# การผลิตผลิตภัณฑ์แหนแดง

## ร่วมกับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินอัดเม็ด

ISBN : 978-974-436-979-6

โครงการวิจัยการจัดการธาตุอาหารพืชร่วมกับการใช้ประโยชน์ทรัพยากรชีวภาพ
จากจุลินทรีย์และชีวมวลในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพืชปลอดภัย

กรมวิชาการเกษตร 2565

**การผลิตผลิตภัณฑ์แหนแดงร่วมกับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินอัดเม็ด**

**ISBN : 978-974-436-979-6**

**คณะผู้จัดทำ**

| | | |
|---|---|---|
| นางสาวศิริลักษณ์ | แก้วสุรลิขิต | กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร |
| นางสาวณัฐนันท์ | ไกรเลิศรัตนชัย | กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร |
| นางสาวแววตา | พลกุล | กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร |
| นางประไพ | ทองระอา | กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร |
| นางสาวนิศารัตน์ | ทวีนุต | กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร |
| นางสาวพัชรินทร์ | นามวงษ์ | กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร |
| นางสาววนิดา | โนบรรเทา | กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร |
| นางสาวศุภกาญจน์ | ล้วนมณี | กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร |

**จัดทำโดย** : กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

**พิมพ์ครั้งที่** : 1

**ออกเผยแพร่** : วันที่ 21 กรกฎาคม 2566

**ลิขสิทธิ์ของกรมวิชาการเกษตร ห้ามคัดลอกข้อความหรือส่วนใดส่วนหนึ่งของหนังสือไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต**

**พิมพ์เมื่อ** : กรกฎาคม 2566

**สถานที่ติดต่อ** : กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

โทรศัพท์ 02-579-4116 โทรสาร 02-940-5942

# คำนำ

กระบวนการ เรื่อง **“การผลิตผลิตภัณฑ์แหนแดงร่วมกับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินอัดเม็ด”** ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของงานวิจัยในโครงการวิจัยและพัฒนาการจัดการธาตุอาหารพืชร่วมกับการใช้ประโยชน์ทรัพยากรชีวภาพจากจุลินทรีย์และชีวมวลในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพืชปลอดภัย โครงการย่อยที่ 1: วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีและนวัตกรรมการผลิตผลิตภัณฑ์ชีวภาพเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพืชปลอดภัย กิจกรรมที่ 1.2 วิจัยและพัฒนาการผลิตผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากแหนแดงร่วมกับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินอัดเม็ดเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพืชผักปลอดภัย ซึ่งเป็นงานวิจัยกรมวิชาการเกษตรที่**ได้รับเงินอุดหนุนจากกองทุน ววน. สกสว. ปี 2565** จัดทำขึ้นเพื่อให้เกษตรกร กลุ่มเกษตรกร หรือผู้สนใจทั่วไปสามารถนำชีวมวลที่ผลิตขึ้นได้เองอย่างไม่มีวันหมด (renewable biomass source) ไม่ว่าจะเป็นแหนแดงหรือสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมาทำให้เกิดมูลค่ามากขึ้น และใช้เป็นผลิตภัณฑ์สำหรับเพิ่มธาตุอาหารพืชและความอุดมสมบูรณ์ของดินไปพร้อมกัน คณะผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่าเอกสารงานวิจัยชิ้นนี้จะเป็นประโยชน์ต่อกรมวิชาการเกษตร และผู้สนใจทั่วไป หากมีข้อผิดพลาดประการใด ผู้วิจัยขอน้อมรับความเต็มใจและพร้อมที่จะ ดำเนิกการแก้ไขเพื่อประโยชน์ในโอกาสต่อไป

คณะนักวิจัย

มกราคม 2566

# สารบัญ


| **เรื่อง** | **หน้า** |
|---|---|
| บทนำ | 1 |
| วัตถุประสงค์ | 1 |
| เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมี | 1 |
| วิธีการ | 2 |
| เอกสารอ้างอิง | 6 |
| ภาคผนวก | 7 |

# การผลิตผลิตภัณฑ์แหนแดงร่วมกับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินอัดเม็ด

## 1. บทนำ

แหนแดงและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่สามารถตรึงไนโตรเจน จัดเป็นปุ๋ยชีวภาพที่ถูกนำมาใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนและธาตุอาหารชนิดอื่นให้แก่พืช แหนแดงเป็นหนึ่งในพืชที่สามารถเพิ่มชีวมวลได้รวดเร็ว โดยมีระยะเวลาเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่าเพียง 2-5 วัน หากมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมจะสามารถเพิ่มปริมาณได้ถึง 40 เท่า จากน้ำหนักสดเริ่มต้น 80 กิโลกรัม เป็น 3,200 กิโลกรัมต่อไร่ ได้ในระยะเวลาเพียง 2 สัปดาห์ (Jumadi et al., 2014; Zimmerman, 1985) ในขณะที่สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีองค์ประกอบของกรดอะมิโน และสารคล้ายฮอร์โมนพืชในกลุ่มออกซิน ไซโตไคนิน และจิบเบอเรลลินที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (ประไพ และคณะ, 2560; Kollmen and Strieth, 2022) อีกทั้งแหนแดงและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินยังเป็นแหล่งชีวมวลที่มีศักยภาพที่เกษตรกรสามารถผลิตได้อย่างต่อเนื่องไม่มีวันหมด โดยมีต้นทุนการผลิตที่ถูกมากหากเทียบกับการผลิตชีวมวลชนิดอื่น อีกทั้งยังสามารถเก็บรักษาแหล่งพันธุ์ได้ง่าย นอกจากนี้กระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ชีวภาพของแหนแดงร่วมกับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินอัดเม็ดนั้นก็ไม่ยุ่งยาก เกษตรกรสามารถปฏิบัติได้ง่าย ซึ่งผลิตภัณฑ์นี้สามารถนำไปใช้ในแปลงปลูกพืชหรือใส่ในกระถางปลูกพืชได้ง่ายขึ้น เป็นแนวทางในการลดต้นทุนให้แก่เกษตรกรอีกทางหนึ่ง ตลอดจนเป็นการผลิตชีวมวลที่เป็นมิตรต่อสภาพแวดล้อมและเป็นทรัพยากรชีวภาพที่มีศักยภาพในการการผลิตพืชที่ปลอดภัยอย่างยั่งยืน

## 2. วัตถุประสงค์

เพื่อวิจัยและพัฒนากระบวนการการผลิตผลิตภัณฑ์ชีวภาพอัดเม็ดจากแหนแดงร่วมกับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพืชรับผักประทานใบ

## 3. เครื่องมือ วัสดุอุปกรณ์ และสารเคมี

3.1 เครื่องมือ วัสดุอุปกรณ์ ได้แก่

- 3.1.1 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 3.1.2 ตู้ปลอดเชื้อ
- 3.1.3 ตู้อบ
- 3.1.4 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ
- 3.1.5 กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound
- 3.1.6 ห้องควบคุมอุณหภูมิและแสง
- 3.1.7 ปั๊มลมเติมอากาศ
- 3.1.8 สายยาง
- 3.1.9 ขวดแก้วรูปชมพู่ ขนาด 250 และ 5,000 มิลลิลิตร
- 3.1.10 บีกเกอร์แก้วขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร
- 3.1.11 ชุดจุกยางดำเบอร์ 18 เจาะรู พร้อมหลอดแก้วให้อากาศ
- 3.1.12 กระบอกฉีดยาขนาด 50 มิลลิลิตร

3.1.13 หัวเชื้อตั้งต้นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Hapalosiphon* sp. DASH05101 ในอาหาร $BG\text{-}11_0$ แบบแหลวแขวนลอย จากแหล่งรวบรวมสายพันธุ์สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

3.1.14 ผ้ากรองแพลงตอน ขนาด 30 ไมครอน

3.1.15 แม่พันธุ์แหนแดง จากกลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

3.1.16 บ่อวงซีเมนต์

3.1.17 เครื่องชั่ง 60 กิโลกรัม

3.1.18 กระชังสำหรับเพาะขยายแหนแดง

3.1.19 เครื่องบดเนื้อสัตว์ใช้สำหรับปั้นเม็ด

3.1.20 ปุ๋ยคอก

3.2 สารเคมีสำหรับเลี้ยงเชื้อสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่ตรึงไนโตรเจนได้ สูตร $BG\text{-}11_0$ (Allen and Arnon, 1955) (ภาคผนวก)

- ผสมสารละลายให้เข้ากัน ปรับ pH ให้เท่ากับ 7.8 ด้วย 1.0 N NaOH และปรับปริมาตรจนครบ 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส แรงดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

## 4. วิธีการ

### 4.1 การผลิตชีวมวลแหนแดง

ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงแหนแดงเพื่อเพิ่มชีวมวล

1. เตรียมบ่อปูนซีเมนต์ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 80 เซนติเมตร ที่เจาะรูขนาด ½ นิ้ว สูงจากพื้นบ่อปูนซีเมนต์ประมาณ 10-15 เซนติเมตร เพื่อใส่ท่อระบายน้ำที่มีฝาปิด ดังภาพที่ 1

**ภาพที่ 1** ท่อระบายน้ำแบบมีฝาปิด เพื่อบังคับระดับน้ำในบ่อ

2. เติมดินร่วนที่มีความอุดมสมบูรณ์สูงจากระดับพื้นหนาอย่างน้อย 10 เซนติเมตร และปุ๋ยคอกประมาณ 0.5 กิโลกรัม และเติมน้ำสูงจากผิวดินประมาณ 10 เซนติเมตร
3. ใส่แม่พันธุ์แหนแดง 200 กรัม แล้วปล่อยให้แหนแดงเจริญเติบโตจนเต็มแน่นบ่อ จึงนำไปเพาะขยายปริมาณในกระชังขนาด 4x8 ตารางเมตร (กระชังเพื่อป้องกันปลากินพืช)
4. นำแหนแดงที่ได้จากบ่อปูนมาหว่านกระจายลงกระชังอัตรา 450 กรัมต่อตารางเมตร รอจนแหนแดงเจริญเติบโตเต็มที่จนเต็มแน่นบ่อจึงตักขึ้นมาตากแห้งในที่ร่ม

**ภาพที่ 2** บ่อปูนซีเมนต์สำหรับเพาะขยายแม่พันธุ์แหนแดง **ภาพที่ 3** กระชังเพาะขยายแหนแดงเพื่อเพิ่มปริมาณ

**4.2 การผลิตชีวมวลสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน**

เตรียมอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนสูตร BG-$11_0$ ตามวิธีของ Allen and Arnon (1955) เพื่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Hapalosiphon* sp. DASH05101 ที่จะนำมาทำเป็นหัวเชื้อตั้งต้น วิธีทำโดยสังเขปดังนี้ เตรียมอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนสูตร BG-$11_0$ โดยผสมสารเคมีตามข้อ 3.2 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส แรงดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที ใส่สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินลงในอาหารเหลว BG-$11_0$ ปริมาตร 250 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ และวางบนเครื่องเขย่าเพื่อให้อากาศในขวดในสภาพควบคุมแสงที่ความเข้มแสงประมาณ 4,000 ลักซ์ อุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส เมื่อสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเจริญเติบโตดีแล้ว และเข้าสู่ระยะปลายของ Logarithmic phase นำหัวเชื้อดังกล่าวมาทำการปลูกเชื้อลงในอาหารเหลวในขวดรูปชมพู่ขนาด 5 ลิตร โดยให้มีความเข้มข้นของหัวเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ และเติมอากาศจากเครื่องปั๊มอากาศอย่างต่อเนื่อง นำไปบ่มไว้ภายใต้สภาพควบคุมแสงที่ความเข้มแสงประมาณ 4,000 ลักซ์ นาน 24 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 30 วัน เมื่อได้ปริมาณตามต้องการ นำสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่เพาะเลี้ยงได้มากรองด้วยผ้ากรองแพลงตอน และเก็บรักษาไว้ในช่องแช่แข็งเพื่อนำไปใช้ในขั้นตอนต่อไป

**ภาพที่ 4** สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่เลี้ยงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

**ภาพที่ 5** สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่เลี้ยงในขวดรูปชมพู่ขนาด 5 ลิตร พร้อมท่อเติมอากาศ

**4.3 การผลิตผลิตภัณฑ์ชีวภาพอัดเม็ดจากแหนแดงและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน**

1. เตรียมแหนแดงแห้ง โดยการนำแหนแดงที่ผลิตได้มาผึ่งให้แห้งในที่ร่ม และนำมาบดให้ละเอียด

2. เตรียมสารละลายสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์ โดยนำสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 100 กรัมมาละลายในน้ำให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร จากนั้นนำไปแช่แข็งเพื่อให้เซลล์ของสาหร่ายแตก แล้วจึงนำมาเติมน้ำให้ครบ 5 ลิตร

3. เตรียมดินเหนียวที่ใช้เป็นสารเชื่อมโดยนำดินมาบดให้ละเอียดแล้วเติมสารละลายสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 0.02 เปอร์เซ็นต์ ให้ท่วมดิน

4. นำแหนแดงแห้งที่ผ่านการบดแล้วมาผสมกับดินเหนียวที่ได้จากการเตรียมข้างต้น โดยใช้สัดส่วนแหนแดงแห้งต่อดิน 7:3 แล้วนำใส่เครื่องบด ซึ่งขั้นตอนนี้จะได้แหนแดงอัดเป็นแท่งขนาดเล็ก แล้วนำไปผึ่งในที่ร่มจนแห้งสนิทดี จึงเก็บใส่ถุงและปิดปากถุงให้สนิท

**ภาพที่ 6** วัตถุดิบที่ใช้สำหรับการทำผลิตภัณฑ์ชีวภาพอัดเม็ด และการเตรียมวัสดุก่อนปั้นเม็ด ก) แหนแดงแห้ง ข) ดินเหนียว ค) สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ง) แหนแดงแห้งบด จ) ดินเหนียวบด ฉ) สารละลายสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์

**ภาพที่ 7** การปั้นเม็ดผลิตภัณฑ์โดยใช้เครื่องบดเนื้อสัตว์ (ซ้าย) และผลิตภัณฑ์หลังจากผึ่งให้แห้งในที่ร่ม (ขวา)

## เอกสารอ้างอิง


ประไพ ทองระอา ศิริลักษณ์ แก้วสุรลิขิต กานดา ฉัตรไชยศิริ กัลยาณี สุวิทวัส พิมพ์นิภา เพ็ญช่าง นิศารัตน์ ทวีนุต และภาสันต์ ศารทูลทัต. 2560. การใช้สารสกัดสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินร่วมกับปุ๋ยทางใบต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยน้ำว้า ‘ปากช่อง 50’ จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. *ว. พืชศาสตร์สงขลานครินทร์*. 4(4): 16-21.

Allen, M. B. and D. I. Arnon. 1955. Studies on nitrogen-fixing blue-green algae. Plant Physiol. 30: 366-372.

Jumadi, O.; F. Hiola; Y. Hala; J. Norton and K. Inubushi. 2014. Influence of Azolla (AzollamicrophyllaKaulf.) compost on biogenic gas production, inorganic nitrogen and growth of upland Kangkong (Ipomoea aquaticaForsk.) in a silt loam soil. Soil Sci. Plant Nutr. 60: 722–730.

Kollmen, J.; Strieth, D. 2022. The beneficial effects of cyanobacterial co-culture on plant growth. *Life* 12(2): 223.

Zimmerman, W.J. 1985. Biomass and pigment production in three isolates of Azolla II. Response to light and temperature stress. Annals of Botany 56: 701-709.

**ภาคผนวก**

1. สูตรอาหาร BG-$11_0$ สำหรับเตรียมอาหารเหลวปริมาตร 1 ลิตร ประกอบด้วย

| | |
|---|---|
| 1. Magnesium sulfate anhydrous ($MgSO_4$) | 0.037 กรัม |
| 2. Sodium carbonate anhydrous ($Na_2CO_3$) | 0.020 กรัม |
| 3. Calcium chloride dihydrate ($CaCl_2 .2H_2O$) | 0.035 กรัม |
| 4. Citric acid anhydrous | 6 มิลลิกรัม |
| 5. Ferric ammonium citrate ($FeNH_4$ citrate) | 6 มิลลิกรัม |
| 6. Ethylenediamine tetraacetic acid ($Na_2$ EDTA) | 1 มิลลิกรัม |
| 7. di-Potassium hydrogen phosphate anhydrous ($K_2HPO_4$) | 0.038 กรัม |
| 8. Stock A-5 micronutrient 1 มิลลิลิตร | |

2. การเตรียม Stock A-5 micronutrient 1000 มิลลิลิตร ประกอบด้วย

| | |
|---|---|
| 1. Boric acid ($H_3BO_3$) | 2.8 กรัม |
| 2. Manganese sulphate monohydrate ($MnSO_4. H_2O$) | 1.56 กรัม |
| 3. Molybdenum trioxide ($MoO_3$) | 0.15 กรัม |
| 4. Zinc sulfate heptahydrate ($ZnSO_4.7H_2O$) | 0.22 กรัม |
| 5. Copper (II) sulfate pentahydrate ($CuSO_4 .5H_2O$) | 0.08 กรัม |
| 6. Potassium chromium sulfate ($K_2Cr_2 (SO_4)_4 .24H_2O$) | 0.10 กรัม |
| 7. Nickel sulfate hexahydrate ($NiSO_4. 6H_2O$) | 0.045 กรัม |
| 8. Cobalt (II) nitrate hexahydrate ($Co(NO_3)_2 .6H_2O$ | 0.05 กรัม |
| 9. Sodium tungstate dihydrate ($Na_2 WO_4. 2H_2O$) | 0.018 กรัม |
| 10. Titanium dioxide ($TiO_2$) | 0.017 กรัม |
| 11. Ammoniummonovanadate ($NH_4 VO_3$) | 0.02 กรัม |

วิธีการเตรียมโดยใส่น้ำกลั่น ประมาณ 800 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร วางบีกเกอร์บนเครื่องคนสาร จากนั้นเติมสารเคมีที่ชั่งไว้แล้วลงไปที่ละตัว ดูจนละลายดีแล้ว จึงเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชา