# รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

**1. แผนงานวิจัย** : วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการเพิ่มประสิทธิภาพดิน ปุ๋ยและน้ำทางการเกษตรอย่างสมดุลและยั่งยืน

**2. โครงการวิจัย** : วิจัยและพัฒนาการเพิ่มประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพและจุลินทรีย์ดินเพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร

**3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)** : การผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบใหม่

**ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ)** : Production of New Microbial Inoculants for Organic Materials Degradation

**4. คณะผู้ดำเนินงาน**

**หัวหน้าการทดลอง** นายอธิปัตย์ คลังบุญครอง กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

**ผู้ร่วมงาน** นางสุปรานี มั่นหมาย กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

นายสนธยา ขำติ๊บ กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

กรมวิชาการเกษตร

**5. บทคัดย่อ**

ดำเนินการผลิตผลิตภัณฑ์หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบต่าง ๆ คือ รูปแบบบอล รูปแบบแคปซูล และรูปแบบเม็ด พบว่าจุลินทรีย์สามารถอยู่อาศัยในผลิตภัณฑ์ทั้ง 3 รูปแบบ และยังคงมีกิจกรรมของการย่อยสลายเซลลูโลส ดำเนินการทดสอบหัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบใหม่ คือ แบบบอล แบบแคปซูล แบบเม็ด เปรียบเทียบกับรูปแบบผงหยาบ (รูปแบบเดิมของกรมวิชาการเกษตร) และรูปแบบเหลว (รูปแบบพื้นฐานของการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์) ในการย่อยสลายตอซังฟางข้าวในแปลงทดสอบ ในปี พ.ศ. 2561 ณ ศูนย์วิจัยข้าว อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี โดยปลูกข้าวพันธุ์ กข 31 ตามวิธีของเกษตรกร พบว่ากรรมวิธีที่ย่อยสลายตอซังฟางข้าวด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบเม็ด รูปแบบเดิม และรูปแบบบอล ข้าวให้ผลผลิต 701 693 และ 675 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีที่ไม่ใส่หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ข้าวให้ผลผลิตเพียง 646 กิโลกรัมต่อไร่ เมื่อทดสอบหัวเชื้อจุลินทรีย์

ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ในการย่อยสลายใบอ้อยพบว่าการปรับอัตราส่วนใบอ้อยต่อกากตะกอนหม้อกรองเท่ากับ 70/30 ช่วยให้หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ทุกรูปแบบมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายใบอ้อยได้สมบูรณ์ใน 180 วัน ซึ่งการไม่ใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ต้องใช้เวลามากกว่า 240 วัน หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบต่างๆ ที่ผลิตขึ้น จึงมีสามารถใช้ในการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ได้หลากหลายวิธีตามแต่ศักยภาพของเกษตรกร

**Abstract**

Study for cultivation and production of new microbial inoculants for organic materials degradation, the new products include ball capsule and bead type. Application of new products compare to application of crude powder (original product) cell cultivation broth (basic cell cultivation) in paddy field where rice straw and rice stubble was plowed to soil at Klongluang rice research center Pratumthani province (2018). After application RD 31 was planted, the results showed that rice yield are 701 693 and 675 kilogram per rai after application of bead crude powder and ball type respectively while no application of microbial inoculants for organic materials degradation only 6 4 6 kilogram per rai was received. Ratio of dry sugarcane leaves/filter cake as 70/30 is proper for application of all microbial inoculants types in composting of dry sugarcane leaves that all types can finish composting process in 1 8 0 day while no application of microbial inoculants composting process spent more 2 4 0 day to finish. Therefore all types of microbial inoculants can support various application types from various agriculturist.

กรมวิชาการเกษตร

## 6. คำนำ

เซลลูโลสเป็นองค์ประกอบที่พบมากในพืช ในฟางข้าวสาลี ข้าวฟ่างหวาน ซังข้าวโพด ฟางข้าว มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ 35.80 44.60 36.40 และ 35.62 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Fajardo *et al*., 2015) พืชบางชนิดมีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ เช่น ชานอ้อย กล้วย ปอกระเจา กัญชา แครอท (55.2 63-64 73.2 73-74 และ 81 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) (Malladi *et al*., 2018) ด้วยปริมาณที่มาก และย่อยสลายได้ยาก ทำให้เป็นการเสียโอกาสในการใช้ประโยชน์จากการย่อยสลายเซลลูโลสในวัสดุอินทรีย์ต่าง ๆ เซลลูโลสคือโพลิเมอร์ของกลูโคสที่ต่อกันด้วยพันธะ β (1-4) (เรียกว่าเซลโลไบโอส (cellobiose)) โดยสายของเซลลูโลสจะเป็นหน่วยซ้ำ ๆ ของเซลโลไบโอส (Maleki *et al*., 2016) สามารถมีหน่วยของกลูโคสที่เชื่อมต่อกันได้ถึง 20,000 หน่วย สายของเซลลูโลสบริเวณที่มีพันธะเบตา 1-4 ไกลโคซิดิกมาก จะเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างสายของเซลลูโลสเกิดเป็นบริเวณที่เป็นระเบียบ มีความแข็งแรง ละลายน้ำได้ยาก

(crystalline regions) แต่บริเวณที่มีพันธะไฮโดรเจนระหว่างสายเซลลูโลสน้อย สายเซลลูโลสจะมีความยุ่งเหยิง และมีความแข็งแรงน้อย (amorphous regions) (Malladi *et al*., 2018)

ในการย่อยสลายเซลลูโลสทางชีวภาพ จุลินทรีย์หลายชนิดสามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสได้ การทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส จะประกอบด้วยเอนไซม์อย่างน้อย 3 กลุ่ม คือ เอนโดกลูคาเนส (endo-(1,4)-**β**-D-glucanase (EC 3.2.1.4)) เอกโซกลูคาเนส (exo-(1,4)-**β**-D-glucanase (EC 3.2.1.91)) และ กลูโคซิเดส (**β**-glucosidases (EC 3.2.1.21)) โดยเอกโซกลูคาเนส จะทำการย่อยเซลลูโลสที่ปลายของสาย และปลดปล่อยเซลโลไบโอส ออกมา ในขณะที่เอนโดกลูคาเนส จะเข้าย่อยสลายแบบสุ่มในสายของเซลลูโลส ณ บริเวณที่มีความแข็งแรงน้อย (amorphous regions) ซึ่งจะได้เป็นสายของกลูแคนซึ่งมีความยาวที่แตกต่างกัน และถูกเอกโซกลูคาเนส ย่อยสลายต่อไป จากนั้นกลูโคซิเดส จะทำการย่อยเซลโลไบโอส ไดแซคคาไรด์ และปลดปล่อยน้ำตาลกลูโคสออกมา (Kuhad *et al*., 2011)

หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ของกรมวิชาการเกษตร เป็นหัวเชื้อที่มีกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ได้ดี ช่วยหมุนเวียนธาตุอาหารจากวัสดุอินทรีย์ในรูปของปุ๋ยหมักกลับมาสู่ดิน ช่วยปรับปรุงดินให้พืชสามารถเจริญเติบโตได้ดี สามารถประยุกต์ใช้ในการย่อยสลายตอซังฟางข้าว ช่วยให้ข้าวได้ผลผลิตที่มากขึ้น (สุปรานี และคณะ, 2557) ย่อยสลายเปลือกยูคาลิปตัสจนเป็นปุ๋ยหมักได้ภายในระยะเวลา 240 วัน (พีรพงษ์ และคณะ, 2557) แต่เนื่องจากหัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ใช้ปุ๋ยหมักมูลโคบดละเอียดเป็นวัสดุพา จึงมีลักษณะเป็นผงหยาบคล้ายปุ๋ยหมัก ลักษณะดังกล่าวนี้ยังไม่จูงใจให้เกษตรกรใช้งานนัก อีกทั้งลักษณะการใช้งานที่อาจต้องผสมวัสดุอื่น เช่น ดิน เพื่อเพิ่มปริมาณให้สามารถใช้ได้เพียงพอ ซึ่งเป็นการเพิ่มขั้นตอน ซึ่งการใช้งานลักษณะนี้มีความยุ่งยาก การผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ให้มีรูปแบบที่สะดวกต่อการใช้งาน จึงเป็นสิ่งที่จะช่วยลดปัญหาดังกล่าวได้ หรืออาจสร้างแรงจูงใจให้เกษตรกรใช้ประโยชน์จากวัสดุแทนการเผาทำลาย ซึ่งจะช่วยลดปัญหาการสร้างมลภาวะทางอากาศ ลดการทำลายระบบนิเวศของจุลินทรีย์และธาตุอาหารในพื้นที่ และเพิ่มการหมุนเวียนธาตุอาหารกลับสู่พื้นที่การเกษตร

จุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์มีความสำคัญต่อการหมุนเวียนธาตุอาหาร เพราะเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถเปลี่ยนซากพืชให้กลับไปเป็นธาตุอาหารได้ โดยมีเอนไซม์ที่สำคัญคือ เอนไซม์เซลลูเลส ซึ่งสามารถย่อยสลายเซลลูโลสในวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรให้มีสภาพเป็นปุ๋ยได้เร็วขึ้น โดยพบในจุลินทรีย์หลายชนิดและพบมากมายในธรรมชาติ เสาวภาและคณะ (2554) คัดแยกเชื้อราที่มีความสามารถสร้างเอนไซม์ เซลลูเลสจากดินในพื้นที่ป่าโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี จังหวัดจันทบุรี จำนวน 74 ตัวอย่าง แยกเชื้อราได้ 298 ไอโซเลท ในจำนวนนี้มี 144 ไอโซเลทที่มีกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส Sonia *et al*. (2013) คัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่มีกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสจากดินในอินเดีย พบว่าเชื้อแบคทีเรียที่มี

กิจกรรมดังกล่าวสูง ได้แก่ *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, และ *Serratia marcescens* เมื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อแบคทีเรียดังกล่าว พบว่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส pH ในช่วง 9-11 แหล่งของคาร์บอนและไนโตรเจนคือ กลูโคสและแอมโมเนียมซัลเฟต เป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส Majeed *et al.* (2016) แยกจุลินทรีย์กลุ่ม *Aeromonas* จากไส้ปลายี่สกเทศ พบว่า *Aeromonas bestiarum* มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เอกโซกลูคาเนส โดยสามารถผลิตได้ 3.766 ยูนิต เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีชานอ้อย สารสกัดจากยีสต์ และแอมโมเนียมซัลเฟต เป็นองค์ประกอบ 2.5 0.2 และ 0.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

เมื่อคัดแยกจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ทางการเกษตร และศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการมีกิจกรรมส่งเสริมการเจริญของพืชโดยจุลินทรีย์แล้ว ขั้นตอนที่สำคัญต่อมาคือ การแปรรูปเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าว ให้อยู่ในรูปที่สะดวกแก่การใช้งาน สามารถใช้งานได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นเซลล์จุลินทรีย์จึงต้องประสบความเครียดทั้งจากการแปรรูป และการจากสภาวะแวดล้อมในธรรมชาติ จึงต้องมีการจัดการที่เหมาะสมเพื่อให้จุลินทรีย์ยังคงความสามารถที่เป็นประโยชน์เอาไว้ได้ Leslie *et al*. (1995) พบว่าการใช้ trehalose และ sucrose ช่วยเพิ่มความทนทานต่อกระบวนการ freeze drying ของเชื้อ *Escherichia coli* DH5a และ *Bacillus thuringiensis* HD-1 ได้ โดยเมื่อทำแห้งเชื้อร่วมกับการใส่ trehalose 100 mM เชื้อ E. coli จะรอดชีวิต 70 เปอร์เซ็นต์ เชื้อ B. thuringiensis จะรอดชีวิต 57 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้ sucrose เชื้อ E. coli จะรอดชีวิต 56 เปอร์เซ็นต์ เชื้อ *B. thuringiensis* จะรอดชีวิต 44 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อไม่ใส่น้ำตาล เชื้อ *E. coli* จะรอดชีวิตเพียง 8 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อ B. thuringiensis จะรอดชีวิตเพียง 14 เปอร์เซ็นต์ Ivanova et al. (2006) ทดสอบปุ๋ยชีวภาพเชื้อจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจน *Azospirillum* ที่อยู่ในเม็ดอัลจิเนตขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3-4 mm พบว่าเม็ดดังกล่าวสามารถเก็บเชื้อได้ถึง 106 โคโลนีต่อเม็ด เชื้อยังมีชีวิตอยู่ในเม็ดได้นานกว่า 6 เดือน ใส่เม็ดลงในดินจะสลายตัวสมบูรณ์ใช้เวลาประมาณ 3-4 เดือน Lakshmipriya และ Sivakumaar (2013) ทดสอบการใช้เชื้อ *Bacillus subtilis* และ *Pseudomonas fluorescens* ซึ่งเป็น plant growth-promoting rhizobacteria ในรูปเม็ด อัลจิเนต, ผงถ่าน และอาหารเหลว พบว่าการใช้เชื้อในรูปเม็ดอัลจิเนตของ *B. subtilis* และ *P. fluorescens* กับข้าวจะส่งผลให้การเกิดโคโลนีเชื้อบริเวณรอบรากสูงที่สุดเท่ากับ 5.319 และ 5.231 log10 (โคโลนีต่อกรัมของดิน) ตามลำดับ และต่ำสุดเมื่อใช้อาหารเหลว คือ 3.125 และ 3.410 log10 (โคโลนีต่อกรัมของดิน) ตามลำดับ โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาเม็ดคือ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส Gomare *et al*. (2013) ศึกษาการใช้เชื้อ *Azotobacter* ในรูปผงของ ดิน : ถ่านกัมมันต์ : แคลเซียมคาร์บอเนต และ ดิน : ผงถ่านหยาบ: แคลเซียมคาร์บอเนต ในอัตราส่วน 1:2:1 เท่ากัน พบว่าการใช้ผงถ่านหยาบจะทำให้พืชที่ทดสอบมีอัตราการงอก และการเจริญเติบโตดีกว่าการใช้ถ่านกัมมันต์ Hartatia *et al*. (2012) ทำการตรึงเอนไซม์เซลลูเลสซึ่งได้จากของเหลวจากลำไส้วัวในรูปของ

กรมวิชาการเกษตร

เม็ดอัลจิเนต พบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการตรึงคือ 55 องศาเซลเซียส โดยใช้อัลจิเนต ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ โดยผลิตภัณฑ์ที่ได้มีกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสสูงที่สุดคือ 67.41 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ซึ่งเป็นอีกแนวทางหนึ่งสำหรับการใช้ประโยชน์จากเอนไซม์เซลลูเลสโดยตรง Petre *et al*. (1999) ทำการตรึงจุลินทรีย์ย่อยสลายเซลลูโลสคือ *Trichoderma viride* ใน collagen-poly-acrylamide (CPAA) และ gelatin-poly-acrylamide (GPAA) โดยทำให้มวลของเซลลูโลสหายไปมากกว่า 14 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังทำการตรึง *Bacillus subtilis* และ *Bacillus licheniformis* ใน collagen-poly-acrylamide (CPAA) และ elastin-poly-acrylamide (EPAA) โดยทำให้มวลของเซลลูโลสหายไปมากกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ และ 15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งการตรึงจุลินทรีย์ดังกล่าวพบว่าสามารถใช้งานต่อเนื่องกันได้มากกว่า 240 ชั่วโมง

จากที่กล่าวมาจะพบว่ามีความเป็นไปได้ที่จะคัดเลือกจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์มาผลิตเป็นหัวเชื้อปุ๋ยชีวภาพในรูปแบบที่หลากหลาย ทั้งแบบเหลว แบบเม็ด แบบผง ซึ่งจะตอบสนองต่อความต้องการที่หลากหลายของเกษตรกรได้ และสามารถใช้ได้อย่างสะดวกและมีประสิทธิภาพ

**7. วิธีดำเนินการ** :

- อุปกรณ์

1. เครื่องแก้ว ได้แก่ บีกเกอร์ กระบอกตวง แท่งแก้วคนสาร จานเพาะเชื้อ หลอดทดลอง ฟลาส์ก
2. สารเคมี ได้แก่ กรดซิตริก โซเดียมไบคาร์บอเนต อัลจิเนต แคลเซียมคลอไรด์
3. อาหารเลี้ยงเชื้อได้แก่ อาหารเลี้ยงเชื้อนิวเทรียนท์บรอท (Nutrient broth) และนิวเทรียนท์เอการ์ (Nutrient agar) อาหารพิคอฟสกายา (pikovskaya) อาหารทดสอบการผลิตซิเดอโรฟอร์ อาหารทดสอบการละลายโพแทสเซียม อาหารทดสอบการย่อยสลายเซลลูโลส
4. เครื่องมือ ได้แก่ เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง ตู้อบ ปั๊มน้ำ ปั๊มลม เครื่องเขย่าขวดเลี้ยงเชื้อ เครื่องกวนสาร เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ ตู้ปลอดเชื้อ
5. อุปกรณ์ ได้แก่ แม่พิมพ์เม็ดกลม บล็อกบรรจุแคปซูล เครื่องซีลถุง สายยาง สายอากาศ

- วิธีการ

1. คัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสและส่งเสริมการเจริญของพืช

คัดเลือกจุลินทรีย์ เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยคัดเลือกแบคทีเรียรหัส db_115, db_123, mfb_129, db_183, db_203, mfb_papM1 และ mfb_rsp5 มาทดสอบประสิทธิภาพในอาหารพิคอฟสกายา อาหารทดสอบการผลิตซิเดอโรฟอร์ อาหาร

กรมวิชาการเกษตร

ทดสอบการละลายโพแทสเซียม อาหารทดสอบการย่อยสลายคาร์บอกซีเมททิลเซลลูโลส อาหารทดสอบการย่อยสลายอะวิเซล อาหารทดสอบการย่อยไซแลน โดยวิธี Point inoculation และทำการจัดจำแนก เพื่อใช้ร่วมกับเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ใช้อยู่ในผลิตภัณฑ์หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ของกรมวิชาการเกษตรในปัจจุบัน

2. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อ

ศึกษาอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม

ทดสอบการเพาะเลี้ยงแบบเหลวโดยทดสอบการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวนิวเทรียนท์บรอท (Nutrient broth) และ นิวเทรียนท์บรอทที่เติมไนโตรเจน (แอมโมเนียมซัลเฟต) 0.5 เปอร์เซ็นต์ และซูโครส 0.5 เปอร์เซ็นต์ เขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงแบบแบบแห้งด้วยการเพาะเลี้ยงอาหารเหลวนิวเทรียนท์เอการ์ (Nutrient agar) และ นิวเทรียนท์เอการ์ที่เติมไนโตรเจน (แอมโมเนียมซัลเฟต) 0.5 เปอร์เซ็นต์ และซูโครส 0.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เก็บเกี่ยวเซลล์หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 วัน ด้วยการปั่นเหวี่ยง 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที สำหรับการเพาะเลี้ยงแบบเหลว และการล้างเซลล์ออกจากจานเพาะเลี้ยงเชื้อการเพาะเลี้ยงแบบแข็ง นำสารแขวนลอยเซลล์ที่แยกได้ อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ ชั่งน้ำหนักแห้ง และคำนวณปริมาณเซลล์แห้งที่ผลิตได้

ศึกษาการขยายขนาดการผลิต

ทดสอบการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองด้วยการจ่ายโอโซน (400 มิลลิกรัมต่อชั่วโมง) โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (KMS) 200 พีพีเอ็ม และ 400 พีพีเอ็ม เป็นเวลา 4 ชั่วโมง แต่ละกรรมวิธีดำเนินการในอาหารปริมาตร 40 ลิตร โดยเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แต่ละสายพันธุ์ และผสมน้ำวัตถุดิบ จนมีปริมาตร 40 ลิตร (เซลล์เริ่มต้น ที่ $\log_{10}$(cfu/ml) ประมาณ 6-8) เก็บตัวอย่างตรวจวัดปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตด้วยการเจือจางและเพาะเลี้ยงบนจานอาหารวุ้น ณ เวลา 60 120 180 และ 240 นาที เพื่อคำนวณอัตราการลดลงของจุลินทรีย์

ทดสอบอัตราการให้อากาศที่ 0.25 0.50 และ 0.75 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที (vvm) แต่ละกรรมวิธีดำเนินการในอาหารในอาหารปริมาตร 40 ลิตร เก็บตัวอย่างตรวจวัดปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตด้วยการเจือจางและเพาะเลี้ยงบนจานอาหารวุ้น

3. ผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบต่าง ๆ

ผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบต่าง ๆ โดยมีขั้นตอนดังนี้

กรมวิชาการเกษตร

แบบผงหยาบ (รูปแบบเดิมของกรมวิชาการเกษตร) ผสม หัวเชื้อรา : ปุ๋ยหมักมูลโคบดละเอียด : ซีโอไลท์ อัตรา 4 : 5 : 1 โดยน้ำหนัก

แบบบอล ผสม กรดซิตริก : โซเดียมไบคาร์บอเนต : แป้งมัน : กากน้ำตาล : ยิปซัม : ปุ๋ยหมักบด : หัวเชื้อราและแบคทีเรีย อัตรา 10 : 10 : 10 : 20 : 10 : 15 : 25 โดยน้ำหนัก ขึ้นรูปเป็นลูกบอล แล้วอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 16 ชั่วโมง

แบบแคปซูล ผสม แป้งมัน : ปุ๋ยหมักบด : หัวเชื้อราและแบคทีเรีย อัตรา 15 : 35 : 50 โดยน้ำหนัก อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นทำการบรรจุลงแคปซูลเบอร์ศูนย์

แบบเม็ด ผสม หัวเชื้อราและแบคทีเรีย : สารละลายอัลจิเนต (0.5 เปอร์เซ็นต์) อัตรา 1 : 4 โดยปริมาตร จากนั้นหยดลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (100 mM) เมื่อเกิดเป็นเม็ด ทำการแยกเม็ดออกจากสารละลายแคลเซียมคลอไรด์

แบบเหลว (รูปแบบพื้นฐานของการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์) เพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหารเหลว (nutrient broth) ให้มีปริมาณเชื้ออย่างน้อย $1x10^8$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร

4. ทดสอบหัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบต่าง ๆ ในการย่อยสลายตอซังฟางข้าวในพื้นที่ปลูกข้าว อ.คลองหลวง จ. ปทุมธานี โดยจัดเตรียมแปลงทดสอบขนาด 2X4 ตารางเมตร ระยะปลูก 20x20 เซนติเมตร โดยวางแผนการทดลอง แบบ RCB จำนวน 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เตรียมดินตามวิธีเกษตรกร (ไม่ใส่หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยฯ)

กรรมวิธีที่ 2 ใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบผงหยาบ อัตราส่วน 1.6 กิโลกรัมต่อไร่

กรรมวิธีที่ 3 ใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบบอล อัตราส่วน 1.6 กิโลกรัมต่อไร่

กรรมวิธีที่ 4 ใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบเม็ด อัตราส่วน 1.6 กิโลกรัมต่อไร่

กรรมวิธีที่ 5 ใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบแคปซูล อัตราส่วน 1.6 กิโลกรัมต่อไร่

กรรมวิธีที่ 6 ใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบเหลว อัตราส่วน 1.6 กิโลกรัมต่อไร่

เมื่อปล่อยน้ำเข้าแปลงนา ทำการย่ำตอซังฟางข้าวจนจมโคลน ใส่หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบต่าง ๆ ตามกรรมวิธีที่กำหนด จากนั้นดำเนินการปลูกข้าวตามวิธีของเกษตรกร

กรมวิชาการเกษตร

5. พัฒนาหัวเชื้อจุลินทรีย์รูปแบบใหม่อีกหนึ่งชนิดโดยการนำหัวเชื้อจุลินทรีย์รูปแบบผงหยาบ กรองผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร จากนั้นผสมแป้งมัน อัตราส่วน แป้งมัน : ซีโอไลท์ : ปุ๋ยหมักบด : จุลินทรีย์ย่อยฯ เท่ากับ 10:5:35:50 อบ ณ อุณหภูมิต่างๆ (30 40 50 และ 60 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 16 ชั่วโมง ทดสอบหัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบต่าง ๆ ในการย่อยสลายใบอ้อย

6. ทดสอบหัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบใหม่ในการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ (อัตราส่วนใบอ้อยต่อกากตะกอนอ้อย เท่ากับ 70/30) โดยการหมักในกองขนาดกว้างxยาวxสูง เท่ากับ 1.0x1.2x1.0 เมตร กลับกองและตรวจค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน ณ เวลา 0 30 60 90 และ 120 วัน ของการใส่หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ของการใส่หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ โดยใส่ในอัตรา 350 กรัมต่อ 1000 กรัมของวัสดุอินทรีย์ วางแผนการทดลองแบบ RCB ประกอบด้วย 7 กรรมวิธี จำนวน 3 ซ้ำ คือ

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์
กรรมวิธีที่ 2 ใส่หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบผงหยาบ
กรรมวิธีที่ 3 ใส่หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบเม็ด
กรรมวิธีที่ 4 ใส่หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบน้ำ
กรรมวิธีที่ 5 ใส่หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบแคปซูล
กรรมวิธีที่ 6 ใส่หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบบอล
กรรมวิธีที่ 7 ใส่หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบผง

กรมวิชาการเกษตร

การบันทึกผล

1. กิจกรรมของจุลินทรีย์ ได้แก่ การรอดชีวิต กิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส (unit/ml)

2. การเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ ความสูง (ม.) น้ำหนัก (ก.) จำนวนลำต่อไร่ บริกซ์ ผลผลิต

3. สมบัติของดิน ได้แก่ ปฏิกิริยาดิน (pH) ใช้ดินต่ออัตราส่วนของน้ำ 1:1 (สมศักดิ์, 2537) ปริมาณอินทรียวัตถุ (Organic matter, OM) โดยวิธีของ Walkley และ Black (1934) ปริมาณไนโตรเจนรวมทั้งหมดในดิน (Total Nitrogen) โดยวิธี Micro kjeldahl method (จงรักษ์, 2541) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Avialable phosphorus) โดยวิธี Bray II (จำเป็น, 2547) ปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ (available potassium) โดยวิธีของ Schollerger และ Simon (1945)

ระยะเวลา ดำเนินการทดลอง ตุลาคม 2559 - กันยายน 2563

สถานที่ดำเนินการ ศูนย์วิจัยข้าวคลองหลวง ต.คลองหนึ่ง อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี
อำเภอวัฒนานคร จ. สระแก้ว

**8. ผลการทดลองและวิจารณ์**

การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสและส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

ทำการคัดเลือกจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ที่เก็บรักษาไว้ของกรมวิชาการเกษตร โดยคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีกิจกรรมการย่อยสลายสลายวัสดุอินทรีย์ได้สูง และมีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในด้านอื่น ๆ ด้วย จาก ตารางที่ 1 จุลินทรีย์ที่คัดเลือกมาใช้ผลิตเป็นผลิตภัณฑ์รูปแบบใหม่ มีคุณสมบัติในการผลิตเอนไซม์เอนโดกลูคาเนส เอกโซกลูคาเนส ไซแลนเนส ซึ่งจะช่วยให้การย่อยสลายเกิดขึ้นได้ทั้งภายในและภายนอกสายเส้นใยของเซลลูโลส นอกจากนี้ยังสามารถผลิตซิเดอโรฟอร์ ละลายฟอสเฟต และละลายโพแทสเซียม ซึ่งจะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

ตารางที่ 1 กิจกรรมของแบคทีเรียที่ใช้สำหรับผลิตเป็นหัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์

| รหัส | จำแนกเป็น | Efficiency | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | EnG | ExG | XL | Sidero | Psol | Ksol |
| db_115 | *Bacillus* sp. | 2.89 | 3.55 | 3.58 | - | - | - |
| db_123 | *Bacillus* sp. | 3.88 | 3.27 | 3.88 | - | - | - |
| db_183 | *Aeromonas* sp. | 3.38 | 3.25 | 4.29 | - | - | - |
| db_203 | *Bacillus aryabhattai* | 2.60 | 2.08 | 2.45 | - | - | - |
| mfb_rsp5 | *Streptomyces* sp. | 2.82 | 4.27 | 3.00 | - | - | - |
| mfb_papM1 | *Pantoea* sp. | 2.60 | 2.50 | - | 1.91 | 1.33 | 1.83 |
| mfb_129 | *Burkholderia* sp. | 2.09 | 2.00 | - | 4.00 | 1.25 | 1.83 |

เมื่อ : Efficiency = (เส้นผ่านศูนย์กลางวงใส/เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี), EnG = endoglucanase, ExG = exoglucanase, XL = xylanase, Sider = siderophore, Psol = Phosphate solubilization activity และ Ksol = potassium solubilization activity

กรมวิชาการเกษตร

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อ

ตารางที่ 2 ผลผลิตเซลล์จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปรับสูตรเป็นสูตรต่างๆ

| กรรมวิธี | ผลผลิตเซลล์ (g dry cells/ml) | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | db_115 | | db_123 | | db_183 | | db_203 | | mfb_RSP5 | | mfb_papM | | mfb_129 | |
| Nutrient broth | 0.68 | c | 0.33 | b | 0.30 | c | 0.16 | c | 1.15 | c | 0.20 | b | 0.43 | c |
| Nutrient agar | 0.62 | d | 0.14 | c | 0.34 | b | 0.16 | c | 1.15 | c | 0.19 | b | 0.24 | d |
| Nutrient broth+0.5% Nitrogen +0.5%Sucrose | 1.03 | a | 0.53 | a | 0.38 | a | 1.11 | a | 1.98 | a | 0.33 | a | 0.97 | a |
| Nutrient agar+0.5% Nitrogen +0.5%Sucrose | 0.72 | b | 0.53 | a | 0.27 | d | 0.68 | b | 1.39 | b | 0.18 | c | 0.66 | b |
| CV(%) | 24.15 | | 48.59 | | 54.59 | | 15.09 | | 87.11 | | 27.42 | | 30.45 | |

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เมื่อได้จุลินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการผลิตเป็นหัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์แล้ว ขั้นตอนต่อมาคือการผลิตเซลล์ให้มีปริมาณที่มากเพียงพอ โดยศึกษาทั้งแบบเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว และแบบเพาะเลี้ยงในอาหารแห้ง โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว มีข้อดีคือ สามารถดำเนินการในขั้นตอนที่น้อยกว่า แต่หากต้องการเก็บเกี่ยวเซลล์จากอาหารปริมาณมากจะดำเนินการได้ยาก เพราะต้องใช้เครื่องปั่นเหวี่ยงขนาดใหญ่ และอาจมีน้ำเหลือทิ้งจากการเพาะเลี้ยงเซลล์เป็นปริมาณมาก ในขณะที่การเพาะเลี้ยงแบบแห้ง จะดำเนินการเก็บเกี่ยวเซลล์โดยใช้น้ำปริมาณที่น้อยกว่า อาจไม่ต้องใช้เครื่องปั่นเหวี่ยงเพื่อเก็บเกี่ยวเซลล์ แต่ต้องดำเนินการเพาะเลี้ยงเป็นหน่วยย่อยปริมาณมาก เสี่ยงต่อการปนเปื้อนได้ง่าย โยผลการทดลองใน ตารางที่ 2 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหารเหลวนิวเทรียนท์บรอทที่เติมไนโตรเจน (แอมโมเนียมซัลเฟต) 0.5 เปอร์เซ็นต์ และซูโครส 0.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นวิธีที่สามารถผลิตเซลล์จุลินทรีย์ได้มากที่สุดในทุกสายพันธุ์ที่ใช้ในการทดลอง แต่อย่างไรก็ตาม หากต้องการผลิตเซลล์ปริมาณเข้มข้นในระดับการผลิตที่ไม่ใหญ่มาก การเพาะเลี้ยงในนิวเทรียนท์เอการ์ที่เติมไนโตรเจน (แอมโมเนียมซัลเฟต) 0.5 เปอร์เซ็นต์ และซูโครส 0.5 เปอร์เซ็นต์ ยังคงมีความน่าสนใจ เพราะสามารถเก็บเกี่ยวได้ง่ายกว่าแบบเหลว แต่การเพาะเลี้ยงในนิวเทรียนท์เอการ์ยังคงมีข้อจำกัดในด้านบุคลากร ที่ต้องมีความชำนาญด้านการเพาะเลี้ยงและเก็บเกี่ยวเซลล์โดยไม่เกิดการปนเปื้อน

กรมวิชาการเกษตร

ศึกษาการขยายขนาดการผลิต

ตารางที่ 3 การกำจัดแบคทีเรียด้วยกรรมวิธีต่างๆ

| ระยะเวลา | กรรมวิธี | % การลดลงของแบคทีเรีย | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | db_115 | | db_123 | | db_183 | | db_203 | | mfb_RSP5 | | mfb_papM | | mfb_129 | |
| 60 min | KMS 200 ppm | 20.34 | b | 17.79 | c | 16.19 | c | 17.98 | c | 15.27 | c | 25.04 | b | 24.35 | b |
| | KMS 400 ppm | 22.28 | b | 29.09 | b | 25.82 | b | 26.32 | b | 25.27 | b | 25.25 | b | 23.93 | b |
| | Ozone | 41.72 | a | 54.41 | a | 47.80 | a | 51.90 | a | 46.75 | a | 54.34 | a | 55.35 | a |
| | CV(%) | 42.06 | | 55.54 | | 54.13 | | 55.12 | | 55.27 | | 48.34 | | 52.18 | |
| 120 min | KMS 200 ppm | 33.98 | b | 26.24 | c | 30.74 | c | 27.51 | c | 25.70 | c | 36.65 | b | 30.79 | b |
| | KMS 400 ppm | 37.55 | b | 41.66 | b | 31.33 | b | 39.44 | b | 40.48 | b | 30.99 | b | 32.77 | b |
| | Ozone | 52.73 | a | 66.66 | a | 53.78 | a | 63.71 | a | 60.17 | a | 60.59 | a | 61.13 | a |
| | CV(%) | 24.04 | | 45.48 | | 34.02 | | 42.36 | | 41.05 | | 36.77 | | 40.85 | |
| 180 min | KMS 200 ppm | 41.05 | b | 34.52 | c | 36.48 | c | 34.46 | c | 31.03 | c | 46.93 | b | 39.45 | b |
| | KMS 400 ppm | 46.27 | b | 52.33 | b | 41.25 | b | 47.76 | b | 46.53 | b | 37.04 | c | 42.10 | b |
| | Ozone | 57.88 | a | 73.45 | a | 62.58 | a | 71.12 | a | 68.79 | a | 71.57 | a | 66.26 | a |
| | CV(%) | 17.80 | | 36.47 | | 29.72 | | 36.31 | | 38.90 | | 34.30 | | 29.99 | |
| 240 min | KMS 200 ppm | 48.34 | b | 42.45 | c | 44.40 | b | 40.09 | c | 39.80 | c | 56.20 | b | 49.06 | b |
| | KMS 400 ppm | 56.67 | b | 61.17 | b | 46.46 | b | 53.21 | b | 51.83 | b | 43.54 | c | 52.89 | b |
| | Ozone | 67.09 | a | 81.74 | a | 73.29 | a | 79.44 | a | 77.49 | a | 78.83 | a | 73.65 | a |
| | CV(%) | 16.37 | | 31.81 | | 29.46 | | 34.80 | | 34.15 | | 30.04 | | 22.61 | |

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

กรมวิชาการเกษตร

การพัฒนาระบบการผลิตให้สามารถผลิตเซลล์เป็นจำนวนมาก จะมีอุปสรรคเรื่องการกำจัดเชื้อปนเปื้อน เพราะในระดับการผลิตที่มีปริมาตรของอาหารมาก หากปราศจากเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อขนาดใหญ่ จะไม่สามารถกำจัดเชื้อปนเปื้อนได้ อีกทั้งเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อขนาดใหญ่จะมีการสิ้นเปลืองพลังงานสูงมาก ดังนั้นการศึกษาวิธีกำจัดเชื้อปนเปื้อนในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจะช่วยให้การขยายกำลังการผลิตมีความเป็นไปได้มาก จาก ตารางที่ 3 พบว่าการใช้โอโซนความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อชั่วโมง สามารถกำจัดจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองได้มากที่สุด (ปริมาณเซลล์เริ่มต้นอยู่ที่ประมาณ $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) แต่อย่างไรก็ตาม การใช้กำจัดเชื้อปนเปื้อนด้วยโอโซนนี้ หลังจากชั่วโมงที่ 4 (240 นาที) เป็นต้นไป อัตราการตายของเซลล์ลดลงไม่มากนัก และแม้ผ่านไปกว่า 8 ชั่วโมง ก็ยังไม่สามารถกำจัดเชื้อได้หมด แต่ผลที่ได้สามารถประยุกต์ใช้ในการกำจัดเชื้อปนเปื้อนที่มีอยู่ในน้ำที่เป็นวัตถุดิบของอาหารเลี้ยงเชื้อได้ เพราะมีจุลินทรีย์ปนเปื้อนอยู่ต่ำมาก (ไม่เกิน $10^2$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) และสามารถใช้กำจัดเชื้อที่ใช้ในการทดลองได้ หากมีเซลล์เหลือใช้จากการปฏิบัติงาน

เมื่อสามารถกำจัดกำจัดเชื้อปนเปื้อนมีอยู่ในน้ำที่เป็นวัตถุดิบของอาหารเลี้ยงเชื้อได้แล้ว ขั้นตอนต่อมา คือ การเพาะเลี้ยงอาหารเลี้ยงเชื้อในระดับ 40 ลิตร ซึ่งไม่สามารถเพาะเลี้ยงแบบเขย่าได้แบบที่ใช้ในระดับห้องปฏิบัติการ จึงได้เตรียมระบบเพาะเลี้ยงแบบ Bubble column โดยจ่ายอากาศเข้าสู่ด้านล่างของถังหมัก ดังนั้นจึงต้องศึกษาอัตราการให้อากาศที่เหมาะสม จาก ตารางที่ 4 การเตรียมจุลินทรีย์เริ่มต้นที่ log10(cfu/ml) ประมาณ 3 จะช่วยให้ปริมาณเซลล์สูงถึง log10(cfu/ml) ประมาณ 8 ได้ใน 24 ชั่วโมง แต่ ณ เวลา 48 และ 72 ชั่วโมงต่อมา ปริมาณจุลินทรีย์ก็ไม่ได้มีการเปลี่ยนแปลงมากนัก ในทุกระดับของอัตราการให้อากาศ ดังนั้นการเตรียมจุลินทรีย์เริ่มต้นให้มีค่า log10(cfu/ml) ประมาณ 3 จะช่วยให้การผลิตเซลล์รวดเร็วขึ้น ลดการปนเปื้อน และสามารถใช้อากาศที่ 0.25 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที ในการผลิตได้ ซึ่งจะช่วยลดปัญหาการเกิดฟอง อันเนื่องมาจากการให้อากาศในอัตราสูง ซึ่งจะเกิดการปนเปื้อนได้ง่าย

ตารางที่ 4 ผลผลิตเซลล์จากการเพาะเลี้ยงในระดับการให้อากาศที่ต่างกัน

| ระยะเวลา (ชม) | การให้อากาศ | ผลผลิตเซลล์ (log10(cfu/ml)) | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | (vvm) | db_115 | db_123 | db_183 | db_203 | mfb_RSP5 | mfb_papM | mfb_129 |
| 0 | 0.25 | 2.88 | 2.80 | 3.11 | 2.98 | 2.98 | 3.09 | 3.05 |
| | 0.5 | 2.99 | 2.96 | 3.09 | 3.14 | 2.97 | 3.10 | 3.20 |
| | 0.75 | 3.08 | 3.13 | 3.12 | 3.05 | 3.00 | 3.00 | 3.16 |
| 24 | 0.25 | 7.92 | 7.96 | 7.90 | 8.03 | 8.13 | 8.07 | 7.97 |
| | 0.5 | 8.07 | 7.97 | 7.93 | 8.10 | 7.83 | 8.01 | 8.06 |
| | 0.75 | 8.11 | 7.95 | 8.11 | 7.86 | 8.09 | 8.29 | 8.01 |
| 48 | 0.25 | 7.89 | 8.07 | 7.89 | 7.96 | 8.36 | 7.88 | 8.21 |
| | 0.5 | 8.22 | 7.86 | 7.96 | 8.25 | 7.79 | 7.83 | 7.91 |
| | 0.75 | 8.29 | 8.23 | 8.05 | 7.84 | 8.07 | 8.38 | 7.92 |
| 72 | 0.25 | 7.93 | 7.98 | 7.93 | 7.99 | 8.46 | 7.95 | 8.29 |
| | 0.5 | 8.28 | 7.91 | 7.94 | 8.36 | 7.96 | 7.80 | 7.88 |
| | 0.75 | 8.45 | 8.34 | 8.12 | 7.96 | 8.06 | 8.29 | 8.17 |

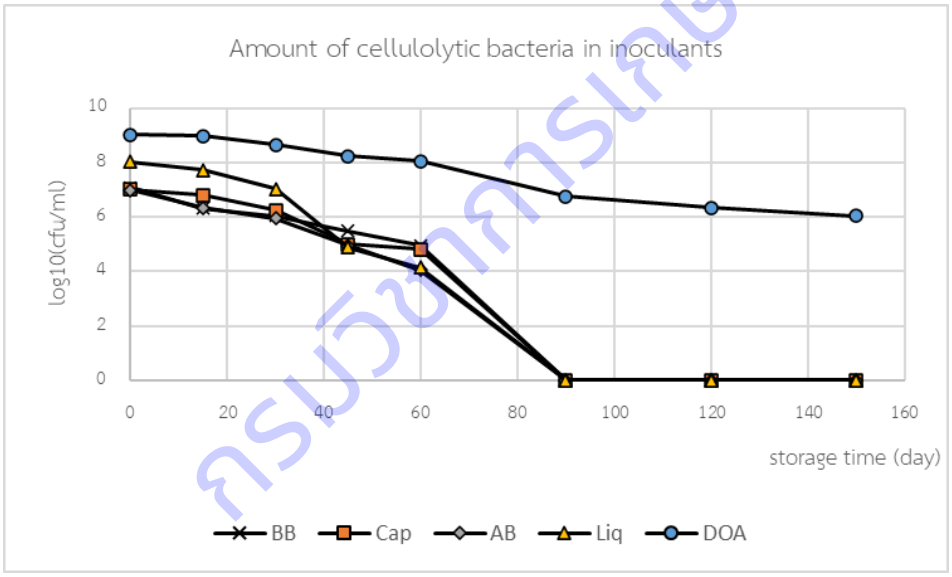
ปริมาณจุลินทรีย์ในหัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบบอล รูปแบบแคปซูล และรูปแบบเม็ด มีปริมาณจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ $10^5$-$10^6$ โคโลนีต่อกรัม ในขณะที่รูปแบบเหลว มีปริมาณจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์อยู่ที่ประมาณ $10^7$-$10^8$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร เมื่อเก็บรักษาในตู้แช่เย็น (5 องศาเซลเซียส) ผลิตภัณฑ์หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบต่าง ๆ ที่ผลิตขึ้น มีอายุการเก็บรักษาได้เพียง 2 เดือน (หากไม่เก็บรักษาในตู้แช่เย็น จะเก็บรักษาได้ไม่เกิน 1 เดือน) ในขณะที่หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปผงหยาบ เมื่อเวลาผ่านไป 4 เดือน ยังคงมีจุลินทรีย์อยู่ประมาณ $10^6$ โคโลนีต่อกรัม ทั้งนี้อาจเป็นเพราะในขั้นตอนการผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบใหม่มีการให้ความร้อน ซึ่ง

กรมวิชาการเกษตร

อาจจะทำให้จุลินทรีย์อ่อนแอลง นอกจากนี้ในขั้นตอนการผลิตไม่มีการกำจัดเชื้อปนเปื้อน จึงทำให้จุลินทรีย์ปนเปื้อนมีการเพิ่มจำนวน และลดกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่ต้องการลง

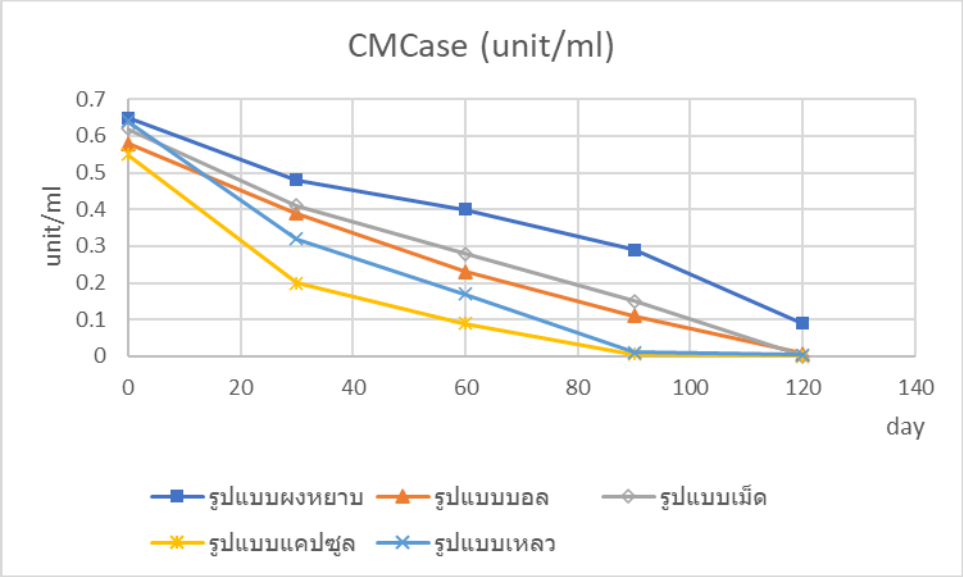
(A) (B) (C) (D) (E)

ภาพที่ 1 ลักษณะของหัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบต่างๆ (A) ball type (B) capsule type (C) bead type (D) liquid type and (E) crude powder type




ภาพที่ 2 จำนวนจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ ($log_{10}$(cfu/ml)) ในหัวเชื้อหลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เมื่อ DOA = crude powder type, BB = ball type, CS = capsule type, AB = bead type and Liq = liquid type.

กรมวิชาการเกษตร




ภาพที่ 3 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสของผลิตภัณฑ์รูปแบบต่างๆ เมื่อผ่านการเก็บเป็นระยะเวลาต่างๆ

เมื่อพิจารณากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส ในแต่ละผลิตภัณฑ์พบว่าในช่วงเริ่มต้นมีกิจกรรมที่ใกล้เคียงกันแต่เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาผ่านไปเป็นระยะเวลานานกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสมีการลดลงอย่างต่อเนื่องสอดคล้องกับปริมาณของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ที่ลดลงเมื่อระยะเวลามากขึ้นเช่นกัน ดังนั้นการใช้ผลิตภัณฑ์ใหม่นี้ควรมีการใช้เมื่อผลิตภัณฑ์มีอายุการเก็บรักษาไม่นานนัก ไม่ควรมากกว่า 3 เดือน ซึ่งจุลินทรีย์ยังมีกิจกรรมอยู่แม้อาจจะมีกิจกรรมการย่อยสลายที่ช้าลงแต่จุลินทรีย์ที่ยังมีปริมาณคงเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์จะสามารถเพิ่มจำนวนได้เมื่อมีการใช้งานเพียงแต่อาจจะใช้เวลาในการย่อยสลายเพิ่มมากขึ้น

ทดสอบการใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบต่าง ๆ ในการย่อยสลายตอซังฟางข้าว

เมื่อใช้ผลิตภัณฑ์หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบต่าง ๆ ในแปลงทดสอบที่มีการกลบตอซังฟางข้าว พบว่าในช่วง 5 วันแรกหลังจากใส่หัวเชื้อ ดินที่มีการใส่หัวเชื้อจะมีดัชนีการย่อยสลายคาร์บอกซีเมททิลเซลลูโลสที่สูงกว่าดินที่ไม่ได้ใส่หัวเชื้อ (ภาพที่ 3) แต่หลังจากนั้นดัชนีการย่อยสลายสลายคาร์บอกซีเมททิลเซลลูโลสจะไม่แตกต่างกันในทุกกรรมวิธี ซึ่งเป็นไปได้ว่า ช่วงแรกของการใช้งานจุลินทรีย์ที่ใส่ลงไปยังคงมีปริมาณมาก และซับสเตรท หรือเซลลูโลสจากตอซังฟางข้าวยังคงมีปริมาณมาก และไม่ถูกย่อยสลายมากนัก จุลินทรีย์ที่ใส่ลงไปจึงมีกิจกรรมการย่อยสลายที่ดี แต่เมื่อเวลาผ่านไปมากขึ้น จุลินทรีย์ที่ใส่ลงไปอาจถูกยับยั้งหรือทำลายโดยจุลินทรีย์ประจำถิ่น หรืออาจเกิดการปรับตัวเพื่ออยู่ร่วมกันในรูปแบบอื่น กิจกรรมการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์อาจมีบทบาทลดลง เพราะข้าว เมื่อมีการเจริญเติบโตย่อมไม่ต้องการความร้อนจากการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ที่รุนแรง และอาจปลดปล่อยสารกระตุ้นบางประการเพื่อให้จุลินทรีย์ในบริเวณราก ปรับพฤติกรรมเพื่อส่งเสริมการเจริญในด้านอื่น ๆ เช่น สร้างสารคล้ายฮอร์โมนพืช สร้างซิเดอโรฟอร์ ละลายฟอสเฟต และละลายโพแทสเซียม เป็นต้น

กรมวิชาการเกษตร

จากการปลูกข้าวพันธุ์ กข 31 ตามกรรมวิธีต่าง ๆ พบว่ากรรมวิธีที่ให้ผลผลิตสูงที่สุดคือ ย่อยสลายตอซังฟางข้าวด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบเม็ด โดยมีผลผลิตข้าวเท่ากับ 701 กิโลกรัมต่อไร่ ไม่แตกต่างจากกรรมวิธีที่ใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบผงหยาบ และรูปแบบบอล ซึ่งมีผลผลิตข้าวเท่ากับ 693 และ 675 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ แต่แตกต่างจากกรรมวิธีที่ใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบแคปซูล รูปแบบเหลว และกรรมวิธีที่ไม่ใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ ซึ่งผลผลิตข้าวต่ำกว่า (ตารางที่ 2) โดยกระบวนการผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบเม็ดนั้นเกิดจากการตรึงจุลินทรีย์ที่เพาะเลี้ยงจากอาหารเหลว ลงไปยังวุ้นอัลจิเนตโดยตรง ไม่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนเพื่ออบแห้ง ในขณะที่หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบเดิม เป็นการผสมจุลินทรีย์ที่เพาะเลี้ยงจากอาหารเหลว ลงไปยังวัสดุพาโดยตรง ไม่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนเช่นกัน จึงอาจเป็นไปได้ว่าจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์มีความแข็งแรงกว่าผลิตภัณฑ์รูปแบบบอลที่ต้องใช้ความร้อนในการอบ

ตารางที่ 5 ผลผลิตข้าว (ปลูก กุมภาพันธ์ 2561)

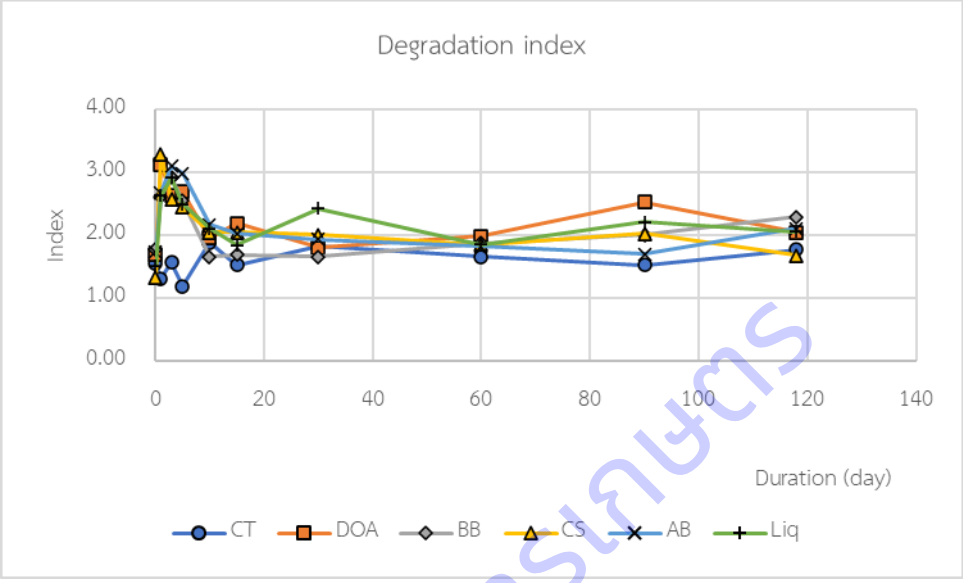
| กรรมวิธี | Filled grains (%) | Unfilled grains (%) | Weight of 100 grains (g) | Yield productivity (kg/rai) |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 94.28 | 5.72 | 2.48 | 646$^{c}$ |
| 2 | 94.33 | 5.68 | 2.50 | 693$^{a}$ |
| 3 | 95.38 | 4.62 | 2.54 | 675$^{ab}$ |
| 4 | 94.66 | 5.34 | 2.55 | 701$^{a}$ |
| 5 | 94.22 | 5.79 | 2.52 | 663$^{bc}$ |
| 6 | 94.15 | 5.85 | 2.50 | 655$^{bc}$ |
| CV (%) | 1.00 | 17.14 | 1.82 | 3.85 |

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

นอกจากนี้ลักษณะการใช้งานหัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบเม็ด และรูปแบบผงหยาบ คือ การหว่าน ซึ่งในแปลงทดลองที่สามารถหว่านได้ทั่วถึงได้มากกว่ารูปแบบอื่น ๆ และลักษณะของวัสดุพาที่มีส่วนให้จุลินทรีย์ยึดเกาะก่อนกระจายตัวไปกับน้ำในแปลงทั้งหมด ซึ่งจะช่วยให้จุลินทรีย์ยังมีเวลาปรับตัวก่อนที่จะเผชิญกับสภาพแวดล้อมล้อม ในขณะที่หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบเหลว แม้ว่าจะสามารถฉีดพ่นให้กระจายตัวได้มาก แต่เมื่อละลายลงสู่น้ำในแปลงนา อาจเกิดการเจือจางในทันที ส่งผลให้ความเข้มข้นลดลงทันที ประสิทธิภาพจึงอาจลดลง ในขณะที่หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบแคปซูล ในกระบวนการผลิตต้องผ่านการอบด้วยความร้อน แล้วจึงบรรจุลงแคปซูล แม้ว่าจะสามารถใช้งานได้สะดวก แต่การกระจายตัวหลังจากอยู่ในแปลงนาอาจไม่ดีนัก เพราะแคปซูลต้องใช้เวลาในการสลายตัว

กรมวิชาการเกษตร

หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบบอลนั้น แม้จะหว่านไม่กระจายตัวได้ดีเท่ารูปแบบผงหยาบ และรูปแบบเม็ด แต่ก็สามารถกระจายตัวได้เองเมื่อสัมผัสน้ำ และให้ผลผลิตข้าวที่สูง เมื่อพิจารณาในเรื่องการใช้งานในแปลงที่มีขนาดใหญ่ขึ้น จึงอาจเป็นตัวเลือกที่มีความเหมาะสม ซึ่งอาจพัฒนาให้มีขนาดที่เล็กลง เพื่อให้การหว่านกระจายตัวได้มากขึ้น




ภาพที่ 4 ค่า Soil carboxy methyl cellulose index หลังจากใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ DOA = crude powder type, BB = ball type, CS = capsule type, AB = bead type Liq = liquid type and CT = no application of microbial inoculant.

3. ทดสอบการใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบต่าง ๆ ในการย่อยสลายใบอ้อย

จากการทดลองที่ผ่านมาพบว่า ผลิตภัณฑ์ในรูปแบบผงหยาบ มีกิจกรรมของเอนไซม์ การเก็บรักษา และการให้ผลผลิตข้าวที่ดี แต่มีรูปลักษณ์ที่ไม่จูงใจกับการใช้งานโดยเกษตรกรเพราะมีลักษณะคล้ายดินหรือปุ๋ยหมัก จึงทำการพัฒนาหัวเชื้อจุลินทรีย์รูปแบบใหม่อีกหนึ่งชนิดโดยการนำหัวเชื้อจุลินทรีย์รูปแบบผงหยาบกรองผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร จากนั้นผสมแป้งมัน อัตราส่วน แป้งมัน : ซีโอไลท์ : ปุ๋ยหมักบด : จุลินทรีย์ย่อยฯ เท่ากับ 10:5:35:50 อบ ณ อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 16 ชั่วโมง เพื่อให้มีรูปลักษณ์ที่เป็นผงละเอียดมากขึ้นมีลักษณะที่ต่างจากดินหรือปุ๋ยหมัก

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 6 ผลการอบหัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบผง

| อุณหภูมิ | เริ่มต้น | | หลังอบ | | ความชื้นลดลง (%) | ปริมาณจุลินทรีย์ ($log_{10}$CFU/g) ลดลง (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | ความชื้น (%) | ปริมาณจุลินทรีย์ ($log_{10}$CFU/g) | ความชื้น (%) | ปริมาณจุลินทรีย์ ($log_{10}$CFU/g) | | |
| 30 | 26.21 | 9.40 | 24.22 | 7.01 | 7.59 | 25.42 |
| 40 | 26.54 | 9.08 | 22.16 | 6.98 | 16.50 | 23.15 |
| 50 | 27.13 | 7.95 | 18.21 | 5.79 | 32.88 | 27.27 |
| 60 | 26.68 | 7.90 | 16.42 | 5.36 | 38.46 | 32.16 |

ตารางที่ 7 ผลการเก็บรักษาหัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบผงเป็นเวลา 8 เดือน

| ผงที่ได้จากการอบที่อุณหภูมิ (°C) | ปริมาณจุลินทรีย์ ($log_{10}$CFU/g) ก่อนอบ | ปริมาณจุลินทรีย์ ($log_{10}$CFU/g) หลังอบและผ่านการเก็บรักษา | |
|---|---|---|---|
| | | แช่เย็น (5 °C) | ไม่แช่เย็น |
| 30 | 7.03 | 5.14 | 3.25 |
| 40 | 7.11 | 6.9 | 6.63 |
| 50 | 6.88 | 5.62 | 5.15 |
| 60 | 6.79 | 5.04 | 4.01 |

จากผลการทดลองพบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการอบเพื่อผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบผงคือ 30 และ 40 องศาเซลเซียส แม้ว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีความชื้นลดลงไม่มากนัก แต่ปริมาณจุลินทรีย์หลังจากการอบและหลังการเก็บรักษาจะค่อนข้างสูงกว่าการอบที่ 50 และ 60 องศาเซลเซียส ซึ่งการ

กรมวิชาการเกษตร

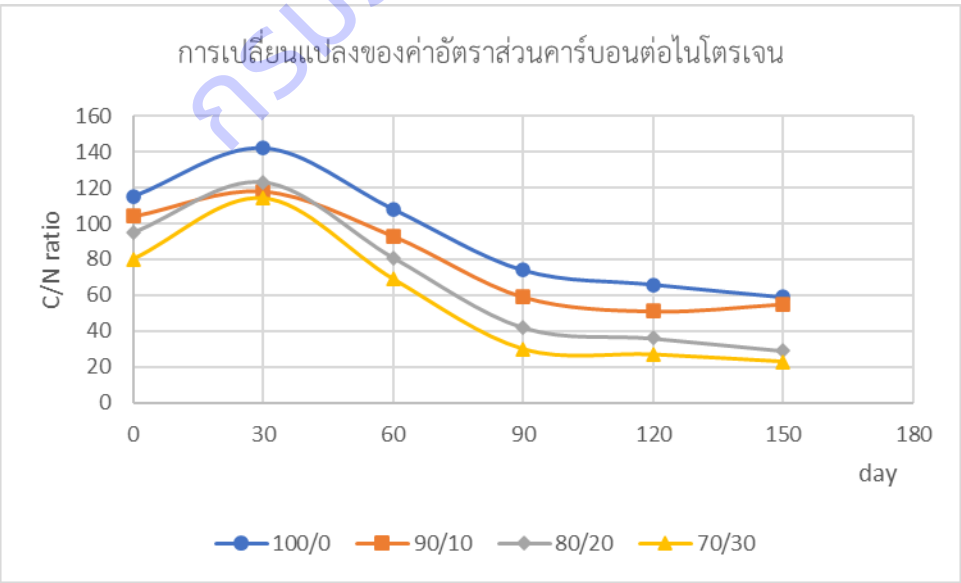
อบที่อุณหภูมิสูง แม้ว่าจะช่วยให้ผลิตภัณฑ์แห้งมากขึ้น แต่ปริมาณจุลินทรีย์หลังการเก็บรักษาจะลดลงค่อนข้างเร็ว ซึ่งอาจเป็นเพราะจุลินทรีย์มความอ่อนแอจากการสัมผัสความร้อนสูง

จากนั้นทดสอบการย่อยสลายใบอ้อยแห้งด้วยผลิตภัณฑ์หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบต่างๆ แต่ด้วยค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของใบอ้อยแห้งมีค่าสูง ซึ่งเป็นอุปสรรคในการย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ จึงทำการผสมกากตะกอนหม้อกรองเพื่อลดอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน

ตารางที่ 8 ปริมาณธาตุอาหารและอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของใบอ้อยแห้ง

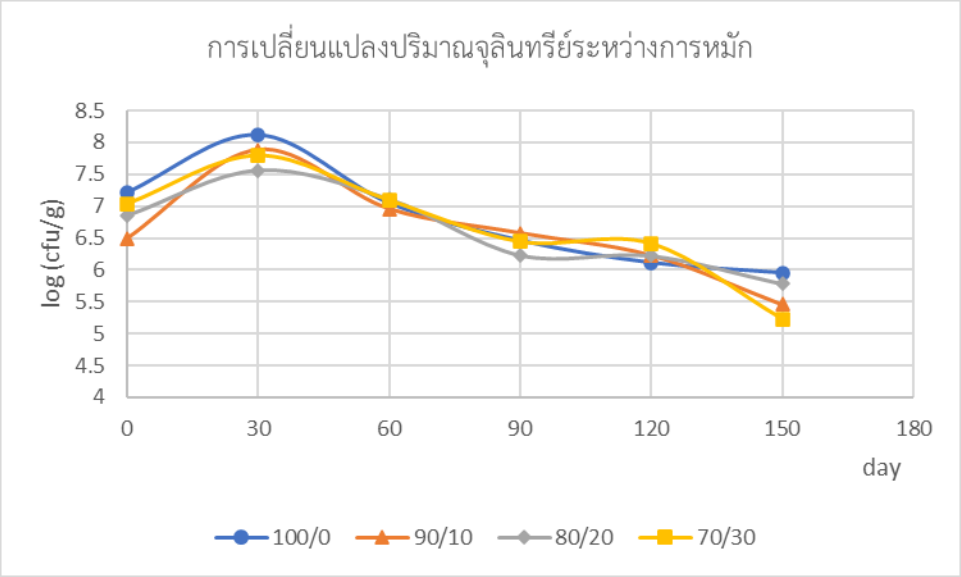
| วัตถุดิบ | organic carbon (%) | nitrogen (%) | phosphorus (%) | C/N |
|---|---|---|---|---|
| ใบอ้อยแห้ง | 39.5 | 0.37 | 0.02 | 106.76 |
| กากตะกอนหม้อกรอง | 25.1 | 0.62 | 0.83 | 40.48 |

ทดสอบการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์คือ ส่วนผสมของใบอ้อยและกากตะกอนหม้อกรอง ในอัตราส่วนโดยน้ำหนัก เท่ากับ 100/0 90/10 80/20 และ 70/30 โดยการหมักในตะกร้าขนาด เส้นผ่านศูนย์กลางxสูง เท่ากับ 66x48 เซนติเมตร ใส่ยูเรีย 0.2 เปอร์เซ็นต์ กลับกองและตรวจค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน ณ เวลา 0 30 60 90 และ 120 วัน ของการใส่หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์แบบผงหยาบ




ภาพที่ 5 การเปลี่ยนแปลงของค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในระหว่างการทำปุ๋ยหมักด้วยการผสมใบอ้อยกับกากตะกอนหม้อกรองในอัตราส่วนต่างๆ

กรมวิชาการเกษตร




ภาพที่ 6 การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์ในระหว่างการทำปุ๋ยหมักด้วยการผสมใบอ้อยกับกากตะกอนหม้อกรองในอัตราส่วนต่างๆ

พบว่าช่วงแรกของการหมักค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนมีการเพิ่มสูงขึ้นในช่วง 1 เดือนแรก ทั้งนี้เพราะจุลินทรีย์ทั้งที่มีอยู่เดิมในวัสดุและที่ได้รับเพิ่มจากผลิตภัณฑ์ที่ใส่ลงไป มีการเจริญเติบโตในช่วงแรกอย่างมากซึ่งต้องใช้ไนโตรเจนในกิจกรรมของการสร้างสารพันธุกรรมและเอนไซม์ต่างๆ เพื่อการเจริญเติบโตแข่งขันกับจุลินทรีย์รอบข้าง เป็นเหตุให้ปริมาณไนโตรเจนลดลงเร็วกว่าการลดลงของคาร์บอน เป็นเหตุให้ค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในช่วงแรกของการหมักมีค่าสูงขึ้น (สุนทรี, 2554) จนกระทั่งผ่านพ้นช่วง 1 เดือนแรกไปแล้ว จุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตไม่ทันลดจำนวนลง การแข่งขันการเจริญลดลง อัตราการใช้ไนโตรเจนลดลง จุลินทรีย์เริ่มขาดธาตุอาหาร จึงเริ่มทำการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ ค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนจึงเริ่มลดลง ปริมาณจุลินทรีย์เริ่มลดลงตามระยะเวลาที่มากขึ้นด้วยเช่นกัน แต่ทั้งนี้ที่อัตราการผสมวัสดุอินทรีย์ใบอ้อยและกากตะกอนหม้อกรอง ในอัตราส่วนโดยน้ำหนัก เท่ากับ 100/0 และ 90/10 มีค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเริ่มต้นที่สูง (115 และ 104 ตามลำดับ) แม้จะมีการใช้ผลิตภัณฑ์หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ลงไปเพื่อช่วยให้มีการย่อยสลายที่มากขึ้น แต่วัสดุยังคงมีขนาดใหญ่ มีช่องว่างมาก ทำให้จุลินทรีย์ย่อยสลายได้ไม่เต็มที่ ผลิตภัณฑ์หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ที่เติมลงไปอาจกระจุกตัวอยู่แค่เพียงบริเวณใดบริเวณหนึ่งเท่านั้น การย่อยสลายจึงเกิดได้ไม่ทั่วถึงในขณะที่การผสมวัสดุอินทรีย์ ใบอ้อยและกากตะกอนหม้อกรอง ในอัตราส่วนโดยน้ำหนัก เท่ากับ 80/20 และ 70/30 มีค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเริ่มต้นที่ต่ำกว่า (95 และ 80 ตามลำดับ) มีปริมาณกากตะกอนหม้อกรองซึ่งมีความละเอียด และกระจายตัวในกองปุ๋ยได้ดี มีปริมาณมากพอที่จะช่วยให้จุลินทรีย์ยึดเกาะ และกระจายตัวไปในส่วนต่างๆ ของกองปุ๋ยได้มากขึ้น การย่อยสลายจึงเกิดขึ้นได้มาก แต่ทั้งนี้เมื่อพิจารณาจากค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน

กรมวิชาการเกษตร

พบว่าการผสมวัสดุอินทรีย์ใบอ้อยและกากตะกอนหม้อกรอง ในอัตราส่วนโดยน้ำหนัก เท่ากับ 70/30 มีค่าต่ำกว่าอัตราส่วนอื่นๆ ตั้งแต่วันที่ 90 เป็นต้นมา ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ที่ดีกว่าการผสมในอัตราอื่นๆ ด้วยเหตุนี้ จึงคัดเลือกการผสมวัสดุอินทรีย์ใบอ้อยและกากตะกอนหม้อกรอง ในอัตราส่วนโดยน้ำหนัก เท่ากับ 70/30 เพื่อใช้ในการย่อยสลายใบอ้อยในระดับกองปุ๋ยต่อไป

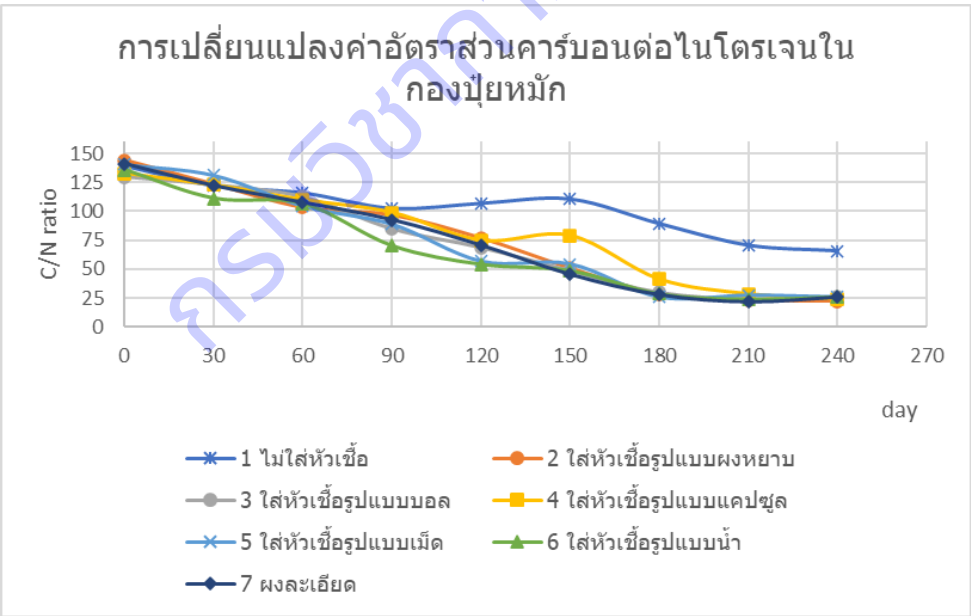
ทดสอบหัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบใหม่ในการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ (อัตราส่วนใบอ้อยต่อกากตะกอนหม้อกรอง เท่ากับ 70/30) โดยการหมักในกองขนาดกว้างxยาวxสูง เท่ากับ 1.0x1.2x1.0 เมตร กลับกองและตรวจค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน ณ เวลา 0 30 60 90 และ 120 วัน ของการใส่หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ของการใส่หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ โดยใส่ในอัตรา 350 กรัมต่อ 1000 กรัมของวัสดุอินทรีย์ วางแผนการทดลองตามกรรมวิธีที่กำหนดพบว่าในช่วง 60 วัน แรกของการหมักการเปลี่ยนแปลงค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในกองปุ๋ยหมักมีลักษณะเป็นไปในแนวทางเดียวกันทุกกรรมวิธีคือ ลดลงอย่างต่อเนื่อง อันเนื่องมาจากวัสดุอินทรีย์ถูกย่อยสลายจะเปลี่ยนเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำซึ่งสามารถระเหยออกไปได้ ขณะที่ไนโตรเจนส่วนใหญ่อยู่ในรูปสารอินทรีย ทำให้ค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในกองปุ๋ยหมักมีค่าลดลง (Vuorinen and Saharinen, 1997) ซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นจำนวนจุลินทรีย์ในกองปุ๋ยหมักในช่วงเวลาดังกล่าว การทำงานของจุลินทรีย์ในช่วงเวลานี้ยังมีอยู่มาก และอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนก็ยังคงสูงอยู่ ทำให้ค่า germination index ยังคงมีค่าต่ำ

หลังจาก 60 วัน ปริมาณจุลินทรีย์ในกองกรรมวิธีที่ไม่ใส่หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์เริ่มมีค่าน้อยกว่ากรรมวิธีอื่น ส่งผลให้ในวันที่ 90 ค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในกองปุ๋ยหมักเริ่มลดลงช้า และมีค่าสูงกว่ากรรมวิธีอื่นๆ ที่ใส่หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ จากนั้นในช่วงวันที่ 90 ถึง 240 ค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในกองปุ๋ยหมักในกองกรรมวิธีที่ไม่ใส่หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์มีค่าสูงกว่ากรรมวิธีอื่นๆ ที่ใส่หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ ทำให้ค่า germination index มีค่าต่ำกว่ากรรมวิธีอื่นๆ อีกด้วย ซึ่งการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ที่มีค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนสูงตั้งแต่เริ่มต้น โดยปราศจากการย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ การย่อยสลายจนสมบูรณ์เกิดขึ้นได้ยาก ซึ่งอาจต้องใช้เวลามากกว่า 240 วันในการย่อยสลายจนสมบูรณ์ แต่กรรมวิธีอื่นๆ ที่ใส่หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในกองปุ๋ยหมักลดลงอย่างต่อเนื่อง แม้ว่าปริมาณจุลินทรีย์จะลดลงอย่างต่อเนื่องตั้งแต่วันที่ 60 เป็นต้นมา แต่จุลินทรีย์ในกองปุ๋ยยังคงมีกิจกรรมการย่อยสลายที่มากพอจะเกิดการย่อยสลายได้ โดยไอออนที่ออกมาจากการย่อยสลายของวัสดุอินทรีย์ทำให้ค่าการนำไฟฟ้าเพิ่มขึ้นได้ (Thongjoo *et al*.,2006) จากการทดลองนี้พบว่าในทุกกรรมวิธีมีค่าการนำไฟฟ้าสูงขึ้นเมื่อเวลาผ่านไปมากขึ้น แม้จะไม่มีการใส่หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ เพราะในวัสดุอินทรีย์มีจุลินทรีย์ประจำถิ่นอาศัยอยู่ แต่การใส่หัว

กรมวิชาการเกษตร

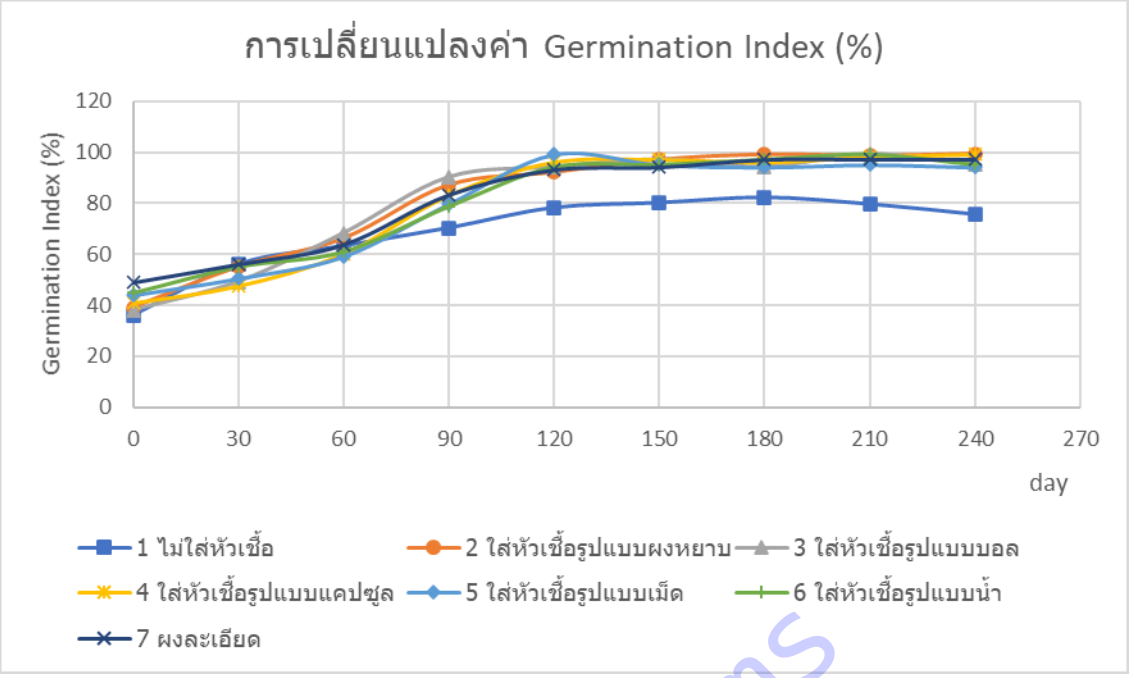
เชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ค่าการนำไฟฟ้าระหว่างการหมักสูงกว่ากรรมวิธีที่ไม่ใส่หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ ซึ่งแสดงถึงการย่อยสลายที่เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง ค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนจึงลดลงจนถึงช่วงวันที่ 180-240 การหมักจึงเกิดขึ้นสมบูรณ์

จากการเปลี่ยนแปลงในกองปุ๋ยหมักพบว่าหัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบต่างๆ ที่ผลิตขึ้น สามารถย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ได้เทียบเท่าหัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบเดิม ซึ่งรูปแบบเดิมมีความสามารถการย่อยสลายตอซังฟางข้าว ช่วยให้ข้าวได้ผลผลิตที่มากขึ้น (สุปรานี และคณะ, 2557) ย่อยสลายเปลือกยูคาลิปตัสจนเป็นปุ๋ยหมักได้ ภายในระยะเวลา 240 วัน (พีรพงษ์ และคณะ, 2557) เพียงแต่มีลักษณะคล้ายปุ๋ยหมัก ไม่จูงใจให้นำมาใช้งาน เมื่อนำมาผลิตเป็นรูปแบบต่างๆ ที่มีลักษณะน่าใช้งานมากขึ้น มีหลากหลายรูปแบบ เช่น แบบบอล ซึ่งกระจายตัวได้เองเมื่ออยู่ในน้ำ ลดการเดินหว่านให้ทั่วแปลง เหมาะกับการใช้ในนาข้าว แบบเม็ด ซึ่งสะดวกในการหว่านให้ทั่ว เมื่อใช้ในการกองเป็นปุ๋ยหมัก แบบน้ำ ซึ่งหากมีเครื่องพ่น จะสะดวกแก่การใช้งาน เป็นต้น ดังนั้นหัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบต่างๆ ที่ผลิตขึ้นใหม่นี้สามารถใช้ในงานหลากหลายรูปแบบ โดยยังคงมีประสิทธิภาพไม่ต่างจากรูปแบบเดิม

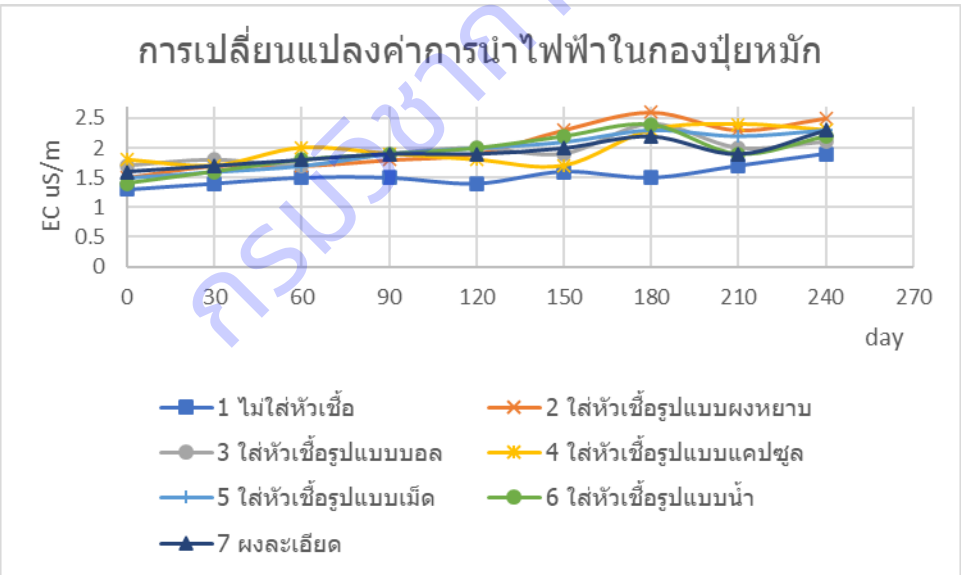



ภาพที่ 7 การเปลี่ยนแปลงค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในกองปุ๋ยหมักจากการใช้ผลิตภัณฑ์หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบต่างๆ

กรมวิชาการเกษตร

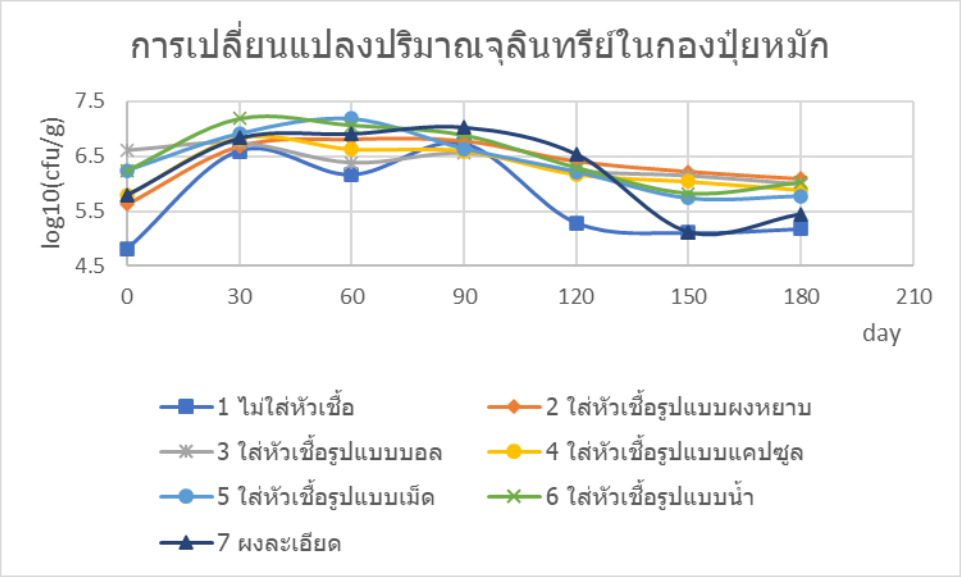



ภาพที่ 8 การเปลี่ยนแปลงค่า Germination Index (%) ในกองปุ๋ยหมักจากการใช้ผลิตภัณฑ์หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบต่างๆ




ภาพที่ 9 การเปลี่ยนแปลงค่าการนำไฟฟ้าในกองปุ๋ยหมักจากการใช้ผลิตภัณฑ์หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบต่างๆ

กรมวิชาการเกษตร




ภาพที่ 10 การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์ในกองปุ๋ยหมักจากการใช้ผลิตภัณฑ์หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบต่างๆ

## 9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

สามารถดำเนินการผลิตจุลินทรีย์ และแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบใหม่ได้ โดยยังคงมีความสามารถช่วยย่อยตอซังฟางข้าวและเพิ่มผลผลิตข้าวพันธุ์ กข 31 ได้เท่ากับผลิตภัณฑ์หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบผงหยาบ ซึ่งเป็นรูปแบบเดิม ที่มีลักษณะคล้ายปุ๋ยหมัก ไม่จูงใจให้ใช้งานนัก แต่รูปแบบใหม่มีลักษณะการใช้งานที่ง่ายกว่ามาก มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายใบอ้อยได้เทียบเท่าผลิตภัณฑ์หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบเดิม สามารถประยุกต์ใช้ได้หลากหลายตามความต้องการของเกษตรกร

กรมวิชาการเกษตร

## 10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ผลิตภัณฑ์หัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบใหม่ที่ผลิตขึ้นคือ รูปแบบเม็ด และรูปแบบบอล สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการย่อยสลายตอซังฟางข้าวได้ทันที ด้วยอัตรา 1 กรัมต่อตารางเมตร (1.6 กิโลกรัมต่อไร่)
2. การใช้เครื่องมือผลิตที่ทันสมัยมากขึ้น เช่น ใช้เครื่องขึ้นรูปเม็ด หรือเครื่องหยอดสารอัตโนมัติ จะช่วยให้สามารถผลิตได้รวดเร็วขึ้น สามารถผลิตและจำหน่ายแก่เกษตรกรและผู้สนใจได้ทันตามความต้องการ ลดขั้นตอนการเก็บรักษาก่อนจำหน่ายออก ซึ่งแม้เก็บรักษาได้ไม่นานนัก แต่ก็ยังสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ทันเวลาตามความต้องการ

3. ความสามารถในการย่อยสลายใบอ้อยของหัวเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์รูปแบบใหม่ มีความน่าสนใจหากต้องใช้ในการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ในแปลงของเกษตรกร เช่น การนำไปใช้ย่อยสลาบใบอ้อยในแปลงเพาะปลูกอ้อย ซึ่งจะเป็นการลดปัญหาการเผาทำลายใบอ้อย ซึ่งเป็นการลดปัญหามลพิษทางอากาศ เช่น การเกิด ฝุ่นละออง pm 2.5 จากการเผาใบอ้อยในช่วงการเก็บเกี่ยวผลผลิตอ้อย เป็นต้น

**11. คำขอบคุณ (-)**

**12. เอกสารอ้างอิง**


จงรักษ์ จันทร์เจริญสุข. 2541. การวิเคราะห์ดินและพืชทางเคมี. นครปฐม: ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จำเป็น อ่อนทอง. 2547. คู่มือการวิเคราะห์ดินและพืช. สงขลา: คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

พีรพงษ์ เชาวนพงษ์ สุปรานี มั่นหมาย อธิปัตย์ คลังบุญครอง ภาวนา ลิกขนานนท์ และศิริลักษณ์ แก้วสุรลิขิต. 2557. การเป็นปุ๋ยหมักของเปลือกไม้. หน้า 603 ใน: *บทคัดย่อการทดลองสิ้นสุด ปีงบประมาณ 2557*. กรมวิชาการเกษตร.

สมศักดิ์ มณีพงศ์. 2537. การวิเคราะห์ดินและพืช. สงขลา: คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สุปรานี มั่นหมาย ภาวนา ลิกขนานนท์ ศิริลักษณ์ แก้วสุรลิขิต อธิปัตย์ คลังบุญครอง ประไพ ทองระอา นิศารัตน์ ทวีนุต และพีรพงษ์ เชาวนพงษ์. 2557. การย่อยสลายตอซังและฟางข้าวในแปลงนาเพื่อให้สามารถปลูกข้าวได้. หน้า 157 ใน: *รายงานการประชุมวิชาการประจำปี 2557*. กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

สุนทรี ยิ่งชัชวาล.2554. ใช้อินทรียวัตถุให้ถูกประเภท.คณะศิลปะศาสตร์และวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ก าแพงแสน. http://www.cab.ku.ac.th/suntaree/pdf/54OrganiMatterExplain.pdf

เสาวภา สุราวุธ ประสาน แสงไพบูลย์ วิญญู ภักดี เดือนเต็ม ทองเผือก กาญจนา ราชสวุรรณ และวิระ ศรีมาลา. 2554. การคัดแยกเชื้อราที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสในพื้นที่ป่าโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดาริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยราชภัฏราไพพรรณี. หน้า 48-58 ใน: *การประชุมวิชาการ ทรัพยากรไทย : ก้าวสู่โลกกว้างอย่างมั่นใจ*. ชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ


กรมวิชาการเกษตร

อพ.สธ. 3-5 พฤศจิกายน 2554 ณ ห้องประชุมวิชาการ ศูนย์ฝึกหนองระเวียง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน จังหวัดนครราชสีมา.

Fajardo A. R., A. G. B. Pereira and E. C. Muniz. 2015. Hydrogels Nanocomposites Based on Crystals, Whiskers and Fibrils Derived from Biopolymers. EPN. volume 74, Page 43-71.

Gomare K.S., M. Mese and Y. Shetkar. 2013. Isolation of *Azotobacter* and Cost Effective Production of Biofertilizer. *Indian J Appl Res*. 3(5): 54-56.

Hartati, I., Kurniasari, L., and Budiarti, A. 2012. Immobilization of Cow Rumen Fluid Cellulase by Entrapment in Calcium Alginate Beads. In: International Conference on Chemical and Material Engineering 2012. ISBN : 978-602-097-281-7, September 12 – 13, 2012, , Grand Candi Hotel, Semarang Indonesia. **Petre**

Ivanova E., E. Teunou and D. Poncelet. 2006. Alginate Based Macrocapsules as Inoculant Carriers for the Production of Nitrogen Fixing Bio Fertilizers. 12(1): 31-39. In *Chem. Ind. Chem. Eng. Q*. Serbia.

Kuhad R. C., R. Gupta and A. Singh. 2011. Microbial Cellulases and Their Industrial Applications. Enzyme Res. Volume 2011, Article ID 280696, 10 pages.

Lakshmipriya V.P and P. K. Sivakumaar. 2013. Bacterial Alginate Carrier-based Preparations of Plant Growth-promoting Bacterial Inoculants. *Int J Recent Sci Res.* 4(7): 1129– 1132.

Leslie S.B., E. Israeli, B. Lighthart, J.H. Crowe and L.M. Crowe. 1995. Trehalose and Sucrose Protect Both Membranes and Proteins in Intact Bacteria During Drying. *Appl. Environ. Microbiol*. 61(10): 3592-3597.

Majeed H.S., M. Irfan, H.A. Shakir and J.I. Qazi. 2016. Filter Paper Activity Producing Potential of Aeromonas Species Isolated from the Gut of *Labeo rohita*. *Pakistan J. Zool*. 48(5): 1317-1323.

Maleki S. S., K. Mohammadi and K.Sh. Ji. 2016. Characterization of Cellulose Synthesis in Plant Cells. Sci. World J. Volume 2016, Article ID 8641373, 8 pages.

กรมวิทยาศาสตร

Malladi R., M. Nagalakshmaiah, M. Robert and S. Elkoun. 2018. Importance of Agricultural and Industrial Waste in the Field of Nanocellulose and Recent Industrial Developments of Wood Based Nanocellulose: A Review. ACS SUSTAIN CHEM ENG. Volume 6(3), 23 pages.

Petre, M., Zarnea, G., Adrian, P. and Gheorghiu, E. 1999. Biodegradation and bioconversion of cellulose wastes using bacterial and fungal cells immobilized in radiopolymerized hydrogels. Resources, Conservation and Recycling. 27. 309-332.

Schollerger, C.J. and R.H. Simmon. 1945. Determinate of exchange capacity and exchangeable bases in soil ammonium acetate method. Soil Sci. 59: 13 24.

Sonia S., D. Aparna, B. Gupta Lal and S. Gupta 2013. Optimization of Cellulase Production from Bacteria Isolated from Soil. *ISRN Biotechnology*. Article ID 985685, 7 p.

Thongjoo, C., S. Miyagawa and N. Kawakubo. 2006. Soil productivity after decomposition of waste materials under different soil moisture and temperature. Plant Prod. Sci. 9: 106-114.

Vuorinen, A.H. and M.H. Saharinen. 1997. Evolution of microbiological and chemical parameters during manure and straw co-composting in a drum composting system. Agriculture Ecosystem & Environment. 66: 19-29.

Walkley, A. and I.A. Black. 1934. An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chronic acid titration method. Soil Sci. 37: 29-38.

**13. ภาคผนวก (-)**

กรมวิชาการเกษตร