

การย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรโดยแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคน



วิภาพร จารุณกุล

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม
มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2563

การย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรโดยแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคน



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม

สำนักบริหารและพัฒนาระบบสารสนเทศ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2563

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

การย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรโดยแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไคเคน

วิภาพร จารุชนกุล

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม

พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ฐปน ชื่นบาล)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริภรณ์ ชื่นบาล)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศรียาภรณ์ คล้ายเรือง)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

ประธานอาจารย์ผู้รับผิดชอบหลักสูตร

(อาจารย์ ดร.มูจลินทร์ ผลจันทร์)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร.ณณิน โอภาสพัฒนกิจ)

รักษาการแทนรองอธิการบดี ปฏิบัติการแทน

อธิการบดีมหาวิทยาลัยแม่โจ้

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

ชื่อเรื่อง	การย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรโดยแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคน
ชื่อผู้เขียน	นางสาววิภาพร จารุชนกุล
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ฐปน ชื่นบาล

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการใช้ *Bacillus amyloliquefaciens* LC141 แบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส และ *Peanibacillus* sp. LC42 แบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไซลานเนสในกระบวนการหมักวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรร่วมกับมูลวัว แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ตอน ตอนที่ 1 แบ่งออกเป็น 3 การทดลองโดยใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร 3 ชนิด ได้แก่ ฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพารา การทดลองแต่ละการทดลองแบ่งออกเป็น 4 ชุดการทดลองคือ ชุดควบคุมไม่มีการเติมเชื้อแบคทีเรีย, การเติมเชื้อแบคทีเรีย LC141, การเติมเชื้อแบคทีเรีย LC42 และการเติมเชื้อแบคทีเรีย LC141 ร่วมกับ LC42 แต่ละชุดการทดลองแบ่งออกเป็นสามซ้ำในระยะเวลาการทดลอง 56 วัน ควบคุมความชื้นระหว่าง 50-60% วัดอุณหภูมิทุกวัน วัดค่าพีเอช ไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ โปแทสเซียมทั้งหมด และอัตราส่วน C / N ทุกๆ 7 วันและดัชนีการงอกของเมล็ดเมื่อสิ้นสุดการทดลอง เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าทุกชุดการทดลองมีค่าพีเอชอยู่ระหว่าง 8.16-8.20 ไนโตรเจนทั้งหมดมีค่า 1.27-2.19% ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์มีค่า 0.78-0.90% โปแทสเซียมทั้งหมดเปลี่ยนแปลงระหว่าง 0.77-1.20% ปริมาณอินทรีย์วัตถุ 41.38-67.06% และอัตราส่วน C / N อยู่ระหว่าง 10.12-31.60 ทั้งนี้พบว่าชุดการทดลองที่มีการเติมเชื้อแบคทีเรีย LC141 ร่วมกับ LC42 นั้นเป็นชุดการทดลองที่มีการย่อยสลายระยะเวลาสั้นที่สุดจากอัตราส่วน C/N ที่ลดลงน้อยกว่า 20 ในระยะเวลาที่สั้นที่สุด ดังนั้นการทดลองต่อไปในตอนต่อไป 2 เพื่อยืนยันผลการทดลอง จึงใช้ฟางข้าวเป็นวัสดุเพียงชนิดเดียวเนื่องจากฟางข้าวมีอัตราส่วน C / N น้อยกว่า 20 ใน 56 วันซึ่งสามารถใช้เป็นวัสดุปรับปรุงดินตามระยะเวลาที่กำหนด การทดลองแบ่งออกเป็น 2 การทดลองคือ ชุดควบคุม และการเติมเชื้อแบคทีเรีย LC141 ร่วมกับ LC42 จากผลการทดลองพบว่าแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตเซลลูเลสและไซลานเนส คือ LC141 และ LC 42 นั้นส่งผลให้อัตราส่วน C / N ลดลงได้ในระยะเวลา 56 วัน คุณภาพของวัสดุหมักที่เพิ่มขึ้นทั้งปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโปแทสเซียม เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

คำสำคัญ : วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร, ฟางข้าว, ชั่งข้าวโพด, เศษไม้ยางพารา, แบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคน



Title	DEGRADATION OF AGRICULTURAL RESIDUES BY LICHEN-ASSOCIATED BACTERIA
Author	Miss Wiphaporn Jaruthanakul
Degree	Master of Science in Environmental Technology
Advisory Committee Chairperson	Assistant Professor Dr. Tapana Cheunbarn

ABSTRACT

The objective of this study was to utilize the use of cellulose producing *Bacillus amyloliquefaciens* LC141 and xylanase producing *Peaenibacillus* sp. LC42 in composting process of agricultural residue with cow manure. The study was divided into 2 parts. The first part consists of 3 experiments using 3 kinds of agricultural residue material such as rice straw, corncobs and rubber wood chips. Each experiment was divided into 4 set-ups i.e. control without bacteria, addition of LC141 bacteria, addition of LC42 bacteria and addition of LC 141 bacteria together with LC42 bacteria. Each experiment comprising three replications was monitored in the composting period of 56 days with 50-60% humidity. Daily temperature, pH value, total nitrogen, available phosphorus, total potassium and C / N ratio were measured every 7 days as well as seed germination index until the end of the experiment . The result found that all treatments have pH values between 8.16-8.20, 1.27 - 2.19% total nitrogen, 0.78-0.90% available phosphorus, 0.77 - 1.20% total potassium, 41.38 -67.06% organic matter content and C / N ratio is between 10.12 - 31.60. It was found that addition of LC141 bacteria together with LC42 bacteria had the shortest degradation of the C / N ratio in the shortest time being reduced to less than 20. Therefore in the next experiment, second part, to confirm the experimental results that rice straw is the only material used because rice straw has C / N ratio of less than 20 in 56 days which can be used as a soil improvement material for the specified period. Two treatments were conducted, control without bacteria and addition of LC141 bacteria together with LC42 bacteria. The results showed that the addition of cellulose producing LC141 and xylanase producing LC42 resulted in lower C / N ratios in 56 days. The quality of

composting increased nitrogen, phosphorus and potassium significantly ($P < 0.05$) when compared to the control.

Keywords : Agricultural residues, Rice straw, Corncob, Rubber wood chips, Lichen-associated bacteria



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จได้ ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณความกรุณาจากประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ฐปน ชื่นบาล ที่ได้ช่วยในเรื่องการวางแผนการวิจัยให้ความช่วยเหลือ คำแนะนำ และแนวทางในการแก้ปัญหาในการทำการวิจัยตลอดการดำเนินการวิจัย อีกทั้งยังเสียสละเวลาตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้ถูกต้องสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริภรณ์ ชื่นบาล และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศรียาญญา คล้ายเรือง ที่ให้ความรู้ ความช่วยเหลือให้การสนับสนุนพร้อมทั้งให้คำปรึกษาและคำแนะนำในการแก้ไขปัญหาลดช่องว่างการดำเนินการวิจัย อีกทั้งยังเสียสละเวลาอันมีค่าในการตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณอาจารย์สาขาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ทุกท่านที่พร้อมให้คำแนะนำในด้านต่างๆ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ในการทำการวิจัยและคำแนะนำในการใช้อุปกรณ์ระหว่างการทำวิจัย รวมถึงพี่ เพื่อน และน้องๆ ทุกคนที่คอยช่วยเหลือและให้กำลังใจกันมาโดยตลอด

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ และทุกคนในครอบครัวของข้าพเจ้าที่คอยให้ความช่วยเหลือสนับสนุนทุนการศึกษา พร้อมทั้งคำแนะนำและเป็นกำลังใจจนทำให้สำเร็จการศึกษาไปได้ด้วยดี

วิภาพร จารุณกุล

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ช
สารบัญ.....	ซ
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญภาพ.....	ฐ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ที่มาและความสำคัญ.....	1
วัตถุประสงค์.....	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
บทที่ 2 ทฤษฎีและการตรวจเอกสาร.....	5
วัสดุปรับปรุงดิน.....	6
1.กระบวนการหมักวัสดุปรับปรุงดิน.....	6
2.ลักษณะของวัสดุคิบที่ใช้ในการหมักเพื่อเป็นวัสดุปรับปรุงดิน.....	8
3.องค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร.....	10
ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์.....	13
1.ขนาดของวัสดุคิบ.....	13
2.ความสดของวัสดุคิบ.....	13
3.องค์ประกอบทางเคมีของวัสดุคิบ.....	13
4.อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน.....	13
5.ความชื้น.....	14

6. อุณหภูมิ	14
7. การระบายอากาศ	15
8. พีเอช	15
วัสดุปรับปรุงดินที่สมบูรณ์.....	16
บทบาทของจุลินทรีย์ที่มีผลต่อกระบวนการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร	17
จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร	18
1. การย่อยสลายเซลลูโลส	18
2. การย่อยสลายเฮมิเซลลูโลส	19
ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์	20
1. ชนิดและสายพันธุ์ของจุลินทรีย์	20
2. แหล่งคาร์บอน	20
3. แหล่งไนโตรเจน	20
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	21
บทที่ 3 วิธีการวิจัย.....	27
ตอนที่ 1. ศึกษาการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรโดยแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไคเคน.....	27
1.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้น	27
1.2 การเตรียมวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร	27
1.3 การย่อยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร	27
1.4 การเก็บตัวอย่าง	29
1.5 การวิเคราะห์ทางเคมี	29
1.6 การตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด	30
1.7 ดัชนีการงอกของเมล็ด	30
1.8 การทดสอบทางสถิติ	30
ตอนที่ 2. ผลการศึกษาการย่อยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรโดยแบคทีเรีย	31

2.1 การเก็บตัวอย่าง.....	32
2.2 การวิเคราะห์ทางเคมี.....	32
2.3 การตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด.....	33
2.4 ดัชนีการรกอกของเมล็ด.....	33
2.5 การทดสอบทางสถิติ.....	33
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย.....	34
ตอนที่ 1. ศึกษาการย่อยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรโดยแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคน.....	34
1.1 อุณหภูมิของวัสดุหมัก.....	34
1.2 พีเอช.....	38
1.3 ปริมาณอินทรีย์วัตถุ.....	40
1.4 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด.....	42
1.5 อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน.....	44
1.6 ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์.....	46
1.7 ปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมด.....	48
1.8 ดัชนีการรกอกของเมล็ด.....	49
1.9 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด.....	51
ตอนที่ 2. ศึกษาการย่อยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรโดยแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคนในพื้นที่ เกษตร.....	57
2.1 อุณหภูมิของวัสดุหมัก.....	57
2.2 พีเอช.....	59
2.3 ปริมาณอินทรีย์วัตถุ.....	60
2.4 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด.....	61
2.5 อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน.....	62
2.6 ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์.....	64

2.7 ปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมด	65
2.8 ดัชนีการงอกของเมล็ด	66
2.9 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด	68
3.0 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของฟางข้าว	69
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	73
สรุปผลการศึกษา	73
ข้อเสนอแนะในการวิจัยครั้งต่อไป	74
บรรณานุกรม	75
ภาคผนวก	85
ภาคผนวก ก การวิเคราะห์องค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรด้วยวิธีมาตรฐาน	86
ประวัติผู้วิจัย	91



สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ชนิดและปริมาณของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรของประเทศไทย	9
ตารางที่ 2 องค์ประกอบของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินในวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร	10
ตารางที่ 3 รายชื่อแบคทีเรียและเอนไซม์ที่ผลิตในการย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส	19
ตารางที่ 4 การเก็บตัวอย่างฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพารา เพื่อทำการวิเคราะห์ทางเคมี และทางชีวภาพ	29
ตารางที่ 5 การเก็บตัวอย่างฟางข้าวเพื่อทำการวิเคราะห์ทางเคมีและทางชีวภาพ	32
ตารางที่ 6 ดัชนีการงอกของเมล็ด	50
ตารางที่ 7 คุณสมบัติของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรหลังสิ้นสุดการทดลอง	55
ตารางที่ 8 ดัชนีการงอกของเมล็ด	66
ตารางที่ 9 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของฟางข้าว	70
ตารางที่ 10 คุณสมบัติของฟางข้าวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง	72

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลสประกอบโมเลกุลของกลูโคส	11
ภาพที่ 2 โครงสร้างโมเลกุลของไซแลน	11
ภาพที่ 3 สูตรโครงสร้างของลิกนิน.....	12
ภาพที่ 4 วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่ทำการลดขนาดในกล่องพลาสติกขนาด 20x15 ซม.	28
ภาพที่ 5 การหมักฟางข้าวแบบไม่พลิกกลับกองในวงตาข่าย.....	31
ภาพที่ 6 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิระหว่างการหมักวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร	37
ภาพที่ 7 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชระหว่างการหมักวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร	39
ภาพที่ 8 การเปลี่ยนแปลงปริมาณอินทรีย์วัตถุระหว่างการหมักวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร.....	41
ภาพที่ 9 การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจนระหว่างการหมักวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร	43
ภาพที่ 10 การเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนระหว่างการหมัก	45
ภาพที่ 11 การเปลี่ยนแปลงปริมาณฟอสฟอรัสระหว่างการหมักวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร	47
ภาพที่ 12 การเปลี่ยนแปลงปริมาณโพแทสเซียมระหว่างการหมักวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร	48
ภาพที่ 13 ดัชนีการงอกของเมล็ดจากน้ำสกัดฟางข้าวเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมัก.....	49
ภาพที่ 14 การเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ระหว่างการหมักวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร	52
ภาพที่ 15 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิระหว่างการหมักของฟางข้าว	58
ภาพที่ 16 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชระหว่างการหมักของฟางข้าว.....	59
ภาพที่ 17 การเปลี่ยนแปลงปริมาณอินทรีย์วัตถุระหว่างการหมักของฟางข้าว	60
ภาพที่ 18 การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจนระหว่างการหมักของฟางข้าว.....	61
ภาพที่ 19 การเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนระหว่างการหมักของฟางข้าว	63
ภาพที่ 20 การเปลี่ยนแปลงปริมาณฟอสฟอรัสระหว่างการหมักของฟางข้าว.....	64
ภาพที่ 21 การเปลี่ยนแปลงปริมาณโพแทสเซียมระหว่างการหมักของฟางข้าว.....	65

ภาพที่ 22 ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการหมัก.....	65
ภาพที่ 23 ดัชนีการงอกของเมล็ดจากน้ำสกัดฟางข้าวเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมัก.....	67
ภาพที่ 24 การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์ระหว่างการหมักของฟางข้าว.....	68



บทที่ 1

บทนำ

ที่มาและความสำคัญ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม ประชากรส่วนใหญ่ประกอบอาชีพเกษตรกร โดยมีพื้นที่การเพาะปลูกพืชหลัก ได้แก่ ข้าว ข้าวโพด ยางพารา เป็นต้น (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2560) ซึ่งภายหลังจากการเก็บเกี่ยวในแต่ละปีจะมีวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่เหลือตกค้างอยู่ในพื้นที่ หลังการเก็บเกี่ยวเป็นจำนวนมาก เกษตรกรโดยส่วนใหญ่ได้มีการจัดการวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ด้วยการเผาในที่โล่งเป็นหลัก เนื่องจากสะดวกและรวดเร็ว แต่หลังจากการเผานั้นได้ก่อให้เกิดผลกระทบทางด้านสิ่งแวดล้อมตามมาจำนวนมากทั้งการทำลายแหล่งอินทรีย์วัตถุในดิน และก่อให้เกิดมลพิษทางอากาศส่งผลให้เกิดปัญหาหมอกควันตามมาอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งหากค่าฝุ่นละอองในอากาศเกินค่ามาตรฐาน จะส่งผลกระทบต่อสุขภาพอนามัยต่อประชากรที่อาศัยอยู่ โดยค่าการปลดปล่อยฝุ่นละอองขนาดเล็ก จากการเผาวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมีค่า 7 กิโลกรัม ทุก 1,000 กิโลกรัมของเศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่ถูกเผาไหม้ (กรมควบคุมมลพิษ, 2555) ซึ่งปัญหาที่เกิดขึ้นเกิดจากการจัดการวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่ไม่ถูกวิธี หากมีแนวทางในการจัดการที่เหมาะสมจะช่วยลดปัญหาทางสิ่งแวดล้อมทั้งยังเป็นการลดปริมาณวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่ตกค้างในพื้นที่การเกษตรได้อีกด้วย

ปัจจุบันจึงมีการนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมาใช้ประโยชน์หลากหลายแนวทาง ทั้งแนวทางการนำมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลเพื่อใช้เป็นพลังงานทดแทน แนวทางการใช้เป็นอาหารในการเลี้ยงสัตว์ และแนวทางใช้เป็นวัสดุสำหรับเป็นวัสดุปรับปรุงดิน ซึ่งเป็นการจัดการด้วยวิธีการทางชีวภาพ (สุภาวดี, 2557) และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมด้วยกระบวนการสลายตัวของสารอินทรีย์ภายใต้การทำงานของจุลินทรีย์ซึ่งจะช่วยให้สามารถนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมาใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงดิน (Zhao et al., 2016) ดังนั้นการหมักวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรจึงเป็นหนึ่งในตัวเลือกที่ดีที่สุดในการจัดการเศษซากพืช

ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดในการนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมาเป็นวัสดุในการปรับปรุงดินโดยการหมักซึ่งเป็นแนวทางหนึ่งในการนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรกลับมาใช้ประโยชน์ ทั้งเพื่อลดปริมาณวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่ตกค้าง แต่เนื่องด้วยวิธีการหมักเป็นการย่อยสลายทางธรรมชาติ จึงใช้ระยะเวลาอันยาวนานเนื่องจากวัสดุอินทรีย์มีโครงสร้างทางเคมีและองค์ประกอบหลักเป็นลิกโนเซลลูโลส (Sanchez et al., 2017) ซึ่งโดยทั่วไปประกอบด้วย เซลลูโลส (cellulose)

เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) และลิกนิน (lignin) โดยมีสัดส่วนของแต่ละองค์ประกอบในปริมาณที่แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดและอายุของวัสดุ ทั้งนี้เซลลูโลสถือเป็นองค์ประกอบหลักที่พบในพืชมากที่สุด โดยในผนังเซลล์ของพืชชั้นสูงทุกชนิดจะพบเซลลูโลสเป็นส่วนประกอบประมาณร้อยละ 40-60 และมีน้ำตาลกลูโคส เป็นหน่วยย่อย ประมาณ 1,000-10,000 โมเลกุล ต่อกันเป็นโพลีเมอร์ สายยาว และเชื่อมกันด้วยพันธะ β -1,4-glycosidic เรียงตัวเป็นเส้นตรง ไม่มีแขนงย่อย มีสูตรเคมีทั่วไป คือ $(C_6H_{10}O_5)_n$ นอกจากนี้เซลลูโลสส่วนใหญ่อยู่ร่วมกัน กับเฮมิเซลลูโลส และลิกนิน เรียงตัวกันอย่างเป็นระเบียบและหนาแน่น โดยมีลิกนินเป็นองค์ประกอบที่อยู่นอกสุดทำให้การย่อยสลายตามธรรมชาตินั้นใช้ระยะเวลาานาน (นคร, 2553)

ปัจจุบันพบว่าในธรรมชาติองค์ประกอบต่างๆของพืชสามารถถูกย่อยสลายได้โดยอาศัยการทำงานของ จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส (cellulase) ซึ่งเอนไซม์เซลลูเลสเป็นกลุ่มเอนไซม์เชิงซ้อนที่ประกอบด้วยเอนไซม์ 3 ชนิด คือ เอนโดกลูคาเนส (endoglucanase) เอกโซกลูคาเนส (exoglucanase) และเซลโลไบเอส (cellbiose) (Juturu and Wu, 2014) โดยเอนไซม์เอนโดกลูคาเนสจะย่อยเซลลูโลสที่เป็นโครงสร้างผลึกให้เป็นสายโซ่ จากนั้นเอนไซม์เอกโซกลูคาเนสจะย่อยสายโซ่ให้เป็นเซลลูบิโอส และเอนไซม์เซลโลไบเอส จะย่อยเซลลูบิโอสให้เป็นน้ำตาลกลูโคส ซึ่งเอนไซม์ดังกล่าวนี้จะทำงานได้ดีที่อุณหภูมิ 50 °C และความเป็นกรด-ด่าง ในช่วง 4-8 โดยจุลินทรีย์จะปลดปล่อยเอนไซม์เซลลูเลสออกมานอกเซลล์ (extracellular enzyme) เพื่อย่อยสลายองค์ประกอบของพืชให้กลายเป็นอินทรีย์วัตถุที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ และใช้อินทรีย์วัตถุเป็นแหล่งพลังงานเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต โดยปริมาณของจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นมากเมื่อเกิดการย่อยสลายสารประกอบเซลลูโลสในสภาพที่เหมาะสม รวมทั้งมีการระบายอากาศ อุณหภูมิ และ แหล่งอาหารที่เพียงพอ แบคทีเรียมีความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบเซลลูโลสได้เป็นส่วนใหญ่ มีความหลากหลายของชนิดแบคทีเรียและมีการเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว ในสภาวะที่มีออกซิเจน เช่น *Cellulomonas*.sp, *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Cellulomonas flavigena.*, *Clostridium* sp. และ *Vibrio* sp. ซึ่งเอนไซม์เหล่านี้ไม่อันตรายต่อสิ่งแวดล้อม เนื่องจากเอนไซม์มีความจำเพาะเจาะจงในการทำปฏิกิริยาสูง (Lu and Mosier, 2007)

ทั้งนี้สามารถพบแบคทีเรียผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้จากสิ่งแวดล้อมที่หลากหลายทั้งจากสิ่งมีชีวิต เศษวัสดุอินทรีย์ และในดินต่างๆ ไป เช่นเดียวกับ กุสุมาวดี (2557) ที่สามารถคัดแยกแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากดินใต้กองผักตบชวา โดยสามารถคัดแยกแบคทีเรียที่เกิดวงใสได้จำนวน 37 ไอโซเลต วัตถุประสงค์เอนไซม์ได้สูงสุด 0.209 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และ รัชรา และคณะ (2557) พบแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ เซลลูเลส จำนวน 20 ไอโซเลต จากกระเพาะวัว โดย *Bacillus subtilis* B4 มีกิจกรรมเอนไซม์สูงถึง 141 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

จากความสามารถในการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ต่างๆ ในธรรมชาติของจุลินทรีย์เหล่านี้ จะเห็นได้ว่า จุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการลดปริมาณวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรได้ นอกจากนี้จะเป็นการลดปริมาณวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรแล้วนั้น ยังสามารถนำมาใช้ประโยชน์ทางการเกษตรในการปรับปรุงคุณภาพดินอีกด้วย

จากงานวิจัยเรื่อง การแยกและการตรวจสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคนซึ่งเก็บจากพื้นที่การเกษตร (พิมพรรณ และคณะ, 2560) และ การผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสโดยแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคนเพื่อย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร (ฐปน และคณะ, 2561) ได้พบแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและเอนไซม์ไซลาเนส โดยไอโซเลทที่ผลิตเอนไซม์ได้สูงที่สุด คือ *Bacillus amyloliquefaciens* LC 141 มีกิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ 77.32 ± 6.48 mU/ml และไอโซเลทที่ผลิตเอนไซม์ไซลาเนสได้สูงที่สุดคือ LC42 *Paenibacillus* มีกิจกรรมของเอนไซม์ไซลาเนส สูงสุดเท่ากับ 1.81 ± 0.12 U/ml ในการศึกษาครั้งนี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อใช้แบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและเอนไซม์ไซลาเนสมาช่วยในการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร พร้อมทั้งศึกษาการเปลี่ยนแปลงของธาตุอาหารหลักและองค์ประกอบทางเคมีหลังการย่อยสลาย เพื่อเป็นแนวทางในการใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรอย่างมีประสิทธิภาพอย่างยั่งยืนต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาความสามารถในการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรโดยแบคทีเรียที่คัดแยกจากไลเคน
2. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณธาตุอาหารหลัก (N, P, K) จากการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรด้วยแบคทีเรียที่คัดแยกจากไลเคน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพื่อลดปริมาณวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรจากภาคการเกษตร
2. ใช้ประโยชน์จากแบคทีเรียที่ได้จากการแยกมาจากไลเคน
3. ลดระยะเวลาการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เพื่อเป็นประโยชน์ต่อการหมักปุ๋ย และปรับปรุงดินในอนาคต

บทที่ 2

ทฤษฎีและการตรวจเอกสาร

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม ภายหลังจากการเก็บเกี่ยวจึงมีวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเป็นจำนวนมาก ในปัจจุบันจึงมีความสนใจที่จะนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมาใช้ให้เป็นประโยชน์ แทนการกำจัดมากขึ้น

วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประกอบด้วยลิกโนเซลลูโลสมีองค์ประกอบหลัก 3 ชนิด ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสเมื่อถูกย่อยสลายโดยสมบูรณ์จะให้น้ำตาลกลูโคสและไซโลสเป็นผลิตภัณฑ์หลักสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย เช่น ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตแอลกอฮอล์ (Millati et al., 2005) ซึ่งโดยทั่วไปองค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประกอบด้วยพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ละลายน้ำซึ่งมีโครงสร้างหลักเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลต่อกันด้วยพันธะ β -1,4 และระหว่างสายพอลิเมอร์เชื่อมกันด้วยพันธะไฮโดรเจน การย่อยสลายจึงเกิดได้ยากทั้งยังสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการผ่านกระบวนการปรับสภาพ เช่น การให้ความร้อน และการใช้กรด เพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวและกำจัดสารอื่นออกจากวัตถุดิบ ทำให้เอนไซม์สามารถเข้าไปทำปฏิกิริยาได้ดีขึ้น ในปัจจุบันมีวิธีการย่อยสลายพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ละลายน้ำโดยไม่ต้องผ่านกระบวนการปรับสภาพ โดยใช้ multienzyme complex ที่ประกอบด้วยเอนไซม์ในกลุ่มของไซลาโนไลติกและเซลลูโลติก ทั้งยังมีโปรตีนหลายหน่วยย่อยทำงานร่วมกัน และมี non-catalytic polysaccharide-binding domains ได้แก่ cellulose-binding domain และ xylan binding domain ที่สามารถยึดเกาะกับพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ละลายน้ำแบบจำเพาะ ซึ่งการยึดเกาะนี้จะช่วยเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์บริเวณผิวสัมผัสของสับสเตรท และช่วยทำลายพันธะไฮโดรเจนซึ่งเชื่อมระหว่างสายของพอลิเมอร์ส่งผลให้การย่อยสลายพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ละลายน้ำที่เป็นองค์ประกอบในผนังเซลล์พืชให้สมบูรณ์มากขึ้นโดยจะได้ผลผลิตเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวหรือโอลิโกแซ็กคาไรด์ (Tomme et al., 1995)

การย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสจะได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาล สามารถเปลี่ยนต่อไปจนได้แอลกอฮอล์ และสารประกอบอินทรีย์อื่นๆ ได้ โดยทั่วไปมีการย่อยสลายลิกโนเซลลูโลส 2 วิธี คือ (1) วิธีการทางเคมี โดยใช้กรดที่มีความเข้มข้นสูงภายใต้อุณหภูมิสูง แต่วิธีการนี้ส่งผลให้ได้ผลิตภัณฑ์น้ำตาลออกมาต่ำ (2) วิธีการทางชีวภาพ เป็นการย่อยสลายสารประกอบลิกโนเซลลูโลสด้วยเอนไซม์ที่ได้จากจุลินทรีย์ประเภทต่างๆ ทั้งนี้ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจะไม่รุนแรงเพราะเอนไซม์มีความจำเพาะต่อสารประกอบต่างๆ (มูรณีย์, 2557)

วัสดุปรับปรุงดิน

วัสดุปรับปรุงดิน คือ วัสดุอินทรีย์ที่ได้มาจากการนำเอาเศษพืช เช่น ฟางข้าว ชังข้าวโพด ใบอ้อย หญ้าแห้ง และผักตบชวา มาหมักร่วมกับมูลสัตว์ และจุลินทรีย์ ซึ่งเมื่อทำการหมักในระยะเวลาหนึ่งแล้วจะเกิดการย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์โดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ซึ่งเป็นกระบวนการทางชีววิทยาของจุลินทรีย์ในสภาพที่เหมาะสมทั้งในด้าน อุณหภูมิ ความชื้น ปริมาณออกซิเจน รวมถึงอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน จนกระทั่งได้สารอินทรีย์วัตถุที่มีความเสถียรในสภาพที่เหมาะสม โดยเศษพืชจะเปลี่ยนสภาพจากเดิมเป็นสีน้ำตาลหรือดำ ไม่มีกลิ่น และมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่ต่ำหลังจบกระบวนการย่อยสลายที่สมบูรณ์ เศษพืชนั้นจะได้ผลิตภัณฑ์เป็นวัสดุปรับปรุงดิน ซึ่งมีประโยชน์ต่อพืช สามารถนำไปใส่ในไร่นาหรือพืชสวนเพื่อปรับปรุงดินได้ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2560)

วัตถุดิบสำหรับทำวัสดุปรับปรุงดิน คือ วัตถุดิบที่มีสารอินทรีย์เป็นองค์ประกอบ สำหรับการหมักที่ดีนั้นจะต้องมีอัตราส่วนของวัตถุดิบระหว่างวัตถุดิบที่มีสารคาร์บอนและไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบในปริมาณที่เหมาะสม คือ คาร์บอน 25-30 ส่วนต่อไนโตรเจน 1 ส่วน ตัวอย่างของวัตถุดิบที่มีสารคาร์บอนเป็นองค์ประกอบ เช่น ใบไม้แห้ง ฟางข้าว กิ่งไม้ ซึ่งจุลินทรีย์จะใช้เป็นแหล่งพลังงาน ในขณะที่วัตถุดิบที่มีสารไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ ได้แก่ พืชสีเขียว และมูลสัตว์ ซึ่งจุลินทรีย์จะใช้เป็นแหล่งไนโตรเจน แต่ถ้ากองวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรนั้นมีวัตถุดิบที่มีสารคาร์บอนเป็นองค์ประกอบจำนวนมากเกินไปจะทำให้กองวัสดุเกิดการย่อยสลายช้าลง ในขณะที่มีวัตถุดิบที่มีสารไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบมากเกินไป จะส่งผลให้กองวัสดุหมักเกิดกลิ่น มูลสัตว์ เป็นวัตถุดิบที่เหมาะสมแก่การนำมาทำการหมัก โดยประกอบด้วยแหล่งไนโตรเจน และจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อการย่อยสลายวัตถุดิบในกองปุ๋ยหมัก (Rebollido et al., 2008)

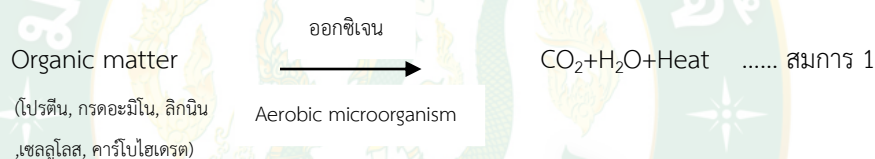
วิธีการทำวัสดุปรับปรุงดิน ทำการหมักวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร โดยวิธี cold or slow composting ซึ่งวิธีการนี้มีข้อดีคือ กระบวนการจัดการง่าย แต่มีข้อเสีย คือการย่อยสลายเกิดขึ้นอย่างช้า ๆ จึงต้องทำการหมักไว้เป็นเวลานานจึงจะเกิดการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์ เป็นวิธีทำปุ๋ยหมักอย่างง่าย โดยการนำเศษใบไม้ กิ่งไม้ และ ฟาง เป็นต้น ไปวางไว้บนผิวน้ำดิน แล้วปล่อยให้กระบวนการย่อยสลายเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (ยงยุทธ และคณะ, 2554)

1. กระบวนการหมักวัสดุปรับปรุงดิน

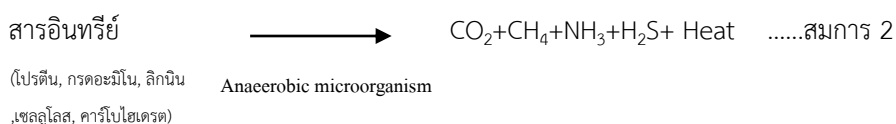
กระบวนการทำวัสดุปรับปรุงดิน เป็นกระบวนการแปรสภาพของสารอินทรีย์ด้วยกระบวนการทางชีวภาพโดยอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์หลายกลุ่มในการย่อยสลายสารอินทรีย์ให้

อยู่ในรูปของแร่ธาตุที่เป็นประโยชน์แก่พืชวัสดุหมักที่ผ่านกระบวนการย่อยสลายจนย่อยสลายเสร็จสมบูรณ์แล้วนั้นจะมีลักษณะเป็นสีน้ำตาล และมีความชื้นเล็กน้อย โดยวัสดุที่ทำการหมักจะมีปริมาณลดลง 30-60% (ธันวดี, 2547) กลุ่มจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการย่อยสลายวัสดุหมัก สามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

- 1.1 การหมักแบบใช้ออกซิเจน (Aerobic composting) เป็นการย่อยสลายสารอินทรีย์ของจุลินทรีย์ที่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีพ เมื่อจุลินทรีย์ได้รับออกซิเจนและสารอาหารที่เพียงพอในสภาวะที่เหมาะสม ทั้งอุณหภูมิ ความชื้น และออกซิเจน จะทำให้จุลินทรีย์เกิดการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ซึ่งส่งผลให้การย่อยสลายสารอินทรีย์ให้เป็นแร่ธาตุเกิดขึ้นได้รวดเร็วยิ่งขึ้น การหมักประเภทนี้จะมีการปลดปล่อยพลังงานออกมาในรูปของความร้อนจากการออกซิเดชันของสารอินทรีย์ ทำให้ได้ผลผลิตสุดท้ายที่มีความเสถียร
- ดังสมการ 1



- 1.2 การหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic composting) เป็นการย่อยสลายสารอินทรีย์ของจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีวิต ซึ่งวัตถุดิบที่นำมาใช้ในการหมักจะอยู่ในลักษณะกึ่งของเหลว เมื่อได้รับสารอาหารและอยู่ในสภาวะที่เหมาะสมจุลินทรีย์จะเจริญเติบโตและย่อยสลายสารอินทรีย์ให้แปรสภาพไปเป็นแร่ธาตุ โดยลักษณะเฉพาะของการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน คือ การย่อยสลายที่อุณหภูมิต่ำและได้ผลผลิตที่มีกลิ่นปฏิกิริยาสุดท้ายที่เกิดขึ้นจะมีความเสถียร โดยผลิตภัณฑ์ในส่วนที่เป็นก๊าซจะหายไป และมีกลิ่นจากก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) และก๊าซแอมโมเนีย (NH_3) ซึ่งจะส่งผลให้คุณภาพของปุ๋ยหมักที่ได้ค่อนข้างต่ำ และใช้ระยะเวลาานกว่าการหมักแบบใช้ออกซิเจน ดังสมการ 2



วัสดุปรับปรุงดินเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายเศษซากพืชโดยอาศัยการทำงานของสิ่งมีชีวิตหลายชนิด ได้แก่ จุลินทรีย์ แบคทีเรีย และรา โดยกระบวนการย่อยสลายจะเกิดขึ้นหลังจากวัตถุดิบมีความร้อน ความชื้น และการระบายอากาศที่เหมาะสม ประกอบด้วย 3 ระยะ คือ ระยะเริ่มต้น (initiate phase) โดยมีจุลินทรีย์กลุ่มที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลาง (mesophilic microorganisms) เจริญเติบโต จากนั้นจะเข้าสู่ระยะที่สองระยะอุณหภูมิสูง (thermophilic phase) เป็นระยะการหมักที่อุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักสูงกว่า 50 °C และระยะสุดท้ายระยะหมักสมบูรณ์ (maturing phase) อุณหภูมิในระยะนี้จะใกล้เคียงกับอุณหภูมิภายนอก จุลินทรีย์ที่เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลางยังสามารถเจริญเติบโตได้ในการหมักในระยะนี้ ได้ผลผลิตที่ได้ในขั้นตอนสุดท้ายของการย่อยสลายคือ ฮิวมัส (นันทวัน, 2556)

2. ลักษณะของวัตถุดิบที่ใช้ในการหมักเพื่อเป็นวัสดุปรับปรุงดิน

วัตถุดิบที่ใช้ในการทำวัสดุปรับปรุงดินในปัจจุบันนิยมใช้ของเสียจากชุมชน วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เพื่อเป็นการนำของเสียกลับมาใช้ประโยชน์โดยลักษณะของวัตถุดิบที่ใช้หมักนั้นมีผลต่อกระบวนการย่อยสลายของจุลินทรีย์ โดยในปัจจุบันได้มีการใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรในการทำวัสดุปรับปรุงดินมากขึ้นเพื่อลดต้นทุนและลดมลพิษจากการจัดการที่ผิดวิธี โดยในแต่ละปีนั้นจะมีปริมาณวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่ผลิตภายในประเทศตกค้างจำนวนมาก ซึ่งปริมาณจะแปรผันกับปริมาณผลผลิตทางการเกษตรของประเทศ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ชนิดและปริมาณของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรของประเทศไทย

ชนิด	ผลผลิต (ตัน)	ประเภทวัสดุ	ปริมาณเหลือใช้ (ตัน)
อ้อย	66,816,446	ชานอ้อย	4,190,794.31
		ยอดและใบ	13,439,727.21
ข้าว	31,508,364	แกลบ	3,510,598.90
		ฟางข้าว	25,646,547.96
ถั่วเหลือง	190,480	ต้น/เปลือก/ใบ	170,383.17
ข้าวโพด	4,616,119	ซัง	584,539.15
		ลำต้น	2,758,777.36
		ทะลายเปล่า	1,024,868.34
ปาล์มน้ำมัน	8,162,397	ใบ	162,970.06
		กะลา	38,959.04
		ก้าน	2,203,740
		ก้าน	628,990.82
มะพร้าว	1,380,980	กาบ	464,250.95
		กะลา	128,936.58
รวม	145,853,073		59,539,905.20

ที่มา: (กัญญา, 2555)

จากตารางที่ 1 การจัดการวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเบื้องต้นเป็นดังนี้

ฟางข้าว เป็นลำต้นที่เหลือทิ้งหลังจากการเก็บเกี่ยวข้าว มีการนำมาใช้ประโยชน์ เช่น เป็นอาหารสัตว์ คลุมดิน เป็นต้น แต่ยังมีฟางข้าวจำนวนมากที่ไม่ได้นำไปใช้ โดย 1 ใน 3 ของส่วนที่เหลือถูกเผาทิ้ง

ใบอ้อยและยอดอ้อย ถูกตัดออกจากลำต้นก่อนส่งไปโรงงาน ชาวไร่อ้อยใช้วิธีเผาแทนการตัด ยอดอ้อยสามารถนำมาเป็นอาหารสัตว์ ใบอ้อยส่วนใหญ่จะถูกเผาทิ้งในไร่ ยังไม่มีการนำไปใช้ประโยชน์

ซังข้าวโพดและลำต้น ซังข้าวโพดได้จากการสีข้าวโพดเพื่อนำเมล็ดมาใช้งาน สามารถนำไปเป็นวัตถุดิบผลิตแอลกอฮอล์ และนำไปเลี้ยงสัตว์ มีส่วนที่ไม่ได้นำไปใช้งานจะถูกไถฝังกลบในไร่

ไม้ยางพารา เป็นพืชอายุยืน มีพื้นที่ปลูกทั่วประเทศ ผลผลิตของยางพาราสามารถพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ใช้กับชีวิตประจำวันได้ เช่น ยางรถยนต์ เป็นต้น แต่กิ่งก้านหลังการตัดแต่งต้น และการร่วงหล่นตามธรรมชาติยังไม่มีนำมาใช้ประโยชน์ในปัจจุบัน (กัญญา, 2555)

ทั้งนี้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเป็นพืชที่มีอยู่ในธรรมชาติมีองค์ประกอบเป็น ลิกโนเซลลูโลส ซึ่งประกอบด้วย เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินเป็นองค์ประกอบหลักภายใน โครงสร้างของผนังเซลล์ ในอัตราส่วนแตกต่างกันขึ้นอยู่กับประเภทของวัสดุ ตารางที่ 2 โดยทั่วไป พบเซลลูโลสร้อยละ 40-60 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 20-30 และลิกนินร้อยละ 15-30 (Lee et al., 2008)

ตารางที่ 2 องค์ประกอบของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินในวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

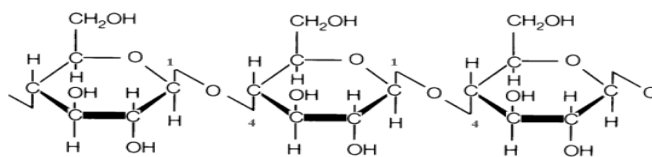
วัสดุเหลือทิ้งทาง การเกษตร	ร้อยละของ เซลลูโลส	ร้อยละของ เฮมิเซลลูโลส	ร้อยละของลิกนิน
ไม้เนื้อแข็ง	40-55	24-40	18-25
ไม้เนื้ออ่อน	45-50	25-35	25-35
เปลือกถั่ว	25-30	25-30	30-40
ซังข้าวโพด	45	35	15
ฟางข้าว	30	50	15
ใบไม้แห้ง	15-20	80-85	0
หญ้า	25-40	35-50	10-30

ที่มา: (Eriksson, 1990)

3.องค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

3.1 เซลลูโลส (Cellulose)

เซลลูโลสเป็นองค์ประกอบที่พบมากในวัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลส ปริมาณที่พบแตกต่างกัน ไปขึ้นอยู่กับชนิดของพืช (Goshadrou et al., 2011) เป็นโพลิเมอร์เส้นตรง ไม่มีกิ่งก้าน ประกอบด้วยหน่วยย่อยคือ (β -D-Glucopyranose) เชื่อมต่อกันด้วย (β -1,4-glycosidic bond) เกิดเป็นโพลิเมอร์กลูแคน ยึดเหนี่ยวกันด้วยพันธะไฮโดรเจน (Eriksson, 1990) การย่อยสลาย โครงสร้างเซลลูโลสจำเป็นต้องอาศัยการทำงานของเอนไซม์ endoglucanases (1,4- β -D-glucan glucano-hydrolase) และ exoglucanases (1,4- β -D-cellobiohydrolase) ซึ่งจะให้ผลผลิตเป็น น้ำตาลโมเลกุลคู่ cellobiose และสุดท้ายทำการย่อยด้วยเอนไซม์ β -glucosidase (Goshadrou et al., 2011) สำหรับโครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส แสดงดังภาพที่ 1



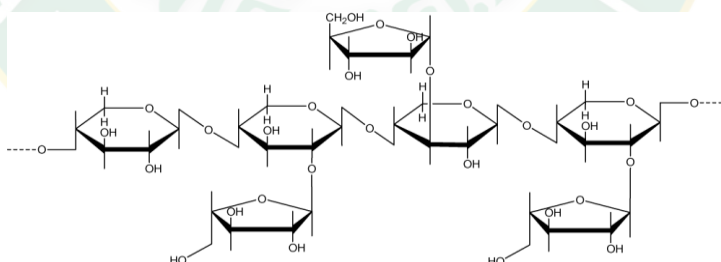
ภาพที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลสประกอบโมเลกุลของกลูโคส

ที่มา: (วนิดา และคณะ, 2550)

1.2 เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose)

เฮมิเซลลูโลสเป็นเฮทเทอร์โพลิเมอร์ของน้ำตาลชนิดต่างๆ หลายชนิดผสมกัน เช่น กลูโคส แมนโนส ไซโลส และอะราบิโนส (Bastawde, 1992) โดยในพอลิเมอร์ไวแลน ดี-ไซโลสมีปริมาณมากที่สุดคือ ร้อยละ 85-93 ส่วนองค์ประกอบอื่น เช่น กลูโคส กรดกลูควิโรนิก จะพบปริมาณน้อย (Fengel and Wegener, 1983) โดยไซโลสที่พบจะเชื่อมด้วยพันธะเบต้า 1,4 ไกลโคซิดิก (Mete Altintas et al., 2002) สำหรับโครงสร้างทางเคมีของไซแลน แสดงดังภาพที่ 2

เฮมิเซลลูโลสสามารถละลายได้ในสารละลายเบส ไซแลนเป็นพอลิเมอร์หลักของเฮมิเซลลูโลส มีโครงสร้างประกอบด้วยน้ำตาลไซโลสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β -1,4-glycosidic bond โดยมี xylopyranose เป็นสายหลักและมีสารประกอบอื่นๆมาเกาะเป็นสายโซ่ข้าง เช่น หมู่อะราบิโนซิล



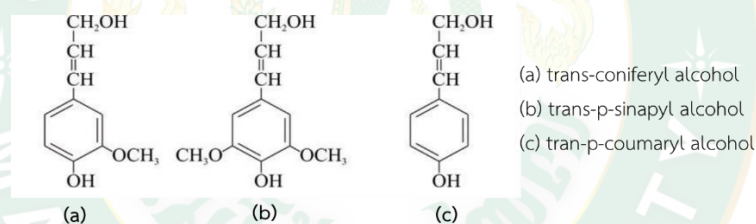
ภาพที่ 2 โครงสร้างโมเลกุลของไซแลน

ที่มา: (Bastawde, 1992)

1.3 ลิกนิน (Lignin)

ลิกนินพบได้ในปริมาณที่แตกต่างไปตามชนิดของพืชในธรรมชาติลิกนินเป็นส่วนป้องกันเซลลูโลสไม่ให้ถูกย่อยสลายได้ง่ายโดยเอนไซม์ของจุลินทรีย์ และเป็นเฮเทอโรพอลิเมอร์ที่มีโครงสร้างแบบ 3 มิติ (Cheng et al., 2008) แสดงดังภาพที่ 3

นอกจากนี้ลิกนินประกอบด้วยโครงสร้างที่เป็น phenyl propane เชื่อมต่อกันด้วยพันธะหลายชนิดต่อกันอย่างไม่มีการเรียงลำดับทำให้มีโครงสร้างที่ซับซ้อน แทรกอยู่ที่ผนังเซลล์ของพืชทำให้ถูกย่อยสลายได้ยาก แต่จุลินทรีย์บางชนิดทั้งแบคทีเรียและราสามารถย่อยสลากลิกนินได้ เช่น เชื้อราในกลุ่ม white rot fungi ซึ่งย่อยสลากลิกนินเพื่อนำเอาเซลลูโลสมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอน เอนไซม์หลักที่สำคัญในการย่อยสลายสารประกอบลิกนิน ได้แก่ lignin peroxidase, manganese peroxidase และ laccase โดยการผลิตเอนไซม์นี้ขึ้นอยู่กับสภาวะที่เหมาะสม เช่น สัดส่วนของแหล่งคาร์บอน ไนโตรเจน และสารอาหารรวมถึงพีเอช อุณหภูมิ และปริมาณออกซิเจน (Hammel, 1997)



ภาพที่ 3 สูตรโครงสร้างของลิกนิน

ที่มา: (Eriksson et al., 1990)

ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์

การย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ให้เป็นวัดคุปรับปรุณดินที่ประกอบด้วยแร่ธาตุที่เป็นประโยชน์กับพืชนั้นต้องอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์เป็นหลัก ซึ่งจุลินทรีย์แต่ละชนิดนั้นจะมีคุณสมบัติในการทนทานต่อสภาวะแวดล้อมและมีความสามารถในการย่อยสลายที่แตกต่างกัน ดังนั้นระยะเวลาการย่อยสลายของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรนั้นจึงขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อม การทำงาน การเจริญเติบโต และการเพิ่มปริมาณของจุลินทรีย์ ซึ่งมีปัจจัยที่เกี่ยวข้อง ดังนี้

1.ขนาดของวัตถุติบ

มีผลทำให้จุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุหมักได้มากและรวดเร็วยิ่งขึ้น ดังนั้นจึงต้องมีการลดขนาดวัสดุหมักให้มีขนาดเล็กกลงเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสให้จุลินทรีย์ สามารถผสมกับวัสดุหมักได้อย่างทั่วถึง และยังช่วยรักษาอุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักได้ ทั้งนี้วัสดุหมักที่มีขนาดเล็กเกินไปจะขัดขวางการระบายอากาศของกองปุ๋ยหมักจึงต้องมีการเติมวัสดุหมักอื่น เช่น ใบไม้แห้งเพื่อเพิ่มการระบายอากาศ

2.ความสดของวัตถุติบ

มีผลต่อความชื้นและการระบายอากาศในกองวัสดุหมัก โดยวัตถุติบที่แห้งนั้นจะสะดวกต่อการควบคุมความชื้น และการระบายอากาศ ซึ่งการนำวัตถุติบสดมาทำการหมักนั้นสามารถทำได้ แต่ต้องควบคุมปริมาณความชื้น และการระบายอากาศเพื่อไม่ให้เกิดการเน่าเสียและส่งกลิ่นเหม็น

3.องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุติบ

จุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ในกองวัสดุหมักจำเป็นต้องใช้แหล่งอาหารและแหล่งพลังงานในการดำรงชีพ โดยสารอินทรีย์นั้นจะมีองค์ประกอบของคาร์บอนและไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบหลักที่สำคัญ โดยคาร์บอนเป็นส่วนประกอบหลักของเซลลูโลสและลิกนินที่มีอยู่ในพืช และไนโตรเจนจะพบอยู่ในรูปของโปรตีนและสารประกอบอื่นๆ ที่อยู่นอกเซลล์พืช นอกจากนี้จุลินทรีย์ยังใช้ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมในกระบวนการเมตาบอลิซึม

4.อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน

เป็นหนึ่งในปัจจัยหลักที่มีความสำคัญต่อกระบวนการหมักปุ๋ย อัตราส่วนของ C:N ที่เหมาะสมคือ 20-30:1 คาร์บอนและไนโตรเจนที่ถือเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญของจุลินทรีย์ โดยคาร์บอนจะเป็นแหล่งให้พลังงาน ส่วนไนโตรเจนใช้สำหรับกระบวนการสร้างเซลล์ โดยไนโตรเจนในวัสดุหมักจะถูกเปลี่ยนเป็นแอมโมเนีย ซึ่งหากมีปริมาณมากเกินไปจะมีความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ ทั้งนี้หากสัดส่วนคาร์บอนสูงกว่าไนโตรเจนมากจะทำให้กระบวนการย่อยสลายจุลินทรีย์ช้าลง ซึ่งอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนหลังกระบวนการหมักที่มีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 20 จะถือเป็นปุ๋ย

หมักที่มีการย่อยสลายสมบูรณ์สามารถนำไปใช้ประโยชน์โดยไม่เป็นอันตรายต่อพืช (กรมวิชาการเกษตร, 2551)

5. ความชื้น

มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและกิจกรรมของจุลินทรีย์ โดยปริมาณน้ำที่เกิดขึ้นจากกระบวนการย่อยสลายมีมากกว่าน้ำที่สูญเสียในกองปุ๋ยหมักจากการระบายน้ำอากาศและการระเหยเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น จะมีผลให้การระบายน้ำอากาศถูกขัดขวางเกิดสภาพแอนแอโรบิคและการย่อยสลายช้าลง รวมทั้งมีผลให้เกิดการสูญเสียธาตุอาหารในระหว่างการทำปุ๋ยหมัก (ทิพวรรณ, 2553) ทั้งนี้ระดับความชื้นในกองปุ๋ยหมักที่เหมาะสมต่อการย่อยสลาย คือ 50-70% โดยน้ำหนัก โดยถ้าในบริเวณที่มีปริมาณความชื้นต่ำกว่า 40% จะส่งผลให้กิจกรรมของจุลินทรีย์หยุดชะงักหรือถูกยับยั้งทำให้การย่อยสลายของวัสดุช้าลง ส่วนในบริเวณที่มีความชื้นมากเกินไปเกิน 80% จะทำให้กองปุ๋ยมีน้ำมากเกินไปโดยน้ำจะเข้าไปแทนที่อากาศส่งผลให้กองปุ๋ยมีออกซิเจนน้อยลงไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ทำให้จุลินทรีย์ที่เจริญได้ดีในสภาวะที่มีออกซิเจนถูกทำลายหรือเจริญได้อย่างช้าๆ เป็นผลให้การสลายตัวเป็นวัสดุปรับปรุงดินช้าลงและทำให้วัสดุหมักเน่าเสีย

6. อุณหภูมิ

เป็นปัจจัยสำคัญในการควบคุมกระบวนการหมักเนื่องจากจุลินทรีย์นั้นมีความต้องการอุณหภูมิเพื่อการเจริญเติบโตแตกต่างกัน ซึ่งถ้าระดับอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมจุลินทรีย์จะไม่เจริญเติบโต (นงลักษณ์ และปรีชา, 2552) ระดับอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญและการสร้างเอนไซม์ของจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะต่างกัน โดยในระหว่างการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์จะมีความร้อนเกิดขึ้นและถ่ายเทลงสู่อาหารทำให้อุณหภูมิสูงขึ้น สำหรับการสร้างโปรตีนของเซลล์จะทำให้อุณหภูมิสูงขึ้นเช่นกัน เนื่องจากเมทาบอลิซึมของจุลินทรีย์ซึ่งอุณหภูมิจะเป็นปัจจัยที่บ่งบอกชนิดของจุลินทรีย์และอัตราการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่เกิดขึ้น โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายอยู่ในช่วง 45-59 °C ทั้งนี้ อุณหภูมิที่ต่ำเกินไปจะส่งผลต่อ เมทาบอลิซึมของเซลล์และกระบวนการหายใจ ทำให้อัตราการหายใจของจุลินทรีย์ลดลงส่วนอุณหภูมิที่สูงเกินไปจะทำให้จุลินทรีย์ตายและหยุดการเจริญ เป็นผลเนื่องมาจากเอนไซม์ถูกทำลาย เป็นผลให้การย่อยสลายอินทรีย์วัตถุหยุดลงไปด้วย จึงจำเป็นต้องกลับกองปุ๋ยเพื่อให้อุณหภูมิลดลง จากนั้นจุลินทรีย์จะเพิ่มปริมาณมากขึ้นทำให้อุณหภูมิสูงขึ้นอีก ซึ่งจะเกิดสภาวะเช่นนี้จนกระทั่งการย่อยสลายเสร็จสมบูรณ์ โดยอุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักจะมีค่าใกล้เคียงกับอุณหภูมิในบรรยากาศ โดยอุณหภูมิภายในกองปุ๋ยหมักจะมีค่าใกล้เคียงกับอุณหภูมิบรรยากาศ ทั้งนี้สามารถแบ่งจุลินทรีย์ออกเป็นสองกลุ่มคือ จุลินทรีย์ที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลาง ระหว่าง 30-45 °C และจุลินทรีย์ที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูงระหว่าง 50-70 °C ปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักนั้นมีปัจจัยเพิ่มเติม เช่น สภาพแวดล้อม ลักษณะวัตถุดิบ และขนาดกองปุ๋ย

หมัก และยังรวมไปถึงการเติมปัจจัยบางส่วนร่วมกับวัตถุดิบหมัก เช่น การเติมมูลสัตว์ จุลินทรีย์ และสารเร่งปฏิกิริยา ซึ่งจะส่งเสริมการเพิ่มอุณหภูมิในกองปุ๋ยหมัก เป็นการบงบอกถึงประสิทธิภาพ และอัตราการย่อยสลาย โดยมีความสอดคล้องกับการลดลงของอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในกองปุ๋ยหมัก

7. การระบายอากาศ

กลุ่มจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเศษพืชประมาณ 90% เป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจนเพื่อเป็นตัวรับอิเล็กตรอน ในกระบวนการหายใจและสร้างพลังงาน จุลินทรีย์จึงสามารถสร้างเอนไซม์ออกมาย่อยสลายเศษพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นการกลับกองปุ๋ยเพื่อให้เกิดการระบายอากาศนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่ง นอกจากนั้นการกลับกองปุ๋ยยังมีผลต่อการระเหยความชื้นในกองปุ๋ยหมัก จึงควรควบคุมการระบายอากาศและความชื้นที่เหมาะสมเพื่อให้จุลินทรีย์สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ (ทิพวรรณ, 2553)

8. พีเอช

ในสภาวะปกติแบคทีเรียและเชื้อราสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่พีเอชในช่วง 6.0-7.5 และ 5.5-8.0 ตามลำดับ ดังนั้นการทำงานของจุลินทรีย์จะเกิดขึ้นได้ดีในปุ๋ยหมักที่มีพีเอช 6.0-9.0 (สรพรรณ, 2546) ซึ่งพีเอชนั้นมีผลต่อการเจริญของแบคทีเรียและการทำงานของเอนไซม์โดยค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียแต่ละชนิดจะแตกต่างกัน การหมักในระยะแรกพีเอชในกองปุ๋ยหมักจะเหมาะต่อการเจริญของเชื้อ แต่ระหว่างการหมักพีเอช อาจมีการเปลี่ยนแปลงจากการย่อยสลายโปรตีนและสารประกอบไนโตรเจนทำให้มีการปลดปล่อยแอมโมเนียหรือสารที่เป็นต่างอื่น ๆ ออกมาหรือมีการย่อยสลายสารประกอบคาร์โบไฮเดรตเกิดกรดอินทรีย์เป็นผลให้พีเอชไม่เหมาะสมต่อการเจริญ ดังนั้นจึงต้องมีการควบคุมให้อยู่ในสภาวะที่เหมาะสมคือ ในช่วง 6.0-8.0 (Prasertsan et al., 1997)

วัสดุปรับปรุงดินที่สมบูรณ์

Cooperband (2000) ให้ความจำกัดความของ การเสร็จสมบูรณ์ของการหมักว่าเป็น ความสามารถของวัสดุปรับปรุงดินในการสนับสนุนการเจริญเติบโตของพืช และไม่ทำลายพัฒนาการของพืช แตกต่างจากวัสดุปรับปรุงดินที่มีการหมักที่ไม่สมบูรณ์จะเกิดกระบวนการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ต่อเนื่องซึ่งจะแย่งก๊าซออกซิเจนและธาตุอาหารในดินจากพืชเพื่อใช้ในกระบวนการย่อยสลาย และสนับสนุนการเจริญของเชื้อโรคเนื่องจากยังมีสารอินทรีย์ที่มีความเข้มข้นสูง ทำให้จุลินทรีย์ก่อโรคสามารถใช้สารละลายอินทรีย์นั้นในการเจริญได้ โดยวัสดุปรับปรุงดินที่เสร็จสมบูรณ์แล้วสามารถใช้ปรับปรุงคุณภาพดินทั้งทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ

ทางกายภาพ ได้แก่ การปรับปรุงโครงสร้างของดิน ส่งเสริมการเกาะตัวของดิน ทำให้ดินสามารถดูดซับน้ำได้ดี การส่งผ่านของน้ำและอากาศ

ทางเคมี ได้แก่ การเพิ่มปริมาณธาตุอาหารให้แก่พืช เนื่องจากปุ๋ยหมักมีอินทรีย์วัตถุซึ่งมีธาตุอาหารหลายชนิด

ทางชีวภาพ ปุ๋ยหมักทำให้จุลินทรีย์บริเวณรากเพิ่มมากขึ้น และยังมีผลต่อการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ในดินที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของไนโตรเจนในดินโดยส่งผลต่อกระบวนการแอมโมนิฟิเคชัน (Ammonification) ไนตริฟิเคชัน (Nitrification) และการตรึงไนโตรเจน (Nitrogen fixation) เพิ่มสูงขึ้นด้วย เนื่องจากอินทรีย์วัตถุเป็นอาหารของจุลินทรีย์บางชนิด

หลักการพิจารณาวัสดุปรับปรุงดินที่เสร็จสมบูรณ์ (กรมวิชาการเกษตร, 2551)

- 1 สีของวัตถุดิบหมัก ลักษณะเนื้อของวัสดุปรับปรุงดินจะมีสีน้ำตาลเข้มจนถึงดำ
- 2 ลักษณะของวัตถุดิบที่ย่อยสลายสมบูรณ์พร้อมนำไปใช้ในทางการเกษตรนั้นจะต้องมีลักษณะทางกายภาพนุ่ม ยุ่ย อ่อน และสามารถขาดออกจากกันง่ายไม่มีลักษณะแข็งเหมือนวัตถุดิบเริ่มแรกในการหมัก
- 3 กลิ่นของวัสดุปรับปรุงดินที่สมบูรณ์ จะเป็นกลิ่นธรรมชาติไม่มีกลิ่นฉุนและเหม็น
- 4 ความร้อนในกองวัสดุหมัก เมื่อทำการหมักได้ประมาณ 3-4 วัน อุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักจะสูงขึ้นโดยมีค่าอยู่ในช่วง 45-60 °C ซึ่งเข้าสู่ระยะอุณหภูมิสูงอยู่ในระยะหนึ่งหลังจากนั้น อุณหภูมิค่อยๆลดลงจนกระทั่งใกล้เคียงกับอุณหภูมิภายนอกของกองวัสดุหมัก
- 5 ลักษณะของพืชที่เจริญบนกองวัสดุหมัก เมื่อวัสดุปรับปรุงดินย่อยสลายเกือบเสร็จสมบูรณ์ บางครั้งอาจมีพืชเจริญบนกองวัสดุปรับปรุงได้ นั้นแสดงว่าวัสดุหมักนั้นสามารถนำไปใส่ในดินโดยไม่เป็นอันตรายต่อพืช

บทบาทของจุลินทรีย์ที่มีผลต่อกระบวนการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

จุลินทรีย์เป็นกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มีบทบาททำให้เกิดกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์เมื่อจำแนกกลุ่มจุลินทรีย์ตามชนิดของสารอาหารคาร์บอนแล้ว สามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ เฮเทอโรโทรฟ (heterotroph) เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่ใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อใช้เป็นอาหาร ซึ่งเป็นพวกที่มีปริมาณมากที่สุดในดินและมีบทบาทในการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุ และอีกประเภทหนึ่งคือ ออโตโทรฟ (Autotroph) เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่ใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อสังเคราะห์สารอินทรีย์ออกมาสร้างเป็นองค์ประกอบของเซลล์ในการทำปุ๋ยหมักจะมีปริมาณสารอินทรีย์เป็นจำนวนมากจึงพบจุลินทรีย์ทั้งสองประเภทอาศัยอยู่สำหรับกระบวนการหมักปุ๋ยจะเกิดการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิอยู่ตลอดเวลา อุณหภูมิจึงเป็นปัจจัยสำคัญในการแบ่งประเภทของจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในกระบวนการหมัก สามารถแบ่งออกเป็น 3 ประเภท ดังนี้

- 1) จุลินทรีย์ที่ชอบอากาศเย็น (Psychrophiles) สามารถเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิต่ำๆ ประมาณ 0-20 °C
- 2) จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง (Mesophiles) สามารถเจริญเติบโตได้ในช่วงอุณหภูมิ 20-45 °C
- 3) จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิสูง (Thermophiles) สามารถเจริญเติบโตได้ในช่วงอุณหภูมิ 45-70 °C

นอกจากนี้ยังมีเชื้อรา แบคทีเรีย และแอคติโนมัยซีท ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการหมักวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเพื่อให้เป็นวัสดุปรับปรุงดิน

เชื้อรา มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ให้มีขนาดเล็กลงในระยะแรกของการหมัก เนื่องจากสามารถปลดปล่อยเอนไซม์ที่ช่วยย่อยสลายสารประกอบที่มีโมเลกุลใหญ่ แต่มีข้อจำกัดในการเจริญเติบโต คือต้องมีอากาศถ่ายเทได้ดี และอุณหภูมิและความชื้นไม่สูงเกินไป ดังนั้นจะพบเชื้อรามากบริเวณรอบนอกกองปุ๋ย ในระยะเริ่มกองปุ๋ยหมักจนถึงอุณหภูมิไม่เกิน 55 °C

แบคทีเรีย พบมากที่สุดในช่วงแรกของการหมัก โดยมีทั้งพวกที่เกี่ยวข้องโดยตรงกับการย่อยสลายเยื่อใย และพวกอาศัยสารประกอบจากเนื้อเยื่อพืชเป็นแหล่งอาหารในการเจริญเติบโต กระบวนการย่อยของแบคทีเรียยังทำให้ความร้อนในกองปุ๋ยหมักเพิ่มขึ้น โดยเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะมีจำนวนแบคทีเรียลดลง ทั้งนี้เป็นการจำกัดชนิดและปริมาณของแบคทีเรีย ทำให้สามารถแบ่งแบคทีเรียออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ พวกที่เจริญเติบโตในระยะแรกที่อุณหภูมิกองปุ๋ยไม่เกิน 40°C และเจริญได้ในอุณหภูมิ 40°C ถึง 65°C ซึ่งแบคทีเรียชนิดที่พบบ่อย คือ *Pseudomonas* sp., *Achromabacter* sp., และ *Bacillus* sp.

แอกติโนมัยซีท จุลินทรีย์ชนิดนี้จะมีอัตราการเจริญช้ากว่าแบคทีเรียและเชื้อรา โดยปกติจะเจริญได้ในสภาวะที่มีอากาศถ่ายเทดี เชื้อที่พบโดยทั่วไปคือ *Thermoactinomyces* sp. และ *Thermomonospora* sp. ซึ่ง สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสย่อยสลายเซลลูโลสได้อย่างมีประสิทธิภาพ และยังพบ *Streptomyces* และ *Micropolyspora* sp. ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายสารอินทรีย์วัตถุที่มีอยู่ในกองปุ๋ยหมัก (Ashraf et al., 2007)

จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

เนื่องจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรนั้นมีลิกโนเซลลูโลสเป็นโครงสร้างหลัก ซึ่งประกอบด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน โดยเซลลูโลสนั้นมีลักษณะโครงสร้างทางเคมีสายยาว จุลินทรีย์ไม่สามารถเข้าสู่เซลล์ได้โดยตรง ดังนั้นจุลินทรีย์ต้องสร้าง extracellular enzyme ออกมาย่อยเซลลูโลสให้เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ละลายน้ำได้ และสามารถผ่านเข้าไปในเซลล์ได้ เอนไซม์ที่ย่อยสลายเซลลูโลสได้เรียกว่า เอนไซม์เซลลูเลส มีสิ่งมีชีวิตหลายชนิดสามารถสร้างเอนไซม์นี้ได้ (ทิพวรรณ, 2553) จุลินทรีย์มีความสำคัญในการย่อยสลายเซลลูโลสมากจุลินทรีย์หลายชนิดที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสเพื่อย่อยสลายเซลลูโลสมักอยู่ในกลุ่มของเชื้อรา แบคทีเรีย และแอกติโนมัยซีท ดังตารางที่ 3 เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายสารประกอบลิกโนเซลลูโลสที่สำคัญมี 2 กลุ่ม คือ เอนไซม์ในกลุ่มเซลลูโลไลติก (cellulolytic) และไซลานโไลติก (xylanolytic) โดยลักษณะการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองกลุ่มนี้จำเป็นต้องอาศัยเอนไซม์หลายชนิดทำงานร่วมกัน (multiple enzyme)

1. การย่อยสลายเซลลูโลส

ประกอบด้วยการทำงานของเอนไซม์ 3 กลุ่ม ที่ทำงานร่วมกัน คือ

1.1 เอนไซม์เอนโดเซลลูเลส (Endocellulase) ทำหน้าที่ย่อยโมเลกุลของเซลลูเลสในส่วนที่ไม่เป็นระเบียบ โดยตัดย่อยเซลล์ที่ตำแหน่งพันธะ β -1,4-glycosidic ทำให้ผลิตภัณฑ์หลายชนิด เช่น โอลิโกแซคคาไรด์ เซลโลไบโอส และกลูโคส โดยผลิตภัณฑ์หลักจะขึ้นอยู่กับสมบัติของแต่ละเอนไซม์

1.2 เอนไซม์เอกโซเซลลูเลส (Exocellulase) พบว่ามักทำหน้าที่ร่วมกับเอนไซม์เอนโดกลูคาเนสในการย่อยโมเลกุลของเซลลูโลส โดยการย่อยสลายเซลลูโลสจากปลายด้านที่ไม่มีน้ำตาลรีดิวซ์ของเซลลูโลส ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลาย คือ กลูโคสและเซลโลไบโอส

1.3 เอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดส (β -glucosidase) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยโมเลกุลของเซลโลไบโอส เซลโลโอลิโกแซคคาไรด์ ที่ละลายน้ำได้ให้เป็นน้ำตาลกลูโคส ไม่สามารถย่อยสลายโมเลกุลของเซลลูโลสได้โดยตรง

2. การย่อยสลายเฮมิเซลลูโลส

มีหลายชนิดได้แก่ ไซลานเนส แมนเนเนส และบีต้ากลูแคนเนส สารประกอบเฮมิเซลลูโลสส่วนใหญ่เป็นไซแลน ดังนั้นเอนไซม์ที่ย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสส่วนใหญ่เป็นจึงเป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลาย ไซแลน ซึ่งสามารถจำแนกโดยการตัดอย่างจำเพาะตามชนิดของสารตั้งต้น

2.1 เอนไซม์ D-galactanases เป็น hydrolytic enzyme ที่ผลิตจากแบคทีเรีย รา และพืช สามารถย่อยสลายได้ทั้ง D-galactan และ L-arabino-D-galactanases มี 2 ชนิดคือ (1,4- β -D-galactanases) ที่จำเพาะต่อ (1,3- β -D-galactopyranosyl linkages) และ (1,4- β -D-galactanases) ที่จำเพาะต่อ (1,4- β -D-galactopyranosyl linkages)

2.2 เอนไซม์ D-mannanases เป็นเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลาย (1,4- β -D-mannanopyranosyl linked) ของ D-mannans, D-gluco-D-mannan และ D-galacto-D-mannans เอนไซม์ชนิดนี้ผลิตได้จากเชื้อแบคทีเรีย mycorrhiza, fungi พืช และสัตว์

2.3 เอนไซม์ D-xylanase โดยทั่วไปเฮมิเซลลูโลสจะมีโครงสร้างหลักเป็นไซแลน ดังนั้นไซโลสจึงเป็นน้ำตาลที่มีมากที่สุด ซึ่งมีผลทำให้ D-xylanase เป็นเอนไซม์ที่มีปริมาณมากที่สุดในกลุ่มของเฮมิเซลลูเลสด้วย แบ่งออกเป็น 2 ชนิด ตามสับสเตรทที่เข้าไปย่อยสลายคือ (1,3- β -D-xylanase) และ (1,4- β -D-xylanase) (Maki et al., 2009)

โดยแบคทีเรียและเอนไซม์ที่ผลิตเอนไซม์ในการย่อยสลายลิกโนเซลลูโลส ประกอบด้วย เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสแสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 รายชื่อแบคทีเรียและเอนไซม์ที่ผลิตในการย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส

กลุ่มเอนไซม์	ชื่อแบคทีเรีย	กิจกรรมเอนไซม์
เซลลูเลส	<i>Bacillus subtilis</i>	endoglucanase
	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	α -D-glucosidase
	<i>Agrobacterium</i> sp	α -glucosidase
เฮมิเซลลูเลส	<i>Bacillus circulans</i>	xylanase
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Bifunctional-xylanase- β -glucosidase
	<i>Bacillus subtilis</i>	
	<i>Bacillus subtilis</i>	xylanase
	<i>Streptomyces halstedii</i>	xylanase

ที่มา: (Maki et al., 2009)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์

1. ชนิดและสายพันธุ์ของจุลินทรีย์

ความสามารถในการผลิตเอนไซม์จากจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน โดยมีจุลินทรีย์เพียงไม่กี่ชนิดที่สามารถผลิตเอนไซม์ได้ในปริมาณสูง

2. แหล่งคาร์บอน

เป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการผลิตเอนไซม์ ซึ่งความเข้มข้นของคาร์บอนที่มากหรือน้อยจะส่งผลให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเติบโตได้อย่างเต็มที่ (ชนิดา และคณะ, 2545) ทั้งนี้จากการศึกษาการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและเอนไซม์ไซลาลเนสโดยการใช้เซลลูโลสและไซแลนที่ได้จากธรรมชาติ เช่น ฟางข้าว (Mordcawa et al., 1985) ชังข้าวโพด (Saleem et al., 2009) รวมถึงเซลลูโลสจากซีเอ็มซีและไซแลนทางการค้า (Kim et al., 2009) ซึ่งชนิดและปริมาณของแหล่งคาร์บอนมีผลต่อการผลิตเอนไซม์ โดย Lan Pham et al. (1998) พบว่าแหล่งคาร์บอนที่ทำให้เชื้อ *Bacillus polymysa* CTET153 ผลิตเอนไซม์ไซลาลเนสได้มากที่สุดคือ ชังข้าวโพด

Leartslarus et al. (2004) ทำการศึกษาการผลิตเอนไซม์ไซลาลเนสของ *Bacillus firmus* K-1 ในอาหารที่เติมแหล่งคาร์บอนจากชังข้าวโพด ชานอ้อย และเปลือกข้าวโพด พบว่าเชื้อแบคทีเรียสามารถผลิตเอนไซม์ไซลาลเนสได้ดีที่สุดเมื่อใช้เปลือกข้าวโพดเป็นแหล่งคาร์บอน

3. แหล่งไนโตรเจน

เป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการผลิตเอนไซม์ ซึ่งความเข้มข้นของไนโตรเจนที่มากหรือน้อยเกินไปในอาหาร จะส่งผลกระทบต่อจุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเติบโตได้อย่างเต็มที่เช่นเดียวกับคาร์บอน

Joglekar and Karanth (1984) พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นไนโตรเจนอินทรีย์จะทำให้ค่ากิจกรรมของเซลลูเลสเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นสูงขึ้นไปถึง 1.0-1.2 กรัมต่อลิตรอย่างไรก็ตามการเพิ่มไนโตรเจนที่มากกว่า 2 กรัมต่อลิตร จะส่งผลให้ค่าพีเอชของอาหารเพิ่มขึ้นไม่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ เช่นเดียวกับ (Gessesse and Mamo, 1999) ที่ได้ทำการศึกษาผลของแหล่งไนโตรเจน peptone, yeast extract และ tryptone ต่อการผลิตเอนไซม์ไซลาลเนส ในเชื้อ *Bacillus* sp. AR-009 พบว่ามีการผลิตเอนไซม์ไซลาลเนสได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติม yeast extract แตกต่างจาก (Shah et al., 1999) ซึ่งพบว่าการใช้ soy bean milk เป็นแหล่งไนโตรเจนจะให้การผลิตเอนไซม์ไซลาลเนสได้ดีกว่าการเติม yeast extract

Leartslarus et al. (2004) ศึกษาการผลิตเอนไซม์ไซลาลเนสของเชื้อ *Bacillus firmus* K-1 พบว่าความเข้มข้นของยูเรียร้อยละ 0.4, แอมโมเนียมไนเตรทร้อยละ 0.2 และโพแทสเซียมไนเตรทร้อยละ 0.6 ให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่ดีที่สุดมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไซลาลเนสเท่ากับ 1.60, 1.44, และ 0.40 ยูนิตต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

กฤษมา และคณะ (2547) ศึกษาการผลิตน้ำตาลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรโดยใช้ cellulosome-like multienzyme complex จาก *Bacillus circulans* B-6 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเปลือกข้าวโพดเป็นแหล่งคาร์บอน ย่อยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรด้วย crude enzyme ที่พีเอช 7.0 อุณหภูมิ 50 °C เมื่อพิจารณาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ปลดปล่อย พบว่าเปลือกข้าวโพดถูกย่อยได้ดีที่สุดรองลงมาคือ ชานอ้อย ชังข้าวโพด และฟางข้าว ผลิตภัณฑ์จากการย่อยได้น้ำตาลได้แก่ ไซโลส ไซโลไบโอส กลูโคส และเซลโลไบโอส

กฤษมาวดี (2557) คัดแยกแบคทีเรียผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากดินใต้กองผักตบชวาที่เน่าเปื่อยทับถมกัน สามารถคัดแยกแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ได้จำนวน 37 ไอโซเลต โดยวัดกิจกรรมเอนไซม์ได้สูงสุด 0.209 ยูนิตต่อมิลลิลิตร Yang et al. (2012) พบแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* BY-2 คัดแยกได้จากลำไส้ หมู ซึ่งมีกิจกรรมเอนไซม์สูงสุด 3.56 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

กัญญา (2544) ศึกษาการปรับปรุงคุณภาพปุ๋ยหมักโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายและตรึงไนโตรเจนได้ ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าสายพันธุ์ที่ 5 เป็นแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส และการตรึงไนโตรเจน ทั้งนี้ยังศึกษาการหมักฟางข้าวโดยแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ โดยทำการเติมเชื้อแบคทีเรีย 10% ของน้ำหนักฟางข้าว เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมแบคทีเรีย รักษาความชื้นที่ 60-80 % จากนั้นทำการวิเคราะห์คุณภาพของปุ๋ยหมักที่ได้ คือ อุณหภูมิ พีเอช อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน ธาตุอาหารหลัก และตรวจสอบความอยู่รอดของแบคทีเรียที่ใช้เป็นหัวเชื้อในการหมัก ซึ่งผลการทดลองพบว่าปริมาณไนโตรเจนในปุ๋ยหมักที่เติมเชื้อแบคทีเรีย มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชุดควบคุมที่ไม่เติมแบคทีเรีย

ชนิตาภา และคณะ (2018) ทำการทดลองเพื่อคัดแยกแบคทีเรียสามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากดินบริเวณรอบรากพืชและเศษวัสดุทางการเกษตร คือ ใบอ้อย ชานอ้อย ฟางข้าว และทะเลสาบปาล์ม พร้อมทั้งศึกษาความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของแบคทีเรีย รวมถึงการย่อยสลายวัสดุลิกโนเซลลูโลส ผลการวิจัยพบว่าสามารถแยกแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้จำนวน 100 ไอโซเลต เมื่อวิเคราะห์กิจกรรมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูเลสของแบคทีเรียทั้งหมด พบแบคทีเรียส่วนใหญ่มีกิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสอยู่ในช่วง 0.0509-0.0702 ยูนิตต่อมิลลิลิตร โดยแบคทีเรียไอโซเลต M008 เป็นแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพการผลิตเอนไซม์สูงสุด คือ 0.0702 ± 0.0027 ยูนิตต่อมิลลิลิตร เมื่อนำแบคทีเรียไอโซเลต M008 มาทดสอบการย่อยสลายวัสดุลิกโนเซลลูโลส พบว่าแบคทีเรียสามารถย่อยสลายทะเลสาบปาล์มได้ดีที่สุด รองลงมาคือ ใบอ้อย และฟางข้าว ตามลำดับ

ซึ่งจากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนบริเวณ 16S rDNA สามารถระบุชนิดของแบคทีเรียได้ เป็น *Enterobacter* sp.

นิชรัตน์ และคณะ (2558) ทำการศึกษาศึกษาจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลส โดยนำเชื้อรามาเพาะเลี้ยงบน CMC agar และ Xylan agar คำนวณอัตราส่วนระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส และทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์พบว่าเชื้อราที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสมากที่สุดคือ *A.flavus* จากนั้นทำการศึกษการย่อยสลายปุ๋ยหมักผักตบชวาโดยเชื้อจุลินทรีย์ โดยหมักผักตบชวาและมูลสุกร ร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์ ทำการเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ อุณหภูมิ พีเอช ค่าการนำไฟฟ้า อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด, ปริมาณฟอสเฟต และปริมาณโพแทสเซียม ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าปุ๋ยหมักที่ย่อยสลายด้วยเชื้อรา *A. flavus* มีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียมมากกว่าค่ามาตรฐานปุ๋ยหมักจากกรมวิชาการเกษตร

นันทวัน (2556) ได้ศึกษาข้อควรพิจารณาก่อนทำปุ๋ยหมัก พบว่าโดยทั่วไปใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรในการหมัก เช่น ฟางข้าว ชังข้าวโพด และผักตบชวา เป็นต้น มาหมักร่วมกับจุลินทรีย์โดยเมื่อครบระยะเวลาหนึ่งแล้ว สามารถนำมาปรับปรุงคุณภาพของดินได้ ทั้งนี้ปัจจัยที่เหมาะสมในการทำปุ๋ยหมักที่มีประสิทธิภาพ ประกอบด้วย ความชื้น โดยจุลินทรีย์ต้องการความชื้นในการเจริญเติบโต โดยทั่วไปกองปุ๋ยหมักควรมีความชื้น 40-60% อากาศ เป็นสิ่งที่จำเป็นเนื่องจากจุลินทรีย์ต้องการออกซิเจนเพื่อใช้ในการย่อยสลายวัสดุคอก อุณหภูมิเป็นปัจจัยทางกายภาพที่เป็นเครื่องบ่งชี้กิจกรรมการย่อยสลายวัสดุคอกโดยจุลินทรีย์ ขนาดของวัสดุคอกที่มีขนาดเล็กเพื่อเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวให้จุลินทรีย์มายึดเกาะ และอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจน เป็นปัจจัยหลักที่มีความสำคัญต่อกระบวนการหมักปุ๋ย อัตราส่วนของ C:N ที่เหมาะสมคือ 30:1

ปริญญา และ ลินดา (2559) ทำการทดลองเพื่อคัดแยกเชื้อราที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส จากตัวอย่างดิน พบเชื้อราที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Carboxy methyl cellulose agar ทั้งหมด 15 ไอโซเลท โดยพบเชื้อราที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ดีที่สุด จำนวน 3 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท B, D และ E ซึ่งมีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส (HC value) เท่ากับ 2.11, 1.88 และ 1.79 ตามลำดับ และได้นำเชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลท ไปประยุกต์ใช้ในกระบวนการหมักปุ๋ย เพื่อทดสอบประสิทธิภาพการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร โดยทำการศึกษทั้งหมด 6 สูตร ใช้ระยะเวลาในการหมักทั้งหมด 20 วัน เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักปุ๋ย พบว่า ปุ๋ยชีวภาพทุกสูตร มีพีเอช อยู่ในช่วง 7.9-8.5 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด จะอยู่ในช่วง 1.01-1.14 % ค่าปริมาณอินทรีย์วัตถุอยู่ในช่วง 18.83 - 33.62 % และ ค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน อยู่ในช่วง 10.26-17.30 จากการเปรียบเทียบสูตรปุ๋ยทั้ง 6 สูตร พบว่าสูตรปุ๋ยที่มีประสิทธิภาพการย่อยสลายได้ดีที่สุด คือ

สูตรที่ 6 เชื้อ B, D และ E รองลงมาคือ สูตรที่ 3 สูตรเชื้อ B และได้นำเชื้อไอโซเลท B ไปจัดจำแนกพบว่าคือ เชื้อ *Aspergillus allahaba*

วิมลทิพย์ และคณะ (2554) ศึกษา *Bacillus* sp. สายพันธุ์ TW-1 เป็น facultative anaerobic bacterium ซึ่งคัดแยกได้จากถังหมักแก๊สชีวภาพ สามารถผลิตเอนไซม์ในกลุ่ม ไซลาโนไลติกและเซลลูโลไลติก โดยประกอบด้วยไซลานเนส เบต้าไซโลซิเดส อะราบินโนฟูราโนซิเดส คาร์บอกซีเมทิลเซลลูเลส และ เบต้ากลูโคซิเดส ซึ่งมีกิจกรรมเอนไซม์ไซแลนเนส 6.41 ยูนิต/มิลลิกรัม โปรตีนกิจกรรมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูเลส 0.14 ยูนิต/มิลลิกรัม โปรตีน เมื่อเจริญในอาหารที่มีเปลือกข้าวโพดเป็นแหล่งคาร์บอน ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน เมื่อนำ crude xylanolytic cellulolytic enzyme มาย่อยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร พบว่าสามารถย่อยเปลือกข้าวโพดได้สูงสุด รองลงมา คือ ชังข้าวโพด และฟางข้าว ตามลำดับ โดยผลิตภัณฑ์ที่ได้ส่วนใหญ่เป็นน้ำตาล ไซโลส และกลูโคส

ศุภกร และคณะ (2558) ทำการศึกษาความสัมพันธ์พีเอช และค่าการนำไฟฟ้าของปุ๋ยอินทรีย์ที่มีต่อดัชนีการงอก พบว่าดัชนีการงอกจะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อค่าการนำไฟฟ้าลดลง โดยระดับที่เหมาะสมมีค่าการนำไฟฟ้าน้อยกว่า 10 เดซิซีเมนส์ต่อเมตร แตกต่างจากความเป็นกรด-ด่างซึ่งไม่มีผลต่อดัชนีการงอก ทั้งนี้เนื่องจากค่าการนำไฟฟ้าเป็นค่าปริมาณเกลือที่ละลายได้ทั้งหมด ถ้าหากปุ๋ยอินทรีย์มีค่าการนำไฟฟ้าสูงเมื่อเติมลงในดินปริมาณเกลือที่ละลายออกมา จึงเป็นอันตรายต่อรากพืช เนื่องจากเมมเบรนได้ถูกทำลาย ทั้งนี้การนำไฟฟ้าเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีอิทธิพลต่อดัชนีการงอก จึงต้องศึกษาปัจจัยอื่นๆ เช่น ความชื้น อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน เป็นต้น

สุธีรา (2555) ศึกษาปริมาณธาตุอาหารหลักในปุ๋ยหมักจากเศษอาหารร่วมกับเศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เป็นระยะเวลา 3 เดือน ควบคุมปริมาณความชื้น 50–60% เก็บตัวอย่างและศึกษาองค์ประกอบของเศษอาหารและเศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่ใช้ในการหมักก่อน ระหว่าง และหลังการทดลอง พบว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (TKN) ของทุกการทดลองมีแนวโน้มค่อยๆ เพิ่มขึ้น เนื่องจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่มีการใช้ในเตรทในการเจริญเติบโตและสร้างเซลล์ในรูปที่มีอินทรีย์ไนโตรเจนหรือมีการตรึงไนโตรเจนจากสิ่งแวดล้อมในระหว่างการย่อยสลายเซลล์ของวัสดุหมักจึงส่งผลให้ปริมาณไนโตรเจนของทุกทดลองมีค่าเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนสิ้นสุดการทดลองจากการทดลอง ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (P_2O_5) ของทุกทดลองพบว่าแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อย และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (K_2O) ของทดลองพบว่าแนวโน้มลดลงเล็กน้อย

Abdel-Rahman et al. (2016) ทำการศึกษาศักยภาพของการผลิตเซลลูเลสของเชื้อจุลินทรีย์ *Bacillus licheniformis* 1-1v และ *Bacillus sonorensis* 7-1v เพื่อใช้ในการทำปุ๋ยหมักฟางข้าว ทำการทดลองโดยใช้ ฟางข้าว 80 กก. และมูลวัว 288 กก. ปรับอัตราส่วน C / N เป็น 35.8 จากนั้นทำการทดลองโดยเติมเชื้อจุลินทรีย์เพียงชนิดเดียว และเติมเชื้อจุลินทรีย์ผสม

เปรียบเทียบกับชุดควบคุม ทำการวิเคราะห์พารามิเตอร์ทางกายภาพเคมีและชีวภาพเพื่อบ่งบอกถึงการสลายตัวของสารอินทรีย์และคุณภาพของผลิตภัณฑ์ปุ๋ยหมัก จากการทดลองพบว่าชุดการทดลองที่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์มีอุณหภูมิสูง > 55 C เป็นเวลา 15 วันติดต่อกันซึ่งยาวนานกว่าชุดควบคุมที่มีระยะเวลาที่อุณหภูมิสูงเพียง 5 วัน ซึ่งการเติมเชื้อจุลินทรีย์สามารถทำให้เวลาในการทำปุ๋ยหมักลดลงอย่างมากถึง 40–43% (จาก 89–96 วันถึง 51–58 วัน) นอกจากนี้ยังส่งผลถึงการลดลงของอัตราส่วนอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมดและอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนรวม นอกจากนี้ยังรวมถึงการเพิ่มขึ้นของเพิ่มปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม

Bohacz (2018) ทำการทดลองการหมักวัสดุลิกโนเซลลูโลส คือ หญ้า ร่วมกับจุลินทรีย์ โดยแบ่งการทดลองเป็น 2 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 การใช้วัสดุลิกโนเซลลูโลสในการหมัก ได้แก่ เปลือกสน 42.86%, หญ้า 34.28%, ขี้เลื่อย 20.0% และขี้เถ้า 2.86% และการทดลองชุดควบคุมที่ไม่มีวัสดุลิกโนเซลลูโลส จากการทดลองพบว่า ในช่วงสัปดาห์แรกของการหมักปุ๋ยในการทดลองที่ 1 มีอุณหภูมิที่สูงกว่าชุดควบคุม เนื่องจากจุลินทรีย์ใช้วัสดุลิกโนเซลลูโลสเป็นพลังงาน และแหล่งคาร์บอน ส่งผลให้การทดลองที่มีการเติมวัสดุลิกโนเซลลูโลส คือ หญ้า นั้นใช้ระยะเวลาการหมักเร็วกว่าการทดลองชุดควบคุม ที่ไม่มีการใช้หญ้าใด ๆ ในการหมัก

Fan et al. (2018) ทำการศึกษาการทำปุ๋ยหมักที่บ้านเพื่อลดปริมาณขยะมูลฝอย โดยการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินผลของ EM สำหรับการทำปุ๋ยหมักในระดับครัวเรือนร่วมกับเศษอาหารรำข้าวและใบไม้แห้ง ทำการทดลอง 2 การทดลอง คือการทดลองที่มีการเติม EM ในกระบวนการหมัก และไม่เติม EM เป็นชุดควบคุม จากการทดลองพบว่า การทดลองที่มีการเติม EM มีอุณหภูมิสูงขึ้นเล็กน้อยในระยะแรกนอกจากนี้ยังไม่มีการเหม็นเกิดขึ้น แต่ยังไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญสำหรับการทดลองทั้ง 2 การทดลอง รวมถึงพีเอช ค่าการนำไฟฟ้า อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน ดัชนีการงอก ปริมาณกรดฮิวมิก และปริมาณเชื้อโรค (ไม่มีเชื้อ Salmonella, <1,000 จำนวนที่น่าจะเป็นได้ / กรัมโอโคไล) ในระยะเวลาการหมักใน 2 เดือน ทั้งปริมาณโพแทสเซียมและฟอสฟอรัสในทั้งสองการทดลองมีค่าใกล้เคียงกัน แต่ต่างที่การทดลองที่มีการเติม EM นั้น มีปริมาณไนโตรเจนสูงกว่า ชุดควบคุม 1.5%

Mohd et al. (2013) ทำการศึกษาเพื่อประเมินผลของการใช้ EM ต่อกระบวนการทำปุ๋ยหมักฟางข้าวร่วมกับมูลแพะ และขยะในท้องถิ่นเพื่อประเมินคุณภาพของปุ๋ยหมัก โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลองคือ การทดลองที่เติมเชื้อ EM และการทดลองชุดควบคุมโดยไม่มีการเติม EM ทำการทดลองเป็นเวลา 90 วัน ทำการวัดพารามิเตอร์ทางกายภาพและทางเคมี คือ อุณหภูมิ พีเอช ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน และอัตราส่วน C / N จากการทดลองพบว่า การหมักที่มีการเติมเชื้อ EM มีปริมาณ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมมากขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลอง และมีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมมากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

Nath and Rao (2001) ได้ทำการศึกษาระดับของฟิเอร์ที่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์ไฮลาเนสของเชื้อ *Bacillus* sp. NCIM59 จากการศึกษาพบว่าฟิเอร์ 6 ส่งผลให้เชื้อสามารถเจริญได้ดีที่สุด สอดคล้องกับ Sa-Pereira et al. (2002) ที่ได้ทำการศึกษาเชื้อ *Bacillus subtilis* จากผลการทดลองพบว่าเชื้อสามารถเจริญได้ดีฟิเอร์ 5-8 สอดคล้องกับ Heck et al. (2005) รายงานว่าเชื้อ *Bacillus coagulans* BL69 จะผลิตเอนไซม์ไฮลาเนสได้สูงสุดที่ฟิเอร์เท่ากับ 7.0 สอดคล้องกับ Krishna (1999) ที่รายงานว่าการใช้เชื้อ *Bacillus subtilis* CBTk106 ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ดีที่สุดที่ฟิเอร์ เริ่มต้นเท่ากับ 7.0 และสอดคล้องกับ Salvador et al. (2002) ที่ได้ทำการศึกษากการผลิตเอนไซม์เพื่อย่อยสลายซากเปลือกผลไม้จากเชื้อ *Bacillus* sp. M4 พบว่าฟิเอร์ เท่ากับ 7.0 เชื้อ *Bacillus* sp. M4 ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและเอนไซม์ไฮลาเนสเท่ากับ 0.3 และ 11.0 ยูนิตต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

Sanchez et al. (2017) ประเมินจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพต่อปุ๋ยจากขยะอินทรีย์ในบ้าน ทำการทดลองโดยนำวัสดุคอก 4 กิโลกรัม (50% ของเศษอาหาร 25% ของใบไม้แห้ง 25% ของรำข้าว) โดยมีค่า C: N 25: 1 มาทำการหมักโดยเติมด้วย น้ำกลั่น (ชุดควบคุม) และ EM 1.2 ลิตร ควบคุมความชื้น 40-60% โดย EM มีปริมาณเชื้อรา 10^7 CFU/ml และของแบคทีเรีย 10^8 CFU/ml หลังจากนั้นทำการตรวจสอบการหมัก โดยการวัด อุณหภูมิ ฟิเอร์ การนำไฟฟ้า ไชมัน กลิ่น สีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน กิจกรรมเอนไซม์และการเปลี่ยนแปลงของกรดฮิวมิค เปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่ไม่มี EM ทำการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ (อะไมเลส, เซลลูโลส, โปรตีเอสและไลเปส) ผลการศึกษาพบว่า อุณหภูมิในช่วงแรกเพิ่มขึ้นอย่างมากเนื่องจากองค์ประกอบที่ย่อยสลายง่ายถูกย่อยสลาย ซึ่งพบว่าการเติม EM ช่วยเพิ่มกิจกรรมจุลินทรีย์สังเกตได้จากเกิดความร้อนขึ้นเนื่องจากการหายใจและกระบวนการย่อยสลายของจุลินทรีย์ จึงสามารถสรุปได้ว่า การทำปุ๋ยหมักโดยเติม EM เปรียบเทียบกับไม่เติมพบว่าการเติมจุลินทรีย์ช่วยให้กิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มขึ้น ลดระยะเวลาการย่อยสลาย และเพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการหมัก

Wei et al. (2019) ได้ทำการศึกษาเพื่อประเมินผลของการเติมเชื้อ actinomycetes ต่ออุณหภูมิในการทำปุ๋ยหมักจากฟางข้าว ชังข้าวโพด และถั่วเหลือง ผลการศึกษาพบว่าการเติมเชื้อ actinomycetes ช่วยเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ที่สำคัญ ได้แก่ CMCase, xylanase, manganese peroxidase, lignin peroxidase และ laccase ซึ่งช่วยในการเร่งการย่อยสลายเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน ส่งผลให้การย่อยสลายเกิดขึ้นได้เร็วขึ้นเมื่อทำการเติมเชื้อ actinomycetes ในกระบวนการหมักปุ๋ย

Zhang and Sun (2018) ทำการศึกษาการทำปุ๋ยหมักโดยใช้ กากถั่ว ที่ 0, 35, และ 45% และผงเปลือกปู ที่ 0, 15 และ 25% เพื่อเป็นสารเติมแต่งระหว่างการทำปุ๋ยแบบสองขั้นตอนของขยะในท้องถิ่น โดยการทดลองนี้ใช้วัสดุในการหมัก คือกิ่งไม้ที่เก็บรวบรวมในระหว่างการบำรุงรักษาภูมิทัศน์ ผลการทดลองพบว่าการเติม กากถั่วและผลเปลือกปู ร่วมในการหมักช่วยปรับปรุงสภาพการทำปุ๋ยหมักและคุณภาพของปุ๋ยหมักในแง่ของอุณหภูมิการหมัก พื้นที่ผิวจำเพาะ และรูพรุน ส่งผลให้จุลินทรีย์สามารถย่อยสลายกิ่งไม้เพื่อเป็นปุ๋ยได้รวดเร็วขึ้นซึ่งถือเป็นประโยชน์ทางสิ่งแวดล้อมและเศรษฐกิจ



บทที่ 3 วิธีการวิจัย

ตอนที่ 1. ศึกษาการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรโดยแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคน

นำแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* LC141 และ *Paenibacillus* sp. LC42 ที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซลาเนสสูงสุด คือ 77.32 ± 6.48 mU/ml และ 1.81 ± 0.12 U/ml ตามลำดับ (พิมมพรรณ และคณะ 2017; ฐปน และคณะ 2018) มาใช้เป็นหัวเชื้อในการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร คือ ฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพารา โดยทำการเติมแบคทีเรียในชุดทดลอง เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมแบคทีเรีย โดยมีวิธีการดำเนินการดังนี้

1.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้น

นำเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด *Bacillus amyloliquefaciens* LC141 และ *Paenibacillus* sp. LC 42 มาเพาะเลี้ยงบนอาหารเหลว Trypticase soy broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C จากนั้นนำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 120 rpm 18-24 ชั่วโมง ปรับความขุ่นโดยเทียบกับ McFarland standard 0.5 โดย 0.85% NaCl และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

1.2 การเตรียมวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

นำฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษยางพารามาอบแห้งที่อุณหภูมิ 65 °C นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นลดขนาดโดยใช้เครื่องสับวัสดุทางการเกษตรเพื่อให้ได้ขนาดวัสดุ 2-3 เซนติเมตร ดังภาพที่ 4

1.3 การย่อยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

นำเศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่ทำการลดขนาดแล้ว จำนวน 500 กรัม เติมเชื้อแบคทีเรีย 4% ต่อน้ำหนักวัสดุ โดยมีปริมาณความเข้มข้นของเชื้อเท่ากับ 1.5×10^8 cfu/ml เปรียบเทียบกับชุดควบคุมของฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพาราที่ไม่มีการเติมแบคทีเรีย จากนั้นทำการหมักฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพาราร่วมกับมูลวัวในอัตราส่วน 3:1 รักษาความชื้นให้อยู่ในช่วง 50-60 % ตลอดการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด หรือ CRD (Completely Randomized Design) ประกอบด้วยการทดลอง 3 การทดลอง แต่ละการทดลองแบ่งออกเป็น 4 ชุด (Treatment) ชุดละ 3 ซ้ำ (Replication) ทำการหมักเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ดังนี้

- การทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 1 ฟางข้าวที่ไม่เติมเชื้อแบคทีเรีย (ชุดควบคุม)
(ฟางข้าว) ชุดการทดลองที่ 2 ฟางข้าวที่เติมเชื้อแบคทีเรีย LC141
ชุดการทดลองที่ 3 ฟางข้าวที่เติมเชื้อแบคทีเรีย LC42
ชุดการทดลองที่ 4 ฟางข้าวที่เติมเชื้อแบคทีเรีย LC141 ร่วมกับ LC42
- การทดลองที่ 2 ชุดการทดลองที่ 1 ชังข้าวโพดที่ไม่เติมเชื้อแบคทีเรีย (ชุดควบคุม)
(ชังข้าวโพด) ชุดการทดลองที่ 2 ชังข้าวโพดที่เติมเชื้อแบคทีเรีย LC141
ชุดการทดลองที่ 3 ชังข้าวโพดที่เติมเชื้อแบคทีเรีย LC42
ชุดการทดลองที่ 4 ชังข้าวโพดที่เติมเชื้อแบคทีเรีย LC141 ร่วมกับ LC42
- การทดลองที่ 3 ชุดการทดลองที่ 1 เศษไม้ยางพาราที่ไม่เติมเชื้อแบคทีเรีย (ชุดควบคุม)
(เศษไม้ยางพารา) ชุดการทดลองที่ 2 เศษไม้ยางพาราที่เติมเชื้อแบคทีเรีย LC141
ชุดการทดลองที่ 3 เศษไม้ยางพาราที่เติมเชื้อแบคทีเรีย LC42
ชุดการทดลองที่ 4 เศษไม้ยางพาราที่เติมเชื้อแบคทีเรีย LC141 ร่วมกับ LC42



ภาพที่ 4 วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่ทำการลดขนาดในกล่องพลาสติกขนาด 20x15 ซม.

1.4 การเก็บตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างฟางข้าว ชั่งข้าวโพด และเศษไม้ยางพารา เพื่อทำการวิเคราะห์ทางเคมีและทางชีวภาพตามพารามิเตอร์ การเก็บตัวอย่าง และวิธีการ ดังตารางที่ 4 ตารางที่ 4 การเก็บตัวอย่างฟางข้าว ชั่งข้าวโพด และเศษไม้ยางพารา เพื่อทำการวิเคราะห์ทางเคมีและทางชีวภาพ

พารามิเตอร์	การเก็บตัวอย่าง	วิธีการ
อุณหภูมิ	ทุกวัน	Thermometer at 50% depth of three point
ความชื้น	ทุก 7 วัน	oven-drying method
พีเอช	ทุก 7 วัน	1 g of composts in 10 ml. of distilled
ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด	ทุก 7 วัน	Kjeldahl method
ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์	ทุก 7 วัน	Spectrophotometer
ปริมาณโพแทสเซียม	ทุก 7 วัน	Atomic Absorption Spectrophotometer
ปริมาณอินทรีย์วัตถุ	ทุก 7 วัน	Walkey-black method
อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน	ทุก 7 วัน	Walkey-black method
ปริมาณเชื้อทั้งหมด	ทุก 7 วัน	Viable plate count
ดัชนีการงอกของเมล็ด	หลังจากการทดลอง	Seed germination test

1.5 การวิเคราะห์ทางเคมี

นำฟางข้าว ชั่งข้าวโพด และเศษไม้ยางพารามาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีตามวิธีมาตรฐาน โดยวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น ด้วยวิธี oven-drying method พีเอช ใช้อัตราส่วนของน้ำต่อตัวอย่าง 1:10 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด Kjeldahl method ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ Spectrophotometer ปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมด Atomic Absorption Spectrophotometer (AOAC, 2005) ปริมาณอินทรีย์วัตถุ และอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนโดย Walkey-black method (Walky and Black, 1934)

1.6 การตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด

นำตัวอย่างจากการหมักในทุกชุดการทดลอง มานับปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดโดยวิธี Viable plate count

1.7 ดัชนีการงอกของเมล็ด

การทดสอบดัชนีการงอกของเมล็ดของตัวอย่างปุ๋ยหมักที่ได้จากฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพารา ตามคู่มือวิเคราะห์ปุ๋ย (กรมวิชาการเกษตร, 2551)

ทำการชั่งตัวอย่างฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพารา 1 กรัมใส่ในขวด เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร (1:10 w/v) นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่า ความเร็ว 180 ครั้งต่อนาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วกรองสารละลายตัวอย่างด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42 (1) ชุดตัวอย่างดูดสารละลายตัวอย่าง 3 มิลลิลิตร ใส่ลงกระดาษเบอร์ 42 ในจานเพาะเชื้อ จานละ 3 มิลลิลิตร ตัวอย่างละ 5 ซ้ำ จากนั้นวางเมล็ดผักกาดขาว 10 เมล็ดต่อจานเพาะเชื้อ (2) ชุดควบคุมเติมน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร ใส่ลงกระดาษเบอร์ 42 ในจานเพาะเชื้อ จานละ 3 มิลลิลิตร ตัวอย่างละ 5 ซ้ำ จากนั้นวางเมล็ดผักกาดขาว 10 เมล็ดต่อจานเพาะเชื้อ จากนั้นบ่มจานเพาะเชื้อไว้ในตู้บ่มเชื้อที่ 29 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

$$\text{ดัชนีการงอก} = \frac{\text{เปอร์เซ็นต์การงอกชุดตัวอย่าง (\%)} \times \text{ความยาวรากชุดตัวอย่าง (ซม.)} \times 100}{\text{เปอร์เซ็นต์การงอกชุดควบคุม (\%)} \times \text{ความยาวรากชุดควบคุม (ซม.)}}$$

1.8 การทดสอบทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วย analysis of variance (ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดย Duncan's New Multiple's Range Test (DMRT)

ตอนที่ 2. ผลการศึกษาการย่อยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรโดยแบคทีเรีย

จากตอนที่ 1 นำเชื้อแบคทีเรียจากชุดการทดลองที่สามารถย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรทั้ง 3 ชนิด คือ ฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพารา ให้เป็นวัสดุปรับปรุงดินได้ ระยะเวลาสั้นที่สุดตามมาตรฐานวัสดุปรับปรุงดินคือ ชุดการทดลองที่ 4 โดยการใช้แบคทีเรีย LC141 ร่วมกับ LC42 นั้นมาใช้ย่อยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร โดยใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร 30 กิโลกรัม มาหมักร่วมกับมูลสัตว์ในอัตราส่วน 3:1 โดยทำการหมักแบบไม่พลิกกลับกองในวงตาข่าย ทำการทดลองโดยประกอบด้วย 2 การทดลอง ดังนี้

ชุดควบคุม ฟางข้าวที่ไม่เติมเชื้อแบคทีเรีย

ชุดทดลอง ฟางข้าวที่เติมเชื้อแบคทีเรีย LC141 ร่วมกับ LC42 ในอัตราส่วนเชื้อ 4% ต่อน้ำหนักวัสดุ จากนั้นทำการหมักโดย

- 1) นำฟางข้าว 3 ส่วน วางเป็นชั้นโปรยทับด้วยมูลสัตว์ 1 ส่วน แล้วรดน้ำแต่ละชั้น ให้มีความชื้น โดยกองปุ๋ยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เมตร และความสูง 1 เมตร ดังภาพที่ 5



ภาพที่ 5 การหมักฟางข้าวแบบไม่พลิกกลับกองในวงตาข่าย

a:ชุดควบคุม b:ชุดทดลอง

2) รักษาความชื้นภายในกองปุ๋ยให้มีความเหมาะสมตลอดระยะเวลาการหมัก (50–60%)

3) หมักเป็นระยะเวลา 56 วัน เก็บตัวอย่างเพื่อทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ และการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบต่างๆของปุ๋ยหมัก โดย

2.1 การเก็บตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างฟางข้าว เพื่อทำการวิเคราะห์ทางเคมีและทางชีวภาพตามพารามิเตอร์ การเก็บตัวอย่าง และวิธีการ ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 การเก็บตัวอย่างฟางข้าวเพื่อทำการวิเคราะห์ทางเคมีและทางชีวภาพ

พารามิเตอร์	การเก็บตัวอย่าง	วิธีการ
อุณหภูมิ	ทุกวัน	Thermometer at 50% depth of three point
ความชื้น	ทุกสัปดาห์	oven-drying method
พีเอช	ทุกสัปดาห์	1 g of composts in 10 ml. of distilled
ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด	ทุกสัปดาห์	Kjeldahl method
ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์	ทุกสัปดาห์	Spectrophotometer
ปริมาณโพแทสเซียม	ทุกสัปดาห์	Atomic Absorption Spectrophotometer
ปริมาณอินทรีย์วัตถุ	ทุกสัปดาห์	Walkey-black method
อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน	ทุกสัปดาห์	Walkey-black method
ปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด	ทุกสัปดาห์	Viable plate count
ดัชนีการงอกของเมล็ด	หลังจากการ ทดลอง	Seed germination test

2.2 การวิเคราะห์ทางเคมี

นำฟางข้าวมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 65 °C นาน 24 ชั่วโมงจากนั้นทำการลดขนาดเพื่อนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีตามวิธีมาตรฐาน คือปริมาณความชื้น โดยวิธี oven-drying method พีเอช โดยใช้อัตราส่วนของน้ำต่อตัวอย่าง 1:10 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดโดยใช้ Kjeldahl method ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์โดยใช้ Spectrophotometer ปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมดโดยใช้ Atomic Absorption Spectrophotometer ปริมาณอินทรีย์วัตถุ และอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน โดยใช้ Walkey-black method

2.3 การตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด

นำตัวอย่างฟางข้าวจากการหมักในทุกชุดการทดลอง มานับปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดโดยวิธี Viable plate count

2.4 ดัชนีการงอกของเมล็ด

การทดสอบดัชนีการงอกของเมล็ดของตัวอย่างปุ๋ยหมักที่ได้จากฟางข้าว ตามคู่มือวิเคราะห์ปุ๋ย (กรมวิชาการเกษตร, 2551)

ทำการชั่งตัวอย่างฟางข้าว 1 กรัมใส่ในขวด เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร (1:10 w/v) นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่า ความเร็ว 180 ครั้งต่อนาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วกรองสารละลายตัวอย่างด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42 (1) ชูดตัวอย่างดูดสารละลายตัวอย่าง 3 มิลลิลิตร ใส่ลงกระดาษเบอร์ 42 ในจานเพาะเชื้อ จานละ 3 มิลลิลิตร ตัวอย่างละ 5 ซ้ำ จากนั้นวางเมล็ดฝักการขาว 10 เมล็ดต่อจานเพาะเชื้อ (2) ชูดควบคุมดูต้นน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร ใส่ลงกระดาษเบอร์ 42 ในจานเพาะเชื้อ จานละ 3 มิลลิลิตร ตัวอย่างละ 5 ซ้ำ จากนั้นวางเมล็ดฝักการขาว 10 เมล็ดต่อจานเพาะเชื้อ จากนั้นบ่มจานเพาะเชื้อไว้ในตู้บ่มเชื้อที่ 29 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

$$\text{ดัชนีการงอก} = \frac{\text{เปอร์เซ็นต์การงอกชุดตัวอย่าง (\%)} \times \text{ความยาวรากชุดตัวอย่าง (ซม.)} \times 100}{\text{เปอร์เซ็นต์การงอกชุดควบคุม (\%)} \times \text{ความยาวรากชุดควบคุม (ซม.)}}$$

2.5 การทดสอบทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วย analysis of variance (ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดย Duncan's New Multiple's Range Test (DMRT)

บทที่ 4

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย

ตอนที่ 1. ศึกษาการย่อยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรโดยแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคน

จากการศึกษาโดยนำแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* LC141 และ *Paenibacillus* sp. LC 42 ที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซลาลเนสสูงสุด คือ 77.32 ± 6.48 mU/ml และ 1.81 ± 0.12 U/ml ตามลำดับ (พิมพ์พรหม และคณะ, 2017; ฐปน และคณะ, 2018) มาใช้เป็นหัวเชื้อในการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร คือ ฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพารา โดยนำเศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรทั้ง 3 ชนิดที่ทำการลดขนาดแล้ว จำนวน 500 กรัม เติมเชื้อแบคทีเรีย 4% ต่อน้ำหนักวัสดุ รักษาความชื้นให้อยู่ในช่วง 50-60 % ตลอดการทดลอง แบ่งเป็น 3 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 ฟางข้าว การทดลองที่ 2 ชังข้าวโพด และการทดลองที่ 3 เศษไม้ยางพารา แต่ละการทดลองแบ่งออกเป็น 4 ชุด การทดลอง คือ ชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุม ชุดการทดลองที่ 2 การเติมเชื้อแบคทีเรีย LC141 ชุดการทดลองที่ 3 การเติมเชื้อแบคทีเรีย LC42 และชุดการทดลองที่ 4 การเติมเชื้อแบคทีเรียร่วมกันระหว่าง LC141 และ LC42 ทำการหมักเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและเคมี ดังนี้

1.1 อุณหภูมิของวัสดุหมัก

การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) ในระหว่างการหมักที่พบว่า อุณหภูมิจะค่อยๆเพิ่มขึ้นจากเริ่มต้นจนไปถึงช่วง thermophilic phase ที่ 45°C ใน 7 วันของการทดลอง และหลังจาก 19 วันของการหมัก อุณหภูมิจะค่อยๆลดลงเรื่อย ๆ จนเข้าใกล้กับอุณหภูมิโดยรอบในวันที่ 43-56

ชุดการทดลอง ที่ 2 และ 3 (การเติมเชื้อแบคทีเรียชนิดเดียว LC141 และ LC42 ตามลำดับ) ในฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพารา พบว่าอุณหภูมิค่อยๆเพิ่มขึ้นจาก 27°C ไปถึงอุณหภูมิที่สูงที่สุดในวันที่ 7 คือ 49.46 และ 45°C ตามลำดับ จากนั้นอุณหภูมิจะค่อยๆลดลงเรื่อย ๆ หลังจากผ่านช่วง mesophilic phase ไปกองวัสดุในทั้ง 3 การทดลองโดยอุณหภูมิ ในฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพาราจะเสถียรใกล้กับอุณหภูมิโดยรอบในวันที่ 40 37 และ 49 ตามลำดับ ซึ่งการเติมเชื้อแบคทีเรียเข้าไปในกองวัสดุหมักนั้นส่งผลให้อุณหภูมิภายในกองวัสดุหมักเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อแบคทีเรีย

ชุดการทดลองที่ 4 (การเติมเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิดร่วมกัน LC141 และ LC42) พบว่าใน ฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพารา มีอุณหภูมิสูงที่สุดในวันที่ 7 คือ 49 48 และ 47 °C ตามลำดับ ซึ่งเป็นชุดการทดลองที่มีอุณหภูมิสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมและการเติมเชื้อ แบคทีเรียเพียงชนิดเดียว จากนั้นอุณหภูมิภายในกองฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพารา จะค่อยๆลดลงใกล้เคียงกับอุณหภูมิโดยรอบในวันที่ 40 37 และ 46 วันตามลำดับ

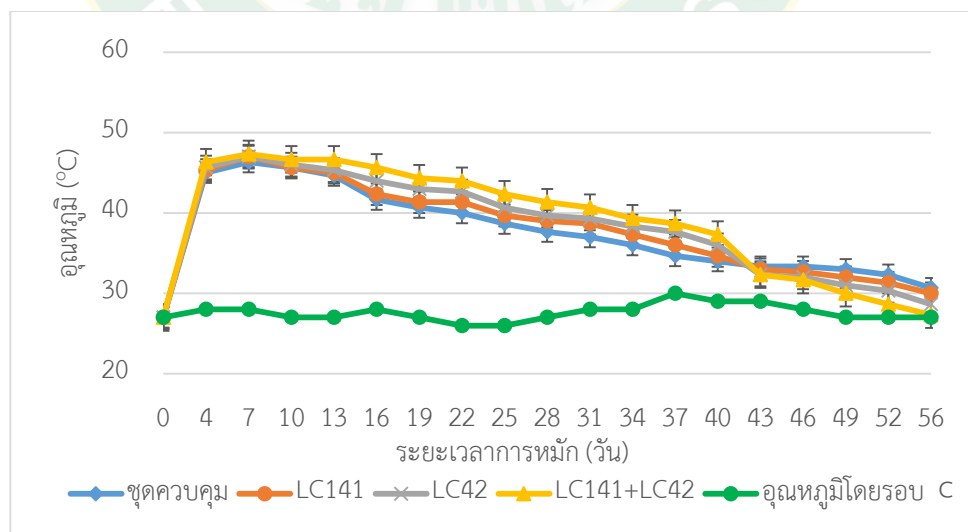
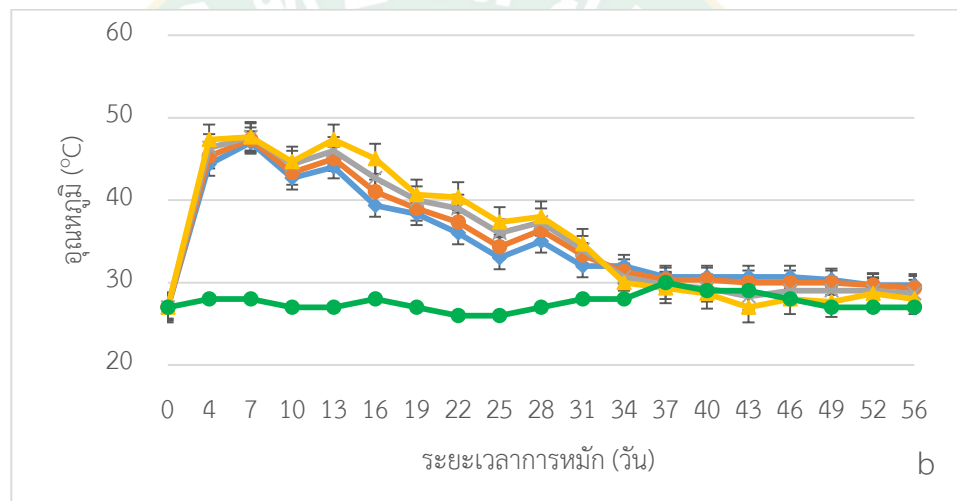
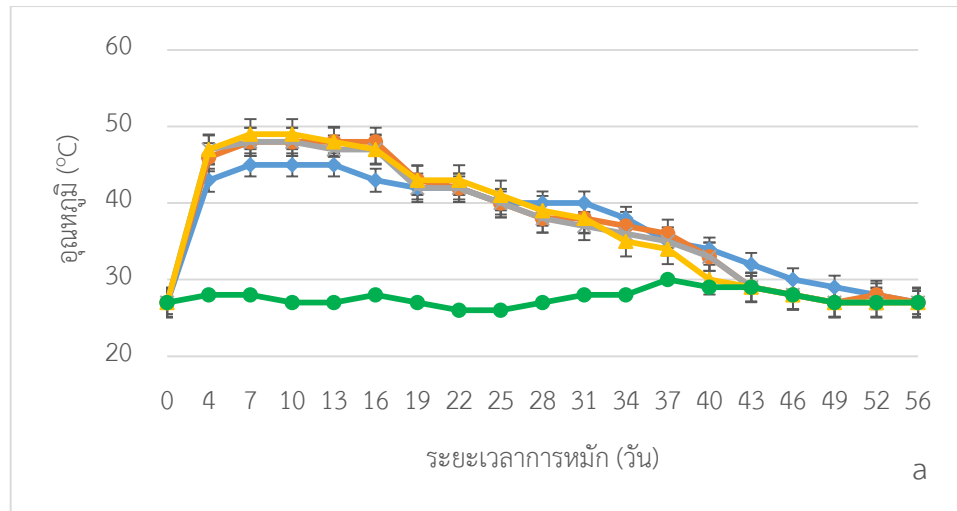
การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่เกิดขึ้นในกองวัสดุหมักแสดง ดังภาพที่ 6 อุณหภูมิโดยรอบตลอด ระยะเวลาการหมักอยู่ระหว่าง 27-30 °C อุณหภูมิเริ่มต้นในการทดลอง คือ 27 °C และหลังจากเริ่ม การหมักอุณหภูมิภายในกองวัสดุทั้ง 3 ชนิด คือ ฟางข้าว (6a) ชังข้าวโพด (6b) และเศษไม้ยางพารา (6c) จะค่อยๆเพิ่มขึ้น โดยพบว่าทุกการทดลองมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงในทิศทางเดียวกันโดย ในช่วง 7 วันแรกของการหมัก อุณหภูมิของกองวัสดุหมักทั้ง 3 ชนิด จะเพิ่มสูงขึ้นในช่วง 25-49 °C โดยทั้ง ฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพารานั้น ชุดการทดลองที่ 2 3 และ 4 ที่มีการเติมเชื้อแบคทีเรียที่มีความร้อนเกิดขึ้นมากกว่าชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุม โดยเฉพาะใน ชุดการทดลองที่ 4 ที่มีการเติมแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดคือ LC141 และ LC42 ร่วมกันนั้นพบว่ามีอุณหภูมิ ภายในกองวัสดุหมักสูงถึง 49 °C ซึ่งเกิดขึ้นจากการทำงานของจุลินทรีย์ หลังจากนั้นในวันที่ 43-56 อุณหภูมิภายในกองวัสดุหมักของทุกการทดลองจะเริ่มลดต่ำลงใกล้เคียงอุณหภูมิภายในบรรยากาศจน ค่อยๆคงที่ทั้ง 3 การทดลองคือฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพารา

จากผลการทดลองทำให้สามารถสรุปได้ว่าการเปลี่ยนแปลงทั้ง 3 วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร คือฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพารา นั้นมีรูปแบบอุณหภูมิอยู่ในแนวโน้มเดียวกันโดยเพิ่มขึ้น อย่างรวดเร็วจากระยะเริ่มต้นจนถึง mesophilic phase (>45°C) ในช่วงวันที่ 7 พร้อมกันซึ่งเป็นช่วง อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการหมักวัสดุหมัก ซึ่งชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุมมีช่วง mesophilic phaseอยู่ในช่วง 7-10 วัน และชุดการทดลองที่ 2 3 และ 4 มีช่วง mesophilic phase อยู่ในช่วง 7-13 วัน ซึ่งชี้ให้เห็นว่าการเติมเชื้อแบคทีเรียเข้าไปในกองวัสดุหมักส่งผลให้มีอุณหภูมิสูงขึ้นยาวนาน กว่าชุดควบคุม ซึ่งการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิในกองวัสดุหมักนั้นเกิดจากความร้อนที่เกิดขึ้นการสลายตัว ของสารอินทรีย์โดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่ใช้อากาศที่มีความสำคัญในช่วงเริ่มต้นของกระบวนการ หมัก (Makan and Mountadar, 2012)

ทั้งนี้กองวัสดุหมักที่เติมเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด ในชุดการทดลองที่ 4 มีอุณหภูมิในระยะ mesophilic phase นานกว่าชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุม 3 วัน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Jusoh และคณะ (2013) ซึ่งรายงานชุดการทดลองที่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์จะส่งผลให้มีระยะ mesophilic phase ในกองวัสดุยาวนานกว่าชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์เป็นเวลา 6 วันติดต่อกันในส่งผล ให้วัสดุหมักสมบูรณ์ได้รวดเร็วกว่าชุดควบคุม งานวิจัยของ Mohd et al. (2013) ที่ได้ทำการหมัก

ฟางข้าวร่วมกับเชื้อ EM ในการทดลอง 2 การทดลองคือการทดลองชุดควบคุมและการทดลองชุดทดลองที่ทำการเติมเชื้อ EM เข้าไปในการหมักฟางข้าว พบว่า การเติม EM ในชุดทดลองส่งผลให้อุณหภูมิในวันที่ 10 สูงถึง 58 °C ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่สูงที่สุดแตกต่างจากชุดควบคุมที่มีอุณหภูมิสูงที่สุดในวันที่ 11 ที่ 56 °C งานวิจัยของ Wu et al. (2019) ใช้จุลินทรีย์ทางการค้าในการหมัก ฟางข้าวและซังข้าวโพด พบว่าการใช้จุลินทรีย์ทางการค้าส่งผลให้อุณหภูมิเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนถึงช่วง thermophilic phase (>45 °C) ใน 2 วัน และมีช่วง มี thermophilic phase เป็นระยะเวลา 11-17 วัน แตกต่างจากชุดควบคุมมีอุณหภูมิถึงช่วง thermophilic phase ใน 7 วัน และมีช่วง มี thermophilic phase เป็นระยะเวลา 9-11 วัน จากนั้นอุณหภูมิในทั้งชุดควบคุมและชุดที่ใช้จุลินทรีย์ทางการค้า จะลดลงใกล้เคียงกับอุณหภูมิภายนอก ในวันที่ 40 และงานวิจัยของ Zhang and Sun (2018) ที่ทำการหมักกากถั่วร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าอุณหภูมิชุดการทดลองที่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 4 ที่ 60 °C และมีอุณหภูมิใกล้เคียงกับอุณหภูมิโดยรอบใน 22 วัน แตกต่างจากชุดควบคุมที่มีอุณหภูมิใกล้เคียงกับอุณหภูมิโดยรอบใน 30 วัน ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยของ Abdel-Rahman et al. (2016) ที่ทำการหมักการหมักฟางข้าวร่วมกับแบคทีเรีย พบว่าชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุม มีอุณหภูมิสูงสุดที่ 55.3 °C เสร็จสิ้นกระบวนการหมักในวันที่ 96 ชุดการทดลองที่ 2 เติมเชื้อชนิดเดียวมีอุณหภูมิสูงสุดที่ 53.7 °C เสร็จสิ้นกระบวนการหมักในวันที่ 79 และชุดการทดลองที่ 3 การเติมเชื้อ 2 ชนิดร่วมกัน พบว่า มีอุณหภูมิสูงสุดที่ 52 °C เสร็จสิ้นกระบวนการหมักในวันที่ 51 ซึ่งชุดควบคุมมีอุณหภูมิสูงสุดสูงกว่าชุดทดลองที่มีการเติมเชื้อแบคทีเรีย แต่ระยะเวลาการสิ้นสุดกระบวนการหมักสั้นกว่า เนื่องจากการเติมเชื้อแบคทีเรียช่วยให้การหมักมีระยะ thermophilic phase ยาวนานกว่า ส่งผลให้กระบวนการหมักเกิดขึ้นได้ดีกว่าและได้วัสดุหมักที่สมบูรณ์ในระยะเวลาที่สั้นกว่า

ทั้งนี้ในการทดลองครั้งนี้ทุกชุดการทดลอง มีอุณหภูมิต่ำกว่า 50 °C เนื่องจากจากลักษณะของกองวัสดุปรับปรุงดินที่มีขนาดเล็กส่งผลให้มีการระบายของอากาศเข้าและออกได้ดี พลังงานความร้อนที่เกิดขึ้นจึงถูกระบายออกได้ง่ายส่งผลให้อุณหภูมิภายในกองวัสดุปรับปรุงดินลดลง (Bernal et al., 2009)

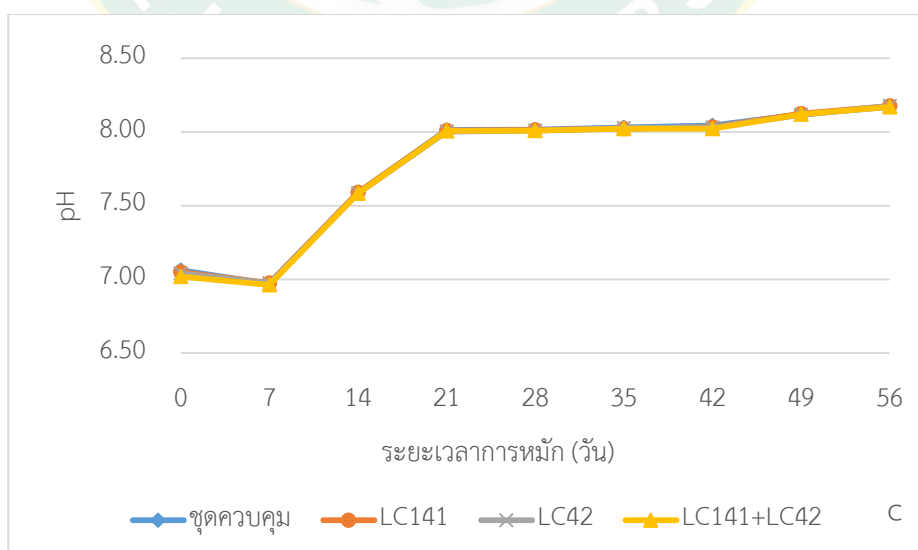
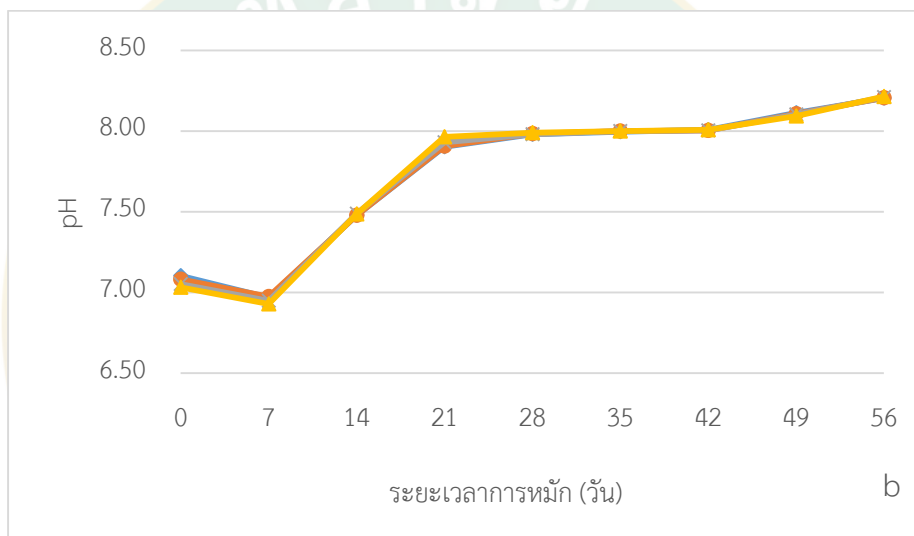
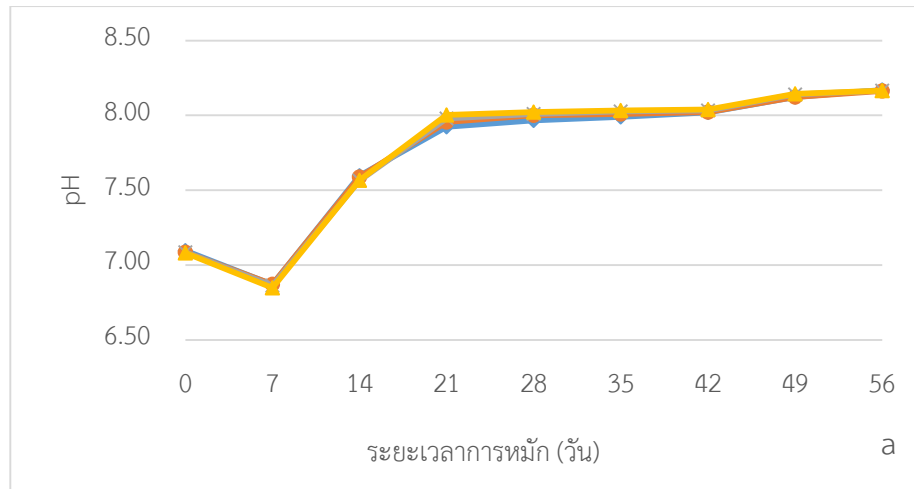


ภาพที่ 6 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิระหว่างการหมักวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร
a: ฟางข้าว b: ซังข้าวโพด c: เศษไม้ยางพารา

1.2 พีเอช

จากการทดลองพบว่า การเปลี่ยนแปลงพีเอชของวัสดุหมักได้แก่ ฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพารา มีการเปลี่ยนแปลงตลอดการทดลองแต่ยังอยู่ในช่วงที่เหมาะสมคืออยู่ในช่วงเริ่มต้นที่ 7.02-7.10 และสิ้นสุดการทดลองที่ 8.16-8.21 ดังภาพที่ 7 ซึ่งสอดคล้องกับการทำปุ๋ยหมักโดยทั่วไปที่มีพีเอชระหว่าง 6.0-9.0 (สรพรรณ, 2546) สอดคล้องกับการทำวัสดุปรับปรุงดินโดยทั่วไป ซึ่งวัสดุคอกที่ใช้ในการทดลองนั้นมีพีเอช เริ่มต้นเป็นกลางหรือกรดอ่อน ทำให้จุลินทรีย์สามารถดำรงชีวิตและเจริญได้ดี โดยพบว่าการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักนั้นจะเห็นว่า ในช่วงแรกของการหมักในวันที่ 7 พีเอชของทุกชุดการทดลองจะลดลงเล็กน้อย เนื่องจากจุลินทรีย์ได้ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ให้กลายเป็นสารอินทรีย์โมเลกุลเล็ก กลุ่มกรดอินทรีย์ต่างๆ ทั้งกรดอะมิโน กรดไขมัน และกรดอื่น ๆ จึงมีผลทำให้สภาพในกองปุ๋ยหมักเป็นกรด หลังจากนั้น ปริมาณของกรดจะสลายตัว และเริ่มกระบวนการย่อยสลายไนโตรเจนอินทรีย์ได้เป็นแอมโมเนียจึงทำให้ความเป็นด่างเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งพีเอชที่เพิ่มขึ้นนั้นเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงสภาพจากสารอินทรีย์เป็นแร่ธาตุ ซึ่งเป็นผลมาจากกระบวนการทำงานของจุลินทรีย์ (Gil et al., 2008)

สอดคล้องกับงานวิจัยของ Mohd et al. (2013) ที่ได้ทำการหมักฟางข้าวร่วมกับเชื้อ EM ในการทดลอง 2 การทดลอง คือการทดลองชุดควบคุมและการทดลองชุดทดลองที่ทำการเติมเชื้อ EM เข้าไปในการหมักฟางข้าว พบว่า การเติมเชื้อ EM ในชุดทดลองนั้นส่งผลพีเอช ลดลงในวันที่ 2 จาก 6.85 เหลือ 6.25 ในชุดทดลองที่มีการเติมเชื้อ EM และจาก 6.98 ลดลงเหลือ 6.41 ในชุดควบคุม ซึ่งหลังจบการทดลองพีเอช จะค่อยๆ เพิ่มขึ้นและคงที่จนมีค่าเท่า 8.16 ในชุดทดลอง และ 7.90 ในชุดควบคุม งานวิจัยของ Wu et al. (2019) ทำการทดลองใช้จุลินทรีย์ทางการค้า ในการหมัก ฟางข้าว และชังข้าวโพด เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์ พบว่า พีเอช ของทั้ง 2 การทดลองจะเพิ่มขึ้นในวันที่ 10 เนื่องจากการย่อยสลายกรดอินทรีย์ โดยจุลินทรีย์ และการปล่อยแอมโมเนีย ออกมาจากกระบวนการ mineralization ทั้งนี้ พีเอชที่ 6.7-9.0 นั้นจะช่วยส่งเสริมการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์โดยจุลินทรีย์ และงานวิจัยของ Zhang and Sun (2018) ทำการหมักกากถั่วร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าพีเอช ที่ต่ำเกินไปจนมีสภาพเป็นกรดนั้นจะเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ และยับยั้งการย่อยสลาย โดยในการทดลองพบว่าพีเอช ในการทดลองจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นเกิดจากการปลดปล่อยแอมโมเนีย โดยกระบวนการ ammonification ซึ่งช่วยสนับสนุนการเจริญเติบโตและกิจกรรมของจุลินทรีย์

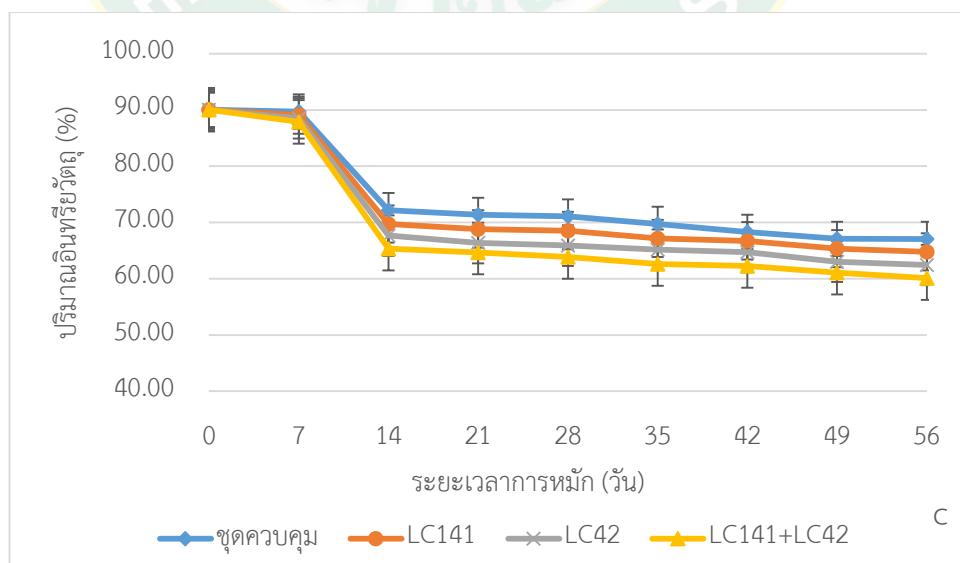
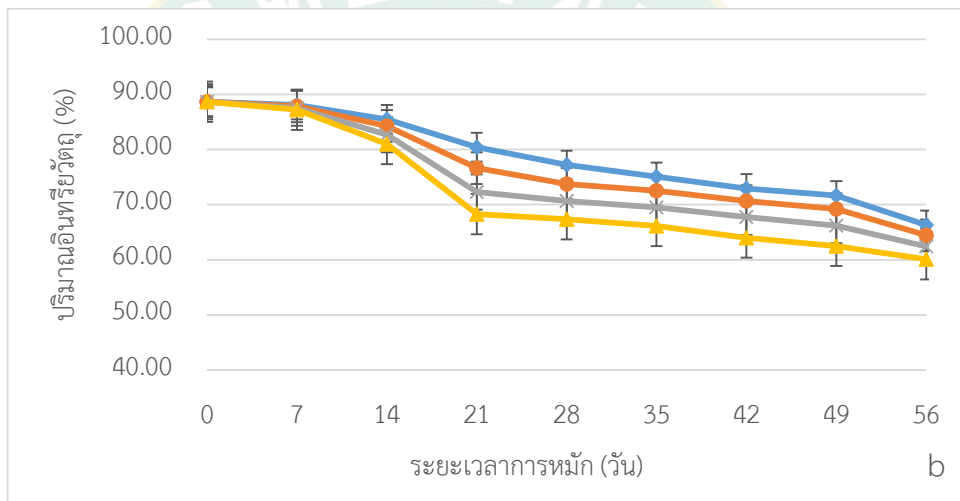
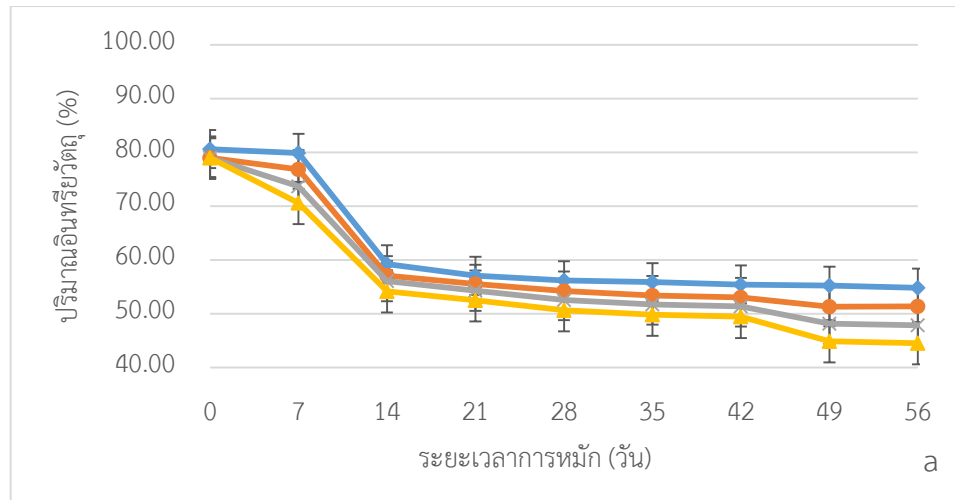


ภาพที่ 7 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชระหว่างการหมักวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ตลอดระยะเวลาการหมัก 56 วัน a: ฟางข้าว b: ซังข้าวโพด c: เศษไม้ยางพารา

1.3 ปริมาณอินทรีย์วัตถุ

ปริมาณอินทรีย์วัตถุของฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพารา มีค่าเริ่มต้น 80.60, 88.66 และ 90.00% ตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 56 พบว่าทั้ง 3 การทดลองคือ ฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพารานั้นมีปริมาณอินทรีย์วัตถุลดลงในทุกชุดการทดลอง โดยชุดการทดลองที่ 1 ของฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพาราซึ่งเป็นชุดควบคุมนั้นมีปริมาณอินทรีย์วัตถุเหลืออยู่มากสุดคือ 55.49, 66.05 และ 67.06% ตามลำดับ ส่วนการทดลองที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุเหลือน้อยที่สุดคือชุดการทดลองที่ 4 คือ 44.68, 60.10 และ 60.11% ตามลำดับ ซึ่งเป็นชุดการทดลองที่มีการเติมเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกโนเซลลูโลส ทั้ง 2 ไอโซเลต คือ LC141 และ LC 42 ทำให้เกิดกระบวนการย่อยสลายเกิดขึ้นได้มากกว่าชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์ แสดงในภาพที่ 8

ปริมาณอินทรีย์วัตถุที่ลดลงนั้นเป็นผลมาจากปริมาณคาร์บอนที่ลดลงในระหว่างกระบวนการหมักซึ่งเกิดจากการสูญเสียคาร์บอนเนื่องจากจุลินทรีย์นำไปใช้ในกระบวนการต่างๆ ในการเจริญ และการสูญเสียคาร์บอนจากการปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อันเป็นผลมาจากกิจกรรมการเผาผลาญของจุลินทรีย์และการสลายตัว (Benito et al., 2003) ซึ่งจากการทดลองพบว่าชุดการทดลองที่ 2 3 และ 4 ในฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพาราที่มีการเติมเชื้อแบคทีเรียในกองวัสดุหมักนั้นมีปริมาณอินทรีย์วัตถุลดลงมากกว่าชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุม สอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhang and Sun (2018) ที่ทำการหมักกากถั่วร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าพบว่าปริมาณอินทรีย์วัตถุในชุดการทดลองที่ทำการเติมเชื้อจุลินทรีย์นั้นลดลงมากกว่าการทดลองชุดควบคุมเนื่องจากจุลินทรีย์ใช้อินทรีย์วัตถุเป็นแหล่งคาร์บอนในกระบวนการต่างๆ และนอกจากนี้คาร์บอนยังเปลี่ยนรูปไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์อีกด้วย ซึ่งการลดลงของปริมาณอินทรีย์วัตถุนั้นสะท้อนการย่อยสลายที่สมบูรณ์

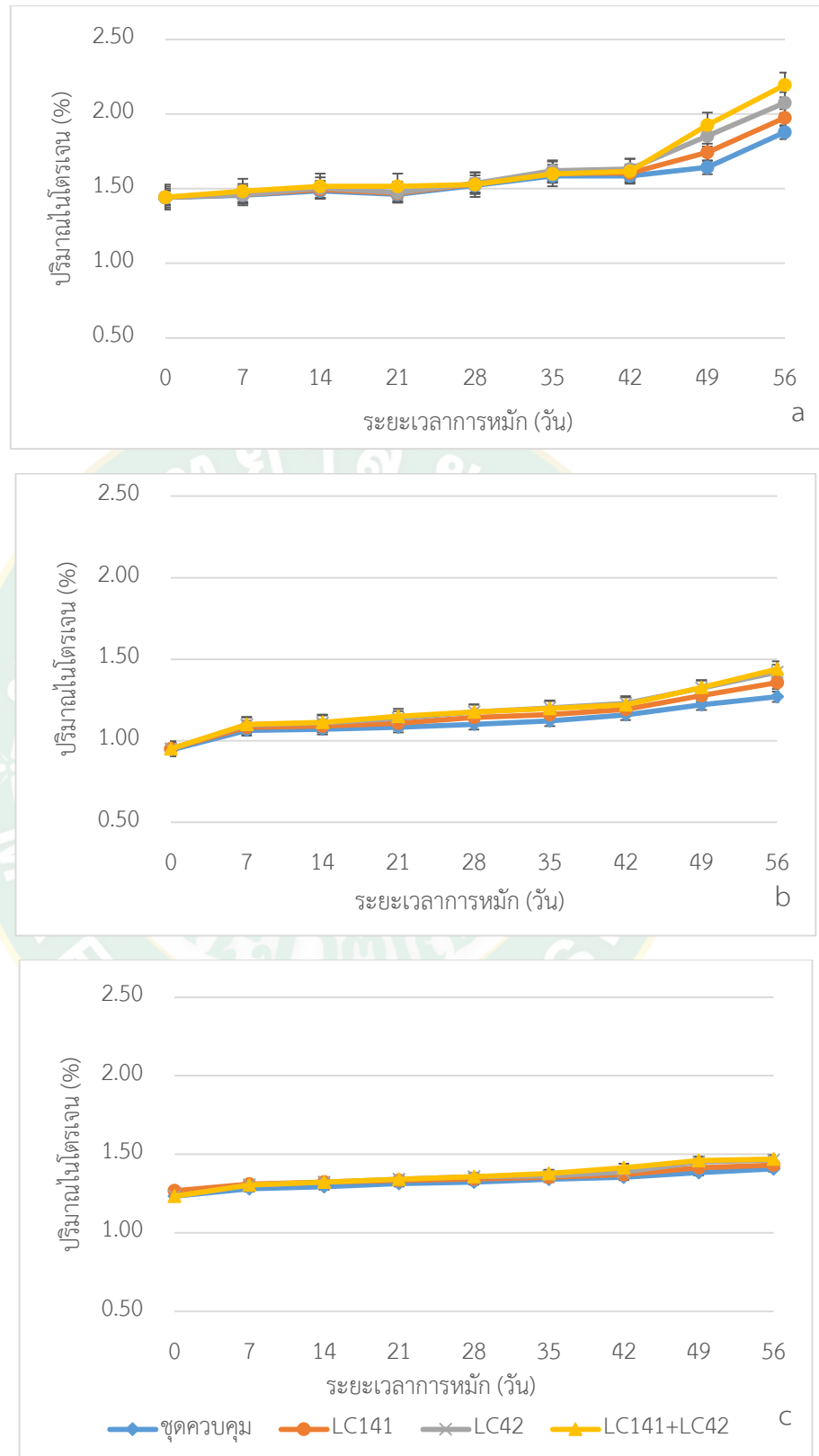


ภาพที่ 8 การเปลี่ยนแปลงปริมาณอินทรีย์วัตถุระหว่างการหมักวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร
ระยะเวลาการหมัก 56 วัน a: พวงข้าว b: ซังข้าวโพด c: เศษไม้ยางพารา

1.4 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด

ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพารา มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 1.44, 0.95 และ 1.23% ตามลำดับ ดัง ภาพที่ 9 ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มค่าไนโตรเจนเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะชุดการทดลองที่ 4 ของฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพาราที่มีปริมาณไนโตรเจนสูงที่สุดเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมัก โดยมีค่าเท่ากับ 2.19 ± 0.25 , 1.44 ± 0.14 และ $1.47 \pm 0.08\%$ ตามลำดับ จึงสามารถสรุปได้ว่าการเติมเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด ในชุดการทดลองที่ 4 นั้น ทำให้ปุ๋ยหมักมีปริมาณไนโตรเจนมากกว่าชุดควบคุม สอดคล้องกับงานวิจัยของ Jusoh และคณะ (2013) ที่รายงานว่าปริมาณไนโตรเจนเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อสิ้นสุดการหมักวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรในวันที่ 63 โดยการเพิ่มขึ้นของปริมาณไนโตรเจนเกิดขึ้นเนื่องจากการสูญเสียมวลแห้งในรูปของการสูญเสียคาร์บอนหรือเนื่องจากการมีส่วนร่วมของแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่มีอยู่ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม





ภาพที่ 9 การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจนระหว่างการหมักวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

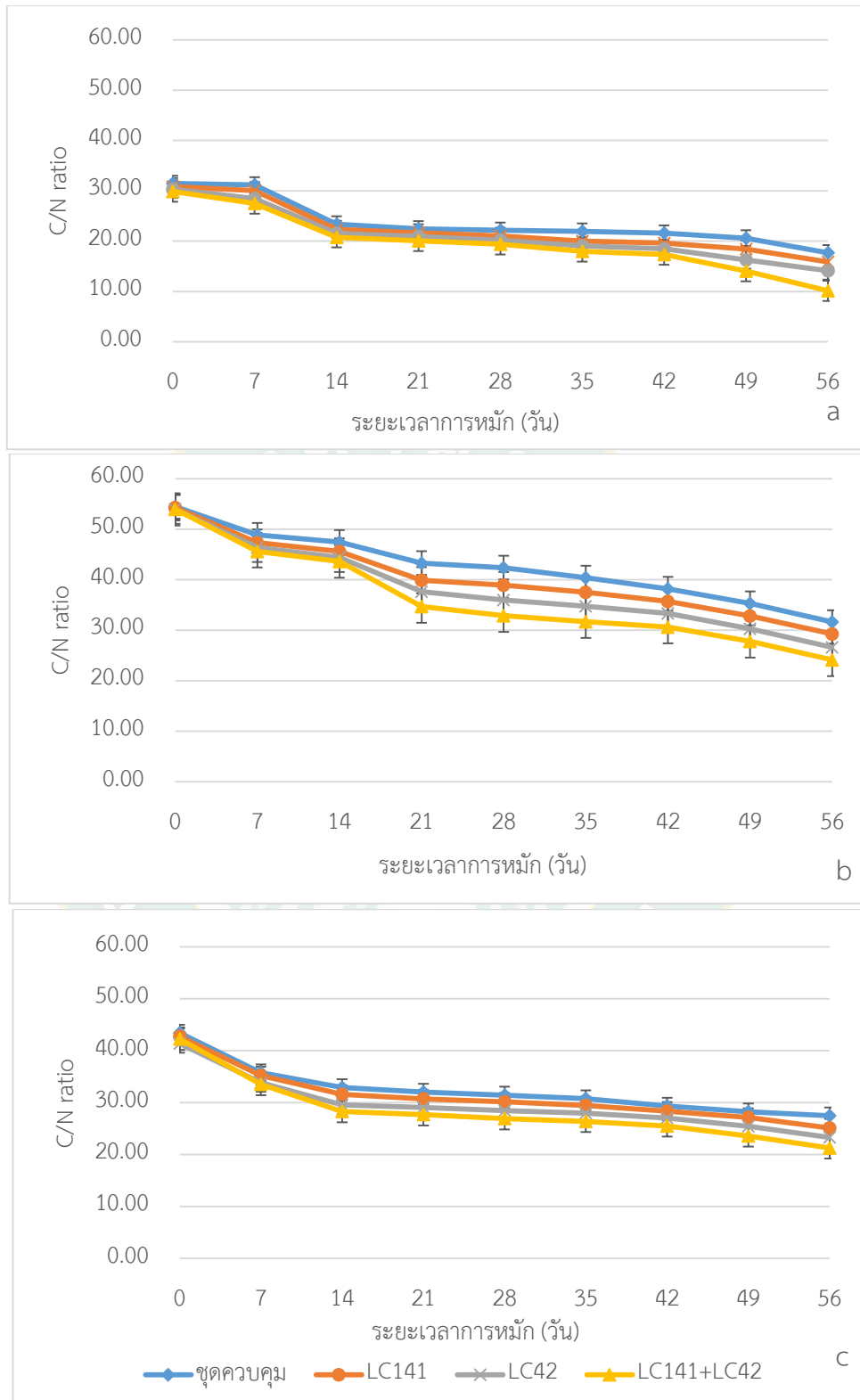
a: ฟางข้าว b: ซังข้าวโพด c: เศษไม้ยางพารา

1.5 อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน

จากผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพารา ซึ่งได้แก่ ปริมาณไนโตรเจน และปริมาณอินทรีย์วัตถุ เมื่อเปรียบเทียบกับวัสดุก่อนการย่อยสลาย โดยพิจารณา อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน ซึ่งเป็นดัชนีบ่งชี้อัตราการย่อยสลายของอินทรีย์วัตถุต่างๆ พบว่า ฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพารา ก่อนการย่อยสลายมีอัตราส่วน C/N เท่ากับ 30/1, 50/1 และ 40/1 ตามลำดับ จนเมื่อครบระยะเวลา 56 วันพบว่าในชุดการทดลองที่ 4 ของฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพาราซึ่งเป็นชุดการทดลองที่มีการเติมเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดรวมกันคือ แบคทีเรีย LC141 และ LC42 ซึ่งมีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซลานเนส ซึ่งมีค่ากิจกรรม 77.32 mU/ml และ 1.81 U/ml ตามลำดับนั้นมีอัตราส่วน C/N ลดลงเหลือน้อยที่สุดอยู่ที่ 10/1, 24/1 และ 21/1 ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุม ชุดการทดลองที่ 2 และ ชุดการทดลองที่ 3 ที่มีการเติมเชื้อแบคทีเรียเพียงชนิดเดียว ($p < 0.05$) ในทั้ง 3 วัสดุ คือ ฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพารา ซึ่งสอดคล้องกับมาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ที่สามารถนำวัสดุอินทรีย์ที่ผ่านกระบวนการหมักมาใช้ทางการเกษตรโดยไม่เป็นอันตรายต่อพืชนั้นจะต้องมีค่า C/N ratio ไม่เกิน 20/1

จากภาพที่ 10 แสดงให้เห็นว่าการทดลองที่ 1 ชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุม มีค่า C/N ratio ต่ำกว่า 20 ในวันที่ 42 แตกต่างจากชุดการทดลองที่ 2 3 และ 4 ที่ใช้ระยะเวลาเพียง 28 วันซึ่งใช้ระยะเวลาน้อยกว่าชุดควบคุม 14 วัน การทดลองที่ 2 ชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุม มีค่า C/N ratio สุดท้ายเมื่อสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 56 คือ 31 เช่นเดียวกับชุดการทดลองที่ 2 3 และ 4 คือ 29 26 และ 24 ตามลำดับ และการทดลองที่ 3 ชุดการทดลองที่ 1 2 และ 3 มีค่า C/N ratio สุดท้ายเมื่อสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 56 คือ 27 25 และ 23 ตามลำดับ มีเพียงชุดการทดลองที่ 4 เท่านั้นที่มีค่า C/N ratio ผ่านมาตรฐานวัสดุปรับปรุงดิน คือ 20 ซึ่งใช้ระยะเวลาน้อยกว่าชุดควบคุม 7 วัน

จากการทดลองจะเห็นได้ชัดว่าค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของชุดการทดลองที่ 4 ของฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพารานั้นลดลงเรื่อย ๆ ในระหว่างกระบวนการหมักและมีความเสถียรในระยะเวลาที่สั้นกว่าชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุม การทดลองที่ 2 และ 3 การเติมเชื้อแบคทีเรียเพียงชนิดเดียว ทั้งนี้เนื่องมาจากการสูญเสียก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เพิ่มขึ้นจากจุลินทรีย์ร่วมกับปริมาณไนโตรเจนยังเพิ่มขึ้นเล็กน้อยตลอดการทดลอง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Jusoh et al. (2013) ที่รายงานว่าอัตราส่วน C/N มีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น และงานวิจัยของ Wu et al. (2019) ที่ทำการทดลองโดยใช้จุลินทรีย์ทางการค้า ในการหมัก ฟางข้าว และ ชังข้าวโพด พบว่า อัตราส่วน C/N ของชังข้าวโพดที่เติมเชื้อจุลินทรีย์ทางการค้าเมื่อสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 40 พบว่าลดลงเหลือ 15.42 แตกต่างจากชุดควบคุมที่ลดลงเหลือ 18.22 และฟางข้าวที่เติมเชื้อจุลินทรีย์มี อัตราส่วน C/N ลดลงเหลือ 14.64 แตกต่างจากชุดควบคุมคือ 16 ใน 40 วัน เช่นกัน

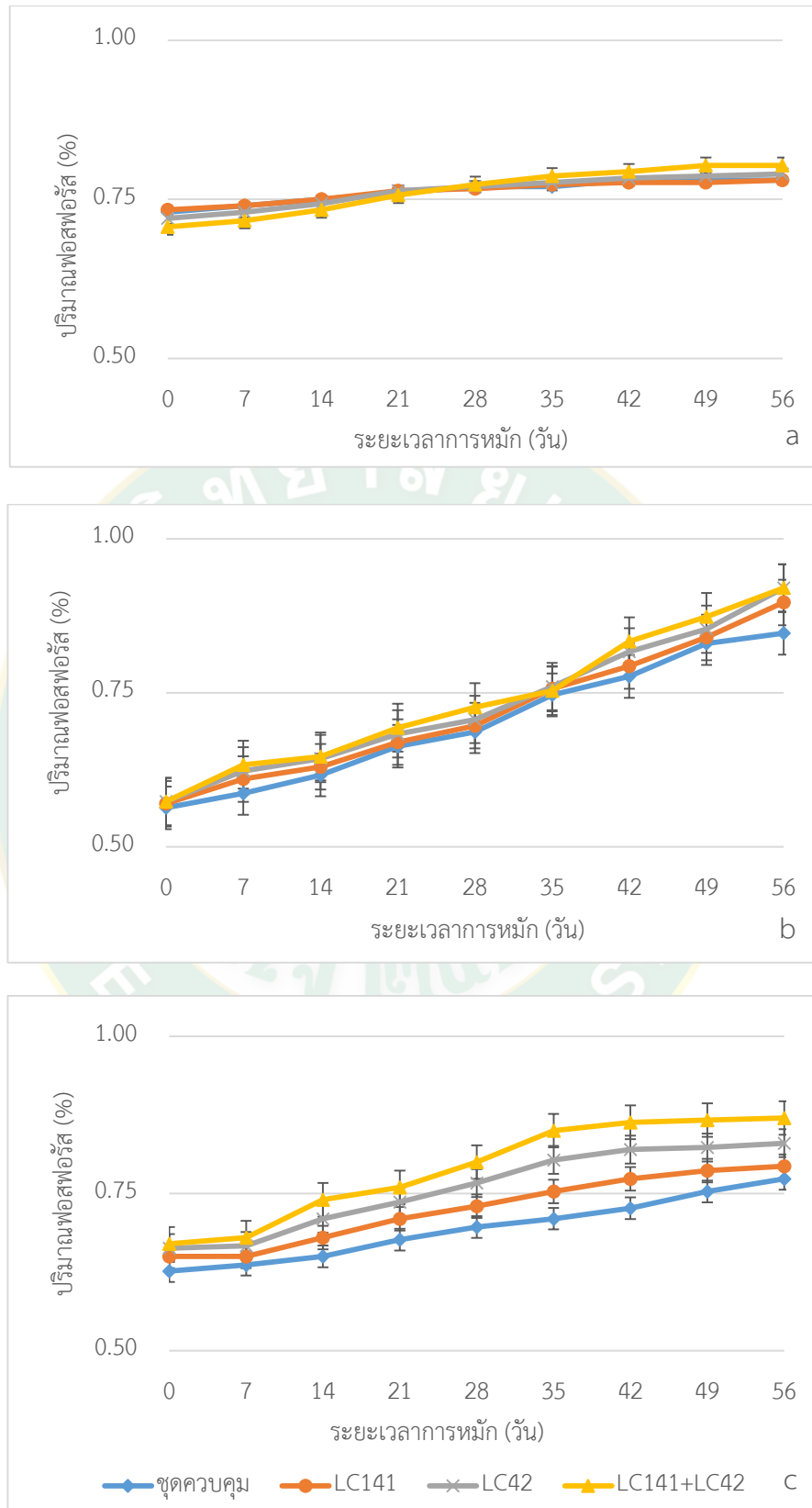


ภาพที่ 10 การเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนระหว่างการหมักวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร a: ฟางข้าว b: ซังข้าวโพด c: เศษไม้ยางพารา

1.6 ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์

จากการทดลองพบว่าทุกการทดลองมีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์เพิ่มขึ้นเล็กน้อยทุกการทดลอง ดังภาพที่ 11 ทั้งนี้ชุดการทดลองที่ 4 การเติมเชื้อแบคทีเรียร่วมกันระหว่าง LC141 และ LC42 ทุกการทดลอง คือ ฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพารา มีค่าเพิ่มขึ้นสูงกว่าการทดลองอื่น คือ 0.80, 0.92 และ 0.87% ตามลำดับ รองลงมาคือชุดการทดลองที่มีการเติมแบคทีเรียชนิดเดียว คือ ชุดการทดลองที่ 2 และ 3 ขณะที่ชุดควบคุมในการทดลองที่ 1 นั้นมีปริมาณฟอสฟอรัสสุดท้ายน้อยที่สุดทั้งในฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพารา คือ 0.78, 0.85 และ 0.77% ตามลำดับ ดังภาพที่ 13 ซึ่งทุกการทดลองมีปริมาณฟอสฟอรัสอยู่ในช่วงที่ระบุโดยมาตรฐานกรมวิชาการเกษตร คือ มีปริมาณฟอสฟอรัสสุดท้ายเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักมากกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก



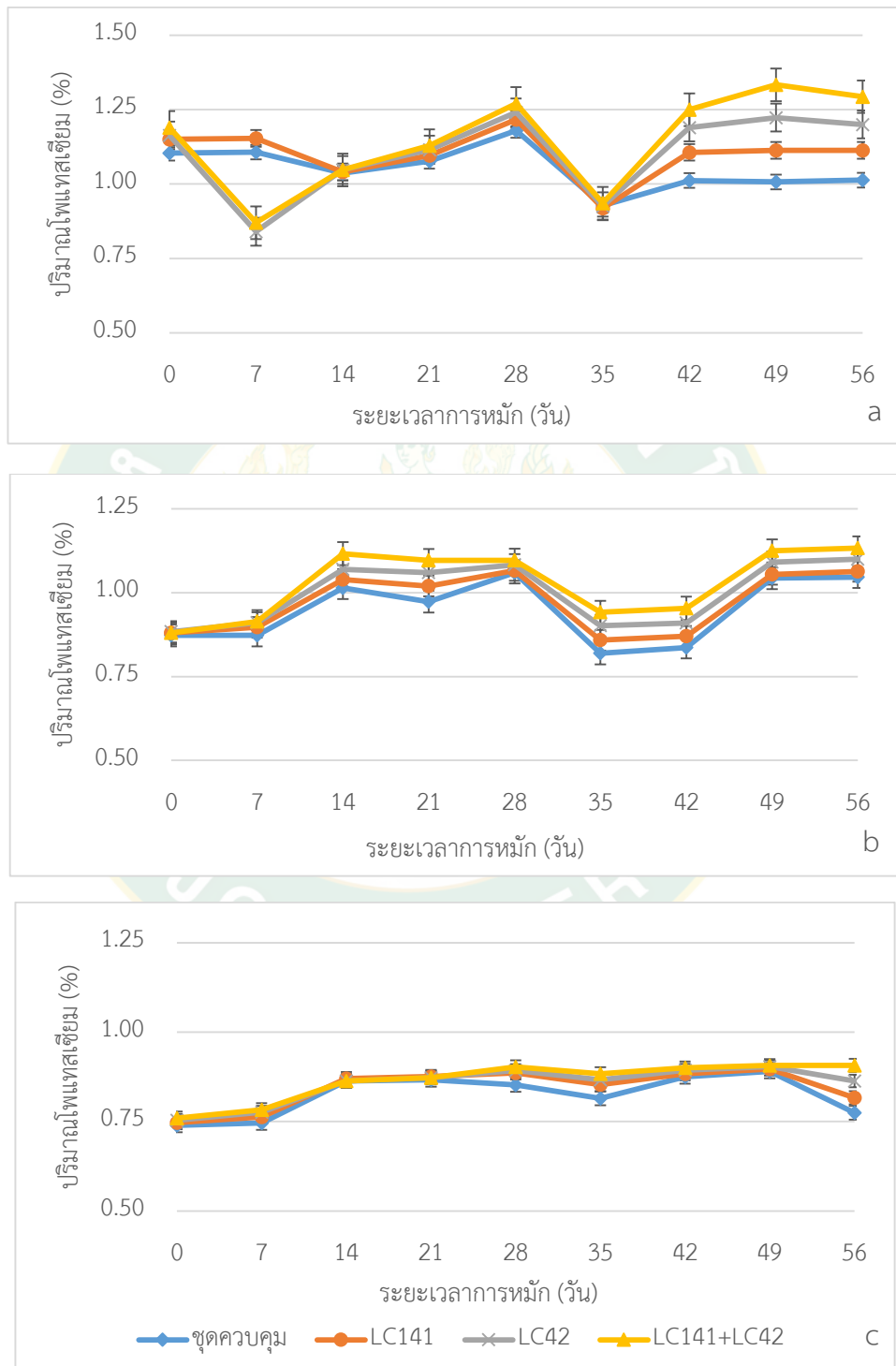


ภาพที่ 11 การเปลี่ยนแปลงปริมาณฟอสฟอรัสระหว่างการหมักวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

a: ฟางข้าว b: ซังข้าวโพด c: เศษไม้ยางพารา

1.7 ปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมด

จากผลการทดลองพบว่าทุกชุดการทดลองมีค่าโพแทสเซียมการเปลี่ยนแปลงตลอดการทดลอง แต่โดยรวมแล้วปริมาณโพแทสเซียมเพิ่มจากเริ่มต้นเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมัก ดังภาพที่ 12

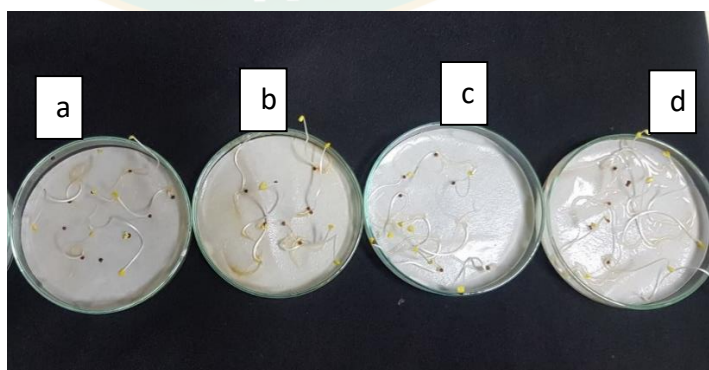


ภาพที่ 12 การเปลี่ยนแปลงปริมาณโพแทสเซียมระหว่างการหมักวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

a: ฟางข้าว b: ชั่งข้าวโพด c: เศษไม้ยางพารา

1.8 ดัชนีการงอกของเมล็ด

ความเป็นพิษต่อพืชยังเป็นหนึ่งในพารามิเตอร์ที่สำคัญที่สุดที่ใช้ในการประเมินวัสดุหมักที่ใช้งานได้ เพื่อการเกษตรในการเป็นวัสดุปรับปรุงดิน (Selim et al., 2012) โดยทั่วไปดัชนีการงอกของเมล็ดนั้นจะต้องมีอัตราการงอกที่สูงกว่า 80% เพื่อพิสูจน์ว่าไม่มีความเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม (Alberta Environment, 1999) ซึ่งในการทดลองครั้งนี้พบว่าดัชนีการงอกของเมล็ดเมื่อใช้น้ำที่กรองจากวัสดุทั้ง 3 ชนิด คือ ฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพาราหลังจบการทดลองในวันที่ 56 นั้นมีค่าดัชนีการงอกของเมล็ดมากที่สุดในชุดการทดลองที่ 4 ของวัสดุหมักทั้ง 3 ชนิด คือ 110%, 110% และ 100% ตามลำดับ และพบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลองวัสดุปรับปรุงดินที่ได้จากการทดลองในทุกชุดการทดลองนั้นมีดัชนีการงอกของเมล็ดเกินร้อยละ 80 ซึ่งถือว่ามีอัตราการงอกและการเจริญของรากที่ดีเป็นวัสดุปรับปรุงดินที่มีการย่อยสลายสมบูรณ์และปราศจากสารที่เป็นพิษต่อพืช ดังตารางที่ 6 โดยเฉพาะในฟางข้าวที่มีอัตราส่วน C/N น้อยกว่า 20 ดัชนีการงอกของเมล็ดที่มากกว่า 100% ดังภาพที่ 13 และอัตราส่วน C/N สอดคล้องกับงานวิจัยของ Wu et al. (2019) ที่ใช้จุลินทรีย์ทางการค้าในการหมัก ฟางข้าว และชังข้าวโพด ซึ่งพบว่าดัชนีการงอกของเมล็ดจากน้ำสกัดจากชังข้าวโพดที่ทำการหมักร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์ทางการค้า พบว่ามีดัชนีการงอกของเมล็ดเท่ากับ 80% แตกต่างจากชุดควบคุมที่มีดัชนีการงอกของเมล็ดเท่ากับ 71% เมื่อสิ้นสุดการทดลอง เช่นเดียวกับดัชนีการงอกของเมล็ดจากน้ำสกัดจากฟางข้าวที่ทำการหมักร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์ทางการค้าพบว่ามีดัชนีการงอกของเมล็ดเท่ากับ 80% แตกต่างจากชุดควบคุมที่มีดัชนีการงอกของเมล็ดเท่ากับ 68 % และงานวิจัยของ Abdel et al. (2016) ที่ทำการหมักฟางข้าวร่วมกับแบคทีเรียเปรียบเทียบกับชุดควบคุมพบว่า ดัชนีการงอกของผักกาดขาวในชุดทดลองที่มีการหมักร่วมกับแบคทีเรียให้ค่าดัชนีการงอกของเมล็ด เท่ากับ 86% มากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ



ภาพที่ 13 ดัชนีการงอกของเมล็ดจากน้ำสกัดฟางข้าวเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมัก

a: ชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุม b:ชุดการทดลองที่ 2 LC141

c : ชุดการทดลองที่ 3 LC42 d: ชุดการทดลองที่ 4 LC141+LC42

ตารางที่ 6 ดัชนีการงอกของเมล็ด

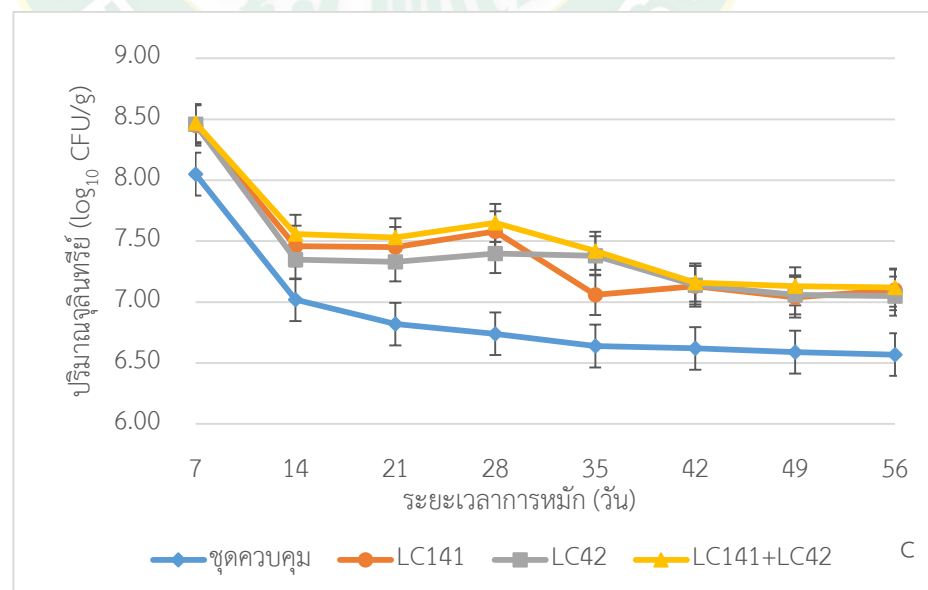
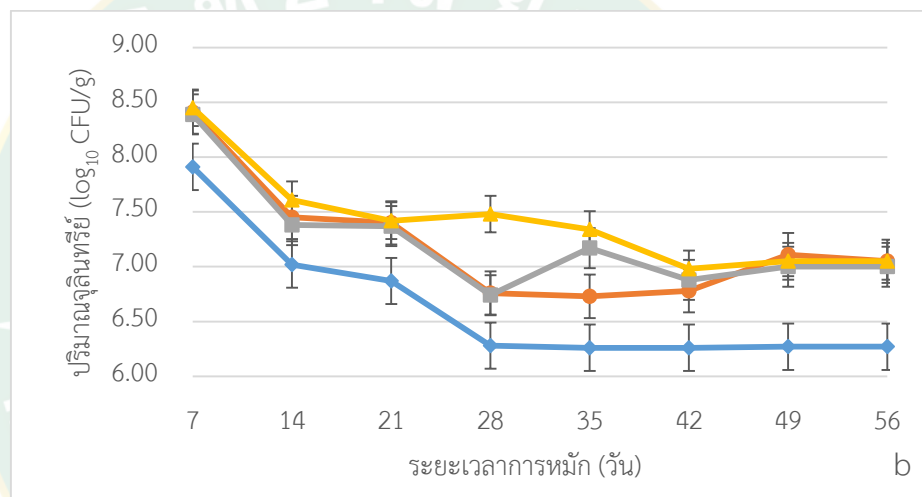
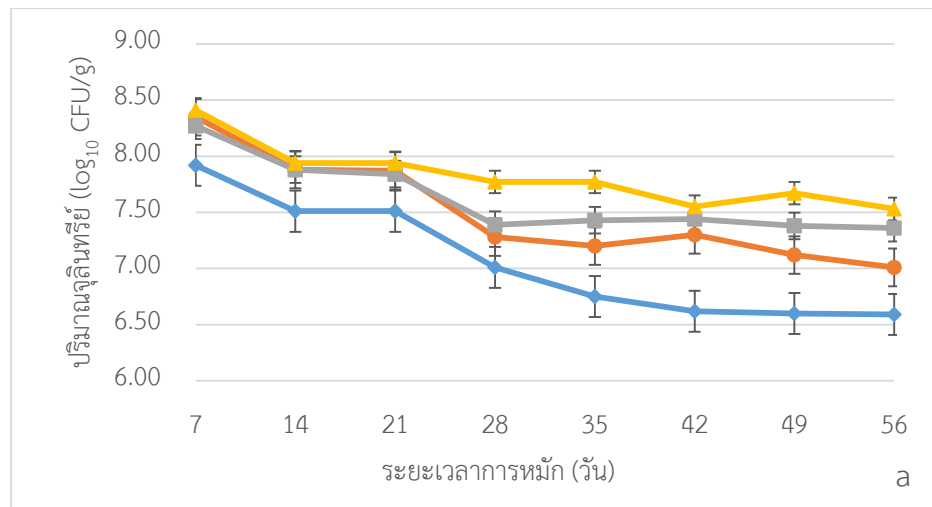
การทดลอง	ชุดการทดลอง	ดัชนีการงอกของเมล็ด (%)
ฟางข้าว	1	100±0.01 ^a
	2	110±0.13 ^b
	3	100±0.14 ^b
	4	118±0.43 ^c
ซังข้าวโพด	1	100±0.13 ^a
	2	116±0.53 ^b
	3	112±0.01 ^c
	4	120±0.19 ^c
เศษไม้ยางพารา	1	95±0.11 ^a
	2	102±0.19 ^b
	3	102±0.13 ^b
	4	105±0.13 ^b

หมายเหตุ อักษร a b c แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของการทดลองในแต่ละชุดการทดลองที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT (P<0.05)

เมื่อ ชุดการทดลอง (1): ชุดควบคุม (2): เติม LC141 (3): เติม LC42 และ (4): เติม LC141 ร่วมกับ LC42

1.9 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

จากการศึกษาอัตราการย่อยสลายของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรโดยทำการเติมเชื้อแบคทีเรียชนิดเดียวในชุดการทดลองที่ 2 และ 3 คือ LC141 และ LC42 และชุดการทดลองที่ 4 การเติมแบคทีเรีย 2 ชนิดร่วมกัน คือ LC141 ร่วมกับ LC42 เปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อแบคทีเรียพบว่า ชุดการทดลองที่ 4 ของทุกการทดลองคือ การทดลองที่ 1 2 และ 3 นั้นมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ตลอดการทดลองมากที่สุดและมีจำนวนจุลินทรีย์เหลือสุดท้ายเมื่อจบระยะเวลาการหมักใน 56 วันมากที่สุดคือ 7.53, 7.07 และ 7.41 \log_{10} CFU/g ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมของทั้ง 3 การทดลองที่มีจำนวนจุลินทรีย์เหลือสุดท้ายเมื่อจบระยะเวลาการหมักใน 56 วันน้อยที่สุดคือ 6.88, 6.50 และ 6.94 \log_{10} CFU/g เนื่องจากเป็นการเติมเชื้อจุลินทรีย์ 2 ชนิดรวมกัน ซึ่งเมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสมแล้วนั้น ก่อให้เกิดการย่อยที่เพิ่มมากขึ้น สอดคล้องกับค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่ลดลง ดัง ภาพที่ 14 ซึ่งมีปริมาณจุลินทรีย์เหลือสุดท้ายมากกว่างานวิจัยของ Bohacz (2018) ที่ทำการหมักเปลือกสน ฟางข้าว และขี้เลื่อยร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง เหลือปริมาณจุลินทรีย์ 5.96 4.21 6.01 \log_{10} cfu/g มากกว่าชุดควบคุม และ งานวิจัยของ Zhang et al. (2018) ทำการหมักถั่วร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการหมักในวันที่ 28 อยู่ที่ 2.0 แตกต่างจากชุดควบคุมที่เหลือเชื้อจุลินทรีย์เพียง 1.5 \log_{10} cfu/g



ภาพที่ 14 การเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ระหว่างการหมักวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

a: ฟางข้าว b: ซังข้าวโพด c: เศษไม้ยางพารา

โดยทั่วไปความสมบูรณ์ของวัสดุหมักสามารถพิจารณาได้จาก อัตราส่วน C/N ratio (Onwosi et al., 2017) ปริมาณไนโตรเจน (Zhang and Sun, 2014) ธาตุอาหารอื่นๆ (Anwar et al., 2017) และดัชนีการงอกของเมล็ด (Das et al., 2011) ซึ่งอัตราส่วน C/N ที่ 25-30 นั้นเป็นค่าเริ่มต้นที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการหมักวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร และจากนั้นจะลดลงอย่างต่อเนื่อง ในระหว่างกระบวนการเนื่องจากมีปริมาณอินทรีย์ไนโตรเจน น้อยกว่าอินทรีย์คาร์บอน (Onwosi et al., 2017) จากนั้นจุลินทรีย์จะใช้คาร์บอนในกระบวนการต่างๆ จนในที่สุดอัตราส่วน C/N จะลดลงถึงค่าที่กำหนดคือน้อยกว่า 20 (Garcia et al., 1992)

ในการศึกษาในครั้งนี้อัตราส่วน C/N จะมีความแตกต่างกันตามวัสดุหมักในทั้ง 3 การทดลอง คือ ฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพารา มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 1.44, 0.95 และ 1.23% ตามลำดับ โดยเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการหมักในวันที่ 56 อัตราส่วน C/N ของฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพาราจะลดลงอยู่ในช่วง 10.12-17.69 24.11-31.60 และ 21.28-27.45 ซึ่งชุดการทดลองที่ 4 ที่มีการเติมแบคทีเรียร่วมกัน 2 ชนิดระหว่าง LC141 และ LC42 นั้นมีค่าอัตราส่วน C/N ลดลงเข้าใกล้ 20 ในระยะเวลาที่สั้นกว่าชุดควบคุมและชุดที่มีการเติมแบคทีเรียชนิดเดียวทั้ง 3 วัสดุ ดังตารางที่ 7

ปริมาณธาตุอาหารหลัก จากการทดลองพบว่าทั้ง ฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพารา มีปริมาณธาตุอาหารหลัก ทั้งหมดใกล้เคียงกันในจุดเริ่มต้นของกระบวนการหมักและเพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดระยะเวลา ฟางข้าว มีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมเพิ่มขึ้นในช่วง 1.88-2.19 0.78-0.80 และ 1.01-1.29% ตามลำดับ ชังข้าวโพด มีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมเพิ่มขึ้นในช่วง 1.27-1.44 0.85-0.92 และ 1.05-1.10% ตามลำดับ เศษไม้ยางพารา มีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมเพิ่มขึ้นในช่วง 1.41-1.47 0.77-0.87 และ 0.77-0.91% ตามลำดับ ดังตารางที่ 7 ซึ่งแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของปริมาณธาตุอาหารในการทดลองครั้งนี้ของการทดลองอาจมีสาเหตุมาจากการสูญเสียมวลสุทธิโดยการสูญเสียคาร์บอน เช่น คาร์บอนไดออกไซด์ (Wong et al., 2001)

การทดสอบดัชนีการงอกของเมล็ดนั้นใช้เพื่อประเมินความเป็นพิษของวัสดุที่ผ่านกระบวนการหมัก เนื่องจากมีโลหะหนักและแอมโมเนีย โดยค่าดัชนีการงอกที่ต่ำกว่า 80% แสดงถึงความเป็นพิษที่สามารถส่งผลกระทบต่อพัฒนาการของรากได้ (Das et al., 2011) ทั้งนี้จากผลการทดลองเมื่อสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 56 วัสดุปรับปรุงดินจากทั้ง 3 การทดลอง คือ ฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพารานั้นชุดทดลองที่มีการเติมเชื้อแบคทีเรีย คือ ชุดการทดลอง ที่ 2 3 และ 4 นั้นจะช่วยสนับสนุนดัชนีการงอกของเมล็ดได้ดีกว่าชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุม

จุลินทรีย์มีบทบาทสำคัญในการหมักวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรซึ่งจะช่วยย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีลิกโนเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ ส่งผลให้สามารถใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเป็นวัสดุปรับปรุงดินได้ในระยะเวลาที่สั้นขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับพื้นที่ๆจุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ ดังนั้นการเติมเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการต่างๆ ดังเช่นชุดการทดลอง ที่ 2 3 และ 4 นั้น จะช่วยให้ส่งเสริมให้จุลินทรีย์ที่ทำงานที่ดียิ่งขึ้นโดยควบคุมปัจจัยสิ่งแวดล้อมเพื่อย่อยสลายทางชีวภาพที่รวดเร็วยิ่งขึ้น (Wei et al., 2016) เช่นเดียวกันกับงานวิจัยของ Huang et al. (2008) ที่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์ภายในกองวัสดุหมักทำให้จุลินทรีย์ส่งเสริมความสามารถในการสลายตัวขององค์ประกอบทั้งหมดของ lignocellulose และ Vargas-Garci et al. (2007) ที่พบว่าข้อดีของการเติมเชื้อจุลินทรีย์คือความสามารถในการหลั่งเอนไซม์ extracellular ที่สามารถย่อยสลาย lignocellulose และละลายโมโนเมอร์พื้นฐานได้จนถึงปัจจุบันหัวข้อในการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรนั้นส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียและเชื้อรา (Zhao et al., 2016)

จากการทดลองจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร 3 การทดลองใน 3 วัสดุ คือ ฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพาราพบว่ามีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของ อุณหภูมิ พีเอช ปริมาณอินทรีย์วัตถุ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ ปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมด ปริมาณจุลินทรีย์อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน และดัชนีการงอกของเมล็ดนั้น พบว่าทั้ง 3 วัสดุ คือ ฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพารานั้น ชุดการทดลองที่ 4 การเติมเชื้อแบคทีเรีย LC141 ร่วมกับ LC 42 นั้น ช่วยลดระยะเวลาความสมบูรณ์ของปุ๋ยให้มีระยะเวลาน้อยลง 1-2 สัปดาห์ รวมถึงลักษณะทางกายภาพของวัสดุหมักที่มีความเปื่อยยุ่ยมากกว่าชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อแบคทีเรีย เช่นเดียวกันกับชุดการทดลองที่ 2 และ 3 ที่มีการเติมเชื้อแบคทีเรียชนิดเดียวคือ LC141 และ LC42 ตามลำดับ ที่ให้ผลของวัสดุหมักที่รองลงมา จากชุดการทดลองที่ 4 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ดังตารางที่ 7 จึงสามารถสรุปได้ว่าการเติมเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส และไซลานเนส คือ LC141 และ LC42 ร่วมกันนั้นจะช่วยย่อยสลายวัสดุหมักเพื่อใช้เป็นวัสดุปรับปรุงดินได้โดยลดระยะเวลาการหมักและเพิ่มปริมาณธาตุอาหารตามมาตรฐานกรมวิชาการเกษตร เป็นประโยชน์ต่อเกษตรกร ทั้งการลดต้นทุน การลดระยะเวลา และความอุดมสมบูรณ์ของดิน

ตารางที่ 7 คุณสมบัติของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรหลังสิ้นสุดการทดลอง

สมบัติของวัสดุ	มาตรฐาน*	ชุดการทดลองที่ 1 พางข้าว			ชุดการทดลองที่ 2 ซังข้าวโพด			ชุดการทดลองที่ 3 เศษฝ้ายพารา					
		ชุดควบคุม	LC141	LC42	LC141+LC42	ชุดควบคุม	LC141	LC42	LC141+LC42	ชุดควบคุม	LC141	LC42	LC141+LC42
ปรับปรุงดิน													
ความชื้น	<35%	33±0.12 ^{ns}	32±0.14 ^{ns}	32±0.13 ^{ns}	30±0.11 ^{ns}	33±0.12 ^{ns}	33±0.11 ^{ns}	33±0.10 ^{ns}	32±0.14 ^{ns}	31±0.13 ^{ns}	30±0.14 ^{ns}	30±0.12 ^{ns}	
ปริมาณอินทรีย์วัตถุ	>30%	55.17±0.46 ^c	44.89±0.28 ^{bc}	46.55±0.17 ^b	41.38±0.19 ^a	66.05±0.58 ^d	65.02±0.17 ^c	61.79±0.76 ^a	67.06±0.10 ^c	64.78±0.20 ^b	62.45±0.17 ^b	60.11±0.43 ^a	
ความเป็นกรด-ด่าง (pH)	5.5-8.5	8.18±0.02 ^{ns}	8.16±0.01 ^{ns}	8.2±0.02 ^{ns}	8.17±0.02 ^{ns}	8.2±0.01 ^{ns}	8.21±0.01 ^{ns}	8.21±0.01 ^{ns}	8.17±0.02 ^{ns}	8.18±0.03 ^{ns}	8.18±0.02 ^{ns}	8.17±0.01 ^{ns}	
ไนโตรเจนทั้งหมด (Total N)	>1%	1.88±0.01 ^a	1.98±0.01 ^b	2.08±0.01 ^{bc}	2.19±0.01 ^c	1.27±0.01 ^a	1.36±0.02 ^b	1.42±0.02 ^b	1.41±0.01 ^a	1.43±0.02 ^b	1.46±0.01 ^b	1.47±0.01 ^b	
ปริมาณฟอสฟอรัส (Total P ₂ O ₅)	>0.5%	0.78±0.01 ^a	0.78±0.03 ^a	0.79±0.01 ^b	0.80±0.02 ^b	0.85±0.04 ^a	0.90±0.06 ^{bc}	0.92±0.07 ^b	0.77±0.04 ^a	0.79±0.01 ^b	0.83±0.02 ^b	0.87±0.01 ^b	
ปริมาณโพแทสเซียม (Total K ₂ O)	>0.5%	1.01±0.01 ^a	1.11±0.01 ^b	1.20±0.02 ^c	1.29±0.01 ^{cd}	1.05±0.06 ^a	1.06±0.02 ^b	1.10±0.01 ^b	0.77±0.01 ^a	0.82±0.01 ^b	0.86±0.02 ^b	0.91±0.02 ^b	
C/N ratio	< 20:1	17.69±0.21 ^c	15.87±0.47 ^{ab}	14.10±0.03 ^b	10.12±0.10 ^a	31.60±0.31 ^d	29.26±0.33 ^c	24.11±0.18 ^a	27.45±0.34 ^c	25.11±0.57 ^b	23.31±0.75 ^b	21.28±0.32 ^a	

*มาตรฐานวัสดุปรับปรุงดิน จากกรมวิชาการเกษตร (2551)

หมายเหตุ อักษร a b c d แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของการทดลองในแต่ละชุดการทดลองที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT (P<0.05)

ns คือ ผลการทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เมื่อ (1): ชุดควบคุม (2): เดิม LC141 (3): เดิม LC42 และ (4): เดิม LC141 ร่วมกับ LC42

จากตารางที่ 7 สมบัติของวัสดุหมักเมื่อสิ้นสุดการทดลอง สามารถสรุปได้ว่าการทดลองชุดที่ 4 การเติมเชื้อร่วมกันระหว่าง LC14 และ LC 42 ในการทดลองทั้ง 3 การทดลอง คือ ฟางข้าว ชั่งข้าวโพด และ เศษไม้ยางพารานั้น พบว่าสามารถลดระยะเวลาความเป็นวัสดุปรับปรุงดินที่สมบูรณ์ลงได้ประมาณ 1-2 สัปดาห์ พร้อมด้วยปริมาณธาตุอาหารหลักที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน โดยเฉพาะในการทดลองที่ 1 ฟางข้าว ที่มีคุณสมบัติผ่านเกณฑ์มาตรฐานคือ ความชื้นน้อยกว่า 35% อินทรีย์วัตถุมากกว่า 30% พีเอช อยู่ในช่วง 5.5-8.5 ปริมาณไนโตรเจนมากกว่า 1% ปริมาณฟอสฟอรัสมากกว่า 0.5% ปริมาณโพแทสเซียมมากกว่า 0.5% และค่าอัตราส่วน C/N ที่น้อยกว่า 20 ในทุกชุดการทดลองภายในระยะเวลาที่กำหนด คือ 8 สัปดาห์ จึงมีความเหมาะสมในการใช้เป็นวัสดุดีบในการทดลองในพื้นที่การเกษตรในขั้นต่อไป เพื่อยืนยันผลการทดลองและการนำเชื้อแบคทีเรียมาใช้ประโยชน์ในพื้นที่การเกษตรจริง เพื่อประโยชน์ทางการเกษตรในอนาคตต่อไป



ตอนที่ 2. ศึกษาการย่อยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรโดยแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคนในพื้นที่เกษตร

จากการทดลองในตอนต้นที่ 1 พบว่าการเติมเชื้อร่วมกันระหว่าง LC141 และ LC 42 ในการทดลองทั้ง 3 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 ฟางข้าว การทดลองที่ 2 ซังข้าวโพด และการทดลองที่ 3 เศษไม้ยางพารานั้น พบว่าสามารถลดระยะเวลาความเป็นวัสดุปรับปรุงดินที่สมบูรณ์ลงได้ 1-2 สัปดาห์ โดยเฉพาะในการทดลองที่ 1 ฟางข้าว ที่ผ่านคุณสมบัติผ่านเกณฑ์มาตรฐานภายในระยะเวลาการทดลองในตอนต้นที่ 1 คือ 8 สัปดาห์ในทุกชุดการทดลอง จึงนำฟางข้าวมาใช้ในการทดลองในตอนต้นที่ 2 ต่อ เพื่อยืนยันผลการทดลองอีกครั้งโดย แบ่งการทดลองเป็น 2 การทดลองเพื่อเปรียบเทียบผลของการเติมเชื้อแบคทีเรียในกระบวนการหมักฟางข้าวเพื่อเป็นวัสดุปรับปรุงดิน คือ การทดลองที่ 1 ชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อแบคทีเรีย และการทดลองที่ 2 การเติมเชื้อแบคทีเรียร่วมกันระหว่าง LC141 และ LC 42 ในอัตราส่วนเชื้อ 4% ต่อน้ำหนักฟางข้าว

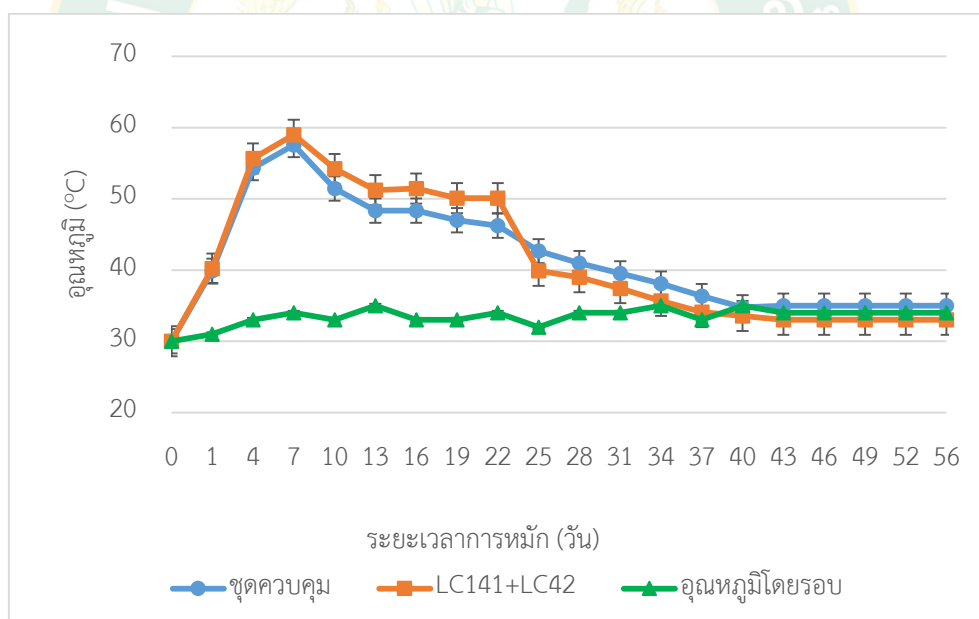
2.1 อุณหภูมิของวัสดุหมัก

อุณหภูมิเป็นตัวบ่งชี้ที่สำคัญในระหว่างกระบวนการหมักโดยสามารถสะท้อนการสลายตัวของฟางข้าวได้และส่งผลต่อประสิทธิภาพการหมักฟางข้าว (Wu et al., 2017) จากการทดลองอุณหภูมิทั้งหมดเป็นไปตามหลักการทั่วไปของกระบวนการหมักฟางข้าว นั่นคืออุณหภูมิที่สูงขึ้นในช่วง 7 วันแรกของกระบวนการหมัก ดังภาพที่ 15 ซึ่งหลังจากเริ่มต้น 4-7 วันอุณหภูมิในทั้งสองการทดลองจะสูงถึง 50–60 ° C อย่างรวดเร็วโดยเฉพาะชุดทดลองที่มีการเติมแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดลงไปโดยความร้อนที่เกิดขึ้นนั้นเกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ (Lu et al., 2018)

ทั้งนี้การเกิดความร้อนในช่วง thermophilic ที่ยาวนานกว่าของชุดทดลองนั้นมาจากการเติมเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสซึ่งกิจกรรมของจุลินทรีย์นั้นส่งผลให้เกิดความร้อนนำไปสู่ค่าสูงสุดของอุณหภูมิที่ 60 ในวันที่ 7 หลังจากนั้นในวันที่ 25-56 อุณหภูมิภายในกองวัสดุปรับปรุงดินของทุกการทดลองจะเริ่มลดต่ำลงใกล้เคียงอุณหภูมิภายในบรรยากาศ คือ 34 °C จนค่อยๆคงที่ ซึ่งแสดงถึงกระบวนการหมักวัสดุปรับปรุงดินที่เสร็จสมบูรณ์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Fan et al. (2017) ที่ทำการทดลองโดยการหมักวัสดุเหลือทิ้ง ร่วมกับเชื้อ EM พบว่ามีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 5 และลดลงใกล้เคียงกับอุณหภูมิโดยรอบในวันที่ 30 ซึ่งการเติมการทดลองชุดที่มีการเติม EM นั้นมีอุณหภูมิที่สูงกว่าชุดควบคุม ซึ่งส่งผลถึงกระบวนการหมักที่สมบูรณ์ในระยะเวลาที่สั้นกว่า งานวิจัยของ Bohacz (2018) ทำการหมักเปลือกสน ฟางข้าว และขี้เลื่อยร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าใน ระยะที่ 1 ทุกการทดลอง มีอุณหภูมิเพิ่มขึ้น ใน 24 ชั่วโมง โดยชุดที่เติมเชื้อจุลินทรีย์มีอุณหภูมิที่ 42 ° C และชุดควบคุมที่ 35 ° C จากนั้นเข้าสู่ระยะที่ 2 โดยอุณหภูมิ

จะเพิ่มขึ้นสูงที่สุดในวันที่ 12 คือ 42°C ในชุดที่เติมเชื้อจุลินทรีย์ และ 40°C ในชุดควบคุม และจากนั้นเข้าสู่ระยะที่ 3 การหมักสมบูรณ์ ใช้ระยะเวลาอีก 3 สัปดาห์ โดยอุณหภูมิจะค่อยๆ ลดลงจนเท่ากับอุณหภูมิโดยรอบ คือ 14°C ชุดที่เติมเชื้อจุลินทรีย์ และ 13°C ในชุดควบคุม และงานวิจัยของ Wei et al. (2019) การปรับปรุงการย่อยสลายฟางข้าวโดยการใส่หัวเชื้อจุลินทรีย์ พบว่า การเติมเชื้อจุลินทรีย์จะทำให้อุณหภูมิในชุดทดลองเพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง $59-63^{\circ}\text{C}$ ใน 5-8 วัน โดยการเติมเชื้อจุลินทรีย์จะส่งผลช่วยให้ในกองวัสดุหมักมีช่วงอุณหภูมิสูงยาวนานกว่าชุดควบคุมส่งผลให้การย่อยสลายวัสดุอินทรีย์เกิดขึ้นได้เร็วขึ้น

การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่เกิดขึ้นในกองวัสดุปรับปรุงดินเกิดขึ้นจากการทำงานของจุลินทรีย์ ความร้อนจากการหายใจของจุลินทรีย์กลุ่มอุณหภูมิปานกลาง ซึ่งจากการทดลองหลังจากวันที่ 42-56 อุณหภูมิจะเริ่มลดต่ำลงใกล้เคียงอุณหภูมิภายในบรรยากาศจนค่อยๆ คงที่เนื่องด้วยแหล่งคาร์บอนของจุลินทรีย์ลดลงแสดงให้เห็นว่ากระบวนการหมักเสร็จสมบูรณ์แล้ว (Liu et al., 2018)

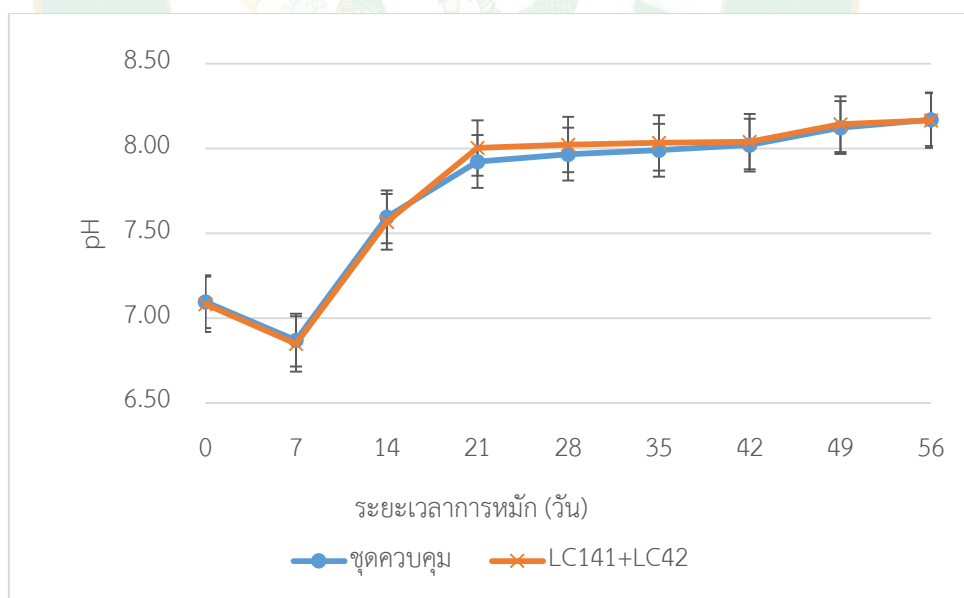


ภาพที่ 15 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิระหว่างการหมักของฟางข้าว

2.2 พีเอช

จากผลการทดลองพบว่าในระยะเวลาการหมักฟางข้าว 56 วัน พีเอชเริ่มต้นอยู่ในช่วง 7.08-7.10 จากนั้นพีเอชของทุกการทดลองมีการลดลงในวันที่ 7 ในช่วง 6.84-6.88 และค่อยๆเพิ่มขึ้นจนสิ้นสุดกระบวนการหมักในวันที่ 56 ปริมาณพีเอชสุดท้ายอยู่ในช่วง 8.16-8.18 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ (Hartz et al. (2007)) พบว่ากระบวนการของการทำปุ๋ยหมักในขั้นเริ่มต้นของการหมัก ความเป็นกรด-ด่างจะต่ำกว่า 7 ในช่วงแรกและ เพิ่มขึ้นไปเป็น 8 หรือมากกว่า ซึ่งสอดคล้องกับการทำปุ๋ยหมักโดยทั่วไป ที่มีพีเอช ระหว่าง 6.0-9.0 ดังภาพที่ 16 และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Fan et al. (2018) ที่หมักวัสดุเหลือทิ้ง ร่วมกับเชื้อ EM ที่พบว่า ในช่วงแรกของการหมักมีความเป็นกรดเพิ่มขึ้นส่งผลให้พีเอชลดลง ทั้งนี้การเพิ่มขึ้นของพีเอชยังเกิดจากแอมโมเนียกรดอินทรีย์ และเปลี่ยนเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์โดยกิจกรรมของจุลินทรีย์

พีเอช เป็นปัจจัยหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหมัก เนื่องจากมีความเกี่ยวข้องกับการดำรงชีพของจุลินทรีย์ที่ทำการย่อยสลายและมีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาต่างๆ ขึ้นในระหว่างการหมัก ในสภาวะปกติแบคทีเรียและเชื้อราเจริญเติบโตได้ดีที่ความเป็นกรด-ด่าง 6-7.5 และ 5.5-8.0 ตามลำดับ (สรพวรรณ, 2546)

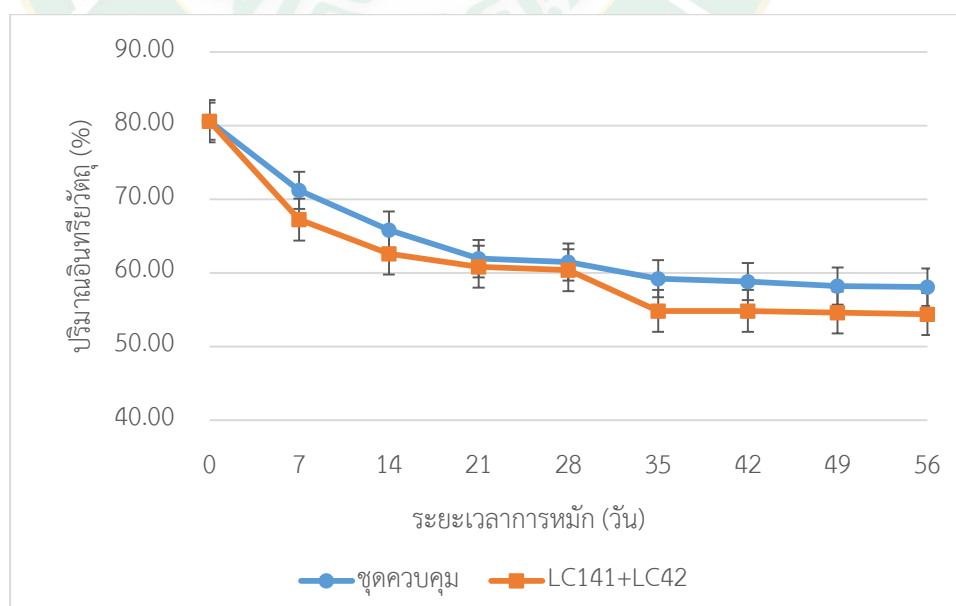


ภาพที่ 16 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชระหว่างการหมักของฟางข้าว

2.3 ปริมาณอินทรีย์วัตถุ

ปริมาณอินทรีย์วัตถุของฟางข้าว 80.60% เมื่อสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 56 ชุดควบคุมนั้นมีปริมาณอินทรีย์วัตถุเหลืออยู่มากที่สุดคือ 58.08% ส่วนการทดลองที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุเหลือน้อยที่สุดคือชุดทดลอง คือ 54.41% ดัง ภาพที่ 17 สอดคล้องกับงานวิจัยของ ปริญา และลินดา (2559) ที่ทำการหมักปุ๋ยร่วมกับเชื้อรา ซึ่งทำการศึกษาทั้งหมด 6 สูตร โดยใช้ระยะเวลาในการหมักปุ๋ยทั้งหมด 20 วันโดยปริมาณอินทรีย์วัตถุเริ่มต้นอยู่ในช่วง 50.90-52.91 % และเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมัก ปริมาณอินทรีย์วัตถุจะลดลงอย่างรวดเร็ว อยู่ในช่วง 18.83-33.62 % โดยสูตรที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุลดลงมากที่สุดคือ สูตรที่ 6 การเติมเชื้อราร่วมกัน 3 ไอโซเลท โดยมีค่าอินทรีย์วัตถุเหลือน้อยที่สุดเท่ากับ 18.83 %

อินทรีย์วัตถุของวัตถุดิบที่นำมาทำเป็นวัสดุปรับปรุงดินเป็นปริมาณอาหารหลักที่จุลินทรีย์นำไปใช้ในการดำรงชีวิตสำหรับจุลินทรีย์ที่สร้างอาหารเองไม่ได้ เมื่อสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 56 ชุดควบคุม มีปริมาณอินทรีย์วัตถุเหลืออยู่มากที่สุด ส่วนชุดการทดลองที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุเหลือน้อยที่สุดคือชุดทดลองที่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ย่อยสลาย ลิกโนเซลลูโลสทั้ง 2 ไอโซเลท คือ LC141 และ LC 42 ทำให้เกิดกระบวนการย่อยสลายเกิดขึ้นได้มากกว่าชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์โดยปริมาณอินทรีย์วัตถุลดลงเนื่องจากอินทรีย์วัตถุเปลี่ยนแปลงไปอยู่ในรูปแหล่งอาหารและพลังงานให้แก่จุลินทรีย์ทั้งยังแปรสภาพเป็นอินทรีย์ที่ระเหยได้ เช่น แอมโมเนีย คาร์บอนไดออกไซด์และความร้อน (Said et al., 2007)

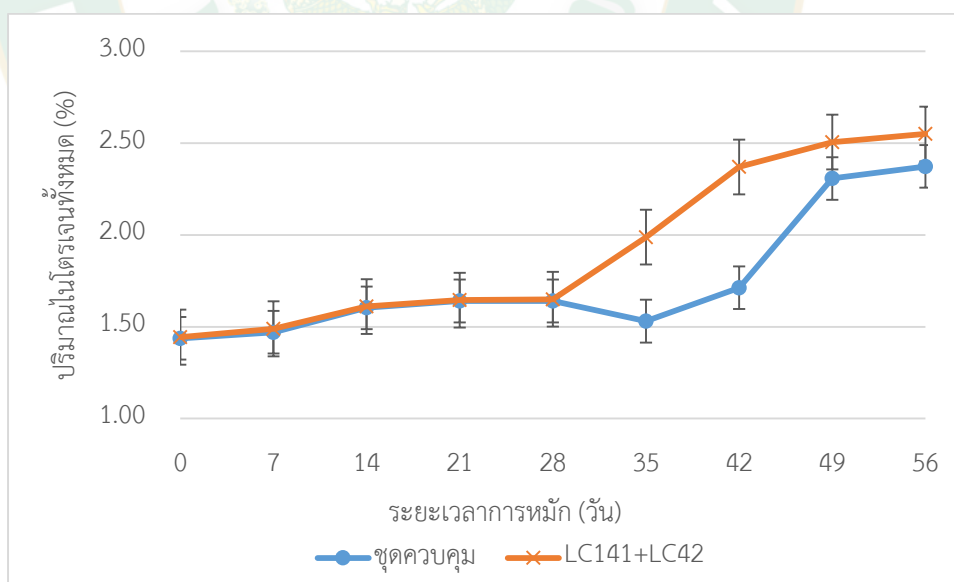


ภาพที่ 17 การเปลี่ยนแปลงปริมาณอินทรีย์วัตถุระหว่างการหมักของฟางข้าว

2.4 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด

ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพารา มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 1.44 ดังภาพที่ 18 ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าทุกการทดลองมีแนวโน้มค่าไนโตรเจนเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะชุดทดลองที่มีปริมาณไนโตรเจนที่เหลืออยู่สูงสุดเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมัก โดยมีค่าเท่ากับ $2.55 \pm 0.01\%$ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม คือ $2.37 \pm 0.01\%$ จึงสามารถสรุปได้ว่าการเติมเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด ในชุดการทดลองนั้นทำให้ปุ๋ยหมักมีปริมาณไนโตรเจนมากกว่าชุดควบคุม ดังตารางที่ 9 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Mohd et al. (2013) ทำการทดลองหมักฟางข้าวร่วมกับเชื้อ EM พบว่า ชุดทดลองที่มีการเติมเชื้อ EM เมื่อสิ้นสุดการทดลองนั้นมีปริมาณไนโตรเจนเพิ่มขึ้นจาก 1.5% ไปเป็น 2.4% มากกว่าชุดควบคุม ที่มีปริมาณไนโตรเจนสุดท้ายเท่ากับ 1.8%

ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดทุกการทดลองมีแนวโน้มค่าไนโตรเจนเพิ่มขึ้นโดยเฉพาะชุดทดลองนี้มีค่าสูงกว่าชุดควบคุม เนื่องจากอินทรีย์สารถูกย่อยสลายและสูญเสียคาร์บอนไปในรูปของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ทำให้น้ำหนักกองปุ๋ยหมักลดลงซึ่งคาร์บอนจะมีการสูญเสียในสัดส่วนที่สูงกว่าไนโตรเจนทำให้ไนโตรเจนทั้งหมดต่อหน่วยน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้นนอกจากนี้ไนโตรเจนที่เพิ่มขึ้นอาจมาจากการตรึงไนโตรเจนโดยจุลินทรีย์ที่อยู่อย่างอิสระในกองวัสดุปรับปรุงดิน (ธันวดี, 2547)



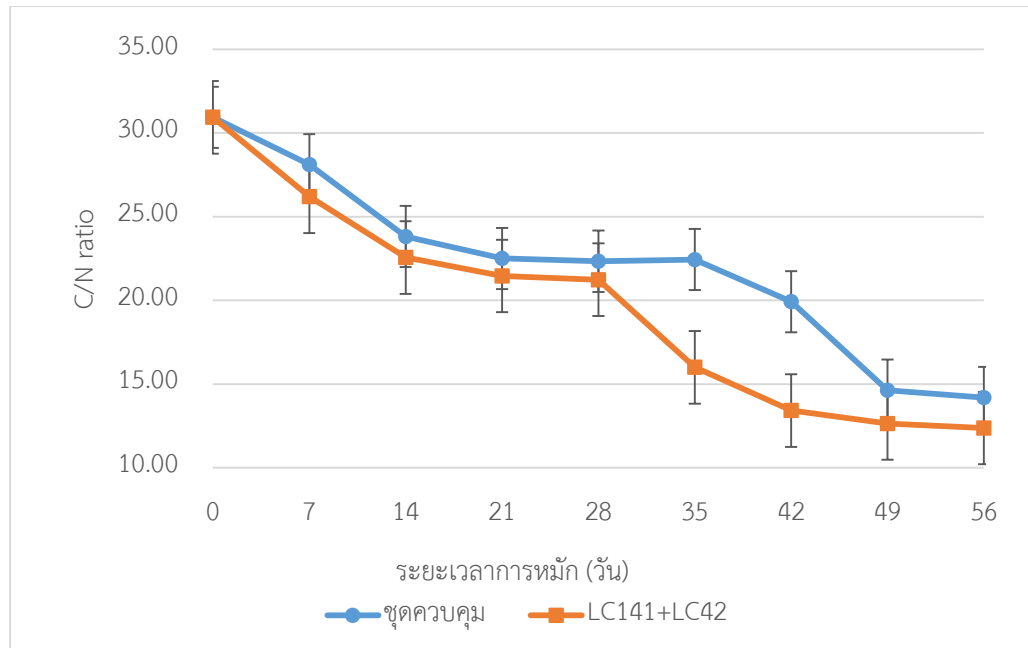
ภาพที่ 18 การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจนระหว่างการหมักของฟางข้าว

2.5 อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน

C/N ratio มีแนวโน้มลดลงระหว่างการหมักฟางข้าวในทั้ง 2 การทดลอง โดยทั่วไป C/N ถูกใช้เพื่อเป็นเกณฑ์ในการประเมินความสมบูรณ์ของวัสดุปรับปรุงดินโดยระดับที่ยอมรับได้ของความสมบูรณ์คือ เมื่ออัตราส่วน C/N ratio น้อยกว่า 20 (Zhao et al., 2016)

จากผลการทดลองพบว่าฟางข้าวก่อนการทดลองมีอัตราส่วน C/N เท่ากับ 30/1 หลังจบการทดลองในวันที่ 56 ชุดทดลองมีอัตราส่วน C/N จะลดลงเหลือน้อยที่สุดอยู่ที่ 12/1 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) กับชุดควบคุมที่มีอัตราส่วน C/N ลดลงเหลือ 14.20 ดังภาพที่ 19

จากผลการวิเคราะห์คุณสมบัติจากกายภาพและทางเคมีของฟางข้าว ซึ่งเป็นดัชนีบ่งชี้อัตราการย่อยสลายของอินทรีย์วัตถุต่างๆ พบว่าในชุดทดลองซึ่งเป็นการเติมเชื้อแบคทีเรียแบคทีเรีย LC141 และ LC42 ในกองฟางหมักส่งผลให้อัตราส่วน C/N จะลดลงเหลือน้อยที่สุด เนื่องจากคาร์บอนถูกจุลินทรีย์ใช้ในกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ สอดคล้องกับงานวิจัยของ ชนิตาภา และคณะ (2018) ที่ได้ทำการทดลองหมักฟางในระยะเวลา 42 วันพบว่าชุดการทดลองที่ 4 ที่มีการเติมจุลินทรีย์ S-15 นั้นให้ค่า C/N ratio เมื่อสิ้นสุดการทดลองต่ำที่สุดคือ 15.7 เมื่อสิ้นสุดการทดลองงานวิจัยของ ปริญา และ ลินดา (2559) ที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสในกระบวนการหมักปุ๋ยชีวภาพพบว่าสูตรที่มีค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนน้อยสุด คือ สูตรที่ 6 (การเติมเชื้อผสม) รองลงมา สูตรที่ 3, 4 (การเติมเชื้อเดี่ยว), สูตรที่ 2 (พด.1) และสูตรที่ 1 (สูตรควบคุม) โดยมีค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน เท่ากับ 10.26, 14.58, 15.38, 16.54 และ 17.12 ตามลำดับ และงานวิจัยของ Mohd et al. (2013) ทำการหมัก EM ร่วมกับฟางข้าว พบว่าชุดทดลอง มีค่า C/N เหลือ 10.3 และชุดควบคุม 16.1 เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ในวันที่ 60 C/N ที่ลดลงจาก อินทรีย์วัตถุกลายเป็นแร่ธาตุ



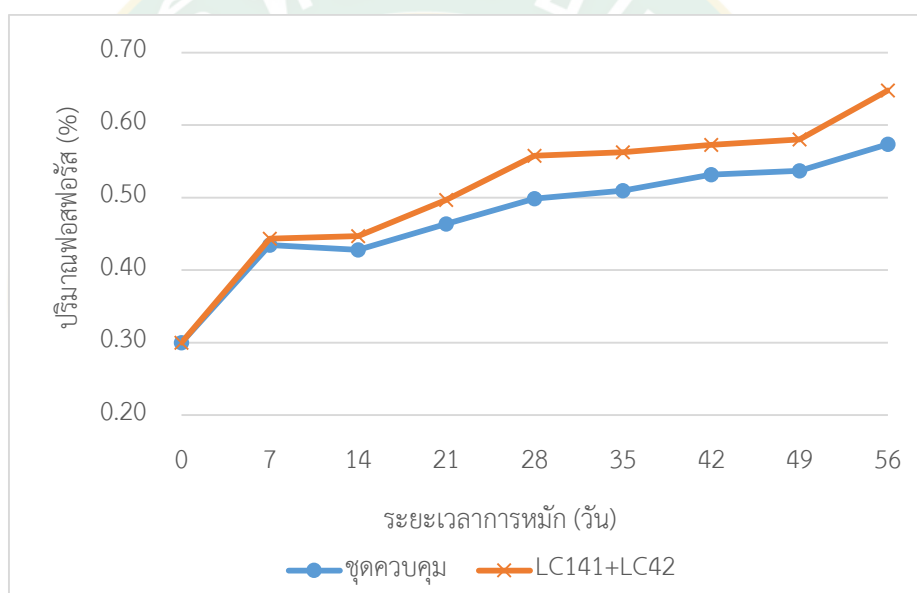
ภาพที่ 19 การเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนระหว่างการหมักของฟางข้าว



2.6 ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์

จากการทดลองพบว่าชุดทดลอง มีปริมาณฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นสูงกว่าชุดควบคุมเล็กน้อย คือมีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์สุดท้ายเท่ากับ 3.91 ± 0.01 และ 3.47 ± 0.15 ตามลำดับ ดังภาพที่ 20

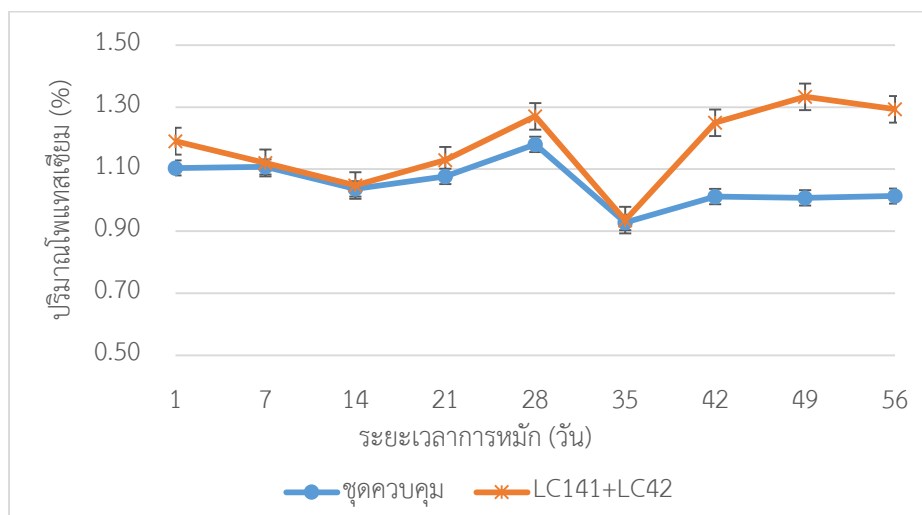
ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์จากการทดลองพบว่าทุกการทดลองมีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์เพิ่มขึ้นจากเริ่มต้น ทั้งนี้ชุดทดลองมีค่าเพิ่มขึ้นสูงกว่าชุดควบคุมเล็กน้อยเนื่องมาจากอินทรีย์สารถูกย่อยสลายและมีการสูญเสียคาร์บอนในรูปของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ทำให้น้ำหนักกองวัสดุปรับปรองดินลดลง ขณะที่ฟอสฟอรัสไม่มีการสูญเสียโดยการระเหยแต่สูญเสียโดยการชะล้างเล็กน้อยทำให้ฟอสฟอรัสทั้งหมดต่อหน่วยน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้น (Yamada et al., 2008)



ภาพที่ 20 การเปลี่ยนแปลงปริมาณฟอสฟอรัสระหว่างการหมักของฟางข้าว

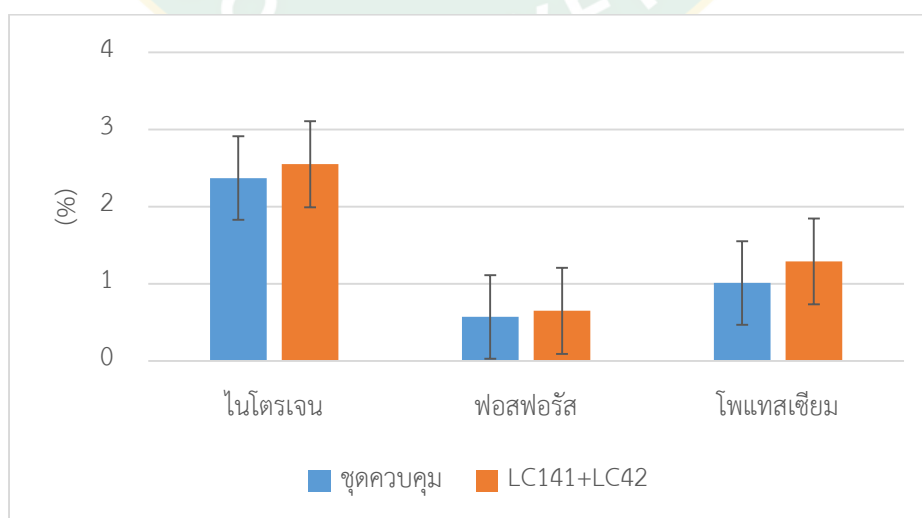
2.7 ปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมด

จากผลการทดลองพบว่าทั้ง 2 การทดลองมีค่าโพแทสเซียมการเปลี่ยนแปลงตลอดการทดลอง ดัง ภาพที่ 21 เนื่องมาจากการละลายไปกับน้ำในระหว่างการหมัก ซึ่งโพแทสเซียมบางรูปนั้นสามารถละลายน้ำได้ ส่งผลให้ปริมาณโพแทสเซียมในกองวัสดุปรับปรุงดินลดลง (Sanchez et al., 2017)



ภาพที่ 21 การเปลี่ยนแปลงปริมาณโพแทสเซียมระหว่างการหมักของฟางข้าว

จากภาพที่ 22 จึงสามารถสรุปได้ว่าการเติมเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซลานเนสนั้น นอกจากจะลดระยะเวลาการหมักฟางข้าวให้เป็นวัสดุปรับปรุงดินได้เร็วกว่าชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อแบคทีเรียนั้น ยังช่วยให้มีปริมาณธาตุอาหารหลัก คือ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม หลังสิ้นสุดกระบวนการหมักปริมาณมากกว่าชุดควบคุมอีกด้วย



ภาพที่ 22 ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการหมัก

2.8 ดัชนีการงอกของเมล็ด

จากการศึกษาพบว่าดัชนีการงอกของเมล็ดเมื่อใช้น้ำสกัดจากปุ๋ยหมักของแต่ละการทดลองนั้นมีค่ามากที่สุดในช่วงทดลอง คือ $110.91 \pm 16.19\%$ รองลงมาคือ ชุดควบคุม คือ $93.84 \pm 16.05\%$ ดังตารางที่ 8

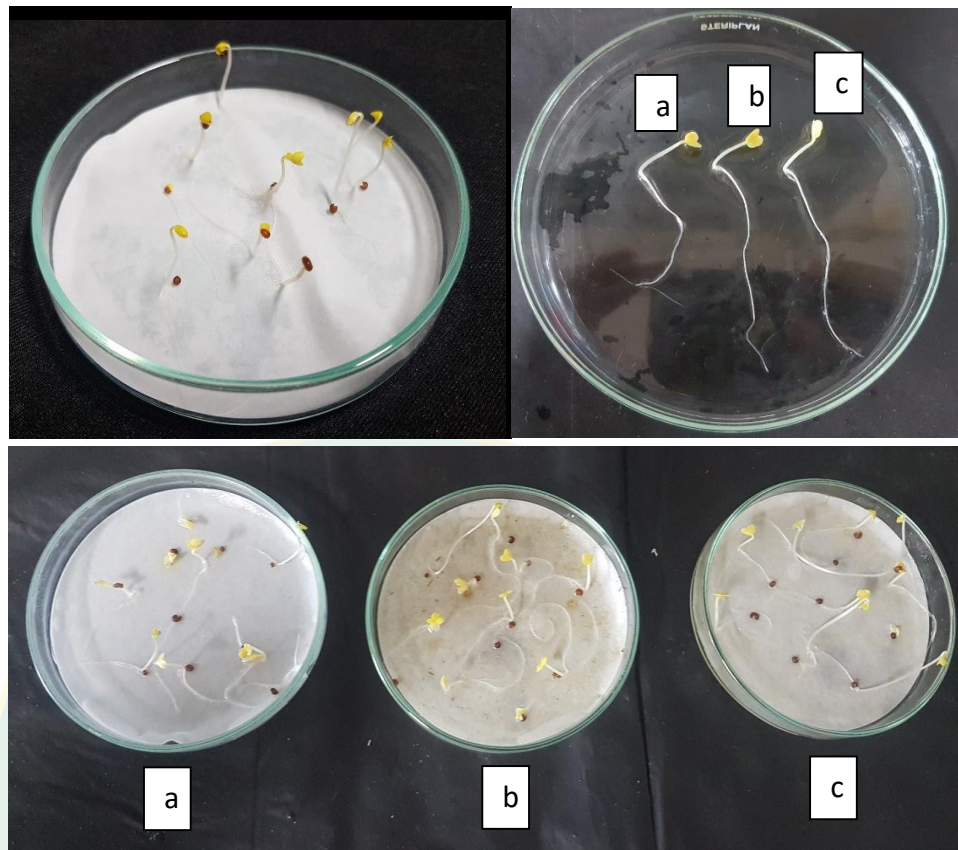
การย่อยสลายที่สมบูรณ์ของวัสดุปรับปรุงดินที่วัดโดยดัชนีการงอกของเมล็ดที่บ่งบอกถึงความพร้อมของวัสดุปรับปรุงดินที่สามารถนำมาใช้ได้โดยไม่เป็นอันตรายต่อพืช พบว่าวัสดุปรับปรุงดินมีการย่อยสลายที่สมบูรณ์แล้ว โดยพบว่าดัชนีการงอกของเมล็ดเมื่อใช้น้ำสกัดจากวัสดุปรับปรุงดินของแต่ละการทดลองนั้นมีค่ามากที่สุดในช่วงการทดลองดังภาพที่ 23 และยังพบว่าวัสดุปรับปรุงดินที่ได้จากการทดลองทุกชุดการทดลอง มีดัชนีการงอกของเมล็ดเกินร้อยละ 80 ซึ่งถือว่ามีอัตราการงอกและการเจริญของรากที่ดี (Liu et al., 2018)

ตารางที่ 8 ดัชนีการงอกของเมล็ด

การทดลอง	ชุดการทดลอง	ดัชนีการงอกของเมล็ด (%)
ชุดควบคุม	1	85.48 ± 4.94^a
	2	95.83 ± 16.05^a
	3	100.19 ± 19.65^b
ชุดทดลอง	1	102.15 ± 17.25^b
	2	116.28 ± 16.19^b
	3	114.30 ± 18.82^b

หมายเหตุ อักษร a,b, แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของแต่ละการทดลองที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT ($P < 0.05$)

เมื่อ (ชุดควบคุม): ชุดควบคุม (ชุดทดลอง): เต็ม LC141 ร่วมกับ LC42



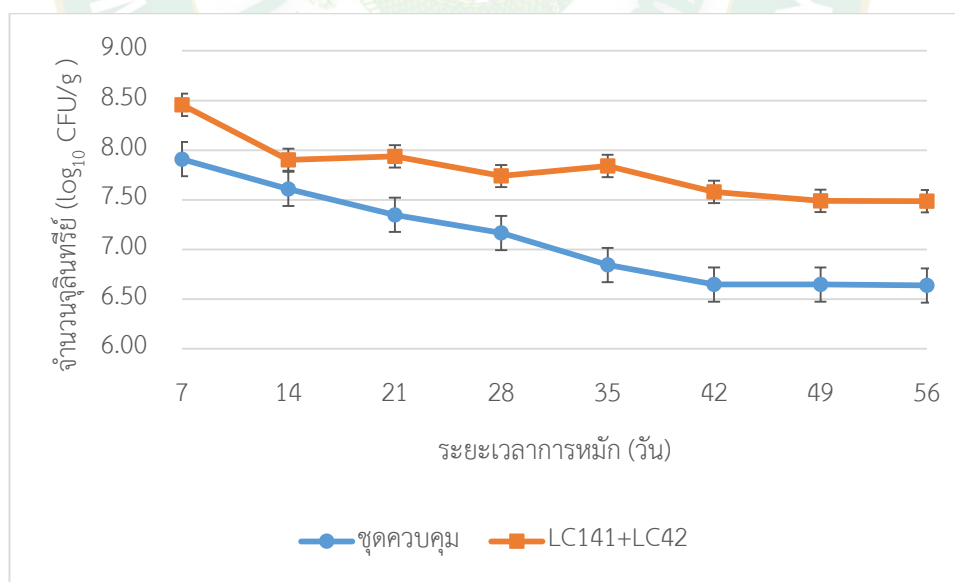
ภาพที่ 23 ดัชนีการงอกของเมล็ดจากน้ำสกัดฟางข้าวเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมัก

a: น้ำกลั่น b: ชุดควบคุม c : ชุดทดลอง เต็ม LC141 และ LC42

2.9 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด

จากผลการทดลองชุดทดลองที่มีการเติมเชื้อแบคทีเรีย LC141 และ LC42 นั้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อแบคทีเรียพบว่า ชุดทดลองนั้นมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ตลอดการทดลองมากกว่าชุดควบคุม และเมื่อจบระยะเวลาการหมักใน 56 วันชุดทดลอง มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์มากกว่าชุดควบคุม คือ 7.57 ± 0.11 และ $6.97 \pm 0.07 \log_{10}$ CFU/g ตามลำดับ ดังภาพที่ 24

จากการศึกษาการย่อยสลายของฟางข้าวโดยแบ่งการทดลองเป็นชุดทดลองที่มีการเติมเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อแบคทีเรีย พบว่าชุดทดลองมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์มากที่สุด เนื่องจากการเติมเชื้อจุลินทรีย์ 2 ชนิดรวมกัน ซึ่งเมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสมแล้วนั้น ก่อให้เกิดการย่อยสลายที่เพิ่มมากขึ้น สอดคล้องกับค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่ลดลงจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ (Liu et al., 2018) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเติมเชื้อแบคทีเรียในชุดทดลองนั้น ส่งผลให้ฟางข้าวสามารถย่อยสลายกลายเป็นวัสดุปรับปรุงดินที่สมบูรณ์ได้ในระยะเวลาที่สั้นกว่าชุดควบคุม โดยใช้อัตราส่วน C/N ที่ลดลงต่ำกว่า 20 เป็นเกณฑ์เพื่อบ่งบอกว่าฟางข้าวในการทดลองนั้นเป็นวัสดุปรับปรุงดินที่สมบูรณ์แล้ว



ภาพที่ 24 การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์ระหว่างการหมักของฟางข้าว

3.0 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของฟางข้าว

เริ่มต้นการทดลองในวันที่ 0 ขึ้นกองฟางข้าว 30 กิโลกรัม หมักร่วมกับมูลวัวในอัตราส่วน 3:1 โดยทำการหมักแบบไม่พลิกกลับกองในวงตาข่าย ทำการทดลองโดยประกอบด้วย 2 การทดลอง คือ ชุดควบคุม ฟางข้าวที่ไม่เติมเชื้อแบคทีเรีย

ชุดทดลอง ฟางข้าวที่เติมเชื้อแบคทีเรีย LC141 ร่วมกับ LC42 ในอัตราส่วนเชื้อ 4% ต่อน้ำหนักวัสดุ จากนั้นทำการหมักโดย นำฟางข้าว 3 ส่วน วางเป็นชั้นโปรยทับด้วยมูลสัตว์ 1 ส่วน แล้วรดน้ำแต่ละชั้นให้มีความชื้น โดยกองปุ๋ยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เมตร และความสูง 1 เมตร ดังตารางที่ 9 รักษาความชื้นภายในกองปุ๋ยให้มีความเหมาะสมตลอดระยะเวลาการหมัก (50-70%)



ตารางที่ 9 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของฟางข้าว

วันที่	ลักษณะทางกายภาพ	รูปภาพ
0	ฟางข้าวมีการดูดซับน้ำจากการให้ความชื้นในวงตาข่าย	
28	เมื่อผ่านระยะเวลาไป 28 วัน ฟางข้าวในทั้ง 2 การทดลอง เริ่มมีการย่อยสลายและยุบตัวลงส่งผลให้ความสูงของกองฟางข้าวในวงตาข่ายลดลง	
35	ในวันที่ 35 มีการยุบตัวลงของกองฟางข้าวในวงตาข่ายอย่างต่อเนื่องและเริ่มมีพืชขึ้นบนกองวัสดุหมัก แสดงให้เห็นถึงการย่อยสลายที่เริ่มสมบูรณ์ไม่เป็นพืชต่อพืช และพืชสามารถเจริญได้ รวมถึงมีการเก็บตัวอย่างภายในกองฟางข้าวที่ผ่านกระบวนการหมักมาทดสอบลักษณะทางกายภาพพบว่าเริ่มมีความยุบของเนื้อวัสดุมากกว่าเริ่มต้นและสีของวัสดุเริ่มเป็นสีน้ำตาลคล้ำ	

ตารางที่ 9 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของฟางข้าว (ต่อ)

วันที่	ลักษณะทางกายภาพ	รูปภาพ
56	<p>เมื่อสิ้นสุดกระบวนการทดลองในวันที่ 56 พบว่า ชุดทดลองที่มีการเติมเชื้อแบคทีเรียร่วมกันทั้ง 2 ชนิด คือ LC141 และ LC 42 นั้น มีการยุบตัวของกองฟางข้าวในวงตาข่ายมากกว่าชุดควบคุม ทั้งนี้ยังรวมถึงการเจริญของพืชและการวัดรากพืชภาคสนามของชุดทดลองซึ่งมีความยาวมากกว่าชุดควบคุม แสดงให้เห็นว่าการย่อยสลายฟางข้าวสมบูรณ์แล้วไม่ เป็น พืช ต่อ พืช สามารถนำไปใช้เป็นวัสดุปรับปรุงดินได้ นอกจากนี้ ฟางข้าวที่ผ่านกระบวนการหมักเมื่อสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 56 นั้นเมื่อนำมา มาทดสอบลักษณะทางกายภาพพบว่าเริ่มมีความยุบของเนื้อวัสดุมากกว่าเริ่มต้น และสีของวัสดุเป็นสีน้ำตาลคล้ำและดำ</p>	

หมายเหตุ a : การทดลองที่ 1 ชุดควบคุม ไม่เติมเชื้อจุลินทรีย์

b : การทดลองที่ 2 ชุดทดลอง เติมเชื้อ LC141+LC42

ตารางที่ 10 คุณสมบัติของฟางข้าวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

สมบัติของวัสดุปรับปรุงดิน	มาตรฐาน*	ชุดการทดลอง	
		ชุดควบคุม	ชุดทดลอง
ความชื้น	<35%	32±0.10 ^{ns}	32±0.09 ^{ns}
ปริมาณอินทรีย์วัตถุ	>30%	58.08±0.46 ^{ns}	54.41±0.28 ^{ns}
ความเป็นกรด-ด่าง (pH)	5.5-8.5	8.17±0.02 ^{ns}	8.17±0.01 ^{ns}
ไนโตรเจนทั้งหมด (Total N)	>1%	2.37±0.01 ^a	2.55±0.01 ^b
ปริมาณฟอสฟอรัส (Total P ₂ O ₅)	>0.5%	3.47±0.01 ^{ns}	3.51±0.03 ^{ns}
ปริมาณโพแทสเซียม (Total K ₂ O)	>0.5%	1.01±0.01 ^a	1.29±0.01 ^b
C/N ratio	< 20:1	14.20±0.21 ^a	12.37±0.47 ^b

*มาตรฐานวัสดุปรับปรุงดิน จากกรมวิชาการเกษตร (2551)

หมายเหตุ อักษร a,b แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของแต่ละการทดลองที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

โดยวิธี DMRT (P<0.05)

ns คือ ผลการทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เมื่อ (ชุดควบคุม): ชุดควบคุม (ชุดทดลอง): เติม LC141ร่วมกับ LC42

จากตารางที่ 10 พบว่าทั้ง 2 ชุดทดลอง คือชุดควบคุม และชุดทดลองนั้น มีความชื้น ปริมาณอินทรีย์วัตถุ ความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณฟอสฟอรัสอยู่ในช่วงเดียวกัน แตกต่างต่างปริมาณไนโตรเจนที่ชุดทดลองมีปริมาณมากกว่าชุดควบคุมเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการหมักใน 56 วัน คือ 2.55±0.01 และ 2.37±0.01 ตามลำดับ ซึ่งค่าอินทรีย์วัตถุที่ลดลงและปริมาณไนโตรเจนที่เพิ่มขึ้นจะมีผลสอดคล้องกับค่า C/N ratio ที่ลดลง โดยชุดทดลองมีค่า C/N ratio ลดลงน้อยกว่า 20 ในระยะเวลา 35 วัน เร็วกว่าชุดควบคุมที่มีค่า C/N ratio ลดลงน้อยกว่า 20 ในระยะเวลา 42 วัน

นอกจากนั้นยังพบว่าชุดทดลองมีปริมาณไนโตรเจนและโพแทสเซียมหลังสิ้นสุดการทดลองมากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (p< 0.05) ดังภาพที่ 22 ทำให้สามารถสรุปได้ว่าการเติมเชื้อแบคทีเรีย LC141 และ LC 42 ในชุดทดลองนั้นช่วยเพิ่มธาตุอาหารให้วัสดุที่ผ่านกระบวนการหมักมีปริมาณธาตุอาหารเพิ่มขึ้นเพื่อเป็นวัสดุปรับปรุงดินที่ดี

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาตอนที่ 1 การนำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากไลเคนที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและเอนไซม์ไซลานเนสมาใช้ในการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร 3 ชนิด คือ ฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพารา พบว่าสามารถย่อยฟางข้าวได้ดีที่สุด รองลงมา คือ ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพารา นอกจากนี้ยังพบว่า การทดลองที่มีการเติมเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ทั้งสองชนิดร่วมกันในชุดการทดลองที่ 4 ของทุกวัสดุในฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพารานั้น เมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่า C/N ratio ต่ำกว่า 20 ทั้งยังลดลงต่ำกว่า 20 ในระยะเวลาสั้นกว่าชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งเป็นชุดควบคุมในทุกวัสดุ 1-2 สัปดาห์ และเมื่อเปรียบเทียบคุณภาพของวัสดุปรับปรุงดินในฟางข้าว ชังข้าวโพด และเศษไม้ยางพาราหลังสิ้นสุดการทดลองแล้ว พบว่า วัสดุทั้ง 3 ชนิดที่ผ่านการหมักจากจากชุดการทดลองที่ 2 3 และ 4 ที่มีการเติมเชื้อแบคทีเรียเพิ่มเข้าไปในกระบวนการหมักมีคุณภาพดีกว่าวัสดุที่ผ่านการหมักจากชุดควบคุม ทั้งในด้านลักษณะภายนอก และปริมาณธาตุอาหารหลัก คือ มีปริมาณธาตุอาหารหลัก จัดอยู่ในเกณฑ์สูงกว่า การทดลองชุดควบคุม

เช่นเดียวกับกับผลการทดลอง ในตอนที่ 2 ซึ่งใช้วัสดุชนิดเดียว คือ ฟางข้าว โดยแบ่งการทดลองเป็น 2 ชุด คือ ชุดควบคุม และชุดทดลองที่มีการเติมเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด คือ LC141 และ LC 42 มาเติมในกองฟางข้าวจากนั้นเมื่อสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 56 พบว่า ทั้ง 2 การทดลองทั้งชุดควบคุมและชุดทดลองนั้นมีค่า C/N ratio ต่ำกว่า 20 โดยชุดทดลองมีค่า C/N ratio ต่ำกว่า 20 เร็วกว่าชุดควบคุม 1 สัปดาห์ รวมถึงปริมาณธาตุอาหารหลัก คือ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และ โพแทสเซียมจัดอยู่ในเกณฑ์สูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และสอดคล้องกับมาตรฐานปุ๋ยหมักจากกรมวิชาการเกษตร

จึงสามารถสรุปได้ว่าการใช้แบคทีเรียที่คัดแยกได้จากไลเคนที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและเอนไซม์ไซลานเนสนั้นมาใช้ในการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรนั้นพบว่าสามารถช่วยลดระยะเวลาการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรลงได้ประมาณ 1-2 สัปดาห์จากอัตรา C/N ที่ลดลงน้อยกว่า 20 ทั้งยังเพิ่มปริมาณธาตุอาหารหลักหลังจากการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรอีกด้วย ซึ่งเป็นประโยชน์แก่เกษตรกรในการนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมาใช้ประโยชน์ ทั้งในด้านการลดปริมาณของเหลือทิ้งทางการเกษตร มลพิษจากการกำจัดโดยการเผาในที่โล่ง และลดต้นทุนจากการใช้ปุ๋ยเคมี และยังสามารถประยุกต์ใช้งานในด้านการเกษตรต่อไปในอนาคต

ข้อเสนอแนะในการวิจัยครั้งต่อไป

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเชื้อแบคทีเรียต่อการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร
2. ศึกษาการเจริญเติบโตของพืชในระยะสั้น เช่น กะหล่ำปลี คื่นช่าย เป็นต้น ที่นำวัสดุปรับปรุงดินที่ได้จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรไปใช้ในการเพาะปลูก เพื่อหาประสิทธิภาพของวัสดุปรับปรุงดินที่หมักได้ต่อการเจริญเติบโตของพืช
3. ศึกษาด้านเศรษฐศาสตร์ในการผลิตวัสดุปรับปรุงดินโดยใช้เชื้อแบคทีเรียเปรียบเทียบกับการผลิตด้วยวิธีอื่น เพื่อนำไปสู่การเผยแพร่องค์ความรู้แก่เกษตรกร



บรรณานุกรม

- Abdel-Rahman, M. A., El-Din, M. N., Refaat, B. M., Abdel-Shakour, E. H., Ewais, E. E.-D. & Alrefaey, H. M. A. 2016. Biotechnological application of thermotolerant cellulose-decomposing bacteria in composting of rice straw. **Annals of Agricultural Sciences**, 61(1), 135-143
- Alberta Environment. 1999. **Leaf and yard waste composting manual**. Olds College: Edmonton, Canada.
- Anwar, Z., Irshad, M., Bilal, M., Irshad, U., Hafeez, F. & Owens, G. 2017. Changes in availability of plant nutrients during composting of cow manure with poplar leaf litter. **Compost Science and Utilization**, 25(4), 242-250
- AOAC. 2005. **Official method of Analysis**. Washington DC.
- Ashraf, R., Shahid, F. & Ali, T. A. 2007. Association of fungi, bacteria and actinomycetes with different composts. **Pak J Bot**, 39(6), 2141-2151.
- Bastawde, K. B. 1992. Xylan structure, microbial xylanases, and their mode of action. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 8(4), 353-368
- Benito, M., Masaguer, A., Moliner, A., Arrigo, N. & Palma, R. M. 2003. Chemical and microbiological parameters for the characterisation of the stability and maturity of pruning waste compost. **Biology and Fertility of Soils**, 37(3), 184-189
- Bernal, M. P., Albuquerque, J. A. & Moral, R. 2009. Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment. A review. **Bioresource Technology**, 100(22), 5444-5453
- Bohacz, J. 2018. Microbial strategies and biochemical activity during lignocellulosic waste composting in relation to the occurring biothermal phases. **Journal of Environmental Management**, 206, 1052-1062
- Cheng, K. K., Zhang, J. A., Ping, W. X., Ge, J. P., Zhou, Y. J., Ling, H. Z. & Xu, J. M. 2008. Sugarcane bagasse mild alkaline/oxidative pretreatment for ethanol production by alkaline recycle process. **Appl Biochem Biotechnol**, 151(1), 43-50.

- Cooperband, L. R. 2000. Composting: art and science of organic waste conversion to a valuable soil resource. **Laboratory Medicine**, 31(5), 283-290
- Das, M., Uppal, H. S., Singh, R., Beri, S., Mohan, K. S., Gupta, V. C. & Adholeya, A. 2011. Co-composting of physic nut deoiled cake with rice straw and different animal dung. **Bioresource Technology**, 102(11), 6541-6546
- Eriksson, K. E. 1990. Biotechnology in the pulp and paper industry. **Wood Science and Technology**, 24(1), 79-101
- Fan, Y. V., Lee, C. T., Ho, C. S., Klemeš, J. J., Wahab, R. A., Chua, L. S. & Sarmidi, M. R. 2017. Evaluation of Microbial Inoculation Technology for Composting. **Chemical Engineering Transactions**, 56, 433-438.
- Fan, Y. V., Lee, C. T., Klemes, J. J., Chua, L. S., Sarmidi, M. R. & Leow, C. W. 2018. Evaluation of Effective Microorganisms on home scale organic waste composting. **J Environ Manage**, 216, 41-48.
- Fengel, D. & Wegener, G. 1983. **Wood: chemistry, ultrastructure, reactions**. Walter de Gruyter.
- Garcia, C., Hernandez, T., Costa, F. & Ayuso, M. 1992. Evaluation of the maturity of municipal waste compost using simple chemical parameters. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, 23(13-14), 1501-1512
- Gessesse, A. & Mamo, G. 1999. High-level xylanase production by an alkaliphilic *Bacillus* sp. by using solid-state fermentation. **Enzyme and Microbial Technology**, 25(1), 68-72.
- Gil, M. V., Carballo, M. T. & Calvo, L. F. 2008. Fertilization of maize with compost from cattle manure supplemented with additional mineral nutrients. **Waste Management**, 28(8), 1432-1440
- Goshadrou, A., Karimi, K. & Taherzadeh, M. J. 2011. Bioethanol production from sweet sorghum bagasse by *Mucor hiemalis*. **Industrial Crops and Products**, 34(1), 1219-1225.
- Hammel, K. E. 1997. Fungal degradation of lignin. **Driven by nature: plant litter quality and decomposition**, 33(45).
- Hartz, T. K., Costa, F. J. & Schrader, W. L. 2007. Suitability of composted green waste for horticultural uses. **HortScience**, 31(6), 961-964

- Heck, J. X., Flôres, S. H., Hertz, P. F. & Ayub, M. A. Z. 2005. Optimization of cellulase-free xylanase activity produced by *Bacillus coagulans* BL69 in solid-state cultivation. **Process Biochemistry**, 40(1), 107-112
- Huang, D.-L., Zeng, G.-M., Feng, C.-L., Hu, S., Jiang, X.-Y., Tang, L., Su, F.-F., Zhang, Y., Zeng, W. & Liu, H.-L. 2008. Degradation of lead-contaminated lignocellulosic waste by *Phanerochaete chrysosporium* and the reduction of lead toxicity. **Environmental Science and Technology**, 42(13), 4946-4951
- Joglekar, A. V. & Karanth, N. G. 1984. Studies on cellulase production by a mutant—*Penicillium funiculosum* uv-49. **Biotechnology and Bioengineering**, 26(9), 1079-1084
- Jusoh, M. L. C., Manaf, L. A. & Latiff, P. A. 2013. Composting of rice straw with effective microorganisms (EM) and its influence on compost quality. **Iranian journal of Environmental Health Science and Engineering**, 10(1), 1735-2746.
- Juturu, V. & Wu, J. C. 2014. Microbial cellulases: engineering, production and applications. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 33, 188-203.
- Kim, B.-K., Lee, B.-H., Lee, Y.-J., Jin, I.-H., Chung, C.-H. & Lee, J.-W. 2009. Purification and characterization of carboxymethylcellulase isolated from a marine bacterium, *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* A-53. **Enzyme and Microbial Technology**, 44(6-7), 411-416.
- Krishna, C. 1999. Production of bacterial cellulases by solid state bioprocessing of banana wastes. **Bioresource Technology**, 69(3), 231-239.
- Lan Pham, P., Taillandier, P., Delmas, M. & Strehaiano, P. 1998. Production of xylanases by *Bacillus polymyxa* using lignocellulosic wastes. **Industrial Crops and Products**, 7(2), 195-203.
- Leartslarus, C., Kyu, K. L. & Ratanakhanokchai, K. 2004. Extracellular cellulase-free xylanase Production by alkaliphilic *Bacillus firmus* K-1 in Fermentor Using Corn hull as a carbon source. **KMUTT Research and Development Journal**, 27(3), 321-332
- Lee, J.-S., Parameswaran, B., Lee, J.-P. & Park, S.-C. 2008. **Recent developments of key technologies on cellulosic ethanol production.**

- Liu, L., Wang, S., Guo, X., Zhao, T. & Zhang, B. 2018. Succession and diversity of microorganisms and their association with physicochemical properties during green waste thermophilic composting. **Waste Management**, 73, 101-112.
- Lu, Y. & Mosier, N. S. 2007. Biomimetic catalysis for hemicellulose hydrolysis in corn stover. **Biotechnology progress**, 23(1), 116-123
- Makan, A. & Mountadar, M. 2012. Effect of C/N ratio on the in-vessel composting under air pressure of organic fraction of municipal solid waste in Morocco. **Journal of Material Cycles and Waste Management**, 14(3), 241-249
- Maki, M., Leung, K. T. & Qin, W. 2009. The prospects of cellulase-producing bacteria for the bioconversion of lignocellulosic biomass. **International Journal of Biological Sciences**, 5(5), 500.
- Mete Altintas, M., Ülgen, K. Ö., Kırdar, B., İlsen Önsan, Z. & Oliver, S. G. 2002. Improvement of ethanol production from starch by recombinant yeast through manipulation of environmental factors. **Enzyme and Microbial Technology**, 31(5), 640-647.
- Millati, R., Edebo, L. & Taherzadeh, M. J. 2005. Performance of *Rhizopus*, *Rhizomucor*, and *Mucor* in ethanol production from glucose, xylose, and wood hydrolyzates. **Enzyme and Microbial Technology**, 36(2-3), 294-300.
- Mohd, L., Latifah, A. M. & Puziah, A. L. 2013. Composting of rice straw with effective microorganisms (EM) and its influence on compost quality. **Iranian Journal of Environmental Health Science and Engineering**, 10(17).
- Mordcawa, Y., Kawamori, M., Ado, Y., Shinsha, Y., Oda, F. & Takasawa, S. 1985. Improvement of cellulase production in *Trichoderma reesei*. **Agricultural and Biological Chemistry**, 49(6), 1869-1871.
- Nath, D. & Rao, M. 2001. pH dependent conformational and structural changes of xylanase from an alkalophilic thermophilic *Bacillus* sp (NCIM 59). **Enzyme and Microbial Technology**, 28(4), 397-403.
- Onwosi, C. O., Igbokwe, V. C., Odimba, J. N., Eke, I. E., Nwankwoala, M. O., Iroh, I. N. & Ezeogu, L. I. 2017. Composting technology in waste stabilization: on the methods, challenges and future prospects. **Journal of Environmental Management**, 190, 140-157.

- Prasertsan, P., Kunghae, A., Maneesri, J. & Oi, S. 1997. Optimization for xylanase and cellulase production from *Aspergillus niger* ATTC 6275 in palm oil mill wastes and its application. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 13(5), 555-559
- Rebollido, R., Martinez, J., Aguilera, Y., Melchor, K., Koerner, I. & Stegmann, R. 2008. Microbial populations during composting process of organic fraction of municipal solid waste. **Applied Ecology and Environmental Research**, 6(3), 61-67.
- Sá-Pereira, P., Costa-Ferreira, M. & Aires-Barros, M. R. 2002. Enzymatic properties of a neutral endo-1,3(4)- β -xylanase Xyl II from *Bacillus subtilis*. **Journal of Biotechnology**, 94(3), 265-275.
- Said, A., Einstein, M. & Lucey, M. R. 2007. Liver transplantation: an update 2007. **Current opinion in gastroenterology**, 23(3), 292-298
- Saleem, M., Tabassum, M. R., Yasmin, R. & Imran, M. 2009. Potential of xylanase from thermophilic *Bacillus* sp. XTR-10 in biobleaching of wood kraft pulp. **International Biodeterioration & Biodegradation**, 63(8), 1119-1124.
- Salvador, L. D., Suganuma, T., Kitahara, K., Fukushige, Y. & Tanoue, H. 2002. Degradation of cell wall materials from sweetpotato, cassava, and potato by a bacterial protopectinase and terminal sugar analysis of the resulting solubilized products. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, 93(1), 64-72.
- Sanchez, O. J., Ospina, D. A. & Montoya, S. 2017. Compost supplementation with nutrients and microorganisms in composting process. **Waste Management**, 69, 136-153.
- Selim, S. M., Zayed, M. S. & Atta, H. M. 2012. Evaluation of phytotoxicity of compost during composting process. **Nature and Science**, 10(2), 69-77.
- Shah, A. K., Sidid, S. S., Ahmad, A. & Rele, M. V. 1999. Treatment of bagasse pulp with cellulase-free xylanases from an alkalophilic *Bacillus* sp. Sam-3. **Bioresource Technology**, 68(2), 133-140.
- Tomme, P., Warren, R. A. J. & Gilkes, N. R. (1995). Cellulose hydrolysis by bacteria and fungi. In R. K. Poole (Ed.), **Advances in Microbial Physiology**, 37, 1-81.

- Vargas-García, M. C., Suárez-Estrella, F., López, M. J. & Moreno, J. 2007. Effect of inoculation in composting processes: modifications in lignocellulosic fraction. **Waste Management**, 27(9), 1099-1107
- Walky, A. & Black, I. A. 1934. An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid in soil analysis. 1. Experimental. **Soil Sci**, 79, 459-465.
- Wei, Y., Wei, Z., Cao, Z., Zhao, Y., Zhao, X., Lu, Q., Wang, X. & Zhang, X. 2016. A regulating method for the distribution of phosphorus fractions based on environmental parameters related to the key phosphate-solubilizing bacteria during composting. **Bioresource Technology**, 211, 610-617.
- Wei, Y., Wu, D., Wei, D., Zhao, Y., Wu, J., Xie, X., Zhang, R. & Wei, Z. 2019. Improved lignocellulose-degrading performance during straw composting from diverse sources with actinomycetes inoculation by regulating the key enzyme activities. **Bioresource Technology**, 271, 66-74.
- Wong, J. W. C., Mak, K. F., Chan, N. W., Lam, A., Fang, M., Zhou, L. X., Wu, Q. T. & Liao, X. D. 2001. Co-composting of soybean residues and leaves in Hong Kong. **Bioresource Technology**, 76(2), 99-106
- Wu, Y., Chen, Y., Shaaban, M., Zhu, D., Hu, C., Chen, Z. & Wang, Y. 2019. Evaluation of microbial inoculants pretreatment in straw and manure co-composting process enhancement. **Journal of Cleaner Production**, 239, 118-120
- Yamada, T., Suzuki, A., Ueda, H., Ueda, Y., Miyauchi, K. & Endo, G. 2008. Successions of bacterial community in composting cow dung wastes with or without hyperthermophilic pre-treatment. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 81(4), 771-781
- Yang, Y., Hu, C. & Abu-Omar, M. M. 2012. Conversion of glucose into furans in the presence of AlCl₃ in an ethanol–water solvent system. **Bioresource Technology**, 116, 190-194
- Zhang, L. & Sun, X. 2014. Changes in physical, chemical, and microbiological properties during the two-stage co-composting of green waste with spent mushroom compost and biochar. **Bioresource Technology**, 171, 274-284

- Zhang. 2018. Effects of bean dregs and crab shell powder additives on the composting of green waste. *Bioresource technology*, 260, 283-293
- Zhao, Y., Lu, Q., Wei, Y., Cui, H., Zhang, X., Wang, X., Shan, S. & Wei, Z. 2016. Effect of actinobacteria agent inoculation methods on cellulose degradation during composting based on redundancy analysis. *Bioresource technology*, 219, 196-203.
- กรมควบคุมมลพิษ. 2555. **คู่มือการตรวจวัดฝุ่นละอองในบรรยากาศ สำนักจัดการและคุณภาพน้ำและอากาศ**. กรุงเทพฯ: กรมควบคุมมลพิษ.
- กรมวิชาการเกษตร. 2551. **คู่มือวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์**. กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร.
- กัญญา จิระเจริญรัตน์. 2555. **การย่อยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรด้วยเอนไซม์จากแบคทีเรียในกระเพาะหมักของกระบือ**. ในรายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ พ.ศ.2555. กรุงเทพฯ: สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- กัญญา ม่วงแก้ว. 2544. **การปรับปรุงคุณภาพปุ๋ยหมักโดยเชื้อจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจน**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- กฤษมา แก้วอินทะจักร์, Nguyen Thanh, คิน เลย์ คู และกนก รัตน์กนกชัย. 2547. **การย่อยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรโดย cellulosome-like multienzyme complex จาก *Bacillus circulans* B-6**. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- กฤษมาดี ฐานเจริญ. 2557. **การใช้ประโยชน์จากผักตบชวาในการผลิตเซลลูเลสจากแบคทีเรียทนร้อนและการนำมาผลิตไบโอเอทานอล**. *วารสารเกษตรพระวิรุณ*, 11(2), 159-166.
- ชนิดาภา ธนะศรีราษฎร์, เพชรดา ปินใจ และพิลาณี ไวกนอม. 2018. **การคัดเลือกแบคทีเรียผลิตเอนไซม์เซลลูเลส และประสิทธิภาพในการย่อยสลายวัสดุลิกโนเซลลูโลส**. *วารสารเกษตรพระจอมเกล้า*, 36(3), 1-12.
- ชนิดา เลิศศลารักษ์, กนก รัตน์กนกชัย & คิน เลย์ คู. 2545. **การหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิต Cellulase-free Xylanase จาก alkaliphilic *Bacillus firmus* K-1**. *วารสารวิจัยและพัฒนา มจร.*, 25(1), 3-13.
- ฐปน ชื่นบาล, ศรีกาญจนา คล้ายเรือง และปิยะนุช เนียมทรัพย์. 2018. **การผลิตเอนไซม์ไซลานเนสของแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคน การประชุมระดับชาติและนานาชาติ มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่**.
- ทิพวรรณ แต่งสวน. 2553. **การตัดแยกแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากมูลสุกร**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

- ฉันทวี ศรีธาวีรัตน์. 2547. การศึกษากระบวนการทำปุ๋ยหมักจากเศษอาหารร่วมกับเศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม.
- นคร ทิพยาวงค์. 2553. เทคโนโลยีการแปลงสภาพชีวมวล. กรุงเทพฯ: สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย-ญี่ปุ่น).
- นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ. 2552. จุลชีววิทยาทั่วไป. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- นันทวัน ฤทธิเดช. 2556. ข้อควรพิจารณาก่อนทำปุ๋ยหมัก. ว.วิทย. มข., 41(3), 595-606.
- นิชรัตน์ ศรีโสภณ, เฉลิมชัย แพะคำ และวิพรพรรณ เนื่องเม็ก. 2558. การคัดเลือกจุลินทรีย์ดินในการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายผักตบชวาหมักและเพิ่มปริมาณธาตุอาหารพืชเพื่อผลิตปุ๋ยหมักผักตบชวา. แก่นเกษตร, 43(1), 367-372.
- ปริญญา ไกรวุฒินันท์ และลินดา ใจปิง. 2559. การคัดเลือกเชื้อราที่มีศักยภาพในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเพื่อใช้ในกระบวนการหมักปุ๋ยชีวภาพ. ว.วิทย. มข., 44(4), 759-769.
- พิมพ์วรรณ วสุนันท์, กิตตาภรณ์ พุ่มแดง, ปิยะนุช เนียมทรัพย์, สุรีพร เจริญประเสริฐ และศรีกาญจนา คล้ายเรือง. 2017. การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับไลเคน. การประชุมระดับชาติพิบูลสงครามวิจัย, พิษณุโลก.
- มูรณ์ีย์ บริบูรณ์สุข. 2557. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทิลเซลลูเลสจากแบคทีเรียชอบความร้อนสูงในดิน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ยงยุทธ โอสภสภา, อรรถศิษฐ์ วงศ์มณีโรจน์ และชวลิต ฮงประยูร. 2554. ปุ๋ยเพื่อการเกษตรยั่งยืน. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- รัชรา กาละวงศ์, สมบูรณ์ อนันตลาโกชัย และมาโมรุ วากายามา. 2557. การทำให้บริสุทธิ์และสมบัติของเอนไซม์เซลลูเลสของแบคทีเรียที่แยกจากกระเพาะหมักของวัว. วารสารวิจัย มข., 14(3), 702-711.
- วนิดา ปานอุทัย, นิคม แหลมสัก, สาโรจน์ ศิริคันสนียกุล, วิรัตน์ วาณิชศรีรัตน และประมุข ภาระกุล สุขสถิตย์. 2550. การผลิตเอทานอลจากไม้ยูคาลิปตัสโดยกระบวนการย่อยเป็นน้ำตาลและหมักพร้อมกัน. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วิมลทิพย์ ไตรปัญญา, จักรกฤษณ์ เตชะอภัยคุณ, กนก รัตนะกนกชัย และคิน เลย์ คู. 2554. การย่อยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรโดยใช้เอนไซม์ในกลุ่มไซลาโนไลติก และเซลลูโลไลติกจาก *Bacillus sp.* สายพันธุ์ TW-1. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- ศุภากร ดวนใหญ่, จริญญา วงศ์ตรี, ปรียาภรณ์ บุญขจร, สงกรานต์ มะลิสอน และวรรณรัตน์ ชูติบุตร. 2558. ศึกษาความสัมพันธ์ค่าความเป็นกรด-ด่าง และการนำไฟฟ้าของปุ๋ยอินทรีย์ที่มีต่อดัชนีการออก. กรุงเทพฯ: กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร.

- สรพรรณ อมตธรรม. 2546. ผลของการให้ความร้อนในการทำปฏิกิริยาหมักจากเศษอาหารโดยใช้
เทอร์โมฟิลิคแบคทีเรีย. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, ว631.86), ส176ผ.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2560. สถิติการเกษตรของประเทศไทยปี 2560. กรุงเทพฯ:
สำนักเศรษฐกิจทางการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- สุธีรา สุนทรารักษ์. 2555. การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารหลักในปุ๋ยหมักจากเศษอาหารร่วมกับ
เศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์.
- สุภาวดี ผลประเสริฐ. 2557. การปรับสภาพวัตถุดิบพวกลิกโนเซลลูโลสสำหรับการผลิตเอทานอล.
วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, (5), 641-649.



ภาคผนวก



ภาคผนวก ก
การวิเคราะห์องค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรด้วยวิธีมาตรฐาน



1. การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นความชื้น (AOAC, 2005)

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่าง 5 กรัม ใส่ในกระป๋องหาความชื้นที่ผ่านการอบและทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว
2. นำเข้าอบที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง
3. นำออกจากตู้อบ ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น
4. นำมาชั่งน้ำหนัก ทำการอบซ้ำจนได้น้ำหนักที่แน่นอน

การคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)}}$$



ภาพที่ 1 การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นความชื้น

2. ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (ดัดแปลงมาจาก AOAC, 2005)

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่าง 1 กรัมลงในหลอดย่อย
2. เติม Mixed Catalyst 7 กรัม
3. เติม Conc. H₂SO₄ 15 มิลลิลิตร
4. ทำการย่อยสาร
5. ทำการกลั่นสาร
6. หลังจากการกลั่นเสร็จสารละลายจะเปลี่ยนจากสีชมพูเป็นสารละลายสีเขียวใส

7. นำสารที่กลั่นได้ 50 มิลลิลิตรไปทำการไทเทรตด้วย 0.05 HCl ไทเทรตจนสารละลายเปลี่ยนจากสีม่วงอมชมพู บันทึกค่าการไทเทรต และนำผลที่ได้มาคำนวณ ตามสูตรการคำนวณ

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน \% N} = \frac{(A-B)N(1.4007)100}{V}$$

A = ปริมาตรของกรดที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง (มล.)

B = ปริมาตรของกรดที่ใช้ในการไทเทรตแบลงค์ (มล.)

N = ความเข้มข้นของกรดที่ใช้ (นอร์มัลลิตี)

V = ปริมาตรของตัวอย่าง (มล.)



ภาพที่ 2 การหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด

3. ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (ดัดแปลงจาก AOAC, 2005)

วิธีการ

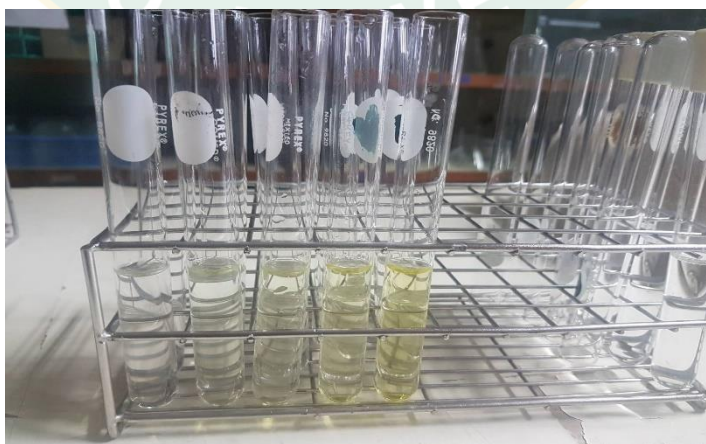
1. ชั่งตัวอย่าง 0.5 –2 กรัม ลงขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. เติมกรดผสม HNO₃/HClO₄ 15 มิลลิลิตร เขย่าเบาๆให้เข้ากัน ปิดปากขวดรูปชมพู่ด้วยกรวยแก้ว จากนั้นย่อยบน hot plate ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จนคือน้ำตาลหมดแล้วเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นเรื่อยๆจนเกิดควันสีขาว ทำการย่อยต่อไปจนได้สารละลายใส
3. วางทิ้งไว้ให้เย็นแล้วกรองผ่านกระดาษกรองลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร ใช้ น้ำ deionized ล้างตัวอย่างปุ๋ยบนกระดาษกรองจนได้ปริมาตรเกือบ 250 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 250 มิลลิลิตร ด้วยขวดปรับปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน
4. ปิเปตสารละลาย vanadomolybdate 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลายมาตรฐานหรือสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร เติมลงไป เขย่าให้เข้ากัน
5. วางทิ้งไว้ 20 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความคลื่น 420 นาโนเมตร
6. เขียนกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของฟอสฟอรัสใน

การคำนวณ

ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์) = $(X-B) \times 250 / (1,000 \times \text{น้ำหนักตัวอย่าง})$

X = ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในสารละลายตัวอย่างเปรียบเทียบจากกราฟมาตรฐาน (มก./ลิตร)

B = ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสใน blank เปรียบเทียบจากกราฟมาตรฐาน (มก./ลิตร)

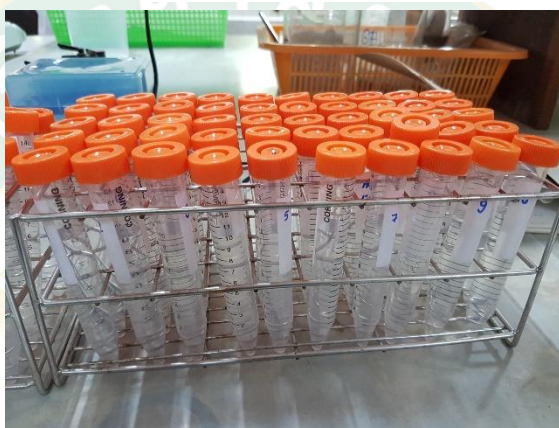


ภาพที่ 3 การหาปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด

4. ปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมด (ดัดแปลงจาก AOAC, 2005)

วิธีการ

1. นำตัวอย่างไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 70-110 องศาเซลเซียส จากนั้นบดตัวอย่างให้ละเอียด
2. เผาตัวอย่างที่ 550 องศาเซลเซียส 3 ชั่วโมง
3. เติม HCl 2N ลงในตัวอย่าง 15 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน
4. กรองสารละลายด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 1
5. นำตัวอย่าง 0.4 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 9.6 มิลลิลิตร
6. วิเคราะห์ตัวอย่างด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS)



ภาพที่ 4 การหาปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมด

5. ปริมาณอินทรีย์วัตถุ และอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (Walkey-black, 1934)

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างจำนวน 0.1x กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่
2. ปิเปตสารละลาย Potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) 10 มิลลิลิตร เติมลงในตัวอย่าง
3. เติม 98% H_2SO_4 ลงในตัวอย่าง ทิ้งไว้ในตู้ดูดควัน 16 ชั่วโมง
4. เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร และ O-phenanthroline ferrous fulfate 6 หยด
5. นำสารละลายมาไทเทรตด้วย ferrous fulfate จนได้สารละลายสีเขียว และเปลี่ยนจากสีเขียวเข้มเป็นน้ำตาลปนแดง แสดงว่าถึงจุดยุติ บันทึกผล

การคำนวณ

$$\% \text{อินทรีย์คาร์บอน (O.C.)} = \frac{0.3896 \times N \times (C - D)}{\text{weight of sample (g)} \times C}$$

B = ปริมาตรของ $K_2Cr_2O_7$ ที่เติมลงในตัวอย่างและแบลงค์ (มล.)

C = ปริมาตร $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ที่ไทเทรตกับแบลงค์ (มล.)

D = ปริมาตร $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ที่ไทเทรตกับตัวอย่าง (มล.)

N = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน $K_2Cr_2O_7$ (นอร์มัลลิตี)

$$\% \text{อินทรีย์วัตถุ (OM)} = \% \text{O.C.} \times 1.7241$$

$$\text{ค่า C/N} = \frac{(\% \text{O.C.})}{(\% \text{TN})}$$

6. ดัชนีการงอกของเมล็ด (ดัดแปลงจาก กรมวิชาการเกษตร, 2551)

วิธีการ

1. ทำการชั่งตัวอย่าง 1 กรัมใส่ในขวด เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร (1:10 w/v)
2. นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่า ความเร็ว 180 ครั้งต่อนาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วกรองสารละลายตัวอย่างด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42
3. (1) ชูดตัวอย่างดูดสารละลายตัวอย่าง 3 มิลลิลิตร ใส่ลงกระดาษเบอร์ 42 ในจานเพาะเชื้อ จานละ 3 มิลลิลิตร วางเมล็ดฝักการขาว 10 เมล็ดต่อจานเพาะเชื้อ
4. (2) ชูดควบคุมตูดน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร ใส่ลงกระดาษเบอร์ 42 ในจานเพาะเชื้อ จานละ 3 มิลลิลิตร จากนั้นวางเมล็ดฝักการขาว 10 เมล็ดต่อจานเพาะเชื้อ
5. บ่มจานเพาะเชื้อไว้ในตู้บ่มเชื้อที่ 29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

$$\text{ดัชนีการงอก} = \frac{\text{เปอร์เซ็นต์การงอกชุดตัวอย่าง (\%)} \times \text{ความยาวรากชุดตัวอย่าง (ซม.)} \times 100}{\text{เปอร์เซ็นต์การงอกชุดควบคุม (\%)} \times \text{ความยาวรากชุดควบคุม (ซม.)}}$$

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล นางสาววิภาพร จารุธนกุล
เกิดเมื่อ 16 กรกฎาคม 2537
ประวัติการศึกษา พ.ศ.2560 ปริญญาตรี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่
พ.ศ.2556 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนดำรงราษฎร์สงเคราะห์ เชียงราย

