเลท S-12 และ ไอโซเลท S-41 บนอาหาร potato dextrose agar บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 7 วัน ในที่มีแสงสว่างตอนกลางวันส่องถึง ดังนี้

ไอโซเลท S-12

มีลักษณะการเจริญของโคโลนีมีสีขาว ละเอียด ฟูเล็กน้อย สีภายใต้จานเพาะเชื้ออาหารเป็นสีเหลือง เส้นใยมีความกว้างขนาด 2.0-5.0 ไมโครเมตร ส่วนปลายของเส้นใยจะโป่งมีลักษณะคล้ายถุงหุ้มขนาด (13.0-20.0) × (15.0-20.0) ไมโครเมตร และไม่พบการสร้างสปอร์ เส้นไยไม่มีผนังกั้น (non septate hypha) จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยา ตามหนังสือ illustrated genera of imperfect fungi (Barnett, 1999) พบว่าคุณสมบัติของเชื้อรา ไอโซเลท S12 ยังไม่สามารถระบุจีนัสได้ เนื่องจากเป็นเชื้อราที่ไม่สร้างโครงสร้างสืบพันธุ์



ก ข

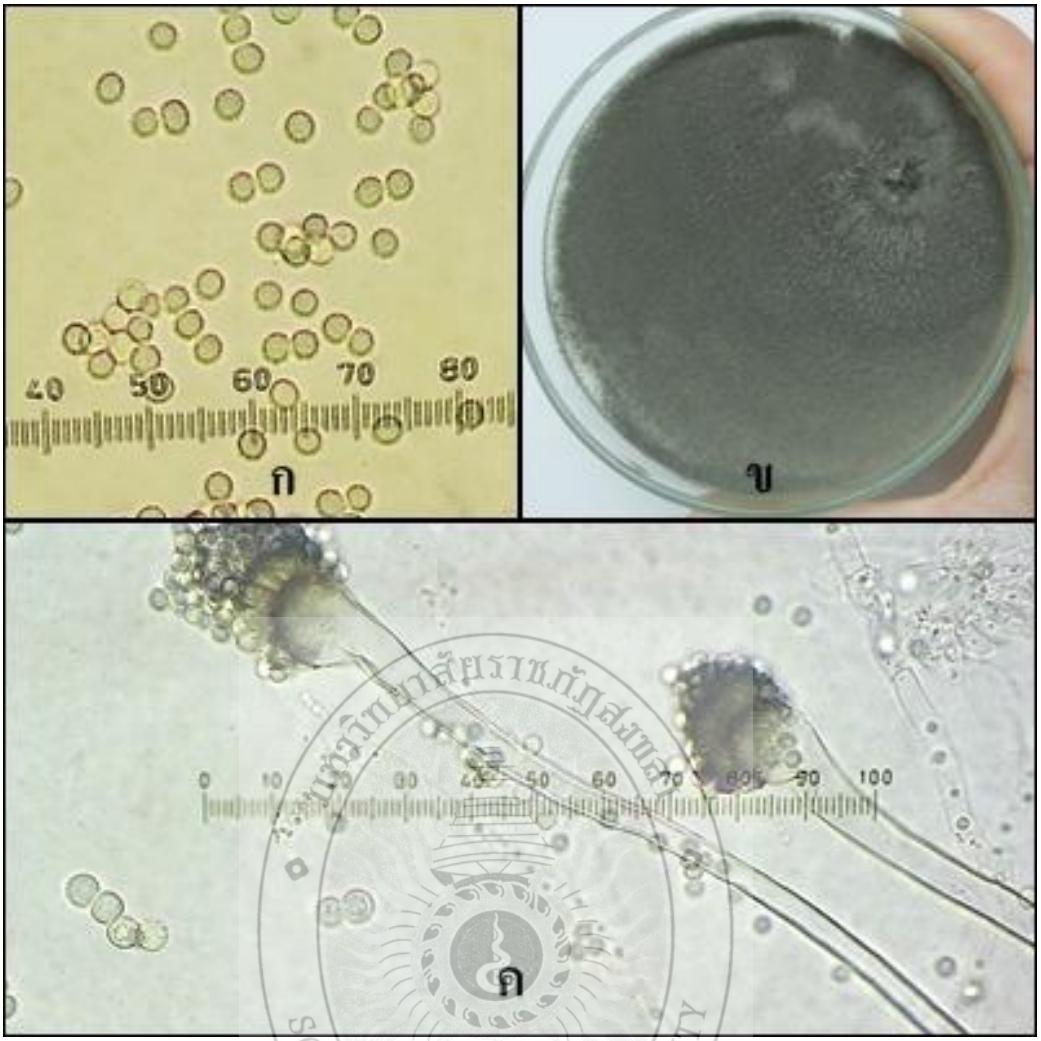
ภาพที่ 4.6 ลักษณะโคโลนีและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท S12 บนอาหาร potato dextrose agar บ่มอุณหภูมิห้อง นาน 7 วัน

ก. ลักษณะโคโลนี

ข. ลักษณะเส้นใยของไอโซเลท S12 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด bright field กำลังขยาย 1,000 เท่า

ไอโซเลท S-41

เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 24 ชั่วโมง โคโลนีมีสีขาว ฟูเล็กน้อย ต่อมาประมาณ 72 ชั่วโมง เส้นใยฟู สีภายใต้จานเพาะเชื้ออาหารเป็นสีเขียว สปอร์สีเขียวขี้ม้า เส้นใยมีความกว้างขนาด 1.5-2.0 ไมโครเมตร คอนิดิโอฟอร์มีขนาด (4.88-7.32) × (190.32-239.12) ไมโครเมตร เฟียไลด์มีขนาด (1.0-2.0) × (4.0-7.0) ไมโครเมตร แวซิเคิลมีขนาด (12.0-20.0) × (20.0-35.0) ไมโครเมตร โคนิดิโอสปอร์มีขนาด 2.0-3.0 ไมโครเมตร จากการเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยา ตามหนังสือ illustrated genera of imperfect fungi (Barnett, 1999) พบว่าคุณสมบัติของเชื้อรา ไอโซเลท S-41 อยู่ใน จีนัส *Aspergillus* sp.



ภาพที่ 4.7 ลักษณะของโคโลนีและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท S-41 บนอาหาร potato dextrose agar บ่มอุณหภูมิห้อง นาน 7 วัน

ก. ลักษณะโคนิโอสปอร์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด bright field กำลังขยาย 1,000 เท่า

ข. ลักษณะโคโลนี

ค. ลักษณะโครงสร้างสืบพันธุ์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด bright field กำลังขยาย 400 เท่า

ตารางที่ 4.9 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ชีวเคมีและสรีรวิทยาบางประการของแบคทีเรียจากสารเร่งซุปเปอร์ พด.1 ที่มีประสิทธิภาพการในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสสูงสุด 5 ลำดับแรก

Characteristics	Isolate code				
	NK-18	NK-20	NK-25	NK-26	NK-42
Shape	Bacilli	Bacilli	Bacilli	Bacilli	Bacilli
Width (cm)	1.0-1.2	1.0-1.2	1.0-1.3	1.0-1.3	1.0-1.3
Length (cm)	3.0-3.5	3.5-3.9	4.5-5.0	3.3-3.7	3.5-4.0
Gram reaction	V	+	+	+	v
Spores shape	e	-	e	e	e
Endospore staining	+	-	+	+	+
Spore position	c	-	c	s	c
Motility	+	+	+	+	+
Catalase test	+	+	+	+	+
V-P reaction test	+	+	+	-	+
Indole production	-	-	-	-	-
Methyl Red test	-	+	-	b	-
Starch hydrolysis	+	+	-	-	+
Gelatin hydrolysis	+	+	+	+	+
Casein hydrolysis	+	+	+	+	+
Nitrate reduction	-	-	+	+	-
Citrate Utilization	+	+	b	+	+
Growth in 6.5% NaCl	+	-	-	+	-
Growth at 50 °C	+	+	+	+	+
Growth at 55 °C	-	-	-	-	-
Growth at 60 °C	-	-	-	-	-
Growth at 65 °C	-	-	-	-	-
Acid from					
Arabinose	+	-	-	+	-
Glucose	+	+	+	+	+
Lactose	b	a	b	a	a
Manitol	a	-	a	-	a
Maltose	-	-	a	a	a
Raffinose	-	-	b	-	a
Sucrose	b	-	+	a	b

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

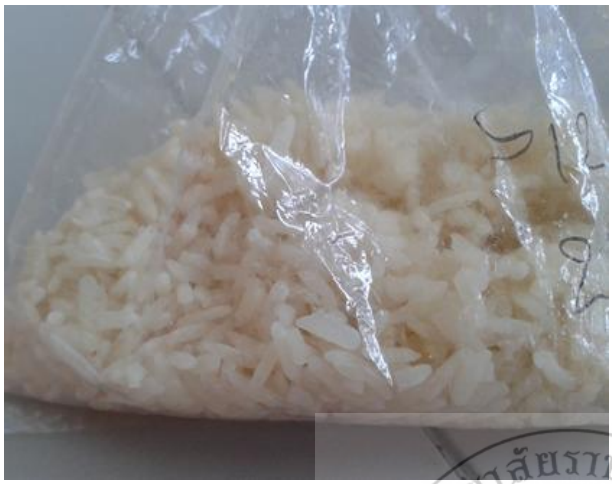
Key : + = 85-100% of the strains positive a = 50-84% of the strains positive
b = 15-49% of the stains positive - = 0-14% of the strains positive
c = central; e=ellipsoidal f = fermentative
s = subterminal v = character inconstant

งานวิจัยนี้พบว่า แบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์เซลลูโลสได้ดี คือ แบคทีเรียจีนัส *Bacillus* spp. ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Puspita L. และคณะ (2012) พบว่า แบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสจากดินพรุบริเวณโอกัน โกเมอริง อัลเลอร์ ประเทศอินโดนีเซีย และยังพบว่ามีแบคทีเรียจีนัส Actinomycetes บางชนิด สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้ดี สอดคล้องกับงานวิจัยของ นันทวัน ฤทธิ์เดช (2556) ซึ่งพบว่ามีแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยซีทที่สามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเพื่อผลิตน้ำตาลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร จากพื้นที่แปลงทดลองเขื่อนจุฬาภรณ์ จังหวัดชัยภูมิ ส่วนเชื้อราพบว่าไอโซเลทS-41 อยู่ในจีนัส *Aspergillus* spp. มีความประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูโลสซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ เสาวภา สุราวุธ และคณะ (2553) ที่สามารถคัดแยกเชื้อรา *Aspergillus* spp. ที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สูง จากดินในพื้นที่ป่าโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี และ นิชรัตน์ ศรีโสภณ และคณะ (2558) ซึ่งพบว่าจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลสที่ย่อยสลายปุ๋ยหมัก ผักตบชวา คือเชื้อราจีนัส *Aspergillus* หลายชนิด

4.3 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยสลายฟางข้าวในห้องปฏิบัติการ

4.3.1 ลักษณะทางกายภาพของฟางข้าวหมักด้วยจุลินทรีย์ในถุงพลาสติก

การวิจัยนี้ได้คัดเลือกเชื้อรา 3 ไอโซเลท มาศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายฟางข้าว คือ S-12 S-15 และ S-41 ซึ่งทุกไอโซเลทคัดแยกมาจากดิน ทั้งนี้มีประสิทธิภาพในการย่อยเซลลูโลสในอาหารแข็งจากการสังเกตการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ในวัตถุดิบข้าวเหนียวนึ่งฆ่าเชื้อ พบว่าไอโซเลท S-41 (*Aspergillus* sp. S-41) มีการเจริญรวดเร็วและสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด สำหรับไอโซเลท S-12 เจริญได้น้อยและช้ามากที่สุด (ภาพที่ 4.8) จากการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายฟางข้าวในห้องปฏิบัติพบว่าเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ทุกสูตรของการทดลองมีการย่อยสลายน้อยมาก โดยไม่เห็นการเปลี่ยนแปลงของฟางข้าว และฟางข้าวมีลักษณะแห้ง มองด้วยตาไม่เห็นการเจริญของจุลินทรีย์ จึงได้ปรับเปลี่ยนสภาวะการบ่มเป็นอุณหภูมิห้อง พบว่าเมื่อบ่มนาน 42 วัน สูตรที่ 3 มีหัวเชื้อจุลินทรีย์ชนิดเดียวคือ ไอโซเลท S-12 (Actinomycetes) มีการย่อยสลายฟางข้าวได้ดีกว่าสูตรอื่น ๆ โดยฟางข้าวเปื่อยยุ่ยมากที่สุด เปียกแฉะ มีสีน้ำตาลอ่อนและมีเส้นใยสีขาวบนฟางข้าวเล็กน้อย รองลงมาคือสูตรที่ 2 โดยสูตรที่ 2 มีหัวเชื้อจุลินทรีย์เพียงชนิดเดียวคือ เชื้อราไอโซเลท S-41 ฟางข้าวเปื่อยยุ่ยมาก เปียกแฉะ มีสีน้ำตาลเข้มและมีสปอร์สีเขียวของจุลินทรีย์บนฟางข้าว ส่วนสูตรที่ 5 และสูตรที่ 7 ฟางข้าวเปื่อยยุ่ยระดับปานกลาง โดยสูตรที่ 5 ฟางข้าวมีสีน้ำตาลและมีเส้นใยสีขาวเล็กน้อยของจุลินทรีย์เนื่องจากมีหัวเชื้อจุลินทรีย์ 2 ชนิด คือ ไอโซเลท S-12 และ ไอโซเลท S-15 สำหรับสูตรที่ 7 มีหัวเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด ทำให้ฟางข้าวมีสีน้ำตาลเข้มและมีสปอร์สีเขียวบนฟางข้าว ส่วนสูตรที่ 4 ฟางข้าวเปื่อยเล็กน้อย มีสปอร์สีเขียวของจุลินทรีย์ และสูตรที่ 1 และ 6 ฟางข้าวแข็งไม่ค่อยแตกต่างจากชุดควบคุม (ภาพที่ 4.9) ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้คัดเลือกจุลินทรีย์ไอโซเลท S-41 เพื่อทำการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายฟางข้าวในภาคสนามเนื่องจากทำให้ฟางข้าวเปื่อยยุ่ยได้ในระดับดี จุลินทรีย์เจริญได้ดี สร้างสปอร์ปริมาณมาก จึงง่ายแก่การเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณสำหรับการหมักฟางข้าวในปริมาณมาก



ก.

ข.

ค.

ภาพที่ 4.8 หัวเชื้อจุลินทรีย์เพาะเลี้ยงในข้าวเหนี่ยวนึ่งในถุงพลาสติก บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 7 วัน
ก. ไอโซเลท S-12 ข. ไอโซเลท S-15 ค. ไอโซเลท S-41

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

ภาพที่ 4.9 ลักษณะของฟางข้าวที่ย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ จำนวน 7 สูตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 42 วัน

Control ไม่มีจุลินทรีย์ สูตรที่ 1 จุลินทรีย์ไอโซเลท S-15

สูตรที่ 2 จุลินทรีย์ไอโซเลท S-41 สูตรที่ 3 จุลินทรีย์ไอโซเลท S-12

สูตรที่ 4 จุลินทรีย์ไอโซเลท S-15 และ S-41 สูตรที่ 5 จุลินทรีย์ ไอโซเลท S-15 และ S-12

สูตรที่ 6 จุลินทรีย์ ไอโซเลท S-12 และ S-41 สูตรที่ 5 จุลินทรีย์ ไอโซเลท S-12 S-15 และ S-41

SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

4.3.2 ค่าความเป็นกรด-ด่างของฟางข้าวหมักด้วยจุลินทรีย์ในถุงพลาสติก

จากการวัดค่าความเป็นกรด -ด่างของฟางข้าวที่ย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ทั้ง 7 สูตร ตั้งแต่วันที่ 0 ถึงครบ 42 วัน ผลการทดลองพบว่า ในวันที่ 0 ทุกสูตร มีความเป็นกรด -ด่าง อยู่ในระดับเป็นกลาง มีค่าตั้งแต่ 6.48±0.26 ถึง 7.04±0.11 ในช่วง 14 วันแรก คือสูตรที่ 3 และสูตรที่ 2 (สูตรที่มีการย่อยสลายดีที่สุดและรองลงมา) มีความเป็นกรด -ด่างของฟางข้าววัดในน้ำลดลงจากเดิม ทำให้มีความเป็นกรด -ด่างมีระดับเป็นกรดเล็กน้อย ดังนี้ สูตรที่ 3 และสูตรที่ 2 เท่ากับ 5.76±0.11 และ 5.87±0.61 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองนาน 42 วัน มีความเป็นกรด-ด่างลดลงมากขึ้นทำให้มีสภาพเป็นกรดจัด เท่ากับ 5.26±0.12 และ 5.32±0.50 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการปลดปล่อยกรดอินทรีย์จากเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของบุญส่ง แก้วจรัส (2553) ซึ่งพบว่ากองปุ๋ยหมักที่มีการเติมจุลินทรีย์อีเอ็ม (อีเอ็มคิวเซ) สารเร่งเอฟ-60 (บริษัทปุ๋ยไบโอนิค) และหัวเชื้อ พด. 1 (กรมพัฒนาที่ดิน) มีการลดลงของความเป็นกรด -ด่างลงต่ำสุดเมื่อหมักนาน 40 วัน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.7 , 4.9 และ 5.3 ตามลำดับ ส่วนสูตรอื่น ๆ ความเป็นกรด-ด่างมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย โดยเมื่อครบเวลา 42 วัน พบว่า สูตรที่ 1 , 4, 5, 6 และ 7 ความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 7.88±0.25, 7.39±0.41, 7.12±0.35, 7.94±0.19 และ 7.13±0.37 ตามลำดับ อยู่ในระดับเป็นกลาง-ด่างอ่อน (ตารางที่ 4.10)

ตารางที่ 4.10 ความเป็นกรด-ด่างวัดในน้ำของฟางข้าวหมักด้วยจุลินทรีย์ในถุงพลาสติก บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 42 วัน

สูตรที่	ความเป็นกรด-ด่างวัดในน้ำ						
	0 วัน	7 วัน	14 วัน	21 วัน	28 วัน	35 วัน	42 วัน
Control	6.97±0.05	7.29±0.20	7.49±0.12	7.51±0.11	7.44±0.16	7.91±0.11	7.97±0.07
1	7.04±0.11	7.67±0.05	7.37±0.13	7.33±0.48	7.18±0.61	7.21±0.54	7.88±0.25
2	6.89±0.15	6.58±0.45	5.87±0.61	5.33±0.22	5.82±0.63	5.37±0.19	5.32±0.50
3	6.63±0.11	6.86±0.04	5.76±0.11	5.41±0.36	5.16±0.04	6.59±0.75	5.26±0.12
4	7.04±0.12	7.23±0.49	6.58±0.22	7.81±0.13	7.45±0.27	7.44±0.25	7.39±0.41
5	6.62±0.34	6.99±0.49	7.24±0.02	6.54±0.56	6.59±0.91	7.75±0.22	7.12±0.35
6	6.69±0.25	6.68±0.60	7.06±0.19	7.13±0.40	7.45±0.59	7.92±0.32	7.94±0.19
7	6.48±0.26	7.16±0.01	7.17±0.04	6.70±0.56	6.24±0.29	8.08±0.17	7.13±0.37

หมายเหตุ : Control : ไม่มีจุลินทรีย์, สูตรที่ 1 : ไอโซเลท S-15 สูตรที่ 2 : ไอโซเลท S-41 , สูตรที่ 3 :ไอโซเลท S-12, สูตรที่ 4 : ไอโซเลท S-15 และ S-41 สูตรที่ 5 : ไอโซเลท S-15 และ S-12 , สูตรที่ 6 ไอโซเลท S12 และ S-41 สูตรที่ 7 : ไอโซเลท S-12, S-15 และ S-41

4.3.3 อินทรียวัตถุของฟางข้าวหมักด้วยจุลินทรีย์ในถุงพลาสติก

ในการวิจัยครั้งนี้ไม่ได้ปรับสัดส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน และใช้จุลินทรีย์ในการหมักจำนวน 3 ชนิดคือจุลินทรีย์ไอโซเลท S-12 S-15 และ S-41 โดยวัตถุดิบปริมาณเท่ากันในทุกสูตรการทดลองคือมูลวัว 1 กรัม ดิน 1 กรัม และฟางข้าว 20 กรัม (ตารางที่ 3.1) ผลการทดลองพบว่า เมื่อบ่มนาน 42 วัน ชุดควบคุม(ไม่มีเชื้อจุลินทรีย์) ไม่สามารถวิเคราะห์ร้อยละของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนของฟางข้าวหมักได้ ไม่สามารถวิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนได้ด้วยวิธีการ ประยุกต์ใช้วิธีการของ Walkley และ Black

(คู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์, 2551) เนื่องจากปฏิกิริยาการย่อยตัวอย่างฟางข้าวหมักในถุงพลาสติกด้วยกรดซัลฟูริก แล้วทำการออกซิไดซ์อินทรียคาร์บอนในปุ๋ยอินทรีย์ด้วยกรดโครมิกที่มากเกินพอ จากนั้นไทเตรทกรดโครมิกที่เหลือจากการทำปฏิริยาด้วยสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟตนั้นไม่สมบูรณ์ เนื่องจากตัวอย่างฟางข้าวย่อยสลายได้น้อยมาก กล่าวคือ เมื่อเสร็จสิ้นการแช่ให้มีการทำปฏิกิริยานาน ไม่น้อยกว่า 16 ชั่วโมง สารละลายไม่มีการเปลี่ยนสี ยังคงสีน้ำเงิน เมื่อมีการเติมสารอินดิเคเตอร์ diphenylamine ลงไปไม่มีการเปลี่ยนสีเช่นเดียวกัน ดังนั้นเมื่อไทแตรทด้วยสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟตจึงไม่มีจุดสิ้นสุด (end point) และส่วนสูตรทดลองที่ 2-7 มีร้อยละของปริมาณอินทรียวัตถุตั้งแต่ 51.04-64.50

ตารางที่ 4.11 ปริมาณของอินทรียวัตถุของฟางข้าวหมักในถุงพลาสติก บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 42 วัน

สูตรที่	ปริมาณของอินทรียวัตถุของฟางข้าวหมัก (ร้อยละ)						
	บ่ม 0 วัน	บ่ม 7 วัน	บ่ม 14 วัน	บ่ม 21 วัน	บ่ม 28 วัน	บ่ม 35 วัน	บ่ม 42 วัน
C	-	-	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-	-	64.50
2	-	-	-	-	-	-	60.55
3	-	-	-	-	-	-	51.04
4	-	-	-	-	-	-	60.13
5	-	-	-	-	-	-	64.00
6	-	-	-	-	-	-	64.10
7	-	-	-	-	-	-	63.80

หมายเหตุ : Control : ไม่เติมจุลินทรีย์, สูตรที่ 1 : ไอโซเลท S-15 สูตรที่ 2 : ไอโซเลท S-41 , สูตรที่ 3 :ไอโซเลท S-12, สูตรที่ 4 : ไอโซเลท S-15 และ S-41 สูตรที่ 5 : ไอโซเลท S-15 และ S-12 , สูตรที่ 6 ไอโซเลท S12 และ S-41 สูตรที่ 7 : ไอโซเลท S-12, S-15 และ S-41

– หมายถึงสารละลายไม่เปลี่ยนสีเมื่อเติมอินดิเคเตอร์ลงไปทำให้ไม่สามารถไทรเตรท วิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์คาร์บอนและปริมาณอินทรีย์วัตถุได้

4.3.4 ค่า C/N ratio ของฟางข้าวหมักด้วยจุลินทรีย์ในถุงพลาสติก

เมื่อบ่มนาน 35 วัน ผลการทดลองพบว่า ทุกสูตรการทดลองไม่สามารถวิเคราะห์ค่าปริมาณอินทรีย์คาร์บอนได้ จึงไม่สามารถหาค่า C/N ratio ได้ เมื่อบ่มนานครบ 42 วัน พบว่าสูตรการทดลองที่ 2-7 สามารถวิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนสามารถแบ่งได้ แต่มีปริมาณสูงมาก และเมื่อวิเคราะห์ ค่า C/N ratio จึงมีค่าสูงมากเช่นเดียวกัน และในแต่ละสูตรได้ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ตลอดระยะเวลา 42 วัน อาจเป็นไปได้ว่าจุลินทรีย์และมูลสัตว์ที่ใช้ในการหมักอาจจะคลุกเคล้าไม่ทั่วถึงทั่วทั้งถุง ทำให้มีการย่อยสลายไม่เท่ากัน จึงทำให้การวัดปริมาณอินทรีย์คาร์บอนและปริมาณไนโตรเจนซึ่งมาจากการสุ่มตัวอย่างนั้นมีค่าขึ้น–ลง ตลอดช่วงเวลาการหมักในถุงพลาสติก (ตารางที่ 4.12)

ตารางที่ 4.12 ปริมาณของอินทรีย์คาร์บอนและไนโตรเจนของฟางข้าวหมักในถุงพลาสติก บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 42 วัน

สูตรที่	ปริมาณของอินทรีย์คาร์บอนและไนโตรเจน													
	บ่ม 0 วัน		บ่ม 7 วัน		บ่ม 14 วัน		บ่ม 21 วัน		บ่ม 28 วัน		บ่ม 35 วัน		บ่ม 42 วัน	
	%O.C	%TN	%O.C	%TN	%O.C	%TN	%O.C	%TN	%O.C	%TN	%O.C	%TN	%O.C	%TN
Control	-	0.05	-	0.12	-	0.23	-	0.30	-	0.12	-	0.41	-	0.12
1	-	0.36	-	0.53	-	0.48	-	0.23	-	0.23	-	0.67	37.4	0.48
2	-	0.30	-	0.23	-	0.77	-	0.41	-	0.36	-	0.35	35.1	0.36
3	-	0.31	-	0.41	-	0.41	-	0.18	-	0.48	-	0.35	29.6	0.36
4	-	0.12	-	0.48	-	0.30	-	0.23	-	0.53	-	0.23	34.8	0.48
5	-	0.30	-	0.53	-	0.35	-	0.30	-	0.41	-	0.42	37.4	0.35
6	-	0.23	-	0.66		0.23	-	0.23	-	0.48	-	0.41	37.2	0.41
7	-	0.23	-	0.41		0.35	-	0.23	-	0.23	-	0.58	37.0	0.35

หมายเหตุ : Control : ไม่เติมจุลินทรีย์, สูตรที่ 1 : ไอโซเลท S-15 สูตรที่ 2 : ไอโซเลท S-41 , สูตรที่ 3 :ไอโซเลท S-12, สูตรที่ 4 : ไอโซเลท S-15 และ S-41 สูตรที่ 5 : ไอโซเลท S-15 และ S-12 , สูตรที่ 6 ไอโซเลท S12 และ S-41 สูตรที่ 7 : ไอโซเลท S-12, S-15 และ S-41

– หมายถึงสารละลายไม่เปลี่ยนสีเมื่อเติมอินดิเคเตอร์ลงไปทำให้ไม่สามารถไทรเตรท วิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์คาร์บอนและปริมาณอินทรีย์วัตถุได้

ตารางที่ 4.13 ค่า C/N ratio ของฟางข้าวหมักในถุงพลาสติก บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 42 วัน

สูตรที่	ค่า C/N ratio ของของฟางข้าวหมัก						
	บ่ม 0 วัน	บ่ม 7 วัน	บ่ม 14 วัน	บ่ม 21 วัน	บ่ม 28 วัน	บ่ม 35 วัน	บ่ม 42 วัน
Control	-	-	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-	-	77.92
2	-	-	-	-	-	-	97.50
3	-	-	-	-	-	-	82.22
4	-	-	-	-	-	-	72.50
5	-	-	-	-	-	-	106.85
6	-	-	-	-	-	-	90.73
7	-	-	-	-	-	-	105.71

หมายเหตุ : Control : ไม่เติมจุลินทรีย์, สูตรที่ 1 : ไอโซเลท S-15 สูตรที่ 2 : ไอโซเลท S-41 , สูตรที่ 3 :ไอโซเลท S-12, สูตรที่ 4 : ไอโซเลท S-15 และ S-41 สูตรที่ 5 : ไอโซเลท S-15 และ S-12 , สูตรที่ 6 ไอโซเลท S12 และ S-41 สูตรที่ 7 : ไอโซเลท S-12, S-15 และ S-41

– หมายถึงสารละลายไม่เปลี่ยนสีเมื่อเติมอินดิเคเตอร์ลงไปทำให้ไม่สามารถไทรเตรท วิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์คาร์บอนและปริมาณอินทรีย์วัตถุได้

ในการวิเคราะห์ปริมาณสารอินทรีย์คาร์บอนฟางข้าวหมักในถุงพลาสติกในครั้งนี้ เนื่องมาจากจุลินทรีย์ย่อยสลายฟางข้าวได้ไม่ดี อาจเนื่องมาจากการทดลองทำการหมักในถึงพลาสติก ยากแก่การควบคุมความชื้น ทำให้อากาศถ่ายเทไม่สะดวก จึงเกิดความชื้นสะสมเพิ่มขึ้นหลังมีการย่อยสลาย ทำให้ฟางข้าวหมักเปียกชื้น แฉะ ทำให้เชื้อจุลินทรีย์การเจริญไม่ดีเท่าที่ควร จึงอาจเป็นสาเหตุเกิดการย่อยสลายไม่ดีเท่าที่ควร ยังคงมีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนสูงมากจึงทำให้ไม่สามารถวัดค่าปริมาณอินทรียวัตถุคาร์บอนได้ และเนื่องงานวิจัยนี้วัตถุดิบในแต่ละชุดทดลองมีสัดส่วนเท่ากัน หัวเชื้อที่ใช้มีน้ำหนักเท่ากัน ซึ่งได้เพาะเลี้ยงในข้าวเหนียว ดังนั้นปริมาณของอินทรียวัตถุคาร์บอนและปริมาณไนโตรเจนส่วนหนึ่งได้มาจากข้าวเหนียวด้วย

4.4 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยสลายฟางข้าวในภาคสนาม

จากการศึกษาเปรียบเทียบการย่อยสลายฟางข้าวในภาคสนามโดยเลือกใช้ จุลินทรีย์ *Aspergillus* sp. S-41 เนื่องจากเพาะเชื้อได้ง่าย และเจริญและสร้างสปอร์รวดเร็ว จึงเหมาะสมสำหรับการนำมาใช้ในการย่อยสลายฟางข้าวในปริมาณมาก ๆ ได้ โดยในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการทดลองแต่ละชุดการทดลอง 3 ซ้ำ โดยใช้วัตถุดิบการหมักตามสัดส่วนของการทำปุ๋ยหมักด้วยสารเร่ง พด .1 เนื่องจากเกษตรกรสามารถปฏิบัติได้ง่าย ลงทุนต่ำ วิธีการไม่ซับซ้อนและยุ่งยาก คือใช้ฟางข้าว 1,000 กิโลกรัม มูลวัว 200 กิโลกรัม ยูเรีย 2 กิโลกรัม และหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญในข้าวเหนียวนึ่ง ใส่ลงไปในปริมาณที่แตกต่างกัน คือ ชุดควบคุมไม่มีหัวเชื้อจุลินทรีย์ (C) ชุดที่ 1, 2, 3 และ 4 มีจุลินทรีย์ จำนวน 10^{8} 10^{9} 10^{10} 10^{11} ตามลำดับ และชุดที่ 5 หมักด้วยสารเร่ง พด.1 ในปริมาณ 10^{10} (ตามวิธีการหมักของกรมพัฒนาที่ดิน , 2546) โดยในการศึกษาครั้งนี้ได้ลดสัดส่วนฟางข้าวในแต่ละชุดการทดลองให้เหลือ 15 กิโลกรัม

4.4.1 ลักษณะทางกายภาพของฟางข้าวหมักด้วยจุลินทรีย์

เมื่อเปรียบเทียบฟางข้าวที่หมักนานครบ 42 วัน กับเมื่อช่วงเริ่มต้นของการหมัก (หมัก 0 วัน) พบว่าในทุกชุดการทดลองสามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงด้วยตาเปล่า โดยทุกชุดการทดลองที่หมักด้วยจุลินทรีย์ *Aspergillus* sp. S-41 มีสีน้ำตาลเข้ม ยกเว้นชุดทดลองที่ 5 ซึ่งหมักด้วยสารเร่ง พด .1 นั้นฟางข้าวมีสีอ่อนกว่าชุดทดลองอื่น ๆ และลักษณะทางกายภาพของฟางข้าวหมักด้วย *Aspergillus* sp. S-41 ในชุดการทดลองที่ 1 และ 2 มีลักษณะใกล้เคียงกับชุดควบคุมมาก โดยขนาดของฟางข้าวมีขนาดเล็กลง และชุดการทดลองที่ 3 และ 4 มีลักษณะเปื่อยยุ่ยและขนาดเล็กลงอย่างชัดเจน (ภาพที่ 4.10-4.11)

Control ชุดการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 2

ชุดการทดลองที่ 3 ชุดการทดลองที่ 4 ชุดการทดลองที่ 5

ภาพที่ 4. 10 ลักษณะของฟางข้าวที่ย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ไอโซเลท S-41 จำนวน 7 ชุดการทดลอง หมักนาน 0 วัน

ชุดควบคุม ไม่เติมจุลินทรีย์

ชุดการทดลองที่ 1 : มีปริมาณจุลินทรีย์ ไอโซเลท S-15 เท่ากับ 10^{8} สปอร์ต่อปริมาณฟางข้าว 1,000 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 2 : มีปริมาณจุลินทรีย์ ไอโซเลท S-15 เท่ากับ 10^{9} สปอร์ต่อปริมาณฟางข้าว 1,000 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 3 : มีปริมาณจุลินทรีย์ ไอโซเลท S-15 เท่ากับ 10^{10} สปอร์ต่อปริมาณฟางข้าว 1,000 กิโลกรัม,

ชุดการทดลองที่ 4 : มีปริมาณจุลินทรีย์ ไอโซเลท S-15 เท่ากับ 10^{11} สปอร์ต่อปริมาณฟางข้าว 1,000 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 5 : มีปริมาณสารเร่ง พด.1 ในปริมาณ 10^{10} สปอร์ (เซลล์)ต่อปริมาณฟางข้าว 1,000 กิโลกรัม

Control

ชุดการทดลองที่ 1

ชุดการทดลองที่ 2

ชุดการทดลองที่ 3

ชุดการทดลองที่ 4

ชุดการทดลองที่ 5

ภาพที่ 4.11 ลักษณะของฟางข้าวที่ย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ไอโซเลท S-41 จำนวน 7 ชุดการทดลอง หมักนาน 42 วัน
ชุดควบคุม ไม่เติมจุลินทรีย์
ชุดการทดลองที่ 1 : มีปริมาณจุลินทรีย์ ไอโซเลท S-15 เท่ากับ 10^{8} สปอร์ต่อปริมาณฟางข้าว 1,000 กิโลกรัม
ชุดการทดลองที่ 2 : มีปริมาณจุลินทรีย์ ไอโซเลท S-15 เท่ากับ 10^{9} สปอร์ต่อปริมาณฟางข้าว 1,000 กิโลกรัม
ชุดการทดลองที่ 3 : มีปริมาณจุลินทรีย์ ไอโซเลท S-15 เท่ากับ 10^{10} สปอร์ต่อปริมาณฟางข้าว 1,000 กิโลกรัม,
ชุดการทดลองที่ 4 : มีปริมาณจุลินทรีย์ ไอโซเลท S-15 เท่ากับ 10^{11} สปอร์ต่อปริมาณฟางข้าว 1,000 กิโลกรัม
ชุดการทดลองที่ 5 : มีปริมาณสารเร่ง พด.1 ในปริมาณ 10^{10} สปอร์ (เซลล์)ต่อปริมาณฟางข้าว 1,000 กิโลกรัม

4.4.2 ค่าความเป็นกรด-ด่างของฟางข้าวหมักด้วยจุลินทรีย์

เมื่อหมักฟางข้าวด้วยจุลินทรีย์ไอโซเลท S-41 นาน 42 วัน พบว่าความเป็นกรด -ด่างของฟางข้าวหมักวัดในน้ำในของทุกชุดการทดลองอยู่ในเกณฑ์ขั้นต่ำตามประกาศกรมวิชาการเกษตร และสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ โดยได้กำหนดไว้ว่าปฏิกริยากรด -ด่าง ในช่วง 5.5-8.5 (กรมวิชาการเกษตร , 2558) โดยในการศึกษาครั้งนี้สามารถแบ่งความเป็นกรด -ด่างได้เป็น 2 ช่วงคือ ช่วงด่างอ่อนคือชุดการทดลองที่ 2 และ 1 มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.63 และ 7.72 ตามลำดับ และช่วงด่างอ่อนปานกลาง คือชุดการทดลองควบคุม ชุดทดลองที่ 3, 4 และ 5 มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 7.99, 8.05, 8.03 และ 8.38 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.14) ซึ่งในตลอดระยะเวลาหมัก พบว่า ทุกชุดการทดลองมีค่าความเป็นกรด -ด่างลดลงต่ำสุดเมื่อหมักครบ 14 วันและมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเมื่อครบ 21 วัน และมีแนวโน้มลดลงเรื่อย ๆ อีกครั้งตั้งแต่เมื่อหมักครบ 28 วันจนถึง 42 วัน ทั้งนี้เนื่องจากในช่วงแรกนั้นจุลินทรีย์ได้ย่อยสลายฟางข้าวทำให้เปลี่ยนสภาพเป็นความกรดเพิ่มขึ้น วัสดุอินทรีย์โมเลกุลใหญ่จะย่อยสลายเป็นสารอินทรีย์โมเลกุลเล็ก กลุ่มกรดอินทรีย์ต่าง ๆ ทั้งกรดอะมิโน กรดไขมัน หรือกรดอื่น ๆ มีผลทำให้สภาพในกองปุ๋ยหมักเป็นกรด หลังจากนั้นปริมาณของกรดจะสลายตัว จึงเริ่มกระบวนการย่อยสลายไนโตรเจนอินทรีย์ได้เป็นแอมโมเนียจึงทำให้ความเป็นด่างเพิ่มสูงขึ้น

ตารางที่ 4.14 ความเป็นกรด-ด่างวัดในน้ำของฟางข้าวหมักด้วย *Aspergillus* sp. S-41 นาน 42 วัน

ชุดการทดลอง	ความเป็นกรด-ด่างวัดในน้ำ						
	0 วัน	7 วัน	14 วัน	21 วัน	28 วัน	35 วัน	42 วัน
Control	7.57±0.13	7.89±0.17	7.52±0.29	8.07±0.11	7.31±0.53	8.04±0.21	7.99±0.25
1	7.28±0.30	7.83±0.05	7.75±0.27	8.08±0.19	7.93±0.08	8.05±0.16	7.63±0.23
2	7.24±0.22	7.74±0.20	7.61±0.12	8.24±0.09	8.08±0.21	8.07±0.16	7.72±0.13
3	7.39±0.21	7.93±0.05	7.70±0.18	8.35±0.11	8.13±0.18	8.21±0.16	8.02±0.41
4	7.36±0.28	7.57±0.12	7.63±0.28	7.90±0.33	7.82±0.31	7.95±0.24	8.03±0.28
5	7.63±0.14	8.15±0.13	7.70±0.22	8.34±0.14	8.03±0.22	8.25±0.18	8.38±0.22

หมายเหตุ :

ชุดควบคุม : ไม่เติมจุลินทรีย์

ชุดการทดลองที่ 1 : มีปริมาณจุลินทรีย์ ไอโซเลท S-15 เท่ากับ 10^8 สปอร์ต่อปริมาณฟางข้าว 1,000 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 2 : มีปริมาณจุลินทรีย์ ไอโซเลท S-15 เท่ากับ 10^9 สปอร์ต่อปริมาณฟางข้าว 1,000 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 3 : มีปริมาณจุลินทรีย์ ไอโซเลท S-15 เท่ากับ 10^{10} สปอร์ต่อปริมาณฟางข้าว 1,000 กิโลกรัม,

ชุดการทดลองที่ 4 : มีปริมาณจุลินทรีย์ ไอโซเลท S-15 เท่ากับ 10^{11} สปอร์ต่อปริมาณฟางข้าว 1,000 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 5 : มีปริมาณสารเร่ง พด.1 ในปริมาณ 10^{10} สปอร์ (เซลล์)ต่อปริมาณฟางข้าว 1,000 กิโลกรัม

4.4.3 อินทรียวัตถุของฟางข้าวหมักด้วยจุลินทรีย์

ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่า ทุกชุดการทดลองไม่สามารถวิเคราะห์ค่าอินทรีย์คาร์บอนได้ในวันแรก และในชุดการทดลองที่ใช้หัวเชื้อสารเร่ง พด .1 เริ่มวิเคราะห์ค่าอินทรียคาร์บอนได้เมื่อหมักฟางข้าวนาน 21 วัน การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อจุลินทรีย์ไอโซเลท S-41 มีประสิทธิภาพการย่อยสลายฟางข้าวได้ดีกว่าหัวเชื้อ พด .1 แต่อย่างไรก็ตามอาจจะเป็นไปได้ว่าหัวเชื้อ พด . 1 นั้นอาจจะมีการเสื่อมคุณภาพระหว่างการขนส่งหรือการเก็บรักษาก่อนที่จะมีการใช้ในการทดลองในครั้งนี้ และเมื่อหมักฟางข้าวนาน

ครบ 42 วัน พบว่าชุดการทดลองที่ 4 มีปริมาณของอินทรีย์วัตถุต่ำสุดคือร้อยละ 5.04 (ตารางที่ 4.7) ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าทุกชุดการทดลองที่ใช้จุลินทรีย์ไอโซเลท S-41 และรวมทั้งชุดควบคุมซึ่งไม่มีการเติมจุลินทรีย์ลงไป มีการย่อยสลายฟางข้าวได้ดีกว่าชุดการทดลองที่ใช้สารเร่ง พด . 1 เป็นหัวเชื้อ ทั้งนี้เนื่องจากในการทดลองครั้งนี้ไม่ได้มีการฆ่าเชื้อฟางข้าว จึงเป็นไปได้ว่าจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับฟางข้าวทำให้เกิดการย่อยสลายฟางข้าวในชุดควบคุมขึ้นนั่นเอง และอาจจะเกิดการแข่งขันกันหรือการเป็นปฏิปักต่อกันระหว่างจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในฟางข้าวกับหัวเชื้อสารเร่ง พด . 1 จึงทำให้มีการย่อยสลายได้น้อยกว่าชุดทดลองอื่น ๆ

ตารางที่ 4.15 ปริมาณของอินทรียวัตถุของกองฟางหมักด้วย *Aspergillus* sp. S-41 นาน 42 วัน

สูตรที่	ปริมาณของอินทรียวัตถุของฟางข้าวหมัก (ร้อยละ)						
	บ่ม 0 วัน	บ่ม 7 วัน	บ่ม 14 วัน	บ่ม 21 วัน	บ่ม 28 วัน	บ่ม 35 วัน	บ่ม 42 วัน
C	-	64.7	63.5	62.4	61.7	61.2	55.0
1	-	65.0	60.4	59.0	60.1	55.9	55.7
2	-	57.8	62.1	54.8	54.6	54.7	54.1
3	-	62.2	56.0	76.2	58.6	60.1	54.0
4	-	49.4	54.7	56.3	50.4	54.9	50.4
5	-	-	-	57.9	57.6	61.1	56.4

หมายเหตุ :

ชุดควบคุม : ไม่เติมจุลินทรีย์

ชุดการทดลองที่ 1 : มีปริมาณจุลินทรีย์ ไอโซเลท S-15 เท่ากับ 10^{8} สปอร์ต่อปริมาณฟางข้าว 1,000 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 2 : มีปริมาณจุลินทรีย์ ไอโซเลท S-15 เท่ากับ 10^{9} สปอร์ต่อปริมาณฟางข้าว 1,000 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 3 : มีปริมาณจุลินทรีย์ ไอโซเลท S-15 เท่ากับ 10^{10} สปอร์ต่อปริมาณฟางข้าว 1,000 กิโลกรัม,

ชุดการทดลองที่ 4 : มีปริมาณจุลินทรีย์ ไอโซเลท S-15 เท่ากับ 10^{11} สปอร์ต่อปริมาณฟางข้าว 1,000 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 5 : มีปริมาณสารเร่ง พด.1 ในปริมาณ 10^{10} สปอร์ (เซลล์)ต่อปริมาณฟางข้าว 1,000 กิโลกรัม

– หมายถึงสารละลายไม่เปลี่ยนสีเมื่อเติมอินดิเคเตอร์ลงไปทำให้ไม่สามารถไทรเตรท วิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์คาร์บอนและปริมาณอินทรีย์วัตถุได้

4.4.4 ค่า C/N ratio ของฟางข้าวหมักด้วยจุลินทรีย์

จากการศึกษาครั้งนี้ เมื่อหมักฟางข้าวครบ 42 วัน พบว่าทุกชุดการทดลองมีปริมาณร้อยละของไนโตรเจนทั้งหมดตั้งแต่ 1.64-1.95 (ตารางที่ 4.16) ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ตามประกาศกรมวิชาการเกษตร สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มอกช .) และสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก.) โดยได้กำหนดไว้ว่ามีไนโตรเจนทั้งหมดไม่น้อยกว่าร้อยละ 1 (กรมวิชาการเกษตร , 2558) และทุกชุดการทดลองมีค่า C/N ratio ไม่เกิน 20:1 อยู่ในเกณฑ์อยู่ในเกณฑ์ตามประกาศกรมวิชาการเกษตร สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มอกช .) (กรมวิชาการเกษตร , 2558) เช่นเดียวกัน โดยพบว่าชุดการทดลองที่ 4 มีค่า C/N ratio ต่ำที่สุดคือ 15.7 รองลงมาคือ ชุดการทดลองที่ 2 และ 3 มีค่า C/N ratio เท่ากับ 16.2 และ 17.6 ตามลำดับ โดยชุดการทดลองที่ 5 ซึ่งใช้หัวเชื้อจากสารเร่ง พด. มีค่า C/N ratio สูงที่สุด เท่ากับ 19.8 ซึ่งใกล้เคียงกับชุดการทดลองที่ 2 ซึ่งมีค่า C/N ratio เท่ากับ 19.7 (ตารางที่ 4.17)

ตารางที่ 4.16 ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนและไนโตรเจนของฟางข้าวหมักด้วย *Aspergillus* sp. S-41 นาน 42 วัน

สูตรที่	ปริมาณของอินทรีย์คาร์บอนและไนโตรเจน													
	บ่ม 0 วัน		บ่ม 7 วัน		บ่ม 14 วัน		บ่ม 21 วัน		บ่ม 28 วัน		บ่ม 35 วัน		บ่ม 42 วัน	
	%O.C	%TN	%O.C	%TN	%O.C	%TN	%O.C	%TN	%O.C	%TN	%O.C	%TN	%O.C	%TN
Control	-	1.04	37.6	1.09	36.8	1.42	36.2	1.43	35.8	1.50	35.5	1.61	31.1	1.70
1	-	0.71	37.7	1.25	35.0	1.21	34.2	1.60	34.9	1.24	32.4	1.63	32.3	1.64
2	-	1.19	33.5	1.25	36.0	1.53	31.8	1.57	31.7	1.54	31.7	1.81	31.5	1.95
3	-	0.96	36.0	1.24	32.5	1.21	33.2	1.49	34.0	1.15	34.9	1.52	31.3	1.78
4	-	0.72	28.6	1.12	31.7	1.44	32.7	1.54	29.2	1.25	31.8	1.59	29.2	1.86
5	-	0.82	-	1.16	-	1.21	33.6	1.40	33.4	1.42	35.5	1.58	32.7	1.65

หมายเหตุ :

ชุดควบคุม : ไม่เติมจุลินทรีย์

ชุดการทดลองที่ 1 : มีปริมาณจุลินทรีย์ ไอโซเลท S-15 เท่ากับ 10^8 สปอร์ต่อปริมาณฟางข้าว 1,000 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 2 : มีปริมาณจุลินทรีย์ ไอโซเลท S-15 เท่ากับ 10^9 สปอร์ต่อปริมาณฟางข้าว 1,000 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 3 : มีปริมาณจุลินทรีย์ ไอโซเลท S-15 เท่ากับ 10^{10} สปอร์ต่อปริมาณฟางข้าว 1,000 กิโลกรัม,

ชุดการทดลองที่ 4 : มีปริมาณจุลินทรีย์ ไอโซเลท S-15 เท่ากับ 10^{11} สปอร์ต่อปริมาณฟางข้าว 1,000 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 5 : มีปริมาณสารเร่ง พด.1 ในปริมาณ 10^{10} สปอร์ (เซลล์)ต่อปริมาณฟางข้าว 1,000 กิโลกรัม

– หมายถึงสารละลายไม่เปลี่ยนสีเมื่อเติมอินดิเคเตอร์ลงไปทำให้ไม่สามารถไทรเตรท วิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์คาร์บอนและปริมาณอินทรีย์วัตถุได้

ตารางที่ 4.17 ค่า C/N ratio ของฟางข้าวหมักในกองปุ๋ยด้วย *Aspergillus* sp. S-41 นาน 42 วัน

สูตรที่	ค่า C/N ratio ของของฟางข้าวหมัก						
	บ่ม 0 วัน	บ่ม 7 วัน	บ่ม 14 วัน	บ่ม 21 วัน	บ่ม 28 วัน	บ่ม 35 วัน	บ่ม 42 วัน
control	-	34.5	25.9	25.3	23.9	22.1	18.2
1	-	30.1	28.9	21.4	28.1	19.9	19.7
2	-	26.8	23.5	20.3	20.5	17.5	16.2
3	-	29.0	26.9	22.3	29.5	22.9	17.6
4	-	25.5	22.0	21.2	23.4	20.0	15.7
5	-	-	-	24.0	23.5	22.5	19.8

หมายเหตุ :

ชุดควบคุม : ไม่เติมจุลินทรีย์

ชุดการทดลองที่ 1 : มีปริมาณจุลินทรีย์ ไอโซเลท S-15 เท่ากับ 10^8 สปอร์ต่อปริมาณฟางข้าว 1,000 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 2 : มีปริมาณจุลินทรีย์ ไอโซเลท S-15 เท่ากับ 10^9 สปอร์ต่อปริมาณฟางข้าว 1,000 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 3 : มีปริมาณจุลินทรีย์ ไอโซเลท S-15 เท่ากับ 10^{10} สปอร์ต่อปริมาณฟางข้าว 1,000 กิโลกรัม,

ชุดการทดลองที่ 4 : มีปริมาณจุลินทรีย์ ไอโซเลท S-15 เท่ากับ 10^{11} สปอร์ต่อปริมาณฟางข้าว 1,000 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 5 : มีปริมาณสารเร่ง พด.1 ในปริมาณ 10^{10} สปอร์ (เซลล์)ต่อปริมาณฟางข้าว 1,000 กิโลกรัม

– หมายถึงสารละลายไม่เปลี่ยนสีเมื่อเติมอินดิเคเตอร์ลงไปทำให้ไม่สามารถไทรเตรท วิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์คาร์บอนและปริมาณอินทรีย์วัตถุได้

การศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบว่าสารเร่ง พด .1 นั้นไม่ได้เพิ่มประสิทธิภาพในการหมักเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ บุญส่ง แก้วจรัส (2553) พบว่า ฟางข้าวสามารถนำมาทำปุ๋ยหมักได้ โดยไม่จำเป็นต้องเติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ แต่ควรมีการเติมแหล่งไนโตรเจน เพื่อให้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานกำหนดของกรมวิชาการเกษตร อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้ พบว่า *Aspergillus* sp. S-15 สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการหมักได้ ทำให้ระยะเวลาการทำปุ๋ยหมักใช้ระยะเวลาสั้นลง

4.5 อบรมถ่ายทอดเทคโนโลยี

จากการอบรมถ่ายทอดการทำปุ๋ยหมักจากฟางข้าวให้แก่ เกษตรกรในชุมชน ตำบลบางเขียด อำเภอสิงหนคร จังหวัดสงขลา เมื่อวันที่ 21 กุมภาพันธ์ 2559 ณ โรงพยาบาลประจำตำบลบางเขียด มีผู้เข้าร่วมการอบรมทั้งหมดจำนวน 47 คน และได้ตอบแบบสอบถามจำนวน 31 คน ได้ผลการวิเคราะห์ข้อมูล ดังนี้

พบว่าในกลุ่มกลุ่มเกษตรกรตำบลบางเขียด อำเภอสิงหนคร จังหวัดสงขลา มีผู้ตอบแบบสอบถามทั้งหมด 31 คน เป็นเพศหญิง 17 คน และเป็นเพศชาย 14 คน คิดเป็นร้อยละ 54.8 และ 45.2 ตามลำดับ โดยส่วนใหญ่มีช่วงอายุ 51 ขึ้นไป มีจำนวน 11 คน คิดเป็นร้อยละ 35.5 (ตารางที่ 4.18) และส่วนใหญ่มีการศึกษาระดับประถมศึกษา มีจำนวน 20 คน คิดเป็นร้อยละ 64.5 (ตารางที่ 4.19)

ตารางที่ 4.18 จำนวนและร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถามจำแนกตามช่วงอายุ

ช่วงอายุ (ปี)	จำนวน	ร้อยละ
ต่ำกว่า 20 ปี	2	6.5
20-30 ปี	6	19.4
31-40 ปี	8	25.8
41-50 ปี	4	12.9
51 ขึ้นไป	11	35.5
รวม	31	100

ตารางที่ 4.19 จำนวนและร้อยละของผู้ตอบแบบสอบถามจำแนกตามระดับการศึกษา

ระดับการศึกษา	จำนวน	ร้อยละ
ประถมศึกษา	20	64.5
มัธยมศึกษาตอนปลาย/เทียบเท่า	7	22.6
อนุปริญญา/เทียบเท่า	2	6.5
ปริญญาตรี	2	6.5
สูงกว่าปริญญาตรี	-	-
รวม	31	100

ผลการประเมิน โดยกำหนดผลการประเมินระดับความพึงพอใจ/ความรู้ความเข้าใจ/การนำไปใช้ คิดเป็นร้อยละ ต่อการเข้าร่วมโครงการ ของผู้ตอบแบบประเมิน พบว่า ผู้เข้าร่วมโครงการส่วนใหญ่มีระดับความพึงพอใจในด้านความรู้ความเข้าใจ และการนำความรู้ไปใช้ประโยชน์อยู่ในระดับมาก-มากที่สุด (ตารางที่ 4.20) ซึ่งผู้เข้าร่วมอบรมได้ให้ความคิดเห็นว่าการเข้าอบรมครั้งนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ คือ ทำปุ๋ยหมักไว้ใช้เองได้ ประหยัดค่าใช้จ่าย เป็นประโยชน์ต่อสิ่งแวดล้อม และยังนำความรู้ที่ได้ไปใช้กับวิถีชีวิตจริงในยุคปัจจุบันได้ และยังได้มีข้อเสนอแนะเพิ่มเติม ให้มีการจัดการอบรมให้ความรู้แก่เกษตรกรบ่อย ๆ เพื่อกระตุ้นให้เกษตรกรได้เห็นความสำคัญของการผลิตปุ๋ยชีวภาพไว้ใช้เอง

ตารางที่ 4.20 แสดงความคิดเห็นด้านความพึงพอใจต่อการเข้าร่วมโครงการ “การพัฒนาการผลิตปุ๋ยชีวภาพจากฟางข้าวของกลุ่มเกษตรกร ตำบลบางเขียด อำเภอสิงหนคร จังหวัดสงขลา”

ประเด็นความคิดเห็น	ระดับความพึงพอใจ/ความรู้ความเข้าใจ/การนำความรู้ไปใช้				
	มากที่สุด	มาก	ปานกลาง	น้อย	น้อยที่สุด
1.1 ด้านวิทยากร					
1. การถ่ายทอดความรู้ของวิทยากรมีความชัดเจน	48.4	48.4	3.2	-	-
2. ความสามารถในการอธิบายเนื้อหา	41.9	58.1	-	-	-
3. การเชื่อมโยงเนื้อหาในการฝึกอบรม	64.5	29.0	6.5	-	-
4. มีความครบถ้วนของเนื้อหาในการฝึกอบรม	67.7	29.0	3.2	-	-
ประเด็นความคิดเห็น	**ระดับความพึงพอใจ/ความรู้ความเข้าใจ/การนำความรู้ไปใช้**				
	มากที่สุด	**มาก**	**ปานกลาง**	**น้อย**	**น้อยที่สุด**
5. การใช้เวลาที่กำหนดไว้	58.1	35.5	6.5	-	-
6. การตอบข้อซักถามในการฝึกอบรม	58.1	38.7	3.2	-	-
1.2 ด้านสถานที่/ระยะเวลา/อาหาร					

ประเด็นความคิดเห็น	ระดับความพึงพอใจ/ความรู้ความเข้าใจ/ การนำความรู้ไปใช้				
	มากที่สุด	มาก	ปานกลาง	น้อย	น้อยที่สุด
1. สถานที่มีความเหมาะสม	54.8	41.9	3.2	-	-
2. ความพร้อมของอุปกรณ์โสตทัศนูปกรณ์	41.9	54.8	3.2	-	-
3. ระยะเวลาในการอบรมมีความเหมาะสม	48.4	45.2	3.2	3.2	-
4. อาหารมีความเหมาะสม	51.6	48.4	-	-	-
1.3 ด้านความรู้ความเข้าใจ					
1. ความรู้ ความเข้าใจในเรื่องนี้ ก่อนการอบรม	-	-	67.7	32.3	-
2. ความรู้ ความเข้าใจในเรื่องนี้ หลังการอบรม	67.7	32.3	-	-	-
1.4 ด้านการนำความรู้ไปใช้					
1. สามารถนำความรู้ที่ได้รับไปประยุกต์ใช้ในการปฏิบัติงานได้	51.6	48.4	-	-	-
2. มีความมั่นใจและสามารถนำความรู้ที่ได้รับไปใช้ได้	48.4	51.6	-	-	-
3. สามารถนำความรู้ไปเผยแพร่/ถ่ายทอดได้	58.1	38.7	3.2	-	-

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผล

5.1.1 จากการคัดแยกจุลินทรีย์จากสิ่งแวดล้อม สามารถคัดแยกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสสูงในอาหาร cellulose congo red aga ทั้งหมด 14 ไอโซเลท จากจำนวนทั้งหมด 169 ไอโซเลท คือ จากปุ๋ยหมัก จำนวน 5 ไอโซเลท ดิน จำนวน 4 ไอโซเลท และมูลสัตว์เคี้ยวเอื้อง จำนวน 5 ไอโซเลท

5.1.2 จุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสสูงสุดสามอันดับแรกที่สร้างวงใสชัดเจนในอาหาร cellulose congo red aga คัดแยกได้มาจากดิน คือ S-12 , S-41 และ S-15 มีอัตราส่วนของเส้นผ่านศูนย์ของวงใสต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีบนอาหาร cellulose congo red agar บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง เท่ากับ 4.55±0.12, 4.50 ±0.08 และ 4.01±0.02 ตามลำดับ

5.1.3 จุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสสูงสุดสามอันดับแรก ได้จัดจำแนกไอโซเลท S-41 คือ *Aspergillus* sp. S-41 และ S-15 คือ Actinomycetes S15 สำหรับไอโซเลท S-12 นั้น จัดเป็นราชนิดหนึ่ง แต่ไม่สามารถจัดจำแนกระดับจีนัสได้เนื่องจากไม่สร้างสปอร์

5.1.4 จากการเพาะเลี้ยงเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ทั้งสามชนิดเพื่อศึกษาประสิทธิภาพการย่อยฟางข้าวในห้องปฏิบัติการ พบว่าจุลินทรีย์ทั้งสามชนิด *Aspergillus* sp. S-41 เจริญและสร้างสปอร์ได้รวดเร็วที่สุด รองลงมาคือ Actinomyces S-15 ส่วน ไอโซเลท S-12 เจริญได้ช้ามาก

5.1.5 การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายฟางข้าวในห้องปฏิบัติการ พบว่าจุลินทรีย์ทั้งสามไอโซเลทสามารถย่อยสลายฟางข้าวได้ไม่แตกต่างกัน จึงคัดเลือก *Aspergillus* sp. S-41 สำหรับการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายฟางข้าวในภาคสนาม พบว่า *Aspergillus* sp. S-41 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายฟางข้าวได้ดีกว่าสารเร่ง พด .1 โดยในทุกชุดการทดลองมีปริมาณความเป็นกรด -ด่าง ตั้งแต่ 7.63-8.38 ร้อยละของสารอินทรีย์วัตถุ ตั้งแต่ 50.4-56.4 และค่า C/N ratio ตั้งแต่ 15.7-19.8 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานตามประกาศตามประกาศกรมวิชาการเกษตร และสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรศึกษาการเพิ่มปริมาณแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลส โดยใช้วัสดุที่หาได้ง่ายในท้องถิ่น และมีต้นทุนต่ำ และนำมาศึกษาประสิทธิภาพการการย่อยสลายฟางข้าว หรือวัสดุทางการเกษตรอื่น ๆ ในภาคสนาม

5.2.2 ควรศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายฟางข้าวโดยใช้เชื้อผสมระหว่างแบคทีเรีย เชื้อรา และแอคติโนมัยซีทคัดแยกมาได้

5.2.3 ควรศึกษาเปรียบเทียบการหมักแบบใช้อากาศและไม่ใช้อากาศโดยใช้จุลินทรีย์ที่คัดแยกมาได้

5.2.4 ควรศึกษาค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสของจุลินทรีย์ที่คัดแยกมาได้เปรียบเทียบสภาวะการเพาะเลี้ยงทั้งในสภาวะของแข็งและของเหลว

5.3 ผลผลิตที่เกิดขึ้นในช่วงที่ได้รับทุน

บุษยา ประกอบแสง ดารุณี สันจร ซอฟีย๊ะ ยีละงู ยุฮารี ทุ่ยอ้น ณัฐธิดา อ่อนทองอิน พัชรี หลุ่งหม่าน ผจงสุข สุธารัตน์ และเสาวนิตย์ ชอบบุญ. (2555) การคัดแยกและคัดเลือกจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิสูงที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสจากสิ่งแวดล้อมการเกษตรเพื่อใช้ทำปุ๋ยหมัก.วารสารสถาบันวิจัยและพัฒนา. 8(8)1-11.

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มช่วยเหลือเกษตรกรและโครงการพิเศษ สำนักงานเกษตรและสหกรณ์จังหวัดปทุมธานี . (2553). **การทำปุ๋ยหมักแห้ง .**[Onine]. Availiable: http://latlumkaeo.pathumthani.doae.go.th/sataban4.html. [January 20, 2015]

กรมพัฒนาที่ดิน. (2546). **สารเร่งประเภทจุลินทรีย์ พด .1 พด.2 พด.3 สำหรับเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดินและผลผลิตการเกษตร** . กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ . กรุงเทพมหานคร. 20 หน้า.

กรมพัฒนาที่ดิน. (2553). **คู่มือการปฏิบัติงานกระบวนการวิเคราะห์ดิน น้ำ พืช .** [Onine]. Availiable: http://www.ldd.go.th/PMQA/2553/Manual/OSD-03.pdf. [January 10, 2016]

กรมวิชาการเกษตร. (2542). *ประโยชน์ของปุ๋ยหมัก.* กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร

กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี . (2551). **คู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์ .** กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพมหานคร. 49 หน้า

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร . (2558). **การพัฒนาระบบเติมอากาศในการผลิตปุ๋ยหมักเพื่อการผลิตพืชระบบเกษตรอินทรีย์**. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพมหานคร. หน้า 8.

จามจุรี เกตุบัวขาว ณิชาภา ชมภู สุพัตรา ชาวสวน . (2555). **การคัดแยกแอคติโนมัยซีสจากมูลสัตว์เพื่อใช้ในการย่อยสลายวัสดุทางการเกษตรเบื้องต้น** . โครงงานด้านชีววิทยา วิทยาศาสตรบัณฑิต . มหาวิทยาลัยราชมงคลธัญบุรี. 88 หน้า.

ชฎาพร ผิวทอง สุดารัตน์ ทองแดง และสัมฤทธิ์ ประวิทย์ธนา. (2558). **การคัดเลือกแบคทีเรียทนร้อนที่มีสมบัติในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเพื่อการย่อยสลายชานอ้อย** . [Onine]. Availiable: http://nestc.sci.ubu.ac.th/2015/upload/Poster/N2015054.pdf [January 10, 2016]

ไตรทิพย์ สุรเมธางกูร . (2552). **สร้างพลังงานทดแทนจากฟางข้า** ว. [Onine]. Availiable: http://www.bangkokbiznews.com/home/detail/it/technology/.html [15 April, 2013]

ทรงศักดิ์ มีศรีจันทร์ . (2554). **การทำปุ๋ยหมักระบบเติมอากาศ .** [Onine]. Availiable: http://muticore.blogspot.com/2011/01/aerated-static-pile-composting-system.html [15 April, 2013]

ทิพย์นภา วงษ์คูณ โสภณ บุญลือ และนันทวัน ฤทธิ์เดช . (2556). **การคัดแยกจุลินทรีย์ย่อยสลายเซลลูโลสเพื่อกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าว (*Oryza sativa* L.) และข้าวโพดหวาน (*Zea mays* L. var. saccharata)**. ว.วิทย. มข. 41(4) : 954-966.

นงลักษณ์ สายเทพ . (2558). **การคัดกรองจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเพื่อผลิตไบโอเอทานอล** . [Onine]. Availiable: http://www.rsc.lpru.ac.th/datares58/abstract/13.pdf. [January 10, 2016]

นิชรัตน์ ศรีโสภณ เฉลิมชัย แพะคำ และวิพรพรรณ์ เนื่องเม็ก . (2558). **การคัดเลือกจุลินทรีย์ดินในการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายผักตบชวาหมัก และเพิ่มปริมาณธาตุอาหารพืชเพื่อผลิตปุ๋ยหมักผักตบชวา**. แก่นเกษตร 43(1) : 367-372.

นันทวัน ฤทธิ์เดช . (2556). **การคัดแยกแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยซีทที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากดินเพื่อผลิตนน้ำตาลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร** . [Onine]. Availiable: https://ora.kku.ac.th/dbresearch/db_attachments/resproject_abstract/6386-1115-abstract_file.pdf. [January 10, 2016]

นิรนาม. (2554). **การไถกลบตอซังเพื่อปรับปรุงดินและเพิ่มผลผลิตข้าว .** กลุ่มระบบงานวิจัย กองแผนงาน ร่วมกับกลุ่มวิจัยและพัฒนาอินทรียวัตถุเพื่อการเกษตร สำนักวิจัยและพัฒนาการจัดการที่ดิน. [Onine]. Availiable: http://www.ldd.go.th/menu_moc/POSTER/rice/rice. htm. [Febuary 10, 2012]

บุญส่ง แก้วจรัส. (2553). **การศึกษาประสิทธิภาพการทำปุ๋ยหมักฟางข้าวโดยการเติมหัวเชื้อจุลินทรีย์และการปรับวัสดุหมัก**. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. 79 หน้า.

ปรัชญา ธัญญาดี; และคณะ (2534). **การศึกษาการไถกลบตอซังข้าวเพื่อเพิ่มอินทรียวัตถุให้แก่ ดินนาภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ**. ใน รายงานวิจัยการปรับปรุงบำรุงดินด้วย อินทรียวัตถุ. หน้า 157 – 166. กรุงเทพฯ: กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

พรเทพ ถนนแก้ว. (2538). ภาวะเหมาะสมของการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อราที่คัดแยกจากบริเวณปลูกป่านศรนารายณ์ . วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์บันฑิต . จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย . กรุงเทพมหานคร.

พิทยากร ลิ่มทอง และคณะ (2534). **การแยกและคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์จากธรรมชาติเพื่อใช้เป็นสารเร่งในการทำปุ๋ยหมัก** รายงานผลการวิจัยการปรับปรุงบำรุงดินด้วยอินทรียวัตถุ กลุ่มอินทรียวัตถุและวัสดุเหลือใช้ กองอนุรักษ์ดินและน้ำ กรมพัฒนาที่ดิน : หน้า 1-12

พิจิตรา ตั้งเขื่อนขันธ์ รสรินทร์ รุจนานนท์ และอัญชลี อานาทสมบูรณ์ . (2548). การคัดเลือกเชื้อราเพื่อผลิตเอนไซม์เซลลูโลสจากวุ้นมะพร้าวที่เป็นเศษเหลือทิ้งจากโรงงาน .วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพมหานคร.

พิรุฬห์พร ศรีมงคล. (2552). **การคัดเลือกจุลินทรีย์ในการผลิตเซลลูเลสและไซลาเนส**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพมหานคร.

ยงยุทธ โอสถสภา, อรรถศิษฐ์ วงศ์มณีโรจน์, และชวลิต ฮงประยูร. (2551). **ปุ๋ยเพื่อการเกษตรยั่งยืน.** พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร. 519 หน้า.

วรพจน์ รัมพณีนิล. (2529) **ปุ๋ยและการใช้ปุ๋ย.** กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ยูไนเต็ดบุ๊คส์.

วรรณลดา สุนันทพงศ์. (2544). **การผลิตและการใช้ประโยชน์สารเร่ง พด. 1 ในการผลิตปุ๋ยหมัก**. กลุ่มอินทรีย์วัตถุและวัสดุเหลือใช้ กองอนุรักษ์ดินและน้ำ.กรมพัฒนาที่ดิน.

สารานุกรมภูมิปัญญาท้องถิ่นไทย – ภูมิปัญญาข้าวไทย. (2010). **กระดาษฟางข้าว.**[Onine]. Availiable: http://app1.bedo.or.th/rice/ProductInfo.aspx?id=38 [15 April, 2013]

สุรวุฒิ จันทร์ชูและนิรันดร หนักแดง. (2009) **การใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร**.[Onine]. Availiable: http://www.dld.go.th/pvlo_pni/index.php?option=com_content&view=article&id=66&Itemid=73 . [15 April, 2013]

เสียงแจ่ว พิริยพฤนต์ (2534). **การปรับปรุงดินด้วยอินทรียวัตถุ** . กรุงเทพฯ: กรม พัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

เสาวภา สุราวุธ ประสาน แสงไพบูลย์ วิญญู ภักดี เดือนเต็ม ทองเผือก กาญจนา ราชสุวรรณ และวิระ ศรีมาลา (2555). **การคัดแยกเชื้อราสร้างเอนไซม์เซลลูเลสในพื้นที่ป่าโครงการอนุรักษ์**

พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณ . [Onine]. Availiable: http://www.plants.rbru.ac.th /2012/papers/54/54 _o6.pdf. [15 April, 2013]

Abdulla, H.M. (2007). **Enhancement of rice straw composting by linocellulolytic Actinomycete strains**. International Journal of Agriculture & Biology. 9(1) : 106-109.

Adeleke, E.O, Omafuvbe, B.O., Adewale, O.I. & Bakare ,M. K. (2011). **Screening and isolation of thermophilic cellulolytic bacteria from cocoa pod and cassava peel dumpsites in ILE-IFE, Southwest**. Ife Journal of Science, 13(2): 381-387.

Amarasiri, S. L.; & Wickremasinghe, K. (1997). **Use of rice straw as a fertilizer material**. *Trop*. Agr. n.p.

Barnett, H.L. (1999). **Illustrated genera of imperfect fungi**. Minneapolis, MN : Burgess publishing company.

Hendricks, W. C., Doyle, D.J. & Hugley, B. (1995). **A new solid medium for enumerating cellulose-utilizing bacteria in soil**. Applied Environmental Microbiology, 61: 2016-2019.

Hesham, M. A (2007). **Enhancement of Rice Straw Composting by Lignocellulolytic Actinomycete Strains**. International Journal of Agriculture & Biology. 9(1):106-109

Hoitink, H. A. J. and Fahy, P. C. (1986). **Basis for control of soilborne plant pathogens with compost**. Annual Review of Phytopathology. 24: 94-114.

Holt, J.G. & Krieg, N.R. (eds., 1994). **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**, 9th ed., The Williams & Wilkins Co., Baltimore

Kumari, A. and Kapoor, K. K. (2008) **Identification of organic acids produced during rice straw decomposition and their rolein rock phosphate solubilization**. Plant Soil Environ. 54:72-77

Kumari B.L., Sri Hanuma M. and Sudhakar, P. (2011). **Isolation of cellulose producing fungi from soil, optimization and molecular characterization of the isolate for maximizing the enzyme yield**. World Journal of Science and Technology 2011, 1(5): 01-09.

Lisdiyanti, P, Suyanto, E.Gusmawati, N. F., Rahay, W. (2012). **Isolation and Characterization of Cellulase Produced by Cellulolytic Bacteria from Peat Soil of Ogan Komering Ilir, South Sumatera**. International Journal of Environment and Bioenergy. 3(3): 145-153.

Son, T.T.N., Man, L.H. and Diep, C.N. (2008). **Bioconversion of paddy straw and biofertilizer for sustainable rice based cropping systems**. Omonrice 16: 57-70.

Walkley,A. and Black, A.L. (1934). **An examination digestion method for determining soil organic matter and propose modification of the chromic acid titration method**. Soil Sci. 37:29-37.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

แบบสอบถามความพึงพอใจผู้เข้ารับการอบรม
“การพัฒนาการผลิตปุ๋ยหมักจากฟางข้าวของกลุ่มเกษตรกร ตำบลบางเขียด อำเภอสิงหนคร จังหวัดสงขลา”

คำอธิบาย แบบประเมินฉบับนี้มีทั้งหมด 3 ตอน ขอให้ผู้ตอบแบบประเมินตอบให้ครบทั้ง 3 ตอน เพื่อให้การดำเนินโครงการเป็นไปตามวัตถุประสงค์และเพื่อเป็นประโยชน์ในการนำไปใช้ต่อไป

ตอนที่ 1 สถานภาพทั่วไป

คำชี้แจง โปรดทำเครื่องหมาย ✓ ลงในช่อง ☐ หน้าข้อความ

1. เพศ

☐ หญิง ☐ ชาย

2. อายุ

☐ ต่ำกว่า 20 ปี ☐ 20-30 ปี ☐ 31-40 ปี ☐ 41-50 ปี ☐ 51 ปีขึ้นไป

3. การศึกษา

☐ ประถมศึกษา ☐ มัธยมศึกษาตอนปลายหรือเทียบเท่า

☐ อนุปริญญาหรือเทียบเท่า ☐ ปริญญาตรี ☐ สูงกว่าปริญญาตรี

ตอนที่ 2 ระดับความพึงพอใจ / ความรู้ความเข้าใจ / การนำไปใช้ ต่อการเข้าร่วมโครงการ

คำชี้แจง โปรดทำเครื่องหมาย ✓ ลงในช่องที่ตรงกับความพึงพอใจ / ความรู้ความเข้าใจ / การนำไปใช้ ของท่านเพียงระดับเดียว

ประเด็นความคิดเห็น	ระดับความพึงพอใจ / ความรู้ความเข้าใจ / การนำความรู้ไปใช้				
	มากที่สุด 5	มาก 4	ปานกลาง 3	น้อย 2	น้อยที่สุด 1
ด้านวิทยากร					
1. การถ่ายทอดความรู้ของวิทยากรมีความชัดเจน					
2. ความสามารถในการอธิบายเนื้อหา					
3. การเชื่อมโยงเนื้อหาในการฝึกอบรม					
4. มีความครบถ้วนของเนื้อหาในการฝึกอบรม					
5. การใช้เวลาตามที่กำหนดไว้					
6. การตอบข้อซักถามในการฝึกอบรม					

ประเด็นความคิดเห็น	ระดับความพึงพอใจ / ความรู้ความเข้าใจ / การนำความรู้ไปใช้				
	มากที่สุด 5	มาก 4	ปานกลาง 3	น้อย 2	น้อยที่สุด 1
ด้านสถานที่ / ระยะเวลา / อาหาร					
1. สถานที่มีความเหมาะสม					
2. ความพร้อมของอุปกรณ์โสตทัศนูปกรณ์					
3. ระยะเวลาในการอบรมมีความเหมาะสม					
4. อาหาร มีความเหมาะสม					
ด้านความรู้ความเข้าใจ					
1. ความรู้ ความเข้าใจในเรื่องนี้ **ก่อน** การอบรม					
2. ความรู้ ความเข้าใจในเรื่องนี้ **หลัง** การอบรม					
ด้านการนำความรู้ไปใช้					
1. สามารถนำความรู้ที่ได้รับไปประยุกต์ใช้ในการปฏิบัติงานได้					
2. มีความมั่นใจและสามารถนำความรู้ที่ได้รับไปใช้ได้					
3. สามารถนำความรู้ไปเผยแพร่/ถ่ายทอดได้					

. **สรุปประโยชน์ที่ท่านได้รับจากการฝึกอบรม**

.....

.....

ตอนที่ 3 ข้อเสนอแนะอื่นๆ

1.ข้อเสนอแนะ ติ ชม ในการอบรมครั้งนี้ ได้แก่

.....

.....

2.ท่านอยากให้มีการจัดอบรมอีกหรือไม่ ☐ อยาก ☐ ไม่อยาก ☐ ไม่ต้องการ

3.หัวข้อที่ท่านอยากให้จัดอบรมครั้งต่อไป

.....

.....

ขอขอบคุณทุกท่าน

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์อินทรียวัตถุ และอินทรียคาร์บอน อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน

(กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี, 2551)

1. ขอบข่ายและวัตถุประสงค์

เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณอินทรียวัตถุ อินทรียคาร์บอน และอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในปุ๋ยอินทรีย์

หลักการ

ประยุกต์ใช้วิธีการของ Walkley และ Black โดยย่อยตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ด้วยกรดซัลฟูริก แล้วทำการออกซิไดซ์อินทรียคาร์บอนในปุ๋ยอินทรีย์ด้วยกรดโครมิกที่มากเกินพอ จากนั้นไทเตรทกรดโครมิกที่เหลือจากการทำปฏิริยาด้วยสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟต ผลวิเคราะห์ที่ได้จะมีค่าเป็น 77 เปอร์เซ็นต์ของอินทรียคาร์บอนที่มีอยู่จริง โดยปริมาณของอินทรียคาร์บอนจะคิดเป็น 58 เปอร์เซ็นต์ของอินทรียวัตถุ เมื่อเปรียบเทียบกับการหาปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งละเอียด ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. Burette ขนาด 50 มิลลิลิตร
3. เครื่องแก้วและวัสดุอื่น ๆ ที่ใช้ในการปฏิบัติการวิเคราะห์

สารเคมี

1. สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) , AR grade
2. กรดซัลฟูริกเข้มข้น (98%H_2SO_4), AR grade
3. สารละลายเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต (Fe $(NH_4)_2$ $(SO_4)_2.6H_2O$) ($FeSO_4.7H_2O$) หรือ เฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$), AR grade
4. สารละลายออร์โทฟีแนนโทรลีนอินดิเคเตอร์ (O-phenanthroline) , AR grade

วิธีเตรียมสารเคมี

1. สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) 1.0 N

ละลาย $K_2Cr_2O_7$ (AR grade) (อบที่ 105 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง) น้ำหนัก 49.0247 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร คนให้ละลายหมด ถ่ายและล้างใส่ Volumetric flask ขนาด 1,000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

2. สารละลาย Ferrous sulfate ($FeSO_4. 7H_2O$) 0.5 N

ละลาย Ferrous sulfate (AR grade) น้ำหนัก 139.0085 กรัม หรือ เฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต (Fe $(NH_4)_2(SO_4)_2.6H_2O$) 196.07 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร เติม น้ำกลั่น 600 มล. คนละลายให้หมด ถ่ายและล้างใส่ใน Volumetric flask ขนาด 1,000 มิลลิลิตร และเติม 98% H_2SO_4 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน

3. สารละลายออร์โทฟีแนนโทรลีนอินดิเคเตอร์

ละลายเฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$) 0.35 กรัม และออร์โทฟีแนนโทรลีน (O-phenanthroline) 0.74 กรัม ใส่บีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร คนจนละลายหมด

หรือสารละลายไดฟินิลามีน 1 กรัม ใน น้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร

4. สารละลาย Silver sulfate (Ag_2SO_4) AR grade) ใน 98% H_2SO_4

ชั่ง Silver sulfate น้ำหนัก 15 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 2,000 มิลลิลิตร เติม 98% H_2SO_4 ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างปุ๋ย 0.1xxx กรัม ใส่ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) 1.0 N ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติมลงไปในตัวอย่างปุ๋ยข้อ 1.
3. เติม 98% H_2SO_4 หรือสารละลาย Silver nitrate ใน 98% H_2SO_4 (กรณีที่ตัวอย่างมี Chloride (Cl^-) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ให้กรดไหลลงข้าง ๆ ขวดให้ชะล้างตัวอย่างลงไปในขวดอย่างช้าๆ ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในตู้ดูดควัน 16 ชั่วโมง
4. ตั้งทิ้งไว้จนสารละลายเย็นเท่าอุณหภูมิห้อง
5. เติมน้ำกลั่นลงไปให้มีปริมาตร 100 มิลลิลิตร
6. หยดอินดิเคเตอร์ออร์โทฟีแนนโทรลีน 0.5 มิลลิลตร (หรือ สารละลายไดฟินิลามีน)
7. นำไปไตเตรทด้วยสารละลาย Ferrous sulfate 0.5 N ที่จุดยุติ (end poit) สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาลแดง หากใช้อินเคเตอร์สารละลายไดฟินิลามีน สารละลายจะเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเขียว) แสดงว่าถึงจุดยุติ บันทึกผล
8. ทำ Blank โดยไม่ใส่ตัวอย่างปุ๋ย เริ่มทำตั้งแต่ขั้นตอนที่ 2 ถึง ขั้นที่ 7 เช่นเดียวกับตัวอย่างปุ๋ย

วิธีคำนวณ

$$\% \text{ อินทรียวัตถุคาร์บอน (Organic Carbon, O.C.)} = \frac{0.3896 \times N \times \text{ml of } K_2Cr_2O_7 \times (C-D)}{\text{wt. of sample (g)} \times C}$$

B = ปริมาณ $K_2Cr_2O_7$ ที่เติมลงไปในตัวอย่างและ Blank ใช้ในการไตเตรท Blank (มล.)

C = ปริมาณ $FeSO_4.7H_2O$ ที่ใช้ไทเตรตพอดีกับ $K_2Cr_2O_7$ ใน Blank (มล.)

D =ปริมาณ $FeSO_4.7H_2O$ ที่ใช้ไทเตรตพอดีกับ $K_2Cr_2O_7$ ในที่ตัวอย่าง (มล.)

W = น้ำหนักฟางข้าวที่ใช้ (กรัม)

N = ความเข้มข้นเป็น Normal ของสารมาตรฐานของ $K_2Cr_2O_7$ (1.0 N)

%อินทรียวัตถุ (Organic Matter, O.M.) = %O.C x 1.7241 (Equivalent to soil)

ค่า C/N = (%O.C)/(%TN)

%TN = ปริมาณ Total Nitrogen (%)

2. วิเคราะห์ไนโตรเจน (กลุ่มงานวิเคราะห์ปุ๋ย, 2541)

1. ขอบข่ายและวัตถุประสงค์

เพื่อวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยอินทรีย์

2. หลักการ

ใช้ Kjeldahl method โดยกรย่อยตัวอย่างปุ๋ยด้วย H_2SO_4 เข้มข้น และ Salicylic acid มีPotassium sulfate และ copper sulfate เป็นสารเร่งปฏิกิริยา ทำให้สารละลายเป็นด่างด้วย Sodium hydroxide แล้วนำไปกลั่น ดักจับ Ammonia ที่เกิดขึ้นด้วยกรดบอริกทำการติเตรทสารละลายที่ได้จากการกลั่นด้วยสารละลายกรดเกลือมาตรฐาน แล้วนำปริมาณของกรดเกลือที่ใช้ในการติเตรทมาคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด

3. เครื่องมือ วัสดุอุปกรณ์สารเคมี

3.1 เครื่องมือ วัสดุอุปกรณ์

- เครื่องชั่ง ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- ตู้อบ(Hot air oven)
- MacroKjeldahl digestion and distillation apparatus
- Burette ขนาด 50 มิลลิลิตร
- โถดูดความชื้น (Desiccator)
- เครื่องแก้ว และวัสดุอื่นๆที่ใช้ในการปฏิบัติการวิเคราะห์

3.2 สารเคมี

- Cooper sulfate ($CuSO_4.5H_2O$),AR grade
- Ethyl alcohol 90%(C_2H_50H),AR grade
- Boricacid (H_2BO_3) AR grade
- Methyleneblue,AR grade
- Methyl red, AR grade
- Potassium sulfate (K_2SO_4), AR grade
- Salicylic acid [C_6H_4(OH).COOH], AR grade
- Sodium carbonate anhydrous (Na_2CO_3), AR grade
- Sodium hydroxide(NaOH),Commercicial grade หรือ AR grade
- Sodium thiosulfate ($Na_2S_2O_3.5H_2O$)
- Standard hydrochloric acid (HCl)1N, AR grade
- Sulfuric acid 98% (H_2SO_4), AR grade
- Zinc granular, AR grade

4 วิธีการเตรียม

4.1 การเตรียม Reagent

4.1.1 สารละลายกรดบอริก 4%

ชั่ง Boric acid จำนวน 40 กรัม ใส่ใน Beaker ขนาด 2000 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาณ 500 มิลลิลิตร นำไปต้มจนละลายหมด เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร1000 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

4.1.2 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

ชั่ง Sodium hydroxide จำนวน 500 กรัม ใส่ Beaker ขนาด 2000 มิลลิลิตร ที่มีน้ำกลั่นอยู่ประมาณ 800 มิลลิลิตร คนให้ละลายหมดในตู้ดูดควัน เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน

4.1.3 สารละลาย Mixed indicator

4.1.3.1 ชั่ง Methylene blue จำนวน 0.10 กรัม ใส่ใน Beaker ขนาด 200 มิลลิลิตร เติม 90% Ethyl alcoholปริมาณ 100 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน

4.1.3.2 ชั่ง Methyl red จำนวน 0.20 กรัม ใส่ใน Beaker ขนาด 200 มิลลิลิตร เติม 90% Ethyl alcohol ปริมาณ 100 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน

4.1.3.3 นำสารละลายข้อ 4.1.3.1 และ4.1.3.2 มาเทรวมกัน คนให้เข้ากัน

4.1.4 Mixed catalyst ผสม Copper sulfate และ Potassium sulfate ในอัตราส่วน 1 : 9 โดยน้ำหนัก

4.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

4.2.1 สารละลายกรดไฮโดรคลอริกมาตรฐาน 0.2 นอร์มอล

ละลาย Standard HCl 1 N จำนวน 1 Ampoule ลงใน Volumetric flask ขนาด 500มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน

4.2.2 การหาความเข้มข้นของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก มาตรฐาน 0.2 N

4.2.2.1 ชั่ง Sodium carbonate anhydrous ที่ผ่านการอบอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จำนวน 0.44 กรัม ใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 500 มิลลิลิตร

4.2.2.2 เติมน้ำกลั่นปริมาณ 100 มิลลิลิตร หยดสารละลาย 2-3 หยดจะได้สารละลายสีเขียวอ่อน

4.2.2.3 นำไปไตเตรทกับสารละลายไฮโดรคลอริก มาตรฐาน 0.2N จนถึงจุดยุติ จะได้สารละลายสีชมพูม่วง บันทึกผล คำนวณหาความเข้มข้นของกรดไฮโรคลอริก ตามสูตร

$$N\ (HCl) = \frac{\text{น้ำหนักของ}Na_2CO_3\ (g) \times 1000 \times \text{Purity ของ}Na_2CO_3}{52.99 \times \text{ปริมาตร}HCl\ (ml) \times 100}$$

สมมูลย์ของ $Na_2CO_3 = 52.99$

HCl = ปริมาณกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไตเตรท

4.3 วิธีวิเคราะห์

4.3.1 ชั่งตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์ จำนวน 0.3000 กรัม ใส่ใน Kjeldahl flask ขนาด 800 มิลลิลิตรใส่ใน Kjeldahl flask ขนาด 300 มิลลิลิตร เติม Salicylic acid จำนวน 2 กรัม เติม 98 % H_2SO_4 ปริมาณ 40 มิลลิลิตร เติม Sodium thiosulfate จำนวน 5 กรัม

4.3.2 นำไปตั้งบนเตาสำหรับย่อยตัวอย่างทำการย่อยตัวอย่างโดยใช้ไฟปานกลาง จนกระทั่งได้สารละลายสีน้ำตาล ปิดไฟ และตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

4.3.3 เติม Mixed catalyst จำนวน 5 กรัมและทำการย่อยอีกครั้งจนได้สารละลายสีเขียวใส ปิดไฟทิ้งไว้ให้เย็น

4.3.4 เติมน้ำกลั่นปริมาณ 350มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย NaOH ปริมาณ100 มิลลิลิตร และ Zine granular จำนวน 5 กรัม

4.3.5 นำKjeldahl flask ต่อกับเครื่องกลั่นโดยให้ปลายเครื่องกลั่นจุ่มใน Erlenmeyer flask ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่บรรจุสารละลายกรดบอริกปริมาณ 100 มิลลิลิตร และสารละลาย Mixed indicator ปริมาณ 4-5 หยด

4.3.6 ทำการกลั่นจนได้ปริมาตรของสารละลายใน Erlenmeyer flaskข้อ 4.3.5 ปริมาณ 350 มิลลิลิตร

4.3.7 นำสารละลายที่ได้ไปไตเตรทกับสารละลายกรดไฮโดรคลอริกมาตรฐาน0.2 N บันทึกผล

4.3.8 จากนั้นทำBlank โดยไม่ใส่ตัวอย่าง และทำการวิเคราะห์เช่นเดียวกับตัวอย่าง

5. คำนวณ

$$\% \text{ Total N} = \frac{N\,(HCl) \times \{ml\,(HCl) - ml\,(Blank)\} \times 1.40067}{\text{wt. of sample (g)}}$$

N = ความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรคลอริก

HCl = ปริมาณกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง (ml)

Blank = ปริมาณกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรทBlank (ml)

Wt. = น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ (กรัม)

3. การวิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่าง ของดิน

(คู่มือปฏิบัติงานกระบวนการวิเคราะห์ดิน น้ำ พืช, 2553)

คำนำ

ความเป็นกรด (acidity) หรือความเป็นด่าง (Alkalnity) ของดิน เป็นสมบัติที่สำคัญที่มีอิทธิพลต่อขบวนการทางเคมีและชีวภาพในดินที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตของพืชความเป็นกรดหรือความเป็นด่างของดินเกี่ยวข้องกับ hydrogen ion(H^+) และhydroxyl ion (OH) ในสารละลายดิน (Soil solution) โดยปกติในสารละลายดินจะมีไอออนทั้งสองชนิดนี้และ

ถ้ามี $H^+ > OH^-$ ดินมีปฏิกิริยาเป็นกรด เรียกดินกรด

ถ้ามี $H^+ < OH^-$ ดินมีปฏิกิริยาเป็นด่าง เรียกดินด่าง

ถ้ามี $H^+ = OH^-$ ดินมีปฏิกิริยาเป็นกลาง เรียกดินเป็นกลาง

แหล่งที่มาที่สำคัญของ H^+ ซึ่งก่อให้เกิดความเป็นกรดในดิน ได้แก่

1. H^+ จากกรดในดิน เช่น H_2CO_3, HNO_3,H_2SO_4กรดอินทรีย์ต่างๆดังเช่น

   $H_2SO_4 \longrightarrow 2H^+ + SO^-_4$

2. H^+ ที่เกิดจาก Al^{3+}และ Fe^{3+}ในสารละลายดิน เช่น

$Al^{3+} + H_2O \longrightarrow Al(OH)_3 + 3H^+$

แหล่งที่มาที่สำคัญของ OH^- ซึ่งก่อให้เกิดความเป็นด่างนั้น ได้แก่ OH^- ที่เกิดจาก basic cations เช่น Ca^{2+}, Mg_2, K^+ และ Na^+ เมื่ออยู่ในสารละลายดินการวัดเป็นกรดเป็นด่างของดิน นิยมวัดออกมาเป็นค่าของ pH แทนการบอกเป็นค่าความเข้มข้นของ H^+ หรือ OH^- จะมีค่าคงที่เท่ากับ 10^{-14} ดังนั้นการวัดความเป็นกรดเป็นด่างของสารละลาย จึงนิยมวัดเฉพาะความเข้มข้นของ H^+ (active acidity)โดยที่pH =-$\log_{10}[H^+]$ เมื่อ $[H^+]$ คือความเข้มข้นของ H^+ ในสารละลายมีหน่วยเป็น โมลต่อลิตร การวัด pH ของดินในห้องปฏิบัติการทดลอง วัดด้วยเครื่อง pH meter หลักการเหมือนกับการวัด pH โดยทั่วไป แต่การวัด pH ของดิน สามารถวัดในสารละลายได้หลายชนิด เช่นวัดในน้ำในสารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ หรือในสารละลายโซเดียมฟลูออไรด์ การเลือก pH ในแต่ละชนิดของสารละลายแตกต่างกันขึ้นอยู่กับความต้องการนำข้อมูล ไปใช้ เพราะการใช้สารละลายต่างชนิดกัน จะเป็นตัวชี้บอกคุณสมบัติบางอย่างของดินนั้น โดยทั่ว ๆไป เมื่อต้องการทราบพียงว่าดินมี pH เป็นกรดหรือด่าง การวัดใช้วัดในน้ำในอัตราส่วนของดินต่อน้ำต่าง ๆกัน ดินตั้งแต่อัตราส่วน 1:1,1:2; 1:2.5;1:5 ผู้วัดจะเลือกใช้อัตราส่วนใดก็ได้ แต่มีข้อสังเกตว่าปริมาณสัดส่วนของน้ำที่ต่างกันจะมีผลต่อค่า pH ที่วัดได้ ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ดินโดยทั่วไปมักใช้สัดส่วนของดินต่อน้ำเป็น 1:1 หรือ1:2

อุปกรณ์

1. เครื่อง pH meter
2. เครื่องชั่ง
3. บีกเกอร์พลาสติก ขนาด 50 มล.หรือ ขนาด 100 มล.
4. แท่งแก้วสำหรับคน
5. กระบอกฉีดน้ำ
6. ช้อนตวง
7. กระบอกตวง25 มล.

สารเคมี

1. สารละลายมาตรฐาน pH 7.0 (Standard buffer Solution)
2. สารละลายมาตรฐาน pH 4.0 (Standard buffer Solution)
3. สารละลายมาตรฐาน pH 10.0 (Standard buffer Solution)
4. สารละลาย 1 M KCl (อบที่ 110^0C นาน 2 ชั่วโมง) 74.5 กรัม ในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น
5. สารละลาย 0.01 M $CaCl_2$ ละลาย $CaCl_2$ 2 H_2O (อบที่ 110^0C นาน 2 ชั่วโมง) 1.47กรัม ในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

วิธีการ

1. การวัด pH ในน้ำอัตราส่วนดิน:น้ำ1:1 (w/w ชั่งดิน 20 กรัมใส่ในบีกเกอร์พลาสติก เติมน้ำกลั่น20 มิลลิลิตรคนให้เข้ากันด้วยแท่งแก้วเป็นระยะๆ ให้บ่อยครั้งในระยะ 30 นาทีแรก หลังจากนั้นตั้งทิ้งไว้อีก 30 นาที จึงวัด pH ของดินในส่วนที่เป็นน้ำด้วย pH meter หรือใช้ช้อนตวงตักดินและตวงน้ำแทนการชั่งดิน เพื่อวัด pH (1:1,v/v)ก็ได้
2. การวัด pH ใน 1 M KCl อัตราส่วน ดิน:น้ำ1:1(w/w)
   ทำเช่นเดียวกับการวัดค่า pH ในน้ำ แต่ใช้ 1 M KCl แทนน้ำกลั่น

3. การวัด pH ใน 0.01M $CaCl_2$ อัตราส่วน ดิน:น้ำ1:2(w/w)

ชั่งดิน 20 กรัมใส่ในบีกเกอร์พลาสติก เติมสารละลาย 0.01 M $CaCl_2$ 20 มิลลิลิตรคนให้เข้ากันด้วยแท่งแก้วเป็นระยะ ๆ ให้บ่อยครั้งในระยะ 30 นาทีแรก หลังจากนั้นตั้งทิ้งไว้อีก 30 นาที จึงวัด pH ของฟางข้าว ในส่วนที่เป็นน้ำด้วย pH meter

ข้อเสนอแนะ

1. การวัด pH ของสารละลายดินด้วย pH meter ต้องคำนึงถึงสัดส่วนของดินต่อน้ำ การมีเกลือต่างๆละลายอยู่ในสารละลายดิน

2. ค่า pH ของดิน เมื่อวัดในสารละลาย KCl และ$CaCl_2$ จะมีค่าน้อยกว่าเมื่อวัดในน้ำในอัตราส่วน 1:1

3. CO_2 ในอากาศมีผลกระทบต่อการวัด pH ของดินในน้ำได้เพราะ CO_2 ในอากาศสามารถละลายในน้ำ กรณีที่เป็นงานที่ต้องการความถูกต้องมากเป็นพิเศษ ต้องป้องกันด้วยการปิด beaker ที่ใช้ผสมตัวอย่างดินกับน้ำไว้ก่อนการวัด

4. ก่อนวัดค่า pH ของสาระลายดิน จะต้องเตรียมเครื่อง pH meter ให้พร้อมที่ทำงานเสียก่อน โดยการวัด Standard buffer Solution7.0 และ4.0 ปรับเครื่อง pH เป็น 7.0 และ 4.0

5. ในกรณีที่ดินเป็นด่างสูง คือ pHสูงกว่า 7.5 ให้ใช้ Standard buffer Solution 7.0 และ 10.0

6. เครื่อง pH meter ที่ใช้งานเสร็จแล้ว ควร stand by ไว้ไม่ควรปิดเครื่องเลย และ electrode ควรแช่อยู่ในสารละลายตามคำแนะนำของวิธีการใช้ electrode แต่ละยี่ห่อ

7. สารละลายที่ใช้เติมใน electrode ควรซื้อตามคำแนะนำของบริษัทที่ขาย electrodeเนื่องจากแต่ละยี่ห่อแต่ละรุ่นใช้สารละลายที่เติมไม่เหมือนกัน

การแปลผล

การแปลความหมายค่า pH ของดินในน้ำ

ระดับ	ช่วง pH_{water} 1:1
กรดรุนแรงมากที่สุด	<3.5
กรดรุนแรงมาก	3.5-4.4
กรดจัดมาก	4.5-5.0
กรดจัด	5.1-5.5
กรดปานกลาง	5.6-6.0
กรดเล็กน้อย	6.1-6.5
เป็นกลาง	6.6-7.3
ด่างอ่อน	7.4-7.8
ด่างปานกลาง	7.9-8.4
ด่างจัด	8.5-9.0
ด่างจัดมาก	>9.0

(ที่มา : คู่มือการปฏิบัติงานกระบวนการวิเคราะห์ดิน น้ำ พืช, 2553)

ภาพผนวก ค

ภาพประกอบงานวิจัย

หมักปุ๋ยภาคสนาม

หมักปุ๋ยภาคสนาม

คลุมปุ๋ยหมักด้วยผ้ายางกันฝน

เผยแพร่ความรู้

สาธิตการทำกองปุ๋ย

สาธิตการทำกองปุ๋ย

แนะนำจุลินทรีย์สำหรับทำปุ๋ยหมัก

แนะนำจุลินทรีย์สำหรับทำปุ๋ยหมัก

ประวัติคณะผู้วิจัย

1. ชื่อ-สกุล นางสาวเสาวนิตย์ ชอบบุญ
Ms. Saowanit Chobbun
วัน เดือน ปีเกิด 20 พฤศจิกายน 2514
ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์
ที่ทำงาน โปรแกรมชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา 90000
โทรศัพท์ 0869570362 โทรสาร 074-336950
ที่อยู่ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา อ. เมือง จ. สงขลา
โทรศัพท์ 0869570362 โทรสาร 074-336950
E-mail : chsaowanit@yahoo.com
ประวัติการศึกษา ปริญาตรีสาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ภาคใต้ ปีสำเร็จการศึกษา 2536
ปริญญาโทสาขาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
บางเขน ปีสำเร็จการศึกษา 2541

ผลงานวิจัยย้อนหลังตั้งแต่ปี ค.ศ 2004 ถึงปัจจุบัน

(1) เอนไซม์โปรตีเอสจากแบคทีเรียในป่าพรุ

(2) โครงการวิจัยและพัฒนาชุดการเรียนการสอนวิทยาศาสตร์ท้องถิ่น ระดับการศึกษาขั้นพื้นฐาน (มัธยมศึกษา) เรื่องทะเลสาบสงขลา กรณีศึกษาแหลมสนสองทะเล

(3) อิทธิพลของสภาวะการเพาะเลี้ยงที่มีต่อการผลิตสารสีโดย *Monascus purpureus* ATCC 16360 เพื่อใช้เป็นสารเร่งสีและการยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่ทำให้เกิดโรคในปลาทอง ทุนสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ปี พ.ศ 2551-2552 (ผู้ร่วมโครงการ)

(4)การใช้สาหร่ายขนาดเล็กทดแทนปลาป่นในอาหารสำหรับเลี้ยงปลาบึกอุยทุนมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา ปี 2550-2551 (ผู้ร่วมโครงการ)

(5) การเก็บและรวบรวมสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กบริเวณมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา ทุนมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา ปี 2550-2551 (หัวหน้าโครงการ)

(6) อิทธิพลของสภาวะการเพาะเลี้ยงที่มีต่อการผลิตสารสีโดย *Monascus purpureus* ATCC 16360 เพื่อใช้เป็นสารเร่งสีและการยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่ทำให้โรคในปลาทอง
ระยะเวลาโครงการ 2 ปี ตั้งแต่ ตุลาคม 2551 ถึง ตุลาคม 2553
แหล่งทุนที่ให้การสนับสนุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
งบประมาณที่ได้รับ 317,515 บาท
สถานะของหัวหน้าโครงการ เป็นผู้ร่วมวิจัย
เวลาที่ใช้ในการทำวิจัยในโครงการนี้กี่ชั่วโมงต่อสัปดาห์ 15 ชั่วโมงต่อสัปดาห์

(7) การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารจากข้าวสังหยด เพื่อยกระดับผลิตภัณฑ์ชุมชน
ระยะเวลาโครงการ 1 ปี ตั้งแต่ กรกฎาคม 2552 ถึง กรกฎาคม 2553
แหล่งทุนที่ให้การสนับสนุน การวิจัยเครือข่ายการวิจัยภาคใต้ตอนล่าง

งบประมาณที่ได้รับ 260,000 บาท
สถานะของหัวหน้าโครงการ หัวหน้าโครงการวิจัย
เวลาที่ใช้ในการทำวิจัยในโครงการนี้กี่ชั่วโมงต่อสัปดาห์ 15 ชั่วโมงต่อสัปดาห์

2. ชื่อ-สกุล นางพัชรี หลุ่งหม่าน
Mrs. Patcharee Lungmann
วัน เดือน ปีเกิด 1 กันยายน 2513
ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์
ที่ทำงาน โปรแกรมชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี 84000
โทรศัพท์ 0896512097
ที่อยู่ 247/170 ต. มะขามเตี้ย อ. เมือง จ. สุราษฎร์ธานี
E-mail plaugmann@yahoo.com
ประวัติการศึกษา ปริญาตรีสาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ภาคใต้ ปีสำเร็จการศึกษา 2536
ปริญญาโทสาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ปีสำเร็จการศึกษา 2540
ปริญญาเอกสาขาเทคโนโลยีชีวภาพ
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่
ปีสำเร็จการศึกษา 2550

ผลงานวิจัยย้อนหลังตั้งแต่ปี ค.ศ 2004 ถึงปัจจุบัน

- ผลงานตีพิมพ์

- **Lungmann**, P., Choorit, W. and Prasertsan, P. 2007. Application of statistical experimental methods to optimize medium form exopolymer production by newly
isolated *Halobacterium* sp. SM5. Electronic Journal of Biotechnology. 10(1), 1-11

- **Lungmann**, P., Choorit, W and Prasertsan, P. 2007. Physio-chemical and biological
properties of partial purified exopolymer from newly isolated halophilic bacterium.
Songklanakalin J. Sci. Technol. 29(6) : 1571-82

- ผลงานวิจัยอื่นๆ

(1) การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการหมักน้ำปลาโดยใชสั้บปะรดและหัวเชื้อแบคทีเรียชอบเกลือ เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ของกลุ่มแม่บ้านหยงสตาร์ อำเภอปะเหลียน จังหวัดตรัง แหล่งทุน IRPUS ปี 2551
(2) การพัฒนาการหมักน้ำปลาโดยใช้สับปะรดของกลุ่มแม่บ้านหยงสตาร์ อำเภอปะเหลียน จังหวัดตรัง แหล่งทุน IRPUS ปี 2552

(3) การผลิตและประยุกต์ใช้สาหร่ายขนาดเล็กเพื่อทดแทนปลาป่นในอาหารเลี้ยงปลา
ดุกบิ๊กอุย แหล่งทุน มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
(4) การศึกษาสายพันธุ์สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินและสาหร่ายสีเขียวในมหาวิทยาลัยราชภัฏ
สงขลา อำเภอเมือง จ. สงขลา แหล่งทุน มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
(5) ชื่อโครงการ อิทธิพลของสภาวะการเพาะเลี้ยงที่มีต่อการผลิตสารสีโดย *Monascus purpureus* ATCC 16360 เพื่อใช้เป็นสารเร่งสีและการยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่ทำให้โรคในปลาทอง
ระยะเวลาโครงการ 2 ปี ตั้งแต่ ตุลาคม 2551 ถึง ตุลาคม 2553
แหล่งทุนที่ให้การสนับสนุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
งบประมาณที่ได้รับ 317,515 บาท
สถานะ เป็นผู้ร่วมวิจัย
เวลาที่ใช้ในการทำวิจัยในโครงการนี้กี่ชั่วโมงต่อสัปดาห์ 15 ชั่วโมงต่อสัปดาห์
(6) ชื่อโครงการ การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารจากข้าวสังหยด เพื่อยกระดับผลิตภัณฑ์ชุมชน
ระยะเวลาโครงการ 1 ปี ตั้งแต่ กรกฎาคม 2552 ถึง กรกฎาคม 2553
แหล่งทุนที่ให้การสนับสนุน การวิจัยเครือข่ายการวิจัยภาคใต้ตอนล่าง
งบประมาณที่ได้รับ 260,000 บาท
สถานะ เป็นผู้ร่วมวิจัย
เวลาที่ใช้ในการทำวิจัยในโครงการนี้กี่ชั่วโมงต่อสัปดาห์ 15 ชั่วโมงต่อสัปดาห์

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

3. ชื่อ-สกุล นางสาวผจงสุข สุธารัตน์
Miss Pajongsuk Sutarut

วัน เดือน ปีเกิด 15 พฤษภาคม 2524
ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์
ที่ทำงาน โปรแกรมชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา 90000
โทรศัพท์ 0896512097 โทรสาร 074-336950
ที่อยู่ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา อ. เมือง จ. สงขลา
โทรศัพท์ 0891797643 โทรสาร 074-336950

ประวัติการศึกษา ปริญาตรีสาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ ปีสำเร็จการศึกษา 2546
ปริญญาโทสาขาเทคโนโลยีชีวภาพ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีสำเร็จการศึกษา 2550

ผลงานวิจัย (ปี 2004-ปัจจุบัน)

- วิทยานิพนธ์ เรื่อง “Production of monoclonal antibodies specific to vitellogenin and zona radiate proteins in greenback mullet, *Liza subviridis”*.
- 18 – 20 October 2005: 31th Congress on Science and Technology of Thailand, Suranaree University of Technology of Thailand, Nakhon Ratchasima, Detection and characterization of vitellogenin and zona radiate proteins for the determination of xenoestrogen in water.
- 10 – 21 October 2006: 32th Congress on Science and Technology of Thailand,Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok, Thailand, Production of monoclonal antibodies specific to vitellogenin and zona radiate proteins in greenback mullet (*Liza subviridis).*

การตีพิมพ์เผยแพร่

วารสารวิจัย
สถาบันวิจัยและพัฒนา
Institute of Research and Development Journal
Vol.8 Nov,2012

วารสารวิจัย สถาบันวิจัยและพัฒนา

Institute of Research and Development Journal

ปีที่ 8 พฤศจิกายน 2555 Vol.8 November 2012

วัตถุประสงค์ สร้างเสริมความเข้มแข็งทางวิชาการและการส่งเสริมเผยแพร่ผลงานทางวิชาการของนักวิจัยและผู้สนใจทั่วไป

ที่ปรึกษา
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประโยชน์ คุปต์กาญจนากุล
ดร.วัฒนา รัตนพรหม
รองศาสตราจารย์ ดร.ธงชัย เครือหงษ์

ฝ่ายจัดการ
นางเพ็ญแก้ว พิมาน
นางสาวชุตินันต์ แซ่ตั้ง
นางสาวกิ่งกมล ชูแก้ว
นางสาวนัฐพร ยิ่งไพเราะ
นางสาววริศรา นนทฤทธิ์
นางสาวอรอุมา น้ำตาลพอด
นางสาวกัญญารัตน์ แสงสุวรรณ

ปก-รูปเล่ม

เจ้าของ สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี
272 หมู่ที่ 9 ตำบลขุนทะเล อำเภอเมือง จังหวัดสุราษฎร์ธานี 84100
โทร. 0-7735-5680 E-mail : research.sru@gmail.com

กำหนดออก วารสารรายปี ปีละ 1 เล่ม

สารบัญ

1. การคัดแยกและคัดเลือกจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิสูงที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสจากสิ่งแวดล้อม การเกษตร เพื่อใช้ทำปุ๋ยหมัก
บุษยา ประกอบแสง และคณะ 1
2. ปรสิตปลิงใสในปลาสลาดจากอ่างเก็บน้ำห้วยจระเข้มาก จังหวัดบุรีรัมย์
ศุภมาศ ศรีวงศ์พุก 13
3. การพัฒนาเจลล้างมือจากสารสกัดสมุนไพรเพื่อการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร
วีณา จิรัตฐิวรุตม์กุล ชัยสาร และคณะ 19
4. ผลการสอนอ่านโดยใช้กลวิธี KWL-Plus เพื่อพัฒนาทักษะการอ่านภาษาอังกฤษของนักศึกษา สาขาวิชาการศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี
รัตนา เจงพิบูลพงศ์ 25
5. การศึกษาความสามารถในการอ่านจับใจความสำคัญและเจตคติต่อวิชาภาษาไทย ของนักเรียนชั้นประถมศึกษาปีที่ 6 ที่ได้รับการจัดการเรียนรู้แบบร่วมมือเทคนิค STAD
ฐิตารีย์ เกิดสมกาล 33
6. การพัฒนาหลักสูตรรายวิชาเพิ่มเติมเรื่อง ภระจูด กลุ่มสาระการเรียนรู้การงานอาชีพและเทคโนโลยี
สญามล ทองขาว 41
7. ความสามารถทางพหุปัญญาของเด็กปฐมวัยที่ได้รับกิจกรรมการเรียนรู้แบบจิตปัญญา
เพ็ญธิดา ชนะสงคราม 49

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี 1
Institute of Research and Development Suratthani Rajabhat University

การคัดแยกและคัดเลือกจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิสูงที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสจากสิ่งแวดล้อมการเกษตรเพื่อใช้ทำปุ๋ยหมัก

บุษยา ประกอบแสง, ดารุณี สันจร, ซอฟีย๊ะ ยีละงู, ยูฮารี ทุ่ยอ้น และณัฐธิดา อ่อนทองอิน*
พัชรี หลุ่งหม่าน** ผจงสุข สุธารัตน์ และเสาวนิตย์ ชอบบุญ***

บทคัดย่อ

คัดแยกจุลินทรีย์ชอบอุณหภูมิสูงที่ย่อยสลายเซลลูโลสจากสิ่งแวดล้อมการเกษตร คือ ดิน ปุ๋ยหมัก มูลสัตว์ เคี้ยวเอื้องและสารเร่ง พด.1 จำนวน 32 ตัวอย่าง โดยนำตัวอย่างมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยใช้วิธี serial dilution technique และเพาะเชื้อโดยวิธี spread plate technique บนผิวหน้าอาหาร cellulose congo red agar บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสนาน 3 - 5 วัน จากการศึกษาพบว่ามีเชื้อราและแบคทีเรียที่มีวงใสรอบโคโลนี รวมทั้งสิ้นจำนวน 188 ไอโซเลท ประกอบด้วยเชื้อรา 89 ไอโซเลท และแบคทีเรีย 99 ไอโซเลท เมื่อนำเชื้อที่บริสุทธิ์มาศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ เซลลูเลสบนอาหาร cellulose congo red agar ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส บ่มเป็นเวลา 3 วัน พบจุลินทรีย์ที่มีอัตราส่วนของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสรอบโคโลนีต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีมากกว่า 5 มีจำนวนทั้งหมด 43 ไอโซเลท ทุกไอโซเลทเป็นแบคทีเรีย เชื้อราสามอันดับแรกที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการย่อยสลายเซลลูโลสบนอาหารแข็งแยกได้จากตัวอย่างดิน ได้แก่ ไอโซเลท S-12, S-41 และ S-15 มีอัตราส่วนของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสรอบโคโลนีต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี เท่ากับ 4.55±0.11, 4.50±0.08 และ 4.01±0.02 ตามลำดับ และแบคทีเรียสามลำดับแรกที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการย่อยสลายเซลลูโลสบนอาหารแข็งแยกได้จากตัวอย่างปุ๋ยหมัก ได้แก่ ไอโซเลท BD-18, BD-01 และ BD-17 มีอัตราส่วนของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสรอบโคโลนีต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี เท่ากับ 31.0±0.82, 29.0±0.82 และ 27.33±1.22 ตามลำดับ ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลท เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส บ่มนาน 7 วัน พบว่า S-12 มีเส้นใยใสไม่มีสี มีผนังกั้นและไม่สร้างโคนิเดีย และ S-15 มีเส้นใยใสไม่มีสี มีผนังกั้น โคนิเดียสีเขียว รูปร่างรี มีขนาด 1x2 ไมโครเมตร ต่อเป็นสายยาว ส่วน S-41 จัดอยู่ในยีนัส *Aspergillus* และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ชีวเคมีและสรีรวิทยาบางประการของแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลท พบว่าทุกไอโซเลทเป็นแบคทีเรียในยีนัส Bacillus

คำสำคัญ : แบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิสูง / เอนไซม์ / เซลลูเลส / ปุ๋ยหมัก

* นักศึกษาวิชาเอกจุลชีววิทยา โปรแกรมวิชาชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา จังหวัดสงขลา 90000
** อาจารย์ ดร., สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี จังหวัดสุราษฎร์ธานี 84100
*** อาจารย์, โปรแกรมวิชาชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา จังหวัดสงขลา 90000

2 วารสารวิจัย ปีที่ 8 พฤศจิกายน 2555
Institute of Research and Development Journal Vol.8 November 2012

ABSTRACT

The thermophilic cellulolytic microorgansims were investigated from 32 agroenvironmental samples by using serial dilution technique and spread plate technique on cellulose congo red agar plates, and then incubating at 45 °C for 3-5 days. One hundred eighty eight of thermophilic cellulolytic microbial isolates were screened. Eighty nine fungal isolates were purified on PDA plates. Ninety nine bacterial isolates were purified on nutrient agar plates. The pure cultures were transferred to cellulose congo red agar plates then the plates were incubated at 45 °C for 3 days and thermophilic cellulolytic microorganisms were detected by size of clear halos around the colonies. Three fungal isolates from soil and three bacterial isolates from compost, S-12, S-41, S-15, BD-18, BD-01 and BD-17, respectively, were finally chosen based on their relatively high cellulolytic activities. These isolates showed good colonial development and visible clearing zones on cellulose congo red agar plates. The ratio of clear zone diameter to colony diameter of the three thermophilic cellulolytic fungi and three thermophilic cellulolytic bacteria were 4.55±0.11, 4.50±0.08, 4.01±0.02, 31.0±0.82, 29.0±0.82 and 27.33±1.22, respectively. Both S-12 and S-15 showed hyaline septate hyphae , but S-12 did not produce any conidia on PDA within 7 days at 28 °C. S-15 produced abundantly small conidia in chains, smooth, ellipsoidal , green, 1x2 µm in size. The S-41 isolate was determined as *Aspergillus* by morphological characteristics. All three bacterial isolates were determined as *Bacillus* by morphological, physiological and biochemical characteristics.

Keywords : Thermophilic cellulolytic microorganisms / enzyme / Cellulase / Compost

บทนำ

เซลลูโลสเป็นโพลีเมอร์ของ β-D-glucose เชื่อมต่อด้วยพันธะ β-1,4-glucosidic (Li and Gao, 1997) จำนวน 1,000-10,000 หน่วย ทำให้ย่อยสลายได้ยาก (Diana *et al.*, 2009) เอนไซม์เซลลูเลสทำหน้าที่ย่อยสลายเซลลูโลส ประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิด แบ่งตามคุณสมบัติของกิจกรรมเอนไซม์ได้ 3 ชนิด คือ (1) endogluca- nase (CMCase) มีคุณสมบัติสลายพันธะ β-likage แบบสุ่มภายในโมเลกุลของเซลลูโลสทำให้โมเลกุลมีขนาดเล็กลง (2) exoglucanase (cellobiohy-drolase) ทำหน้าที่สลายเซลลูโลสจาก non-reducing end และ reducing-end ได้เซลโลไบโอส และ (3) β-glucosidase (cellobiase) ทำหน้าที่สลายเซลโลไบโอสและเซลโลโอลิโกแซคคาไรด์ได้กลูโคส (Bhat and Bhat, 1997) การย่อยสลายเซลลูโลสในธรรมชาติที่เกิดจากเอนไซม์เซลลูเลสจากจุลินทรีย์กลุ่มเชื้อรา เช่น *Trichoderma viride* (Beldman et al, 1985) และ *Aspergillus niger* (Ong et al, 2004) เป็นต้น วัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตรกรรมหรือซากพืชและของเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมเกษตร มีส่วนประกอบหลักเป็นเซลลูโลส การเพิ่มอัตราการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์จำเป็นต้องอาศัยจุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้ในปริมาณมากและมีกิจกรรมของเอนไซม์สูง (อรวรรณ ชวนตระกูล, 2554) ดังนั้นการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส จากสิ่งแวดล้อมการเกษตรเพื่อผลิตหัวเชื้อสำหรับเป็นตัวเร่งการทำปุ๋ยหมักจึงเป็นทางเลือกหนึ่ง เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้ง รวมทั้งเพิ่มมูลค่าของวัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตรกรรมและโรงงานอุตสาหกรรมเกษตร และยังช่วยลดมลพิษทางอากาศที่เกิดขึ้นจากการเผาทำลาย

วัสดุเหลือทิ้งของเกษตรกร

วัตถุประสงค์

เพื่อคัดแยกเชื้อราและแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสจากวัสดุเศษเหลือทางการเกษตรเพื่อการผลิตปุ๋ยหมัก

วิธีการวิจัย

1. การคัดแยกจุลินทรีย์ย่อยสลายเซลลูโลส

นำตัวอย่าง ดิน ปุ๋ยหมัก มูลสัตว์เคี้ยวเอื้อง และสารเร่ง พด.1 (การเก็บตัวอย่างดินจะตักจากผิวดินจนถึงความลึกประมาณ 5-10 เซนติเมตร) มาอบแห้งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 10 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ปริมาตร 90 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันบนเครื่องเขย่า ที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาทีที่อุณหภูมิห้อง วางทิ้งไว้ให้ตกตะกอนเป็นเวลา 15 นาที แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ โดยวิธี serial dilution technique ตั้งแต่ความเจือจาง 10^{-1} ถึง 10^{-7} เลือกระดับความเจือจาง 10^{-3} ถึง 10^{-7} ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร มาเพาะเชื้อ โดยวิธี spread plate technique บนผิวหน้าอาหาร cellulose congo red agar (Hendricks *et al*, 1995) ทำการทดลองที่ 5 ครั้ง บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-7 วัน เมื่อจุลินทรีย์เจริญบนผิวหน้าอาหาร สังเกตการสร้างวงใสรอบโคโลนีจุลินทรีย์ แล้วย้ายโคโลนีที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสลงในหลอดอาหาร potato dextrose agar และอาหาร nutrient agar สำหรับราและแบคทีเรียตามลำดับ เพื่อนำไปแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ต่อไป

2. การทำให้เชื้อบริสุทธิ์และการเก็บรักษาเชื้อ

นำจุลินทรีย์ทุกไอโซเลทที่สร้างวงใสรอบโคโลนีบนอาหาร cellulose congo red agar มาทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี streak plate technique บนอาหาร potato dextrose agar สำหรับเชื้อรา และ nutrient agar สำหรับแบคทีเรีย จนกระทั่งเชื้อบริสุทธิ์ แล้วเก็บรักษาในอาหารวุ้นเอียงชนิดเดิม ที่บรรจุในหลอดฝาเกลียว บ่มที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อเจริญเต็มพื้นที่ผิวอาหาร เททับด้วยน้ำมันพาราฟินเหลว (liquid paraffin) แล้วเก็บไว้ในตู้เย็น

3. การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสบนอาหารแข็ง

นำเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์แต่ละไอโซเลต ที่แยกได้ในข้อ 2 มาศึกษาความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสบนผิวหน้าอาหาร cellulose congo red agar โดยวิธี agar plate ดังนี้

3.1 การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดยเชื้อรา

เพาะเลี้ยงเชื้อราบนอาหาร potato dextrose agar ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4-7 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ที่ปลอดเชื้อเจาะโคโลนีเชื้อรา ย้ายไปเพาะเชื้อบนอาหาร cellulose congo red agar บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ทำการทดลองซ้ำ 4 ครั้ง คัดเลือกเชื้อราที่ย่อยสลายเซลลูโลสได้ดีที่สุด จำนวน 3 ไอโซเลท บันทึกผลโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสและเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อรา เปรียบเทียบอัตราส่วนระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสและเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีของเชื้อรา

3.2 การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสบนอาหารแข็งโดยแบคทีเรีย

เพาะเลี้ยงแบคทีเรียบนอาหาร nutrient agar ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วย้ายแต่ละไอโซเลทไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร cellulose congo red agar โดยวิธี point inoculation technique บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ทำการทดลองซ้ำ 4 ครั้ง คัดเลือกแบคทีเรียที่ย่อยสลายเซลลูโลสได้ดีที่สุด จำนวน 3 ไอโซเลท บันทึกผลโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสและเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีแบคทีเรีย เปรียบเทียบอัตราส่วนระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสและเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีของเชื้อแบคทีเรีย

4. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ชีวเคมีและสรีรวิทยาบางประการ

คัดเลือกเชื้อราและแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพการย่อยสลายเซลลูโลสสูงสุดสามอันดับแรก ของแต่ละกลุ่มจุลินทรีย์ โดยเชื้อราศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

และจัดจำแนกยีนัสโดยศึกษาจากหนังสือ Illustrated genera of imperfect fungi (Barnett and Hunter, 1999) ส่วนแบคทีเรียศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ชีวเคมีและสรีรวิทยา บางประการ ตามวิธีของ Adeleke *et al*, (2011)

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. การคัดแยกจุลินทรีย์ย่อยสลายเซลลูโลส

จากการคัดแยกจุลินทรีย์ย่อยสลายเซลลูโลสบนอาหาร cellulose congo red agar จากตัวอย่างดินมูลสัตว์ ปุ๋ยหมักและสารเร่ง พด. 1 รวมทั้งสิ้นจำนวน 32 ตัวอย่าง สามารถแยกจุลินทรีย์ย่อยสลายเซลลูโลสได้ทั้งหมดจำนวน 188 ไอโซเลท ประกอบด้วยเชื้อรา จำนวน 89 ไอโซเลท แบคทีเรียจำนวน 99 ไอโซเลท โดยในตัวอย่างปุ๋ยหมัก พบเชื้อจุลินทรีย์มากที่สุดจำนวน 60 ไอโซเลท คิดเป็นร้อยละ 31.9 ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรีย มีจำนวน 36 ไอโซเลท คิดเป็นร้อยละ 19.15 พบเชื้อรา 24 ไอโซเลท คิดเป็นร้อยละ 12.75 ในตัวอย่างดินพบจุลินทรีย์จำนวนทั้งหมด 57 ไอโซเลท โดยแบคทีเรียมีจำนวน 30 ไอโซเลท คิดเป็นร้อยละ 15.96 มีเชื้อรา 27 ไอโซเลท คิดเป็นร้อยละ 14.36 ในมูลสัตว์มีจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยเอนไซม์เซลลูเลสน้อยที่สุด จำนวน 30 ไอโซเลท คิดเป็นร้อยละ 15.96 พบแบคทีเรียมากกว่าเชื้อรา โดยแบคทีเรีย จำนวน 19 ไอโซเลท คิดเป็นร้อยละ 10.11 และเชื้อรา จำนวน 11 ไอโซเลท คิดเป็นร้อยละ 5.85 สำหรับสารเร่ง พด.1 มีจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสมากเป็นอันดับสาม มีจำนวนทั้งหมด 41 ไอโซเลท คิดเป็นร้อยละ 21.8 พบจำนวนเชื้อรามากกว่าแบคทีเรีย โดยมีเชื้อราทั้งหมด 27 ไอโซเลท ซึ่งเท่ากับจำนวนเชื้อราที่พบในดิน คิดเป็นร้อยละ 14.36 (ตารางที่ 1)

จากการศึกษาของ Szekely *et al* (2009) พบว่าในกองปุ๋ยหมักช่วงแรกของการหมักจะพบ เชื้อราและแบคทีเรีย และเมื่ออุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักเพิ่มสูงขึ้นมีแบคทีเรียกลุ่ม thermophilic bacteria จำนวนมากกว่าจุลินทรีย์กลุ่มอื่นๆ การย่อยสลายเซลลูโลสจะเกิดขึ้นสูงที่สุดในช่วงที่มีอุณหภูมิสูง (thermophilic phase) Hatami et al (2008) พบว่า แบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนจากดินบริเวณในป่ามีจำนวนมากกว่าดินในฟาร์ม และกลุ่มจุลินทรีย์ mesophilic microorganism ทำให้เกิดอัตราการย่อยสลายอินทรียสารสูงที่สุด Leggett (2012) พบว่าในมูลสัตว์กลุ่มแอโรบิคแบคทีเรีย (aerobic bacteria) ใช้กรดอินทรีย์และน้ำตาลเป็นแหล่งอาหารและเชื้อรามีแหล่งอาหารจำพวกสารประกอบอินทรีย์ เช่น เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ไขมัน ลิกนิน และสารอินทรีย์ไนโตรเจน

2. การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสบนอาหารแข็ง

จุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลสและมีอัตราส่วนของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสรอบโคโลนีต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีมากกว่า 5 มีจำนวน 43 ไอโซเลท จากจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด 188 ไอโซเลท ทุกไอโซเลทเป็นแบคทีเรีย โดยแบคทีเรียที่มีอัตราส่วนของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสรอบโคโลนีต่อเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีมากกว่า 5 พบมากที่สุดในมูลสัตว์เคี้ยวเอื้องมีจำนวนรวมทั้งสิ้น 19 ไอโซเลท รองลงมาคือปุ๋ยหมักมีจำนวนทั้งสิ้น 16 ไอโซเลท และสารเร่ง พด.1 มีจำนวน 6 ไอโซเลท และในดิน มีแบคทีเรียที่มีอัตราส่วนของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสรอบโคโลนีต่อเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีมากกว่า 5 พบน้อยที่สุด มีจำนวนเพียง 2 ไอโซเลท เท่านั้น (ตารางที่ 1)

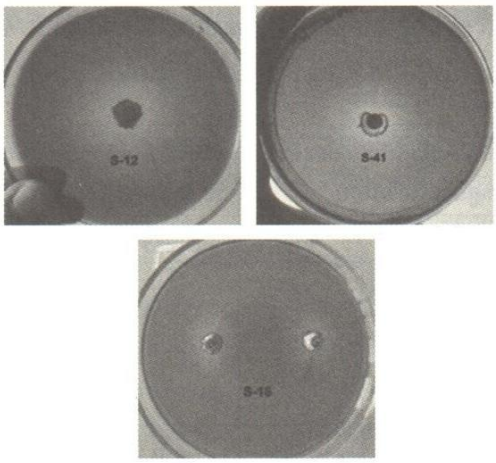
ตารางที่ 1 จุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลส และจำนวนเชื้อราและแบคทีเรียที่มีอัตราส่วนของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสรอบโคโลนีต่อเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีมากกว่า 5

แหล่งจุลินทรีย์	จำนวนจุลินทรีย์จุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลส (ไอโซเลท)			จำนวนจุลินทรีย์ที่มีอัตราส่วนของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสรอบโคโลนีต่อเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีมากกว่า 5 (ไอโซเลท)		
	เชื้อรา	แบคทีเรีย	รวม	เชื้อรา	แบคทีเรีย	รวม
ดิน	27	30	57	0	2	2
ปุ๋ยหมัก	24	36	60	0	16	16
มูลสัตว์เคี้ยวเอื้อง	11	19	30	0	19	19
สารเร่ง พด.1	27	14	41	0	6	6
รวม	**89**	99	188	0	**43**	**43**

เชื้อราที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้ดีที่สุด สามลำดับแรกแยกได้จากดิน คือ S-12, S-41 และ S-15 มีอัตราส่วนของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสรอบโคโลนีต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี เท่ากับ 4.55±0.11, 4.50±0.08 และ 4.01±0.02 ตามลำดับ (ตารางที่ 2, ภาพที่ 1) และแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้ดีที่สุดสามลำดับแรก แยกได้จากปุ๋ยหมัก คือ BD-18, BD-01 และ BD-17 มีอัตราส่วนของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสรอบโคโลนีต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเท่ากับ 1.0±0.82, 29.0±0.82 และ 27.33±1.22 ตามลำดับ (ตารางที่ 2, ภาพที่ 2) การศึกษาครั้งนี้พบว่าแบคทีเรียที่แยกได้จากสารเร่ง พด.1 มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์บนอาหาร cellulose congo red agar ได้น้อยกว่าจุลินทรีย์ที่แยกได้จากสิ่งแวดล้อม โดยพบว่าแบคทีเรียมีอัตราส่วนของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสรอบโคโลนีต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีสูงสุดเท่ากับ 16.8 ± 0.43

ตารางที่ 2 เชื้อราและแบคทีเรียที่มีอัตราส่วนของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสรอบโคโลนีต่อเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีบนอาหาร cellulose congo red agar มากสูงสุดสามลำดับแรก

Isolate code	Clear zone diameter (cm)	Colony diameter (cm)	Ratio of clear zone diameter to Colony diameter
S-12 (fungi)	5.62±0.04	1.24±0.03	4.55±0.11
S-41 (fungi)	3.03±0.08	0.76±0.06	4.50±0.08
S-15 (fungi)	5.50±0.08	1.00±0.00	4.01±0.02
BD-18 (bacteria)	3.10±0.08	0.10±0.00	31.00±0.82
BD-01 (bacteria)	2.90±0.08	0.10±0.00	29.00±0.82
BD-17 (bacteria)	4.10±0.18	0.15±0.00	27.33±1.22



ภาพที่ 1 กิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อราที่แยกได้จากดินบนอาหาร cellulose congo red agar บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซียส นาน 72 ชั่วโมง

ภาพที่ 2 กิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากดินบนอาหาร cellulose congo red agar บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง

3. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ชีวเคมีและสรีรวิทยาบางประการ

3.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราบนอาหาร PDA

ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้ดีที่สุด เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส บ่มนาน 7 วัน พบว่า S-12 โคโลนีฟูเล็กน้อย สีขาว มีเส้นใยใสไม่มีสี มีผนังกั้นเส้นใย กว้าง 2 - 5 ไมโครเมตร ไม่สร้างโคนิเดีย ส่วน S-15 โคโลนีสีเทาเข้ม อัดกันแน่นเกาะติดผิวหน้าอาหาร เจริญช้า มีเส้นใยใส ไม่มีสี มีผนังกั้นเส้นใยกว้าง 2 ไมโครเมตร มีโคนิเดียสีเขียว รูปร่างรี ผิวเรียบ ขนาด 1x2 ไมโครเมตร ต่อกันเป็นสายยาว 2-17 โคนิเดีย และ S-41 โคโลนีเป็นสีขาวเมื่ออายุน้อยและมีสีเขียว-เทา เมื่ออายุมากขึ้น มีเส้นใยใสไม่มีสี มีผนังกั้นเส้นใย และพบโครงสร้างสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศคือ โคนิดิโอฟอร์ ใสไม่มีสี ขนาดเท่ากับ (4.88-7.32) x (190.32-239.12) ไมโครเมตร เวสิเคิลขนาดเท่ากับ (12-20) x (20-35) ไมโครเมตร เฟียไลด์ขนาดเท่ากับ (1-2) x (4-7) ไมโครเมตร โคนิเดียรูปร่างกลมถึงรี ผิวขรุขระเล็กน้อย สีเขียว มีขนาดเท่ากับ 2 ไมโครเมตร จัดจำแนกอยู่ในยีนัส Aspergillus (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราที่มีประสิทธิภาพการย่อยเซลลูโลสสูงสุดสามลำดับแรก

Characteristics	Isolate code		
	S-12	S-41	S-15
Colony on PDA	Moderate dense, fluffy fast growing, white	Dense, not fluffy fast growing, dark green	Dense, not fluffy, slowly growing, dark gray
Reverse on PDA	Pale yellow	Green	Brown
Conidia shape	-	Globose	Ellipsoidal
Width (mm)	-	2.0	1.0
Length (μm)	-	2.0	2.0
Conidia color	-	Green, chain	Pale green, chain
Phialides	-	Flask-shaped	-
Width (μm)	-	1.0-2.0	-
Length (μm)	-	4.0-7.0	-
Conidiophores	-	hyaline	-
Width (μm)	-	4.88-7.32	-
Length (μm)	-	190.32-239.12	-
Hyphae	Septate, hyaline	Septate, hyaline	Septate, hyaline
Width (μm)	2.0-5.0	2.0	2.0
Vesicles shape	-	Club-shape	-
Width (μm)	-	12.0-20.0	-
Length (μm)	-	20.0-35.0	-

3.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ชีวเคมีและสรีรวิทยาบางประการของแบคทีเรีย

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ชีวเคมีและสรีรวิทยาบางประการของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลส ได้ดีที่สุดบนอาหารแข็ง cellulose congo red agar ทั้ง 3 ไอโซเลท พบว่า ทุกไอโซเลทจัดอยู่ในยีนัส *Bacillus* โดยทั้งสามลำดับมีรูปร่างเป็นท่อน (bacilli) สร้างสปอร์ สร้างเอนไซม์ catalase ได้ปฏิกิริยา V-P เป็นบวก การทดสอบ methylred เป็นบวก ไม่สร้าง indole ไม่สร้างเอนไซม์ casei nase สร้างเอนไซม์ nitrate reductase เจริญได้ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และสร้างกรดจากการหมักกลูโคส การติดสีแกรมนั้นแตกต่างกัน กล่าวคือแบคทีเรียไอโซเลท BD-01 ติดสีย้อมทั้งแกรมบวกและแกรมลบ (variable gram) และแบคทีเรียไอโซเลท BD-17 และ BD-18 ติดสีแกรมบวก (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ชีวเคมีและสรีรวิทยาบางประการของแบคทีเรียจากปุ๋ยหมักที่มีประสิทธิภาพการย่อยเซลลูโลสสูงสุดสามลำดับแรก

Characteristics	Isolate code		
	BD-01	BD-17	BD-18
Shape	bacilli	bacilli	bacilli
Width (μm)	0.8-1.0	0.7-1.0	1-1.2
Length (μm)	3.0-4.5	1.4-2.0	2.0-2.5
Gram reaction	v	+	+
Spores			
Ellipsoidal	+	+	+
Round	-	-	-
Spore position	s	c	c
Motility	+	+	-
Catalase test	+	+	+
V-P reaction test	+	+	+
Indole production	-	-	-
Methyl Red test	-	-	-
Starch hydrolysis	+	-	+
Gelatin hydrolysis	+	-	+
Casein hydrolysis	-	-	-
Nitrate reduction	+	+	+
Citrate Utilization		+	b
Growth in 6.5% NaCl	+	-	+
Growth at 50 °C	+	+	+
Growth at 55 °C	+	-	-
Growth at 60 °C	-	-	-
Growth at 65 °C	-	-	-
Acid from			
Arabinose	+	-	b
Glucose	+	+	+
Lactose	b	a	b
Manitol	b	a	a
Maltose	a	-	a
Raffinose	b	-	b
Sucrose	b	-	+

Key : + =85-100% of the strains positive ; a= 50-84% of the strains positive;
b=15-49% of the stains positive ; - = 0-14% of the strains positive ; v = character inconstant ;
f= fermentative ; s= subterminal; c=central

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

เชื้อราที่ย่อยสลายเซลลูโลสได้ดีที่พบในดิน ได้แก่ *Aspergillus fumigates* (Kumari et al, 2011) *Aspergillus niger* (เสาวภา สุราวุธ และคณะ, 2554) ส่วนแบคทีเรียที่พบในตัวอย่างดิน ปุ๋ยหมัก และมูลสัตว์ ได้แก่ แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* (Kim *et al*, 2012) สำหรับดินในป่าพบจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสได้ดีทั้งเชื้อราและแบคทีเรีย ได้แก่ *Cytophaga hutchinsonii, Cytophaga rubra, Bacillus circulans* และ *Cellulomonas fimi* โดยแบคทีเรียสองชนิดแรกพบบ่อยที่สุด (Vardavakis, 1989) นอกจากนี้ในดินยังมีแบคทีเรีย *Bacillus sp.* ที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสในสภาวะเป็นด่างอีกด้วย (Fukumori *et al*, 1985) ในมูลสดของแพนดามีแบคทีเรียกลุ่ม aerobic cellulolytic bacteria ที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสได้ดี คือ *Bacillus amyloliquefaciens* (Wei and Wu, 2012) เชื้อราที่มีกิจกรรมการย่อยสลายเซลลูโลสสูงยังพบในผลไม้ ผัก ขนมปังและไม้ยืนต้น ได้แก่ *Trichoderma, Aspergillus* และ *Penicillium* (*Khokhar et al*, 2012)

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การคัดแยกจุลินทรีย์ชอบอุณหภูมิสูงที่ย่อยสลายเซลลูโลสจากตัวอย่างดิน ปุ๋ยหมัก มูลสัตว์เคี้ยวเอื้องและสารเร่ง พด. 1 จำนวน 32 ตัวอย่าง พบว่ามีเชื้อราและแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสย่อยสลายเซลลูโลสในอาหาร cellulose congo red agar มีจำนวนทั้งสิ้น 188 ไอโซเลท ประกอบด้วยเชื้อรา 89 ไอโซเลท และแบคทีเรีย 99 ไอโซเลท และจากการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสบนอาหาร cellulose congo red agar ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นานเป็นเวลา 3 วัน พบว่ามีจุลินทรีย์ที่มีอัตราส่วนของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสรอบโคโลนีต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีมากกว่า 5 มีจำนวนทั้งหมด 43 ไอโซเลท ทุกไอโซเลทเป็นแบคทีเรีย เชื้อราสามลำดับแรกที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการย่อยสลายเซลลูโลสบนอาหารแข็งแยกได้จากดิน คือ S-12, S-41 และ S-15 มีอัตราส่วนของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสรอบโคโลนี เป็น 4.55±0.11, 4.50±0.08 และ 4.01±0.02 ตามลำดับ และแบคทีเรียสามลำดับแรกที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการย่อยสลายเซลลูโลสบนอาหารแข็งแยกได้จากปุ๋ยหมัก คือ BD-18, BD-01 และ BD-17 มีอัตราส่วนของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสรอบโคโลนีต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี เป็น 31.0±0.82, 29.0±0.82 และ 27.33±1.22 ตามลำดับ และจากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลท เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส บ่มนาน 7 วัน พบว่า S-12 มีเส้นใยใสไม่มีสี มีผนังกั้นและไม่สร้างโคนิเดีย และ S-15 มีเส้นใยใสไม่มีสี มีผนังกั้น โคนิเดียสีเขียว รูปร่างรี มีขนาด 1×2 ไมโครเมตรต่อเป็นสายยาว ส่วน S-41 จัดอยู่ในยีนัส *Aspergillus* และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ชีวเคมีและสรีรวิทยาบางประการและแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลท พบว่าทุกไอโซเลทเป็นแบคทีเรียในยีนัส *Bacillus*

ข้อเสนอแนะ ในการวิจัยครั้งต่อไป ควรมีการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อราและแบคทีเรียทั้ง 6 ไอโซเลท ในอาหารเหลว และศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อทั้ง 3 ชนิดบนอาหาร Czapek Agar (Cz), Czapek Yeast Extract agar (CYA) และ Malt Extract Agar (MEA)

การนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

สามารถนำจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส ที่คัดเลือกจากปุ๋ยหมักไปใช้เป็นตัวเร่งการย่อยสลายวัสดุเหลือใช้จากการเกษตรหรือซากพืช เช่น ฟางข้าว ผักตบชวา ใบไม้ ในการทำปุ๋ยหมักต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับเงินทุนสนับสนุนการวิจัย ภายใต้โครงการวิจัยในสถาบันอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ 2554

เอกสารอ้างอิง

เสาวภา สุราวุธ ประสาน แสงไพบูลย์ และวิญญู ภักดี. (2554). "คัดแยกเชื้อราที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสในพื้นที่ปาโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯสยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัย ราชภัฏรำไพพรรณี", ใน **การประชุมวิชาการ ทรัพยากรไทย : ก้าวสู่โลกกว้างอย่างมั่นใจ,** (48-58). วันที่ 3-5 พฤศจิกายน 2554 ณ ห้องประชุมวิชาการ ศูนย์ฝึกหนองระเวียงมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา. กรุงเทพฯ : เวิร์ค สแควร์.

อรวรรณ ชวนตระกูล. (2554). "การคัดเลือกแบคทีเรียเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อสำหรับทำปุ๋ยหมัก". ใน **การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ตามรอยพระยุคลบาท เกษตรศาสตร์กำแพงแสน ครั้งที่ 8,** (1517-1522). วันที่ 8-9 ธันวาคม 2554 ณ อาคารศูนย์เรียนรวม 2 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม.

Adeleke, E.O., Omafuvbe, B.O., Adewale, O.I. and Bakare , M.K. (2011). "Screening and isolation of thermophilic cellulolytic bacteria from cocoa pod and cassava peel dumpsites in ILE-IFE, Southwest", **Ife J. Sci.** 13(2), 381-387.

Barnett, H.L., Hunter B.B. (1999). **Illustrated Genera of Imperfect Fungi.** Minnesota : APS Press.

Beldman, G., Searle-Van Leeuwen, M.F., Rombouts F.M and Voragen F.G. (1985). "The cellulase of *Trichoderma viride*. Purification, characterization and com-parison of all detectable endoglucanases, exoglucanases and betaglucosidases", **Eur. J. Biochem.** 146(2), 301-308.

Bhat, M.K. and Bhat, S. (1997). "Cellulose degrading enzymes and their potential industrial applications", **Biotechnol Adv.** 15(3-4), 583-620.

David, B.W. (2011). "Microbial diversity of cellulose hudrolysis", **Curr. Opin. Microbiol.** 14, 1-5.

Diana, L.D., Sergio, M.S., Heinrich, W.S., Rudolf, J.S., Armando, C.D., Eduarda, B.H., and Valdemar, I.E. (2009). "Effect of organic and inorganic amendments on soil organic matter properties", **Geoderma.** 150, 38-45.

Fan L.T., Gharpuray M.M. and Lee, Y.H. (1987). **Cellulose hydrolysis.** Berlin : Springer-Verleg.

Fukumori, F., Kudo T. and Horikoshi K. (1985). "Purification and properties of cellulose from alkalophilic Bacillus sp. No. 1139", **J. Gen. Microbiol.** 131, 3339-3345.

Hatami, S. H., Alikhani H.A., Basharati H., Salehrastin N., Afrousheh M. and Jahromi J.Z. (2008). "Investigation on aerobic cellulolytic bacteria in some north forest and farming soils", **American-Eurasian J. Agri. & Environ. Sci.** 3(5), 713-716.

Hendricks, W. C., Doyle, D.J. and Hugley, B. (1995). "A new solid medium for enumerating cellulose-utilizing bacteria in soil", **Appl. Environ Microbiol.** 61, 2016-2019.

Khokhar, I., Haider M.S., Mushtaq S. and Mukhtar I. (2012). "Isolation and screening of highly cellulolytic filamentous fungi", **Scholarly J. Agric. Sci.** 2(7), 126-129. สืบค้นเมื่อ 15 กุมภาพันธ์ 2556, จาก http://www.scholarly-journals. com/ SJAS

Kim, Y.K., Lee, S.C., Cho, Y.Y., Oh, H.J. and Ko, Y.H. (2012). "Isolation of cellulolytic *Bacillus subtilis* strains from agricultural environments", **ISRN Microbiol.** 2012, 1-9.

Kumari, B.L., Sri M.H. and Sudhakar, P. (2011). "Isolation of cellulose producing fungi from soil, optimization and molecular characterization of the isolate for maximizing the enzyme yield", **World J. Sci. Technol.** 1(5), 1-9.

Leggett, J. A. (1996). **Biological manipu-lation of manure: getting what you want from animal manure.** Pennsyl-vania : Agriculture and Biological Engineering, College of Agricultural Sciences, University Park สืบค้นเมื่อ 15 กุมภาพันธ์ 2556, จาก http://pubs.cas.psu.edu/ freepubs/pdfs/g87.pdf

Li, X. and Gao, P. (1997). "CMC-liquefying enzyme, a low molecular mass initial cellulose decomposing cellulase responsible for fragmentation from *Streptomyces* sp. LX", **J.Appl. Micro-biol.** 83, 59-66.

Ong, L.G., Abd-Aziz, S., Noraini, S., Karim, M.I. and Hassan, M.A. (2004). "Enzyme production and profile by *Aspergillus niger* during solid substrate fermentation using palm kernel cake as substrate", **Appl. Biochem. Biotechnol.** 188, 73-79.

Szekely, A.J., Sipos, R., Berta, B., Hajdu, C. and Marialigeti, K. (2009). "DGGE and T-RFLP analysis of bacteriail succession during mushroom compost production and sequence-aided T-RELP profile mature compost", **Microb. Ecol.** 57, 522-533.

Vardavakis, E. (1989). "Seasonal fluctuations of aerobic cellulolytic bacteria, and cellulase and respiratory activities in a soil profile under a forest", **Plant and Soil.** 115(1), 145-150.

Wei, S. and Wu, X.B. (2012). "Isolation, identification and cellulase production of a cellulolytic bacterium from intestines of giant panda", **PubMed.** 52(9), 1113-1121. สืบค้นเมื่อ 14 กุมภาพันธ์ 2556, จาก http://www.ncbi.nlm.nih.gov / pubmed/23236845